

SILMA FRANCIELLE DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO FRAGMENTOS
1,2,3-TRIAZÓLICOS E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES
FUNGICIDA E ANTIVIRAL**

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*.

Orientador: Róbson Ricardo Teixeira

Coorientador: Adilson Vidal Costa

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S586s
2021
Silva, Silma Francielle da, 1992-
Síntese de novos derivados do eugenol contendo
fragmentos 1,2,3 triazólicos e avaliação de suas atividades
fungicida e antiviral / Silma Francielle da Silva. – Viçosa, MG,
2021.
284 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Robson Ricardo Teixeira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Síntese orgânica. 2. Atividade biológica.
3. Chikungunya. 4. Vírus da Zika. 5. Antracnose. 6.
Colletotrichum. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 547.2

SILMA FRANCIELLE DA SILVA

**SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO FRAGMENTOS
1,2,3-TRIAZÓLICOS E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES
FUNGICIDA E ANTIVIRAL**

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: 29 de julho de 2021.

Assentimento:


Silma Francielle da Silva
Autora


Róbson Ricardo Teixeira
Orientador

Dedico essa tese primeiramente a Deus e à Nossa Senhora por sempre guiarem meus passos e me proteger;

Aos meus pais Silvano e Marly pelo amor incondicional e por sempre acreditarem na minha capacidade;

Aos meus irmãos Silvano e Eduarda pela amizade que temos;

Ao meu esposo Rilson por todo amor, companheirismo, incentivo e paciência, por me escolher para caminharmos juntos, por acreditar em mim e em nossos sonhos.

À minha amada filha Manuela que está comigo desde o início deste trabalho, me fazendo cada dia uma pessoa mais forte e corajosa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar acima de tudo e sempre me guiar e cuidar de mim, pois sem Ele nada seria possível.

À Nossa Senhora por passar sempre à frente de todas as dificuldades, tornando o caminho menos árduo.

Aos meus pais Silvano e Marly pelo amor incondicional, por serem exemplos de honestidade e nunca terem medido esforços para que meus sonhos se tornassem realidade.

Ao meu irmão Silviano e minha cunhada Alessandra pela amizade e carinho, meus sobrinhos Marco Aurélio e João Lucas por trazerem ainda mais alegria aos meus dias.

A minha irmã Eduarda por todo amor, amizade e cumplicidade que temos, ao meu cunhado Leandro pela amizade, ao meu sobrinho Davi por sempre alegrar meus dias.

Ao meu esposo Rilson pelo amor, incentivo e paciência ao longo de todo esse tempo, por fazer de meus sonhos os seus.

À minha filha Manuela que desde o início dessa jornada esteve comigo, mesmo não sabendo, seu sorriso, seu olhar, foram motivadores para eu chegar aqui.

Ao meu tio Hécio que sempre me incentivou a estudar e me motivava com sua história de vida profissional. À minha sogra, todos os familiares e pessoas que passaram pela minha vida, pelas orações e por sempre estarem na torcida.

Ao professor Róbson Ricardo Teixeira, pelo incentivo, paciência, dedicação e confiança ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Por ter compartilhado sua experiência, profissionalismo e motivação ao longo destes anos.

Ao professor Adilson Vidal Costa, pela colaboração durante todo o desenvolvimento desse trabalho e ao Pós-doutorando Alex Aguiar pelo auxílio durante a execução desse trabalho.

À amiga e comadre Ana Paula por dividir comigo suas experiências profissionais, momentos alegres e de desafios durante esses anos.

À amiga Poliana por estar sempre presente compartilhando alegrias e descontração.

À amiga e comadre Fabíola pela sua amizade, por dividir comigo experiências profissionais, por tantos momentos bons compartilhados entre nossas famílias.

À amiga e Coach Wanda, por todo seu apoio e profissionalismo, que me ajudou a não desistir de continuar esse trabalho de pesquisa e a tornar meus dias mais leves.

Aos colegas do grupo “*orgânica é bão demais*”, do Laboratório 428, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular e as meninas do grupo “*friends*” pela companhia e por compartilharem experiências profissionais e pessoais.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV e ao professor João Paulo Viana Leite, que colocou à disposição a infraestrutura de seus laboratórios para que eu pudesse realizar meus experimentos.

Aos Técnico-administrativos José Luiz, Márcio, Wagner, ao professor Sérgio Fernandes e à amiga Fabíola pelas análises que ajudaram na elucidação e identificação dos compostos sintetizados nesse trabalho e também ao Ricardo Martins, Gabriel Tavares e Viviane pela ajuda nos momentos de necessidade.

Aos professores Lucas Magalhães de Abreu e a professora Cintia Lopes de Brito Magalhães, pela realização dos ensaios biológicos

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

Aos professores da banca examinadora, que prontamente aceitaram participar da finalização deste trabalho de pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pelos recursos concedidos para o desenvolvimento desse projeto de pesquisa.

BIOGRAFIA

Silma Francielle da Silva, filha de Silvano Inácio da Silva e Marly da Silva Reis, nasceu em 29 de janeiro de 1992, em Visconde do Rio Branco, Minas Gerais.

Em 2006, concluiu o ensino fundamental na Escola Estadual Galdino Leocádio, em Vilas Boas, Guiricema - MG. Em 2009, concluiu o ensino médio na Escola Estadual Prefeito Antônio Arruda em Guiricema – MG.

Em 2010, ingressou no curso de Bacharelado e Licenciatura em Química pela Universidade Federal de Viçosa, onde diplomou-se em 2015.

Em 2015, ingressou no curso de Mestrado em Agroquímica na Universidade federal de Viçosa, defendendo sua dissertação em fevereiro de 2017.

Em 2017, foi nomeada como Técnica de Laboratório/Química Nível D na Universidade Federal de Viçosa, campus de Viçosa, MG. Em 2017 iniciou o curso de Doutorado em Agroquímica na Universidade federal de Viçosa.

“Isto é uma ordem: sê firme e corajoso. Não te atemorizes, não tenhas medo, porque o Senhor está contigo em qualquer parte para onde fores”.
(BÍBLIA, Josué, 1, 9)

RESUMO

SILVA, Silma Francielle da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2021. **Síntese de novos derivados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3 triazólicos e avaliação de suas atividades fungicida e antiviral** Orientador: Róbson Ricardo Teixeira. Coorientador: Adilson Vidal Costa.

O eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$, 4-alil-2-metoxifenol) é uma substância fenólica natural, que apresenta diferentes bioatividades e possibilidades de aplicação, e que vem atraindo a atenção de diversos grupos de pesquisa. Outro aspecto que o torna atrativo é o fato de que ele pode ser utilizado como material de partida para a síntese de produtos naturais e substâncias bioativas. Outra classe de compostos que vêm atraindo a atenção de pesquisadores são os 1,2,3-triazóis por apresentarem diversas bioatividades, dentre elas fungicida e antiviral. O presente trabalho teve por objetivo sintetizar uma série de derivados resultantes da união do eugenol a Fragmentos 1,2,3-triazólicos e avaliar seus efeitos fungicida e antiviral. A preparação das substâncias envolveu três etapas. Na primeira, o eugenol (**1**) foi tratado com a epícloridina resultando na obtenção do ($\pm$)-2-((4-alil-2-metoxifenoxi)metiloxirano) (**2**) com 92% de rendimento. A azidólise de **2** com azida de sódio resultou no preparo do ($\pm$)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-azidopropan-2-ol (**3**) em 95% de rendimento. A terceira e última etapa correspondeu à reação CuAAC (reação *click*) entre a substância **3** e diferentes alquinos terminais. Os derivados do eugenol com fragmentos 1,2,3-triazólicos foram obtidos com rendimentos variando de 41% a 87%. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados via espectroscopia no IV e de RMN de 1H e de ^{13}C . A série de 26 compostos triazólicos **5a-5z** derivados do eugenol foi submetida a ensaios de avaliação de atividades fungicida e antiviral. A avaliação da atividade fungicida mostrou que o efeito de inibição do crescimento micelial pelas substâncias avaliadas na concentração de 1 mg mL^{-1} foi pouco pronunciado quando comparado com o fungicida comercial tebuconazol utilizado como controle positivo. Já a utilização da concentração de 10 mg mL^{-1} dos derivados triazólicos do eugenol resultou em maiores halos de inibição de colônias de *Colletotrichum* sp para alguns tratamentos, com destaque para os tratamentos realizados com **5x** e **5e**. A avaliação da atividade antiviral contra os vírus Zika e Chikungunya mostrou que apenas o derivado **5a** foi ativo contra o vírus Chikungunya, apresentando concentração efetiva (CE_{50}) de $135,69 \pm 15,67\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, porém índice de seletividade (IS) abaixo de 1. No

entanto, sete dos compostos sintetizados, a saber, **5a**, **5b**, **5e**, **5f**, **5v**, **5x** e **5y**, apresentaram atividade contra o vírus Zika, sendo que compostos **5x** ($CE_{50} = 63,52 \pm 2,67 \mu\text{mol L}^{-1}$) e **5y** ($CE_{50} = 84,29 \pm 2,88 \mu\text{mol L}^{-1}$) foram os mais ativos e apresentaram valores de IS iguais a 5,40 e 5,11, respectivamente.

Palavras-chave: Síntese orgânica. Bioatividade. Vírus Chikungunya. Vírus Zika. Antracnose. *Colletotrichum*.

ABSTRACT

SILVA, Silma Francielle da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2021. **Synthesis of new eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole fragments and evaluation of their fungicide and antiviral activities.** Adviser: Róbson Ricardo Teixeira. Co-adviser: Adilson Vidal Costa.

Eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$, 4-allyl-2-methoxyphenol) is a phenolic natural product that has several biological activities and possibilities of applications. In addition, it can be used as a starting material for the synthesis of natural products and bioactive compounds. For these reasons, eugenol has attracted the attention of several research groups. Another class of attractive compounds is the 1,2,3-triazoles that also display several biological activities including fungicide and antiviral. The present investigation aimed to synthesize a series of compounds derived from the connection of eugenol and 1,2,3-triazole fragments. The syntheses of the compounds were achieved in three steps. In the first step, eugenol (**1**) was treated with epichlorohydrin affording ($\pm$)-2-((4-allyl-2-methoxyphenoxy)methyl)oxirane (**2**) in 92% yield. Then, the azidolysis of **2** with sodium azide gave the azido-alcohol ($\pm$)-1-(4-allyl-2-methoxyphenoxy)-3-azidopropan-2-ol (**3**) in 95% yield. Finally, the CuAAC reaction (click reaction) between compound **3** and different terminal alkynes afforded a series of twenty-six derivatives. The eugenol derivatives **5a-5z** bearing 1,2,3-triazole fragments were obtained with yields ranging from 41% to 87%. All the synthesized compounds were characterized by IR and NMR (1H and ^{13}C) spectroscopies. Once prepared, the compounds were submitted to biological assays to assess their fungicide and antiviral activities. When evaluated against *Colletotrichum* sp at 1 mg mL⁻¹ concentration, the compounds did not significantly inhibit mycelial growth. However, when the concentration was increased to 10 mg mL⁻¹, mycelial growth inhibition was noticed for some treatments and the best results were observed with compounds **5x** and **5e**, although their effects were lower than the commercial fungicide tebuconazole used as positive control. The compounds were also evaluated for their antiviral effects against Chikungunya and Zika virus. Regarding the first species, the only derivative which presented activity against it was **5a** with $EC_{50} = 135.69 \pm 15.67 \mu\text{mol L}^{-1}$ and selective index (SI) below 1. On the contrary, compounds **5a**, **5b**, **5f**, **5v**, **5x**, and **5y** presented significant activity on the Zika virus. In this regard, compounds **5x** ($EC_{50} = 63.52 \pm 2.67 \mu\text{mol L}^{-1}$) and **5y** ($EC_{50} = 84.29 \pm$

2,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$) were the most active ones and presented SI equal to 5.40 and 5.11, respectively.

Keywords: Organic synthesis. Bioactivity. Chikungunya virus. Zika virus. Anthracnose. *Colletotrichum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Estrutura do eugenol.....	20
Figura 1.2 – O craveiro-da-Índia. Árvore (A), folhas (B), frutos (C) e o cravo-da-Índia (D).....	21
Figura 1.3 – Estrutura do β -cariofileno.....	22
Figura 1.4 – Figura 1.4. Alguns exemplos de substâncias naturais e compostos bioativos obtidos, via síntese orgânica, a partir do eugenol (KAUFMAN, 2015).....	25
Figura 1.5 – Estrutura geral dos compostos 1,2,3-triazólicos 1,4-dissubstituídos. R ¹ e R ² são diferentes substituintes.....	25
Figura 1.6 – Estrutura do derivado I do eugenol que apresentou os melhores resultados em testes de avaliação de atividade leishmanicida frente a <i>Leishmania amazonensis</i> (GAZOLLA, 2015; TEIXEIRA <i>et al.</i> , 2018).....	27
Figura 1.7 – Estrutura do derivado II do eugenol que apresentou os melhores resultados em testes de avaliação de atividade antiviral frente a protease NS2B-NS3 (WNV) (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2019) e contra os sorotipos DENV 1-4.....	28
Figura 1.8 – Estruturas de fungicidas triazóis.....	29
Figura 1.9 – Estrutura geral dos 1,2,3-triazóis derivados do glicerol preparados por Costa e colaboradores (2020)	30
Figura 1.10 – Estrutura do derivado III da fenil hidrazona mais ativo contra as espécies <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i> e <i>Phytophthora capsici</i> conforme descrito por Dai e colaboradores (2015).....	31
Figura 1.11 – Estruturas dos compostos IV, V e VI sintetizados por Aher e colaboradores (2009)	32
Figura 1.12 – Estrutura geral dos compostos derivados do eugenol a serem sintetizados. R= diferentes substituintes.....	33
Figura 2.1 – Exemplos de heterociclos. Espécies heterocíclicas aromáticas e não aromáticas estão apresentadas. Os heteroátomos estão mostrados em azul e o 1,2,3-triazol encontra-se destacado.....	39
Figura 2.2 – Fármacos e exemplos de candidatos a fármacos contendo o anel 1,2,3-triazol. Os átomos de nitrogênio que fazem parte do fragmento 1,2,3-triazol estão destacados em vermelho.....	41
Figura 2.3 – Exemplos de reações “click”	43
Figura 2.4 – Novos 1,2,3-triazóis derivados do eugenol.....	45

Figura 2.5 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 2	88
Figura 2.6 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 2	89
Figura 2.7 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 2	90
Figura 2.8 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 3	94
Figura 2.9 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 3	95
Figura 2.10 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 3	96
Figura 2.11 – Estruturas dos alquinos 4y e 4z sintetizados via CTF.....	99
Figura 2.12 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 4y	101
Figura 2.13 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 4y	102
Figura 2.14 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 4y	103
Figura 2.15 – Estruturas dos derivados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3- triazólicos sintetizados.....	109
Figura 2.16 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 5a	115
Figura 2.17 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 5a	116
Figura 2.18 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 5a	117
Figura 2.19 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 5b	121
Figura 2.20 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto 5b	122
Figura 2.21 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto 5b	123
Figura 2.22 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 5c	127
Figura 2.23 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto 5c	128
Figura 2.24 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto 5c	129
Figura 2.25 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 5d	132
Figura 2.26 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto 5d	133
Figura 2.27 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto 5d	134
Figura 3.1 – Principais estados produtores de mamão no Brasil em 2019.....	143

Figura 3.2 – Sinais de antracnose em frutos de mamão causando lesões escuras circulares.....	145
Figura 3.3 – Estrutura do fungicida Tebuconazol utilizado como controle nos ensaios contra antracnose do mamão.....	148
Figura 3.4 – Colônias de <i>Colletotrichum</i> sp. após 6 dias de exposição aos diferentes compostos 5a-5z , na concentração de 1 mg mL ⁻¹ , e os controles DMSO diluído em água (Controle) e o fungicida tebuconazol (Fungicida).....	149
Figura 3.5 – Colônias de <i>Colletotrichum</i> sp. após 6 dias de exposição a diferentes moléculas (5a-5z), na concentração de 10 mg mL ⁻¹ , e os controles com DMSO diluído em água (Controle) e o fungicida tebuconazol (Fungicida).....	150
Figura 3.6 – <i>Boxplot</i> do halo de inibição (mm) das colônias de <i>Colletotrichum</i> sp. expostas aos compostos 5a-5z na concentração de 10 mg mL ⁻¹ em comparação aos controles DMSO diluído em água (controle) e o fungicida tebuconazol (Fung).....	150
Figura 3.7 – Estruturas dos compostos triazólicos 5x e 5e que apresentaram melhor efeito fungicida contra o <i>Colletotrichum</i> sp.....	153
Figura 3.8 – Gráfico com as médias dos grupos por cores, gerado pelo método de Scott-knott a 5% de probabilidade.....	154
Figura 4.1 – Ciclo de transmissão por vetores <i>Zika virus</i> e <i>Chikungunya virus</i>	164
Figura 4.2 – Estruturas dos compostos triazólicos 5b , 5e e 5f com atividade antiviral contra o vírus ZIKV.....	172
Figura 4.3 – Estruturas dos compostos triazólicos 5a , 5v , 5x e 5y com atividade antiviral contra o vírus ZIKV.....	173
Figura 4.4 – Controle de células: células não infectadas e não tratadas. Controle de vírus: células infectadas com ZIKV ou CHIKV e não tratadas. ZIKV ou CHIKV - Tratamento com eugenol: células infectadas com ZIKV ou CHIKV e tratadas com o eugenol. ZIKV – tratamento com 5e : células infectadas com ZIKV e tratadas com o composto 5e . ZIKV – tratamento com 5y : células infectadas com ZIKV e tratadas com o composto 5y . Aumento: 200x.....	174
Figura 4.5 – Estrutura do composto triazólico 5a derivado do eugenol com atividade antiviral em CHIKV.....	175
Figura 4.6 – Controle de células: células não infectadas e não tratadas. Controle de vírus: células infectadas com ZIKV ou e não tratadas. ZIKV ou CHIKV -Tratamento com Eugenol: células infectadas com ZIKV ou CHIKV e tratadas com o composto eugenol. CHIKV– tratamento com 5a : células infectadas com CHIKV e tratadas com o composto 5a . Aumento 200x.....	176

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 2.1 – Análise retrosintética para a síntese dos compostos 5a-5z	45
Esquema 2.2 – Sequência sintética proposta para a síntese dos compostos 5a-5z	46
Esquema 2.3 – Proposta mecanística para a síntese do (±)-1-((4-alil-2-metoxifenoxi)metiloxirano) (2).....	85
Esquema 2.4 – Proposta mecanística para a azidólise do (±)-1-((4-alil-2-metoxifenoxi)metiloxirano) (2) para a formação de 3	91
Esquema 2.5 – Método para a síntese do (prop-2-in-1-iloxi)benzeno (4y).....	97
Esquema 2.6 – Proposta de mecanística para a CTF envolvida na preparação do alquino 4y	98
Esquema 2.7 – Reação escolhida para estudo de otimização das condições da reação CuAAC.....	104
Esquema 2.8 – Equação geral para a reação de cicloadição 1,3-dipolar investigada por Husgein. O processo resulta na formação dos 1,2,3-triazóis-1,4 e 1,5 dissustituídos.....	105
Esquema 2.9 – Proposta do ciclo catalítico da reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por cobre (CuAAC). R corresponde a diferentes grupos aromático, alifáticos e alifáticos contendo o substituinte cloro.....	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Informações referentes à reação realizada para a síntese do composto 4z	53
Tabela 2.2 – Informações referentes às reações realizadas para a síntese dos compostos 5b-5z	57
Tabela 2.3 – Otimização das condições de reação entre a azida 3 e o alquino fenilacetileno.....	106
Tabela 3.1 – Valores médios por meio do método de Tukey do halo de inibição (mm) de colônias de <i>Colletotrichum</i> sp. expostas aos compostos 5a-5z e ao fungicida..	152
Tabela 3.2 – Valores médios obtidos pelo método de Scott-knott do halo de inibição (mm) de <i>Colletotrichum</i> sp. expostas ao fungicida e aos compostos 5a-5z	155
Tabela 4.1 – Valores de CC ₅₀ para o eugenol e os compostos 5a-5z obtidos por meio do ensaio de avaliação de citotoxicidade em células Vero empregando o método MTT.....	169
Tabela 4.2 – Valores de CC ₅₀ (concentração citotóxica), CE ₅₀ (concentração efetiva) e IS (índice de seletividade) para os compostos que apresentaram atividade antiviral contra o ZIKV.....	171
Tabela 4.3 – Valores de CC ₅₀ (concentração citotóxica), CE ₅₀ (concentração efetiva) e IS (índice de seletividade) para o composto 5a que apresentou atividade antiviral contra o CHIKV.....	175

LISTA DE ABREVIATURAS

CDCl_3	Clorofórmio deuterado
J	Constante de acoplamento escalar
CCD	Cromatografia em camada delgada
d	Dupleto
d_{ap}	Dupleto aparente
dd	Duplo dupleto
ddt_{ap}	Duplo duplo tripleto aparente
$\text{DMSO}-d_6$	Dimetilsulfóxido deuterado
δ	Deslocamento químico
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
MHz	Megahertz
m	Multipleto
$\bar{\nu}$	Número de onda
P.A.	Para análise
ppm	Partes por milhão
R_f	Fator de retenção
ATR	Reflectância Total Atenuada
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
t_{ap}	Tripleto aparente
T_f	Temperatura de fusão
$v\ v^{-1}$	Volume/volume

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1: APRESENTAÇÃO	20
1.1. INTRODUÇÃO	20
1.2. JUSTIFICATIVA E MOTIVAÇÃO DO TRABALHO	32
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO 2: SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO FRAGMENTOS 1,2,3 – TRIAZÓLICOS	38
2.1. INTRODUÇÃO	38
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.2.1. Generalidades Metodológicas	47
2.3. PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS	48
2.3.1. Síntese do (±)-1-((4-alil-2-metoxifenoxi)metiloxirano) (2)	48
2.3.2. Síntese do (±)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-azidopropan-2-ol (3)	49
2.3.3. Síntese dos alquinos terminais 4y e 4z	51
2.3.4. Síntese dos derivados triazólicos do eugenol 5a-5z	55
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	136
CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS DO EUGENOL CONTRA <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	142
3.1. INTRODUÇÃO	142
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	146
3.2.1. Replicação do fungo	146
3.2.2. Ensaio de Avaliação Fungicida	147
3.2.3. Análises Estatísticas	147
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	148
3.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157
CAPÍTULO 4: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIVIRAL DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS DO EUGENOL CONTRA OS VÍRUS ZIKA E CHIKUNGUNYA	161
4.1. INTRODUÇÃO	161
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	165
4.2.1. Células e Vírus	166
4.2.2. Ensaio de Avaliação de Citotoxicidade	166
4.2.3. Ensaio de avaliação de atividade antiviral global	167
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	168

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	176
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	181
ANEXO I – ESPECTROS.....	183
ANEXO II- PUBLICAÇÃO.....	253

CAPÍTULO 1

APRESENTAÇÃO

1.1. INTRODUÇÃO

O eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$, 4-alil-2-metoxifenol), cuja estrutura é mostrada na Figura 1.1, é uma substância natural encontrada em várias espécies de plantas tais como canela (*Cinnamomum* sp.), noz-moscada (*Myristica fragrans* Houtt) e craveiro da Índia (*Syzygium aromaticum* [L] Merr. et Perry).

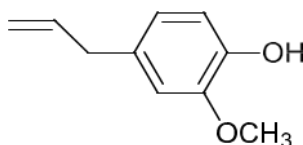


Figura 1.1- Estrutura do eugenol.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

O principal constituinte do óleo essencial do cravo-da-Índia é o eugenol (CRAVEIRO e QUEIROZ, 1993). O craveiro-da-Índia (Figura 1.2, **(A)**, p. 21) corresponde a uma planta arbórea, possuindo folhas largas e que pode atingir o tamanho de 8 a 10 m de altura. Esta espécie vegetal produz um fruto de cor avermelhada. O termo cravo-da-Índia refere-se ao botão floral seco do craveiro-da-Índia (Figura 1.2, **(D)**, p. 21).

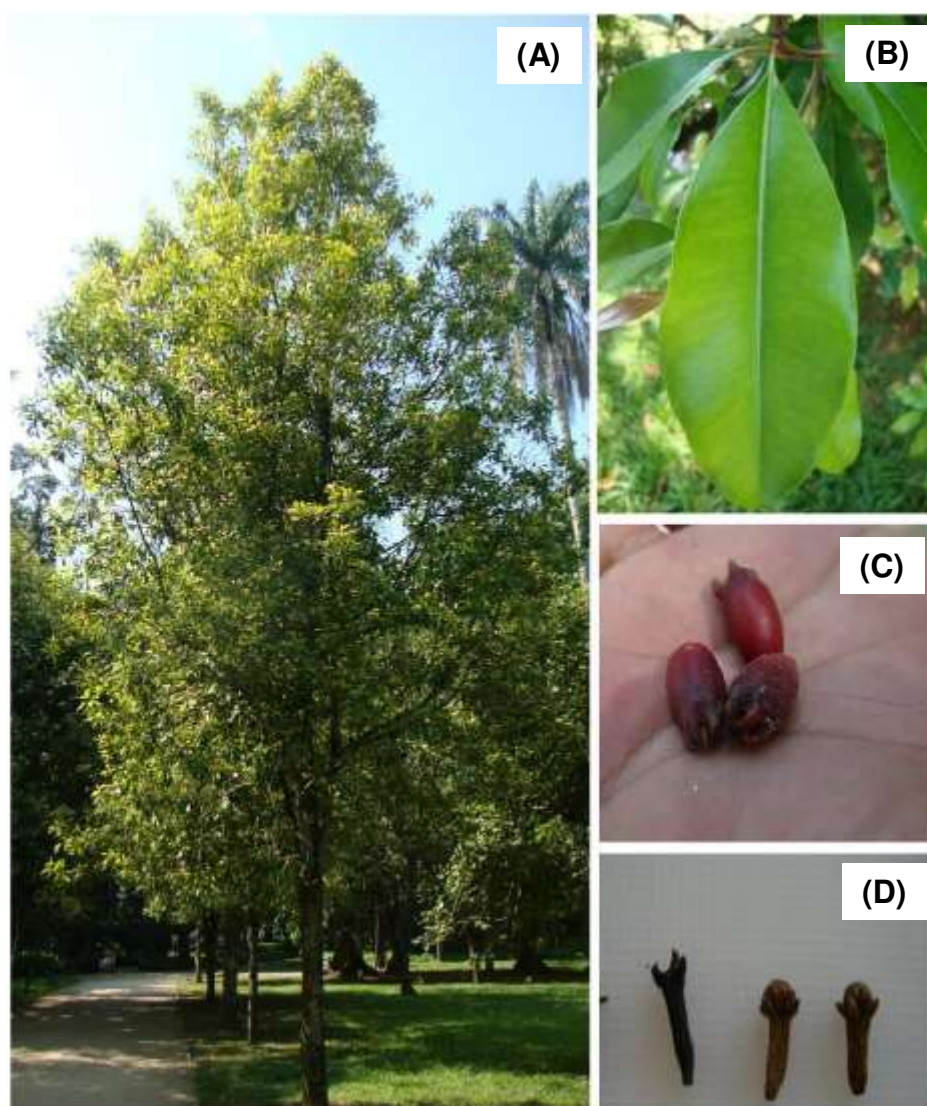


Figura 1.2. O craveiro-da-Índia. Árvore **(A)**, folhas **(B)**, frutos **(C)** e o cravo-da-Índia **(D)**.

Fonte: Affonso *et al.*, 2012.

O cravo-da-Índia é muito conhecido desde a antiguidade. Originário das Ilhas Molucas (atualmente pertencente à Indonésia), ele foi uma das primeiras especiarias a circular no mercado no início do século XVI como condimento alimentar. Nos séculos XVI e XVII, durante a peste negra, os médicos usavam dentro da máscara uma solução de vinagre com plantas aromáticas ricas em óleos essenciais, como canela, louro, cravo-da-índia, entre outros, para evitar contrair a doença. Essa

mistura ficou conhecida como “sinergia dos quatro ladrões”, uma vez, que ela era usada por assaltantes para entrar nas casas das pessoas para saqueá-las, sem contraírem a doença. Esta especiaria foi muito disputada entre os países europeus como Holanda e França (KAMATOU *et al.*, 2012).

No começo do século XIX, plantações de foram introduzidas nos países tropicais, dentre eles o Brasil (MANON, 2002). No Brasil, o cravo-da-Índia é produzido no estado da Bahia, principalmente nas cidades de Valença, Ituberá, Taperoá, Camamu e Nilo Peçanha (AFFONSO *et al.*, 2012).

O eugenol é o principal constituinte do óleo essencial do cravo-da-Índia. Do botão do cravo-da-Índia pode-se extrair até 17% de óleo essencial e do talo que o acompanha de 4,5 a 6%. O óleo pode conter até 90% de eugenol, tendo como segundo maior constituinte o β -cariofileno (Figura 1.3) (CRAVEIRO e QUEIROZ, 1993; AFONSO *et al.*, 2012).

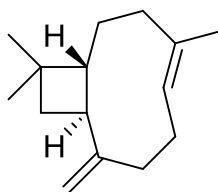


Figura 1.3. Estrutura do β -cariofileno.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Várias são as propriedades e atividades biológicas relacionadas ao eugenol. Por exemplo, há mais de 2000 anos a indústria alimentícia vem utilizando as propriedades antioxidante, antibacteriana e antifúngica do eugenol. Comparado aos antioxidantes sintéticos, o eugenol apresenta a importante vantagem de apresentar menor toxicidade. O eugenol é conhecido por inibir radicais livres envolvidos na peroxidação lipídica (GUHA e PRIYADARSINI, 1999).

Pesquisas evidenciaram o uso do eugenol como conservante de pães, vegetais, frutas, produtos a base de carne, além de sua comprovada eficácia como repelente e inseticida contra pragas de alimentos estocados. Porém, a volatilidade apresentada por este composto gera dificuldades na sua utilização. Dessa forma, estudos estão sendo realizados para o uso do eugenol nas embalagens de alimentos, resultando na obtenção de embalagens ativas que não só exercem proteção física para o alimento, mas também conservação do mesmo (MURATORE *et al.*, 2019).

Uma das muitas utilidades do eugenol é no alívio da dor de origem dentária, uma vez que ele é um bloqueador da condução nervosa, capaz de diminuir a transmissão sináptica neuromuscular. Estudos conduzidos com o eugenol mostraram também sua capacidade de inibir a síntese das prostaglandinas, fato este que está relacionado ao seu efeito analgésico e anestésico (ESCOBAR, 2002). Recentemente, pesquisadores prepararam nanocápsulas carregadas de eugenol para serem testadas contra infecções periodontais. Os resultados obtidos mostraram que as nanocápsulas podem ser úteis nos tratamentos destas infecções (PRAMOD *et al.*, 2016).

Investigações têm demonstrado que o eugenol pode ser utilizado para diminuir riscos relacionados a alguns tipos de cânceres. Este composto, juntamente com outras substâncias de origem natural presentes em frutas e vegetais, demonstra eficiência em reduzir tanto a proliferação de células cancerígenas como fatores de crescimento destas células (DORAI e AGGARWAL, 2004).

Estudos preliminares recentes demonstraram, a eficiência do eugenol contra *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, também conhecida como superbactéria, sendo esta um tipo de bactéria resistente a maioria dos antibióticos disponíveis no

mercado, que ao entrar no organismo é capaz de gerar infecções graves, como, por exemplo, pneumonia ou meningite. O mecanismo de ação do eugenol contra *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase ainda não é conhecido. O objetivo dos pesquisadores nesse estudo foi de obter maiores informações sobre o efeito antibacteriano do eugenol contra *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase e o possível modo de ação. Nesse estudo, o eugenol danificou a membrana celular do CRKP, conforme evidenciado pela diminuição da concentração intracelular de ATP, redução da pH_{ina} e hiperpolarização da membrana celular, juntamente com aumento da permeabilidade da membrana. O eugenol comprometeu a estrutura celular e induziu a perda de componentes intracelulares de CRKP. Além disso, ele inibiu a formação de biofilme e inativou as células CRKP do biofilme. Tem-se que o eugenol apresentou fortes efeitos inibitórios na formação de biofilme e na expressão gênica associada ao biofilme (QIAN *et al.*, 2020).

Faria e colaboradores avaliaram a atividade antifúngica de amostras de óleos essenciais obtidos de *Ocimum gratissimum* L. Nestes óleos, o componente majoritário correspondeu ao eugenol. Determinou-se que estes óleos possuem significativa atividade frente a *Alternaria* isolada de tomate e *Penicillium chrysogenum* (FARIA *et al.*, 2006).

Um número variado de atividades biológicas relacionadas ao eugenol está descrita na literatura, a saber: inseticida (MACIEL *et al.*, 2010); antifúngica (FARIA *et al.*, 2006); anti-inflamatória (KIM *et al.*, 2003); espasmolítica, antisséptica, antipirética (FENG e LIPTON, 1987); antioxidante (GUHA e PRIYADARSINI, 1999; ABRAHAM, 2001); neuroprotetora (KABUTO *et al.*, 2007); analgésica, anestésica (ESCOBAR, 2002); leishmanicida (BOZOROV *et al.*, 2019; RAZZAGHI-ASL *et al.*, 2019;

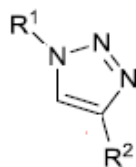


Figura 1.5. Estrutura geral dos compostos 1,2,3-triazólicos 1,4-dissubstituídos. R¹ e R² são diferentes substituintes.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

O eugenol têm sido funcionalizado com fragmentos 1,2,3-triazólicos visando à obtenção de compostos bioativos pelo nosso grupo de pesquisa (Grupo de Síntese e Pesquisa de Compostos Bioativos – GSPCB). Nos trabalhos descritos a seguir, a funcionalização do eugenol com núcleos 1,2,3-triazóis resultou na obtenção de uma série de vinte e seis derivados cujos efeitos sobre as formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* foram avaliados (GAZOLLA, 2015; TEIXEIRA *et al.*, 2018). Os derivados apresentaram atividade sobre as formas promastigotas de *L. amazonensis* com diferentes graus de eficiência. O composto mais ativo, a saber, 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol (**I**) (Figura 1.6, p. 27), foi o mais efetivo em inibir o crescimento das formas promastigotas, com IC₅₀ igual a 7,4 µmol L⁻¹. Quando testado contra as formas amastigotas, este derivado apresentou IC₅₀ igual a 1,6 µmol L⁻¹. Além disso, o composto **I** também foi testado contra macrófagos. Este tipo de célula é utilizado em ensaios de avaliação de atividade leishmanicida frente às formas amastigotas de parasitos do gênero *Leishmania*. O valor de IC₅₀ correspondente à inibição do crescimento celular de macrófagos quando tratados com o derivado **I** foi igual a 221,9 µmol L⁻¹. Com base nos valores de IC₅₀ de **I** obtidos durante a avaliação de seus efeitos frente aos macrófagos e contra as formas amastigotas, o índice de seletividade para **I** foi igual a 132,5. Deve ser destacado que o derivado **I** foi mais ativo frente a *L. amazonensis* do que o glucantime que é o fármaco de primeira linha

utilizado no tratamento da leishmaniose. Os dados brevemente descritos mostram o potencial da utilização do eugenol em combinação com fragmentos 1,2,3-triazólicos para a obtenção de compostos com importantes atividades leishmanicida.

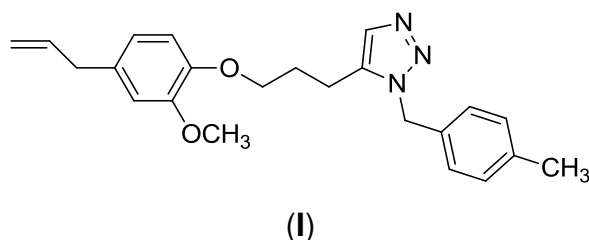


Figura 1.6. Estrutura do derivado I do eugenol que apresentou os melhores resultados em testes de avaliação de atividade leishmanicida frente a *Leishmania amazonensis* (GAZOLLA, 2015; TEIXEIRA *et al.*, 2018).

Fonte: Elaborada pela própria autora.

A conversão do eugenol em derivados contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa (GSPCB) e posterior avaliação da citotoxicidade destes, resultou na identificação de cinco derivados que significativamente reduziram a viabilidade da linhagem leucêmica mieloide HL60. A subsequente avaliação destes derivados mais ativos mostrou que três deles apresentaram atividade contra a linhagem leucêmica linfóide Nalm6, enquanto que apenas um derivado apresentou citotoxicidade contra a linhagem de melanoma metastático murino B16F10 (GAZOLLA *et al.*, 2018).

Uma discussão detalhada a respeito dos 1,2,3-triazóis será apresentada no Capítulo 2. No entanto, neste ponto, é importante mencionar que compostos contendo este tipo de fragmento estrutural (o anel 1,2,3-triazol) apresentam diversas bioatividades, dentre elas, antiviral (ABUDUAINI *et al.*, 2021) e fungicida (SHALINI *et al.*, 2011).

Oliveira e colaboradores (2019) avaliaram estruturas derivadas da união entre o eugenol e fragmentos 1,2,3-triazólicos contra a protease NS2B-NS3 do West Nile Virus (WNV) sintetizadas pelo nosso grupo de pesquisa (GSPCB). O composto 4-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)propil)-1-(2-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol. (II) (Figura 1.7, p.28) correspondeu ao mais promissor apresentando $IC_{50} = 6,86 \mu\text{mol L}^{-1}$. Além da atividade biológica, estudos de *docking* molecular sugeriram que o mecanismo de inibição depende das interações do composto II com os resíduos de aminoácido His51, Thr134, Ser135 e Tyr161. Além disso, este composto ocupa o *pocket* S1 do sítio catalítico da protease NS2B-NS3. A substância II foi avaliada contra os sorotipos do vírus da Dengue DENV-1-4 e demonstrou-se apresentar efeito sobre todos os sorotipos, com valores de IC_{50} variando de 14,17 – 46,57 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Esse trabalho resultou em importantes informações para o desenvolvimento de inibidores de protease de flavivírus por meio do desenho racional de novos inibidores (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

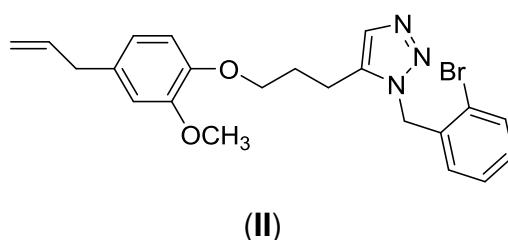


Figura 1.7. Estrutura do derivado II do eugenol que apresentou os melhores resultados em testes de avaliação de atividade antiviral frente a protease NS2B-NS3 (WNV) (OLIVEIRA *et al.*, 2019) e contra os sorotipos DENV 1-4.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

O reino *Fungi* corresponde a um grande grupo de organismos eucariotas, cujos membros são chamados fungos, que inclui micro-organismos tais como as leveduras e bolores, bem como os mais familiares cogumelos. Uma grande

variedade de fungos causam diversos problemas à saúde do homem, de animais e de plantas. Como consequência deste fato, é necessário o controle destas espécies de fungos patogênicas e fitopatogênicas. Tipicamente, o controle de fungos é realizado por meio de substâncias químicas denominadas de fungicidas. Dentre as classes de fungicidas conhecidas, mencionam-se os fungicidas triazólicos. Estes se caracterizam pela presença de anéis triazóis em suas estruturas, como mostrado a seguir (Figura 1.8) para as estruturas dos principais membros pertencentes a esta classe (SHALINI *et al.*, 2011).

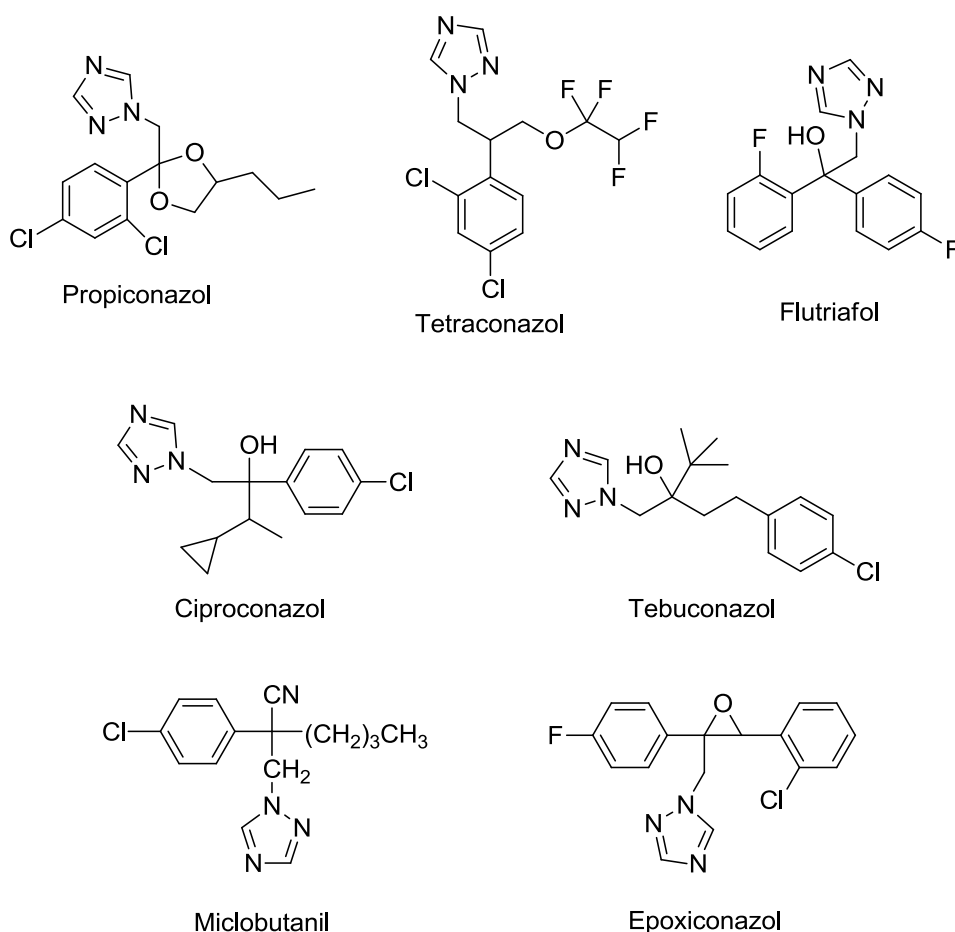


Figura 1.8. Estruturas de fungicidas triazóis.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Conforme pode ser observado na Figura 1.8 (p.29), as estruturas dos princípios ativos triazólicos que veem sendo amplamente utilizados no controle de espécies fúngicas apresentam o fragmento 1,2,4-triazol.

Uma vez que substâncias triazólicas vêm sendo utilizadas para o controle de doenças fúngicas, uma ideia natural a ser implementada em programas de pesquisa que buscam novos compostos para o controle de fungos seria avaliar o efeito fungicida de compostos com fragmentos 1,2,3-triazólicos. Estudos desta natureza podem resultar na obtenção de novos princípios ativos que sejam ainda mais eficientes que os atuais triazóis empregados para o controle de fungos. Esforços neste sentido têm sido descritos na literatura. Por exemplo, Costa e colaboradores (2020) descreveram recentemente a preparação de uma série de 1,2,3-triazóis derivados do glicerol (estrutura geral mostrada na Figura 1.9).

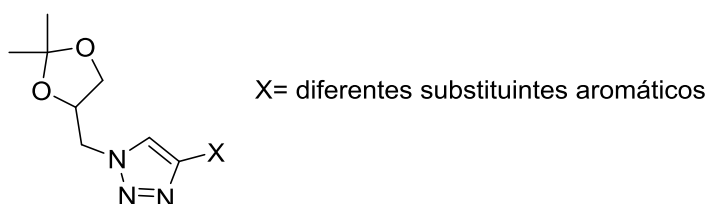


Figura 1.9. Estrutura geral dos 1,2,3-triazóis derivados do glicerol preparados por Costa e colaboradores (2020).

Fonte: Elaborada pela própria autora.

A avaliação dos compostos sintetizados frente ao fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (causador da antracnose do mamão) revelou que os compostos possuem eficiência similar ao fungicida tebuconazol (usado como controle positivo nos ensaios) em inibir a esporulação da espécie fúngica (COSTA *et al.*, 2020).

Outro exemplo corresponde à preparação de derivados da fenil hidrazona com fragmentos 1,2,3-triazólicos. A atividade antifúngica dos compostos sintetizados

foi avaliada frente às espécies fitopatogênicas *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium graminearum* e *Phytophthora capsici*. Dentre vinte e seis compostos sintetizados, a substância **III** mostrada na Figura 1.10 (p. 31) foi aquela que apresentou os melhores resultados de atividade antifúngica (valores de EC₅₀ iguais a 0,18; 2,28; 1,01 e 1,85 µg mL⁻¹ frente, respectivamente a *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium graminearum* e *Phytophthora capsici*). Os compostos avaliados apresentaram menor eficiência que o fungicida comercial carbendazin empregado como controle positivo (DAI *et al.*, 2015).

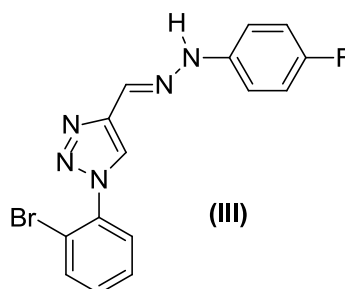


Figura 1.10. Estrutura do derivado **III** da fenil hidrazona mais ativo contra as espécies *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium graminearum* e *Phytophthora capsici* conforme descrito por Dai e colaboradores (2015).

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Como um último exemplo, menciona-se o trabalho reportado por Aher e colaboradores (2009) que sintetizaram análogos ao fluconazol, mas contendo núcleos 1,2,3-triazóis. Na Figura 1.11 (p. 32) estão apresentadas as estruturas **IV**, **V** e **VI** dos compostos que contra *Candida* foram mais ativos que os controles positivos fluconazole e anfotericina B. Experimentos *in vivo* realizados com camundongos linhagem swiss demonstraram ainda que o composto **VI** foi capaz de diminuir em 97,4% a carga fúngica nos animais.

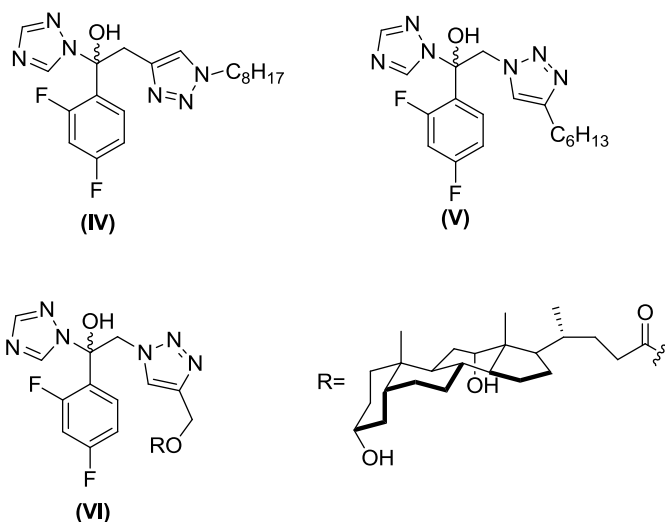


Figura 1.11 – Estruturas dos compostos **IV**, **V** e **VI** sintetizados por Aher e colaboradores (2009).

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Os exemplos descritos anteriormente mostram a viabilidade de se utilizar compostos com fragmentos 1,2,3-triazóis na pesquisa por novos agentes antifúngicos.

1.2. JUSTIFICATIVA E MOTIVAÇÃO DO TRABALHO

Diversos estudos já evidenciaram a gama de atividades biológicas apresentadas pelo eugenol, assim como sua importância como material de partida em síntese orgânica. Pesquisadores buscam fazer modificações nas estruturas de substâncias bioativas, como o eugenol, com vistas à obtenção de novos compostos com potencialização das bioatividades já observadas.

Conforme apresentado anteriormente, estudos recentes mostraram que a associação entre o eugenol e fragmentos 1,2,3-triazólicos resultou em substâncias apresentando atividades antivirais contra a protease NS2B-NS3 do West Nile Virus (WNV). Os resultados deste trabalho mostram potencialidade da união dos fragmentos eugenol e 1,2,3-triazol na prospecção de novos compostos apresentando atividades antivirais. Conforme também destacado, compostos

contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos vêm sendo avaliados do ponto de vista de atividade antifúngica com importantes resultados sendo obtidos. Dentro deste contexto, o presente trabalho objetivou a síntese e avaliação das atividades antivirais e fungicida de novos compostos resultantes da união do eugenol a fragmentos 1,2,3-triazólicos. A estrutura geral dos compostos que foram sintetizados e avaliados com respeito às atividades mencionadas é mostrada na Figura 1.12.

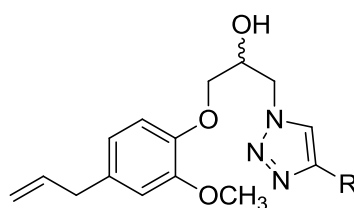


Figura 1.12. Estrutura geral dos compostos derivados do eugenol que foram sintetizados. R= diferentes substituintes.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, S.K. Anti-genotoxicity of trans-anethole and eugenol in mice. *Food and Chemical Toxicology*, v. 39, p. 493-498, 2001.
- ABUDUAINI, T.; ROY, V.; MARLET, J.; GAUDY-GRAFFIN, C.; BRAND, D.; BARONTI, C.; TOURET, F.; COUTARD, B.; MCBRAYER, T. R.; SCHINAZI R. F.; AGROFOGLIO L. A. Synthesis and Antiviral Evaluation of (1,4-Disubstituted-1,2,3-Triazol)-(E)-2-Methyl-but-2-Enyl Nucleosid Phosphonate Prodrugs. *Molecules*. v.26, p. 1493-1510, 2021.
- AHER, N. G.; PORE, V. S.; MISHRA, N. N.; KUMAR, A.; SHUKLA, P. K. SHARMA, A.; BHAT, M. K. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.19, p. 759–763, 2009.

- AFFONSO, R. S.; RENNO, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. *Revista Virtual de Química*, v. 4, p. 146-161, 2012.
- BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1,2,3-triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: a recent overview. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 27, p. 3511-3531, 2019.
- COSTA, A. V.; MOREIRA, L. C.; PINTO, R. T.; ALVES, T. A.; SCHWAN, V. V.; QUEIROZ, V. T.; PRAÇA-FONTES, M. M.; TEIXEIRA, R. R.; MORAIS, P. A. B.; JÚNIOR, W. C. J. Synthesis of glycerol-derived 4-alkyl-substituted 1,2,3-triazoles and evaluation of their fungicidal, phytotoxic, and antiproliferative activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 31, p. 821-832, 2020.
- CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. *Química Nova*, v. 16, p. 224-228, 1993.
- DAI, Z. -C.; CHEN, Y. -F.; ZHANG, M.; LI, S. -K.; YANG, T. -T.; SHENK L.; WANG, J. -X.; OIAN, S. -S.; YE, Y. -H. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole phenylhydrazone derivatives. *Organic and Biomolecular Chemistry*, v.13, p. 477-486, 2015.
- DORAI, T.; AGGARWAL, B. B. Role of chemopreventive agents in cancer therapy. *Cancer Letters*, v. 215, p. 129-140, 2004.
- ESCOBAR, R. G. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. *Revista Cubana Estomatol*, v. 39, p. 139-156, 2002.
- FARIA, T. J.; FERREIRA, R. S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J. R. P.; ISHIKAWA, N. K.; BARBOSA, A. M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 49, p. 867-871, 2006.

- FENG, J; LIPTON, J. M. Eugenol: antipyretic activity in rabbits. *Neuropharmacology*, v.26, p.1775-1778, 1987.
- GAZOLLA. Poliana A. R. Síntese e avaliação das atividades citotóxica e leishmanicida de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. 2015. 260f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- GAZOLLA, P. A. R.; TEIXEIRA, R. R.; DA SILVA, A. M.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; SIQUEIRA, R. P.; GONÇALVES, V. H. S.; PEREIRA, H. S.; BRESSAN, G. C. Síntese e avaliação da atividade citotóxica de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. *Química Nova*, v. 41, p. 497-506, 2018.
- GUHA, S. N.; PRIYADARSINI, K. I. Kinetic and redox characteristics of phenoxyl radicals of eugenol and isoeugenol: A pulse radiolysis study. *International Journal Chemical Kinetics*, v. 32, p. 17-23, 1999.
- KABUTO, H., Tada, M., KOHNO, M. Eugenol [2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression and lipid peroxidation inductivity in mouse striatum. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 30, p. 423-427, 2007.
- KAMATOU, G. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M. Eugenol – From the remote Maluku islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, v. 17, p. 6953-6981, 2012.
- KAUFMAN, T. S. The Multiple Faces of Eugenol. A versatile starting material and building block for organic and bio-organic synthesis and a convenient precursor toward bio-based fine chemicals. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 26, p. 1055-1085, 2015.

- KIM, S. S.; OH, O. J.; MIN, H. Y.; PARK, E. J.; KIM, Y.; PARK, H. J.; NAMHAN, Y.; LEE, S. K. Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells. *Life Science*, v. 73, p. 337-48, 2003.
- MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SILVA, R. A.; BARROS, R. S.; SOUSA, R. N.; SOUSA, L. C.; BRITO, E. S.; SOUZA-NETO, M. A. Chemical composition of Eucalyptus spp. Essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary Parasitology*, v. 167, p. 1-7, 2010.
- MURATORE, F.; GOÑI, M. L.; STRUMIA, M. C.; BARBOSA, S. E.; GAÑAN, N. A.; MARTINI, R. E. Eugenol as an active component in food packaging materials. In: Megan Shelton. (Org.). Eugenol: Biosynthesis, Toxicity and Uses. *Nova Science Publisher*, New York, p. 1-48, 2019.
- OLIVEIRA, A. S.; GAZOLLA, P. A. R.; OLIVEIRA, A. F. C. S.; PEREIRA, W. L.; VIOL, L. C. S.; MAIA, A. F. S.; SANTOS, E. G.; SILVA, I. E. P.; MENDES, T. A. O.; SILVA, A. M.; DIAS, R. S.; SILVA, C. C.; POLÊTO, M. D.; TEIXEIRA, R. R.; PAULA, S. O. Discovery of novel West Nile Virus protease inhibitor based on isobenzonafuranone and triazolic derivatives of eugenol and indan-1,3-dione scaffolds. *Plos One*. v.14, e0223017. 2019.
- PRAMOD, K. AJI ALEX, M. R.; SINGH, M.; DANG, S.; ANSARI, S. H.; ALI, J. Eugenol nanocapsule for enhanced therapeutic activity against periodontal infections. *Journal of Drug Targeting*. v. 24, p. 24-33, 2016.
- QIAN, W.; SUNA, Z.; WANGA, T.; YANGA, M.; LIUA, M.; ZHANGA, J.; LI, Y. Antimicrobial activity of eugenol against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and its effect on biofilms. *Microbial Pathogenesis*. v. 139, p. 1-9, 2020.

- RAZZAGHI-ASL, N.; SEPEHRI, S.; EBADI, A.; KARAMI, P.; NEJATKHAH, N.; JOHARI-AHAR, M. Insights into the current status of privileged *N*-heterocycles as antileishmanial agents. *Molecular Diversity*, v. 24, p. 525-569, 2020.
- RODRIGUES, Michelle Peixoto. Síntese e avaliação de bioatividades de derivados do ácido cinâmico contendo o núcleo 1,2,3-triazólico. 2015. 259f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- SHALINI, K.; KUMAR, N.; DRABU, S.; SHARMA, P. K. Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles. *Beilstein Journal Organic Chemistry*. v.7, p. 668–677, 2011.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; DA SILVA, A. M.; BORSODI, M. P. G.; BERGMANN, B. R.; FERREIRA, R. S.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; LIMA, W. P. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 146, p. 274-286, 2018.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; SILVA, S. F.; AGUIAR, A.R.; COSTA, A. V. Antiprotozoal activity of eugenol and derivatives. In: Megan Shelton. (Org.). *Eugenol: Biosynthesis, Toxicity and Uses*. Nova Science Publisher, New York, p. 49-78, 2019.
- ZHANG, B. Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1,2,3-triazole hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 168, p. 357-372, 2019.

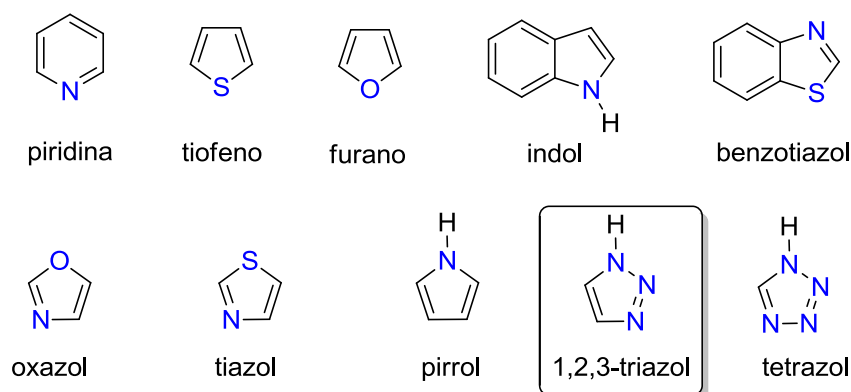
CAPÍTULO 2

SÍNTESE DE NOVOS DERIVADOS DO EUGENOL CONTENDO FRAGMENTOS 1,2,3 - TRIAZÓLICOS

2.1 INTRODUÇÃO

As substâncias heterocíclicas são compostos que possuem um anel, do qual fazem parte pelo menos dois tipos diferentes de átomos (IUPAC, 2006), estão entre as mais abundantes substâncias orgânicas e desempenham papel importante em diferentes áreas da química (ARORA *et al.*, 2012; QUIN e TYRREL, 2010). Os chamados heteroátomos mais comuns que fazem parte da composição dos heterociclos são enxofre, oxigênio e nitrogênio. As estruturas de diferentes heterociclos estão representadas na Figura 2.1 (p. 39).

Heterociclos aromáticos



Heterociclos não aromáticos

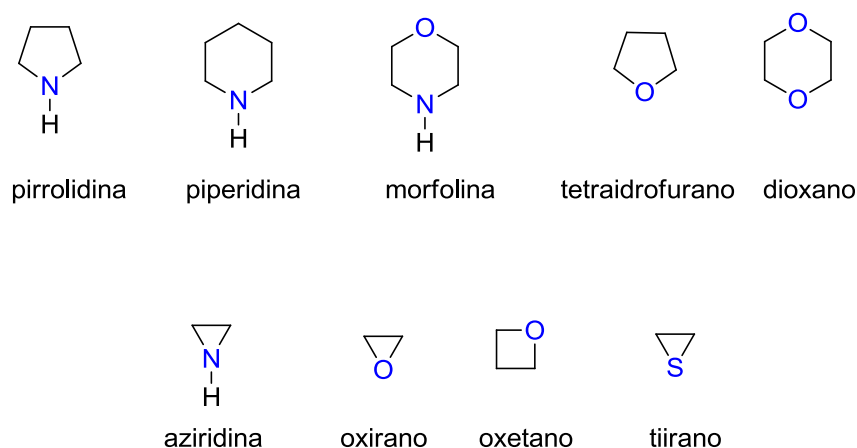
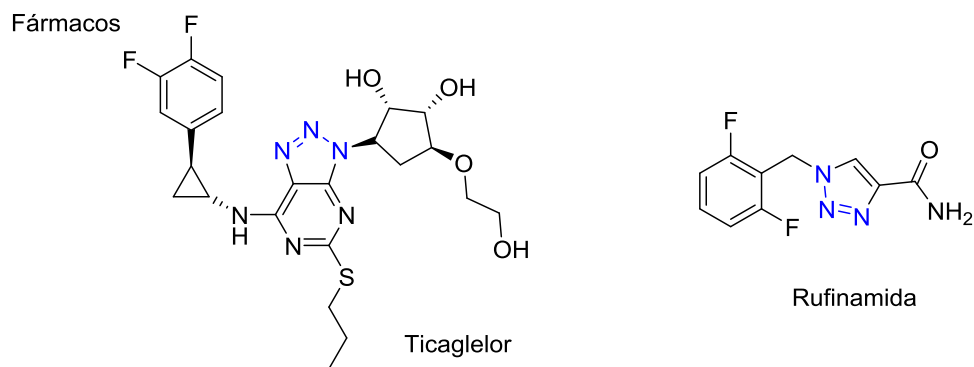


Figura 2.1 – Exemplos de heterociclos. Espécies heterocíclicas aromáticas e não aromáticas estão apresentadas. Os heteroátomos estão mostrados em azul e o 1,2,3-triazol encontra-se destacado.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Os 1,2,3-triazóis (destacados na Figura 2.1) são substâncias heterocíclicas aromáticas de cinco membros e possuem três átomos de nitrogênio em suas estruturas. São compostos que vêm sendo estudados por vários anos e continuam atraindo a atenção de pesquisadores devido às possibilidades de aplicação destas substâncias como, por exemplo, organocatalisadores (YAN *et al.*, 2006;

CHANDRASEKAR *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2008; ZAMITT e WILLS, 2013) líquidos iônicos (YOSHIDA *et al.*, 2012), na química supramolecular (SCHULZE e SHUBERT, 2014) e como blocos construtores para obtenção de moléculas mais complexas (BAI *et al.*, 2010; DONDONI, 2007). Os compostos contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos possuem um número variado de atividades biológicas (BOZOROV *et al.*, 2019; DHEER *et al.*, 2017), dentre elas citotóxica (GAZOLLA *et al.*, 2018), leishmanicida (RAZZAGHI-ASL *et al.*, 2019; TEIXEIRA *et al.*, 2019), tripanocida (TEIXEIRA *et al.*, 2019), antimalárica (TEIXEIRA *et al.*, 2019), bactericida (ZHANG, 2019), antituberculosa (FERNANDES *et al.*, 2019) e antiviral (NIU *et al.*, 2019). Há 1,2,3-triazóis aprovados para uso clínico e outros que são candidatos a fármacos (JIANG *et al.*, 2019), Figura 2.2 (p. 41).



Candidatos a fármacos

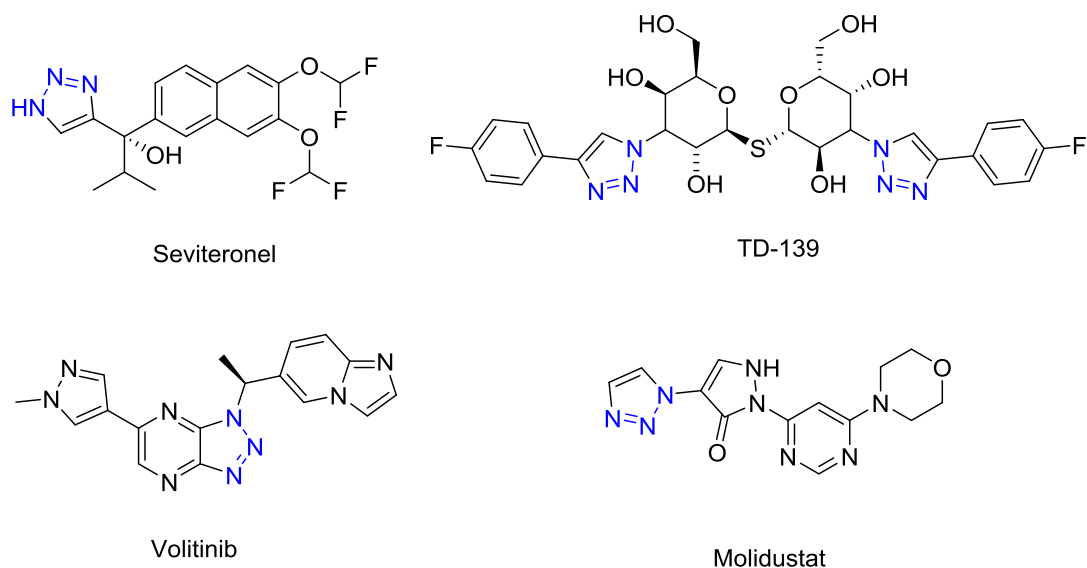


Figura 2.2 – Fármacos e exemplos de candidatos a fármacos contendo o anel 1,2,3-triazol. Os átomos de nitrogênio que fazem parte do fragmento 1,2,3-triazol estão destacados em azul.

Fonte: Adaptado de JIANG *et al.*, 2019.

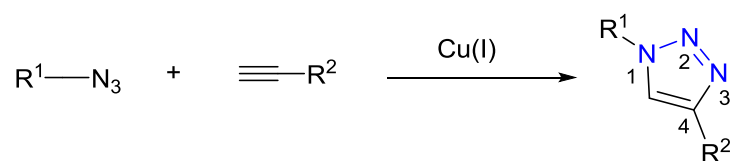
Os compostos triazólicos são de origem exclusivamente sintética. A reação de cicloadição (C) 1,3-dipolar entre um alcino (A) e uma azida orgânica (A) catalisada por cobre (Cu(I)), também chamada reação CuAAC, tem sido a metodologia usualmente empregada para a preparação de 1,2,3-triazóis (HUSGEIN, 1963). Na

literatura, a reação CuAAC é também conhecida como reação “click” (BARRY *et al.*, 2001).

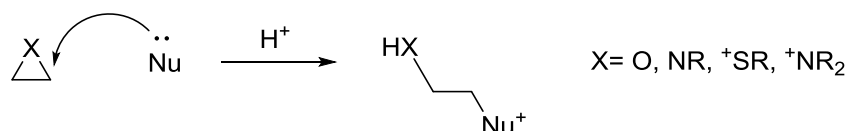
O termo química “click” foi proposto por Barry Sharpless e colaboradores em 2001. De acordo com estes pesquisadores, processos “click” são reações favoráveis do ponto de vista termodinâmico, de grande aplicabilidade e que são capazes de conectar duas moléculas sem grandes esforços e com altos rendimentos. Ainda de acordo com o conceito de química click, as reações devem: ser de fácil condução, apresentar alta seletividade, ocorrer de maneira rápida, gerar produtos secundários inofensivos (e que possam ser facilmente removidos e se possível sem o uso de cromatografia), ser realizadas sem solvente ou empregando solventes atóxicos (SING *et al.*, 2016; RAMAPANICKER e CHAUHAN, 2016; FREITAS *et al.*, 2011).

Reações como cicloadição, substituição nucleofílica e adição à dupla carbono-carbono (Figura 2.3, p. 43) são exemplos de reações “click” (MOSES e MOORHOUSE, 2007). Dentre as reações categorizadas como processos “click”, a reação CuAAC que resulta na formação regioespecífica de 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos (Figura 2.3, a, p. 43) é uma das mais relevantes.

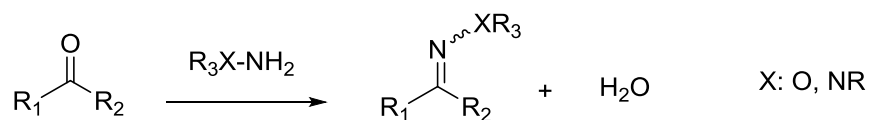
a) Reação CuAAC



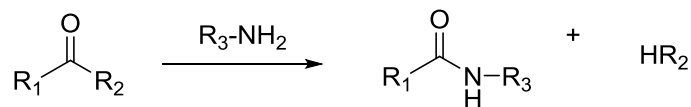
b) Abertura de anéis promovidas por nucleófilos



c) Reações não aldólicas envolvendo compostos carbonílicos



Formação de hidrazona/oxima éter



Formação de amida/isouréia

d) Adições a ligações múltiplas entre carbonos

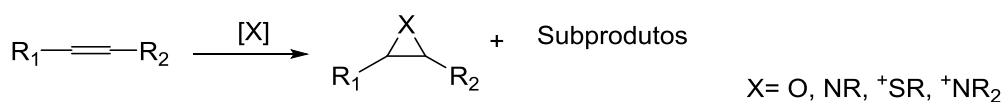
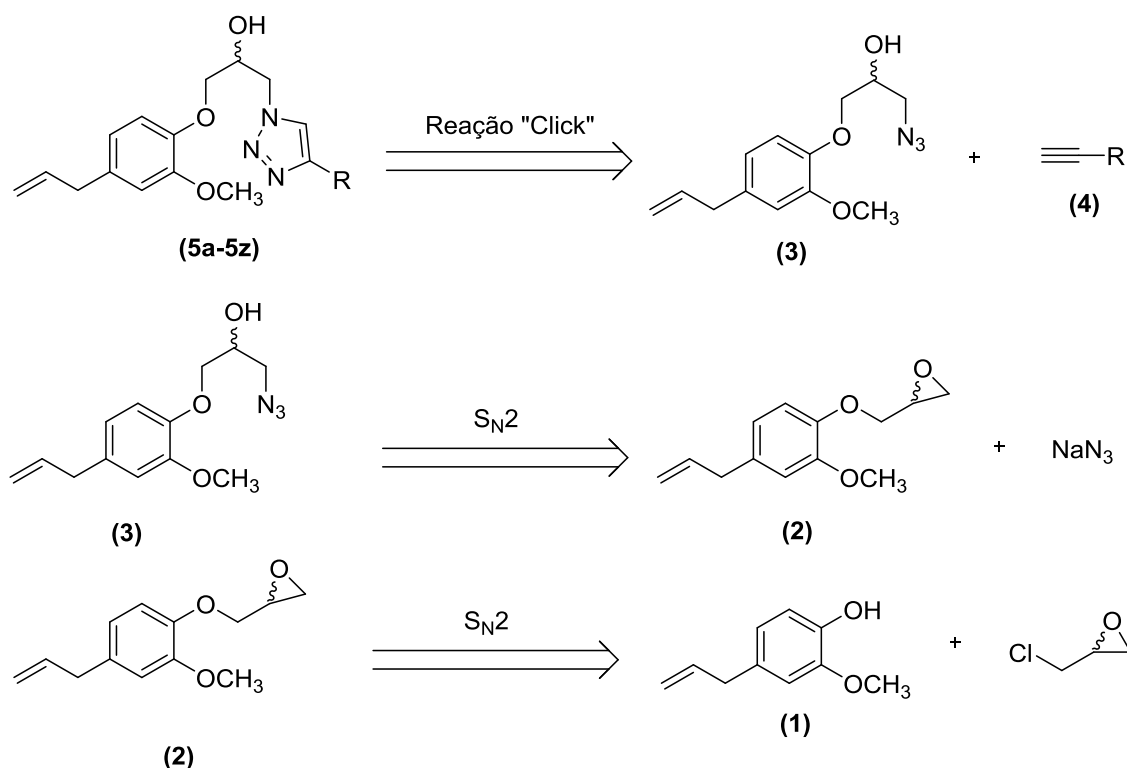


Figura 2.3 – Exemplos de reações “click”.

Fonte: Adaptado de HEIN *et al.*, 2008.

Considerando a reação CuAAC, diversos são os exemplos descritos na literatura de aplicação desta transformação (SING *et al.*, 2016), incluindo na síntese de compostos bioativos. Conforme descrito no Capítulo 1, um dos objetivos deste

No Esquema 2.1 está representada a análise retrossintética para a obtenção dos compostos **5a-5z**, contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos e derivados do eugenol (**1**).

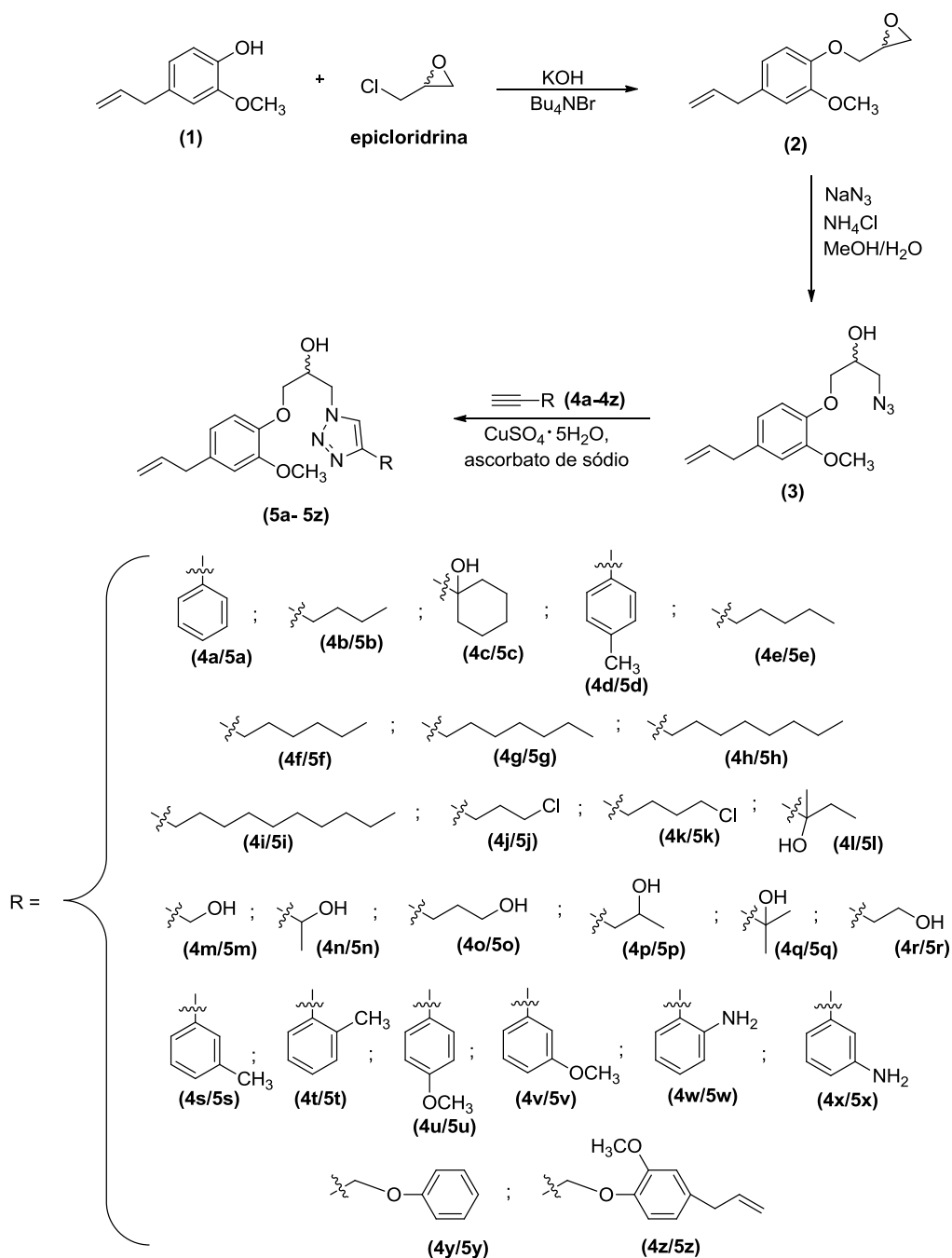


Esquema 2.1 – Análise retrossintética para a síntese dos compostos **5a-5z**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para a síntese dos compostos **5a-5z**, planejou-se a utilização de reações “click” (reações CuAAC) entre a azida **3** e diferentes alquinos terminais **4** (GAZOLLA, 2015). A obtenção da azida **3** foi idealizada a partir da reação S_N2 entre o epóxido **2** e azida de sódio. A reação entre o eugenol (**1**) e a epícloridrina foi a transformação planejada para a obtenção do epóxido **2**.

Com base na análise retrossintética, foi desenvolvida a sequência sintética mostrada no Esquema 2.2 (p. 46) para preparar as substâncias de estrutura **5a-5z**.



Esquema 2.2 – Sequência sintética proposta para a síntese dos compostos **5a-5z**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Salienta-se que os alquinos terminais **4a-4x** foram adquiridos comercialmente enquanto que **4y** e **4z** foram preparados conforme descrito na seção 2.3.3 (p. 51).

Nas seções subsequentes serão apresentados os detalhes referentes às etapas que resultaram na obtenção dos compostos **5a-5z**.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Generalidades Metodológicas

Os reagentes utilizados para a síntese dos compostos foram de grau P.A. e foram utilizados sem nenhuma prévia purificação, exceto o eugenol (**1**) que foi purificado por meio de coluna cromatográfica de sílica-gel (70-230 mesh) utilizando o eluente hexano-acetato de etila na proporção 3:1 v v⁻¹.

As substâncias azida de sódio, epícloridrina, sulfato de cobre pentaidratado, ascorbato de sódio, brometo de tetrabutílamônio, hidróxido de potássio, cloreto de amônio, fenilacetileno, hex-1-ino, hept-1-ino, oct-1-ino, non-1-ino, dec-1-ino, dodec-1-ino, 5-cloropent-1-ino, 6-cloroex-1-ino, 1-etinil-1-cicloexanol, 1-metil-1-pentin-3-ol, álcool propargílico, but-3-in-2-ol, pent-4-in-1-ol, pent-4-in-2-ol, 2-metilbut-3-in-2-ol, but-3-in-1-ol, 2-etiniltolueno, 3-etiniltolueno, 4-etiniltolueno, 4-etinilanisol, 3-etinilanisol, 2-etinilanilina, 3-etinilanilina, fenol e álcool 4-metilbenzílico foram adquiridas comercialmente da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos). Os solventes diclorometano, metanol, acetona, hexano, acetato de etila foram adquiridos da Êxodo Científica (Sumaré, São Paulo, Brasil), sendo que os dois últimos citados foram utilizados após destilação.

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio. Após eluição, as placas de CCD foram observadas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254$ nm), e também sendo realizada revelação por agente químico por meio da solução de

permanganato de potássio (20 g de K_2CO_3 , 3 g de $KMnO_4$, 5 mL de NaOH 5% m v⁻¹, 300 mL de H_2O destilada).

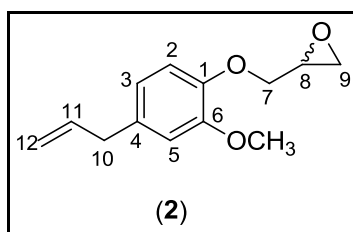
Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660 (Palo Alto, Califórnia, Estados Unidos da América) com acessório GladiATR.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono (RMN de 1H e de ^{13}C) foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance 400 MHz e 300 MHz NMR (Billerica, Massachusetts, Estados Unidos da América). Foram utilizados como solvente deuterado clorofórmio ($CDCl_3$) e dimetilsulfóxido ($DMSO-d_6$). As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz). Atribuições dos sinais presentes nos espectros de RMN de 1H e ^{13}C foram realizadas com base na literatura bem como baseado nos dados de simulação de espectros realizados empregando o software MestreNova. De modo geral, a numeração das estruturas de todos os compostos sintetizados não corresponde àquela recomendada pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC).

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

2.3 PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS

2.3.1 Síntese do (±)-1-((4-alil-2-metoxifenoxi)metiloxirano) (2)



A um balão de fundo redondo (100 mL) foram adicionados o eugenol (**1**) (1,00 g; 6,09 mmol), a epicloridrina (5,65 g; 61,1 mmol), o hidróxido de potássio (1,73 g; 30,5 mmol) e o brometo de tetrabutilamônio (0,390 g; 1,22 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética por 24 horas à temperatura ambiente e monitorada por CCD. Terminada a reação, adicionaram-se 10,0 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3x30 mL) e os extratos orgânicos foram combinados. A fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **2** foi purificado, a partir do resíduo obtido, por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v v⁻¹) e obtido com 92% de rendimento (1,26 g; 2,12 mmol).

Característica: óleo incolor.

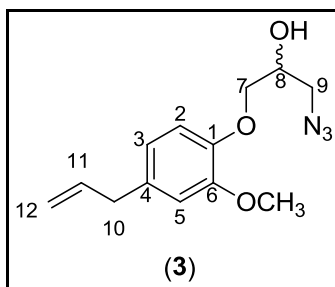
CCD: R_f = 0,79 (acetato de etila-hexano 2:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3075, 3060, 3001, 2932, 2832, 1638, 1590, 1509, 1418, 1259, 1225, 1139, 1028, 910, 850, 799, 747, 651, 600, 546, 450. O espectro é apresentado na Figura 2.5 (p. 89).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 2,65 (dd, 1H, $J_1 = 5,0$ Hz, $J_2 = 2,6$ Hz, H-9a); 2,80-2,83 (m, 1H, H-9b); 3,26 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,29-3,33 (m, 1H, H-8); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 3,95 (dd, 1H, $J_1 = 11,4$ Hz, $J_2 = 5,6$ Hz, H-7b); 4,14 (dd, 1H, $J_1 = 11,4$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,97-5,04 (m, 2H, H-12); 5,88 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62-6,66 (m, 2H, H-3/H-5); 6,80 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2). O espectro é apresentado na Figura 2.6 (p. 90).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 40,0 (C-10); 45,0 (C-9); 50,4 (C-8); 56,0 (OCH₃); 70,4 (C-7); 112,4 (C-5); 114,4 (C-2); 115,7 (C-12); 120,5 (C-3); 134,0 (C-4); 137,7 (C-11); 146,5 (C-1); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 2.7 (p. 91)

2.3.2 Síntese do (±)-1-(4-ail-2-metoxifenoxi)-3-azidopropan-2-ol (3)



A um balão de fundo redondo (100 mL) foram adicionados 10,0 mL de solução de metanol e água destilada na proporção 4:1 v v⁻¹. Em seguida foram acrescidos cloreto de amônio (0,607 g; 11,4 mmol), o composto **2** (1,00 g; 4,54 mmol) e também a azida de sódio (1,48 g; 22,7 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética à temperatura de 60 °C por 8 horas e monitorada por CCD. Terminada a reação, adicionaram-se 10,0 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3x30mL) e os extratos orgânicos foram combinados. A fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida para a obtenção da azida **3** que não foi submetida a nenhum processo subsequente de purificação. O composto **3** foi obtido com 95% de rendimento. (1,13 g; 4,30 mmol).

Característica: óleo amarelado.

CCD: R_f = 0,65 (acetato de etila-hexano 2:1 v v⁻¹).

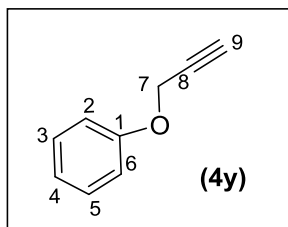
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3355, 3076, 2961, 2934, 2874, 2097, 2028, 1638, 1590, 1510, 1461, 1259, 1227, 1138, 1028, 915, 800, 745, 653, 599, 553, 458. O espectro é apresentado na Figura 2.8 (p. 95).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 3,34 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 3,45 (dd_{ap}, 1H, $J_1 = 12,7$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz, H-9a); 3,50 (dd_{ap}, 1H, $J_1 = 12,7$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, H-9b); 3,85 (s, 3H, OCH_3); 3,99 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, H-7b); 4,03 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,0$ Hz, H-7a); 4,08-4,16 (m, 1H, H-8); 5,05-5,11 (m, 2H, H-12); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,4$ Hz, H-11); 6,70-6,74 (m, 2H, H-3/H-5); 6,86 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-2). O espectro é apresentado na Figura 2.9 (p. 96).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 40,0 (C-10); 53,4 (C-9); 55,8 (OCH_3); 69,4 (C-8); 72,1 (C-7); 112,4 (C-5); 115,8 (C-2); 115,9 (C-12); 121,1 (C-3); 134,9 (C-4); 137,5 (C-11); 146,3 (C-1); 150,1 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 2.10 (p. 97).

2.3.3 Síntese dos alquinos terminais 4y e 4z

(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (4y)



A um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados fenol (0,430 g, 4,56 mmol), brometo de tetrabutilamônio (0,147 g, 0,456 mmol), 2,00 mL de solução de hidróxido de sódio 35% (m v^{-1}) e 2,00 mL de tolueno. A mistura foi resfriada em banho de gelo e mantida sob agitação magnética durante uma hora. Em seguida foi adicionado brometo de propargila (0,480 mL, 5,48 mmol). A mistura de reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por mais quatro horas. Após esse período, seu volume foi reduzido em evaporador rotativo e adicionaram-se à mistura de reação 10,0 mL de solução saturada de cloreto de sódio. A mistura resultante foi transferida para um funil de separação e extraída com éter etílico (3x20,00 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica

resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O composto **4y** foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-clorofórmio (20:13 v v⁻¹) e obtido com 76% de rendimento (0,458 g, 3,48 mmol).

Característica: Óleo amarelo.

CCD: R_f = 0,73 (hexano-clorofórmio 20:13 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3291, 3098, 3065, 3042, 2924, 2871, 2121, 1597, 1493, 1211, 1036, 750, 687, 635, 594. O espectro é apresentado na Figura 2.12 (p. 102).

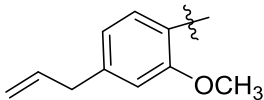
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 2,53 (t, 1H, *J* = 2,4 Hz, H-9); 4,71 (d, 2H, *J* = 2,4 Hz, H-7); 6,98-7,05 (m, 3H, H-2/H-6/H-4); 7,29-7,36 (m, 2H, H-3/H-5). O espectro é apresentado na Figura 2.13 (p. 103).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 55,7 (C-7); 75,4 (C-9); 78,6 (C-8); 114,8 (C-2/C-6); 121,5 (C-4); 129,4 (C-3/C-5); 157,5 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 2.14 (p. 104).

4-alil-2-metoxi-1-(prop-2-in-1-iloxi)benzeno (4z)

O composto **4z** foi sintetizado empregando-se a mesma metodologia descrita para o preparo do composto **4y**. Na Tabela 2.1 (p. 53) estão apresentadas as informações relativas à reação realizada para o preparo do composto **4z**.

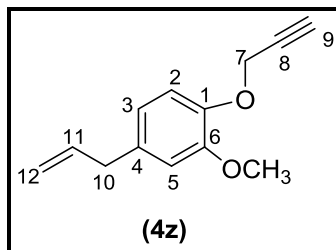
Tabela 2.1 – Informações referentes à reação realizada para a síntese do composto **4z**.

$\text{Ar-OH} + \text{Br}-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH} \xrightarrow[\text{NaOH 35\% (m v}^{-1}\text{), tolueno}]{(\text{Bu})_4\text{NBr}} \text{Ar-O-CH}_2\text{C}\equiv\text{CH} \quad (\mathbf{4z})$							
Composto	Ar	Quantidade de Ar-OH (g)/(mmol)	Quantidade de $(\text{Bu})_4\text{NBr}$ (g)/(mmol)	Volume de brometo de propargila (mL)	Tempo de reação (horas)	Quantidade de produto obtida (g)/(mmol)	Rendimento (%) ^a
4z		0,501/3,01	0,097/0,30	0,32	3	0,526/2,60	85

^a O rendimento foi calculado a partir da massa do produto obtida após separação em coluna cromatográfica de sílica gel. Os volumes da solução de NaOH 35% (m v⁻¹) e tolueno utilizados na reação foi de 2,0 mL cada

Fonte: Elaborada pela própria autora.

A estrutura do composto **4z** é suportada pelos dados apresentados a seguir.



Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,51$ (hexano-acetato de etila 6:1 v v⁻¹).

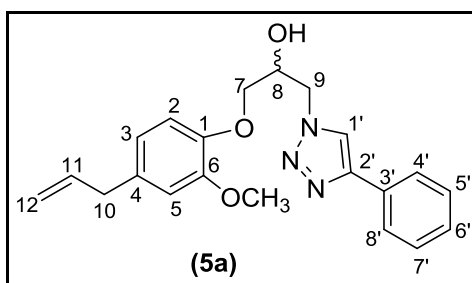
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3288, 3080, 3002, 2935, 2909, 2868, 2121, 1638, 1594, 1508, 1259, 1214, 1136, 1021, 635. O espectro é apresentado na Figura 1 p. 184 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 2,51 (t, 1H, $J = 1,6$ Hz, H-9); 3,37 (d, 2H, $J = 4,4$ Hz, H-10); 3,88 (s, 3H, OCH₃); 4,75 (m, 2H, H-7); 5,08-5,13 (m, 2H, H-12); 5,96 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 11,2$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, $J_3 = 4,4$ Hz, H-11); 6,74-6,77 (m, 2H, H-3/H-5); 6,99 (d, 1H, $J = 6,4$ Hz, H-2). O espectro é apresentado na Figura 2 p. 185 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 39,8 (C-10); 55,8 (OCH₃); 56,9 (C-7); 75,6 (C-9); 78,8 (C-8); 112,3 (C-5); 114,8 (C-2); 115,7 (C-12); 120,3 (C-3); 134,2 (C-4); 137,5 (C-11); 145,1 (C-1); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 3 p. 186 do anexo.

