

POLIANA APARECIDA RODRIGUES GAZOLLA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES CITOTÓXICA E
LEISHMANICIDA DE DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEOS
1,2,3-TRIAZÓLICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

G291s
2015
Gazolla, Poliana Aparecida Rodrigues, 1988-
Síntese e avaliação das atividades citotóxica e
leishmanicida de derivados do eugenol contendo núcleos
1,2,3-triazólicos / Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla. –
Viçosa, MG, 2015.

xviii, 255f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Róbson Ricardo Teixeira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Química orgânica. 2. Síntese orgânica. 3. Compostos bioativos. 4. Eugenol. 5. Triazóis. 6. Reações químicas. 7. Citotoxicidade. 8. Leishmaniose. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 547

POLIANA APARECIDA RODRIGUES GAZOLLA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES CITOTÓXICA E
LEISHMANICIDA DE DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEOS
1,2,3-TRIAZÓLICOS**

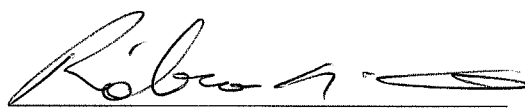
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 27 de julho de 2015:


Adalberto Manoel da Silva


Gustavo Costa Bressan


Marcelo Henrique dos Santos


Róbson Ricardo Teixeira
(Orientador)

Dedico essa dissertação primeiramente a Deus e a Nossa Senhora.

Aos meus pais Antonio Carlos e Filomena por não medirem esforços para a realização de todos os meus sonhos.

Ao meu irmão Pedro Antonio pelo exemplo e alegria de tê-lo como irmão.

E ao meu noivo Juarez por todo incentivo e amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por guiar os meus caminhos.

Aos meus pais Antonio Carlos e Filomena por acreditarem nos meus sonhos e serem a base necessária para a realização de todos eles.

Ao meu irmão Pedro Antonio por ser exemplo de ser humano, o qual eu sempre me espelho.

Ao meu noivo Juarez pela paciência, amor e por caminhar junto a mim.

A tia Neuza e as primas Bárbara, Bianca e Luana por terem me acolhido como filha e irmã.

Ao professor Róbson Ricardo Teixeira, por toda atenção, apoio, incentivo e confiança ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Por ter me acolhido e compartilhado sua experiência, profissionalismo e motivação ao longo destes anos.

Aos amigos Wagner e Michelle pelo trabalho em equipe, amizade e por sempre estarem à disposição nos momentos que eu sempre precisei.

Ao Adalberto por ter dividido seu conhecimento e por ter ajudado na obtenção de vários compostos.

As amigas Ana Paula, Ângela, Cecília, Cristielle, Dayana, Francielle e Lívia por todo carinho, torcida, risadas e por diversas vezes alegrarem os meus dias.

Ao professor Gustavo Bressan e aos seus alunos Raoni Siqueira, Victor Hugo Sousa Gonçalves e Higor Sette Pereira pela realização dos ensaios citotóxicos.

Ao Wallace Pacienza Lima pela realização dos ensaios leishmanicida.

Aos Técnico-administrativos José Luiz Pereira e Cristiane Isaac pelas análises que ajudaram na elucidação e identificação dos compostos sintetizados nesse trabalho.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

Aos professores da banca examinadora, que prontamente aceitaram participar da finalização desta pesquisa.

Aos familiares pelas orações e por terem contribuído, mesmo de forma indireta, para a realização desse trabalho.

Meu eterno agradecimento.

BIOGRAFIA

Poliana Aparecida Rodrigues Gazolla, filha de Antonio Carlos Gazolla e Filomena Auxiliadora Rodrigues Gazolla, nasceu em Juiz de Fora, Minas Gerais, em 29 de outubro de 1988.

Em 2008 ingressou na Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde concluiu o curso de Licenciatura e Bacharelado em Química em maio de 2013.

Em agosto de 2013 ingressou no Programa de Pós Graduação em Agroquímica da UFV (mestrado stricto sensu), tendo como área de concentração Síntese de Agroquímicos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ESQUEMAS	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE GRÁFICOS.....	xii
ANEXOS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO.....	1
1.1. NOVOS FÁRMACOS A PARTIR DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS.....	1
1.2. EUGENOL – PRINCIPAL CONSTITUINTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO DA ÍNDIA.....	4
1.3. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TRABALHO.....	8
1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....	9
CAPÍTULO 2 - SÍNTESE DE DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEO 1,2,3-TRIAZOL.....	14
2.1. INTRODUÇÃO.....	14
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
2.2.1. Generalidades Metodológicas.....	23
2.3. PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS.....	25
2.3.1. EXTRAÇÃO DO EUGENOL (1) A PARTIR DO ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO DA ÍNDIA.....	25
2.3.2. SÍNTESE DOS ALCINOS TERMINAIS DERIVADOS DO EUGENOL.....	27
2.3.3. SÍNTESE DOS ÉSTERES SULFONATOS.....	31
2.3.4. SÍNTESE DAS AZIDAS ORGÂNICAS.....	39
2.3.5. SÍNTESE DOS COMPOSTOS TRIAZÓLICOS DERIVADOS DO EUGENOL.....	48
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEOS 1,2,3- TRIAZÓLICOS.....	117
3.1. INTRODUÇÃO.....	117

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	121
3.2.1. Generalidades.....	121
3.2.2. Ensaio de Viabilidade Celular (MTT).....	122
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	123
3.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	130

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS.....	132
4.1. INTRODUÇÃO.....	132
4.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	138
4.2.1. Generalidades.....	138
4.2.2. Parasitos.....	138
4.2.3. Avaliação da atividade antipromastigota.....	139
4.2.4. Animais.....	139
4.2.5. Obtenção de macrófagos peritoneais.....	140
4.2.6. Avaliação da atividade anti-mastigota intracelular.....	140
4.2.7. Avaliação da citotoxicidade por liberação de lactato desidrogenase (LDH).....	141
4.2.8. Produção de óxido nítrico.....	141
4.2.9. Ensaio de Viabilidade Celular (Alar-me Blue).....	142
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	143
4.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	149

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	151
---	------------

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 1

1	Produtos naturais empregados como fármacos.....	2
2	Antimaláricos sintéticos inspirados pela quinina.....	3
3	Botões florais secos de <i>Eugenia caryophyllata</i> (cravo da Índia).....	5
4	Estrutura da molécula de eugenol.....	5
5	Estrutura geral dos compostos alvos de estudo deste trabalho.....	9

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 2

1	Exemplos de heterociclos nitrogenados farmacologicamente ativos.....	15
2	Estruturas dos heterociclos triazóis.....	15
3	Produto natural resveratrol (a) e análogos (b); produto natural nor- β -lapachona (c) e derivados triazóis naftoquinoidais (d).....	19
4	Estruturas das substâncias sintetizadas e objeto de investigação desse trabalho.....	22
5	Imagem ilustrativa do sistema de destilação utilizado para a obtenção do óleo essencial do cravo da Índia (1).....	26
6	Estruturas e rendimentos dos ésteres sulfonatos sintetizados.....	32
7	Estruturas e rendimentos das azidas sintetizadas.....	40
8	Estruturas e rendimentos das azidas sintetizadas a partir de brometos de benzila.....	40
9	Proposta de fragmentações e formação dos picos característicos do eugenol (1).....	79
10	Espectro de massas do composto 1	81
11	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 1	82
12	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 1	83
13	Espectro de massas do composto 2	87
14	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 2	88
15	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, C_6D_6) do composto 2	89
16	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 2	90
17	Espectro de massas do composto 4	93
18	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 4	94
19	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 4	95
20	Valores descritos de deslocamento químico para os átomos de carbono do anisol (FRESENIUS <i>et al.</i> , 1989).....	100
21	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 8g	101
22	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 8g	102
23	Valores descritos de constantes de acoplamento ^{19}F - ^{13}C (FRESENIUS <i>et al.</i> , 1989).....	104
24	Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 9i	105
25	Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 9i	106
26	Proposta de ciclo catalítico para a reação CuAAC.....	109

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 3

1	Tipos de câncer mais incidentes, projetados para 2014/2015, na população brasileira.....	118
2	Estruturas de alguns quimioterápicos originários de plantas e empregados no tratamento do câncer.....	119
3	Conversão do sal MTT no produto formazan.....	122
4	Compostos triazólicos mais ativos contra a linhagem HL60 na concentração 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	125
5	Perfil de dose-resposta dos compostos 8n , 9a , 9c , 9e , 9n na viabilidade de células HL60.....	128
6	Perfil de dose-resposta dos compostos 8n , 9a , 9c , 9e , 9n na viabilidade de células Nalm6.....	129

LISTA DE FIGURAS DO CAPÍTULO 4

1	Formas clínicas da leishmaniose humana.....	133
2	Ciclo de transmissão de <i>Leishmania</i> spp.....	135
3	Estrutura dos quimioterápicos antimoniato pentavalentes.....	136
4	Estruturas dos quimioterápicos Anfotericina B e Pentamidina.....	137
5	Esquema simplificado do protocolo utilizado para avaliar a atividade antipromastigota de derivados triazólicos do eugenol.....	142
6	Conversão da Resazurina em Resorufina.....	143
7	Atividade antipromastigota. <i>L. amazonensis</i> GFP (2×10^5 promastigotas/mL) foram cultivadas com diferentes concentrações (0,1; 1; 10; 100 μM) de 9I e Alarm Blue (AmB) por 72 h a 26 °C em meio M199 suplementado com 10% de soro fetal bovino. A quantidade de parasitos foi medida indiretamente através do método Alamar Blue e representado através da porcentagem de crescimento.....	145
8	Atividade antiamastigota. Macrófagos peritoneais de Balb/C infectados com <i>L. amazonensis</i> foram incubados por 48 h a 37 °C / 5 % CO ₂ em diferentes concentrações (1; 10; 100 μM) de 9I e (1; 10; 100 $\mu\text{g/mL}$) de Glucantime. A) A quantidade de parasitos foi medida por microscopia e expressa como amastigotas por 100 macrófagos. B) O sobrenadante foi coletado para dosagem da enzima citoplasmática lactate desidrogenase (LDH), como indicativo de lise celular. Liberação máxima (macrófagos infectados + 0.1 % triton X100) = 0.46 OD; e mínima (macrófago não infectado e não tratado = 1.3 OD); Means \pm SD (n =3), ** p <0.01 and *** p <0.001.....	146
9	Macrófagos peritoneais de Balb/C infectados com <i>L. amazonensis</i> foram incubados por 48 h a 37 °C / 5 % CO ₂ com diferentes concentrações (1; 10; 100 μM) de 9I e (1; 10; 100 $\mu\text{g/mL}$) de Glucantime. Macrófagos não tratados e não infectados (NT e NI). Macrófagos infectados e que não receberam tratamento (NT).....	147

LISTA DE ESQUEMAS

LISTA DE ESQUEMAS DO CAPÍTULO 2

1	Regioisômeros obtidos via cicloadição térmica clássica de Huisgen.....	16
2	Reação “click” ou CuAAC.....	18
3	Análise retrossintética para a preparação dos derivados do eugenol.....	20
4	Rota sintética envolvida na preparação dos derivados do eugenol contendo núcleo triazólico.....	21
5	Proposta mecanística para a obtenção do composto 2	84
6	Reação geral de obtenção dos ésteres sulfonatos 6a-6k	96
7	Reação geral de obtenção das azidas.....	97
8	Reação CuAAC utilizada para a obtenção dos compostos triazólicos 8a-8n	98
9	Reação CuAAC utilizada para a obtenção dos compostos triazólicos 9a-9n	103

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO 3

- 1 Viabilidade (%) dos compostos triazólicos derivados do eugenol sobre as células leucêmicas humana da linhagem HL60, após 48 horas de exposição aos compostos (média±desvio padrão)..... 124
- 2 Valores de IC₅₀ (μmol L⁻¹) obtidos para as linhagens de célula HL60, Nalm6 e B16F10 tratadas com os compostos **8n**, **9a**, **9c**, **9e**, **9n**..... 126

LISTA DE TABELAS DO CAPÍTULO 4

- 1 Avaliação da atividade antipromastigota dos compostos triazólicos derivados do eugenol..... 144
- 2 Atividade leishmanicida do composto **9l** e dos quimioterápicos comerciais..... 148

LISTA DE GRÁFICOS

LISTA DE GRÁFICOS DO CAPÍTULO 3

- 1 Efeito citotóxico dos compostos triazólicos derivados do eugenol sobre a linhagem HL60..... 125

ANEXOS

1. ESPECTROS.....	154
-------------------	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

Å	Angström
C ₆ D ₆	Benzeno deuterado
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio)
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
CCD	Cromatografia em camada delgada
d	Dupleto
d _{ap}	Dupleto aparente
dd	Dupleto duplo
ddt _{ap}	Duplo duplo tripleto aparente
DMSO	Dimetilsulfóxido
δ	Deslocamento químico
EtOH	Etanol
Hz	Hertz
MHz	Megahertz
m	Multiplete
P.A.	Para análise
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
quint	Quinteto
R _f	Fator de retenção
<i>m/z</i>	Razão massa/carga
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Triplete
t _{ap}	Triplete aparente
td	Triplete duplo
T _f	Temperatura de fusão
v/v	Volume/volume

RESUMO

GAZOLLA, Poliana Aparecida Rodrigues, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Síntese e avaliação das atividades citotóxica e leishmanicida de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos.** Orientador: Róbson Ricardo Teixeira.

A utilização de metabólitos secundários derivados de plantas como compostos-modelos para a obtenção de novos fármacos é uma estratégia que vêm sendo aplicada por diversos grupos de pesquisa e pela indústria farmacêutica. O amplo espectro de bioatividades descritas para diversas plantas é um dos fatores que motiva a aplicação desta estratégia. O presente trabalho teve por meta a síntese e a avaliação das atividades citotóxica e leishmanicida de uma série de vinte e sete derivados do eugenol contendo o núcleo 1,2,3-triazol. A rota sintética escolhida para a síntese dos compostos triazólicos envolveu como etapa chave a reação “click” ou CuAAC (reação de cicloadição (C) entre um Alcino (A) e uma azida (A), catalisada por cobre (Cu)) entre azidas benzílicas e alcinos terminais derivados do eugenol. Os compostos sintetizados foram completamente caracterizados, utilizando-se a espectroscopia unidimensional de RMN de ^1H e de ^{13}C . Considerando relatos descritos na literatura a respeito dos efeitos citotóxicos do eugenol contra diferentes linhagens de células cancerígenas, realizou-se a avaliação da atividade citotóxica dos compostos sintetizados contra as linhagens celulares HL-60 (leucemia mieloide aguda), Nalm6 (leucemia linfóide aguda derivada de célula B) e B16F10 (melanoma murino). Os resultados obtidos mostraram que, dentre os vinte e sete compostos submetidos à avaliação desta atividade biológica, cinco [4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(3-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8n**), 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol (**9a**), 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-clorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9c**), 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-iodobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9e**) e 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(3-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9n**)] foram os mais ativos em termos de redução da viabilidade celular das células HL-60, apresentando valores moderados de citotoxicidade. Dentre estas cinco

substâncias mais ativas, duas também apresentaram efeito citotóxico contra a linhagem Nalm6. Avaliou-se também a atividade leishmanicida dos compostos triazólicos contra as formas promastigotas da *Leishmania amazonensis*. O composto mais ativo frente a este ensaio, a substância 4-(3-(4-*alil*-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9I**), foi então avaliado contra a forma amastigotas deste parasito, apresentando valores superiores de atividade leishmanicida em relação ao fármaco comercial Glucantime. Os resultados alcançados com o desenvolvimento deste trabalho apontam para o fato de que os derivados do eugenol com porções triazólicas podem ser considerados candidatos a serem investigados como possíveis novos agentes quimioterápicos para o tratamento do câncer e da leishmaniose.

ABSTRACT

GAZOLLA, Poliana Aparecida Rodrigues, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Synthesis and evaluation of cytotoxic and antileishmanial activities eugenol derivatives containing 1,2,3-triazol portions.** Adviser: Róbson Ricardo Teixeira.

The use of secondary metabolites of plant origin as model compounds for the development of new pharmaceuticals is a strategy that has been employed by academia as well as pharmaceutical industry. The broad spectrum of biological activities displayed by these metabolites is one of the factors that drives research toward this end. In the present investigation, a series of twenty seven eugenol derivatives containing 1,2,3-triazol portions was synthesized. The compounds had their cytotoxic and antileishmanial activities evaluated. The synthetic route chose to prepare the compounds presented as the key step the copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC), also known as click chemistry. In this case, the reactions between terminal alkynes derived from eugenol and benzylic azides afforded the twenty seven derivatives. The identities of the compounds were confirmed upon one-dimensional ^1H and ^{13}C NMR analyses. Taken into consideration previous report in the literature concerning the cytotoxic activity displayed by eugenol, the synthesized derivatives were biologically evaluated against tree cancer cell lines namely HL-60, Nalm6 and B16F10. Among the twenty seven derivatives, five of them [4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(3-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8n**), 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol (**9a**), 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-clorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9c**), 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-iodobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9e**) e 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(3-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9n**)] were the most active and presented moderate cytotoxicity against HL-60. These more active compounds were also evaluated against Nalm6. Two of them were active against the former while one presented activity against the latter. The triazolic eugenol derivatives had their antileishmanial activity evaluated against promoastigote forms of *Leishmania amazonensis* being compound 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9l**) the most active

one. This substance was subsequently evaluated against amastigote forms and it was found that its activity was superior than Glucantime a compound that is clinically used in leishmaniasis treatment. The results found in the present investigation points to the fact triazolic eugenol derivatives can be considered as candidates for the development of new agents for the treatment of cancer and leishmaniasis.

CAPÍTULO 1

APRESENTAÇÃO

1.1. NOVOS FÁRMACOS A PARTIR DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS

As plantas são uma importante fonte de produtos biologicamente ativos muitos dos quais se constituem em modelos para o desenvolvimento de fármacos e agroquímicos.

Sua utilização como laboratório natural remonta às antigas civilizações que as empregavam tanto no tratamento e cura de diversas doenças quanto em rituais religiosos (VEIGA JUNIOR, 2008).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define planta medicinal como sendo "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos" (VEIGA JUNIOR *et al.*, 2005).

No entanto, as plantas medicinais devem ser consideradas não apenas como matéria-prima, mas como ponto de partida para a descoberta de novas moléculas e também como um recurso natural potencialmente ativo.

Os primeiros estudos científicos sobre plantas medicinais ocorreram a partir do século XIX, quando foram registrados os primeiros relatos sobre o isolamento de diversos metabólitos secundários (MONTANARI e BOLZANI, 2001).

Desde então, a natureza vêm fornecendo diversas substâncias que fundamentaram estudos de relação estrutura-atividade, inspiraram o desenvolvimento da síntese orgânica e a criação da indústria farmacêutica (VIEGAS JR *et al.*, 2006).

Diversos fármacos disponíveis atualmente no mercado farmacêutico foram obtidos sinteticamente baseados em estruturas naturais ativas. Entre os inúmeros exemplos de substâncias oriundas de plantas que apresentam grande importância medicinal, pode-se destacar a quinina, morfina, papaverina, atropina e o taxol (Figura 1).

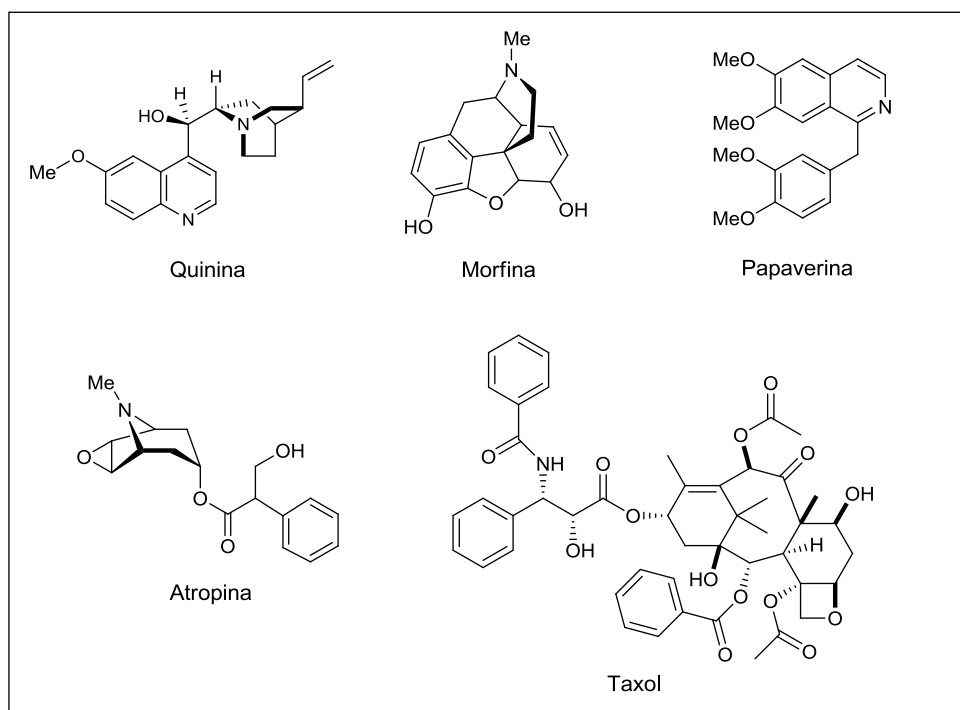


Figura 1. Produtos naturais empregados como fármacos.

Extraída em 1820 de espécies vegetais do gênero *Cinchona*, a quinina foi utilizada por quase trezentos anos como o único princípio ativo contra a malária. Essa substância também é conhecida por apresentar

atividade antitérmica e analgésica e por inspirar a origem dos antimaláricos sintéticos cloroquina e primaquina (Figura 2) (DOS SANTOS e PINTO, 2012).

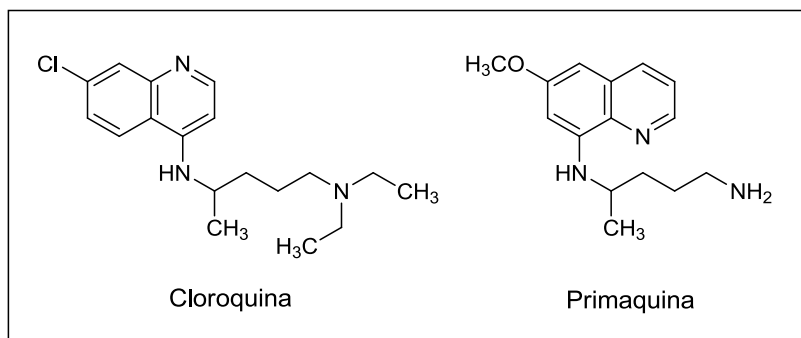


Figura 2. Antimaláricos sintéticos inspirados pela quinina.

Também isolada no século XIX, a morfina (Figura 1, pg.2) é uma substância natural extraída do ópio (*Papaver somniferum*) conhecida pelos egípcios por apresentar propriedades analgésica, hipnótica e antitussígena (FILHO e YUNES, 1998). Atualmente, continua sendo utilizada em clínicas como analgésico no tratamento da dor crônica ou aguda e dores causadas por doenças degenerativas.

Extraída da *Papaver somniferum*, a papaverina (Figura 1, pg.2) apresenta atividade biológica distinta da morfina e dos outros opióides. É utilizada pela medicina como espasmolítico, vasodilatador e no tratamento de impotência masculina (COSTA, 2009).

A atropina (Figura 1, pg.2) é um estimulante do sistema nervoso parassimpático que age inibindo a atividade do neurotransmissor acetilcolina. É um alcalóide encontrado na planta *Atropa belladonna* e muito utilizado na medicina para combater arritmias e para o tratamento de Mal de Parkinson (ANDRADE *et al.*, 2002).

Como último exemplo menciona-se o diterpeno taxol (Figura 1, pg.2), uma droga antineoplásica isolada da casca do Teixo do pacífico (*Taxus brevifolia*), que possui atividade contra vários tipos de câncer incluindo melanoma, câncer de ovário, leucemia e câncer de mama (PELTIER *et al.*, 2006).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam que 119 substâncias químicas, derivadas de 90 espécies de plantas, podem ser consideradas como fármacos importantes utilizados atualmente em diversos países desenvolvidos. Destas 119 drogas, 74% foram descobertas como resultado dos estudos químicos que visam o isolamento das substâncias ativas a partir de metabólitos secundários de plantas (PAWAR, 2014).

Dentro deste contexto, um dos aspectos que atualmente continua sendo de grande interesse no que tange ao estudo de produtos naturais, é a utilização de constituintes dos óleos essenciais, os quais exercem funções primordiais à manutenção da espécie vegetal, tais como, defesa contra predadores e patógenos, atrativo de polinizadores, aroma, entre outras (RAVEN *et al.*, 2001).

1.2. EUGENOL – PRINCIPAL CONSTITUINTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO DA ÍNDIA

O cravo da Índia (*Eugenia caryophyllata*) (Figura 3, pg.5) é uma especiaria muito apreciada desde a antiguidade devido à sua utilidade na culinária e também na medicina popular.



Figura 3. Botões florais secos de *Eugenia caryophyllata* (cravo da Índia).

Originária das Ilhas Molucas, o cravo da Índia foi uma das primeiras e mais valiosas especiarias do mercado no início do século XVI, sendo utilizada na prevenção de pandemias como a peste negra, mas principalmente como condimento alimentar (KAMATOU *et al.*, 2012).

No Brasil, o grande pólo produtor de cravo encontra-se na Bahia, principalmente na região do baixo sul, em cidades como Valença, Ituberá, Taperoá, Camamu e Nilo Peçanha (AFFONSO *et al.*, 2012).

Um dos principais constituintes do óleo essencial de cravo e que apresenta diversas atividades biológicas é um fenilpropanóide metoxilado comumente conhecido como eugenol (Figura 4).

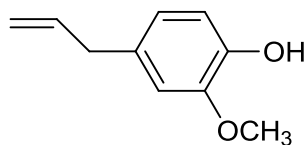


Figura 4. Estrutura da molécula de eugenol.

Quimicamente designado como 4-aliil-2-metoxifenol, o eugenol, possui consistência líquida e oleosa, sabor ardente e picante, aroma característico e após contato prolongado com o ar, apresenta instabilidade (TANGERINO, 2006). No cravo da Índia, esse composto representa cerca

de 90% e 98% da composição do óleo essencial e do extrato aquoso, respectivamente (RODRIGUES *et al.*, 2009).

Também encontrado em várias plantas aromáticas como noz moscada, canela, folha de louro, sassafrás, mirra e manjeriço, o eugenol é uma molécula extremamente versátil sendo alvo de vários estudos devido à sua lipossolubilidade, baixa toxicidade e utilização terapêutica (JAGANATHAN e SUPRIYANTO, 2012).

Incorporado como um ingrediente funcional em inúmeros produtos, o eugenol encontrou aplicação na indústria farmacêutica, agrícola, alimentícia, fragrância e cosmético devido às suas diversas atividades biológicas.

O eugenol está presente na composição de perfumes a base de cravo, como flavorizante de bebidas não alcoólicas, gomas de mascar, sorvetes, chocolates, produtos de panificação e tabaco, além de ser utilizado como matéria prima para a obtenção de baunilha (KIM *et al.*, 2003; KOTHARI *et al.*, 2004, RAGHAVENRA *et al.*, 2006).

Introduzido na odontologia em 1873, ainda é utilizado em práticas odontológicas como anti-séptico tópico, analgésico e anestésico local, além de conferir propriedades farmacológicas aos cimentos obturadores de canais devido à sua ação bactericida. Também é utilizado como cimento provisório em cavidades dentárias, quando associado ao óxido de zinco (ESCOBAR, 2002).

Dentre suas atividades biológicas descritas na literatura, podem-se destacar as seguintes: antimicrobiana (ESCOBAR, 2002); antiinflamatória (KIM *et al.*, 2003); inseticida (MACIEL *et al.*, 2010); espasmolítica;

antisséptica; antipirética (FENG e LIPTON, 1987); antioxidante (NAGABABU e LAKSHMAIAH, 1994; ABRAHAM, 2001); neuroprotetora (KABUTO *et al.*, 2007); analgésica e anestésica (ESCOBAR, 2002).

O eugenol apresenta atividade inibitória das cicloxigenases e prostaglandinas, enzimas envolvidas em processos inflamatórios e carcinogênicos, e possui a capacidade de induzir a lise celular devido ao aumento da perda de proteínas e lipídios causados pelo dano à membrana celular (KAMATOU *et al.*, 2012).

Estudos recentes confirmam a atividade antiproliferativa do eugenol contra várias linhagens de células de cancro. Além disso, o mecanismo molecular de indutor de apoptose no melanoma, tumores da pele, osteosarcoma, leucemias, gástrico e mastócitos tem sido bem documentado (JAGANATHAN e SUPRIYANTO, 2012).

Efeitos tóxicos sobre crescimento micelial contra várias espécies e fungo como, por exemplo: *Penicillium*; *Fusarium* e *Aspergillus*, *A. ochraceus*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *Penicillium citrinum*, *P. viridicatum*, *Tricophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, atestam a atividade antifúngica dessa substância (KAMATOU *et al.*, 2012).

Assim como o eugenol puro que possui ação leishmanicida confirmada e documentada na literatura, o óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, rico em eugenol, apresentou atividade leishmanicida contra *L. amazonensis*, proporcionando alterações mitocondriais como inchaço, desorganização da membrana interna e aumento do número de cristais (ARANGO *et al.*, 2012).

1.3. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO TRABALHO

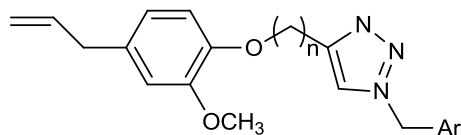
Diversos estudos já validaram o efeito de produtos naturais como potenciais fontes de novos e seletivos agentes para o tratamento de várias doenças devido à baixa toxicidade de suas substâncias bem como suas diversas atividades biológicas. Como resultado da sua vasta gama de parâmetros farmacológicos e farmacocinéticos, estudos sobre o eugenol continuam sendo relevantes.

O câncer é uma das doenças de maior prevalência na sociedade, sendo a segunda maior causa de mortes em todo o mundo. Os quimioterápicos atualmente disponíveis para o tratamento desta patologia são, frequentemente, não específicos e resultam em efeitos colaterais indesejáveis como diarreia, vômito, fraqueza e queda de cabelo. Já a leishmaniose é uma doença parasitária que constitui um importante problema de saúde pública, especialmente nas regiões tropicas do mundo. Essa doença atinge milhões de pessoas e as medicações atualmente disponíveis para o seu tratamento apresenta sérios problemas de toxicidade e administração aos pacientes.

Considerando a necessidade de obtenção de novos fármacos cada vez mais específicos, eficientes e que possuam cada vez menos efeitos colaterais frente a estas doenças, o presente trabalho objetivou a síntese de novas moléculas potencialmente bioativas que poderão resultar no desenvolvido de novos quimioterápicos.

Assim, descreve-se nesse trabalho a síntese, caracterização e a avaliação das atividades citotóxica e leishmanicida de derivados do

eugenol que possuem como estrutura geral a estrutura apresentada na Figura 5, pg.9.



Onde: $n=1$ ou $n=3$ e Ar= diferentes grupos aromáticos

Figura 5. Estrutura geral dos compostos alvos de estudo deste trabalho.

As estruturas dos compostos sintetizados e biologicamente avaliados serão apresentadas no Capítulo 2.

1.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, S.K. Anti-genotoxicity of trans-anethole and eugenol in mice.

Food and Chemical Toxicology, v. 39, p. 493-498, 2001.

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; França. Aspectos

químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. *Revista Virtual de Química*, v. 4, p. 146-161, 2012.

ANDRADE, S.F., FANTONI, D.T., CORTOPASSI, S.R.G., NETO, J.P.A.

Terapêutica do Sistema Nervoso. In: ANDRADE, S.F. *Manual de terapêutica veterinária*, 2ª ed., São Paulo: Roca, 2002.

- ARANGO, V.; DOMÍNGUEZ, J.J; CARDONA, W.; ROBLEDO, S.M.; MUÑOZ, D.L.; FIGADERE, B.; SÁEZ, J. Synthesis and leishmanicidal activity of quinoline-triclosan and quinoline-eugenol hybrids. *Medicinal Chemistry Research*, v. 21, p. 3445-3454, 2012.
- COSTA, P. R. R. Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. *Revista Virtual de Química*, v.1, p. 58-66, 2009.
- DOS SANTOS, N. P.; PINTO, A. C. A Mata é sua Farmácia – A Pesquisa de plantas brasileiras para o combate de doenças tropicais no século XIX. *Revista Virtual de Química*, v. 4 , p. 162-172, 2012.
- ESCOBAR, R. G. Eugenol: Propriedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. *Revista Cubana de Estomatología*, v. 39, 2002.
- FENG, J; LIPTON, J. M. Eugenol: antipyretic activity in rabbits. *Neuropharmacology*, v.26 , p.1775-1778, 1987.
- FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova*, v. 21, p. 99-105, 1998.
- JAGANATHAN, S. K.; SUPRIYANTO, E. Antiproliferative and molecular mechanism of eugenol-induced apoptosis in cancer cells. *Molecules*, v. 17, p. 6290-6304, 2012.

- KABUTO, H., Tada, M., KOHNO, M. Eugenol [2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression and lipid peroxidation inductivity in mouse striatum. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 30, p. 423-427, 2007.
- KAMATOU, G.P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A.M. Eugenol – From the remote Maluku islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, v. 17, p. 6953-6981, 2012.
- KIM, S.S; OH, O.J; MIN, H.Y; PARK, E.J; KIM, Y; PARK, H.J; NAMHAN, Y; LEE, S.K. Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharidestimulated mouse macrophage RAW264.7 cells. *Life Science*, v.73, p. 337-48, 2003.
- KOTHARI, S.K; BHATTACHRYA, A.K; RAMESH. S. Essential oil yield quality of methyl eugenol rich *Ocimum tenuiflorum* L.f. (syn. *O. sanctum* L.) grown in south India as influenced by method of harvest. *Journal of Chromatography A*, v. 1054, p. 67-72, 2004.
- MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; SILVA, R.A.; BARROS, R.S.; SOUSA, R.N.; SOUSA, L.C.; BRITO, E.S.; SOUZA-NETO, M.A. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. Essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary Parasitology*, v. 167, p. 1-7, 2010.
- MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, v. 24, p. 105-111, 2001.

- NAGABABU, E; LAKSHMAIAH, N. Inhibition of microsomal lipid peroxidation and monooxygenase activities by eugenol. *Free Radical Research*, v. 20, p. 253-66, 1994.
- PAWAR, H. A. Natural product as a source of Lead to the design of new drugs. *Natural Products Chemistry & Research*, v. 2, p. 156, 2014.
- PELTIER, S.; OGER, J. M.; LAGARCE, F. R.; COUET, W.; ENHANCED, J. P.B. Enhanced oral paclitaxel bioavailability after administration of paclitaxel-loaded lipid nanocapsules. *Pharmaceutical Research*, v. 23, p. 1243-1250, 2006.
- RAGHAVENRA, H; DIWAKR, B.T; LOKESH, B.R.; NAIDU, K.A. Eugenol—the active principle from cloves inhibits 5-lipoxygenase activity and leukotriene-C4 in human PMNL cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, v. 74, p. 23-27, 2006.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. 6ª ed., p. 906, 2001.
- RODRIGUES, T. G.; FERNANDES JUNIOR, A.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; SFORCIN, J. M. In vitro and in vivo effects of clove on pro-inflammatory cytokines production by macrophages. *Natural Product Research*, v. 23, p. 319-326, 2009.
- TANGERINO, L. M. B. Estudo das propriedades antimicrobianas de copolímeros derivados do eugenol. Dissertação (Mestre em Materiais para Engenharia), Universidade Federal de Itajubá, 2006.

VEIGA JUNIOR, V. F. PINTO, A. C. MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. *Química Nova*, v. 28, p. 519-528, 2005.

VEIGA JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, p. 308, 2008.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, v. 29 , p. 326-337, 2006.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DE DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEO 1,2,3-TRIAZOL

2.1 INTRODUÇÃO

Heterociclos contendo átomos de nitrogênio são abundantes na natureza e possuem grande relevância por se tratarem de subunidades estruturais presente em produtos naturais como hormônios, antibióticos e alcalóides. Além disso, heterociclos são parte integrante das estruturas de fármacos, agroquímicos, corantes, polímeros, dentre outros (PHOLSHETTIWAR e VARMA, 2008).

Compostos heterocíclicos desempenham papel importante em diversos ramos da química como, por exemplo, na pesquisa e no desenvolvimento de novos fármacos e agroquímicos, devido à gama de atividades biológicas que eles apresentam.

Os fragmentos heterocíclicos, muitas vezes, constituem o grupo farmacofórico em substâncias bioativas. Ou seja, eles representam a porção da substância responsável por sua atividade ou parte da atividade biológica (WHITING *et al*, 2006; MANETSCH *et al.*, 2004).

Diversos são os exemplos de fármacos heterocíclicos que são atualmente utilizados para o tratamento de diversas patologias. Alguns destes compostos são apresentados na Figura 1 (pg.15) (MELO *et al.*, 2006).

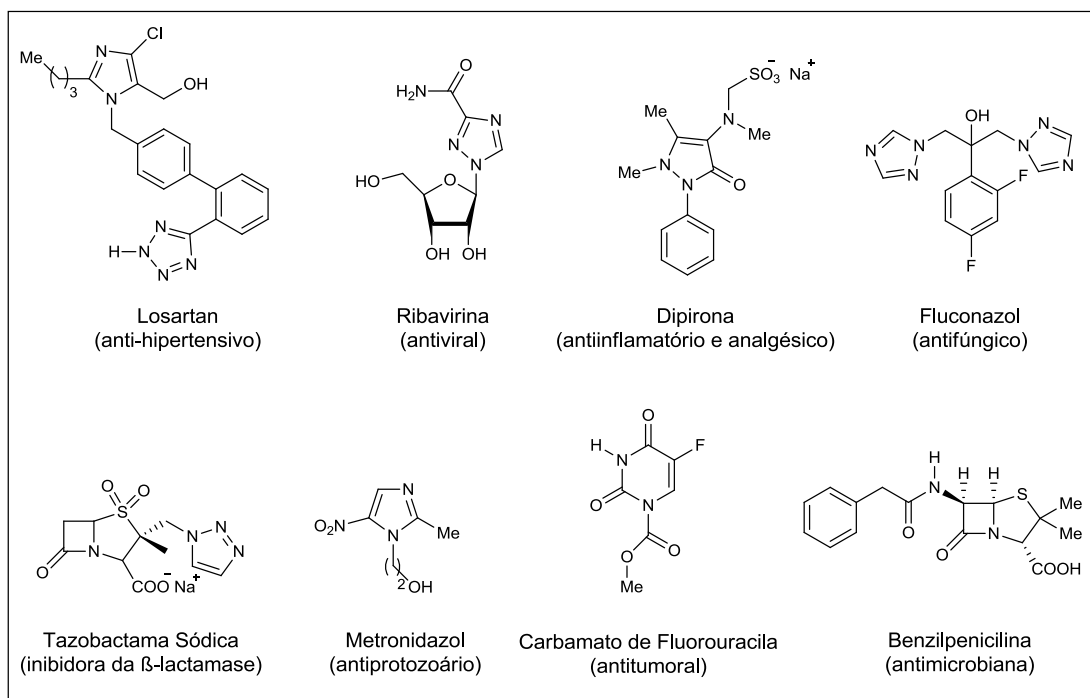


Figura 1 - Exemplos de heterociclos nitrogenados farmacologicamente ativos.

Dentre os sistemas heterocíclicos mais estudados encontram-se os triazólicos, que podem ser subclassificados como vicinais (1,2,3-triazóis) ou simétricos (1,2,4-triazóis) (Figura 2) (MELO *et al.*, 2006).

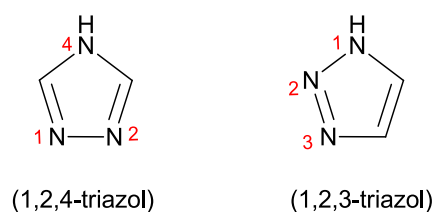
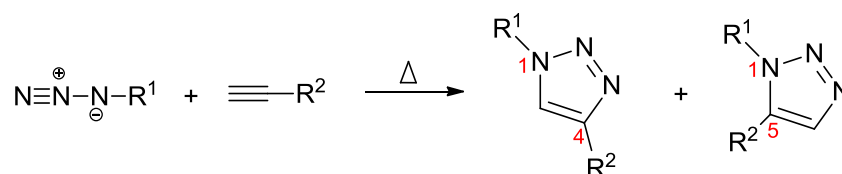


Figura 2- Estruturas dos heterociclos triazóis.

Estes heterocíclicos constituem uma classe de compostos que têm despertado grande interesse pelo fato de possuírem um vasto campo de aplicações que vão desde sua utilização como explosivos até como fármacos e agroquímicos. No entanto, devido às recentes descobertas de

métodos de obtenção mais eficientes, os 1,2,3-triazóis são os mais investigados (HEIN e FOKIN, 2010).

Um dos métodos clássicos para a obtenção de 1,2,3-triazóis é a cicloadição 1,3-dipolar envolvendo azidas orgânicas e alcinos terminais (Esquema 1, pg.16), observada em 1893 por Arthur Michael e desenvolvida em 1967 por Huisgen. Esta reação concertada requer o emprego de elevada temperatura, longos tempos de reação e, geralmente, forma uma mistura de aproximadamente 1:1 dos regioisômeros 1,4 e 1,5-dissubstituídos, quando alcinos assimétricos estão envolvidos (FREITAS *et al.*, 2011).



Esquema 1 - Regioisômeros obtidos via cicloadição térmica clássica de Huisgen.

Várias são as atividades biológicas relatadas para os derivados 1,2,3-triazólicos, dentre elas destacam-se : antibacteriana (THOMAS *et al.*, 2010; GALLARDO *et al.*, 2007; BOECHAT *et al.*, 2011), citotóxica (ANJOS *et al.*, 2009), antitumoral (CAFICI *et al.*, 2008; KAMAL *et al.*, 2008), antiprotozoária (BAKUNOV *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2010), antifúngica (PORE *et al.*, 2006; AHER *et al.*, 2009), leishmanicida (FERREIRA *et al.*, 2007, PORTA *et al.*, 2014), antimalárica (GUANTAI *et al.*, 2010), tripanocida (SILVA *et al.*, 2008), dentre outras.

Diante do elevado número de moléculas conhecidas que possuem potencial atividade biológica, a busca por estratégias para a obtenção de compostos fáceis de serem sintetizados e que apresentem eficiência biológica equivalente ou superior à dos produtos existentes têm se tornado prioridade de investigação.

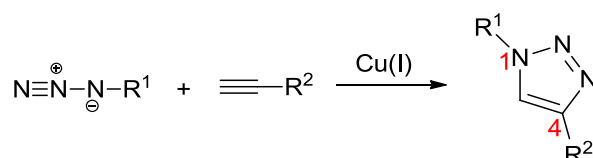
Foi neste contexto que K. Barry Sharpless introduziu, em 2001, o conceito de química “click”, visando o propósito de acelerar descobertas de novas substâncias a partir de reações termodinamicamente favoráveis, de fácil execução e que forneçam os produtos com altos rendimentos (FREITAS *et al.*, 2011).

A reação “click” é caracterizada por ser uma reação rápida, estereoespecífica (mas não necessariamente enantiosseletiva), utilizar reagentes simples e solvente benigno ao meio ambiente como a água, obter produtos que devem ser de fácil isolamento, produzir produtos secundários inofensivos que podem ser removidos preferencialmente sem uso de cromatografia, e não necessitar de cuidados especiais (SHARPLESS *et al.*, 2001).

Alguns exemplos de reações que pertencem a esta categoria são: cicloadições 1,3-dipolares, substituições nucleofílicas (especialmente reações de abertura de anéis tais como epóxidos, aziridinas entre outros), química de compostos carbonílicos que não envolvam reações aldólicas, adições a ligações múltiplas carbono-carbono, entre outros (MOSES e MOORHOUSE, 2007).

Dentre as reações compreendidas na categoria de reações “click”, a cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen, catalisada por Cu(I), entre um

alcino e uma azida gerando triazóis é considerada o exemplo perfeito. Esta síntese, ficou conhecida como a reação “click” ou CuAAC (reação de cicloadição (C) entre um alcino (A) e uma azida (A), catalisada por cobre (Cu)) e está representada no Esquema 2.



Esquema 2 - Reação “click” ou CuAAC.

Em relação ao método clássico de cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen, a reação CuAAC introduzida em 2002 pelos grupos de Meldal e de Sharpless, apresenta condições reacionais muito mais brandas, velocidade de reação superior, rendimentos muito mais altos, além de eliminar a desvantagem de formação de uma mistura de regioisômeros triazólicos, 1,4 e 1,5-dissubstituídos, já que nestas condições a reação é régio-específica gerando exclusivamente o isômero 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído (FREITAS *et al.*, 2011).

Compostos contendo núcleo 1,2,3-triazólico possuem grande relevância na química medicinal pois, além de corresponderem ao grupo farmacofórico, são utilizados em estratégias de acoplamento de duas ou mais substâncias a fim de promover a potencialização de suas atividades farmacológicas (MANETSCH, *et al.*, 2004; WHITING *et al.*, 2006).

Diversos análogos de produtos naturais contendo anéis triazólicos já foram sintetizados e previamente relatados na literatura por apresentarem atividades biológicas superiores ao protótipo natural. Como exemplo,

podemos citar a síntese dos derivados do resveratrol (Figura 3), que apresentam atividade citotóxica e grande importância na redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Outro exemplo é a síntese de análogos da nor- β -lapachona (Figura 3), cuja importância está relacionada às atividades citotóxica e tripanocida (WHITING *et al.*, 2006; MANETSCH *et al.*, 2004).

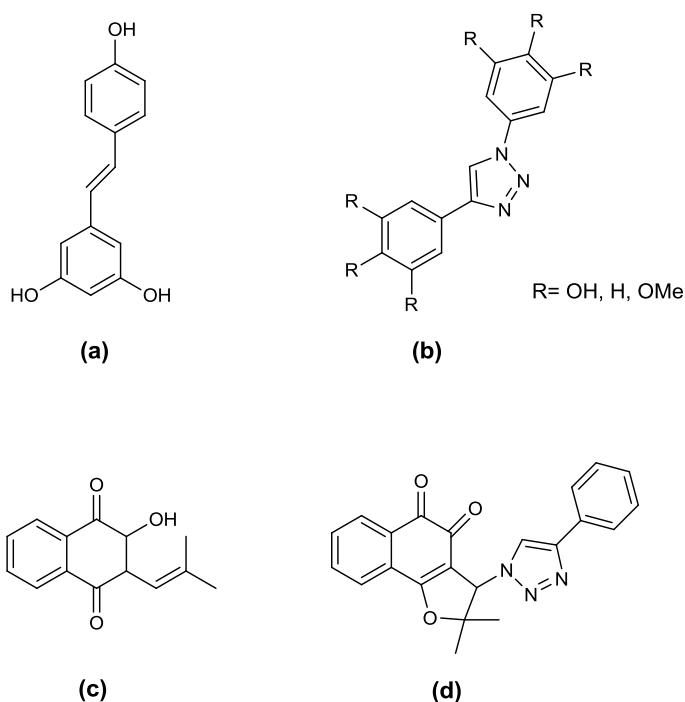
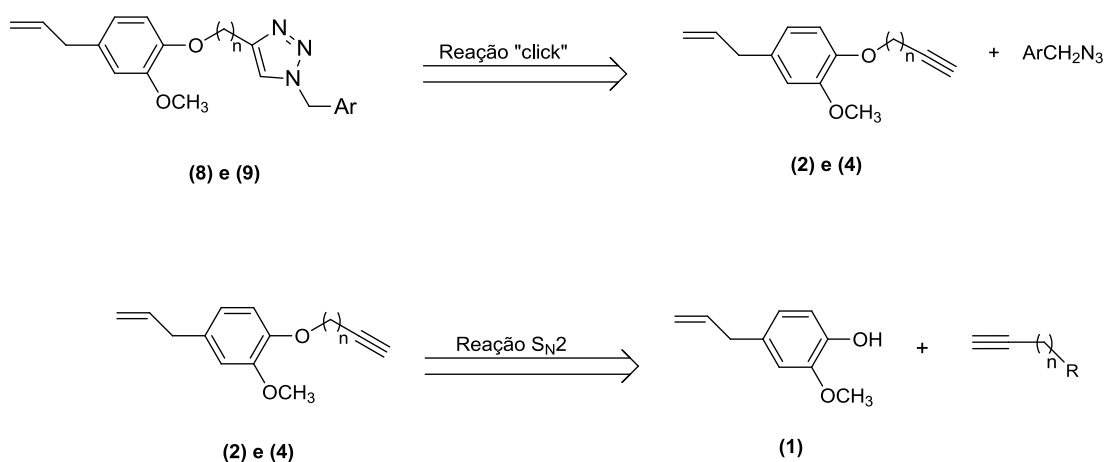


Figura 3 - Produto natural resveratrol (a) e análogos (b); produto natural nor- β -lapachona (c) e derivados triazóis naftoquinoidais (d).

Tendo em vista a gama de atividades biológicas descritas no Capítulo 1 relacionadas ao eugenol (1) (Figura 4, pg.5), o presente trabalho objetivou utilizar este metabólito secundário como um protótipo para a obtenção de novos compostos apresentando significativas atividades citotóxica e leishmanicida.

Sendo assim, considerando relatos da literatura com respeito à obtenção de compostos biologicamente ativos contendo o anel 1,2,3-triazólico descreve-se neste capítulo a síntese e a caracterização estrutural de 27 derivados do eugenol contendo o núcleo 1,2,3-triazólico.

A análise retrossintética para a preparação dos compostos triazólicos derivados do eugenol é apresentada no Esquema 3.



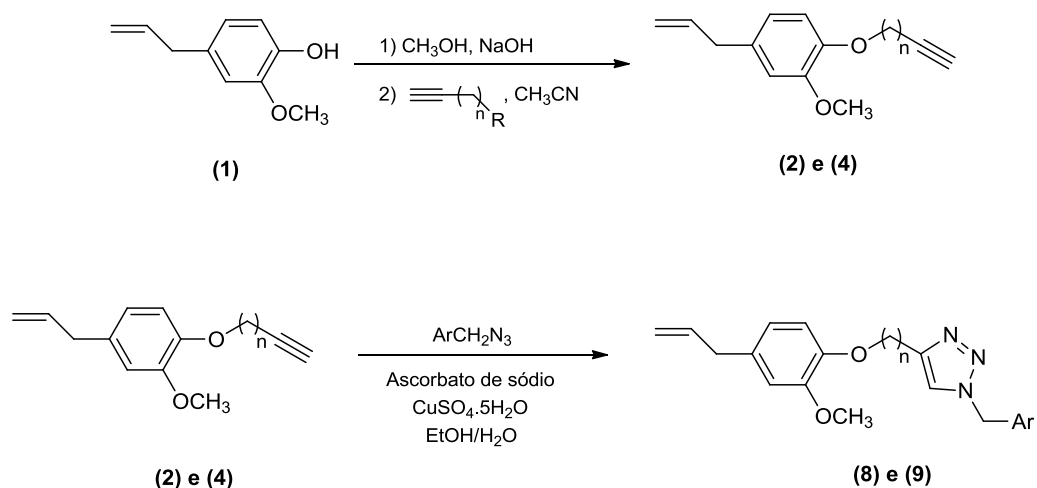
Onde: $n=1$ e $R= \text{Br}$, para obtenção de **2** e **8**

$n=3$ e $R= \text{OSO}_2\text{CH}_3$, para obtenção de **4** e **9**

Ar= diferentes grupos aromáticos

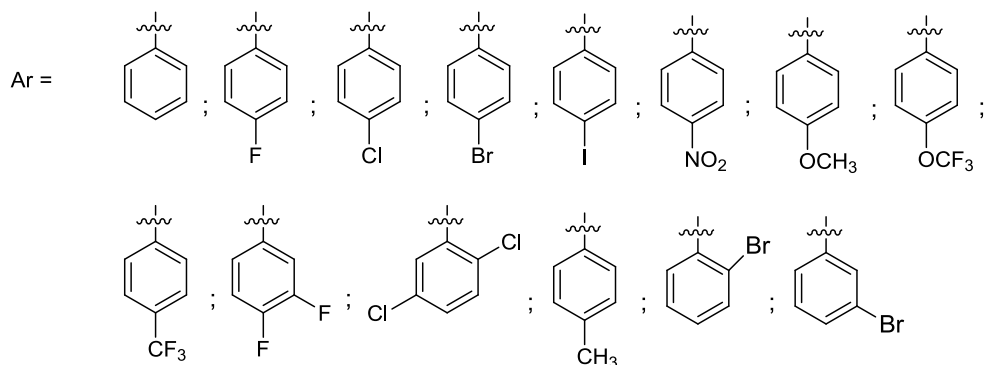
Esquema 3 - Análise retrossintética para a preparação dos derivados do eugenol.

Com base na análise retrossintética, os compostos investigados neste trabalho, **8a-8n** e **9a-9n**, foram obtidos empregando-se como etapa chave a reação “click” entre alcinos terminais derivados do eugenol (compostos **2** e **4**) e diferentes azidas benzílicas conforme a sequência de reações mostrada no Esquema 4, pg.21.



Onde: $n=1$ e $R= \text{Br}$, para obten\u00e7\u00e3o de **(2)** e **(8)**

$n=3$ e $R= \text{OSO}_2\text{CH}_3$ **(3)**, para obten\u00e7\u00e3o de **(4)** e **(9)**



Esquema 4 - Rota sint\u00e9tica envolvida na prepara\u00e7\u00e3o dos derivados do eugenol contendo n\u00facleo triaz\u00f3lico.

Na Figura 4 (pg.22), encontra-se representada as estruturas dos compostos triaz\u00f3licos sintetizados. Tamb\u00e9m s\u00e3o apresentadas, as estruturas dos alcinos intermedi\u00e1rios, **2** e **4**, preparados a partir do eugenol **(1)**.

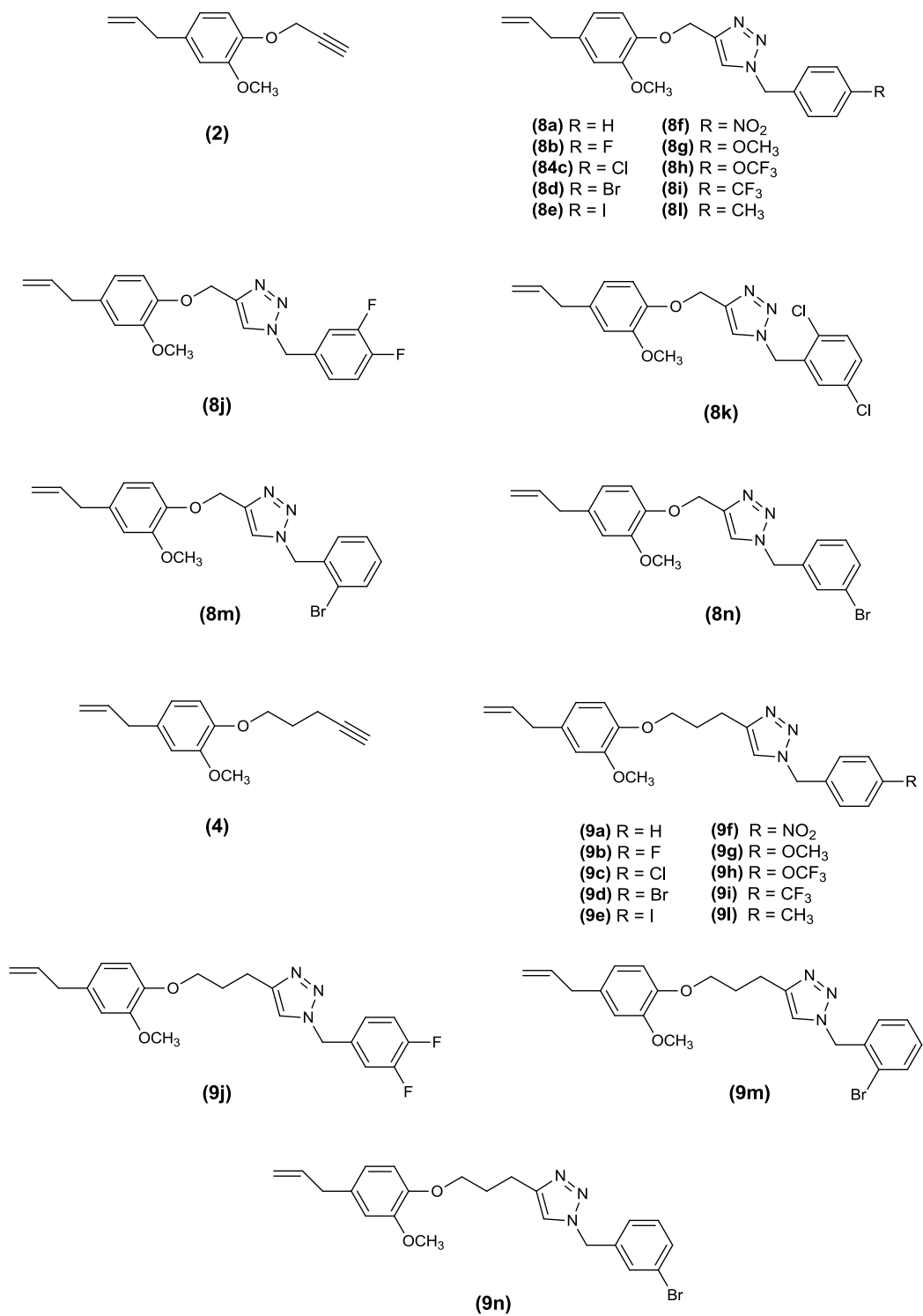


Figura 4 - Estruturas das substâncias sintetizadas e objeto de investigação desse trabalho.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Generalidades Metodológicas

Foram utilizados reagentes de grau P.A. para a síntese dos compostos.

As substâncias penti-4-in-1-ol, álcool benzílico, álcool 4-fluorobenzílico, álcool 4-clorobenzílico, álcool 4-bromobenzílico, álcool 4-iodobenzílico, álcool 4-nitrobenzílico, álcool 4-metoxibenzílico, álcool 4-trifluorometoxibenzílico, álcool 4-trifluorobenzílico, álcool 2,3-fluorobenzílico, álcool 2,5-clorobenzílico, brometo de 4-metilbenzila, brometo de 2-bromobenzila, brometo de 3-bromobenzila, sulfato de cobre pentaidratado, ascorbato de sódio, brometo de propargila, cloreto de mesila e azida de sódio foram adquiridas comercialmente da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos) e utilizados sem prévia purificação. Acetonitrila, metanol, etanol, éter etílico, clorofórmio, diclorometano, acetato de etila, hexano, cloreto de sódio, bicarbonato de sódio, carbonato de sódio, trietilamina, ácido clorídrico e dimetilsulfóxido foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

A secagem dos solventes, diclorometano e acetonitrila, foram feitas adicionando-se peneira molecular 4Å ao solvente. A mistura foi mantida sob agitação magnética por 24 horas à temperatura ambiente e sob atmosfera de nitrogênio. Após este período, o solvente foi filtrado e armazenado sob atmosfera de nitrogênio em um frasco âmbar contendo peneira molecular 4Å .

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas

sobre alumínio. Após a eluição, as placas de CCD foram observadas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254 \text{ nm}$) e reveladas com solução de permanganato de potássio (3 g de KMnO_4 , 20 g de K_2CO_3 , 5 mL de NaOH 5% m/v, 300 mL de água).

As separações em coluna cromatográfica foram realizadas utilizando-se sílica-gel (70-230 mesh), como fase estacionária. Os solventes utilizados como eluentes foram usados sem prévia purificação.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 300 MHz) e de carbono (RMN de ^{13}C , 75 MHz) foram obtidos em um espectrômetro VARIAN MERCURY 300 (Departamento de Química - UFV). Foram utilizados como solventes clorofórmio (CDCl_3) e benzeno (C_6D_6) deuterados. As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

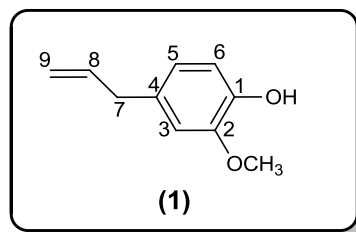
Os espectros de massa foram obtidos em equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A.

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 e não foram corrigidas.

A numeração das estruturas dos compostos não está necessariamente relacionada àquela sugerida pela nomenclatura IUPAC.

2.3. PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS

2.3.1 EXTRAÇÃO DO EUGENOL (1) A PARTIR DO ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO DA ÍNDIA



A um balão de fundo redondo (1000 mL) contendo cápsulas de porcelana, foram adicionados 60,0 g de cravo da índia e 500,0 mL de água destilada. Em seguida, o balão foi conectado ao sistema de destilação que permaneceu ligado por um período de 3 horas. O hidrolato obtido foi então transferido para um funil de separação e extraído com diclorometano (3 x 30,0 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O eugenol foi purificado a partir do óleo essencial de cravo via cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (6:1 v/v). Foram obtidos 7,12 g de eugenol (1) o que correspondeu a 12% da massa inicial de cravo da índia inicialmente utilizada no processo de extração.

A Figura 5 (pg.26) ilustra o sistema utilizado para a obtenção do composto 1.



Figura 5 - Imagem ilustrativa do sistema de destilação utilizado para a obtenção do óleo essencial do cravo da índia (1).

Característica: óleo amarelo claro.

CCD: $R_f = 0,44$ (hexano-acetato de etila 6:1 v/v).

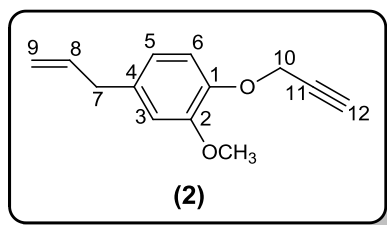
EM, m/z (%): 164 ($[M]^+$, $C_{10}H_{12}O_2$, 100); 149(35); 131(29); 103(32); 91(28); 77(34); 65(13); 55(24); 41(7). O espectro é apresentado na Figura 10 pg. 81.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 3,33 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,88 (s, 3H, OCH_3); 5,05-5,12 (m, 2H, H-9); 5,54 (s, 1H, OH); 5,97 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,69-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,86 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 11 pg. 82.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 39,8 (C-7); 55,8 (OCH_3); 111,1 (C-3); 114,2 (C-6); 115,5 (C-9); 121,1 (C-5); 131,9 (C-4); 137,8 (C-8); 143,8 (C-1); 146,4 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 12 pg. 83.

2.3.2 SÍNTESE DOS ALCINOS TERMINAIS DERIVADOS DO EUGENOL

Síntese do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-ilo)benzeno (**2**)



A um balão de fundo redondo (50 mL) foram adicionados hidróxido de sódio (0,313 g; 7,38 mmol), eugenol (**1**) (1,20 g; 7,32 mmol) e 25,0 mL de metanol. A mistura resultante foi mantida sob agitação e aquecimento (40 °C) por 30 minutos. Em seguida, o metanol foi removido sob pressão reduzida e 10,0 mL de etanol absoluto foram adicionados para a eliminação de água residual. O etanol foi evaporado e ao balão, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se 25,0 mL de acetonitrila e brometo de propargila (800 µL; 8,79 mmol) lentamente. O sistema foi mantido sob agitação à temperatura ambiente durante 18 horas. Após esse período, foi evidenciado através da análise por CCD o término da reação. A mistura reacional foi concentrada e particionada com 25,0 mL de solução aquosa (0,1 mol L⁻¹) de hidróxido de sódio e éter etílico (3 x 25,0 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25,0 mL), seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O composto **2** foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (6:1 v/v) e obtido como um óleo amarelo com 87% (1,286 g; 6,37 mmol) de rendimento.

Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,45$ (hexano-acetato de etila 6:1 v/v).

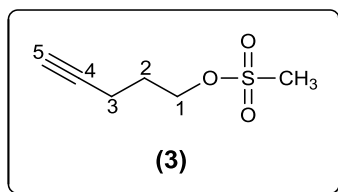
EM, m/z (%): 202 ($[M]^+$, $C_{13}H_{14}O_2$, 40); 163(100); 135(9); 103(42); 91(33); 77(19); 65(13); 55(9); 41(23). O espectro é apresentado na Figura 13 pg. 87.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 2,49 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, H-12); 3,35 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,86 (s, 3H, OCH_3); 4,73 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, H-10); 5,06-5,12 (m, 2H, H-9); 5,96 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,72-6,74 (m, 2H, H-3/H-5); 7,00 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 14 pg. 88.

RMN de 1H (300 MHz, C_6D_6) δ : 1,99 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, H-12); 3,14 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,31 (s, 3H, OCH_3); 4,36 (d, 2H, $J = 2,4$ Hz, H-10); 4,94-5,00 (m, 2H, H-9); 5,85 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz e $J_3 = 6,6$ Hz, H-8); 6,52 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-3); 6,57 (dd, 1H, $J_1 = 8,1$ Hz e $J_2 = 1,7$ Hz, H-5); 6,83 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 15 pg. 89.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 39,8 (C-7); 55,8 (OCH_3); 56,9 (C-10); 75,5 (C-12); 78,7 (C-11); 112,3 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 120,3 (C-5); 134,2 (C-4); 137,4 (C-8); 145,0 (C-1); 149,6 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 16 pg. 90.

Síntese do pent-4-in-1-ilmetanosulfonato (**3**)



A um balão de fundo redondo (100 mL) foram adicionados pent-4-in-1-ol (1,68 g, 20,0 mmol) e 20,0 mL de diclorometano. A mistura sob atmosfera de nitrogênio foi resfriada a -50 °C e trietilamina (5,60 mL, 40,0

mmol) foi adicionada. Em seguida, adicionou-se lentamente ao meio reacional cloreto de mesila (2,3 mL, 30,0 mmol) dissolvido em 1,0 mL de diclorometano. Após o término da reação evidenciado por análise de CCD adicionou-se 10,0 mL de água destilada. A fase orgânica foi extraída, lavada com solução aquosa (0,1 mol L⁻¹) de HCl (3 x 15,0 mL) seguida de solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (3 x 5,0 mL), seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **3** foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila-diclorometano (3:1:3 v/v) fornecendo um óleo amarelo (3,0 g, 18,0 mmol) com 92% de rendimento.

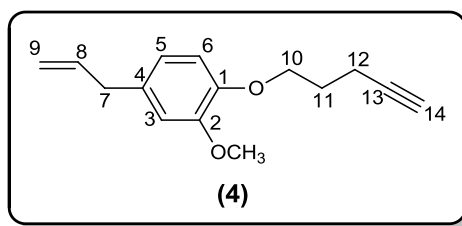
Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f = 0,76 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,93 (quint, 2H, *J* = 6,5 Hz, H-2); 1,99 (t, 1H, *J* = 2,7 Hz, H-5); 2,33 (td, 2H, *J*₁ = 6,8 Hz e *J*₂ = 2,7 Hz; H-3); 3,00 (s, 3H; CH₃); 4,32 (t, 2H, *J* = 6,1 Hz; H-1). O espectro é apresentado na Figura 1 (pg. 155) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 14,5 (C-3); 27,6 (C-2); 37,1 (CH₃); 68,2 (C-1); 69,7 (C-5); 82,0 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 2 (pg. 156) no anexo.

Síntese do 4-álil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**)



A um balão de fundo redondo (50 mL) foram adicionados hidróxido de sódio (0,392 g; 9,80 mmol), eugenol (**1**) (1,50 g; 9,15 mmol) e 25,0 mL de metanol. A mistura resultante foi mantida sob agitação e aquecimento (40 °C) por 30 minutos. Em seguida, o metanol foi removido sob pressão reduzida e 10,0 mL de etanol absoluto foram adicionados para a eliminação de água residual. O etanol foi evaporado e ao balão, sob atmosfera de nitrogênio, adicionaram-se 25,0 mL de acetonitrila e pent-4-in-1-ilmetanosulfonato (**3**) (1,78 g; 11,0 mmol). O sistema foi mantido sob agitação magnética e aquecimento (70 °C) por 24 horas. Após esse período, foi evidenciado através da análise por CCD o término da reação. A mistura reacional foi concentrada e particionada com 25,0 mL de solução aquosa (0,1 mol L⁻¹) de hidróxido de sódio e éter etílico (3 x 25,0 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (25,0 mL), seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O composto **4** foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (6:1 v/v) e obtido como um óleo amarelo com 78% (1,64 g; 7,13 mmol) de rendimento.

Característica: óleo amarelo.

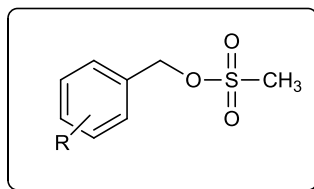
CCD: R_f = 0,55 (hexano-acetato de etila 6:1 v/v).

EM, m/z (%): 230 ($[M]^+$, $C_{15}H_{18}O_2$, 100); 164(68); 149(44); 131(29); 121(16); 103(34); 91(31); 77(23); 65(16); 55(15); 41(34). O espectro é apresentado na Figura 17 pg. 93.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 1,97 (t, 1H, $J = 2,6$ Hz, H-14); 2,04 (quint, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-11); 2,42 (td, 2H, $J_1 = 7,0$ Hz e $J_2 = 2,6$ Hz, H-12); 3,34 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,85 (s, 3H, OCH_3); 4,10 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, H-10); 5,05-5,12 (m, 2H, H-9); 5,97 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,70-6,73 (m, 2H, H-3/H-5); 6,85 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 18 pg. 94.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 15,2 (C-12); 28,2 (C-11); 39,8 (C-7); 55,9 (OCH_3); 67,5 (C-14); 68,8 (C-10); 83,6 (C-13); 112,4 (C-3); 113,6 (C-9); 115,6 (C-6); 120,5 (C-5); 133,0 (C-4); 137,6 (C-8); 146,7 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 19 pg. 95.

2.3.3 SÍNTESE DOS ÉSTERES SULFONATOS



A um balão de fundo redondo (100 mL) foram adicionados 20,0 mL de diclorometano e o álcool benzílico comercial de interesse (1,00 equiv.). A mistura resultante sob atmosfera de nitrogênio foi resfriada a -50 °C. Em seguida, adicionou-se trietilamina (2,00 equiv.). Posteriormente, adicionou-se lentamente ao meio reacional cloreto de mesila (1,50 equiv.) dissolvido em 1,00 mL de diclorometano. Após o término da reação evidenciado por análise de CCD adicionaram-se 10,0 mL de água destilada. A fase orgânica foi extraída, lavada com solução aquosa (0,1 mol L^{-1}) de HCl (3 x 15,0 mL) seguida de solução aquosa saturada de

bicarbonato de sódio (3 x 5,00 mL), seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida para a obtenção do éster sulfonato de interesse. Os ésteres não foram submetidos a nenhum processo subsequente de purificação.

Os compostos **6a-6k** foram sintetizados empregando-se a metodologia descrita anteriormente. Na Figura 6, encontra-se representada as estruturas e os rendimentos dos ésteres sulfonatos obtidos.

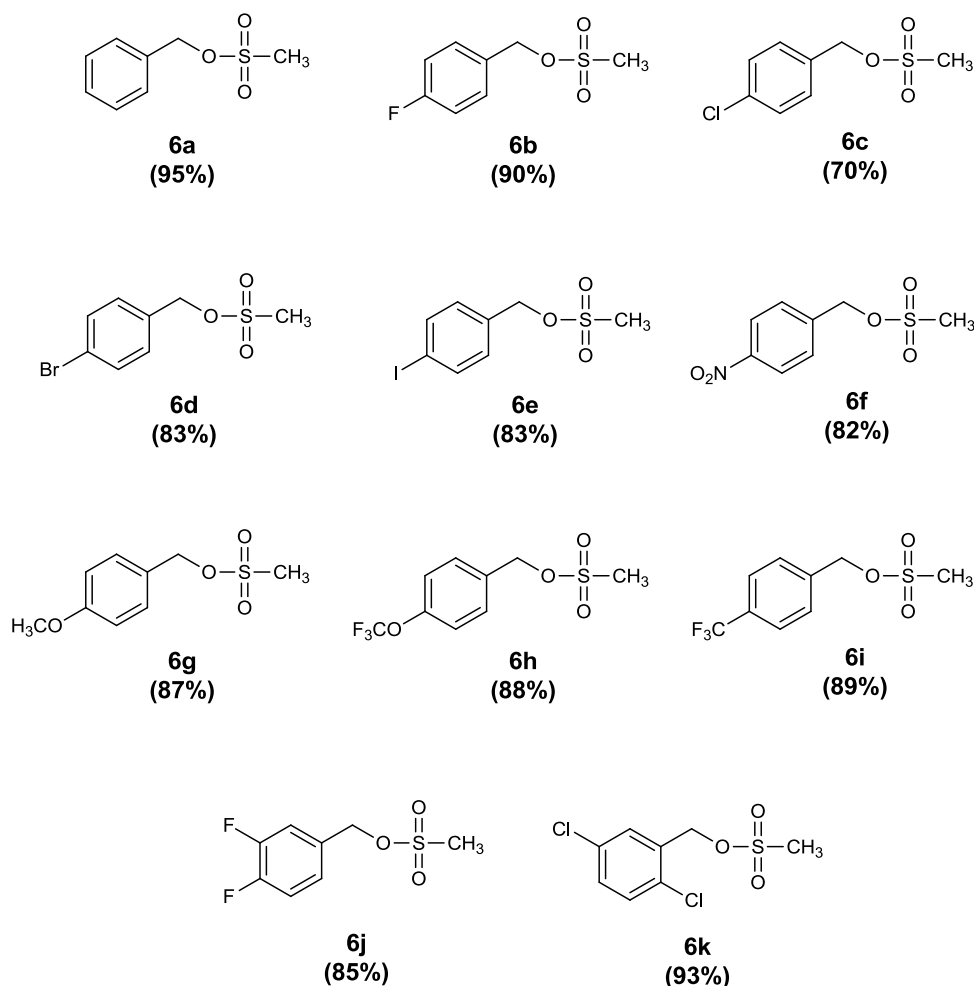
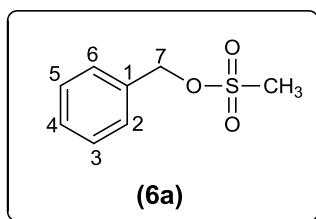


Figura 6 - Estruturas e rendimentos dos ésteres sulfonatos sintetizados.

As estruturas dos compostos **6a-6k** são suportadas pelos dados apresentados a seguir.

Benzilmetanosulfonato (**6a**)



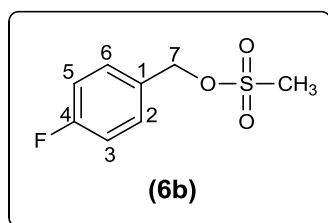
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,70$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,90 (s, 3H, CH_3); 5,24 (s, 2H, H-7); 7,41 (sl, 5H, H-2/H-3/H-4/H-5/H-6). O espectro é apresentado na Figura 3 (pg. 157) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,3 (CH_3); 71,5 (C-7); 128,8 (C-3/C-5); 128,9 (C-2/C-6); 129,3 (C-4); 133,2 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 4 (pg. 158) no anexo.

4-Fluorobenzilmetanosulfonato (**6b**)



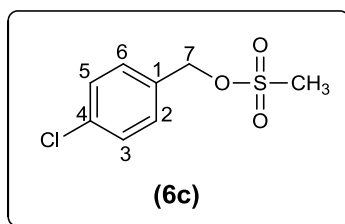
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,79$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,93 (s, 3H, CH_3); 5,20 (s, 2H, H-7); 7,09 (t_{ap} , 2H, $J = 8,6$ Hz, H-3/H-5); 7,38-7,43 (m, 2H, H-2/H-6). O espectro é apresentado na Figura 5 (pg. 159) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,3 (CH_3); 70,6 (C-7); 115,9 (d, $J = 21,8$ Hz, C-3/C-5); 129,3 (d, $J = 3,0$ Hz, C-1); 130,9 (d, $J = 9,0$ Hz, C-2/C-6); 163,2 (d, $J = 247,5$ Hz, C-4). O espectro é apresentado na Figura 6 (pg. 160) no anexo.

4-Clorobenzilmetanosulfonato (**6c**)



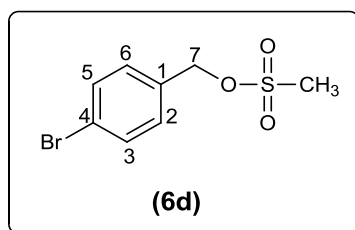
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,83$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,95 (s, 3H, CH_3); 5,21 (s, 2H, H-7); 7,38-7,43 (m, 4H, H-2/H-3/H-5/H-6). O espectro é apresentado na Figura 7 (pg. 161) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,3 (CH_3); 70,3 (C-7); 129,1 (C-3/C-5); 130,1 (C-2/C-6); 131,8 (C-1); 135,4 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 8 (pg. 162) no anexo.

4-Bromobenzilmetanosulfonato (**6d**)



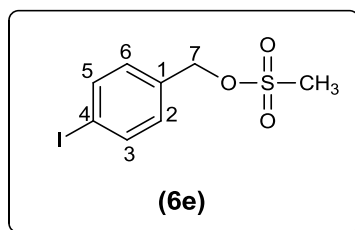
Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,60$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,95 (s, 3H, CH_3); 5,18 (s, 2H, H-7); 7,29 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2/H-6); 7,54 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 9 (pg. 163) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,3 (CH_3); 70,3 (C-7); 123,5 (C-4); 130,3 (C-2/C-6); 132,0 (C-3/C-5); 132,3 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 10 (pg. 164) no anexo.

4-Iodobenzilmetanosulfonato (**6e**)



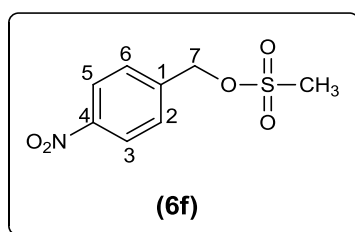
Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,65$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,95 (s, 3H, CH_3); 5,18 (s, 2H, H-7); 7,16 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-2/H-6); 7,75 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 11 (pg. 165) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,3 (CH_3); 70,4 (C-7); 95,4 (C-4); 130,4 (C-2/C-6); 133,0 (C-1); 138,0 (C-3/C-5). O espectro é apresentado na Figura 12 (pg. 166) no anexo.

Nitrobenzilmetanosulfonato (**6f**)



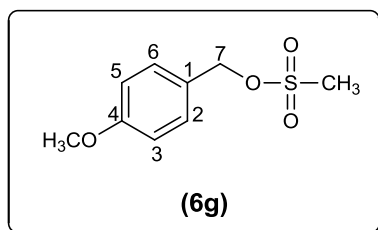
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,62$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

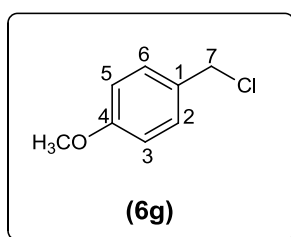
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,06 (s, 3H, CH_3); 5,33 (s, 2H, H-7); 7,59 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H-2/H-6); 8,26 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 13 (pg. 167) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,1 (CH_3); 68,9 (C-7); 124,0 (C-3/C-5); 128,8 (C-2/C-6); 140,5 (C-1); 148,1 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 14 (pg. 168) no anexo.

4-Metoxibenzilmetanosulfonato (**6g**)



Durante a síntese do composto **6g** foi observado sua instabilidade à temperatura ambiente, logo prosseguiu-se imediatamente para a próxima reação. Deste modo, não foi possível obter seus espectros de RMN. Entretanto, através da análise feita pelo CG-MS foi possível observar que a reação havia ocorrido com a formação do produto 4-metoxibenzilmetanoclorado apresentado abaixo.



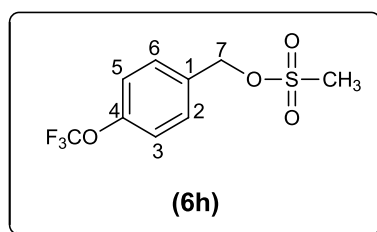
No entanto, a formação desta substância não interferiu na próxima etapa já que o cloro é um bom grupo abandonador.

Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,83$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

EM, m/z (%): 158 ($[M + 2]^+$, 2); 156 ($[M]^+$, C_8H_9OCl , 7); 121(100); 106(4); 91(18); 77(54); 63(28); 51(75). O espectro é apresentado na Figura 15 (pg. 169) no anexo.

4-(Trifluorometoxi)benzilmetanosulfonato (**6h**)



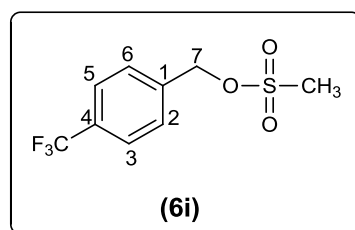
Característica: óleo incolor.

CCD: $R_f = 0,63$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,97 (s, 3H, CH_3); 5,23 (s, 2H, H-7); 7,25 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3/H-5); 7,46 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2/H-6). O espectro é apresentado na Figura 16 (pg. 170) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,2 (CH_3); 70,0 (C-7); 120,3 (q, $J = 255,5$ Hz, OCF_3); 121,2 (C-3/C-5); 130,3 (C-2/C-6); 132,1 (C-1); 149,8 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 17 (pg. 171) no anexo.

4-(Trifluorometil)benzilmetanosulfonato (**6i**)



Característica: óleo incolor.

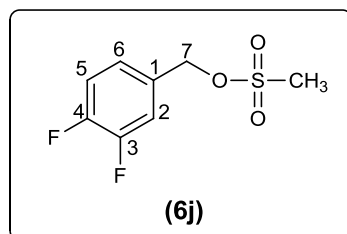
CCD: $R_f = 0,71$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,00 (s, 3H, CH_3); 5,28 (s, 2H, H-7); 7,54 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-2/H-6); 7,67 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 18 (pg. 172) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,2 (CH_3); 69,8 (C-7); 125,8 (q, $J = 3,8$ Hz, C-3/C-5); 127,2 (q, $J = 278,5$ Hz, CF_3); 128,7 (C-2/C-6); 131,3 (q, $J =$

32,5 Hz, C-4); 137,3 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 19 (pg. 173) no anexo.

3,4-Difluorobenzilmetanosulfonato (**6j**)



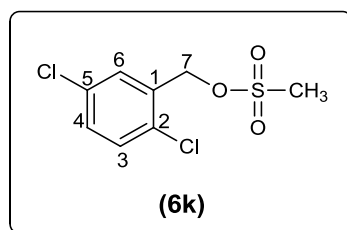
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,62$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,98 (s, 3H, CH_3); 5,17 (s, 2H, H-7); 7,14-7,29 (m, 3H, H-2/H-5/H-6). O espectro é apresentado na Figura 20 (pg. 174) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 38,3 (CH_3); 69,6 (C-7); 68,0 (C-10); 117,7-118,01 (m, C-2/C-5); 124,9-125,0 (m, C-6); 130,4-130,6 (m, C-1); 148,6-152,6 (m, C-3/C-4). O espectro é apresentado na Figura 21 (pg. 175) no anexo.

2,5-Diclorobenzilmetanosulfonato (**6k**)



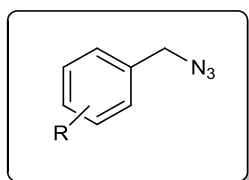
Característica: sólido amarelo.

CCD: $R_f = 0,67$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,07 (s, 3H, CH_3); 5,29 (s, 2H, H-7); 7,30 (dd, 1H, $J_1 = 8,5$ Hz e $J_2 = 2,3$ Hz, H-4); 7,35 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-3); 7,49 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 22 (pg. 176) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 37,9 (C-CH_3); 67,4 (C-7); 130,0 (C-4); 130,4 (C-6); 130,8 (C-3); 131,7 (C-5); 133,0 (C-2); 133,1 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 23 (pg. 177) no anexo.

2.3.4 SÍNTESE DAS AZIDAS ORGÂNICAS



A um balão de fundo redondo (100 mL) contendo 10,0 mL de dimetilsulfóxido e azida de sódio (4,0 equiv.), foi adicionado o éster sulfonato de interesse (1,00 equiv.) sintetizado anteriormente. A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente e monitorada por CCD. Terminada a reação, adicionaram-se 10,0 mL de água gelada. A fase orgânica foi extraída com acetato de etila, lavada com solução saturada de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida para a obtenção da azida de interesse.

As azidas **7a-7k** foram sintetizadas empregando-se a metodologia descrita anteriormente. Na Figura 7 (pg.40), encontra-se representada as estruturas e os rendimentos dos compostos obtidos.

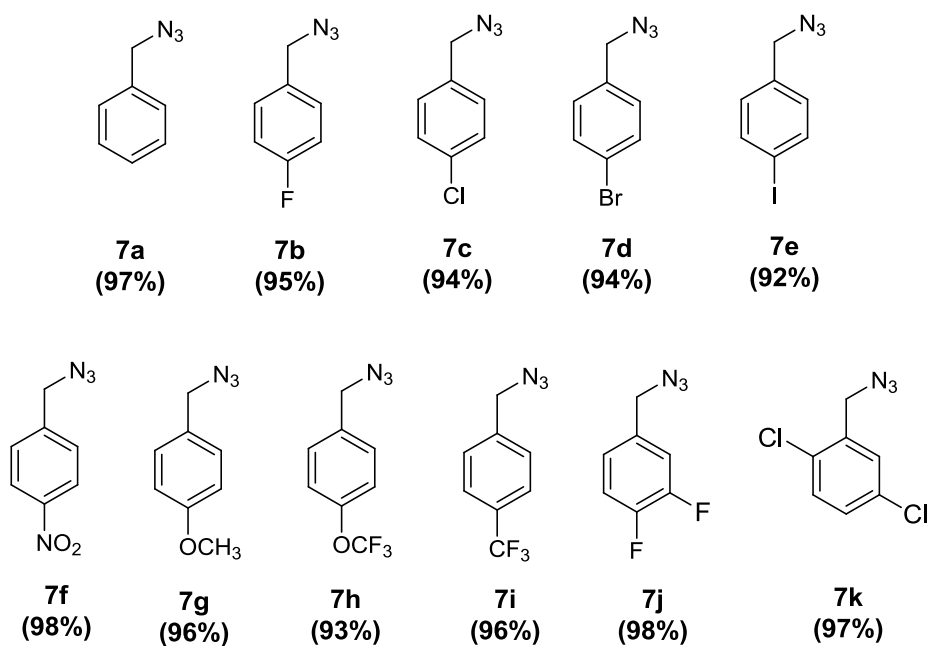


Figura 7 - Estruturas e rendimentos das azidas sintetizadas.

