

GUILHERME MATEUS BOUSADA

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE DERIVADOS TRIAZÓLICOS DE BIOFENOL  
COMO CANDIDATOS A NOVOS FÁRMACOS E AGROQUÍMICOS**

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  
2019

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

T

B777p  
2019  
Bousada, Guilherme Mateus, 1994-  
Planejamento e síntese de derivados triazólicos de biofenol  
como candidatos a novos fármacos e agroquímicos / Guilherme  
Mateus Bousada. – Viçosa, MG, 2019.  
xxiii, 236 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Marcelo Henrique dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Tirosol. 2. 1,2,3-triazóis. 3. Química. 4. Drogas.  
5. Produtos químicos agrícolas. 6. Tirosol - Síntese.  
7. Acetilcolinesterase. 8. Alzheimer, Doença de. 9. Inseticidas.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.  
Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

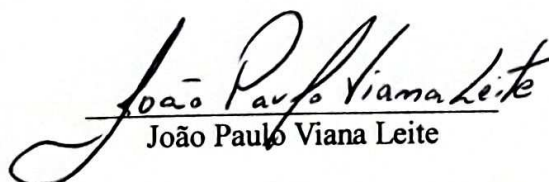
CDD 22. ed. 547.71

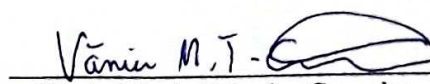
GUILHERME MATEUS BOUSADA


**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE DERIVADOS TRIAZÓLICOS DE BIOFENOL  
COMO CANDIDATOS A NOVOS FÁRMACOS E AGROQUÍMICOS**

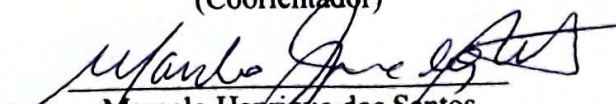
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de fevereiro de 2019.

  
João Paulo Viana Leite

  
Vânia Maria Teixeira Carneiro

  
Eduardo Vinícius Vieira Varejão  
(Coorientador)

  
Marcelo Henrique dos Santos  
(Orientador)

A Jesus, Verbo Encarnado, pelas mãos puríssimas de Maria.

*“Uma vez estava eu considerando por que razão era Nosso Senhor tão amigo desta virtude da humildade, e logo se me pôs diante – a meu parecer sem eu considerar nisso, mas de repente – isto: é porque Deus é a suma Verdade, e a humildade é andar na verdade. E é muito grande verdade não termos coisa boa de nós mesmos, senão a miséria e sermos nada; e, quem isto não entende, anda em mentira. Quem melhor o entende, mais agrada à suma Verdade, porque anda nela. Praza a Deus, irmãs, nos faça mercê de não sairmos nunca deste próprio conhecimento, amém.”*

*Santa Teresa d’Ávila*

*“A perseverança nas pequenas coisas, por amor, é heroísmo.”*

*São Josemaría Escrivá*

## AGRADECIMENTOS

*“Que poderei retribuir ao Senhor Deus, por tudo aquilo que Ele fez em meu favor?”*

(Sl 115,3).

Agradeço ao Bom Deus por todos os bens que tem me dado, desde minha concepção até o dia de hoje. D’Ele, por Ele e para Ele são todas as coisas. (Rm 11, 36).

Agradeço à Santíssima Virgem, minha Mãe. Dela me vêm todas as graças, a começar pela maior delas: seu próprio Filho.

Agradeço a São José, meu Anjo da Guarda e a Santa Teresinha, minha inspiração. A todo Céu, pela intercessão constante.

Agradeço aos meus pais pelo dom da vida e por terem me ajudado até aqui. Nada conquistei que não tenha sido também conquista deles.

Agradeço ao meu irmão, minha cunhada e todos os meus amigos (são tantos que Deus me deu a graça de conhecer) por tornarem a vida mais colorida e menos pesada.

Agradeço ao Padre Tiago, meu diretor espiritual, verdadeiro pai e amigo. Não tenho palavras suficientes para mostrar minha gratidão pela dedicação do senhor. Deus o recompense.

Agradeço ao meu orientador Marcelo por todos estes anos, desde a iniciação científica, que tem se dedicado à minha formação. Agradeço também ao professor Eduardo, cuja co-orientação foi essencial para a execução do trabalho, inclusive pela ideia inicial do projeto.

Agradeço a todos amigos do LASA que de tantas formas me ajudaram. Vocês foram realmente ótimos companheiros. Não poderia deixar de citar, no entanto, a Bianca, tamanho trabalho que teve para me ajudar nos testes biológicos, inclusive os que não aparecem aqui. Minha gratidão.

Agradeço ao meu braço direito que me ajudou nas reações, purificações e todo o resto: Gabi Furlani. Que o Bom Deus te abençoe e a Virgem Santíssima conduza seus caminhos

Agradeço a todos os colaboradores. De modo especial, no presente trabalho, agradeço à professora Marisa e ao técnico Gabriel, da Universidade de Alfenas, pela obtenção dos espectros de RMN. Agradeço ao professor João Paulo Leite, do laboratório de Bioprospecção da UFV, pela ajuda nos testes com a acetilcolinesterase e, especialmente, à Ana Paula Agrizzi que trabalhou muito para que tudo desse certo. Minha admiração e gratidão a você, Ana. Agradeço também ao professor Tiago, também do departamento de Bioquímica da UFV, pela ajuda com o *docking*, especialmente agradeço sua aluna Priscila, que fez as simulações: o Bom Deus faz Seus filhos se encontrarem de maneiras inesperadas, não é mesmo?

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Agroquímica, seus professores, e a todos que contribuíram para minha formação. Agradeço à CAPES, pela bolsa concedida e, sobretudo, à sociedade brasileira, que pagou por esta bolsa. Espero ter retribuído com um bom trabalho.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xviii
LISTA DE QUADROS	xix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xx
RESUMO	xxii
ABSTRACT	xxiii
PRÓLOGO	1
CAPÍTULO 1- REAÇÕES <i>CLICK</i> , FORMAÇÃO DE 1,2,3-TRIAZÓIS E BIOFENÓIS	3
1 REAÇÕES <i>CLICK</i> E OS 1,2,3-TRIAZÓIS	4
2 FITOQUÍMICOS E METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	10
2.2 O que são biofenóis?	11
2.2.1 Contextualização	11
2.2.2 Origem, classificação e fontes	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
CAPÍTULO 2- JUSTIFICATIVA E PROPOSTA DE TRABALHO	15
1 POR QUÊ O TIROSOL?	16
1.1 Bioatividade do Tirosol	18
1.1.1 Antitumoral	18
1.1.2 Cardioprotetor	18
1.1.3 Neuroprotetor	19
1.1.4 Longevidade	20
1.1.5 Antioxidante	20
1.1.6 Controle da endotoxemia	21
1.1.7 Anti-inflamatório	21
1.1.8 Tratamento diabetes tipo 2	22
1.1.9 Antimicrobiano	22
1.1.10 Prevenção de danos à pele	24
1.1.11 Fitotoxicidade	25
2 OBJETIVO	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

CAPÍTULO 3- RELAÇÃO ENTRE AGROQUÍMICOS E FÁRMACOS E PLANEJAMENTO RACIONAL DAS ESTRUTURAS	30
1 SEMELHANÇAS ENTRE AGROQUÍMICOS E FÁRMACOS	31
2 MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL E PLANEJAMENTO DAS ESTRUTURAS	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Critérios para a escolha dos substituintes	36
4.2 Parâmetros físico-químicos para determinação de padrão <i>drug-likeness</i> .	41
2.3 Parâmetros físico-químicos para determinação de padrão <i>agrochemical-likeness</i> .	44
5 CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPÍTULO 4- SÍNTESE DOS DERIVADOS DO TIROSOL	48
1 MATERIAIS E MÉTODOS	49
1.1 Generalidades metodológicas	50
1.1.1 Síntese do 4-(2-bromoetil)fenol (TYRBR)	51
1.1.2 Síntese de derivados aromáticos propargilados	51
1.1.3 Síntese dos triazóis	52
2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
2.1 TYRBR: 4-(2-bromoetil)fenol	55
2.2 Alk1: 1-metil-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	62
2.3 Alk2: 1-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	66
2.4 Alk3: 1-fluoro-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	70
2.5 Alk4: 1-cloro-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	74
2.6 Alk5: 1-bromo-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	78
2.7 Alk6: 1-iodo-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	82
2.8 Alk7: 1-nitro-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	86
2.9 Alk8: 2,4-dicloro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	90
2.10 Alk9: 2,4,5-tricloro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	94
2.11 Alk10: 4-cloro-2-metil-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	98
2.12 Alk11: 2-cloro-4-nitro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	102
2.13 Alk12: 2,4,6-tricloro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno	106
2.14 Alk13: 1-(prop-2-in-1-il)-5-(trifluorometil)-1,2-dihidropiridin-2-ona	109
2.15 Alk14: 4-metil-7-(prop-2-in-1-iloxi)-2H-cromen-2-ona	114

2.16 Alk15: 4-(prop-2-in-1-iloxi)fenol	118
2.17 GMB1: 4-(2-{4-[(4-metilfenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	122
2.18 GMB2: 4-(2-{4-[(4-metoxifenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	128
2.19 GMB3: 4-(2-{4-[(4-fluorofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	133
2.20 GMB4: 4-(2-{4-[(4-clorofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	138
2.21 GMB5: 4-(2-{4-[(4-bromofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	143
2.22 GMB6: 4-(2-{4-[(4-iodofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	147
2.23 GMB7: 4-(2-{4-[(4-nitrofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	153
2.24 GMB8: 4-(2-{4-[(2,4-diclorofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	158
2.25 GMB9: 4-(2-{4-[(2,4,5-triclorofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	163
2.26 GMB10: 4-(2-{4-[(4-chloro-2-metilfenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	168
2.27 GMB11: 4-(2-{4-[(2-cloro-4-nitrofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	174
2.28 GMB12: 4-(2-{4-[(2,4,6-triclorofenoxi)metil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol	179
2.29 GMB13: 1-({1-[2-(4-hidroxifenil)etil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il}etil)-5-(trifluorometil)-1,2-dihidropiridin-2-ona	185
2.30 GMB14: 7-({1-[2-(4-hidroxifenil)etil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il}metoxi)-4-metil-2 <i>H</i> -cromen-2-ona	191
2.31 GMB15: 4-{2-[4-(fenoximetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]etil}fenol	196
3 CONCLUSÕES	201
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	201
CAPÍTULO 5- INIBIÇÃO DE ACETILCOLINESTERASE	203
1 RELAÇÃO ENTRE A INIBIÇÃO DA ACHE E O PRESENTE ESTUDO	204
2 MATERIAIS E MÉTODOS	207
2.1 Ensaio de inibição enzimática	207
2.1 Cinética enzimática	208
2.2 <i>Docking</i> molecular	208
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	209
3.1 Ensaio de inibição enzimática	209
3.2 Cinética enzimática	215
3.3 <i>Docking</i> molecular	219
4 CONCLUSÕES	229
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	230
EPÍLOGO	232

APÊNDICE A- PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS CALCULADAS PARA O TIROSOL E SEUS ANÁLOGOS	234
APÊNDICE B- RENDIMENTOS DAS REAÇÕES DESTA DISSERTAÇÃO	235
APÊNDICE C- MOMENTO DE DIPOLO PARA OS COMPOSTOS DA SÉRIE GMB1- GMB15	236

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura geral dos 1,2,3-triazóis dissustituídos. ....	5
<b>Figura 2</b> - Mistura de regioisômeros obtidos a partir da cicloadição térmica de Huisgen. ....	5
<b>Figura 3</b> - Esquema geral de cicloadição [3+2]. ....	6
<b>Figura 4</b> - Orbitais moleculares de fronteira para o propino. ....	7
<b>Figura 5</b> - Orbitais moleculares de fronteira para o azidometano. ....	7
<b>Figura 6</b> - Regioquímica da reação entre o azidometano e o propino, utilizando os orbitais moleculares de fronteira. ....	8
<b>Figura 7</b> - Proposta mecanística para a reação CuAAC. ....	9
<b>Figura 8</b> - Exemplos de biofenóis. ....	12
<b>Figura 9</b> - Estrutura química do Tirosol. ....	16
<b>Figura 10</b> - Glicosídeos e ésteres do Tirosol presentes em azeitonas e azeite. ....	17
<b>Figura 11</b> - Betaxolol, metoprolol, hidroxitirosol e salidroside. ....	17
<b>Figura 12</b> - Derivado do Tirosol com ácido gálico. ....	18
<b>Figura 13</b> - Derivado carbonato do Tirosol. ....	18
<b>Figura 14</b> - Estrutura geral dos derivados triazólicos do Tirosol. ....	26
<b>Figura 15</b> - Exemplos de similaridades entre as estruturas químicas de agroquímicos e fármacos. ....	32
<b>Figura 16</b> - Hibridação molecular na síntese do Benorilato. ....	34
<b>Figura 17</b> - Derivados triazólicos do Tirosol propostos. ....	36
<b>Figura 18</b> - Difenconazol, triadimefon e triadimenol. ....	37
<b>Figura 19</b> - Procloraz. ....	37
<b>Figura 20</b> - 4-Metilumbeliferona. ....	38
<b>Figura 21</b> - Paration. ....	38
<b>Figura 22</b> - Ácido 2,4-diclorofenoxiacético, bifenoax, triclosan e bitionol. ....	39
<b>Figura 23</b> - Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético e haloprogin. ....	39
<b>Figura 24</b> - MCPA. ....	40
<b>Figura 25</b> - Fluazifop e piridalil. ....	40
<b>Figura 26</b> - Niclosamida. ....	40
<b>Figura 27</b> - Gráficos dispondo as propriedades dos critérios de Lipinski para os compostos sintetizados, em comparação com o Tirosol. A massa molar está em $\text{g mol}^{-1}$ . ....	42

<b>Figura 28</b> - Gráficos dispendo as propriedades dos critérios de Ghose, Viswanadhan e Wendoloski (1999) para compostos sintetizados, em comparação com o Tirosol. A refratividade molar está em $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ .....	43
<b>Figura 29</b> - Gráficos dispendo as propriedades dos critérios de Veber et al. (2002) para compostos sintetizados, em comparação com o Tirosol. A área superficial polarizada topológica está em $\text{Å}^2$ .....	44
<b>Figura 30</b> - Gráficos dispendo as propriedades dos critérios de Hao, Dong e Yang (2011) para compostos sintetizados, em comparação com o Tirosol.....	46
<b>Figura 31</b> - Esquema geral para obtenção dos derivados triazólicos do Tirosol.....	49
<b>Figura 32</b> - Estrutura química TYRBR.....	55
<b>Figura 33</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto TYRBR.....	57
<b>Figura 34</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto TYRBR.....	58
<b>Figura 35</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do TYRBR.....	59
<b>Figura 36</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( 300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) para o composto TYRBR.....	60
<b>Figura 37</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto TYRBR.....	61
<b>Figura 38</b> - Estrutura química Alk1.....	62
<b>Figura 39</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk1.....	63
<b>Figura 40</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk1.....	64
<b>Figura 41</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk1.....	65
<b>Figura 42</b> - Estrutura química Alk2.....	66
<b>Figura 43</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk2.....	67
<b>Figura 44</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk2.....	68
<b>Figura 45</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk2.....	69
<b>Figura 46</b> - Estrutura química Alk3.....	70
<b>Figura 47</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk3.....	71
<b>Figura 48</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk3.....	72
<b>Figura 49</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk3.....	73
<b>Figura 50</b> - Estrutura química Alk4.....	74

<b>Figura 51</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk4. ....	75
<b>Figura 52</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk4. ....	76
<b>Figura 53</b> - Propostas de fragmentação referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk4. ....	77
<b>Figura 54</b> - Estrutura química Alk5. ....	78
<b>Figura 55</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk5. ....	79
<b>Figura 56</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk5. ....	80
<b>Figura 57</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk5. ....	81
<b>Figura 58</b> - Estrutura química Alk6. ....	82
<b>Figura 59</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk6. ....	83
<b>Figura 60</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk6. ....	84
<b>Figura 61</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk6. ....	85
<b>Figura 62</b> - Estrutura química Alk7. ....	86
<b>Figura 63</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk7. ....	87
<b>Figura 64</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk7. ....	88
<b>Figura 65</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk7. ....	89
<b>Figura 66</b> - Estrutura química Alk8. ....	90
<b>Figura 67</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk8. ....	91
<b>Figura 68</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk8. ....	92
<b>Figura 69</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk8. ....	93
<b>Figura 70</b> - Estrutura química Alk9. ....	94
<b>Figura 71</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk9. ....	95
<b>Figura 72</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk9. ....	96
<b>Figura 73</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk9. ....	97
<b>Figura 74</b> - Estrutura química Alk10. ....	98
<b>Figura 75</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk10. ....	99
<b>Figura 76</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk10. ....	100

<b>Figura 77</b> - Propostas de fragmentação referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk10. ....	101
<b>Figura 78</b> - Estrutura química Alk11. ....	102
<b>Figura 79</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk11. ....	103
<b>Figura 80</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk11. ....	104
<b>Figura 81</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk11. ....	105
<b>Figura 82</b> - Estrutura química Alk12. ....	106
<b>Figura 83</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk12. ....	107
<b>Figura 84</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk12. ....	108
<b>Figura 85</b> - Estrutura química Alk13. ....	109
<b>Figura 86</b> - Esquema da reação para a obtenção da Alk13. ....	110
<b>Figura 87</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk13. ....	111
<b>Figura 88</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk13. ....	112
<b>Figura 89</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk13. ....	113
<b>Figura 90</b> - Estrutura química Alk14. ....	114
<b>Figura 91</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk14. ....	115
<b>Figura 92</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk14. ....	116
<b>Figura 93</b> - Propostas de fragmentação referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk14. ....	117
<b>Figura 94</b> - Estrutura química Alk15. ....	118
<b>Figura 95</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk15. ....	119
<b>Figura 96</b> - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk15. ....	120
<b>Figura 97</b> - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk15. ....	121
<b>Figura 98</b> - Estrutura química GMB1. ....	122
<b>Figura 99</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB1. ....	125
<b>Figura 100</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB1. ....	126
<b>Figura 101</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB1. ....	127
<b>Figura 102</b> - Estrutura química GMB2. ....	128
<b>Figura 103</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB2. ....	130

<b>Figura 104</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB2.....	131
<b>Figura 105</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB2.....	132
<b>Figura 106</b> - Estrutura química GMB3.....	133
<b>Figura 107</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB3.....	135
<b>Figura 108</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB3.....	136
<b>Figura 109</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB3.....	137
<b>Figura 110</b> - Estrutura química GMB4.....	138
<b>Figura 111</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB4.....	140
<b>Figura 112</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB4.....	141
<b>Figura 113</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB4.....	142
<b>Figura 114</b> - Estrutura química GMB5.....	143
<b>Figura 115</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB5.....	144
<b>Figura 116</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB5.....	145
<b>Figura 117</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB5.....	146
<b>Figura 118</b> - Estrutura química GMB6.....	147
<b>Figura 119</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB6.....	149
<b>Figura 120</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB6.....	150
<b>Figura 121</b> - Cromatograma dos compostos GMB3-GMB6.....	151
<b>Figura 122</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB6.....	152
<b>Figura 123</b> - Estrutura química GMB7.....	153
<b>Figura 124</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB7.....	155
<b>Figura 125</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB7.....	156
<b>Figura 126</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB7.....	157
<b>Figura 127</b> - Estrutura química GMB8.....	158
<b>Figura 128</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB8.....	160
<b>Figura 129</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB8.....	161

<b>Figura 130</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB8.....	162
<b>Figura 131</b> - Estrutura química GMB9.....	163
<b>Figura 132</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB9.....	165
<b>Figura 133</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB9.....	166
<b>Figura 134</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB9.....	167
<b>Figura 135</b> - Estrutura química GMB10.....	168
<b>Figura 136</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB10.....	170
<b>Figura 137</b> - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB10.....	171
<b>Figura 138</b> - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB10.....	172
<b>Figura 139</b> - Estruturas de deslocalização de elétrons para verificar efeito de blindagem sobre os carbonos C19 e C21. ....	173
<b>Figura 140</b> - Estrutura química GMB11. ....	174
<b>Figura 141</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB11. ....	176
<b>Figura 142</b> - Espectro de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB11.....	177
<b>Figura 143</b> - Espectro de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB11. ....	178
<b>Figura 144</b> - Estrutura química GMB12.....	179
<b>Figura 145</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB12.....	181
<b>Figura 146</b> - Espectro de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB12. ....	182
<b>Figura 147</b> - Variação de Energia x Ângulo diedro para os compostos GMB8, GMB9 e GMB12 utilizando o <i>software</i> Millsian <sup>©</sup> 2.1. ....	183
<b>Figura 148</b> - Espectro de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB12. ....	184
<b>Figura 149</b> - Estrutura química GMB13.....	185
<b>Figura 150</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB13.....	187
<b>Figura 151</b> - Espectro de $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB13. ....	188
<b>Figura 152</b> - Espectro de $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por $^1\text{H}$ para o composto GMB13. ....	189
<b>Figura 153</b> - Espectro HSQC para o composto GMB13. ....	190
<b>Figura 154</b> - Estrutura química GMB14.....	191

<b>Figura 155</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB14.....	193
<b>Figura 156</b> - Espectro de <sup>1</sup> H (300 MHz, CO(CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ) para o composto GMB14. ....	194
<b>Figura 157</b> - Espectro de <sup>13</sup> C (75 MHz, CO(CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ) desacoplado por <sup>1</sup> H para o composto GMB14. ....	195
<b>Figura 158</b> - Estrutura química GMB15.....	196
<b>Figura 159</b> - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB15.....	198
<b>Figura 160</b> - Espectro de <sup>1</sup> H (300 MHz, CO(CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ) para o composto GMB15. ....	199
<b>Figura 161</b> - Espectro de <sup>13</sup> C (75 MHz, CO(CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ) desacoplado por <sup>1</sup> H para o composto GMB15. ....	200
<b>Figura 162</b> - Ação do inibidor de Acetilcolinesterase. ....	204
<b>Figura 163</b> - Donepezil, rivastigmina e galantamina.....	205
<b>Figura 164</b> - Inseticidas inibidores da AChE.....	205
<b>Figura 165</b> - Relação entre a inibição da AChE (%) e o volume de Van der Waals (Å <sup>3</sup> ) das moléculas.....	211
<b>Figura 166</b> - Relação entre a inibição da AChE (%) e o volume de Van der Waals (Å <sup>3</sup> ) das moléculas, excluindo a GMB12. ....	211
<b>Figura 168</b> - Relação entre a inibição da AChE (%) e o momento de dipolo (D) das moléculas, excluindo GMB7 e GMB13. ....	212
<b>Figura 167</b> - Relação entre a inibição da AChE (%) e o momento de dipolo (D) das moléculas. ....	212
<b>Figura 169</b> - Estrutura da 7g (TORRES et al. 2016), comparada à GMB14.....	213
<b>Figura 170</b> - Superposição da 7g, sintetizada por Torres et al. (2016), e da GMB14. ....	213
<b>Figura 171</b> - Tipos de inibições enzimáticas reversíveis. ....	215
<b>Figura 172</b> - Gráficos absorbância x tempo para diferentes concentrações de substrato e inibidor.....	216
<b>Figura 173</b> - Cinética de inibição da AChE com GMB14 em diferentes concentrações. ....	217
<b>Figura 174</b> - Cinética de inibição da AChE com GMB14 (linearização).....	218
<b>Figura 175</b> - Cinética de inibição da AChE com GMB14 (linearização), excluindo alguns pontos.....	219
<b>Figura 176</b> - Sítio ativo da acetilcolinesterase da espécie <i>Torpedo californica</i> (1EVE). ....	222
<b>Figura 177</b> - Acetilcolina. Em verde: grupo acetil. Em azul: grupo amônio.....	223
<b>Figura 178</b> - Ligantes sobrepostos (em azul) ancorados na acetilcolinesterase da espécie <i>Torpedo californica</i> (6G1U). ....	223

<b>Figura 179</b> - Derivado GMB14 ancorados à acetilcolinesterase de <i>Torpedo californica</i> (6G1U). .....	224
<b>Figura 180</b> - Mapa farmacofórico das interações ligante-receptor para a Galantamina, Tirosol, GMB11 e GMB14. ....	225
<b>Figura 181</b> - Mapa farmacofórico do derivado GMB9. ....	226
<b>Figura 182</b> - Aminoácidos aromáticos.....	226

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Condições reacionais e de purificação para a síntese dos triazóis. ....	53
<b>Tabela 2</b> - Inibição do Tirosol e derivados. ....	210
<b>Tabela 3</b> - Comparação dos resultados de inibição da GMB14 e seus precursores sintéticos. ....	214
<b>Tabela 4</b> - Cinética enzimática para diferentes concentrações de substrato e inibidor (GMB14). ....	216
<b>Tabela 5</b> - Constantes cinéticas para a AChE na presença do inibidor GMB14. ....	219
<b>Tabela 6</b> - Afinidade de interação dos ligantes para as poses de menor energia. ....	221
<b>Tabela 7</b> - Inibição da Acetilcolinesterase x Afinidade. ....	221
<b>Tabela 8</b> - Propriedades físico-químicas calculadas para Tirosol e análogos. ....	234
<b>Tabela 9</b> - Rendimentos das reações desta dissertação. ....	235
<b>Tabela 10</b> - Momentos de dipolo (D) calculados pelo software Millsian <sup>®</sup> 2.1 para a série GMB1-GMB15. ....	236

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Exemplos de agroquímicos que tiveram atividade reportada contra doenças humanas ou organismo causador. ....	33
<b>Quadro 2</b> - Tipos de híbridos moleculares e suas características. ....	34
<b>Quadro 3</b> - Interações dos ligantes com os aminoácidos do sítio ativo da AChE (Torpedo californica). A presença de interação é assinalada com um x. ....	228
<b>Quadro 4</b> - Regiões das moléculas responsáveis pelas interações com os aminoácidos da AChE.* .....	228

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AChE	Acetilcolinesterase
AcOEt	AcOEt
ATR-FTIR	Attenuated total reflectance-Fourier transform infrared
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia gasosa
CuAAC	<i>Copper Azide-Alkyne Cycloaddition</i>
d, dd, dd <sub>ap</sub>	Dupleto, duplo dupleto, duplo dupleto aparente
DCM	Diclorometano
DMAC	Dimetilacetamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EI	<i>Electron impact</i> (impacto de elétrons)
EM	Espectrometria de massas
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i>
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>
IC <sub>50</sub>	Concentração responsável por 50% de inibição
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>
m	Multiplete
R <sub>f</sub>	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s, s <sub>ap</sub>	Simpleto, simpleto aparente

t

Tripleto

©

*Copyright*

®

Marca registrada

TM

*Trade Mark*

## RESUMO

BOUSADA, Guilherme Mateus, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Planejamento e síntese de derivados triazólicos de biofenol como candidatos a novos fármacos e agroquímicos.** Orientador: Marcelo Henrique dos Santos. Coorientador: Eduardo Vinícius Vieira Varejão.

O presente trabalho propôs uma rota sintética simples para análogos triazólicos do Tirosol, biofenol encontrado no azeite de oliva e cujo amplo espectro de bioatividades tem sido alvo de muitos estudos. Os 1,2,3-triazóis, formados a partir da cicloadição 1,3-dipolar, têm sido amplamente utilizados nas últimas décadas, seja como grupo farmacofórico, seja como espaçador, podendo ser sintetizados a partir da química *click*. A modificação estrutural de compostos cuja atividade biológica já seja conhecida é uma estratégia importante na busca de novas moléculas sintéticas que sejam bioativas. Antes de iniciar a síntese dos análogos procedeu-se o planejamento racional das estruturas através do conceito de hibridação molecular e do cálculo dos parâmetros de *drug-likeness* e *agrochemical-likeness*. Foram obtidos 15 derivados inéditos do Tirosol, devidamente caracterizados pelas técnicas de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os compostos da série foram posteriormente avaliados como inibidores da enzima acetilcolinesterase (*Electrophorus electricus*). O estudo da inibição da acetilcolinesterase é importante para o desenvolvimento de novos fármacos capazes de controlar o Alzheimer, assim como para o desenvolvimento de novos inseticidas. Das moléculas avaliadas, os melhores derivados apresentaram inibições iguais a 24,8; 55,1; 32,1; 30,5 e 67,8%, sendo a maior inibição para o composto 7-({1-[2-(4-hidroxifenil)etil]-1H-1,2,3-triazol-4-il}metoxi)-4-metil-2H-cromen-2-ona (GMB14). Todas as estruturas foram posteriormente submetidas a *docking* molecular contra a acetilcolinesterase (*Torpedo californica*). Todos os ligantes interagiram com o sítio da enzima, corroborando para o estudo cinético com composto GMB14, que sugeriu inibição competitiva. O derivado GMB14, composto de maior atividade tanto experimentalmente quanto na simulação, interagiu com 47% dos aminoácidos do sítio ativo, alguns deles de regiões importantes para o combate do desenvolvimento da doença de Alzheimer. Os resultados apontam que os compostos desenvolvidos no presente trabalho podem ser usados como protótipos para desenvolvimento de novos inibidores da acetilcolinesterase.

## ABSTRACT

BOUSADA, Guilherme Mateus, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Design and synthesis of triazolic derivatives of biophenol as candidates for new drugs and agrochemicals.** Advisor: Marcelo Henrique dos Santos. Co-advisor: Eduardo Vinícius Vieira Varejão.

The present work proposed a simple synthetic route for triazolic analogues of Tyrosol, a biophenol found in olive oil and whose wide range of bioactivities has been the target of many studies. 1,2,3-triazoles, formed from 1,3-dipolar cycloaddition, have been widely used in the last decades, either as a pharmacophoric group or as a spacer, and can be synthesized from click chemistry. Structural modification (simplification or insertion of new groups) of compounds whose biological activity is already known is an important strategy in the search for new bioactive synthetic molecules. Before starting the synthesis of the analogues, the rational planning of the structures was carried out through the concept of molecular hybridization and the calculation of the parameters of drug-likeness and agrochemical-likeness. We obtained 15 novel Tyrosol derivatives, duly characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR techniques. The compounds of the series were later evaluated as inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase (*Electrophorus electricus*). The study of inhibition of acetylcholinesterase is important for the development of new drugs capable of controlling Alzheimer's disease, as well as for the development of new insecticides. Of the molecules evaluated, the best derivatives showed inhibitions equal to 24.8, 55.1, 32.1, 30.5 and 67.8%, with the highest inhibition for 7-({1-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl}methoxy)-4-methyl-2*H*-chromen-2-one (GMB14). All structures were subsequently subjected to molecular docking against acetylcholinesterase (*Torpedo californica*). All ligands interacted with the enzyme site, corroborating for the kinetic study with compound GMB14, which suggested competitive inhibition. The GMB14 derivative, which has the highest activity both experimentally and in the simulation, interacted with 47% of the active site amino acids, some of them important in the fight against the development of Alzheimer's disease. The results indicate that the compounds developed in the present work can be used as prototypes for the development of new acetylcholinesterase inhibitors.

## PRÓLOGO

A possibilidade de criar fármacos e agroquímicos de sucesso é um grande atrativo para os cientistas. Lamentavelmente, apenas no final da síntese costumam aparecer as preocupações com o modo pelo qual o processo será implementado comercialmente. Uma rota de síntese complexa, por exemplo, não só encarece o produto final, mas gera outras externalidades negativas, como a menor velocidade/aplicabilidade da descoberta.<sup>1</sup>

Se a natureza for tomada como modelo de criação de novas moléculas, pode-se verificar que nela há uma diversidade surpreendente de estruturas feitas a partir de um conjunto contendo menos que 40 monômeros. Esses blocos de construção contêm no máximo seis ligações C-C contínuas, com exceção dos três aminoácidos aromáticos.<sup>2</sup>

Considerando esses fatores, percebe-se a grande vantagem dos processos simples de síntese, tanto na química medicinal como na agroquímica. Efetivamente, as chances de se conseguir resultados promissores a partir de sínteses complexas são tão boas quanto a partir de sínteses simples, com a desvantagem que as do primeiro tipo atrasam o processo de descoberta. A partir de uma estratégia minimalista, na síntese de compostos bioativos, a formação de ligações C-C complexas deveria ser deixada sobretudo a cargo da natureza. O foco do químico medicinal ou do agroquímico deveria ser na formação de ligações carbono-heteroátomo, uma vez que é a partir delas que as informações são codificadas na natureza.<sup>3</sup>

Tendo em vista essas considerações, o presente trabalho propôs uma rota sintética simples de análogos triazólicos do Tirosol, biofenol encontrado no azeite de oliva e cujo amplo espectro de bioatividades tem sido alvo de muitos estudos. Até o presente momento, houve poucas iniciativas de modificação estrutural do Tirosol com fins de testar as propriedades das novas moléculas.

Para melhor compreensão sobre os caminhos que levaram à elaboração deste trabalho, faz-se necessário entender as chamadas reações *click* e o papel dos 1,2,3-triazóis na síntese de fármacos e agroquímicos, assim como o papel dos fitoquímicos/ metabólitos secundários, dentre os quais destacam-se os biofenóis, como importantes moléculas-modelo para síntese de compostos bioativos (capítulo 1). Posteriormente foram analisadas as semelhanças entre

---

<sup>1</sup> Kolb, Finn e Sharpless (2001). Apesar dos autores não mencionarem os agroquímicos, estes também merecem as observações empregadas, uma vez que estão tão relacionados, como demonstrado no capítulo 3.

<sup>2</sup> Kolb, Finn e Sharpless (2001).

<sup>3</sup> Kolb, Finn e Sharpless (2001).

agroquímicos e fármacos (capítulo 2), a maneira pela qual os análogos foram planejados, usando conceitos de hibridação molecular, *drug-likeness* e *agrochemical-likeness* (capítulo 3), a metodologia sintética e os dados espectroscópicos e espectrométricos (capítulo 4) e, por fim, o ensaio de inibição da enzima acetilcolinesterase, relevante tanto para a química medicinal como para a agroquímica (capítulo 5).

## **CAPÍTULO 1- REAÇÕES *CLICK*, FORMAÇÃO DE 1,2,3-TRIAZÓIS E BIOFENÓIS**

## 1 REAÇÕES *CLICK* E OS 1,2,3-TRIAZÓIS

Kolb, Finn e Sharpless (2001) deram o nome de química *click* à abordagem sintética minimalista discutida no prólogo. Segundo os autores, as reações *click* empregadas no desenvolvimento de novas moléculas bioativas deveriam possuir idealmente as seguintes características:

- Ser insensíveis ao oxigênio e à presença de água;
- Usar nenhum solvente ou, se necessário, que ele seja benigno ou facilmente removido;
- Ter altos rendimentos e estereoespecificidade;
- Os subprodutos (se existentes) devem ser inofensivos;
- A purificação deve ocorrer por métodos não-cromatográficos, como a cristalização.

As cicloadições 1,3-dipolares entre azidas orgânicas e alquinos terminais na presença de catalisador são talvez o exemplo mais notável de reações *click* na atualidade. As azidas alifáticas orgânicas apresentam elevada ortogonalidade (seletividade) em relação a diferentes grupos funcionais, reagindo apenas quando na presença de bons dipolarófilos.<sup>4</sup> Apresentam ainda regioespecificidade, altos rendimentos e podem ser realizadas até mesmo em água.<sup>5</sup>

Os 1,2,3-triazóis, formados a partir da cicloadição 1,3-dipolar, têm sido amplamente utilizados nas últimas décadas, seja como grupo farmacofórico, seja como espaçador.<sup>6</sup> O grupo 1,2,3-triazólico consiste em um anel de 5 membros, contendo dois átomos de carbono e três átomos de nitrogênio consecutivos, possuindo alta estabilização devido à sua aromaticidade (Figura 1). Ademais, são resistentes à oxidação, redução, alterações de pH e hidrólise. Possuem ainda elevado momento de dipolo (~5 D), além de poderem atuar como aceptores de ligações de hidrogênio ou interagir a partir de seu dipolo ou elétrons  $\pi$ , aumentando a solubilidade do composto e facilitando interações com alvos biológicos.<sup>7</sup>

---

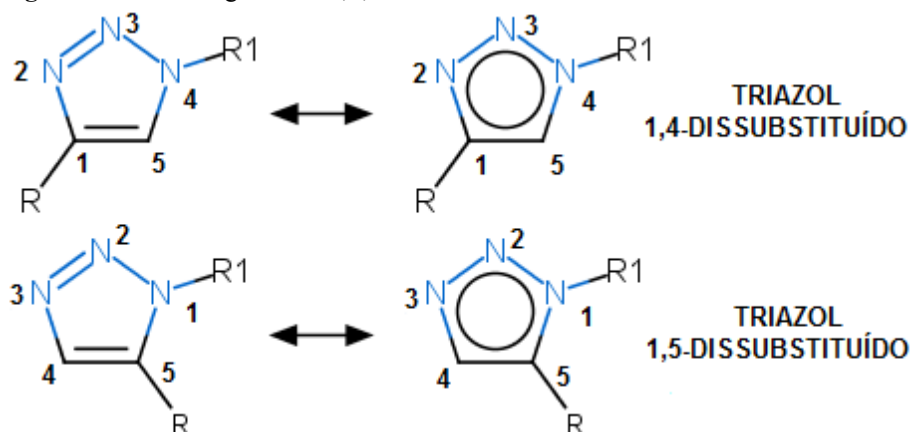
<sup>4</sup> Kolb, Finn e Sharpless (2001). Preocupações com a segurança no uso de azidas podem frear seu uso. Kolb, Finn e Sharpless (2001) afirmam, no entanto, que a “azidofobia” não tem razão de ser, desde que sejam empregadas as devidas precauções. O artigo original deve ser consultado para mais detalhes.

<sup>5</sup> Freitas et al. (2011).

<sup>6</sup> Huo et al. (2017).

<sup>7</sup> Dheer, Singh e Shankar (2017); Haider, Alam e Hamid (2014).

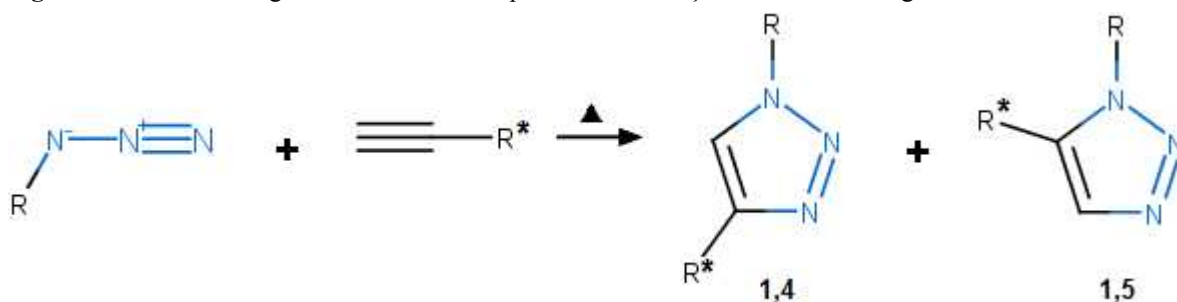
**Figura 1** - Estrutura geral dos 1,2,3-triazóis dissustituídos.



Compostos contendo anéis 1,2,3-triazólicos já foram identificados possuindo uma série de atividades, tais como anti-inflamatória, antituberculose, anticancerígena, antileishmania e antimicrobiana.<sup>8</sup>

A formação de 1,2,3-triazóis foi desenvolvida inicialmente por Huisgen em 1967. Os baixos rendimentos e a baixa regioselectividade (mistura de isômeros 1,4 e 1,5-dissustituídos), no entanto, faziam com que a reação atraísse pouco o interesse dos químicos.<sup>9</sup> Ademais, com essas características, a formação dos 1,2,3-triazóis não poderia ser enquadrada dentro da química *click*. A Figura 2 demonstra o esquema de como ocorria o processo.

**Figura 2** - Mistura de regioisômeros obtidos a partir da cicloadição térmica de Huisgen.



**Fonte:** Desenhado a partir do modelo de Freitas et al. (2011).

A reação de Huisgen é uma cicloadição [3+2].<sup>10</sup> Esta é uma classe de reações pericíclicas, nas quais há formação de um único estado de transição sem intermediários iônicos, como indicado pela Figura 3. Tratando-se de um processo concertado, a possibilidade das reações ocorrerem está restringida pela existência de simetria dos orbitais de fronteira (HOMO

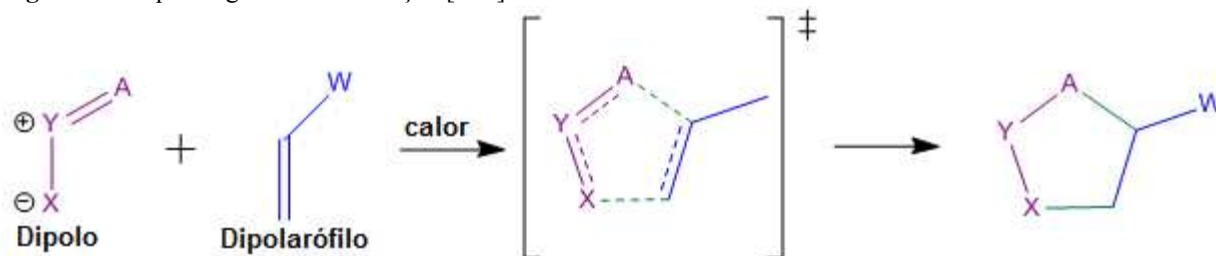
<sup>8</sup> Haider, Alam e Hamid (2014).

<sup>9</sup> Freitas et al. (2011).

<sup>10</sup> A ordem [3+2] indica a combinação de três átomos de um reagente com dois átomos do outro reagente. (MERLO, 2012).

e LUMO). A partir da análise dessa simetria é possível prever a possibilidade de a reação ocorrer (via processo concertado), assim como o controle regio e estereoquímico. O componente com separação de cargas formais é denominado dipolo, enquanto o outro componente é denominado dipolarófilo.<sup>11</sup>

**Figura 3** - Esquema geral de cicloadição [3+2].



**Fonte:** Desenhado a partir do modelo de Merlo (2012).

As Figuras 4 e 5 ilustram os orbitais de fronteira calculados para o propino e o azidometano, a título de exemplo. Neste caso, observa-se que o coeficiente orbital de LUMO para a azida é maior sobre o nitrogênio terminal, enquanto a polarização para seu coeficiente orbital de HOMO é inversa, com o maior coeficiente sobre o nitrogênio ligado ao carbono. A azida atua como o dipolo, devido à separação de cargas formais, enquanto o alquino atua como o dipolarófilo. A diferença  $LUMO_{\text{dipolo}}/HOMO_{\text{dipolarófilo}}$  (15,6 eV) para o exemplo indicado é menor do que a diferença  $LUMO_{\text{dipolarófilo}}/HOMO_{\text{dipolo}}$  (18,5 eV), de maneira que a reação ocorre preferencialmente utilizando o LUMO da azida e o HOMO do alquino.<sup>12</sup> A Figura 6 ilustra a reação.

Como pode ser visto da Figura 6, as interações entre os maiores coeficientes orbitales  $LUMO_{\text{dipolo}}/HOMO_{\text{dipolarófilo}}$  produzem o anel substituído nas posições 1,5. Para a situação inversa, ou seja, para a interação  $LUMO_{\text{dipolarófilo}}/HOMO_{\text{dipolo}}$ , forma-se o produto 1,4-dissubstituído. Tal fenômeno decorre da manutenção da polarização dos orbitais moleculares para o dipolarófilo (o maior coeficiente orbital continua sobre o carbono terminal, seja para o HOMO, seja para o LUMO<sup>13</sup>), enquanto há inversão da polarização orbitalar para o dipolo.

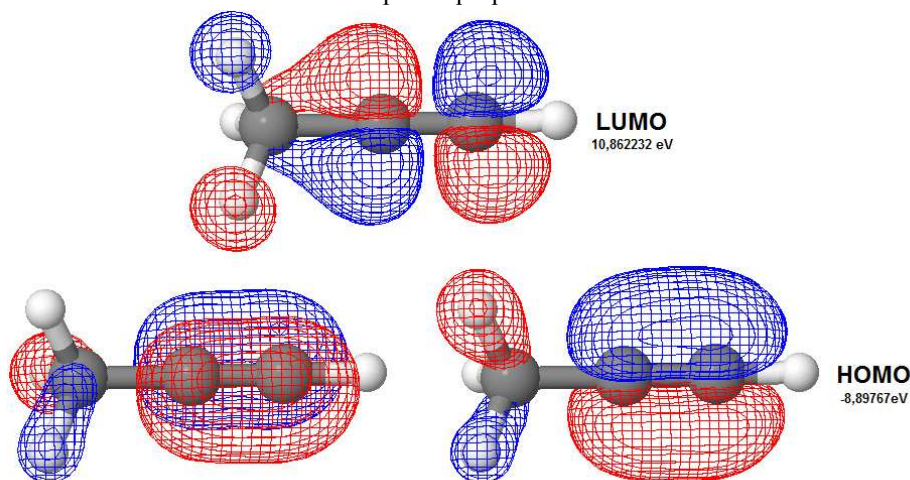
<sup>11</sup> Merlo (2012).

<sup>12</sup> Fleming (2002).

<sup>13</sup> Fleming (2012) e Mandal (2018) indicam este fenômeno para a reação ente o fenilacetileno e a fenilazida. Segundo Fleming (2012), o rendimento para o regioisômero 1,5-dissubstituído foi de 52%, enquanto para o regioisômero 1,4-dissubstituído foi de 43%. Mandal (2018) apresenta resultados semelhantes, com 55% para o primeiro e 45% para o segundo. A dificuldade de se perceber a manutenção da polarização (já bem pouco pronunciada) para os orbitais HOMO e LUMO do alquino na Figura 4 deve-se, provavelmente, à distorção ocasionada pelos lobos do grupo metila, ao fato dos coeficientes orbitales serem influenciados pelos substituintes e, sobretudo, à simplicidade do cálculo de orbitais realizado pela plataforma MolCalc 1.0.

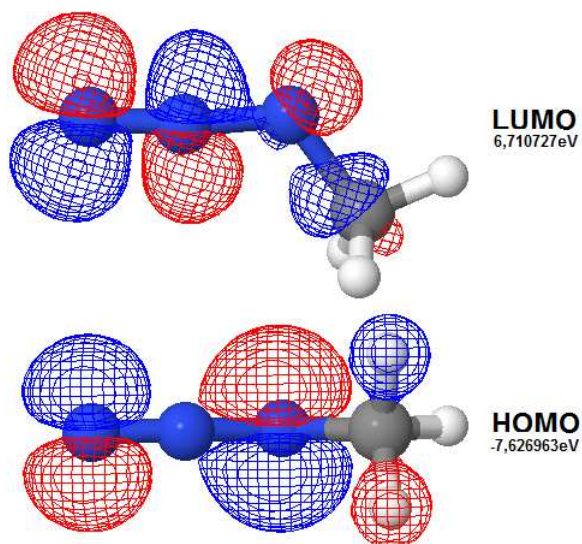
A proximidade entre as diferenças de energia para os pares  $\text{LUMO}_{\text{dipolo}}/\text{HOMO}_{\text{dipolarófilo}}$  e  $\text{LUMO}_{\text{dipolarófilo}}/\text{HOMO}_{\text{dipolo}}$ , no entanto, justifica a mistura, com apenas um ligeiro excesso para o regioisômero 1,5-dissubstituído.

**Figura 4** - Orbitais moleculares de fronteira para o propino.



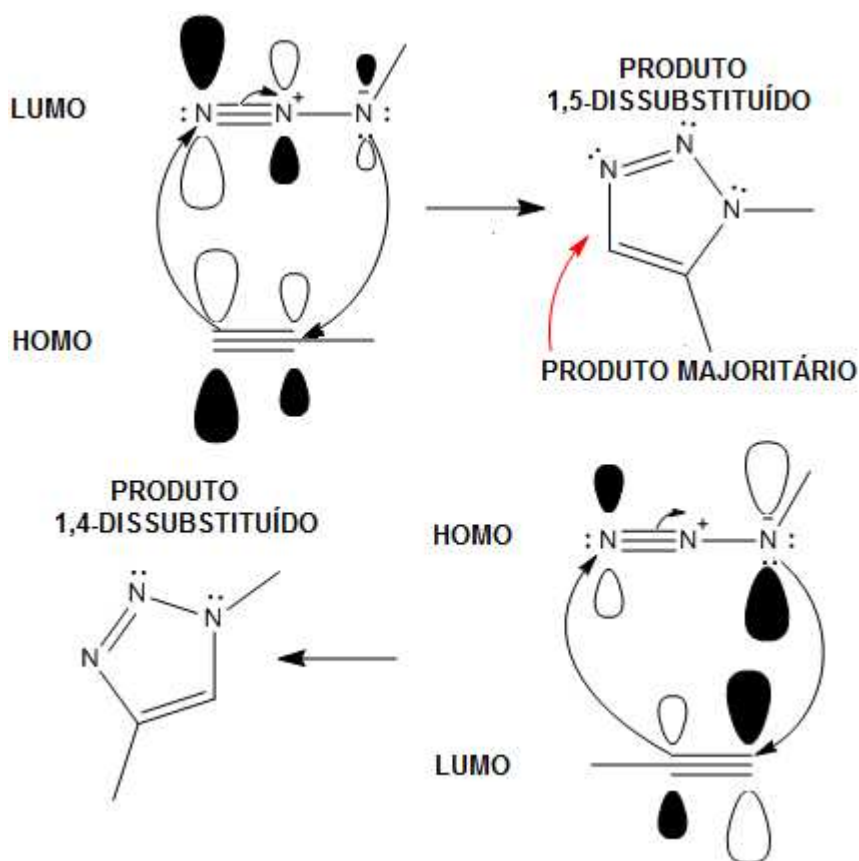
**Fonte:** Calculado *online* pelo MolCalc 1.0 (Universidade de Copenhague). Disponível em: <<http://dgu.ki.ku.dk/molcalc-1.0/editor>>.

**Figura 5** - Orbitais moleculares de fronteira para o azidometano.



**Fonte:** Calculado *online* pelo MolCalc 1.0 (Universidade de Copenhague). Disponível em: <<http://dgu.ki.ku.dk/molcalc-1.0/editor>>.

**Figura 6-** Regioquímica da reação entre o azidometano e o propino, utilizando os orbitais moleculares de fronteira.



Em 2002, entretanto, os laboratórios de Medal e Sharpless descobriram de forma independente que o Cu(I) era capaz de catalisar essas reações, formando apenas o regioisômero 1,4-dissubstituído, com altos rendimentos. Desde então, tem havido um interesse crescente na utilização desta química, não só para o desenvolvimento de novos fármacos, mas também para a síntese de oligonucleotídeos, bioconjugação, marcação de biomoléculas, criação de catalisadores e química de materiais.<sup>14</sup> O uso de Cu (I) nestas reações fez com que elas também pudessem receber o nome genérico de *Copper Azide-Alkyne Cycloaddition* (CuAAC).<sup>15</sup>

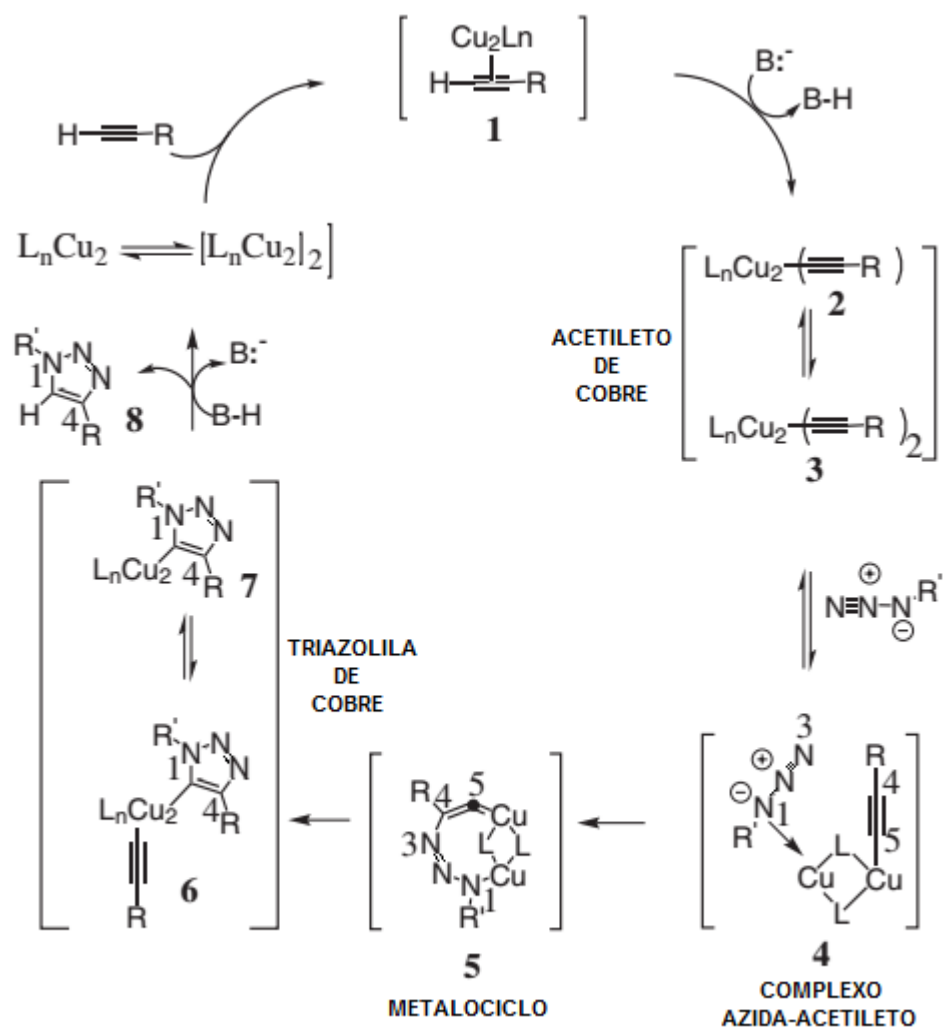
O mecanismo para a formação regioespecífica de triazóis 1,4-dissubstituídos catalisada por Cu(I) ainda está sob investigação, havendo a hipótese de que haja a atuação de intermediários de cobre dinucleares.<sup>16</sup> A Figura 7 ilustra esquematicamente uma proposta mecanística simplificada para o ciclo catalítico.

<sup>14</sup> Agalave, Maujan e Pore (2011); Freitas et al. (2011); Haider, Alam e Hamid (2014).

<sup>15</sup> Freitas et al. (2011). Do inglês Cicloadição Azida-Alquino catalisada por Cobre.

<sup>16</sup> Freitas et al. (2011).

**Figura 7-** Proposta mecanística para a reação CuAAC.



L= LIGANTE; B= BASE OU SOLVENTE.

**Fonte:** Adaptado de Freitas et al. (2011).

Conforme descrito por Freitas et al. (2011), inicialmente ocorre a complexação  $\pi$  entre o Cu (I) e o alquino terminal, diminuindo o pKa do hidrogênio a ponto deste poder ser removido em meio aquoso sem o auxílio de uma base. Formado o acetileno de cobre, ocorre uma complexação entre a azida e o acetileno. Neste intermediário o nitrogênio terminal da azida torna-se mais eletrofílico e o carbono  $\beta$ -vinilidênico mais nucleofílico, permitindo a formação do metalociclo. Esta etapa é endotérmica e determinante para a regioespecificidade da reação. Ocorre em seguida a contração do anel a partir dos elétrons não-ligantes do nitrogênio N1 com o orbital antiligante do carbono C5, formando o intermediário conhecido como triazolila de cobre. Este intermediário é então protonado pelo meio, gerando o produto final e restaurando o catalisador.

## 2 FITOQUÍMICOS E METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

A observação da natureza é uma importante estratégia para a síntese de novas moléculas bioativas. Dentre as moléculas naturais, destacam-se os fitoquímicos ou metabólitos secundários. Eles são responsáveis por diversos fármacos comumente usados, seja de maneira direta, seja de maneira indireta, através da síntese de análogos.<sup>17</sup>

Encontrados nas plantas, os fitoquímicos distinguem-se dos nutrientes pelo fato de não serem essenciais para a alimentação humana.<sup>18</sup> Nas plantas, eles exercem diversas funções importantes tais como defesa contra micro-organismos, herbivoria ou radiação solar, além de atuar em mecanismos de sinalização, como na atração de polinizadores.<sup>19</sup>

Uma maneira pela qual os fitoquímicos atingiram a atenção do público em geral foi a partir dos benefícios que poderiam produzir quando ingeridos na alimentação. Os estudos relacionados à nutrição têm exercido um papel importante dentro da chamada “Medicina Preventiva”, uma vez que o correto entendimento dos processos bioquímicos que relacionam os componentes nutricionais e a saúde pode reduzir o aparecimento de doenças ou mesmo, idealmente, evitá-las por completo.<sup>20,21</sup>

Dentre as dietas mais famosas, encontra-se a dieta mediterrânea. O alto consumo de cereais integrais, frutas e vegetais frescos, vinho tinto e azeite de oliva nas regiões da Grécia e da Itália demonstraram estar relacionados à alta expectativa de vida da região.<sup>22</sup> Dentre os componentes da dieta mediterrânea, um denominador comum é a presença dos biofenóis.<sup>23</sup>

---

<sup>17</sup> Obied (2013).

<sup>18</sup> El Gharras (2009).

<sup>19</sup> Petrus (2014).

<sup>20</sup> Obied (2013); Petrus, (2014).

<sup>21</sup> Apesar do consenso quanto às vantagens para a saúde decorrentes do consumo de frutas, legumes e grãos integrais, os vegetais possuem uma complexa mistura de metabólitos secundários, de maneira que relacionar a presença de um fitoquímico específico com os resultados positivos para a saúde nem sempre é uma tarefa fácil. (EL GHARRAS, 2009; OBIED, 2013). Mesmo diante desta limitação, tem crescido o interesse em tornar a alimentação uma nova forma de terapêutica, o que fica evidenciado pelo surgimento de novos termos como alimentos funcionais, nutrafarmacologia, nutrigenômica, nutriproteômica, *designer food*, alimentos medicinais, nutracêuticos e nutrição médica. (OBIED,2013, PETRUS,2014).

<sup>22</sup> Besançon, Debosque, Delpeuch, (2001); Obied (2013).

<sup>23</sup> Obied (2013).

## **2.2 O que são biofenóis?**

Os biofenóis são o maior grupo de metabólitos secundários presentes em plantas, estando envolvidos, geralmente, na proteção contra patógenos e a radiação UV. Recentemente têm ganhado grande atenção na literatura científica devido ao seu potencial na preservação de alimentos e aos benefícios para a saúde humana.<sup>24</sup>

### **2.2.1 Contextualização**

Apesar de sua importância, não há consenso quanto ao termo a ser empregado para sua classificação enquanto grupo de metabólitos. Na literatura, é comum que os biofenóis sejam denominados “polifenóis”. Tal nomenclatura, no entanto, é inadequada, uma vez que o termo também é aplicado a vários fenóis monocíclicos, costume herdado talvez da química do vinho. Alguns deles também foram chamados “taninos”, sendo usados no curtimento do couro.<sup>25</sup>

Romeu e Uccella, em 1996, foram os primeiros a cunhar o termo “biofenóis”, aplicando-o aos fenóis encontrados em azeitonas. Trata-se de um termo mais abrangente e preciso que pode ser aplicado a todos os metabólitos secundários fenólicos, desde moléculas simples até polímeros complexos, excluindo aqueles que possuem grupos funcionais baseados no nitrogênio.<sup>26</sup> Quideau et al. (2011), a fim de eliminar a confusão produzida pelo termo “polifenóis”, propuseram que fossem considerados polifenóis apenas os biofenóis que possuíssem mais de um anel fenólico.

### **2.2.2 Origem, classificação e fontes**

Os biofenóis podem ocorrer tanto isoladamente ou conjugados com açúcares, ácidos orgânicos ou lipídeos. As principais classes de biofenóis incluem os flavonóides, ácidos fenólicos, estilbenos e lignanas. Dentre esses, cerca de um terço da dieta humana é composta pelos ácidos fenólicos, encontrados, por exemplo, em frutas ácidas; os flavonóides, no entanto, são os principais contribuintes da dieta.<sup>27</sup> Por esse motivo, os flavonóides são os biofenóis mais

---

<sup>24</sup> Obied (2013); Pandey e Rizvi (2009).

<sup>25</sup> Obied (2013); Petrus (2014).

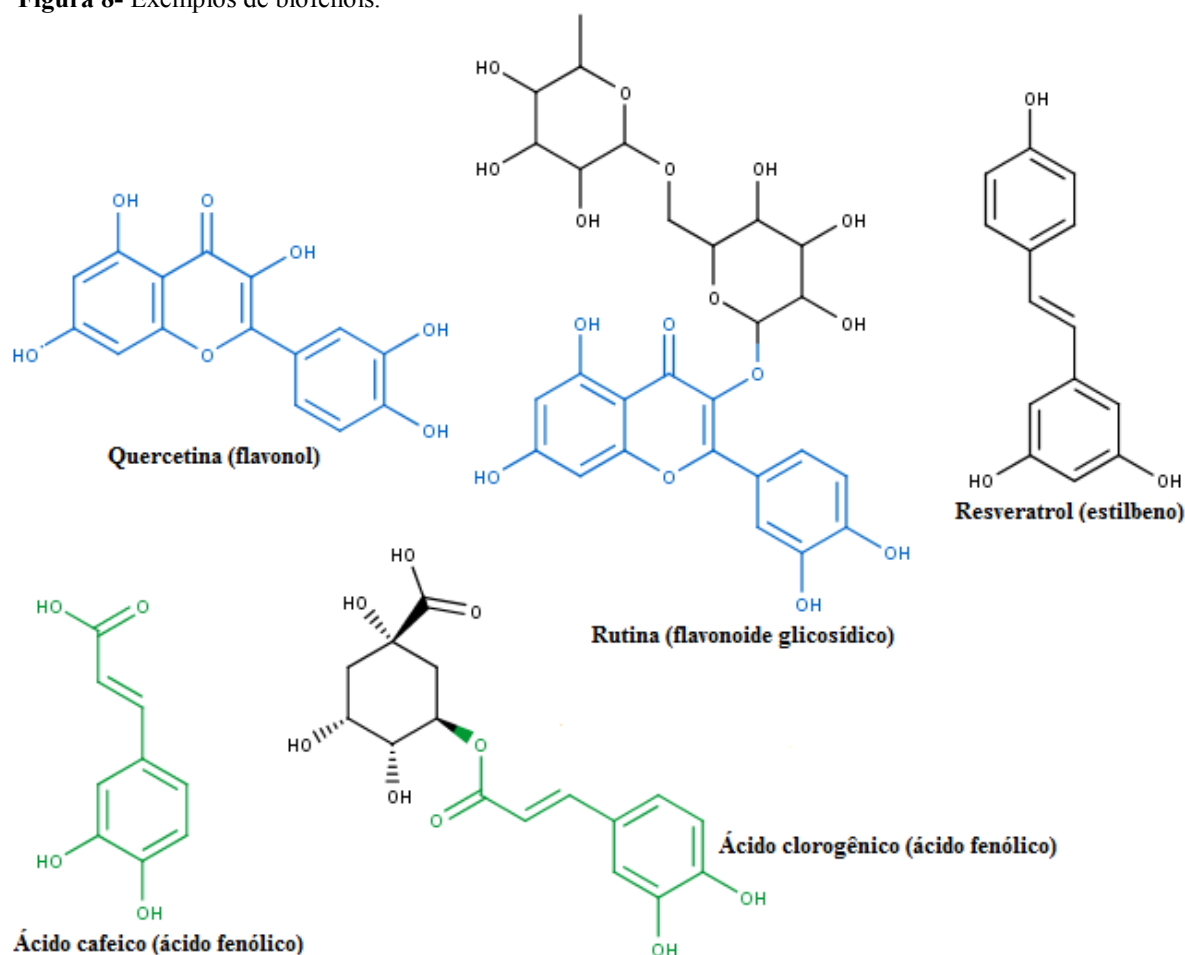
<sup>26</sup> Obied (2013); Petrus (2014).

<sup>27</sup> Pandey e Rizvi (2009); Scalbert e Williamson (2000).

estudados, sobretudo as antocianinas, seguidas das flavonas, flavonóis e isoflavonas. A Figura 8 ilustra alguns exemplos de biofenóis.<sup>28</sup>

As principais fontes de biofenóis na alimentação humana são as frutas e bebidas (chá, vinho tinto, café e cerveja) e produtos ricos em cacau, além de leguminosas, legumes e cereais.<sup>29,30,31</sup> O chá-verde e o chocolate amargo estão entre as fontes alimentares que possuem o maior teor de biofenóis.<sup>32</sup> A azeitona e o azeite, por sua vez, contêm vários ácidos fenólicos, álcoois fenólicos (como o hidroxitirosol e o Tirosol), flavonóis e secoridoides, entre outros derivados.<sup>33</sup>

**Figura 8-** Exemplos de biofenóis.



<sup>28</sup> Obied (2013).

<sup>29</sup> Pérez-Jiménez et al. (2011) realizaram um estudo que revelou que a quantidade diária média de biofenóis (polifenóis, segundo a nomenclatura dos autores) ingeridos pela população francesa é de cerca de 1193 mg/dia, sendo as bebidas não-alcoólicas e as frutas as principais responsáveis pelo suprimento. Ainda segundo os autores, ésteres de ácido hidroxicinâmico e proantocianidinas seriam os principais contribuintes para este consumo.

<sup>30</sup> Os grandes *hits* dos estudos a respeito dos biofenóis estão, no entanto, no chá, uvas (vinho), maçã, azeitonas e azeite, legumes, café, bagas e frutas cítricas. (OBIED, 2013).

<sup>31</sup> El Gharras (2009); Pandey, Rizvi (2009); Petrus (2014).

<sup>32</sup> Petrus (2014).

<sup>33</sup> Ghanbari et al. (2012).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGALAVE, S. G.; MAUJAN, S. R.; PORE, V. S. Click chemistry: 1,2,3-triazoles as pharmacophores. **Chemistry - An Asian Journal**, v. 6, n. 10, p. 2696–2718, 2011.
- BESANÇON, P.; DEBOSQUE, S.; DELPEUCH, F. **Mediterranean Diet and Health: Current News and Prospects**. [s.l.] John Libbey Eurotext, 2001.
- DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 30–54, 2017.
- EL GHARRAS, H. Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, n. 12, p. 2512–2518, 2009.
- FLEMING, I. Thermal Pericyclic Reactions. In: **Frontier orbitals and organic chemical reactions**. Chichester: JohnWiley & Sons, 2002. p. 86-181.
- FREITAS, L. B. DE O. et al. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: Aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791–1804, 2011.
- GHANBARI, R. et al. **Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (Olea europaea L.)-a review**. [s.l: s.n.]. v. 13
- HAIDER, S.; ALAM, M. S.; HAMID, H. 1,2,3-Triazoles: Scaffold With Medicinal Significance. **Inflammation and Cell Signaling**, p. 1–10, 2014.
- HUO, J. et al. A mini review of the synthesis of poly-1,2,3-triazole-based functional materials. **RSC Adv.**, v. 7, n. 4, p. 2281–2287, 2017.
- KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 40, n. 11, p. 2004–2021, 2001.
- MANDAL, D. K. Cycloadditions 1: Perturbation Theory of Reactivity, Regioselectivity and Periselectivity. In: **Pericyclic Chemistry: Orbital Mechanisms and Stereochemistry**. 1 st ed. Amsterdam: Elsevier, 2018. p.169-172.
- MERLO, A. A. Reação de cicloadição. In: **Reações pericíclicas: uma sinfonia de moléculas e elétrons**. 1ed. Porto Alegre: UFRGS, 2012. p. 167-319.
- OBIED, H. Biography of biophenols: past, present and future. **Functional Foods in Health and Disease**, v. 3, n. 6, p. 230–241, 2013.
- PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 5, p. 270–278, 2009.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, n. 6, p. 1220–1228, 2011.

PETRUS, A. J. Biophenols : The Abundant Redox-Active Dietary Molecules of Life. **Asian Journal of Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 4929–4939, 2014.

QUIDEAU, S. et al. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 3, p. 586–621, 2011.

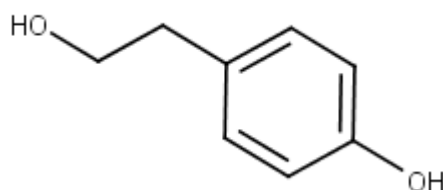
SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **Journal of Medicinal Food**, v. 3, n. 2, p. 121–125, 2000.

## **CAPÍTULO 2- JUSTIFICATIVA E PROPOSTA DE TRABALHO**

## 1 POR QUÊ O TIROSOL?

O Tirosol<sup>34</sup> (Figura 9) é um biofenol encontrado no vinho e azeite de oliva, conhecidos componentes da chamada dieta mediterrânea, assim como no vermute, cerveja, óleo de argan e diversas outras fontes como plantas e mesmo fungos.<sup>35</sup> Nas azeitonas e no azeite ele é encontrado na forma livre ou ligado a açúcar ou ácido, na forma de ésteres (Figura 10).<sup>36</sup>

**Figura 9-** Estrutura química do Tirosol.



Ele é um sólido incolor à temperatura ambiente, com temperatura de fusão na faixa de 91-92 °C e temperatura de ebulição de 158 °C.<sup>37</sup> Atualmente, tanto a indústria química como a farmacêutica têm tido grande interesse neste composto.<sup>38</sup> O betaxolol, metoprolol e salidroside são fármacos comerciais que podem tê-lo como intermediário (Figura 11).<sup>39</sup> Ainda, o Tirosol pode ser um importante intermediário na produção do hidroxitirosol, biofenol importante não só para a saúde humana, mas também para a produção de polímeros.<sup>40</sup>

Apesar de sua abundância natural, a dificuldade de extração do Tirosol faz com que seja produzido sinteticamente para fins industriais.<sup>41</sup> Os baixos rendimentos obtidos neste processo, assim como as dificuldades na purificação, têm levado a estudos de produção por vias biotecnológicas, incluindo o uso de engenharia metabólica.<sup>42</sup>

Segundo Sun, Zhou e Shahidi (2018), mesmo diante das inúmeras propriedades atribuídas ao Tirosol, ele ainda não é empregado com frequência como agente nutracêutico ou estabilizador em alimentos, cosméticos ou outras formulações, possivelmente devido à sua alta

---

<sup>34</sup> Também conhecido como (2-hidroxietil)fenol, álcool p-hidroxifenílico ou 2-(4-hidroxifenil)etanol.

<sup>35</sup> Bu et al. (2007); Covas, Fito e Farre (2003); Dewapriya et al. (2014); Evidente et al. (2010); Gamboa-Angulo et al. (2001); Napolitano et al. (2010); Varejão, (2012).

<sup>36</sup> Rodríguez-Morató et al. (2016).

<sup>37</sup> Napolitano et al. (2010). Pressão de 533,289 Pa.

<sup>38</sup> Dewapriya (2014).

<sup>39</sup> Dewapriya et al. (2014); Xue et al. (2017).

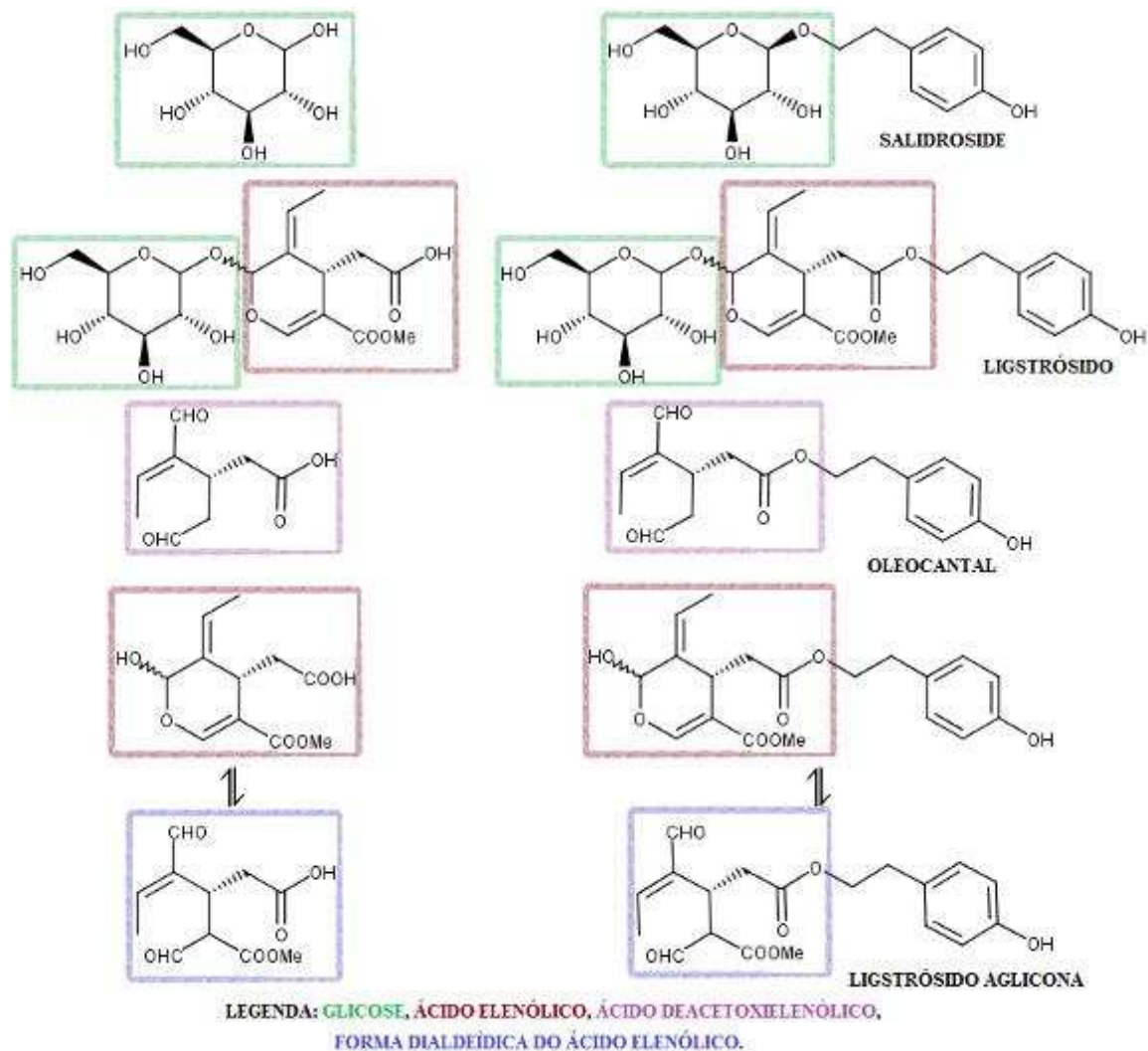
<sup>40</sup> Xue et al. (2017).

<sup>41</sup> Dewapriya et al. (2014).

<sup>42</sup> Dewapriya et al. (2014); Xue et al. (2017).

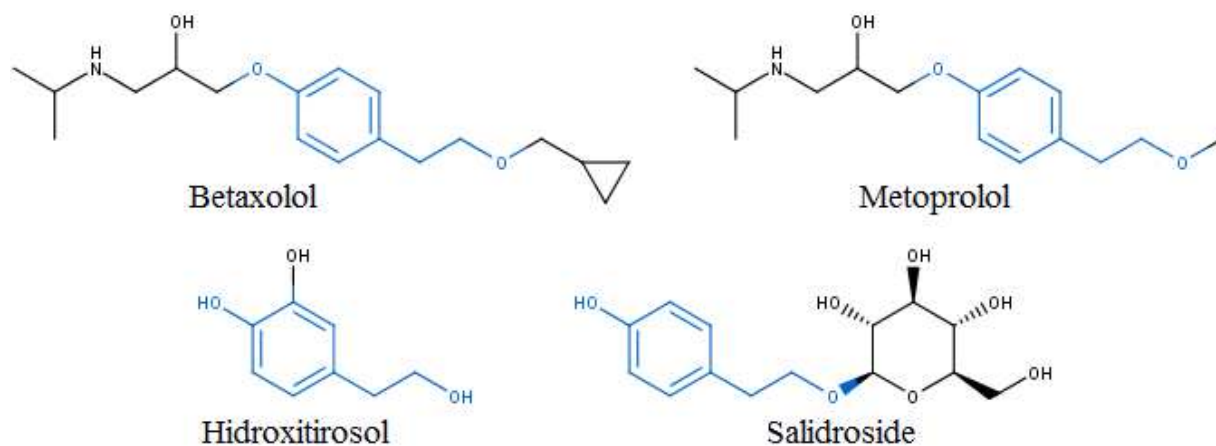
hidrofilia, o que torna difícil sua solubilização em sistemas contendo lipídios, assim como sua extração de soluções aquosas.

**Figura 10** - Glicosídeos e ésteres do Tirosol presentes em azeitonas e azeite.



Fonte: Adaptado de Rodríguez-Morató et al. (2016).

**Figura 11** - Betaxolol, metoprolol, hidroxitirosol e salidroside.



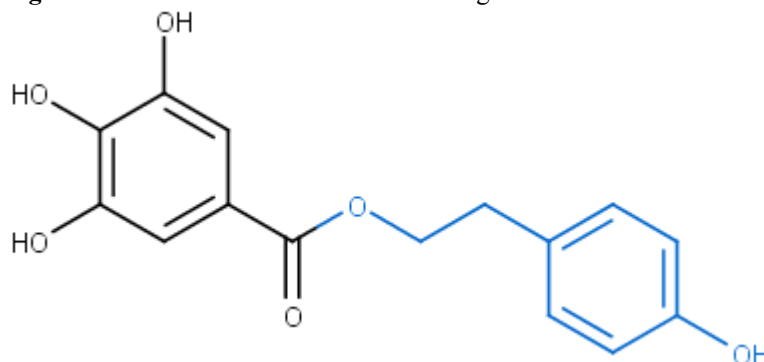
## 1.1 Bioatividade do Tirosol

Estudos referentes à bioatividade do Tirosol têm sido abundantes. Abaixo segue a descrição de alguns trabalhos que relataram seus efeitos, tanto em testes *in vitro* como *in vivo*. Os trabalhos originais devem ser consultados para maiores detalhes.

### 1.1.1 Antitumoral

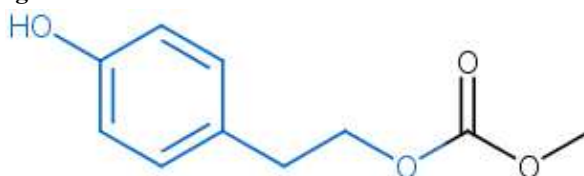
Ahn *et al.* (2008) identificaram a citotoxicidade de derivados do Tirosol (esterificação com ácido acético e ácido gálico) contra linhagens celulares de câncer. O galato de *p*-tirosila (Figura 12) demonstrou forte citotoxicidade, sendo indicado como um bom candidato na busca de fármacos contra o câncer.

Figura 12 - Derivado do Tirosol com ácido gálico.



Fuggetta *et al.* (2012) reportaram o efeito antiproliferativo do Tirosol para diferentes células tumorais *in vitro*. O estudo conduzido pelos autores sugeriu também que o aumento da lipofilia pela construção de análogos do Tirosol e do hidroxitirosol está relacionado com o aumento de atividade. A Figura 13 ilustra o único derivado do Tirosol utilizado no estudo.

Figura 13 - Derivado carbonato do Tirosol.



### 1.1.2 Cardioprotetor

Samuel *et al.* (2009) realizaram estudos *in vivo* em ratos a fim de avaliar o efeito do Tirosol em relação ao infarto do miocárdio. O Tirosol mostrou-se capaz de produzir proteção miocárdica, sendo possível ainda detectar os alvos moleculares relacionados à sua ação.

Nakbi et al. (2011) estudaram o efeito do Tirosool em células de monócitos<sup>43</sup> tomadas como modelo de macrófagos<sup>44</sup> humanos relacionados ao ateroma<sup>45</sup>. O Tirosool impediu a produção de espécies reativas de oxigênio, assim como reduziu a expressão de metaloproteinase-9 (MMP-9)<sup>46</sup>.

Sun et al. (2012), por sua vez, demonstraram que o Tirosool possui efeito citoprotetor contra apoptose<sup>47</sup> induzida por isquemia-reperfusão<sup>48</sup> usando modelo *in vitro* com células H9c2<sup>49</sup>.

### 1.1.3 Neuroprotetor

Bu et al. (2007) investigaram o efeito neuroprotetor do Tirosool utilizando um modelo de acidente vascular cerebral (AVC) em ratos. O Tirosool apresentou efeitos contra a disfunção motora sensorial, de maneira que os autores o propuseram como um candidato em potencial a ser aplicado na terapia de AVC em ratos.

Vauzour, Corona e Spencer, (2010) relataram o efeito neuroprotetor do Tirosool na ação contra as lesões induzidas pela 5-S-cisteinil-dopamina *in vitro*<sup>50</sup>. Dewapriya et al. (2013), por sua vez, determinaram a capacidade neuroprotetora do Tirosool frente a degradação celular

---

<sup>43</sup> “Célula grande de glóbulo branco com cromatina finamente granulada dispersa pelo núcleo. É formada na medula óssea, entra no sangue e migra para o tecido conjuntivo, onde se diferencia em macrófago.” Disponível em: <<https://www.merriam-webster.com/dictionary/monocyte>>. Acesso em: 13 ago. 2018.

<sup>44</sup> “Célula do sistema imunológico que pode ser fixa ou livre e que atua na destruição de corpos estranhos (como bactérias e vírus).” Disponível em: <<https://www.merriam-webster.com/dictionary/macrophage>>. Acesso em: 13 ago. 2018.

<sup>45</sup> Depósito anormal de gordura em uma artéria. Disponível em: <<https://www.merriamwebster.com/dictionary/atheroma>>. Acesso em: 13 ago. 2018.

<sup>46</sup> Enzima associada a várias doenças cardiovasculares e ao câncer. (NAKBI et al., 2011).

<sup>47</sup> “Processo geneticamente dirigido de autodestruição celular que é marcado pela fragmentação do DNA nuclear. É ativado pela presença de um estímulo ou pela remoção de um supressor. Trata-se de um processo fisiológico normal que elimina o DNA danificado, supérfluo ou mesmo células indesejadas. Quando interrompida (como por mutação genética), pode resultar em crescimento celular descontrolado e formação de tumor - também pode ser chamada de suicídio celular ou morte celular programada.” Disponível em: <<https://www.merriam-webster.com/dictionary/apoptosis>>. Acesso em: 13 ago. 2018.

<sup>48</sup> Processo pelo qual o tecido celular, tendo sido uma vez privado do fluxo sanguíneo, ao entrar novamente em contato com este, pode sofrer apoptose, devido ao contato com as espécies reativas de oxigênio. (SUN et al., 2012).

<sup>49</sup> Mioblastos extraídos do coração/miocárdio da espécie *Rattus norvegicus* (rato castanho). Disponível em: <<https://www.atcc.org/Products/All/CRL-1446.aspx>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

<sup>50</sup> Esta substância, assim como outros conjugados, pode contribuir para a perda de neurônios dopaminérgicos, fenômeno relacionado à doença de Parkinson. (VAUZOUR; CORONA; SPENCER, 2010). Neurônios dopaminérgicos são as células responsáveis pela produção de dopamina, importante neurotransmissor. (CHINTA; ANDERSEN, 2005).

induzida por 1-metil-4-fenilpiridínio (MPP +)<sup>51</sup> em células neuronais CATH.a<sup>52</sup>. Atochin et al. (2016), por outro lado, realizaram estudos *in vivo*, investigando o efeito neuroprotetor do Tirosol utilizando ratos Wistar. Segundo os autores foi possível constatar aumento da sobrevivência, redução do *deficit* neurológico, diminuição do dano neuronal no hipocampo e diminuição da peroxidação lipídica no tecido cerebral nos ratos.

### 1.1.4 Longevidade

Cañuelo et al. (2012) analisaram o efeito do Tirosol na longevidade de metazoários usando como modelo o nematoide *Caenorhabditis elegans*. O Tirosol foi capaz de provocar uma extensão significativa da vida do nematoide, atrasando o aparecimento de um biomarcador de envelhecimento, assim como conferindo maior resistência ao estresse térmico e oxidativo.

### 1.1.5 Antioxidante

Giovannini et al. (1999) estudaram os efeitos do Tirosol na prevenção da oxidação da LDL<sup>53</sup>. Os pesquisadores analisaram o dano induzido pela LDL oxidada à mucosa intestinal, através das alterações morfológicas e funcionais em células Caco-2<sup>54</sup>, com e sem a proteção do Tirosol. O Tirosol foi capaz de evitar quase completamente os efeitos da LDL oxidada, fazendo com que o Tirosol despontasse como um potencial agente antioxidante *in vivo*.

Macedo et al. (2017) estudaram o efeito do Tirosol na germinação de sementes. Sua presença, em relação ao controle, foi capaz de promover uma rápida germinação e crescimento

---

<sup>51</sup> “Metabólito neurotóxico ativo do 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina. O composto reduz os níveis de dopamina, inibe a biossíntese de catecolaminas, consome a norepinefrina cardíaca e inativa a tirosina hidroxilase. Este e outros efeitos tóxicos levam à parada da fosforilação oxidativa, à depleção de ATP e à morte celular. O composto, que está relacionado ao paraquat, também tem sido usado como herbicida. ” Disponível em: <[http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=/cgibin/decserver/decserver.xis&task=e\\_xact\\_term&previous\\_page=homepage&interface\\_language=p&search\\_language=p&search\\_exp=1-Metil-4-fenilpirid%EDnio](http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=/cgibin/decserver/decserver.xis&task=e_xact_term&previous_page=homepage&interface_language=p&search_language=p&search_exp=1-Metil-4-fenilpirid%EDnio)>. Acesso em: 14 ago. 2018.