2.3.4 Síntese dos derivados triazólicos do eugenol 5a-5z

Síntese do (±)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5a)



A um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados, respectivamente, o fenilacetileno (78,2 mg; 0,760 mmol), a azida **3** (0,200 g; 0,760 mmol), o ascorbato de sódio (60,2 mg; 0,304 mmol) 2,00 mL da mistura etanol-água na proporção 1:1 v v⁻¹ e o sulfato de cobre(II) pentaidratado (CuSO₄·5H₂O, 37,9 mg; 0,152 mmol). A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética por 30 minutos e monitorada por CCD. Após o término da reação, adicionaram-se 10,0 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (3x30 mL). Os extratos orgânicos foram reunidos e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **5a** foi purificado, a partir do resíduo obtido, por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila-diclorometano (3:1:3 v v⁻¹) e obtido com rendimento de 85% (0,236 g; 0,650 mmol).

Característica: sólido branco.

Tf = 93,7–94,2 °C.

CCD: R_f = 0,35 (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v v⁻¹).

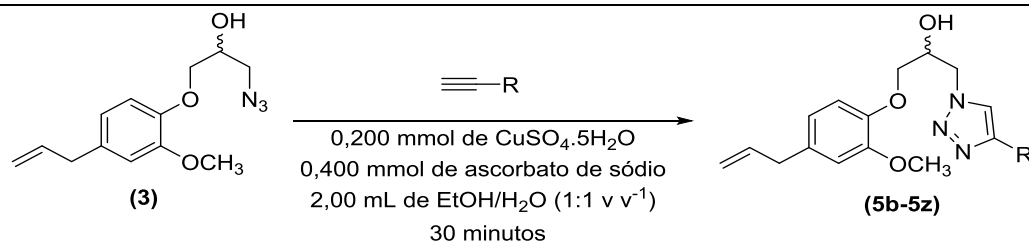
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3407, 3141, 3066, 2934, 2832, 2100, 1707, 1638, 1589, 1513, 1464, 1365, 1263, 1225, 1139, 1028, 914, 764, 693, 652, 597, 509. O espectro é apresentado na Figura 2.16 (p. 116).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 2,10 (s, 1H, OH); 3,26 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 3,77 (s, 3H, OCH_3); 3,86 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, H-9a); 4,00 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, H-9b); 4,33-4,40 (m, 1H, H-8); 4,57 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 6,8$ Hz, H-7b); 4,63 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 3,8$ Hz, H-7a); 4,98-5,05 (m, 2H, H-12); 5,95 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,6$ Hz, $J_3 = 6,4$ Hz, H-11); 6,63-6,66 (m, 2H, H-3/H-5); 6,78 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-2); 7,25 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, H-6'); 7,33 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, H-5'/H-7'); 7,71 (d, 2H, $J = 7,3$ Hz, H-4'/H-8'); 7,88 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 2.17 (p. 117).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ : 39,9 (C-10); 52,9 (C-9); 55,7 (OCH_3); 69,0 (C-8); 71,8 (C-7); 112,6 (C-5); 115,9 (C-2); 116,0 (C-12); 121,1 (C-3); 121,4 (C-1'); 125,7 (C-4'/C-8'); 128,1 (C-6'); 128,8 (C-5'/C-7'); 130,6 (C-3'); 135,0 (C-4); 137,5 (C-11); 145,9 (C-1); 147,8 (C-2'); 149,8 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 2.18 (p. 118).

Os compostos **5b-5z** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para o preparo do composto **5a**. Na Tabela 2.2 (p. 57) estão apresentadas as informações relativas às reações realizadas para o preparo dos compostos **5b-5z**.

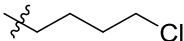
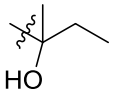
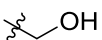
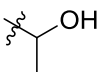
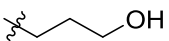
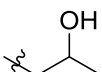
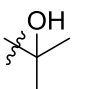
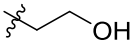
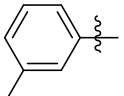
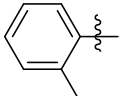
Tabela 2.2 – Informações referentes às reações realizadas para a síntese dos compostos **5b-5z**



Composto	$\text{R}-\text{C}\equiv\text{CH}$	Quantidade de alquino (4) (g) ^a	Eluente utilizado na purificação do produto por cromatografia em coluna de sílica gel (v v ⁻¹)	Quantidade produto (g)/(mmol)	de obtida	Rendimento (%) ^b
5b		0,062	Hexano/acetato de etila (3:2)	0,185/0,536		71
5c		0,094	Acetato de etila	0,190/0,491		65
5d		0,088	Hexano/acetato de etila (2:1)	0,160/0,422		56
5e		0,073	Hexano/acetato de etila (3:2)	0,152/0,423		56
5f		0,083	Hexano/acetato de etila (3:2)	0,195/0,523		69
5g		0,094	Hexano/acetato de etila (3:2)	0,162/0,419		55
5h		0,104	Hexano/acetato de etila (3:1)	0,233/0,581		77
5i		0,126	Hexano/acetato de etila/diclorometano (3:1:3)	0,229/0,534		70
5j		0,077	Hexano/acetato de etila/diclorometano (3:1:3)	0,235/0,644		85

^aAs reações foram realizadas utilizando-se quantidade de alquino **(4)** equivalente a 0,200 g (0,760 mmol) de azida **(3)**; ^b Os rendimentos foram calculados a partir das massas dos produtos obtidas após separação em coluna cromatográfica de sílica gel.

Tabela 2.2 – Continuação

Composto	$\equiv\text{R}$	Quantidade de alquino (4) (g) ^a	Eluente utilizado na purificação do produto por cromatografia em coluna de sílica gel (v v ⁻¹)	Massa de produto obtida (g) (mmol)	Rendimento (%) ^b
5k		0,088	Acetato de etila/hexano (2:1)	0,218/0,575	78
5l		0,074	Acetato de etila	0,162/0,449	59
5m		0,043	Acetato de etila	0,130/0,407	54
5n		0,053	Acetato de etila	0,115/0,345	45
5o		0,064	Acetato de etila	0,157/0,452	61
5p		0,064	Acetato de etila	0,137/0,395	60
5q		0,064	Hexano/acetato de etila (1:1)	0,158/0,455	52
5r		0,053	Hexano/acetato de etila (1:1)	0,220/0,661	87
5s		0,088	Hexano/acetato de etila (2:1)	0,120/0,316	42
5t		0,088	Hexano/acetato de etila (2:1)	0,202/0,606	70

^aAs reações foram realizadas utilizando-se quantidade de alquino (4) equivalente a 0,200 g (0,760 mmol) de azida (3); ^b Os rendimentos foram calculados a partir das massas dos produtos obtidas após separação em coluna cromatográfica de sílica gel.

Tabela 2.2 – Continuação

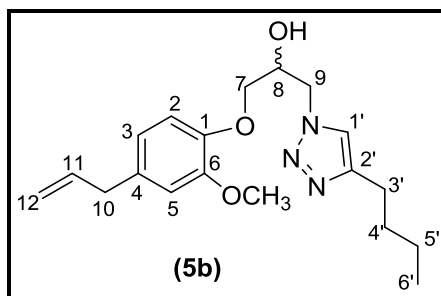
Composto	$\equiv\text{R}$	Quantidade de alquino (4) (g) ^a	Eluente utilizado na purificação do produto por cromatografia em coluna de sílica gel (v v ⁻¹)	Massa de produto obtida (g)/(mmol)	Rendimento (%) ^b
5u		0,100	Hexano/acetato de etila (2:1)	0,170/0,430	57
5v		0,100	Hexano/acetato de etila (3:1)	0,178/0,451	59
5w		0,089	Hexano/acetato de etila (3:1)	0,130/0,342	45
5x		0,089	Hexano/acetato de etila (1:1)	0,120/0,316	42
5y		0,100	Hexano/acetato de etila (1:1)	0,115/0,315	41
5z		0,141	Hexano/acetato de etila (1:1)	0,210/0,452	59

^aAs reações foram realizadas utilizando-se quantidade de alquino (4) equivalente a 0,200 g (0,760 mmol) de azida (3); ^b Os rendimentos foram calculados a partir das massas dos produtos obtidas após separação em coluna cromatográfica de sílica gel.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

As estruturas dos compostos **5b-5z** são suportadas pelos dados apresentados a seguir.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-butil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5b)



Característica: óleo amarelo.

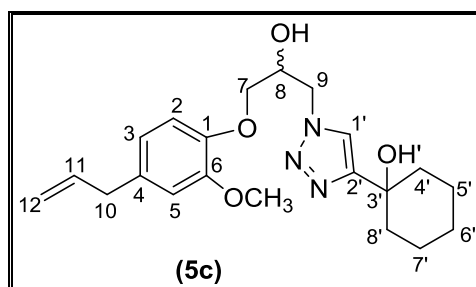
CCD: $R_f = 0,20$ (hexano-acetato de etila 3:2 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3357, 3143, 3076, 3001, 2955, 2930, 2870, 1736, 1637, 1590, 1510, 1461, 1432, 1420, 1260, 1227, 1138, 1030, 913, 849, 747, 653, 601, 546, 458. O espectro é apresentado na Figura 2.19 (p. 122).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 0,84 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, H-6'); 1,29 (sext, 2H, $J = 7,4$ Hz, H-5'); 1,56 (quint, 2H, $J = 7,6$ Hz, H-4'); 2,62 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, H-3'); 3,26 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,81 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz, H-9a); 3,83 (s, 1H, OH); 3,92 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, H-9b); 4,27-4,33 (m, 1H, H-8); 4,42 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, H-7b); 4,54 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 4,0$ Hz, H-7a); 4,79-5,03 (m, 2H, H-12); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,63-6,65 (m, 2H, H-3/H-5); 6,77 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,37 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 2.20 (p. 123).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 13,8 (C-6'); 22,3 (C-5'); 25,3 (C-3'); 31,5 (C-4'); 39,9 (C-10); 52,4 (C-9); 55,8 (OCH₃); 68,9 (C-8); 71,7 (C-7); 112,4 (C-5); 115,9 (C-12/C-2); 121,0 (C-3); 122,3 (C-1'); 134,8 (C-4); 137,4 (C-11); 146,0 (C-1); 148,3 (C-2'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 2.21 (p. 124).

**(±)-1-(1-(3-(4-alil-2-metoxifenoxi)-2-hidroxiopropil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-
il)cicloexan-1-ol (5c)**



Característica: sólido branco.

Tf = 73,8 – 74,0 °C.

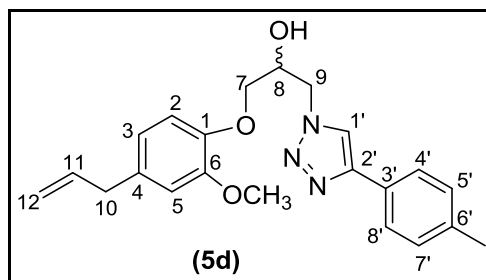
CCD: R_f = 0,86 (acetato de etila).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3546, 3352, 3142, 3077, 3002, 2926, 2851, 1638, 1592, 1512, 1468, 1420, 1337, 1260, 1227, 1139, 1027, 911, 796, 748, 666, 595. O espectro é apresentado na Figura 2.22 (p. 128).

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1,34-1,90 (m, 10H, H-4'/H-8'); 3,27 (d, 2H, *J* = 6,9 Hz, H-10); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 3,78-3,89 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,11-4,20 (m, 1H, H-8); 4,35 (dd, 1H, *J*₁ = 14,0 Hz, *J*₂ = 9,0 Hz, H-7b); 4,52 (dd, 1H, *J*₁ = 14,0 Hz, *J*₂ = 3,9 Hz, H-7a); 4,82 (s, 1H, OH'); 4,98-5,09 (m, 2H, H-12); 5,49 (d, 1H, *J* = 5,7 Hz, OH) 5,92 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 16,9 Hz, *J*₂ = 10,0 Hz, *J*₃ = 6,9 Hz, H-11); 6,6 (dd, 1H, *J*₁ = 8,3 Hz, *J*₂ = 1,9 Hz, H-3); 6,79 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, H-5); 6,86 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz, H-2); 7,81 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 2.28 (p. 129).

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 22,1 (C-5'/C-7'); 25,7 (C-6'); 38,2 (C-4'); 38,3 (C-8'); 39,5 (C-10); 52,9 (C-9); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8/C-3'); 71,2 (C-7); 113,2 (C-5); 114,7 (C-2); 116,0 (C-12); 120,7 (C-3); 122,3 (C-1'); 133,5 (C-4); 138,3 (C-11); 146,5 (C-1); 149,6 (C-6); 156,0 (C-2'). O espectro é apresentado na Figura 2.29 (p. 130).

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(*p*-tolil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5d)



Característica: Óleo amarelo.

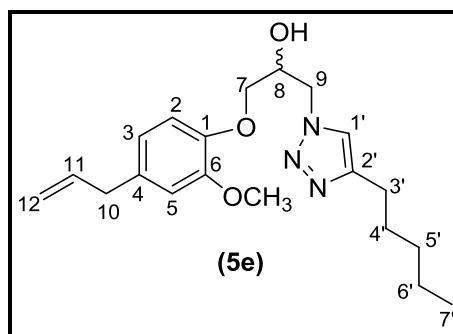
CCD: $R_f = 0,58$ (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3366, 3142, 3076, 2975, 2932, 2102, 1638, 1591, 1510, 1463, 1419, 1260, 1224, 1139, 1028, 996, 892, 803, 745, 652, 599, 456. O espectro é apresentado na Figura 2.25 (p. 133).

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,26 (s, 3H, CH₃); 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,70 (s, 3H, OCH₃); 3,80-3,92 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,15-4,21 (m, 1H, H-8); 4,34-4,41 (m, 1H, H-7b); 4,56 (dd, 1H, $J_1 = 13,6$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,94-5,03 (m, 2H, H-12); 5,50 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, OH); 5,88 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,2$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,8$ Hz, H-3); 6,75 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-5); 6,85 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,18 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, H-5'/H-7'); 7,67 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, H-4'/H-8'); 8,40 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 2.26 (p. 134).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 21,3 (CH₃); 39,8 (C-10); 53,4 (C-9); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 113,2 (C-5); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 122,4 (C-1'); 125,5 (C-4'/C-8'); 128,6 (C-3'); 129,9 (C-5'/C-7'); 133,6 (C-4); 137,5 (C-6'); 138,4 (C-11); 146,6 (C-1); 146,6 (C-2'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 2.27 (p. 135).

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-pentil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5e)



Característica: óleo amarelo.

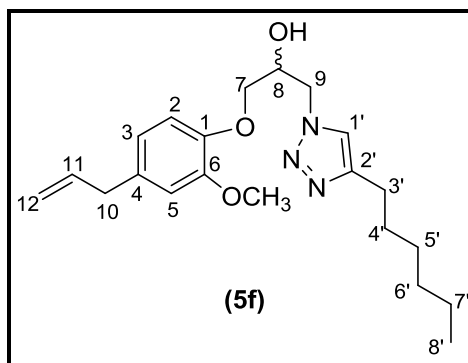
CCD: $R_f = 0,20$ (hexano-acetato de etila 3:2 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3370, 3147, 3078, 2933, 2858, 1709, 1671, 1594, 1508, 1461, 1419, 1257, 1224, 1135, 1028, 912, 799, 746, 653, 600, 526, 459. O espectro é apresentado na Figura 4 p. 187 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 0,88-0,90 (m, 3H, H-7'); 1,27-1,36 (m, 4H, H-5'/H-6'); 1,64-1,68 (m, 2H, H-4'); 2,19 (s, 1H, OH); 2,70 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, H-3'); 3,35 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 3,88-3,93 (m, 1H, H-9a); 4,01 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, H-9b); 4,36-4,41 (m, 1H, H-8); 4,51 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, H-7b); 4,63 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 5,07-5,11 (m, 2H, H-12); 5,96 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,72-6,74 (m, 2H, H-3/H-5); 6,85 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,46 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 5 p. 188 anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 14,0 (C-7'); 22,4 (C-6'); 25,6 (C-4'); 29,0 (C-3'); 31,4 (C-5'); 39,8 (C-10); 52,4 (C-9); 55,8 (OCH₃); 69,0 (C-8); 71,7 (C-7); 112,5 (C-5); 115,9 (C-12); 116,0 (C-2); 121,0 (C-3); 122,3 (C-1'); 134,8 (C-4); 137,3 (C-11); 146,0 (C-1); 148,3 (C-2'); 149,8 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 6 p. 189 do anexo.

(±)-1-(4-aliil-2-metoxifenoxi)-3-(4-hexil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5f)



Característica: óleo amarelo.

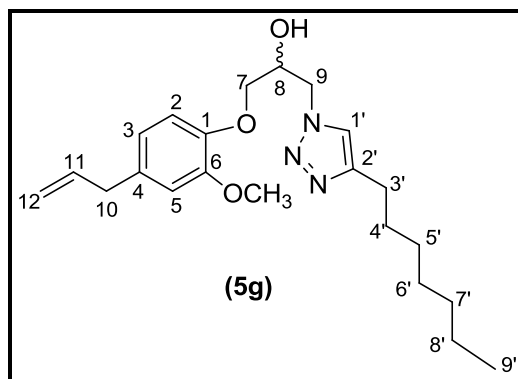
CCD: $R_f = 0,25$ (hexano-acetato de etila 3:2 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3359, 3143, 3079, 3004, 2953, 2926, 2861, 1702, 1589, 1511, 1463, 1421, 1261, 1222, 1138, 1030, 912, 801, 744, 726, 653, 597, 544, 455. O espectro é apresentado na Figura 7 p. 190 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 0,87 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, H-8'); 1,25-1,37 (m, 6H, H-5'/H-6'/H-7'); 1,63 (quint, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-4'); 2,68 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, H-3'); 3,33 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,86-3,92 (m, 2H, H-9a/OH); 3,99 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, H-9b); 4,34-4,40 (m, 1H, H-8); 4,29 (dd, 1H, $J_1 = 14,2$ Hz, $J_2 = 6,8$ Hz, H-7b); 4,61 (dd, 1H, $J_1 = 14,4$ Hz, $J_2 = 3,8$ Hz, H-7a); 5,05-5,11 (m, 2H, H-12); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,70-6,72 (m, 2H, H-3/H-5); 6,83 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,44 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 8 p. 191 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 14,1 (C-8'); 22,6 (C-7'); 25,6 (C-4'); 28,9 (C-3'); 29,3 (C-5'); 31,6 (C-6'); 39,8 (C-10); 52,4 (C-9); 55,8 (OCH₃); 69,0 (C-8); 71,7 (C-7); 112,4 (C-5); 115,9 (C-12); 116,0 (C-2); 120,9 (C-3); 122,3 (C-1'); 134,8 (C-4); 137,4 (C-11); 145,9 (C-1); 148,4 (C-2'); 149,8 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 9 p. 192 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-heptil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5g)



Característica: óleo amarelo.

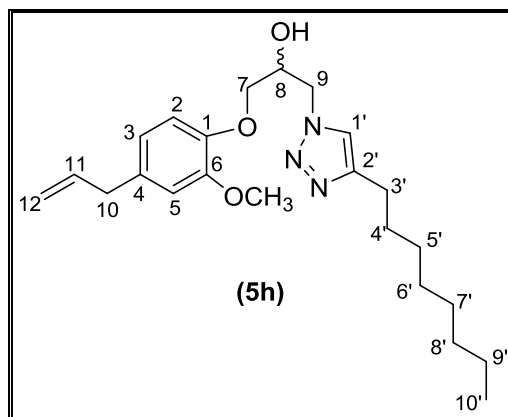
CCD: $R_f = 0,26$ (hexano-acetato de etila 3:2 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3348, 3144, 3078, 3001, 2992, 2854, 1638, 1591, 1510, 1461, 1420, 1260, 1227, 1138, 1030, 912, 799, 746, 653, 599, 546, 477. O espectro é apresentado na Figura 10 p. 193 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 0,89 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, H-9'); 1,27-1,35 (m, 8H, H-5'/H-6'/H-7'/H-8'); 1,66 (quint, 2H, $J = 7,4$ Hz, H-4'); 2,19 (s, 1H, OH); 2,70 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, H-3'); 3,35 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 3,90-3,93 (m, 1H, H-9a); 4,01 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, H-9b); 4,35-4,41 (m, 1H, H-8); 4,51 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, H-7b); 4,63 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 4,0$ Hz, H-7a); 5,08-5,12 (m, 2H, H-12); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,72-6,74 (m, 2H, H-3/H-5); 6,85 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,46 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 11 p. 194 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 14,1 (C-9'); 22,6 (C-8'); 25,6 (C-4'); 29,0 (C-3'); 29,2 (C-5'); 29,4 (C-6'); 31,8 (C-7'); 39,8 (C-10); 52,4 (C-9); 55,8 (OCH₃); 69,0 (C-8); 71,8 (C-7); 112,5 (C-5); 115,9 (C-12); 116,1 (C-2); 120,9 (C-3); 122,2 (C-1'); 135,0 (C-4); 137,3 (C-11); 146,0 (C-1); 148,4 (C-2'); 149,9 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 12 p. 195 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-octil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5h)



Característica: óleo amarelo.

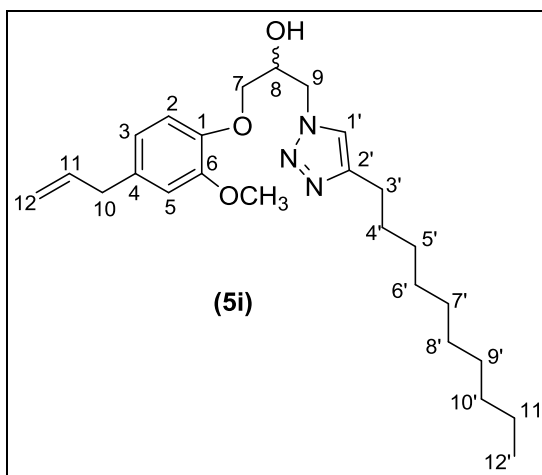
CCD: $R_f = 0,20$ (hexano-acetato de etila 3:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3332, 3144, 3081, 3004, 2924, 2852, 1635, 1591, 1508, 1420, 1263, 1224, 1141, 1037, 914, 799, 746, 649, 595, 551, 476. O espectro é apresentado na Figura 13 p. 196 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 0,90 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, H-10'); 1,28-1,33 (m, 10H, H-5'/H-6'/H-7'/H-8'/H-9'); 1,66 (quint, 2H, $J = 7,4$ Hz, H-4'); 2,71 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz, H-3'); 3,35 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 3,91 (dd, 1H, $J_1 = 10,4$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, H-9a); 4,01 (dd, 1H, $J_1 = 10,4$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, H-9b); 4,35-4,41 (m, 1H, H-8); 4,51 (dd, 1H, $J_1 = 14,2$ Hz, $J_2 = 6,6$ Hz, H-7b); 4,63 (dd, 1H, $J_1 = 14,2$ Hz, $J_2 = 3,8$ Hz, H-7a); 5,07-5,12 (m, 2H, H-12); 5,96 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,72-6,74 (m, 2H, H-3/H-5); 6,85 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, H-2); 7,45 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 14 p. 197 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 14,1 (C-10'); 22,7 (C-9'); 25,6 (C-4'); 29,2 (C-3'); 29,3 (C-5'); 29,3 (C-6'); 29,4 (C-7'); 31,9 (C-8'); 39,9 (C-10); 52,4 (C-9); 55,8 (OCH₃); 69,0 (C-8); 71,8 (C-7); 112,5 (C-5); 115,9 (C-12); 116,2 (C-2); 121,0 (C-3); 122,3 (C-1'); 135,0 (C-4); 137,3 (C-11); 146,0 (C-1); 148,4 (C-2'); 149,9 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 15 p. 198 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-decil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5i)



Característica: óleo amarelo.

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

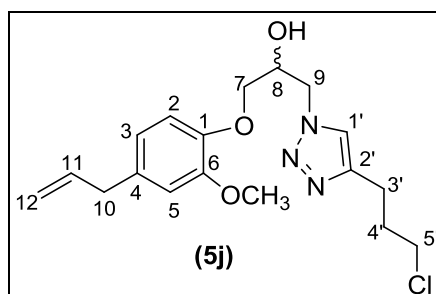
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3496, 3376, 3141, 3078, 2920, 2856, 1683, 1590, 1512, 1464, 1259, 1228, 1138, 1025, 910, 847, 798, 744, 655, 590, 491. O espectro é apresentado na Figura 16 p. 199 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 0,80 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, H-12'); 1,17-1,22 (m, 14H, H-5'/H-6'/H-7'/H-8'/H-9'/H-10'/H-11'); 1,56 (quint, 2H, $J = 7,4$ Hz, H-4'); 2,60 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz, H-3'); 3,26 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 3,76 (s, 3H, OCH₃); 3,78-3,84 (m, 1H, H-9a/OH); 3,92 (dd, 1H, $J_1 = 10,2$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, H-9b); 4,27-4,33 (m, 1H, H-8); 4,42 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 6,8$ Hz, H-7b); 4,54 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 3,8$ Hz, H-7a); 4,97-5,03 (m, 2H, H-12); 5,86 (dd_{tap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,4$ Hz, H-11); 6,62-6,65 (m, 2H, H-3/H-5); 6,75 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,37 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 17 p. 200 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 14,1 (C-12'); 22,7 (C-11'); 25,6 (C-4'); 29,2 (C-3'); 29,3 (C-5'); 29,4 (C-6'/C-7'); 29,5 (C-8'); 29,6 (C-9'); 31,9 (C-10'); 39,8 (C-10); 52,5 (C-9); 55,8 (OCH₃); 68,9 (C-8); 71,6 (C-7); 112,4 (C-5); 115,7 (C-12); 115,9 (C-2);

121,0 (C-3); 122,3 (C-1'); 134,7 (C-4); 137,4 (C-11); 145,9 (C-1); 148,3 (C-2'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 18 p. 201 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(3-cloropropil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol
(5j)



Característica: sólido amarelado.

CCD: $R_f = 0,51$ (hexano-acetato de etila-diclorometano 3:1:3 v v⁻¹).

Tf = 54,8 – 55,3 °C.

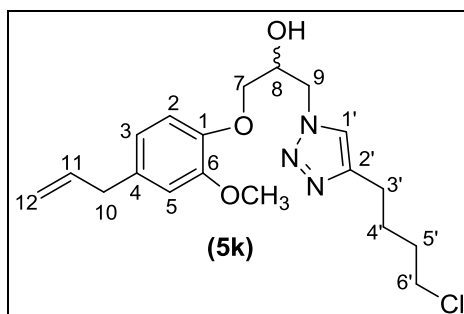
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3147, 3006, 2936, 2889, 1709, 1589, 1508, 1446, 1257, 1227, 1137, 1031, 966, 912, 801, 747, 646, 541, 503. O espectro é apresentado O espectro é apresentado na Figura 19 p. 202 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 2,13 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, H-4'); 2,17 (s, 1H, OH); 2,86 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, H-3'); 3,33 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,54 (t, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-5'); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,89 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 6,4$ Hz, H-9a); 4,00 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,8$ Hz, H-9b); 4,35-4,40 (m, 1H, H-8); 4,50 (dd, 1H, $J_1 = 14,4$ Hz, $J_2 = 6,8$ Hz, H-7b); 4,62 (dd, 1H, $J_1 = 14,4$ Hz, $J_2 = 3,8$ Hz, H-7a); 5,05-5,10 (m, 2H, H-12); 5,94 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,69-6,72 (m, 2H, H-3/H-5); 6,83 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,53 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 20 p. 203 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 22,7 (C-3'); 31,8 (C-4'); 39,8 (C-10); 44,2 (C-5'); 52,5 (C-9); 55,8 (OCH₃); 68,9 (C-8); 71,6 (C-7); 112,4 (C-5); 115,7 (C-2) 115,9 (C-

12); 120,9 (C-3); 122,9 (C-1'); 134,8 (C-4); 137,4 (C-11); 145,9 (C-1); 146,2 (C-2'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 21 p. 204 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(4-clorobutil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol
(5k)



Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,56$ (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

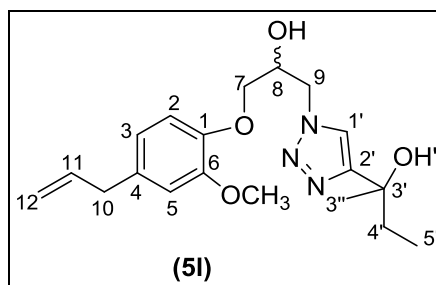
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3390, 3145, 3079, 3001, 2936, 2870, 1707, 1638, 1591, 1511, 1460, 1420, 1260, 1221, 1139, 1029, 952. 915, 852, 799, 746, 647, 601, 529, 456. O espectro é apresentado na Figura 22 p. 205 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 1,18 (s, 1H, OH); 1,72-1,77 (m, 4H, H-4'/H-5'); 2,66 (t, 2H, $J = 7,0$ Hz, H-3'); 3,26 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz, H-10); 3,47 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz, H-6'); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,78-3,83 (m, 1H, H-9a); 3,92 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,4$ Hz, H-9b); 4,26-4,33 (m, 1H, H-8); 4,43 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 6,8$ Hz, H-7b); 4,54 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,98-5,03 (m, 2H, H-12); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,4$ Hz, $J_3 = 6,4$ Hz, H-11); 6,62-6,65 (m, 2H, H-3/H-5); 6,76 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, H-2); 7,41 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 23 p. 206 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ : 24,8 (C-3'); 26,6 (C-4'); 31,9 (C-5'); 39,8 (C-10); 44,7 (C-6'); 52,4 (C-9); 55,8 (OCH₃); 68,9 (C-8); 71,6 (C-7); 112,4 (C-5); 115,8 (C-2)

115,9 (C-12); 120,9 (C-3); 122,5 (C-1'); 134,8 (C-4); 137,3 (C-11); 145,9 (C-1); 147,4 (C-2'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 24 p. 207 do anexo.

(±)-2-(1-(3-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-2-hidroxiopropil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)butan-2-ol
(5I)



Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,63$ (acetato de etila).

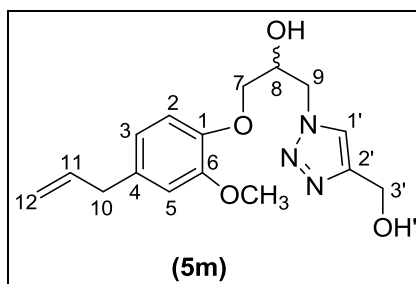
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3370, 3078, 2972, 2934, 1638, 1591, 1511, 1371, 1331, 1260, 1226, 1138, 1030, 914, 853, 801, 670, 596, 536, 455. O espectro é apresentado na Figura 25 p. 208 do anexo.

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 0,67-0,74 (m, 3H, H-5'); 1,39 (s, 3H, H-3''); 1,67-1,73 (m, 2H, H-4'); 3,27 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-10); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 3,80-385 (m, 1H, H-9b); 3,94-4,00 (m, 1H, H-9a); 4,12-4,20 (m, 1H, H-8); 4,35 (dd, 1H, $J_1 = 13,9$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, H-7b); 4,52 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 4,2$ Hz, H-7a); 4,89 (s, 1H, OH); 4,98-5,09 (m, 2H, H-12); 5,47 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz, OH); 5,92 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,9$ Hz, H-11); 6,66 (dd, 1H, $J_1 = 8,2$ Hz, $J_2 = 1,9$ Hz H-3); 6,79 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-5); 6,85-6,87 (m, 1H, H-2); 7,78 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 26 p. 209 do anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 8,7 (C-5'); 28,6 (C-3''); 35,9 (C-4'); 39,5 (C-10); 53,0 (C-9); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8); 70,2 (C-3'); 71,2 (C-7); 113,2 (C-5); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,7 (C-3); 122,6 (C-1'); 133,6 (C-4); 138,3 (C-11); 146,6 (C-1); 149,7 (C-6); 155,0 (C-2'). O espectro é apresentado na Figura 27 p. 210 do anexo.

(±)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-(4-(hidroximetil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5m)



Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,76$ (acetato de etila).

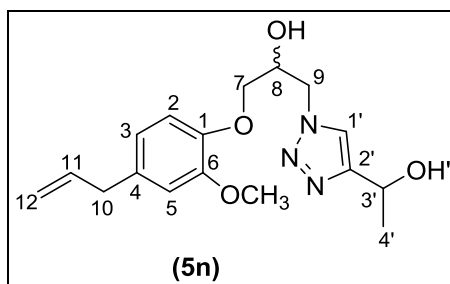
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3337, 3010, 2934, 2875, 1637, 1590, 1510, 1374, 1337, 1260, 1225, 1138, 1028, 914, 850, 799, 746, 652, 599, 547, 456. O espectro é apresentado na Figura 28 p. 211 do anexo.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,69 (s, 3H, OCH_3); 3,80 (dd, 1H, $J_1 = 12,4$ Hz, $J_2 = 5,6$ Hz, H-9b); 3,83- 3,94 (m, 1H, H-9a); 4,06-4,16 (m, 1H, H-8); 4,33 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 7,4$ Hz, H-7b); 4,45 (s, 2H, H-3'); 4,50 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 3,8$ Hz, H-7a); 4,94-5,02 (m, 2H, H-12); 5,10 (s, 1H, OH'); 5,45 (s, 1H, OH); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62 (dd, 1H, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 1,8$ Hz, H-3); 6,74 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-5); 6,82 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-2); 7,85 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 29 p. 212 do anexo.

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 39,8 (C-10); 53,0 (C-9); 55,5 (OCH_3); 56,0 (C-3'); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 113,2 (C-5); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 124,1 (C-1'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11); 146,6 (C-2'); 148,1 (C-1) 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 30 p. 213 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(1-hidroxietil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5n)



Característica: óleo amarelo.

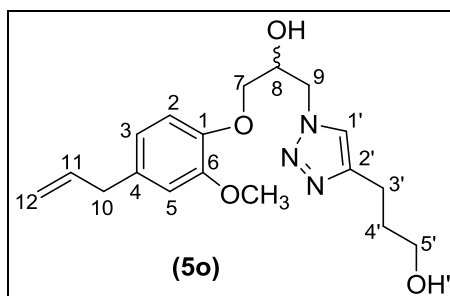
CCD: $R_f = 0,64$ (acetato de etila).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3367, 3139, 3076, 3002, 2937, 1638, 1590, 1510, 1463, 1419, 1336, 1260, 1225, 1138, 1028, 913, 851, 799, 746, 653, 544, 458. O espectro é apresentado na Figura 31 p. 214 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 1,33 (d, 3H, $J = 7,6$ Hz, H-4'); 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,69 (s, 3H, OCH₃); 3,76- 3,83 (m, 1H, H-9b); 3,83-3,93 (m, 1H, H-9a); 4,07-4,13 (m, 1H, H-8); 4,28-4,35 (m, 1H, H-7b); 4,46- 4,51 (m, 1H, H-7a); 4,75 (quint, 1H, $J = 6,1$ Hz, H-3'); 4,94-5,03 (m, 2H, H-12); 5,16 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz, OH'); 5,44 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz, OH); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, H-3); 6,74 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-5); 6,82 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,79 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 32 p. 215 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 24,2 (C-4'), 39,8 (C-10); 53,0 (C-9); 56,0 (OCH₃); 62,1 (C-3'); 68,9 (C-8); 71,3 (C-7); 113,2 (C-5); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 122,7 (C-1'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11); 145,6 (C-2'); 149,7 (C-1); 152,8 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 33 p. 216 do anexo.

(±)-3-(1-(3-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-2-hidroxiopropil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-1-ol (5o)



Característica: óleo amarelo.

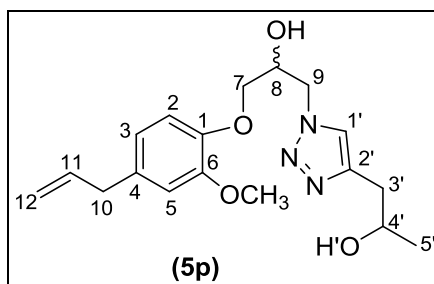
CCD: $R_f = 0,65$ (acetato de etila).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3351, 3076, 3010, 2938, 2871, 1638, 1590, 1510, 1463, 1375, 1336, 1260, 1224, 1138, 1028, 913, 851, 799, 747, 653, 600, 543, 458. O espectro é apresentado na Figura 34 p. 217 do anexo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,83 (quint, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-4'); 2,72 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, H-3'); 3,30 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-10); 3,60 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz, H-5'); 3,80 (s, 3H, OCH_3); 3,89 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 5,9$ Hz, H-9b); 3,97 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,8$ Hz, H-9a); 4,31-4,38 (m, 1H, H-8); 4,44 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, H-7b); 4,59 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 5,02-5,09 (m, 2H, H-12); 5,91 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,4$ Hz, $J_2 = 12,1$ Hz, $J_3 = 6,6$ Hz, H-11); 6,65-6,69 (m, 1H, H-3/H-5); 6,78 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H-2); 7,52 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 35 p. 218 do anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 21,8 (C-3'); 31,8 (C-4'); 39,7 (C-10); 52,8 (C-9); 55,8 (OCH_3); 61,4 (C-5'); 68,8 (C-8); 71,2 (C-7); 112,4 (C-5); 114,7 (C-2); 115,8 (C-12); 120,9 (C-3); 122,9 (C-1'); 134,3 (C-4); 137,4 (C-11); 146,0 (C-1); 147,2 (C-2'); 149,3 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 36 p. 219 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(2-hidroxipropil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5p)



Característica: óleo amarelo.

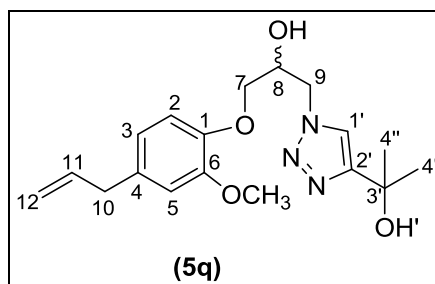
CCD: $R_f = 0,76$ (acetato de etila).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3372, 3140, 3077, 2970, 2927, 2102, 1638, 1590, 1510, 1463, 1420, 1373, 1260, 1225, 1138, 1028, 937, 849, 800, 745, 653, 600, 545, 468. O espectro é apresentado na Figura 37 p. 220 do anexo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,22 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz, H-5'); 2,65-2,80 (m, 2H, H-3'); 3,31 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-10); 3,82 (s, 3H, OCH_3); 3,87-3,93 (m, 1H, H-9b); 3,97-4,02 (m, 2H, H-9a/OH'); 4,04-4,12 (m, 1H, H-4'); 4,30-4,36 (m, 1H, H-8); 4,42-4,51 (m, 1H, H-7b); 4,58-4,65 (m, 1H, H-7a); 5,03-5,10 (m, 2H, H-12); 5,85-5,98 (m, 1H, H-11); 6,68-6,71 (m, 1H, H-3/H-5); 6,79-6,82 (m, 1H, H-2); 7,57 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 38 p. 221 do anexo.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,9 (C-5'); 34,8 (C-3'); 39,8 (C-10); 52,8 (C-9); 55,8 (OCH_3); 67,1 (C-4'); 68,8 (C-8); 71,3 (C-7); 112,4 (C-5); 115,0 (C-2); 115,9 (C-12); 120,9 (C-3/C-1'); 134,5 (C-4); 137,4 (C-11); 145,9 (C-2'/C-1); 149,4 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 39 p. 222 do anexo.

(±)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-(4-(2-hidroxipropan-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5q)



Característica: óleo amarelo.

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

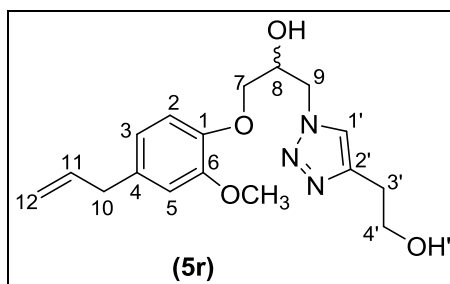
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3351, 2976, 2934, 2872, 2832, 1638, 1591, 1510, 1463, 1419, 1377, 1260, 1138, 1031, 916, 800, 747, 669, 599, 544, 457. O espectro é apresentado na Figura 40 p. 223 do anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,58 (s, 3H, H-4''); 1,59 (s, 3H, H-4'); 3,31 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-10); 3,82 (s, 3H, OCH₃); 3,90 (dd, 1H, $J_1 = 9,9$ Hz, $J_2 = 6,0$ Hz, H-9b); 4,00 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, H-9a); 4,31-4,39 (m, 1H, H-8); 4,46 (dd, 1H, $J_1 = 14,1$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz, H-7b); 4,61 (dd, 1H, $J_1 = 14,1$ Hz, $J_2 = 3,3$ Hz, H-7a); 5,03-5,09 (m, 2H, H-12); 5,92 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,7$ Hz, $J_2 = 10,9$ Hz, $J_3 = 6,6$ Hz, H-11); 6,67-6,71 (m, 1H, H-3/H-5); 6,81 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-2); 7,63 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 41 p. 224 do anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 30,1 (C-4''); 30,2 (C-4'); 39,8 (C-10); 52,8 (C-9); 55,8 (OCH₃); 68,3 (C-3'); 68,4 (C-8); 71,4 (C-7); 112,4 (C-5); 115,3 (C-2); 115,8 (C-12); 120,9 (C-3); 121,2 (C-1'); 134,5 (C-4); 137,3 (C-11); 146,0 (C-1); 149,5 (C-6); 155,3 (C-2'). O espectro é apresentado na Figura 42 p. 225 do anexo.

(±)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-(4-(2-hidroxietil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5r)



Característica: óleo amarelo.

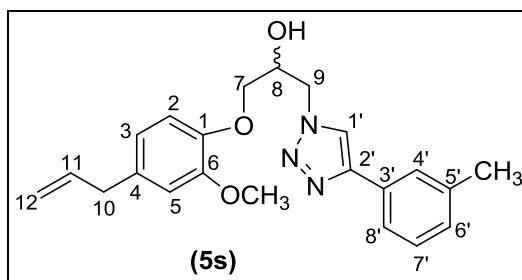
CCD: $R_f = 0,93$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3359, 3073, 2934, 2877, 2827, 1638, 1590, 1515, 1463, 1420, 1261, 1225, 1138, 1031, 920, 801, 746, 654, 603, 468. O espectro é apresentado na Figura 43 p. 226 do anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 2,88 (t, 2H, $J = 5,9$ Hz, H-3'); 3,31 (d, 2H, $J = 6,6$ Hz, H-10); 3,82 (s, 3H, OCH₃); 3,86 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz, H-4'); 3,91 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 5,9$ Hz, H-9b); 3,99 (dd, 1H, $J_1 = 10,0$ Hz, $J_2 = 4,6$ Hz, H-9a); 4,29- 4,37 (m, 1H, H-8); 4,45 (dd, 1H, $J_1 = 13,9$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, H-7b); 4,61 (dd, 1H, $J_1 = 13,9$ Hz, $J_2 = 3,5$ Hz, H-7a); 5,02-5,10 (m, 2H, H-12); 5,94 (dd_{ap}, 1H, $J_1 = 17,3$ Hz, $J_2 = 10,6$ Hz, $J_3 = 6,6$ Hz, H-11); 6,67-6,71 (m, 1H, H-3/H-5); 6,78- 6,82 (m, 1H, H-2); 7,57 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 44 p. 227 do anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 28,7 (C-3'); 39,8 (C-10); 52,9 (C-9); 55,8 (OCH₃); 61,3 (C-4'); 68,8 (C-8); 71,3 (C-7); 112,4 (C-5); 115,1 (C-2); 115,8 (C-12); 120,9 (C-3); 123,5 (C-1'); 134,4 (C-4); 137,4 (C-11); 145,2 (C-1); 146,0 (C-2'); 149,4 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 45 p. 228 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(*m*-tolil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5s)



Característica: óleo incolor.

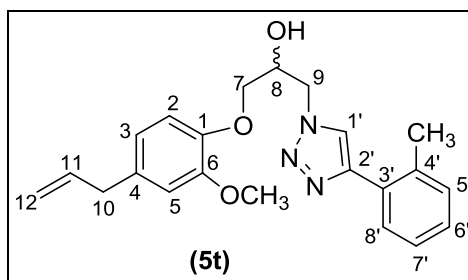
CCD: $R_f = 0,60$ (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3364, 3140, 3076, 2921, 2867, 2101, 1700, 1638, 1591, 1510, 1460, 1365, 1260, 1137, 1030, 914, 799, 662, 599, 516, 462. O espectro é apresentado na Figura 46 p. 229 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,28 (s, 3H, CH₃); 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,69 (s, 3H, OCH₃); 3,81-3,89 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,14-4,22 (m, 1H, H-8); 4,33-4,41 (m, 1H, H-7b); 4,57 (dd, 1H, $J_1 = 13,6$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,93-5,03 (m, 2H, H-12); 5,52 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz, OH); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,2$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, H-3); 6,75 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-5); 6,85 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,07 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz, H-6'); 7,25 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-7'); 7,57 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-8'); 7,61 (s, 1H, H-4'); 8,43 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 47 p. 230 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 21,3 (CH₃); 39,7 (C-10); 53,4 (C-9); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 113,2 (C-5); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 122,7 (C-8'); 122,8 (C-1'); 126,1 (C-4'); 128,9 (C-6'); 129,2 (C-7'); 131,2 (C-3'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11/C-5'); 146,6 (C-1); 146,6 (C-2'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 48 p. 231 do anexo.

(±)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-(4-(*o*-tolil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5t)



Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,58$ (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

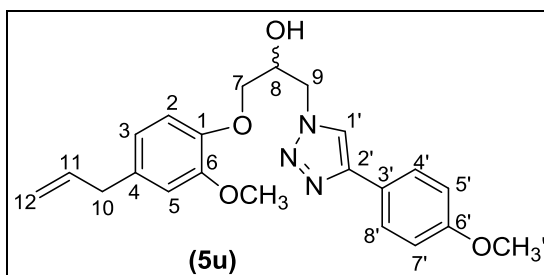
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3371, 3145, 3073, 2974, 2934, 2102, 1638, 1590, 1511, 1469, 1420, 1261, 1225, 1138, 1035, 920, 805, 765, 726, 674, 599, 547, 452. O espectro é apresentado na Figura 49 p. 232 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2,35 (s, 3H, CH₃); 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,69 (s, 3H, OCH₃); 3,81-3,91 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,20-4,25 (m, 1H, H-8); 4,39-4,45 (m, 2H, H-7b/OH); 4,60 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 3,8$ Hz, H-7a); 4,96-5,03 (m, 2H, H-12); 5,87 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, H-3); 6,75 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-5); 6,85 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 7,18-7,24 (m, 3H, H-5'/H-6'/H-7'); 7,67 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, H-8'); 8,25 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 50 p. 233 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 21,6 (CH₃); 39,8 (C-10); 53,2 (C-9); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 113,2 (C-5); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 124,7 (C-1'); 126,5 (C-7'); 128,2 (C-8'); 128,6 (C-6'); 130,6 (C-3'); 131,3 (C-5'); 133,6 (C-4); 135,3 (C-4'); 138,4 (C-11); 145,8 (C-1); 146,6 (C-2'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 51 p. 234 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(4-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5u)



Característica: sólido amarelado.

Tf = 104,2–104,5 °C.

CCD: $R_f = 0,17$ (hexano-acetato de etila 2:1 v v⁻¹).

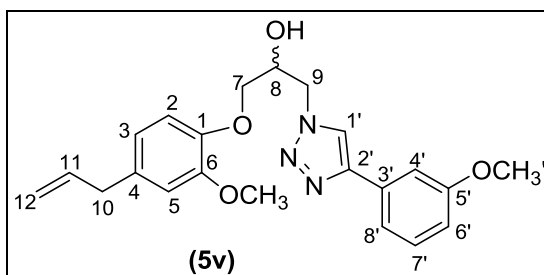
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3371, 3145, 3073, 2974, 2934, 2102, 1638, 1590, 1511, 1459, 1420, 1261, 1225, 1138, 1005, 920, 805, 766, 726, 674, 599, 547, 452. O espectro é apresentado na Figura 52 p. 235 do anexo.

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3,28 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, H-10); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 3,76 (s, 3H, OCH₃); 3,86-3,93 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,17-4,25 (m, 1H, H-8); 4,39-4,45 (m, 2H, H-7b); 4,61 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,98-5,09 (m, 2H, H-12); 5,54 (d, 1H, $J = 5,4$ Hz, OH); 5,92 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,0$ Hz, $J_3 = 6,9$ Hz, H-11); 6,67 (dd, 1H, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 2,1$ Hz, H-3); 6,79 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz, H-5); 6,90 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-2); 6,96-7,01 (m, 2H, H-5'/H-7'); 7,73-7,78 (m, 2H, H-4'/H-8'); 8,40 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 53 p. 236 do anexo.

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 39,5 (C-10); 53,4 (C-9); 55,6 (OCH₃); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 113,2 (C-5); 114,7 (C-7'/C-5'); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 121,9 (C-1'); 124,0 (C-3'); 126,9 (C-8'/C-4'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11); 146,6 (C-1); 146,7 (C-2'); 149,6 (C-6); 159,3 (C-6'). O espectro é apresentado na Figura 54 p. 237 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(3-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5v)



Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,35$ (hexano-acetato de etila 3:2 v v⁻¹).

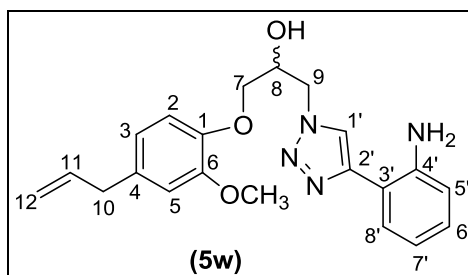
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3383, 3137, 3075, 3003, 2937, 2835, 1733, 1638, 1590, 1511, 1463, 1420, 1233, 1139, 1090, 1032, 992, 916, 849, 781, 746, 694, 655, 561, 458. O espectro é apresentado na Figura 55 p. 238 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,70 (s, 3H, OCH₃'); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 3,84-3,90 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,14-4,22 (m, 1H, H-8); 4,38 (dd, 1H, $J_1 = 13,8$ Hz, $J_2 = 7,8$ Hz, H-7b); 4,57 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,95-5,03 (m, 2H, H-12); 5,51 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, OH); 5,88 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,6$ Hz, H-3); 6,75 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-5); 6,82 - 6,86 (m, 2H, H-2/H-6'); 7,28 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-7'); 7,35-7,37 (m, 2H, H-4'/H-8'); 8,49 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 56 p. 239 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 39,7 (C-10); 53,5 (C-9); 55,6 (OCH₃'); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 110,8 (C-4'); 113,2 (C-5); 114,0 (C-6'); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 117,9 (C-8'); 120,8 (C-3); 123,1 (C-1'); 130,5 (C-7'); 132,6 (C-3'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11); 146,4 (C-1); 146,6 (C-2'); 149,7 (C-6); 160,1 (C-5'). O espectro é apresentado na Figura 57 p. 240 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(2-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5w)



Característica: sólido marrom.

T_f = 95,8–96,3 °C.

CCD: R_f = 0,35 (hexano-acetato de etila 3:2 v v⁻¹).

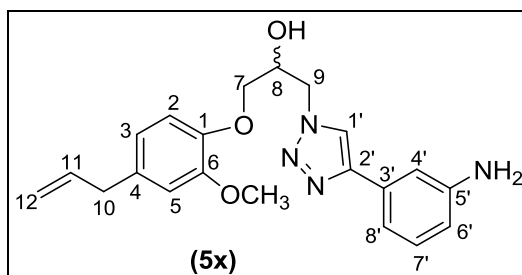
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$: 3386, 3136, 3076, 3001, 2942, 2834, 1732, 1638, 1586, 1511, 1463, 1420, 1227, 1139, 1090, 1032, 992, 915, 853, 781, 690, 654, 565, 456. O espectro é apresentado na Figura 58 p. 241 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3,28 (d, 2H, *J* = 6,6 Hz, H-10); 3,74 (s, 3H, OCH₃); 3,87-3,94 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,22-4,29 (m, 1H, H-8) 4,42-4,48 (m, 1H, H-7b); 4,63 (dd, 1H, *J*₁ = 13,8 Hz, *J*₂ = 3,9 Hz, H-7a); 4,98-5,08 (m, 2H, H-12); 5,56 (d, 1H, *J* = 5,7 Hz, OH); 5,92 (ddt_{ap}, 1H, *J*₁ = 16,8 Hz, *J*₂ = 10,0 Hz, *J*₃ = 6,6 Hz, H-11); 6,15 (s, 2H, NH₂); 6,53-6,59 (m, 1H, H-3); 6,67 (dd, 1H, *J*₁ = 8,2 Hz, *J*₂ = 1,9 Hz, H-5); 6,74 (dd, 1H, *J*₁ = 8,1 Hz, *J*₂ = 0,9 Hz, H-5'); 6,79 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, H-2); 6,90 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, H-8'); 6,97-7,03 (m, 1H, H-7'); 7,41-7,46 (m, 1H, H-6'); 8,45 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 59 p. 242 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 39,5 (C-10); 53,4 (C-9); 56,0 (OCH₃); 68,3 (C-8); 71,2 (C-7); 113,1 (C-5); 113,2 (C-5'); 114,7 (C-2); 116,0 (C-12); 116,2 (C-3'); 116,3 (C-7'); 120,7 (C-3); 122,7 (C-1'); 128,0 (C-8'); 128,8 (C-6'); 133,5 (C-4); 138,2 (C-11); 146,0 (C-1); 146,6 (C-2'); 147,5 (C-4'); 149,6 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 60 p. 243 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(-3-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5x)



Característica: óleo marrom.

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

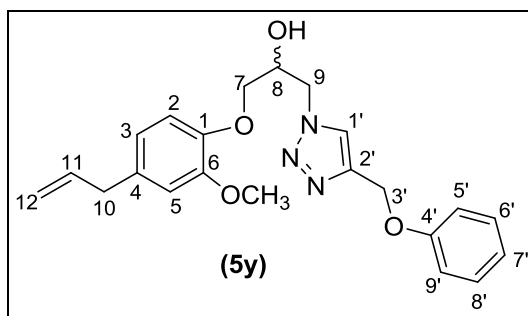
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3454, 3347, 3232, 3133, 2923, 2875, 2102, 1705, 1637, 1590, 1515, 1463, 1420, 1364, 1261, 1229, 1138, 1031, 872, 781, 694, 456. O espectro é apresentado na Figura 61 p. 244 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,70 (s, 3H, OCH₃); 3,81-3,95 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,15-4,21 (m, 1H, H-8); 4,34-4,40 (m, 1H, H-7b); 4,55 (dd, 1H, $J_1 = 13,6$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,94-5,02 (m, 2H, H-12); 5,09 (s, 2H, NH₂); 5,49 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, OH); 5,88 (ddt_{ap}, 1H, $J_1 = 16,8$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,44-6,47 (m, 2H, H-3/H-5); 6,60-6,63 (m, 1H, H-2); 6,83-7,04 (m, 4H, H-4'/H-6'/H-7'/H-8'); 8,27 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 62 p. 245 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 39,8 (C-10); 53,3 (C-9); 56,0 (OCH₃); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 110,9 (C-4'); 113,2 (C-5); 113,5 (C-8'); 114,0 (C-6'); 114,8 (C-2); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 122,4 (C-1'); 129,8 (C-3'); 131,8 (C-7'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11); 146,6 (C-1); 147,2 (C-2'); 149,5 (C-5'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 63 p. 246 do anexo.

(±)-1-(4-*alil*-2-metoxifenoxi)-3-(4-(fenoximetil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol

(5y)



Característica: óleo amarelo.

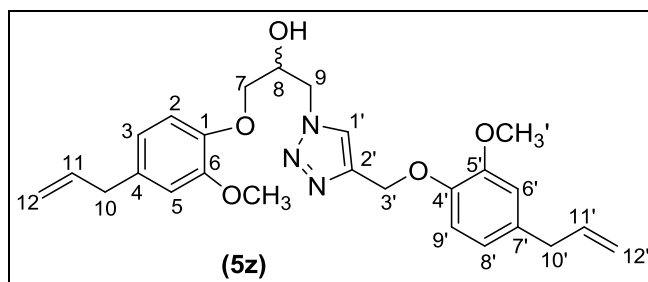
CCD: $R_f = 0,43$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3297, 3152, 3073, 3014, 2926, 2873, 2102, 1638, 1597, 1513, 1462, 1261, 1224, 1136, 1026, 916, 757, 694, 650, 607, 547, 460. O espectro é apresentado na Figura 64 p. 247 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3,23 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-10); 3,69 (s, 3H, OCH₃); 3,76-3,93 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,07-4,17 (m, 1H, H-8); 4,34-4,41 (m, 1H, H-7b); 4,55 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,94-5,03 (m, 2H, H-12); 5,06 (s, 2H, H-3'); 5,47 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, OH); 5,88 (dd_{tap}, 1H, $J_1 = 17,0$ Hz, $J_2 = 10,2$ Hz, $J_3 = 6,8$ Hz, H-11); 6,62 (dd, 1H, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz, H-3); 6,74 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz, H-5); 6,81-6,88 (m, 1H, H-2); 6,97 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H-5'/H-9'); 7,20-7,25 (m, 3H, H-6'/H-7'/H-8'); 8,12 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 65 p. 248 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 39,8 (C-10); 53,2 (C-9); 56,0 (OCH₃); 61,4 (C-3'); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 113,2 (C-5); 114,9 (C-2); 115,1 (C-5'/C-9'); 116,0 (C-12); 120,8 (C-3); 121,3 (C-1'); 126,0 (C-7'); 130,0 (C-6'/C-8'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11); 142,9 (C-2'); 146,6 (C-1); 149,7 (C-6); 158,6 (C-4'). O espectro é apresentado na Figura 66 p. 249 do anexo.

(±)-1-(4-alil-2-metoxifenoxi)-3-(4-((4-alil-2-metoxifenoxi)metil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (5z)



Característica: óleo amarelo.

CCD: $R_f = 0,57$ (hexano-acetato de etila 1:1 v v⁻¹).

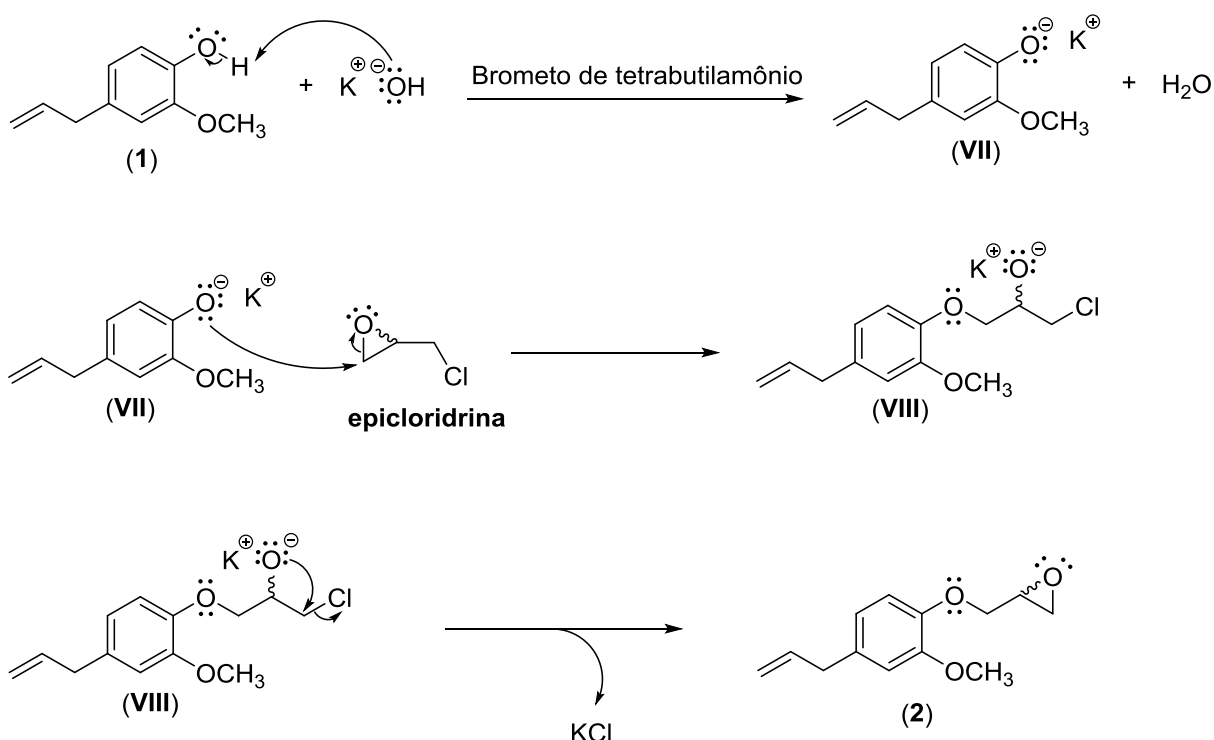
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$: 3388, 3145, 3075, 3003, 2935, 2830, 2102, 1638, 1511, 1465, 1337, 1258, 1229, 1138, 996, 909, 849, 800, 746, 644, 597, 460. O espectro é apresentado na Figura 67 p. 250 do anexo.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 3,23 (d, 4H, $J = 6,4$ Hz, H-10/ H-10'); 3,65 (s, 6H, OCH₃/OCH₃'); 3,69 (s, 2H, H-3'); 3,77-3,93 (m, 2H, H-9a/H-9b); 4,10-4,16 (m, 1H, H-8); 4,36 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 7,3$ Hz, H-7b); 4,54 (dd, 1H, $J_1 = 14,0$ Hz, $J_2 = 3,6$ Hz, H-7a); 4,94-5,03 (m, 4H, H-12'); 5,47 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, OH); 5,82-5,93 (m, 2H, H-11/H-11'); 6,59-6,63 (m, 2H, H-3/H-8'); 6,72-6,75 (m, 2H, H-5/H-6'); 6,83 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2); 6,97 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-9'); 8,08 (s, 1H, H-1'). O espectro é apresentado na Figura 68 p. 251 do anexo.

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 39,8 (C-10/C-10'); 53,1 (C-9); 55,8 (OCH₃); 56,0 (OCH₃); 62,3 (C-3'); 68,4 (C-8); 71,3 (C-7); 113,0 (C-6'); 113,2 (C-5); 114,4 (C-9'); 114,9 (C-2); 115,9 (C-12/C-12'); 120,6 (C-8'); 120,8 (C-3); 126,0 (C-1'); 133,3 (C-7'); 133,6 (C-4); 138,4 (C-11/C-11'); 143,1 (C-2'); 146,3 (C-4'); 146,6 (C-1); 149,5 (C-5'); 149,7 (C-6). O espectro é apresentado na Figura 69 p. 252 do anexo.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme mostrado no Esquema 2.2 (p. 46), a primeira etapa da rota sintética proposta para a obtenção dos novos 1,2,3-triazóis derivados do eugenol (**1**) correspondeu à preparação do epóxido **2**. A obtenção de **2** foi possível via reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), na presença de hidróxido de potássio, entre eugenol (**1**) e a epicloridrina, utilizando o brometo de tetrabutilamônio para auxiliar na miscibilização dos reagentes (DIAS *et al.*, 2013). O mecanismo da reação do eugenol (**1**) com a epicloridrina pode ser visto no Esquema 2.3.



Esquema 2.3 – Proposta mecanística para a síntese do (±)-1-((4-alil-2-metoxifenoxi)metiloxirano) (**2**).

Fonte: Elaborada pela própria autora

De acordo com esta proposta mecanística, inicialmente ocorre a desprotonação do eugenol (**1**) resultando na formação do fenóxido **VII**. Este, por sua vez, ataca o carbono menos substituído do anel de epóxido da epicloridrina,

produzindo um segundo alcóxido **VIII**. O processo de substituição nucleofílica intramolecular no alcóxido **VIII** leva à obtenção do composto **2**, produzido na forma de uma mistura racêmica.

O composto **2** teve sua identidade confirmada por meio das espectroscopias no infravermelho e de ressonância magnética nuclear (RMN de ^{13}C e ^1H).

O espectro no infravermelho do composto **2** é mostrado na Figura 2.5 (p. 88). As bandas em 3075, 3060, 3001 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos de ligação C-H de carbonos com hibridização sp^2 . As bandas referentes aos estiramentos da ligação C-H de carbonos com hibridização sp^3 podem ser observadas em 2932 e 2832 cm^{-1} ; bandas relativas aos estiramentos da ligação C=C ocorrem em 1509 e 1418 cm^{-1} . As bandas em 1259 e 1227 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação C-O-C do anel de epóxido. Outra banda característica deste composto é referente aos estiramentos da ligação C-O, que aparecem em 1139 e 1028 cm^{-1} (BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ^1H do composto **2** (Figura 2.6, p. 89), o duplo duplete em δ_{H} 2,65 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 5,0 \text{ Hz}$ e $J_2 = 2,6 \text{ Hz}$) foi atribuído ao hidrogênio H-9a e o multipeto em δ_{H} 2,80-2,83, integrado para um átomo de hidrogênio foi relacionado a H-9b. O duplete em δ_{H} 3,26 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,8 \text{ Hz}$) foi relacionado aos hidrogênios metilênicos H-10. O multipeto em δ_{H} 3,29-3,33 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio H-8. O simpleto observado em δ_{H} 3,79 e integrado para três átomos corresponde aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila (OCH_3). O duplo duplete observado em δ_{H} 3,95 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 11,4 \text{ Hz}$ e $J_2 = 5,6 \text{ Hz}$) foi atribuído ao hidrogênio H-7b, enquanto o duplo duplete em δ_{H} 4,14 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 11,4 \text{ Hz}$ e $J_2 = 3,6 \text{ Hz}$)

corresponde ao hidrogênio H-7a. O multiplete observado em δ_H 4,97-5,04 e integrado para dois átomos de hidrogênio foi relacionado aos hidrogênios vinílicos H-12. A multiplicidade esperada para o sinal referente ao hidrogênio H-11 em δ_H 5,88 seria um duplo duplo tripleto, o qual apresentaria seis picos em cada metade do multiplete simétrico. Porém, devido à sobreposição de sinais o que se observa é um sinal que se assemelha a quintetos sobrepostos (PAVIA *et al.*, 2010). Apesar dessa sobreposição de sinais, foi possível calcular as constantes de acoplamento $J_{trans} = 16,8$ Hz, $J_{cis} = 10,0$ Hz (acoplamentos de H-11 com os hidrogênios H-12), além da constante de acoplamento $J = 6,8$ Hz referente ao acoplamento de H-11 com os hidrogênios vizinhos H-10. Na região característica de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos foi observado o multiplete em δ_H 6,62-6,66 correspondente aos hidrogênios H-3 e H-5 e o duplete em δ_H 6,80 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 8,0$ Hz) atribuído ao hidrogênio H-2.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.7, p. 90) observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura do composto **2**. Assim, o sinal observado em δ_C 40,0 foi associado ao carbono metilênico (C-10). Os sinais em δ_C 45,0 e δ_C 50,4 correspondem aos carbonos C-9 e C-8, respectivamente. O sinal referente ao grupo metoxila (OCH_3) ocorre em δ_C 56,0. O sinal em δ_C 70,4 foi relacionado ao carbono C-7, vizinho ao anel de epóxido. Os sinais em δ_C 115,7 e δ_C 137,7 correspondem aos carbonos sp^2 C-12 e C-11, respectivamente. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático (PRETSCH *et al.*, 1989).

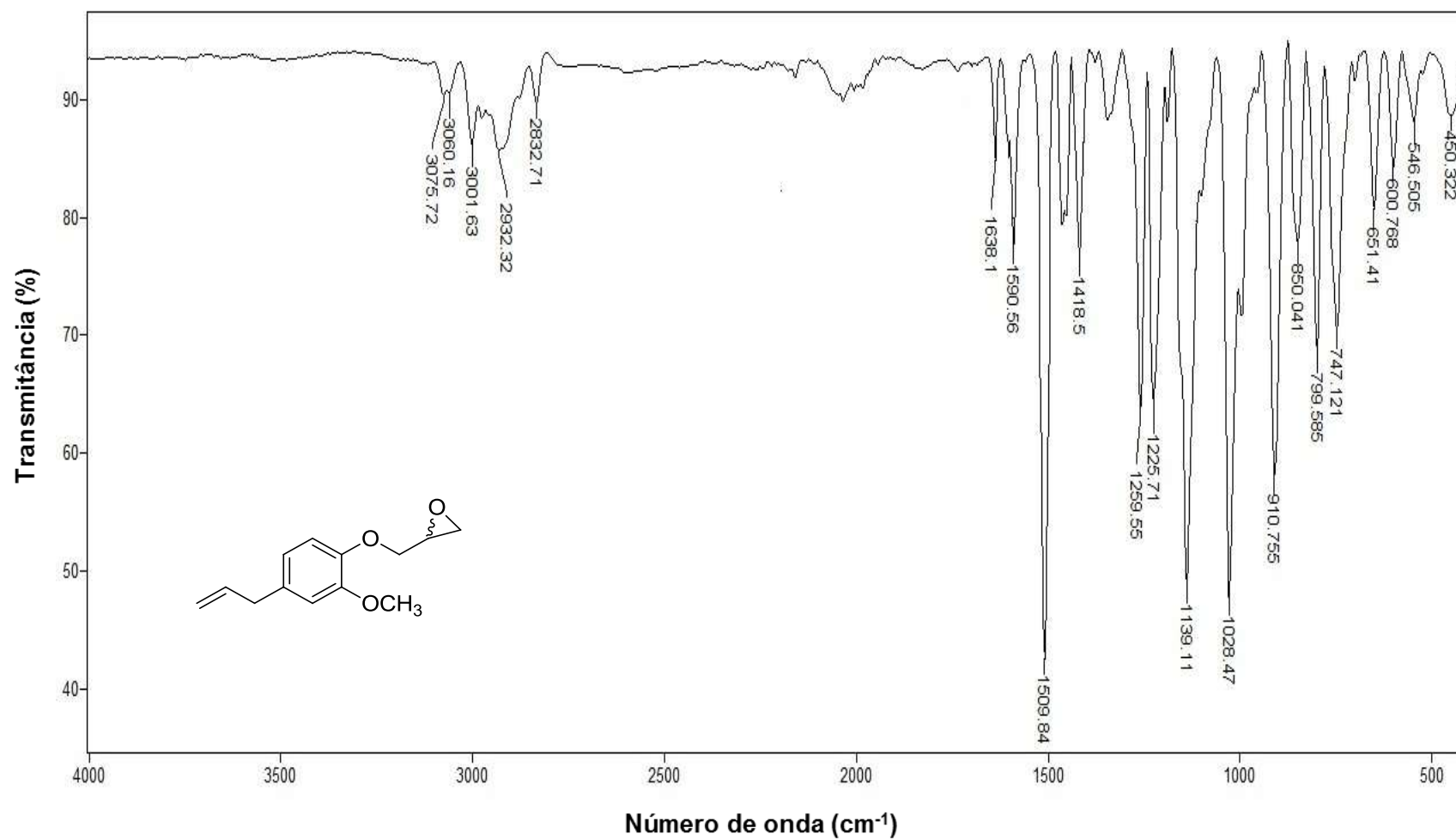


Figura 2.5 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto 2.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

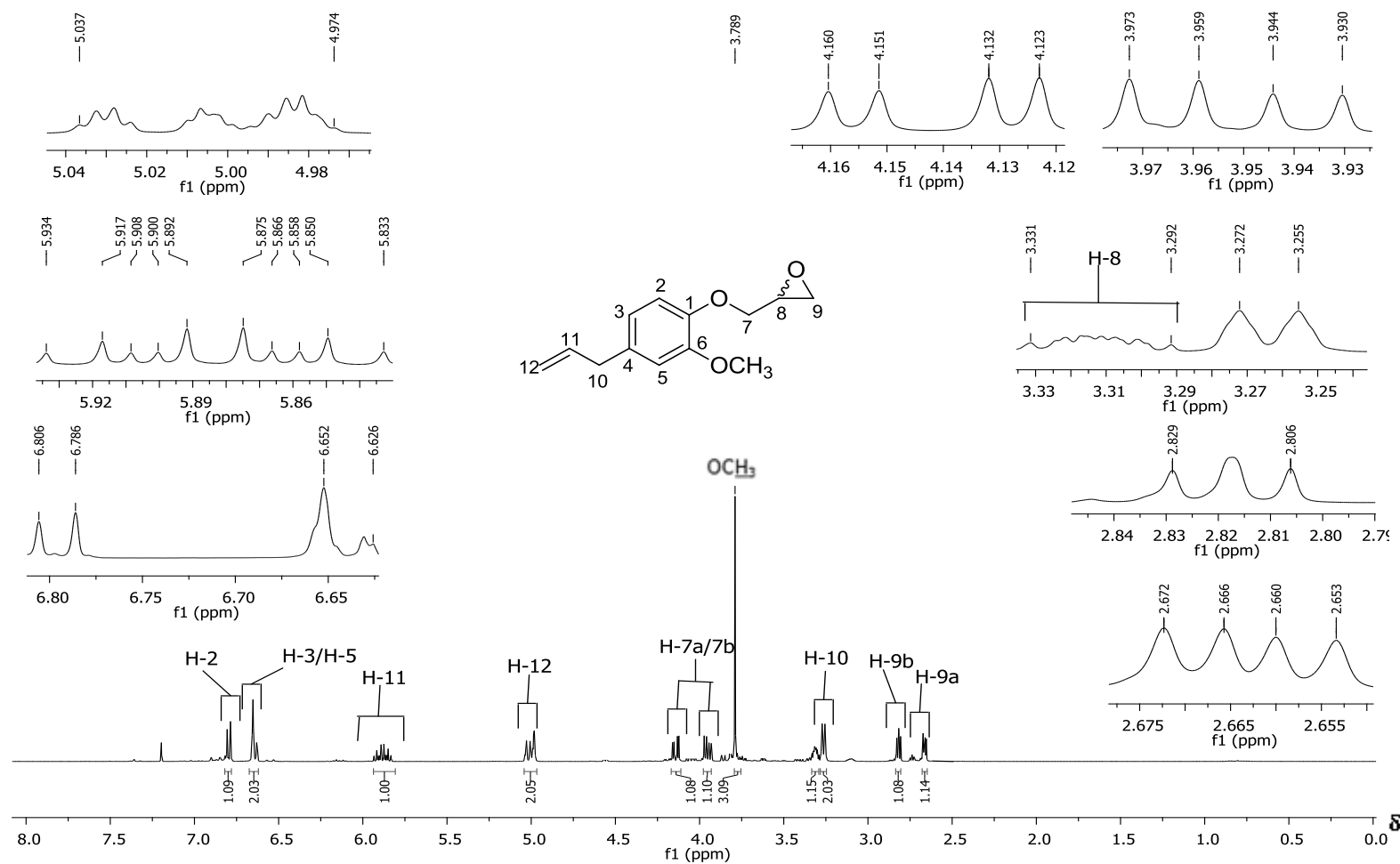


Figura 2.6 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **2**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

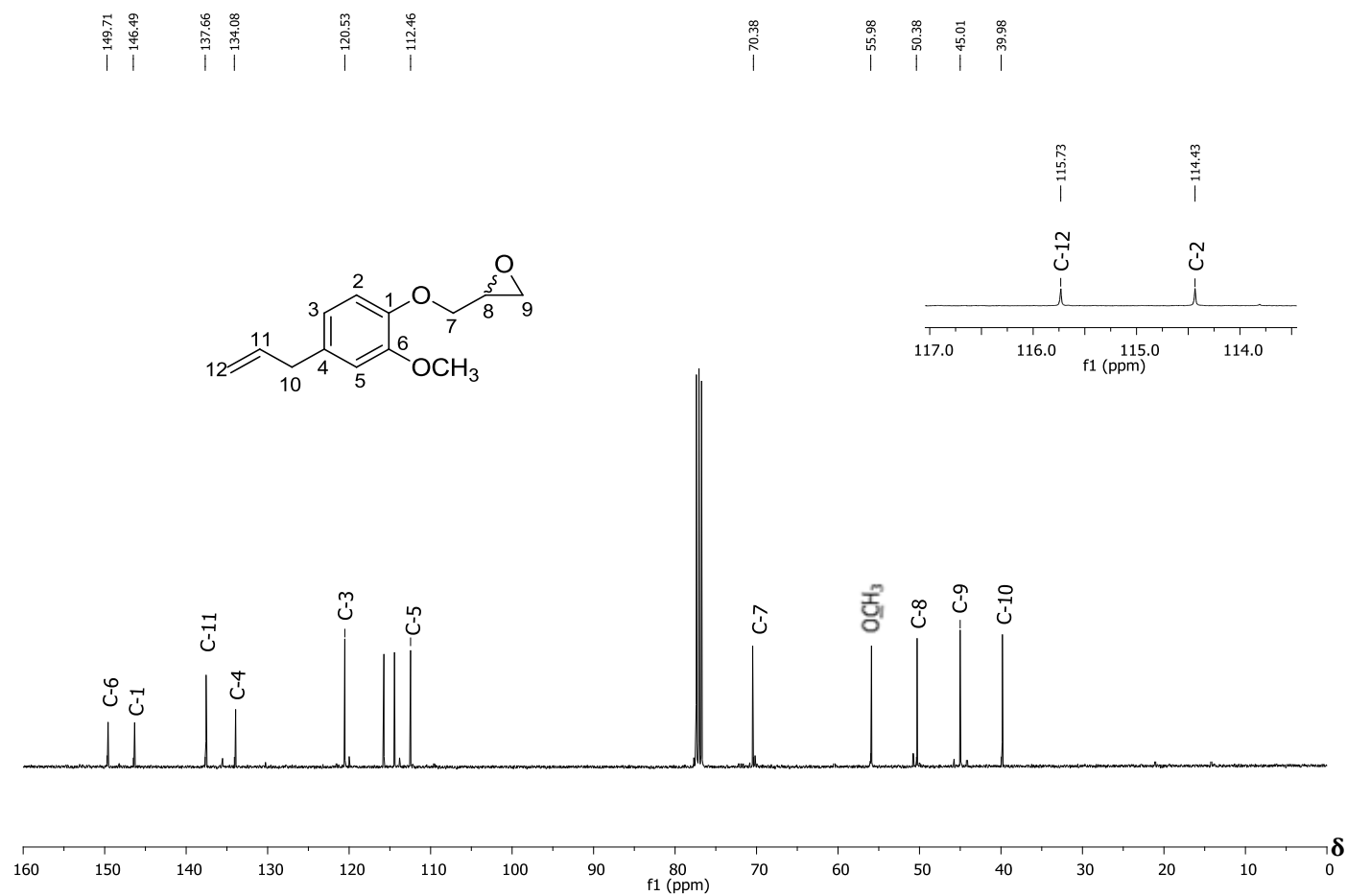
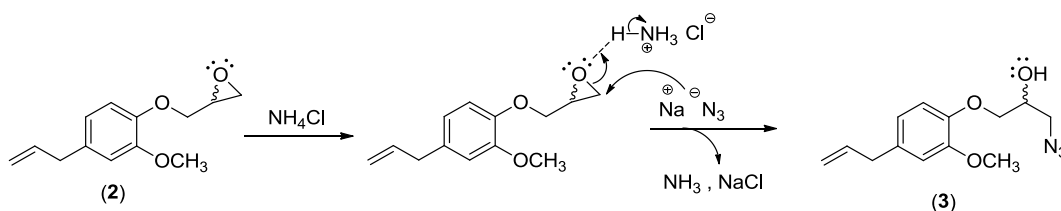


Figura 2.7 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **2**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

A preparação do azido-álcool **3** ocorreu via azidólise de **2** com azida de sódio na presença de cloreto de amônio. Como pode ser observado na proposta de mecanismo para a reação mostrada no Esquema 2.4, inicialmente ocorre a coordenação do oxigênio do anel de epóxido com o íon amônio. Em seguida, o ânion azido ataca o carbono menos impedido do anel resultando na formação de **3** (FRINGUELLI *et al.*, 1999; AMANTINI *et al.*, 2002).



Esquema 2.4 – Proposta mecanística para a azidólise do (±)-1-((4-alil-2-metoxifenoxi)metiloxirano) (**2**) para a formação de **3**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

O composto **3** teve sua identidade confirmada por meio das espectroscopias no infravermelho e de ressonância magnética nuclear (RMN de ^{13}C e ^1H).

O espectro no infravermelho de **3** é mostrado na Figura 2.8 (p. 94) e a banda larga em 3355 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação do grupo OH, correspondeu a uma evidência de que a reação de azidólise de **2** para obtenção de **3** havia sido bem sucedida. Esta banda não está presente no infravermelho do composto **2**, conforme pode ser notado comparando-se os espectros das Figuras 2.5 (p. 88) e 2.8 (p. 94). Outra evidência de que a referida reação ocorreu é a presença no espectro no infravermelho de **3** (Figura 2.8, p. 94) da banda intensa em 2097 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo azido. A banda em 3076 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação C-H para carbonos com hibridização sp^2 . As bandas referentes aos estiramentos da ligação C-H de carbono com hibridização sp^3 podem

ser observadas em 2961, 2934 e 2874 cm^{-1} . As bandas correspondentes aos estiramentos da ligação C=C foram observadas em 1510 e 1461 cm^{-1} (BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ^1H do composto **3** (Figura 2.9, p. 95), o duplete observado em δ_{H} 3,34 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,4$ Hz) foi atribuído aos hidrogênios metilênicos H-10. A multiplicidade esperada para os sinais referentes aos hidrogênios H-9a e H-9b em δ_{H} 3,35 e δ_{H} 3,50, respectivamente, seria um duplo duplete; porém foi observado uma sobreposição dos sinais. Entretanto foi possível calcular os valores das constantes de acoplamento geminais entre H-9a e H-9b ($J = 12,7$ Hz) e vicinais entre H-9a e H-8 (6 Hz) e H-9b e H-8 (4,6 Hz). O simpleto observado em δ_{H} 3,85 e integrado para três átomos de hidrogênio corresponde aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila (OCH_3). O duplo duplete em δ_{H} 3,99 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 10,0$ Hz e $J_2 = 6,4$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-7b. O duplo duplete em δ_{H} 4,03 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 10,0$ Hz e $J_2 = 4,0$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-7a. O multiplete em δ_{H} 4,08-4,16 e integrado para um átomo de hidrogênio foi relacionado ao hidrogênio H-8. Em δ_{H} 5,05-5,11, o multiplete integrado para dois átomos de hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios vinílicos H-12. De modo similar ao que foi mencionado para o composto **2**, para o hidrogênio H-11 do composto **3**, em δ_{H} 5,95, foi possível calcular as constantes de acoplamento $J_{\text{trans}} = 16,8$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,4$ Hz (acoplamento de H-11 com H-12), além da constante de acoplamento $J = 6,4$ Hz (acoplamento de H-11 com os hidrogênios vizinhos H-10). Na região característica de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos foi observado o multiplete em δ_{H} 6,70-6,74 correspondente aos hidrogênios H₃ e H₅ e o duplete em δ_{H} 6,86 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 8,4$ Hz) atribuído ao hidrogênio H-2. Não

foi observado no espectro de ^1H de RMN o sinal relativo ao grupo hidroxila (OH) que aparece normalmente entre 0,5 e 5,0 ppm, a variabilidade dessa absorção depende da quantidade de troca de prótons, logo é comum o sinal de OH não aparecer em alguns compostos (PAVIA *et al.*, 2010).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.10, p. 96) observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura do composto **3**. Assim, o sinal observado em δ_{C} 40,0 foi associado ao carbono metilênico (C-10). Os sinais em δ_{C} 53,4 e δ_{C} 69,4 correspondem aos carbonos C-9 e C-8, respectivamente. O sinal observado em δ_{C} 55,8 foi atribuído ao carbono do grupo metoxila (OCH_3). O sinal em δ_{C} 72,1 foi relacionado ao carbono C-7. Os sinais em δ_{C} 115,8 e δ_{C} 137,5 correspondem aos carbonos sp^2 C-12 e C-11, respectivamente. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático (PRETSCH *et al.*, 1989).

