

MARIA CECÍLIA FERNANDES DIAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADES DE DERIVADOS
TRIAZÓLICOS DE BENZOFENONAS HIDROXILADAS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2018

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

T

D541s
2018

Dias, Maria Cecília Fernandes, 1990-
Síntese e avaliação de bioatividades de derivados triazólicos
de benzofenonas hidroxiladas / Maria Cecília Fernandes Dias. –
Viçosa, MG, 2018.
xxiv, 268 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Marcelo Henrique dos Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Benzofenonas. 2. Química click. 3. 1,2,3-triazol.
4. Elastases. 5. Radiação solar - Medidas de segurança.
6. Antioxidantes. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 547.594

MARIA CECÍLIA FERNANDES DIAS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE BIOATIVIDADES DE DERIVADOS
TRIAZÓLICOS DE BENZOFENONAS HIDROXILADAS**

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

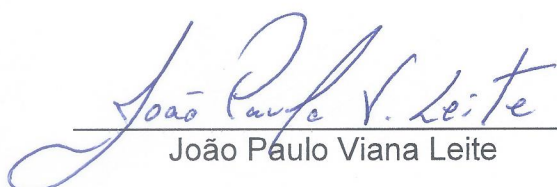
APROVADA: 10 de agosto de 2018.



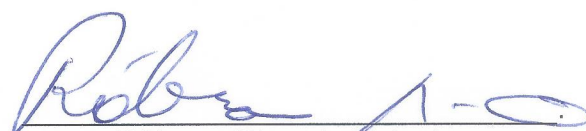
Antônio Jacinto Demuner



Patrícia Fontes Pinheiro



João Paulo Viana Leite



Róbson Ricardo Teixeira
(Coorientador)



Marcelo Henrique dos Santos
(Orientador)

As pessoas mais importantes de minha vida:
aos meus pais Ana Maria e José Eugênio, a
minha irmã Maria Letícia e ao meu noivo Diego,
dedico.

AGRADECIMENTOS

Em tudo dai glória e louvores a Deus. Esta etapa foi cheia de momentos nos quais sem a Tua presença Senhor não teria conseguido concluir. DEUS, obrigada por estar ao meu lado em cada momento e por ter me enchido das Suas bênçãos e da Sua infinita sabedoria para que eu pudesse chegar até a conclusão de mais esta etapa em minha vida.

Agradeço Senhor, pelos anjos maravilhosos que colocaste em minha vida na forma de minha família. Aos meus pais Ana Maria e José Eugênio, pelo amor, cuidado e constante dedicação por mim. Vocês são maravilhosos e os melhores pais do mundo.

À minha irmã Maria Letícia pelo incentivo, apoio, amor e cuidado em todas as horas. Obrigada por ser a melhor irmã que poderia ter, você é meu exemplo de força e determinação.

Ao meu noivo Diego, que mesmo a distância se fez presente em todos os momentos. Agradeço pela paciência, amor, carinho e cuidado, que me ajudaram muito nesta caminhada.

À minha amiga e companheira de caminhada Cristielle. Agradeço por estar ao meu lado a cada dia desta jornada que Deus nos permitiu trilhar juntas. Obrigada pelos conselhos e amizade.

Ao meu orientador professor Marcelo Henrique agradeço pela atenção, incentivo e confiança ao longo deste trabalho. Obrigada por ter me acolhido e ajudado até aqui nesta caminhada.

Ao meu co-orientador professor Robson Ricardo pelo apoio, atenção e participação em todas as etapas deste trabalho.

À minha amiga Ângela, obrigada por me compartilha comigo todos os momentos ao longo desta jornada, você é demais. De Viçosa para a vida.

Às minhas amigas que Viçosa me deu o prazer de conhecer Ana Paula, Francielle, Dayana, Juliana, Lívia, Michelle e Polliana pelos momentos de

descontração e muita diversão. Vocês ajudaram a tornar a caminhada mais leve e agradável.

Deixo minha imensa gratidão por Polliana e Dayana pela ajuda no momento de desespero, ambas se mostraram solícitas e atenciosas.

Aos meus colegas de laboratórios, principalmente aos irmãos de orientação Jaine, Luisa, Lisete, Arthur, Junio, Mateus, Bianca e Guilherme agradeço pelo companheirismo, trabalho em equipe e ótimas risadas.

Ao Thiago agradeço por toda ajuda e por me permitir transferir um pouco dos meus conhecimentos.

Aos professores Antônio Demuner, João Paulo e Patrícia por gentilmente aceitarem o convite para avaliação deste trabalho.

Aos técnicos do departamento de química, em especial a Cristiane, José Luiz e Márcio que estiveram sempre à disposição para realização das análises químicas dos compostos.

À todos os professores que contribuíram para a realização de deste trabalho: Jorge Alexandre Nogueira Santos, Marisa Ionta, Eduardo Pilau, Paulo César Stringheta, Tiago Antônio Mendes de Oliveira e tantos outros profissionais que nos ajudaram ao longo deste trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos e à FAPEMIG e ao CNPq pelo suporte financeiro.

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram e tornaram possível a conclusão deste trabalho.

Muito obrigada e Deus abençoe sempre as suas vidas!

“O único lugar aonde o sucesso vem antes
do trabalho é no dicionário.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ESQUEMAS	xv
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS	xvii
RESUMO	xx
ABSTRACT	xxii

INTRODUÇÃO GERAL	1
------------------------	---

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA.....	3
1. BENZOFENONAS.....	3
2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	8
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS A PARTIR DE BENZOFENONAS HIDROXILADAS	16
1. COMPOSTOS HETEROCÍCLICOS	16
1.1 Triazóis.....	18
1.2 Reações “Click”	23
2. PROCEDIMENTO SINTÉTICO	27
2.1 Generalidades	27
2.2 Síntese dos Alcinos Terminais Derivados de Benzofenonas Hidroxiladas	28
<i>Síntese do bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (2a)</i>	<i>28</i>

<i>Síntese do 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (2b)</i>	29
2.3 <i>Síntese dos Compostos Triazólicos Derivados de Benzofenonas Hidroxiladas</i>	30
<i>Síntese da bis(4-((1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (4)</i> .	30
<i>Síntese da bis(4-((1-(4-fluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona ((5)</i>	31
<i>Síntese da bis(4-((1-(4-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (6)</i>	32
<i>Síntese da bis(4-((1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (7)</i>	33
<i>Síntese da bis(4-((1-(4-iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (8)</i> 34	
<i>Síntese da bis(4-((1-(2-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (9)</i>	35
<i>Síntese da bis(4-((1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (10)</i>	36
<i>Síntese da bis(4-((1-(4-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (11)</i>	37
<i>Síntese da bis(4-((1-(3-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (12)</i>	38
<i>Síntese da bis(4-((1-(2,4-difluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (13)</i>	39
<i>Síntese da bis(4-((1-(2-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (14)</i>	40
<i>Síntese da bis(4-((1-(2,6-diclorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (15)</i>	41
<i>Síntese da bis(4-((1-(2-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (16)</i>	42
<i>Síntese da bis(4-((1-(4-trifluorometoxi)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (17)</i>	43

Síntese da bis(4-((1-(4-trifluorometil)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (18)	44
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (19)	45
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (20)	46
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (21)	47
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(3-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (22)	48
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (23)	49
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(2,4-difluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (24)	50
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-(trifluorometil)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (25)	51
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-(trifluorometoxi)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (26)	52
Síntese da 2-hidroxi-4-((1-(4-iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (27)	53
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(piridin-2-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (28)	54
Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi) benzofenona (29)	55
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4. REFERÊNCIAS	74

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA AÇÃO DA ELASTASE PELOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS	82
1. INTRODUÇÃO	82
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	85
2.1 Parâmetros cinéticos	85
2.2 Acoplamento Molecular	86
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.1 Avaliação <i>in vitro</i> da Atividade Inibitória da Elastase dos Compostos Triazólicos.....	87
3.2 Acoplamento Molecular Previsto Entre Elastase e os Derivados Triazólicos.....	91
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	93
5. REFERÊNCIAS	94

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR <i>in vitro</i> DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS DE BENZOFENONAS HIDROXILADAS	99
1. INTRODUÇÃO	99
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	105
2.1 Estudo de Fotoproteção <i>in vitro</i>	105
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	106
3.1 Determinação do FPS-UVB <i>in vitro</i>	106
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	112
5. REFERÊNCIAS	113

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E DA ATIVIDADE

CITOTÓXICA DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS 117

1. INTRODUÇÃO 117

2. MATERIAIS E MÉTODOS 123

2.1 Determinação da Atividade Potencial Antioxidante 123

2.1.1 Preparo do radical DPPH 123

2.1.2 Preparo da Curva Padrão de Trolox (TEAC) 124

2.1.3 Atividade Antioxidante Total dos Derivados Triazólicos 124

2.2 Avaliação da Atividade Antiproliferativa.....125

2.2.1 Linhagens Celulares 125

2.2.2 Condições de Cultura 125

2.2.3 Viabilidade Celular 125

2.2.4 Determinação do IC_{50} 126

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 127

3.1 Determinação da Atividade Potencial Antioxidante 127

3.1.1 Curva Padrão de Trolox.....127

3.1.2 Atividade Antioxidante Total dos Derivados Triazólicos 128

3.2 Avaliação da Atividade Antiproliferativa.....138

3.2.1 Viabilidade Celular 138

3.2.2 Determinação dos valores de IC_{50} 141

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS 142

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 143

CONCLUSÃO GERAL 151

ANEXOS.....153

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1- Estrutura química do anel base das benzofenona.....	3
Figura 2- Rota biossintética geral para a síntese das benzofenonas naturais..	3
Figura 3- Alquilação de Friedel-Crafts para a obtenção de benzofenonas	4
Figura 4- Estrutura química das benzofenonas: 2,2,4'-trihidroxibenzofenona (1), Benzofenona (2), Guttiferona A (3), Epclusianona (4), Garciniafenona (5).....	5
Figura 5- Derivado de 4,4-dihidroxibenzofenona (6) e fármaco comercial Anfotericina B (7)	5
Figura 6- Estrutura dos derivados ácido 4-benzil-morfolina-2-carboxílico-N'-[2-(4-benzoil-fenoxi)-acetil]-hidrazida	6
Figura 7- Estrutura do derivado 2-cloro-5-nitro-benzofenona	7
Figura 8- Estrutura das hidroxibenzofenonas: 2,4-dihidroxibenzofenona (10) e 2,2',4,4'-tetrahidroxibenzofenona (11).....	7
Figura 9- Estrutura química do fotoprotetor orgânico BP-3.....	9
Figura 10- Estrutura geral dos derivados triazólicos das benzofenonas hidroxiladas	10

CAPÍTULO 2

Figura 1- Exemplos de compostos heterocíclicos com atividade biológica.....	17
Figura 2- Isômeros 1,2,3-1 <i>H</i> -triazol e 1,2,4-1 <i>H</i> -triazol	18
Figura 3- Classes e subclasse de 1,2,3-triazóis.....	18
Figura 4- Exemplo de fármacos comerciais que possuem em sua estrutura o anel 1,2,3-triazol.....	19
Figura 5- Derivados 1,2,3-triazol com atividade anticâncer	20
Figura 6- Derivados 1,2,3-triazólicos de ciprofloxacino.....	21
Figura 7 - Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do derivado propargílico 2a	59
Figura 8- Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do derivado propargílico 2a	60

Figura 9- Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 2a	61
Figura 10- Valores descritos para as constantes de acoplamento de alcino terminal	61
Figura 11- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 2b	62
Figura 12- Valores descritos para as constantes de acoplamento de hidrogênio aromáticos próximos a hidroxilas.....	63
Figura 13- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 2b	63
Figura 14- Espectro no Infravermelho (ATR) do composto 2b	64
Figura 15- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 5	66
Figura 16- Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto 5	67
Figura 17- Valores descritos para as constantes de acoplamento ^{19}F - ^{13}C	68
Figura 18- Espectro no infravermelho (ATR) do composto 5	69
Figura 19- Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 25	70
Figura 20- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 25	71
Figura 21- Valores descritos para as constantes de acoplamento ^{19}F - ^{13}C	71
Figura 22- Espectro no infravermelho (ATR) do composto 25	72

CAPÍTULO 3

Figura 1- Exemplo de 4-oxo- β -lactama acoplado ao anel 1,2,3-triazol inibidores da elastase.....	83
Figura 2- Derivados triazólicos que apresentaram maior inibição contra à elastase.....	87
Figura 3- Lineweaver–Burk para a hidrólise da suc-A-A-A-pNA pela elastase na presença e ausência do composto 8	88
Figura 4- Mecanismo de inibição da elastase pelo composto 8	89
Figura 5- Interações moleculares previstas de compostos triazólicos com elastase. (A) Docking dos compostos 2 e 4-18 com elastase (PDB ID: 1GVK). A estrutura da superfície da proteína é mostrada em bege, o site ativo é destacado em laranja e os compostos são	

representados em azul. **(B)** A afinidade de ligação relativa calculada para cinco compostos com interações previstas no sítio catalítico da enzima. **(C)** Interação potencial do composto **8** que apresentou maior atividade com aminoácidos catalíticos da proteína elastase..91

CAPÍTULO 4

Figura 1- Tipos de radiação UV e sua penetração na pele	99
Figura 2-Transição eletrônica das radiações UV e conversão em VIS e IV pelos fotoprotetores orgânicos	100
Figura 3- Estrutura das benzofenonas encontradas em amostras de sangue amniótico.....	103
Figura 4- Estruturas químicas dos fotoprotetores orgânicos: benzofenona-3 (BP-3), Homosalato e Octocrileno.....	107
Figura 5- FPS-UVB dos fotoprotetores orgânicos: benzofenona-3 (BP-3), homosalato e octocrileno e dos derivados de benzofenonas hidroxiladas na concentração de 0,2 µg/mL.....	108
Figura 6- FPS-UVB do fotoprotetor orgânico benzofenona-3 (BP-3) e do derivado 4 na concentração de 0,2 µg/mL	108
Figura 7- Estrutura química de novos fotoprotetores com elevado peso molecular	110

CAPÍTULO 5

Figura 1- Estruturas dos derivados de benzofenona obtidos a partquímicas dos derivados de benzofenonas contendir de <i>Garcinia livingstonei</i> . Adaptado de MURIITHI <i>et al.</i> (2016).....	118
Figura 2- Estruturas dos análogos de benzofenonas contendo nitrogênio que apresentaram maiores atividades de sequestro dos radicais DPPH. Adaptado de BANDGAR <i>et al.</i> (2010)	120
Figura 3- Estrutura química dos derivados de benzofenona contendo o núcleo 1,3-tiazol. Adaptado de TZANOVA <i>et al.</i> (2009)	122

Figura 4- Estrutura química do Trolox	126
Figura 5- Curva analítica do Trolox padrão de referência para capacidade antioxidante de sequestro do radical DPPH e seu coeficiente de correlação linear (R^2)	127
Figura 6- Estrutura química do DPPH	128
Figura 7- Estrutura química do composto fenólico Luteolina	130
Figura 8- (A) Ligação de hidrogênio presente entre os grupos vizinhos OH e C=O derivados presente nos derivados da 2,4'-diidroxibenzofenona. (B) Ligação de hidrogênio entre o solvente e os antioxidantes Luteolina e α -tocoferol com seus respectivos valores de energia de dissociação das ligações de O-H.....	131
Figura 9- (A) Estruturas em 3D de benzofenona; (B) Estruturas em 3D do radical DPPH	133
Figura 10- Provável mecanismo entre o radical DPPH e os derivados de 4,4'-diidroxibenzofenona.....	135
Figura 11- Estrutura química do sal tetrazólio MTS.....	137
Figura 12- Viabilidade celular determinada a partir dos dados obtidos por MTS em culturas tratadas por 48 horas com diferentes compostos na concentração de 40 μ mol/L. A) Tratamento com células da linhagem HepG2, B) Tratamento com células da linhagem MCF-7, C) Tratamento com células da linhagem A549, D) Tratamento com células da linhagem HT144.....	138
Figura 13- Viabilidade celular determinada para o tratamento com os derivados mais ativos da 2,4'-diidroxibenzofenona na concentração de 40 μ mol/L	140

LISTA DE ESQUEMAS

CAPÍTULO 2

Esquema 1- Reação CuAAC ou reação “click”	22
Esquema 2- Proposta mecanística para a reação CuAAC	23
Esquema 3- Etapas para obtenção dos derivados triazólicos a partir de benzofenonas hidroxiladas	57

CAPÍTULO 5

Esquema 1- Mecanismo de transferência de elétrons de antioxidantes fenólicos para o radical livre DPPH.....	134
---	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1- Rendimentos das azidas orgânicas obtidas a partir de brometos benzílicos e álcoois.....	58
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1- Inibição da elastase por derivados triazólicos de benzofenonas. Os valores IC_{50} são expressos como a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes. Os valores de IC_{50} foram determinados a partir de porcentagens de parcelas de inibição versus log [inibidor] e calculados por regressão não-linear	88
Tabela 2- Parâmetros cinéticos para a inibição da elastase pelo composto 8 (média $\pm$ desvio padrão)	89

CAPÍTULO 4

Tabela 1- Função dos produtos normalizados para o cálculo de FPS.....	102
Tabela 2- Valores do fator de proteção solar (FPS) para a 4,4'-diidroxibenzofenona e seus derivados em concentração de 0,2 $\mu\text{g/mL}$, utilizando etanol como solvente	106

CAPÍTULO 5

Tabela 1- Potencial antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) para os derivados e benzofenonas hidroxiladas.....	128
Tabela 2- Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) determinados por MTS após 48 h de tratamento.....	140

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Absorbância
ϵ	Absortividade molar
Å	Angström
Trolox	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico
MTS	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio
TBHQ	Butil-hidroquinona terciária
BHA	Butil-hidroxianisol
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5- difeniltetrazólio
hTERT-HME1	Células epiteliais mamarias humanas imortalizadas
CuAAC	Cicloadição 1,3-dipolar entre alcino terminal e azida orgânica catalisada por cobre
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
λ	Comprimento de onda
IC_{50}	Concentração que inibe 50% da atividade
J	Constante de acoplamento escalar
CCD	Cromatografia em camada delgada
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
$\text{DMSO-}d_6$	Dimetilsulfóxido deuterado
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
δ	Deslocamento químico
ERO	Espécie reativa de oxigênio
ERN	Espécie reativa de nitrogênio
EGCG	Epigallocatequina-3-galato
EM	Espectrometria de massas
R_f	Fator de retenção

DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
Hz	Hertz
BHT	Hidroxitolueno butilado
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
SERPINS	Inibidores endógenos naturais de serino protease
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IV	Infravermelho
A549	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de pulmão
CFPAC-1	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de pâncreas
DLA	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de ascites de linfoma de Dalton
EAC	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de ascites de Erlich
HepG2	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de fígado
HeLa	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma cervical
MCF-7	Linhagem de células tumorais humanas de carcinoma de mama
H9c2	Linhagem de células de cardiomioblastos
m/v	Massa/volume
MHz	Megahertz
m	múltiplo
TLCK	N- α -tosil-L-lisil-clorometilcetona
P.A.	Para análise
q	Quarteto
ATR	Reflectância Total Atenuada
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto

SDRA	Síndrome de dificuldade respiratória aguda
SI	Seletividade
SW620	Linhagem de células tumorais colonadenocarcinoma humano
T _f	Temperatura de fusão
t	Tripleto
v/v	Volume/volume
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B

RESUMO

DIAS, Maria Cecília Fernandes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2018. **Síntese e avaliação de bioatividades de derivados triazólicos de benzofenonas hidroxiladas.** Orientador: Marcelo Henrique dos Santos. Coorientador: Robson Ricardo Teixeira.

O presente trabalho objetivou a síntese e a avaliação de bioatividades de derivados triazólicos de benzofenonas hidroxiladas. Os compostos sintetizados foram avaliados quanto à sua atividade antioxidante, citotóxica e inibitória de elastase e também foi determinado seu fator de proteção solar (FPS). Foi descrita a síntese de dezesseis derivados de 4,4'-diidroxibenzofenona e doze derivados de 2,4-diidroxibenzofenona contendo em sua estrutura o anel 1,2,3-triazol. Os compostos sintetizados ainda não haviam sido descritos na literatura e a etapa chave envolvida em suas sínteses foi a reação “click” (CuAAC) entre alquinos terminais e azidas benzílicas. Os compostos foram obtidos com rendimentos variando de 35% a 95%. Todos os compostos foram caracterizados utilizando-se as técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , Infravermelho (IV) e Espectro de Massas de Alta Resolução (HRMS). Ensaio *in vitro* revelam que os derivados de benzofenonas hidroxiladas apresentam fator de proteção solar (FPS) similar a fotoprotetores comercialmente disponíveis. Dez dos derivados sintetizados exibem peso molecular superior a 500 Daltons, característica indispensável para que os fotoprotetores não difundam através da pele. Os derivados triazólicos também foram avaliados quanto à capacidade de inibir a serino protease elastase, sendo o derivado *bis(4-((1-(4-iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona* o mais ativo da série, apresentando um IC_{50} de $16,6 \pm 1,9 \mu\text{mol/L}$. Em relação a atividade antioxidante, os derivados obtidos da 2,4-diidroxibenzofenona mostraram-se mais reativos frente ao radical livre 2,2-

XX

difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). A presença de uma hidroxila livre nas moléculas pode ser responsável por sua maior atividade antioxidante. Os ensaios *in vitro* revelaram que cinco dos derivados triazólicos possuem atividade moderada contra linhagens de células cancerígenas. Os derivados 2-hidroxi-4-((1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona e 2-hidroxi-4-((1-(4-clorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona, por exemplo, para a linhagem MCF-7 (carcinoma de mama) apresentaram valores de IC₅₀ iguais a 50,43 e 65,06 µmol/L, respectivamente, menores que o da cisplatina (IC₅₀= 75,73 µmol/L) um fármaco antitumoral comercial. Dessa forma, os compostos sintetizados têm grande potencial para serem usados como antioxidantes e inibidores da atividade proteolítica da enzima elastase e ainda em formulações destinadas a proteção da pele contra os raios ultravioletas.

ABSTRACT

DIAS, Maria Cecília Fernandes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2018. **Synthesis and of triazole derivatives from hydroxylated benzophenones** Adviser: Marcelo Henrique dos Santos. Co-adviser: Robson Ricardo Teixeira.

The present investigation aimed at the synthesis of a group derived from hydroxylated benzophenones. The synthesized compounds had their antioxidant, cytotoxic and inhibition of elastase activities evaluated and its sun protection factor was determined. It is described the synthesis of sixteen 4,4'-dihydroxybenzophenone derivatives and twelve 2,4-dihydroxybenzophenone derivatives, both containing 1,2,3-triazole ring. The key step involved in the synthesis of these derivatives corresponded to the click reaction (CuAAC). The synthesized triazoles have not been described in the literature, and they were obtained yields ranging from 35% to 95%. The compounds were characterized using the techniques of IR, ^1H and ^{13}C NMR and HRMS. *In vitro* biological assays carried out with the derivatives of hydroxylated benzophenone demonstrate that four of derivatives showed ability to inhibit serine protease elastase. For instance, *bis*(4-((1-(4-iodobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)benzophenone showed the most active of the series, presenting an IC_{50} value of $16.6 \mu\text{mol L}^{-1}$. In relation to the antioxidant activity, the derivatives obtained from 2,4-dihydroxybenzophenone were more reactive to the DPPH free radical. The presence of a free hydroxyl in the molecules may be responsible for its higher antioxidant activity. *In vitro* assays revealed that five of the triazole derivatives were shown to have moderate activity against cancer cell lines. The (2-hydroxy-4-((1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)benzophenone and (2-hydroxy-4-((1-(4-chlorobenzyl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)benzophenone, for example, for the MCF-7 cell (breast carcinoma) showed IC_{50} values of 50.43 and $65.06 \mu\text{mol/L}$, respectively, lower than that of cisplatin ($\text{IC}_{50}=75.73 \mu\text{mol/L}$) a commercial antitumor drug. The triazole derivatives have a sun protection factor (SPF) similar to commercially available photoprotectors, ten of the synthesized derivatives exhibit molecular weight above 500 daltons, an essential feature so that photoprotectors do not diffuse through the skin. Thus, the synthesized compounds have potential to be used as antioxidants and

inhibitors of the proteolytic activity of the enzyme elastase and also in formulations intended to protect the skin against ultraviolet rays.

INTRODUÇÃO GERAL

Os triazóis são compostos orgânicos heterocíclicos de cinco membros (MELO *et al.*, 2006). Essa classe de compostos tem despertado grande interesse devido ao vasto campo de aplicação, podendo ser encontrado em agroquímicos, aditivos químicos, cristais líquidos, polímeros, química supramolecular e pigmentos, mas apresenta grande destaque na área farmacêutica, onde é utilizado como grupo funcional chave em muitas moléculas bioativas e fármacos (FREITAS *et al.*, 2011).

No campo da Química Medicinal, os compostos triazólicos ganharam grande destaque, devido, principalmente, às características apresentadas por estes compostos, tais como a capacidade para formar ligações de hidrogênio, ligações do tipo dipolo-dipolo e devido a sua solubilidade melhorada, a qual os tornam capazes de se ligarem a alvos biológicos com alta afinidade (DHEER *et al.*, 2017).

Nos últimos anos, muitas metodologias sintéticas têm sido desenvolvidas para a obtenção dos anéis triazólicos, sendo que a abordagem mais popular é a cicloadição 1,3-dipolar catalisada por cobre (CuAAC). Esta reação foi descoberta por Sharpless e Meldal e ficou popularmente conhecida como reações “click” (WANG *et al.*, 2016).

A impressionante velocidade com que as reações “click” tem sido empregada em várias áreas de pesquisa é um indicador claro do seu amplo potencial de aplicação. Sendo assim, a utilização de substâncias que já apresentam atividades biológicas conhecidas, como por exemplo, as benzofenonas, como material de partida em reações “click”, mostra-se como uma estratégia promissora para a obtenção de novas moléculas com ação terapêutica melhorada.

As benzofenonas são uma classe de moléculas farmacologicamente ativas, que podem ser obtidas por meios naturais e sintéticos. Esta classe de compostos apresenta amplo espectro de atividades biológicas, destacando-se atividade antifúngica, antioxidante, antiproliferativa, citotóxica e anti-inflamatória.

Diante do exposto, neste trabalho foi feita síntese de novos derivados triazólicos de benzofenonas hidroxiladas utilizando-se como abordagem sintética a reação “click”.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

1. BENZOFENONAS

As benzofenonas são cetonas aromáticas, naturais ou sintéticas, que possuem uma gama de estruturas, mas compartilham um esqueleto comum de 13 carbonos (**Fig. 1**), podendo apresentar diferentes substituintes que alteram as suas características estereoelétrônicas, e com isso, suas propriedades.

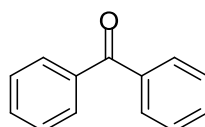


Figura 1: Estrutura química do anel base das benzofenonas.

As benzofenonas de origem natural formam uma classe de compostos com cerca de 300 membros (WU *et al.*, 2014). De acordo com dados descritos na literatura, esta classe de benzofenonas é biossintetizada pela rota do chiquimato, para a formação do anel A, enquanto o anel B é obtido pela rota do acetato-malonato (**Fig. 2**) (BAGGETT *et al.*, 2005; BEERHUES e LIU, 2009; LIMA e TEIXEIRA, 2017).

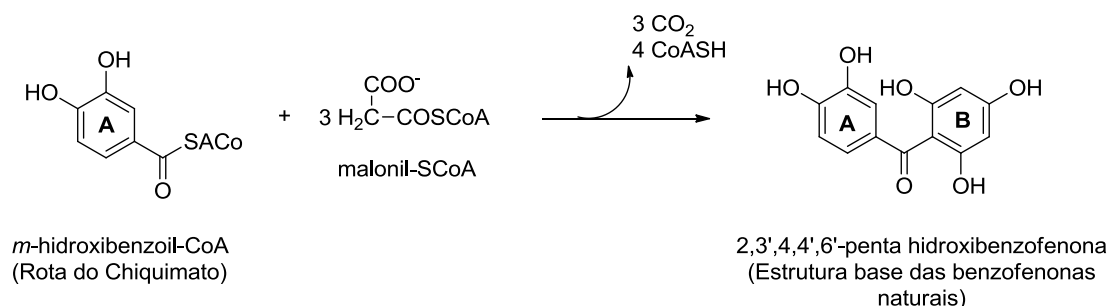


Figura 2: Rota biossintética geral para a síntese das benzofenonas naturais. Adaptado de BAGGETT *et al.*, (2005).

A rota sintética clássica para a obtenção das benzofenonas é *via* alquilação de Friedel-Crafts entre benzeno e tetracloreto de carbono, na

presença de AlCl_3 , com posterior hidratação (**Fig. 3**) (CLAYDEN, 2001; NASCIMENTO *et al.*, 2014). Por meio desta metodologia é possível obter benzofenonas com diferentes níveis de substituições no anel aromático.

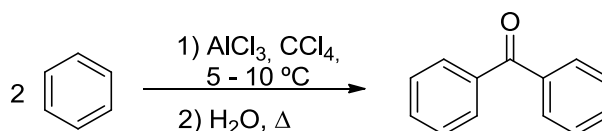


Figura 3: Alquilação de Friedel-Crafts para a obtenção de benzofenonas.

As características estruturais das benzofenonas têm sido de enorme importância em campos medicinais, químicos e industriais (PRASHANTH *et al.*, 2014). Muitos dos seus derivados apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, podendo-se destacar: atividade anticâncer (AL-GHORBANI *et al.*, 2016; SHI *et al.*, 2016), combate ao HIV (MA *et al.*, 2011), antibacteriana (AL-GHORBANI *et al.*, 2013), inibição de acetilcolinesterase (BELLUTI *et al.*, 2011), dentre outras.

Por exemplo, MARTINS e colaboradores (2009) relataram a inibição *in vitro* das serino proteases catepsina B e G por benzofenonas naturais e sintéticas (**Fig. 4**). As benzofenonas naturais estudadas apresentaram atividade inibitória superior à aquela apresentada pelas benzofenonas sintéticas: 2,2',4-triidroxibenzofenona (**1**) e benzofenona (**2**), sendo que, dentre as benzofenonas naturais, a atividade inibitória da guttiferona A (**3**) foi aproximadamente 2-69 vezes superiores às manifestadas pela epiclusianona (**4**) e a garciniafenona (**5**), respectivamente. Além disso, a guttiferona A (**3**) tem se ligado preferencialmente à catepsina G, uma vez que o seu valor IC_{50} ($2,7 \pm 0,1$ mmol/L) sobre tal peptidase é bastante semelhante ao do inibidor clássico de serina proteases, quimostatina ($2,1 \pm 0,1$ mM).

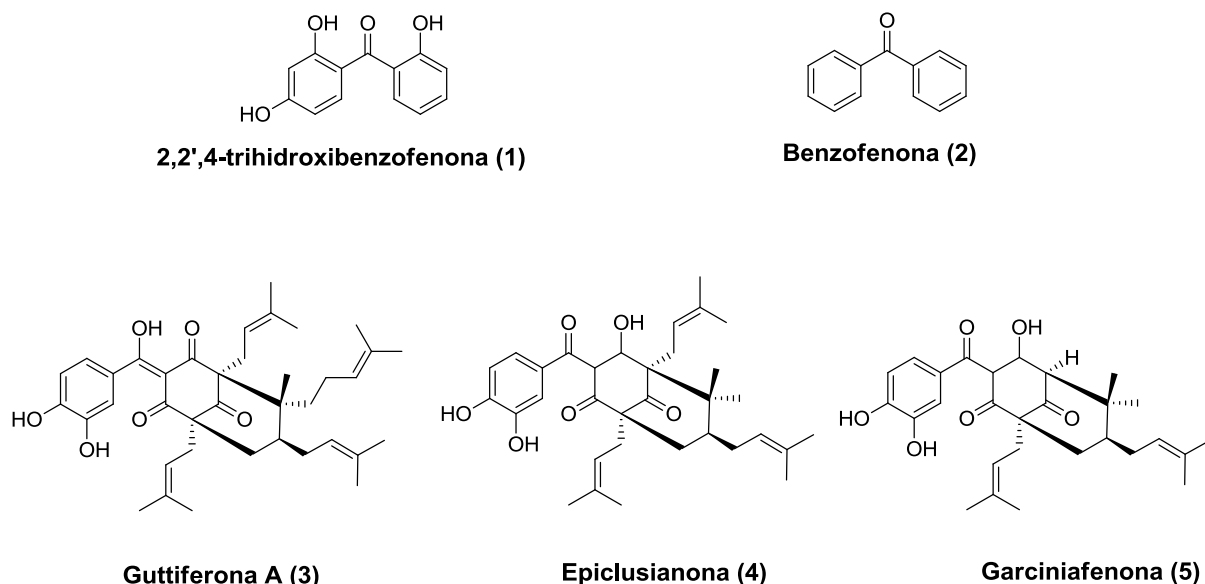


Figura 4: Estrutura química das benzofenonas: 2,2',4'-trihidroxi benzofenona (1), Benzofenona (2), Guttiferona A (3), Epiclusianona (4), Garciniafenona (5).

Em outro trabalho, MACIEL-REZENDE e colaboradores (2013) sintetizaram uma série de alquil-benzofenonas, a fim de avaliar sua atividade leishmanicida. Foram sintetizados nove derivados de O-álquila e O-prenila a partir de 2,4-diidroxi benzofenona e 4,4'-diidroxi benzofenona. Todos os derivados exibiram atividade biológica superior à apresentada por seus precursores contra a forma promastigota de *Leishmania amazonenses*. O novo derivado (6) (Fig. 5) foi 250 vezes mais ativo do que a 4,4'-diidroxi benzofenona. Além disso, alguns dos resultados foram comparáveis ao medicamento padrão anfotericina B (7).

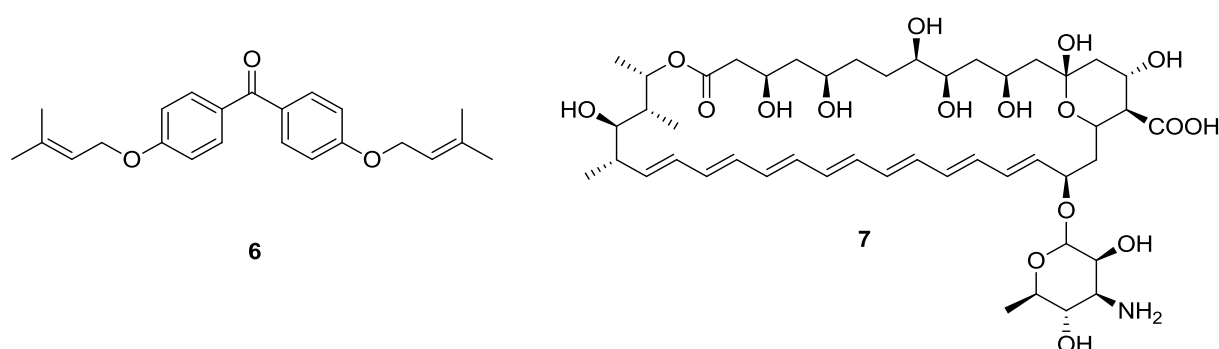


Figura 5: Derivado de 4,4-diidroxi benzofenona (6) e fármaco comercial Anfotericina B (7). Adaptado de MACIEL-REZENDE *et al.*, 2013.

A associação de benzofenonas a outras substâncias biologicamente ativas tem aumentado o seu potencial de ação, bem como o espectro de atividades dos derivados obtidos.

Em estudo recente, AL-GHORBANI e colaboradores (2017) sintetizaram análogos onde há associação entre a benzofenona e à morfolina, sistema heterocíclico presente em uma diversidade de compostos que apresentam aplicações terapêuticas importantes. Uma série de derivados ácido 4-benzil-morfolina-2-carboxílico-*N'*-[2-(4-benzoil-fenoxi)-acetil]-hidrazida (**Fig. 6**) foi sintetizado a partir da 4-hidroxibenzofenona, sendo avaliado *in vitro* sua atividade antiproliferativa frente a vários tipos de células neoplásicas humanas (DLA, EAC, MCF-7 e A549). Os estudos citotóxicos e a relação estrutura atividade dos derivados sugere que o grupo metila no anel B da benzofenona é essencial para a atividade antiproliferativa e, que o bromo na posição *orto* (**8b**) e metila na posição *para* (**8f**) no anel A da benzofenona são significativos para a atividade anti-mitogénica extensiva.

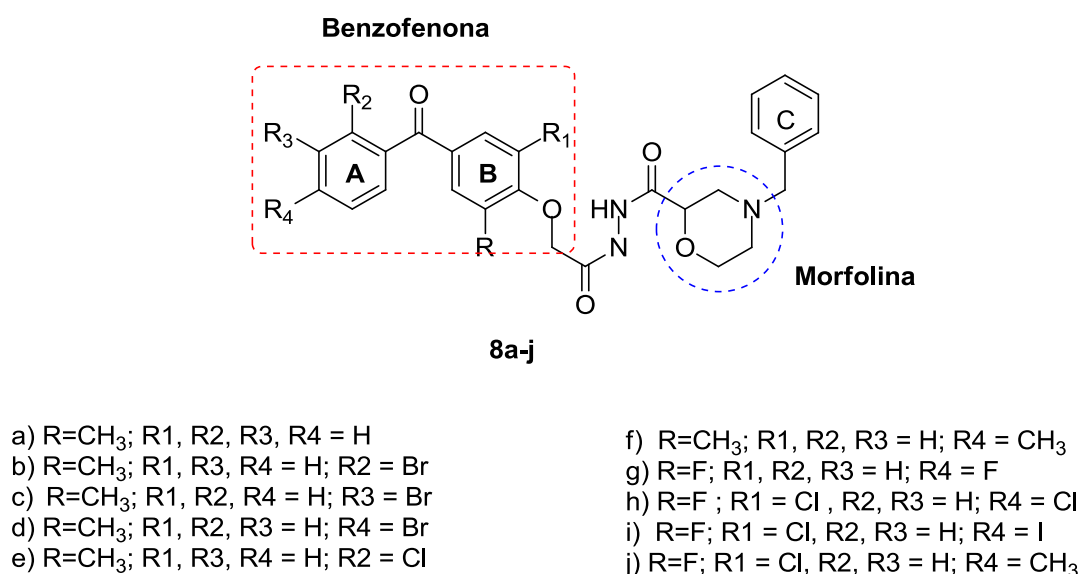


Figura 6: Estrutura dos derivados ácido 4-benzil-morfolina-2-carboxílico-*N'*-[2-(4-benzoil-fenoxi)-acetil]-hidrazida. Adaptado de AL-GHORBANI *et al.*, 2017.

O uso das benzofenonas não se restringe apenas a indústria farmacêutica. USHARANI e colaboradores (2016) mostram que os derivados de benzofenona são materiais promissores para várias aplicações óticas. No presente trabalho, os pesquisadores fizeram o crescimento de cristais 2-cloro-

5-nitro-benzofenona (**9**) (**Fig. 7**) em diferentes solventes. Os estudos de absorção ótica mostraram que o cristal (**9**) tem ampla janela de transparência na região do visível e assim pode usadas em filtros óticos.

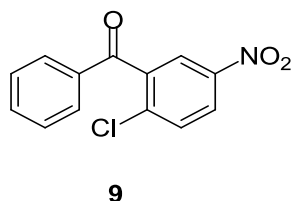


Figura 7: Estrutura do derivado 2-cloro-5-nitro-benzofenona. Adaptado de USHARANI *et al.*, 2016.

As benzofenonas e seus derivados são amplamente utilizados como filtro solar, sendo uma importante classe de filtros orgânicos para a proteção dos raios ultravioleta (UV), pois são capazes de proteger a pele das irradiações UVA (320-400 nm) e UVB (290-320 nm) (RODRIGUEZ-GOMEZ *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2016).

As hidroxibenzofenonas 2,4-diidroxibenzofenona (**10**) e 2,2',4,4'-tetrahidroxibenzofenona (**11**) (**Fig. 8**), e seus derivados apresentam maior habilidade de absorverem e dissiparem a radiação UVA, porém, em menor intensidade na região UVB. Portanto, são frequentemente utilizados como estabilizadores UV em revestimentos plásticos de embalagens, uma vez que evitam a degradação dos polímeros e consequentemente a perda de qualidade dos alimentos embalados devido à radiação de luz UV (SUZUKI *et al.* 2005).

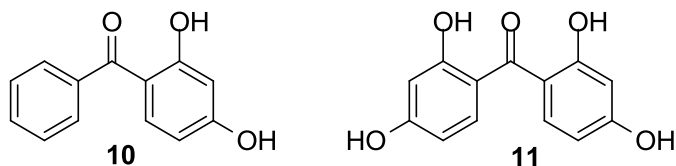


Figura 8: Estrutura das hidroxibenzofenonas: 2,4-diidroxibenzofenona (**10**) e 2,2',4,4'-tetrahidroxibenzofenona (**11**).

2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Nos últimos anos a incidência e mortalidade causadas pelo câncer de pele tem aumentado em todo o mundo (REIS *et al.*; 2014).

No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) aponta o câncer de pele como a neoplasia mais frequente no país, correspondendo a 30% de todos os tumores malignos registrados.

Nos Estados Unidos, por exemplo, mais de 1,3 milhões de novos casos de câncer não melanoma ocorrem todos os anos, e estudos apontam que cerca de 90% destes casos são causados por exposição excessiva a radiação UV (KOSHY *et al.*, 2010).

O estudo dos fatores etiológicos do câncer de pele identifica a radiação UV como um dos principais agentes que causam lesões às células, sendo que as regiões do corpo mais expostas a radiação solar (rosto, pescoço, cabeça e dorso das mãos) são as mais frequentemente afetadas por esta neoplasia (DUTRA *et al.*, 2004; NASCIMENTO *et al.* 2014).

Dentre as medidas mais eficazes para a prevenção do câncer de pele, bem como de outros efeitos deletérios causados pela radiação UV, o uso frequente de fotoprotetores se sobressai por sua elevada eficácia.

As benzofenonas são uma importante classe de fotoprotetores que auxiliam para proteção contra os raios UV (RODRIGUEZ-GOMEZ *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2016).

A eficácia das benzofenonas como fotoprotetores é inquestionável, mas estudos recentes associaram-nas à dermatite de contato foto-alérgica. Além disso, há evidências de que a 2-hidrox-4-metoxibenzofenona (BP-3) (**Fig. 9**) é absorvida no trato gastrointestinal e bioacumulada no corpo humano (CURSINO *et al.*, 2013).

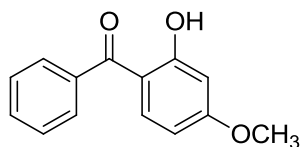


Figura 9: Estrutura química do fotoprotetor orgânico BP-3.

A penetração cutânea de compostos presentes em formulações com finalidade fotoprotetora e as prováveis consequências da sua absorção sistêmica têm sido alvo de numerosos estudos. Moléculas menores podem ultrapassar a camada córnea o que não é observado para as moléculas maiores que, em geral, apresentam peso molecular maior ou igual a 500 Daltons (BENDOVA *et al.*, 2007).

Recentemente, uma série de moléculas com pesos moleculares elevados foram sintetizadas. Estas moléculas possuem múltiplos cromóforos que produzem elevados coeficientes de extinção e também proteção de amplo espectro (SHAATH, 2010).

Diante do exposto, há uma crescente necessidade em se desenvolver novas moléculas capazes de proteger a pele das ações nocivas da radiação UV. As características desejáveis para novos fotoprotetores são que estes apresentem fotoproteção em amplo espectro da radiação UV, não penetrem na pele e sejam fotoestáveis.

Os híbridos moleculares tem sido uma tendência para a busca de novos protótipos com diferentes aplicações farmacológicas e cosméticas (LAL *et al.*, 2018). A partir desta metodologia, portanto, é possível associar substâncias biologicamente ativas e com isso potencializar sua ação terapêutica.

Sendo assim, neste presente estudo visamos à obtenção de novos derivados de benzofenonas hidroxiladas acoplados a anéis triazólicos, elevando-se o peso molecular das benzofenonas para evitar a bioacumulação e ampliando o seu espectro de atividades biológicas. A estrutura geral dos derivados sintetizados é apresentada na **Figura 10**.

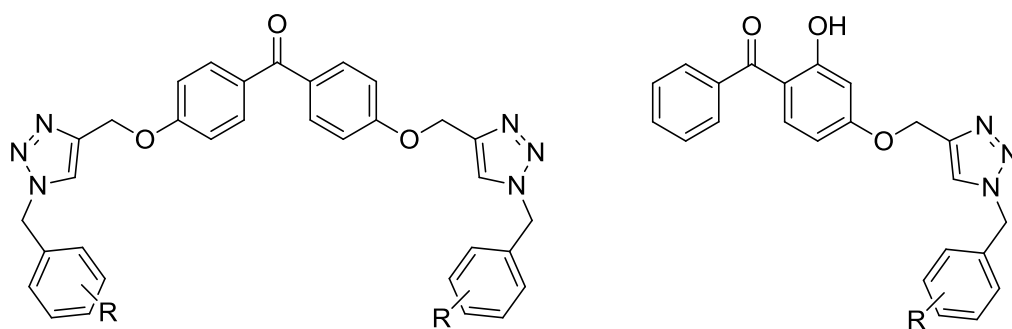


Figura 10: Estrutura geral dos derivados triazólicos das benzofenonas hidroxiladas.

A descrição da síntese, a identificação e caracterização dos derivados triazólicos obtidos a partir de benzofenonas hidroxiladas serão apresentados no Capítulo 2. Nos Capítulos 3, 4 e 5 serão descritas as atividades biológicas apresentadas pelos derivados sintetizados neste trabalho.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-GHORBANI, M.; RANGANATHA V., L.; PRASHANTH T., BEGUM A., B.; KHANUM. S. A. *In vitro* antibacterial and antifungal evaluation of some benzophenone analogues. *Der Pharma Chemica*, 5, 269-273, 2013.
- AL-GHORBANI, M.; THIRUSANGU, P.; GURUPADASWAMY, H. D.; GIRISH, V.; NERALAGUNDI, H.G. S.; PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A.; Synthesis and antiproliferative activity of benzophenone tagged pyridine analogues towards activation of caspase activated Dnase

- mediated nuclear fragmentation in Dalton's lymphoma. *Bioorganic Chemistry*, 65, 73–81, 2016.
- AL-GHORBANI, M.; THIRUSANGU, P.; GURUPADASWAMY, H. D.; VIGNESHWARAN, V.; MOHAMMED, Y. H. E.; PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis of novel morpholine conjugated benzophenone analogues and evaluation of antagonistic role against neoplastic development. *Bioorganic Chemistry*, 71, 55-66, 2017.
- BAGGETT, S.; MAZZOLA, E. P.; KENNELLY, E. J. The Benzophenones: isolation, structural elucidation and biological activities. *Studies in Natural Products Chemistry*, 32, 721-771, 2005.
- BEERHUES, L.; LIU, B. Biosynthesis of biphenyls and benzophenones – Evolution of benzoic acid-specific type III polyketide synthases in plants. *Phytochemistry*, 70, 1719–1727, 2009.
- BELLUTI, F.; BARTOLINI, M.; BOTTEGONI, G.; BISI, A.; CAVALLI, A.; ANDRISANO, V.; RAMPA, A. Benzophenone-based derivatives: A novel series of potent and selective dual inhibitors of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid aggregation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 1682-1693, 2011.
- BENDOVA, H.; AKRMAN, J.; KREJC, A.; KUBA, L.; JIROVA, D.; KEJLOVA, K.; KOLAROVA, H.; BRABEC, M.; MALY, M. In vitro approaches to evaluation of Sun Protection Factor. *Toxicology in Vitro*, 21, 1268–1275, 2007.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. Organic Chemistry. Oxford, 2001. Ed.

CURSINO, A. M. T.; LISBOA, F. S.; PYRRHO, A. S.; VALERIA PEREIRA DE SOUSA, V. P.; WYPYCH, F. Layered double hydroxides intercalated with anionic surfactants/benzophenone as potential materials for sunscreens. Journal of Colloid and Interface Science, 397, 88–95, 2013.

DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. Bioorganic Chemistry, 30-54, 2017.

DUTRA, E. A.; DA COSTA E OLIVEIRA, D. A. G.; KEDORHACKMANN, E. R. M.; MARIA SANTORO, I. R. M. Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultravioleta spectrophotometry. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 40(3), 381-385, 2004.

FREITAS, L. B. de O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; DE FREITAS, R. P.; DOS SANTOS, L. J. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. Química Nova, 34(10), 1791-1804, 2011.

INCA-Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva- Disponível:<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pelenaomelanoma> Acessado em 21/01/2018.

KOSHY, J. C.; SHARABI, S. E.; JERKINS, D.; COX, J.; CRONIN, S. P.; HOLLIER, JR., L. H. Sunscreens: Evolving Aspects of Sun Protection. Journal Pediatric Health Care, 24, 343-346, 2010.

LAL, K.; YADAV, P.; KUMAR, A.; KUMAR, A.; PAUL, A. K. Design, synthesis, characterization, antimicrobial evaluation and molecular modeling studies of some dehydroacetic acid-chalcone-1,2,3-triazole hybrids. *Bioorganic Chemistry*, 77, 236–244, 2018.

LIMA, A. M. A.; TEIXEIRA, R. R. Natural Benzophenones from Clusiaceae Family: Structural Diversity and Biological Activity. *Frontiers in Natural Product Chemistry*, V. 3, Bentham Science Publishers-Sharjah, UAE, 2017.

LIU, W.; WEI, D.; LIU, Q.; DU, Y. Transformation pathways and acute toxicity variation of 4-hydroxybenzophenone in chlorination disinfection process. *Chemosphere*, 154, 491-498, 2016.

MA, X.; ZHANG, X.; DAI, H.; YANG, S.; YANG, L.; GU, S.; ZHENG, Y.; HE, Q.; CHEN, F. Synthesis and biological activity of naphthyl-substituted (B-ring) benzophenone derivatives as novel non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19, 4601–4607, 2011.

MACIEL-REZENDE, C. M.; ALMEIDA, L.; COSTA, E. D.; PIRES, F. R.; ALVES, K. F.; CLÁUDIO VIEGAS JUNIOR, C.; DIAS, D. F.; DORIGUETTO, A. C.; MARQUES, M. J.; DOS SANTOS, M. H. Synthesis and biological evaluation against *Leishmania amazonenses* of a series of alkyl-substituted benzophenones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21, 3114–3119, 2013.

MARTINS, F. T.; ASSIS, D. M.; DOS SANTOS, M. H.; I CAMPS, I.; VELOSO, M. P.; JULIANO, M. A.; ALVES, L. C.; DORIGUETTO, A. C.

- Natural polyprenylated benzophenones inhibiting cysteine and serine proteases. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44, 1230–1239, 2009.
- MELO, J. O.; DONNICI, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; DE SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G.; CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. *Química Nova*, 29(3), 569-579, 2006.
- NASCIMENTO, L. F.; SANTOS, E. P.; AGUIAR, A. P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. *Revista Virtual Química*, 6 (2), 190-223, 2014.
- PRASHANTH, T.; THIRUSANGU, P.; AVIN, B. R. V.; RANGANATHA, V. L. PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis and evaluation of novel benzophenone-thiazole derivatives as potent VEGF-A inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 87, 274-283, 2014.
- REIS, J. S.; CORRÊA, M. A.; CHUNG, M. C.; DOS SANTOS, J. L. Synthesis, antioxidant and photoprotection activities of hybrid derivatives useful to prevent skin câncer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22, 2733–2738, 2014.
- RODRIGUEZ-GOMEZ, R.; ZAFRA-GOMEZ, A.; DORIVAL-GARCÍA, N.; BALLESTEROS, O.; NAVALON, A. Determination of benzophenone-UV filters in human milk samples using ultrasound-assisted extraction and clean-up with dispersive sorbents followed by UHPLC–MS/MS analysis. *Talanta*, 134, 657–664, 2015.

- SUZUKI, T.; KITAMURA, S.; KHOTA, R.; SUGIHARA, K.; FUJIMOTO, N.; OHTA, S. Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203, 9–17, 2005.
- USHARANI, S.; NATARAJAN, V.; JUDES, J.; ARIVANANDHAN, M.; ANANDAN, P.; NATARAJAN, S. Crystal growth, structural and optical properties of a novel benzophenone derivative: 2-Chlor-5-nitro benzophenone. *Optik*, 127, 5887–5893, 2016.
- SHAATH, N. M. Ultraviolet filters. *Photochemical Photobiological Sciences*, 9, 464–469, 2010.
- SHI, J. B.; CHEN, L. Z.; WANG, Y.; XIOU, C.; TANG, W. J.; ZHOU, H. P.; LIU, X. H.; YAO, Q. Z. Benzophenone-nucleoside derivatives as telomerase inhibitors: Design, synthesis and anticancer evaluation in vitro an in vivo. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 729-739, 2016.
- WANG, C.; Ikhlef, D.; Kahlal, S.; Saillard, J.; Astruc, D. Metal-catalyzed azide-alkyne “click” reactions: Mechanistic overview and recent trends. *Coordination Chemistry Reviews*, 316, 1–20, 2016.
- WU, S.; LONG, C.; KENNEL, E. J. Structural diversity and bioactivities of natural benzophenones. *Natural Product Reports*, 31, 1158-1174, 2014.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS A PARTIR DE BENZOFENONAS HIDROXILADAS

1. COMPOSTOS HETEROCÍCLICOS

Os compostos heterocíclicos constituem a maior e mais variada família de compostos orgânicos. Sua importância é incontestável, não apenas pelo grande número de exemplos encontrados, mas principalmente por possuir uma vasta gama de aplicações biológicas (SOURAV *et al.*, 2016).

Muitos destes compostos são medicamentos amplamente consumidos no mercado mundial, apresentando diversas atividades biológicas, tais como: anti-hipertensiva (Losartana-**1**), anti-viral (Ribavirina-**2**) antitumoral (Carbanato de fluorouracila-**3**), antifúngica (Fluconazol-**4**), antiinflamatória e antitérmica (Dipirona-**5**), antiprotozoaria (Metronidazol-**6**) e antibacteriana (Benzilpenicilina-**7**) (**Fig. 1**) (MELO *et al.*, 2006).

Outras atividades já são descritas na literatura, podendo-se destacar: anticonvulsivante (*N,N*-dialil-4,6-dicloro-1,3,5-triazin-2-amina **8**), antialérgico (5-(1-metil-1*H*-benzo[d]imidazol-2-il)-1,3,4-oxadiazol-2(3*H*)-ona **9**) e citotóxico (2-(6-(trifluorometoxi)benzo[d]tiazol-2-il)-1*H*-indene-1,3(2*H*)-diona **10**) (**Fig. 1**) (SOURAV *et al.*, 2016).

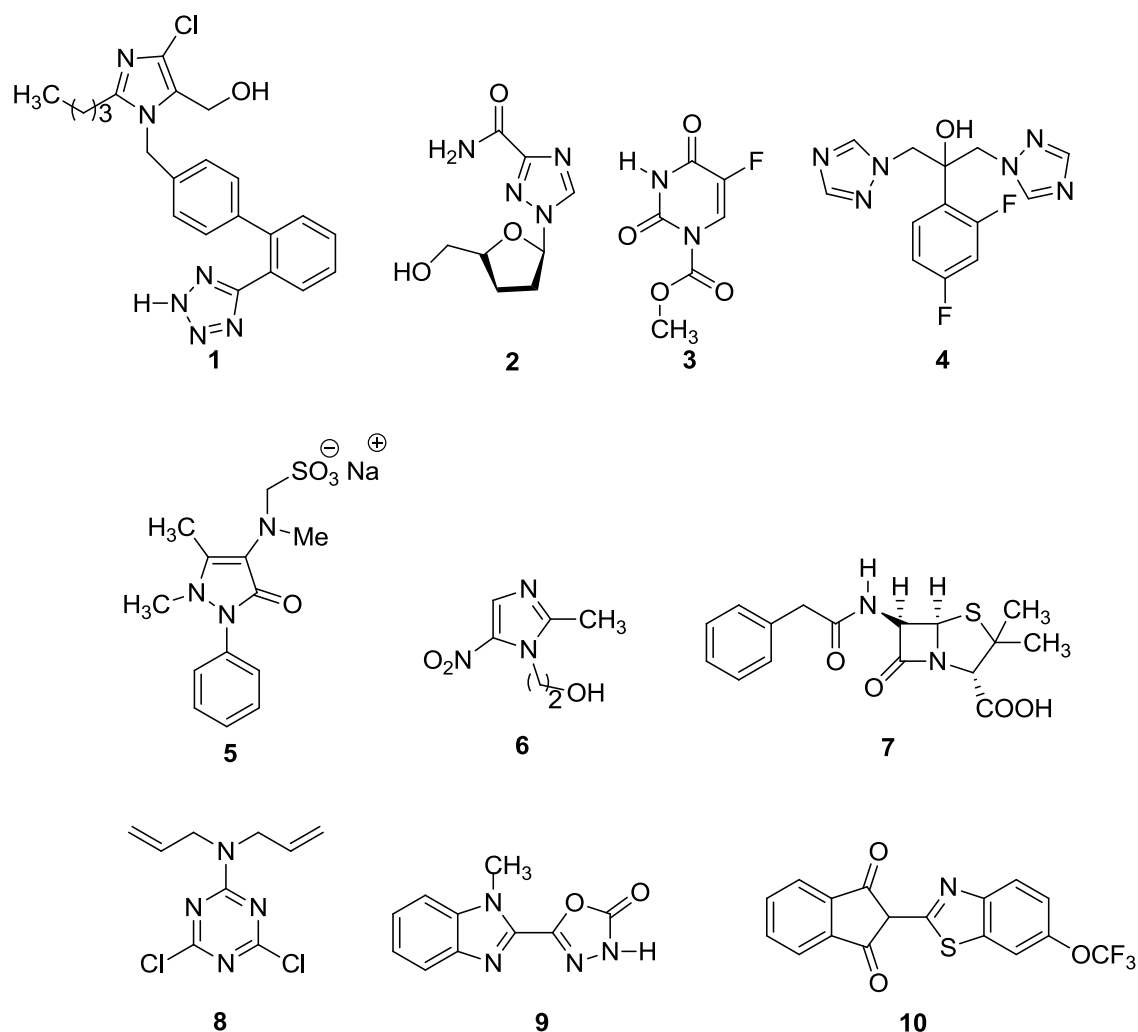


Figura 1: Exemplos de compostos heterocíclicos com atividade biológica. Adaptado de MELO *et al.* (2006) e SOURAV *et al.* (2016).

Dentre os compostos heterocíclicos, podemos destacar a classe de substâncias denominada genericamente de azois, que compreende os heterocíclicos aromáticos nitrogenados de cinco membros. Desta classe de substâncias, os triazóis tem despertado um grande interesse por parte dos químicos orgânicos sintéticos, principalmente por apresentar um amplo espectro de atividades biológicas (MELO *et al.*, 2006).

1.1 Triazóis

Os triazóis são substâncias hetero-aromáticas que possuem 3 átomos de nitrogênio no mesmo núcleo cíclico. Os triazóis apresentam duas formas isoméricas 1,2,3-*1H*-triazol e 1,2,4-*1H*-triazol (**Fig. 2**), sendo que a seletividade para a aquisição deste núcleo irá depender da metodologia utilizada para a sua obtenção (RUPESH *et al.*, 2011).

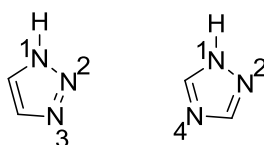


Figura 2: Isômeros 1,2,3-*1H*-triazol e 1,2,4-*1H*-triazol.

Os isômeros 1,2,3-triazólicos podem ser divididos em três grupos: 1,2,3-triazóis monocíclicos, benzotriazóis e sais 1,2,3-triazolium (**Fig. 3**), sendo que para a classe dos 1,2,3-triazóis monocíclicos podemos ter 3 subclasses dependendo dos substituintes presentes no anel (FERREIRA, 2008).

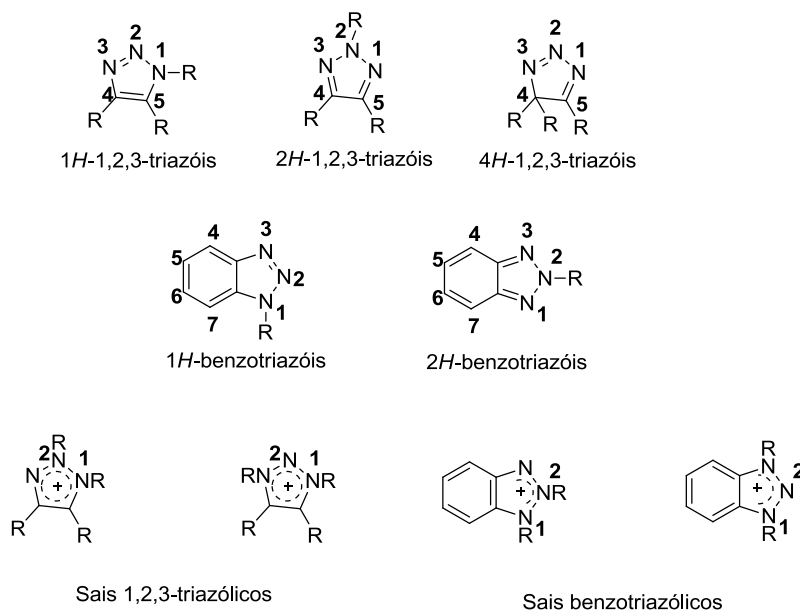


Figura 3: Classes e subclasse de 1,2,3-triazóis. Adaptado de FERREIRA (2008).

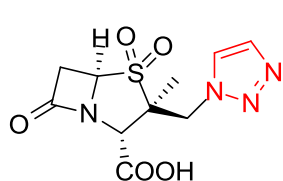
O anel triazólico é relativamente estável, portanto, permite a realização de diversas modificações químicas tanto dos substituintes, quanto dos grupos funcionais (KRIVOPALOV & SHKURKO, 2005).

O anel 1,2,3-triazol desempenha um papel importante na atividade biológica devido à sua propriedade dipolar moderada, capacidade para se ligar a várias enzimas por meio de ligações de hidrogênio, rigidez e estabilidade sob condições ácidas e alcalinas (ANAND *et al.*, 2015; KHAZHIEVA *et al.*, 2015).

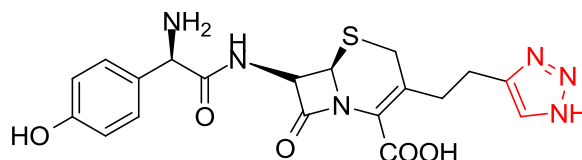
O sistema heterocíclico com 1,2,3-triazol é conhecido há mais de cem anos, mas nas últimas duas décadas, a química dos 1,2,3-triazóis ganhou um novo impulso devido à descoberta de diversas atividades biológicas encontrada nos seus derivados (KRIVOPALOV & SHKURKO, 2005).

Os triazóis e seus derivados são de grande importância na química medicinal e podem ser utilizado na síntese de diversos compostos heterocíclicos com importantes atividades biológicas, incluindo: antituberculose (SHAIKH *et al.*, 2015), anticâncer (POKHODYLO *et al.*, 2013; REDDY *et al.*, 2016), antibacteriana (TAN *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2015), antioxidante (TAN *et al.*, 2016; SARAIVA *et al.*, 2016), anti-leishmanicida (GONTIJO *et al.*, 2015), antifúngica (GONZALEZ-CALDERON *et al.*, 2016), no controle do Alzheimer (DI PIETRO *et al.*, 2016), antimalaria (MANOHAR *et al.*, 2011, RAJ *et al.*, 2014), entre outras.

No mercado farmacêutico mundial, já são conhecidos compostos que apresentam o núcleo 1,2,3-triazol para o tratamento das mais diversas enfermidades. Na **Figura 4** são apresentados exemplos de fármacos comerciais que apresentam este núcleo em sua estrutura.



Tazobactam
Antibiótico b-lactâmico



Cefatrizina
Antibiótico b-lactâmico

Figura 4: Exemplo de fármacos comerciais que possuem em sua estrutura o anel 1,2,3-triazol. Adaptado de DHEER *et al.* (2017).

Os 1,2,3-triazóis vem sendo aplicados em várias áreas tecnológicas importantes, e especialmente na descoberta de novos fármacos. Por exemplo, KRALJEVIC e colaboradores (2016) sintetizaram uma série de novos compostos contendo o núcleo 1,2,3-triazol e avaliaram sua atividade antiproliferativa. Como estratégia de síntese, os pesquisadores fizeram a hibridação entre dois heterocíclis biologicamente ativos, o 1,2,3-triazol e a cumarina, afim de potencializar a ação terapêutica dos derivados obtidos. Dentre os compostos sintetizados, **11-15 (Fig. 5)** foram aqueles que exibiram elevada atividade antiproliferativa contra cinco linhagens de carcinoma humano (A549, HepG2, CFPAC-1, HeLa e SW620), sendo que, o composto **14** foi aquele que se destacou, exibindo a maior citotoxicidade contra células da linhagem HepG2 com valor de IC_{50} de 0,9 $\mu\text{mol/L}$ e com elevada seletividade ($SI = 50$).

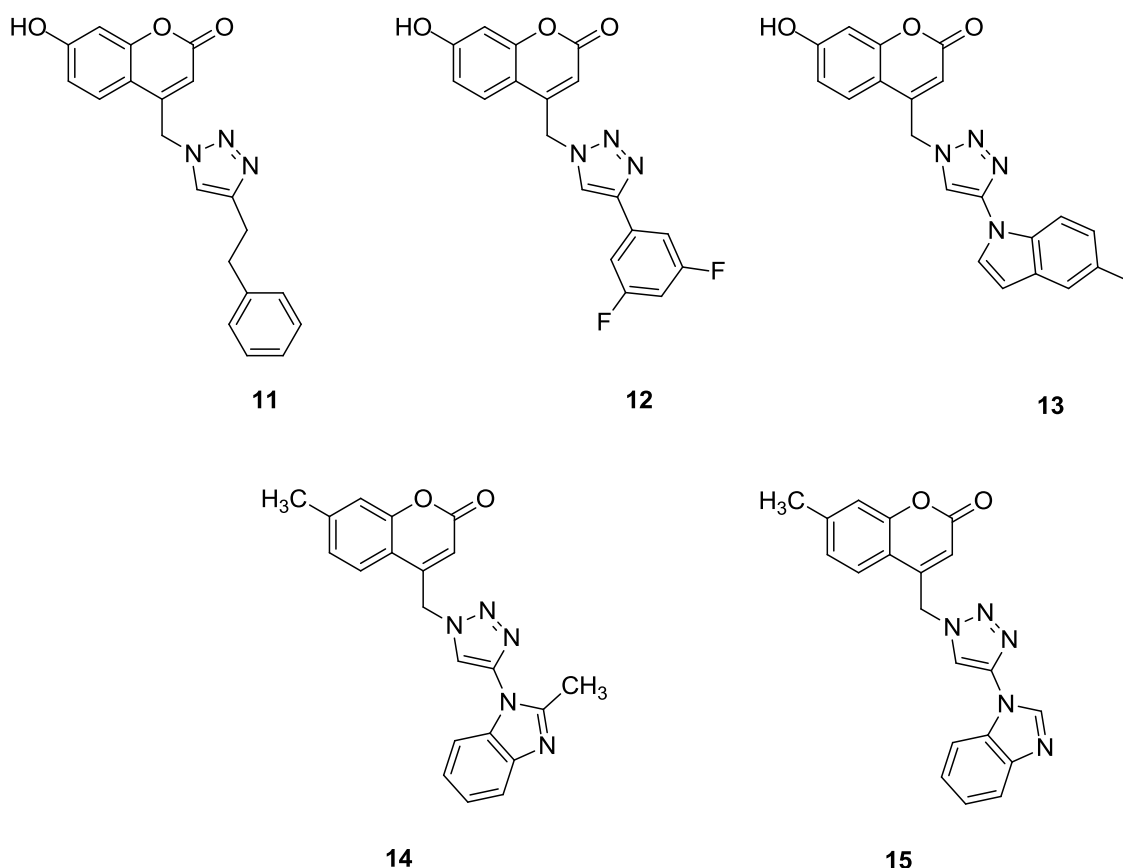


Figura 5: Derivados 1,2,3-triazol com atividade anticâncer. Adaptado de KRALJEVIC *et al.* (2016).

Em outro estudo, KANT e colaboradores (2016) sintetizaram uma série de substâncias biologicamente ativas com maior atividade antibacteriana que o ciprofloxacino (**16**) (**Fig. 6**), fármaco comercial utilizado para o tratamento de doenças bacterianas. Os derivados **17-20** (**Fig. 6**) mostraram ser até 10 vezes mais ativos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas que o fármaco original. O composto **21** mostrou grande eficácia para o controle de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Plesiomonas shigelloides*, sendo 8-17 vezes mais potente que a ciprofloxacino.

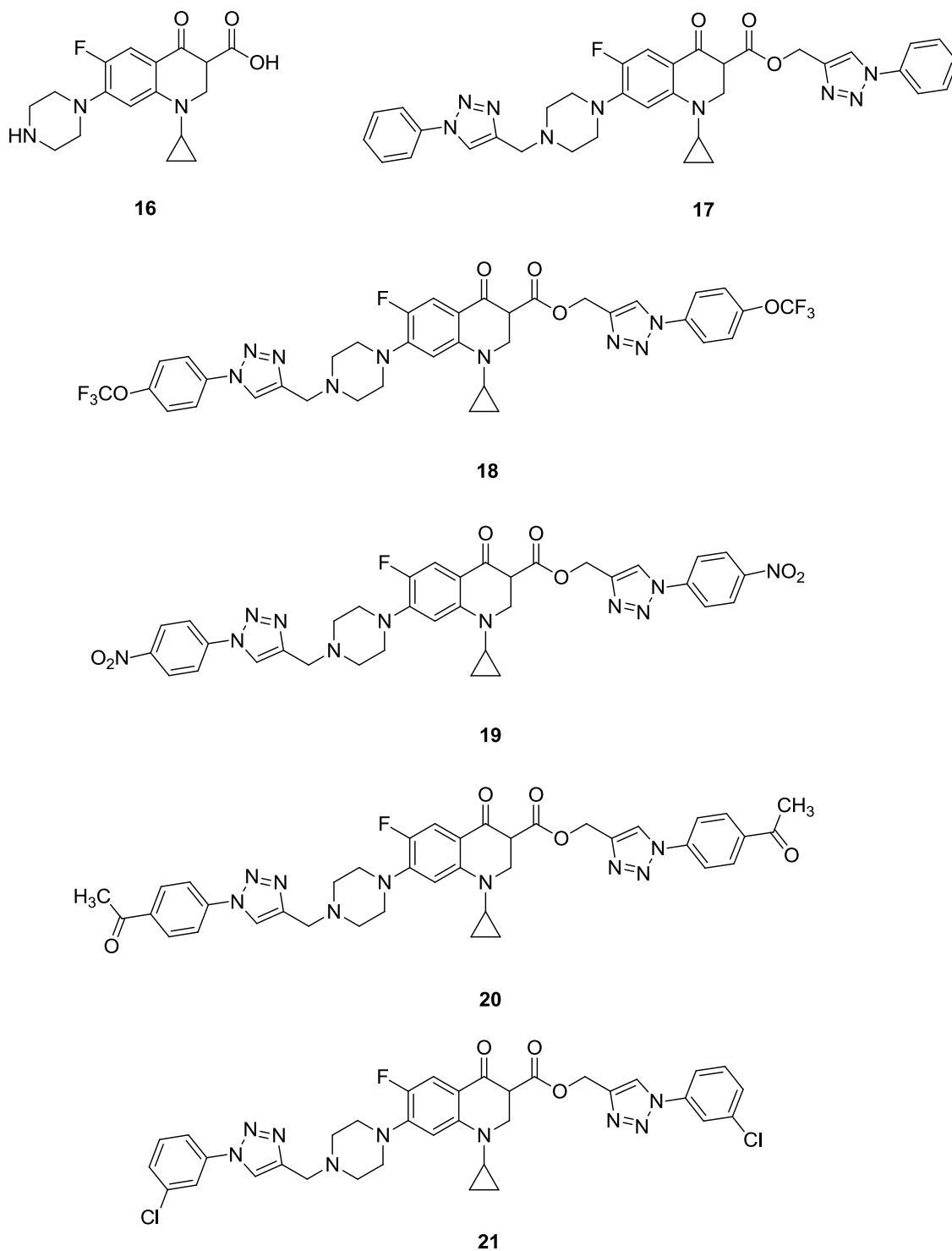


Figura 6: Derivados 1,2,3-triazólicos de ciprofloxacino. Adaptado de KANT *et al.* (2016).

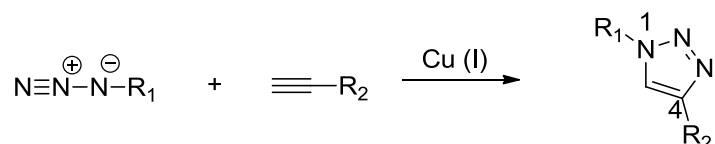
Os triazóis são de origem puramente sintética, não tendo relatos até o presente momento de compostos que apresente tal heterociclo encontrados na natureza. Os triazóis podem ser sintetizados por diversas rotas, sendo que as principais são: oxidação de fenil osazonas, ciclização [2N+1N] e a cicloadição 1,3-dipolar (MELO *et al.*, 2006). Atualmente, o método mais empregado para a

obtenção do núcleo 1,2,3-triazóis é via a cicloadição 1,3-dipolar, popularmente conhecida como química “click”.

1.2 Reações “Click”

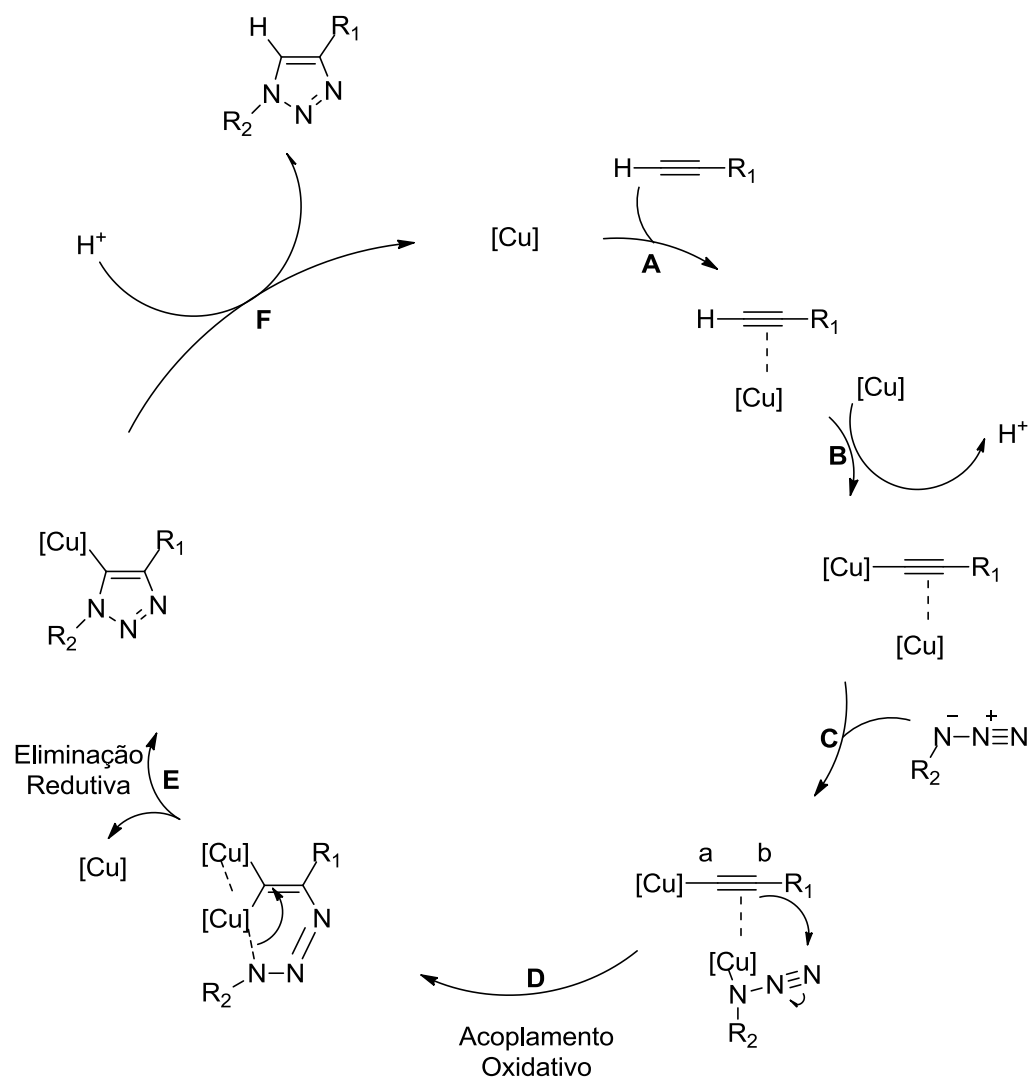
O anel de 1,2,3-triazol é um grupo farmacofórico muito bem reconhecido (MAREDDY *et al.*, 2017; HOU *et al.* 2017), o qual é derivado da cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen (EL SAYED ALY *et al.*, 2015; TALE *et al.*, 2015) entre azidas e alquinos catalisada por cobre (CuAAC) esta reação é popularmente conhecida como reação “click” (BI *et al.*, 2018).

O conceito de química “click” foi estabelecido por Sharpless e colaboradores (KOLB *et al.*, 2001) e trata-se de tipos de reação de âmbito amplo e modular, regioespecíficas, quimioseletivas e altamente eficientes, que utilizam métodos de purificação simples e condições de reação benignas (SCHULZE & SCHUBERT, 2014). Portanto, as reações “click” permitem a síntese de moléculas sob condições de reações extremamente suaves (Esquema 1).



Esquema 1: Reação CuAAC ou reação “click”.

A CuAAC produz os 1,2,3-triazóis de forma mais eficiente e com maior regioseletividade para o 1,4-regioisômero (SCHULZE & SCHUBERT, 2014). Estudos computacionais preveem os prováveis aspectos mecanísticos que explica a maior regioseletividade para a formação deste regioisômero (Esquema 2).



Esquema 2: Proposta mecanística para a reação CuAAC. Adaptado de SCHULZE & SCHUBERT, 2014.

Inicialmente, uma espécie de Cu(I) sofre uma coordenação a ligação π do alquino (**A**), o que faz aumentar a acidez do alquino terminal (pK_a cai de ~ 25 para ~ 15) e permite a coordenação subsequente de uma outra espécie de Cu(I) ao alquino ativado (**B**) em meio aquoso mesmo sem a presença de uma base adicional.

Na próxima etapa, ocorre a coordenação de uma azida no centro de coordenação π do Cu(I) (**C**). Em princípio, a coordenação da azida orgânica pode ocorrer tanto via nitrogênio substituído como do nitrogênio terminal, mas em contraste com o nitrogênio terminal, espera-se que no nitrogênio substituído ocorra um aumento da densidade eletrônica no centro metálico, o que facilitaria o acoplamento oxidativo (**D**). A seletividade observada para o 1,4-regioisômero

pode ser explicada pela preferência pela coordenação π do Cu(I) no carbono α do acetileno, que dirige um ataque nucleofílico ao carbono β terminal, o nitrogênio eletrofílico da azida coordenada sofre acoplamento oxidativo. Neste passo limitante da velocidade da reação, forma-se um metalacido de seis membros.

Este intermediário, portanto, é estabilizado por uma coordenação bimetálica geminal, uma vez que o ciclo monometálico representa uma estrutura desfavorável, possuindo excessiva densidade de elétrons.

Em última análise, a contração do anel e a expulsão do Cu(I) ocorre através da eliminação redutiva (**E**) proporcionando a triazolida ligada a Cu(I) num processo altamente exotérmico. Em meio aquoso, a triazolida de Cu(I) sofre uma protonólise (**F**) liberando o triazol livre e permitindo que o Cu(I) reinicie o ciclo catalítico.

A redução *in situ* de sais de Cu(II) é um método conveniente para produzir Cu (I) para CuAAC. As espécies de Cu(I) podem ser geradas *in situ* na reação por uma das seguintes maneiras: (i) agentes redutores, (ii) processos fotoquímicos, (iii) processos eletroquímicos redox e (iv) nanopartículas contendo cobre (TASDELEN *et al.*, 2016).

Os sais de Cu(II) podem ser facilmente reduzidos aos sais de Cu(I) no processo CuAAC por agentes redutores, tais como álcoois, aminas, aldeídos, tióis, fenóis e ácidos carboxílicos. Os agentes redutores mais frequentemente utilizados são ácido ascórbico, ascorbato de sódio, quinona, hidroquinona, vitamina K₁, glutatona e cisteína. Além disso, podem ser utilizados metais como agentes redutores para manter o estado de oxidação do catalisador de Cu(I) (TASDELEN *et al.*, 2016).

O ascorbato de sódio é o agente redutor preferencialmente utilizado nas reações “click”, isso se dá devido ao fato do ascorbato de sódio reduzir de forma eficaz o Cu(II) a Cu(I), além de ser de fácil aquisição por ser um reagente simples e barato. A combinação CuSO₄·5H₂O com o ascorbato de sódio, proposta inicialmente por Sharpless como catalisador, tornou-se o método usual para a CuAAC (TASDELEN *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2016).

As reações “click” tornaram-se uma ferramenta importante na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, além de possibilitar a modificação estrutural de moléculas bioativas já existentes.

Esta ferramenta surgiu em um momento em que a indústria farmacêutica necessitava de novos métodos para a obtenção de fármacos de forma mais rápida e simples, mas com alta eficácia.

Neste contexto, a hibridação molecular tem se mostrado uma estratégia promissora na busca por novos fármacos. A hibridação molecular baseia-se na combinação de dois ou mais fragmentos farmacofóricos bioativos conhecidos que unem-se em uma única molécula híbrida (LAL *et al.*, 2018).

Os novos híbridos podem ser dotados de atividade melhorada ou novas propriedades biológicas em comparação com os seus componentes individuais (YU *et al.*, 2016).

Apesar de ser uma estratégia emergente na descoberta de novos fármacos, a hibridação molecular vem recentemente ganhando atenção entre a comunidade científica, com vários exemplos bem sucedidos já reportados na literatura (LAL *et al.*, 2018).

O núcleo 1,2,3-triazol tem se tornado um grupo farmacofórico que desempenha papel importante na hibridação molecular devido, principalmente, apresentar elevada estabilidade a degradação metabólica, condições oxidativas/redutoras e participar ativamente na ligação a alvos biomoleculares e melhorar a solubilidade dos compostos (KANT *et al.* 2016).