Devido à disponibilidade dos compostos brometo de 4-metilbenzila, brometo 2-bromobenzila, brometo de 3-bromobenzila, e da possibilidade de substituição do metanosulfonato por estes reagentes na metodologia anterior, também foram sintetizadas as azidas **7l**, **7n** e **7m** (Figura 8).

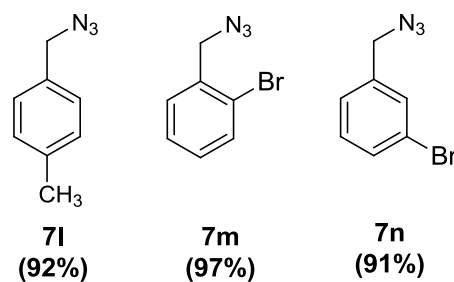
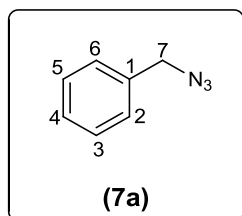


Figura 8 - Estruturas e rendimentos das azidas sintetizadas a partir de brometos de benzila.

As estruturas dos compostos **7a-7n** são suportadas pelos dados apresentados a seguir.

Benzilmetanoazida (**7a**)



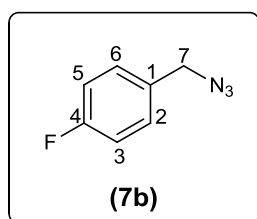
Característica: óleo amarelo.

CCD: R_f = 0,95 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 4,35 (s, 2H, H-7); 7,32-7,43 (m, 5H, H-2/H-3/H-4/H-5/H-6). O espectro é apresentado na Figura 24 (pg. 178) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 54,8 (C-7); 128,2 (C-2/C-6); 128,3 (C-4); 128,8 (C-3/C-5); 135,3 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 25 (pg. 179) no anexo.

4-Fluorobenzilmetanoazida (**7b**)



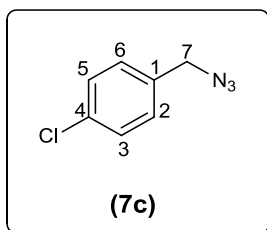
Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,95 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 4,31 (s, 2H, H-7); 7,07 (t_{ap}, 2H, J = 8,7 Hz, H-3/H-5); 7,26-7,32 (m, 2H, H-2/H-6). O espectro é apresentado na Figura 26 (pg. 180) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 54,0 (C-7); 115,8 (d, $J = 21,0$ Hz, C-3/C-5); 130,0 (d, $J = 7,5$ Hz, C-2/C-6); 131,2 (d, $J = 3,0$ Hz, C-1); 162,6 (d, $J = 245,3$ Hz, C-4). O espectro é apresentado na Figura 27 (pg. 181) no anexo.

4-Clorobenzilmetanoazida (**7c**)



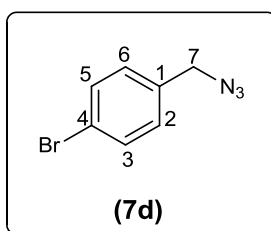
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,90$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,32 (s, 2H, H-7); 7,25 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2/H-6); 7,36 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 28 (pg. 182) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 53,9 (C-7); 129,0 (C-3/C-5); 129,4 (C-2/C-6); 133,8 (C-4); 134,2 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 29 (pg. 183) no anexo.

4-Bromobenzilmetanoazida (**7d**)



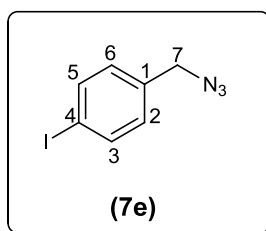
Característica: óleo incolor.

CCD: $R_f = 0,85$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,29 (s, 2H, H-7); 7,18 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2/H-6); 7,49 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 30 (pg. 184) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 54,0 (C-7); 122,2 (C-4); 129,7 (C-2/C-6); 131,9 (C-3/C-5); 134,3 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 31 (pg. 185) no anexo.

4-Iodobenzilmetanoazida (**7e**)



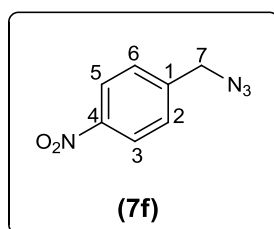
Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,60$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,29 (s, 2H, H-7); 7,06 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-2/H-6); 7,72 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 32 (pg. 186) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 54,1 (C-7); 93,9 (C-4); 129,9 (C-2/C-6); 135,0 (C-1); 137,9 (C-3/C-5). O espectro é apresentado na Figura 33 (pg. 187) no anexo.

4-Nitrobenzilmetanoazida (**7f**)



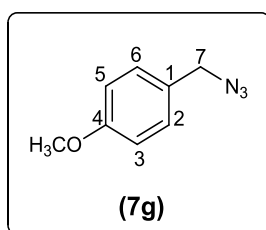
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,80$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,50 (s, 2H, H-7); 7,49 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2/H-6); 8,23 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 34 (pg. 188) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 53,6 (C-7); 123,9 (C-3/C-5); 128,5 (C-2/C-6); 142,6 (C-1); 147,6 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 35 (pg. 189) no anexo.

4-Metoxibenzilmetanoazida (**7g**)



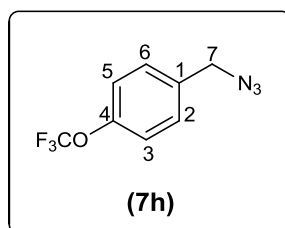
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,85$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,27 (s, 2H, H-7); 6,91 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-3/H-5); 7,25 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2/H-6). O espectro é apresentado na Figura 36 (pg. 190) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 54,3 (C-7); 55,2 (OCH_3); 114,1 (C-3/C-5); 128,6 (C-1); 129,7 (C-2/C-6); 159,6 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 37 (pg. 191) no anexo.

4-(Trifluorometoxi)benzilmetanoazida (**7h**)



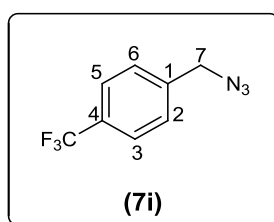
Característica: óleo incolor.

CCD: $R_f = 0,90$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,36 (s, 2H, H-7); 7,23 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H-3/H-5); 7,35 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H-2/H-6). O espectro é apresentado na Figura 38 (pg. 192) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 53,9 (C-7); 120,4 (q, $J = 255,8$ Hz, OCF_3); 121,2 (C-3/C-5); 129,5 (C-2/C-6); 134,1 (C-1); 149,1 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 39 (pg. 193) no anexo.

4-(Trifluoro)benzilmetanoazida (**7i**)



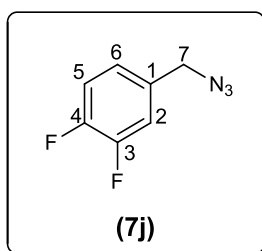
Característica: óleo incolor.

CCD: $R_f = 0,95$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,43 (s, 2H, H-7); 7,44 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-2/H-6); 7,65 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 40 (pg. 194) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 54,1 (C-7); 125,8 (q, $J = 3,8$ Hz, C-3/C-5); 128,2 (C-2/C-6); 128,6 (q, $J = 254,3$ Hz, CF_3); 135,4 (q, $J = 28,0$ Hz, C-4); 139,3 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 41 (pg. 195) no anexo.

3,4-Difluorobenzilmetanoazida (**7j**)



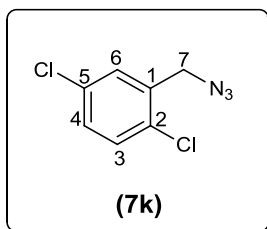
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,85$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,31 (s, 2H, H-7); 7,02-7,21 (m, 3H, H-2/H-5/ H-6). O espectro é apresentado na Figura 42 (pg. 196) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 53,6 (C-7); 117,1 (dl, $J = 17,3$ Hz, C-5); 117,6 (d, $J = 17,3$ Hz, C-2); 124,1 (dd, $J_1 = 6,8$ Hz e $J_2 = 3,8$ Hz, C-6); 132,4-132,5 (m, C-1); 148,4-152,1 (m, C-3/C-4). O espectro é apresentado na Figura 43 (pg. 197) no anexo.

2,5-Diclorobenzilmetanoazida (**7k**)



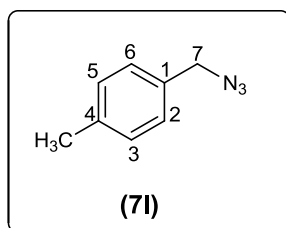
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,82$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,48 (s, 2H, H-7); 7,25 (dd, 1H, $J_1 = 8,5$ Hz e $J_2 = 2,4$ Hz, H-4); 7,34 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-3); 7,41 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, H-6). O espectro é apresentado na Figura 44 (pg. 198) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 51,8 (C-7); 129,4 (C-4); 129,6 (C-6); 130,7 (C-3); 131,6 (C-5); 133,0 (C-2); 135,0 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 45 (pg. 199) no anexo.

4-Metilbenzilmetanoazida (**7l**)



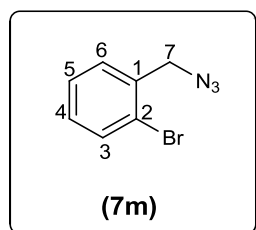
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,82$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,36 (s, 3H, CH_3); 4,28 (s, 2H, H-7); 7,17-7,23 (m, 4H, H-2/H-3/H-5/H-6). O espectro é apresentado na Figura 46 (pg. 200) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,1 (CH_3); 54,6 (C-7); 128,2 (C-2/C-6); 129,4 (C-3/C-5); 132,2 (C-1); 138,1 (C-4). O espectro é apresentado na Figura 47 (pg. 201) no anexo.

2-Bromobenzilmetanoazida (**7m**)



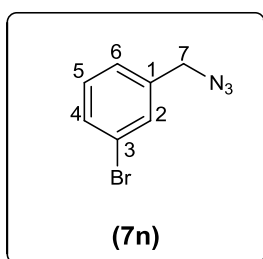
Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,85$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,50 (s, 2H, H-7); 7,20 (td, $J_1 = 7,6$ Hz e $J_2 = 1,8$ Hz, 1H, H-5); 7,32-7,42 (m, 2H, H-4/H-6); 7,61 (dd, $J_1 = 7,9$ Hz e $J_2 = 0,8$ Hz, 1H, H-3). O espectro é apresentado na Figura 48 (pg. 202) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 54,6 (C-7); 123,6 (C-2); 127,7 (C-4); 129,8 (C-5); 130,0 (C-6); 133,0 (C-3); 134,9 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 49 (pg. 203) no anexo.

3-Bromobenzilmetanoazida (**7n**)



Característica: óleo incolor.

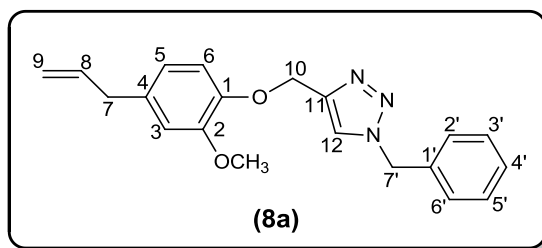
CCD: $R_f = 0,92$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 4,33 (s, 2H, H-7); 7,24-7,26 (m, 2H, H-5/H-6); 7,46-7,48 (m, 2H, H-2/H-4). O espectro é apresentado na Figura 50 (pg. 204) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 54,0 (C-7); 122,8 (C-3); 126,5 (C-6); 130,3 (C-4); 131,0 (C-2); 131,3 (C-5); 137,6 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 51 (pg. 205) no anexo.

2.3.5 SÍNTESE DOS COMPOSTOS TRIAZÓLICOS DERIVADOS DO EUGENOL

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol (**8a**)



A um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,150 g; 0,740 mmol), benzilazida (**7a**) (0,0990 g; 0,740 mmol), ascorbato de sódio (0,0590 g; 0,300 mmol), 1,00 mL de etanol e 1,00 mL de água. Em seguida, adicionou-se $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0370 g; 0,150 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação vigorosa à temperatura ambiente. Após o término da reação evidenciado por análise de CCD, a mistura reacional foi extraída com diclorometano (3 x 10,0 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução saturada de carbonato de sódio, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **8a** foi

purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila-diclorometano (3:1:3 v/v) e concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um sólido branco (0,228 g; 0,680 mmol) com 91% de rendimento.

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,49$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

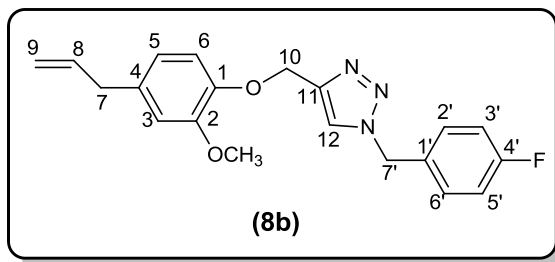
Tf = 90,5-91,3 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,23 (s, 2H, H-10); 5,50 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,68-6,70 (m, 2H, H-3/ H-5); 6,94 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-6); 7,23-7,38 (m, 5H, H-2'/H-3'/H-4'/H-5'/H-6'); 7,54 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 52 (pg. 206) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,8 (C-7); 54,1 (C-7'); 55,7 (OCH_3); 63,5 (C-10); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 120,4 (C-5); 122,7 (C-12); 128,1 (C-2'/C-6'); 128,7 (C-4'); 129,0 (C-3'/C-5'); 133,8 (C-4); 134,4 (C-1'); 137,4 (C-8); 144,8 (C-11); 145,8 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 53 (pg. 207) no anexo.

Os compostos **8b-8n** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto **8a**. A seguir, estão descritas as informações relativas às reações e os dados obtidos para a identificação de cada substância.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-fluorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8b**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,218 g; 0,620 mmol) com 87% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-ilo)benzeno (**2**) (0,143 g; 0,710 mmol), 4-fluorobenzilmetanoazida (**7b**) (0,107 g; 0,710 mmol), ascorbato de sódio (0,0560 g; 0,280 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0350 g; 0,140 mmol).

Característica: sólido branco.

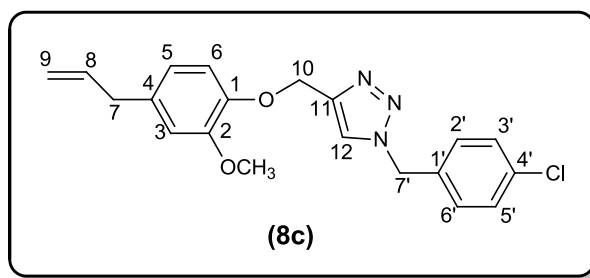
CCD: $R_f = 0,39$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 92,1-92,7 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,23 (s, 2H, H-10); 5,47 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,5$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,93 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,04 (t_{ap}, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-3'/H-5'); 7,22-7,26 (m, 2H, H-2'/H-6'); 7,54 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 54 (pg. 208) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,7 (C-7); 53,4 (C-7'); 55,7 (OCH_3); 63,4 (C-10); 112,2 (C-3); 114,5 (C-6); 115,7 (C-9); 116,1 (d, $J = 21,8$ Hz, C-3'/C-5'); 120,4 (C-5); 122,6 (C-12); 129,9 (d, $J = 8,3$ Hz, C-2'/C-6'); 130,3 (d, $J = 3,0$ Hz, C-1'); 133,8 (C-4); 137,4 (C-8); 145,0 (C-11); 145,8 (C-1); 149,5 (C-2); 162,8 (d, $J = 246,0$ Hz, C-4'). O espectro é apresentado na Figura 55 (pg. 209) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-clorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol
(8c)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,210 g; 0,570 mmol) com 84% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,137 g; 0,680 mmol), 4-clorobenzilmetanoazida (**7c**) (0,114 g; 0,680 mmol), ascorbato de sódio (0,0540 g; 0,270 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,0340 g; 0,140 mmol).

Característica: sólido branco.

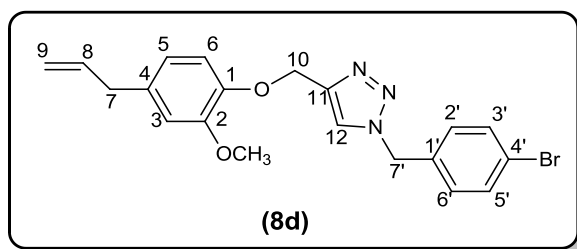
CCD: R_f = 0,37 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 112,3-112,6 °C

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3,32 (d, 2H, *J* = 6,7 Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,23 (s, 2H, H-10); 5,47 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 10,2 Hz e *J*₃ = 6,7 Hz, H-8); 6,66-6,70 (m, 2H, H-3//H-5); 6,93 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-6); 7,18 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H-2'/H-6'); 7,33 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H-3'/H-5'); 7,54 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 56 (pg. 210) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 39,8 (C-7); 53,4 (C-7'); 55,7 (OCH₃); 63,4 (C-10); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 120,4 (C-5); 122,7 (C-12); 129,2 (C-3'/C-5'); 129,3 (C-2'/C-6'); 132,9 (C-4'); 133,9 (C-1'); 134,7 (C-4); 137,4 (C-8); 145,0 (C-11); 145,8 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 57 (pg. 211) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8d**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,216 g; 0,520 mmol) com 80% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,132 g; 0,650 mmol), 4-bromobenzilmetanoazida (**7d**) (0,138 g; 0,650 mmol), ascorbato de sódio (0,0510 g; 0,260 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0330 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

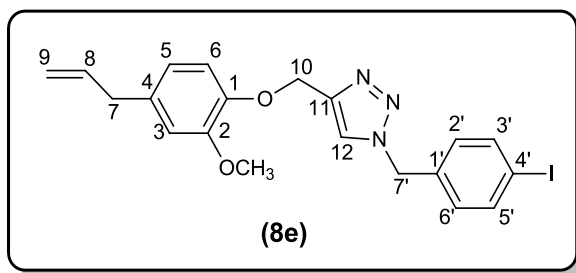
CCD: $R_f = 0,59$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 119,1-120,2 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,23 (s, 2H, H-10); 5,45 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,1$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,66-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,92 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,11 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2'/H-6'); 7,48 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3'/H-5'); 7,54 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 58 (pg. 212) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,8 (C-7); 53,4 (C-7'); 55,7 (OCH_3); 63,4 (C-10); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 120,4 (C-5); 122,7 (C-12); 122,8 (C-4'); 129,6 (C-2'/C-6'); 132,2 (C-3'/C-5'); 133,4 (C-1'); 133,9 (C-4); 137,4 (C-8); 145,1 (C-11); 145,7 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 59 (pg. 213) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-iodobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol
(8e)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,200 g; 0,430 mmol) com 87% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,101 g; 0,500 mmol), 4-iodobenzilmetanoazida (**7e**) (0,130 g; 0,500 mmol), ascorbato de sódio (0,0400 g; 0,200 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,0250 g; 0,100 mmol).

Característica: sólido branco.

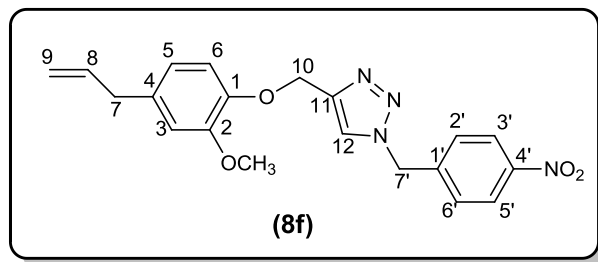
CCD: R_f = 0,37 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 129,2-131,1 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3,32 (d, 2H, *J* = 6,6 Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH₃); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,20 (s, 2H, H-10); 5,44 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 10,5 Hz e *J*₃ = 6,6 Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,92 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-6); 6,98 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz, H-2'/H-6'); 7,54 (s, 1H, H-12); 7,69 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 60 (pg. 214) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 39,8 (C-7); 53,5 (C-7'); 55,7 (OCH₃); 63,4 (C-10); 94,5 (C-4'); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 120,4 (C-5); 122,7 (C-12); 129,8 (C-2'/C-6'); 133,9 (C-1'); 134,1 (C-4); 137,4 (C-8); 138,2 (C-3'/C-5'); 145,1 (C-11); 145,8 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 61 (pg. 215) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-nitrobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol
(8f)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,223 g; 0,590 mmol) com 89% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,133 g; 0,660 mmol), 4-nitrobenzilmetanoazida (**7f**) (0,118 g; 0,660 mmol), ascorbato de sódio (0,0520 g; 0,260 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,0330 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

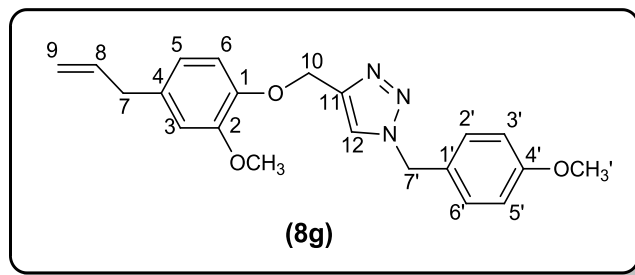
CCD: R_f = 0,14 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 120,9-121,9 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3,32 (d, 2H, *J* = 6,7 Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,25 (s, 2H, H-10); 5,62 (s, 2H, H-7'); 5,93 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 10,3 Hz e *J*₃ = 6,7 Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,92 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-6); 7,37 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H-2'/H-6'); 7,63 (s, 1H, H-12); 8,20 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 62 (pg. 216) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 39,8 (C-7); 53,0 (C-7'); 55,7 (OCH₃); 63,3 (C-10); 112,3 (C-3); 114,5 (C-6); 115,7 (C-9); 120,4 (C-5); 123,0 (C-12); 124,2 (C-3'/C-5'); 128,5 (C-2'/C-6'); 134,0 (C-4); 137,4 (C-1'); 141,5 (C-8); 145,4 (C-11); 145,7 (C-1); 148,0 (C-4'); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 63 (pg. 217) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-metoxibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8g**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,200 g; 0,550 mmol) com 80% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,138 g; 0,680 mmol), 4-metoxibenzilmetanoazida (**7g**) (0,110 g; 0,680 mmol), ascorbato de sódio (0,0540 g; 0,270 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0340 g; 0,140 mmol).

Característica: sólido branco.

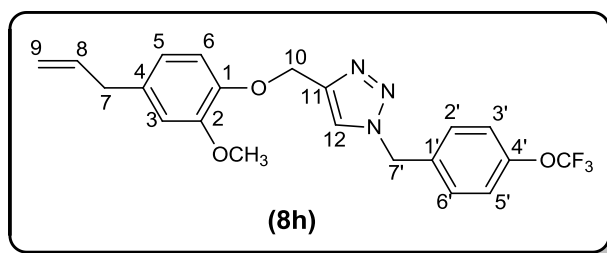
CCD: $R_f = 0,36$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 92,4-93,1 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,31 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,80 (s, 3H, OCH_3'); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,21 (s, 2H, H-10); 5,43 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,88 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-3'/H-5'); 6,94 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); 7,21 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-2'/H-6'); 7,51 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 21 pg. 101.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,8 (C-7); 53,7 (C-7'); 55,3 (OCH_3'); 55,7 (OCH_3); 63,5 (C-10); 112,2 (C-3); 114,4 (C-3'/C-5'); 114,5 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 122,5 (C-12); 126,4 (C-1'); 129,7 (C-2'/C-6'); 133,7 (C-4); 137,4 (C-8); 144,7 (C-11); 145,9 (C-1); 149,5 (C-2); 159,9 (C-4'). O espectro é apresentado na Figura 22 pg. 102.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-(trifluorometoxi)benzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8h**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,213 g; 0,510 mmol) com 85% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,121 g; 0,600 mmol), 4-(trifluorometoxi)benzilmetanoazida (**7h**) (0,130 g; 0,600 mmol), ascorbato de sódio (0,0480 g; 0,240 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,0300 g; 0,120 mmol).

Característica: sólido branco.

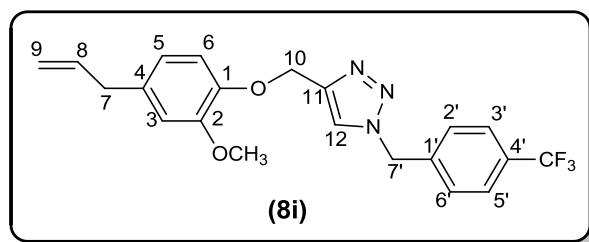
CCD: R_f = 0,49 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 126,4-127,3 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3,32 (d, 2H, *J* = 6,7 Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,24 (s, 2H, H-10); 5,51 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 10,2 Hz e *J*₃ = 6,7 Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,93 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-6); 7,20 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H-3'/H-5'); 7,28 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz, H-2'/H-6'); 7,57 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 64 (pg. 218) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 39,7 (C-7); 53,2 (C-7'); 55,8 (OCH₃); 63,4 (C-10); 112,2 (C-3); 114,5 (C-6); 115,8 (C-9); 120,3 (q, *J* = 256,3 Hz, OCF₃); 120,4 (C-5); 121,5 (C-12); 122,7 (C-3'/C-5'); 129,5 (C-2'/C-6'); 133,2 (C-1'); 133,9 (C-4); 137,4 (C-8); 145,1 (C-11); 145,8 (C-1); 149,3-149,2 (m, C-4'); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 65 (pg. 219) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(4-(trifluorometil)benzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8i**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,210 g; 0,520 mmol) com 84% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,125 g; 0,620 mmol), 4-(trifluoro)benzilmetanoazida (**7i**) (0,125 g; 0,620 mmol), ascorbato de sódio (0,0490 g; 0,250 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,0310 g; 0,120 mmol).

Característica: sólido branco.

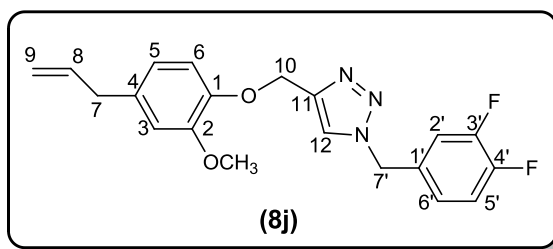
CCD: R_f = 0,43 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 142,7-143,0 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3,32 (d, 2H, *J* = 6,7 Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,25 (s, 2H, H-10); 5,57 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 17,0 Hz, *J*₂ = 10,2 Hz e *J*₃ = 6,7 Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,93 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz, H-6); 7,34 (d, 2H, *J* = 8,1 Hz, H-2'/H-6'); 7,58 (sl, 1H, H-12); 7,61 (d, 2H, *J* = 8,1 Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 66 (pg. 220) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 39,7 (C-7); 53,4 (C-7'); 55,8 (OCH₃); 63,4 (C-10); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 120,4 (C-5); 122,8 (C-12); 123,7 (q, *J* = 270,8 Hz, CF₃); 126,0 (q, *J* = 3,8 Hz, C-3'/C-5'); 128,1 (C-2'/C-6'); 131,0 (q, *J* = 32,5 Hz, C-4'); 133,9 (C-4); 137,4 (C-8); 138,4 (C-1'); 145,2 (C-11); 145,7 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 67 (pg. 221) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(3,4-difluorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8j**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,195 g; 0,530 mmol) com 78% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,136 g; 0,670 mmol), 3,4-difluorobenzilmetanoazida (**7j**) (0,113 g; 0,670 mmol), ascorbato de sódio (0,0530 g; 0,270 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0340 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

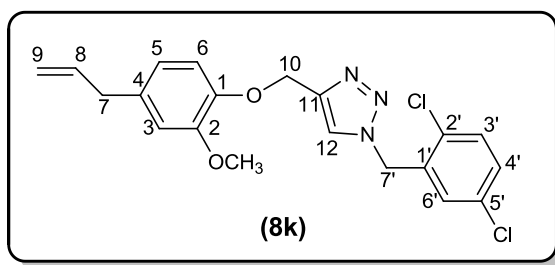
CCD: $R_f = 0,30$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 104,9-105,2 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,24 (s, 2H, H-10); 5,45 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,3$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,92 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 6,97-7,19 (m, 3H, H-2'/H-5'/H-6'); 7,57 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 68 (pg. 222) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,7 (C-7); 53,0 (dl, $J = 1,0$ Hz, C-7'); 55,7 (OCH_3); 63,4 (C-10); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 117,2 (d, $J = 18,0$ Hz, C-5'); 117,9 (d, $J = 18,0$ Hz, C-2'); 120,4 (C-5); 122,7 (C-12); 124,2 (dd, $J_1 = 6,8$ Hz e $J_2 = 3,8$ Hz, C-6'); 131,4-131,5 (m, C-1'); 133,9 (C-4); 137,4 (C-8); 145,2 (C-11); 145,6 (C-1); 149,5 (C-2); [148,7-148,9 (m); 152,0-152,2 (m), C-3'/C-4']. O espectro é apresentado na Figura 69 (pg. 223) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(2,5-diclorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8k**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,203 g; 0,500 mmol) com 81% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,125 g; 0,620 mmol), 2,5-diclorobenzilmetanoazida (**7k**) (0,125 g; 0,620 mmol), ascorbato de sódio (0,0490 g; 0,250 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0310 g; 0,120 mmol).

Característica: sólido branco.

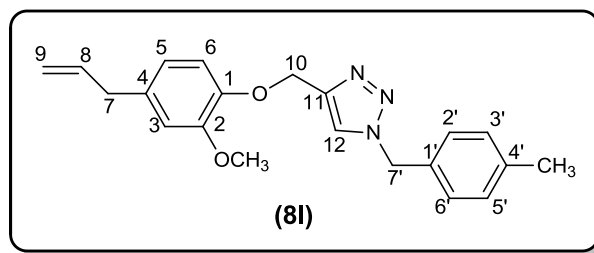
CCD: $R_f = 0,59$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 87,9-88,4 °C

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,83 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,23 (s, 2H, H-10); 5,60 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 9,9$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,68-6,71 (m, 2H, H-3/H-5); 6,93 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); 7,12 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-6'); 7,27 (dd, 1H, $J_1 = 8,6$ Hz e $J_2 = 2,3$ Hz, H-4'); 7,35 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, H-3'); 7,67 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 70 (pg. 224) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,8 (C-7); 50,9 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 63,5 (C-10); 112,3 (C-3); 114,7 (C-6); 115,7 (C-9); 120,5 (C-5); 123,1 (C-12); 130,0 (C-4'); 130,2 (C-6'); 130,9 (C-3'); 131,5 (C-2'); 133,5 (C-5'); 133,9 (C-1'); 133,9 (C-4); 137,4 (C-8); 145,1 (C-11); 145,7 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 71 (pg. 225) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxifenoxi)metil)-1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol
(81)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,205 g; 0,590 mmol) com 82% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,145 g; 0,720 mmol), 4-metilbenzilmetanoazida (**71**) (0,106 g; 0,720 mmol), ascorbato de sódio (0,0570 g; 0,290 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,0360 g; 0,140 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,66 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 81,4-82,3 °C.

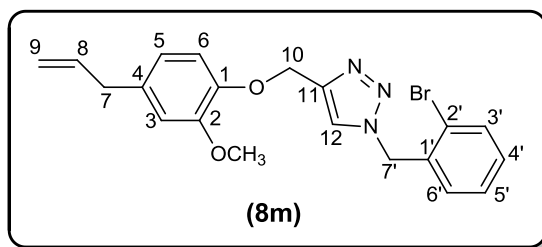
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3,34 (s, 3H, CH₃); 3,32 (d, 2H, J = 6,6 Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,22 (s, 2H, H-10); 5,45 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, J₁ = 16,9 Hz, J₂ = 10,2 Hz e J₃ = 6,6 Hz, H-8); 6,66-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,93 (d, 1H, J = 7,9 Hz, H-6); 7,13-7,19 (m, 4H, H-2'/H-3'/H-5'/H-6'); 7,52 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 72 (pg. 226) no anexo.

*Apesar da sobreposição dos sinais referentes aos dupletos (H-2'/H-6') e (H-3'/H-5'), foi possível calcular a constante de acoplamento J = 8,8 Hz para os respectivos hidrogênios.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 21,1 (CH₃); 39,8 (C-7); 53,9 (C-7'); 55,7 (OCH₃); 63,5 (C-10); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 122,6 (C-12); 128,1 (C-3'/C-5'); 129,7 (C-2'/C-6'); 131,4 (C-1'); 133,8 (C-

4); 137,5 (C-4'); 138,6 (C-8); 144,7 (C-11); 145,9 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 73 (pg. 227) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(2-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8m**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,208 g; 0,500 mmol) com 77% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-ilo)benzeno (**2**) (0,132 g; 0,650 mmol), 2-bromobenzilmetanoazida (**7m**) (0,138 g; 0,650 mmol), ascorbato de sódio (0,0510 g; 0,260 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0330 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,70$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

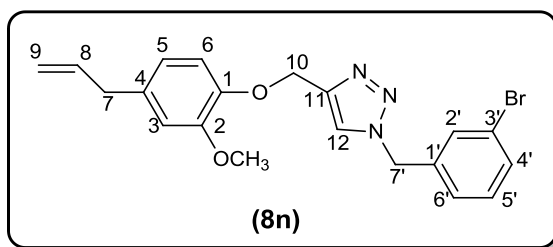
Tf = 67,5-68,6 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,25 (s, 2H, H-10); 5,64 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,6$ Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,95 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); 7,12 (dd, 1H, $J_1 = 7,4$ Hz e $J_2 = 1,7$ Hz, H-6'); 7,19-7,32 (m, 2H, H-5'/H-4'); 7,60 (dd, 1H, $J_1 = 7,8$ Hz e $J_2 = 1,2$ Hz, H-3'); 7,66 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 74 (pg. 228) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,7 (C-7); 53,7 (C-7'); 55,7 (OCH_3); 63,5 (C-10); 112,2 (C-3); 114,7 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 123,1 (C-12); 123,4 (C-2'); 128,1 (C-5'); 130,3 (C-4'); 130,3 (C-6'); 133,1 (C-3'); 133,8

(C-1'); 134,0 (C-4); 137,4 (C-8); 144,7 (C-11); 145,7 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 75 (pg. 229) no anexo.

Síntese do 4-((4-alil-2-metoxi)fenoximetil)-1-(3-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8n**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,213 g; 0,520 mmol) com 79% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**2**) (0,132 g; 0,650 mmol), 3-bromobenzilmetanoazida (**7n**) (0,138 g; 0,650 mmol), ascorbato de sódio (0,0510 g; 0,260 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0330 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,70$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

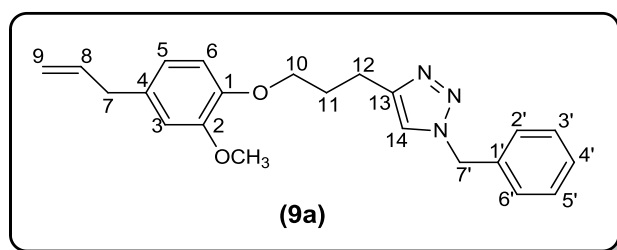
Tf = 97,5-97,9 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,32 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,24 (s, 2H, H-10); 5,47 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 10,8$ Hz e $J_3 = 6,6$ Hz, H-8); 6,68-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,93 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); [7,15-7,26 (m); 7,40 (sl); 7,48 (d_{ap}, $J = 7,7$ Hz); 4H, H-2'/H-4'/H-5'/H-6']; 7,57 (s, 1H, H-12). O espectro é apresentado na Figura 76 (pg. 230) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39,8 (C-7); 53,3 (C-7'); 55,7 (OCH_3); 63,4 (C-10); 112,2 (C-3); 114,6 (C-6); 115,7 (C-9); 120,5 (C-5); 122,7 (C-12); 123,0 (C-3'); 126,6 (C-6'); 130,6 (C-5'); 131,0 (C-2'); 131,9 (C-4'); 133,9

(C-4); 136,6 (C-8); 137,4 (C-1'); 145,1 (C-11); 145,8 (C-1); 149,5 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 77 (pg. 231) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol (**9a**)



A um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**) (0,158 g; 0,690 mmol), benzilazida (**7a**) (0,0920 g; 0,690 mmol), ascorbato de sódio (0,0550 g; 0,280 mmol), 1,00 mL de etanol e 1,00 mL de água. Em seguida, adicionou-se CuSO₄·5H₂O (0,0350 g; 0,140 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação vigorosa à temperatura ambiente. Após o término da reação evidenciado por análise de CCD, a mistura reacional foi elaborada com diclorometano (3 x 10,0 mL). As fases orgânicas foram reunidas, lavadas com solução saturada de carbonato de sódio, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **8a** foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila-diclorometano (3:1:3 v/v) e concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um sólido branco (0,198 g; 0,540 mmol) com 79% de rendimento.

Característica: sólido branco.

CCD: R_f = 0,16 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

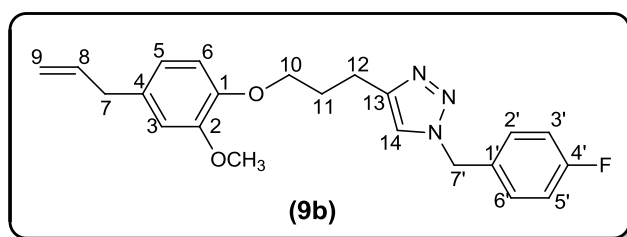
Tf = 71,4-72,6 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,17 (quint, 2H, $J = 7,0$ Hz, H-11); 2,90 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,48 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,67-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,22-7,37 (m, 6H, H-2'/H-3'/H-4'/H-5'/H-6'/H-14). O espectro é apresentado na Figura 78 (pg. 232) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,9 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,1 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,5 (C-9); 120,4 (C-5); 120,9 (C-14); 127,9 (C-2'/C-6'); 128,5 (C-4'); 129,0 (C-3'/C-5'); 132,9 (C-1'); 134,8 (C-4); 137,6 (C-8); 146,6 (C-1); 147,7 (C-13); 149,3 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 79 (pg. 233) no anexo.

Os compostos **9b-9n** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto **9a**. A seguir, estão descritas as informações relativas às reações e os dados obtidos para a identificação de cada substância.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-fluorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9b**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,215 g; 0,560 mmol) com 86% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**) (0,151 g; 0,660 mmol), 4-fluorobenzilmetanoazida (**7b**)

(0,100 g; 0,660 mmol), ascorbato de sódio (0,0520 g; 0,260 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0330 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

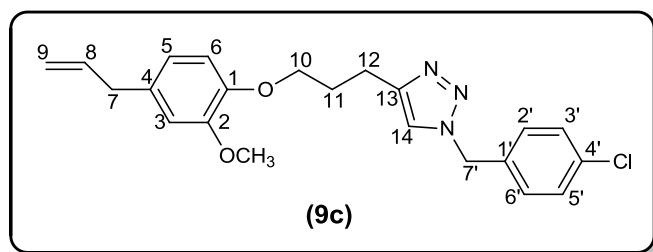
CCD: $R_f = 0,21$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 96,4-96,8°C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,17 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,90 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,44 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,8$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,66-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,03 (t, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-3'/H-5'); 7,19-7,26 (m, 3H, H-2'/H-6'/H-14). O espectro é apresentado na Figura 80 (pg. 234) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,2 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,0 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 116,0 (d, $J = 21,8$ Hz, C-3'/C-5'); 120,4 (C-5); 120,8 (C-14); 129,7 (d, $J = 8,3$ Hz, C-2'/C-6'); 130,7 (d, $J = 3,0$ Hz, C-1'); 132,9 (C-4); 137,6 (C-8); 146,6 (C-1); 147,8 (C-13); 149,3 (C-2); 162,7 (d, $J = 246,8$ Hz, C-4'). O espectro é apresentado na Figura 81 (pg. 235) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-clorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9c**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,218 g; 0,550 mmol) com 87% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-

iloxi)benzeno (**4**) (0,145 g; 0,630 mmol), 4-clorobenzilmetanoazida (**7c**) (0,106 g; 0,630 mmol), ascorbato de sódio (0,0480 g; 0,25 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0320 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

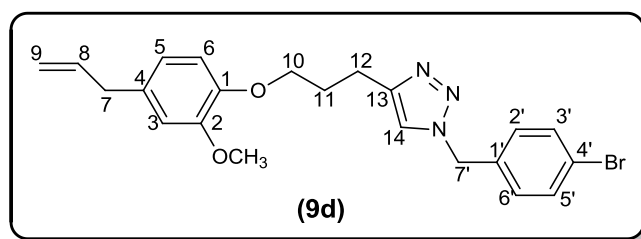
CCD: $R_f = 0,46$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 81,8-82,2 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,17 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,90 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 5,04-5,11 (m, 2H, H-9); 5,44 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap} , 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,66-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,16 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H-2'/H-6'); 7,24 (s, 1H, H-14); 7,32 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 82 (pg. 236) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,2 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,0 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 120,9 (C-14); 129,2 (C-2'/C-3'/C-5'/C-6'); 132,9 (C-4'); 133,3 (C-1'); 134,6 (C-4); 137,6 (C-8); 146,6 (C-1); 147,9 (C-13); 149,3 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 83 (pg. 237) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9d**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,210 g; 0,480 mmol) com 84% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-

iloxi)benzeno (**4**) (0,130 g; 0,570 mmol), 4-bromobenzilmetanoazida (**7d**) (0,120 g; 0,57 mmol), ascorbato de sódio (0,0450 g; 0,23 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0290 g; 0,110 mmol).

Característica: sólido branco.

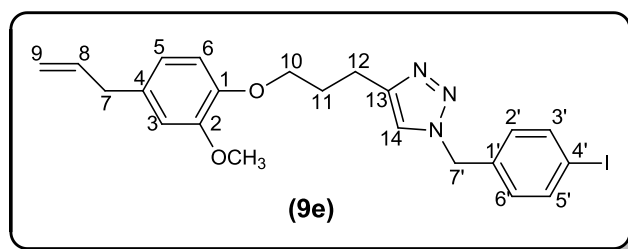
CCD: $R_f = 0,46$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 89,4-90,3 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,17 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,90 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, H-10); 5,04-5,11 (m, 2H, H-9); 5,43 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap} , 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,66-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,10 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-2'/H-6'); 7,24 (s, 1H, H-14); 7,47 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 84 (pg. 238) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,2 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,0 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 120,9 (C-14); 122,7 (C-4'); 129,5 (C-2'/C-6'); 132,2 (C-3'/C-5'); 133,0 (C-1'); 133,9 (C-4); 137,6 (C-8); 146,6 (C-1); 147,9 (C-13); 149,4 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 85 (pg. 239) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-iodobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9e**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,246 g; 0,500 mmol) com 91% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-

iloxi)benzeno (**4**) (0,127 g; 0,550 mmol), 4-iodobenzilmetanoazida (**7e**) (0,143 g; 0,550 mmol), ascorbato de sódio (0,0440 g; 0,202 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0280 g; 0,110 mmol).

Característica: sólido branco.

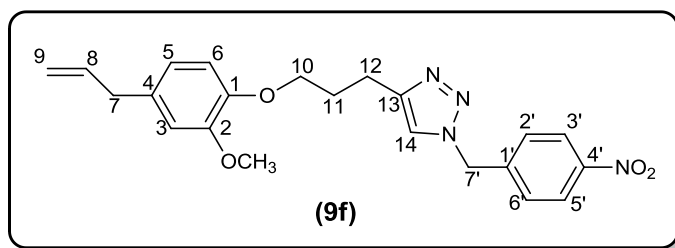
CCD: $R_f = 0,45$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 98,3-99,2 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,17 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,90 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,33 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, H-10); 5,04-5,11 (m, 2H, H-9); 5,41 (s, 2H, H-7'); 5,95 (dd_t_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,6$ Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 6,96 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-2'/H-6'); 7,24 (s, 1H, H-14); 7,68 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 86 (pg. 240) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,3 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,0 (C-10); 94,3 (C-4'); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 120,9 (C-14); 129,6 (C-2'/C-6'); 132,9 (C-1'); 134,5 (C-4); 137,6 (C-8); 138,1 (C-3'/C-5'); 146,6 (C-1); 147,9 (C-13); 149,3 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 87 (pg. 241) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-nitrobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9f**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,205 g; 0,500 mmol) com 82% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-

iloxi)benzeno (**4**) (0,141 g; 0,610 mmol), 4-nitrobenzilmetanoazida (**7f**) (0,109 g; 0,610 mmol), ascorbato de sódio (0,0480 g; 0,240 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0310 g; 0,120 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,29$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

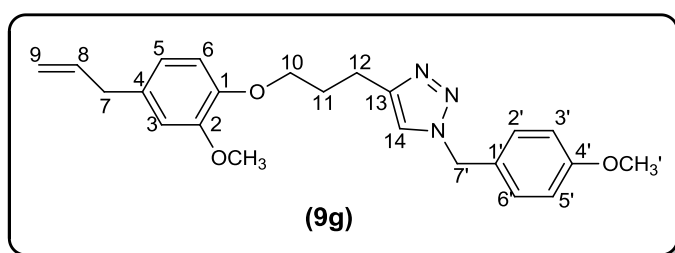
Tf = 79,7-80,4 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,19 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,94 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,31 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, H-10); 5,03-5,10 (m, 2H, H-9); 5,59 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,67-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); 7,33-7,36 (m, 3H, H-2'/H-6'/H-14)*; 8,19 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 88 (pg. 242) no anexo.

*Apesar de um dos sinais referentes ao duplete (H-2'/H-6') ter sobreposto ao simpleto (H-14), foi possível calcular a constante de acoplamento $J = 8,7$ Hz para o duplete.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,6 (C-11); 39,7 (C-7); 52,9 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,0 (C-10); 112,4 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 121,3 (C-14); 124,2 (C-3'/C-5'); 128,4 (C-2'/C-6'); 133,0 (C-4); 137,5 (C-1'); 141,9 (C-8); 146,6 (C-1); 147,9 (C-4'); 148,3 (C-13); 149,3 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 89 (pg. 243) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxipropil)-1-(4-metoxibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9g**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,224 g; 0,570 mmol) com 83% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**) (0,158 g; 0,690 mmol), 4-metoxibenzilmetanoazida (**7g**) (0,113 g; 0,690 mmol), ascorbato de sódio (0,0550 g; 0,280 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0350 g; 0,140 mmol).

Característica: sólido branco.

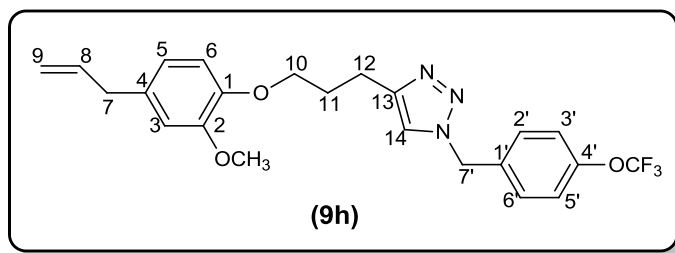
CCD: $R_f = 0,22$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 88,9-90,4 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,16 (quint, 2H, $J = 7,0$ Hz, H-11); 2,88 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-7); 3,80 (s, 3H, OCH_3'); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,40 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 9,9$ Hz e $J_3 = 6,6$ Hz, H-8); 6,66-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 6,87 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-3'/H-5'); 7,17-7,20 (m, 3H, H-2'/H-4'/H-14). O espectro é apresentado na Figura 90 (pg. 244) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,5 (C-7'); 55,3 (OCH_3'); 55,8 (OCH_3); 68,1 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 114,4 (C-3'/C-5'); 115,5 (C-9); 120,4 (C-5); 120,6 (C-14); 126,8 (C-1'); 129,5 (C-2'/C-6'); 132,9 (C-4); 137,6 (C-8); 146,6 (C-1); 147,6 (C-13); 149,3 (C-2); 159,8 (C-4'). O espectro é apresentado na Figura 91 (pg. 245) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-(trifluorometoxi)benzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9h**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,210 g; 0,470 mmol) com 84% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-ilo)benzeno (**4**) (0,129 g; 0,560 mmol), 4-(trifluorometoxi)benzilmetanoazida (**7h**) (0,121 g; 0,560 mmol), ascorbato de sódio (0,0440 g; 0,220 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,0280 g; 0,110 mmol).

Característica: sólido branco.

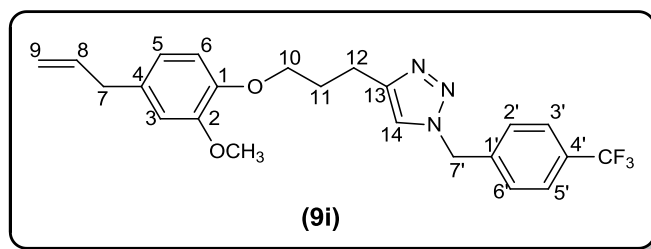
CCD: R_f = 0,49 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 93,4-94,9 °C.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 2,18 (quint, 2H, *J* = 6,9 Hz, H-11); 2,91 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, *J* = 6,7 Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 4,01 (t, 2H, *J* = 6,3 Hz, H-10); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,48 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 16,8 Hz, *J*₂ = 10,2 Hz e *J*₃ = 6,7 Hz, H-8); 6,66-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-6); 7,19 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H-3'/H-5'); 7,24-7,27 (m, 3H, H-2'/H-6'/H-14). O espectro é apresentado na Figura 92 (pg. 246) no anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,0 (C-7'); 55,8 (OCH₃); 68,0 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 120,3 (q, *J* = 257,0 Hz, OCF₃); 120,4 (C-5); 121,0 (C-14); 121,4 (C-3'/C-5'); 129,3 (C-2'/C-6'); 133,0 (C-1'); 133,6 (C-4); 137,6 (C-8); 146,6 (C-1); 148,0 (C-13); 149,2-149,3 (m, C-4'); 149,4 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 93 (pg. 247) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-(trifluorometil)benzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9i**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,230 g; 0,530 mmol) com 92% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**) (0,133 g; 0,580 mmol), 4-(trifluoro)benzilmetanoazida (**7i**) (0,117 g; 0,580 mmol), ascorbato de sódio (0,0460 g; 0,230 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0290 g; 0,120 mmol).

Característica: sólido branco.

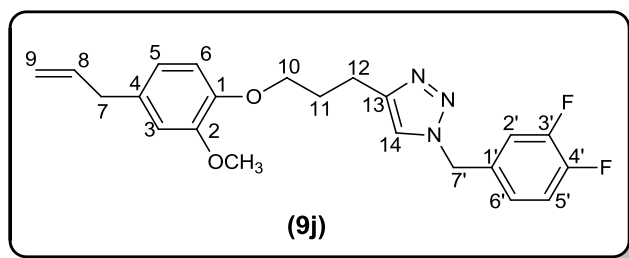
CCD: $R_f = 0,50$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 111,3-112,5 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,19 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,92 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,02 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, H-10); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,54 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap} , 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,74$ Hz, H-8); 6,67-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,28 (s, 1H, H-14); 7,32 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-2'/H-6'); 7,61 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 24 (pg. 105).

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,8 (C-11); 39,7 (C-7); 53,2 (C-7'); 55,9 (OCH_3); 68,0 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 121,1 (C-14); 123,8 (q, $J = 270,8$ Hz, CF_3); 126,0 (q, $J = 3,8$ Hz, C-3'/C-5'); 128,0 (C-2'/C-6'); 130,9 (q, $J = 32,5$ Hz, C-4'); 133,0 (C-4); 137,6 (C-8); 138,8 (C-1'); 146,7 (C-1); 148,1 (C-13); 149,4 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 25 (pg. 106).

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(3,4-difluorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9j**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,225 g; 0,560 mmol) com 90% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-ilo)benzeno (**4**) (0,144 g; 0,630 mmol), 3,4-difluorobenzilmetanoazida (**7j**) (0,107 g; 0,630 mmol), ascorbato de sódio (0,0500 g; 0,250 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0320 g; 0,130 mmol).

Característica: sólido branco.

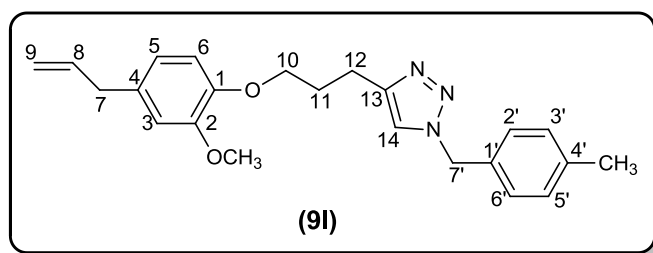
CCD: $R_f = 0,41$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 97,1-97,8 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,18 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,92 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, H-10); 5,04-5,11 (m, 2H, H-9); 5,43 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,66-6,70 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 6,94-7,18 (m, 3H, H-2'/H-5'/H-6'); 7,27 (s, 1H, H-14). O espectro é apresentado na Figura 94 (pg. 248) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 52,5 (OCH_3); 55,9 (dl, $J = 8,3$ Hz, C-7'); 68,0 (C-10); 112,5 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 117,0 (d, $J = 17,3$ Hz, C-5'); 117,9 (d, $J = 17,3$ Hz, C-2'); 120,4 (C-5); 120,9 (C-14); 124,0 (dd, $J_1 = 6,8$ Hz e $J_2 = 3,8$ Hz, C-6'); 131,8-131,9 (m, C-1'); 133,0 (C-4); 137,5 (C-8); 146,5 (C-1); 148,1 (C-13); 149,3 (C-2); [148,6-148,9 (m); 151,9-152,2 (m), C-3'/C-4']. O espectro é apresentado na Figura 95 (pg. 249) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9I**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,216 g; 0,570 mmol) com 80% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**) (0,165 g; 0,720 mmol), 4-metilbenzilmetanoazida (**7I**) (0,106 g; 0,720 mmol), ascorbato de sódio (0,0570 g; 0,290 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0360 g; 0,140 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,42$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 59,6-60,9 °C.

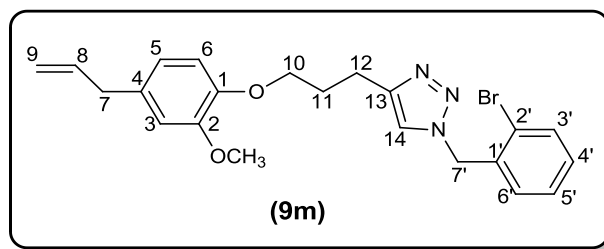
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,16 (quint, 2H, $J = 7,0$ Hz, H-11); 2,34 (s, 3H, CH_3); 2,88 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,43 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,66-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); 7,11-7,17 (m, 4H, H-2'/H-3'/H-5'/H-6')*; 7,21 (s, 1H, H-14). O espectro é apresentado na Figura 96 (pg. 250) no anexo.

*Apesar da sobreposição dos sinais referentes aos dupletos (H-2'/H-6') e (H-3'/H-5'), foi possível calcular a constante de acoplamento $J = 8,7$ Hz para os respectivos hidrogênios.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,0 (CH_3); 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,7 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,0 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,5 (C-9); 120,4 (C-5); 120,7 (C-14); 127,9 (C-3'/C-5'); 129,6 (C-2'/C-6');

131,7 (C-1'); 132,8 (C-4); 137,5 (C-4'); 138,4 (C-8); 146,6 (C-1); 147,6 (C-13); 149,3 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 97 (pg. 251) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-(2-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9m**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,198 g; 0,450 mmol) com 79% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**) (0,130 g; 0,570 mmol), 2-bromobenzilmetanoazida (**7m**) (0,120 g; 0,570 mmol), ascorbato de sódio (0,045 g; 0,230 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0290 g; 0,110 mmol).

Característica: sólido branco.

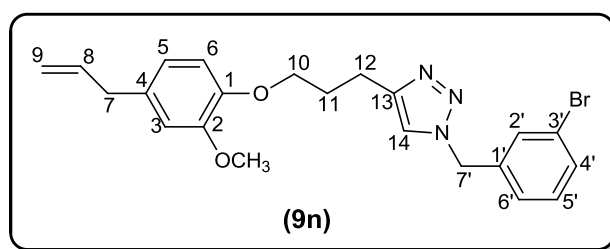
CCD: $R_f = 0,61$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 47,8-49,1 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,19 (quint, 2H, $J = 7,0$ Hz, H-11); 2,92 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,02 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 5,04-5,10 (m, 2H, H-9); 5,61 (s, 2H, H-7'); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,67-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,78 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); 7,08 (dd, 1H, $J_1 = 7,5$ Hz e $J_2 = 1,6$ Hz, H-6'); 7,17-7,30 (m, 2H, H-5'/H-4'); 7,35 (s, 1H, H-14); 7,59 (dd, 1H, $J_1 = 7,8$ Hz e $J_2 = 1,1$ Hz, H-3'). O espectro é apresentado na Figura 98 (pg. 252) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,6 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,1 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,5 (C-9); 120,3 (C-5); 121,3 (C-14); 123,2 (C-2'); 128,1 (C-5'); 130,1 (C-4'); 130,2 (C-6'); 132,9 (C-1'); 133,1 (C-3'); 134,4 (C-4); 137,6 (C-8); 146,6 (C-1); 147,7 (C-13); 149,3 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 99 (pg. 253) no anexo.

Síntese do 4-(3-(4-alil-2-metoxi)fenoxipropil)-1-(3-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**9n**)



Este composto foi obtido como um sólido branco (0,203 g; 0,460 mmol) com 81% de rendimento a partir do 4-alil-2-metoxi-1-(pent-4-in-1-iloxi)benzeno (**4**) (0,130 g; 0,570 mmol), 3-bromobenzilmetanoazida (**7n**) (0,120 g; 0,570 mmol), ascorbato de sódio (0,045 g; 0,230 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,0290 g; 0,110 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,32$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v/v).

Tf = 65,9-67,1 °C.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,18 (quint, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-11); 2,91 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-12); 3,32 (d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 4,02 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, H-10); 5,03-5,10 (m, 2H, H-9); 5,44 (s, 2H, H-7'); 5,94 (ddt_{ap} , 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8); 6,67-6,69 (m, 2H, H-3/H-5); 6,78 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H-6); [7,13-7,27 (m); 7,38 (sl); 7,46 (d_{ap} , $J = 7,8$ Hz); 5H, H-2'/H-4'/H-5'/H-6'/H-14]. O espectro é apresentado na Figura 100 (pg. 254) no anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,1 (C-12); 28,7 (C-11); 39,7 (C-7); 53,1 (C-7'); 55,8 (OCH_3); 68,0 (C-10); 112,3 (C-3); 113,4 (C-6); 115,6 (C-9); 120,4 (C-5); 121,0 (C-14); 123,0 (C-3'); 126,4 (C-6'); 130,6 (C-5'); 130,8 (C-2'); 131,7 (C-4'); 132,9 (C-4); 137,1 (C-8); 137,6 (C-1'); 146,6 (C-1); 148,0 (C-13); 149,3 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 101 (pg. 255) no anexo.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A etapa inicial do desenvolvimento deste trabalho consistiu na purificação do eugenol (**1**) a partir do óleo essencial do cravo da Índia.

As técnicas de extração comumente empregadas para a obtenção de óleos essenciais são: destilação por arraste de vapor d'água, extração com solventes orgânicos, enfloração, prensagem e extração por fluido supercrítico (geralmente CO_2). Dentre essas, a extração por arraste de vapor d'água é considerado um dos métodos mais simples e por isso é o mais utilizados em pesquisas laboratoriais (RABÊLO, 2010).

A extração por arraste de vapor pode ser realizada de três formas, sendo distintas pelo modo como se estabelece o contato entre a amostra e a água na fase líquida ou de vapor. O método que mantém o material a ser destilado diretamente em contato com a água em ebulição é denominado hidrodestilação (SANTOS *et al.*, 2003).

Na extração por hidrodestilação, o vapor d'água promove a quebra das bolsas intercelulares que contêm o óleo essencial. Os componentes do óleo são então arrastados pelo fluxo de vapor até que a mistura dos vapores de óleo e água se condensem. Ao sofrer condensação, a mistura de óleo e água forma uma emulsão aquosa de coloração esbranquiçada,

denominada hidrolato. A partir da obtenção do hidrolato o constituinte de interesse é isolado através da utilização de solventes orgânicos (GUIMARÃES *et al.*, 2000).

Neste trabalho, a extração do óleo essencial do cravo foi realizada por hidrodestilação, utilizando um balão contendo água e cravo da Índia, acoplado a um sistema de destilação conforme apresentado na Figura 5, pg. 26.

Após obtenção do óleo essencial, o eugenol (**1**) foi purificado a partir deste óleo por cromatografia em coluna de sílica gel. O rendimento do composto isolado foi calculado dividindo-se a massa final do produto obtido (7,12 g) pela massa total de cravo da Índia utilizada no processo de hidrodestilação (60,0 g). Assim, aproximadamente 12% de eugenol (**1**) foram obtidos a partir do cravo da Índia.

Segundo Oliveira (2009), é possível extrair aproximadamente 15% de teor de óleo essencial a partir de 50g de botões secos de cravo da Índia. Tendo em vista essa afirmativa e considerando a massa de cravo da Índia utilizada neste trabalho (60,0g), estima-se um valor de rendimento igual a 18% para essa extração.

A identidade do eugenol (**1**) isolado foi confirmada de maneira inequívoca pela espectrometria de massas e pela espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C . A espectrometria de massas (Figura 10, pg.81) confirmou a fórmula molecular da substância **1** uma vez que o pico em m/z 164 está em total acordo com a fórmula molecular desta substância ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$). O espectro de massas ainda contém picos típicos da fragmentação de fenóis e éteres aromáticos, sendo o pico em m/z 149 característico da

perda do radical metila e os picos em m/z 77 e m/z 65 correspondentes aos íons $[C_6H_5^+]$ e $[C_5H_5^+]$ originados por rearranjo com eliminação de monóxido de carbono (CO). Já o fragmento correspondente ao pico em m/z 133 é referente à perda do grupo OCH_3 da função éter (CORTEZ *et al.*, 1998). A Figura 9 ilustra as fragmentações dos principais picos contidos no espectro do eugenol (**1**) (Figura 10, pg.81).

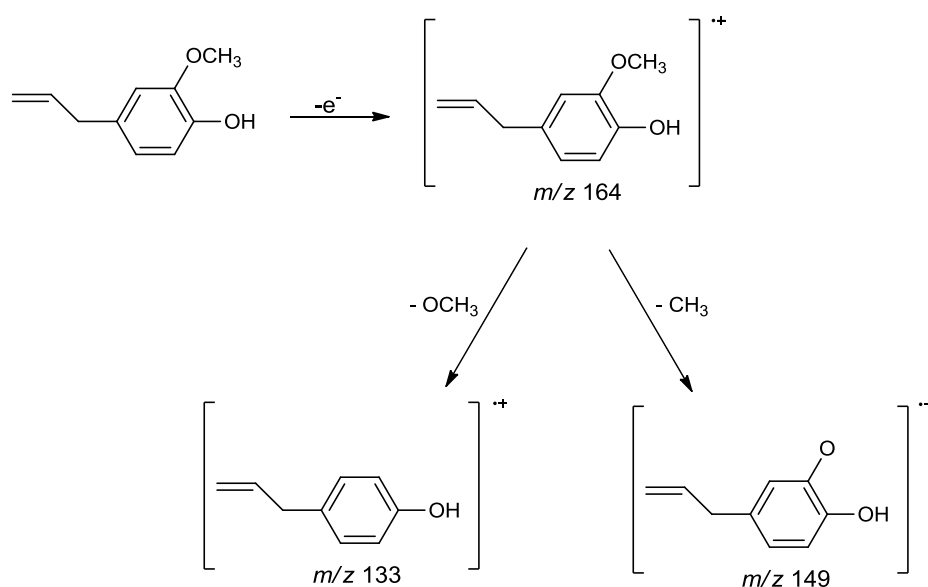


Figura 9 - Proposta de fragmentações e formação dos picos característicos do eugenol (**1**).

No espectro de RMN de 1H do composto **1** (Figura 11, pg.82), o duplete observado em δ_H 3,33 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,7$ Hz) foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H-7. O simpleto observado em δ_H 3,88 e integrado para três átomos de hidrogênio foi atribuído aos átomos de hidrogênios do grupo metoxila (OCH_3). O multiplete observado em δ_H 5,05-5,12 e integrado para dois hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios vinila terminais H-9. O simpleto

em δ_H 5,54 corresponde ao sinal referente ao hidrogênio da hidroxila (OH). A multiplicidade esperada para o sinal relativo ao hidrogênio H-8 em δ_H 5,97 seria um duplo duplo triplete, o qual deveria apresentar seis picos em cada metade do multiplete simétrico. No entanto, devido à sobreposição de sinais o que se observa é um sinal que se assemelha a quintetos sobrepostos (PAVIA *et al.*, 2010). Apesar da sobreposição destes sinais, foi possível calcular as constantes de acoplamento alílico $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,2$ Hz, além da constante de acoplamento $J = 6,7$ Hz, referente ao acoplamento de H-8 com os hidrogênios vizinhos H-7. Na região de deslocamento químico característica de hidrogênios aromáticos foi observado o multiplete em δ_H 6,69-6,70 atribuído aos hidrogênios H3 e H5 e o duplete em δ_H 6,86 atribuído ao hidrogênio H-6. Os dados da espectroscopia de 1H de RMN estão em completo acordo com aqueles descritos na literatura (BERGER e STICKER, 2009).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 12, pg.83) observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura desta substância. Assim, o sinal observado em δ_C 39,8 foi atribuído ao carbono metilênico (C-7). O sinal observado em δ_C 55,8 foi associado ao carbono do grupo metoxila (OCH₃). Os sinais em δ_C 115,5 e δ_C 137,8 correspondem aos carbonos sp^2 C-9 e C-8, respectivamente. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático. Salienta-se que estas atribuições dos sinais dos átomos de carbono da estrutura do eugenol (**1**) estão em completo acordo com dados da literatura (BERGER e STICKER, 2009).

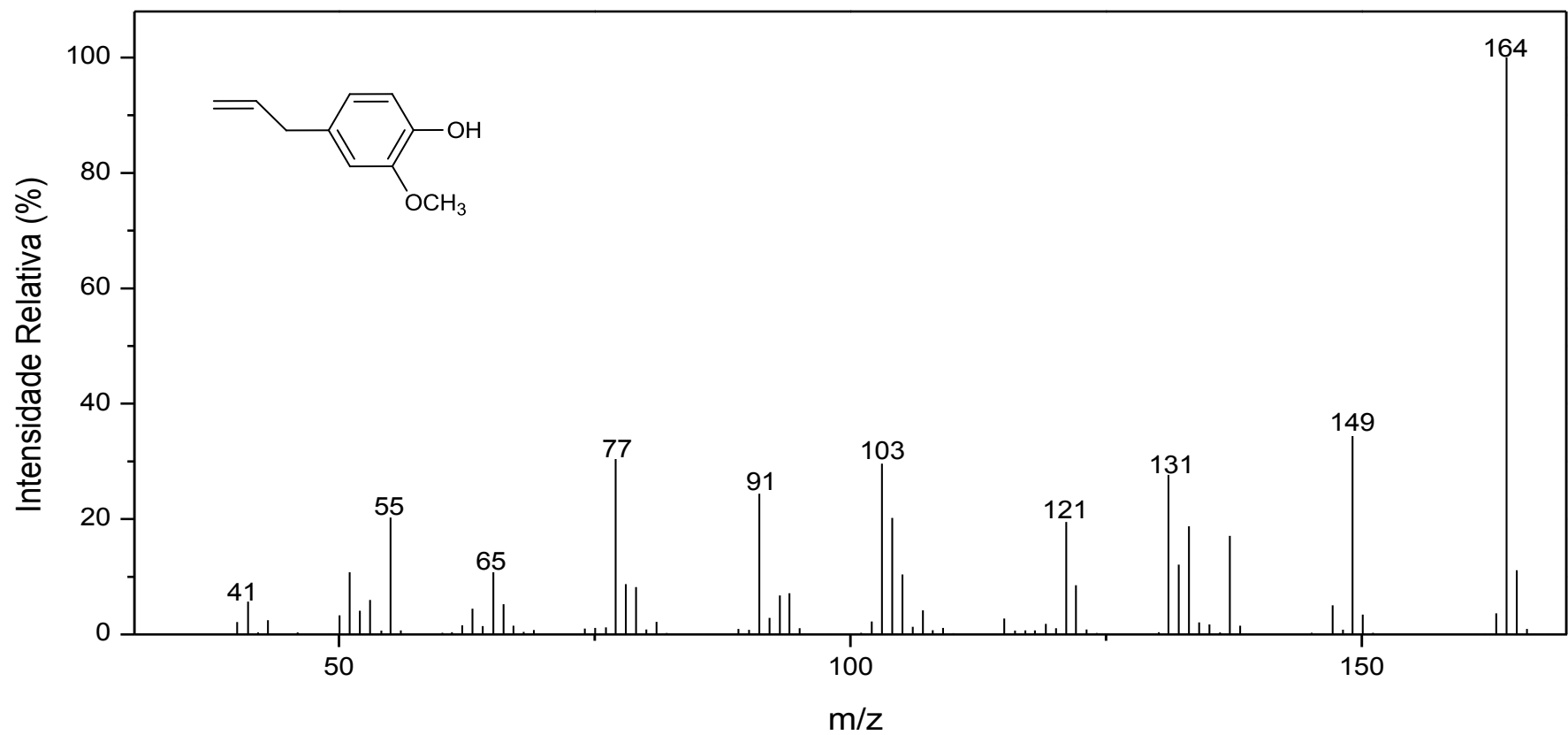


Figura 10 - Espectro de massas do composto 1.

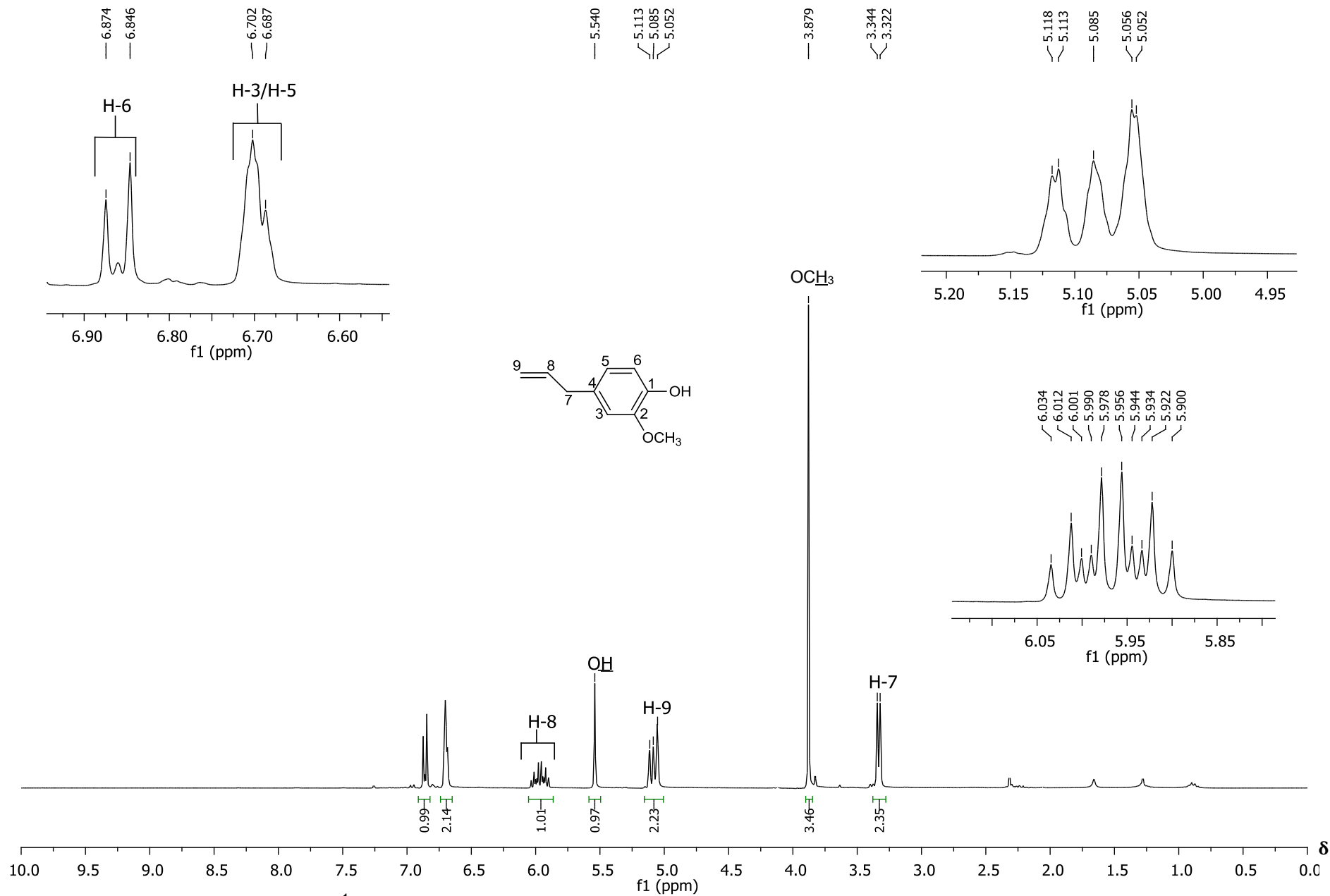


Figura 11 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **1**.

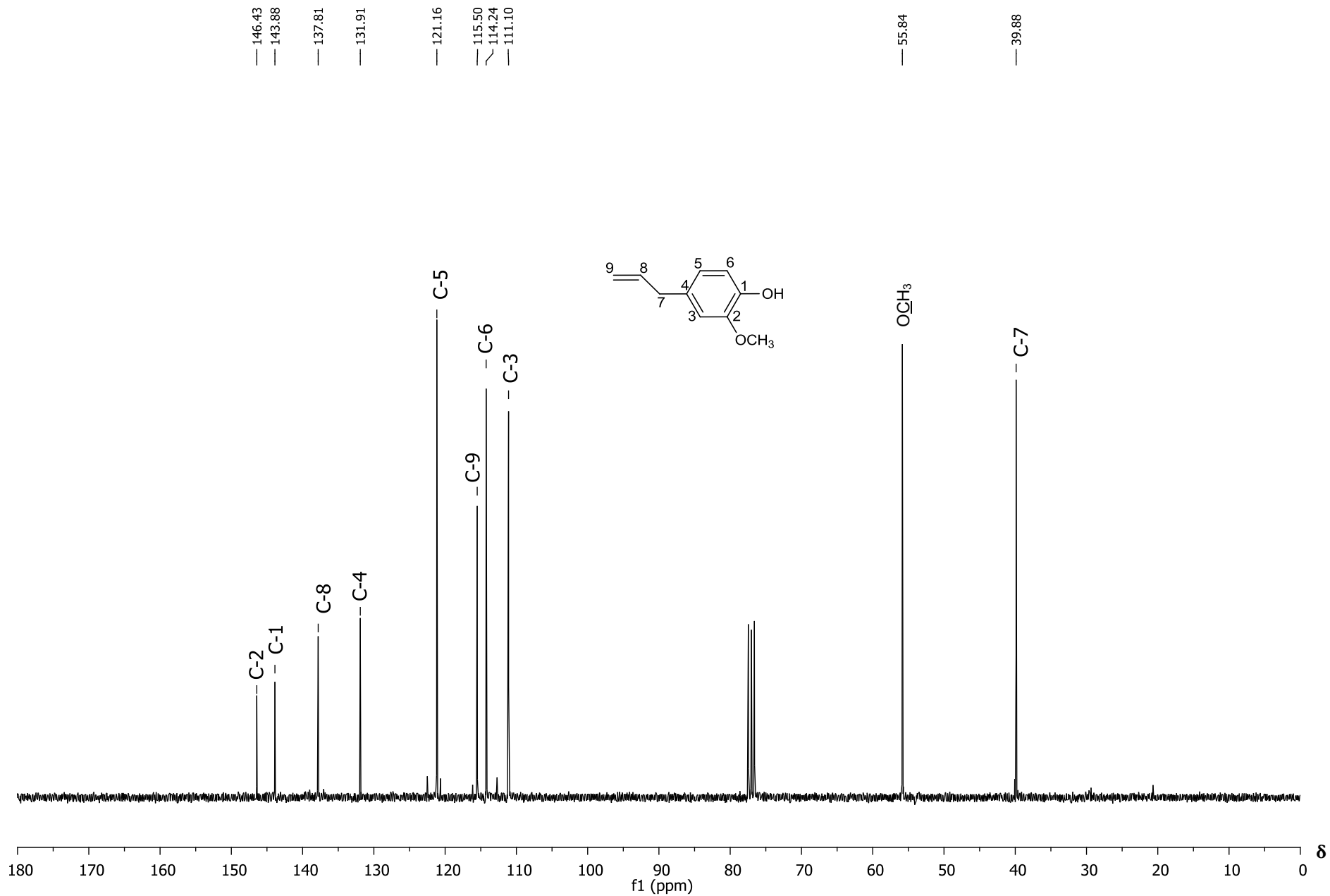
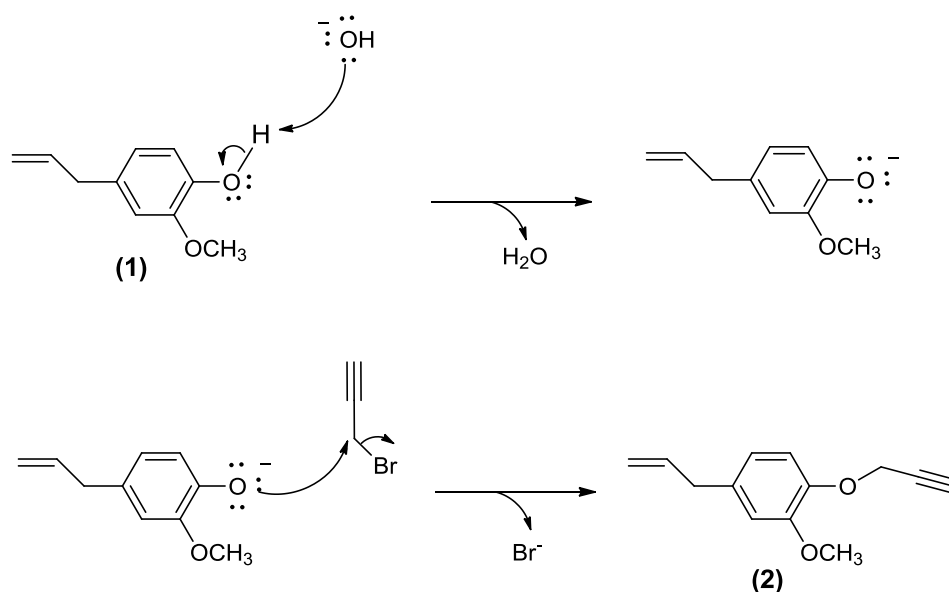


Figura 12 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 1.

Uma vez isolado, o eugenol (**1**) foi utilizado como material de partida para a síntese dos compostos **2** e **4** (Esquema 4, pg.21). A preparação do composto **2** ocorreu via reação de substituição nucleofílica bimolecular, na presença de hidróxido de sódio, entre eugenol (**1**) e brometo de propargila (GROUTAS *et al.*, 2012). No Esquema 5, pg.88, está apresentada uma proposta mecanística para a obtenção do composto alquilado **2**.



Esquema 5 - Proposta mecanística para a obtenção do composto **2**.

Analisando o espectro de massas (Figura 13, pg.87), observa-se que o pico em m/z 202 é compatível com a fórmula molecular do composto alquilado **2** ($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_2$).

No espectro de RMN de ^1H do composto **2** (Figura 14, pg.88) o tripleto observado em δ_{H} 2,49 e integrado para um átomo de hidrogênio confirmou a formação desta molécula. Este sinal foi atribuído ao hidrogênio acetilênico H-12 e possui constante de acoplamento $J = 2,4$ Hz que corresponde ao

acoplamento típico de alcinos terminais a longa distância. O duplete observado em δ_H 3,35 e integrado para dois átomos de hidrogênio foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H-7. O simpleto observado em δ_H 3,88 foi atribuído aos átomos de hidrogênios do grupo metoxila (-OCH₃). O duplete observado em δ_H 4,73 e integrado para dois átomos de hidrogênios apresentou constante de acoplamento $J = 2,4$ Hz e foi atribuído ao hidrogênio H-10. Os valores idênticos das constantes de acoplamento entre este duplete e o tripleto atribuído ao hidrogênio H-12, confirmam o acoplamento a longa distância dos átomos H-10 e H-12. Observaram-se ainda os sinais compreendidos entre δ_H 5,06 e δ_H 5,96, com atribuições 5,06-5,12 (m, 2H, H-9); 5,96 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ 9Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8), que são referentes, respectivamente, aos hidrogênios da ligação dupla terminal. Na região de deslocamento químico característica de hidrogênios aromáticos foi observado o multiplete em δ_H 6,72-6,74 atribuído aos hidrogênios H3 e H5 e o duplete em δ_H 7,00 atribuído ao hidrogênio H-6.

Para que não houvesse dúvidas quanto à caracterização desta substância, utilizou-se o solvente deuterado C₆H₆ para a obtenção de um novo espectro de RMN de ¹H (Figura 15, pg.89) a fim de determinar a multiplicidade dos hidrogênios aromáticos H-3 e H-5 separadamente. Neste novo espectro de RMN de ¹H, observou-se que os sinais compreendidos entre δ_H 6,52 e δ_H 6,57 apresentavam a multiplicidade esperada para cada hidrogênio. Assim, o duplete observado em δ_H 6,52 foi atribuído ao hidrogênio H-3 e apresentou constante de acoplamento $J_{meta} = 1,7$ Hz; já o duplo duplete observado em δ_H 6,57 foi atribuído ao hidrogênio H-5 e apresentou constantes de acoplamento $J_{orto} = 8,1$ Hz e $J_{meta} = 1,7$ Hz, referente aos acoplamentos deste hidrogênio com os hidrogênios H-6 e H-3, respectivamente. Estes valores de constantes

de acoplamento correspondentes ao acoplamento de hidrogênios em posições *orto* e *meta* estão em total acordo com os valores descritos na literatura (PAVIA *et al.*, 2010). A partir da análise do espectro da Figura 15 (pg.89) foi possível identificar a multiplicidade de todos os hidrogênios do composto **2**, esclarecendo assim quaisquer dúvidas sobre a sua caracterização.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **2** (Figura 16, pg.90) os sinais em δ_{C} 56,9; δ_{C} 75,5 e δ_{C} 78,7, que foram atribuídos aos carbonos C-10, C-11 e C-12 respectivamente, também confirmaram a obtenção do composto **2**. Os outros sinais foram atribuídos de forma similar aos sinais observados no espectro da molécula precursora **1** (Figura 12, pg.83).

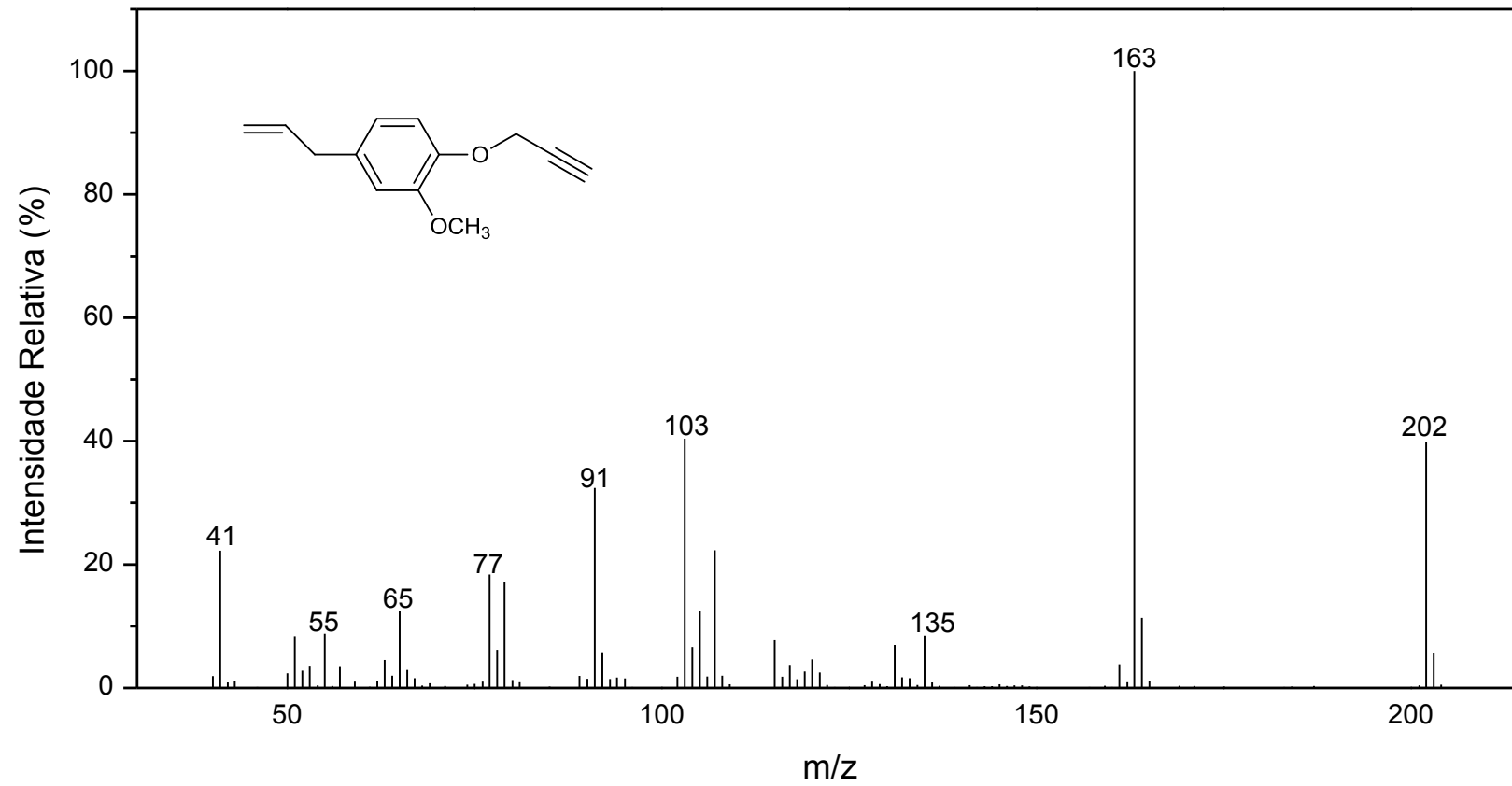


FIGURA 13 - Espectro de massas do composto 2.