<sup>52</sup> Neurônios extraídos do cérebro da espécie *Mus musculus* (camundongo). Disponível em: <[https://www.atcc.org/en/Products/Cells\\_and\\_Microorganisms/By\\_Focus\\_Area/Toxicology/CRL-11179.aspx](https://www.atcc.org/en/Products/Cells_and_Microorganisms/By_Focus_Area/Toxicology/CRL-11179.aspx)>. Acesso em: 14 ago. 2018.

<sup>53</sup> A oxidação dessa lipoproteína, segundo os autores, é capaz de gerar espécies citotóxicas, causando lesões em tecidos e engendrando várias outras patologias, como as doenças intestinais.

<sup>54</sup> Linhagem celular de adenocarcinoma do cólon humano extraída de um homem de 72 anos. Disponível em: <<https://www.atcc.org/Products/All/HTB-37.aspx>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

da plântula<sup>55</sup>. Segundo os autores, esta resposta pode estar diretamente relacionadas à ação antioxidante do composto contra radicais livres.

### 1.1.6 Controle da endotoxemia

Lu et al. (2013) investigaram os efeitos regulatórios do Tirosol mediante um modelo de endotoxemia<sup>56</sup>, analisando a produção de citocinas<sup>57</sup> pelas células RAW 264.7<sup>58</sup> estimuladas com lipopolissacarídeos (LPS) *in vitro*. Os resultados *in vitro* mostraram que o Tirosol reduziu fatores de necrose. O estudo *in vivo* com camundongos mostrou resultados consistentes com aqueles encontrados *in vitro*, sendo observado um aumento significativo da sobrevivência dos ratos.

### 1.1.7 Anti-inflamatório

Considerando a relação entre o estresse oxidativo e o processo inflamatório da doença celíaca, Stefano et al. (2007) estudaram os efeitos antioxidantes do Tirosol sobre células RAW 264.7 submetidas a estresse oxidativo. O Tirosol foi capaz de inibir todos os efeitos deletérios originados deste estresse. Os resultados obtidos colocaram o Tirosol como um possível agente não-tóxico para o controle de genes pró-inflamatórios envolvidos na doença celíaca.

Kim et al. (2017) utilizaram ratos BALB a fim de avaliar o efeito anti-inflamatório do Tirosol sobre a lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeos (LPS). Os resultados sugeriram que o Tirosol é um agente terapêutico em potencial para o tratamento de doenças pulmonares inflamatórias, inibindo a permeabilidade vascular do pulmão e alterações histopatológicas, regulando o desequilíbrio induzido pelo LPS na atividade de enzimas (tais como superóxido dismutase e mieloperoxidase), reduzindo as citocinas pró-inflamatórias no

---

<sup>55</sup> O uso do tirosol permitiu um maior afrouxamento das membranas celulares, aumentando a permeabilidade para a água e solutos, com consequente aumento das plântulas em crescimento. (MACEDO et al., 2017).

<sup>56</sup> Condição caracterizada pela presença de endotoxinas no sangue. Essas, por sua vez, são substâncias produzidas por bactérias e que têm efeito danoso aos organismos. Disponível em: <<https://www.merriam-webster.com/medical/endotoxemia>><<https://www.merriam-webster.com/dictionary/endotoxin#medicalDictionary>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

<sup>57</sup> “Classe de proteínas imunorreguladoras que são secretadas pelas células, especialmente do sistema imunológico.” Disponível em: <<https://www.merriam-webster.com/dictionary/cytokine>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

<sup>58</sup> Macrófagos extraídos da espécie *Mus musculus* por indução de tumor (leucemia). Disponível em: <<https://www.atcc.org/Products/All/TIB-71.aspx>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

líquido de lavagem bronco-alveolar e no tecido pulmonar e suprimindo a ativação de moléculas inflamatórias no tecido pulmonar, dentre outros efeitos.

### 1.1.8 Tratamento diabetes tipo 2

Chandramohan et al. (2015) realizaram estudo em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina<sup>59</sup> objetivando avaliar os efeitos do Tirosool na atividade das principais enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos. Os resultados obtidos sugerem que o Tirosool diminui a hiperglicemia<sup>60</sup>. Os autores confirmaram os dados bioquímicos pela coloração imuno-histoquímica do pâncreas, que revelou que ratos com diabetes tratados com Tirosool apresentaram aumento das células  $\beta$  imunorreativas à insulina. Chandramohan e Pari (2016), por sua vez, identificaram efeitos anti-inflamatórios no fígado e no pâncreas de ratos que também tiveram diabetes induzida por estreptozotocina, corroborando ainda mais para comprovar o papel do Tirosool no tratamento da diabetes *mellitus*.

Lee et al. (2016), por sua vez, investigaram os efeitos do Tirosool na proteção de células  $\beta$  pancreáticas contra disfunção associada ao estresse do retículo endoplasmático. Utilizou-se para este fim células  $\beta$  pancreáticas oriundas de ratos. O estudo foi capaz de fornecer as bases moleculares para o efeito protetor do Tirosool, colocando-o como um potencial candidato terapêutico para diminuir os efeitos da diabetes tipo 2.

### 1.1.9 Antimicrobiano

Medina et al. (2006) estudaram a atividade antimicrobiana de diferentes óleos vegetais comestíveis. Os resultados *in vitro* demonstraram que os óleos oriundos da azeitona tiveram uma forte ação bactericida contra uma ampla variedade de micro-organismos. Realizou-se uma correlação estatística a fim de determinar quais componentes do azeite de oliva eram responsáveis pela morte das bactérias, estando dentre eles o Tirosool. Os resultados foram confirmados posteriormente pela aplicação dos compostos de maneira isolada sobre *L. monocytogenes*.

---

<sup>59</sup> “Antibiótico de largo espectro com propriedades antineoplásicas e diabetogênicas que foi isolado de uma bactéria do gênero *Streptomyces* (*S. achromogenes*). Disponível em: <<https://www.merriam-webster.com/medical/streptozotocin>>. Acesso em: 14 ago. 2018.

<sup>60</sup> A glibenclamida, fármaco hipoglicemiante oral padrão, foi utilizada na comparação dos resultados, apresentando melhor efeito que o Tirosool, no entanto. (CHANDRAMOHAN et al., 2015).

Abdel-Rhman, El-Mahdy e El-Mowafy (2015) avaliaram o efeito do Tirosol sobre a espécie *Pseudomonas aeruginosa*, bactéria encontrada em coinfeções com o fungo *Candida albicans*.<sup>61</sup> Demonstrou-se que o Tirosol possui atividade antibacteriana contra a espécie *P. aeruginosa*. Além disso foi possível constatar que o Tirosol inibe fortemente a produção dos fatores de virulência hemolisina e protease nessa bactéria.

Abdel-Rhman e Rizk (2016) testaram a ação do Tirosol sobre isolados de *Staphylococcus aureus* resistentes ao antibiótico meticilina (MRSA<sup>62</sup>). Foi comprovada a atividade antibacteriana do Tirosol. Ademais, concentrações subinibitórias aumentaram a suscetibilidade a antimicrobianos, como gentamicina, amicacina e aiprofloxacina. Houve uma significativa diminuição da produção de proteases e lipases, assim como diminuição significativa na formação de biofilme para a maioria dos isolados testados.

Cordeiro et al. (2015) avaliaram o efeito de altas concentrações de Tirosol<sup>63</sup> sobre células planctônicas<sup>64</sup> e biofilmes de *C. albicans* e *C. tropicalis*. Avaliaram ainda o efeito sinérgico em relação a antifúngicos que atuam sobre o ergosterol<sup>65</sup> (anfotericina B, itraconazol e fluconazol). O Tirosol foi capaz de inibir as células planctônicas. Isoladamente ou combinado com antifúngicos foi capaz de reduzir o biofilme de ambas as espécies de *Candida*. Para biofilmes maduros, no entanto, apenas o Tirosol sozinho ou combinado com anfotericina B apresentou o efeito esperado, enquanto a combinação com os azóis resultou no aumento do crescimento do biofilme.

Monteiro et al. (2015) estudaram o efeito do Tirosol no processo de adesão de culturas de *Candida albicans* e *Candida glabrata* a superfícies de resina acrílica como uma possível alternativa na prevenção da estomatite protética.<sup>66</sup> O Tirosol foi capaz de promover reduções consideráveis tanto em culturas únicas de *C. albicans* como nas culturas contendo ambas as espécies, sendo capaz ainda de reduzir o número de células aderidas à superfície acrílica para

---

<sup>61</sup> A relevância do estudo reside no fato de que interações entre bactérias e fungos podem influenciar no crescimento, morfogênese, virulência e resistência a antibióticos. (ABDEL-RHMAN; EL-MAHDY; EL-MOWAFY, 2015).

<sup>62</sup> Do inglês: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*.

<sup>63</sup> Tirosol exógeno, uma vez que ele já está presente no metabolismo da *Candida*.

<sup>64</sup> Bactérias planctônicas são aquelas que não estão agregadas em biofilme maduro. Esta distinção é importante, uma vez que o biofilme é capaz de conferir resistência a agentes antimicrobianos. (HERNÁNDEZ-JIMÉNEZ et al., 2013).

<sup>65</sup> Esterol encontrado em fungos. Os esteróis são substâncias necessárias para o crescimento de fungos. A inibição do ergosterol, portanto, é explorada tanto no desenvolvimento de pesticidas antifúngicos como de fármacos antimicóticos. (WEETE; ABRIL; BLACKWELL, 2010).

<sup>66</sup> Lesão presente em portadores de próteses dentais, sendo caracterizada por uma inflamação da mucosa bucal. Decorre da colonização de bactérias e fungos nas microporosidades presentes nas próteses. Possui tratamento difícil devido aos múltiplos causadores. (SESMA; MORIMOTO, 2011).

as duas espécies, seja na forma de cultura única, seja na forma de cultura mista, comprovando o efeito inibitório do Tirosol na adesão de *Candida* à resina acrílica. Continuando o trabalho, Arias et al. (2016) estudaram o efeito antibiótico do Tirosol na formação de biofilmes pelas espécies *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Streptococcus mutans*, usando culturas únicas e mistas. Foi identificado efeito inibitório do Tirosol contra estes patógenos orais, de maneira que os autores apontaram esta descoberta como um passo importante no desenvolvimento de tratamentos tópicos destinados a prevenir doenças associadas à formação de biofilme, como a já mencionada estomatite protética e a cárie.

Brilhante et al. (2016) avaliaram a atividade antifúngica *in vitro* do Tirosol, contra cepas de *Coccidioides posadasii* (fase filamentosa) e *Histoplasma capsulatum* (fase filamentosa e de levedura) a fim de determinar a concentração mínima inibitória (MIC) e a concentração fungicida mínima (MFC), além de investigar os mecanismos de ação dos compostos. Os resultados obtidos sugerem ação sobre a membrana fúngica, com redução do teor de ergosterol das estirpes. Dentre as substâncias testadas, apenas o Tirosol foi capaz de causar extravasamento do conteúdo intracelular.

Monteiro et al. (2017) avaliaram o efeito antifúngico da combinação do Tirosol com o farnesol contra as espécies *Candida albicans* e *Candida glabrata* no estado planctônico ou formando biofilmes. Ambas às espécies foram suscetíveis à combinação dos compostos, mas apenas na última foi constatado efeito sinérgico. Outros resultados obtidos sugeriram que a combinação destas substâncias é promissora no desenvolvimento de produtos orais no combate às infecções causadas por estes fungos, expandindo o resultado da pesquisa apresentada por Arias et al. (2016).

#### **1.1.10 Prevenção de danos à pele**

Salucci et al. (2015) avaliaram o efeito do Tirosol em células HaCaT<sup>67</sup> expostas à radiação UVB. O Tirosol mostrou-se capaz de reduzir os marcadores apoptóticos e de proteger as células HaCaT contra danos, de maneira que os autores incentivaram seu uso em formulações tópicas destinadas a prevenir danos na pele.

---

<sup>67</sup> Células da pele obtidas por “excisão cirúrgica da periferia distante de um melanoma localizado na metade superior das costas de um paciente de 62 anos de idade.” (BOUKAMP et al., 1988)

### 1.1.11 Fitotoxicidade

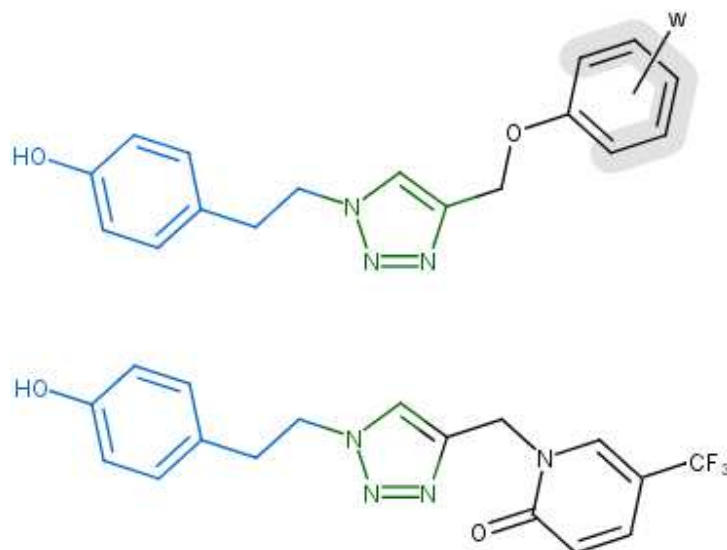
Gamboa-Angulo et al. (2001) determinaram a presença de Tirosol como metabólito do fungo *Alternaria tagetica* e sua atividade necrótica em folhas de calêndulas. Evidente et al. (2010), por sua vez, relataram a presença de Tirosol como um dos metabólitos produzidos pelo fungo *Neofusicoccum parvum*, possuindo atividade fitotóxica contra tomateiros.

Varejão (2012) realizou ensaios com o Tirosol a fim de verificar sua atividade fitotóxica. O composto produziu necrose acentuada e despigmentação sobre as folhas de *Euphorbia heterophylla*, apresentando atividade seletiva, ainda, frente a culturas alimentícias importantes. O autor propôs o Tirosol como um possível herbicida natural, assim como um modelo estrutural para o desenvolvimento de herbicidas sintéticos.

## 2 OBJETIVO

Tendo em vista as múltiplas bioatividades já identificadas para o Tirosol, o presente trabalho objetivou sintetizar derivados triazólicos do Tirosol a partir de diversos compostos previamente propargilados a fim de incrementar as propriedades biológicas da molécula de partida e mesmo conseguir novas propriedades biológicas. O aumento planejado da lipofilia, como sugerido por Fuggeta et al. (2012), permitiria uma maior bioviabilidade em comparação com o Tirosol, que possui como desvantagem o fato de ser muito hidrofílico. A Figura 14 ilustra esquematicamente a estrutura geral das moléculas que serão sintetizadas. O capítulo 3 discute como as estruturas foram escolhidas.

**Figura 14** - Estrutura geral dos derivados triazólicos do Tirosol.



W: grupo variável (em toda a região sombreada) para os diferentes derivados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências de *sites*, que já estão completas no capítulo, não foram repetidas.

ABDEL-RHMAN, S. H.; EL-MAHDY, A. M.; EL-MOWAFY, M. Effect of Tyrosol and Farnesol on Virulence and Antibiotic Resistance of Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–7, 2015.

ABDEL-RHMAN, S. H.; RIZK, D. E. Effect of tyrosol on *Staphylococcus aureus* antimicrobial susceptibility, biofilm formation and virulence factors. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, 20, p. 687–693, 2016.

AHN, E.-Y. et al. Cytotoxicity of p -tyrosol and its derivatives may correlate with the inhibition of DNA replication initiation. **Oncology Reports**, v. 19, n. 5, p. 527–534, 2008.

ARIAS, L. S. et al. Activity of tyrosol against single and mixed-species oral biofilms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 120, p. 1240–1249, 2016.

ATOCHIN, D. N. et al. Phytomedicine Neuroprotective effects of p -tyrosol after the global cerebral ischemia in rats. **Phytomedicine**, v. 23, p. 784–792, 2016.

BOUKAMP, P. et al. Normal Keratinization in a Spontaneously Immortalized. **The Journal of Cell Biology**, v. 106, p. 761–771, 1988.

BRILHANTE, R. S. N. et al. Terpinen-4-ol, tyrosol, and  $\beta$ -lapachone as potential antifungals against dimorphic fungi. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 917–924, 2016.

BU, Y. et al. Neuroprotective effect of tyrosol on transient focal cerebral ischemia in rats. **Neuroscience Letters**, v. 414, p. 218–221, 2007.

CAÑUELO, A. et al. Tyrosol, a main phenol present in extra virgin olive oil, increases lifespan and stress resistance in *Caenorhabditis elegans*. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 133, p. 563–574, 2012.

CHANDRAMOHAN, R. et al. Tyrosol, a phenolic compound, ameliorates hyperglycemia by regulating key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 229, p. 44–54, 2015.

CHANDRAMOHAN, R.; PARI, L. Anti-inflammatory effects of tyrosol in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. **Journal of Functional Foods**, v. 27, p. 17–28, 2016.

CORDEIRO, R. D. A. et al. Exogenous tyrosol inhibits planktonic cells and biofilms of *Candida* species and enhances their susceptibility to antifungals Andr e. **FEMS Yeast Research**, v. 15, n. fov012, p. 1–7, 2015.

COVAS, M.; FITO, M.; FARRE, M. Tyrosol and hydroxytyrosol are absorbed from moderate and sustained doses of virgin olive oil in humans. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, p. 186–190, 2003.

DEWAPRIYA, P. et al. Tyrosol exerts a protective effect against dopaminergic neuronal cell death in in vitro model of Parkinson's disease. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1147–1157, 2013.

DEWAPRIYA, P. et al. Isolation and characterization of marine-derived *Mucor* sp. for the fermentative production of tyrosol. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 9, p. 1402–1408, 2014.

EVIDENTE, A. et al. Lipophilic phytotoxins produced by *Neofusicoccum parvum*, a grapevine canker agent. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 49, n. 1, p. 74–79, 2010.

FUGGETTA, M. P. et al. In Vitro Antitumor Activity of Olive Oil Tyrosol and Hydroxytyrosol and their Methyl Carbonate Derivatives Maria. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, v. 6, n. 2, p. 25–30, 2012.

GAMBOA-ANGULO, M. M. et al. Tagetolone and tagetenolone: Two phytotoxic polyketides from *Alternaria tagetica*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1228–1232, 2001.

GIOVANNINI, C. et al. Tyrosol, the Major Olive Oil Biophenol, Protects Against Oxidized-LDL- Induced Injury in Caco-2 Cells. **The Journal of Nutrition**, 129, 7, p. 1269–1277, 1999.

HERNÁNDEZ-JIMÉNEZ, E. et al. Biofilm vs. planktonic bacterial mode of growth : Which do human macrophages prefer ? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 441, p. 947–952, 2013.

KIM, Y. et al. Tyrosol attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting the inflammatory response and maintaining the alveolar capillary barrier. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, n. January, p. 526–533, 2017.

LEE, H. et al. Tyrosol, an olive oil polyphenol, inhibits ER stress-induced apoptosis in pancreatic b-cell through JNK signaling. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 469, n. 3, p. 748–752, 2016.

LU, J. et al. Tyrosol exhibits negative regulatory effects on LPS response and endotoxemia. **Food and Chemical Toxicology**, v. 62, p. 172–178, 2013.

MACEDO, W. R. et al. Physiologic and metabolic effects of exogenous kojic acid and tyrosol, chemicals produced by endophytic fungus, on wheat seeds germination. **Natural Product Research**, n. September, p. 1–5, 2017.

MEDINA, E. et al. Comparison of the Concentrations of Phenolic Compounds in Olive Oils and Other Plant Oils : Correlation with Antimicrobial Activity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 54, p. 4954–4961, 2006.

MONTEIRO, D. R. et al. Effect of tyrosol on adhesion of *Candida albicans* and *Candida glabrata* to acrylic surfaces. **Medical Mycology**, v. 53, p. 656–665, 2015.

MONTEIRO, D. R. et al. Antifungal activity of tyrosol and farnesol used in combination against *Candida* species in the planktonic state or forming biofilms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, p. 392–400, 2017.

NAKBI, A. et al. Modulation of the superoxide anion production and MMP-9 expression in PMA stimulated THP-1 cells by olive oil minor components : Tyrosol and hydroxytyrosol. **Food Research International journal**, v. 44, n. 2, p. 575–581, 2011.

NAPOLITANO, A. et al. The Chemistry of Tyrosol and Hydroxytyrosol: Implications for Oxidative Stress A2 - Preedy, Victor R. In: WATSON, R. R. B. T.-O. AND O. O. IN H. AND D. P. (Ed.). . **Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention**. San Diego: Academic Press, 2010. p. 1225–1232.

RODRÍGUEZ-MORATÓ, J. et al. Metabolic disposition and biological significance of simple phenols of dietary origin: hydroxytyrosol and tyrosol. **Drug Metabolism Reviews**, v. 48, n. 2, p. 218–236, 2016.

SALUCCI, S. et al. Tyrosol prevents apoptosis in irradiated keratinocytes. **Journal of Dermatological Science**, v. 80, n. 1, p. 61–68, 2015.

SAMUEL, S. M. ET AL. Akt/FOXO3a/SIRT1 Mediated Cardioprotection by n-Tyrosol against Ischemic Stress in Rat In vivo model of Myocardial Infarction: Switching Gears towards Survival and Longevity. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 56, n. 20, p. 9692–9698, 2009.

SESMA, N.; MORIMOTO, S. Estomatite protética: etiologia, tratamento e aspectos clínicos. **Journal of Bi dentistry and Biomaterials** -, v. 2, p. 24–29, 2011.

STEFANO, D. DE et al. Lycopene, quercetin and tyrosol prevent macrophage activation induced by gliadin and IFN-  $\gamma$ . **European Journal of Pharmacology**, v. 566, p. 192–199, 2007.

SUN, L. et al. Salidroside and tyrosol from *Rhodiola* protect H9c2 cells from ischemia/reperfusion-induced apoptosis. **Life Sciences**, v. 91, n. 5–6, p. 151–158, 2012.

SUN, Y.; ZHOU, D.; SHAHIDI, F. Antioxidant properties of tyrosol and hydroxytyrosol saturated fatty acid esters. **Food Chemistry**, v. 245, p. 1262–1268, 2018.

VAREJÃO, E. V. V. **Isolamento, Caracterização Química e Avaliação da Atividade Fitotóxica De Metabólitos Produzidos Pelo Fungo *Alternaria euphorbiicola***. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2012.

VAUZOUR, D.; CORONA, G.; SPENCER, J. P. E. Caffeic acid, tyrosol and p-coumaric acid are potent inhibitors of 5-S-cysteinyl-dopamine induced neurotoxicity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 501, n. 1, p. 106–111, 2010.

WEETE, J. D.; ABRIL, M.; BLACKWELL, M. Phylogenetic Distribution of Fungal Sterols. **Plos One**, v. 5, n. 5, p. 1–6, 2010.

XUE, Y. et al. Engineering *Escherichia coli* for Enhanced Tyrosol Production. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 65, p. 4708–4714, 2017.

**CAPÍTULO 3- RELAÇÃO ENTRE AGROQUÍMICOS E FÁRMACOS E  
PLANEJAMENTO RACIONAL DAS ESTRUTURAS**

## 1 SEMELHANÇAS ENTRE AGROQUÍMICOS E FÁRMACOS

As operações agroquímicas e farmacêuticas, no decorrer da história das indústrias químicas, foram frequentemente dispostas como divisões de uma mesma empresa, tal era a interconexão entre ambas as áreas. A separação dos negócios, em alguns casos, fez com que a troca de ideias que ocorriam entre os dois campos ficasse prejudicada.<sup>68</sup> Ao contrário do que um juízo precipitado poderia fazer pensar, no entanto, a química não é o único ponto em comum entre esses dois negócios. A nutrição adequada, proporcionada pelo uso de agroquímicos, é tão importante para a saúde humana quanto o uso de medicamentos. A produção de frutas e vegetais, responsável por diminuir o risco de diversas doenças, não pode ser feita de maneira economicamente viável em diversos lugares. Dessa maneira, é correto afirmar que também os agroquímicos contribuem para a saúde humana.<sup>69,70</sup>

No último século houve um grande avanço na produção de agroquímicos, a ponto de muitas vezes ser difícil distingui-los de um fármaco, seja por sua estrutura química, seja por suas propriedades físicas e especificidade molecular (Figura 15). Não só os parâmetros físico-químicos utilizados para o planejamento de fármacos e agroquímicos são semelhantes, como também os grupos funcionais encontrados. Isso não se deve apenas às restrições sintéticas, mas também às similaridades dos alvos moleculares (Quadro 1).<sup>71</sup>

Este avanço, no entanto, não foi acompanhado pela opinião pública. Muitas pessoas veem os agroquímicos apenas como venenos que não deveriam, em nenhum caso, ser aplicados na agricultura.<sup>72,73</sup> Esta rejeição baseia-se sobretudo em sistemas de valores pessoais e no

---

<sup>68</sup> Delaney et al. (2006).

<sup>69</sup> Delaney et al. (2006); Swanton et al. (2011).

<sup>70</sup> O uso dos agroquímicos não apenas aumenta o rendimento das colheitas, mas também torna terras marginais produtivas. (DELANEY et al., 2006). Swanton et al. (2011) descrevem em seu artigo como os agroquímicos podem contribuir, por exemplo, na diminuição de micotoxinas malélicas para a saúde humana. Como afirmado pelos autores: “Os produtos cultivados organicamente podem estar livres de resíduos de pesticidas sintéticos, mas não são, por extensão, benignos; podem conter contaminantes tóxicos.” Ademais, prosseguem os autores, as plantas, submetidas ao estresse ambiental, podem liberar metabólitos secundários em maior quantidade. Estes metabólitos secundários poderiam, também eles, ser malélicos. Essas afirmações contribuem para ilustrar uma característica importante que um cientista deve ter: evitar generalizações precipitadas.

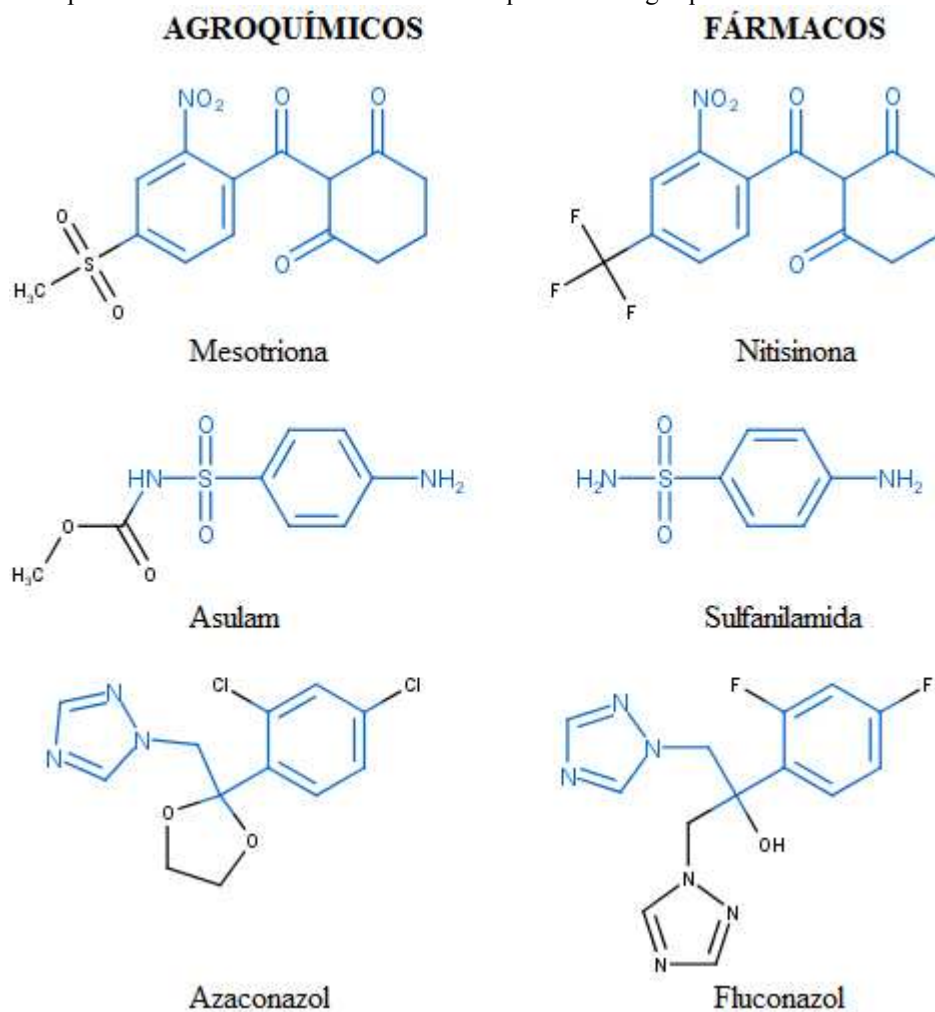
<sup>71</sup> Swanton et al. (2011).

<sup>72</sup> Delaney et al. (2006).

<sup>73</sup> Isso também é devido ao fato de muitos julgarem que a agricultura atual ainda depende de técnicas antiquadas como o uso de ácido sulfúrico e compostos a base de arsênio. (DELANEY et al., 2006).

desconhecimento sobre como gerenciar os riscos, que existem, igualmente, para os fármacos.<sup>74,75</sup>

Figura 15 - Exemplos de similaridades entre as estruturas químicas de agroquímicos e fármacos.



Fonte: Desenhado a partir de Swanton et al. (2011).

<sup>74</sup> Swanton et al. (2011).

<sup>75</sup> Swanton et al. (2011) sugerem que os riscos associados a ambas tecnologias são, na verdade, semelhantes: ambas as tecnologias agem sobre sistemas biológicos e, em muitos casos, atuam em alvos moleculares semelhantes; tanto fármacos como agroquímicos devem passar por um processo de registro semelhante; **ambos podem causar impactos não desejados sobre o ambiente e a saúde humana.**

**Quadro 1** - Exemplos de agroquímicos que tiveram atividade reportada contra doenças humanas ou organismo causador.

Agroquímico (classe)	Organismo causador da doença ou doença
Clomazona (herbicida)	Vários protozoários e bactérias patogênicas
Endotal (herbicida)	<i>Plasmodium</i> spp. (malárias)
Glifosato (herbicida)	<i>Plasmodium</i> spp. (malárias), <i>Toxoplasma gondii</i>
Haloxifop (herbicida)	<i>T. gondii</i>
Trifluralina (herbicida)	<i>Plasmodium</i> spp., <i>Cryptosporidium parvum</i> , <i>Leishmania</i> spp., <i>Trypanosoma</i> spp.
Inibidores de Acetil-CoA carboxilase (herbicida)	Doença cardíaca
Epotilona (fungicida)	Câncer, inflamação
Imidazolinonas (herbicida)	Hipertensão
Inibidores de protoporfirinogênio oxidase (herbicida)	Câncer
Sulfonilureias (herbicida)	Câncer
Triazolopirimidinas (fungicida)	Câncer

**Fonte:** Swanton et al. (2011).

## 2 MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL E PLANEJAMENTO DAS ESTRUTURAS

A modificação estrutural (simplificação ou inserção de novos grupos) de compostos cuja atividade biológica já seja conhecida é uma estratégia importante na busca de novas moléculas sintéticas que sejam bioativas.<sup>76</sup> A substituição de um átomo de hidrogênio de um anel aromático por outro grupo substituinte (nitro, ciano, halogênio, etc.), por exemplo, pode alterar profundamente as propriedades farmacológicas de uma molécula, seja no aumento da potência, seja no alvo biológico. Tal fenômeno deve-se às modificações em propriedades físico-químicas tais como a hidrofobicidade e distribuição da densidade eletrônica.<sup>77</sup>

Uma abordagem racional e eficiente para planejar as modificações estruturais é a utilização do conceito de hibridação molecular. Ela consiste em unir em uma única entidade química as atividades biológicas de mais de uma molécula. Assim, são ligadas covalentemente estruturas inteiras ou apenas os grupos farmacofóricos, que são as porções da molécula responsáveis pela bioatividade. A nova estrutura química formada recebe o nome de híbrido.<sup>78</sup> O Quadro 2 apresenta os tipos de híbridos e suas características.

<sup>76</sup> Boeck, (2005).

<sup>77</sup> Boeck (2005).

<sup>78</sup> Araújo *et al.* (2015).

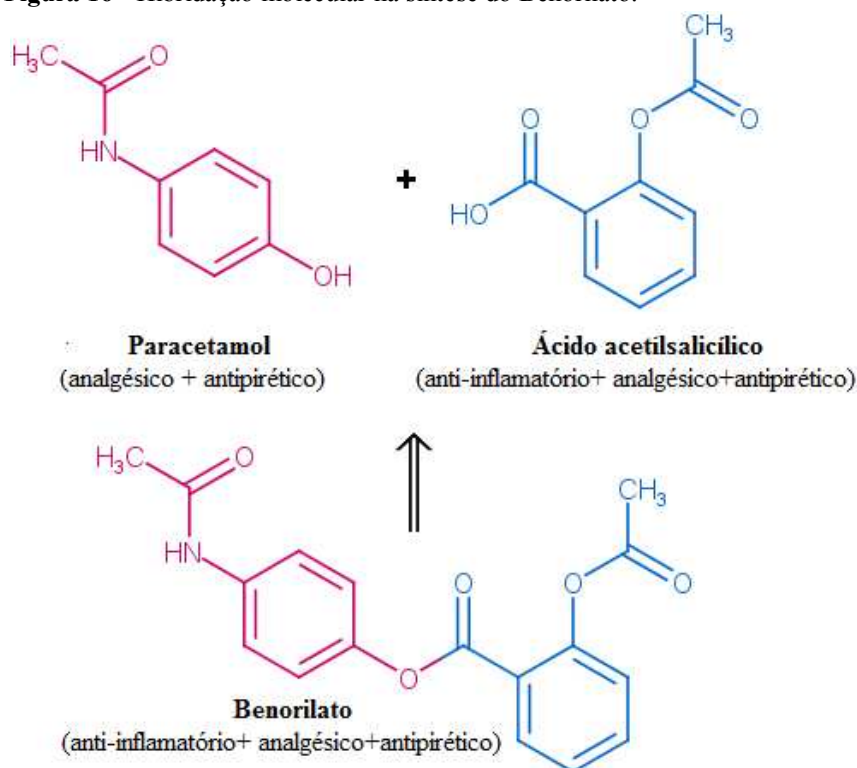
**Quadro 2** - Tipos de híbridos moleculares e suas características.

Tipo de híbrido	Características
Ação sinérgica	União de compostos/grupos farmacofóricos de mesma atividade, mas com alvos distintos.
Dupla ação	União de compostos /grupos farmacofóricos de atividades diferentes, mas relacionadas entre si.
Modulador de efeitos colaterais	União de compostos /grupos farmacofóricos em que uma porção irá minimizar/anular os efeitos colaterais da outra porção.

Fonte: Araújo *et al.* (2015).

Um exemplo comercial da utilização de hibridação molecular está na síntese do Benorilato, que consistiu na união entre o paracetamol e o ácido acetilsalicílico. Como pode ser visto no esquema da Figura 16, o híbrido formado possui todas as propriedades de seus precursores.<sup>79</sup>

**Figura 16** - Hibridação molecular na síntese do Benorilato.



Outra estratégia importante no planejamento de fármacos e agroquímicos é o estabelecimento de critérios que permitam prever se determinada rota sintética, em termos de se produzir compostos bioativos, é útil. Diante da grande diversidade de estruturas que podem

<sup>79</sup> Araújo *et al.* (2015).

ser obtidas artificialmente, saber de antemão quais seriam as mais promissoras é de grande valia. A partir do trabalho de vários pesquisadores foram desenvolvidos “filtros” para que, a partir dos parâmetros físico-químicos de drogas e agroquímicos já conhecidos, fosse possível prever a probabilidade de uma dada estrutura tornar-se um fármaco/agroquímico, diminuindo o número de candidatos e, assim, facilitando a pesquisa. As estruturas que possuísem os parâmetros adequados teriam o padrão denominado *drug-likeness*, para fármacos, ou *agrochemical-likeness*<sup>80</sup>, para agroquímicos.<sup>81</sup>

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O planejamento dos candidatos a novos fármacos ou agroquímicos levou em conta dois princípios básicos:

- Emprego da estratégia de hibridação molecular<sup>82</sup> através da escolha dos substituintes pela análise das estruturas de agroquímicos, fármacos e produtos naturais com bioatividade conhecida que possuísem porção susceptível de propargilação. Para tal empregou-se análise em bancos de dados tais como DrugBank<sup>®</sup>, PubChem<sup>®</sup>, Reaxys<sup>®</sup>, SciFinder<sup>®</sup>, Pesticide Properties DataBase<sup>®</sup> e The Human Metabolome DataBase<sup>®</sup>;
- Análise dos parâmetros físico-químicos correlacionados à bioatividade. As propriedades foram calculadas utilizando os *softwares* MarvinSketch<sup>®</sup> 17.28.0 (ChemAxon Ltd.) e MedChem Designer<sup>™</sup> 3.1.0.30 (*Simulations Plus*, Inc.), ambos na versão gratuita, a partir das estruturas em 2D. Os gráficos foram gerados no *software* LibreOffice Calc<sup>®</sup> 5.4.3.2 (*The Document Foundation*).

---

<sup>80</sup> Diferentemente dos fármacos, os agroquímicos são frequentemente dispersos no campo, sendo absorvidos passivamente pelos organismos prejudiciais. Além disso, estão sujeitos a diversos fatores ambientais tais como vento, sol, chuva ou degradação no solo. Estes fatores fizeram com que, a princípio, fosse mais difícil determinar padrões de *agrochemical-likeness*. A situação dos inseticidas é mais complexa, uma vez que eles são absorvidos tanto via percutânea como oral. (HAO; DONG; YANG, 2011). A literatura consultada, no entanto, permite verificar uma admirável correspondência entre os dois campos, e deve ser examinada para maiores detalhes.

<sup>81</sup> Ghose, Viswanadhan e Wendoloski (1999); Lipinski et al. (2001); Veber *et al.* (2002); Tice (2001); Hao, Dong, Yang (2011).

<sup>82</sup> Não foi empreendida uma busca sobre quais seriam os grupos farmacofóricos das moléculas de inspiração. A recorrência dos grupos foi considerada como indício de que eles poderiam estar envolvidos na atividade biológica.

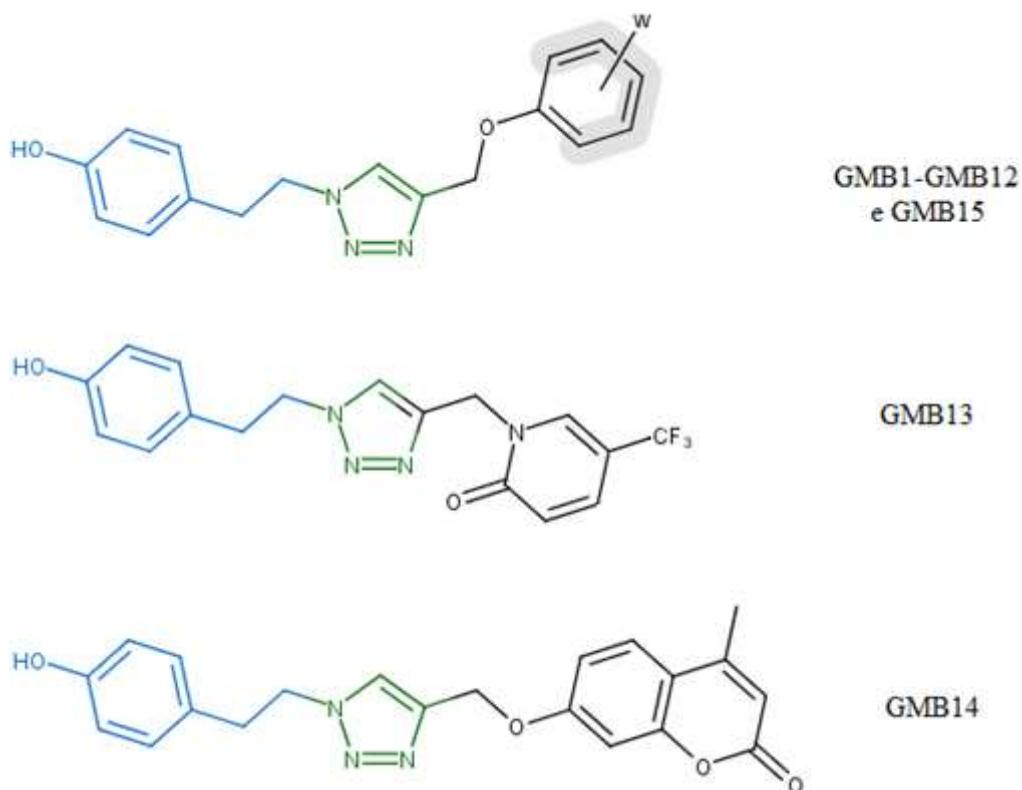
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As moléculas planejadas foram denominadas genericamente de GMB, seguindo a numeração de 1-15. Os alquinos intermediários também seguiram a mesma numeração, sendo denominados genericamente Alk, sendo apresentados no capítulo 4. A consulta em bancos de dados especializados, tais como Reaxys<sup>©</sup> e SciFinder<sup>®</sup> permitem afirmar, de acordo com os esforços de verificação do autor, que todas as moléculas da série GMB são inéditas na literatura. Os valores para os parâmetros físico-químicos calculados para as estruturas podem ser consultados no Apêndice A (p. 235).

### 4.1 Critérios para a escolha dos substituintes

Seguindo os critérios que serão apresentados, propôs-se a síntese de 15 moléculas inéditas, conforme ilustrado na Figura 17.

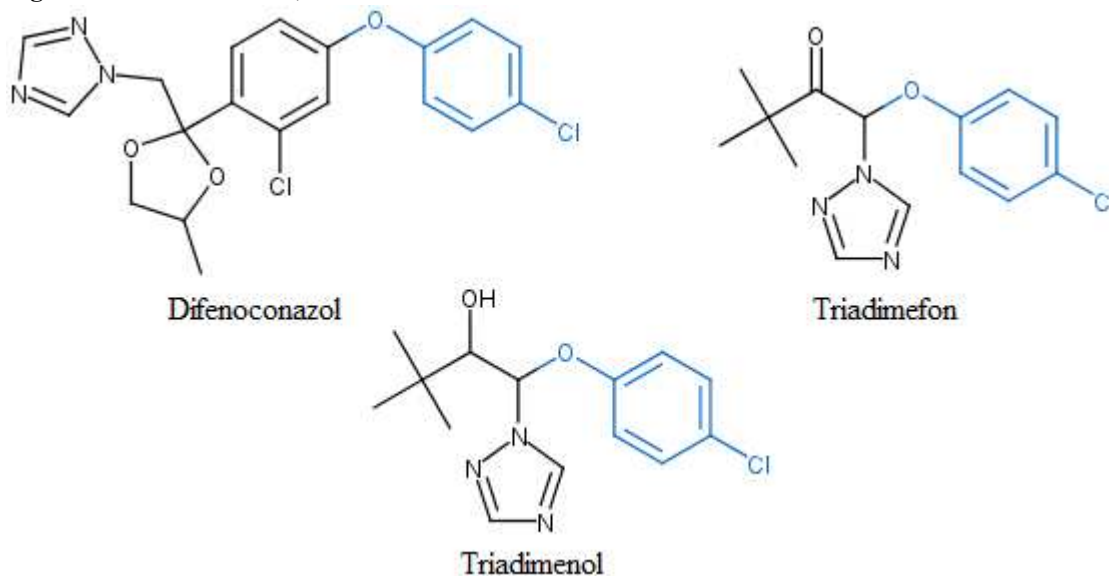
Figura 17 - Derivados triazólicos do Tirosol propostos.



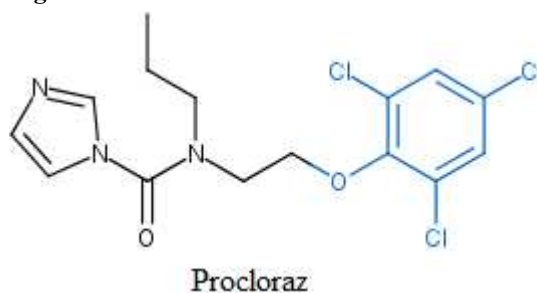
W=GMB1: 4-CH<sub>3</sub>; GMB2: 4-OCH<sub>3</sub>; GMB3: 4-F; GMB4: 4-Cl; GMB5: 4-Br; GMB6: 4-I; GMB7: 4-NO<sub>2</sub>; GMB8: 2,4-Cl; GMB9: 2,4,5-Cl; GMB10: 2-CH<sub>3</sub>-4-Cl; GMB11: 2-Cl-4-NO<sub>2</sub>; GMB12: 2,4,6-Cl; GMB15: 4-H.

A molécula GMB4 foi planejada após a análise das estruturas dos fungicidas difenoconazol, triadimefon e triadimenol (Figura 18).<sup>83,84,85</sup> A molécula GMB12, por sua vez, foi planejada a partir do fungicida procloraz (Figura 19).<sup>86</sup> Dadas as propriedades antifúngicas do Tirosol, espera-se um possível aumento da atividade nesta molécula.

**Figura 18** - Difenoconazol, triadimefon e triadimenol.



**Figura 19** - Procloraz.



A molécula GMB14 foi sintetizada a partir da 4-metilumbeliferona (Figura 20), que é um derivado de cumarina que apresenta, dentre outras atividades, a fotoproteção.<sup>87</sup> Dada a

<sup>83</sup> Pesticide Properties DataBase. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/230.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

<sup>84</sup> Extension Toxicology Network. Disponível em: <<http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/pyrethrins-ziram/triadimefon-ext.html>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

<sup>85</sup> Pesticide Properties DataBase. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/649.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

<sup>86</sup> Pesticide Properties DataBase. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/536.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

<sup>87</sup> Medical Subject Headings. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68006923>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

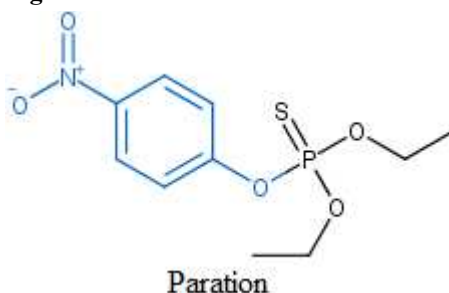
possibilidade do Tirosol ser aplicado em formulações para proteção solar,<sup>88</sup> é interessante conjugar ambas as moléculas a fim de potencializar esta atividade.

**Figura 20** - 4-Metilumbeliferona.



A molécula GMB7 foi planejada a partir da estrutura do inseticida e acaricida paration<sup>89</sup> (Figura 21).

**Figura 21** - Paration.



A molécula GMB8 foi planejada após a análise das estruturas do ácido 2,4-diclorofenoxiacético e do bifenox, usados como herbicidas,<sup>90,91</sup> do triclosan, usado por suas atividades antibacterianas e antifúngicas,<sup>92</sup> e do bitionol, usado como antielmíntico<sup>93</sup> (Figura 22).

---

<sup>88</sup> Salucci et al. (2015).

<sup>89</sup> PubChem. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/parathion#section=Top>>. Acesso em: 03 set. 2018.

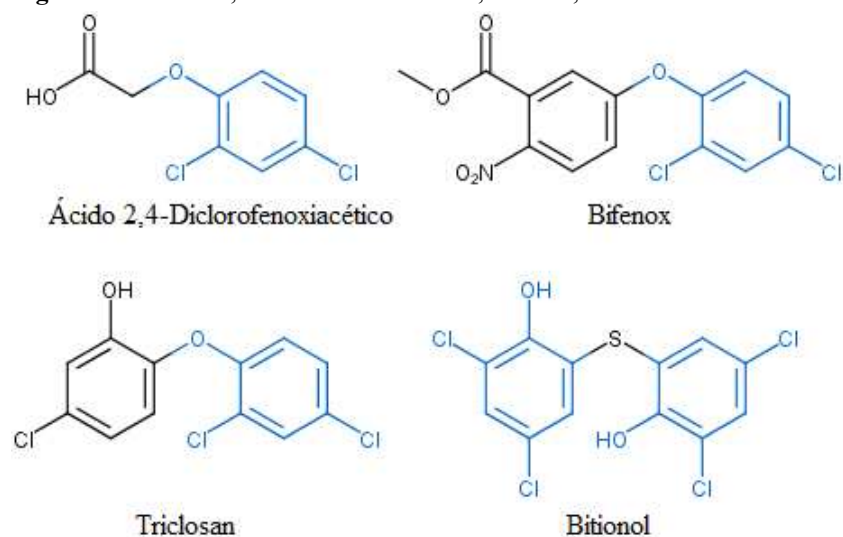
<sup>90</sup> Human Metabolome Database. Disponível em: <<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0041797>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

<sup>91</sup> Pesticide Properties DataBase. Disponível em: <<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/77.htm>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

<sup>92</sup> National Cancer Institute. Disponível em: <<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/pages/home.jsf;jsessionid=B181A9DDA460B18231A8449C10307B8F>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

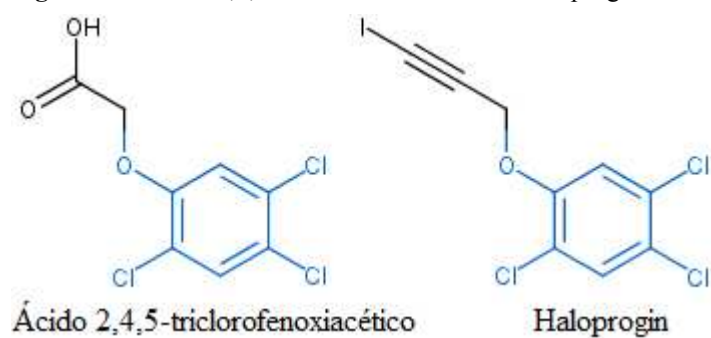
<sup>93</sup> Drug Bank. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB04813>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

**Figura 22** - Ácido 2,4-diclorofenoxiacético, bifenox, triclosan e bitionol.



A molécula GMB9 foi planejada após a análise das estruturas do ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético, usado como herbicida<sup>94</sup> e do haloprogin, usado como antifúngico<sup>95</sup> (Figura 23).

**Figura 23** - Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético e haloprogin.



<sup>94</sup> Medical Subject Headings. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68015085>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

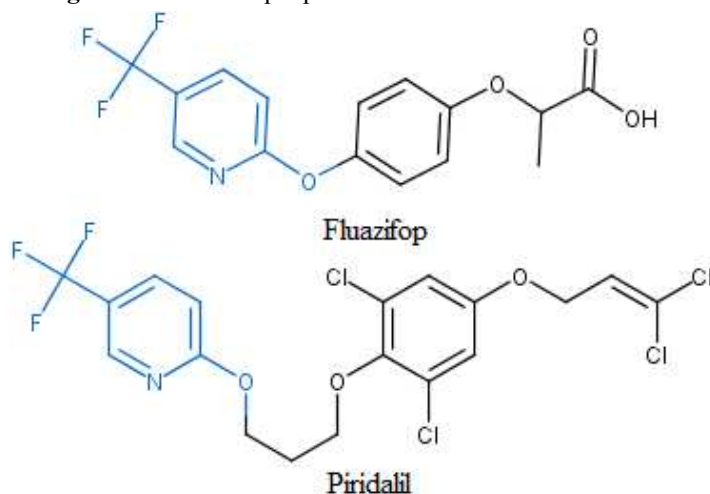
<sup>95</sup> National Cancer Institute. Disponível em: <<https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/pages/home.jsf>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

A molécula GMB10 foi planejada após a análise da estrutura do herbicida MCPA<sup>96</sup> (Figura 24) , enquanto a molécula GMB13 foi planejada a partir do herbicida fluazifop<sup>97</sup> e o inseticida piridaliil<sup>98</sup> (Figura 25). As particularidades para o intermediário da GMB13 serão discutidas no próximo capítulo (p. 109 e p. 185).

**Figura 24 - MCPA.**

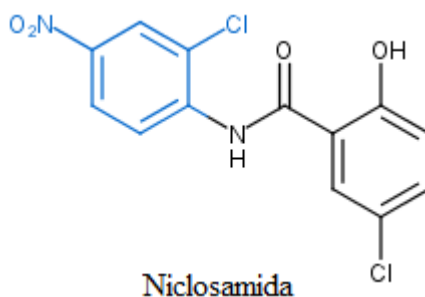


**Figura 25 - Fluazifop e piridaliil.**



A molécula GMB11 foi planejada após a análise da estrutura do antielmíntico niclosamida<sup>99</sup> (Figura 26).

**Figura 26 - Niclosamida.**



<sup>96</sup> Medical Subject Headings. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68008456>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

<sup>97</sup> Cieslik et al. (2017).

<sup>98</sup> Isayama et al. (2005).

<sup>99</sup> Human Metabolome Database. Disponível em: <<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB15679>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

As outras moléculas da série foram planejadas a fim de se averiguar o efeito dos substituintes.

Ademais, de acordo com o trabalho de Fellig et al. (1970), fenóis propargilados apresentam efeito sinérgico com o carbaril, inseticida largamente empregado na agricultura. Quatro dos compostos sintetizados pelos autores são os mesmos intermediários para a formação das moléculas GMB7, GMB8, GMB9 e GMB12.

#### 4.2 Parâmetros físico-químicos para determinação de padrão *drug-likeness*.

Dentre os filtros de propriedades físico-químicas que já foram elaborados para determinação do padrão *drug-likeness*, o mais amplamente conhecido é o elaborado por Lipinski et al. (2001).<sup>100</sup> Segundo os autores, para que um candidato a fármaco apresente uma boa permeabilidade e solubilidade, características importantes para a bioviabilidade oral, ele deve enquadrar-se dentro dos seguintes critérios:

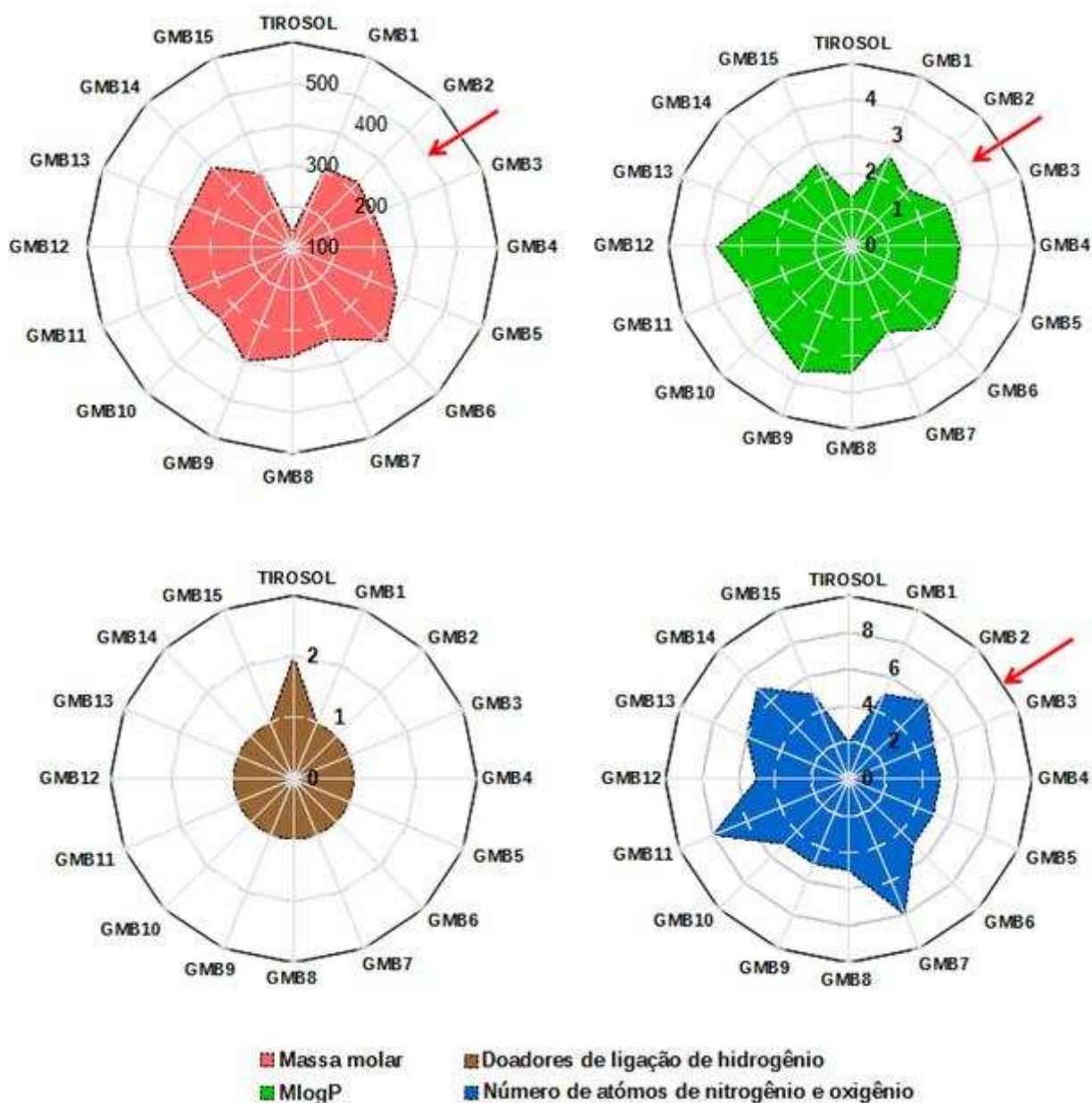
- A massa molar está abaixo de  $500 \text{ g mol}^{-1}$ ;
- O MlogP (logP calculado pelo método de Moriguchi) está abaixo de 4,15;
- Não há mais que 5 doadores de ligação de hidrogênio;
- A soma dos átomos de nitrogênio e oxigênio (aceptores de ligação de hidrogênio) é menor que 10.

A Figura 27 ilustra graficamente estes critérios. Os valores das propriedades foram calculados pelo *software* MedChem Designer<sup>®</sup>, com exceção das massas molares, calculadas pelo Marvin Sketch<sup>®</sup>. A porção colorida do gráfico indica a região dentro da qual os parâmetros se encontram. A intercessão da borda da região colorida com o raio do círculo indica o valor da propriedade para cada composto, individualmente. As setas em vermelho indicam o limite superior da propriedade. O número de doadores de ligação de hidrogênio deve ser menor que 5, e o valor máximo do gráfico é 3, portanto está fora da abrangência do gráfico. As mesmas observações, com as devidas adaptações, aplicam-se também aos outros gráficos.

---

<sup>100</sup> Trata-se de uma regra empírica, que admite exceções como, por exemplo, para o caso do candidato a fármaco ser substrato para algum transportador biológico. (LIPINSKI et al., 2001).

**Figura 27** - Gráficos dispendo as propriedades dos critérios de Lipinski para os compostos sintetizados, em comparação com o Tirosol. A massa molar está em g mol<sup>-1</sup>.



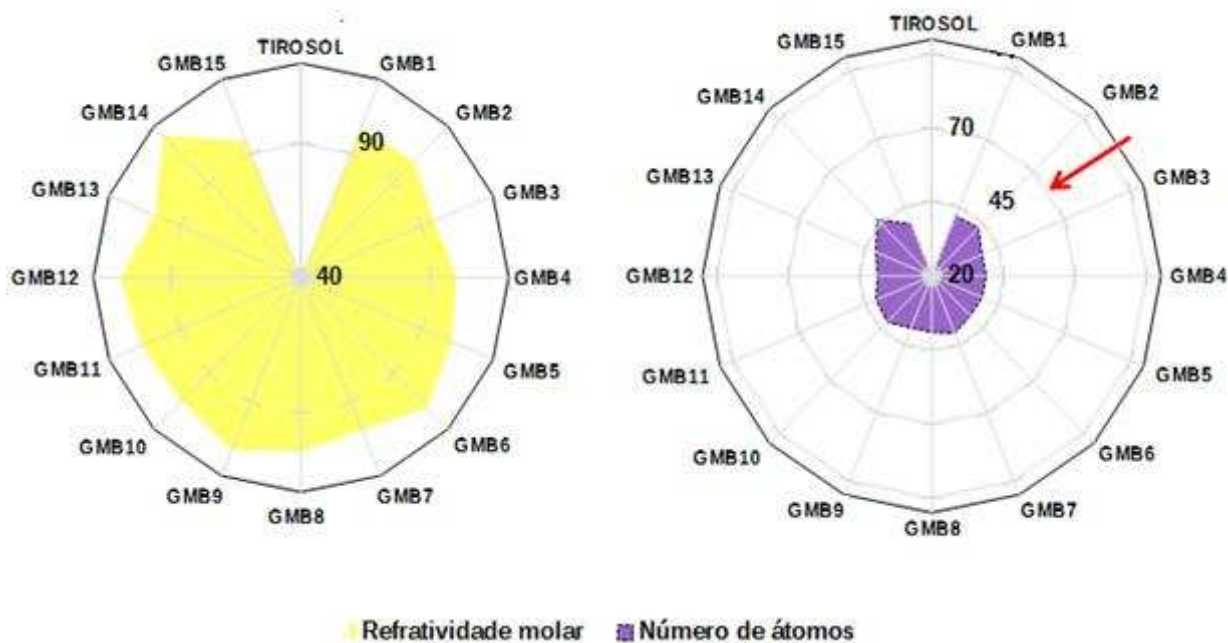
Como pode ser verificado a partir dos gráficos, todos os compostos enquadram-se dentro dos parâmetros físico-químicos propostos por Lipinski.

Com vistas de analisar mais detalhadamente o potencial das moléculas planejadas atuarem como fármacos, empregaram-se também os parâmetros idealizados por outros pesquisadores. Ghose, Viswanadhan e Wendoloski (1999), além dos parâmetros apresentados, propuseram os seguintes parâmetros:

- Refratividade molar entre 40 e 130 cm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>;
- Número de átomos entre 20 e 70.

A Figura 28 ilustra graficamente estas propriedades. Os valores dos parâmetros foram calculados pelo *software* Marvin Sketch<sup>®</sup>.

**Figura 28** - Gráficos dispoendo as propriedades dos critérios de Ghose, Viswanadhan e Wendoloski (1999) para compostos sintetizados, em comparação com o Tirosol. A refratividade molar está em  $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}$ .



A observação dos gráficos permite verificar que todos os derivados do Tirosol possuem refratividade molar dentro da faixa determinada. O mesmo pode ser afirmado para o número de átomos, sendo apenas o próprio Tirosol a estar situado exatamente no limite inferior proposto pelos autores.

Ghose, Viswanadhan e Wendoloski (1999), propuseram ainda um critério mais rigoroso que o de Lipinski et al. (2001) para a massa molar. Segundo os autores, esta deve estar situada entre  $160$  e  $480 \text{ g mol}^{-1}$ . A partir deste novo critério, apenas o próprio Tirosol estaria abaixo do limite inferior proposto pelos autores.<sup>101</sup>

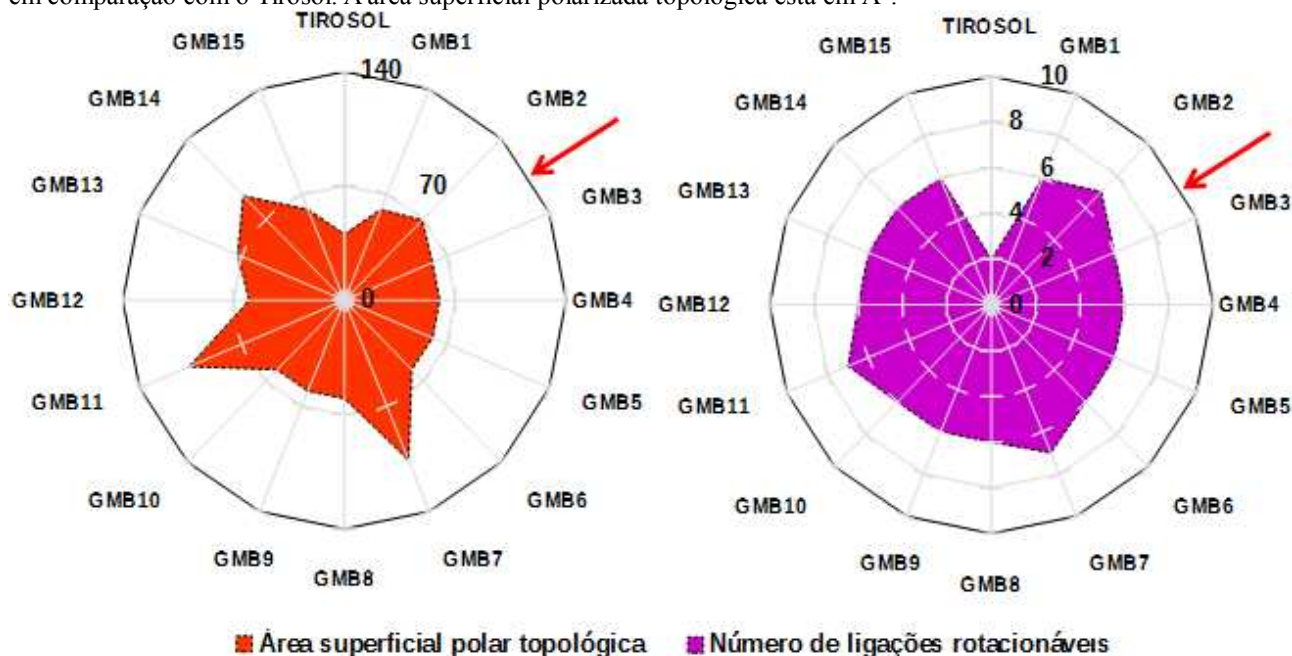
Por fim, Veber *et al.* (2002) propuseram que apenas o número de ligações químicas rotacionáveis, relacionado com a rigidez da molécula, e a área superficial polarizada topológica, relacionada à permeabilidade em relação à membrana celular, eram critérios suficientes para discriminar bons candidatos a fármacos. Segundo os autores, seria necessário:

<sup>101</sup> O método para o cálculo de logP usado pelos autores não foi o de Moriguchi, de maneira que a faixa proposta por eles para os valores do coeficiente de partição octanol-água não será discutida.

- Número de ligações rotacionáveis menor que 10;
- Área superficial polarizada topológica igual ou menor que 140 Å<sup>2</sup>.

A Figura 29 ilustra graficamente a aplicação destes critérios às moléculas planejadas. Os valores para o a área superficial polarizada topológica (Å<sup>2</sup>) foram calculados pelo *software* MEDChem<sup>®</sup>, enquanto os valores para o número de ligações rotacionáveis foram calculados pelo Marvin Sketch<sup>®</sup>.

**Figura 29** - Gráficos dispendo as propriedades dos critérios de Veber et al. (2002) para compostos sintetizados, em comparação com o Tirosol. A área superficial polarizada topológica está em Å<sup>2</sup>.



Como pode ser observado a partir dos gráficos, todos os compostos planejados obedecem estes critérios.

### 2.3 Parâmetros físico-químicos para determinação de padrão *agrochemical-likeness*.

Tice (2001) analisou 136 herbicidas pós-emergenciais e 243 inseticidas, chegando às seguintes conclusões:

- A massa molar está entre 150 -500 g mol<sup>-1</sup>;
- O MlogP (logP calculado pelo método de Moriguchi) está entre 0 – 5 para inseticidas e ≤ 3,5 para herbicidas;
- O número de doadores de ligação de hidrogênio é ≤ 3 para herbicidas e ≤ 2 para inseticidas;

- A soma dos átomos de nitrogênio e oxigênio (aceptores de ligação de hidrogênio) está entre  $\geq 1$  e  $\leq 8$  para inseticidas e  $\geq 2$  e  $\leq 12$  para herbicidas;
- Número de ligações rotacionáveis menor que 12.

Conforme a Figura 27 e Apêndice A (p. 235), à exceção do próprio Tirosol, todos os análogos apresentam massa molar dentro da faixa proposta por Tice (2001). Considerando o MlogP, todas as estruturas enquadram-se na faixa proposta para inseticidas, enquanto os compostos GMB9 e GMB12 estão 5,0% acima do limite superior proposto para os herbicidas pós-emergenciais. Os demais parâmetros são obedecidos por toda a série planejada.

Hao, Dong e Yang (2011), por sua vez, considerando herbicidas, inseticidas e fungicidas que estrearam no mercado a partir de 1970 (presumivelmente com menor toxicidade), estabeleceram os seguintes critérios gerais:

- Massa molar  $\leq 435 \text{ g mol}^{-1}$ ;
- O clogP  $\leq 6$ ;
- O número de doadores de ligação de hidrogênio  $\leq 2$ ;
- A soma dos átomos de nitrogênio e oxigênio (aceptores de ligação de hidrogênio)  $\leq 6$ ;
- Número de ligações rotacionáveis  $\leq 9$ .
- Número de ligações de anéis aromáticos (relacionado à fotoestabilidade<sup>102</sup>)  $\leq 17$ .

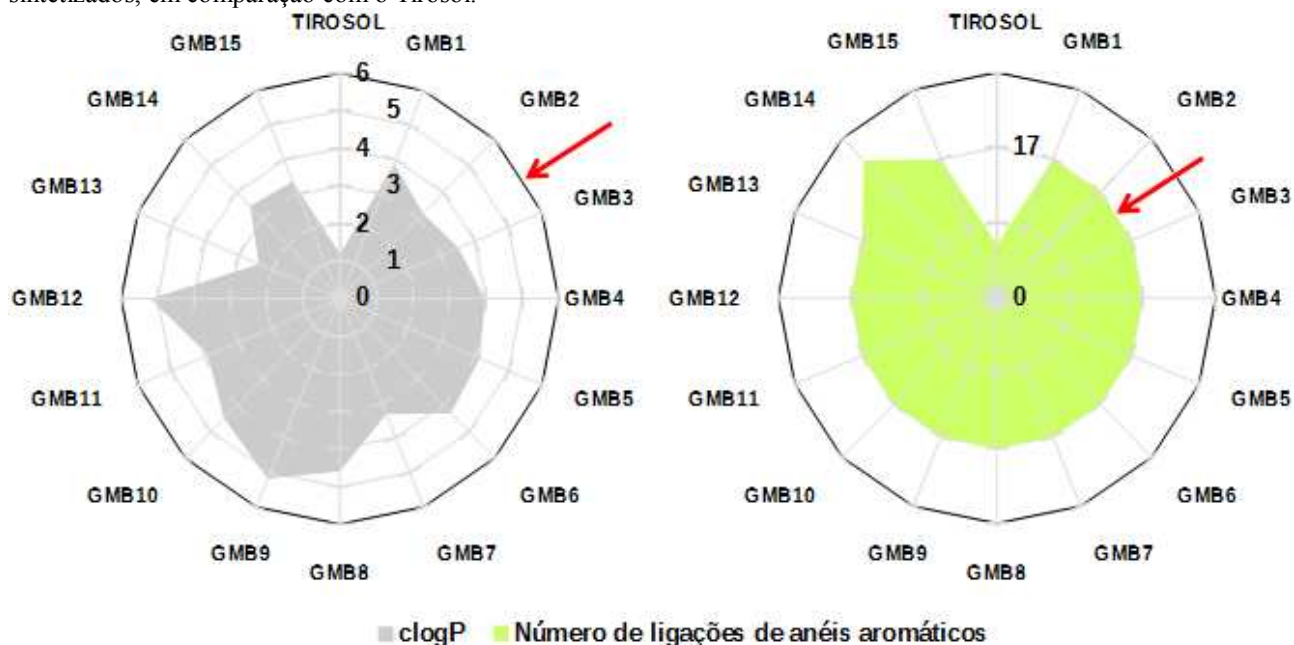
Novamente, como pode ser visto na Figura 27, todos os análogos planejados atendem ao critério da massa molar. O mesmo pode ser afirmado em relação ao número de doadores de ligação de hidrogênio e ligações rotacionáveis, conforme as Figuras 27 e 29. Em relação ao número de aceptores de ligação de hidrogênio<sup>103</sup>, no entanto, as moléculas GMB7, GMB11 e GMB14 ultrapassam de 16,7 a 33,3% do limite superior estabelecido (1 e 2 aceptores a mais, respectivamente). Os gráficos relacionando os valores de cLogP e número de ligações de anéis aromáticos podem ser verificados na Figura 30. As propriedades foram calculadas pelo *software* Marvin Sketch<sup>©</sup>.

---

<sup>102</sup> Diferentemente dos fármacos, agroquímicos são usados ao ar livre, de maneira que a fotoestabilidade torna-se uma das principais características que devem ser visadas durante seu planejamento. (HAO; DONG; YANG, 2011).

<sup>103</sup> Considerando como sendo idênticos ao número de átomos de oxigênio e nitrogênio.

**Figura 30** - Gráficos dispendo as propriedades dos critérios de Hao, Dong e Yang (2011) para compostos sintetizados, em comparação com o Tirosool.



Como pode ser constatado, todos os compostos enquadram-se dentro do limite superior para o valor de clogP. Em relação ao número de ligações químicas de anéis aromáticos, o composto GMB14 apresenta 5 ligações a mais, referentes à porção lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada diretamente ligada ao anel aromático.

## 5 CONCLUSÕES

A estratégia de hibridação molecular aliada ao uso dos parâmetros de *drug-likeness* e *agrochemical-likeness* permitiu a planejamento racional de 15 moléculas inéditas na literatura, com potencial para diversas atividades farmacológicas e agroquímicas. Apesar de não ser possível prever resultados biológicos seguramente a partir destas técnicas, trata-se de uma abordagem importante para o químico sintético que planeja criar entidades químicas biologicamente relevantes e cujas rotas sintéticas sejam economicamente viáveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências de *sites*, que já estão completas no capítulo, não foram repetidas.

ARAÚJO, C. R. M. et al. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: Uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual SciFinder®. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 868–873, 2015.

BOECK, P. **Obtenção de Moléculas Bioativas a partir de Substâncias Naturais E Sintéticas**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

CIESLIK, L. F. et al. Fluazipop-p-butyl Efficacy as a Function of Application Time and Herbicide Dose. **Planta Daninha**, v. 35, p. 1–7, 2017.

DELANEY, J. et al. Modern agrochemical research : a missed opportunity for drug discovery ? **Drug Discovery Today**, v. 11, n. 17/18, p. 839–845, 2006.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 55–68, 1999.

HAO, G.; DONG, Q.; YANG, G. A Comparative Study on the Constitutive Properties of Marketed Pesticides. **Molecular Informatics**, v. 30, p. 614–622, 2011.

ISAYAMA, S. et al. Pyridalyl, a Novel Insecticide : Potency and Insecticidal Selectivity. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 58, n. May 2004, p. 226–233, 2005.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 3–26, 2001.

SALUCCI, S. et al. Tyrosol prevents apoptosis in irradiated keratinocytes. **Journal of Dermatological Science**, v. 80, n. 1, p. 61–68, 2015.

SWANTON, C. J. et al. Similarities between the discovery and regulation of pharmaceuticals and pesticides : in support of a better understanding of the risks and benefits of each. **Pest Management Science**, v. 67, n. February, p. 790–797, 2011.

TICE, C. M. Selecting the right compounds for screening : does Lipinski's Rule of 5 for pharmaceuticals apply to agrochemicals ? **Pest Management Science**, v. 16, n. February 2000, p. 3–16, 2001.

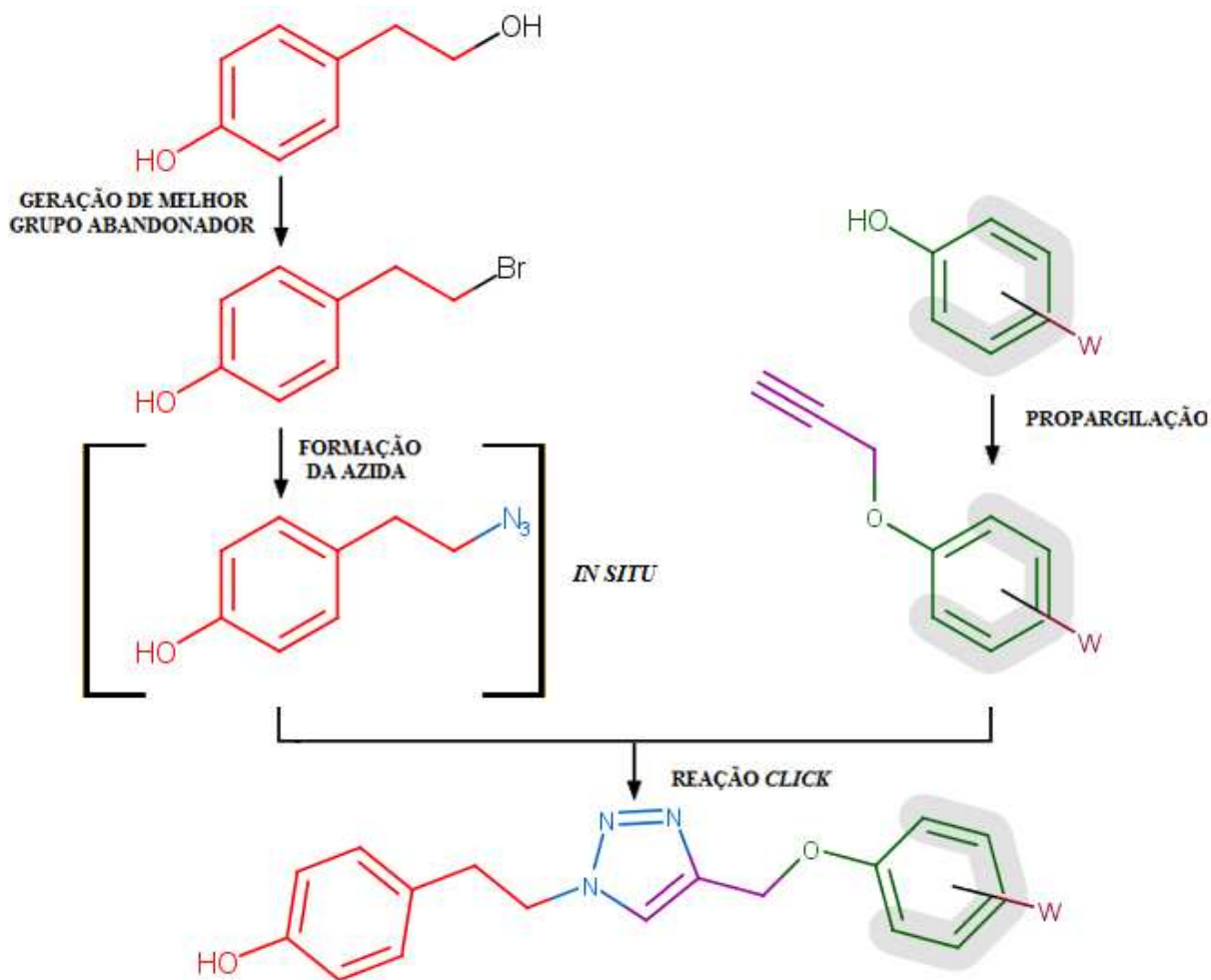
VEBER, D. F. et al. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2615–2623, 2002.

## **CAPÍTULO 4- SÍNTESE DOS DERIVADOS DO TIROSOL**

## 1 MATERIAIS E MÉTODOS

A síntese dos derivados do Tirosol foi realizada a partir de uma rota convergente pela reação entre a azida orgânica obtida a partir do Tirosol e compostos propargilados. A Figura 31 ilustra esquematicamente como a síntese foi realizada. Para o composto GMB13 houve a propargilação de uma amida, ao invés de um fenol. Tal exceção será discutida na seção 2.14 (p. 109).

**Figura 31** - Esquema geral para obtenção dos derivados triazólicos do Tirosol.



W: grupo variável (em toda a região sombreada) para os diferentes derivados.

## 1.1 Generalidades metodológicas

Todos os reagentes e solventes foram obtidos comercialmente e utilizados sem purificação prévia, com exceção da acetonitrila, que foi destilada e colocada em peneira molecular (mistura de 3 e 4 Å), e do fenol, que foi lavado com hexano.

As reações foram acompanhadas através de cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando para isso placas WHATMAN AL/SIL G/UV254. Os compostos foram revelados utilizando solução básica de permanganato de potássio.

As colunas cromatográficas foram realizadas utilizando sílica gel (230 – 400 Mesh) como fase estacionária.

As análises de espectroscopia no infravermelho foram realizadas em equipamento FT-IR VARIAN 660 equipado com GladiATR (Departamento de Química – Universidade Federal de Viçosa).

Os espectros de massas foram obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI, 70 eV), em equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A, no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) (Departamento de Química – Universidade Federal de Viçosa). Excepcionalmente, os espectros de massas para os compostos Alk1, Alk7 e Alk15 foram obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI) em equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra (Departamento de Química – Universidade Federal de Viçosa).

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz) e de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) foram realizados em equipamento Bruker 300 MHz (Departamento de Química – Universidade Federal de Alfenas). Com exceção do derivado TYRBR, dissolvido em  $\text{CDCl}_3$ , todos os outros espectros foram obtidos em acetona- $d_6$ .

As faixas de temperatura de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 MICROQUÍMICA, no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) (Departamento de Química – Universidade Federal de Viçosa).

### 1.1.1 Síntese do 4-(2-bromoetil)fenol (TYRBR)<sup>104</sup>

Ao frasco reacional<sup>105</sup> adicionou-se 2,49 mmol de Tirosol e, em seguida, 25 mL de HBr 48% (m/m). A solução foi então aquecida na faixa de 70-80 °C e submetida a agitação magnética por 17 h. Após este tempo deixou-se a mistura reacional esfriar até a temperatura ambiente, realizando-se em seguida extração com diclorometano (4 x 20 mL). As fases orgânicas combinadas foram secas com sulfato de magnésio anidro (MgSO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas em evaporador rotatório. O produto foi purificado cromatograficamente com fase móvel hexano e AcOEt na proporção 5:1 (v/v).

### 1.1.2 Síntese de derivados aromáticos propargilados (Alk)<sup>106</sup>

Uma mistura do fenol correspondente (1 mmol), e carbonato de potássio anidro (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2 mmol), foi mantida sob agitação por 5-10 min, sob atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se 165 µL de solução de brometo de propargila em tolueno (80% m/m-1,5 mmol) e manteve-se a agitação por 24 h à temperatura de 50 °C. Ao término da reação, ACOEt ou DCM foi adicionado e a mistura foi filtrada através de filtração simples. O filtrado foi evaporado com o auxílio de ar comprimido ou deixado evaporar naturalmente. O resíduo obtido foi utilizado posteriormente sem purificação prévia.

Variação: o produto Alk13 foi sintetizado a partir de 1 mmol da amida correspondente e foi purificado por filtração em funil de vidro sinterizado com sílica gel utilizando mistura hexano e AcOEt (2:1, v/v).

---

<sup>104</sup> A conversão do grupo alcoólico do Tirosol em um grupo brometo foi realizada conforme metodologia adaptada de Zhang e Liu (2016).

<sup>105</sup> Por frasco reacional entender frasco de vidro tipo penicilina.

<sup>106</sup> Inicialmente a propargilação foi testada com diferentes metodologias, utilizando diferentes solventes (acetona, DMSO, DMAC, água com catalisador de transferência de fase) e diferentes condições reacionais, tomando-se a reação com o *p*-cresol (síntese do Alk1) como modelo. As reações foram acompanhadas qualitativamente com CCD, sendo que em nenhuma delas houve consumo completo do reagente. Por fim, o uso de acetonitrila mostrou-se eficaz, segundo metodologia adaptada de Munagala et al. (2015). Padronizou-se o tempo reacional como 24h.

### 1.1.3 Síntese dos triazóis (GMB)<sup>107</sup>

A um frasco reacional adicionaram-se 1 eq de 4-(2-bromoetil)fenol (TYRBR) (0,55 mmol), 1,1 eq de azida (0,55 mmol) e 1 mL de DMAC. Deixou-se o sistema reacional em agitação por 4-5 h (preferencialmente 5 h), depois das quais adicionaram-se, nesta ordem: 1 eq do alquino (0,5 mmol; Alk1-Alk15), 0,3 eq de ascorbato de sódio (0,15 mmol), 0,15 eq de  $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,096 mmol) e 1 mL de água destilada (preferencialmente adicionou-se o sulfato de cobre já como suspensão com a água). Em algumas reações, após essas etapas, foi necessário a adição posterior de mais DMAC e água, conforme a Tabela 1.

A elaboração foi realizada pela adição de 20 mL de solução de HCl  $\sim 0,6 \text{ mol L}^{-1}$ , seguido da extração com AcOEt (4 x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas, secas com  $\text{MgSO}_4$  anidro e concentradas em evaporador rotatório. A maioria dos compostos foi solidificada pela adição repetida de éter de petróleo. Das reações que haviam se completado, o resíduo obtido foi filtrado com o auxílio de sílica para remoção de resquícios de cobre<sup>108</sup> ou DMAC, utilizando mistura gradiente de hexano e AcOEt na proporção inicial de 1:1 (v/v). Lavou-se posteriormente os compostos com hexano.

Variação 1: A síntese do GMB1 deu-se na escala de 0,2 mmol de TYRBR, mantendo-se as proporções em equivalentes.

Variação 2: as reações que não completaram nas condições utilizadas foram purificadas em coluna cromatográfica, nas proporções indicadas na Tabela 1.

---

<sup>107</sup> Os triazóis foram sintetizados através de metodologia *one-pot* adaptada de Anand et al. (2016).

<sup>108</sup> Conforme recomendação de Creary et al. (2012).