Sendo assim, a hibridação molecular entre as benzofenonas, unidade já conhecidas pela sua vasta gama de atividades biológicas, e os núcleos 1,2,3-triazol mostra-se promissora para obtenção de novos compostos com atividade superior a seus precursores.

2. PROCEDIMENTO SINTÉTICO

2.1 Generalidades

Todos os reagentes e solventes foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos) e Vetec (Rio de Janeiro, Brasil) e foram utilizados sem purificação adicional.

O progresso de cada reação foi monitorizado por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de sílica pré-revestidas com suporte de alumínio (Macherey-Nagel DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄). Após a eluição, a CCD foi observada sob luz UV ($\lambda = 254$ nm) e revelada com solução de permanganato de potássio. As colunas cromatográficas foram realizadas utilizando-se sílica-gel (70-230 mesh), como fase estacionária.

Os espectros RMN de ^1H e RMN de ^{13}C foram obtidos em um espectrômetro VARIAN MERCURY 300 (Varian, Palo Alto, CA, USA) em 300 MHz e 75 MHz, respectivamente, utilizando CDCl_3 e $\text{DMSO}-d_6$ como solventes. Os dados do RMN de ^1H foram apresentados como: deslocamento químico (δ) em ppm, multiplicidade, o número de hidrogênio, e valores de J em Hertz (Hz). As multiplicidades são mostradas como as seguintes abreviaturas: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), m (multiplete). Para os derivados contendo flúor, a multiplicidade de alguns sinais de carbono é descrita juntamente com os valores de J em Hertz.

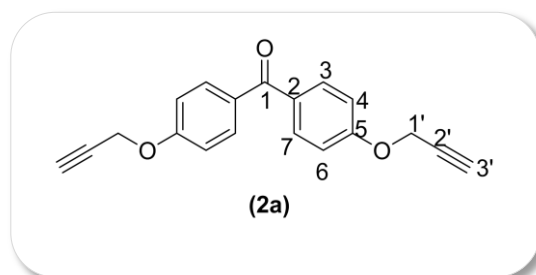
Os pontos de fusão foram registrados na MQAPF-302 Microchemistry (Microquímica Equipamentos, Santa Catarina, Brazil).

Os espectros de IV foram registrados num espectrofotômetro VARIAN 660-IR (Varian, Palo Alto, CA, USA) equipado com GladiATR scanning de 4000 para 500 cm^{-1} .

A análise de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) foi realizada na Universidade Estadual de Maringá em parceria com professor Eduardo Pilau. Foi utilizado para as análises um espectrofotômetro Quattro micro API Waters (Milford, MA, EUA) com fonte de eletrospray. O software de aquisição utilizado foi o manual MassHunter Data Acquisition.

2.2 Síntese dos Alcinos Terminais Derivados de Benzofenonas Hidroxiladas

Síntese do bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (2a)



A uma solução da 4,4'-diidroxibenzofenona (1,50 g; 7,00 mmol) em acetona (50 mL) foi adicionado carbonato de potássio (3,87 g; 28,00 mmol) e brometo de propargila (1,50 mL; 16,83 mmol). A mistura foi mantida em refluxo por 24 h. Após resfriamento a temperatura ambiente, foi adicionado a mistura água gelada/CH₂Cl₂. A fase orgânica foi extraída com acetato de etila, lavada com solução aquosa de NaCl, seca com solução sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrada e concentrada sob pressão reduzida fornecendo um sólido amarelo claro em 83% de rendimento (1,68 g; 5,79 mmol).

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

Faixa de fusão: 91,3-92,2 °C

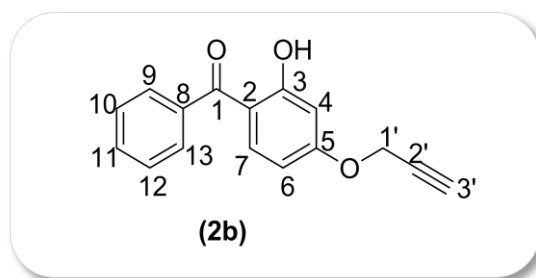
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3219, 2971, 2112, 1578, 1558, 1503, 1267 cm⁻¹ (Pág. 169).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 2,57 (s, 2H, H-3'); 4,77 (s, 4H, H-1'); 7,05 (d, 4H, J = 8,3 Hz, H-4/H-6); 7,80 (d, 4H, J = 8,3 Hz, H-3/H-7) (Pág. 59)

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ : 76,1 (C-3'); 76,6 (C-2'); 114,4 (C-4/C-6); 131,3 (C-2); 132,2 (C-3/C-7); 160,7 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 60).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₁₉H₁₅O₃: 291,1016; encontrado: 291,1016 (Pág. 172).

Síntese do 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (2b)



A uma solução da 2,4-diidroxibenzofenona (1,50 g; 5,95 mmol) em acetona (50 mL) foi adicionado carbonato de potássio (2,58 g; 18,68 mmol) e brometo de propargila (1,00 mL; 11,22 mmol). A mistura foi mantida em refluxo por 24 h. Após resfriamento a temperatura ambiente, foi adicionado a mistura água gelada/CH₂Cl₂. A fase orgânica foi extraída com acetato de etila, lavada com solução aquosa de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrada e concentrada sob pressão reduzida fornecendo um sólido branco em 61% de rendimento (1,44 g; 5,71 mmol).

CCD: R_f = 0,79 (hexano/acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 70,8-71,9 °C

IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3301, 3284, 2120, 1620, 1594, 1573, 1502, 1444, 1381, 1343, 1278, 1249, 1221, 1167, 1111, 1019, 909, 693 cm⁻¹ (Pág. 64).

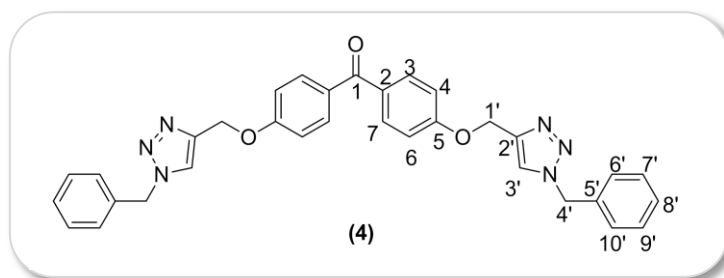
RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 2,58 (t, 1H, *J* = 2,4 Hz, H-3'); 4,74 (d, 2H, *J* = 2,1 Hz, H-1'); 6,48 (dd, 1H, *J* = 9,0 Hz e *J* = 2,7 Hz, H-6); 6,61 (d, 1H, *J* = 2,4 Hz, H-4); 7,48 (dd, 2H, *J* = 8,4 Hz e *J* = 1,5 Hz, H-10/H-12); 7,52 (s, 1H, H-11); 7,56 (d, 1H, *J* = 6,3 Hz, H-7); 7,64 (dd, 2H, *J* = 8,4 Hz e *J* = 1,5 Hz, H-9/H-13); 12,63 (s, 1H, OH) (Pág. 62).

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ : 55,9 (C-1'); 76,4 (C-3'); 102,3 (C-2'); 107,6 (C-4); 113,7 (C-6); 128,3 (C-9/C-13); 128,8 (C-10/C-12); 131,6 (C-7); 135,3 (C-11); 138,1 (C-8); 163,9 (C-3); 166,0 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 63).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₁₆H₁₃O₃: 253,0859; encontrado: 253,0855 (Pág. 170).

2.3 Síntese dos Compostos Triazólicos Derivados de Benzofenonas Hidroxiladas

Síntese da bis(4-((1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**4**)



A um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados *bis*(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,64 mmol), a azida **3a** (0,194g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol), 1,50 mL de DCM e 1,50 mL de água. Em seguida, adicionou-se $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,052 g; 0,21 mmol). A mistura reacional foi agitada vigorosamente à temperatura ambiente por aproximadamente 4 horas e monitorada por CCD. Terminada a reação, uma solução saturada de Na_2CO_3 foi adicionada e a solução resultante foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas e, em seguida, foi seca sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **4** (0,190g; 0,341 mmol) foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-diclorometano-acetato de etila (3:1:3 v/v) e concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um sólido branco em 66% de rendimento.

CCD: R_f : 0,18 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Ponto de fusão: 144,8–145,7 °C

IV (ATR) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3091, 2159, 2017, 1639, 1559, 1506, 1247 (Pág. 173).

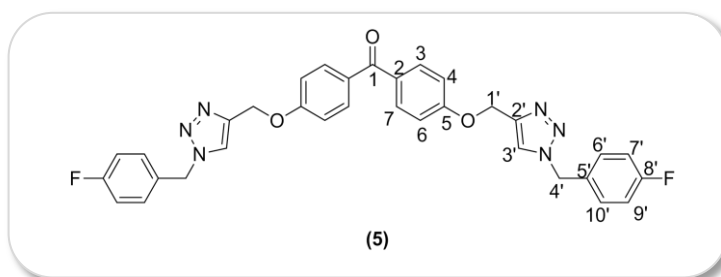
RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,25 (s, 2H, H-1'); 5,54 (s, 4H, H-4'), 7,02 (d, 4H, $J = 8,4$ Hz, H-4/H-6); 7,26–7,38 (m, 10H, H-6'/H-7'/H-8'/H-9'/H-10'); 7,56 (s, 2H, H-3'); 7,75 (d, 4H, $J = 8,4$ Hz, H-3/H-7) (Pág. 171).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 54,3 (C-4'); 62,1 (C-1'); 114,2 (C-4/C-6); 122,8 (C3'); 128,1 (C-8'); 128,9 (C-6'/C-10'); 129,2 (C-7'/C-9'); 131,1(C-2); 132,2 (C-3/C-7); 134,2 (C-5'); 143,9 (C-2'), 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 172).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{29}\text{N}_6\text{O}_3$: 557,2296; encontrado: 557,2322 (Pág. 174).

Os compostos **5-18** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto acima descrito. A seguir, estão descritas as informações relativas às reações e os dados obtidos para a sua completa identificação.

Síntese da bis(4-((1-(4-fluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**5**)



O composto **5** (0,190 g; 0,303 mmol) foi obtido como um sólido branco com 65% de rendimento a partir de bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,64 mmol), a azida **3b** (0,340 g; 1,79 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g, 0,42 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f : 0,10 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 139-140 °C

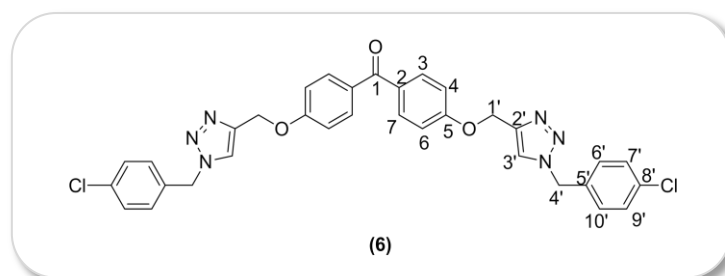
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3137, 1639, 1599, 1225 (Pág. 69).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 5,25 (s, 4H, H-1'); 5,51 (s, 4H, H-4'); 7,03 (t, 4H, $J = 8,7$ Hz, H-7'/H-9'); 7,09 (d, 4H, $J = 8,7$ Hz, H-4/H-6); 7,25–7,30 (m, 4H, H-6'/H-10'); 7,56 (s, 2H, H-3'); 7,74 (d, 4H, $J = 8,7$ Hz, H-3/H-7) (Pág. 66).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 53,5 (C-4'); 62,1 (C-1'); 114,2 (C-4/C-6); 116,2 (d, $J = 21,5$ Hz, C-7'/C-9'); 122,7 (C-3'); 130,4 (d, $J = 8,5$ Hz, C-6'/C-10'); 130,2 (d, $J = 3,2$ Hz, C-5'); 131,0 (C-2); 132,2 (C-3/C-7); 144,0 (C-2'); 161,4 (C-5); 162,9 (d, $J = 246,9$ Hz, C-8'), 194,3 (C-1) (Pág. 67).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_3$: 593,2107; encontrado: 593,2109 (Pág. 175).

Síntese da bis(4-((1-(4-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (6)



O composto **6** (0,170 g; 0,272 mmol) foi obtido como um sólido branco com 53% de rendimento a partir de *bis*(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,64 mmol), azida benzílica **3c** (0,245 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f : 0,10 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 163–164 °C

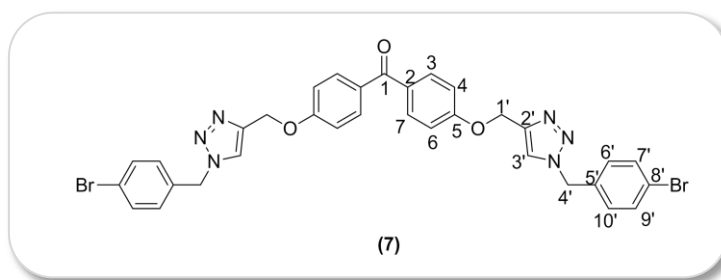
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3158, 2935, 2364, 1978, 1638, 1600, 1249 (Pág. 178).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 5,25 (s, 4H, H-1'); 5,51 (s, 4H, H-4'); 7,02 (dd, 4H, $J = 9,0$ Hz e $J = 2,3$ Hz, H-4/H-6); 7,22 (dd, 4H, $J = 8,7$ Hz e $J = 2,2$ Hz, H-6'-H-10'); 7,35 (dd, 4H, $J = 8,7$ Hz e $J = 2,2$ Hz, H-7'/H-9'); 7,57 (s, 2H, H-3'); 7,77 (dd, 4H, $J = 9,0$ Hz e $J = 2,3$ Hz, H-3/H-7) (Pág. 176).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 53,6 (C-4'); 62,0 (C-1'); 114,2 (C-4/C-6); 122,7 (C-3'); 129,4 (C-7'/C-9'); 129,5 (C-6'/C-10'); 131,1 (C-2); 132,2 (C-3/C-7); 132,8 (C-8'); 134,9 (C-5'); 144,1 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 177).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_3$: 625,1516; encontrado: 625,1513 (Pág. 179).

Síntese da bis(4-((1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (7)



O composto **7** (0,248 g, 0,347 mmol) foi obtido como um sólido branco com 71% de rendimento a partir de *bis*(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,64 mmol), a azida **3d** (0,310 g, 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f : 0,13 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 182–183 °C

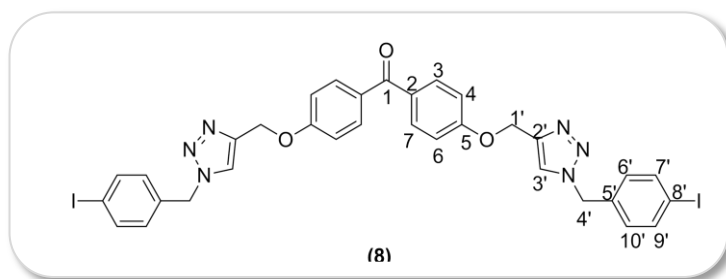
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3158, 2935, 2360, 1982, 1638, 1600, 1225 (Pág. 182).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3) δ : 5,24 (s, 4H, H-1'); 5,60 (s, 4H, H-4'); 7,16 (d, 4H, $J = 8,7$ Hz, H-4/H-6); 7,27 (d, 4H, $J = 8,1$ Hz, H-6'/H-10'); 7,57 (d, 4H, $J = 8,1$ Hz, H-7'/H-9'); 7,57 (s, 2H, H-3'); 7,69 (d, $J = 8,7$ Hz, H-3/H-7) (Pág. 180).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3) δ : 53,6 (C-1'); 62,1 (C-4'); 144,2 (C-4/C-6); 121,9 (C-8'); 125,4 (C-3'); 130,6 (C-6'/C-10'); 130,7 (C-7'/C-9'); 132,2 (C-2); 132,3 (C-3/C-7); 135,8 (C-5'); 143,0 (C-2'); 161,7 (C-5); 194,6 (C-1) (Pág. 181).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{Br}_2\text{N}_6\text{O}_3$: 713,0506; encontrado: 713,0515 (Pág. 183).

Síntese da bis(4-((1-(4-iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (8)



O composto **8** (0,055 g; 0,062 mmol) foi obtido como um sólido branco com 42% de rendimento a partir de *bis*(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,64 mmol), a azida **3e** (0,375 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f : 0,18 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 190-191 °C

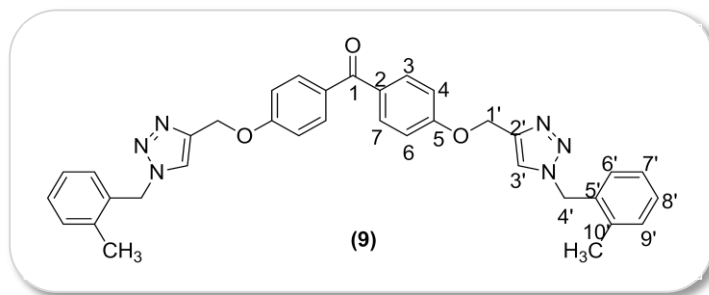
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3102, 2163, 1734, 1634, 1601, 1582, 1278 (Pág. 187).

RMN de ^1H (300 Hz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 5,25 (s, 4H, H-1'); 5,58 (s, 4H, H-4'); 7,12 (d, 4H, $J = 8,1$ Hz, H-4/H-6), 7,17 (d, 4H, $J = 8,6$ Hz, H-6'/H-10'); 7,67 (d, 4H, $J = 8,6$ Hz, H-7'/H-9'); 7,74 (d, 4H, $J = 8,1$ Hz, H-3/H-7); 8,32 (s, 2H, H-3') (Pág. 184).

RMN de ^{13}C (75 Hz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 52,7 (C-4'); 61,8 (C-1'); 94,9 (C-8'); 114,9 (C-4/C-6); 125,4 (C-3'); 130,6 (C-6'/C-10'); 130,7 (C-2); 132,2 (C-3/C-7); 136,2 (C-5'), 138,0 (C-7'/C-9'); 142,9 (C-2'); 161,7 (C-5); 193,6 (C-1) (Pág. 185).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[M+H]^+$: Calculado para $C_{33}H_{27}I_2N_6O_3$: 809,0228; encontrado: 809,0202 (Pág. 187).

Síntese da bis(4-((1-(2-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (9)



O composto **9** (0,165 g; 0,282 mmol) foi obtido como um sólido branco com 55% de rendimento a partir de *bis*(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,64 mmol), a azida **3f** (0, 214 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e $CuSO_4 \cdot H_2O$ (0,052 g; 0,21 mmol).

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

Faixa de fusão: 186,7-187,6 °C

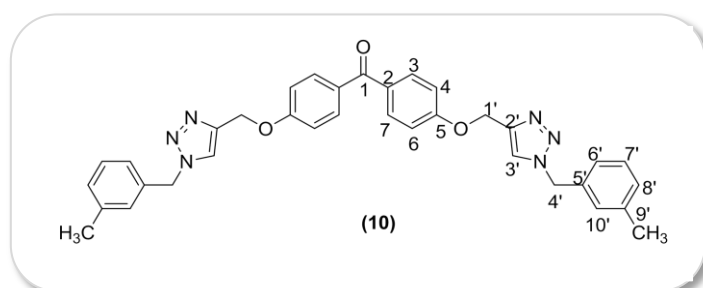
IV (ART) ν_{max}/cm^{-1} : 3099, 2921, 1970, 1639, 1601, 1258199 (Pág. 190).

RMN de ^1H (300 Hz, $CDCl_3$) δ : 2,28 (s, 6H, CH_3); 5,24 (s, 4H, H-1'); 5,56 (s, 4H, H-4'); 7,02 (d, 4H, $J = 8,4$ Hz, H-4/H-6); 7,20–7,33 (m, 8H, H-6'/H-7'/H-8'/H-9'), 7,44 (s, 2H, H-3'), 7,75 (d, 4H, $J = 8,4$ Hz, H-3/H-7) (Pág. 188).

RMN de ^{13}C (75 Hz, $CDCl_3$) δ : 18,9 (CH_3); 52,5 (C-4'); 62,1 (C-1'); 114,3 (C-4/C-6); 122,6 (C-3'); 126,7 (C-7'); 129,3 (C-8'); 129,5 (C-6'); 131,0 (C-9'); 131,1 (C-3/C-7); 132,2 (C-5'); 136,9 (C-10'); 143,7 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 189).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[M+H]^+$: Calculado para $C_{35}H_{33}N_6O_3$: 585,2609; encontrado: 585,2609 (Pág. 191).

Síntese da bis(4-((1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**10**)



O composto **10** (0,126g; 0,215 mmol) foi obtido como um sólido branco com 42% de rendimento a partir de bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,64 mmol), a azida **3g** (0,214 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄·H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f: 0,25 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 130-131 °C

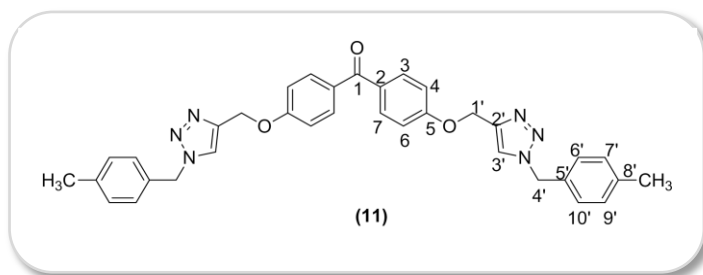
IV (ART) ν_{max} /cm⁻¹: 3122, 2944, 2165, 1976, 1640, 1596, 1236 (Pág. 194).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 2,34 (s, 6H, CH₃); 5,25 (s, 4H, H-1'); 5,50 (s, 4H, H-4'); 7,02 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-4/H-6); 7,06–7,09 (m, 4H, H-8'/H-10'); 7,17 (d, 2H, J = 7,5 Hz, H-6'); 7,26 (t, 2H, J = 8,4 Hz, H-7'); 7,56 (s, 2H, H-3'); 7,75 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-3/H-7) (Pág. 192).

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ : 21,3 (CH₃); 54,3 (C-4'); 62,1 (C-1'); 114,2 (C-4/C-6); 122,7 (C-3'); 125,2 (C-6'); 128,9 C-8'); 129,0 (C-7'); 129,6 (C-10'); 131,1 (C-2); 132,2 (C-3/C-7); 134,2 (C-5'); 139,0 (C-9'); 143,8 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 193).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₃₅H₃₃N₆O₃: 585,2609; encontrado: 585,2600 (Pág. 195).

Síntese da bis(4-((1-(4-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**11**)



O composto **11** (0,177 g; 0,30 mmol) foi obtido como um sólido branco com 59% de rendimento a partir de *bis*(4-(prop-2-ino-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,52 mmol), a azida **3h** (0, 214 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f: 0,18 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 134-135 °C

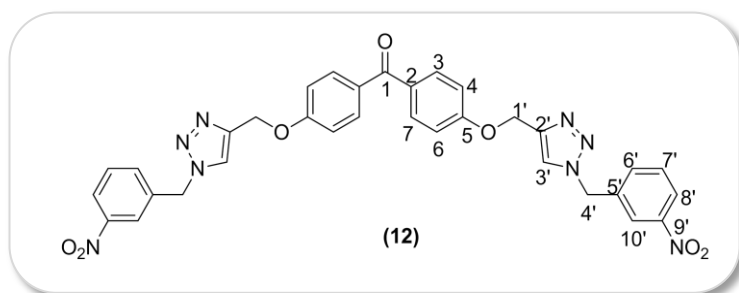
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3031, 2917, 2364, 2022, 1976, 1640, 1599, 1246 (Pág. 198).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl₃) δ : 2,35 (s, 6H, CH₃); 5,24 (s, 4H, H-1'); 5,49 (s, 4H, H-4'); 7,02 (d, 4H, $J = 8,1$ Hz, H-4/H-6); 7,20 (s, 4H, H-6'/H-7'/H-9'/H-10'); 7,53 (s, 2H, H-3'), 7,75 (d, 4H, $J = 8,1$ Hz, H-3/H-7) (Pág. 196).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl₃) δ : 21,2 (CH₃); 54,1 (C-4'); 62,1 (C-1'); 114,2 (C-4/C-6); 122,7 (C-3'); 128,2 (C-6'/C-10'); 129,8 (C-7'/C-9'); 131,0 (C-2); 131,3 (C-5'); 132,2 (C-3/C-7); 138,9 (C-8'); 143,8 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 197).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para C₃₅H₃₂N₆O₃: 585,2609; encontrado: 585,2604 (Pág. 199).

Síntese da bis(4-((1-(3-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**12**)



O composto **12** (0,181 g; 0,280 mmol) foi obtido como um sólido branco com 54% de rendimento a partir de bis(4-(prop-2-in-1-ilo)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,52 mmol), a azida **3i** (0,206 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f: 0,10 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 171–172 °C

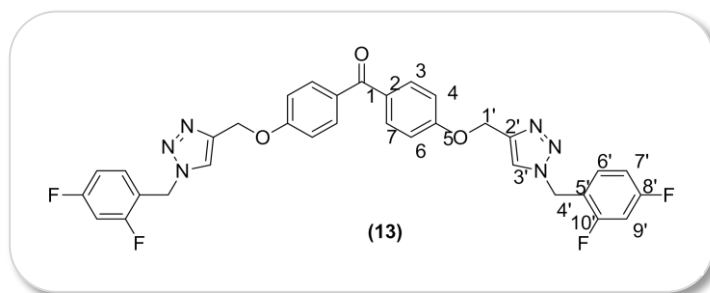
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3101, 2351, 1976, 1642, 1599, 1528, 1246 (Pág. 202).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 5,30 (s, 4H, H-1'); 5,66 (s, 4H, H-4'); 7,03 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-4/H-6); 7,56–7,61 (m, 4H, H-6'/H-7'); 7,67 (s, 2H, H-3'); 7,76 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-3/H-7); 8,17 (s, 2H, H-10'); 8,24 (d, 4H, J = 7,2 Hz, H-8') (Pág. 200).

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ : 53,3 (C-4'); 62,0 (C-1'); 114,3 (C-4/C-6); 122,9 (C-3'); 123,9 (C-8'); 130,4 (C-10); 131,2 (C-7'); 132,2 (C-2); 133,9 (C-3/C-7); 136,4 (C-6'); 144,5 (C-2'); 148,6 (C-9'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 201).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₃₃H₂₇N₈O₇: 647,1997; encontrado: 647,1995 (Pág. 203).

Síntese da bis(4-((1-(2,4-difluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**13**)



O composto **13** (0,185 g; 0,294 mmol) foi obtido como um sólido branco com 57% de rendimento a partir de *bis*(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,52 mmol), a azida **3j** (0,246 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

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

Faixa de fusão: 180– 181 °C

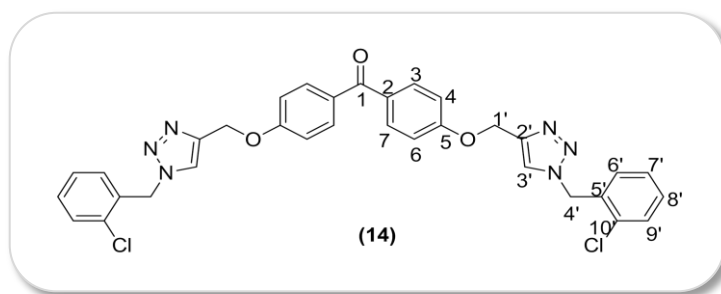
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3140, 2886, 2009, 1978, 1638, 1600, 1259 (Pág. 206).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 5,26 (s, 4H, H-1'), 5,56 (s, 4H, H-4'); 6,85–6,92 (m, 4H, H-6'/H-7'); 7,03 (d, 4H, *J* = 8,7 Hz, H-4/H-6); 7,26–7,36 (m, 2H, H-9'); 7,70 (s, 2H, H-3'); 7,76 (d, 4H, *J* = 8,7 Hz, H-3/H-7) (Pág. 204).

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ : 47,3 (d, *J* = 3,8 Hz, C-4'); 62,0 (C-1'); 104,5 (t, *J* = 25,2 Hz, C-9'); 112,2 (dd, *J* = 21,5 Hz e *J* = 3,8 Hz, C-7'); 114,2 (C-4/C-6); 117,8 (dd, *J* = 14,9 Hz e *J* = 3,8 Hz, C-5'); 122,8 (C-3'); 131,1 (C-3/C-7); 131,8 (dd, *J* = 9,9 Hz e *J* = 4,8 Hz, C-6'); 132,2 (C-2), 144,0 (C-2'); 161,4 (C-5); 162,1 (dd, *J* = 52,1 Hz e *J* = 12,0 Hz, C-8'/C-10'); 194,3 (C-1) (Pág. 205).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO *m/z* [M+H]⁺: Calculado para C₃₃H₂₅F₄N₆O₃: 629,1919; encontrado: 629,1911 (Pág. 207).

Síntese da bis(4-((1-(2-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**14**)



O composto **14** (0,193 g; 0,310 mmol) foi obtido como um sólido branco com 60% de rendimento a partir de bis(4-(prop-2-ino-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,52 mmol), a azida **3k** (0,244 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

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

Faixa de fusão: 176-177 °C

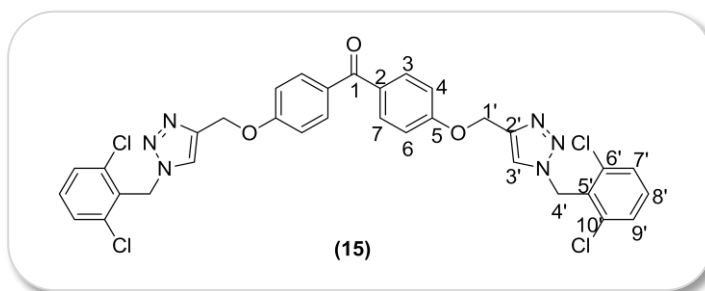
IV (ART) ν_{max} /cm⁻¹: 3098, 2943, 1970, 1640, 1599, 1257 (Pág. 210).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 5,27 (s, 4H, H-1'); 5,68 (s, 4H, H-4'); 7,03 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-4/H-6); 7,21–7,34 (m, 6H, H-6'/H-7'/H-8'); 7,43 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-9'); 7,67 (s, 2H, H-3'); 7,75 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-3/H-7) (Pág. 208).

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ : 51,5 (C-4'); 62,0 (C-1'); 114,3 (C-4/C-6); 123,1 (C-3'); 127,6 (C-7'); 129,9 (C-8'); 130,4 (C-6'); 130,5 (C-9'); 131,1 (C-2); 132,2 (C-3/C-7); 132,2 (C-10'); 133,5 (C-5'); 143,8 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 209).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₃₃H₂₇Cl₂N₆O₃: 625,1516; encontrado: 625,1505 (Pág. 211).

Síntese da bis(4-((1-(2,6-diclorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**15**)



O composto **15** (0,204 g; 0,294 mmol) foi obtido como um sólido branco com 57% de rendimento a partir de *bis*(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,52 mmol), a azida **3l** (0,295 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f: 0,33 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 187-188 °C

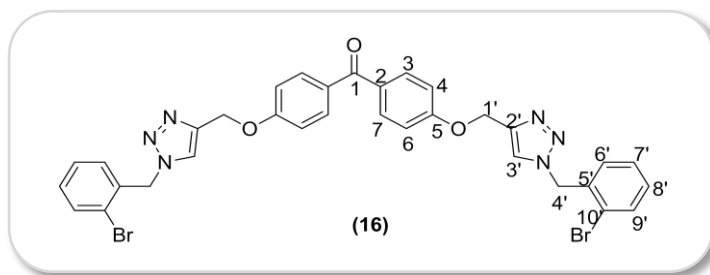
IV (ART) ν_{max} /cm⁻¹: 3094, 2354, 1976, 1642, 1600, 1256 (Pág. 214).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 5,24 (s, 4H, H-1'); 5,87 (s, 4H, H-4'); 7,03 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-4/H-6); 7,25–7,33 (m, 2H, H-8'); 7,41 (d, J = 8,1 Hz, H-7'/H-9'); 7,62 (s, 2H, H-3'); 7,75 (d, 4H, J = 8,7 Hz, H-3/H-7) (Pág. 212).

RMN de ¹³C (75 Hz, CDCl₃) δ : 49,1 (C-4'); 62,1 (C-1'); 114,3 (C-4/C-6); 122,7 (C-3'); 128,9 (C-7'/C-9'); 129,9 (C-8'); 131,1 (C-2); 131,2 (C-5'); 132,2 (C-3/C-7); 136,8 (C-6'/C-10'); 143,4 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 213).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+Na]⁺: Calculado para C₃₃H₂₄Cl₄N₆NaO₃: 717,3833; encontrado: 717,0584 (Pág. 215).

Síntese da bis(4-((1-(2-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**16**)



O composto **16** (0,295 g; 0,413 mmol) foi obtido como um sólido branco com 51% de rendimento a partir de bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,52 mmol), a azida **3m** (0,295 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f: 0,24 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 166-167 °C

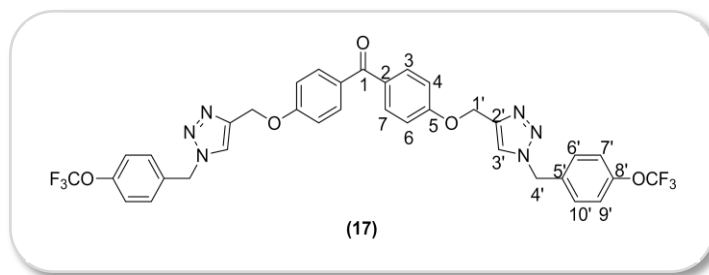
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3096, 2366, 1976, 1640, 1596, 1232 (Pág. 218).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 5,28 (s, 4H, H-1'); 5,68 (s, 4H, H-4'); 7,03 (d, 4H, J = 8,1 Hz, H-4/H-6); 7,20–7,29 (m, 6H, H-6'/H-7'/H-8'); 7,33 (d, 2H, J = 7,8 Hz, H-9'); 7,68 (s, 2H, H-3'); 7,64 (d, 4H, J = 8,1 Hz, H-3/H-7) (Pág. 216).

RMN de ¹³C (300 Hz, CDCl₃) δ : 53,9 (C-4'); 62,1 (C-1'); 114,3 (C-4/C-6); 123,1 (C-3'); 123,5 (C-10'); 128,3 (C-7'); 130,4 (C-8'); 130,5 (C-6'); 131,1 (C-3/C-7); 132,2 (C-5'); 133,3 (C-9'); 133,9 (C-2); 143,8 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 217).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+Na]⁺: Calculado para C₃₃H₂₆Br₂N₆NaO₃: 737,3952; encontrado: 737,0310 (Pág. 219).

Síntese da bis(4-((1-(4-trifluorometoxi)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**17**)



O composto **17** (0,100 g; 0,139 mmol) foi obtido como um sólido branco com 58% de rendimento a partir de bis(4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,050 g; 0,17 mmol), a azida **3n** (0,150 g; 0,69 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f: 0,11 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 178-179 °C

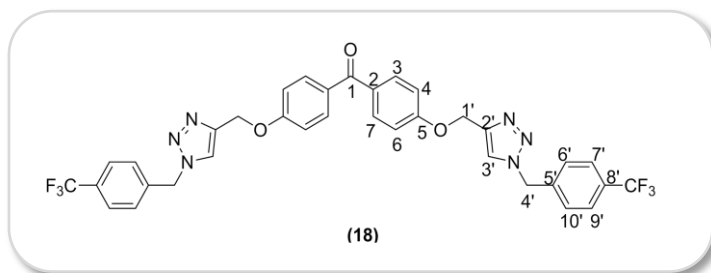
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3131, 2186, 1976, 1640, 1600, 1251 (Pág. 222).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl₃) δ : 5,27 (s, 4H, H-1'); 5,61 (s, 4H, H-4'); 7,02 (d, J = 8,7 Hz, H-7'/H-9'); 7,38 (d, 4H, J = 8,4 Hz, H-4/H-6); 7,63 (d, 6H, J = 9,6 Hz, H-3'/H-6'/H-10'); 7,75 (d, 4H, J = 8,4 Hz, H-3/H-7) (Pág. 220).

RMN de ^{13}C (300 Hz, CDCl₃) δ : 53,6 (C-4'); 62,0 (C-1'); 114,2 (C-4/C-6); 122,9 (C-3'); 123,7 (q, J = 270,75 Hz, OCF₃); 126,2 (q, J = 7,5 Hz, C-7'/C-9'); 128,3 (C-2); 131,1 (q, J = 18,64 Hz, C-6'/C-10'); 132,2 (C-3/C-7); 138,3 (C-5'); 144,3 (C-2'); 161,3 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 221).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₃₅H₂₇F₆N₆O₅: 725,1942; encontrado: 725,1936 (Pág. 223).

Síntese da bis(4-((1-(4-trifluorometil)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**18**)



O composto **18** (0,209 g; 0,30 mmol) foi obtido como um sólido branco com 58% de rendimento a partir de bis(4-(prop-2-ino-1-iloxi)benzofenona (**2a**) (0,150 g; 0,52 mmol), a azida **3o** (0,293 g; 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g; 0,42 mmol) e CuSO₄.H₂O (0,052 g; 0,21 mmol).

CCD: R_f: 0,13 (hexano/diclorometano/acetato de etila 3:1:3 v/v)

Faixa de fusão: 161-162 °C

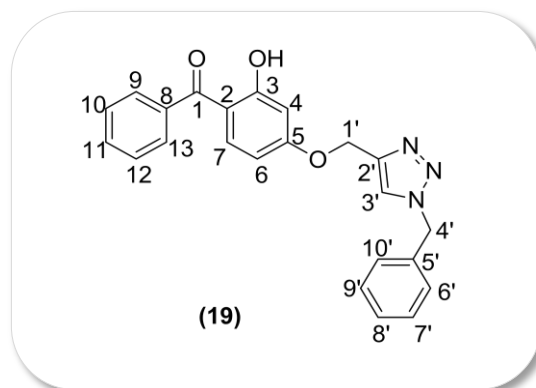
IV (ART) ν_{max} /cm⁻¹: 3109, 2608, 1605, 1598, 1246 (Pág. 226).

RMN de ¹H (300 Hz, CDCl₃) δ : 5,27 (s, 4H, H-1'); 5,53 (s, 4H, H-4'); 7,03 (d, 4H, J = 7,8 Hz, H-4/H-6); 7,23 (d, 4H, J = 8,3 Hz, H-6'/H-10'); 7,32 (d, 4H, J = 8,3 Hz, H-7'/H-9'); 7,60 (s, 2H, H-3'); 7,76 (d, 4H, J = 7,8 Hz, H-3/H-7) (Pág. 224).

RMN de ¹³C (300 Hz, CDCl₃) δ : 53,4 (C-4'); 62,0 (C-1'); 114,2 (C-4/C-6); 120,3 (q, J = 256,5 Hz, CF₃); 121,6 (C-3'); 122,8 (C-7'/C-9'); 129,6 (C-6'/C-10'); 131,1 (C-8'); 132,2 (C-2), 133,0 (C-3/C-7); 144,2 (C-5'); 149,5 (C-2'); 161,4 (C-5); 194,3 (C-1) (Pág. 225).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z [M+H]⁺: Calculado para C₃₅H₂₇F₆N₆O₃: 693,2043; encontrado: 693,2024 (Pág. 227).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona
(19)



A um balão de fundo redondo (10 mL) foram adicionados 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g, 0,64 mmol), a azida **3a** (0,194 g, 1,46 mmol), ascorbato de sódio (0,082 g, 0,42 mmol), 1,50 mL de DCM e 1,50 mL de água. Em seguida, adicionou-se $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,052 g, 0,21 mmol). A mistura reacional foi agitada vigorosamente à temperatura ambiente por aproximadamente 1 hora e monitorada por CCD. Terminada a reação, uma solução aquosa de Na_2CO_3 foi adicionada e a solução resultante foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas e, em seguida, foi seca sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **19** (0,172 g; 0,446 mmol) foi purificado por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v) e concentrado sob pressão reduzida, fornecendo um sólido branco em 78% de rendimento.

CCD: R_f : 0,33 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 98,4-99,8 °C

IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3137, 2923, 2856, 2364, 2159, 2021, 1618, 1596, 1573, 1497, 1340, 1252, 1161, 1111, 1049, 1001, 978, 805, 679, 619 cm^{-1} (Pág. 230).

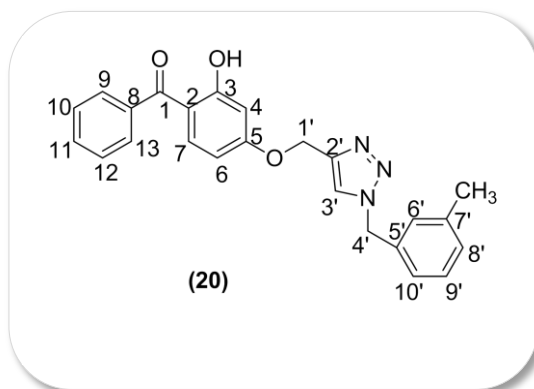
RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,21 (s, 2H, H-1'); 5,54 (s, 2H, H-4'); 6,46 (dd, 1H, $J = 8,9$ Hz e $J = 2,1$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 7,28 (dd, 1H, $J = 6,8$ Hz e $J = 2,2$ Hz, H-6'); 7,36-7,38 (m, 3H, H-7'/H-8'/H-9'); 7,45-7,53 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,57 (s, 1H, H-3'); 7,61 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-9/H-13); 12,64 (s, 1H, OH) (Pág. 228).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 54,2 (C-4'); 62,0 (C-1'); 102,0 (C-4); 107,4 (C-6); 113,4 (C-2); 122,8 (C-3'); 122,9 (C-8'); 128,1 (C-10/C-12); 128,3 (C-6'/C-10'); 129,1 (C-7'/C-9'); 131,5 (C-9/C-13); 134,2 (C-7); 135,3 (C-5'); 135,4 (C-8); 138,0 (C-2'); 164,5 (C-3); 166,0 (C-5); 200,0 (C-1) (Pág. 229).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_3$: 386,1499; encontrado 386,1497 (Pág. 231).

Os compostos **20-29** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto acima descrito. A seguir, estão descritas as informações relativas às reações e os dados obtidos para a sua completa identificação.

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (20)



O composto **20** (0,212 g; 0,531 mmol) foi obtido como um sólido branco com 89% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-ilo)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3g** (0,104 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f : 0,47 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

FAixa de fusão: 77,0-78,0 °C

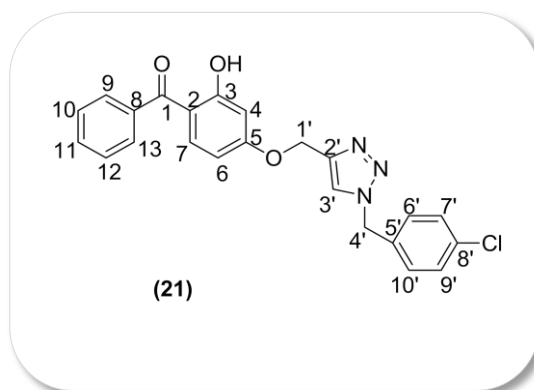
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3138, 3058, 2923, 2366, 1618, 1574, 1501, 1445, 1341, 1254, 1189, 1162, 1113, 1003, 910, 699 cm^{-1} (Pág. 234).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 2,34 (s, 3H, CH_3); 5,22 (s, 2H, H-1'); 5,50 (s, 2H, H-4'); 6,46 (dd, 1H, $J = 9,0$ Hz e $J = 2,1$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 7,08 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-6'/H-8'); 7,17 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-10'); 7,26 (t, 1H, 7,5 Hz, H-9'); 7,46-7,54 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 12,63 (s, 1H, OH) (Pág. 232).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 21,1 (CH_3); 54,3 (C-4'); 62,1 (C-1'); 102,1 (C-4); 107,5 (C-6); 113,5 (C-2); 122,8 (C-3'); 122,9 (C-10'); 125,2 (C-8'); 128,3 (C-10/C-12); 128,9 (C-9'); 129,0 (C-9/C-13); 129,6 (C-6'); 131,5 (C-7); 134,2 (C-11); 135,4 (C-5'); 138,1 (C-8); 139,1 (C-7'); 143,4 (C-2'); 164,6 (C-3); 166,1 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 233).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3$: 400,1656; encontrado 400,1657 (Pág. 235).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-clorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (21)



O composto **21** (0,177 g; 0,422 mmol) foi obtido como um sólido branco com 71% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-ilo)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3c** (0,119 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f : 0,30 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 87,6-88,8 $^{\circ}\text{C}$

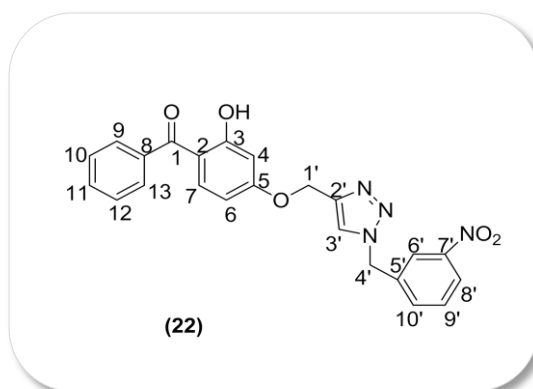
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3138, 3058, 3028, 2923, 2366, 1618, 1574, 1501, 1406, 1445, 1341, 1253, 1225, 1161, 1188, 1111, 1049, 1002, 978, 909, 801, 734, 698, 615 (Pág. 238).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,22 (s, 2H, H-1'); 5,51 (s, 2H, H-4'); 6,46 (dd, 1H, $J_1 = 2,1$ Hz e $J_2 = 9,0$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 7,15 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-6'/H-10'); 7,35 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-7'/H-9'); 7,46-7,54 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,57 (s, 1H, H-3'); 7,61 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz, H-9/H-13), 12,64 (s, 1H, OH) (Pág. 236).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 53,6 (C-4'); 62,1 (C-1'); 102,1 (C-4); 107,4 (C-6); 113,6 (C-2); 122,8 (C-3'); 122,9 (C-10/C-12); 128,3 (C-9/C-13); 128,8 (C-7'/C-9'); 129,4 (C-6'/C-10'); 129,5 (C-7); 131,6 (C-11); 132,8 (C-8'); 134,9 (C-5'); 138,1 (C-8); 143,6 (C-2'); 164,5 (C-3); 166,0 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 237).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_3$: 420,1109; encontrado 420,1109 (Pág. 239).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(3-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (**22**)



O composto **22** (0,186 g; 0,422 mmol) foi obtido como um sólido branco com 73% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,126 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f : 0,24 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

FAixa de fusão: 127,9-128,3 °C

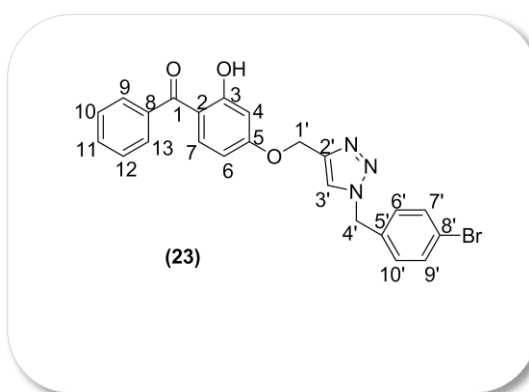
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3143, 3058, 2966, 2933, 1700, 1619, 1597, 1574, 1492, 1341, 1253, 1225, 1161, 1188, 1111, 1002, 909, 801, 734, 698, 615 (Pág. 242).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,25 (s, 2H, H-1'); 5,66 (s, 2H, H-4'); 6,46 (dd, 1H, $J_1 = 2,1\text{Hz}$ e $J_2 = 9\text{ Hz}$, H-6); 6,58 (s, 1H, H-4); 7,45-7,62 (m, 8H, H-7/H-9/H-10/H-11/H-12/H-13/H-9'/H-10'); 7,69 (s, 1H, H-3'); 8,16 (s, 1H, H-8'); 8,21 (d, 1H, $J = 7,5\text{ Hz}$, H-8'); 12,62 (s, 1H, OH) (Pág. 240).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 53,2 (C-4'); 62,0 (C-1'); 102,1 (C-4); 107,4 (C-6); 113,9 (C-2); 123,0 (C-3'); 123,1 (C-8'); 123,9 (C-6'); 128,3 (C-10/C-12); 128,8 (C-9/C-13); 130,4 (C-9'); 131,6 (C-7); 133,7 (C-11); 135,5 (C-10'); 136,4 (C-8); 138,0 (C-5'), 143,9 (C-2'); 148,5 (C-7'); 164,5 (C-3); 166,0 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 241).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_5$: 431,1349; encontrado 431,1353 (Pág. 243).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (23)



O composto **23** (0,261 g; 0,562 mmol) foi obtido como um sólido branco com 95% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,149 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f : 0,41 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 121,3-122,2 °C

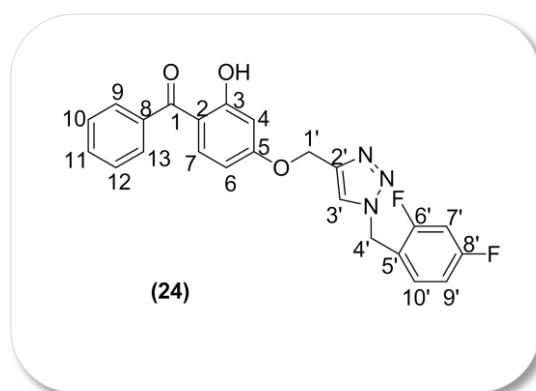
IV (ART) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3143, 3058, 2929, 1700, 1618, 1597, 1574, 1528, 1502, 1445, 1344, 1253, 1225, 1189, 1162, 1112, 1003, 979, 909, 836, 803, 732, 732, 699, 629 (Pág. 247).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,22 (s, 2H, H-1'); 5,49 (s, 2H, H-4'); 6,46 (dd, 1H, $J_1 = 2,3$ Hz e $J_2 = 8,7$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 7,15 (d, 2H, H-6'/ H-10'); 7,46-7,63 (m, 9H, H-3'/H-7'/H-9'/H-7/H-9/H-10/H-11/H-12/H-13); 12,64 (s, 1H, OH) (Pág. 245).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 53,6 (C-4'); 62,1 (C-1'); 102,1 (C-4); 107,4 (C-6); 113,6 (C-2); 122,8 (C-8'); 122,9 (C-3'); 123,1 (C-10/C-12); 128,3 (C-9/C-13); 128,8 (C-6'/C-10'); 129,7 (C-7); 131,6 (C-7'/C-9'); 132,4 (C-11); 133,3 (C-5'); 138,1 (C-8); 143,6 (C-2'), 164,6 (C-3); 166,1 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 246).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{BrN}_3\text{O}_3$: 464,0604; encontrado 464,0601 (Pág. 248).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(2,4-difluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (24)



O composto **24** (0,116 g; 0,401 mmol) foi obtido como um sólido branco com 46% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,117 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f: 0,32 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 108,6-109,6 °C

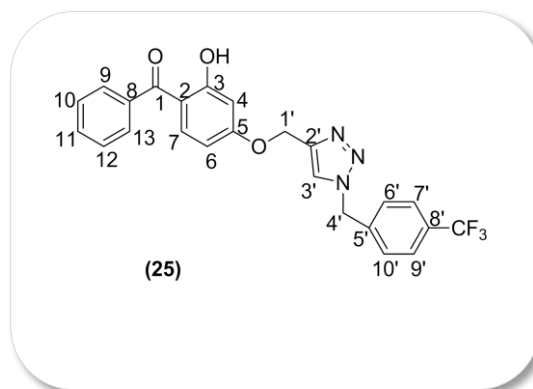
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3151, 3099, 2923, 1621, 1595, 1573, 1505, 1445, 1429, 1349, 1342, 1281, 1260, 1184, 1159, 1121, 1095, 1047, 1004, 979, 936, 910, 846, 788, 696, 629, 654 (Pág. 250).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,22 (s, 2H, H-1'); 5,56 (s, 2H, H-4'); 6,47 (dd, 1H, $J_1 = 2,0$ Hz e $J_2 = 9,0$ Hz, H-6); 6,60 (s, 1H, H-4); 6,88-6,92 (m, 2H, H-7'/ H-9'); 7,26-7,36 (m, 1H, H-10'); 7,46-7,56 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,62 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-9/H-13); 7,67 (s, 1H, H-3'); 12,63 (s, 1H, OH) (Pág. 248).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 47,3 (C-4'); 62,1 (C-1'); 102,2 (C-4); 104,4 (q, $J = 25,6$ Hz, H-7'); 107,4 (C-6); 112,3 (C-9'); 113,5 (C-2); 123,0 (C-3'); 128,3 (C-10/C-12); 128,8 (C-9/C-13); 131,6 (C-7); 131,7 (q, $J = 5,0$ HZ, C-10'); 135,4 (C-11); 138,1 (C-8); 143,5 (C-2'), 164,6 (C-3); 166,1 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 249).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$: 422,1310; encontrado 422,1309 (Pág. 251).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-(trifluorometil)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (25)



O composto **25** (0,253 g; 0,558 mmol) foi obtido como um sólido branco com 94% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,143 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f: 0,28 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

FAixa de fusão: 132,9-133,5 ° C

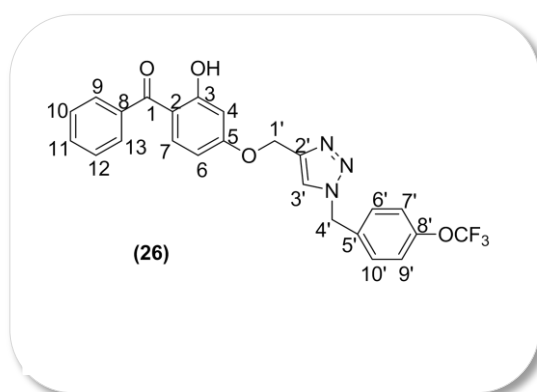
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3137, 3087, 2926, 2366, 2016, 1618, 1597, 1573, 1503, 1445, 1419, 1322, 1252, 1159, 1111, 1065, 1017, 920, 808, 701 cm^{-1} (Pág. 72).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,23 (s, 2H, H-1'); 5,61 (s, 2H, H-4'); 6,47 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 7,38 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz, H-6'/H-10'); 7,45-7,56 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,60-7,62 (m, 4H, H-9/H-13/H-7'/H-9'); 7,65 (s, 1H, H-3'); 12,61 (s, 1H, OH) (Pág. 70).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 53,6 (C-4'); 62,1 (C-1'); 102,2 (C-4); 107,4 (C-6); 113,6 (C-2); 122,9 (C-3'); 126,1 (q, $J_1 = 3,6$ Hz e $J_2 = 7,5$ Hz, C-7'/C-9'); 128,2 (C-10/C12); 128,3 (C-9/C-13); 128,8 (C-8'); 131,5 (C-6'/C-10'); 135,4 (C-8); 138,1 (C-5'); 143,8 (C-2'); 164,5 (C-3); 166,1 (C-5), 200,1 (C-1) (Pág. 71).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3$: 454,1373; encontrado 454,1374 (Pág. 252).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(4-(trifluorometoxi)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (26)



O composto **26** (0,261 g; 0,556 mmol) foi obtido como um sólido branco com 93% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-ilo)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,143 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f: 0,28 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 97,3-98,5 °C

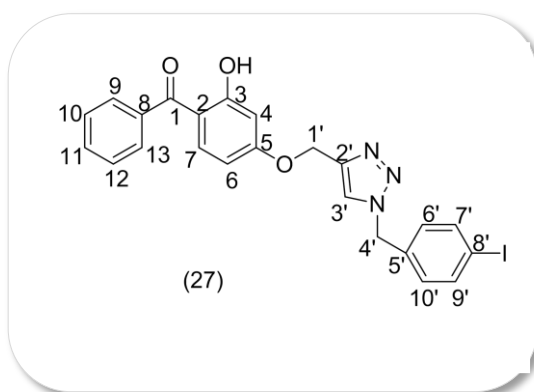
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3135, 2923, 2852, 2364, 2163, 1702, 1619, 1597, 1508, 1445, 1342, 1250, 1217, 1157, 1111, 1002, 918, 808, 699, 598 cm^{-1} (Pág. 255).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,22 (s, 2H, H-1'); 5,54 (s, 2H, H-4'); 6,45 (dd, 1H, $J_1 = 1,8$ Hz e $J_2 = 9,0$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 7,21 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-7'/H-9'); 7,31 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, H-6'/H-10'); 7,44-7,55 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,59 (s, 2H, H-9/H-13); 7,62 (s, 1H, H-3'); 12,60 (s, 1H, OH) (Pág. 253).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 53,4 (C-4'); 62,1 (C-1'); 102,2 (C-4); 107,4 (C-6); 113,6 (C-2); 120,4 (q, $J = 249,5$ Hz, OCF_3); 121,5 (C-7'/C-9'); 122,8 (C-10/C-12); 128,3 (C-6'/C-10'); 128,8 (C-9/C-13); 129,6 (C-7); 131,5 (C-11); 133,1 (C-5'); 135,4 (C-8); 149,5 (C-8'); 164,4 (C-3); 166,1 (C-5); 200,0 (C-1) (Pág. 254).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$: 470,1322; encontrado 470,1318 (Pág. 256).

Síntese da 2-hidroxi-4-((1-(4-iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (27)



O composto **27** (0,231 g; 0,452 mmol) foi obtido como um sólido branco com 78% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,184 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f: 0,28 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 144,8-145,8 °C

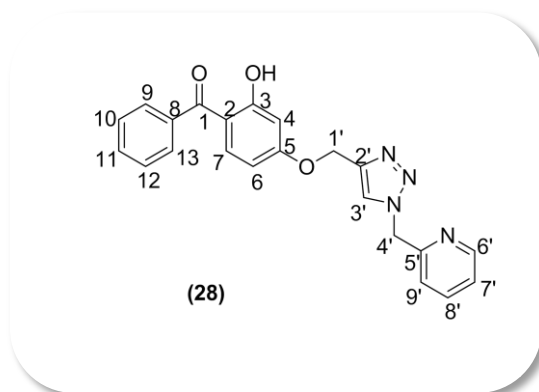
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3141, 3060, 2922, 2853, 2360, 1734, 1618, 1595, 1574, 1501, 1486, 1445, 1402, 1341, 1252, 1188, 1112, 977, 935, 796, 757, 699, 619, 598, 532, 472 cm^{-1} (Pág. 259).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,20 (s, 2H, H-1'); 5,46 (s, 2H, H-4'); 6,44 (d, 1H, $J=9,0$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 7,00 (d, 2H, $J=8,3$ Hz, H-6'/H-10'); 7,43-7,54 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,59 (d, 3H, $J=8,3$ Hz, H-3'/H-7'/H-9'); 7,68 (d, 2H, $J=8,4$ Hz, H-9/H-13); 12,61 (s, 1H, OH) (Pág. 257).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 53,7 (C-4'); 62,0 (C-1'); 94,7 (C-8'); 102,1 (C-4); 107,4 (C-6); 113,5 (C-2); 122,9 (C-3'); 128,3 (C-10/C-12); 128,8 (C-9/C-13); 129,9 (C-7); 131,6 (C-11); 134,0 (C-6'/C-10'); 135,4 (C-5'); 138,1 (C-8), 138,3 (C-7'/C-9'); 143,6 (C-2'); 164,6 (C-3); 166,1 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 258).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$: 512,0465; encontrado 512,0452 (Pág. 260).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(piridin-2-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)benzofenona (28)



O composto **28** (0,156 g; 0,404 mmol) foi obtido como um sólido branco com 68% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,095 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f : 0,45 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 103,9-104,0 °C

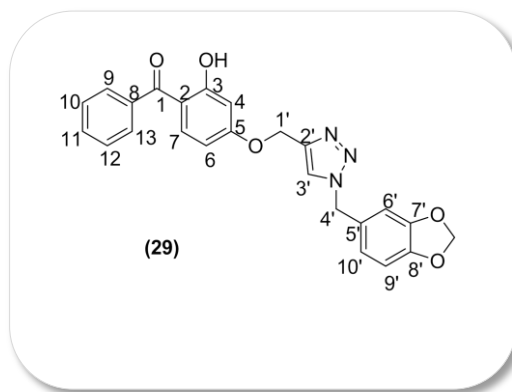
IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3141, 3052, 2924, 2852, 1752, 1621, 1549, 1574, 1500, 1441, 1345, 1257, 1223, 1164, 1113, 1047, 1051, 997, 976, 935, 910, 838, 751, 697, 617, 596, 535, 466 cm^{-1} (Pág. 263).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,23 (s, 2H, H-1'); 5,65 (s, 2H, H-4'); 6,46 (dd, 1H, $J_1 = 1,5$ Hz, $J_2 = 9,0$ Hz, H-6); 6,60 (s, 1H, H-4); 7,22 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-8'); 7,27 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-9'); 7,44-7,55 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,61 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, H-9/H-13); 7,69 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H-7'); 7,84 (s, 1H, H-3'); 8,58 (br, 1H, H-6'); 12,62 (s, 1H, OH) (Pág. 261).

RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 55,7 (C-4'); 62,1 (C-1'); 102,1 (C-4); 107,5 (C-6); 113,5 (C-2); 122,6 (C-7'); 123,5 (C-3'); 123,7 (C-9'); 128,3 (C-1/C-12); 128,8 (C-9/C-13); 131,5 (C-7); 135,4 (C-11); 137,4 (C-8); 138,1 (C-8'); 143,3 (C-2'); 149,8 (C-6'); 154,1 (C-5'); 164,6 (C-3); 166,1 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 262).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_3$: 387,1451; encontrado 387,1453 (Pág. 263).

Síntese da (2-hidroxi-4-((1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi) benzofenona (29)



O composto **29** (0,088 g; 0,228 mmol) foi obtido como um sólido branco com 35% de rendimento a partir de 2-hidroxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)benzofenona (**2b**) (0,150 g; 0,71 mmol), a azida **3** (0,125 g; 0,71 mmol), ascorbato de sódio (0,05 g; 0,24 mmol) e $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,03 g; 0,12 mmol).

CCD: R_f: 0,38 (hexano/ acetato de etila 2:1 v/v)

Faixa de fusão: 144,7-145,9 °C

IV (ART) $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2922, 2852, 1620, 1597, 1575, 1502, 1491, 1445, 1342, 1248, 1189, 1162, 1113, 1035, 1003, 923, 801, 741, 699, 615, 598, 532, 465 cm^{-1} (Pág. 267).

RMN de ^1H (300 Hz, CDCl_3): 5,21 (s, 2H, H-1'); 5,42 (s, 2H, H-4'); 5,96 (s, 2H, H-11'); 6,46 (dd, 1H, $J_1 = 2,4$ Hz e $J_2 = 9,0$ Hz, H-6); 6,59 (s, 1H, H-4); 6,75 (s, 1H, H-6'); 6,79 (s, 2H, H-9/H-10'); 7,45-7,53 (m, 4H, H-7/H-10/H-11/H-12); 7,55 (s, 1H, H-3'); 7,61 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz, H-9/H-13) 12,63 (s, 1H, OH) (Pág. 265).

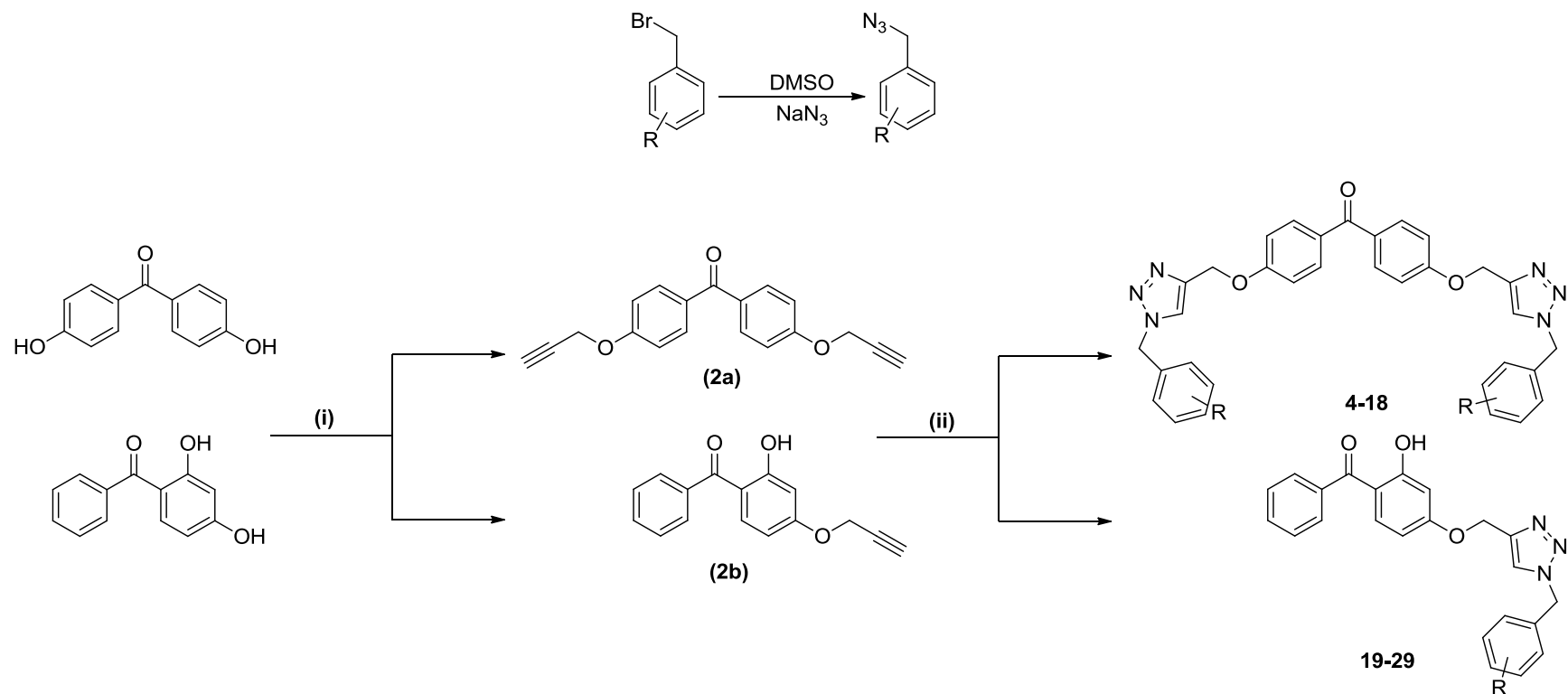
RMN de ^{13}C (75 Hz, CDCl_3): 54,2 (C-4'); 62,1 (C-1'); 101,5 (C-11') 102,2 (C-4); 107,4 (C-6); 108,5 (C-9'); 108,6 (C-6'); 113,5 (C-2); 122,1 (C-3'); 122,6 (C-10'); 127,8 (C-10/C-12); 128,3 (C-9/C-13); 128,8 (C-5'); 131,5 (C-7); 135,4 (C-11); 138,1 (C-8); 143,4 (C-2'); 148,2 (C-8'); 148,3 (C-7'); 164,6 (C-3); 166,1 (C-5); 200,1 (C-1) (Pág. 266).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$: Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_5$: 430,1397; encontrado 430,1397 (Pág. 268).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em uma primeira etapa foi realizada a síntese das azidas orgânicas partindo de brometos benzílicos com diferentes substituintes (**Esquema 3**).

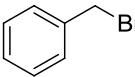
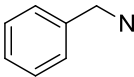
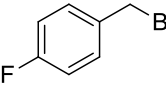
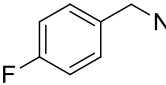
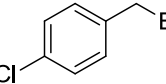
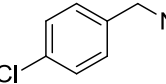
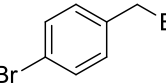
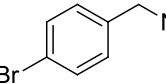
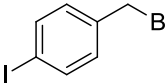
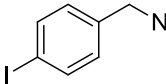
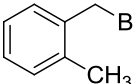
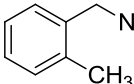
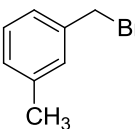
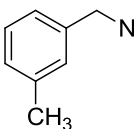
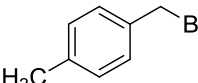
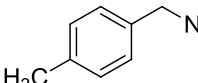
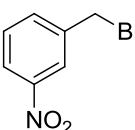
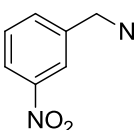
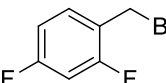
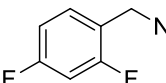
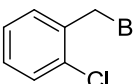
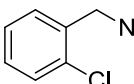
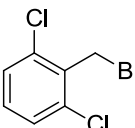
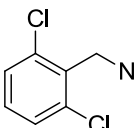
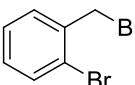
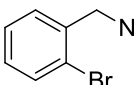
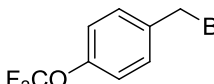
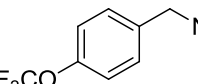
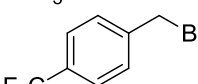
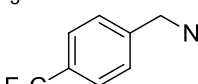
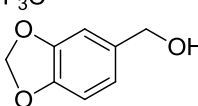
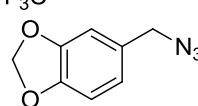
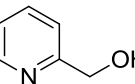
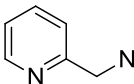
Para a preparação das azidas orgânicas, utilizou-se a reação de substituição nucleofílica bimolecular de segunda ordem (S_N2) entre a azida de sódio, brometos benzílicos e DMSO como solvente polar aprótico. As azidas foram obtidas em rendimentos que variam de bons a ótimos (**Tabela 1**), equivalente aos encontrados na literatura (Alvarez & Alvarez, 1997; Zhu *et al.*, 2014).



Reagentes e Condições: **(i)** brometo de propargila, K_2CO_3 , acetona, refluxo, 24 h; **(ii)** Azida orgânica, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, ascorbato de sódio, DCM/ H_2O (1:1 v/v), 25 °C, 1-6 h.

Esquema 3: Etapas para obtenção dos derivados triazólicos a partir de benzofenonas hidroxiladas.

Tabela 1: Rendimentos das azidas orgânicas obtidas a partir de brometos benzílicos e álcoois.

Item	Brometos e Álcoois	Azida	Rendimento (%)
3a			97
3b			95
3c			94
3d			94
3e			90
3f			90
3g			92
3h			95
3i			98
3j			98
3k			90
3l			94
3m			94
3n			94
3o			69
3p			83
3q			85

Em uma segunda etapa, procedeu-se a síntese para a obtenção dos derivados propargílicos **2a** e **2b** (Esquema 3).

Os derivados propargílicos **2a** e **2b** tiveram suas estruturas determinadas utilizando-se principalmente técnicas de RMN de ^1H e de ^{13}C .

No espectro de RMN de ^1H do composto **2a** (Fig. 7) observa-se simpleto de deslocamento químico igual a 2,57 e integrado para dois hidrogênios, corresponde ao hidrogênio H-3' do alcino terminal. Já o simpleto com deslocamento químico igual 4,77 integrado para quatro hidrogênios corresponde ao H-1'. Na porção aromática, o primeiro duplete com deslocamento químico 7,04 integrado para quatro hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios H-4 e H-6 ($J = 8,3$ Hz) e o segundo duplete com deslocamento químico 7,80 integrado para quatro hidrogênios corresponde aos hidrogênios H-3 e H-7 ($J = 8,3$ Hz). O maior deslocamento químico observado para os hidrogênios H-3 e H-7 ocorre devido à proximidade desses ao grupo carbonila, o qual é fortemente retirador de elétrons. O valor idêntico para a constante de acoplamento $J = 8,3$ Hz, confirma o acoplamento em *orto* para os hidrogênios aromáticos H-3/ H-7 e H-4/H-6.

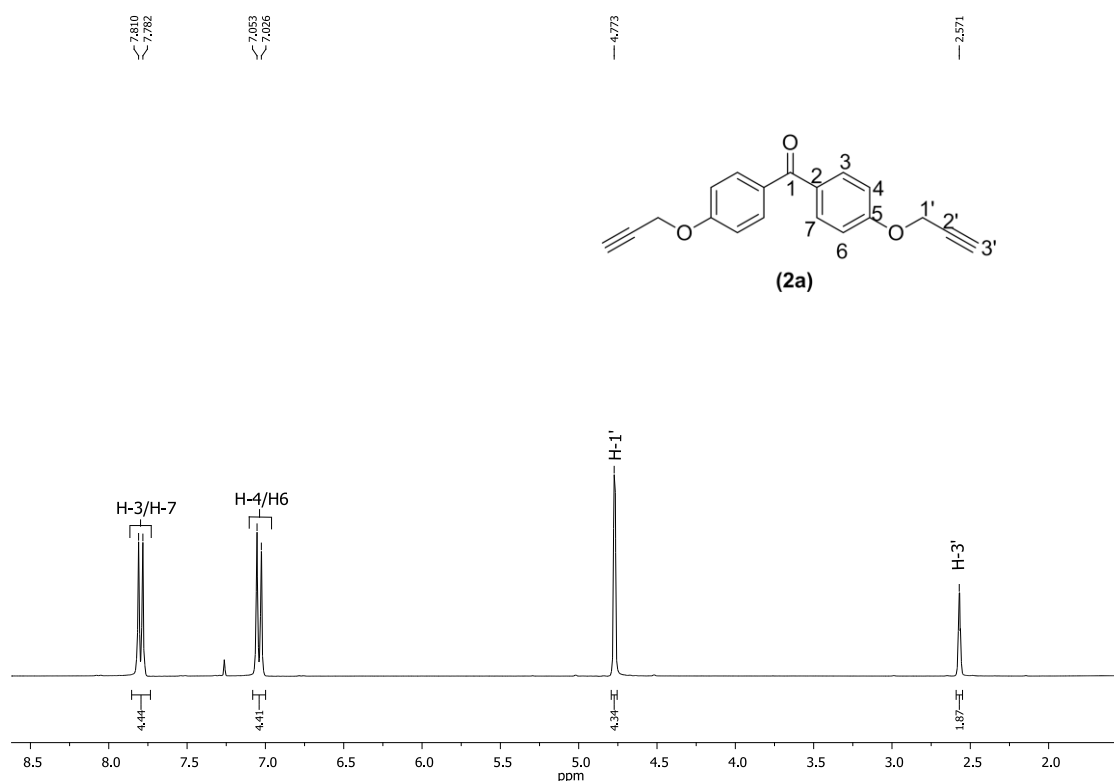


Figura 7: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2a**.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **2a** (**Fig. 8**) o sinal observado com deslocamento químico igual a 55,9 foi atribuído ao carbono metilênico C-1'. O sinal do carbono de hibridização *sp* (C-3') pode ser observado com deslocamento químico igual a 76,1. O sinal com deslocamento químico igual a 194,3 é referente ao carbono carbonílico.

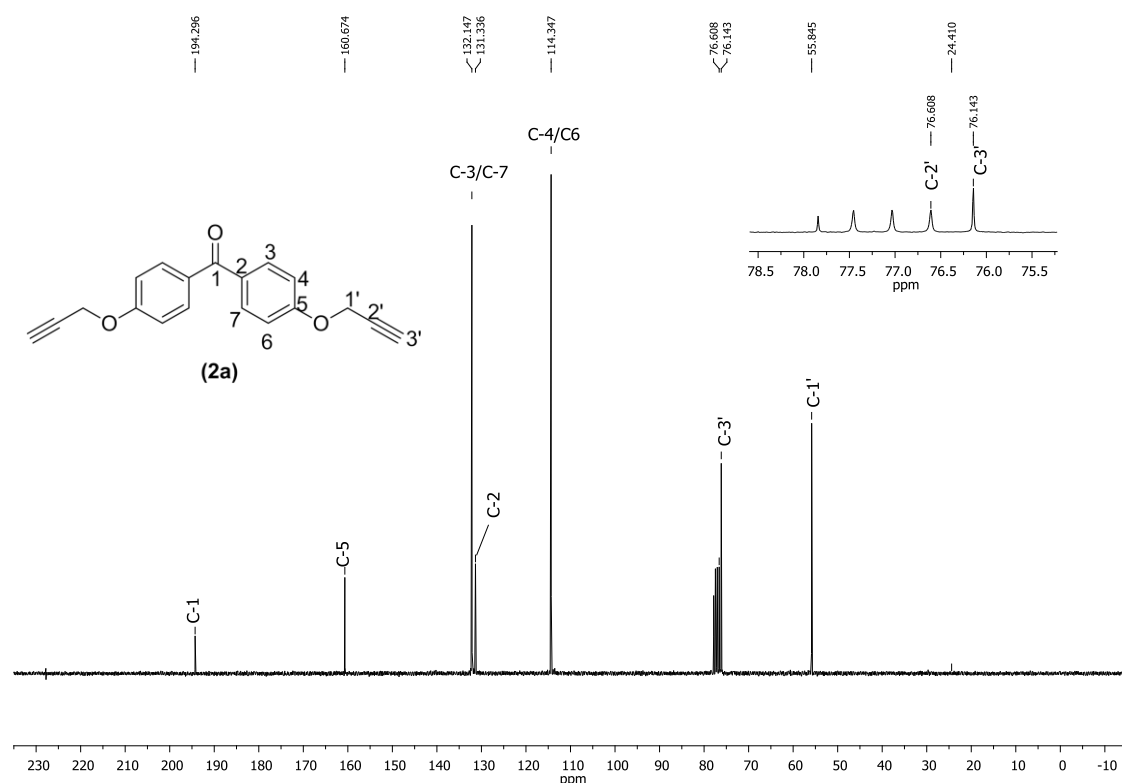


Figura 8: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2a**.

A **Figura 9** traz o espectro no Infravermelho do composto **2a**. A presença da banda em 3219 cm^{-1} é relativa ao estiramento da ligação C-H de alcinos, juntamente com a banda em 2112 cm^{-1} referente ao estiramento carbono-carbono de ligação tripla, confirmam a presença de alcino terminal na molécula. As outras bandas que se destacam são 1283 cm^{-1} do estiramento da ligação C-O de éter e 1598 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O de cetonas. O deslocamento em menor frequência para o estiramento da ligação C=O de cetonas pode ser observado devido ao efeito de deslocalização eletrônica causado pela presença de dois anéis aromáticos ligados ao carbono

da carbonila, uma vez que o alongamento da ligação C=O reduz a frequência de absorção (SILVERSTEIN, 2000).

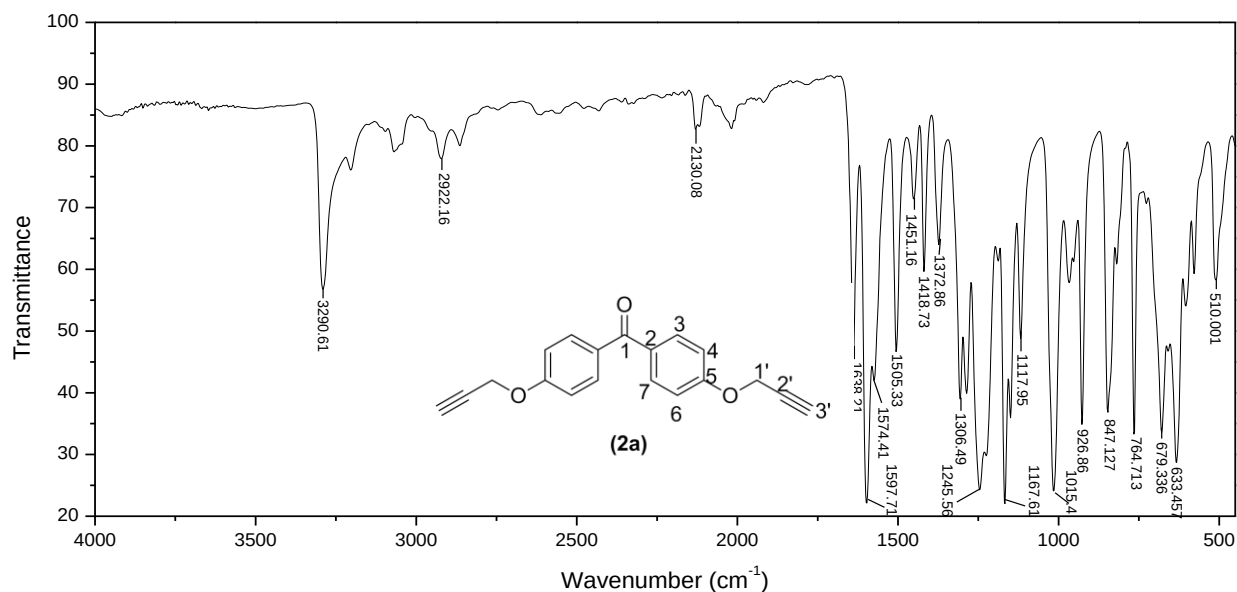


Figura 9: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **2a**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **2b** (**Fig. 11**), o tripleto com deslocamento químico igual a 2,58 e integrado para um hidrogênio refere-se ao hidrogênio H-3' do alcino terminal ($J = 2,4 \text{ Hz}$). O valor da constante de acoplamento encontrada para o H-3' corresponde com os valores encontrados na literatura para alcinos terminais (**Fig. 10**) (Pretsch *et al.*, 2000).

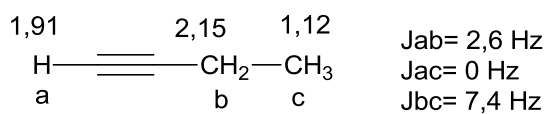


Figura 10: Valores descritos para as constantes de acoplamento de alcino terminal. Adaptado de Pretsch *et al.* (2000).