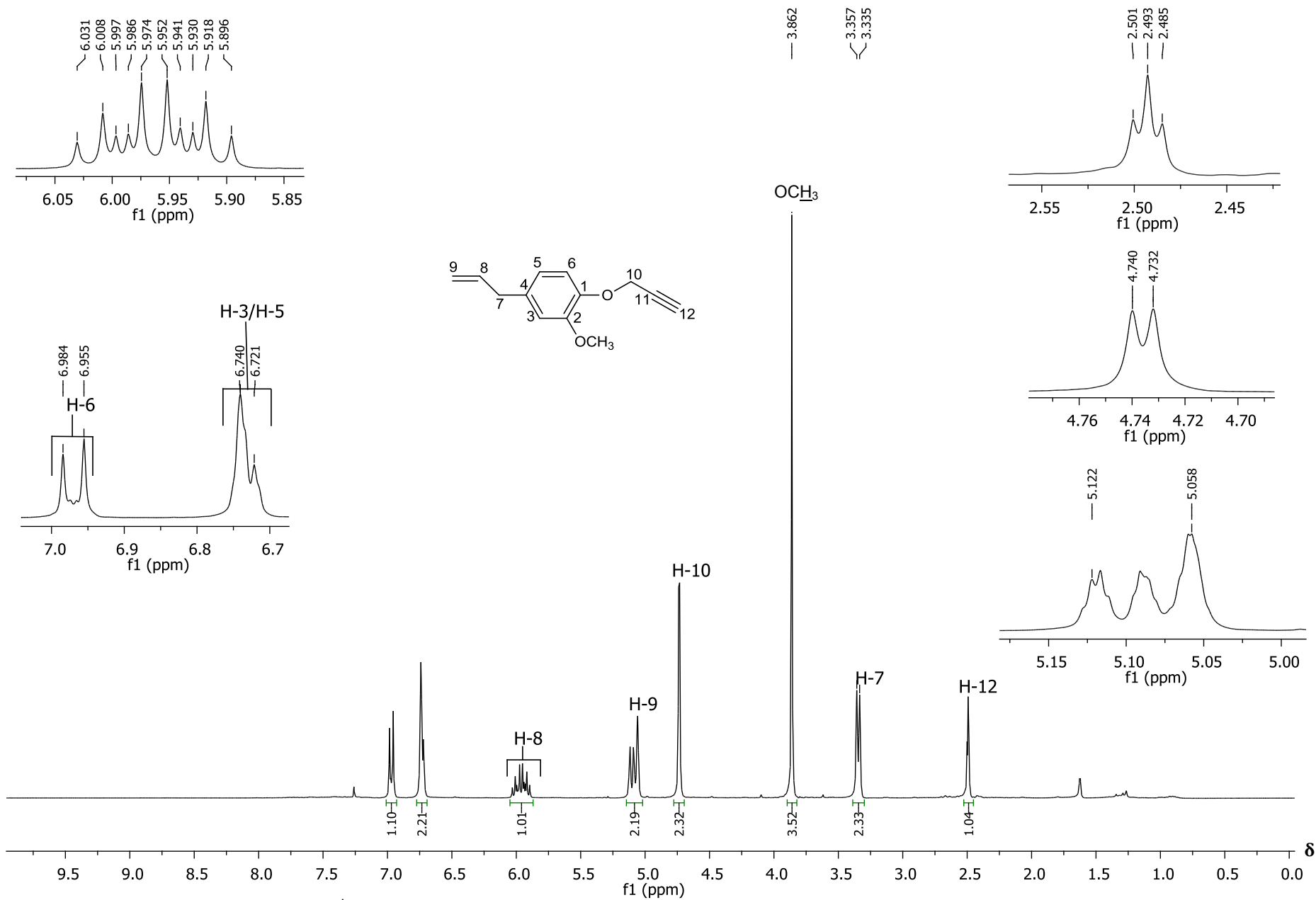


Figura 14 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **2**.

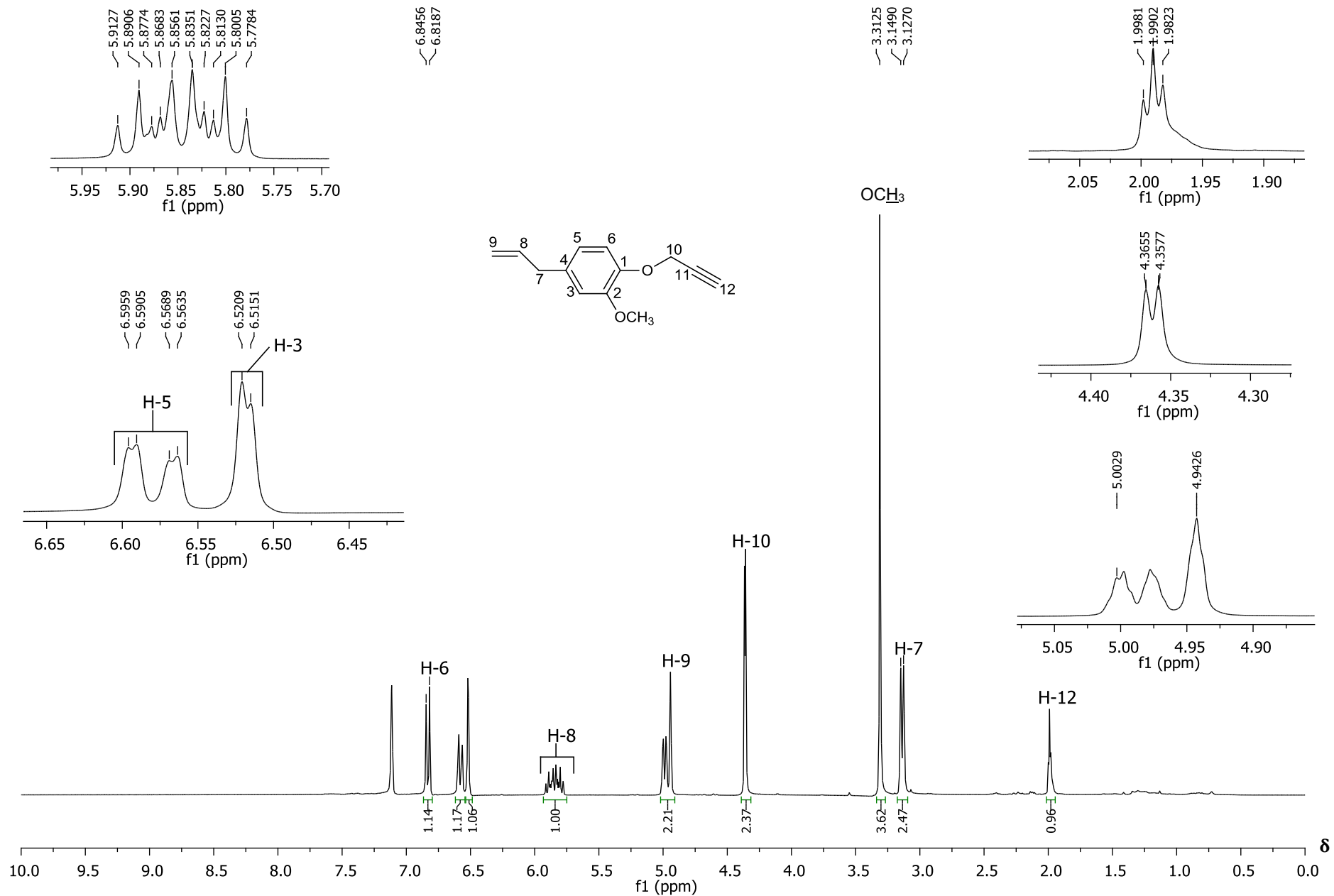


Figura 15 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, C₆D₆) do composto **2**.

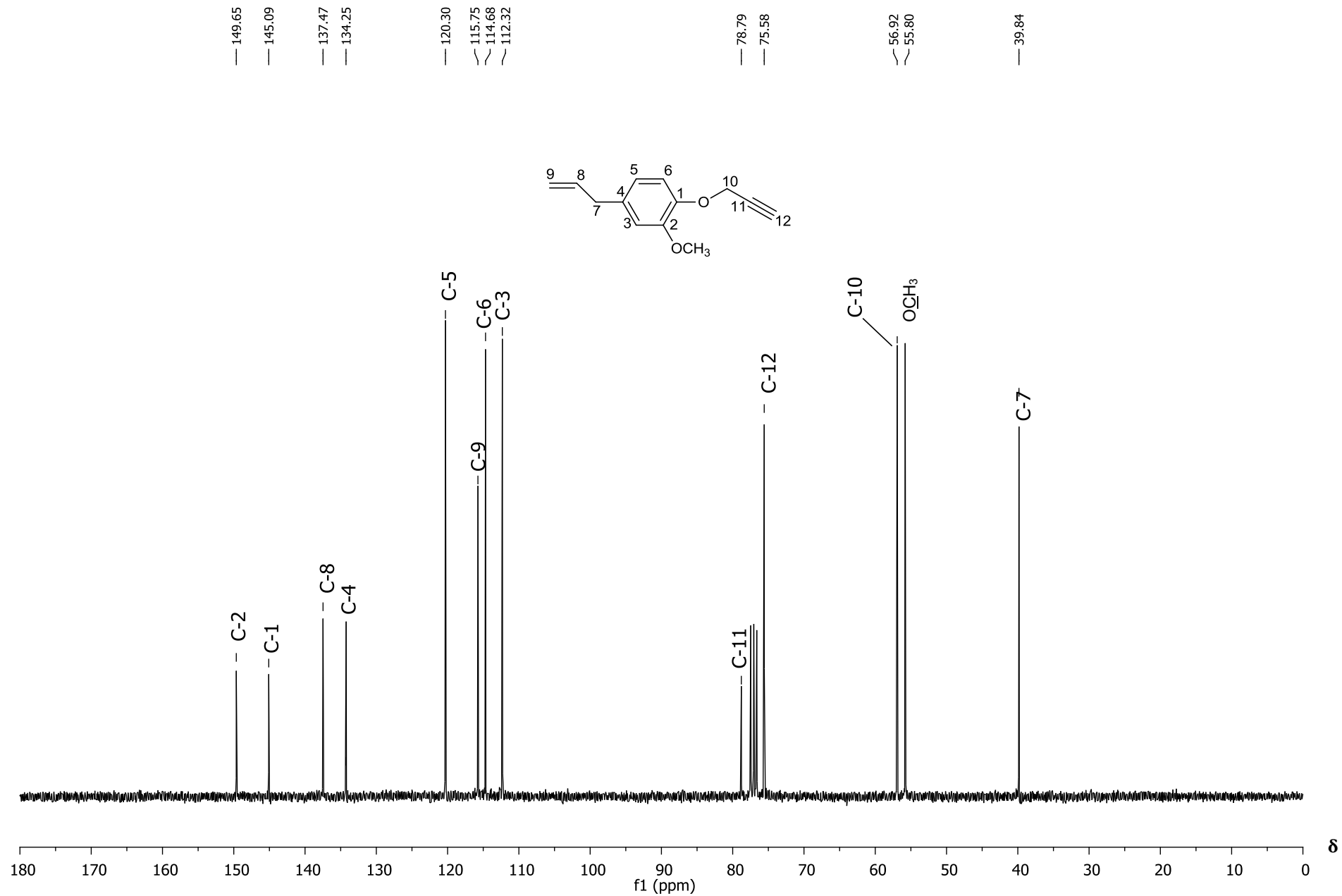


Figura 16 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 2.

De forma análoga à síntese do composto **2**, a preparação de **4** ocorreu via reação de substituição nucleofílica bimolecular entre eugenol (**1**) e o éster sulfonato **3**. O composto **3** foi sintetizado a partir do álcool comercial pent-4-in-1-ol e caracterizado por técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C . Os espectros obtidos para essa substância estão apresentados no anexo (Figuras 1 e 2, pg.155 e 156).

Analisando o espectro de massa do composto alquilado **4** (Figura 17, pg.93), o pico em m/z 230 está em total acordo com a fórmula molecular desta substância ($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_2$).

No espectro de RMN de ^1H do composto **4** (Figura 18, pg.94) o tripleto observado em δ_{H} 1,97 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio acetilênico H-14. Este sinal possui constante de acoplamento $J = 2,6$ Hz, e corresponde ao acoplamento típico de alcinos terminais a longa distância. Em δ_{H} 2,04 tem-se um quinteto integrado para dois átomos de hidrogênio referente aos hidrogênios metilênicos H-11, confirmando assim o acoplamento destes dois hidrogênios com os átomos vizinhos H-10 e H-12. O sinal observado em δ_{H} 2,42 e atribuído aos hidrogênios H-12 apresentou-se como um tripleto duplo com constantes de acoplamento iguais a $J_1 = 7,0$ Hz e $J_2 = 2,6$ Hz, referentes ao acoplamento de H-12 com os hidrogênios H-11 e H-14, respectivamente. O duplete observado em δ_{H} 3,34 e integrado para dois átomos de hidrogênio foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H-7. O simpleto observado em δ_{H} 3,85 foi atribuído aos átomos de hidrogênios do grupo metoxila ($-\text{OCH}_3$). O tripleto observado em δ_{H} 4,10 e integrado para dois átomos de hidrogênios apresentou constante de acoplamento $J = 6,3$ Hz e foi atribuído ao hidrogênio H-10. Observam-se ainda os sinais compreendidos

entre δ_H 5,05 e δ_H 5,97, com atribuições 5,05-5,12 (m, 2H, H-9); 5,97 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e $J_3 = 6,7$ Hz, H-8), que são referentes aos hidrogênios da dupla terminal H-9 e H-8, respectivamente. Na região de deslocamento químico característica de hidrogênios aromáticos foi observado o multiplete em δ_H 6,70-6,73 atribuído aos hidrogênios H-3 e H-5 e o duplete em δ_H 6,85 atribuído ao hidrogênio H-6.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **4** (Figura 19, pg.95) observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura desta substância. Os sinais observados em δ_C 15,2 e δ_C 28,2, foram atribuídos ao carbonos metilênicos C-12 e C-11 respectivamente. Já os sinais em δ_C 67,5 e em δ_C 83,6, foram atribuído aos carbonos *sp* C-14 e C-13. O menor deslocamento químico observado para o C-14 ocorre em razão da blindagem anisotrópica provocada pelas ligações π . Os outros sinais foram atribuídos conforme o espectro da molécula de eugenol (**1**) (Figura 12, pg.83).

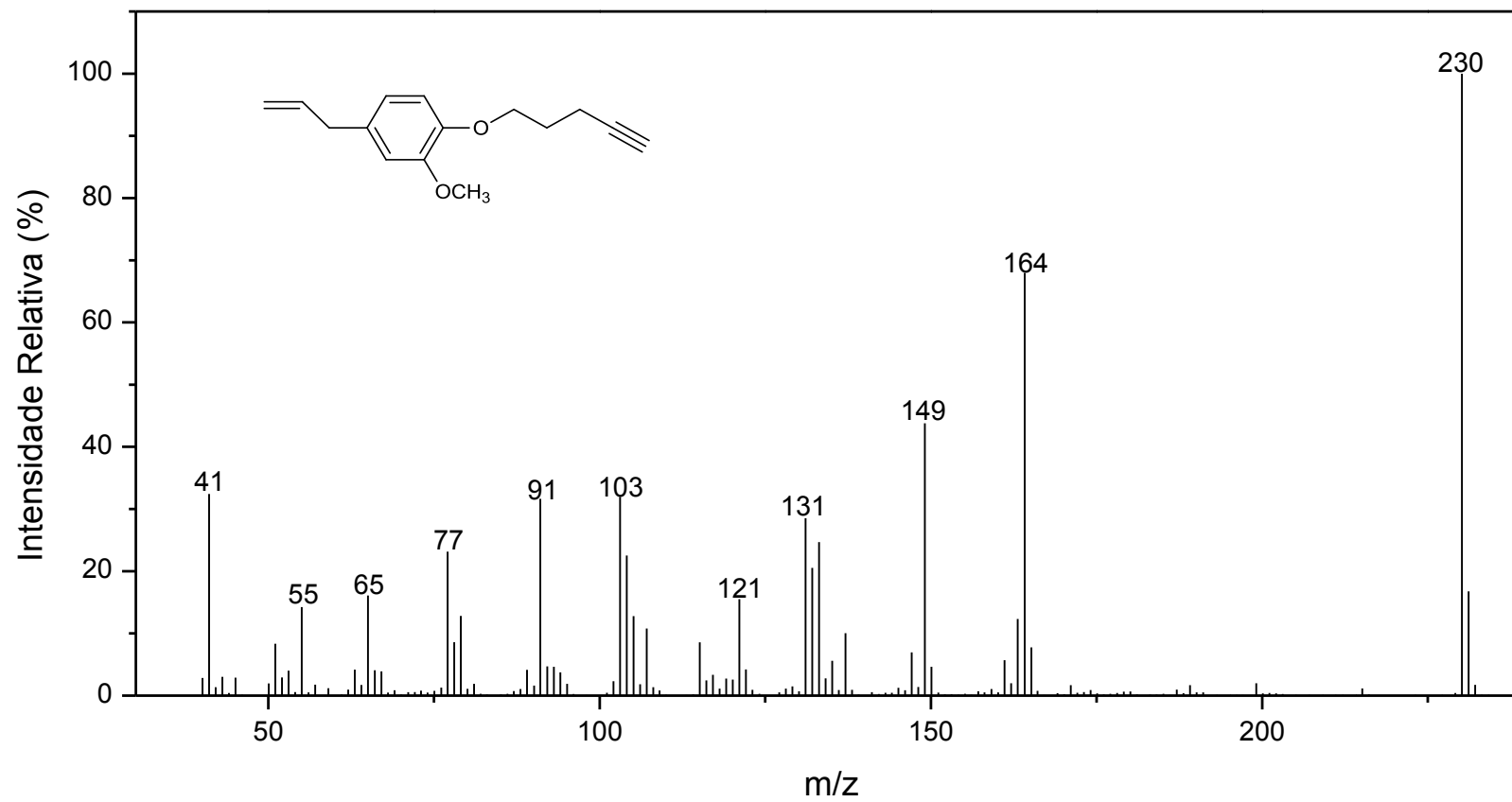


Figura 17 - Espectro de massas do composto 4.

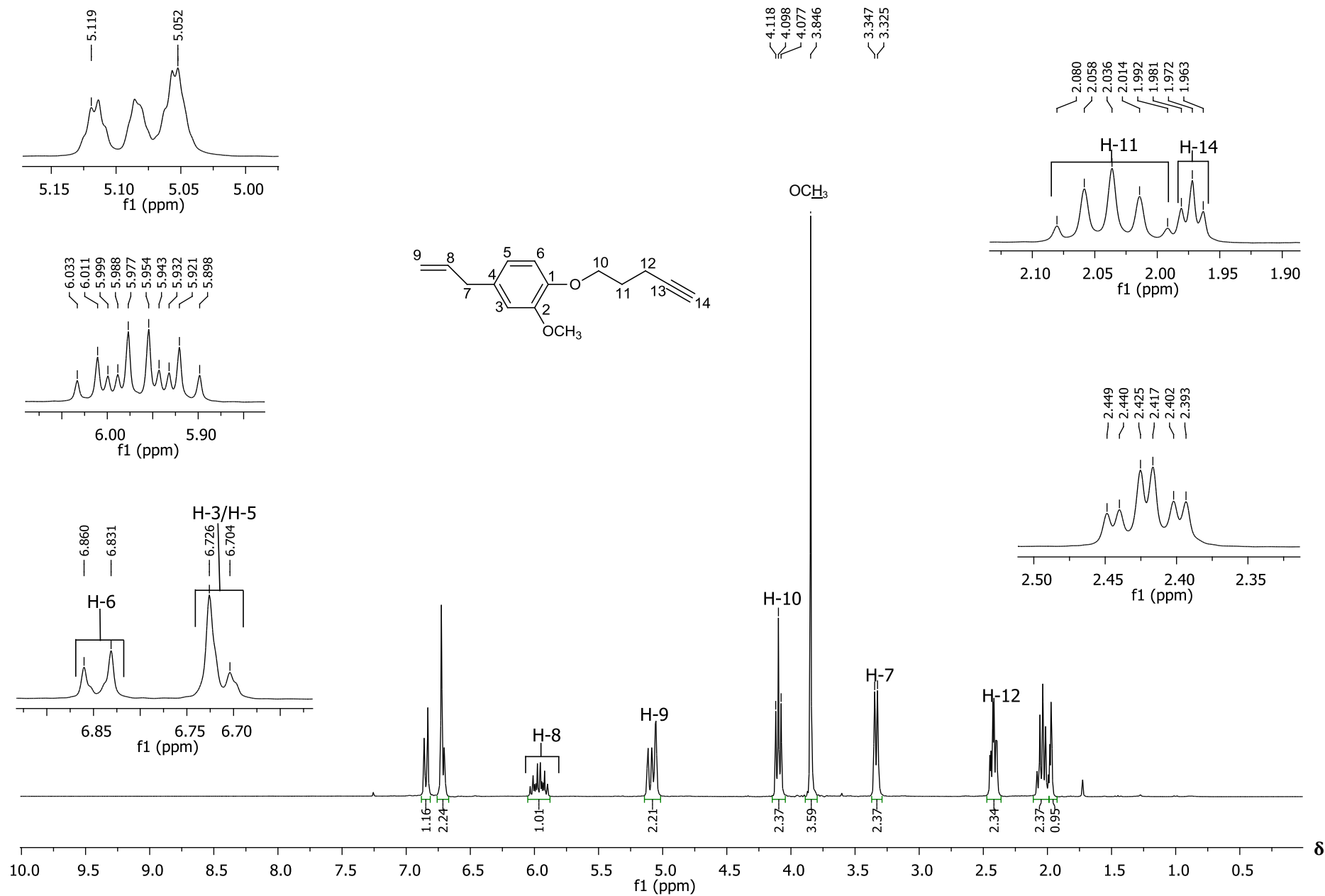


Figura 18 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto 4.

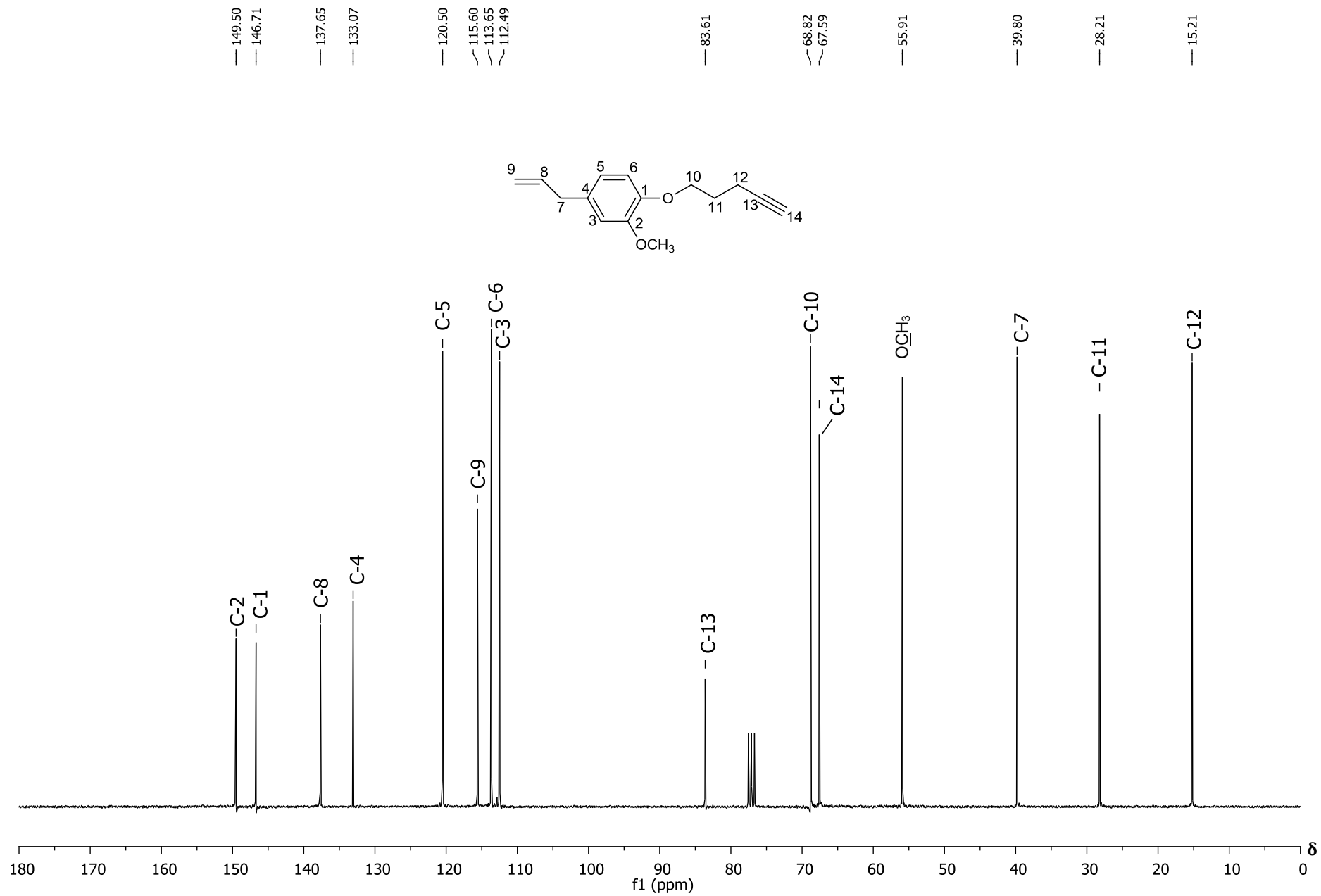
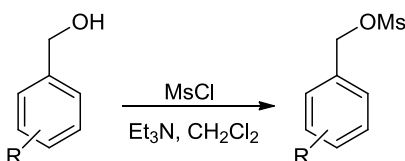


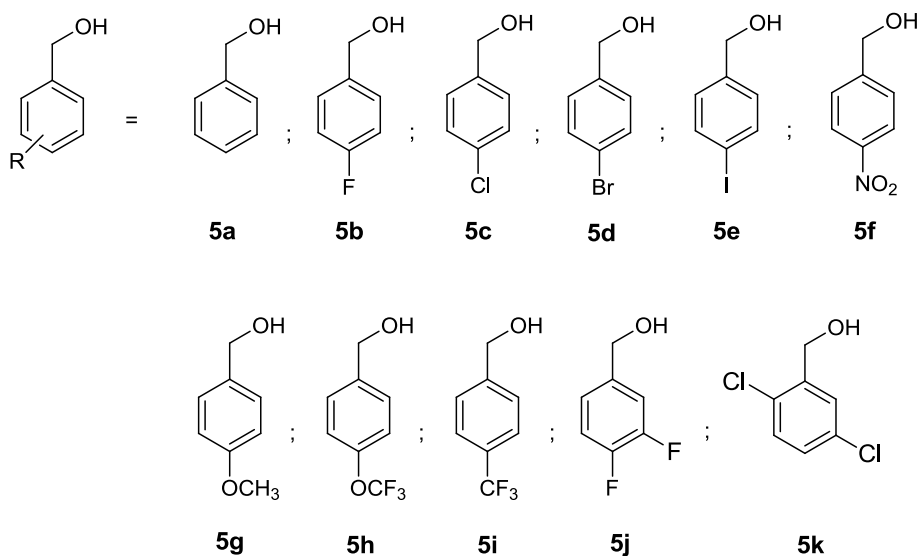
Figura 19 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 4.

Conforme mostrado no Esquema 4 pg.21, os derivados **8** e **9** foram preparados via reação click entre os compostos **2** e **4** e diferentes azidas benzílicas. As azidas aromáticas foram sintetizadas em duas etapas conforme a metodologia descrita por BORGATI (2012).

Na primeira etapa os álcoois benzílicos disponíveis comercialmente foram convertidos nos correspondentes ésteres sulfonatos. Esta reação corresponde a uma das estratégias mais utilizadas para transformar um álcool em um melhor reagente para uma reação do tipo S_N2, uma vez que o éster sulfonato formado possui um melhor grupo abandonador, neste caso o grupo mesila (CLAYDEN *et al.*, 2001). A reação de preparação das azidas está representada no Esquema 6.



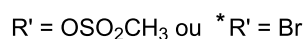
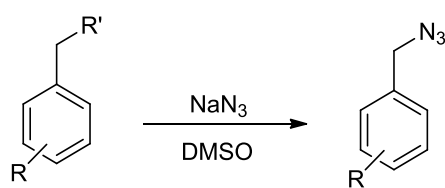
Onde: Ms = SO₂CH₃



Esquema 6 - Reação geral de obtenção dos ésteres sulfonatos **6a-6k**.

Na Figura 6, pg.32, encontra-se representadas as estruturas dos ésteres sulfonatos **6a-6k** sintetizados e os correspondentes rendimentos obtidos.

A segunda etapa para a obtenção das azidas aromáticas consistiu na substituição do grupo mesila dos compostos **6a-6k** descritos anteriormente ou do bromo dos brometos de benzila disponíveis comercialmente, pelo grupo azida, em uma reação de substituição nucleofílica bimolecular conforme representado no Esquema 7.

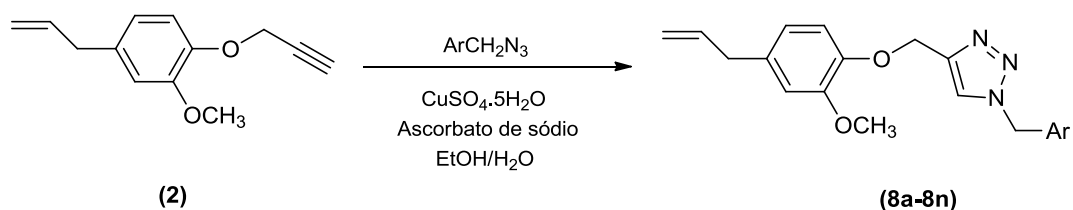


Esquema 7 - Reação geral de obtenção das azidas.

Os ésteres sulfonatos e as azidas sintetizadas conforme apresentado nos Esquemas 6 e 7 (pg.96 e 97), foram caracterizados por técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e ^{13}C . A descrição dos dados espectroscópicos destas substâncias se encontra nas seções 2.3.3 e 2.3.4 (pg.31 e 39) e os espectros referentes são apresentados no anexo (Figuras 3 a 51, p. 157 a 205).

Uma vez preparada as azidas aromáticas e os alquinos **2** e **4**, procedeu-se a preparação dos compostos triazólicos derivados do eugenol (**1**).

Os compostos triazólicos **8a-8n** foram sintetizados via reação “click” a partir do composto alquilado **2** e das azidas aromáticas **7a-7n**. No Esquema 8 (pg.98), encontra-se representada a reação CuAAC utilizada para a síntese dos compostos **8a-8n**.



Ar = diferentes grupos aromáticos

Esquema 8 - Reação CuAAC utilizada para a obtenção dos compostos triazólicos **8a-8n**.

No espectro de RMN de ¹H do composto **8g** (Figura 21, pg.101) o duplete observado em δ_H 3,31 e integrado para dois átomos de hidrogênio foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H-7. Os simpletos compreendidos entre δ_H 3,80 e δ_H 3,81 foram atribuídos aos hidrogênios dos grupos metoxila, sendo o simpleto em δ_H 3,80 atribuído ao grupo (-OCH₃') e o simpleto mais desblindado em δ_H 3,81 atribuído ao grupo (-OCH₃). O multiplete observado em δ_H 5,04-5,10 e integrado para dois hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios vinila terminais H-9. Os simpleto em δ_H 5,21 e em δ_H 5,43 correspondem aos sinais referentes aos hidrogênios metilênicos H-10 e H-7', respectivamente. O maior deslocamento químico observado para os átomos H-7', pode ser explicado pelos efeitos de anisotropia dos anéis benzênico e triazólico e pela eletronegatividade do átomo de nitrogênio que retira elétrons por efeito indutivo. Além disso, uma análise que pode levar a essa conclusão é a inexistência deste simpleto no espectro de RMN de ¹H do composto **2** (Figura 14, pg.88), que corresponde à molécula precursora da substância **8g**. O sinal observado em δ_H 5,94 com atribuição (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,9$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz e J_3

= 6,7 Hz, H-8) é referente ao hidrogênio H-8 da ligação dupla. Na região de deslocamento químico característica de hidrogênios aromáticos observa-se o multiplete em δ_H 6,67-6,70 atribuído aos hidrogênios H-3 e H-5; o duplete em δ_H 6,88 possuindo $J = 8,6$ Hz e atribuído aos hidrogênios H-3' e H-5'; o duplete em δ_H 6,94 e integrado pra um átomo de hidrogênio atribuído ao H-6; o duplete em δ_H 7,21 com $J = 8,6$ Hz atribuído aos hidrogênios H-2' e H-6'. A maior blindagem observada para o sinal atribuído aos hidrogênios H-3' e H-5' pode ser justificada pela proximidade destes prótons ao grupo doador de elétrons metoxila, o qual aumenta a densidade eletrônica nas posições *orto* devido à deslocalização de elétrons. Já os valores idênticos de constantes de acoplamento $J = 8,6$ Hz, confirmam o acoplamento em *orto* do hidrogênio H-2' com H-3' e do hidrogênio H-5' com H-6'. O simpleto observado em δ_H 7,51 e atribuído ao hidrogênio H-12, corresponde ao sinal mais desblindado devido ao efeito de anisotropia do anel triazólico e ao efeito retirador de elétrons por efeito indutivo do átomo de nitrogênio.

No espectro de RMN de ^{13}C da substância **8g** (Figura 22, pg.102) o sinal observado em δ_C 53,7 foi atribuído ao carbono metilênico C-7'. Observam-se ainda os sinais em: δ_C 55,3 atribuído ao carbono do grupo metoxila (OCH_3); δ_C 159,9 atribuído ao carbono C-4'; δ_C 114,4 atribuído aos carbonos C-3'/C-5'; δ_C 129,7 atribuído aos carbonos C-2'/C-6'. Estes valores de deslocamento químico estão em total acordo com valores descritos na literatura e apresentados na Figura 20 pg.100 (FRESENIUS *et al.*, 1989).

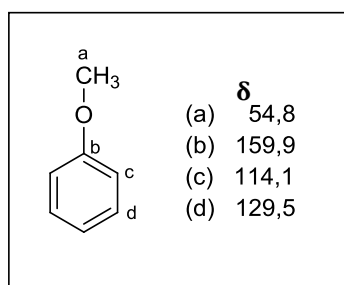


Figura 20 - Valores descritos de deslocamento químico para os átomos de carbono do anisol (FRESENIUS *et al.*, 1989).

O sinal observado em δ_C 126,4 foi atribuído ao carbono C-1'. Os carbonos do anel triazólico foram observados em δ_C 122,5 e δ_C 144,7 e atribuídos aos carbonos C-12 e C-11 respectivamente. O maior deslocamento químico observado para o carbono C-11 é justificado pelo efeito de anisotropia do anel triazólico e pelo efeito retirador de elétrons do grupo éter próximo a ele. Os outros sinais foram atribuídos conforme os sinais apresentados no espectro da molécula precursora **2** (Figura 16 pg.90).

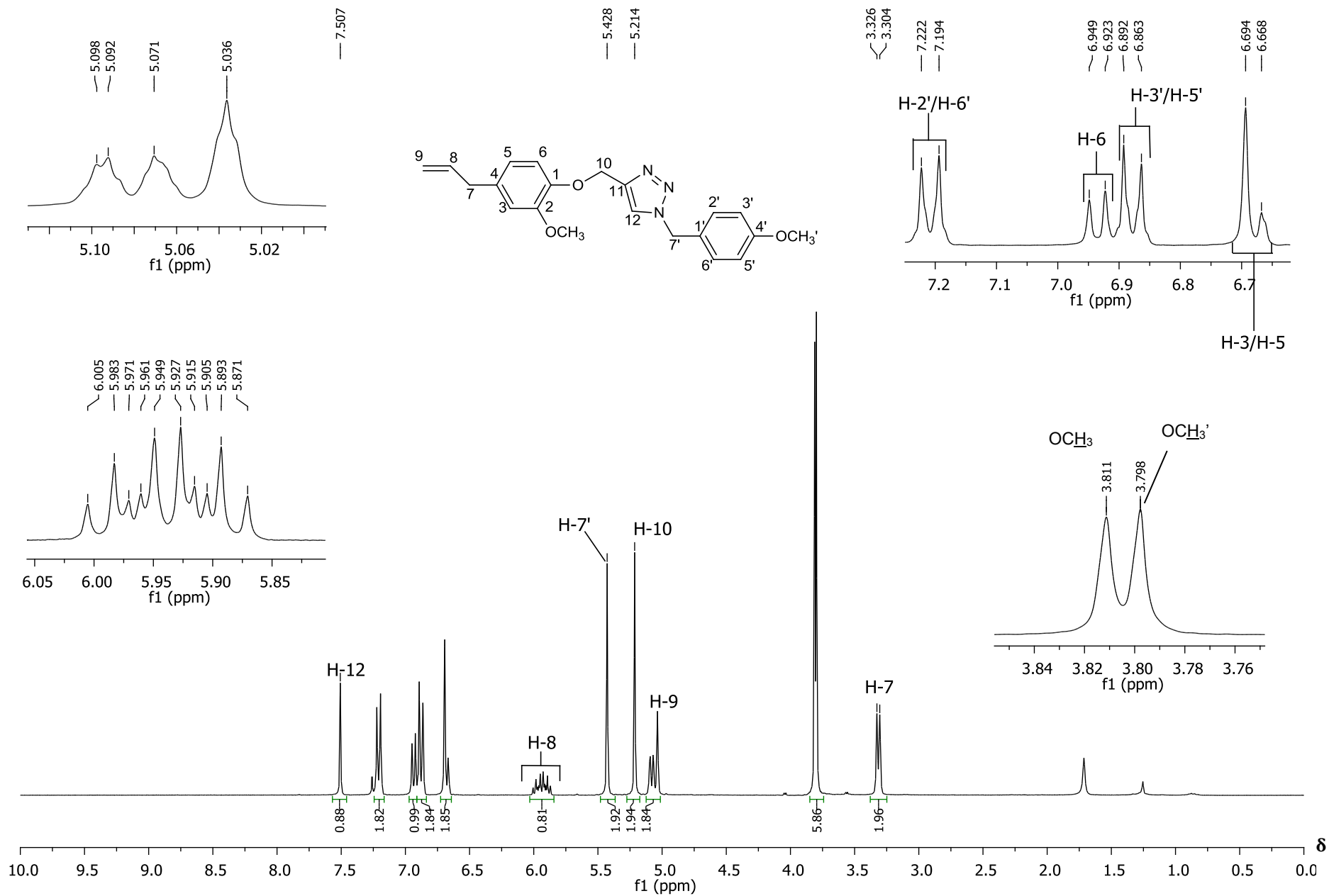


Figura 21 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **8g**.

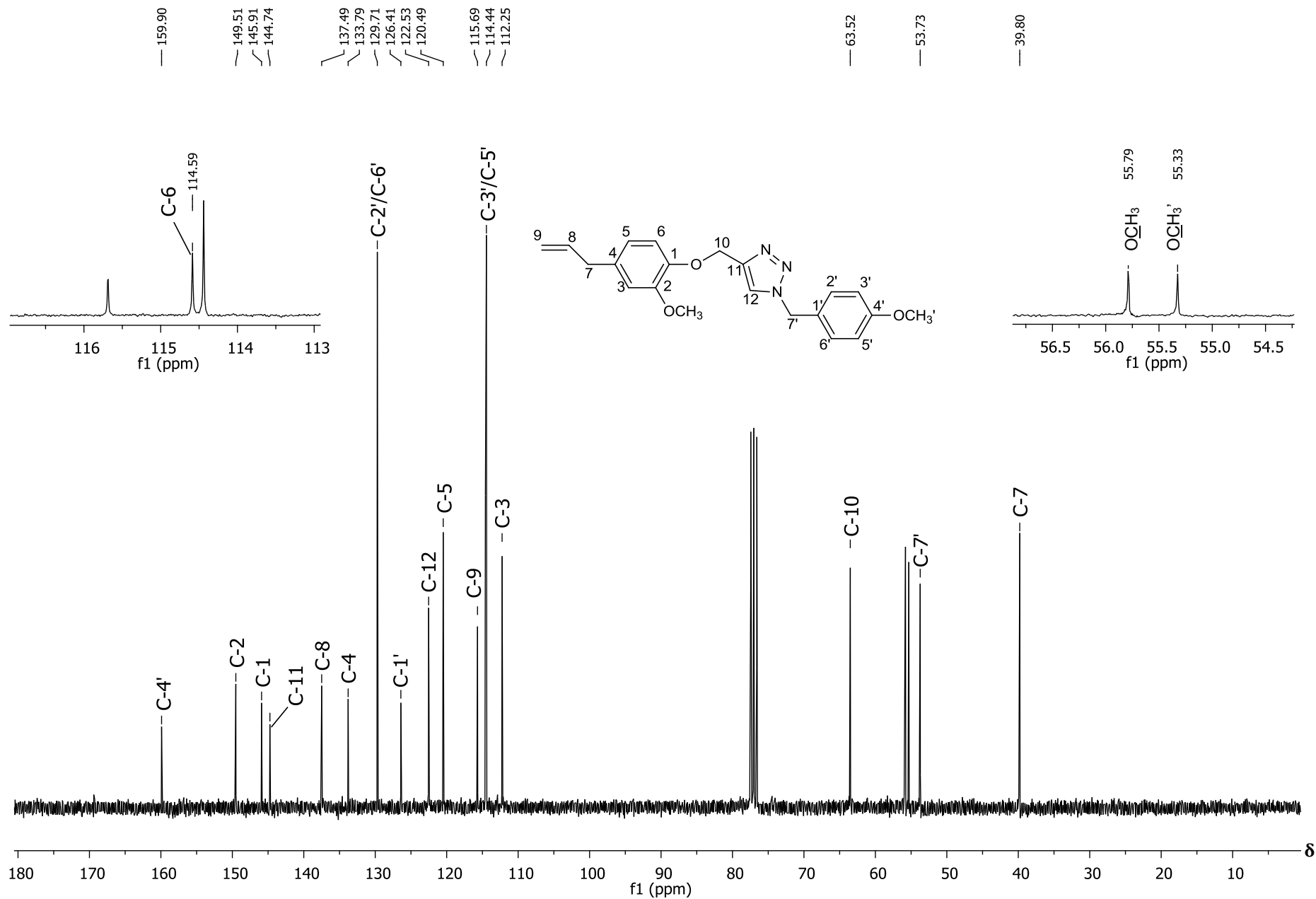
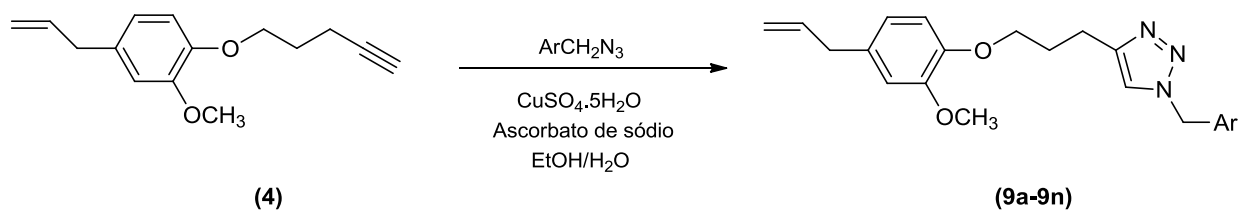


Figura 22 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8g**.

A fim de avaliar a influência do tamanho da cadeia do alcino nas atividades biológicas do produto final, os compostos triazólicos **9a-9n** foram obtidos de forma análoga a síntese do compostos **8a-8n**. No Esquema 9, está representada a reação utilizada para a preparação destas substâncias.



Ar = diferentes grupos aromáticos

Esquema 9 - Reação CuAAC utilizada para a obtenção dos compostos triazólicos **9a-9n**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **9i** (Figura 24 pg.105) os singletos observados em δ_{H} 5,54 e δ_{H} 7,28 e os dupletos em δ_{H} 7,32 e δ_{H} 7,61, ausentes no espectro de RMN de ^1H da molécula precursora **4** (Figura 18 pg.94), confirmaram a obtenção desta substância. Assim, o simpleto observado em δ_{H} 5,54 foi atribuído ao hidrogênio H-7', o simpleto mais desblindado em δ_{H} 7,28 foi atribuído ao hidrogênio H-14. O duplete observado em δ_{H} 7,32 com constante de acoplamento $J = 8,1$ foi atribuído aos prótons H-2' e H-6'; já o duplete em δ_{H} 7,61 apresentou constante de acoplamento $J = 8,1$ Hz e foi atribuído aos hidrogênios H-3' e H-5'. Os valores de constantes de acoplamento $J = 8,1$ Hz confirmam o acoplamento em *orto* de H-2' com H-3' e do hidrogênio H-5' com H-6'. O maior valor de deslocamento químico observado para o duplete referente aos hidrogênios H-3' e H-5' é justificado

pela presença do grupo trifluorometila, o qual promove a diminuição da densidade eletrônica ao redor das posições *orto* devido ao efeito indutivo retirador de elétrons.

No espectro de RMN de ^{13}C da substância **9i** (Figura 25, pg.106) observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura deste composto. Além disso, os sinais em δ_{C} 123,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,8$ Hz; CF_3); 126,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,8$ Hz; C-3'/C-5') e 130,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,5$ Hz; C-4',) apresentaram-se como quartetos devido ao acoplamento desses carbonos com os átomos de flúor do grupo trifluorometila (CF_3). As constantes de acoplamento ($J_{\text{C-F}}$) estão em acordo com valores descritos na literatura e apresentados na Figura 23 (FRESENIUS *et al.*, 1989).

	$J_{\text{C-F}}$
a	271,1 Hz
b	32,3 Hz
c	3,9 Hz
d	1,3 Hz
e	~ 0 Hz

Figura 23 - Valores descritos de constantes de acoplamento ^{19}F - ^{13}C (FRESENIUS *et al.*, 1989).

Os sinais para os átomos de carbono C-2'/C-6' e C-1' não foram observados como quartetos uma vez que, conforme mostrado na Figura 23, os valores das constantes para o acoplamento desses carbonos com o grupo CF_3 são pequenos. Devido à similaridade entre os espectros dos compostos triazólicos, os outros sinais foram atribuídos de forma análoga ao espectro de RMN de ^{13}C do composto **8g** (Figura 22 pg.102) e por isso não serão discutidos.

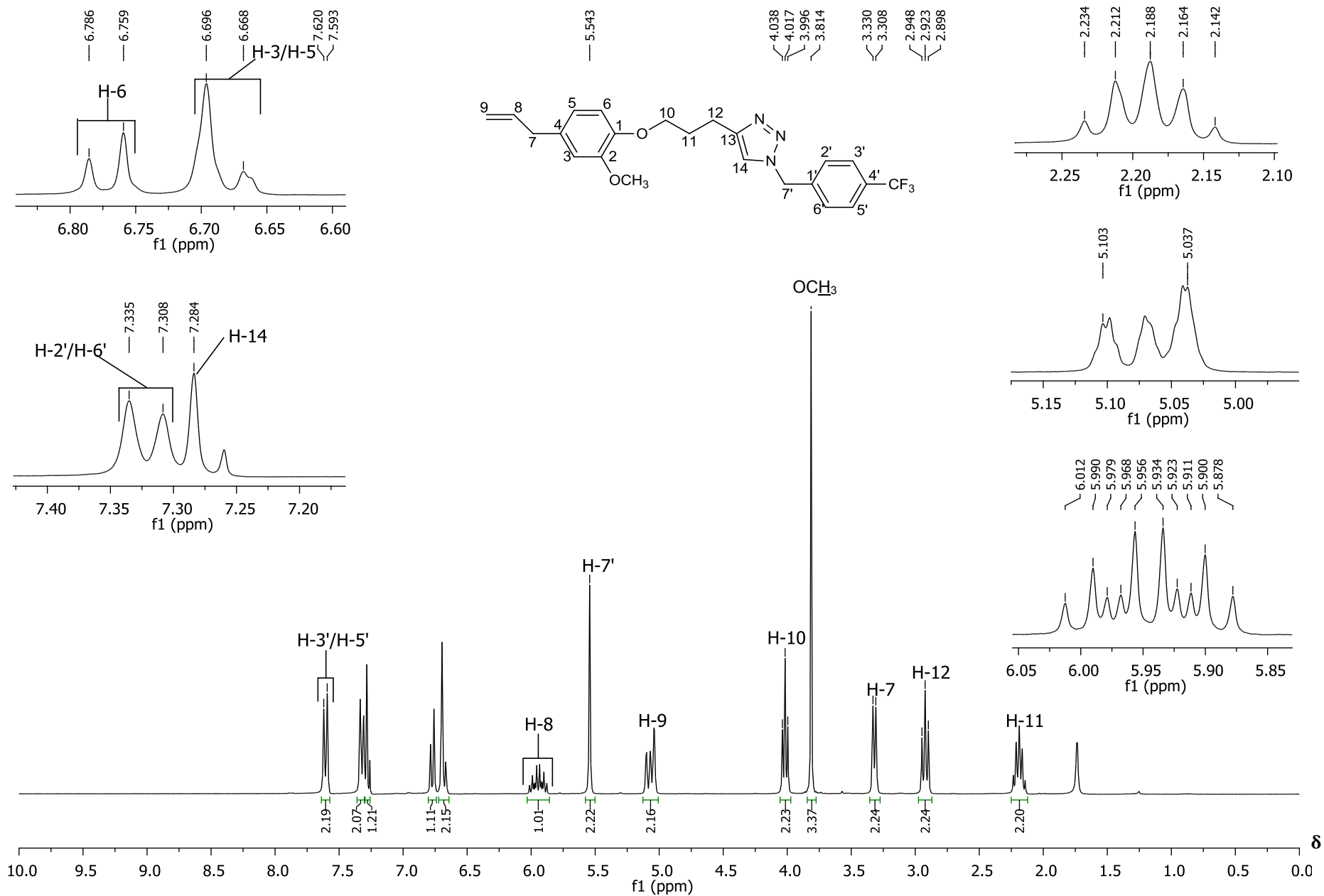


Figura 24 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9i**.

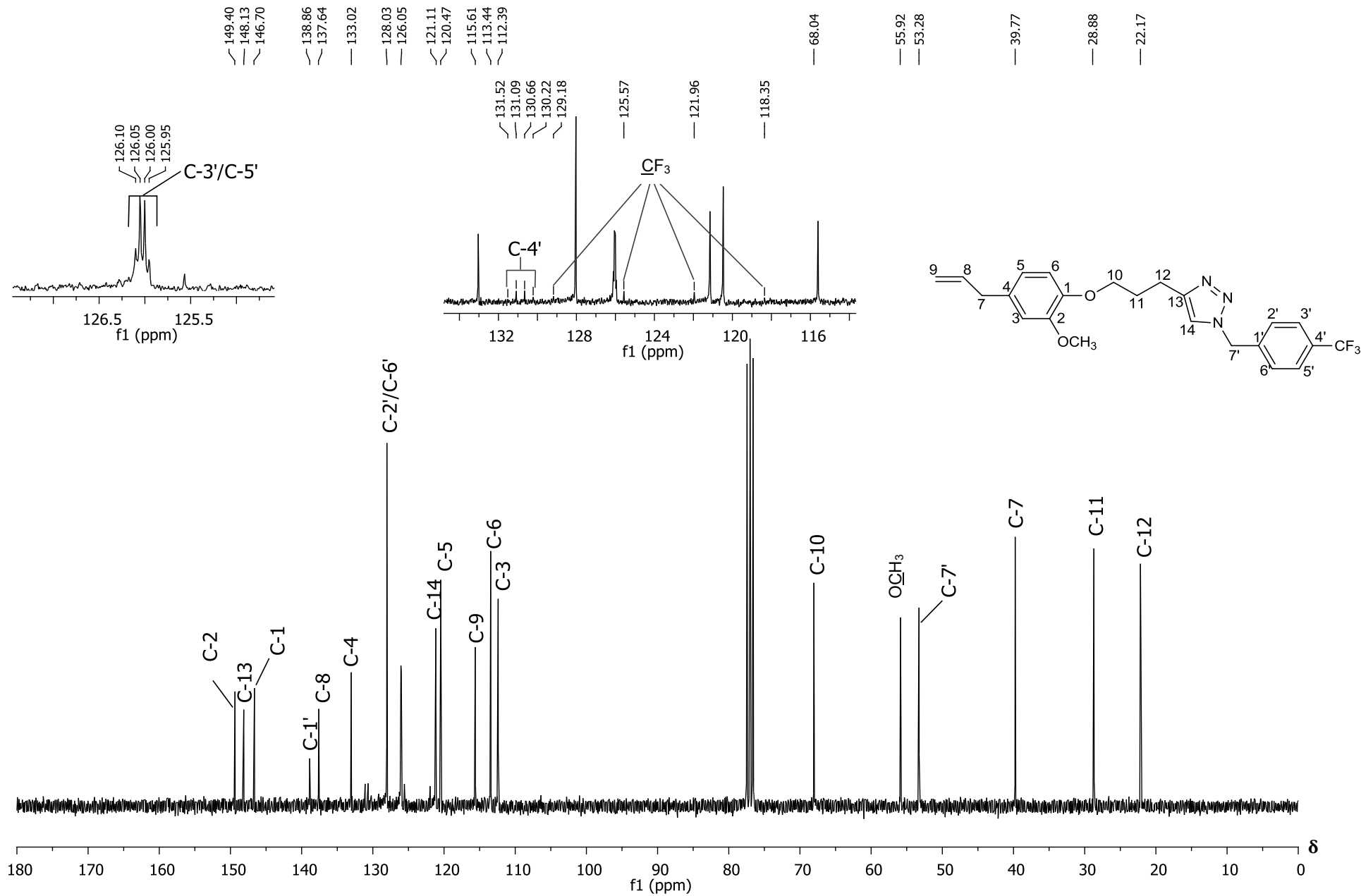


Figura 25 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **9i**.

Conforme já mencionado na introdução deste capítulo, a principal contribuição para o aprimoramento da ciclo-adição 1,3-dipolar de Huisgen foi a descoberta de que o metal cobre atua como catalisador deste processo. Desde então, além da elevada regioselectividade, formando exclusivamente o isômero 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído, várias vantagens podem ser destacadas para a reação de cicloadição entre um alcino e uma azida catalisada por cobre (CuAAC). Uma das vantagens que esta reação apresenta é a robustez em relação aos grupos funcionais presentes nos reagentes, já que a reação “click” não é influenciada pelos efeitos eletrônicos ou estéricos dos substituintes presentes nesses compostos. Outro ponto a ser considerado é o acentuado aumento da velocidade reacional, por um fator de 10^7 , em relação à reação não catalisada (WU e FOKIN, 2007). Apesar do Cu(I) ser a espécie envolvida no processo catalisado, as fontes de cobre podem variar entre Cu(I) e Cu(II). A desvantagem da escolha do Cu(I) como catalisador é sua instabilidade sob condições aeróbias, o qual pode ser oxidado para Cu(II) e/ou sofrer desproporcionamento para cobre metálico e Cu(II) no decorrer da reação. Para prevenir a oxidação desta espécie, as reações são realizadas sob condições anaeróbias e anidras ou utilizam-se ligantes estabilizantes como o *tris*-benziltriazolilmetilamina (TBTA) (CHAN *et al.*, 2004). Uma alternativa que se tornou muito prática e comum para a reação “click” é a utilização de sais estáveis de Cu(II), como o sulfato pentaidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), na presença de um agente redutor fraco como o ascorbato de sódio. Essa metodologia permite que a reação sofra menor interferência do oxigênio atmosférico e não requer a necessidade de utilização de ligantes ou aditivos. A presença do ascorbato de sódio se faz essencial, pois garante que qualquer cobre oxidado

seja convertido em espécies de cobre cataliticamente ativas, ou seja espécies de cobre que apresentem estado de oxidação +1. A utilização da água como solvente também apresenta vantagens e se torna fundamental para esta reação, pois além de se ser um solvente benigno, universal, que dissolve os sais inorgânicos de Cu(II) e o ascorbato de sódio, é capaz de preservar o acetilato de cobre em seu estado reativo quando o mesmo é formado *in situ* (HEIN e FOKIN, 2010).

A investigação mecanística para reações que envolvem cobre como catalisador é particularmente dificultada devido ao elevado potencial de oxidação, tendência de formação de complexos polinucleares e à facilidade de trocas de ligantes que este metal apresenta. Apesar dessas complicações, a catálise de cobre tem sido empregada com sucesso em uma variedade de métodos, incluindo mais recentemente, as reações “click”. No entanto, devido aos desafios mencionados anteriormente, várias propostas mecanísticas já foram relatadas para essa reação, mas em nenhuma delas há um mecanismo totalmente elucidado. O mecanismo atualmente aceito para a reação CuAAC foi proposto por WORRELL e colaboradores (2013) e foi corroborado por estudos teóricos anteriormente estabelecidos. A partir de experimentos simples e dedutivos, os pesquisadores propuseram um mecanismo que necessita de dois átomos de cobre equivalentes dentro do complexo ativo da cicloadição, que atuam em conjunto para a formação regioselectiva de 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído. Na Figura 26 pg.109, temos a representação do ciclo catalítico da proposta mecanística atualmente aceita.

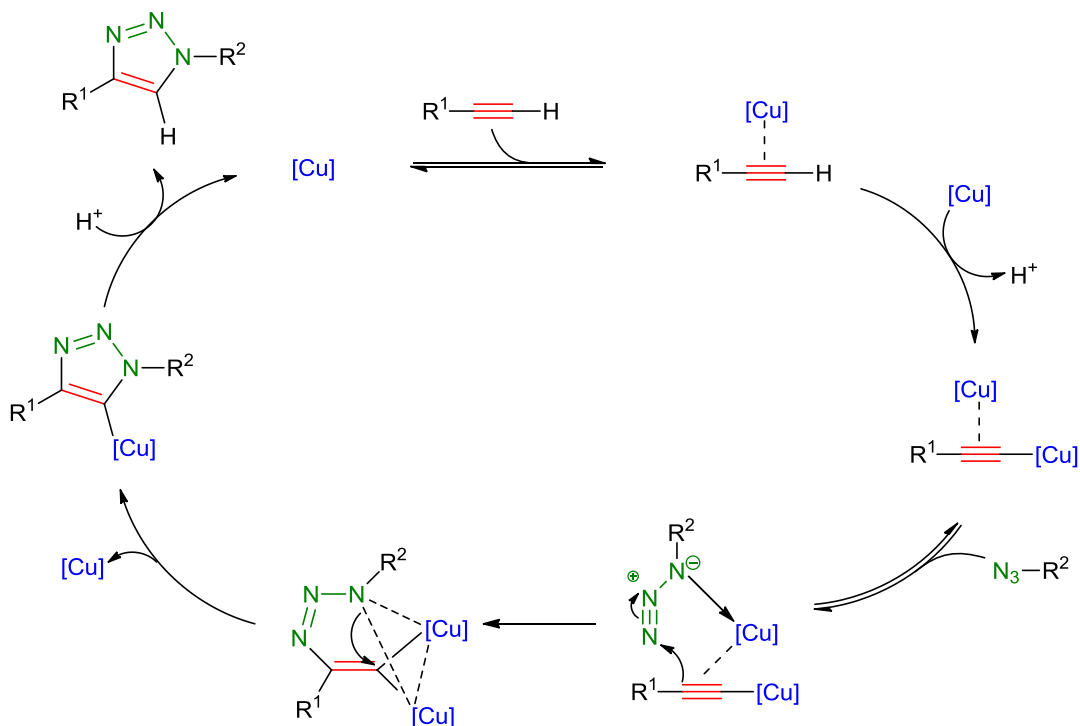


Figura 26. Proposta de ciclo catalítico para a reação CuAAC.

A primeira etapa do ciclo catalítico consiste na complexação entre a primeira espécie de Cu(I) e o alcino terminal. Com a formação deste complexo, o pKa do alcino terminal reduz para 9,8 o que possibilita a sua desprotonação em meio aquoso e a sua complexação com a segunda espécie de Cu(I), levando assim a formação do complexo acetilato de cobre. Na etapa subsequente, o acetilato de cobre se complexa com a azida gerando o complexo azida-acetilato. Neste intermediário, o cobre tem um efeito sinérgico pois torna o nitrogênio terminal da azida mais eletrofílico e o carbono β -vinilidênico do alcino mais nucleofílico, o que favorece a formação do intermediário cíclico denominado metalociclo. Esta etapa é endotérmica e define a regioseletividade da reação, pois possui energia de ativação de 15 kcal mol⁻¹ que é menor que a energia de ativação para a reação não catalisada,

26 kcal mol⁻¹. Esta diferença entre as energias de ativação também explica o grande aumento de velocidade desta reação em relação à reação não catalisada (MELDAL e TORNØE, 2008). Na etapa seguinte, ocorre a contração do anel por uma associação transanular do par de elétrons não ligantes do nitrogênio terminal da azida com o orbital antiligante do carbono ligado aos átomos de cobre (FREITAS *et al.*, 2011). Tem-se assim a formação de uma ligação efetiva entre estes átomos e a obtenção do triazóila de cobre. Na última etapa do ciclo-catalítico ocorre a protonação do intermediário triazolídio levando assim à formação do produto triazol 1,4-dissubstituído e a regeneração do catalisador.

Tendo assegurado a obtenção de 27 compostos triazólicos derivados do eugenol (**1**) procedeu-se à avaliação de suas atividades citotóxicas e leishmanicida (Capítulos 3 e 4).

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHER, N. G.; PORE, V. S.; MISHRA, N. N.; KUMAR, A.; SHUKLA, P. K.; SHARMA, A.; BHAT, M. K. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 19, p. 759-763, 2009.
- ANJOS, J. V.; FILHO, R. A. W. N.; NASCIMENTO, S. C.; SRIVASTAVA, R. M.; MELO, S.J.; SINOUE, D. Synthesis and cytotoxic profile of glycosyl-triazole linked to 1,2,4-oxadiazole moiety at C5 through a straight-chain carbon

and oxygen atoms. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 44, p. 3571-3576, 2009.

BAKUNOV, S. A.; BAKUNOVA, S. M.; WENZLER, T.; GHEBRU, M.; WERBOVETZ, K. A.; BRUN, R.; TIDWELL, R. R. Synthesis and antiprotozoal activity of cationic 1,4-diphenyl-1H-1,2,3-triazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 53, p. 254-272, 2010.

BOECHAT, N.; FERREIRA, V. F.; FERREIRA, S. B.; FERREIRA, M. L. G.; SILVA, F. C.; BASTOS, M. M.; COSTA, M. S.; LOURENÇO, M. C. S.; PINTO, A. C.; KRETTLI, A. U.; AGUIAR, A. C.; TEIXEIRA, B. M.; SILVA, N. V.; MARTINS, P. R. C.; BEZERRA, F. A. F. M.; CAMILO, A. L. S.; SILVA, G. P.; COSTA, C. C. P. Novel 1,2,3-triazole derivatives for use against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) strain. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 54, p. 5988-5999, 2011.

BORGATI, T. F. Síntese e avaliação da atividade herbicida de triazóis. Tese (Doutorado em Ciências – Química) – Departamento de Química do Instituto Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

CAFICI, L.; PIRALI, T.; CONDORELLI, F.; GROSSO, E. D.; MASSAROTTI, A.; SORBA, G.; CANONICO, P. L.; TRON, G. C.; GENAZZANI, A. A. Solution-phase parallel synthesis and biological evaluation of combretatriazoles. *Journal of Combinatorial Chemistry*, v. 10, p. 732-740, 2008.

CARVALHO, I.; ANDRADE, P.; CAMPO, V. L.; GUEDES, P. M. M.; SESTI-COSTA, R.; SILVA, J. S.; SCHENKMAN, S.; DEDOLA, S.; HILL, L.; REJZEK, M.; NEPOGODIEV, S. A.; FIELD, R. A. 'Click chemistry' synthesis of a library of 1,2,3-triazolesubstitutedgalactose derivatives and their

- evaluation against *Trypanosoma cruzi* and its cell surface trans-sialidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 18, p. 2412-2427, 2010.
- CHAN, T. R.; HILGRAF, R.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V. Polytriazoles as Copper(I)-Stabilizing Ligands in Catalysis. *Organic Letters*, v. 6, p. 2853-2855, 2004.
- CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic Chemistry*. Oxford University Press: United Kingdom, 2001b.
- CORTEZ, D. A. G.; CORTEZ, L. E. R.; PESSINI, G. L.; DORO, D. L.; NAKAMURA, C. V. Análise do óleo essencial da alfavaca *Ocimum gratissimum* L. (LABIATAE). *Revista Arquivos de Ciências da Saúde*, v. 2, p. 125, 1998.
- FERREIRA, S. B.; COSTA, M. S.; BOECHAT, N.; BEZERRA, R. J. S.; GENESTRA, M. S.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; KOVER, W. B.; FERREIRA, V. F. Synthesis and evaluation of new difluoromethyl azoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, v. 42, p. 1388-1395.
- FREITAS, R. P.; FREITAS, L. B. O.; RUELA, F.A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B. A reação "click" na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. *Química Nova*, v. 34, p. 1791-1804, 2011.
- FRESENIUS, W., HUBER, J. F. K.; PUNGOR, E.; RECHNITZ, G. A.; SIMON, W.; WEST, TH. S.; Eds. *Tables of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds - ¹³C-NMR, ¹H-NMR, IR, MS, UV/VIS*, Springer-Verlag, 1989.

- GALLARDO, H.; CONTE, G.; BRYK, F.; LOURENÇO, M. C. S.; COSTA, M. S.; FERREIRA, V. F. Synthesis and evaluation of 1-alkyl-4-phenyl-[1,2,3]-triazole derivatives as antimycobacterial agent. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 18, p. 1285-1291, 2007.
- GUANTAI, E. M.; NCOKAZI, K.; EGAN, T. J.; Gut, J.; ROSENTHAL, P. J.; SMITH, P. J.; CHIBALE, K. Design, synthesis and in vitro antimalarial evaluation of triazolelinked chalcone and dienone hybrid compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 18, p. 8243-8256, 2010.
- GUIMARÃES, P. I. C.; OLIVEIRA, R. E. C.; ABREU, R. G. Extrairdo óleos essenciais de plantas. *Química Nova na Escola*, v. 11, p. 45-46, 2000.
- GROUTAS, W. C.; TIEW, K.C.; DOU, D.; TERAMOTO, T.; LAI, H.; ALLISTON, K. R.; LUSHINGTON, G. H.; PADMANABHAN, R. Inhibition of Dengue virus and West Nile virus proteases by click chemistry-derived benz[d]isothiazol-3(2H)-one derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 20, p. 1213-1221, 2012.
- HEIN, J. E.; FOKIN, V.V.; Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides. *Chemistry Society Review*, v. 39, p. 1302–1315, 2010.
- KAMAL, A.; SHANKARAIHAH, N.; DEVAIAH, V.; REDDY, K.L.; JUVEKAR, A.; SEN, S.; KURIAN, N.; ZINGDE, S. Synthesis of 1,2,3-triazole-linked pyrrolobenzodiazepineconjugates employing ‘click’ chemistry: DNA-binding affinity and anticancer activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 18, p. 1468-1473, 2008.

- MANETSCH, R.; KRASINSKI, A.; RADIC, Z.; RAUSHEL, J.; Taylor, P.; SHARPLESS, K. B.; KOLB, H. C. In Situ Click Chemistry: Enzyme Inhibitors Made to Their Own Specifications. *Journal of the America Chemical Society*, v. 126, p. 12809-12818, 2004.
- MELDAL, M.; TORNØE, C. W. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chemical Review*, v. 108, p. 2952–3015, 2008.
- MELO, J. O. F.; DONNICI, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G.; CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. *Química Nova*, v. 29, p. 569-579, 2006.
- MOSES, J. E.; MOORHOUSE, A. D. The growing applications of “click” chemistry. *Chemistry Society Review*, v. 36, p. 1249-1262, 2007.
- OLIVEIRA, R. A; REIS, T. V; SACRAMENTO, C.K; DUARTE, L. P. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2009.
- PAVIA, D. L. LAMPMAN, G. M. KRIZ, G. S. VYVYAN, J. R. Introdução a espectroscopia. 4ª ed. São Paulo: Editora Cengage Learning, 2010.
- PHOLSHETTIWAR, V.; VARMA, R. S. Greener and expeditious synthesis of bioactive heterocycles using microwave irradiation. *Pure and Applied Chemistry*, v. 80, p. 777-790, 2008.
- PORE, V.S.; AHER, N.G.; KUMAR, M.; SHUKLA, P.K. Design and synthesis of fluconazole/bile acid conjugate using click reaction. *Tetrahedron*, v. 62, p. 11178-11186, 2006.

- PORTA, E. O. J.; CARVALHO, P. B.; AVERY, M. A.; TEKWANI, B. L.; LABADIE, G. R. Click chemistry decoration of amino sterols as promising strategy to developed new leishmanicidal drugs. *Steroids*, v. 79, p. 28–36, 2014.
- RABÊLO, W.F. Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*). Dissertação (Mestrado – Química Analítica), Universidade Federal do Maranhão, 2010.
- SANTOS, A. C. A.; SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. Estudos de processos de extração de óleos essenciais e bioflavonóides de frutas cítricas. Caxias do Sul: EDUCS. v. 1, p.112, 2003.
- SHARPLESS, K. B.; FINN, M. G.; KOLB, H. C. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 40, p. 2004-2021, 2001.
- SILVA JR., E. N.; BARRETO, R.F.S.M.; PINTO, M.C.F.R.; SILVA, R.S.F.; TEIXEIRA, D.V.; SOUZA, M.C.B.V.; SIMONE, C.A.; CASTRO, S. L.; FERREIRA, V.F.; PINTO, A.V. Naphthoquinoidal [1,2,3]-triazole, a new structural moiety active against *Trypanosoma cruzi*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 43, p. 1774-1780, 2008.
- STEFAN BERGER; DIETER SICKER. Classics in Spectroscopy – Isolation and Structure Elucidation of Natural Products. Weinheim:Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. p. 143-152, 2009.

- THOMAS, K. D.; ADHIKARI, A. V.; SHETTY, N. S. Design, synthesis and antimicrobial activities of some new quinoline derivatives carrying 1,2,3-triazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 3803-3810, 2010.
- WHITING, M.; TRIPP, J. C.; LIN, Y. C.; LINDSTROM, W.; OLSON, A. J.; ELDER, J. H.; SHARPLESS, K. N.; FOKIN, V. V. Click SAR Profiling of New Inhibitors of HIV 1 Protease Enabled by the Cu(I)-Cat Syn 1,2,3-Triazole. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 49, p. 7697-7710, 2006.
- WORRELL, B.T.; MALIK, J.A.; FOKIN, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloadditions. *Science*, v. 340, p. 457-460, 2013.
- WU, P.; FOKIN, V. V. Catalytic Azide-Alkyne Cycloaddition: Reactivity and Applications. *Aldrichimica Acta*, v. 40, p. 7-17, 2007.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEOS 1,2,3- TRIAZÓLICOS

3.1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das mais antigas doenças enfrentadas pela humanidade. Ela foi diagnosticada como uma das principais causas de mortes no século XX e vem difundindo-se de forma contínua e aumentando sua incidência no século XXI (BALANCHANDRAN e GOVINDARAJA, 2005).

Sua denominação está associada a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células anormais que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Devido à rápida divisão celular, estas células podem se tornar muito agressivas e incontroláveis, determinando assim a formação de tumores ou neoplasias malignas (INCA, 2014).


A origem do câncer ocorre por condições multifatoriais externas ou internas ao organismo, que podem agir em conjunto ou em sequência para iniciar ou promover o processo de carcinogênese.

Dentre os cânceres atualmente conhecidos, 80% a 90% estão associados a fatores ambientais, sendo alguns destes bem conhecidos como, por exemplo, o cigarro que pode causar câncer de pulmão, a

exposição excessiva ao sol que pode causar câncer de pele e alguns vírus que podem causar leucemia (INCA, 2014).

Dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA) apontam que o envelhecimento da população indica um aumento na expectativa de vida no Brasil e, com isto, a maior incidência de doenças crônico-degenerativas, dentre elas o câncer, o qual se encontra como a segunda causa de morte no país e no mundo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

A estimativa para o ano de 2014, que também é validada para o ano de 2015, aponta para a ocorrência de aproximadamente 576 mil novos casos de câncer no Brasil. Em homens, os tipos mais incidentes serão os cânceres de próstata, pulmão, cólon e reto, estômago e cavidade oral; e, nas mulheres, os de mama, cólon e reto, colo do útero, pulmão e glândula tireoide (Figura 1) (INCA, 2014).

Localização primária	casos	%			Localização primária	casos	%
			Homens	Mulheres	Mama Feminina	57.120	20,8%
Próstata	68.800	22,8%			Cólon e Reto	17.530	6,4%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	16.400	5,4%			Colo do Útero	15.590	5,7%
Cólon e Reto	15.070	5,0%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.930	4,0%
Estômago	12.870	4,3%			Glândula Tireoide	8.050	2,9%
Cavidade Oral	11.280	3,7%			Estômago	7.520	2,7%
Esófago	8.010	2,6%			Corpo do Útero	5.900	2,2%
Laringe	6.870	2,3%			Ovário	5.680	2,1%
Bexiga	6.750	2,2%			Linfoma não Hodgkin	4.850	1,8%
Leucemias	5.050	1,7%			Leucemias	4.320	1,6%
Sistema Nervoso Central	4.960	1,6%					

Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE (2014). Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil.

Figura 1 - Tipos de câncer mais incidentes, projetados para 2014/2015, na população brasileira.

Investigações científicas multidisciplinares têm sido conduzidas com grandes esforços para combater esta doença. No entanto, a cura ainda não foi alcançada (BALANCHANDRAN e GOVINDARAJA, 2005). Sendo assim, os principais tipos de tratamento empregados para o câncer

baseiam-se, de forma geral, na associação da ressecção cirúrgica dos tumores ao tratamento radioterápico, e a quimioterapia (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

No que tange à quimioterapia, são utilizados compostos químicos denominados quimioterápicos que possuem como objetivo primário a destruição das células neoplásicas (células cancerígenas) e a preservação das células saudáveis (DE ARAUJO, 2012).

Dentre os diversos medicamentos quimioterápicos introduzidos nas últimas décadas, a maioria (60%), tem sua origem nos produtos naturais. Como exemplo, mencionam-se os quimioterápicos vimblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®), paclitaxel (Taxol®); podofilotoxina, etoposídeo (Etopophos®) e a camptotecina (Figura 2) (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

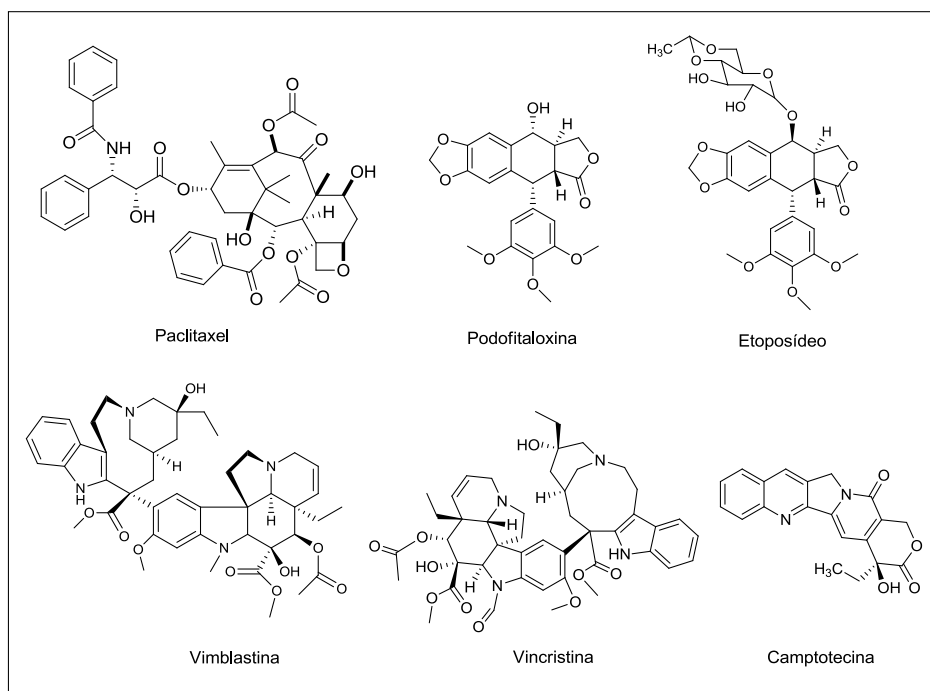


Figura 2 - Estruturas de alguns quimioterápicos originários de plantas e empregados no tratamento do câncer.

Apesar da introdução de diversos fármacos no arsenal terapêutico contra o câncer, a quimioterapia apresenta diversos problemas dentre os

quais se destacam os efeitos colaterais como diarreia, vômito, fraqueza, queda de cabelo, tonteados; e a resistência intrínseca ou adquirida de diversos tipos de câncer aos agentes quimioterápicos (HUANG *et al.*, 2003). Devido a estes fatores, a busca pelo desenvolvimento de novos quimioterápicos, mais específicos e eficientes continua sendo prioridade de investigação de diversos pesquisadores.

Conforme apresentado no Capítulo 1, várias são as atividades bioativas descritas para a molécula de eugenol (**1**) (Figura 4, pg.5), dentre elas encontram-se a atividade antiproliferativa, o mecanismo molecular de indutor de apoptose no melanoma e a ação citotóxica contra várias linhagens celulares de tumores humanos.

Yoo e colaboradores (2005) investigaram o efeito da atividade antiproliferativa de eugenol contra as linhagens de células leucêmicas U-937, HL-60, HepG2, 3LL Lewis e SNU-C5, e obtiveram valores de IC₅₀ iguais a 39,4, 23,7, 118,6, 129,4 e 89,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Estes resultados foram considerados promissores e demonstraram que o eugenol deve ser considerado uma substância de interesse investigativo para fins quimioterápicos.

Dentro deste contexto, avaliou-se o efeito citotóxico dos compostos triazólicos derivados do eugenol, **8a-8n** e **9a-9n** (Figura 4, pg.22), contra as linhagens HL60 (leucemia mieloide aguda - LMA), Nalm6 (leucemia linfóide aguda derivada de célula B) e B16F10 (melanoma murino).

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Generalidades

O ensaio de avaliação da citotoxicidade dos compostos triazólicos derivados do eugenol **8a-8n** e **9a-9** (Figura 4, pg.22) foi realizado em colaboração com o estudante de doutorado Raoni Pais Siqueira, os estudantes de graduação Victor Hugo Sousa Gonçalves e Higor Sette Pereira e o professor Dr. Gustavo Costa Bressan do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV.

As linhagens de células de leucemia utilizadas nesta investigação foram HL60 (leucemia mieloide aguda - LMA) e Nalm6 (leucemia linfóide aguda derivada de célula B). Investigou-se também a atividade citotóxica dos compostos frente à linhagem de melanoma B16F10 (melanoma murino). As linhagens leucêmicas foram cedidas pelo Laboratório de Biologia Molecular do Centro Infantil Boldrini e pelo Laboratório de Imunologia Molecular do Centro Integrado de Pesquisas Onco-hematológicas na Infância (Campinas, Brasil). Já a linhagem B16F10 foi gentilmente fornecida pela professora Dr. Anésia Aparecida dos Santos do Departamento de Biologia Geral da UFV. As células foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino (LGC Biotecnologia), 100 g/mL de estreptomicina, 100 unidades/mL de penicilina, pH 7,2, a 37 °C e sob atmosfera de 5% de CO₂. Todo o procedimento de cultivo foi realizado em condições assépticas, em capela de fluxo laminar com lâmpada ultravioleta e utilizando material estéril.

3.2.2 Ensaio de Viabilidade Celular (MTT)

As atividades citotóxicas dos compostos triazólicos foram avaliadas segundo o método MTT. Este método consiste em uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal amarelo brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) no produto de coloração azul formazan (Figura 3), pela atividade da enzima succinil desidrogenase presente na mitocôndria e no citoplasma da célula viável, permitindo dessa maneira quantificar a porcentagem de células metabolicamente ativas (BERNAS E DOBRUCKI, 2002).

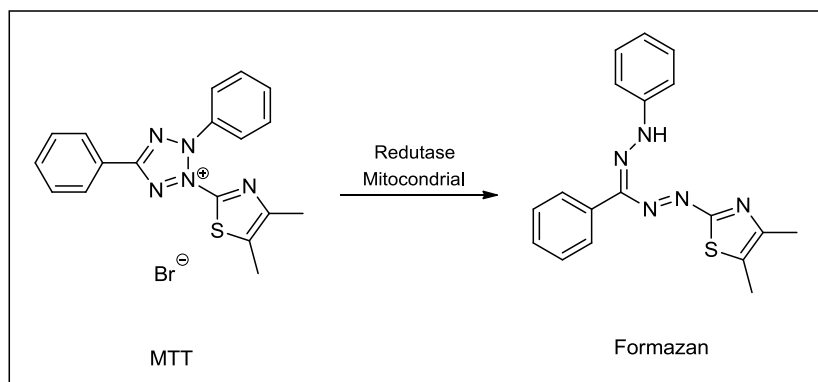


Figura 3 - Conversão do sal MTT no produto formazan.

Para realização de um *screening* prévio da citotoxicidade dos compostos triazólicos derivados do eugenol escolheu-se a linhagem HL60. As células foram cultivadas em meio RPMI 1640 completo em placa de 96 poços, a uma densidade de 50.000 células por poço. Cada poço continha 100 mL de meio de cultura e 100 μ L de diferentes concentrações de cada composto (100, 50 e 25 μ mol L⁻¹). Após 48 h de cultura, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (5 mg/mL, Sigma) foi adicionado aos poços (3 h , 37 °C).

As placas foram centrifugadas à temperatura ambiente durante 30 min a 500 g, seguida da remoção da solução de MTT e adição de 100 µL/poço de DMSO (Sigma) para solubilizar o formazan. A absorvância foi medida a 540 nm em um leitor de microplacas (Sinergia HT, Biotek). Os resultados foram normalizados considerando as culturas sem adição dos compostos que foram avaliados (0,4 % DMSO). Cada procedimento experimental foi realizado em triplicata.

Os compostos que mostraram atividade citotóxica significativa neste *screening* prévio foram, então, submetidos a ensaios para a determinação do parâmetro IC₅₀ (i.e. concentração do composto que inibe o crescimento de 50% das células). Nesta etapa utilizaram-se as linhagens HL60 e Nalm6 na densidade 50.000 células por poço, além da linhagem B16F10 na densidade 10.000 células por poço. Cada um dos compostos foi avaliado em sete concentrações diferentes (200, 150, 125, 100, 75, 50 e 25 µmol L⁻¹) e por 48 h de incubação. Os demais procedimentos foram realizados conforme descrito no parágrafo anterior. Para realização do cálculo do IC₅₀ foi utilizado o programa GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos triazólicos foram inicialmente avaliados contra a linhagem de células leucêmicas HL60. Esta linhagem foi tratada com diferentes concentrações dos compostos (100, 50 e 25 µM), por 48 horas. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados obtidos para a viabilidade celular estão apresentados na Tabela 1 (pg. 124) e no Gráfico 1 (125).

Tabela 1- Viabilidade (%) dos compostos triazólicos derivados do eugenol sobre as células leucêmicas humana da linhagem HL60, após 48 horas de exposição aos compostos (média±desvio padrão).