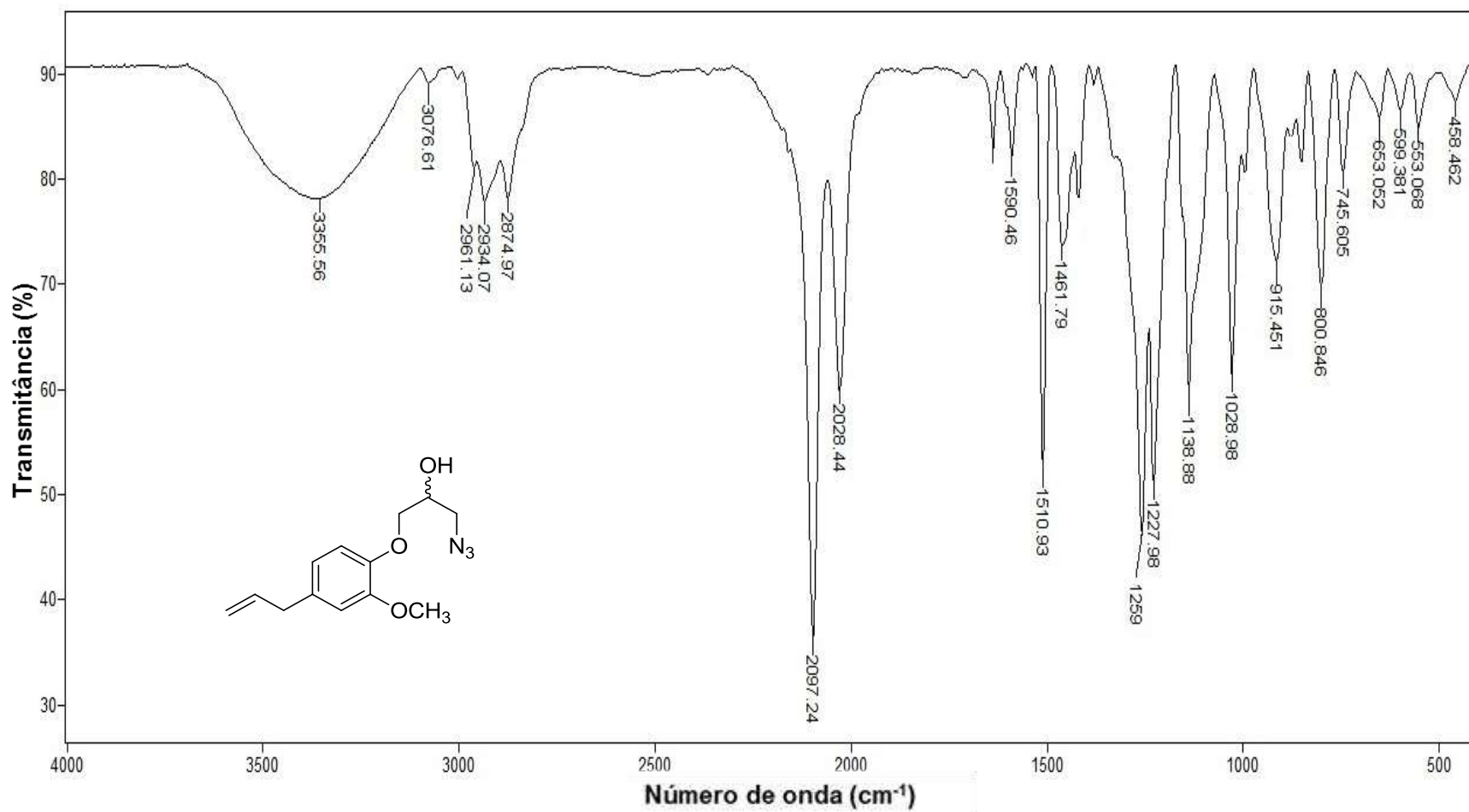


Figura 2.8 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **3**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

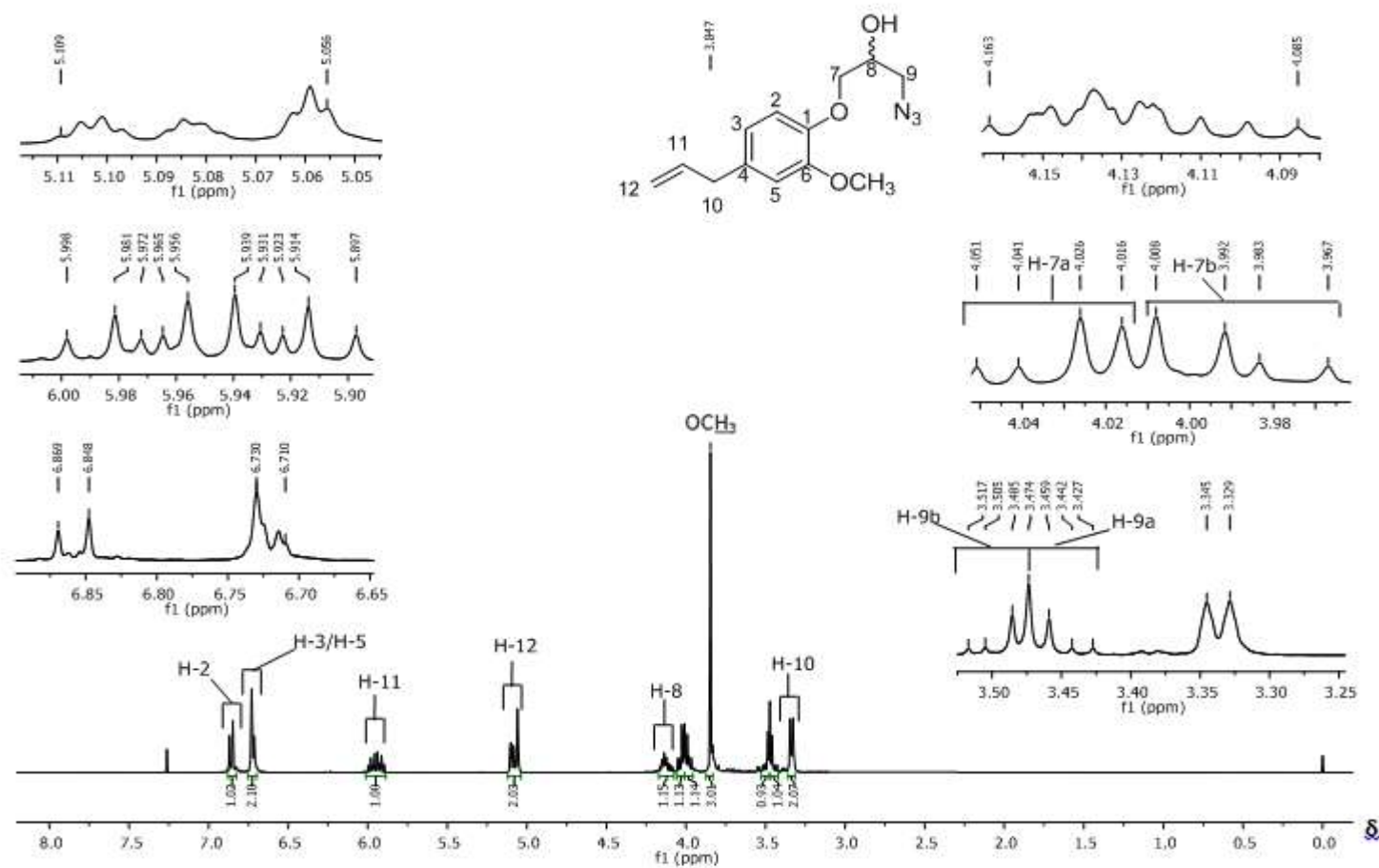


Figura 2.9 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **3**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

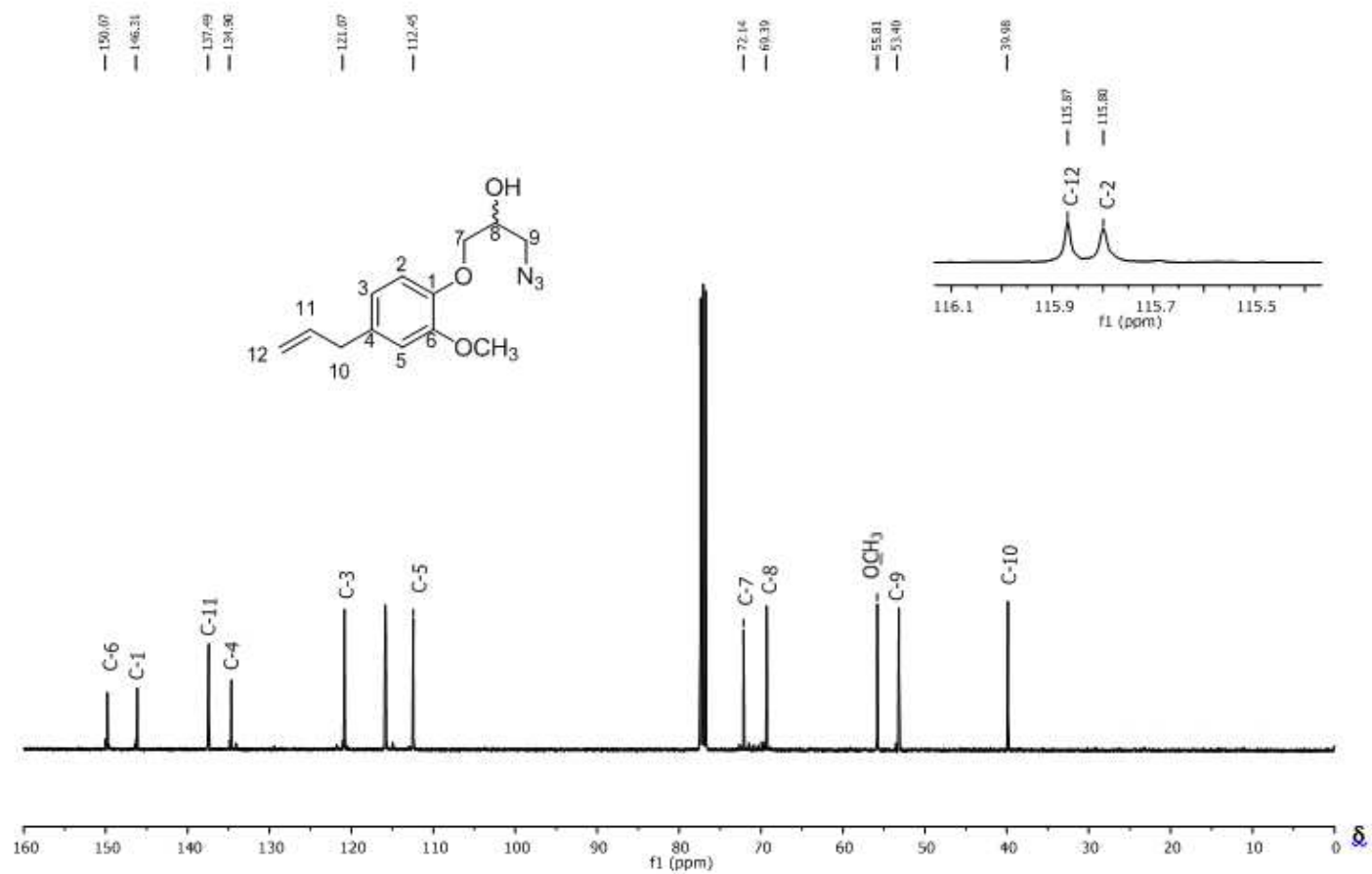
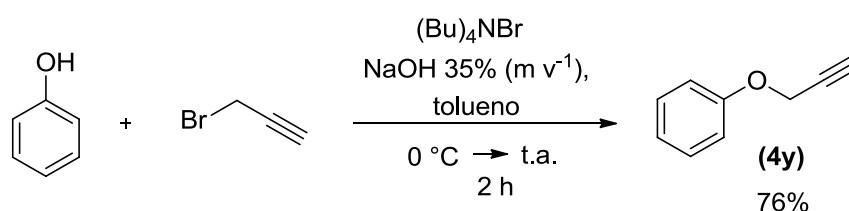


Figura 2.10 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **3**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Conforme mostrado no plano sintético (Esquema 2.2 p. 46), os derivados do eugenol contendo o anel triazólico seriam obtidos via reação “click” entre a azida **3** e diferentes alquinos terminais **4**. Enquanto a maioria dos alquinos utilizados foram adquiridos comercialmente, procedeu-se à síntese dos alquinos **4y** e **4z**. O primeiro destes alquinos sintetizados correspondeu ao (prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**4y**). Para sua síntese, foi utilizando o método de catálise de transferência de fase (Esquema 2.5) (LIMA, 2018).



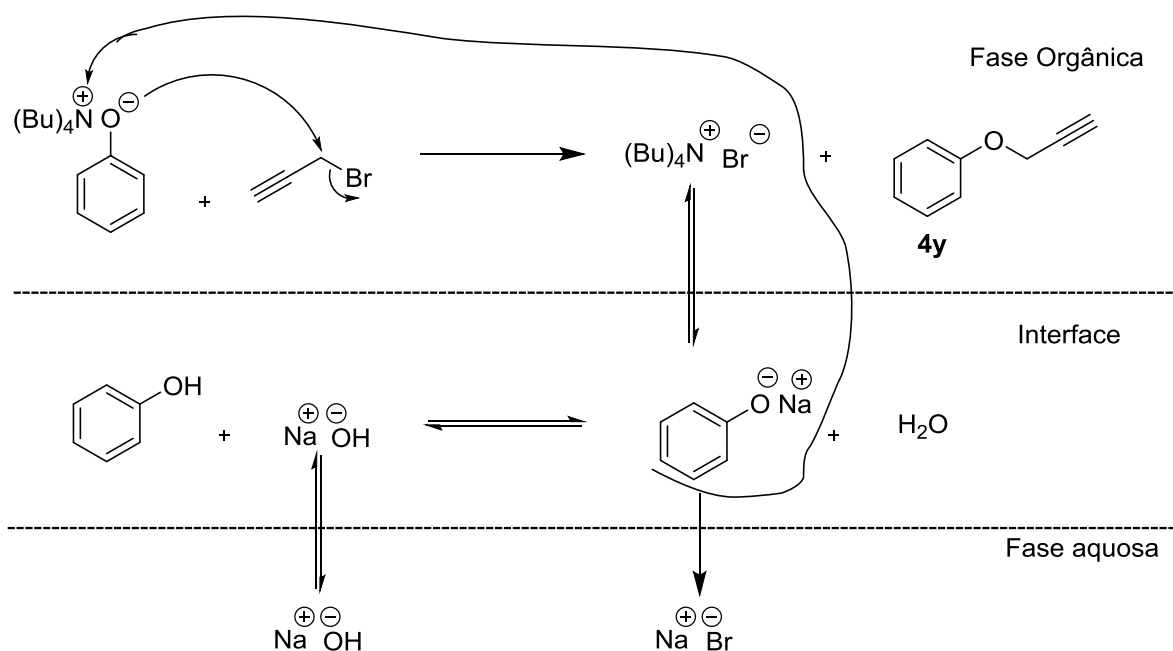
Esquema 2.5 – Método para a síntese do (prop-2-in-1-iloxi)benzeno (**4y**).

Fonte: Elaborado pela própria autora.

A catálise de transferência de fase (CTF) se tornou um método bastante popular e aplicado em reações de síntese orgânica. Desde o final dos anos 1960 esse método foi adotado e tem sido muito útil promovendo reações em sistemas imiscíveis de duas fases (SCHETTIN *et. al.*, 2018). A CTF por não requerer o uso de solventes anidros, fornece produtos com altos rendimentos e com elevado grau de pureza, não é utilizada altas temperaturas, possui custo baixo e poder ser utilizada para os mais diversos tipos de reações, inclusive na síntese orgânica assimétrica (PATEL *et. al.*, 2018). Muitas substâncias podem atuar como catalisadores nos processos CTF, dentre elas pode-se citar, como por exemplo, sais de amônio quaternários, sais de fosfônio quaternários, poliéteres macrocíclicos (éteres de coroa e criptandos), polímeros, dentre outros (LUCCHESI & MARZORATI, 2000).

Neste trabalho, o catalisador utilizado na síntese dos alquinos terminais foi o brometo de tetrabutilamônio, $(\text{Bu})_4\text{NBr}$. Os sais de amônio

quaternários são os catalisadores mais utilizados e adequados uma vez que possuem eficácia elevada, apresenta baixo custo e são relativamente estáveis (SCHETTIN *et. al.*, 2018; PATEL *et. al.*, 2018). Em termos de mecanismo para esta transformação, uma proposta é apresentada no Esquema 2.6. Inicialmente ocorre a desprotonação do fenol pela base hidróxido de sódio, formando assim o fenóxido de sódio. Posteriormente ocorre uma troca iônica entre esse fenóxido e o brometo de tetrabutilamônio, formando o sal quaternário, nesse caso, o fenóxido de amônio quaternário na interface do sistema. Este, por sua vez, transfere-se para a fase orgânica, reage com o brometo de propargila fornecendo o alquino **4y** com simultânea regeneração do catalisador (MAKOSZA & WAWRZYNIEWICZ (1969); LIMA, 2018).



Esquema 2.6 – Proposta de mecanística para a CTF envolvida na preparação do alquino **4y**.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

A partir da utilização da CTF, os alquinos **4y** e **4z** foram sintetizados com rendimentos de 76 e 85%, respectivamente (Figura 2.11).

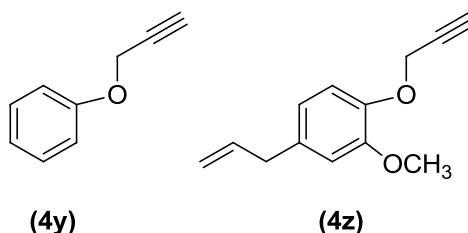


Figura 2.11 – Estruturas dos alquinos **4y** e **4z** sintetizados via CTF.
 Fonte: Elaborada pela própria autora

Uma vez sintetizado, o alquino **4y** foi caracterizado pelas espectroscopias no IV e de RMN. No espectro no infravermelho do composto **4y** (Figura 2.12, p.101), observa-se uma banda em 3291 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-H de carbono com hibridização sp . Em 3098 , 3065 , 3042 cm^{-1} , há bandas de estiramento da ligação C-H de carbono com hibridização sp^2 e em 2924 e 2871 cm^{-1} , bandas referentes aos estiramentos da ligação C-H de carbono com hibridização sp^3 . A banda em 2121 cm^{-1} é devida ao estiramento da ligação tripla carbono-carbono e as bandas em 1597 e 1493 cm^{-1} , foram atribuídas aos estiramentos da ligação C=C (BARBOSA, 2008). No espectro de RMN de ^1H do composto **4y** (Figura 2.13, p. 102), o tripleto observado em $\delta_H 2,53$ e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 2,4\text{ Hz}$) foi atribuído ao hidrogênio acetilênico H-9. O duplete em $\delta_H 4,71$ e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 2,4\text{ Hz}$) relaciona-se aos hidrogênios H-7. O multiplete observado em $\delta_H 6,98\text{-}7,05$ e integrado para três átomos de hidrogênio corresponde aos hidrogênios H-2, H-6 e H-4. O outro multiplete em $\delta_H 7,29\text{-}7,36$, integrado para dois átomos de hidrogênio, foi atribuído aos hidrogênios H-3 e H-5. Os valores das constantes de acoplamento estão em acordo com a literatura, uma

vez que seus valores estão dentro da faixa de valores típica para acoplamentos de hidrogênios acetilênicos com hidrogênios α característicos em alquinos terminais ($^4J = 2-3$ Hz) (PAVIA *et. al.*, 2010).

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **4y** (Figura 2.14, p. 103), observa-se que o número de sinais está compatível com a estrutura do composto. O sinal em δ_c 55,7 foi atribuído ao carbono C-7, enquanto que os sinais em δ_c 75,4 e 78,6 foram atribuídos aos carbonos da tripla ligação C-9 e C-8, respectivamente. Os demais sinais foram atribuídos aos outros carbonos que constituem o anel aromático, sendo, portanto, o sinal em δ_c 114,8 relacionado aos carbonos C-2 e C-6; em δ_c 121,5 o sinal correspondente a C-4; em δ_c 129,4 o sinal dos carbonos C-3 e C-5; e por fim, o sinal em δ_c 157,5 atribuído ao carbono C-1 (PRETSCH *et. al.*, 1989).

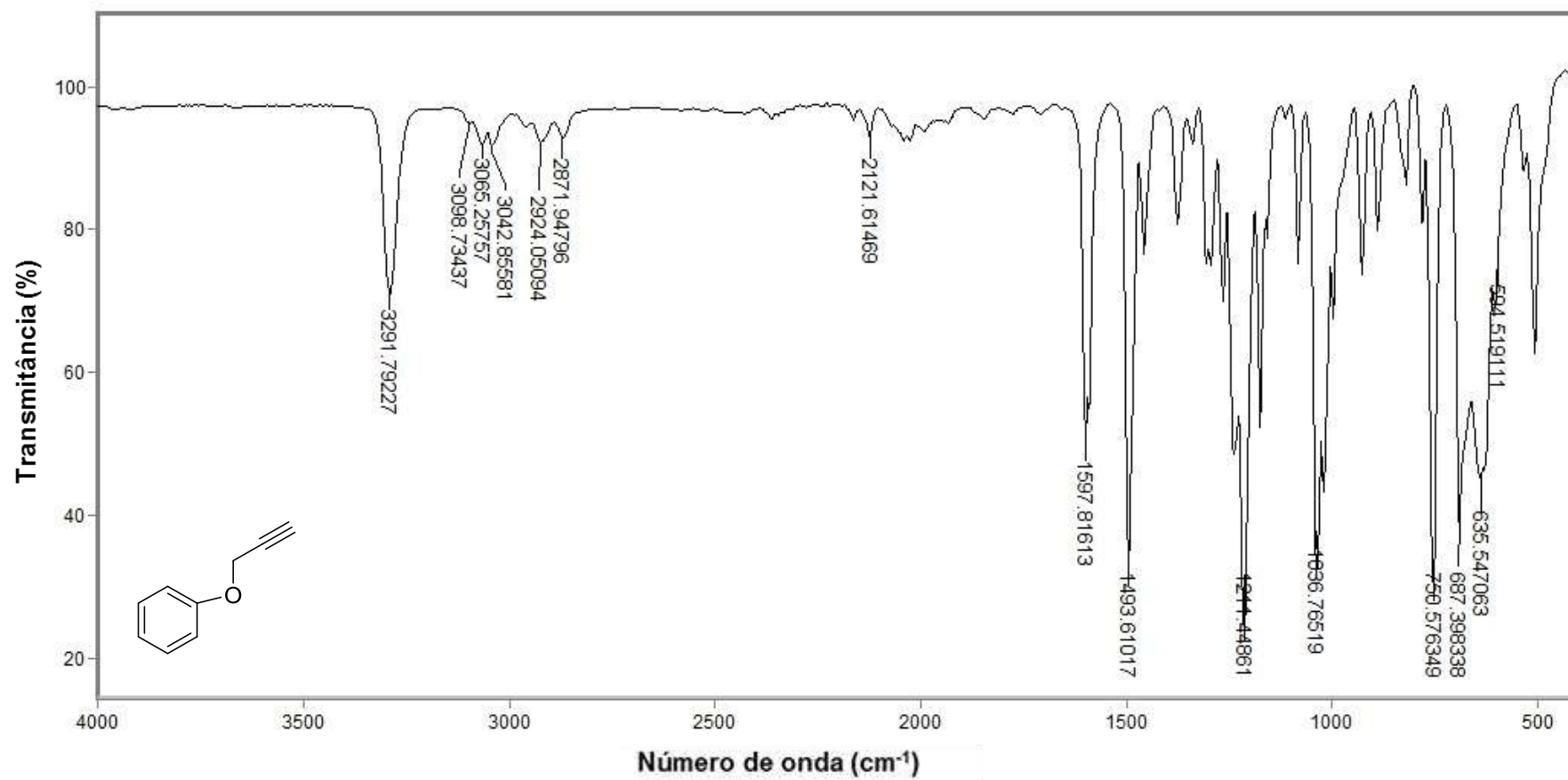


Figura 2.12 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **4y**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

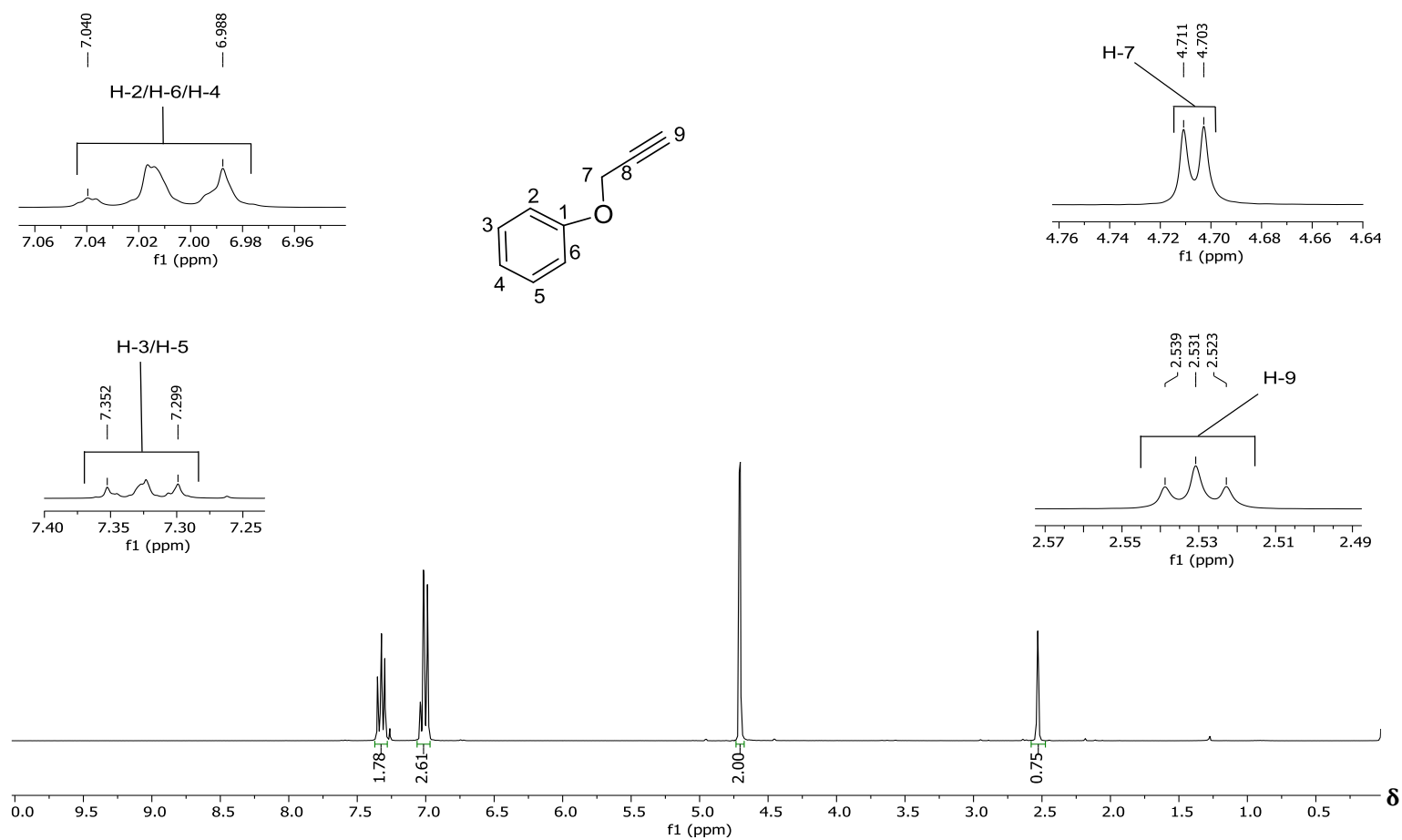


Figura 2.13 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **4y**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

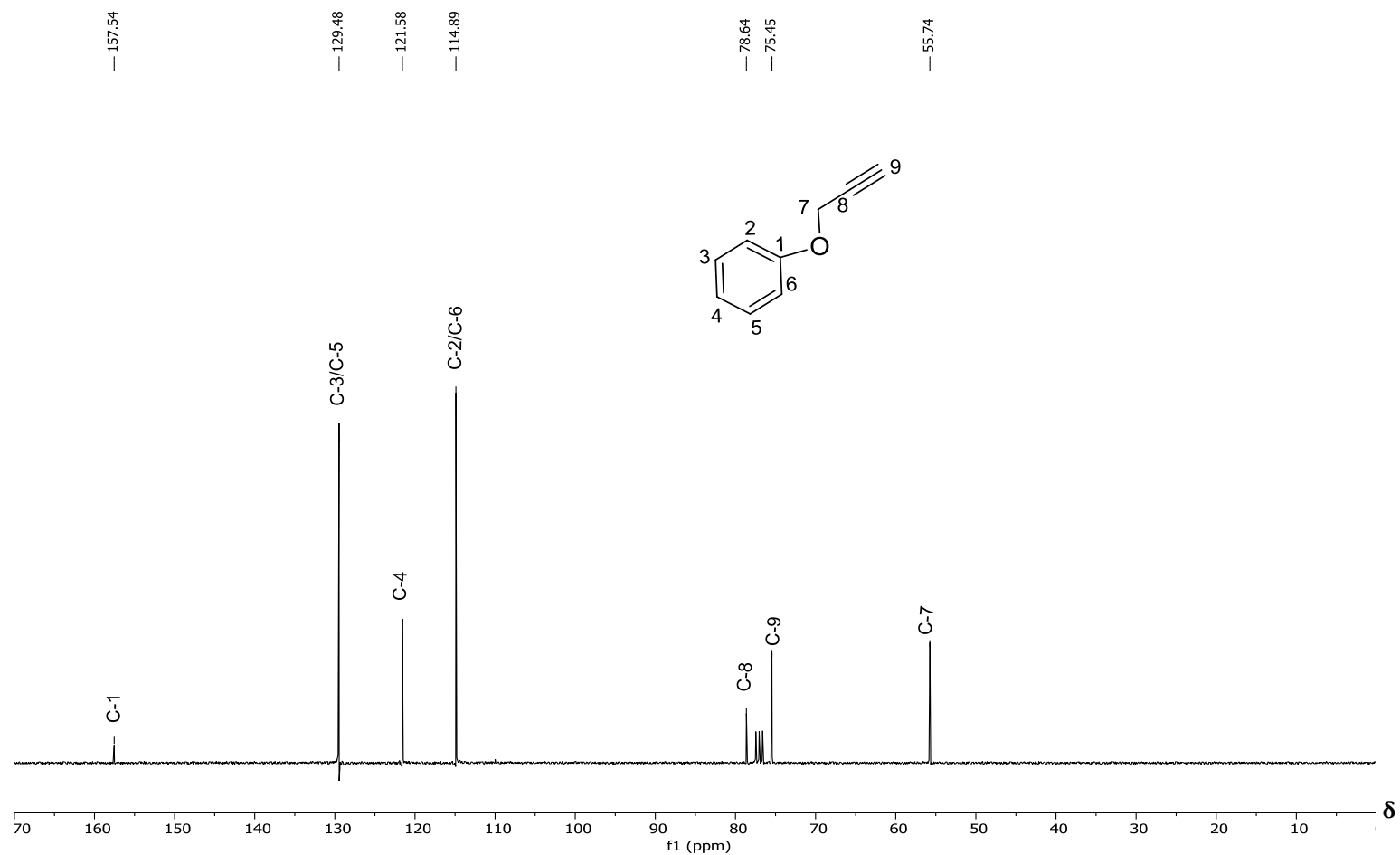
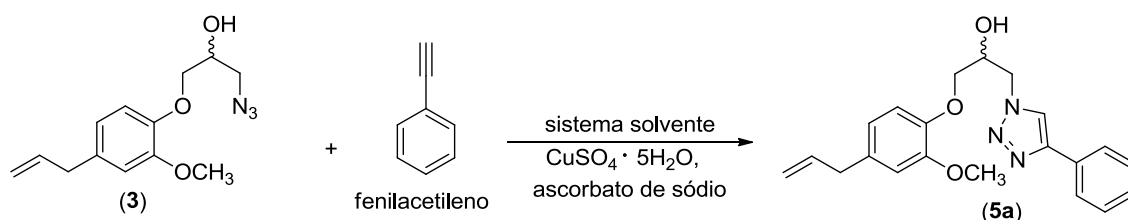


Figura 2.14 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **4y**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Considerando ainda a proposta sintética apresenta no Esquema 2.2 (p. 46), a última etapa envolvida na síntese dos derivados 1,2,3-triazóis do eugenol correspondeu à reação “click”. Foi realizada uma otimização das condições de reação para condução deste processo. Para tal, empregou-se a reação entre a azida **3** e o fenilacetileno (Esquema 2.7).

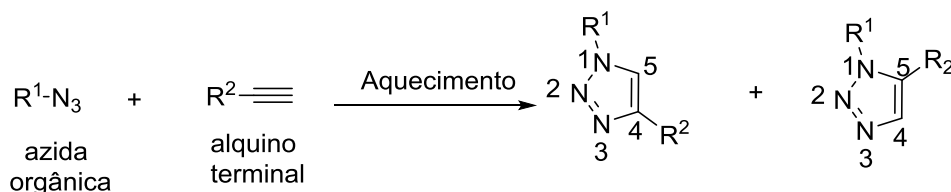


Esquema 2.7 – Reação escolhida para estudo de otimização das condições da reação CuAAC.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

A escolha do alquino fenilacetileno se deveu ao fato de sua maior disponibilidade no laboratório.

O processo de cicloadição 1,3-dipolar entre uma azida orgânica e um alcino terminal foi pioneiramente investigado por Rolf Husgein (HUSGEIN, 1963). Porém, as primeiras reações desta natureza descrita por este pesquisador apresentavam as seguintes desvantagens: necessitavam de elevadas temperaturas para sua ocorrência; os tempos de reação eram longos; as reações produziam uma mistura de 1,2,3-triazóis-1,4 e 1,5-disubstituídos (Esquema 2.8, p. 105).



Esquema 2.8 – Equação geral para a reação de cicloadição 1,3-dipolar investigada por Husgein. O processo resulta na formação dos 1,2,3-triazóis-1,4 e 1,5-dissubstituídos.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Investigações conduzidas concomitantemente pelos grupos de Sharpless e Meldal mostraram que a reação de cicloadição 1,3-dipolar é acelerada pela presença de íons $Cu(I)$; o aumento na taxa de velocidade é da ordem de 7 vezes (MELDAL e TORNØE, 2008; ROSTOVTSEV *et al.*, 2002). Outro aspecto importante é que os processos catalisados por $Cu(I)$ resultam na formação exclusiva do 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído.

Diferentes são as fontes de cobre(I) que podem ser utilizadas como catalisadores nas reações CuAAC (SING *et al.*, 2016; FREITAS *et al.*, 2011). Para o processo de otimização da reação mostrada no Esquema 2.8, optou-se pela utilização do sistema $CuSO_4$ /ascorbato de sódio. Neste caso, o ascorbato de sódio reduz $Cu(II)$ a $Cu(I)$, gerando a espécie catalítica *in situ*. Este sistema tem sido utilizado com sucesso pelo Grupo de Síntese e Pesquisa de Compostos Bioativos (GSPCB) em investigações voltadas para a síntese de 1,2,3-triazóis bioativos (GAZOLLA *et al.*, 2018; TEIXEIRA *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Assim como diferentes fontes de $Cu(I)$ são utilizadas em processos click, o mesmo ocorre com relação aos solventes (FREITAS *et al.*, 2011). Dentro dessa perspectiva, foram avaliados os parâmetros solvente e temperatura com relação à

eficiência da reação entre a azida **3** e o fenilacetileno. Na Tabela 2.3 estão apresentados os resultados alcançados ao longo do processo de otimização.

Tabela 2.3 – Otimização das condições de reação entre a azida **3** e o alquino fenilacetileno.

Entrada*	Solvente**	Temperatura (°C)	Tempo de reação	Rendimento (%)
1	DCM/H ₂ O	t.a.	3,5 h	65
2	DCM	t.a	24 h	-
3	Álcool <i>tert</i> -butílico	t.a	24 h	-
4	Álcool <i>tert</i> -butílico/H ₂ O	t.a	3 h	48
5	Etanol/H ₂ O	t.a	30 min	85
6	H ₂ O	t.a	20 min	75
7	H ₂ O	50	20 min	78

t.a.: temperatura ambiente; DCM = diclorometano; h = horas; min = minutos; (-): não houve reação.

*Procedimento geral utilizado para conduzir as reações: a um balão de fundo redondo foram adicionados o alquino (fenilacetileno), a azida (**3**), o ascorbato de sódio, o **solvente** e o CuSO₄·5H₂O, respectivamente. A mistura resultante foi mantida sob agitação. A reação foi monitorada por CCD. Após o término da reação (exceto para Entrada 2 e 3, que não houve formação de produto), foram adicionados diclorometano e água à mistura. A fase aquosa foi extraída com diclorometano. Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de NaCl, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sobre pressão reduzida. O composto **5a** foi purificado, a partir do resíduo, via coluna cromatográfica de sílica gel.

** Para sistemas constituídos por dois solventes, a proporção foi de 1:1 v v⁻¹.
Fonte: Elaborada pela própria autora.

Para o processo de otimização, realizou-se inicialmente a reação entre a azida **3** e o fenilacetileno, utilizando como solvente a mistura água e DCM (diclorometano) (Tabela 2.3, entrada 1). O composto **5a**, após 3,5 h de reação e

purificação por cromatografia em coluna de sílica gel, foi obtido com 65% de rendimento. Conduzindo a reação na presença de DCM apenas e à temperatura ambiente, não foi observada formação do produto **5a** (entrada 2) após 24 h de reação. Conforme observado na entrada 3, a utilização de álcool *tert*-butilico como solvente também não resultou na formação do produto **5a** após 24 h de reação. Para o processo realizado na presença de álcool *tert*-butilico e água (entrada 4), o composto **5a** foi obtido com 48% de rendimento e tempo de reação igual a 3 h.

Considerando as entradas 5-7, os processos foram realizados utilizando etanol e água como solvente para entrada 5 e água como solvente para as entradas 6 e 7. As reações correspondentes às entradas 5 e 6 foram conduzidas à temperatura ambiente e após 30 e 20 minutos, respectivamente, obteve-se 85% (entrada 5) e 75% (entrada 6) de rendimento. Com respeito à entrada 7, conduzindo a reação à temperatura de 50 °C e após 20 minutos, o produto **5a** foi obtido com 78% de rendimento. Cumpre ressaltar que logo após os reagentes entrarem em contato já ocorria mudança de coloração visual do meio reacional.

Considerando os experimentos descritos na Tabela 2.3 (p106) as condições de reação correspondentes às entradas 5-7 foram as mais interessantes, devido ao tempo de reação, os solventes utilizados e os rendimentos. A metodologia escolhida para a preparação dos produtos 1,2,3-triazol derivados do eugenol foi aquela da entrada 5, que levou à formação do produto com maior rendimento. Embora as reações conduzidas apenas em água apresentassem menores tempos de reação que as demais e rendimentos satisfatórios, estas metodologias com água não foram escolhidas pois observou-se a adesão de quantidade considerável de sólido à superfície do balão, sendo a remoção deste sólido difícil, o que, provavelmente,

resultou em diminuição de rendimento das reações conduzidas com água comparada à reação realizada com etanol/água.

Ainda com respeito à otimização de reações, deve ser ressaltado que para que epóxido **2** bem como a azida **3** pudessem ser obtidos com rendimentos e purezas adequados foi necessária a purificação do eugenol (**1**) adquirido da Sigma Aldrich. O composto **1** foi purificado a partir do reagente comercial via cromatografia em coluna de sílica gel.

Outro problema a ser relatado refere-se ao aumento das escalas das reações de preparação do epóxido **2** e da azida **3**. Quando estas reações foram realizadas em escalas superiores a um grama de material de partida, os rendimentos diminuíram consideravelmente. Assim, optou-se por preparar os compostos **2** e **3** por meio de reações que utilizavam no máximo um grama de material de partida.

As condições otimizadas de reação puderam ser aplicadas para a síntese de derivados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos contendo diferentes grupos (aromático, alifáticos, cíclico e alifáticos com o substituintes cloro e hidroxila) ligados ao anel 1,2,3-triazol (Figura 2.15, p. 109). Conforme apresentado na Tabela 2.2 (p. 57), os compostos foram sintetizados com rendimentos que variaram de 41 a 87% e tempos de reação de 30 minutos.

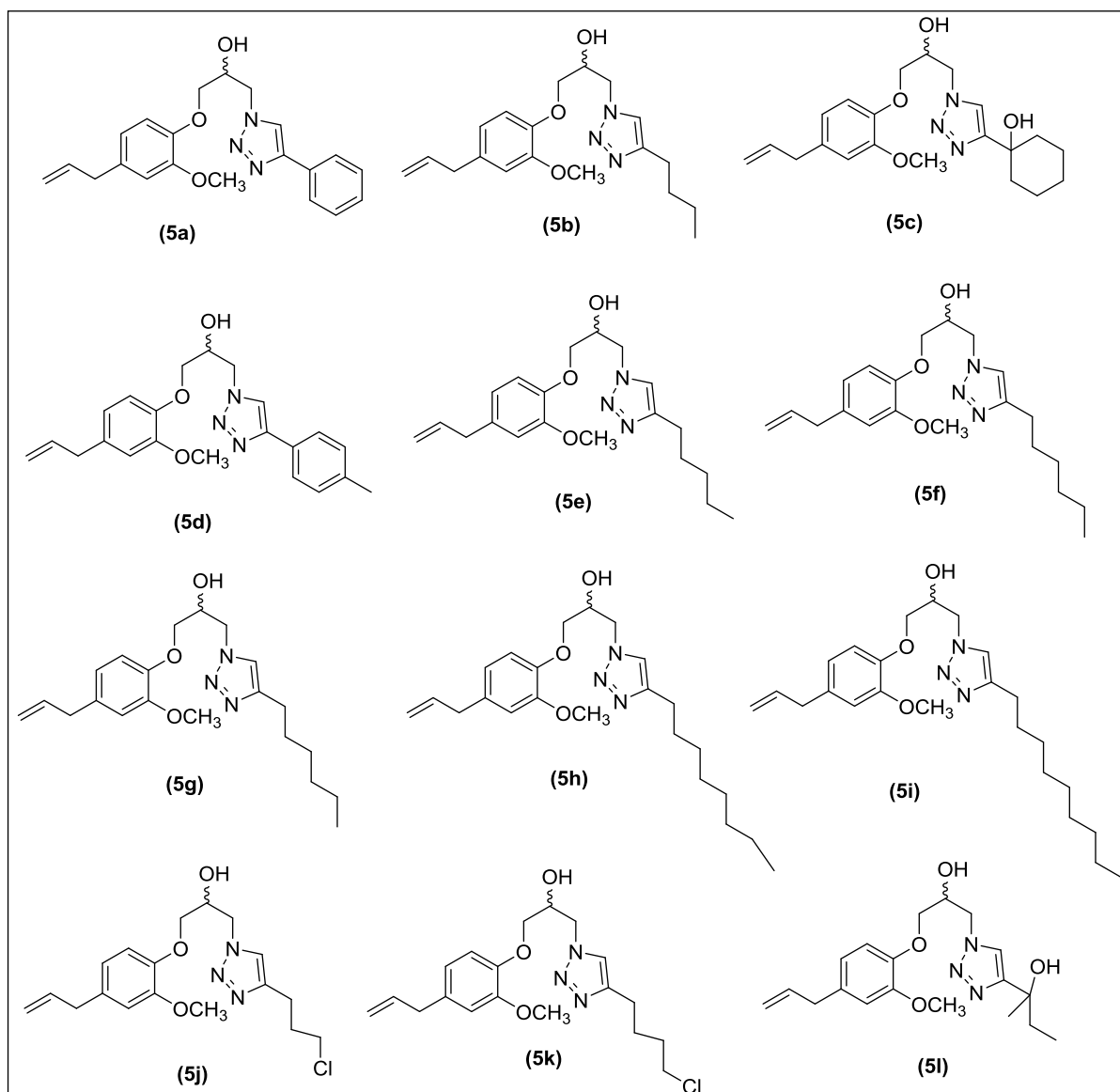


Figura 2.15 – Estruturas dos derivados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos sintetizados.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Continuação – Figura 2.15

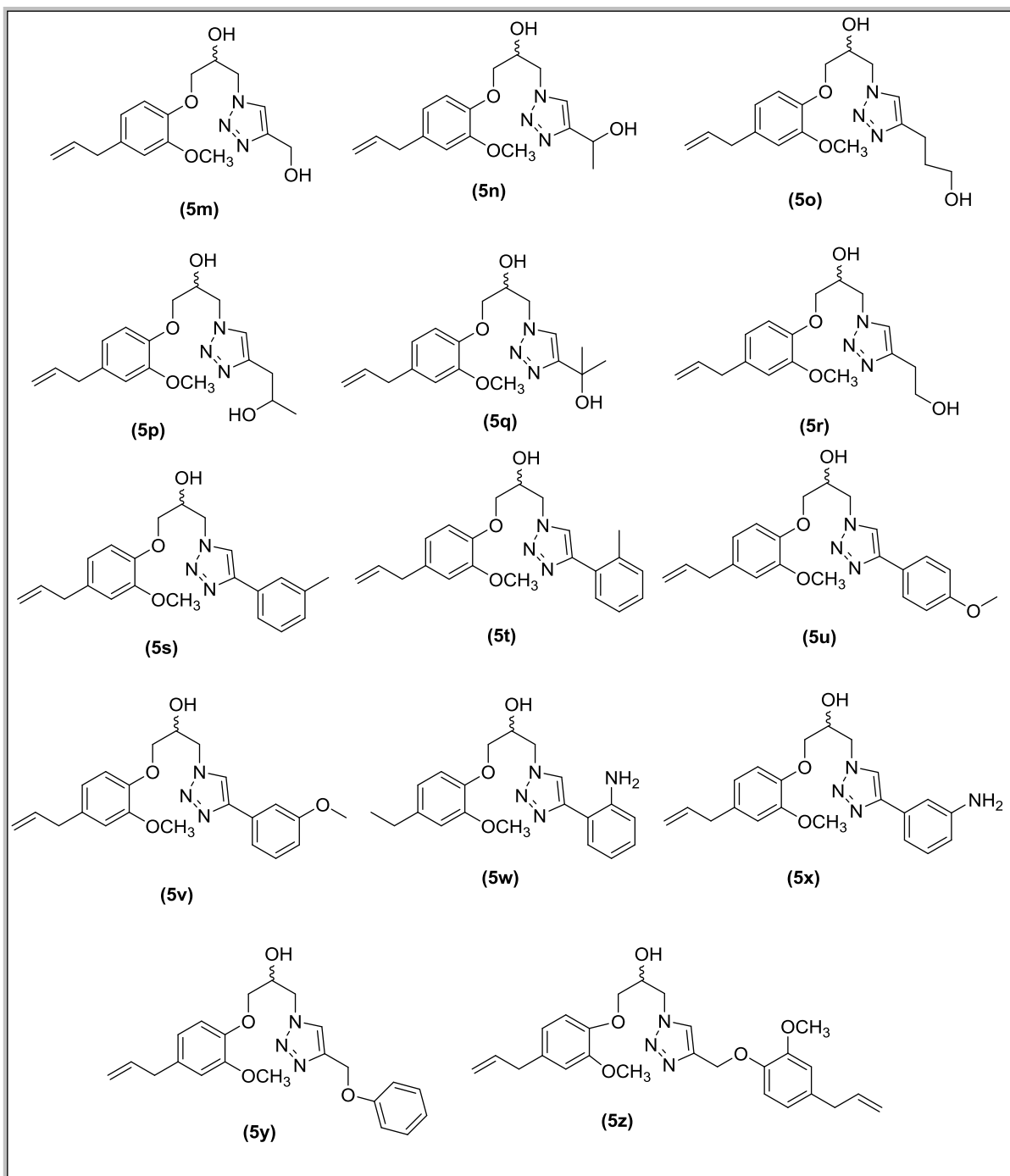
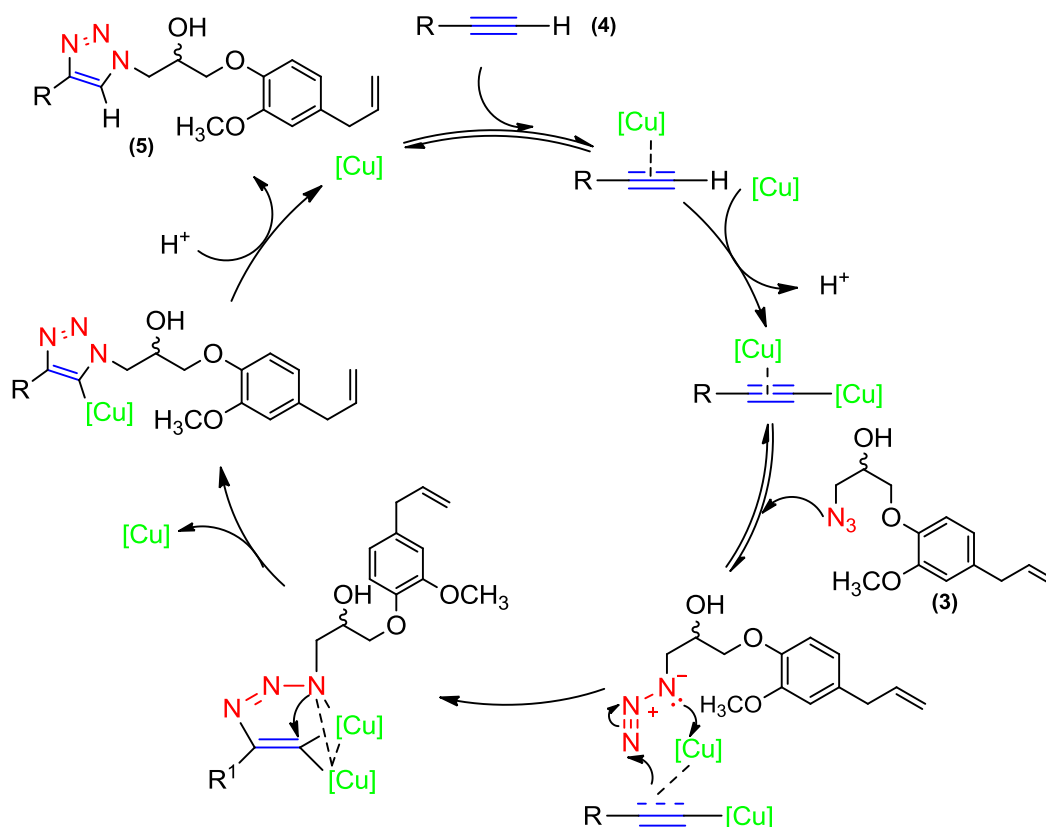


Figura 2.15 – Estruturas dos derivados do eugenol contendo fragmentos 1,2,3-triazólicos sintetizados.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

No Esquema 2.9 tem-se uma proposta para o ciclo catalítico da reação CuAAC para a formação dos composto **5a-5z** a partir da azida **3** e de alcinos terminais.



Esquema 2.9 – Proposta do ciclo catalítico da reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada por cobre (CuAAC). R corresponde a diferentes grupos aromático, alifáticos e alifáticos contendo o substituinte cloro.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

Na primeira etapa do ciclo catalítico tem-se a complexação entre o $Cu(I)$ e o alcino terminal (4). Com a formação deste complexo, o pK_a do alcino terminal é reduzido possibilitando a sua desprotonação em meio aquoso e posterior complexação com a segunda espécie de $Cu(I)$, formando o complexo acetileto de cobre. Na etapa seguinte, ocorre a complexação do acetileto de cobre com a azida orgânica, gerando o complexo azida-acetileto. Neste intermediário, o cobre possui

efeito sinérgico pois torna o nitrogênio terminal da azida mais eletrofílico e o carbono β -vinilidênico do alcino mais nucleofílico, favorecendo a formação do intermediário cíclico conhecido como metalociclo. Esta etapa é endotérmica e define a regioseletividade da reação, pois possui energia de ativação menor que a energia de ativação para a reação não catalisada. (MELDAL e TORNØE, 2008). Na etapa subsequente, ocorre a contração do anel através de uma associação transanular do par de elétrons não ligantes do nitrogênio terminal da azida com o orbital antiligante do carbono ligado aos átomos de cobre, levando a formação da segunda ligação efetiva entre estes átomos e a obtenção do triazoíla de cobre (FREITAS *et al.*, 2011). Na última etapa do ciclo-catalítico ocorre a protonação desse intermediário triazólídeo com a formação do produto 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído e a regeneração do catalisador.

Todos os produtos 1,2,3-triazólicos 1,4-dissubstituído **5a-5z** tiveram suas identidades confirmadas por meio das espectroscopias no infravermelho e de ressonância magnética nuclear (RMN de ^{13}C e ^1H). Para exemplificar como foi feita a caracterização estrutural dos compostos **5a-5z**, foram escolhidos os derivados **5a**, **5b**, **5c** e **5d** visto que a porção oriunda do alquino no derivado **5a** é aromática, no derivado **5b** é alifática, no derivado **5c** é cíclica, e por fim no derivado **5d** é aromática contendo um substituinte.

No espectro no infravermelho do composto **5a** é mostrado na Figura 2.16 (p. 115), a banda larga em 3407 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação OH. As bandas compreendidas entre 3141 e 2832 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento de ligação C-H para carbonos com hibridização sp^2 e sp^3 . A banda em 1638 cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação C=N do anel triazólico. Bandas referentes ao estiramento da ligação C=C foram observadas em 1513 e 1464 cm^{-1} . A banda em

1225 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico da ligação $=\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ^1H do composto **5a** (Figura 2.17 p. 116) os tripletos observados em δ_{H} 7,25 e δ_{H} 7,33 e o duplete em δ_{H} 7,71 referente aos sinais da poção aromática ligado ao triazol, assim como o simpleto em δ_{H} 7,88, ausentes no espectro de RMN de ^1H da molécula precursora **3** (Figura 2.8 p. 94), confirmaram a obtenção desta substância.

O simpleto em δ_{H} 2,10 e integrado para um átomo de hidrogênio corresponde ao átomo de hidrogênio do grupo hidroxila que nesta molécula apareceu na região esperada entre 0,5 e 5,0 ppm. O duplete em δ_{H} 3,26 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,4$ Hz) foi relacionado aos hidrogênios metilênicos H-10. O simpleto em δ_{H} 3,77 e integrado para três átomos de hidrogênio corresponde aos átomos de hidrogênios do grupo metoxila (OCH_3). O duplo duplete observado em δ_{H} 3,86 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 10,0$ Hz e $J_2 = 6,4$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-9a. O duplo duplete em δ_{H} 4,00 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 10,0$ Hz e $J_2 = 4,0$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-9b. O multiplete observado em δ_{H} 4,33-4,40 e integrado para um átomo de hidrogênio foi relacionado ao hidrogênio H-8. O duplo duplete em δ_{H} 4,57 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 14,0$ Hz e $J_2 = 6,8$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-7b. Outro duplo duplete em δ_{H} 4,63 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 14,0$ Hz e $J_2 = 3,6$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-7a. Em δ_{H} 4,98-5,05, o multiplete integrado para dois átomos de hidrogênio foi atribuído aos hidrogênios vinílicos H-12. O duplo duplo tripleto aparente em δ_{H} 5,95 e apresentando as constantes de acoplamento $J_{\text{trans}} = 17,0$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,6$ Hz (acoplamentos de H-11 com os hidrogênios H-12), além da constante de acoplamento $J = 6,4$ Hz (acoplamento de

H-10 e H-11) refere-se ao hidrogênio H-11, Na região característica de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos foi observado o multiplete em δ_H 6,63-6,66 correspondente aos hidrogênios H-3 e H-5. Já o duplete em δ_H 6,78 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 8,4$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-2. Os sinais referentes aos hidrogênios do grupo fenila foram observados como: triplete em δ_H 7,25, integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 7,3$ Hz) e relacionado ao hidrogênio H-6'; triplete em δ_H 7,33, integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 7,3$ Hz) e atribuídos aos hidrogênios H-5' e H-7'; duplete em δ_H 7,71, integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 7,3$ Hz) e associado aos hidrogênio H-4' e H-8'. E por fim, o simpleto observado em δ_H 7,88 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio H-1' do anel 1,2,3-triazólico.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.18, p. 117), o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura do composto **5a**. Assim, o sinal em δ_C 39,9 foi associado ao carbono metilênico (C-10). Os sinais em δ_C 52,9 e δ_C 69,0 correspondem aos carbonos C-9 e C-8, respectivamente. O sinal observado em δ_C 55,7 foi atribuído ao carbono do grupo metoxila ($O\text{C}\underline{H}_3$). O sinal em δ_C 71,8 foi relacionado ao carbono C-7. Os sinais em δ_C 116,0 e δ_C 137,5 correspondem aos carbonos sp^2 C-12 e C-11, respectivamente. Os sinais em δ_C 121,4 e 147,8 foram atribuídos aos carbonos C-1' e C-2', respectivamente, referentes aos carbonos do anel triazólico. Os sinais em δ_C 125,7 e δ_C 128,8 correspondem aos carbonos do grupo fenila C-4'/C-8' e C-5'/C-7', respectivamente. O sinal em δ_C 128,1 foi atribuído ao carbono C-6'. O sinal em δ_C 130,6 foi relacionado ao carbono C-3'. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático da porção da molécula referente ao eugenol (PRETSCH *et. al.*, 1989).

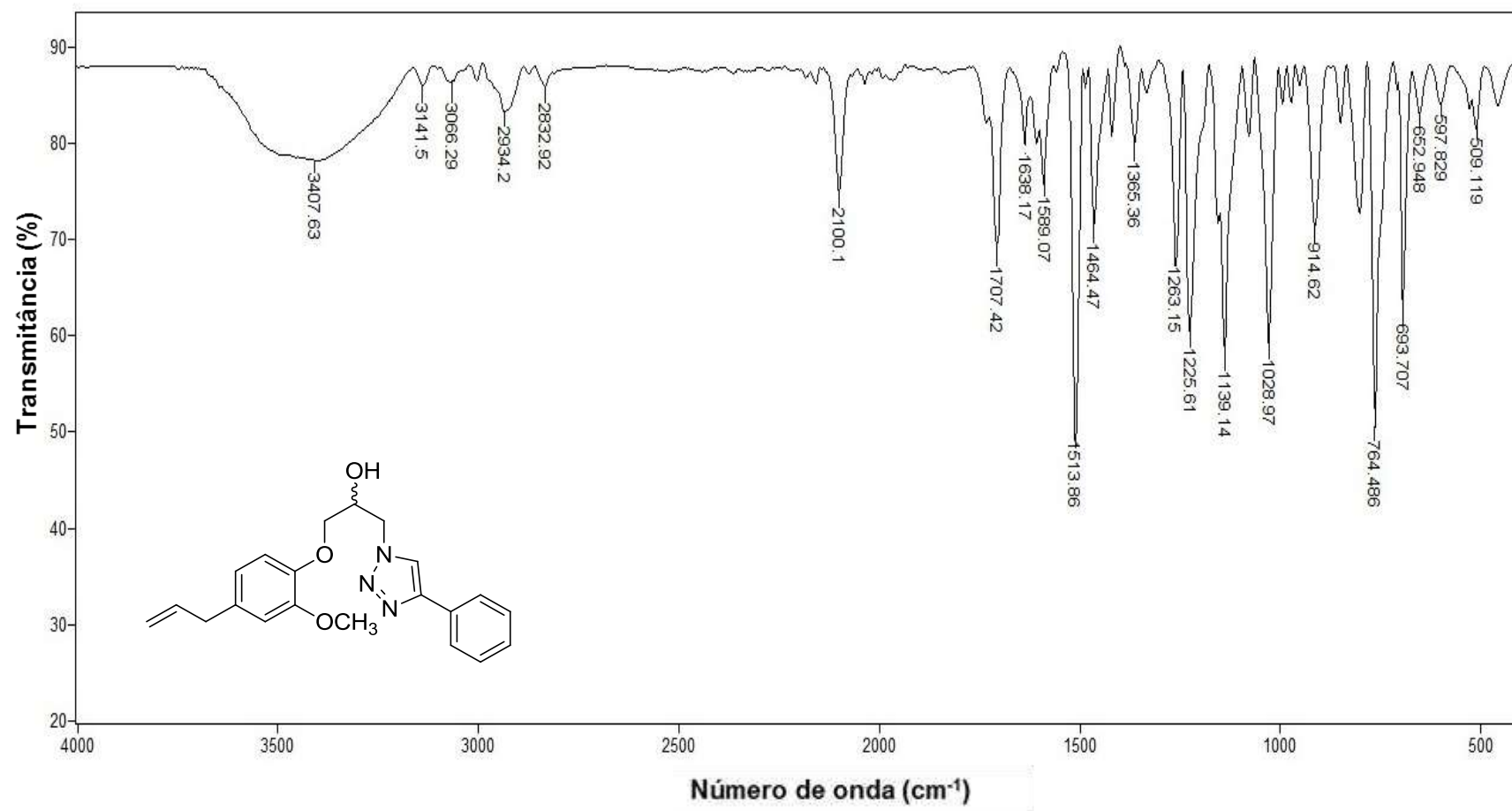


Figura 2.16 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5a**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

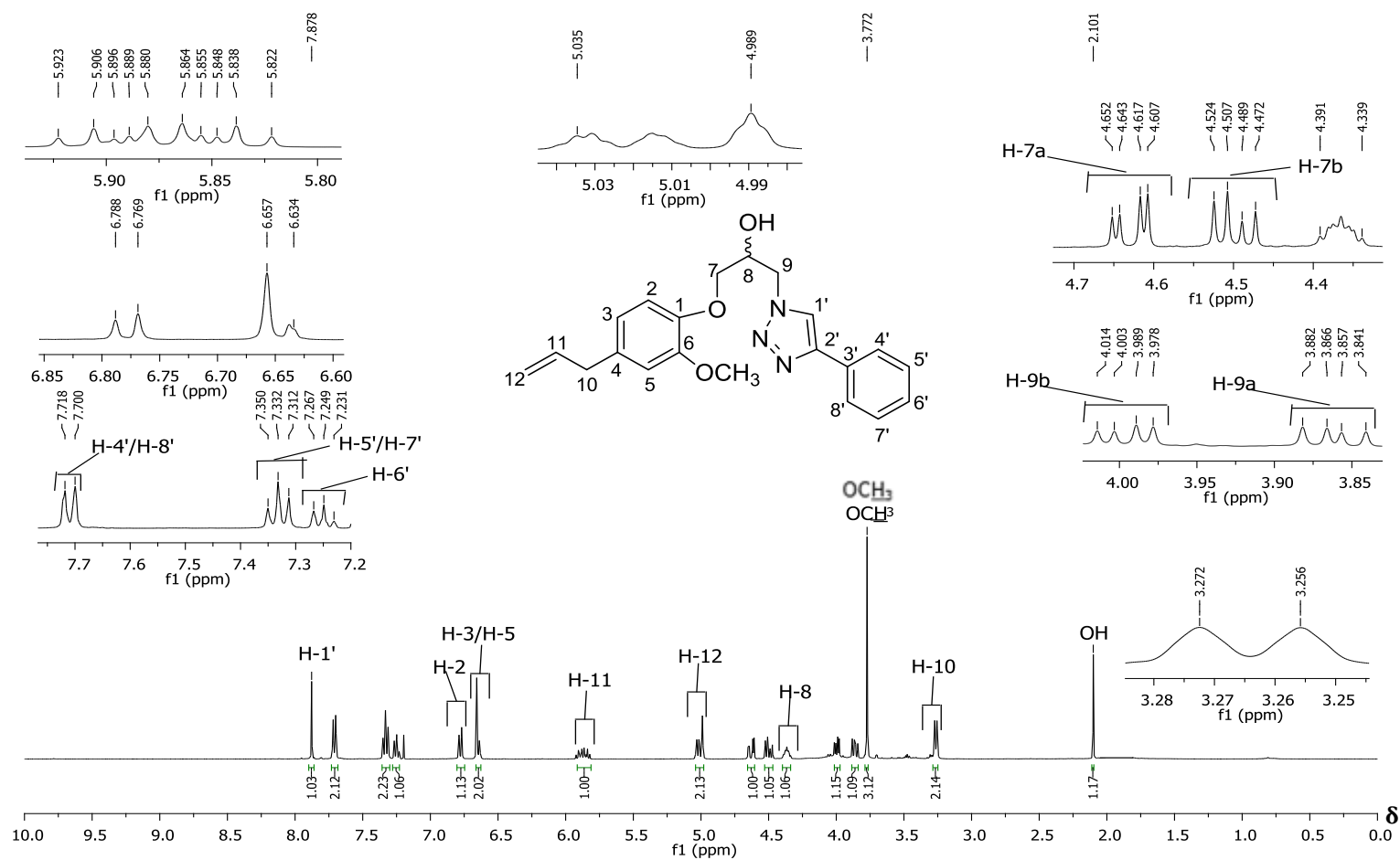


Figura 2.17 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **5a**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

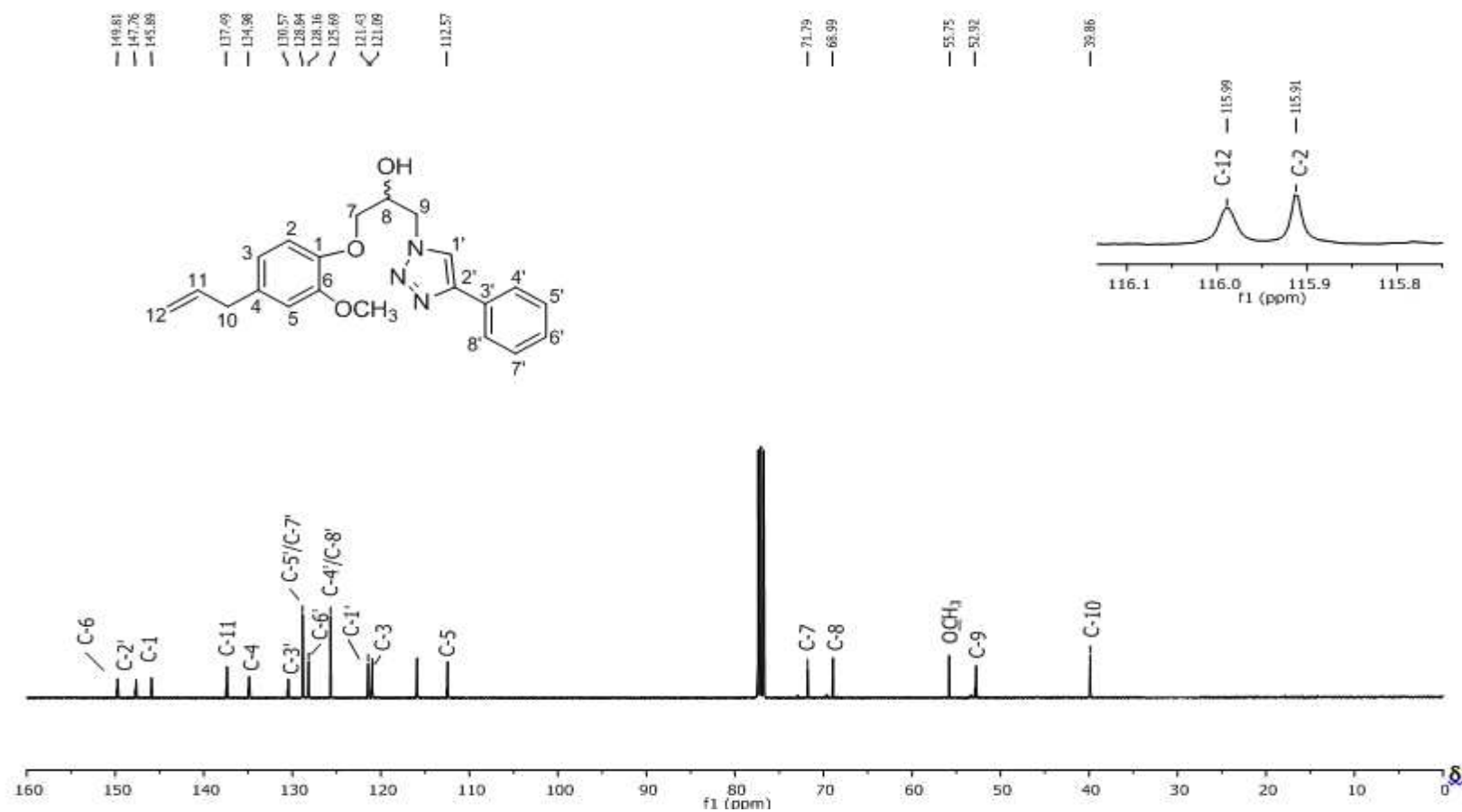


Figura 2.18 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **5a**

Fonte: Elaborada pela própria autora.

O espectro no infravermelho do composto **5b** (Figura 2.19, p. 121) é bastante similar ao composto **5a** (Figura 2.16, p. 115). A banda larga em 3357 foi atribuída ao estiramento da ligação do grupo OH. As bandas compreendidas entre 3143 e 2870 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento de ligações C-H para carbonos com hibridização sp^2 e sp^3 . A banda em 1637 cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação C=N do anel triazólico. Bandas referentes ao estiramento da ligação C=C foram observadas em 1510 e 1461 cm^{-1} . A banda em 1227 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico da ligação =C-O-C. (BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ^1H do composto **5b** (Figura 2.20 p. 122) os tripletos observados em δ_{H} 0,84 e δ_{H} 2,62, o sexteto em δ_{H} 1,29, o quinteto em δ_{H} 1,56 e o simpleto em δ_{H} 7,37, ausentes no espectro de RMN de ^1H da molécula precursora **3** (Figura 2.9 p. 95), confirmaram a obtenção desta substância.

O tripleto observado em δ_{H} 0,84 e integrado para três átomos de hidrogênio ($J = 7,4$ Hz) corresponde aos de hidrogênios H-6'. O sexteto observado em δ_{H} 1,29 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 7,4$ Hz) foi relacionado aos hidrogênios H-5'. O quinteto observado em δ_{H} 1,56 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 7,6$ Hz) foi atribuído aos hidrogênios H-4'. O tripleto observado em δ_{H} 2,62 e integrado para três átomos de hidrogênio ($J = 7,6$ Hz) corresponde aos hidrogênios H-3'. O duplete observado em δ_{H} 3,26 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,8$ Hz) foi relacionado aos hidrogênios metilênicos H-10. O simpleto observado em δ_{H} 3,77 e integrado para três átomos de hidrogênio corresponde aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila (OCH_3). O duplo duplete observado em δ_{H} 3,81 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 10,0$ Hz e $J_2 = 6,0$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-9a. O simpleto observado em δ_{H} 3,82 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio do grupo hidroxila. O duplo duplete

em δ_H 3,92 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 10,0$ Hz e $J_2 = 4,4$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-9b. O multiplete observado em δ_H 4,27-4,33 e integrado para um átomo de hidrogênio, relaciona-se ao hidrogênio H-8. O duplo duplete observado em δ_H 4,42 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 14,0$ Hz e $J_2 = 6,4$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-7b. o duplo duplete em δ_H 4,54 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 14,0$ Hz e $J_2 = 4,0$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-7a. Em δ_H 4,79-5,03, o multiplete integrado para dois átomos de hidrogênios, foi atribuído aos hidrogênios H-12. Como já citado anteriormente, a multiplicidade esperada para o sinal referente ao hidrogênio H-11 em δ_H 5,87 seria um duplo duplo tripleto, o qual apresentaria seis picos em cada metade do multiplete simétrico. Porém, devido à sobreposição de sinais o que se observa é um sinal que se assemelha a quintetos sobrepostos (PAVIA *et al.*, 2010). Apesar dessa sobreposição de sinais, foi possível calcular as constantes de acoplamento alílico $J_{trans} = 17,0$ Hz, $J_{cis} = 10,4$ Hz, além da constante de acoplamento $J = 6,8$ Hz, referente ao acoplamento de H-11 com os hidrogênios vizinhos H-10. Na região característica de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos foi observado o multiplete em δ_H 6,63-6,65 correspondente aos hidrogênios H-3 e H-5 e o duplete em δ_H 6,77 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 8,0$ Hz) atribuído ao hidrogênio H-2. E por fim, o simpleto observado em δ_H 7,37 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio H-1'.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.21, p. 123) observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura do composto **5b**. Assim, os sinais em δ_C 13,8 e δ_C 22,3 foram associadas aos carbonos C-6' e C-5', respectivamente. Os sinais em δ_C 25,3 e δ_C 31,5 foram relacionados aos carbonos C-3' e C-4', respectivamente. O sinal em δ_C 39,9 relaciona-se ao carbono metilênico

C-10. Os sinais em δ_c 52,4 e δ_c 68,9 correspondem aos carbonos C-9 e C-8, respectivamente. O sinal em δ_c 55,8 foi atribuído ao carbono do grupo metoxila (OCH_3). O em δ_c 71,7 foi relacionado ao carbono C-7. O sinal em δ_c 115,9, que possui maior intensidade, foi atribuído aos átomos C-12 e C-2. A simulação do espectro de RMN de ^{13}C do composto **5b** no software MestReNova revela que estes carbonos possuem valores de frequência de ressonância muito próximos (δ_c 115,7 para C-12 e δ_c 116,1 para C-2). O sinal em δ_c 137,4 corresponde ao átomo C-11. O sinal em δ_c 122,3 foi atribuído ao carbono C-1'. O sinal em δ_c 148,3 foi atribuído ao carbono C-2'. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático da do fragmento eugenol do composto **5b** (PRETSCH *et. al.*, 1989).

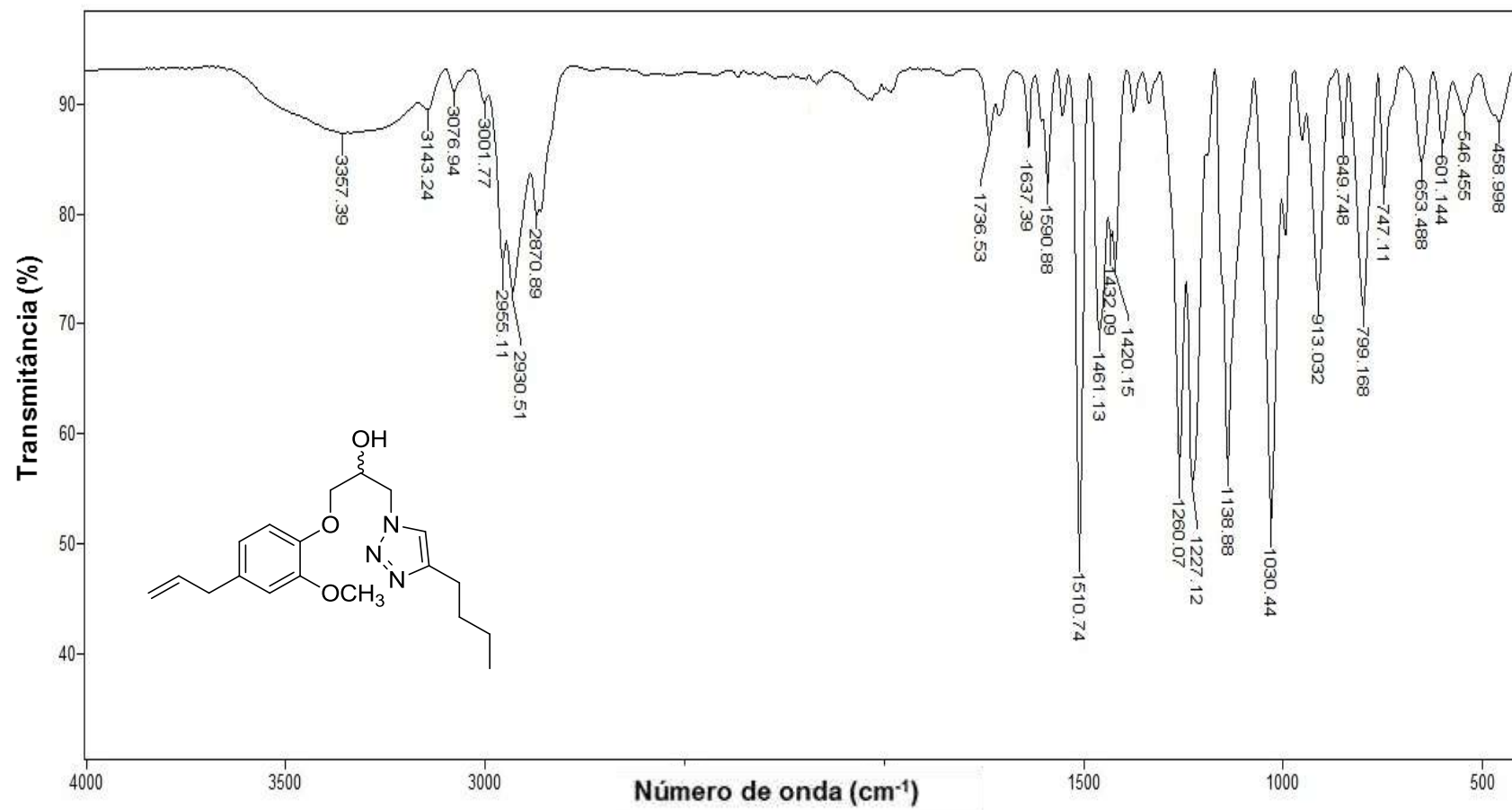


Figura 2.19 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5b**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

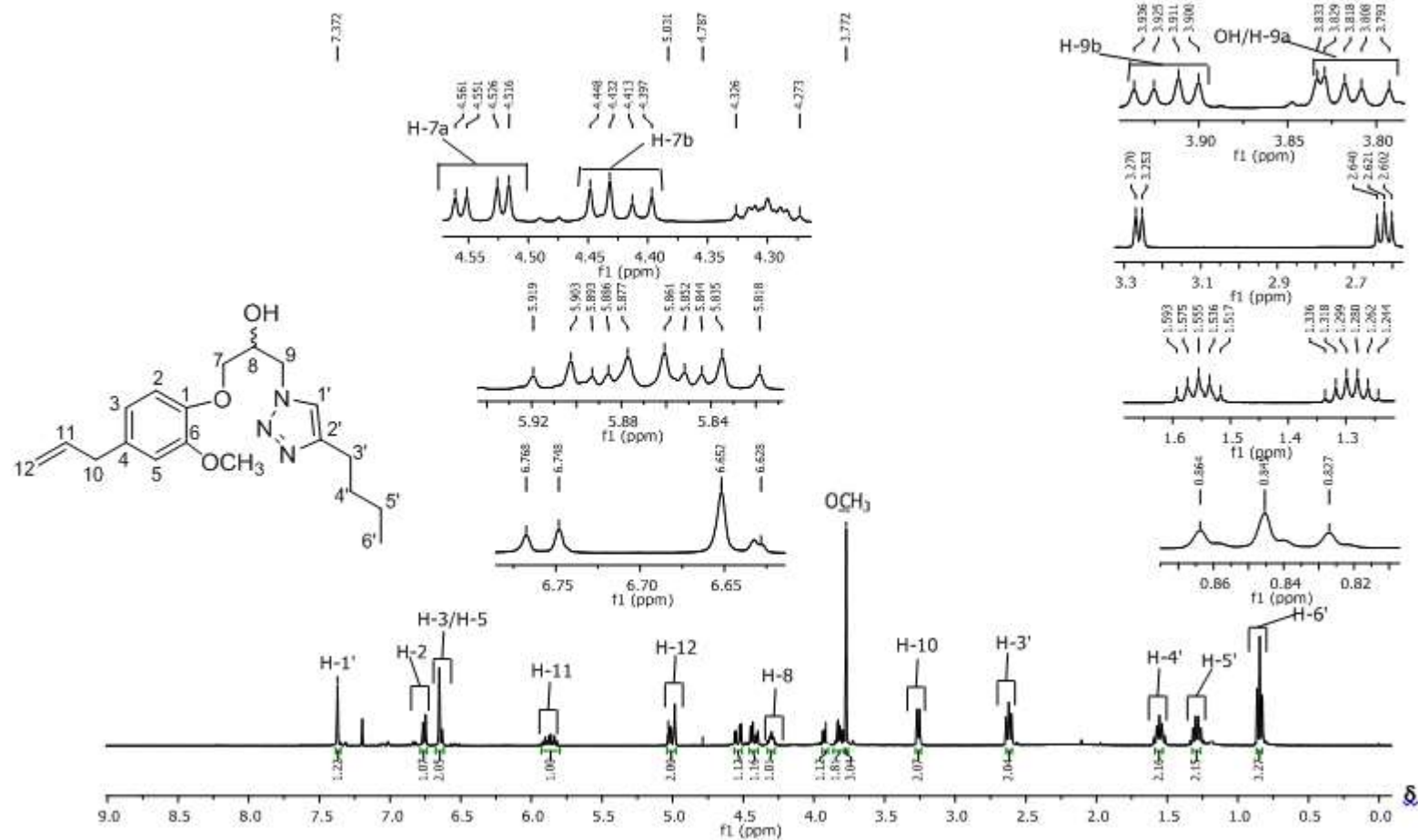


Figura 2.20 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **5b**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

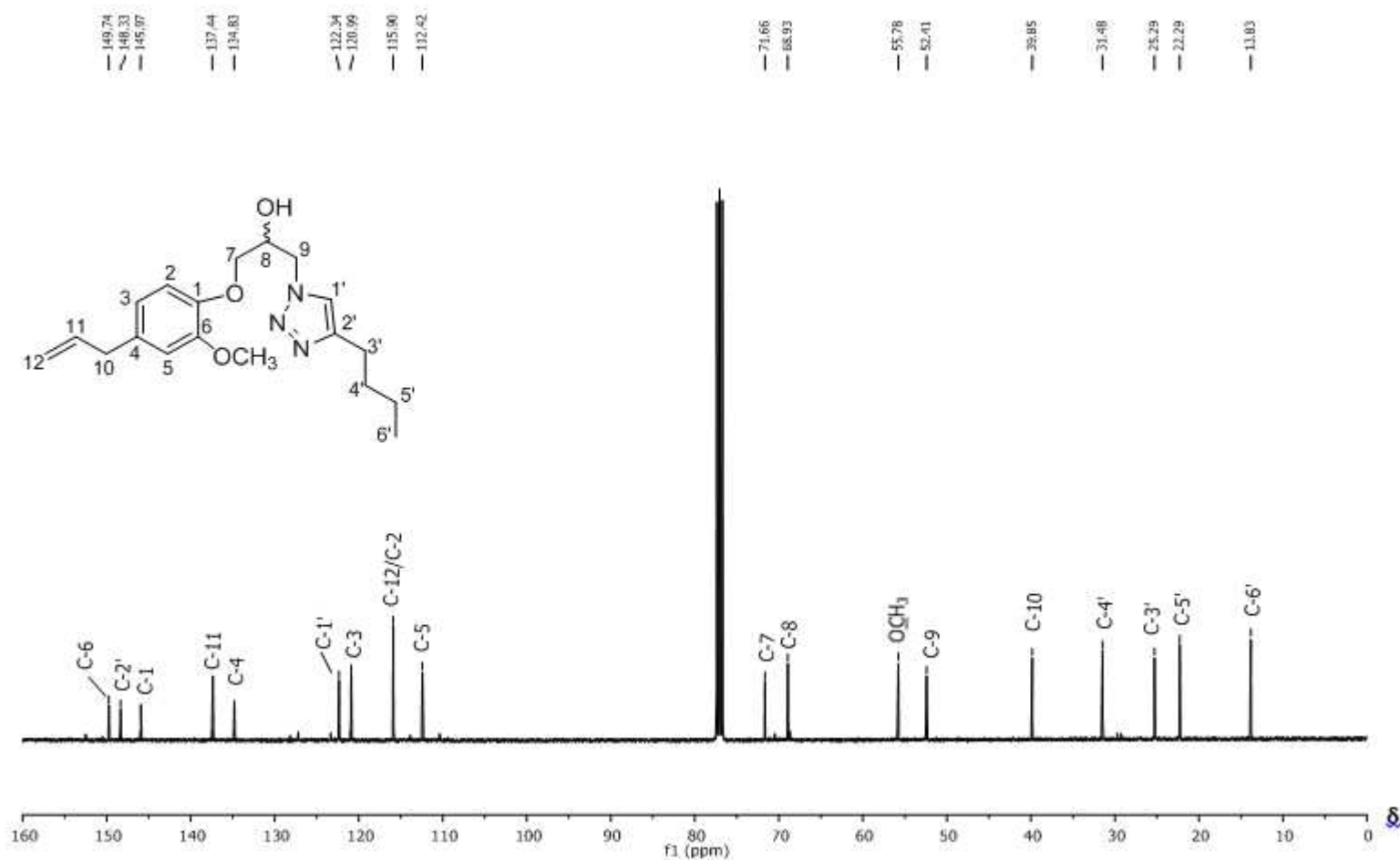


Figura 2.21 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **5b**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

O espectro no infravermelho do composto **5c** (Figura 2.22, p. 127) é bastante similar ao composto **5a** e **5b** (Figura 2.16 e 2.19, p. 115 e 121, respectivamente). A banda larga em 3352 foi atribuída ao estiramento da ligação do grupo OH. As bandas compreendidas entre 3142 e 2851 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento de ligações C-H para carbonos com hibridização sp^2 e sp^3 . A banda em 1638 cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação C=N do anel triazólico. Bandas referentes ao estiramento da ligação C=C foram observadas em 1512 e 1468 cm^{-1} . A banda em 1227 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico da ligação =C-O-C. (BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ^1H do composto **5c** (Figura 2.23 p. 128), o multipletto observado em δ_{H} 1,34-1,90 foi relacionado aos hidrogênios H-6', H-5'/H-7' e H-4'/H-8'. Este multipletto não é observado no espectro de RMN de ^1H da molécula precursora **3** (Figura 2.9 p. 95), fato este que forneceu evidência para a formação de **5c**.

O dupletto observado em δ_{H} 3,27 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,9$ Hz) foi relacionado aos hidrogênios metilênicos H-10. O simpleto observado em δ_{H} 3,74 e integrado para três átomos de hidrogênio corresponde aos átomos de hidrogênio do grupo metoxila (OCH_3). O multipletto observado em δ_{H} 3,78-3,89 e integrado para dois átomos de hidrogênio, foi atribuído aos hidrogênios H-9a/H-9b. O multipletto em δ_{H} 4,11-4,20 e integrado para um átomo de hidrogênio, relacionado ao hidrogênio H-8. Os duplos dupletos em δ_{H} 4,35 ($J_1 = 14,0$ Hz e $J_2 = 9,0$) e em δ_{H} 4,52 ($J_1 = 14,0$ Hz e $J_2 = 3,9$), ambos integrados para um átomo de hidrogênio, foram atribuídos aos hidrogênios diastereotópicos H-7. O simpleto δ_{H} 4,82 e integrado para um átomo de hidrogênio corresponde ao hidrogênio do grupo hidroxila OH' . Em δ_{H} 4,98-5,09, o multipletto integrado para dois átomos de hidrogênios, foi atribuído aos

hidrogênios terminais H-12. O duplete observado em δ_H 5,49 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 5,7$ Hz) foi relacionado ao hidrogênio do grupo hidroxila OH. Em δ_H 5,92 observa-se o sinal correspondente a H-11 ($J_{trans} = 16,9$ Hz e $J_{cis} = 10,0$ Hz correspondentes ao acoplamento entre H-11 e os hidrogênios H-12; $J = 6,9$ Hz para o acoplamento entre H-11 e H-10). Na região característica de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos foi observado o duplo duplete em δ_H 6,66 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 8,3$ Hz e $J_2 = 1,9$ Hz), que foi atribuído ao hidrogênio H-3. O duplete em δ_H 6,79 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 1,9$ Hz) relaciona-se ao hidrogênio H-5 e o duplete em δ_H 6,86 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 8,3$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-2. E por fim, o simpleto observado em δ_H 7,81 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio H-1' do anel triazólico.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.24, p. 129) observa-se que o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura do composto **5c**. Assim, em δ_C 22,1 e δ_C 25,7 observam-se os sinais para os átomos de carbono C-5'/C-7' e C-6', respectivamente. Os sinais em δ_C 38,2 e δ_C 38,3 foram relacionados aos carbonos C-4' e C-8', respectivamente. O sinal em δ_C 39,5 relaciona-se ao carbono metilênico C-10. Os sinais em δ_C 52,9 e δ_C 68,4 correspondem aos carbonos C-9 e C-8/C-3', respectivamente. O sinal em δ_C 56,0 foi atribuído ao carbono do grupo metoxila (OCH₃). O sinal em δ_C 71,2 foi relacionado a C-7. Os sinais em δ_C 113,2, δ_C 114,7 e δ_C 116,0 correspondem aos carbonos C-5, C-2 e C-12, respectivamente. Os sinais em δ_C 120,7 e δ_C 122,3 foram atribuídos aos carbonos C-3 e C-1', respectivamente. O sinal em δ_C 133,5 corresponde ao átomo C-4. O sinal em δ_C 138,3 foi atribuído ao átomo de carbono C-11. O sinal em δ_C

146,5 foi atribuído ao carbono C-1'. Os sinais em δ_C 149,6 e δ_C 156,0 foram atribuídos aos carbonos C-6 e C-2', respectivamente (PRETSCH *et. al.*, 1989).

