

LISETH SUAREZ OSORIO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS DO ÁCIDO
HIDNOCÁRPICO ISOLADO DE *Carpotroche brasiliensis***

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: Marcelo Henrique dos Santos

Coorientador: Antonio Jacinto Demuner

**VIÇOSA-MINAS GERAIS
2020**

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

T

S939s
2020
Suarez Osorio, Liseth, 1986-
Síntese e avaliação biológica de novos derivados do ácido
hidnocárpico isolado de *Carpotroche brasiliensis* / Liseth Suarez
Osorio. – Viçosa, MG, 2020.
207 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Marcelo Henrique dos Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Carpotroche. 2. Ácido ciclopentênico. 3. Triazóis.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 583.69

LISETH SUAREZ OSORIO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS DO ÁCIDO
HIDNOCÁRPICO ISOLADO DE *Carpotroche brasiliensis*

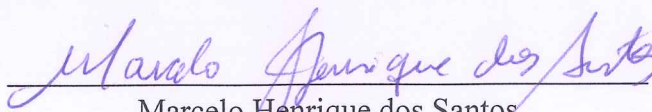
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 22 de junho de 2020.

Assentimento:



Liseth Suarez Osorio
Autora



Marcelo Henrique dos Santos
Orientador

À minha mãe,

Ao meu pai,

Ao meu irmão,

Por todo o seu apoio.

Minhas conquistas também são suas.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) pela disponibilização da infraestrutura para realização dos experimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES-001) pela concessão da bolsa de estudos, a FAPEMIG e ao CNPq pelo suporte financeiro.

Ao professor Marcelo Henrique dos Santos pela orientação, amizade e apoio na execução do trabalho.

Ao professor Antônio Jacinto Demuner pela co-orientação, sugestões e conselhos apresentados.

Ao professor Eduardo Varejão pelas valiosas sugestões neste trabalho.

À professora Marisa Ionta, da Universidade Federal de Alfenas, pela realização dos ensaios biológicos para avaliação da atividade anticâncer.

Ao professor João Paulo Leite e a doutoranda Ana Paula Agrizzi, do Departamento de Bioquímica e Biologia molecular na Universidade Federal de Viçosa, pelos ensaios de atividade enzimática.

A minha amiga e colega Bianca de Sousa pela parceria e realização dos ensaios de atividade enzimática. Sou grata pelo seu apoio incondicional, disponibilidade, carinho e incentivo em todas as etapas deste trabalho.

À doutoranda Priscila Ferreira, do Departamento de Bioquímica e Biologia molecular na Universidade Federal de Viçosa, pela realização dos estudos de *docking* molecular.

Ao estudante de iniciação científica Guilherme Ferraz pela valiosa ajuda, disponibilidade, amizade e incentivo no desenvolvimento deste trabalho.

Aos técnicos José Luiz, Márcio, Cristiane, Gabriel e aos meus colegas Ueveton e Isabel pela aquisição dos espectros de massa, infravermelho e ressonância magnética nuclear realizados na Universidade Federal de Viçosa, Universidade Federal de Alfenas e Universidade Federal de Minas Gerais.

Ao professor Eduardo Pilau e o doutorando Evandro Silva, da Universidade Estadual de Maringá, pela aquisição dos espectros de massa de alta resolução.

Ao professor Ricardo Alves e a técnica Raquel Isidório, do departamento de Produtos Farmacêuticos, na Universidade Federal de Minas Gerais, pela aquisição dos valores de rotação específica.

Ao grupo de orientados do professor Marcelo Henrique pelo acolhimento, companheirismo, amizade e carinho nessa fase. Sou grata por ter sido parte dessa equipe de trabalho.

A todos os colegas do LASA pela gentileza, colaboração e convivência agradável, especialmente ao pessoal do Lado B: Ueveton, Vivian, Lorena, Cristiane e Gabriela.

Aos meus queridos pais Martha e Humberto, e ao meu irmão Adrian pelo apoio incondicional, carinho e força em todos os momentos.

A minha amiga Adriana Esquivel pelo carinho e apoio incondicional. Grande amiga em todos os momentos bons e ruins.

A minha amiga Mariane Martins pelo apoio incondicional, carinho e incentivo. Grande amiga que acompanhou essa fase no Brasil.

Às minhas amigas Dayana Alves e Jaíne Cunha pelo companheirismo, apoio, conselhos e disponibilidade mesmo na distância.

A minha amiga Isabel Valero pelo carinho, disponibilidade e apoio incondicional.

Às minhas amigas: Eliana, Rocio, Natalia, Luisa e Sandra pelo apoio, incentivo e carinho em todos os momentos.

Aos meus amigos: Daniela, John e Levi pelo apoio, acolhimento e carinho. Uma valiosa companhia na fase final deste trabalho.

A todos os parentes e amigos na Colômbia e no Brasil que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho. Meus mais sinceros agradecimentos a vocês.

RESUMO

OSORIO, Liseth Suarez, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2020. **Síntese e avaliação biológica de novos derivados do ácido hidnocárpico isolado de *Carpotroche brasiliensis***. Orientador: Marcelo Henrique dos Santos. Coorientador: Antônio Jacinto Demuner.

Carpotroche brasiliensis é uma árvore nativa do Brasil cujas sementes contêm um grupo de ácidos graxos ciclopentênicos: górlico, chaulmúgrico e hidnocárpico, que foram considerados os principais agentes terapêuticos no tratamento da hanseníase. No presente trabalho, o ácido hidnocárpico foi isolado das sementes de *Carpotroche brasiliensis* e submetido a modificações estruturais para obter novos derivados triazólicos e amidas. Oito derivados triazólicos inéditos foram sintetizados via reação de cicloadição 1,3-dipolar azida-alcino catalisada por cobre(I). Amidas foram produzidas usando a reação de amidação, obtendo-se sete amidas inéditas. O ácido hidnocárpico e seus derivados triazólicos foram testados contra linhagens de células de carcinoma de mama estrogênio-positivo (MCF-7), carcinoma hepatocelular (HepG2) e câncer de pulmão de células não pequenas (A549). O derivado (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila exibiu atividade anti-proliferativa promissora contra células A549 (IC₅₀: 63,96 ± 3,98 μmol L⁻¹). Os derivados também foram testados quanto às possíveis atividades inibidoras de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE). Os ensaios de inibição enzimática mostraram que os triazóis (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-nitrobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila foi ativo contra AChE (53,67 ± 2,21) e (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila exibiu atividade contra AChE/BChE (43,40 ± 1,48 e 45,46 ± 1,22 respectivamente) na concentração de 50 μmol L⁻¹. Estudos de *docking* molecular e parâmetros físico-químicos explicaram os resultados obtidos *in vitro*. Da mesma forma, as amidas (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-fenilundecanamida foi ativa contra AChE na concentração de 67 μmol L⁻¹ (53,65 ± 4,59) e (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(4-bromofenil)undecanamida inibiu a ação da AChE na concentração de 79 μmol L⁻¹ (46,10 ± 2,52). Esses resultados indicam que o ácido hidnocárpico e seus derivados podem ser considerados como protótipos promissores para a obtenção de novos agentes antineoplásicos e inibidores das colinesterases.

Palavras-chave: *Carpotroche brasiliensis*. Ácidos graxos ciclopentênicos. Ácido hidnocárpico. Triazóis. Amidas. Atividade anti-proliferativa. Inibidores de colinesterase.

ABSTRACT

OSORIO, Liseth Suarez, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2020. **Synthesis and biological evaluation of new derivatives of hydnocarpic acid isolated from *Carpotroche brasiliensis***. Adviser: Marcelo Henrique dos Santos. Co-adviser: Antônio Jacinto Demuner.