**Tabela 1** - Condições reacionais e de purificação para a síntese dos triazóis.

Reação	Proporção final de DMAC: H <sub>2</sub> O (em mL)	Tempo reacional (h)	Coluna (Hexano: AcOEt , v/v)
GMB1 <sup>a</sup>	1:1	<i>overnight</i>	Não se aplica.
GMB2 <sup>b</sup>	1:1	16	Não se aplica.
GMB3	1:1	37	2:1
GMB4	1:1	37	2:1
GMB5	1:1	21	Não se aplica.
GMB6	5:1	23	Não se aplica.
GMB7	2:1	69	5:1/1:1/Acetona
GMB8 <sup>d</sup>	2:1	<i>overnight</i>	Não se aplica.
GMB9	5:1	48	2:1
GMB10	1:1	16	Não se aplica.
GMB11	2:1	20	Não se aplica.
GMB12	6:2	48	2:1
GMB13 <sup>c</sup>	1:1	15	Não se aplica.
GMB14	4:1	44	1:6
GMB15	1:1	23	3:7

<sup>a,b</sup> Não foi lavado com hexano; <sup>c</sup>Elaboração realizada com água destilada em vez de solução ácida; <sup>d</sup> Composto foi lavado com DCM.

## 2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de evitar prolixidade, optou-se por referir apenas as bandas mais importantes de infravermelho para a elucidação dos compostos. O Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) pode ser considerado como uma impressão digital da molécula. As sobreposições e interferências mútuas entre os vários modos vibracionais das ligações tornam inviável a atribuição de todas as bandas em uma análise de rotina.<sup>109</sup> A elucidação de todos os espectros (infravermelho, massas e RMN) seguiu como referências básicas Barbosa (2013), Fulmer (2010), Pavia et al. (2012) e Silverstein e Webster (2000).

Para os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$ , por serem as técnicas mais importantes comumente utilizadas na elucidação estrutural em química orgânica, optou-se por realizar uma descrição detalhada das atribuições. A numeração utilizada nas estruturas e empregada para a identificação estrutural não corresponde àquela aplicada pela IUPAC na nomenclatura de compostos orgânicos. Deve-se atentar que, para as regiões das moléculas sintetizadas que são idênticas, a numeração não é necessariamente a mesma. Para conferir a semelhança estrutural basta verificar as figuras, inseridas em todos os espectros. Os nomes dos compostos foram gerados automaticamente pelo *software* MarvinSketch<sup>®</sup> 17.28.

A simplicidade estrutural dos alquinos fez com que estes fossem caracterizados apenas pelas técnicas de infravermelho e espectrometria de massas. As bandas mais importantes dos espectros de infravermelho são as localizadas em  $\sim 3285\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento  $\text{C}_{\text{sp}}\text{-H}$  e  $\sim 2120\text{ cm}^{-1}$ , correspondente ao estiramento  $\text{C}\equiv\text{C}$ . Os espectros de massas de todos os alquinos são acompanhados com as Propostas de fragmentações referentes a alguns dos picos. Uma exceção é o alquino Alk12 que, por ser isômero de posição do alquino Alk9, não se julgou necessário mostrar as fragmentações. Os picos mais relevantes são, sem dúvida alguma, os picos dos íons moleculares, que corroboram para a confirmação da estrutura.

Como toda a série GMB (exceção GMB13) possui dois anéis tipo benzênicos, as sobreposições das bandas no infravermelho tornam difícil distinguir algum estiramento característico do anel triazólico ( $\text{C}=\text{N}$ ).

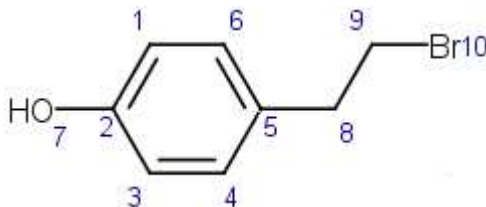
---

<sup>109</sup> Barbosa (2013).

## 2.1 TYRBR: 4-(2-bromoetil)fenol

A estrutura química (Figura 32) e os dados da caracterização do derivado TYRBR podem ser verificados abaixo.

Figura 32 - Estrutura química TYRBR.



**Massa molar:** 201,063 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 199,984 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>OBr.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 70%.

**Temperatura de fusão:** 88,0-89,5 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3180 (estiramento O-H), 1610, 1596, 1509 (estiramento C=C de anel aromático), 1443 (estiramento C=C de anel aromático), 1362, 1315, 1230, 1206, 1118, 1087, 851, 832, 776, 628, 525 (estiramento C-Br de cadeia alifática), 487.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,09 (2H, t,  $J = 7,5$  Hz, H8), 3,53 (2H, t,  $J = 7,5$  Hz, H9), 5,06 (1H, s, H7), 6,76-6,82 (2H, m, H1 e H3), 7,05-7,12 (2H, m, H4 e H6).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  (atribuição): 33,6 (C9), 38,7 (C8), 115,6 (C1 e C3), 130,0 (C4 e C6), 131,3 (C5), 154,5 (C2).

**EM,  $m/z$  (%):** 202 (10), 201 (0,7), 200 (M<sup>+</sup> 10), 199 (0,02), 198 (0,1), 121 (21), 107 (100).

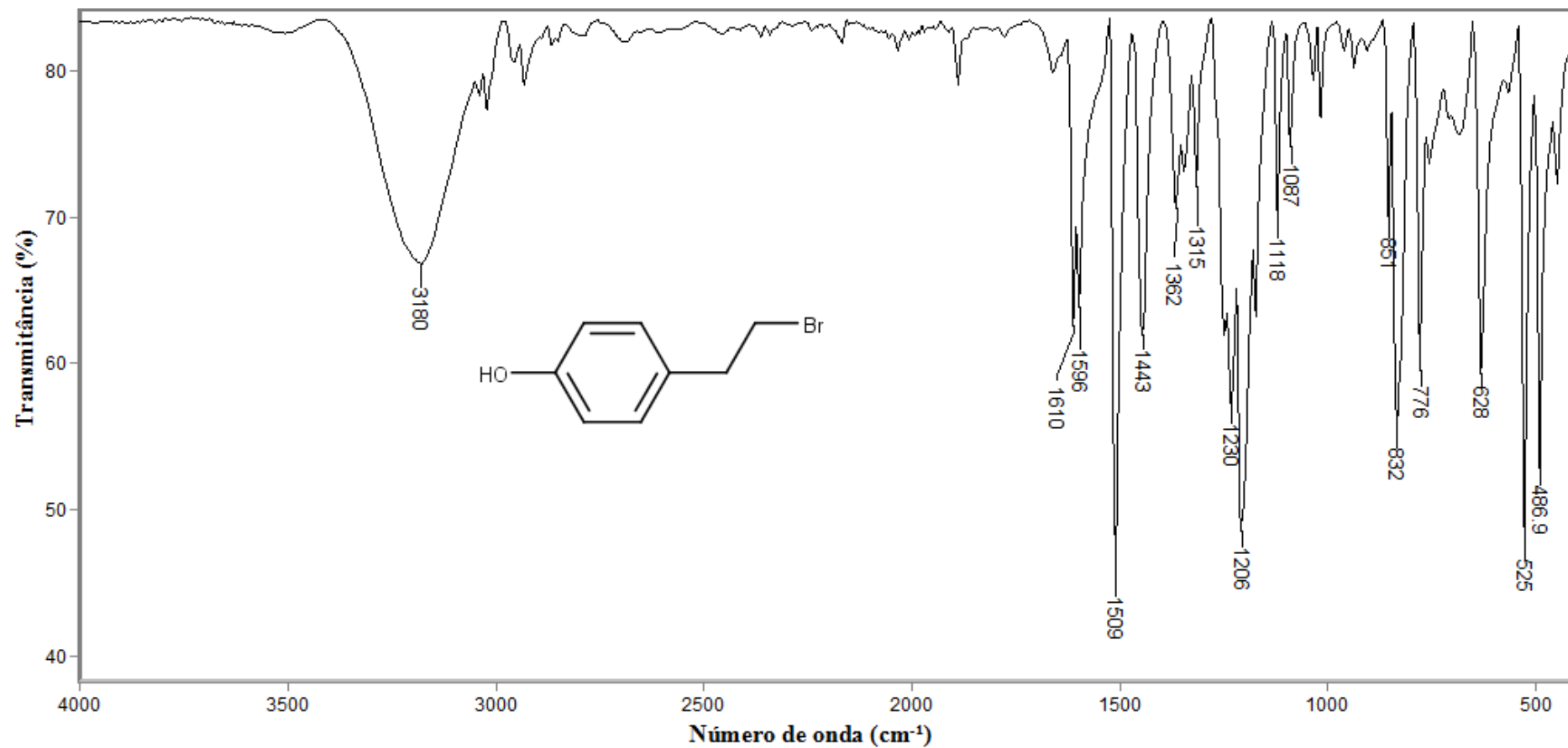
No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 36, p. 60) os sinais referentes aos hidrogênios ligados a anel aromático aparecem entre 6,5-8,0 ppm, região que lhes é característica. Os hidrogênios H1 e H3, por estarem *orto* à hidroxila, são mais blindados devido ao efeito de deslocalização de elétrons do oxigênio, apresentando, portanto, deslocamento químico menor. Devido à simetria da molécula os hidrogênios H1 e H3 apresentam o mesmo deslocamento químico. O mesmo se aplica aos hidrogênios H4 e H6. Os hidrogênios H9, por sua vez, estão próximos ao átomo de bromo, apresentando o deslocamento esperado entre 2,7-4,1 ppm. Hidrogênios metilênicos benzílicos aparecem na região de 2,4-2,6 ppm sendo, portanto, mais

blindados que aqueles próximos ao átomo de bromo. O efeito indutivo retirador de elétrons do átomo de bromo, à distância de três ligações apenas, pode justificar o valor superior encontrado em relação aos hidrogênios metilênicos benzílicos típicos.

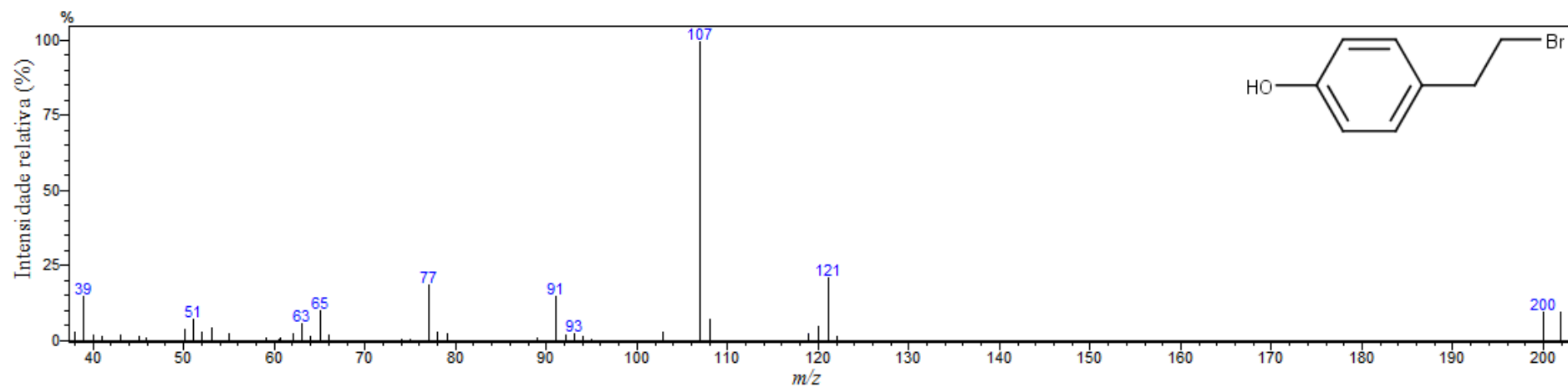
O acoplamento entre os núcleos dos hidrogênios H8 e H9, por sua vez, é verificado pelas constantes de acoplamento idênticas e o efeito telhado pronunciado dos sinais que são, como esperado, tripletos. O sinal do hidrogênio H7, referente à hidroxila fenólica, também aparece na região que lhe é típica, isto é, 4-7 ppm. Devido à capacidade de realizar ligações de hidrogênio e a possibilidade de trocar o hidrogênio pelo deutério do solvente é de se esperar que este sinal, no entanto, possa aparecer em regiões bastante distintas, ou mesmo ser suprimido.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 37, p. 61) pode-se observar as baixas intensidades para os sinais dos carbonos C2 e C5, condizentes com os longos tempos de relaxação e menor efeito nuclear Overhauser (NOE) para carbonos quaternários (*ipso*). O carbono C2, por estar diretamente ligado ao átomo de oxigênio, é mais desblindado que o carbono C5, devido ao efeito indutivo retirador de densidade eletrônica. Os sinais dos carbonos C1, C3, C4 e C6 podem ser identificados na região entre 100-175 ppm, própria de carbonos em anéis aromáticos. Devido à simetria do anel os carbonos C1/C3 e C4/C6 apresentam um único sinal para cada par, com maior intensidade. O efeito doador de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons do átomo de oxigênio proporciona uma maior blindagem sobre os carbonos em posição *orto* ao oxigênio, de maneira que os carbonos C1/C3 estão mais blindados que os carbonos C4/C6. Por fim, os sinais para os carbonos C8 e C9 estão entre 15-55 ppm, região própria de carbonos metilênicos, sendo o carbono C8, benzílico, mais desblindado que o carbono C9, ligado a halogênio.

Figura 33 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto TYRBR.



**Figura 34** - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto TYRBR.



**Figura 35** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do TYRBR.

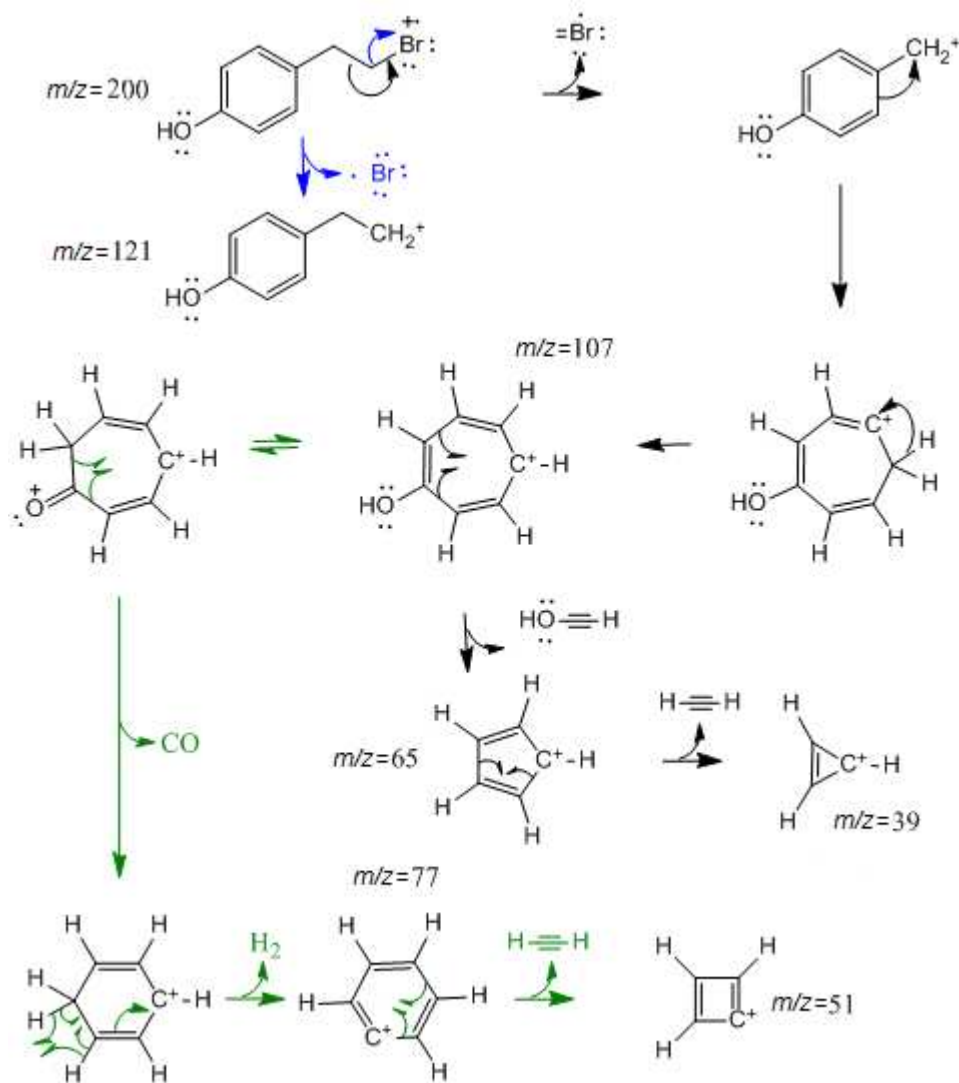


Figura 36 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) para o composto TYRBR.

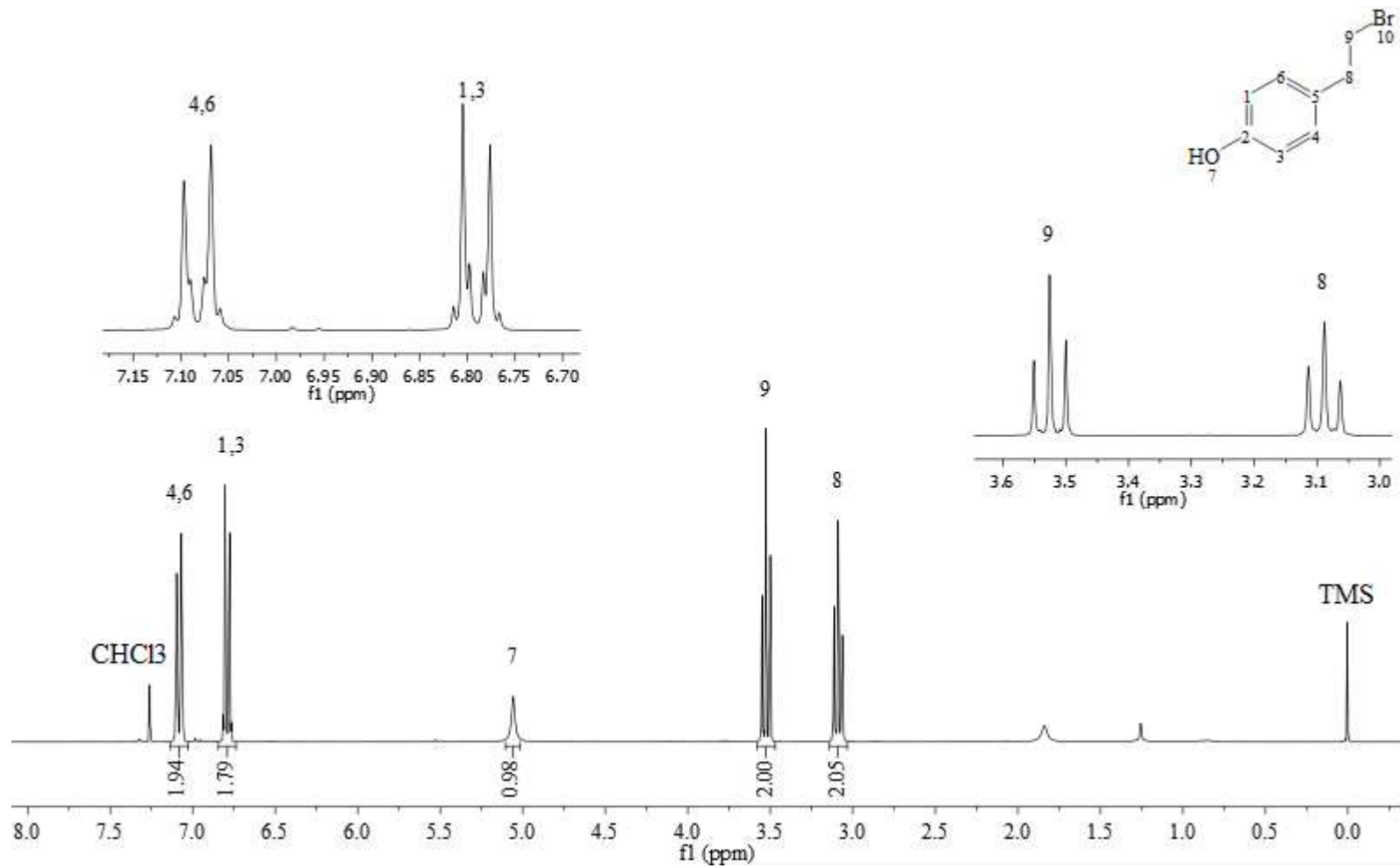
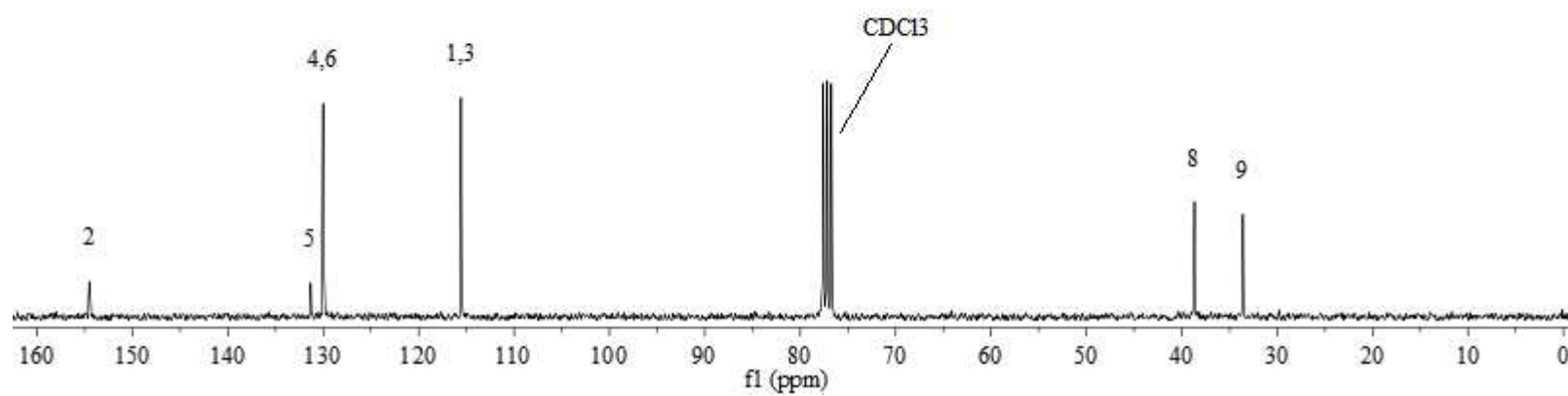
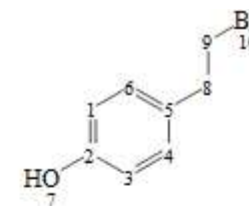


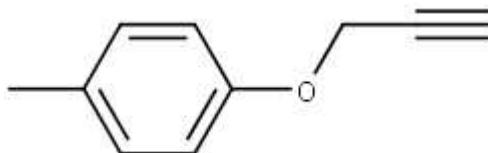
Figura 37 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto TYRBR.



## 2.2 Alk1: 1-metil-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 38) e os dados da caracterização do derivado Alk1 podem ser verificados abaixo.

Figura 38 - Estrutura química Alk1.



**Massa molar:** 146,189 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 146,073 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O.

**Aparência:** líquido amarelo.

**Rendimento:** 91% (estimado por CG).

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3289 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 3031, 2922, 2864, 2121 (estiramento C≡C), 1611, 1588, 1509, 1453 (dobramento assimétrico da metila), 1376 (dobramento simétrico CH<sub>3</sub>), 1293, 1260, 1214, 1177, 1108, 1029, 924, 815, 740, 644, 509, 482.

**EM, m/z (%):** 147 (9), 146 (M<sup>+</sup> 77), 145 (78), 131 (90), 117 (63), 115 (28), 107 (85), 103 (23), 91 (24), 79 (77), 78 (25), 77 (100), 51 (27), 39 (46).

Figura 39 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk1.

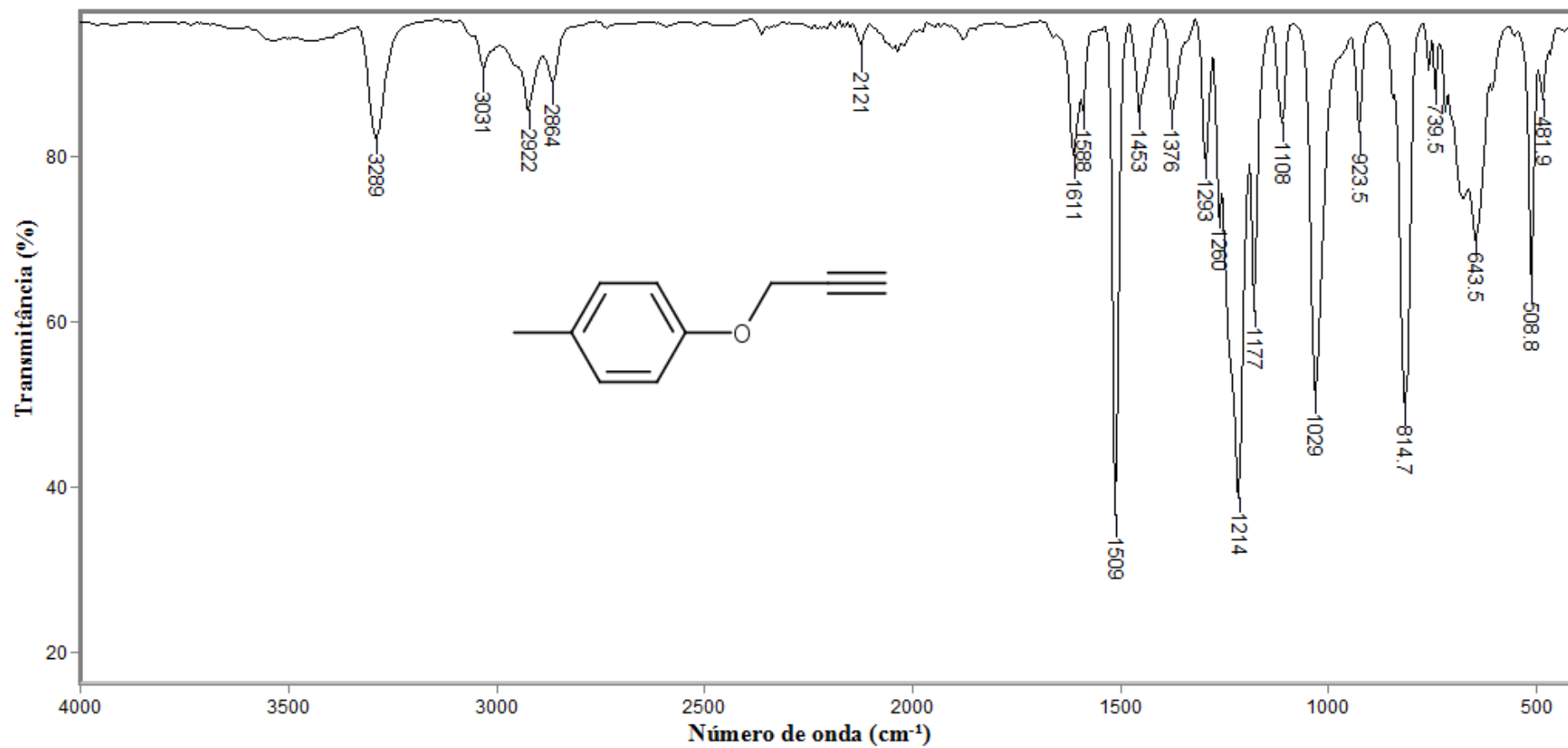
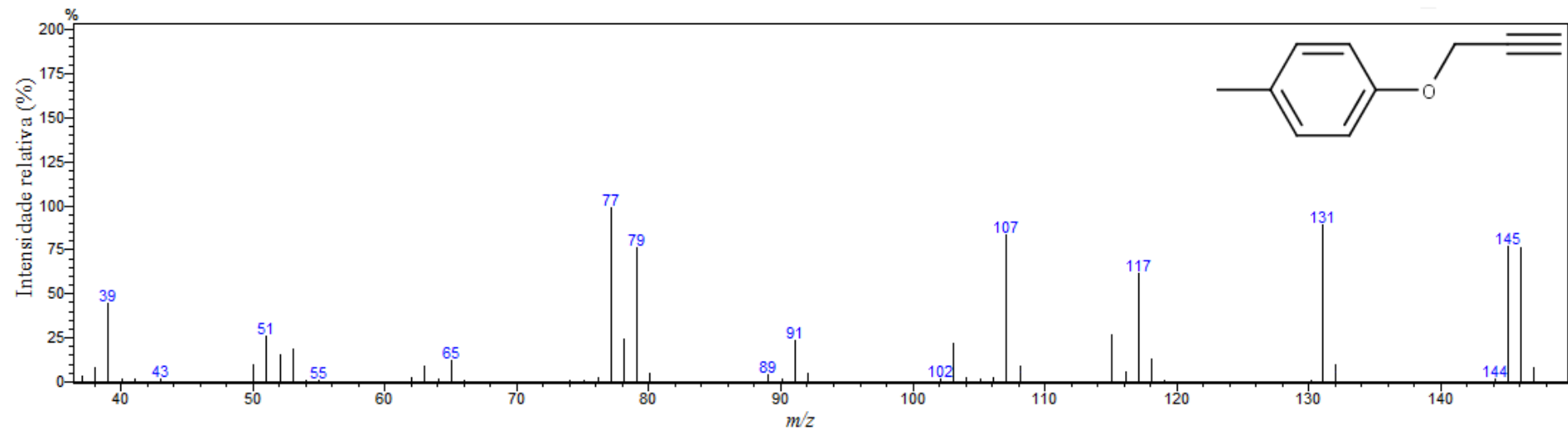
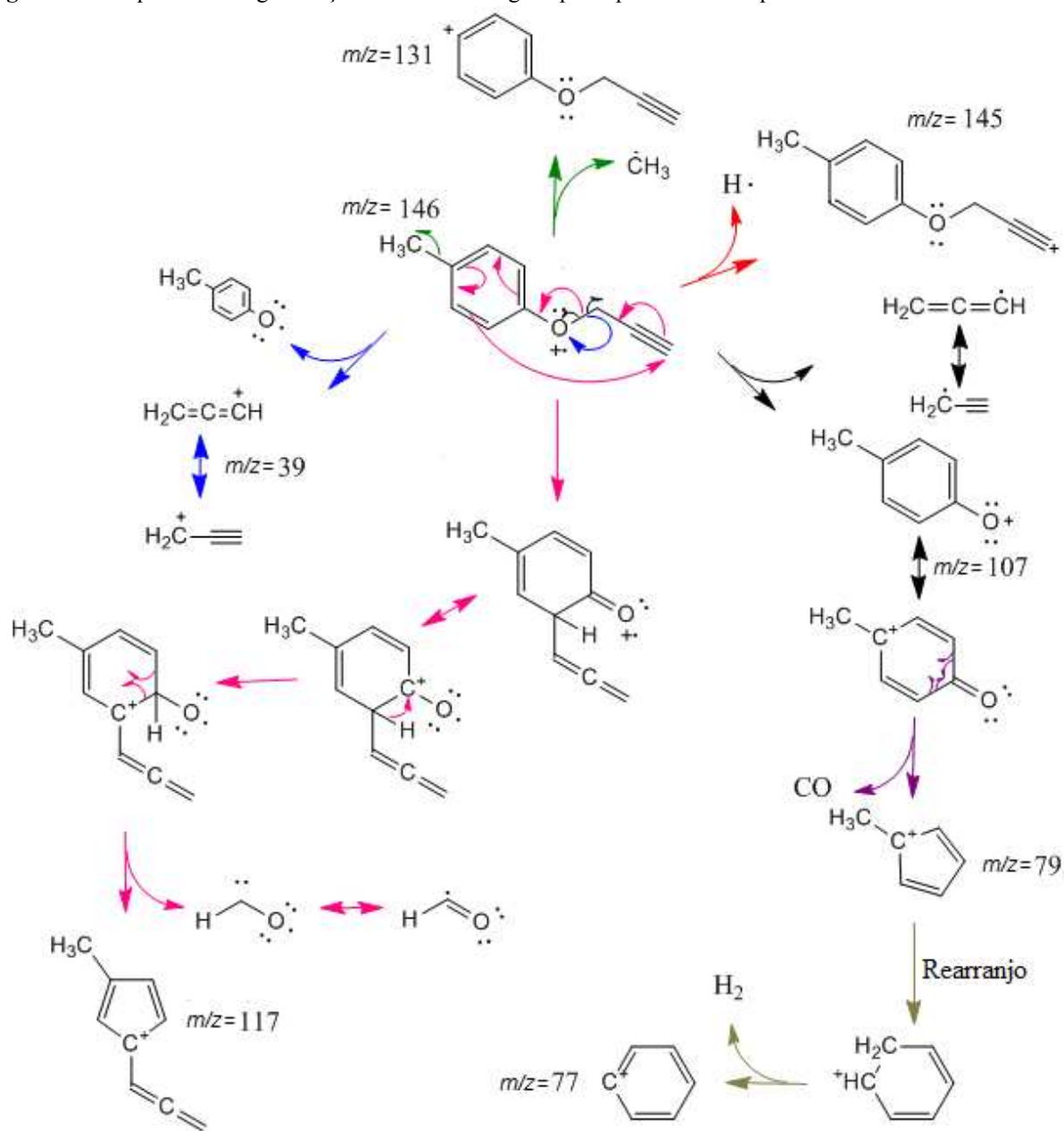


Figura 40 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk1.



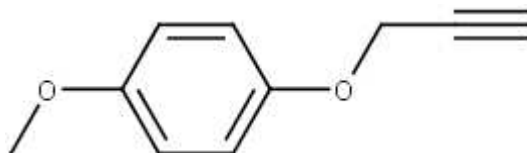
**Figura 41** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk1.



### 2.3 Alk2: 1-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 42) e os dados da caracterização do derivado Alk2 podem ser verificados abaixo.

Figura 42 - Estrutura química Alk2.



**Massa molar:** 162,188 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 162,068 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** líquido amarelo.

**Rendimento:** 55%.<sup>110</sup>

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3285 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 3046, 3001, 2953, 2909, 2863, 2835, 2120 (estiramento C≡C), 2033, 1593, 1503 (estiramento C=C de anel aromático), 1455 e 1442 (dobramento assimétrico da metila e *scissoring* do metileno), 1375 (dobramento simétrico CH<sub>3</sub>), 1294, 1264, 1203, 1180, 1109, 1034, 922, 822, 751, 707, 674, 639, 599, 563, 519, 462.

**EM,  $m/z$  (%):** 162 (M<sup>+</sup> 24), 123 (100), 95 (26), 41 (19), 39 (22).

---

<sup>110</sup> Este alquino foi excepcionalmente elaborado utilizando água destilada, o que pode justificar seu baixo rendimento.

Figura 43 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk2.

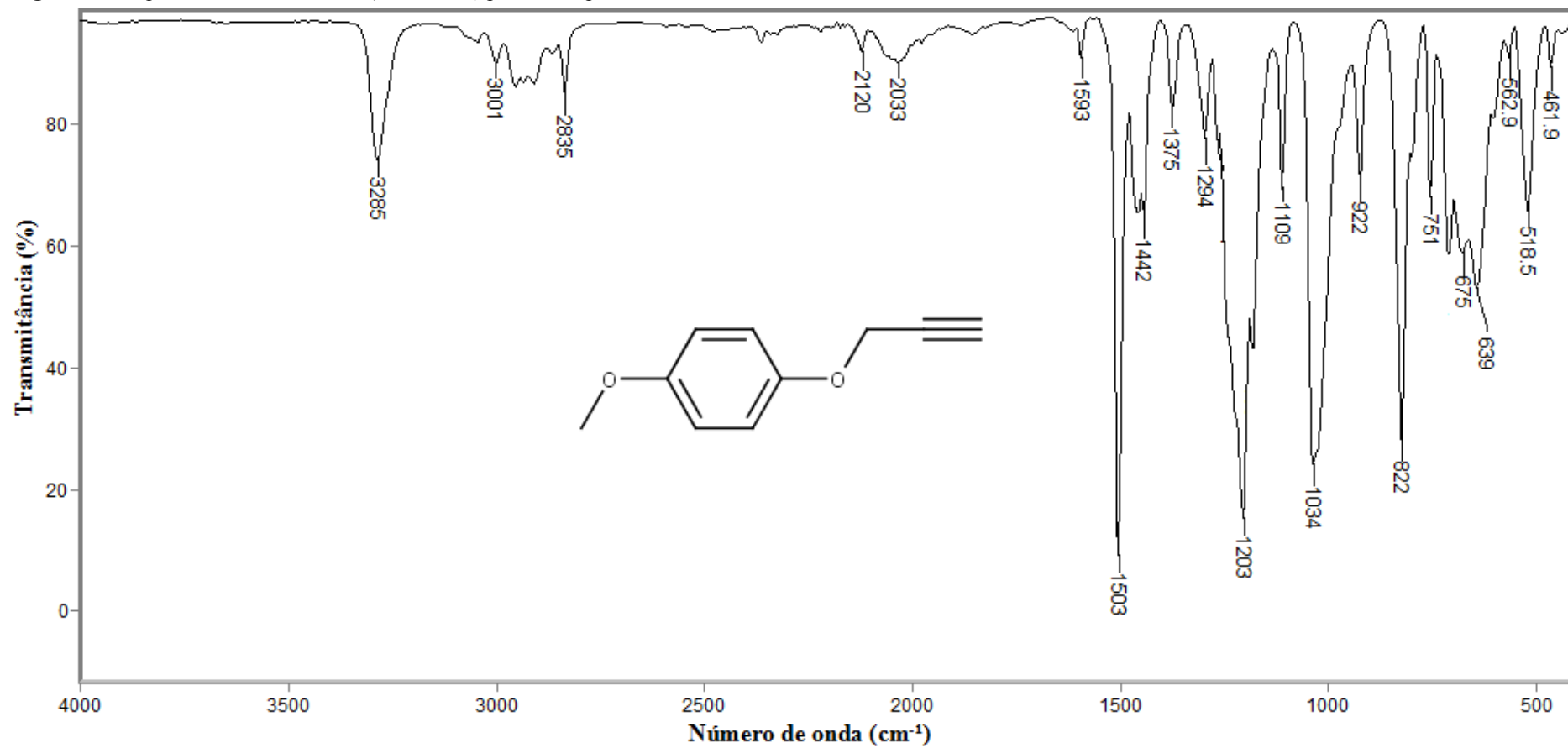
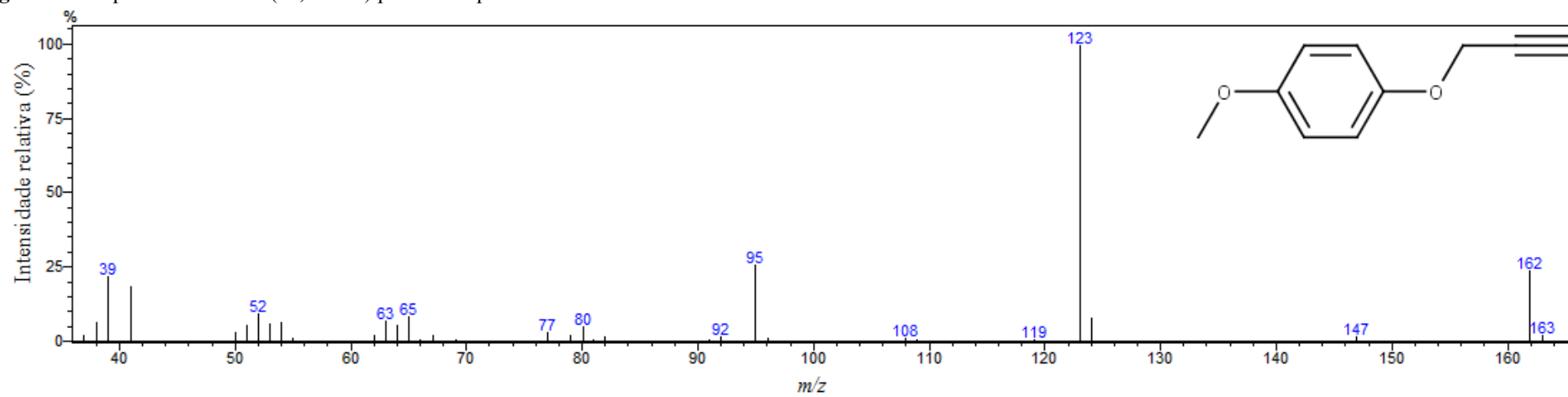
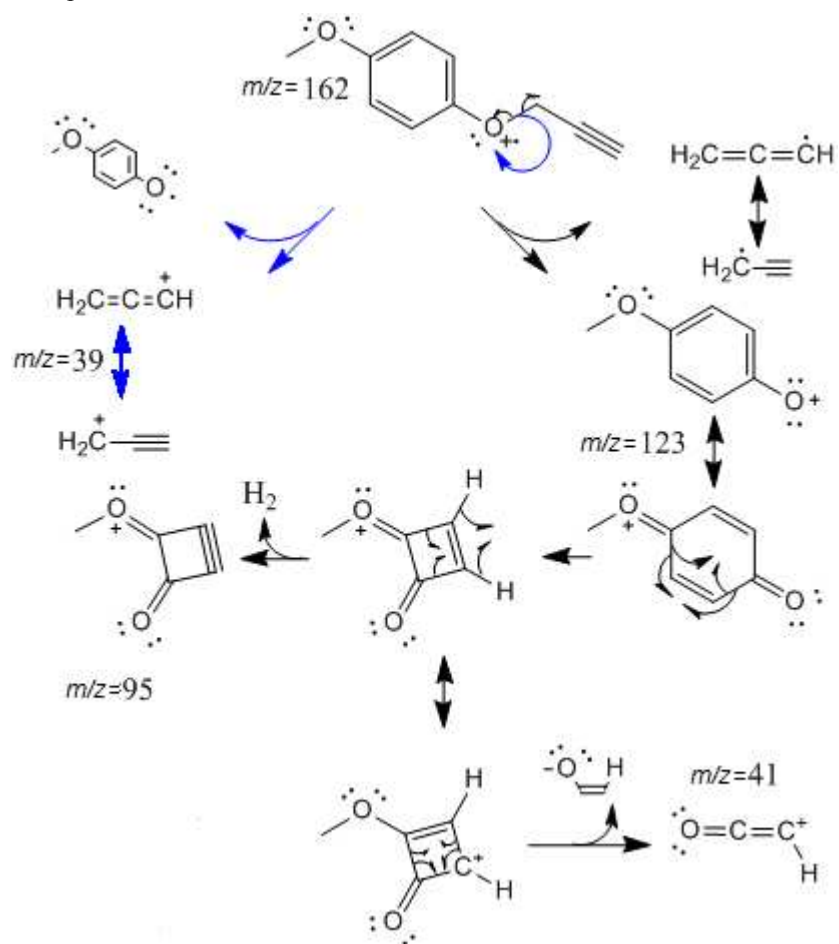


Figura 44 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk2.



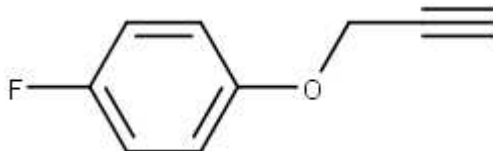
**Figura 45** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk2.



## 2.4 Alk3: 1-fluoro-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 46) e os dados da caracterização do derivado Alk3 podem ser verificados abaixo

Figura 46 - Estrutura química Alk3.



**Massa molar:** 150,152 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 150,048 u.

**Aparência:** líquido amarelo.

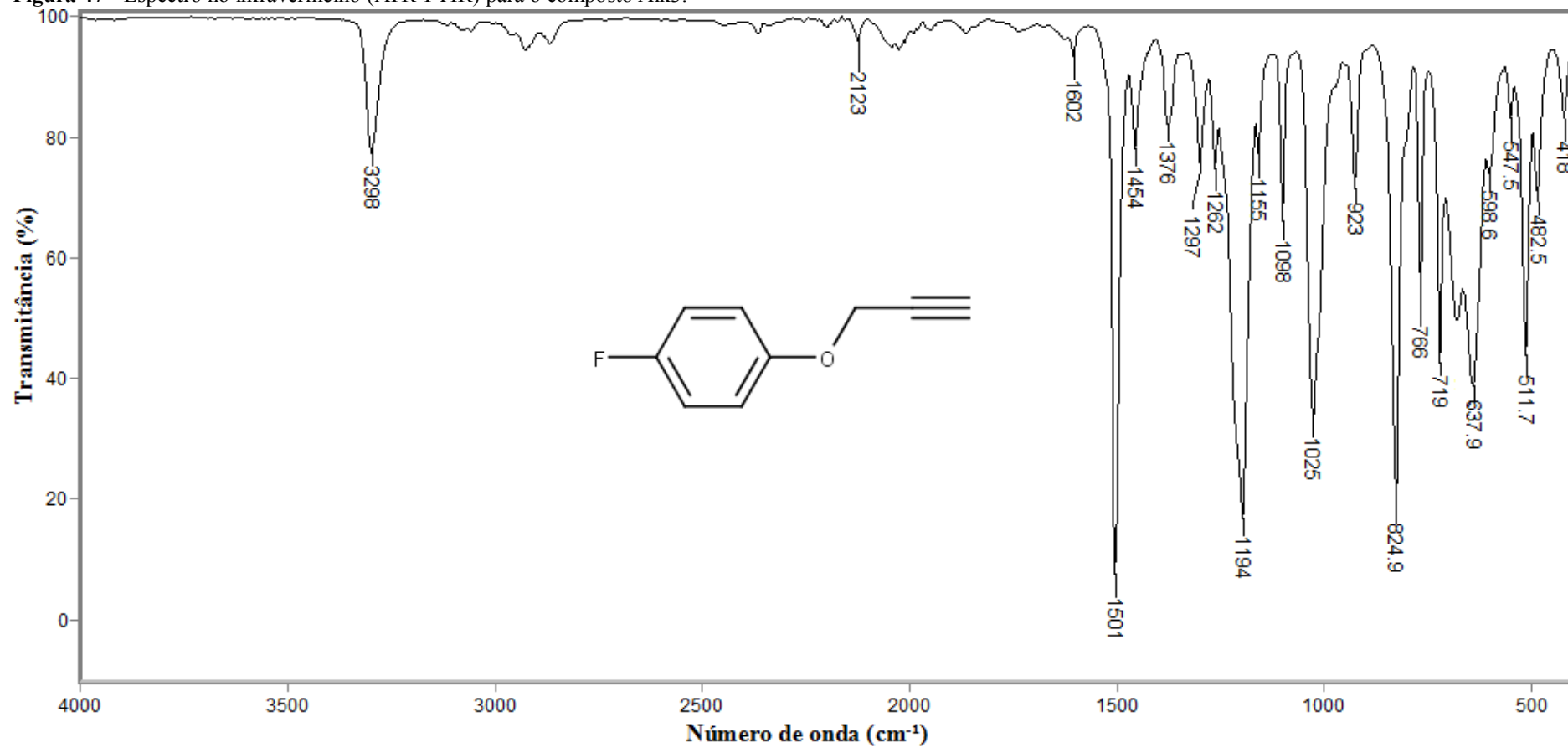
**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>FO.

**Rendimento:** 58%.

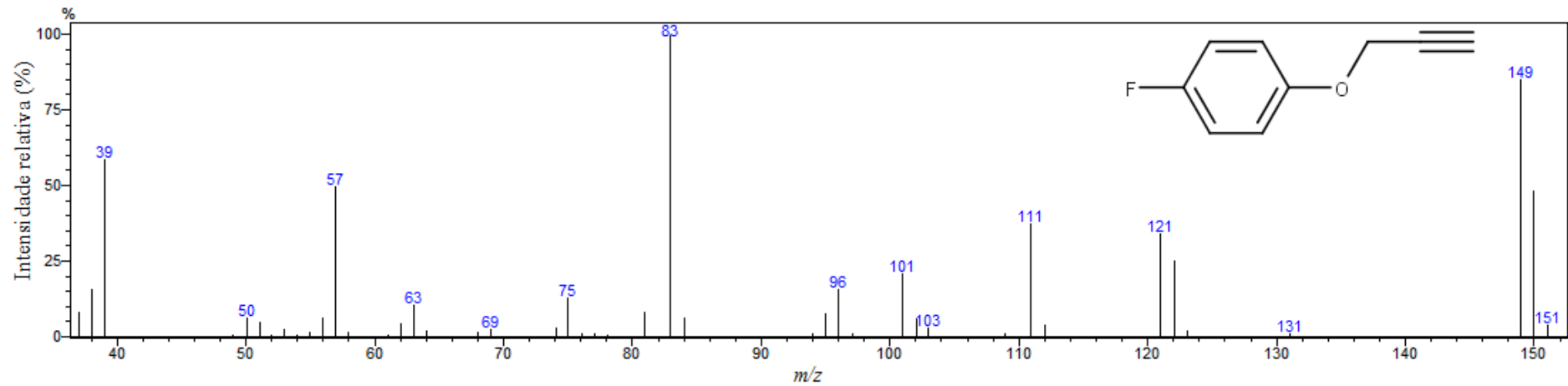
**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3298 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 2924, 2865, 2123 (estiramento C≡C), 2043, 2026, 1947, 1861, 1602, 1501 (estiramento C=C de anel aromático), 1454 (*scissoring* do metileno), 1376, 1297, 1262, 1194 (estiramento C-F de anel aromático), 1155, 1098, 1025, 923, 825, 766, 719, 677, 638, 599, 548, 512, 482, 418.

**EM, *m/z* (%):** 151 (5), 150 (M<sup>+</sup> 50), 149 (86), 122 (26), 121 (35), 83 (100), 111 (38), 101 (22), 57 (51), 39 (59).

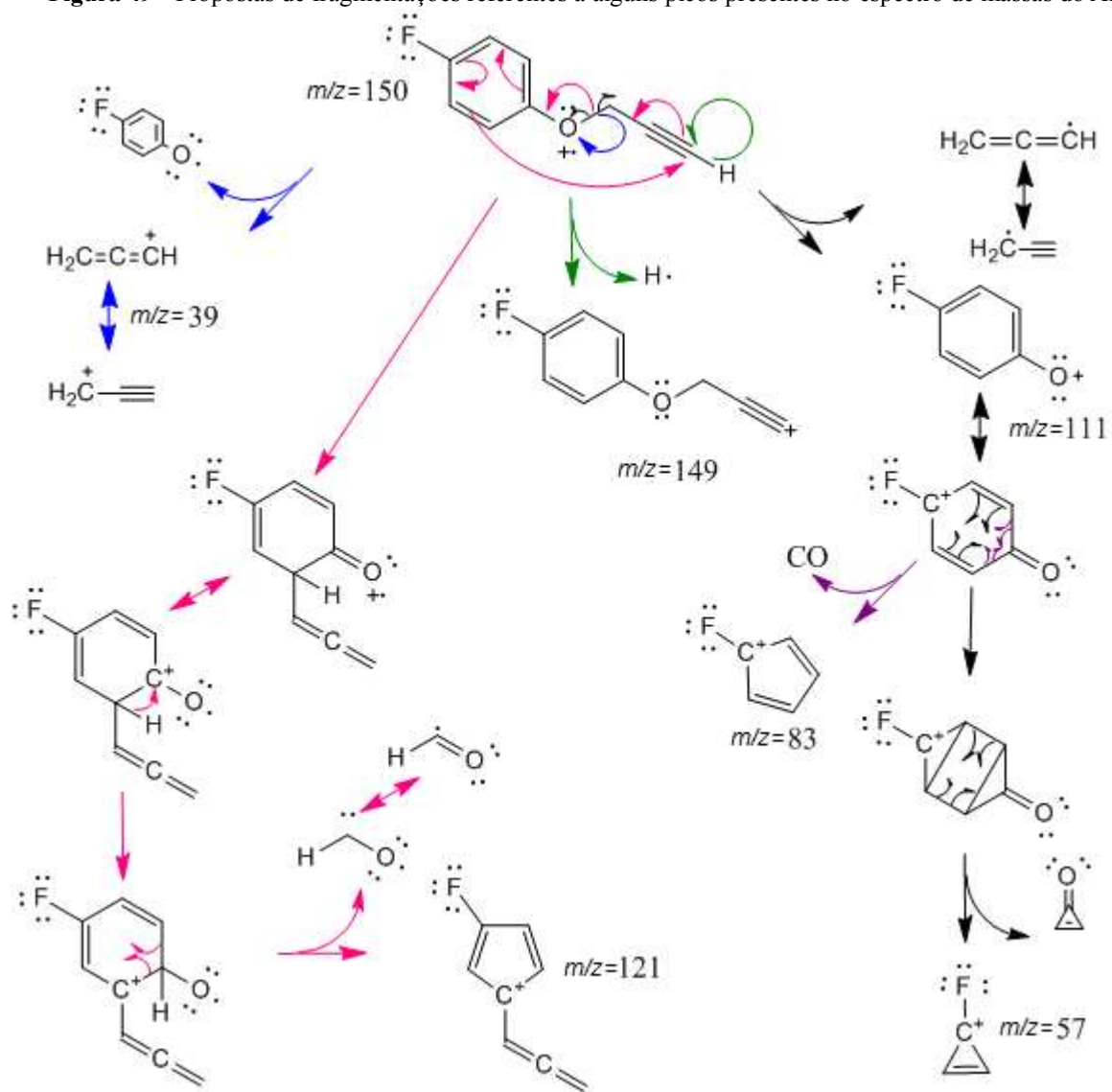
Figura 47 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk3.



**Figura 48** - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk3.



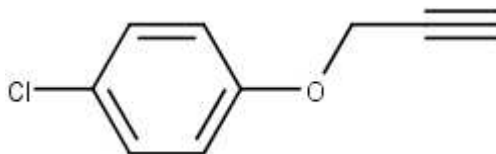
**Figura 49** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk3.



## 2.5 Alk4: 1-cloro-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 50) e os dados da caracterização do derivado Alk4 podem ser verificados abaixo.

Figura 50 - Estrutura química Alk4.



**Massa molar:** 166,60 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 166,019 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>ClO.

**Aparência:** líquido amarelo.

**Rendimento:** 95%.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3294 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 2922, 2871, 2184, 2122 (estiramento C≡C), 2038, 2017, 1594, 1583, 1487, 1453 (*scissoring* do metileno), 1407 (estiramento C=C de anel aromático), 1375, 1287, 1258, 1233, 1215, 1171, 1092 (estiramento C-Cl de anel aromático), 1024, 1009, 924, 821, 678, 637, 624, 597, 504, 439.

**EM, m/z (%):** 170 (0,1), 169 (0,9), 168 (10), 167 (8), 166 (M<sup>+</sup> 32), 165 (15), 131 (100), 127 (32), 103 (36), 101 (27), 99 (67), 75 (21), 73 (29), 63 (31), 39 (56), 38 (24).

Figura 51 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk4.

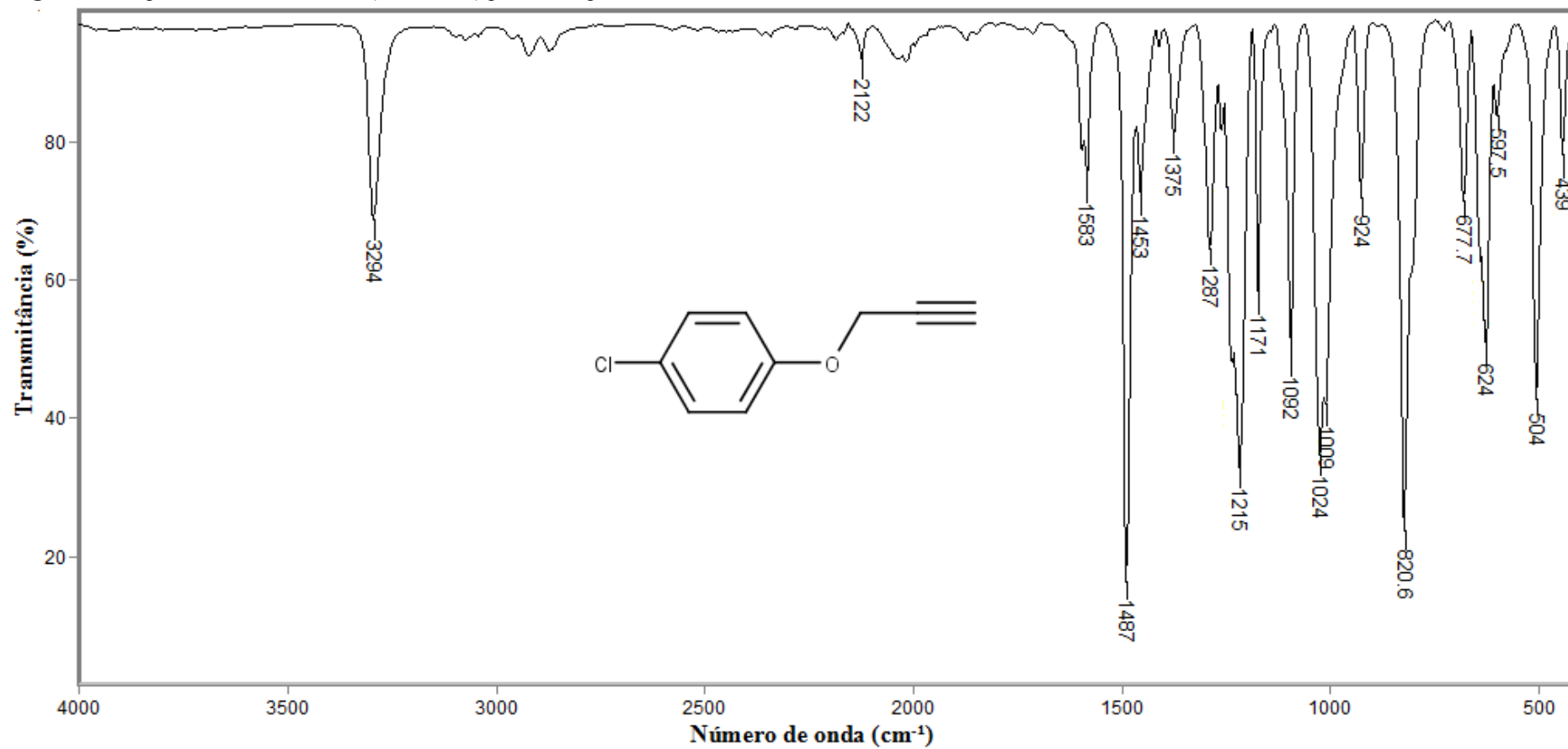


Figura 52 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk4.

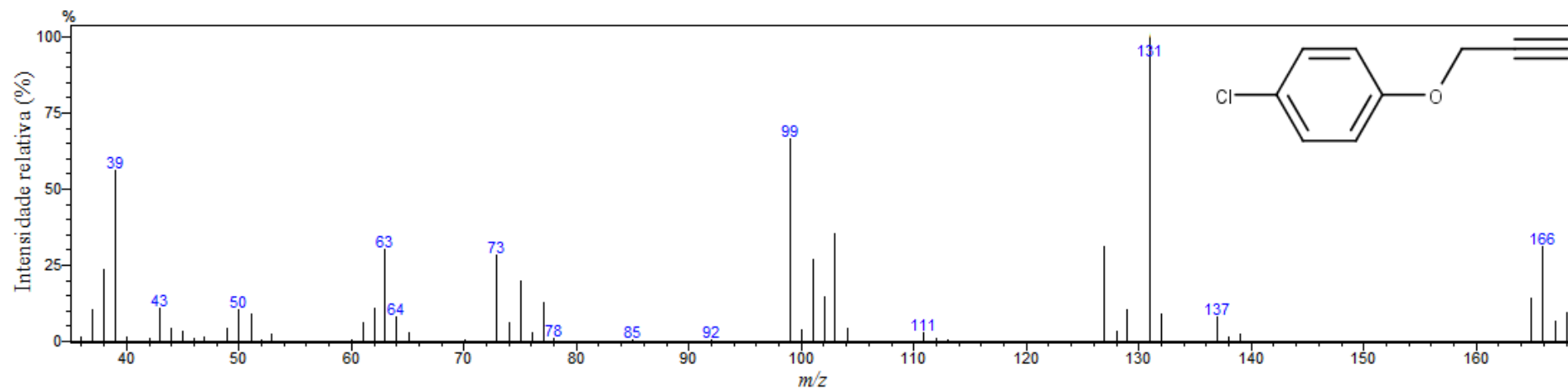
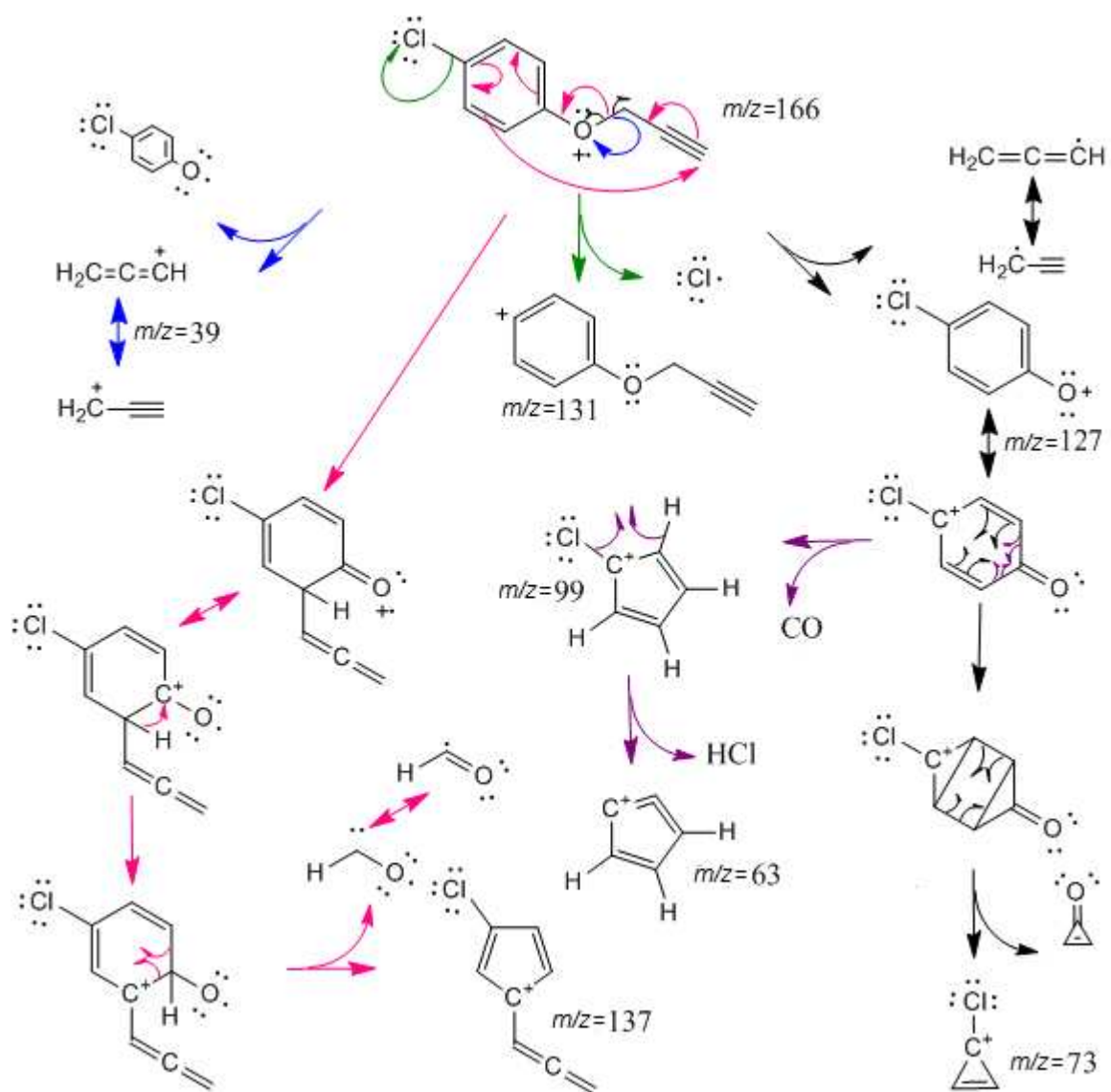


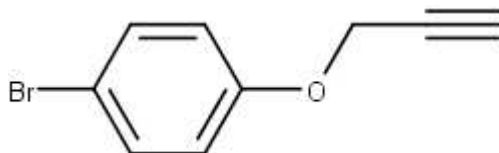
Figura 53 - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk4.



## 2.6 Alk5: 1-bromo-4-(prop-2-ino-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 54) e os dados da caracterização do derivado Alk5 podem ser verificados abaixo.

Figura 54 - Estrutura química Alk5.



**Massa molar:** 211,058 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 209,968 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>BrO.

**Aparência:** líquido amarelo.

**Rendimento:** 93%.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3292 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 2919, 2869, 2122 (estiramento C≡C), 2026, 1579, 1484 (estiramento C=C de anel aromático), 1453 (*scissoring* do metileno), 1286, 1216, 1373, 1172, 1114, 1102, 1071 (estiramento C-Br de anel aromático), 1023, 1003, 924, 818, 676, 636, 600, 589, 501, 419.

**EM,  $m/z$  (%):** 213 (2), 212 (19), 211 (8), 210 (M<sup>+</sup>·20), 209 (7), 145 (32), 131 (100), 103 (45), 102 (20), 77 (21), 64 (29), 63 (53), 39 (51), 38 (34).

Figura 55 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk5.

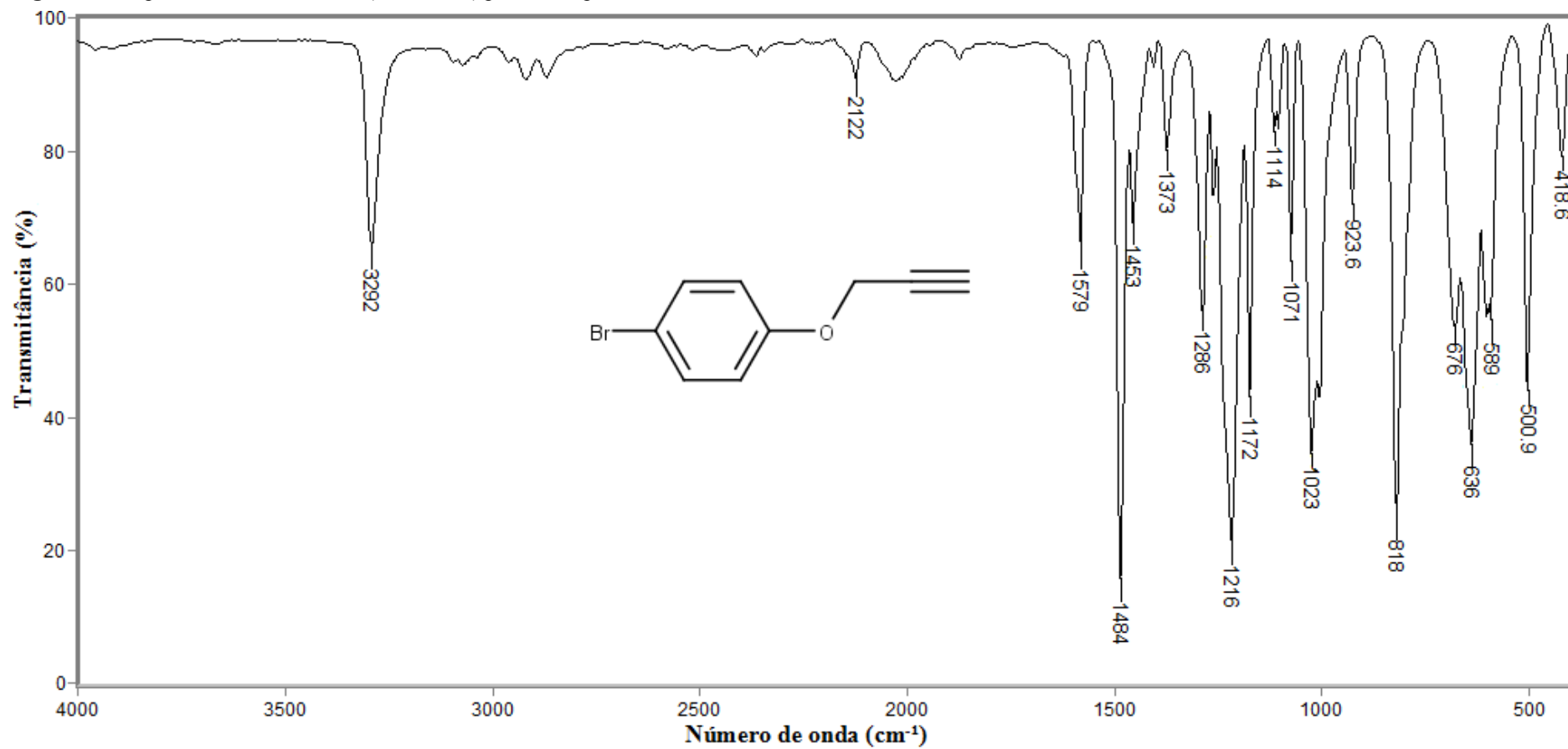
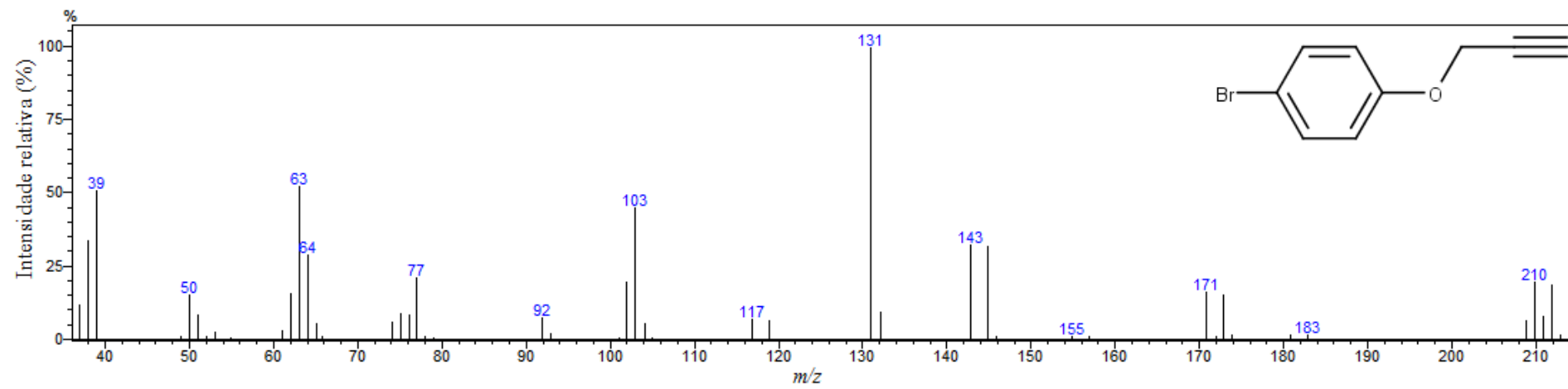
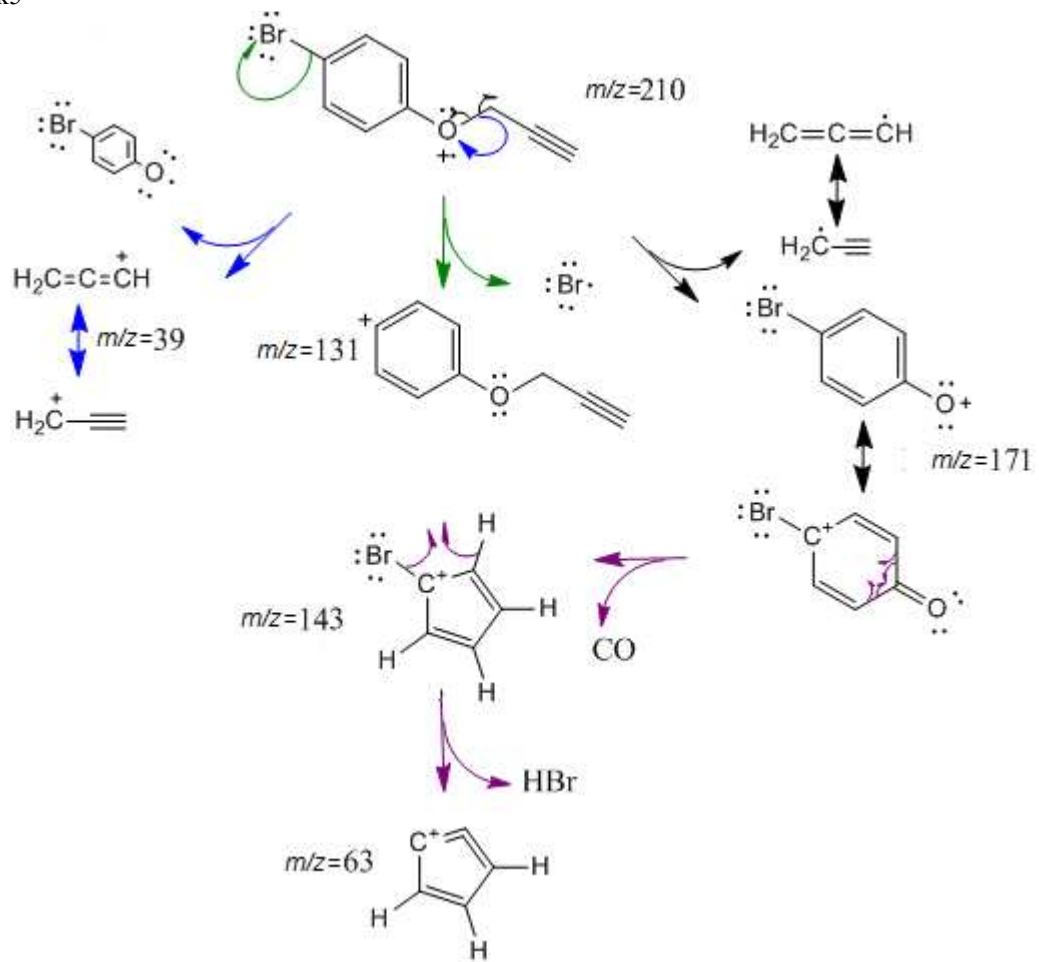


Figura 56 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk5.



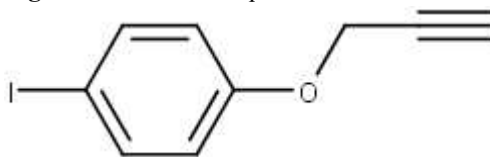
**Figura 57** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk5



## 2.7 Alk6: 1-iodo-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 58) e os dados da caracterização do derivado Alk8 podem ser verificados abaixo.

Figura 58 - Estrutura química Alk6.



**Massa molar:** 258,058 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 257,954 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>IO.

**Aparência:** sólido bege/marrom.

**Rendimento:** 68% .<sup>111</sup>

**Temperatura de fusão:** 30,8-32,8 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3273 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 3096, 3071, 2957, 2915, 2851, 2518, 2359, 2129 (estiramento C≡C), 2041, 1907, 1878, 1848, 1775, 1722, 1648, 1602, 1580, 1569, 1481 (estiramento C=C de anel aromático), 1450 (*scissoring* do metileno), 1401, 1374, 1343, 1299, 1282, 1223, 1174, 1114, 1097, 1058, 1021, 997, 967, 925, 820, 798, 705, 686, 668, 636, 508, 499.

**EM, *m/z* (%):** 259 (6), 258 (M<sup>+</sup>: 60), 219 (46), 191 (37), 131 (100), 103 (56), 102 (23), 92 (48), 77 (37), 64 (92), 63 (79), 62 (23), 50 (25), 39 (50), 38 (46).

---

<sup>111</sup> Houve perda de material durante a manipulação.

Figura 59 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk6.

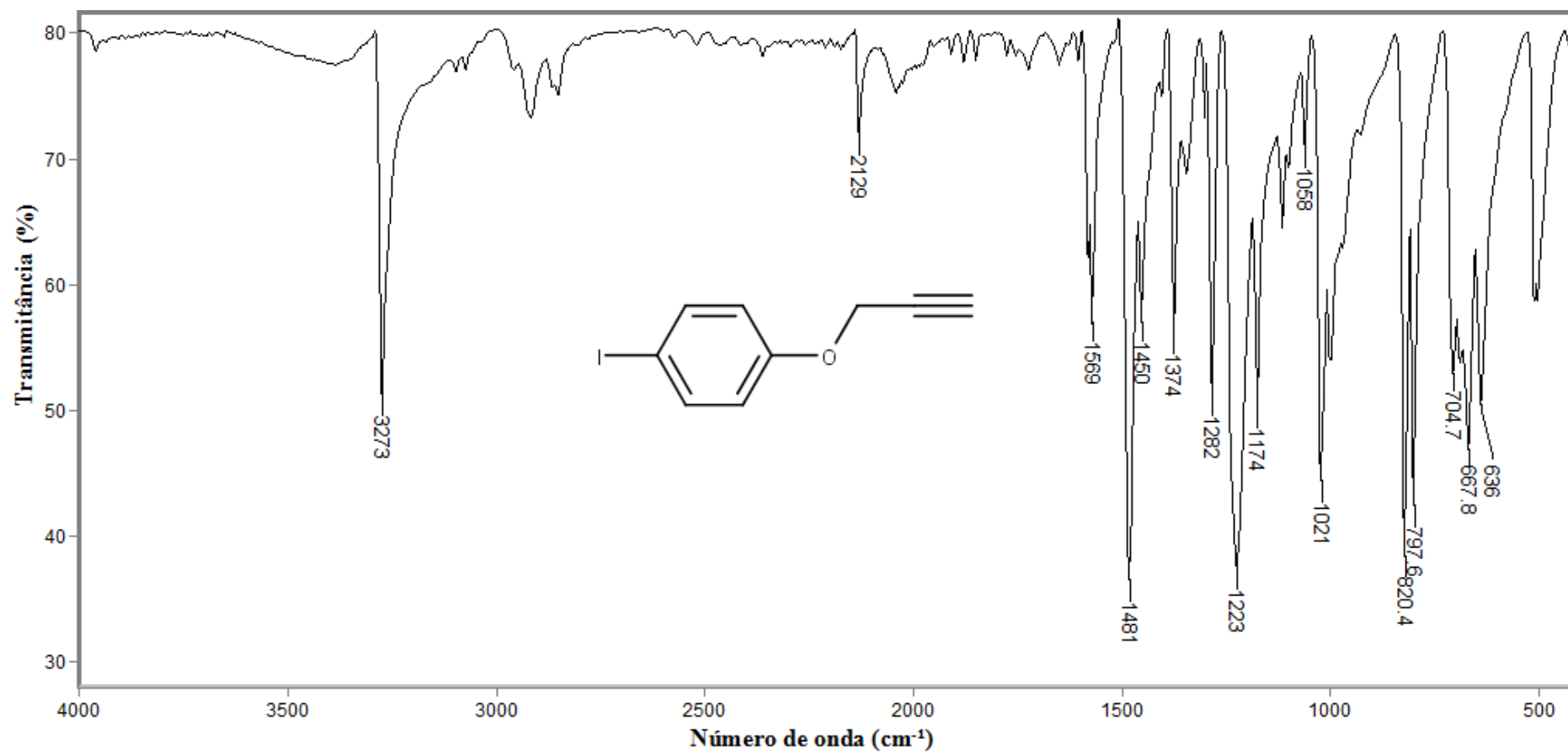
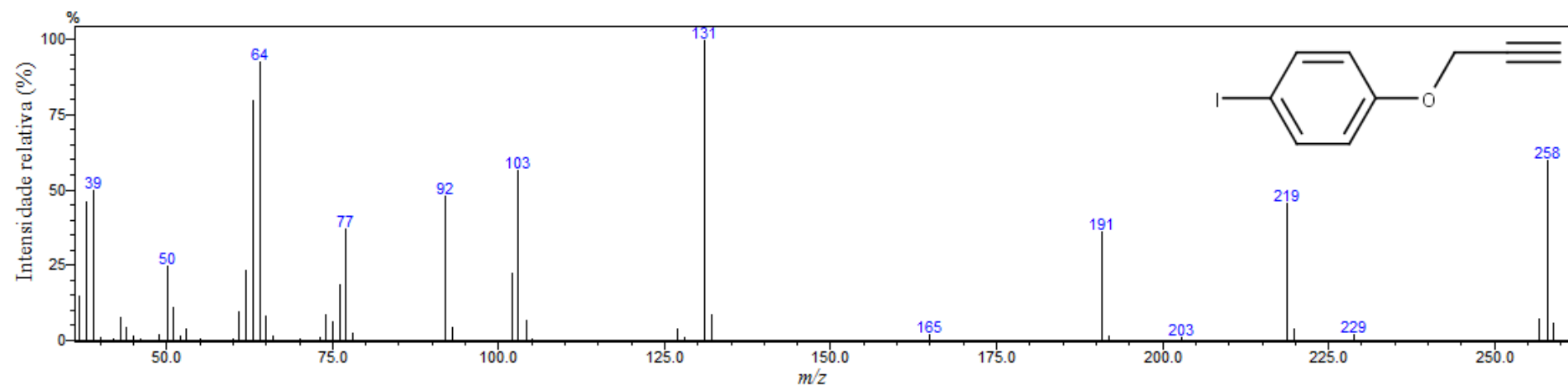
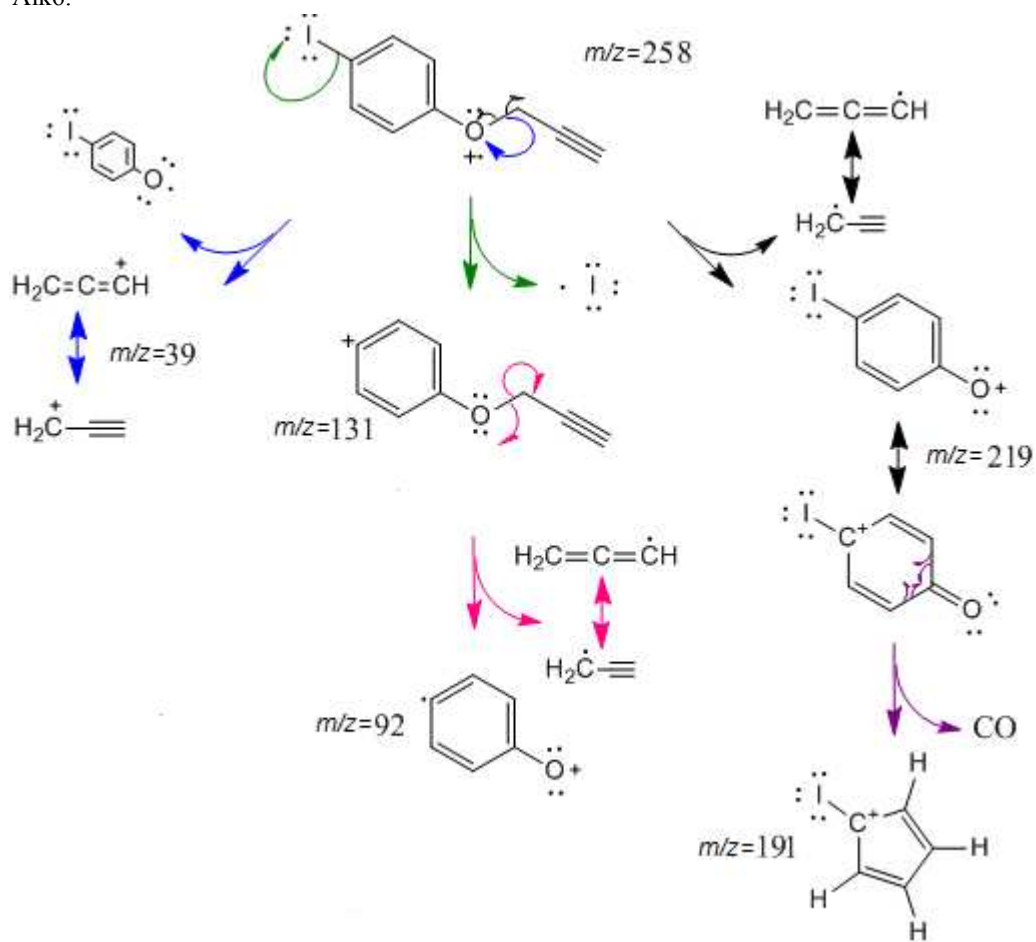


Figura 60 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk6.



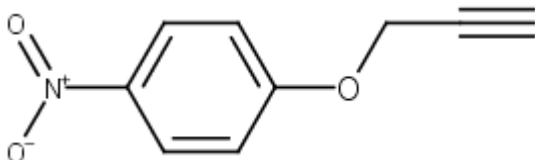
**Figura 61** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk6.



## 2.8 Alk7: 1-nitro-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 62) e os dados da caracterização do derivado Alk7 podem ser verificados abaixo.

Figura 62 - Estrutura química Alk7.



**Massa molar:** 177,159 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 177,043 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>.