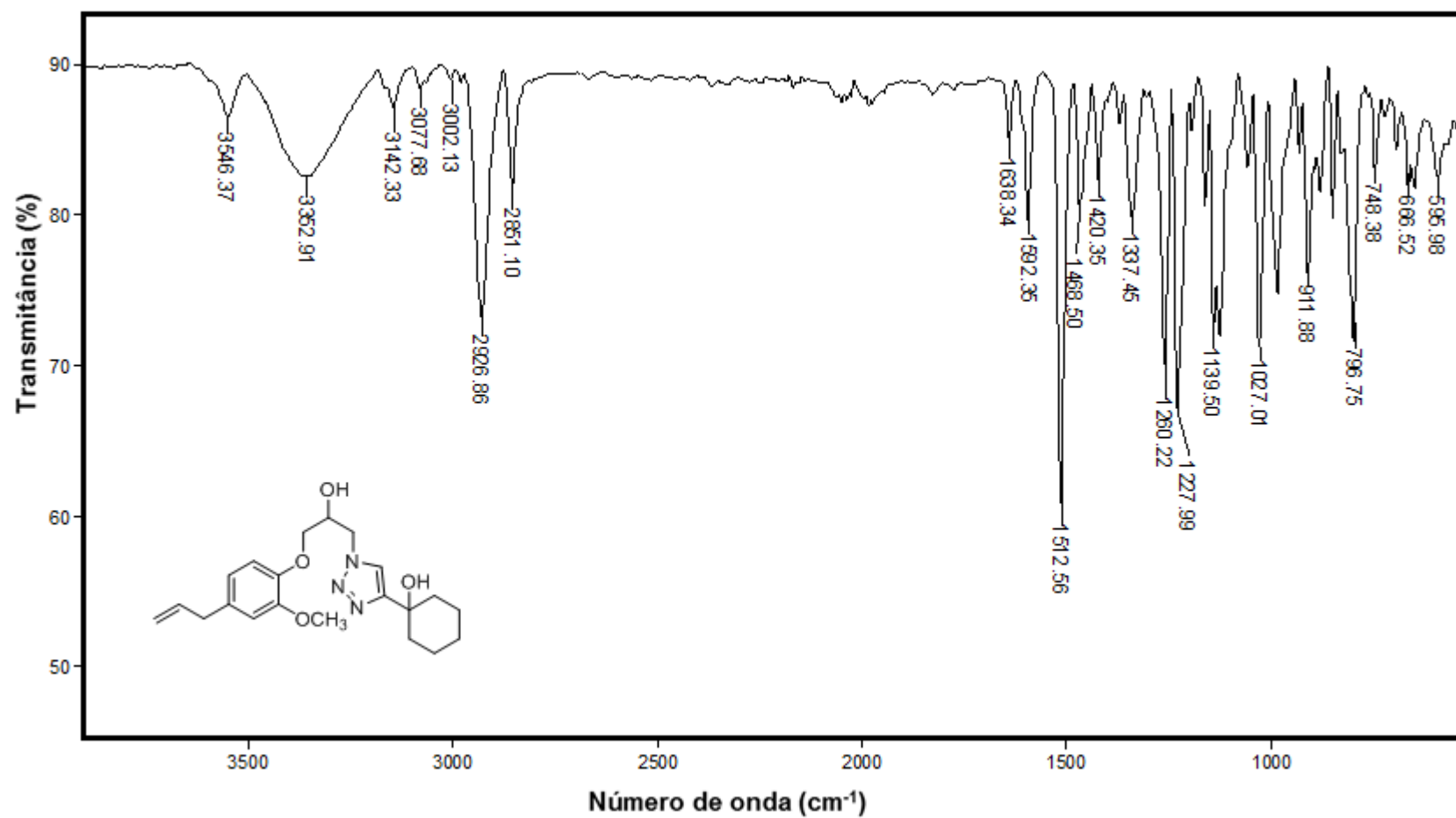


Figura 2.22 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5c**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

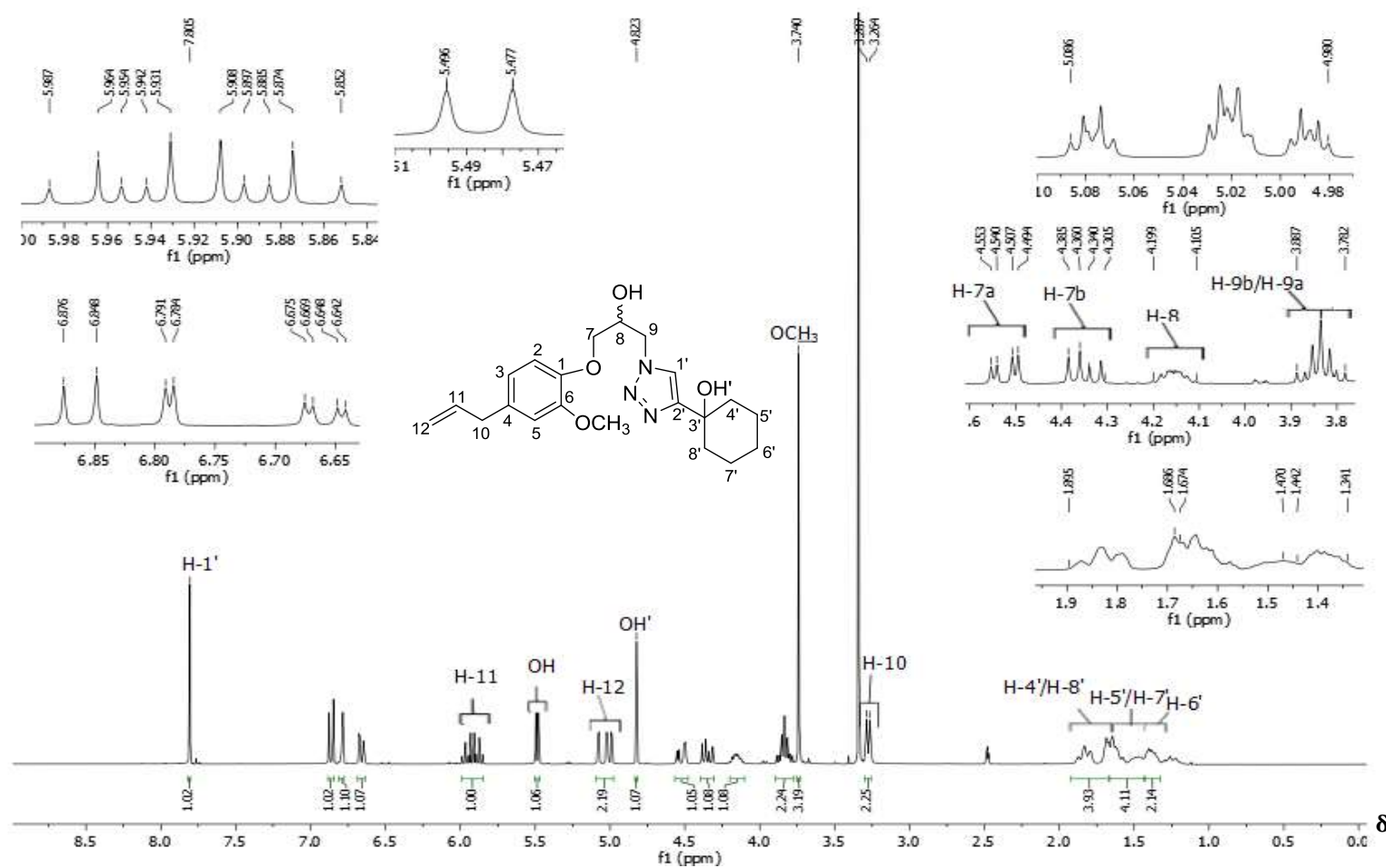


Figura 2.23 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **5c**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

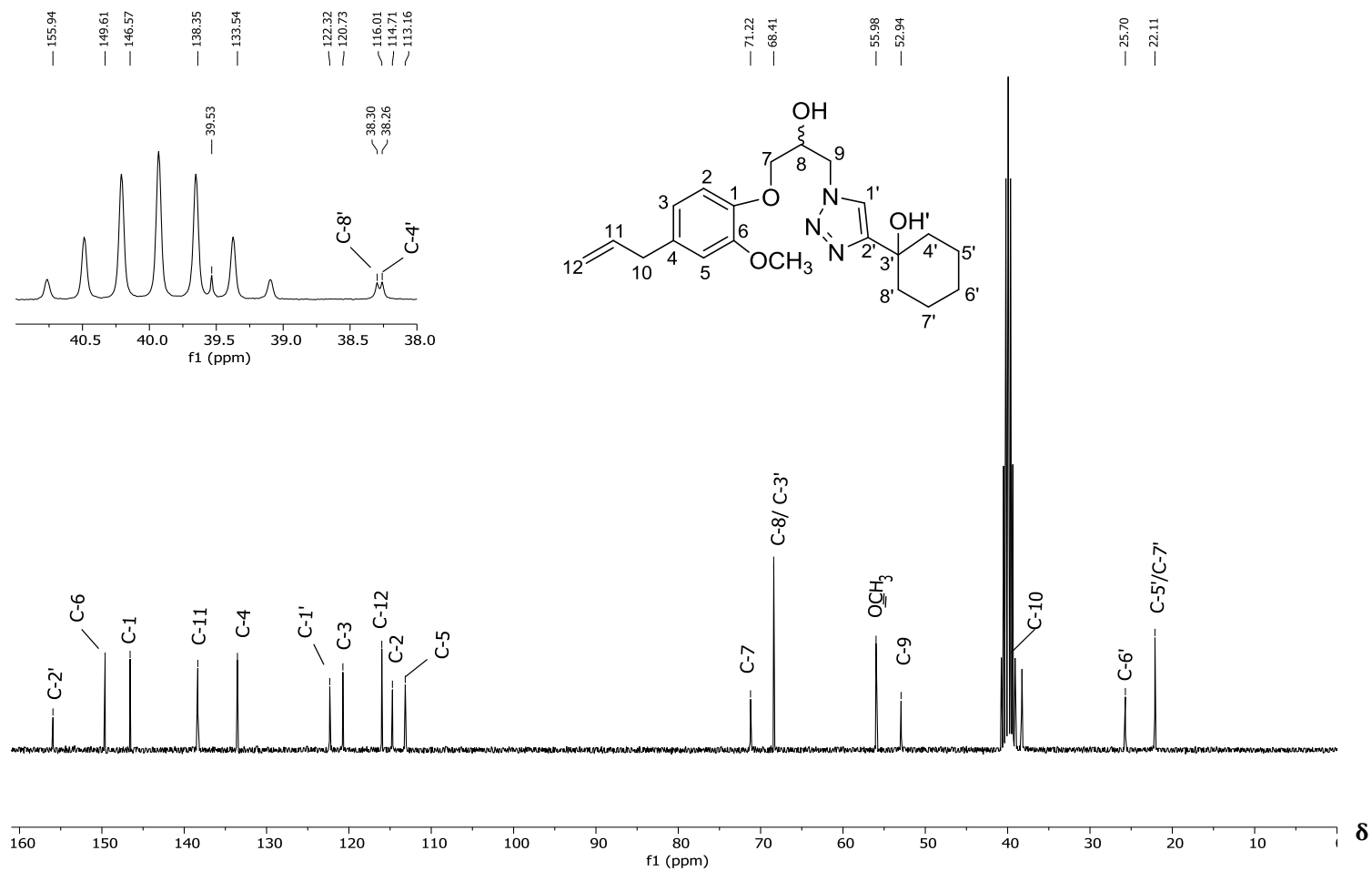


Figura 2.24 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **5c**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

No espectro no infravermelho do composto **5d**, mostrado na Figura 2.25 (p. 132), a banda larga em 3366 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento da ligação do grupo OH. As bandas compreendidas entre 3142 e 2932 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos de ligações C-H para carbonos com hibridização sp^2 e sp^3 . A banda em 1638 cm^{-1} corresponde ao estiramento da ligação C=N do anel triazólico. Bandas referentes ao estiramento da ligação C=C foram observadas em 1510 e 1463 cm^{-1} . A banda em 1224 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico da ligação =C-O-C (BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ^1H do composto **5d** (Figura 2.26 p. 133), o sinal para o grupo metila é observado como um simpleto em δ_{H} 2,26. Os dupletos observados em δ_{H} 7,18 e δ_{H} 7,67, relacionados aos hidrogênios H-5'/H-7' e H-4'/H-8', respectivamente, estão ausentes no espectro de RMN de ^1H da molécula precursora **3** (Figura 2.9 p. 95), o que corresponde a uma evidência para a obtenção de **5d**.

O duplete em δ_{H} 3,23 e integrado para dois átomos de hidrogênio ($J = 6,8\text{ Hz}$) foi relacionado aos hidrogênios metilênicos H-10. O simpleto em δ_{H} 3,70 e integrado para três átomos de hidrogênio corresponde aos átomos de hidrogênios do grupo metoxila (OCH_3). O multiplete observado em δ_{H} 3,80-3,92 e integrado para dois átomos de hidrogênio, foi atribuído aos hidrogênios H-9a/H-9b. O multiplete observado em δ_{H} 4,15-4,21 e integrado para um átomo de hidrogênio foi relacionado ao hidrogênio H-8. O multiplete observado em δ_{H} 4,34-4,41 e integrado para um átomo de hidrogênio, foi atribuído ao hidrogênio H-7b. O duplo duplete em δ_{H} 4,56 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 13,6\text{ Hz}$ e $J_2 = 3,6\text{ Hz}$) relaciona-se ao hidrogênio H-7a. Em δ_{H} 4,94-5,03, o multiplete integrado para dois átomos de hidrogênios foi atribuído aos hidrogênios H-12. O duplete em δ_{H} 5,50 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 5,6\text{ Hz}$), corresponde ao átomo de hidrogênio do

grupo hidroxila. O duplo duplo tripleto aparente em δ_{H} 5,88 e apresentando as constantes de acoplamento $J_{\text{trans}} = 17,2$ Hz, $J_{\text{cis}} = 10,0$ Hz (acoplamentos de H-11 com os hidrogênios H-12), além da constante de acoplamento $J = 6,8$ Hz (acoplamento de H-10 e H-11) refere-se ao hidrogênio H-11. Na região característica de deslocamento químico de hidrogênios aromáticos foi observado o duplo duplete em δ_{H} 6,62 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J_1 = 8,0$ Hz e $J_2 = 1,8$ Hz), sendo este sinal relacionado a H-3. O duplete em δ_{H} 6,75 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 1,8$ Hz) foi associado ao hidrogênio H-5 e o duplete em δ_{H} em 6,85 e integrado para um átomo de hidrogênio ($J = 8,0$ Hz) foi atribuído ao hidrogênio H-2. E por fim, o simpleto observado em δ_{H} 8,40 e integrado para um átomo de hidrogênio foi atribuído ao hidrogênio H-1' do anel 1,2,3-triazólico.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 2.27, p. 134), o número de sinais presentes no espectro é compatível com a estrutura do composto **5d**. Assim, o sinal em δ_{C} 21,3 foi associado ao carbono do grupo metila (CH_3). O sinal em δ_{C} 39,8 foi associado ao carbono metilênico (C-10). Os sinais em δ_{C} 53,4 e δ_{C} 68,4 correspondem aos carbonos C-9 e C-8, respectivamente. O sinal observado em δ_{C} 56,0 foi atribuído ao carbono do grupo metoxila ($\text{O}\text{C}\text{H}_3$). O sinal em δ_{C} 71,3 foi relacionado ao carbono C-7. Os sinais em δ_{C} 116,0 e δ_{C} 138,4 correspondem aos carbonos sp^2 C-12 e C-11, respectivamente. O sinal em δ_{C} 122,4 foi atribuído ao carbono C-1'. Os sinais em δ_{C} 125,5 e δ_{C} 129,9 correspondem aos carbonos do grupo *p*-metilfenila C-8'/C-4' e C-7'/C-5', respectivamente. O sinal em δ_{C} 128,6 foi atribuído ao carbono C-3'. O sinal em δ_{C} 146,6 foi associado ao carbono C-2'. Os demais sinais correspondem aos carbonos do anel aromático da porção da molécula referente ao fragmento eugenol (PRETSCH *et. al.*, 1989).

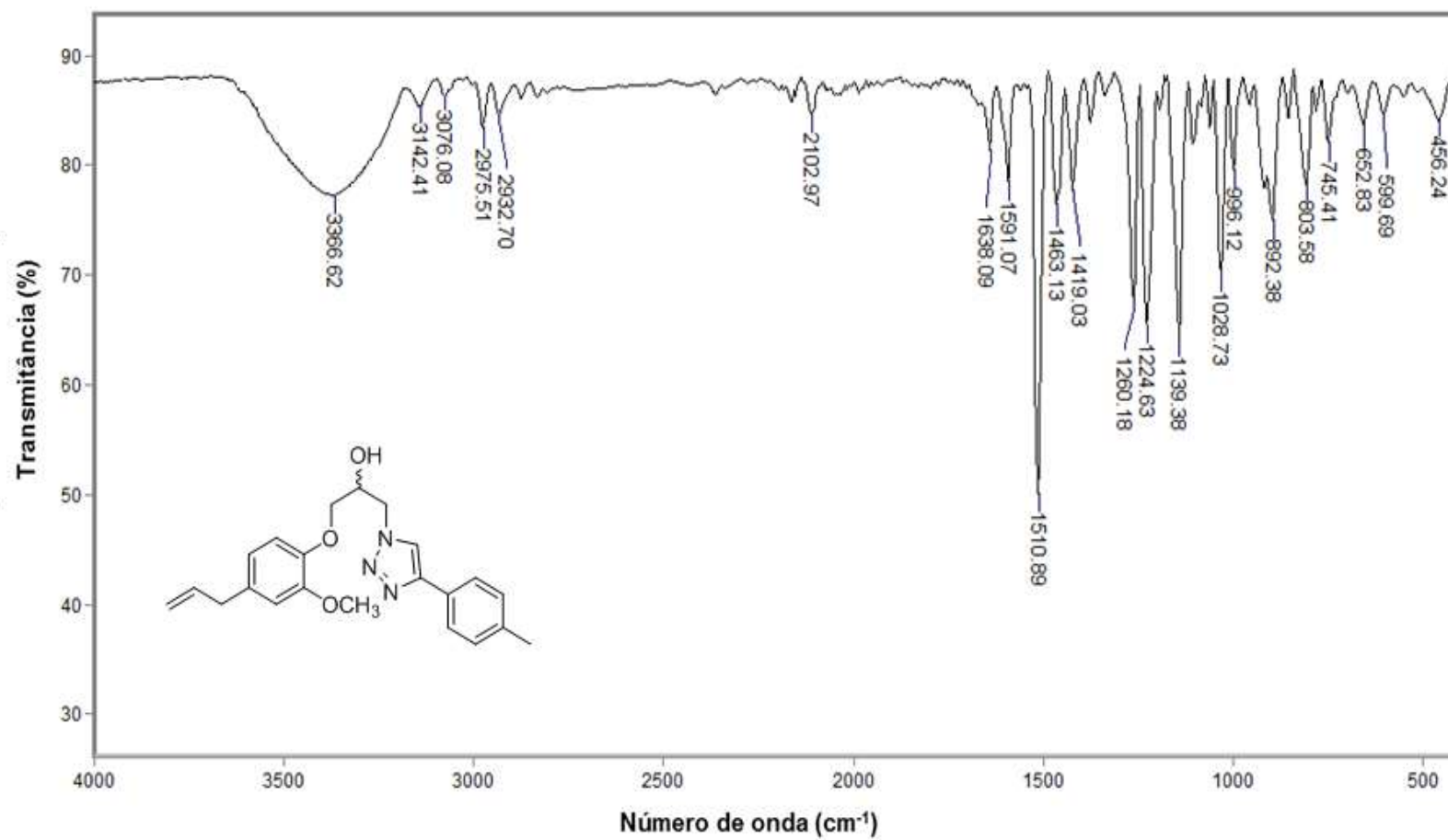


Figura 2.25 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5d**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

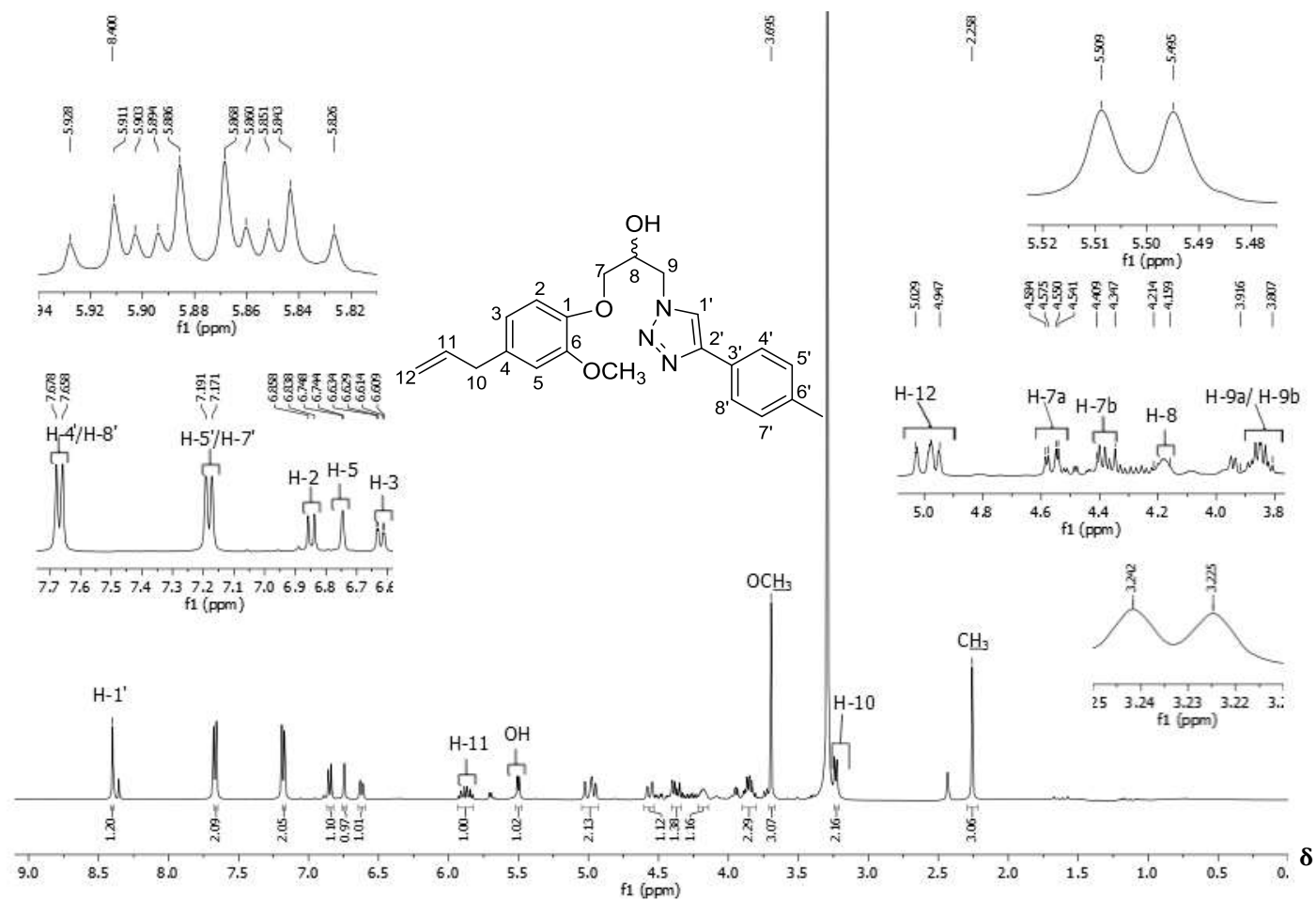


Figura 2.26 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto **5d**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

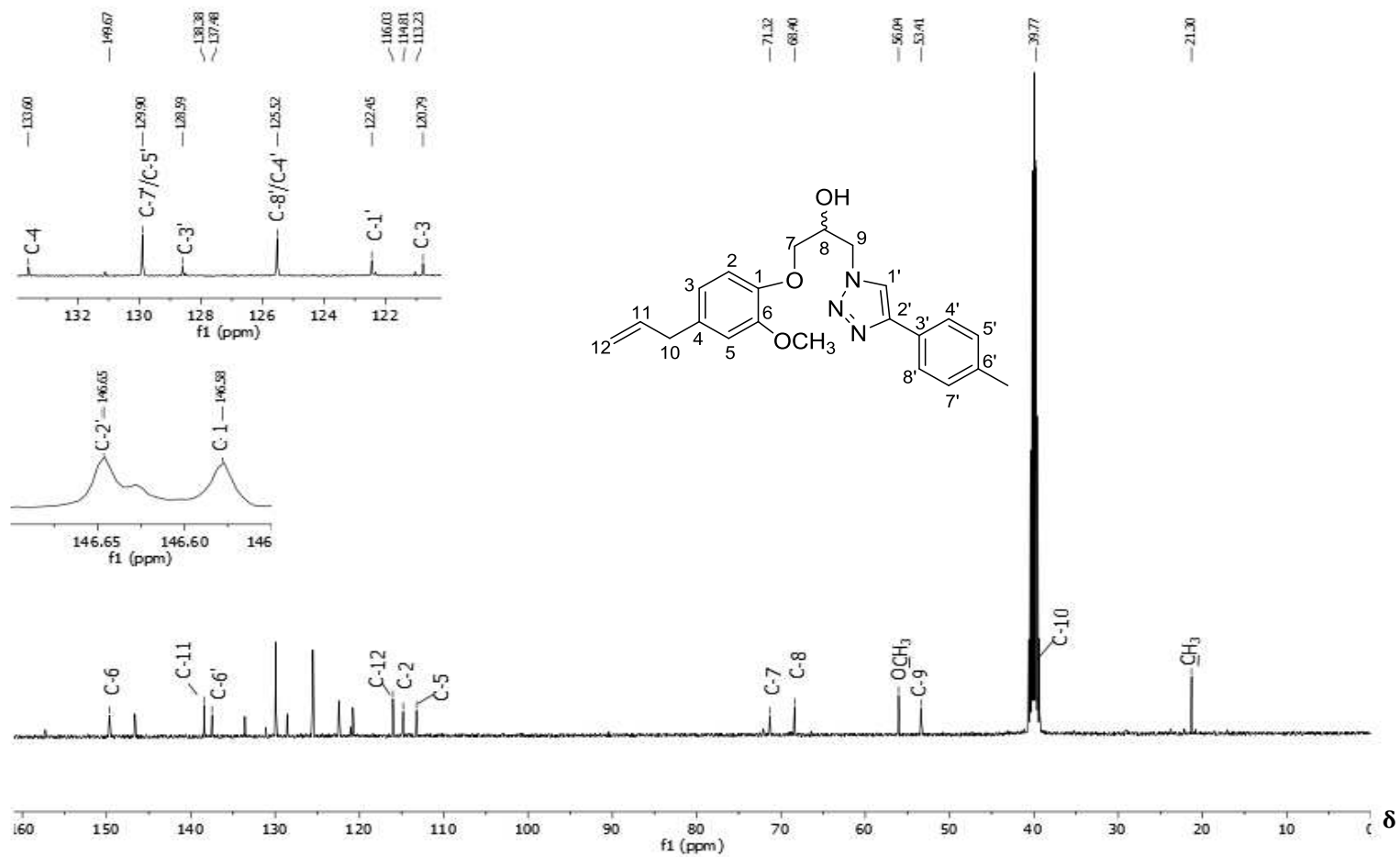


Figura 2.27 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto **5d**.

Fonte: Elaborada pela própria autora.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMANTINI, D.; FRINGUELLI, F.; PIERMATTI, O.; TORTOIOLI, S.; VACCARO, L. Nucleophilic ring opening of 1,2-epoxides in aqueous medium. *Arkivoc* v. (xi), p. 293-311, 2002.
- ARORA, P.; ARORA, V.; LAMBA, H.S.; WADHWA, D. Importance of heterocyclic chemistry: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 3, p. 2947-2954, 2012.
- BAI, S. Q.; KWANG, J. Y.; KOH, L. L.; YOUNG, D. J.; HOR, T. S. A. Functionalized 1,2,3-triazoles as building blocks for photoluminescent POLOs (polymers of oligomers) of copper(I). *Dalton Transactions*, v. 39, p. 2631-2636, 2010.
- BARBOSA, Luiz Cláudio de Almeida. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: Editora UFV, 2008.
- BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H.A. 1,2,3-triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: a recente overview. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 27, p. 3511-3531, 2019.
- CHANDRASEKHAR, S.; KUMAR, T. P.; HARIBABU, K.; REDDY, C.R. Hydroxyphthalimide allied triazole-pyrrolidine catalyst for asymmetric Michael additions in water. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 21, p. 2372-2375, 2010.
- DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. *Bioorganic Chemistry*, v. 71, p. 30-54, 2017.

- DIAS, L. C.; FARINA, L. S.; FERREIRA, M. A. B. Stereoselective total synthesis of the potent anti-asthmatic compound CMI-977 (LDP-977). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 24, p.184-190, 2013.
- DONDONI, A. Triazole: the Keystone in Glycosylated Molecular Architectures Constructed by a Click Reaction. *Chemistry An Asian Journal*, v. 2, p. 700-708, 2007.
- FERNANDES, C. M.; ALVAREZ, L. X.; SANTOS, N. S.; BARRIOS, A. C. B.; PONZIO, E. A. Green synthesis of 1-benzyl-4-phenyl-1H-1,2,3-triazole, its application as corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium and new approach of classical electrochemical analyses. *Corrosion Science*, 2019.
- FREITAS, R. P.; FREITAS, L. B. O; RUELA, F.A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. *Química Nova*, v. 34, p. 1791-1804, 2011.
- FRINGUELLI, F.; PIERMATTI, O.; PIZZO, F.; VACCARO, L. Ring Opening of Epoxides with Sodium Azide in Water. A Regioselective pH-Controlled Reaction. *Journal of Organic Chemistry*, v. 64, p. 6094-6096, 1999.
- GAZOLLA, P. A. R. Síntese e avaliação das atividades citotóxica e leishmanicida de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. 2015. 260f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.
- GAZOLLA, P. A. R.; TEIXEIRA, R. R.; DA SILVA, A. M.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; SIQUEIRA, R. P.; GONÇALVES, V. H. S.; PEREIRA, H.

- S.; BRESSAN, G. C. Síntese e avaliação da atividade citotóxica de derivados do eugenol contendo núcleos 1,2,3-triazólicos. *Química Nova*, v. 41, p. 497-506, 2018.
- HEIN, C. D.; LIU, X.-M.; WANG, D. Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences. *Pharmaceutical Research*, v. 25, p. 2216-2230, 2008.
- HUISGEN, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions Past and Future [*]. *Angewandte Chemie*. v. 2, p. 565-532, 1963.
- IUPAC, Compêndio de Terminologia Química, 2ª ed. ("Gold Book"). Compilado por A. D. McNaught e A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Versão online: "heterocyclic compounds" (2006–) criado por M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; atualizações compiladas por A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8.
- JIANG, X.; HAO, X.; JING, L.; WU, G.; KANG, D.; LIU, X.; ZHAN, P. Recent applications of click chemistry in drug discovery. *Expert opinion on drug discovery*, v.14, N. 8, 779-789, 2019.
- LIMA, G. D. A.; RODRIGUES, M. P.; MENDES, T. A. O.; MOREIRA, G. A.; SIQUEIRA, R. P.; SILVA, A. M.; VAZ, B. G.; FIETTO, J. R. L.; BRESSAN, G. C.; NEVES, M. M.; [TEIXEIRA](#), R. R. Synthesis and antimetastatic activity evaluation of cinnamic acid derivatives containing 1,2,3-triazolic portions. *Toxicology in Vitro*, v. 53, p. 1-9, 2018.
- LUCCHESI, A. M.; MARZORATI, L. Catálise de transferência de fase. *Química Nova*, v. 23 (5), p. 641-652, 2000.

- MAKOSZA, M.; WAWRZYNIEWICZ, M. Reactions of organic anions. Catalytic method preparation of dichlorocyclopropane derivatives in aqueous medium. *Tetrahedron Letters*, v. 53, p. 4659-4662, 1969.
- MELDAL, M.; TORNØE, C. W. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chemical Reviews*, v. 108, p. 2952–3015, 2008.
- MOSES, J. E.; MOORHOUSE, A. D. The growing applications of “click” chemistry. *Chemical Society Reviews*, v. 36, p. 1249-1262, 2007.
- NIU, C.; LU, X.; AISA, H. A. Preparation of novel 1,2,3-triazole furocoumarin derivatives via click chemistry and their anti-vitiligo activity. *RSC Advances*, v. 9, p. 1671–1678, 2019.
- OLIVEIRA, A. S.; GAZOLLA, P. A. R.; OLIVEIRA, A. F. C. S.; PEREIRA, W. L.; VIOL, L. C. S.; MAIA, A. F. S.; SANTOS, E. G.; SILVA, I. E. P.; MENDES, T. A. O.; SILVA, A. M.; DIAS, R. S.; SILVA, C. C.; POLÊTO, M. D.; TEIXEIRA, R. R.; PAULA, S. O. Discovery of novel West Nile Virus protease inhibitor based on isobenzonafuranone and triazolic derivatives of eugenol and indan-1,3-dione scaffolds. *Plos one*, v. 14, [e0223017](#), 2019.
- PATEL, N.; SOOD, R.; BHARATAM, P. V. NL_{2+} systems as new-generation phasetransfer catalysts. *Chemical Reviews*, v. 118, p. 8770-8785, 2018.
- PAVIA, Donald L et al. Introdução a espectroscopia. 4^a ed. São Paulo: Editora Cengage Learning, 2010.

PRETSCH, Erno et al. Tables of spectral data for structure determination of organic compounds. 2^a ed. Berlin: Springer-Verlag, 1989.

RAZZAGHI-ASL, N.; SEPEHRI, S.; EBADI, A.; KARAMI, P.; NEJATKHAH, N.; JOHARI-AHAR, M. Insights into the current status of privileged N-heterocycles as antileishmanial agents. *Molecular Diversity*, in press, <https://doi.org/10.1007/s11030-019-09953-4>, 2019.

RAMAPANICKER, R; CHACKO, S. Click chemistry: Mechanistic and synthetic perspectives. In: Click reactions in organic synthesis. Editor: Srinivasan Chandrasekaran. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., p. 1-24, 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*, v. 41, p. 2596-2596, 2002.

SAHU, J. K.; GANGULY, S.; KAUSHIK A. Triazoles: A valuable insight into recent developments and biological activities. *Chinese Journal of Natural Medicines*, v. 11, p. 0456-0465, 2013.

SCHETTIN, R.; SICIGNANO, M.; RICCARDIS, F.; IZZO, I.; SALA, G. D. Macrocyclic hosts in asymmetric phase-transfer catalyzed reactions. *Synthesis*, v. 50, p. 4777–4795, 2018.

SCHULZE, B.; SCHUBERT, U. S. Beyond click chemistry – supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles. *Chemical Society Reviews*, v. 43, p. 2522-2571, 2014.

- SHARPLESS, K. B.; FINN, M. G.; KOLB, H. C. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 40, p. 2004-2021, 2001.
- SINGH, M. S.; CHOWDHURY, S.; KOLEY, S. Advances of azide-alkyne cycloaddition-click chemistry over the recent decade. *Tetrahedron*, v. 72, p. 5257-5283, 2016.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; DA SILVA, A. M.; BORSODI, M. P. G.; BERGMANN, B. R.; FERREIRA, R. S.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; LIMA, W. P. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 146, p. 274-286, 2018.
- YAN, Z. Y.; NIU, Y. N.; WEI, H. L.; WU, L. Y.; ZHAO, Y. B.; LIANG, Y. M. Combining proline and 'click chemistry': a class of versatile organocatalysts for the highly diastereo- and enantioselective Michael addition in water. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 17, p. 3288-3293, 2006.
- YOSHIDA, Y.; TAKIZAWA, S.; SASAI, H. Design and synthesis of spiro bis(1,2,3-triazolium) salts as chiral ionic liquids. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 23, p. 843-851, 2012.
- ZAMMIT, C. M.; WILLS, M. Use of triazole-ring formation to attach a Ru/TsDPEN complex for asymmetric transfer hydrogenation to a soluble polymer. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 24, p. 844-852, 2013.

ZHANG, B. Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1,2,3-triazole hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 168, p. 357-372, 2019.

ZHAO, Y. B.; ZHANG, L. W.; WU, L. Y.; ZHONG, X.; LI, R.; MA, J. T. Silica-supported pyrrolidine–triazole, an insoluble, recyclable organocatalyst for the enantioselective Michael addition of ketones to nitroalkenes. *Tetrahedron: Asymmetry*, v. 19, p. 1352-1355, 2008.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUNGICIDA DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS DO EUGENOL CONTRA *Colletotrichum* sp.

3.1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro, também conhecido como *Carica papaya* L. é uma espécie de relevância no contexto econômico e social de diversos países, sendo cultivada em praticamente todos os países da América tropical (PAIXÃO *et al.*, 2012). Mundialmente, o mamão representa 10% da produção mundial de frutas, valor que corresponde a aproximadamente 11 milhões de toneladas. O Brasil no ano de 2019 foi o segundo maior produtor mundial produzindo aproximadamente 1,2 milhão de toneladas/ano, produzidos principalmente nos Estados do Espírito Santo, Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte (FAOSTAT, 2021; IBGE, 2019). Na Figura 3.1 (p. 143) são apresentados dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) referentes aos principais estados produtores de mamão no Brasil em 2019.

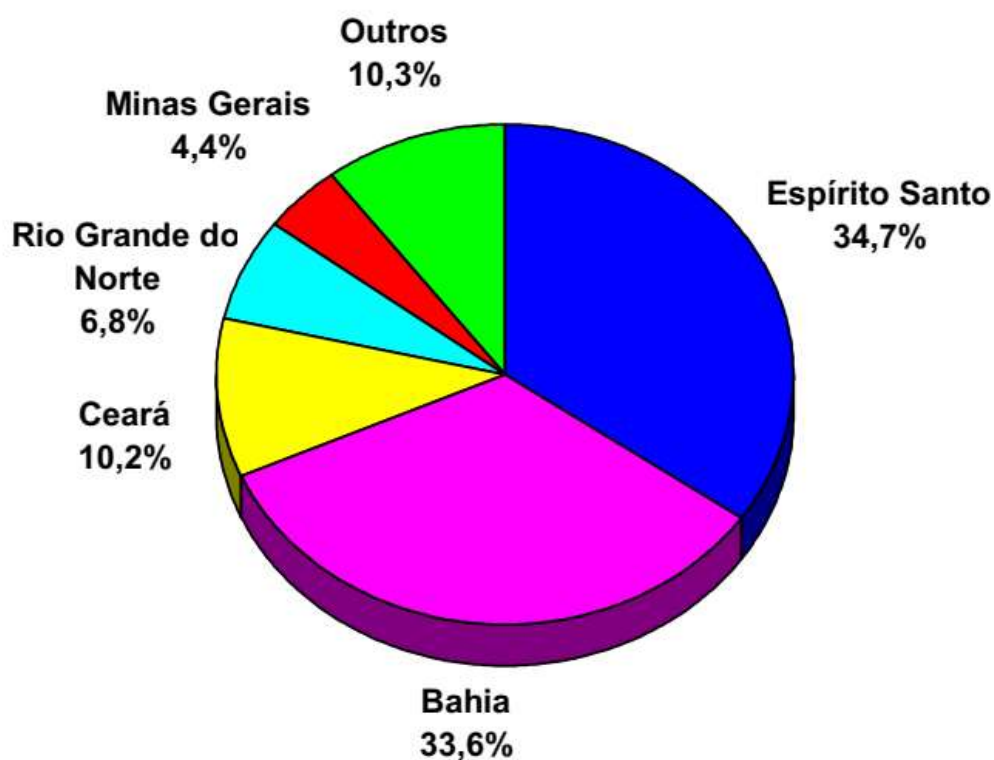


Figura 3.1 – Principais estados produtores de mamão no Brasil em 2019.

Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal, 2019. Consultado em 27/10/2020.

O fruto é consumido principalmente *in natura* por seu sabor atraente, pelos benefícios nutricionais, assim como pelas propriedades farmacológicas tais como a laxativa. O mamão é uma fruta bastante perecível, uma vez que amadurece rapidamente após a colheita. Dessa forma, estender o período de durabilidade, assim com diminuir perdas pós-colheitas geralmente causadas por doenças, são aspectos importantes a serem considerados para aumentar a sua produção (LI *et al.*, 2013;).

O avanço na cultura do mamão ocorreu a partir da década de 1970, com a implantação da variedade havaí, conhecida como mamão *papaya* ou mamão Amazônia (SERRANO; CATTANEO, 2010). O cultivo do mamão no Brasil teve mudanças consideráveis na qualidade dos frutos produzidos, devido a investimentos

em pesquisas voltadas para melhorar a cultura elevando a produção do fruto (TEIXEIRA JÚNIOR *et al.* 2019). Há uma tendência de crescimento das exportações de mamão pelo Brasil, atividade esta que conferirá estabilidade e lucratividade dessa cultura ao mercado internacional (RUGGIERO *et al.*, 2011).

O mamão desenvolve-se no decorrer de aproximadamente cinco a seis meses, sendo que, na maior parte desse período, está vulnerável a fungos do gênero *Colletotrichum* pertencentes a diferentes complexos filogenéticos de espécies, sendo o mais comum, o complexo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) (Dickman & Alvarez, 1983; Durán *et al.*, 1999). Esse fungo causa a antracnose do mamão que é um dos principais fatores limitantes na exportação do mesmo e se trata de uma doença pós-colheita, que causa perdas relevantes de frutos, uma vez que pode haver perdas de 10 a 40% em transportes terrestres, de 5 a 30% nos embarques aéreos, além de perdas que podem variar de 1 a 93%, dependendo de como é o manejo e armazenamento pós-colheita do mamão (RIBEIRO *et al.*, 2016; VENTURA *et al.*, 2016; AMORIM *et al.*, 2016).

O *Colletotrichum gloeosporioides* pode contaminar frutos ainda bastante imaturos e permanecer no estado adormecido até o fruto atingir a fase pós-colheita. Dificilmente a infecção é identificada até a colheita, uma vez que os sinais da antracnose frequentemente são percebidos durante ou após o transporte do mamão para os mercados consumidores (VENTURA *et al.*, 2016; FISHER *et al.*, 2017; VILAPLANA *et.al.*; 2019). Em geral, os sinais da antracnose (Figura 3.2, p.145) começam pela formação de lesões escuras circulares, podendo apresentar um diâmetro de até 13 mm. As lesões aumentam atingindo parte do fruto ou necrosando-o completamente. As necroses atravessam a casca e alcançam a polpa do fruto. Dessa forma, no interior do fruto, o fungo leva ao escurecimento da polpa.

Logo, as medidas de controle buscando diminuir a ocorrência da antracnose no mamão precisam ser iniciadas durante o cultivo, sendo considerada como a mais efetiva a pulverização periódica com fungicidas, sendo os triazóis bastante utilizados nesta prática (VENTURA *et al.*, 2016; MARTINS *et al.*, 2016; FISCHER *et al.*, 2017).



Figura 3.2 – Sinais e sintomas de antracnose em frutos de mamão causando lesões escuras circulares.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Na procura por novas substâncias para o controle de fungos, um bom caminho é o emprego de metabólitos secundários que são produzidos por plantas ou outros organismos. Tais metabólitos podem ser usados diretamente como fungicidas ou como estruturas-modelo para o desenvolvimento de novas classes de fungicidas (LORSBACH *et al.*, 2019; MARRONE, 2019).

Na presente investigação, escolheu-se o eugenol como estrutura modelo para a obtenção de novos derivados 1,2,3-triazólicos que possam ser utilizados como uma alternativa para o controle da antracnose do mamão. O eugenol foi selecionado

como material de partida uma vez que este composto aromático é de origem natural, presente na composição química de óleos essenciais obtidos de plantas como a *Eugenia caryophyllus*, o “cravo-da-índia” e pelo fato de apresentar uma gama de atividades biológicas, dentre elas podendo ser destacadas: inseticida (MACIEL *et al.*, 2010); antifúngica (FARIA *et al.*, 2006); anti-inflamatória (KIM *et al.*, 2003); espasmolítica, antisséptica, antipirética (FENG e LIPTON, 1987); antioxidante (GUHA e PRIYADARSINI, 1999; ABRAHAM, 2001); neuroprotetora (KABUTO *et al.*, 2007); analgésica, anestésica (ESCOBAR, 2002); leishmanicida (TEIXEIRA *et al.*, 2018), tripanocida (TEIXEIRA *et al.*, 2019), antimalárica (TEIXEIRA *et al.*, 2019), antibacteriana (ZHANG, 2019).

Dentro deste contexto, os novos triazóis **5a-5z** obtidos a partir do eugenol foram avaliados quanto à atividade fungicida objetivando encontrar novos princípios ativos para o controle da antracnose do mamoeiro, uma importante cultura no Brasil, levando em conta que os fungicidas utilizados atualmente no país não controlam adequadamente esse fungo (LOPES *et al.*, 2015).

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio de avaliação da atividade fungicida dos derivados triazólicos do eugenol **5a-5z** foram realizados na Unidade de Controle Biológico de Viçosa (UCBV) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, em colaboração com a doutoranda Iris Carolina Henrique de Lima Leite e o professor Lucas Magalhães de Abreu.

3.2.1. Isolamento e cultivo do fungo

Para realização do ensaio foi utilizado o isolado CM01 do complexo *Colletotrichum* sp. obtido a partir do fruto de mamão *papaya* com sintomas típicos de antracnose. O isolado CM01 do complexo *Colletotrichum* sp. foi cultivado em meio batata-dextrose-ágar por 7 dias à temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

3.2.2. Ensaio de Avaliação Fungicida

Inicialmente, vinte e seis amostras das substâncias **5a-5z** foram diluídas em 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e agitadas no vórtex, obtendo-se soluções dos compostos (10 e 1 mg mL⁻¹) em água destilada esterilizada. As amostras diluídas foram armazenadas em um freezer a temperatura de 4 °C. Para o controle, utilizou-se uma amostra de DMSO diluída em água destilada esterilizada na mesma proporção que as amostras testadas. O fungicida comercial Tebuconazol (Folicur® 200EC-200 g L⁻¹ i.a., Bayer) foi usado como controle positivo na dose recomendada pelo fabricante para o controle da antracnose na cultura do mamão (0,03 mL mL⁻¹ /33,00 mg mL⁻¹) e também na concentração de 10 mg mL⁻¹ de ingrediente ativo.

Posteriormente ao cultivo do fungo, fragmentos de micélio de 5 mm foram retirados das bordas das colônias e transferidos para uma extremidade de placas de *Petri* de 50 mm contendo 5 mL de meio batata-dextrose-ágar. No lado oposto aos *plugs* de micélio foram feitos poços de 5 mm no meio de cultura, que receberam 30 µL das amostras teste diluídas a 1 mg mL⁻¹ (Ensaio 1), 10 mg mL⁻¹ (Ensaio 2), ou das amostras controle (fungicida comercial e amostra de DMSO). As placas foram incubadas a 25 °C, fotoperíodo de 12 horas durante 6 dias. Cada placa representou uma repetição, contabilizando 3 repetições por amostra. O experimento foi repetido para cada ensaio.

Com auxílio de um paquímetro digital avaliou-se o halo de inibição em milímetros (mm), o qual correspondeu à distância medida entre o centro do poço e a borda da colônia.

3.2.3. Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R. Os dados foram submetidos ao teste de Bartlett para avaliar a homocedasticidade das variâncias, e em seguida ajustados ao modelo de regressão linear utilizando-se a função '*lm()*' do pacote do R *lme4* (BATES *et al.*, 2015; R core team, 2019). Para comparação entre os tratamentos, o teste de Tukey foi realizado com 5% de probabilidade ($P < 0.05$). Para isso, as funções '*emmeans()*' e '*cld()*' dos pacotes *emmeans* e *multcomp* do R foram utilizadas, respectivamente.

O teste de Scott-knott (REPOSITÓRIO CRAN, 2021), foi utilizado por ser um teste estatístico recomendado para agrupamentos em grandes grupos a serem avaliados, evitando assim, a classificação de um tratamento em diferentes grupos ao mesmo tempo (*overlapping*), o que pode dificultar a distinção entre grupos reais.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito de inibição do crescimento micelial pelas substâncias avaliadas **5a-5z** na concentração de 1 mg mL⁻¹ foi pouco pronunciado quando comparado com o controle positivo tebuconazol (Figura 3.3 p. 149). Os resultados foram consistentes nas duas repetições do experimento. A Figura 3.4 (p.149) traz uma visão geral do experimento, e por dos dados de inibição (mm), ficou claro que, na concentração testada, o efeito foi pouco pronunciado.

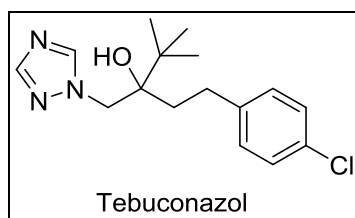


Figura 3.3 – Estrutura do fungicida Tebuconazol.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

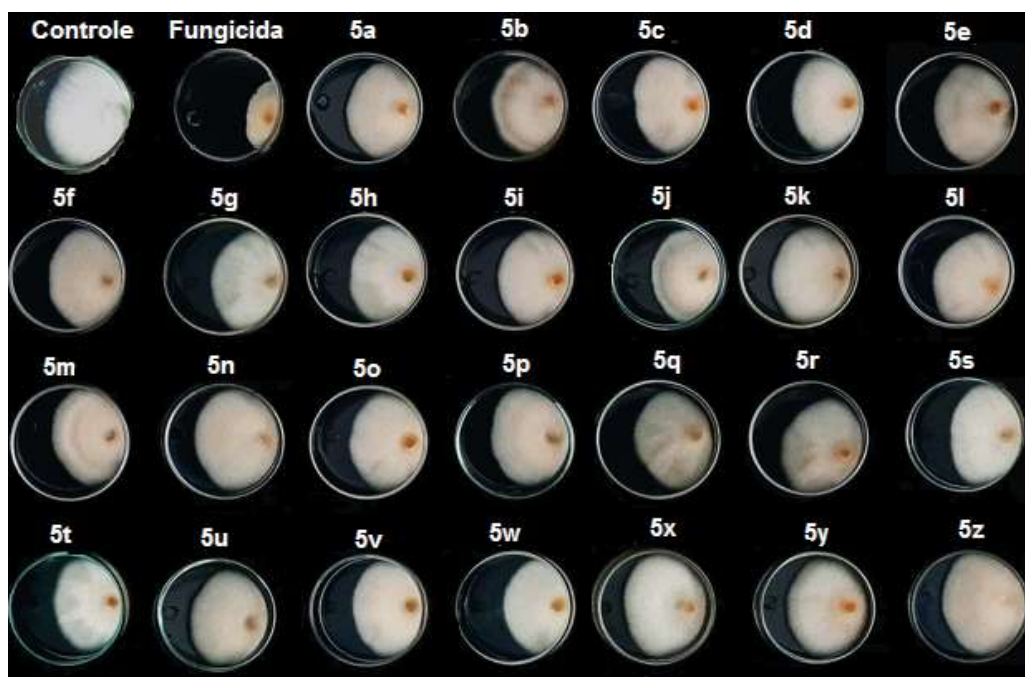


Figura 3.4 – Colônias de *Colletotrichum* sp. após 6 dias de exposição aos diferentes compostos **5a-5z**, na concentração de 1 mg mL^{-1} , e os controles DMSO diluído em água (Controle) e o fungicida tebuconazol (Fungicida).

Fonte: Elaborada pelo próprio autor. As fotografias foram gentilmente fornecidas pela Unidade de Controle Biológico de Viçosa (UCBV) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Frente ao resultado anterior, optou-se por realizar o experimento utilizando a concentração de 10 mg mL^{-1} (Ensaio 2) dos derivados triazólicos do eugenol **5a-5z**. A Figura 3.5 (p. 150) mostra a visão geral dos resultados do Ensaio 2. O aumento da concentração resultou em maiores halos de inibição para alguns tratamentos, com destaque para o tratamento realizado com **5x** e **5e**. Os dados foram tabulados e mostrados de forma gráfica em um *boxplot*, apresentado na Figura 3.6 (p. 150).

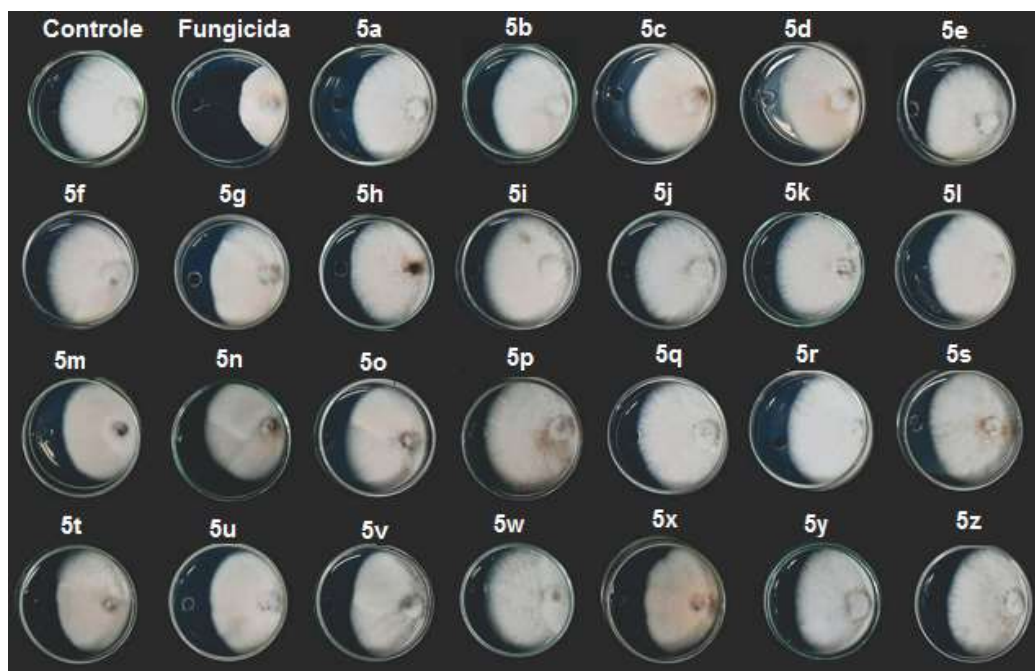


Figura 3.5 – Colônias de *Colletotrichum* sp. após 6 dias de exposição a diferentes moléculas (**5a-5z**), na concentração de 10 mg mL^{-1} , e os controles com DMSO diluído em água (Controle) e o fungicida tebuconazol (Fungicida).

Fonte: Elaborada pelo próprio autor. As fotografias foram gentilmente fornecidas pela Unidade de Controle Biológico de Viçosa (UCBV) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

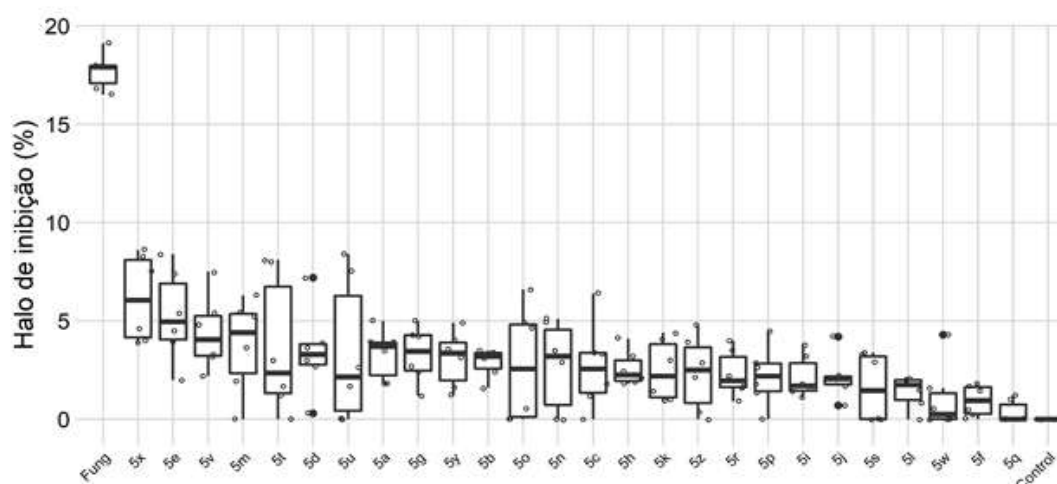


Figura 3.6 – *Boxplot* do halo de inibição (mm) das colônias de *Colletotrichum* sp. expostas aos compostos **5a-5z** na concentração de 10 mg mL^{-1} em comparação aos controles DMSO diluído em água (controle) e o fungicida tebuconazol (Fung).

Fonte: Elaborada pelo próprio autor. A imagem do gráfico foi gentilmente fornecidas pela Unidade de Controle Biológico de Viçosa (UCBV) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Na Tabela 3.1 (p. 152), encontram-se os valores médios comparados por meio do método de Tukey do halo de inibição (mm) de colônias de *Colletotrichum* sp. obtidos a partir da realização do Ensaio 2. Os compostos acompanhados da letra “a” associada a eles estão mais próximos dos resultados do controle, já compostos como **5x** e **5e** (Figura 3.7, p.153) que possuem as classificações “d” e “cd”, respectivamente, mostram resultados mais próximos do fungicida comercial tebuconazol. Esse método faz uma comparação global entre as substâncias testadas no experimento. Percebe-se que a grande maioria dos compostos tem a letra “a”, apesar de alguns também serem classificados em “d”, como é o caso do composto **5m** (“abcd”). A sobreposição de letras indica uma maior dispersão dos dados e que esse composto não tem efeito fungicida relevante.

Tabela 3.1 – Valores médios comparados por meio do método de Tukey do halo de inibição de *Colletotrichum* sp. expostas aos compostos **5a-5z** e ao fungicida.

Tratamento	Médias¹
Controle	0,00a
5q	0,36ab
5f	0,93ab
5w	1,06ab
5l	1,40abc
5s	1,60abc
5i	2,15abcd
5j	2,15abcd
5p	2,18abcd
5r	2,31abcd
5z	2,35abcd
5k	2,46abcd
5h	2,58abcd
5c	2,68abcd
5n	2,73abcd
5o	2,76abcd
5b	2,88abcd
5y	3,06abcd
5g	3,30abcd
5a	3,31abcd
5u	3,36abcd
5d	3,45abcd
5t	3,66abcd
5m	3,73abcd
5v	4,40bcd
5e	5,26cd
5x	6,15d
Fungicida comercial	17,7f

¹Médias seguidas pela mesma letra em comum na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

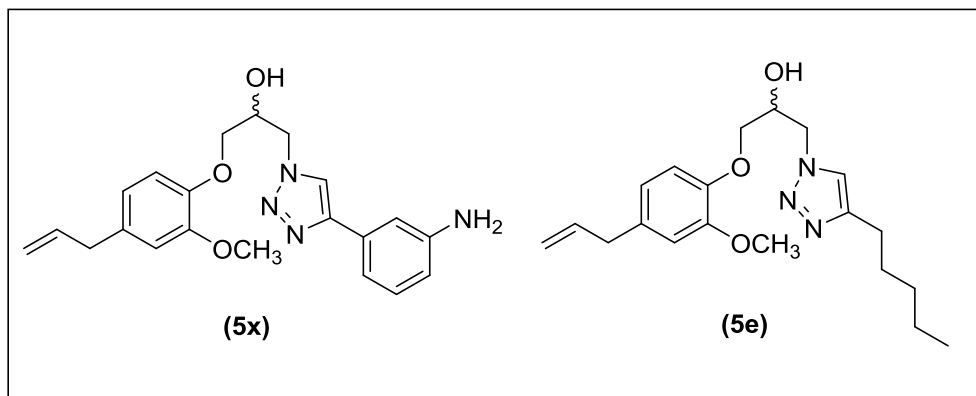


Figura 3.7 – Estruturas dos compostos triazólicos **5x** e **5e** que apresentaram melhor efeito fungicida contra o *Colletotrichum* sp.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

As estruturas dos compostos **5e** (Figura 3.7) e dos compostos **5b**, **5f**, **5g**, **5h** e **5i** (Figura 2.15, p. 109) diferem entre si somente pelo tamanho da cadeia carbônica ligada ao anel triazólico. Porém, estas substâncias apresentaram resultados bastante distintos no que tange à atividade fungicida (Tabela 3.1, p. 152). Logo, percebe-se que o tamanho da cadeia carbônica influencia diretamente na atividade biológica dos derivados do eugenol sintetizados na presente investigação.

O composto **5x** (Figura 3.7) possui em sua estrutura um anel benzênico ligado à porção triazólica e apresentando um grupamento amino ligado à posição meta deste anel. Outros sete derivados sintetizados também apresentam um anel benzênico com substituintes -NH₂, -OCH₃ e -CH₃ em diferentes posições bem como compostos com anel benzênico não substituído (Figura 2.15, p. 109). A análise dos resultados da Tabela 3.1 (p. 152) revela que o padrão de substituição do anel benzênio ligado ao anel triazólico influencia a atividade fungicida uma vez que apenas o derivado **5x**, que contém um grupamento amino na posição *meta*, apresentou efeito fungicida relevante.

A fim de comparar as substâncias **5a-5z** com o fungicida tebuconazol, utilizou-se o teste de Scott-knott, cujos resultados estão apresentados na Figura 3.8 e na Tabela 3.2 (p.155).

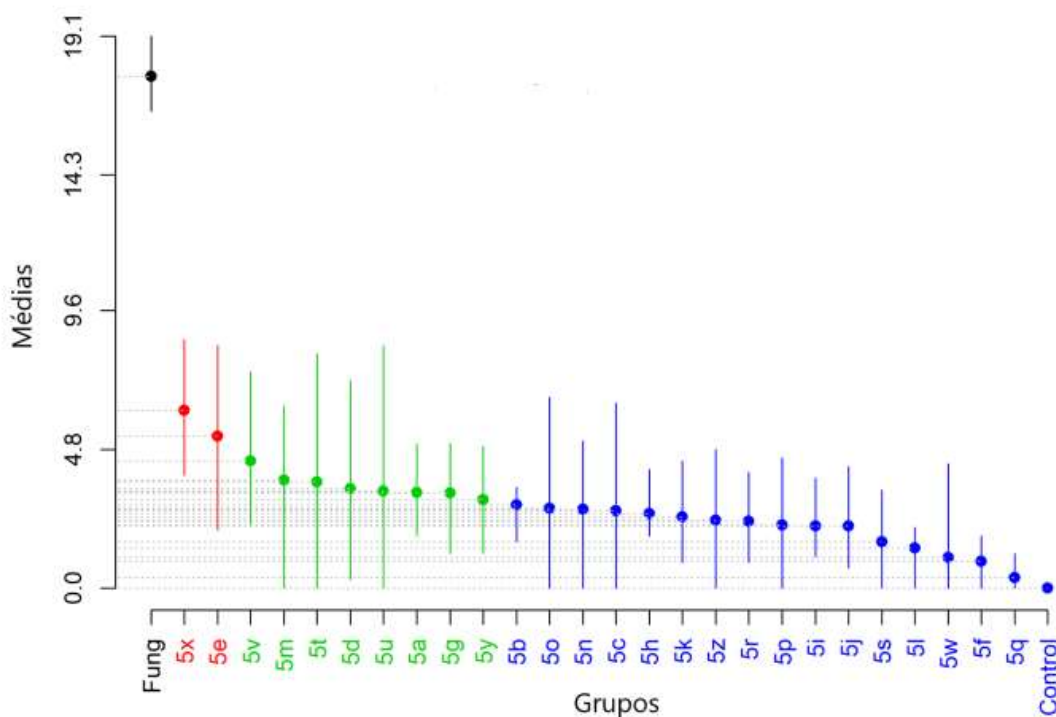


Figura 3.8 – Gráfico com as médias dos grupos por cores, gerado pelo método de Scott-knott a 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor. A imagem do gráfico foi gentilmente fornecida pela Unidade de Controle Biológico de Viçosa (UCBV) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Tabela 3.2 – Valores médios obtidos pelo método de Scott-knott do halo de inibição (mm) de *Colletotrichum* sp. expostas ao fungicida e aos compostos **5a-5z**.

Compostos	Médias¹	SK (5%)¹
Fung	17.7000000	a
5x	6.1500000	b
5e	5.2666667	b
5v	4.4000000	c
5m	3.7333333	c
5t	3.6666667	c
5d	3.4500000	c
5u	3,3666667	c
5a	3,3166667	c
5g	3.3000000	c
5y	3.0666667	c
5b	2.8833333	d
5o	2.7666667	d
5n	2.7333333	d
5c	2.6833333	d
5h	2.5833333	d
5k	2.4666667	d
5z	2.3500000	d
5r	2.3166667	d
5p	2.1833333	d
5i	2.1500000	d
5j	2.1500000	d
5s	1.6000000	d
5l	1.4000000	d
5w	1.0666667	d
5f	0.9333333	d
5q	0.3666667	d
Control	0.0000000	d

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo método de Scott-knott a 5% de probabilidade.

O teste de Scott-knott leva a resultados semelhantes ao teste de Tukey, porém o primeiro compara os tratamentos com o fungicida comercial, enquanto o segundo compara de uma forma global todos os tratamentos e também o fungicida comercial. A Figura 3.8 (p. 154) destaca em vermelho os compostos **5x** e **5e** que apresentaram os melhores efeitos contra o *Colletotrichum* sp.

A partir dos resultados da atividade fungicida dos compostos **5a-5z** não foi possível estabelecer uma clara correlação entre a estrutura química e a atividade dos compostos contra o *Colletotrichum* sp, uma vez que muitos fatores podem impossibilitar que o fungicida atinja o alvo.

Kretschmer e colaboradores (2009), empregando o fungo *Botrytis cinerea* que é conhecido como o fungo do mofo cinzento dos vegetais, demonstraram que os mecanismos principais que esse fungo se vale em resposta a aplicação de fungicida foram a desintoxicação do mesmo, alteração do local alvo, a superexpressão da proteína alvo proporcionada pela concentração do fungicida na célula. Os triazóis interagem com enzima lanosterol 14 α -desmetilase (CYP51), logo alterações nessa enzima poderiam diminuir a afinidade entre os triazóis e o seu local alvo com respeito à atividade fungicida.

Outra hipótese que pode explicar as diferenças na eficácia entre o fungicida tebuconazol e os triazóis sintetizados nesse trabalho é a conexão entre o anel triazol e o restante da molécula, uma vez que no tebuconazol a porção triazólica está ligada ao restante da molécula por apenas um ponto e, portanto, esta substância apresenta-se menos impedida para interagir no sítio ativo do CYP51. Nas moléculas **5a-5z**, a porção triazólica apresenta dois pontos de conexão, o que pode dificultar a interação com o sítio alvo da CYP51.

3.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, S.K. Anti-genotoxicity of trans-anethole and eugenol in mice. *Food and Chemical Toxicology*, v. 39, p. 493-498, 2001.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. E. A. Manual de Fitopatologia. Vol. 2: Doenças das Plantas Cultivadas. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 5.ed., 810 p., 2016.
- BATES, D.; MAECHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, v. 67 n.1, p. 1-48, 2015.
- DICKMAN, M. B.; ALVAREZ, A. M. Latent infection of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Plant Disease*, v. 67, p. 748-750, 1983.
- DURÁN, A.; MORA, D.; CHAVARRÍA, E. Determinación de la edad susceptible del fruto de la papaya (*Carica papaya* L.) a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). *Agronomía Meso americana*, v.10, p. 1-6. 1999.
- ESCOBAR, R. G. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. *Revista Cuble Estomatol*, v. 39, p. 139-156, 2002.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Acesso em: 11 de junho de 2021. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>.
- FARIA, T. J.; FERREIRA, R. S.; YASSUMOTO, L.; SOUZA, J. R. P.; ISHIKAWA, N. K.; BARBOSA, A. M. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against phytopathogenic fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 49, p. 867-871, 2006.
- FENG, J; LIPTON, J. M. Eugenol: antipyretic activity in rabbits. *Neuropharmacology*, v.26, p.1775-1778, 1987.
- FISCHER, I. H.; DE MORAES, M. F.; PALHARINI, M. C. A.; CRUZ, J. C. S.; FIRMINO, A. N. Ocorrência de antracnose em abacate, agressividade e sensibilidade de

- Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. *Agropecuária Científica no Semiárido*, v. 13, p. 130-137, 2017.
- GUHA, S. N.; PRIYADARSINI, K. I. Kinetic and redox characteristics of phenoxyl radicals of eugenol and isoeugenol: A pulse radiolysis study. *International Journal Chemical Kinetics*, v. 32, p. 17-23, 1999.
- KABUTO, H., Tada, M., KOHNO, M. Eugenol [2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression and lipid peroxidation inductivity in mouse striatum. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 30, p. 423-427, 2007.
- KIM, S. S.; OH, O. J.; MIN, H. Y.; PARK, E. J.; KIM, Y.; PARK, H. J.; NAMHAN, Y.; LEE, S. K. Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells. *Life Science*, v. 73, p. 337-48, 2003.
- KOCH, R. Zur Untersuchung von pathogenen Organismen (1881). In: Robert Koch. Klassische Texte der Wissenschaft. *Springer Spektrum*, Berlin, Heidelberg, 2018.
- Acesso em: 07 de julho de 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-662-56454-7_3
- KRETSCHMER, M.; LEROCH, M.; MOSBACH, A.; WALKER, A.; FILLINGER, S.; MERNKE, D.; SCHOONBEEK, H.; PRADIER, J.; LEROUX, P.; WAARD, M.; HAHN, M. Fungicide-Driven Evolution and Molecular Basis of Multidrug Resistance in Field Populations of the Grey Mould Fungus *Botrytis cinerea*. *PLoS Pathog*, v.5, p.12, 2009.
- LI, X.; ZHU, X.; MAO, J.; ZOU, Y.; FU, D.; CHEN, W.; LU, W. Isolation and characterization of ethylene response factor family genes during development, ethylene regulation and stress treatments in papaya fruit. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.70, p. 81-92. 2013.

- LOPES, L. N. S.; SILVA, A. S.; PEREIRA, C. C. O.; MENEZES, I. P. P.; MALAFAIA, G.; LIMA, M. L. P. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. *MultiScience Journal*, p. 106-114, 2015.
- LORSBACH, B. A.; SPARKS, T. C.; CICCHILLO, R. M.; GARIZI, N. V.; HAHN, D. R.; MEYER, K. G. Natural products: a strategic lead generation approach in crop protection Discovery. *Pest Management Science*, v.75, p. 2301-2309, 2019.
- MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SILVA, R. A.; BARROS, R. S.; SOUSA, R. N.; SOUSA, L. C.; BRITO, E. S.; SOUZA-NETO, M. A. Chemical composition of Eucalyptus spp. Essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary Parasitology*, v. 167, p. 1-7, 2010.
- MARRONE, P. G. Pesticidal natural products – status and future potential. *Pest Management Science*, v. 75, p. 2325-2340, 2019.
- MARTINS, D. S.; FORNAZIER, M. J.; FANTON, C. J.; QUEIROZ, R. B.; JUNIOR, J. S. Z. Pragas do mamoeiro. *Informe Agropecuário*, nº 293, v. 37, p. 30-42, 2016.
- PAIXÃO, M.V.S.; SCHMILDT, E. R.; MATTIELLO, H. N.; FERREGUETTI, G. A.; ALEXANDRE, R. S. Frações orgânicas e mineral na produção de mudas de mamoeiro. *Revista Brasileira Fruticultura*, v.34, n.4, p.1105-1112, 2012.
- R core team. 2019. Repositório CRAN do pacote no R. Acesso em: 07 de julho de 2021. Disponível em: <https://cran.rproject.org/web/packages/ScottKnott/ScottKnott.pdf>.
- Repositório CRAN do pacote no R. Acesso em: 07 de julho de 2021. Disponível em: <https://cran.rproject.org/web/packages/ScottKnott/ScottKnott.pdf>.
- RIBEIRO, J. G.; DE SOUZA SERRA, I. M. R.; ARAÚJO, M. U. P. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. *Summa Phytopathol*, v. 42, p. 160-164, 2016.

- RUGGIERO, C.; MARIN, S.; DURIGAN, J. F. Mamão, uma história de sucesso. *Revista Brasileira de Fruticultura*. v. 33, 2011.
- SERRANO, L. A. L.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.32, n.3, 2010.
- TEIXEIRA JÚNIOR, T.; PEREIRA, A. O.; LAGARES, E. A.; LIMA, F. A.; BARROS, P. P. Guia prático para a produção de mamão. *Secretaria de Agricultura, pecuária e aquicultura do estado de Tocantins*, 2019.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; DA SILVA, A. M.; BORSODI, M. P. G.; BERGMANN, B. R.; FERREIRA, R. S.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; LIMA, W. P. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 146, p. 274-286, 2018.
- TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; SILVA, S. F.; AGUIAR, A.R.; COSTA, A. V. Antiprotozoal activity of eugenol and derivatives. In: Megan Shelton. (Org.). *Eugenol: Biosynthesis, Toxicity and Uses*. Nova Science Publisher, New York, p. 49-78, 2019.
- VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Doenças do mamoeiro. *Informe Agropecuário*, v. 37, nº 290, p. 70-81, 2016.
- VILAPLANA, R.; CHICAIZA, G.; VACA, C.; VALENCIA-CHAMORRO, S. Combination of hot water treatment and chitosan coating to control anthracnose in papaya (*Carica papaya* L.) during the postharvest period. *Crop Protection*, v. 128, p. 1-8, 2019.
- ZHANG, B. Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1,2,3-triazole hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 168, p. 357-372, 2019.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIVIRAL DOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS DO EUGENOL CONTRA OS VÍRUS ZIKA E CHIKUNGUNYA

4.1. INTRODUÇÃO

A família *Flaviviridae* é constituída por vírus envelopados, de polaridade positiva e material genético RNA de fita simples. As espécies do gênero *Flavivirus* caracterizam-se por terem tamanho pequeno, com diâmetro entre 40 a 60 nm (SIMÓN *et al.*, 2018). Grande parte desses vírus contaminam aves e mamíferos, e nas últimas décadas tem acarretado doenças em humanos (ICTV, 2019; SOUZA *et al.*, 2021). Segundo o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV), a família *Flaviviridae* é composta pelos gêneros *Flavivirus*, *Pestivirus*, *Hepacivirus* e *Pegivirus*, que se dividem em 89 espécies. O gênero *Flavivirus* é o mais expressivo, uma vez que engloba 53 espécies de vírus reconhecidas (ICTV, 2019). Dentre as espécies que possuem o maior número de informações a respeito estão Vírus da Dengue 1, 2, 3 e 4 (DENV 1-4), Vírus do Oeste do Nilo (WNV), Vírus da Febre Amarela (YFV), Zika vírus (ZIKV), Vírus da Encefalite de Saint Louis (SLEV) e vírus de encefalites transmitidas por carrapato (DIOSA-TORO *et al.*, 2020).

Os vírus transmitidos por artrópodes são denominados arbovírus e eles fazem parte do gênero *Flavivirus*. Tais vírus podem causar infecções com sintomas leves a graves, que variam de sintomas febris a encefalite. Dessa forma, os *Flavivirus* configuram uma grande preocupação para a saúde pública mundial devido à alta

taxa de transmissão e pelos elevados índices de morbidade e mortalidade (DIOSATORO *et al.*, 2020).

O ZIKV, um arbovírus, foi isolado pela primeira vez em 1947 de macacos do gênero *Rhesus*, na floresta Zika nas proximidades de Entebbe, em Uganda. O primeiro relato de infecção em humanos por ZIKV ocorreu na Nigéria, na década de 1950. Por muitos anos o ZIKV ficou restrito aos países dos continentes africano e asiático. Em 2007 ocorreu o primeiro surto de ZIKV na pequena ilha de Yap, na Micronésia, no Pacífico. Aproximadamente três quartos da população local foi infectada (BROGUEIRA & MIRANDA, 2017; HASSAN *et al.*, 2019).

Um novo surto foi observado em 2013 na Polinésia Francesa e outros territórios do Pacífico. Após este surto, começaram ocorrências de manifestações neurológicas pós-infecção, como a síndrome de Guillain-Barré (SGB), gerando uma maior preocupação com ZIKV, uma vez que até aquele momento não havia relatos de manifestações mais graves ocasionadas por este vírus (HEANG *et al.*, 2012). No Brasil, o primeiro caso foi diagnosticado em 2015 (FIOCRUZ, 2021), e embora a maioria dos casos de infecções pelo ZIKV seja assintomática, sintomas como dores de cabeça, febre leve, mialgia, artralgia, hiperemia conjuntival e erupções cutâneas são relatados por pacientes, podem ocorrer também distúrbios neurológicos debilitantes como a microcefalia em recém-nascidos com infecção pré-natal podendo levar em alguns casos a óbitos (HEANG *et al.*, 2012; HASSAN *et al.*, 2019).

O *Chikungunya virus* (CHIKV) foi inicialmente isolado na Tanzânia por volta de 1952 (LIU *et al.*, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017) e deste então há relatos de surtos em diversos países ao redor do mundo. Em outubro de 2013, no

continente Americano, ocorreu uma grande epidemia do vírus em diversas ilhas do Caribe.

No Brasil, a circulação do vírus foi identificada pela primeira vez em 2014 (FIOCRUZ, 2020). É um vírus que pertence ao gênero *Alphavirus*, da família *Togaviridae*. Os principais sintomas da febre chikungunya, nome atribuído às infecções provocadas pelo CHIKV, são febre de início agudo, dores articulares e musculares, cefaleia, náusea, fadiga e exantema. A principal manifestação são as fortes dores nas articulações, que muitas vezes podem estar acompanhadas de edema. Após a fase inicial a doença pode evoluir em duas etapas subsequentes: fase subaguda e crônica. As infecções pelo CHIKV tem caráter epidêmico com elevada taxa de morbidade associada à artralgia persistente, tendo como consequência a redução da produtividade e da qualidade de vida (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Há informações de que a artralgia acomete em torno de 80% dos pacientes e pode persistir durante meses ou até mesmo anos (HONÓRIO *et. al.*, 2015; CHOWDHURY *et. al.*, 2020). O termo chikungunya deriva de uma palavra em Makonde, língua falada por um grupo que vive no sudeste da Tanzânia e norte de Moçambique. Significa “aqueles que se dobram”, descrevendo a aparência encurvada de pessoas que sofrem com a artralgia característica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

O *Zika virus* e o *Chikungunya virus* possuem algumas semelhanças, como a genética, tendo RNA de fita simples de sentido positivo e o tamanho de seus genomas bem similares (HITAKARUN *et. al.*, 2020). Na Figura 4.1 (p. 164), pode-se observar como eles são transmitidos por meio dos mesmos vetores, qual seja pela picada de mosquitos contaminados *Aedes ssp* (LIU *et. al.*, 2017). Existem também outras vias de transmissão já descritas para o *Zika virus*, como a transmissão

vertical (de mãe para filho) e por via sexual. Neste último caso observou-se a presença do ZIKV nas secreções vaginais e sêmen por meses (HASSAN *et. al.*, 2019).

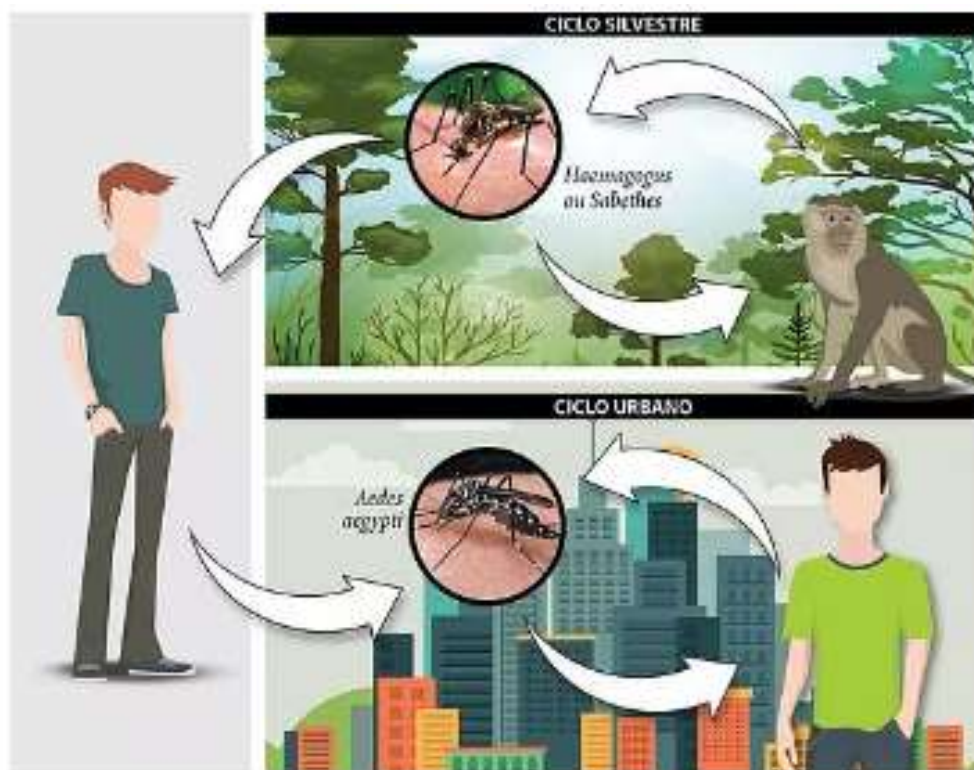


Figura 4.1. Ciclo de transmissão por vetores *Zika virus* e *Chikungunya virus*.

Fonte: http://www.cofen.gov.br/cofen-apoia-programa-de-capacitacao-em-arboviroses-para-profissionais-de-saude_50432.html

O Cenário brasileiro é bastante propício para a ampla disseminação dos vírus, devido ao tamanho da populacional e seu crescimento, ter grande extensão territorial, mudanças climáticas ao longo do ano, urbanização, as viagens internacionais e o comércio (HONÓRIO *et. al.*, 2015; LIU *et. al.*, 2017).

Atualmente ainda não há vacinas ou antiviral específicos para serem utilizados no tratamento das infecções provocadas pelo ZIKV e CHIKV. A terapia utilizada é de suporte sintomático, hidratação e repouso. Além disso, a manutenção

da limpeza dos espaços públicos e residências, para acabar com os focos de mosquitos transmissores, é uma medida preventiva de fundamental importância (FIOCRUZ, 2020).

Considerando os recentes surtos de infecções provocados pelo ZIKV e CHIKV bem como os casos de complicações associados, estas doenças se tornaram importantes preocupações no contexto de saúde pública. Além disso, estes vírus continuam circulando e o risco de evolução de novas epidemias é um aspecto a ser considerado (FIOCRUZ, 2020).

A busca de compostos antivirais de amplo espectro, capazes de diminuir a viremia ou controlar a resposta do hospedeiro à infecção é uma demanda de interesse da saúde pública. Conforme destacado no Capítulo 1, estudos conduzidos no Grupo de Pesquisa e Síntese de Compostos Bioativos (GSPCB) demonstraram atividade antiviral para derivados triazólicos do eugenol. Dentro deste cenário, neste capítulo descrevem-se os resultados de ensaios de avaliação da atividade antiviral realizado com os compostos triazólicos derivados do eugenol **5a-5z** contra os vírus *Zika* e *Chikungunya*.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios de avaliação da atividade antiviral do eugenol e dos derivados **5a-5z** foram realizados no Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos (LBTM) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) em colaboração com as doutorandas Ariane Coelho Ferraz e Marília Bueno da Silva Menegatto e a professora Cintia Lopes de Brito Magalhães.

4.2.1 Células vivas

Para os ensaios *in vitro* foram utilizadas células de linhagem contínua de rim de macaco verde africano, Vero (ATCC CCL-81). Estas células foram cultivadas em meio Mínimo Essencial de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com 5% de soro fetal bovino, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de estreptomicina, 100 U mL^{-1} de penicilina potássica e 2,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de anfotericina B. As culturas foram mantidas em estufa de atmosfera umidificada, a 5% de CO_2 e 37 °C, sendo repicadas três vezes por semana. As amostras virais utilizadas nos experimentos foram ZIKV cepa PE243/15 isolado de paciente com febre Zika sem complicações e CHIKV cepa S27-african (protótipo africano) isolado de um paciente febril. Todos os vírus já se encontravam multiplicados e titulados previamente no LBTM/UFOP e foram mantidos em freezer -80 °C até o momento de uso.

4.2.2. Ensaio de avaliação de citotoxicidade

Para avaliar se os compostos sintetizados **5a-5z** e o eugenol alteravam a viabilidade celular, inicialmente estes foram submetidos ao ensaio de avaliação de citotoxicidade, na qual é possível conhecer a concentração capaz de inibir a viabilidade celular das células em 50% (CC_{50}). Inicialmente, foram distribuídas células Vero em microplacas de 96 poços (5×10^4 células/poço). Em seguida, 100 μL /poço de meio DMEM foram completados com 2,5% de soro fetal bovino (SFB) e 100 μL /poço de diferentes concentrações dos compostos (1000–15,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foram adicionados às células, em triplicata. As placas foram incubadas a 37 °C por um período de 48 horas. A atividade citotóxica do eugenol, utilizado como controle, bem como dos derivados **5a-5z** foi avaliada segundo o método MTT. O ensaio consiste em uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal amarelo brometo de 3-

(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) para o produto de cor azul formazan, pela atividade da enzima succinato desidrogenase presente na mitocôndria e no citoplasma da célula viável, permitindo dessa maneira quantificar a porcentagem de células metabolicamente ativas (MOSMANN, 1983; BERNAS E DOBRUCKI, 2002). Após o período de incubação, foram adicionados 20 μL da solução do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) (1 mg mL^{-1} em PBS), seguido de nova incubação a 37°C por 90 minutos. Finalmente, 100 μL /poço do solvente dimetilsulfóxido (DMSO) foram adicionados para solubilização dos cristais de formazan. A viabilidade celular foi medida de maneira indireta, uma vez que somente células viáveis são capazes de metabolizar o MTT (amarelo) a formazan (azul). Dessa forma, a absorbância foi determinada em 490 nm no espectrofotômetro. A citotoxicidade foi expressa em termos da CC_{50} , em que a conversão da absorbância em porcentagem de células viáveis foi calculada como descrito na equação 1

$$\% \text{ células viáveis} = \frac{B \times 100}{A} \quad (\text{Equação 1}),$$

em que A e B são as absorbâncias a 490 nm das cavidades com células não tratadas (A) e células tratadas (B), respectivamente (FERRAZ *et al.*, 2019). A partir dos valores encontrados, realizou-se análise de regressão usando o *software* Excel para determinação dos valores de CC_{50} .

4.2.3. Ensaio de avaliação de atividade antiviral global

A partir dos resultados dos valores da CC_{50} , o eugenol e os compostos triazólicos **5a-5z** foram testados quanto à atividade antiviral frente ao ZIKV e CHIKV. Novamente, foram distribuídas células Vero em microplacas de 96 poços (5×10^4 células/poço) que posteriormente foram incubadas por 24 horas. O meio foi

então removido e 100 μL das diluições dos compostos candidatos foram adicionados, em triplicatas, juntamente com 100 μL de suspensão viral, sendo Zika ou Chikungunya, com multiplicidade de infecção igual a 1(moi 1) que significa a quantidade de vírus para infectar cada célula, nesse caso um vírus para cada célula. Após 48 horas da infecção (hpi), o experimento foi revelado, utilizando a mesma técnica do MTT já descrita no item anterior. A concentração eficaz com 50% de efeito antiviral, ou seja, concentração efetiva/protetiva para 50% das células infectadas (CE_{50}) foi expressa como a concentração responsável pela proteção de 50% das células infectadas, também calculada por meio de análise de regressão pelo *software* Excel, no qual a porcentagem de células viáveis foi determinada como descrito na equação 2

$$\% \text{ células viáveis} = \left(\frac{A - B}{C - B} \right) \times 100 \quad \text{Equação(2),}$$

onde A, B e C representam as absorbâncias a 490 nm das cavidades nas quais estão presentes células tratadas e infectadas (A), não tratadas e infectadas (B) e não tratadas e não infectadas (C), respectivamente (FERRAZ *et al.*, 2019).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio de avaliação de citotoxicidade foi realizado em células Vero a fim de determinar a concentração dos compostos que não fosse tóxica para 50% das células (CC_{50}). O eugenol e os compostos triazólicos derivados **5a-5z** (Figura 2.15, p. 109) foram diluídos, sem a presença de precipitado, em DMSO puro em uma concentração de 50 mmol L^{-1} . A concentração máxima utilizada nos ensaios de avaliação de citotoxicidade foi de 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em triplicata, no mínimo duas vezes independentes. A Tabela 4.1 (p. 169) apresenta os valores da CC_{50} obtidos no

ensaio de citotoxicidade em células Vero.

Tabela 4.1 – Valores de CC_{50} para o eugenol e os compostos **5a-5z** obtidos por meio do ensaio de avaliação de citotoxicidade em células Vero empregando o método MTT.

Composto	Concentração citotóxica (CC_{50}) $\mu\text{mol L}^{-1}$
5a	> 1000
5b	$117,04 \pm 12,11$
5c	$366,13 \pm 37,48$
5d	$246,96 \pm 2,74$
5e	$137,45 \pm 13,56$
5f	$205,61 \pm 22,04$
5g	$134,54 \pm 43,17$
5h	$64,53 \pm 15,46$
5i	$47,61 \pm 2,46$
5j	$20,94 \pm 1,24$
5k	$253,45 \pm 1,30$
5l	$244,70 \pm 29,89$
5m	$975,90 \pm 24,10$
5n	$965,38 \pm 6,02$
5o	> 1000
5p	$854,55 \pm 37,13$
5q	> 1000
5r	> 1000
5s	$858,86 \pm 2,03$
5t	$68,48 \pm 11,29$
5u	$61,04 \pm 11,97$
5v	$112,15 \pm 1,32$
5w	$132,55 \pm 28,30$
5x	$58,17 \pm 6,03$
5y	$342,92 \pm 26,13$
5z	$431,10 \pm 42,95$

Os resultados da Tabela 4.1 mostram que o eugenol, molécula que serviu de inspiração para o desenvolvimento da presente investigação e utilizado como controle, não possui efeito citotóxico ($CC > 1000 \mu\text{mol L}^{-1}$) em células Vero. Outros compostos que possuem efeito similar ao eugenol são os compostos **5l-5r** (Figura 2.15, p. 109), que apresentam como característica estrutural comum uma porção

alifática substituída com um grupo hidroxila. A partir dos dados de citotoxicidade, não foi possível estabelecer uma clara correlação entre estrutura química dos compostos **5a-5z** *versus* sua atividade biológica. Foi possível, no entanto, dividir os compostos nos seguintes grupos:

- compostos apresentando $CC_{50} > 300 \mu\text{mol L}^{-1}$ (8 derivados);
- compostos apresentando $100 < CC_{50} < 300 \mu\text{mol L}^{-1}$ (10 derivados);
- compostos apresentando $CC_{50} < 100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (7 derivados).