Carpotroche brasiliensis is a tree native to Brazil whose seeds contain a group of cyclopentenic fatty acids: gorlic, chaulmugric and hydnocarpic, considered the main therapeutic agents in the treatment of leprosy. In the present work, hydnocarpic acid was isolated from the seeds of *Carpotroche brasiliensis* and subjected to structural modifications to obtain new triazole and amide derivatives. Eight novel triazole derivatives were synthesized via copper(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition reaction. Amides were produced using the amidation reaction, obtaining seven new amides. Hydnocarpic acid and triazole derivatives were tested against estrogen-positive breast carcinoma (MCF-7), hepatocellular carcinoma (HepG2) and non-cell lung cancer small (A549) cell lines. Compound (1-(pyridin-2-ylmethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl (*R*)-11-(cyclopent-2-en-1-yl)undecanoate exhibited promising anti-proliferative activity against A549 cells (IC_{50} : $63.96 \pm 3.98 \mu\text{mol L}^{-1}$). Derivatives also were tested as possible acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) inhibitors. Enzyme inhibition assays showed that (1-(4-nitrobenzyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl (*R*)-11-(cyclopent-2-en-1-yl)undecanoate was active against AChE ($53,67 \pm 2,21$) and (1-(4-methylbenzyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl (*R*)-11-(cyclopent-2-en-1-yl)undecanoate was active against AChE/BChE ($43,40 \pm 1,48$ e $45,46 \pm 1,22$ respectively) at $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Molecular docking studies and physicochemical parameters explained the results obtained *in vitro*. Likewise, (*R*)-11-(cyclopent-2-en-1-yl)-*N*-phenylundecanamide was active against AChE at $67 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($53,65 \pm 4,59$) and (*R*)-11-(cyclopent-2-en-1-yl)-*N*-(4-bromophenyl)undecanamide was active against AChE at $79 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($46,10 \pm 2,52$). These findings indicate that hydnocarpic acid and its derivatives may be considered as promising prototypes for obtaining new antineoplastic agents and cholinesterase inhibitors.

Keywords: *Carpotroche brasiliensis*. Cyclopentenic fatty acids. Hydnocarpic acid. Triazoles. Amides. Antiproliferative activity. Cholinesterase inhibitors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ácidos graxos ciclopentênicos presentes no óleo de chaulmoogra.	32
Figura 2. Frutos da <i>Carpotroche brasiliensis</i>	32
Figura 3. Sementes dos frutos da <i>Carpotroche brasiliensis</i>	33
Figura 4. Estrutura da antelminticina C15.....	33
Figura 5. Algumas moléculas bioativas contendo a porção 1,2,3-triazol.....	35
Figura 6. Algumas fármacos contendo porção 1,2,3-triazol.	36
Figura 7. Derivados do ácido betulínico com atividade antineoplásica. Ácido 3{1 <i>N</i> (2-cianofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4il}metiloxi betulínico (a) e ácido 3{1 <i>N</i> (5-hidroxi-naft-1il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4il}metiloxi betulínico (b).	36
Figura 8. Estrutura do composto AntiOxBEN1 com atividade antioxidante e inibidora de BChE.	37
Figura 9. Estrutura da benzilamida derivada do ácido ricinoléico com atividade contra U251.	38
Figura 10. Ácidos graxos ciclopentênicos.....	45
Figura 11. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do extrato hexânico de <i>Carpotroche brasiliensis</i>	51

Figura 12. Cromatograma obtido para a fração F2. Os ácidos graxos identificados foram palmítico (a), hidnocárpico (b) e chaulmúgrico (c).....	52
Figura 13. Espectro de massas do ácido hidnocárpico (1) (70 eV).....	54
Figura 14. Proposta de fragmentações para alguns picos presentes no espectro de massas do composto 1.....	54
Figura 15. Espectro no Infravermelho (FTIR-ATR) do ácido hidnocárpico.....	55
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do ácido hidnocárpico (1).....	56
Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do ácido hidnocárpico (1).....	58
Figura 18. Formas isoméricas do anel triazólico.....	62
Figura 19. Exemplos de compostos bioativos que contêm o grupamento amida em sua estrutura	66
Figura 20. Exemplos de fármacos comerciais contendo o grupo funcional amida com atividade antiviral e analgésica.....	66
Figura 21. Exemplos de amidas biologicamente ativas em produtos naturais.....	67
Figura 22. Exemplos de amidas graxas bioativas em produtos naturais. <i>N</i> -[7-(3',4'-metilendioxiifenil)-2 <i>Z</i> ,4 <i>Z</i> -heptadienoil]pirrolidina (a), e piperlongimin B (b).....	67

Figura 23. Derivados sintetizados a partir do alcino 2.	89
Figura 24. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (2).....	89
Figura 25. Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (2).	91
Figura 26. Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (2).	92
Figura 27. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metila (T1).....	94
Figura 28. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metila (T1).....	95
Figura 29. Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metila (T1).....	96
Figura 30. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metila (T7).....	97
Figura 31. Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metila (T7).....	99
Figura 32. Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metila (T7).....	100

Figura 33. Amidas sintetizadas a partir do ácido hidnocárpico (1).....	101
Figura 34. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)- <i>N</i> -(4-fluorofenil) undecanamida (A4)	103
Figura 35. Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)- <i>N</i> -(4-fluorofenil) undecanamida (A4)	105
Figura 36. Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) do (<i>R</i>)-11-(ciclopent-2-en-1-il)- <i>N</i> -(4-fluorofenil) undecanamida (A4)	106
Figura 37. Derivado triazólico com atividade antiproliferativa contra carcinoma hepatocelular (HepG2).....	112
Figura 38. Viabilidade celular determinada pelo ensaio MTS após 48 h de tratamento. (A) Culturas celulares foram tratadas com derivados de triazólicos T1-T4, T7 e T8 (4-9) e ácido hidnocárpico (1) a 50 µmol L ⁻¹ . (B) Células A549 foram tratadas com 1 e T7 (8) em diferentes concentrações. (C) Células A549 e HaCaT foram tratadas com T7 (8) em diferentes concentrações. * p <0,05 e *** p <0,001 de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey. DMSO é um grupo de controle.	117
Figura 39. (A, B) Imagens ilustrativas e análise quantitativa do ensaio de capacidade clonogênica. (C) Imagens representativas obtidas por microscopia de contraste de fase (ampliação de 60×) mostrando características morfológicas das células A549 imediatamente antes da análise do ciclo celular. (D) Histogramas ilustrativos mostrando populações celulares distribuídas em diferentes fases do ciclo celular após 48 h de tratamento com T7 (8). As barras marrom, rosa, verde e azul representam, respectivamente, populações sub-G1, G0/G1, S e G2/M. (E) Análise do ciclo celular. (F) Frequência de mitose determinada pela contagem de células em microscopia de fluorescência. *** p <0,001, ** p <0,01 e * p <0,05 de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey.....	118

Figura 40. Hidrólise de Acetilcolina.	123
Figura 41. Inibidores de acetilcolinesterase utilizados como fármacos no tratamento da Doença de Alzheimer.	124
Figura 42. Estrutura de um inibidor de colinesterases contendo núcleo triazólico.	124
Figura 43. Estrutura de um inibidor de acetilcolinesterase, derivado de benzamida.	125
Figura 44. Inibição do alcino 2 e triazóis derivados do ácido hidnocárpico (1) contra a acetilcolinesterase (AChE) <i>Electrophorus electricus</i> e butirilcolinesterase (BChE) do soro equino. A análise estatística foi realizada por comparação dos derivados com o composto 1. Percentagem de inibição da enzima a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (média \pm desvio padrão). *** p <0,005, ** p <0,01 de acordo com o teste t. Controle: fisostigmina.	130
Figura 45. Acoplamento dos compostos triazólicos com AChE (PDB: 6G1, GALDEANO <i>et al.</i> , 2018) e BChE (PDB: 1P0I, NICOLET <i>et al.</i> , 2003). A estrutura da superfície da proteína é mostrada em bege e os compostos são representados em azul. a) AChE, o sitio ativo é destacado em laranja; b) BChE, o site ativo é destacado em verde. 1 = 1, 2 = 2, 3 = T1, 4 = T4, 5 = T5, 6 = T6, 7 = T8.	132
Figura 46. Sítio ativo da acetilcolinesterase (AChE- <i>Torpedo californica</i>); Sítio ativo da butirilcolinesterase (BChE-butirilcolinesterase humana).	133
Figura 47. Mapas farmacofóricos das interações ligante-acetilcolinesterase (AChE) do composto 1 (ácido hidnocárpico) e composto 2 (alcino).	135
Figura 48. Mapas farmacofóricos das interações ligante-butirilcolinesterase (BChE) do composto 1 (ácido hidnocárpico) e composto 2 (alcino).	136