Composto	Concentrações dos compostos		
	25 $\mu\text{mol L}^{-1}$	50 $\mu\text{mol L}^{-1}$	100 $\mu\text{mol L}^{-1}$
8a	75,92±16,21	77,73±12,22	69,65±9,62
8b	67,98±13,09	64,12±3,08	54,89±11,22
8c	75,25±3,53	76,87±11,19	83,68±6,07
8d	75,72±1,83	81,12±2,81	82,68±9,84
8e	78,23±6,39	81,57±12,93	86,54±18,31
8f	74,31±3,11	72,03±1,53	78,63±0,40
8g	71,78±9,36	74,76±12,12	78,80±3,64
8h	86,84±16,65	76,06±6,68	73,70±16,80
8i	79,77±1,55	80,68±7,02	77,10±6,15
8j	68,30±3,52	76,56±7,11	85,27±6,59
8k	69,16±2,10	90,31±13,28	106,54±6,84
8l	75,44±0,93	69,01±1,47	71,34±3,63
8m	85,08±6,67	78,78±7,39	77,13±4,65
8n	82,38±0,52	79,88±0,07	18,93±5,30
9a	79,44±9,18	80,66±3,27	20,85±7,92
9b	84,64±11,17	81,15±7,69	38,24±4,95
9c	75,67±1,30	76,62±2,09	12,39±3,79
9d	79,77±21,94	79,58±12,48	82,13±8,98
9e	88,20±16,48	87,13±15,32	13,04±3,80
9f	74,66±5,60	81,99±3,95	39,62±5,36
9g	87,93±19,11	87,50±16,95	89,80±12,08
9h	93,03±8,93	88,54±8,41	19,88±5,20
9i	85,09±20,36	79,39±9,67	84,12±15,99
9j	76,27±7,42	70,58±5,84	77,09±3,30
9l	80,39±10,62	64,95±9,08	27,88±6,49
9m	93,92±10,74	90,74±5,61	88,74±2,32
9n	93,03±8,93	88,54±8,41	19,88±5,19

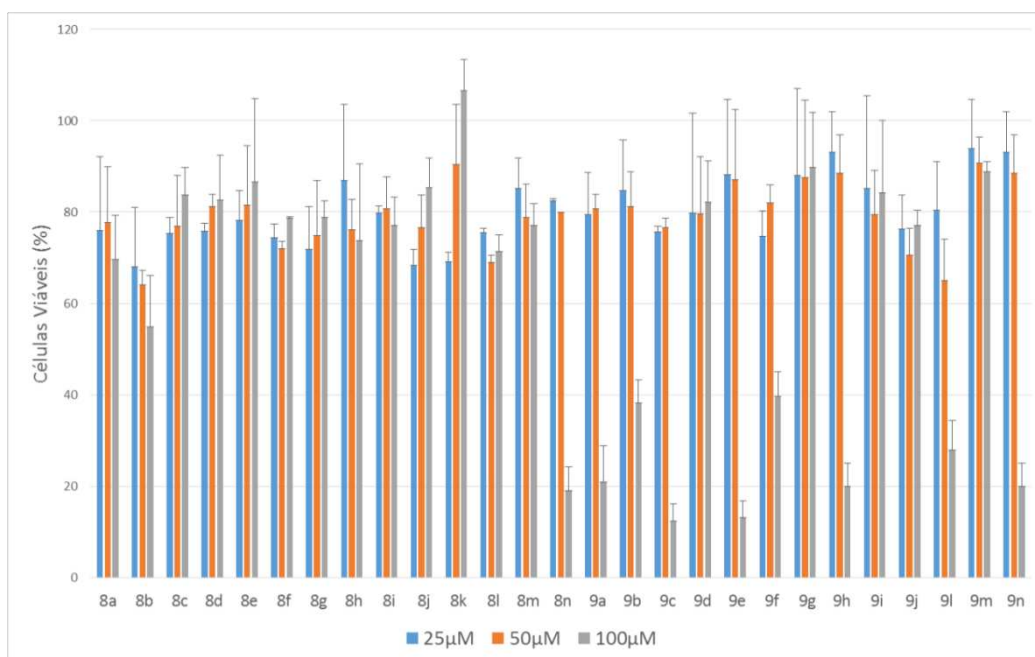


Gráfico 1 - Efeito citotóxico dos compostos triazólicos derivados do eugenol sobre a linhagem HL60.

A partir da análise dos resultados apresentados na Tabela 1 (pg.124) e no Gráfico 1 (pg.125) mostrados anteriormente, verificou-se que os compostos **8n**, **9a**, **9c**, **9e** e **9n** (Figura 4) apresentaram valores iguais ou inferiores a 20% de células viáveis para a concentração de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

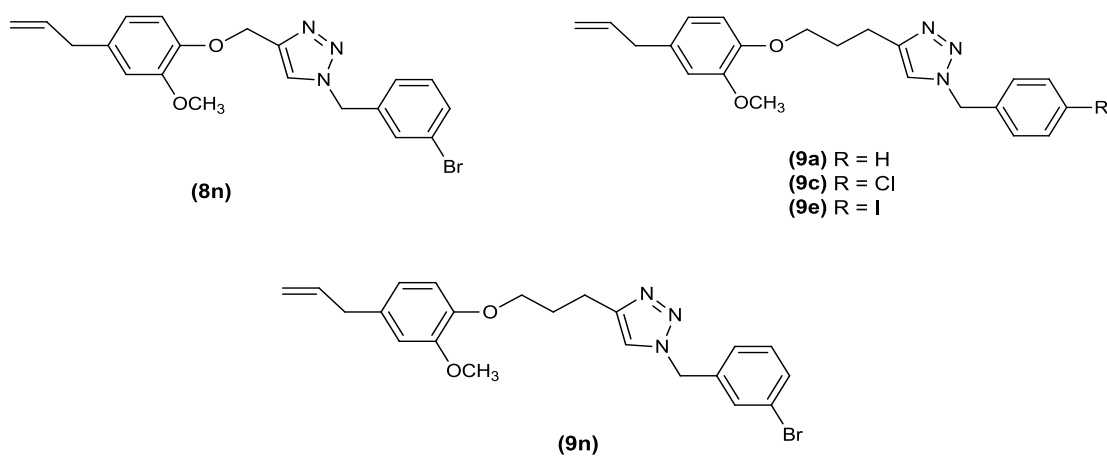


Figura 4 - Compostos triazólicos mais ativos contra a linhagem HL60 na concentração 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Devido ao efeito citotóxico mais pronunciado para estas substâncias, elas foram consideradas promissoras e tiveram suas atividades citotóxicas avaliadas contra as linhagens celulares HL60, Nalm6 e B16F10 para determinação do IC₅₀. As linhagens celulares foram tratadas com diferentes concentrações dos compostos (200, 150, 125, 100, 75, 50 e 25 µmol L⁻¹) por 48 horas e foram realizadas em triplicata. O teste realizado contra a linhagem B16F10 foi considerado inconclusivo e por este motivo não foi possível determinar os valores de IC₅₀ para os compostos investigados. Para as linhagens de célula HL60 e Nalm6 os resultados de IC₅₀ foram obtidos e estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores de IC₅₀ (µmol L⁻¹) obtidos para as linhagens de célula HL60 e Nalm6 tratadas com os compostos **8n**, **9a**, **9c**, **9e**, **9n**.

COMPOSTO	IC ₅₀ (µmol L ⁻¹)	
	HL60	Nalm6
8n	70,74±0,269	66,30±3,451
9a	75,83±4,752	85,59±2,913
9c	74,61±2,171	NA
9e	74,54±6,554	NA
9n	77,96±4,815	76,67±0,368

IC₅₀: concentração dos compostos requerida para inibir 50% da viabilidade celular, determinada após 48h de tratamento contínuo.

(NA) Compostos não ativos contra as linhagens estudadas.

Comparando-se os valores de IC₅₀ apresentados na Tabela 2, observa-se, como tendência geral, que a linhagem mieloide (HL60) apresentou maior sensibilidade aos compostos em relação à linhagem linfóide (Nalm6). Além disso, observa-se que dos cinco compostos mais

ativos, quatro possuem como característica estrutural comum o tamanho da cadeia carbônica lateral do anel triazólico, que é comparativamente maior que a do composto **8n**.

Para a linhagem HL60, verifica-se que todos os compostos foram capazes de inviabilizar o crescimento das células leucêmicas apresentando valores de IC_{50} abaixo de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. No entanto, dentre os cinco compostos investigados, o composto **8n** foi o mais promissor, destacando-se por apresentar maior efeito citotóxico.

Para a linhagem Nalm6, observa-se que os compostos mais ativos, **8n** e **9n**, possuem como característica estrutural comum a presença do grupo 3-bromofenila. Em contrapartida, observa-se que o composto **8n**, o qual apresentou maior atividade citotóxica, apresenta menor comprimento da cadeia que conecta a porção derivado do eugenol e a porção triazólica. A característica dos compostos de formarem cristais e/ou precipitados em meio aquoso, provavelmente alterou a disponibilidade dos mesmos no meio de cultura RPMI e dessa forma interferiu na ação dos compostos sobre as células das linhagens utilizadas. Devido a este fato, além da baixa solubilidade observada para todos os compostos, a menor polaridade do composto **9n**, comparada ao **8n**, pode ter sido um fator relevante para a obtenção de uma menor citotoxicidade desta substância frente a esta linhagem.

A representação gráfica do perfil de dose-resposta dos compostos investigados está representada nas Figuras 5 e 6 (pg.128 e 129) apresentadas a seguir.

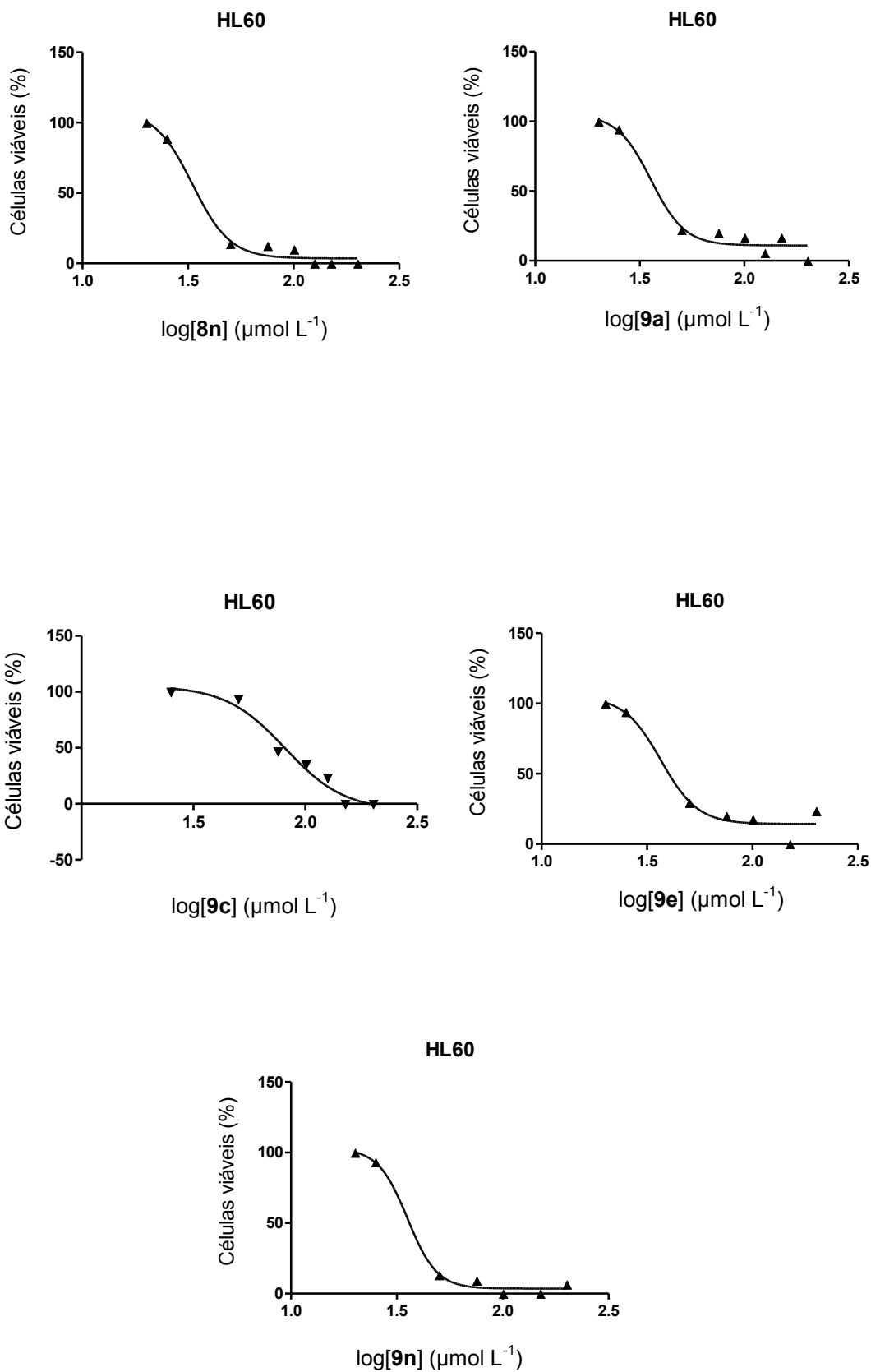


Figura 5 - Perfil de dose-resposta dos compostos **8n**, **9a**, **9c**, **9e**, **9n** na viabilidade de células HL60.

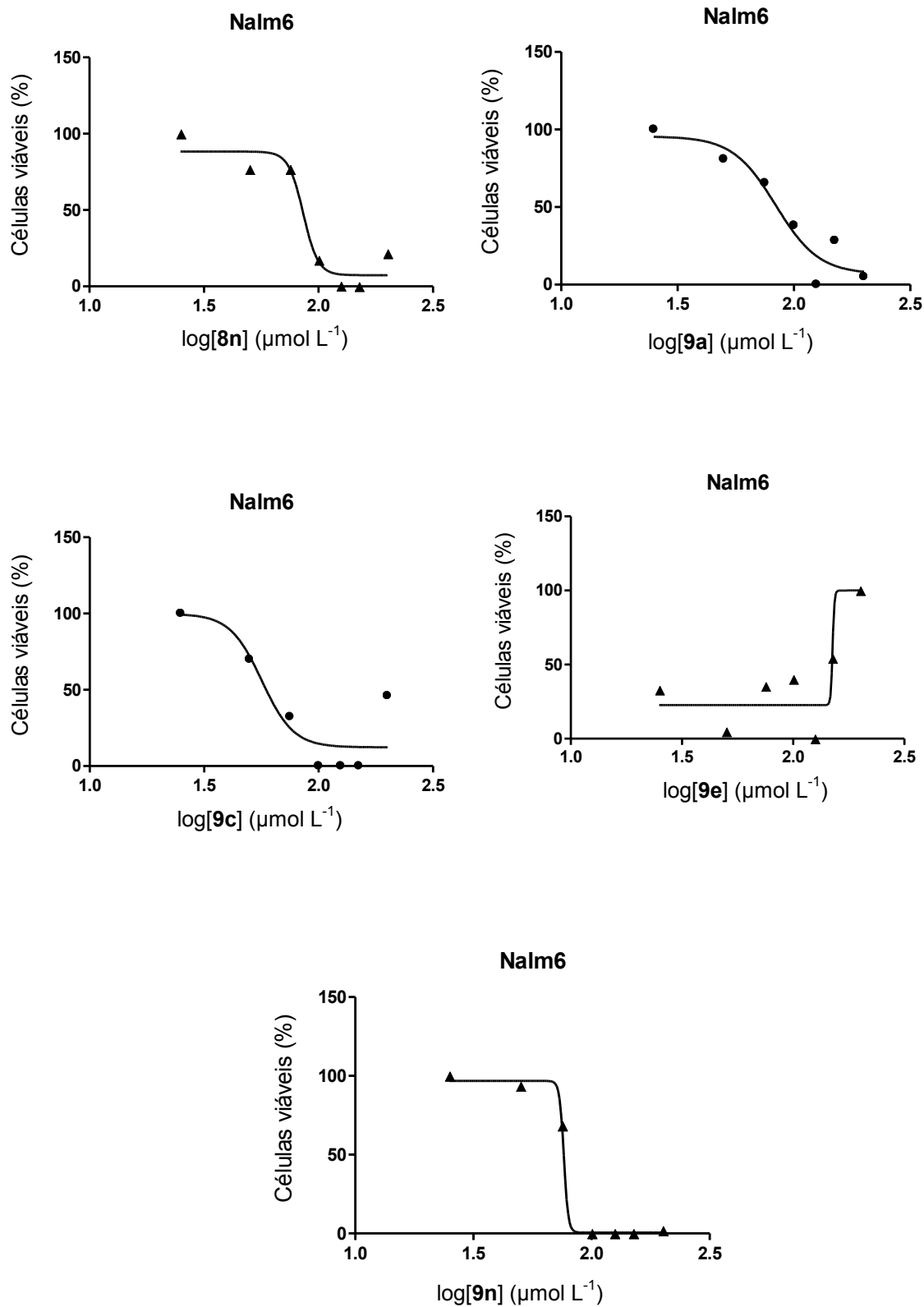


Figura 6 - Perfil de dose-resposta dos compostos **8n**, **9a**, **9c**, **9e**, **9n** na viabilidade de células Nalm6.

3.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARUNG, E.T.; MATSUBARA, E.; KUSUMA, I. W.; SUKATON, E.; SHIMIZU, K.; KONDO, R. Inhibitory components from the buds of clove (*Syzygium aromaticum*) on melanin formation in B16 melanoma cells. *Fitoterapia*, v. 82, p. 198–202, 2011.

BALANCHANDRAN, P.; GOVINDARAJA, R. Cancer-an ayurvedic perspective. *Pharmacological Research*, v.51, p. 9-30, 2005.

BERNAS, T.; DOBRUCKI, J. Mitochondrial and nonmitochondrial reduction of MTT: interaction of MTT with TMRE, JC-1, and NAO mitochondrial fluorescent probes. *Cytometry*, v. 47, p.236-242, 2002.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N.N., MADEIRA, S. V.F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A Contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no laboratório nacional de oncologia experimental da universidade federal do Ceará. *Revista Virtual de Química*, v. 2, p. 47-58, 2010.

DE ARAUJO, M. E. M. B. Avaliação das atividades antioxidante e antiproliferativa da rutina e seus produtos obtidos por hidrólise enzimática. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade de São Francisco, Bragança Paulista, 2012.

HUANG, Z.; TONG, Y.; WANG, J.; HANG, Y. MNR Studies of the Relationship Between the Changes of Membrane Lipids and the Cisplatin-Resistance of A549/DDP Cells. *Cancer Cell International*, v. 3, p.1-8, 2003.

Instituto Nacional de Câncer; Ministério da saúde. *Estimativa 2014: Incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2014.

Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. *A situação do câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2006.

YOO, C.B.; HAN, K.T.; CHO, K.S.; HA, J.; PARK, H.J.; NAM, J.H.; KIL, U.H.; LEE, K.T. Eugenol isolated from the essential oil of *Eugenia caryophyllata* induces a reactive oxygen species-mediated apoptosis in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. *Cancer Letters*, v. 225, p. 41-52, 2005.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO NÚCLEOS 1,2,3- TRIAZÓLICOS

4.1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose, também conhecida como calazar indiano, botão do oriente, ferida brava e úlcera de Bauru é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que possuem como hospedeiro vertebrado tanto o homem quanto animais domésticos e selvagens como roedores, caninos e os marsupiais (Gil *et al.*, 2008).

Esta doença é considerada um dos maiores problemas de saúde pública de países em desenvolvimento. Atualmente, encontra-se entre as endemias consideradas prioritárias no mundo, sendo citada em 98 países e territórios, acometendo 12 milhões de pessoas, sendo que 350 milhões estão expostas à infecção (LIMA, 2014).

No Brasil, a leishmaniose atinge 19 estados sendo que mais de 90% dos casos humanos da doença concentra-se na região Nordeste, devido principalmente às características econômicas e culturais dessas populações. Entretanto, nos últimos anos as regiões Centro-Oeste, Norte e Sudeste também adquiriram uma dimensão significativa desses casos (MAIA-ELKHOURY *et al.*, 2008).

Várias são as manifestações clínicas desta doença, podendo agredir a pele, as mucosas e as vísceras (Figura 1, pg.133). Dependendo da

virulência da espécie infectante, suscetibilidade do hospedeiro e co-infecções, podem ser divididas em quatro grupos principais (Gil *et al.*, 2008), sendo eles:

i) Leishmaniose visceral ou Calazar: a forma mais grave, sendo sistêmica pode atingir fígado, baço e medula óssea, levando o paciente à morte.

ii) Leishmaniose cutânea: caracteriza-se por úlceras crônicas na pele, desenvolvidas no local da picada do inseto vetor.

iii) Leishmaniose cutânea difusa: caracteriza-se por úlceras crônicas e disseminadas na pele, com aspecto hanseniforme e muito difíceis de curar. Estas lesões múltiplas contêm um grande número de parasitos e são causadas pela *Leishmania amazonensis*.

iv) Leishmaniose mucocutânea: caracteriza-se por úlceras crônicas similares à forma cutânea, porém tendem a reaparecer mesmo após cicatrização em mucosas do nariz e da boca, em geral associadas a infecções secundárias levando a destruição de grandes extensões de tecido, podendo ser extremamente mutilantes.

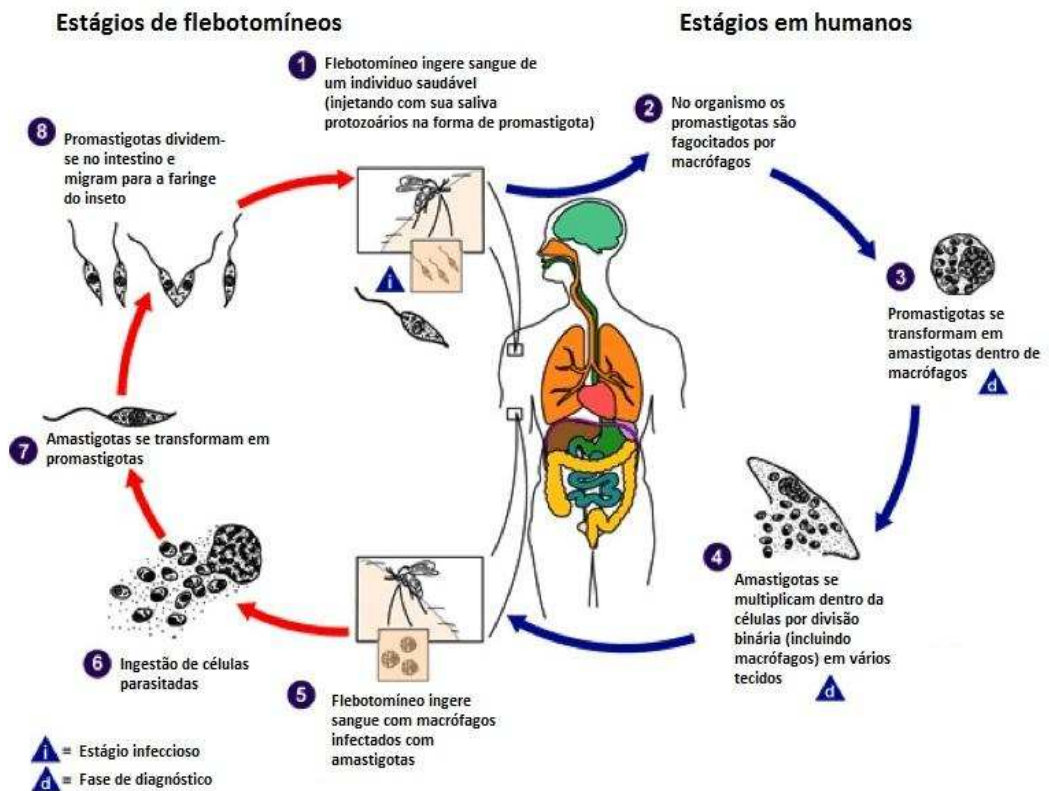


Figura 1 - Formas clínicas da leishmaniose humana.

Todas as espécies do gênero *Leishmania* possuem duas diferentes formas evolutivas em seu ciclo vital, que são as formas promastigotas, de vida extracelular no inseto, e as formas amastigotas, que se desenvolvem no interior dos macrófagos dos hospedeiros vertebrados.

A infecção do hospedeiro invertebrado ocorre quando a fêmea do inseto transmissor (vetor biológico), dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, pica um vertebrado infectado durante o repasto sanguíneo e, juntamente com o sangue, ingere macrófagos parasitados. Durante o trajeto pelo trato digestivo, os macrófagos se rompem liberando as amastigotas que se transformam em promastigotas, multiplicam-se ainda no sangue ingerido que é envolto por uma membrana quitinosa, denominada membrana peritrófica, secretada pelas células do estômago do inseto. Após a digestão do sangue, a membrana peritrófica se rompe e as formas promastigotas ficam livres, dividem-se intensamente e transformam-se em promastigotas metacíclicas sem a capacidade de divisão binária, migrando então para a probóscida do inseto. Com a probóscida bloqueada pelas *Leishmanias*, o inseto tem dificuldade de se alimentar e, quando pica, regurgita os parasitos para o interior da pele do hospedeiro vertebrado, inoculando-os no local da picada, ocorrendo assim à transmissão. Os flagelados inoculados são fagocitados por macrófagos teciduais do hospedeiro formando, assim, o vacúolo parasitóforo. Rapidamente os promastigotas diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se no interior destes vacúolos, até que o macrófago se rompe, liberando amastigotas no tecido, sendo novamente fagocitadas, iniciando no local um novo ciclo intracelular e causando,

assim, as leishmanioses (SILVA-LÓPEZ, 2010). A Figura 2 ilustra o ciclo de transmissão da *Leishmania* spp. desde o repasto sanguíneo do vetor até o desenvolvimento da doença.



Fonte: <http://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acesso: 29 de junho de 2015.

Figura 2 - Ciclo de transmissão de *Leishmania* spp.

O tratamento da leishmaniose através da quimioterapia é baseado na utilização de medicamentos que possuem metais pesados tóxicos, conhecidos como antimoniato pentavalentes (Sb^{5+}). Entre eles, o antimoniato de meglumina (Glucantime®) e o estibogluconato de sódio (Pentostan®) (Figura 3 pg.136), têm sido utilizados no tratamento das leishmanioses humanas desde o início do século XX e continuam sendo

as drogas de escolha para a doença cutânea e visceral (CHAN-BACABAND e PENA-RODRIGUEZ, 2001).

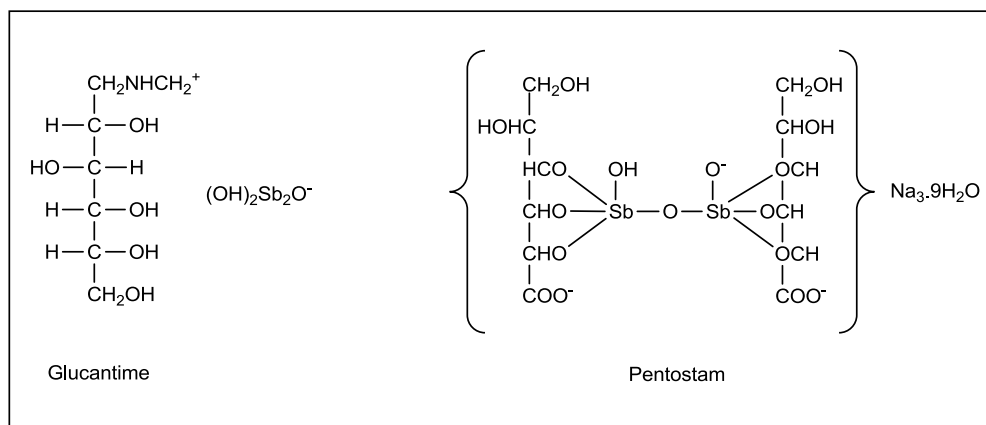


Figura 3 - Estrutura dos quimioterápicos antimoniato pentavalentes.

No Brasil, o medicamento antimônio de escolha é o antimônio de meglumina (Glucantime®) o qual, se administrado de forma contínua e com posologia adequada, é eficaz no tratamento das leishmanioses. Por sua vez, baixas dosagens e tratamentos descontínuos levam a falhas na terapia e ao aparecimento de formas resistentes (RATH *et al.*, 2003).

Além da elevada toxicidade, dificuldades de administração e alto custo, os antimônios pentavalentes, apresentam graves efeitos colaterais que incluem mialgia, artralgia, aumento sérico das enzimas hepáticas, pancreatite, disfunção gastrointestinal, dores musculares difusas, enrijecimento das articulações, arritmias, pancitopenia, insuficiência renal reversível e cardiotoxicidade (SILVA-LÓPEZ, 2010).

A anfotericina B e a pentamidina (Figura 4, pg.137) têm sido as drogas alternativas nos casos de resistência aos antimônios. Estes medicamentos são de administração injetável e necessitam de supervisão clínica ou hospitalização, devido à severidade dos efeitos colaterais. Além

disso, estes fármacos não possuem um índice terapêutico favorável (CHAN-BACABAND e PENA-RODRIGUEZ, 2001).

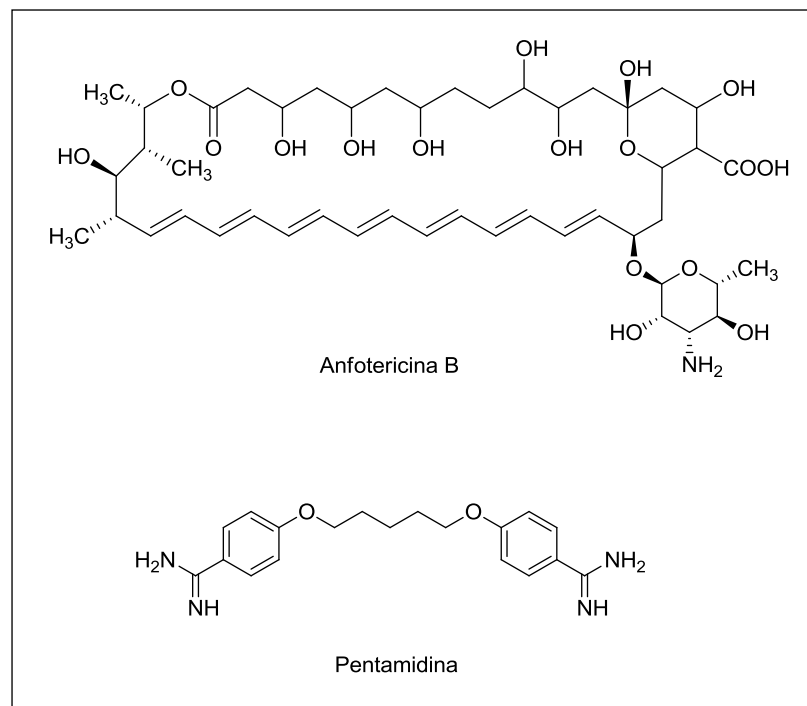


Figura 4 - Estruturas dos quimioterápicos Anfotericina B e Pentamidina.

Todos os fármacos disponíveis atualmente são de administração parenteral, o que exige colaboração dos pacientes, e infelizmente, muitos abandonam o tratamento, fator que favorece o aparecimento de cepas resistentes (SILVA-LÓPEZ, 2010).

O tratamento da leishmaniose não é considerado satisfatório em termos de efetividade e toxicidade. A resistência às drogas já existentes e a sensibilidade de diferentes cepas às mesmas também dificultam o tratamento (OSÓRIO *et al.*, 2007).

Considerando as dificuldades de tratamento e a ausência de vacinas contra a leishmaniose, há urgência na busca de novas drogas terapêuticas mais efetivas, de baixo custo e com reações adversas menos agressivas, para substituir ou suplementar aquelas já em utilização.

Devido a essa necessidade, atualmente, o desenvolvimento de medicamentos leishmanicida, segue três linhas, sendo elas: a exploração das vias metabólicas do parasita para encontrar alvos e desenvolver compostos sintéticos; o estudo de outras drogas que já estão no mercado com a atividade leishmanicida até então desconhecida (por exemplo, medicamentos contra o câncer), e, o foco sobre a utilização de plantas medicinais como fonte de moléculas anti-protozoários (DE MORAIS *et al.*, 2014).

Dentro deste contexto, avaliou-se a atividade leishmanicida dos compostos triazólicos derivados do eugenol, **8a-8n** e **9a-9n** (Figura 4, pg.22), uma vez que, conforme apresentado no Capítulo 1, o eugenol (**1**) possui ação leishmanicida confirmada e documentada na literatura.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1. Generalidades

O ensaio de avaliação da atividade leishmanicida dos compostos triazólicos derivados do eugenol foi realizado em colaboração com o Dr. Wallace Pacienza Lima no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF), na Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ.

4.2.2. Parasitos

Neste trabalho foi utilizada a *Leishmania amazonensis* (cepa WHOM/BR/75/Josefa) transfectada com o gene da proteína fluorescente verde (green fluorescent protein - GFP) (ROSSI-BERGMANN *et al.*, 2000). Os parasitos foram mantidos em cultura axênica na forma promastigota a

26 °C em meio M199, adicionado de 20 µg/mL de sulfato de gentamicina (Schering-Plough), 25 mM de HEPES (Sigma, USA), 0,1 mM de hemina (Sigma, USA), 10% de soro fetal bovino inativado (HIFCS, Cultilab, BR) e 2% de urina humana (previamente centrifugada a 1500 g/4°C/10min, e esterilizada em filtro de seringa) como fonte de hipoxantina. Os parasitos foram mantidos através de duas passagens semanais até o máximo de dez passagens, para evitar perda de infectividade. Os parasitos foram utilizados na fase estacionária de crescimento, rica em formas metacíclicas infectantes.

4.2.3. Avaliação da atividade antipromastigota

Promastigotas de *L. amazonensis* GFP (2×10^5 *Leishmania*/mL) foram cultivadas na presença de variadas concentrações [0,1; 1; 10; 100 µM] dos 27 derivados do eugenol por 72h e a viabilidade celular foi avaliada por Alamar Blue. O cálculo do IC₅₀ foi feito por análise de regressão logarítmica realizada no GraphPad Prism 5.0.

4.2.4. Animais

Para obtenção de macrófagos peritoniais, foram utilizados camundongos da linhagem BALB/c, originária do Biotério do Laboratório de Imunofarmacologia da UFRJ, em mini-isoladores com ar filtrado, água e maravalha autoclavadas e ração comercial. Os animais foram utilizados com idade aproximada de 6-8 semanas e peso de 15-20 g.

4.2.5. Obtenção de macrófagos peritoneais

Após sacrifício por inalação de isofurano, 5mL de meio DMEM (Sigma) gelado foram injetados no peritônio dos camundongos. Após massagem do local e aspiração, as células peritoneais foram distribuídas em placas de 24 poços com lamínulas de vidro ou LAB-TEK de 8 poços a 2×10^6 células/poço, em meio DMEM+5% HIFCS, em um volume de 0,3 mL/poço. As placas foram mantidas em estufa de 37°C/5%CO₂ por 1-2 h para garantir a aderência dos macrófagos. As células não aderentes foram removidas por lavagem com PBS a 37 °C, e os macrófagos foram então infectados e submetidos aos ensaios de LDH, conforme descrito adiante.

4.2.6. Avaliação da atividade anti-amastigota intracelular

Os macrófagos obtidos como descrito no item 4.2.5 foram infectados com promastigotas de *L. amazonensis*-GFP, em uma razão de 10 promastigotas por macrófago, por 4h a 34 °C. Após o tempo de infecção, a cultura foi lavada três vezes com PBS morno e incubada com diferentes concentrações das formulações em teste. Após 48h a 37°C/5%CO₂, a carga parasitária na cultura foi avaliada por coloração Panótica, seguido de contagem direta de parasitos/macrófagos de pelo menos 100 amastigotas/cultura. O cálculo do IC50 foi feito por análise de regressão logarítmica realizada no GraphPad Prism 5.0.

4.2.7. Avaliação da citotoxicidade por liberação de lactato desidrogenase (LDH)

Este método se baseia no fato da LDH ser uma enzima citosólica liberada pela célula durante sua lise, presente em células de mamíferos, mas não em *Leishmania* (LEELAYOOVA *et al*, 1992). Nas condições do ensaio, a LDH catalisa a conversão do piruvato para lactato, enquanto o NADH é oxidado para NAD⁺. Ao final de 48h de cultura dos macrófagos infectados e tratados, foi dosado o teor da LDH liberada nos sobrenadantes (KORZENIEWSKI e CALLEWAERT, 1983). A dosagem colorimétrica da densidade ótica (DO) foi feita usando espectrofotômetro de microplaca (Molecular Devices E-max, EUA), no comprimento de onda de 490nm utilizando um kit comercial (Labtest, Brasil) cujas instruções do fabricante foram adaptadas para uso em microplacas. Para a obtenção de lise máxima, as células foram tratadas com Triton X-100 (Sigma) 0,1% ao final de 48h, e para lise mínima, foram utilizados o sobrenadante de células cultivadas na ausência de fármacos. O cálculo do CC50 foi feito por análise de regressão logarítmica realizada no GraphPad Prism 5.0.

A lise específica foi calculada como se segue:

$$\% \text{ lise específica} = \frac{(\text{DO liberação teste} - \text{DO liberação basal})}{(\text{DO liberação máxima} - \text{DO liberação basal})} \times 100$$

4.2.8 Produção de óxido nítrico

Os macrófagos obtidos como descrito no item 4.2.5 foram infectados com descrito no item 4.2.6 ao final de 48h de cultura dos macrófagos infectados e tratados ou cultivadas com IFN γ (1 ug/mL), os

sobrenadantes foram coletados para a dosagem da produção de óxido nítrico pelo método modificado de Griess (BREDT e SNYDER, 1994) e a densidade ótica foi avaliada usando espectrofotômetro (Bio-Tek Powerwave XS) no comprimento de onda de 570 nm. A quantidade de nitrito acumulada foi calculada através de uma curva padrão com várias concentrações de nitrito de sódio (NaNO₂) 0-50M.

4.2.9. Ensaio de Viabilidade Celular (Alarme Blue)

Inicialmente, as formas promastigotas de *L. amazonensis* (2×10^5 *Leishmania*/mL) foram cultivadas na presença de concentração variadas dos vinte e sete compostos triazólicos derivados do eugenol [0,1; 1; 10; 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$] por 72h e a viabilidade celular foi avaliada por Alamar Blue. Anfotericina B foi utilizada como controle positivo nos testes anti-promastigotas por ser altamente ativa, com ausência total de promastigotas nos poços de maiores concentrações em apenas 24 após a incubação com o fármaco. A Figura 5 mostra de maneira simplificada o protocolo utilizado para avaliação das atividades antipromastigostas dos derivados do eugenol **8a-8n** e **9a-9n** (Figura 4, pg.22).

Esquema do Protocolo:

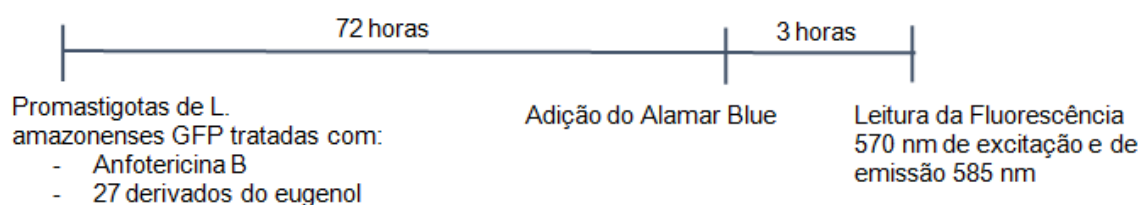


Figura 5 – Esquema simplificado do protocolo utilizado para avaliar a atividade antipromastigota de derivados triazólicos do eugenol.

O ensaio colorimétrico avaliado por Alar-me Blue, o qual representa um método simples e quantitativo de medida para a proliferação celular, viabilidade e citotoxicidade, consiste na utilização do corante indicador denominado resazurina. A resazurina é uma substância azul, não tóxica, solúvel em água e que muda de cor devido à atividade celular. As enzimas produzidas por células que crescem ativamente convertem resazurina à sua forma rosa fluorescente, resorufina (Figura 6). A produção de resorufina é proporcional à atividade metabólica da célula. Embora esta mudança de cor seja visível, geralmente é monitorado por instrumentos que medem com precisão mudanças na absorção ou fluorescência (RÓLON *et al.*, 2006).

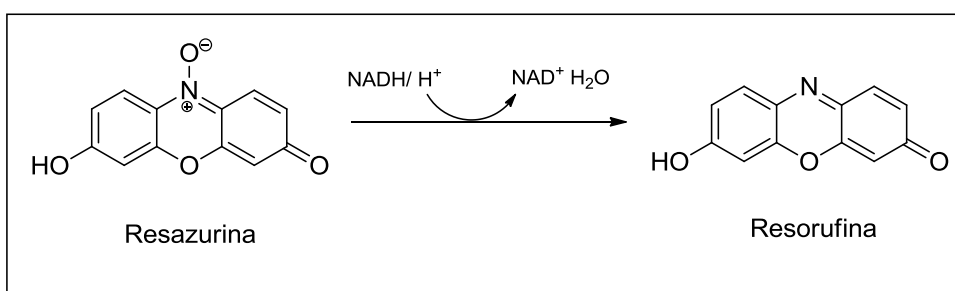


Figura 6 - Conversão da Resazurina em Resorufina.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de IC₅₀ da atividade antipromastigosta para todos os compostos triazólicos derivados do eugenol foram determinados e os resultados estão apresentados na Tabela 1, pg.144.

Tabela 1- Avaliação da atividade antipromastigota dos compostos triazólicos derivados do eugenol.

Composto	IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) <i>L. amazonensis</i>
8a	30,2 ± 1,5
8b	59,4 ± 1,7
8c	1780 ± 3
8d	993 ± 3
8e	2013 ± 3
8f	130,2 ± 2,1
8g	424,9 ± 2,6
8h	322,1 ± 2,5
8i	2013 ± 3
8j	969 ± 3
8k	49,2 ± 1,7
8l	106,2 ± 2,1
8m	159,6 ± 2,2
8n	155,8 ± 2,1
9a	37,9 ± 1,5
9b	32,2 ± 1,5
9c	817 ± 3
9d	286,7 ± 2,5
9e	278,9 ± 2,4
9f	173,3 ± 2,3
9g	119,5 ± 2,0
9h	145,9 ± 2,1
9i	295,2 ± 2,5
9j	177,5 ± 2,3
9l	7,4 ± 0,8
9m	913,3 ± 2,9
9n	980,2 ± 2,9

A partir da análise dos resultados apresentados na Tabela 1 (pg.144) verificou-se que os compostos identificados como **8a**, **8b**, **8k**, **9a**, **9b**, **9l** apresentaram valores de IC₅₀ inferiores a 100 µmol L⁻¹. No entanto, o composto mais promissor foi o **9l**, o qual apresentou a melhor atividade leishmanicida entre todas as moléculas avaliadas, com IC₅₀ de 7,4 µmol L⁻¹ para as formas promastigotas. Na Figura 7, temos a representação gráfica da atividade anti-promastigota do composto **9l**.

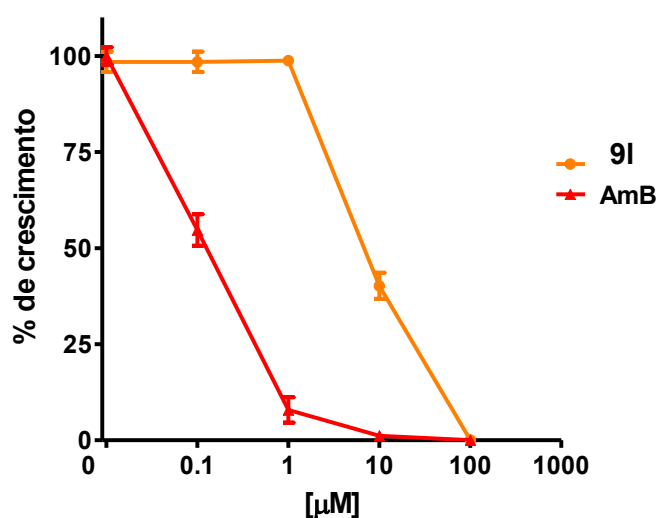


Figura 7 - Atividade antipromastigota. *L. amazonensis* GFP (2×10^5 promastigotas/mL) foram cultivadas com diferentes concentrações (0,1; 1; 10; 100 µM) de **9l** e Alarm Blue (AmB) por 72 h a 26 °C em meio M199 suplementado com 10% de soro fetal bovino. A quantidade de parasitos foi medida indiretamente através do método Alamar Blue e representado através da porcentagem de crescimento.

Devido a maior atividade observada para essa substância, a mesma foi selecionada para a avaliação da atividade contra as formas amastigotas intracelulares. O Glucantime foi utilizado como controle positivo nos testes anti-amastigotas e mostrou atividade inferior à **9l**. As

Figuras 8 e 9 (pg. 146 e 147), mostram os resultados obtidos para os testes anti-amastigotas.

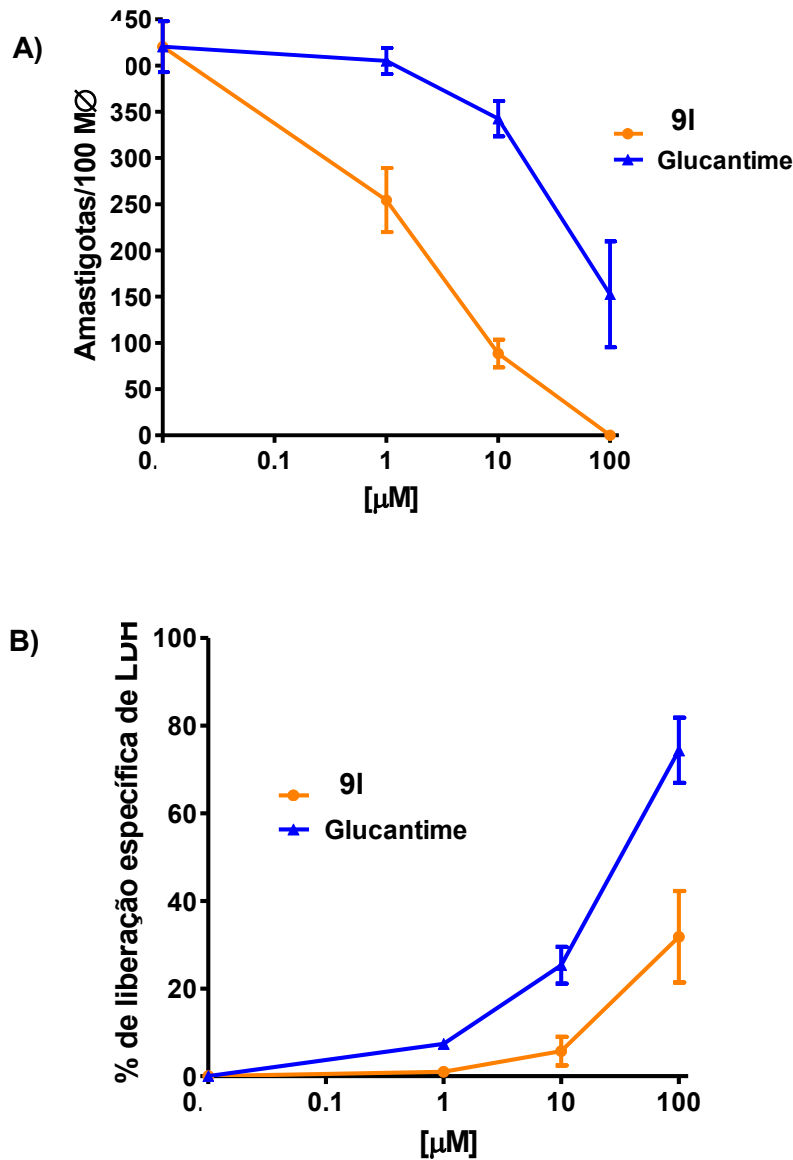


Figura 8 - Atividade anti-amastigota. Macrófagos peritoneais de Balb/C infectados com *L. amazonensis* foram incubados por 48 h a 37 ° C/5 %CO₂ em diferentes concentrações (1; 10; 100 µM) de **9I** e (1; 10; 100 µg/mL) de Glucantime. **A)** A quantidade de parasitos foi medida por microscopia e expressa como amastigotas por 100 macrófagos. **B)** O sobrenadante foi coletado para dosagem da enzima citoplasmática lactate desidrogenase (LDH), como indicativo de lise celular. Liberação máxima (macrófagos infectados + 0.1 % triton X100) = 0.46 OD; e mínima (macrófago não infectado e não tratado = 1.3 OD); Means ± SD (n =3), ** p <0.01 and *** p <0.001.

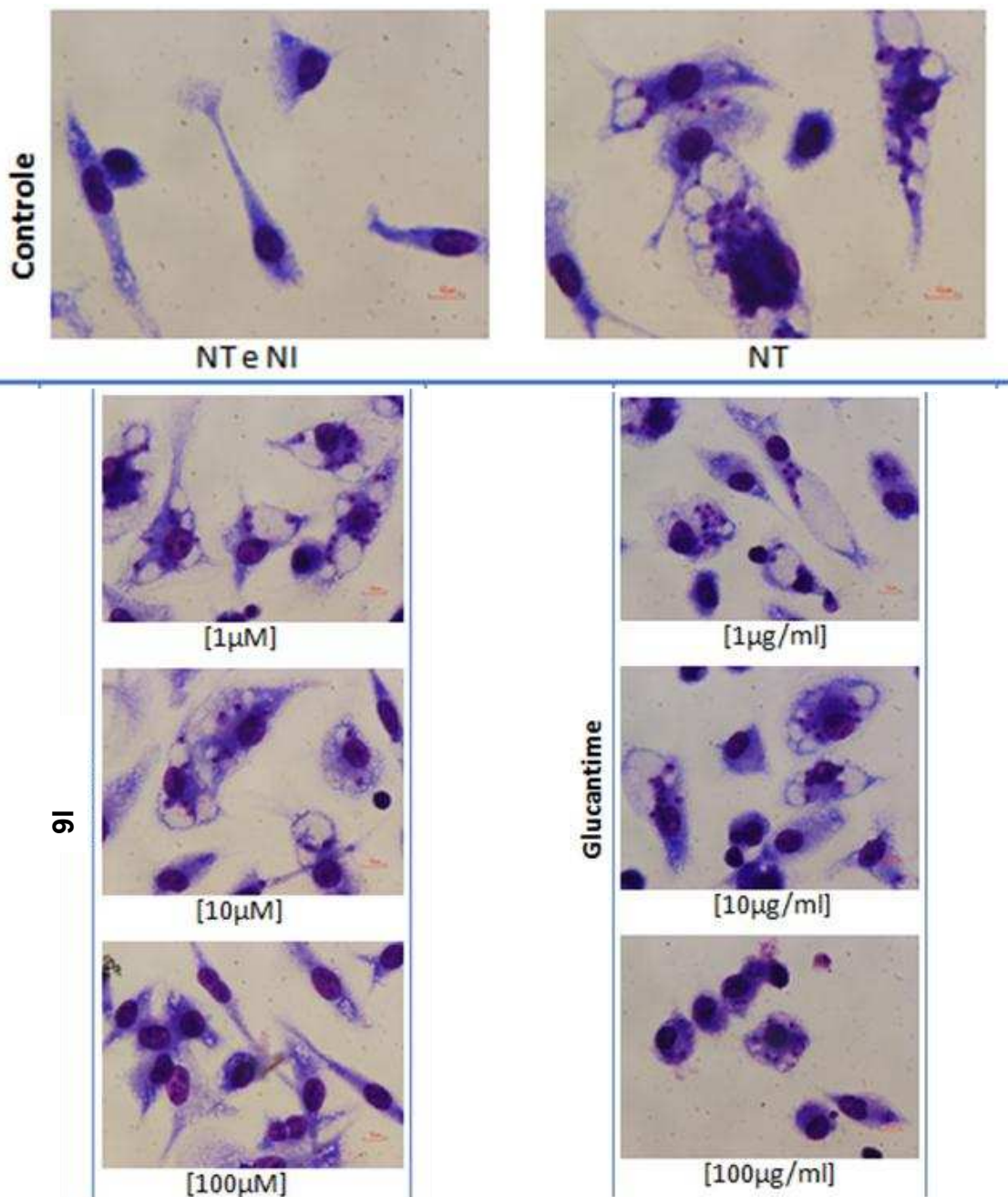


Figura 9 - Macrófagos peritoneais de Balb/C infectados com *L. amazonensis* foram incubados por 48 h a 37 ° C / 5 % CO₂ com diferentes concentrações (1; 10; 100 µM) de **9I** e (1; 10; 100 µg/mL) de Glucantime. Macrófagos não tratados e não infectados (NT e NI). Macrófagos infectados e que não receberam tratamento (NT).

Após os testes realizados para as formas amastigotas do parasita, o valor de IC₅₀ do composto **9I** foi então determinado e apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Atividade leishmanicida do composto **9I** e dos quimioterápicos comerciais.

Amostra	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)			IS	Nitrite (μg/ml)
	Promastigotas	Amastigotas	Macrófagos		
Anfotericina B	0,2 ± 0,1	nd	nd	nd	nd
9I	7,4 ± 0,8	1,6 ± 0,2	211,9 ± 2,3	132,5	1,3 ± 0,3
*Glucantime	nd	45,5 ± 1,6	75,5 ± 2,6	1,6	1,9 ± 0,5
**IFN-γ	nd	nd	nd	nd	12,3 ± 0,8

Média ± SD (n = 3).

**IFN-γ = Interferon-gama (1 μg/ml).

IS= Índice seletividade (IS= IC₅₀ de macrófagos/IC₅₀ de amastigotas)

*Glucantime [μg/ml]

nd = não determinado.

Os valores de Nitrito são relatados para 100 μM de fármacos.

As amastigotas são as formas parasitárias persistente no hospedeiro, e responsáveis pelos sintomas causados pela doença. Logo, este deve ser o principal alvo quimioterápico em estudos de novos agentes leishmanicidas (DE MORAIS *et al.*, 2014). Assim, comparando-se os valores de IC₅₀ apresentados na Tabela 2, observa-se que embora o composto **9I** tenha apresentado menor atividade contra as formas promastigotas em relação ao medicamento Anfotericina B, o mesmo apresentou atividade leishmanicida superior ao quimioterápico comercial Glucantime para as formas amastigotas. Além disso, é possível observar que o composto apresenta baixa citotoxicidade em macrófagos, IC₅₀ 212 μM, com índice de seletividade IS>132.

4.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHAN-BACAB, M. J.; PENA-RODRÍGUEZ, L. M. Plant natural products with leishmanial activity. *Royal Society of Chemistry*, v. 18, p. 674-688, 2001.

DE MORAIS, S. M.; VILA-NOVA, N. S.; BEVILAQUA, C. M. L.; RONDON, F. C.; LOBO, C. H.; MOURA, A. A. A. N.; SALES, A. D.; RODRIGUES, A. P. R.; DE FIGUEREIDO, J. R.; CAMPELLO, C. C.; WILSON, M. E.; JR. ANDRADE, H. F. Thymol and eugenol derivatives as potential antileishmanial agentes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 22, p. 6250–6255, 2014.

GIL, E.S.; PAULA, J.R.; NASCIMENTO, F.R.F.; BEZERRA, J.C.B. Produtos naturais com potencial leishmanicida. *Revista de Ciências Farmacêuticas. Básica e Aplicada*, v. 29, p. 223-230, 2008.

LIMA, G. S.; Estudo da atividade tripanossomicida e leishmanicida de extrato, frações e terpenos de *croton cajucara* benth. Tese (Doutorado), Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2014.

MAIA-ELKHOURY, A.N.S.; ALVES, W.A; SOUSA-GOMES, M. L.; SENA, J. M.; LUNA, E.A. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges/ Leishmaniose visceral no Brasil: evolução e desafios. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 24, p. 2941-2947, 2008.

OSÓRIO, E.; ARANGO, G.J.; JIMÉNEZ, N.; ALZATE, F.; RUIZ, G.; GUTIÉRREZ, D.; PACO, M.A.; GIMÉNEZ, A.; ROBLEDO, S.

- Antiprotozoal and cytotoxic activities in vitro of Colombian Annonaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 111, p. 630-635, 2007.
- RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; JESUS, M. N.; MARZAL, P. C.; ANDRADE JÚNIOR, H. F.; TEMPONE, A. G. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. *Química Nova*, v. 26, p. 550-553, 2003.
- RÓLON, M.; VEGA, C.; ESCARIO, J. A. Development of resazurin microtiter assay for drug sensibility testing of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Parasitology Research*, v. 99, p. 103-107, 2006.
- SILVA-LÓPEZ, R. E. Proteases de *Leishmania*: novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. *Química Nova*, v. 33, p. 1541-1548, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Descreveram-se neste trabalho as etapas envolvidas na obtenção de uma série de compostos triazólicos derivados do eugenol. Foram sintetizadas no total cinquenta e cinco substâncias, sendo dois compostos alquilados (**2** e **4**), doze ésteres sulfonatos (**6a-6k**), catorze azidas benzílicas (**7a-7n**) e vinte e sete compostos triazólicos (**8a-8n** e **9a-9n**). Do total dos vinte e sete compostos triazólicos sintetizados, vinte e seis são inéditos e tiveram suas estruturas confirmadas por meio da espectroscopia de RMN. Para a síntese dessas substâncias, foram utilizadas metodologias como reações de substituição nucleofílica bimolecular e a reação “click” (CuAAC) que permitiram, de um modo geral, que os compostos sintetizados fossem obtidos com rendimentos sinteticamente úteis.

Os ensaios de avaliação da citotoxicidade dos compostos triazólicos derivados do eugenol contra a linhagem de célula leucêmica HL-60, demonstraram que cinco substâncias do total de vinte e sete derivados sintetizados apresentaram efeitos significativos de inibição da viabilidade celular. Embora tenham sido obtidos valores moderados de atividade citotóxica contra a linha HL-60, os mesmos foram inferiores àqueles descritos na literatura para o eugenol que foi avaliado contra a mesma linhagem celular. O efeito dos cinco derivados também foi avaliado contra as linhagens celulares Nalm6 e B16F10. De modo geral, os cinco derivados foram mais potentes contra a linhagem celular HL-60. Foi possível verificar, de forma geral, que o tamanho da cadeia carbônica do alcino utilizado para a obtenção destes compostos, deve ser

considerado como ponto investigativo, uma vez que o maior número de carbonos se mostrou efetivo no que tange à melhoria dos efeitos citotóxicos. Outro ponto a ser considerado é a presença do grupo 3-bromofenila que se faz presente nas substâncias mais ativas contra as três linhagens investigadas. Diante desses resultados, pode-se concluir que os compostos triazólicos derivados do eugenol podem ser explorados na busca de modificações que resultem em melhorias de suas atividades citotóxicas para a obtenção de novos agentes quimioterápicos.

Os ensaios de avaliação da atividade leishmanicida dos compostos triazólicos derivados do eugenol contra *L. amazonensis* mostrou que o composto **9l** apresenta atividade superior contra as formas amastigotas do parasito comparado ao fármaco Glucantime, que é atualmente utilizado para o tratamento da leishmaniose. Além disso, podem-se destacar as atividades pronunciadas para os compostos **8a e 9a, 8b e 9b** que possuem como característica estrutural comum à presença do grupo fenila e 4-fluorofenila, respectivamente. Estes compostos assim como o composto **8k**, que também apresentou significativa atividade, podem ser alvo de estudos que visam possibilidades de modificações estruturais a fim de promover o melhoramento de suas atividades. Diante de todos os resultados obtidos, pode-se concluir que o desenvolvimento do trabalho resultou na identificação de um composto com grandes perspectivas de ser explorado como um modelo para o desenvolvimento de um novo agente quimioterápico para o tratamento da leishmaniose, além de revelar estruturas que também podem ser investigadas para tal finalidade.

Salienta-se que ensaios *in vivo* de avaliação da atividade leishmanicida do composto **9I** serão realizados.

Durante o desenvolvimento do trabalho, foi verificado que alguns dos compostos avaliados apresentaram problemas de solubilidade durante a realização dos ensaios biológicos. Nesse tocante, vislumbra-se como perspectiva futura a possibilidade do desenvolvimento de formulações, como por exemplo formulações lipossomais, para a melhoria da biodisponibilidade dos compostos nos sistemas biológicos.

ANEXOS

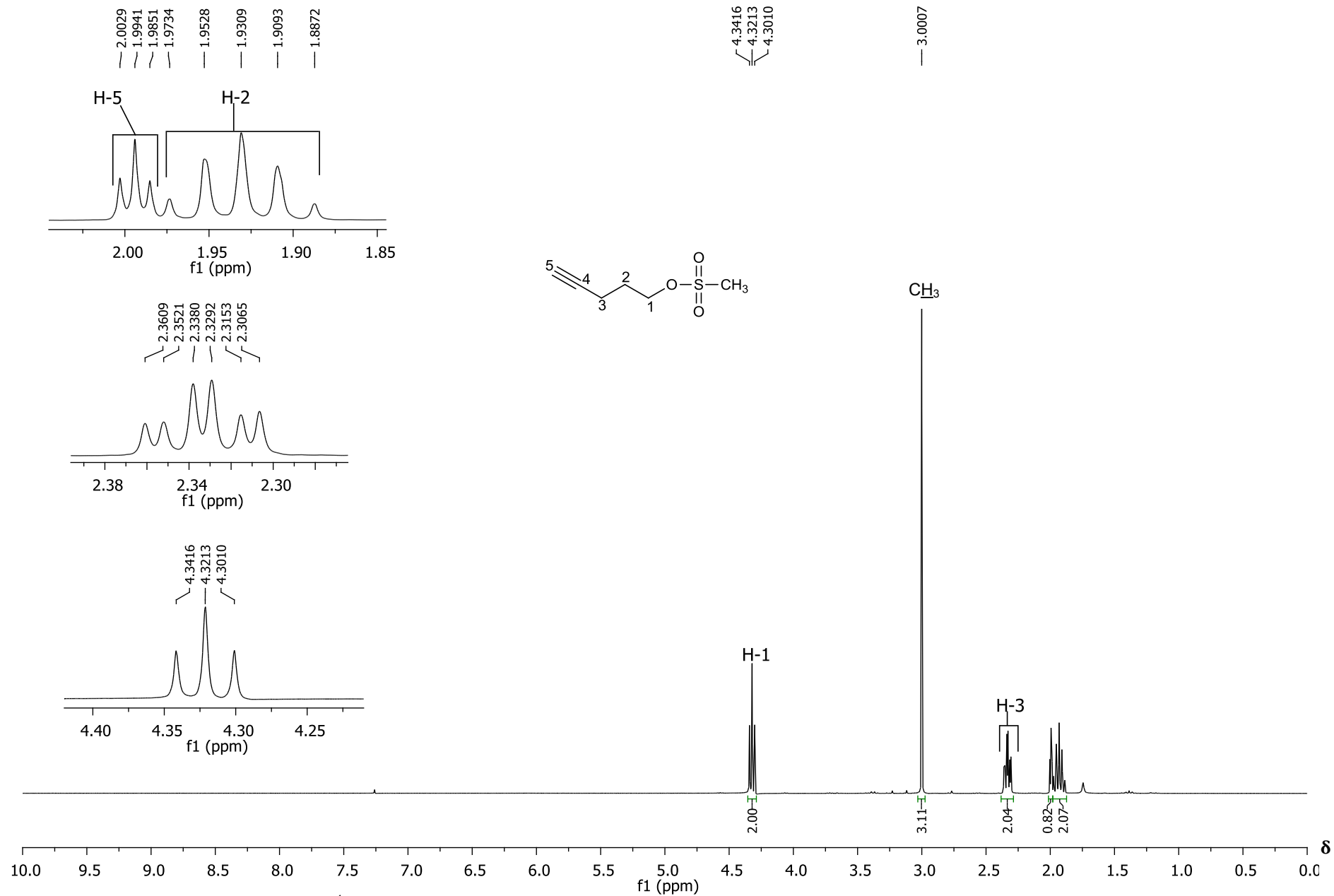


Figura 1 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **3**.

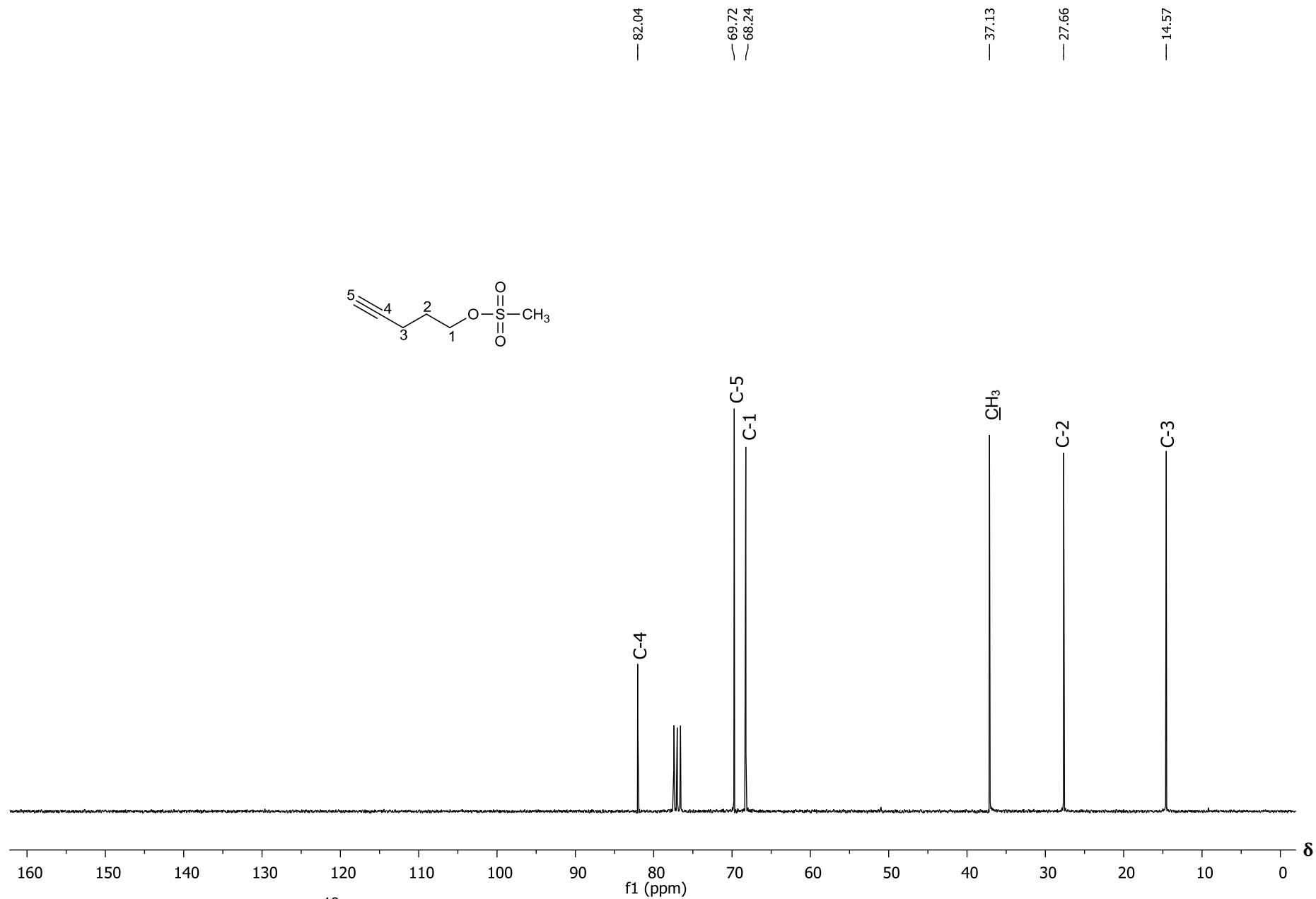


Figura 2 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 3.

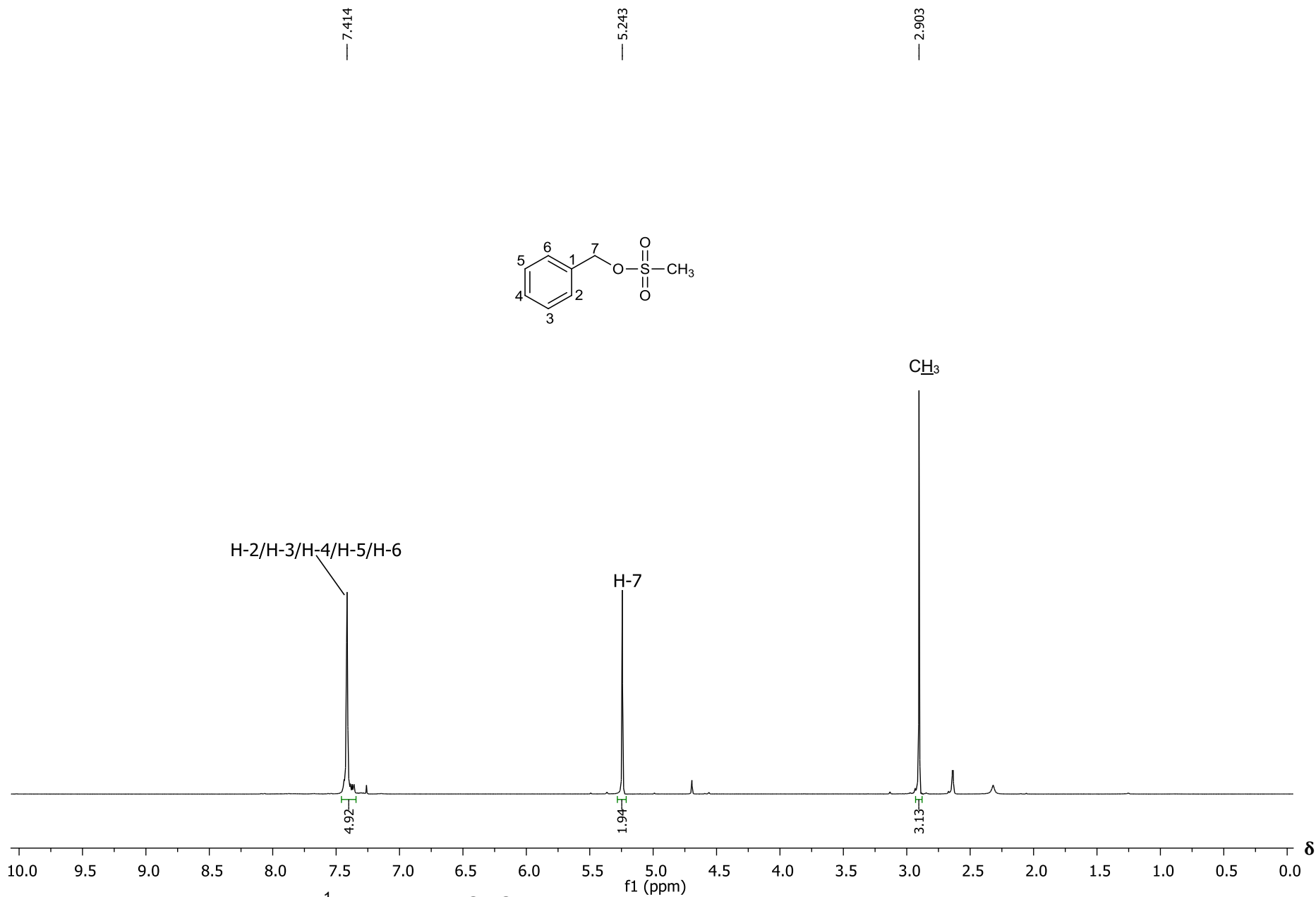


Figura 3 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6a**.

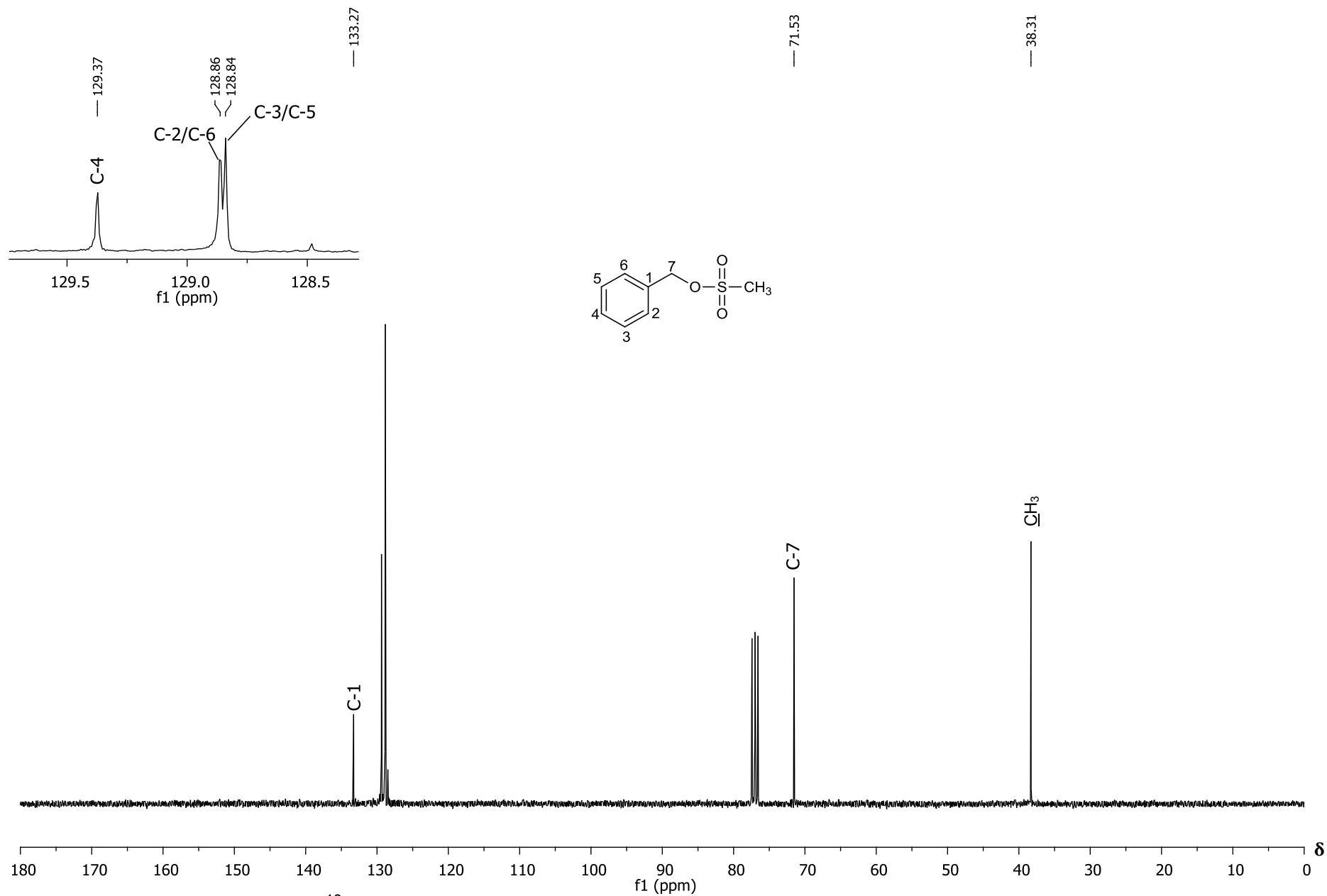


Figura 4 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6a**.

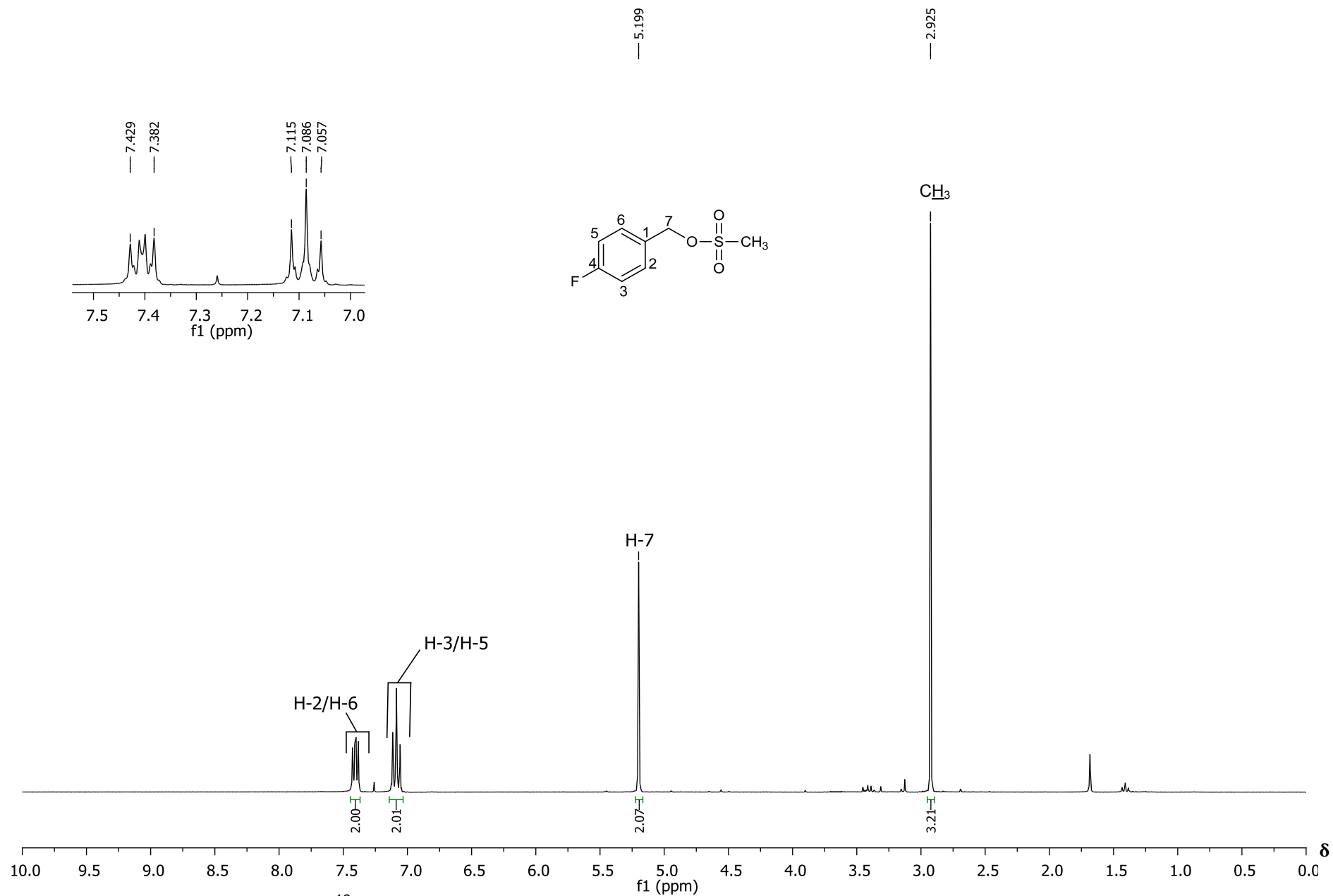


Figura 5 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6b**.

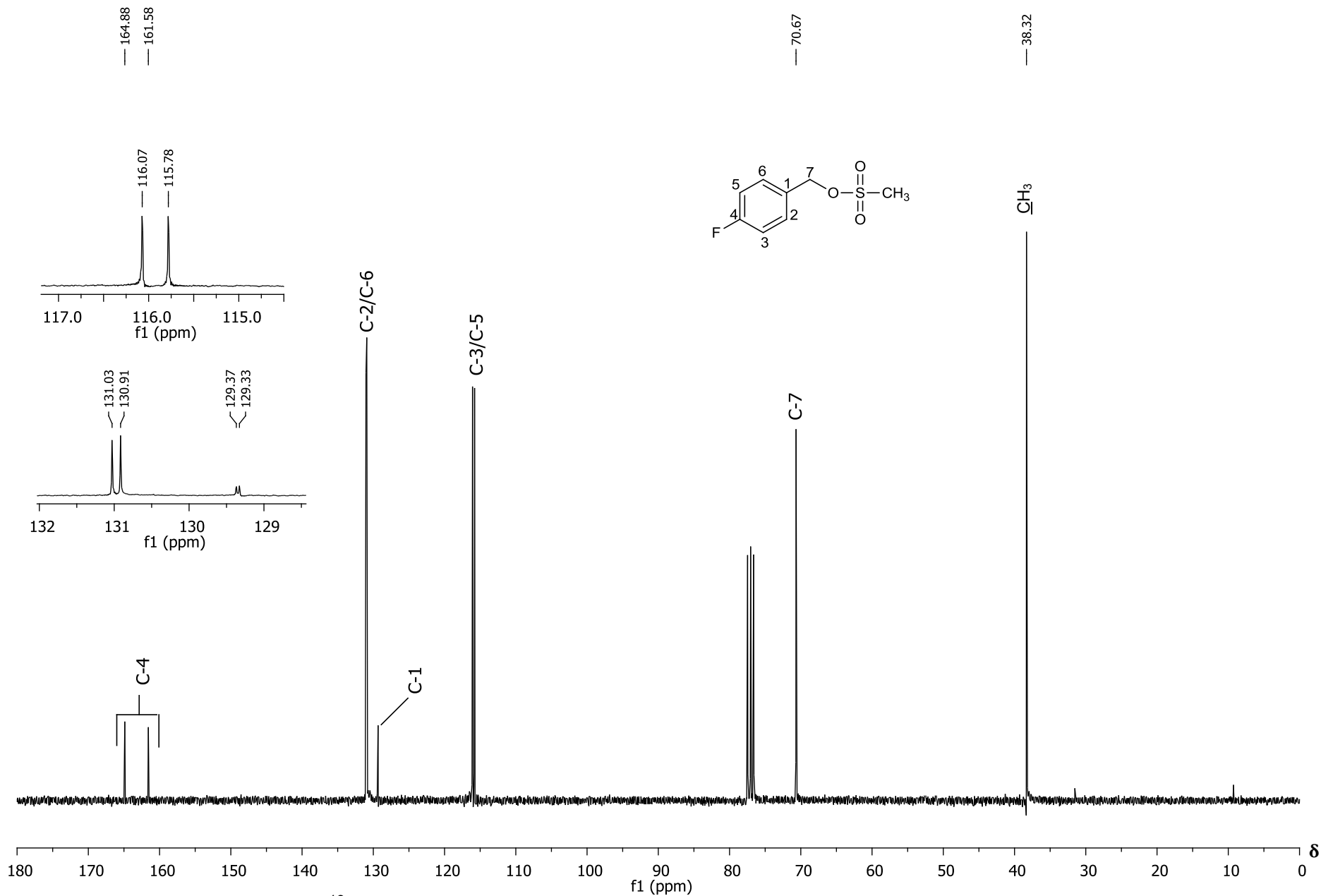


Figura 6 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6b**.

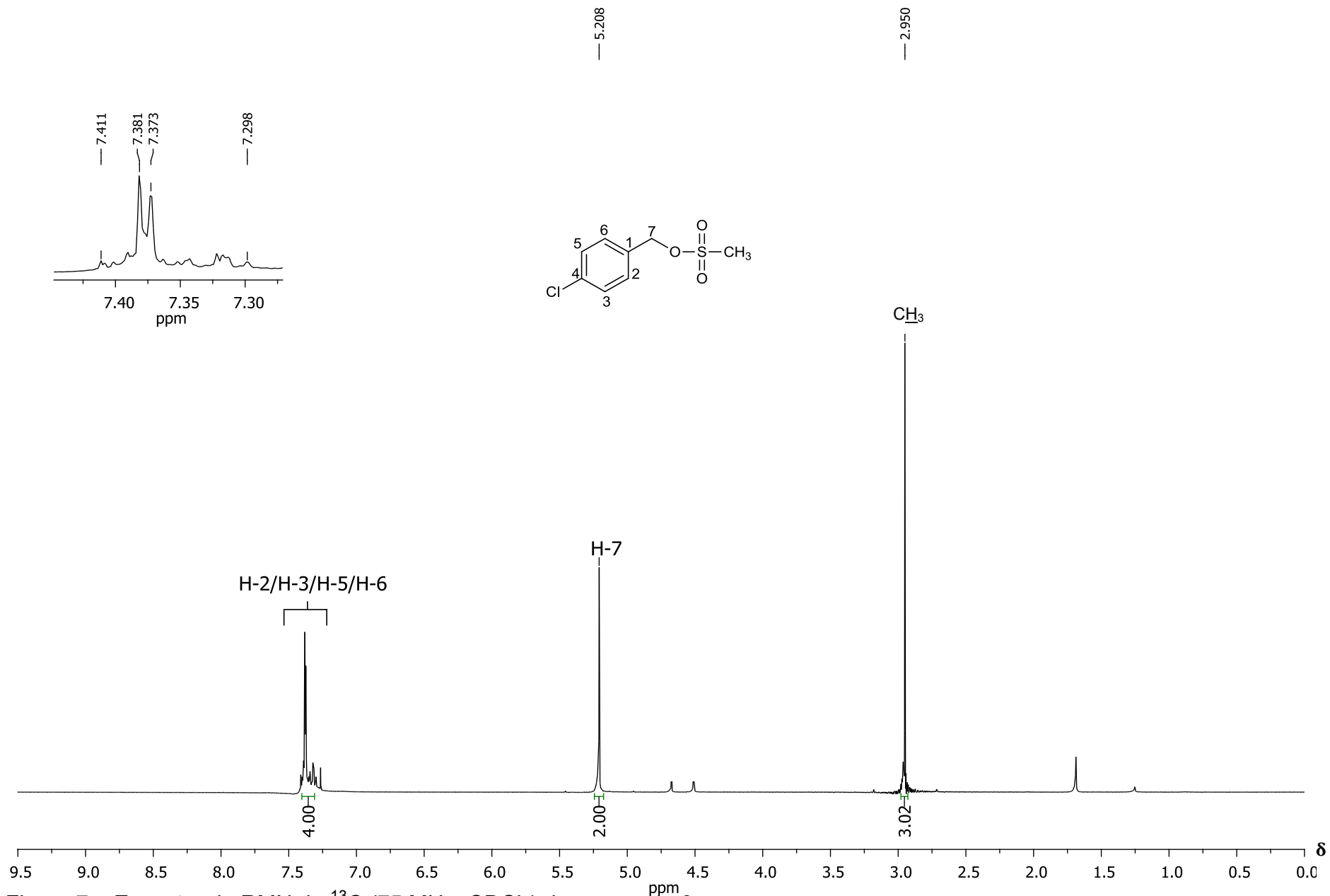


Figura 7 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6c**.