**Aparência:** sólido amarelo pálido.

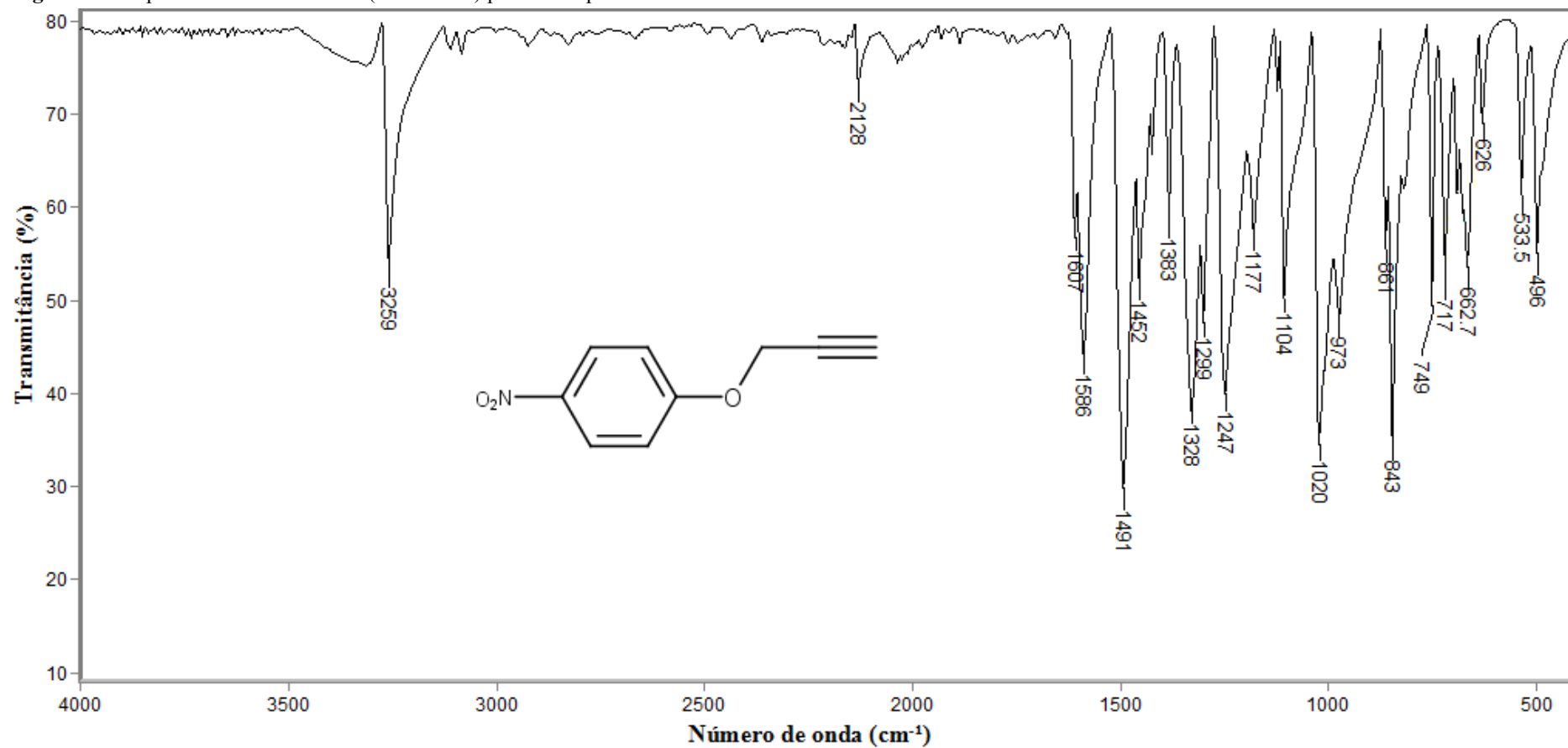
**Rendimento:** 99%.

**Temperatura de fusão:** 113,5-114,3 °C.

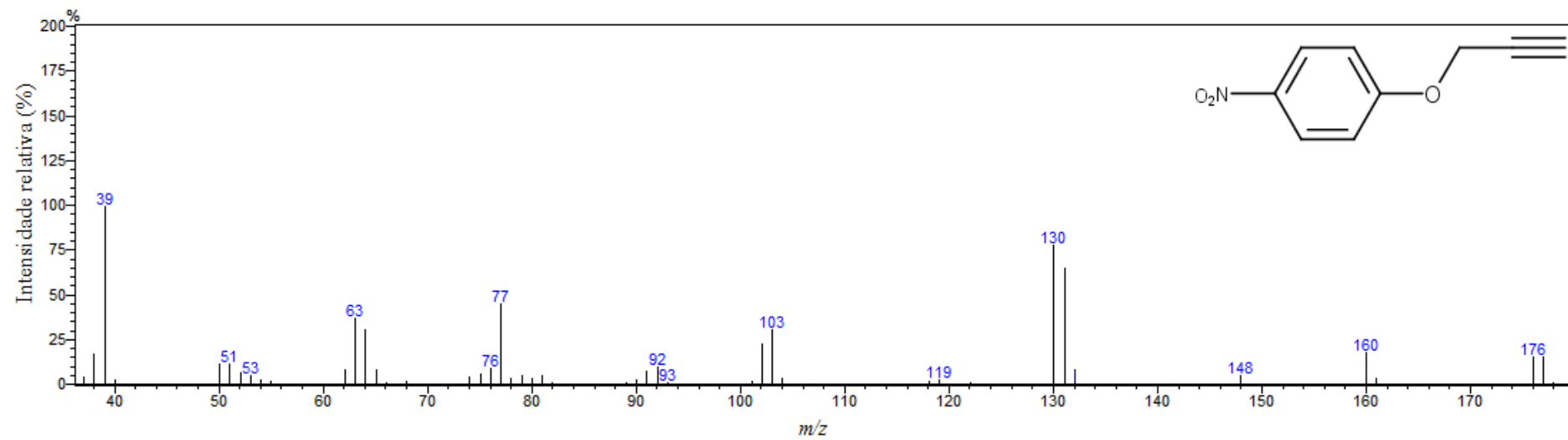
**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3259 (estiramento Csp-H), 2128 (estiramento C≡C), 1607, 1586 (estiramento C=C de anel aromático), 1491 (estiramento assimétrico grupo NO<sub>2</sub>), 1452, 1383, 1328 (estiramento simétrico grupo NO<sub>2</sub>), 1299, 1247, 1177, 1104, 1020, 973, 861, 843, 749, 717, 663, 626, 534, 496.

**EM, m/z (%):** 178 (2), 177 (15), 176 (16), 160 (19), 132 (9), 131 (66), 130 (79), 103 (31), 102 (23), 77 (46), 64 (32), 63 (38), 39 (100).

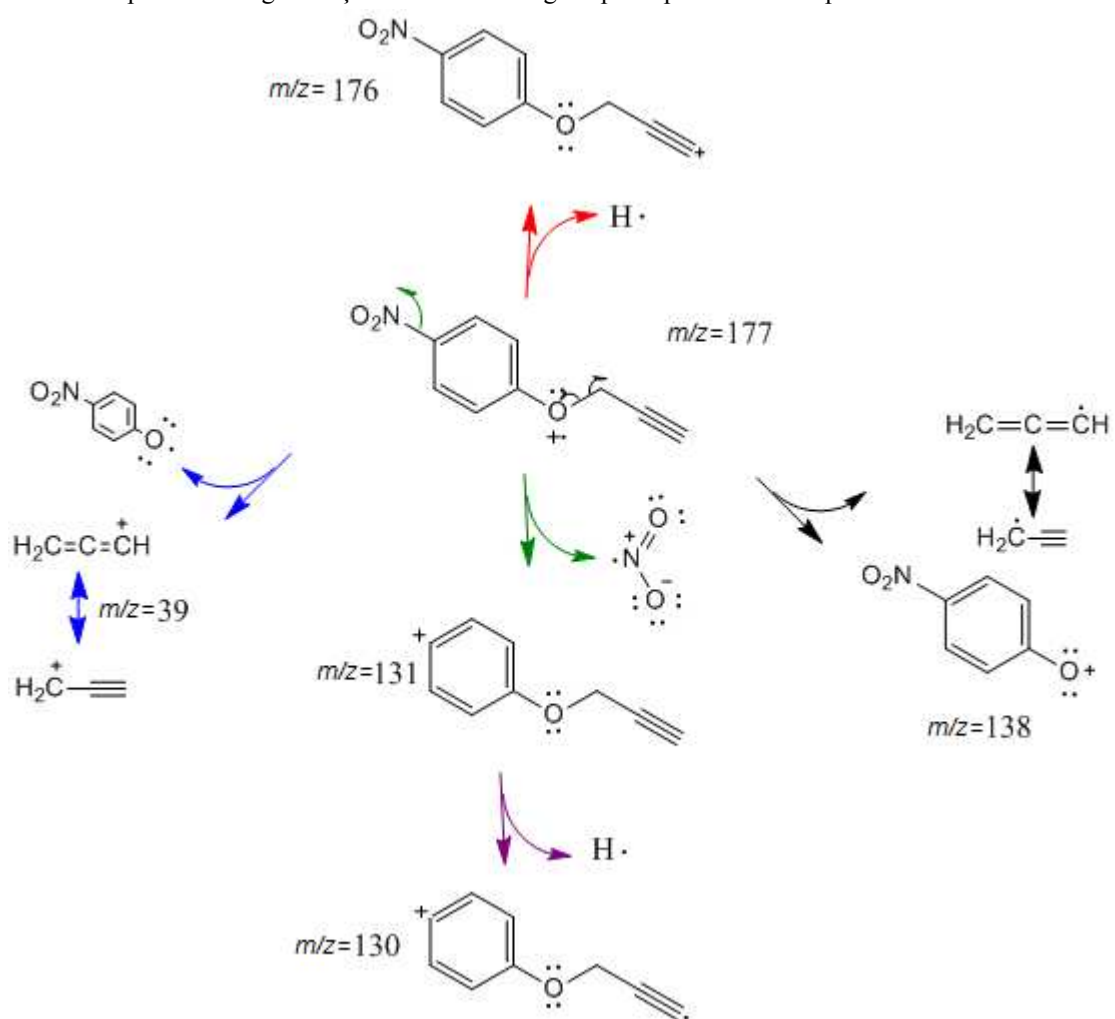
Figura 63 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk7.



**Figura 64** - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk7.



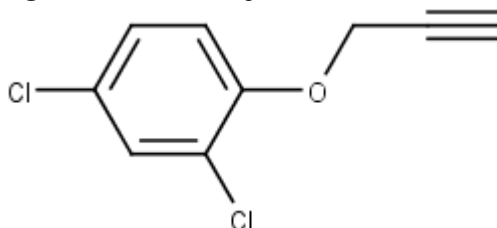
**Figura 65** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk7.



## 2.9 Alk8: 2,4-dicloro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 66) e os dados da caracterização do derivado Alk8 podem ser verificados abaixo.

Figura 66 - Estrutura química Alk8.



**Massa molar:** 201,05 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 199,980 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>O.

**Aparência:** sólido bege claro.

**Rendimento:** 91%.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3284 (estiramento Csp-H), 3102, 3078, 2983, 2942, 2118 (estiramento C≡C), 2016, 1940, 1850, 1727, 1584, 1574, 1476 (estiramento C=C de anel aromático), 1438 (*scissoring* do metileno), 1390, 1370, 1291, 1266, 1230, 1103, 1058, 1010, 924, 863, 832, 797, 709, 689, 641, 556, 476, 439, 407.

**EM, *m/z* (%):** 205 (0,5), 204 (5), 203 (3), 202 (29), 201 (9), 200 (M<sup>+</sup>·45), 199 (7), 173 (20), 171 (30), 167 (29), 165 (100), 163 (45), 161 (72), 137 (44), 135 (64), 133 (90), 75 (21), 73 (33), 63 (53), 62 (26), 39 (82), 38 (28).

Figura 67 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk8.

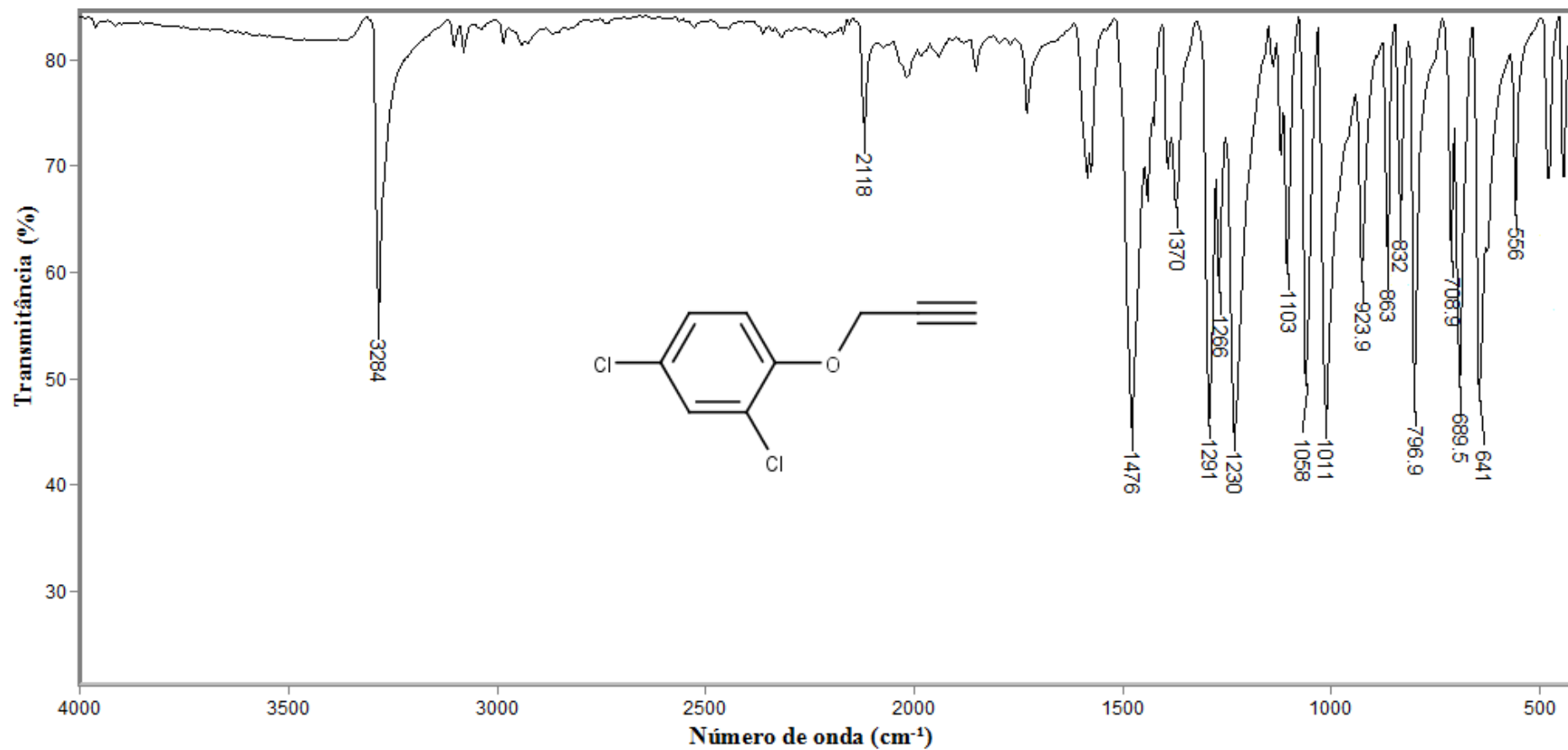


Figura 68 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk8.

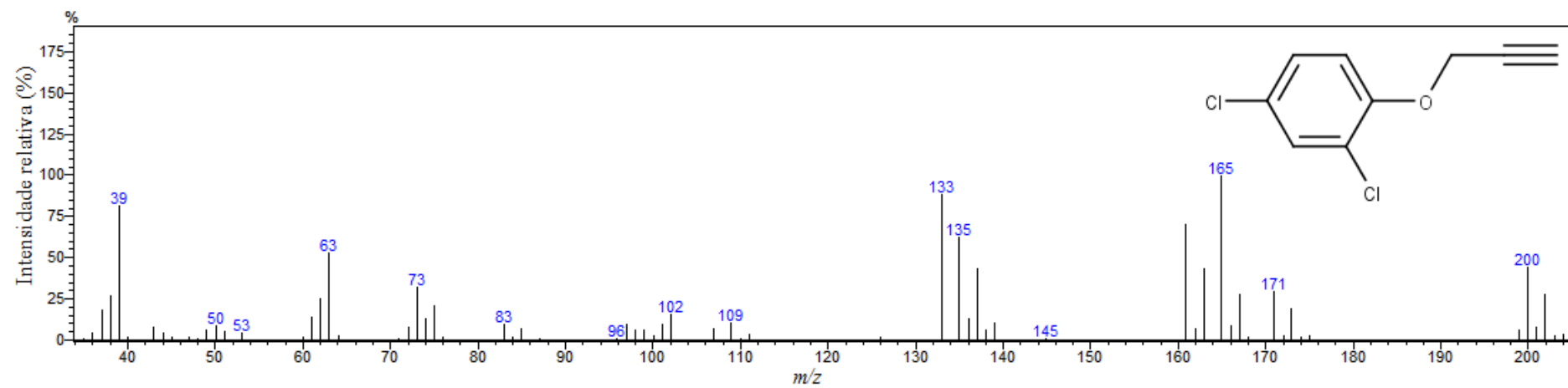
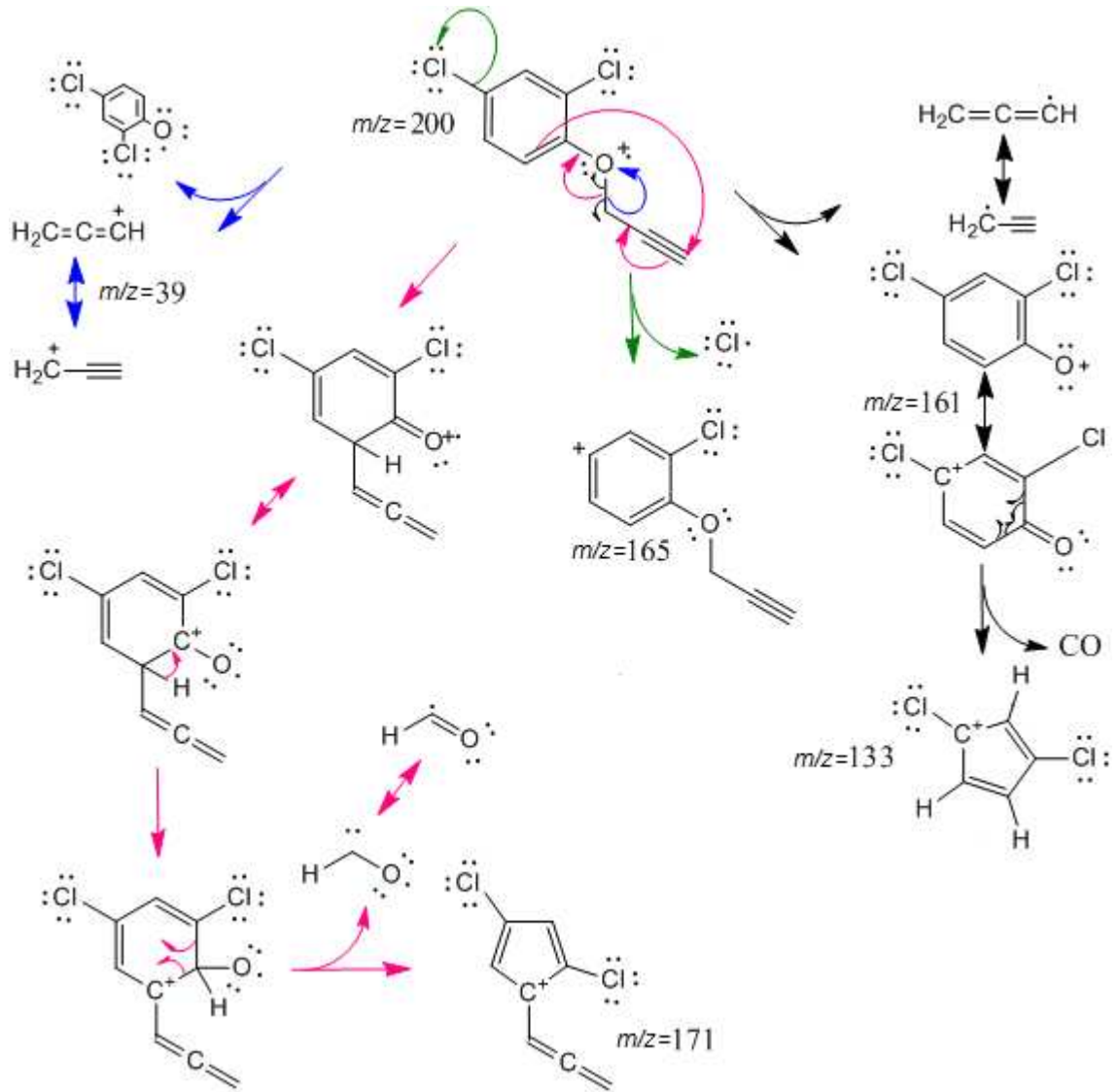


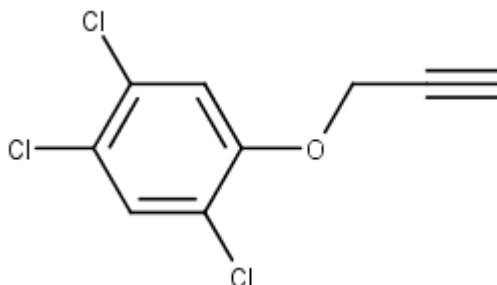
Figura 69 - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk8.



## 2.10 Alk9: 2,4,5-tricloro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 70) e os dados da caracterização do derivado Alk9 podem ser verificados abaixo.

Figura 70 - Estrutura química Alk9.



**Massa molar:** 235,49 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 233,940 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>3</sub>O.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 92%.

**Temperatura de fusão:** 63,0-64,6 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3307 (estiramento Csp-H), 3092, 2987, 2950, 2163, 2124 (estiramento C≡C), 2023, 1740, 1712, 1681, 1578, 1475 e 1451 (estiramento C=C de anel aromático), 1377, 1333, 1283, 1235, 1135, 1079, 1011, 932, 898, 869, 839, 727, 674, 627, 531, 504, 442, 428.

**EM, m/z (%):** 241 (0,1), 240 (0,7), 239 (2), 238 (9), 237 (8), 236 (29), 235 (20), 234 (M<sup>+</sup> 32), 233 (17), 201 (50), 199 (87), 195 (21), 171 (37), 167 (52), 136 (22), 97 (36), 62 (26), 39 (100), 38 (21).

Figura 71 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk9.

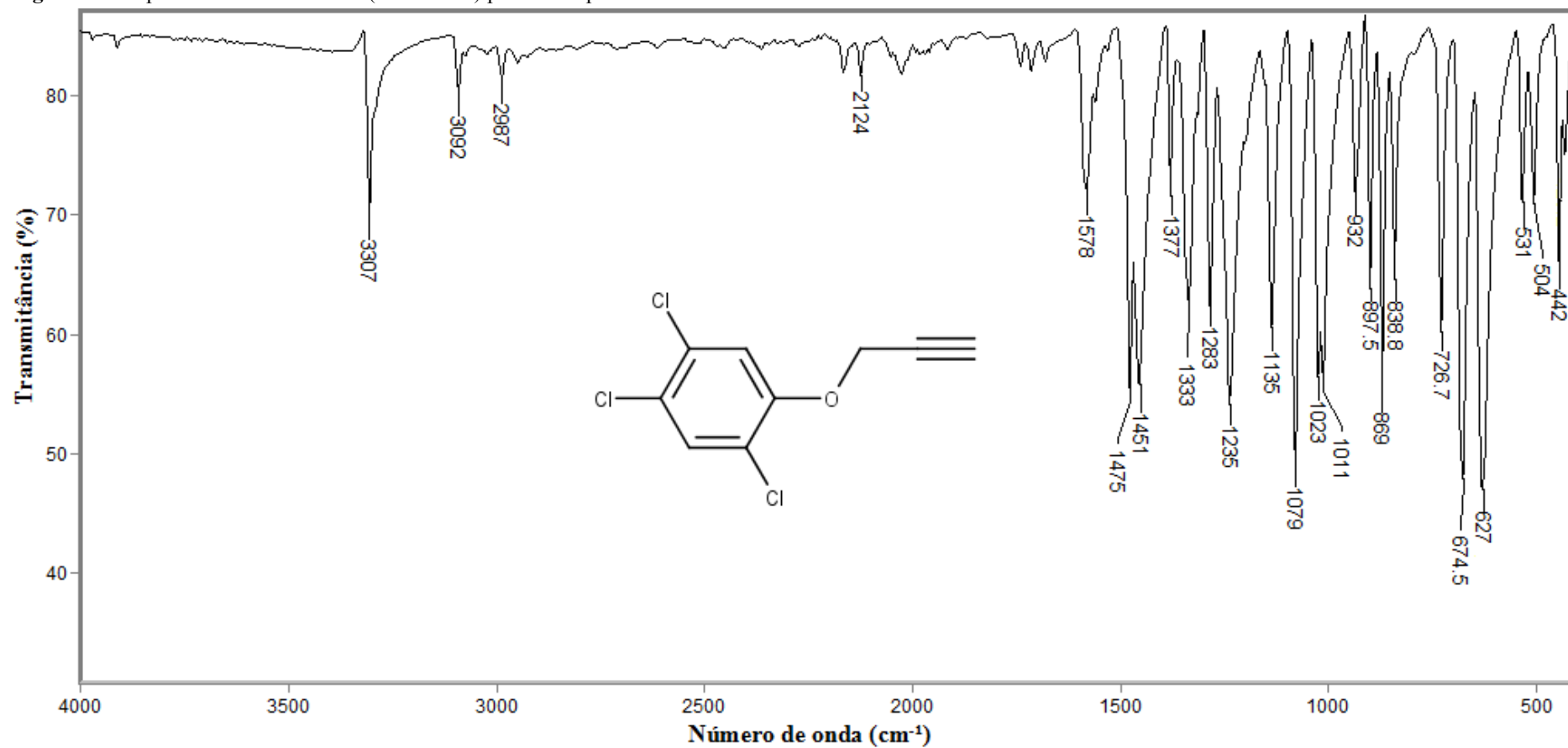


Figura 72 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk9.

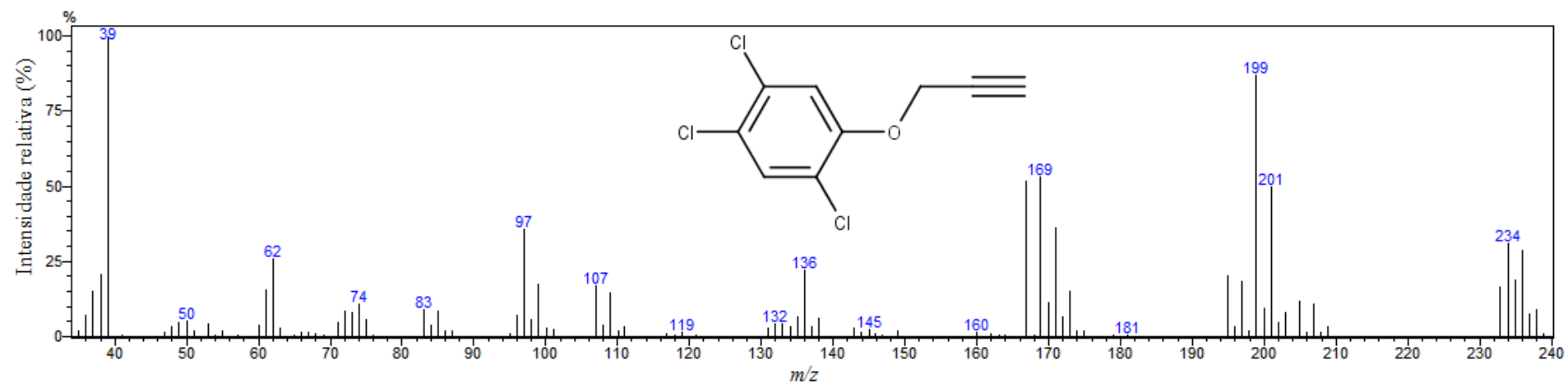
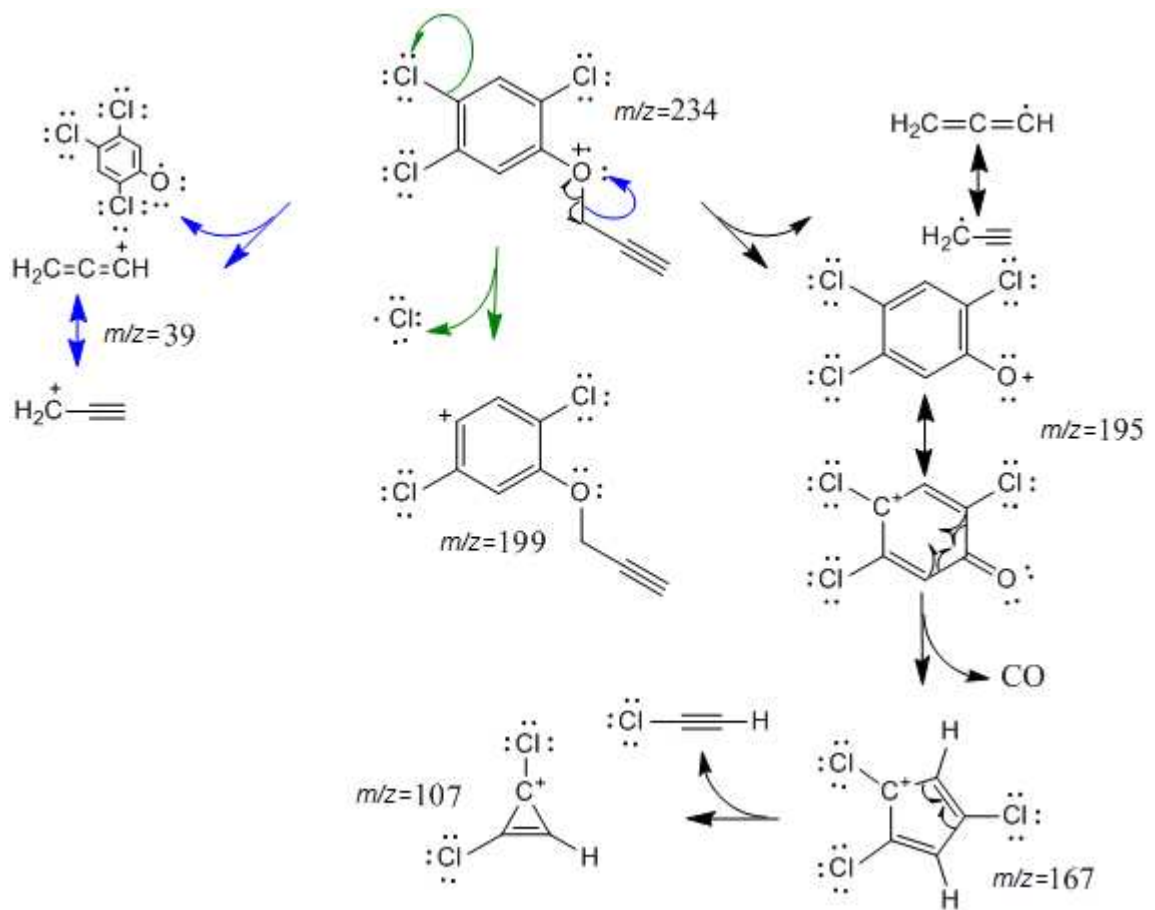


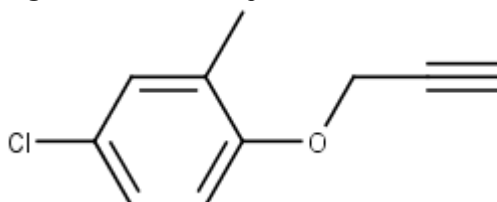
Figura 73- Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk9.



## 2.11 Alk10: 4-cloro-2-metil-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 74) e os dados da caracterização do derivado Alk10 podem ser verificados abaixo.

Figura 74 - Estrutura química Alk10.



**Massa molar:** 180,63 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 180,034 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>ClO.

**Aparência:** líquido amarelo.

**Rendimento:** 95%.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3295 (estiramento Csp-H), 2957, 2923, 2868, 2363, 2123 (estiramento C≡C), 2037, 1598, 1487 (estiramento C=C de anel aromático), 1453, 1401, 1374 (dobramento simétrico CH<sub>3</sub>), 1297, 1275, 1260, 1241, 1227, 1185, 1052, 925, 876, 800, 747, 667, 639, 555, 523, 473, 440.

**EM, m/z (%):** 183 (1), 182 (10), 181 (4), 180 (M<sup>+</sup> 32), 179 (2), 145 (51), 143 (25), 141 (76), 77 (100), 51 (43), 39 (33).

Figura 75 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk10.

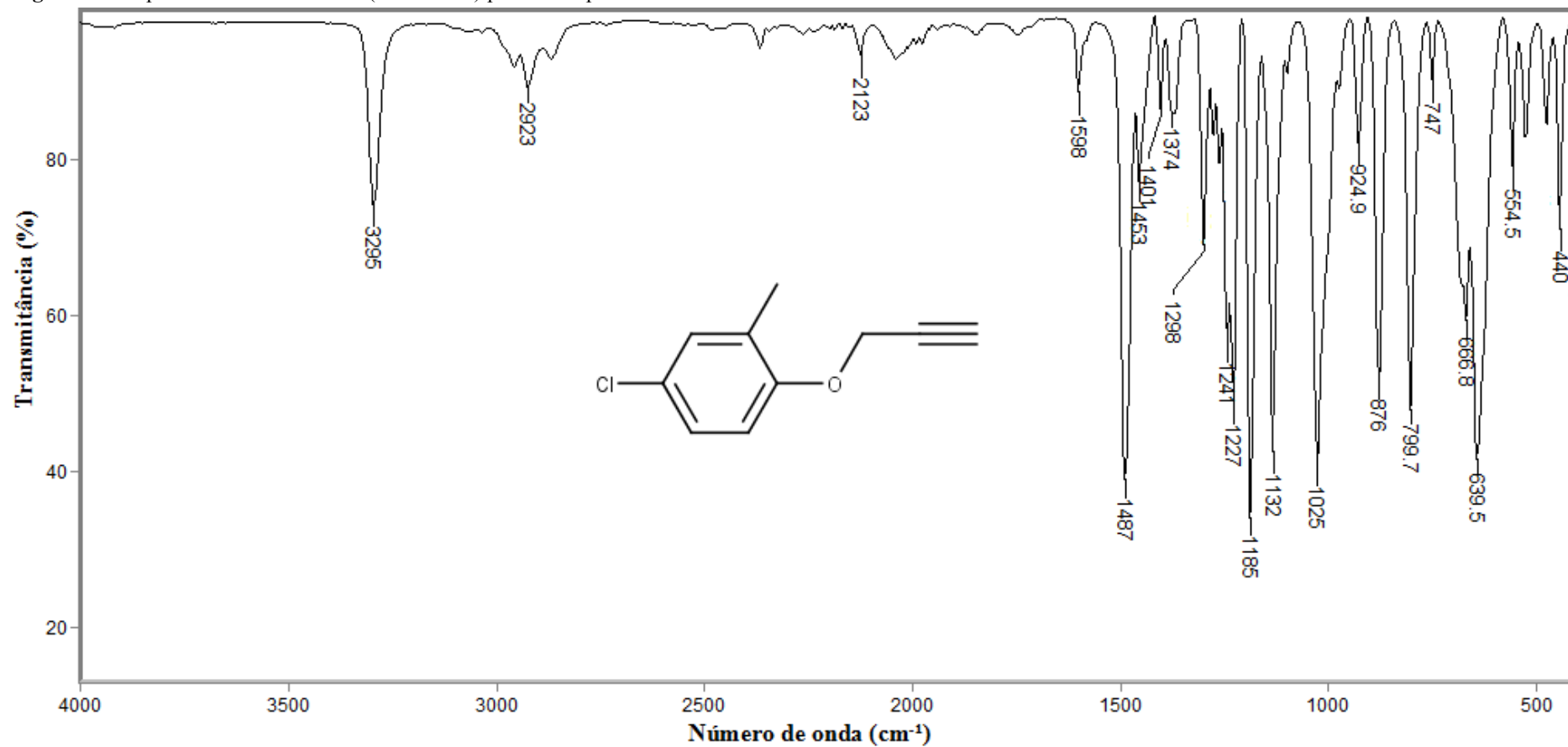


Figura 76 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk10.

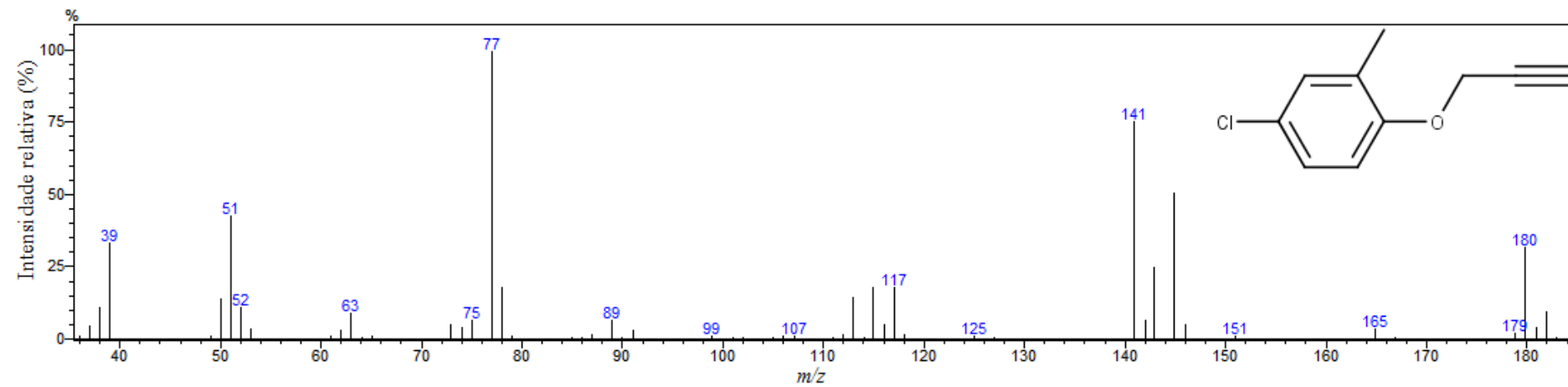
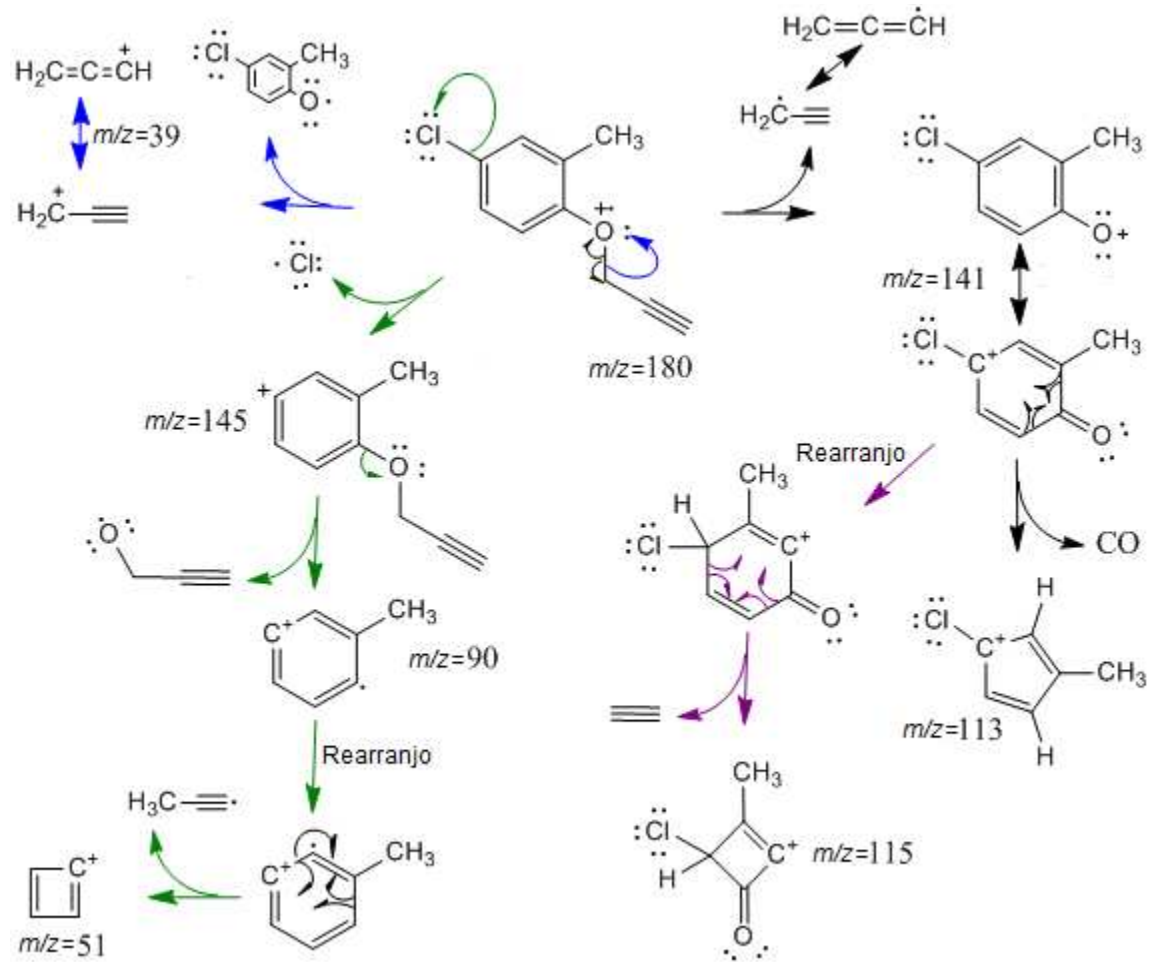


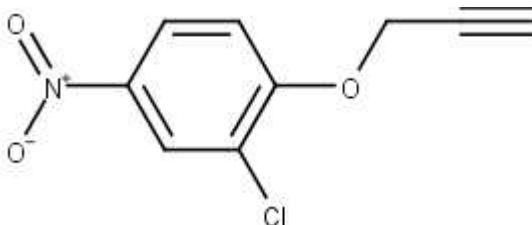
Figura 77 - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk10.



## 2.12 Alk11: 2-cloro-4-nitro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 78) e os dados da caracterização do derivado Alk11 podem ser verificados abaixo.

Figura 78 - Estrutura química Alk11.



**Massa molar:** 211,60 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 211,004 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>ClO<sub>3</sub>.

**Aparência:** sólido amarelo (ovo).

**Rendimento:** 95%.

**Temperatura de fusão:** 104,3-105,6 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3278 (estiramento Csp-H), 3108, 3084, 2922, 2846, 2121 (estiramento C≡C), 1904, 1796, 1581 (estiramento C=C de anel aromático), 1500, 1479 (estiramento assimétrico grupo NO<sub>2</sub>), 1347 (estiramento simétrico grupo NO<sub>2</sub>), 1268, 1239, 1151, 1126, 1052 (estiramento C-Cl de anel aromático), 1000, 899, 820, 792, 743, 707, 654, 644, 621, 551, 531, 468, 445.

**EM, m/z (%):** 214 (0,3), 213 (3), 212 (2), 211 (M<sup>+</sup>·10), 210 (3), 63 (35), 39 (100).

Figura 79 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk11.

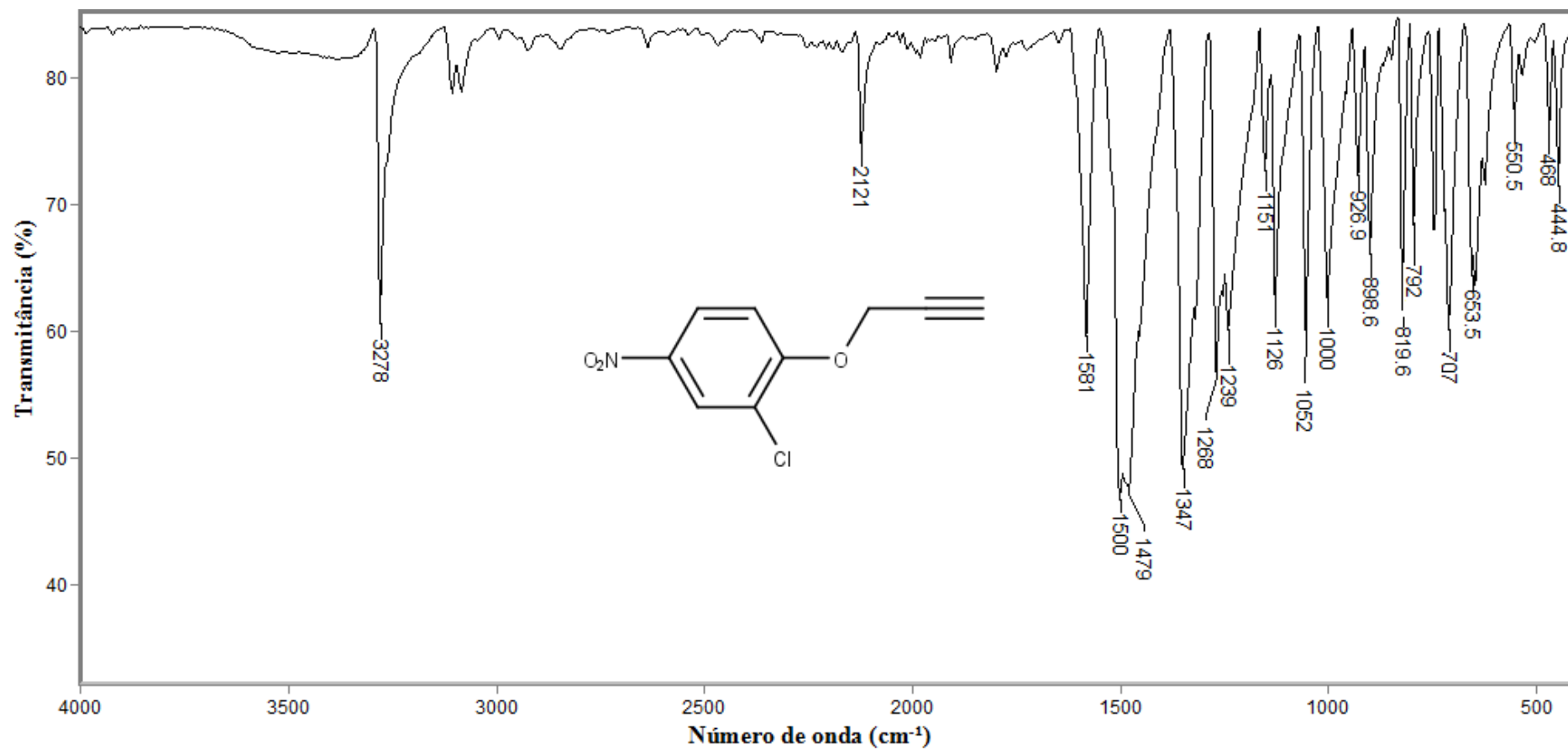
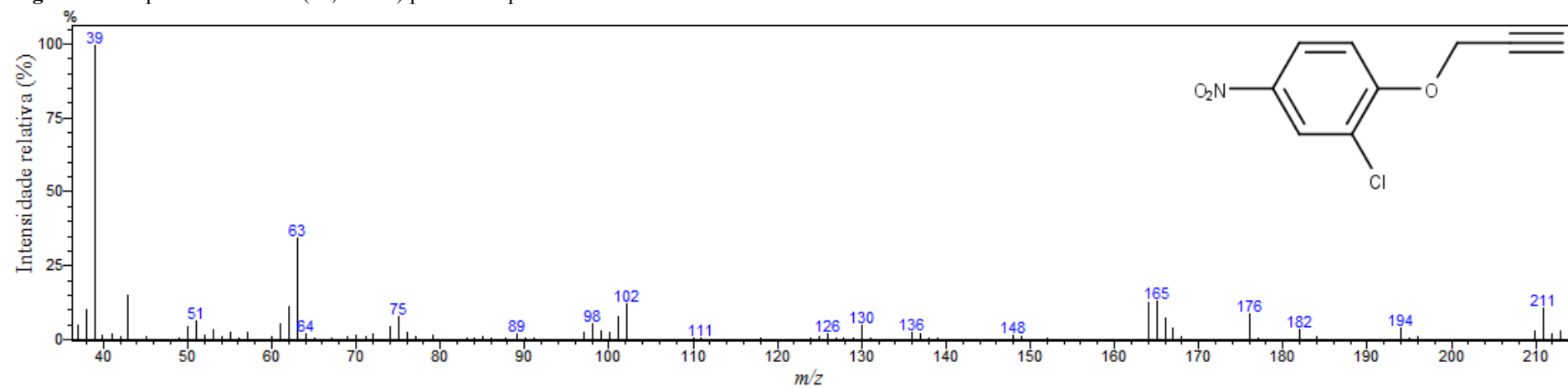
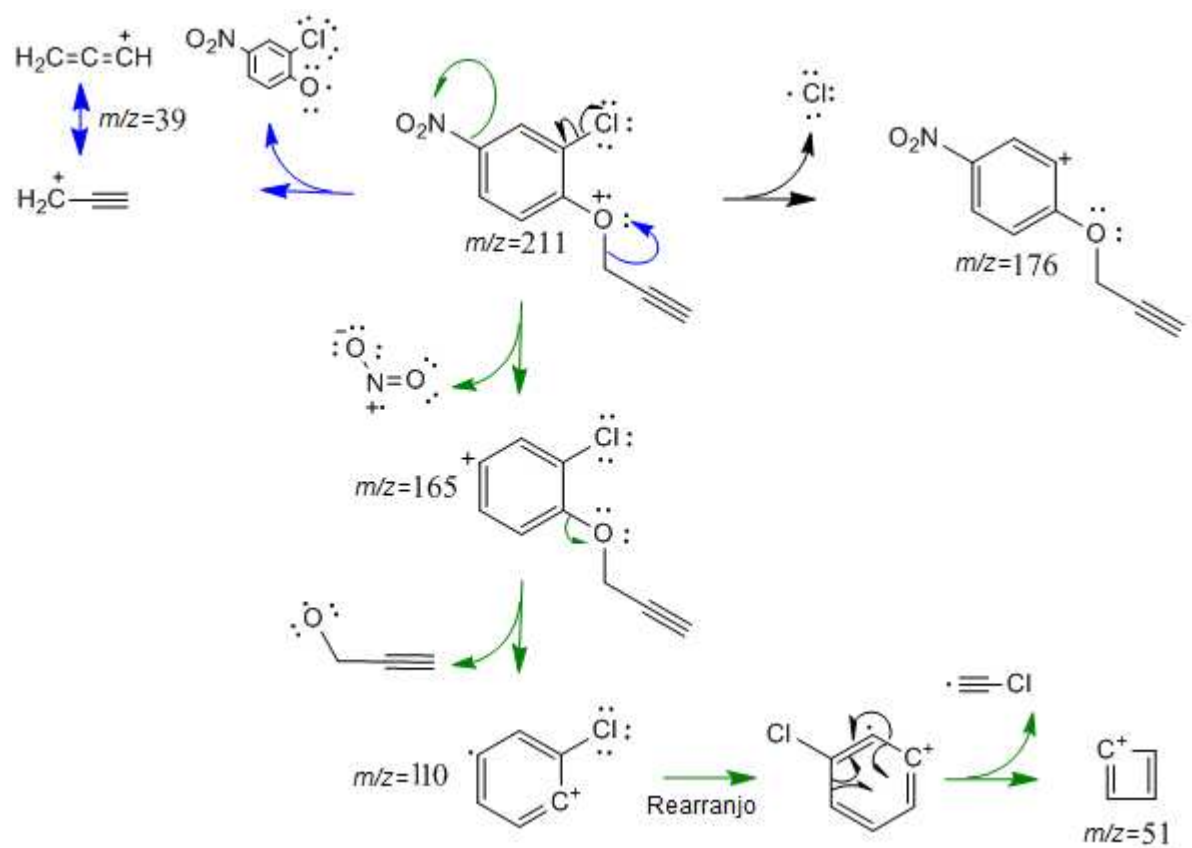


Figura 80 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk11.



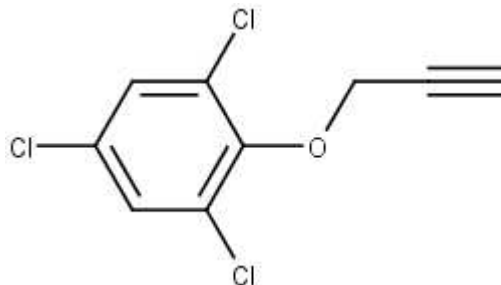
**Figura 81** - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk11.



### 2.13 Alk12: 2,4,6-tricloro-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno

A estrutura química (Figura 82) e os dados da caracterização do derivado Alk12 podem ser verificados abaixo.

Figura 82 - Estrutura química Alk12.



**Massa molar:** 235,49 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 233,941 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>3</sub>O.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 90%.

**Temperatura de fusão:** 99,0-100,3 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3288 (estiramento Csp-H), 3077, 2930, 2125 2125 (estiramento C≡C), 1968, 1732, 1571, 1553 (estiramento C=C de anel aromático), 1456, 1431, 1387, 1370, 1293, 1254, 1237, 1195, 1155, 1137, 1082, 1033, 1010, 993, 982, 954, 859, 814, 799, 763, 715, 682, 648, 572, 504, 429.

**EM, m/z (%):** 241 (0,1), 240 (0,7), 239 (0,9), 238 (9), 237 (3), 236 (28), 234 (M<sup>+</sup> 30), 207 (40), 205 (44), 201 (31), 199 (67), 197 (62), 195 (72), 171 (32), 169 (65), 167 (63), 107 (25), 97 (40), 62 (29), 61 (23), 39 (100), 38 (29), 37 (21).

Figura 83 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk12.

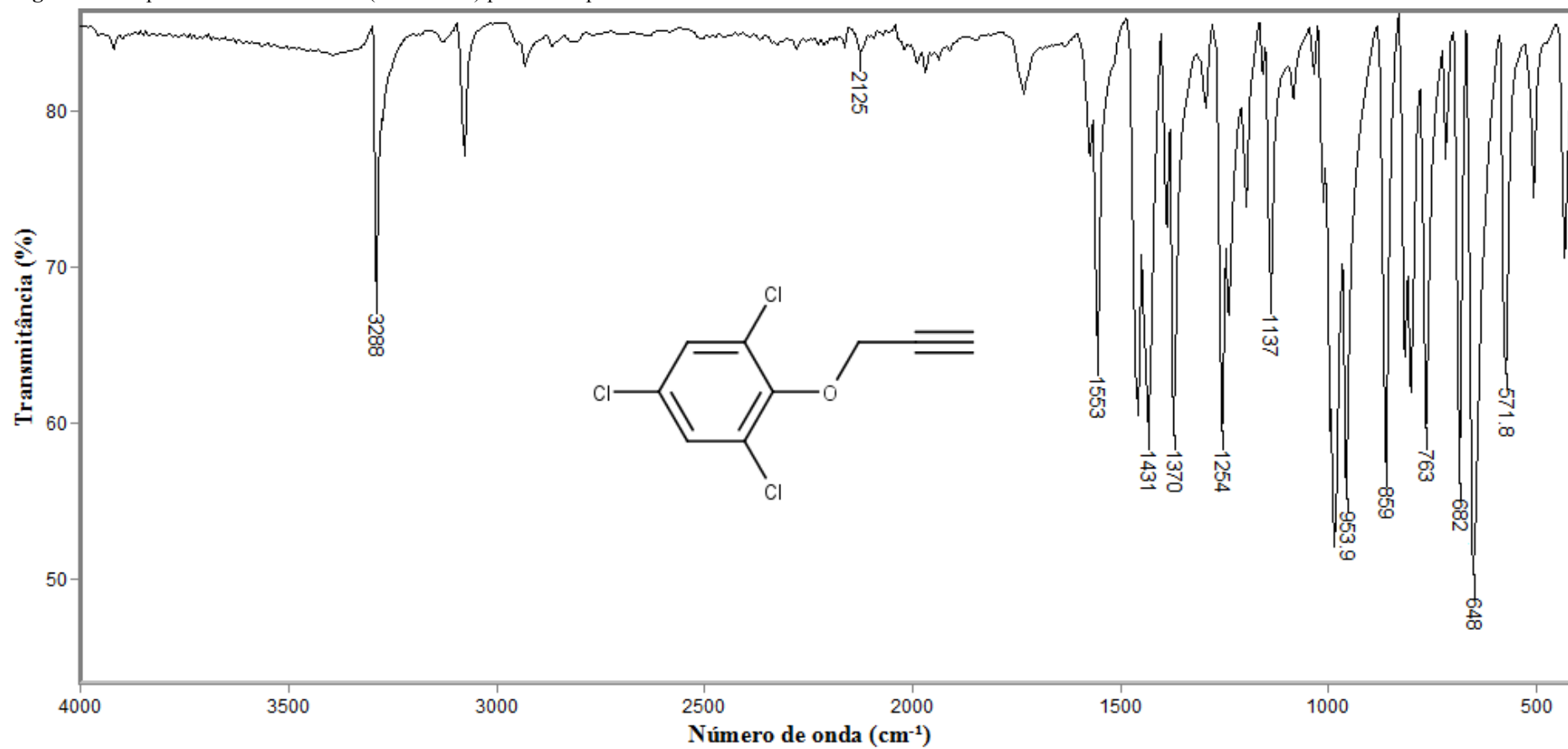
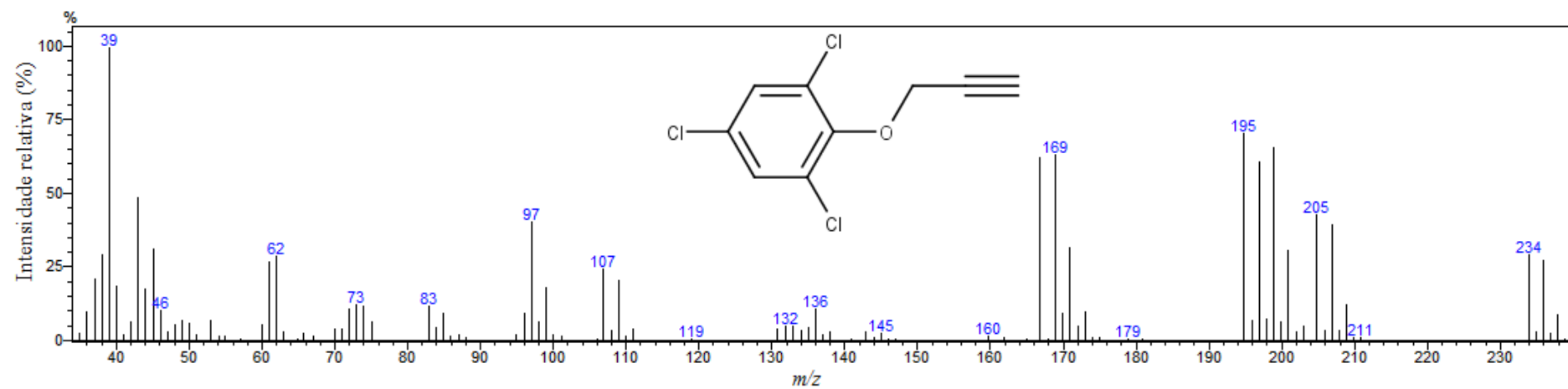


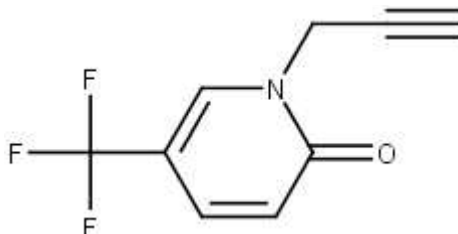
Figura 84 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk12.



## 2.14 Alk13: 1-(prop-2-in-1-il)-5-(trifluorometil)-1,2-dihidropiridin-2-ona

A estrutura química (Figura 85) e os dados da caracterização do derivado Alk13 podem ser verificados abaixo.

Figura 85 - Estrutura química Alk13.



**Massa molar:** 201,148 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 201,040 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>F<sub>3</sub>NO.

**Aparência:** líquido caramelo.

**Rendimento:** 74%.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3308, 3241 (estiramento Csp-H), 3057, 2985, 2361, 2128 (estiramento C≡C), 1673 (estiramento C=O da amida), 1622, 1548, 1447, 1403, 1349, 1325, 1268, 1249, 1152 (estiramento C-F de anel aromático), 1108, 1062, 953, 899, 832, 754, 676, 630, 610, 582, 532, 514, 450, 409.

**EM,  $m/z$  (%):** 205 (0,01), 204 (0,04), 203 (0,8), 202 (11), 201 (M<sup>+</sup> 90), 200 (0,1), 147 (34), 146 (22), 104 (48), 57 (23), 51 (21), 39 (100), 38 (39).

Inicialmente, esperava-se na síntese deste composto realizar a propargilação da porção tipo-fenólica da 5-(trifluorometil)piridin-2-ol. No entanto, devido à tautomerização, descobriu-se que a forma “fenólica” é a menos abundante. Utilizando a plataforma online da ChemAxon<sup>112</sup> foi possível constatar que a forma amida é a mais abundante (>99,99%). Ademais, em meio básico, o equilíbrio tautomérico é ainda mais favorecido. A Figura 78 mostra o esquema da reação. A formação da amida é ainda comprovada pelo infravermelho, na Figura 79 (p. 111), que apresenta a banda de estiramento C=O da amida conjugada em 1673 cm<sup>-1</sup>.

<sup>112</sup> <https://chemaxon.com/products/calculators-and-predictors>.

Figura 86 - Esquema da reação para a obtenção da Alk13.

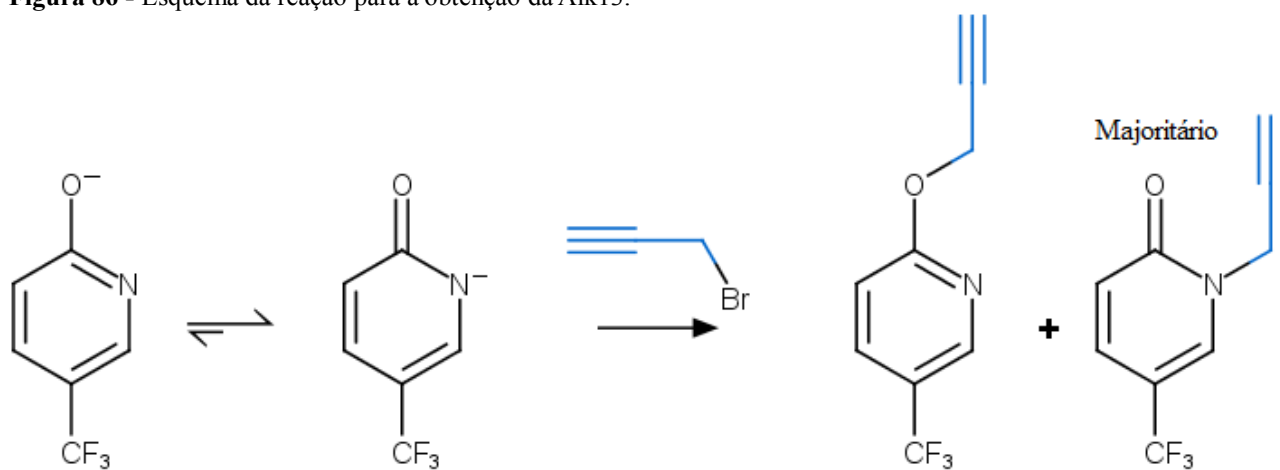


Figura 87 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk13.

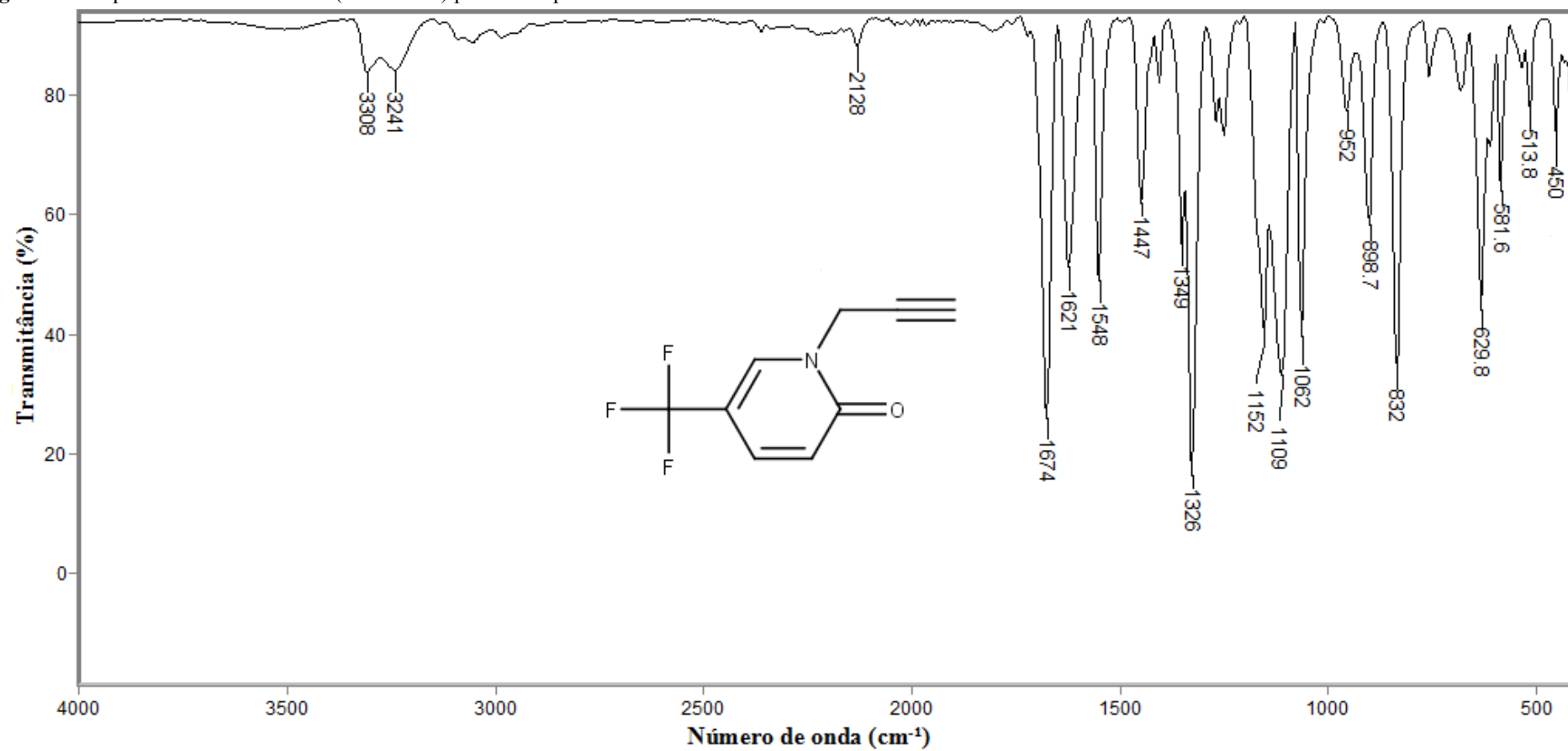


Figura 88 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk13.

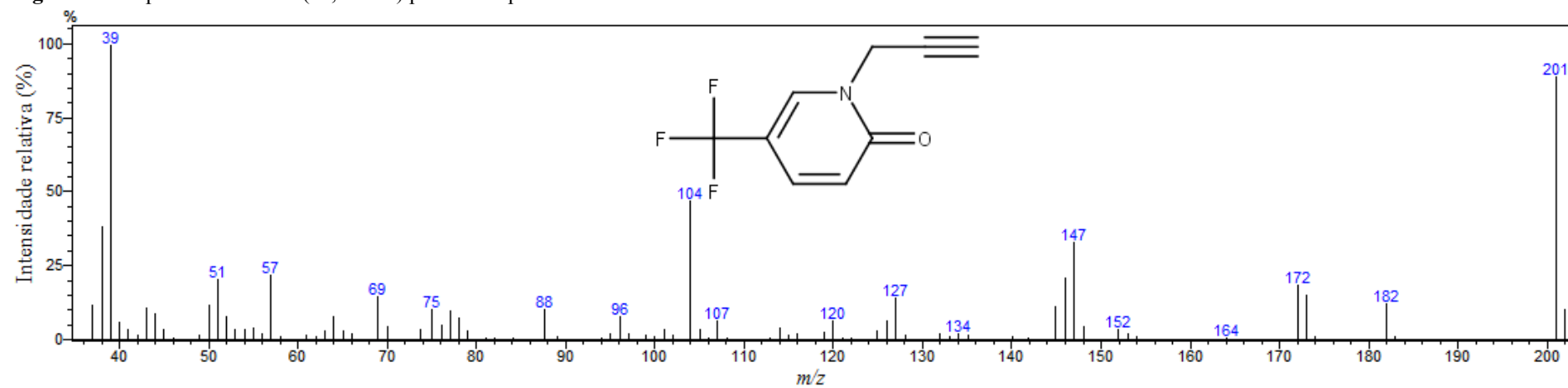
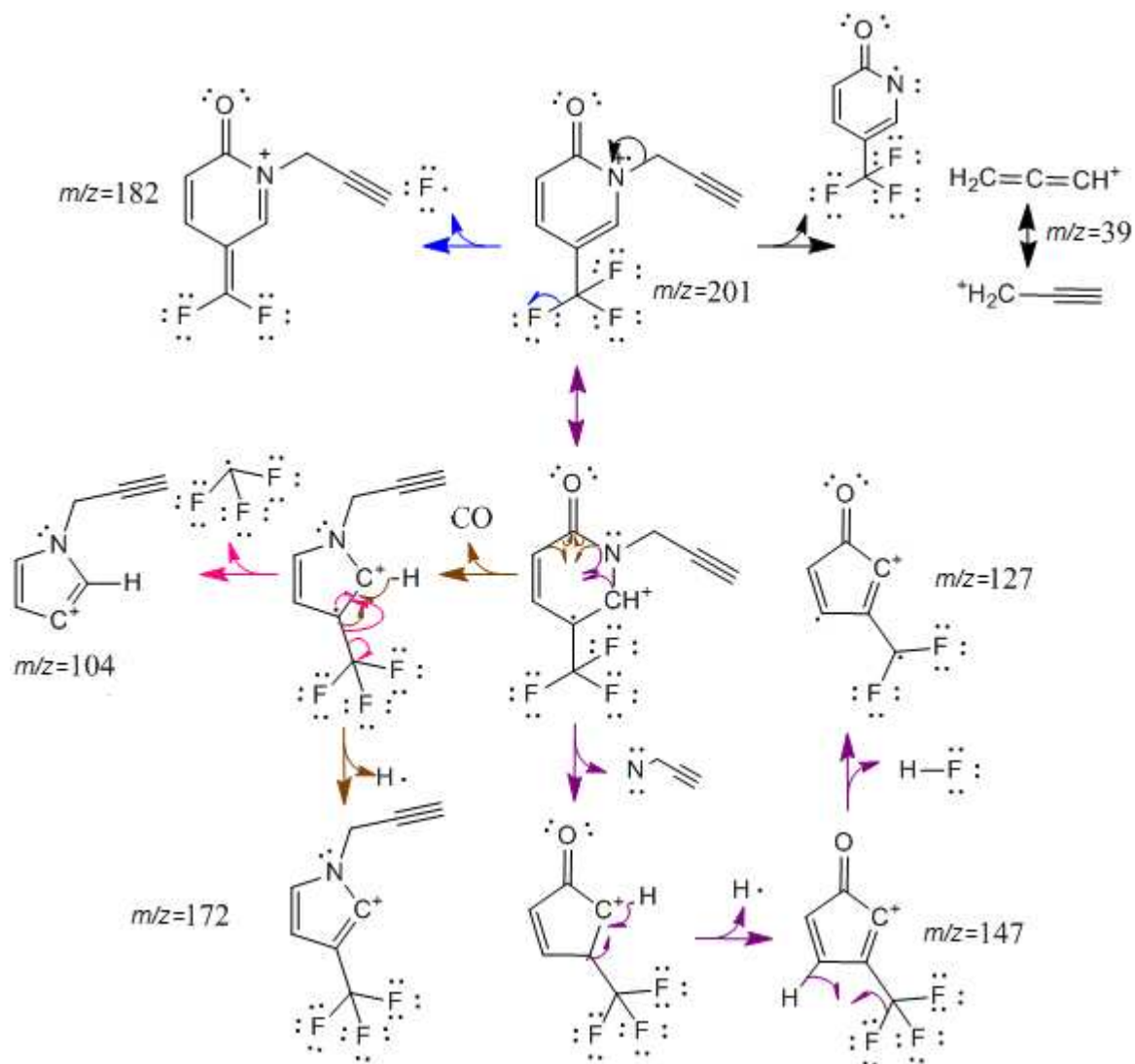


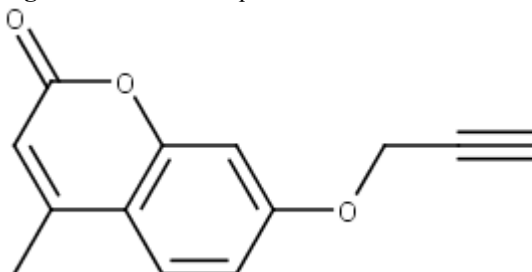
Figura 89 - Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk13.



### 2.15 Alk14: 4-metil-7-(prop-2-in-1-iloxi)-2H-cromen-2-ona

A estrutura química (Figura 90) e os dados da caracterização do derivado Alk14 podem ser verificados abaixo.

Figura 90- Estrutura química Alk14.



**Massa molar:** 214,220 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 214,063 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>.

**Aparência:** sólido bege.

**Rendimento:** 82%.

**Temperatura de fusão:** 131,0-133,5 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3302 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 3068, 2924, 2138 (estiramento C≡C), 2026, 1899, 1764, 1717 (estiramento C=O do éster), 1605 (estiramento C=C de anel aromático), 1510, 1444 e 1425 (dobramento assimétrico da metila e *scissoring* do metileno), 1388, 1375 (dobramento simétrico CH<sub>3</sub>), 1349, 1280, 1261, 1207, 1154, 1139, 1068, 1011, 982, 967, 881, 861, 844, 815, 809, 748, 732, 709, 686, 651, 634, 615, 590, 547, 527, 465, 455, 439.

**EM, *m/z* (%):** 215 (14), 214 (M<sup>+</sup> 100), 213 (90), 186 (41), 185 (79), 158 (31), 157 (21), 147 (36), 128 (24), 115 (25), 92 (27), 91 (44), 77 (23), 65 (43), 63 (29), 51 (44), 39 (67).

Figura 91 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk14.

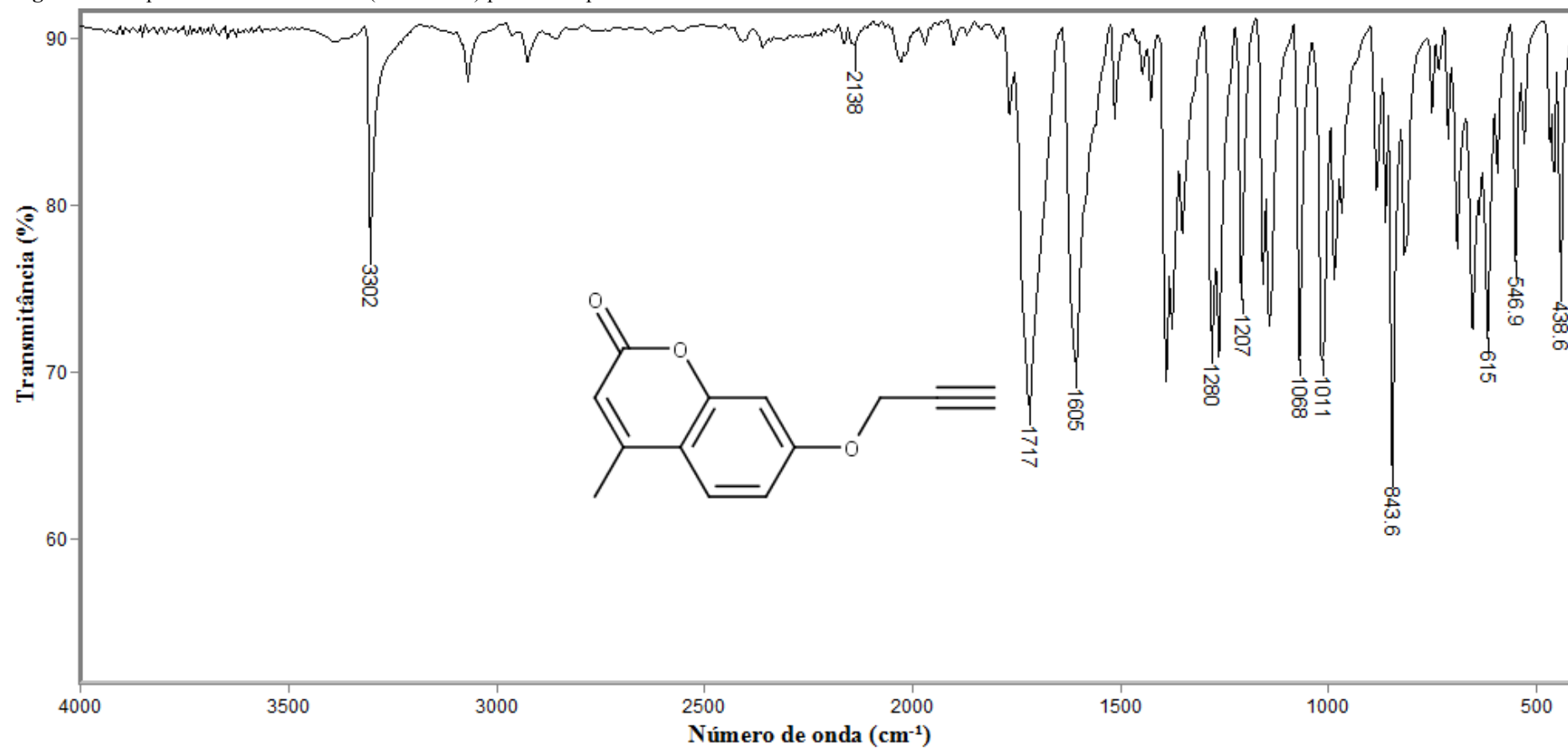


Figura 92 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk14.

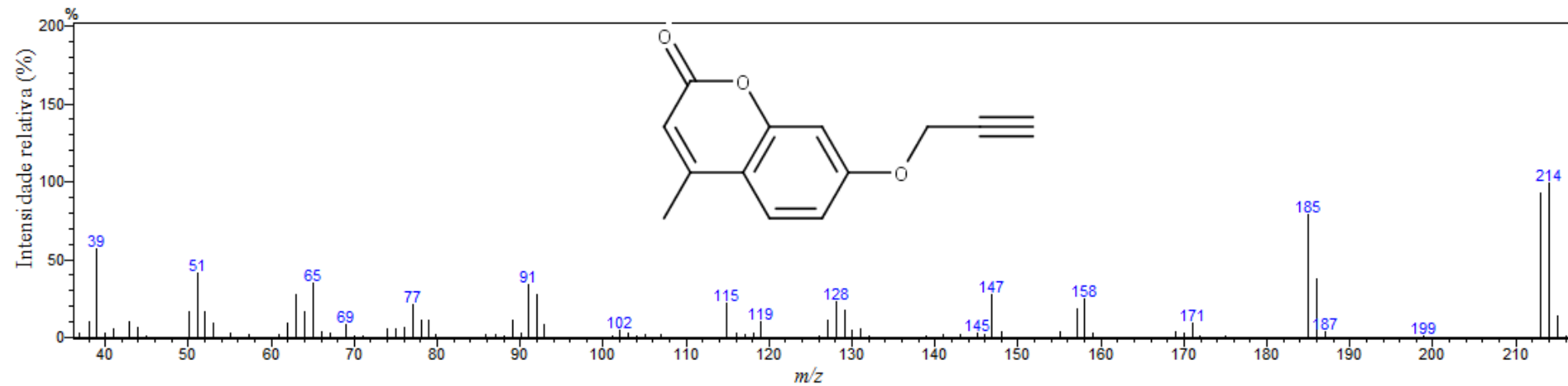
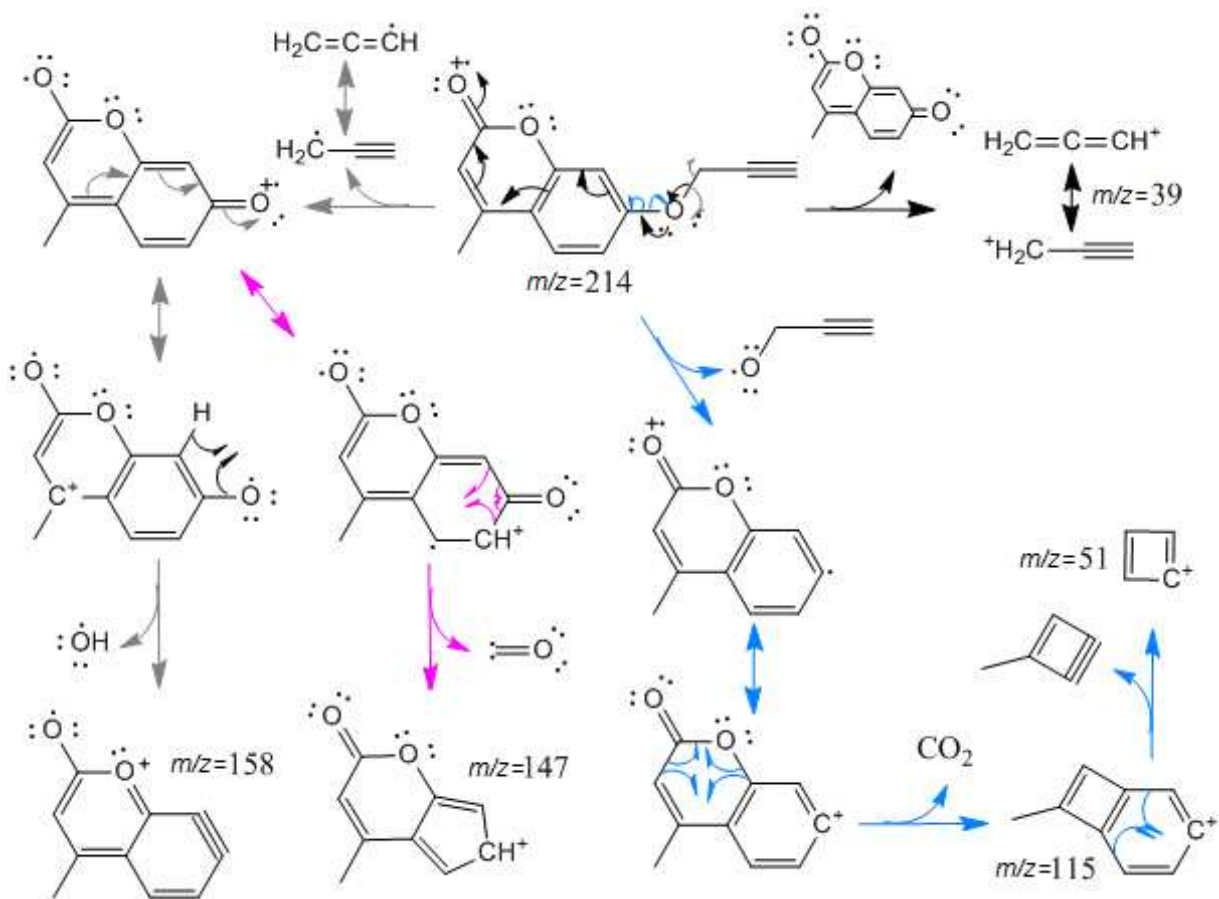


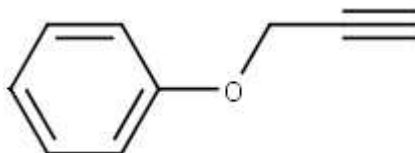
Figura 93 - Propostas de fragmentação referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk14.



## 2.16 Alk15: 4-(prop-2-ino-1-iloxi)fenol

A estrutura química (Figura 94) e os dados da caracterização do derivado Alk15 podem ser verificados abaixo.

Figura 94 - Estrutura química Alk15.



**Massa molar:** 132,162 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 132,058 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O.

**Aparência:** líquido amarelo caramelo.

**Rendimento:** 99% (estimado por cromatografia gasosa).

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3295 (estiramento C<sub>sp</sub>-H), 2921, 2851, 2259, 2157, 2123 (estiramento C≡C), 1941, 1724, 1598, 1509, 1494, 1457, 1375, 1213, 1174, 1109, 1079, 1030, 848, 809, 752, 690, 635, 508.

**EM, m/z (%):** 132 (M<sup>+</sup>: 47,6), 131 (100), 104 (31,2), 103 (68,0), 78 (39,5), 77 (34,1), 65 (58,0), 39 (63,7), 38 (12,4).

Figura 95 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto Alk15.

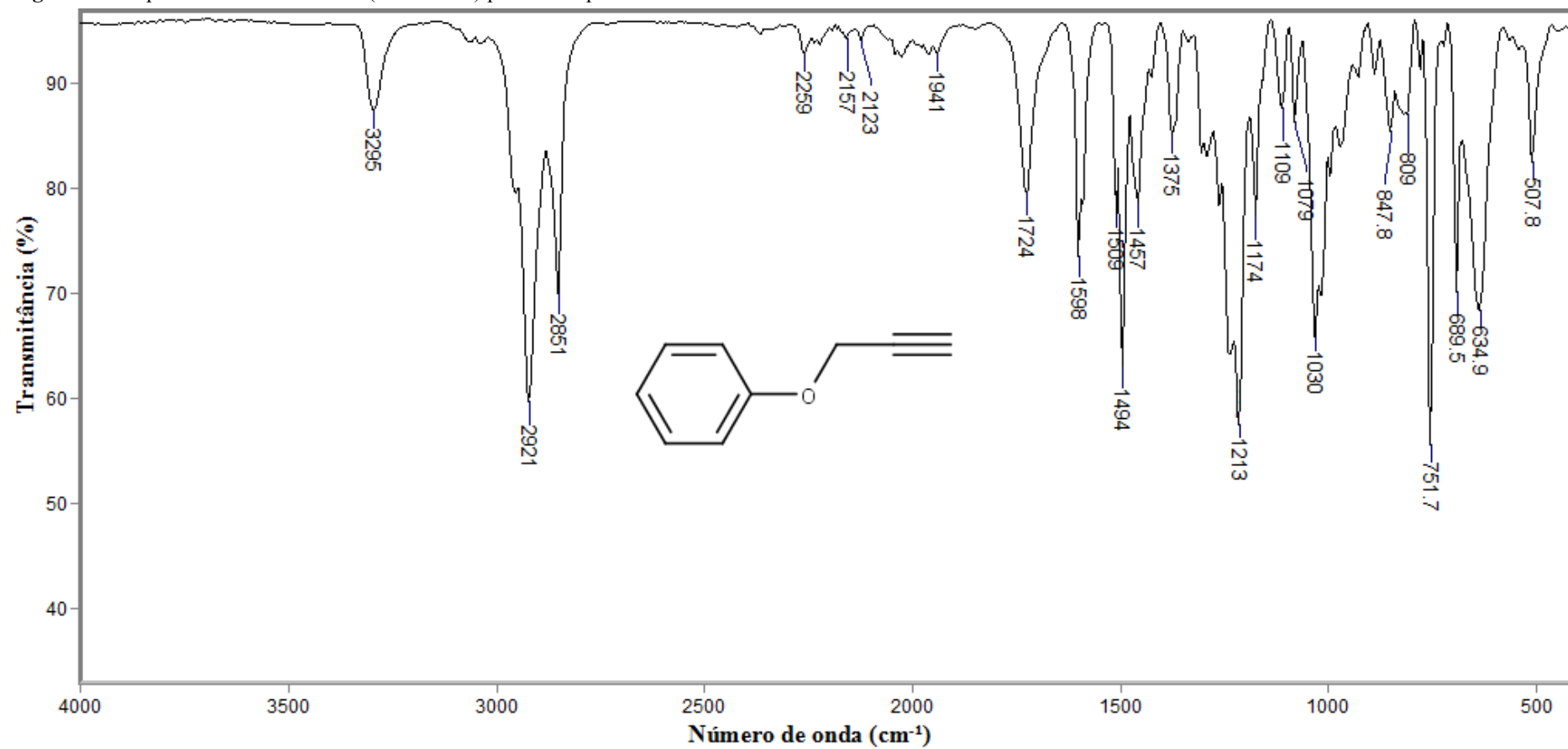


Figura 96 - Espectro de massas (EI, 70 eV) para o composto Alk15.