Figura 49. Mapas farmacofóricos das interações ligante-acetilcolinesterase (AChE) dos derivados triazólicos T1, T5, T6, T8.	137
Figura 50. Mapas farmacofóricos das interações ligante-butirilcolinesterase (BChE) dos derivados de triazol T1, T5, T6 e T8.	137
Figura 51. Mapa farmacofórico das interações ligante-butirilcolinesterase (BChE) do derivado de triazol T4.	139
Figura 52. Interação potencial do composto mais ativo T6 com aminoácidos catalíticos (Phe330, Phe331 e Trp279) da enzima acetilcolinesterase.	140
Figura 53. Relação entre a inibição da AChE (%) e os parâmetros físico-químicos dos compostos a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. a) Refratividade molar (Swiss-ADME), b) Volume de Van der Waals (Marvin Sketch [®]), c) Área de superfície polar topológica (TPSA, Swiss-ADME). **p <0,01 e *p <0,05 de acordo com a correlação não paramétrica (Spearman).	141
Figura 54. Relação entre a inibição de BChE (%) e parâmetros físico-químicos dos compostos a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. a) Refratividade molar (Swiss-ADME), b) Volume de Van der Waals (Marvin Sketch [®]) c) Massa molar (Chemdraw), d) Área de superfície polar topológica (TPSA, Swiss-ADME) e) MlogP (MedChem Designer [®]) * p <0,05 de acordo com a correlação não paramétrica (Spearman).	142
Figura 55. Inibição do alcino 2 e amidas derivadas do ácido hidnocárpico (1) contra a acetilcolinesterase (AChE) <i>Electrophorus electricus</i> e butirilcolinesterase (BChE) do soro equino. Percentagem de inibição da enzima a 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (média \pm desvio padrão). *** p <0,005, de acordo com o teste t. Controle: fisostigmina.	144
Figura 56. Cromatograma dos ésteres sililados presentes no extrato de <i>Carportroche brasiliensis</i>	152

Figura 57. Cromatograma da fração F1 obtida do fracionamento do extrato de <i>Carportroche brasiliensis</i>	152
Figura 58. Espectro de massas do ácido palmítico (1) presente na fração F1.....	153
Figura 59. Espectro de massas do ácido hidnocárpico (2) presente na fração F1.....	153
Figura 60. Espectro de massas do ácido oleico (3) presente na fração F1.....	154
Figura 61. Espectro de massas do ácido chaulmúgrico (4) presente na fração F1.....	154
Figura 62. Cromatograma do ácido palmítico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.....	155
Figura 63. Espectro de massas do ácido palmítico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.....	155
Figura 64. Cromatograma do ácido chaulmúgrico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.....	156
Figura 65. Espectro de massas do ácido chaulmúgrico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.....	156
Figura 66. Cromatograma da mistura de ácidos hidnocárpico e chaulmúgrico da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.....	157
Figura 67. Cromatograma do ácido hidnocárpico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.....	157

Figura 68. Espectro de massas do ácido hidnocárpico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.....	158
Figura 69. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3a.....	158
Figura 70. Espectro de massas da azida orgânica 3a.....	159
Figura 71. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3b.	159
Figura 72. Espectro de massas da azida orgânica 3b.....	160
Figura 73. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3c.....	160
Figura 74. Espectro de massas da azida orgânica 3c.....	161
Figura 75. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3d.	161
Figura 76. Espectro de massas da azida orgânica 3d.....	162
Figura 77. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3e.....	162
Figura 78. Espectro de massas da azida orgânica 3e.....	163
Figura 79. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3f.....	163
Figura 80. Espectro de massas da azida orgânica 3f.	164

Figura 81. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3g.	164
Figura 82. Espectro de massas da azida orgânica 3g.....	165
Figura 83. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3h.	165
Figura 84. Espectro de massas da azida orgânica 3h.....	166
Figura 85. Espectro de ESI(+)-QTOF do ácido hidnocárpico (1).....	166
Figura 86. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T1.....	167
Figura 87. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T2.....	168
Figura 88. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T2. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro.	169
Figura 89. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T2. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	170
Figura 90. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T2.....	171
Figura 91. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T3.....	172
Figura 92. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro	173

Figura 93. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	174
Figura 94. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T3.....	175
Figura 95. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T4.....	176
Figura 96. Espectro de ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T4. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro	177
Figura 97. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T4. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	178
Figura 98. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T4.....	179
Figura 99. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T5.....	180
Figura 100. Espectro de ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro	181
Figura 101. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	182
Figura 102. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T5.....	183

Figura 103. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T6.....	184
Figura 104. Espectro de ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro	185
Figura 105. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	186
Figura 106. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T6.....	187
Figura 107. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T7.....	187
Figura 108. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T8.....	188
Figura 109. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T8. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro	189
Figura 110. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T8. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	190
Figura 111. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T8.....	191
Figura 112. Espectro FTIR (ATR) da amida.A1.....	192
Figura 113. Espectro EI-MS (EI, 70 eV) da amida A1.	193

Figura 114. Espectro FTIR (ATR) da amida.A2.....	194
Figura 115. Espectro EI-MS (EI, 70 eV) da amida A2.	195
Figura 116. Espectro FTIR (ATR) da amida.A3.....	196
Figura 117. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro.....	197
Figura 118. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) da amida A3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	198
Figura 119. Espectro FTIR (ATR) da amida.A5.....	199
Figura 120. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro.....	200
Figura 121. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) da amida A5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	201
Figura 122. Espectro FTIR (ATR) da amida.A6.....	202
Figura 123. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro.....	203

Figura 124. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) da amida A6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	204
Figura 125. Espectro FTIR (ATR) da amida.A7.....	205
Figura 126. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) da amida A7. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.....	206
Figura 127. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A7. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro.....	207

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. A reação “ <i>click</i> ” ou CuAAC para a obtenção de 1,2,3-triazóis.....	63
Esquema 2. Mecanismo proposto para a reação CuAAC.....	64
Esquema 3. Exemplos de estratégias usadas para a síntese de amidas via N-acetilação de aminas.....	68
Esquema 4. Etapas para obtenção dos triazóis derivados do ácido hidnocárpico.....	88
Esquema 5. Reação geral para a obtenção das amidas derivadas do ácido hidnocárpico.....	101

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Identificação dos constituintes da fração F2 obtida do fracionamento do extrato de *Carpotroche brasiliensis*. 52
- Tabela 2.** Identificação dos constituintes do óleo esterificado de *Carpotroche brasiliensis* relatada na literatura. 52
- Tabela 3.** Dados de caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C experimentais e relatados na literatura para o ácido hidnocárpico (1). *A numeração da estrutura foi a mesma utilizada para assinalar os carbonos e hidrogênios nos espectros de RMN apresentados..... 57
- Tabela 4.** Inibição do ácido hidnocárpico (1), alcino 2 e derivados triazólicos contra (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) de soro equino (média \pm desvio padrão). Letras diferentes foram usadas para comparar a significância entre os compostos na mesma enzima ($p < 0,05$ de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey). 130
- Tabela 5.** Energias de afinidade de interação dos ligantes para as conformações de menor energia. AChE e BChE indicaram acetilcolinesterase e butirilcolinesterase, respectivamente. 131
- Tabela 6.** Inibição das amidas derivadas do ácido hidnocárpico contra acetilcolinesterase *Electrophorus electricus*, tipo VI (média \pm desvio padrão). Letras diferentes foram usadas para comparar a significância entre os compostos ($p < 0,05$ de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey)..... 143