Uma vez obtido os dados de citotoxicidade, procedeu-se à avaliação do efeito antiviral do eugenol e dos compostos **5a-5z** em ZIKV e o CHIKV. O eugenol e a grande maioria dos derivados foram considerados inativos em termos de atividade antiviral, uma vez que não conseguiram proteger mais que 30% das células, não sendo possível calcular a concentração que protege 50% das células da infecção viral (CE_{50}).

Com respeito aos resultados dos ensaios contra ZIKV, sete compostos (Tabela 4.2, p. 171) protegeram pelo menos 50% das células, mas não houve uma concentração testada na qual a viabilidade celular atingisse 100%. Este fato pode ser devido ao valor da concentração efetiva de alguns dos compostos (CE_{50}) (Tabela 4.2, p.171) estarem próximas ao valor da concentração citotóxica (CC_{50}), como aconteceu para os compostos **5a**, **5b**, **5e**, **5f** e **5v**.

Tabela 4.2 – Valores de CC₅₀ (concentração citotóxica), CE₅₀ (concentração efetiva) e IS (índice de seletividade) para os compostos que apresentaram atividade antiviral contra o ZIKV.

Composto	CC₅₀ (μmol L⁻¹)	CE₅₀ (μmol L⁻¹)	IS
5a	117,04 ± 12,11	143,93 ± 3,23	0,81
5b	366,13 ± 37,48	225,87 ± 52,47	1,62
5e	205,61 ± 22,04	131,99 ± 7,96	1,56
5f	134,54 ± 43,17	144,72 ± 2,20	0,93
5v	132,55 ± 28,30	64,08 ± 1,58	2,07
5x	342,92 ± 26,13	63,52 ± 2,67	5,40
5y	431,10 ± 42,95	84,29 ± 2,88	5,11

A obtenção do Índice de Seletividade (IS) é importante para assegurar que, de fato, a inibição de um composto esteja ocorrendo sobre o vírus e não decorrente de uma toxicidade sobre as células. Este índice representa a janela entre a citotoxicidade e a atividade antiviral (COS *et al.*, 2006; PASQUEREAU *et al.*, 2021). O valor do IS é também utilizado para estimar a segurança das substâncias que venham a se tornar medicamentos, tanto para a administração em humanos, quanto para animais. Quanto maior o valor do IS (valores acima de 1), maior a diferença entre a dose de antiviral que diminui em 50% a replicação do vírus medida entre a concentração efetiva (CE₅₀) e a dose citotóxica (CC₅₀). Logo, maior a segurança dos compostos para uso nos tratamentos das infecções (COEN; RICHMAN, 2007). Dessa forma, um valor de IS superior a 4 para uma substância com efeito antiviral apresentando aponta que o efeito observado ocorre em concentração duas vezes menor que aquela que causa toxicidade à célula, indicando que valores inferiores a

4 podem resultar em antivirais falsamente positivos devido a possíveis efeitos tóxicos do composto sobre as células (TSUCHIYA *et al.*, 1985; AMOROS *et al.*, 1992).

As estruturas dos compostos **5b**, **5e** e **5f** (Figura 4.2) são bastante semelhantes e diferem uma da outra pelo tamanho da cadeia carbônica da porção triazólica. Conforme pode ser observado na Tabela 4.2 (p. 171), esses compostos apresentaram IS menor que 2, sugerindo que eles podem ter uma toxicidade sobre as células que levou ao efeito inibitório observado. É importante destacar que o aumento da cadeia carbônica resultou em diminuição do valor do IS, e como uma consequência deste fato, compostos com cadeias carbônicas maiores como **5g**, **5h** e **5i** (Figura 2.15, p. 109) não apresentaram atividade inibitória contra o ZIKV.

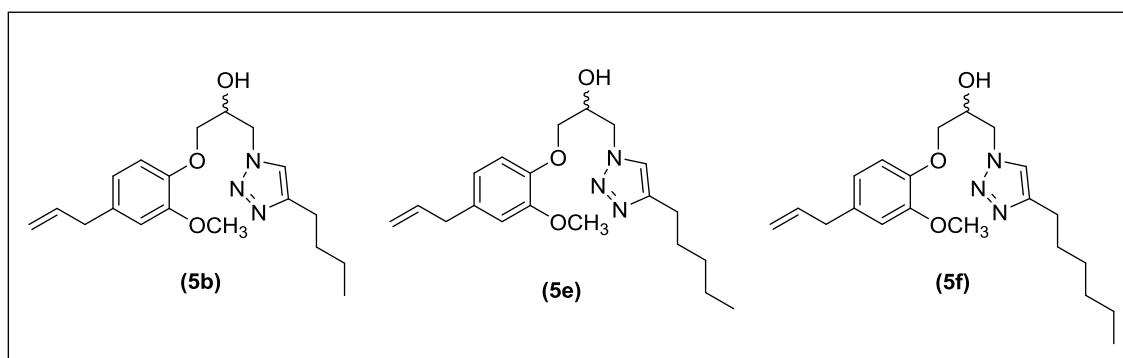


Figura 4.2 – Estruturas dos compostos triazólicos **5b**, **5e** e **5f** com atividade antiviral contra o vírus ZIKV.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Os compostos **5a**, **5v**, **5x** e **5y** (Figura 4.3, p. 173) apresentaram IS acima de 2, exceto **5a** que teve IS menor que 1. Estes derivados apresentam como característica estrutural comum a presença de um anel benzênico conectado à porção triazólica. A posição do substituinte ligado a este anel benzênico interfere na atividade biológica dos compostos, uma vez que se comparando **5u** e **5v**, assim como **5w** e **5z** (Figura 2.15, p. 109), que só diferem na posição do substituinte

presente no anel benzênico, tiveram resultados distintos; apenas os derivados com substituinte em *meta* apresentaram atividade contra o ZIKV.

O valor do IS para os compostos **5x** e **5y**, foi de 5,40 e 5,11, respectivamente, e como descrito anteriormente valores do IS acima de 4 sugerem real ação antiviral do composto, uma vez que a dose ativa foi aproximadamente 5 vezes menor que a dose tóxica como pode ser observado na Tabela 4.2 (p. 171).

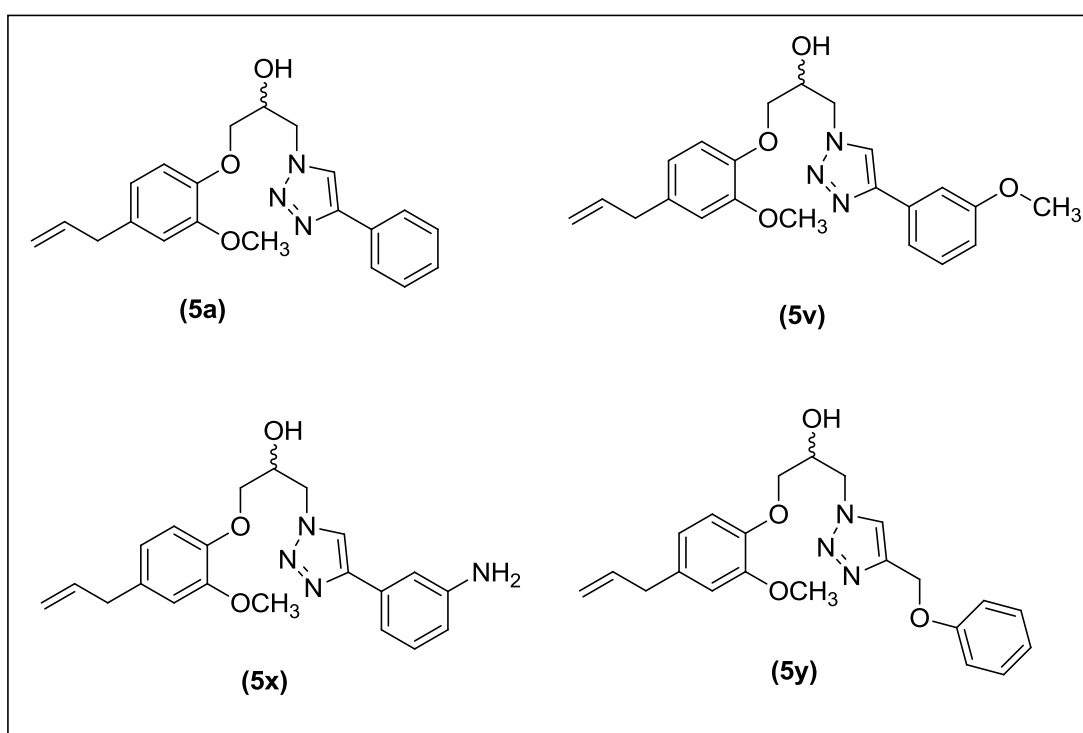


Figura 4.3 – Estruturas dos compostos triazólicos **5a**, **5v**, **5x** e **5y** com atividade antiviral contra o vírus ZIKV.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Na Figura 4.4 (p. 174) são apresentadas fotografias das condições de tratamento para demonstrar alguns resultados obtidos nos ensaios de avaliação de atividade contra o ZIKV.

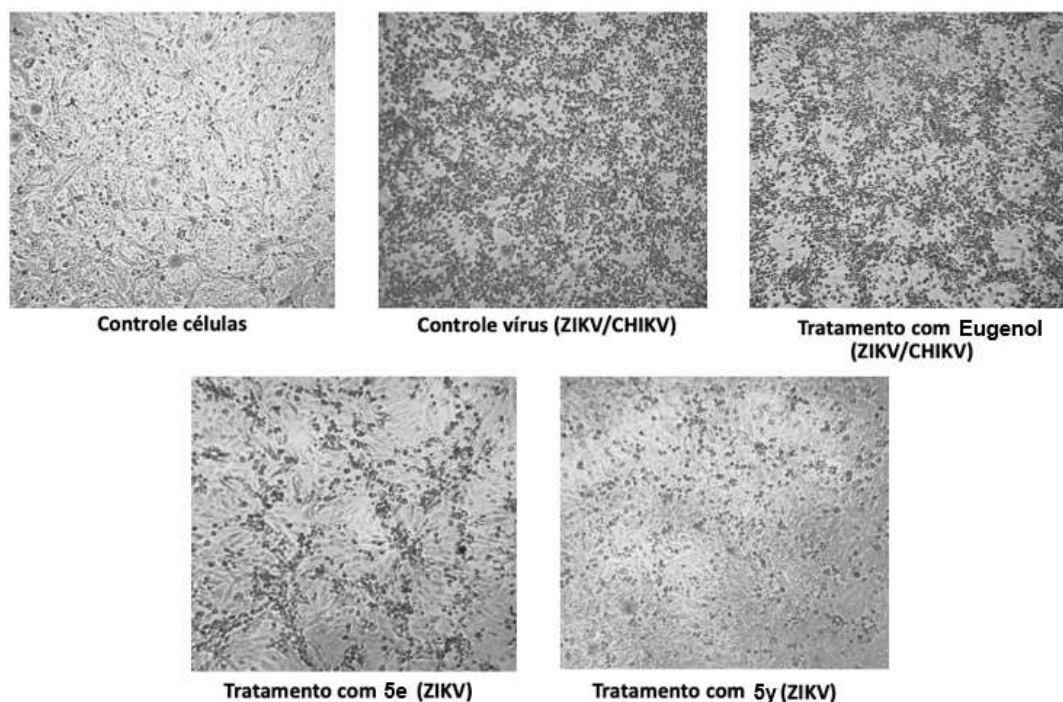


Figura 4.4 - Controle de células: células não infectadas e não tratadas. Controle de vírus: células infectadas com ZIKV ou CHIKV e não tratadas. ZIKV ou CHIKV - Tratamento com eugenol: células infectadas com ZIKV ou CHIKV e tratadas com o eugenol. ZIKV – tratamento com **5e**: células infectadas com ZIKV e tratadas com o composto **5e**. ZIKV – tratamento com **5y**: células infectadas com ZIKV e tratadas com o composto **5y**. Aumento: 200x.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor. As fotografias foram gentilmente fornecidas pelo Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos (LBTM) da Universidade Federal de Ouro Preto.

Com respeito ao CHIKV, apenas o composto **5a** foi capaz de aumentar a viabilidade das células infectadas após o tratamento. Os outros compostos testados resultaram em 30% de viabilidade celular na grande maioria dos ensaios, sendo sua ação muito baixa e não relevante. O composto **5a** (Figura 4.5, p. 175) apresentou atividade inibitória eficiente contra CHIKV, mas nenhuma concentração testada permitiu que a viabilidade celular chegasse a 100%. Conforme anteriormente descrito, este aspecto pode estar relacionado ao fato do valor da concentração

efetiva, CE_{50} de $135,69 \pm 15,67 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Tabela 4.3) estar próximo ao valor da concentração citotóxica, CC_{50} ($117,04 \pm 12,11 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Tabela 4.3 – Valores de CC_{50} (concentração citotóxica), CE_{50} (concentração efetiva) e IS (índice de seletividade) para o composto **5a** que apresentou atividade antiviral contra o CHIKV.

Composto	$CC_{50} (\mu\text{mol L}^{-1})$	$CE_{50} (\mu\text{mol L}^{-1})$	IS
5a	$117,04 \pm 12,11$	$135,69 \pm 15,67$	0,86

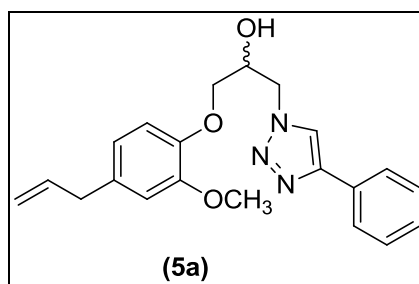


Figura 4.5 – Estrutura do composto triazólico **5a** derivado do eugenol com atividade antiviral em CHIKV.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Na Figura 4.6 (p. 176) são apresentas fotografias das condições de tratamento para demonstrar alguns resultados obtidos nos ensaios de avaliação de atividade do composto **5a** contra o CHIKV.

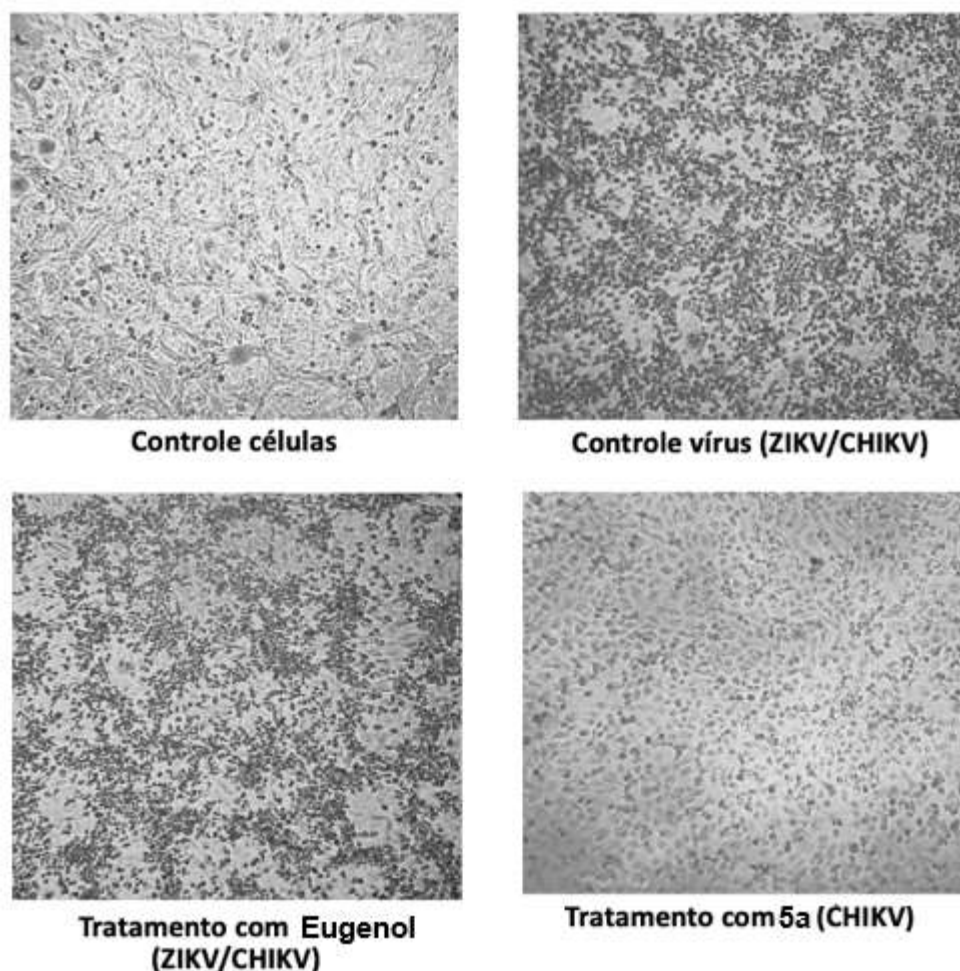


Figura 4.6 - Controle de células: células não infectadas e não tratadas. Controle de vírus: células infectadas com ZIKV ou e não tratadas. ZIKV ou CHIKV -Tratamento com Eugenol: células infectadas com ZIKV ou CHIKV e tratadas com o composto eugenol. CHIKV– tratamento com **5a**: células infectadas com CHIKV e tratadas com o composto **5a**. Aumento 200x.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor. As fotografias foram gentilmente fornecidas pelo Laboratório de Biologia e Tecnologia de Microrganismos (LBTM) da Universidade Federal de Ouro Preto.

4.4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMOROS. M.; SIMÕES. C.M.O.; GIRRE, L.; SAUVAGER, F.; CORMIER, M. Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture.

- Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products*, v.55, n.12, p.1732-1740, 1992.
- BERNAS, T.; DOBRUCKI, J. Mitochondrial and nonmitochondrial reduction of MTT:interaction of MTT with TMRE, JC-1, and NAO mitochondrial fluorescent probes. *Cytometry*, v.47, p. 236-242, 2002.
- BROGUEIRA, P.; MIRANDA, A. C. Vírus Zika: Emergência de um Velho Conhecido. *Medicina Interna*, v. 24, n.2, p.146-153, 2017.
- CHOWDHURY, A., MODAHL, C. M., TAN, S. T., XIANG, B. W. W., MISSE, D., VIAL, T., KINI, R. M., POMPON, J. F. JNK pathway restricts DENV2, ZIKV and CHIKV infection by activating complement and apoptosis in mosquito salivary glands. *Plos Pathogens*, v.16, n. 8, 2020.
- COEN, D.M.; RICHMAN, D.D. Antiviral agents. In: *Knipe D.M. & Howley P.M. (Eds)*, p.447-485. *Fields Virology*. 5th ed. *Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia*, 2007.
- COS, P.; VLIETINCK, A.J.; VANDEN BERGHE, D.; MAESA, L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology*, v.106, p.290-302, 2006.
- CONFEN. Conselho Federal de Enfermagem. Disponível em <http://www.cofen.gov.br/cofen-apoia-programa-de-capacitacao-em-arbovirozes-para-profissionais-de-saude_50432.html>, Acesso em: 24 jun. 2021.
- DIOSA-TORO, M.; PRASANTH, K. R.; BRADRIK, S. S.; GARCIA BLANCO, M. A. Role of RNA-binding proteins during the late stages of Flavivirus replication cycle. *Virology Journal*, v. 17, p.1-14. 2020.
- FERRAZ, A. C.; MORAES, T. F. S.; NIZERA, W. S. C.; SANTOS, M.; TÓTOLA, A. H.; FERREIRA, J. M. S.; VIEIRA-FILHO, S. A.; RODRIGUES, V. G.; DUARTED, L. P.;

MAGALHÃES, C. L. B.; MAGALHÃES, J. C. Virucidal activity of proanthocyanidin against Mayaro vírus. *Antiviral Research*, n. 168, p. 76–81, 2019.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Bio-Manguinhos. Ministério da Saúde. Disponível em <<https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/chikungunya-sintomas-transmissao-e-prevencao>>. Acesso em: 25 jun. 2021.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Bio-Manguinhos. Ministério da Saúde. 2020. Disponível em <<https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/zika-sintomas-transmissao-e-prevencao>>. Acesso em: 25 jun. 2021.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz. Ministério da Saúde. 2020. Disponível em <<https://portal.fiocruz.br/noticia/estudo-identifica-circulacao-de-nova-linhagem-da-zika-no-brasil>> Acesso em: 25 jun. 2021.

HASSAN, A. O., DMITRIEV, I. P., KASHENTSEVA, E. A., ZHAO, H., BROUGH, D. E., FREMONT, D.H., CURIEL, D. T., DIAMOND, M. S. A Gorilla Adenovirus-Based Vaccine against Zika Virus Induces Durable Immunity and Confers Protection in Pregnancy. *Cell Reports*, v. 28, p. 2634–2646, 2019.

HEANG, V.; YASUDA, C. Y.; SOVANN, L.; HADDOW, A. D.; da ROSA, A. P. T.; TESH, R.B.; KASPER, M. R. Zika virus infection, Cambodia, 2010. *Emerging infectious diseases*, v. 18, n.2, p.349. 2012.

HITAKARUN, A., KHONGWICHIT, S., WIKAN, N., ROYTRAKUL, S., YOKSAN, S., RAJAKAM, S., DAVIDSON, A. D., SMITH, D. R. Evaluation of the antiviral activity of orlistat (tetrahydrolipstatin) against dengue virus, Japanese encephalitis virus, Zika virus and chikungunya vírus. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1499, 2020.

- HONÓRIO, N. A.; CÂMARA, D. C. P.; CALVET, G. A.; BRASIL, P. Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil. *Perspectivas Caderno de Saúde Pública*, v. 31, n.5, p. 906-908, 2015.
- ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses). 2019. Disponível em <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomyhistory?taxnode_id=202003068> Acesso em: 27 jun. 2021.
- LIU, S. Q., LI, X., DENG, C. L., YUAN, Z. M., ZHANG, B. Development and evaluation of one-step multiplex real-time RT-PCR assay for simultaneous detection of Zika virus and Chikungunya vírus. *Journal of Medical Virology*, v. 90, p.389–396, 2017.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Chikungunya: Manejo Clínico, *Produção e diagramação Núcleo de Comunicação/SVS*, 2ª ed., 2017.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, p. 55-63, 1983.
- PASQUEREAU, S., NEHME, Z., AHMAD, S. H., DAOUAD, F., ASSCHE, J. V., WALLET, C., SCHWARTZ, C., ROHR, O., BIZOT, S. M., HERBEIN, G. Resveratrol Inhibits HCoV-229E and SARS-CoV-2 Coronavirus Replication In Vitro. *Viruses*, v. 13, n. 2, p.354, 2021.
- SIMÓN, D.; FAJARDO, A.; MORENO, P.; MORATORIO, G.; CRISTINA, J. An evolutionary insight into zika virus strains isolated in the Latin American region. *Viruses*, v. 10, n.12, p. 698, 2018.
- SOUZA, G. A. P., ROCHA, R. P., GONÇALVES, R. L., FERREIRA, C. S., SILVA, B. M., CASTRO, R. F. G., RODRIGUES, J. F. V., JÚNIOR, J. C. V. V., MALAQUIAS, L. C. C., ABRAHÃO, J. S., COELHO, L. F. L. Nanoparticles as vaccines to prevent arbovirus infection: a long road ahead. *Pathogens*, v.10, n.1, p. 36, 2021.

TSUCHIYA, Y.; SHIMIZU, M.; HIYAMA, Y.; ITOH, K.; HASHIMOTO, Y.; NAKAYAMA, M.; HORIE, T.; MORITA, N. Antiviral activity of natural occurring flavonoids in vitro. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, v.33, n.9, p.3381-3386, 1985.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Neste trabalho foram descritas as sínteses de uma série de compostos, dentre eles, um epóxido, uma azida orgânica, dois alquinos e vinte e seis derivados triazólicos do eugenol. Salienta-se que os vinte e seis derivados triazólicos do eugenol, a azida e o epóxido são substâncias inéditas. No preparo dos compostos foram empregadas reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), reação de azidólise, reações de alquilação via catálise de transferência de fases e como etapa chave a reação “click” entre alquinos terminais e uma azida orgânica. De modo geral, as substâncias preparadas tiveram rendimentos satisfatórios. Todas as substâncias sintetizadas foram caracterizadas por meio das espectroscopias no IV e RMN de 1H e ^{13}C .

A avaliação da atividade fungicida mostrou que o efeito de inibição do crescimento micelial pelas substâncias avaliadas **5a-5z**, na concentração de 1 mg mL⁻¹ foi pouco pronunciado quando comparado com o controle positivo tebuconazol. O aumento da concentração para 10 mg mL⁻¹ resultou em efeitos mais pronunciados (maiores halos de inibição (mm)) de colônias de *Colletotrichum* sp para alguns tratamentos, com destaque para o tratamento realizado com **5x** e **5e**. A avaliação da atividade antiviral contra os vírus Zika e Chikungunya mostrou que apenas um dos derivados foi ativo contra os vírus Chikungunya com uma concentração efetiva (CE₅₀) de $135,69 \pm 15,67 \mu\text{mol L}^{-1}$, porém com índice de seletividade (IS) abaixo de 1. No entanto, sete dos compostos sintetizados, a saber, **5a**, **5b**, **5e**, **5f**, **5v**, **5x** e **5y**, apresentaram atividade contra o vírus Zika (ZIKV), sendo que **5x** e **5y** apresentaram valores de IS superiores a 4. Os resultados obtidos com os compostos **5x** e **5y** são importantes uma vez que demonstraram significativo efeito antiviral das substâncias.

Como perspectivas, destaca-se que os compostos sintetizados podem ser testados contra outras espécies de vírus e que estudos mais aprofundados sejam realizados com **5x** e **5y** sobre sua atividade antiviral contra o vírus Zika (ZIKV). Com relação ao teste fungicida, ensaios *in vivo* do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* serão realizados posteriormente para avaliar se os compostos mais ativos são capazes de diminuir ou até mesmo impedir a ocorrência de antracnose no mamão. Vislumbra-se que subseqüentes modificações estruturais com respeito aos derivados do eugenol, como por exemplo, a utilização de outros grupos aromáticos ligados à porção triazólica, podem resultar em compostos com melhoria da atividade antiviral e antifúngica. Planeja-se ainda a divulgação dos resultados obtidos neste trabalho por meio de artigos científicos e apresentação de trabalhos em congressos

APÊNDICE A

ESPECTROS

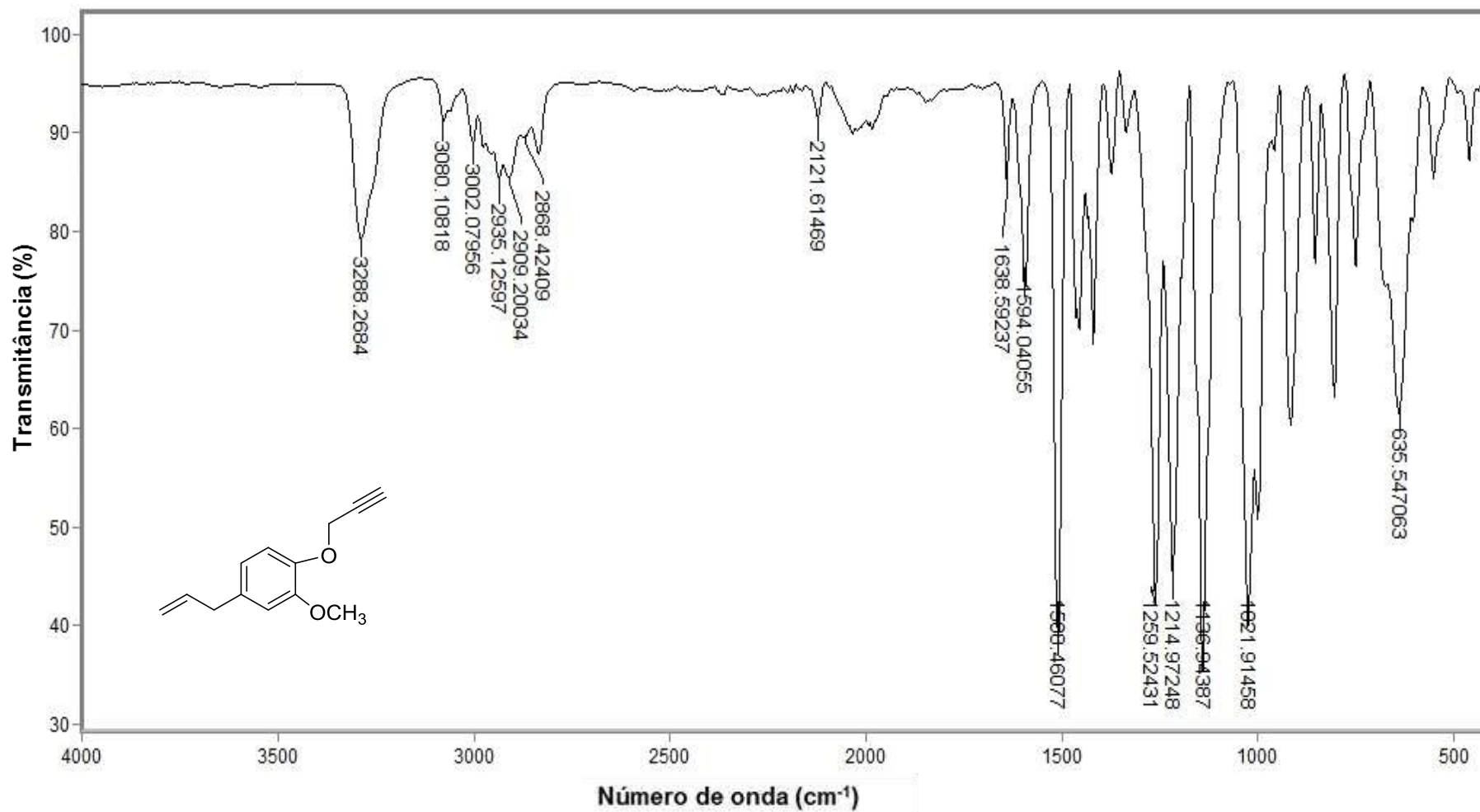


Figura 1 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **4z**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

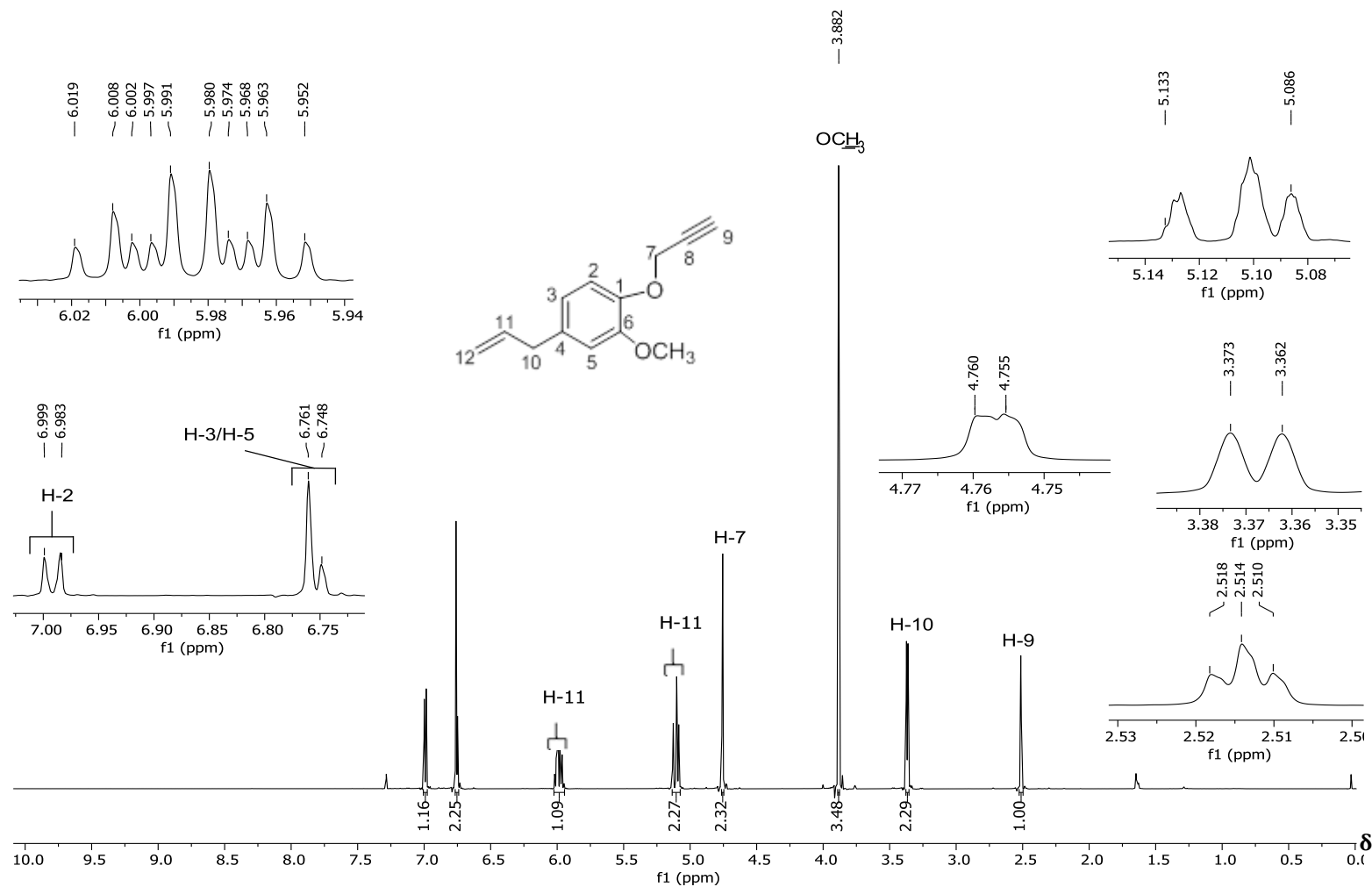


Figura 2 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **4z**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

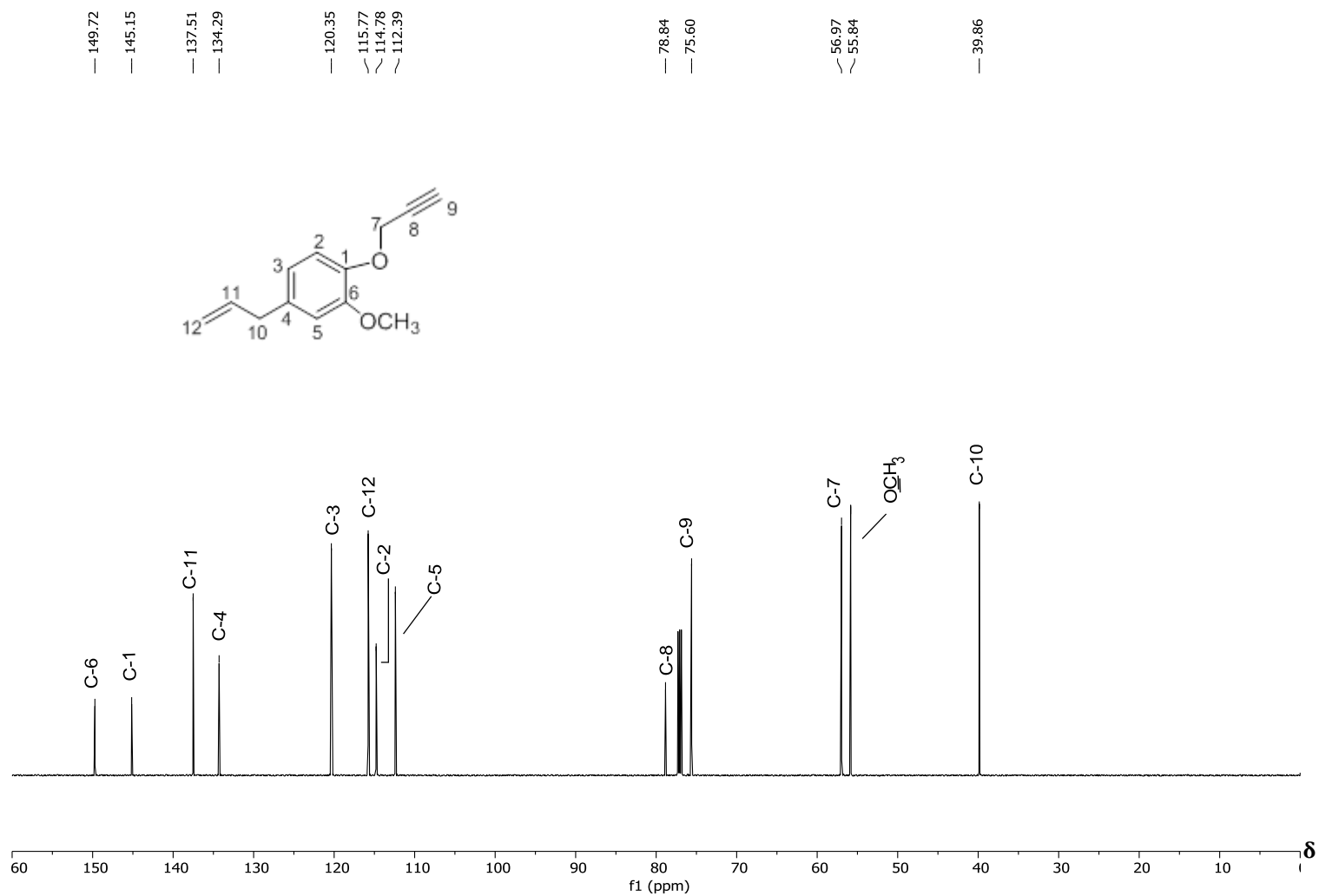


Figura 3 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **4z**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

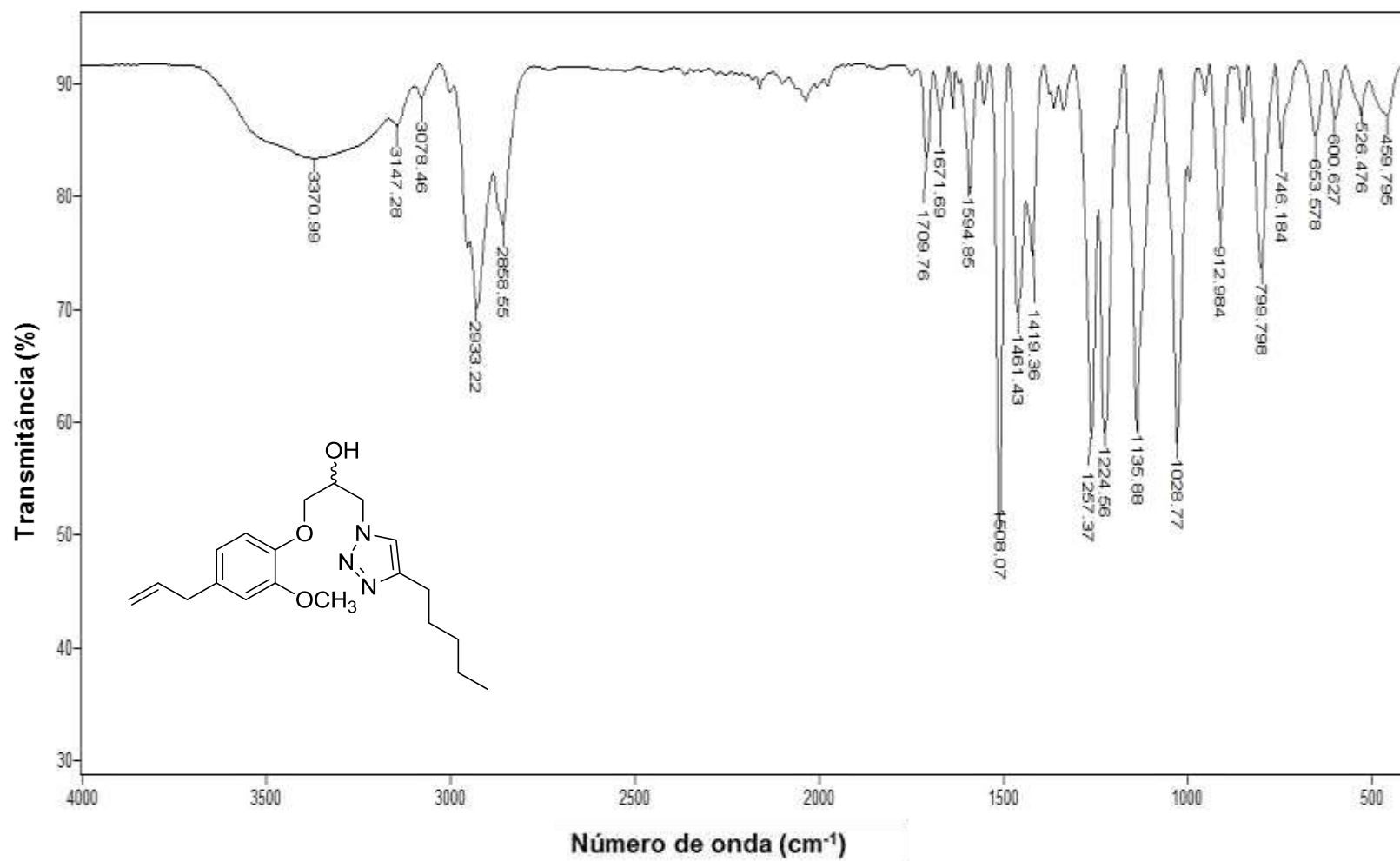


Figura 4 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5e**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

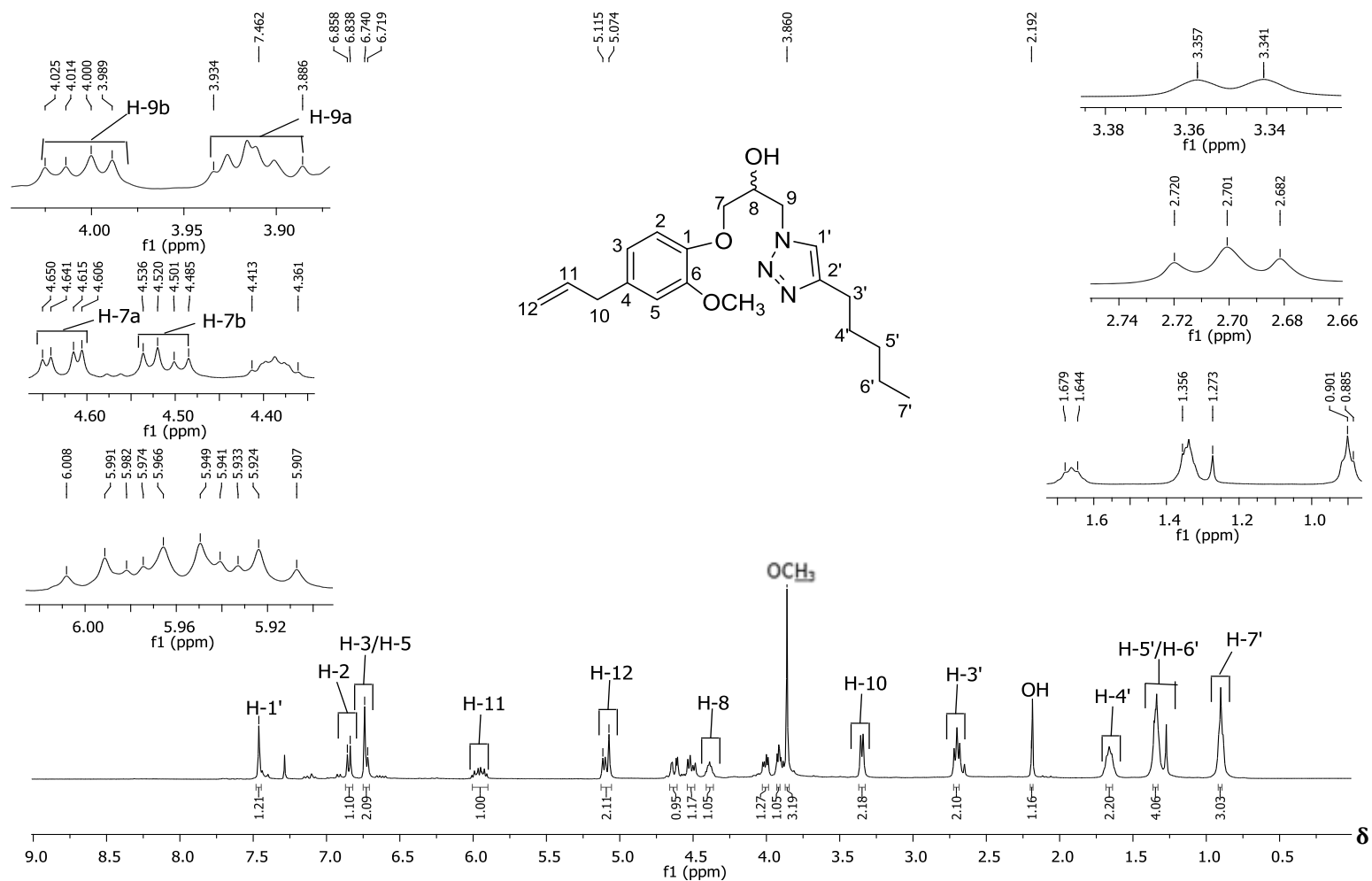


Figura 5 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **5e**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

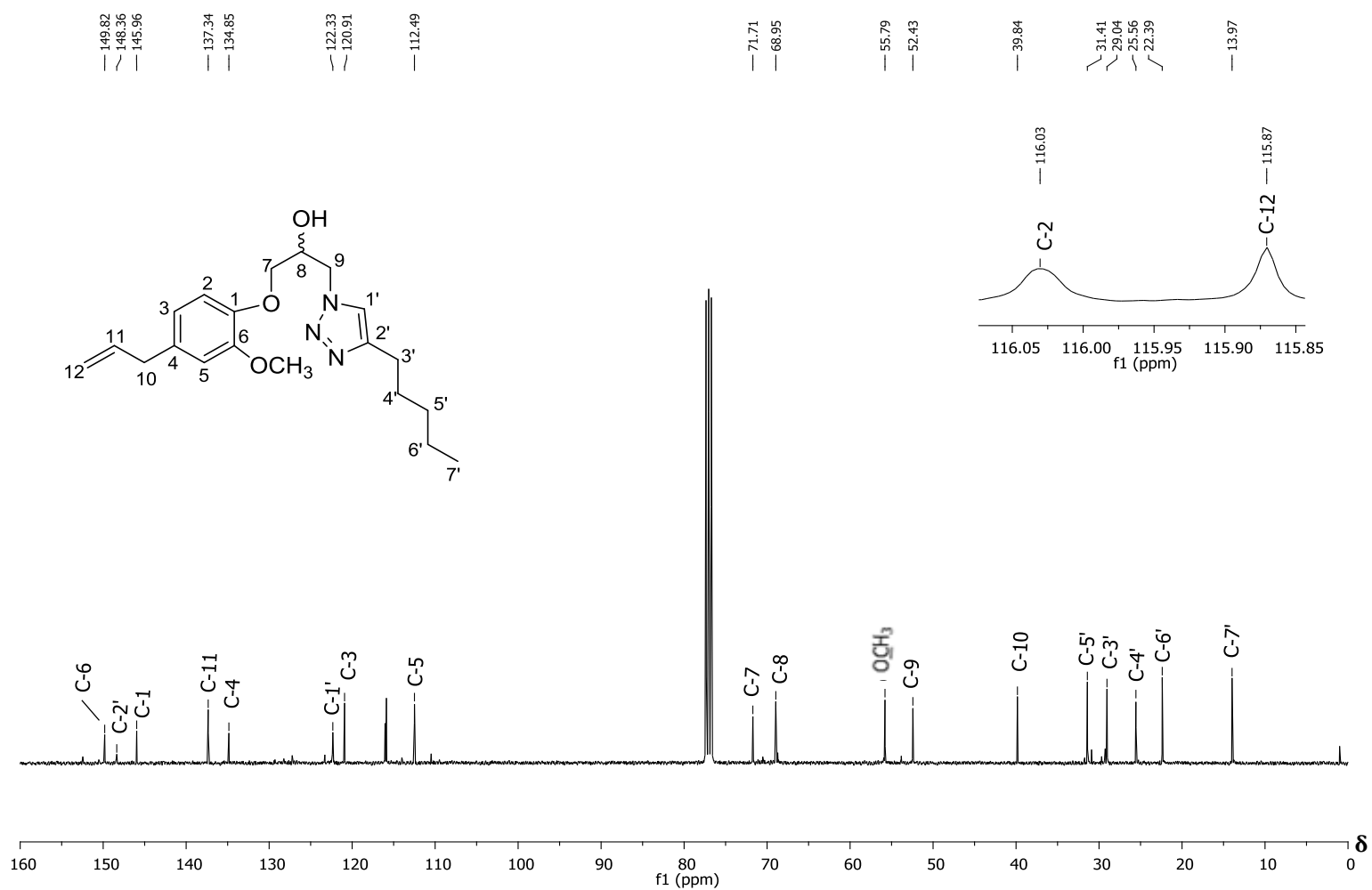


Figura 6 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **5e**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

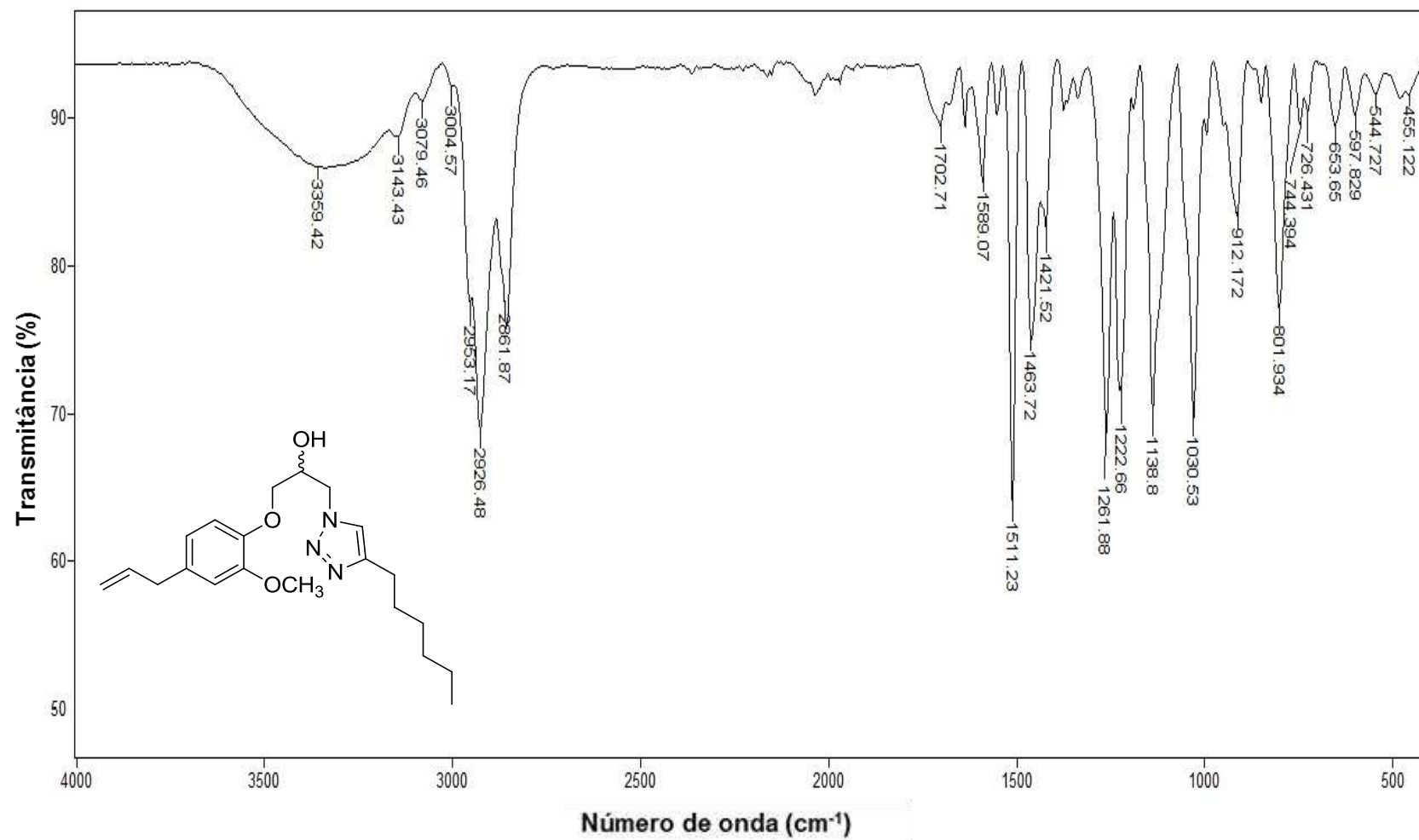


Figura 7 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5f**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

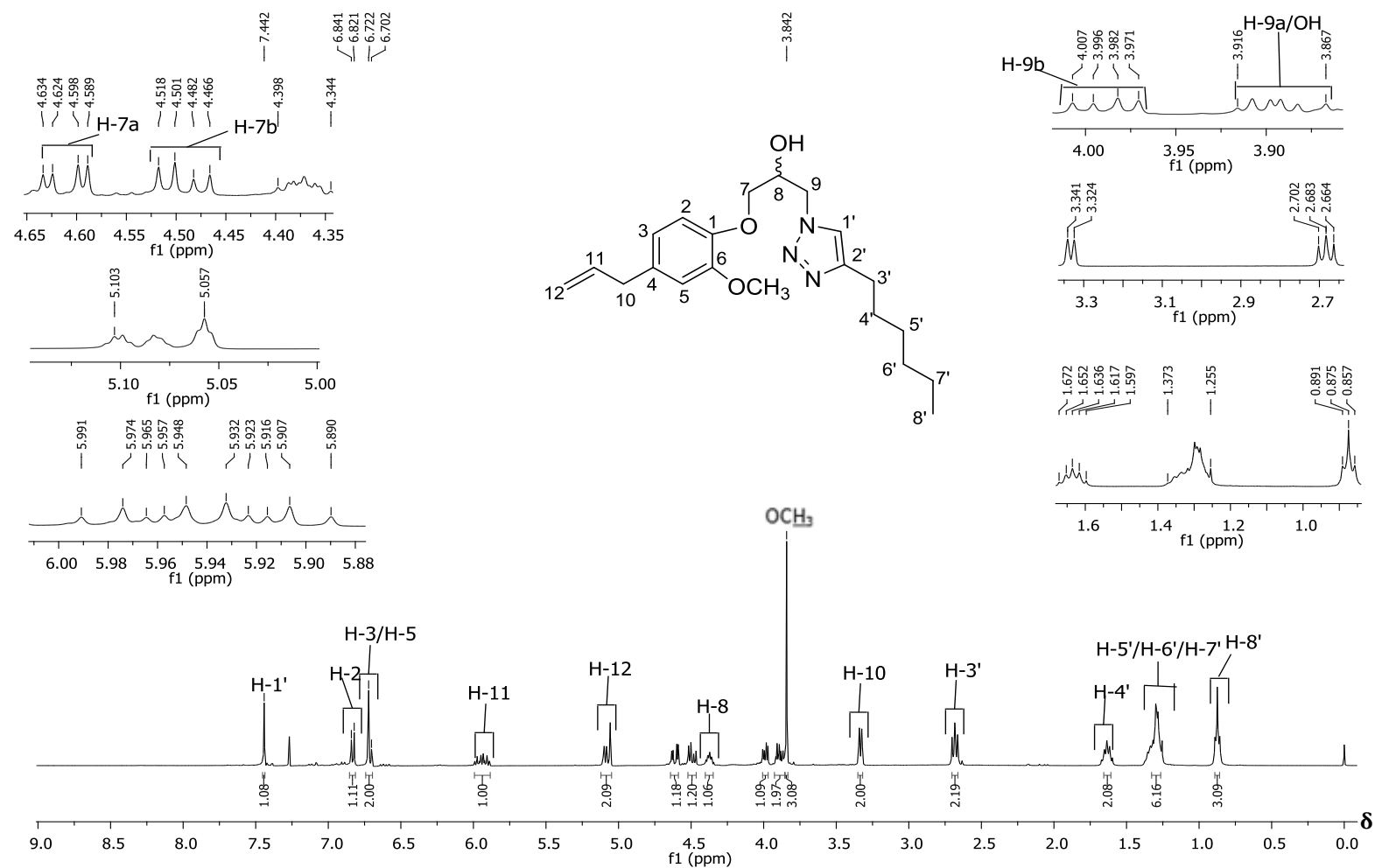


Figura 8 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **5f**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

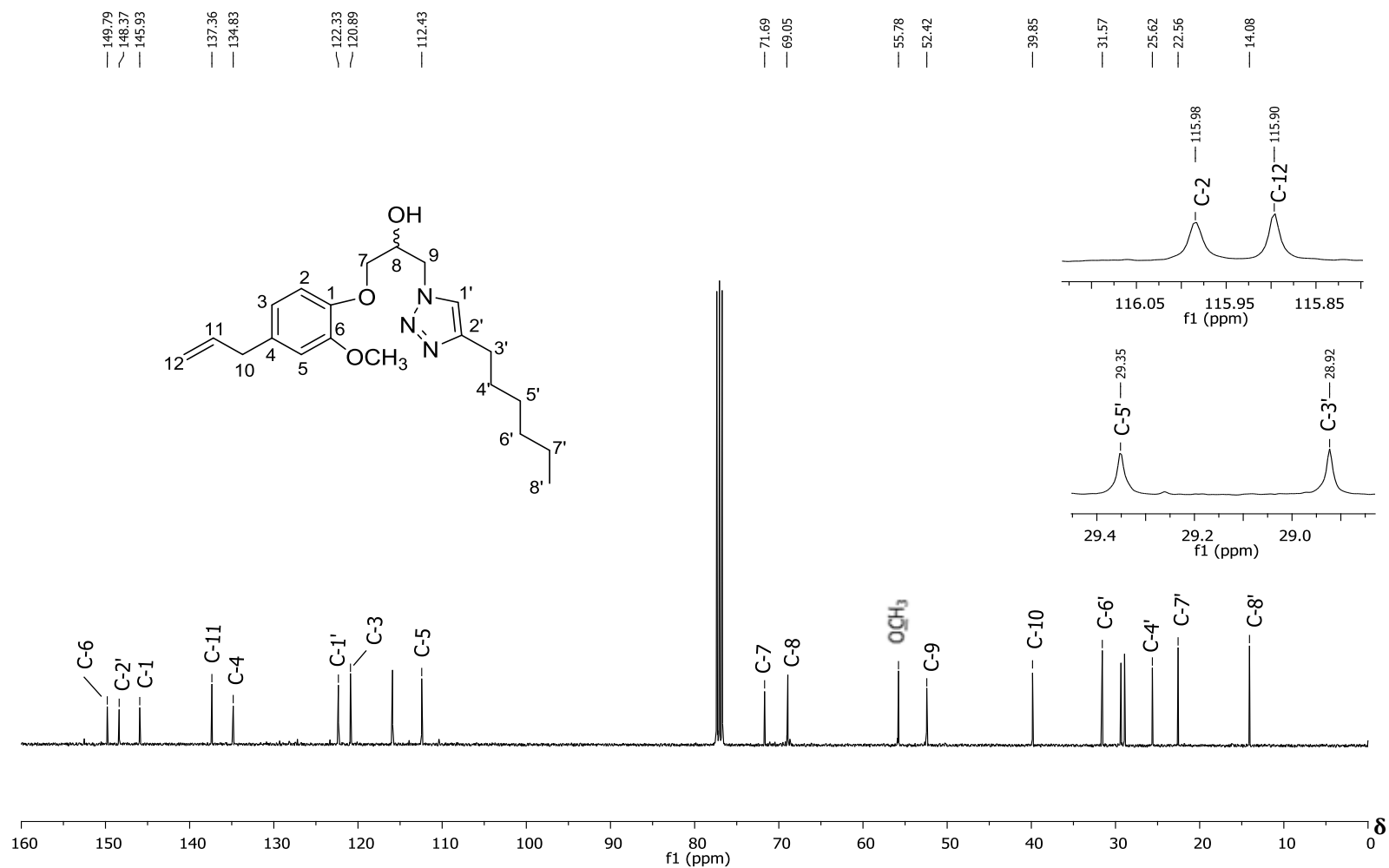


Figura 9 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **5f**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

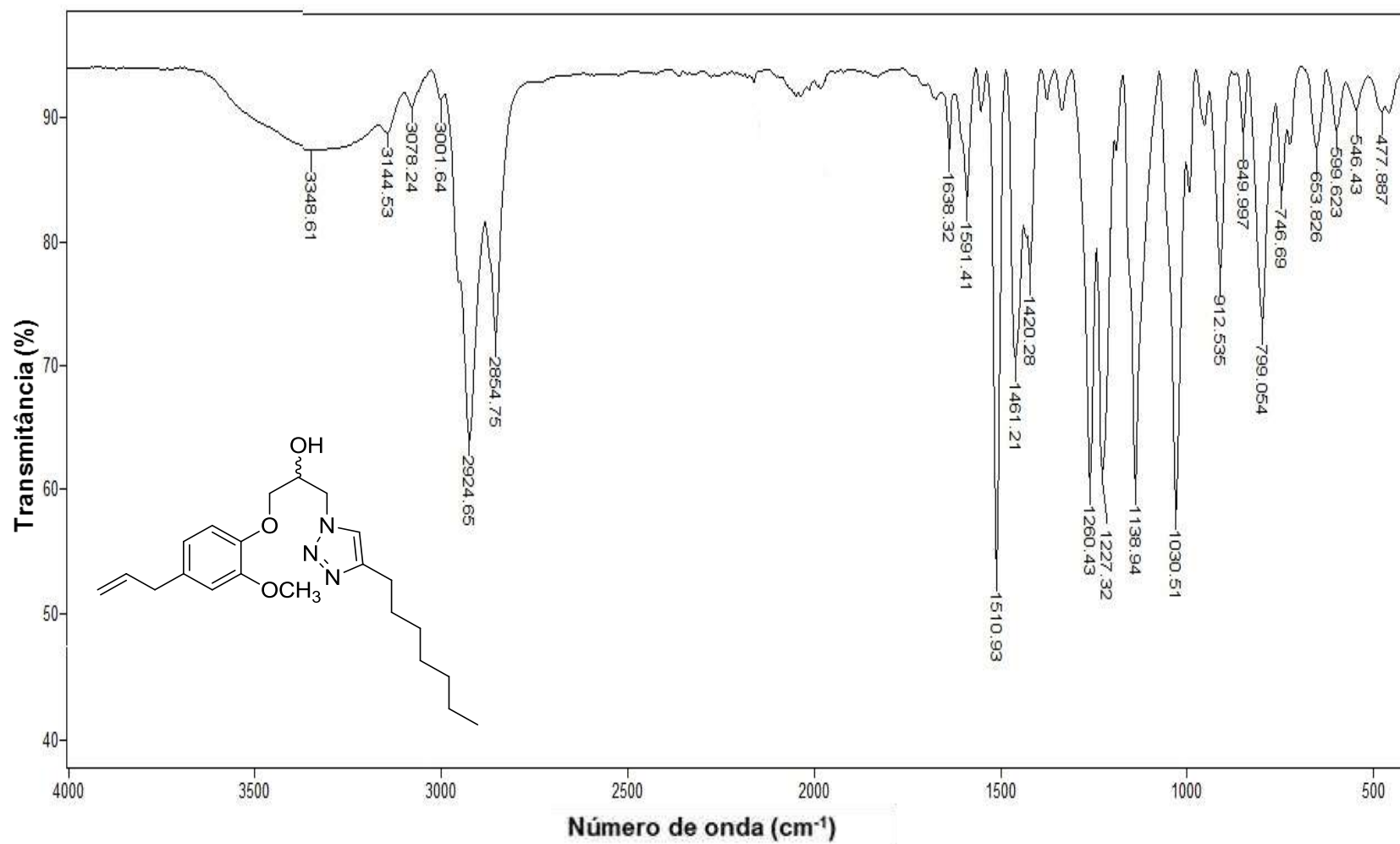


Figura 10 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5g**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

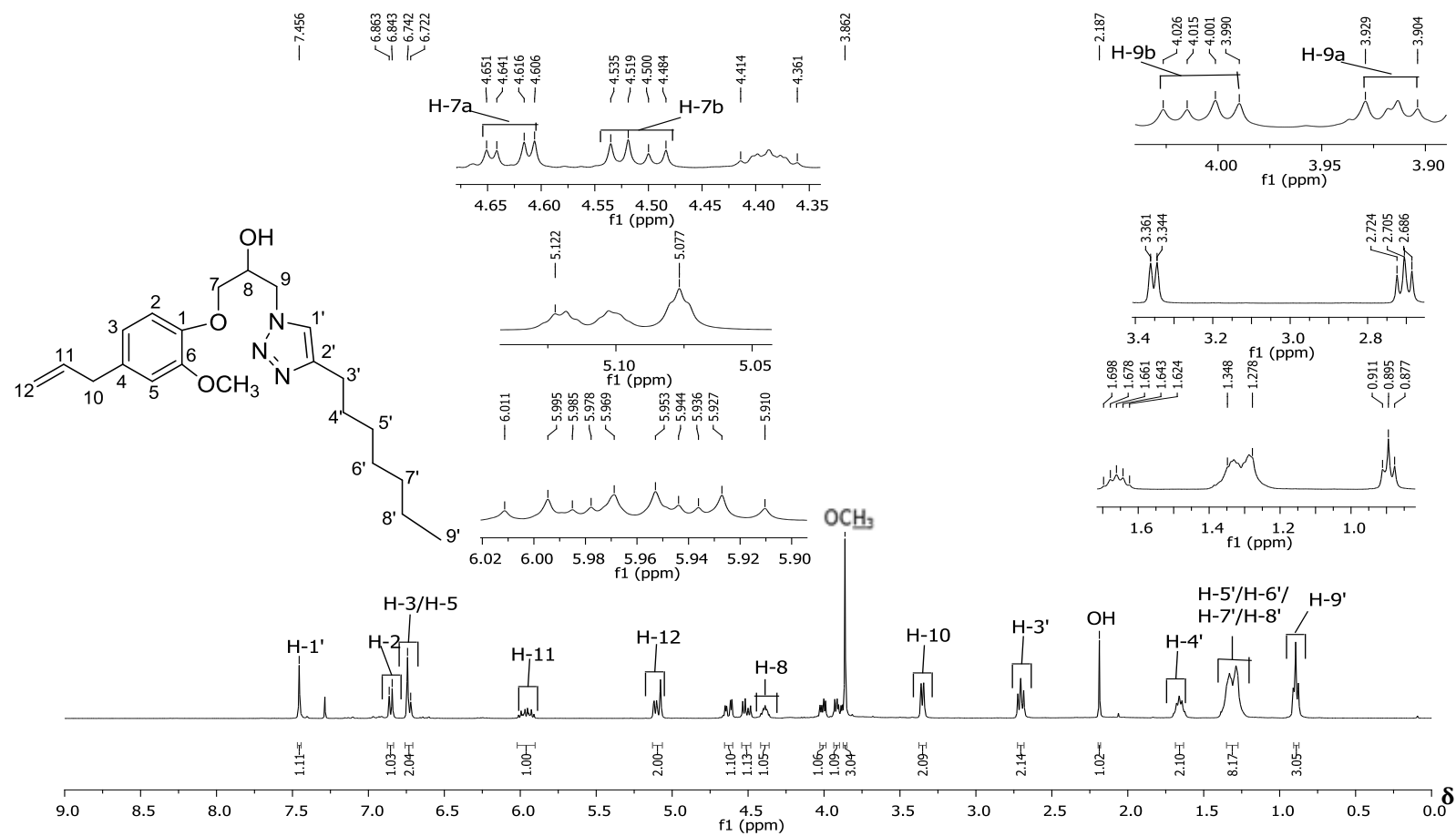


Figura 11 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **5g**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

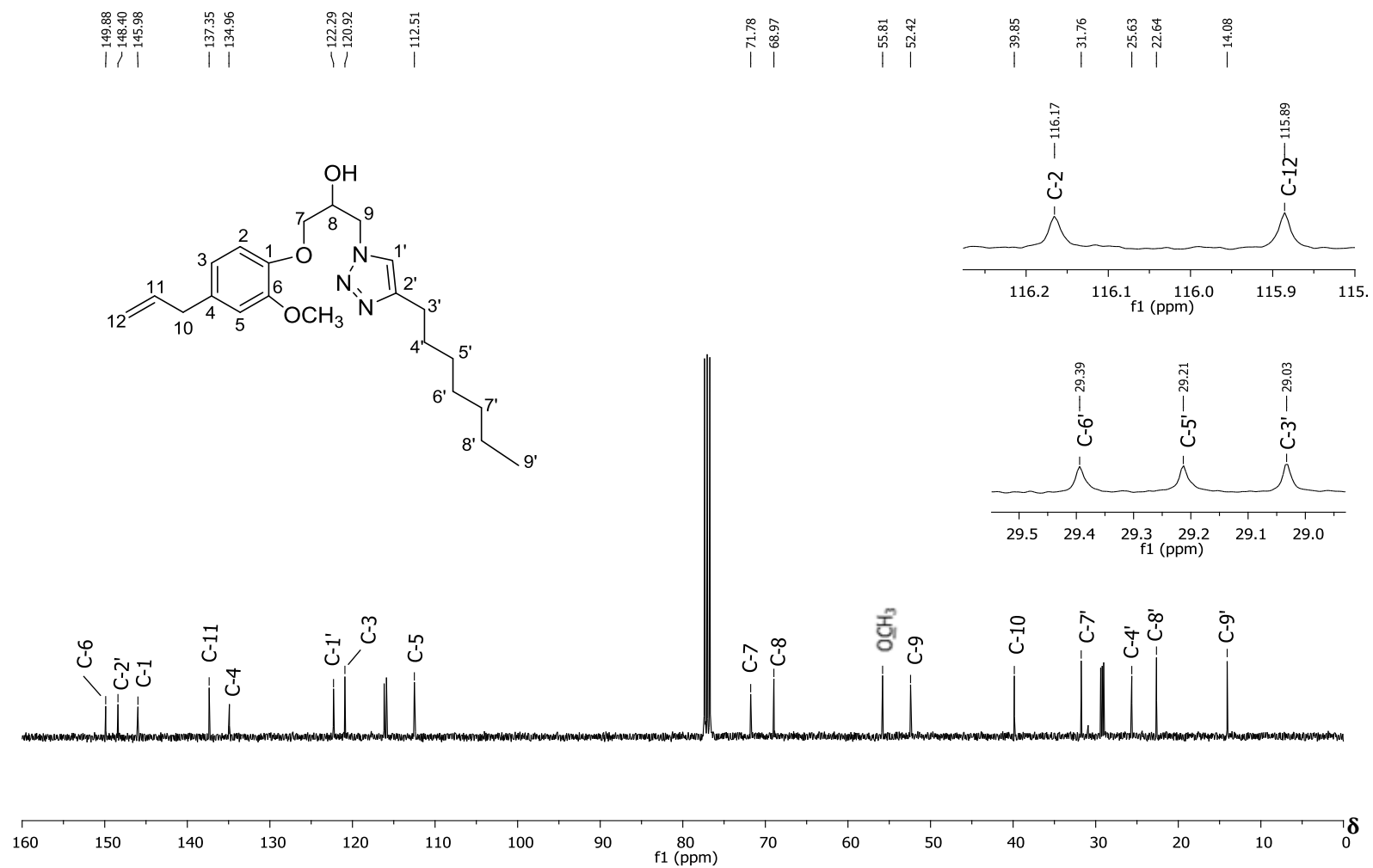


Figura 12 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **5g**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

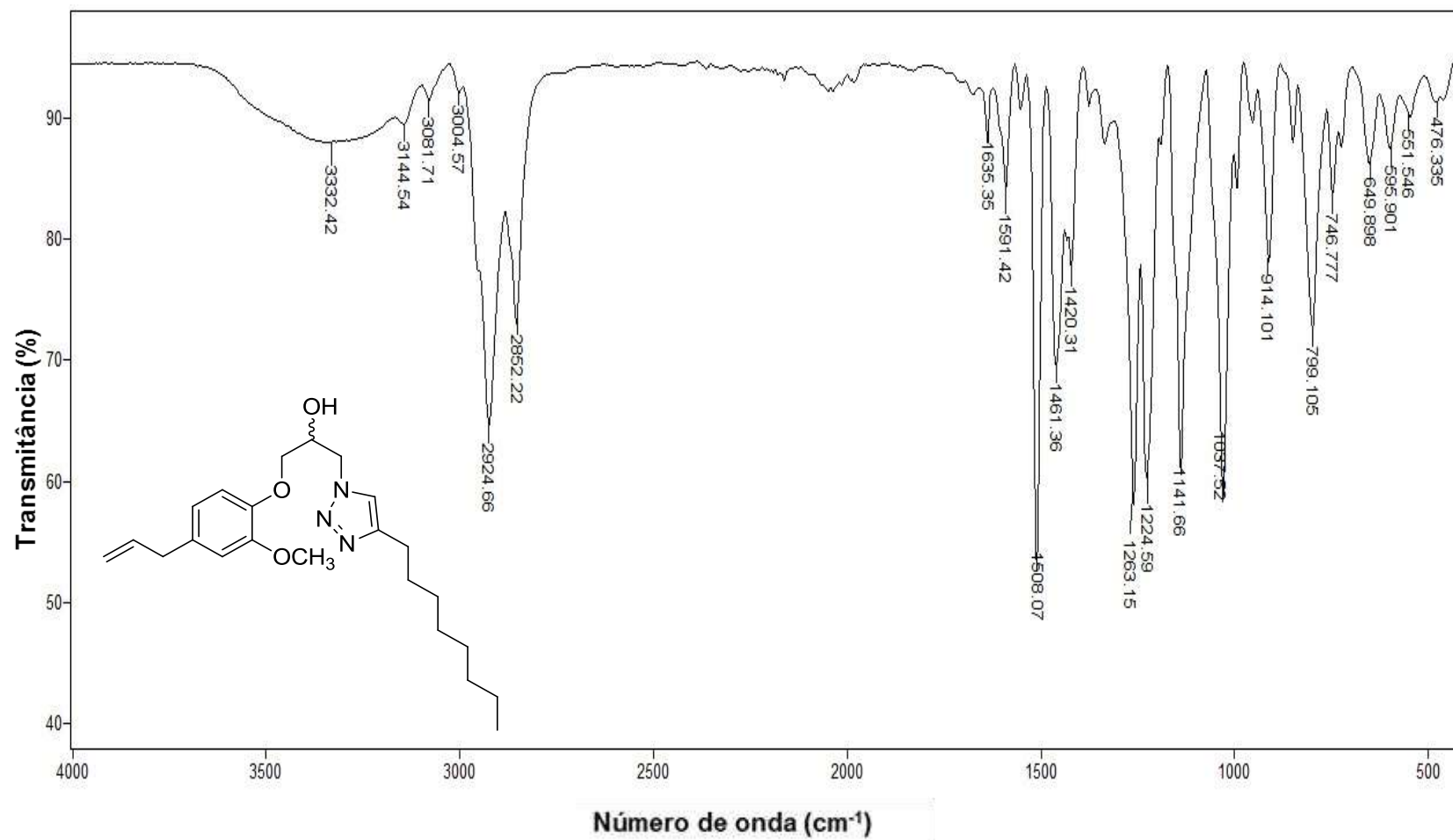


Figura 13 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5h**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

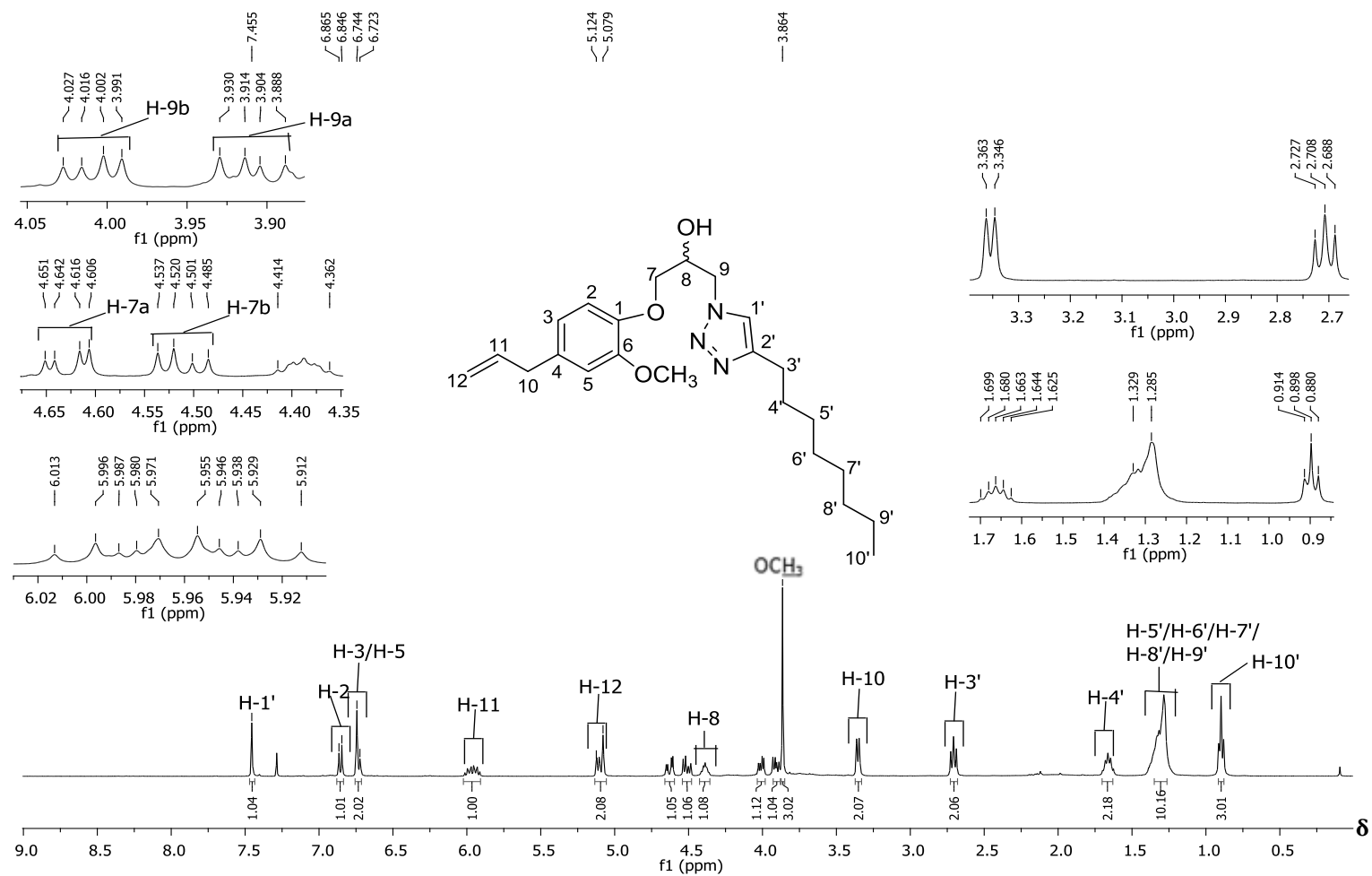


Figura 14 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **5h**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

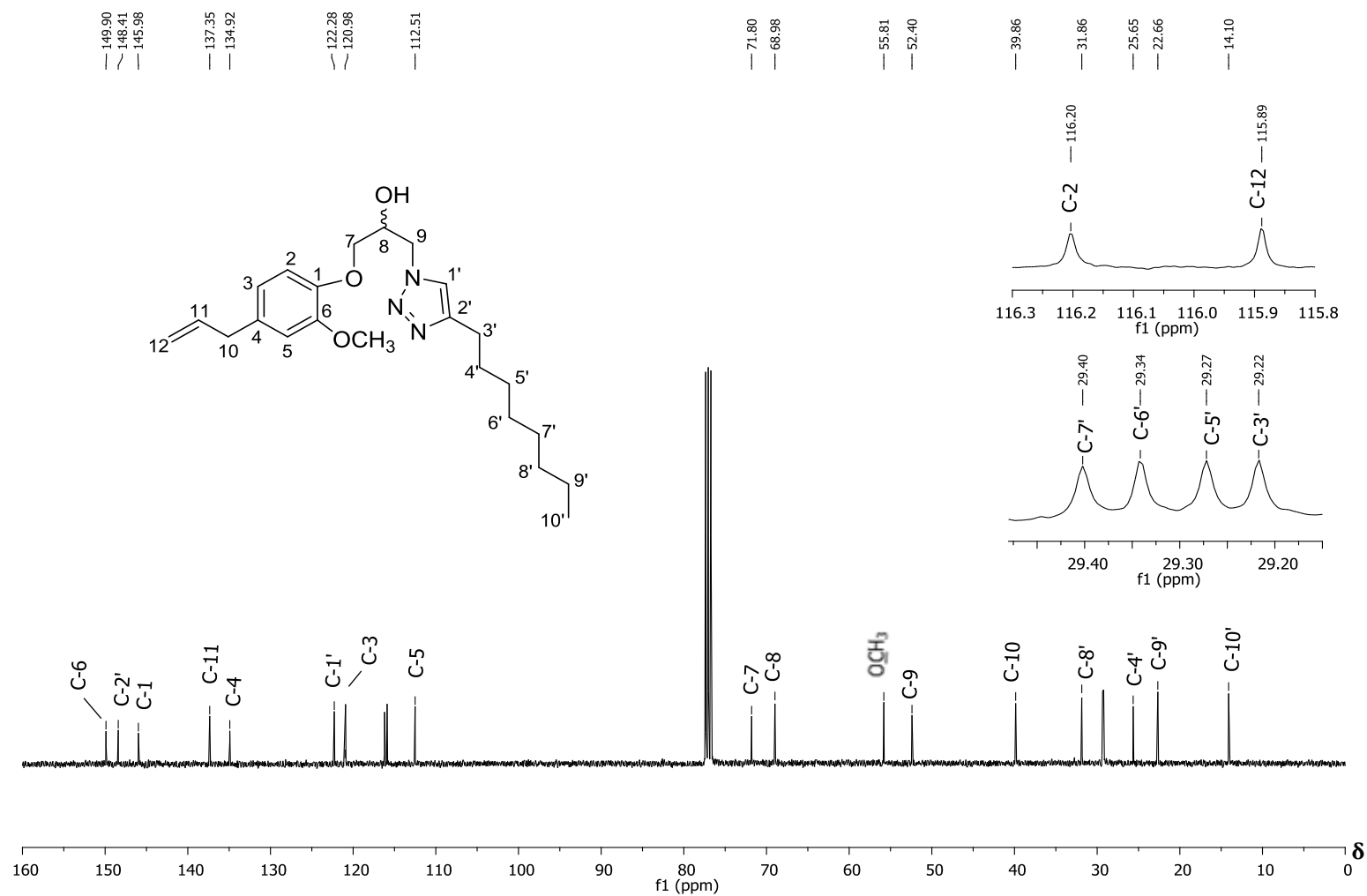


Figura 15 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **5h**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

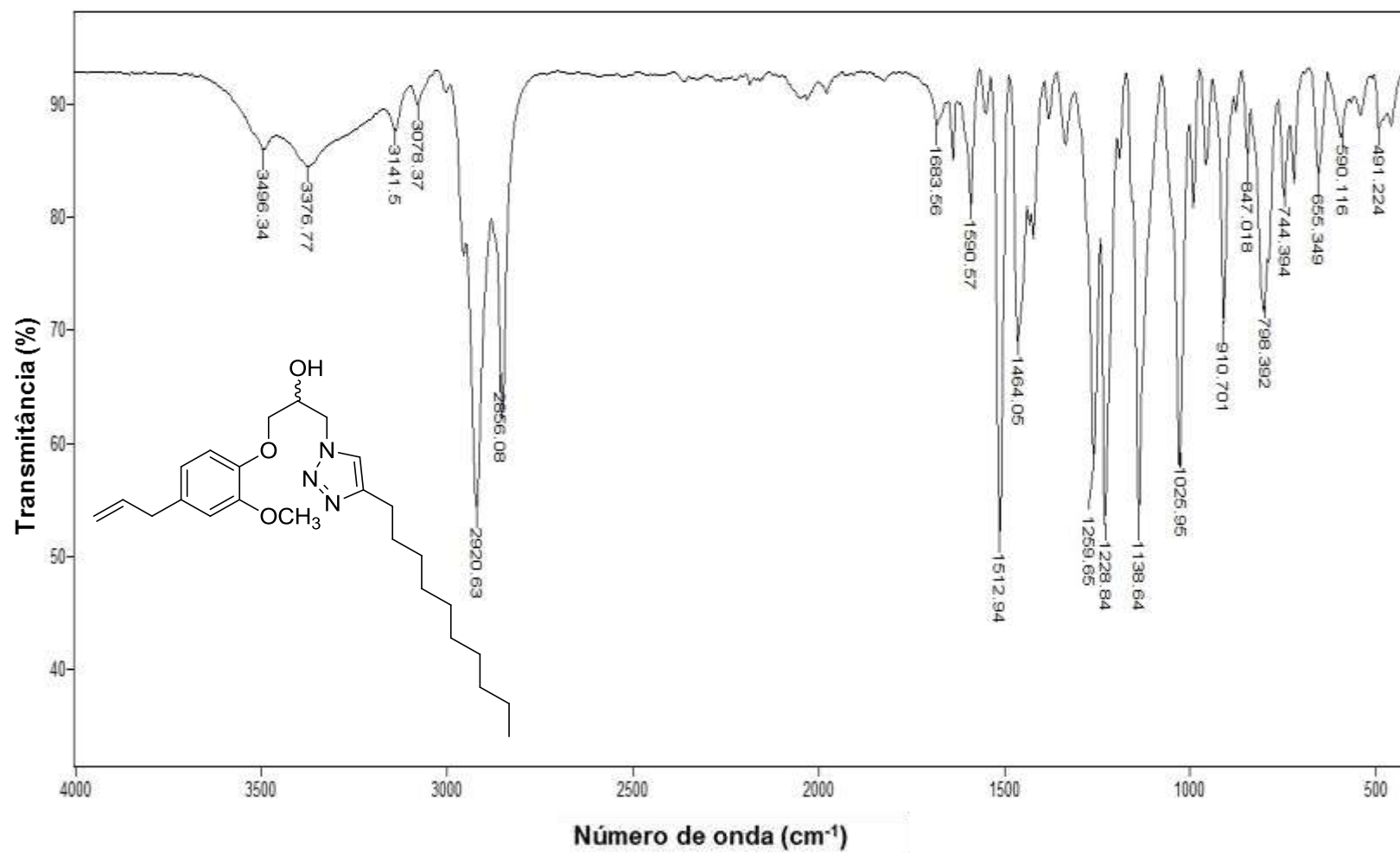


Figura 16 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5i**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