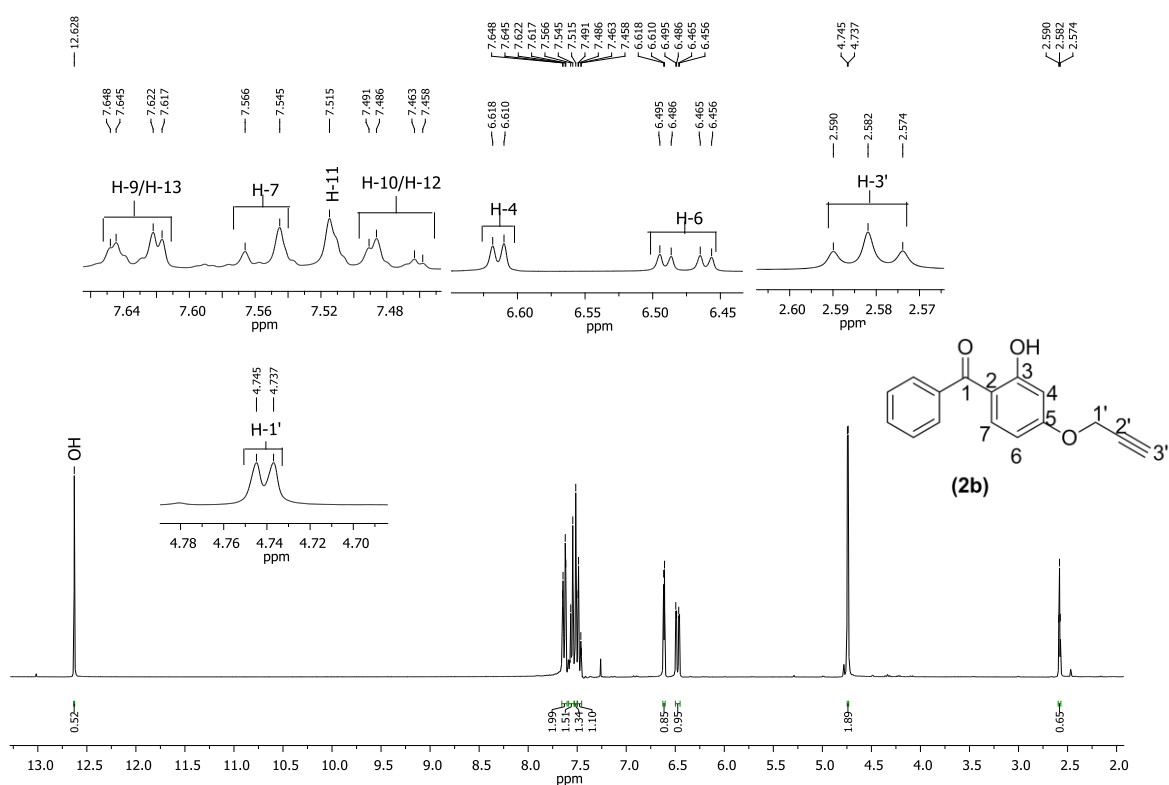


Figura 11: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **2b**.

O duplete com deslocamento químico igual a 4,74 e integrado para dois hidrogênios corresponde aos hidrogênios H-1' ($J = 2,3 \text{ Hz}$). Na porção aromática, os hidrogênios aromáticos H-4 e H-6 apresentam um deslocamento químico menor que os demais devido à proximidade destes com a hidroxila e o éter, respectivamente. O duplo duplete integrado para um hidrogênio com deslocamento químico igual a 6,48 e com constantes e acoplamento $J = 9,0 \text{ Hz}$ e $J = 2,7 \text{ Hz}$ corresponde ao hidrogênio aromático H-6. O duplete com deslocamento químico igual a 6,61 corresponde ao hidrogênio H-4, o valor encontrado para a constante de acoplamento de H-4 ($J = 2,4 \text{ Hz}$) é similar a valores descritos por Prestsch e colaboradores (2000) (**Fig. 12**). Já o simpleto com deslocamento químico igual a 12,63 e integrado para um hidrogênio refere-se ao hidrogênio da hidroxila.

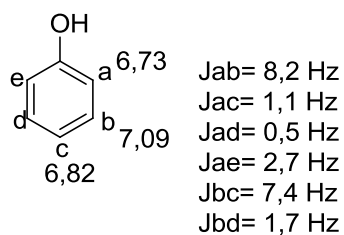


Figura 12: Valores descritos para as constantes de acoplamento de hidrogênio aromáticos próximos a hidroxilas. Adaptado de Prestsch *et al.* (2000).

No espectro de RMN de ^{13}C do derivado **2b** (Fig. 13) o sinal observado com deslocamento químico igual a 55,9 foi atribuído ao carbono metilênico C-1'. O sinal do carbono de hibridização *sp* (C-3') pode ser observado com deslocamento químico igual a 76,4. O sinal com deslocamento químico igual a 200,1 é referente ao carbono carbonílico.

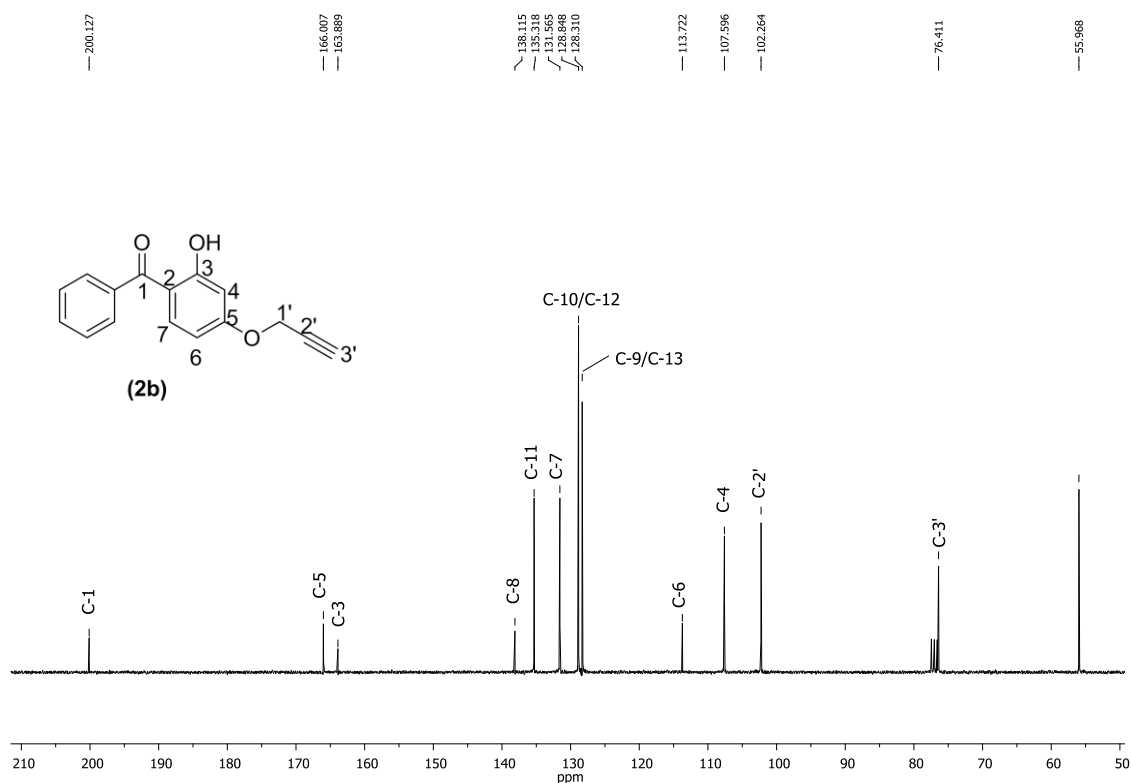


Figura 13: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **2b**.

A **Figura 14** traz o espectro no Infravermelho do composto **2b**. A banda com número de onda em 3301 cm^{-1} é relativa ao estiramento da ligação C-H de

alcinos, juntamente com a banda em 2120 cm^{-1} referente ao estiramento carbono-carbono de ligação tripla confirmando a presença de alcino terminal na molécula. As outras bandas que se destacam em 1249 cm^{-1} são relativas ao estiramento da ligação C-O de éter e em 1620 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=O de cetonas. O deslocamento em menor frequência para o estiramento da ligação C=O de cetonas pode ser observado devido ao efeito da formação de ligação de hidrogênio intramolecular com a hidroxila no carbono α . Esta ligação de hidrogênio resulta no enfraquecimento da ligação C=O, com consequente diminuição na frequência de absorção (BARBOSA, 2007).

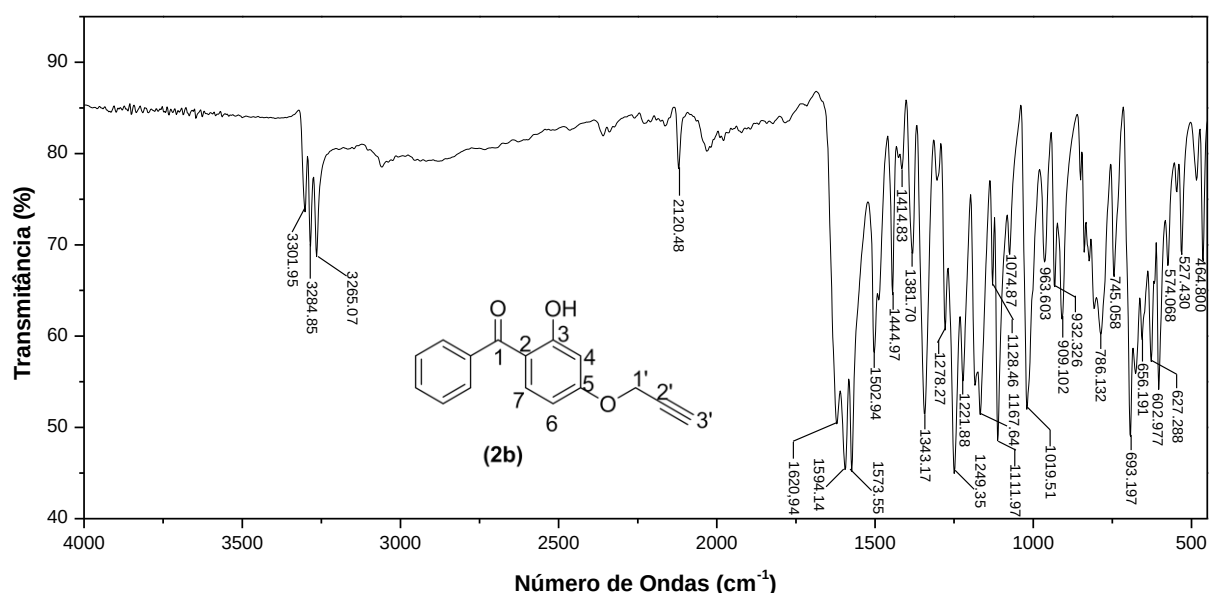


Figura 14: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **2b**.

Conforme mostrado no **Esquema 3** (pág. 60), os compostos triazólicos foram obtidos via reação click entre os derivados propargílicos **2a** e **2b** e as azidas orgânicas **3a-3q**. Os compostos triazólicos foram obtidos com rendimentos que variam de 35% a 95 %, sendo que para os derivados triazólicos obtidos a partir da 2,4-diidroxibenzofenona o tempo reacional foi relativamente curto de aproximadamente 60 minutos.

Os derivados triazólicos **4-29** tiveram suas estruturas determinadas utilizando-se principalmente técnicas de RMN de ^1H e de ^{13}C . Como modelo da identificação dos derivados triazólicos foram escolhidos os compostos **5** e **25**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **5** (**Fig. 15**), os simpletos com deslocamentos químicos iguais a 5,25 e 5,51 e integrados para quatro hidrogênios cada, correspondem aos hidrogênios metilênicos H-1' e H-4', respectivamente. O maior deslocamento químico observado para o H-4' é devido ao efeito de anisotropia magnética causado pelo anel triazólico e pelo anel aromático com substituinte flúor na posição *para* que diminui a densidade eletrônica deste átomo de hidrogênio através da retirada elétrons pelo efeito indutivo.

O tripleto com descolamento químico igual a 7,03 com constante de acoplamento $J = 8,7$ Hz é equivalente aos hidrogênios H-7' e H-9'. Já o duplete com deslocamento químico igual 7,09 e com constante de acoplamento $J = 8,7$ Hz foi atribuído aos hidrogênios H-4 e H-6. Pode-se observar que houve sobreposição dos sinais relativos ao tripleto formado entre o átomo de flúor e os átomos de hidrogênio H-7' e H-9' com o duplete formado pelos átomos de H-4 e H-6. O simpleto com deslocamento químico igual a 7,56 e integrado para dois hidrogênios é correspondente aos hidrogênios ligado ao carbono do anel triazólico H-3'. Este maior deslocamento químico pode ser justificado pela diminuição de densidade eletrônica causada pela deslocalização eletrônica no anel triazólico. O duplete com deslocamento químico igual 7,74 e com constante de acoplamento igual a $J = 8,7$ Hz é referente aos hidrogênios H-3 e H-7.

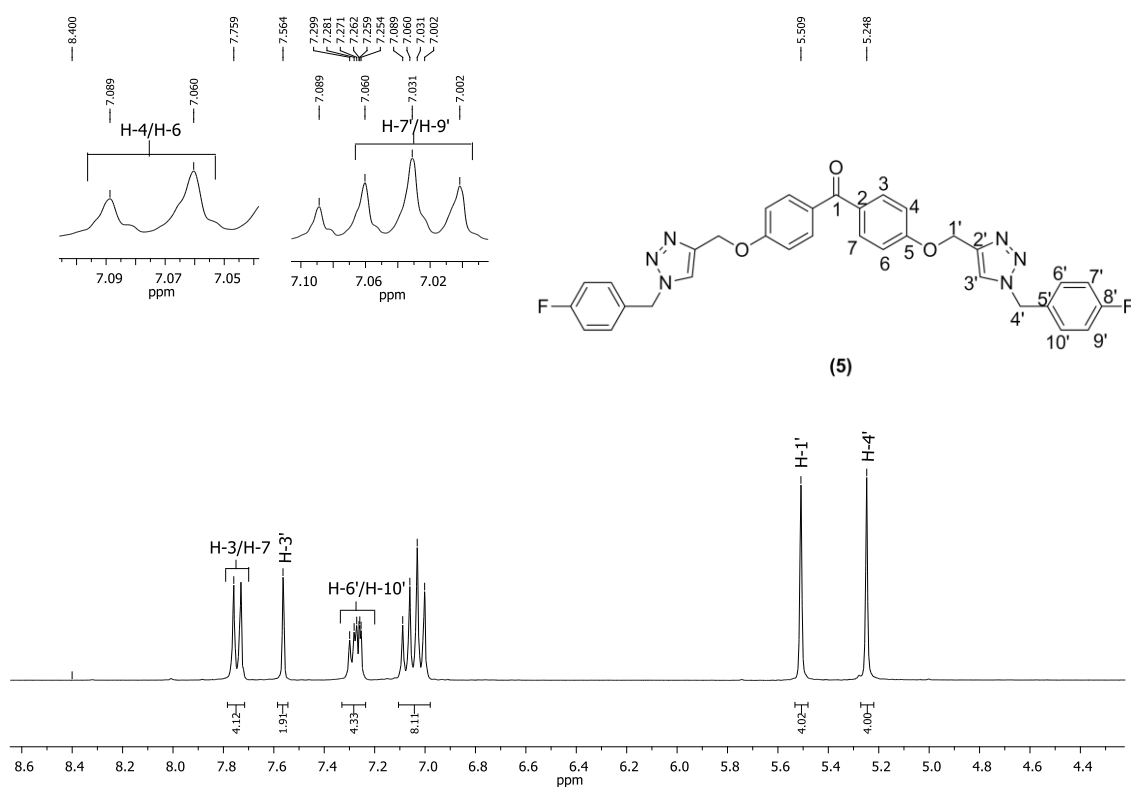


Figura 15: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **5**.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **5** (**Fig. 16**), os carbonos sp^3 aparecem com deslocamentos químicos iguais a 53,5 e 62,1 são referentes aos carbonos C-1' e C-4' .

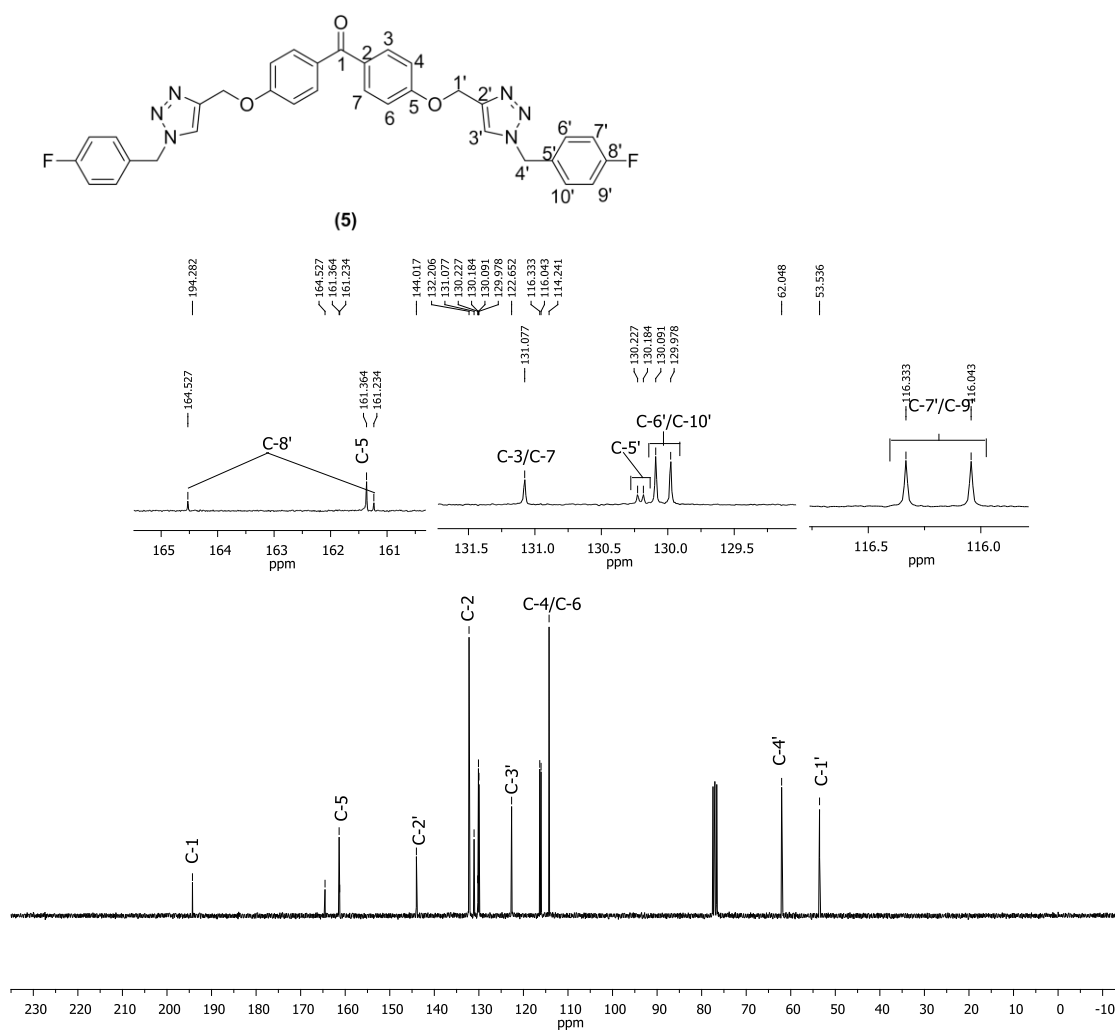


Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico 5.

Os sinais com deslocamento químico iguais a 116,2 (d, $J = 21,5$ Hz, C-7'/C-9'), 130,4 (d, $J = 8,5$ Hz, C-6'/C-10'); 130,2 (d, $J = 3,2$ Hz, C-5'), 162,9 (d, $J = 246,9$ Hz, C-8') apresentam-se como duplete devido ao acoplamento entre os átomos de carbono e flúor. Tanto os valores de RMN de ^{13}C como as constantes de acoplamento estão de acordo com os valores descritos na literatura (**Fig. 17**) (Pretsch *et al.*, 2000).

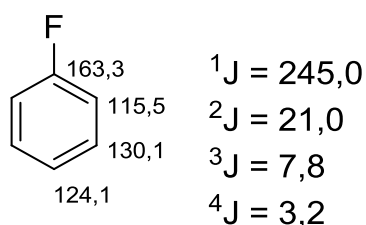
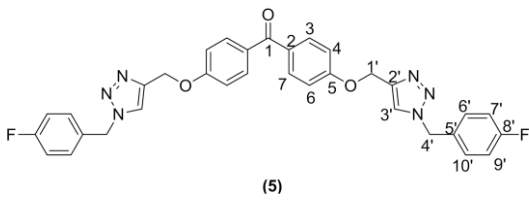


Figura 17: Valores descritos de Carbono-13 e constantes de acoplamento ^{19}F - ^{13}C . Adaptado de Prestsch *et al.* (2000).

Os sinais com deslocamento químico iguais a 122,7 e 144,0 são referentes aos carbonos C-3' e C-2' do anel triazólico. Já o sinal com deslocamento químico igual a 194,3 foi atribuído ao carbono carbonílico C-1.

No espectro no Infravermelho para o composto **5** (**Fig. 18**), foram observadas as principais bandas esperadas para a estrutura proposta. A banda em 3137 cm^{-1} é relativa ao estiramento da ligação C-H de aromáticos. As bandas de estiramento C-H de alifáticos aparecem em 2923 e 2869 cm^{-1} . Em 1639 cm^{-1} observa-se a banda de estiramento da ligação N=N do anel triazólico. A banda em 1559 cm^{-1} é referente ao estiramento da ligação C=O de cetonas. As bandas em 1507, 1459, 1413 e 1305 cm^{-1} são referentes ao estiramento da ligação C-C de aromáticos e em 1225 cm^{-1} observa-se uma banda referente ao estiramento C-O de éteres. Já as bandas em 1120, 1050, 998 e 926 cm^{-1} são referentes à deformação angulares no plano da ligação C-H de aromáticos. Em 815 cm^{-1} observa-se a banda de deformação angular da ligação C-H de aromáticos. E em 763 e 683 cm^{-1} constam as bandas de deformação angular fora do plano da ligação C-C de aromáticos.



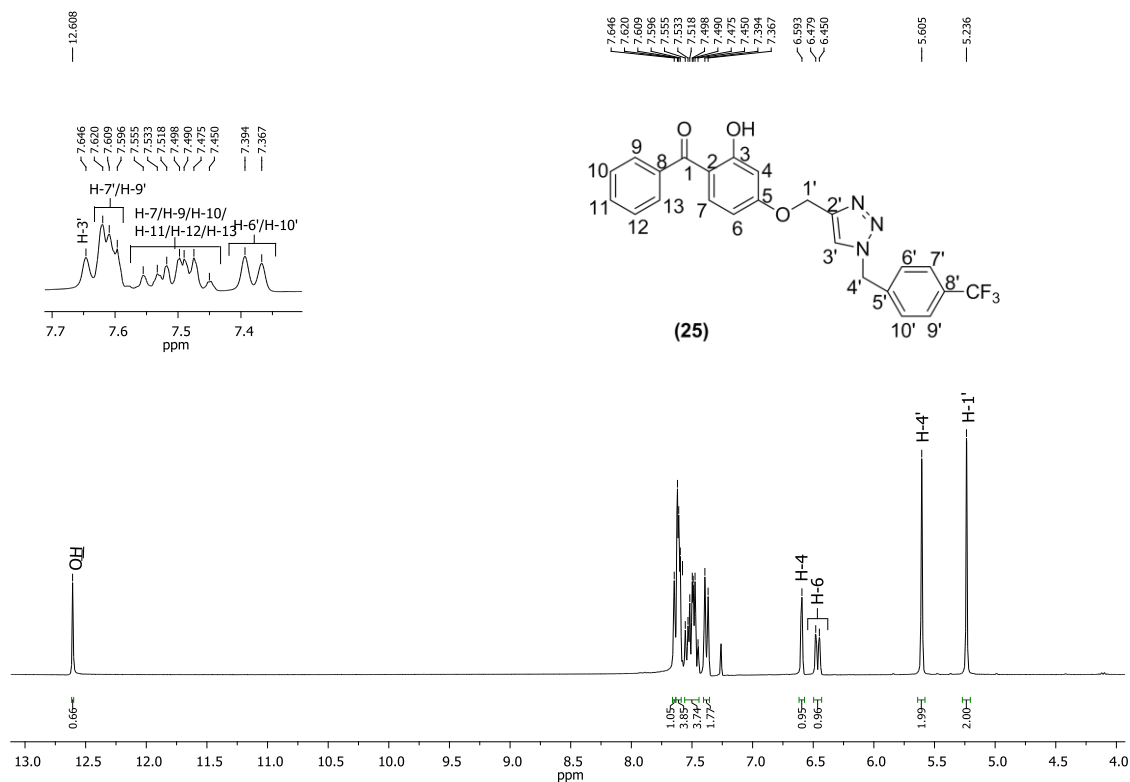


Figura 19: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do derivado triazólico **25**.

Já no espectro de RMN de ¹³C do composto **25** (**Fig. 20**), os sinais com deslocamentos químicos iguais a 53,6 e 62,1 são referentes aos carbonos metilênicos C-4' e C-1', respectivamente.

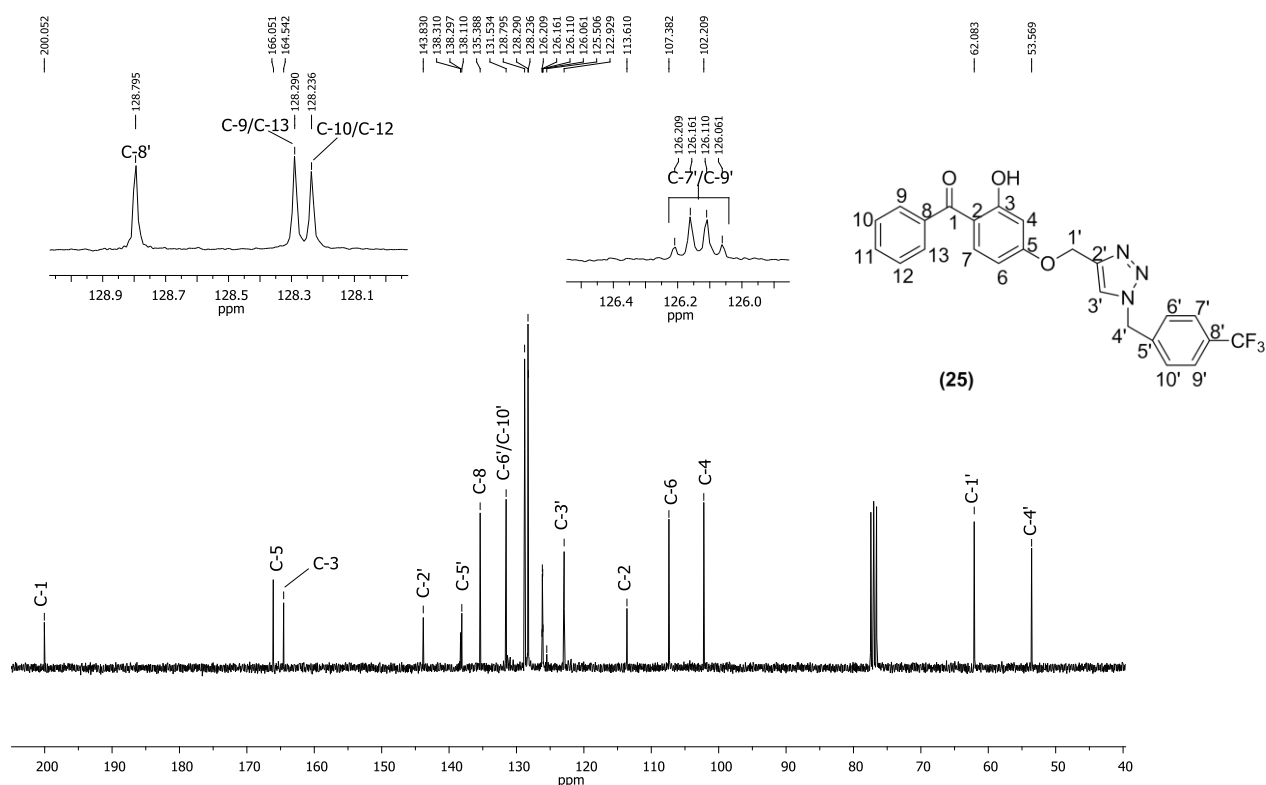


Figura 20: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico **25**.

O sinal com deslocamento químico igual a 126,1 (q, $J_1 = 3,6$ Hz e $J_2 = 7,5$ Hz, C-7'/C-9') apresentam-se como quarteto devido ao acoplamento dos átomos de carbono com os átomos de flúor da trifluorometila. As constantes de acoplamento encontradas estão de acordo com aquelas descritas na literatura (**Fig. 21**) (PRETSCH *et al.*, 2000).

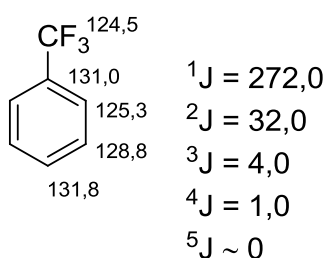


Figura 21: Valores descritos para as constantes de acoplamento ^{19}F - ^{13}C . Adaptado de PRETSCH *et al.*, 2000.

Os sinais com deslocamentos químicos iguais a 122,9 e 143,8 são referentes aos carbonos C-3' e C-2', respectivamente, do anel triazólico. Já o

sinal com deslocamento químico igual a 200,1 é correspondente ao carbono carbonílico C-1.

No espectro no infravermelho do composto **25** (Fig. 22), podemos observar as principais bandas esperadas para a estrutura proposta. As bandas em 3137 e 3087 cm^{-1} são relativas ao estiramento da ligação C-H de aromáticos. As bandas de estiramento C-H de alifáticos aparecem em 2926, 2366 e 2016 cm^{-1} . Em 1618 cm^{-1} observa-se a banda de estiramento da ligação N=N do anel triazólico. A banda em 1597 cm^{-1} é referente ao estiramento da ligação C=O de cetonas. As bandas em 1573, 1503, 1445, 1419 e 1367 cm^{-1} são referentes ao estiramento da ligação C-C de aromáticos e em 1252 cm^{-1} observa-se uma banda referente ao estiramento C-O de éteres. Em 1111 cm^{-1} observa-se a banda de estiramento da ligação C-O de hidroxila fenólica. Já as bandas em 1051, 1017, 1003, 978 e 920 cm^{-1} são referentes à deformação angulares no plano da ligação C-H de aromáticos. E em 773 cm^{-1} consta a banda de deformação angular fora do plano da ligação C-C de aromáticos.

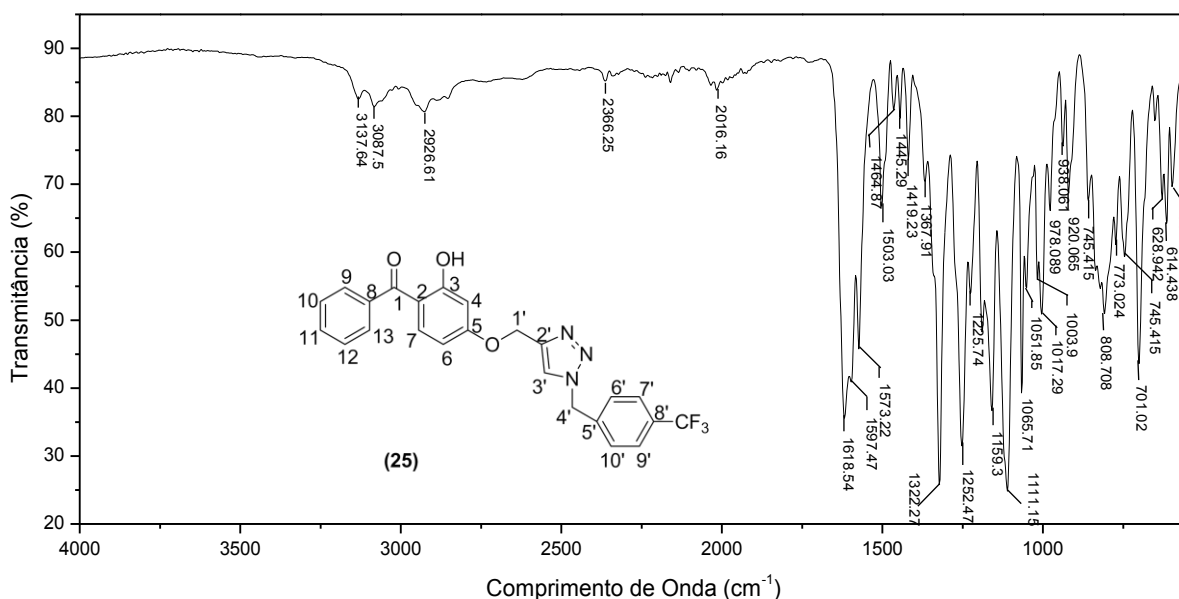


Figura 22: Espectro no infravermelho (ATR) do composto **25**.

Portanto, foram confirmadas com sucesso e bons rendimentos a obtenção dos 26 derivados triazólicos de benzofenonas hidroxiladas.

Estes compostos foram submetidos à avaliação de suas atividades biológicas, discutidas nos capítulos 3, 4 e 5.

4. REFERÊNCIAS

- ALVAREZ, S. G.; ALVAREZ, M. I. *Synthesis*, 4, 413-414, 1997.
- ANAND, A.; NAIK, R. J.; REVANKAR, H. M.; KULKARNI, M. V.; DIXIT, S. R.; JOSHI, S. D. A click chemistry approach for the synthesis of mono and bis aryloxy linked coumarinyl triazoles as anti-tubercular agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 105, 194-207, 2015.
- BI, F.; JI, S.; VENTER, H.; LIU, J.; SEMPLE, S. J.; MA, S. Substitution of terminal amide with 1H-1,2,3-triazole: Identification of unexpected class of potent antibacterial agentes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 28, 884–891, 2018.
- DE SOUZA, T. B.; RAIMUNDO, P. O. B.; ANDRADE, S. F.; TACIANE MAIRA MAGALHAES HIPOLITO, T. M. M.; SILVA, N. C.; DIAS, A. L. T.; IKEGAKI, M.; ROCHA, R. P.; COELHO, L. F. L.; VELOSO, M. P.; CARVALHO, D. T.; DIAS, D. F. Synthesis and antimicrobial activity of 6-triazolo-6-deoxy eugenol glucosides. *Carbohydrate Research*, 410, 1-8, 2015.
- DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. *Bioorganic Chemistry*, in press, 2017.
- DI PIETRO, O.; ALENCAR, N.; ESTEBAN, G.; VIAYNA, E.; SZALAJ, N.; VAZQUEZ, J.; JUAREZ-JIMENEZ, J.; SOLA, I.; PEREZ, B.; SOLE, M.;

- UNZETA, M.; MUNOZ-TORRERO D.; LUQUE, F. J. Design, synthesis and biological evaluation of N-methyl-N-[(1,2,3-triazol-4-yl)alkyl]propargylamines as novel monoamine oxidase B inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24, 4835–4854, 2016.
- EL SAYED ALY, M. R.; SAAD, H. A.; MOHAMED, M. A.L N. M. Click reaction based synthesis, antimicrobial, and cytotoxic activities of new 1,2,3-triazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 2824-2830, 2015.
- FERREIRA, Sabrina Baptista. Síntese e Atividade Farmacológicas de Novos 1,2,3-Triazóis Glicoconjugados e Naftoquinonas./Sabrina Baptista Ferreira.- Rio de Janeiro: UFRJ/IQ, 2008. Xxxv, 218f.:il; 31 cm.
- FREITAS, L. B. O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B. FREITAS, R. P. A Reação “Click” na Síntese de 1,2,3-triazóis: Aspectos Químicos e Aplicações. *Química Nova*, 34 (10) 1791-1804, 2011.
- GONTIJO, V. S.; ESPURI, P. F.; ALVES, R. B.; CAMARGOS, L. F.; SANTOS, F. V.; JUDICE, W. A. S.; MARQUES, M. J.; FREITAS, R. P. Leishmanicidal, antiproteolytic, and mutagenic evaluation of alkyltriazoles and alkylphosphocholines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 101, 24-33, 2015.
- GONZALEZ-CALDERON, D.; MEJIA-DIONICIO, M. G.; MORALES-REZA, M. A.; AGUIRRE-DE PAZ, J. G.; RAMÍREZ-VILLALVA, A.; MORALES-RODRIGUEZ, M.; FUENTES-BENITES, A.; GONZALEZ-ROMERO, C. Antifungal activity of 10-homo-N-1,2,3-triazol-bicyclic carbonucleosides:

- A novel type of compound afforded by azide-enolate (3+2) cycloaddition. *Bioorganic Chemistry*, 69, 1–6, 2016.
- HOU, W.; LUO, Z.; ZHANG, G.; CAO, D.; LI, D.; RUAN, H.; RUAN, B. H.; SU, L.; XU, H. Click chemistry-based synthesis and anticancer activity evaluation of novel C-14 1,2,3-triazole dehydroabietic acid hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 138, 1042-1052, 2017.
- KANT, R.; SINGH, V.; NATH, G.; AWASTHI, S. K.; AGARWAL, A. Design, synthesis and biological evaluation of ciprofloxacin tethered *bis*-1,2,3-triazole conjugates as ompone antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 218-228, 2016.
- KHAZHIEVA, I. S.; GLUKHAREVA, T. V.; EL'TSOV, O. S.; MORZHERIN, YU. YU.; MININ, A. A.; POZDINA, V. A.; ULITKO, M. V. Synthesis and cytotoxic activity of 1,2,3-triazole derivatives in glioma cell cultures. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 49 (5), 2015.
- KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 40, 2004-2021, 2001.
- KRALJEVIC, T. G.; HAREJ, A.; SEDIC, M.; PAVELIC, S. K.; STEPANIC, V.; DRENJANCEVIC, D.; TALAPKO, J. SILVANA RAIC-MALIC, S. Synthesis, in vitro anticancer and antibacterial activities and in silico studies of new 4-substituted 1,2,3-triazoleecoumarin hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 794-808, 2016.

- KRIVOPALOV, P.; SHKURKO, O. P. 1,2,3-Triazole and its derivatives. Development of methods for the formation of the triazole ring. Russian Chemical Reviews, Vol.74, No. 4, 339-379, 2005.
- LAL, K.; YADAV, P.; KUMAR, A.; KUMAR, A.; PAUL A. K. Design, synthesis, characterization, antimicrobial evaluation and molecular modeling studies of some dehydroacetic acid-chalcone-1,2,3-triazole hybrids. Bioorganic Chemistry, 77, 236–244, 2018.
- MANCEBO, S. E.; HU, J. Y.; WANG, S. Q. Sunscreens: A Review of Health Benefits, Regulations, and Controversies. Dermatol Clinic, 32, 427–438, 2014.
- MANOHAR, S.; KHAN, S. I.; RAWAT, D. S. Synthesis of 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole and 4-aminoquinoline-1,2,3-triazole-1,3,5-triazine Hybrids as Potential Antimalarial Agents. Chemical Biology Drug Design, 78, 124–136, 2011.
- MAREDY, J.; SURESH, N.; C. G KUMAR, G.; KAPAVARAPU, R.; JAYASREE, A.; PAL, S. 1,2,3-Triazole-nimesulide hybrid: Their design, synthesis and evaluation as potential anticancer agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 27, 518–523, 2017.
- MELO, J. O. F.; DONNICI, C. L.; RODINEI AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; MARIA LOURDES FERREIRA, M. L. G.; CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. Química Nova, Vol. 29, No. 3, 569-579, 2006.

- POKHODYLO, N.; SHYYKA, O.; MATIYCHUK, V. Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives and Evaluation of their Anticancer Activity. *Scientia Pharmaceutica*, 81, 663–676, 2013.
- PRASHANTH, T.; THIRUSANGU, P.; AVIN, B. R. V.; RANGANATHA, V. L. PRABHAKAR, B. T.; KHANUM, S. A. Synthesis and evaluation of novel benzophenone-thiazole derivatives as potent VEGF-A inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 87, 274-283, 2014.
- PRETSCH, E.; BUHLMANN, P.; AFFOLTER, C. Structure determination of organic compounds: tables of spectral data. 3 ed. Berlin; Springer, 2000.
- RAJ, R.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.; KUMAR, V. 1H-1,2,3-Triazole-tethered isatin-7-chloroquinoline and 3-hydroxy-indole-7-chloroquinoline conjugates: Synthesis and antimalarial evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24, 756–759, 2014.
- REDDY, V. G.; REDDY, T. S.; NAYAK, V. L.; BUDAGANABOYINA PRASAD, B.; REDDY, A. P.; RAVIKUMAR, A.; TAJ, S.; AHMED KAMAL, A. Design, synthesis and biological evaluation of N-((1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-1,3-diphenyl-1H-pyrazole-4-carboxamides as CDK1/Cdc2 inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 122, 164-177, 2016.
- ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes. *Angewandte Chemie International Edition*, 41 (14), 2002.

RUDDARRAJU, R. R.; MURUGULLA, A. C.; KOTLA, R.; TIRUMALASETTY, M. C. B.; WUDAYAGIRI, R.; DONTAKBATHUNI, S.; MAROJU, R.; BABURAO, K.; PARASA, L. S. Design, Synthesis, anticancer, antimicrobial activities and molecular docking studies of theophylline containing acetylenes and theophylline containing 1,2,3-triazoles with variant nucleoside derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 123, 379-396, 2016.

RUPESE, M.; NATH, P. S.; ASHISH, A. Triazole: A potential bioactive agent (synthesis and biological activity). *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2(5), 1490-1494, 2011.

SARAIVA, M. T.; KRÜGER, R.; BALDINOTTI, R. S. M.; LENARDÃO, E. J.; LUCHESE, C.; SAVEGNAGO, L.; WILHELM, E. A.; ALVES, D. 7-Chloroquinoline-1,2,3-triazolyl Carboxylates: Organocatalytic Synthesis and Antioxidant Properties. *Journal Brazilian Chemical Society*, 27(1), 41-53, 2016.

SCHULZE, B.; SCHUBERT, U. S. Beyond click chemistry – supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles. *Chemical Society Reviews*, 43, 2522, 2014.

SHAIKH, M. H.; SUBHEDAR, D. D.; NAWALE, L.; SARKAR, D.; KALAM KHAN, F. A.; SANGSHETTIC, J. N.; SHINGATE, B. B. 1,2,3-Triazole derivatives as antitubercular agents: synthesis, biological evaluation and molecular docking study. *Medicinal Chemistry Communications*, 6, 1104, 2015.

SHI, J. B.; CHEN, L. Z.; WANG, Y.; XIOU, C.; TANG, W. J.; ZHOU, H. P.; LIU, X. H.; YAO, Q. Z. Benzophenone-nucleoside derivatives as telomerase inhibitors: Design, synthesis and omponente evaluation in vitro and in vivo. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 729-739, 2016.

SOURAV DE, BABU, N.; SUNEEL BABU, S.; BHAVYA SREE, B.; KIRAN, S.; REDDY, K. S. K. A Review Article on Importance of Heterocyclic Compounds. *Mintage journal of Pharmaceutical & Medical Sciences*, 5, 18-27, 2016.

TALE, R. H.; GOPULA, V. B.; TORADMAL, G. K. 'Click' ligand for 'click' chemistry: (1-(4-methoxybenzyl)-1-H-1,2,3- triazol-4-yl)ompone (MBHTM) accelerated copper-catalyzed [3+2] azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) at low catalyst loading. *Tetrahedron Letters*, 56, 5864–5869, 2015.

TAN, W.; LI, Q.; WANG, H.; LIU, Y.; ZHANG, J.; DONG, F.; GUO, Z. Synthesis, characterization, and antibacterial property of novel starch derivatives with 1,2,3-triazole. *Carbohydrate Polymers*, 142, 1–7, 2016.

TAN, W.; LI, Q.; LI, W.; DONG, F. GUO, Z. Synthesis and omponentee property of novel 1,2,3-triazole-linked starch derivatives via 'click chemistry'. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 404–410, 2016.

- TASDELEN, M. A.; KISKAN, B.; YAGCI, Y. Externally stimulated click reactions for macromolecular syntheses. *Progress in Polymer Science*, 52, 19–78, 2016.
- VILELA, F. M. P.; OLIVEIRA, F. M.; VICENTINI, F. T. M. C.; CASAGRANDE, R. VERRI JR, W. A.; CUNHA, T. M.; FONSECA, M. J.V. Commercial sunscreen formulations: UVB irradiation stability and effect on UVB irradiation-induced skin oxidative stress and inflammation. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 2016, 163 413–420.
- ZHU, S.; WANG, W.; FANG, K.; LI, Z.; DONG, G.; MIAO, Z.; YAO, J.; ZHANG, W.; SHENG, C. Design, synthesis and antifungal activity of carbazole derivatives. *Chinese Chemical Letters*, 25, 229–233, 2014.
- WANG, C.; IKHLEF, D.; KAHLAL, S.; SAILLARD, J.; ASTRUC, D. Metal-catalyzed azide-alkyne “click” reactions: Mechanistic overview and recent trends. *Coordination Chemistry Reviews*, 316, 1–20, 2016.
- WU, S. LONG, C.; KENNELLY, E. J. Structural diversity and bioactivities of natural benzophenones. *Natural Product Reports*, 31, 1158–1174, 2014.
- YU, B.; QI, P.; SHI, X.; HUANG, R.; GUO, H.; YI-CHAO ZHENG, Y.; YU, D.; LIU, H. Efficient synthesis of new antiproliferative steroidal hybrids using the molecular hybridization approach. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 117, 241-255, 2016.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA AÇÃO DA ELASTASE PELOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS

1. INTRODUÇÃO

A elastase é uma enzima proteolítica da família das quimotripsinas (STERGIOU *et al.*, 2016). Em condições fisiológicas normais, a atividade proteolítica da elastase é controlada por inibidores endógenos naturais de serino protease (SERPINs), tais como inibidor da α 1-proteinase (α ₁-PI), inibidor de secretores de protease leucocitária (SLPI) e α 2-macroglobulina (α ₂-MG) (WINIARSKI *et al.*, 2012).

Entretanto, o desequilíbrio entre a elastase e seus inibidores endógenos naturais leva a graves lesões nos tecidos, resultando em uma variedade de doenças (WINIARSKI *et al.*, 2012), tais como doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), fibrose cística, enfisema pulmonar, síndrome de dificuldade respiratória aguda (SDRA) (KORKMAZ *et al.*, 2010; EDWARDS *et al.*, 2015).

A elastase também está relacionada à progressão de vários tipos de câncer e outras importantes doenças inflamatórias, como artrite reumatóide e doença inflamatória intestinal (HASDEMIR *et al.*, 2017).

A elastase é capaz de hidrolisar todos os componentes da matriz extracelular, tais como elastina, fibronectina, proteoglicanos e colágeno (HASDEMIR *et al.*, 2017). A perda da elastina causa sinais visíveis de envelhecimento, principalmente, rugas e flacidez da pele. Vários estudos demonstram que o envelhecimento da pele está significativamente correlacionado com o aumento da atividade da elastase (LIYANAARACHCHI *et al.*, 2017). Sendo assim, a inibição da atividade da elastase pode ser aplicada

como um método útil para proteger a pele de alterações induzidas pela radiação UV, seu envelhecimento prematuro e outras doenças (SOKMEN *et al.*, 2014).

Dentre as muitas estratégias que atualmente vem sendo utilizada para a obtenção de novos fármacos, destaca-se a química “click”. A química “click” é uma estratégia sintética poderosa e versátil para a obtenção de novos fármacos, isso se dá devido, principalmente, a sua especificidade, altos rendimentos e amplo espectro de atividades biológicas (LAL *et al.*, 2018). Mais especificamente, a cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alcinos catalisada por cobre (CuAAC) tem sido explorada como uma abordagem eficiente para a obtenção de novos compostos, onde o anel 1,2,3-triazol tornou-se uma unidade atraente, uma vez que é estável a degradação metabólica, condições oxidativas/redutoras e participa ativamente na ligação a alvos biomoleculares e melhora a solubilidade (KANT *et al.*, 2016).

Estudos mostram a eficácia dos triazóis como potentes inibidores da elastase (GUMRUKCUOGLU *et al.*, 2013; SOKMEN *et al.*, 2013). Por exemplo, RUIVO e colaboradores (2016) sintetizaram uma série de derivados de 4-oxo- β -lactama acoplado ao núcleo 1,2,3-triazol (**Fig. 1**). Os compostos revelaram-se como potentes inibidores da elastase, com valores de IC_{50} variando de 14 a 118 nM, estes valores são comparáveis ao IC_{50} determinado para ONO-5046 (15 nM) o único inibidor de elastase em uso clínico.

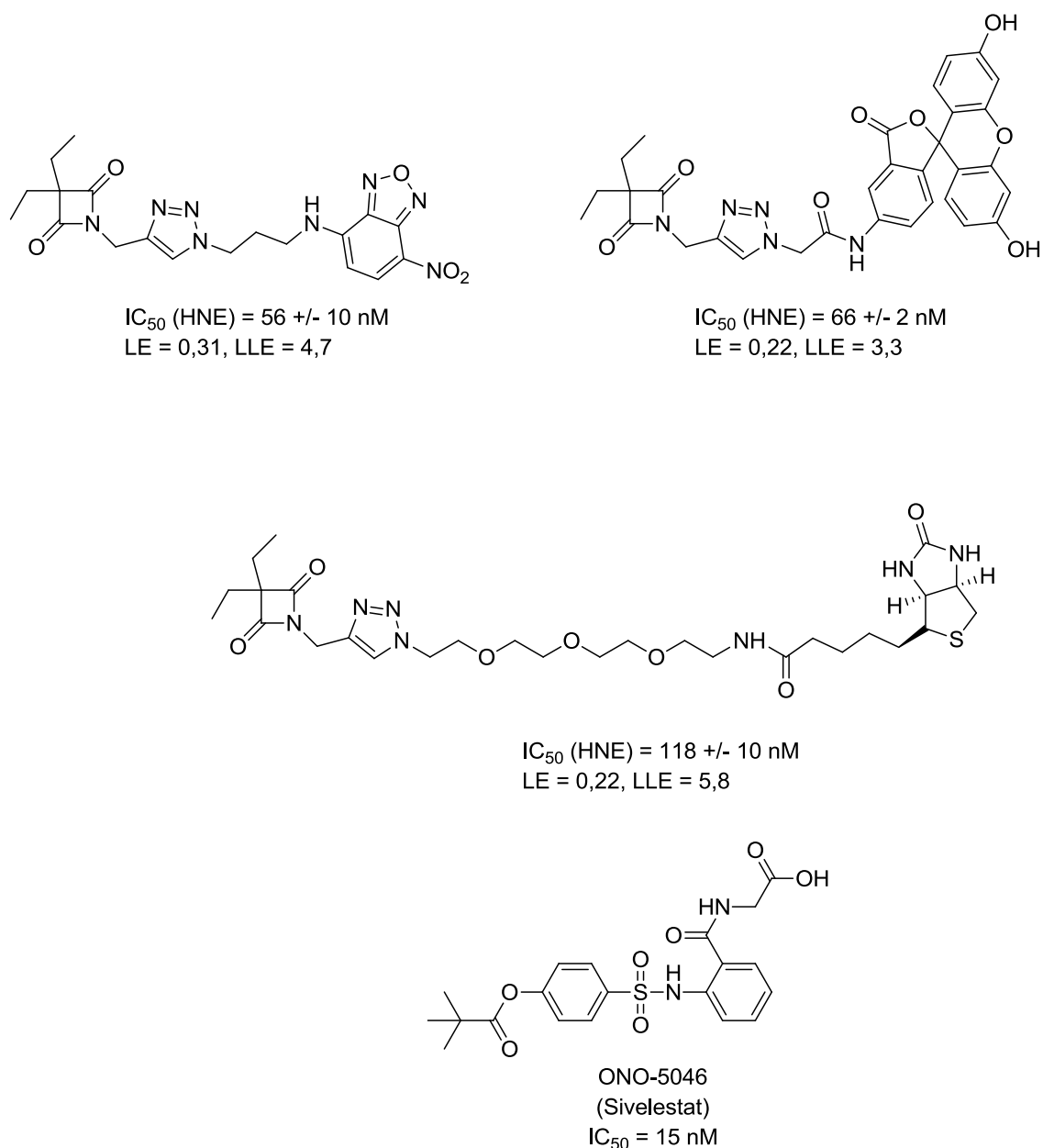


Figura 1: Exemplo de 4-oxo- β -lactama acoplado ao anel 1,2,3-triazol inibidores da elastase. Adaptado de RUIVO *et al.* (2016).

Assim como o núcleo 1,2,3-triazol, as benzofenonas tem sido alvo de numerosas pesquisas devido apresentar importantes atividades biológicas. Em estudo recente FOLQUITTO e colaboradores (2017) relataram a síntese, inibição de protease e a atividade antileishmanicida de derivados benzoxazol obtidos a partir de 4-hidroxiacetofenona e 4-hidroxibenzofenona. Todos os compostos avaliados apresentaram efeito inibidor significativo sobre a atividade das proteases cisteína (papaina, rCPB2.8 e rCPB3.0) e serina (tripsina). Os valores de IC_{50} obtido contra estas enzimas, na faixa de 0,0086-0,7612

$\mu\text{mol/L}$ para papaína e 0,0075-0,5032 $\mu\text{mol/L}$ para tripsina, permitiu avaliar que os derivados benzoxazol são mais ativos que os inibidores padrões que apresentaram IC_{50} 1,7821 e 7,2318 $\mu\text{mol/L}$, para E64 e TLCK, respectivamente.

Em nosso estudo, foi descrita a síntese de uma nova série de derivados de benzofenonas hidroxiladas ligados ao núcleo 1,2,3-triazol, dois grupos farmacofóricos conhecidos e potenciais inibidores de proteases serínicas. Os híbridos sintetizados foram, então, analisados *in vitro* para avaliarmos a capacidade de inibição da enzima elastase.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A Elastase foi obtida a partir do pâncreas de porco (E.C 3.4.21.36, ≥ 4 U/mg) e a N-Succinil-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilida foi obtida da Sigma Aldrich. Uma vez hidrolisado, este substrato desenvolve cor no meio reacional, por meio da liberação do íon *p*-nitrofenol, que pode ser detectado fotometricamente. As reações foram executadas em placas de 96 microtubos. Todos os dados foram coletados em triplicata. Os testes foram realizados em colaboração com o prof. Dr. Jorge Alexandre Nogueira Santos do Instituto Federal do Sul de Minas (IFSULDEMINAS).

2.1 Parâmetros cinéticos

A fim de medir os parâmetros de inibição, a uma concentração final de 10 mg/mL, os compostos **2a**, **2b** e **4-29** foram incubados com a elastase em concentrações crescentes (as concentrações finais foram 1, 2, 4, 8, 12 e 20 $\mu\text{mol/L}$) em um volume final de 1 mL utilizando tampão de fosfato de sódio (50 mmol/L, pH 8) contendo 100 μL de DMSO a 25 °C.

Após 30 minutos de incubação, a atividade hidrolítica foi avaliada em um espectrofotômetro V-M5 Bel Photonics. Para isso, em uma cubeta de 1 mL

foram misturando os derivados triazólicos e a elastase em concentrações crescentes do substrato cromogénico (1-20 mmol/L).

A hidrólise do substrato cromogénico foi monitorada em um comprimento de onda de 410 nm durante 5 minutos. Os valores de IC₅₀, a concentração que inibe 50% da atividade enzimática, foram determinados a partir da porcentagem de inibição *versus* log[inibitória] e calculado por regressão não linear usando programa Grafit (LEATHERBARROW, 1992). Este software foi usado para calcular os valores de K_m e V_{máx} pela regressão não linear.

O fator α e K_i do composto mais ativo foram calculados usando a equação I, a qual descreve uma inibição competitiva parcial linear.

$$\frac{1}{v_o} = \frac{\alpha K_M}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (I)$$

Onde: $\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$

2.2 Acoplamento Molecular

A análise do acoplamento molecular dos derivados triazólicos foi realizada para determinar a afinidade relativa com a elastase usando a versão AutoDock Vina 1.1.2 (TROTT, 2010). A estrutura cristalina da elastase (PDB ID: 1GVK) com 0,95 Å foi extraída do Protein Data Bank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5210513/>) (<http://www.jbc.org/content/277/24/21962>).

O sítio de atividade das enzimas foi identificado através da seleção de aminoácidos dentro do raio de 8 Å dos aminoácidos catalíticos His57, Asp102, Ser195 (<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-4658.2010.07659.x/full>). As estruturas 3D de todos os compostos foram desenhadas, otimizadas e protonadas usando o software MarvinSketch versão 6.2.2 (ChemAxon). A

estrutura da proteína foi definida usando AutoDock Tools (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2760638/>).

A energia de ligação foi estimada usando o AutoDock 4 implementado na versão de plataforma PyRx 0.8. As estruturas dobradas foram visualizadas e editadas usando PyMOL versão 1.3 (DeLano WL, 2002).

Os cálculos de modelagem molecular foram realizados com parâmetros padrão: tamanho da população (150); número máximo de avaliações de energia (25000000); número máximo de gerações (27000); taxa de mutação do gene (0,02); taxa de cruzamento (0,08); tamanho da janela (10); interações máximas (300).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação *in vitro* da Atividade Inibitória da Elastase dos Compostos Triazólicos

Após a síntese e identificação dos compostos triazólicos partiu-se para a avaliação do efeito inibitório contra a elastase. Entre os compostos avaliados (**2a**, **2b** e **4-29**), os derivados **5**, **7**, **8** e **18** (**Fig. 2**) foram os únicos que apresentaram atividade inibitória em comparação com o padrão de epigallocatequina-3-galato (EGCG) principalmente devido a baixa solubilidade apresentada pelos demais derivados triazólicos testados. Os valores de IC₅₀ estão descritos na **Tabela 1**.

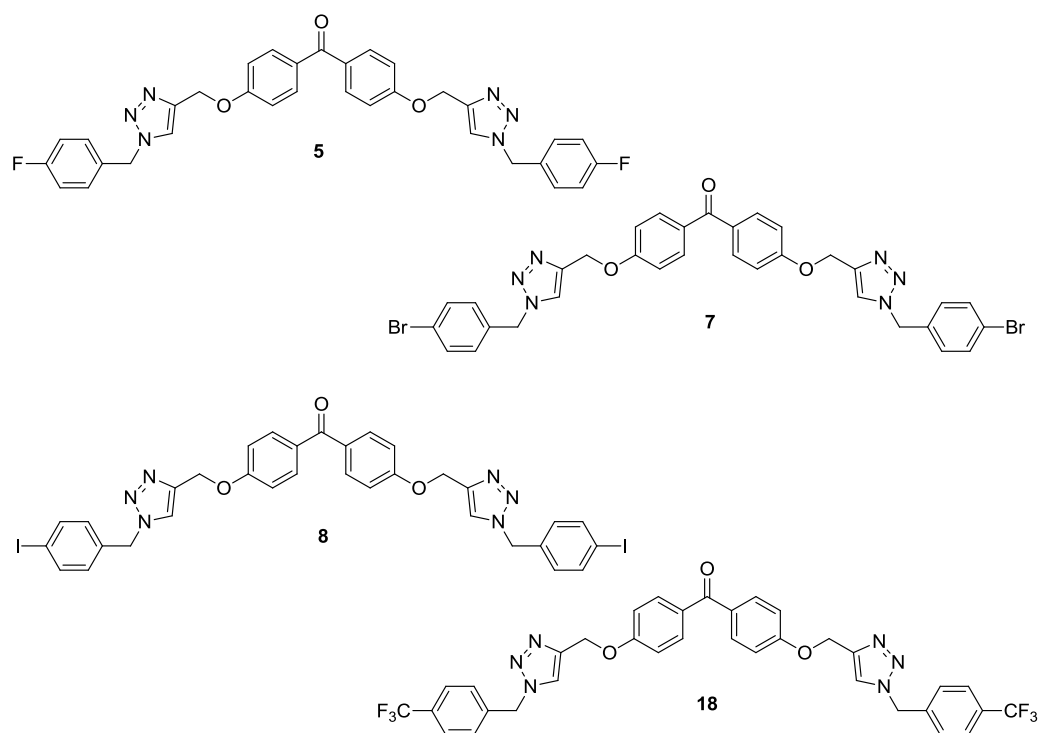


Figura 2: Derivados triazólicos que apresentaram maior inibição contra à elastase.

Tabela 1: Inibição da elastase por derivados triazólicos de benzofenonas. Os valores IC_{50} são expressos como a média $\pm$ desvio padrão de três experimentos independentes. Os valores de IC_{50} foram determinados a partir de porcentagens de parcelas de inibição versus log [inibidor] e calculados por regressão não-linear.

Composto	IC_{50} (μM)
5	$72,1 \pm 3,1$
7	$45,7 \pm 4,7$
8	$16,6 \pm 1,9$
18	$32,7 \pm 0,8$
EGCG	$220,4 \pm 5,7$

Os compostos **8** e **18** exibiram o maior efeito inibitório, apresentando IC_{50} de $16,6 \mu mol/L$ e $32,7 \mu mol/L$, respectivamente. O EGCG, usado como controle positivo, apresentou IC_{50} de $220,4 \mu mol/L$.

Com o objetivo de verificar o possível mecanismo de inibição apresentado pelo composto **8**, o composto mais ativo da série, realizou-se uma pesquisa cinética detalhada. O gráfico Lineweaver-Burk ou duplo recíproco para o derivado **8** é mostrado na **Figura 3**.

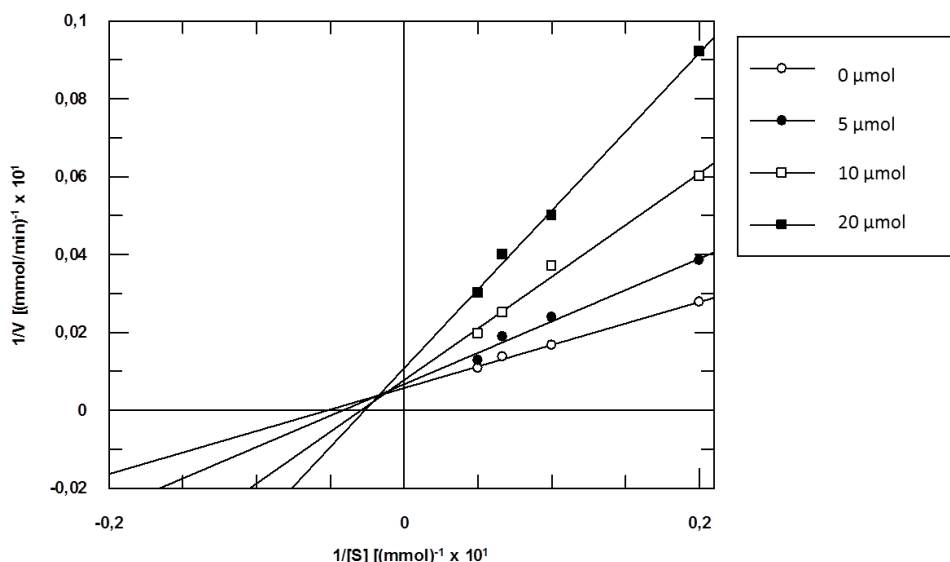


Figura 3: Lineweaver–Burk para a hidrólise da suc-A-A-A-pNA pela elastase na presença e ausência do composto **8**.

Este tipo de gráfico é especialmente útil para distinguir entre inibição competitiva e não competitiva e contribui para os cálculos dos parâmetros de inibição. A partir do gráfico, é evidente que o aumento $[I]$ fornece linhas retas que convergem no eixo $1/V_0$, possuindo declives diferentes. Este resultado sugeriu que o composto **8** age como um inibidor competitivo da elastase (SEGEL, 1993).

Para confirmar a atividade inibidora do composto **8**, os parâmetros cinéticos foram calculados a partir do gráfico de $1/V_0$ versus $1/[I]$ e os valores obtidos são apresentados na **Tabela 2**. A K_m e $V_{m\acute{a}x}$ foram determinadas utilizando quatro concentrações diferentes do composto **8**.

O composto **8** se liga à elastase com uma constante de inibição (K_i) de $11,12 \mu\text{mol L}^{-1}$. Este tipo de inibição ocorre quando I compete com o substrato de uma enzima para ligação ao sítio ativo para formar um complexo EI (**Fig. 4**)

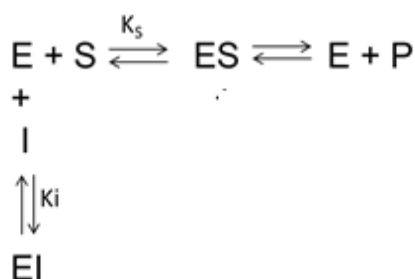


Figura 4: Mecanismo de inibição da elastase pelo composto **8**.

Tabela 2: Parâmetros cinéticos para a inibição da elastase pelo composto **8** (média $\pm$ desvio padrão).

Parâmetros	Concentrações do composto 8 ($\mu\text{mol/L}$)			
	0	5	10	20
$V_{\text{máx}}$ ($\mu\text{mol/Ls}$)	$17,38 \pm 0,83$	$16,53 \pm 0,57$	$16,33 \pm 0,35$	$17,23 \pm 0,26$
K_m (mmol/L)	$0,64 \pm 0,13$	$0,82 \pm 0,15$	$1,37 \pm 0,28$	$1,58 \pm 0,22$
α	$1,45 \pm 0,16$			
K_i ($\mu\text{mol/L}$)	$11,12 \pm 0,32$			

O inibidor competitivo modifica K_m sem afetar $V_{\text{máx}}$. Para o composto **8** observou-se que os valores de K_m variaram entre 0,64 a 1,58 mmol/L, enquanto os valores de $V_{\text{máx}}$ estão na faixa de 17,38-17,23 $\mu\text{mol L}^{-1} \text{s}^{-1}$.

A partir dos dados obtidos pela ANOVA, foi possível observar diferença significativa nos valores de K_m ($p < 0,001$) na presença e ausência do composto **8**. Não foram detectadas diferenças significativas entre os valores de $V_{\text{máx}}$ ($p > 0,05$). O fator α (**Tabela 2**), o fator pelo qual o K_s muda quando o composto **8** ocupa a enzima, foi encontrado e é igual a 1,45.

3.2 Acoplamento Molecular Previsto Entre Elastase e os Derivados Triazólicos

O acoplamento molecular foi realizado para entender os efeitos inibitórios dos compostos triazólicos e tentar descobrir uma correlação entre a atividade biológica e as estruturas destes compostos.

A análise de docking molecular foi feita com derivados **2a** e **4-18**. Conforme mostrado na **Figura 5A**, a previsão de docking demonstrou que os derivados **5-8** e **18** mostraram potencial em ligarem-se próximos ao sítio de atividade, enquanto os outros compostos são mais propensos a ter uma maior predição de afinidade fora do sítio catalítico.

Os melhores valores de afinidade de ligação com a enzima sugerem que o composto **5** tem um maior nível de atividade seguido pelo composto **8** (**Fig. 5B**).

Os resultados experimentais acima demonstraram que os compostos **8** e **18** são mais ativos que **5** e essa diferença entre os resultados do acoplamento molecular e ensaios biológicos pode estar associada a características físico-químicas dos compostos como solubilidade e polaridade que não foram levadas em consideração durante os cálculos de ancoragem molecular.

A solubilidade influencia a quantidade de compostos disponíveis para interagir com o alvo, afetando a relação proteína-composto, e esse parâmetro impacta diretamente na constante de ligação (CHEN *et al.*, 2009; MULLER *et al.*, 2017). Além disso, os efeitos de entropia e dessolvatação permanecem os dois principais desafios para o acoplamento molecular na atualidade (HUANG & ZOU, 2010). Apesar dessas limitações, o acoplamento molecular mostrou apresentar correlação com a afinidade experimental de quatro dos cinco compostos analisados, e identificou corretamente compostos com atividade inibitória.

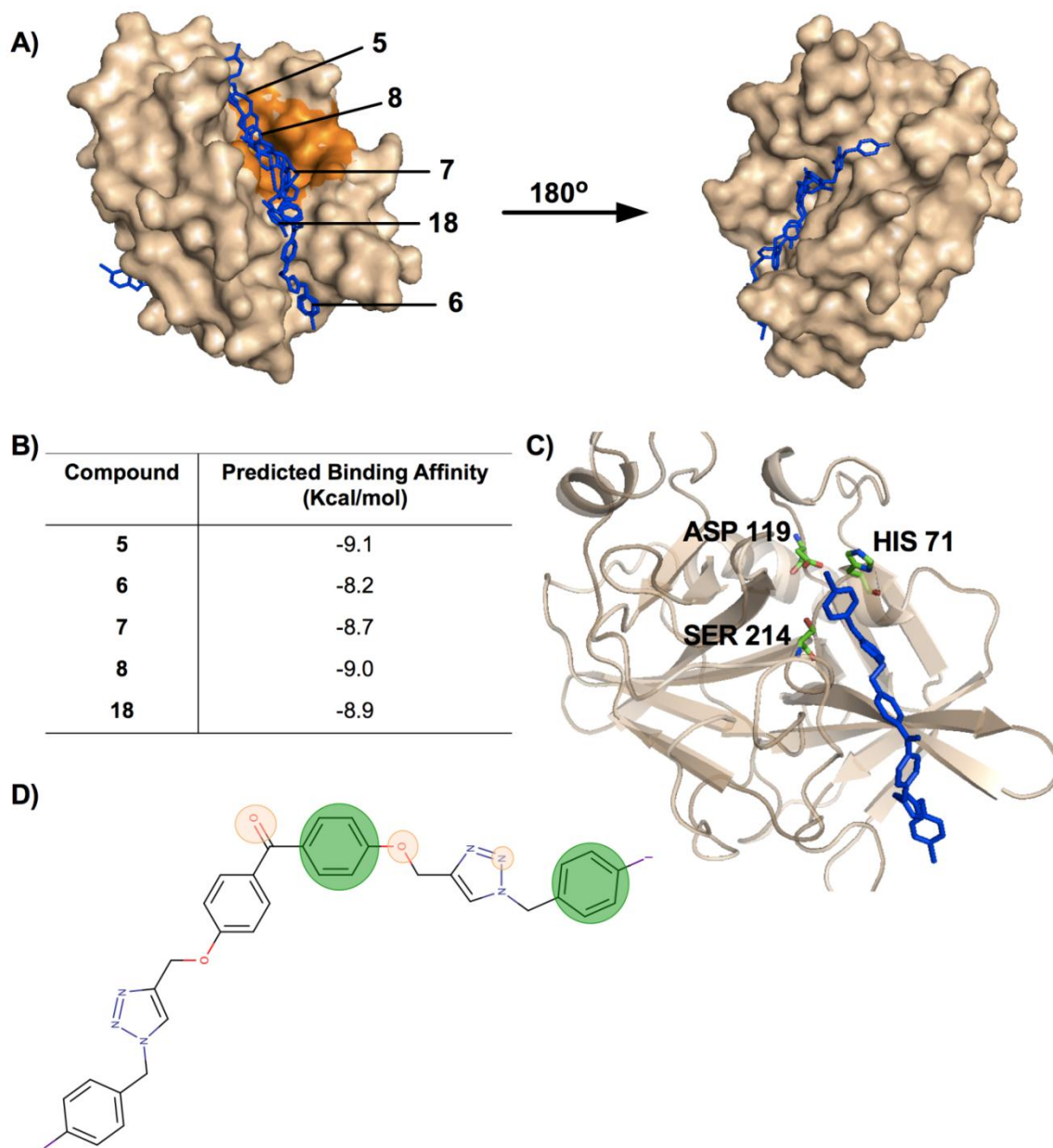


Figura 5: Interações moleculares previstas de compostos triazólicos com elastase. **(A)** Docking dos compostos **2** e **4-18** com elastase (PDB ID: 1GVK). A estrutura da superfície da proteína é mostrada em bege, o site ativo é destacado em laranja e os compostos são representados em azul. Somente os compostos **5-8** e **18** ligaram-se ao local catalítico sugerindo atividade inibidora por ligação competitiva. Os outros compostos mostraram afinidade predita fora do sítio ativo. **(B)** A afinidade de ligação relativa calculada para os compostos **5-8** e **18** com interações previstas no sítio catalítico da enzima. **(C)** Interação potencial do composto **8** que apresentou maior atividade com aminoácidos catalíticos da proteína elastase. **(D)** Mapeamento farmacofórico do composto **8** com receptores de hidrogênio são representados por círculos laranja e aromáticos hidrofóbicos são representados por círculos verdes.

Além disso, os resultados do acoplamento molecular previram que o composto **8** tem potencial para interagir com os aminoácidos catalíticos His71, Asp119 e Ser214 da elastase com uma distância de 3,6 Å, 3,1 Å e 2,2 Å,

respectivamente. Esses resíduos são considerados importantes, uma vez que estão diretamente envolvidos na transformação química entre o substrato e a elastase (SAWYER *et al.*, 1978).

A maioria dos inibidores de proteases se liga e bloqueia o acesso ao sítio ativo de sua protease-alvo, interagindo com os subsítios da protease e os resíduos catalíticos para evitar a reação de catálise (CHRISTOPHER & CHARLES, 2010). Além disso, os compostos que interagem com os resíduos catalíticos frequentemente exibem alta atividade inibidora e tendem a inibir muitas proteases relacionadas (SAYER & LOUIS, 2009). No entanto, a interação também depende de outros resíduos que não estão diretamente envolvidos com a catálise. Estes resíduos são altamente variáveis em comparação com outras proteases. Assim, a variabilidade destes aminoácidos pode minimizar o efeito da inibição cruzada com outras proteases.

Por conseguinte, a interação prevista entre o composto **8** e os aminoácidos chave para o mecanismo catalítico pode também estar relacionada com a elevada eficácia de inibição deste composto, como observado nos ensaios biológicos.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os ensaios biológicos revelaram que os compostos **5**, **7**, **8** e **18** apresentaram efeito inibitório sobre a ação proteolítica da elastase.

O composto **8** provou ser o mais ativo. Ensaios cinéticos realizados com o composto **8** indicaram que a inibição da elastase ocorre seguindo um mecanismo competitivo. A investigação do acoplamento molecular mostrou que o composto **8** estabelece interações com os resíduos do sítio catalítico de aminoácidos, o que corrobora com a sua atividade.

Esses resultados aqui encontrados, podem contribuir no desenho de novos fármacos, indicando que os derivados 1,2,3-triazólicos da 4,4'-diidroxibenzofenona podem ser explorados para o desenvolvimento de novos inibidores de elastase.

5. REFERÊNCIAS

- CHEN, Z.; LU, D.; WEBER, S. G. High-Throughput Phase-Distribution Method to Determine Drug Cyclodextrin Binding Constants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98 (1), 229-238, 2009.
- CHRISTOPHER J. F.; CHARLES S. C. *Chemical Biology Chemical* 11 (17), 2341-2346, 2010.
- DeLano WL (2002) The PyMOL molecular graphics system. <http://www.pymol.org> (accesado em 21/10/2017).
- EDWARDS, J. V.; PREVOST, N. T.; FRENCH, A. D.; CONCHA, M.; CONDON, B. D. Kinetic and structural analysis of fluorescent peptides on cotton cellulose nanocrystals as elastase sensors. *Carbohydrate Polymers*, 116, 278–285, 2015.
- FOLQUITTO, L. R. S.; NOGUEIRA, P. F.; ESPURI, P. F.; GONTIJO, V. S.; DE SOUZA, T. B.; MARQUES, M. J.; DIOGO T. CARVALHO, D. T.; JÚDICE, W. A. S.; DIAS, D. F. Synthesis, protease inhibition, and antileishmanial activity of new benzoxazoles derived from acetophenone or benzophenone and synthetic precursors. *Medicinal Chemistry Research*, 26, 1149–1159, 2017.
- GUMRUKCUOGLU, N.; SOKMEN, B. B.; UGRAS, S.; UGRAS, H. I.; YANARDAG, R. Synthesis, antibacterial, antielastase, antiurease and antioxidant activities of new 1,4-butylene bridged bis-1,2,4-triazole derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(1): 89–94, 2013.
- HASDEMIR, B.; SACAN, O.; YASA, H.; KUCUK, H. B.; YUSUFOGLU, A. S.; YANARDAG, R. Synthesis and elastase inhibition activities of novel

- aryl, substituted aryl, and heteroaryl oxime ester derivatives. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, 1-6, 2017.
- HE, G.; DOU, D.; WEI, L.; ALLISTON, K. R.; GROUTAS, W. C. Inhibitors of human neutrophil elastase based on a highly functionalized N-amino-4-imidazolidinone scaffold. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 4280-4287, 2010.
- HWANG, T.; WANG, W.; WANG, T., YU, H.; HSIEH, P. Synthesis and pharmacological characterization of 2-aminobenzaldehyde oxime analogs as dual inhibitors of neutrophil elastase and proteinase 3. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 23, 1123–1134, 2015.
- HUANG, S.-Y.; ZOU, X. Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking. *International Journal of Molecular Sciences*, 11 (8), 3016-3034, 2010.
- KANT, R.; SINGH, V.; NATH, G.; AWASTHI, S. K.; AGARWAL, A. Design, synthesis and biological evaluation of ciprofloxacin tethered bis-1,2,3-triazole conjugates as potent antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 218-228, 2016.
- KORKMAZ, B.; HORWITZ, M. S.; JENNE, D. E.; GAUTHIER, F. Neutrophil Elastase, Proteinase 3, and Cathepsin G as Therapeutic Targets in Human Diseases. *Pharmacological Reviews*, 62, 726–759, 2010.
- LAL, K.; YADAV, P.; KUMAR, A.; KUMAR, A.; PAUL, A. K. Design, synthesis, characterization, antimicrobial evaluation and molecular modeling studies of some dehydroacetic acid-chalcone-1,2,3-triazole hybrids. *Bioorganic Chemistry*, 77, 236–244, 2018.

- LEATHERBARROW, R.J., (1992): GraFit Version 5.0, Erithacus Software Ltd, Staines, U.K.
- LIYANAARACHCHI, G. D.; SAMARASEKERA, J. K. R. R.; MAHANAMA, K. R. R.; HEMALAL, K. D. P. Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. *Industrial Crops & Products*, 111, 597–605, 2018.
- MOURONTE-ROIBAS, C.; LEIRO-FERNANDEZ, V.; FERNANDEZ-VILLAR, A.; BOTANA-RIAL, M.; RAMOS-HERNANDEZ, C.; RUANO-RAVINA, A. COPD, emphysema and the onset of lung cancer. As review. *Cancer Letters*, 382, 240–244, 2016.
- MÜLLER, I. Guidelines for the successful generation of protein–ligand complex crystals. *Acta Crystallographica Section D: Struct. Biology*, 73, 79-92, 2017.
- NUSSBAUM, F.; LI, V. M. J. Neutrophil elastase inhibitors for the treatment of (cardio) pulmonar diseases: Into clinical testing with pre-adaptive pharmacophores. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, 4370-4381, 2015.
- RUIVO, E. F. P.; GONÇALVES, L. M.; CARVALHO, L. A. R.; GUEDES, R. C.; HOFBAUER, S.; BRITO, ARCHER, J. A. M.; RUI MOREIRA, LUCAS, S. D. Clickable 4-Oxo- β -lactam-Based Selective Probing for Human Neutrophil Elastase Related Proteomes. *Chem. Med. Chem.*, 11: 2037 – 2042, 2016.
- SAWYER, L.; SHOTTON, D. M.; CAMPBELL, J.W.; WENDELL, P.L.; MUIRHEAD, H.; WATSON, H. C. The atomic structure of crystalline porcine pancreatic elastase at 2.5 Å resolution: comparisons with the

- structure of alpha-chymotrypsin. *Journal of Molecular Biology*, 118(2), 137–208, 1978.
- SAYER, J. M.; LOUIS, J. M. Interactions of different inhibitors with active-site aspartyl residues of HIV-1 protease and possible relevance to pepsin. *Proteins*, 75(3), 556-568, 2009.
- SEGEL, I. H. *Enzyme Kinetics Behavior and Analysis of Rapid Equilibrium and Steady-State Enzyme Systems*; John Wiley & Sons: New York, 1993, 470–473.
- STERGIOU, P. Y.; FOUKIS, A.; GKINI, O. A.; BIETH, J. G.; PAPAMICHAEL, E. M. Kinetic and computational analysis of the reversible inhibition of porcine pancreatic elastase: a structural and mechanistic approach. *J. Enzyme Inhib Med Chem*, 31(S3): 131–139, 2016.
- SOKMEN, B. B.; GUMRUKCUOGLU, N.; UGRAS, S.; UGRAS, H. I.; YANARDAG R. Synthesis, antibacterial, antielastase, antiurease and antioxidant activities of new methoxy substituted bis-1,2,4-triazole derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(1): 72–77, 2013.
- SOKMEN, B. B.; HASDEMIR, YUSUFOGLU, B. A.; YANARDAG, R. Some Monohydroxy Tetradecanoic Acid Isomers as Novel Urease and Elastase Inhibitors and as New Antioxidants. *Appl Biochem Biotechnol.*; 172:1358–1364, 2014.
- TROTT, O., OLSON, A. J. *Journal of Computational Chemistry*, 31 455-461, 2010.

WINIARSKI, L.; OLEKSYSZYN, J.; SIENCZYK, M. Human Neutrophil Elastase Phosphonic Inhibitors with Improved Potency of Action. J. Med. Chem, 55, 6541–6553, 2012.

<http://www.jbc.org/content/277/24/21962> (acessado em 21/10/2017).

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5210513/> (acessado em 21/10/2017).

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-4658.2010.07659.x/full>

(acessado em 21/10/2017).

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2760638/> (acessado em 21/10/2017).

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR *in vitro* DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS DE BENZOFENONAS HIDROXILADAS

1. INTRODUÇÃO

O câncer de pele é o tipo mais comum de câncer em todo o mundo, e a sua incidência tem aumentado a cada ano (JONGENELIS *et al.*, 2018). Por exemplo, nos Estados Unidos, a cada ano cerca de 5 milhões de pessoas são tratadas por terem desenvolvido o câncer de pele (WATSON *et al.*, 2016).

O câncer de pele surge de uma combinação de fatores genéticos e ambientais, e a sua causa mais comum é a exposição prolongada à radiação UV (WATSON *et al.*, 2016; CRAYTHORNE & AL-NIAMI, 2017).

A radiação UV representa uma faixa do espectro solar que compreende comprimentos de onda entre 100 e 400 nanômetros, sendo subdividida em ultravioleta A (UVA, 320-400 nm), ultravioleta B (UVB, 280-320 nm) e ultravioleta C (UVC, 100-280 nm). A camada de ozônio que recobre a Terra é capaz de absorver toda a radiação UVC, todavia é ineficaz no bloqueio das radiações UVA e UVB (**Fig. 1**) (KOSHY *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2015).