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTNB	5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)
Abs	Absorbância
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
A549	Adenocarcinoma de pulmão
Å	Angström
α	Ângulo de rotação
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
MTS	Brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio
BChE	Butirilcolinesterase
NSCLC	Câncer de pulmão de células não pequenas
MCF-7	Carcinoma de mama estrogênio-positivo
HepG2	Carcinoma hepatocelular
CuAAC	Cicloadição 1,3-dipolar entre alcino terminal e azida orgânica catalisada por cobre
λ	Comprimento de onda
c	Concentração final em g 100 ⁻¹ mL ⁻¹
IC ₅₀	Concentração que inibe 50% da atividade
J	Constante de acoplamento escalar
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG-MS	Cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massa
DCM	Diclorometano
DMAC	Dimetilacetamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DA	Doença de Alzheimer
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Minimum Essential Medium</i>
d, dd	Dupleto, duplo dupleto
δ	Deslocamento químico
DP	Desvio-padrão

ESI-MS	<i>Electrospray Ionization Mass Spectrometry</i>
Et ₃ N	Trietilamina
HRMS	Espectrometria de massas de alta resolução
R _f	Fator de retenção
FDA	Food and drug administration
FAMES	Metil ésteres de ácidos graxos
F.M	Fórmula molecular
γ	Gama
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
EI	Impacto eletrônico
IgG	Imunoglobulina G
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
MlogP	logP calculado pelo método de Moriguchi
m/v, m/m, v/v	Massa/volume, massa/massa, volume/volume
MHz	Megahertz
MsCl	Cloreto de mesila
MeOH	Metanol
m	Multiplete
nm	Nanômetros
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PDBQT	<i>Protein Data Bank, Partial Charge (Q), & Atom Type (T)</i>
PN	Produto natural
Q-TOF	Quadrupolo tempo de voo
q	Quarteto
HaCaT	Queratinócitos
ATR	Reflectância Total Atenuada
RMN de ¹³ C, RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13 e de hidrogênio-1
rpm	Rotações por minuto
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
U mL ⁻¹	Unidades de enzima por mL

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	29
CAPÍTULO 1	31
REVISÃO DE LITERATURA	31
1. <i>Carpotroche brasiliensis</i> E O ÓLEO DE CHAULMOOGRA	31
2. POTENCIAL BIOLÓGICO DE ÁCIDOS GRAXOS, TRIAZÓIS E AMIDAS	34
2.1. Ácidos graxos	34
2.2. Triazóis	34
2.3. Amidas.....	37
3. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO	38
4. OBJETIVOS.....	38
4.1. Objetivo geral	38
4.2. Objetivos específicos.....	38
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
CAPÍTULO 2	45
OBTENÇÃO DO EXTRATO DAS SEMENTES DE <i>Carpotroche brasiliensis</i> E ISOLAMENTO DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO	45
1. INTRODUÇÃO	45
2. MATERIAL E MÉTODOS	47
2.1. Informações gerais.....	47
2.2. Material vegetal	48
2.3. Extração	48
2.4. Procedimento para derivatização do extrato.....	49
2.4.1. Hidrólise	49
2.4.2. Sililação	49
2.5. Fracionamento do extrato de <i>Carpotroche brasiliensis</i>	49
2.6. Isolamento do ácido hidnocárpico (1)	49
2.7. Dados físicos e experimentais do composto isolado	50
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4. CONCLUSÃO	59
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
CAPITULO 3	62
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE DERIVADOS DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO	62

1. INTRODUÇÃO	62
1.1. Triazóis	62
1.2. Amidas.....	65
2. MATERIAL E MÉTODOS	69
2.1. Informações gerais.....	69
2.2. Sínteses	70
2.2.1. Síntese do (R)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (2).....	70
2.2.2. Síntese das azidas orgânicas (3a-3h).....	71
2.2.3. Síntese dos derivados triazólicos (T1-T8)	74
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T1)	75
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T2)	76
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T3).....	77
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-fluorobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T4)	78
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T5)	79
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-nitrobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T6).....	80
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T7)	80
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il) metila (T8)	81
2.2.4. Síntese das amidas.....	82
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)- <i>N</i> -fenilundecanamida (A1)	82
(R)- <i>N</i> -(4-bromofenil)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanamida (A2).....	83
(R)- <i>N</i> -(4-clorofenil)-11-(ciclopent-2-en-1-il) undecanamida (A3).....	83
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)- <i>N</i> -(4-fluorofenil) undecanamida (A4)	84
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)- <i>N</i> -(<i>p</i> -tolil)undecanamida (A5)	85

(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-N-(4-metoxifenil)undecanamida (A6)	85
(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-N-(3,4-diclorofenil)undecanamida (A7)	86
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.1. Triazóis	87
3.2. Amidas	101
4. CONCLUSÕES	107
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108
CAPÍTULO 4	111
ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DOS 1,2,3 TRIAZÓIS DERIVADOS DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO ISOLADO DO ÓLEO DE SEMENTES DE <i>Carpotroche brasiliensis</i>	111
1. INTRODUÇÃO	111
2. MATERIAL E MÉTODOS	113
2.1. Ensaio biológicos	113
2.1.1. Linhagens celulares e condições de cultura	113
2.1.2. Ensaio de viabilidade celular	113
2.1.3. Imunofluorescência e determinação da frequência de células em mitose	114
2.1.4. Ensaio clonogênico	114
2.1.5. Análise de progressão do ciclo celular	115
2.1.6. Análise estatística	115
3. RESULTADOS	115
4. CONCLUSÕES	119
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	120
CAPÍTULO 5	123
DOCKING MOLECULAR E ATIVIDADE INIBIDORA DE COLINESTERASES DOS DERIVADOS DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO	123
1. INTRODUÇÃO	123
2. MATERIAL E MÉTODOS	126
2.1. Ensaio de inibição enzimática dos derivados triazólicos	126
2.2. Ensaio de inibição enzimática das amidas	127
2.3. <i>Docking</i> molecular dos derivados triazólicos	127
2.4. Parâmetros físico-químicos	128

2.5. Análise estatística	128
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	128
3.1. Derivados triazólicos	128
3.1.1. Ensaio de inibição enzimática	128
3.1.2. <i>Docking molecular</i> e propriedades físico-químicas	131
3.2. Amidas.....	143
3.2.1. Ensaio de inibição enzimática	143
4. CONCLUSÕES.....	144
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	145
CONCLUSÃO GERAL	149
ANEXOS	151

INTRODUÇÃO GERAL

Os produtos naturais (PN) desempenham um papel indispensável no processo de desenvolvimento de medicamentos. Entre os 1211 medicamentos aprovados entre 1981 e 2014, 33% eram baseados em PN ou seus derivados. Entre 2015 e 2016, foram relatadas na literatura, 6944 novas moléculas, cujos protótipos correspondem a produtos naturais isolados de plantas, animais marinhos ou microrganismos, demonstrando o crescente interesse em desenvolver estudos baseados em PN (NEWMAN; CRAGG, 2016).

A integração entre química de produtos naturais, síntese orgânica e química medicinal é imprescindível. Moléculas são exploradas em projetos de síntese orgânica como modelos para preparar novas funcionalidades químicas bioativas (BORGES *et al.*, 2017). Compostos naturais com centros estereogênicos e diversidade de grupos farmacofóricos apresentam características favoráveis para serem considerados como potenciais modelos no desenvolvimento de fármacos (BORGES *et al.*, 2017; GUO, 2017).

O Brasil se situa em posição privilegiada para o estudo de produtos naturais, por ser um dos países com maior biodiversidade (BORGES *et al.*, 2017). O litoral sul do estado da Bahia possui uma alta diversidade de espécies arbóreas e uma paisagem representada pela floresta e o cultivo de cacau. Nesta região, a *Carpotroche brasiliensis* é frequentemente encontrada devido a sua importância ecológica em sistemas agroflorestais, além do uso medicinal e industrial de suas sementes (BRITO-ROCHA *et al.*, 2017).