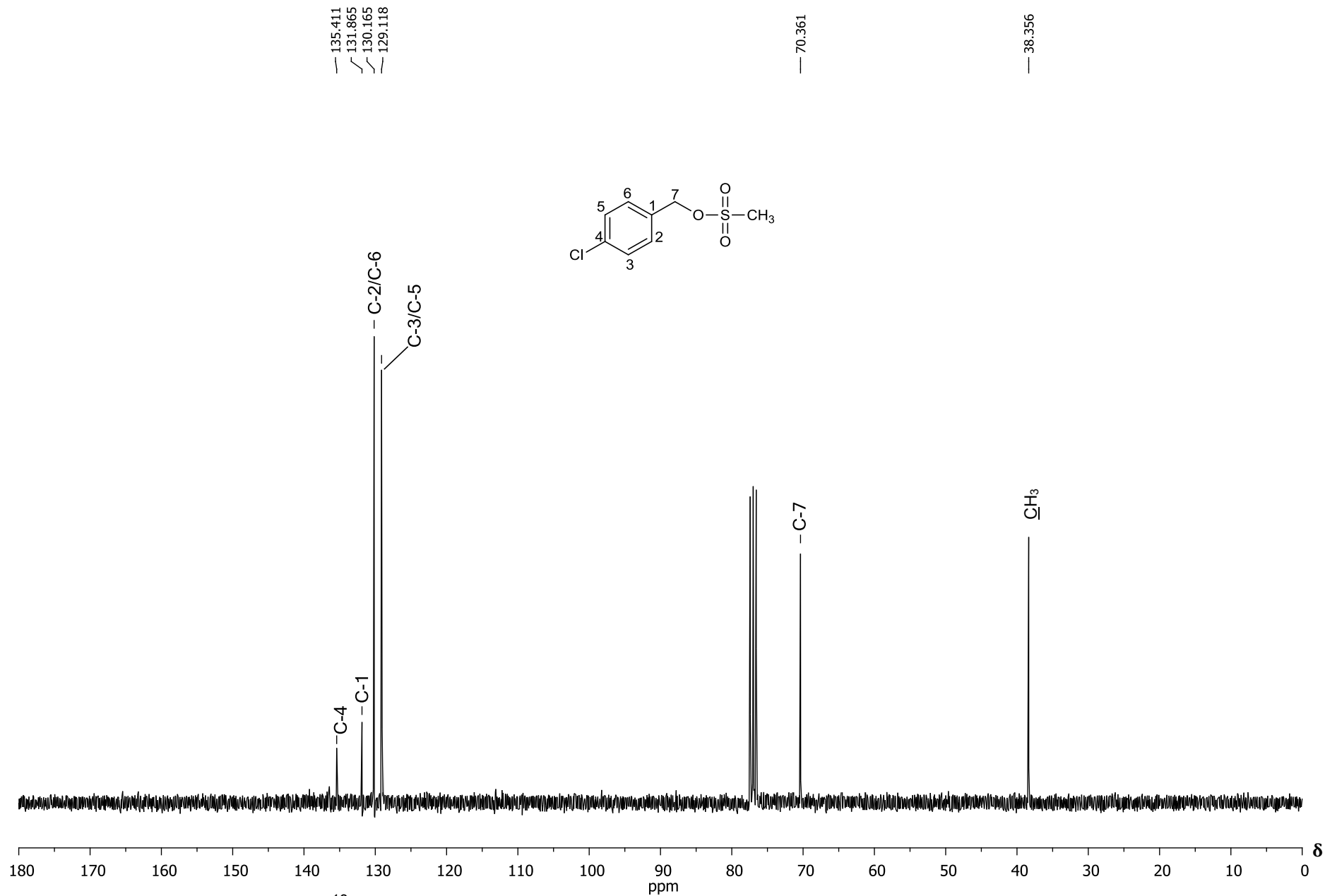


Figura 8 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6c**.

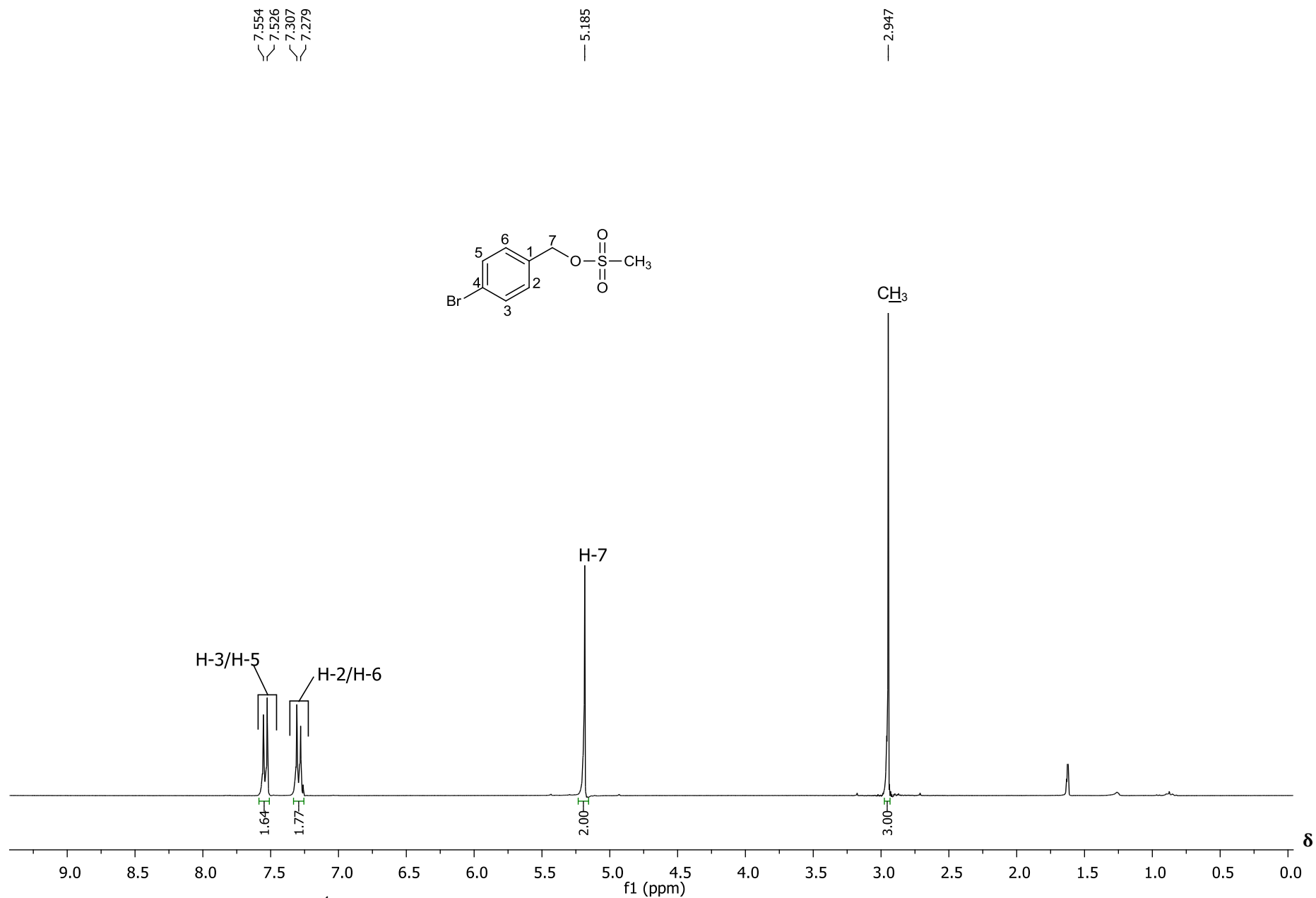


Figura 9 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **6d**.

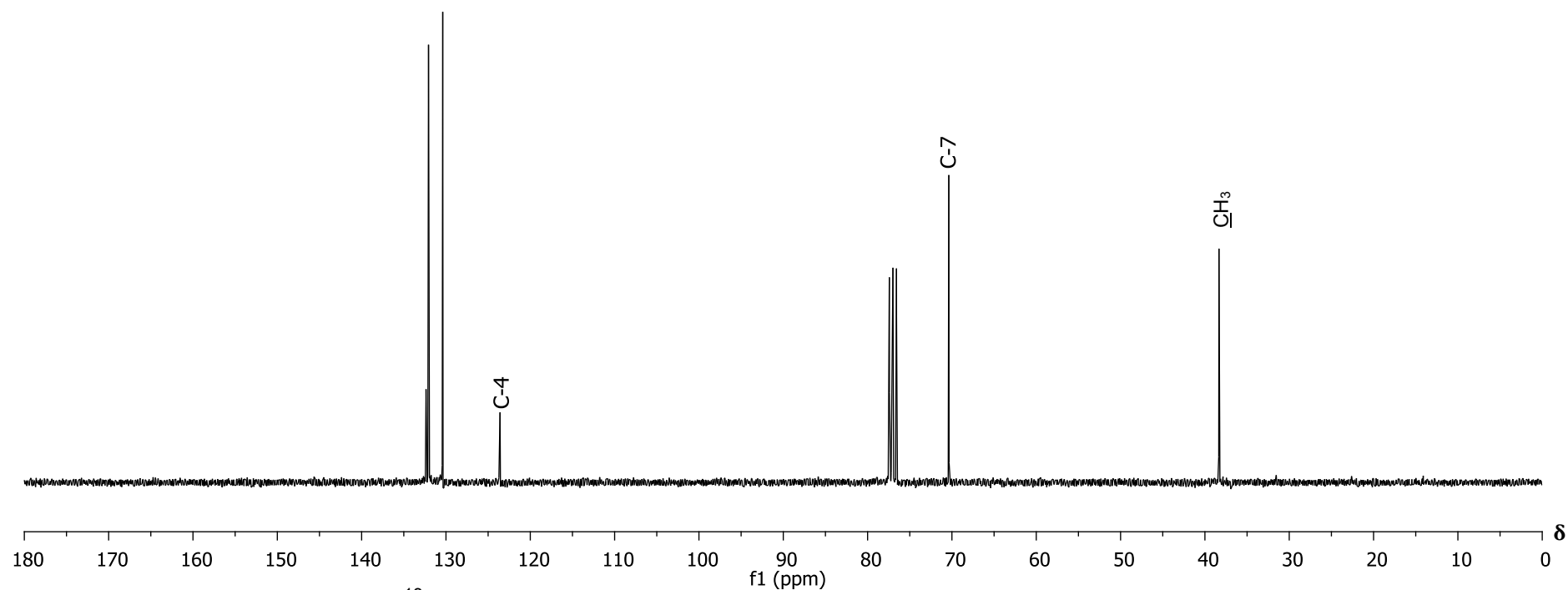
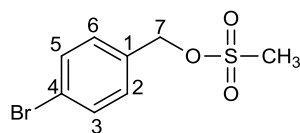
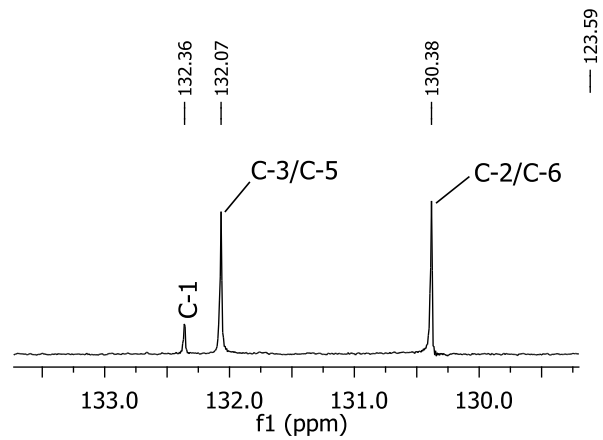


Figura 10 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6d**.

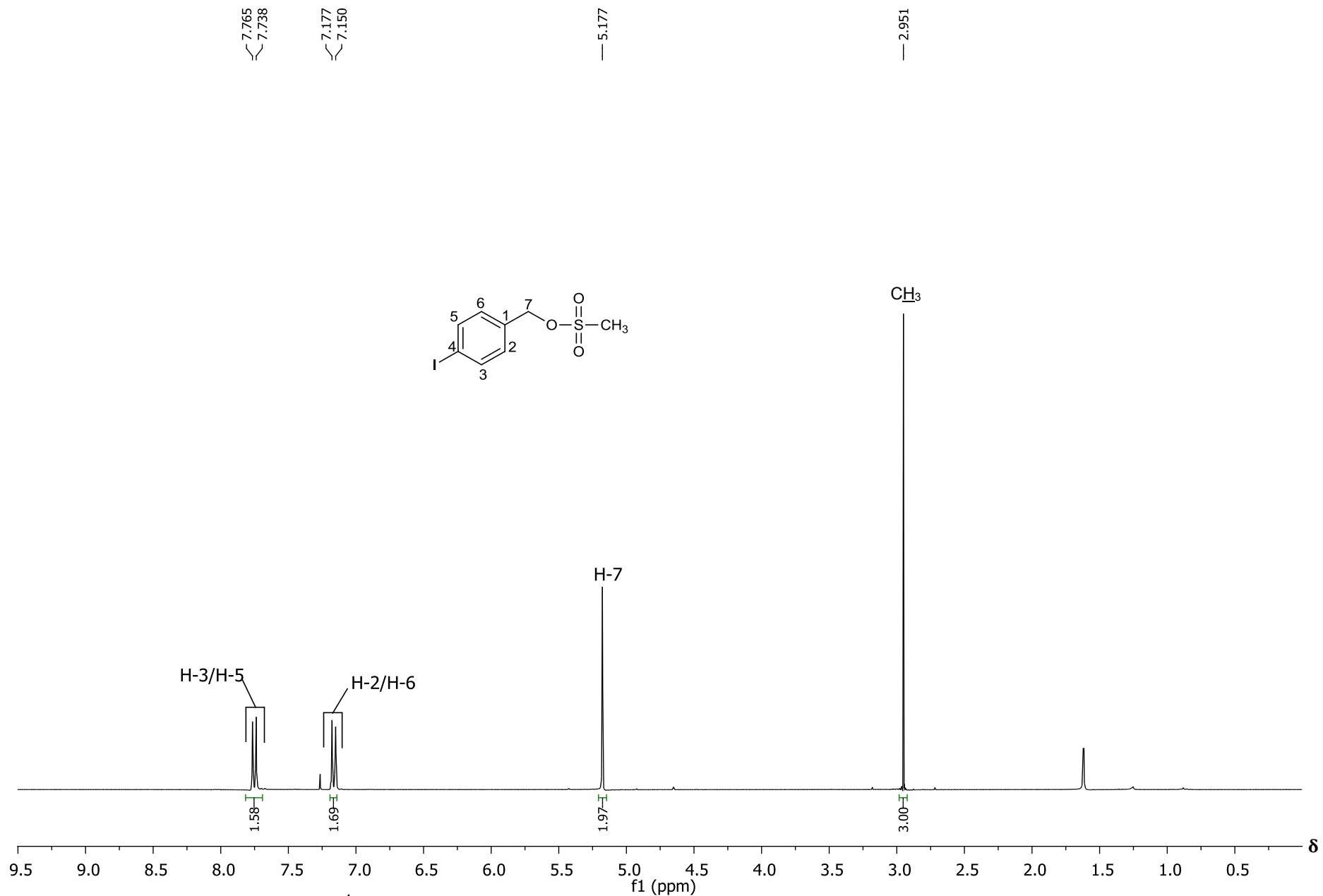


Figura 11 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6e**.

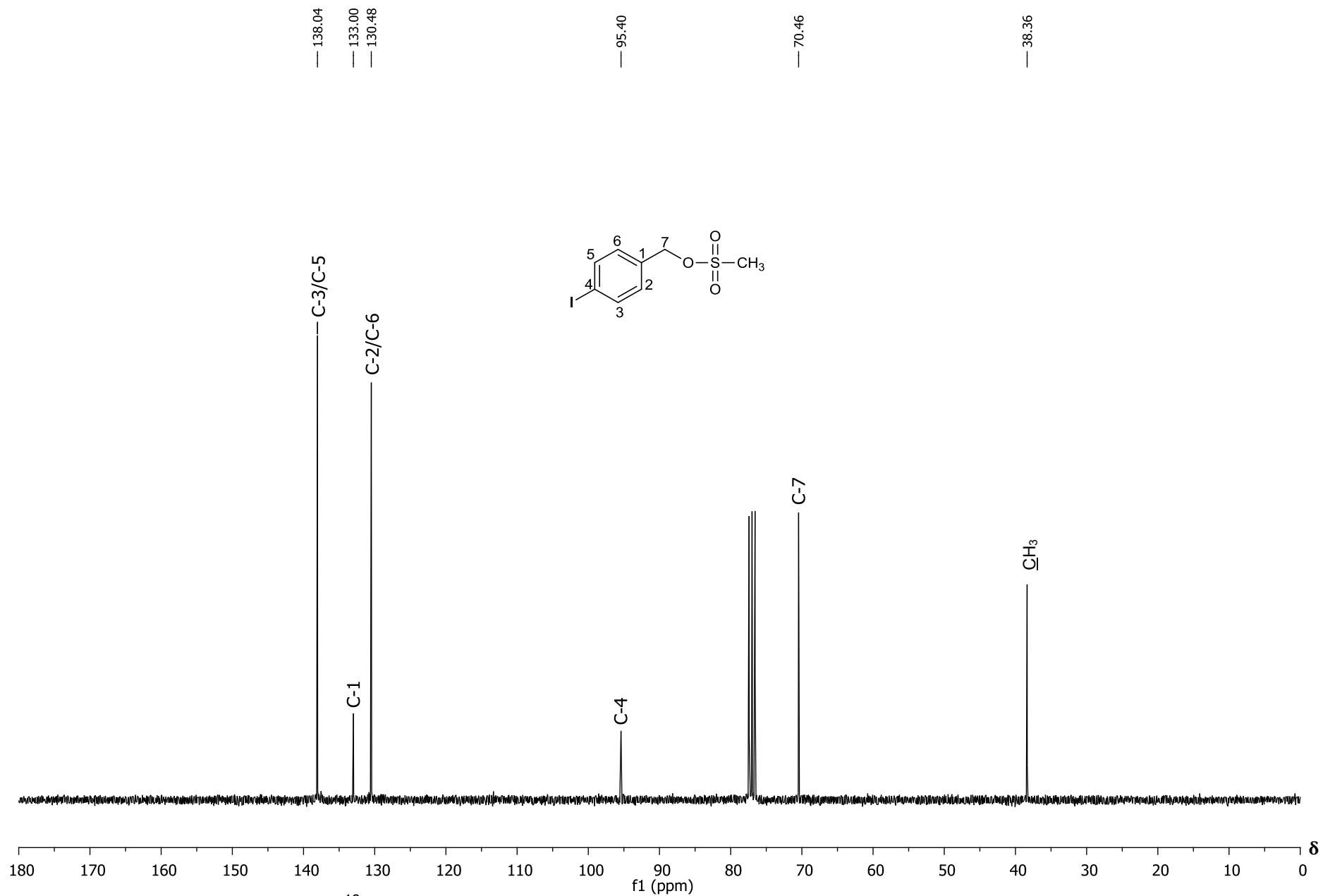


Figura 12 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **6e**.

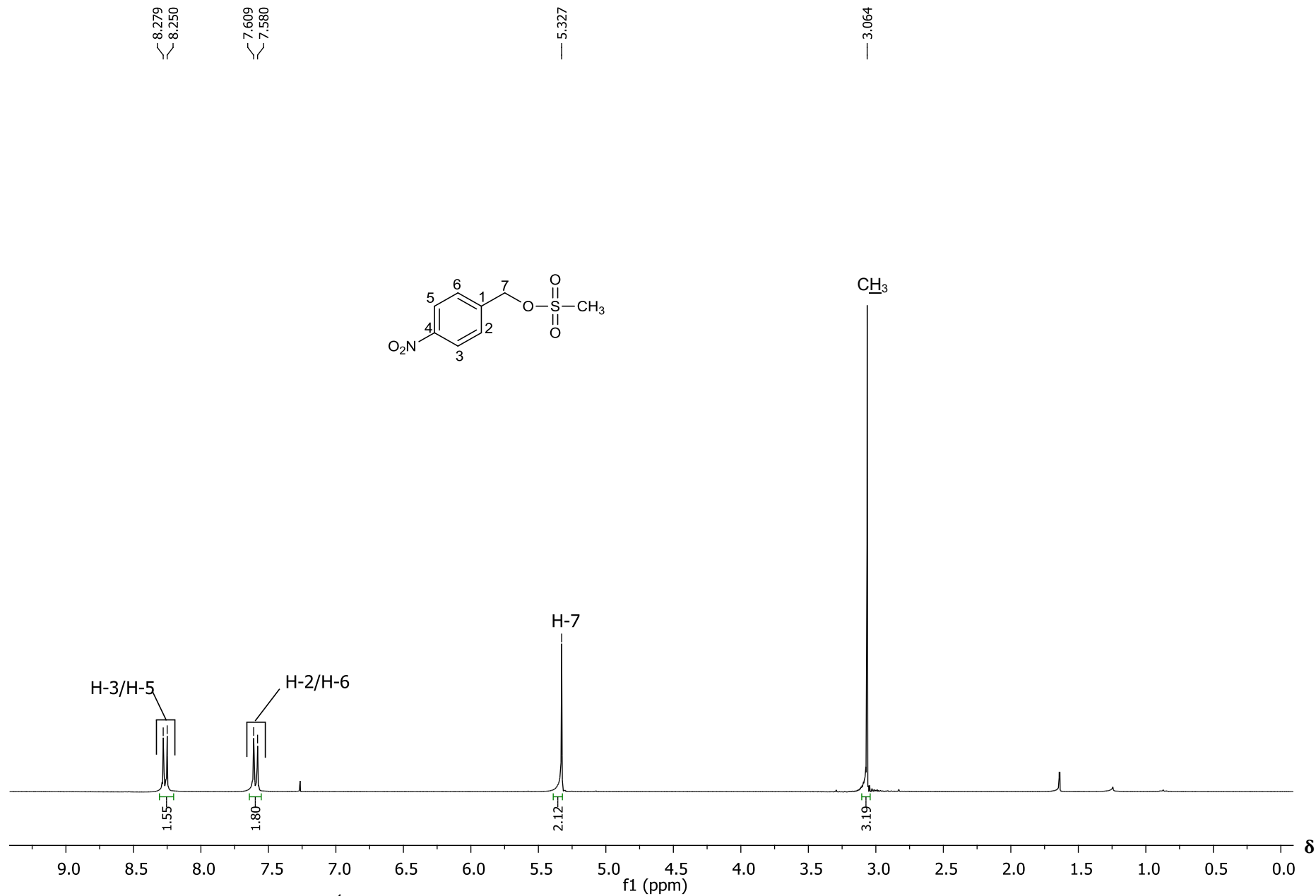


Figura 13 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **6f**.

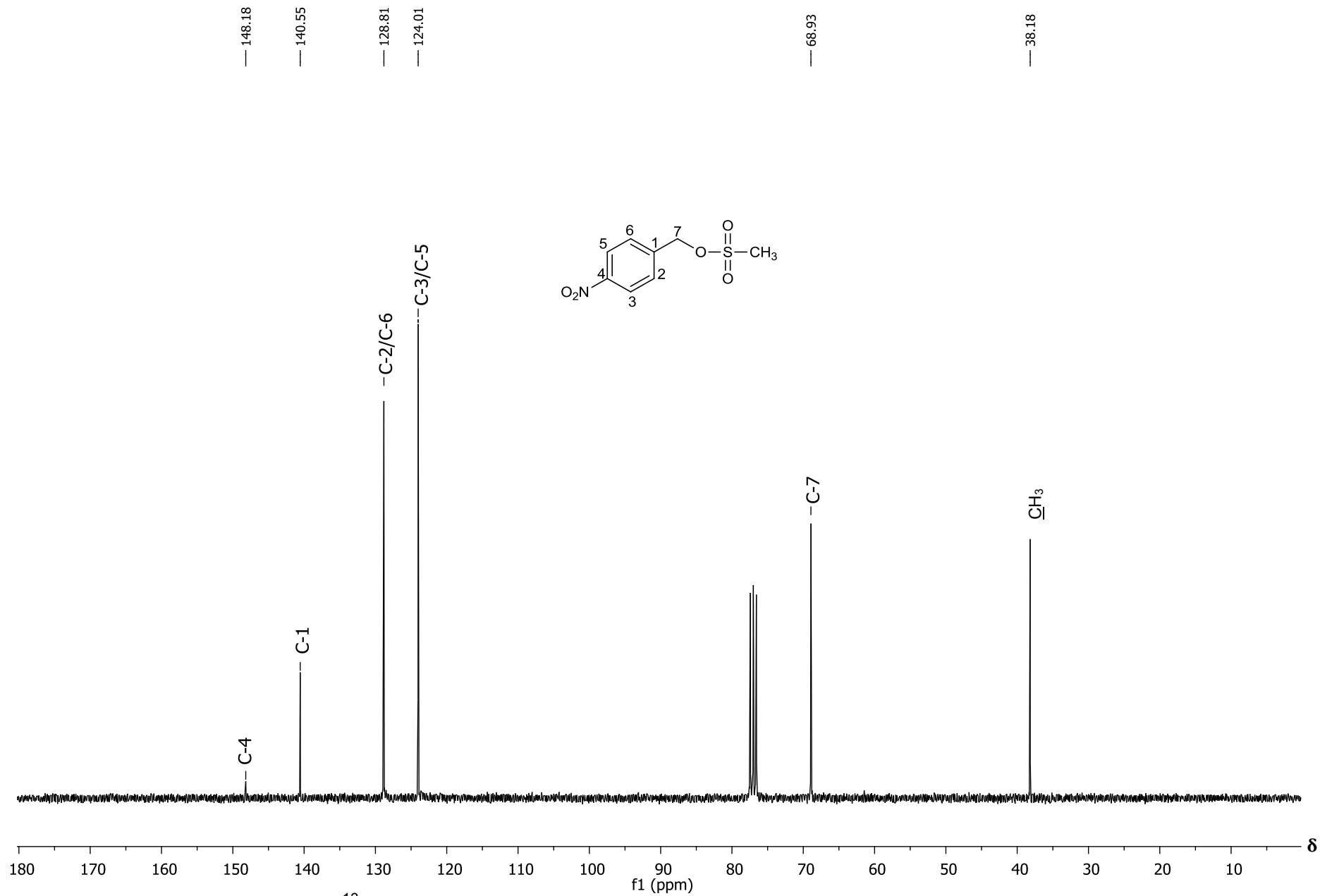


Figura 14 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **6f**.

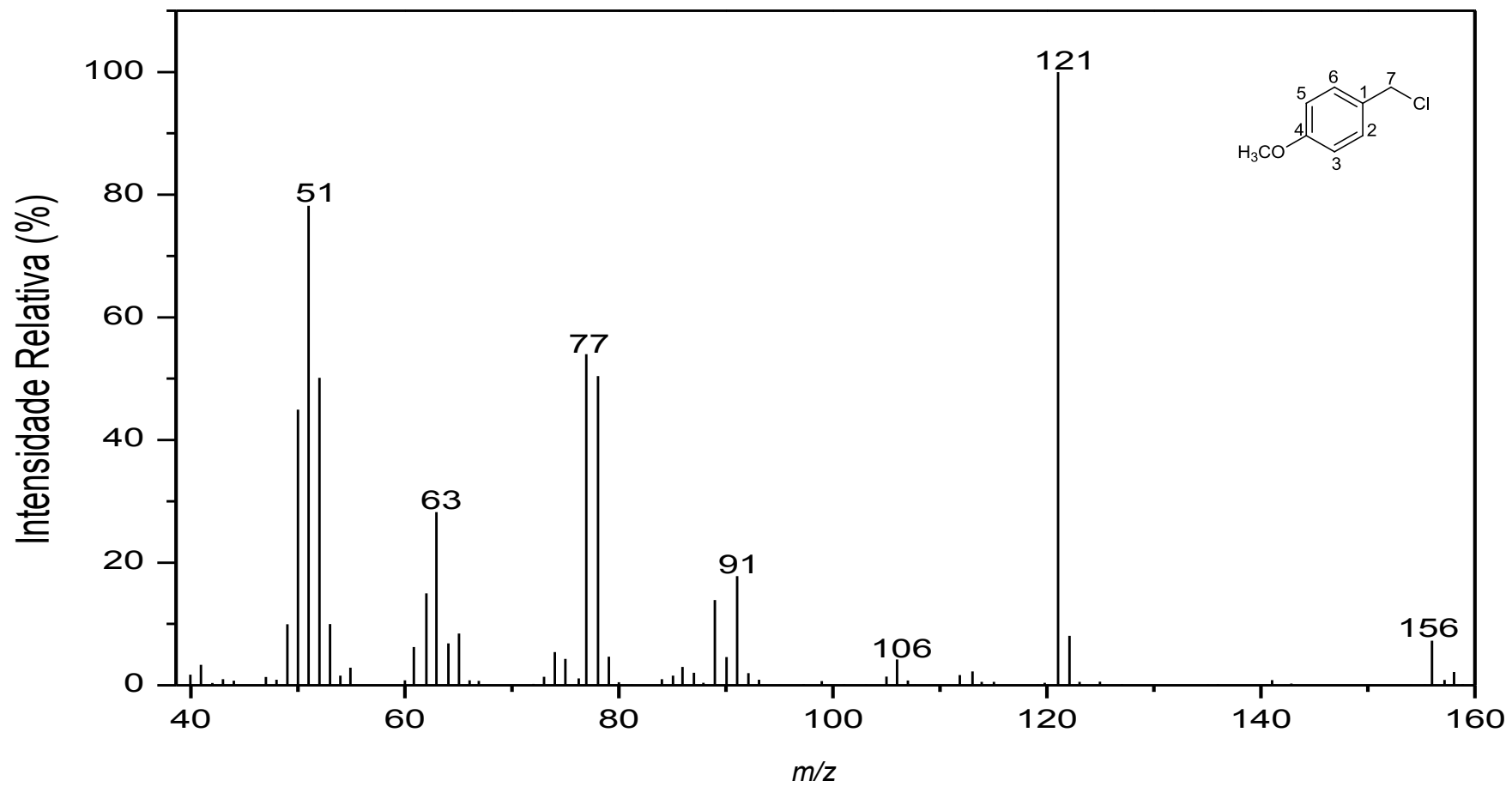


Figura 15 – Espectro de massas do composto **6g**.

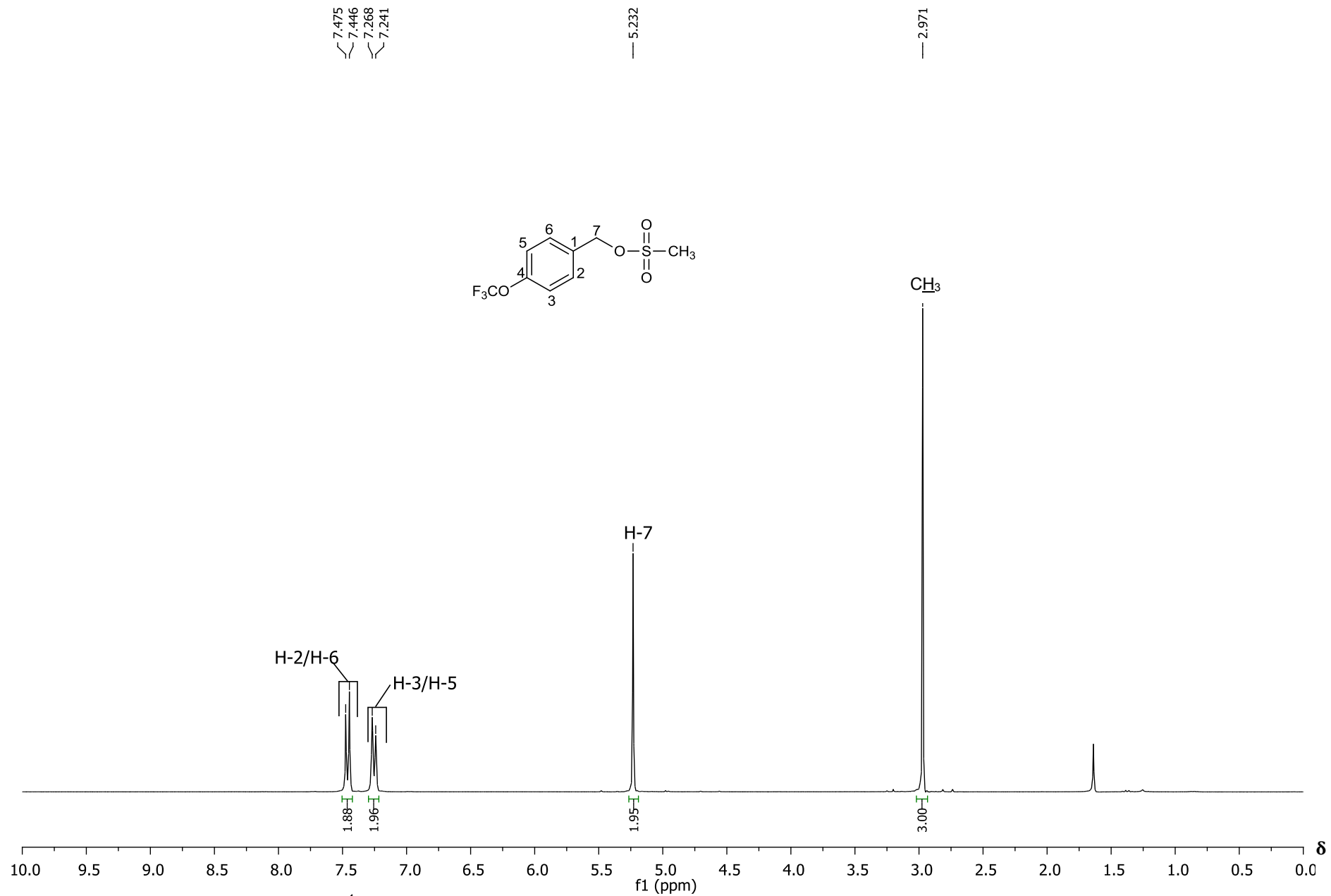


Figura 16 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6h**.

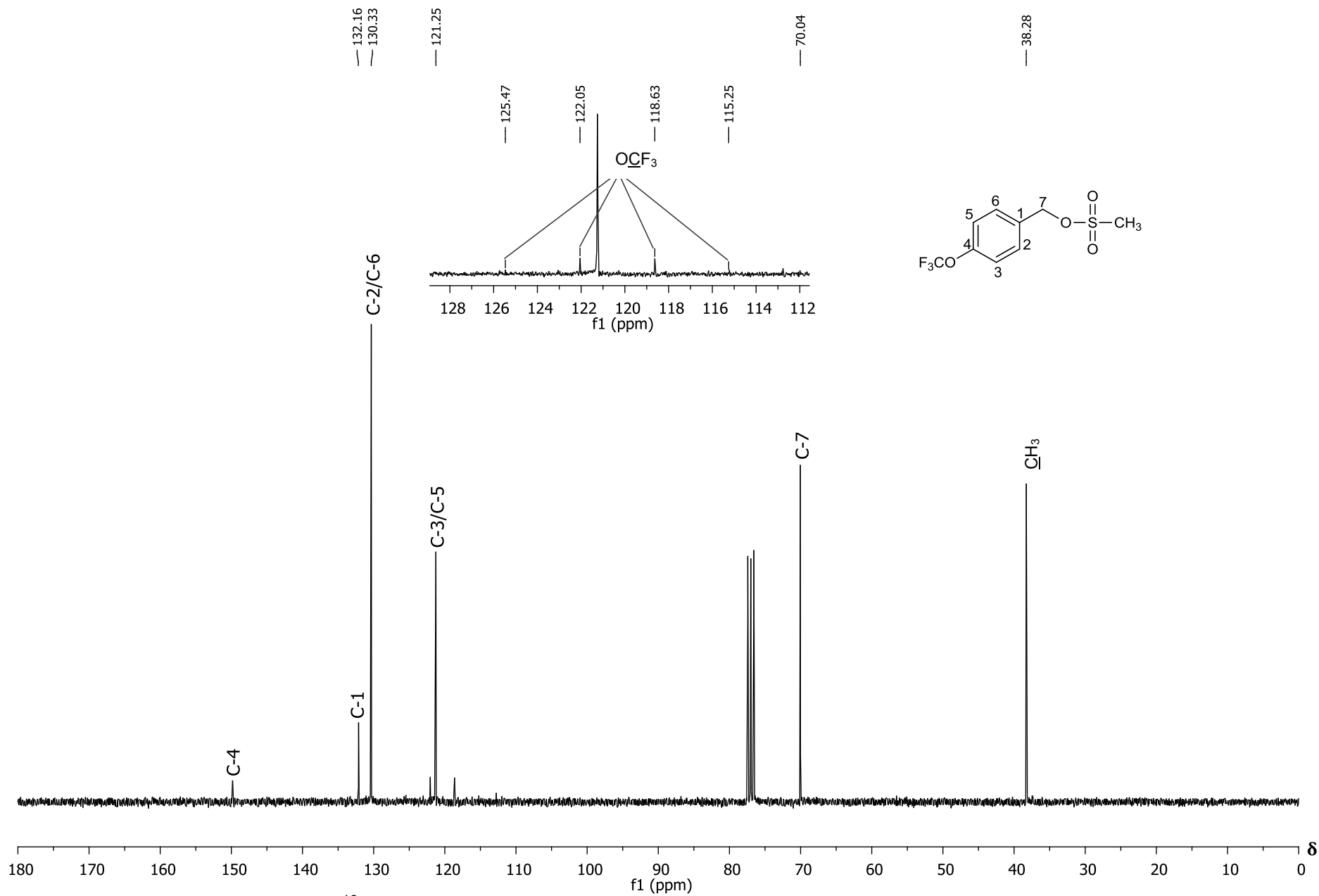


Figura 17 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6h**.

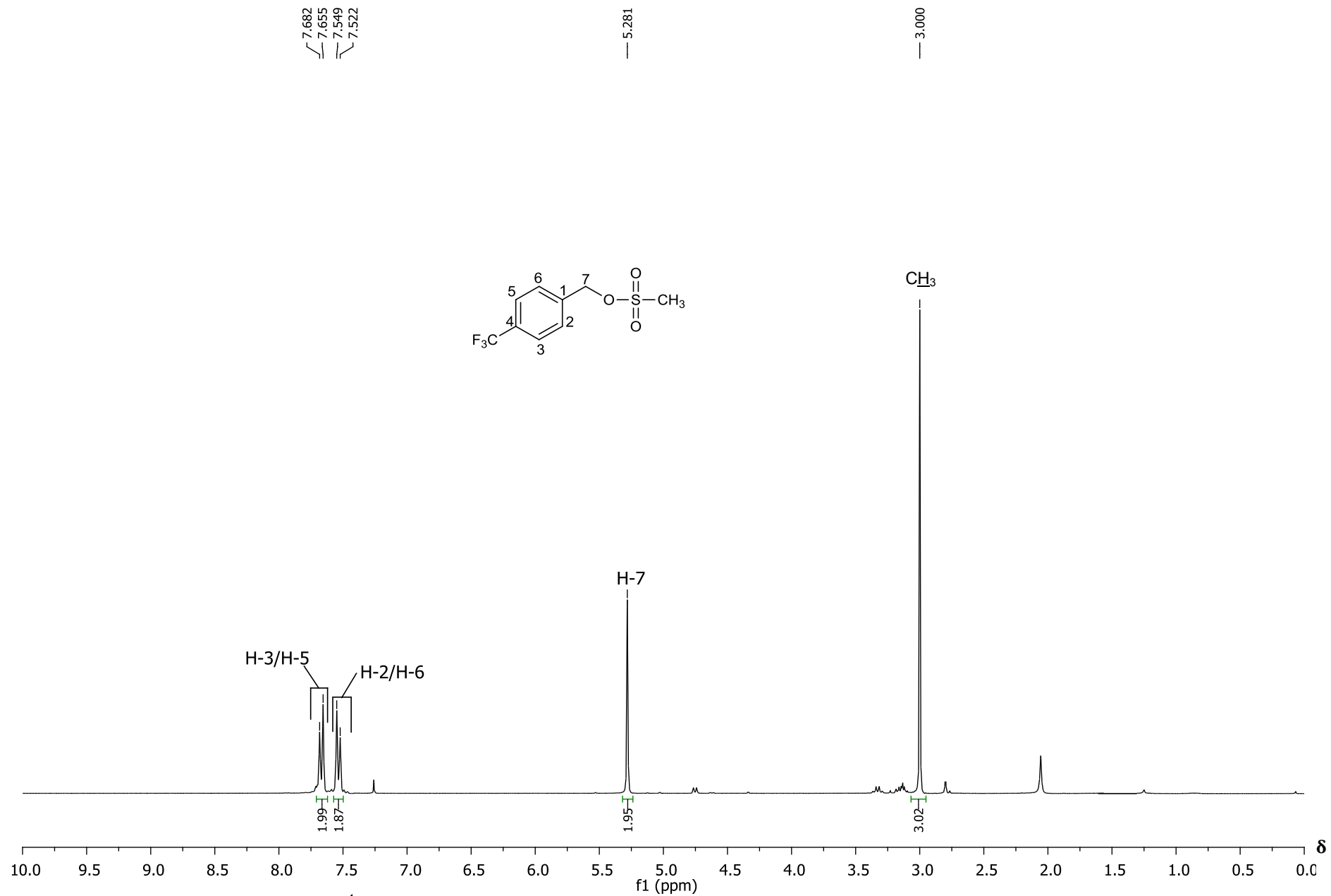


Figura 18 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **6i**.

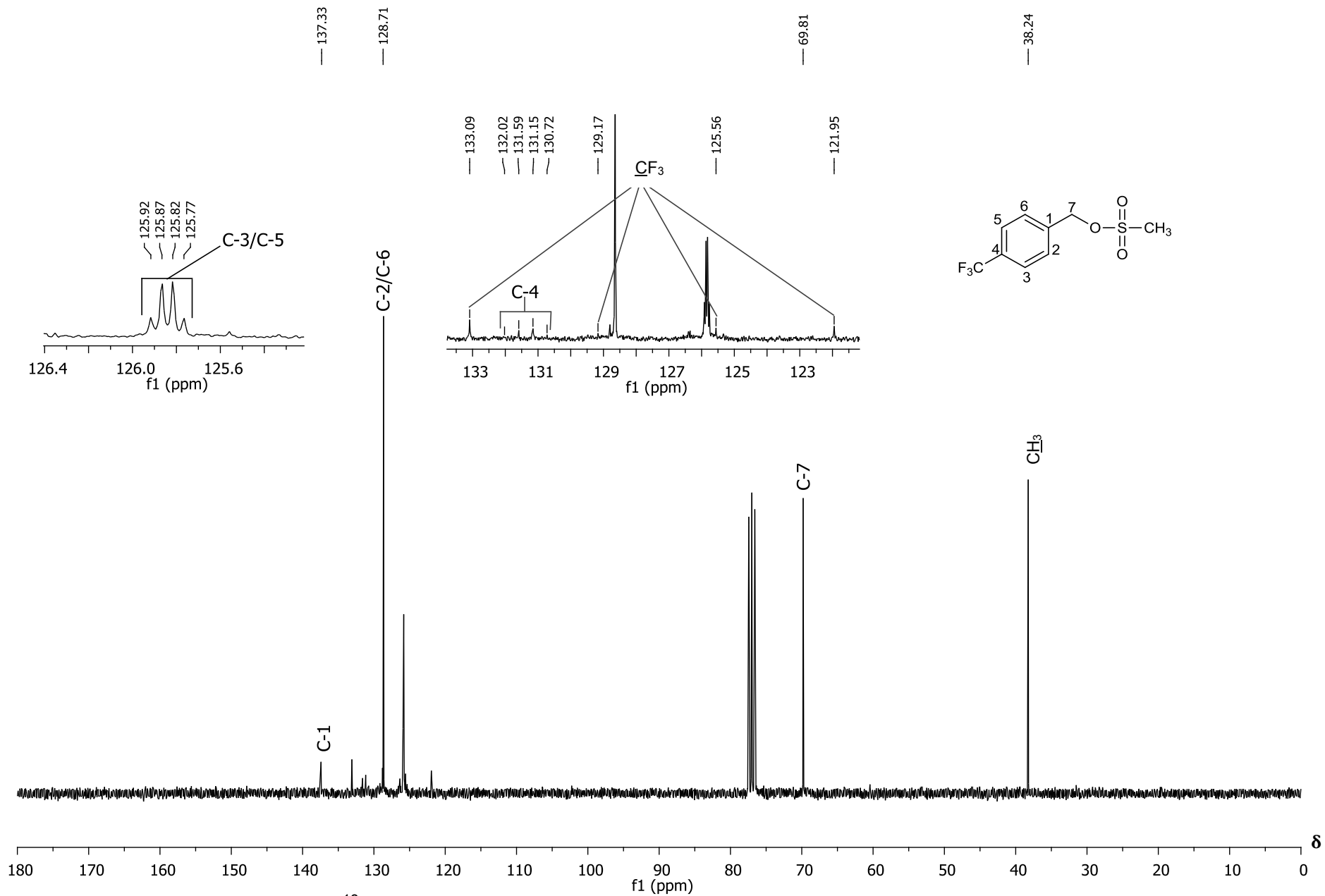


Figura 19 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6i**.

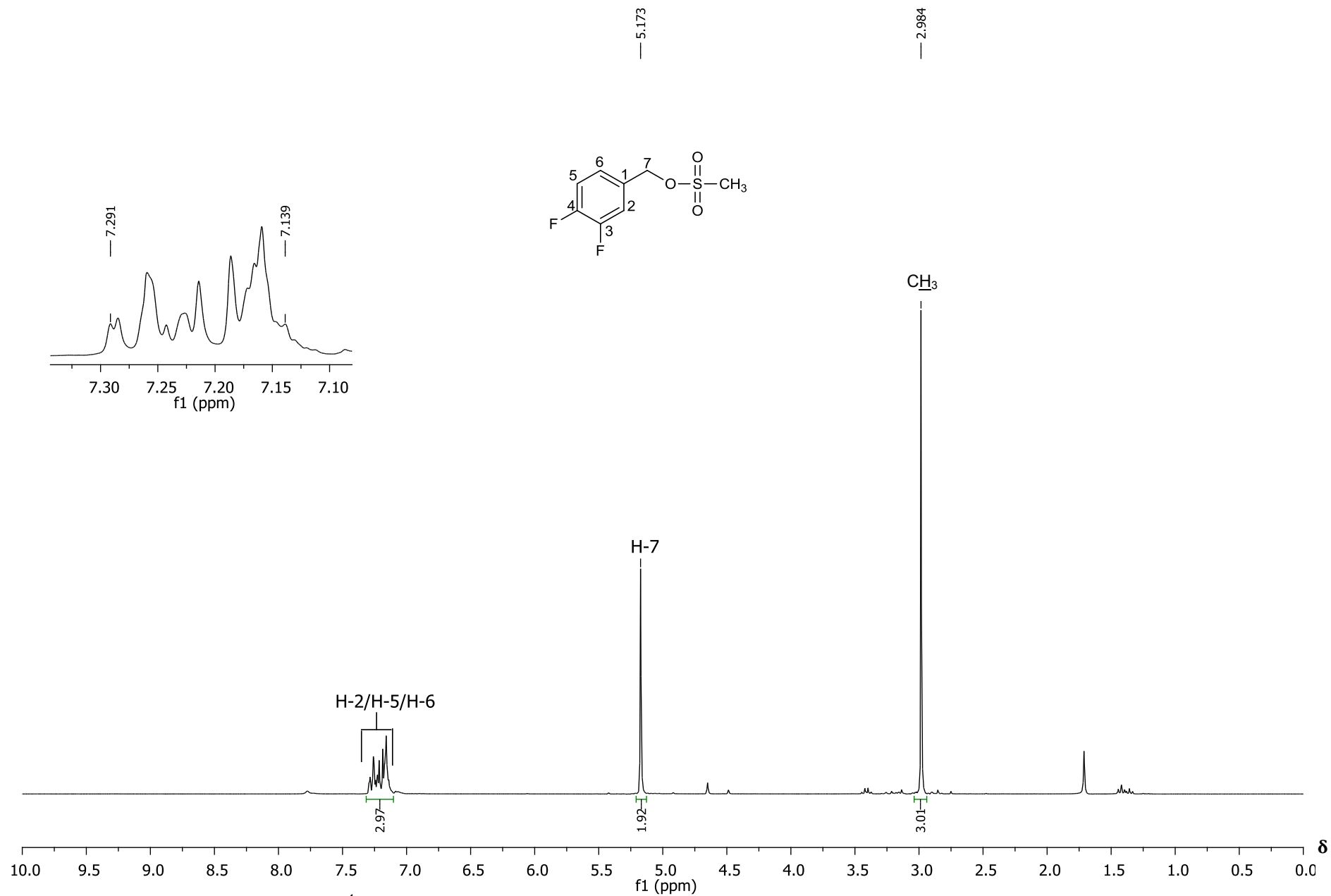


Figura 20 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6j**.

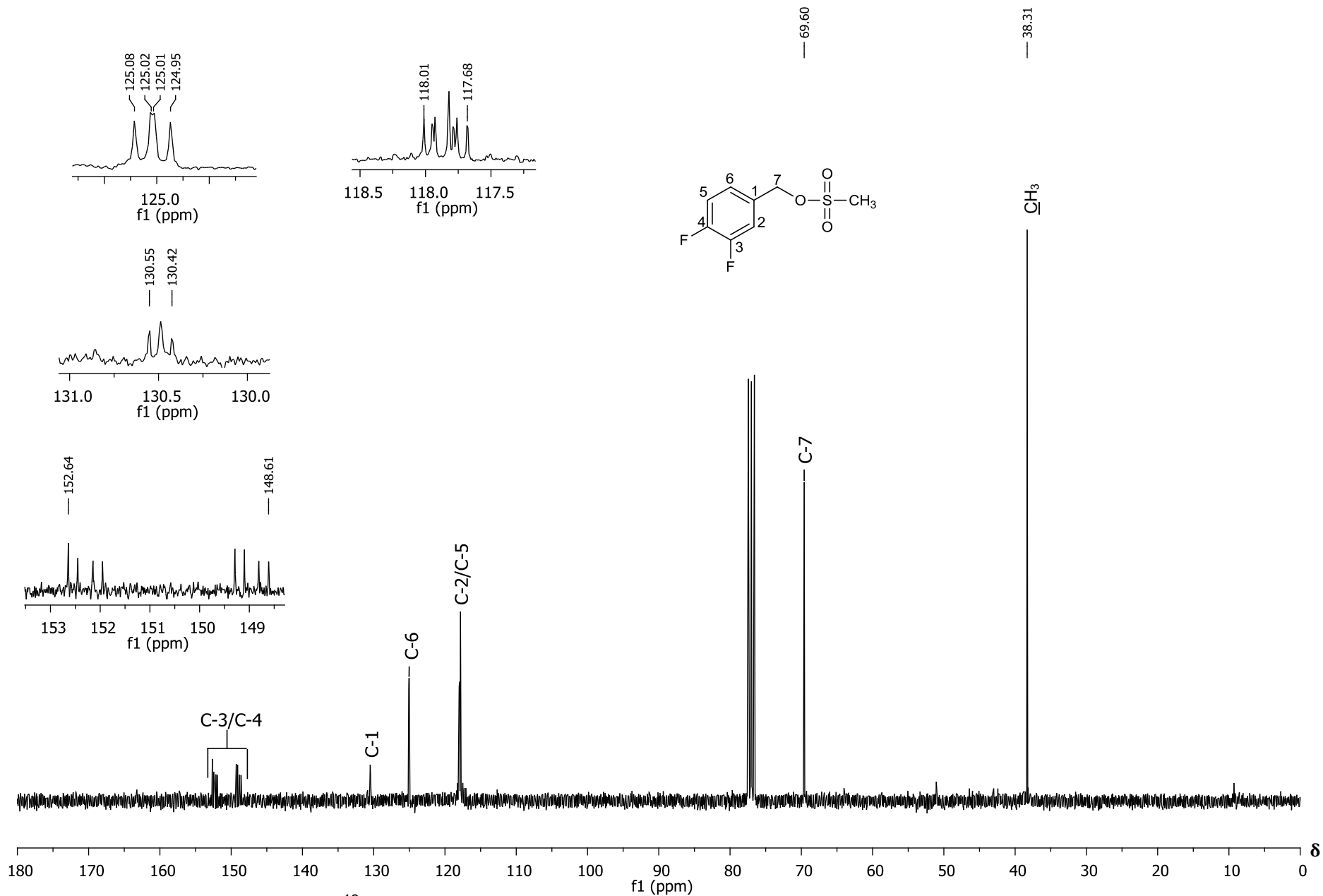


Figura 21 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6j**.

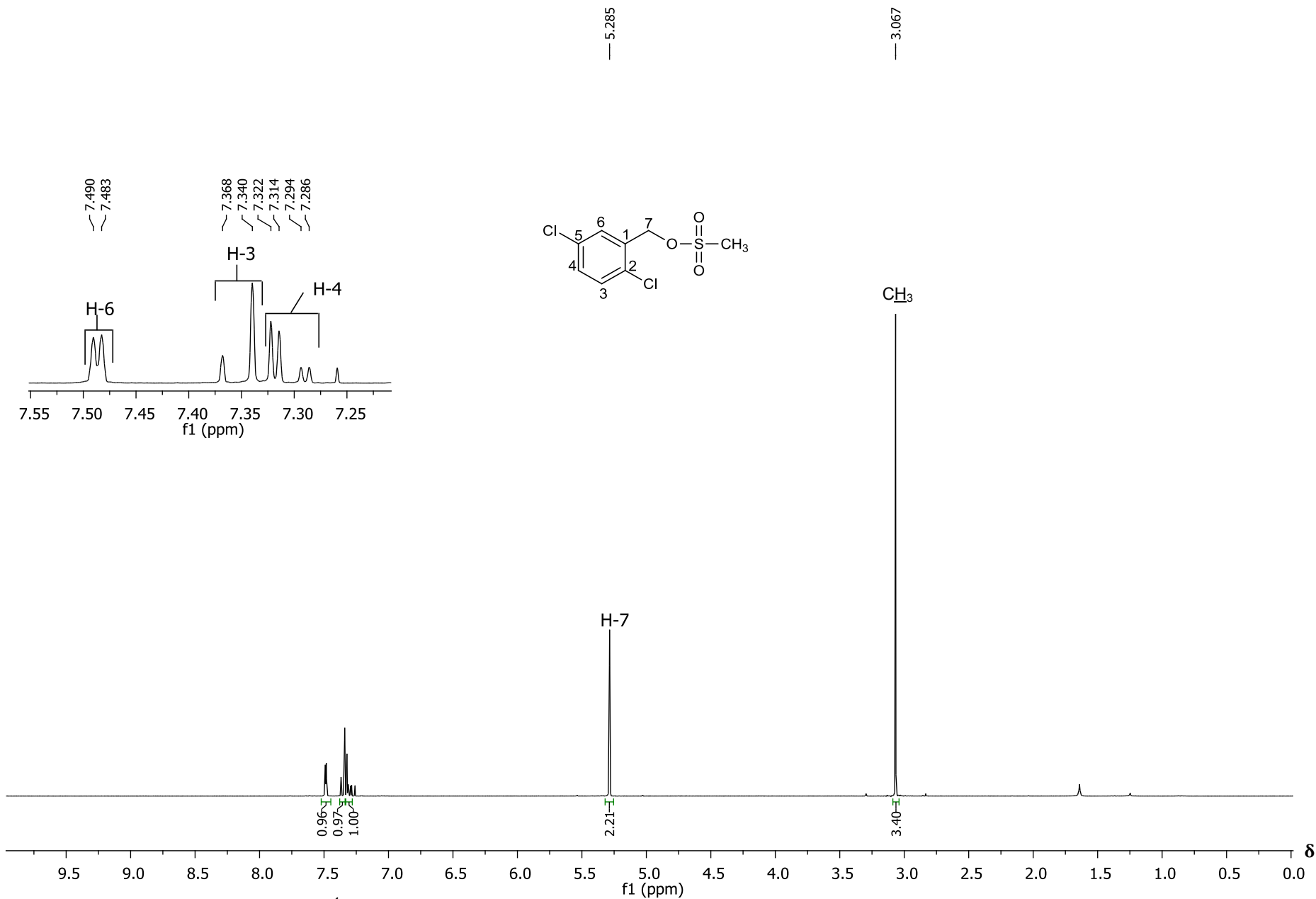


Figura 22 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6k**.

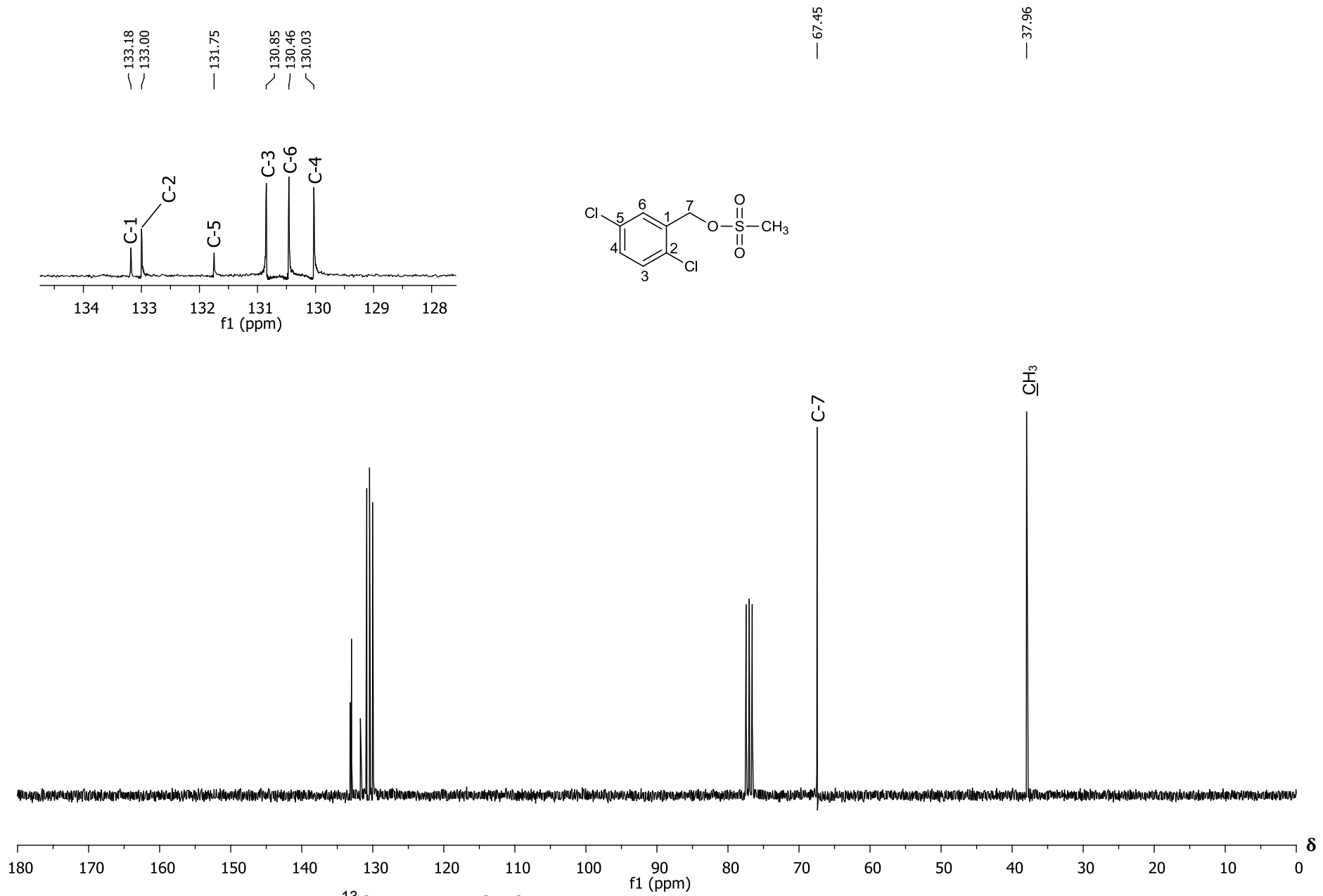


Figura 23 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6k**.

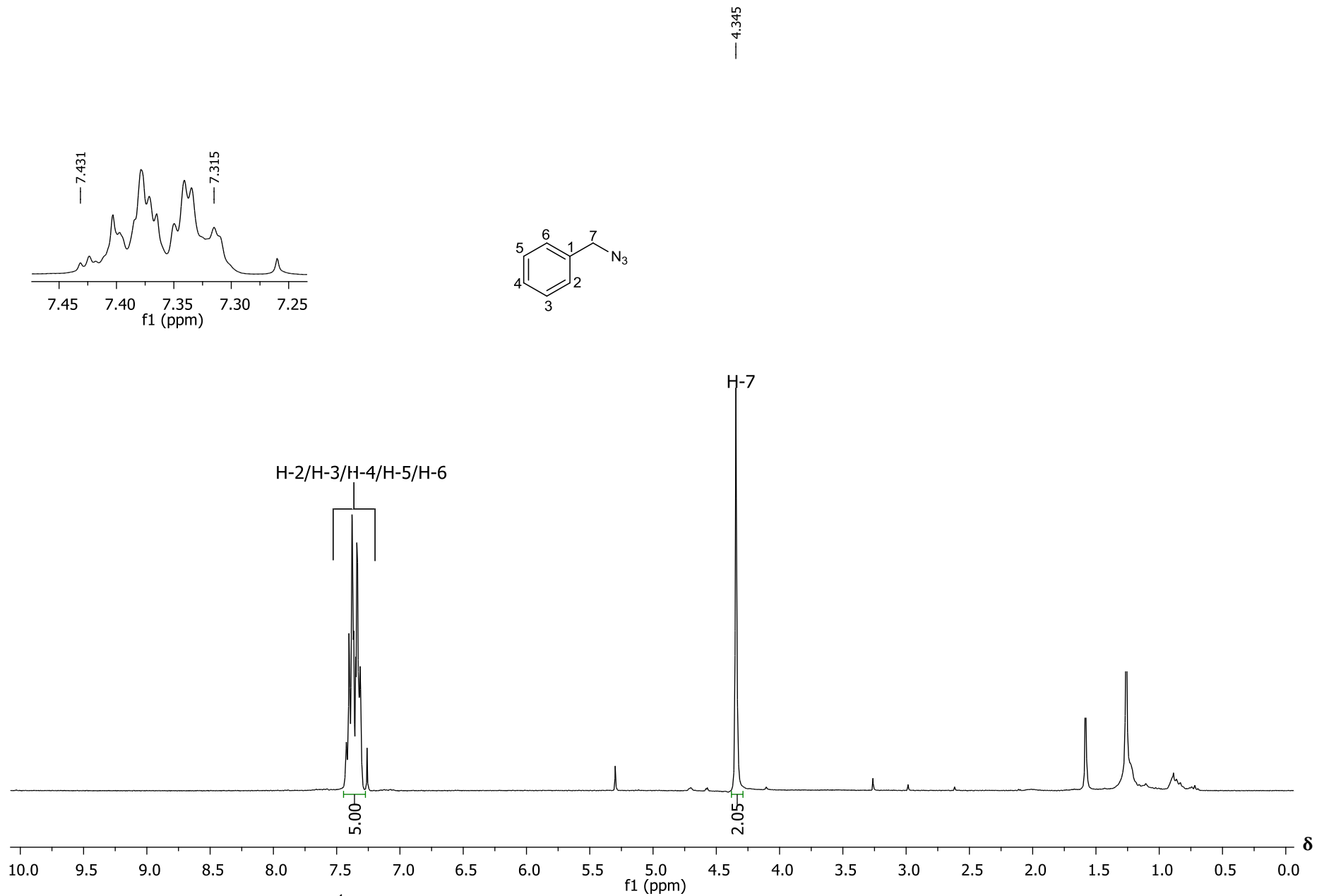


Figura 24 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7a**.

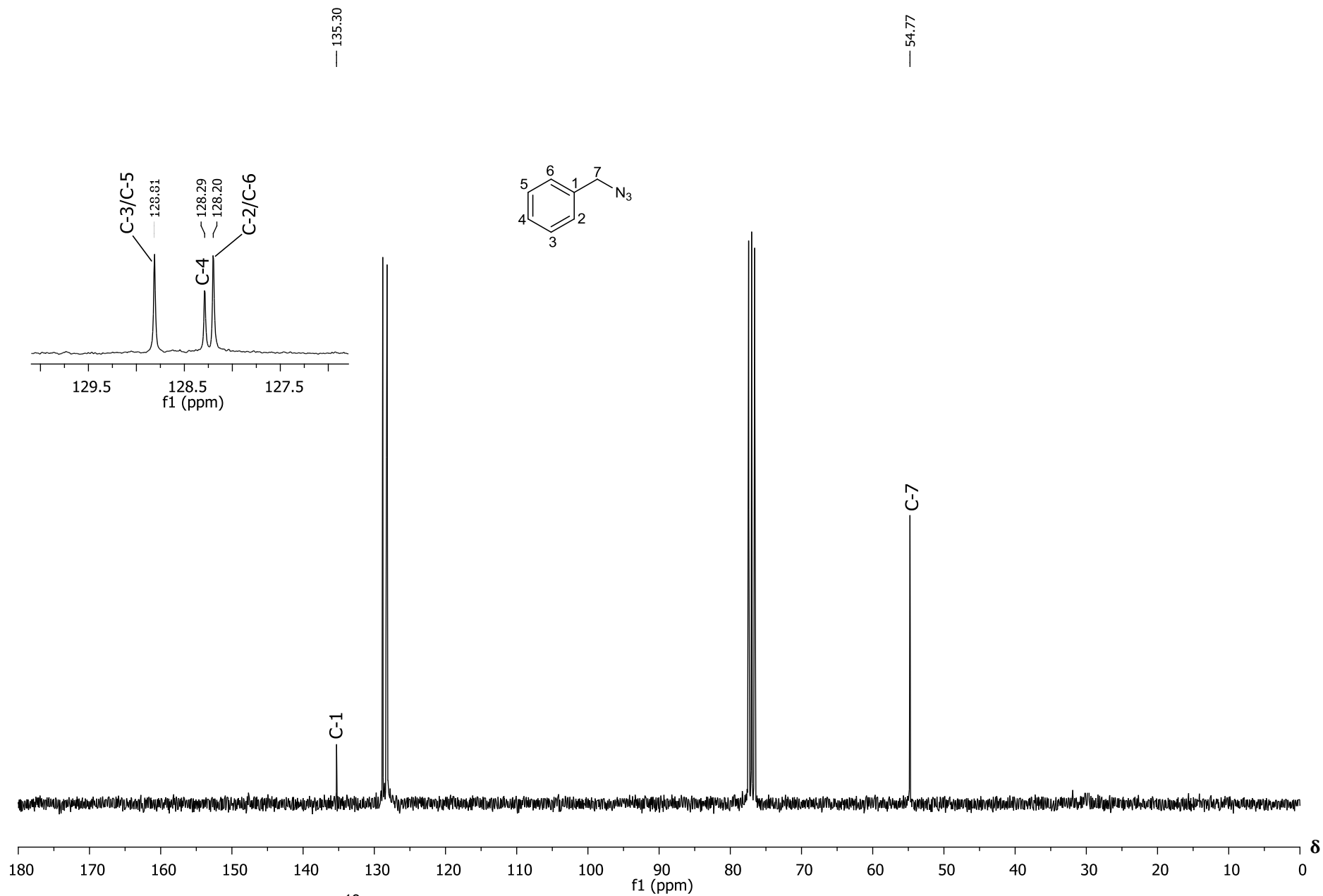


Figura 25 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7a**.

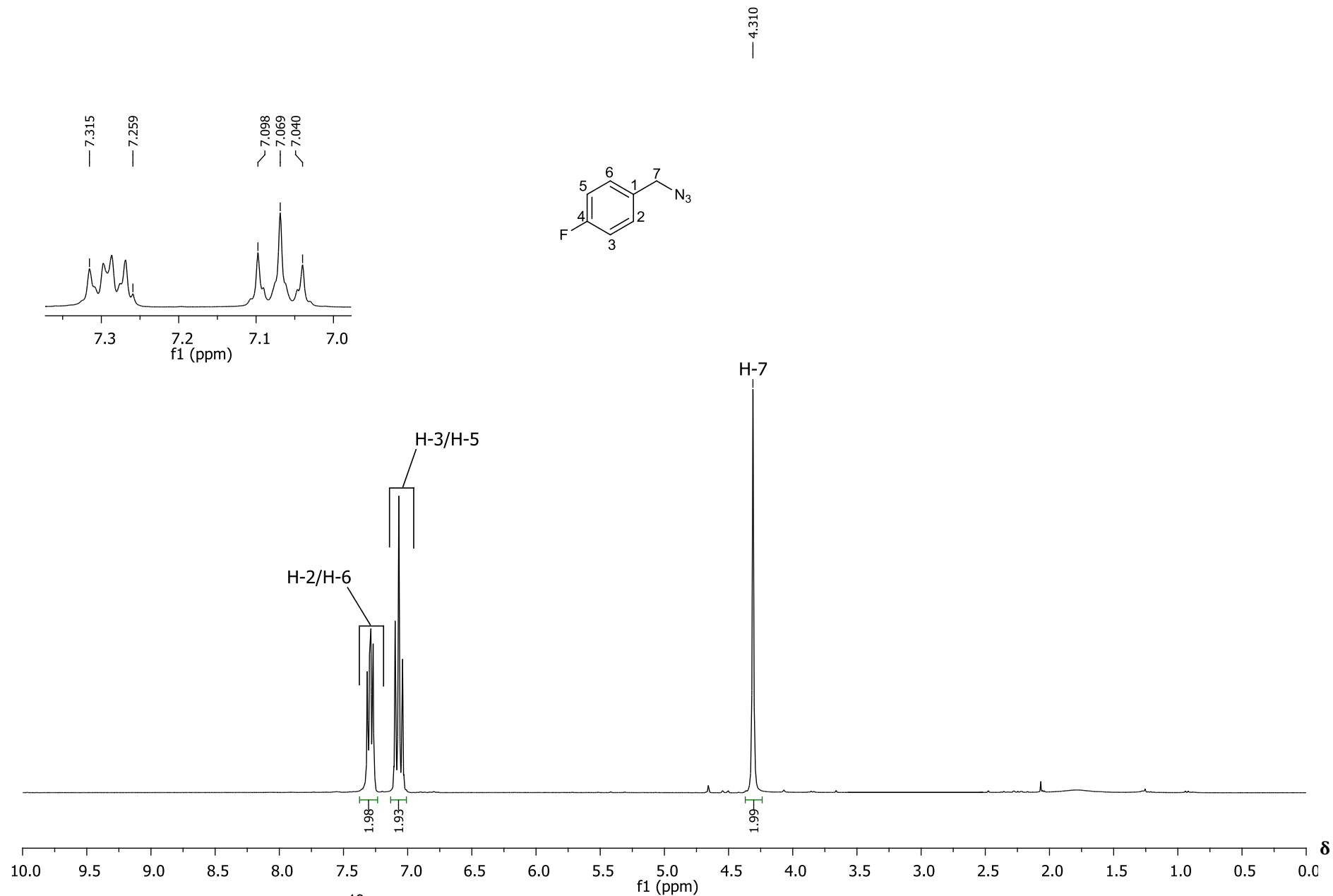


Figura 26 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7b**.

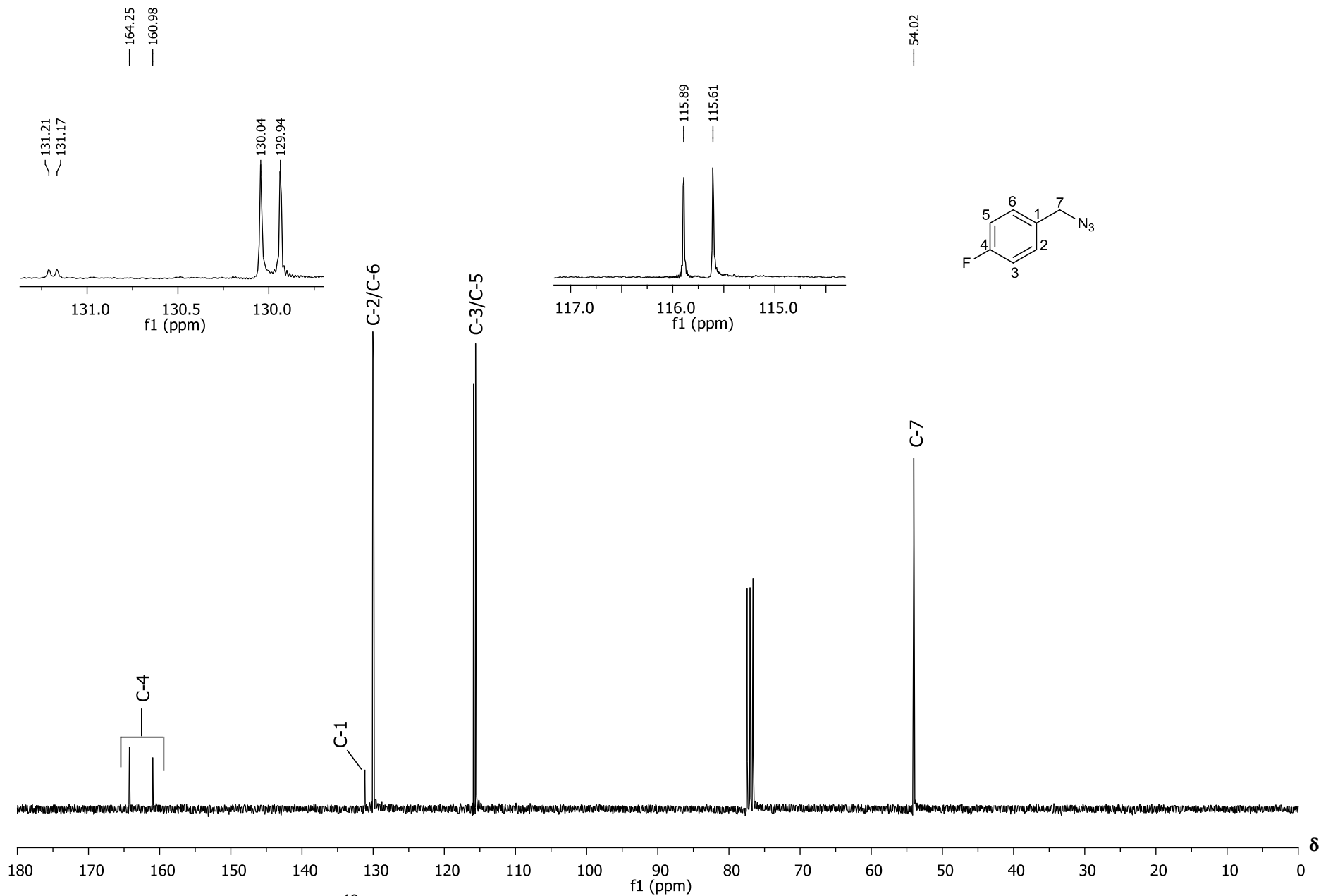


Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7b**.

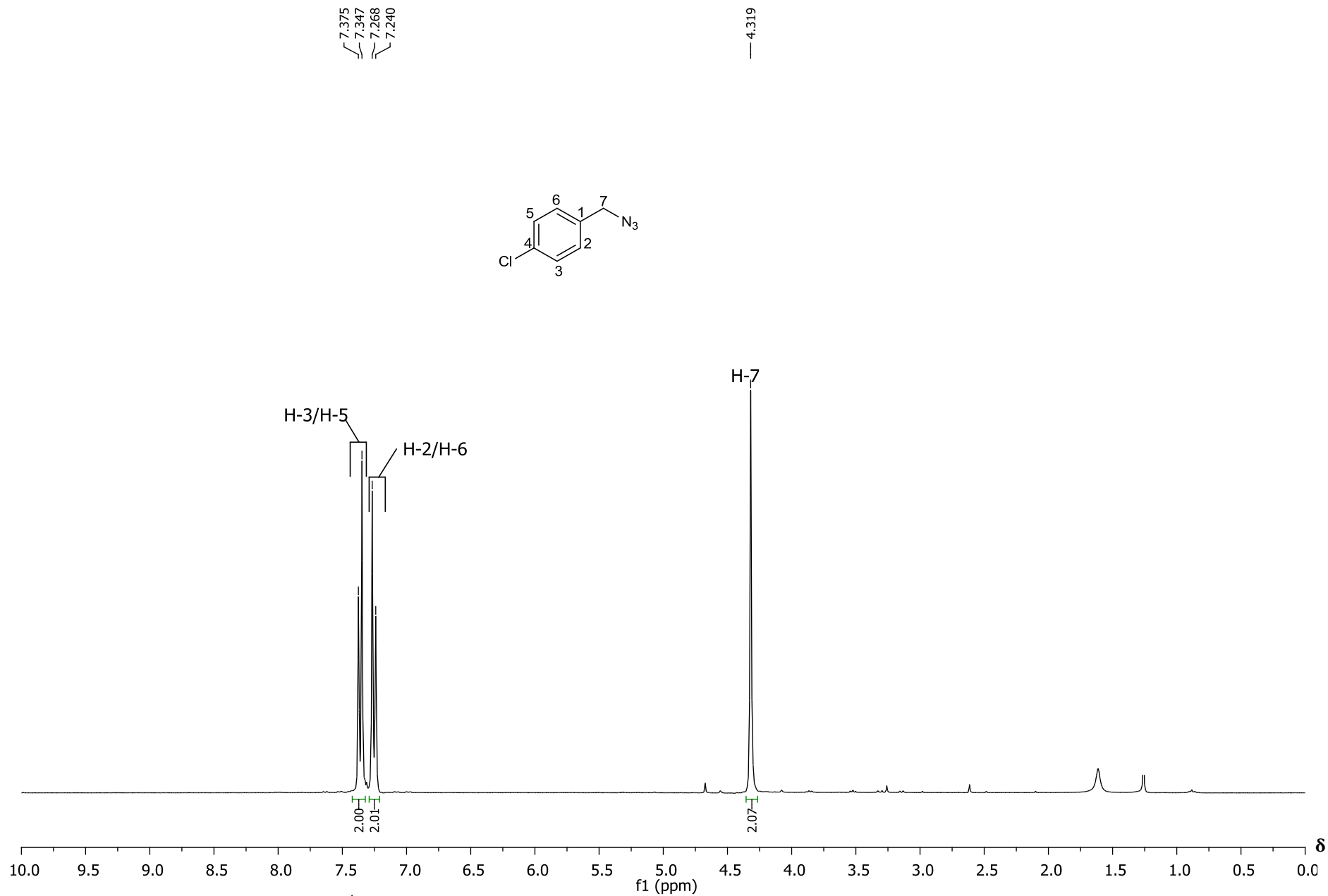


Figura 28 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7c**.

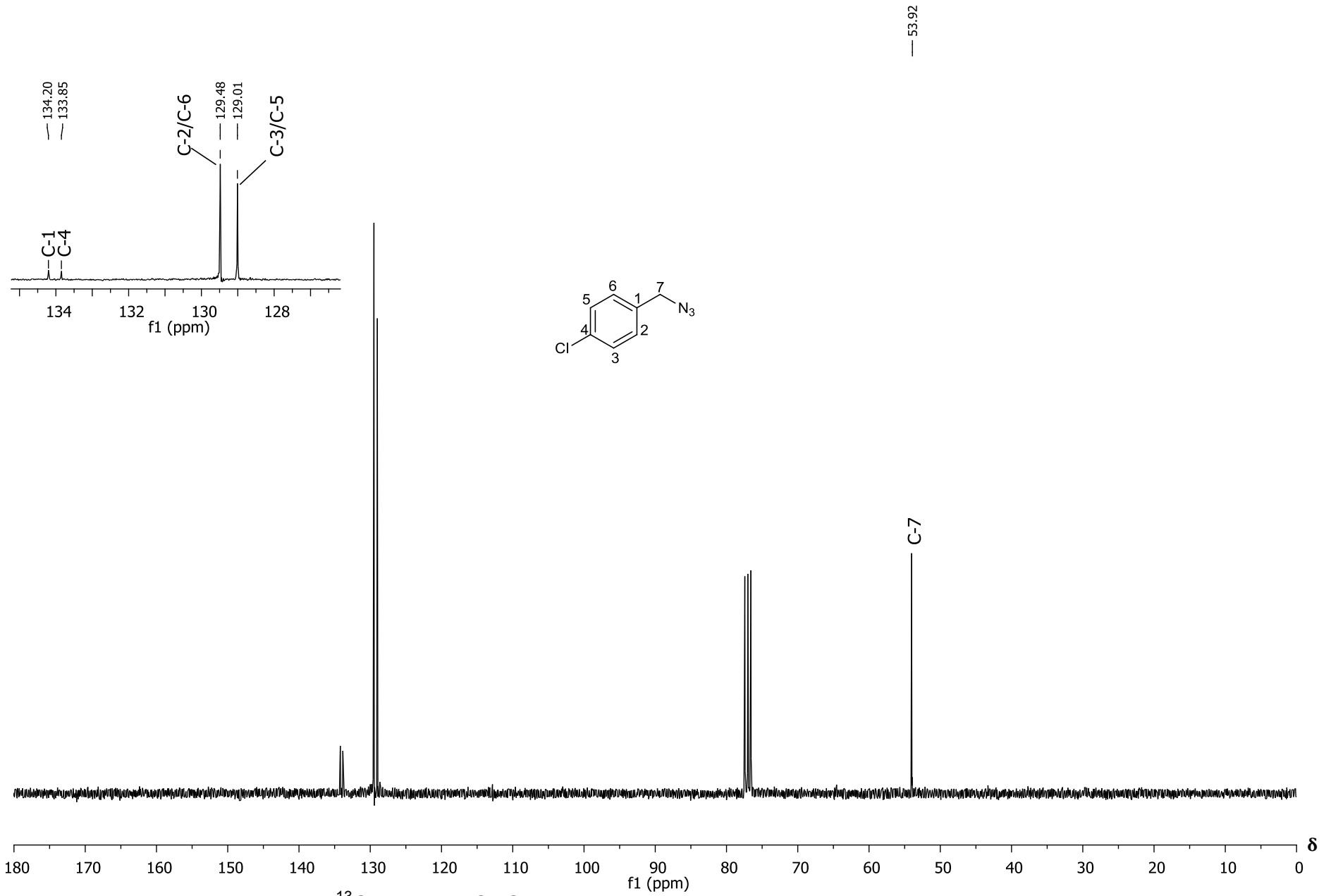


Figura 29 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7c**.

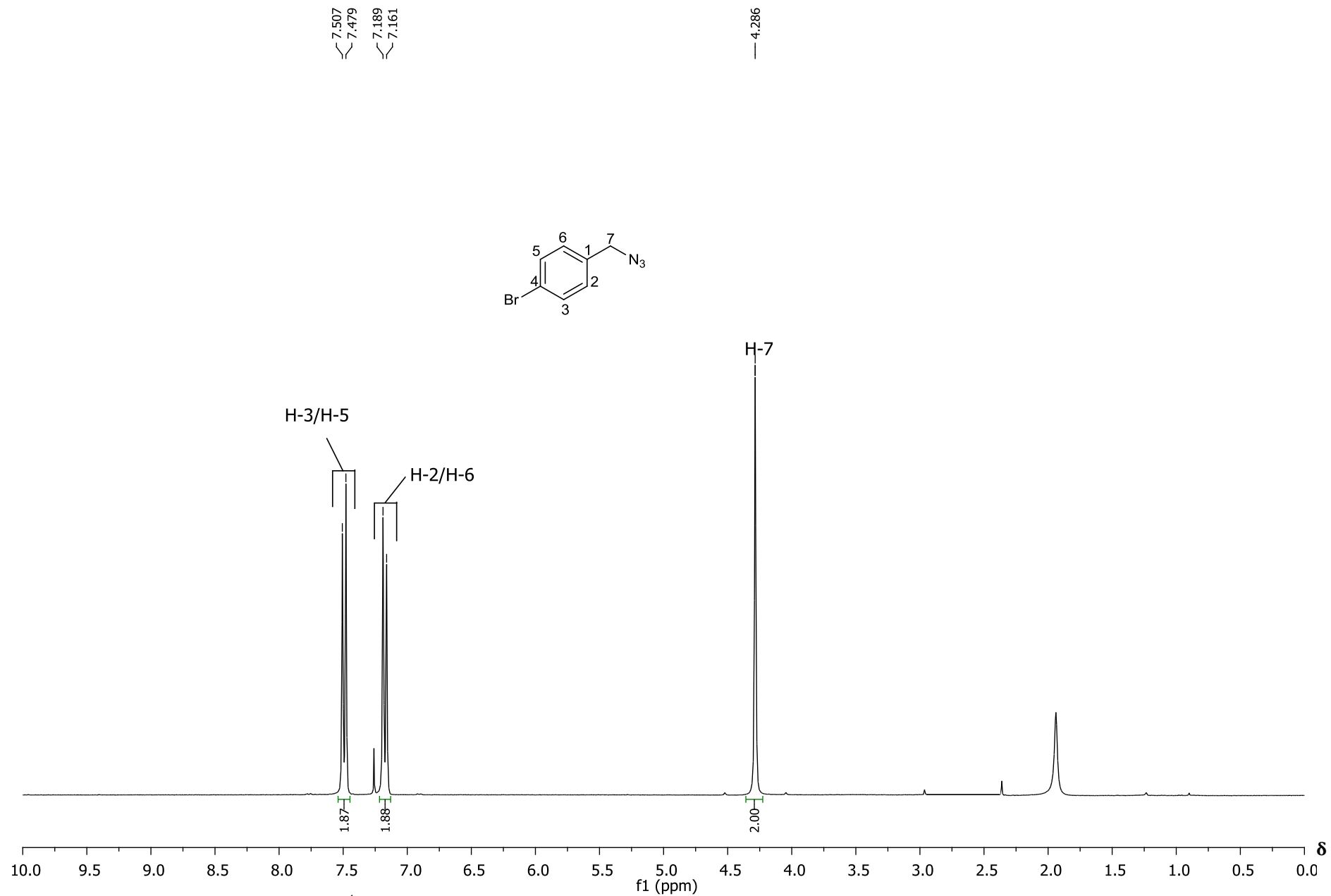


Figura 30 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **7d**.