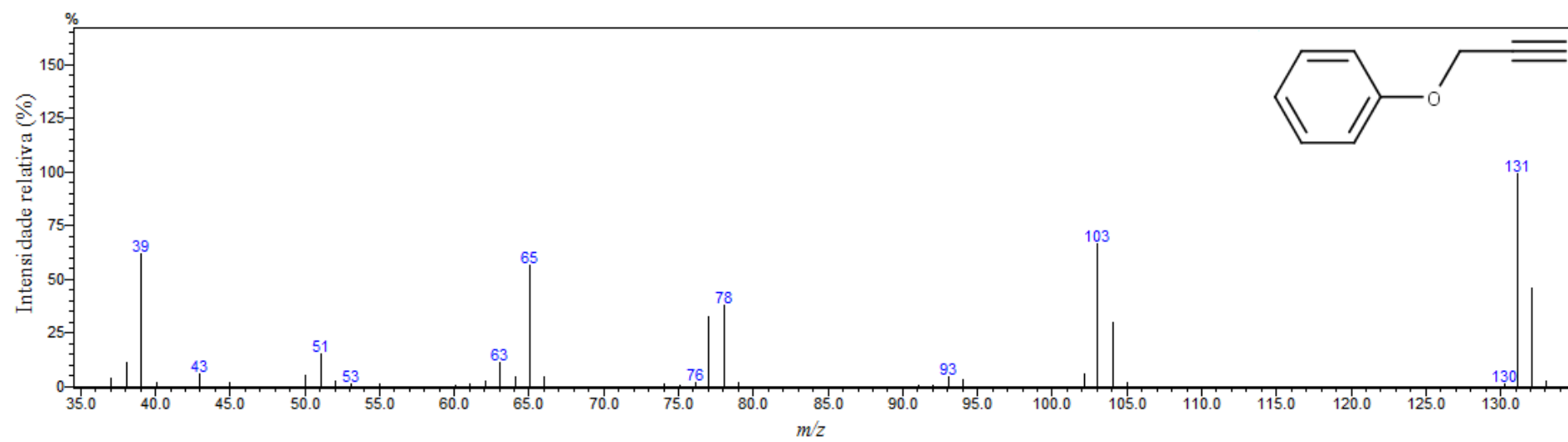
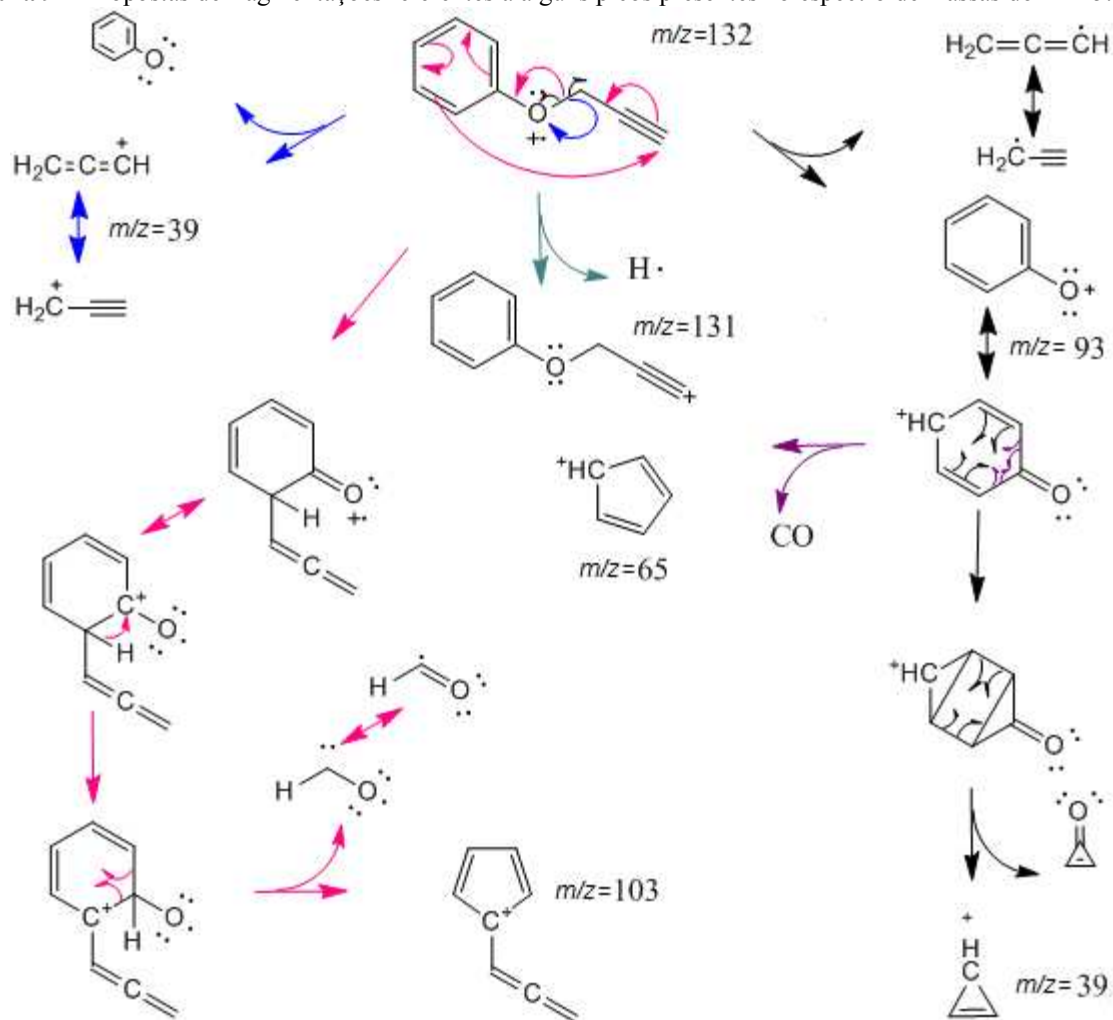


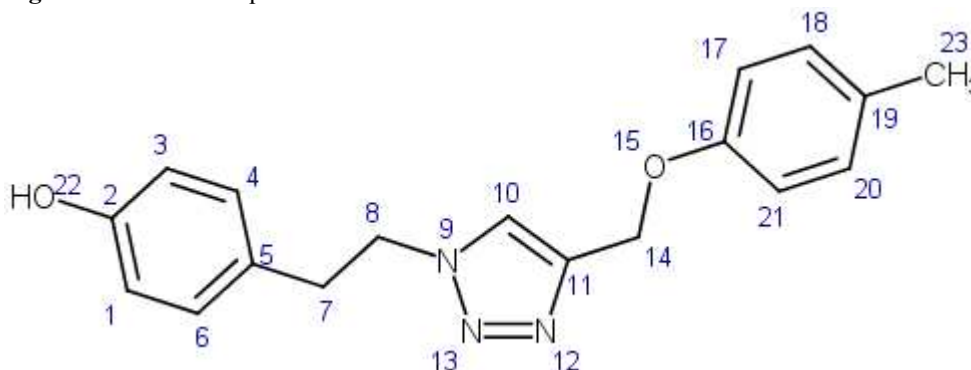
Figura 97- Propostas de fragmentações referentes a alguns picos presentes no espectro de massas do Alk15.



## 2.17 GMB1: 4-(2-{4-[(4-metilfenoxi)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 98) e os dados da caracterização do derivado GMB1 podem ser verificados abaixo.

Figura 98 - Estrutura química GMB1.



**Massa molar:** 309,369 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 309,148 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido bege claro.

**Rendimento:** 80%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,34.

**Temperatura de fusão:** 142,8-144,2 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3150 (estiramento O-H), 2921, 2852, 2362, 2098, 2029, 1872, 1729, 1612, 1586, 1509, 1442, 1381, 1359, 1286, 1266, 1221, 1171, 1135, 1112, 1061, 1031, 1012, 991, 961, 926, 859, 826, 803, 745, 705, 640, 509, 497, 416.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 2,24 (3H, s, H23), 3,12 (2H, t, *J* =7,4 Hz, H7), 4,59 (2H, t, *J* =7,4 Hz, H8), 5,09 (2H, s, H14), 6,70-6,78 (2H, m, H1 e H3), 6,86-6,92 (2H, m, H17 e H21), 6,97-7,04 (2H, m, H4 e H6), 7,05-7,13 (2H, m, H18 e H20), 7,87 (1H, s, H10), 8,29 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 20,5 (C23), 36,4 (C7), 52,3 (C8), 62,5 (C14), 115,5 (C17 e C21), 116,2 (C1 e C3), 124,4 (C10), 129,2 (C5), 130,7 (C4, C6, C18, C19 e C20), 144,3 (C11), 157,1 (C16), 157,5 (C2).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 100, p. 126) o sinal para os hidrogênios do grupo metílico aparece, como esperado, próximo a 2,7 ppm, que seria o valor para o tolueno (a presença de um grupo doador de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons em posição *para* justifica o menor deslocamento encontrado). Os sinais para os hidrogênios H7 e H8 são reconhecidos devido aos tripletos formados, as constantes de acoplamento idênticas e o efeito telhado. Comparativamente à TYRBR, molécula de partida<sup>113</sup>, os sinais de H7 e H8 estão mais desblindados devido ao anel triazólico. O efeito sobre H8 é ainda mais pronunciado uma vez que ele está diretamente ligado ao anel pelo nitrogênio, que é retirador de elétrons por efeito indutivo, acrescido ao fenômeno de anisotropia diamagnética decorrente da aromaticidade do anel. O sinal para os hidrogênios H14 é atribuído considerando-se que os hidrogênios metilênicos estão simultaneamente sob o efeito indutivo retirador de densidade eletrônica do oxigênio do éter e sob o efeito de anisotropia diamagnética do anel triazólico.

Os sinais para os hidrogênios aromáticos encontram-se na região de 6,5-8,0 ppm, também como esperado. Os deslocamentos foram determinados considerando-se o efeito doador de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons do oxigênio exercido sobre os hidrogênios H1/H3 e H17/21. Este efeito torna-os mais blindados que os hidrogênios H4/H6 e H18/H20, respectivamente, uma vez que os hidrogênios H1/H3 e H17/21 estão em posição *orto*. A análise dos espectros obtidos para GMB13,<sup>114</sup> que apresenta espectro bidimensional e serão discutidos posteriormente, permitiu ainda discriminar os sinais de cada anel, uma vez que nos espectros da GMB13 os sinais para H1/H3 e H4/H6 aparecem na região de 6,69-6,75 ppm e 6,96-7,02, respectivamente, e não se espera mudanças significativas na densidade eletrônica dessa região, idêntica em todos os análogos sintetizados (GMB1-GMB15).

O sinal referente a H10 foi também facilmente identificado por ser um simpleto fortemente desblindado, devido à anisotropia diamagnética do anel triazólico, sendo integrado para apenas um hidrogênio. Por fim, o sinal para o hidrogênio H22, pertencente à hidroxila fenólica, foi identificado pela forma abaulada do sinal. O uso da acetona- $d_6$  como solvente para a obtenção do espectro, devido à capacidade de receber ligações de hidrogênio, certamente contribuiu para um deslocamento tão elevado para este hidrogênio.

Sem o auxílio de experimentos de RMN bidimensionais a atribuição dos sinais de carbono (Figura 101, p. 127) de maneira inequívoca é bastante dificultada. Novamente, o espectro bidimensional para o composto GMB13 (p. 190), analisado posteriormente, será

---

<sup>113</sup> Atentar para o fato de que as numerações das posições não são as mesmas.

<sup>114</sup> Idem.

utilizado para a atribuição. O sinal referente ao carbono C23 é identificado próximo à região de 20 ppm. O carbono C7 segue o mesmo padrão encontrado para o TYRBR, sendo que o carbono C8, no entanto, torna-se mais desblindado do que o carbono correspondente ligado ao grupo brometo, na molécula TYRBR. Isso decorre do fato de que ele está diretamente ligado ao nitrogênio do grupo triazólico. O carbono metilênico C14 aparece como o mais desblindado entre os carbonos metilênicos por estar simultaneamente ligado ao oxigênio e ao grupo triazol.

Os sinais para os carbonos C1/C3 e C17/C21 encontram-se na região própria de carbonos de anéis aromáticos. O sinal referente a C1/C3, pela inspeção dos espectros da molécula GMB13, corresponde ao sinal em 116,2 ppm, de maneira que se apresenta como estando mais desblindado que o sinal para os carbonos C17/C21. O sinal referente ao carbono C10 é característico do grupo triazólico, próximo a 120 ppm.<sup>115</sup> Por se tratar de um carbono hidrogenado, pôde ser distinguido do C5, na mesma região, que apresenta sinal com intensidade típica de carbono quaternário.

Os sinais referentes aos carbonos C2, C16, C11 e C5 têm intensidade muito baixa devido ao longo tempo de relaxação e ao baixo NOE. Os carbonos C2 e C16 são os mais desblindados dentre estes, por estarem diretamente ligados a átomos de oxigênio, capazes de retirarem densidade eletrônica por efeito indutivo. Os valores muito próximos para os deslocamentos dos sinais dos carbonos C2 e C16, no entanto, tornam possível que a atribuição conferida a eles esteja trocada. O carbono C11, além de pertencer a um anel aromático, está ligado a átomo de nitrogênio sendo, portanto, mais desblindado que o carbono C5. O sinal referente aos carbonos C4, C6, C18, C19 e C20, na região própria de carbonos de anéis aromáticos, aparece como um único sinal, mais intenso que os outros por corresponder a 5 carbonos.

As porções que são idênticas nas moléculas sintetizadas não serão discutidas novamente nas próximas análises.

---

<sup>115</sup> Creary et al. (2012).

Figura 99 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB1.

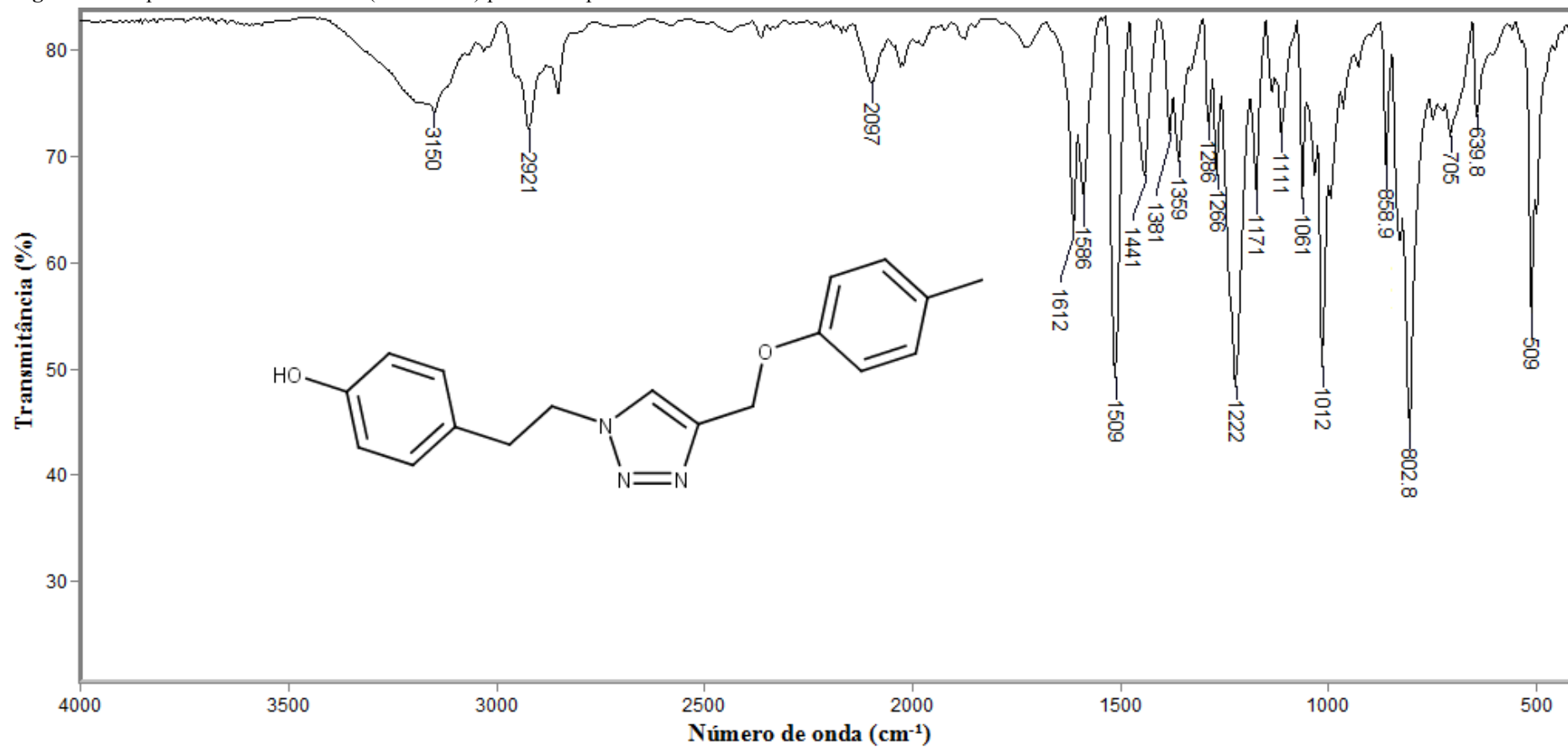


Figura 100 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB1.

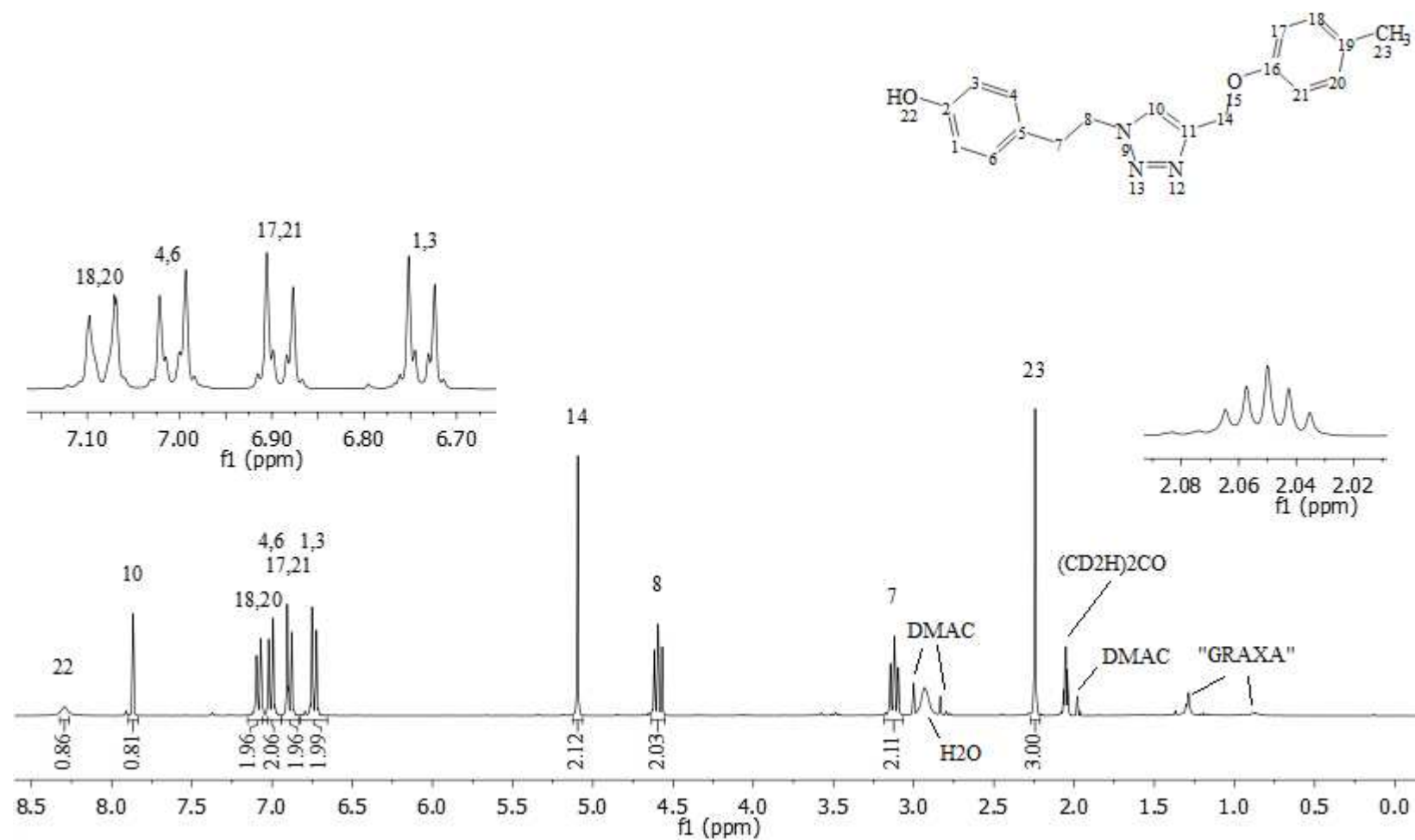
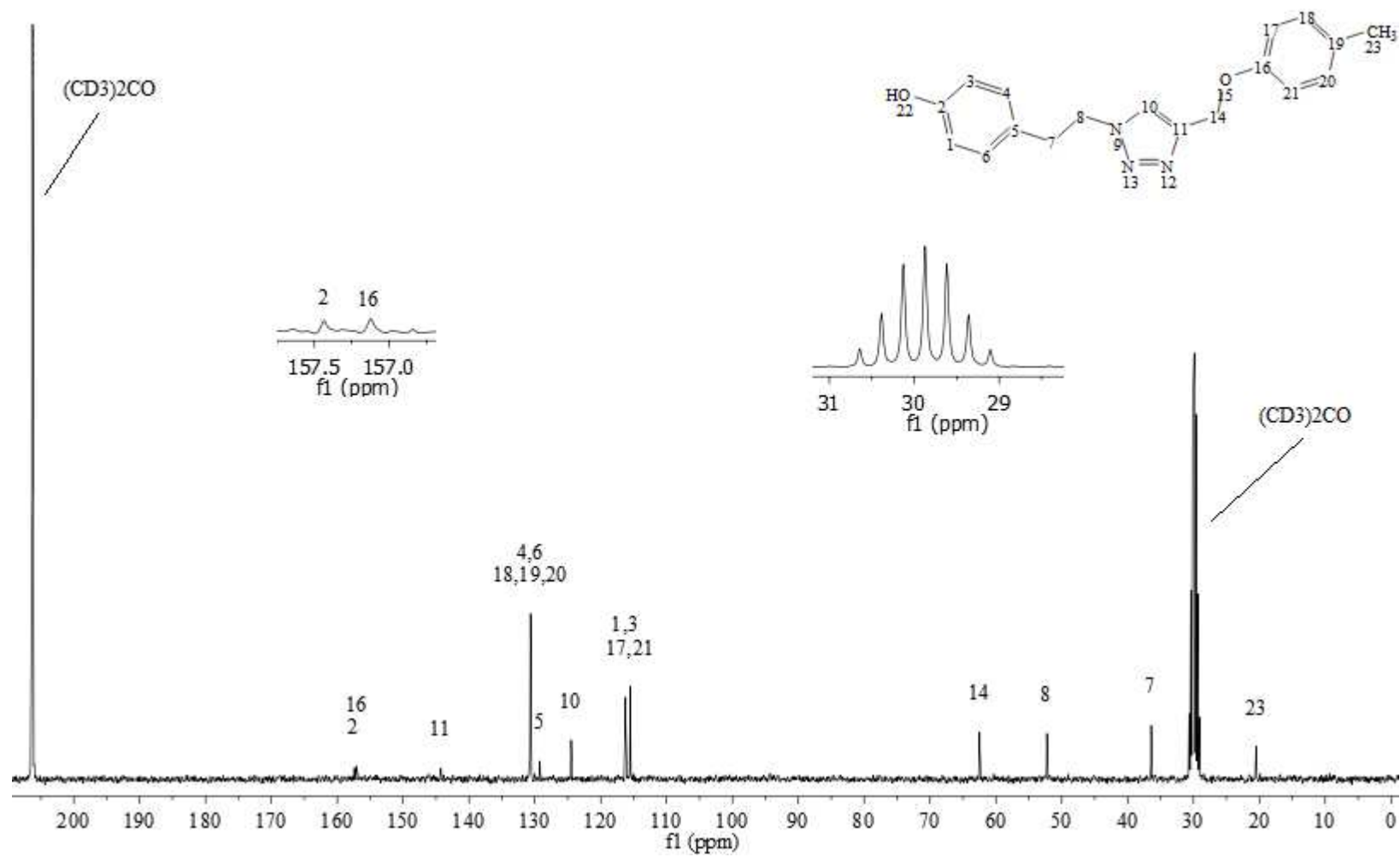


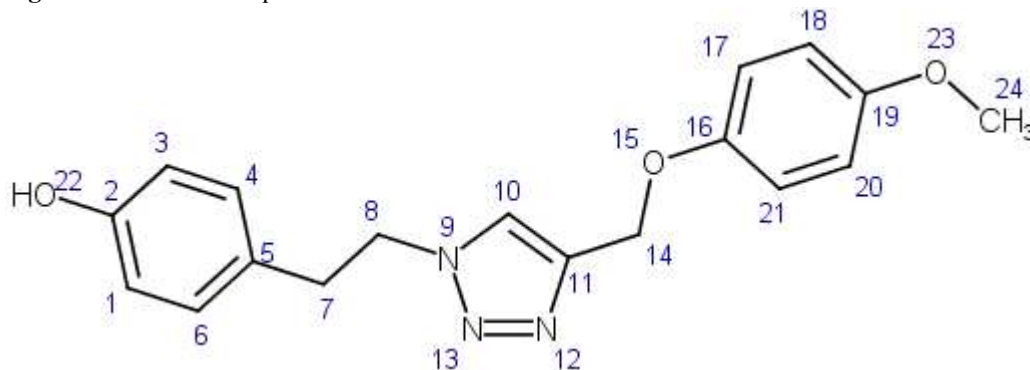
Figura 101 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB1.



## 2.18 GMB2: 4-(2-{4-[(4-metoxifenoxi)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 102) e os dados da caracterização do derivado GMB2 podem ser verificados abaixo.

Figura 102 - Estrutura química GMB2.



**Massa molar:** 325,368 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 325,1426 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

**Aparência:** sólido bege.

**Rendimento:** 98%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,28.

**Temperatura de fusão:** 123,0-126,5 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3146 (estiramento O-H), 3004, 2924, 2852, 2828, 2683, 2595, 2467, 2361, 2041, 1857, 1735, 1612, 1595, 1568, 1505, 1461, 1451, 1387, 1365, 1315, 1291, 1261, 1213, 1189, 1175, 1126, 1106, 1066, 1039, 1025, 992, 948, 860, 842, 821, 787, 740, 703, 655, 640, 599, 551, 534, 522, 502, 419.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H7), 3,73 (3H, s, H24), 4,59 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H8), 5,07 (2H, s, H14), 6,71-6,78 (2H, m, H1 e H3), 6,81-6,89 (2H, m, H18 e H20), 6,90-6,97 (2H, m, H4 e H6), 6,97-7,05 (2H, m, H17 e H21), 7,85 (1H, s, H10), 8,30 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,4 (C7), 52,2 (C8), 55,8 (C24), 63,0 (C14), 115,4 (C18 e C20), 116,2 (C17 e C21), 116,7 (C1 e C3), 124,5 (C10), 129,2 (C5), 130,6 (C4, C6), 144,3 (C11), 157,1 (C2).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 104, p. 131) o sinal de H24, característico para esta molécula, por ser referente aos hidrogênios do grupo metoxila, aparece em 3,73 ppm, como

esperado. Considerando que o anel triazólico exerce um efeito indutivo retirador de densidade eletrônica devido a presença dos átomos de nitrogênio, os elétrons do oxigênio 15 estarão menos disponíveis para a deslocalização do que os elétrons do oxigênio 23, de maneira que os hidrogênios H18/H20 foram considerados mais blindados que os hidrogênios H17/H21.

Os carbonos C17, C21, C18 e C20 são mais blindados em relação aos carbonos C1, C3, C4 e C6 por estarem sobre a influência de dois grupos capazes de doar densidade eletrônica por deslocalização de elétrons (Figura 105, p. 132). De maneira análoga à elucidação do espectro de hidrogênio, considerando que o anel triazólico exerça um efeito indutivo retirador de densidade eletrônica, os elétrons do oxigênio 15 estarão menos disponíveis para a deslocalização do que os elétrons do oxigênio 23, de maneira que os carbonos C18/C20 foram considerados mais blindados.

Figura 103 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB2.

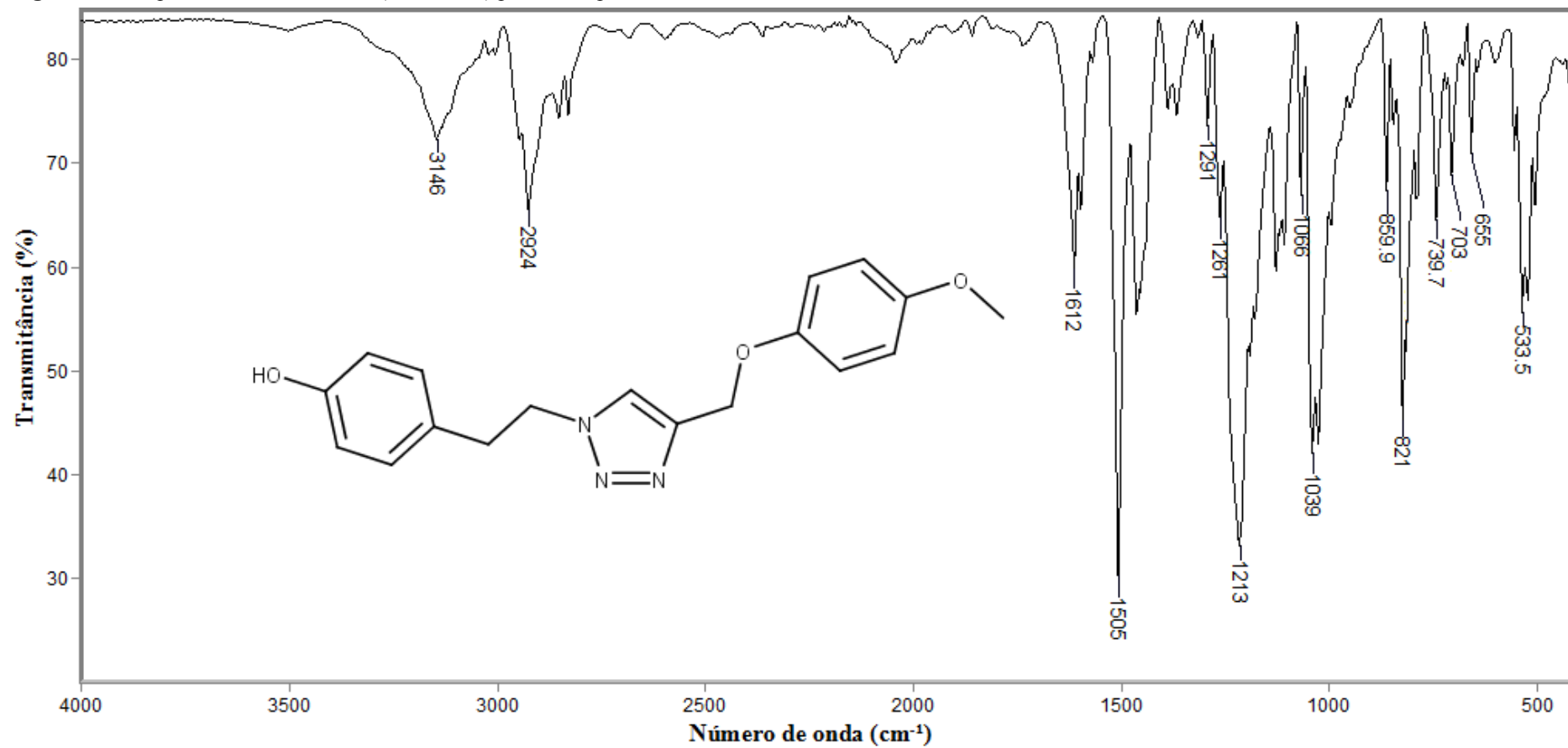


Figura 104 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB2.

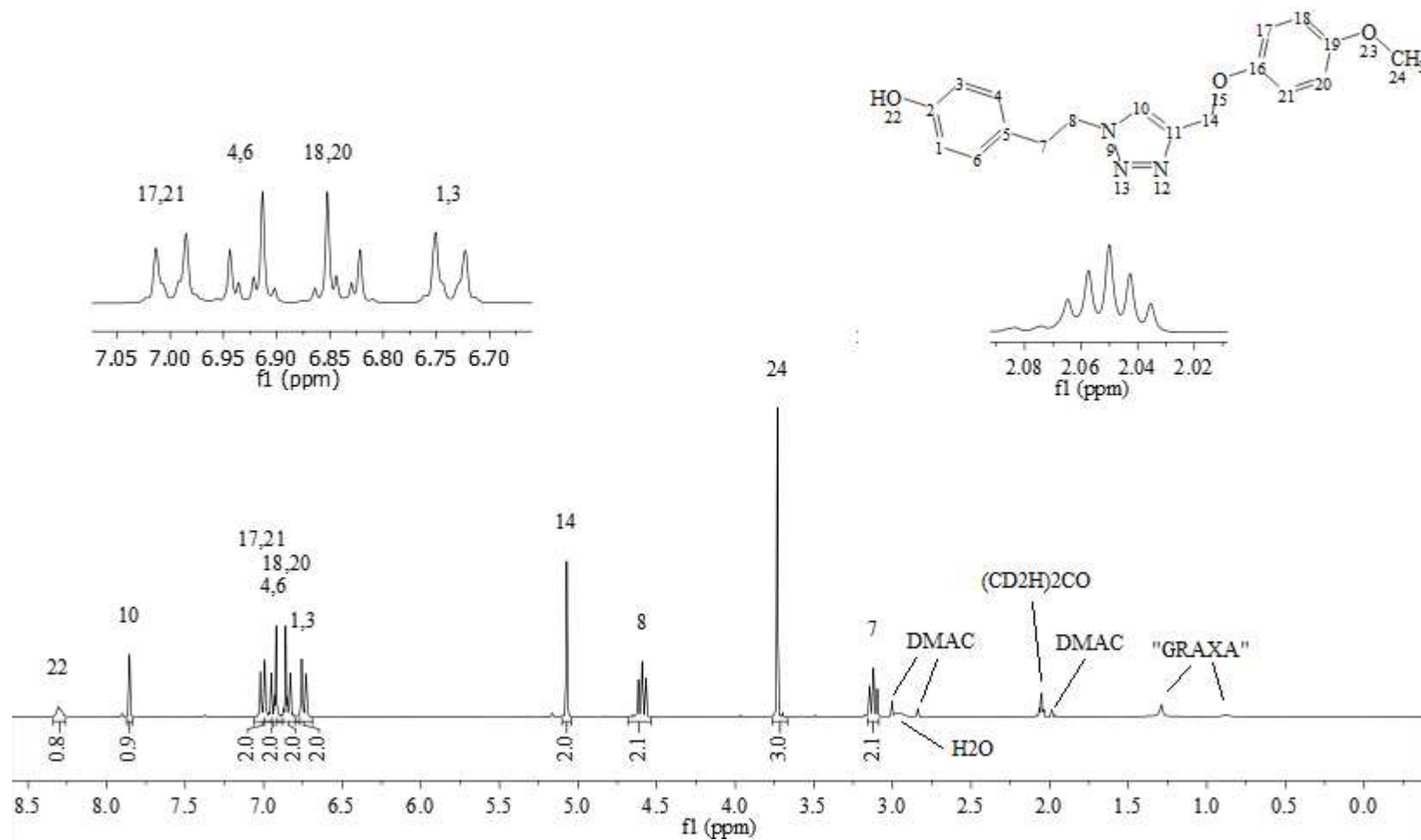
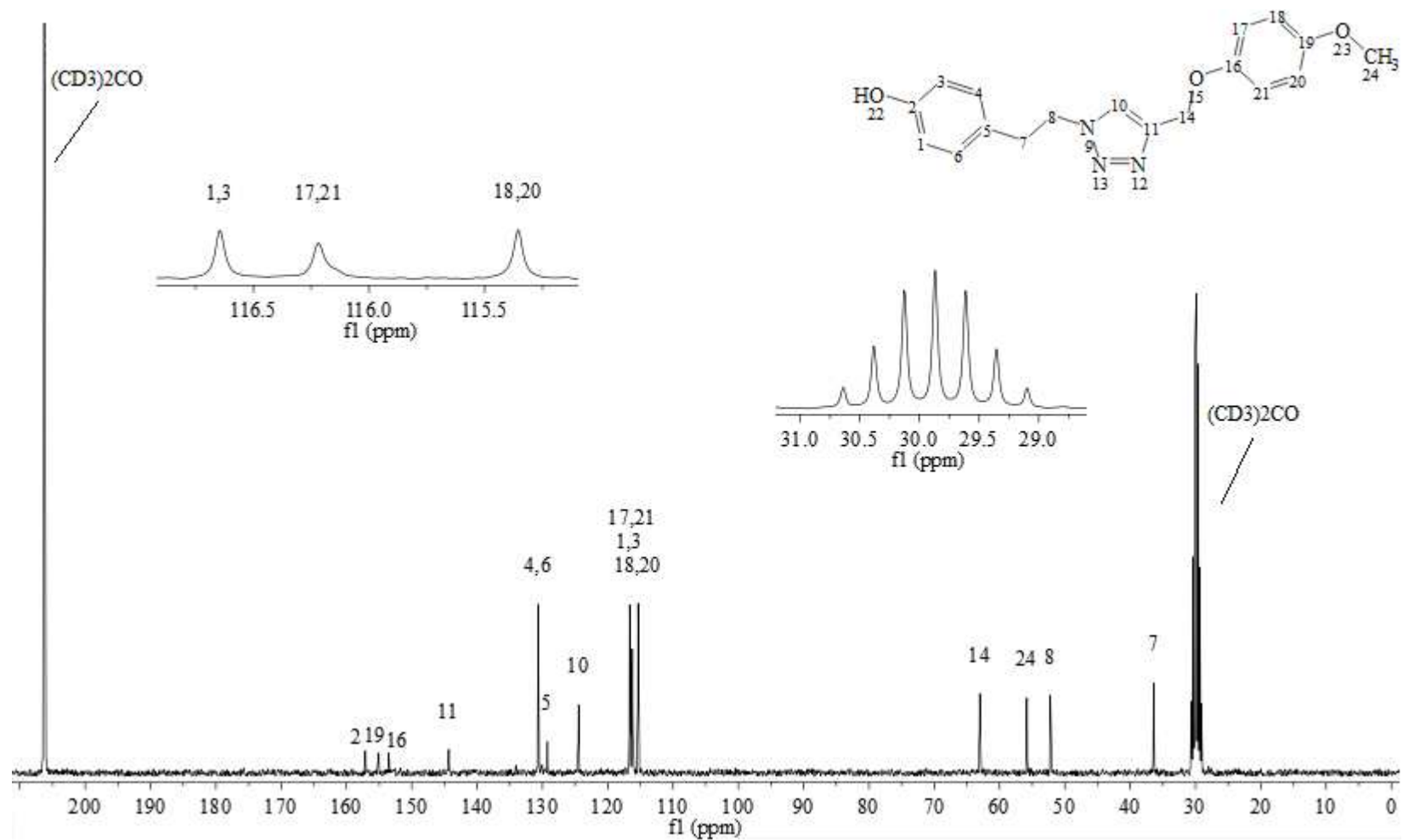


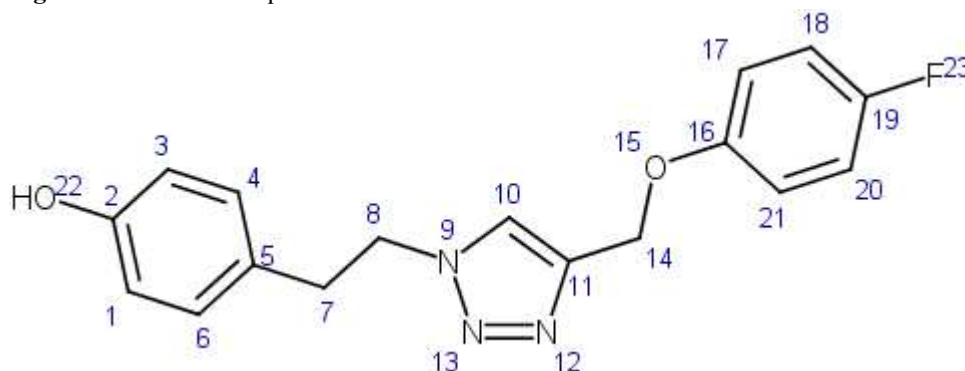
Figura 105 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB2.



## 2.19 GMB3: 4-(2-{4-[(4-fluorofenoxi)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 106) e os dados da caracterização do derivado GMB3 podem ser verificados abaixo.

Figura 106 - Estrutura química GMB3.



**Massa molar:** 313,332 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 313,123 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido bege.

**Rendimento:** 77%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,34.

**Temperatura de fusão:** 135,0-137,0 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3162 (estiramento O-H), 3072, 3021, 2955, 2810, 2681, 2591, 2366, 2187, 2019, 1895, 1711, 1614, 1595, 1569, 1519, 1503, 1466, 1451, 1384, 1328, 1293, 1271, 1243, 1226, 1202, 1175, 1155, 1131, 1095, 1065, 1041, 1014, 940, 923, 867, 833, 817, 798, 738, 709, 664, 641, 535, 519, 508, 410.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t,  $J$  = 7,4 Hz, H7), 4,60 (2H, t,  $J$  = 7,4 Hz, H8), 5,12 (2H, s, H14), 6,71-6,77 (2H, m, H1 e H3), 6,96-7,10 (6H, m, H4, H6, H17, H18, H20 e H21), 7,89 (1H, s, H10), 8,31 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,4 (C7), 52,2 (C8), 62,9 (C14), 116,2 (d,  $J$  = 13,6 Hz, C18 e C20), 116,6 (C1 e C3), 116,9 (d,  $J$  = 7,9 Hz, C17 e C21), 124,6 (C10), 129,2 (C5), 130,6 (C4 e C6), 143,8 (C11), 156,5 (C16), 157,0 (C2), 157,7 (d,  $J$  = 296,2 Hz, C19).

Diferentemente das moléculas anteriores, os sinais referentes aos hidrogênios H4, H6, H17, H18, H20 e H21 sobrepuseram-se e não puderam ser diferenciados uns dos outros (Figura 108, p. 136).

A presença de um átomo de flúor nesta estrutura permite a observação de multiplicidade também nos sinais referentes aos átomos de carbono (Figura 109, p. 137). Isto decorre do acoplamento heteronuclear entre os núcleos de  $^{13}\text{C}$  e  $^{19}\text{F}$ . O sinal para o carbono C19 pode ser identificado pela alta constante de acoplamento para carbono *ipso* em anel aromático<sup>116</sup> ( $J = 296,2$  Hz). Usando o mesmo raciocínio, foi possível atribuir os sinais para os carbonos C17/C21 e C18/C20, de maneira que as constantes de acoplamento  $^{13}\text{C} - ^{19}\text{F}$  maiores foram tomadas como indicativos dos carbonos mais próximos do átomo de flúor.

---

<sup>116</sup> Branco *et al.* (2015).

Figura 107 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB3.

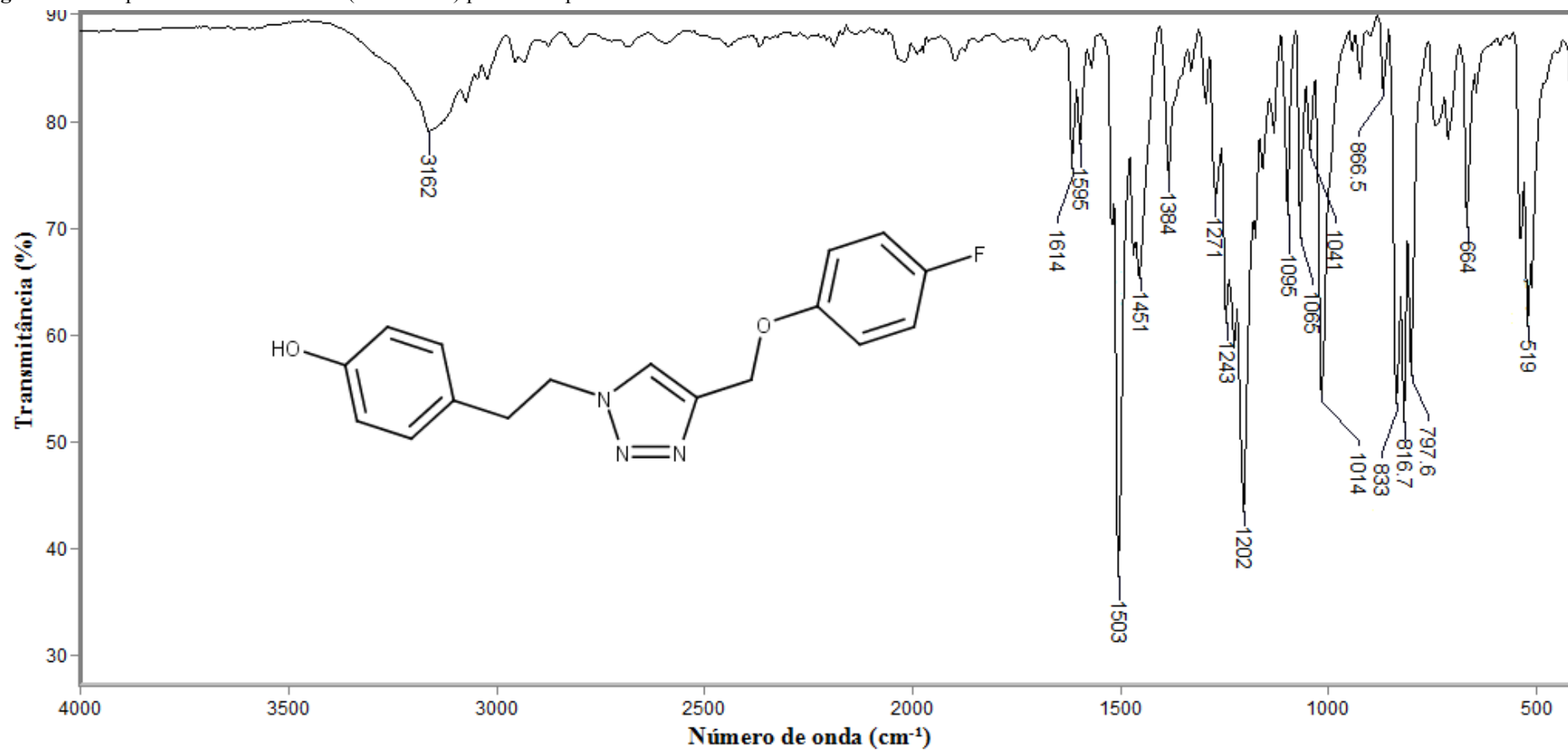


Figura 108 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB3.

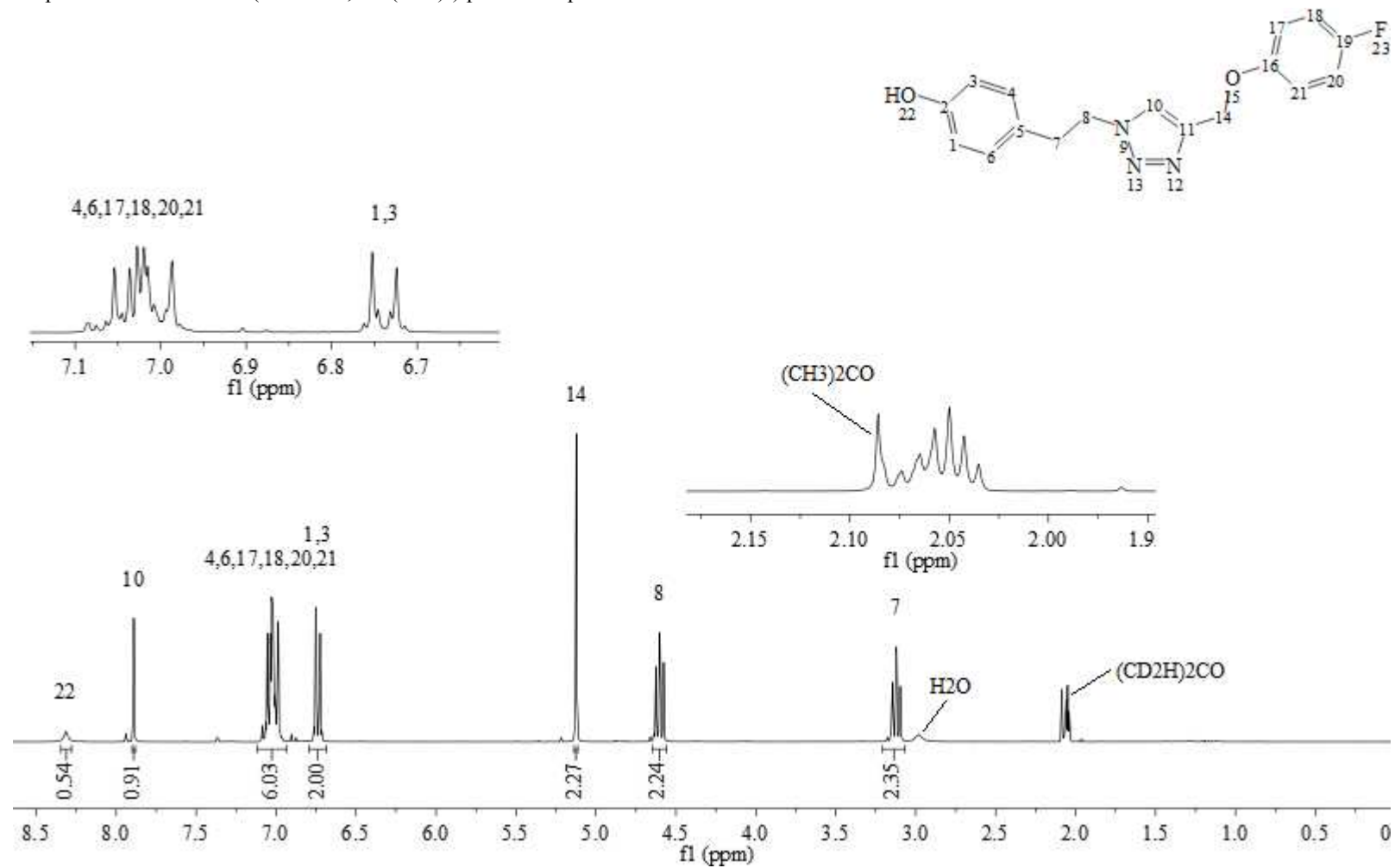
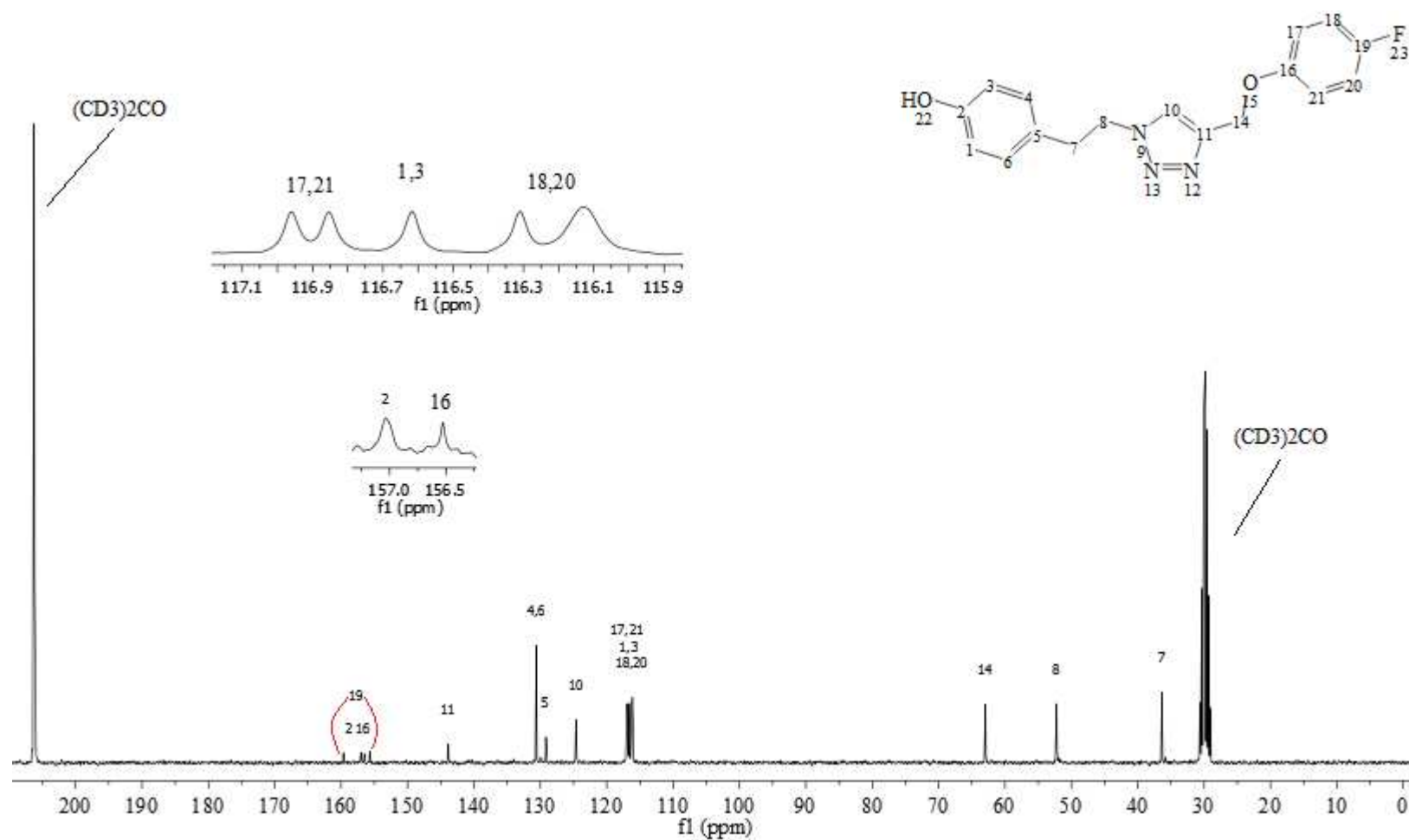


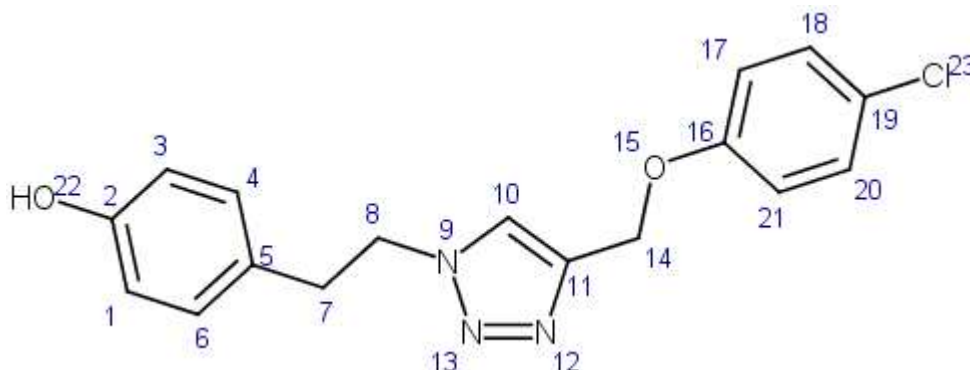
Figura 109 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB3.



## 2.20 GMB4: 4-(2-{4-[(4-clorofenoxi)metil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 110) e os dados da caracterização do derivado GMB4 podem ser verificados abaixo.

Figura 110 - Estrutura química GMB4.



**Massa molar:** 329,78 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 329,093 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 70%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,35.

**Temperatura de fusão:** 145,5-146,5 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3146 (estiramento O-H), 2930, 2857, 2185, 2009, 1888, 1732, 1642, 1613, 1596, 1580, 1517, 1487, 1449, 1390, 1372, 1282, 1262, 1239, 1220, 1172, 1127, 1095, 1059, 1039, 1002, 955, 937, 860, 828, 805, 780, 703, 683, 665, 643, 537, 512, 500, 473, 445.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t, *J* = 7,3 Hz, H7), 4,60 (2H, t, *J* = 7,3 Hz, H8), 5,15 (2H, s, H14), 6,71-6,77 (2H, m, H1 e H3), 6,96-7,06 (4H, m, H4, H6, H17 e H21), 7,26-7,33 (2H, m, H18 e H20), 7,90 (1H, s, H10), 8,31 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,3 (C7), 52,2 (C8), 62,6 (C14), 116,2 (C1 e C3), 117,3 (C17 e C21), 124,7 (C19), 126,0 (C10), 129,1 (C5), 130,1 (C18 e C20), 130,6 (C4 e C6), 143,6 (C11), 157,1 (C2), 158,2 (C16).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 112, p. 141) houve sobreposição apenas dos sinais referentes aos hidrogênios H4, H6, H17 e H21. Este fenômeno permite uma breve discussão a respeito da teoria de ligações. Tendo em vista que a ligação covalente que liga o átomo de cloro

ao anel aromático dá-se pelos orbitais cujo número quântico principal é igual a 3 ( $n=3$ ), tem-se que a influência de doação de elétrons por deslocalização é menos pronunciada que no caso do flúor. Isso é devido à sobreposição orbitalar menos efetiva, uma vez que os orbitais do anel aromático envolvidos nas ligações possuem  $n=2$ . Apesar de ser mais eletronegativo e, portanto, ser capaz de exercer maior efeito indutivo retirador de elétrons do que o cloro, o flúor é melhor doador de elétrons por deslocalização, uma vez que também possui elétrons de valência com  $n=2$ . Assim, H18 e H20 são mais desblindados em GMB4 do que em GMB3, contrariamente ao que um julgamento precipitado poderia fazer esperar.

A distinção entre os sinais referentes aos carbonos C1/C3, C4/C6, C17/C21 e C18/C20 foi realizada considerando os valores atribuídos para as outras moléculas em relação aos carbonos C1/C3 e C4/C6 (Figura 113, p. 142). Os carbonos C17/C21 são mais blindados, uma vez que sofrem influência do efeito doador de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons do oxigênio 15.

Figura 111 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB4.

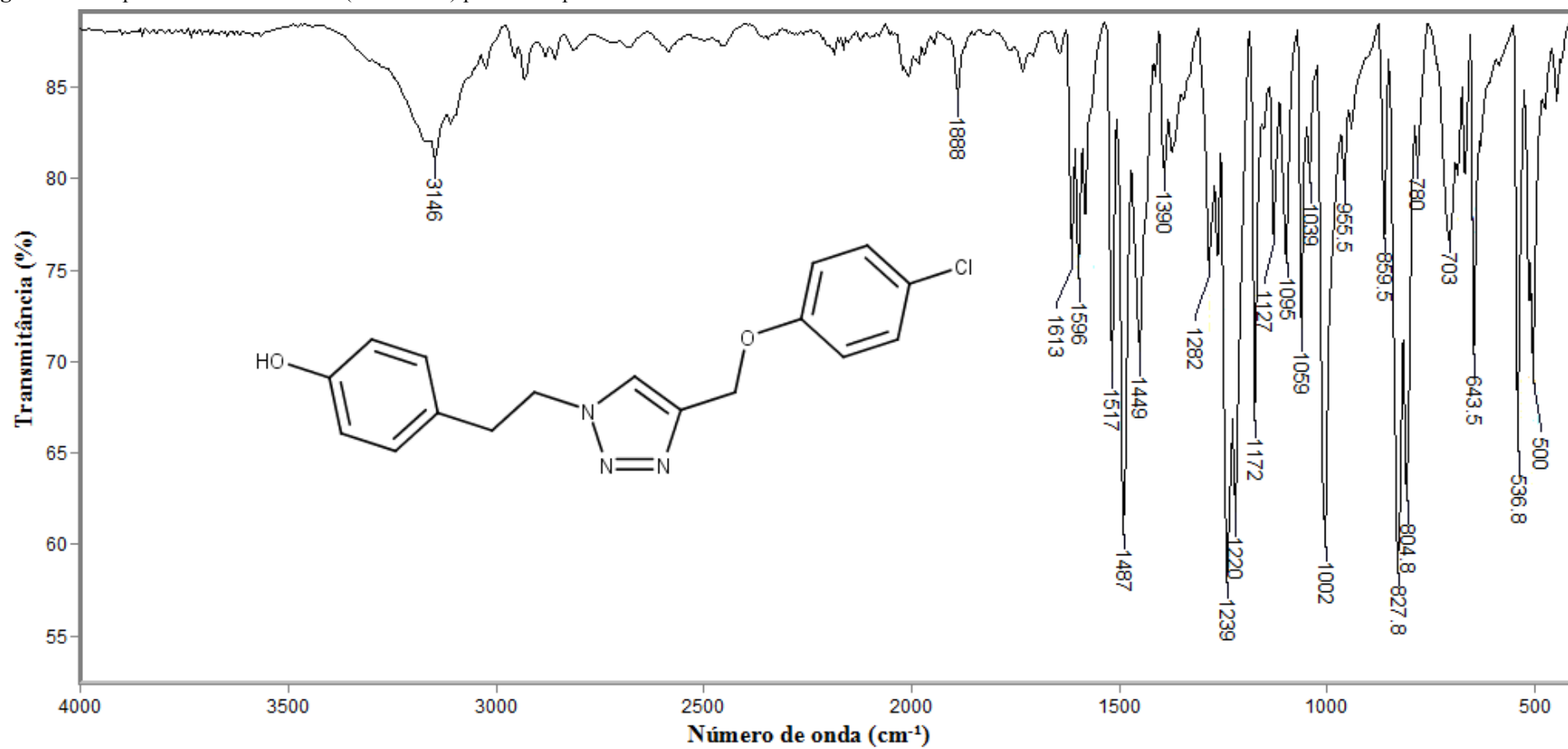


Figura 112 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB4.

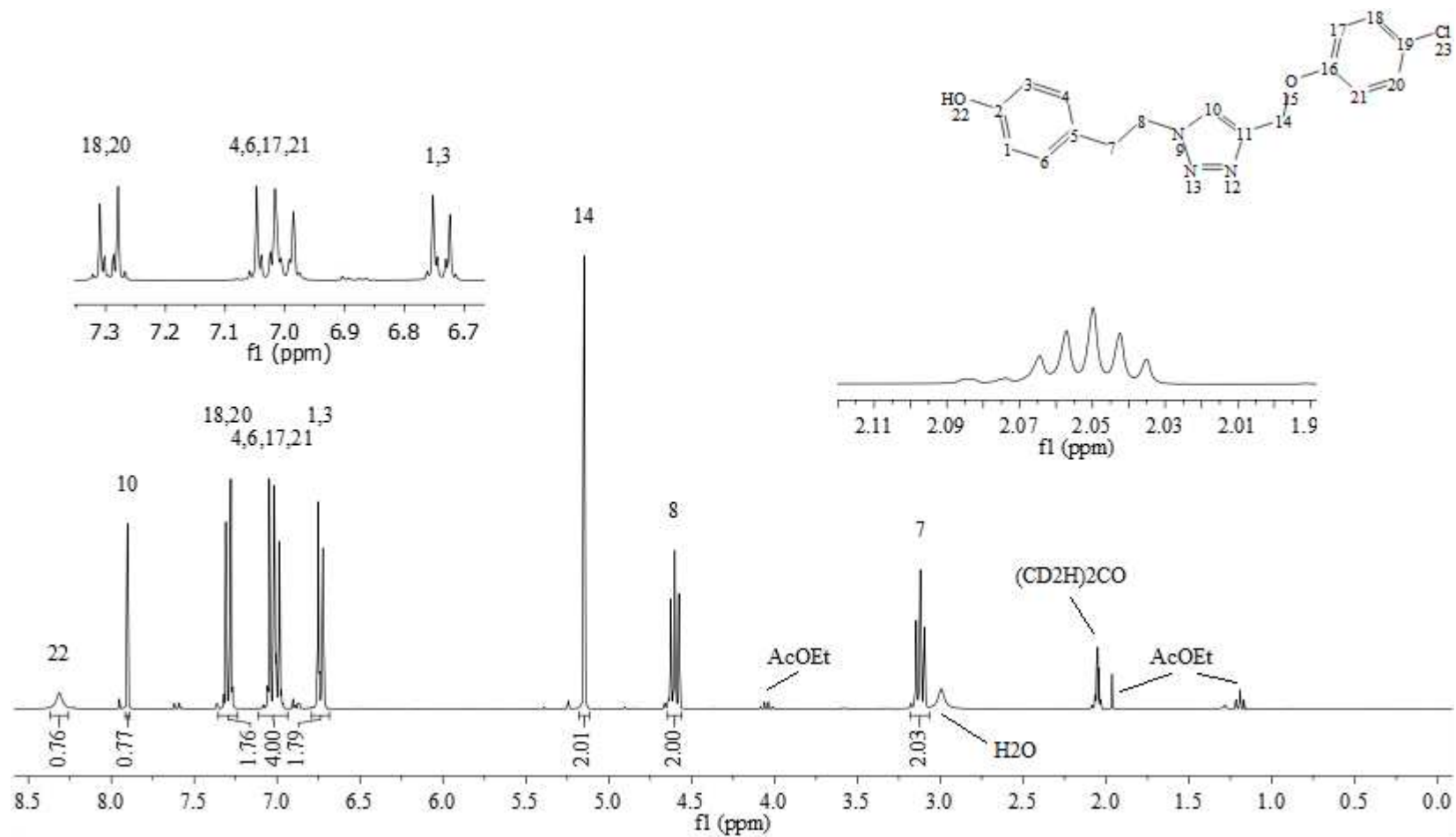
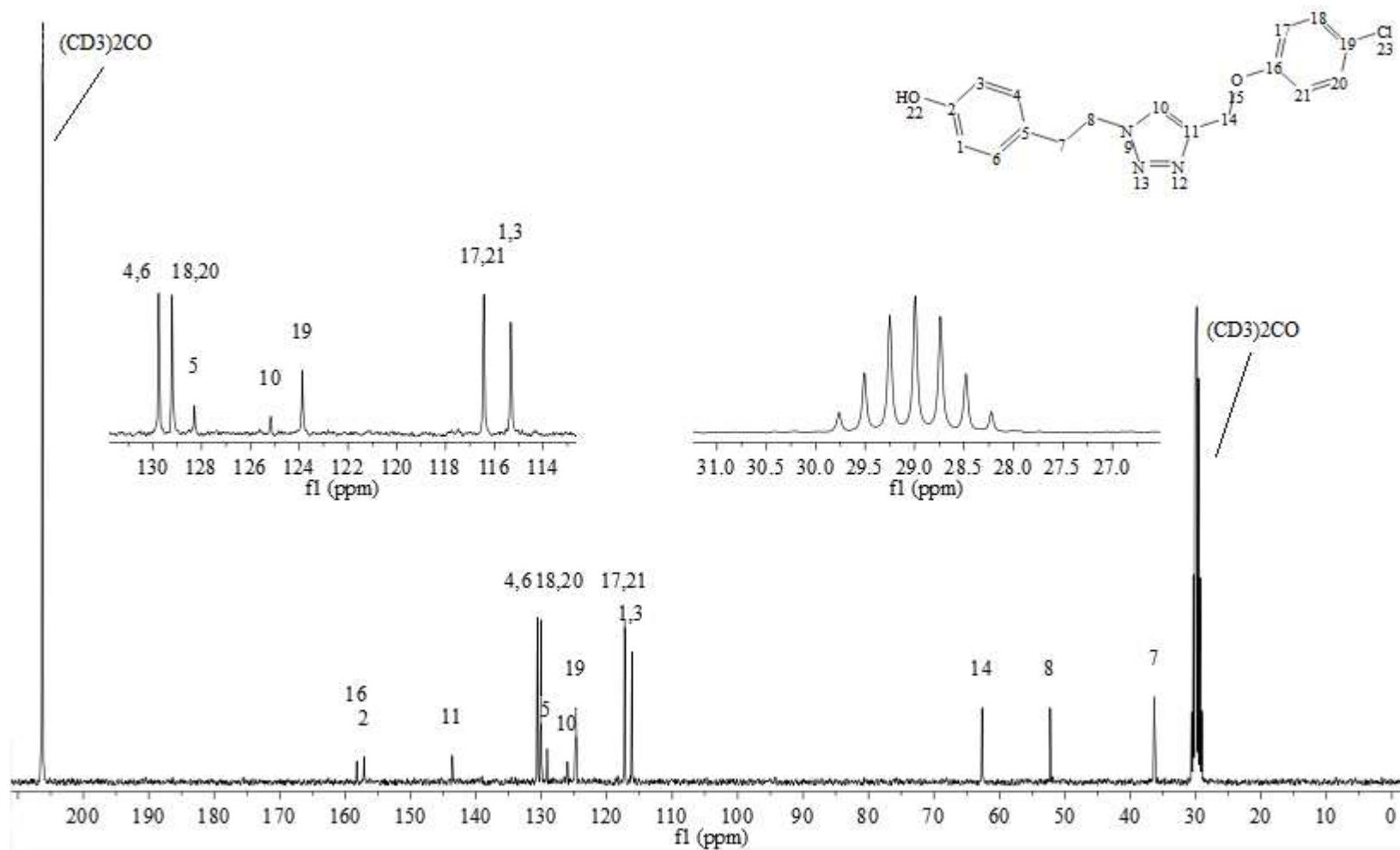


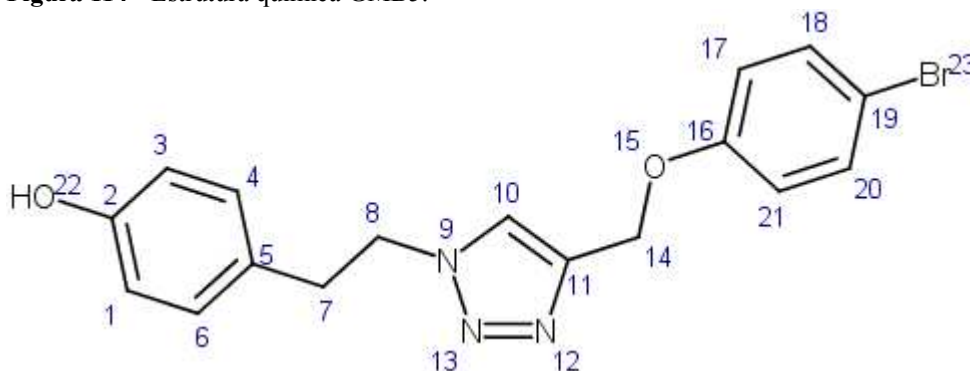
Figura 113 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB4.



## 2.21 GMB5: 4-(2-{4-[(4-bromofenoxi)metil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 114) e os dados da caracterização do derivado GMB5 podem ser verificados abaixo.

Figura 114 - Estrutura química GMB5.



**Massa molar:** 374,238 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 373,043 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 75%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,34.

**Temperatura de fusão:** 164,8-166,6 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3146 (estiramento O-H), 3021, 2927, 2856, 2018, 1888, 1762, 1706, 1613, 1594, 1578, 1515, 1486, 1449, 1406, 1389, 1366, 1299, 1285, 1261, 12238, 1219, 1174, 1148, 1126, 1101, 1073, 1059, 1039, 1008, 998, 956, 936, 858, 826, 803, 777, 705, 664, 628, 613, 536, 510, 500, 445.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H7), 4,60 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H8), 5,15 (2H, s, H14), 6,70-6,77 (2H, m, H1 e H3), 6,95-7,05 (4H, m, H4, H6, H17 e H21), 7,39-7,47 (2H, m, H18 e H20), 7,90 (1H, s, H10), 8,28 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,4 (C7), 52,3 (C8), 62,6 (C14), 113,4 (C19), 116,2 (C1 e C3), 117,8 (C10), 129,2 (C5), 130,6 (C4 e C6), 133,1 (C18 e C20), 143,6 (C11), 157,1 (C2), 158,8 (C16).

A atribuição dos sinais seguiu o mesmo raciocínio utilizado para a molécula GMB4.

Figura 115 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB5.

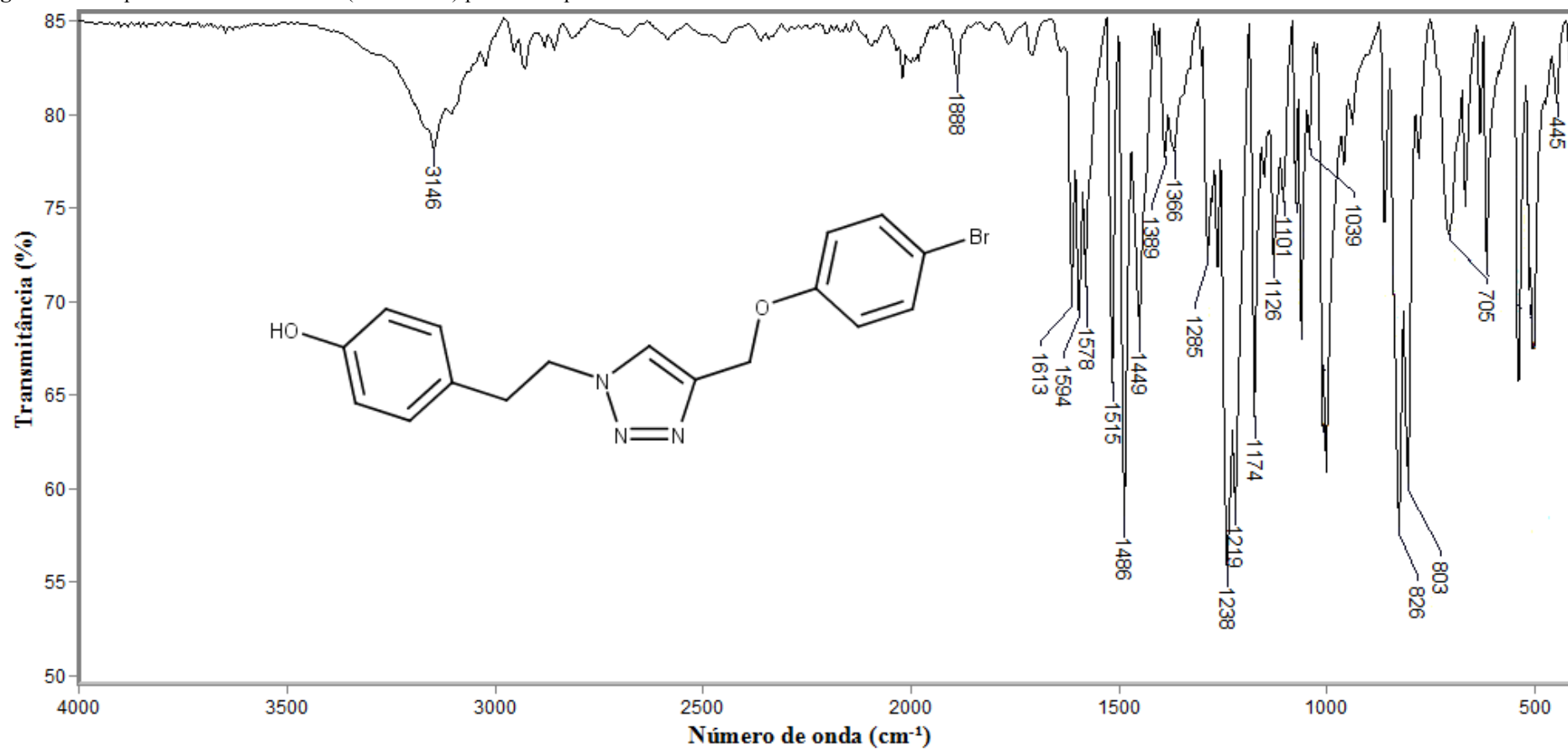


Figura 116 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB5.

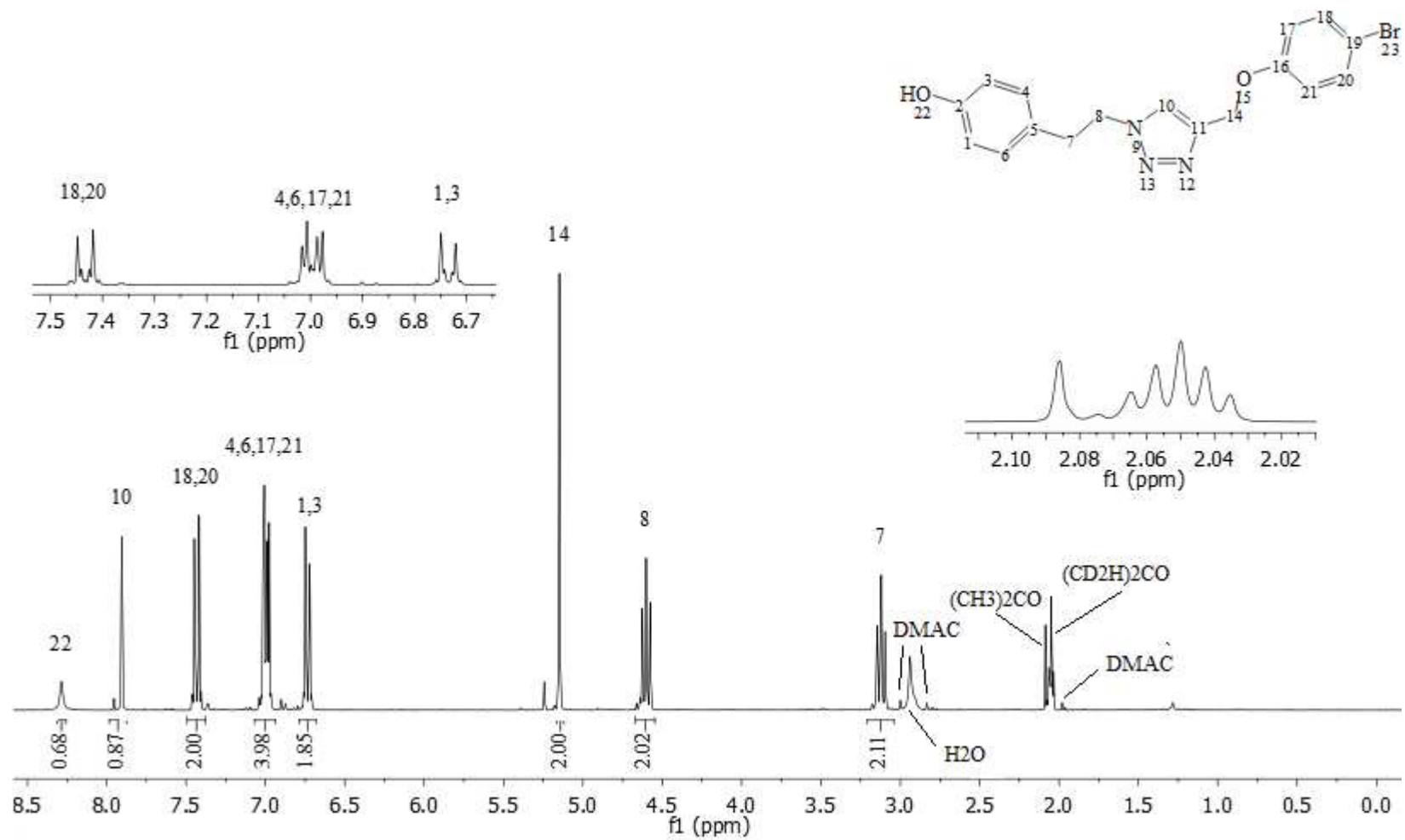
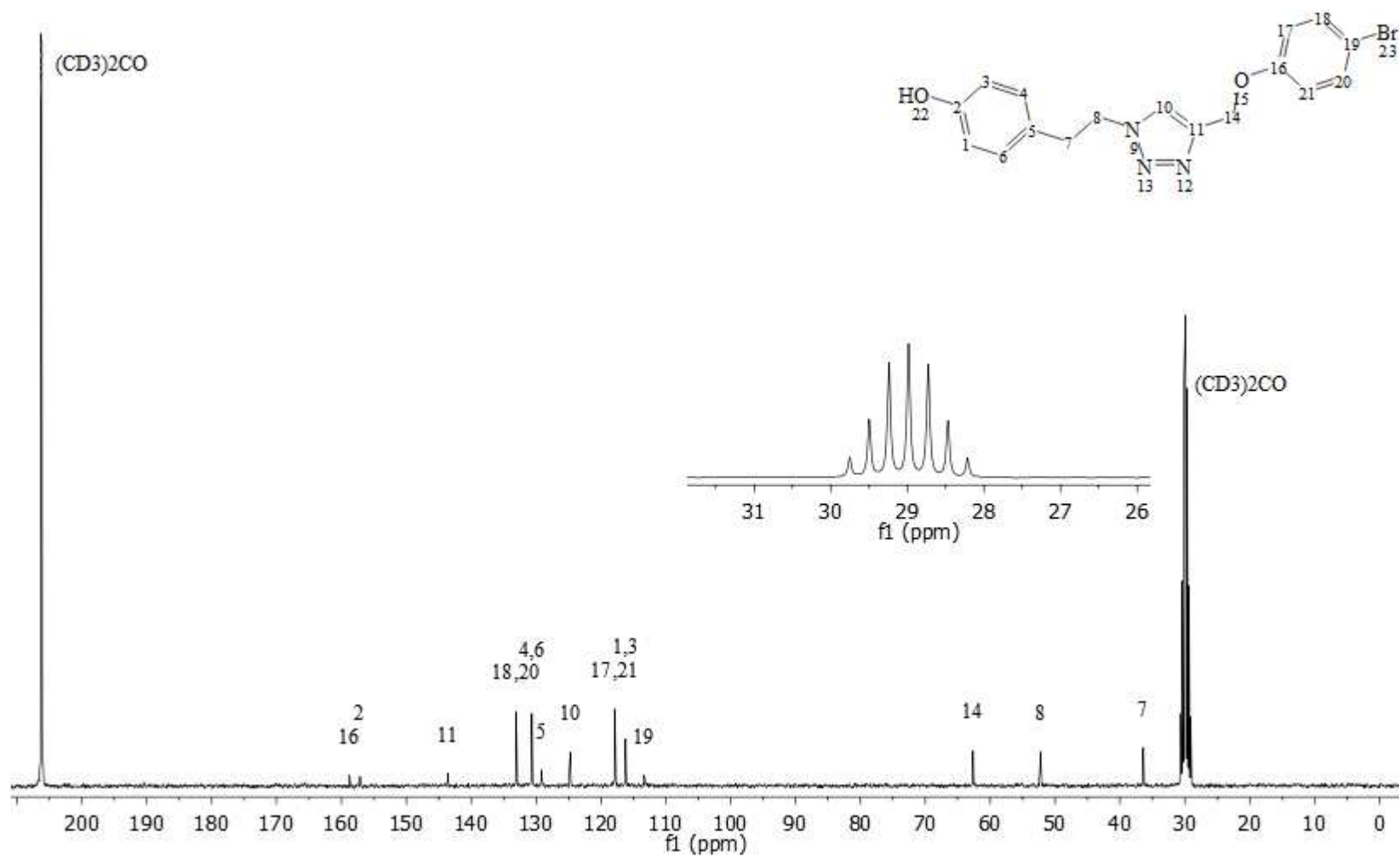


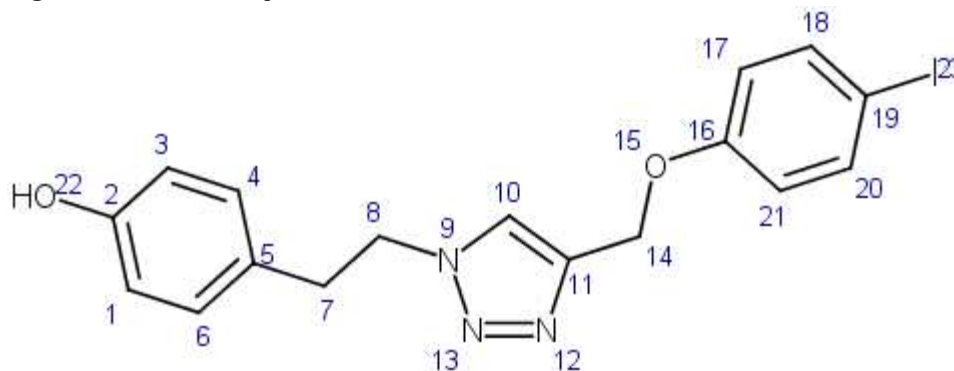
Figura 117 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB5.