Carpotroche brasiliensis (Raddi) A. Gray (Achariaceae) popularmente conhecida como sapucainha, produz frutos nutritivos contendo as sementes que fornecem o óleo extraído, conhecido como óleo de chaulmoogra (BITTENCOURT; ALVES; GAIOTTO, 2015). Seus constituintes já foram utilizados na indústria farmacêutica para o tratamento da hanseníase e dermatite. Posteriormente, mostraram propriedades analgésicas (OLIVEIRA *et al.*, 2009) e anti-inflamatórias (CERQUEIRA *et al.*, 2018; LIMA *et al.*, 2005).

A demanda por novas moléculas biologicamente ativas está em constante crescimento no mercado (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017). A hibridização molecular constitui uma ferramenta importante para obtenção de novos compostos (DIAS *et al.*, 2018). Entre a grande variedade de classes químicas investigadas como blocos de construção para a produção de moléculas híbridas, o anel triazólico tem mostrado aplicação promissora, sendo capaz de atuar tanto como parte essencial do grupo farmacofórico quanto como ligante para outras porções moleculares (CHAVAN *et al.*, 2019; DIAS *et al.*, 2018; GHIANO *et al.*, 2017). Compostos contendo o núcleo triazólico tem sido muito explorados e exibem atividades anti-HIV (DA

SILVA *et al.*, 2009), anticâncer (MAREDDY *et al.*, 2017) e antibacteriana (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017), entre outros. Além disso, derivados contendo a porção triazólica tem apresentado potencial atividade como inibidores de colinesterases relacionadas a doença de Alzheimer (XU *et al.*, 2019).

Por outro lado, o grupo funcional amida é encontrado em moléculas sintéticas ou de origem natural (MATA-SANTOS *et al.*, 2016). Compostos contendo a porção amida podem apresentar atividades antibacteriana (ALEKSIC *et al.*, 2017), antitumoral (SHANG *et al.*, 2016), neuroprotetora e antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2018) e pesticida (WEI; MIAO; HAO, 2018), dentre outras. Alguns estudos relataram amidas graxas sintéticas e naturais com efeitos larvicidas (MATA-SANTOS *et al.*, 2016), anti-inflamatórios (MOAZAMI *et al.*, 2015) e anti-tuberculose (D'OCA *et al.*, 2010). Nesse sentido, o estudo e desenvolvimento de novos derivados semissintéticos, principalmente envolvendo produtos naturais que apresentem propriedades biológicas interessantes, é fundamental na procura de novos agentes terapêuticos.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1. *Carpotroche brasiliensis* E O ÓLEO DE CHAULMOOGRA

O gênero *Hydnocarpus* inclui aproximadamente quarenta espécies de arbustos e árvores, dentre elas, quatro espécies são encontradas na Índia e foram amplamente utilizadas na medicina tradicional asiática (SAHOO *et al.*, 2014). As espécies do gênero *Hydnocarpus* são conhecidas pelas sementes, contidas nos frutos, que fornecem o óleo, cujos constituintes majoritários são os ácidos graxos ciclopentênicos: górlico, chaulmúgrico e hidnocárpico (**Figura 1**) (OLIVEIRA *et al.*, 2009; SAHOO *et al.*, 2014). Esses ácidos constituem 85%, em média, do total de ácidos graxos presentes nas sementes, sendo também relatados em outras espécies como *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) A. Gray (SAHOO *et al.*, 2014).

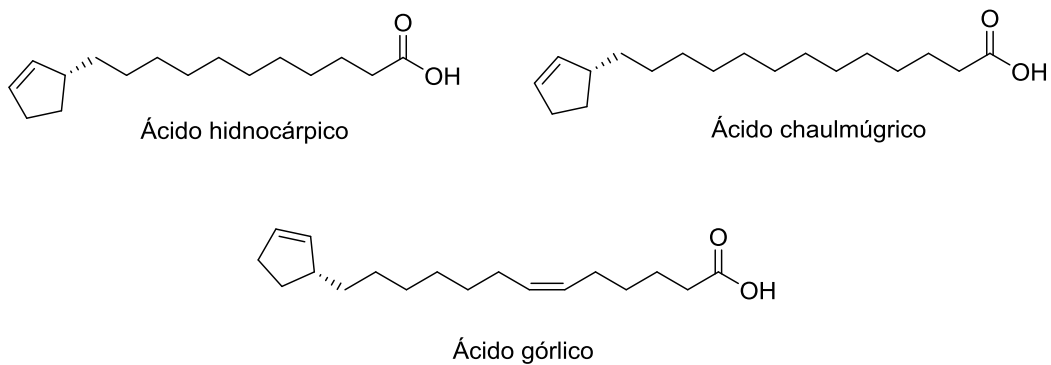
Carpotroche brasiliensis (Raddi) A. Gray (Achariaceae) é uma espécie arbórea nativa da Mata Atlântica no Brasil, sendo encontrada nos estados de Minas Gerais, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Piauí. No Brasil, apresenta um potencial econômico, sendo importante em programas de restauração florestal, principalmente no litoral sul da Bahia, onde foi cultivada e aproveitada para produção de sementes e apoio a estudos acadêmicos (BRITO-ROCHA *et al.*, 2017). Conhecida popularmente como sapucainha, essa planta produz frutos nutritivos cujas sementes fornecem o óleo conhecido como óleo de chaulmoogra (BITTENCOURT; ALVES; GAIOTTO, 2015; BRITO-ROCHA *et al.*, 2017; CERQUEIRA *et al.*, 2018).

Os frutos da *Carpotroche brasiliensis* são grandes e arredondados, com casca de cor marrom escuro e membranas rugosas que contém as sementes envoltas em uma polpa carnuda (**Figura 2**) (OLIVEIRA *et al.*, 2009) e constituem uma fonte importante de alimento para a fauna silvestre (BRITO-ROCHA *et al.*, 2017). As sementes estão conformadas por nozes oleosas, de cor avermelhado ou pardo escuro e revestidas de uma casca de superfície dura (**Figura 3**) (SANTOS; SOUZA; SIANI, 2008).

Os usos tradicionais relatados com o óleo das sementes do gênero *Hydnocarpus* e da espécie *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) A. Gray. mostraram efeitos antilepróticos, bactericidas, anti-inflamatórios (SAHOO *et al.*, 2014), inseticidas e parasiticidas, sendo eficaz no combate à caspa, piolhos e nas manifestações herpéticas (OLIVEIRA *et al.*, 2009). Jacobsen e Levy (1973) mostraram que o ácido hidnocárpico, constituinte principal do óleo de

chaulmoogra, inibe a multiplicação *in vitro* de algumas espécies de micobactérias. Naquele estudo, os autores associaram o efeito antileprótico à interação do ácido hidnocárpico com a biotina, necessária na multiplicação microbiana. Em trabalho posterior, foi sugerido que a ligação dupla no anel ciclopentênico é essencial para atividade biológica (JACOBSEN; LEVY, 1973). Portanto, o óleo de *Hydnocarpus* mostrou ser efetivo contra a *Mycobacterium leprae* (JACOBSEN; LEVY, 1973; SAHOO *et al.*, 2014).

Figura 1. Ácidos graxos ciclopentênicos presentes no óleo de chaulmoogra.



Fonte: Autoria própria

O óleo de chaulmoogra apresenta propriedades anti-inflamatórias (LIMA *et al.*, 2005) e analgésicas (OLIVEIRA *et al.* 2009). Esse óleo foi muito utilizado pela medicina tradicional e, posteriormente, na indústria farmacêutica para o tratamento da lepra e dermatite (BRITO-ROCHA *et al.*, 2017; CERQUEIRA *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2009). No Brasil, o uso tradicional da hanseníase foi implementado por Theodoro Peckolt, sugerindo o uso do óleo de *Carpotroche brasiliensis* com sucedâneo do óleo de chaulmoogra indiano (OLIVEIRA *et al.* 2009).