As radiações UVA e UVB são prejudiciais à saúde devido aos efeitos nocivos sobre o corpo humano. Os raios UVA penetram mais profundamente na pele (**Fig. 1**), chegando à derme e promovendo sua pigmentação através da produção de melanina pelos melanócitos, mas também são responsáveis pelo fotoenvelhecimento cutâneo e pela fotossensibilidade ocular (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

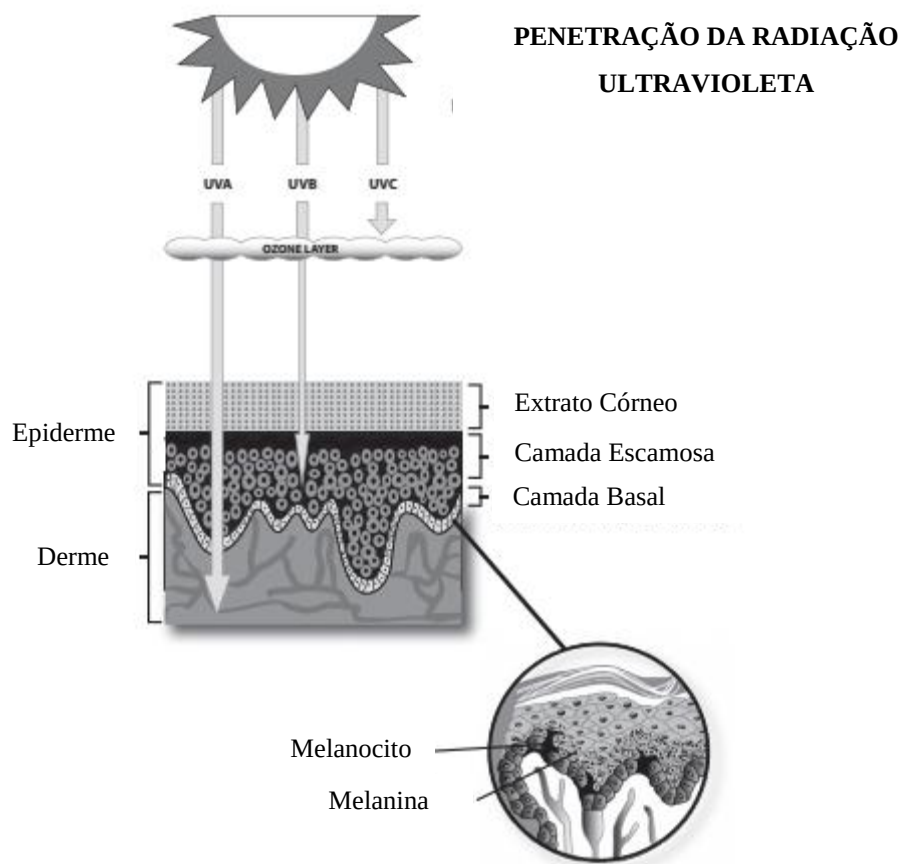


Figura 1: Tipos de radiação UV e sua penetração na pele. Adaptado de WATSON *et al.* (2016).

Já a radiação UVB penetra somente até a epiderme (**Fig. 1**) e é responsável pela produção natural da vitamina D₃ (colecalfiferol). Também é importante para a absorção de cálcio na estrutura óssea e é utilizada no tratamento de doenças de pele como psoríase e vitiligo. Porém, uma exposição prolongada aos raios UVB pode favorecer o surgimento acelerado de rugas, aspereza e ressecamento da epiderme, pigmentação irregular, imunossupressão e lesões, que podem ser benignas, pré-malignas ou malignas (VELASCO *et al.*, 2011).

Dentre as medidas mais eficazes para a prevenção do câncer de pele, bem como de outros efeitos deletérios causados pela radiação UV, o uso frequente de fotoprotetores se destaca por sua elevada eficácia.

Os fotoprotetores ou protetores solares são substâncias de aplicação cutânea, que contém em sua formulação ingredientes capazes de interferir na radiação solar reduzindo seus efeitos (BALOGH *et al.*, 2011).

Os filtros UV são os princípios ativos presentes nos fotoprotetores, os quais apresentam a capacidade de agir com a radiação incidente através de três mecanismos: reflexão, dispersão e absorção (SCHALKA & DOS REIS, 2011).

Os filtros UV podem ser divididos em inorgânicos e orgânicos dependendo de suas características físico-químicas (FLOR *et al.*, 2007).

Os filtros inorgânicos são partículas de óxido de zinco (ZnO) e dióxido de titânio (TiO₂), as quais são capazes de refletir ou dispersar a radiação UV (NASCIMENTO *et al.*, 2014; FLOR *et al.*, 2007).

Já os filtros solares orgânicos são moléculas que apresentam em suas estruturas químicas grupos cromóforos capazes de absorver radiação UVA e/ou UVB. Ao absorver a radiação UV, a molécula sofre modificações de sua energia eletrônica em consequência de transições dos elétrons que passam do estado fundamental para orbitais de maior energia (estado excitado), este fenômeno é observado, principalmente, em sistemas conjugados (**Fig. 2**) (SCHALKA & REIS, 2011; FLOR *et al.*, 2007; ARAÚJO *et al.* 2014; PAVIA *et al.*, 2010).

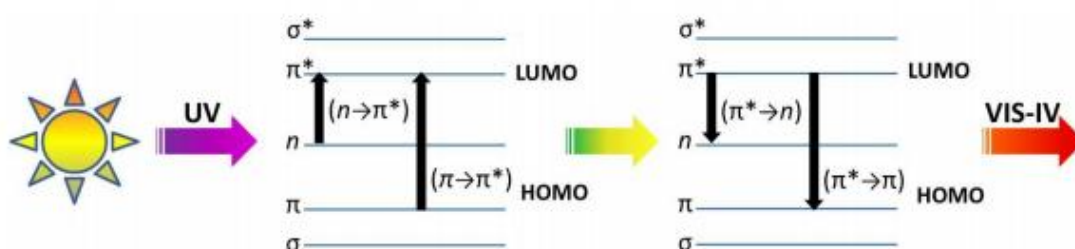


Figura 2: Transição eletrônica das radiações UV e conversão em VIS e IV pelos fotoprotetores orgânicos. Adaptado de NASCIMENTO *et al.* (2014).

A eficácia dos filtros solares é mensurada pelo fator de proteção solar (FPS). O FPS indica quantas vezes o tempo de exposição ao sol, sem o risco

de eritema, pode ser aumentado com o uso do protetor. (KOSHY *et al.*, 2010; EL-BOURY *et al.*, 2007).

O FPS pode ser determinado por metodologias *in vivo* e *in vitro*. Sendo que o método *in vivo* é dito como o método mais adequado, e é tradicionalmente utilizado e aceito oficialmente na maioria dos países (COLIPA-União Europeia, FDA-Estados Unidos, ANVISA-Brasil) (ANVISA, 2012; FDA, 2007, COLIPA, 2006).

Para o método em *in vivo*, o FPS pode ser definido como sendo a razão numérica entre a Dose Eritematosa Mínima (DEM) da pele protegida pelo fotoprotetor, aplicado na quantidade de 2 mg/cm², e a Dose Eritematosa Mínima da pele não protegida, numa relação matemática que pode ser apresentada como a Equação I abaixo:

$$FPS = \frac{DEM \text{ (pele protegida)}}{DEM \text{ (pele não protegida)}} \quad (I)$$

A metodologia para a determinação do FPS *in vivo* é complexa, extensa e demorada e ainda expõe os voluntários aos riscos de queimaduras e, além disso, este método não se mostra suficientemente prático para ser utilizado rotineiramente no controle de qualidade de produtos. Portanto, quanto às razões econômicas, práticas e éticas o melhor método para atender a estes requisitos é um método *in vitro* (SANTOS *et al.*, 1999).

Os métodos *in vitro* é uma metodologia de rastreio rápida, apresentando vantagens como reprodutibilidade, rapidez na obtenção dos resultados, baixo custo, além de reduzir os riscos de queimaduras nos voluntários submetidos aos testes *in vivo* (BENDOVA *et al.*, 2007; SOHN *et al.*, 2016).

Um dos métodos *in vitro* mais empregados é o método desenvolvido por Mansur e colaboradores, o qual permite determinar o FPS por espectrofotometria de maneira rápida e eficaz, além de apresentar uma boa correlação com os resultados *in vivo* (MANSUR *et al.*, 1986; SANTOS *et al.*, 1999).

O método de Mansur se baseia na análise espectrofotométrica de soluções diluídas utilizando a Equação II:

$$FPS = FC \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda) \quad (II)$$

Onde: FC = fator de correção (FC=10) determinado de acordo com dois protetores solares de FPS conhecidos, de tal forma que um creme contendo 8% de homossalato origine um FPS igual a 4;

$EE(\lambda)$ = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda λ ;

$I(\lambda)$ = intensidade do sol no comprimento de onda λ

$Abs(\lambda)$ = absorvância da solução no comprimento de onda λ .

Os valores de $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ são constantes, os quais foram determinados por SAYER e colaboradores, e são mostrados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Função dos produtos normalizados para o cálculo de FPS. Adaptado de COUTEAU *et al.* 2016.

Comprimento de Onda (λ nm)	$EE(\lambda) \times I(\lambda)$ (normalizado)
290	0,0150
295	0,8170
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

$EE(\lambda)$ = efeito eritemogênico; $I(\lambda)$ = intensidade do solar.

Como já mencionado no Capítulo 1, as benzofenonas constituem uma importante classe de filtros orgânicos. Isso se dá devido à estabilidade de sua estrutura, bem como, o espectro de absorvância que abrange as regiões UVA e UVB. Contudo, as benzofenonas podem, a longo prazo, induzir a reações

alérgicas tópicas ou sistêmicas quando absorvidas pelo organismo (ZAMOISKI *et al.*, 2015).

As benzofenonas apresentam um baixo peso molecular e como consequência conseguem facilmente difundir através da pele e se acumular no organismo. Além de deixar a pele mais susceptível a uma maior exposição à radiação UV, também pode interferir em processos biológicos do organismo, uma vez que, esta classe de compostos é interferentes endócrinos (KRAUSE *et al.*, 2018).

KRAUSE e colaboradores (2018) examinaram o líquido amniótico de mulheres grávidas para confirmar se as benzofenonas presentes em produtos cosméticos e protetores solares conseguia transpor a barreira placentária. Foi possível detectar em amostras de sangue amniótico e sangue do cordão umbilical que a presença das benzofenona-1 (BP-1), a benzofenona-3 (BP-3), a 4-metil-benzofenona (4-MBP) e a 4-hidroxibenzofenona (4-HBP) (**Fig. 3** podem apresentar risco para o desenvolvimento do feto.

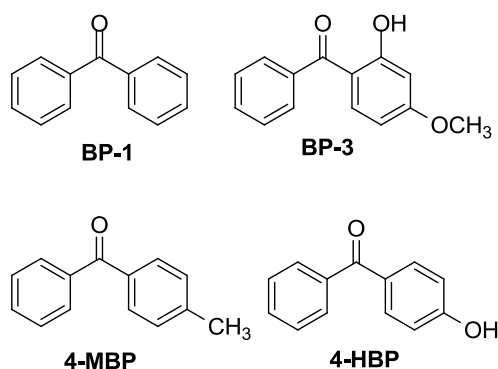


Figura 3: Estrutura das benzofenonas encontradas em amostras de sangue amniótico. Adaptado de KRAUSE *et al.* (2018).

Apesar do exposto, existem alguns substituintes que podem aumentar o peso molecular das benzofenonas e consequentemente aprimoram sua absorção da radiação UV, bem como sua segurança, devido ao aumento da deslocalização de elétrons e a redução da penetração através da pele.

Sendo assim, neste trabalho foram obtidos derivados de benzofenona hidroxilada com elevado peso molecular, determinou-se o fator de proteção solar (FPS) a fim de verificar sua eficácia como protótipos a fotoprotetores.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Estudo de Fotoproteção *in vitro*

As análises de fotoproteção foram processadas utilizando o método espectrofotométrico *in vitro* descrito por Mansur segundo metodologia da literatura (BERGOLD *et al.*, 1993). O teste foi realizado em placas de microdiluição contendo 96 micropoços (TPP, Trasadingen Suíça). O espectro foi obtido por leitura de absorvância em comprimento de onda entre 290 e 400 nm em leitor de placas de microdiluição (THERMO SCIENTIFIC, Vantaa, Finland).

A fim de se obter uma concentração de 0,2 µg/mL, foram pesados cerca de 1 mg de cada composto (a massa exata foi considerada para os cálculos das concentrações). A massa pesada foi diluída em etanol 96 °GL e em seguida foram para sonicadas em banho de ultrassom por 30 minutos. As soluções tiveram suas absorbâncias determinadas na faixa de 290 a 400 nm, com intervalos de 5 nm, sendo usado etanol 96 °GL como controle. Cada experimento foi realizado em triplicata. O FPS foi então determinado empregando-se a **Equação II**.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação do FPS-UVB *in vitro*

A determinação do FPS-UVB *in vitro* foi realizada com 22 compostos sintetizados. Os demais derivados triazólicos sintetizados não foram avaliados devido a baixa solubilidade dos mesmos.

A leitura de absorbância na região do ultravioleta (290-400) dos derivados de benzofenonas hidroxiladas foi realizada para verificar o potencial de absorção na região UV. No ensaio realizado, pode-se constatar que todos os compostos avaliados absorvem na região do UVB (**Tabela 2**), e para conhecer o potencial de absorção foi calculada a absortividade molar (ϵ) dos derivados.

A ϵ trata da capacidade de transições eletrônicas ocorrerem em uma molécula e pode variar de 0 a 10^6 . São considerados compostos com alta capacidade de absorção da radiação aqueles que apresentam ϵ na escala de 10^4 , enquanto valores abaixo de 10^3 apresentam absorções de baixa intensidade (PAVIA, 2010).

A ϵ é dependente do comprimento de onda, e foi obtida usando a lei de Beer-Lambert:

$$A = \epsilon cl$$

Onde: A= absorbância, c = concentração molar do soluto, l = comprimento da cela de amostra (cm).

Todos os compostos apresentaram ϵ igual ou maior que 10^5 , o que indica uma elevada absorção na região do UVB (**Tabela 2**). Os compostos triazólicos apresentaram ϵ maior que àqueles observados para os compostos propargilados **2a** e **2b**, o que proporciona aos compostos triazólicos valores maiores de absorção. No entanto, o máximo de absorção observado ao redor de 295 nm não sofreu alteração.

Tabela 2: Valores do fator de proteção solar (FPS) para a 4,4'-diidroxibenzofenona e seus derivados em concentração de 0,2 µg/mL, utilizando etanol como solvente.

Composto	FPS	ϵ ($10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	MW*
2a	5,18 ± 0,295	8,62	290,31
2b	5,20 ± 0,294	7,49	252,27
4	5,21 ± 0,288	16,29	556,61
5	4,98 ± 0,274	16,51	592,59
6	5,16 ± 0,284	18,10	625,50
7	5,13 ± 0,282	20,58	714,40
10	5,20 ± 0,286	17,10	584,67
11	5,06 ± 0,281	16,68	584,67
13	5,07 ± 0,285	19,64	628,58
15	5,16 ± 0,283	20,08	693,39
17	5,16 ± 0,283	19,89	724,61
18	4,81 ± 0,269	19,71	692,61
19	5,56 ± 0,326	12,48	385,41
20	5,09 ± 0,279	11,39	399,44
21	5,05 ± 0,279	11,94	420,87
22	4,95 ± 0,279	12,14	431,42
23	5,13 ± 0,285	13,43	465,32
24	5,21 ± 0,286	12,36	421,40
25	5,04 ± 0,286	13,29	453,41
26	4,94 ± 0,275	13,08	470,42
27	5,20 ± 0,286	14,91	386,40
28	5,21 ± 0,286	11,26	443,43
Octacrileno	5,96 ± 0,293	10,67	391,50

Homosalato	5,04 ± 0,270	7,39	274,38
BZF-3	5,46 ± 0,330	6,00	212,24

*Peso Molecular em Dalton, dados foram obtido pelo programa Molecular Weight Calculator para Windows 95- version 4.1 pela Matthew Monroe – <http://www.unc.edu/~monroen/>).

Empregou-se a fórmula de Mansur e colaboradores (**Equação II**) para a determinação do FPS-UVB dos derivados de benzofenonas hidroxiladas (**Tabela 2**). Na concentração 0,2 µg mL⁻¹ todas as moléculas apresentaram FPS-UVB aproximadamente igual a 5. De acordo com os padrões estabelecidos pela resolução da ANVISA, RDC número 30 de junho de 2012, os compostos testados apresentam uma baixa atividade fotoprotetora uma vez que o FPS-UVB encontrado é menor ou igual a 6 (ANVISA, 2012).

A fim de verificar a relevância dos resultados obtidos, utilizaram-se como padrões os fotoprotetores orgânicos: benzofenona-3 (BP-3), homosalato e octocrileno (**Fig. 4**).

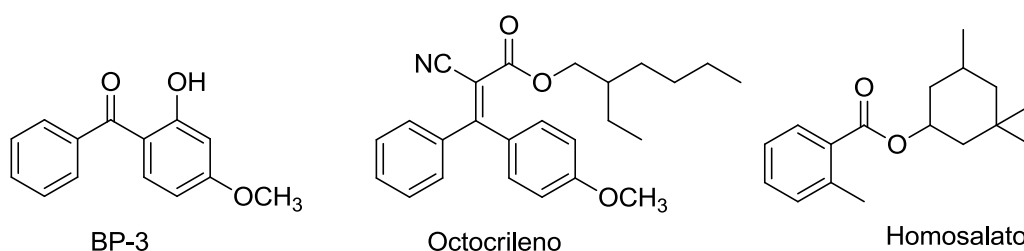


Figura 4: Estruturas químicas dos fotoprotetores orgânicos: BP-3, Homosalato e Octocrileno.

Inicialmente, foi realizado a ANOVA a fim de comparar os padrões com os derivados de benzofenonas hidroxiladas. A partir dos dados obtidos pela análise de variância (ANOVA), considerando um grau de confiança de 95%, pode-se inferir que não há diferença estatística significativa entre os valores de FPS-UVB dos padrões benzofenona-3 (BP-3), homosalato e octocrileno quando comparado com os compostos analisados (**Fig. 5**).

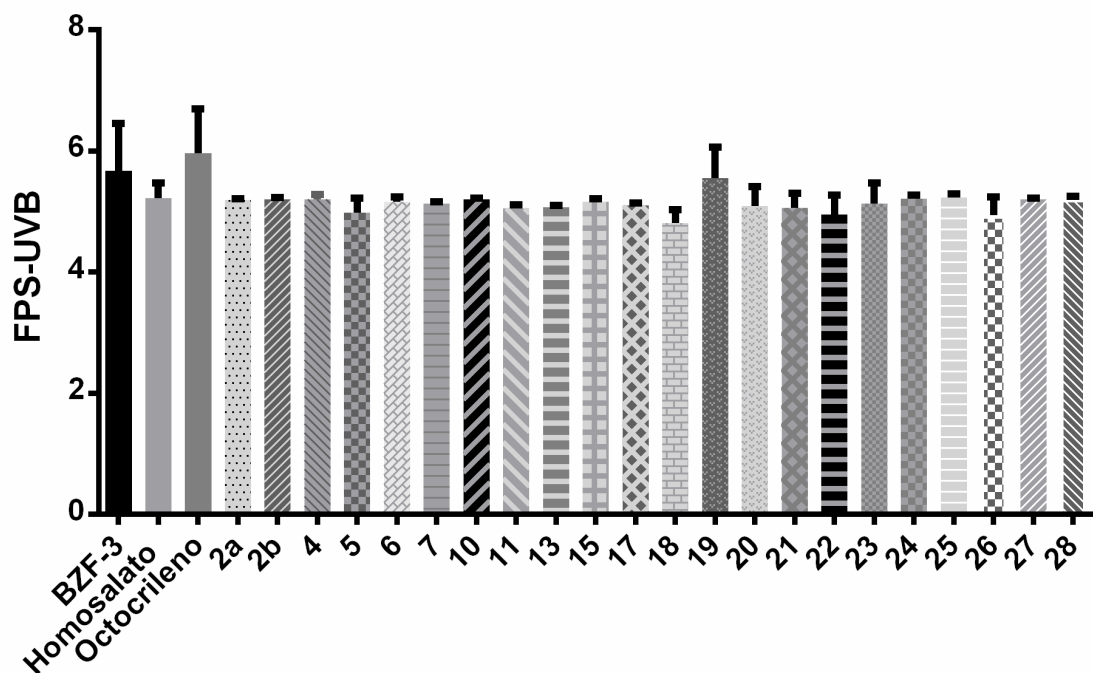


Figura 5: FPS-UVB dos fotoprotetores orgânicos: benzofenona-3 (BP-3), homosalato e octocrileno e dos derivados de benzofenonas hidroxiladas na concentração de 0,2 µg/mL.

Diante dos resultados obtido, o derivado triazólico **4** foi selecionado a fim de realizar uma comparação com o fotoprotetor comercial BP-3. Ao comparar a atividade do fotoprotetor com o derivado triazólico, nas mesmas condições, percebeu-se que os resultados obtidos para o derivado **4** não apresentaram diferença estatística significativa frente ao teste *t de Student* (considerando um grau de confiança de 95%) (**Fig. 6**).

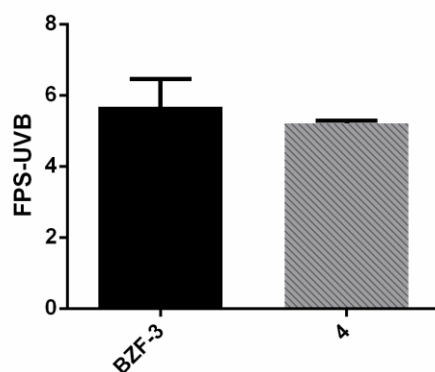


Figura 6: FPS-UVB do fotoprotetor orgânico benzofenona-3 (BP-3) e do derivado **4** na concentração de 0,2 µg/mL.

Segundo a resolução RDC nº 161 de 11/09/2001, ANVISA, para o filtro solar apresentar eficácia e segurança o mesmo deverá possuir os seguintes atributos: absorver na faixa do UV entre 280-400 nm, possuir absorvidade molar (ϵ) acima de $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e ter baixa solubilidade em água (ANVISA, 2001). Diante do exposto, podemos observar que todos os derivados de benzofenonas hidroxiladas sintetizados neste presente trabalho estão de acordo com o que preconiza a ANVISA para substâncias permitidas para uso como filtros solares.

Outro atributo importante para as moléculas candidatas a novos filtros solares é apresentar um elevado peso, uma vez que a capacidade de penetração cutânea é afetada pelo peso molecular dos compostos, assim, os compostos com pesos moleculares abaixo de 500 Daltons podem penetrar com facilidade a barreira da pele e serem absorvidos (HEO *et al.*, 2018).

Como pode-se observar na **Tabela 2**, os derivados triazólicos **4-7**, **10**, **11**, **13**, **15**, **17** e **18** apresentaram um peso molecular superior a 500 Daltons. Os derivados triazólicos de benzofenonas hidroxiladas apresentaram peso molecular similares a compostos já patenteados e utilizados atualmente no mercado na composição de produtos cosméticos destinados a proteção da pele (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Por exemplo, NASCIMENTO e colaboradores (2014) relatam alguns fotoprotetores orgânicos já patenteados que cumprem os requisitos propostos pela ANVISA e apresentam elevado peso molecular (**Fig. 7**) inviabilizando a permeação cutânea dos mesmos.

Alguns dos fotoprotetores mencionados por NASCIMENTO *et al.* 2014 apresentam estrutura similar aos derivados triazólicos que foram sintetizados neste presente trabalho, como por exemplo a 2,2'-metileno-bis[6-(2H-benzo[1,2,3]triazol-2-il)-4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenol] e 2-(2H-benzo[d][1,2,3]triazol-2-il)-4-metil-6-{2-metil-3-[1,3,3,3-tetrametil-1-(trimetilsilil)óxidisiloxanil)-propil]} que apresenta em sua estrutura o núcleo 1,2,3-triazol.

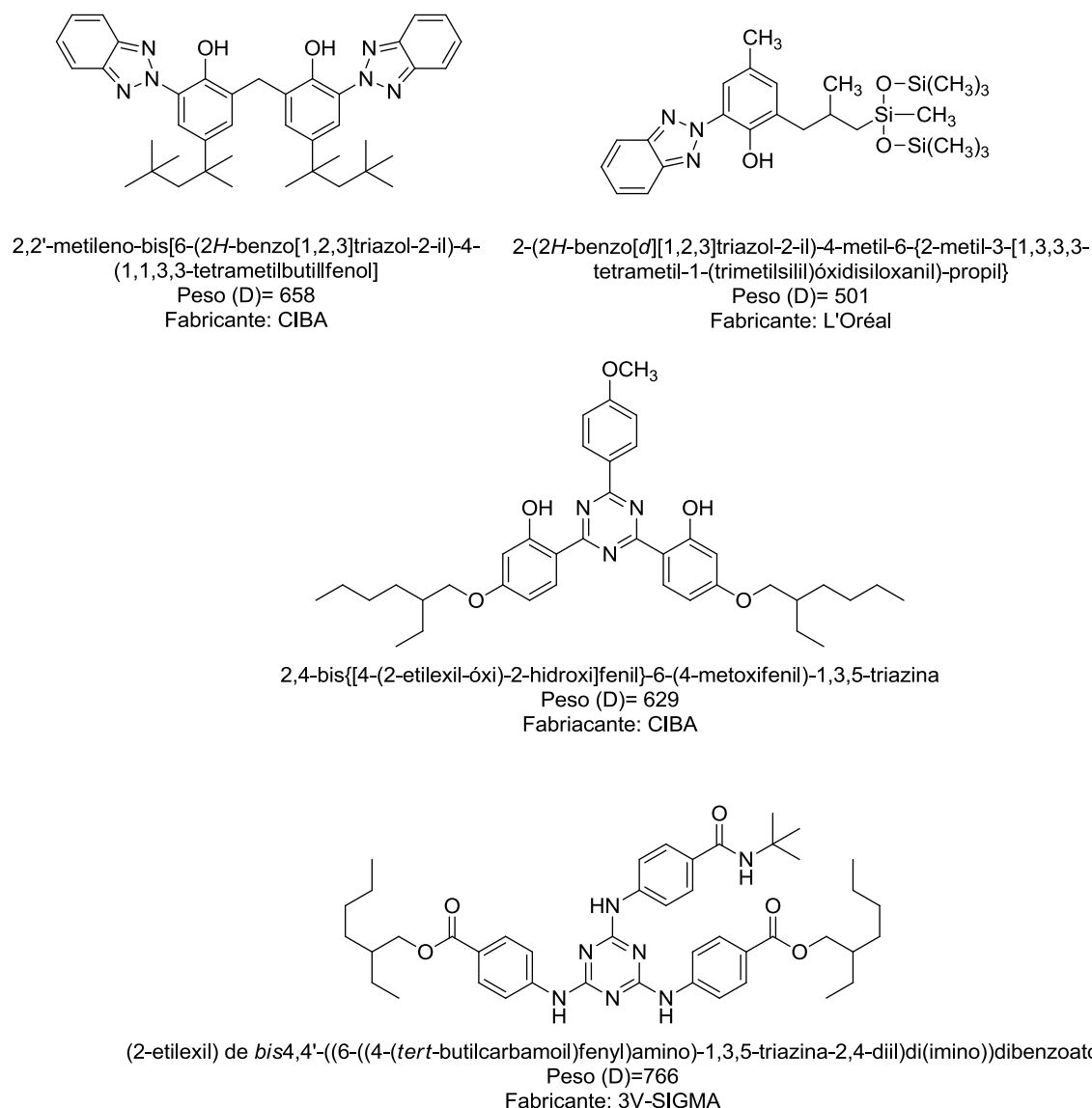


Figura 7: Estrutura química de novos fotoprotetores com elevado peso molecular. Adaptado de NASCIMENTO *et al.* (2014).

Os resultados obtidos neste trabalho encorajam estudos posteriores, envolvendo novos ensaios *in vitro* para a determinação da fototoxicidade e estabilidade térmica dos derivados obtidos por meio da química click e, posteriormente estudos *in vivo* para analisar a viabilidade da utilização destes compostos em composições fotoprotetoras.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se inferir que todos os derivados absorvem radiação UVB com absorção máxima aproximadamente 295 nm. Todos os compostos aqui testados apresentaram baixo FPS, mas similar a filtros solares comerciais (BP-3, Homosalato e Octocrileno).

Os derivados triazólicos **4-7**, **10**, **11**, **13**, **15**, **17** e **18** apresentam um peso molecular superior a 500 Daltons.

Serão realizados novos testes a fim de avaliar a fotoestabilidade e fototoxicidade dos derivados, a fim de selecionar os mais promissores para a confecção de formulações combinadas a outras substâncias para garantir maior eficácia na proteção solar e posteriores testes *in vivo*.

5. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GUIMARÃES, D. G.; OLIVEIRA-JUNIOR, R. G.; ALMEIDA, J. R. G. DA S.; GONSALVES, A. A. Síntese e Determinação in vitro do FPS-UVB de Oximas Derivadas do Lapachol. *Revista Virtual Quimica*, 6 (6), 1702-1712, 2014.
- BALOGH, T. S.; MARIA VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M. Ultraviolet radiation protection: current available resources in photoprotection. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(4):732-42, 2011.
- BENDOVA, H.; AKRMAN, J.; KREJC, A.; KUBA, L.; JIROVA, D.; KEJLOVA, K.; KOLAROVA, H.; BRABEC, M.; MALY, M. In vitro approaches to evaluation of Sun Protection Factor. *Toxicology in Vitro*, 21, 1268–1275, 2007.
- BERGOLD, A. M.; PONZIO, H. A.; CAMARGO, L. N.; RIBEIRO, M. H.; DIAS, M. C; SARTORI, V. L. Avaliação de um método parava determinação do fator de proteção solar do Eusolex 6300 por Espectrofotometria no Ultravioleta em diferentes concentrações de preparações magistrais. *Caderno de Farmácia*, 9 (1), p. 17-22, 1993.
- COLIPA, Internacional Sun Protection Factor (SPF) Test Method, 2006.
- Fitzpatrick TB. The validity and practicability of sun-reactive skin types I through VI. *Archives of Dermatology*, 124, 869-71, 1988.
- COUTEAU, C.; DIARRA, H.; COIFFARD, L. Effect of the product type, of the amount of applied sunscreen product and the level of protection in the UVB range on the level of protection achieved in the UVA range. *International Journal of Pharmaceutics*, 500, 210–216, 2016.

- CRAYTHORNE, E.; AL-NIAMI, F. Skin câncer. *Medicine*, 45, 7, 431-434, 2017.
- EL-BOURY, S.; C. COUTEAU, L. BOULANDE, E. PAPARIS, L.J.M. COIFFARD. Effect of the combination of organic and inorganic filters on the Sun Protection Factor (SPF) determined by *in vitro* method. *International Journal of Pharmaceutics*, 340, 1–5, 2007.
- FDA, Food and Drug Administration, Department of health and human services. Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use; Proposed Amendment of Final Monograph. 21 CFR Parts 347 and 352, 2007.
- FLOR, J.; DAVOLOS, M. R. Protetores Solares. *Química Nova*, 30 (1), 153-158, 2007.
- HEO, S.; HWANG, H. S.; JEONG, Y.; NA, K. Skin protection efficacy from UV irradiation and skin penetration property of polysaccharide-benzophenone conjugates as a sunscreen agent. *Carbohydrate Polymers*, 195, 534–541, 2018.
- JONGENELIS, M.; PETTIGREW, S.; STRICKLAND, M.; MINTO, C.; SLEVIN T. The relationship between skin checking and sun protection behaviours: implications for skin câncer prevention campaigns. *Public Health*, 155, 55-58, 2018.
- KOSHY, J. C.; SHARABI, S. E.; JERKINS, D.; COX, J.; CRONIN, S. P.; HOLLIER, JR., L. H. Sunscreens: Evolving Aspects of Sun Protection. *J Pediatr Health Care*, 24, 343-346, 2010.
- KRAUSE, M.; FREDERIKSEN, H.; SUNDBERG, K.; JORGENSEN, F. S.; JENSEN, L. N.; P. NORGAARD, P.; JORGENSEN, C.; ERTBERG, P.; JUUL, A.; DRZEWIECKI, K. T.; SKAKKEBAEKA, N. E.; ANDERSSON,

- A. M. Presence of benzophenones commonly used as UV filters and absorbers in paired maternal and fetal samples. *Environment International*, 110, 51–60, 2018.
- MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; D' ASCENÇÃO MANSUR, M. C.; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, 61 (3), 121-124, 1986.
- NASCIMENTO, L. F.; SANTOS, E. P.; AGUIAR, A. P. Fotoprotetores Orgânicos: Pesquisa, Inovação e a Importância da Síntese Orgânica. *Rev. Virtual Química*, 6 (2), 190-223, 2014.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIS, G. S.; VYVYAN J. R. *Introdução a Espectroscopia*, Cengage Learning, São Paulo, 2010.
- Resolução RCD, Nº 30 de 1º de junho de 2012. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/> Acessado em 31/01/2017.
- SANTOS, E. P.; FREITAS, Z. M.; SOUZA, K. R.; GARCIA, S. *In vitro* and *in vivo* determinations of sun protection factors of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate. *International Journal of Cosmetic Science*, 21, 1–5, 1999.
- SCHALKA, S.; DOS REIS, V. M. S. Sun protection factor: meaning and controversies. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86 (3), 507-15, 2011.
- SILVA, R. R.; MACHADO, P. F. L.; ROCHA, R. J.; SILVA, S C. F. Luz e os Filtros Solares: Uma Temática Sociocientífica. *Revista Virtual Química*, 7 (1), 218-241, 2015.
- VELASCO, M.V.R.; BALOGH, T.S.1; PEDRIALI, C.A.; SARRUF, F.D.; PINTO, C.A.S.O.; KANEKO, T,M.; BABY, A.R. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (*in vitro*) – revisão. *Revista Ciências Farmaceutica Básica Aplicada*, 32 (1), 27-34, 2011.

- SOHN, M.; HERZOG, B.; OSTERWALDER, U.; IMANIDIS, G. Calculation of the sun protection factor of sunscreens with different vehicles using measured film thickness distribution: Comparison with the SPF in vitro. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 159, 74–81, 2016.
- ZAMOISKI, R. D.; CAHOON, E. K.; FREEDMAN D. M.; LINET, M. S. Self-reported sunscreen use and urinary benzophenone-3 concentrations in the United States: NHANES 2003–2006 and 2009–2012. *Environmental Research*, 142, 563–567, 2015.
- WATSON, M.; HOLMAN, D. M.; MAGUIRE-EISEN, M. Ultraviolet radiation exposure and its impact on skin cancer risk. *Seminars in Oncology Nursing*, 32 (3), 241-254, 2016.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS

1. INTRODUÇÃO

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e sendo assim os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica.

O termo radical livre é frequentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos, o que faz com que as estruturas sejam altamente reativas (LIMA, 2008).

Os radicais livres, cujos elétrons desemparelhado encontra-se centrados aos átomos de oxigênio ou nitrogênio, são denominados de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), respectivamente (BARREIROS *et al.*, 2006).

Entre os EROs mais importantes estão: radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$), anión radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), radicais peroxila ($\text{ROO}\cdot$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HOCl). Já entre os ERNs destacam-se: óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2) e peroxinitrito (ONOO^-) (POPRAK *et al.*, 2017).

EROs e ERNs em concentrações baixas desempenham papéis importantes nos mais diversos processos bioquímicos do organismo, tais como regulação do crescimento celular, sinalização intracelular e síntese de substâncias biológicas. No entanto, seu excesso pode danificar o DNA, proteínas e lipídios, gerando distúrbios hepáticos, doenças cardíacas, catarata,

disfunção cognitiva, câncer, doença de Alzheimer e muitos outros problemas de saúde (LIU *et al.*, 2018).

Em condições fisiológicas normais, os organismos vivos possuem um sistema regulado para manter os níveis de EROs e ERNs baixos, equilibrando, portanto, sua produção e eliminação. No entanto em certas circunstâncias este equilíbrio pode ser afetado e os efeitos nocivos causados por estas espécies podem afetar muitos, se não, todos os processos bioquímicos do organismo (LUSHCHAK, 2014).

O estresse oxidativo resulta deste desequilíbrio entre a formação de EROs e/ou ERNs e a capacidade prejudicada do organismo em controlar os intermediários reativos ou ser capaz de reparar os danos que eles causam (BARREIROS *et al.*, 2006; PROPAC *et al.*, 2017).

Os efeitos nocivos dos radicais livres podem, portanto, ser neutralizados por substâncias conhecidas como antioxidantes. Segundo a definição apresentada por HALLIWELL (1990) e aceita universalmente, antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixa quantidade comparada à do substrato oxidável, regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo.

Os antioxidantes apresentam diversos mecanismos de ação que variam de acordo com o tipo de oxidante a ser neutralizado: (I) sequestro de radicais do meio, (II) quelação de íons metálicos, (III) inibição de enzimas produtoras de radicais livres, (IV) ativação de enzimas antioxidantes endógenas, (V) prevenção da peroxidação lipídica, (VI) prevenção de danos no DNA e (VII) prevenção de modificação de proteína e destruição de açúcar (CAROCHO *et al.*, 2018).

Os antioxidantes abrangem diferentes classes de compostos e podem ser classificados como naturais ou sintéticos (EMBUSCADO, 2015). As principais classes de compostos com atividade antioxidante de origem natural são: vitaminas (vitamina C e vitamina E), carotenóides (carotenos e xantofilas), polifenóis (flavonóides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos) e benzofenonas (OROIAN & ESCRICHE, 2015). Já entre os antioxidantes de origem sintética

se destacam: hidroxitolueno butilado (BHT), butil-hidroxianisol (BHA) e butil-hidroquinona terciária (TBHQ) (LIU *et al.*, 2018).

Dentre os compostos fenólicos, podemos destacar as hidroxibenzofenonas naturais que são metabólitos biologicamente ativos presente em plantas e especialmente na família Guttiferae com alta atividade antioxidante (NILAR *et al.*, 2005).

Por exemplo, dois novos derivados de benzofenona 4,3',4'-trihidroxi-2,6-dimetoxibenzofenona (**1**) e seu glicosídeo 3'-β-D-glucosiloxi-4,4'-diidroxi-2,6-dimetoxi-benzofenona (**2**) foram isolados a partir dos galhos de *Garcinia livingstonei*. O composto **1** mostrou-se mais ativo que o controle positivo, Vitamina C (IC_{50} = 82,4 μmol/L), com um IC_{50} = 50,0 μmol/L. A glicosilação pode estar relacionada com significativa diminuição da atividade do derivado de benzofenona **2** (IC_{50} = 353,0 μmol/L) quando comparado ao derivado **1** (IC_{50} = 50,0 μmol/L) (MURIITHI *et al.*, 2016).

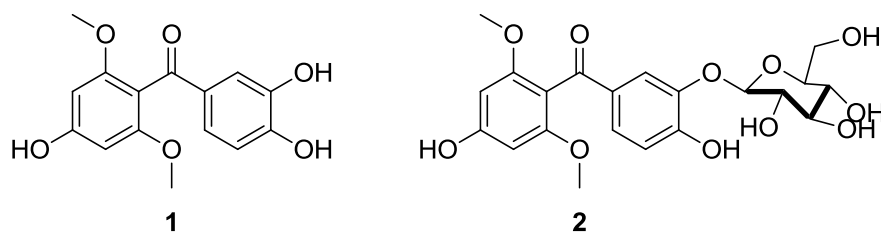


Figura 1: Estruturas dos derivados de benzofenona obtidos a partir de *Garcinia livingstonei*. Adaptado de MURIITHI *et al.* (2016).

Já o garcinol, derivado poliisoprenilado de benzofenona, extraído das cascas dos frutos da *Garcinia indica*, mostrou ser três vezes mais potente na eliminação do radical livre DPPH que o DL-α-tocoferol (YAMAGUCHI *et al.*, 2000).

Devido ao papel importante desempenhado pelos antioxidantes para proteção do organismo contra o estresse oxidativo, e dado que atualmente estamos diariamente expostos a condições que favoreçam a superprodução de EROs e/ou ERNs, vários estudos tem sido realizados a fim de se encontrar novos compostos que apresentem atividade antioxidante e que não exiba efeitos colaterais, como, por exemplo, a produção de substâncias tóxicas,

como é o caso dos antioxidantes sintéticos BHT e BHA utilizados com frequência pela indústria alimentícia.

SHAIKH e colaboradores (2016) sintetizaram dezoito novas acetofenonas contendo o núcleo 1,2,3-triazol via química click e avaliaram sua atividade antifúngica e antioxidante. Quanto a sua atividade antioxidante, todos os derivados apresentaram atividade antioxidante quando comparados ao padrão BHT. De acordo com o ensaio de sequestro de radicais livres 2,2-difenil-1-picrilohidrazina (DPPH), o composto 1-(5-cloro-2-((1-(4-nitrobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4il)metoxi)fenil)etanona foi o mais ativo apresentando um IC_{50} = 17,06 µg/mL que é uma atividade antioxidante promissora em comparação ao BHT (IC_{50} = 16,47 µg/mL).

Também visando à obtenção de novos compostos com atividade antioxidante e com baixa toxicidade, BANDGAR e colaboradores (2010) sintetizaram uma série de análogos de benzofenona contendo nitrogênio. Entre os compostos sintetizados verificou-se que todos possuem significativa atividade antioxidante pelo teste de sequestro de radicais livres DPPH. Quatro dos análogos de benzofenonas apresentaram maiores atividade de sequestrado dos radicais DPPH: (2-fluorofenil)(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-(piperidin-1-ilmetil)benzofenona (**3**) ; (3-clorofenil)(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-(piperidin-1-ilmetil)benzofenona (**4**); (2-bromofenil)(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-(piperidin-1-ilmetil)benzofenona (**5**) e (3-fluorofenil)(2-hidroxi-4,6-dimetoxi-3-((4-metilpiperazin-1-il)metil)benzofenona (**6**) com porcentagem de inibição de 73,31; 45,29; 64,43 e 40,44%, respectivamente. Sendo que o composto **6** mostrou-se como o mais promissor, uma vez que em estudos concomitantes apresentou elevada ação anti-inflamatória e baixa citotoxicidade.

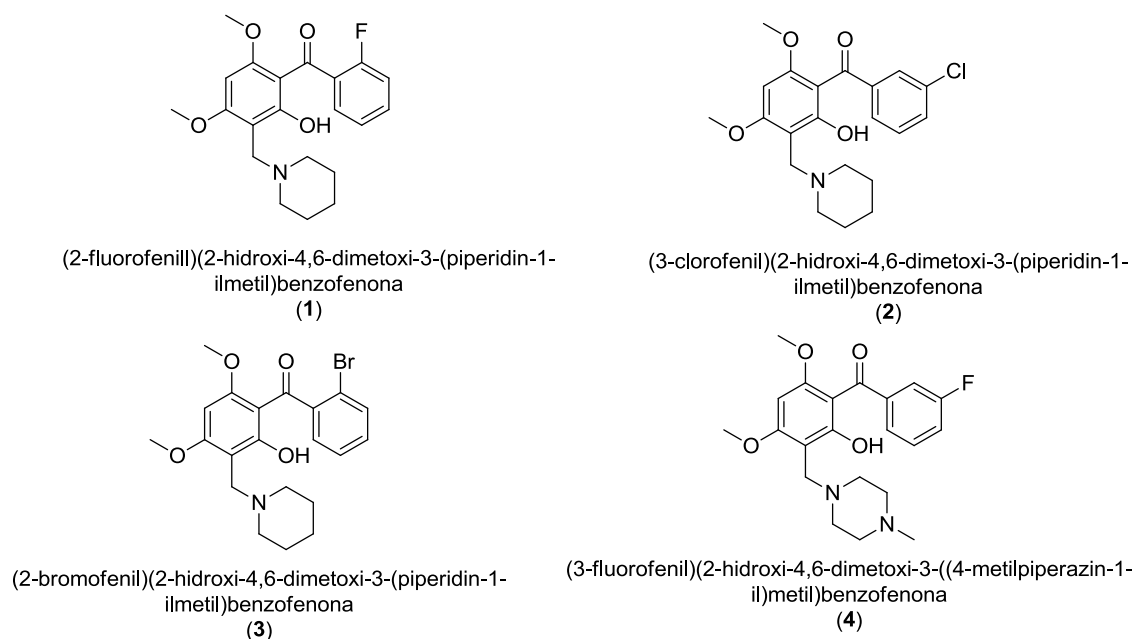


Figura 2: Estruturas dos análogos de benzofenona contendo nitrogênio que apresentaram maiores atividade de sequestrado dos radicais DPPH. Adaptado de BANDGAR *et al.* (2010).

Doença como o câncer está diretamente associado ao aumento do estresse oxidativo no organismo. Estudos comprovam que as células cancerígenas apresentam maiores quantidades de EROs do que as células saudáveis (PISOSCHI & POP, 2015).

EROs também foram identificadas como estimuladoras de oncogênese, tais como os genes Jun e Fos. Por exemplo, a superexpressão de Jun está diretamente associado ao câncer de pulmão (RAHMAN *et al.*, 2012).

Mais de cem tipos de neoplasmas malignos afetam seres humanos e são comumente denotados como câncer (ANDRISIC *et al.*, 2018).

Apenas em 2012, houve 14,1 milhões de novos casos em todo mundo e 8,2 milhões de óbitos. Sendo que os cânceres comumente diagnosticados neste período foram: pulmão (1,82 milhão), mama (1,67 milhão) e colorretal (1,36 milhão). As causas de morte mais comum por câncer foram câncer de pulmão (1,6 milhão de mortes), câncer de fígado (745.000 mortes) e câncer de estômago (723.000 mortes) (FERLAY *et al.*, 2015).

No Brasil, estima-se para o biênio 2018-2019 a ocorrência de 600 mil novos casos de câncer, para cada ano. Excetuando-se o câncer de pele não melanoma que ocorrerão 420 mil novos casos (INCA).

Segundo o INCA, as causas do câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes. Já as causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, e estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas.

Considerando que o estresse oxidativo está fortemente relacionado com a toxicidade dos tratamentos quimioterápicos, e a elevada eficácia apresentada pelos antioxidantes fenólicos no sentido de controlar os distúrbios mediados pelo estresse oxidativo, estes compostos vem despertando o interesse de pesquisadores que visam desenvolver novos compostos com baixa toxicidade e elevada ação antioxidante que possam ser utilizados para o tratamento do câncer.

Por exemplo, TZANOVA e colaboradores (2008) sintetizaram três novas benzofenonas contendo a porção 1,3-tiazol (**Fig. 3**). Avaliou-se a atividade antioxidante e citotoxicidade *in vitro* de três linhagens celulares: células mamárias cancerígenas (MCF7) e não-cancerígenas hTERT-HME1 e as células cardiomioblásticas (H9c2). A capacidade antioxidante dos derivados **8** e **9** foram, respectivamente, 2 e 1,5 vezes superior ao do Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) usado como antioxidante de referência. O composto mais citotóxico foi o **8**, enquanto o **9** não mostrou efeitos citotóxicos notáveis abaixo de 100 µmol/L em ambas as linhas celulares. Portanto, o composto **9** mostrou-se como mais promissor para estudos posteriores, uma vez que apresentou elevada atividade antioxidante *in vitro*, sem toxicidade significativa numa linhagem celular não cancerosa.

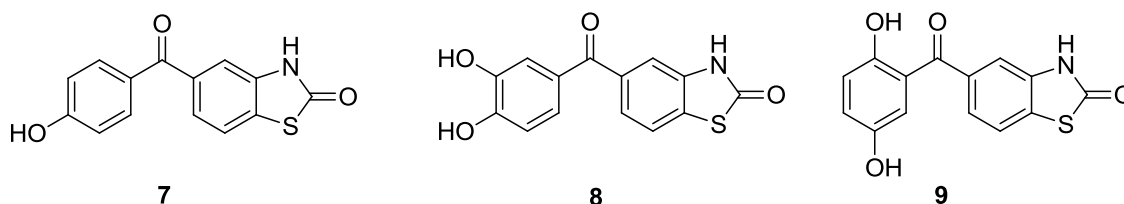


Figura 3: Estruturas químicas dos derivados de benzofenonas contendo o núcleo 1,3-tiazol. Adaptado de TZANOVA *et al.* (2009).

Em particular, tanto as benzofenonas quanto os compostos contendo o núcleo 1,2,3-triazol exibem atividades anticâncer (POKHODYLO *et al.*, 2013) e anti-inflamatória (SHAFI *et al.*, 2012; DZOYEM *et al.*, 2015). Estas duas propriedades estão fortemente relacionadas à atividade antioxidante. Esses efeitos biológicos relevantes apresentados pelas benzofenonas foi a inspiração para projetar e sintetizar novas benzofenonas contendo núcleo 1,2,3-triazol, unidade que também pode ser associado a importantes atividades biológicas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Determinação da Atividade Potencial Antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pelo ensaio da captura do radical orgânico DPPH, segundo metodologia descrita por RUFINO e colaboradores (2007). O teste foi realizado em placas de microdiluição contendo 96 micropoços (TPP, Trasadingen Suíça). As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 517 nm em leitor de placas de microdiluição (THERMO SCIENTIFIC, Vantaa, Finland) (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

2.1.1 Preparo do radical DPPH

Foi previamente preparada uma solução 0,1 mmol L⁻¹ do radical DPPH em etanol.

2.1.2 Preparo da Curva Padrão de Trolox (TEAC)

Para as determinações de TEAC foi realizada a construção de uma curva analítica com o antioxidante padrão (antioxidante sintético: Trolox) nas concentrações de 20-200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A reação entre o antioxidante e o radical foi realizada através da homogeneização de 175 μL de cada concentração do antioxidante e 25 μL da solução do radical DPPH em placas de microdiluição, as quais foram mantidas ao abrigo da luz até estabilização da reação. Após 2 horas e 4 horas foram realizadas as leituras da absorbância a 517 nm.

2.1.3 Atividade Antioxidante Total dos Derivados Triazólicos

Foram realizados ensaios para atividade antioxidante da 2,4'-benzofenona, dos derivados propargílicos **2a** e **2b** e dos derivados triazólicos **5**, **8**, **13**, **17-28**.

Foram pesados 2 mg de cada composto (a massa exata foi considerada para os cálculos das concentrações). A massa pesada foi diluída com 1 mL de etanol P.A.. A partir dessa solução, foram preparadas diluições (1 mg/mL; 0,5 mg/mL; 0,25 mg/mL; 0,125 mg/mL; 0,062 mg/mL). Um volume 25 μL de cada solução foi adicionado a 175 μL da solução do radical DPPH. A reação foi mantida ao abrigo da luz e realizadas duas leituras da absorbância uma após 2 horas de reação e outra após 4 horas. As análises foram realizadas em triplicata.

A partir das leituras foram construídas as curvas de relação absorbância *versus* concentração (g/L).

O valor da atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) para cada composto é calculado fazendo-se a razão entre a concentração molar de Trolox (mmol L^{-1}) e a concentração (g/L) do composto, escolhendo-se um ponto da região central das curvas, de mesmo valor de absorbância. O valor é expresso em $\text{mmol L}^{-1}\text{g}^{-1}$.

2.2 Avaliação da Atividade Antiproliferativa

2.2.1 Linhagens Celulares

No presente estudo foram utilizadas 4 linhagens celulares derivadas de tumores humanos: adenocarcinoma de mama (MCF7), carcinoma hepatocelular (HepG2), adenocarcinoma de pulmão (A549) e melanoma (HT144). As linhagens foram adquiridas junto ao Banco de Células do Rio de Janeiro com exceção da HT-144, a qual foi gentilmente cedida pela profa. Dra. Gláucia Maria Machado Santelli do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP). Os testes foram realizados em parceria com a Profa. Dra. Marisa Ionta na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL).

2.2.2 Condições de Cultura

As culturas foram mantidas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Sigma, CA, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (Vitrocell, Campinas, Brasil) com atmosfera controlada (95% de ar e 5% de CO₂) e temperatura de 37°C.

Os compostos foram diluídos em DMSO para a obtenção da solução-estoque (20 mmol/L). A partir dessa solução, nova diluição foi realizada em meio de cultura, imediatamente antes do tratamento. A concentração final de DMSO não ultrapassou 0,2 % (v/v).

2.2.3 Viabilidade Celular

As células foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 1×10^4 células/poço. Após aderência (24 h), as células foram tratadas por 48 h com os diferentes compostos na concentração de 40 µmol/L. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio colorimétrico MTS (brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio)), usando o Kit CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay

(Promega Corporation, Madison, WI, USA), descrito por CORY e colaboradores (1991).

Este ensaio é baseado na conversão enzimática (desidrogenase) do sal tetrazólio em formazano, o qual absorve luz a 490 nanômetros (nm). A taxa de absorbância é diretamente proporcional ao número de células vivas. Os valores de absorbância obtidos nas amostras tratadas foram comparados com os valores de absorbância da cisplatina usada como controle positivo.

A viabilidade foi calculada de acordo com a equação I:

$$\% \text{ viabilidade celular} = \frac{\text{absorbância da amostra tratada}}{\text{absorbância da amostra controle}} \times 100 \text{ (I)}$$

Os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos por mais duas vezes. Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio-padrão.

2.2.4 Determinação do IC₅₀

As células foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 1×10^4 células/poço. Após aderência (24 h), as células foram tratadas por 48 h com os diferentes compostos nas concentrações de 10, 20, 40, 80 e 160 $\mu\text{mol/L}$. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio colorimétrico MTS, usando o Kit CellTiter 96® AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay (Promega Corporation, Madison, WI, USA).

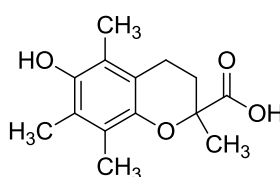
O valor de IC₅₀ (concentração capaz de inibir 50% do crescimento) foi determinado por regressão não-linear usando o programa GraphPad Prism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). Os experimentos foram realizados em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação da Atividade Potencial Antioxidante

3.1.1 Curva Padrão de Trolox

A atividade antioxidante dos compostos é frequentemente expressa em função do Trolox (**Fig. 4**). Trolox é um composto sintético hidrossolúvel análogo da vitamina E, que é utilizada como referência em testes de capacidade antioxidante de compostos.



Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico

Figura 4: Estrutura química do trolox.

O cálculo da atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) é definido como a concentração de Trolox que apresenta o mesmo percentual de inibição que uma concentração de 1 mmol L^{-1} do composto de referência. Sendo assim, quanto maior o valor TEAC, mais elevada é a capacidade antioxidante do composto (SOUSA *et al.*, 2011).

Foi construída uma curva analítica de Trolox (**Fig. 5**) e, a partir da equação da reta gerada pela curva, calculou-se a TEAC, expressa em mmol L^{-1} de Trolox equivalente por grama de amostra.

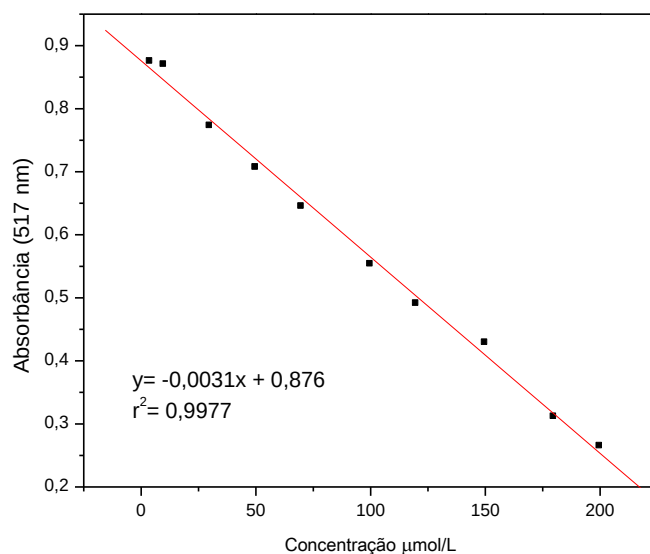
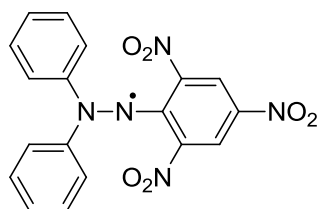


Figura 5: Curva analítica do Trolox padrão de referência para capacidade antioxidante de sequestro do radical DPPH e seu coeficiente de correlação linear (R^2).

3.1.2 Atividade Antioxidante Total dos Derivados Triazólicos

A atividade antioxidante dos derivados de benzofenonas hidroxiladas foi determinada através da capacidade dos compostos em sequestrar o radical estável DPPH. Este método tem por base a redução do radical DPPH, que ao ser reduzido removendo elétrons do antioxidante, leva à diminuição da absorbância (SOUSA *et al.*, 2011).

O radical orgânico estável DPPH é preferido na análise de sequestro de radicais livres em função da sua rapidez e simplicidade no preparo do radical bem como do teste (**Fig. 6**). Esse método é baseado na redução de soluções alcoólicas de DPPH em 517 nm na presença de um antioxidante doador de hidrogênio (CARPES, 2008).



Radical 2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazil

Figura 6: Estrutura química do DPPH.

A partir da equação da reta gerada pela curva analítica, calcularam-se os valores de TEAC após duas e quatro horas de reação entre os derivados e o radical livre DPPH. Os valores de TEAC estão sumariados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Potencial antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) para os derivados e benzofenonas hidroxiladas.

Compostos	TEAC (mmol L ⁻¹ g ⁻¹) após 2 horas	TEAC (mmol L ⁻¹ g ⁻¹) após 4 horas
1b	4,90	5,42
2a	4,77	4,12
2b	22,96	23,80
5	1,83	2,39
8	6,80	7,31
13	8,53	9,80
17	1,68	3,24
18	4,90	1,71
19	19,85	22,76
20	2,09	7,18
21	1,48	1,39
22	6,06	14,62
23	9,92	16,36
24	5,08	6,59
25	7,20	9,11
26	7,84	11,19
27	7,35	8,32
28	4,66	4,95

Os resultados da TEAC do radical DPPH permitiu verificar que o derivado propargílico **2b** e o derivado triazólico **19** foram os que apresentaram os maiores valores de TEAC para a série.

O derivado propargílico **2b** apresentou um potencial quase 5,8 que vezes maior que o derivado propargílico **2a**. Estes resultados são explicados pelo fato de que, o derivado **2b** ainda apresenta em sua estrutura uma hidroxila livre e as modificações estruturais do derivado **2a** ocorrem justamente nas hidroxilas livres da 4,4'-diidroxibenzofenona.

RICE-EVANS e colaboradores (1996) relatam que a hidroxila livre nas moléculas contribui para a atividade antioxidante. Por exemplo, as hidroxilas na posição 3' e 4' da Luteolina (**Fig. 5**), contribuem cerca de 25 % para a atividade antioxidante, apresentando um valor de TEAC igual $2,1 \pm 0,05$ mmol/L na presença das mesmas. Já quando ocorre a desidroxilação na posição 3', o valor de TEAC diminui para aproximadamente $1,45 \pm 0,08$ mmol/L (RICE-EVANS *et al.*, 1996).

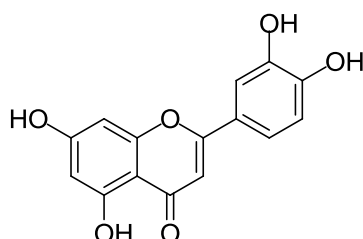


Figura 7: Estrutura química do composto fenólico Luteolina.

Os valores baixos de TEAC para os derivados da 2,4-diidroxibenzofenona estão diretamente associados à formação de ligações de hidrogênio intramoleculares entre os grupos vizinhos hidroxila e carbonila da benzofenona (**Fig. 6A**), que deixa o hidrogênio menos disponível para ser doado ao radical DPPH.

A atividade antioxidante está diretamente relacionada à capacidade de transferência de hidrogênio, sendo que a dissociação da ligação O-H é um fator importante na determinação da eficácia de um antioxidante. Uma vez que, quanto mais fraca a ligação O-H, mais rápida será a reação com os radicais livres (WRIGHT *et al.*, 2001).

Como exemplo, a reação de transferência de hidrogênio para o radical livre em água de um antioxidante fenólico é bem mais lenta do que a observada para o α -tocoferol presente na Vitamina E (**Fig. 8B**). A entalpia de

dissociação da ligação O-H observada no antioxidante fenólico, em água, é de aproximadamente 119 kcal/mol. Isso se dá devido à maior possibilidade de ligação de hidrogênio entre a hidroxila do fenol e a água. Já a entalpia de dissociação da ligação O-H observada para o α -tocoferol é de aproximadamente 88 kcal/mol. Assim, a Vitamina E é um antioxidante mais eficaz para impedir, por exemplo, peroxidação lipídica, do que os antioxidantes fenólicos (BERKOWITZ *et al.*, 1994, WRIGHT *et al.*, 2001).

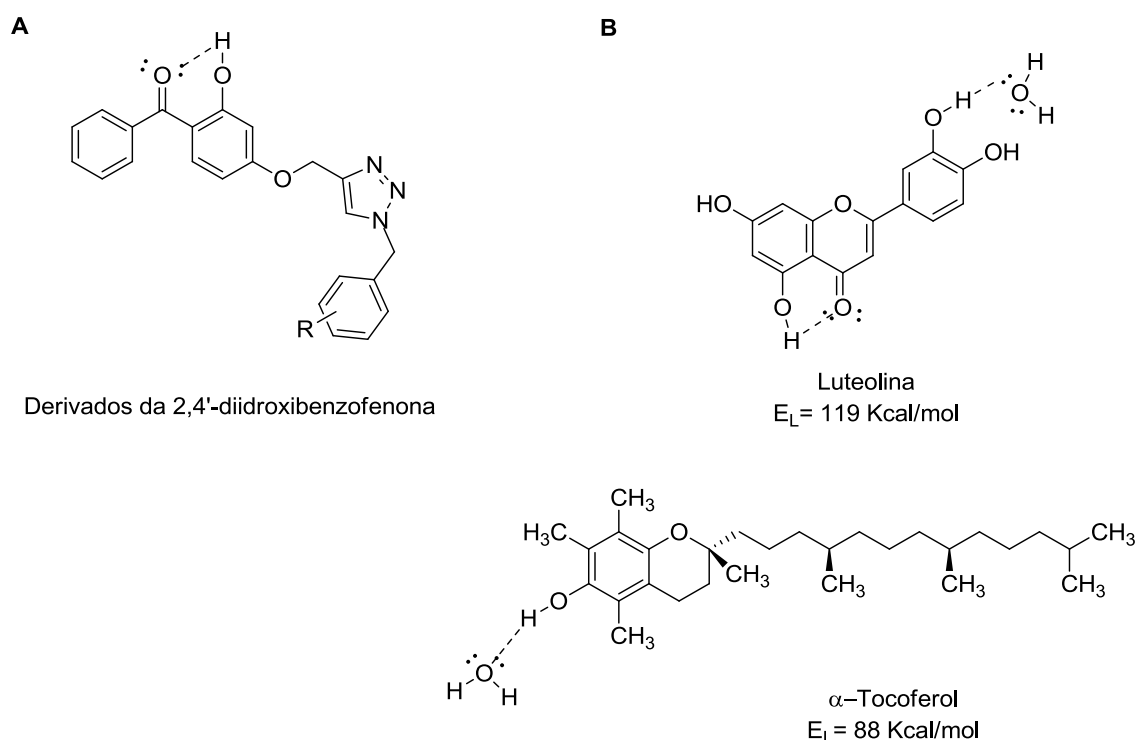


Figura 8: (A) Ligação de hidrogênio presente entre os grupos vizinhos OH e C=O derivados presente nos derivados da 2,4'-diidroxibenzofenona. **(B)** Ligação de hidrogênio entre o solvente e os antioxidantes Luteolina e α -tacoferol com seus respectivos valores de energia de dissociação das ligações de O-H.

Os resultados da TEAC descritos na **Tabela 1** sugerem que a reação de transferência de hidrogênio para o radical DPPH ocorre seguindo uma cinética lenta, o que fica evidente com os valores de TEAC após duas e quatro horas de reação, onde foi possível observar que a reação entre os derivados de benzofenonas hidroxiladas e o radical DPPH ainda não havia sido finalizada.

A evolução da cinética da reação depende da natureza do antioxidante testado. Três tipos de comportamento podem ser observados: cinética rápida, intermediária ou lenta. BRAND-WILLIAMS e colaboradores (1995) avaliaram a cinética de reação de 20 antioxidantes, desses apenas três apresentaram cinética rápida: ácido ascórbico, ácido isoascórbico e isoeugenol, reagindo com o radical DPPH em menos de 1 minuto. Já os ácidos rosmarínico e α -tocoferol apresentaram uma cinética intermediária reagindo entre 5 e 30 minutos, respectivamente. Enquanto os demais compostos reagiram lentamente com o radical DPPH, destacando-se os ácidos cafeíco e gálico que necessitaram de aproximadamente 6 horas para atingirem o estado estacionário (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

Outro fator que desempenha papel importante na eficácia do antioxidante é a presença de grupos volumosos próximos à hidroxila fenólica. O impedimento espacial possivelmente contribui para a diminuição da atividade antioxidante dos derivados de benzofenonas, uma vez que a aproximação entre o radical DPPH e os derivados seria dificultada pelo tamanho das moléculas (**Fig. 9**). A estrutura do DPPH pode provocar impedimento estérico para a ação de alguns antioxidantes, sendo que este reduz a aproximação dos radicais livres e, conseqüentemente, diminui a cinética das reações (FURMAN, 2011; RABELO, 2014).

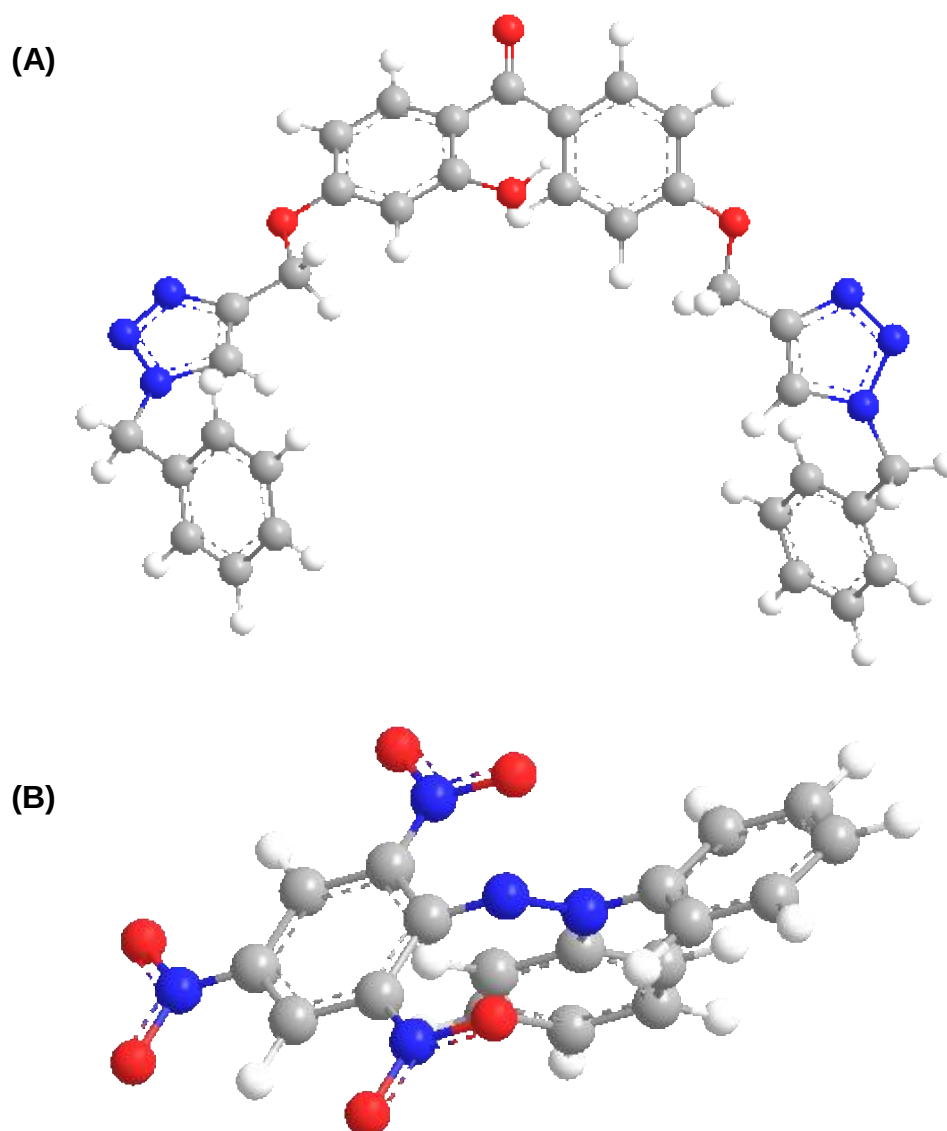
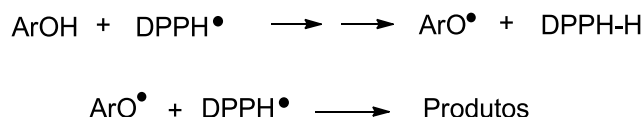


Figura 9: (A) Estrutura em 3D de benzofenona; (B) Estrutura em 3D do radical DPPH.

Os antioxidantes fenólicos podem reagir com os radicais livres basicamente de duas maneiras: (I) por transferência de átomos de hidrogênio, onde o radical livre remove um átomo de hidrogênio do antioxidante; ou (II) por transferência de elétrons, onde o antioxidante pode doar um elétron para o radical livre (BENDARY *et al.*, 2013).

A contribuição de uma ou outra via depende da natureza do solvente e/ou dos potenciais redox das espécies envolvidas. Geralmente, em solventes apolares o mecanismo de transferência de átomos de hidrogênio é predominante. Já os solventes polares, devido à formação de ligações de hidrogênio com a hidroxila fenólica, podem interferir no processo de

transferência de átomos de hidrogênio para o radical livre (FOTI *et al.*, 2004, BERADY *et al.*, 2013). De forma geral, espera-se que o mecanismo de reação entre os antioxidantes fenólicos e o radical DPPH ocorra de acordo com o **Esquema 1**.



Esquema 1: Mecanismo de transferência de elétrons de antioxidantes fenólicos para o radical livre DPPH. Adaptado de FOTI *et al.*, 2004.

A partir do exposto, podemos levantar hipóteses para explicar o possível mecanismo de reação entre o radical livre DPPH e os derivados de benzofenonas hidroxiladas sintetizados (**Fig. 10**). Na Etapa 1 ocorre a desprotonação dos derivados triazólicos. A carga negativa formada no oxigênio pela remoção do hidrogênio pelo etanol pode, portanto, ser estabilizada por meio de deslocalização de carga pela molécula. As etapas de 2-4 ocorrem de forma subsequente. A transferência de elétron dos derivados de benzofenona desprotonado para o radical DPPH, pode ser justificada pelo $\text{pK}_a = 8,5$ favorável do DPPH-H com relação ao dos derivados triazólicos que apresenta uma pK_a aproximadamente igual 16.

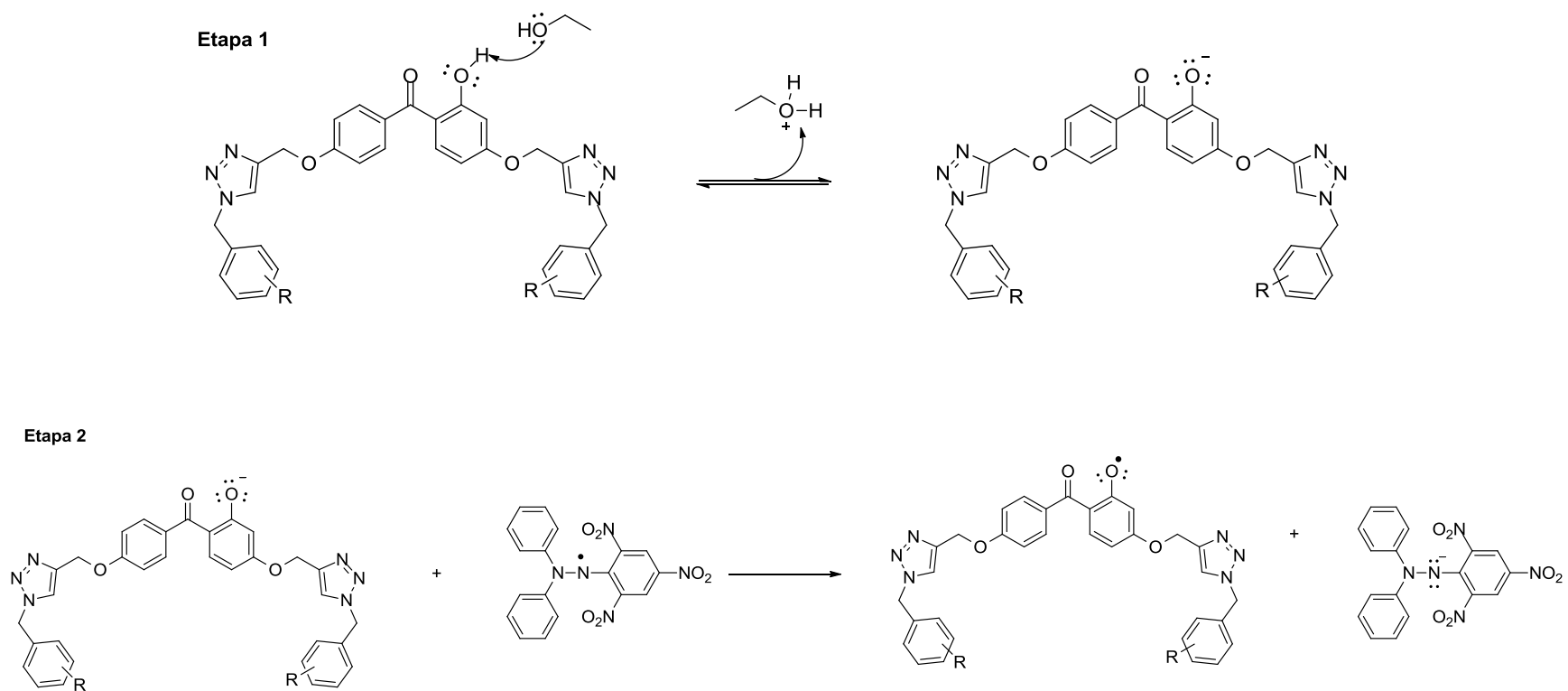
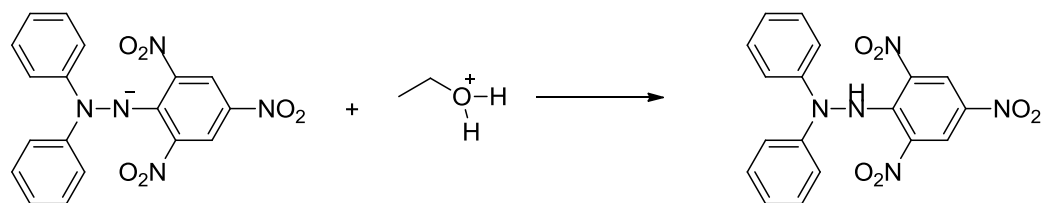


Figura 10: Provável mecanismo entre o radical DPPH e os derivados de 4,4'-diidroxibenzofenona (Continua).

Etapa 3



Etapa 4

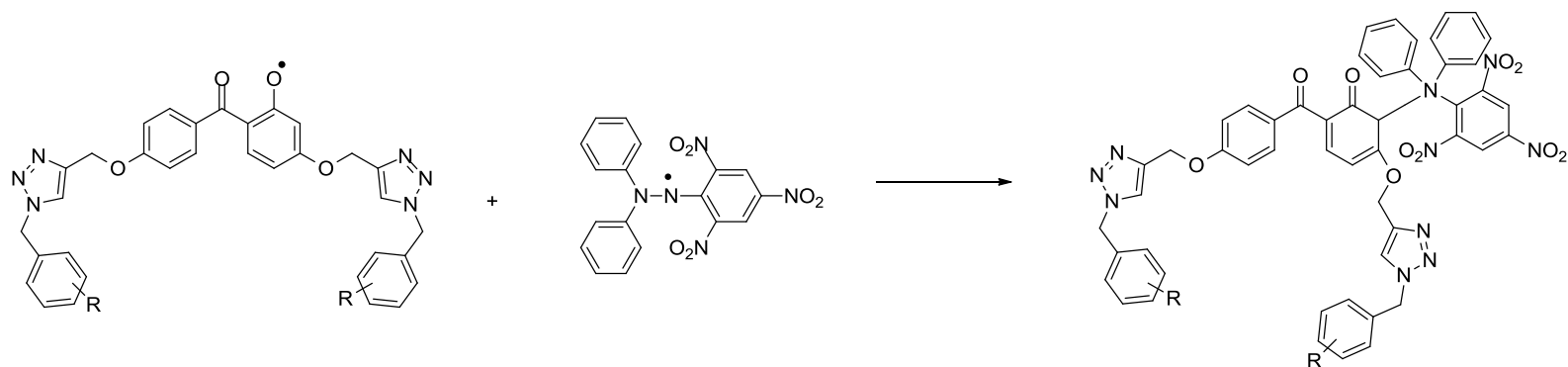


Figura 10: Provável mecanismo entre o radical DPPH e os derivados de 4,4'-diidroxibenzofenona.

3.2 Avaliação da Atividade Antiproliferativa

3.2.1 Viabilidade Celular

O teste de viabilidade celular foi realizado utilizando a técnica colorimétrica usando o MTS (**Fig. 9**).

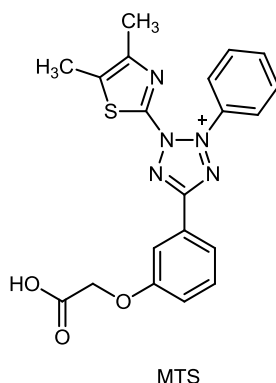


Figura 11: Estrutura química do sal tetrazólio MTS. Adaptado de LINARES, 2013.

Os ensaios colorimétricos são muito utilizados para triagens iniciais de moléculas bioativas, pois permitem a quantificação rápida e fácil da resposta celular (RISS *et al.*, 2004).

A detecção da viabilidade celular é usualmente empregada para identificar a citotoxicidade de uma molécula em ensaios HTS (*high-throughput screening*), sendo muito utilizados métodos colorimétricos com sal de tetrazólio (LINARES, 2013).

De acordo com o protocolo desenvolvido pelo *National Cancer Institute* (NCI), a varredura inicial para seleção de compostos com promissora atividade antitumoral deve ser realizada em uma única concentração e somente após a identificação de substâncias promissoras os testes devem ser realizados utilizando uma faixa adequada de concentração para obtenção do IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*), isto é, concentração capaz de inibir 50% do crescimento celular (MONGA & SAUSVILLE, 2002).

Dessa forma, no presente estudo foi utilizada a concentração de 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ como *threshold* para as análises.

Para os derivados triazólicos obtidos a partir da 4,4'-diidroxibenzofenona, não foi observado redução da viabilidade celular nas culturas. Dessa forma, as substâncias testadas não apresentaram atividade citotóxica sobre as linhagens celulares: MCF-7, HT144, A549 e HepG2 na concentração de 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (**Fig. 9**).

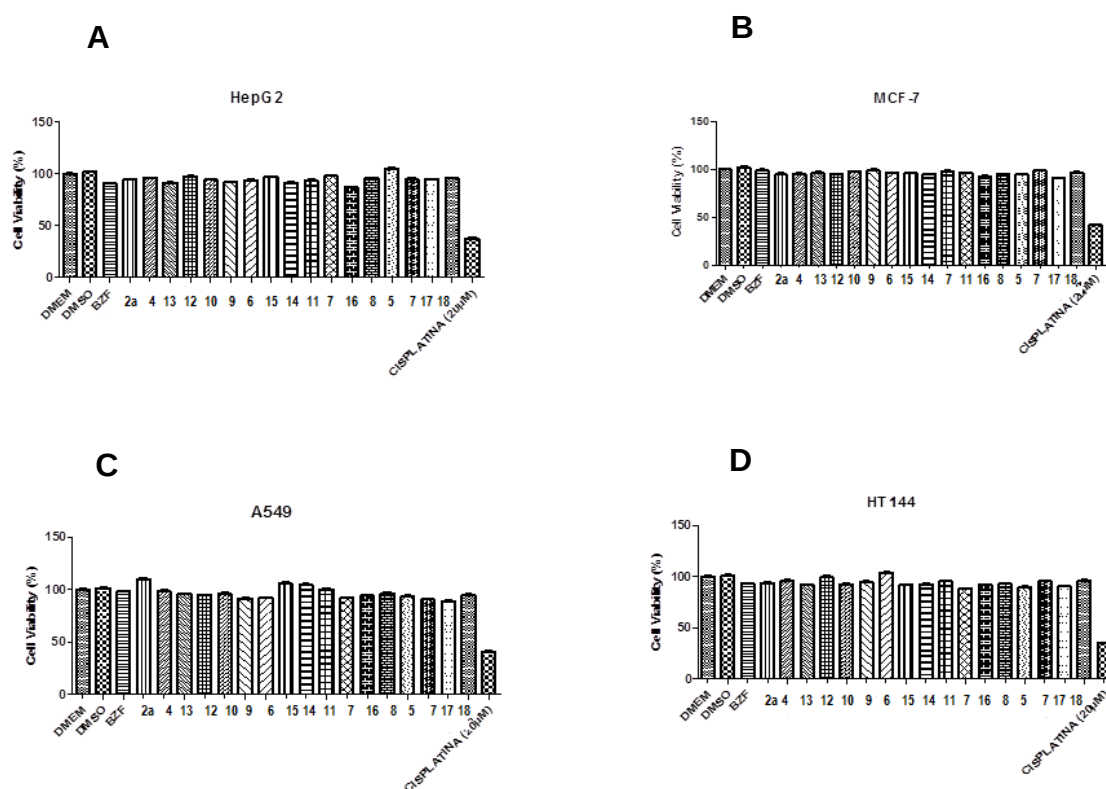


Figura 12: Viabilidade celular determinada a partir dos dados obtidos por MTS em culturas tratadas por 48 horas com diferentes compostos na concentração de 40 $\mu\text{mol/L}$. **A)** Tratamento com células da linhagem HepG2, **B)** Tratamento com células da linhagem MCF-7, **C)** Tratamento com células da linhagem A549, **D)** Tratamento com células da linhagem HT144.

Os derivados sintetizados a partir da 2,4-diidroxibenzofenona foram testados quanto sua viabilidade celular sobre as linhagens celulares e A549, MCF-7 e HT144 na concentração de 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Entre os doze derivados submetidos aos ensaios, os compostos **19**, **20** e **21** apresentaram melhor atividade citotóxica sobre as linhagens celulares A549, MCF-7 e HT144 na concentração de 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (**Fig. 13**).