## 2.22 GMB6: 4-(2-{4-[(4-iodofenoxi)metil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 118) e os dados da caracterização do derivado GMB5 podem ser verificados abaixo.

Figura 118 - Estrutura química GMB6.



**Massa molar:** 421,238 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 421,02872 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido bege.

**Rendimento:** 70%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,37.

**Temperatura de fusão:** 177,0-179,7 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3144 (estiramento O-H), 2929, 2852, 2359, 2095, 1885, 1732, 1612, 1594, 1584, 1572, 1513, 1484, 1448, 1402, 1386, 1364, 1301, 1281, 1260, 1237, 1222, 1176, 1118, 1100, 1060, 1042, 1005, 995, 957, 934, 874, 856, 824, 801, 773, 707, 664, 626, 601, 534, 508, 499, 447.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H7), 4,60 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H8), 5,14 (2H, s, H14), 6,70-6,77 (2H, m, H1 e H3), 6,97-7,04 (2H, m, H4, H6), 7,58-7,63 (2H, m, H18 e H20), 7,90 (1H, s, H10), 8,26 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,5 (C7), 52,3 (C8), 62,6 (C14), 83,3 (C19), 116,3 (C1 e C3), 118,4 (C17 e C21), 124,8 (C10), 129,2 (C5), 130,7 (C4 e C6), 139,2 (C18 e C20), 143,6 (C11), 157,1 (C2), 159,5 (C16).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 120, p. 150) é essencialmente igual ao anterior, com uma exceção: o sinal em 5,24 ppm, próximo ao sinal de H14, chama a atenção. O mesmo pode ser dito dos sinais em 6,92-6,94 ppm e 7,63-7,64 ppm (não integrados), próximos aos sinais

referentes aos hidrogênios H17/H21 e H18/H20. Aparentemente os sinais não fariam parte da molécula, podendo denotar a presença de impureza. No entanto, o sinal em 5,24 ppm, por exemplo, também pode ser notado, em menor proporção, para as moléculas GMB3-GMB5 (5,22 ppm, para a primeira), aumentando à medida que o volume do átomo de halogênio do anel benzênico (não fenólico) aumenta. Ademais, o deslocamento químico próximo a dos hidrogênios H14 sugere que o sinal é referente a hidrogênios do mesmo tipo, só que em ambientes químicos ligeiramente distintos. Para descartar a possibilidade de ser uma impureza procedeu-se à análise dos cromatogramas obtidos por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. A Figura 121 (p. 151) ilustra o resultado obtido. A análise dos cromatogramas, unido ao uso de CCD, permite inferir que o problema encontrado não se deve à presença de impurezas<sup>117</sup>.

Levantou-se então a hipótese de um problema conformacional. Kann, Johansson e Beke-Somfai (2015) demonstraram através de cálculos quânticos e espectroscopia de RMN que triazóis 1,4 e 1,5 dissubstituídos de aminoácidos podem coexistir em equilíbrio com confôrmeros de energias semelhantes. Supôs-se que à temperatura em que o experimento foi executado haveria uma distribuição de confôrmeros com energia suficientemente distinta para poderem ser percebidos como moléculas diferentes no RMN. Para confirmar a hipótese bastaria a realização do experimento com modificação da temperatura, uma vez que um aumento de temperatura facilitaria as transições conformacionais de maneira que o aparelho fosse capaz de detectar apenas a média dos confôrmeros. Devido à dificuldade de acesso ao aparelho em tempo hábil, isso não pôde ser feito.

A atribuição dos sinais para o espectro de RMN de <sup>13</sup>C (Figura 122, p. 152) segue o mesmo raciocínio utilizado para a molécula GMB4. Merece destaque, no entanto, o sinal para o carbono C19. Uma vez que se trata de um carbono quaternário ligado ao átomo de iodo, que possui elevada polarizabilidade, o sinal aparece muito mais blindado, quando comparado aos outros halogênios, e é tão pequeno que se confunde com a linha de base.

---

<sup>117</sup> Como pode ser verificado a partir das intensidades da Figura 122, as pequenas impurezas apresentadas para GMB5 devem-se à menor sensibilidade do aparelho à molécula, na época em que a amostra foi injetada. Possivelmente o derivado de ftalato é oriundo do solvente utilizado. Os compostos GMB3, GMB4 e GMB6 foram injetados no equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP5050A, enquanto GMB5 foi injetada no equipamento CG-EM SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra.

Figura 119 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB6.

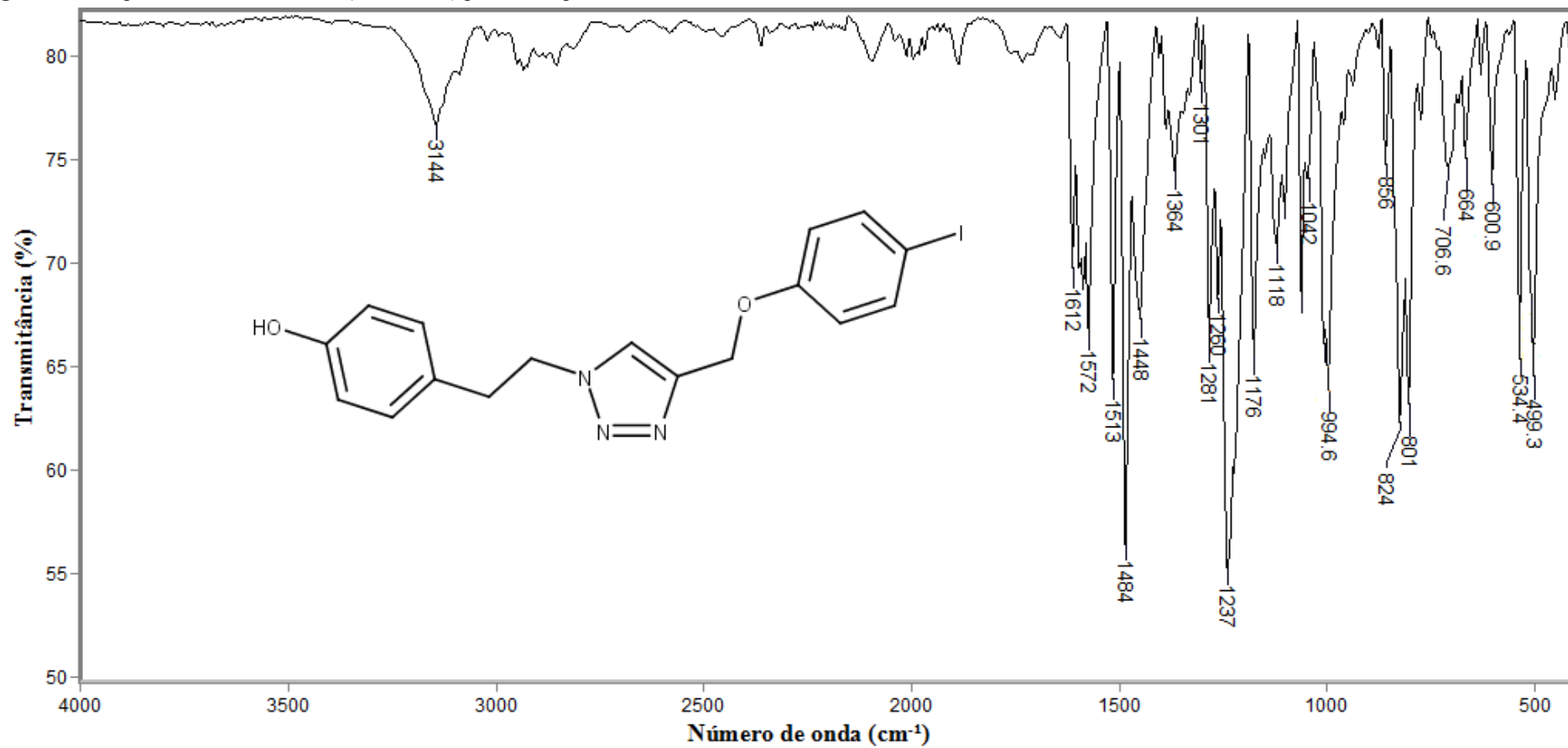


Figura 120 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB6.

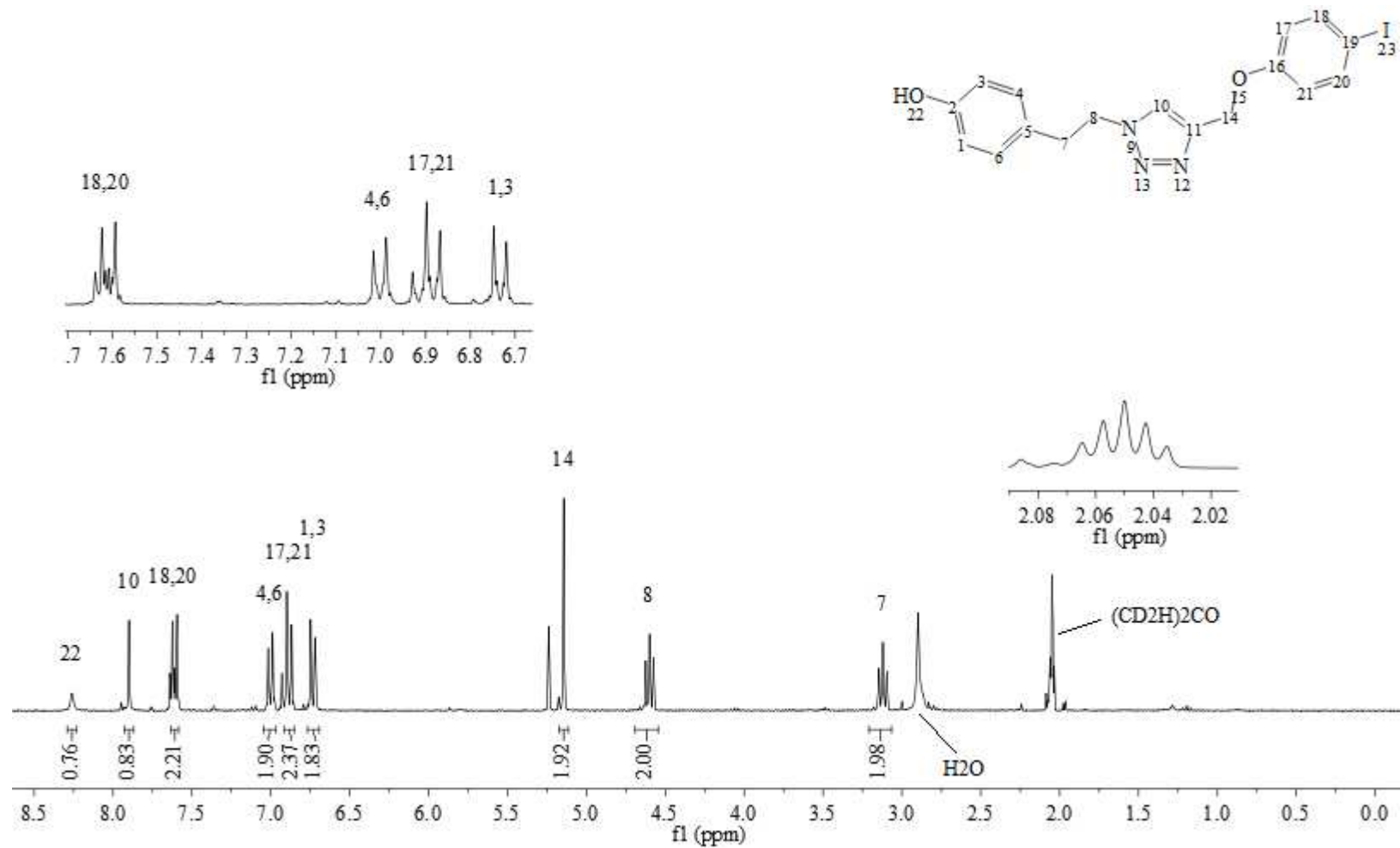


Figura 121 - Cromatograma dos compostos GMB3-GMB6.

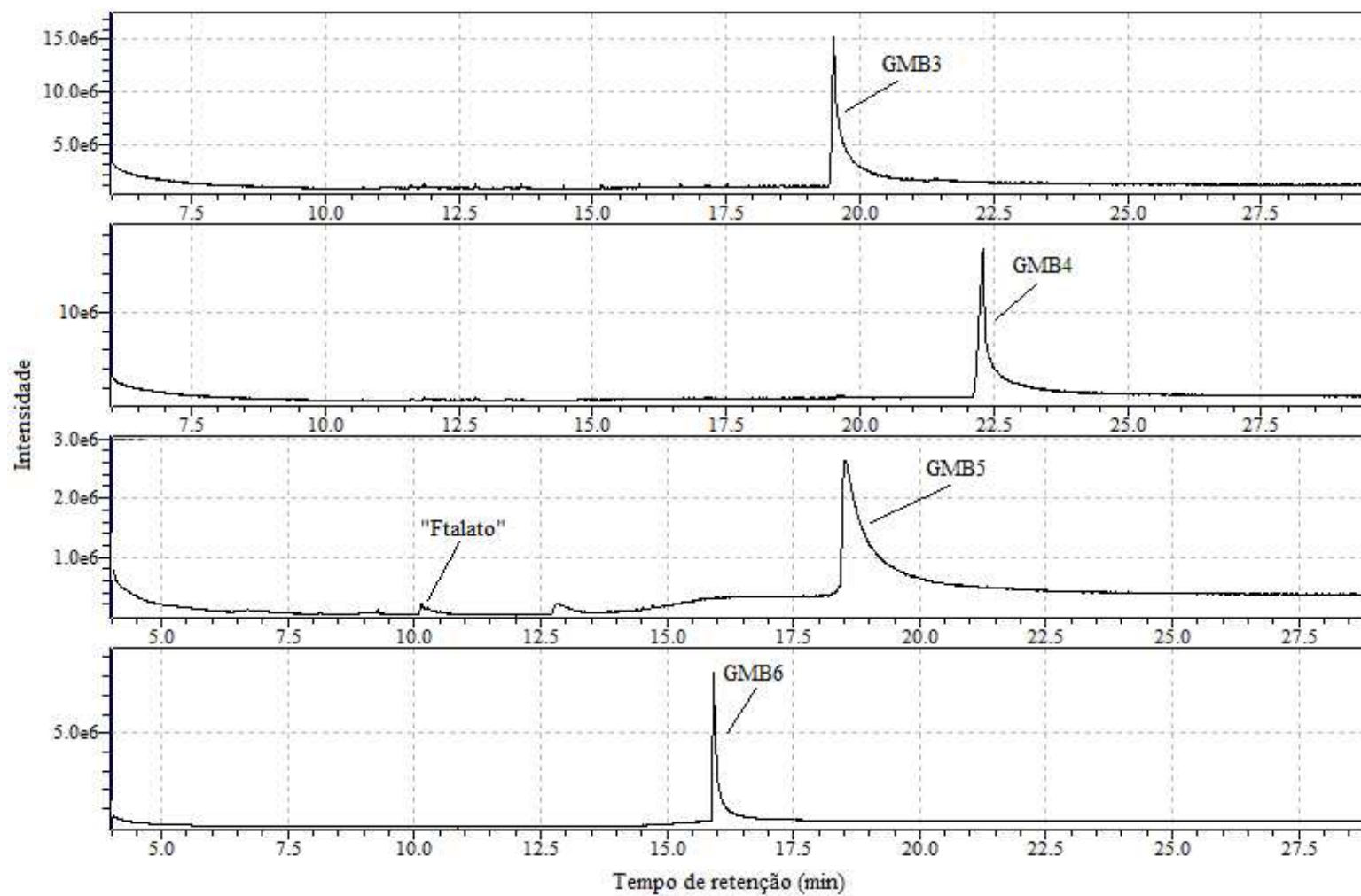
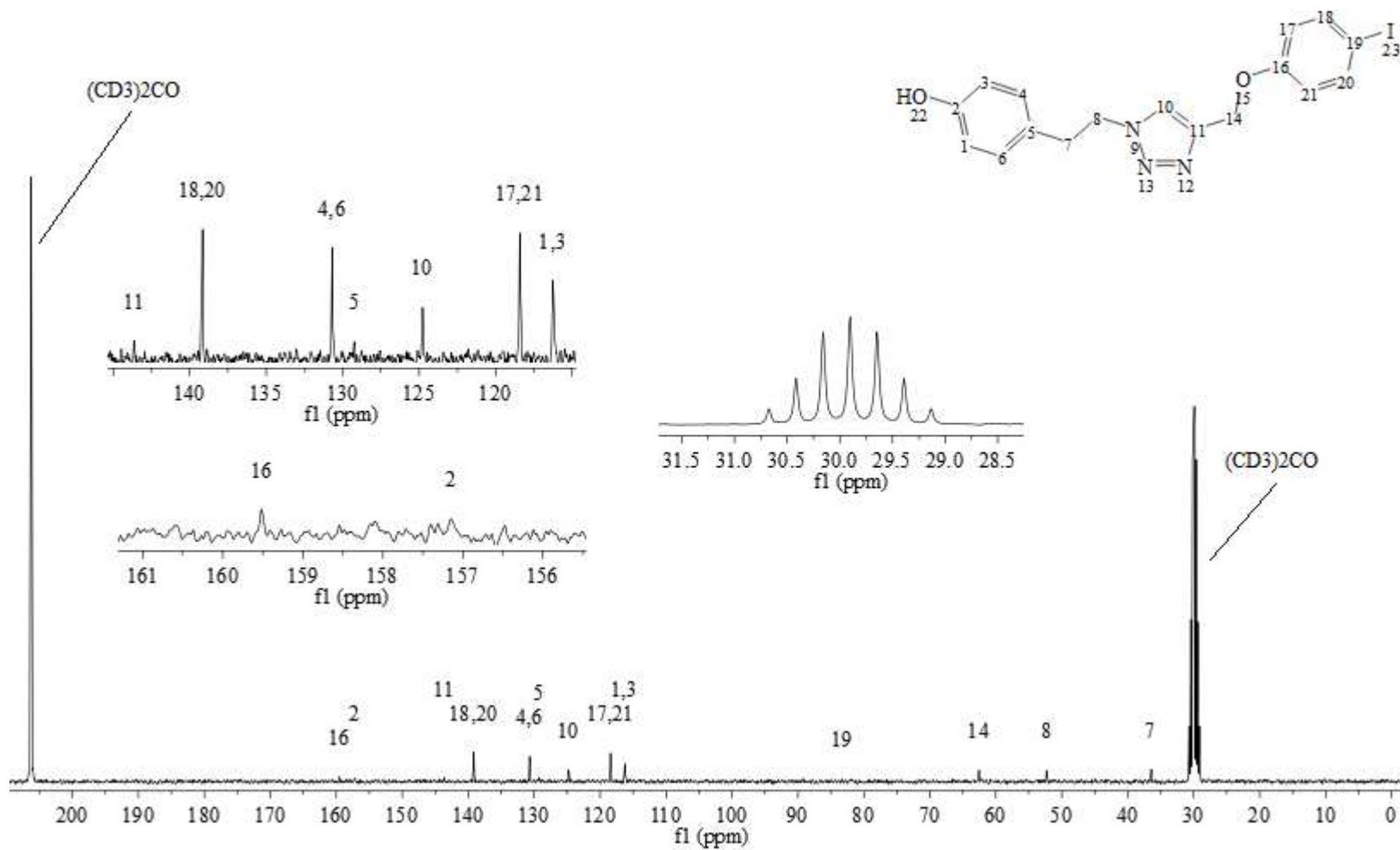


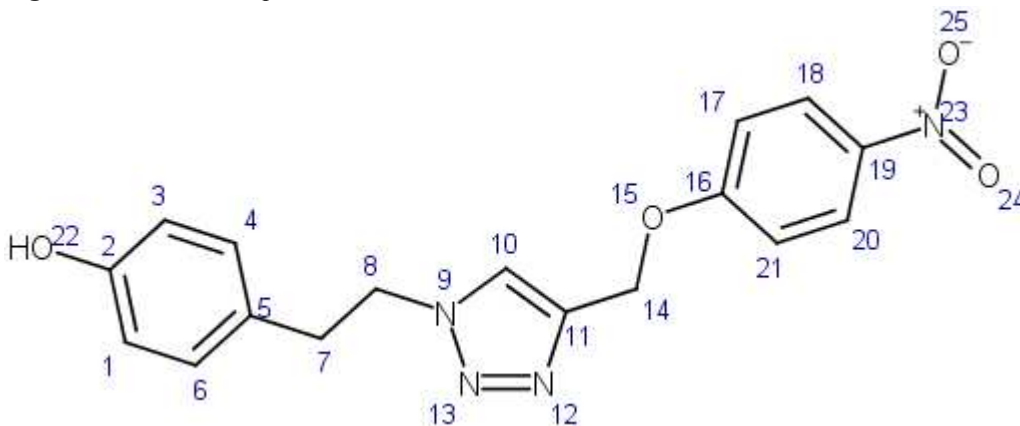
Figura 122 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB6.



### 2.23 GMB7: 4-(2-{4-[(4-nitrofenoxi)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 123) e os dados da caracterização do derivado GMB7 podem ser verificados abaixo.

Figura 123 - Estrutura química GMB7.



**Massa molar:** 340,339 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 340,117 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>.

**Aparência:** sólido marrom claro com brilho.

**Rendimento:** 65%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,28.

**Temperatura de fusão:** 176,0-178,3 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3140 (estiramento O-H), 3077, 1588, 1505, 1334, 1266, 1227, 1170, 1110, 1039, 991, 841, 823, 771, 751, 686, 562, 546.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t, *J* = 7,3 Hz, H7), 4,62 (2H, t, *J* = 7,3 Hz, H8), 5,33 (2H, s, H14), 6,67-6,76 (2H, m, H1 e H3), 6,95-7,04 (2H, m, H4, H6), 7,20-7,29 (2H, m, H17 e H21), 7,97 (1H, s, H10), 8,19-8,27 (2H, m, H18 e H20), 8,35 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,3 (C7), 52,2 (C8), 63,0 (C14), 116,0 (C17 e C21), 116,1 (C1 e C3), 125,1 (C10), 129,0 (C5), 130,5 (C4 e C6), 142,8 (C11 e C19), 157,1 (C2), 164,4 (C16).

Durante a purificação do GMB7 houve precipitação do composto na torneira da coluna e nos tubos de ensaio das frações recolhidas. Este foi o composto com a solubilização mais trabalhosa da série.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 125, p. 156) pode-se observar como característica particular o forte efeito indutivo retirador de elétrons do grupo nitro sobre os hidrogênios que estão *orto* a ele, de maneira que os H18/H20 aparecem mais desblindados que H10, que é o hidrogênio do anel triazólico.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 126, p. 157), por sua vez, apresenta como singularidade a sobreposição dos sinais referentes aos carbonos C1/C3 e C18/C20 e dos sinais referentes aos carbonos C11 e C19. Os carbonos C18/C20 são mais desblindados que C4/C6 devido ao efeito indutivo retirador de densidade eletrônica do grupo nitro.

Figura 124 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB7.

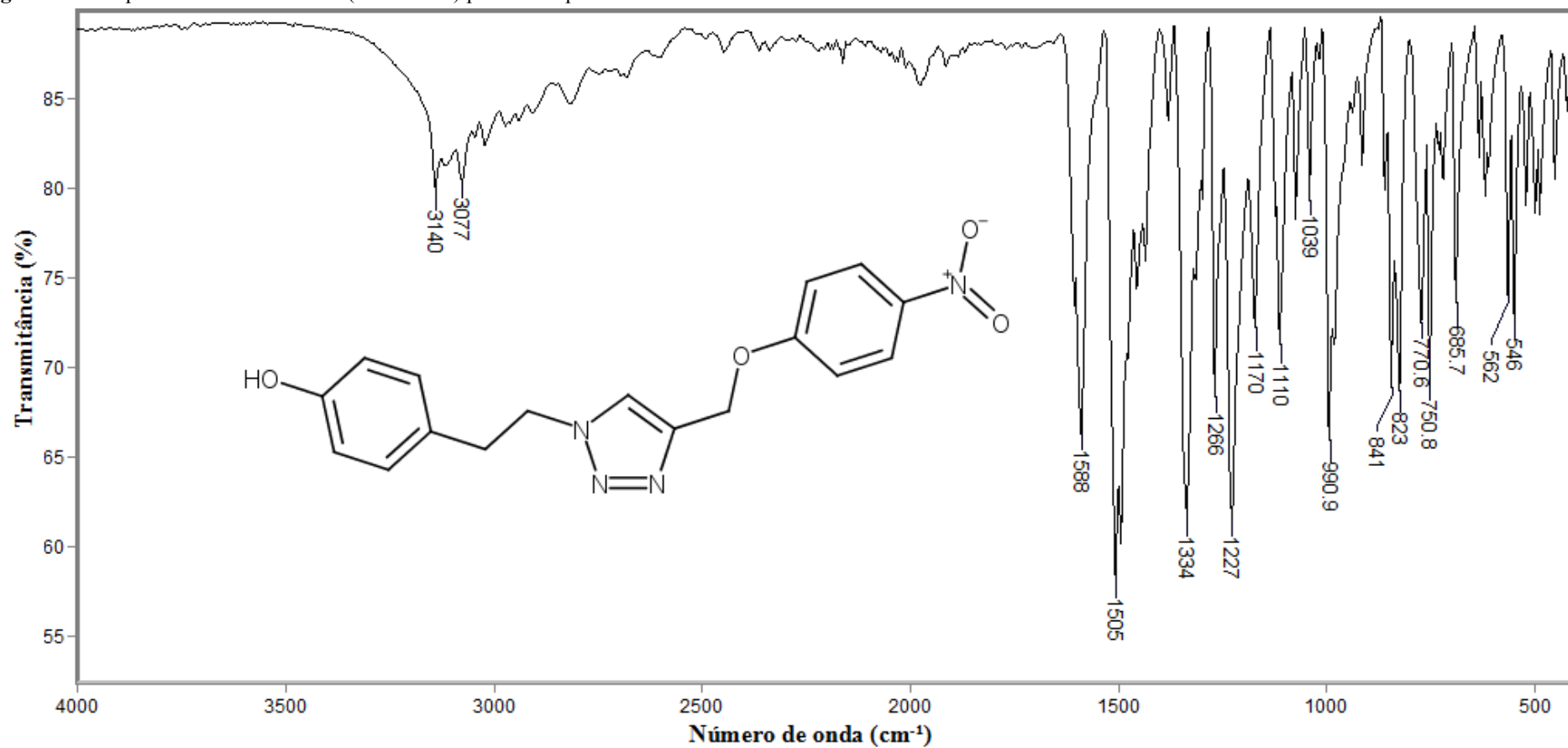


Figura 125 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB7.

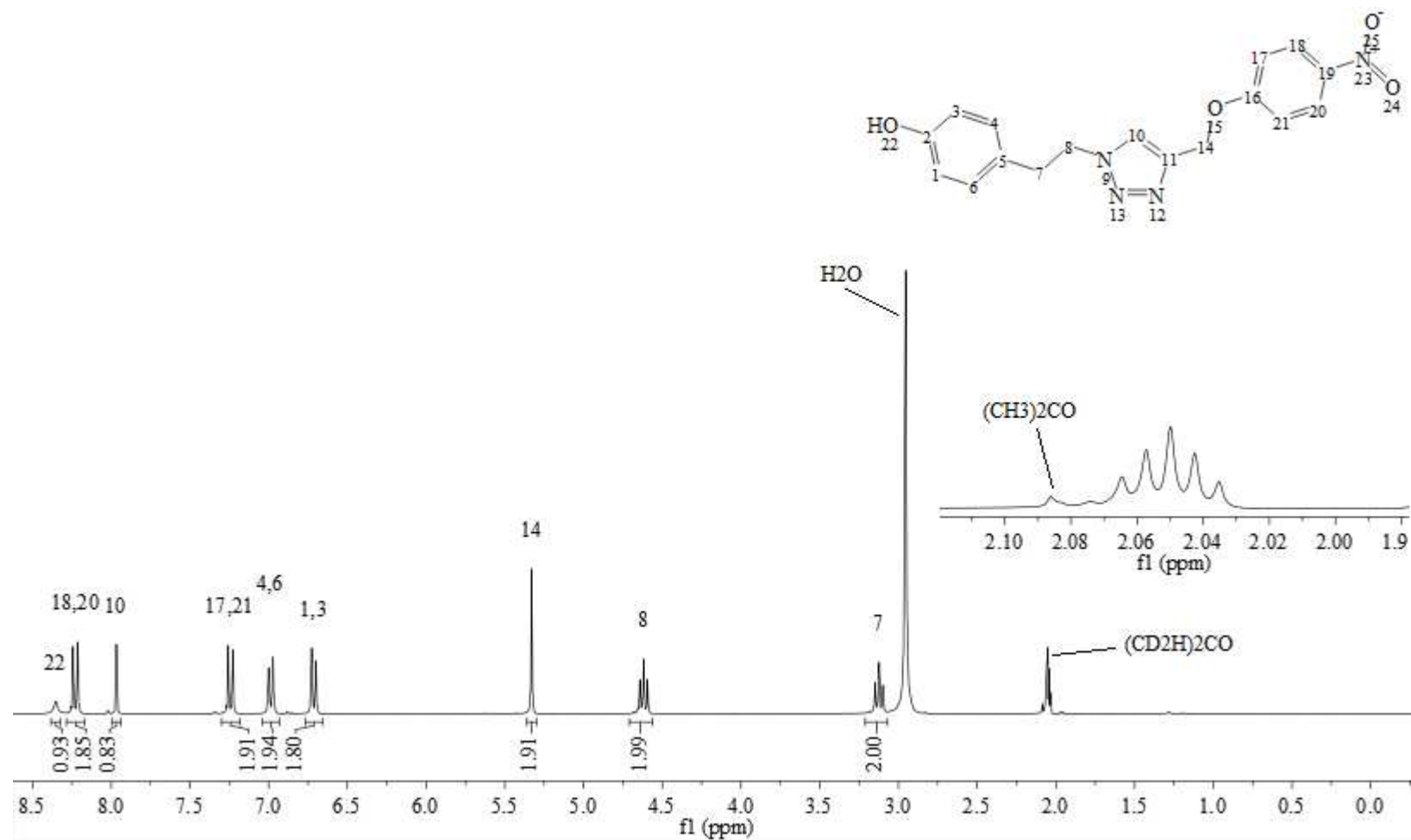
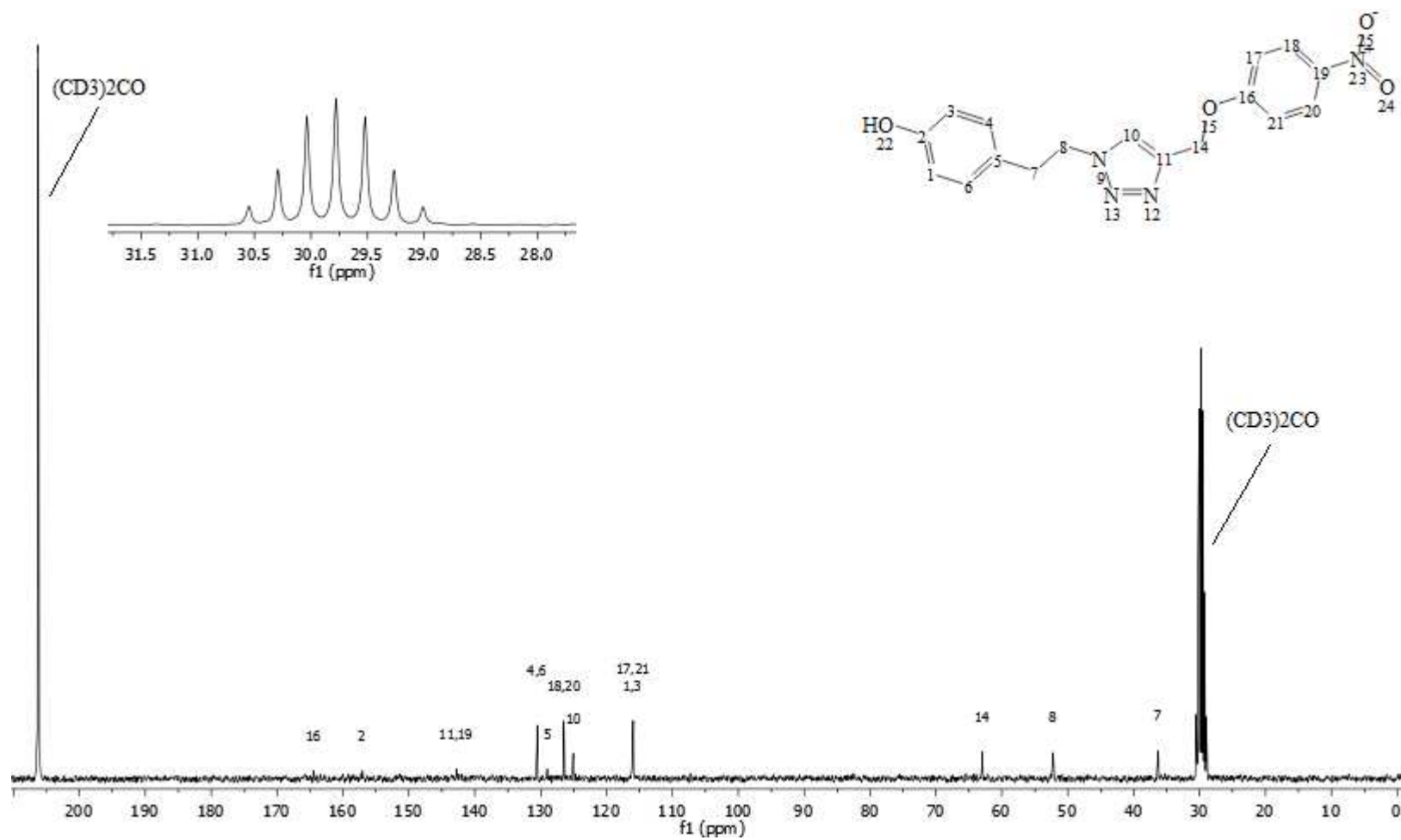


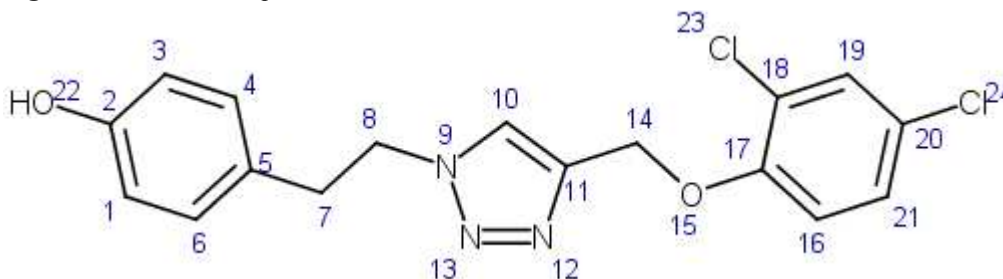
Figura 126 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB7.



## 2.24 GMB8: 4-(2-{4-[(2,4-diclorofenoxi)metil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 127) e os dados da caracterização do derivado GMB8 podem ser verificados abaixo.

Figura 127 - Estrutura química GMB8.



**Massa molar:** 364,230 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 363,054 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 62%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,40.

**Temperatura de fusão:** 129,0-131,3 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3089 (estiramento O-H), 3070, 1615, 1519, 1486, 1385, 1287, 1248, 1229, 1101, 1061, 1013, 828, 560, 487.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H7), 4,61 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H8), 5,26 (2H, s, H14), 6,70-6,77 (2H, m, H1 e H3), 6,95-7,04 (2H, m, H4, H6), 7,30-7,34 (2H, m, H16 e H21), 7,43-7,45 (1H, m, H19), 7,93 (1H, s, H10), 8,31 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,3 (C7), 52,3 (C8), 63,7 (C14), 116,2 (C1 e C3), 116,3 (C16), 124,2 (C18), 124,9 (C10), 126,2 (C20), 128,7 (C21), 129,1 (C5), 130,3 (C19), 130,6 (C4 e C6), 143,1 (C11), 153,9 (C17), 157,1 (C2).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 129, p. 161) os sinais para H16, H21 e H19 foram atribuídos tendo-se em conta a integração dos sinais e o fato de H19 ser mais desblindado entre eles por estar entre dois átomos de cloro, capazes de exercerem efeito indutivo retirador de elétrons. Os sinais para H16 e H21 não podem ser discriminados separadamente, aparecendo como um multipeto.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 130, p. 162), por sua vez, os sinais para os carbonos C4/C6 e C19 foram diferenciados levando-se em conta que a intensidade para o sinal de C4/C6, correspondente a dois átomos de carbono, deve ser maior. O mesmo foi feito para diferenciar os sinais de C1/C3 e C16. O sinal para o carbono C10 foi atribuído a partir da comparação com os espectros das outras moléculas, assim como para o carbono C5. A fim de distinguir os sinais referentes a C16, C18, C19, C20 e C21, procedeu-se o seguinte raciocínio: do conjunto ora proposto, C19 deve ser o carbono mais desblindado, uma vez que está entre dois átomos de cloro, capazes de retirar densidade eletrônica por efeito indutivo. Os sinais para os carbonos C18 e C20 devem ser pequenos, tratando-se de carbonos quaternários. Entre os dois, por estar *orto* ao oxigênio 15, o carbono C18 é o mais blindado, devido à doação de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons. Por fim, os sinais para os carbonos C16 e C21 são distinguidos devido à maior blindagem do carbono C16, pela mesma razão descrita para o carbono C18.

Figura 128 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB8.

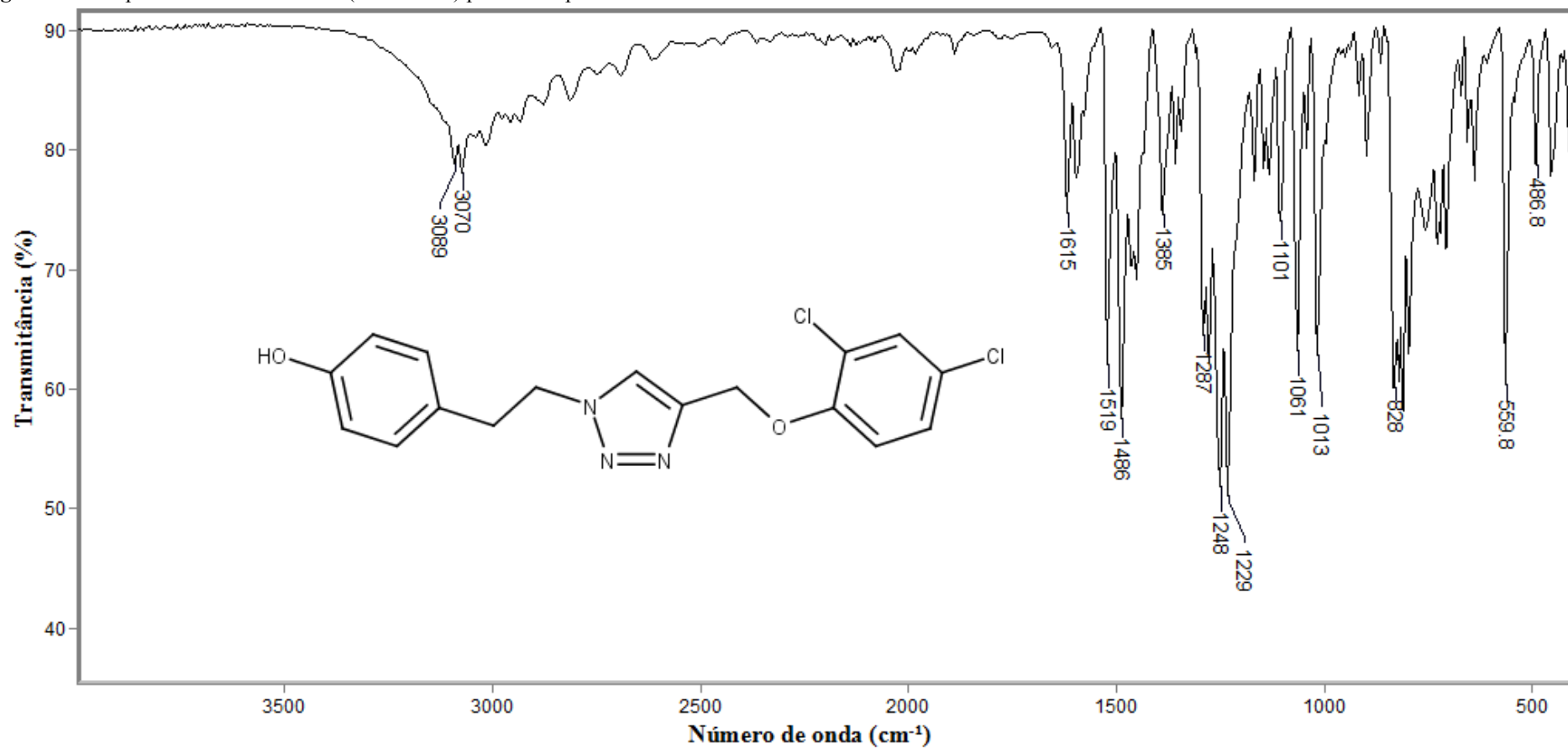


Figura 129 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB8.

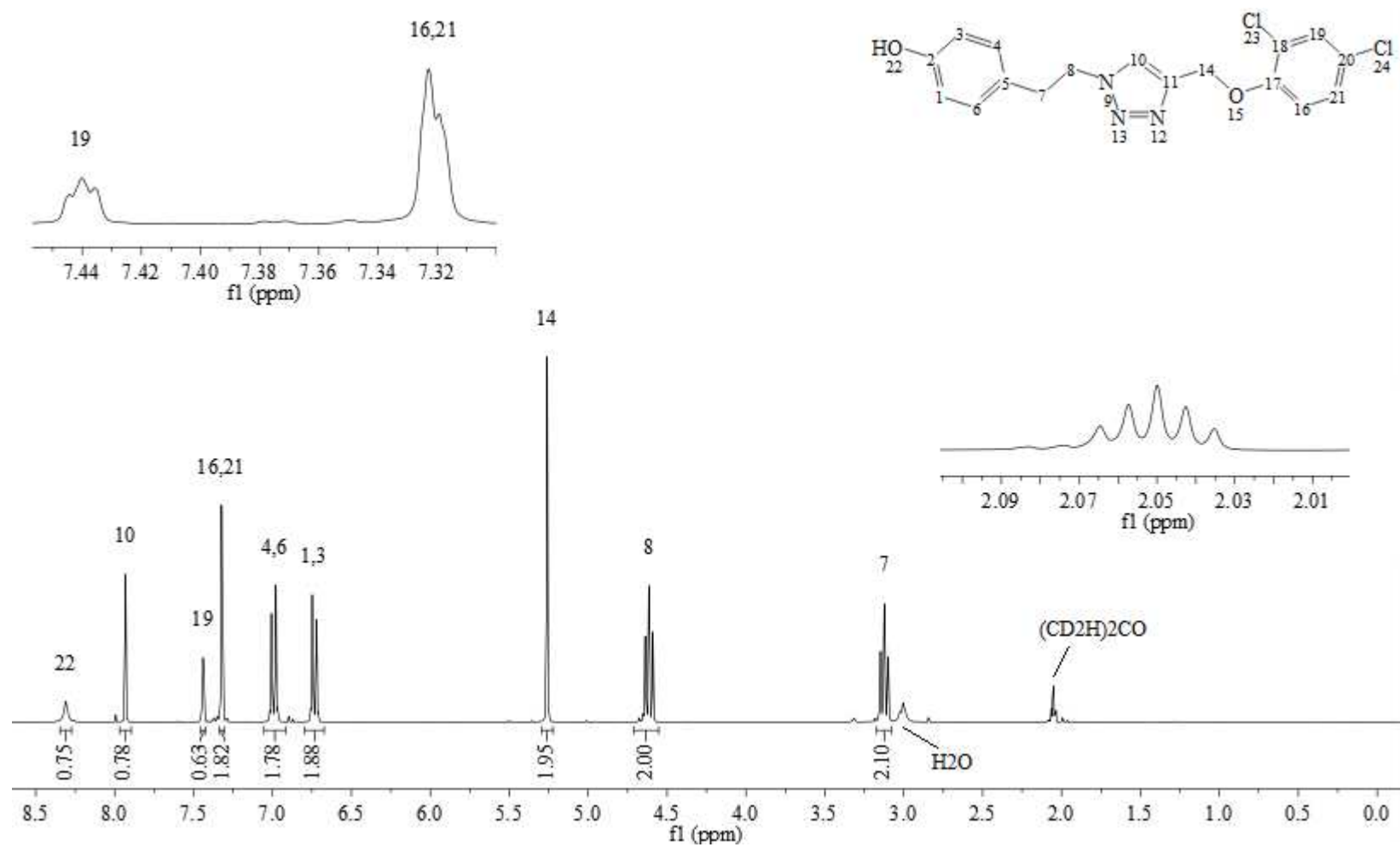
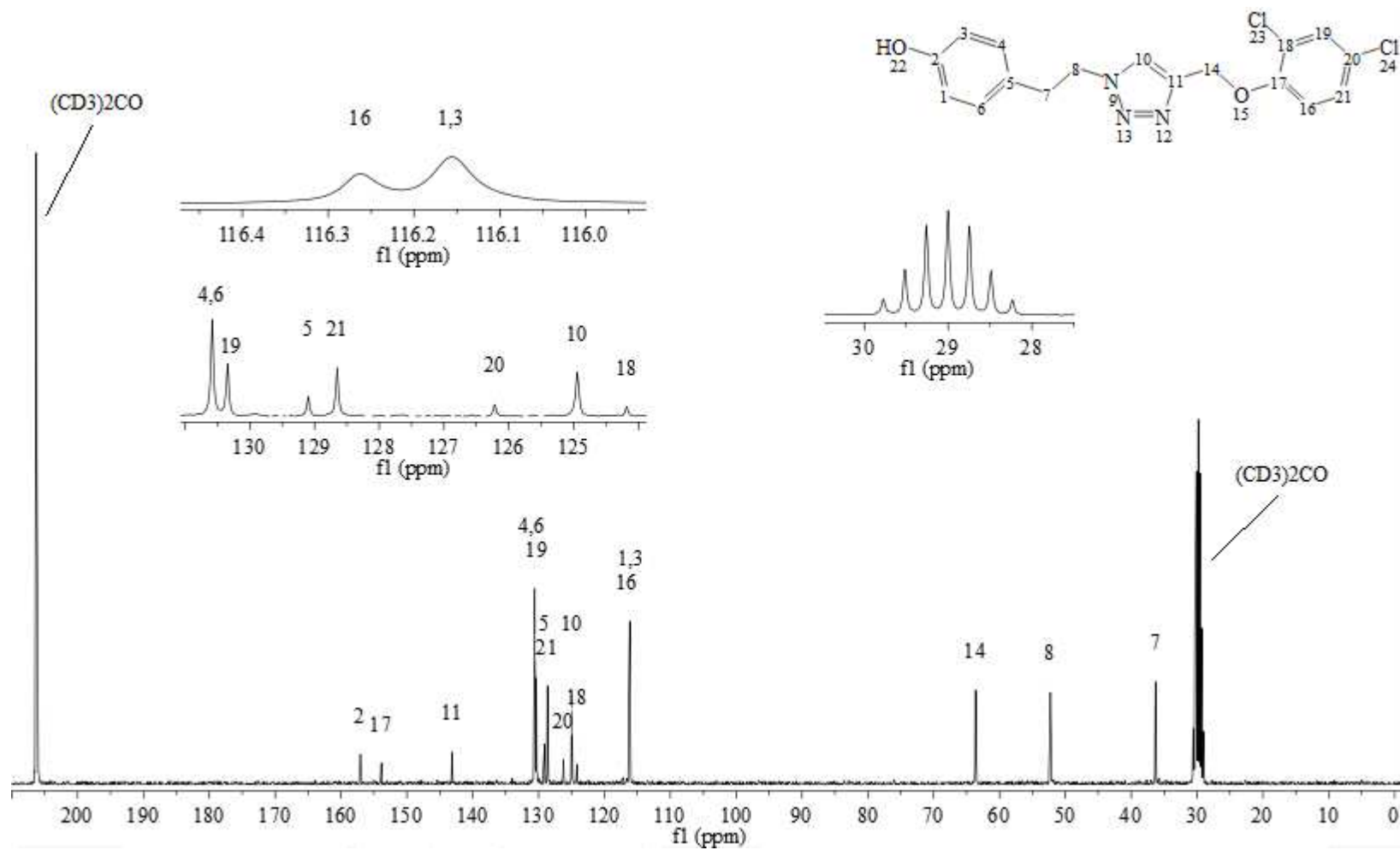


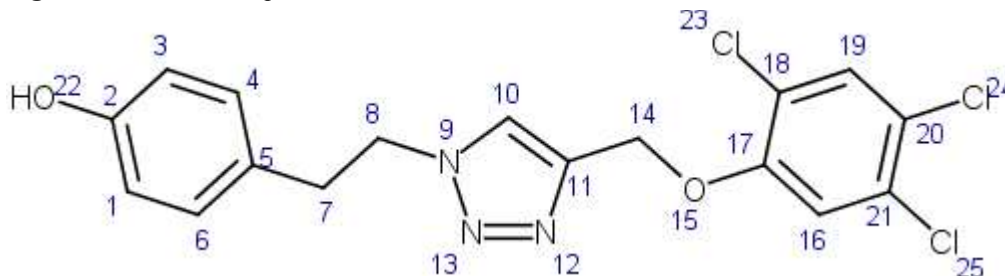
Figura 130 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB8.



## 2.25 GMB9: 4-(2-{4-[(2,4,5-triclorofenoxi)metil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 131) e os dados da caracterização do derivado GMB9 podem ser verificados abaixo.

Figura 131 - Estrutura química GMB9.



**Massa molar:** 398,67 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 397,015 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 39%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,46.

**Temperatura de fusão:** 146,0-147,7 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3274 (estiramento O-H), 1515, 1478, 1352, 1280, 1156, 1136, 1075, 1051, 992, 928, 879, 813, 678, 535, 503, 444.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,13 (2H, t, *J* = 7,3 Hz, H7), 4,62 (2H, t, *J* = 7,3 Hz, H8), 5,32 (2H, s, H14), 6,70-6,76 (2H, m, H1 e H3), 6,96-7,04 (2H, m, H4 e H6), 7,60 (1H, s, H16), 7,62 (1H, s, H19), 7,97 (1H, s, H10), 8,27 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,4 (C7), 52,4 (C8), 64,0 (C14), 116,2 (C1 e C3), 116,8 (C16), 122,9 (C18), 124,5 (C20), 125,2 (C10), 129,2 (C5), 130,6 (C4 e C6), 131,6 (C19), 131,8 (C21), 142,8 (C11), 154,3 (C17), 157,1 (C2).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 133, p. 166) os sinais referentes aos hidrogênios H16 e H19 podem ser distinguidos tendo-se em conta que H19 está mais desblindado por estar entre dois átomos retiradores de densidade eletrônica por efeito indutivo. Ademais, H16 está *orto* ao oxigênio 15, capaz de doar densidade eletrônica por deslocalização de elétrons, de maneira que está mais blindado que H19.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 134, p. 167) deve-se atribuir os sinais para os carbonos C16, C18, C19, C20 e C21. Deste conjunto, os carbonos C18, C20 e C21 devem apresentar os sinais de menor intensidade, uma vez que são quaternários. Destes, devido à doação de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons do oxigênio 15, os carbonos C18 e C20 devem ser mais blindados, por estarem em posição *orto* e *para* ao oxigênio, respectivamente. Como o carbono C20, além de estar ligado ao átomo de cloro 24, também está próximo ao cloro 25, ele deve ser o mais desblindado entre os dois. Conclui-se assim que o sinal para o carbono C21 deve ser o mais desblindado para os carbonos quaternários analisados. Por fim, como o carbono C19 está entre dois átomos de cloro, capazes de retirar densidade eletrônica por efeito indutivo, ele deve ser mais desblindado que o carbono C16.

Figura 132 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB9.

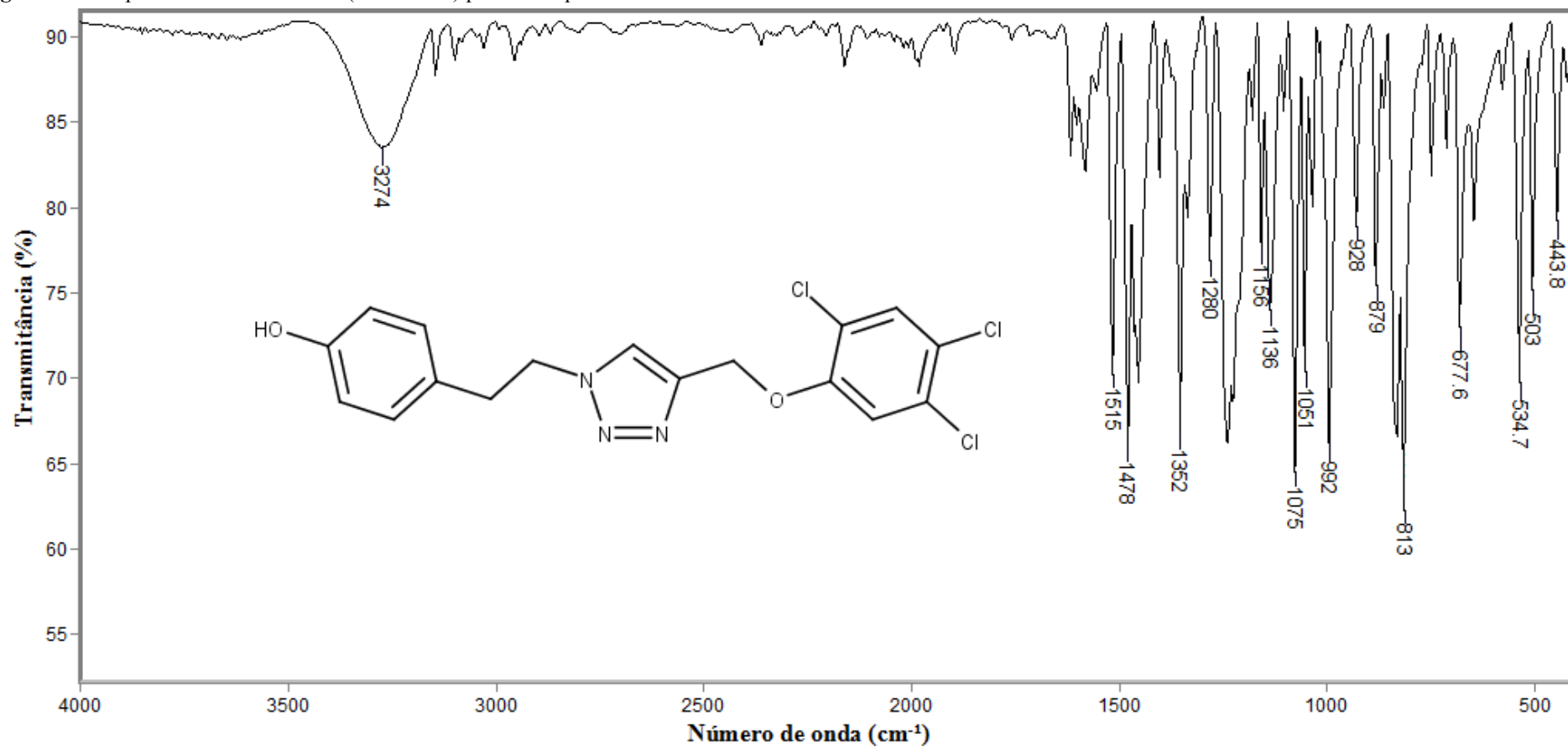


Figura 133 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB9.

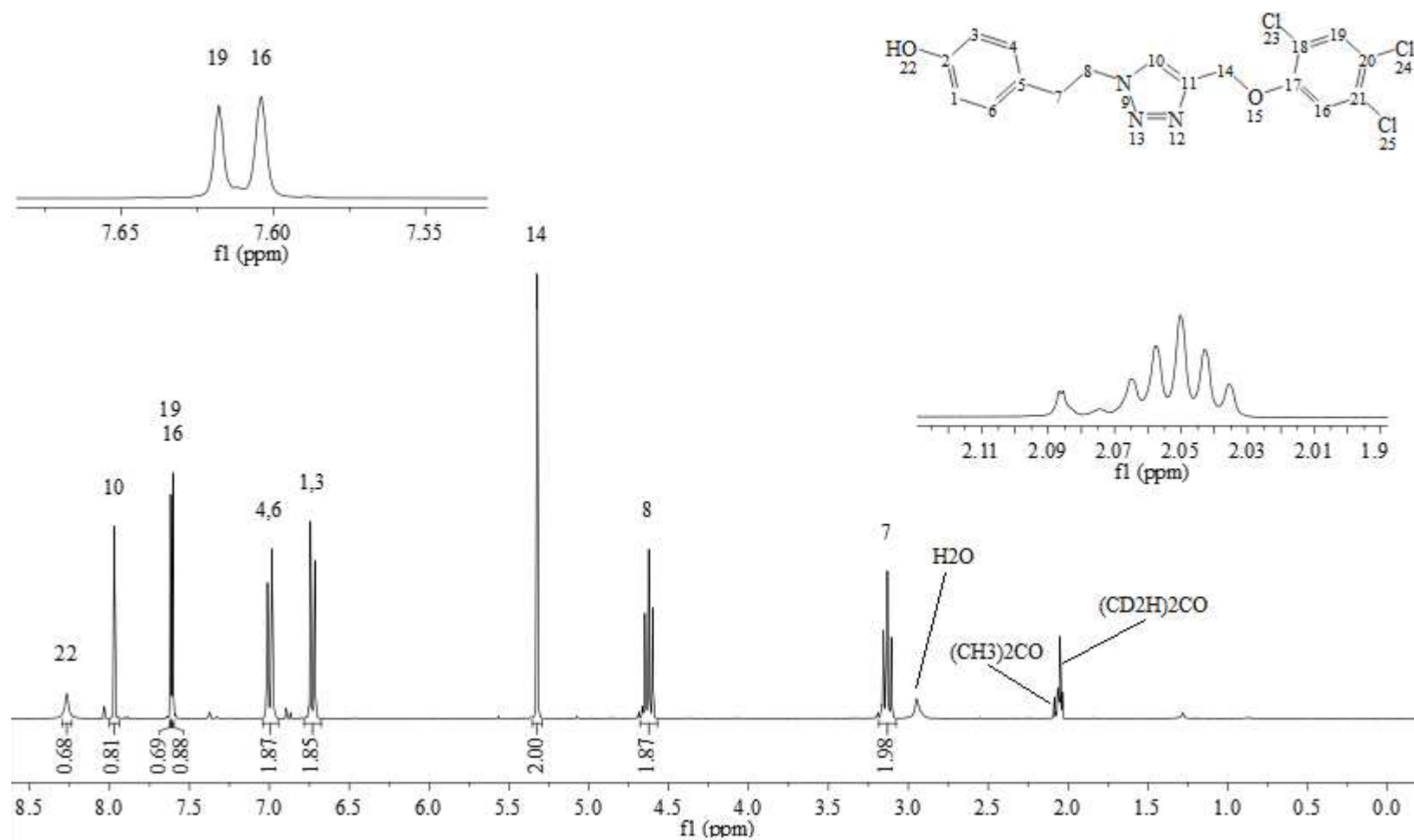
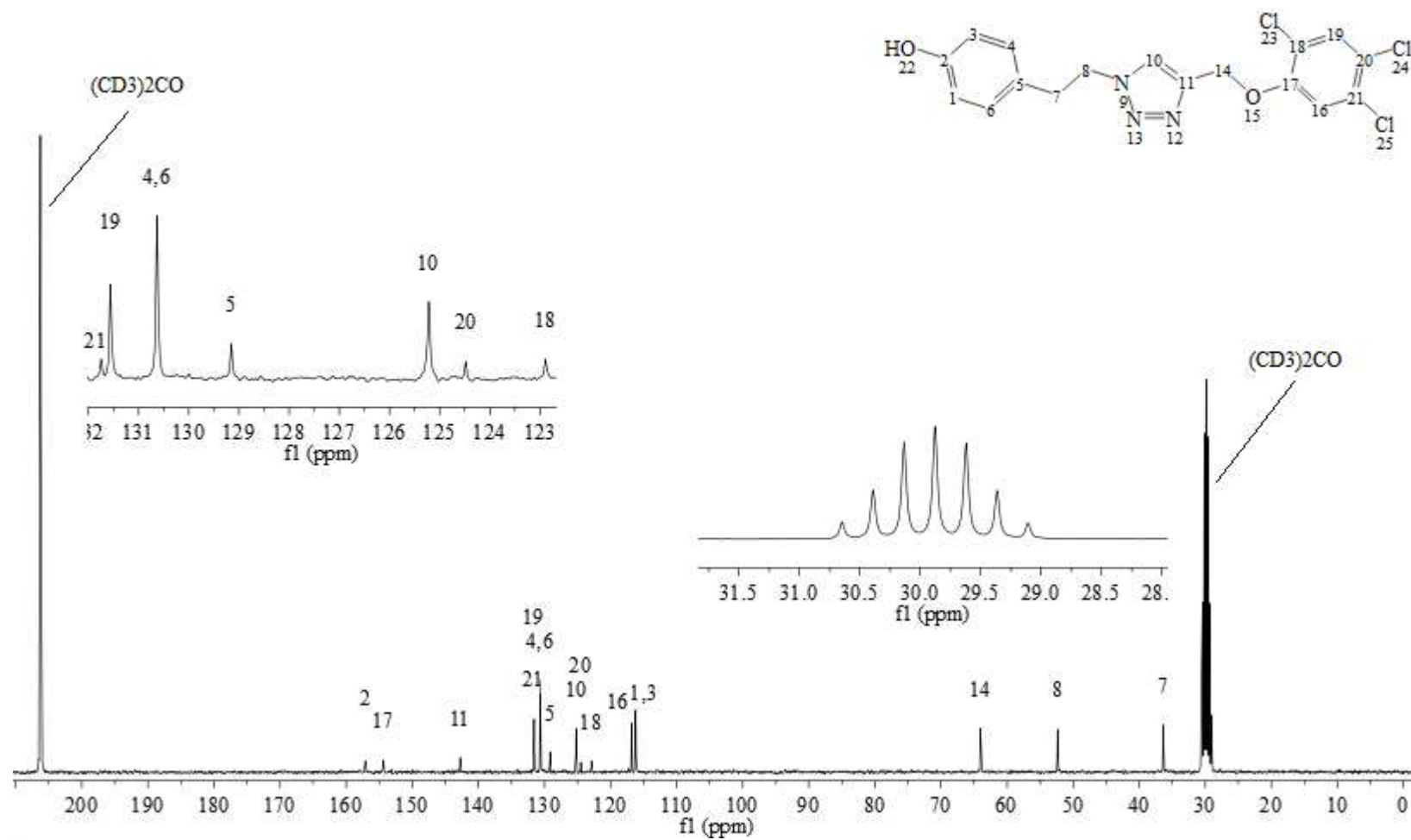


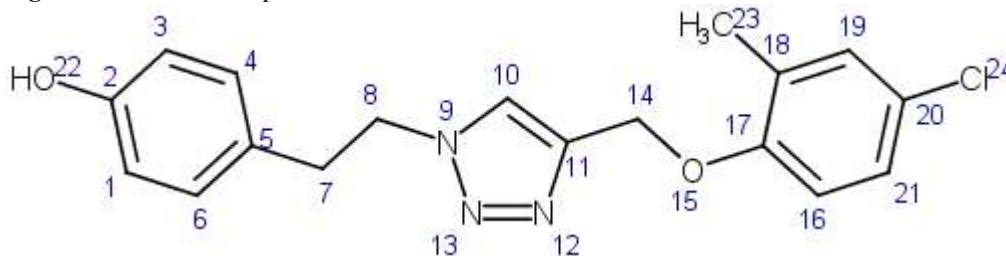
Figura 134 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB9.



## 2.26 GMB10: 4-(2- {4-[(4-chloro-2-metilfenoxi)metil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 135) e os dados da caracterização do derivado GMB10 podem ser verificados abaixo.

Figura 135 - Estrutura química GMB10.



**Massa molar:** 343,81 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 343,109 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido amarelo-claro.

**Rendimento:** 97%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,40.

**Temperatura de fusão:** 120,0-123,5 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3146 (estiramento O-H), 1596, 1519, 1489, 1457, 1397, 1296, 1270, 1245, 1213, 1186, 1131, 1062, 1017, 829, 801, 643, 535, 442.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 2,14 (3H, s, H23), 3,12 (2H, t,  $J = 7,3$  Hz, H7), 4,60 (2H, t,  $J = 7,3$  Hz, H8), 5,16 (2H, s, H14), 6,68-6,79 (2H, m, H1 e H3), 6,93-7,03 (2H, m, H4 e H6), 7,05-7,12 (1H, m, H16), 7,12-7,21 (1H, m, H19 e H21), 7,88 (1H, s, H10), 8,32 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 16,3 (C23), 36,4 (C7), 52,3 (C8), 63,0 (C14), 114,0 (C16), 116,2 (C1 e C3), 124,6 (C10), 125,6 (C18), 127,2 (C21), 129,2 (C5), 129,8 (C20), 130,6 (C4 e C6), 130,9 (C19), 143,9 (C11), 156,3 (C17), 157,1 (C2).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 137, p. 171), a integração dos sinais permite identificar o sinal referente aos hidrogênios H23. O sinal referente ao hidrogênio H16 foi atribuído considerando a integração do sinal e o efeito doador de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons que o oxigênio 15 exerce sobre ele. Os sinais para H19 e H21, apesar de não haver simetria no anel, não podem ser atribuídos de forma distinta.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 138, p. 172), por sua vez, o sinal referente ao grupo metila é facilmente atribuído, sendo o mais blindado do espectro. A fim de distinguir os sinais referentes a C16, C18, C19, C20 e C21, procedeu-se o seguinte raciocínio: do conjunto proposto, os sinais para os carbonos C18 e C20 devem ser os de menor intensidade, uma vez que são carbonos quaternários. Entre os dois, por estar *orto* ao oxigênio 15, além de estar ligado a um grupo metila e não a um átomo de cloro, o carbono C18 é o mais blindado. O carbono C16 deve ser o mais blindado dentre os que estão sendo analisados, uma vez que está *orto* ao oxigênio 15. Entre os carbonos C19 e C21, o carbono C21 deve estar mais blindado, segundo as estruturas de deslocalização de elétrons apresentadas na Figura 139 (p. 173). Fixando-se a carga negativa sobre os carbonos C19 e C21, verifica-se que para as estruturas canônicas de deslocalização de elétrons em que há maior separação de cargas, a que possui carga formal negativa sobre C21 é mais estável, devido ao efeito doador de densidade eletrônica por hiperconjugação realizado pelo grupo metila sobre o carbono com carga formal positiva.

Figura 136 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB10.

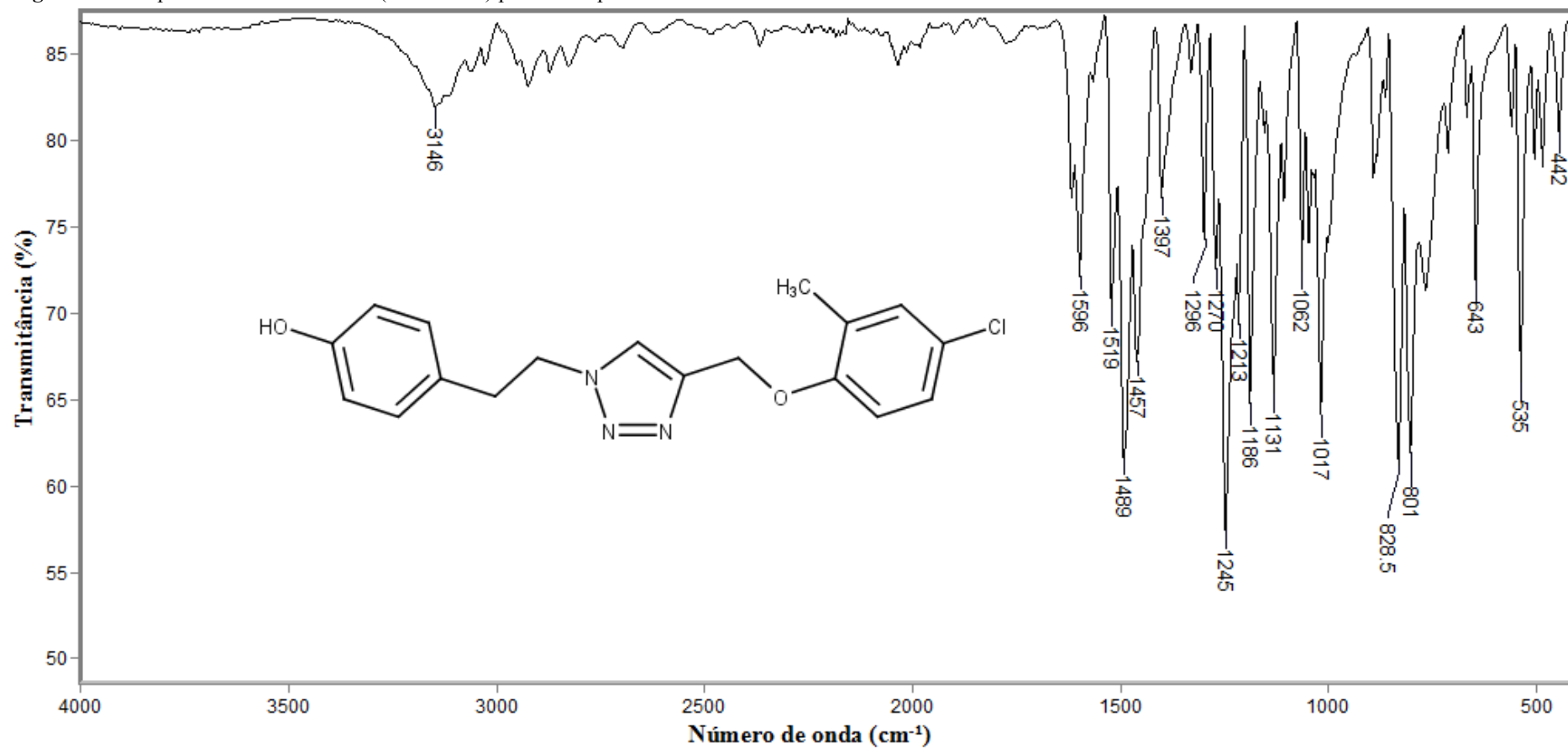


Figura 137 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB10.

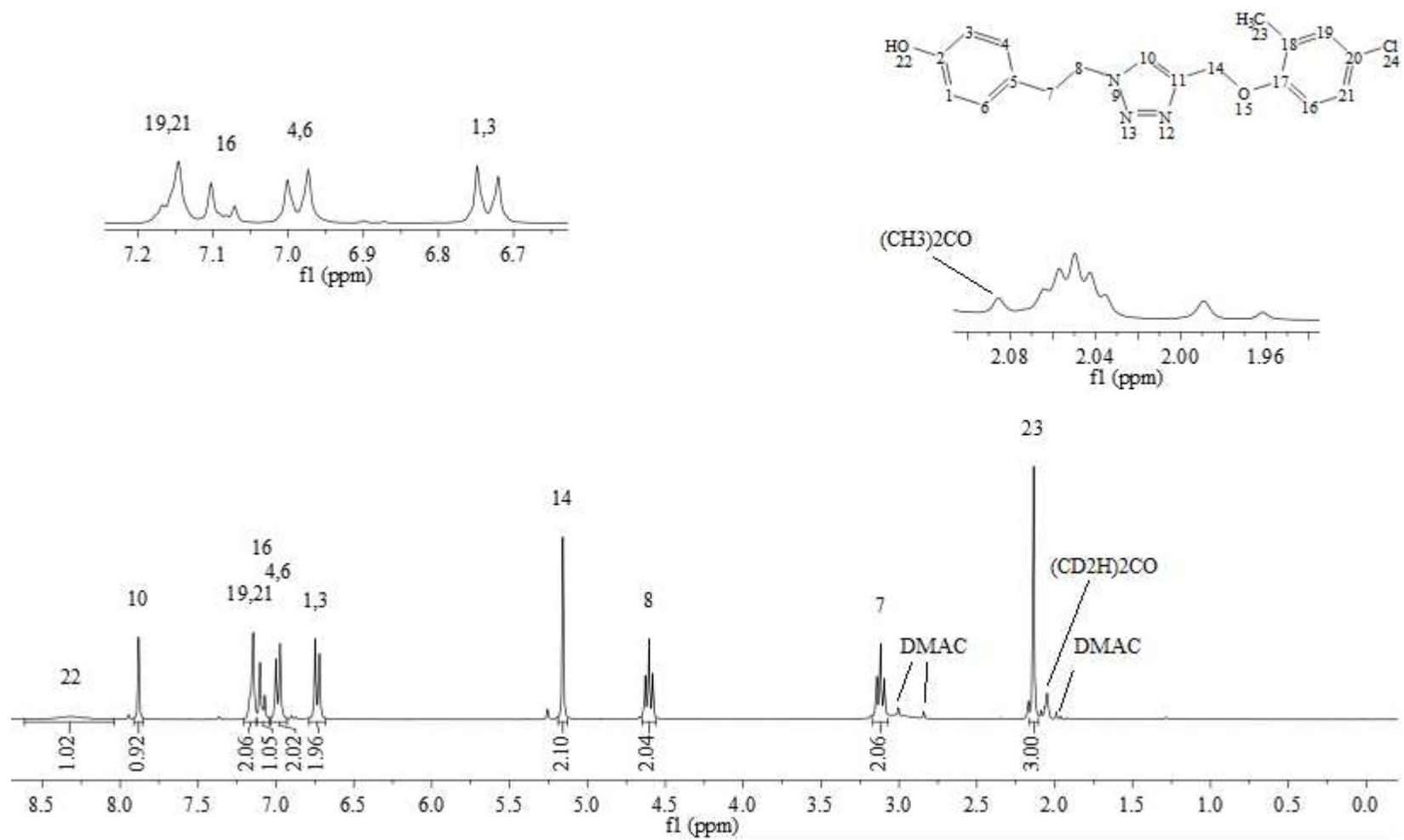
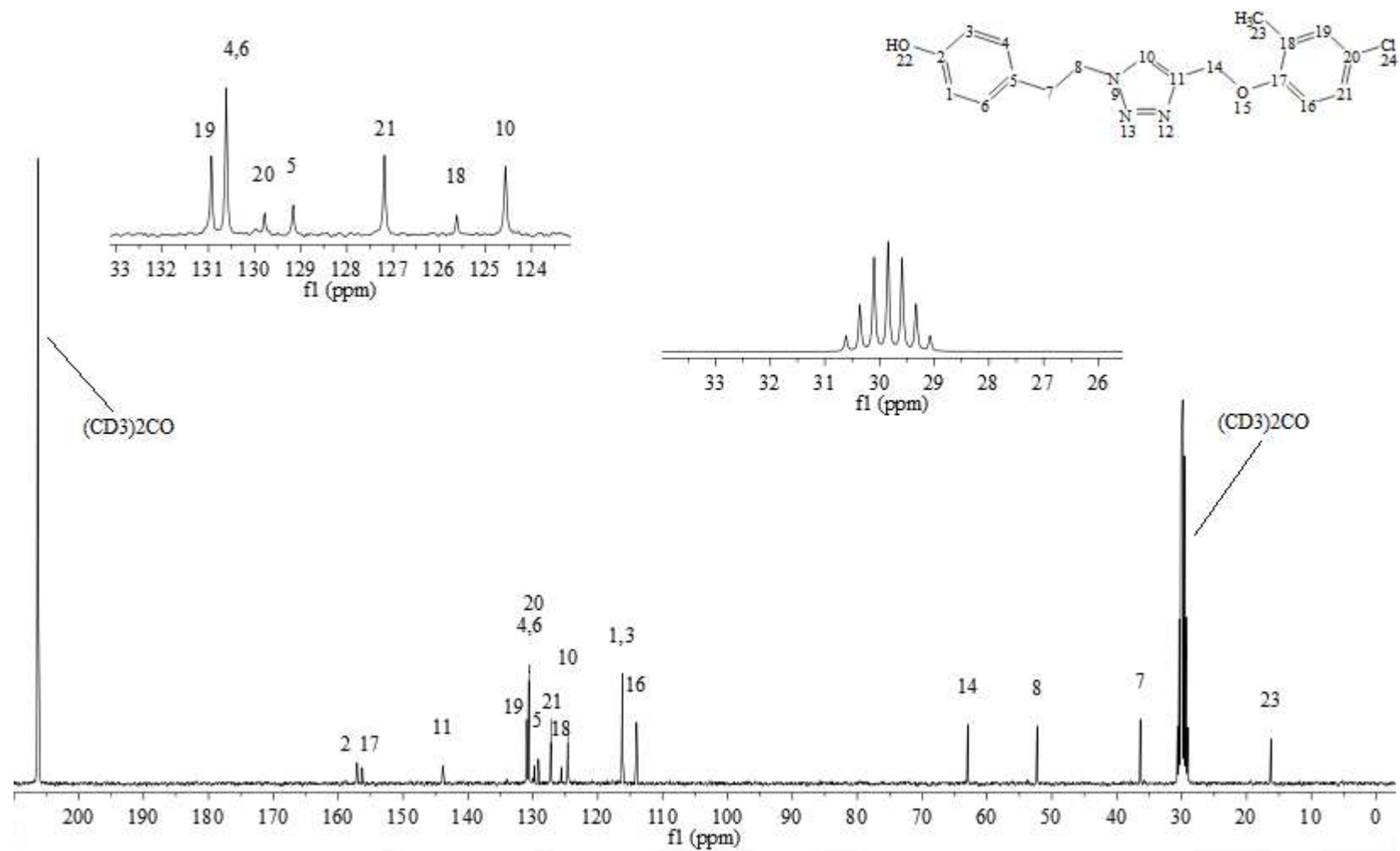
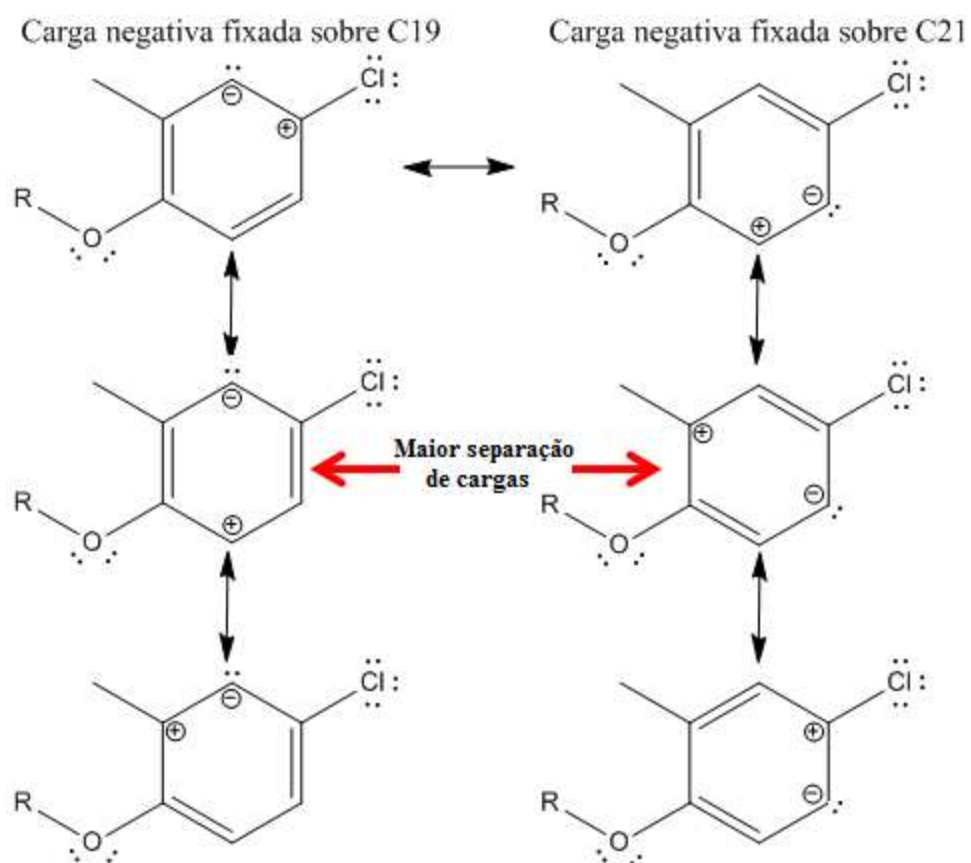


Figura 138 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB10.



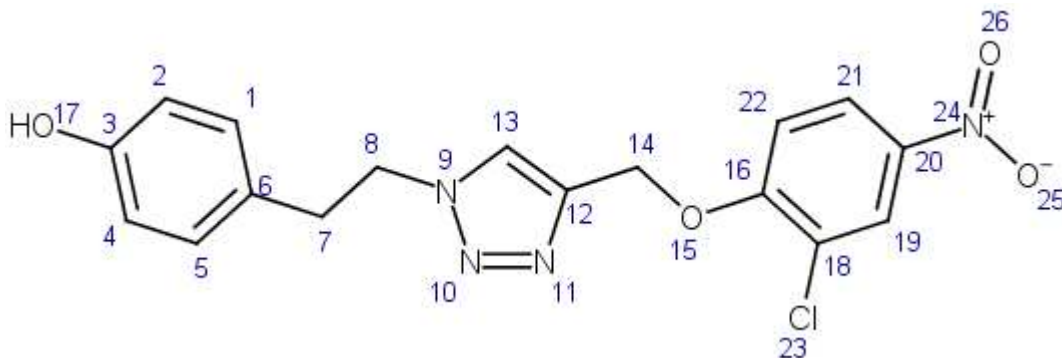
**Figura 139** - Estruturas de deslocalização de elétrons para verificar efeito de blindagem sobre os carbonos C19 e C21.



## 2.27 GMB11: 4-(2-{4-[(2-cloro-4-nitrofenoxi)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 140) e os dados da caracterização do derivado GMB11 podem ser verificados abaixo.

Figura 140 - Estrutura química GMB11.



**Massa molar:** 374,78 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 374,078 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>.

**Aparência:** sólido amarelo.

**Rendimento:** 80%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,31.

**Temperatura de fusão:** 87,0-88,7 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3150 (estiramento O-H), 3111, 1587, 1511, 1457, 1341, 1273, 1220, 1123, 1056, 830, 742, 640, 533, 499.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,13 (2H, t,  $J = 7,3$  Hz, H7), 4,63 (2H, t,  $J = 7,3$  Hz, H8), 5,45 (2H, s, H14), 6,66-6,74 (2H, m, H1 e H3), 6,93-7,02 (2H, m, H1 e H5), 7,58 (1H, d,  $J = 9,1$  Hz, H22), 7,98 (1H, s, H13), 8,19-8,29 (2H, m, H19 e H21).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,3 (C7), 52,4 (C8), 64,1 (C14), 114,4 (C22), 116,2 (C2 e C4), 125,0 (C18), 125,4 (C21), 126,4 (C19), 129,1 (C6), 130,6 (C1 e C5), 142,2 (C20), 142,4 (C12), 157,1 (C3), 160,0 (C16).

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 142, p. 177) apresenta como particularidade o duplete formado pelo acoplamento de H22 com H21, com  $J = 9,1$  Hz. Trata-se de um valor condizente ao esperado para hidrogênios *orto* entre si em um anel aromático (valor típico  $J \sim 8$  Hz). A integração do sinal e o fato de estar mais blindado (posição *orto* em relação ao oxigênio 15) permite identificar o sinal referente a H22. Os sinais para H19 e H21, por outro lado, aparecem

muito próximos entre si, não sendo possível distinguir um do outro ou mesmo calcular a constante de acoplamento para H21.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 143, p. 178) os sinais para os carbonos C19, C20, C21 e C22 foram atribuídos de acordo com o seguinte raciocínio: C20 deve ser o carbono mais desblindado do conjunto, uma vez que se trata de carbono de anel aromático diretamente ligado ao grupo nitro, que é um forte retirador de densidade eletrônica por efeito indutivo. Os sinais referentes aos carbonos C12 e C20 estão muito próximos entre si, de maneira que a atribuição pode estar trocada. De acordo com os valores de deslocamento encontrado para as outras estruturas (~143 ppm), considerou-se que C12 era o carbono mais desblindado entre os dois. Entre os carbonos restantes do conjunto, o carbono C19 deve ser o mais desblindado, uma vez que está entre dois grupos retiradores de densidade eletrônica. Em seguida está o carbono C21, de maneira que o carbono mais blindado do conjunto é C22, como esperado, uma vez que está *orto* ao oxigênio 15, capaz de doar densidade eletrônica por deslocalização de elétrons.

Figura 141 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB11.