Figura 2. Frutos da *Carpotroche brasiliensis*



Fonte: Autoria própria

Figura 3. Sementes dos frutos da *Carpotroche brasiliensis*

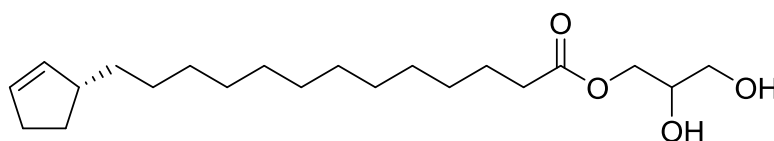


Fonte: Autoria própria

No Brasil, os estudos sobre o óleo da espécie *Carpotroche brasiliensis* iniciaram em 1922, esses resultados foram as primeiras observações científicas sobre o tratamento da Hanseníase com derivados desse óleo (OLIVEIRA *et al.* 2009). Esses estudos culminaram na preparação e comercialização dos produtos conhecidos como: *Karpotran*, baseado na ação do cobre; *Antileprol* da Bayer, cuja composição era uma mistura de ésteres benzílicos derivados do óleo da *Carpotroche brasiliensis* e *Antileprina* da Casa Granada, constituído por ésteres etílicos, óleo de fígado de bacalhau, cânfora e timol. O óleo de chaulmoogra foi usado no tratamento da Hanseníase até o aparecimento das sulfas em 1940 (OLIVEIRA *et al.* 2009).

Posteriormente, alguns estudos envolvendo o gênero *Hydnocarpus* foram desenvolvidos. Wang *et al.*, (2010) investigaram o extrato das sementes da *Hydnocarpus anthelminthica* revelando inibição de *Mycobacterium tuberculosis*. Além disso, os autores isolaram análogos do ácido chaulmúgrico das sementes e avaliaram a inibição da biossíntese do ácido aminobenzóico (PABA), atividade exibida por compostos com efeitos antibióticos e antimaláricos. Os autores observaram que o composto isolado, nomeado antelminticina C15 (**Figura 4**), inibiu a síntese do PABA com IC₅₀ de 11.3 μmol L⁻¹. (ALMAHLI, 2017; WANG *et al.*, 2010). Posteriormente, os autores relataram o isolamento de flavolignanas da *Hydnocarpus anthelminthica* (WANG *et al.*, 2011). Em trabalho similar, Nguyen *et al.*, (2017) relataram novos ácidos graxos ciclopentênicos e glicosídeos de cianoidrina isolados dos frutos de *Hydnocarpus hainanensis* (NGUYEN *et al.*, 2017).

Figura 4. Estrutura da antelminticina C15



Fonte: WANG *et al.*, (2010) com modificações

2. POTENCIAL BIOLÓGICO DE ÁCIDOS GRAXOS, TRIAZÓIS E AMIDAS

2.1. Ácidos graxos

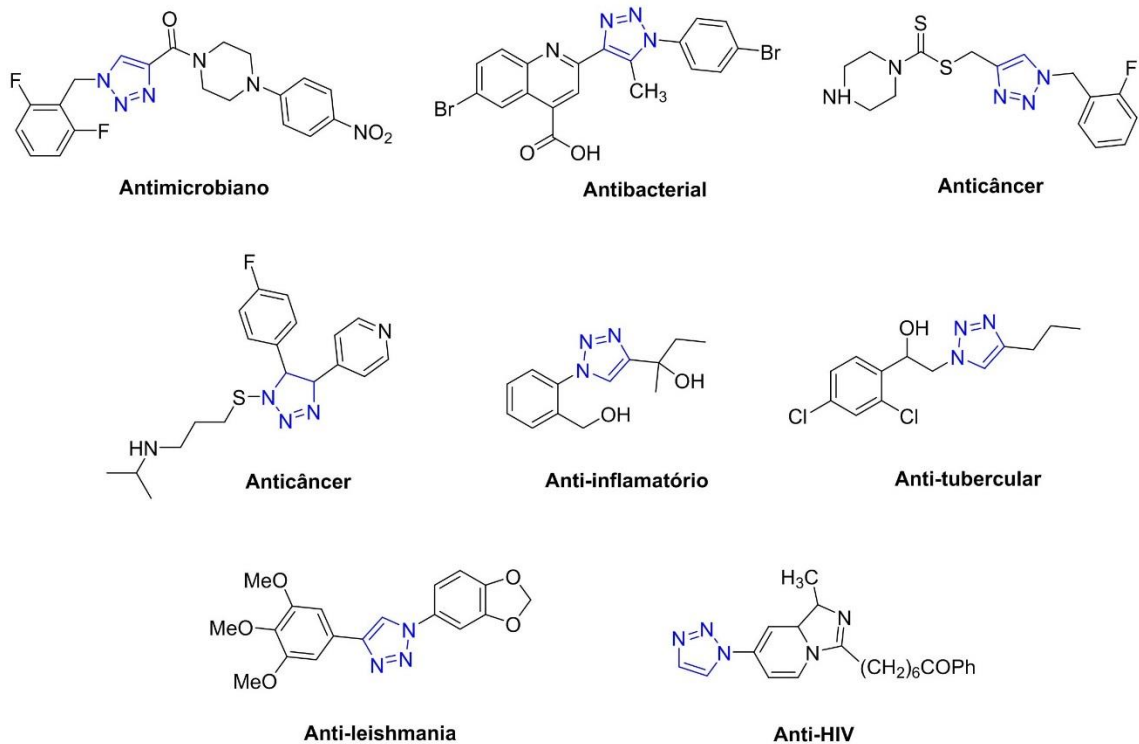
Os ácidos graxos são compostos de ocorrência natural e desempenham um papel importante nos processos biológicos, como constituintes dos lipídeos. Apresentam uma cadeia de carbono (hidrofóbica), variando entre 4 e 28 átomos (ZHANG *et al.*, 2012), ligada a um grupamento carboxílico (hidrofílico), sendo considerados moléculas anfipáticas. Os ácidos graxos diferem entre eles pelas ligações simples ou duplas presentes na cadeia, sendo classificados como saturados ou insaturados, como os ácidos palmítico e oleico, respectivamente (DESBOIS; SMITH, 2010). Estudos sobre ácidos graxos relataram atividades antifúngica (ALTIERI *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2008), nematicida (SCHWARZ *et al.*, 2004), antibacteriana (DESBOIS; SMITH, 2010), inibitória de acetilcolinesterase (LOESCHE *et al.*, 2018) e anticâncer (DAILEY *et al.*, 2011; MERICLI *et al.*, 2017) associadas a ácidos graxos. A modificação estrutural desses ácidos, usando como estratégia a incorporação de núcleo triazólico, mostrou favorecer a obtenção de derivados com atividades antituberculose (GHIANO *et al.*, 2017), antifúngica (*Candida albicans*) (FU *et al.*, 2017) e anticâncer (SANABRIA-RÍOS *et al.*, 2015; WALIA *et al.*, 2014). Além disso, a síntese de amidas derivadas de ácidos graxos revelou importante atividade anti-proliferativa em diferentes linhagens de células tumorais (DOS SANTOS *et al.*, 2015) e atividade antituberculose (D'OCA *et al.*, 2010).