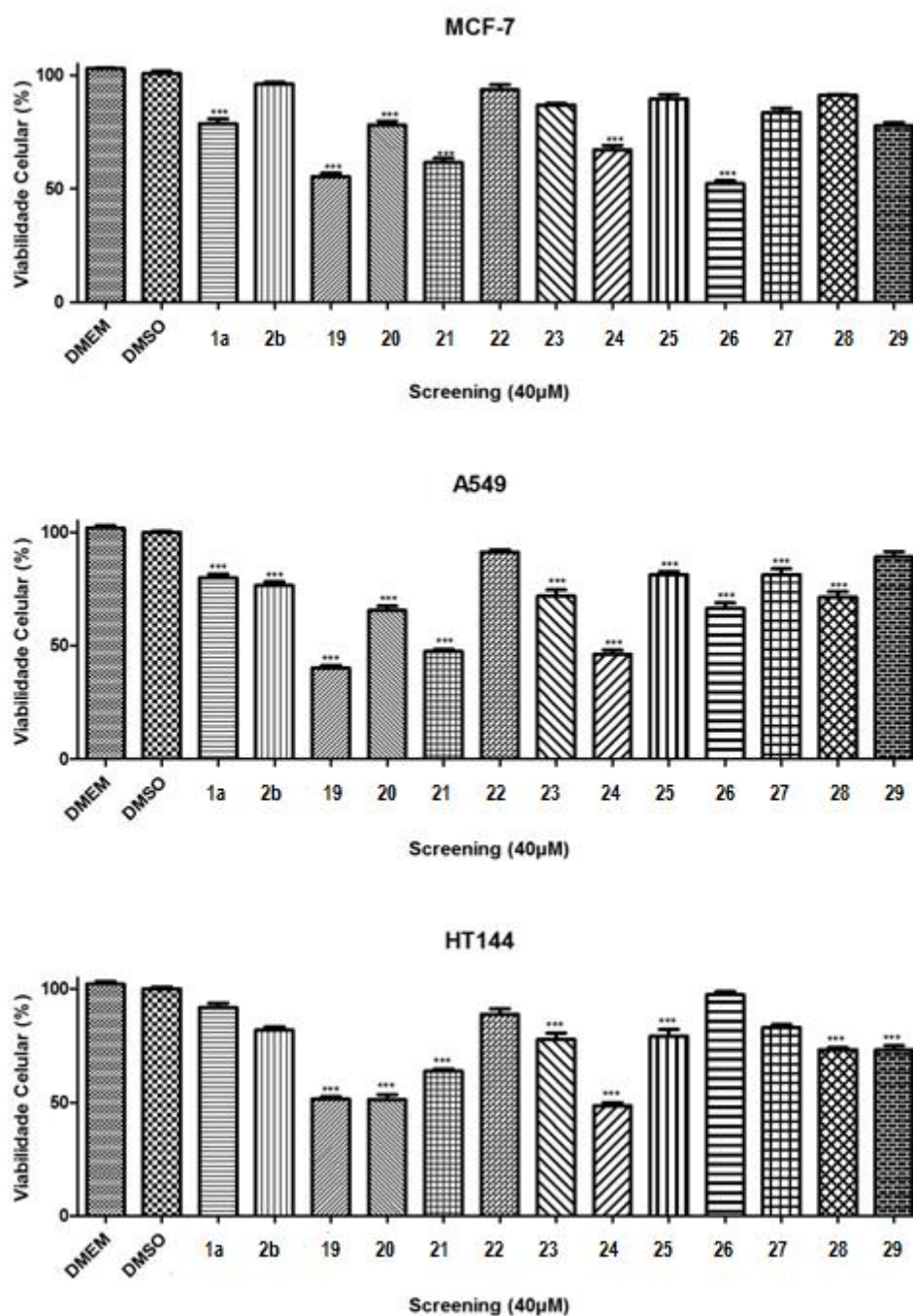


Figura 13: Viabilidade celular determinada para o tratamento com os derivados mais ativos da 2,4'-diidroxibenzofenona na concentração de 40 $\mu\text{mol/L}$.

Pode-se observar que os compostos testados foram capazes de inibir a viabilidade celular de todas as três linhagens, em maior ou menor grau.

O derivado triazólico **19** foi o que mais reduziu a viabilidade celular nas três linhagens, sendo que nas linhagens HT144 e A549 foi capaz de inibir aproximadamente 50% da viabilidade celular (**Fig. 13**). Sendo assim, o derivado triazólico **19** apresenta maior atividade citotóxica para as linhagens HT144 e A549.

Considerando os resultados obtidos para a viabilidade celular dos derivados triazólicos após 48 horas de tratamento, determinou-se a concentração capaz de inibir 50% do crescimento celular (IC_{50}).

3.2.2 Determinação dos valores de IC_{50}

Os valores de IC_{50} foram determinados para os derivados que se mostraram ativos para inibir a viabilidade celular das linhagens celulares MCF-7, HT144, A549. Na **Tabela 2** estão sumarizados os valores de IC_{50} determinados por meio da técnica MTS após 48 horas de tratamento.

Tabela 2: Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) determinados por MTS após 48 h de tratamento.

Composto	A549	HT-144	MCF-7	CCD-1059Sk
19	$37,58 \pm 1,09$	$53,98 \pm 2,14$	$50,43 \pm 1,49$	> 200
20	$83,17 \pm 2,91$	$39,51 \pm 1,30$	$90,19 \pm 3,07$	> 200
21	$30,42 \pm 1,01$	$60,05 \pm 2,15$	$65,06 \pm 2,30$	> 200
24	$46,75 \pm 1,25$	$57,18 \pm 1,84$	$72,41 \pm 2,48$	> 200
26	-	-	$63,47 \pm 1,75$	> 200
cisplatina	$22,75 \pm 1,15$	$24,17 \pm 2,41$	$75,73 \pm 1,43$	> 200

O intervalo dos valores de IC_{50} para os derivados analisados foi entre 30,42-90,19 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O derivado triazólico **21** apresentou o menor valor de IC_{50} (30,42 $\mu\text{mol L}^{-1}$) da série para a linhagem A549. Já para a linhagem MCF-7, os derivados **19** e **21** apresentaram valores de IC_{50} iguais a 50,43 e 65,06 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, menores que o da cisplatina ($IC_{50}= 75,73 \mu\text{mol L}^{-1}$) um fármaco antitumoral comercial.

ALBERT e colaboradores (2013) evidenciaram que compostos derivados de benzofenonas apresentam elevada atividade antiproliferativa contra linhagem de câncer de mama (MB231 e MCF-7), sendo que dois dos derivados estudados apresentaram maior atividade antiproliferativa do que a cisplatina.

A eficácia dos análogos de benzofenona como agentes quimioterápicos, especialmente como anticancerígenos, está muito bem relatado na literatura. AL-GHORBANI e colaboradores (2017) sintetizaram uma série de derivados de benzofenona contendo o núcleo morfolina. Eles avaliaram a atividade antiproliferativa dos derivados contra as linhagens de células de câncer humano MCF-7 e A549. A faixa de valores de IC_{50} encontrado para esta série variou entre 7,1 a $>100 \mu\text{mol L}^{-1}$ e 10,1 a $>100 \mu\text{mol L}^{-1}$ para MCF-7 e A549, respectivamente, calculado a partir do teste MTT.

Embora os resultados obtidos neste estudo sejam preliminares, existem evidências de que os derivados da 2,4-diidroxibenzofenona possam ser utilizados como protótipos para o desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos para o tratamento do câncer.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avaliou-se a atividade antioxidante pelo método TEAC e a atividade citotóxica dos derivados propargílicos (**2a** e **2b**) e triazólicos (**4-29**) obtidos através da química click de benzofenonas hidroxiladas.

Os derivados **2b** e **19** obtidos da 2,4-diidroxibenzofenona apresentaram maiores atividade antioxidante quando comparados àqueles obtidos a partir da

4,4'-diidroxibenzofena. Isso se deve ao fato dos derivados da 2,4-diidroxibenzofenona apresentarem em sua estrutura uma hidroxila livre.

Os derivados triazólicos obtidos de 4,4'-diidroxibenzofenona não apresentaram atividade citotóxica sobre as linhagens celulares: MCF-7, HT14 e A549. Para os derivados triazólicos obtidos da 2,4-diidroxibenzofenona, o derivado **19** foi o que mais reduziu a viabilidade celular nas três linhagens. Os derivados triazólicos **19**, **20** e **21** apresentaram valores de IC₅₀ menores do que o apresentado pela cisplatina.

Diante dos resultados obtidos por este estudo, fica evidente que os derivados triazólicos obtidos da 2,4-diidroxibenzofenona são moléculas promissoras na busca para a obtenção de novos fármacos com o duplo efeito de controlar o estresse oxidativo e agir nas células cancerosas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERT, J.; GARCÍA, S.; GRANELL, J.; LLORCA, A.; LOVELLE, M. V.; MORENO, V.; PRESA, A.; RODRÍGUEZ, L.; QUIRANTE, J.; CALVIS, C.; MESSEGUER, R.; BADIA, J.; BALDOMA, L. Cyclopalladated benzophenone imines: Synthesis, cytotoxicity against human breast adenocarcinoma cell lines and DNA interaction. *Journal of Organometallic Chemistry*, 724, 289-296, 2013.
- ANDRISIC, L.; DUDZIK, D.; BARBAS, C.; MILKOVIC, L.; GRUNE, T.; ZARKOVIC, N. Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in câncer. *Redox Biology*, 14, 2018, 47–58.

- BANDGAR, B. P.; PATIL, S. A.; TOTRE, J. V.; KORBAD, B. L.; GACCHE, R. N.; HOTE, B. S.; JALDE, S. S.; CHAVAN, H. V. Synthesis and biological evaluation of nitrogen-containing benzophenone analogues as TNF- α and IL-6 inhibitors with antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 2292–2296, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, Vol. 29, No. 1, 113-123, 2006.
- BENDARY, E.; FRANCIS, R. R.; ALI, H. M. G.; SARWAT, M. I.; EL HADY, S. Antioxidant and structure–activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds. *Annals of Agricultural Science*, 58(2), 173–181, 2013.
- BERKOWITZ, J.; ELLISON, G. B.; GUTMAN, D. Three Methods To Measure RH Bond Energies. *J. Phys. Chem.* 98, 2744-2765, 1994.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.*, 28, 25-30, 1995.
- CAROCHO, M., MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 107–120, 2018.
- CARPES, S. T.; PRADO, A.; MORENO, I. A. M.; MOURÃO, G. B.; DE ALENCAR, S. M.; MASSON, M. L.; Avaliação do potencial Antioxidante

do pólen apícola produzido na região Sul do Brasil. Química Nova, Vol. 31, No. 7, 1660-1664, 2008.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; dos SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. Ciências Tecnologia de Alimentos, Campinas, 26(2): 446-452, abr.-jun. 2006.

DZOYEM, J. P.; LANNANG, A. M.; FOUOTSA, H.; MBAZOA, C. D.; NKEKGFACK, A. E.; SEWALD, N.; ELOFF, J. N. Anti-inflammatory activity of benzophenone and xanthone derivatives isolated from *Garcinia* (Clusiaceae) species. Phytochemistry Letters. 14, 153-158, 2015.

CORY, A.H; OWEN, T. C.; BARLTROP, J. A., CORY, J. G. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture. Cancer Communications, 3(7):207-12, 1991.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. Journal of Functional Food, 18, 811-819, 2015.

FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; ESER, S.; MATHERS, C.; REBELO, M.; PARKIN, D. M.; FORMAN, D.; F BRAY, F. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int. J. Cancer: 136, E359–E386, 2015.

FOTI, M. C.; DAQUINO, C.; GERACI, C. Electron-Transfer Reaction of Cinnamic Acids and Their Methyl Esters with the DPPH Radical in Alcoholic Solutions. *J. Org. Chem.* 69, 2309-2314, 2004.

FURMAN, A. E. F. Ação antioxidante de extrato padronizado de *Ginkgo biloba* em eritrócitos de indivíduos normais e de portadores de anemia falciforme, submetidos à sobrecarga oxidativa, *in vitro*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Paraná. 133f. 2011.

INCA-Instituto Nacional do Câncer
<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>. Acessado em 29/06/2018.

LINHARES, I. A. P. Estudos citotóxico de moléculas antitumorais e antiparasitárias em células de câncer de fígado (HepG2) e de fibroblasto de hamster (V79-4). 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo. São Carlos, SP. 2013.

LIU, Z. LI, G.; LONG, C.; XU, J.; CEN, J.; YANG, X. The antioxidant activity and genotoxicity of isogarcinol. *Food Chemistry*, 253, 5–12, 2018.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164–175, 2014.

MONGA, M.; SAUSVILLE, E. A. Developmental Therapeutics Program at the NCI: molecular target and drug discovery process. *Leukemia*, 16, 520–526, 2002.

- MURIITHI, E.; BOJASE-MOLETA, G.; MAJINDA, R. R. T. Benzophenone derivatives from *Garcinia livingstonei* and their antioxidant activities. *Phytochemistry Letters*, 18, 29–34, 2016.
- NILAR, L. D. N.; VENKATRAMAN, G.; SIM, K.; HARRISON, L. J. Xanthonenes and benzophenones from *Garcinia griffithii* and *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*, 66, 1718–1723, 2005.
- NIRMALA, C.; BISHT, M. S.; BAJWA, H. K.; SANTOSH, O. Bamboo: A rich source of natural antioxidants and its applications in the food and pharmaceutical industry. *Trends in Food Science & Technology*, 77, 91–99, 2018.
- OLIVEIRA, I. R. N. de, Antocianinas extraídas de Capim-gordura (*Melinis minutiflora*): atividade antioxidante, microencapsulamento por atomização e estabilidade. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG. 130f.
- OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International* 74, 10–36, 2015.
- PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74, 2015.
- POPRAC, P.; JOMOVA, K.; SIMUNKOVA, M.; KOLLAR, V.; RHODES, C. J.; VALKO, M. Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related

- Human Diseases. Trends in Pharmacological Sciences, 38 (7), 592-607, 2017.
- POKHODYLO, N.; SHYYKA, O.; MATIYCHUK, V. Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives and Evaluation of their Anticancer Activity. Scientia Pharmaceutica. 81, 663–676, 2013.
- RABELO, D. M. Determinação da atividade antioxidante in vitro e in vivo em bebidas de café: influência do tipo de extração. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. 69 f., 2014.
- RAHMAN, T.; HOSEN, I.; ISLAM, M. M. T.; SHEKHAR, H. U. Oxidative stress and human health. Advances in Bioscience and Biotechnology, 3, 997-1019, 2012.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology & Medicine, 20 (7), 933-956, 1996.
- RISS TL, MORAVEC RA, NILES AL, et al. Cell Viability Assays. 2013 May 1 [Updated 2016 Jul 1]. In: Sittampalam GS, Coussens NP, Brimacombe K, et al., editors. Assay Guidance Manual [Internet]. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004-.
- RUFINO, M S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; DE MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total

em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado técnico online. ISSN 1679-6535, 2007.

SHAIKH, M. H.; SUBHEDAR, D. D.; KHEDKAR, V. M.; JHA, P. C.; KHAN, F. A. K.; SANGSHETTI, J. N.; SHINGATE, B. B. 1,2,3-Triazole tethered acetophenones: Synthesis, bioevaluation and molecular docking study. Chinese Chemical Letters, 27, 1058–1063, 2016.

SHAFI, S.; ALAM, M. M.; MULAKAYALA, N.; MULAKAYALA, C.; VANAJA, G.; KALLE, A. M.; PALLU, R.; ALAM, M. S. Synthesis of novel 2-mercapto benzothiazole and 1,2,3-triazole based bis-heterocycles: their anti-inflammatory and anti-nociceptive activities. European Journal of Medicinal Chemistry. 49, 324-333, 2012.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; de LIMA, A. Total phenolics and in vitro antioxidant capacity of tropical fruit pulp wastes. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 14, n. 3, p. 202-210, jul./set. 2011.

TZANOVA, T.; GEROVA, M.; PETROV, O.; KARAIVANOVA, M.; D BAGREL, D. Synthesis and antioxidant potential of novel synthetic benzophenone analogues. European Journal of Medicinal Chemistry, 44, 2724–2730, 2009.

Wright, J. S.; Johnson, E. R.; DiLabio, G. A. Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. Journal of the Americal Chemical Society. 123, 1173-1183, 2001.

YAMAGUCHI, F.; ARIGA,T.; YOSHIMURA, Y.; NAKAZAWA, H.

Antioxidative and Anti-Glycation Activity of Garcinol from *Garcinia indica*

Fruit Rind. Journal Agric. Food Chem., 48, 180-185, 2000.

CONCLUSÃO GERAL

Utilizando como abordagem sintética a química click, foi possível sintetizar vinte e seis derivados triazólicos inéditos a partir das 2,4-diidroxibenzofenona e 4,4'-diidroxibenzofenona.

Quanto as avaliações das bioatividades dos compostos triazólicos, foi possível verificar a partir do ensaio de inibição da ação proteolítica da enzima elastase que dentre os compostos avaliados **5**, **7**, **8** e **18** apresentaram o melhor efeito inibitório sobre a elastase.

O composto **8** provou ser o mais ativo. Ensaio cinéticos realizados com o composto **8** indicaram que a inibição da elastase ocorre seguindo um mecanismo competitivo. A investigação do acoplamento molecular mostrou que o composto **8** estabelece interações com os resíduos do sítio catalítico de aminoácidos, o que corrobora com a sua atividade.

A partir da determinação do fator de proteção solar dos derivados triazólicos, pode-se inferir que todos os compostos avaliados absorvem radiação UVB com absorção máxima aproximadamente 295 nm, apresentando baixo FPS, mas similar a filtros solares comerciais (BP-3, Homosalato e Octocrileno).

Os derivados triazólicos **4-7**, **10**, **11**, **13**, **15**, **17** e **18** apresentam um peso molecular superior a 500 Daltons, característica indispensável para substâncias utilizadas em formulações para a prevenção dos efeitos deletérios do raios UV.

Os derivados **2b** e **19** obtidos da 2,4-diidroxibenzofenona apresentaram maiores atividade antioxidante quando comparados àqueles obtidos a partir da 4,4'-diidroxibenzofenona. Isso se deve ao fato dos derivados da 2,4-diidroxibenzofenona apresentarem em sua estrutura uma hidroxila livre.

Os derivados triazólicos obtidos de 4,4'-diidroxibenzofenona não apresentaram atividade citotóxica sobre as linhagens celulares: MCF-7, HT14 e

A549. Para os derivados triazólicos obtidos da 2,4-diidroxibenzofenona, o derivado **19** foi o que mais reduziu a viabilidade celular nas três linhagens. Os derivados triazólicos **19**, **20** e **21** apresentaram valores de IC₅₀ menores do que o apresentado pela cisplatina.

Sendo assim, os resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho indicam que, os derivados de benzofenonas hidroxiladas contendo em sua estrutura o anel 1,2,3-triazol podem ser explorados para o desenvolvimento de novos fármacos.

ANEXOS

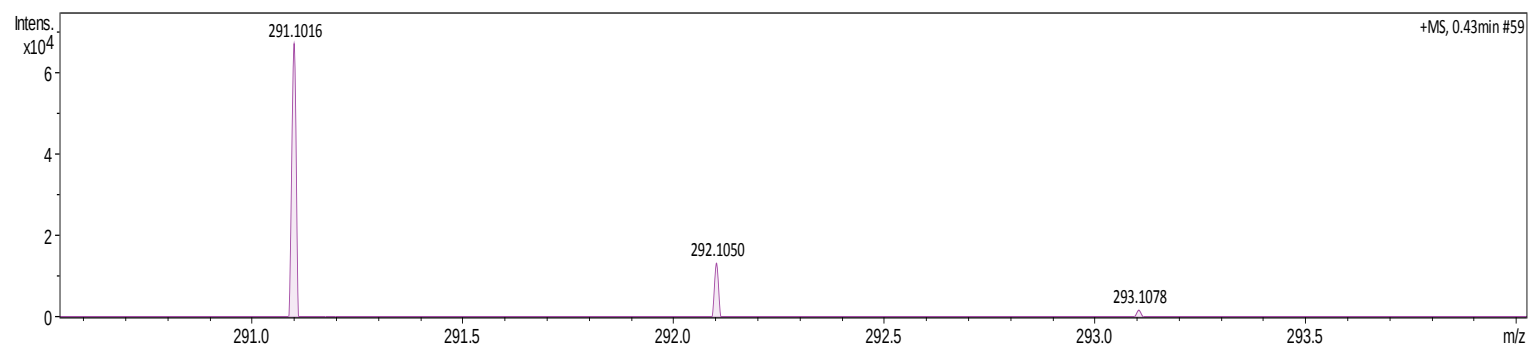


Figure A1: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **2a**.

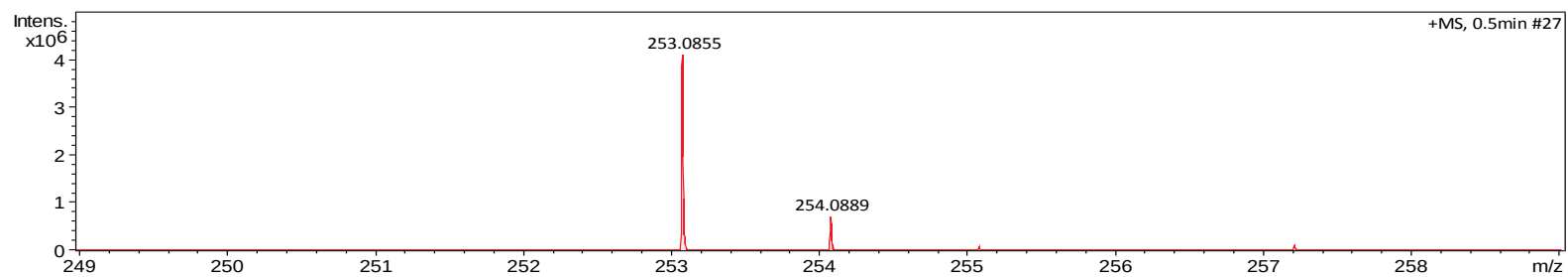


Figure A2: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **2b**.

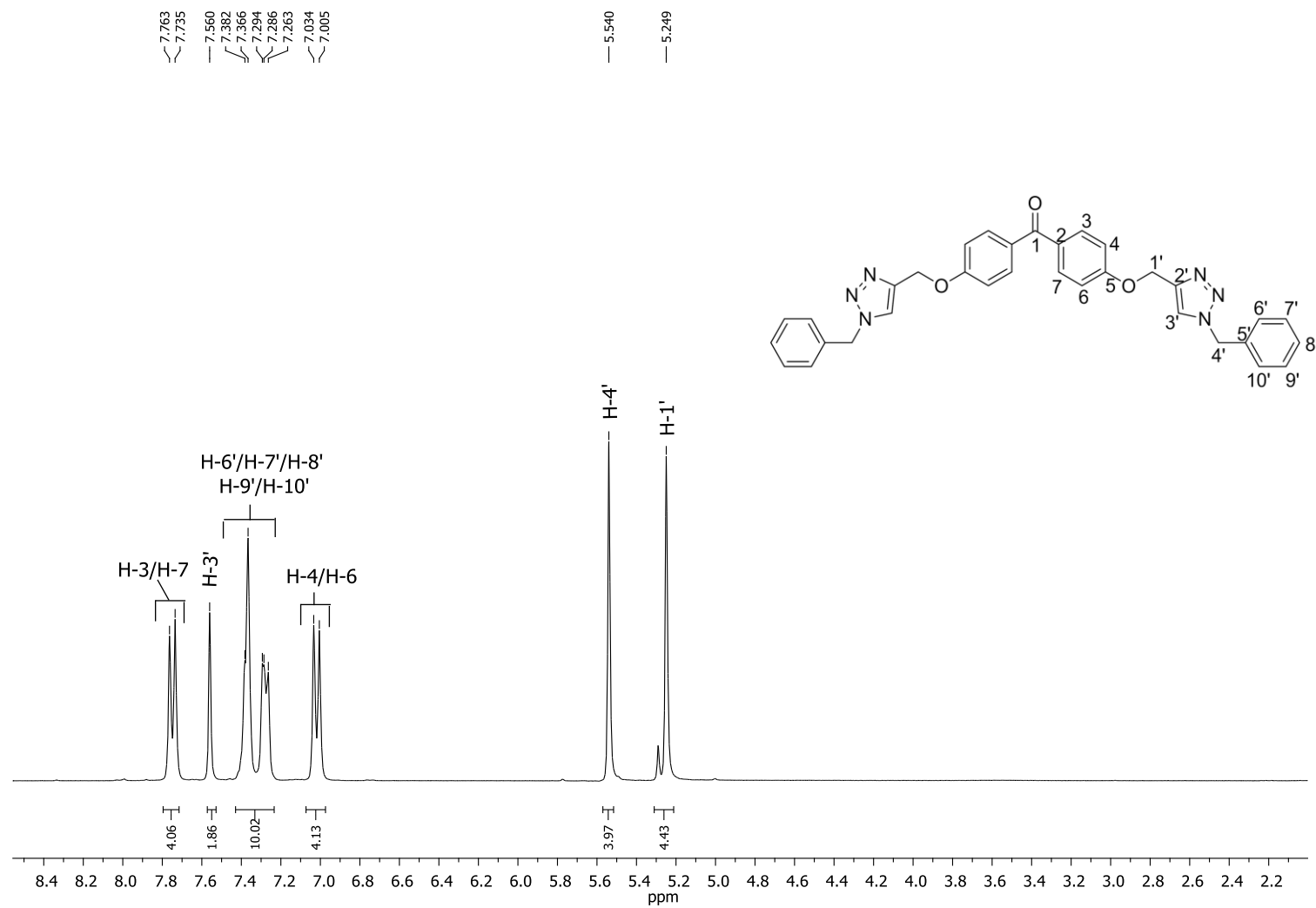


Figura A3: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **4**.

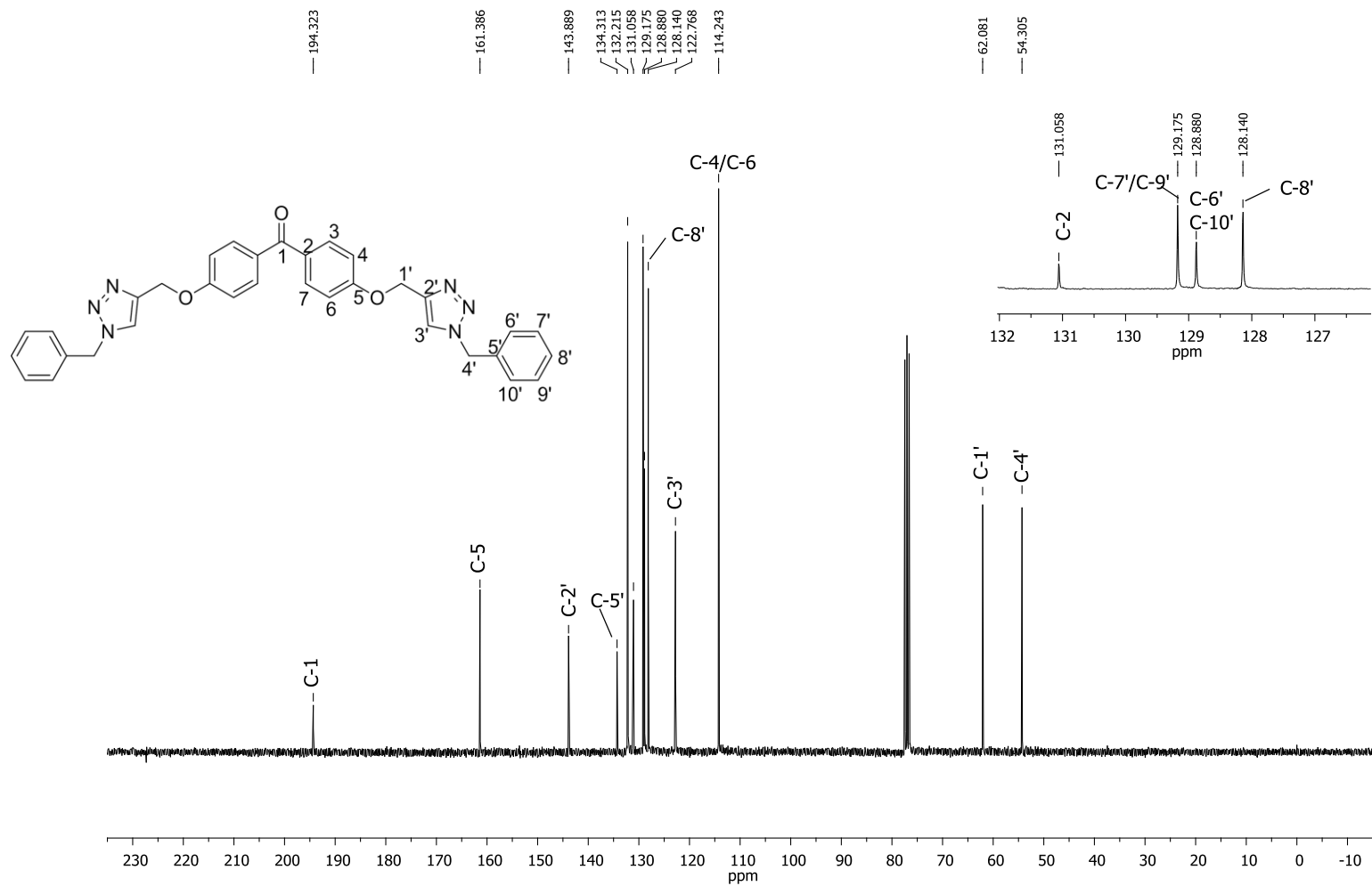


Figura A4: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 4.

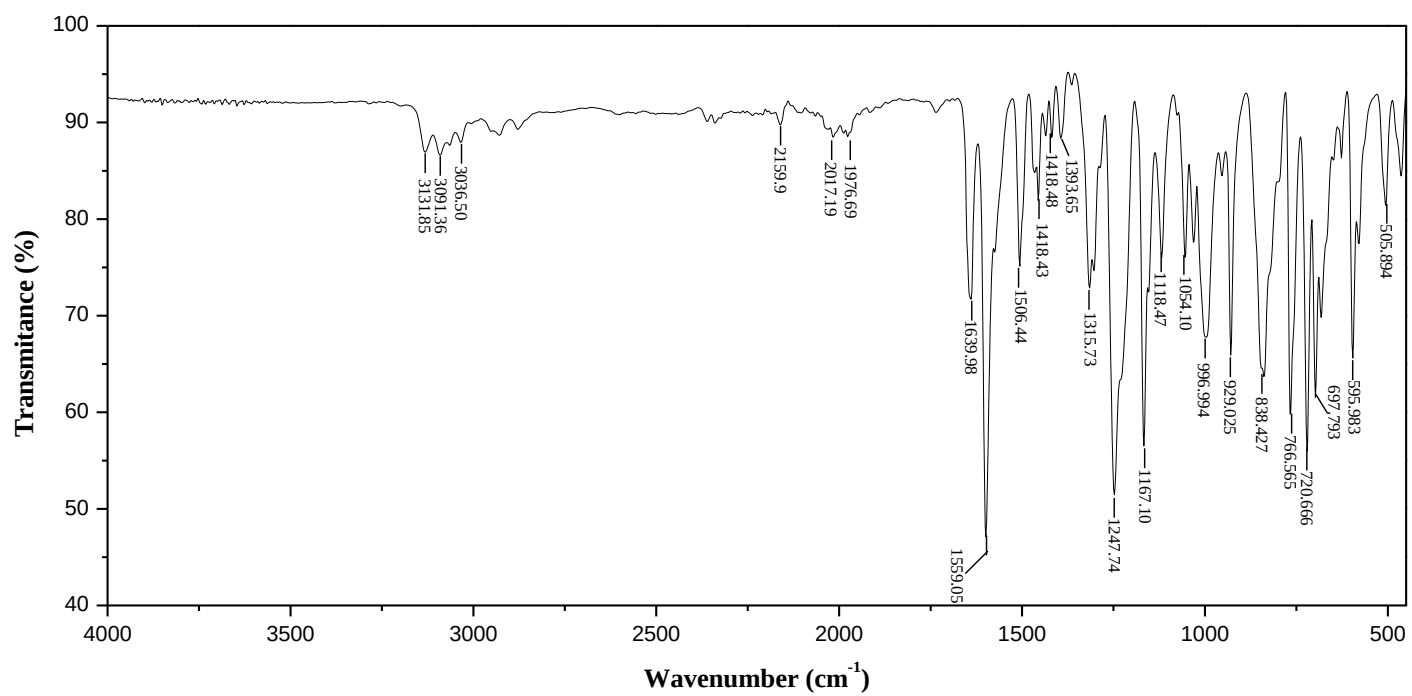


Figura A5: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **4**.

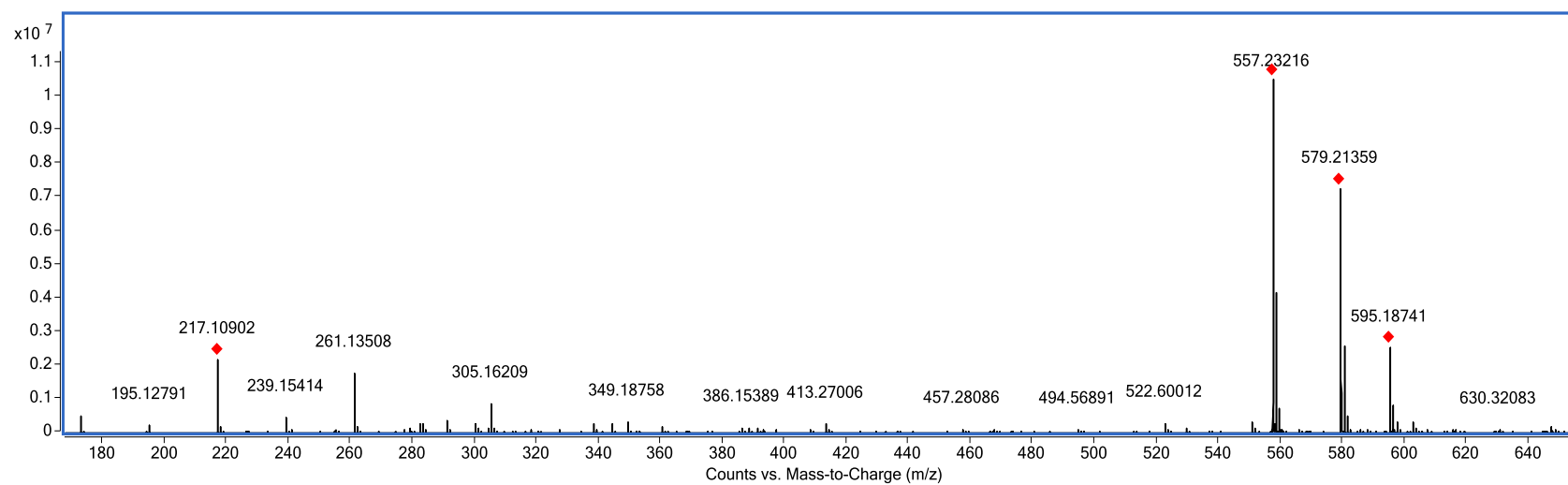


Figura A6: Espectro de ESI(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **4**.

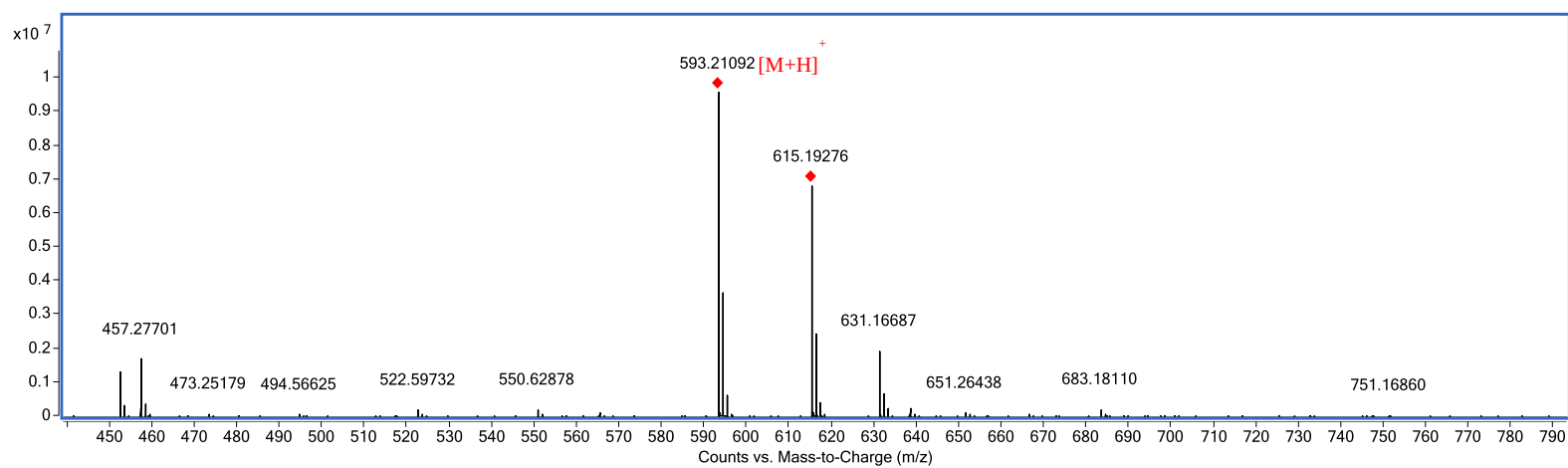


Figura A7: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **5**.

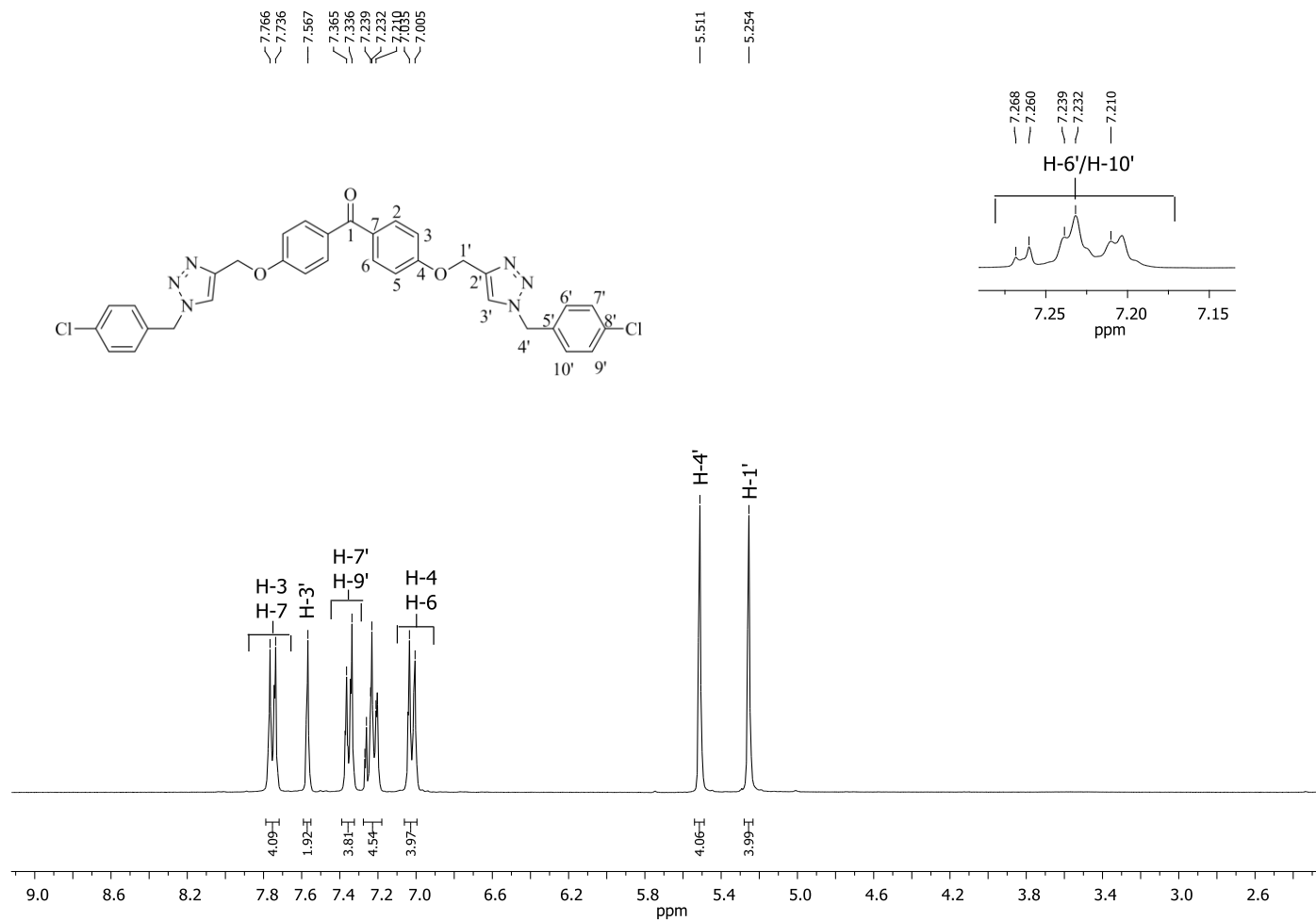


Figura A8: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **6**.

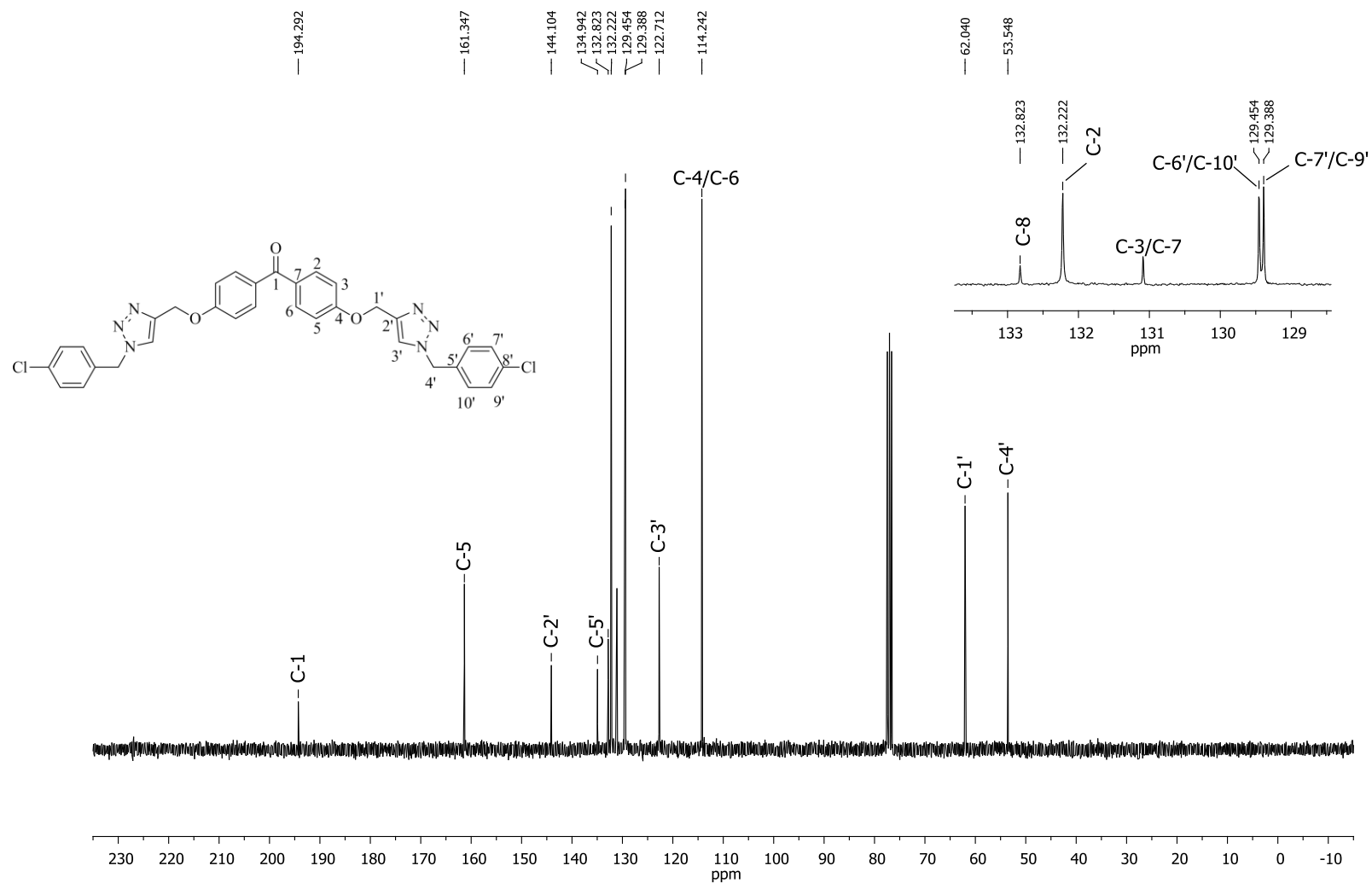


Figura A9: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6**.

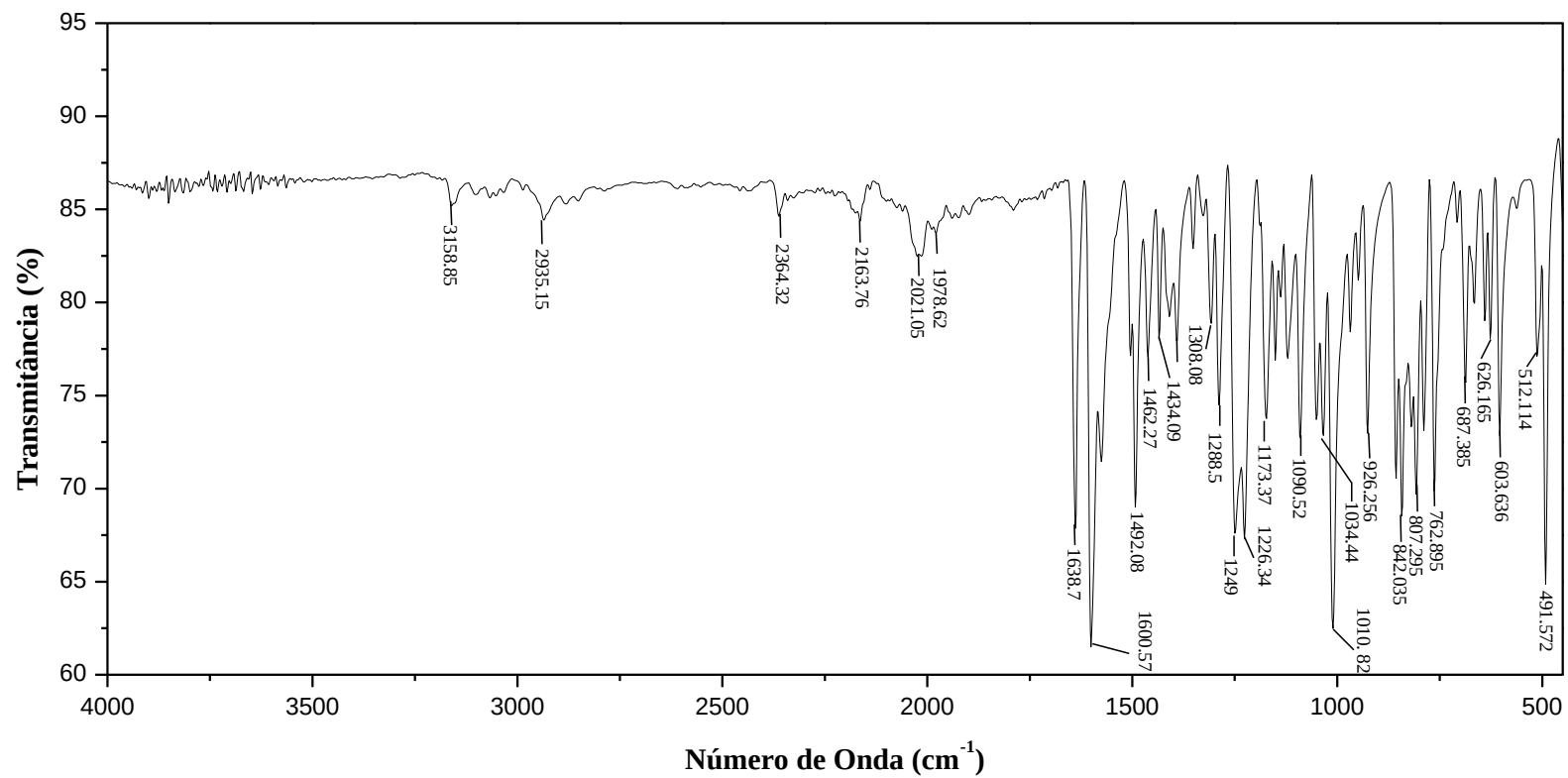


Figura A10: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **6**.

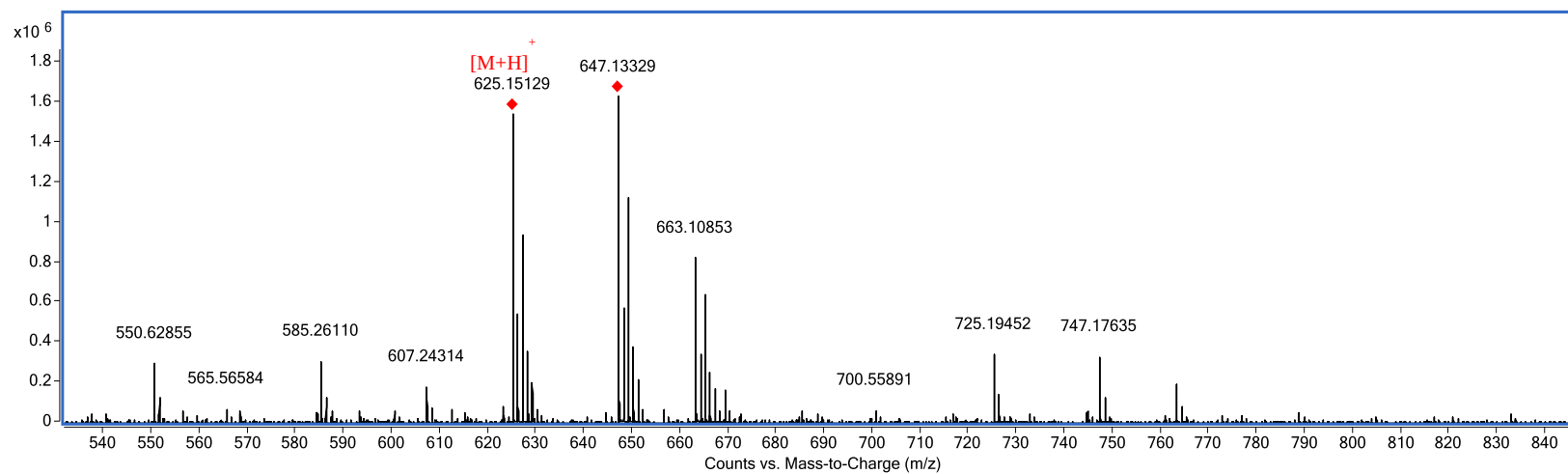


Figura A11: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **6**.

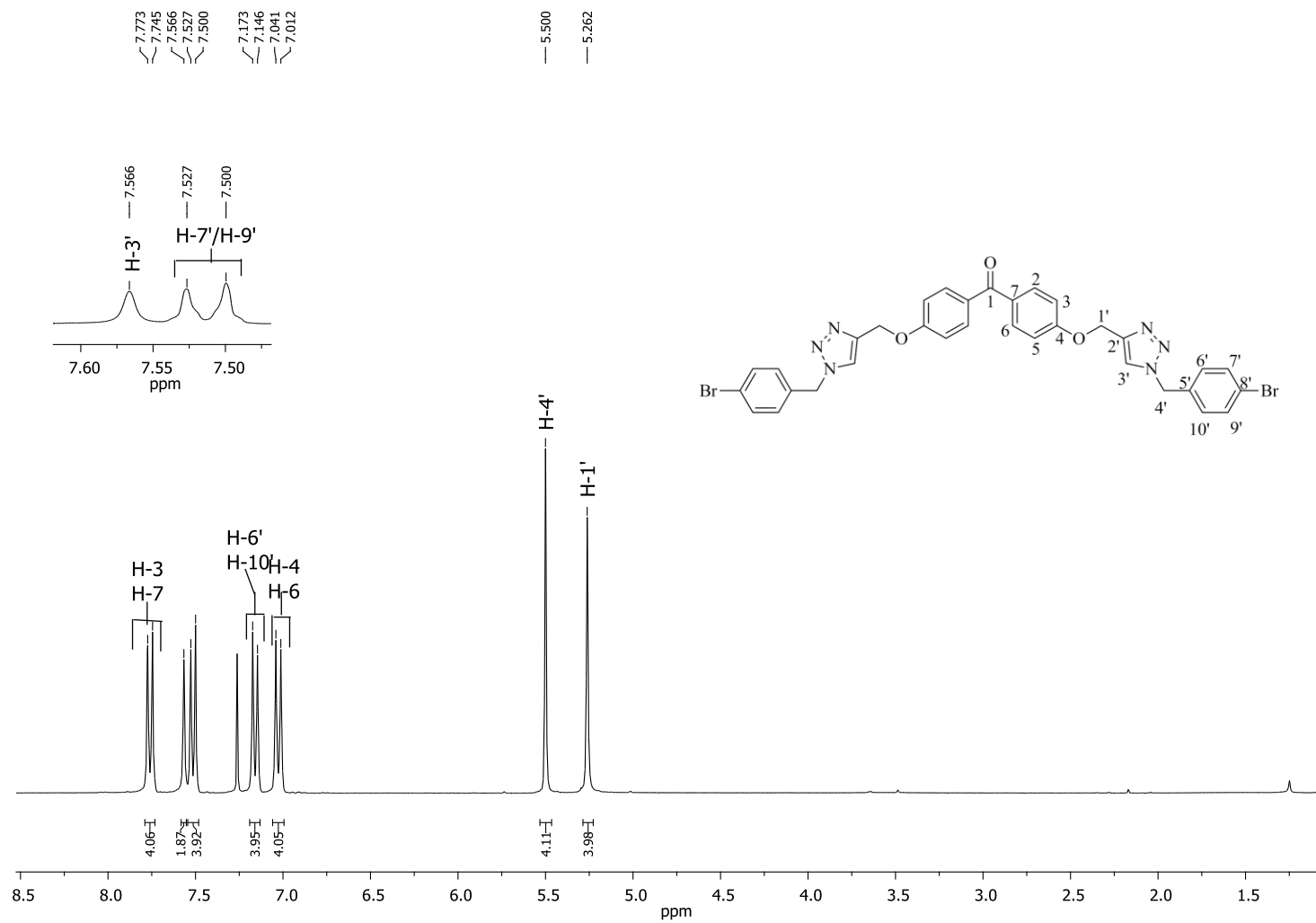


Figura A12: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) do composto **7**.

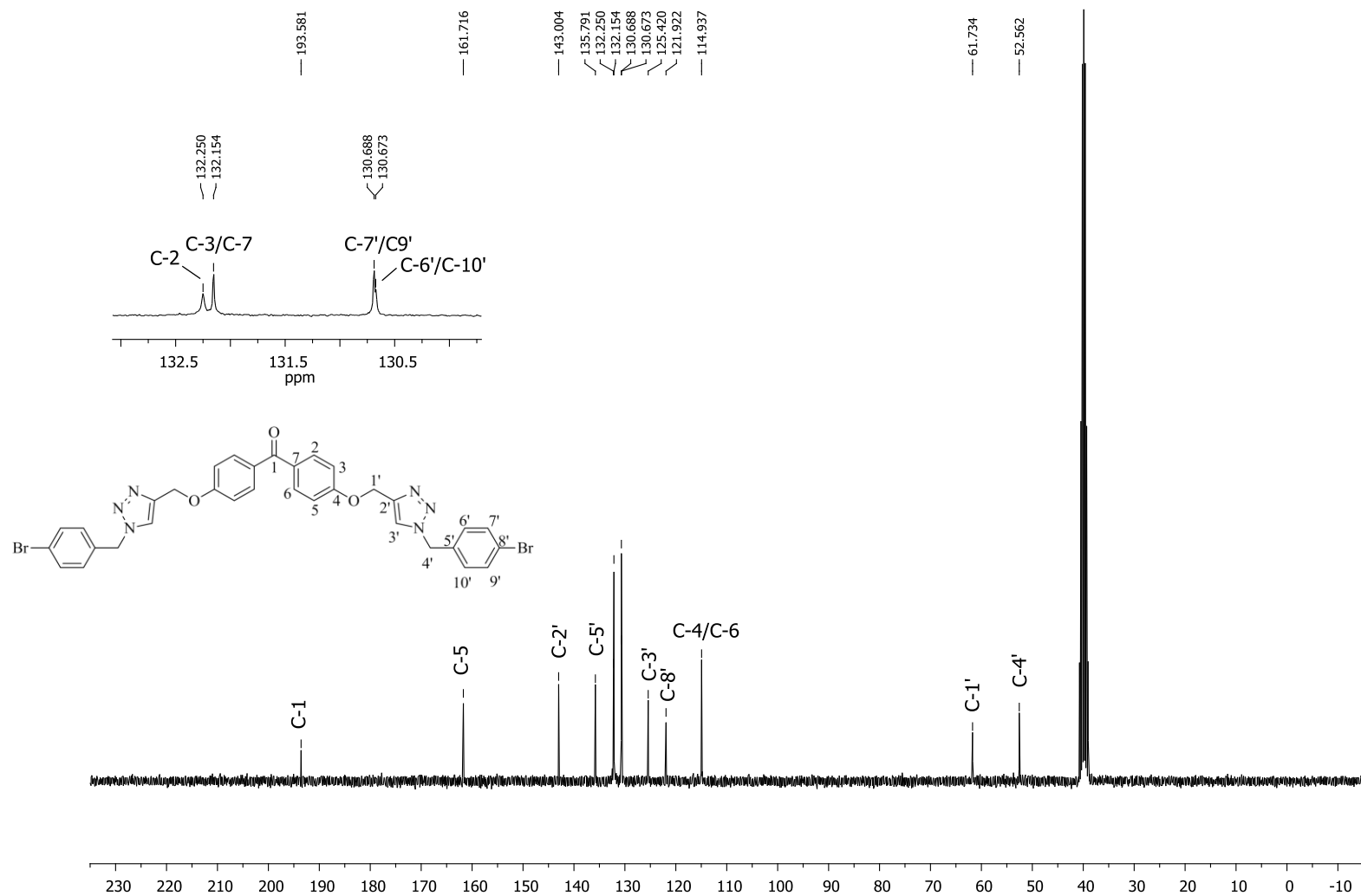


Figura A13: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) do composto **7**.

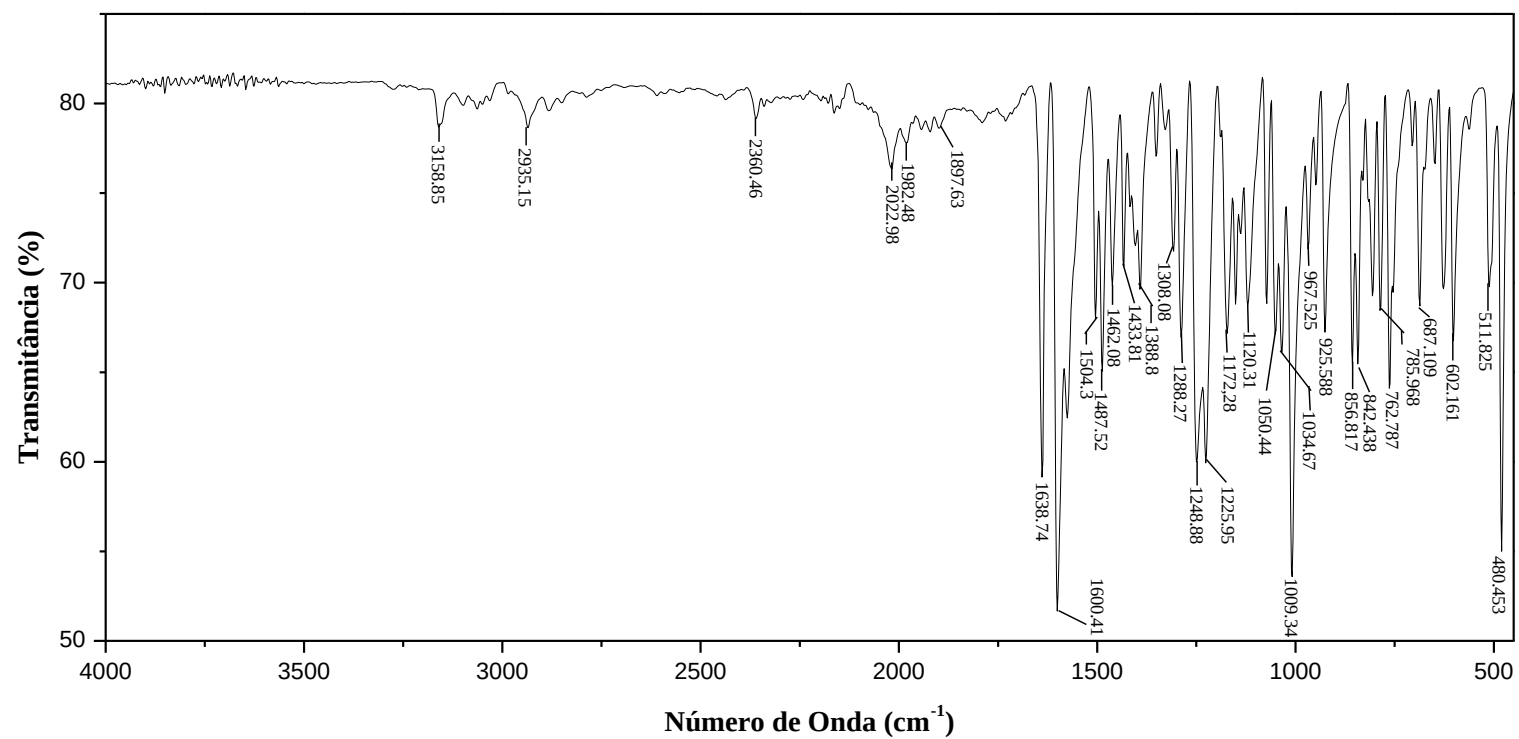


Figura A14: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **7**.

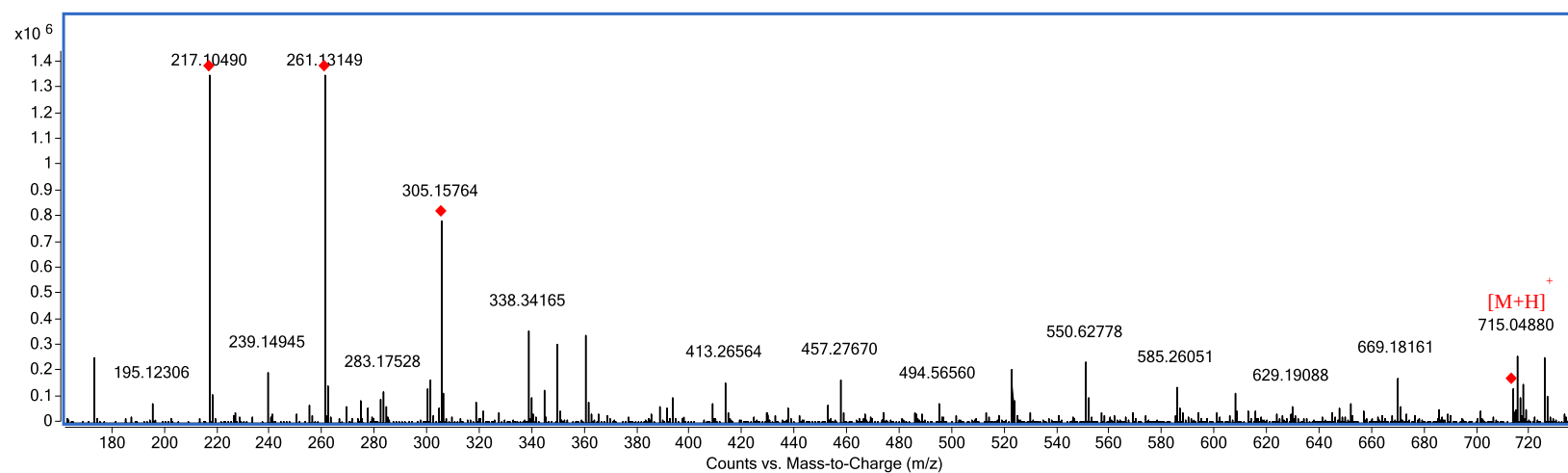


Figura A15: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto 7.

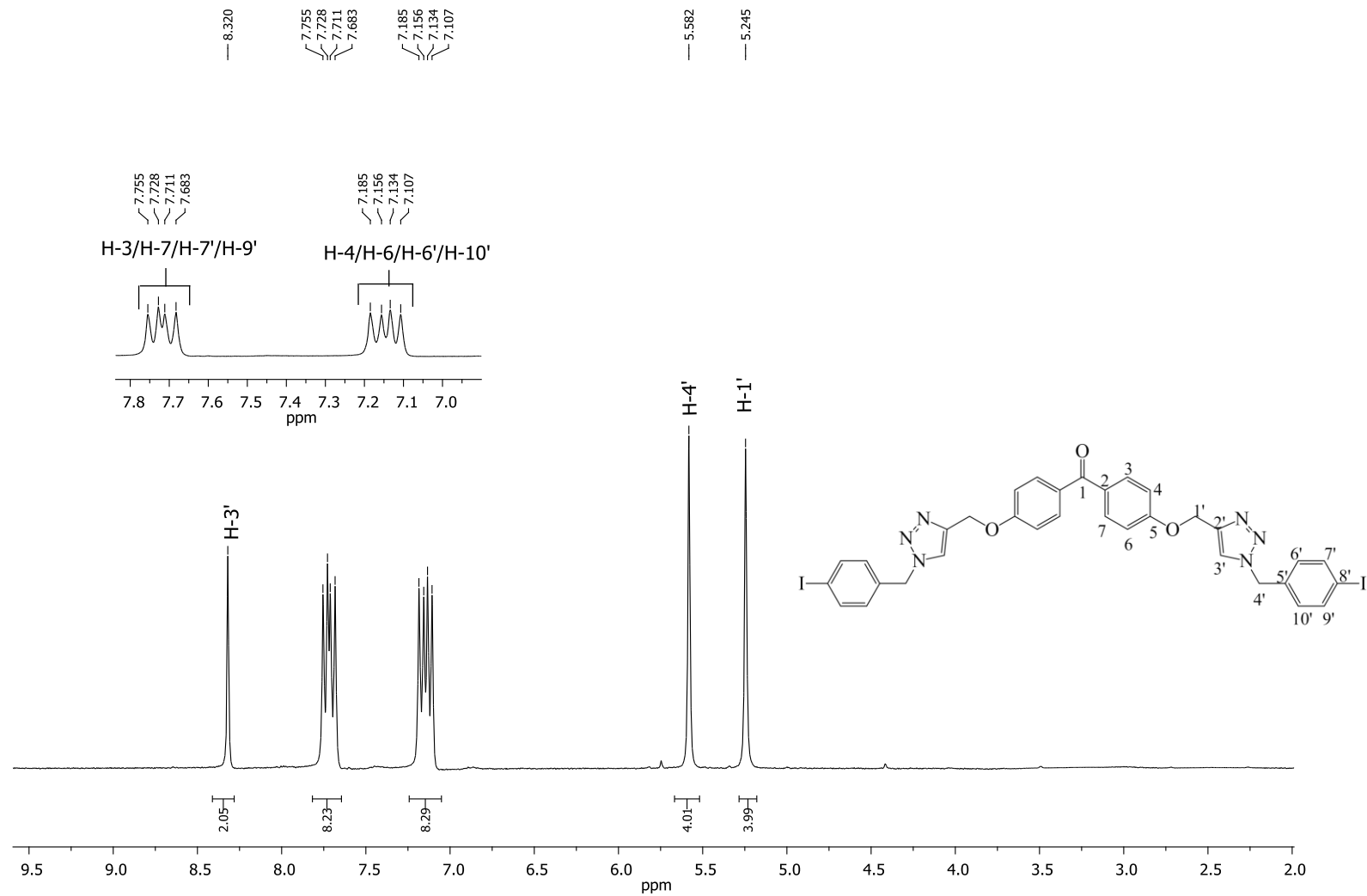


Figura A16: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) do composto **8**.

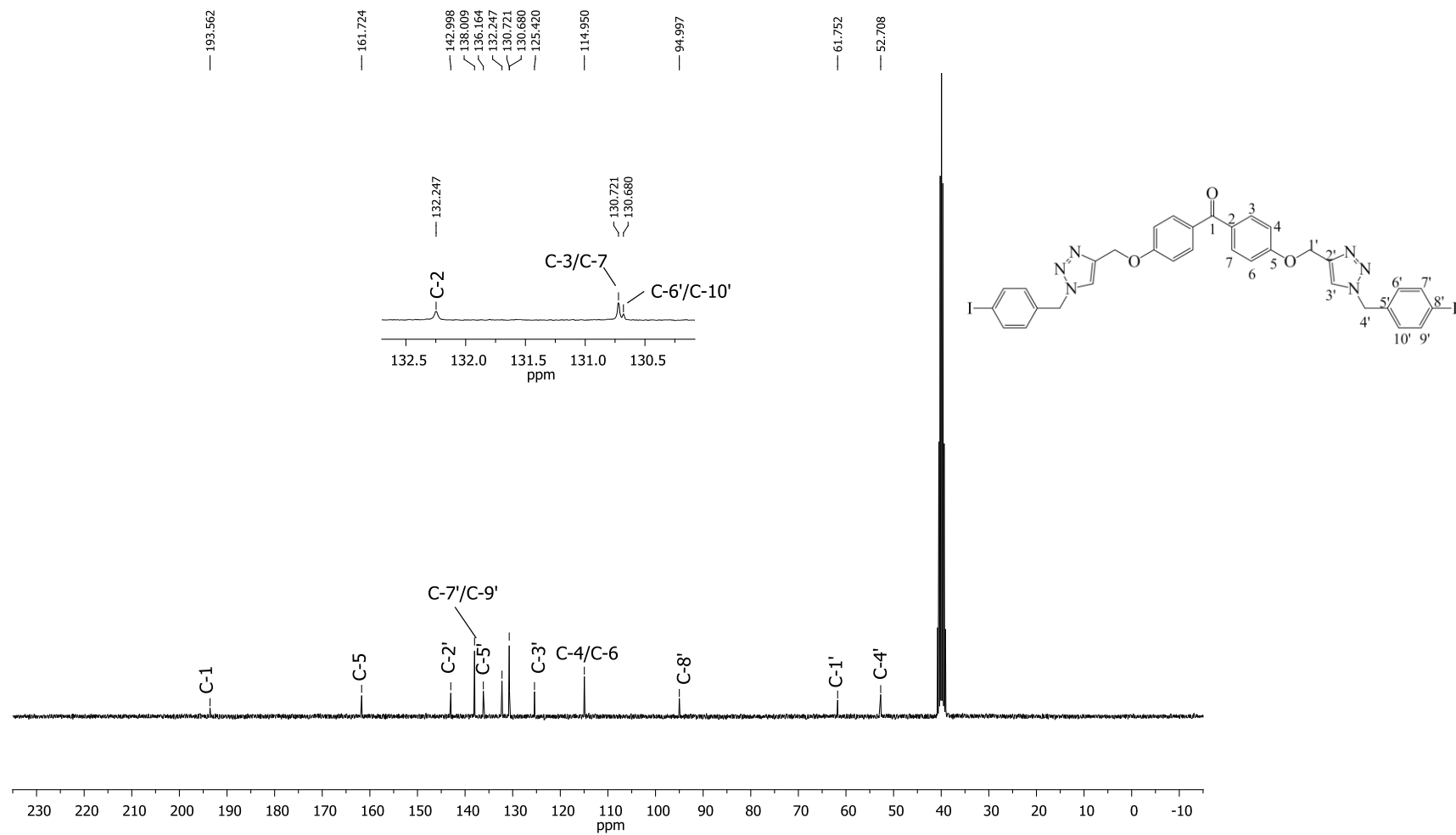


Figura A17: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) do composto **8**.

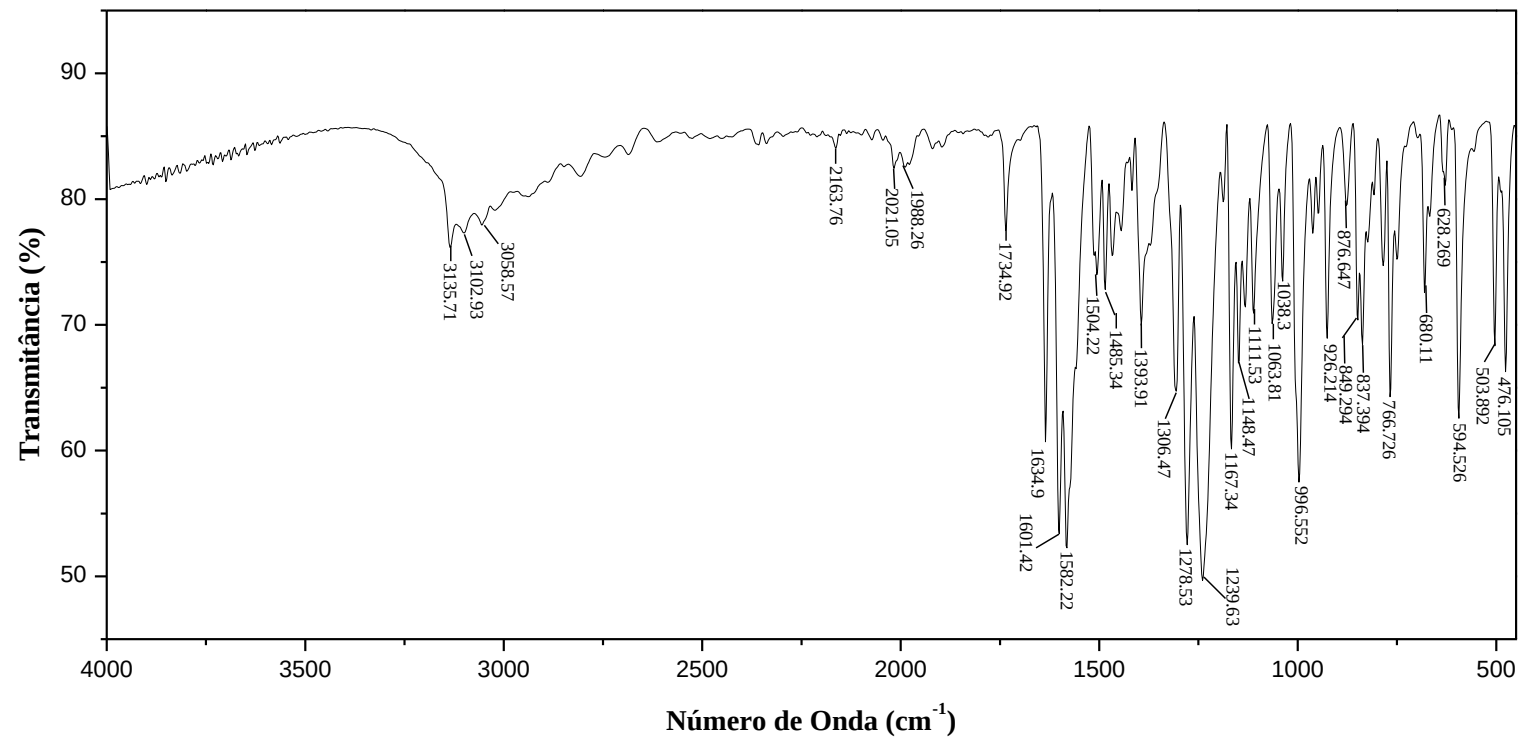


Figura A18: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **8**.

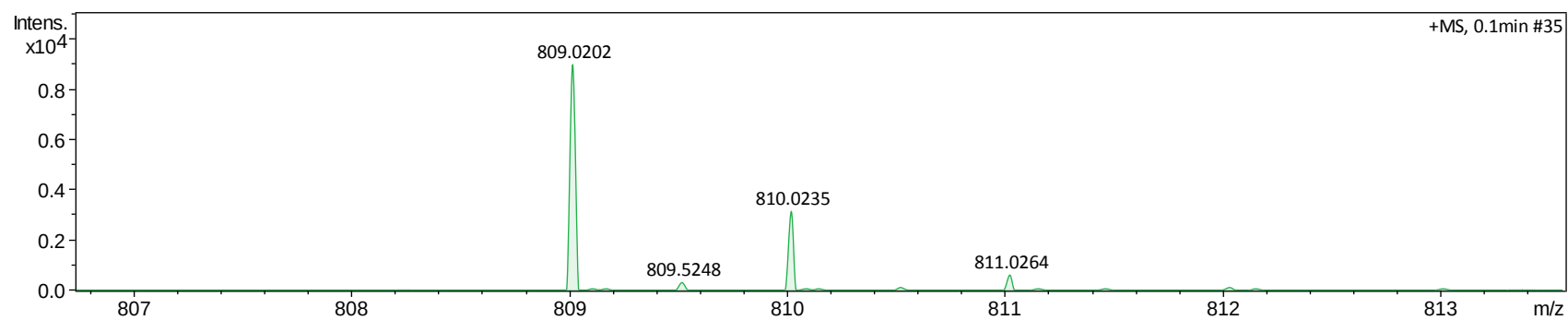


Figura A19: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **8**.

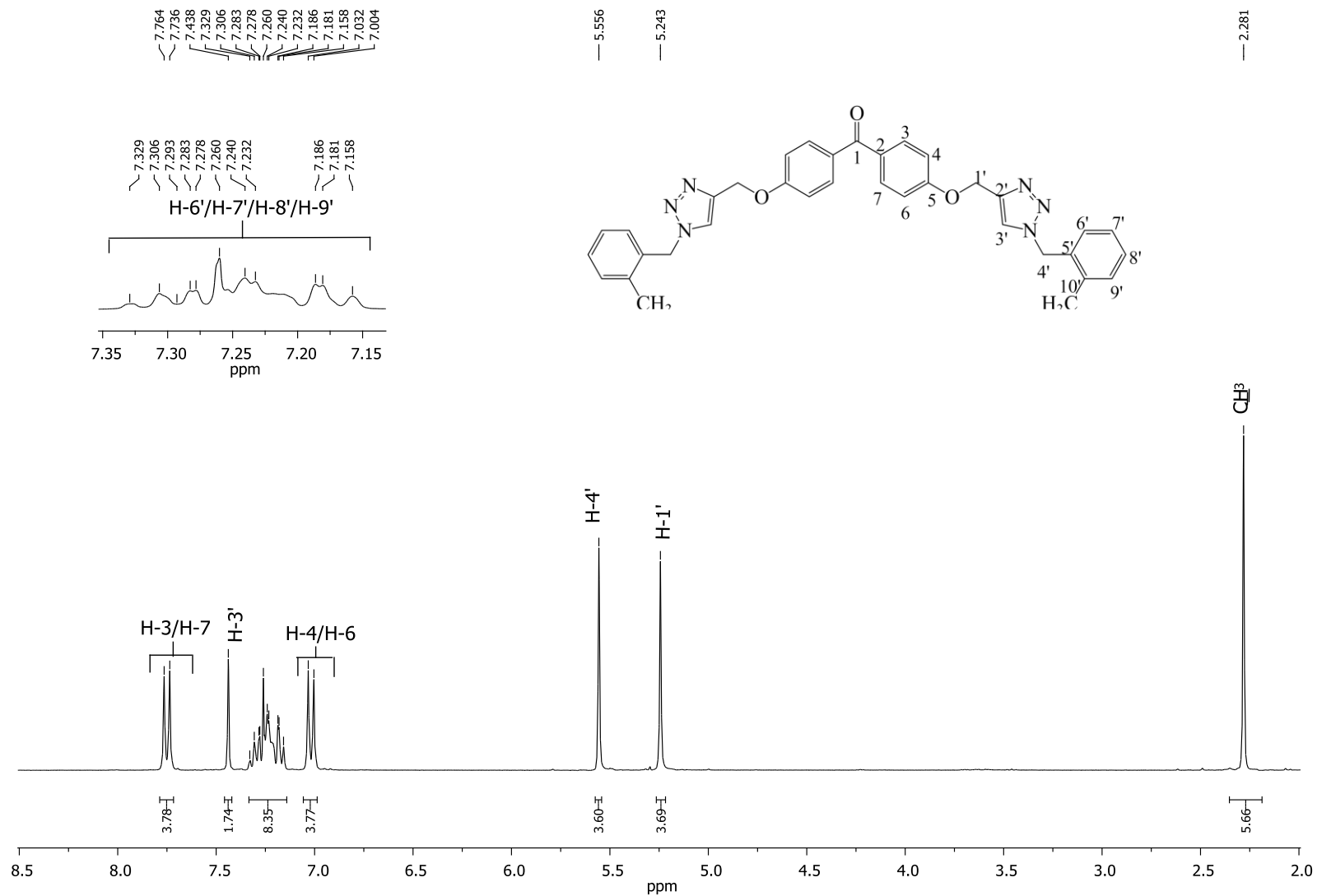


Figura A20: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

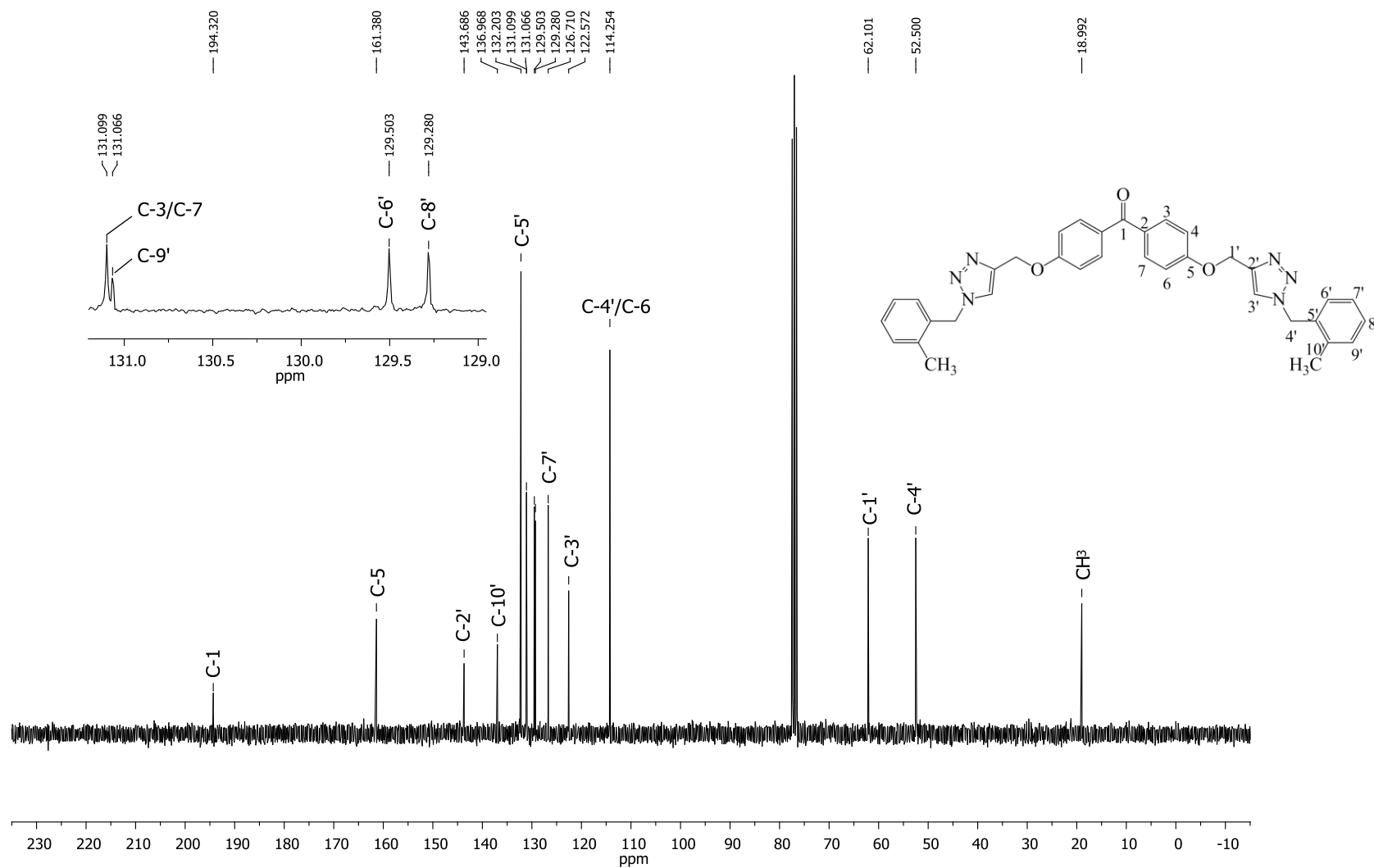


Figura A21: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **9**.