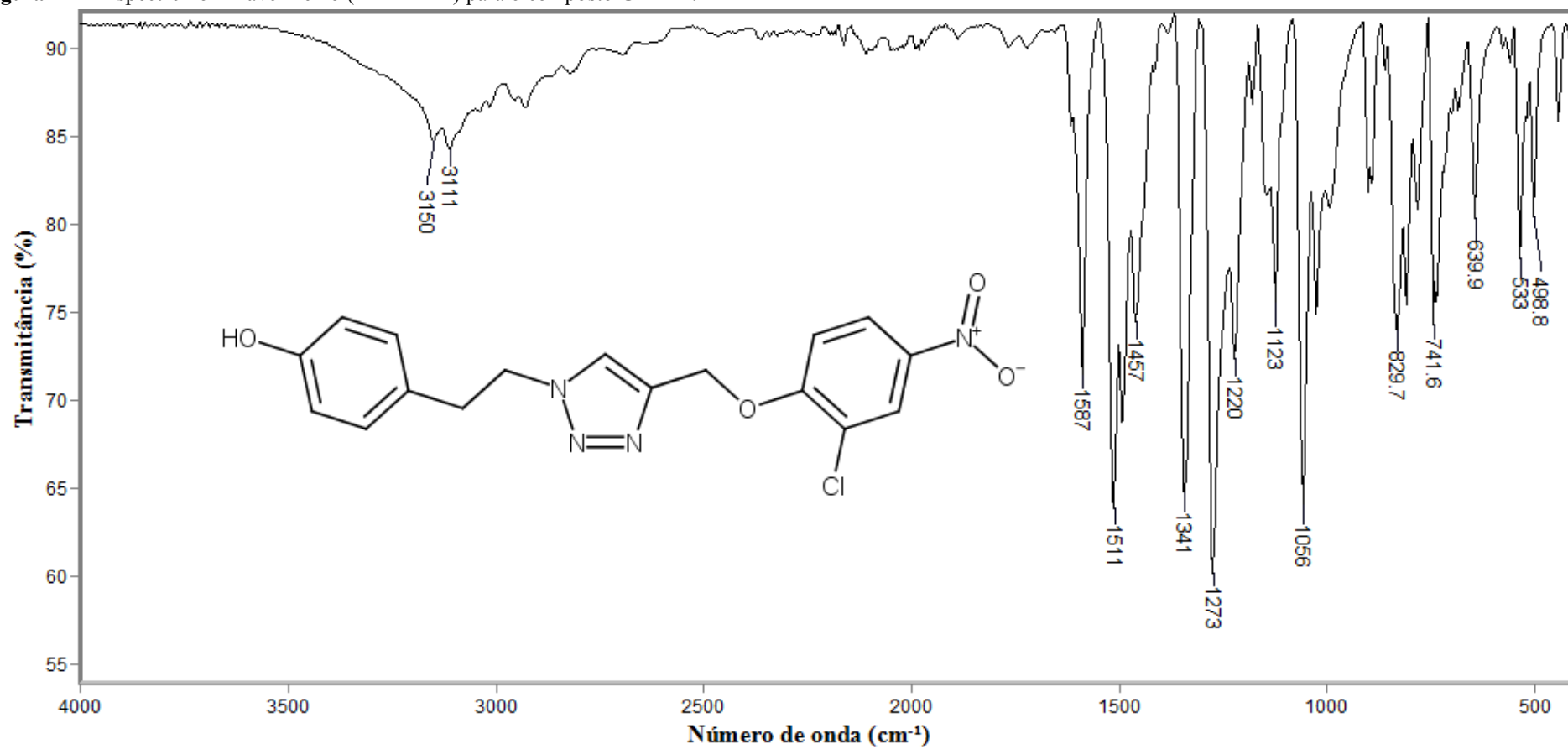


Figura 142 - Espectro de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB11.

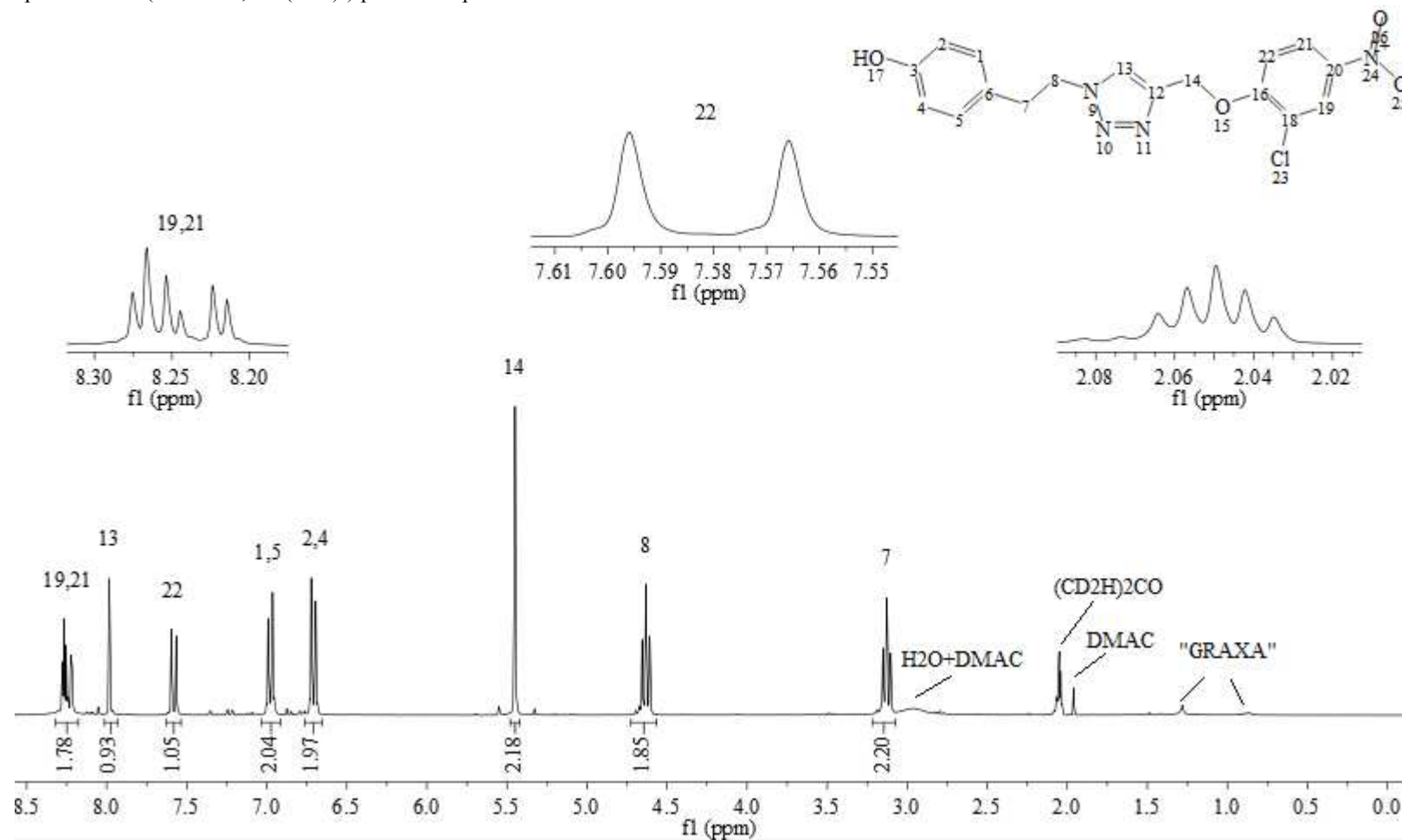
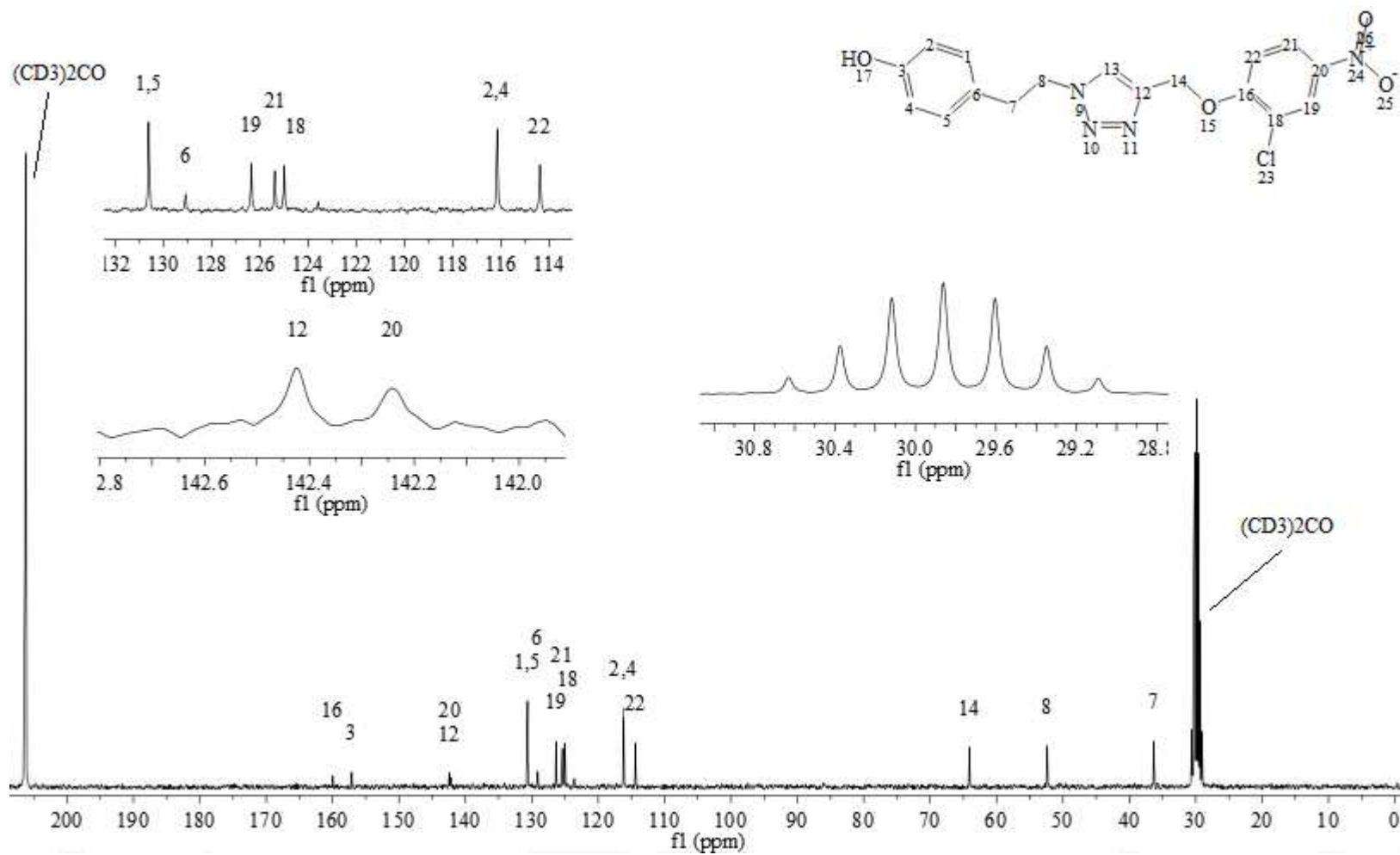


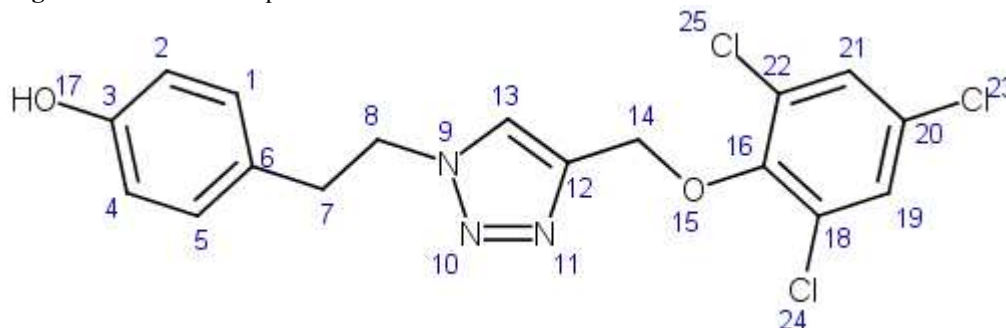
Figura 143 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB11.



## 2.28 GMB12: 4-(2-{4-[(2,4,6-triclorofenoxi)metil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}etil)fenol

A estrutura química (Figura 144) e os dados da caracterização do derivado GMB12 podem ser verificados abaixo.

Figura 144 - Estrutura química GMB12.



**Massa molar:** 398,67 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 397,015 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 40%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,45.

**Temperatura de fusão:** 119,0-121,5 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3227 (estiramento O-H), 1553, 1513, 1439, 1379, 1261, 1220, 1066, 940, 837, 815, 794, 547.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,13 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, H7), 4,62 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, H8), 5,18 (2H, s, H14), 6,72-6,79 (2H, m, H2 e H4), 7,00-7,07 (2H, m, H1 e H5), 7,51 (2H, s, H19 e H21), 8,00 (1H, s, H13), 8,29 (1H, s, H17).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,5 (C7), 52,3 (C8), 67,4 (C14), 116,3 (C2 e C4), 125,5 (C13), 129,2 (C6), 129,7 (C19 e C21), 130,4 (C20), 130,7 (C1 e C5), 131,2 (C18 e C22), 143,0 (C12), 150,9 (C16), 157,2 (C3).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 146, p. 182), mais uma vez, parece destacar-se um fenômeno conformacional. Próximos à maioria dos sinais referentes aos hidrogênios há sinais menores, de mesma multiplicidade. Calculou-se as energias para as diversas conformações utilizando o *software* Millsian<sup>®</sup> 2.1, utilizando como eixo de rotação a ligação entre C12-O15. Utilizou-se as moléculas GMB8 e GMB9, estruturalmente semelhantes, a fim de comparar o

efeito da adição ou posição dos átomos de cloro. Como pode ser verificado pela análise da Figura 147 (p. 183), há um poço de potencial muito mais pronunciado para a molécula GMB12, indicando que há provavelmente uma maior barreira rotacional, grande o suficiente para haver dobramento dos sinais. É necessário estudo mais aprofundado, utilizando *softwares* apropriados, a fim de aprofundar estes indícios.

A distinção dos sinais de carbono (Figura 148, p. 184) para esta molécula é bastante simplificada devido à simetria do grupo substituinte. Os sinais para os carbonos C18, C20 e C22 devem ser os menos intensos do anel clorado, uma vez que são carbonos quaternários. Os carbonos C18 e C22 apresentam um único sinal, uma vez que são simétricos. No entanto, como todos estes carbonos estão ligados a átomos de cloro e estão em posição *orto* ou *para* ao oxigênio 15, capaz de doar densidade eletrônica por deslocalização de elétrons, a atribuição dos sinais de C18/C22 e C20 pode estar trocada. O sinal referente aos carbonos C19/C21 deve ser o mais intenso entre aqueles que estão no anel clorado, uma vez que corresponde a dois carbonos hidrogenados (simetria do anel).

Figura 145 - Espectro no infravermelho (ATR) para o composto GMB12.

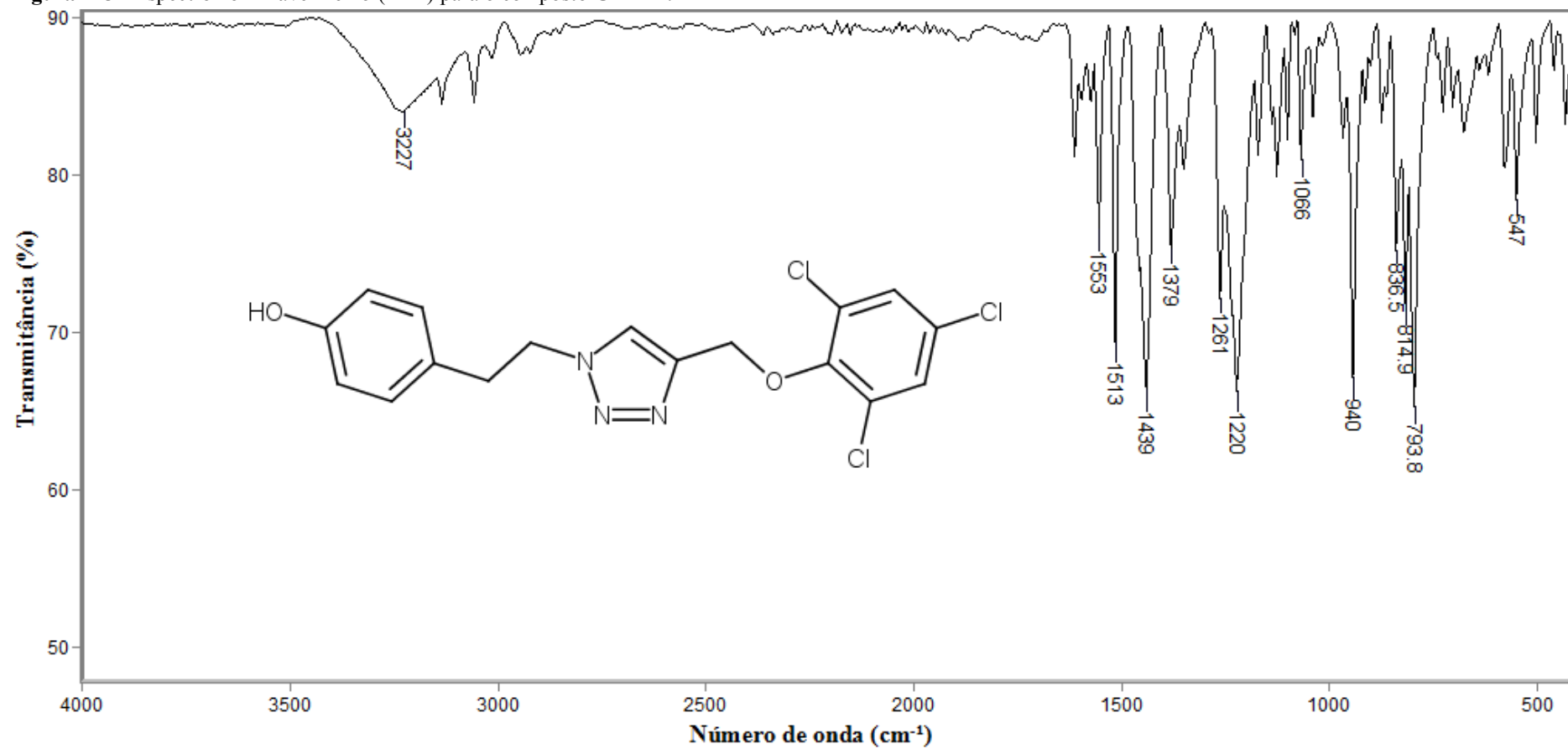


Figura 146 - Espectro de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB12.

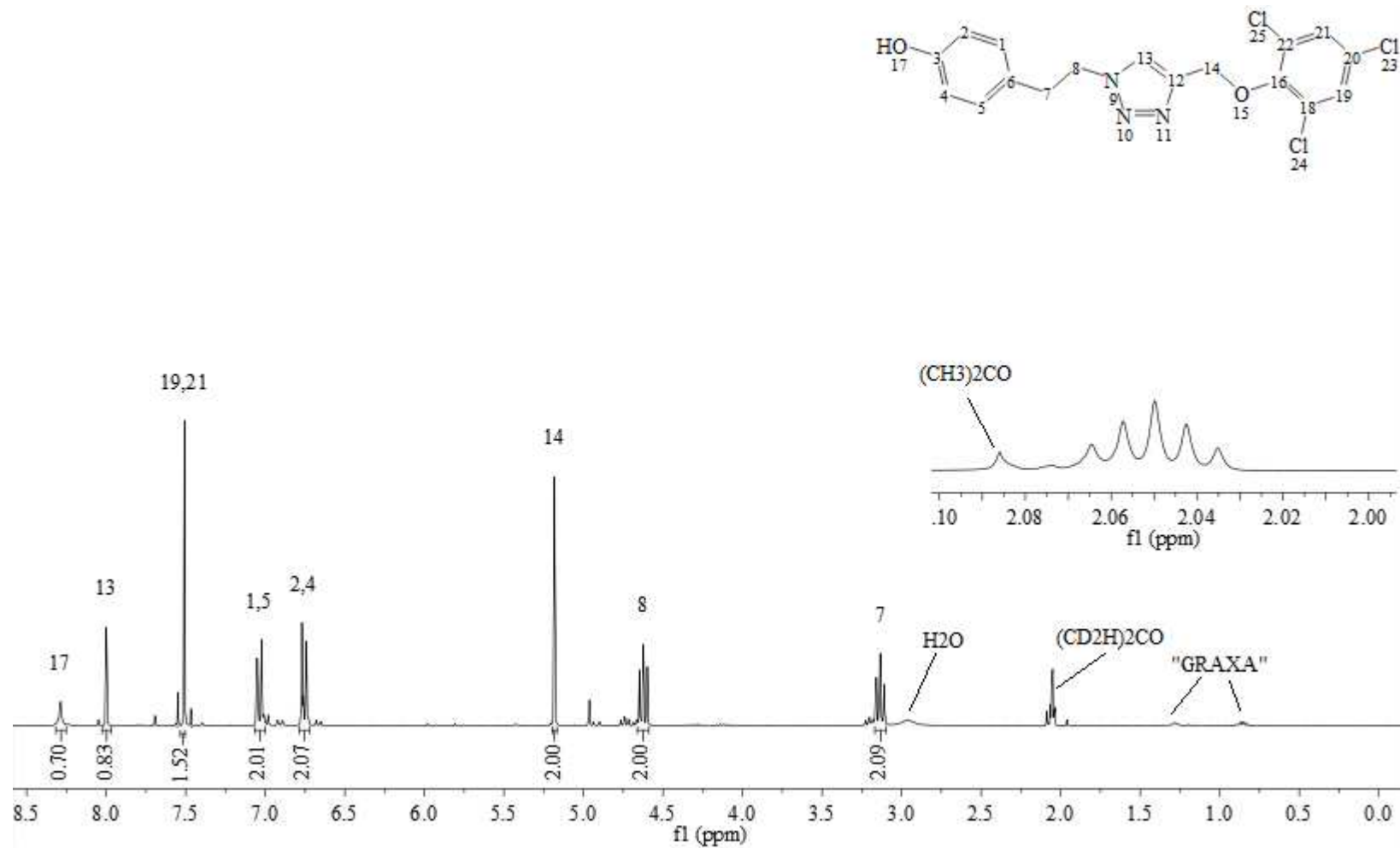


Figura 147 - Variação de Energia x Ângulo diedro para os compostos GMB8, GMB9 e GMB12 utilizando o *software* Millsian<sup>®</sup> 2.1.

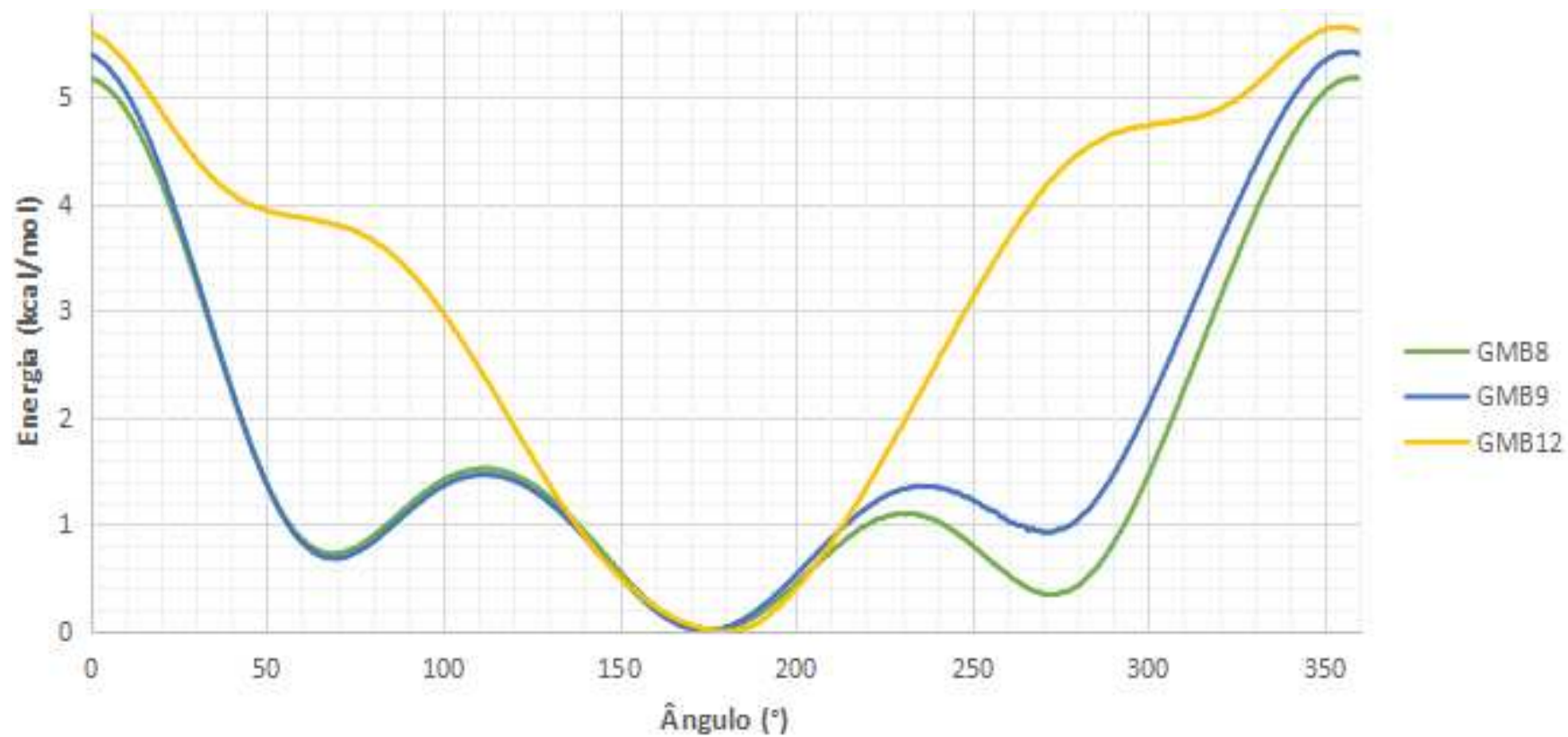
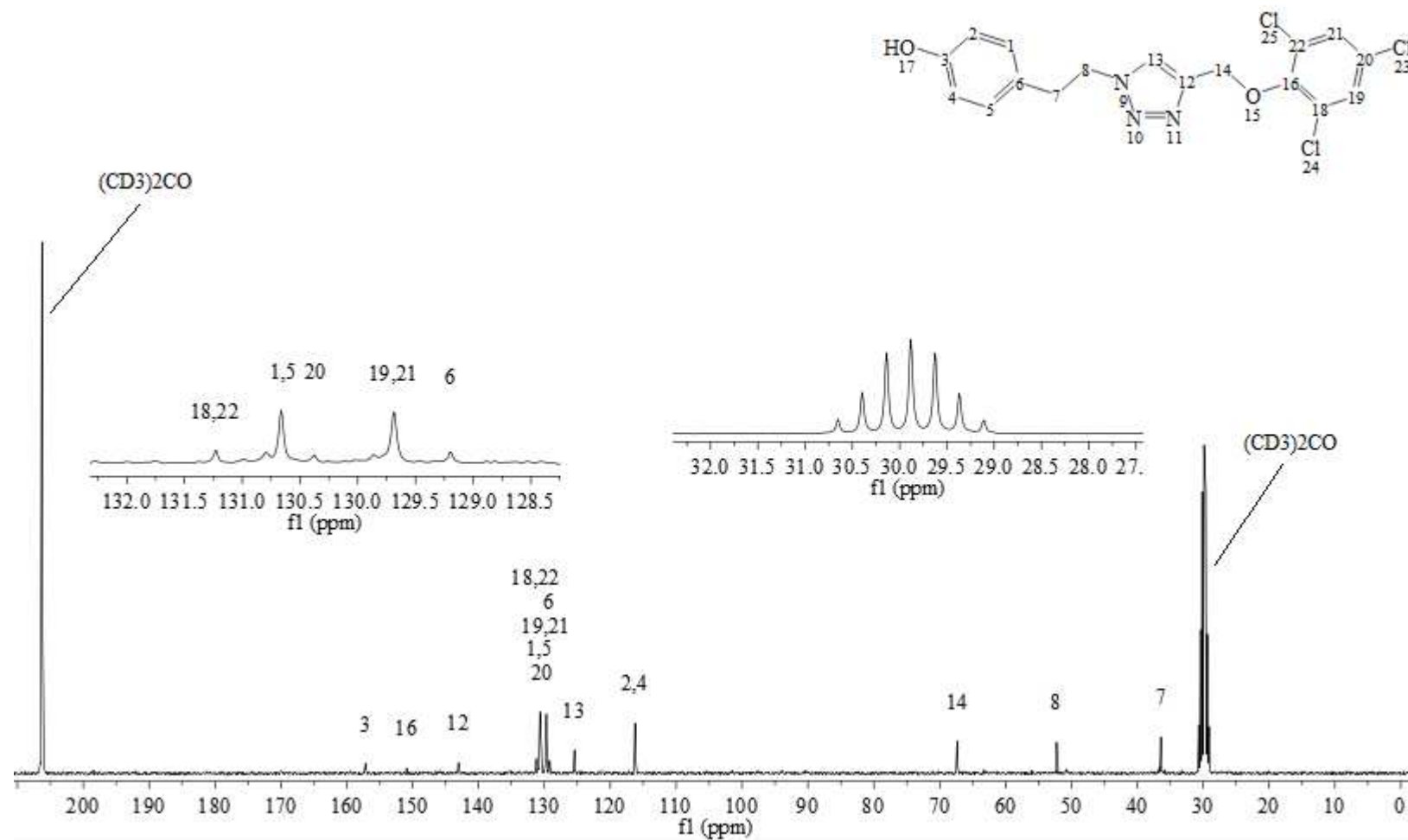


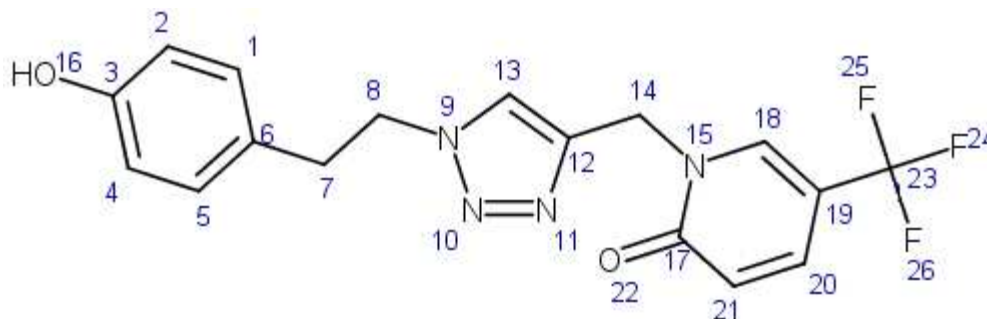
Figura 148 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB12.



## 2.29 GMB13: 1-({1-[2-(4-hidroxifenil)etil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metil)-5-(trifluorometil)-1,2-dihidropiridin-2-ona

A estrutura química (Figura 149) e os dados da caracterização do derivado GMB13 podem ser verificados abaixo.

Figura 149 - Estrutura química GMB13.



**Massa molar:** 364,328 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 364,115 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido branco.

**Rendimento:** 67%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,22.

**Temperatura de fusão:** 183,0-184,4 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3127 (estiramento O-H), 3087, 1673 (estiramento C=O da amida), 1615, 1548, 1515, 1451, 1333, 1113, 1068, 1035, 845, 630, 532, 501.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,09 (2H, t,  $J = 7,5$  Hz, H7), 4,57 (2H, t,  $J = 7,5$  Hz, H8), 5,23 (2H, s, H14), 6,54 (1H, d,  $J = 9,6$  Hz, H21), 6,68-6,75 (2H, m, H2 e H4), 6,96-7,02 (2H, m, H1 e H5), 7,59 (1H, dd<sub>ap</sub>,  $J = 9,6$  Hz; 2,7 Hz, H20), 7,83 (1H, s, H13), 8,25 (1H, s, H16), 8,30-8,35 (1H, m, H18).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,4 (C7), 45,0 (C14), 52,4 (C8), 108,9 (q,  $J = 36,6$  Hz, C19) 116,2 (C2 e C4), 121,7 (C21), 124,8 (C13), 124,8 (q,  $J = 267,3$  Hz, C23), 129,2 (C6), 130,7 (C1 e C5), 135,9 (s<sub>ap</sub>, C20), 139,7 (q,  $J = 5,3$  Hz, C18), 142,7 (C12), 157,2 (C3), 161,8 (C17).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 151, p. 188), o sinal referente ao hidrogênio H21, mais blindado que H20 e H18 por estar mais distante do grupo -CF<sub>3</sub> (retirador de densidade eletrônica por efeito indutivo), aparece como um duplo duplete. Isso é devido ao acoplamento com H20, como pode ser confirmado pelo valor da constante de acoplamento ( $J = 9,6$  Hz). O

sinal para H20, por sua vez, aparece como um duplo- duplete aparente, uma vez que está acoplado com H21 e à longa distância com H18 (acoplamento em W). A proximidade com os átomos de flúor, por sua vez, gera uma distorção do sinal, apesar de não ser possível observar claramente o fenômeno de *splitting* devido ao flúor. Para o sinal de H18, no entanto, o *splitting* ocasionado pela proximidade com os átomos de flúor fez com que não fosse possível observar o acoplamento de H18 com H20, devido à formação de um multiplete.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 152, p. 189), por não ter havido formação de ligação do tipo éter, há uma diferença significativa para o deslocamento do carbono C14. Como o nitrogênio é menos eletronegativo que o oxigênio, o carbono C14 é mais blindado do que nos outros casos. Este resultado corrobora, inclusive, para confirmar que a propargilação ocorreu preferencialmente do átomo de nitrogênio, e não no átomo de oxigênio, como havia sido a intenção inicial. O sinal para o carbono C17 aparece em 161,8 ppm, região adequada para uma amida conjugada. Para atribuir os sinais para os carbonos C18, C19, C20, C21 e C23 procedeu-se a seguinte análise: os sinais para os carbonos C19 e C23 devem ser os menos intensos, uma vez que correspondem a carbonos quaternários. De fato, os sinais foram tão pouco intensos que só é possível ver dois picos do quarteto, com dificuldade, uma vez que se confundem com a linha de base. A atribuição foi realizada comparando com dados da literatura, para o mesmo núcleo<sup>118</sup>. Os carbonos C18 e C20 devem ser mais desblindados que o carbono C21, uma vez que estão em posição *orto* ao grupo  $-\text{CF}_3$ , retirador de densidade eletrônica por efeito indutivo. Ambos sofrem o fenômeno de *splitting* devido ao acoplamento  $^3J$  entre os núcleos  $^{13}\text{C}$ - $^{19}\text{F}$ . A proximidade do nitrogênio, retirador de elétrons, permitiu que o sinal referente ao carbono C18 ficasse melhor resolvido, sendo possível identificar um quarteto, enquanto o sinal para C20 ficou como um simpleto aparente. Por estar próximo também de um átomo de nitrogênio, o carbono C18 é o mais desblindado que o carbono C20, de modo que as Atribuições ficam completas.

A fim de reforçar as atribuições conferidas, realizou-se também o experimento HSQC, capaz de correlacionar núcleos de  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  ligados. A Figura 153 (p. 190) ilustra o espectro obtido.

---

<sup>118</sup> Kawasaki-Takasuka e Yamazaki (2015).

Figura 150 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB13.

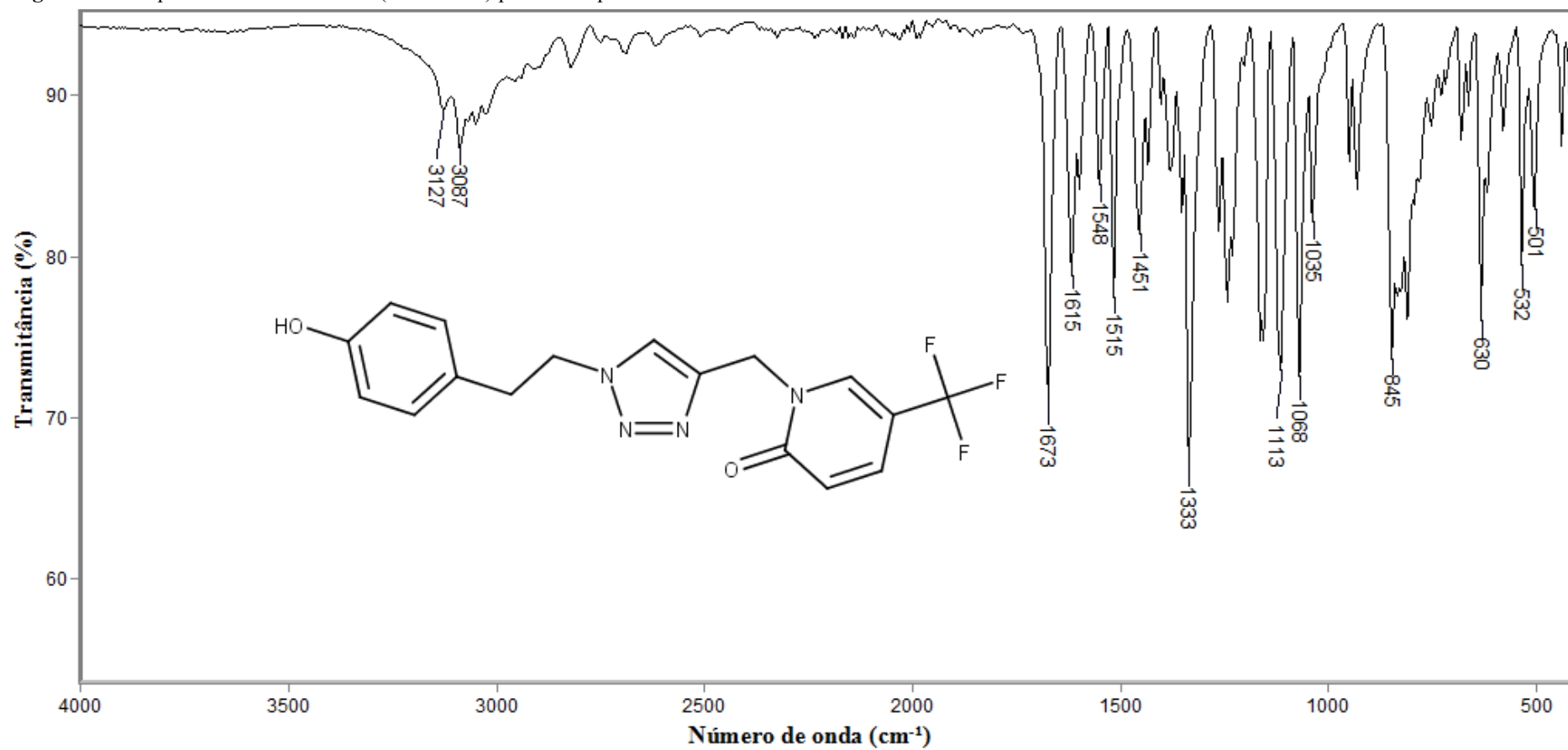


Figura 151 - Espectro de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB13.

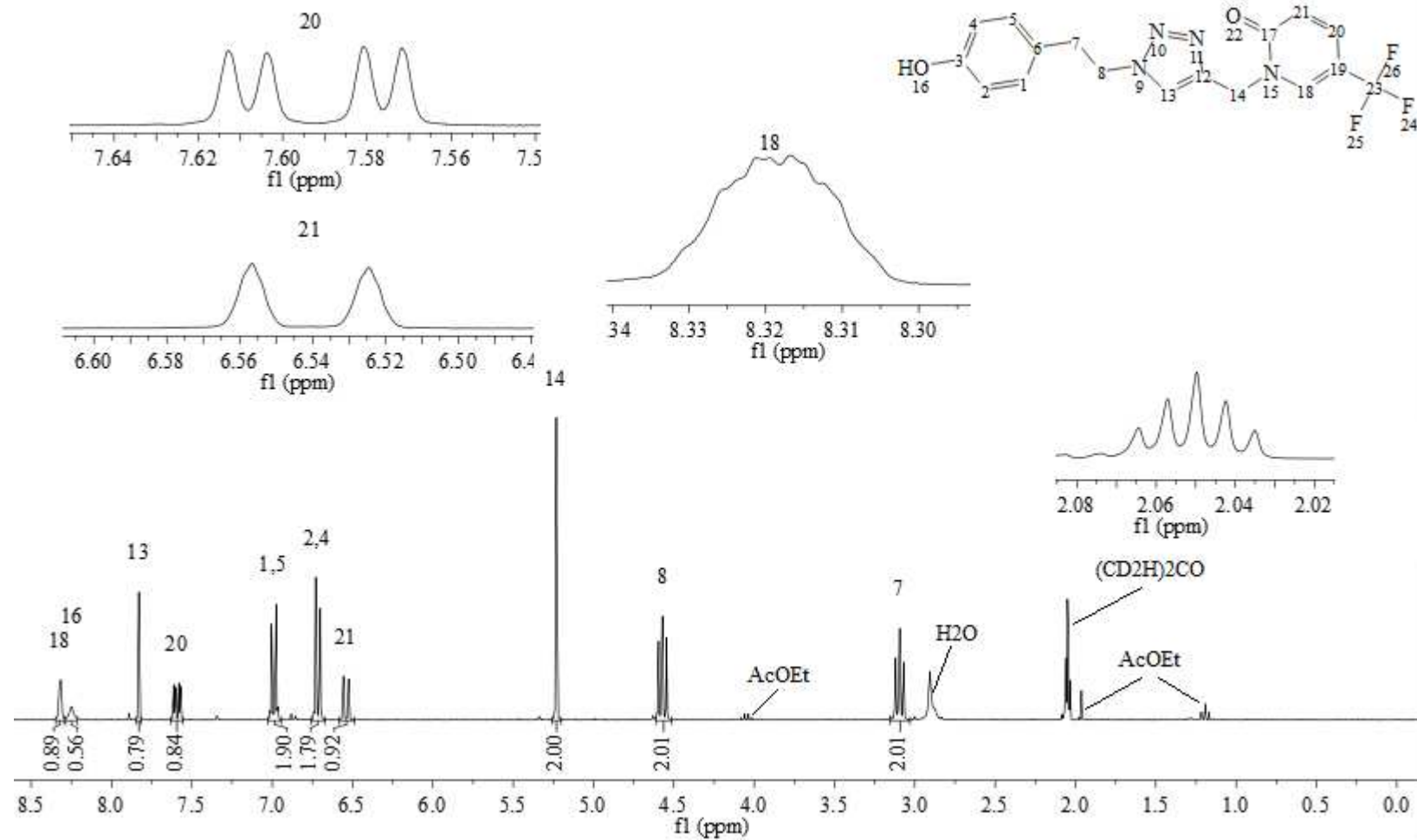


Figura 152 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB13.

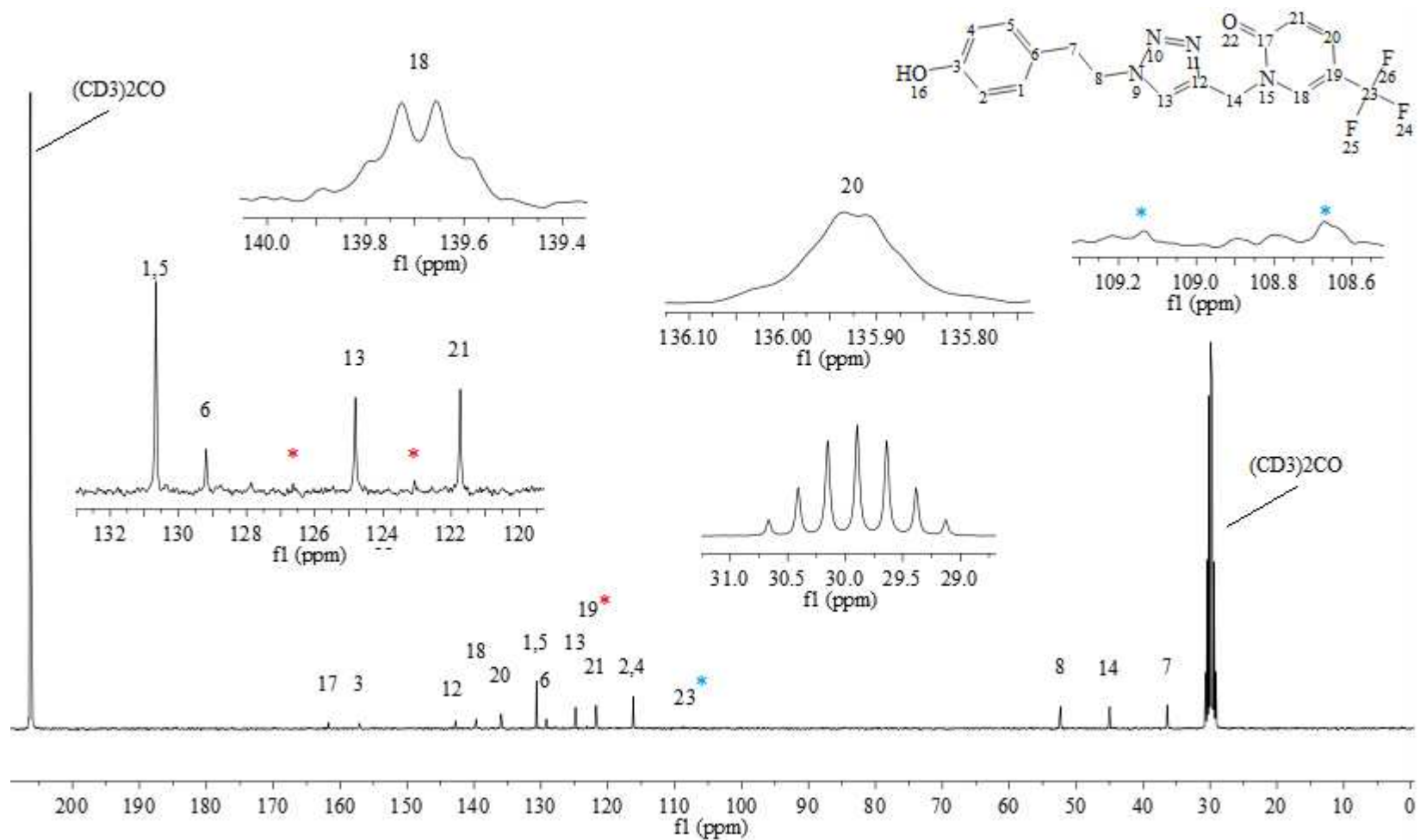
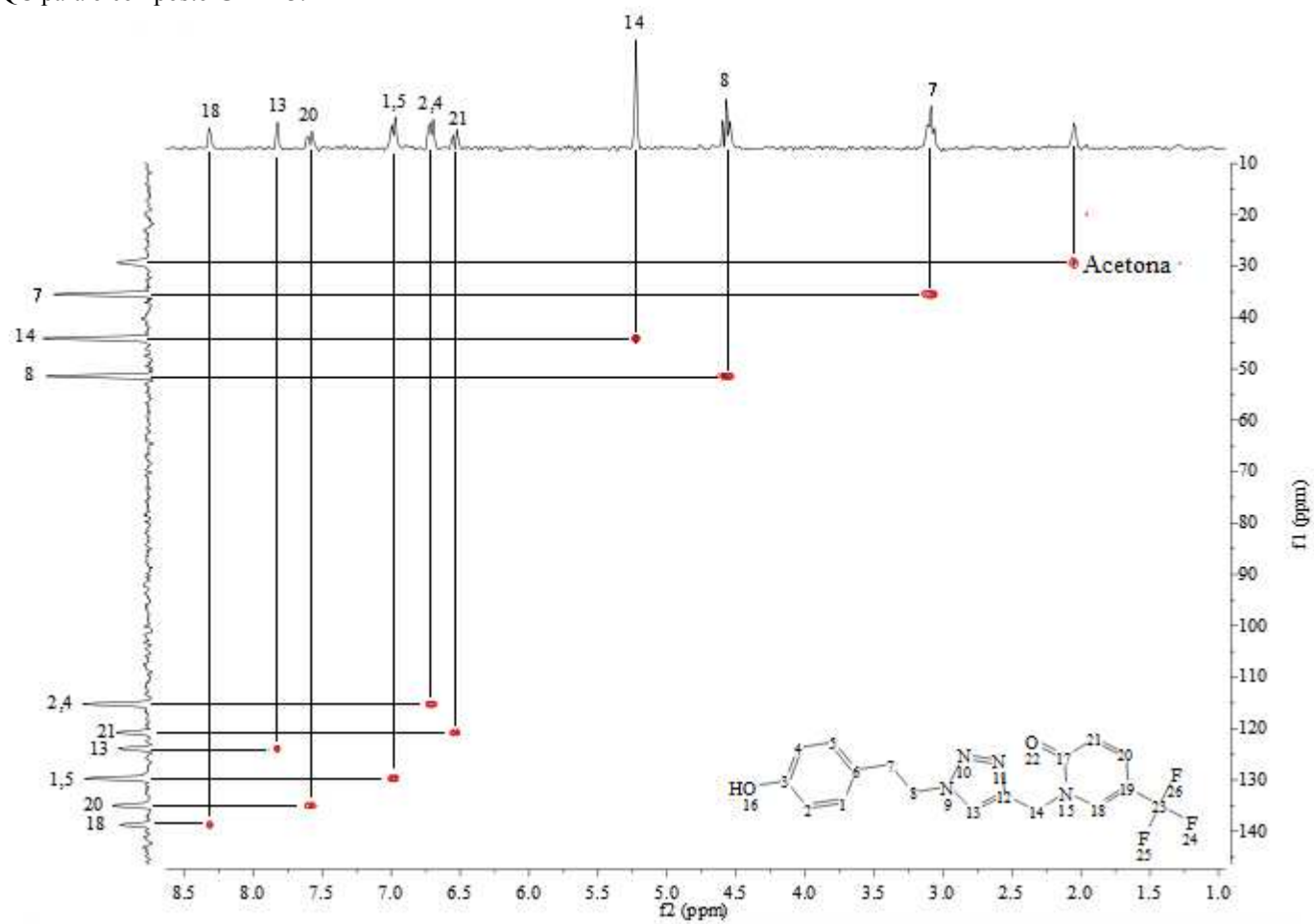


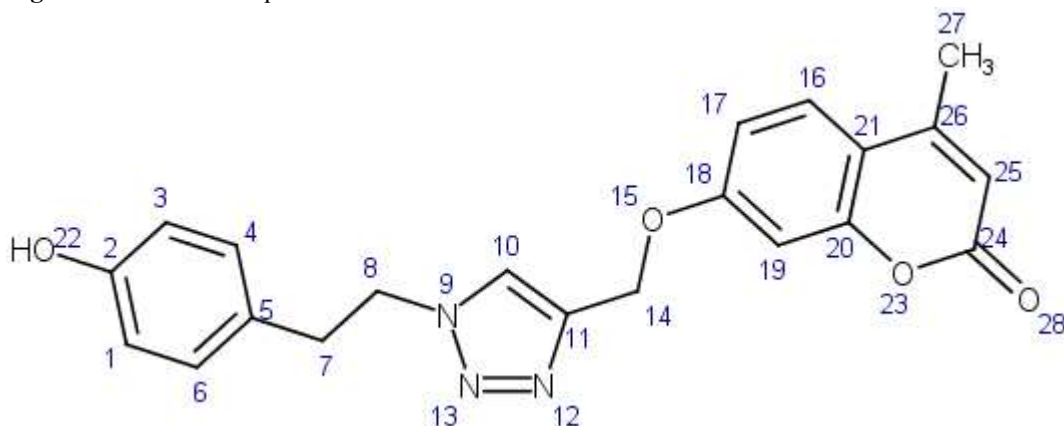
Figura 153 - Espectro HSQC para o composto GMB13.



### 2.30 GMB14: 7-({1-[2-(4-hidroxifenil)etil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il}metoxi)-4-metil-2*H*-cromen-2-ona

A estrutura química (Figura 154) e os dados da caracterização do derivado GMB14 podem ser verificados abaixo.

Figura 154 - Estrutura química GMB14.



**Massa molar:** 377,400 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 377,138 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

**Aparência:** sólido bege.

**Rendimento:** 27%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,17.

**Temperatura de fusão:** 181,0-182,6 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3272 (estiramento O-H), 1689, 1611, 1556, 1516, 1444, 1291, 1149, 1072, 1019, 871, 840, 541, 495.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 2,44 (3H, d,  $J = 1,2$  Hz, H27), 3,13 (2H, t,  $J = 7,3$  Hz, H7), 4,62 (2H, t,  $J = 7,3$  Hz, H8), 5,28 (2H, s, H14), 6,14 (1H, q,  $J = 1,2$  Hz, H25), 6,68-6,77 (2H, m, H2 e H4), 6,95-7,07 (4H, m, H4, H5, H6, H17 e H19), 7,65-7,72 (1H, m, H16), 7,97 (1H, s, H10).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 18,6 (C27), 36,4 (C7), 52,3 (C8), 62,9 (C14), 102,6 (C25), 112,6 (C19), 113,4 (C17), 116,3 (C1, C3, C21), 125,1 (C10), 127,1 (C16), 129,2 (C5), 130,7 (C4 e C6), 143,2 (C11), 153,8 (C20), 156,2 (C26), 157,1 (C2), 161,6 (C18), 162,1 (C24).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 156, p. 194) apresentam-se como particularidades o duplete para os hidrogênios da metila (H27) devido ao acoplamento com o hidrogênio vinílico H25. Como a constante de acoplamento é pequena ( $J = 1,2$  Hz), tanto o duplete referente a H27 quanto o quarteto referente a H25 não ficaram bem resolvidos. O último sinal aparece em 6,14 ppm, próximo ao valor esperado para o hidrogênio na mesma posição na cumarina (6,5 ppm), corroborando ainda mais para a atribuição dos sinais. A proximidade ao oxigênio 15, doador de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons, permitiu atribuir o sinal referente a H17 e H19 como o multiplete correspondente também aos sinais de H4 e H6, o que pode ser confirmado pela integração do sinal. O sinal referente a H16, mais desblindado, pôde ser atribuído considerando seu deslocamento químico na região dos hidrogênios aromáticos e a integração do sinal referente a apenas um hidrogênio.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 157, p. 195) é possível constatar que o tempo de execução do experimento não permitiu a visualização segura de vários carbonos quaternários, sendo adequado uma repetição posterior do ensaio. A atribuição foi realizada por comparação com os dados reportados na literatura para triazóis derivados da mesma porção cumarínica.<sup>119</sup>

---

<sup>119</sup> Yadav et al. (2018).

Figura 155 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB14.

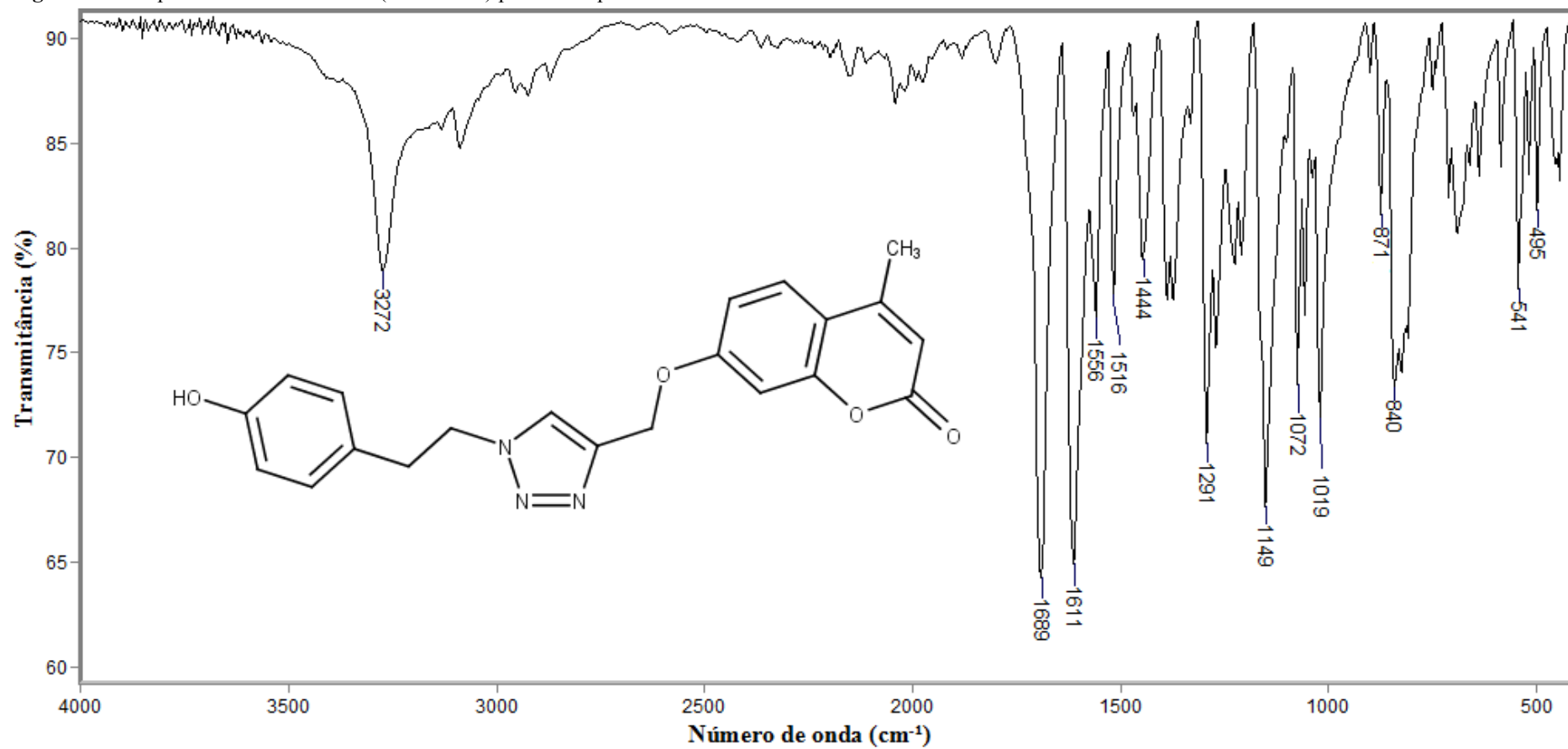


Figura 156 - Espectro de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB14.

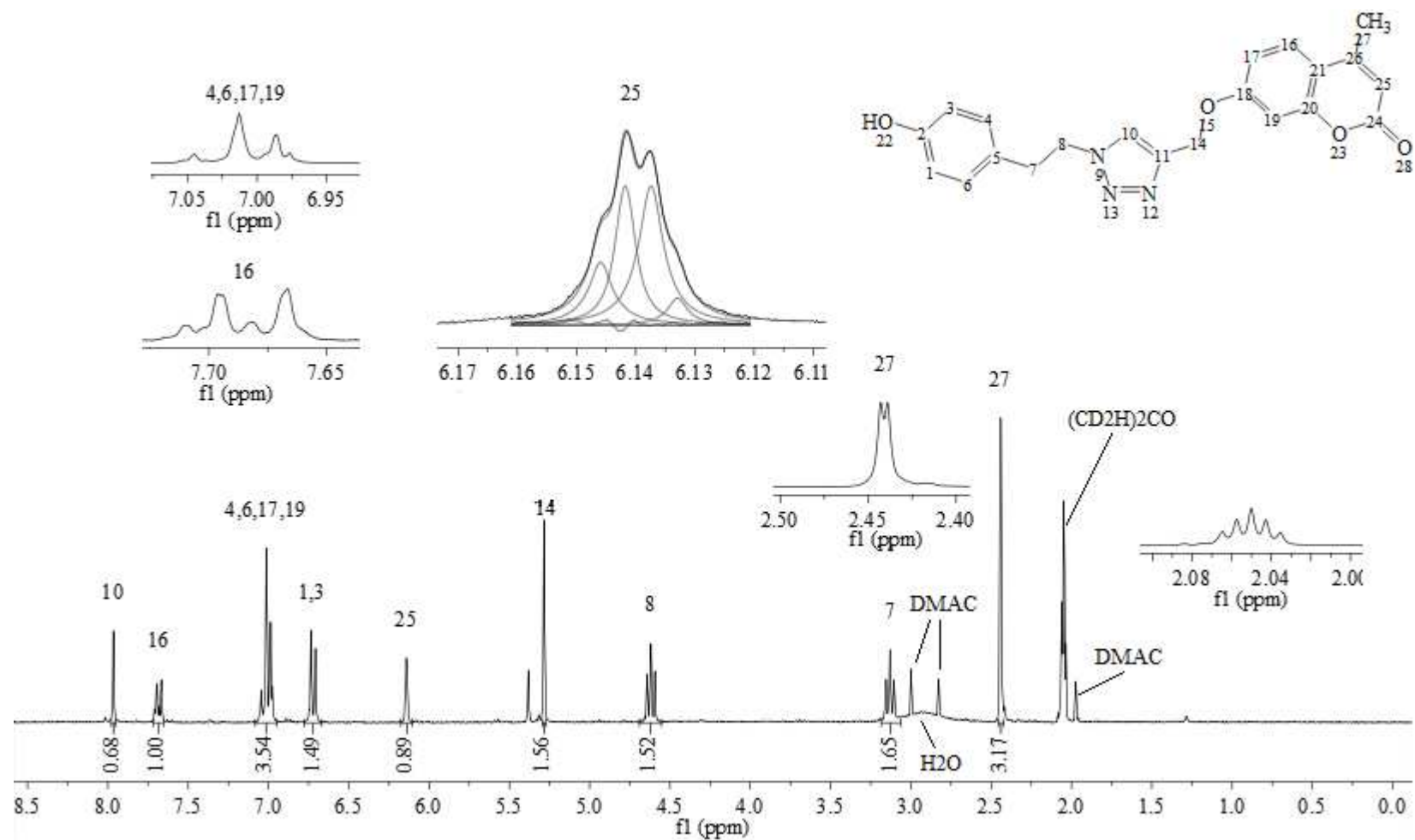
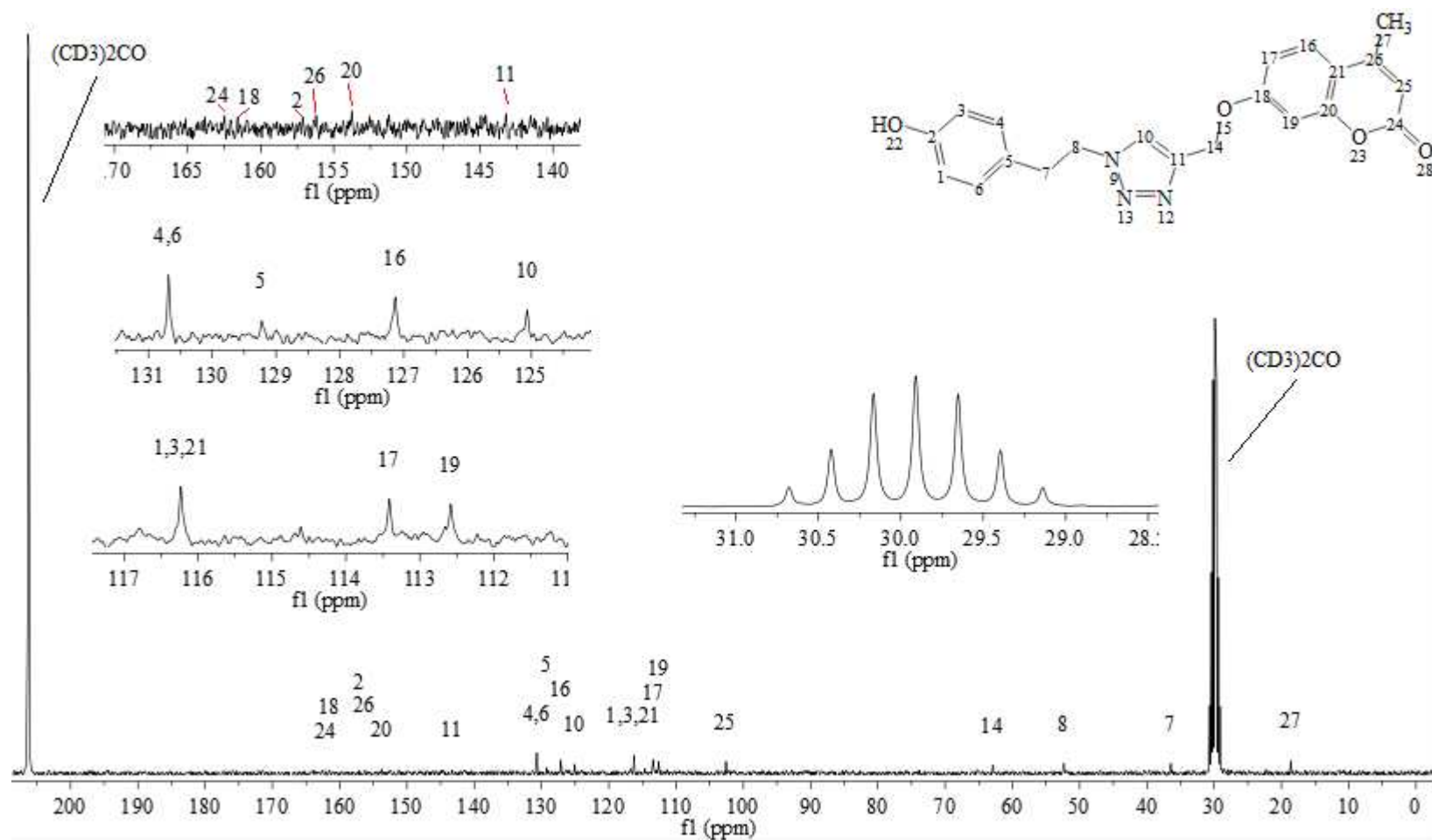


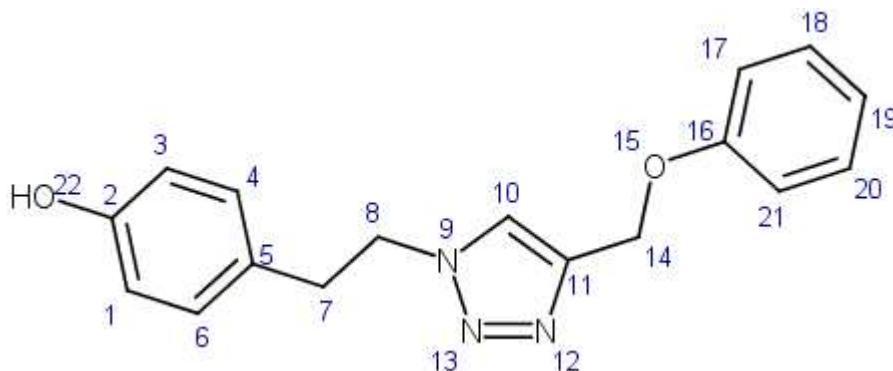
Figura 157 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB14.



### 2.31 GMB15: 4-{2-[4-(fenoximetil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]etil}fenol

A estrutura química (Figura 158) e os dados da caracterização do derivado GMB8 podem ser verificados abaixo.

Figura 158 - Estrutura química GMB15.



**Massa molar:** 295,342 g mol<sup>-1</sup>.

**Massa exata (calculada):** 295,132 u.

**Fórmula molecular:** C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

**Aparência:** sólido amarelo-claro.

**Rendimento:** 53%.

**R<sub>f</sub> (Hexano/AcOEt 1:1):** 0,35.

**Temperatura de fusão:** 114,1-116,5 °C.

**IV (ATR-FTIR,  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$ , cm<sup>-1</sup>):** 3154 (estiramento O-H), 1598, 1516, 1487, 1453, 1385, 1234, 1172, 1065, 1033, 853, 836, 808, 758, 690, 714, 662, 534, 512.

**RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (integração, multiplicidade, acoplamento, atribuição) 3,12 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H7), 4,60 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, H8), 5,14 (2H, s, H14), 6,71-6,78 (2H, m, H1 e H3), 6,90-6,97 (1H, m, H19), 6,98-7,04 (4H, m, H4, H6, H17 e H21), 7,24-7,33 (2H, m, H18 e H20), 7,89 (1H, s, H10), 8,30 (1H, s, H22).

**RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO):**  $\delta$  (atribuição) 36,4 (C7), 52,2 (C8), 62,3 (C14), 115,6 (C17 e C21), 116,2 (C1 e C3), 124,6 (C10), 129,2 (C5), 130,3 (C18 e C20), 130,6 (C4 e C6), 144,1 (C11), 157,1 (C2), 159,5 (C16).

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H (Figura 160, p. 199) a atribuição dos sinais referentes a H18 e H20 deu-se ao se considerar que eles estão mais desblindados que H17, H21 e H19, uma vez que estão *meta* ao oxigênio 15, doador de densidade eletrônica por deslocalização de elétrons. A integração dos sinais permitiu ainda, valendo-se também da simetria do anel, atribuir o sinal referente a H19 (um hidrogênio apenas, mais blindado).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (Figura 161, p. 200), a atribuição deu-se a partir das seguintes considerações: os carbonos C18/C20 são mais desblindados que os carbonos C17/C21 e C19 por estarem em posição *meta* ao oxigênio 15, capaz de doar densidade eletrônica por deslocalização de elétrons. Ademais, os carbonos C18/C20 e C17/C21 apresentam sinais mais intensos que o sinal referente ao carbono C19, haja vista que são carbonos simétricos, dando um único sinal correspondente a dois átomos de carbono. Por fim, como os carbonos C17/C21 estão *orto* ao oxigênio, devendo ser os mais blindados do conjunto.

Figura 159 - Espectro no infravermelho (ATR-FTIR) para o composto GMB15.

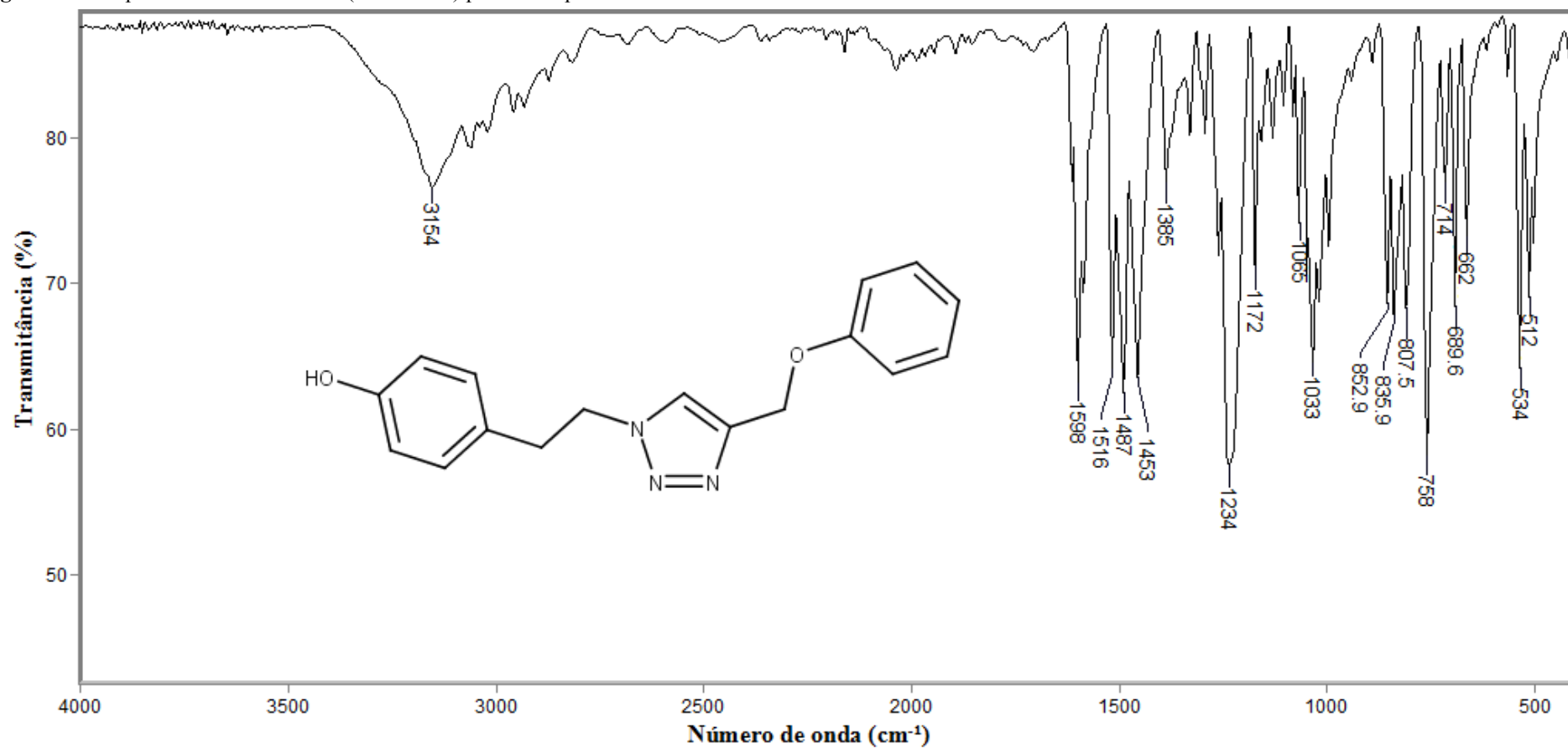


Figura 160 - Espectro de  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) para o composto GMB15.

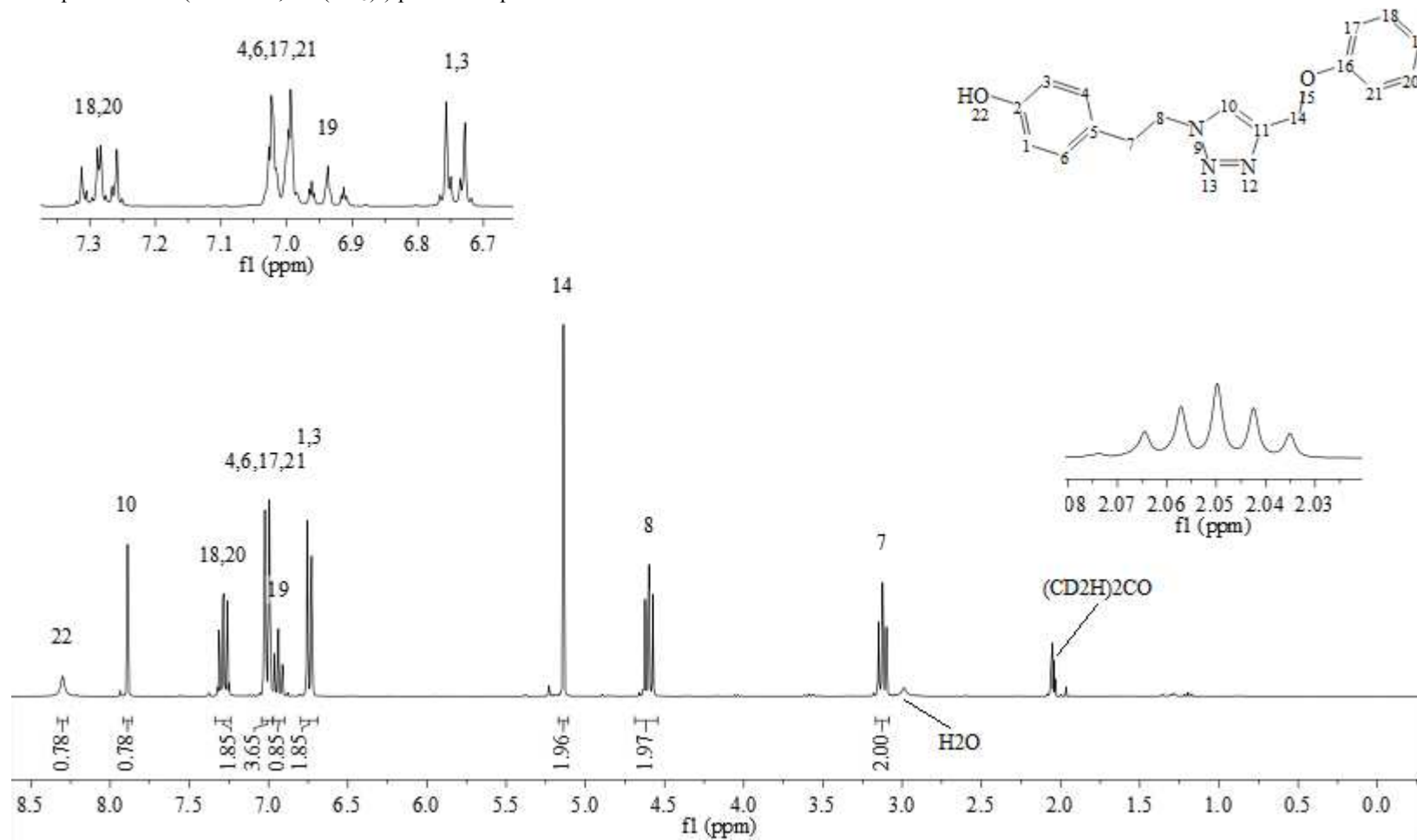
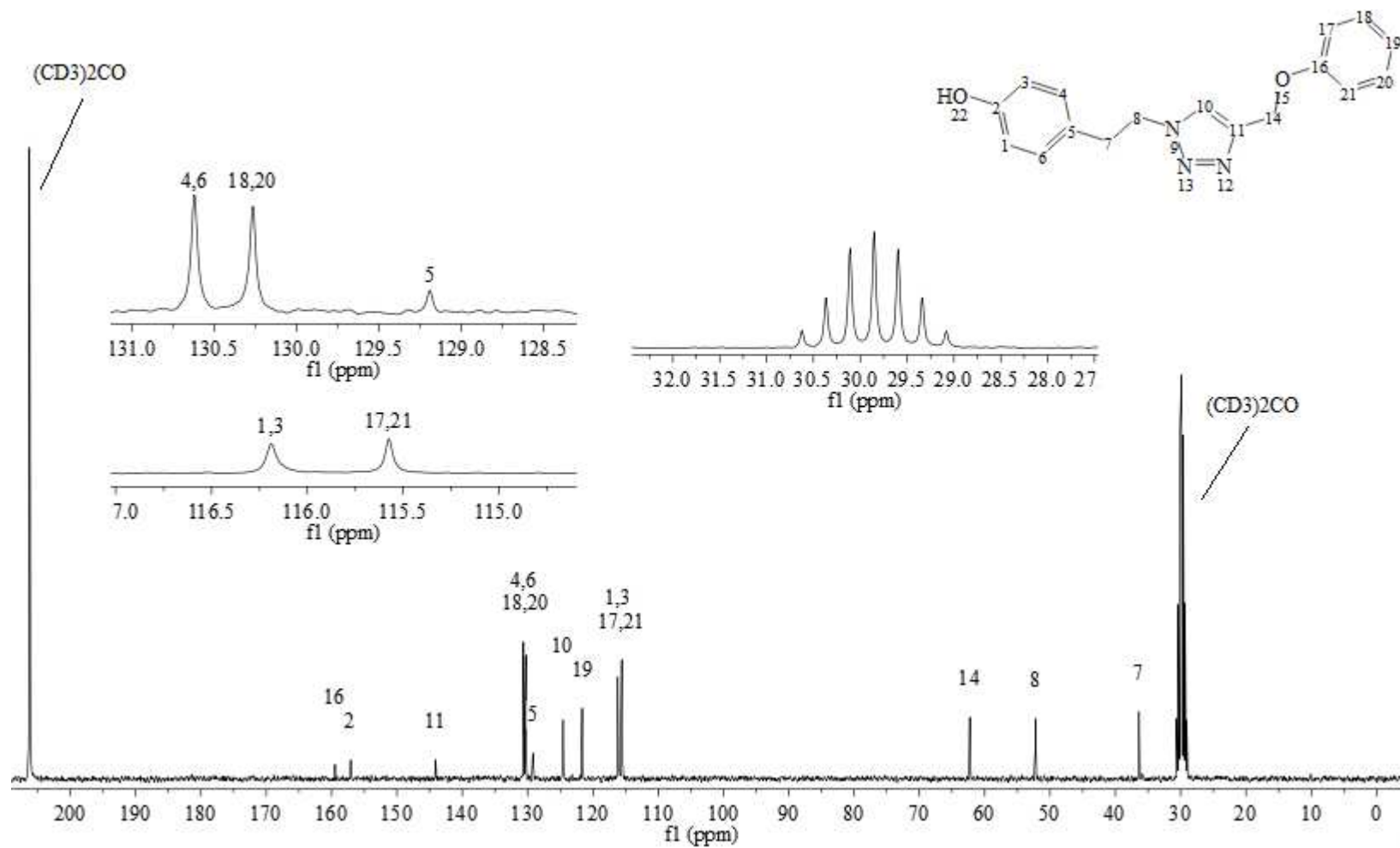


Figura 161 - Espectro de  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) desacoplado por  $^1\text{H}$  para o composto GMB15.



### 3 CONCLUSÕES

Todos os compostos sintetizados puderam ser adequadamente identificados, tendo suas estruturas confirmadas pelas técnicas espectrométricas e espectroscópicas convenientes. A conversão do grupo alcóolico do Tirosol a brometo mostrou ser uma metodologia eficaz, com bom rendimento. A síntese dos alquinos utilizando acetonitrila mostrou ser um protocolo eficiente para propargilação, haja vista os altos rendimentos obtidos para a maioria das reações. Por ser um solvente mais caro, no entanto, valeria a pena estudar outros protocolos de reação. A síntese *one-pot* dos triazóis mostrou ser eficiente para a maioria das estruturas planejadas, obtendo rendimentos bons a excelentes, com exceção dos compostos GMB9, GMB12, GMB14 e GMB15. A manutenção do mesmo solvente para todas elas provavelmente contribuiu para estas diferenças, uma vez que os reagentes certamente não apresentam a mesma solubilidade. A presença de resquícios de DMAC na maioria dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  reforçam a dificuldade de remoção deste solvente, ainda que ele seja solúvel em água. Apesar de ele ser importante para a síntese *one-pot*, uma vez que a primeira etapa da reação é favorecida por um solvente polar aprótico ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ), seria importante testar outros solventes a fim de contornar este problema.

No Apêndice B (p. 236) pode ser consultada a tabela dispondo os compostos sintetizados com seus respectivos rendimentos, a fim de facilitar a comparação.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANAND, A. et al. A three component reaction for the synthesis of 2-mercaptobenzimidazole linked coumarinyl triazoles as anti-tubercular agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 19, p. 4709–4713, 2016.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho de Compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007. 189p.

BRANCO, F. S. C. et al. Ressonância magnética nuclear de substâncias organofluoradas: um desafio no ensino de espectroscopia. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1237–1246, 2015.

CREARY, X. et al. Method for Assigning Structure of 1,2,3-Triazoles. **Journal of Organic Chemistry**, v. 77, p. 8756–8761, 2012.

FULMER, G. R. et al. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. **Organometallics**, v. 29, n. 9, p. 2176–2179, 10 maio 2010.

KANN, N.; JOHANSSON, J. R.; BEKE-SOMFAI, T. Conformational properties of 1,4- and 1,5-substituted 1,2,3-triazole amino acids-building units for peptidic foldamers. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 2776–2785, 2015.

KAWASAKI-TAKASUKA, T.; YAMAZAKI, T. The modified trifluoromethylation protocol applicable to electronically deficient iodopyridinones. **Tetrahedron**, v. 71, n. 38, p. 6824–6831, 2015.

MUNAGALA, G. et al. Synthesis of new generation triazolyl- and isoxazolyl-containing 6-nitro-2,3-dihydroimidazooxazoles as anti-TB agents: in vitro, structure–activity relationship, pharmacokinetics and in vivo evaluation. **Organic and Biomolecular chemistry**, v. 13, p. 3610–3624, 2015.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012. 700 p.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000. 460p.

YADAV, N. et al. In vitro antiplasmodial efficacy of synthetic coumarin-triazole analogs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 145, p. 735–745, 2018.

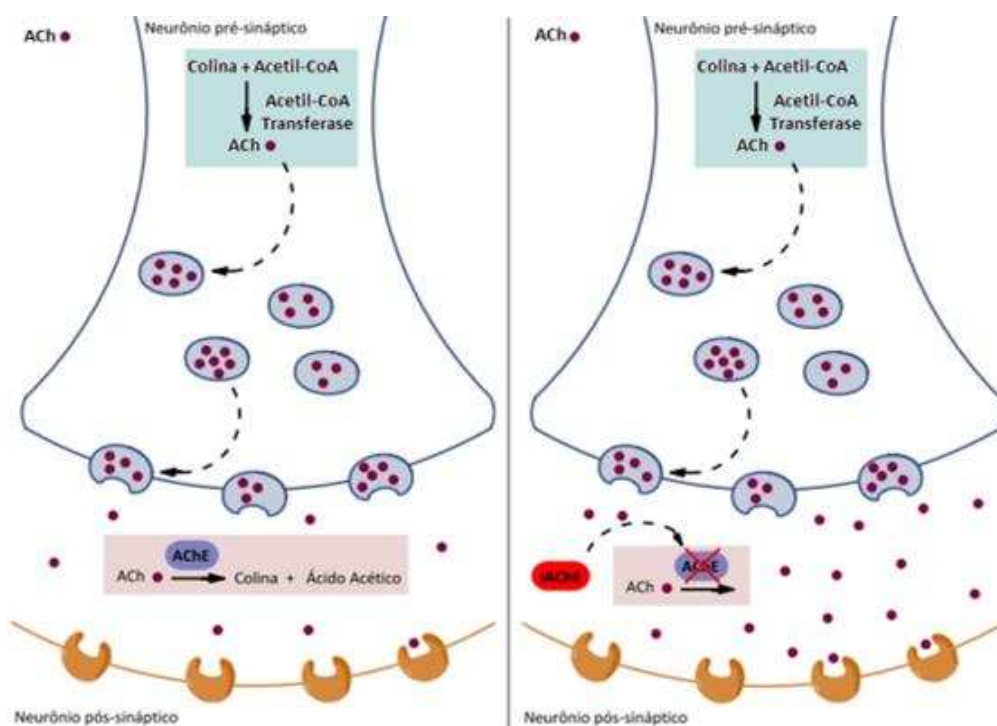
ZHANG, Z.; LIU, B. Total synthesis of proposed structures of jiangrines C and D. **Science China Chemistry**, v. 59, n. 9, p. 1205–1210, 2016.