2.2. Triazóis

Os triazóis são compostos orgânicos heterocíclicos que contêm um anel de cinco membros com três átomos de nitrogênio e dois de carbono. Existem duas formas isoméricas do núcleo triazólico, 1,2,3-triazol e 1,2,4-triazol. O núcleo 1,2,3-triazol é um grupo farmacofórico gerado na reação de cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alcinos catalisada por cobre(I) (CuAAC) (FU *et al.*, 2017). Como vantagens dos triazóis destaca-se a estabilidade em condições oxidativas e redutoras e à degradação metabólica. Além disso, apresentam formação de ligações de hidrogênio e interações dipolo-dipolo, características importantes no campo da química medicinal, pois melhoram a solubilidade e favorecem a afinidade com alvos biológicos. Em geral, as características moleculares dos compostos 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituídos são semelhantes às apresentadas pelas ligações do grupo amida, em termos de distância e planaridade. Porém, os triazóis se mostram eficazes como bioisósteros

da ligação amida em moléculas bioativas (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017). Estudos relataram o potencial do anel triazólico como agente anticâncer (MAREDDY *et al.*, 2017), anti-inflamatório (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017), anti-HIV (DA SILVA *et al.*, 2009), antifúngico (FU *et al.*, 2017), antimicrobiano (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017), anti-leishmanicida (MASOOD *et al.*, 2017) e antituberculose (GHIANO *et al.*, 2017). Além disso, esse núcleo tem sido explorado como inibidor enzimático, atuando como inibidores de elastase (DIAS *et al.*, 2018) e inibidores de acetilcolinesterase (XU *et al.*, 2019). Xu *et al.*, (2019) sintetizaram inúmeras moléculas bioativas contra acetilcolinesterase contendo a porção 1,2,3-triazol em sua estrutura. Alguns exemplos são apresentados na **Figura 5**.

Figura 5. Algumas moléculas bioativas contendo a porção 1,2,3-triazol.



Fonte: XU *et al.*, (2019) com modificações.

Da mesma forma, vários fármacos que contêm a porção 1,2,3-triazol estão sendo avaliados pelos seus efeitos terapêuticos (XU *et al.*, 2019). Alguns fármacos são mostrados na **Figura 6**.

Alguns produtos naturais foram estudados como protótipos de agentes antineoplásicos. Por exemplo, Majeed *et al.*, (2013), realizaram modificações químicas na estrutura do ácido betulínico, através da incorporação do anel 1,2,3-triazol, utilizando a reação CuAAC. Atividade citotóxica dos compostos frente a linhagens celulares foi avaliada, observando uma

importante atividade dos ácidos 3{1*N*(2-cianofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4il}metiloxi betulínico e 3{1*N*(5-hidroxi-naft-1il)-1*H*-1,2,3-triazol-4il}metiloxi betulínico que apresentaram IC₅₀ de 2,5 e 3,5 μmol L⁻¹ contra linhagens celulares de leucemia (HL-60), mostrando maior atividade do que seus precursores (**Figura 7**) (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; MAJEED *et al.*, 2013).

Figura 6. Algumas fármacos contendo porção 1,2,3-triazol.

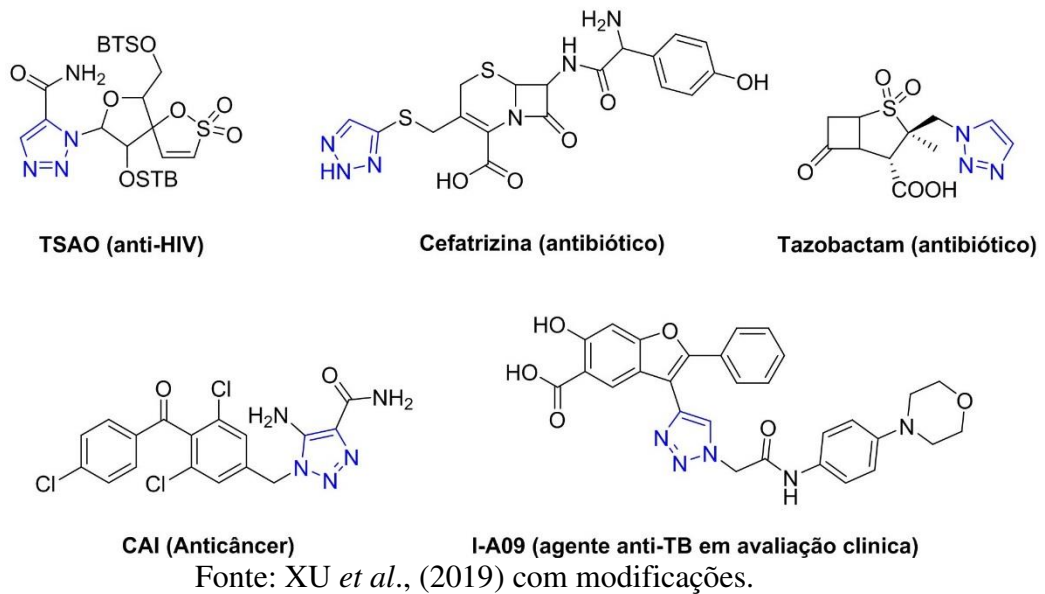
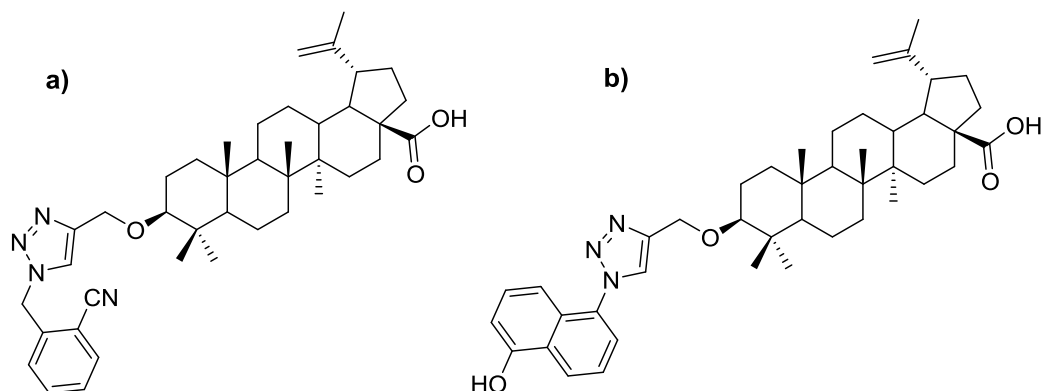


Figura 7. Derivados do ácido betulínico com atividade antineoplásica. Ácido 3{1*N*(2-cianofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4il}metiloxi betulínico (a) e ácido 3{1*N*(5-hidroxi-naft-1il)-1*H*-1,2,3-triazol-4il}metiloxi betulínico (b).

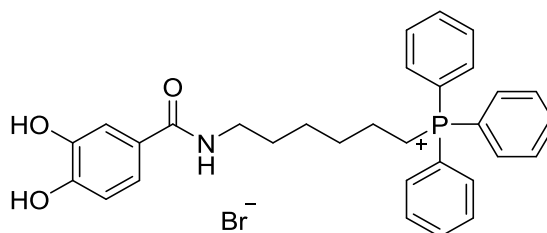


Fonte: DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017, modificado

2.3. Amidas

O grupo funcional amida está presente tanto em moléculas sintéticas como em compostos de origem natural (MATA-SANTOS *et al.*, 2016). As amidas podem apresentar atividades antibacteriana (ALEKSIC *et al.*, 2017), antitumoral (SHANG *et al.*, 2016), pesticida (WEI; MIAO; HAO, 2018), inibitória de acetilcolinesterase (GAO *et al.*, 2018; MORADI *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2018) e larvicida (MATA-SANTOS *et al.*, 2016). Oliveira *et al.*, (2018) sintetizaram derivados do ácido hidroxibenzoico e avaliaram a atividade inibitória contra colinesterase. Os resultados revelaram que o composto AntiOxBEN1 (**Figura 8**) exibia atividade antioxidante e inibitória de butirilcolinesterase (BChE) ($IC_{50} = 85 \pm 5 \mu\text{mol L}^{-1}$), sendo considerado um potencial candidato para o desenvolvimento de medicamentos contra a doença de Alzheimer (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Figura 8. Estrutura do composto AntiOxBEN1 com atividade antioxidante e inibidora de BChE.

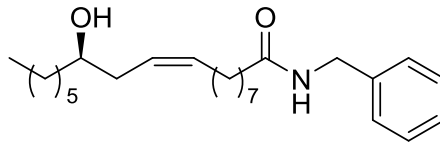


Fonte: OLIVEIRA *et al.*, (2018) com modificações.