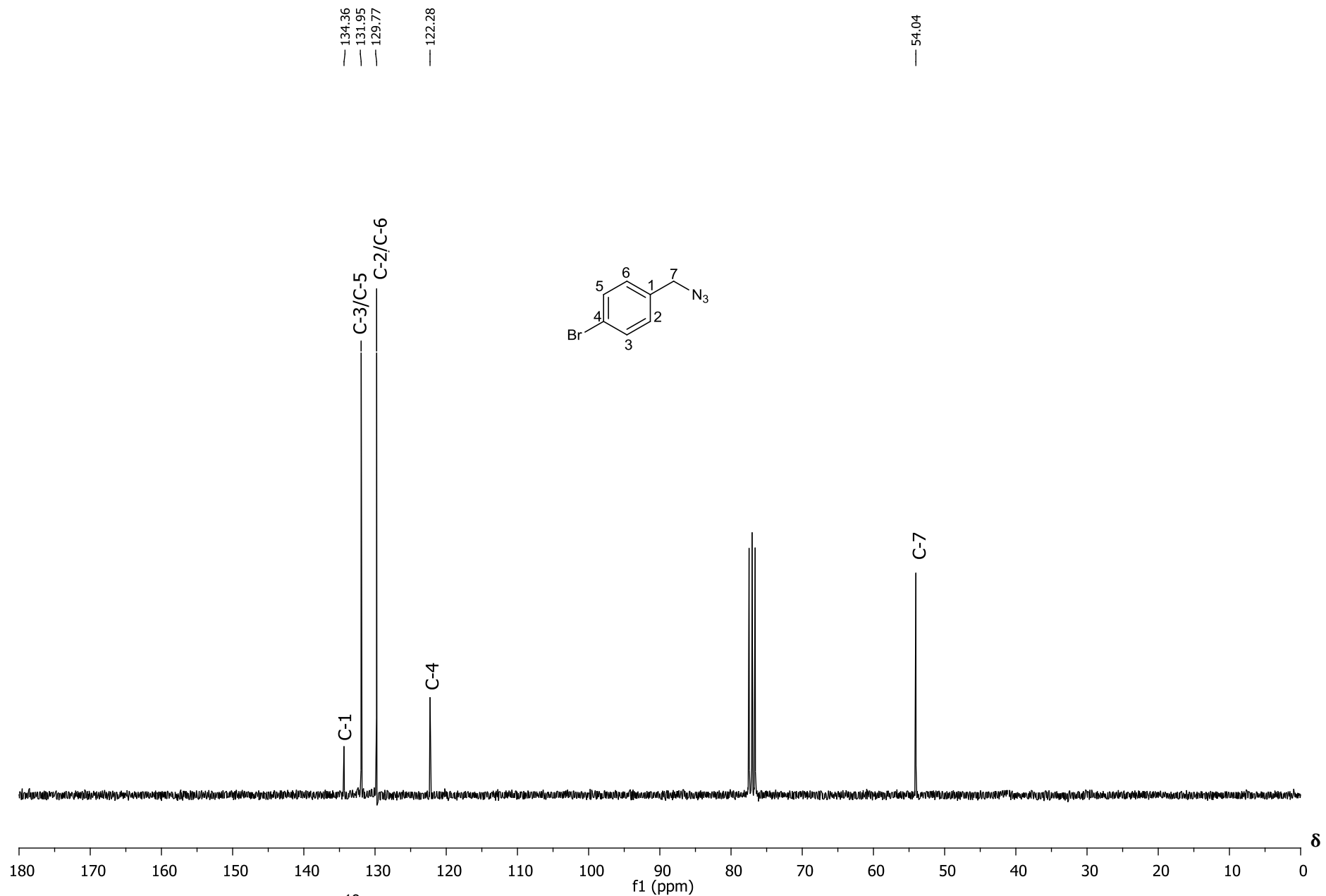


Figura 31 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **7d**.

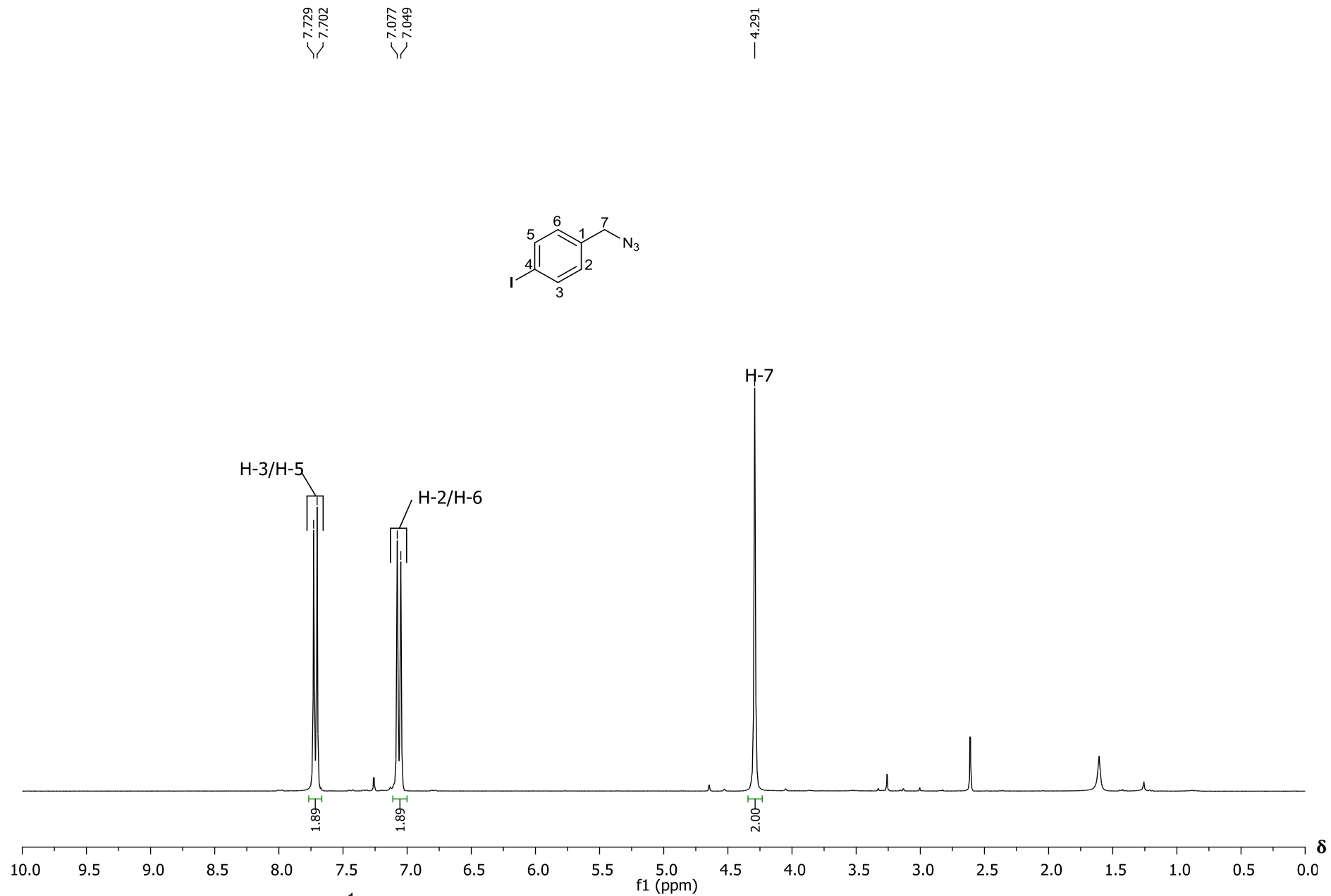


Figura 32 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7e**.

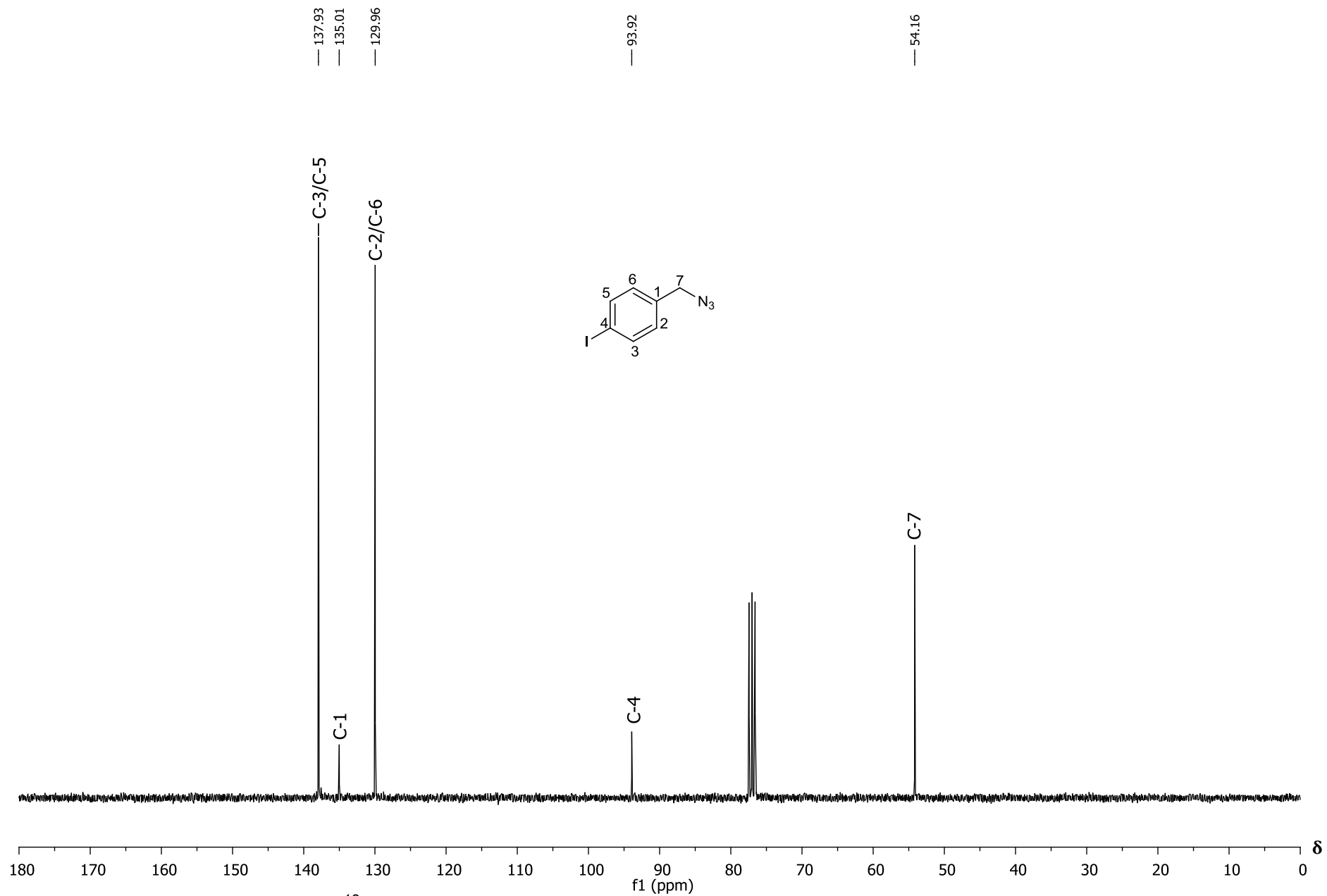


Figura 33 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **7e**.

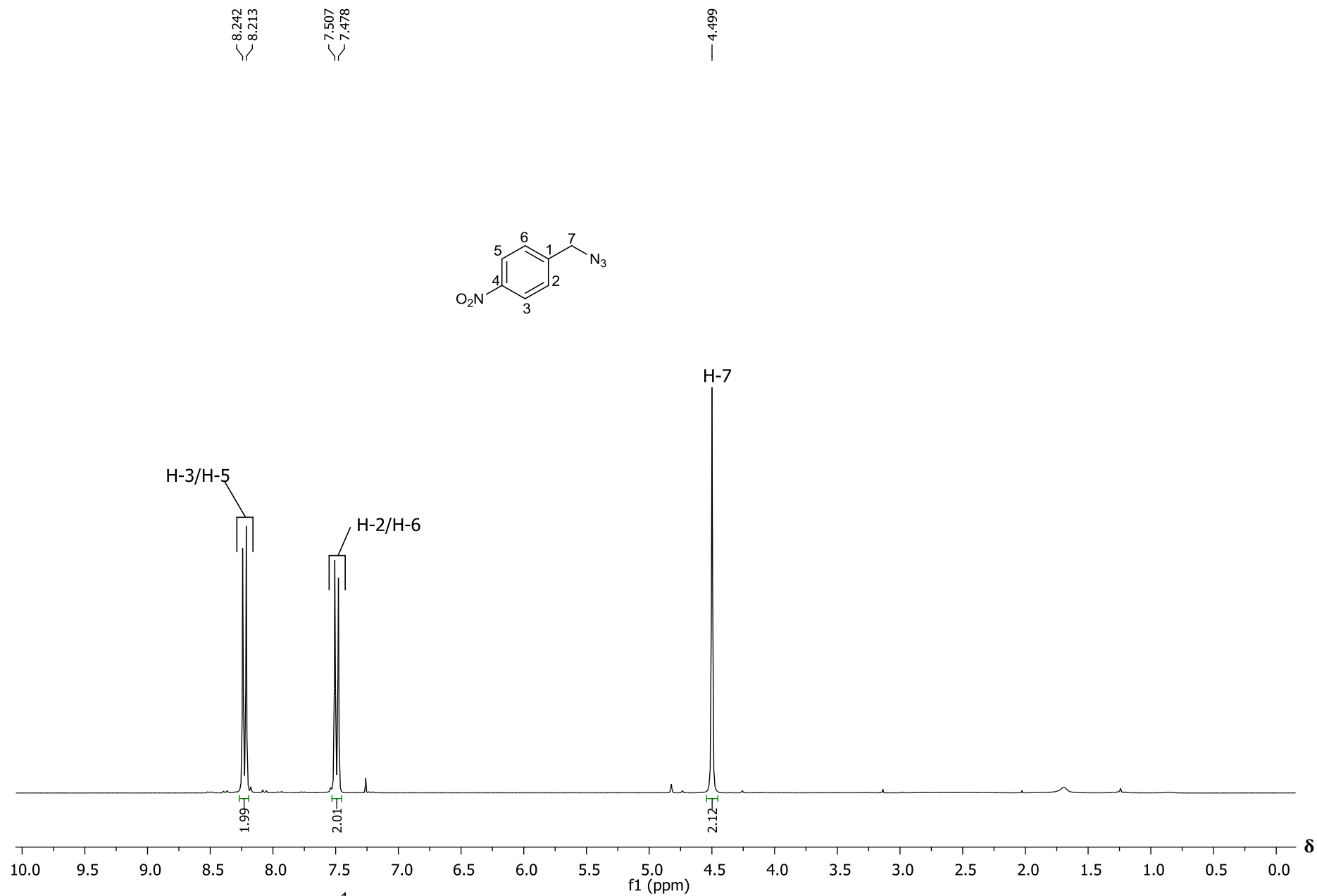


Figura 34 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7f**.

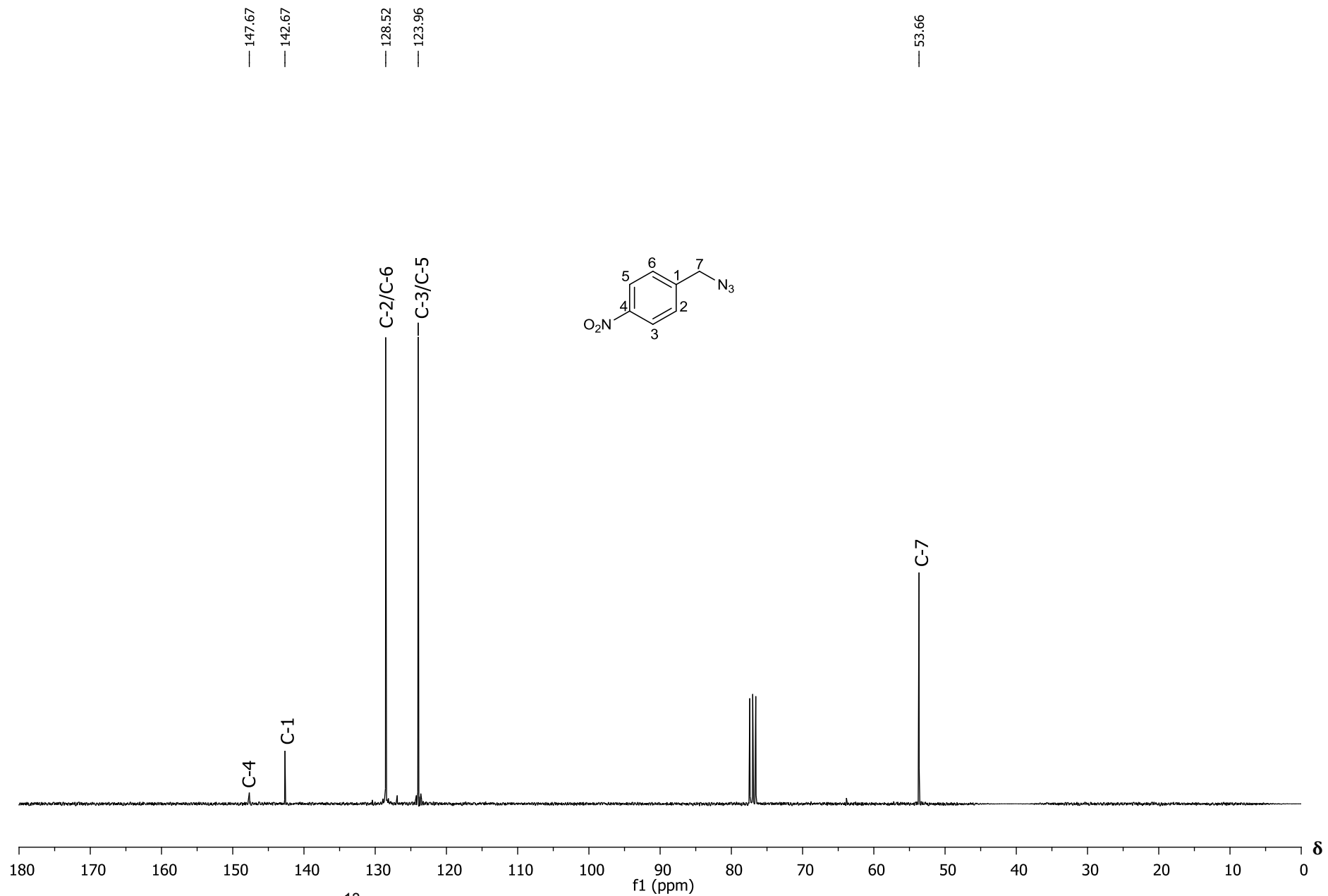


Figura 35 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7f**.

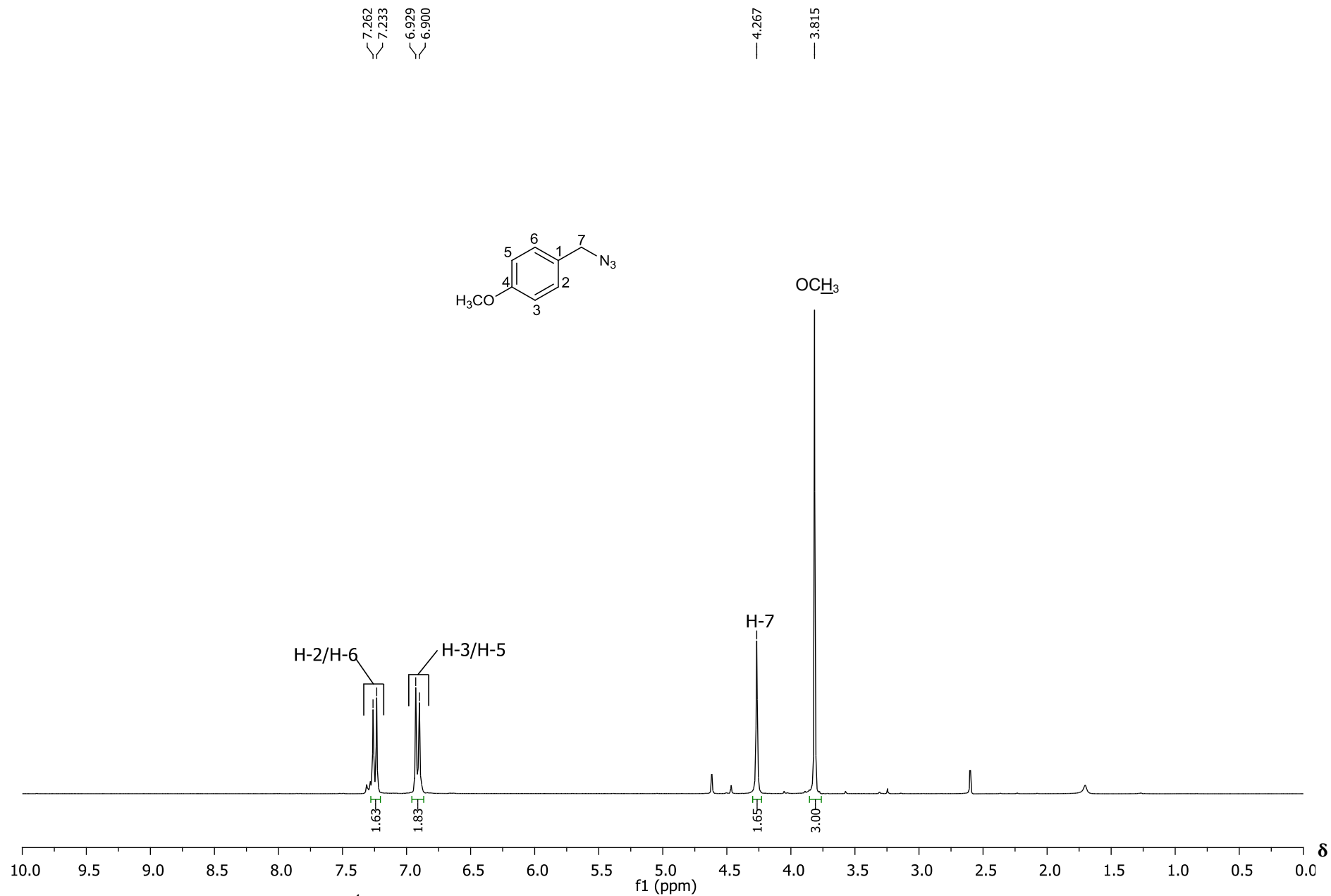


Figura 36 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7g**.

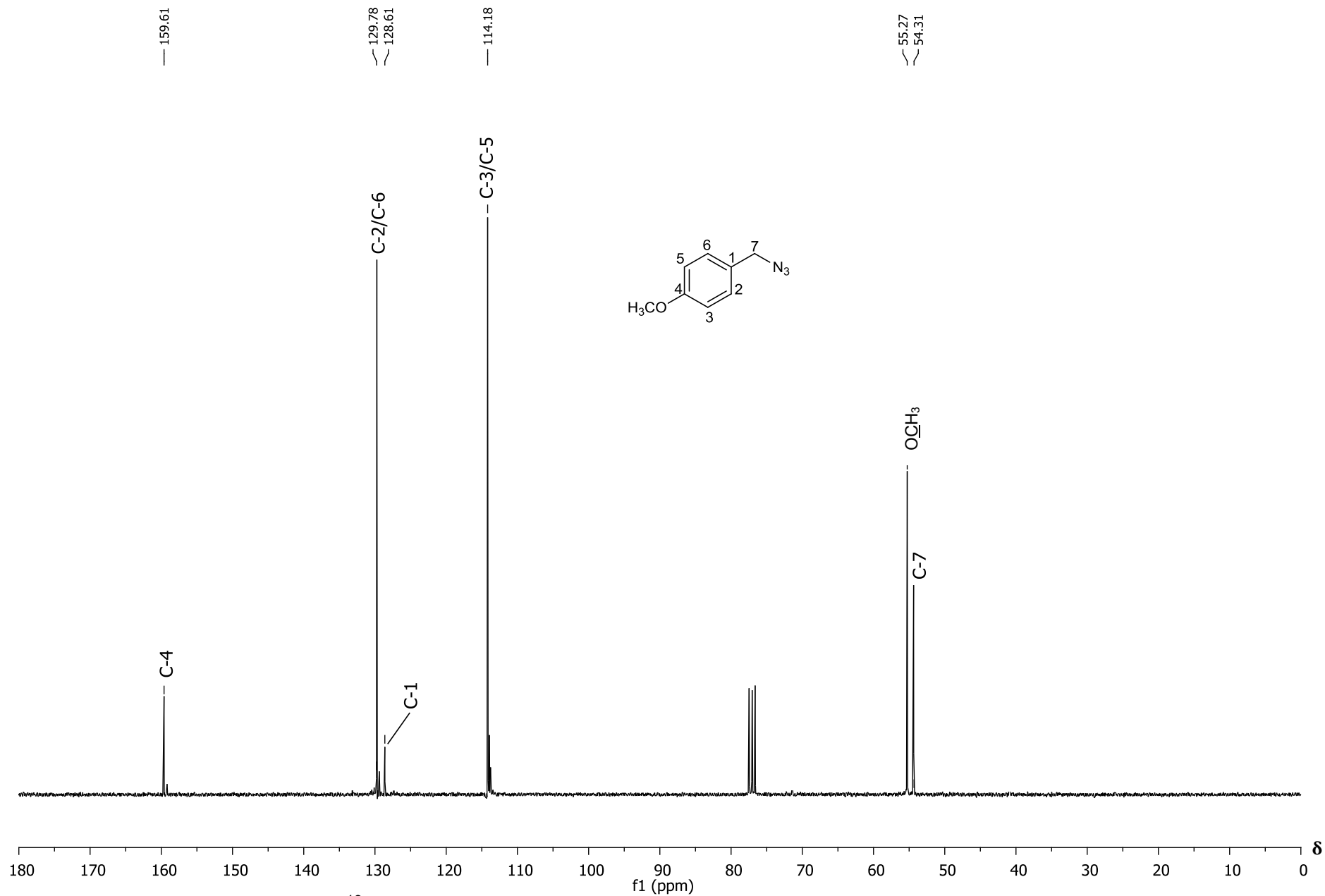


Figura 37 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **7g**.

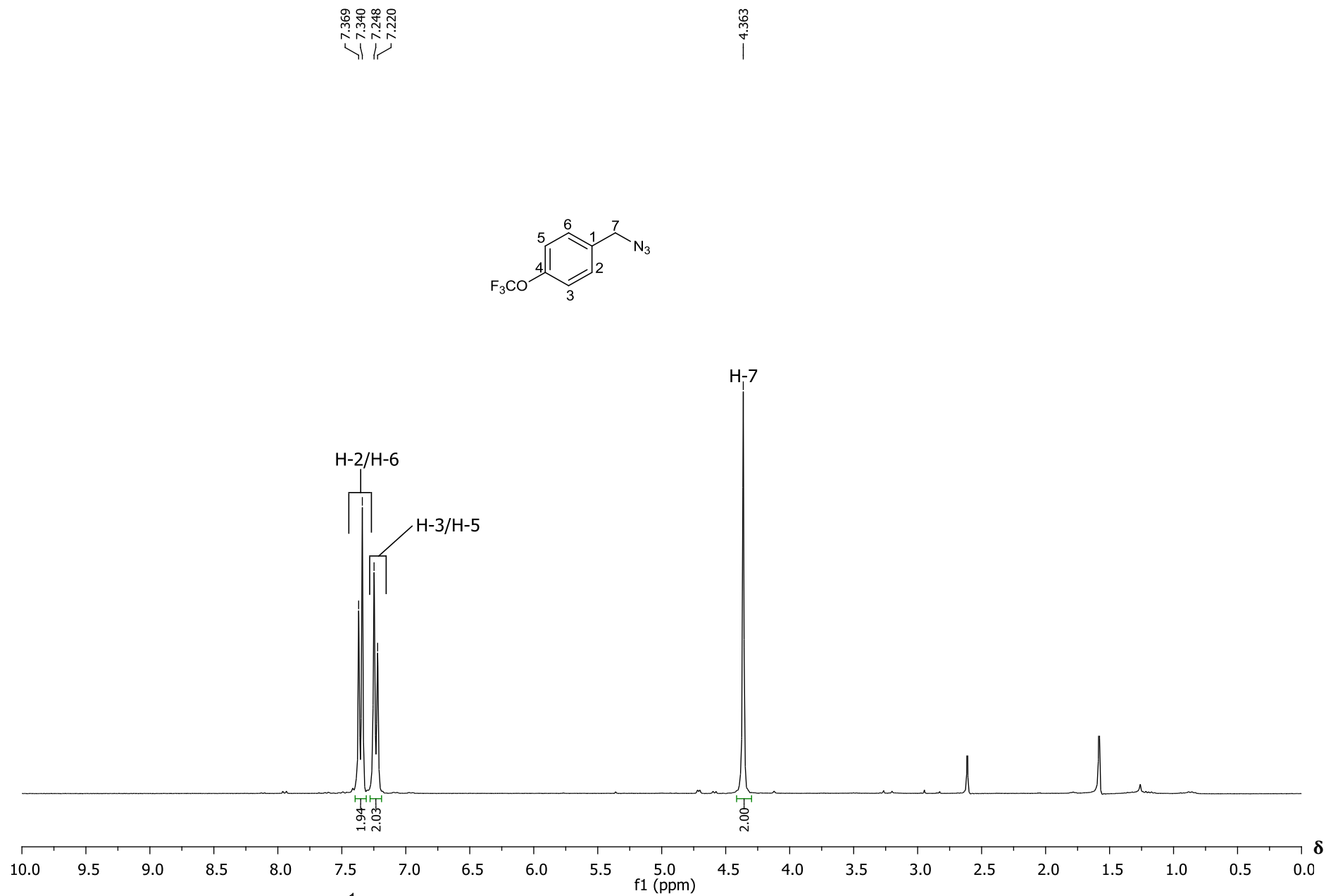


Figura 38 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7h**.

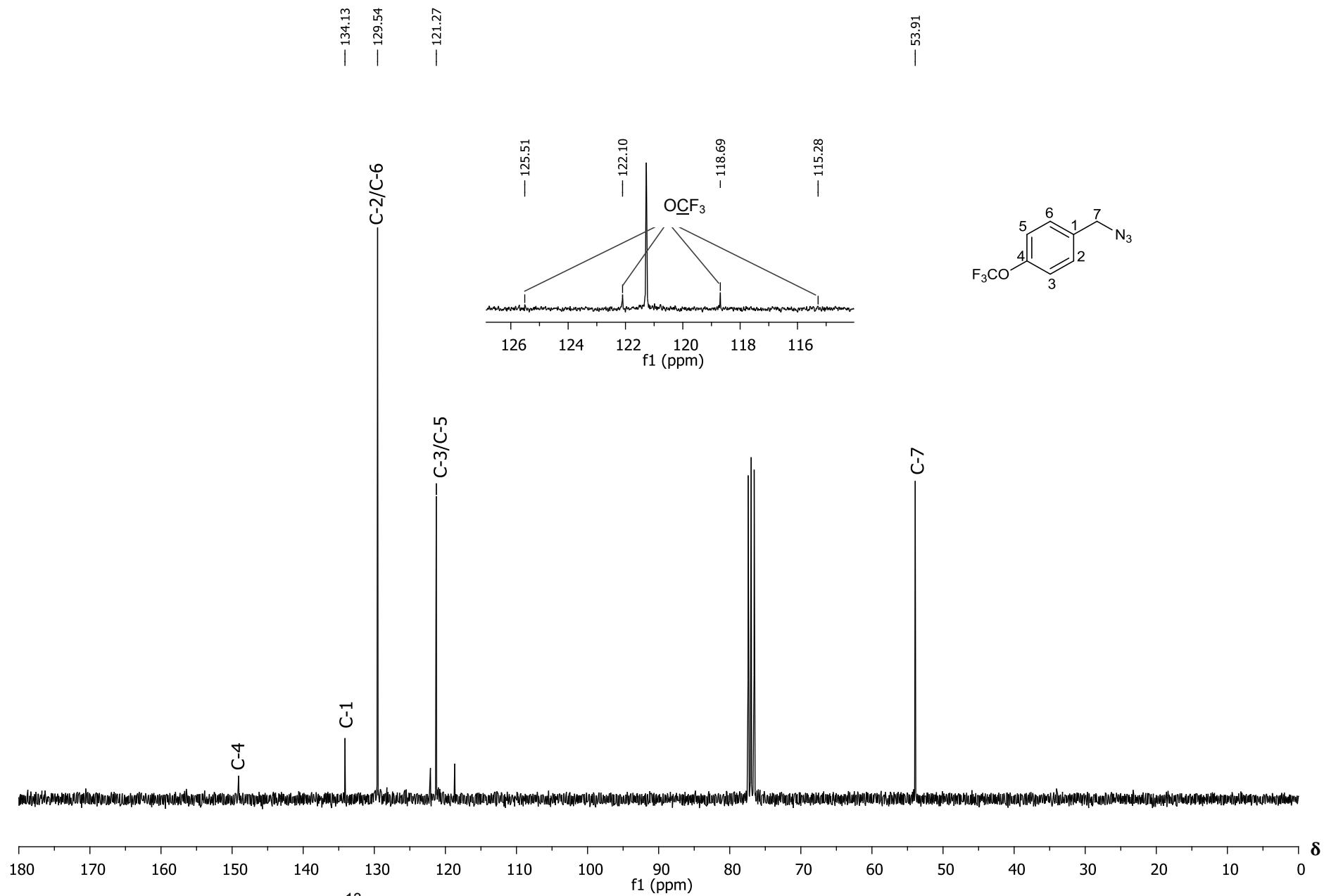


Figura 39 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7h**.

7.665
7.638
7.457
7.431

4.430

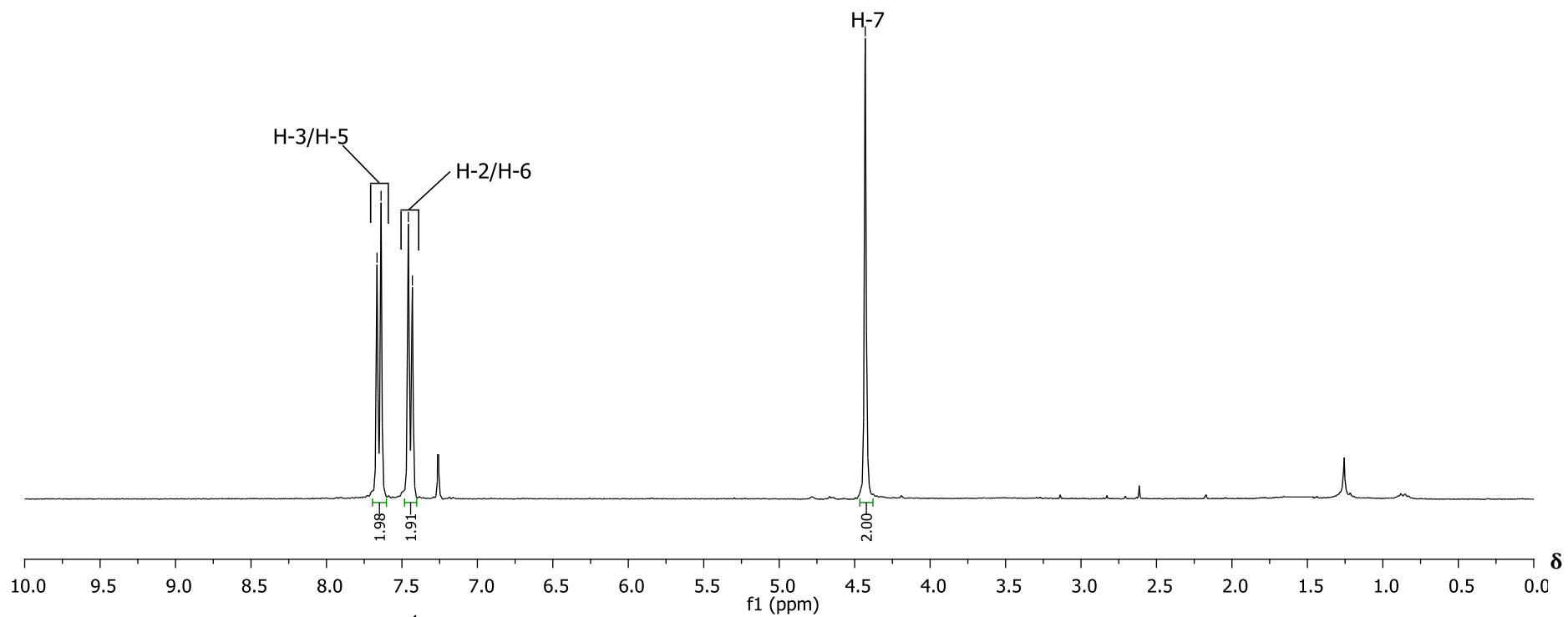
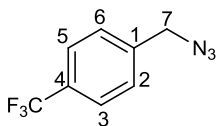


Figura 40 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **7i**.

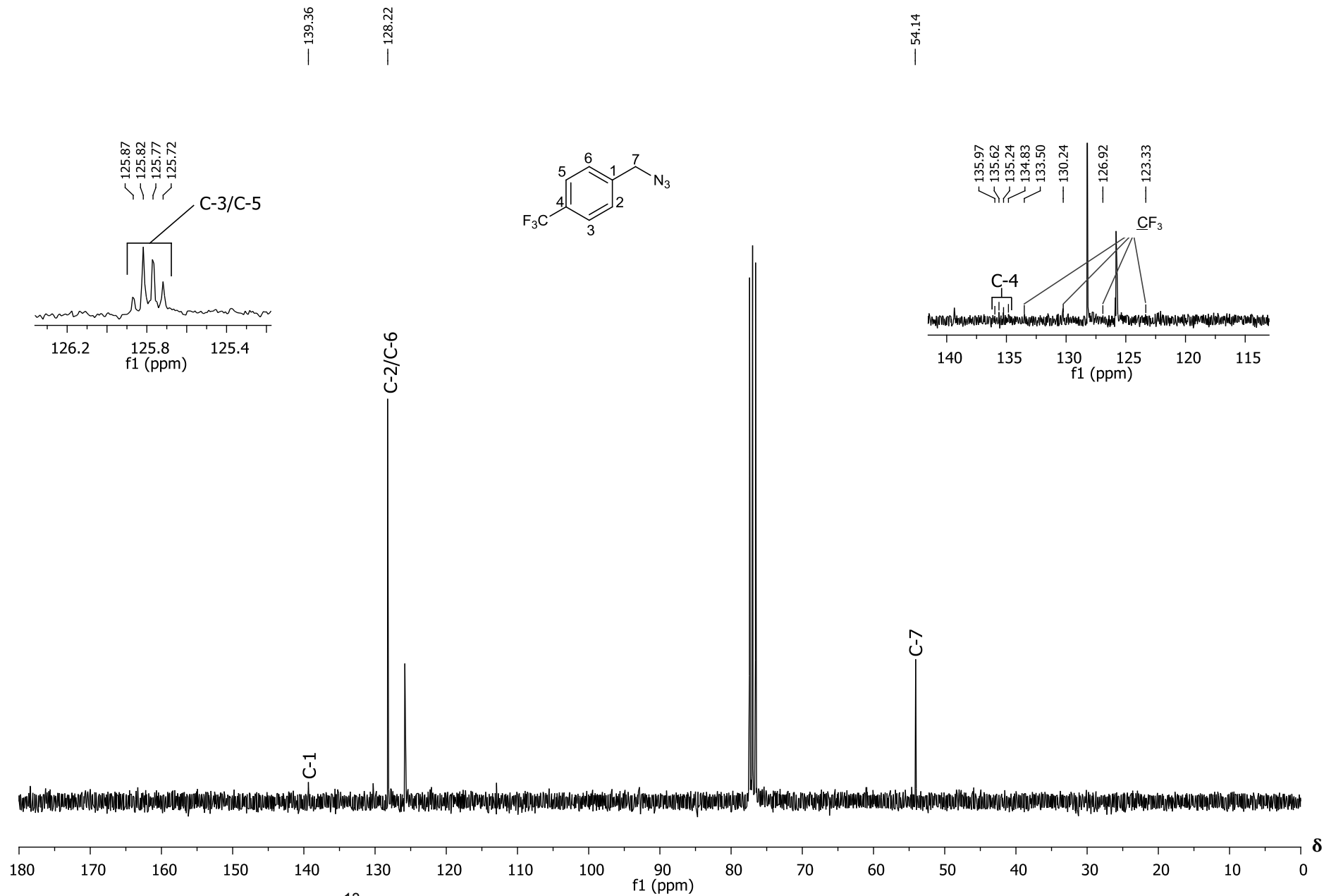


Figura 41 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **7i**.

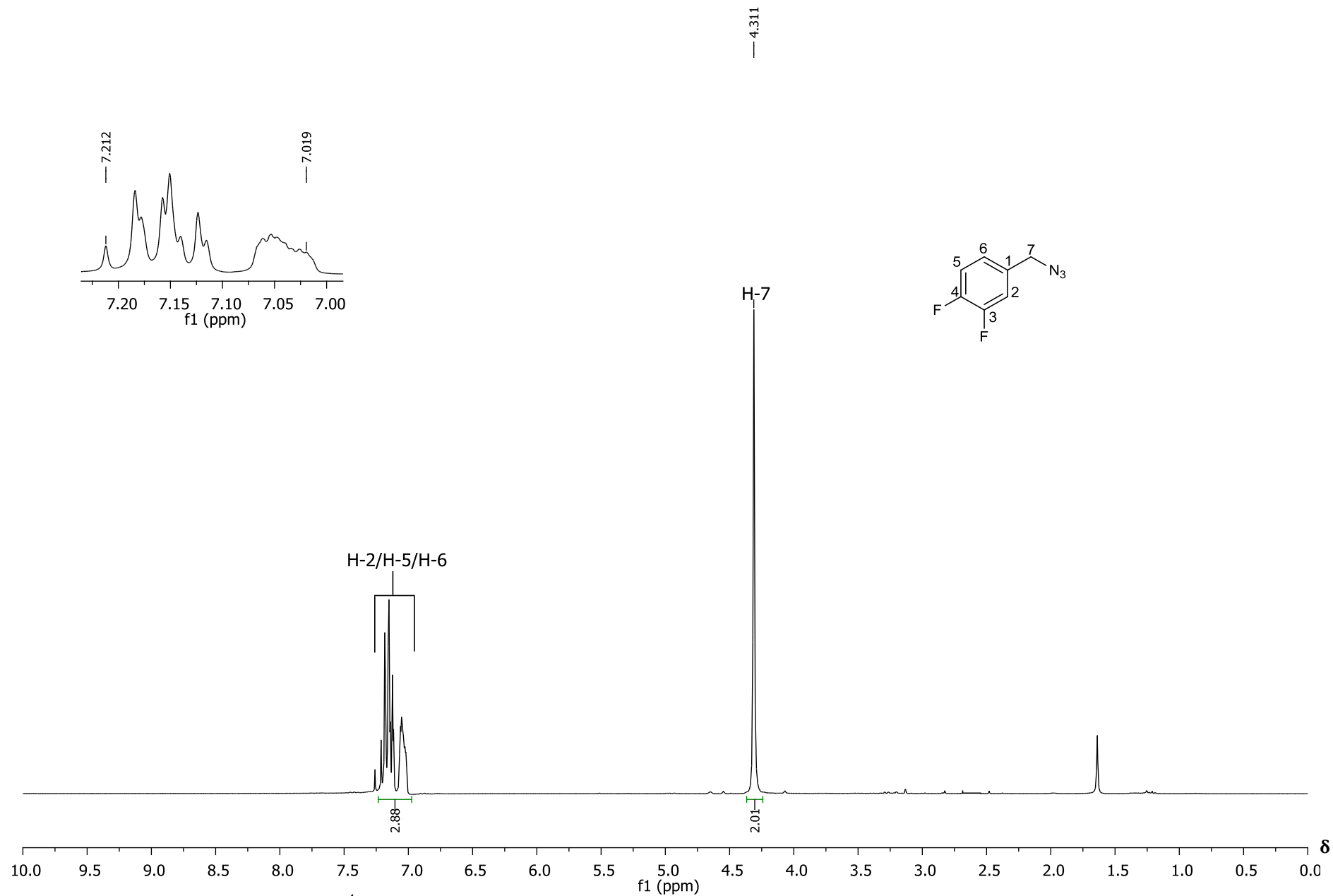


Figura 42 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7j**.

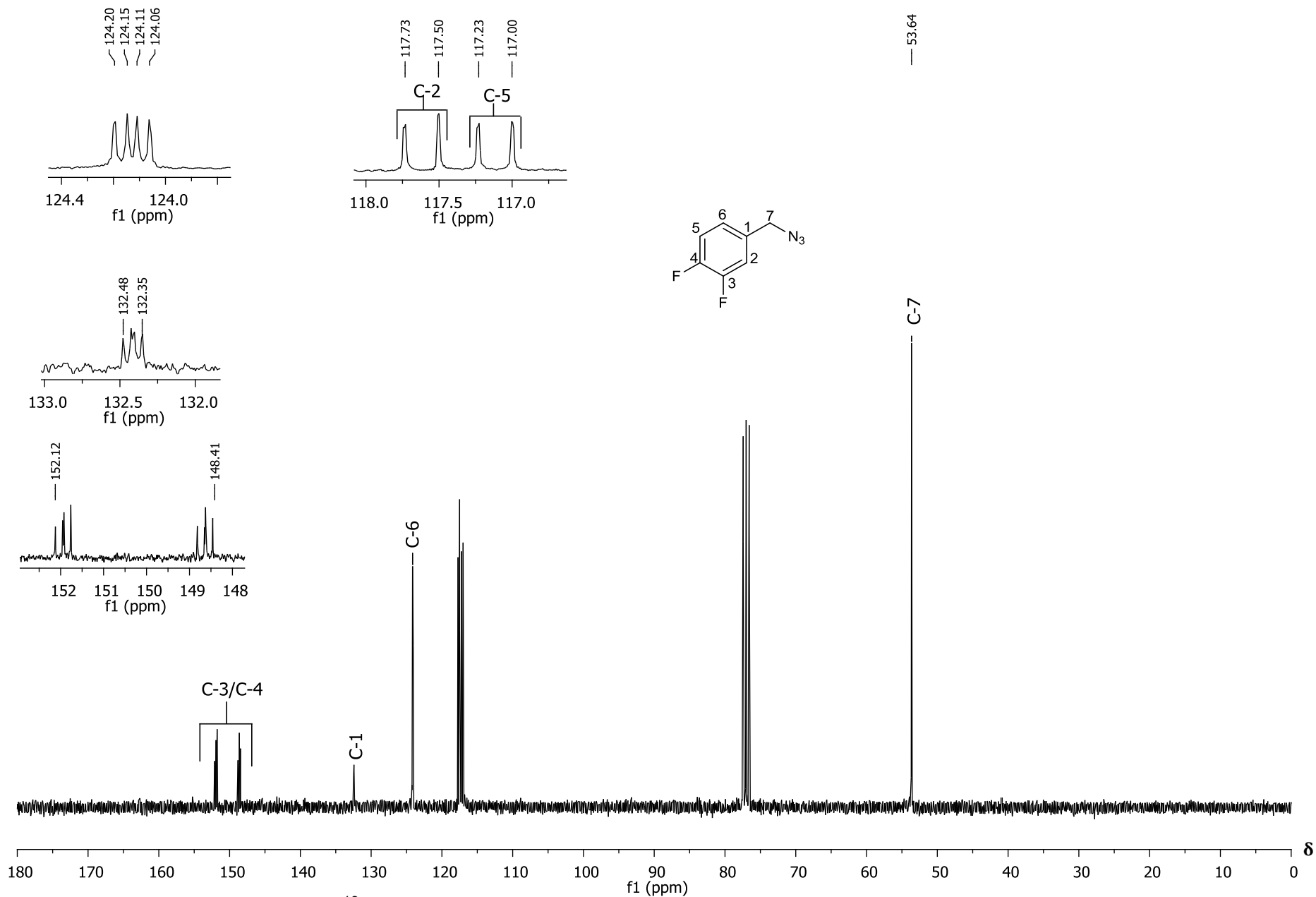


Figura 43 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7j**.

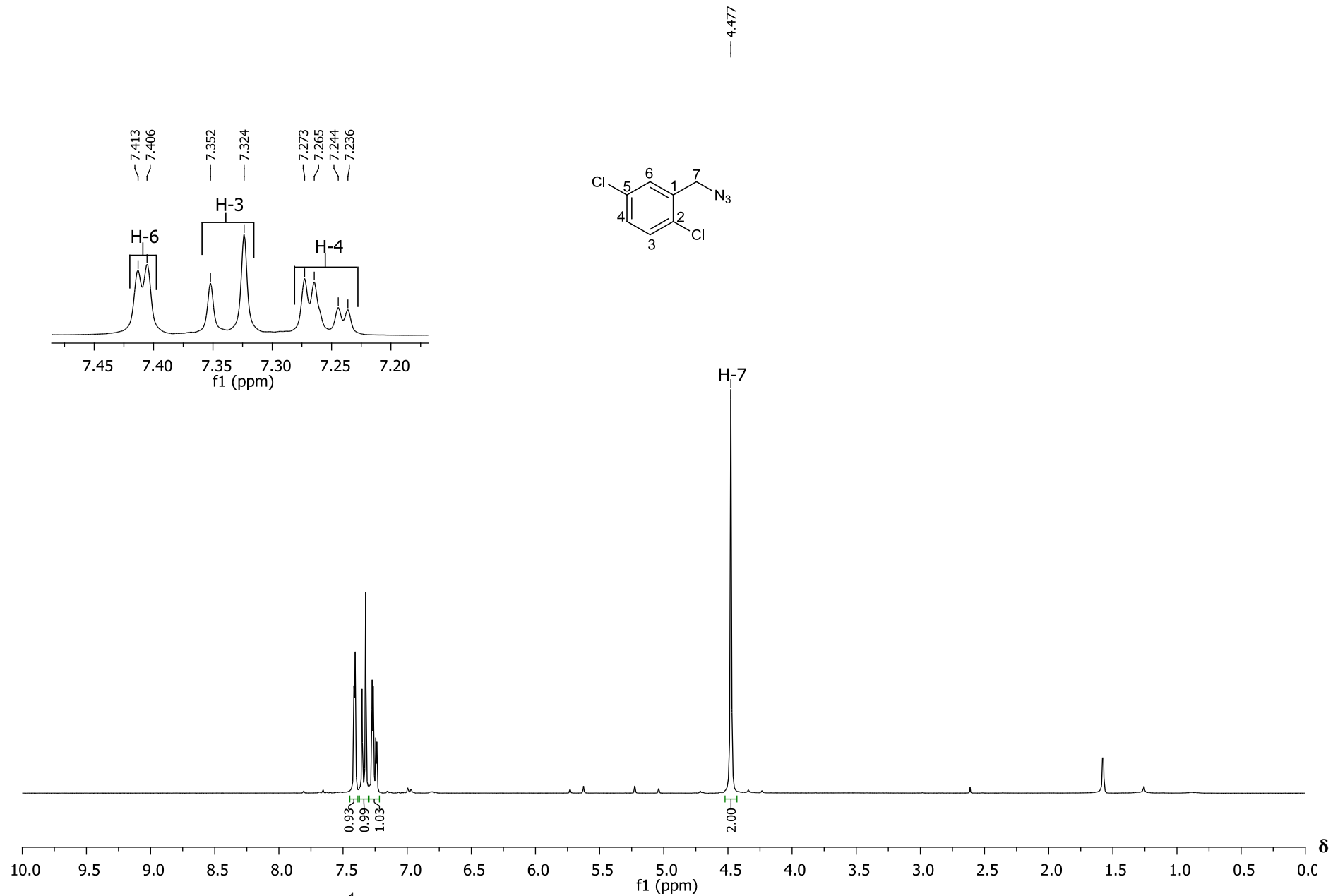


Figura 44 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **7k**.

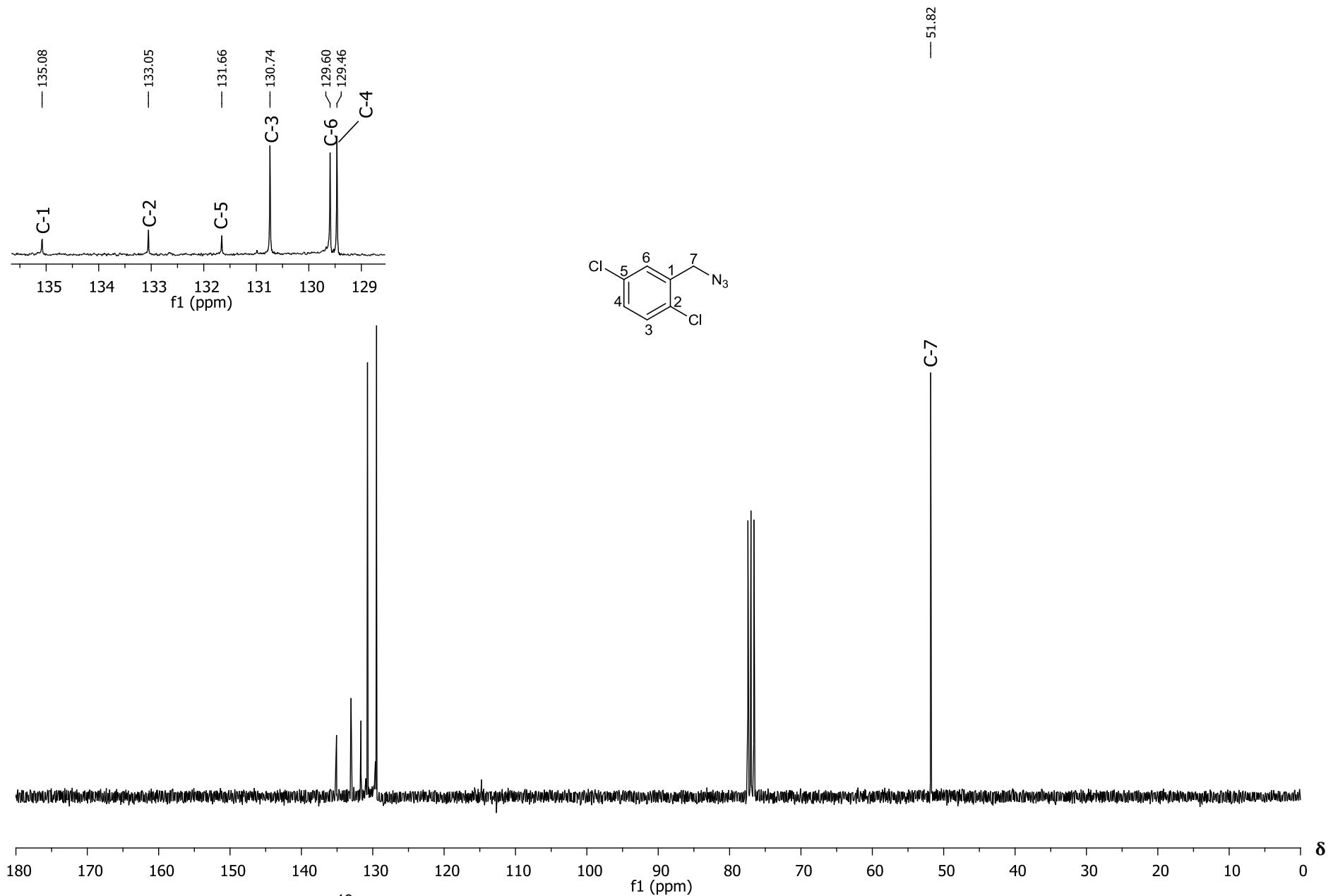


Figura 45 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7k**.

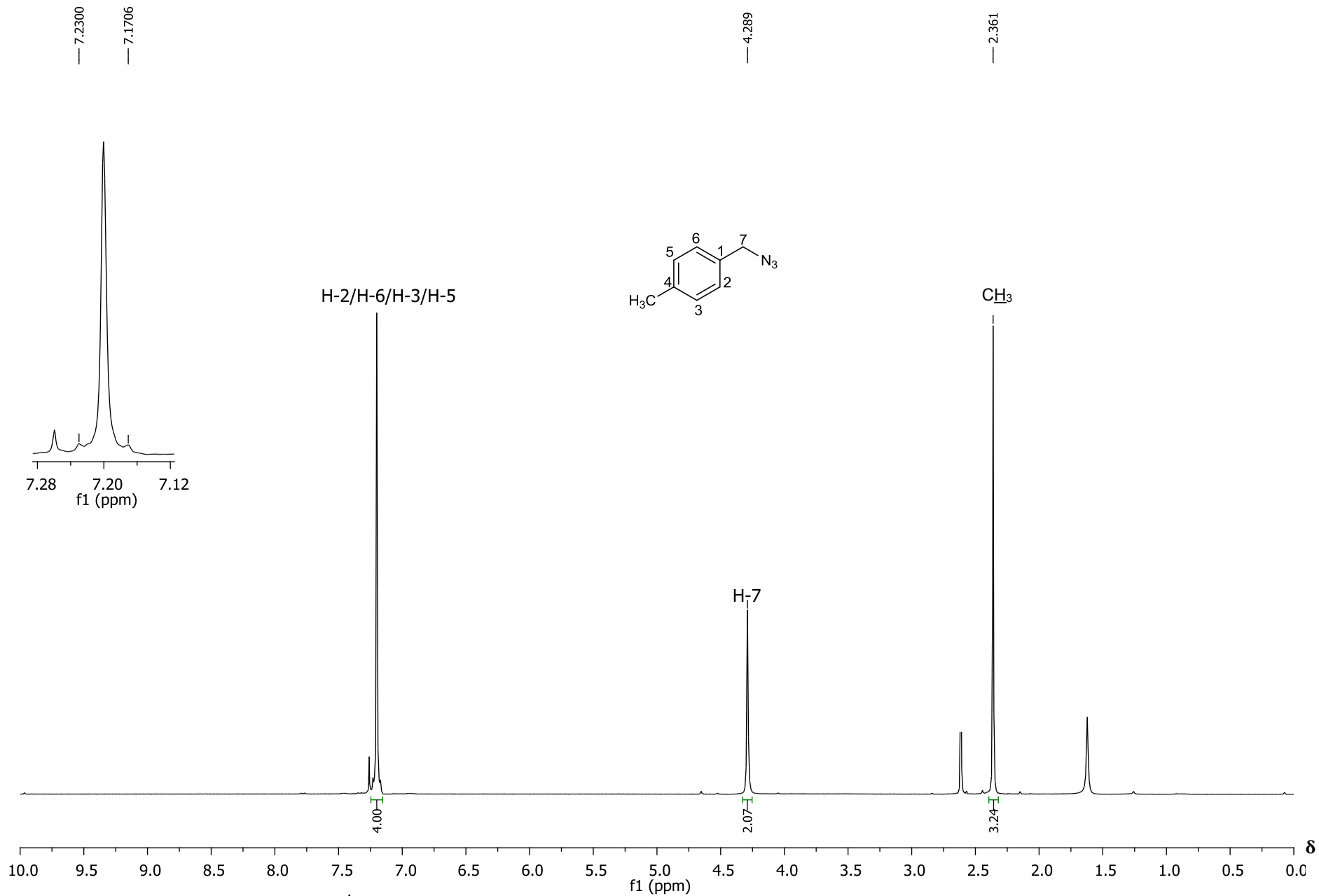


Figura 46 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7I**.

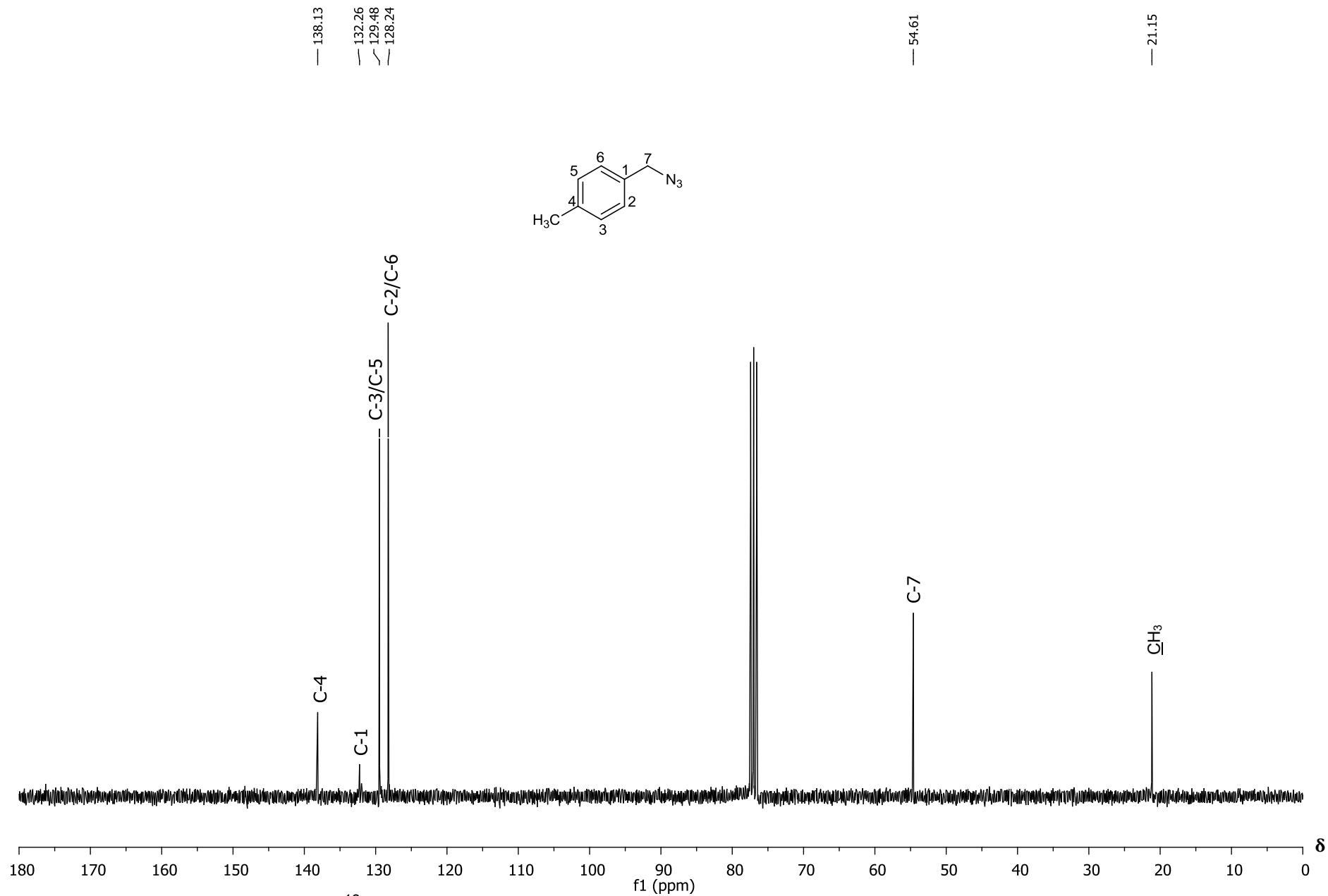


Figura 47 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **71**.

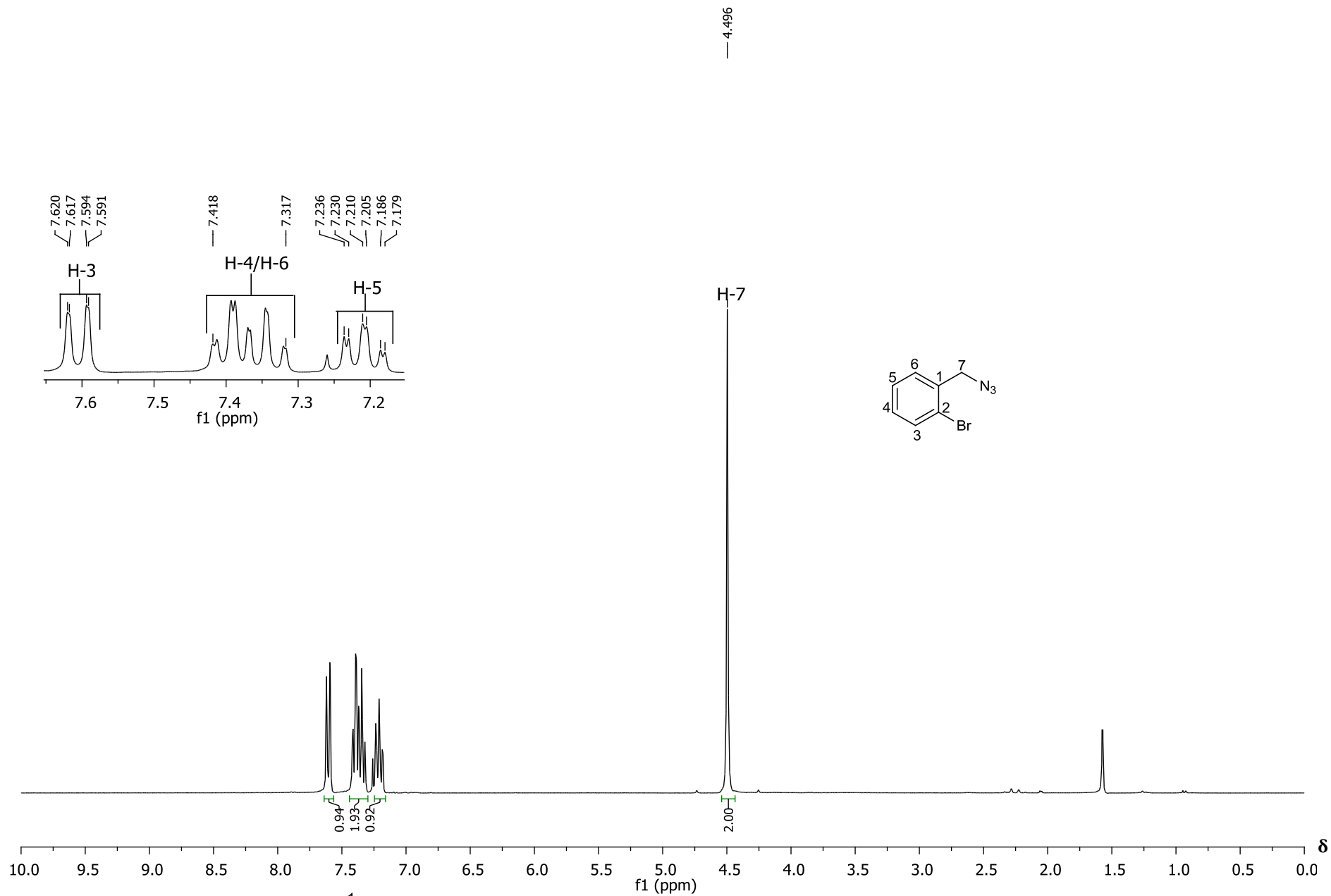


Figura 48 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7m**.

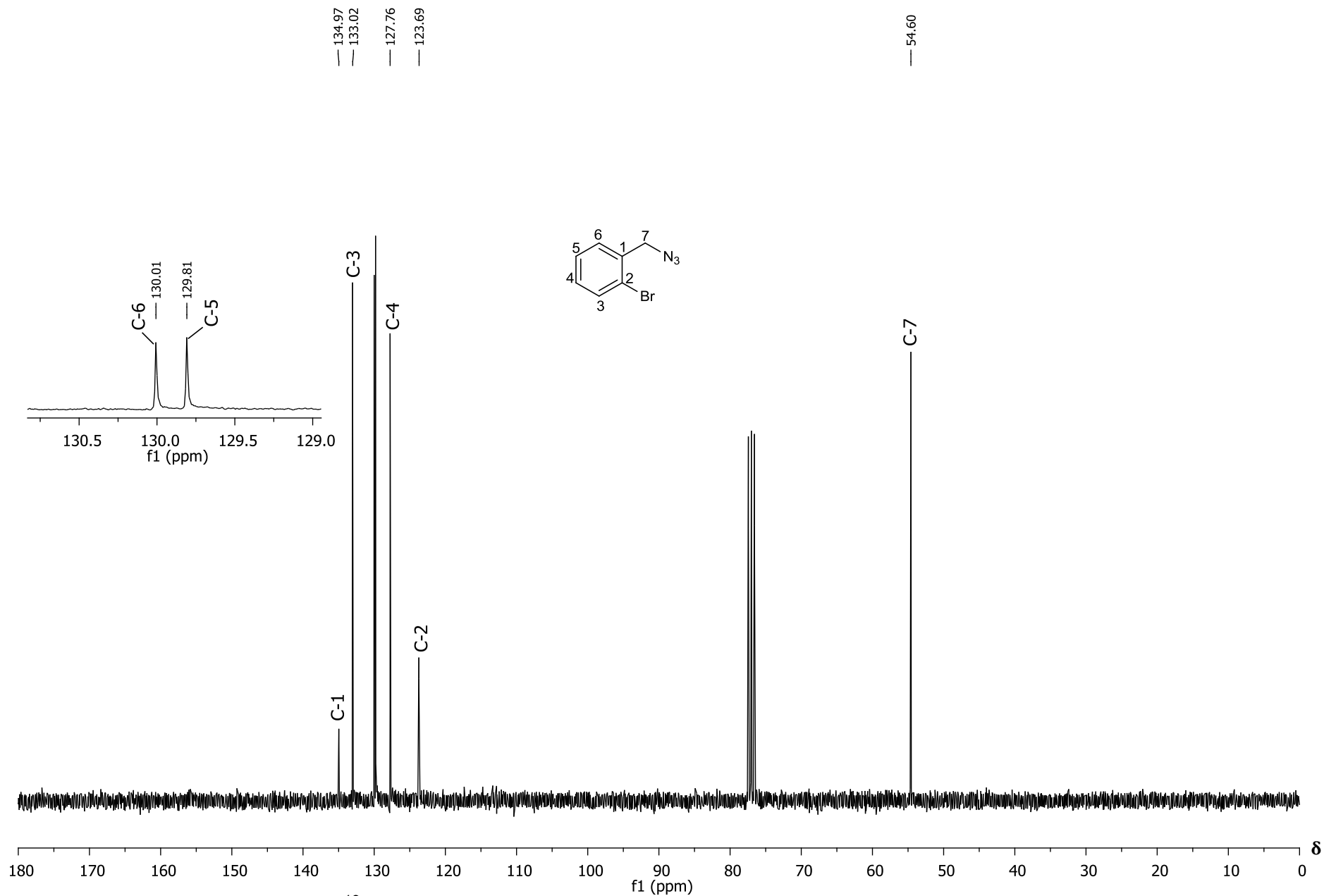


Figura 49 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **7m**.

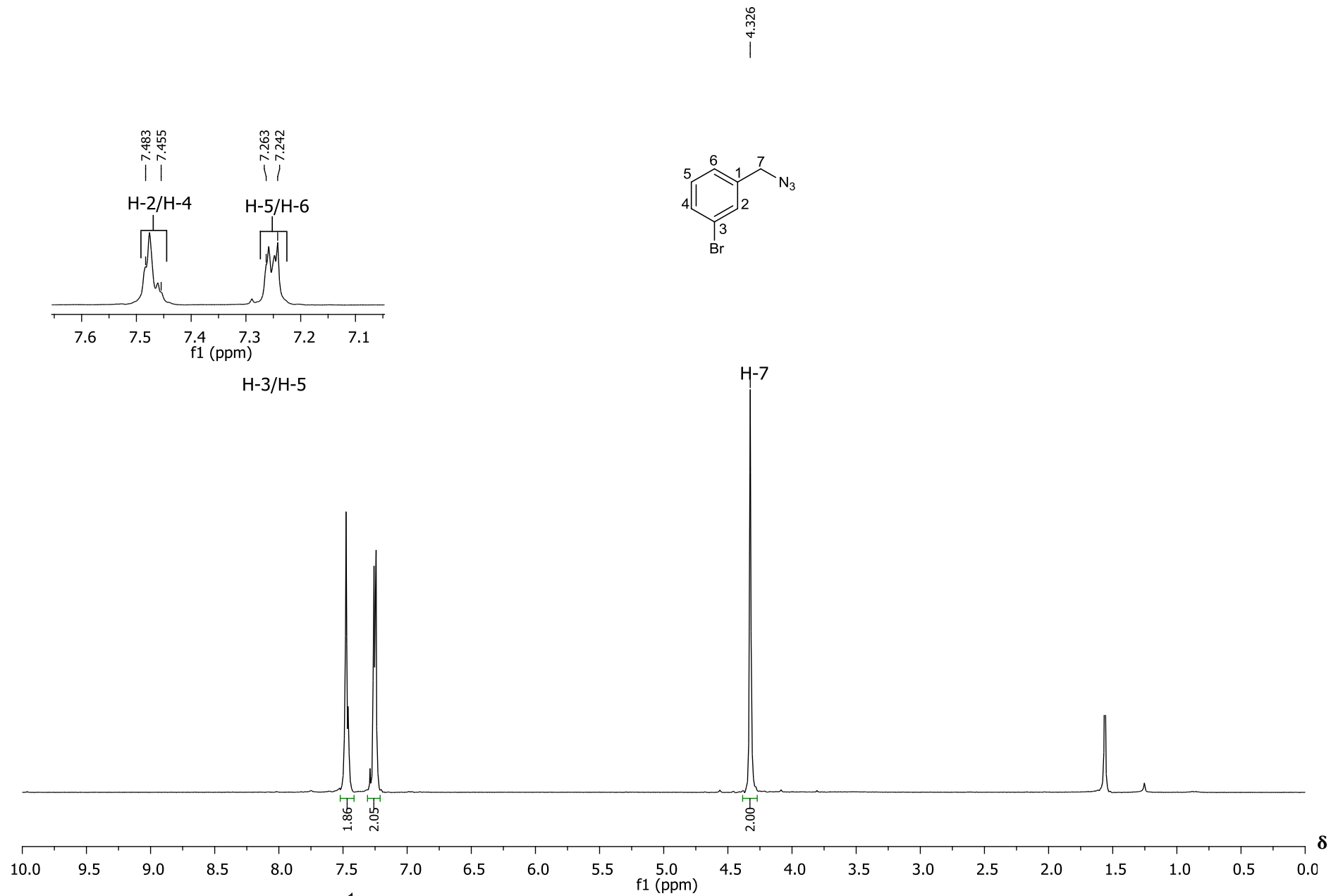


Figura 50 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **7n**.

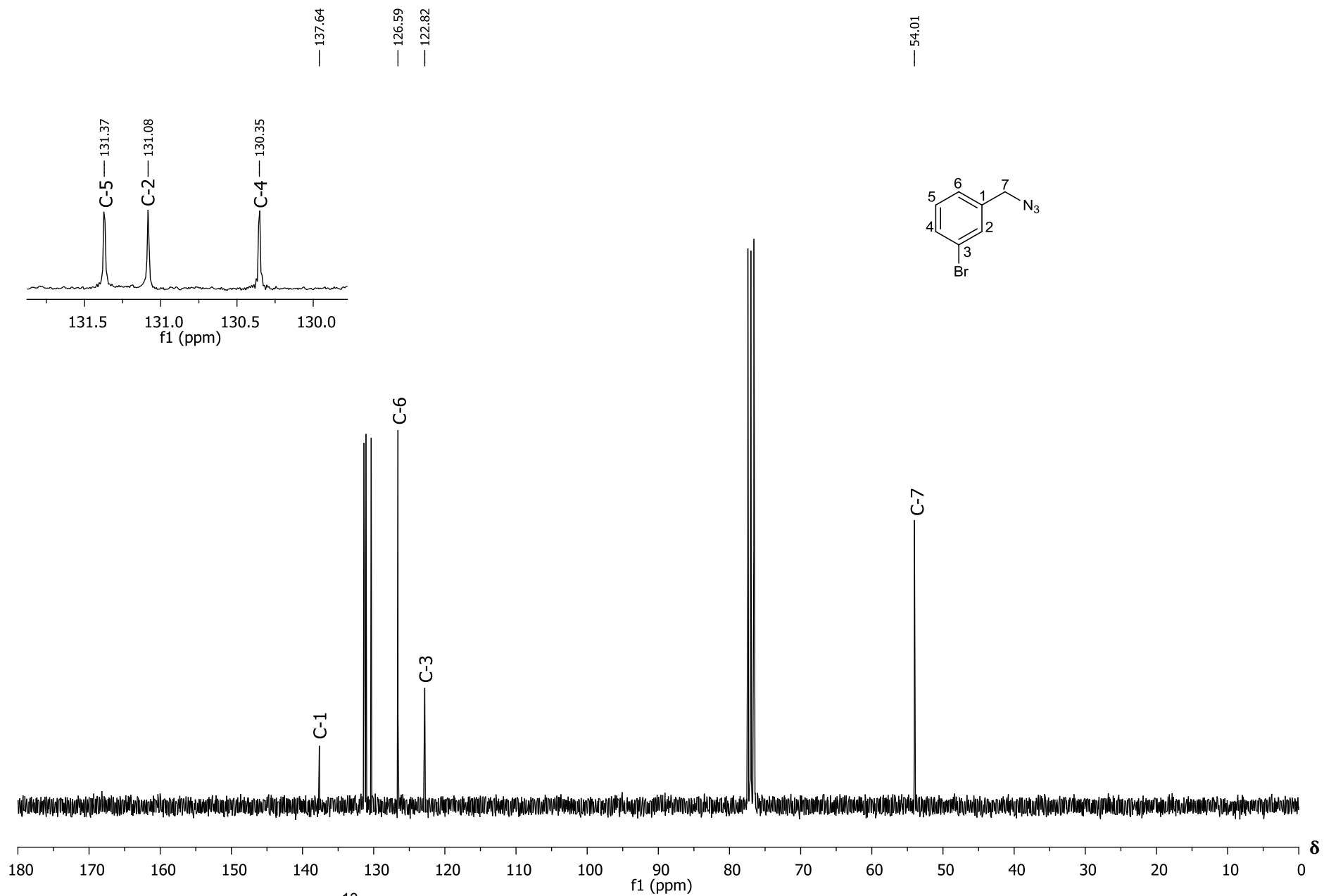


Figura 51 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **7n**.

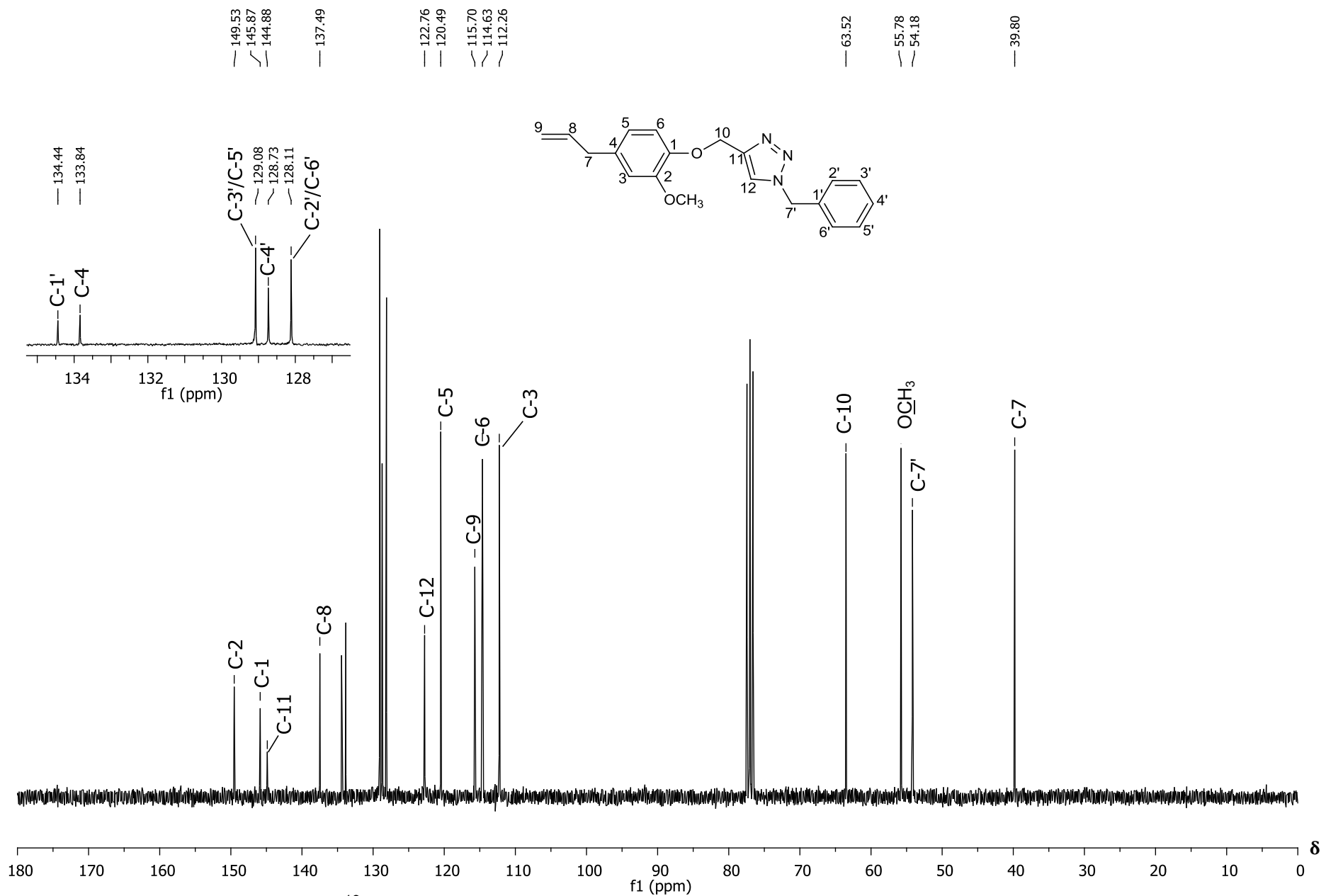


Figura 53 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8a**.

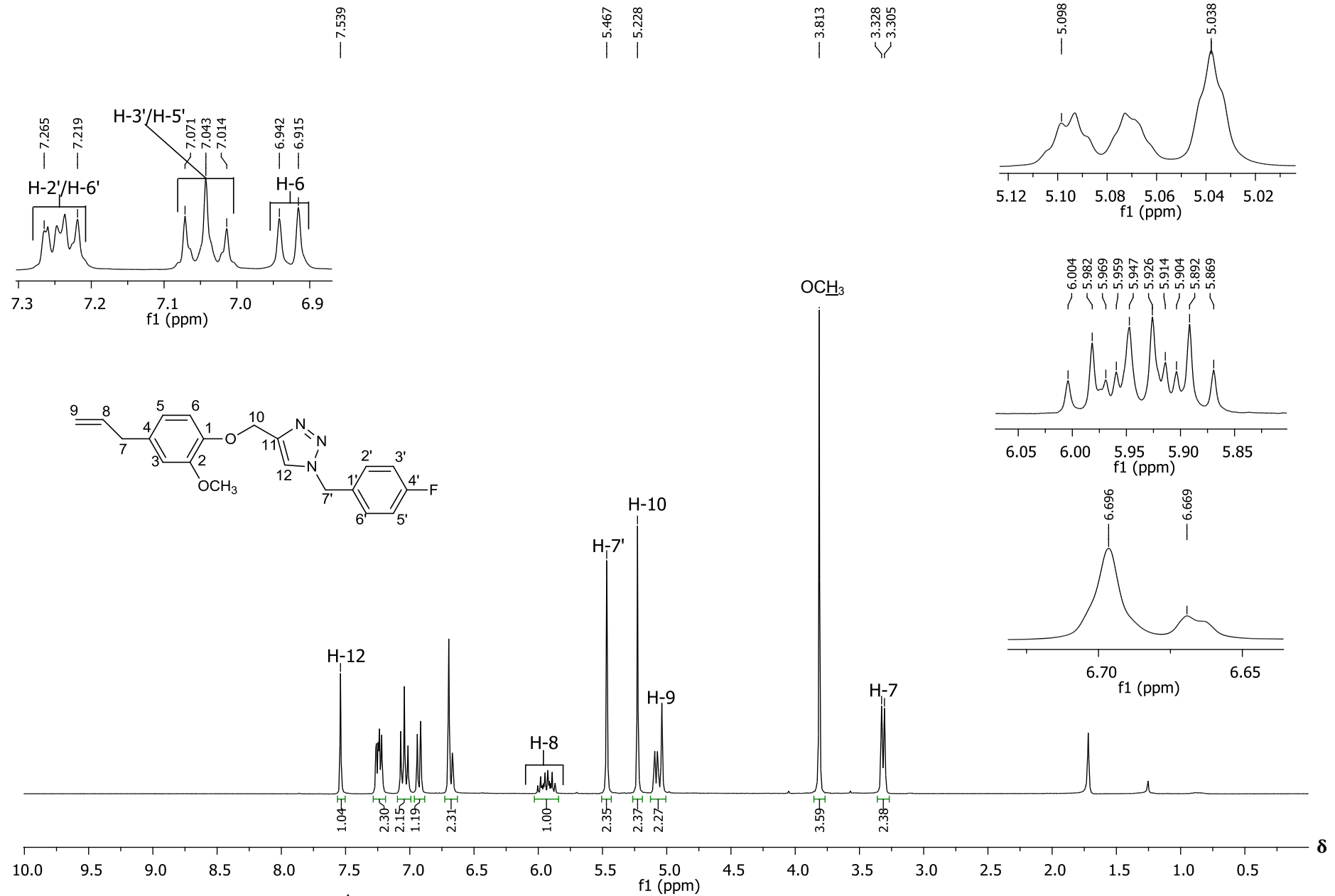


Figura 54 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **8b**.