**CAPÍTULO 5- INIBIÇÃO DE ACETILCOLINESTERASE: ENSAIO ENZIMÁTICO  
E *DOCKING* MOLECULAR**

## 1 RELAÇÃO ENTRE A INIBIÇÃO DA AChE E O PRESENTE ESTUDO

As enzimas são catalisadores biológicos altamente específicos, responsáveis por fazer com que reações termodinamicamente favoráveis ocorram dentro de um tempo útil.<sup>120</sup> Acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima encontrada em várias espécies, sendo responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh).<sup>121</sup> Por conseguinte, a inibição da AChE acarreta uma elevação da concentração de ACh, aumentando a transmissão colinérgica.<sup>122</sup> A Figura 162 ilustra esquematicamente a atividade da enzima.

**Figura 162** - Ação do inibidor de Acetilcolinesterase.



**Fonte:** Adaptado de Araújo, Santos e Gonsalves (2016).

O estudo de potenciais inibidores da AChE tem grande importância como etapa preliminar no desenvolvimento de novos fármacos ou pesticidas.<sup>123</sup> De acordo com a hipótese colinérgica, por exemplo, a inibição da enzima AChE é capaz de atenuar os sintomas da doença de Alzheimer, melhorando as funções colinérgicas dos pacientes.<sup>124</sup> São fármacos comerciais

<sup>120</sup> Bettelheim et al. (2010).

<sup>121</sup> Araújo, Santos e Gonsalves (2016); Murray *et al.* (2013); Soreq e Seidman (2001).

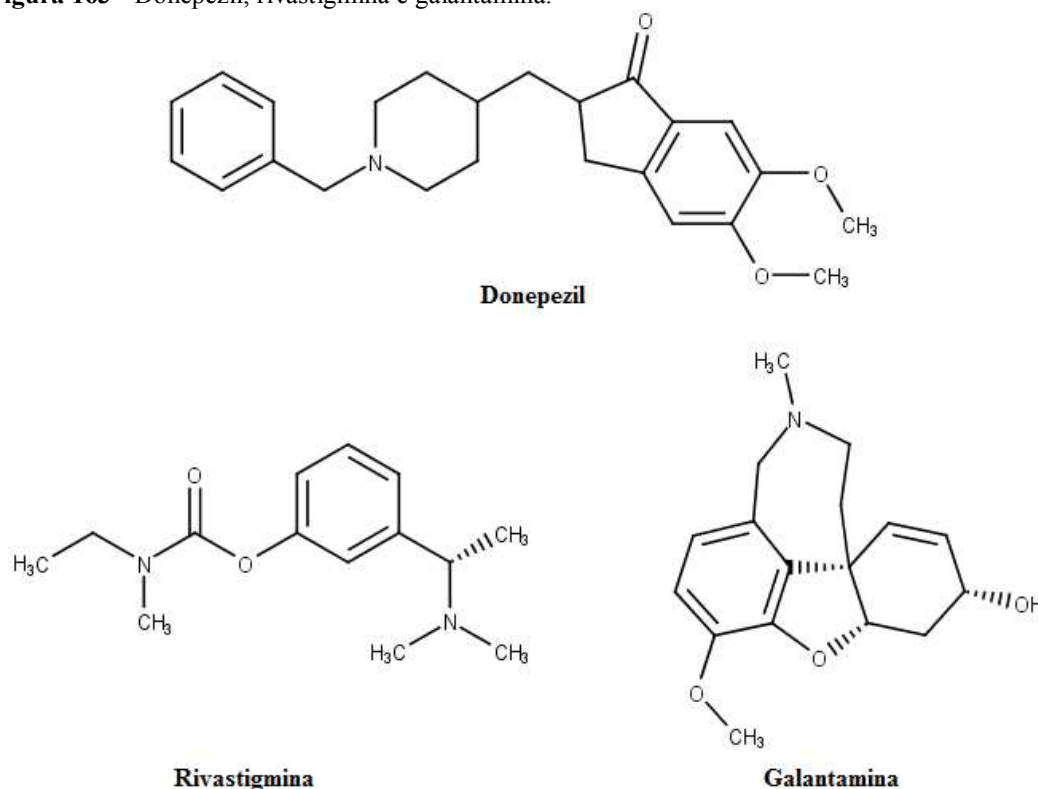
<sup>122</sup> Araújo, Santos e Gonsalves (2016); Wu et al. (2015). O sistema colinérgico integra a parte autônoma do sistema nervoso periférico. (ARAÚJO; SANTOS; GONSALVES, 2016)

<sup>123</sup> Araújo, Santos e Gonsalves (2016).

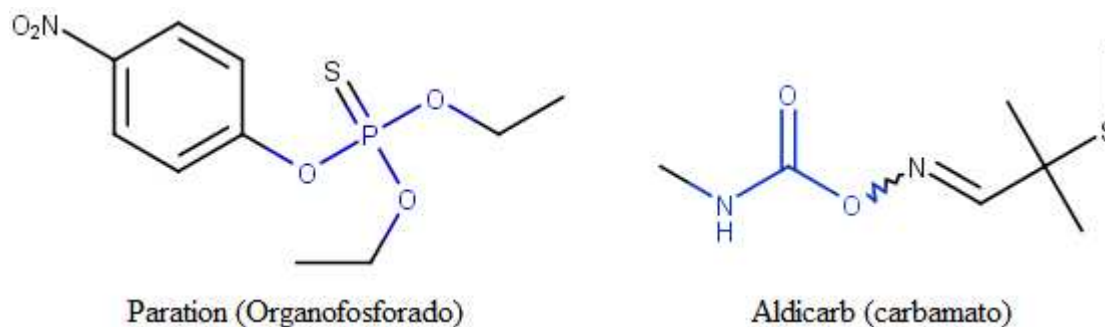
<sup>124</sup> Murray *et al.* (2013).

no tratamento de Alzheimer os inibidores de AChE donepezil, rivastigmina e galantamina (Figura 163).<sup>125</sup> Os inibidores de AChE também mostraram ser úteis no tratamento de demência cardiovascular, além de haver indícios de possuírem atividade anti-inflamatória e melhorarem a atividade vagal cardíaca, diminuindo o risco de síndrome coronariana aguda, assim como do acidente vascular cerebral isquêmico.<sup>126</sup> Como pesticidas inibidores da AChE estão os inseticidas das classes dos carbamatos e organofosforados (Figura 164).<sup>127</sup>

**Figura 163** - Donepezil, rivastigmina e galantamina.



**Figura 164** - Inseticidas inibidores da AChE.



<sup>125</sup> Wu *et al.* (2015).

<sup>126</sup> Lin *et al.* (2016); Wu *et al.* (2015).

<sup>127</sup> Araújo, Santos e Gonsalves (2016); Murray *et al.* (2013).

Dentre os metabólitos secundários de plantas há muitos capazes de inibir a AChE. Dentre os biofenóis podem ser destacados, a título de exemplo, o ácido gálico e o ácido elágico.<sup>128</sup> Considerando as propriedades neuroprotetoras do biofenol Tirosol,<sup>129</sup> objetivou-se avaliar a possibilidade dos derivados sintetizados atuarem como inibidores da AChE, gerando novas entidades químicas capazes de auxiliar as pessoas portadoras de doenças neurodegenerativas, conjugando ambas as propriedades. Objetivou-se, ainda, descobrir concomitantemente moléculas capazes de agir como inseticidas de menor toxicidade. Assim, de um único alvo, pode-se encontrar candidatos potenciais para fármacos e agroquímicos, em conformidade com os objetivos da dissertação. Além das razões já descritas, o ensaio justificase por dois outros motivos:

- Hillhouse et al. (2004), usando extratos de *Rhodiola rosea* para inibição da AChE, encontraram resultados positivos. Esta espécie contém Tirosol e Salidroside<sup>130</sup> (derivado glicosilado do Tirosol), mas estes não foram testados isoladamente, devido ao baixo rendimento da extração;
- Torres et al. (2016) e Najafi et al. (2017), entre outros autores, demonstraram a síntese de compostos contendo núcleo triazólico como promissores modelos para inibidores da AChE.

A fim de avaliar os mecanismos de interação enzima-inibidor, realizaram-se também os ensaios de *docking* molecular e cinética enzimática.

---

<sup>128</sup> Murray *et al.* (2013).

<sup>129</sup> Bu *et al.* (2007); Dewapriya *et al.* (2013); Vauzour, Corona e Spencer (2010).

<sup>130</sup> Panossian, Wikmana e Sarris (2010).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os testes de inibição da AChE e cinética enzimática foram realizados no Laboratório de Biodiversidade (Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular- UFV), sob orientação do professor Dr. João Paulo Viana Leite.

O *docking* molecular foi realizado no laboratório de Proteômica e Bioinformática (BIOAGRO- UFV), sob orientação do Prof. Dr. Tiago Antônio de Oliveira Mendes.

### 2.1 Ensaio de inibição enzimática

A inibição da AChE (*Electrophorus electricus*, tipo VI, Sigma Aldrich) foi determinada por ensaio espectrofotométrico em microplaca de 96 poços, seguindo a metodologia de Rocha et al. (2018), com modificações. Foram utilizadas três microplacas, com triplicata para cada composto, incluindo os controles, totalizando nove pontos para cada espécie química.<sup>131</sup>

Os testes foram realizados a partir de soluções iniciais de 1,00 g L<sup>-1</sup> (10,0 mg do composto em 10,00 mL de metanol grau HPLC, TEDIA<sup>®</sup>).<sup>132</sup> A solubilização dos compostos foi auxiliada por banho ultrassônico da marca Sander<sup>®</sup>, modelo Soniclean 2, com frequência de 40 kHz e temperatura 35-40 °C. Destas soluções foram preparados estoques de 2500 µmol L<sup>-1</sup>. Destes estoques foram retirados 40 µL de solução para triplicata em microtubos contendo 160 µL de tampão Tris-HCl (50 mmol L<sup>-1</sup>, pH 8,0) cada. A concentração final dos compostos foi de 500 µmol L<sup>-1</sup>. As diluições foram realizadas utilizando metanol grau HPLC, ÊXODO<sup>®</sup>.

Em microtubos foram adicionados em triplicata 200 µL de solução de albumina sérica bovina (0,1% de BSA no tampão Tris-HCl), 100 µL de solução de iodeto de acetilcolina em água ultrapura (14,5 mmol L<sup>-1</sup>), 500 µL de solução de ácido 5,5'-ditiobis 2-nitrobenzoico (3 mmol L<sup>-1</sup> de DTNB no tampão Tris-HCl contendo 10 mmol L<sup>-1</sup> de NaCl e 20 mmol L<sup>-1</sup> de MgCl<sub>2</sub>) e 100 µL das soluções dos compostos preparados a 500 µmol L<sup>-1</sup>, sendo cada microtubo da triplicata correspondente a um único outro microtubo. Cada um dos microtubos preparados desta forma foram correspondentes a uma placa, retirando-se de cada microtubo uma alíquota de 225 µL, em triplicata. O tampão de Tris-HCl e metanol grau HPLC ÊXODO<sup>®</sup> foram

---

<sup>131</sup> Os testes foram realizados em dois dias, com um ensaio no primeiro dia e dois ensaios no segundo dia.

<sup>132</sup> Este artifício foi empregado tendo em conta que a massa mínima possível de ser pesada na balança analítica disponível é de 10,0 mg, com erro de 1 mg. As soluções estavam armazenadas em geladeira pelo período de 40 dias. As soluções para a 4-metilumbeliferona e para o Alk14 foram preparadas em metanol grau HPLC ÊXODO<sup>®</sup>.

utilizados como controle negativo e a galantamina como inibidor padrão, a 21  $\mu\text{mol L}^{-1}$  no poço, enquanto os compostos nos poços estavam na concentração de 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ .<sup>133</sup>

As leituras espectrofotométricas foram realizadas em leitor Thermoplate, modelo TP-reader em comprimento de onda de 405 nm. Após leitura do *background*, adicionou-se em cada poço 25  $\mu\text{L}$  da enzima correspondente ao ensaio (0,2 U  $\text{mL}^{-1}$ ). A inibição da hidrólise enzimática foi avaliada a partir da diferença de valores de absorbância obtidos nas leituras sem e com a adição da enzima, para o tempo de 25 minutos. Os *outliers* foram eliminados aplicando-se o método de Thompson modificado.

## 2.1 Cinética enzimática

A cinética enzimática foi avaliada usando o mesmo procedimento para o ensaio de inibição enzimática, variando, no entanto, as concentrações da solução de iodeto de acetilcolina segundo as concentrações de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 e 20  $\text{mmol L}^{-1}$ .<sup>134</sup> Foram realizadas triplicatas para cada concentração de substrato, para duas concentrações distintas de GMB14. As soluções de GMB14 foram preparadas a partir da diluição seriada da solução de GMB14 (500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 20% de metanol grau HPLC, em tampão Tris-HCl 50  $\text{mmol L}^{-1}$ , pH 8,0), preparada no ensaio anterior, produzindo as soluções de 250 e 125  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , devidamente ajustadas com o tampão Tris-HCl (50  $\text{mmol L}^{-1}$ , pH 8,0) e metanol grau HPLC, ÊXODO<sup>®</sup>.<sup>135</sup>

## 2.2 Docking molecular

O *docking* molecular foi realizado no *software* AUTODOCKTOOLS<sup>®136</sup>, seguindo a metodologia descrita por Ferreira (2016), com adaptações.

Os ligantes foram desenhados no *software* MarvinSketch<sup>®</sup>, com todos os hidrogênios explícitos, e salvos em 3D no formato PDB. Posteriormente os arquivos foram convertidos no formato PDBQT no *software* PyRx<sup>®</sup> Python Prescription 0.8.

O receptor escolhido foi a acetilcolinesterase da espécie *Torpedo californica*, baixada diretamente do banco de dados de proteínas (*Protein Data Bank*, código: 6G1U, 1,79 Å).

---

<sup>133</sup> Após a adição da enzima, devido à diluição.

<sup>134</sup> Soluções preparadas por diluição seriada em microtubos. As soluções-mãe são diluídas por um fator de 10 vezes em relação ao poço.

<sup>135</sup> De maneira que nos poços foram avaliadas as concentrações de 25 e 12,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

<sup>136</sup> Morris *et al.* (2009).

Utilizando o *software* AUTODOCKTOOLS<sup>©137</sup>, retirou-se as moléculas de água, adicionou-se os átomos de hidrogênio não polares e calculou-se as cargas da proteína. O arquivo em formato PDB foi então convertido para o formato PDBQT.

Os ligantes foram ancorados contra a enzima usando o *software* AutoDockVina<sup>©138</sup>  
1.1.2. O sítio de ligação foi explorado de forma não dirigida a partir da criação de um prisma de base retangular ao redor de toda a proteína. As dimensões do prisma foram de 66 x 70 x 74 Å (eixos x, y e z, respectivamente), com centro em  $x = -3,333$ ,  $y = 2,167$  e  $z = 20,917$  Å.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio de inibição enzimática permite identificar os inibidores, enquanto o estudo cinético permite entender qual o mecanismo de inibição: competitiva ou não-competitiva. Por fim, o *docking* molecular permite simular o sítio de inibição, que pode ser confirmado pelo resultado do estudo cinético, assim como simular os aminoácidos que podem ser responsáveis pela interação do inibidor com a enzima, facilitando o planejamento de modificações estruturais a fim de se obter resultados melhores em estudos posteriores. Além disso, o *docking* permite descobrir quais regiões da molécula são responsáveis pelas interações, o que é importante na identificação de grupos farmacofóricos.

### 3.1 Ensaio de inibição enzimática

Os resultados para o ensaio de inibição enzimática dos derivados de Tirosool podem ser observados na Tabela 2. Como pode ser verificado, o Tirosool não é um inibidor da AChE. Este resultado complementa o trabalho de Hillhouse et al. (2004), indicando que a inibição da AChE a partir dos extratos de *Rhodiola rosea*, não se deve, ao menos isoladamente, ao Tirosool. Foi observado durante as repetições dos experimentos (não reportadas) que os compostos que apresentam inibições baixas tendem a apresentar altas variâncias, ou seja, variâncias superiores a 20%, que é o limite para que as médias de inibição possam ser consideradas satisfatórias.<sup>139</sup> Os compostos destacados em negrito, devido à relevância estatística, foram analisados quanto a relação estrutura atividade.

---

<sup>137</sup> Morris et al. (2009).

<sup>138</sup> Trott e Olson (2010).

<sup>139</sup> Comunicação pessoal fornecida pela doutoranda Me. Ana Paula Agrizzi.

**Tabela 2** - Inibição do Tirosol e derivados.

Composto (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Inibição (%)	Desvio padrão	Variância (%)
Tirosol	-1,1	1,2	-106,1
GMB1	7,2	3,1	43,8
<b>GMB2</b>	<b>7,4</b>	<b>0,8</b>	<b>11,5</b>
GMB3	8,0	3,0	36,9
GMB4	5,2	1,8	34,9
GMB5	7,4	3,0	39,8
GMB6*	3,2	2,6	83,7
<b>GMB7</b>	<b>24,8</b>	<b>3,4</b>	<b>13,7</b>
GMB8	8,0	2,0	25,7
GMB9**	6,9	4,3	63,1
GMB10	10,5	2,1	20,1
<b>GMB11</b>	<b>55,1</b>	<b>2,7</b>	<b>5,0</b>
<b>GMB12***</b>	<b>32,1</b>	<b>5,1</b>	<b>16,1</b>
<b>GMB13</b>	<b>30,5</b>	<b>1,9</b>	<b>6,1</b>
<b>GMB14</b>	<b>67,8</b>	<b>5,8</b>	<b>8,5</b>
GMB15	4,3	3,3	78,0
Galantamina (21 $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	89,2	1,0	1,2

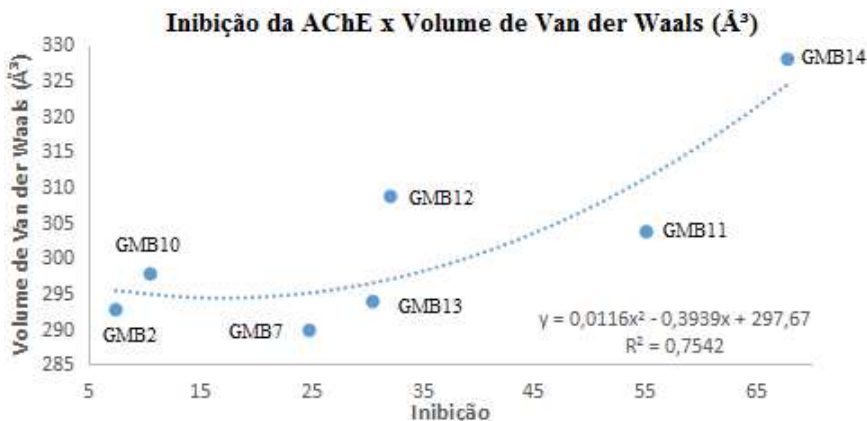
\* A concentração do estoque foi de 2468,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , e não de 2500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , de maneira que para este composto a concentração testada no poço foi de 49,4  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . \*\* Houve turvamento e, em seguida, precipitação do estoque de 2500  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . \*\*\* Houve turvamento, mas não precipitação do composto.

As Figuras 165 e 166 mostram a regressão polinomial entre os valores de inibição e o volume de Van der Waals (Marvin Sketch<sup>®</sup>) dos inibidores sintetizados. O aumento do volume de Van der Waals parece contribuir para a atividade, mas não isoladamente, uma vez que a regressão polinomial apresenta ponto de inflexão. O volume de Van der Waals pode estar relacionado à capacidade de a molécula ocupar o sítio ativo da AChE, aumentando as interações ligante-enzima.

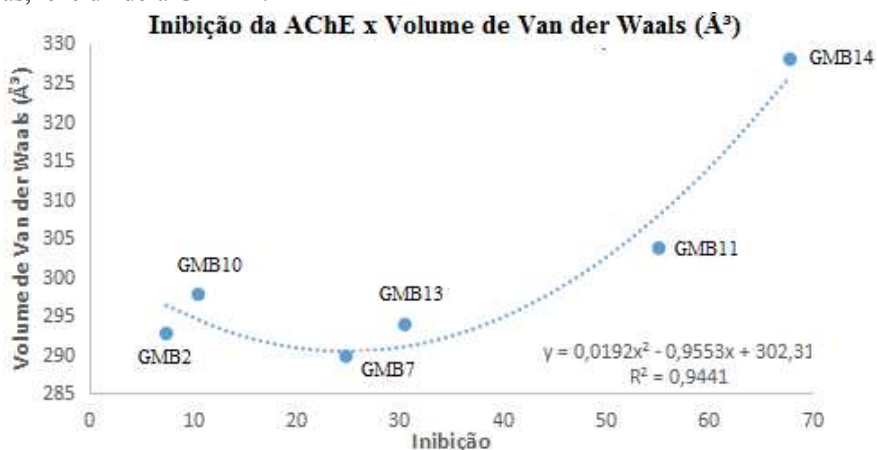
O mesmo foi feito a fim de comparar os valores de inibição da AChE em função do momento de dipolo, calculado pelo *software* Millsian<sup>®</sup> 2.1 (conferir valores no Apêndice C, p. 237). A regressão logarítmica dos dados também parece correlacionar ambas as propriedades (Figuras 167 e 168). O momento de dipolo está relacionado à distribuição de cargas, podendo estar associado com as interações eletrostáticas enzima-ligante. Outro fato importante a ser considerado é a solubilidade no meio. O aumento da polaridade pode significar maior disponibilidade do ligante. Como foi observado na Tabela 2, houve precipitação da solução estoque para o composto GMB12. Apesar de não ter sido verificado turvamento das soluções que foram diretamente aplicadas nos poços da microplaca, pode ser que tenha havido agregação

dos compostos, diminuindo a disponibilidade deles no meio.<sup>140</sup> Da mesma maneira que para o volume de Van der Waals, são necessários estudos mais detalhados, em *softwares* apropriados, a fim de confirmar as observações sobre a relação estrutura-atividade.<sup>141</sup>

**Figura 165** - Relação entre a inibição da AChE (%) e o volume de Van der Waals (Å<sup>3</sup>) das moléculas.



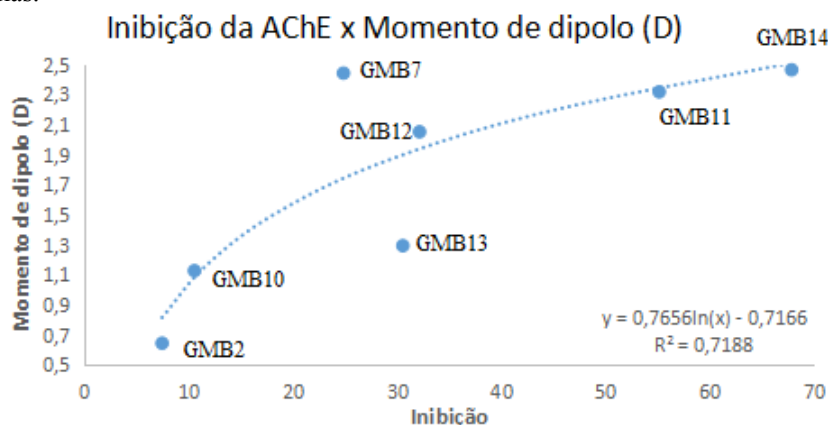
**Figura 166** - Relação entre a inibição da AChE (%) e o volume de Van der Waals (Å<sup>3</sup>) das moléculas, excluindo a GMB12.



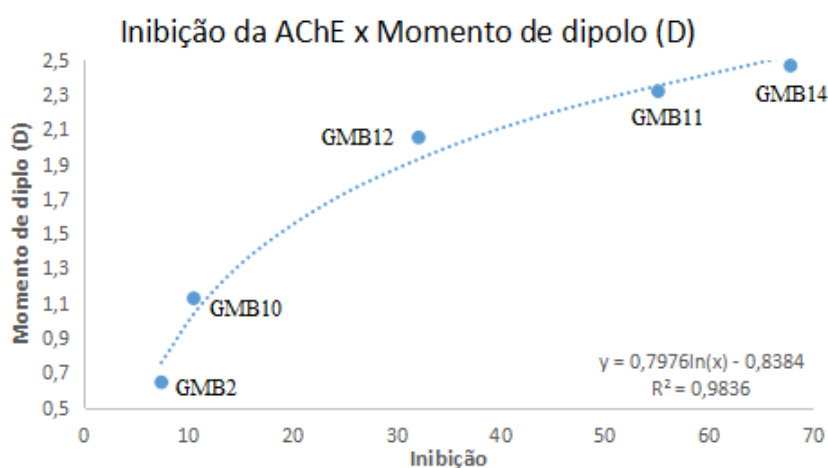
<sup>140</sup> Fenômeno que poderia contribuir as altas variâncias dos compostos menos ativos.

<sup>141</sup> As relações encontradas tanto para o volume de Van der Waals como para o momento de dipolo aplicam-se apenas para o conjunto de moléculas estudadas, uma vez que são estruturalmente correlacionados.

**Figura 168** - Relação entre a inibição da AChE (%) e o momento de dipolo (D) das moléculas.



**Figura 167** - Relação entre a inibição da AChE (%) e o momento de dipolo (D) das moléculas, excluindo GMB7 e GMB13.



As moléculas GMB7 e GMB11 diferenciam-se apenas pelo átomo de cloro ligado à posição *orto* e, no entanto, esta pequena modificação fez com que a capacidade inibitória aumentasse em 122% para as concentrações testadas.

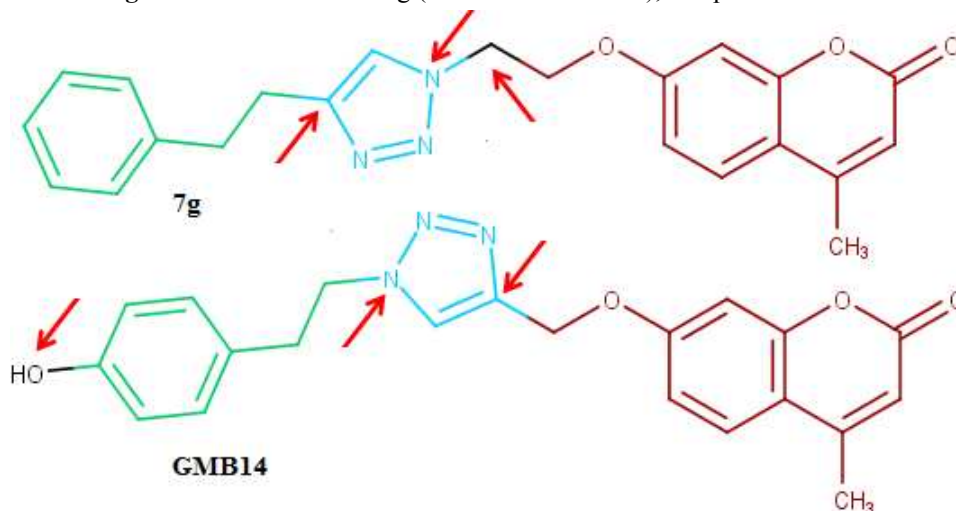
Era esperada a atividade inibitória superior para a GMB14, considerando a literatura a respeito da inibição da AChE por cumarinas.<sup>142</sup> Torres et al. (2016) utilizaram o mesmo grupo cumarínico empregado no presente trabalho. Em seu artigo, a maior inibição reportada, a 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , foi para o derivado denominado 7g: 60%. A estrutura da molécula 7g é bastante similar à GMB14, como pode ser visto na Figura 169. A superposição das estruturas em 3D, realizada no *software* MarvinSketch<sup>®</sup> 17.28, para 999 iterações<sup>143</sup>, no entanto, demonstra que

<sup>142</sup> Anand, Singh e Singh (2012).

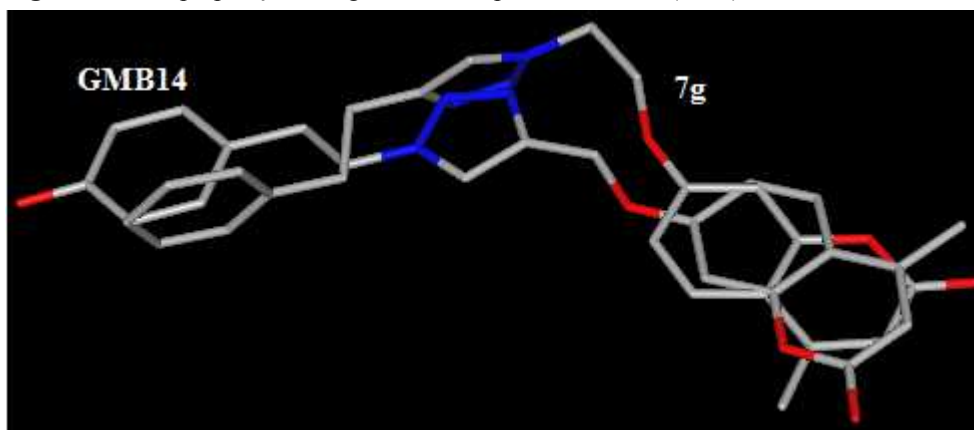
<sup>143</sup> Alinhados por “extensão” dos tipos de átomos (átomos similares são sobrepostos).

as pequenas diferenças causam um impacto significativo na estrutura tridimensional, como pode ser visto na Figura 170.

**Figura 169** - Estrutura da 7g (TORRES et al. 2016), comparada à GMB14.



**Figura 170** - Superposição da 7g, sintetizada por Torres et al. (2016), e da GMB14.



Para comparar o resultado obtido por Torres et al. (2016) e o obtido nesta dissertação seria preciso sintetizar a 7g para que o ensaio enzimático fosse realizado sob condições idênticas. Apesar de a concentração testada para a GMB14 ser duas vezes mais diluída que para a 7g e, ainda assim, apresentar porcentagem de inibição superior, deve-se levar em conta que a cinética de inibição atua com a formação de um platô, como será discutido na próxima seção, de maneira que o aumento da concentração do inibidor pode não aumentar a porcentagem de inibição. Seria necessário que Torres et al. (2016) tivessem realizado estudos de diluição seriada a fim de verificar se, em concentrações menores, a porcentagem de inibição não seria a mesma.

Objetivando ainda averiguar se a 4-metilumbeliferona isoladamente ou sua forma propargilada (Alk14) não seriam por si mesmas ativas, ou mesmo mais ativas que a GMB14,

procedeu-se também o ensaio de inibição com elas, sendo os resultados apresentados na Tabela 3. Como pode ser constatado, a modificação estrutural empreendida proporcionou um aumento de 645% na atividade inibitória, para as concentrações testadas. É possível dizer, portanto, a partir dos dados experimentais, que a presença do Tirosol, do grupo triazol ou de ambos foi importante no aumento da atividade. Considerando a atividade também apresentada pelas moléculas GMB7, GMB11, GMB12 e GMB13, pode-se dizer que o Tirosol ligado ao grupo triazol é um modelo que merece ser estudado na síntese dirigida de novos inibidores da AChE.

**Tabela 3** - Comparação dos resultados de inibição da GMB14 e seus precursores sintéticos.

<b>Composto (50 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Inibição (%)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Variância (%)</b>
Tirosol	-1,1	1,2	-106,1
4-Metilumbeliferona	9,1	1,6	17,2
Alk14	18,9	1,5	7,8
GMB14	67,8	5,8	8,5

### 3.2 Cinética enzimática

A fim de identificar o tipo de inibição enzimática exercida pelos compostos testados, realizou-se o estudo cinético para o melhor inibidor da série, o derivado GMB14. As inibições enzimáticas reversíveis, simplificada, podem ser de duas naturezas: competitiva ou não-competitiva.<sup>144</sup> Os inibidores competitivos, como o nome sugere, atuam sobre o sítio ativo da enzima, competindo pela região com o substrato, impedindo que ele chegue à enzima, forme o complexo enzima-substrato e gere o produto. Em uma inibição do tipo não-competitiva o inibidor atua sobre outra região da enzima diferente do sítio ativo. Esta atuação, no entanto, produz uma mudança conformacional da enzima que impede ou dificulta o substrato de atingir o sítio ativo. A Figura 171 ilustra esquematicamente os dois tipos de inibição.

Figura 171 - Tipos de inibições enzimáticas reversíveis.



Fonte: Adaptado de McMurry et al. (2010).

Escolheram-se duas concentrações do inibidor, correspondendo à metade e ao quarto da concentração testada no ensaio de inibição enzimática.<sup>145</sup> Variou-se a concentração do substrato (iodeto de acetiltiocolina) e determinou-se a absorbância em função do tempo. A Figura 172 ilustra os gráficos obtidos, para as médias das absorbâncias. A regressão linear para cada concentração de substrato gerou retas com  $R^2 \sim 1$ , para todos os casos. A derivada das equações lineares obtidas, ou seja, o coeficiente angular das retas, corresponde à velocidade de mudança da absorbância em função do tempo, que é equivalente à velocidade de conversão do substrato a produto realizada pela enzima, uma vez que o aumento da concentração do produto é

<sup>144</sup> O aprofundamento da cinética enzimática foge do escopo desta dissertação. Para informações mais detalhadas, deve-se consultar a literatura especializada.

<sup>145</sup> A concentração de  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  é próxima ao valor de  $\text{IC}_{50}$  calculado para a GMB14. Este não foi descrito na dissertação por ter sido obtido com uma metodologia diferente, impedindo a comparação. O teste deverá ser repetido nas mesmas condições da inibição para revalidação.

diretamente proporcional ao aumento da absorbância. A Tabela 4 indica os valores encontrados para as velocidades.

Figura 172 - Gráficos absorbância x tempo para diferentes concentrações de substrato e inibidor.

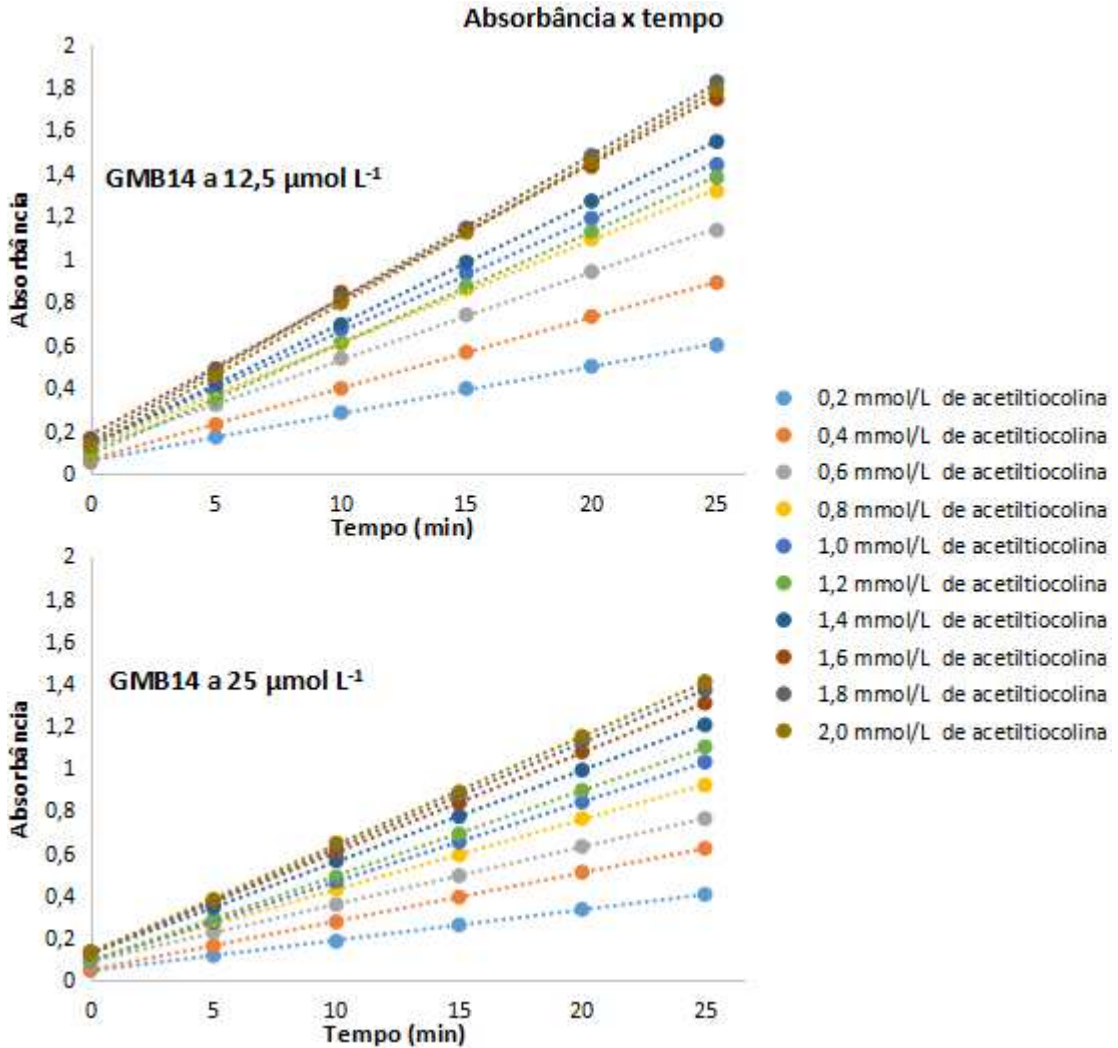


Tabela 4 - Cinética enzimática para diferentes concentrações de substrato e inibidor (GMB14).

[Substrato] mmol L <sup>-1</sup>	Velocidade (min <sup>-1</sup> )	
	12,5 μmol L <sup>-1</sup> de GMB14	25 μmol L <sup>-1</sup> de GMB14
0,2	0,0219	0,0144
0,4	0,0331	0,0229
0,6	0,041	0,027
0,8	0,0478	0,033
1,0	0,0525	0,0375
1,2	0,0517	0,0402
1,4	0,0566	0,0432
1,6	0,0629	0,047
1,8	0,0666	0,0499
2,0	0,0664	0,051

A análise dos gráficos da Figura 172 e dos valores da Tabela 4 permite verificar o aumento geral da velocidade da reação para maiores concentrações de substrato, assim como a menor velocidade da reação para a maior concentração de inibidor. A fim de verificar se a enzima seguiria a cinética convencional de Michaelis-Menten<sup>146</sup> (Equação 1), plotou-se o gráfico das velocidades em função da concentração de substrato (Figura 173).

**Equação 1** - Equação de Michaelis-Menten.

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_m}$$

Em que:

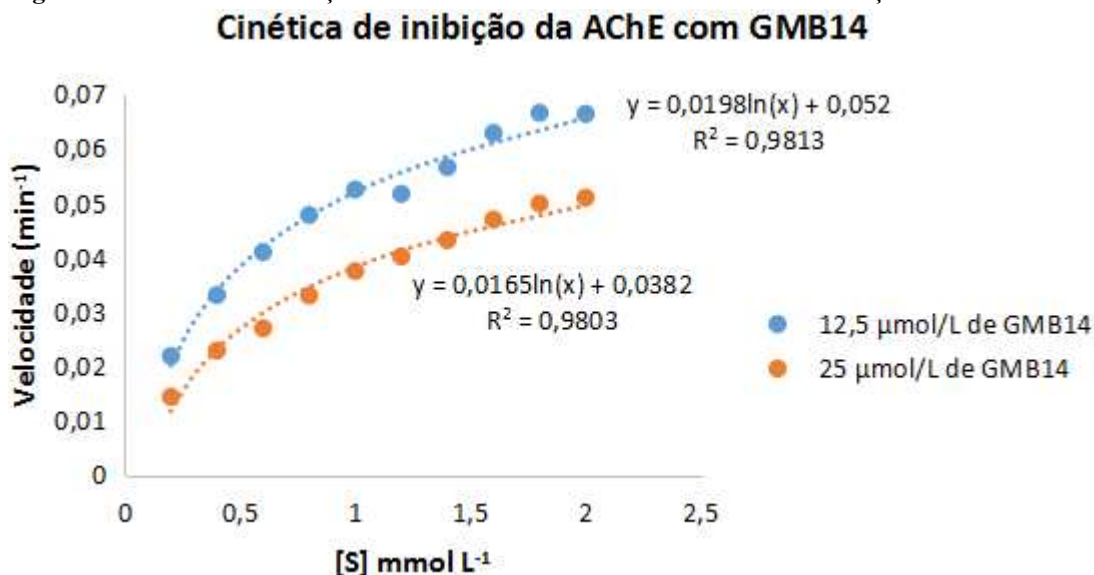
v: velocidade inicial;

V<sub>max</sub>: velocidade máxima atingida (constante para as mesmas condições experimentais);

[S]: concentração de substrato;

K<sub>m</sub>: constante de Michaelis-Menten.

**Figura 173-** Cinética de inibição da AChE com GMB14 em diferentes concentrações.



Os pontos do gráfico estão bem correlacionados por uma regressão logarítmica ( $R^2=0,98$ ), aproximando-se assintoticamente de um platô para maiores concentrações de substrato, no qual a velocidade de conversão não varia mais. Isso está de acordo com a teoria, uma vez que para maiores concentrações de substrato há saturação da enzima, de forma que ela

<sup>146</sup> Berg, Tymoczko e Stryer (2002). Para uma enzima alostérica, que não segue a cinética de Michaelis-Menten, a curva do gráfico velocidade x [S] teria formato sigmoidal. (BERG; TYMOZCKO; STRYER, 2002).

não está disponível para realizar a conversão de substrato a produto.<sup>147</sup> Este fenômeno está de acordo com o descrito pela Equação 1, uma vez que o limite da velocidade para a concentração do substrato tendendo ao infinito corresponde à velocidade máxima, de valor constante, correspondente à uma assíntota horizontal.

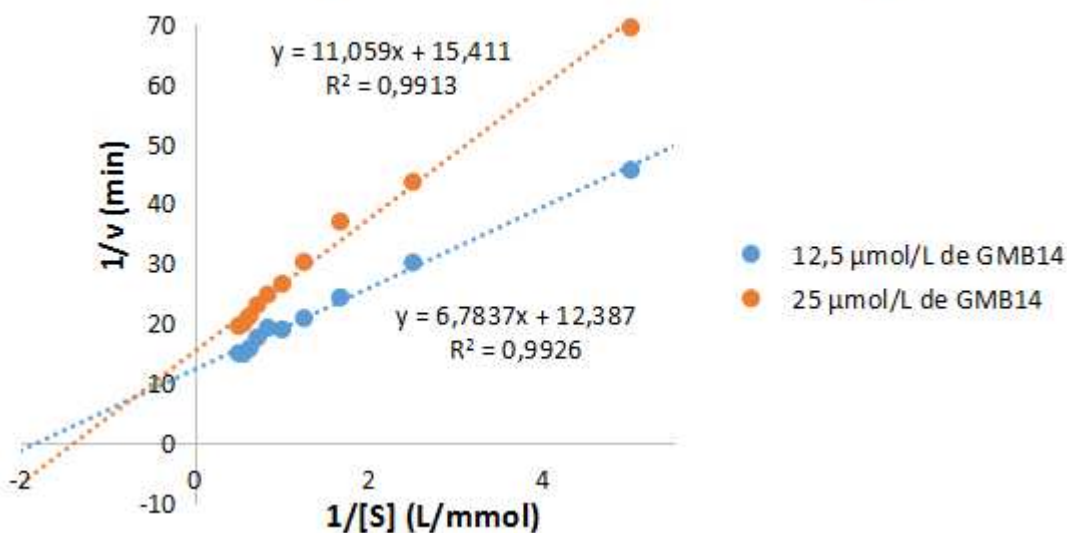
Por fim, objetivando descobrir o tipo de inibição realizado pelo derivado GMB14 realizou-se a linearização das curvas, plotando o gráfico do inverso da velocidade em função do inverso da concentração de substrato, segundo a equação de Lineweaver-Burke (Equação 2). Trata-se de um método simples, porém que apresenta desvantagens, uma vez que “força” a linearidade dos pontos, podendo, assim, causar desvios.<sup>148</sup> Diante do propósito deste trabalho e dos recursos disponíveis, julgou-se esta aproximação adequada. Posteriormente serão empregados métodos mais precisos.

**Equação 2** - Equação de Lineweaver-Burke.

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max} [S]}$$

**Figura 174** - Cinética de inibição da AChE com GMB14 (linearização).

### **Cinética de inibição da AChE com GMB14 (linearização)**



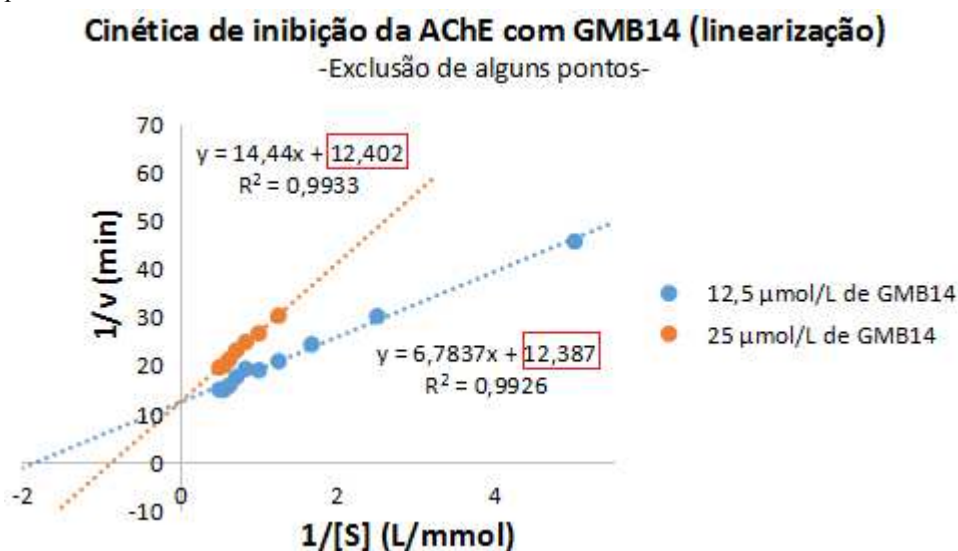
Como pode ser observado do gráfico da Figura 174, as retas extrapoladas quase tocam o mesmo ponto no eixo das ordenadas. Dentro do erro experimental, pode-se inferir que se trata

<sup>147</sup> McMurry et al. (2010).

<sup>148</sup> Johnson (2013).

de uma inibição competitiva, uma vez que não há alteração do coeficiente linear das equações para diferentes concentrações de inibidor. Isso ocorre porque em uma inibição do tipo competitiva a velocidade máxima da reação ( $V_{max}$ ) não se altera, uma vez que o aumento da concentração do substrato pode sobressair-se à presença do inibidor, forçando o equilíbrio em direção da formação do complexo enzima-substrato.<sup>149</sup> Por inspeção, a exclusão dos três últimos pontos para a concentração de  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  de inibidor ilustra mais claramente este fato, como pode ser visto na Figura 175. A partir da Equação 2 e das equações das retas apresentadas na Figura 178 pode-se encontrar os valores para  $V_{max}$  e  $K_m^{ap}$ .<sup>150</sup> A Tabela 5 contém os valores

**Figura 175** - Cinética de inibição da AChE com GMB14 (linearização), excluindo alguns pontos.



calculados.

**Tabela 5** - Constantes cinéticas para a AChE na presença do inibidor GMB14.

Constantes	$25 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GMB14	$12,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GMB14
$V_{max}$	$0,081 \text{ min}^{-1}$	$0,081 \text{ min}^{-1}$
$K_m^{ap}$	$1,16 \text{ mmol L}^{-1}$	$0,55 \text{ mmol L}^{-1}$

### 3.3 Docking molecular

O *docking* molecular é uma simulação computacional utilizada a fim de prever interações intermoleculares entre uma molécula, denominada ligante, e uma macromolécula,

<sup>149</sup> Berg, Tymoczko e Stryer (2002).

<sup>150</sup> Constante de Michaelis-Menten aparente, uma vez que há a presença de inibidor. (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2002).

denominada alvo/receptor.<sup>151</sup> A partir dele é possível obter pistas a respeito do modo de interação de fármacos/agroquímicos com determinados alvos biomacromoleculares ou mesmo, a partir dos alvos, realizar a síntese dirigida de inibidores.

A acetilcolinesterase da espécie *Torpedo californica* foi escolhida para o ensaio de *docking* ao invés da espécie *Electrophorus electricus* devido à sua excelente resolução. A melhor resolução encontrada<sup>152</sup> no PDB para a acetilcolinesterase de *Electrophorus electricus*, foi de 4,2 Å (código: 1C2O). Tendo em vista que os ensaios de *docking* são melhor executados para resoluções  $\leq 2$  Å,<sup>153</sup> descartou-se a 1C2O. Como a acetilcolinesterase das diversas espécies são bastante similares, isso não resulta em dano para o trabalho.<sup>154</sup>

A partir dos cálculos realizados foi possível obter as energias referentes às afinidades de interação entre os ligantes e a enzima. Foram tabeladas apenas as energias para as melhores poses moleculares. Em bioinformática, denomina-se pose molecular à conformação exibida pelo ligante quando está interagindo com o alvo. Das diversas poses possíveis para cada ligante, foi escolhida apenas aquela que liberou maior energia. A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos.

A análise da tabela permite verificar que, inesperadamente, a maioria dos compostos sintetizados demonstrou maior afinidade que a galantamina. Como o ensaio é feito em meio polar, com uma mistura de metanol e água, é possível que isto não tenha sido verificado na prática devido à maior solubilidade da galantamina em relação aos outros compostos (MlogP=1,931; MedChem Designer<sup>®</sup>). Ademais, o *docking* molecular pressupõe que haverá interação, de modo que são feitas tentativas até que esta aconteça. No meio em que o ensaio enzimático é realizado, no entanto, deve-se levar em conta a transferência de massa, isto é, a migração do ligante até o centro ativo da enzima. A precipitação no meio ou a aglutinação nas paredes dos poços, ainda, podem diminuir a disponibilidade dos ligantes no meio. Outro fator importante a ser considerado é que no *docking* a enzima está rígida, de acordo com a forma cristalográfica obtida, enquanto em solução a enzima pode dobrar-se de maneira diferente.

---

<sup>151</sup> Ferreira (2016).

<sup>152</sup> Até a presente data.

<sup>153</sup> Informação pessoal fornecida pelo professor Dr. Tiago Antônio de Oliveira Mendes, do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Viçosa.

<sup>154</sup> Soreq e Seidman (2001).

**Tabela 6** - Afinidade de interação dos ligantes para as poses de menor energia.

<b>Composto</b>	<b>Afinidade de interação (kcal mol<sup>-1</sup>)</b>
Tirosol	-6,9
GMB1	-7,8
GMB2	-9,6
GMB3	-9,7
GMB4	-9,6
GMB5	-10,0
GMB6	-7,8
GMB7	-10,1
GMB8	-8,4
GMB9	-10,4
GMB10	-10,2
GMB11	-10,4
GMB12	-9,7
GMB13	-9,1
GMB14	-11,6
GMB15	-9,4
Galantamina	-8,6

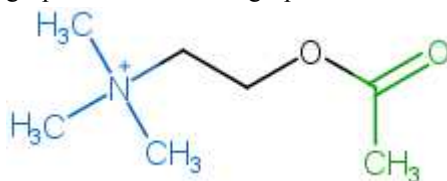
A fim de comparar os valores das inibições com as afinidades de interação foram escolhidos os compostos que apresentaram variância  $\leq 20\%$ , incluindo, no entanto, o Tirosol. Da Tabela 7 pode-se observar que para os quatro melhores inibidores há uma relação direta na qual quanto melhor o inibidor, maior a afinidade de interação, em módulo. O mesmo padrão não é observado para as outras moléculas, à exceção do Tirosol, que apresentou a menor afinidade em módulo e é, de fato, um composto não ativo.

**Tabela 7** - Inibição da Acetilcolinesterase x Afinidade.

<b>Composto (50 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Valor de Inibição (%)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Afinidade de interação (kcal mol<sup>-1</sup>)</b>
GMB14	67,8	5,8	-11,6
GMB11	55,1	2,7	-10,4
GMB12	32,1	5,1	-9,7
GMB13	30,5	1,9	-9,1
GMB7	24,8	3,4	-10,1
GMB10	10,5	2,1	-10,2
GMB2	7,4	0,8	-9,6
Tirosol	-1,1	1,2	-6,9

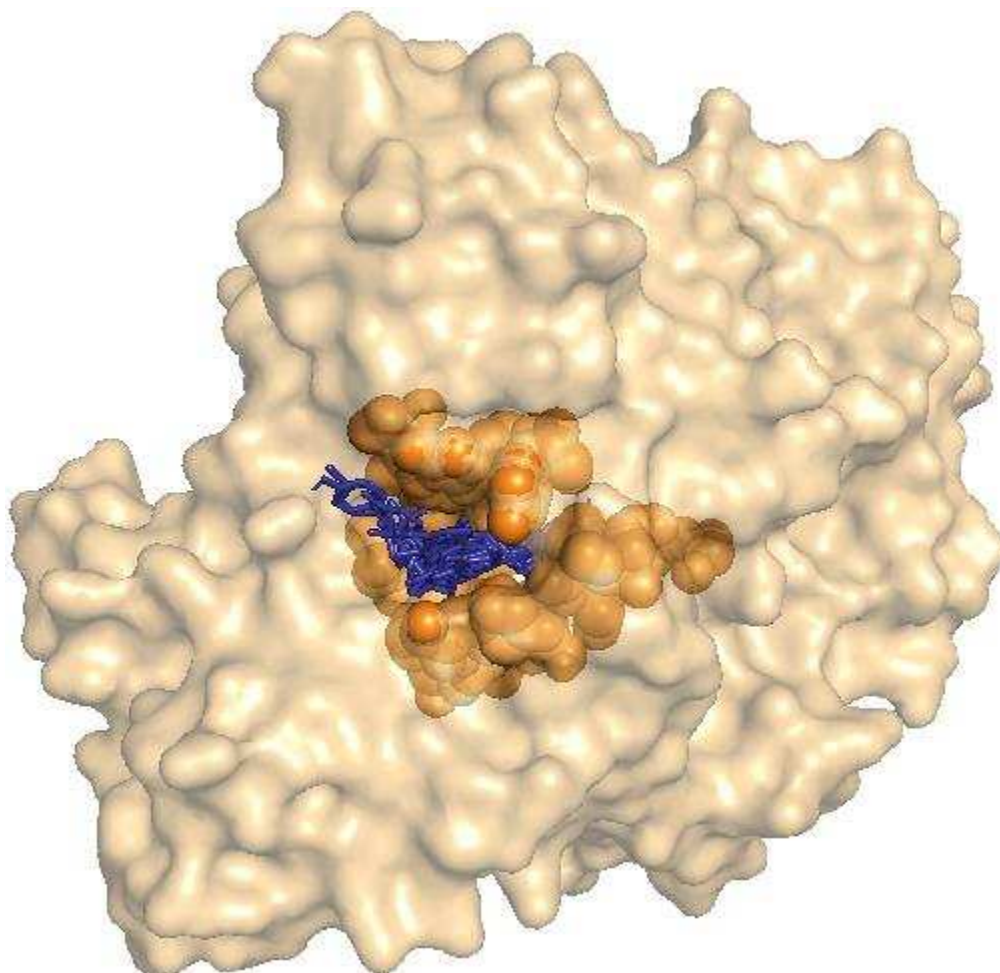


**Figura 177** - Acetilcolina. Em verde: grupo acetil. Em azul: grupo amônio.

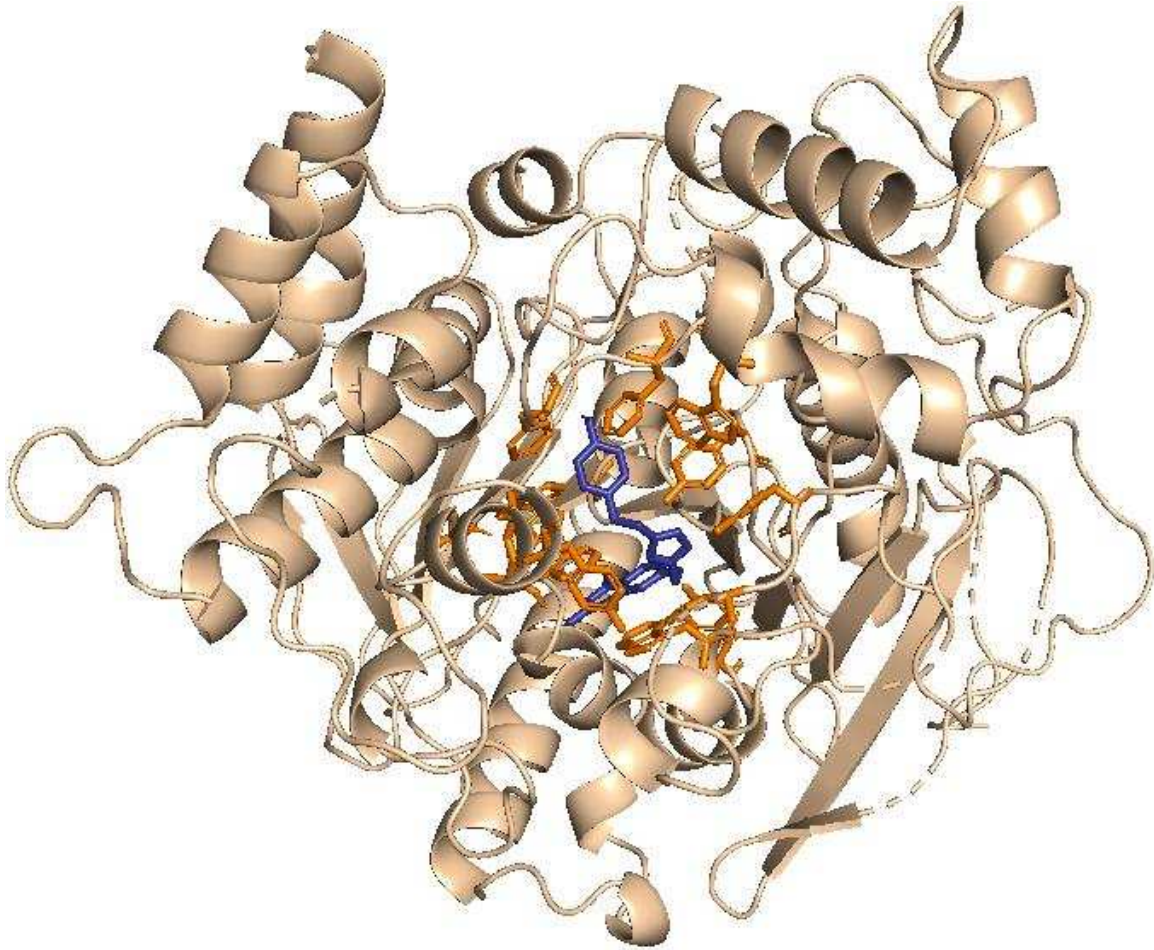


Adotou-se a estratégia do *docking* não-dirigido a fim de verificar se os ligantes iriam interagir em um sítio funcional da enzima. A Figura 178 permite verificar que todos os compostos (em azul) ancoraram no sítio ativo da enzima (em laranja), corroborando os resultados do estudo cinético para inibição do tipo competitiva. A Figura 179 ilustra o ligante GMB14 isoladamente, interagindo com o sítio ativo.

**Figura 178** - Ligantes sobrepostos (em azul) ancorados na acetilcolinesterase da espécie *Torpedo californica* (6G1U).



**Figura 179** - Derivado GMB14 ancorados à acetilcolinesterase de *Torpedo californica* (6G1U).



As interações ligante-receptor para as moléculas GMB11 e GMB14, moléculas mais ativas da série, tanto na simulação quanto no ensaio enzimático, são demonstradas na Figura 180, conhecida como mapa farmacofórico. Na mesma figura também podem ser visualizadas os mapas farmacofóricos para a Galantamina, usada como controle positivo no ensaio *in vitro* e do Tirosol, molécula de partida. A Figura 181, por sua vez, mostra o mapa farmacofórico para a molécula GMB9, que apresentou a mesma afinidade que a molécula GMB11, mas, no entanto, não apresentou atividade inibitória considerável.

**Figura 180** - Mapa farmacofórico das interações ligante-receptor para a Galantamina, Tirosol, GMB11 e GMB14.

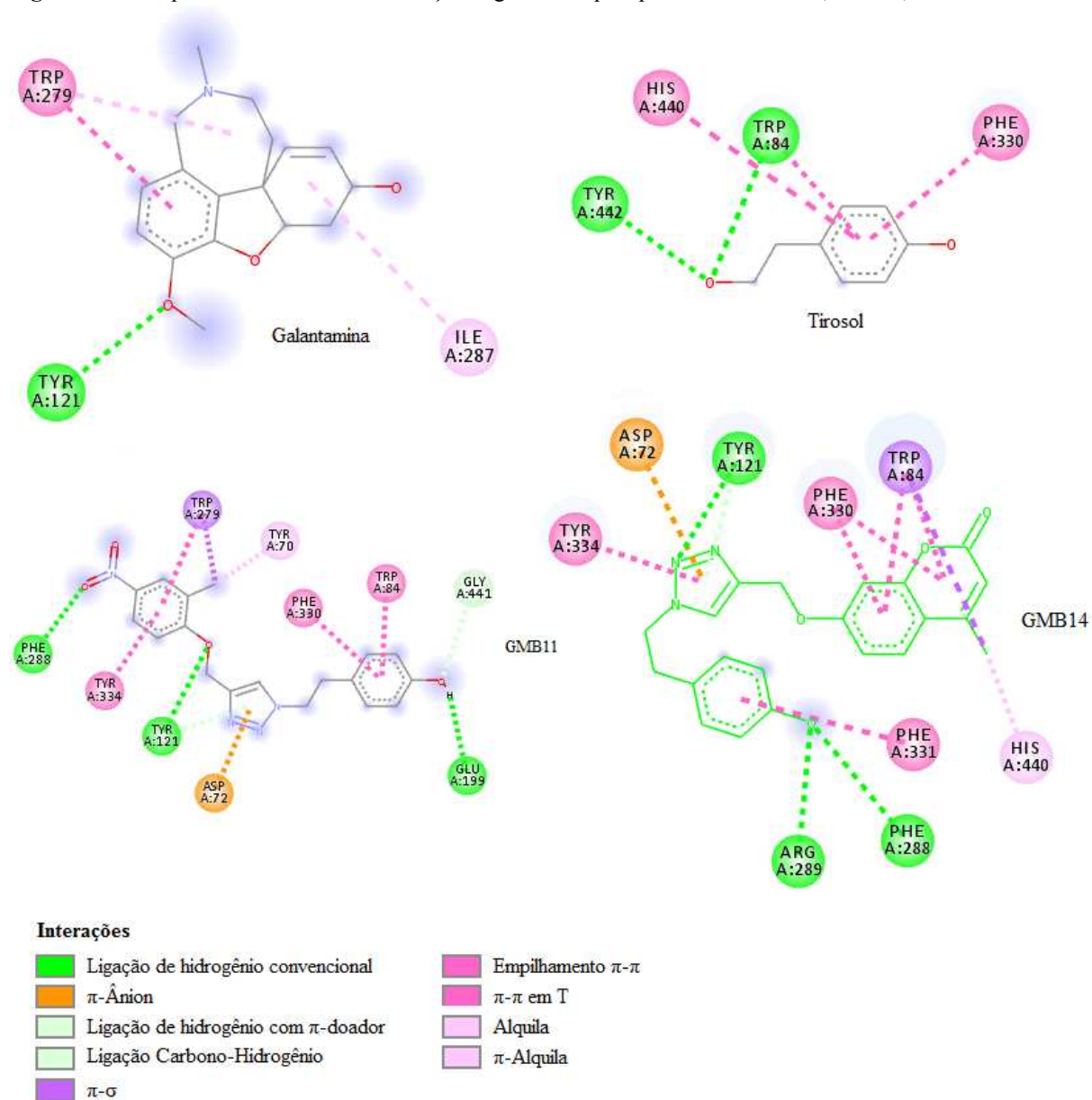
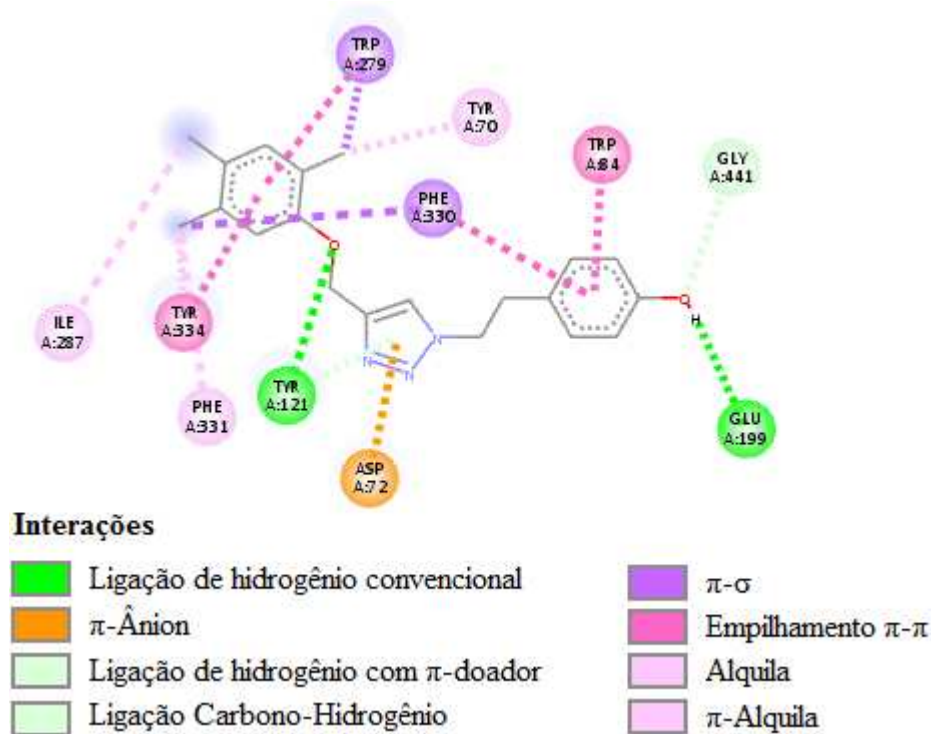
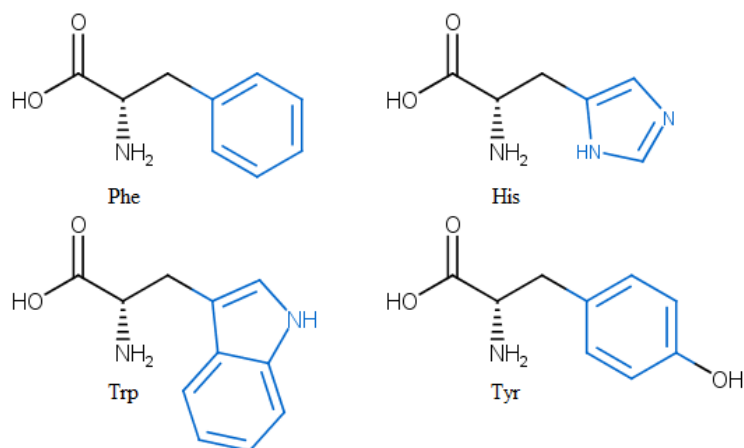


Figura 181 - Mapa farmacofórico do derivado GMB9.



Os mapas apresentam as interações intermoleculares convencionais, como as ligações de hidrogênio e alquila (forças de Van der Waals) e interações do tipo  $\pi$ . Estas últimas são interações intermoleculares decorrentes da presença de anéis aromáticos/heteroaromáticos no ligante/receptor que permitem uma aproximação não-covalente de ambos. Nas proteínas, onde se encontram incluídas a maior parte das enzimas, a presença dos aminoácidos Fenilalanina (Phe), Histidina (His), Triptofano (Trp) e Tirosina (Tyr) é responsável pelas interações do tipo  $\pi$  com o ligante, devido a presença de anéis aromáticos (Figura 182).<sup>156</sup>

Figura 182 - Aminoácidos aromáticos.



<sup>156</sup> Sacco (2013).

A análise das Figuras 180 e 181 permite constatar que as moléculas GMB9, GMB11 e GMB14 realizam um número de interações com os aminoácidos presentes do sítio ativo da enzima muito maior que o Tirosol e a Galantamina. Causa perplexidade que até mesmo o Tirosol, que não é inibidor da AChE, faça um número de interações muito maior com aminoácidos em geral presentes na AChE. Isso reforça a ideia de que o fato de uma molécula ser capaz de interagir com o sítio ativo de uma enzima não significa que ela efetivamente chegará a este sítio.

É digno de nota, no entanto, a presença de sombreamento de cor azul em várias regiões das moléculas presentes nos mapas farmacofórico, mas sobretudo na galantamina. Este recurso gráfico representa a acessibilidade do solvente (água). Tendo isto em mente, é fácil levantar a hipótese de que esta acessibilidade seja o fator-chave para as diferenças nas atividades inibitórias. Apesar de a Galantamina interagir menos fortemente com a enzima do que a GMB14, por exemplo, ela está muito mais disponível no meio. Ademais, dos três compostos da série GMB cujos mapas farmacofóricos foram gerados, o que apresenta o maior MlogP e o menor momento de dipolo (conferir Apêndices A e C, p. 235 e p. 237) é justamente a molécula menos ativa, apesar das múltiplas interações: GMB9.<sup>157</sup>

O Quadro 3 dispõe as interações da Galantamina, do Tirosol, dos derivados GMB9, GMB11 e GMB14 com os aminoácidos do sítio ativo da AChE (*Torpedo californica*), conforme descrito por Bajda et al. (2013).<sup>158</sup> A análise das Figuras 180 e 181 e do Quadro 3 permite verificar que os análogos GMB9, GMB11 e GMB14 interagem com quase a metade dos aminoácidos do sítio ativo da AChE (47%). Destaca-se a região PAS, na qual o núcleo triazólico apresentou papel importante, diferentemente do resultado obtido por Torres et al. (2016), no qual o núcleo triazólico interagiu apenas com moléculas de água. Trata-se de uma descoberta importante, um vez que esta é uma região própria de ligação de inibidores e está próxima à região enzimática responsável pela formação de depósitos de  $\beta$ -amiloide, importante no desenvolvimento da doença do Alzheimer.<sup>159</sup>

De acordo com os mapas farmacofóricos apenas o Tirosol e o derivado GMB14 interagiram com ao menos um aminoácido da tríade catalítica o que, para o composto GMB14, pode justificar a maior afinidade de interação com a enzima. Outra região importante de

---

<sup>157</sup> De fato, no preparo da solução a 500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  houve turvamento, conforme descrito na Tabela 2.

<sup>158</sup> Os aminoácidos que interagem com os ligantes, mas não fazem parte do sítio ativo, não estão descritos no Quadro 3.

<sup>159</sup> De Ferrari et al. (2001); Bajda et al. (2013).

interação é o sítio aniônico, para o qual houve interações com 50% dos aminoácidos (Tirosol e GMB11) e 75% dos aminoácidos (GMB9 e GMB14). O Quadro 4 apresenta as porções das moléculas que foram responsáveis pelas interações com os aminoácidos da AChE. Esta análise é importante a fim de identificar os grupos farmacofóricos. Em azul estão os aminoácidos que fazem parte do sítio ativo.

**Quadro 3** - Interações dos ligantes com os aminoácidos do sítio ativo da AChE (Torpedo californica). A presença de interação é assinalada com um x.

Regiões do sítio ativo da AChE (Torpedo californica)	Aminoácidos	Galantamina	Tirosol	GMB9	GMB11	GMB14
PAS	Asp72	-----	-----	x	x	x
	Tyr70	-----	-----	x	x	-----
	Tyr121	x	-----	x	x	x
	Tyr334	-----	-----	x	x	x
	Trp279	x	-----	x	x	-----
Bolso Acila	Phe288	-----	-----	-----	x	x
	Phe290	-----	-----	-----	-----	-----
Cavidade oxianion	Gly118	-----	-----	-----	-----	-----
	Gly119	-----	-----	-----	-----	-----
	Ala201	-----	-----	-----	-----	-----
Tríade catalítica	His440	-----	x	-----	-----	x
	Glu327	-----	-----	-----	-----	-----
	Ser200	-----	-----	-----	-----	-----
Sítio aniônico	Tyr130	-----	-----	-----	-----	-----
	Trp84	-----	x	x	x	x
	Phe330	-----	x	x	x	x
	Phe331	-----	-----	x	-----	x

**Quadro 4** - Regiões das moléculas responsáveis pelas interações com os aminoácidos da AChE.\*

Região da molécula	GMB9	GMB11	GMB14
Porção advinda do Tirosol	Trp84 <sup>¥</sup>	Trp84 <sup>¥</sup>	Phe331 <sup>¥</sup>
	Gly441	Gly441	Phe288 <sup>€</sup>
	Glu199	Glu199	Arg289
	Phe330 <sup>¥</sup>	Phe330 <sup>¥</sup>	
Triazol	Asp72 <sup>§</sup>	Asp72 <sup>§</sup>	Asp72 <sup>§</sup>
	Tyr121 <sup>§</sup>	Tyr121 <sup>§</sup>	Tyr121 <sup>§</sup>
			Tyr334 <sup>§</sup>
Porção advinda do substituinte propargilado	Tyr121 <sup>§</sup>		
	Tyr334 <sup>§</sup>	Tyr121 <sup>§</sup>	
	Tyr70 <sup>§</sup>	Tyr334 <sup>§</sup>	His440 <sup>£</sup>
	Trp279 <sup>§</sup>	Tyr70 <sup>§</sup>	Trp84 <sup>¥</sup>
	Phe330 <sup>¥</sup>	Trp279 <sup>§</sup>	Phe330 <sup>¥</sup>
	Phe331 <sup>¥</sup>	Phe288 <sup>€</sup>	
	Ile287		

\*Em azul estão os aminoácidos que fazem parte do sítio ativo da enzima. <sup>§</sup> PAS. <sup>¥</sup> Sítio aniônico. <sup>£</sup> Tríade catalítica. <sup>€</sup> Bolso acila.

Como pode ser observado no Quadro 4, todos os grupos das moléculas sintetizadas foram importantes para a interação com o sítio ativo, de maneira que os compostos planejados podem ser tomados como modelos na síntese de novos inibidores da acetilcolinesterase.

#### **4 CONCLUSÕES**

Pela primeira vez na literatura o Tirosool foi testado isoladamente como um possível inibidor da acetilcolinesterase. Apesar de não ter apresentado nenhum efeito, seus análogos triazólicos mostraram ser importantes modelos na síntese de novos inibidores, apresentando resultados moderados ou mesmo bons, como no caso do derivado GMB14. Tanto o Tirosool, como o núcleo triazólico e o substituinte advindo da propargilação mostraram ser importantes para os efeitos inibitórios apresentados. A modificação estrutural para a formação do derivado GMB14 permitiu um aumento maior que 600% em relação ao precursor cumarínico 4-metilumbeliferona. O estudo cinético, acompanhado de simulação computacional sugerem o mecanismo de inibição como sendo competitivo. A simulação computacional mostrou boa concordância com os resultados experimentais, sendo capaz de sugerir ainda meios para contornar a baixa atividade inibitória apresentada por alguns compostos, que seria o aumento da solubilidade através da inserção de grupos mais polares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANAND, P.; SINGH, B.; SINGH, N. A review on coumarins as acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 3, p. 1175–1180, 2012.
- ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. DOS A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase - AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico Acetylcholinesterase - AChE: A Pharmacological Interesting Enzyme Acetilcolinesterase. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818–1834, 2016.
- BAJDA, M. et al. Structure-Based Search for New Inhibitors of Cholinesterases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 3, p. 5608–5632, 2013.
- BERG, J.M.; TYMOCZKO, J.L.; STRYER, L. **Enzymes: basic concepts and kinetics**. In: *Biochemistry*. 5th. ed. New York: W H Freeman, 2002.
- BETTELHEIM, F. A. et al. Enzymes. In: **Introduction to General, Organic, and Biochemistry**. 9th. ed. Belmont: Brooks Cole, 2010. p. 614–637.
- BU, Y. et al. Neuroprotective effect of tyrosol on transient focal cerebral ischemia in rats. **Neuroscience Letters**, v. 414, p. 218–221, 2007.
- DE FERRARI, G. V. et al. A structural motif of acetylcholinesterase that promotes amyloid  $\beta$ -peptide fibril formation. **Biochemistry**, v. 40, n. 35, p. 10447–10457, 2001.
- DEWAPRIYA, P. et al. Tyrosol exerts a protective effect against dopaminergic neuronal cell death in in vitro model of Parkinson's disease. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 1147–1157, 2013.
- FERREIRA, P. G. **Deteção e caracterização de atividade antiviral de um flavonoide derivado de *Celastraceae* contra o *Mayaro virus* a partir de modelagem por homologia das proteínas virais e triagem virtual**. [s.l: s.n.].Universidade Federal de São João del Rey, 2016.
- HILLHOUSE, B. et al. Acetylcholine esterase inhibitors in *Rhodiola rosea*. **Pharmaceutical Biology**, v. 42, n. 1, p. 68–72, 2004.
- JOHNSON, K. A. A Century of Enzyme Kinetic Analysis, 1913 to 2013. **FEBS Letters**, v. 587, n. 17, p. 2753–2766, 2013.
- LIN, Y. et al. Association between acetylcholinesterase inhibitors and risk of stroke in patients with dementia. **Nature Publishing Group**, n. December 2015, p. 1–8, 2016.
- MCMURRY, J. et al. Enzymes and vitamins. In: **Fundamentals of General, Organic and Biological Chemistry**. 6th. ed. New York: Prentice Hall, 2010. p.592-691.

MORRIS, G. M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4 : Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, p. 2785–2791, 2009.

MURRAY, A. P. et al. Natural AChE Inhibitors from Plants and their Contribution to Alzheimer's Disease Therapy. **Current Neuropharmacology**, v. 11, p. 388–413, 2013.

NAJAFI, Z. et al. 1,2,3-Triazole-Isoxazole Based Acetylcholinesterase Inhibitors: Synthesis, Biological Evaluation and Docking Study. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 14, p. 58–65, 2017.

PANOSSIAN, A.; WIKMAN, G.; SARRIS, J. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): Traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy. **Phytomedicine**, v. 17, n. 7, p. 481–493, 2010.

ROCHA, M. P. et al. Combined In Vitro Studies and in Silico Target Fishing for the Evaluation of the Biological Activities of *Diphylleia cymosa* and *Podophyllum hexandrum*. **Molecules**, v. 23, n. 12, p. 1–31, 2018.

SACCO, A. C. S. **Mapeamento vetorial de interações eletrostáticas para biomoléculas**. [s.l.: s.n.]. Universidade Federal de São Carlos, 2013.

SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase — new roles for an old actor. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. April, p. 294–302, 2001.

TORRES, F. C. et al. Fernando C. Torres,. Combining the Pharmacophore Features of Coumarins and 1,4-Substituted 1,2,3-Triazoles to Design New Acetylcholinesterase Inhibitors: Fast and Easy Generation of 4-Methylcoumarins/1,2,3-triazoles Conjugates via Click Chemistry. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 27, n. 9, p. 1541–1550, 2016.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010.

VAUZOUR, D.; CORONA, G.; SPENCER, J. P. E. Caffeic acid , tyrosol and p -coumaric acid are potent inhibitors of 5- S -cysteinyl-dopamine induced neurotoxicity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 501, n. 1, p. 106–111, 2010.

WU, P.-H. et al. Impact of acetylcholinesterase inhibitors on the occurrence of acute coronary syndrome in patients with dementia. **Nature Publishing Group**, n. November, p. 1–10, 2015.

## EPÍLOGO

Ao final do trabalho foi possível obter 31 moléculas, dentre as quais 15 derivados inéditos do Tirosol. A síntese dos triazóis por metodologia *one-pot* apresentou vantagens considerando a diminuição de etapas e a menor manipulação da azida orgânica, que poderia ser perigosa. A dificuldade de remoção do solvente, no entanto, contrariou a “filosofia” da química *click*. Algumas reações não completaram, o que demonstra a necessidade de otimização delas.

A estratégia de hibridação molecular pela busca de grupos com atividade biológica conhecida para formarem híbridos com o Tirosol mostrou ser uma ferramenta promissora, gerando bons resultados.

O ensaio com a enzima acetilcolinesterase foi um alvo importante diante dos objetivos da dissertação, uma vez que está relacionado tanto a efeitos farmacológicos (como no tratamento do mal de Alzheimer) como agroquímicos (como inseticidas), confirmando o que foi exposto no capítulo 3 sobre a similaridade dos alvos moleculares de ambos os campos.

O *docking* molecular apresentou resultados em conformidade com os dados experimentais, dando a possibilidade de interpretá-los e propor estratégias de síntese mais promissoras, reforçando sua importância tanto na química medicinal como na agroquímica. Caso a simulação tivesse sido executada antes do ensaio *in vitro* teria sido possível, igualmente, descobrir os inibidores.

Os compostos sintetizados mostraram ser protótipos importantes em novas linhas de pesquisa envolvendo a busca de inibidores de acetilcolinesterase. A molécula mais promissora, GMB14, foi a que apresentou menor rendimento na reação *click*, sendo necessário, portanto, a otimização das condições reacionais para que possa se tornar um produto comercial. Como sugestão, propõe-se a troca do solvente. Considerando a atividade neuroprotetoras do Tirosol, esta molécula desponta como um candidato a fármaco de dupla ação, combatendo os efeitos do mal de Alzheimer e atuando de forma benéfica sobre os neurônios.

Apesar de terem apresentado menor potência que a galantamina devido à solubilidade, julga-se importante realizar novos ensaios com os compostos sintetizados, inclusive em modelos animais. A necessidade de passar por membranas celulares ou a importância farmacocinética de uma liberação mais lenta do fármaco no organismo podem ser vantagens que a menor solubilidade das moléculas sintetizadas pode proporcionar, uma vez que nos seres vivos existem diversos mecanismos de transporte que não são contemplados no teste *in vitro*.

Por fim, a ampla variedade de bioatividades do Tirosool e dos modelos usados para hibridação molecular propiciam a realização de outros ensaios com os derivados do Tirosool, a fim de se encontrar novas atividades. Particularmente, seguindo os resultados deste trabalho, o ensaio inseticida mostra-se promissor.

## APÊNDICE A- PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS CALCULADAS PARA O TIROSOL E SEUS ANÁLOGOS

**Tabela 8** - Propriedades físico-químicas calculadas para Tirosol e análogos.

Composto	MM <sup>1</sup>	MlogP <sup>2</sup>	DLH <sup>3</sup>	NNO <sup>4</sup>	RM <sup>5</sup>	NAt <sup>6</sup>	NLRT <sup>7</sup>	clogP <sup>8</sup>	ASPT <sup>9</sup>	NLAA <sup>10</sup>
Tirosol	138,166	1,312	2	2	39,61	20	2	1,19	40,460	6
GMB1	309,369	2,679	1	5	100,26	42	6	3,89	60,170	17
GMB2	325,368	2,175	1	6	101,68	43	7	3,22	69,400	17
GMB3	313,332	2,829	1	5	95,44	39	6	3,52	60,170	17
GMB4	329,78	2,947	1	5	100,03	39	6	3,98	60,170	17
GMB5	374,238	3,064	1	5	102,84	39	6	4,15	60,170	17
GMB6	421,238	3,18	1	5	108,58	39	6	4,31	60,170	17
GMB7	340,339	2,528	1	8	101,54	41	7	3,32	105,990	17
GMB8	364,23	3,448	1	5	104,83	39	6	4,59	60,170	17
GMB9	398,67	3,675	1	5	109,63	39	6	5,19	60,170	17
GMB10	343,81	3,18	1	5	105,07	42	6	4,5	60,170	17
GMB11	374,78	3,034	1	8	106,35	41	7	3,92	105,990	17
GMB12	398,67	3,675	1	5	109,63	39	6	5,19	60,170	17
GMB13	364,328	2,623	1	6	100,86	41	6	2,41	72,940	17
GMB14	377,4	2,212	1	7	114,99	47	6	3,49	90,380	22
GMB15	295,342	2,442	1	5	95,22	39	6	3,38	60,170	17

<sup>1</sup> Massa molar (g mol<sup>-1</sup>), Marvin Sketch©; <sup>2</sup> MlogP, MedChem Designer ©; <sup>3</sup> N° de doadores de ligações de hidrogênio, MedChem Designer ©; <sup>4</sup> N° de átomos de N e O, Marvin Sketch©; <sup>5</sup> Refratividade molar (cm<sup>3</sup>mol<sup>-1</sup>), Marvin Sketch©; <sup>6</sup> N° de átomos, Marvin Sketch©; <sup>7</sup> N° de ligações químicas rotacionáveis, Marvin Sketch©; <sup>8</sup> Área superficial polarizada topológica (Å<sup>2</sup>), MedChem Designer ©; <sup>9</sup> clogP, Marvin Sketch©; <sup>10</sup> N° de ligações químicas de anéis aromáticos, Marvin Sketch©;

## APÊNDICE B- RENDIMENTOS DAS REAÇÕES DESTA DISSERTAÇÃO

**Tabela 9** - Rendimentos das reações desta dissertação.

Composto	Rendimento (%)
TYRBR	70
Alk1	91 (CG)
Alk2	55
Alk3	58
Alk4	95
Alk5	93
Alk6	68
Alk7	99
Alk8	91
Alk9	92
Alk10	95
Alk11	95
Alk12	90
Alk13	74
Alk14	82
Alk15	99 (CG)
GMB1	80
GMB2	98
GMB3	77
GMB4	70
GMB5	75
GMB6	70
GMB7	65
GMB8	62
GMB9	39
GMB10	97
GMB11	80
GMB12	40
GMB13	67
GMB14	27
GMB15	53

## APÊNDICE C- MOMENTO DE DIPOLO PARA OS COMPOSTOS DA SÉRIE GMB1-GMB15

**Tabela 10** - Momentos de dipolo (D) calculados pelo software Millsian<sup>®</sup> 2.1 para a série GMB1-GMB15.

<b>Composto</b>	<b>Momento de dipolo (D)</b>
GMB1	1,4063
GMB2	0,6443
GMB3	1,3923
GMB4	1,4125
GMB5	1,3425
GMB6	1,0527
GMB7	2,4431
GMB8	3,0538
GMB9	1,3602
GMB10	1,1271
GMB11	2,3185
GMB12	2,0524
GMB13	1,2940
GMB14	2,4656
GMB15	2,1486