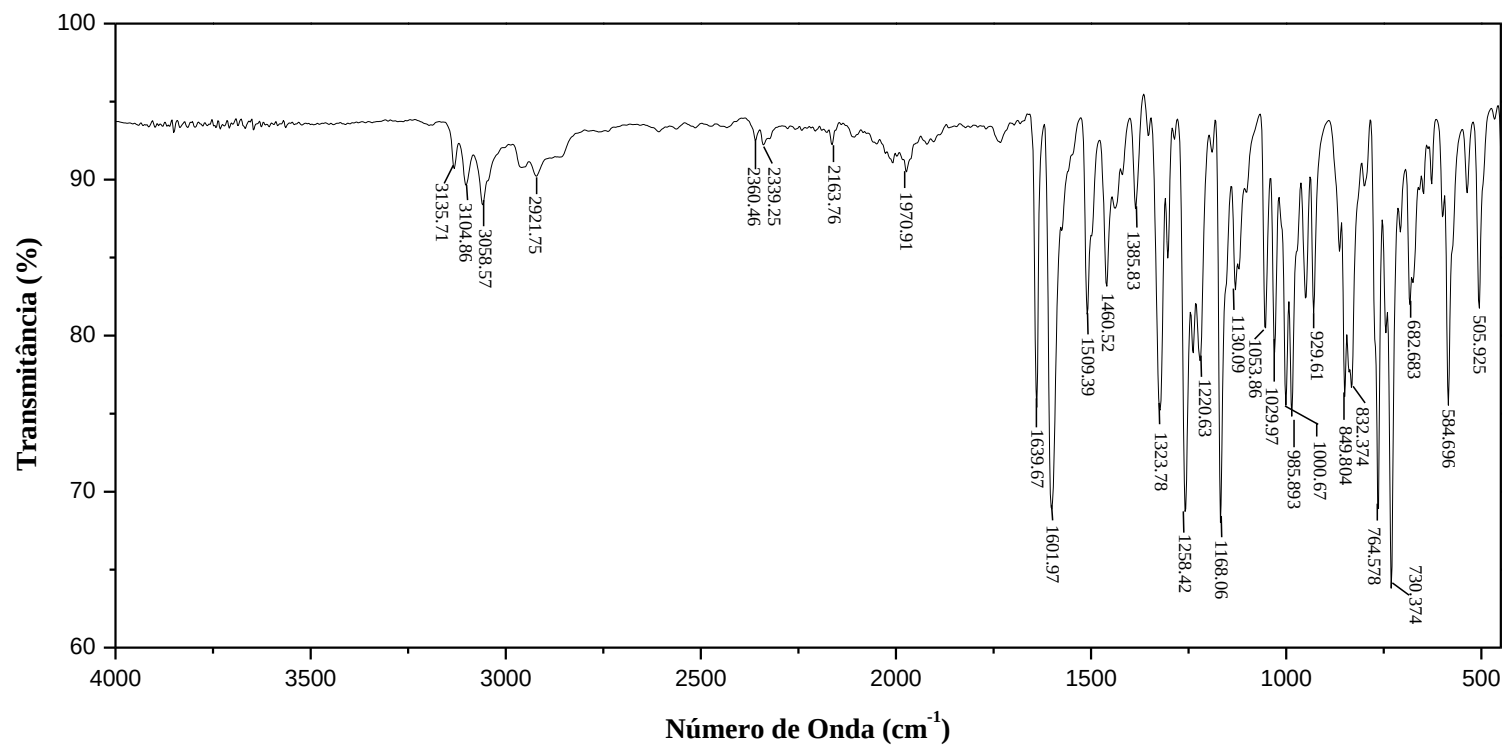


Figura A22: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **9**.

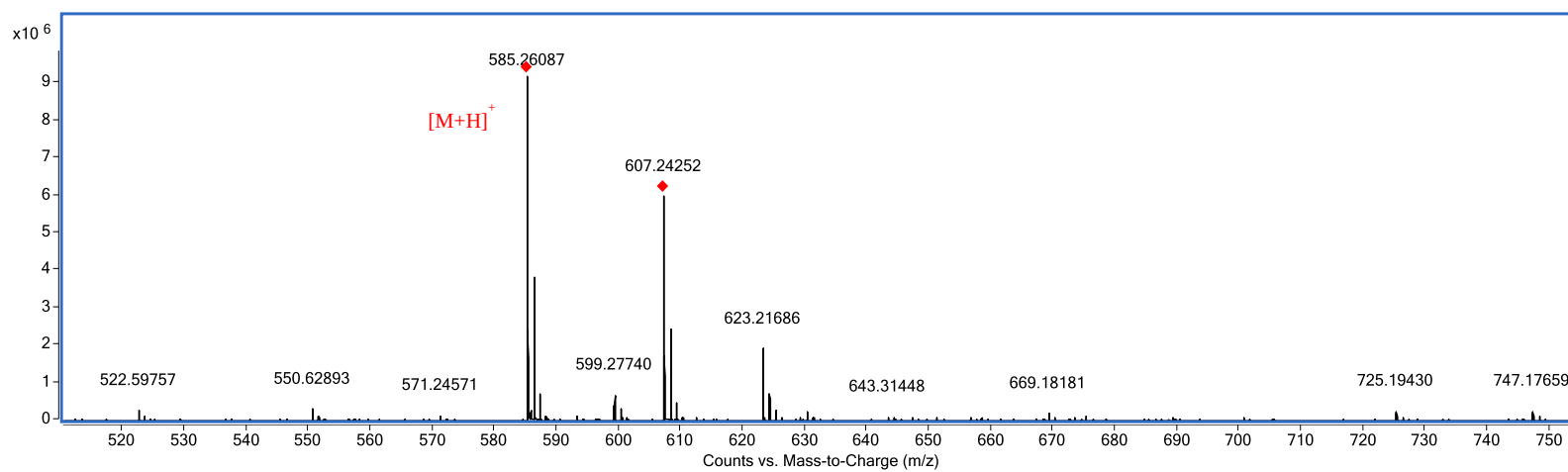


Figura A23: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **9**.

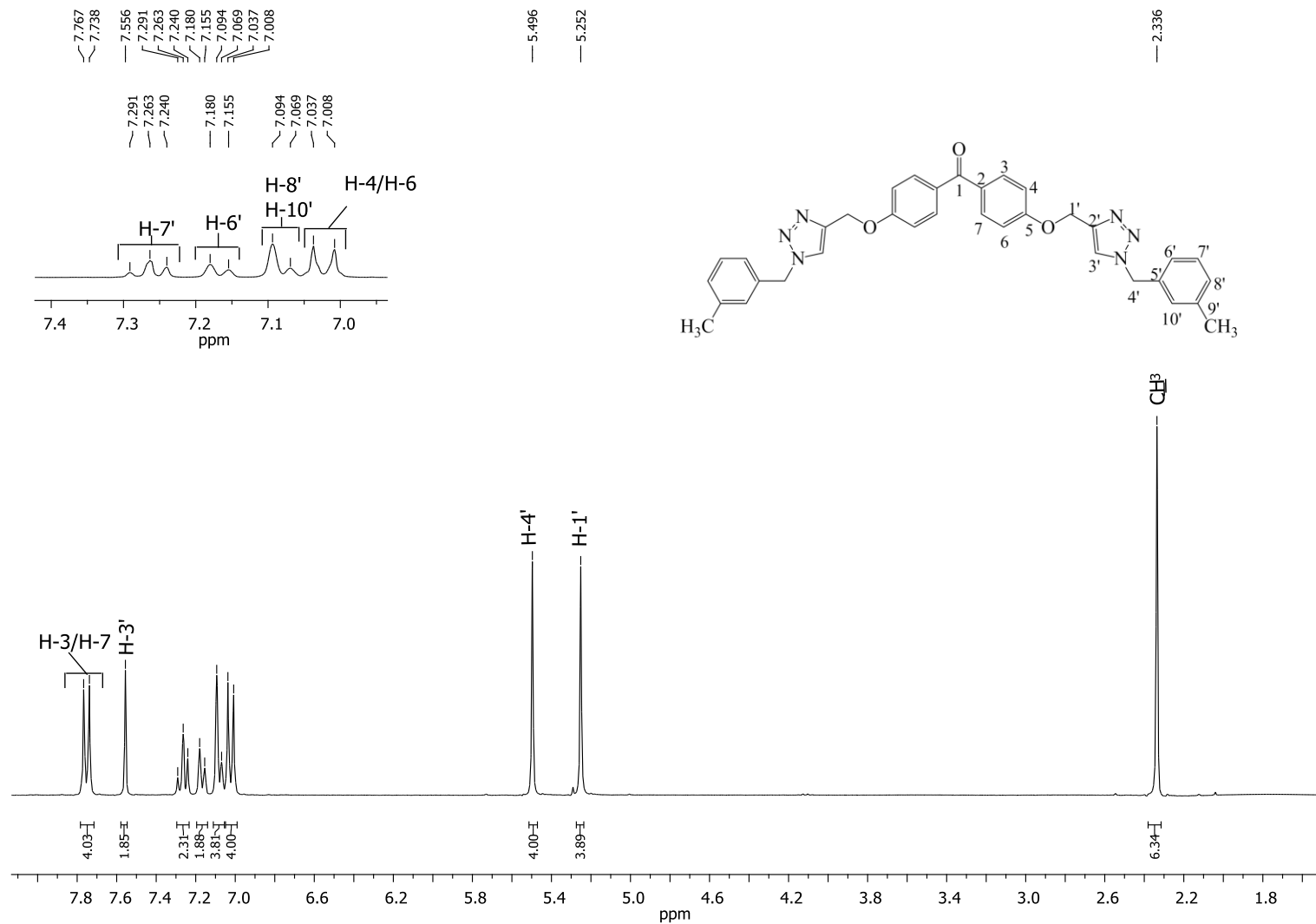


Figura A24: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **10**.

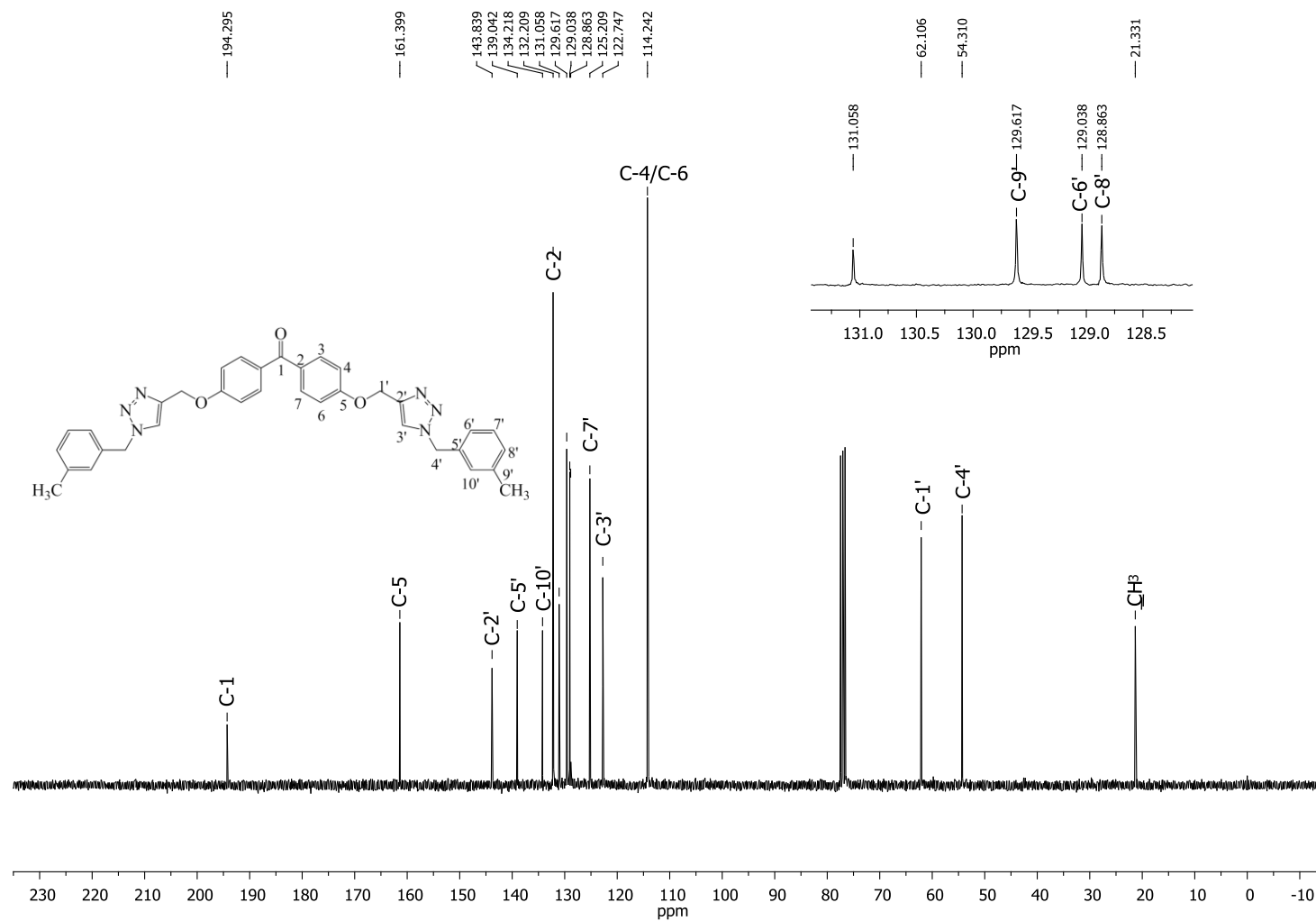


Figura A25: Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **10**.

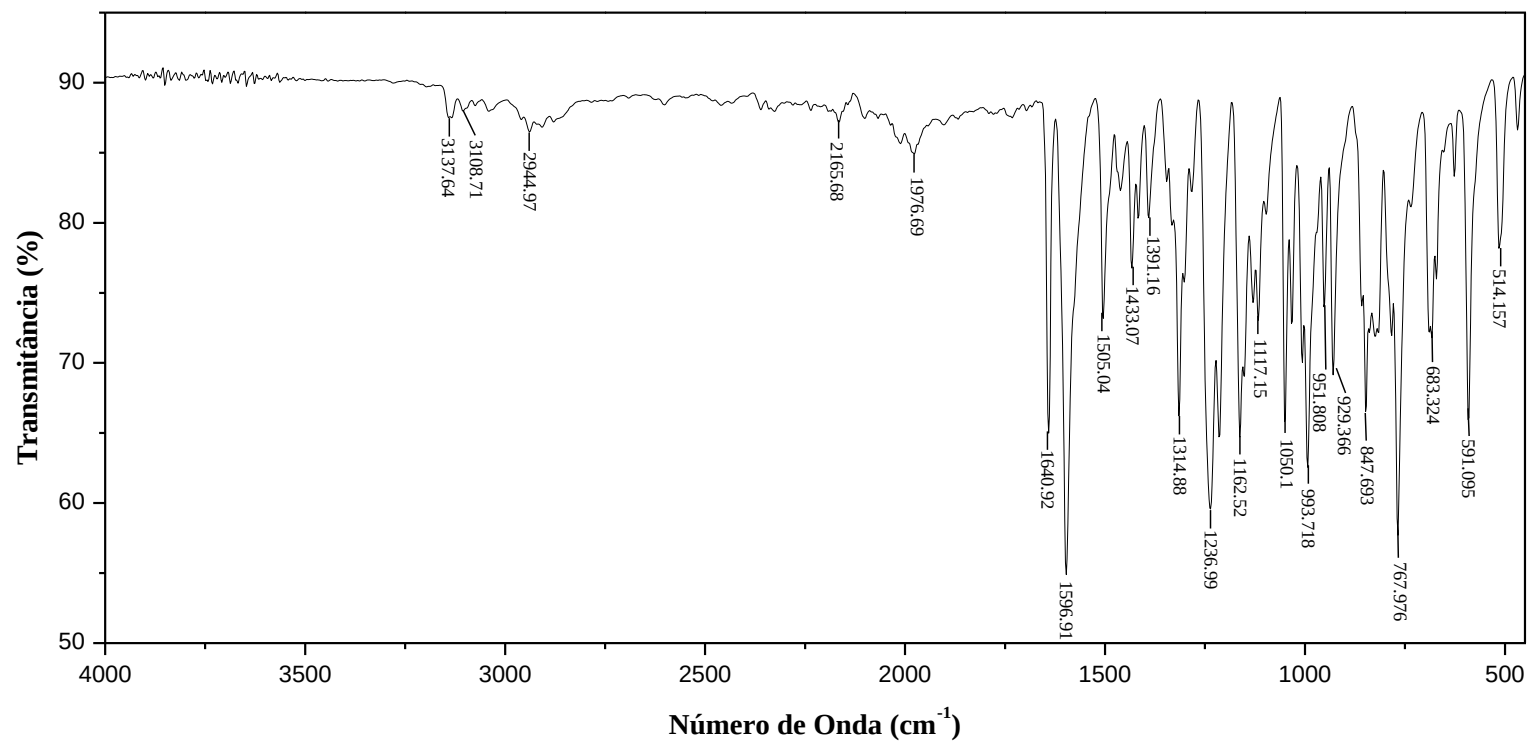


Figura A26: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **10**.

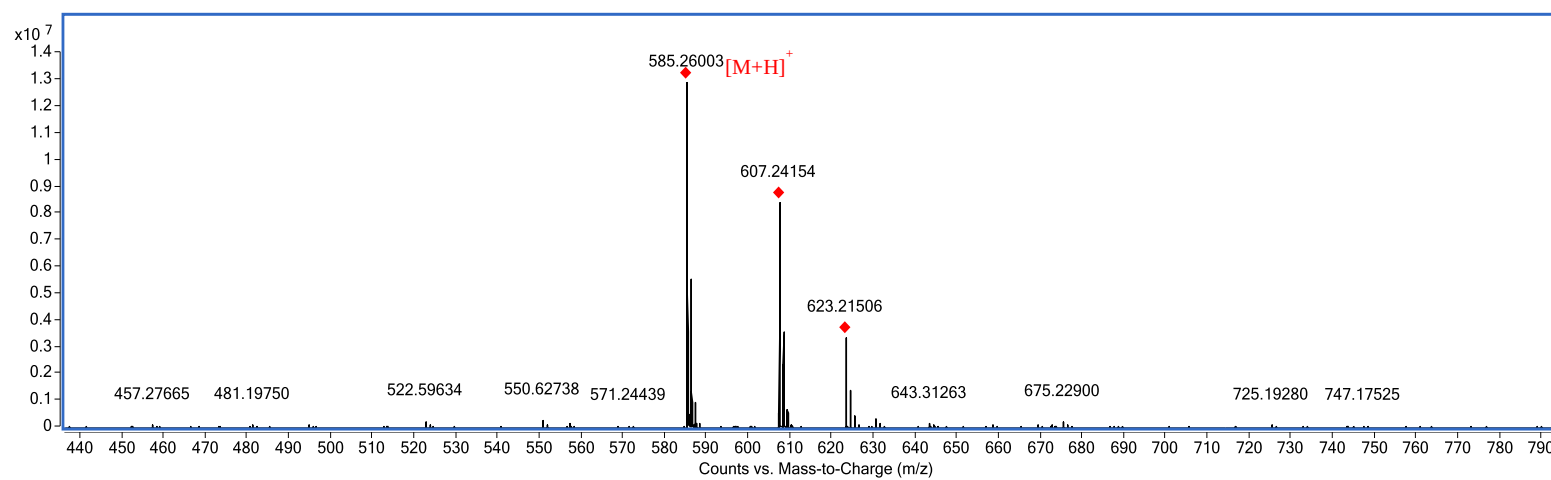


Figura A27: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **10**.

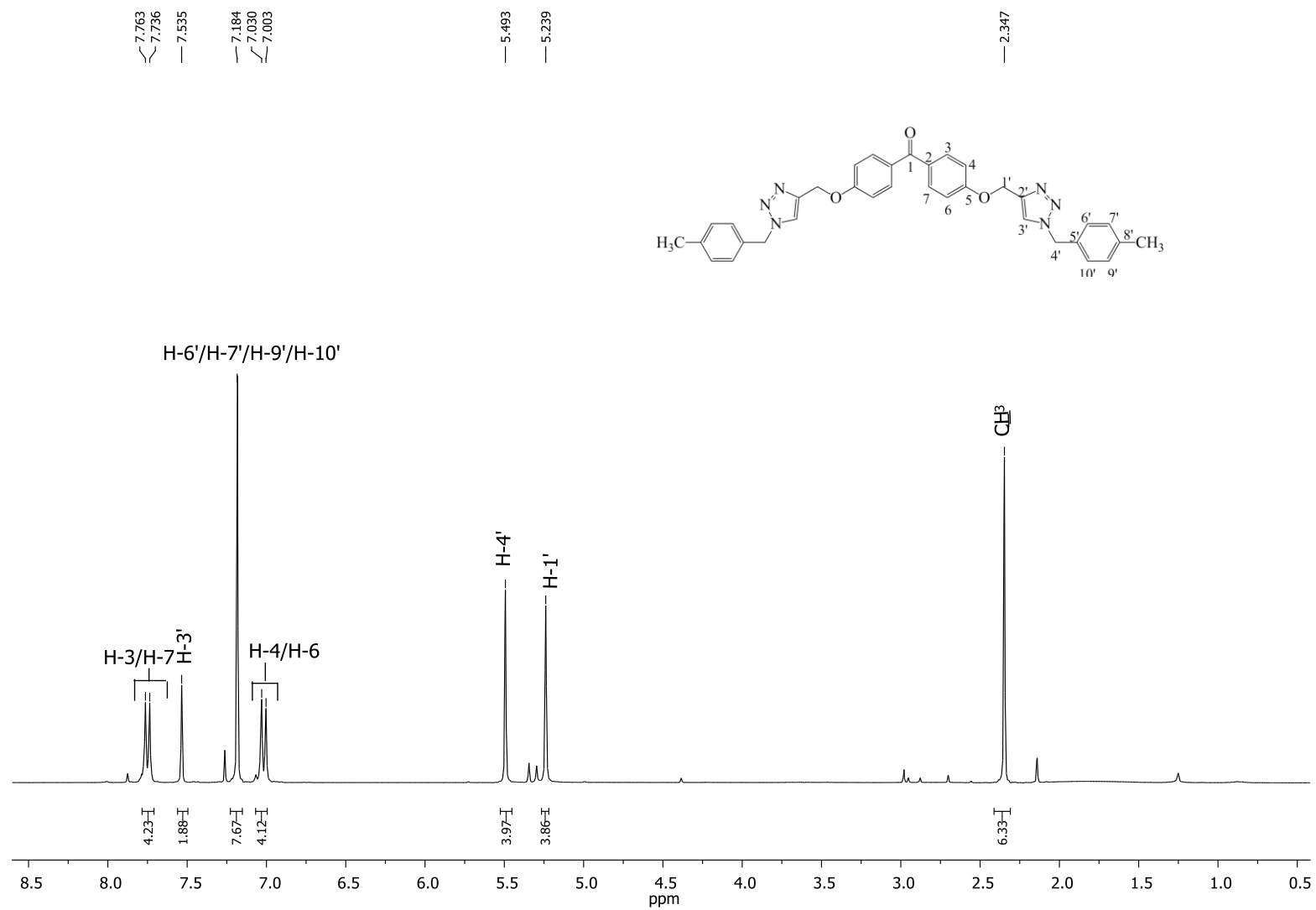


Figura A28: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **11**.

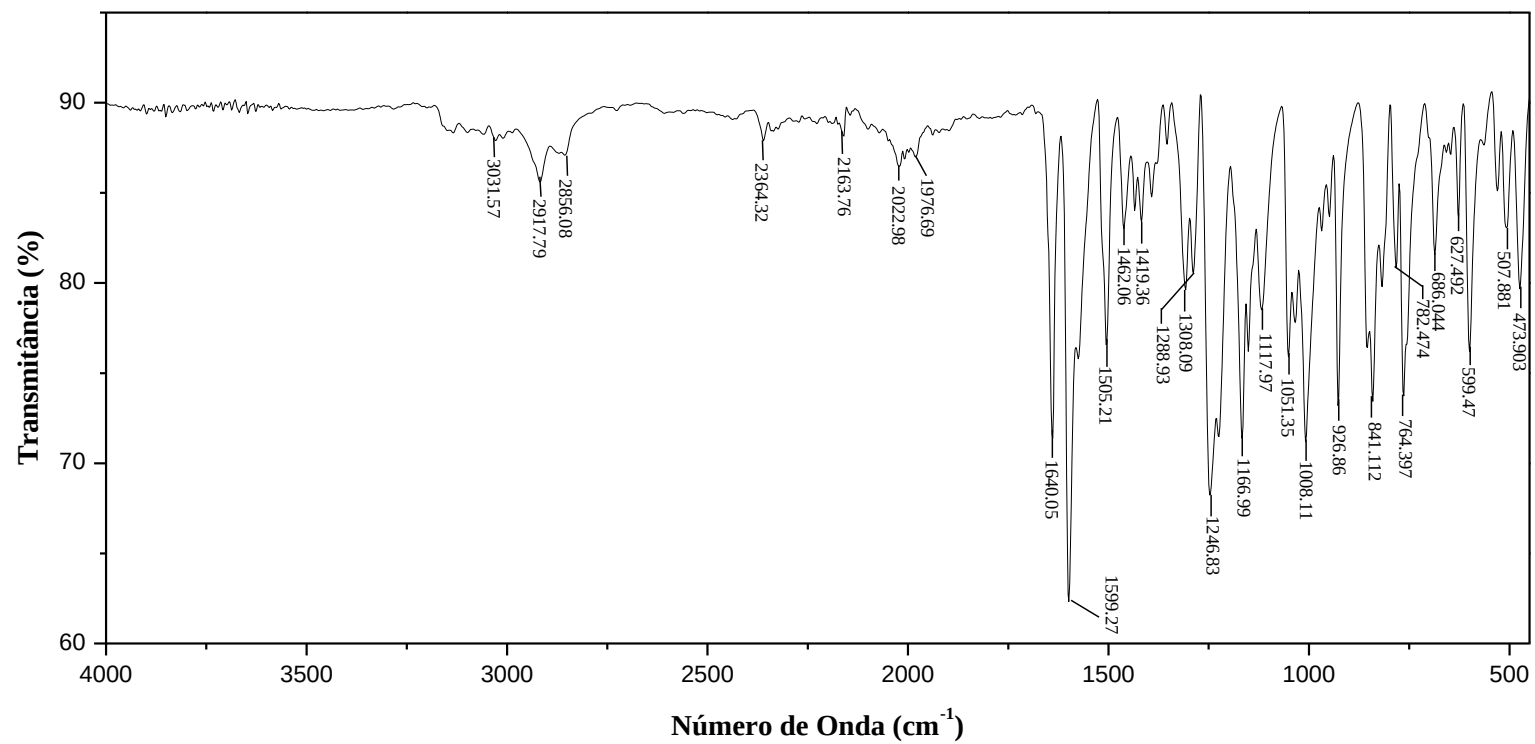


Figura A30: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **11**.

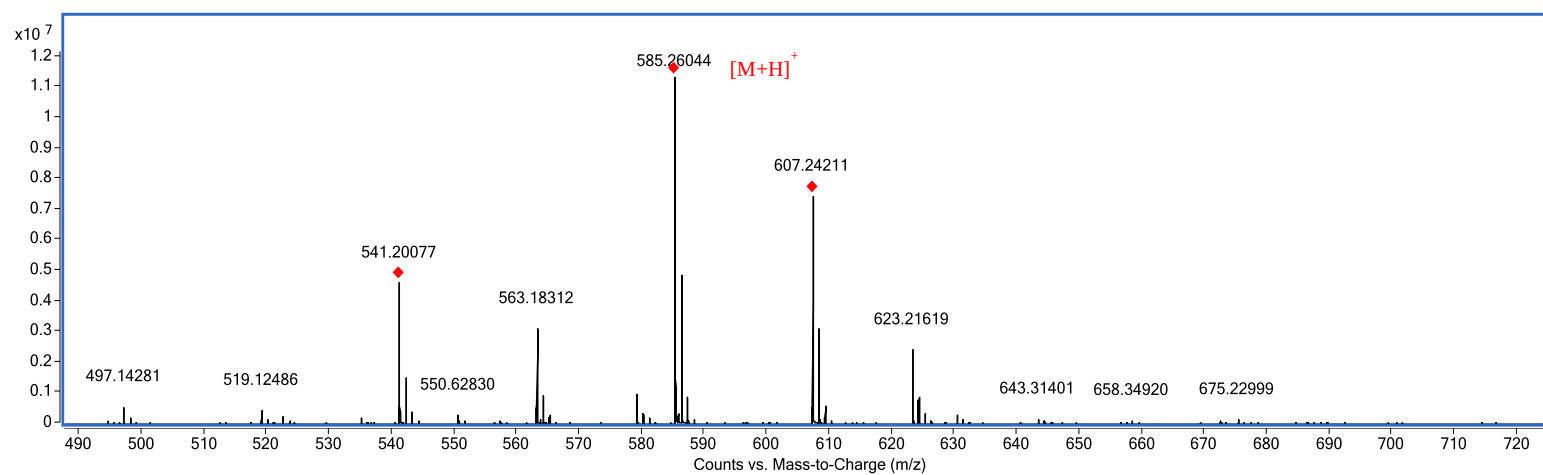


Figura A31: Espectro de ESI(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **11**.

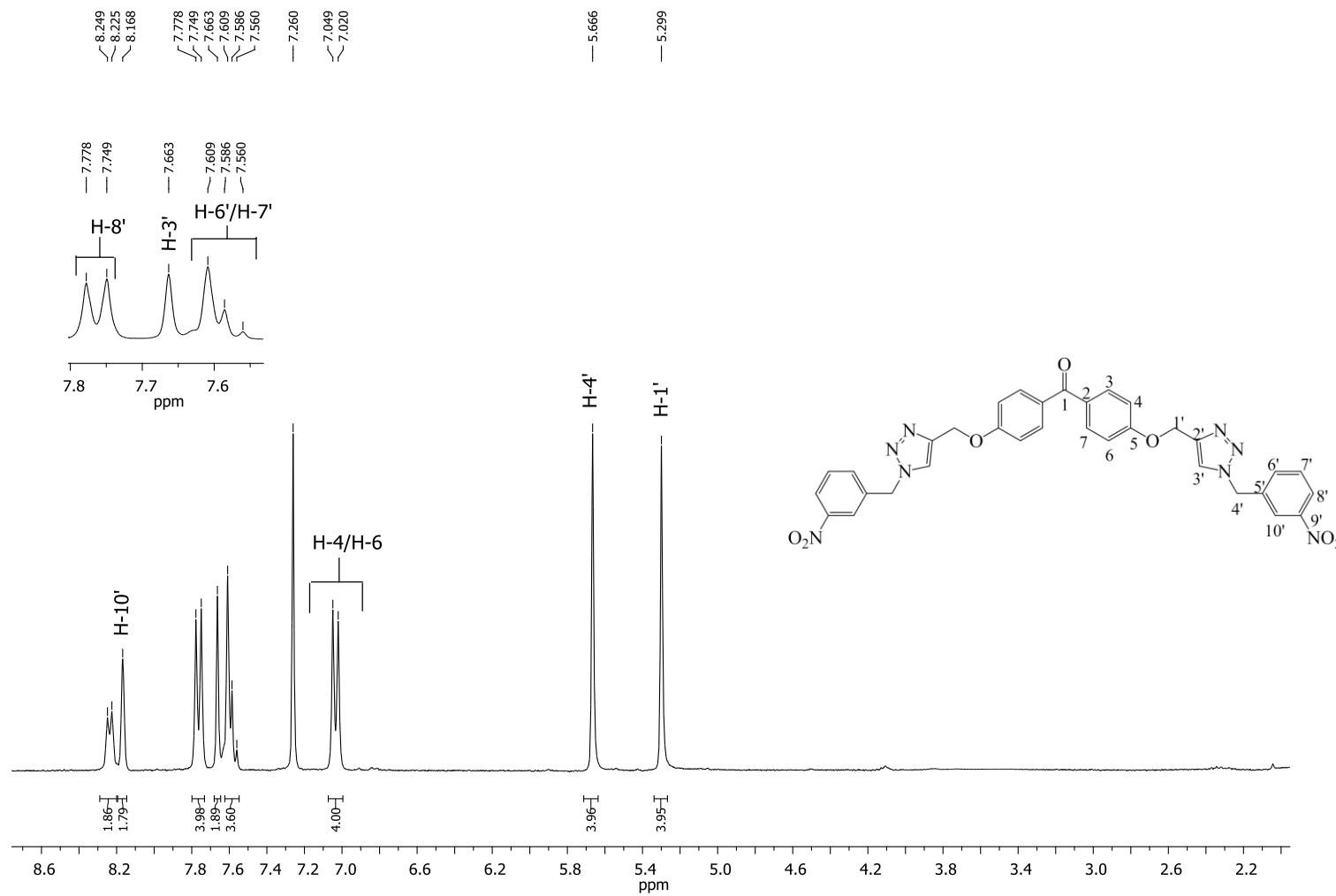


Figura A32: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **12**.

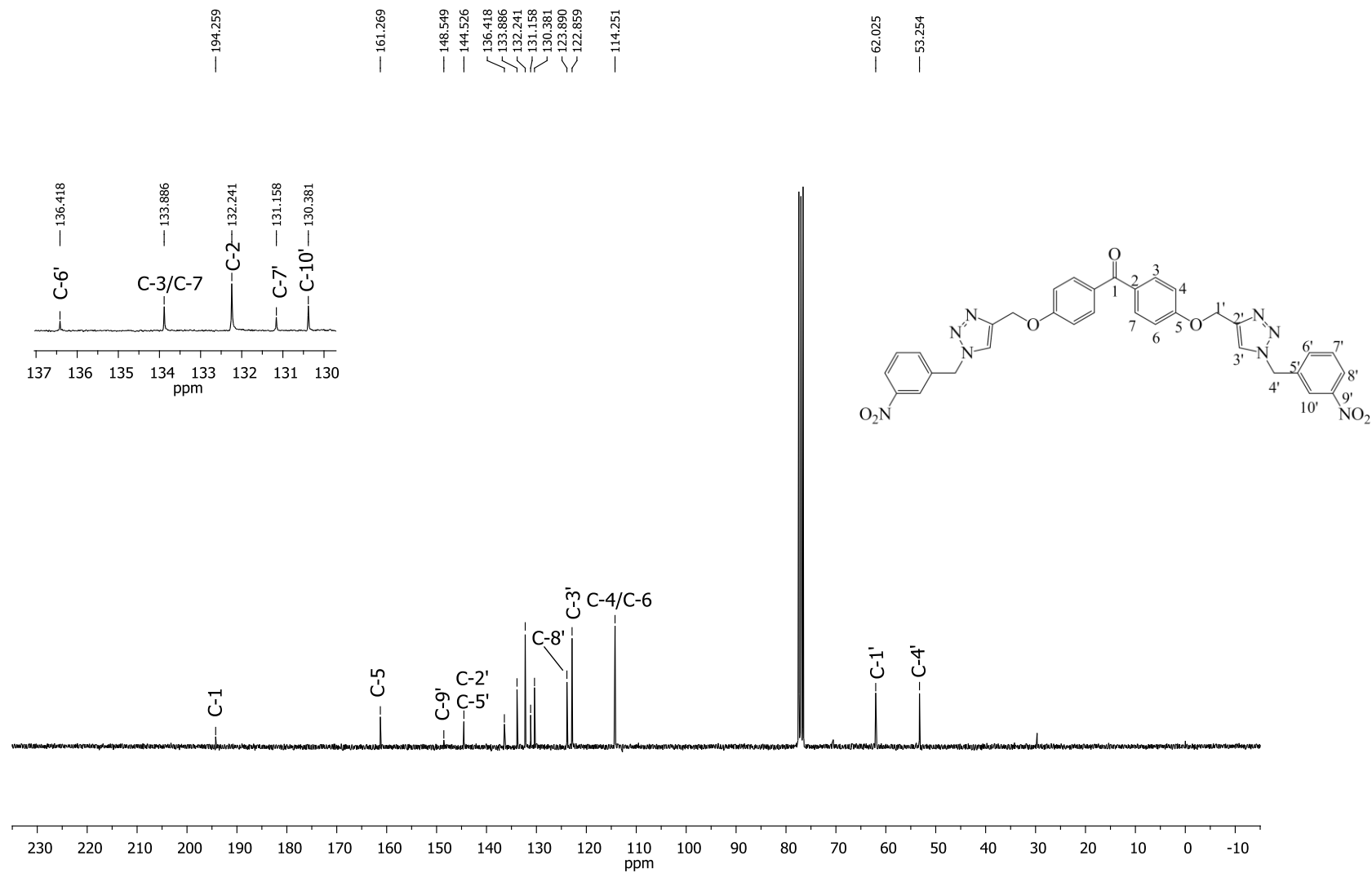


Figura A33: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **12**.

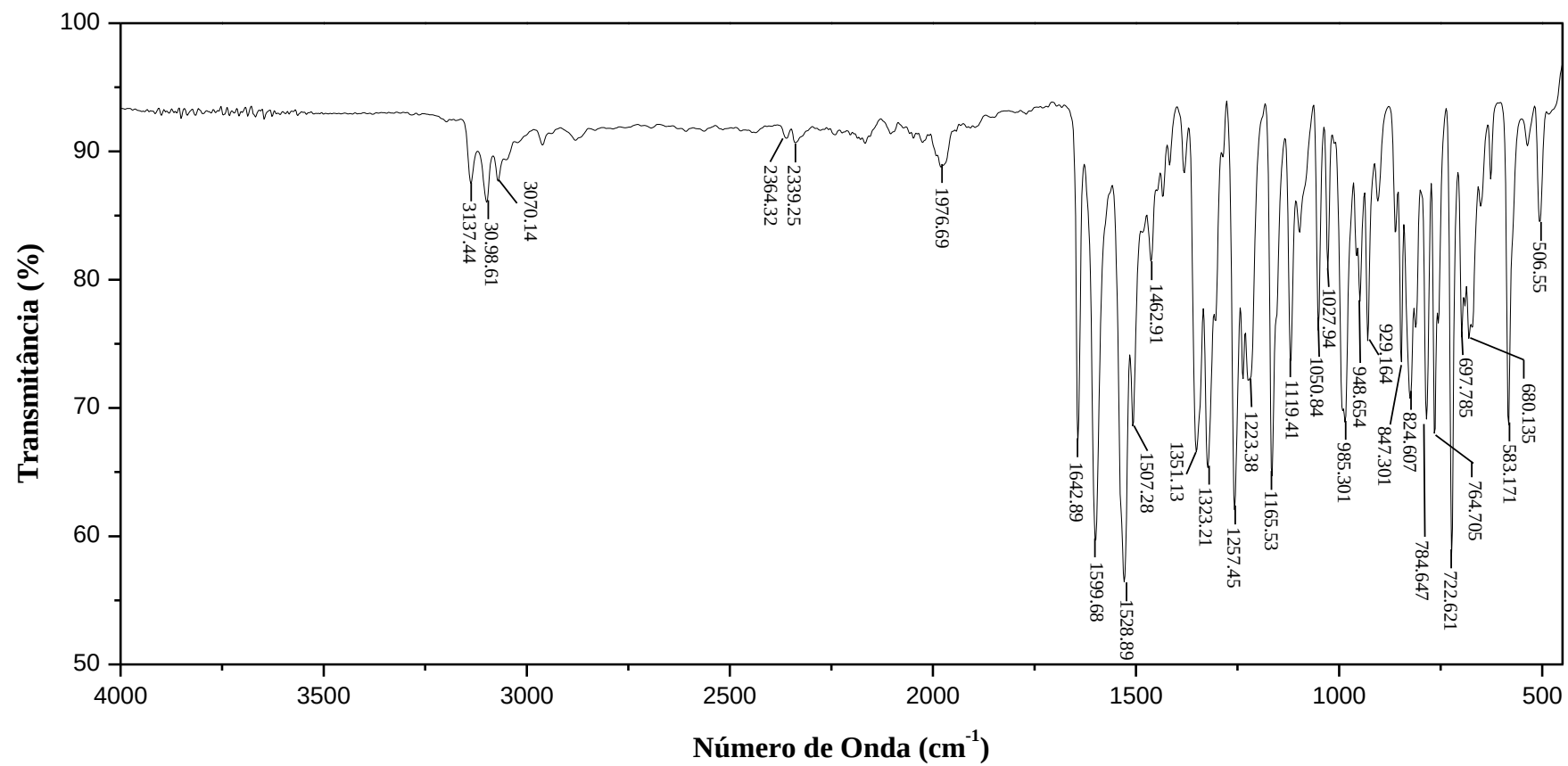


Figura A34: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **12**.

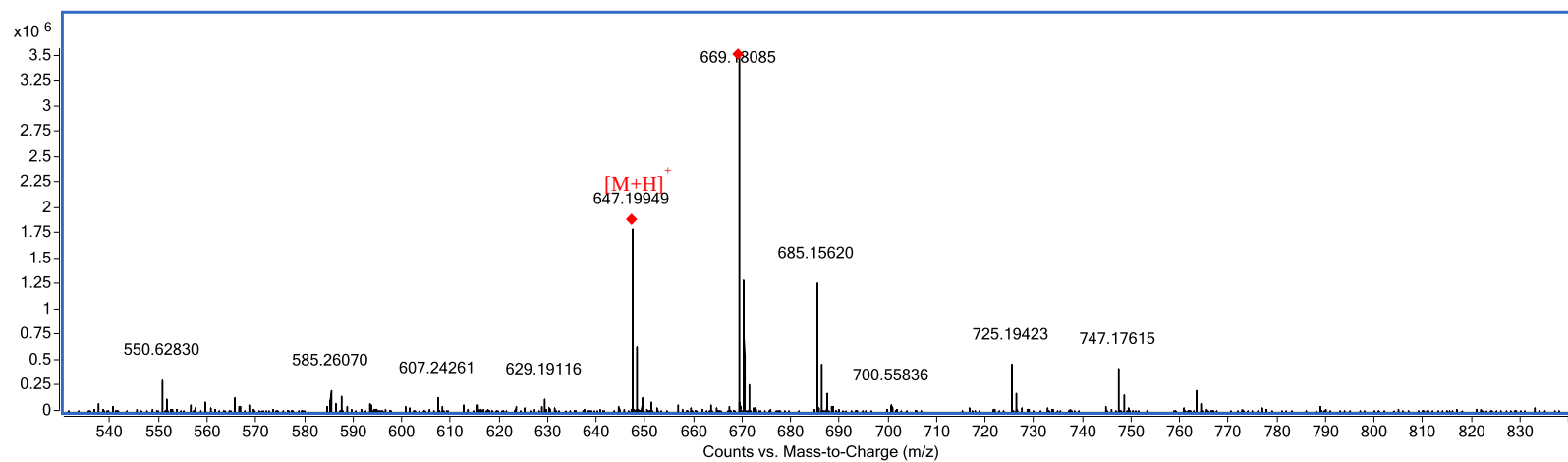


Figura A35: Espectro de ESI(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **12**.

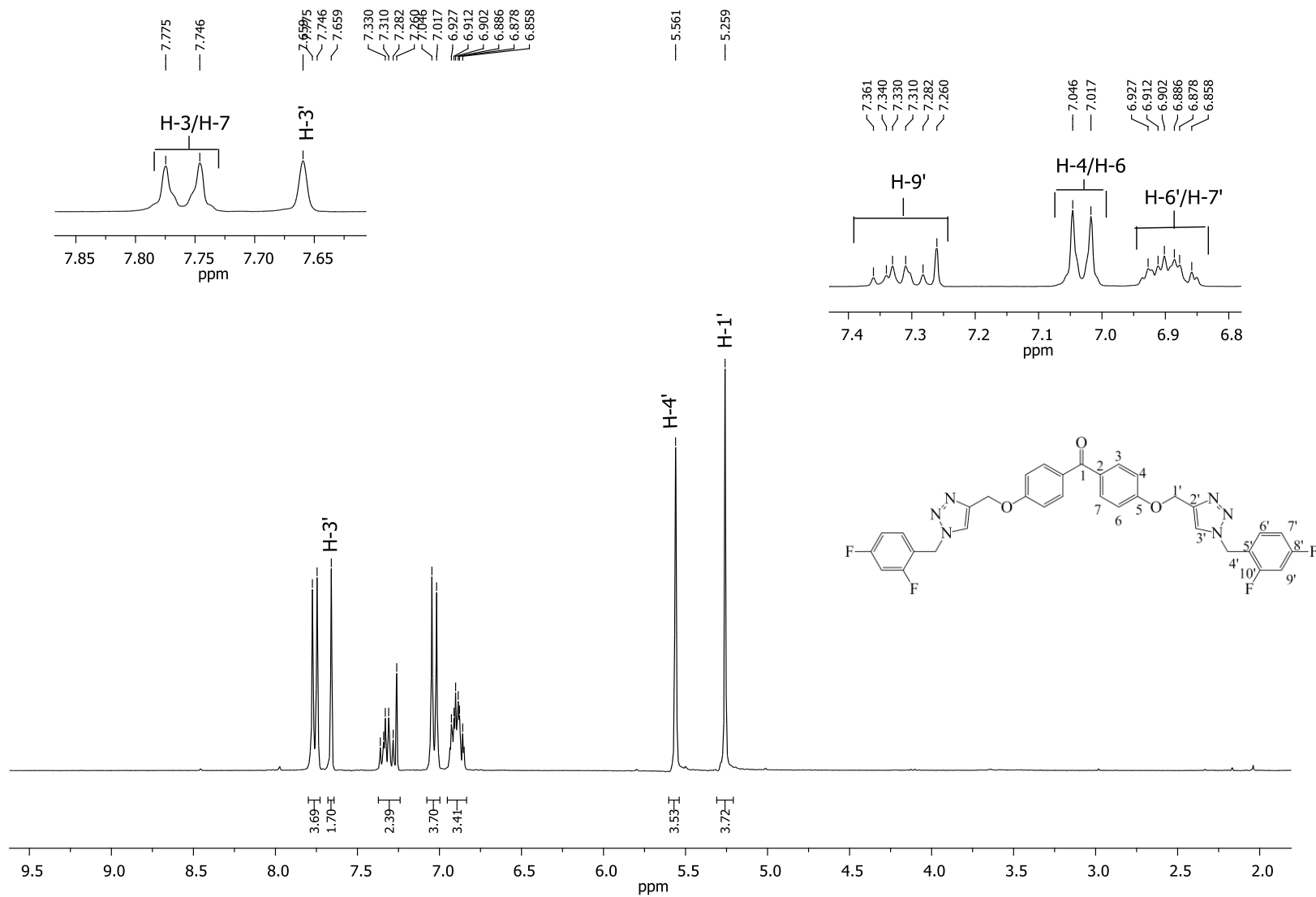


Figura 36: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **13**.

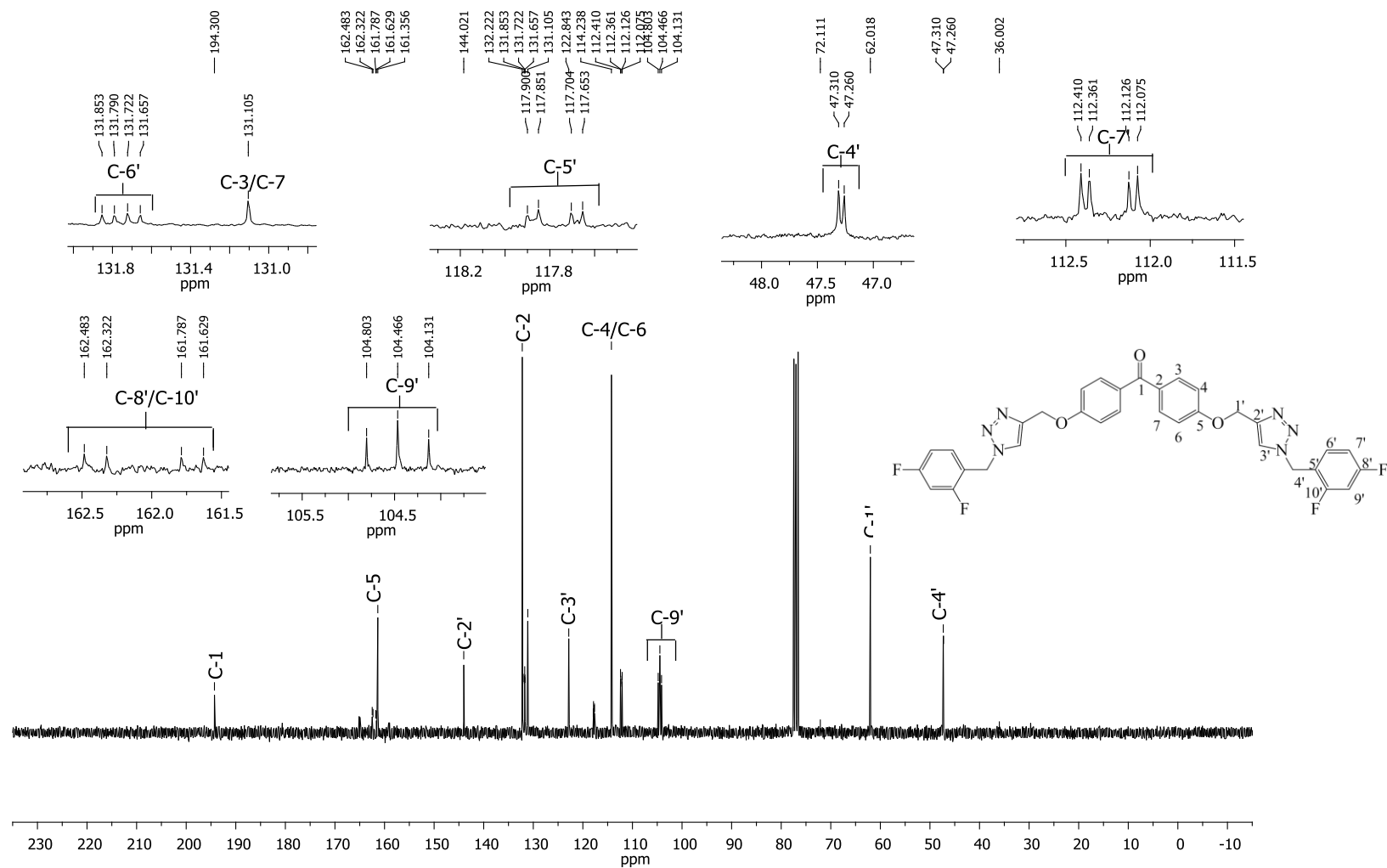


Figura A37: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **13**.

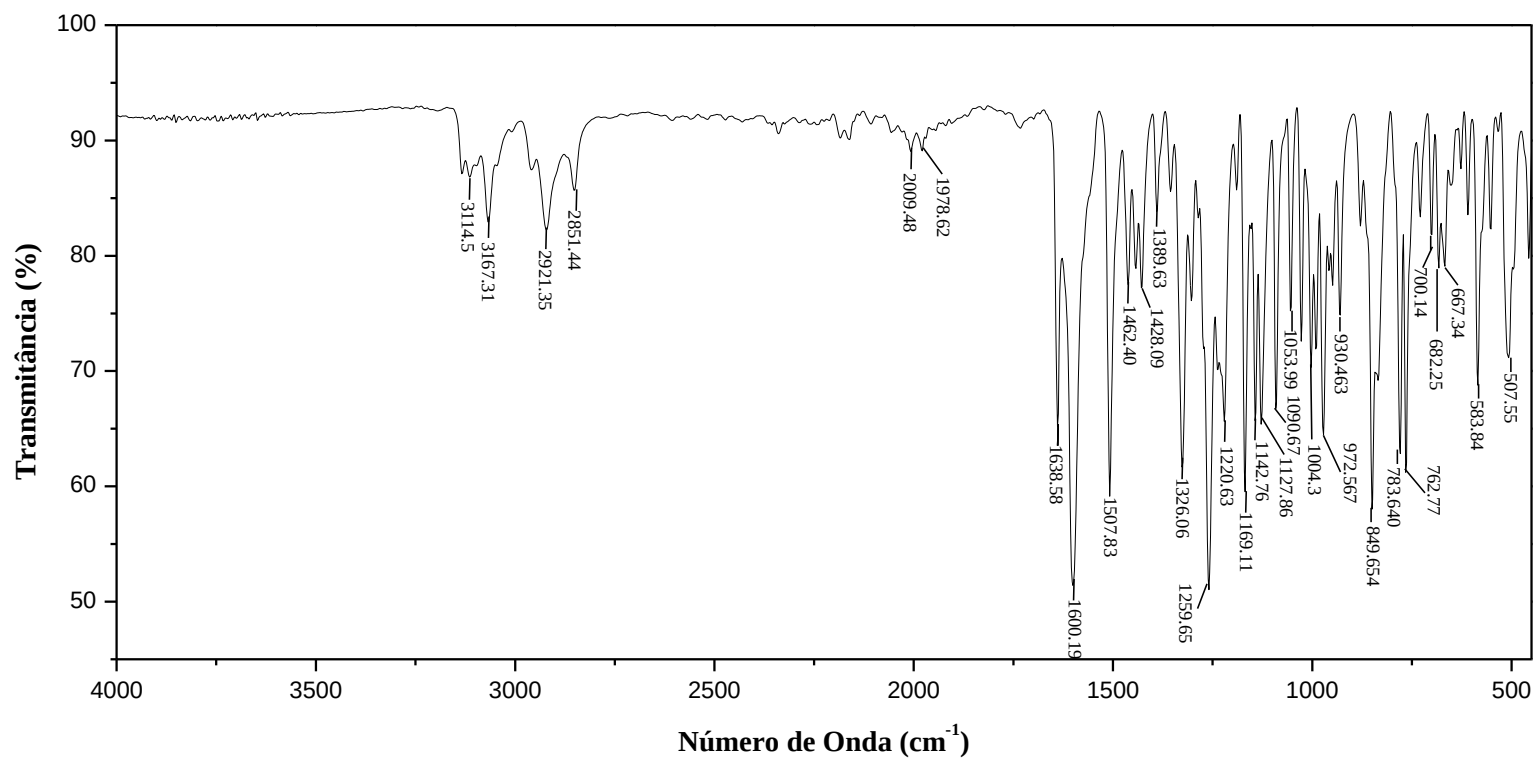


Figura A38: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **13**.

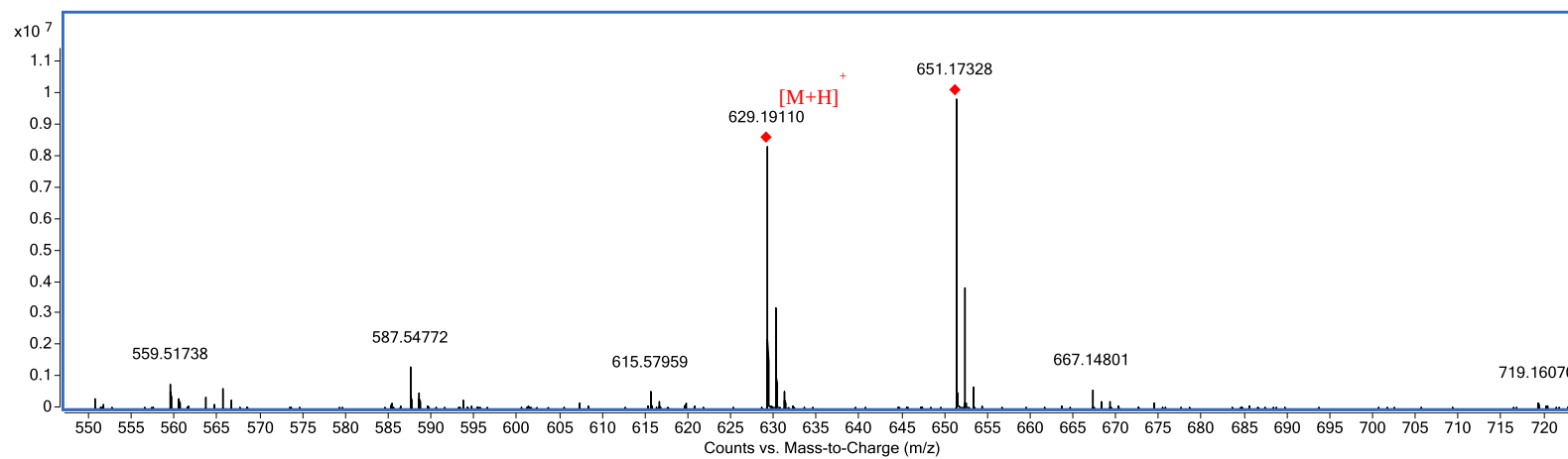


Figura A39: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **13**.

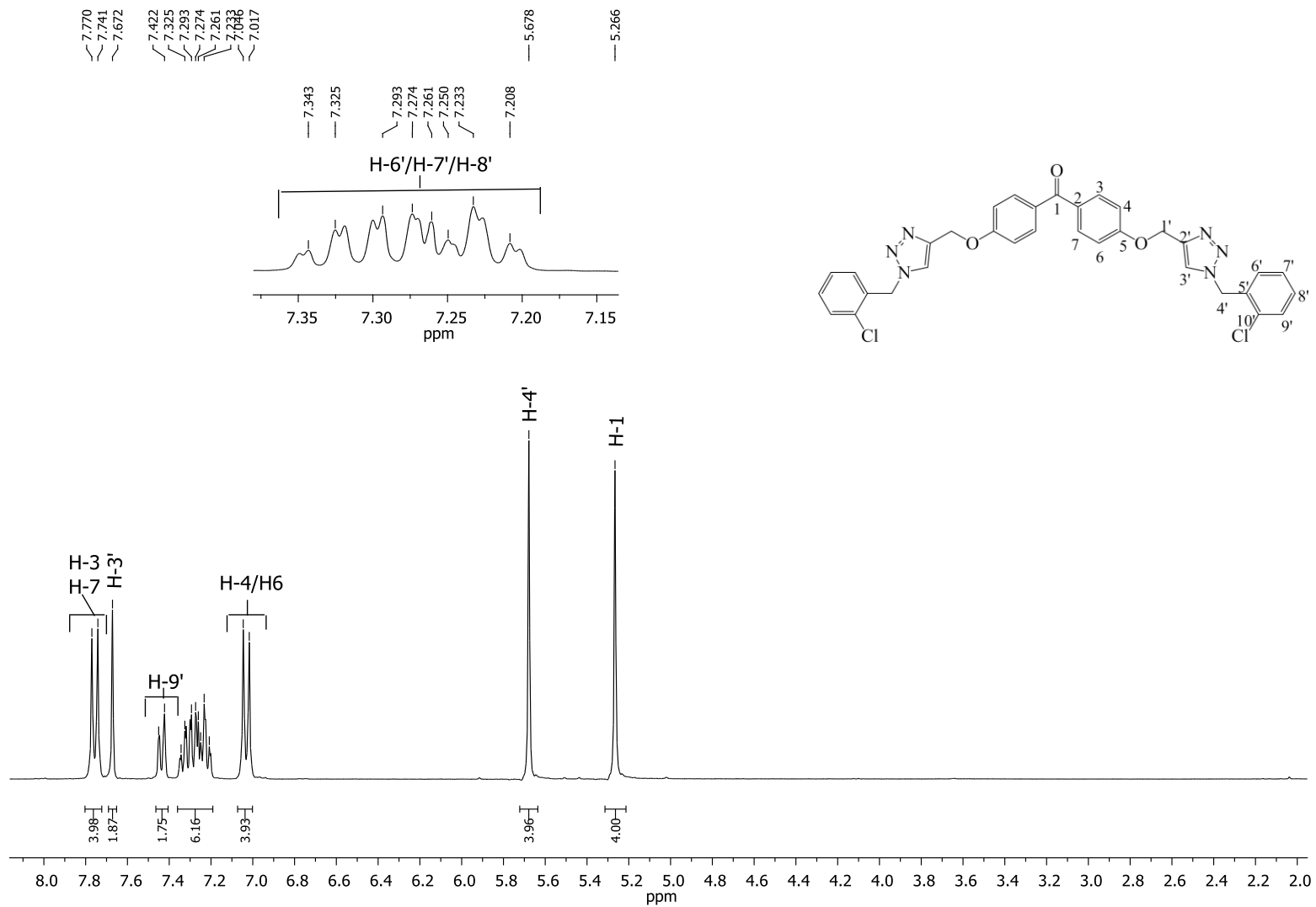


Figura A40: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **14**.

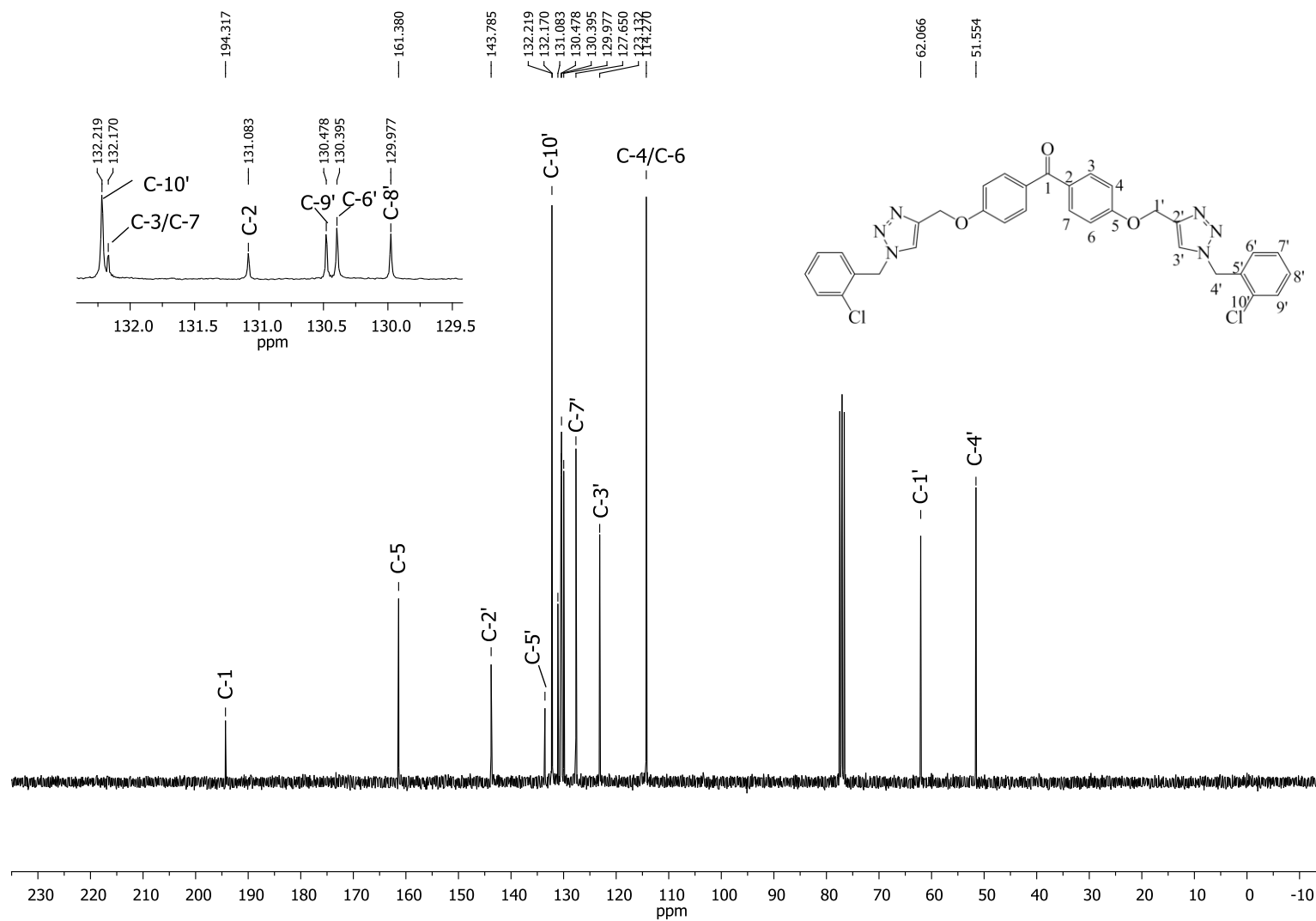


Figura A41: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do derivado **14**.

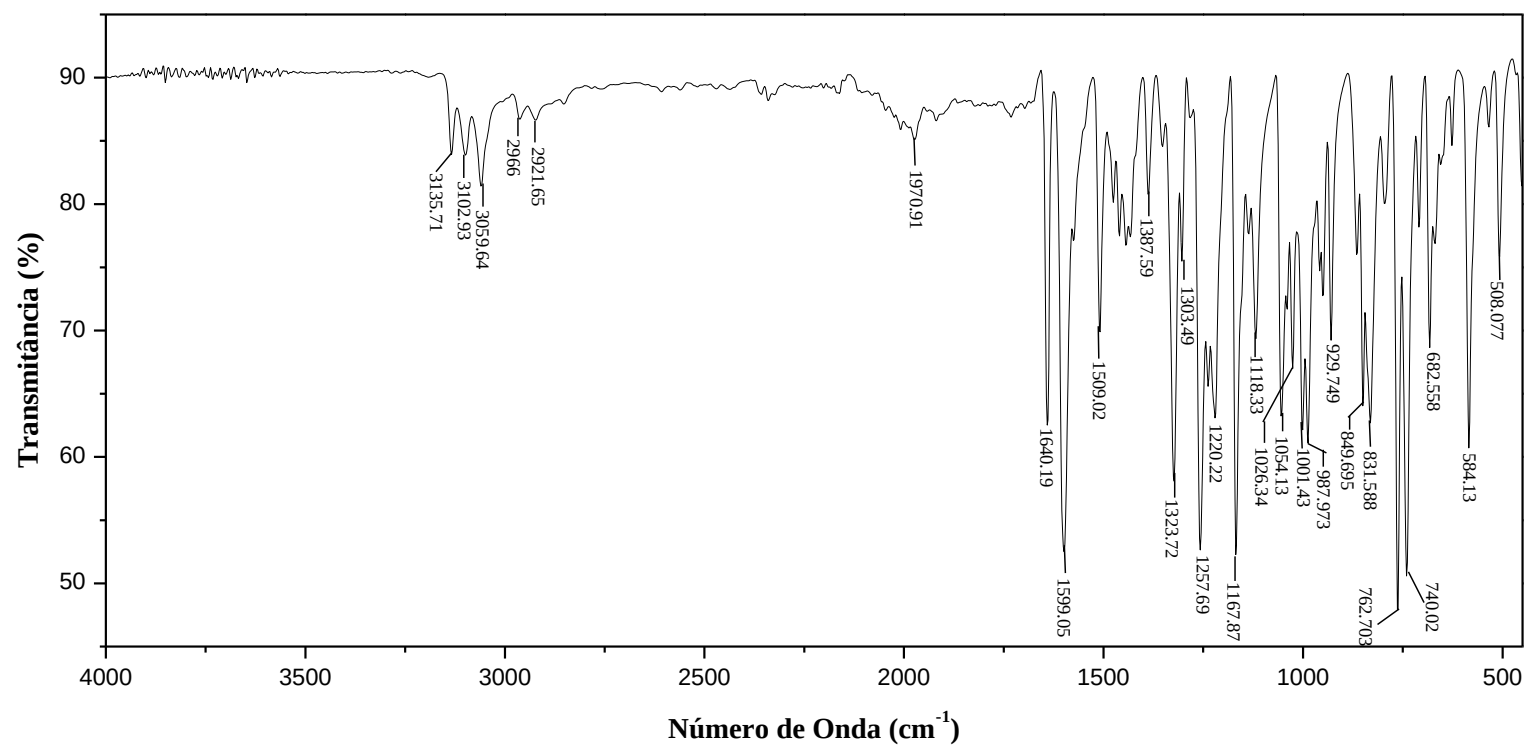


Figura A41: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **14**.

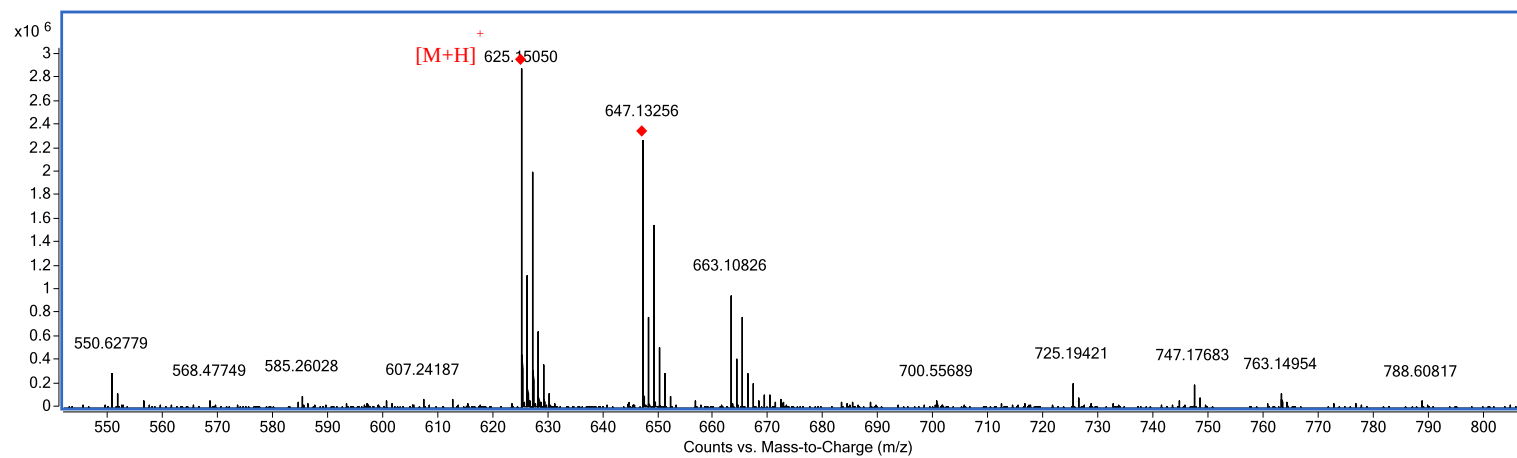


Figura A42: Espectro de ESI(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **14**.

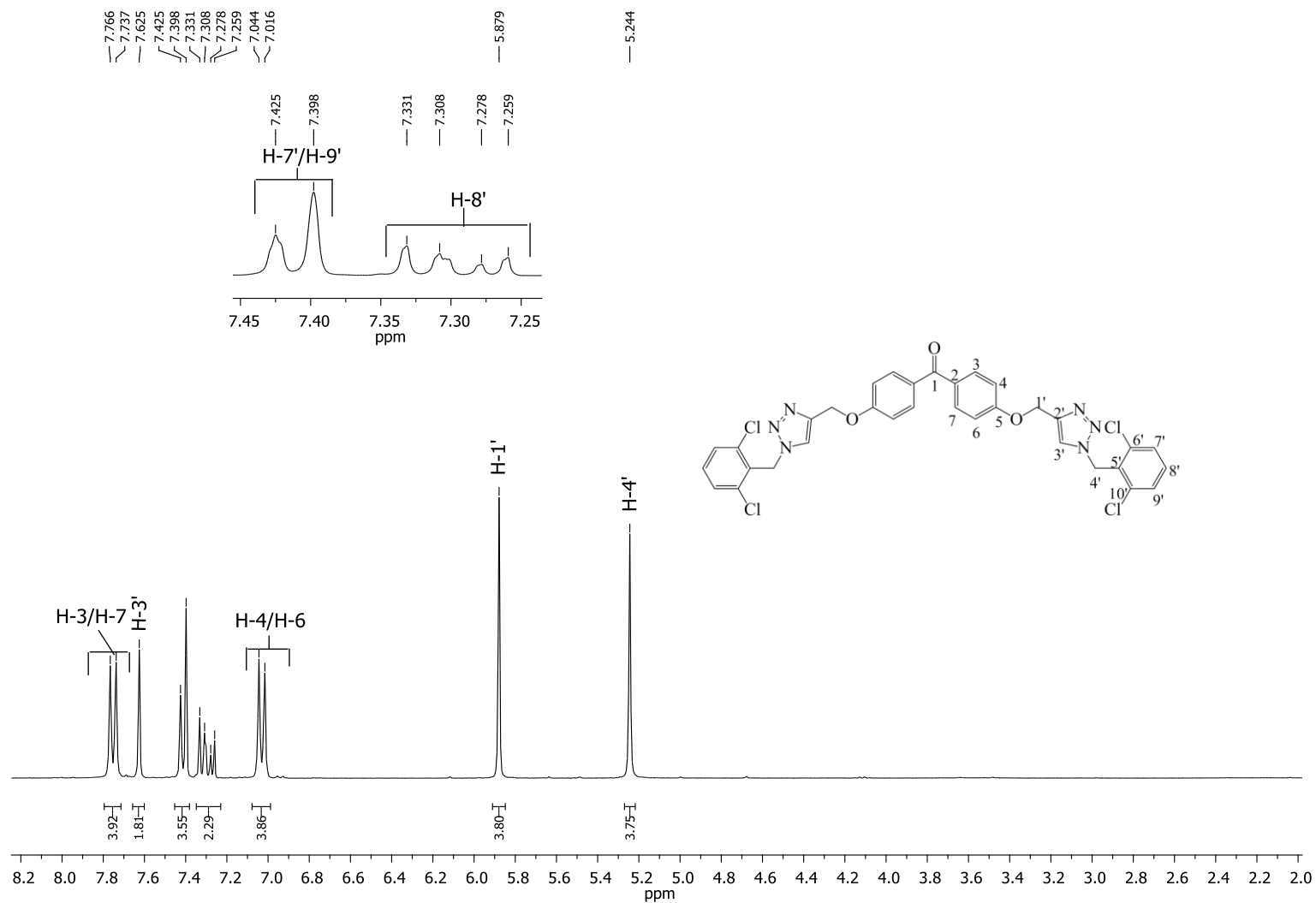


Figura A43: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **15**.

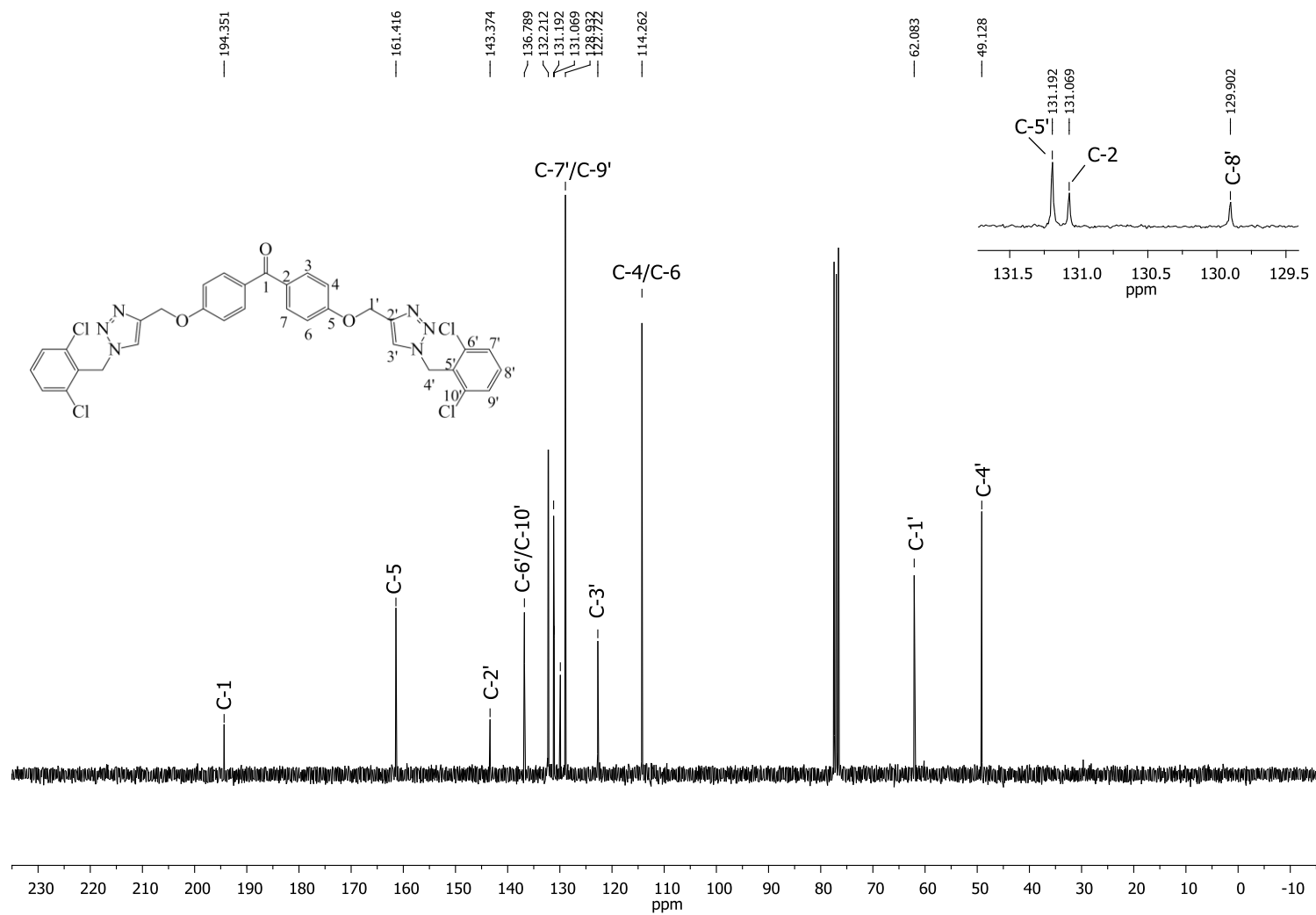


Figura A44: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **15**.

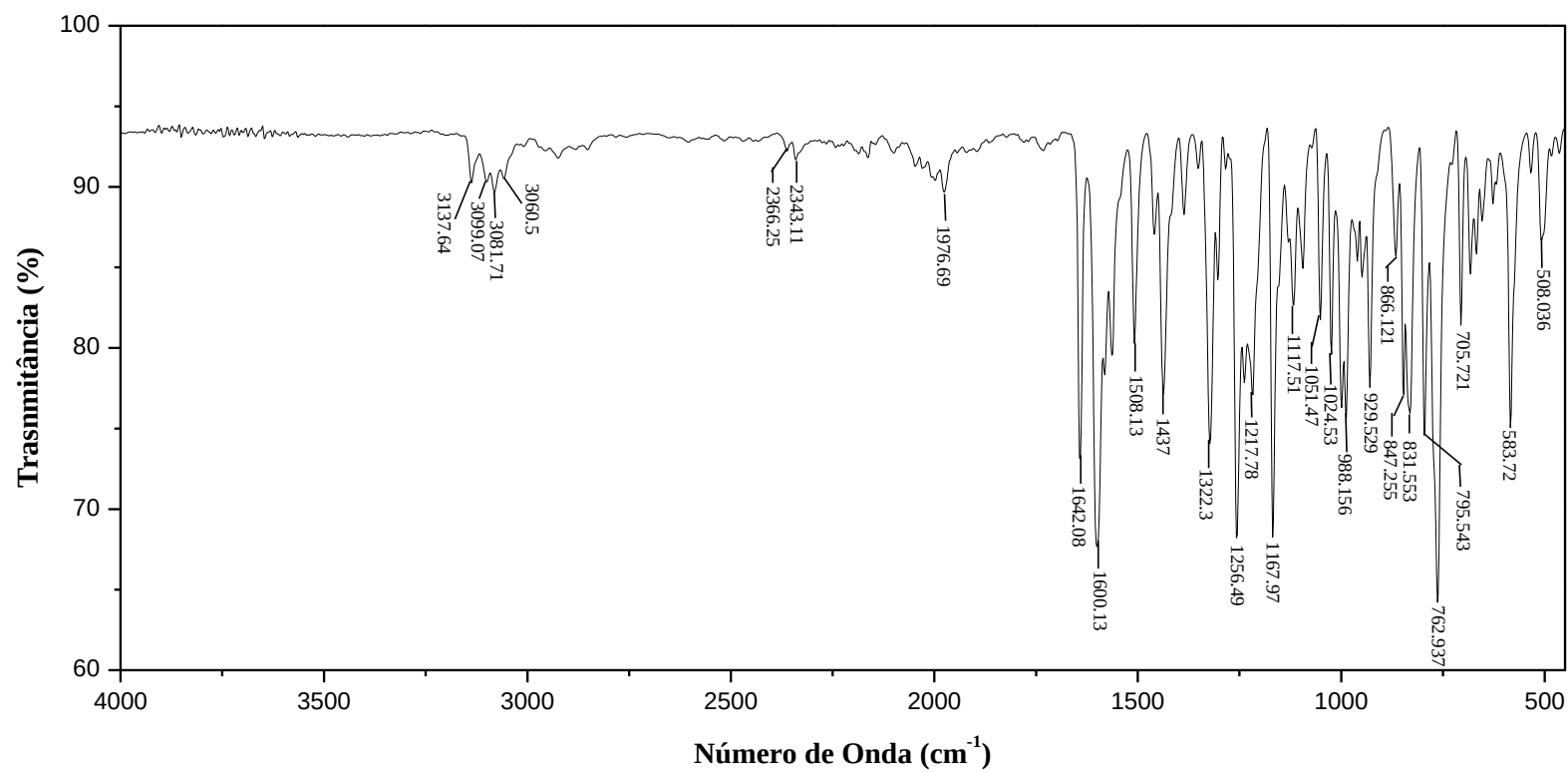


Figura A45: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **15**.