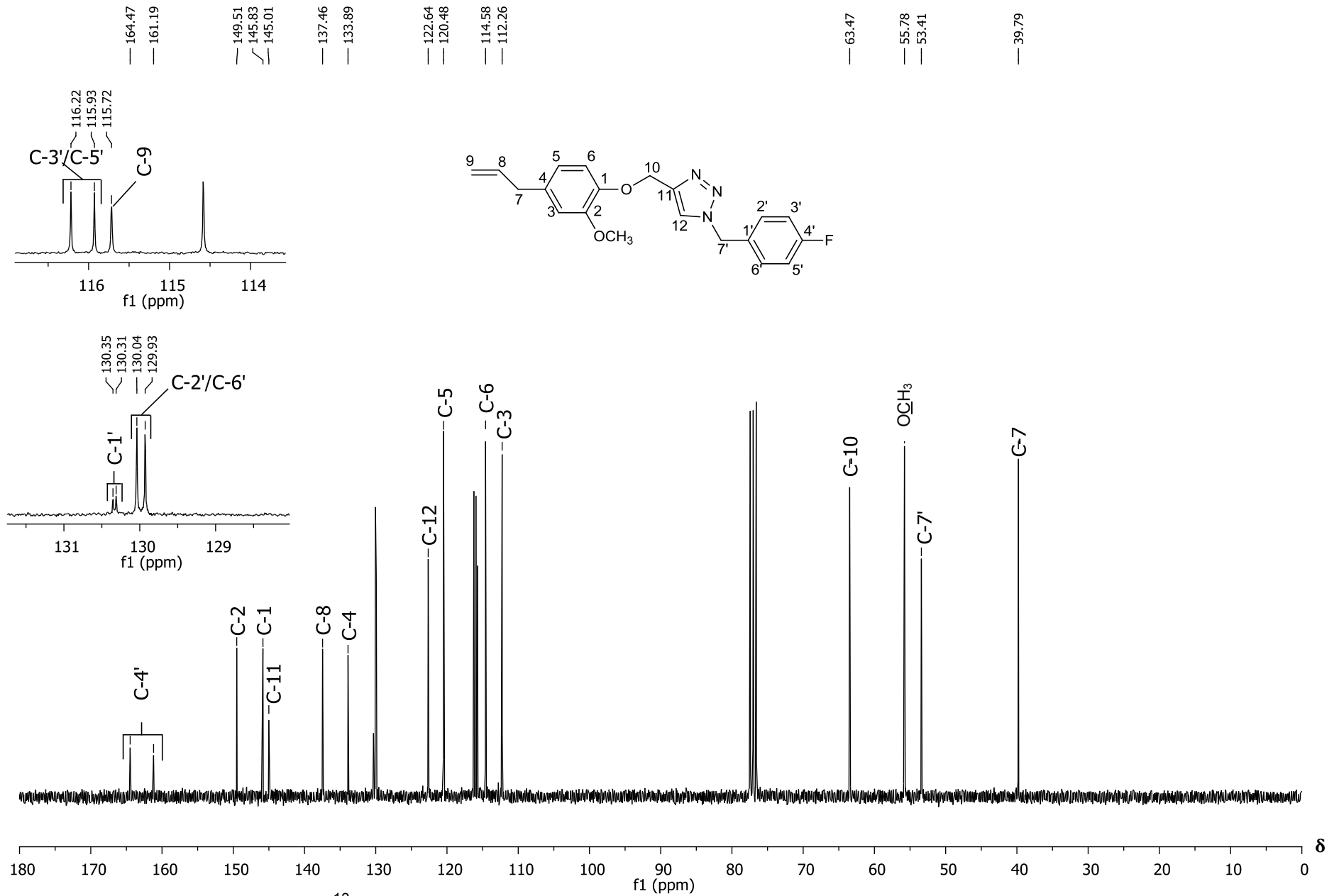


Figura 55 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8b**.

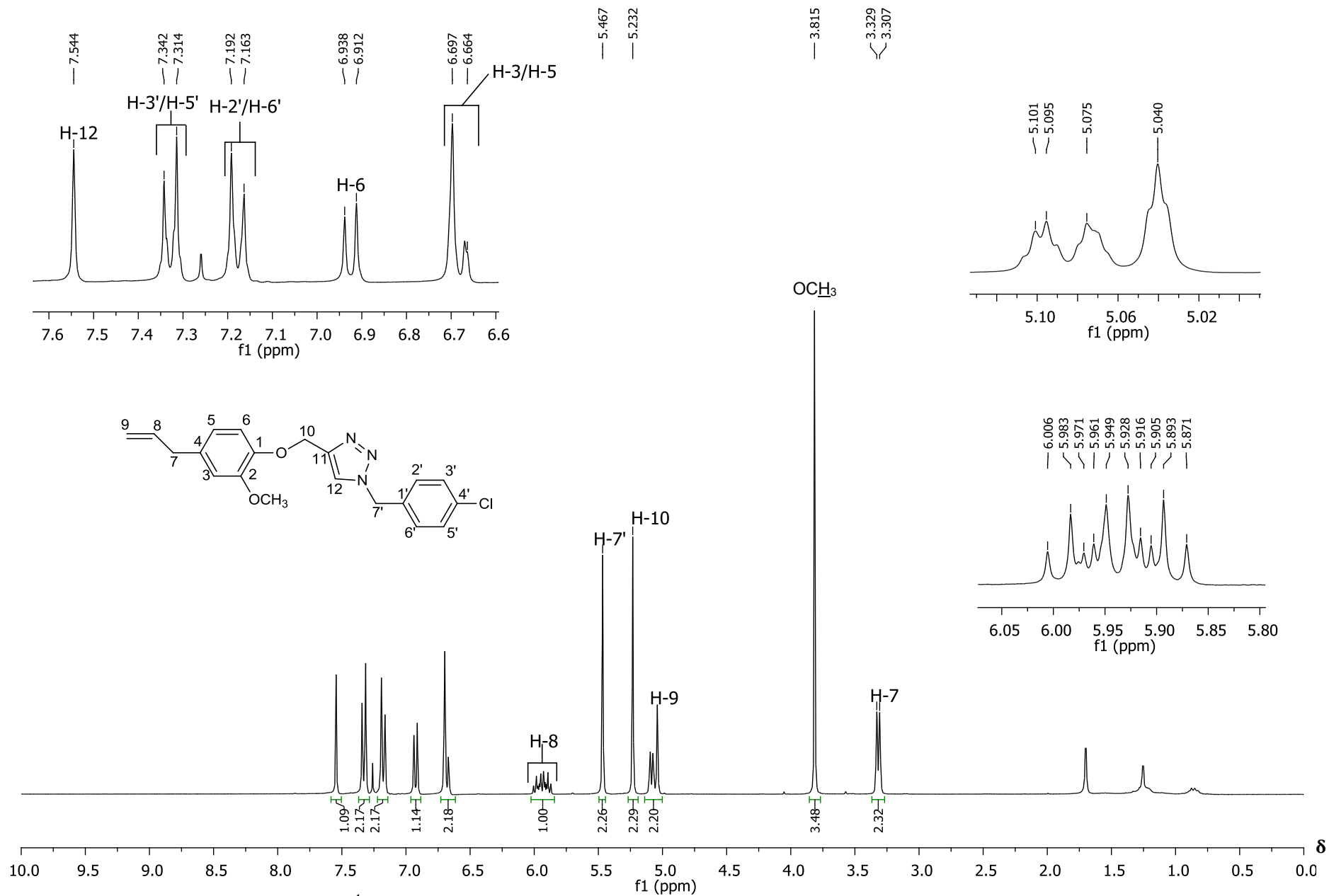


Figura 56 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **8c**.

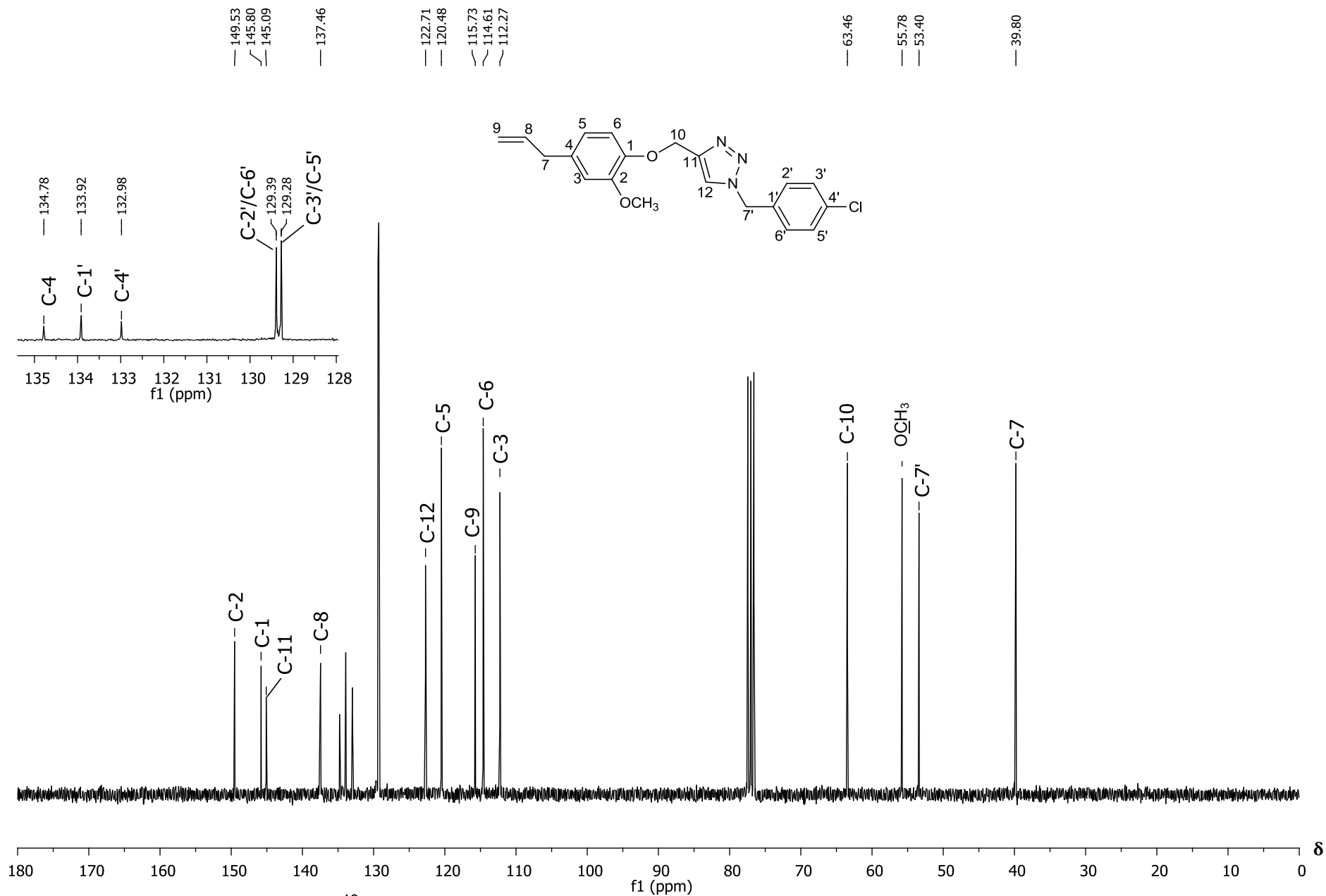


Figura 57 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **8c**.

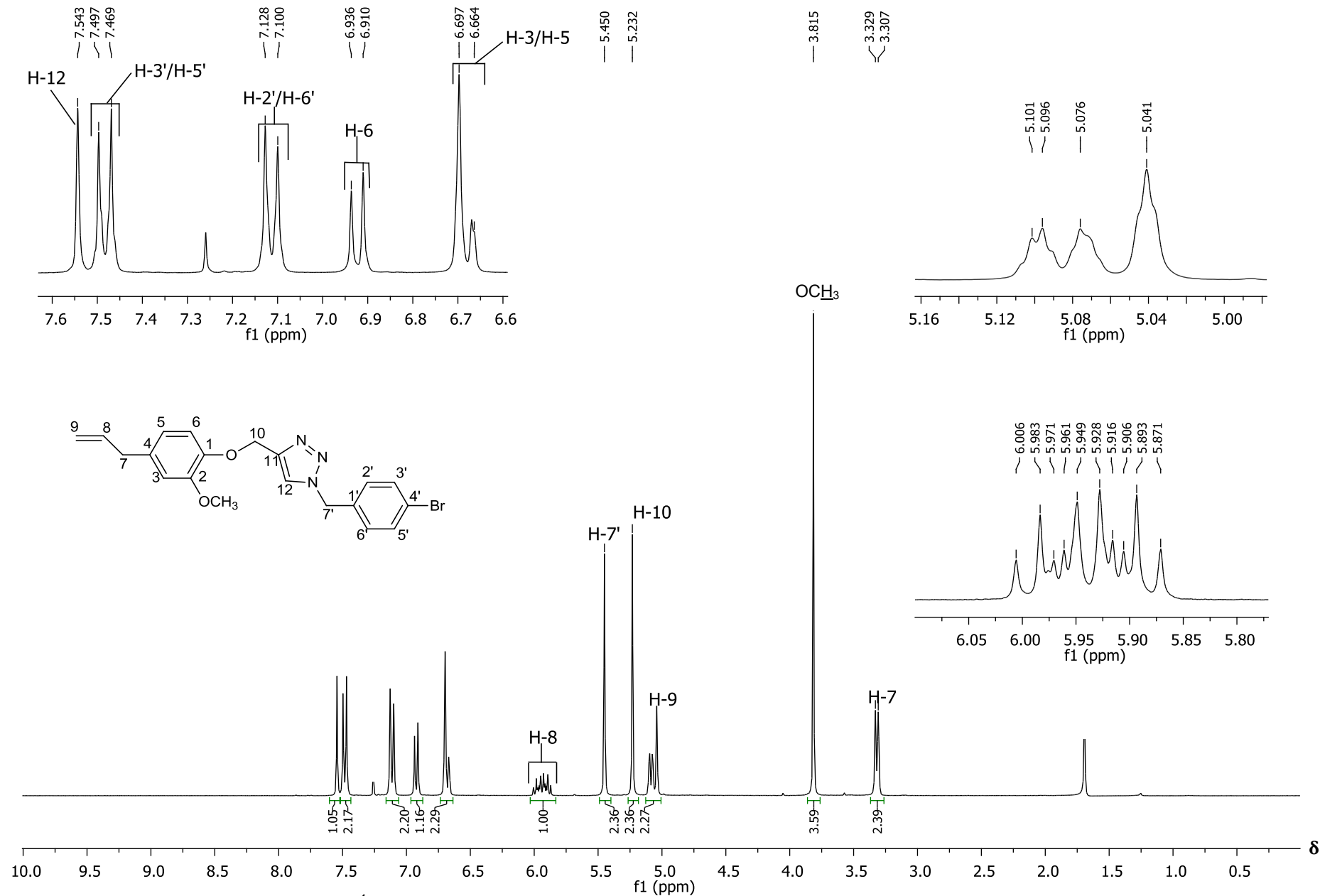


Figura 58 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8d**.

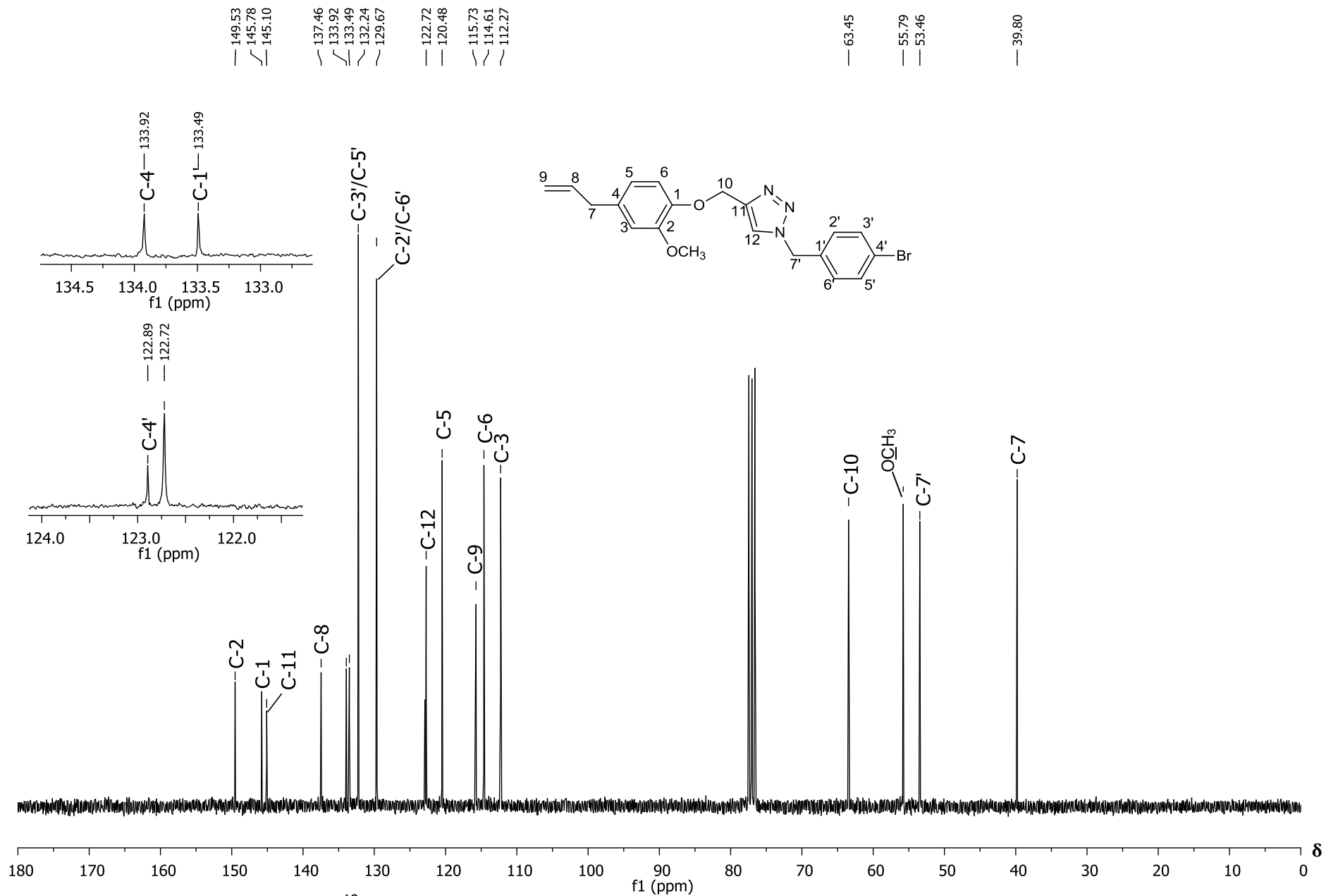


Figura 59 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8d**.

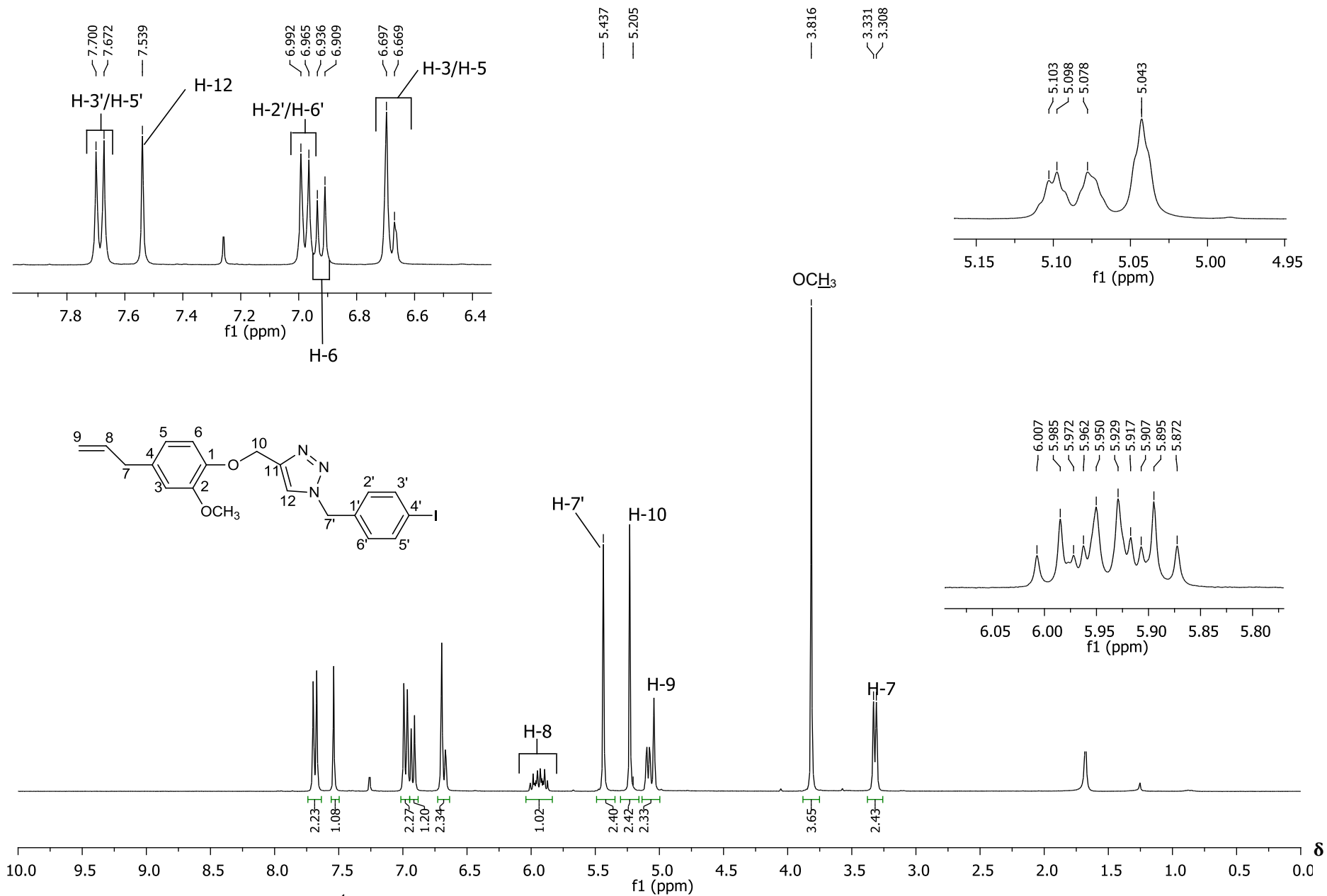


Figura 60 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8e**.

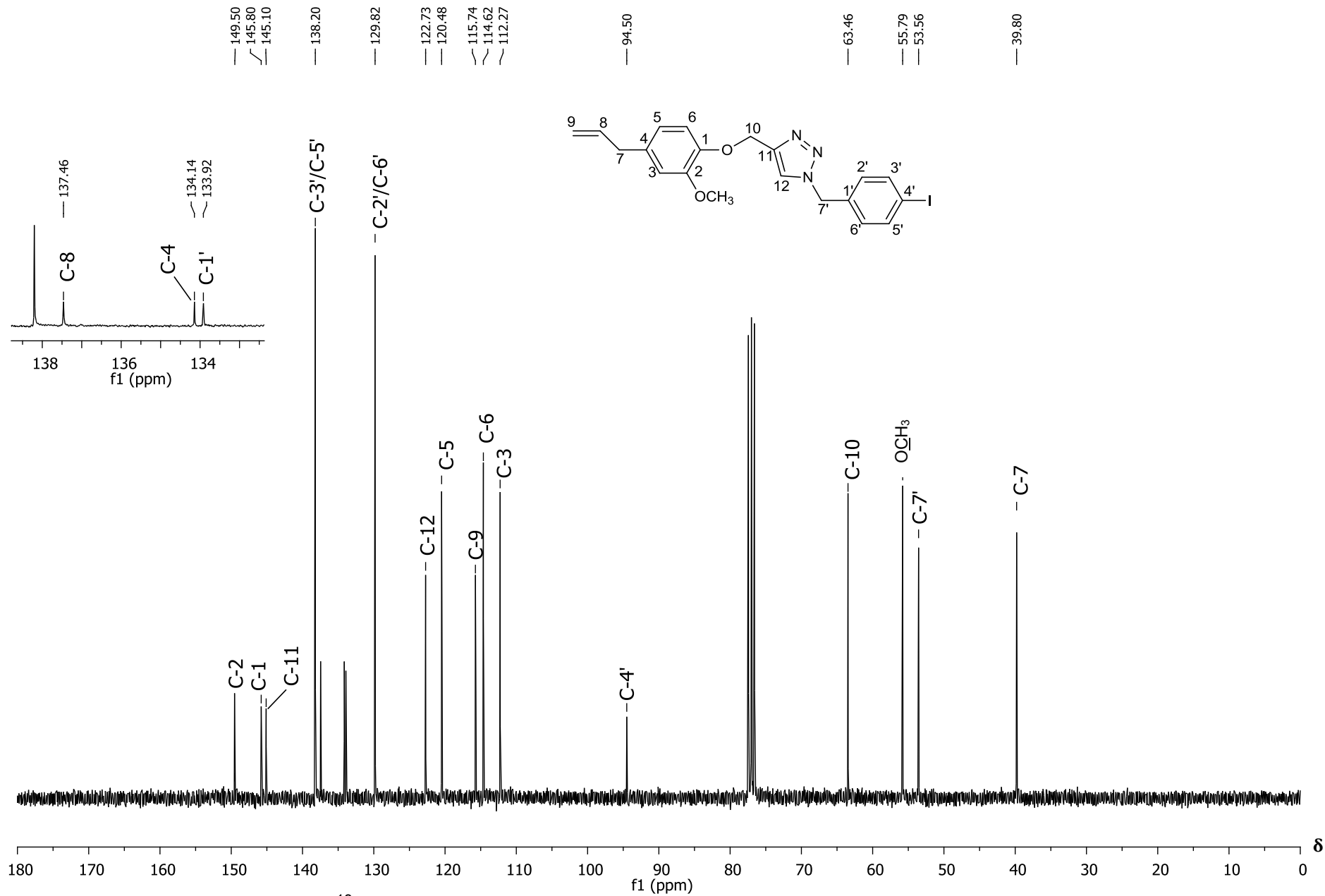


Figura 61 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **8e**.

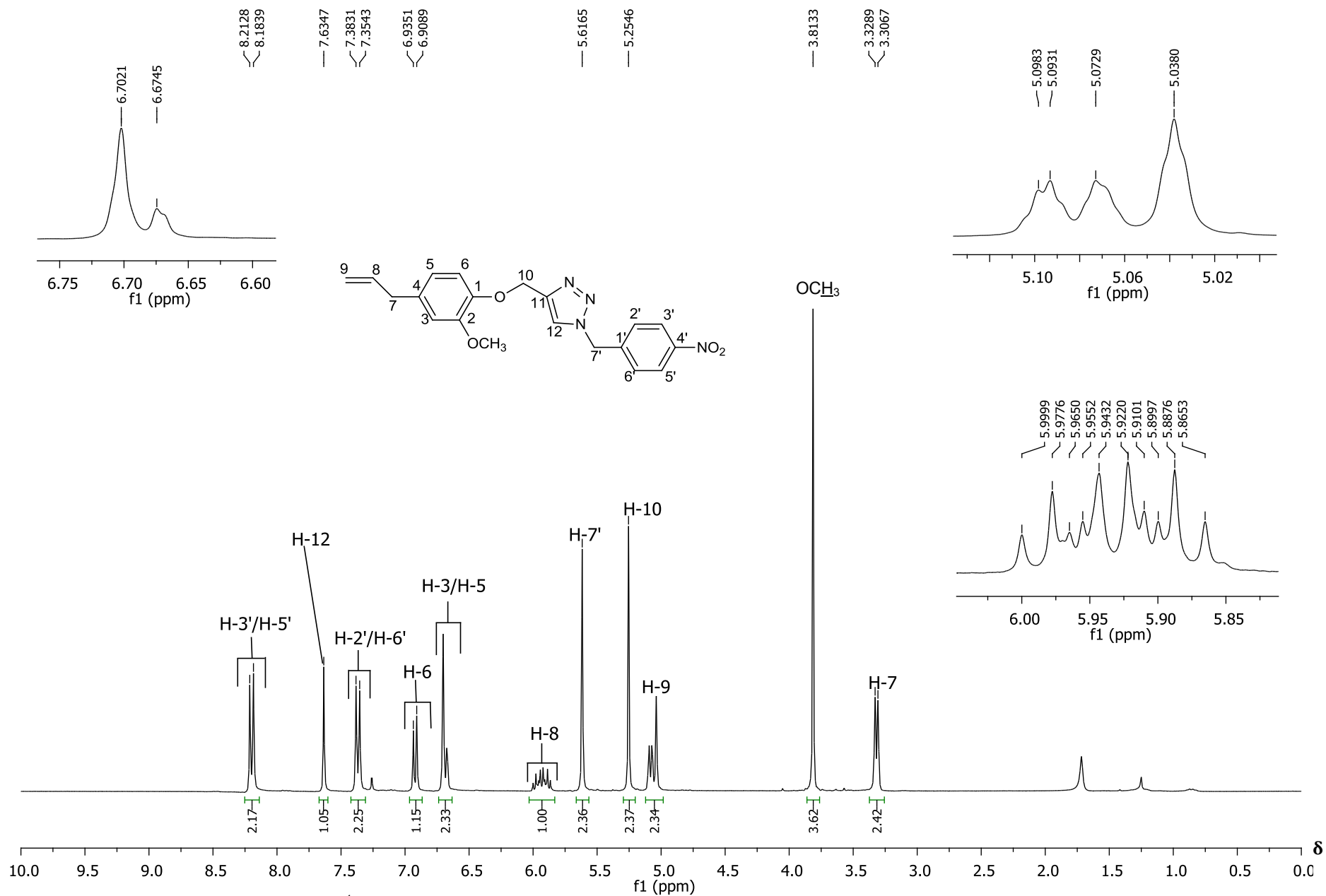


Figura 62 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8f**.

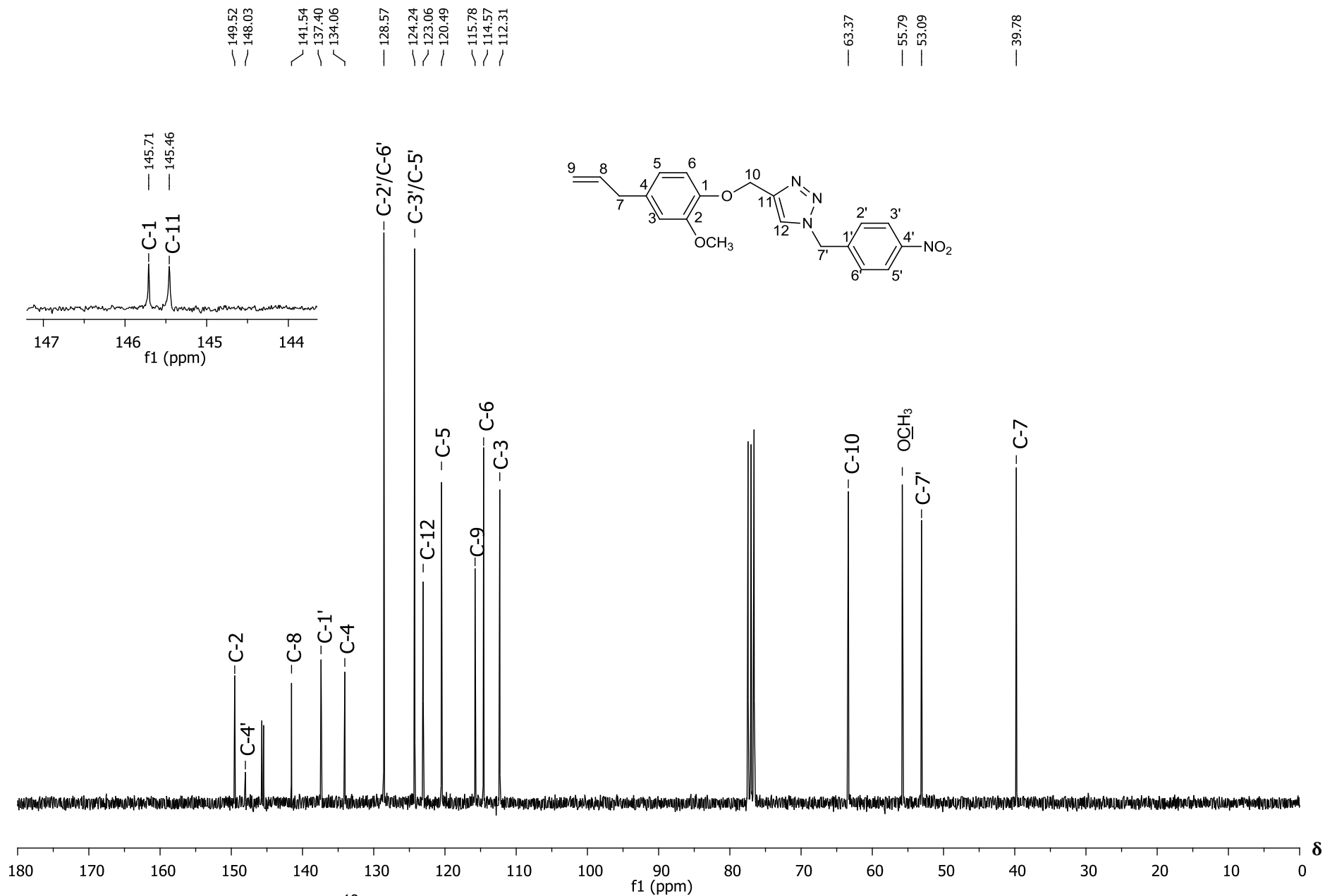


Figura 63 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8f**.

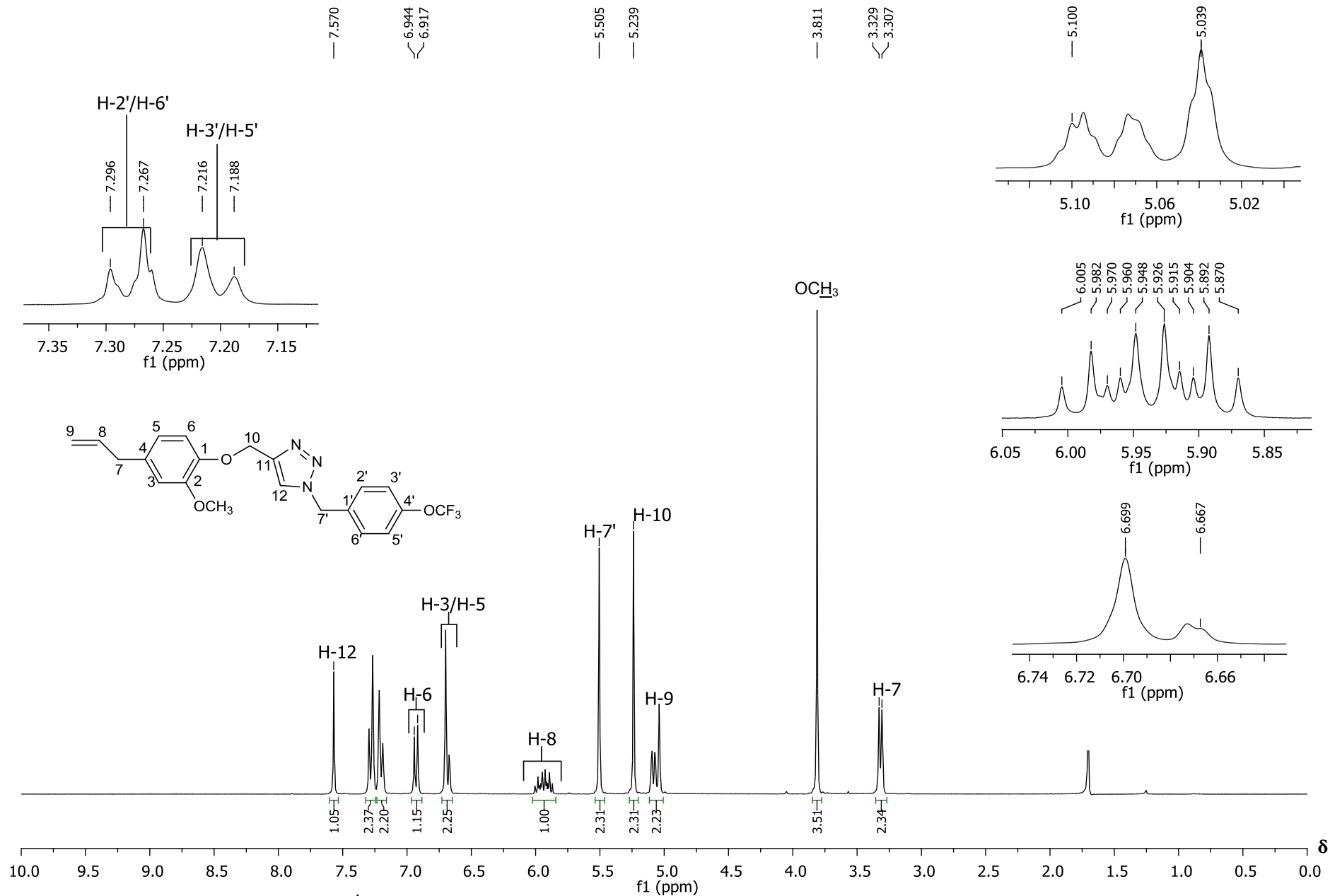


Figura 64 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **8h**.

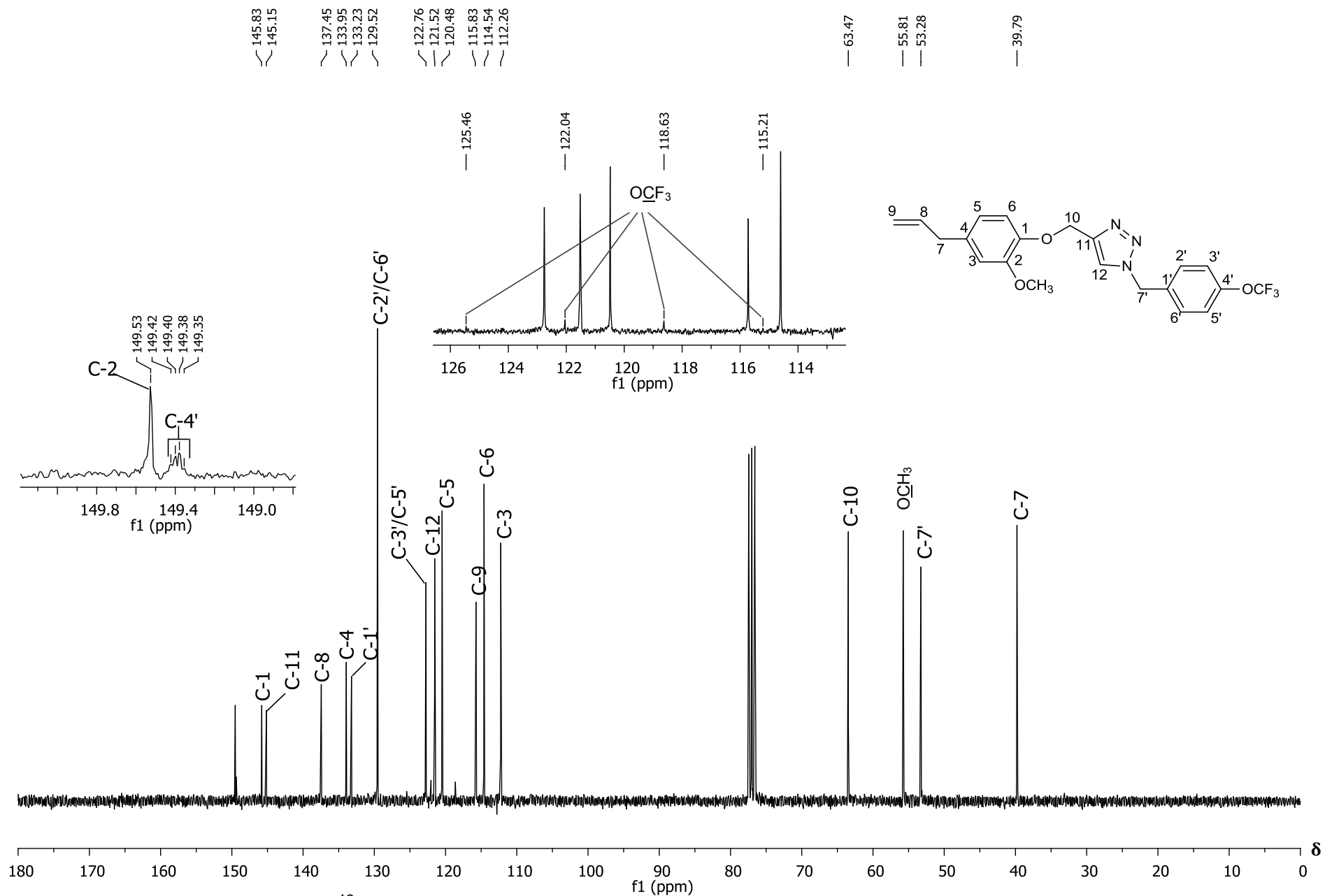


Figura 65 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8h**.

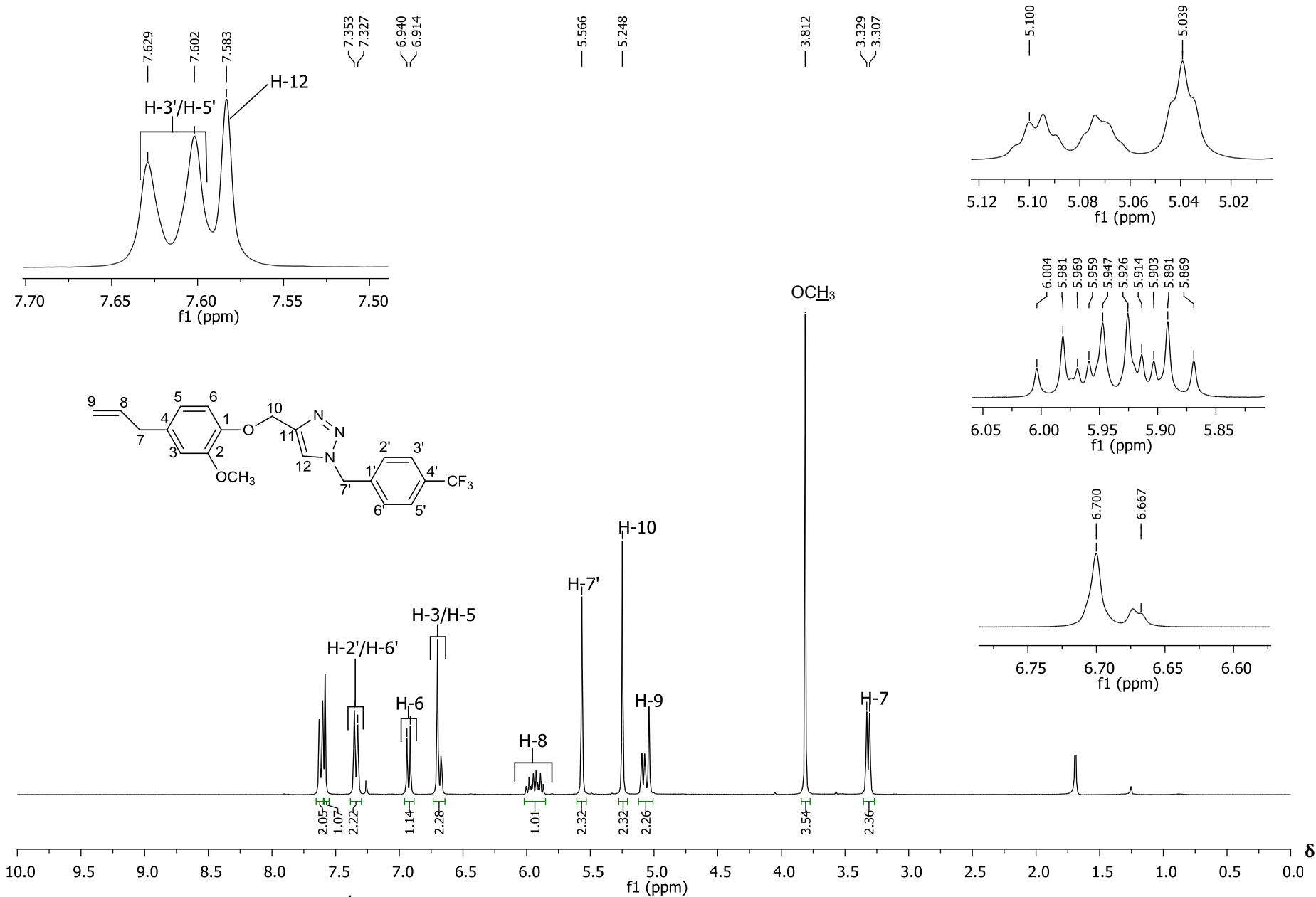


Figura 66 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8i**.

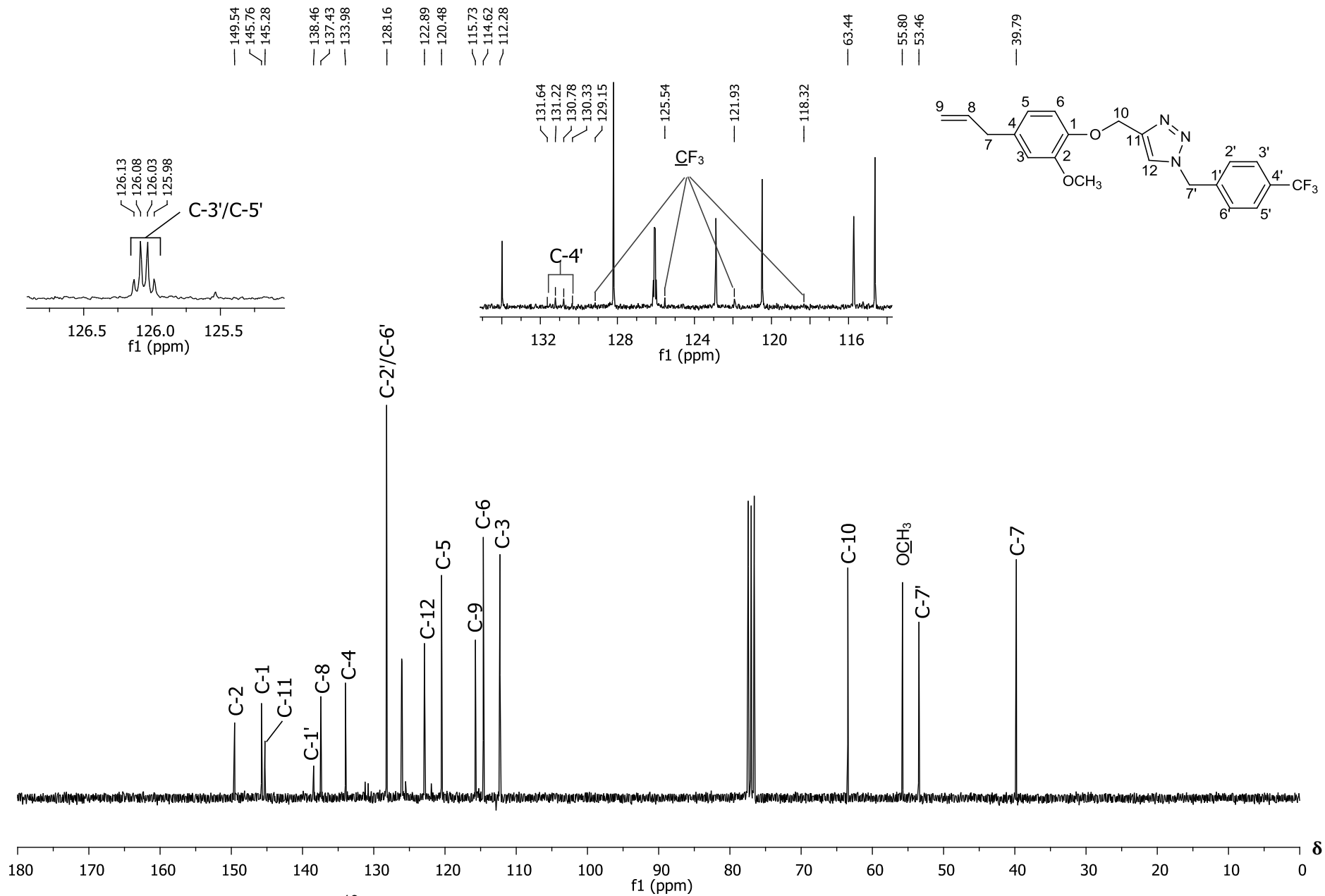


Figura 67 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8i**.

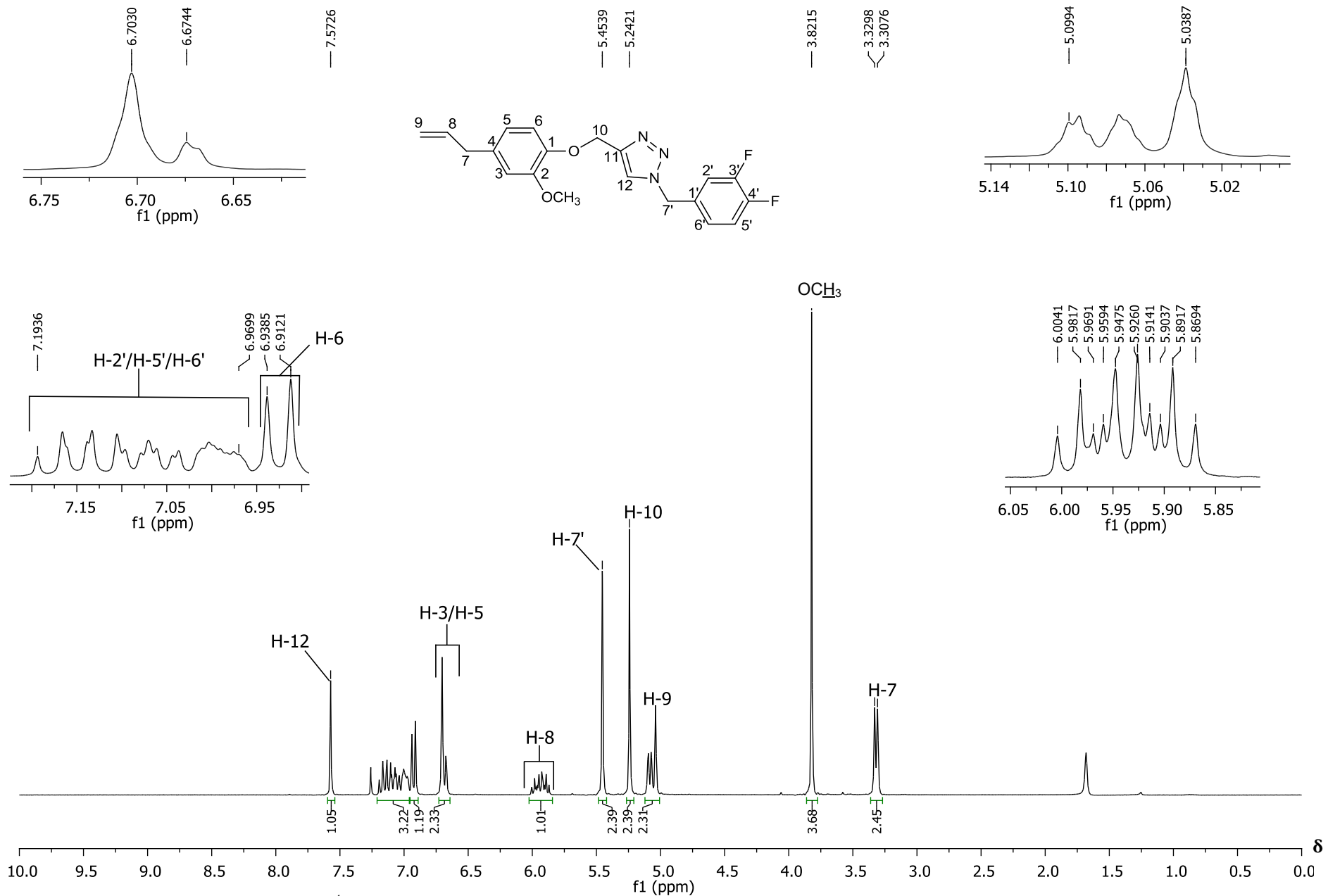


Figura 68 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8j**.

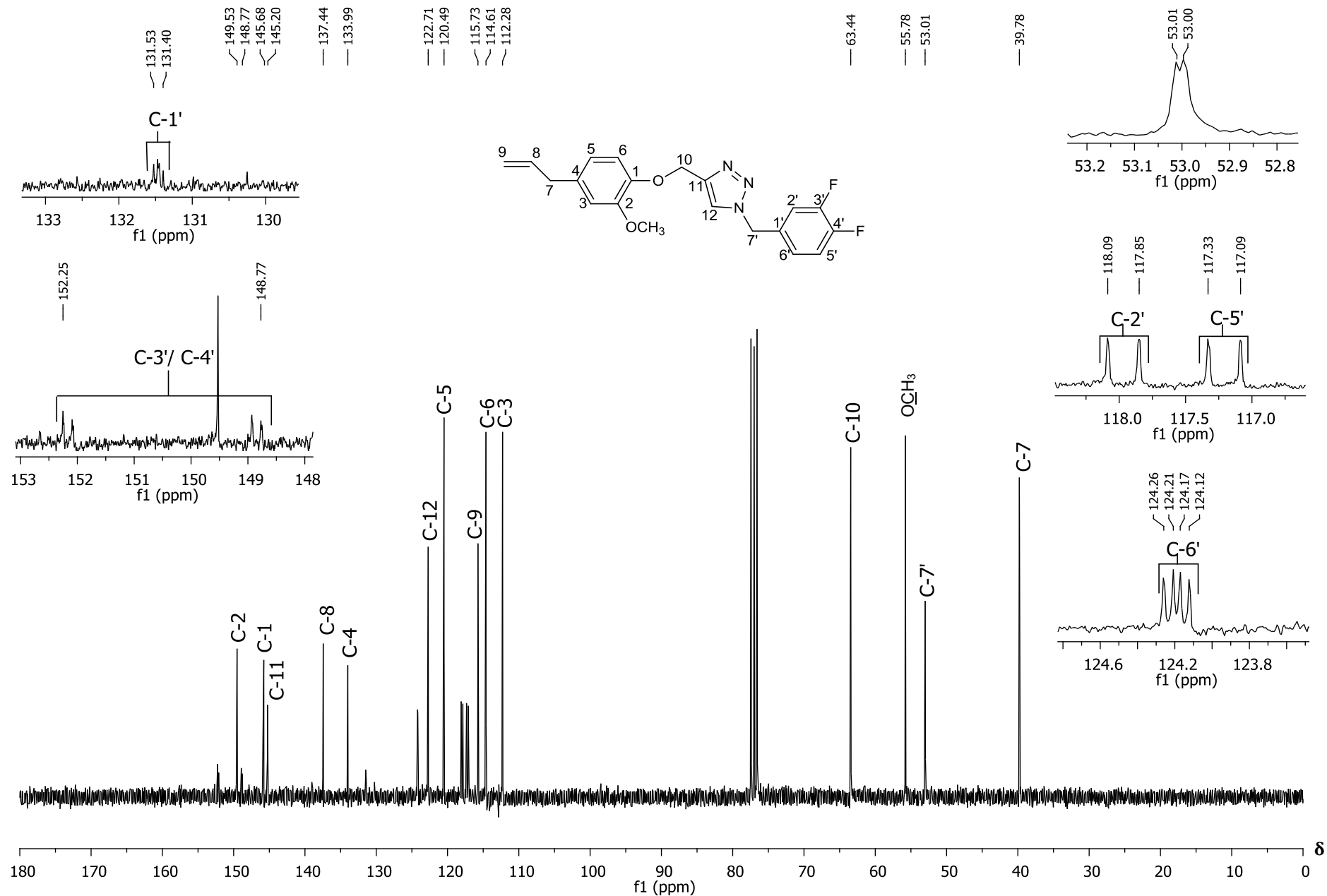


Figura 69 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **8j**.

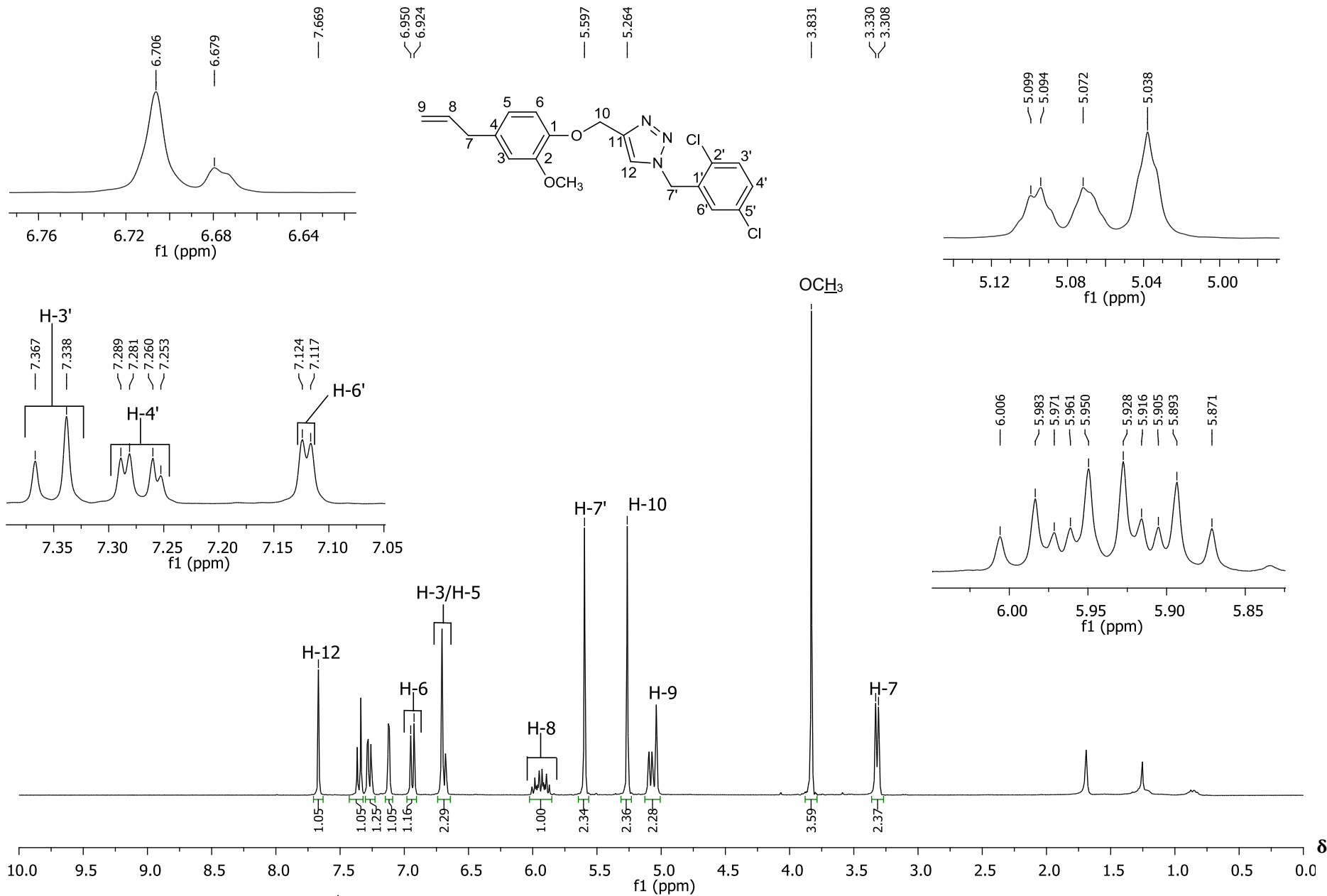


Figura 70 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8k**.

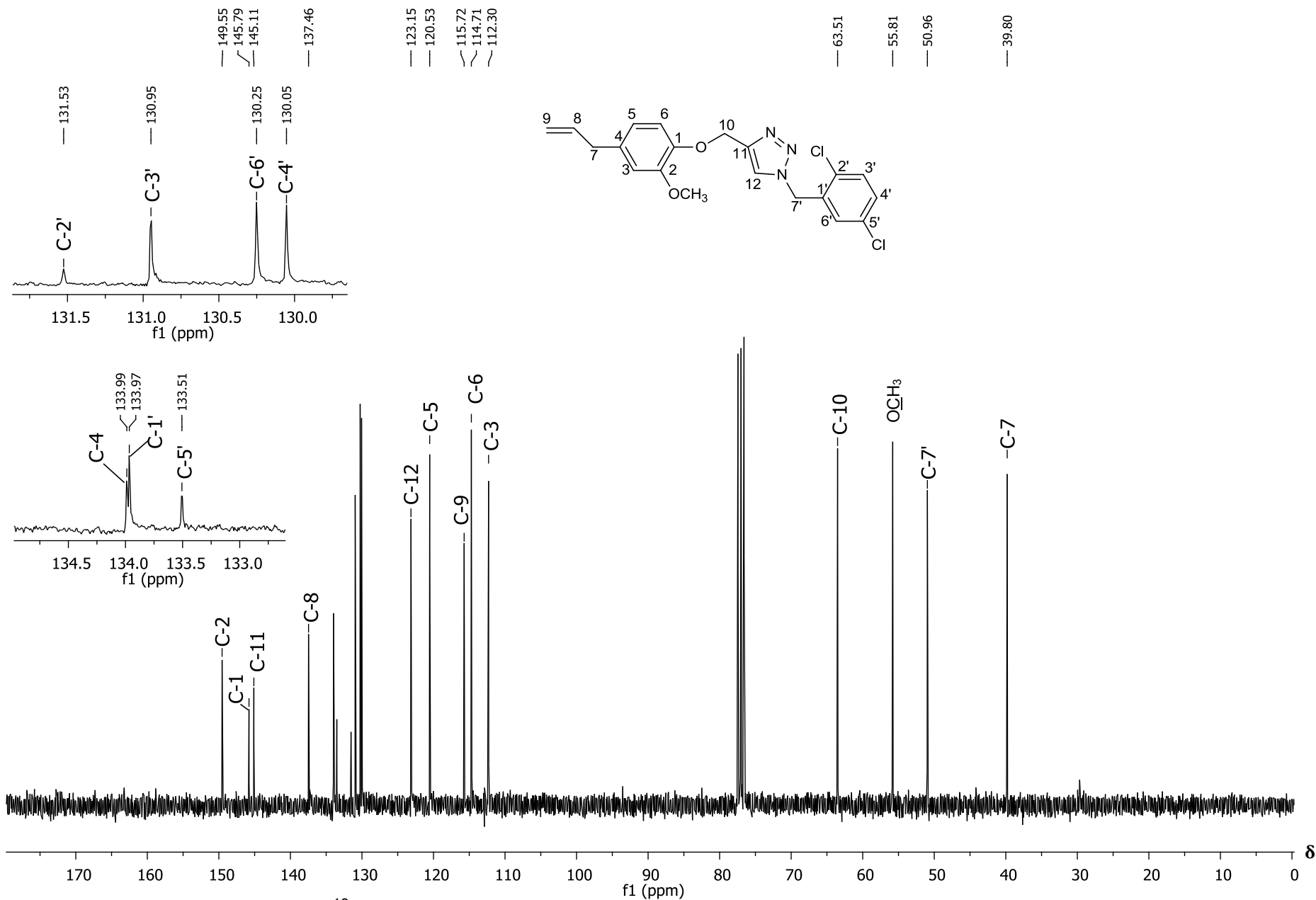


Figura 71 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8k**.

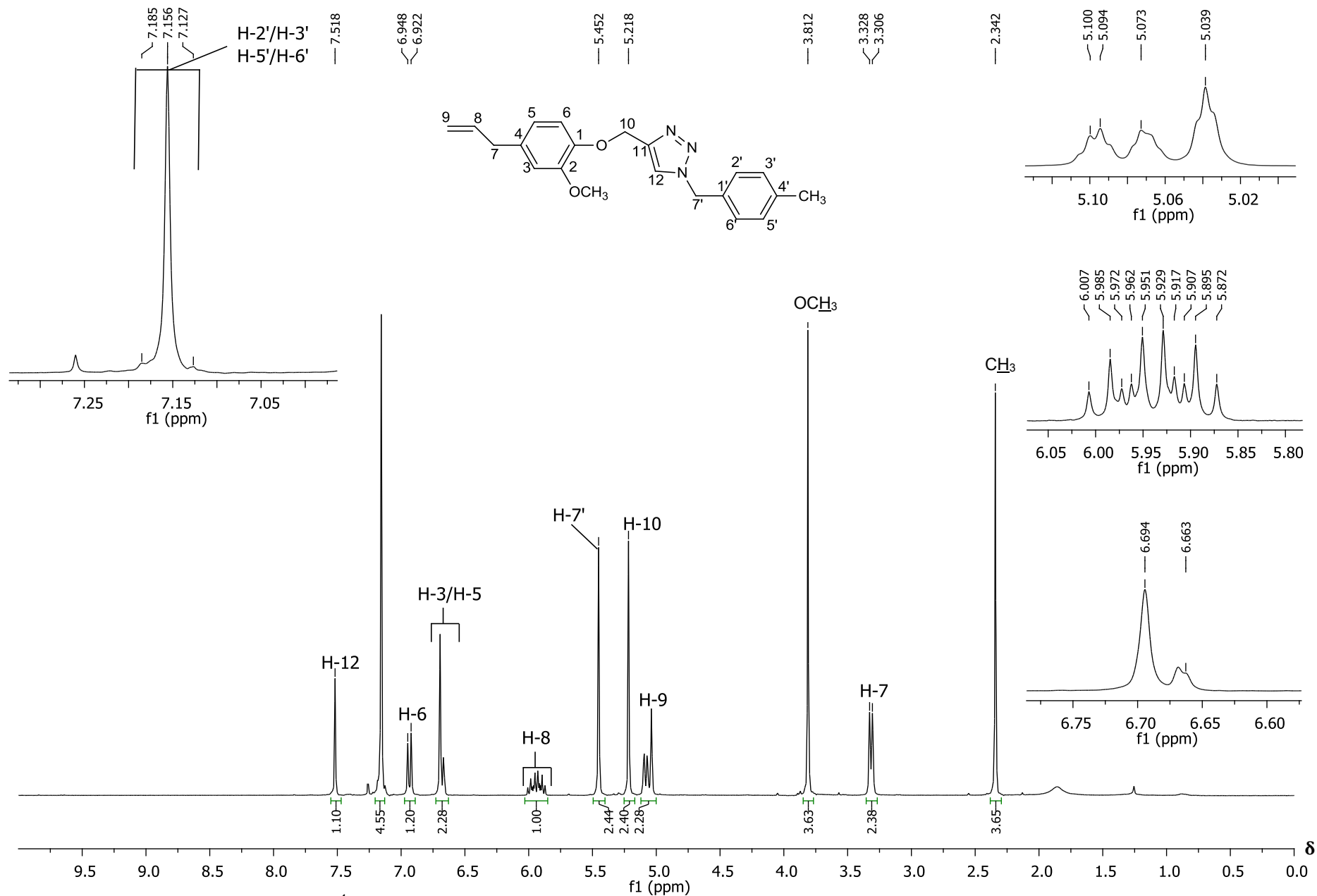


Figura 72 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8I**.

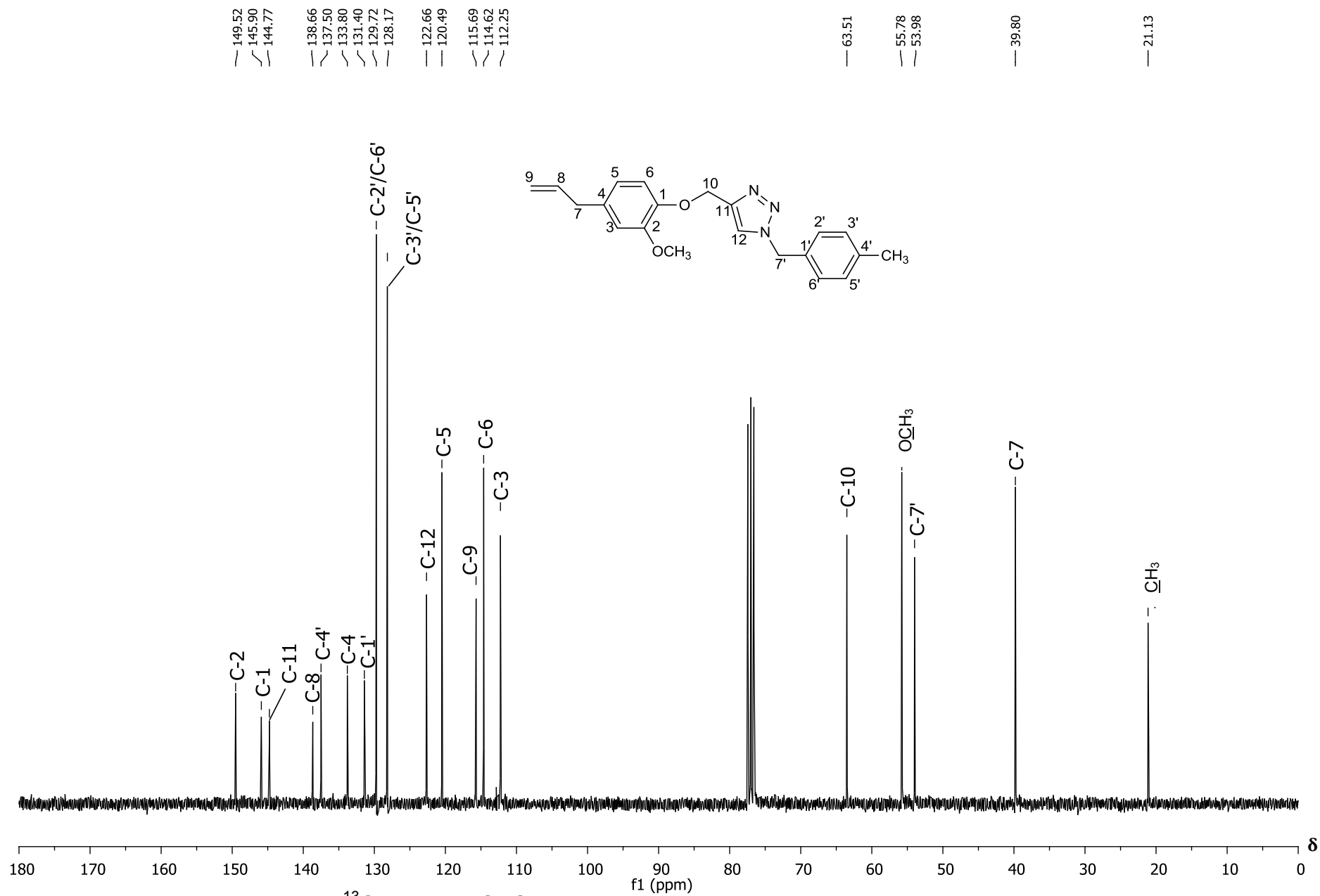


Figura 73 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8I**.

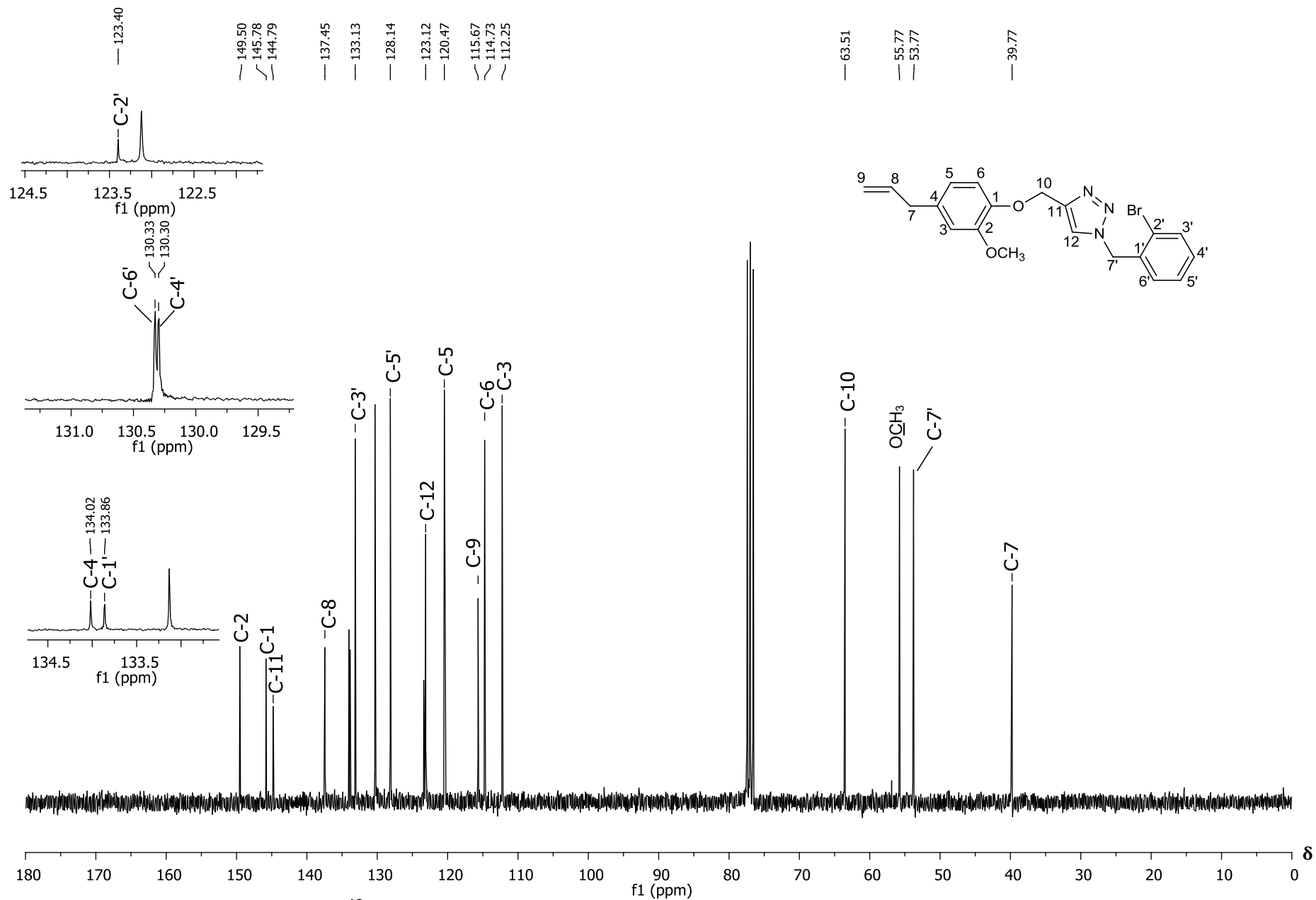


Figura 75 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **8m**.

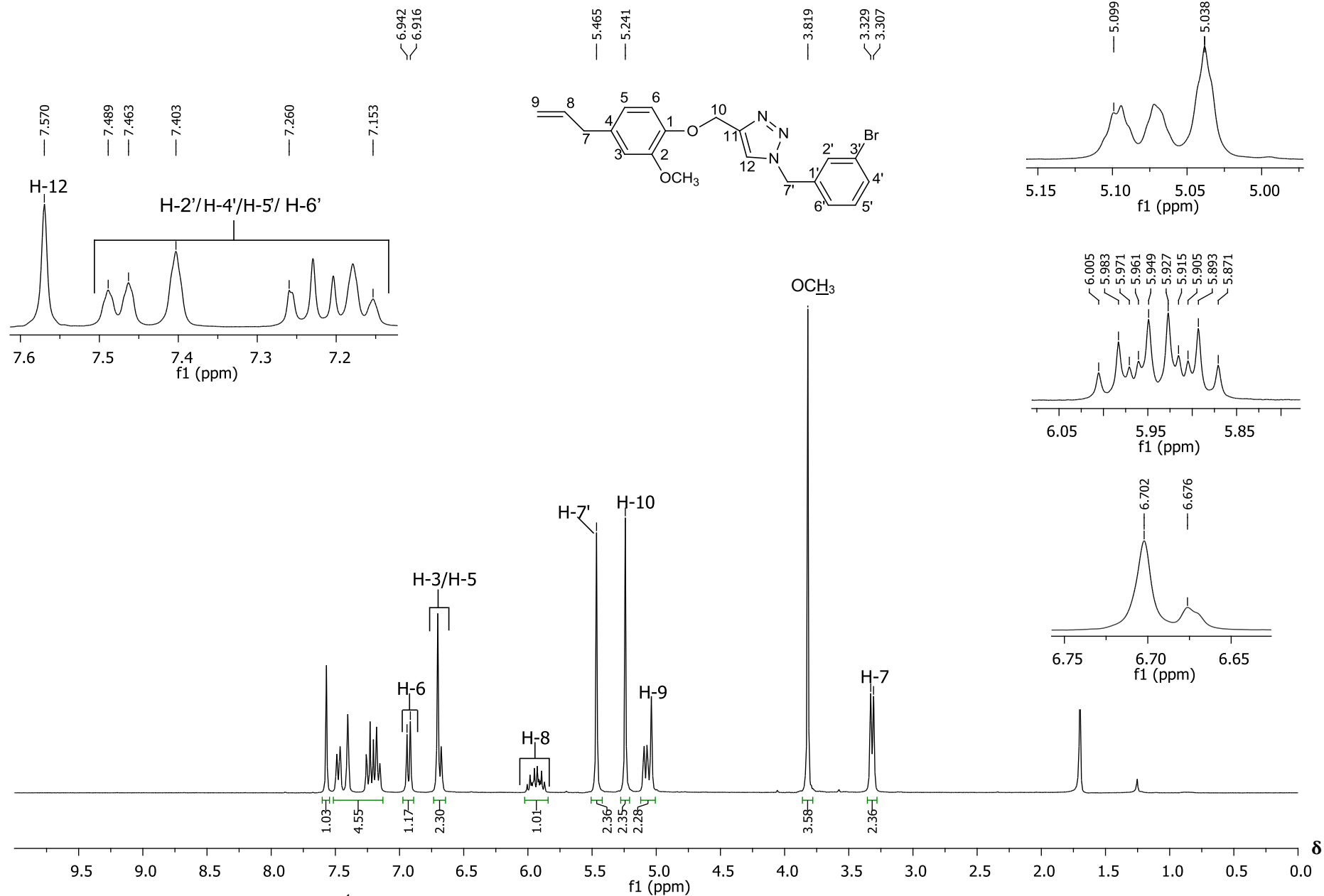


Figura 76 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **8n**.

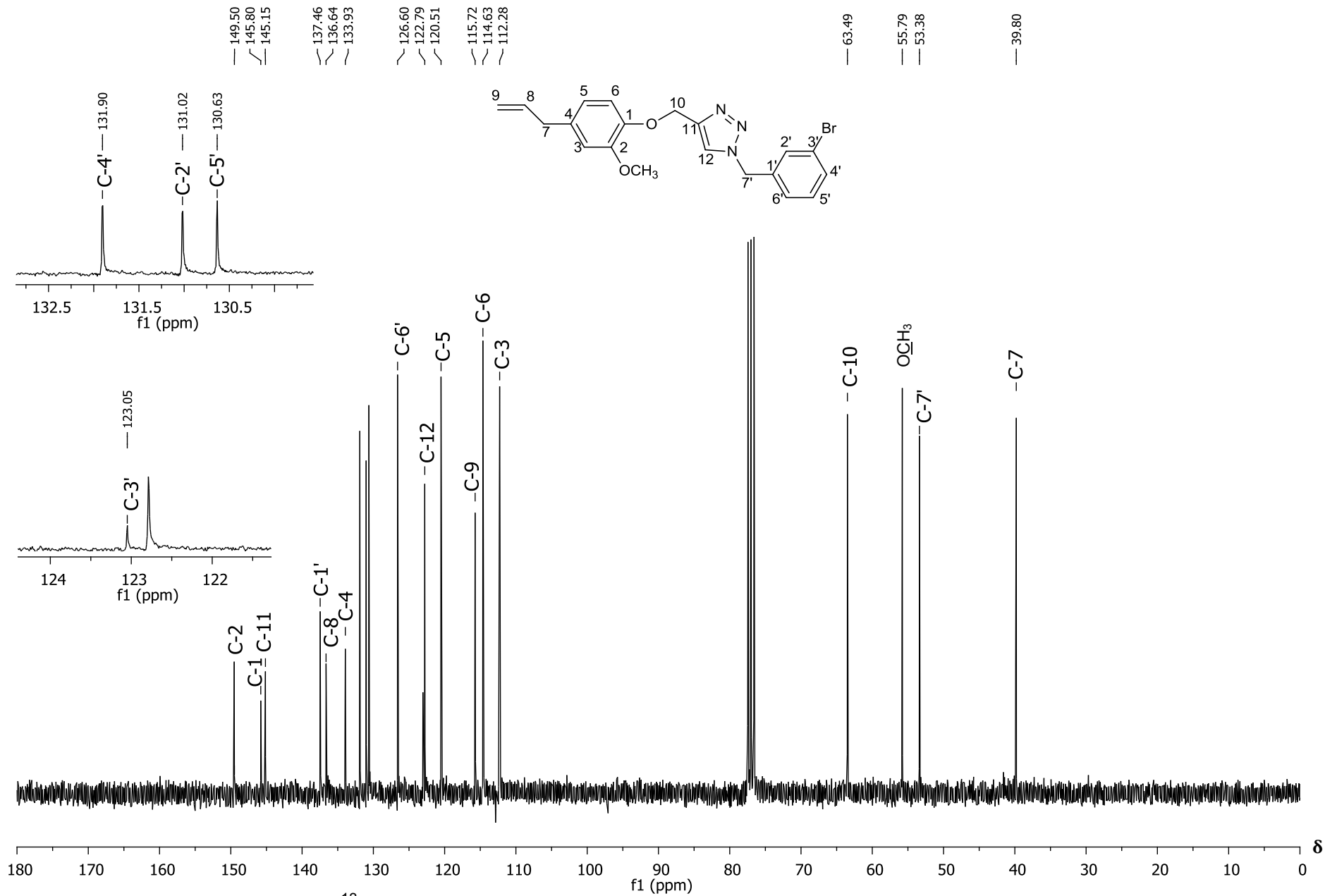


Figura 77 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **8n**.

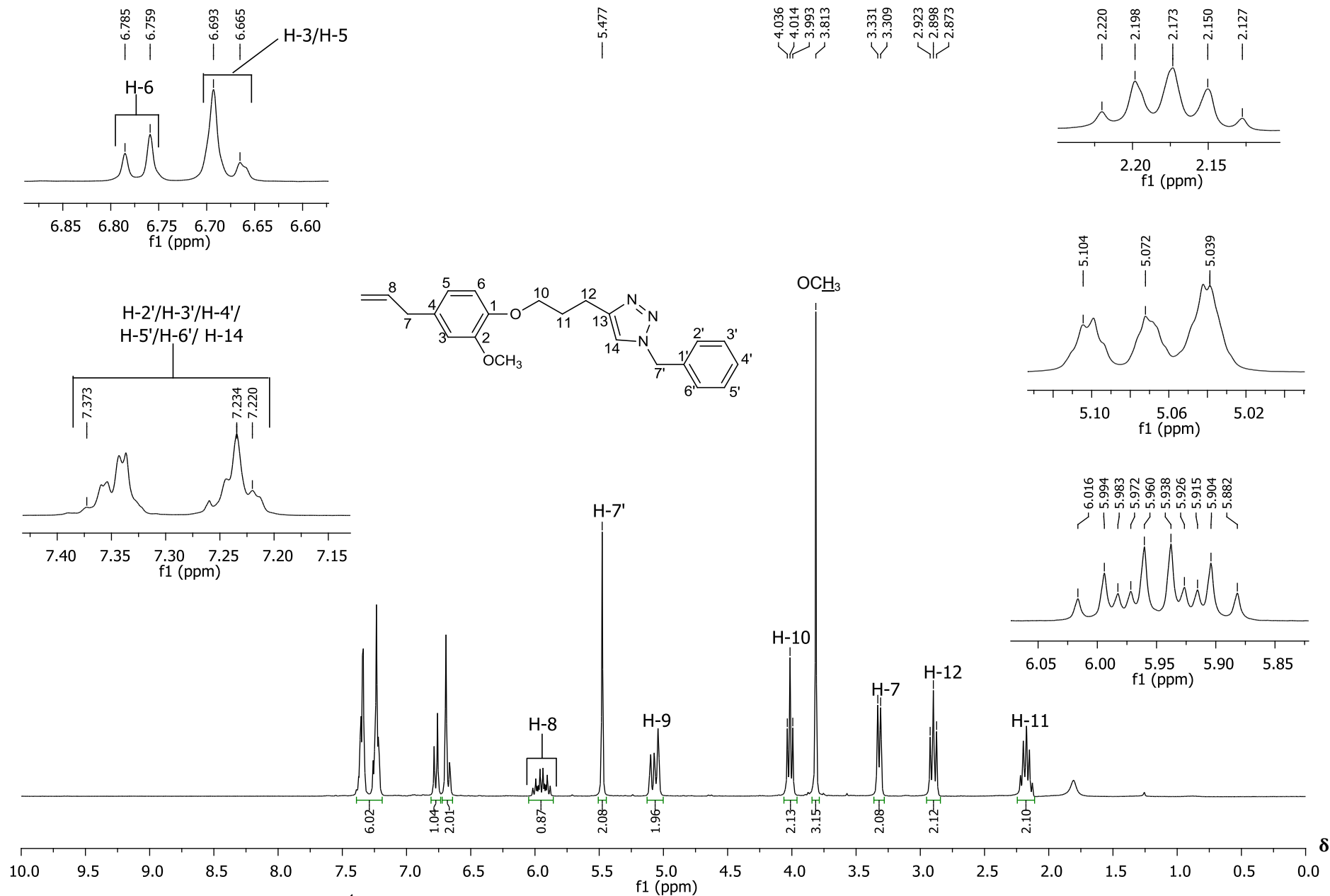


Figura 78 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9a**.