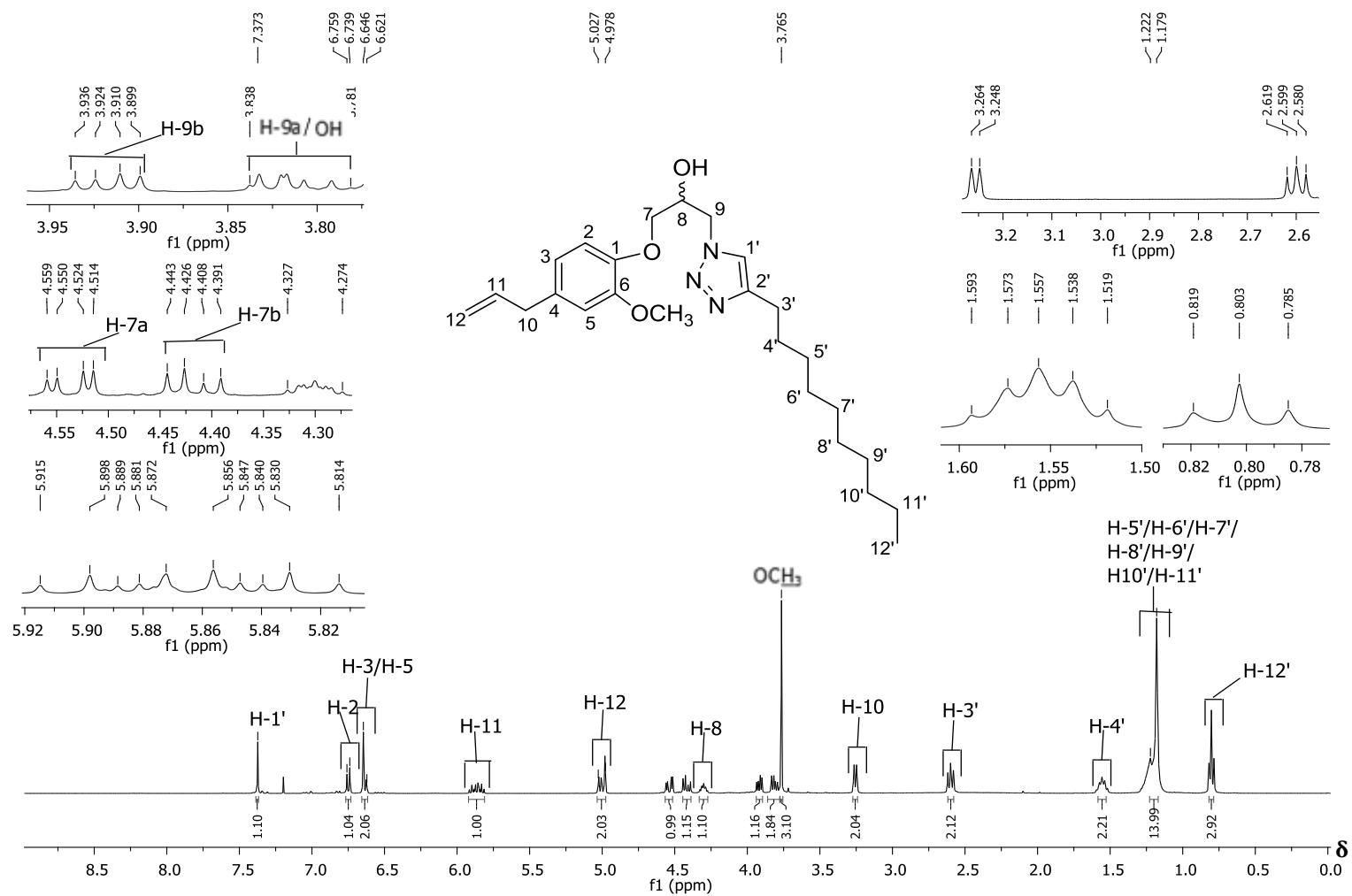


Figura 17 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **5i**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

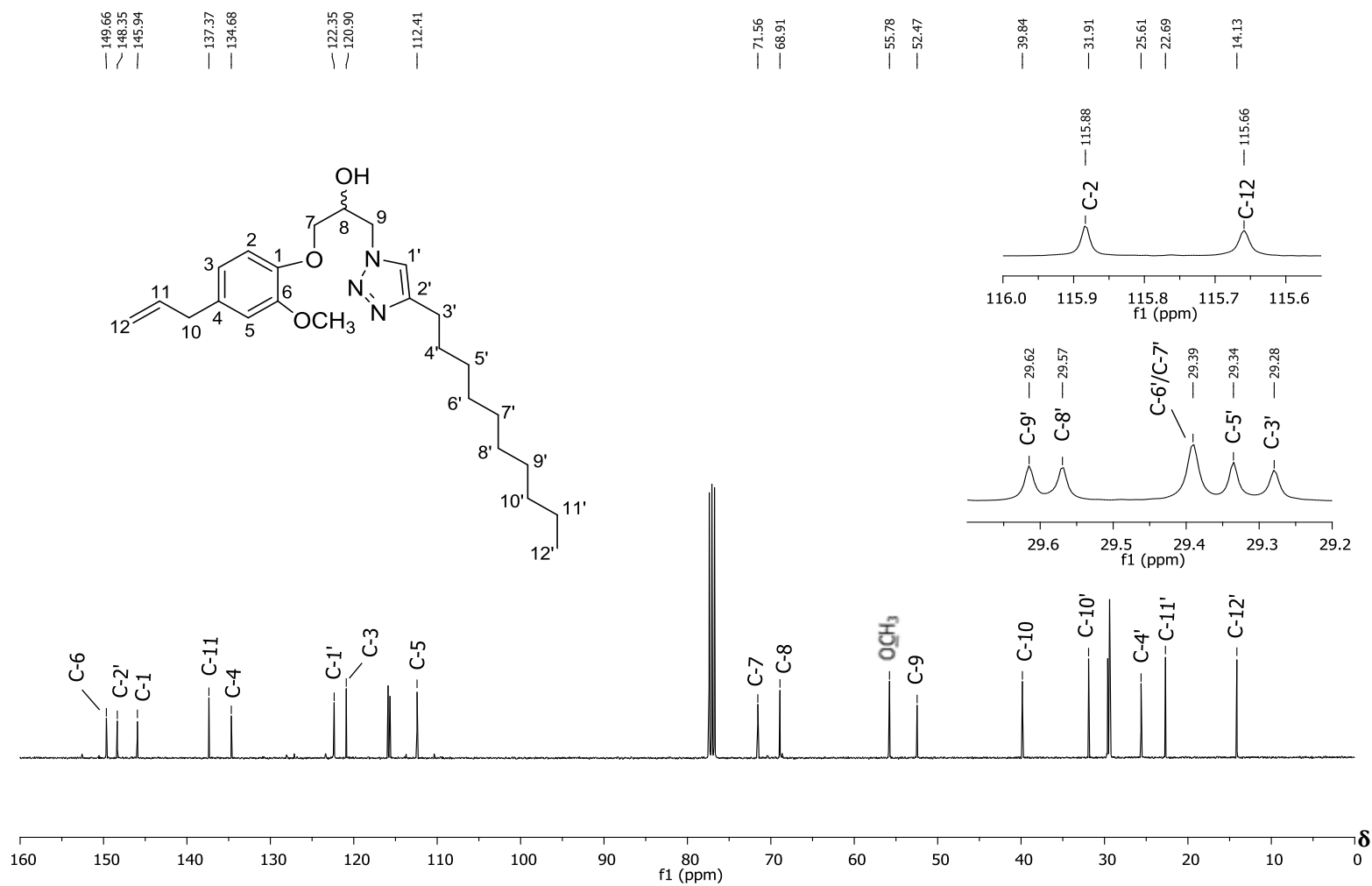


Figura 18 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) do composto **5i**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

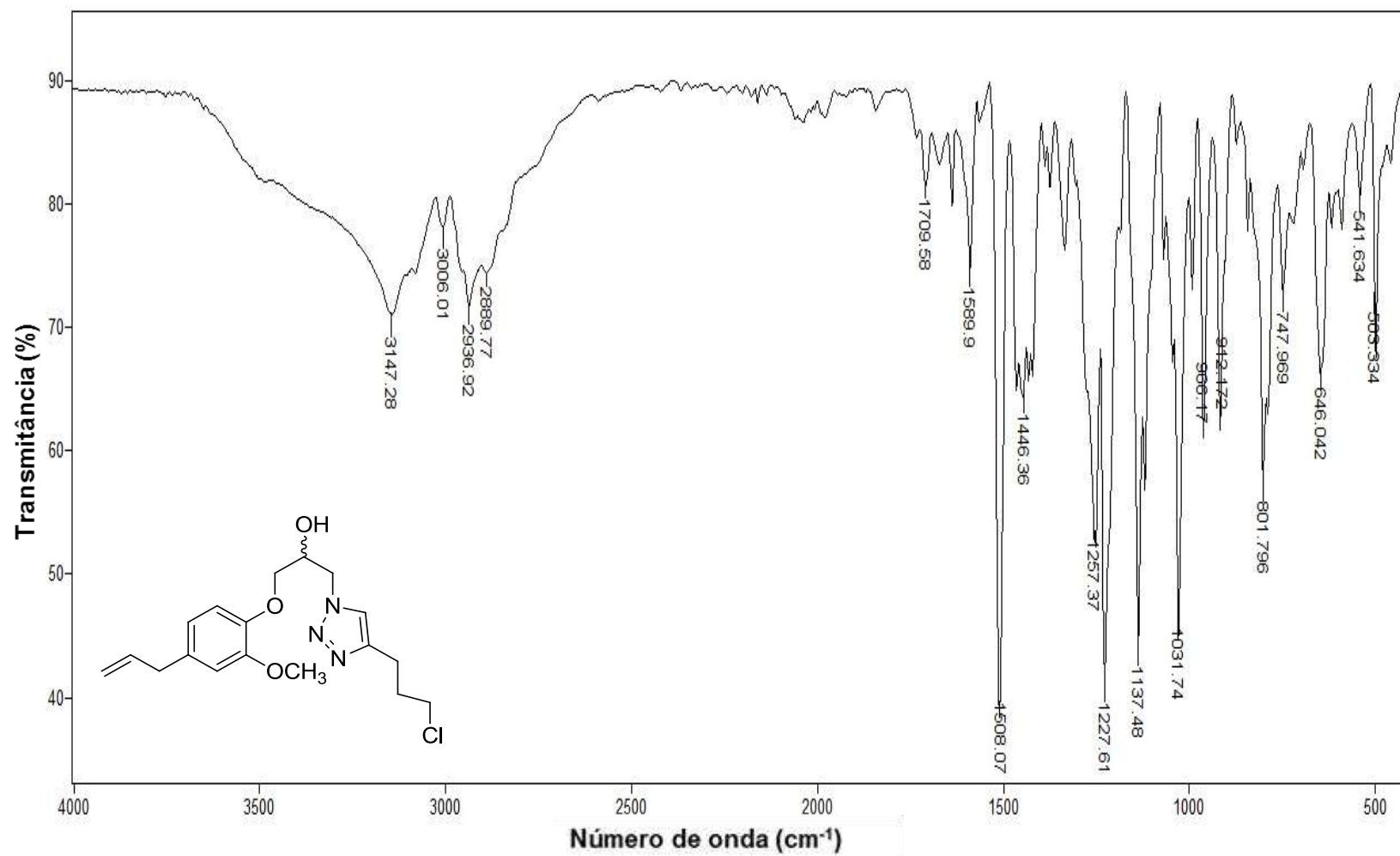


Figura 19 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5j**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

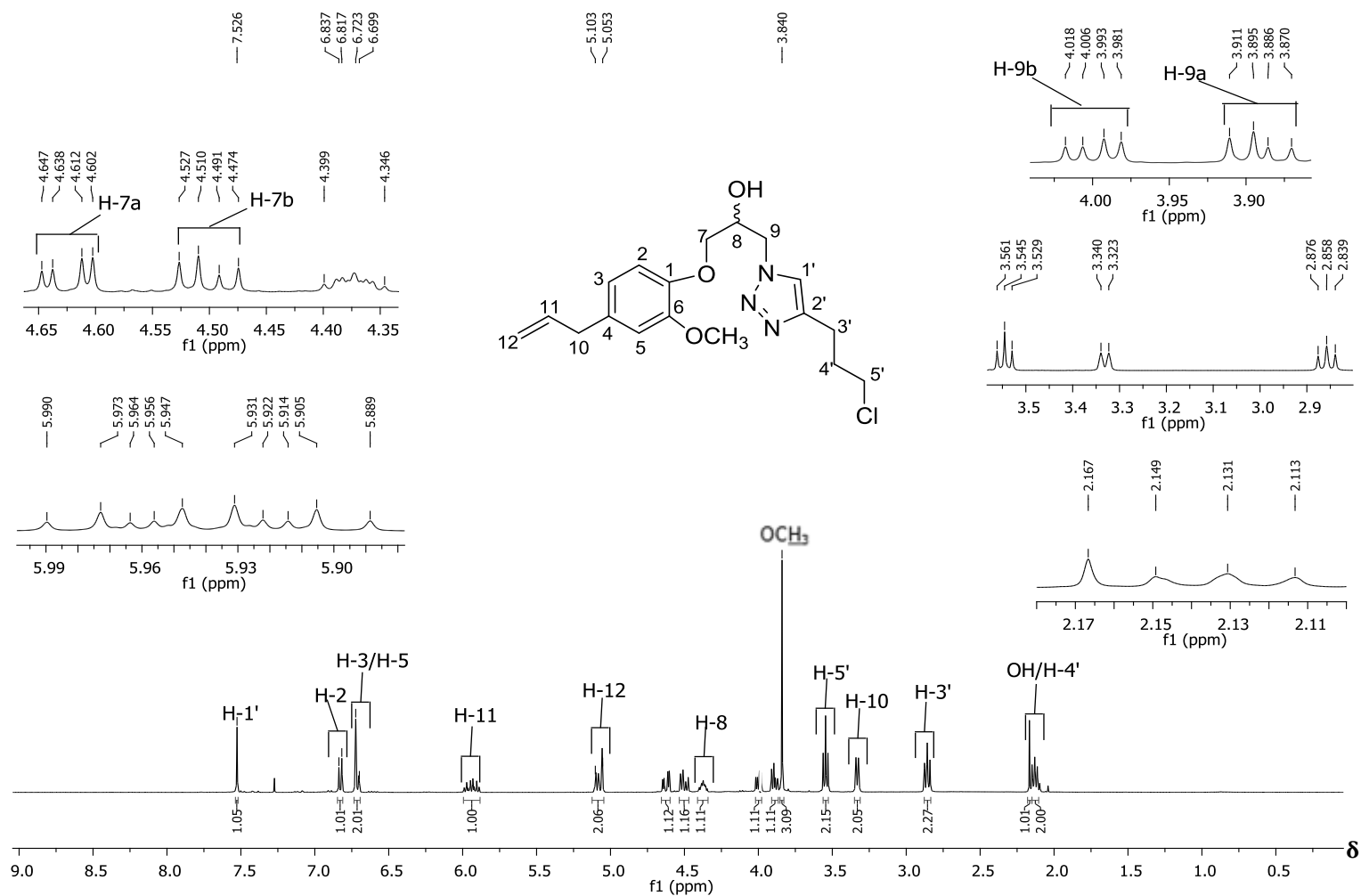


Figura 20 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **5j**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

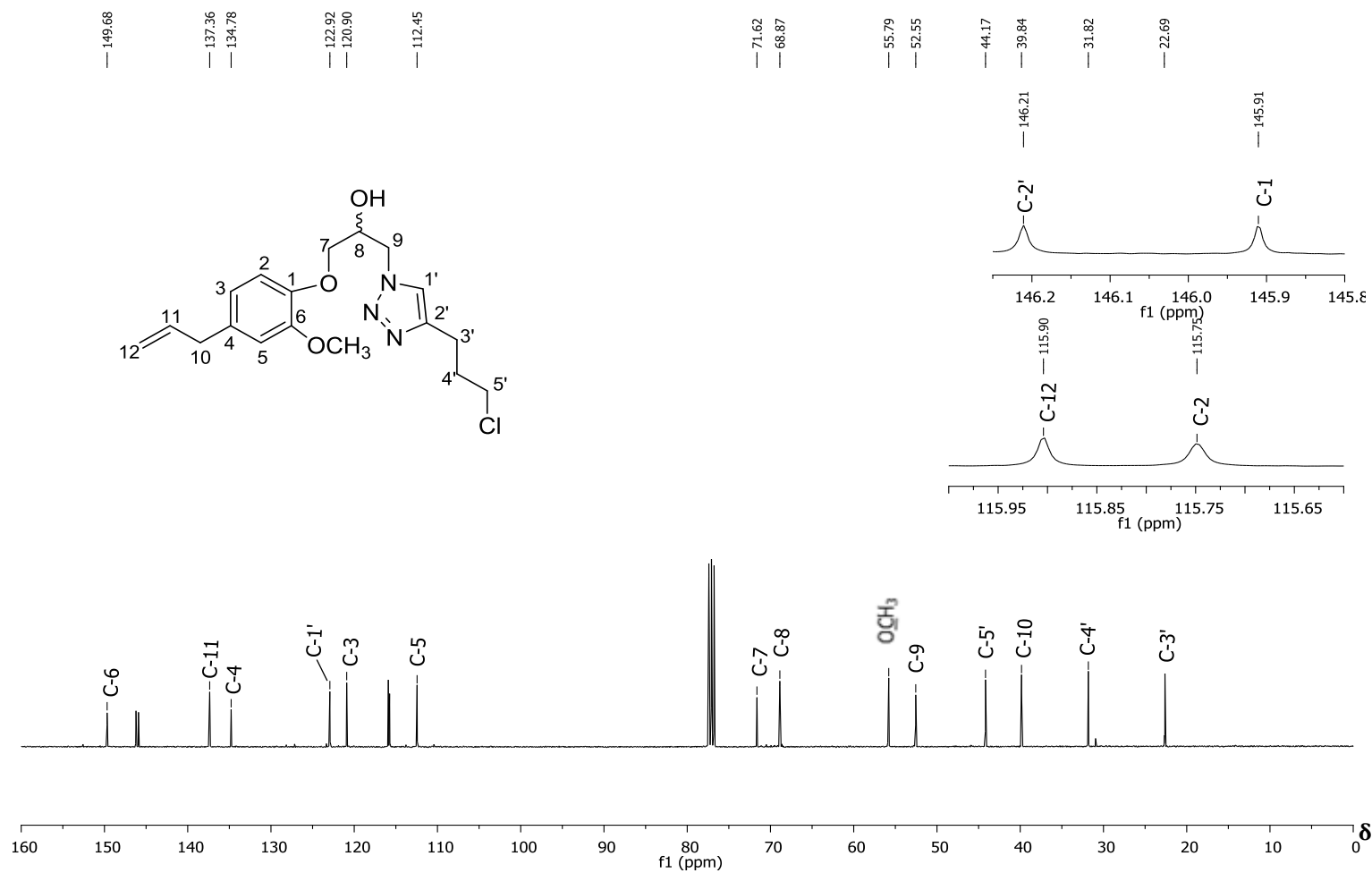


Figura 21 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **5j**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

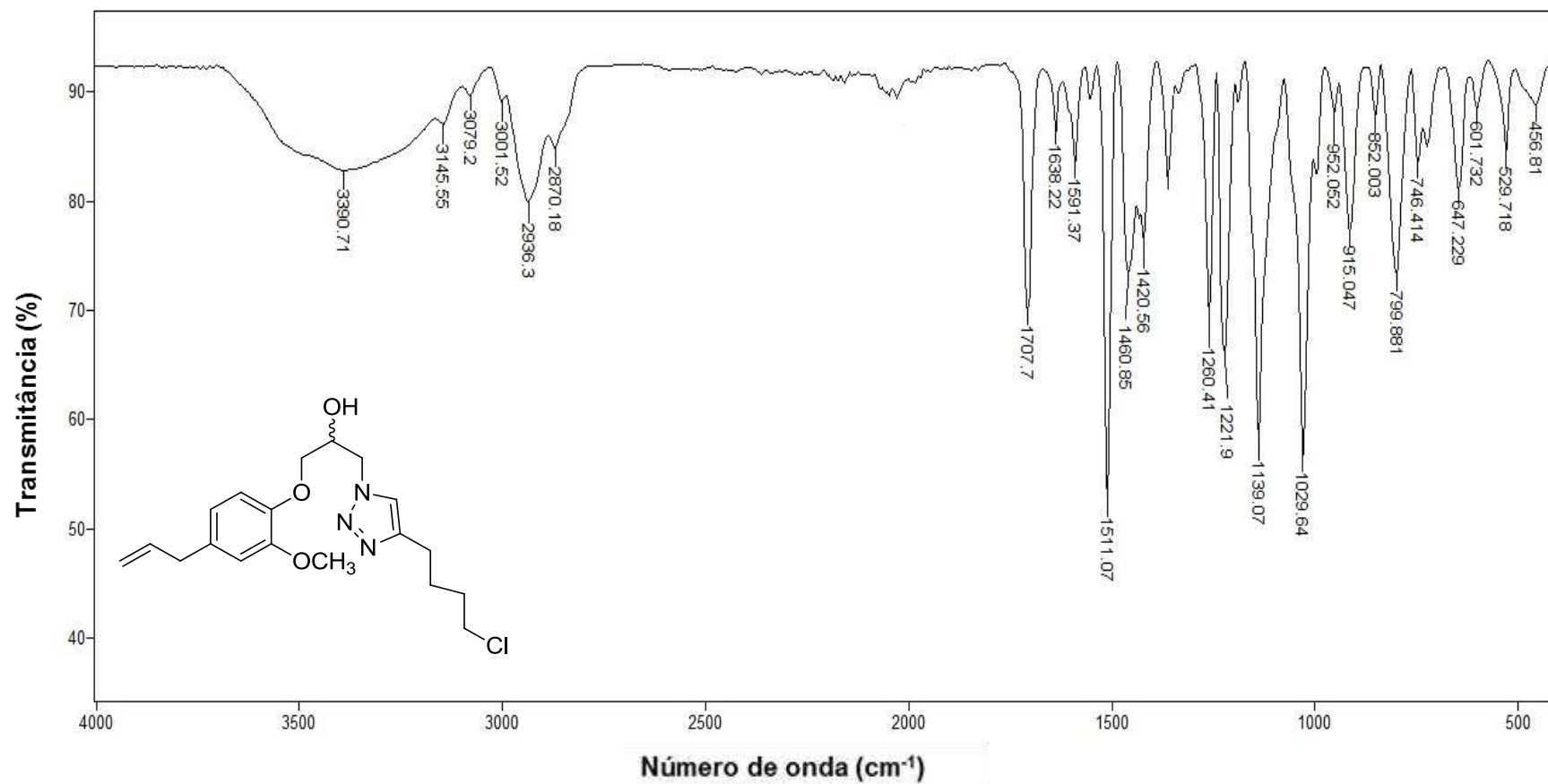


Figura 22 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5k**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

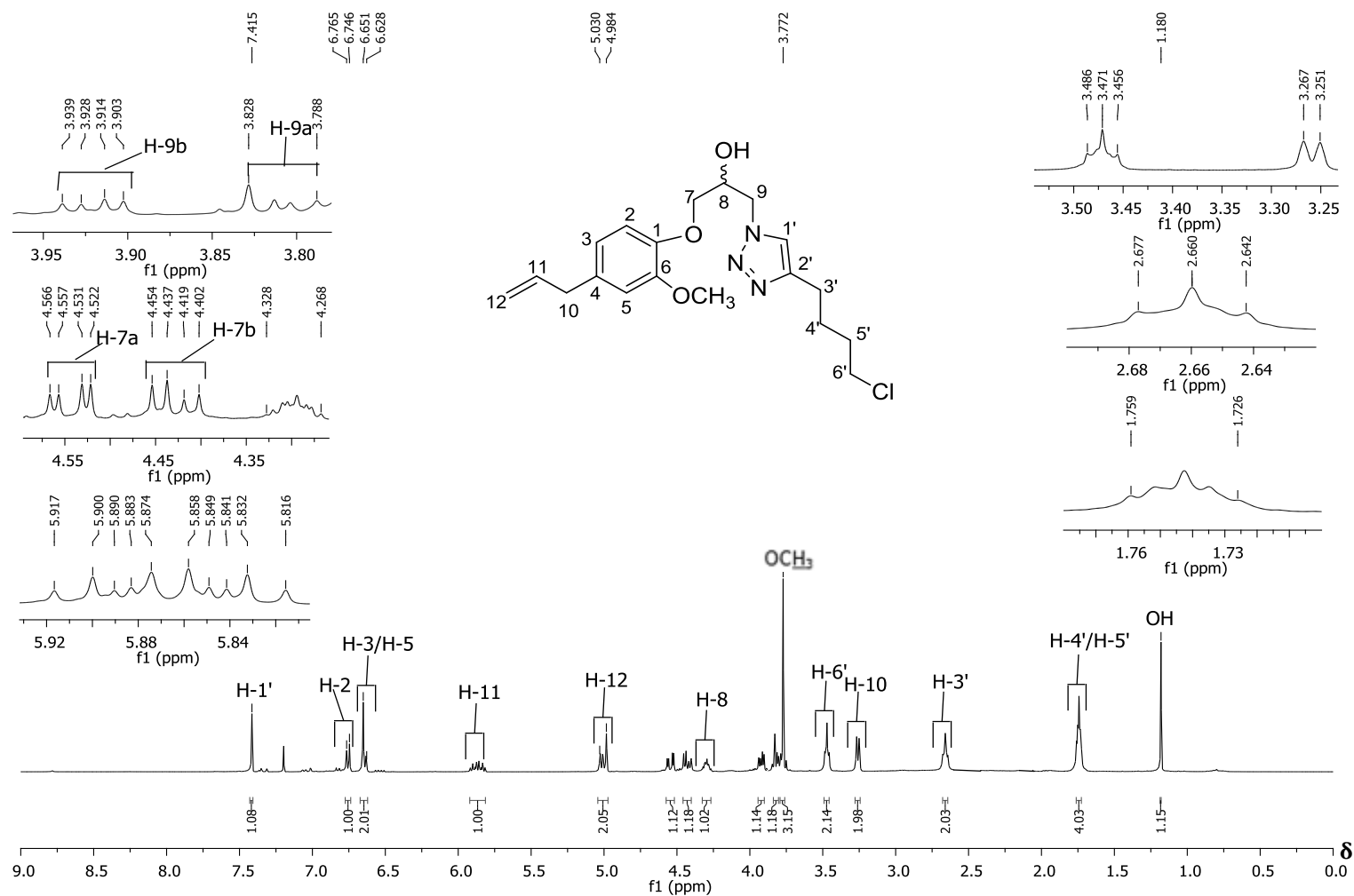


Figura 23 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **5k**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

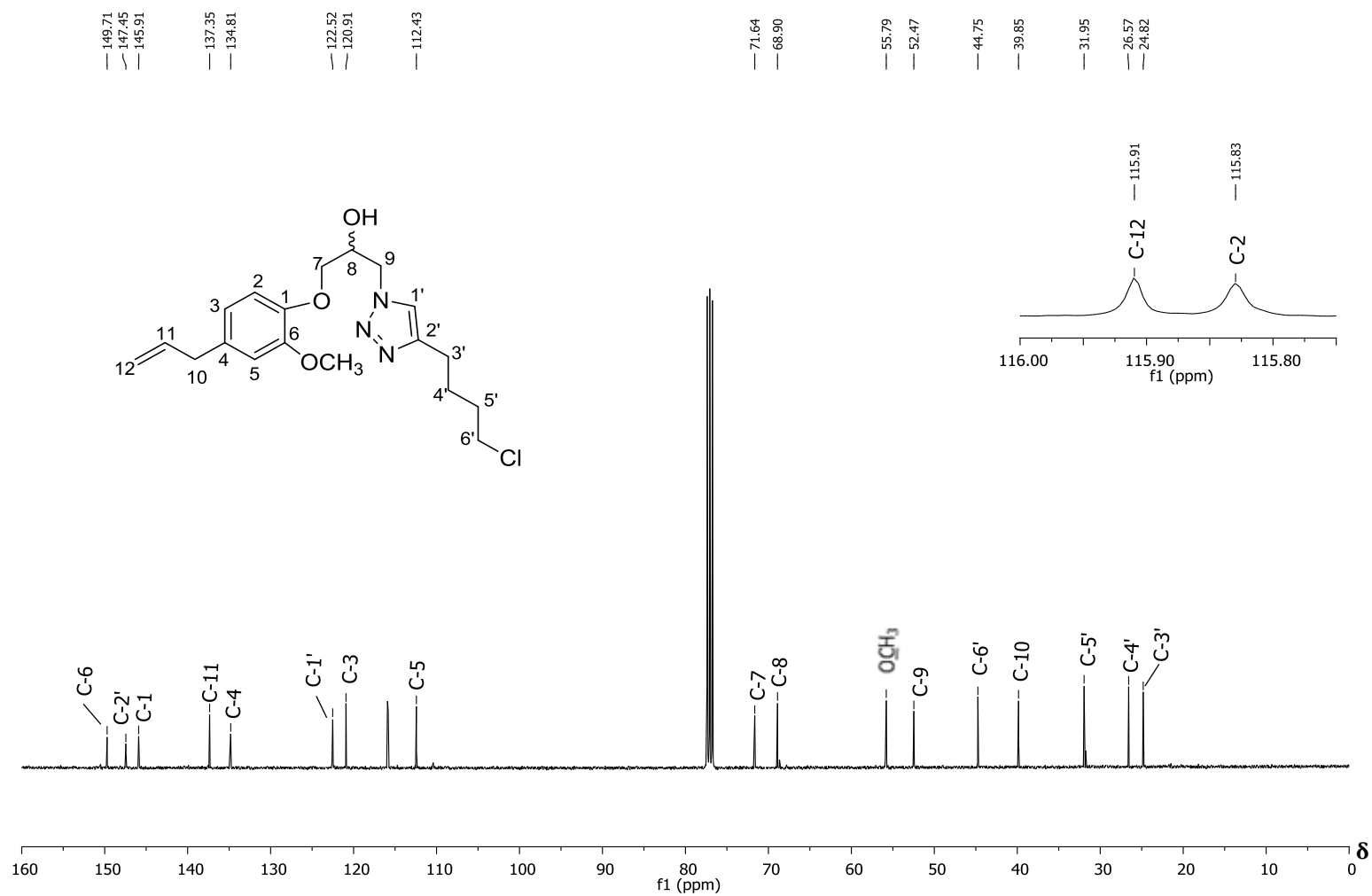


Figura 24 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do composto **5k**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

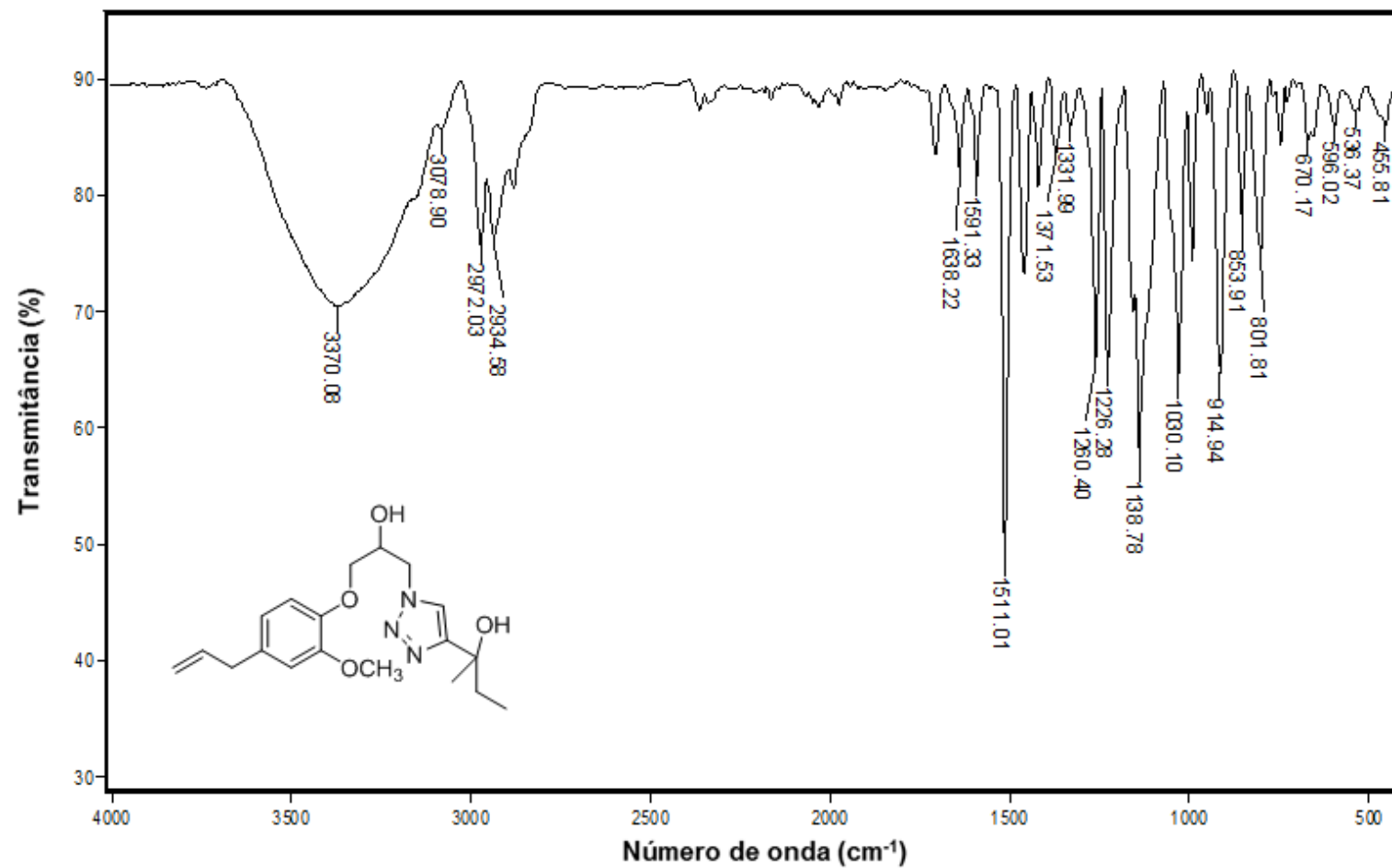


Figura 25 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5l**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

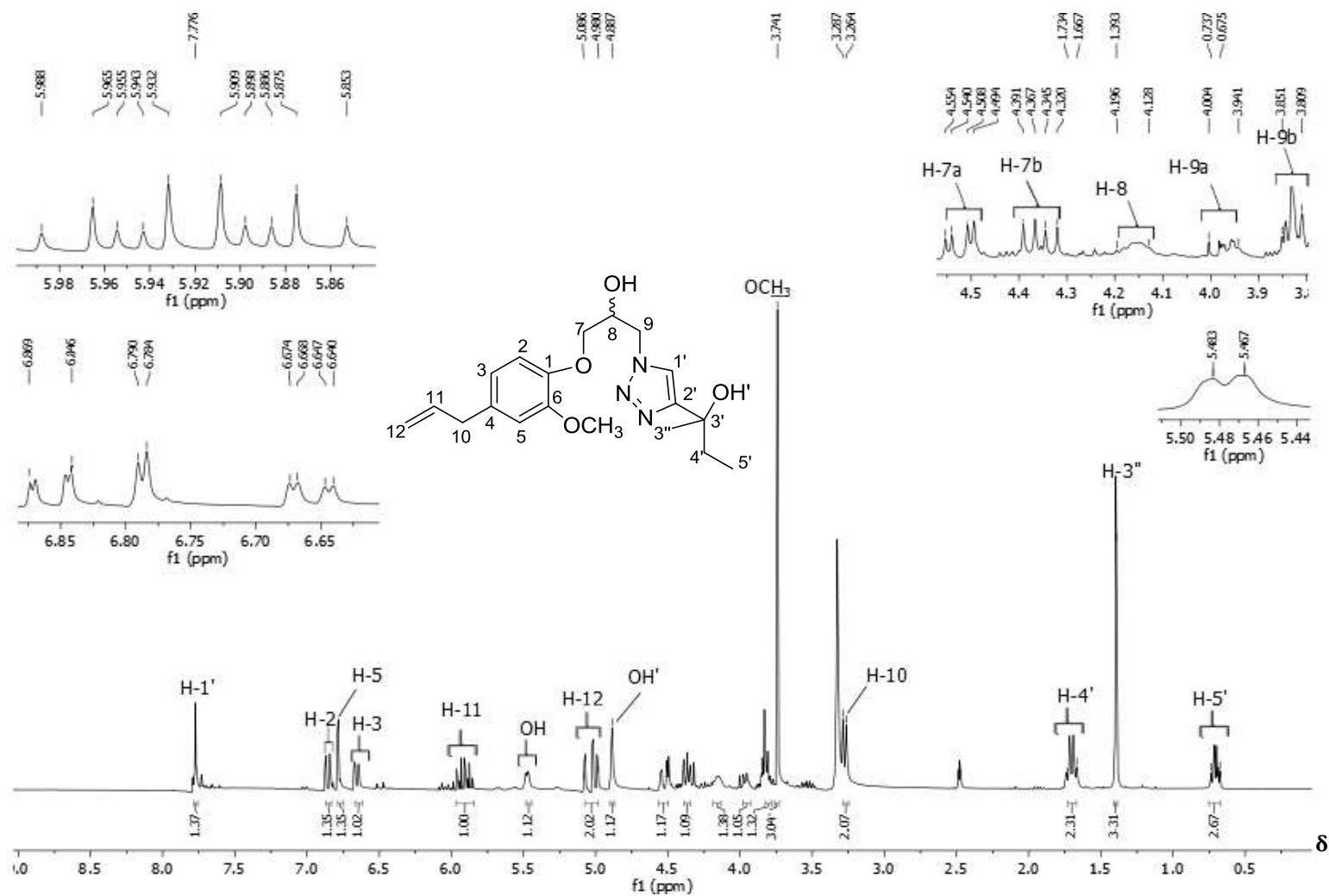


Figura 26 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) do composto **5I**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

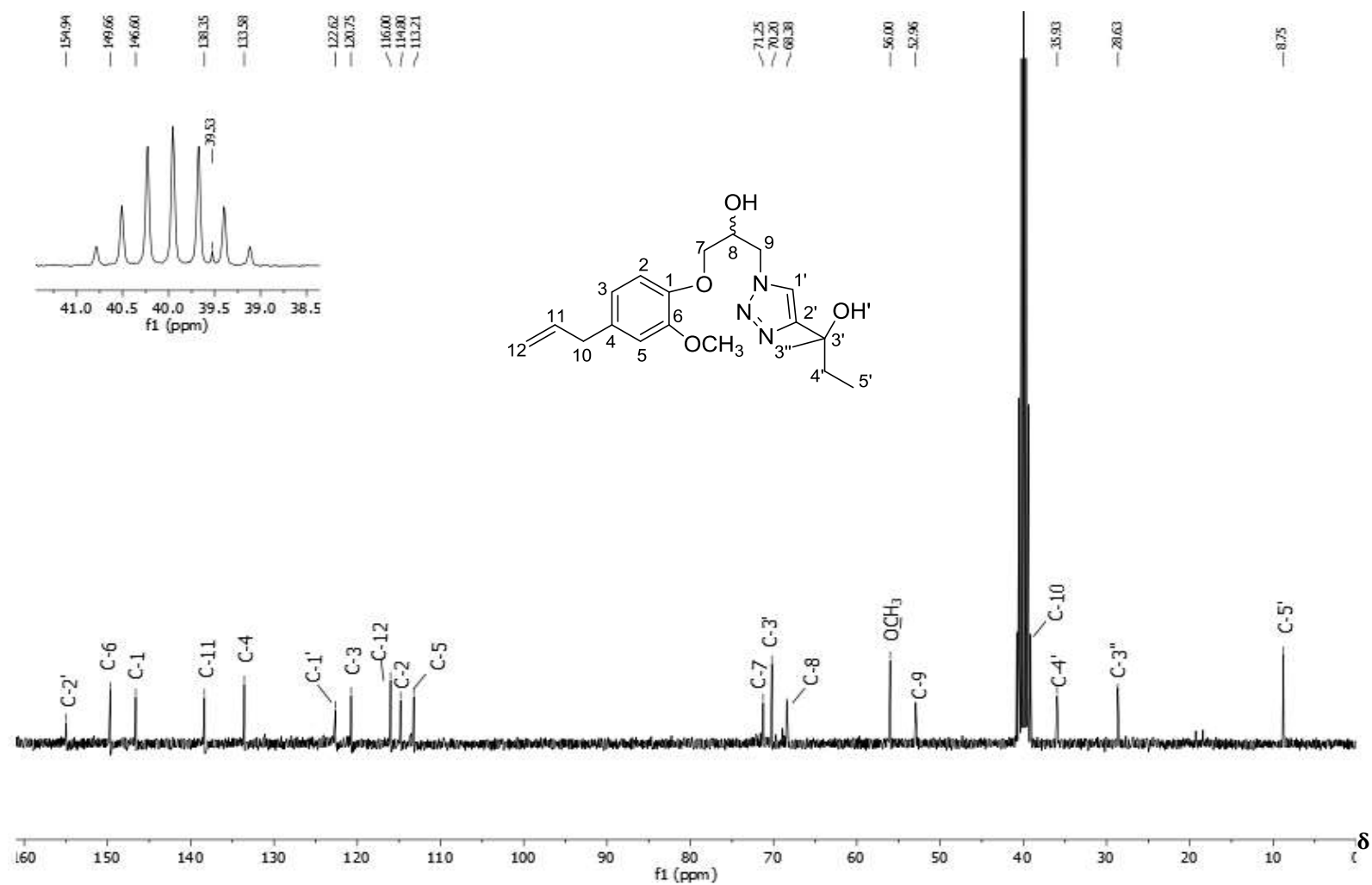


Figura 27 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6) do composto **5I**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

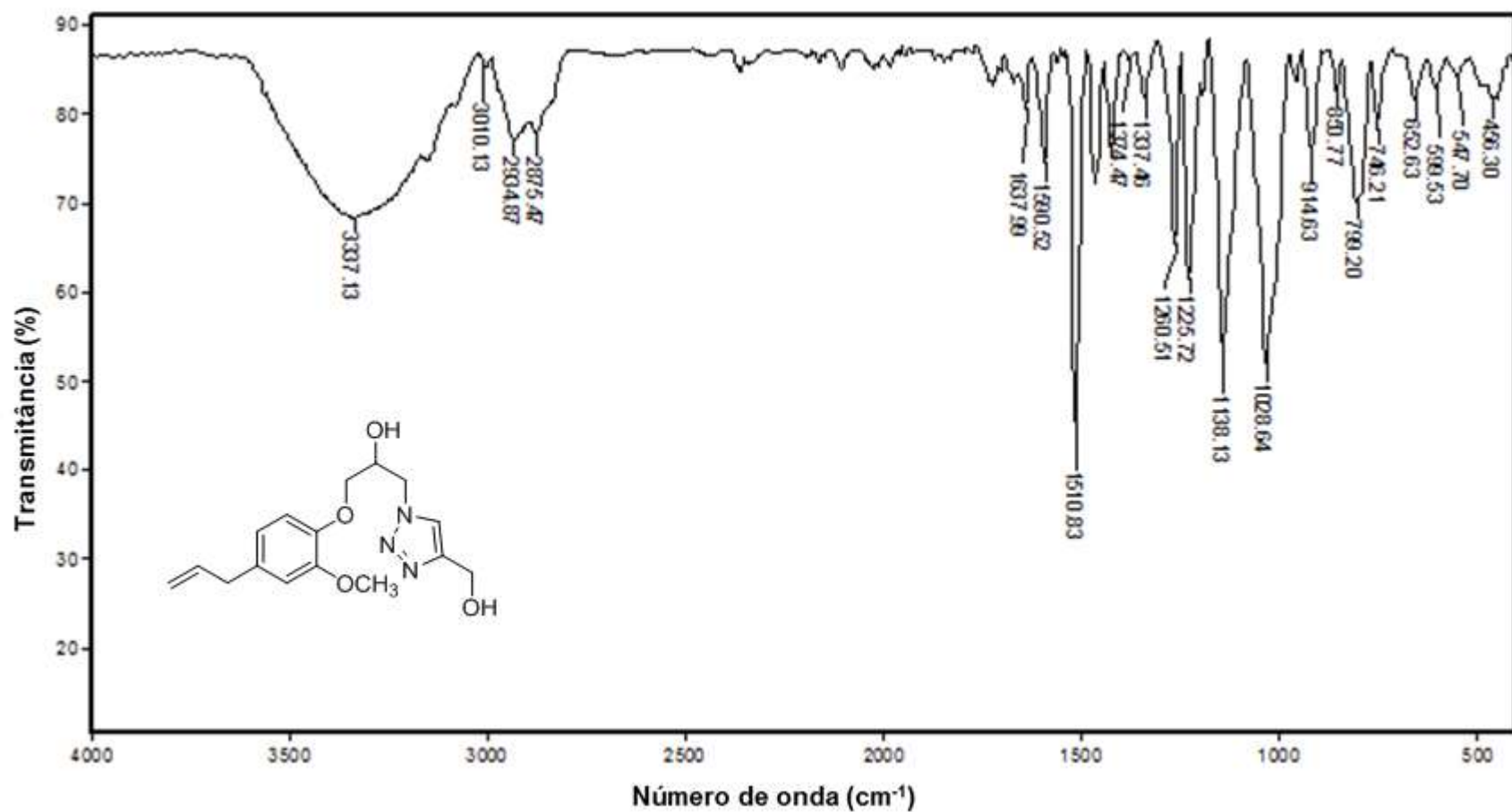


Figura 28 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5m**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

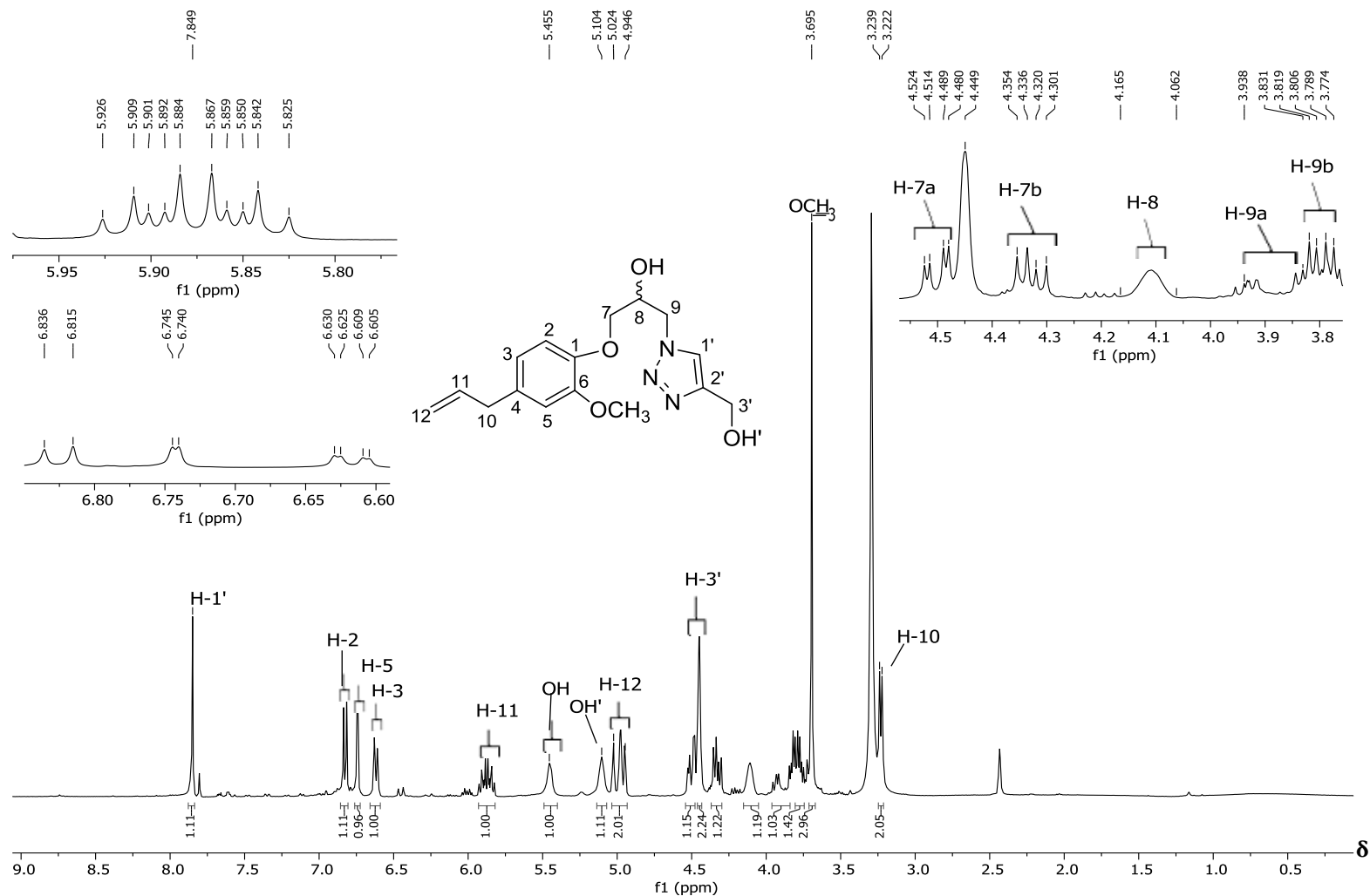


Figura 29 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto **5m**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

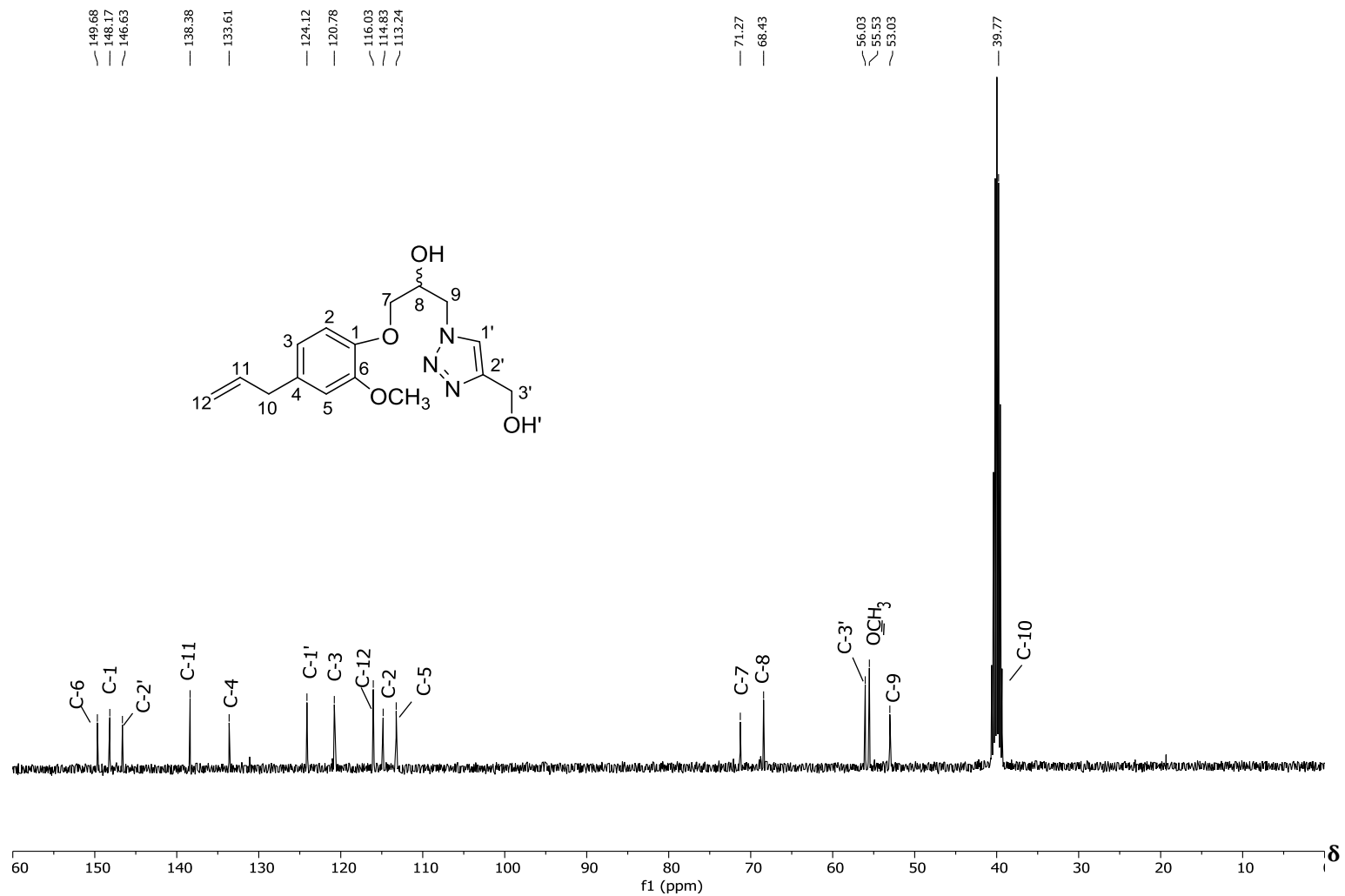


Figura 30 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto **5m**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

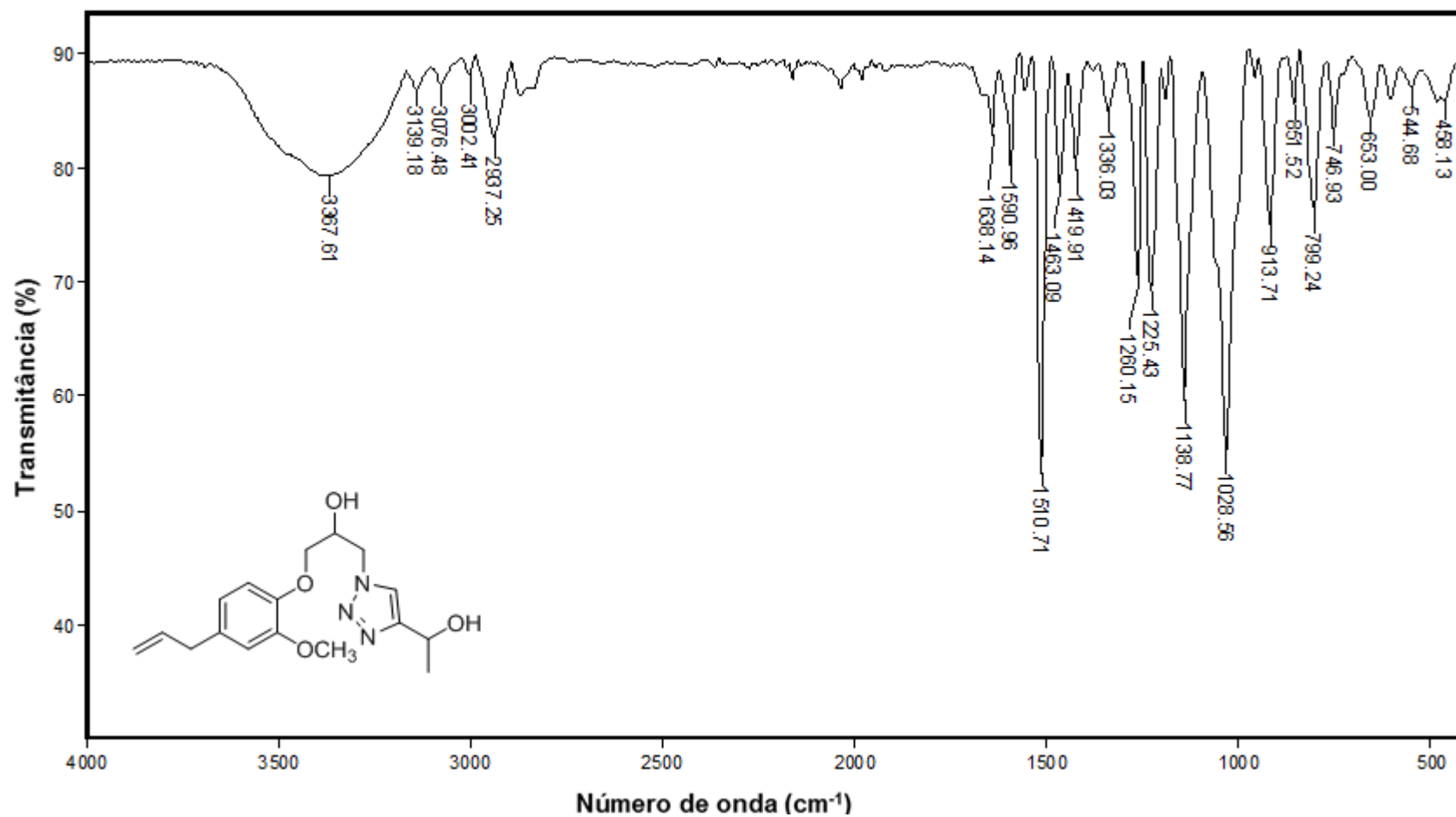


Figura 31 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5n**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

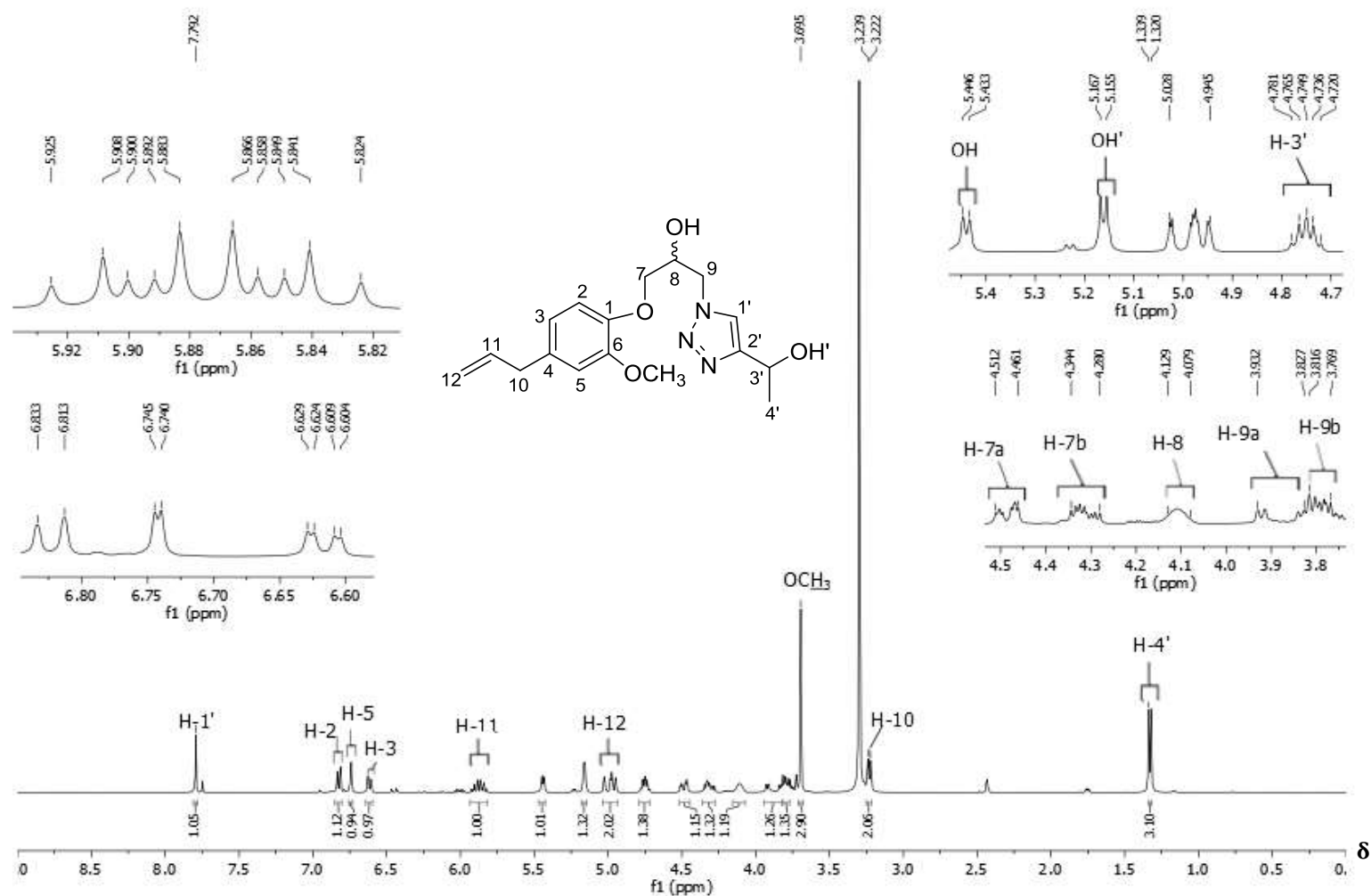


Figura 32 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **5n**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

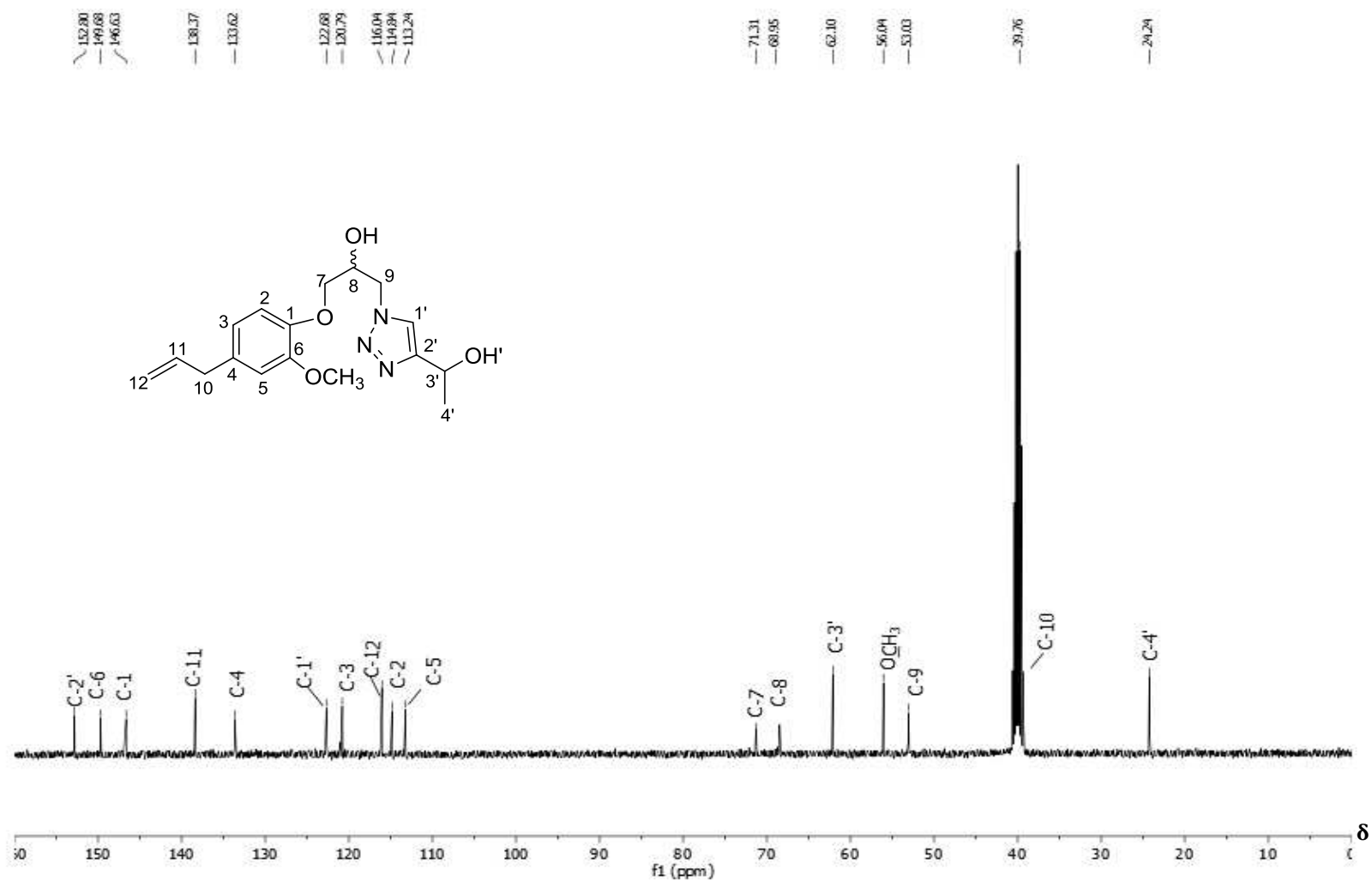


Figura 33 – Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) do composto **5n**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

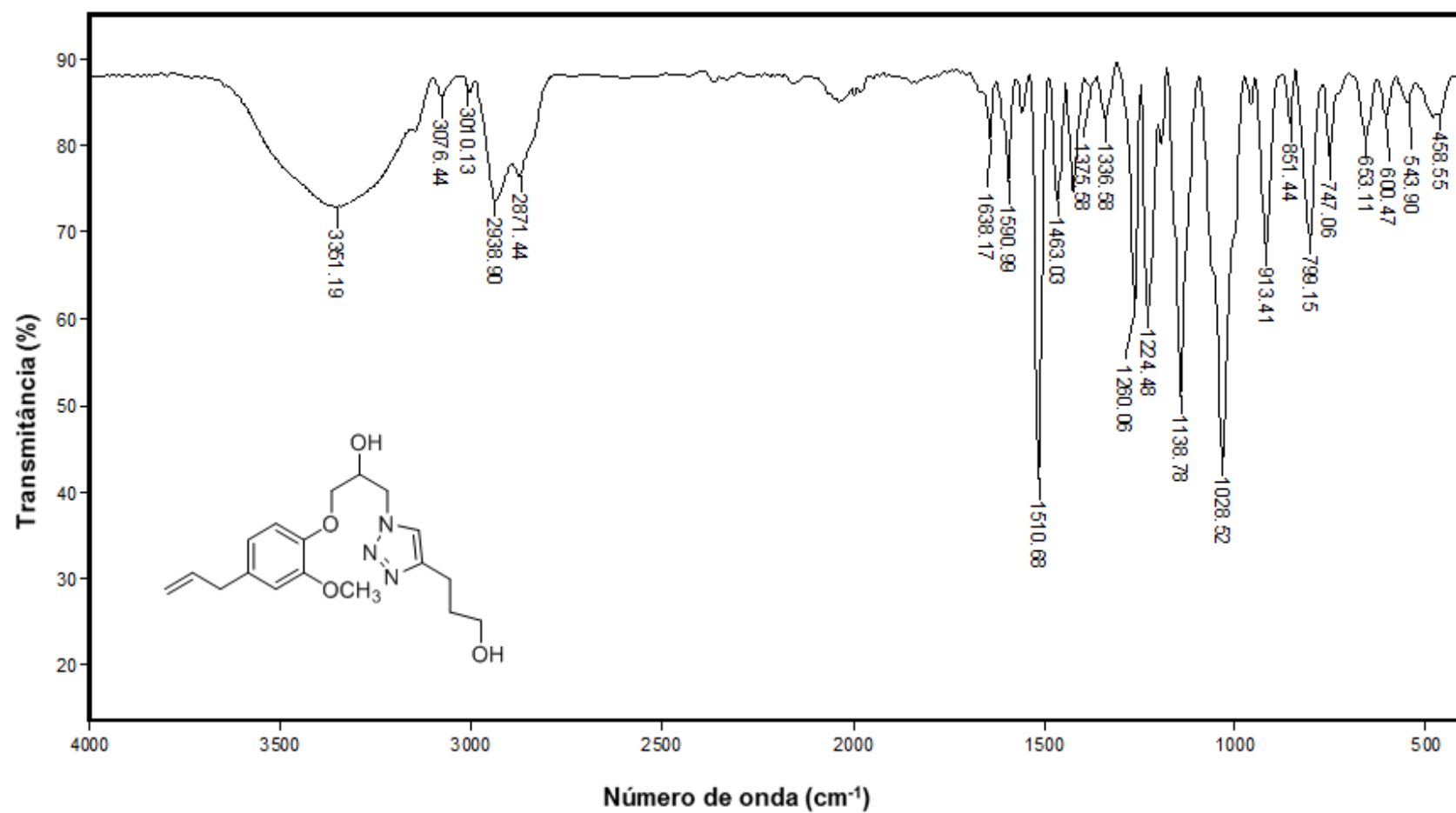


Figura 34– Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5o**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

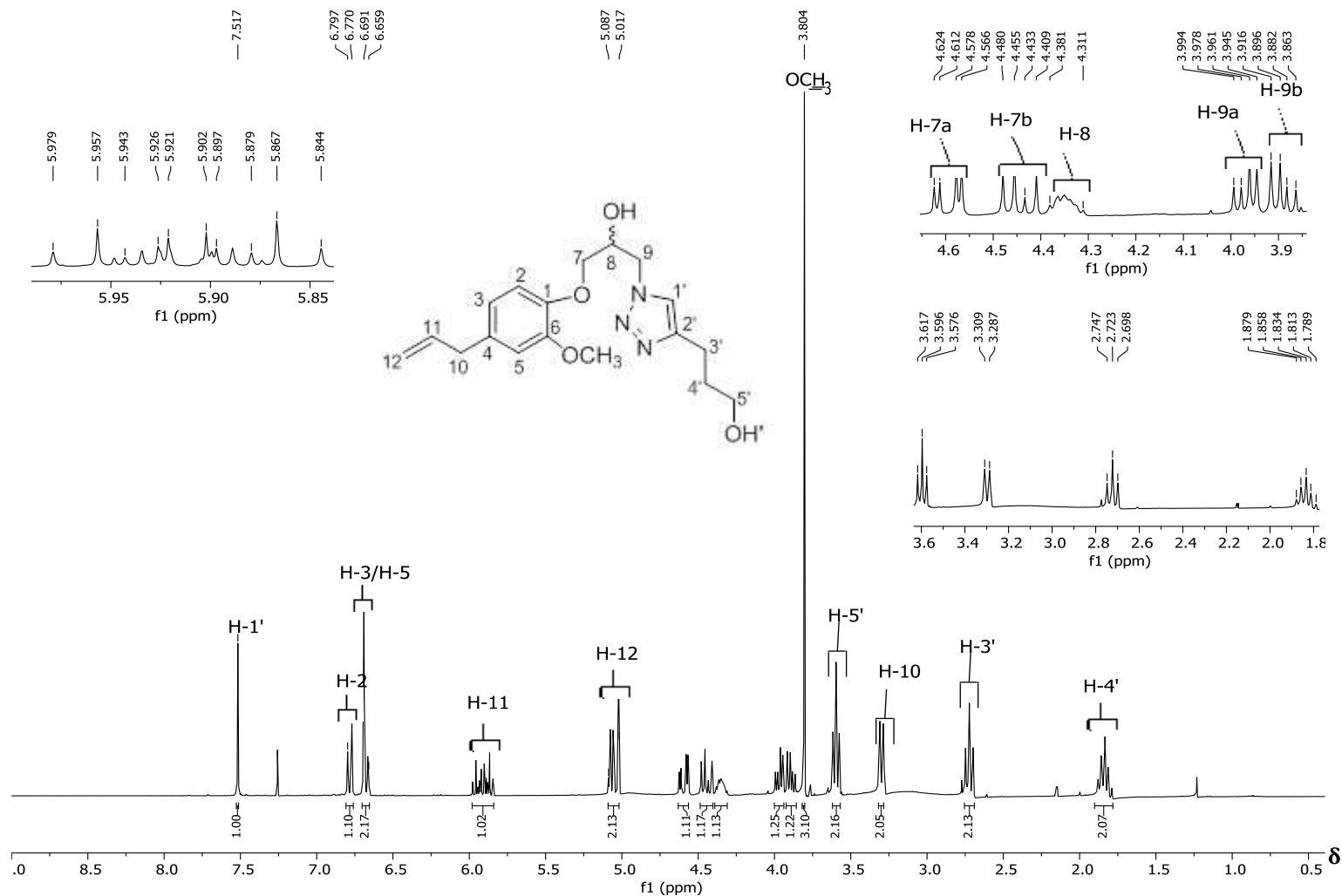


Figura 35 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **50**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

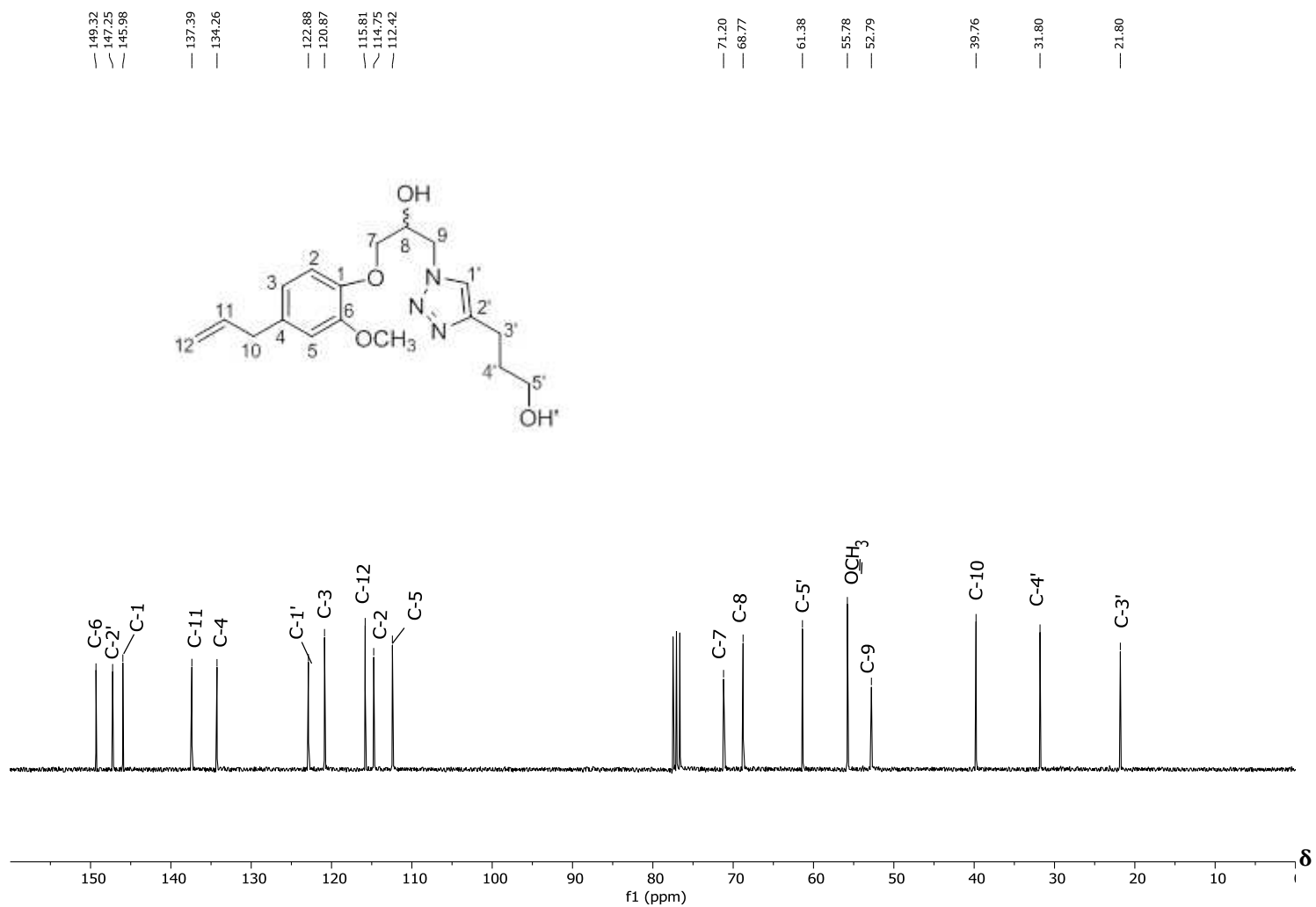


Figura 36 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **5o**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

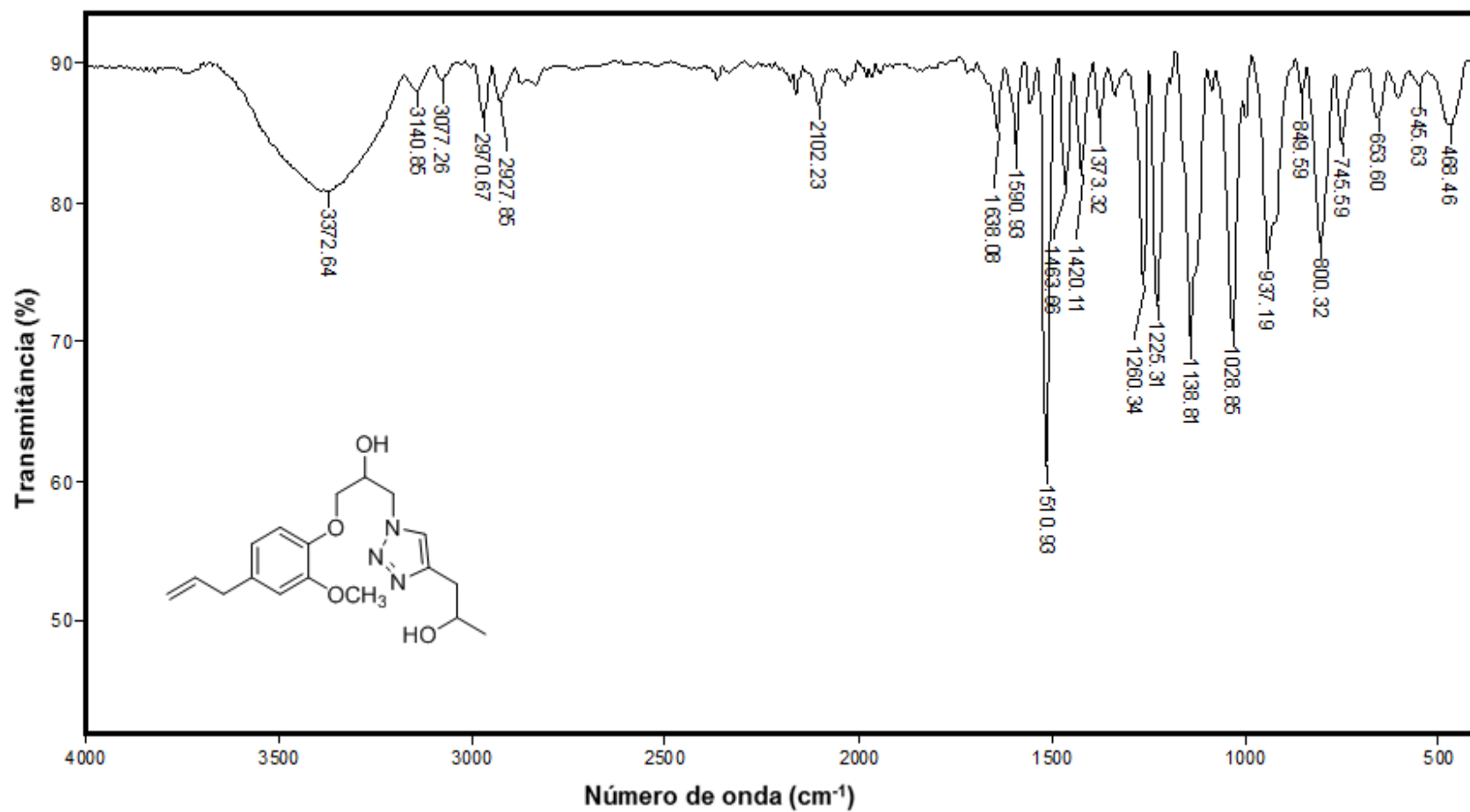


Figura 37 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5p**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

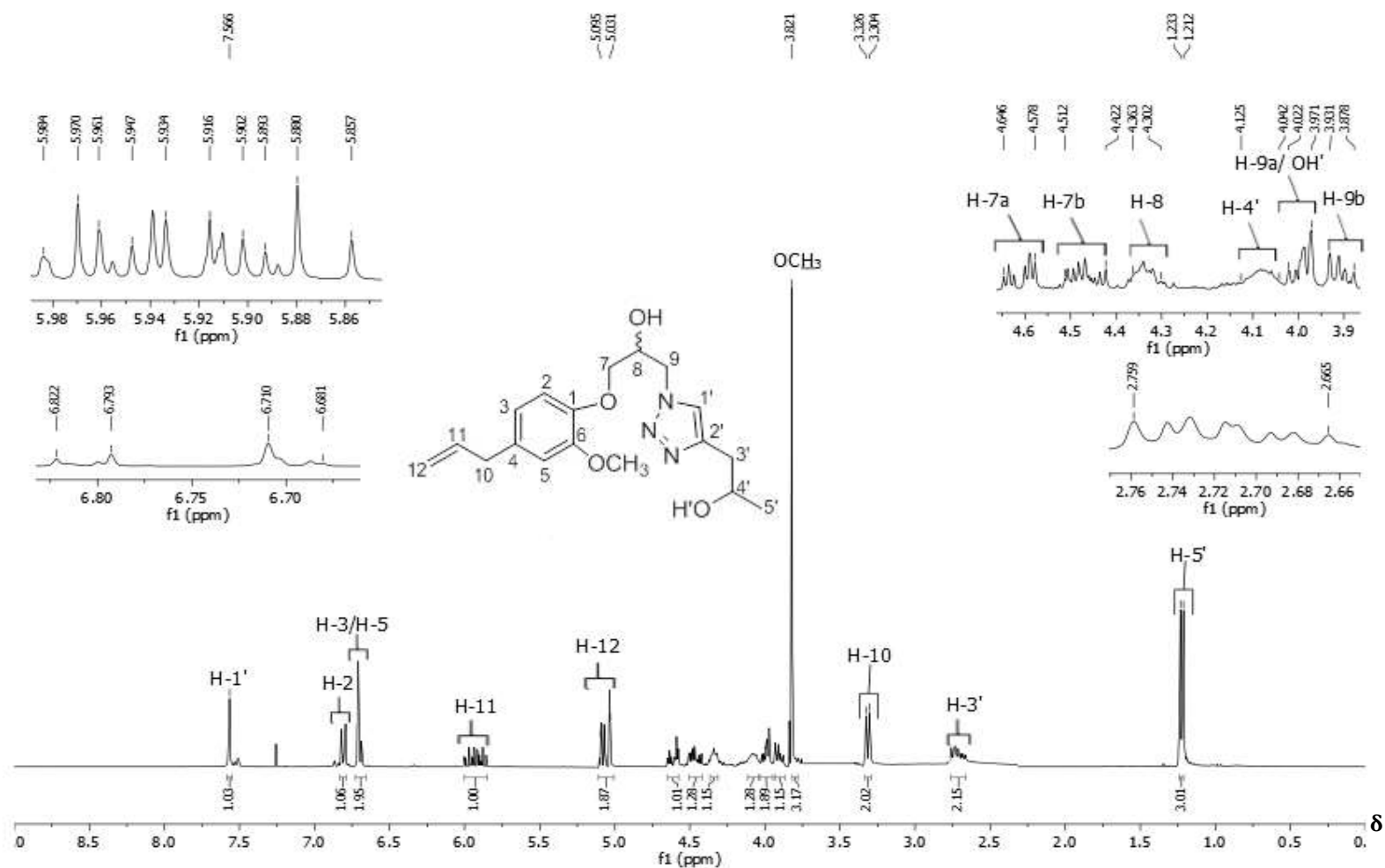


Figura 38 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **5p**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

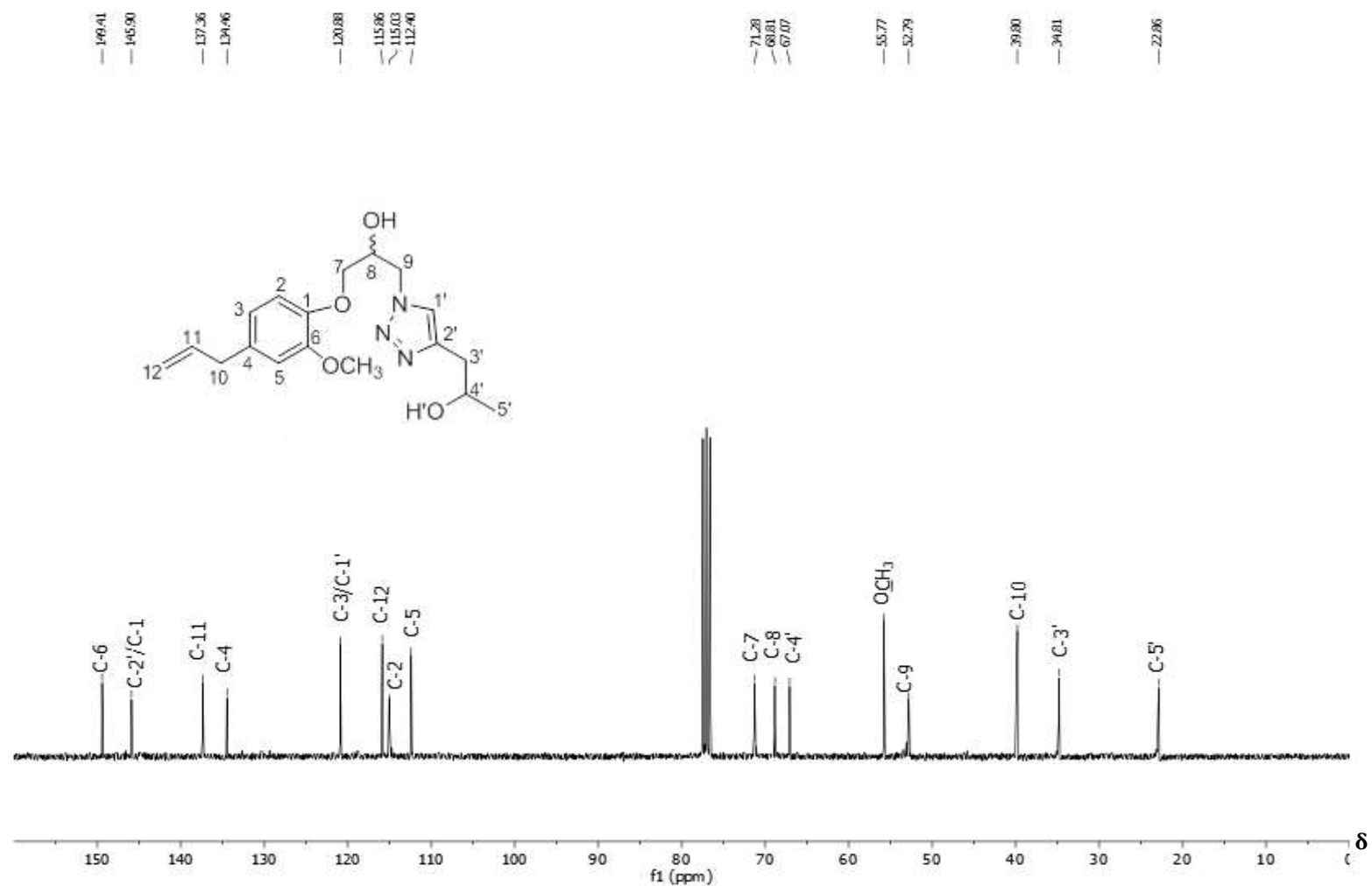


Figura 39 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **5p**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

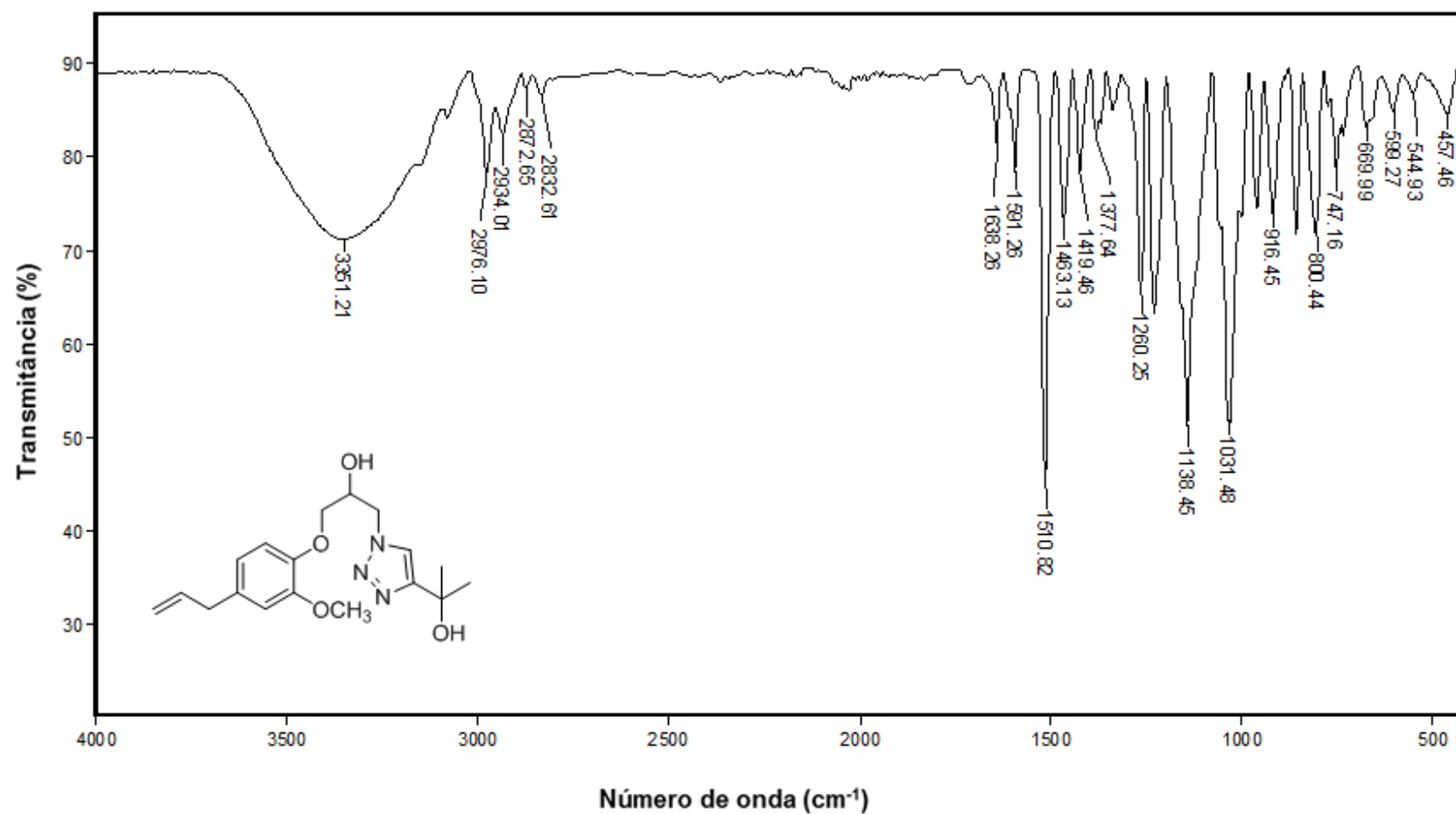


Figura 40 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5q**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