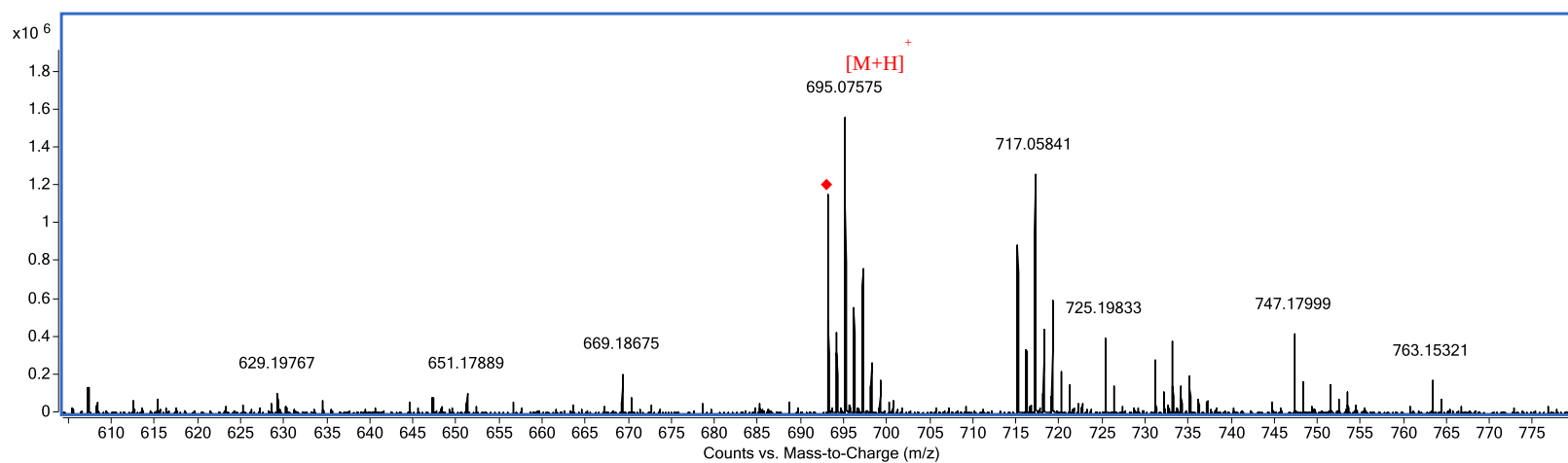


Figura A46: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **15**.

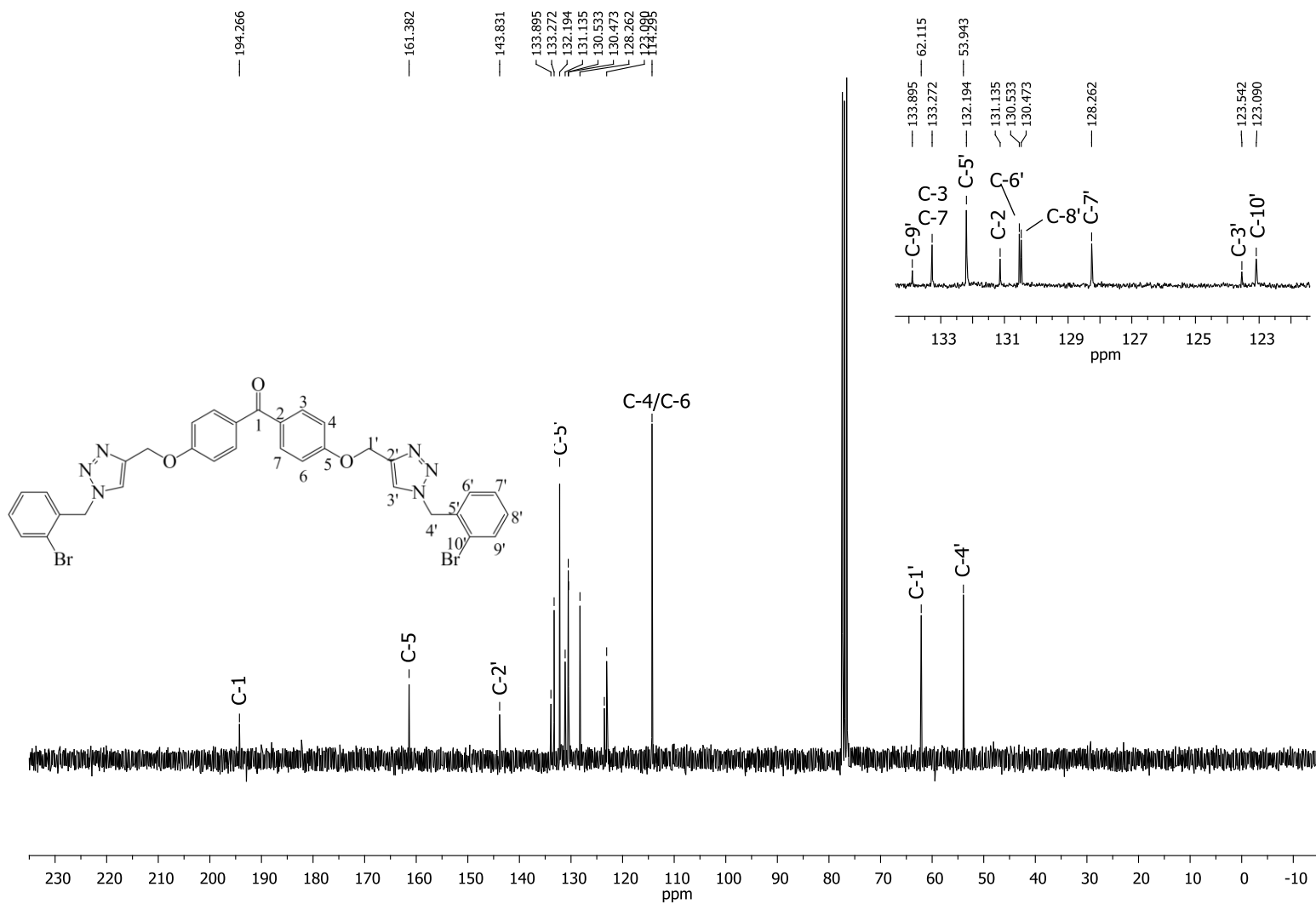


Figura A47: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **16**.

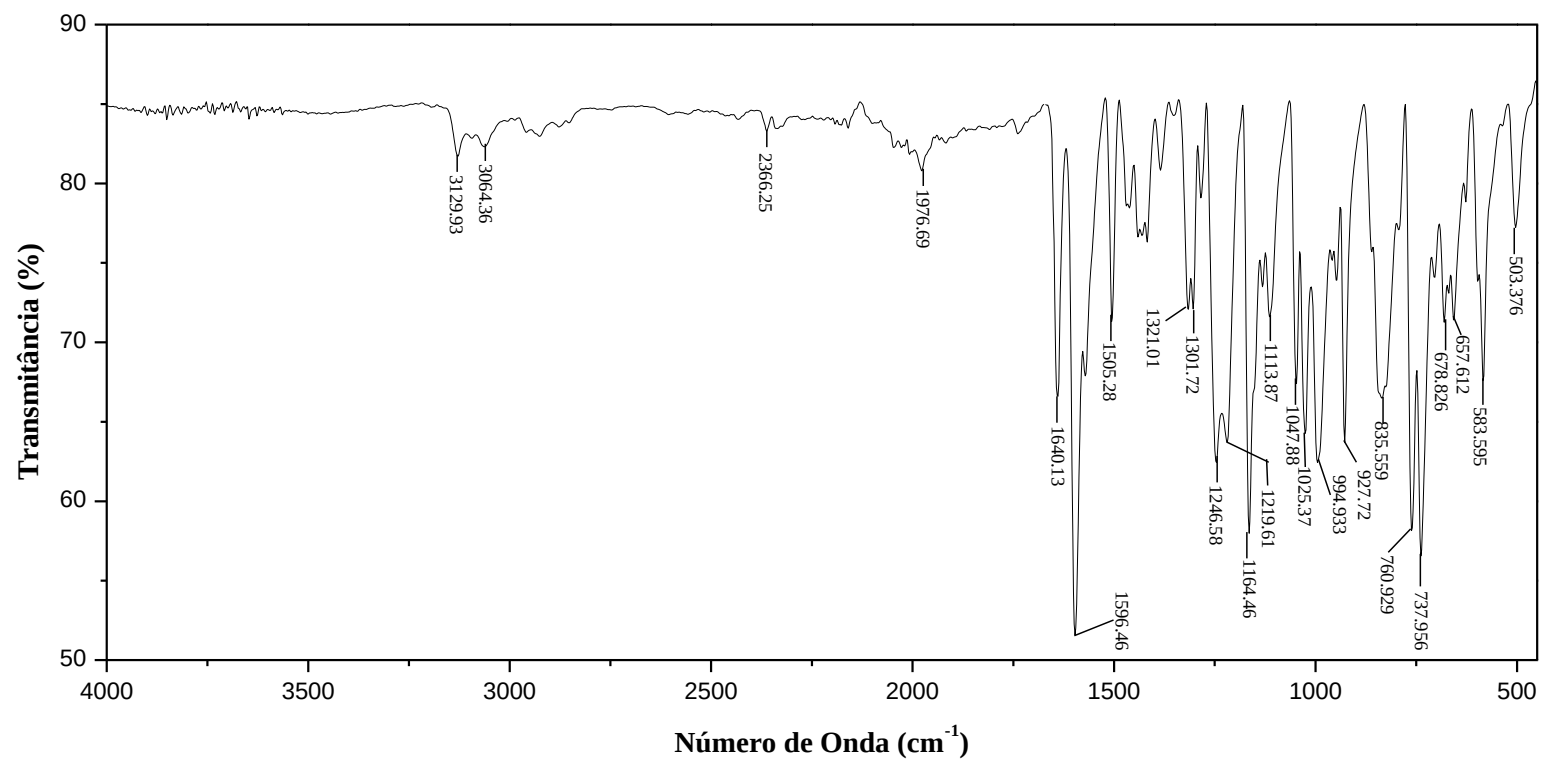


Figura A48: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **16**.

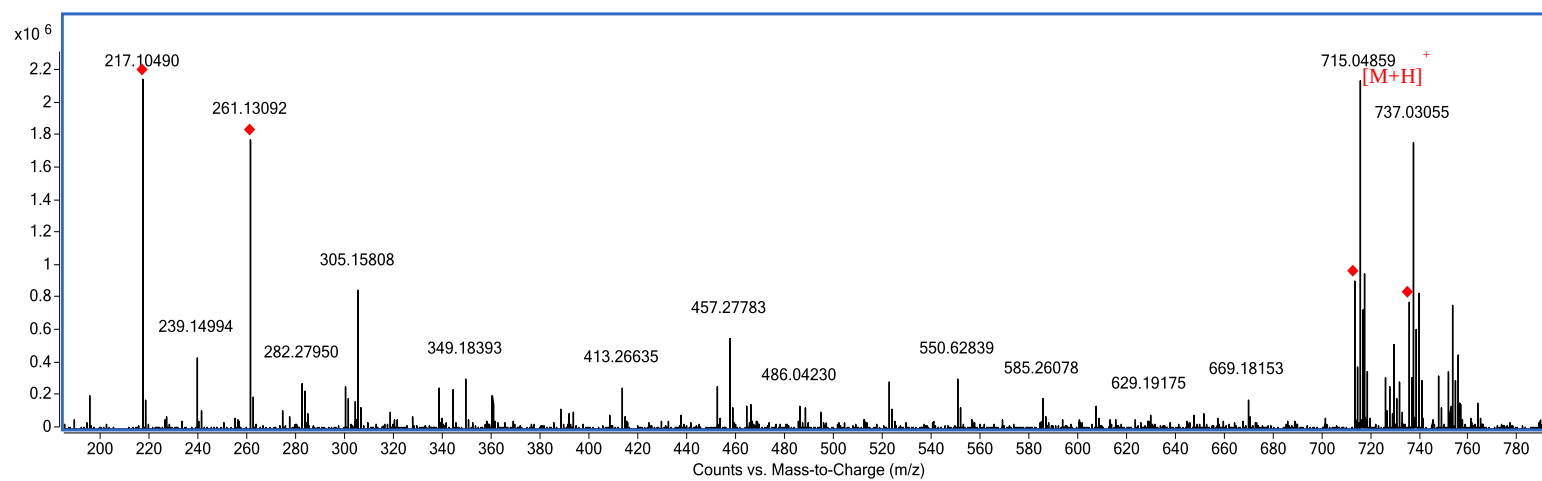


Figura A49: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **16**.

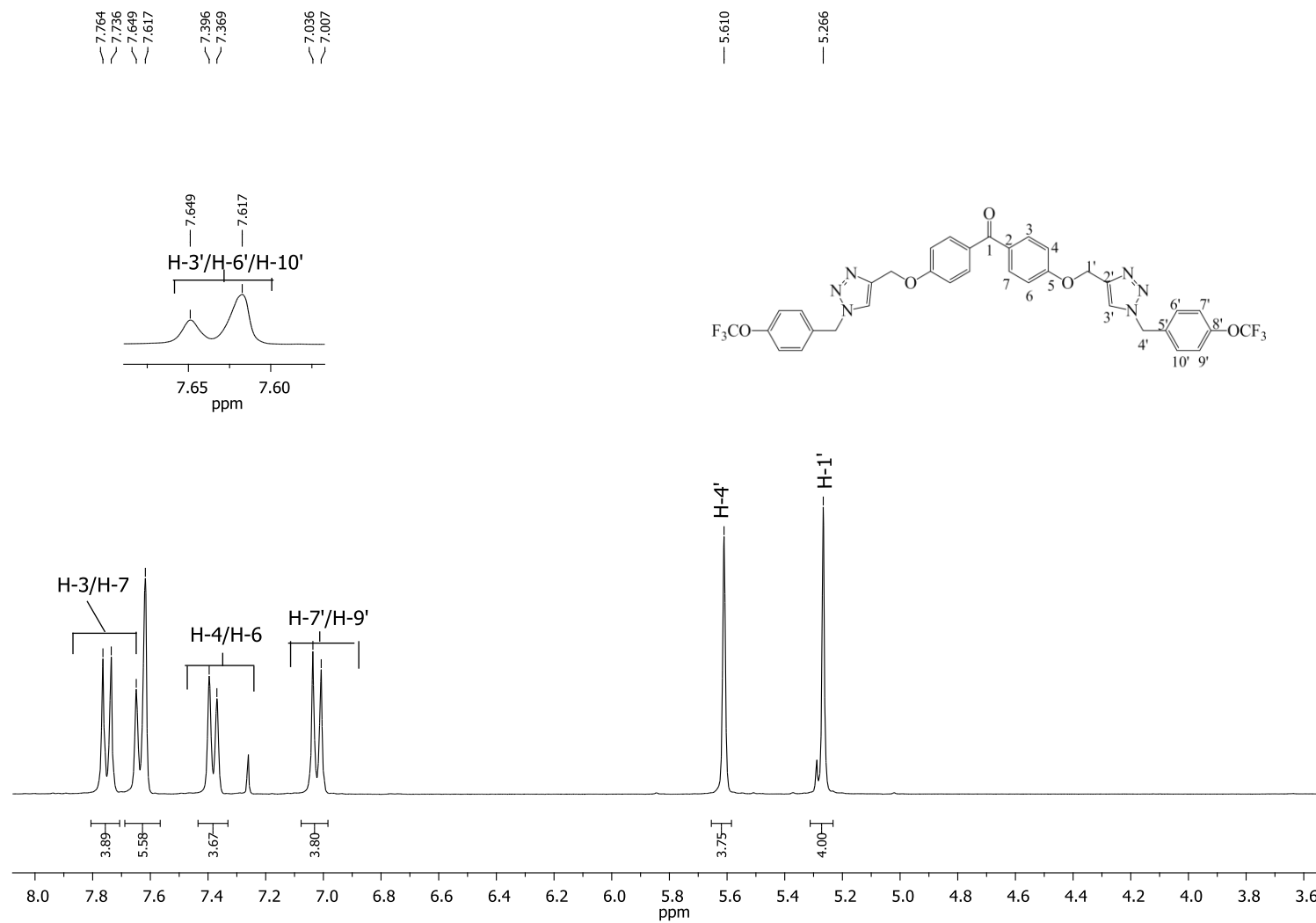


Figura A50: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **17**.

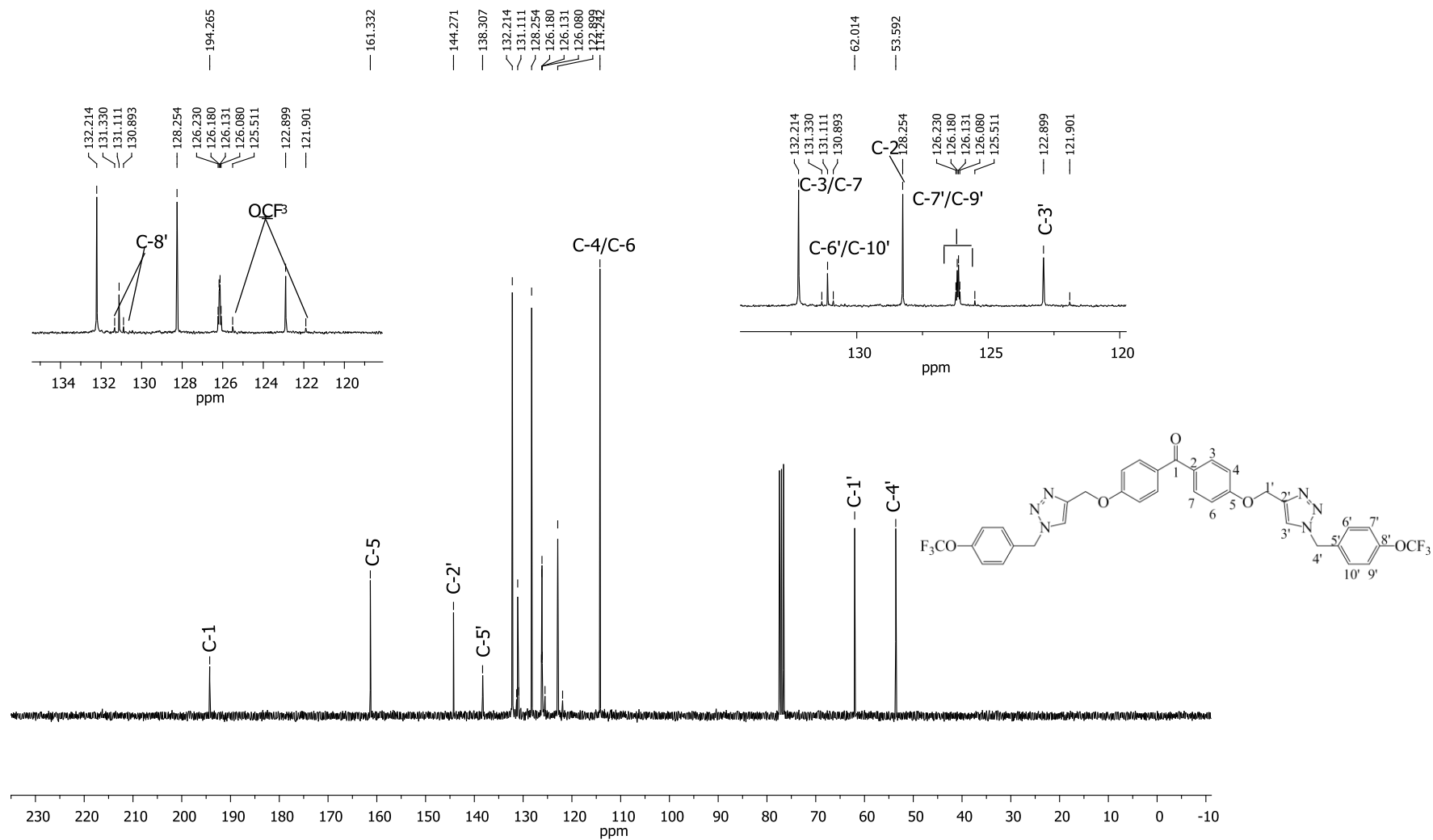


Figura A51: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **17**.

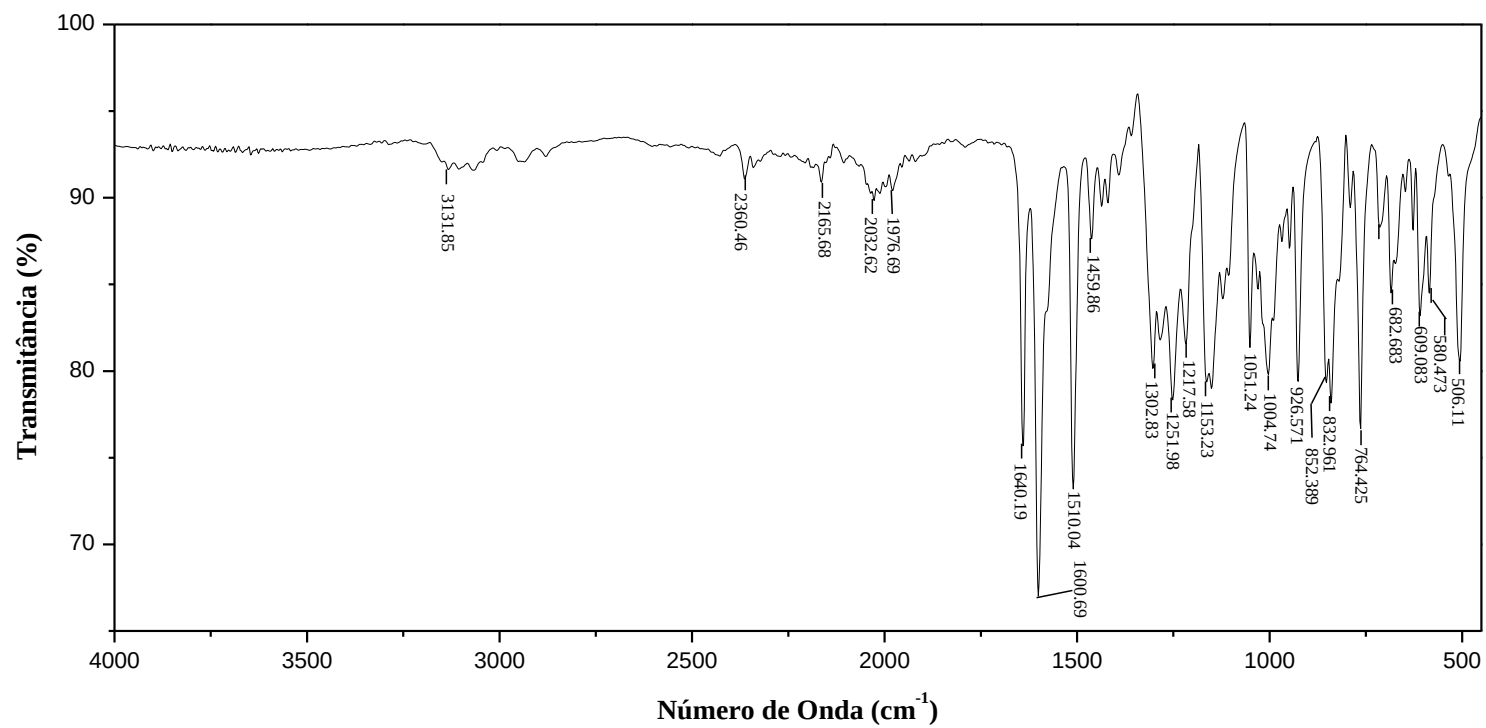


Figura A52: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **17**.

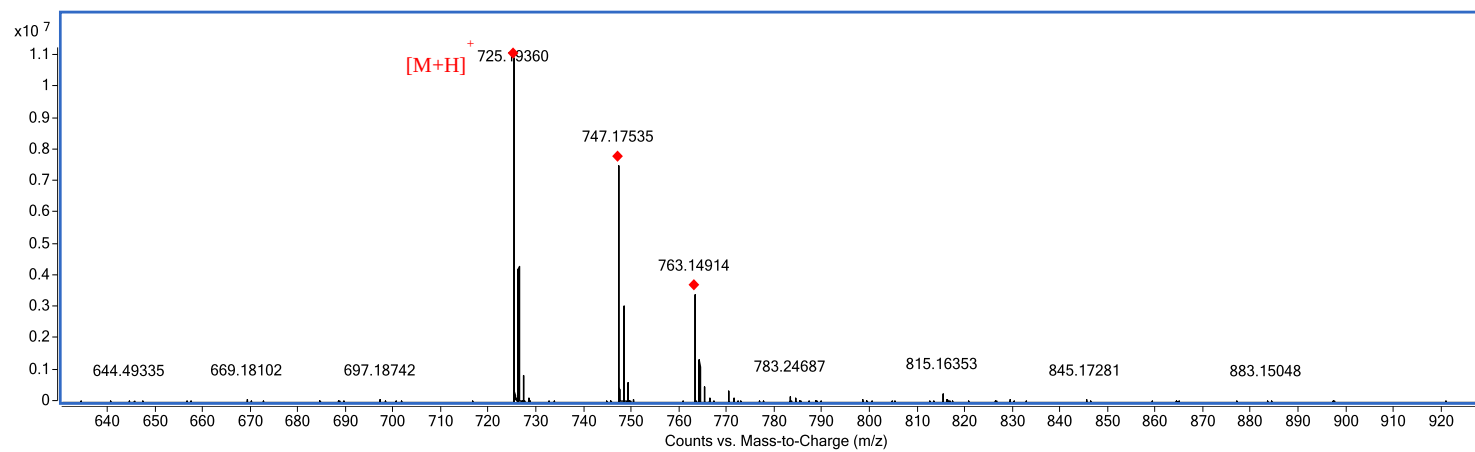


Figura A53: Espectro de ESI(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **17**.

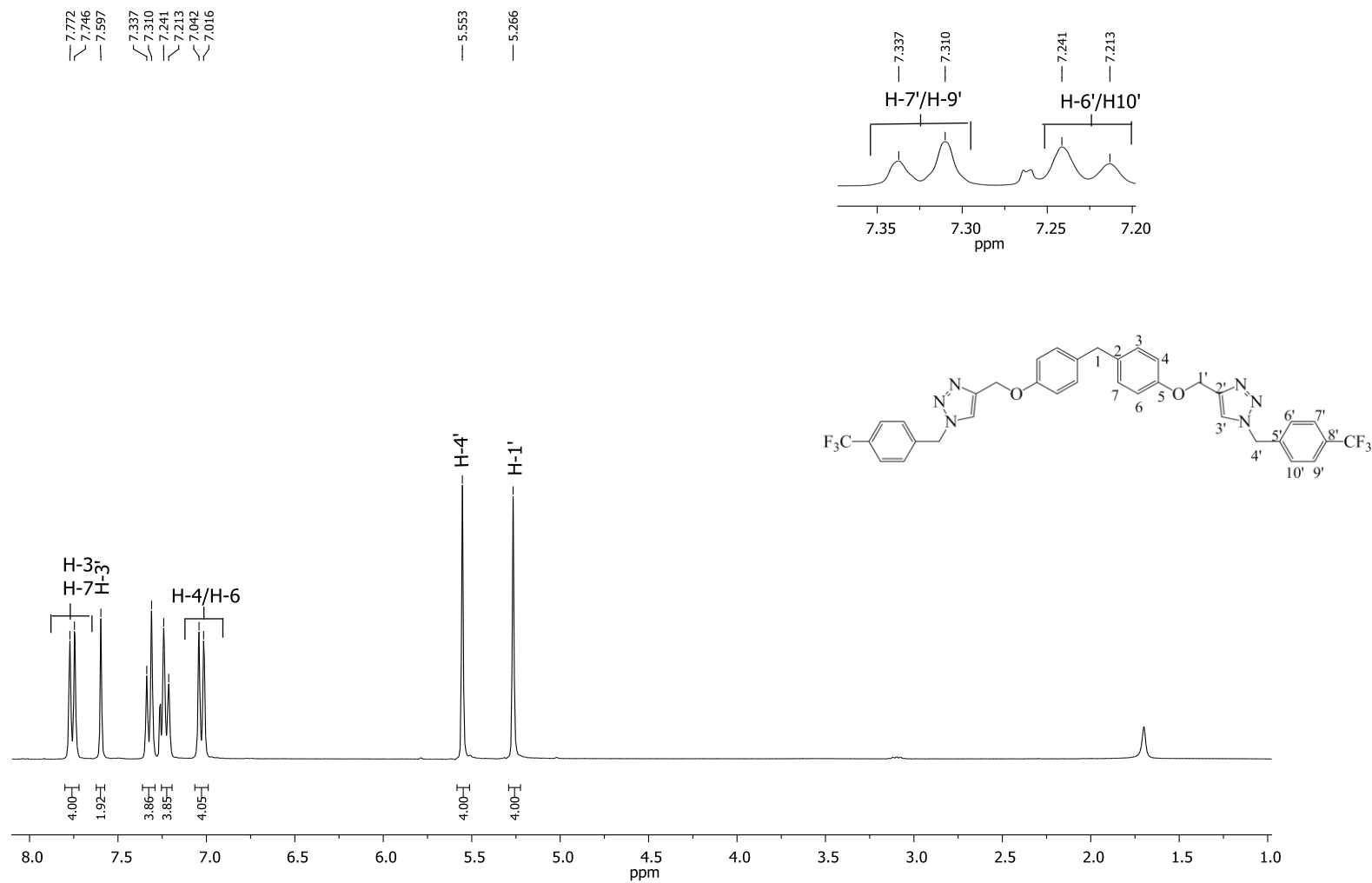


Figura A54: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **18**.

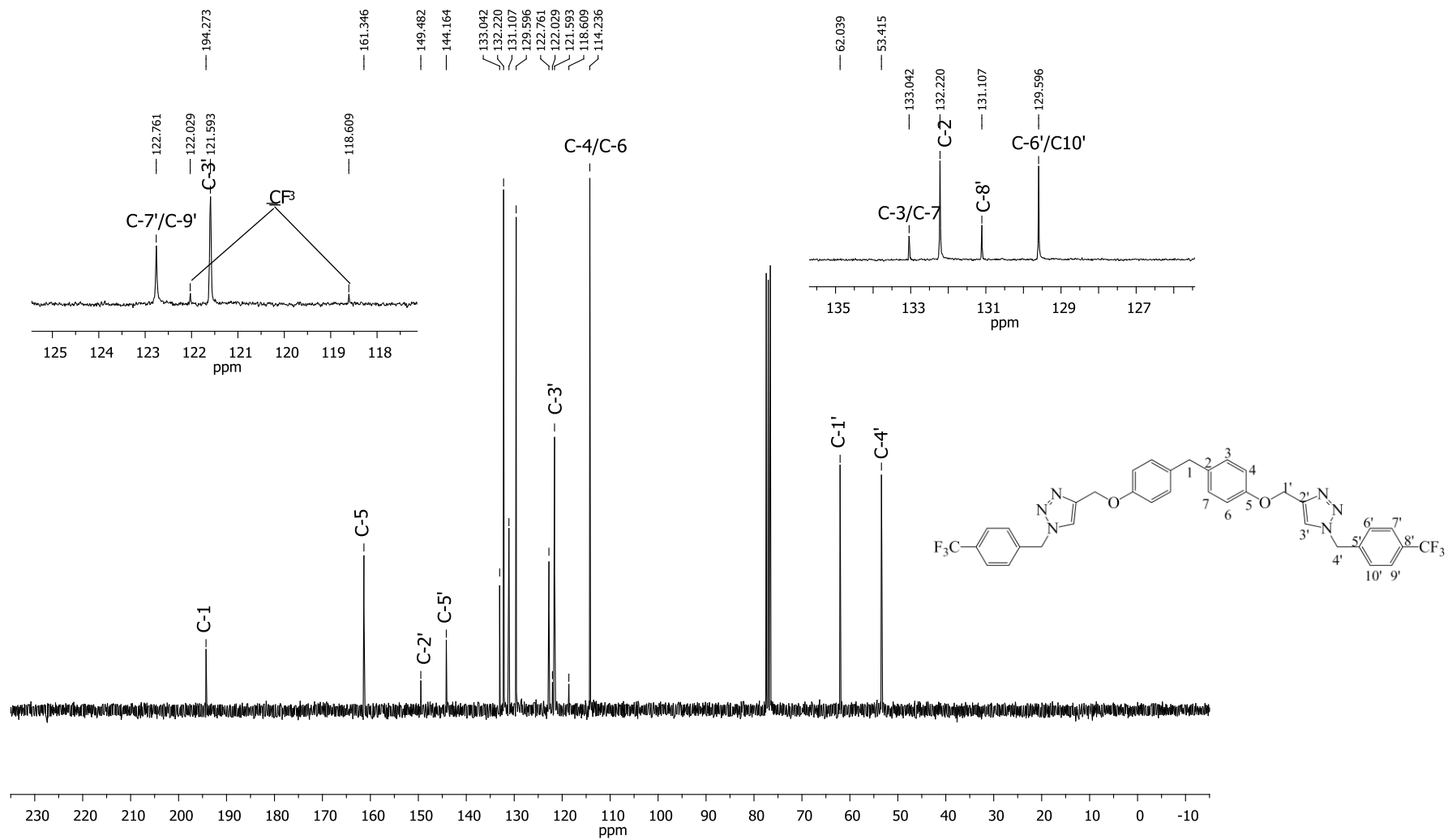


Figura A55: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **18**.

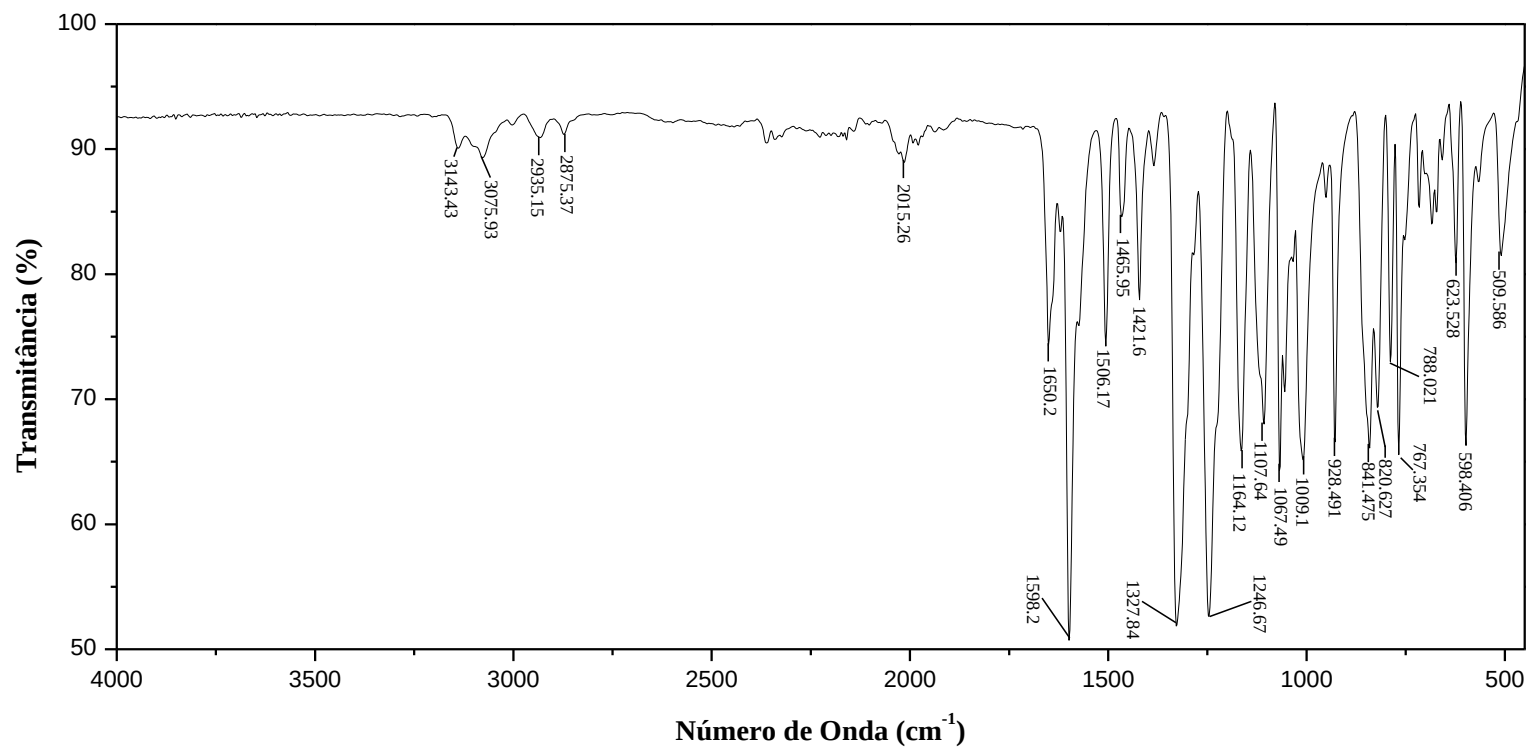


Figura A56: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **18**.

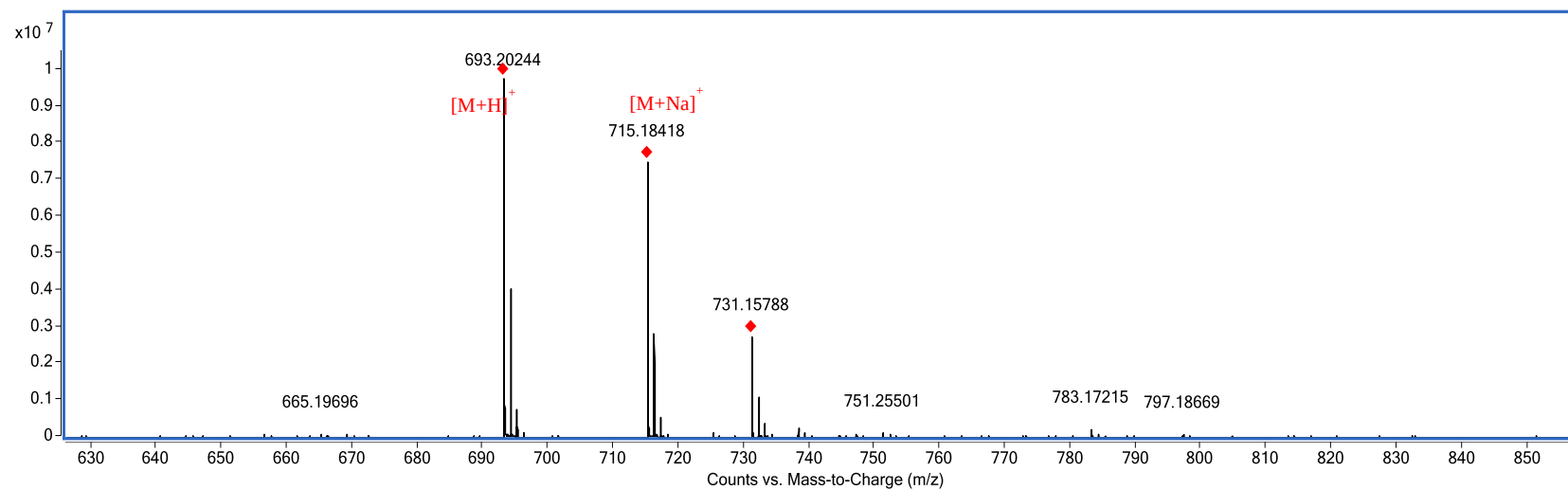


Figura A57: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **18**.

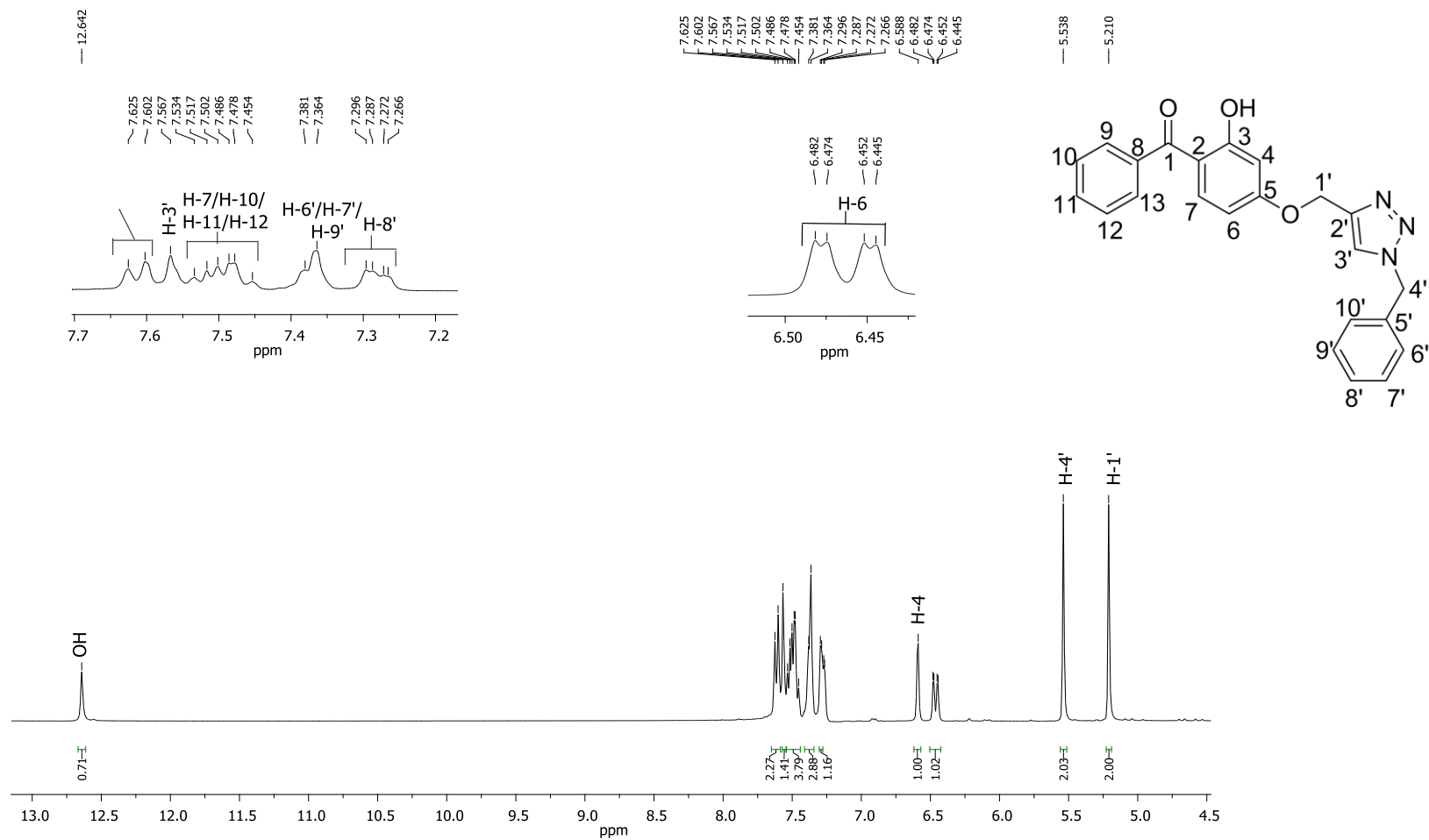


Figura A58: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **19**.

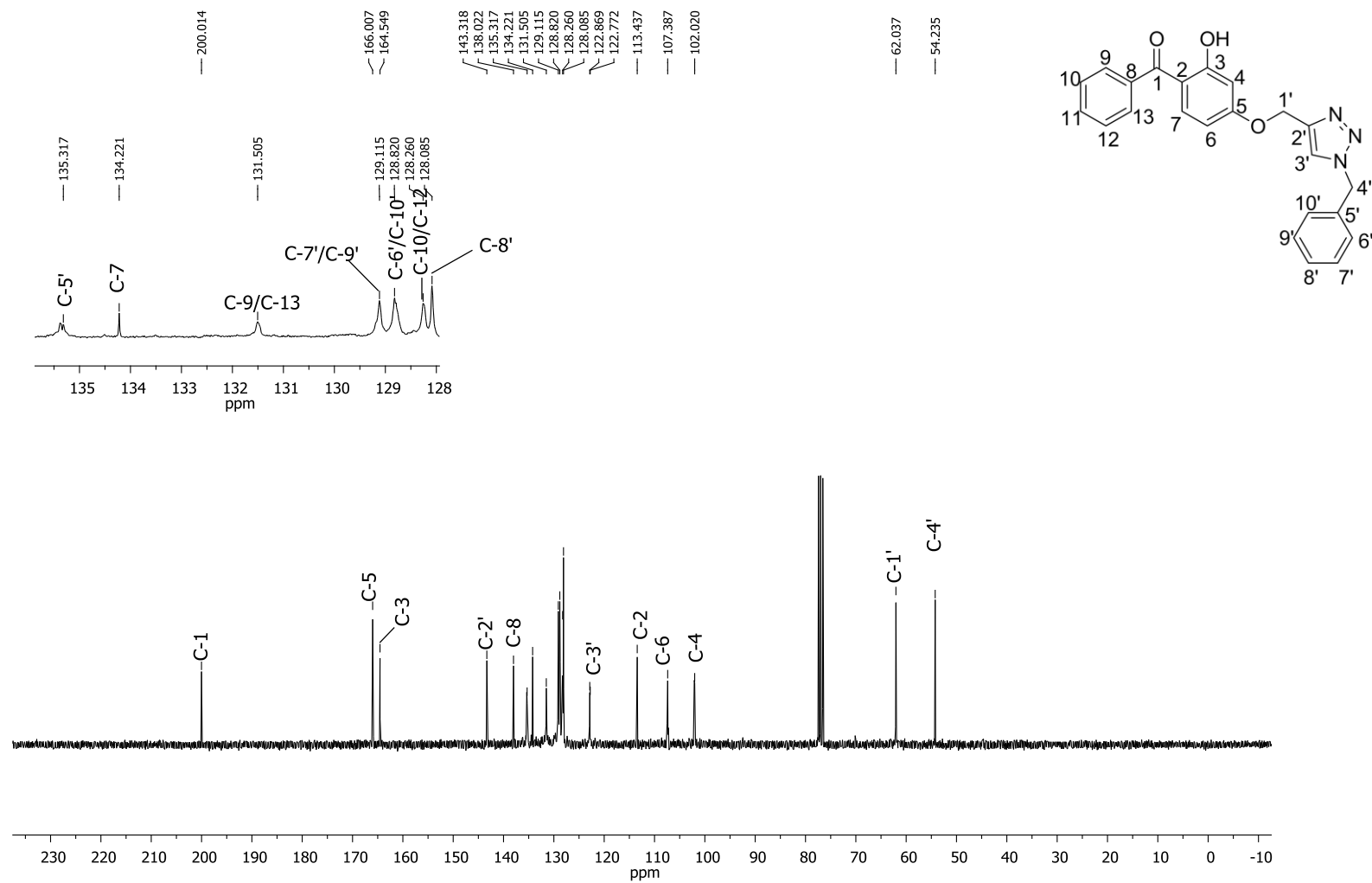


Figura A59: Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto **19**.

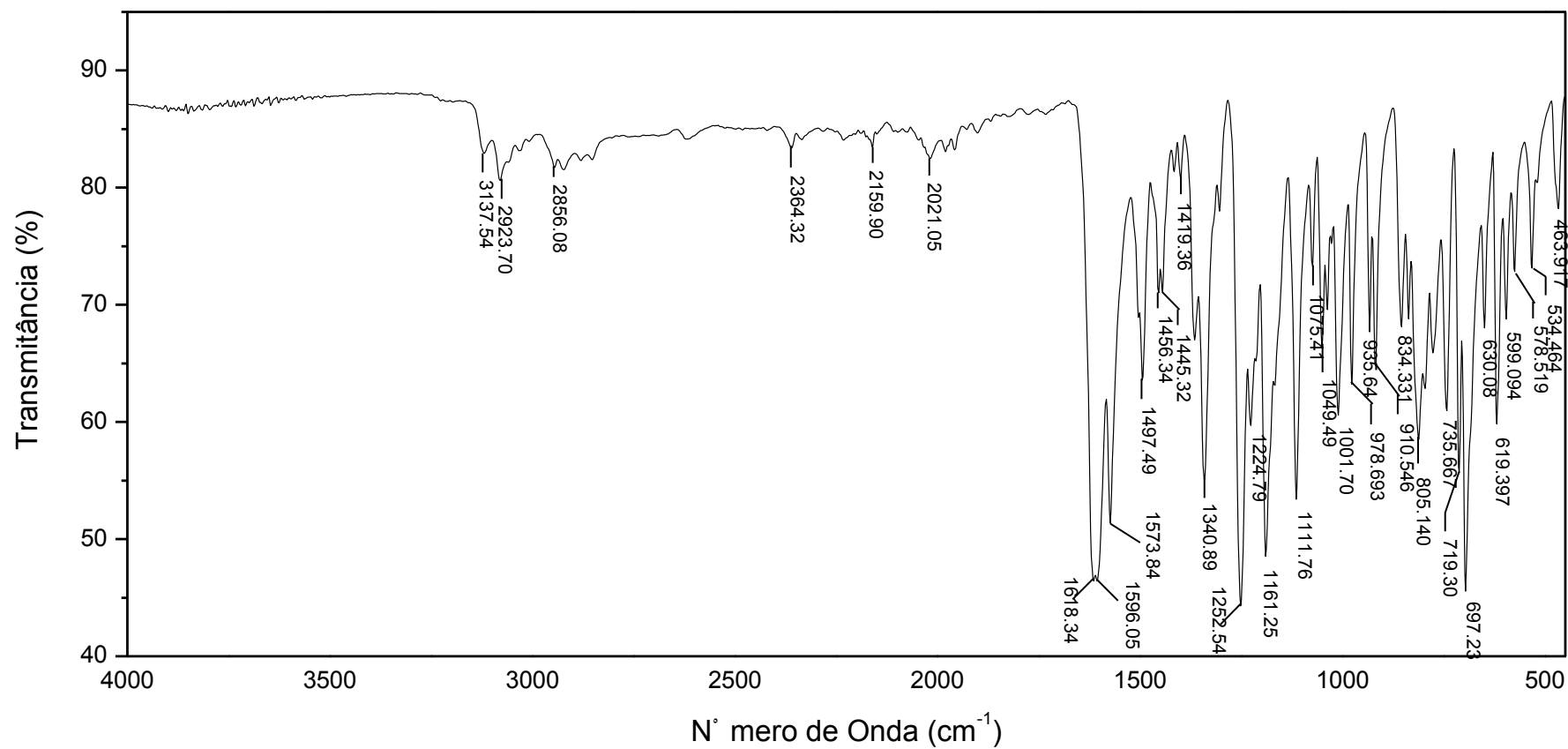


Figura A60: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **19**.

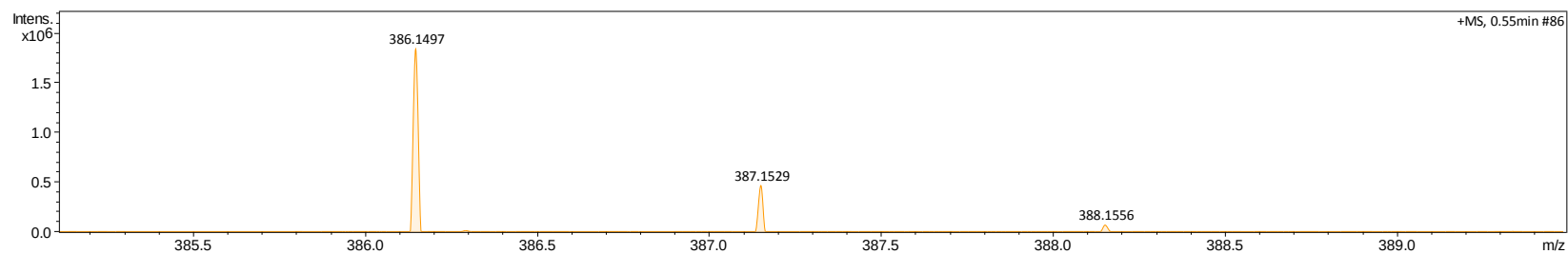


Figura A61: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **19**.

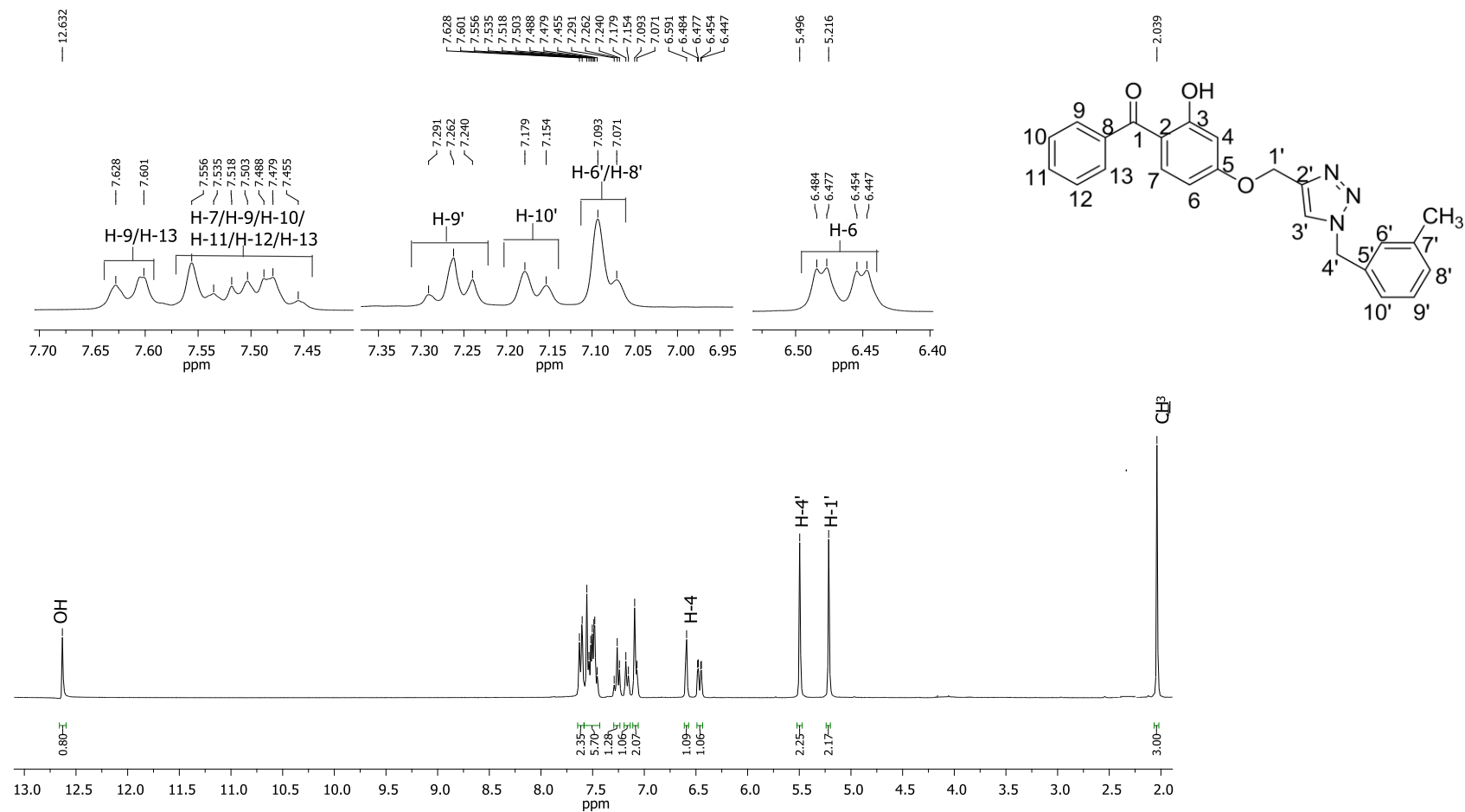


Figura A62: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **20**.

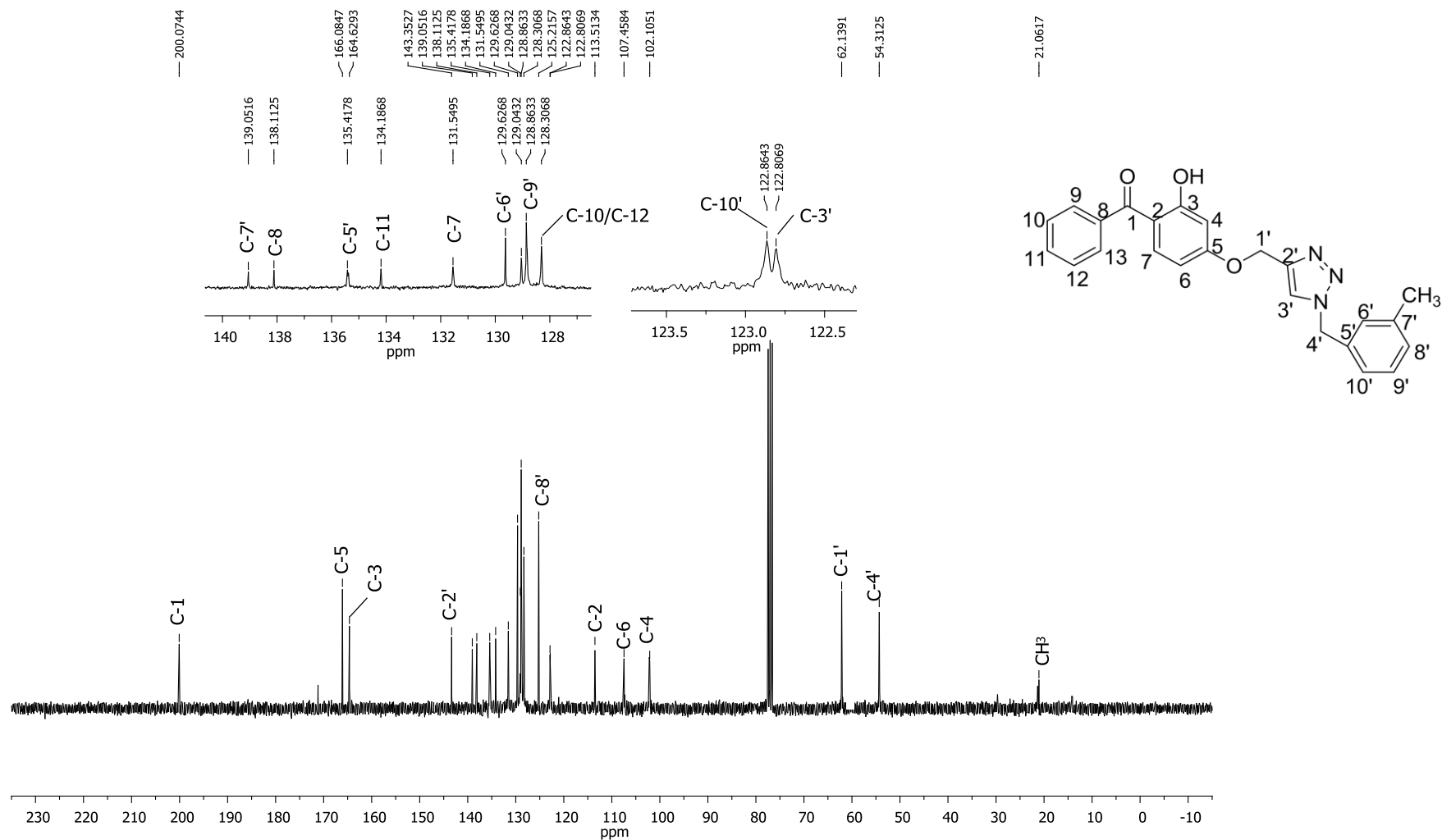


Figura A63: Espectro de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) do composto **20**.

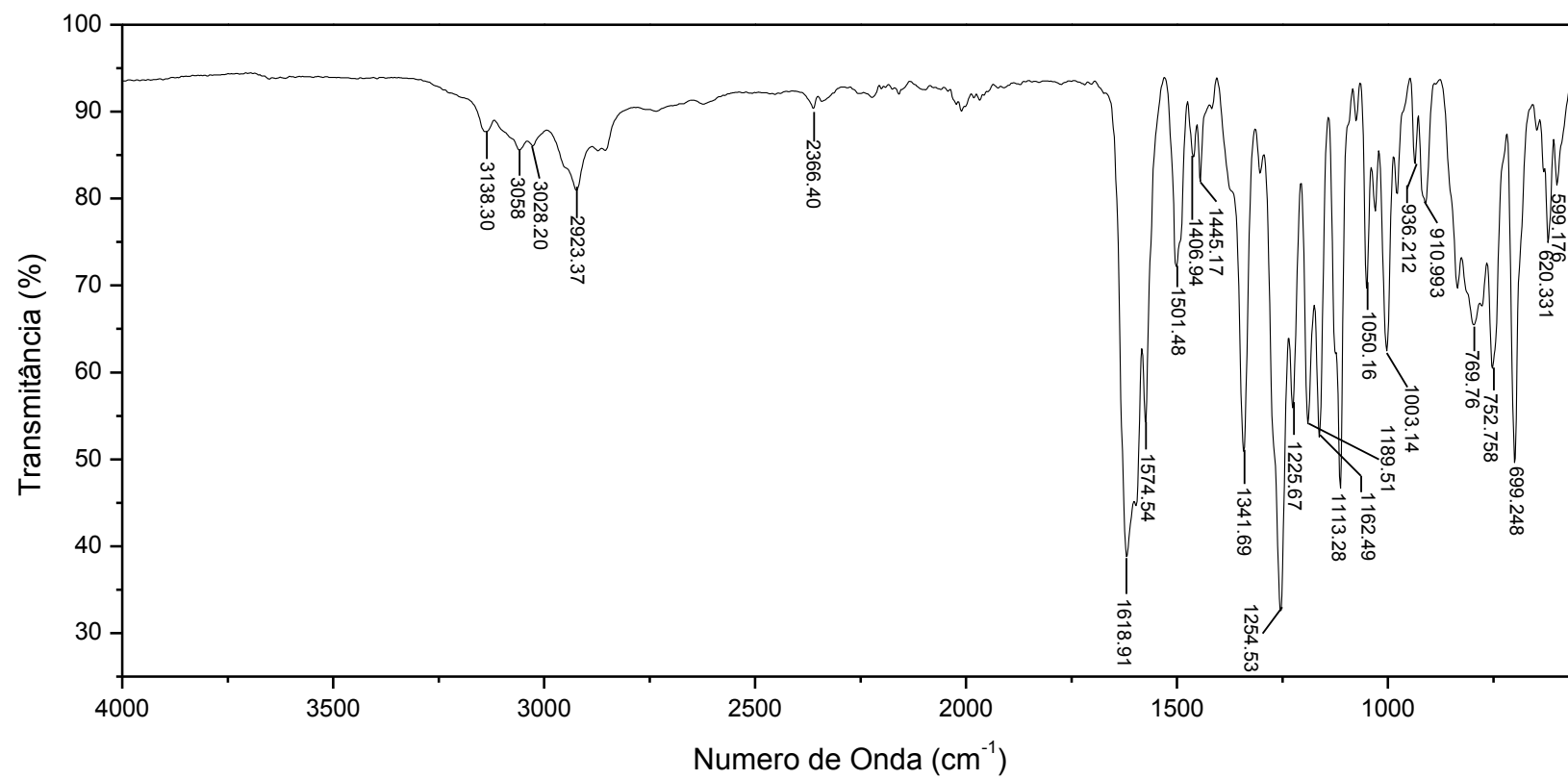


Figura A64: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **20**.

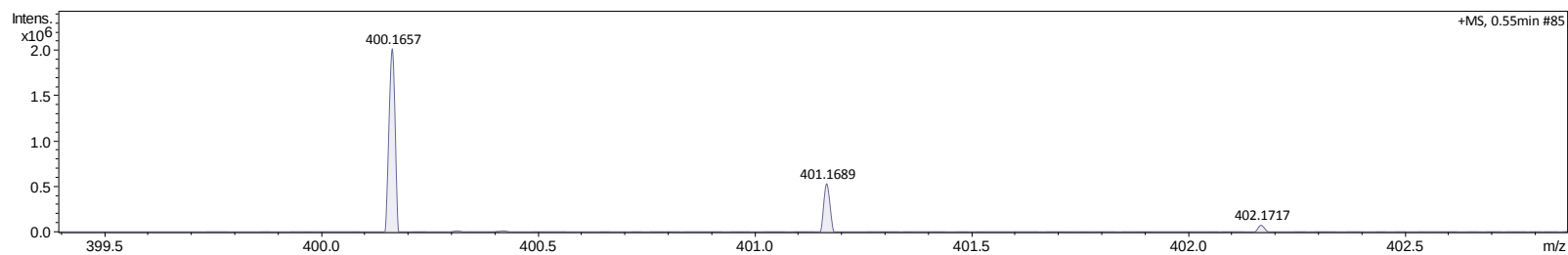


Figura A65: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **20**.

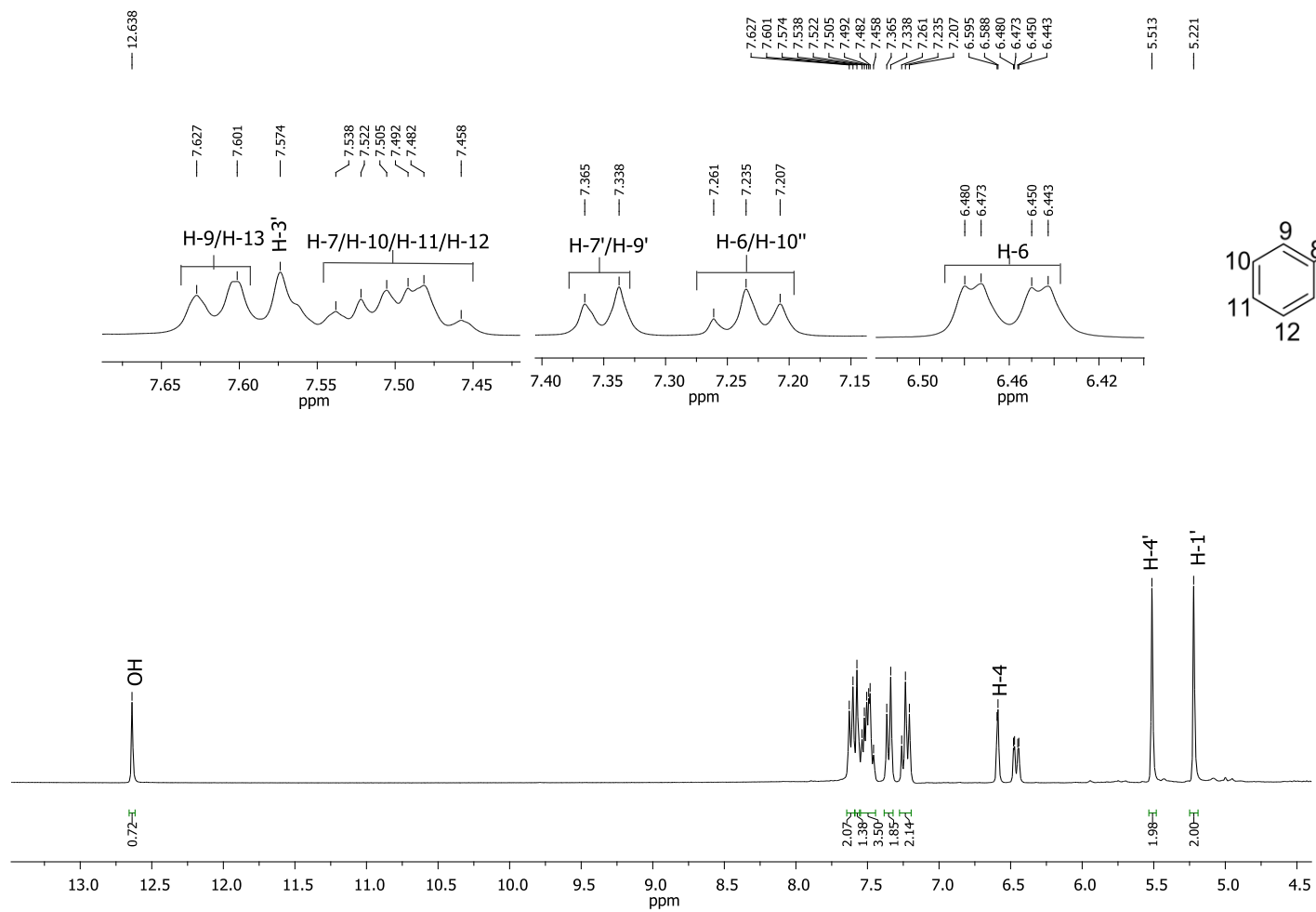


Figura A66: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **21**.

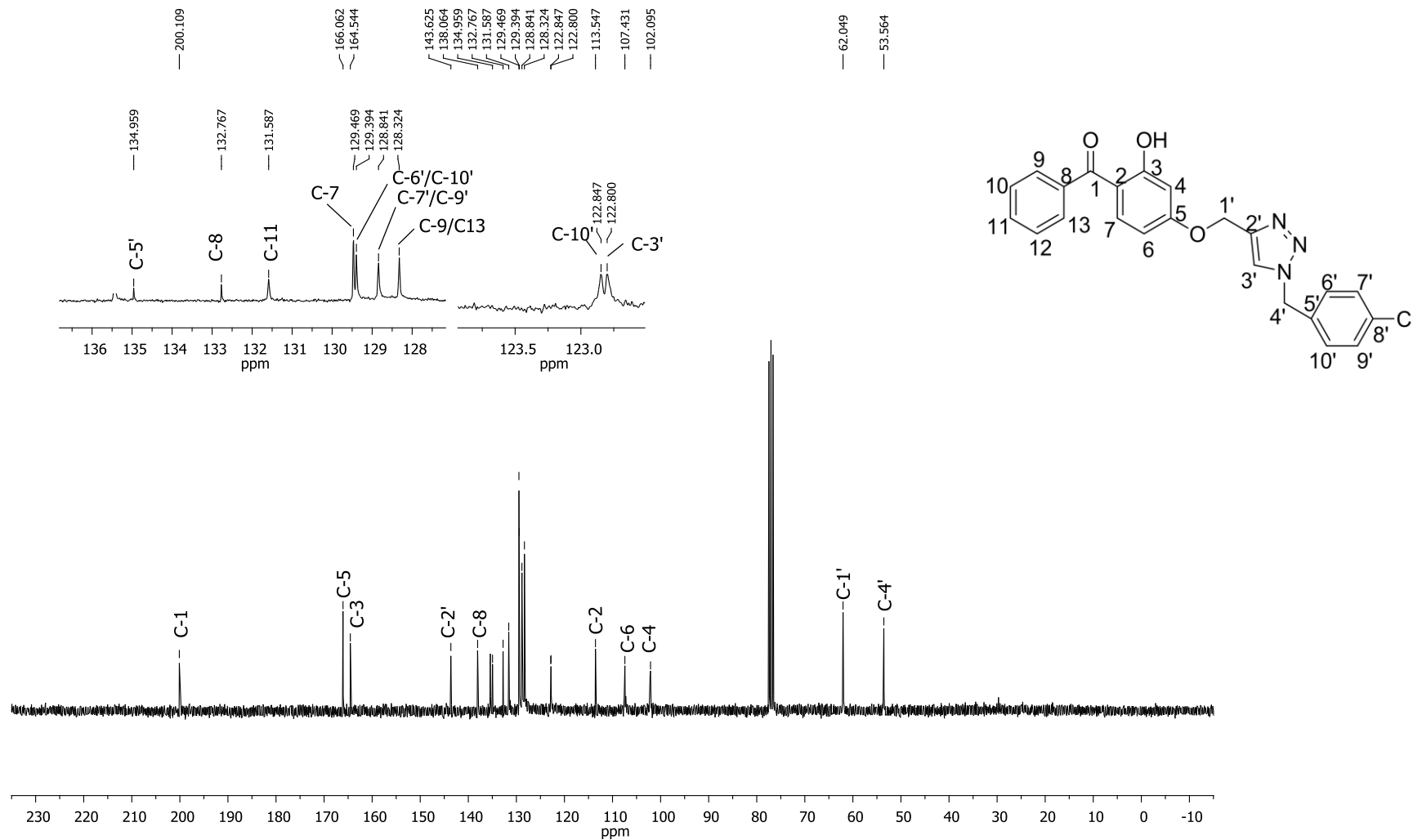


Figura A67: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **21**.

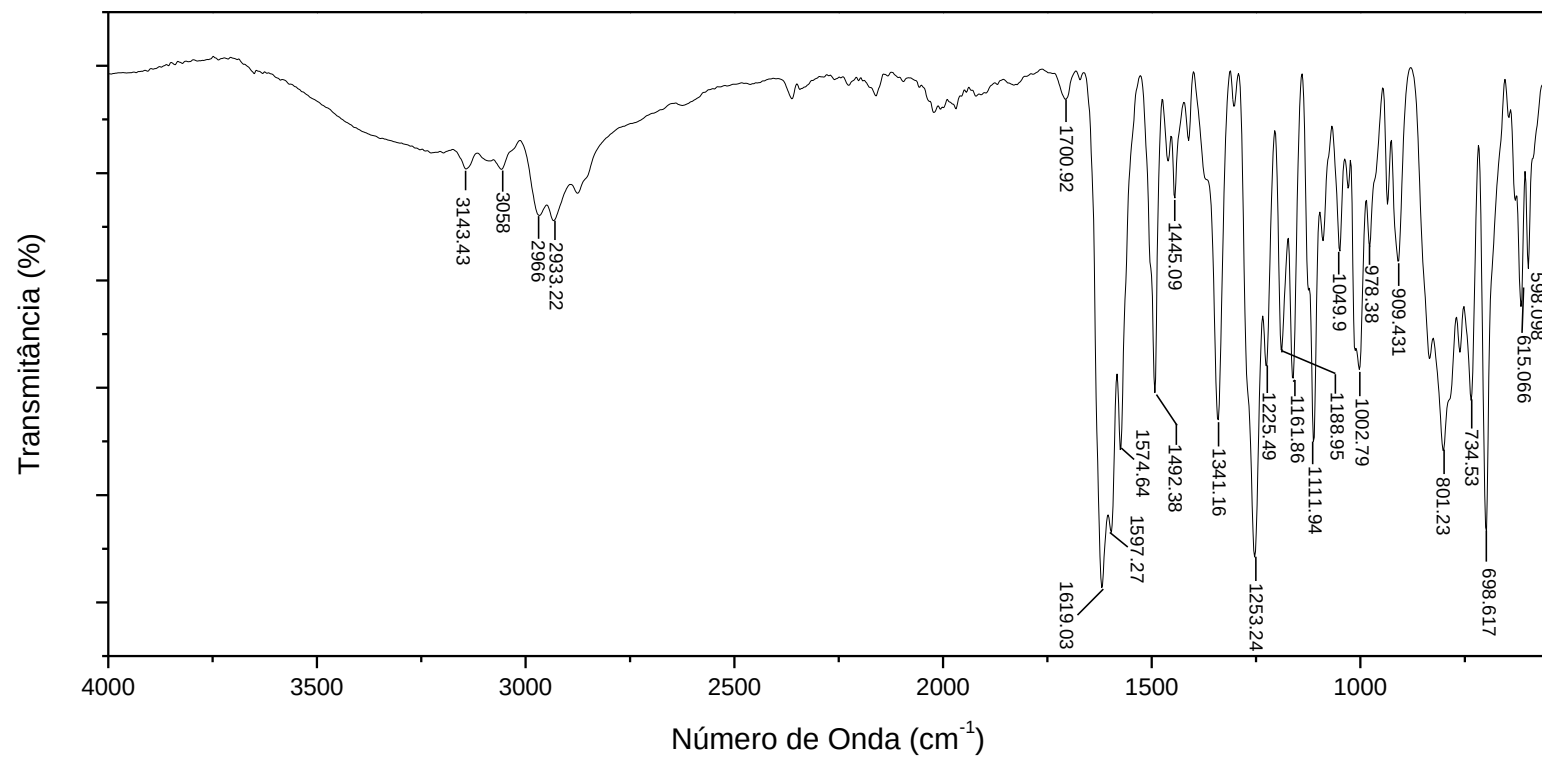


Figura A68: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **21**.

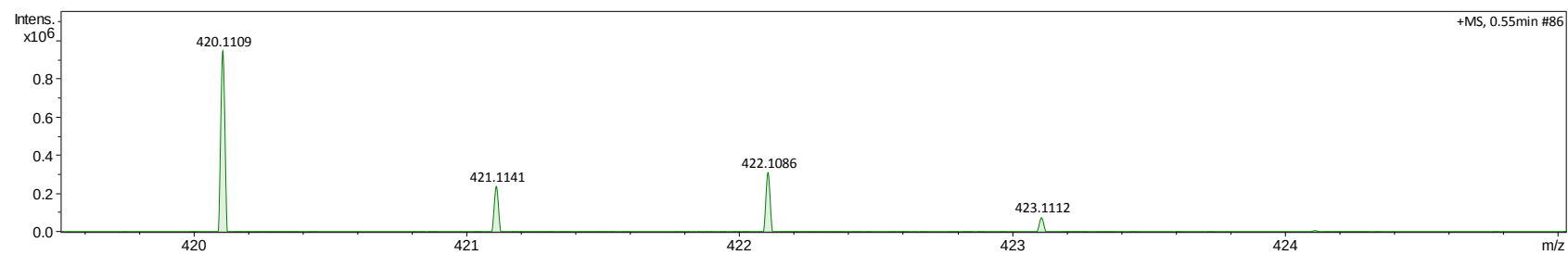


Figura A69: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **21**.

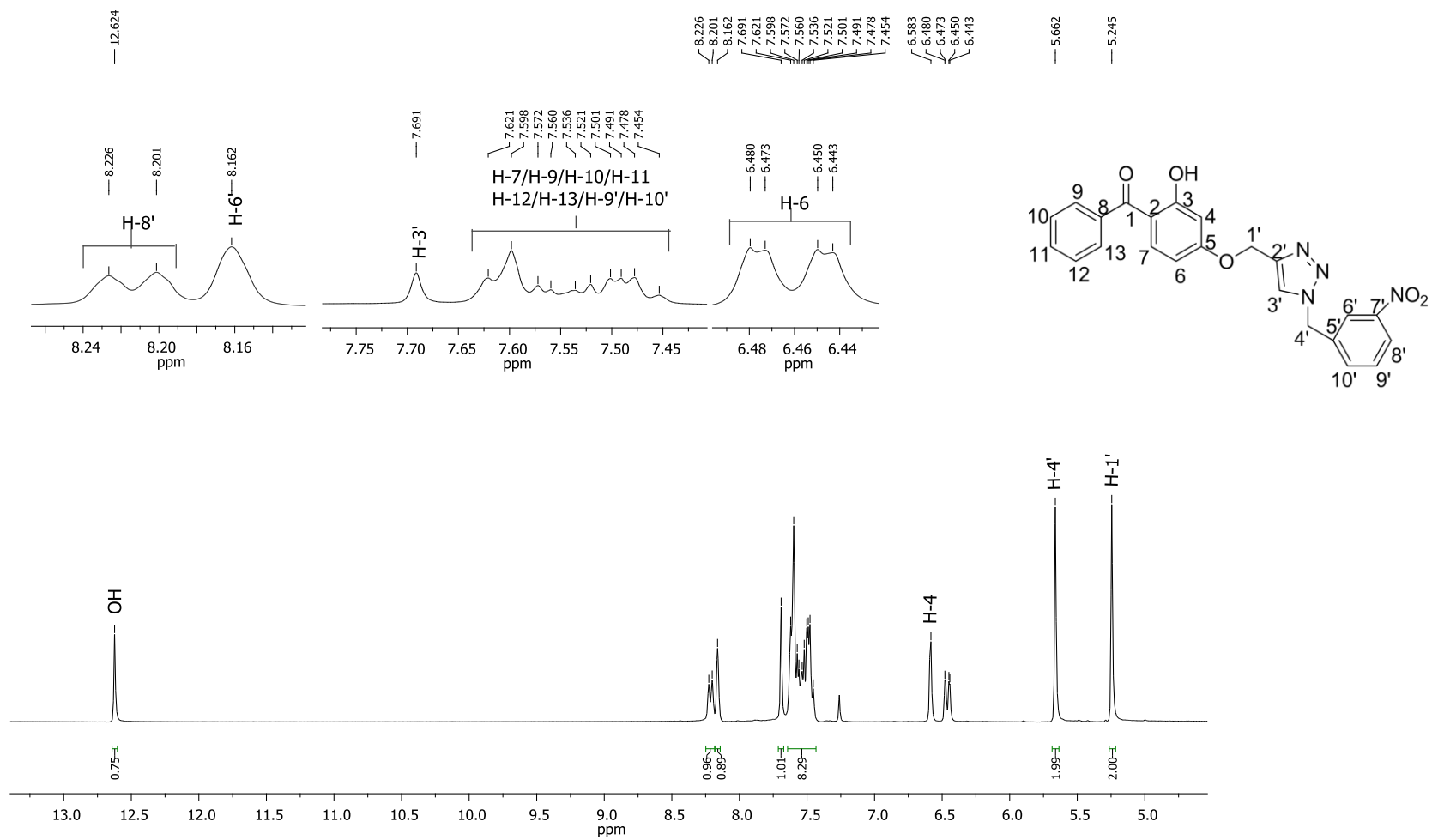


Figura A70: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **22**.