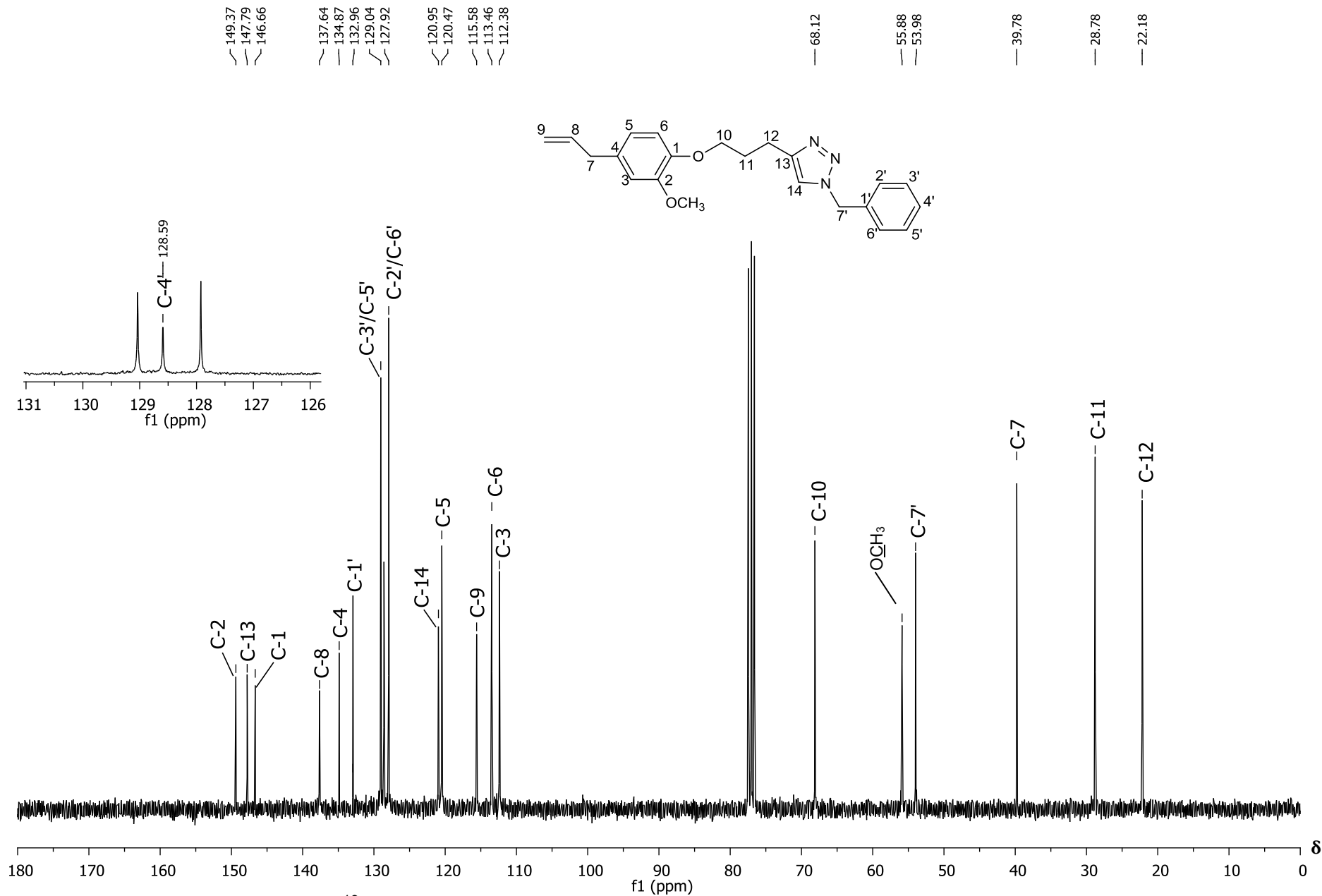


Figura 79 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9a**.

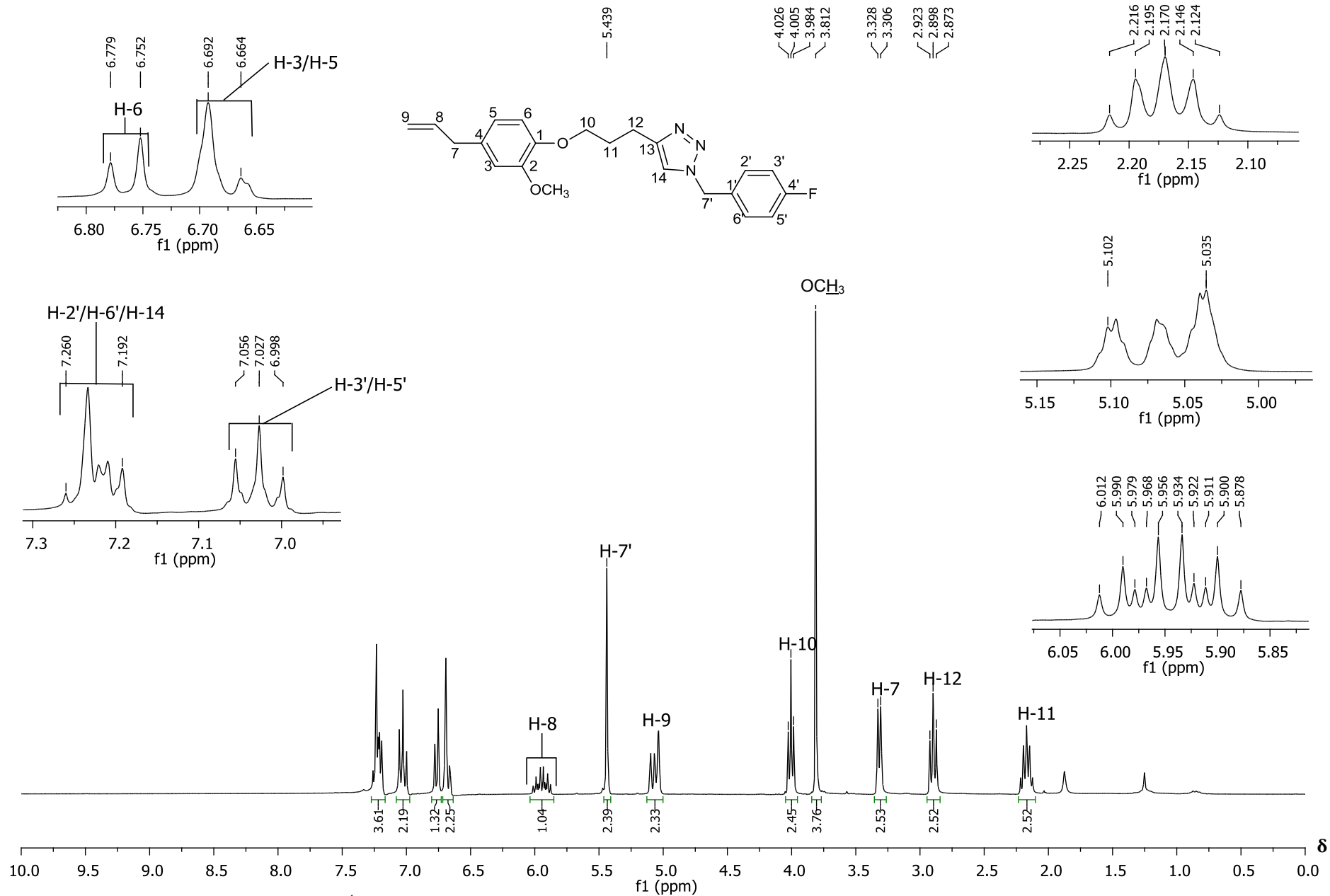


Figura 80 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9b**.

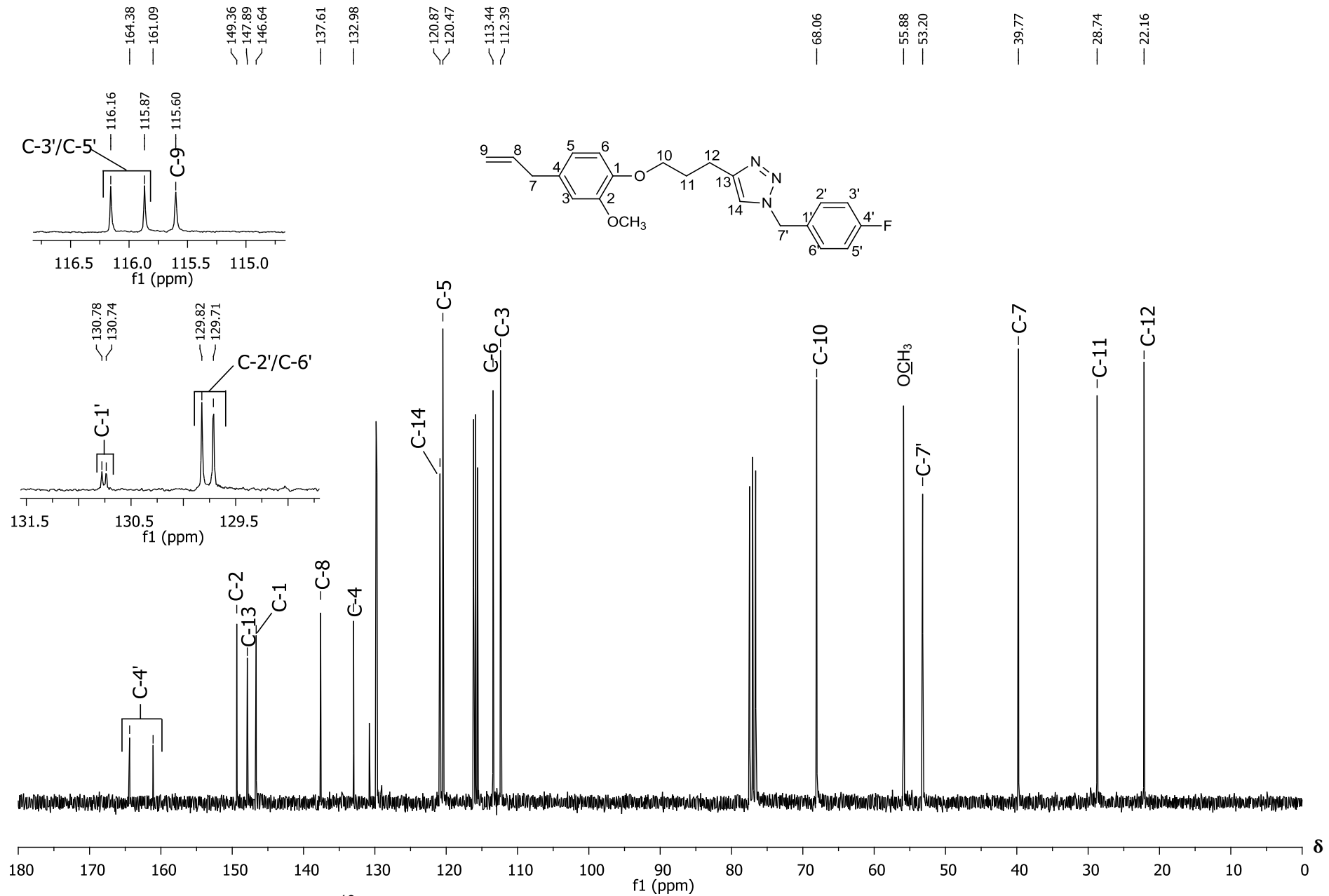


Figura 81 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9b**.

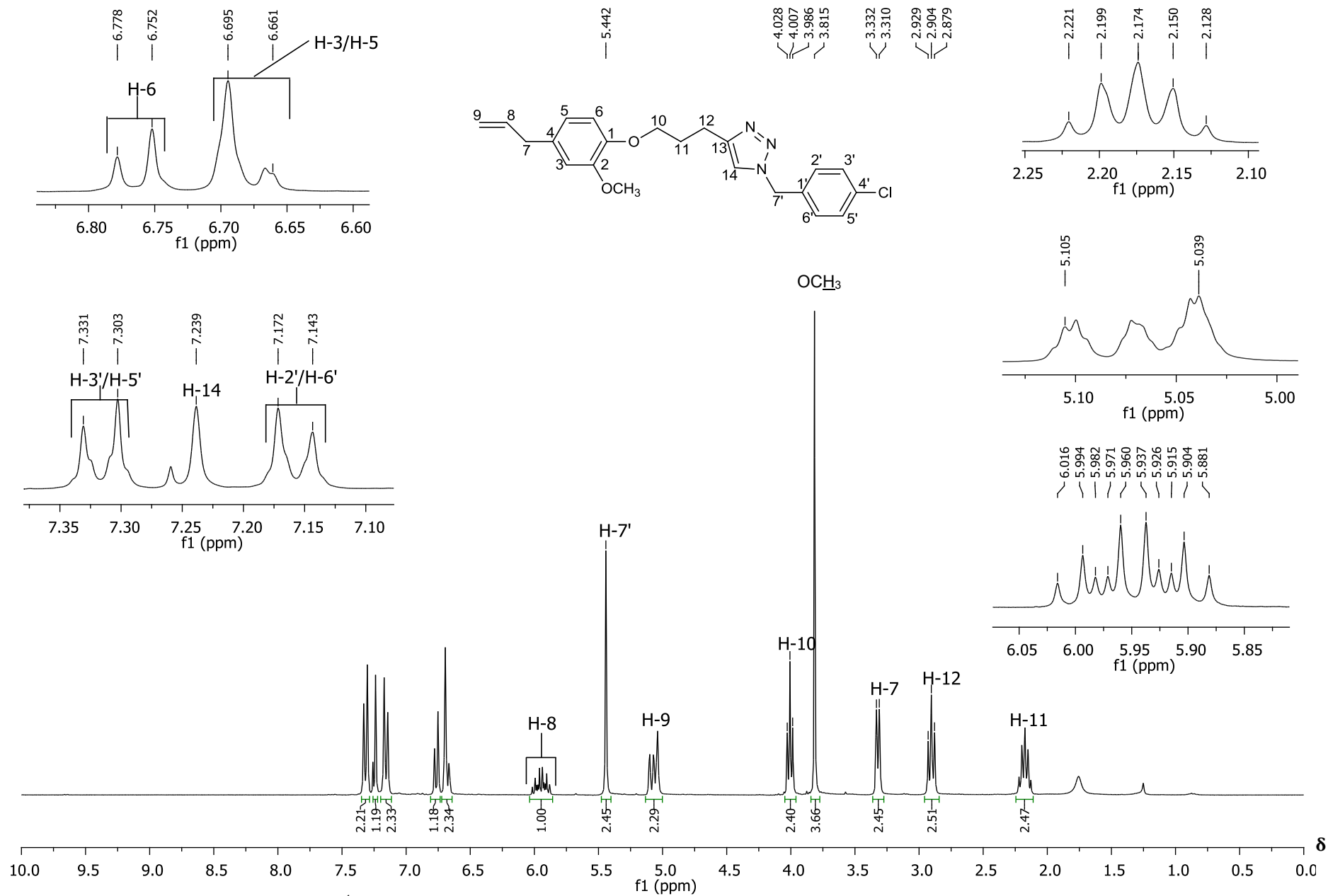


Figura 82 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9c**.

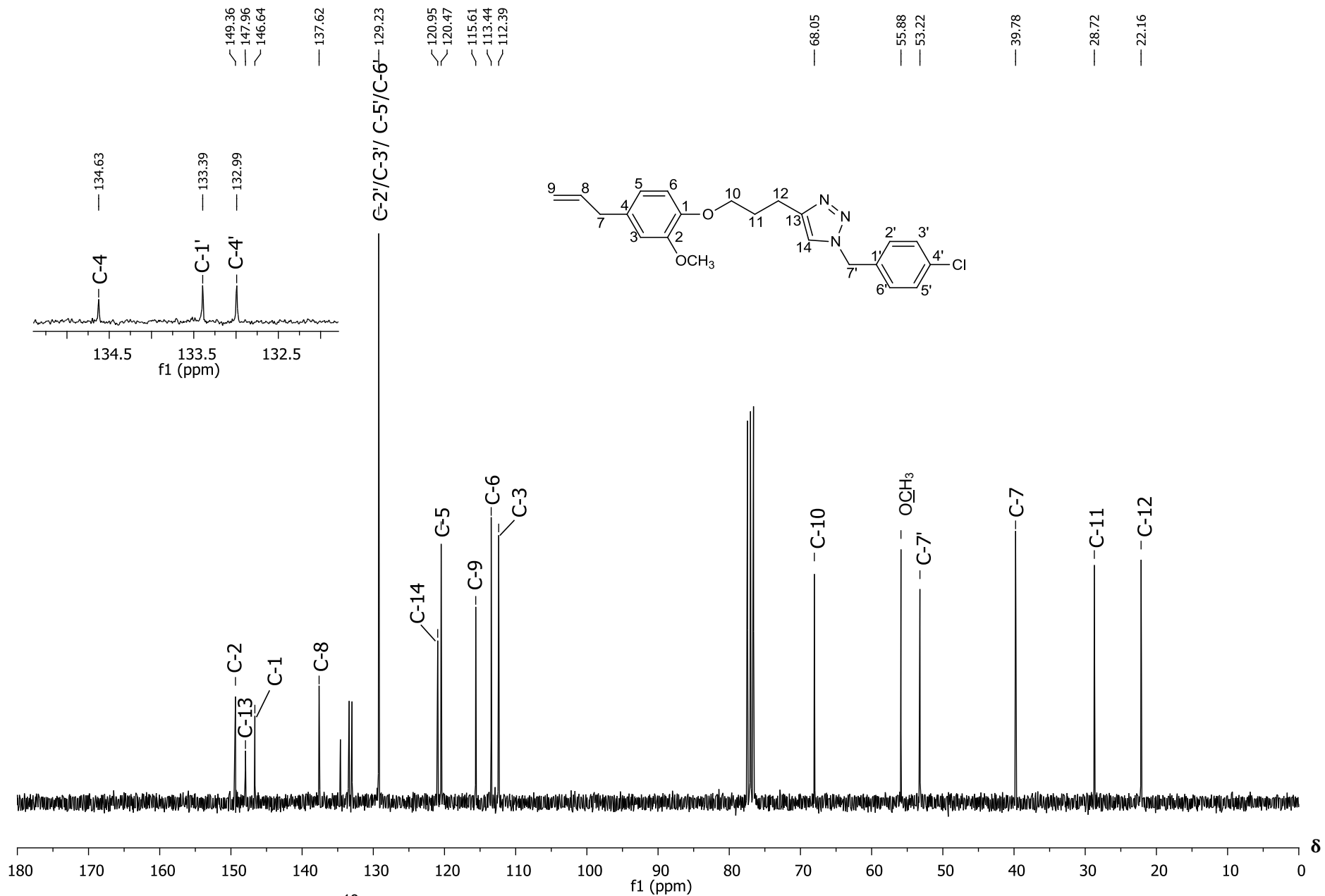


Figura 83 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **9c**.

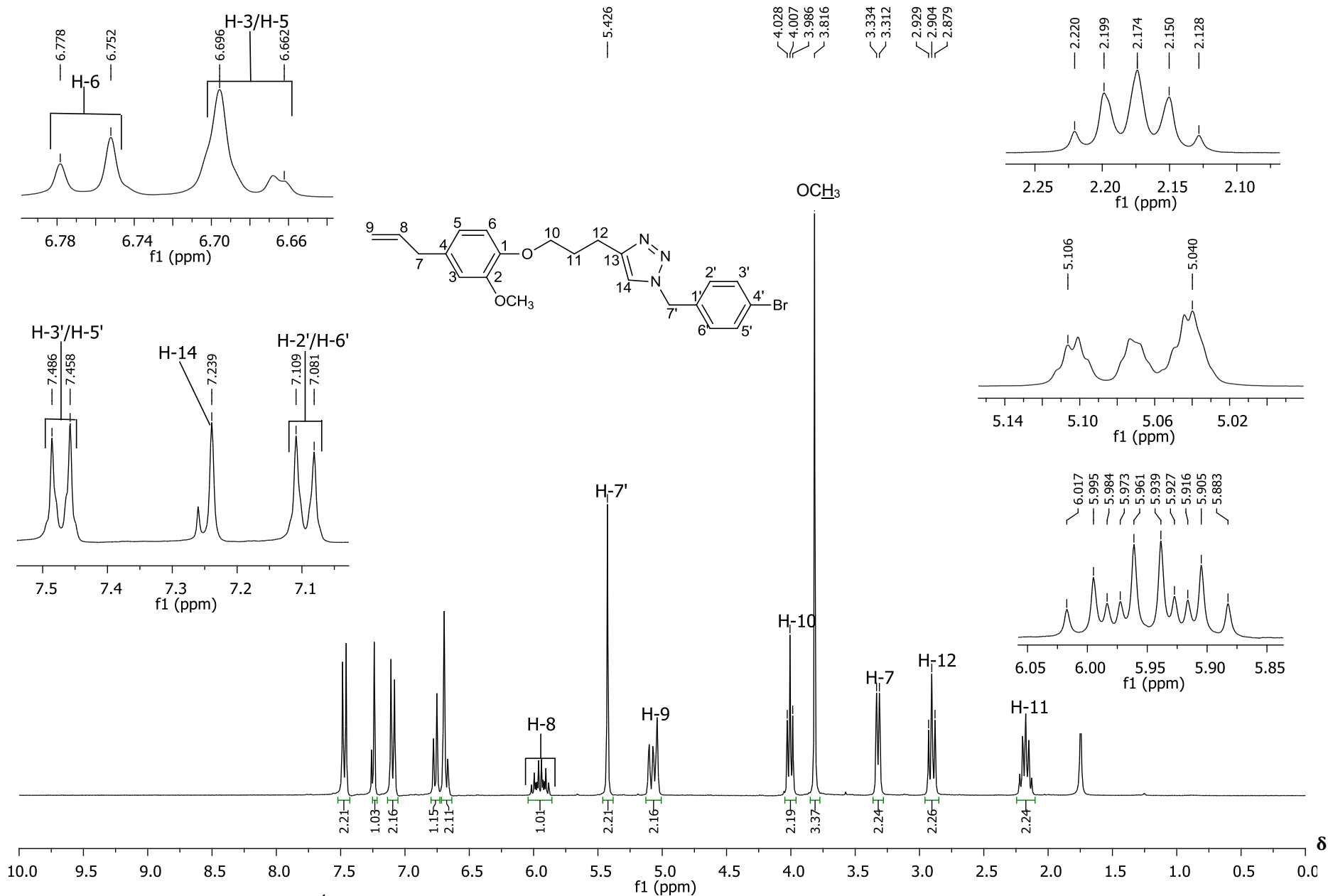


Figura 84 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9d**.

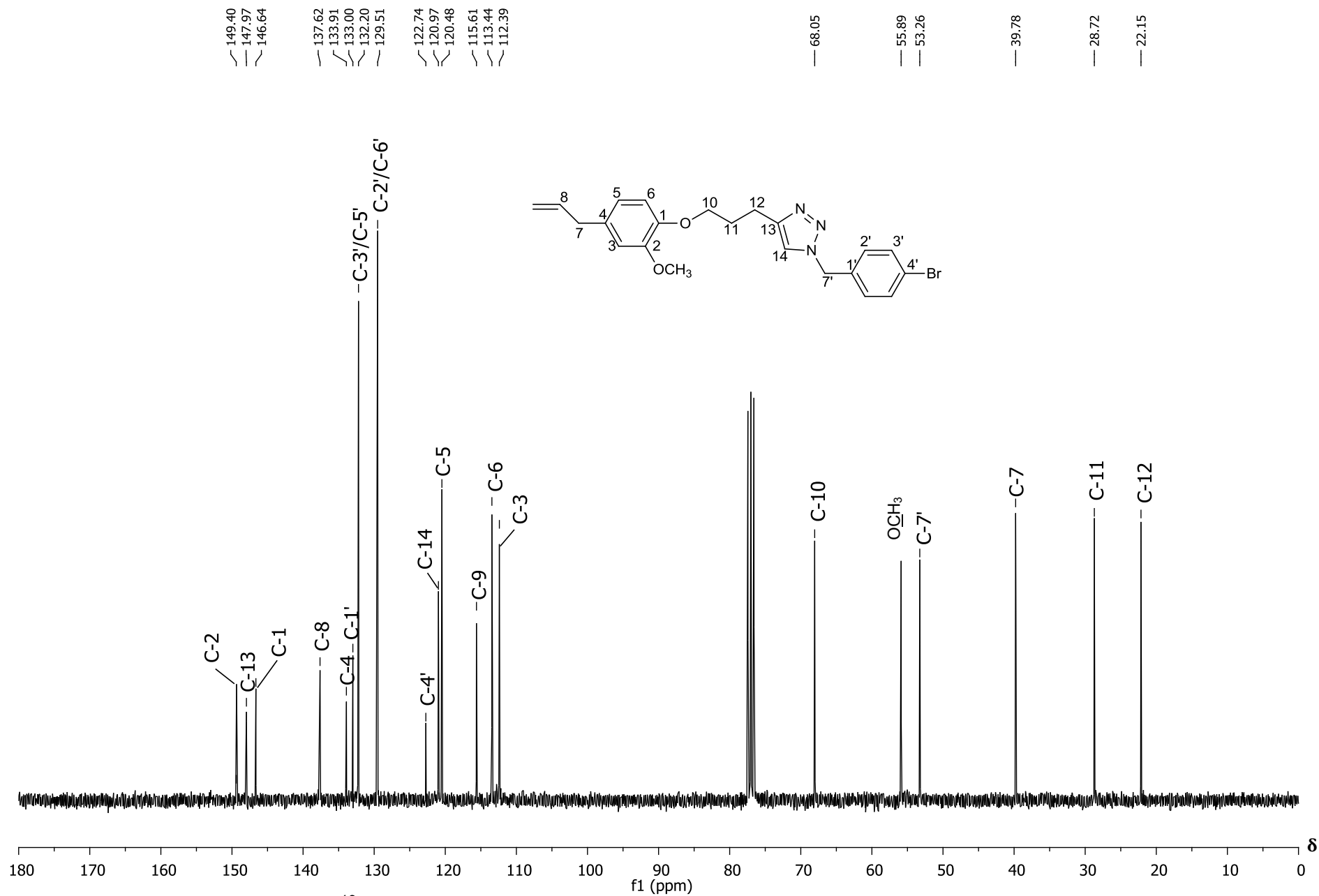


Figura 85 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9d**.

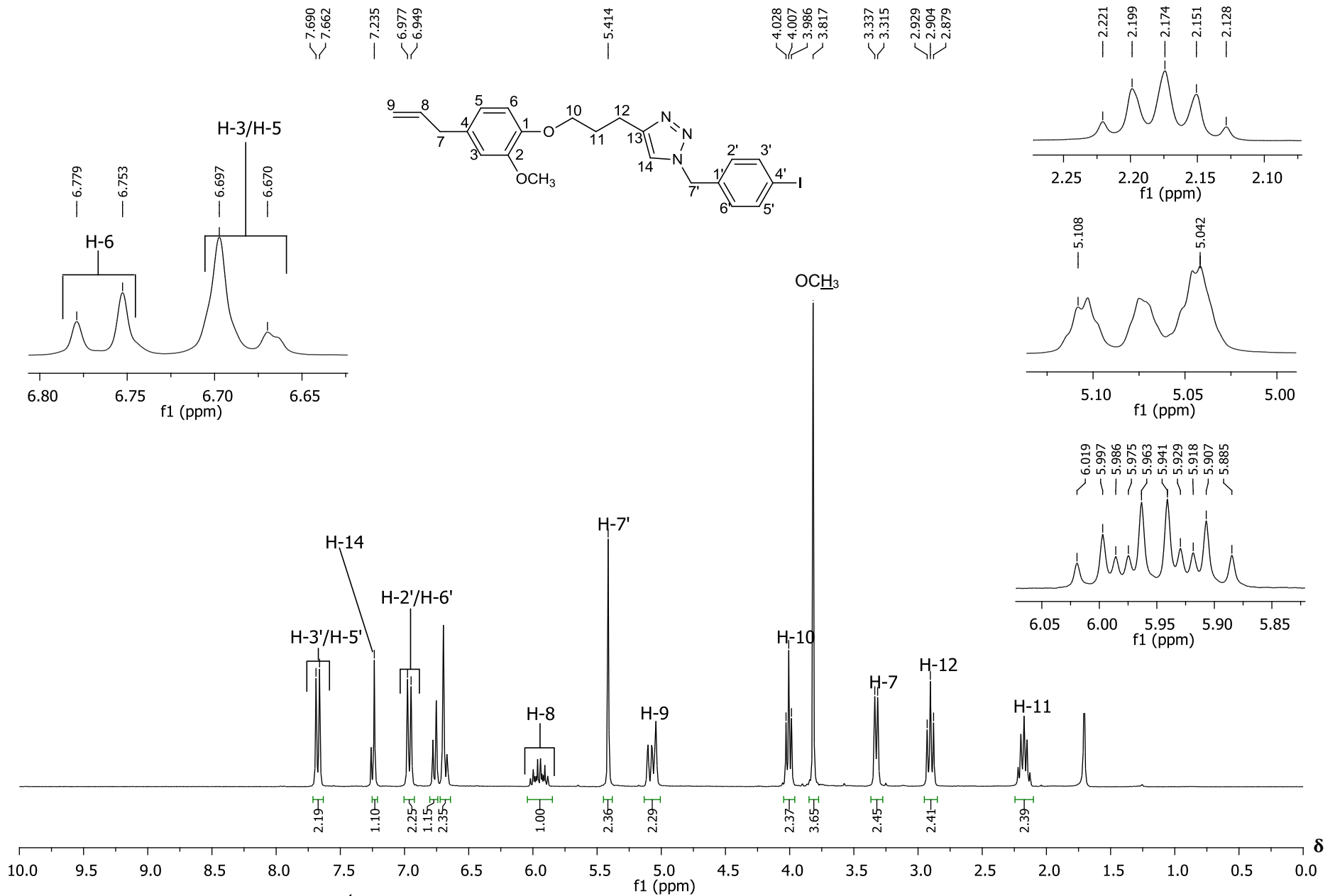


Figura 86 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9e**.

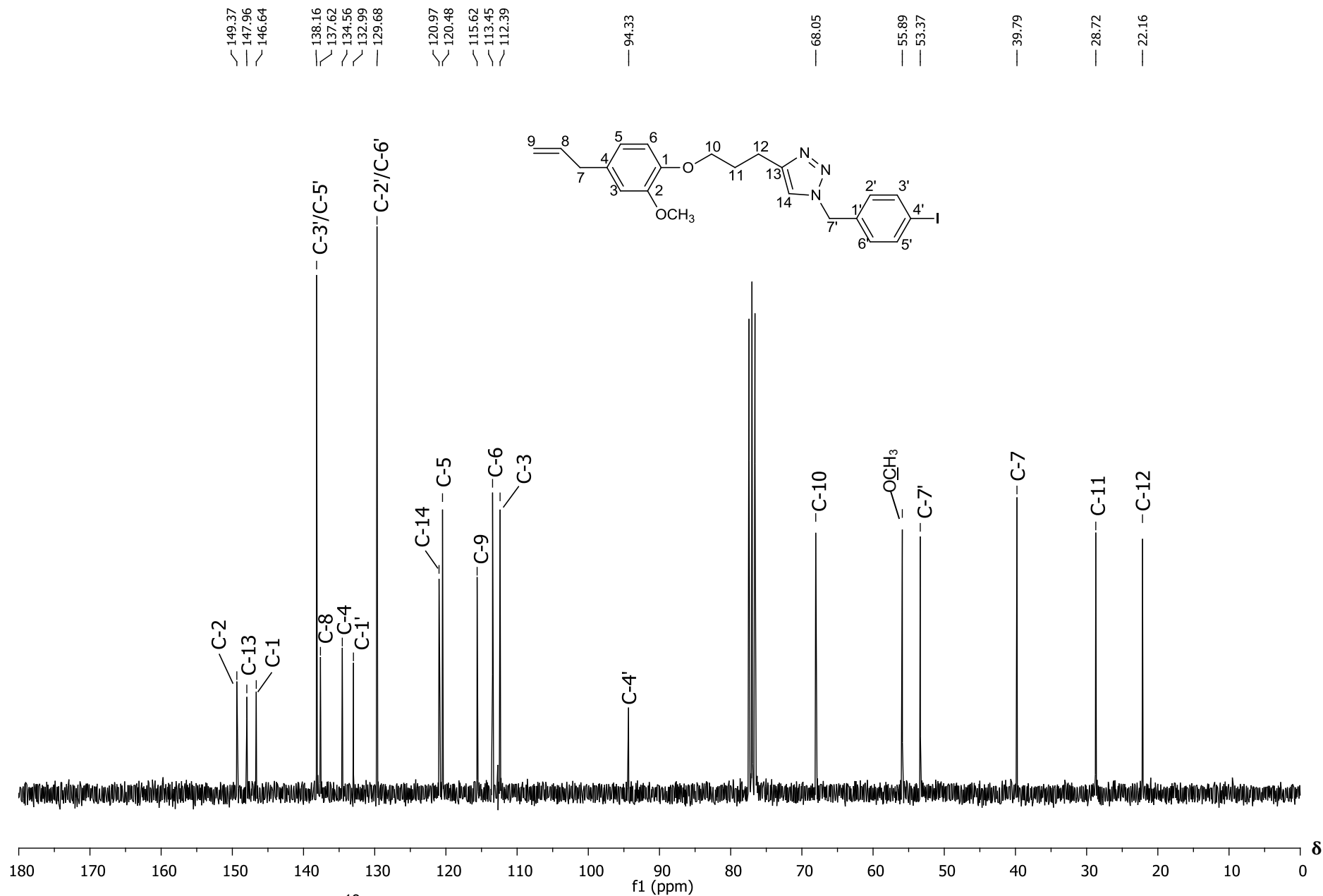


Figura 87 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9e**.

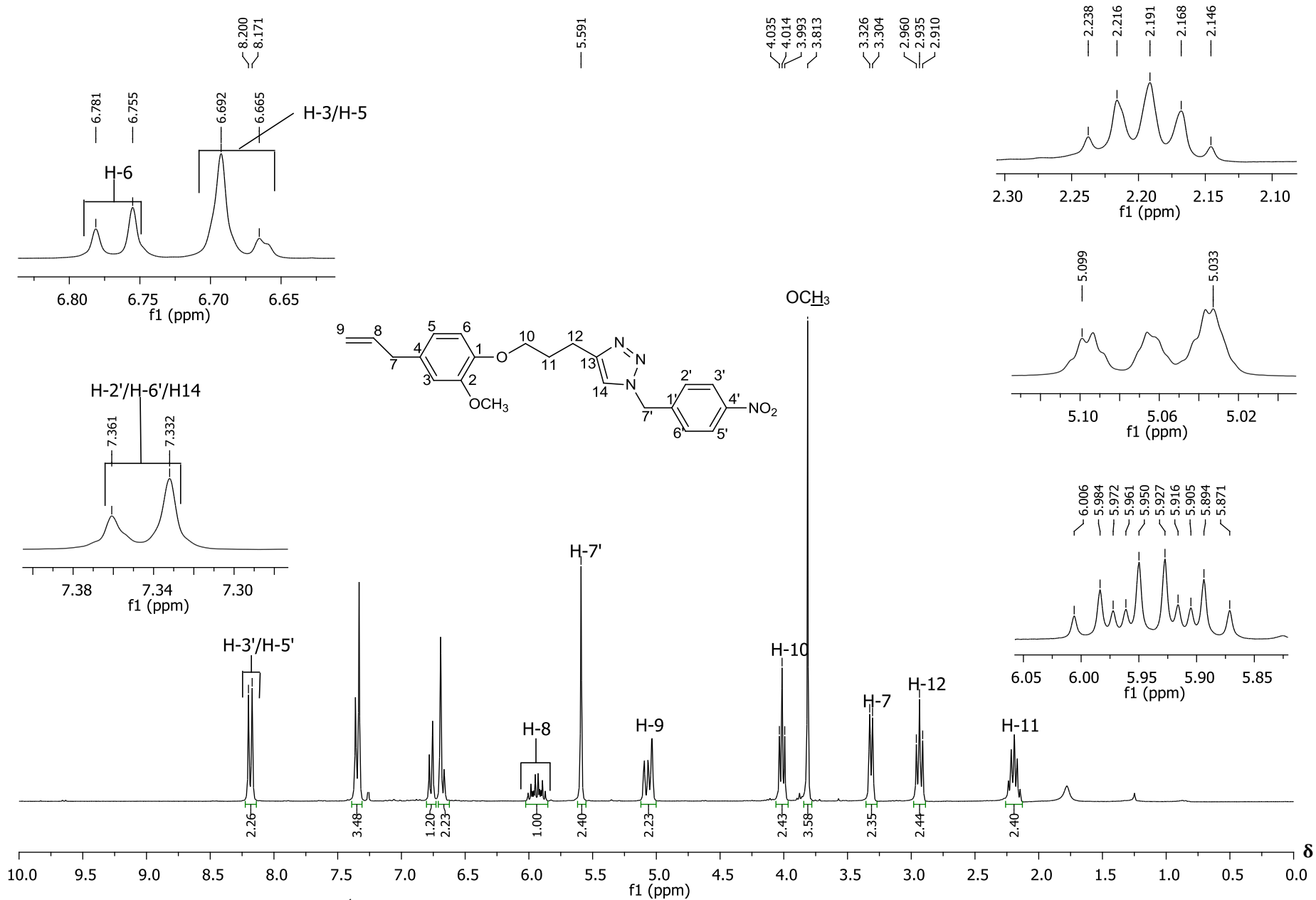


Figura 88 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **9f**.

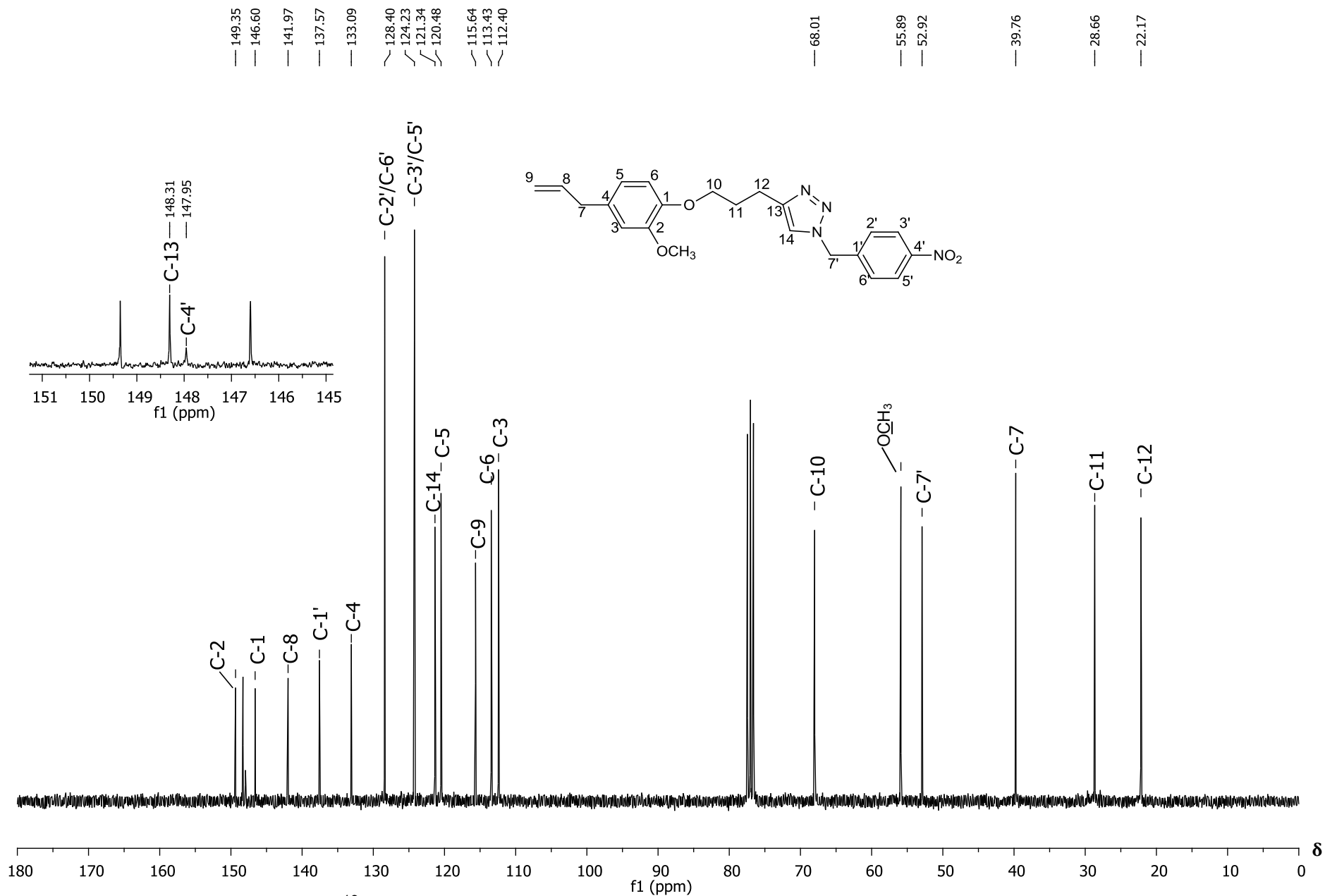


Figura 89 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9f**.

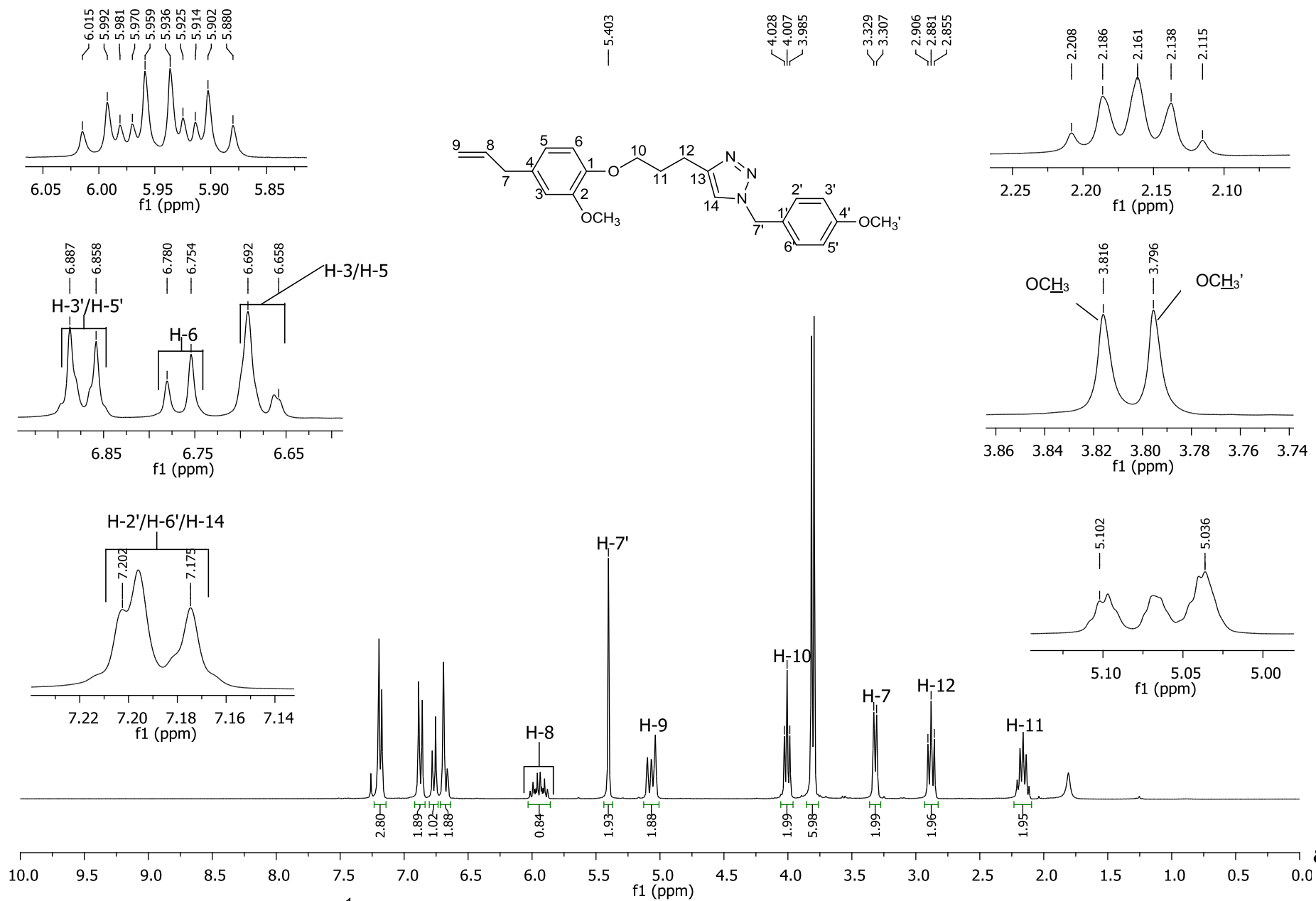


Figura 90 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9g**.

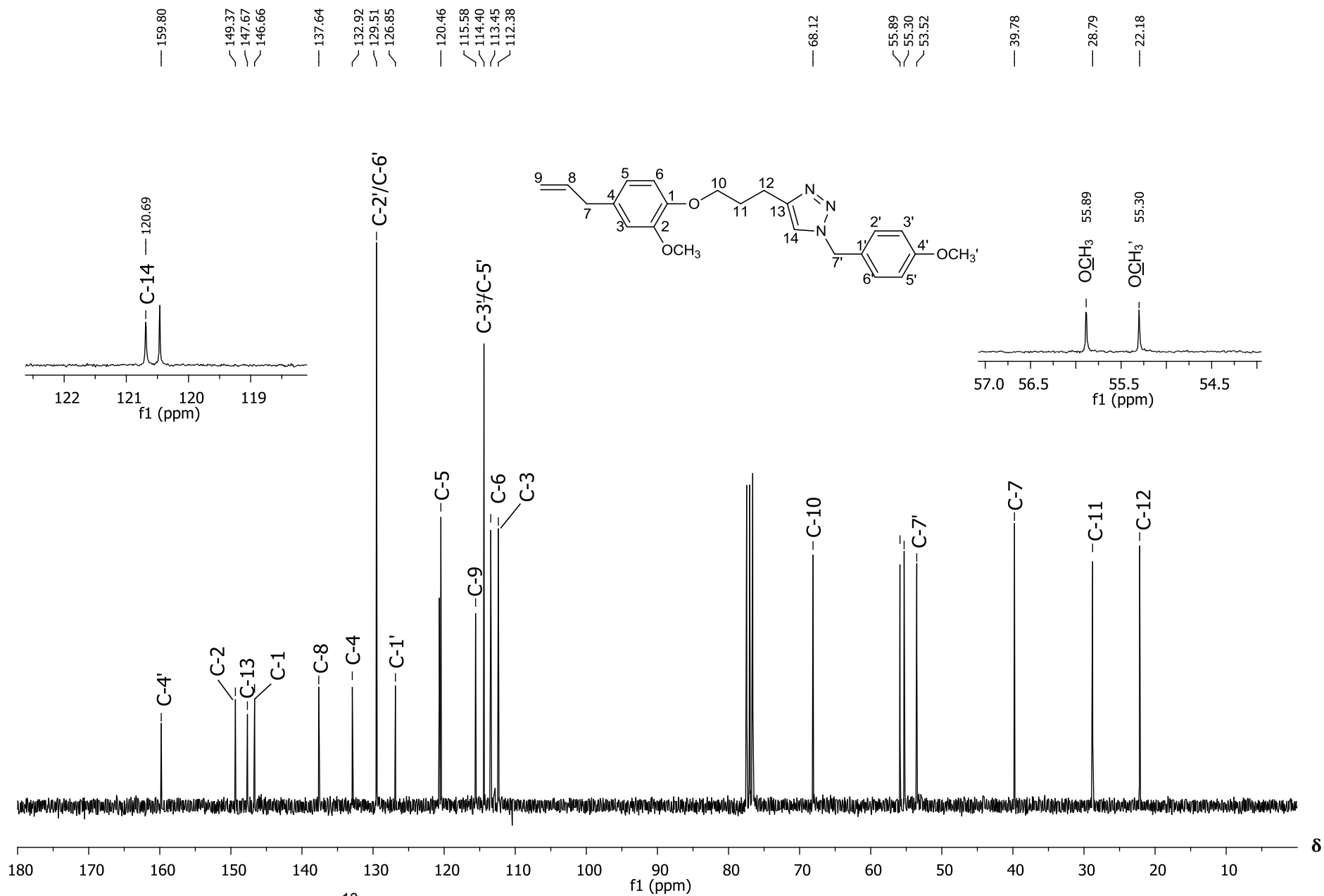


Figura 91 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9g**.

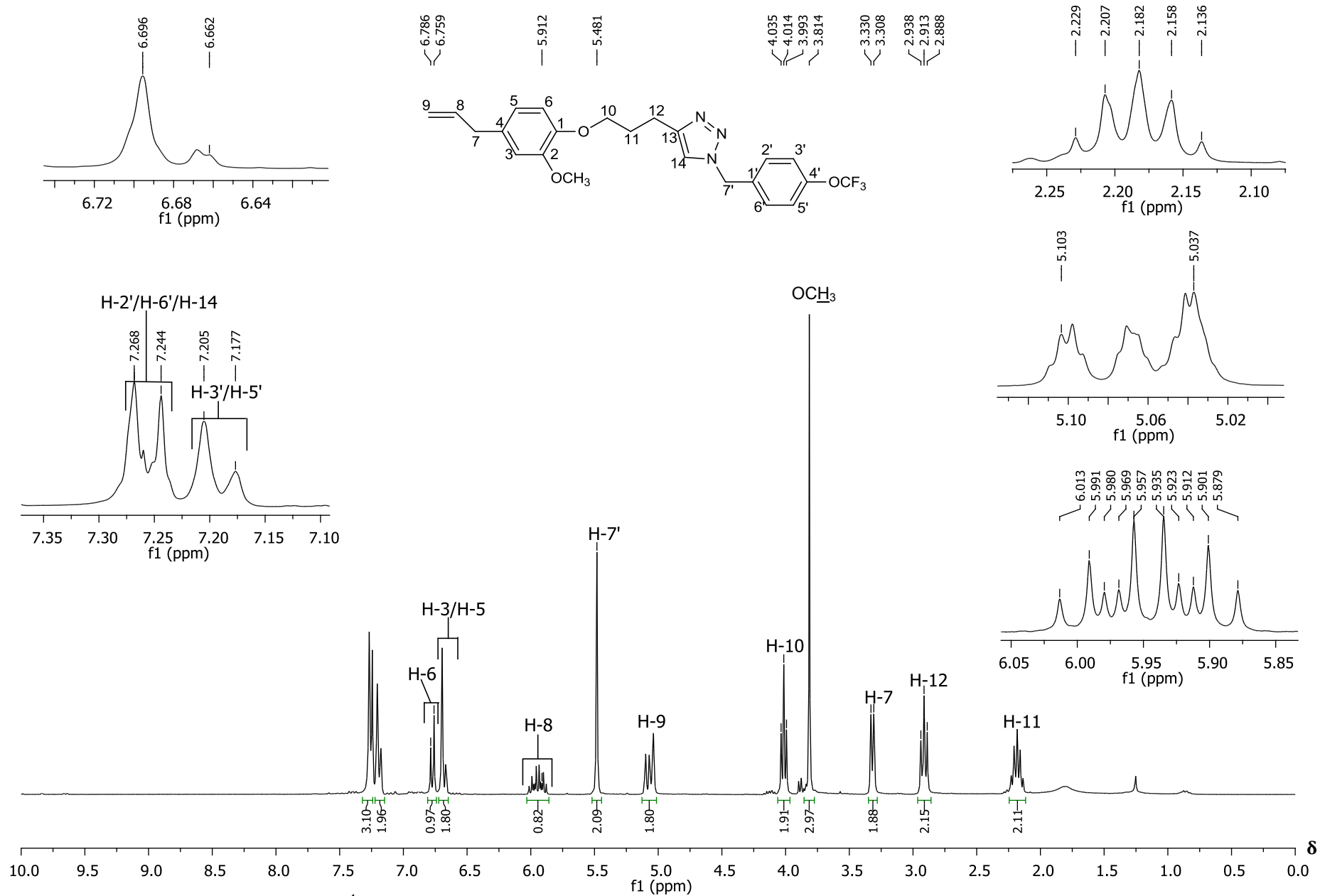


Figura 92 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **9h**.

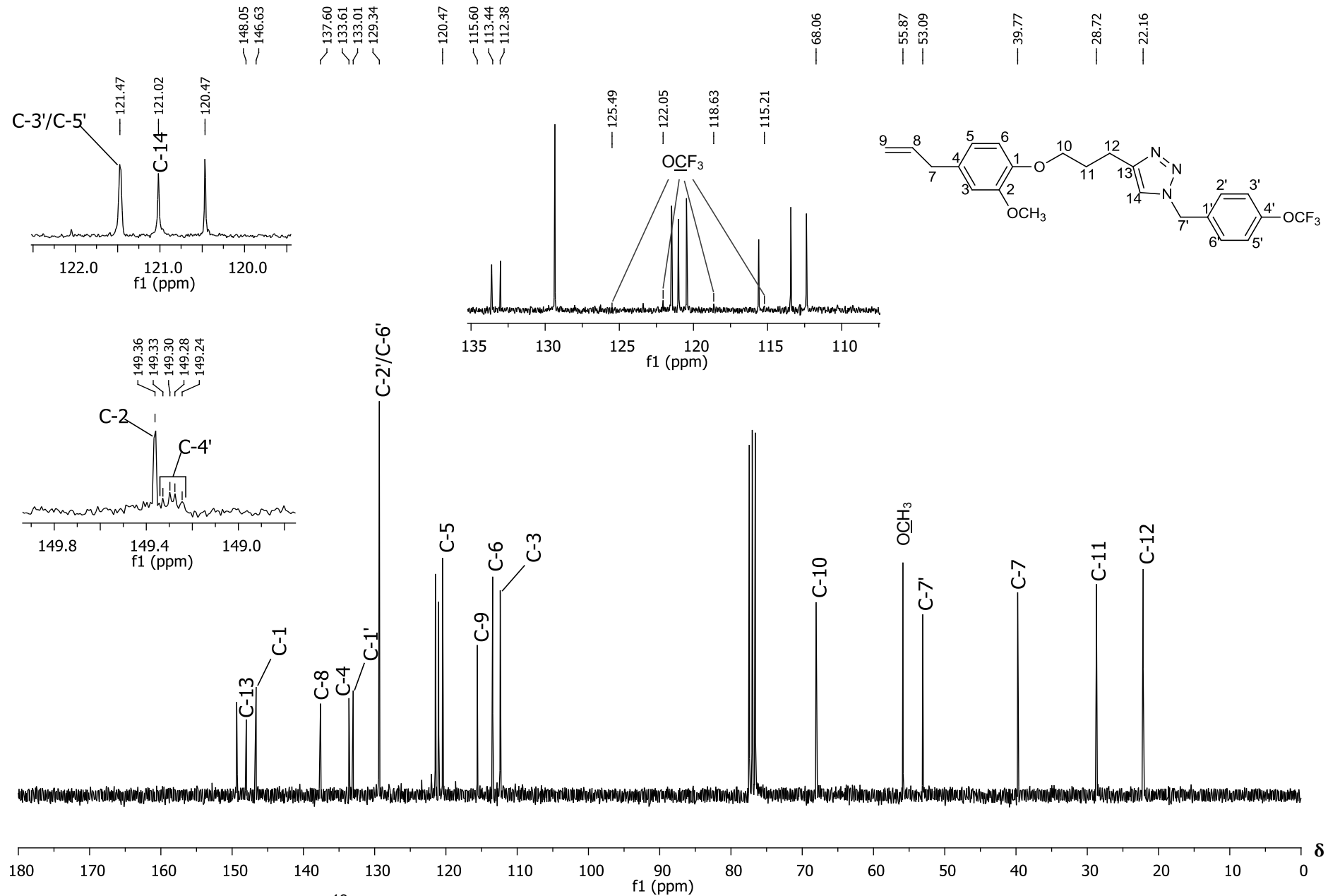


Figura 93 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **9h**.

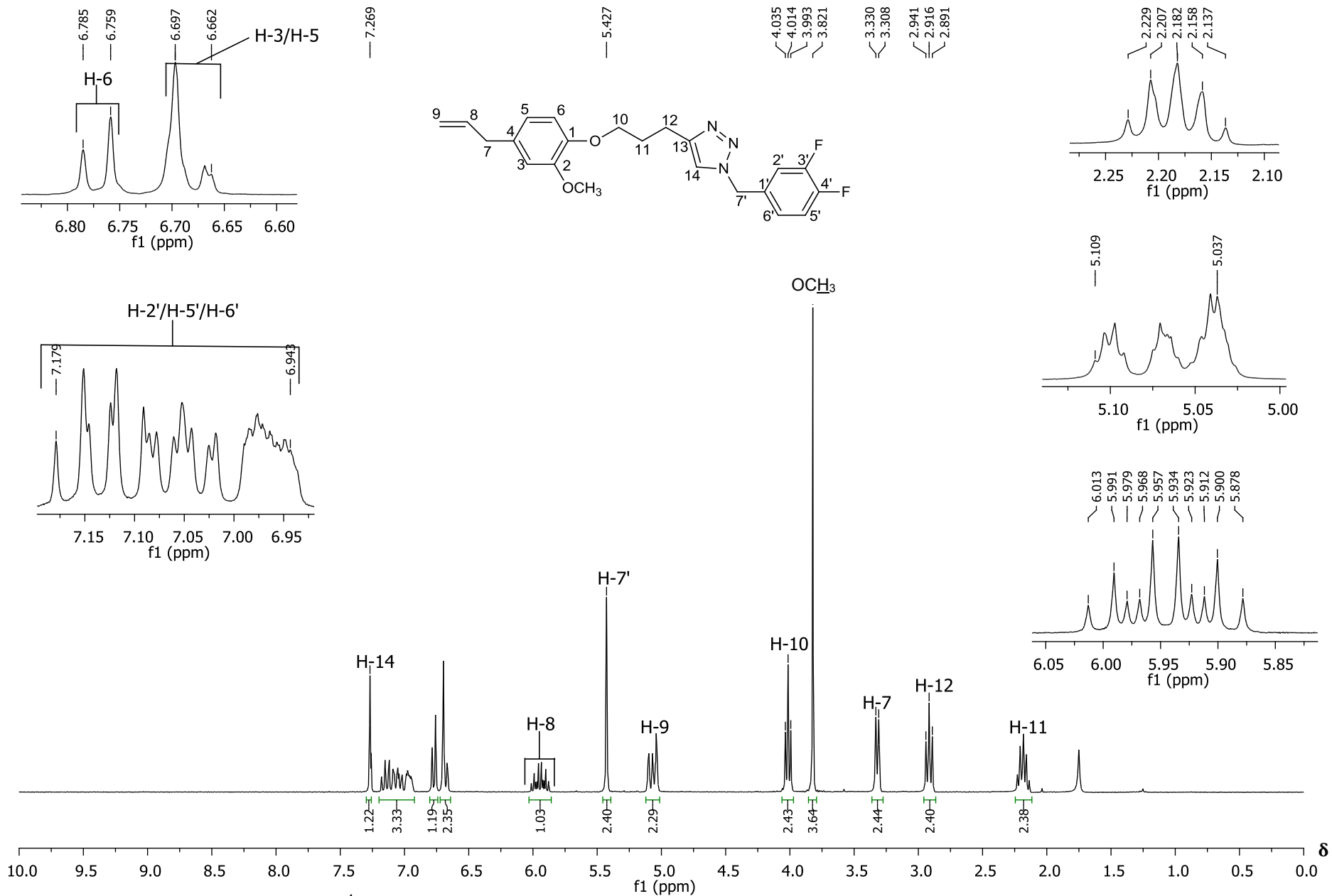


Figura 94 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9j**.

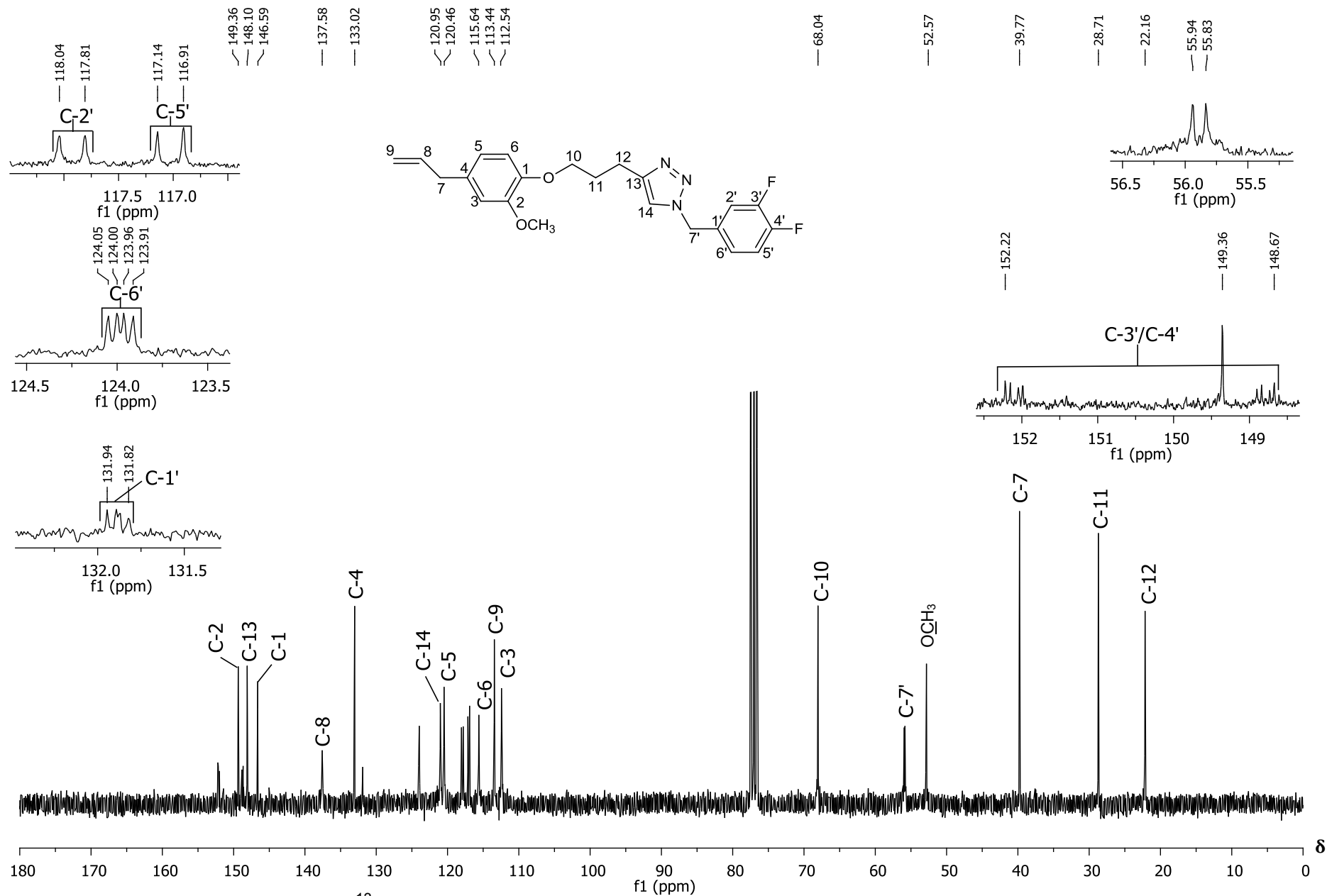


Figura 95 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9j**.

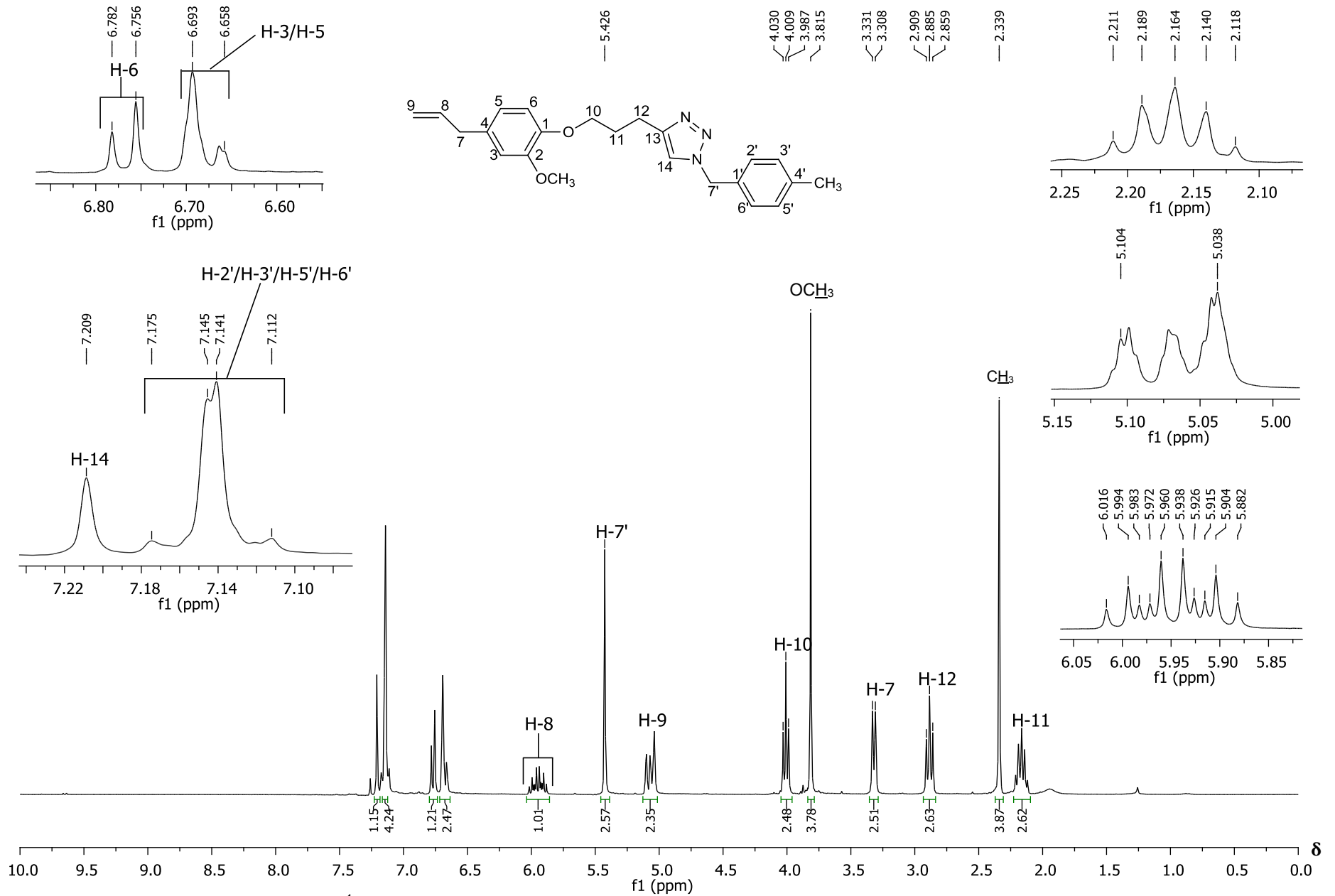


Figura 96 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **9I**.

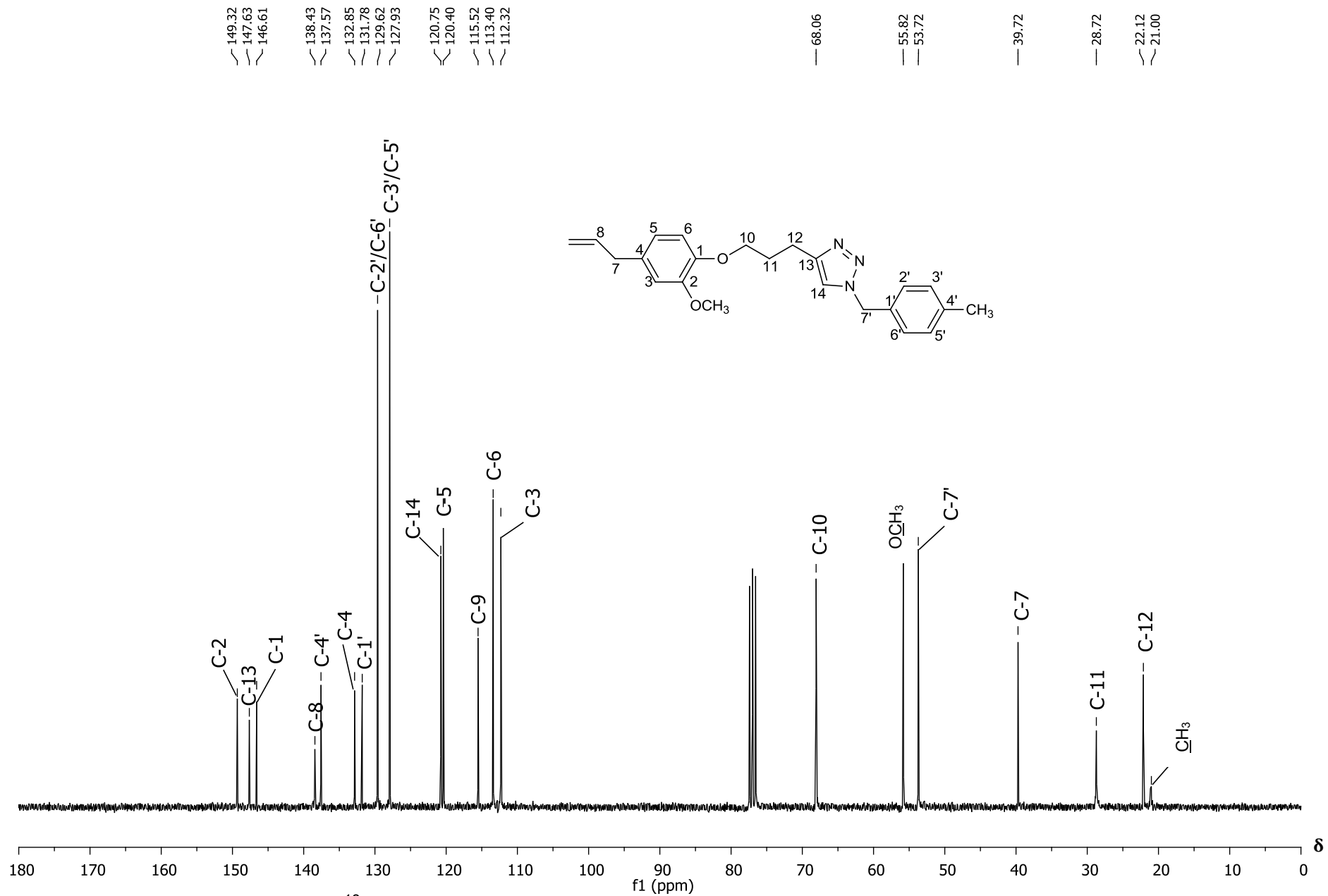


Figura 97 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **9I**.

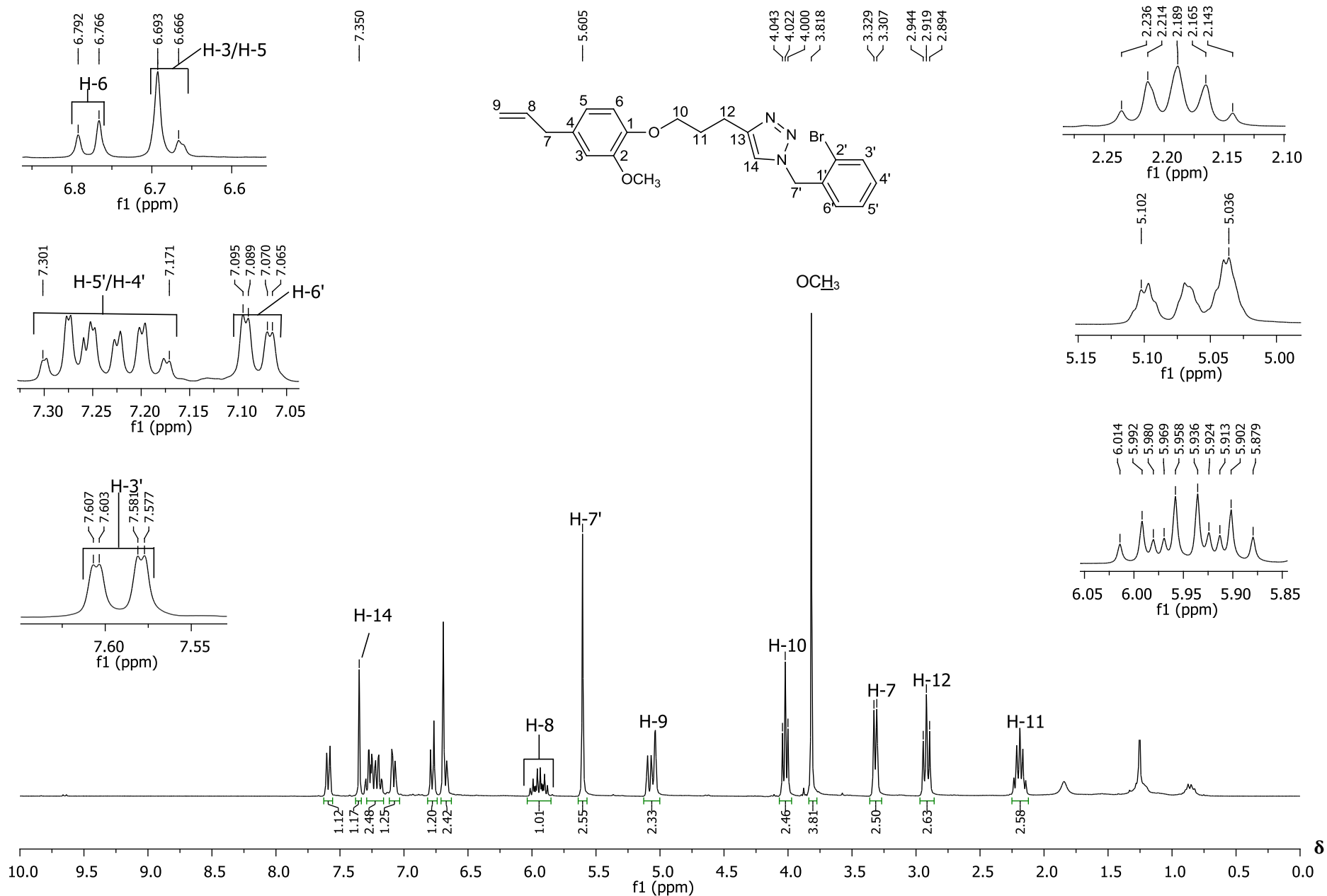


Figura 98 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **9m**.

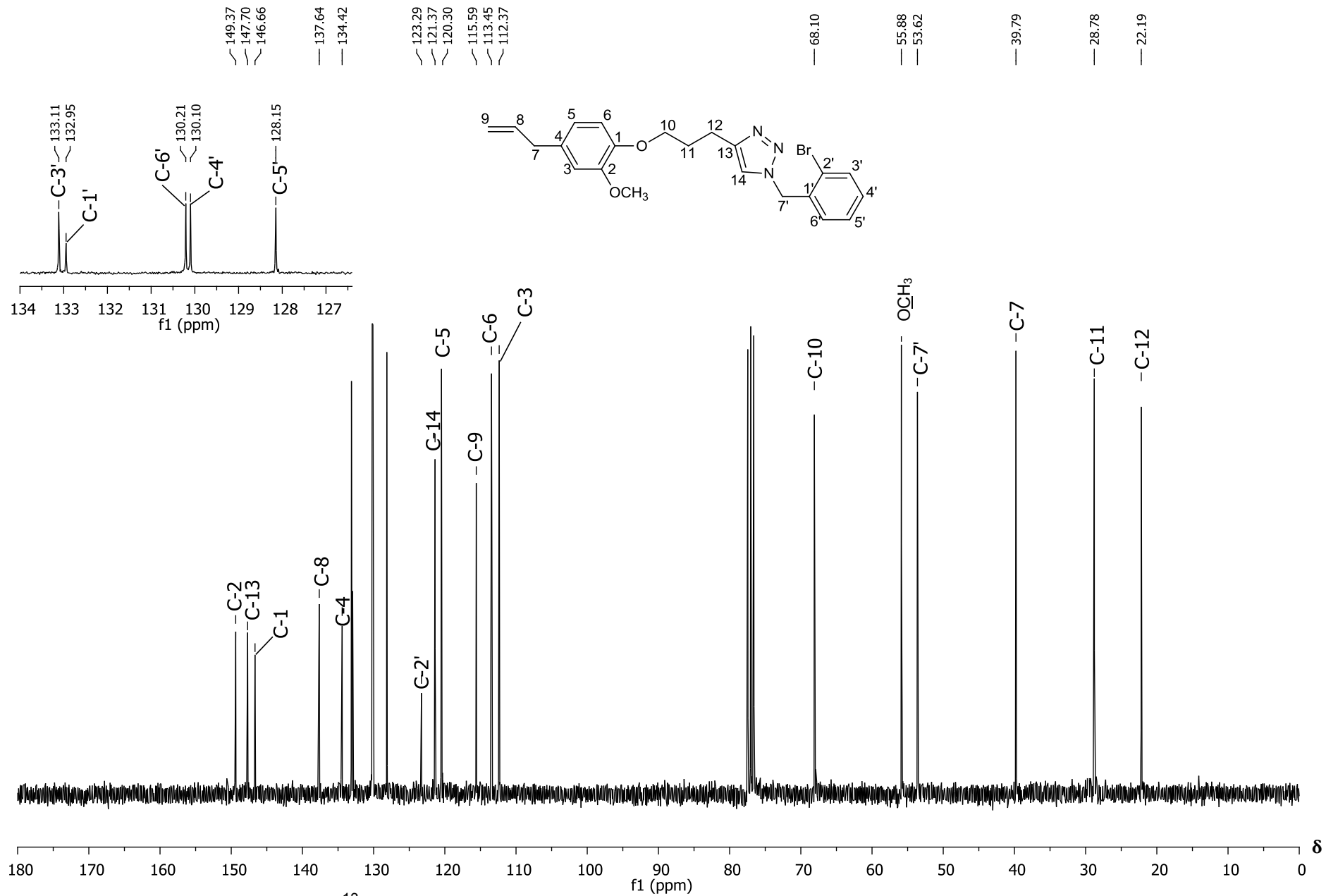


Figura 99 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **9m**.

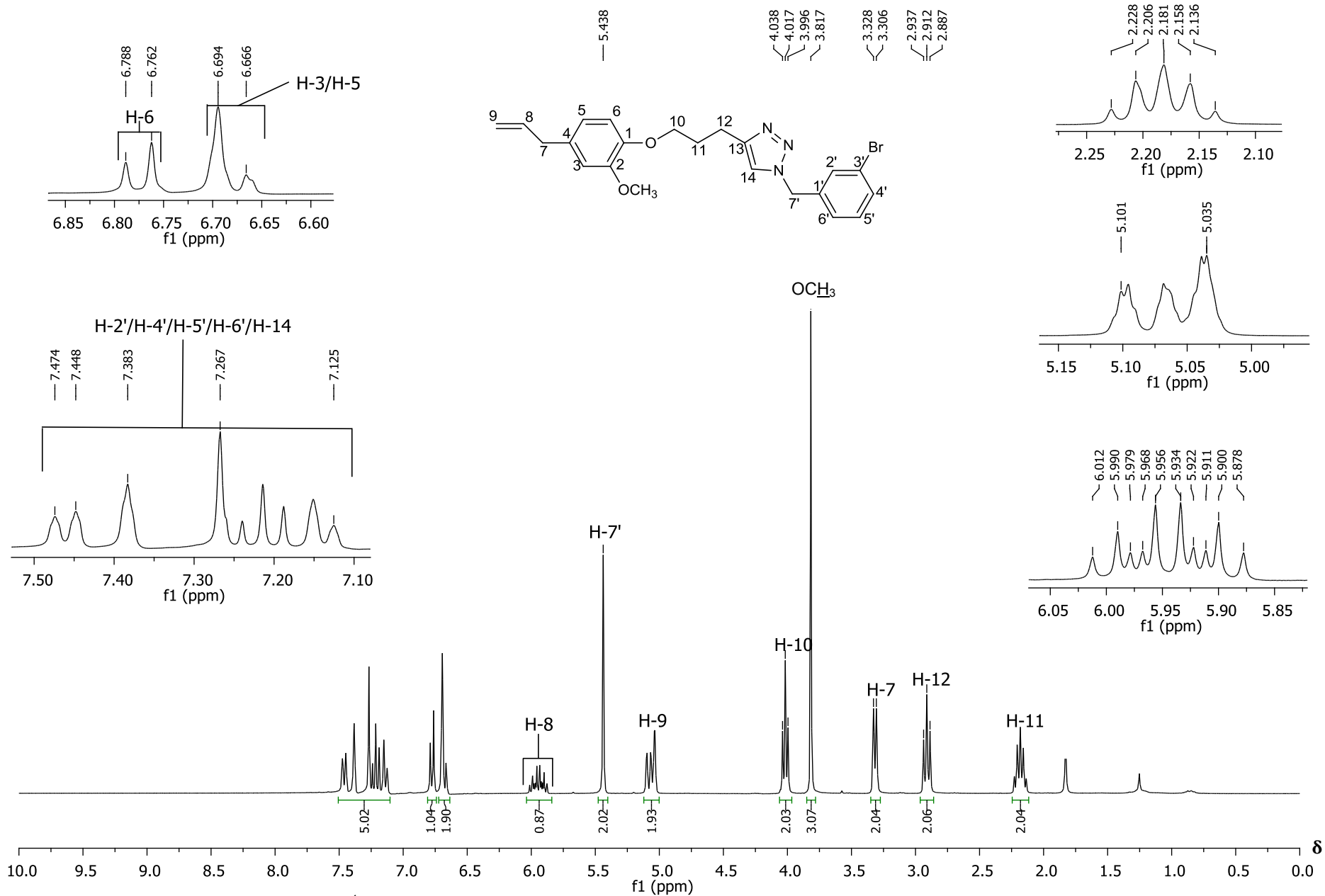


Figura 100 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **9n**.

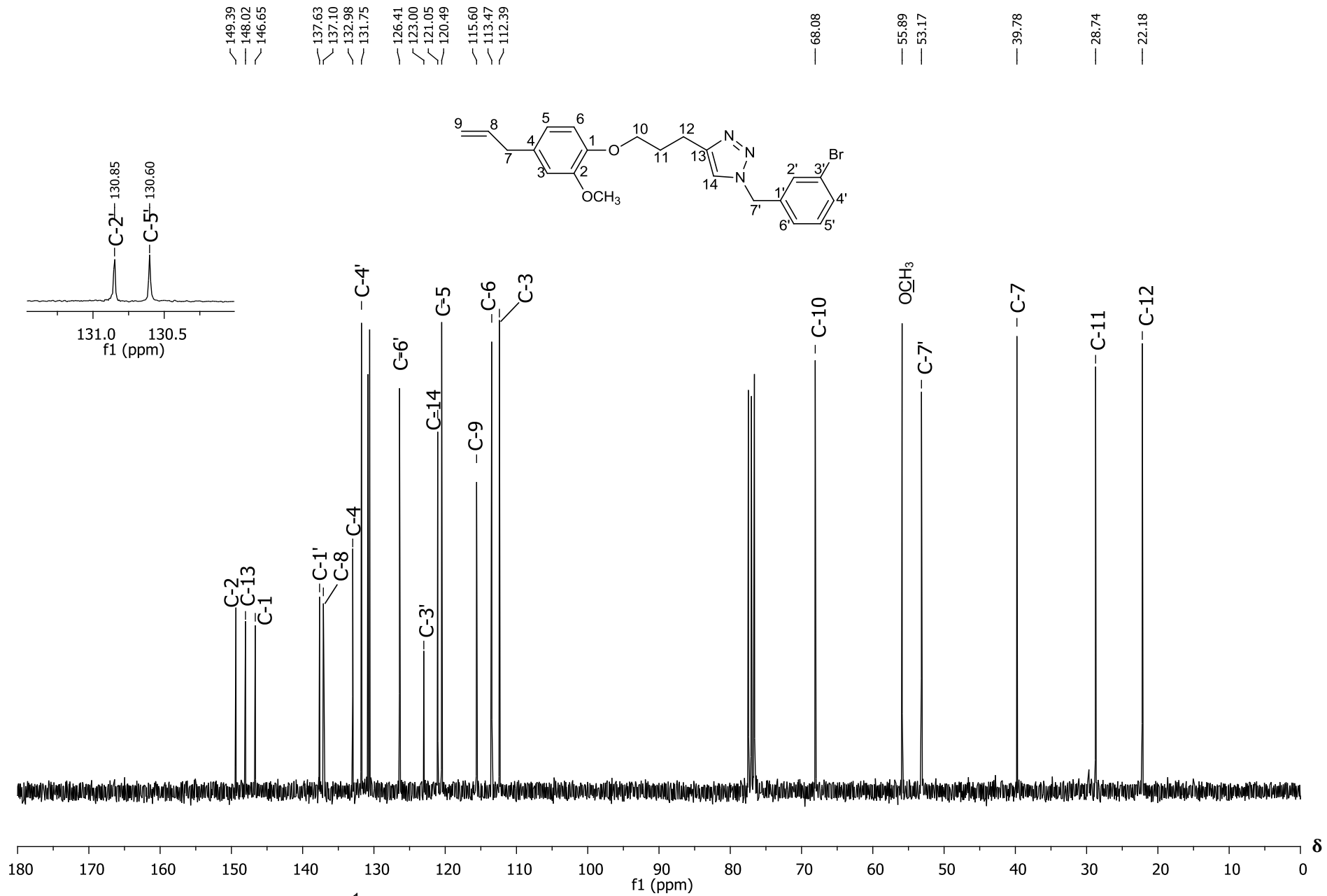


Figura 101 – Espectro de RMN de ¹³C (300 MHz, CDCl₃) do composto **9n**.