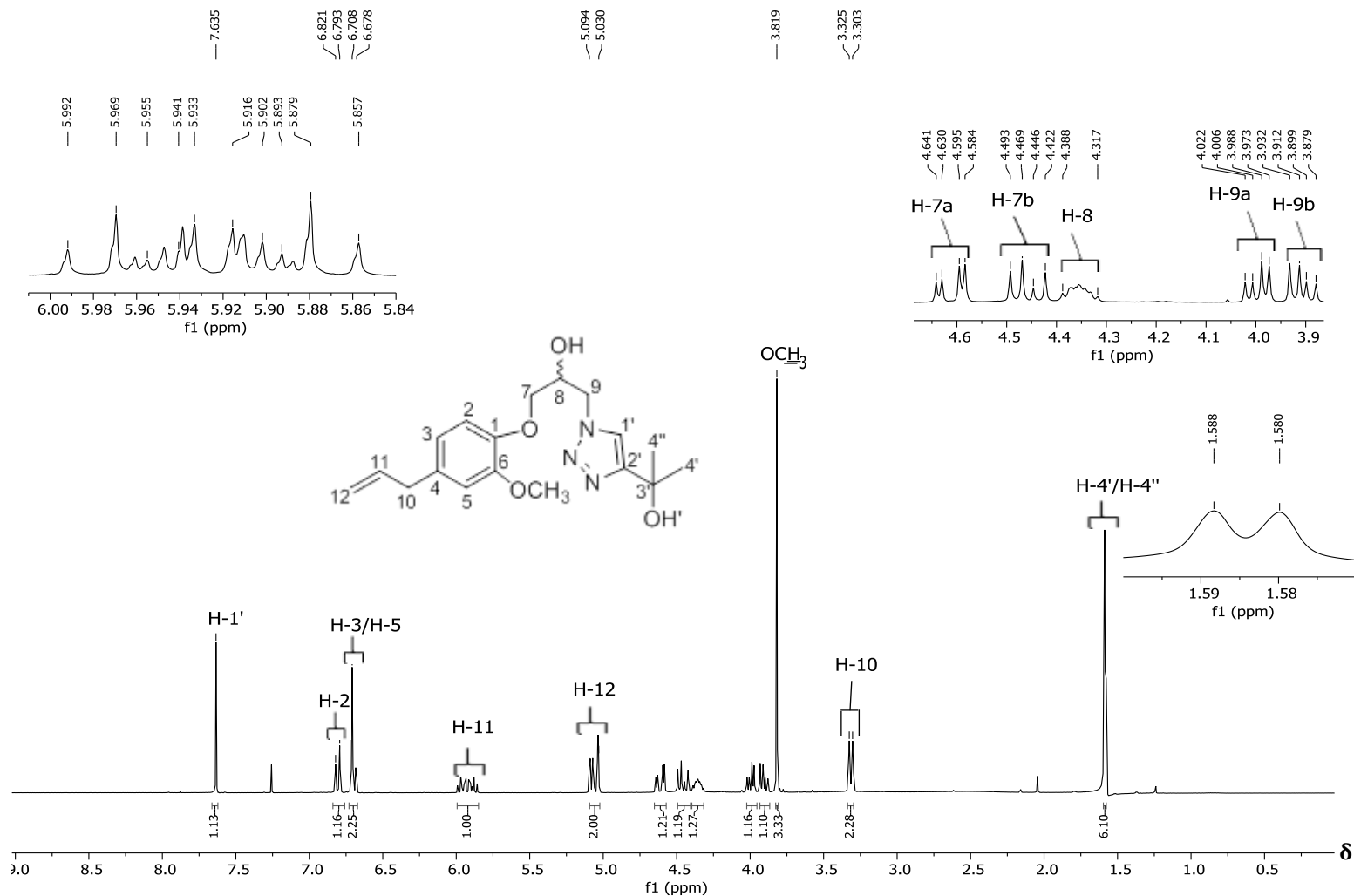


Figura 41 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto **5q**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

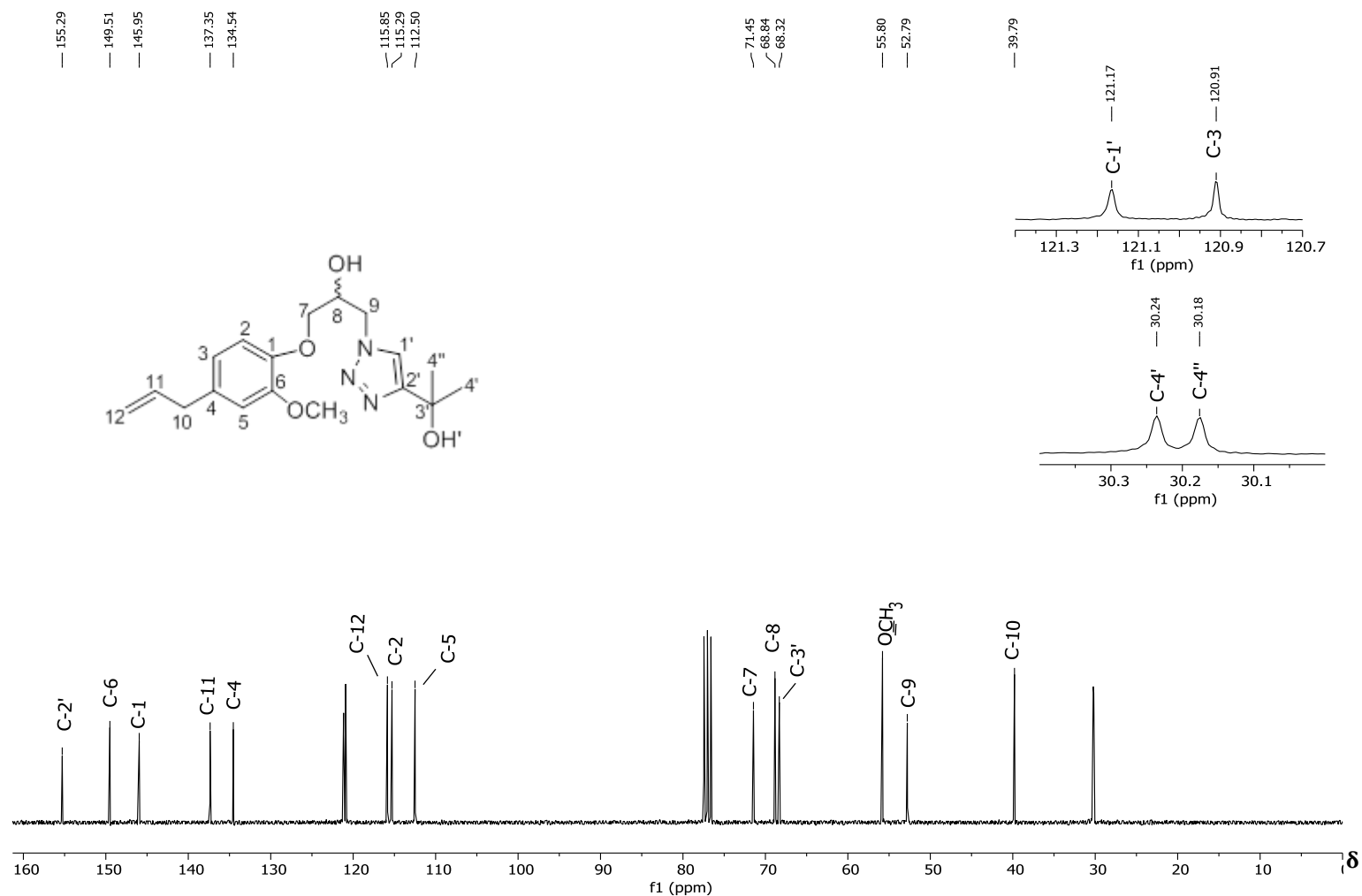


Figura 42 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **5q**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

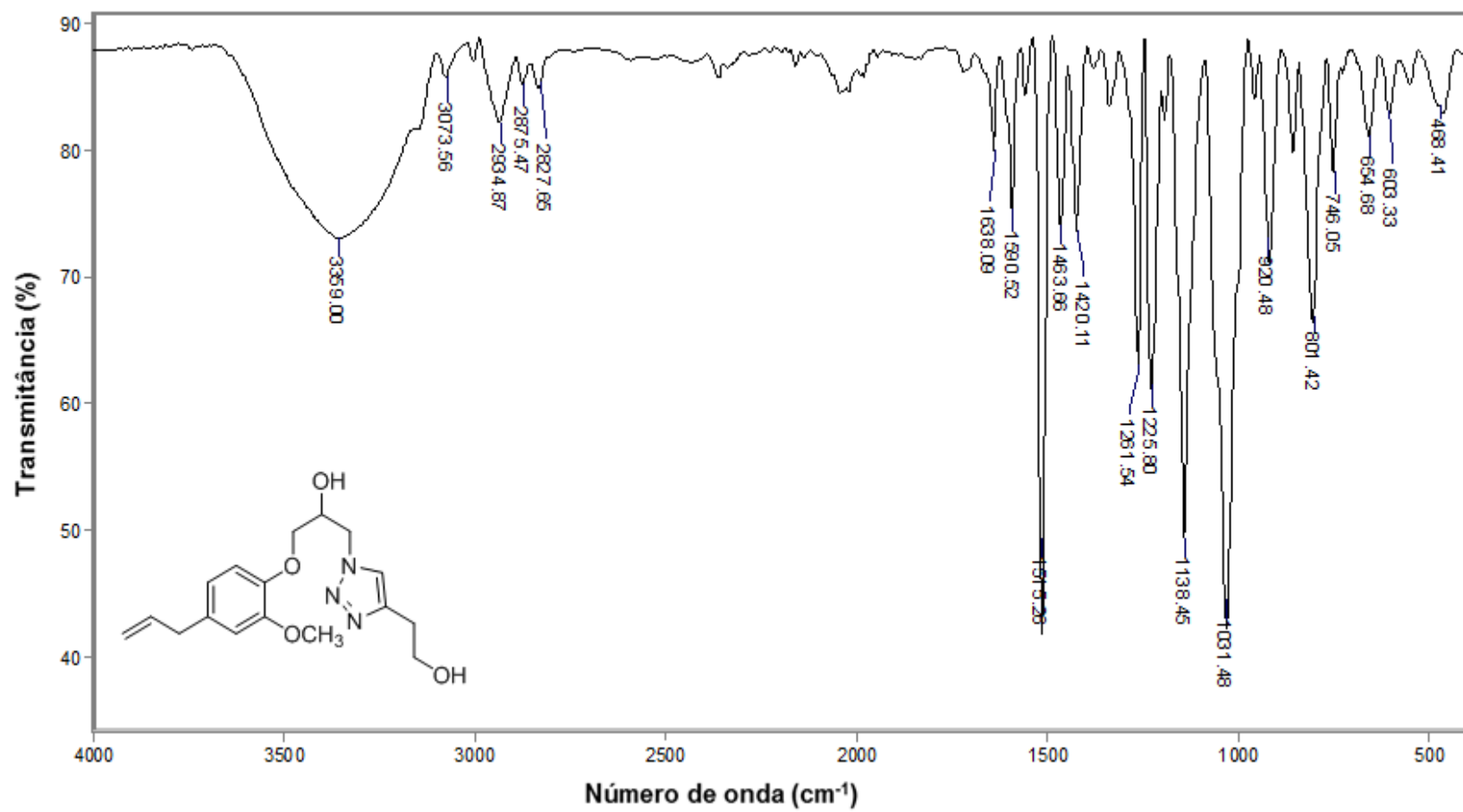


Figura 43 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5r**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

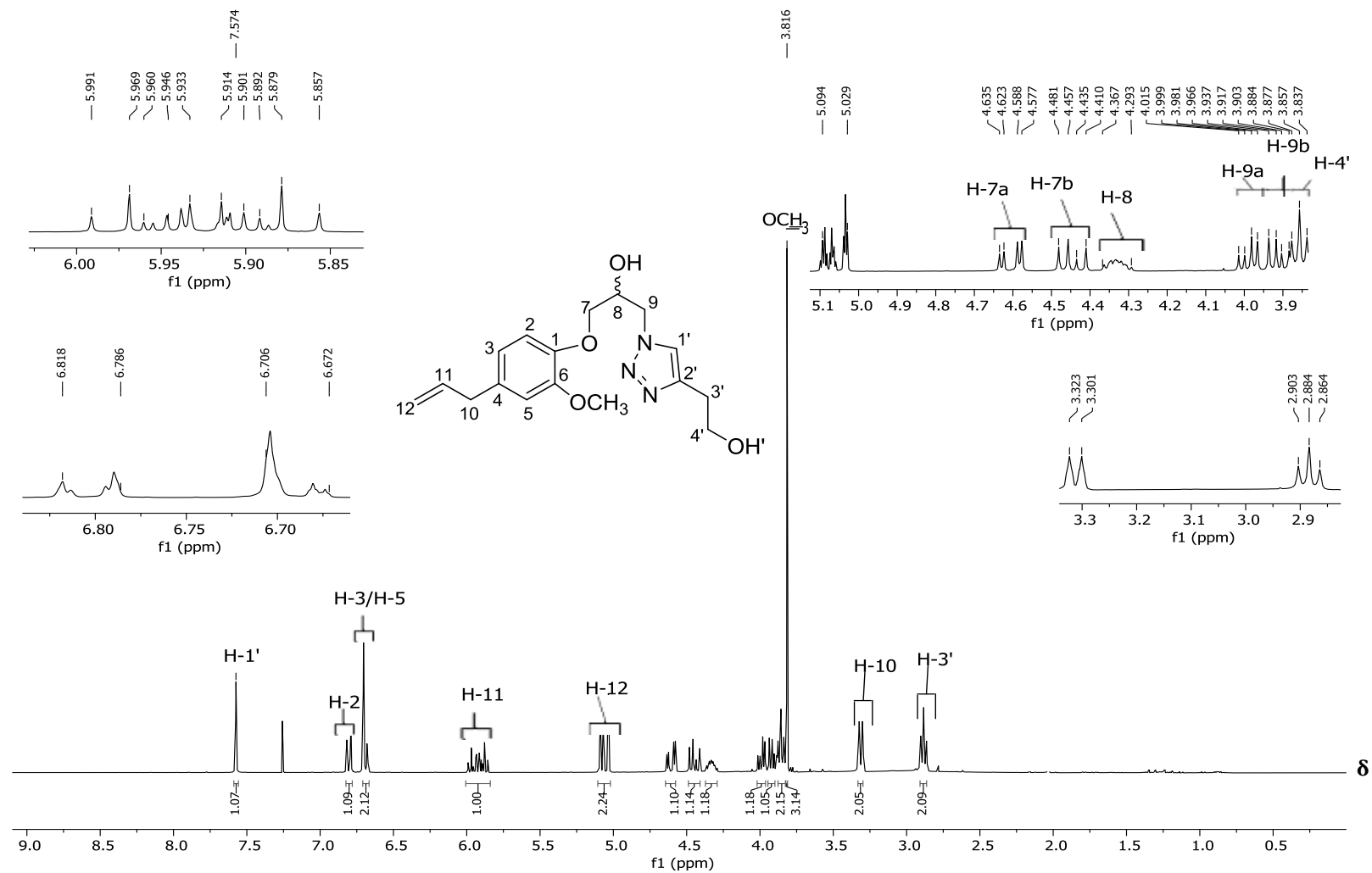


Figura 44 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto **5r**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

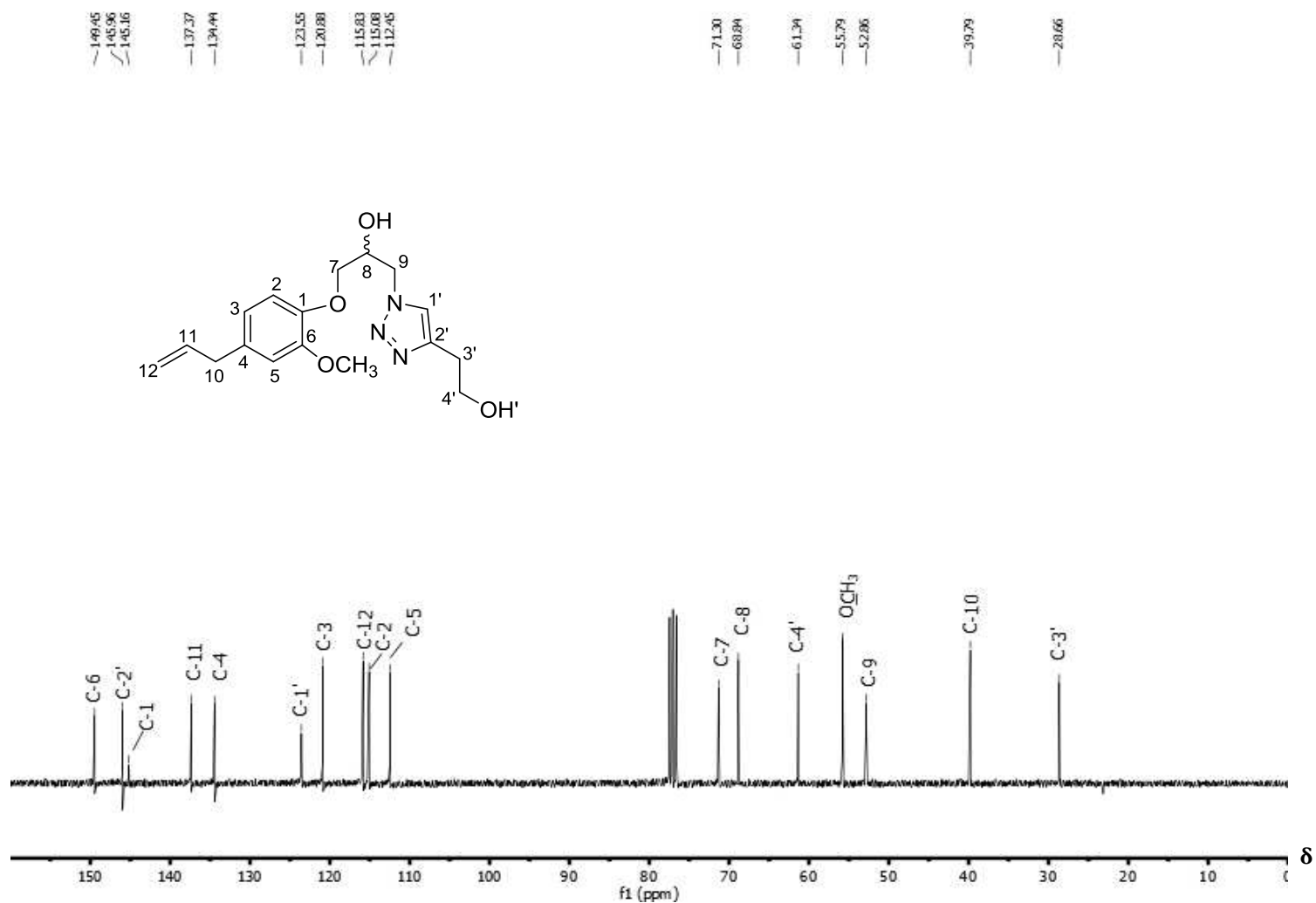


Figura 45 – Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto **5r**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

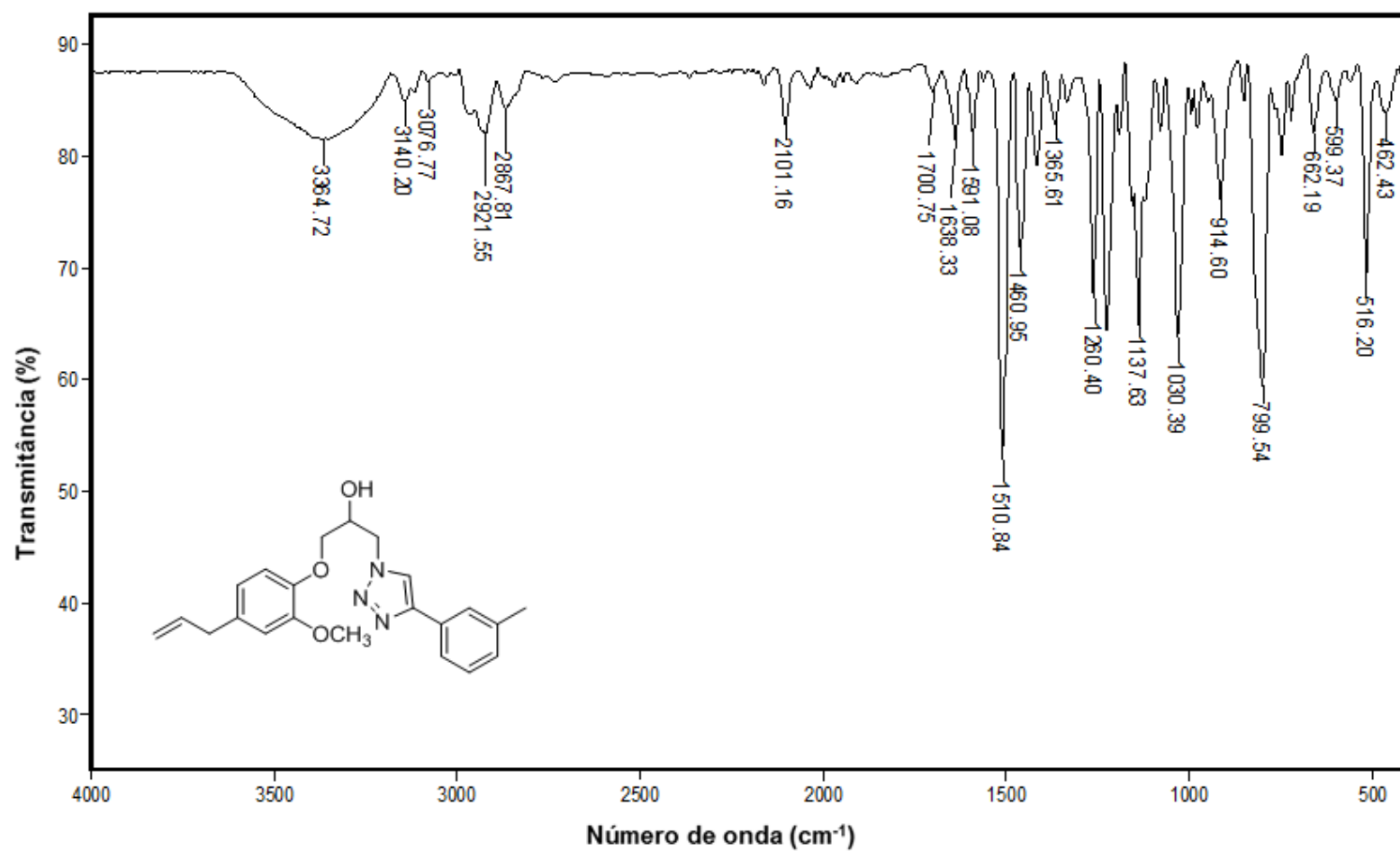


Figura 46 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5s**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

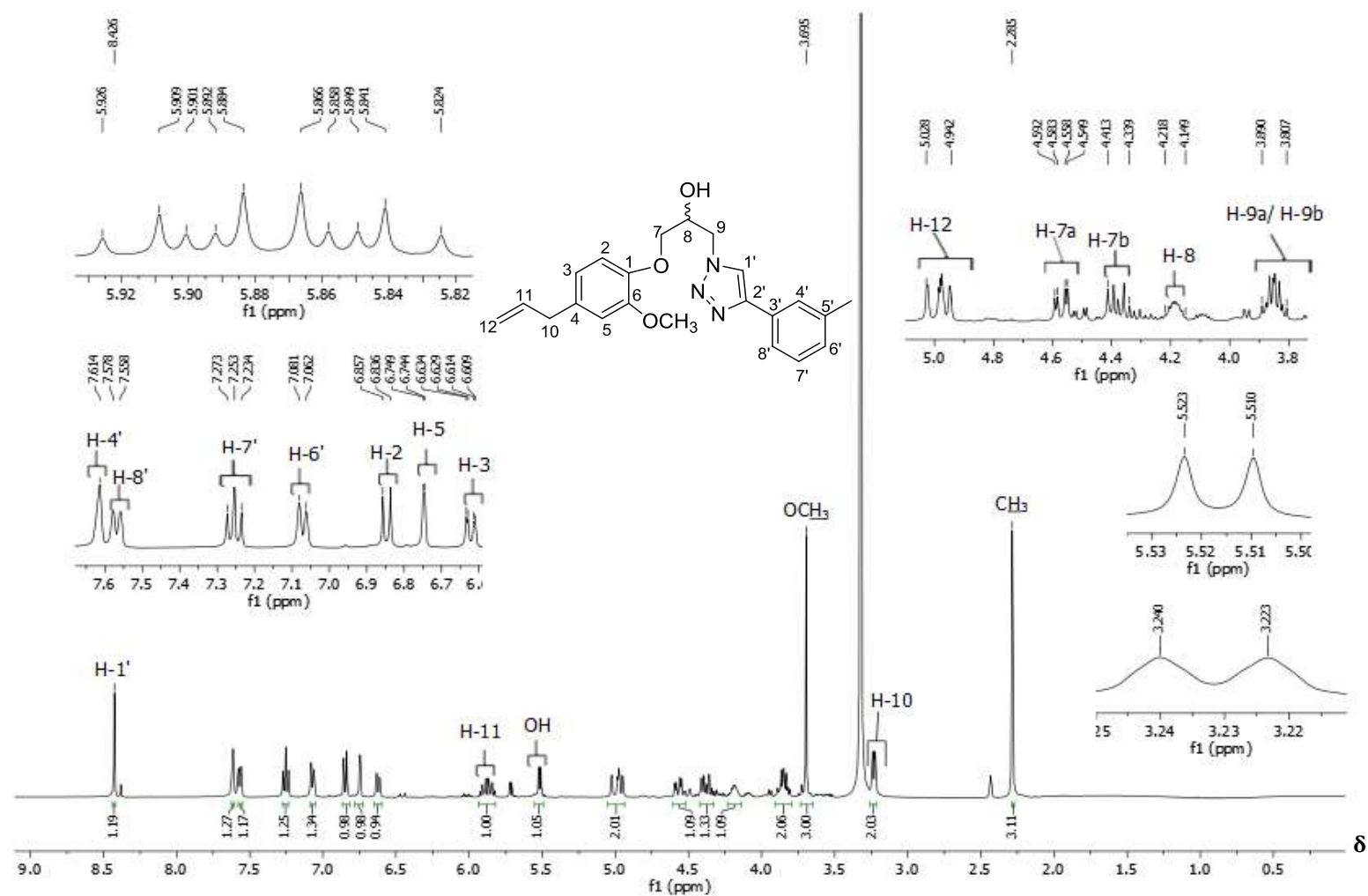


Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto **5s**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

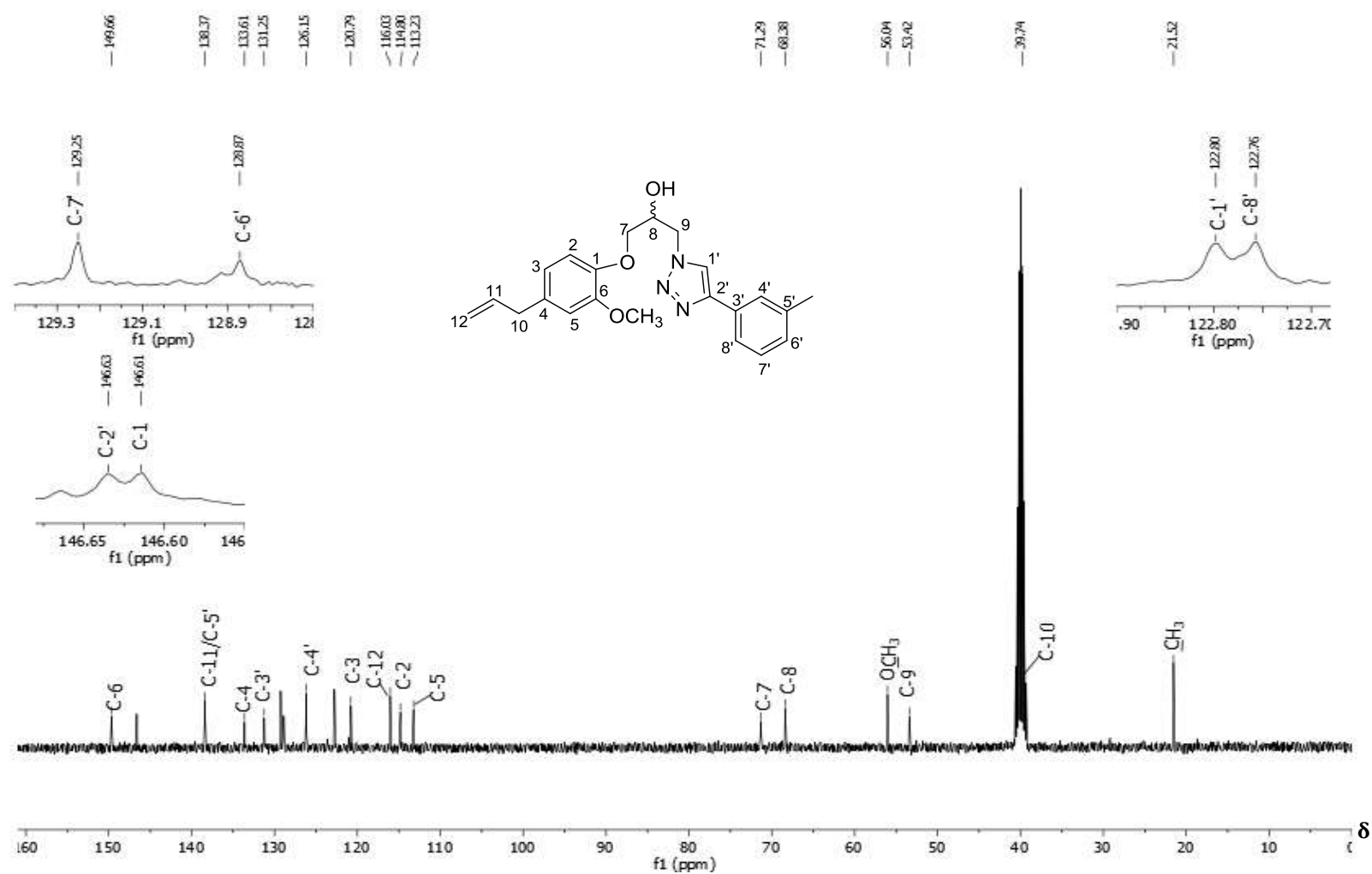


Figura 48 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto **5s**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

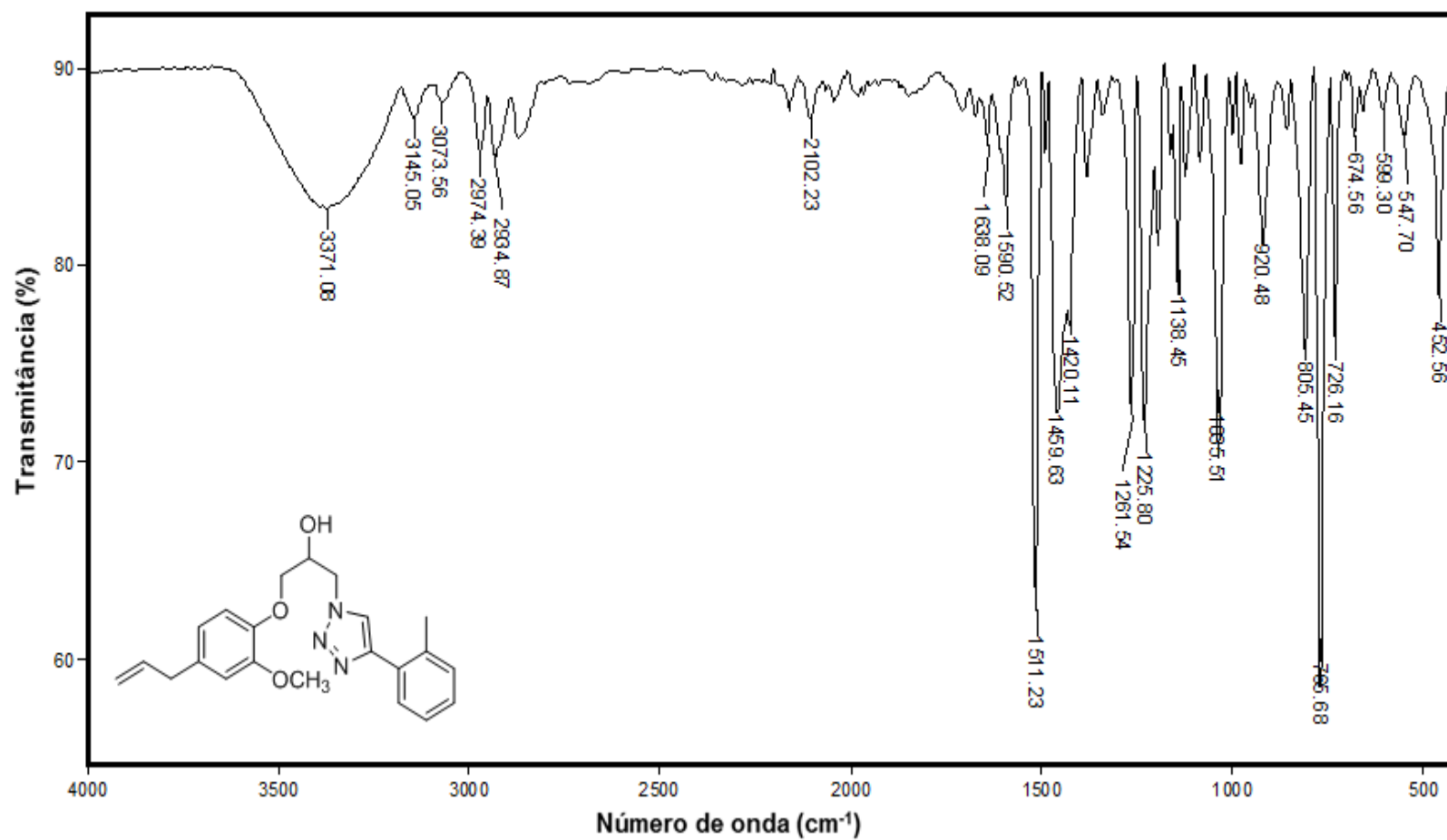


Figura 49 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5t**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

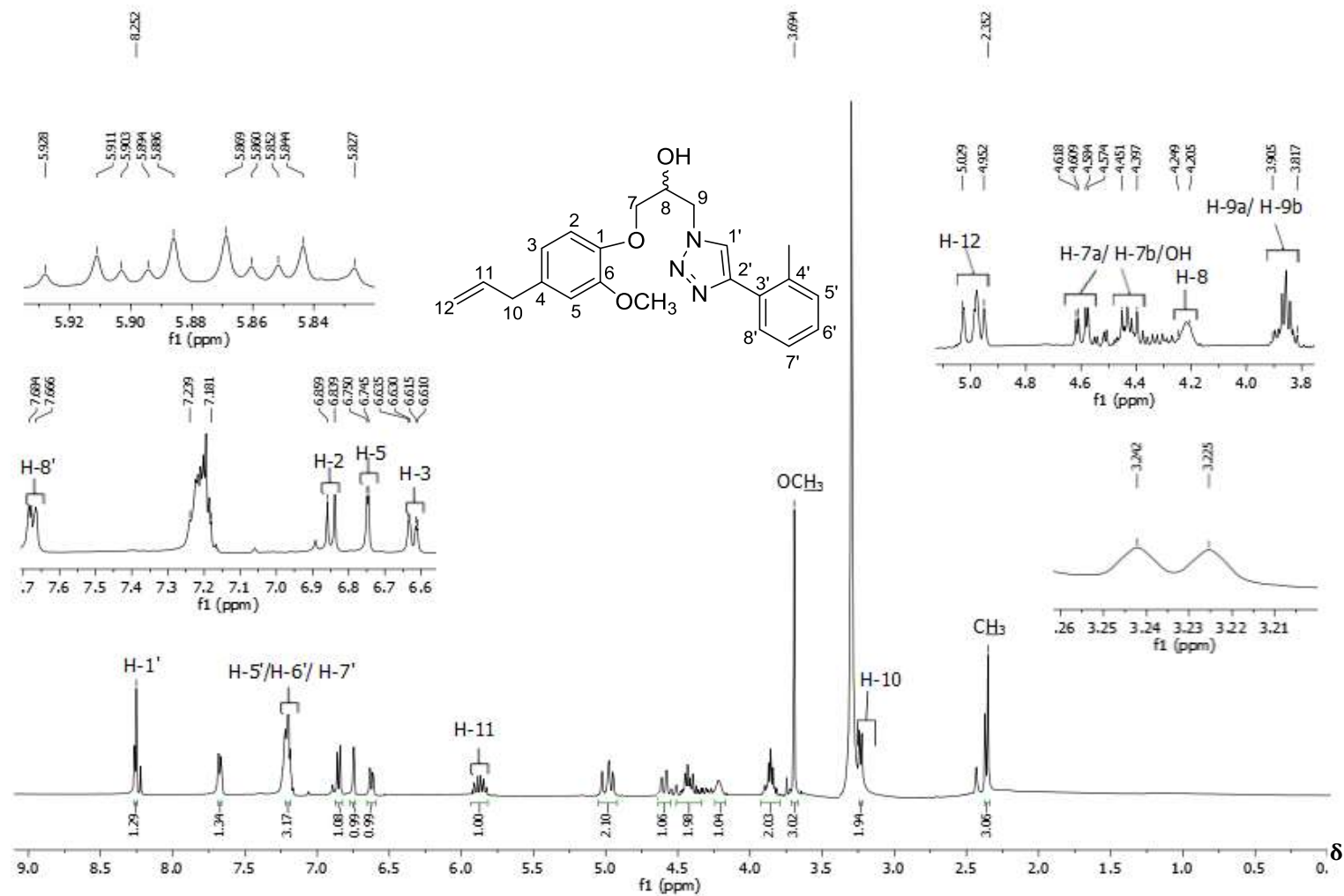


Figura 50 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) do composto **5t**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

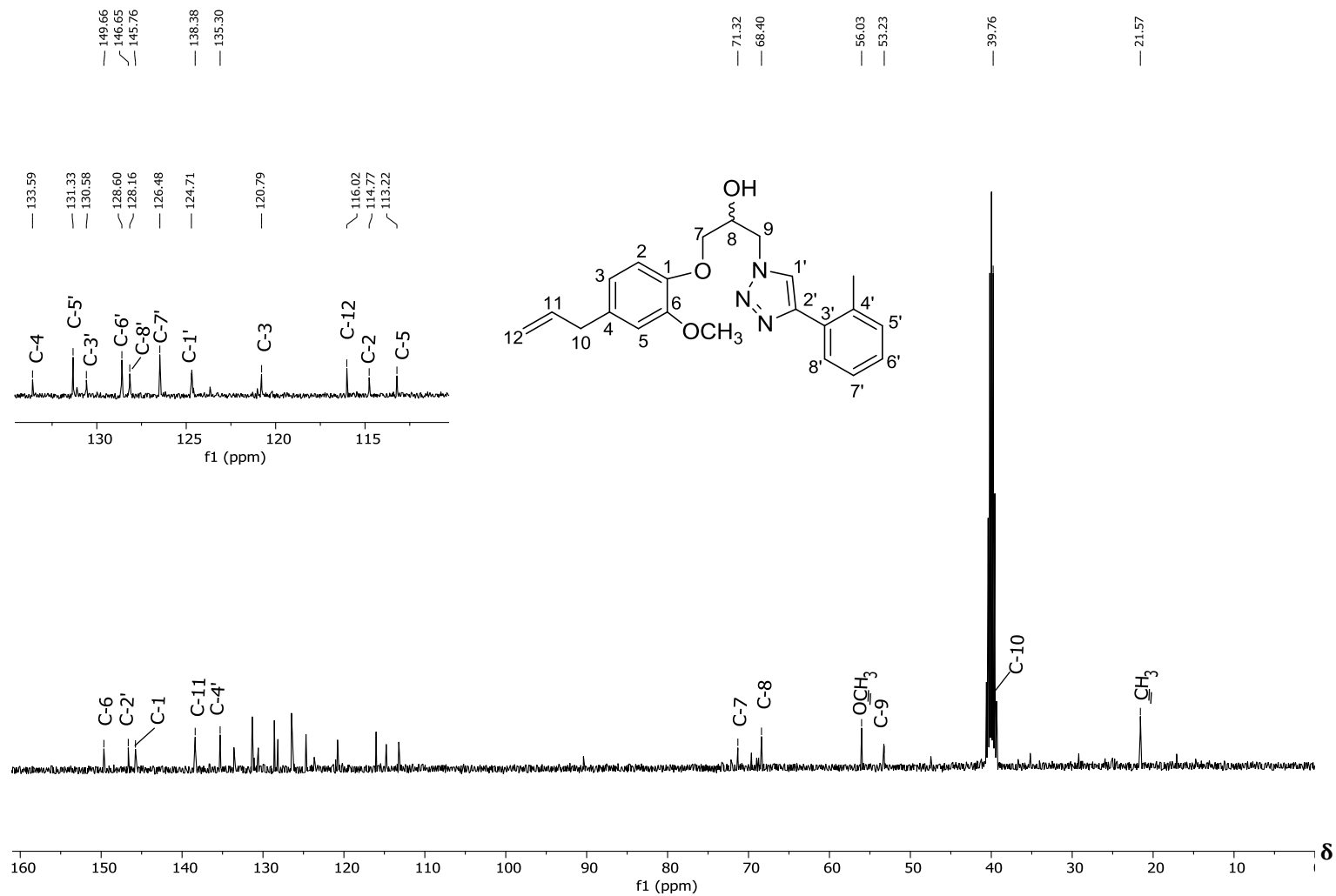


Figura 51 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto **5t**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

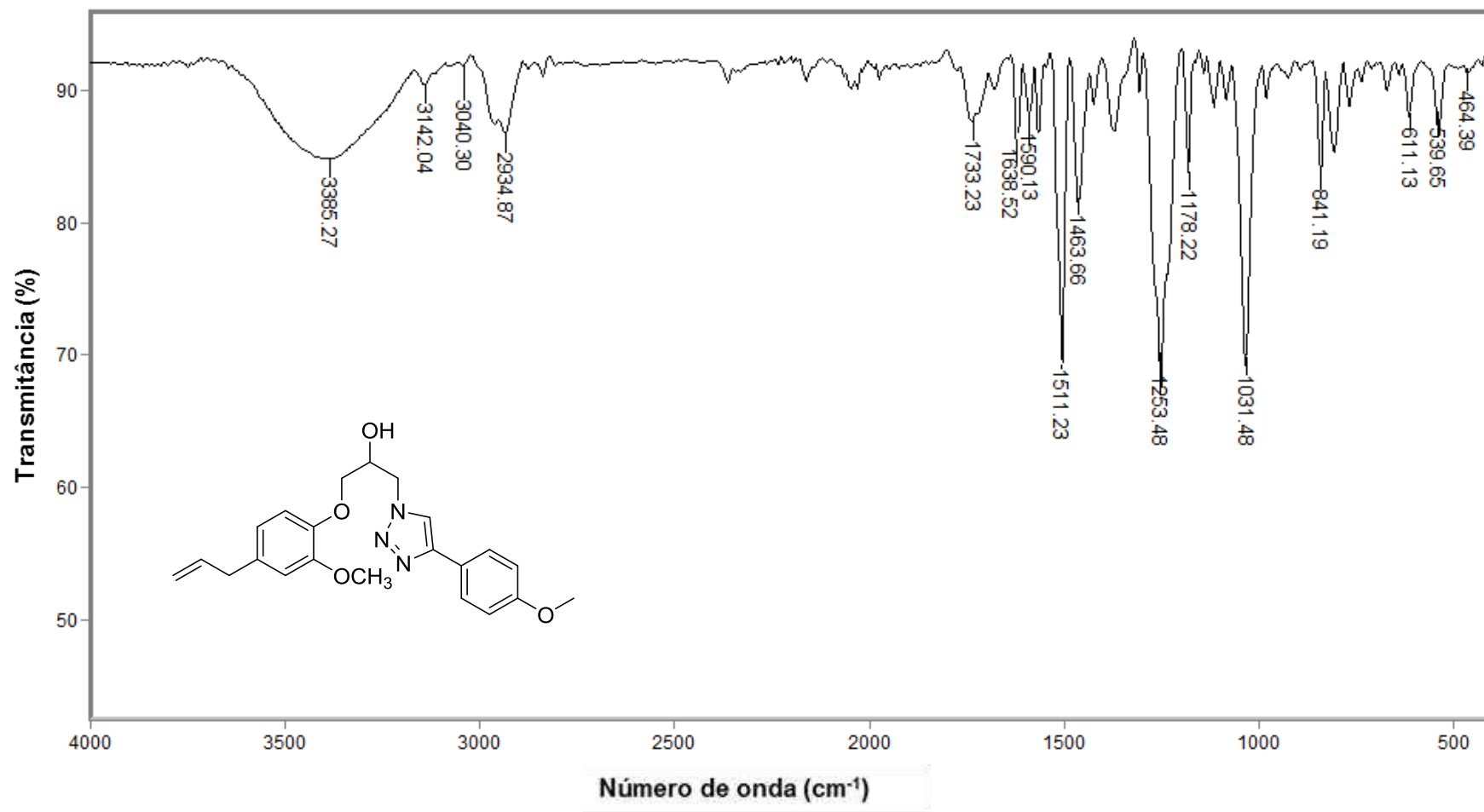


Figura 52 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5u**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

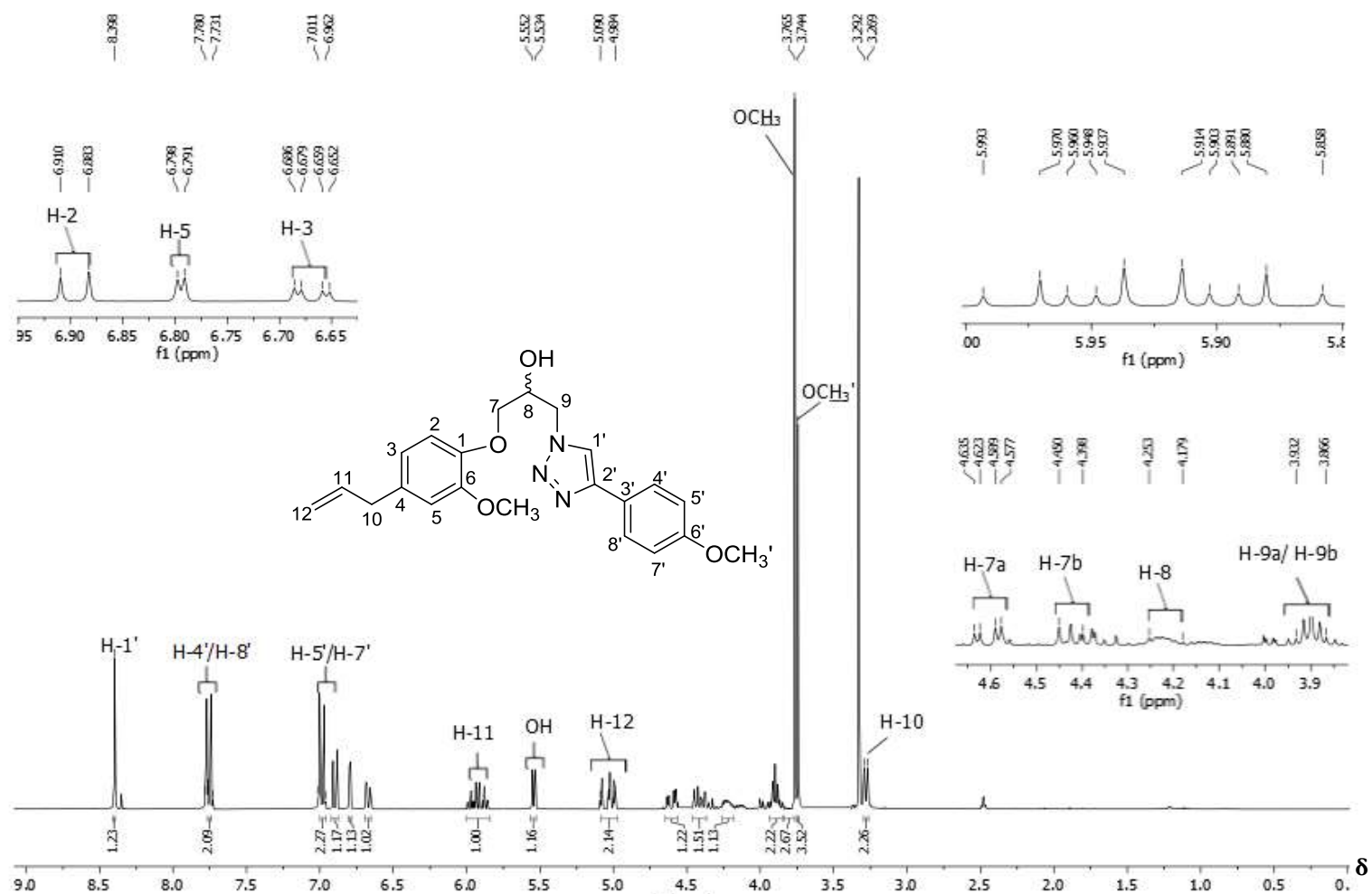


Figura 53 – Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) do composto **5u**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

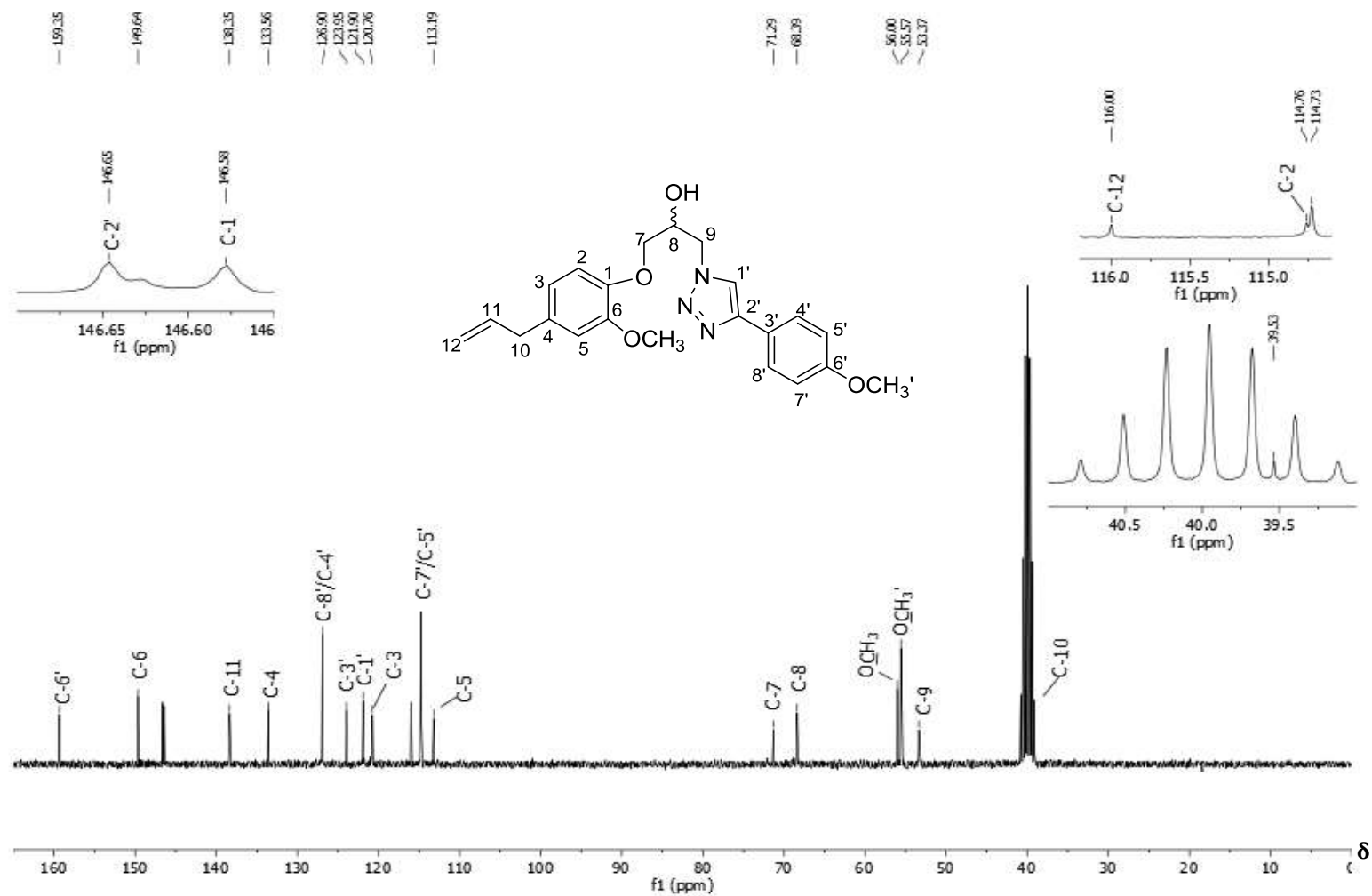


Figura 54 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) do composto **5u**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

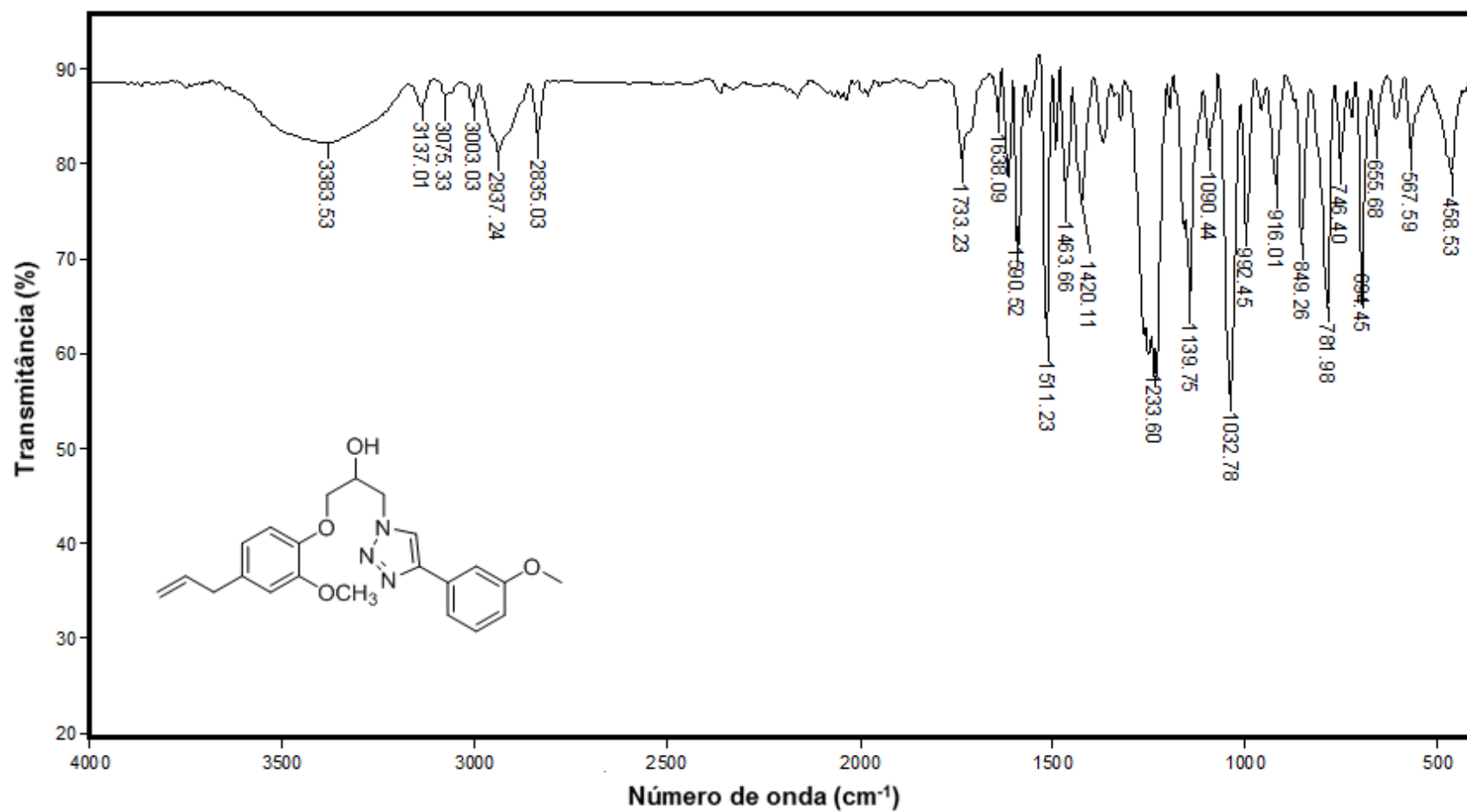


Figura 55 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5v**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

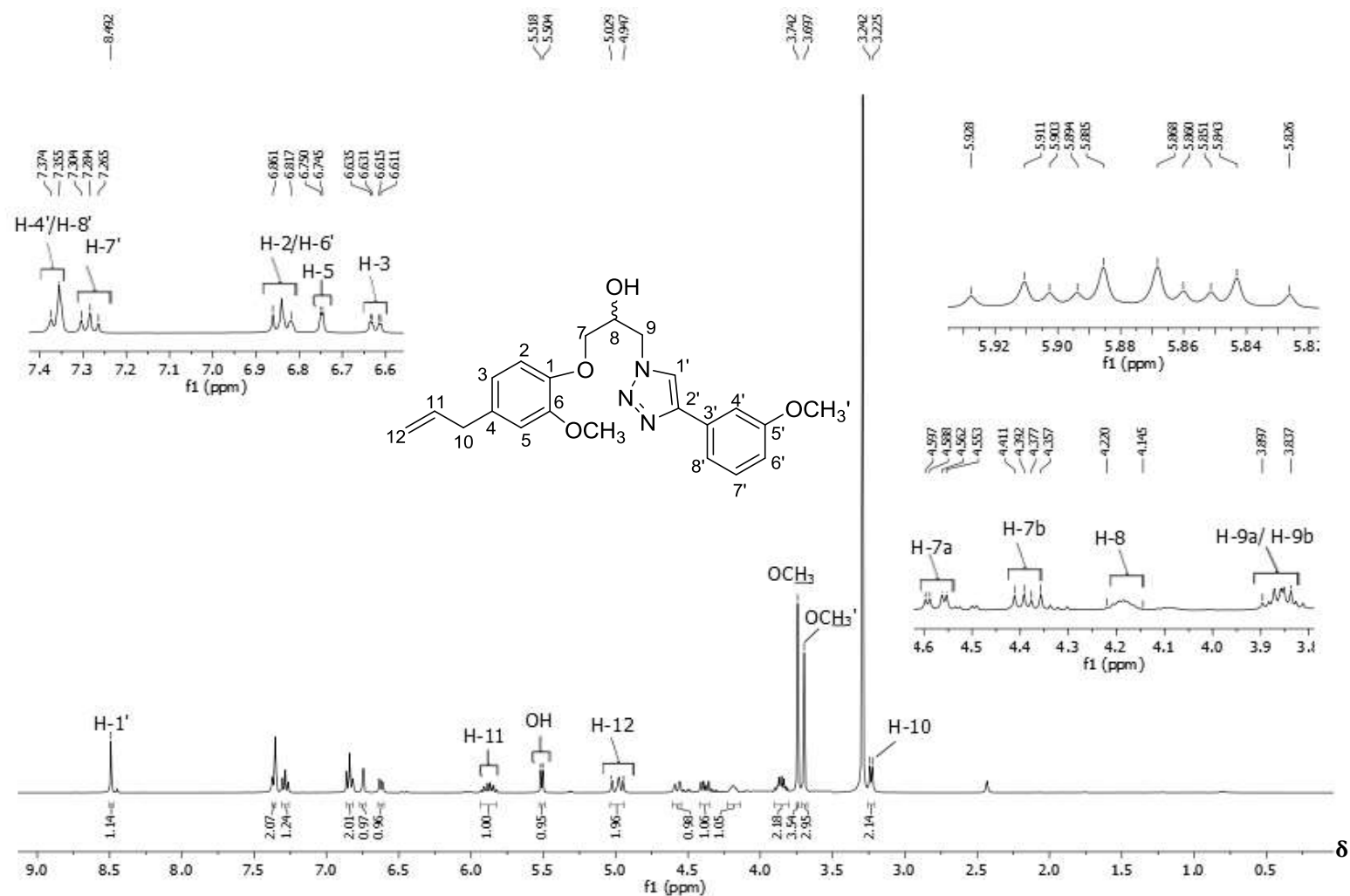


Figura 56 – Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **5v**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

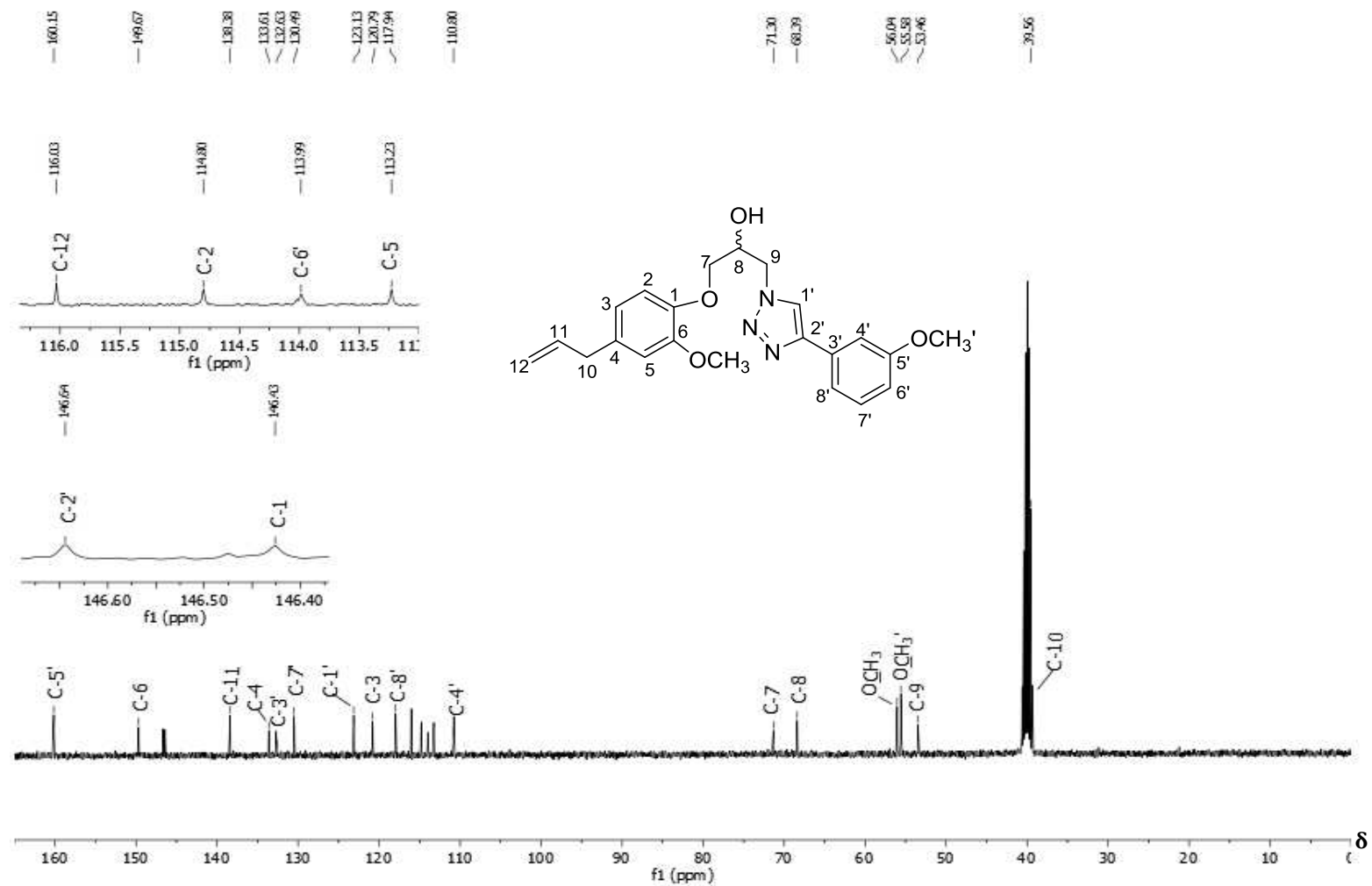


Figura 57 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto **5v**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

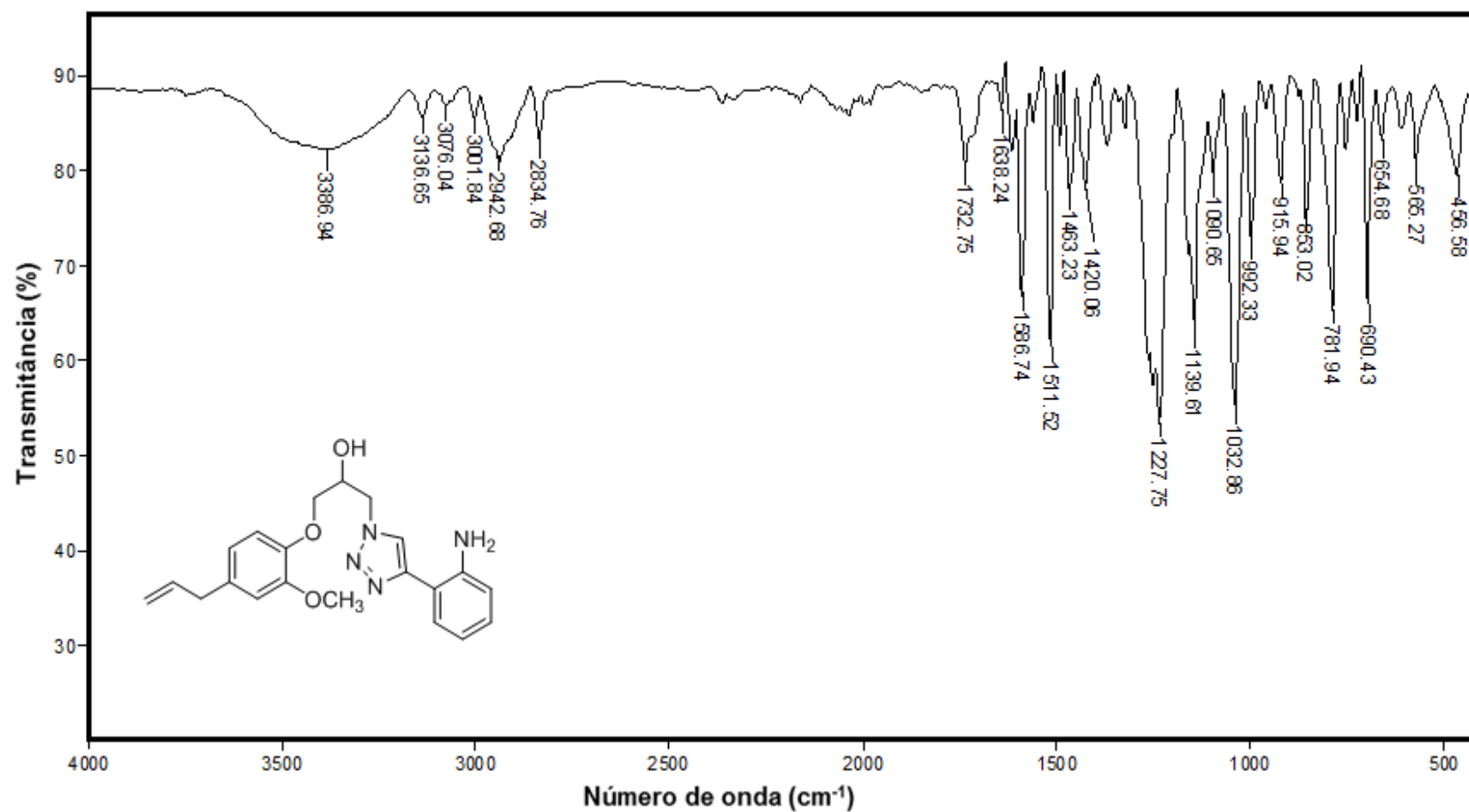


Figura 58 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5w**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

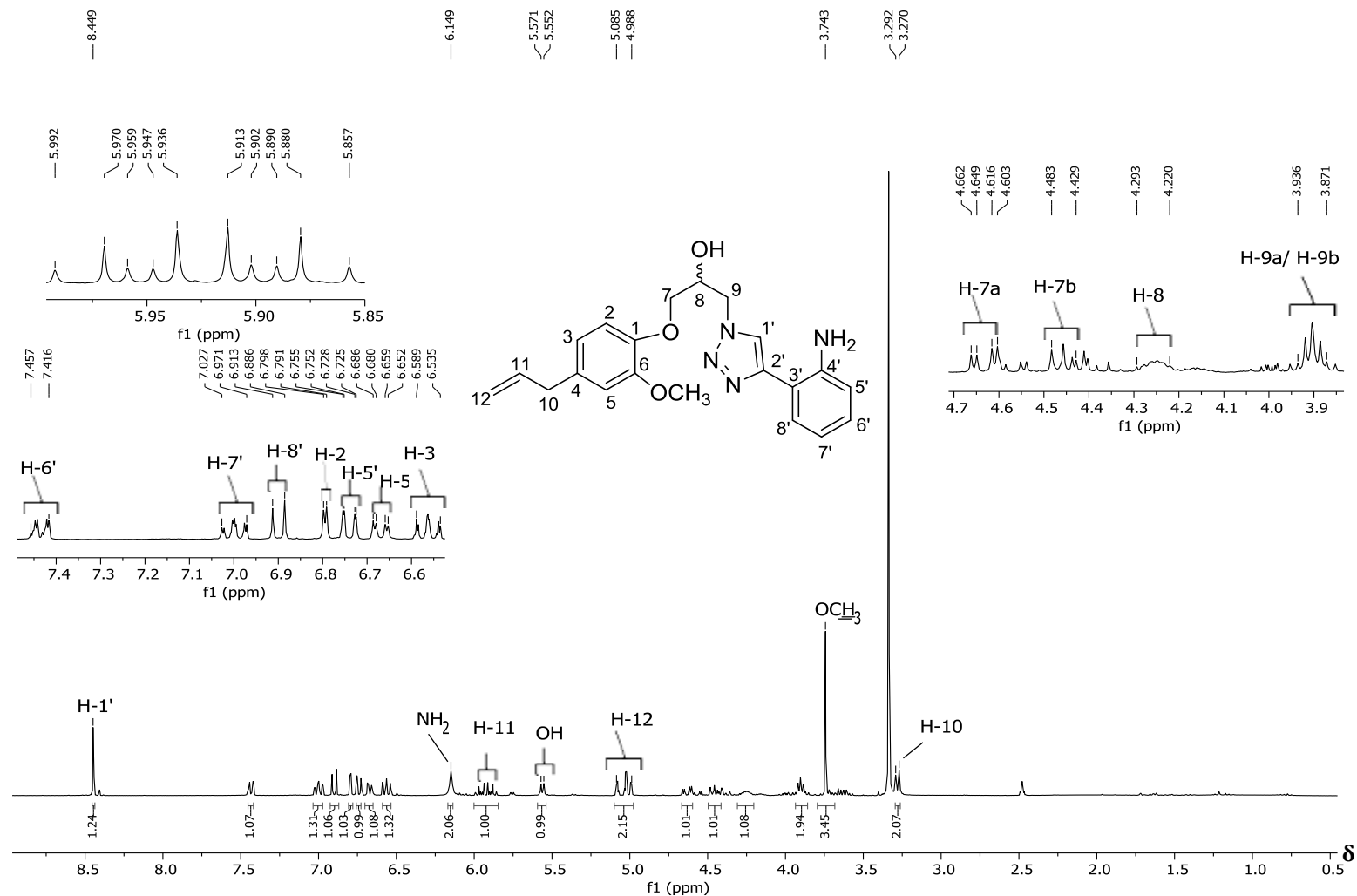


Figura 59 – Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) do composto **5w**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

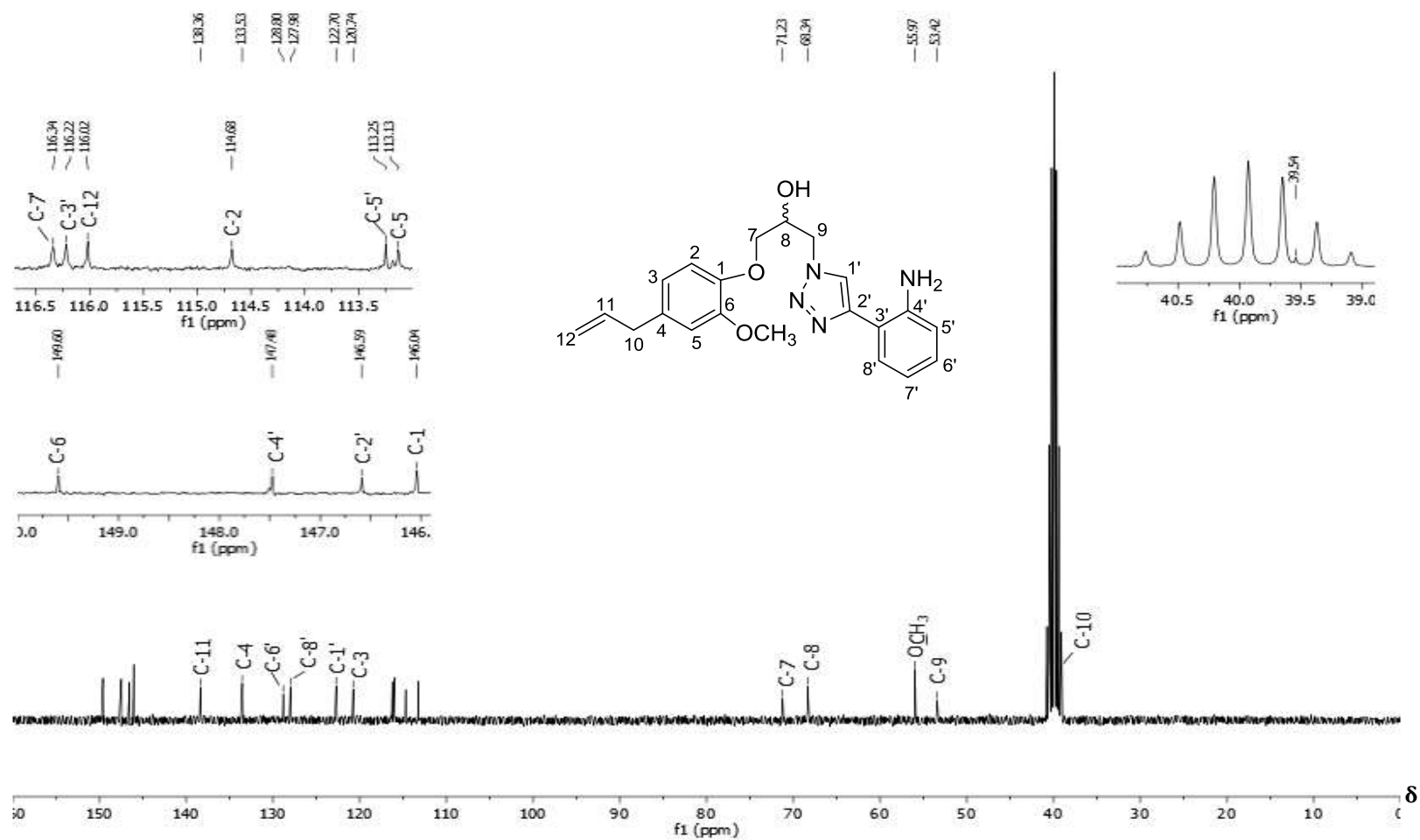


Figura 60 – Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) do composto **5w**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

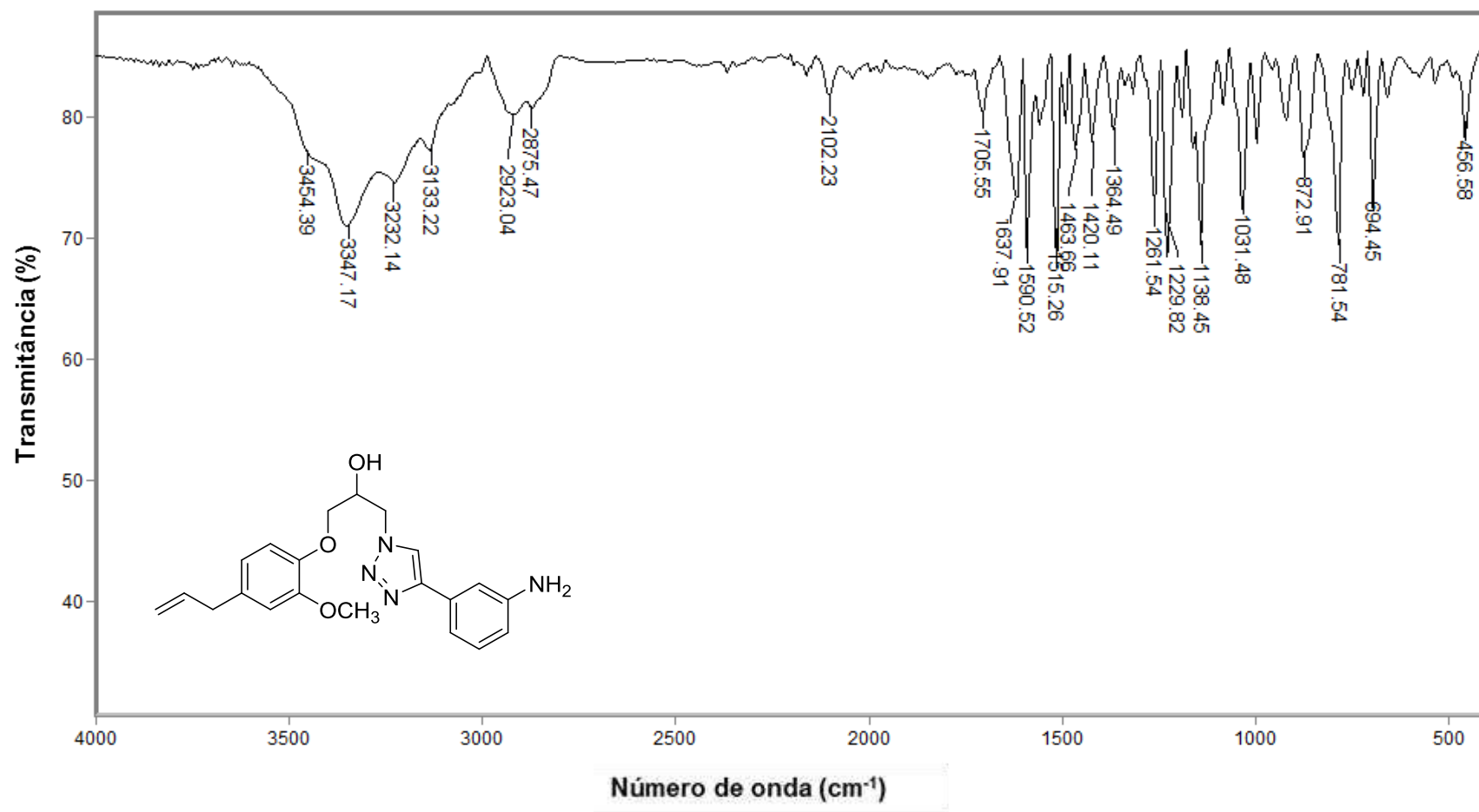


Figura 61 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5x**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

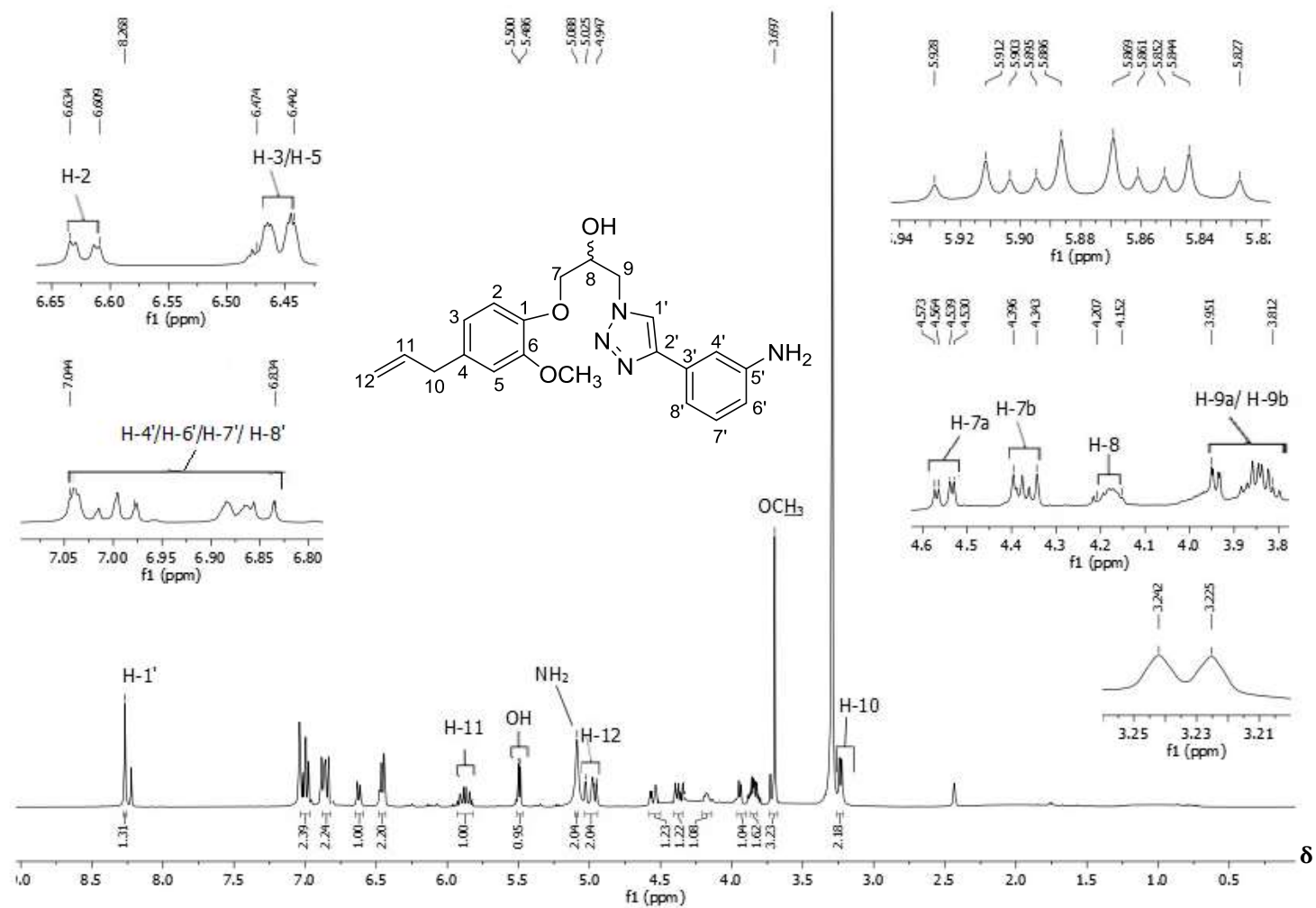


Figura 62 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto **5x**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

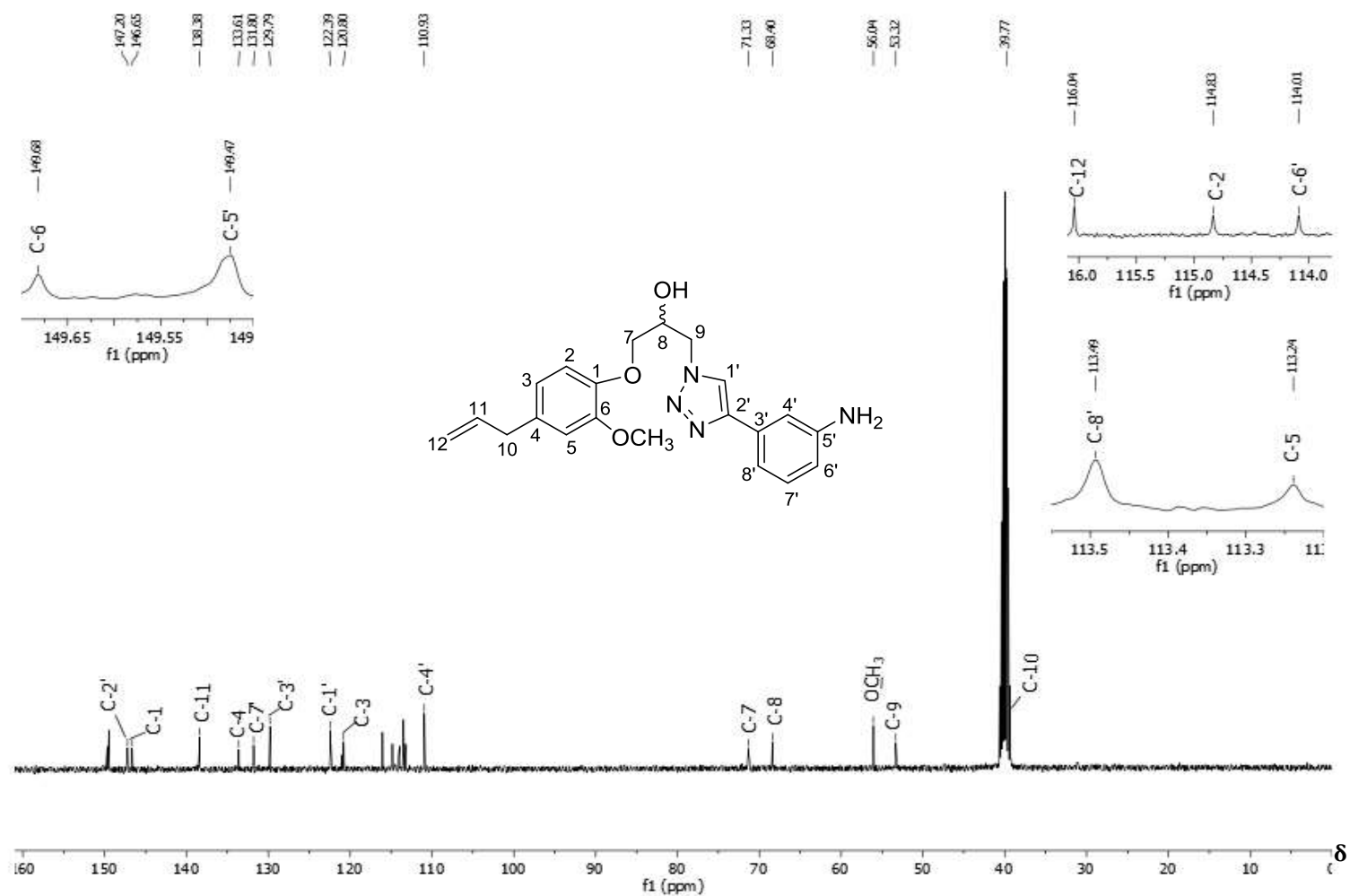


Figura 63 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto **5x**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