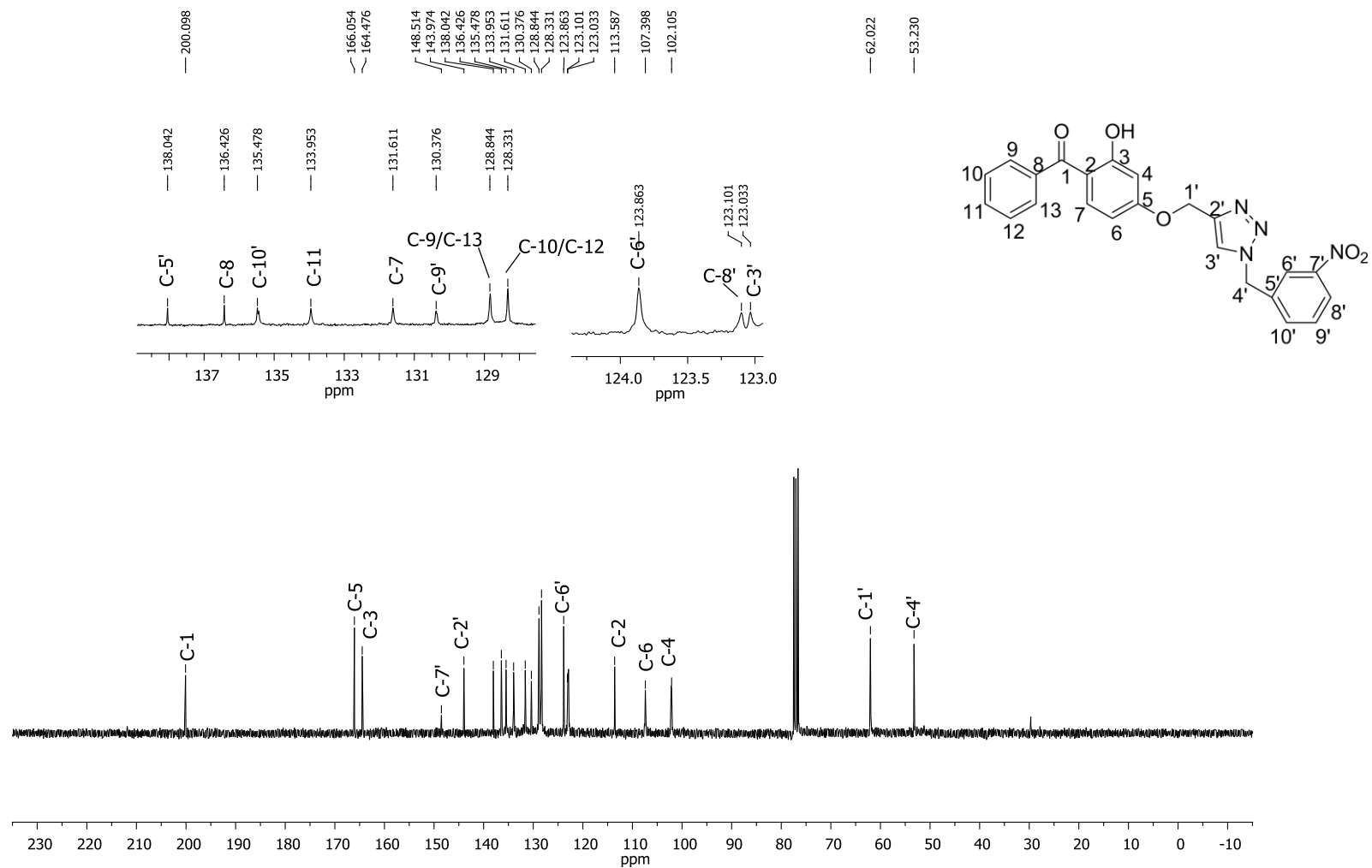


Figura A71: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **22**.

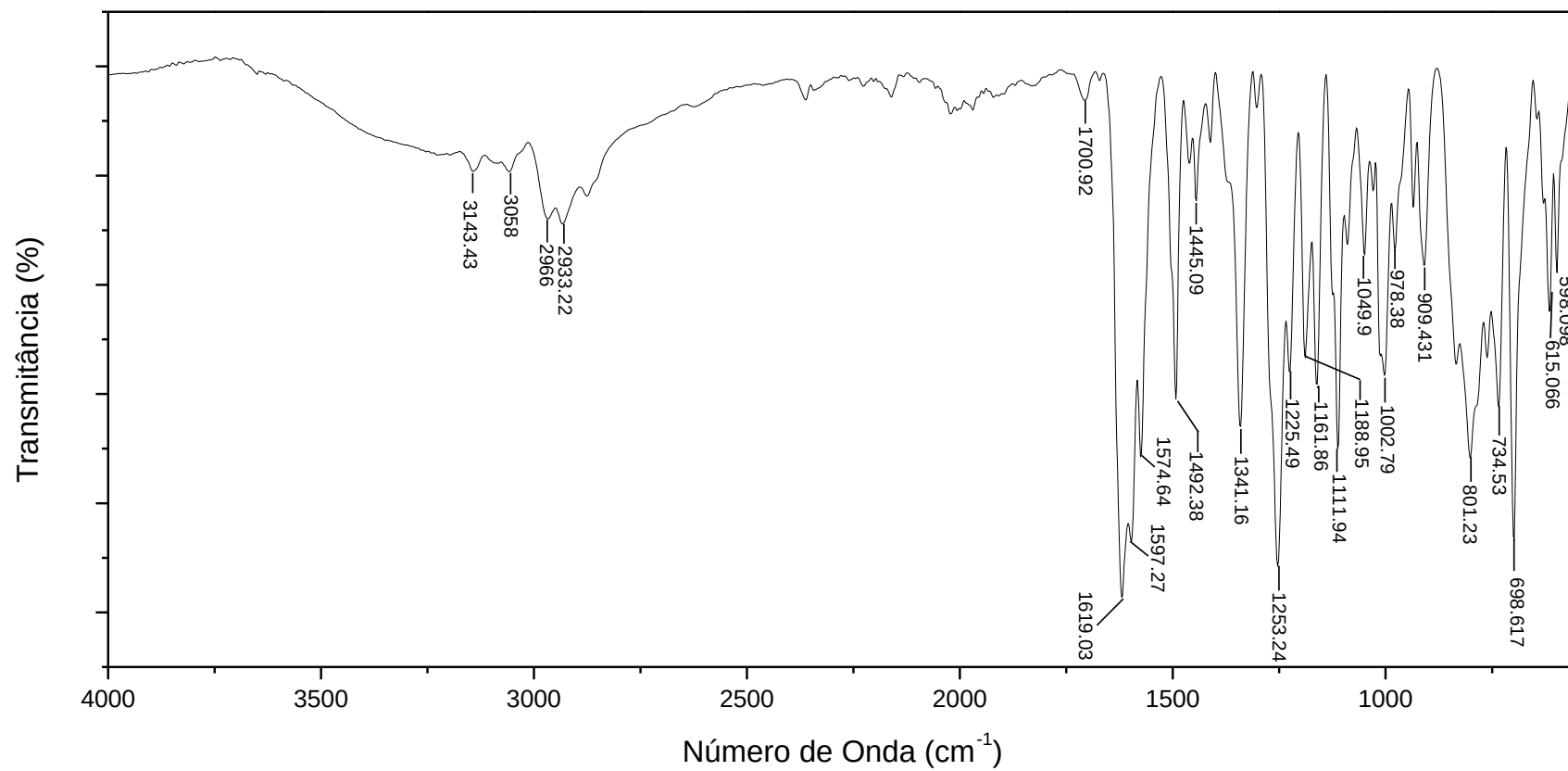


Figura A72: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **22**.

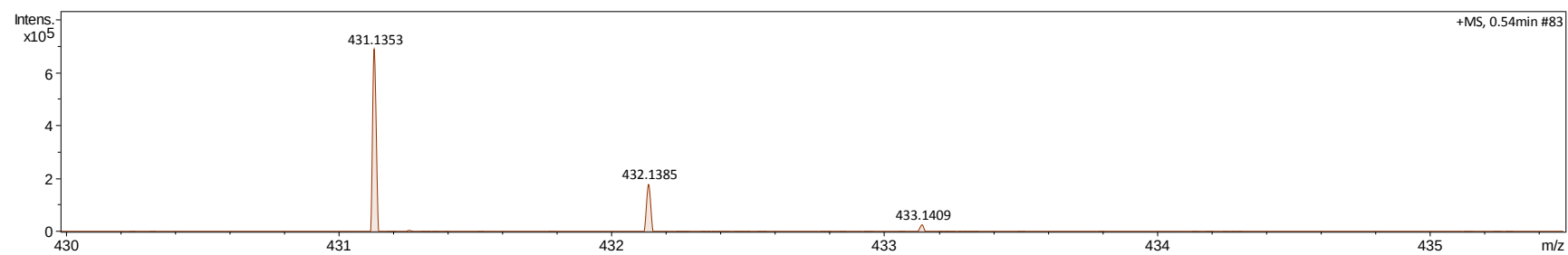


Figura A73: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **22**.

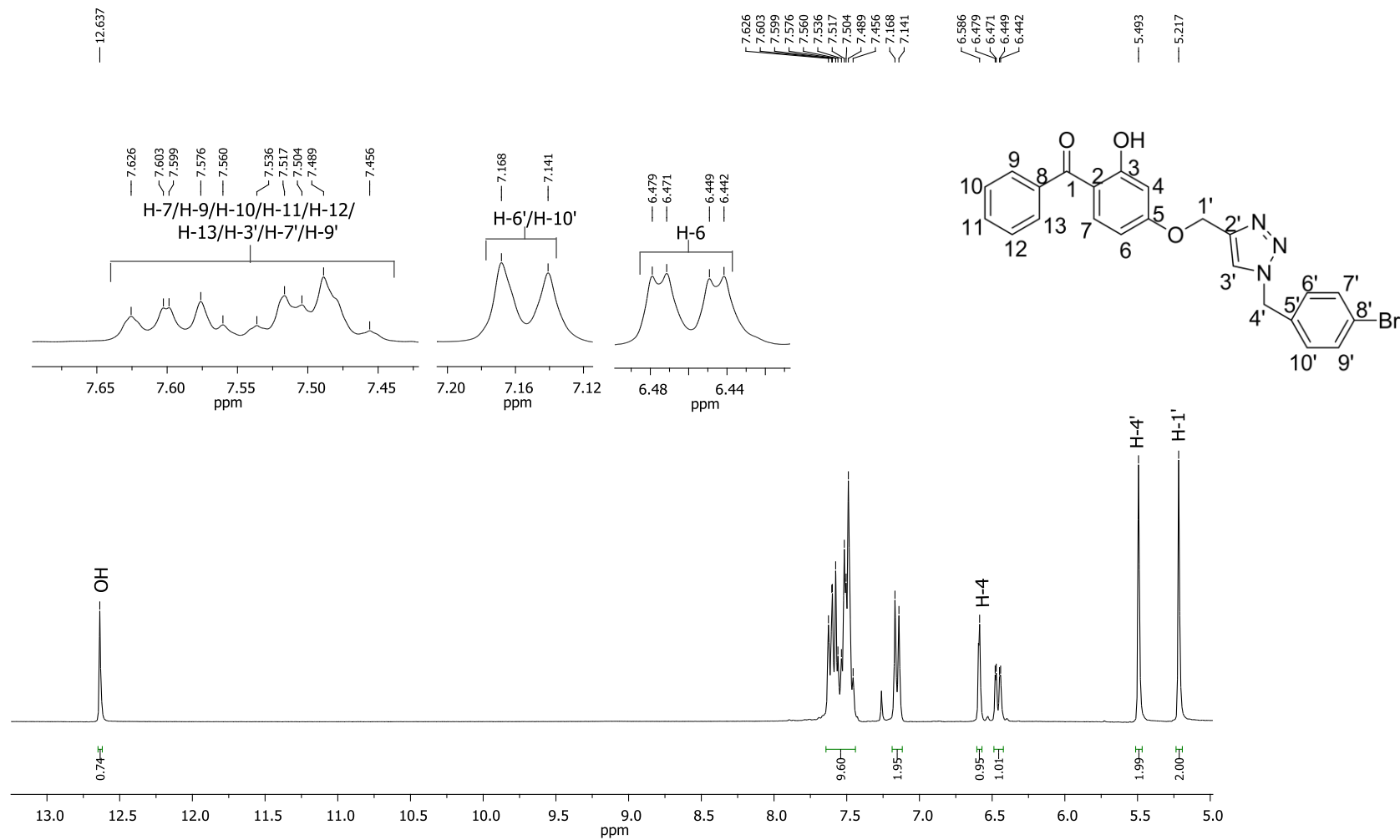


Figura A74: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **23**.

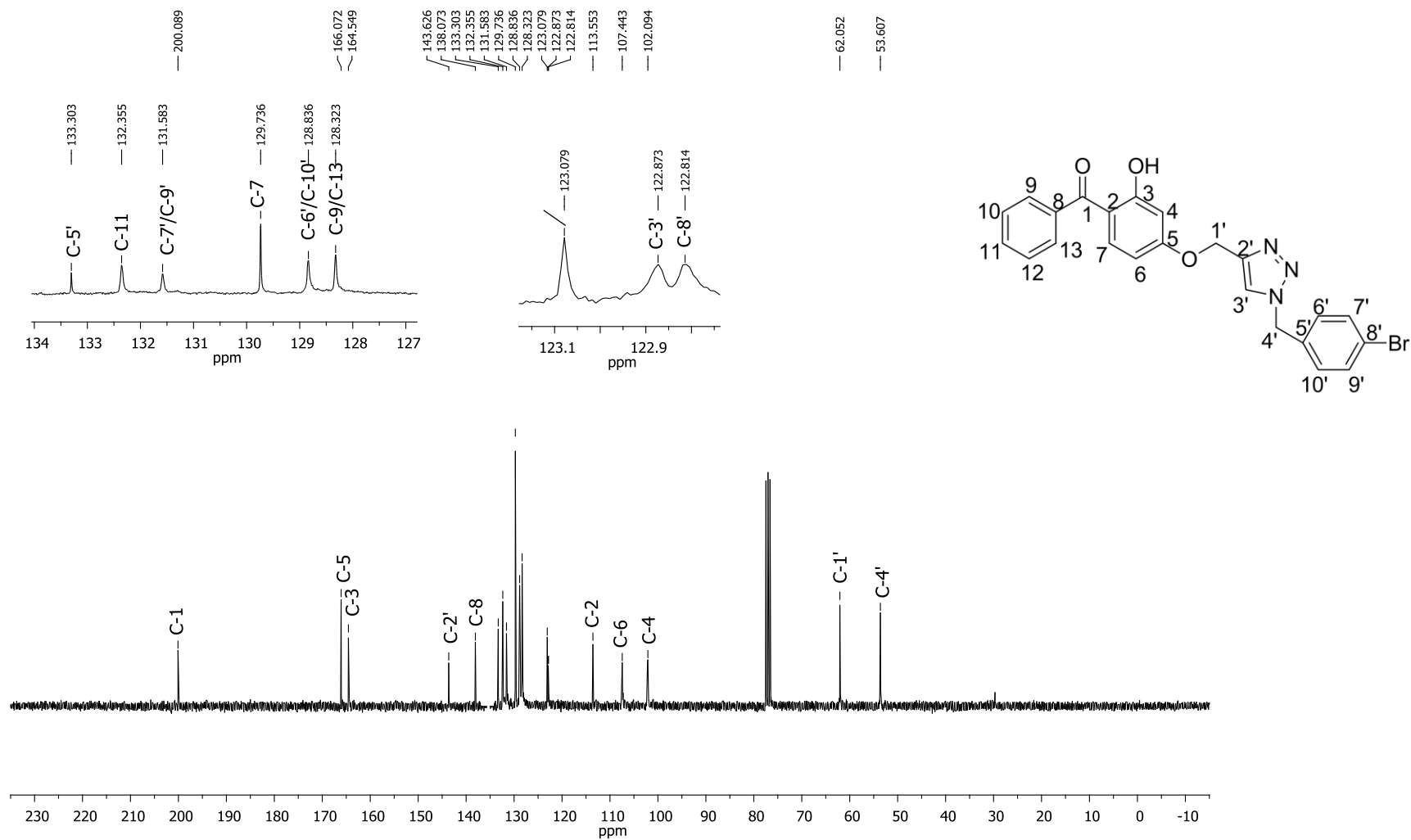
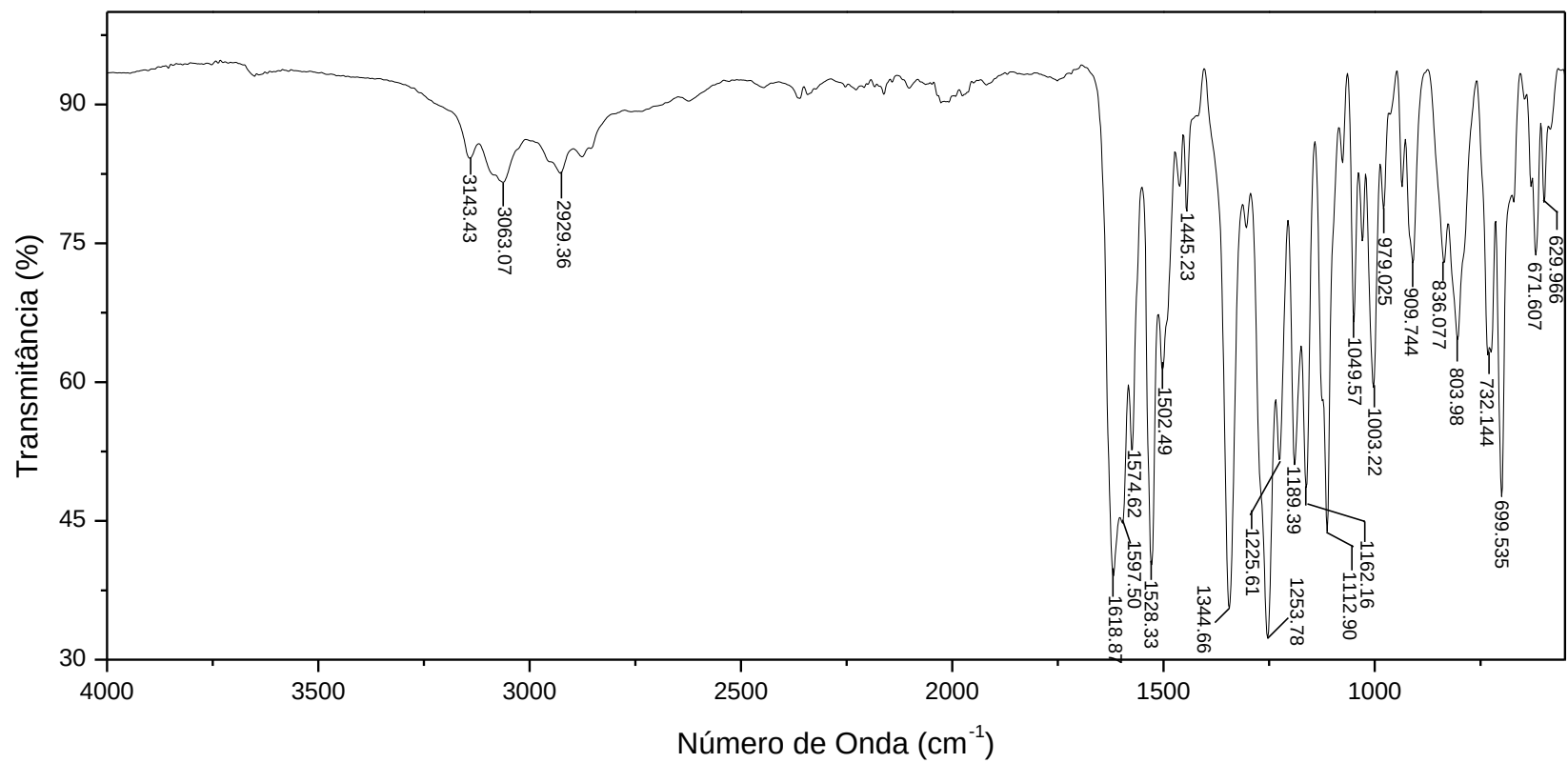


Figura A75: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **23**.



Figura

76: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **23**.

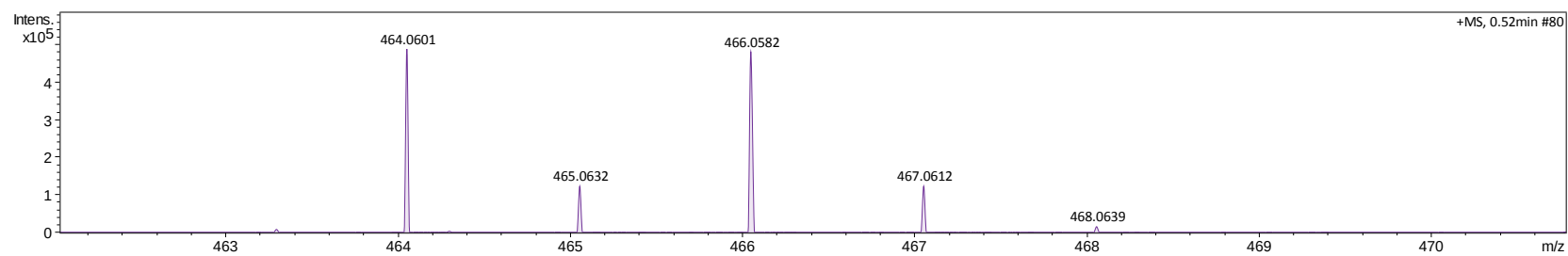


Figura A77: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **23**.

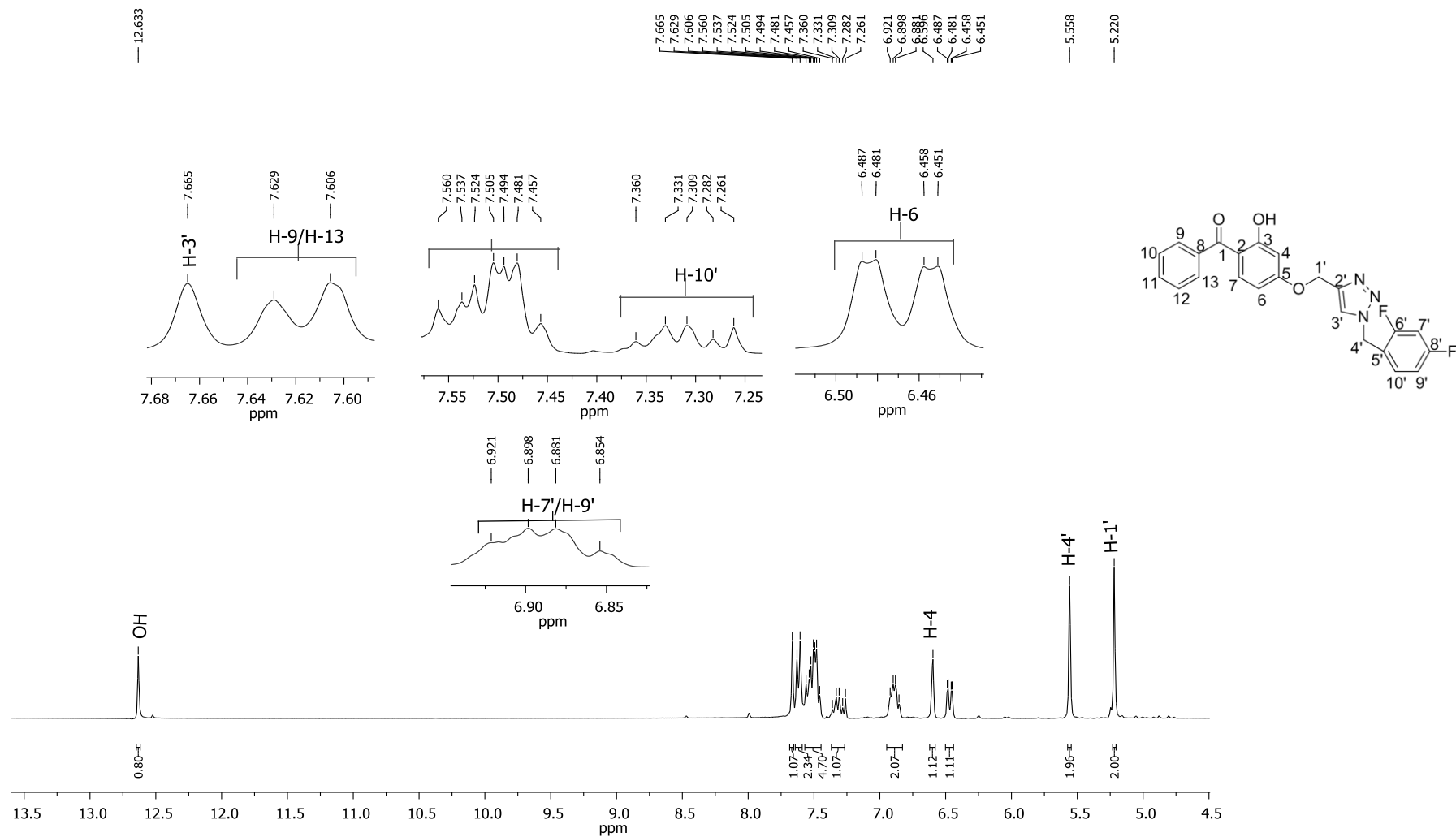


Figura A78: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

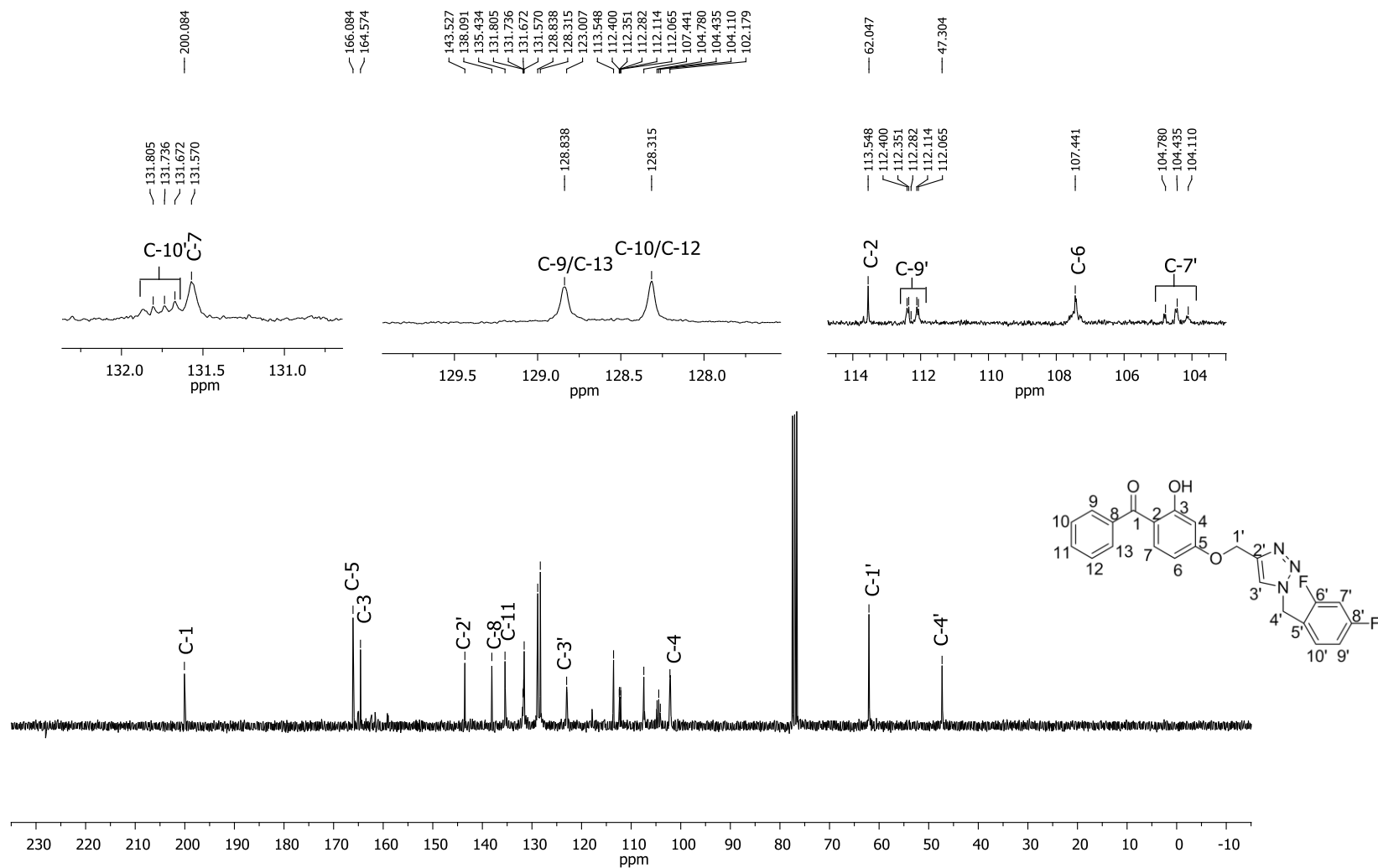


Figura A79: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **24**.

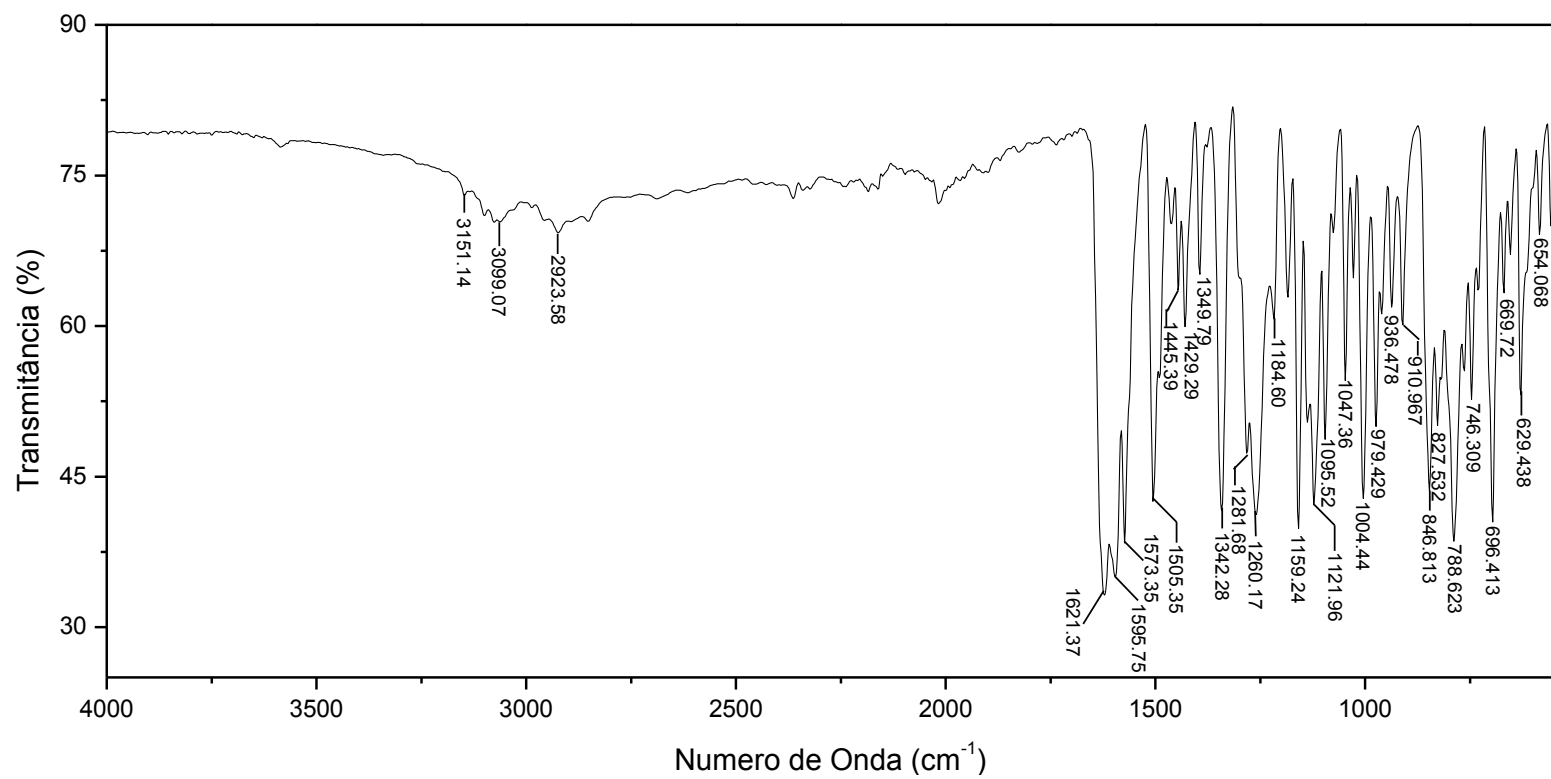


Figura A80: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **24**.

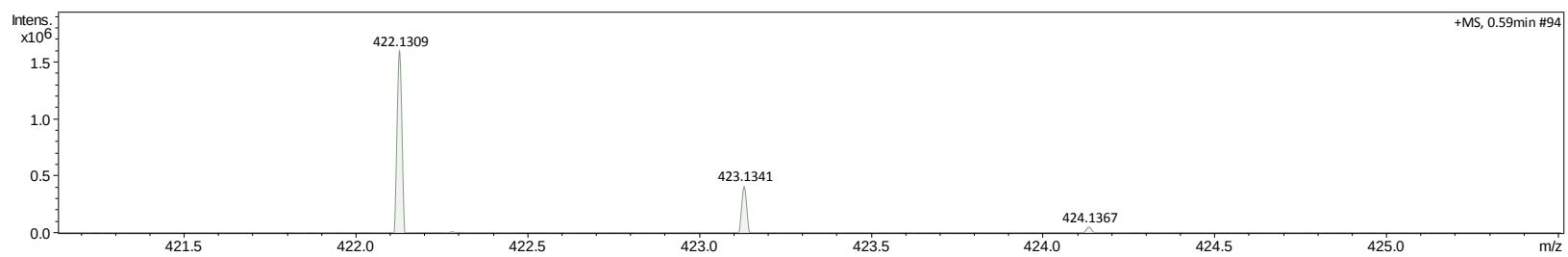


Figura A81: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **24**.

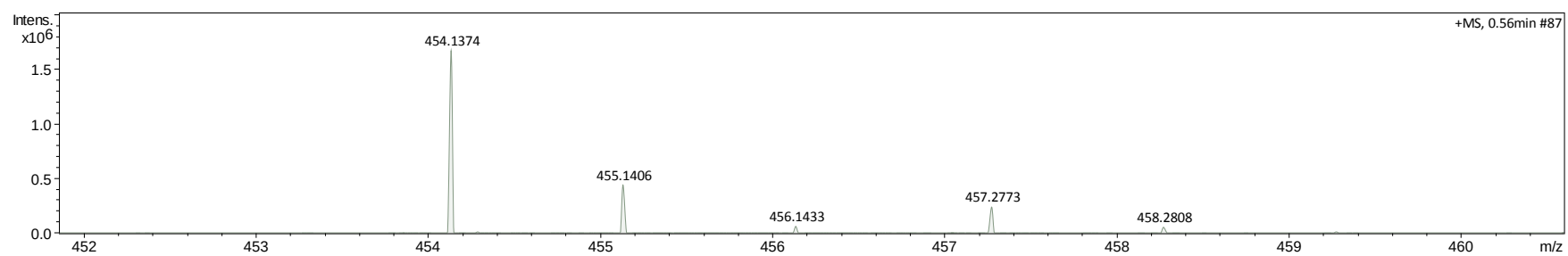


Figura A82: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **25**.

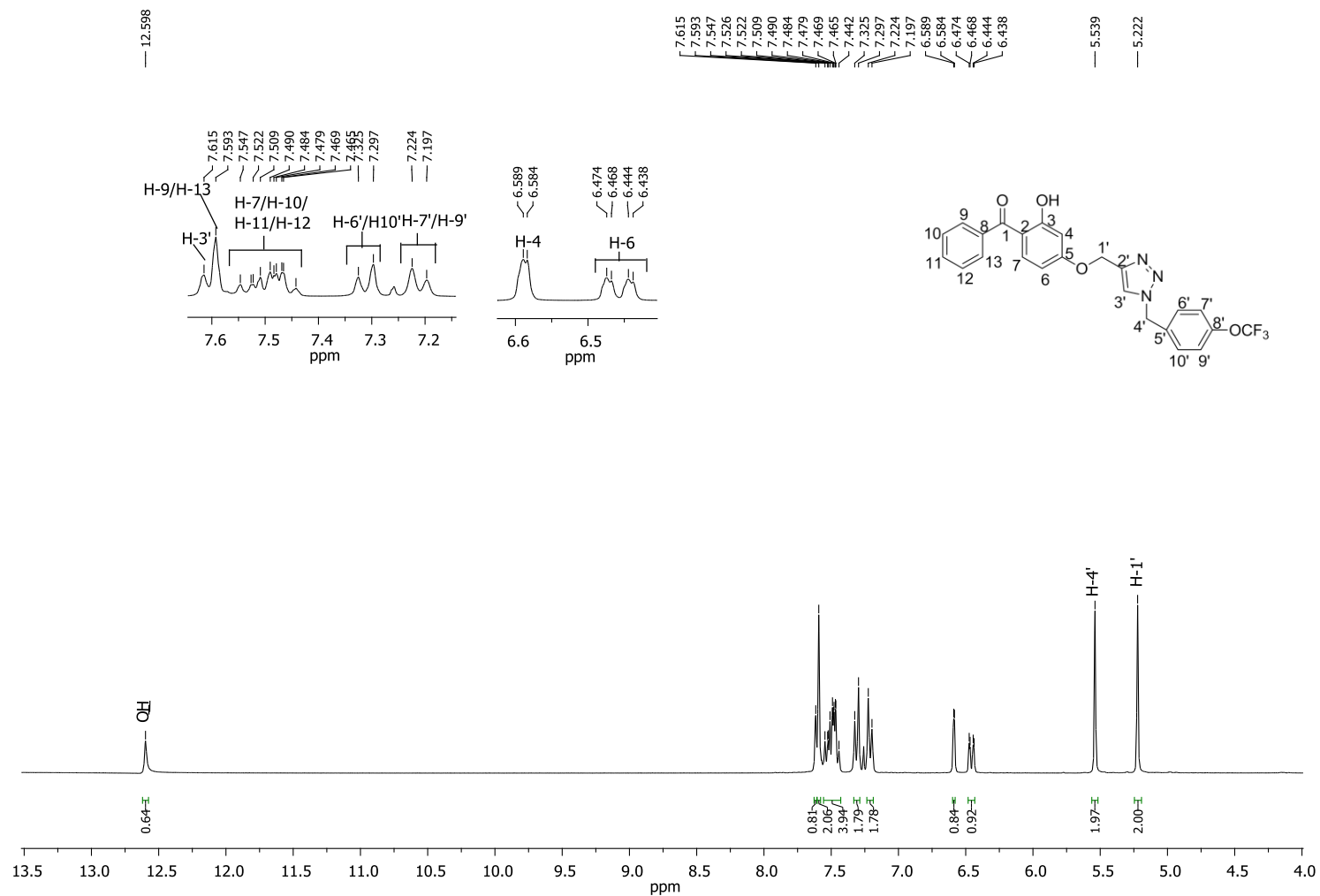


Figura A83: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **26**.

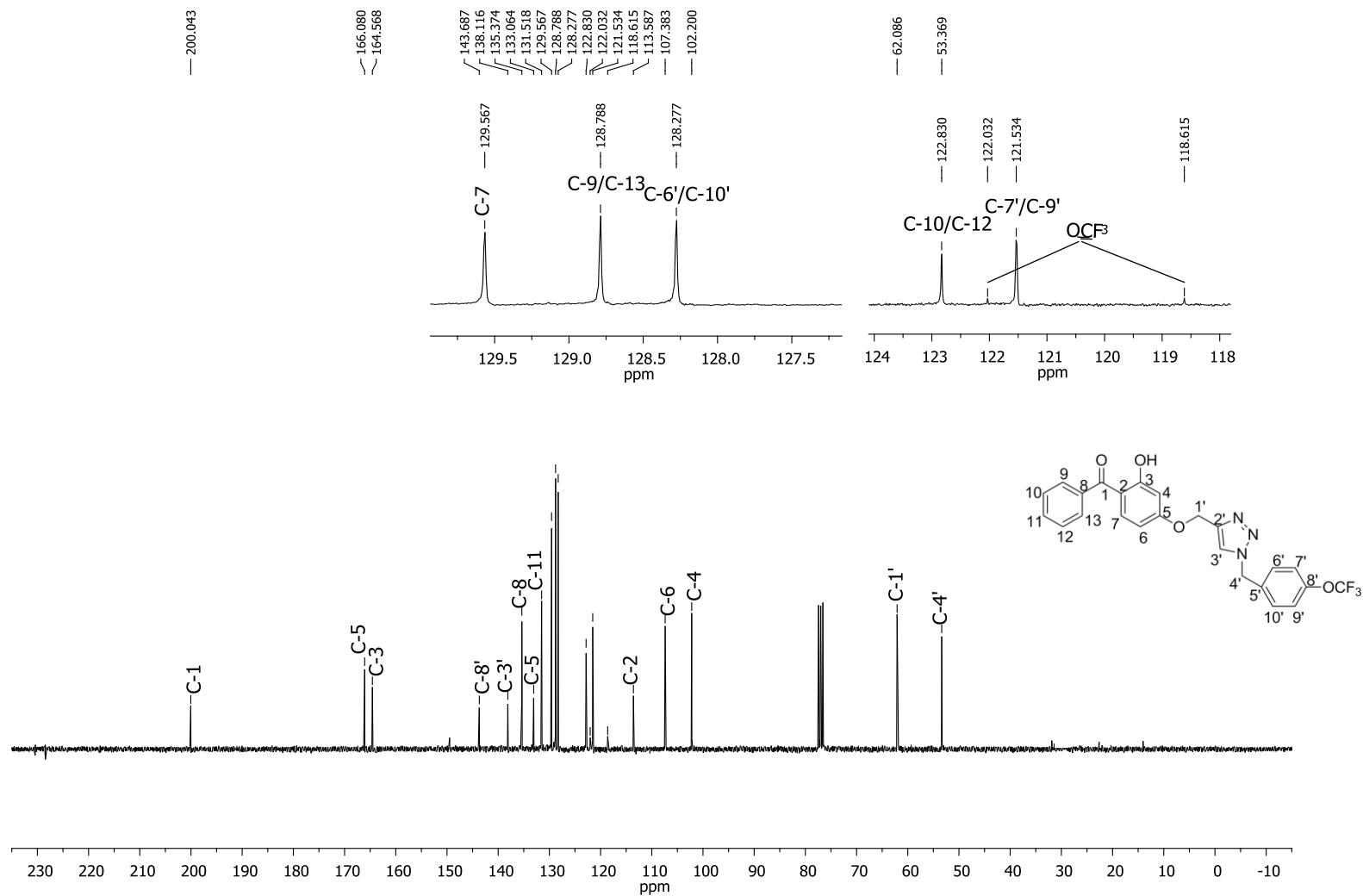


Figura A84: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **26**.

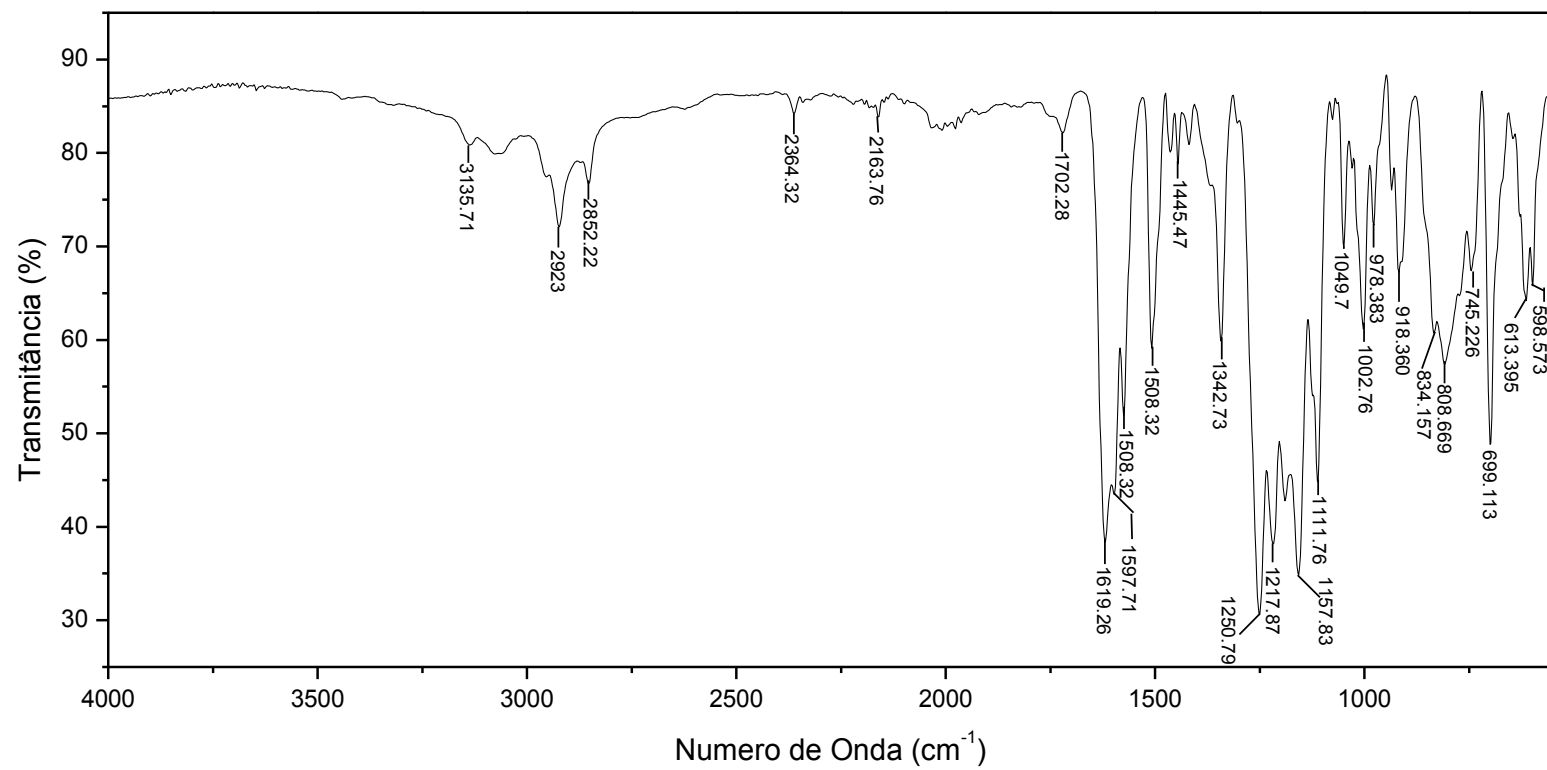


Figura A85: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **26**.

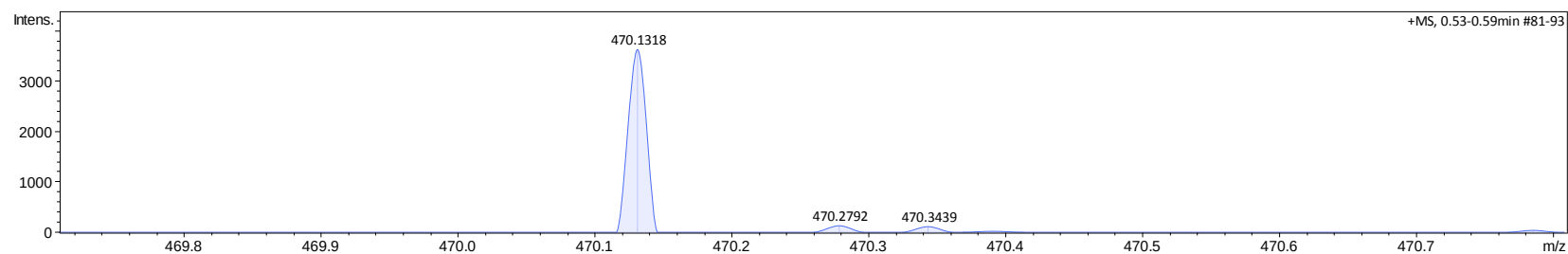


Figura A86: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **26**.

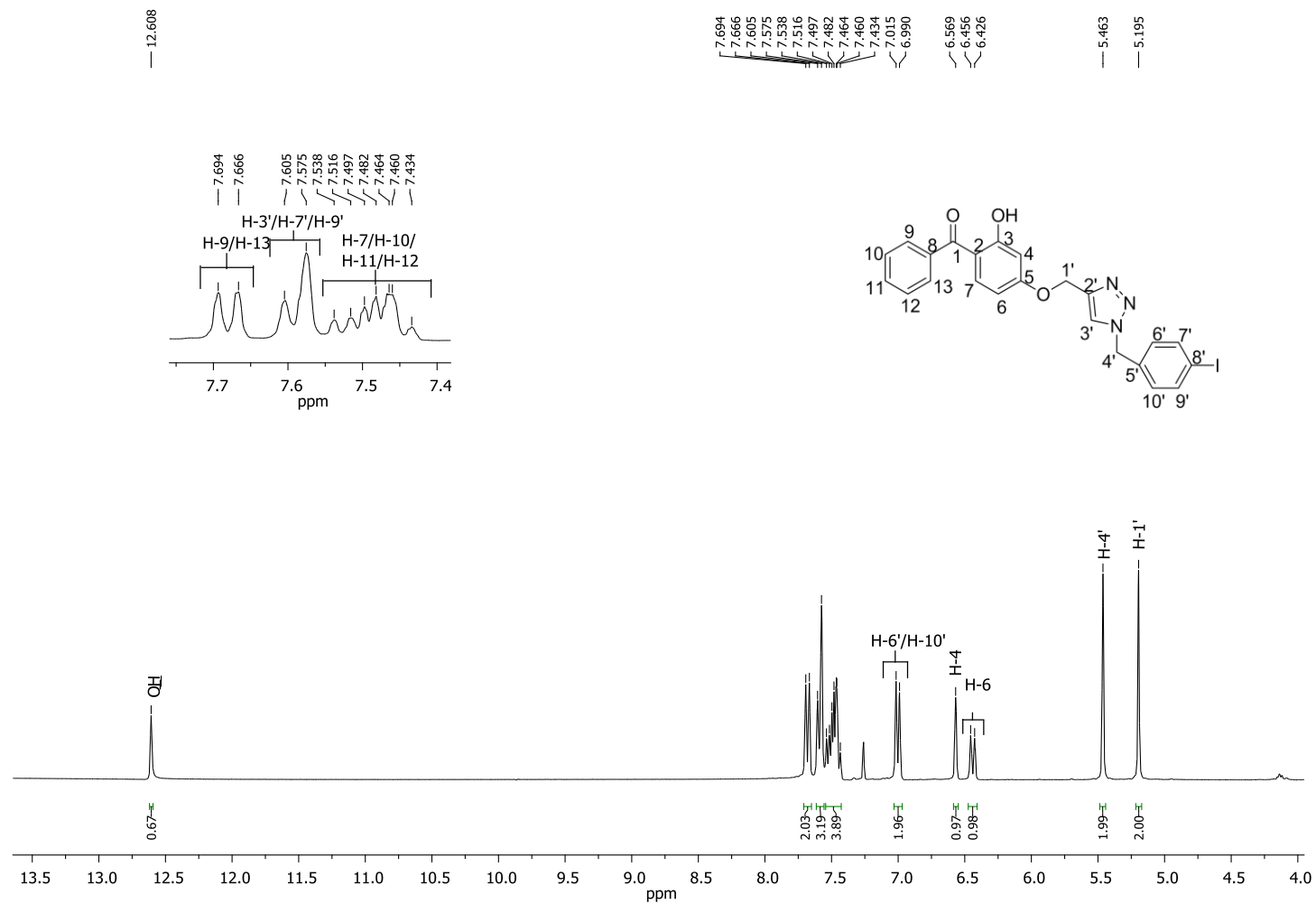
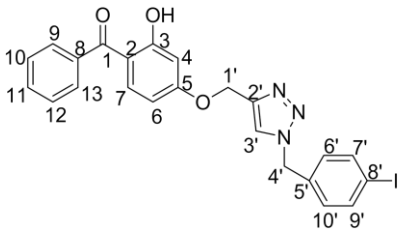


Figura A87: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **27**.



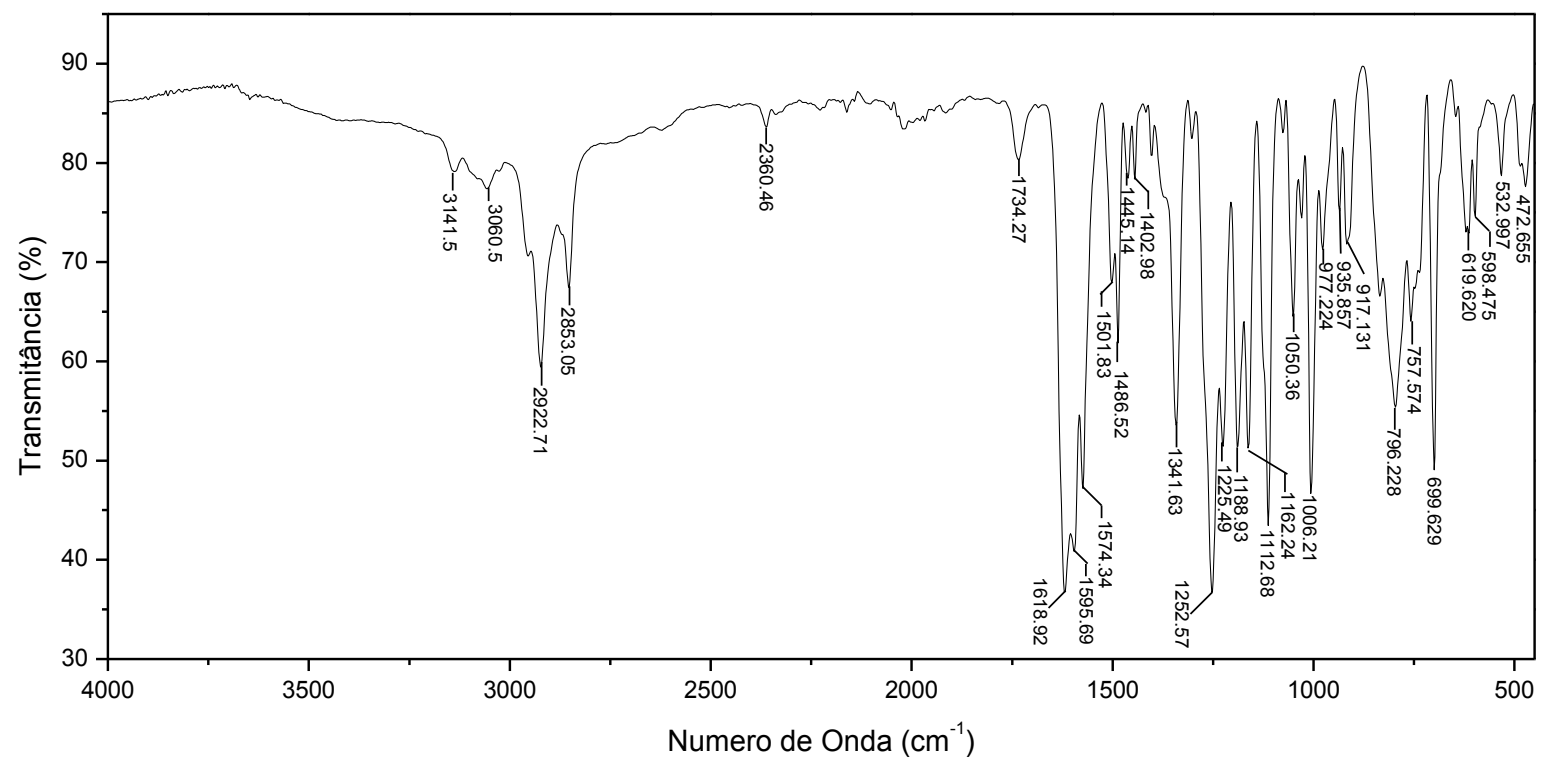


Figura A89: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **27**.

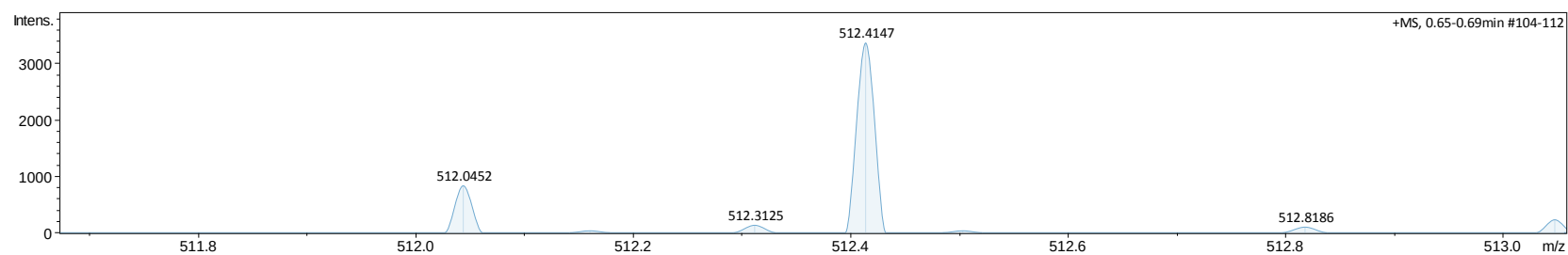


Figura A90: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **27**.

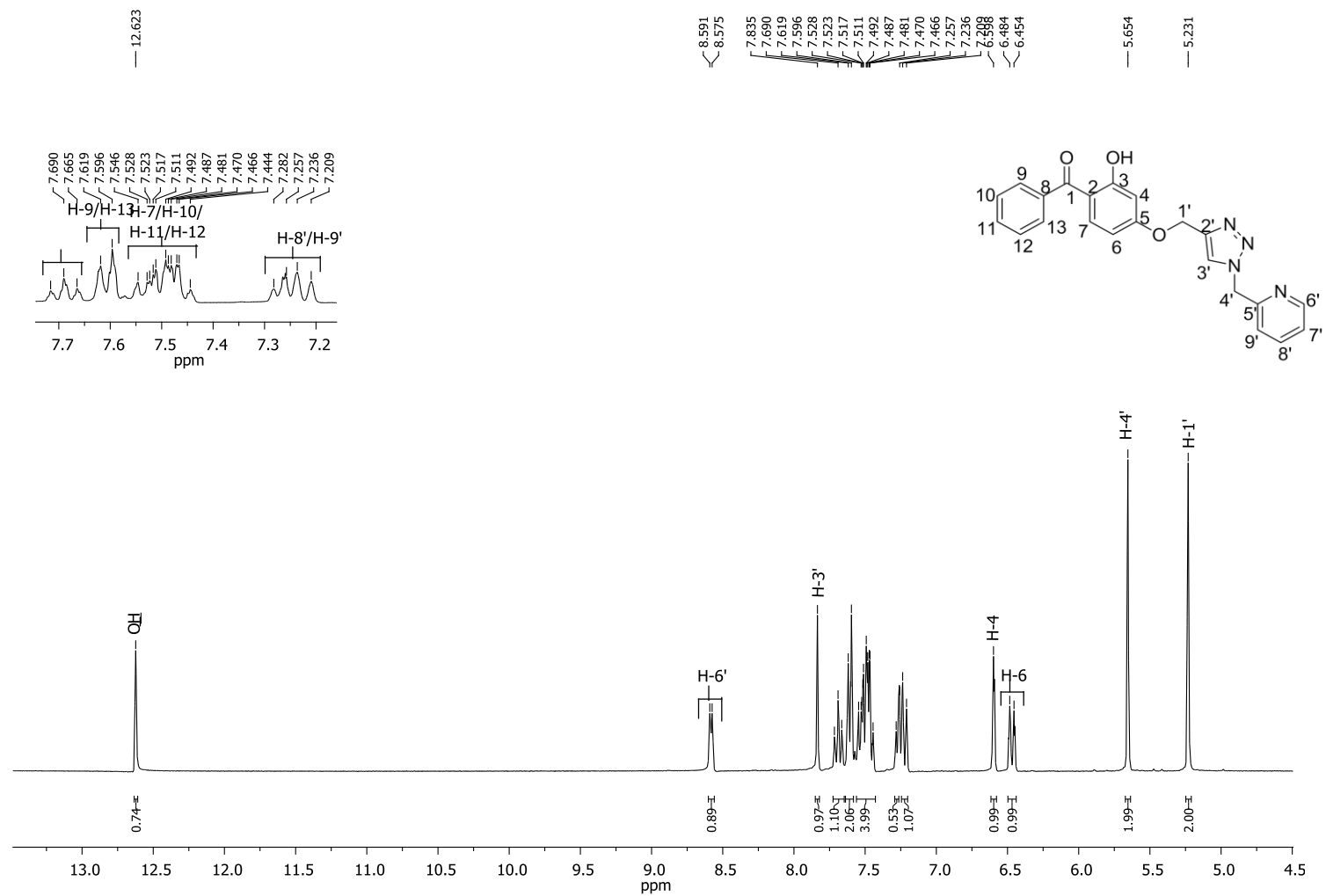


Figura A91: Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) composto **28**.

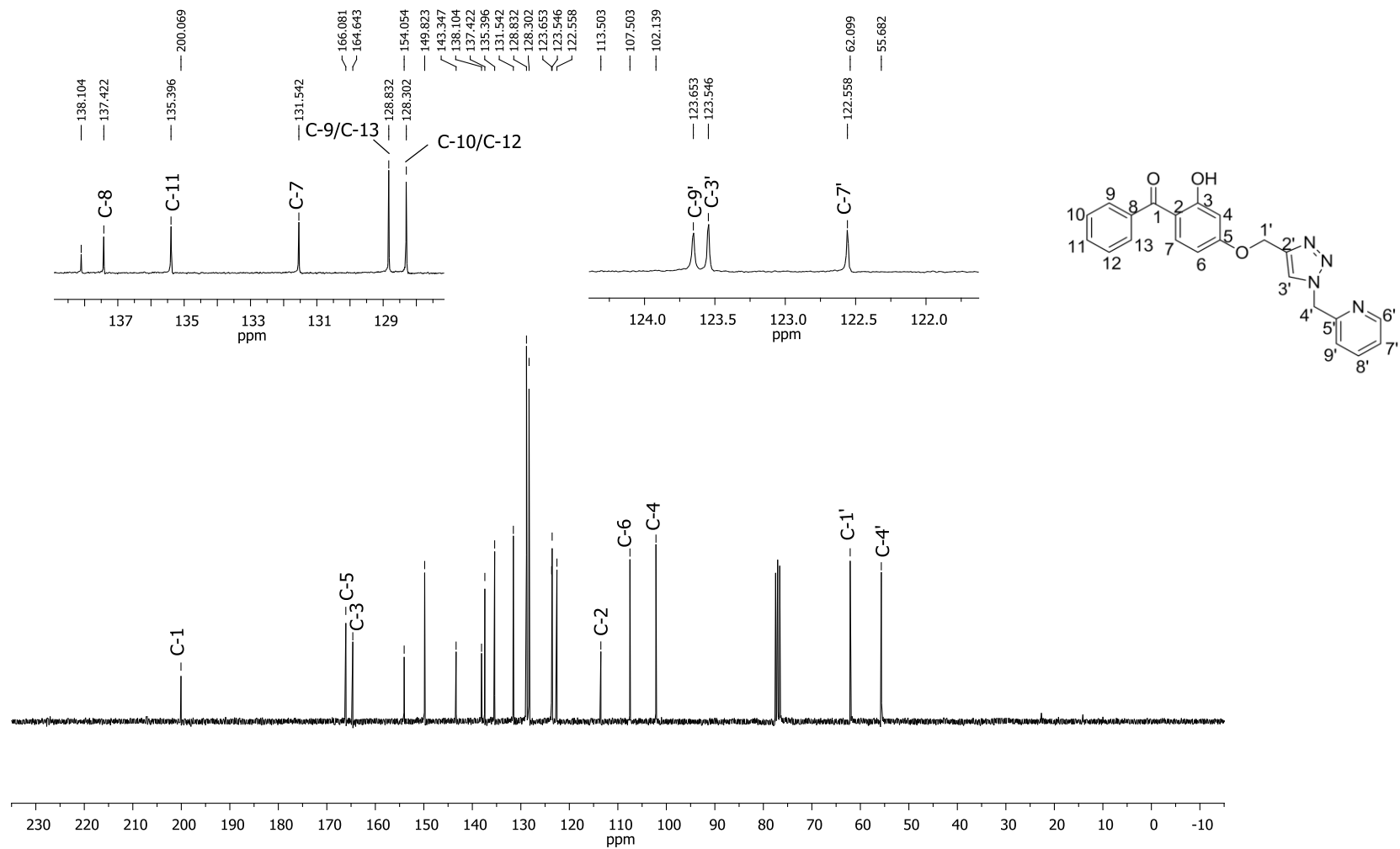


Figura A92: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) composto **28**.

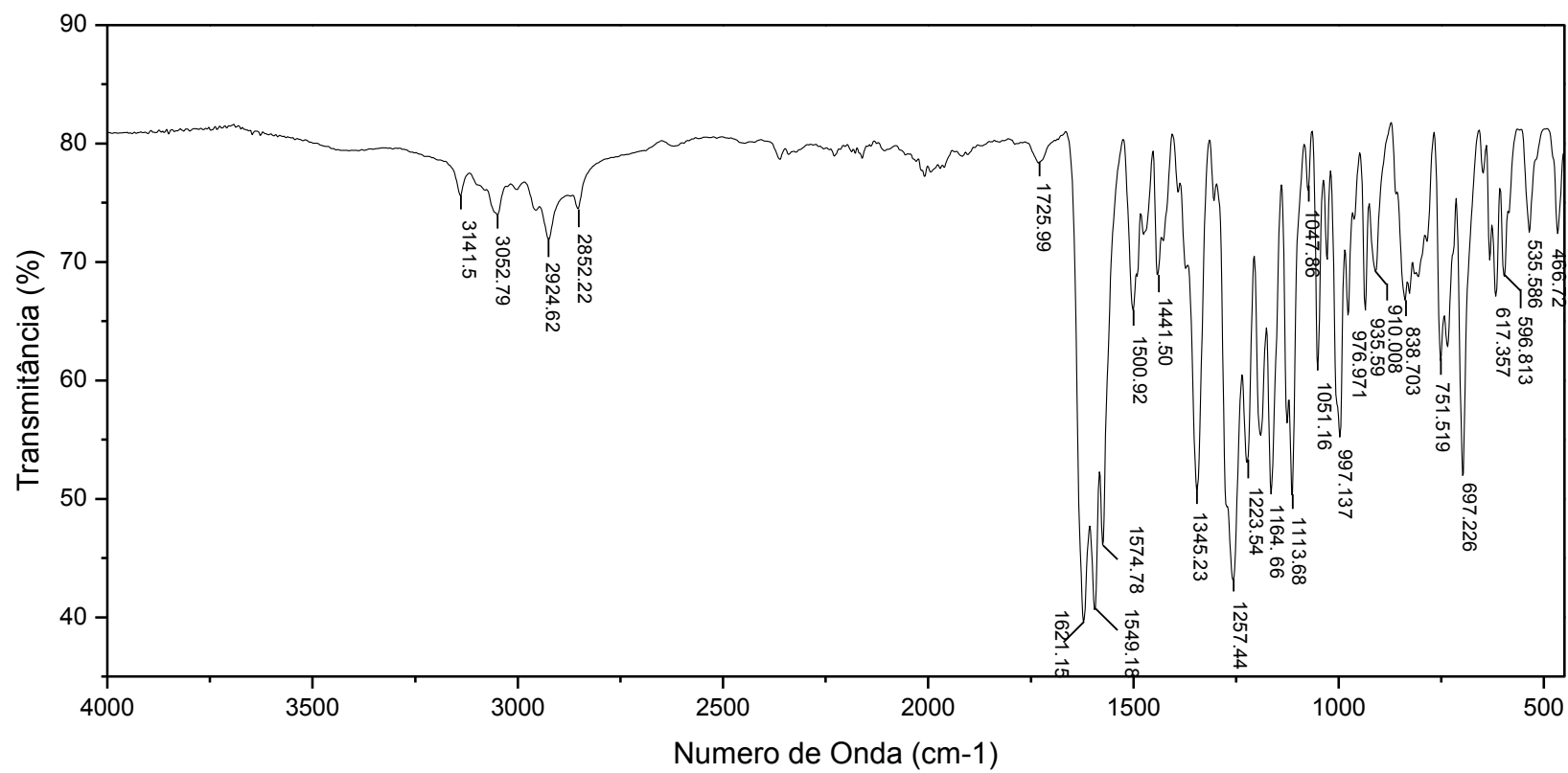


Figura A93: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **28**.

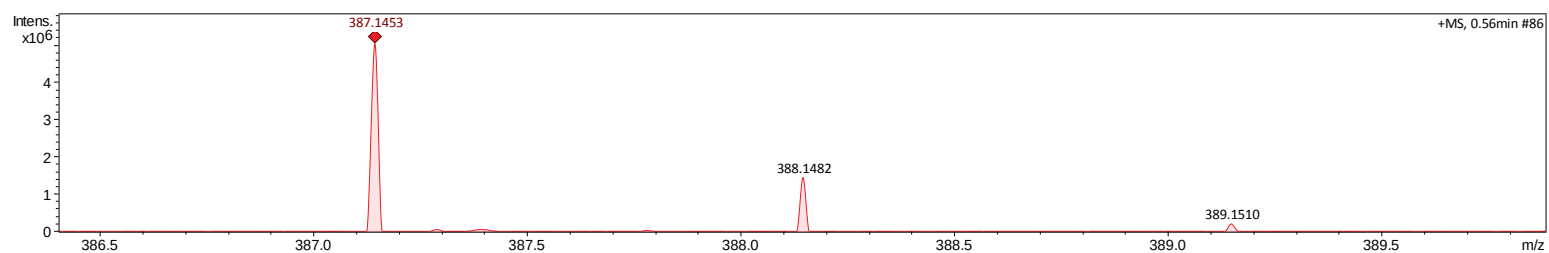


Figura A94: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **28**.

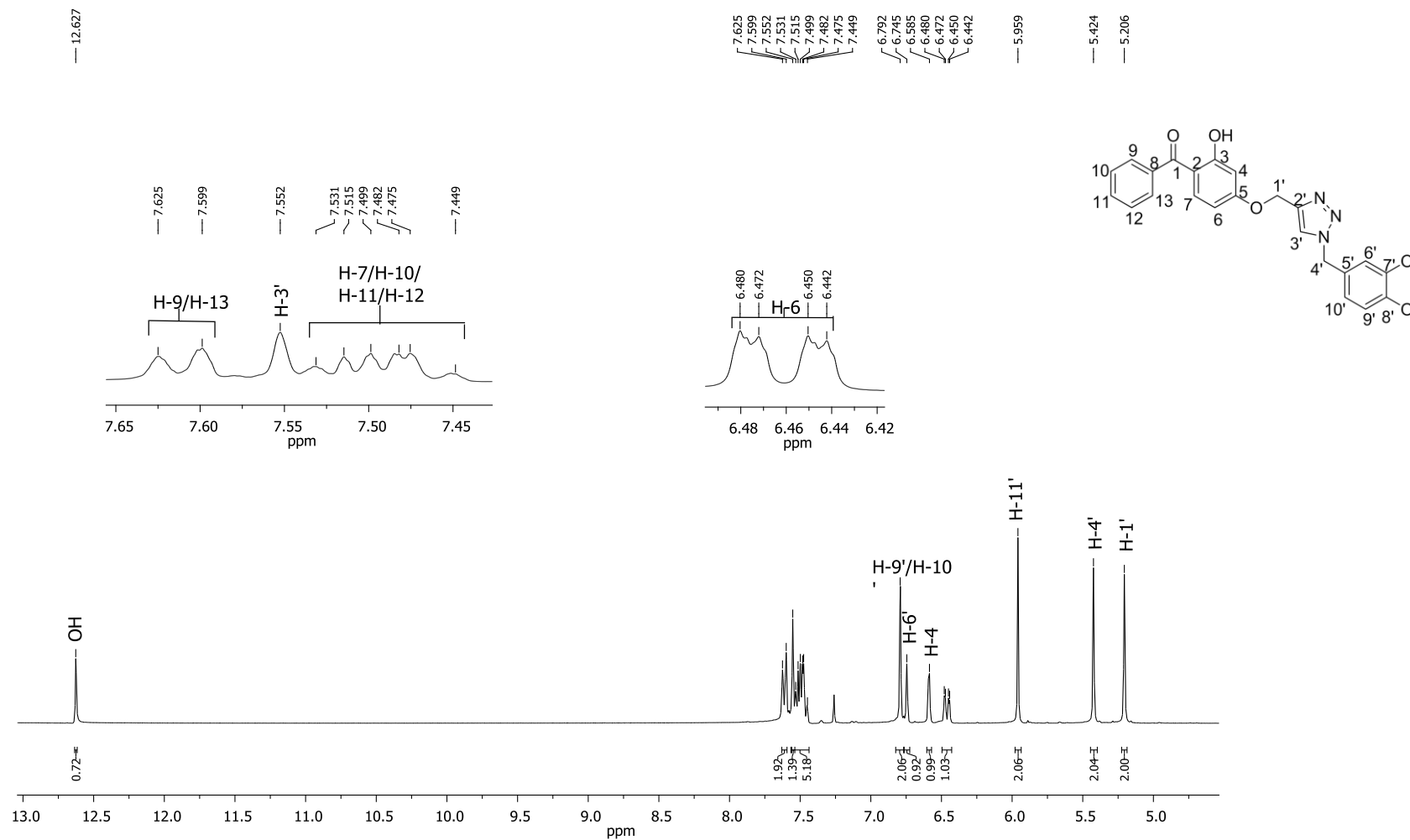


Figure A95: Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) composto **29**.

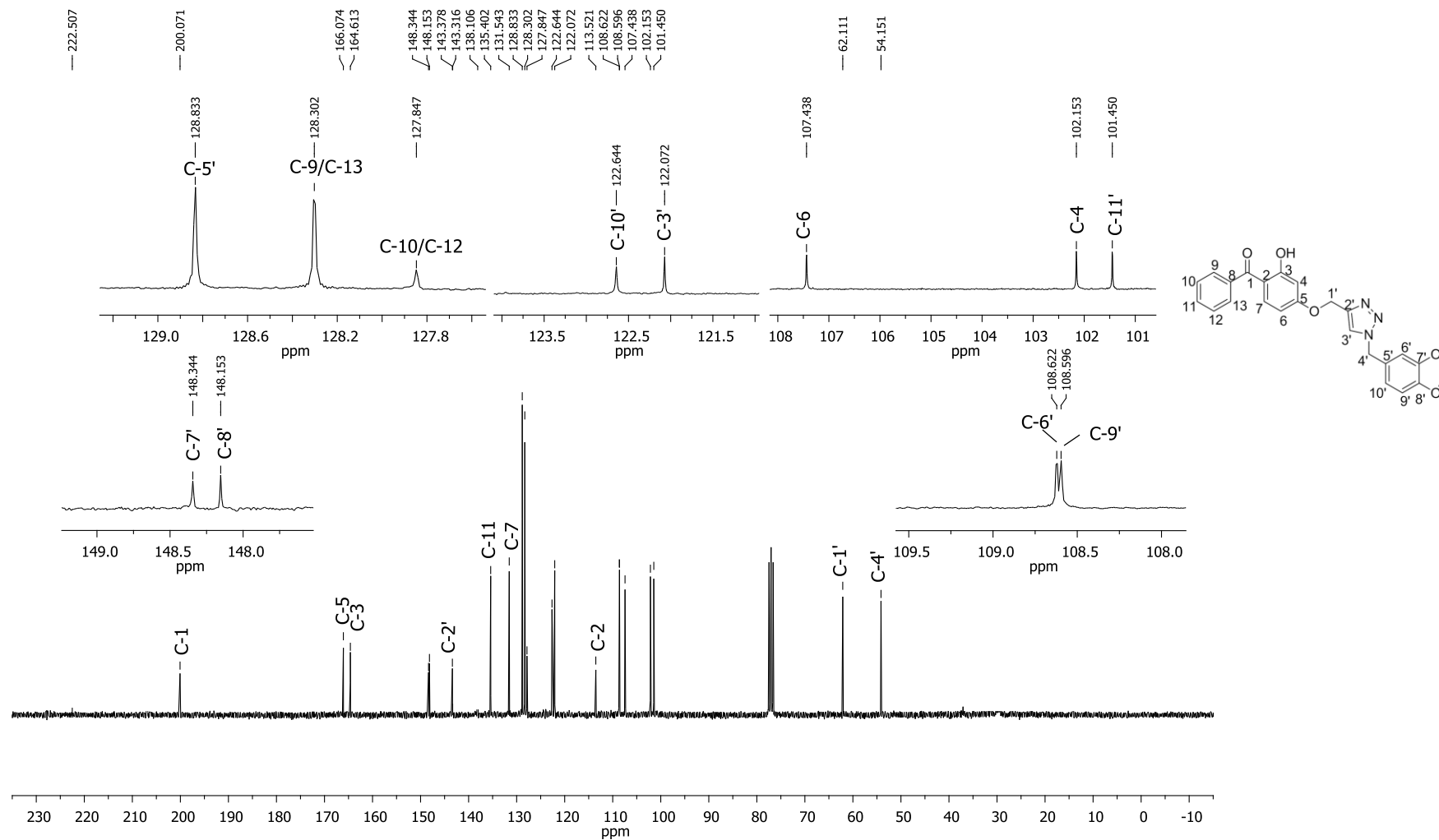


Figure A96: Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) composto **29**.

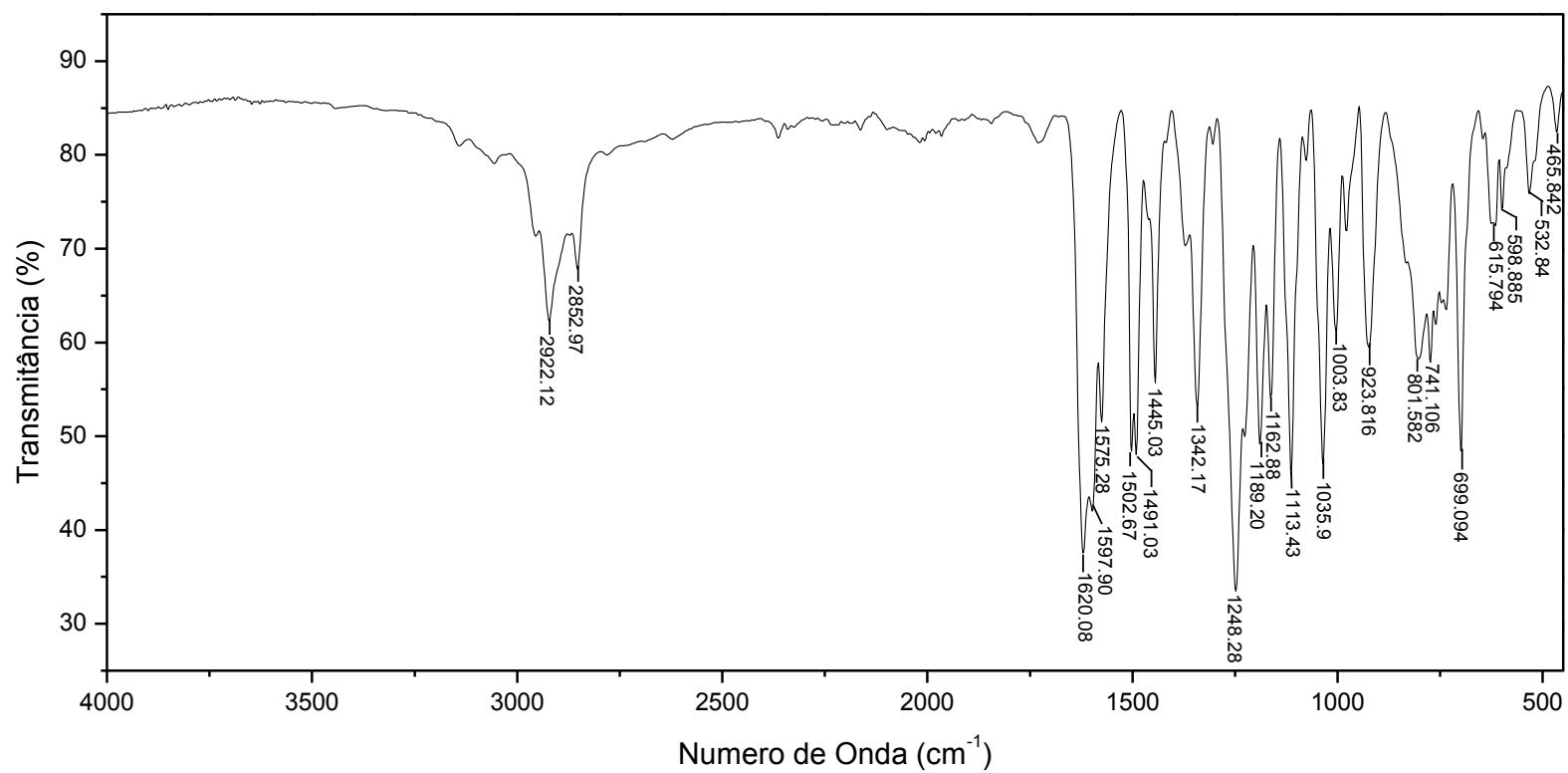


Figura A97: Espectro no Infravermelho (ATR) do composto **29**.

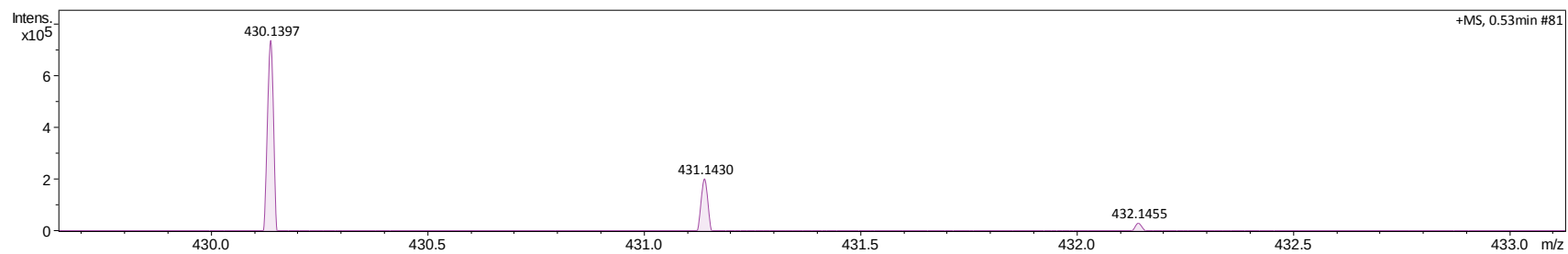


Figura A98: Espectro de ESI-(+)-MS (150 – 1000 m/z) do composto **29**.