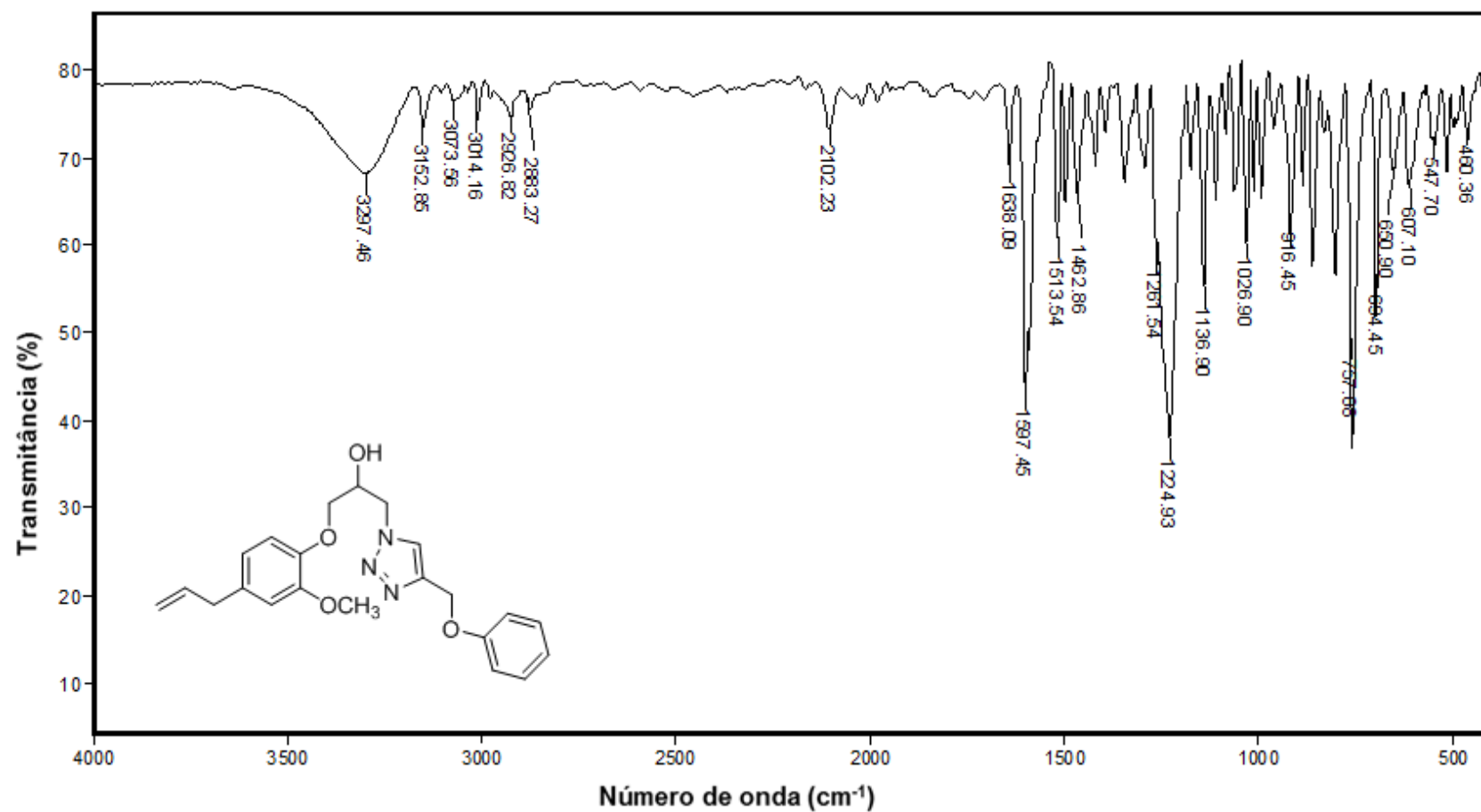


Figura 64 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5y**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

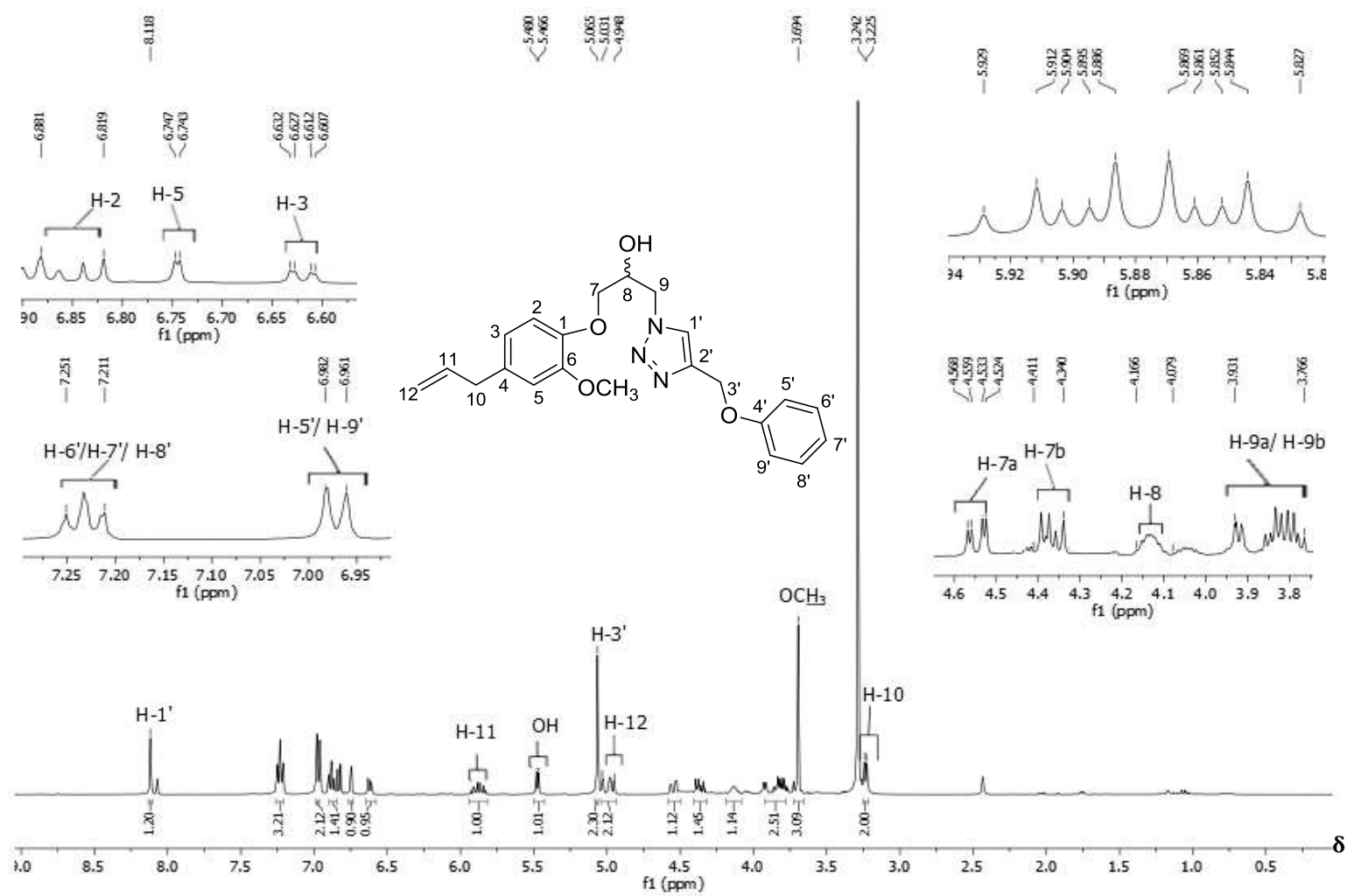


Figura 65 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto **5y**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

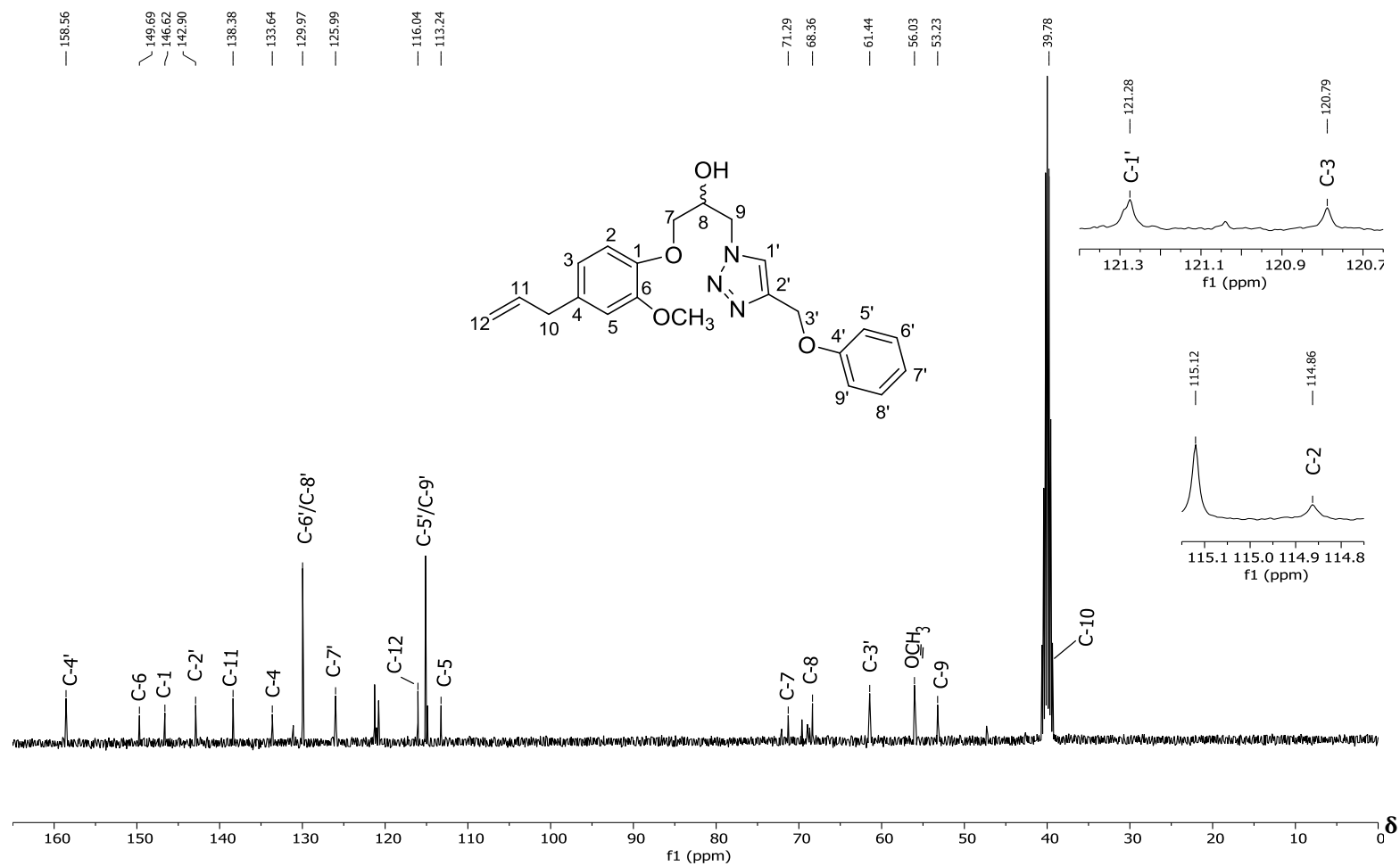


Figura 66 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto **5y**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

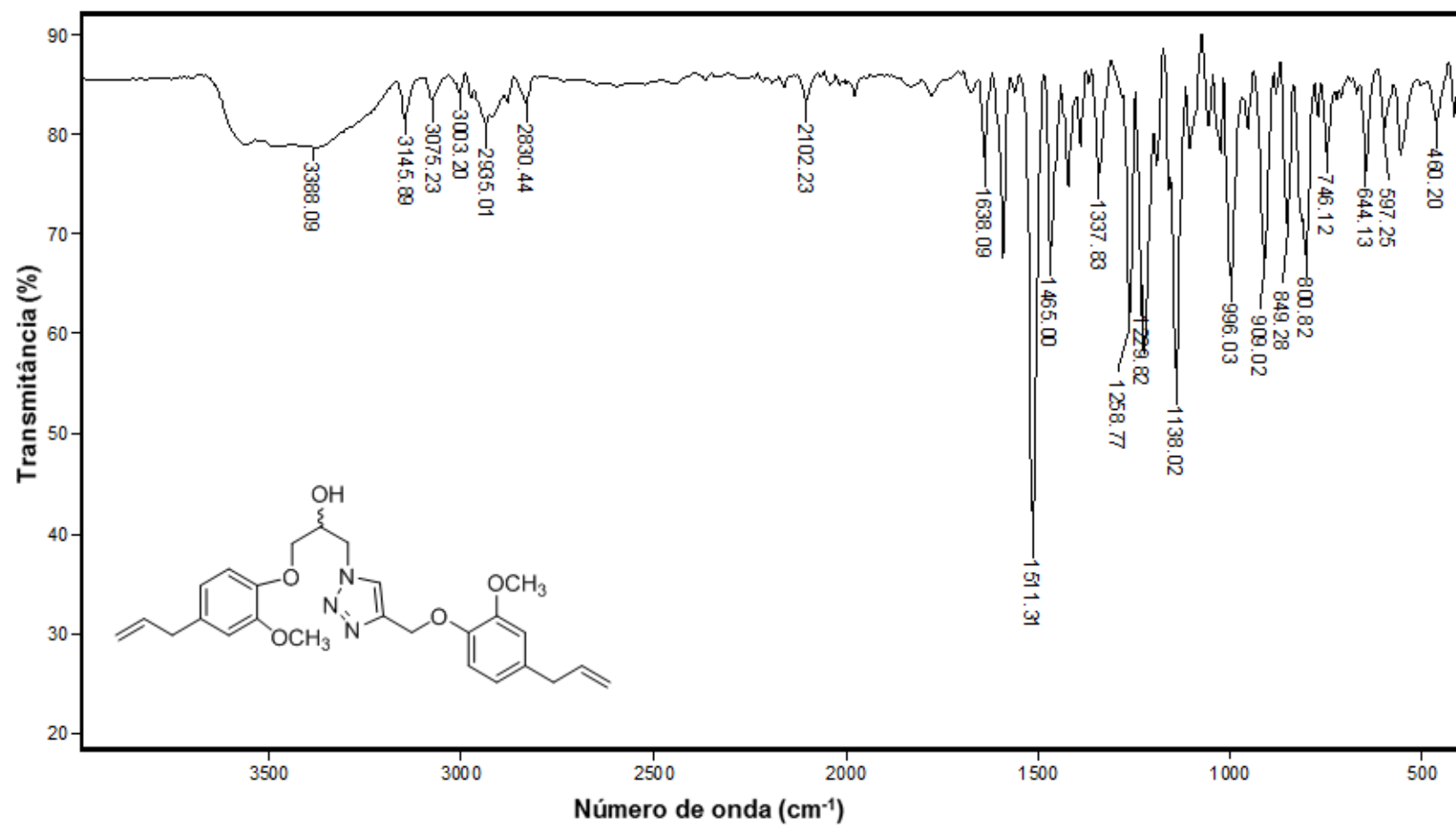


Figura 67 – Espectro no infravermelho (ATR) do composto **5z**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

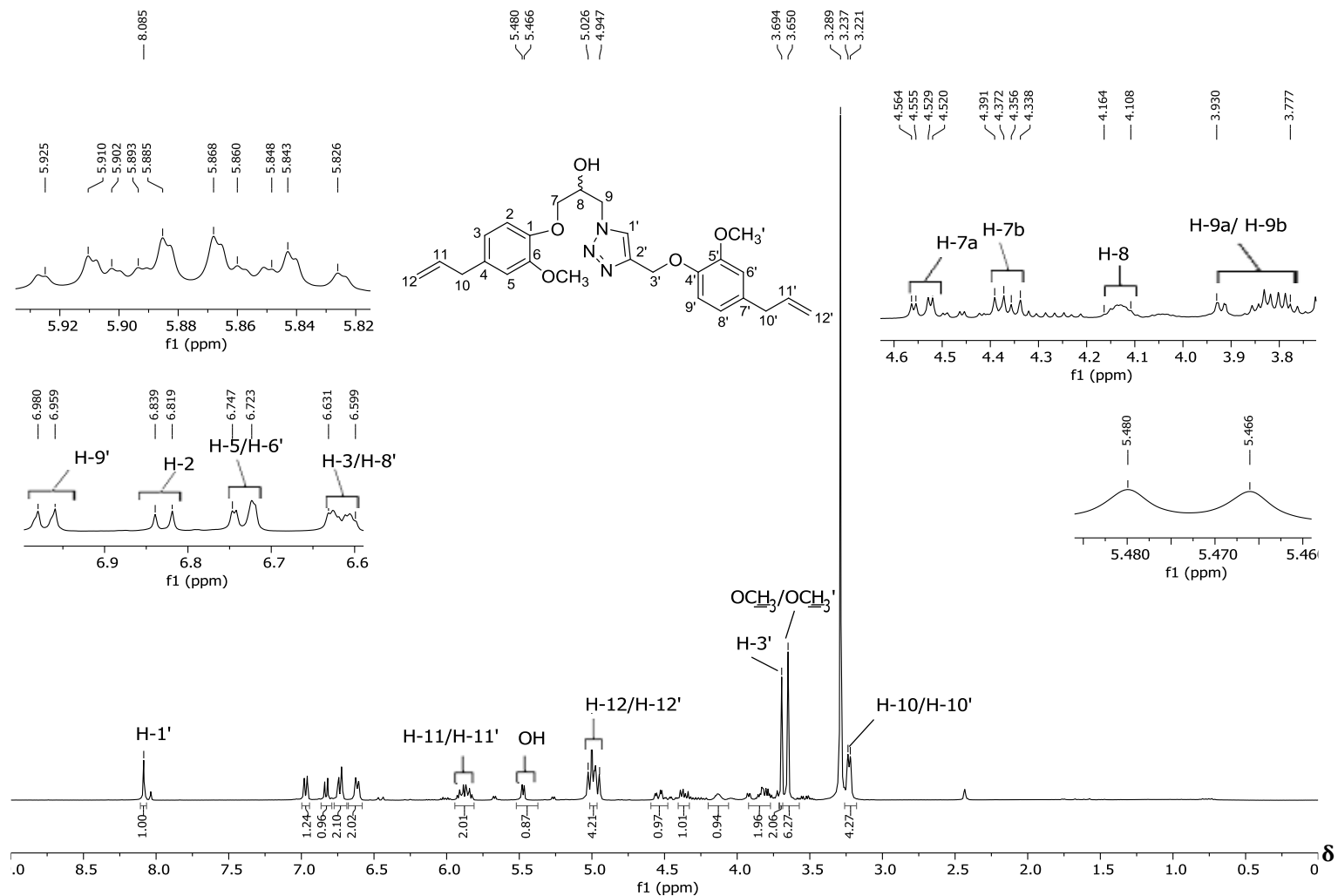


Figura 68 – Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto **5z**.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

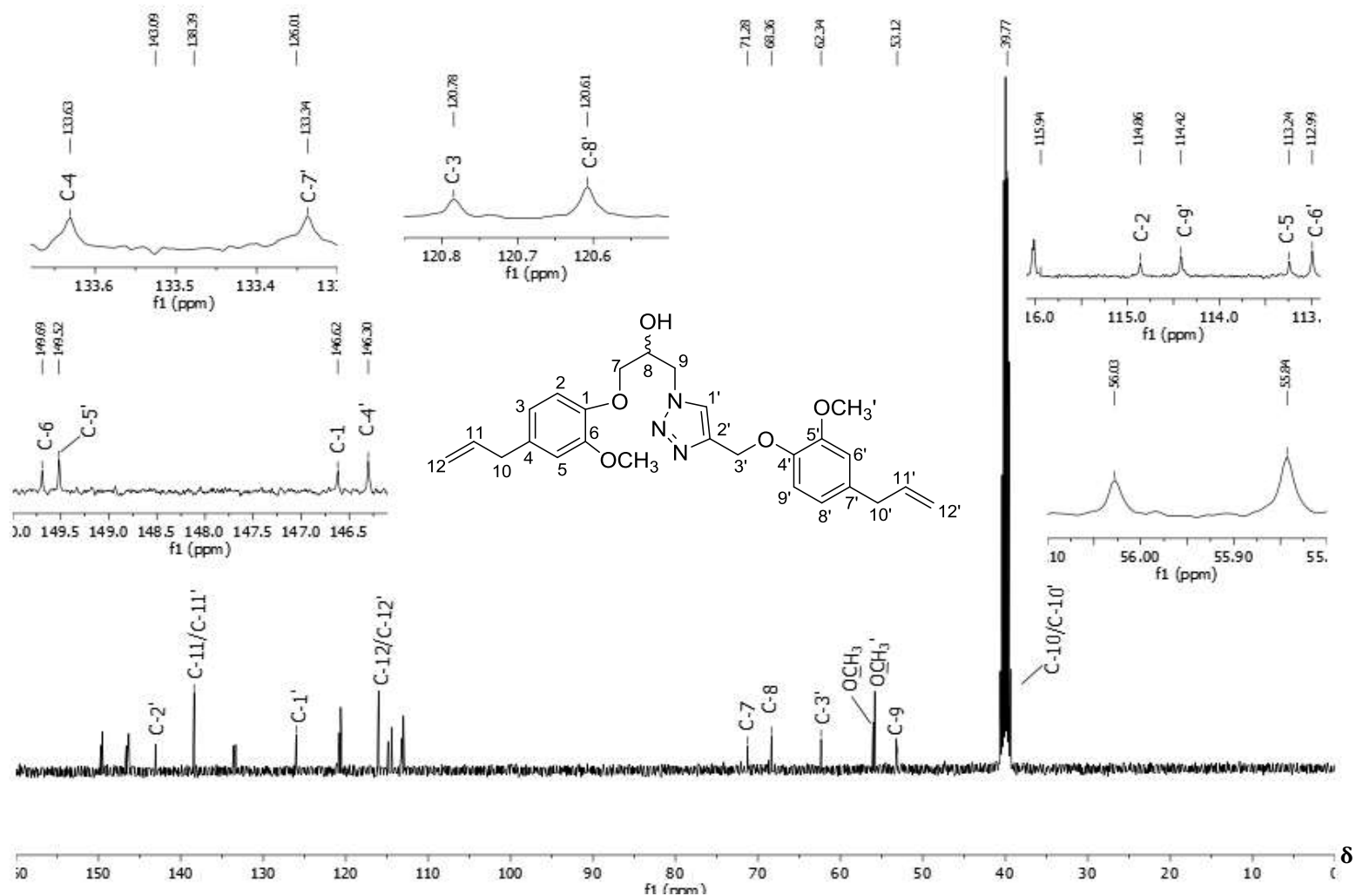


Figura 69 – Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto **5z**

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

APÊNDICE B

PUBLICAÇÃO

Eugenol

Biosynthesis, Toxicity
and Uses

Megan Shelton
Editor



Chemistry Research
and Applications

NOVA

Complimentary Contributor Copy

In: Eugenol: Biosynthesis, Toxicity and Uses ISBN: 978-1-53615-429-0
Editor: Megan Shelton © 2019 Nova Science Publishers, Inc.

Chapter 2

ANTIPROTOZOAL ACTIVITY OF EUGENOL AND DERIVATIVES

***Róbson R. Teixeira^{1,*}, Poliana A. R. Gazolla¹,
Silma F. da Silva¹, Alex Ramos Aguiar¹
and Adilson V. Costa²***

¹Chemistry Department, Universidade Federal de Viçosa,
Viçosa, Minas Gerais State, Brazil

²Physics and Chemistry Department,
Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre,
Espírito Santo State, Brazil

ABSTRACT

Parasitic diseases, such as leishmaniasis, malaria, and trypanosomiasis, affect millions of people annually and are thus a major health concern. Currently, there are several investigations focused on finding alternative drugs for the treatment of parasitic diseases, and the exploitation of natural products is a viable approach. In this regard, compounds obtained from nature can be used directly as a pharmaceutical

* Corresponding Author's E-mail: robsonr.teixeira@ufv.br.

50 *Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.*

or can be chemically modified to afford derivatives with improved pharmacological activity. Eugenol is a natural compound which has been identified in several aromatic plants and that presents a number of biological activities, including antiprotozoal. In this book chapter, it will be covered the advances concerning the antiprotozoal activity of eugenol as well as natural and synthetic derivatives of it. It is going to be demonstrated that chemical modifications of eugenol can afford promising antiprotozoal compounds.

Keywords: antimalarial, eugenol, parasitic diseases, antiprotozoal activity, leishmanicidal, trypanocidal

INTRODUCTION

Parasitic diseases affect millions of hundreds of people annually and constitute an important global health problem. They are a serious threat mainly to the poorest population around the world and represent a significant issue in terms of human health and well-being [1]. Malaria, trypanosomiasis, and leishmaniasis are some examples of parasitic diseases.

The term parasitic disease is related to the infections caused by protozoa and helminth worm species. Humans can harbor around 300 helminth worms and nearly 100 protozoa. Not all of them are pathogenic to human beings; however, some of them are responsible for approximately 20 human diseases or disease complexes which are among the most relevant diseases around the world, mainly in the tropics [2].

From the historical standpoint, until the end of the nineteenth century, parasitologists were concerned with the discovery of parasites, their host and their life cycles. However, this focus changed with the perception of the involvement of parasites with human diseases. As a result, the approach to the subject significantly altered from zoologist point of view to medicinal [2].

Currently, there are several investigations focused on finding drugs for the treatments of parasitic diseases. In the search for new drugs for the treatment of diseases, the exploitation of natural products is a viable

approach. In this regard, compounds obtained from nature can be used directly as a pharmaceutical or can be chemically modified to afford derivatives with improved pharmacological activity [3-12].

Eugenol is a natural phenylpropanoid compound, which has been identified in several aromatic plants such as *Myristica fragrans* Houtt. (nutmeg), *Cinnamomum verum* J. Presl (true cinnamon), *C. loureirii* Nees. (Saigon cinnamon), *Ocimum gratissimum* Forssk. (basil) and *Ocimum basilicum* L. (sweet basil). However, *Eugenia caryophyllata* (= *Syzygium aromaticum*) can be considered the principal natural source of this compound as it represents between 45% and 90% of the composition of the essential oil derived from this species. Eugenol is a versatile starting material and building block for organic and bio-organic synthesis [13]. In addition, several biological activities have been reported for eugenol, including antiprotozoal [14].

In this book chapter, it will be covered the advances concerning the antiprotozoal activity of eugenol [14] as well as natural and synthetic derivatives of it. It will not be covered studies related to the antiprotozoal activity of formulations containing eugenol or derivatives of it.

LEISHMANICIDAL ACTIVITY OF EUGENOL AND ITS DERIVATIVES

Among the parasitic diseases, Leishmaniasis is one of the most important. It corresponds to a complex of diseases caused by the protozoan *Leishmania*. It affects 350 million people in 98 countries, with a global incidence of 0.9 – 1.6 million cases per year [15]. *Leishmania* parasites are transmitted *via* the bites of infected female phlebotomine sandflies. Three main clinical manifestations of leishmaniasis, depending on the parasite species and the host-parasite relationship, are known: visceral (often known as Kalazar and the most serious form of the disease), cutaneous (the most common), and mucocutaneous [16]. Visceral leishmaniasis is responsible for 20,000 - 40,000 deaths annually [15].

52 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

Traditionally, chemotherapy for leishmaniasis has relied on the use of pentavalent antimonial drugs, such as *N*-methylglucamine antimoniate (Figure 1), which is one of the most widely used drugs [17]. However, this drug has limited clinical potential due to the occurrence of serious side effects and a high incidence of disease recurrence [18]. Pentamidine [19], amphotericin B [19], paromomycin [20], and miltefosine [21, 22] are other drugs that have been used for the treatment of leishmaniasis (Figure 1). The drugs used in the therapy, however, have limitations in common: (i) they are toxic and their long-time administration causes various undesirable side effects; (ii) they are costly; (iii) they show low efficacy in endemic areas due to the observed resistance of various parasite species [23]. The aforementioned problems illustrate the need to develop new antileishmanial drugs. As a consequence, several investigations have been conducted to find alternative treatments for leishmaniasis [24].

Ocimum gratissimum L. is an aromatic subshrub species that belongs to the Lamiaceae family and is considered an important producer of essential oil, widely used in folk medicine [24]. An investigation conducted with this species revealed that its eugenol-rich essential oil presents leishmanicidal activity. The IC_{50} values of the essential oil against promastigote and amastigote forms of *Leishmania amazonensis* were, respectively, $135 \mu\text{g mL}^{-1}$ and $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Eugenol alone was also evaluated and the activity against promastigote form was even more pronounced (IC_{50} value of $80 \mu\text{g mL}^{-1}$) [25]. Other reports on the leishmanicidal effect of eugenol-rich essential oils are also described in the literature [26-27] and they are possibly associated with the high content of eugenol in these essential oils.

Considering the antileishmanial activity of eugenol, researchers have chemically modified its structure directed to find novel, less toxic, and more effective antileishmanial drugs. Thus, Teixeira's research group converted eugenol (**1**) into a series of triazole derivatives [28]. The preparation of the derivatives started with the extraction of eugenol (**1**) from cloves. Subsequently, this compound was converted, via alkylation procedures, into alkynes (**2**) and (**4**) (Figure 2). Compound (**3**) was prepared by treating pent-4-yn-1-ol with methanesulfonyl chloride [28].

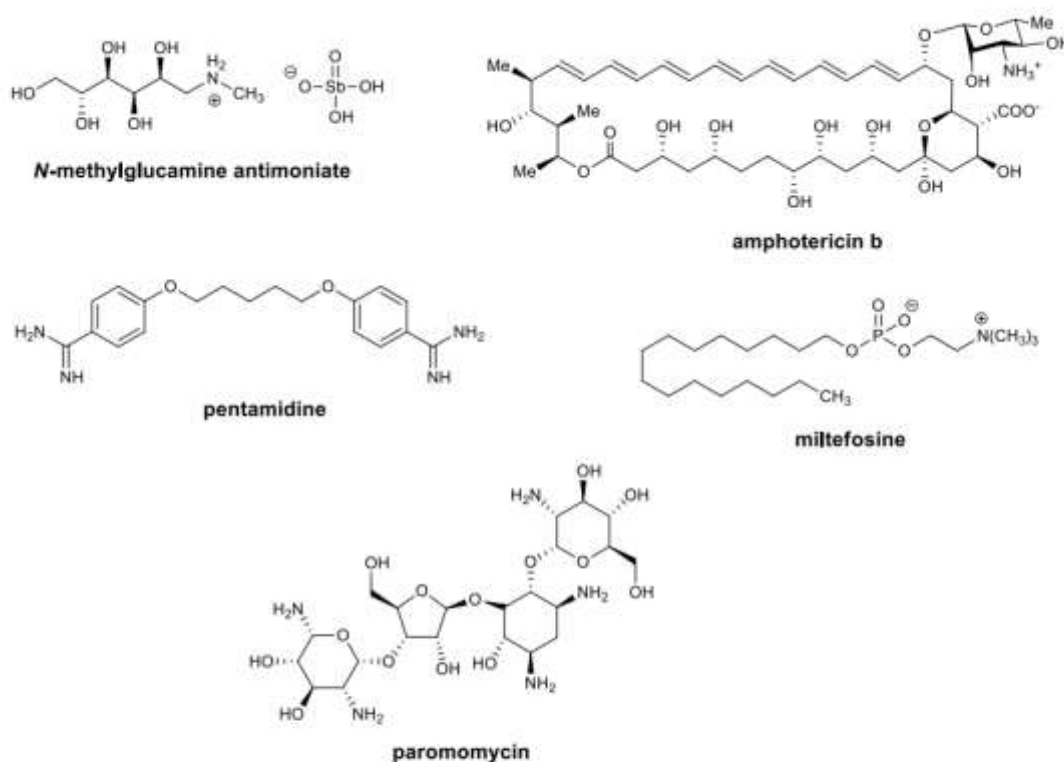


Figure 1. Structures of compounds used in the chemotherapy of leishmaniasis.

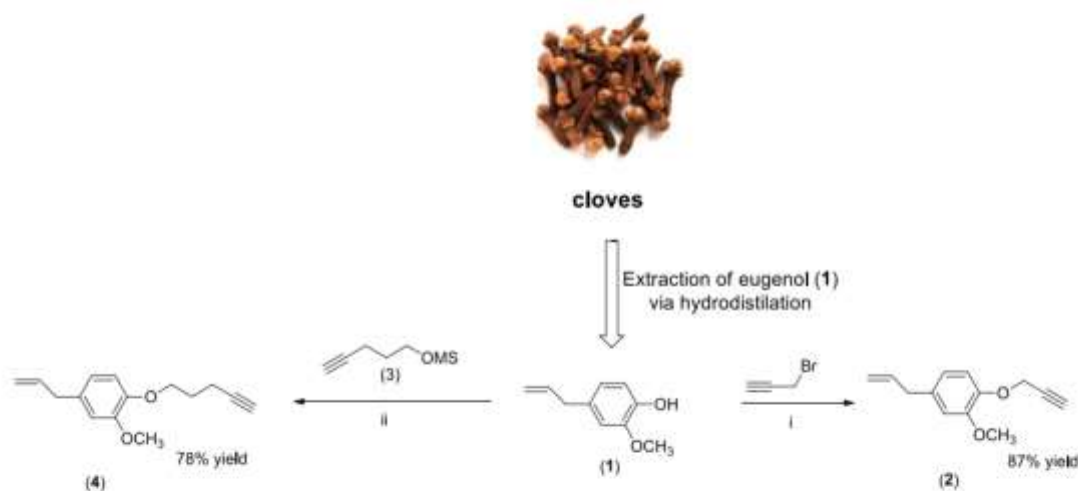


Figure 2. Preparation of alkylated derivatives (2) and (4) from eugenol (1). The reactions conditions were as followed: (i) NaOH, CH₃OH, 40°C; then acetonitrile, r.t.; (ii) NaOH, CH₃OH, 40°C; then acetonitrile, 70°C [28].

Then, compounds (2) and (4) were submitted to the Copper(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition (CuAAC), also known as click reaction [29-34], with a series of benzyl azides (Figure 3).

54 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

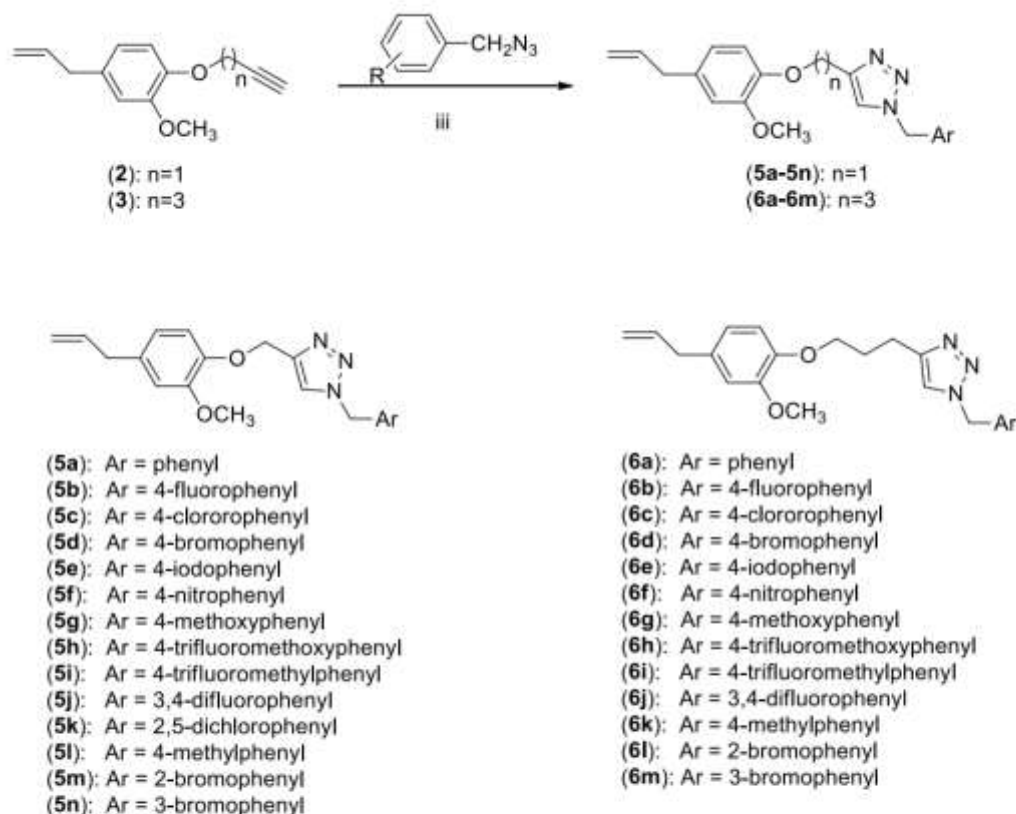


Figure 3. Preparation of a series of eugenol derivatives bearing triazole portions. Reagents and conditions: (iii) Sodium ascorbate (40 mol%), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (20 mol%), EtOH/ H_2O (1:1 v/v) [28].

The evaluation of the leishmanicidal activity of the compounds (**5a-5n**) and (**6a-6m**) against the promastigote form of *Leishmania amazonensis*, which causes cutaneous leishmaniasis, showed that the compounds present activity with different degrees of potency (Table 1). The triazole derivatives of eugenol (**1**) were less potent than the pentamidine and amphotericin B used as positive controls in the bioassays. The most active derivative (**6k**) was used in subsequent assays [28].

The intracellular amastigote form of *L. amazonensis* is responsible for the infection in mammals. The most potent eugenol triazole derivative (**6k**) was also evaluated against macrophages infected with amastigote form. Macrophages are the main host cells used in the evaluation of *in vitro* infection assays with *L. amazonensis*.

Table 1. Effect of eugenol derivatives 5a-5n and 6a-6m on promastigote form of *L. amazonensis*

Compound	Promastigote IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)
5a	30.2 ± 1.5
5b	59.4 ± 1.7
5c	1780 ± 3.0
5d	993 ± 3.0
5e	2013 ± 3.0
5f	130.2 ± 2.1
5g	424.9 ± 2.6
5h	322.1 ± 2.5
5i	2013 ± 3.0
5j	969 ± 3.0
5k	49.2 ± 1.7
5l	106.2 ± 2.1
5m	159.6 ± 2.2
5n	155.8 ± 2.1
6a	37.9 ± 1.5
6b	32.2 ± 1.5
6c	817 ± 3.0
6d	286.7 ± 2.5
6e	278.9 ± 2.4
6f	173.3 ± 2.3
6g	119.5 ± 2.0
6h	145.9 ± 2.1
6i	295.2 ± 2.5
6j	177.5 ± 2.3
6k	7.4 ± 0.80
6l	913.3 ± 2.9
6m	980.2 ± 2.9
pentamidine	4.2 ± 0.3
amphotericin B	0.4 ± 0.1

It was found that compound (**6k**) was able to target the *Leishmania* parasites inside of mouse peritoneal macrophages (IC₅₀ = 1.6 μmol L⁻¹), without interfering with host cell viability (Table 2). At similar conditions, pentamidine and glucantime exhibited IC₅₀ values of 1.8 μmol L⁻¹ and 45.5 μg mL⁻¹ (124.3 μmol L⁻¹) respectively.

56 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

Table 2. *In vitro* antileishmanial activity of (6k) against promastigote, intracellular amastigote of *L. amazonensis* after 72 h of treatment, and its cytotoxicity against macrophages

Compound	Promastigote IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Amastigote ^a IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Macrophages ^b CC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Selectivity Index ^c (SI)
6k	7.4 ± 0.8	1.6 ± 0.2	211.9 ± 2.3	132.5
glucantime ^e	Nd ^d	45.5 ± 1.6	75.5 ± 2.6	1.6
pentamidine	4.2 ± 0.4	1.8 ± 0.2	8.5 ± 0.6	4.7

Arithmetic means ± Standard deviation (n = 3).

^a Intracellular amastigotes.

^b Murine peritoneal macrophages.

^c SI = CC₅₀/IC₅₀ intracellular amastigotes.

^d Nd: not determined.

^e glucantime [μg mL⁻¹].

Compound (**6k**) was assayed against uninfected murine intraperitoneal macrophages to evaluate its cytotoxicity; it was found CC₅₀ of 211.9 μmol L⁻¹. Thus, the selectivity index (SI = CC₅₀/IC₅₀ intracellular amastigotes) value for compound (**6k**) was 132.5, whereas SI = 4.7 for pentamidine and SI = 1.6 for glucantime. Therefore, the derivative (**6k**) presents lower toxicity when compared to drugs currently used in the treatment of leishmaniasis [28]. Compound (**6k**) was also evaluated with respect to the nitric oxide (NO) production. This experiment was conducted in order to determine whether anti-amastigote activity resulted from activation of the macrophage antileishmanial mechanism. It was noticed that (**6k**) did not significantly stimulate the production of nitric oxide, suggesting a direct and selective action of this derivative on the intracellular amastigote (data not shown) [28].

The DNDi (Drugs for Neglected Disease *initiative*) has reported limited requirements to be reached in order to proceed with the next stage of development towards a drug for visceral leishmaniasis caused by *Leishmania donovani* [35]. According to the criteria, IC₅₀ of the activity against *L. donovani* amastigotes in macrophages should be ≤ 10 μmol L⁻¹ and the selective index should be ≥ 10 fold more active against the parasite versus the mammalian cell line. Even though compound (**6k**) was not evaluated against *L. donovani*, it is possible to state that, base on the

selection criteria of DNDi, the triazole derivative (**6k**) is a promising compound for the treatment of leishmaniasis.

Straightforward acylation procedures were used to synthesize the eugenol derivatives (**7**) and (**8**) (Figure 4). The authors did not report yields of these reactions.

The obtained esters had their leishmanicidal activity evaluated against *Leishmania infantum chagasi*, which is also a causative agent of visceral leishmaniasis (Table 3). It was found that the derivatives (**7**) and (**8**) were more efficient than eugenol (**1**) against both forms of *L. infantum chagasi* and they had similar effects on amastigote form. Moreover, these eugenol derivatives did not present toxicity against the murine RAW 264.7 macrophage-like cell line at $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. It deserves comment the fact that the evaluated eugenol derivatives are equipotent to amphotericin B used as positive control [36].

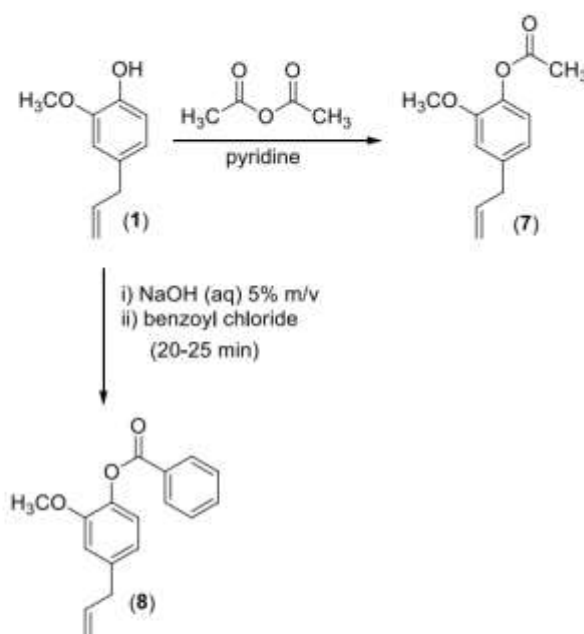


Figure 4. Preparation of *O*-acetyl and *O*-benzoyl eugenol derivatives.

In a recent publication, Coelho and collaborators also synthesized a series of esters from eugenol (**1**) presenting the general structure (**9**) shown in Figure 5.

58 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

Table 3. Leishmanicidal effect of compounds (1), (7) and (8) against *L. infantum chagasi*

Compound	Promastigote IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Amastigote IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Toxicity% RAW 264.7 cells survival at 100 µg mL ⁻¹
1	56.13 ± 2.09	20.81 ± 1.59	29 ± 1.30
7	23.21 ± 3.46	18.53 ± 4.79	97.7 ± 5.60
8	10.58 ± 0.18	14.93 ± 4.50	> 100
amphotericin B	Nd	20.44 ± 0.98	36.5 ± 0.50
pentamidine	5.30 ± 0.81	Nd	85.6 ± 6.90

Nd: not determined.

(±): Standard deviation.



R = H; NO₂; CH₃; OCH₃; Br; CF₃; F; NH₂; *t*-butyl

Figure 5. General structure of esters (9) and the most active derivative (10) prepared by Coelho and co-authors [37].

In this study, the esters were evaluated against the cysteine protease rCPB 2.8. This enzyme was chosen because cysteine proteases are important targets since they are involved in: i) the infectivity of the parasite during its interaction with the host; ii) the invasion of macrophages by promastigote forms; iii) the evasion of the immune system, degrading components of the host's extracellular matrix; iv) the transformation of the vector promastigote form to the intracellular amastigote one and in their nutrition. A total of nine eugenol ester derivatives were prepared and the most active derivative (10) (Figure 5) was capable of inhibiting the enzymatic activity by 88.2% at 100 µmol L⁻¹ (IC₅₀ = 30 ± 1 µmol L⁻¹) [37]. Even though it would be interesting to evaluate the compounds directly against the *Leishmania* parasite, this was not made in this investigation.

The eugenol derivatives (**11**), (**12**), and (**13**) were prepared as depicted in Figure 6.

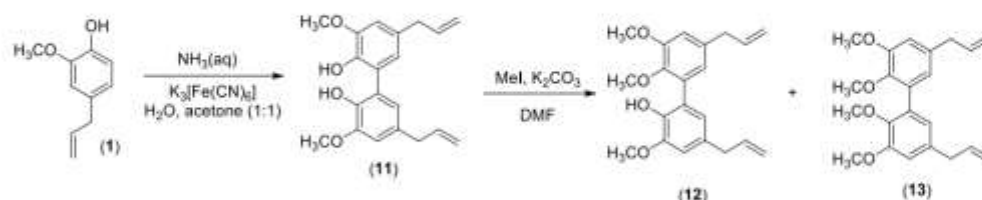


Figure 6. Preparation of neolignans (**11**), (**12**) and (**13**).

Thus, the oxidative coupling of eugenol (**1**) afforded the neolignan dehydrodieugenol (**11**) in 70% yield. Subsequently, the treatment of one equivalent of (**11**) with one equivalent of methyl iodide gave the dehydrodieugenol monomethyl ether (**12**) as the major product (48.5% yield) along with the dimethyl ether (**13**) (14.1%) [38]. The synthesized compounds were evaluated against the promastigote form of *Leishmania amazonensis* and the results are shown in Table 4.

Compared to the positive controls meglumine antimoniate and amphotericin B, the compounds (**11**), (**12**), and (**13**) presented much lower efficiency. The monomethyl ether (**12**) corresponded to the most active derivative [38]. As previously mentioned, eugenol (**1**) presented $\text{IC}_{50} = 85 \mu\text{g mL}^{-1}$ as evaluate against *L. amazonensis* [25]. Based on this result, the compounds (**11**), (**12**), and (**13**) are more potent than eugenol (**1**).

Table 4. Leishmanicidal activity of compounds (11**), (**12**), and (**13**) against *L. amazonensis***

Compound	Leishmanicidal activity (IC_{50} in $\mu\text{g mL}^{-1}$)
11	42.20
12	13.68
13	47.75
meglumine antimoniate	> 4.00
amphotericin B	0.13

The Baylis-Morita Hillman reaction [39-42] was utilized as the key process for the preparation of the eugenol adducts (**14-16**) as shown in

60 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

Figure 7 [43]. Thus, eugenol was initially converted to an ester via reaction with acrylic acid. Subsequent treatment of the ester with different aldehydes in the presence of DABCO afforded the corresponding Baylis-Hilman adducts (**14-16**) [43].

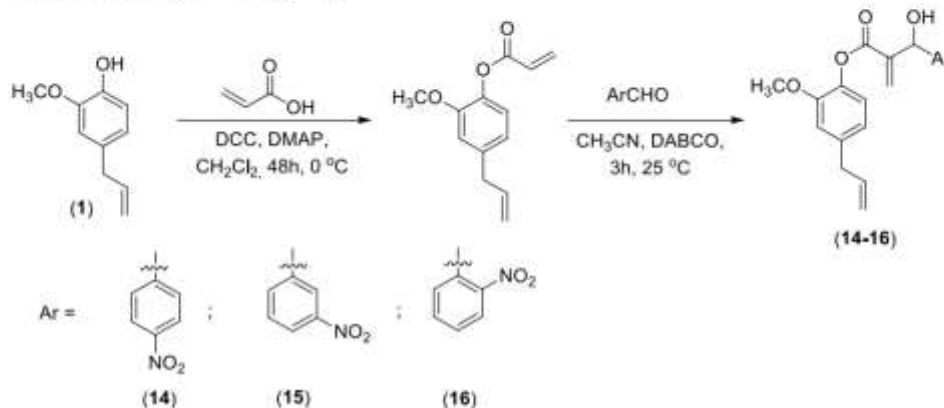


Figure 7. Steps involved in the preparation of adducts (**14-16**).

As can be seen in Table 5, the leishmanicidal activity of adducts against *L. amazonensis* depends on the position of the nitro group ($-\text{NO}_2$). Moreover, all of them are more active than eugenol (**1**) (reference compound) and glucantime (positive control) [43]. The most potent compound (**16**) presents the nitro group at the *ortho* position of the aromatic ring.

Table 5. Leishmanicidal activity of eugenol (1**) and Baylis-Hilman adducts (**14-16**) against *L. amazonensis* promastigote form**

Compound	Promastigote IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Red blood cell CC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Selective Index (SI)
1	77.15 ± 1.77	> 400	> 5.18
14	8.75 ± 0.44	> 400	> 45.71
15	10.49 ± 0.52	> 400	> 38.13
16	4.71 ± 0.24	> 400	84.92
glucantime	1633 ± 437.29	1175.02	1.39
amphotericin B	0.52 ± 0.03	11.61	22.34

SI = $\text{CC}_{50}/\text{IC}_{50}$ promastigotes.

($\pm$): Standard deviation.

Even though the compounds were not evaluated against the amastigote form of *L. amazonensis*, the authors reported the selective index (SI) based

on the activity of the compounds on promastigote form and on red blood cells. Considering that, the most active compound (**16**) also presented the best selective index [43].

Debnath, Mapathra, and co-workers [44] prepared three sets of compounds derived from eugenol (**1**) (Figure 8). All of these derivatives were tested on promastigote and amastigote forms of *Leishmania donovani*. Eugenol (**1**) and 4-allyl-1,2-dimethoxybenzene (**53**) were used as reference substances in the bioassays; miltefosine and amphotericin B were utilized as positive controls [44].

Considering the anti promastigote activity (Table 6), it can be noticed that derivatives (**17-30**) were more potent than eugenol (**1**) and compound (**53**). As a general trend, the potency of substances (**17-30**) increased with the size of chain length and the best activity was observed for compound **27**. Therefore, the C10 chain length is the best in terms of anti promastigote activity of derivatives (**17-30**). In terms of the second set (**31-49**) of eugenol derivatives, they also presented superior activity against promastigote form than the reference compounds eugenol (**1**) and (**53**) (Table 6). The IC_{50} varied from $20.13 \pm 0.91 \mu\text{mol L}^{-1}$ to $162.00 \pm 4.92 \mu\text{mol L}^{-1}$ and the most potent was derivative (**49**).

Regarding the third series (**50-52**) of eugenol derivatives, once again they were most active than eugenol (**1**) and (**53**), and compound (**52**) presented best activity ($IC_{50} = 52.97 \pm 1.57 \mu\text{mol L}^{-1}$, Table 6).

The results of anti amastigote activity are presented in Table 7. For the set of compounds (**17-30**), the IC_{50} values of derivatives (**17-21**) were comparable to eugenol (**1**) and (**53**), while substances (**22-30**) were more potent than the reference compounds. The best activity was observed for compound (**29**), which has a C16 chain length. Although compound (**29**) was less active than the positive controls miltefosine and amphotericin B, its selective index was superior.

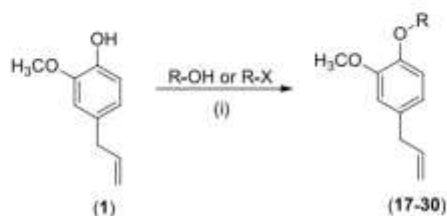
For the compounds containing aromatic groups in the second set of substances, while for compounds (**31-33**) the anti amastigote activity was comparable to the anti promastigote effect, the anti amastigote activity for derivatives (**34-38**) was significantly enhanced. As a general trend, the anti amastigote activity increased with the chain length. The most active

62 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

compound (34) was more efficient than miltefosine and presented better selective index (SI) than the positive controls.

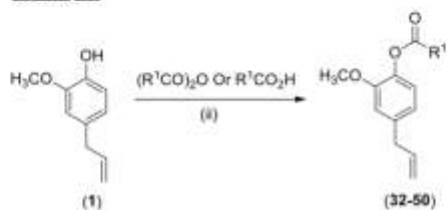
In terms of the third set o compounds, the anti amastigote activity was moderate, with compound (52) being the most effective.

First Set



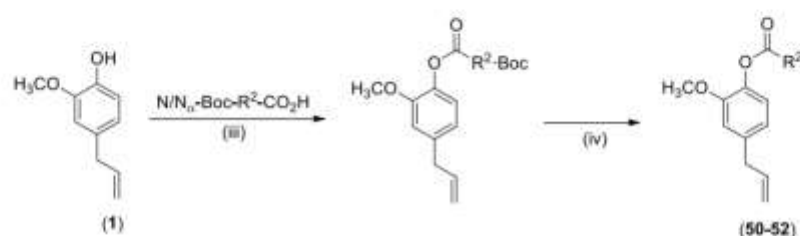
Compound	R	Compound	R
17	C ₃ H ₅	24	C ₇ H ₅
18	C ₅ H ₉	25	C ₈ H ₁₇
19	C ₂ H ₅	26	C ₉ H ₁₉
20	C ₃ H ₇	27	C ₁₀ H ₂₁
21	C ₄ H ₉	28	C ₁₂ H ₂₅
22	C ₅ H ₁₁	29	C ₁₆ H ₃₃
23	C ₆ H ₁₃	30	C ₁₈ H ₃₅ (<i>cis</i> only)

Second Set



Compound	R ¹	Compound	R ¹
31	CH ₃	41	C ₄ H ₉
32		42	C ₅ H ₁₁
33		43	C ₆ H ₁₃
34		44	C ₇ H ₁₅
35		45	C ₈ H ₁₇
36		46	C ₉ H ₁₉

Compound	R ¹	Compound	R ¹
37		47	C ₈ H ₂₃
38		48	C ₁₅ H ₃₁
39	C ₂ H ₅	49	C ₁₇ H ₃₅ (cys only)
40	C ₃ H ₇		

Third Set

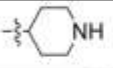
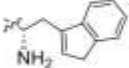
Compound	R ²
50	
51	
52	

Figure 8. Synthesis of eugenol derivatives described by Debnath, Mapathra, and co-workers [44]. Reagents and conditions: (i) DIAD/PPh₃, THF, 7–8 h, rt (for R-OH) or NaH, DMF, 3–4 h, rt (for R-X); (ii) Pyridine/CHCl₃, 6 h, rt (for R₁CO)₂O or DCC/DMAP (for R₁CO₂H); (iii) DCC/DMAP, DMF, 6–8 h, rt; (iv) HCl gas (dry), MeOH, 3 h, rt.

It is also presented in Table 7 the results of nitric oxide (NO) production. The clearance of intracellular amastigotes within the macrophages is solely mediated by NO generation [45]. As can be seen in Table 7, in addition of being the most active derivative, compound (34) was one of the best in inducing NO generation. In fact, further bioassays revealed that (34) induces NO generation in BALB/c derived peritoneal macrophages in a concentration dependent manner [44]. Compound 34 also stimulated iNOS2 mRNA expression and decreased the arginase-1-activity in *L. donovani* infected peritoneal macrophages.

Table 6. Results of *L. donovani* anti promastigote evaluation of eugenol (1) and derivatives (17-53)

Compound	Promastigote IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	RAW 264.7 cell CC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Selective Index (SI)
1	441.66 ± 13.28	527.04 ± 14.62	1.19 ± 0.01
17	237.58 ± 13.51	384.78 ± 16.74	1.64 ± 0.15
18	242.08 ± 5.47	358.51 ± 8.65	1.48 ± 0.07
19	71.67 ± 5.83	101.79 ± 5.05	1.43 ± 0.08
20	133.07 ± 9.02	110.04 ± 6.98	0.83 ± 0.066
21	308.93 ± 20.65	328.67 ± 4.04	1.07 ± 0.05
22	90.81 ± 5.55	178.37 ± 7.04	1.96 ± 0.04
23	80.28 ± 6.28	291.63 ± 23.31	3.63 ± 0.11
24	61.32 ± 8.65	197.79 ± 20.06	3.28 ± 0.14
25	62.30 ± 6.98	357.14 ± 22.14	5.85 ± 0.39
26	81.94 ± 8.81	332.07 ± 23.69	4.27 ± 0.73
27	49.92 ± 7.06	411.73 ± 22.24	8.61 ± 0.95
28	52.51 ± 4.87	299.34 ± 16.00	5.76 ± 0.23
29	58.05 ± 1.62	291.69 ± 7.90	5.02 ± 0.02
30	60.24 ± 3.16	423.80 ± 30.89	7.04 ± 0.42
31	165.92 ± 10.57	356.09 ± 20.32	2.15 ± 0.06
32	61.26 ± 1.71	363.85 ± 17.32	5.93 ± 0.12
33	64.48 ± 2.97	251.10 ± 4.36	3.91 ± 0.13
34	82.38 ± 6.19	260.57 ± 7.63	3.18 ± 0.15
35	76.86 ± 4.15	255.15 ± 6.32	3.33 ± 0.12
36	60.45 ± 4.75	484.76 ± 5.76	8.11 ± 0.51
37	33.36 ± 2.05	391.30 ± 5.63	11.8 ± 0.68
38	28.86 ± 1.14	395.66 ± 7.11	13.73 ± 0.30
39	145.82 ± 8.81	448.40 ± 12.44	3.1 ± 0.20
40	64.45 ± 5.42	232.91 ± 24.97	3.61 ± 0.22
41	106.31 ± 8.78	368.27 ± 19.37	3.49 ± 0.12
42	162.00 ± 4.92	516.72 ± 26.11	3.21 ± 0.25
43	103.27 ± 8.03	511.69 ± 40.92	4.95 ± 0.08
44	68.32 ± 8.57	580.09 ± 13.67	8.95 ± 1.24
45	93.62 ± 5.52	316.92 ± 28.78	3.37 ± 0.14
46	67.45 ± 6.94	373.05 ± 19.48	5.66 ± 0.53
47	56.16 ± 4.24	528.76 ± 53.53	9.36 ± 0.38
48	43.27 ± 1.44	374.27 ± 6.23	8.56 ± 0.19
49	20.13 ± 0.91	305.46 ± 2.38	15.2 ± 0.62
50	97.35 ± 3.90	278.43 ± 6.31	2.87 ± 0.08
51	89.01 ± 5.92	261.34 ± 5.45	2.96 ± 0.16
52	52.97 ± 1.57	450.56 ± 5.82	8.6 ± 0.09
53	475.45 ± 19.08	517.42 ± 6.51	1.09 ± 0.05
miltefosine	10.38 ± 0.32	44.78 ± 0.98	4.3 ± 0.21
amphotericin B	1.36 ± 0.16	10.02 ± 0.45	7.4 ± 0.58

SI = CC₅₀/IC₅₀ promastigotes. (±): Standard deviation.

Table 7. Results of *L. donovani* anti amastigote evaluation of eugenol (1) and derivatives (17-53)

Compound	Amastigote IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	Macrophages (CC ₅₀ μmol L ⁻¹)	Selective Index (SI)	NO generation (μmol L ⁻¹)
1	173.26 ± 7.37	475.76 ± 13.52	2.75 ± 0.07	7.45 ± 0.32
17	120.28 ± 5.34	353.56 ± 15.76	2.95 ± 0.12	13.86 ± 0.68
18	157.20 ± 7.36	371.94 ± 4.69	2.38 ± 0.08	8.37 ± 0.85
19	162.13 ± 12.69	90.50 ± 9.31	0.55 ± 0.05	10.43 ± 1.03
20	155.71 ± 9.26	110.72 ± 6.40	0.71 ± 0.03	10.64 ± 0.59
21	147.15 ± 4.90	345.06 ± 10.71	2.35 ± 0.07	14.23 ± 0.92
22	83.38 ± 6.14	163.87 ± 9.17	1.97 ± 0.04	12.95 ± 1.56
23	36.40 ± 4.15	272.26 ± 18.16	7.60 ± 0.41	20.81 ± 1.70
24	41.08 ± 5.37	197.15 ± 20.66	4.88 ± 0.34	22.43 ± 1.82
25	48.69 ± 6.26	392.66 ± 30.86	8.30 ± 0.81	26.01 ± 2.21
26	51.78 ± 6.13	326.29 ± 15.18	6.47 ± 0.48	25.19 ± 1.01
27	28.97 ± 3.48	272.37 ± 23.15	9.67 ± 0.91	26.17 ± 1.45
28	25.98 ± 2.74	292.43 ± 23.19	11.41 ± 0.74	28.12 ± 1.55
29	17.06 ± 1.57	250.93 ± 6.51	14.47 ± 0.91	29.1 ± 1.26
30	25.51 ± 2.94	393.66 ± 23.00	15.94 ± 1.79	28.94 ± 1.95
31	99.11 ± 5.38	352.21 ± 6.64	3.59 ± 0.21	12.44 ± 1.84
32	78.41 ± 9.78	400.00 ± 5.13	5.24 ± 0.45	14.56 ± 1.01
33	57.94 ± 3.14	275.01 ± 4.26	4.79 ± 0.29	14.58 ± 1.14
34	26.68 ± 1.69	244.26 ± 8.75	9.21 ± 0.69	27.28 ± 2.69
35	26.24 ± 1.34	217.64 ± 3.54	8.36 ± 0.43	24.58 ± 2.62
36	25.31 ± 1.07	496.11 ± 8.20	19.7 ± 0.83	26.24 ± 1.97
37	9.28 ± 0.46	385.39 ± 9.63	41.77 ± 1.92	36.45 ± 1.78
38	7.17 ± 0.50	390.90 ± 4.35	55.14 ± 3.34	39.02 ± 2.49
39	111.77 ± 6.90	429.20 ± 14.30	3.86 ± 0.14	12.19 ± 0.84
40	72.09 ± 5.98	190.70 ± 10.33	2.71 ± 0.34	23.08 ± 1.34
41	65.56 ± 3.54	352.85 ± 10.75	5.41 ± 0.17	24.39 ± 1.08
42	101.20 ± 9.30	476.85 ± 33.73	4.76 ± 0.29	18.29 ± 1.22
43	59.56 ± 13.88	491.14 ± 42.23	8.3 ± 0.74	25.84 ± 2.62
44	53.27 ± 5.65	565.28 ± 21.45	10.96 ± 1.23	24.23 ± 1.34
45	52.92 ± 3.22	343.36 ± 17.38	6.52 ± 0.36	27.14 ± 2.25
46	33.10 ± 2.79	404.26 ± 19.50	12.38 ± 0.83	27.31 ± 2.28
47	19.60 ± 1.36	497.88 ± 26.12	25.87 ± 2.69	34.28 ± 2.45
48	8.54 ± 0.67	356.84 ± 5.39	42.17 ± 2.60	39.45 ± 1.85
49	4.25 ± 0.26	346.20 ± 6.02	82.24 ± 3.77	38.83 ± 2.11
50	72.90 ± 3.18	325.54 ± 5.28	4.49 ± 0.25	21.87 ± 1.37
51	66.32 ± 2.87	306.74 ± 5.41	4.66 ± 0.29	21.55 ± 1.22
52	21.55 ± 1.23	471.12 ± 10.10	22.06 ± 1.27	28.78 ± 1.28
53	203.28 ± 9.03	485.05 ± 18.46	2.39 ± 0.08	10.82 ± 0.78
miltefosine	6.40 ± 0.42	40.66 ± 2.18	6.34 ± 0.45	26.01 ± 2.85
amphotericin B	1.18 ± 0.13	9.18 ± 0.85	7.78 ± 0.59	Nd

SI = CC₅₀/IC₅₀ amastigotes. (±): Standard deviation. Nd: not determined.

66 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

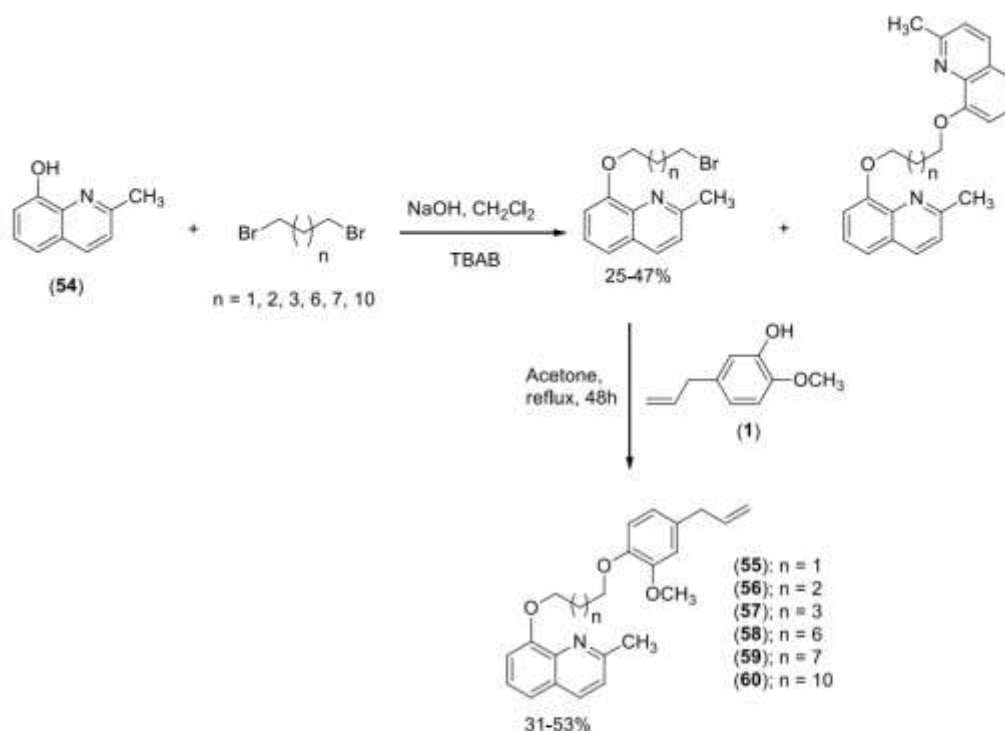


Figure 9. Preparation of molecular hybrids (55-60).

Moreover, this derivative increased IL-12 and decreased the IL-10 mRNA expression and release *in vitro*. Experiments *in vivo* with BALB/c mice were also carried and it was found that (34) cleared the hepatic and splenic parasite burden and enhances Th1 response.

The molecular hybridization is a strategy that has been explored in drug discovery and medicinal chemistry. In this case, two pharmacological agents are combined into a single molecule [46].

The quinolinic moiety is found in a variety of compounds possessing several biological activities, including leishmanicidal. In this regard, the quinolinic derivative 2-methylquinolin-8-ol (55) and eugenol (1) were combined, as shown in Figure 9, and the leishmanicidal profile of the hybrids was investigated on *Leishmania panamensis* [47].

The preparation of compounds (55-60) was achieved via Williamson ether synthesis followed by alkylation reactions of eugenol (1).

Table 8. Leishmanicidal activity of compounds 1, 55-61 on *L. panamensis*

Compound	Cytotoxicity U937 cells CC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Leishmanicidal activity IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	Selective Index (SI)	Classification
1	14.2 ± 1.6	21.4 ± 4.1	0.7	Cytotoxic, moderate activity
54	7.6 ± 0.2	2.6 ± 0.3	2.9	Cytotoxic, active
55	6.8 ± 0.3	6.9 ± 0.5	1.0	Cytotoxic, active
56	31.3 ± 0.1	38.9 ± 5.8	0.5	Cytotoxic, moderate activity
57	10.5 ± 2.1	9.5 ± 0.7	1.0	Cytotoxic, active
58	14.7 ± 1.8	29.6 ± 1.3	0.5	Cytotoxic, moderate activity
59	14.1 ± 2.8	21.1 ± 2.2	0.7	Cytotoxic, moderate activity
60	82.9 ± 5.4	> 100	> 0.81	Cytotoxic, not active
amphotericin B	38.8 ± 2.2	0.05 ± 0.01	776	Cytotoxic, active
glucantime	> 1,000.0	> 1,000.0	> 1.0	No cytotoxic, not active

SI = CC₅₀/IC₅₀.

Table 8 presents the results of the leishmanicidal evaluation of compounds (**55-60**) on the axenic amastigotes of *L. panamensis*. The compounds was classified as active (compounds presenting IC₅₀ < 20 µg mL⁻¹), moderate active (compounds with IC₅₀ ranging from 21 µg mL⁻¹ to 39 µg mL⁻¹) and inactive (compounds presenting IC₅₀ > 100 µg mL⁻¹). In this regard, the compounds **54** and **55** were very against *L. panamensis*. All the hybrid compounds were considered cytotoxic against the U937 cell line and presented low selective index [47].

TRYPANOCIDAL ACTIVITY OF EUGENOL AND DERIVATIVES

Chagas disease (CD), also termed American trypanosomiasis, is a potentially life-threatening illness caused by the flagellate protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. It was discovered in 1909 by the Brazilian doctor Carlos Justino Chagas and the disease was named after him [48].

68 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

According to the World Health Organization (WHO), 6 million to 7 million people are infected with the parasite worldwide. CD is mainly found in endemic areas of 21 Latin America countries. It is mainly transmitted by triatomine bugs (vectors that carry the parasite), also known as kissing bugs [48].

To date, there is no approved vaccine against CD and vector control remains the most useful method to prevent infection. Benznidazole (**61**) and nifurtimox (**62**) (Figure 10) are the first- and second line drugs, respectively, for infection treatment. They were made available in the market in the '70s, and they are the only two drugs available for the treatment of this illness. However, the therapeutic use of these compounds is limited and there is a necessity to find new alternatives to treat CD [49-51]. Within this context, eugenol (**1**) and derivatives have been evaluated for their activity against CD.



Figure 10. Drugs used in the treatment of Chagas Disease.

Soares and collaborators investigated the trypanocidal activity of clove (*Syzygium aromaticum* L.), basil (*Ocimum basilicum* L.) and yarrow (*Achillea millefolium* L.) essential oils against *Trypanosoma cruzi* epimastigote and bloodstream trypomastigote forms. Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analyses revealed that the main components of the essential oils were eugenol (**1**) (86.34%), linalool (46.97%) and chamazulene (48.32%), respectively. Eugenol (**1**) had its trypanocidal activity evaluated against *T. cruzi*, resulting in IC_{50} values of $246 \mu\text{g mL}^{-1}$ for epimastigote and $76 \mu\text{g mL}^{-1}$ for trypomastigote, after 24 h of incubation. Clove essential oil trypanocidal activity, however, was superior (IC_{50} of $99.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ for epimastigote and $57.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ for

bloodstream trypomastigote). These results suggest a synergistic effect between eugenol (**1**) and other components of the essential oil [52].

Dehydrodieugenol (**11**) was isolated from the hexane extract of *Nectandra leucantha* (Nees & Mart.) (Lauraceae) leaves. The dimethylated derivative (**13**) was prepared from compound (**11**). The structures of these compounds were already shown in Figure 6. They were evaluated *in vitro* against *T. cruzi* (trypomastigote and amastigote forms) and analyzed for the potential effect in host cells through the production of nitric oxide (NO) and reactive oxygen species [53]. In Table 9 are presented the results of the biological evaluation of (**11**) and (**13**) against amastigote and trypomastigote forms of *T. cruzi* as well as their cytotoxicity.

Table 9. Results of trypanocidal activity of compounds (11) and (13)

Compound	Amastigote (IC ₅₀ μmol L ⁻¹)	Trypomastigote (IC ₅₀ μmol L ⁻¹)	NCTC (CC ₅₀ μmol L ⁻¹)	Selective Index (SI)
11	15.1 (13.3-17.1)*	11.5 (9.3-14.2)	58.2	3.9
13	>100	55.6 (40.6-79.0)	> 200	-
61	5.5 (3.5-8.6)	16.4 (13.7-19.6)	> 200	> 36

*The values between parentheses represent confidence interval (95%).

SI = CC₅₀/IC₅₀ amastigotes.

While compound (**13**) and benznidazole (**61**) did not present cytotoxicity on NCTC cell line, the isolated natural compound (**11**) was significantly cytotoxic (IC₅₀ = 58.2 μmol L⁻¹). Concerning the trypanocidal activity, dehydroeugenol (**11**) presented superior activity than the dimethylated counterpart (**13**) and both compounds were less active than benznidazole (**61**) used as positive control. Taking the activities against amastigote form and NCTC cell line, it was possible to calculate the selective index (3.9 for compound (**12**) *versus* >36 for benznidazole (**61**)). It was found that the production of nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) of host cells were unaltered, suggesting an antiparasitic activity other than host cell activation.

70 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

ANTIMALARIAL ACTIVITY OF 4-ALLYL-1,2-DIMETHOXYBENZENE

Malaria is another import parasitic disease caused by protozoa species of the *Plasmodium* genus. It is transmitted to people by the bites of infected female of *Anopheles* mosquitoes. According to the World Health Organization (WHO), in 2017 there were an estimated 219 million cases of malaria in 90 countries and deaths reached 435,000 [54].

Malaria is caused by four different species of protozoan parasites. *Plasmodium falciparum* is the most dangerous and responsible for the lethal form of the disease. *P. falciparum* is also the most resistant species to the currently employed treatments [55]. There are several available drugs for the treatment of malaria [56]. However, the development of resistance by some *Plasmodium* strains makes necessary the search for new antimalarial agents.

To date, it was found only one report concerning the antimalarial activity of one eugenol derivative, namely 4-allyl-1,2-dimethoxybenzene (**53**) [57]. This compound was evaluated against *P. falciparum* strains TM4/8.2 and the observed antimalarial activity was weak ($IC_{50} > 17.8 \mu\text{g mL}^{-1}$) as compared to the positive control chloroquine ($IC_{50} = 0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$).

CONCLUSION

The exploitation of eugenol and its derivatives as antiprotozoal agents has disclosed compounds with interesting activities, especially against leishmaniasis. In this regard, simple structural modifications have afforded compounds with remarkable leishmanicidal activity and low toxicity against mammalian cells. Moreover, the synthetic modifications on eugenol have provided substances with important immunomodulatory activity compared to the available antileishmanial drugs. Even though evaluation of eugenol and derivatives as trypanocidal and antimalarial has

been less rewarding, it can be stated that they may represent interesting targets that can be optimized towards the development of new chemotherapeutic compounds to be used in the treatment of malaria and Chagas disease. Finally, it can be predicted that new studies exploring the antiprotozoal potential of eugenol and derivatives will be published in the future.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) for financial support (Grant number CEX-APQ-02957-17) and to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) for fellowships to Alex Ramos de Aguiar and Poliana A. R. Gazola. We are also grateful to Fundação de Amparo a Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) for financial support (Grant number 649/2016; Process 76438724).

REFERENCES

- [1] Colley, D. G. (2000). Parasitic Diseases: Opportunities and challenges in the 21st century. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95, 79–87.
- [2] Cox, F. E. G. (2004). History of human parasitic diseases. *Infectious Disease Clinics of North America*, 18, 171–188.
- [3] Wright, C. W. & Phillipson, J. D. (1990). Natural products and the development of selective antiprotozoal drugs. *Phytotherapy Research*, 4, 127–139.
- [4] Cragg, G. M., Newman, D. J. & Snader, M. K. (1997). Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*, 60, 52–60.

72 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

- [5] Butler, M. S. (2004). The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of Natural Products*, 67, 2141–2153.
- [6] Koehn, F. E. & Carter, G. T. (2005). The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews*, 4, 206–220.
- [7] Newman, D. J. & Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 Years. *Journal of Natural Products*, 70, 461–477.
- [8] Newman, D. J. & Cragg, G. M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75, 311–335.
- [9] Harvey, A. L., Edrada-ebel, R. & Quinn, R. J. (2015). The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14, 111–129.
- [10] Newman, D. J. & Cragg, M. G. (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79, 629–661.
- [11] Cheuka, P. M., Mayoka, G., Mutai, P. & Chibale, K. (2016). The role of natural products in drug discovery and development against neglected tropical diseases. *Molecules*, 22, 1–42.
- [12] Tullius, M., Luciana, S., Hamilton, I., Fávaro, F., Duarte, M., de Oliveira, M. P. & Mendonça Júnior, J. B. (2016). Natural products as a source for antileishmanial and antitrypanosomal agents. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 19, 1–17.
- [13] Kaufman, T. S. (2015). The multiple faces of eugenol. A versatile starting material and building block for organic and bio-organic synthesis and a convenient precursor toward bio-based fine chemicals. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26, 1055–1085.
- [14] Kamatou, G. P., Vermaak, I. & Viljoen, A. M. (2012). Eugenol—From the remote Maluku islands to the international market place: A review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, 17, 6953–6981.

- [15] Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, F., Cano, J., Jannin, J. & den Boer, M. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *Plos One*, 7, e35671.
- [16] World Health Organization. (2015). *Leishmaniasis*, No. 375. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Accessed 01 November 2018.
- [17] Frédéric, F., Demicheli, C. & Ribeiro, R. R. (2009). Pentavalent antimonials: New perspectives for old drugs. *Molecules*, 14, 2317–36.
- [18] Bustos, M. F. G., Barrio, A., Prieto, G. G., de Raspi, E. M., Cimino, O. R., Cardozo, R. M., Parada, L. A., Yeo, M., Soto, J., Uncos, D. A., Paraodi, C. & Basombrío, M. A. (2014). *In vivo* antileishmanial efficacy of miltefosine against *Leishmania* (*Leishmania*) *Amazonensis*.” *Journal of Parasitology*, 100, 840–847.
- [19] Croft, S. L., Sundar, S. & Fairlamb, A. H. (2006). Drug resistance in leishmaniasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 111–1126.
- [20] Monzote, L. (2009). Current treatment of leishmaniasis: A review. *The Open Antimicrobial Agents Journal*, 1, 9–19.
- [21] Croft, S. L. & Coombs, G. H. (2003). Leishmaniasis – Current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs.” *Trends in Parasitology*, 19, 502–508.
- [22] Ouellette, M., Drummelsmith, J. & Papadopoulou, B. (2004). Leishmaniasis: Drugs in the clinic, resistance and new developments. *Drug Resistance Updates*, 7, 257–66.
- [23] Mcgwire, B. S. & Satoskar, A. R. (2013). Leishmaniasis: Clinical syndromes and treatment. *QJM*, 107, 7–14.
- [24] Chimnoi, N., Reuk-ngam, N., Chuysinuan, P., Khlaychan, P., Khunnawutmanotham, N., Chokchaichamnankit, D., Thamniyom, W., Klayraung, S., Mahidol, C. & Techasakul, S. (2018). Characterization of Essential Oil from *Ocimum gratissimum* leaves: Antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 118, 290–300.
- [25] Ueda-Nakamura, T., Mendonça-Filho, R. R., Morgado-Díaz, J. A., Maza, P. K., Filho, B. P. D., Cortez, D. A. G., Alviano, D. S., Rosa,

74 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

- M. S. S., Lopes, A. H. C. S., Alviano, C. S. & Nakamura, C. V. (2006). Antileishmanial activity of eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. *Parasitology International*, 55, 99–105.
- [26] Islamuddin, M., Sahal, D. & Afrin, D. (2014). Apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes induced by eugenol-rich oil of *Syzygium aromaticum*. *Journal of Medical Microbiology*, 63, 74–85.
- [27] Misra, P., Kumar, A., Khare, P., Gupta, S., Kumar, N. & Dube, A. (2009). Pro-apoptotic effect of the landrace bangla mahoba of *Piper Betle* on *Leishmania Donovanii* may be due to the high content of eugenol. *Journal of Medical Microbiology*, 58, 1058–1066.
- [28] Teixeira, R. R., Gazolla, P. A. R., da Silva, A. M., Borsodi, M. P. G., Bergmann, B. R., Ferreira, R. S., Vaz, B. G., Vasconcelos, G. A. & Lima, W. P. (2018). Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1,2,3-triazole functionalities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 146, 274–286.
- [29] Morten, M. & Tornøe, C. W. (2008). Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chemical Reviews*, 108, 2952–3015.
- [30] Hein, J. E. & Fokin, V. V. (2010). Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(I) acetylides. *Chemical Society Reviews*, 39, 1302–1315.
- [31] Moses, J. E. & Moorhouse, A. D. (2007). The growing applications of click chemistry. *Chemical Society Reviews*, 36, 1249–1262.
- [32] Hartmuth, C. K., Finn, M. G. & Sharpless, K. B. (2001). Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 40, 2004–2021.
- [33] Worrell, B. T., Malik, J. A. & Fokin, V. V. (2014). Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. *Science*, 340, 457–460.
- [34] Wu, P. & Fokin, V. V. E. (2007). Catalytic azide—alkyne cycloaddition: Reactivity and applications. *Aldrichimica Acta*, 40, 7–17.
- [35] Ioset, J. R., Brun, R., Wenzler, T., Kaiser, M. & Yardley, V. (2009). Drug screening for kinetoplastids diseases - A training manual for

- screening in neglected diseases. *The Pan-Asian Screening Network*, 1–74.
- [36] de Moraes, S. M., Vila-Nova, N. S., Bevilaqua, C. M. L., Rondon, F. C., Lobo, C. H., Moura, A. A. A. N., Sales, A. D., Rodrigues, A. P. R., de Figueiredo, J. R., Campello, C. C., Wilson, M. E. & de Andrade, Jr. H. F. Thymol and eugenol derivatives as potential antileishmanial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22, 6250–6255.
- [37] Coelho, C. M., dos Santos, T., Freitas, P. G., Nunes, J. B., Marques, M. J., Padovani, C. G. D., Júdice, W. A. S., Campus, I., da Silveira, N. J. F., Carvalho, D. T. & Veloso, M. P. (2018). Design, synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of novel eugenol esters as leishmanicidal agents. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 29, 715–728.
- [38] Rodrigues, L. C., Barbosa-Filho, J. M., de Oliveira, M. R., Nêris, P. L. N., Borges, F. V. P. & Mioso, R. (2016). Synthesis and antileishmanial activity of natural dehydrodieugenol and its mono- and dimethyl ethers. *Chemistry & Biodiversity*, 13, 870–74.
- [39] Bhowmik, S. & Batra, S. (2014). Applications of Morita-Baylis-Hillman reaction to the synthesis of natural products and drug molecules. *Current Organic Chemistry*, 18, 3078–3119.
- [40] Basavaiah, D., Rao, P. D. & Hyma, R. S. (1996). The Baylis-Hillman Reaction: A novel carbon-carbon bond forming reaction. *Tetrahedron*, 52, 8001–8062.
- [41] Reddy, T. N. & Rao, J. V. (2018). Importance of Baylis-Hillman adducts in modern drug discovery. *Tetrahedron Letters*, 59, 2859–2875.
- [42] Basavaiah, D., Rao, A. J. & Satyanarayana, T. (2003). “Recent Advances in the Baylis-Hillman reaction and applications. *Chemical Reviews*, 103, 811–891.
- [43] Xavier, F. J., Rodrigues, K. A. F., de Oliveira, R. G., Lima Junior, C. G., Rocha, J. C., Keesen, T. S. L., de Oliveira, M. R., Silva, F. P. L. & Vasconcellos, M. L. A. A. (2016). Synthesis and *in vitro* anti *Leishmania Amazonensis* biological screening of Morita-Baylis-

76 Róbson R. Teixeira, Poliana A. R. Gazolla, Silma F. da Silva et al.

- Hillman adducts prepared from eugenol, thymol and carvacrol. *Molecules*, *21*, 1483–1495.
- [44] Raja, M. R. C., Velappan, A. B., Chellappan, D., Debnath, J. & Mahapatra, S. K. (2017). Eugenol derived immunomodulatory molecules against visceral leishmaniasis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *139*, 503–518.
- [45] Liew, F. Y., Millott, S., Parkinson, C., Palmer, R. M. & Moncada, S. (1990). Macrophage killing of leishmania parasite *in vivo* is mediated by nitric oxide from L-arginine. *The Journal of Immunology*, *144*, 4794–4797.
- [46] Viegas-Junior, C., Danuello, A., Silva, V. B., Barreiro, E. J. & Fraga, C. A. M. (2007). Molecular hybridization: A useful tool in the design of new Drug prototypes. *Current Medicinal Chemistry*, *14*, 1829–1852.
- [47] Arango, V., Domínguez, J. J., Cardona, W., Robledo, S. M., Muñoz, D. L., Figadere, B. & Sáez, J. (2012). Synthesis and leishmanicidal activity of quinoline–triclosan and quinoline–eugenol hybrids. *Medicinal Chemistry Research*, *21*, 3445–34454.
- [48] World Health Organization. (2018). *Chagas Disease (American Trypanosomiasis)*. [www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Accessed December 6 2018.
- [49] Pinheiro, E., Brum-Soares, L. & Reis, R. (2017). Chagas disease: Review of needs, neglect, and obstacles to treatment access in Latin America. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *50*, 296–300.
- [50] Sales Junior, P. A., Molina, I., Murta, S. M. F., Montalvá-Sánchez, A., Salvador, F., Corrêa-Oliveira, R. & Carneiro, C. M. (2017). Experimental and clinical treatment of Chagas disease: A review. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *97*, 1289–1303.
- [51] Muñoz, M. J., Murcia, L. & Segovia, M. (2011). The urgent need to develop new drugs and tools for the treatment of Chagas disease. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, *9*, 5–7.

- [52] Santoro, G. F., Cardoso, M. G., Guimarães, L. G. L., Mendonça, L. Z. & Soares, M. J. (2007). *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea Millefolium* L., *Syzygium Aromaticum* L. and *Ocimum Basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. *Experimental Parasitology*, 116, 283–290.
- [53] Grecco, S. S., Costa-Silva, T. A., Jerz, G., de Sousa, F. S., Alves Conserva, G. A., Mesquita, J. T., Galuppo, M. K., Tempone, A. G., Neves, B. J., Andrade, C. H., Uemi, M., Sartorelli, P. & Lago, J. H. (2017). Antitrypanosomal activity and evaluation of the mechanism of action of dehydrodieugenol isolated from *Nectandra Leucantha* (Lauraceae) and its methylated derivative against *Trypanosoma Cruzi*. *Phytomedicine*, 24, 62–67.
- [54] World Health Organization. (2018). *Malaria*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>. Accessed December 9, 2018.
- [55] Naranjo-Montoya, O. A., Martins, L. M., da Silva-Filho, L. C., Batagin-Neto, A. & Lavarda, F. C. (2015). The correlation between electronic structure and antimalarial activity of tetrahydropyridines. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26, 255–65.
- [56] WHO. (2015). *Guidelines for the Treatment of Malaria*. Edited by WHO. 3rd edition. Geneva.
- [57] Wangchuk, P., Pyne, S. G., Keller, P., Taweechotipatr, M. & Kamchonwongpaisan, S. (2014). Phenylpropanoids and furanocoumarins as antibacterial and antimalarial constituents of the bhutanese medicinal plant *Pleurospermum Amabile*. *Natural Product Communications*, 9, 957–60.

Eugenol

Biosynthesis, Toxicity
and Uses

Contributors

Florencia Muratore
María L. Goñi
Miriam C. Strumia
Silvia E. Barbosa
Nicolás A. Gañan
Raquel E. Martini
Róbson R. Teixeira

Poliana A. R. Gazolla
Silma F. da Silva
Alex Ramos Aguiar
Adilson V. Costa
Dailyn Guzmán
Angels Serra
Xavier Ramis

Megan Shelton
Editor



ISBN 978-1-53615-429-0



9 781536 154290

Complimentary Contributor Copy