As amidas derivadas de ácidos graxos são consideradas uma família de lipídeos com atividade farmacológica e aplicações industriais interessantes (DOS SANTOS *et al.*, 2015). Estudos revelaram que esses compostos apresentam atividades antituberculose (D'OCA *et al.*, 2010) e anti-proliferativa (DOS SANTOS *et al.*, 2015; TREMBLAY *et al.*, 2014).

Por exemplo, dos Santos *et al.*, (2015) sintetizaram amidas graxas e avaliaram seu potencial anti-proliferativo contra diferentes linhagens celulares cancerígenas. Os autores observaram que a benzilamida derivada do ácido ricinoléico (**Figura 9**) apresentou atividade anti-proliferativa ($TGI 95,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) em células tumorais de glioma humano (U251). Os estudos de relação estrutura-atividade sugeriram que a funcionalização de benzilamidas monoinsaturadas é responsável pela atividade anti-proliferativa, e a presença da cadeia carbonada facilita a permeabilidade nas células (DOS SANTOS *et al.*, 2015).

Figura 9. Estrutura da benzilamida derivada do ácido ricinoléico com atividade contra U251.



Fonte: dos SANTOS *et al.*, (2015) com modificações.

3. JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

A utilização de compostos de origem natural, como os ácidos graxos, para o desenvolvimento de novos compostos bioativos mais eficazes constitui umas das estratégias que podem ser usadas na busca por novos agentes terapêuticos. Considerando que os ácidos graxos ciclopentênicos, incluindo o ácido hidnocárpico, já demonstraram várias propriedades biológicas relevantes, que muitos esqueletos de triazóis e amidas são considerados porções estruturais chaves em moléculas bioativas e com base no pressuposto de que moléculas híbridas podem ter maior potencial biológico, o presente trabalho teve como objetivo produzir uma série de derivados do ácido hidnocárpico contendo o anel 1,2,3-triazol e o grupo amida e investigar a atividade biológica dos mesmos.

O Capítulo 2 descreverá o isolamento do ácido hidnocárpico de sementes do fruto de *Carpotroche brasiliensis*. O Capítulo 3 abordará a síntese, identificação e caracterização dos derivados triazólicos e amidas. Nos Capítulos 4 e 5 serão descritos os testes citotóxico e inibição de colinesterases.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Sintetizar novos derivados do ácido hidnocárpico, isolado do extrato das sementes de *Carpotroche brasiliensis*, e avaliar o potencial biológico dos mesmos.

4.2. Objetivos específicos

1. Obter o extrato das sementes de *Carpotroche brasiliensis*;
2. Isolar o ácido hidnocárpico, por meio de cromatografia em coluna, e caracterizá-lo a partir de técnicas espectroscópicas e espectrométricas;
3. Sintetizar e caracterizar os derivados 1,2,3-triazólicos e amidas do ácido hidnocárpico;
4. Avaliar a atividade anti-proliferativa do ácido hidnocárpico e triazóis sintetizados;

5. Avaliar a atividade inibitória de colinesterases (acetilcolinesterase e butirilcolinesterase) do ácido hidnocárpico e derivados sintetizados;
6. Realizar estudos de *docking* molecular sobre ação inibitória de colinesterases do ácido hidnocárpico e derivados triazólicos.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEKSIC, Ivana; PETKOVIC, Milos; JOVANOVIC, Milos; MILIVOJEVIC, Dusan; VASILJEVIC, Branka; NIKODINOVIC-RUNIC, Jasmina; SENEROVIC, Lidija. Anti-biofilm Properties of Bacterial Di-Rhamnolipids and Their Semi-Synthetic Amide Derivatives. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, n. DEC, p. 1–16, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02454. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02454/full>.
- ALMAHLI, Hadia. Cyclopentenyl Fatty Acids: History, Biological Activity and Synthesis. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 17, n. 26, p. 2903–2912, 2017. DOI: 10.2174/1568026617666170821125233. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/155071/article>.
- ALTIERI, Clelia; BEVILACQUA, Antonio; CARDILLO, Daniela; SINIGAGLIA, Milena. Antifungal activity of fatty acids and their monoglycerides against *Fusarium* spp. in a laboratory medium. **International Journal of Food Science & Technology**, [S. l.], v. 44, n. 2, p. 242–245, 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2007.01639.x. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2007.01639.x>.
- BITTENCOURT, Flora; ALVES, Jackeline S.; GAIOTTO, Fernanda A. Microsatellites for *Carpotroche brasiliensis* (Flacourtiaceae), a Useful Species for Agroforestry and Ecosystem Conservation. **Applications in Plant Sciences**, [S. l.], v. 3, n. 12, p. 1500068, 2015. DOI: 10.3732/apps.1500068. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.3732/apps.1500068>.
- BORGES, Warley de Sousa; BERLINCK, Roberto G. S.; SCOTTI, Marcus T.; VIEIRA, Paulo Cezar. A Química de Produtos Naturais do Brasil no Século XXI. **Química Nova**, [S. l.], v. 40, n. 6, p. 706–710, 2017. DOI: 10.21577/0100-4042.20170070. Disponível em: http://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=6617&nomeArquivo=AG20170110.pdf.
- BRITO-ROCHA, Ediófila; DOS ANJOS, Letícia; SCHILLING, Ana Cristina; DALMOLIN, Ândrea Carla; MIELKE, Marcelo S. Individual leaf area estimations of a dioecious tropical tree species *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) A. Gray, Achariaceae. **Agroforestry Systems**, [S. l.], v. 91, n. 1, p. 9–15, 2017. DOI: 10.1007/s10457-016-9927-x. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10457-016-9927-x>.
- CERQUEIRA, Amanda Freitas; DALMOLIN, Ândrea Carla; DOS ANJOS, Letícia; DA SILVA LEDO, Carlos Alberto; DA COSTA SILVA, Delmira; MIELKE, Marcelo Schramm. Photosynthetic plasticity of young plants of *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) A. Gray, Achariaceae. **Trees**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 191–202, 2018. DOI: 10.1007/s00468-017-1623-6. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00468-017-1623-6>.
- CHAVAN, Pramod V.; DESAI, Uday V.; WADGAONKAR, Prakash P.; TAPASE, Savita R.; KODAM, Kisan M.; CHOUDHARI, Amit; SARKAR, Dhiman. Click chemistry based multicomponent approach in the synthesis of spirochromenocarbazole tethered 1,2,3-triazoles as potential anticancer agents. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 85, n. February, p. 475–486, 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.01.070. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.070>.
- D'OCA, Caroline Da Ros Montes; COELHO, Tatiane; MARINHO, Tamara Germani; HACK, Carolina Rosa Lopes; DA COSTA DUARTE, Rodrigo; DA SILVA, Pedro Almeida;

D'OCA, Marcelo Gonçalves Montes. Synthesis and antituberculosis activity of new fatty acid amides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 20, n. 17, p. 5255–5257, 2010. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.06.149. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.06.149>.

DA SILVA, Fernando de C. et al. Synthesis, HIV-RT inhibitory activity and SAR of 1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazole derivatives of carbohydrates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 373–383, 2009. DOI: 10.1016/j.ejmech.2008.02.047. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523408001244>.

DAILEY, Oliver D.; WANG, Xi; CHEN, Feng; HUANG, Guohui. Anticancer activity of branched-chain derivatives of oleic acid. **Anticancer Research**, [S. l.], v. 31, n. 10, p. 3165–3169, 2011.

DESBOIS, Andrew P.; SMITH, Valerie J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 85, n. 6, p. 1629–1642, 2010. DOI: 10.1007/s00253-009-2355-3. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-009-2355-3>.

DHEER, Divya; SINGH, Virender; SHANKAR, Ravi. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 71, p. 30–54, 2017. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.01.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.01.010>.

DIAS, Maria; GULARTE, Thiago; TEIXEIRA, Róbson; SANTOS, Jorge; PILAU, Eduardo; MENDES, Tiago; DEMUNER, Antônio; DOS SANTOS, Marcelo. Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives of 4,4'-Dihydroxybenzophenone and Evaluation of Their Elastase Inhibitory Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 00, n. 00, p. 1–11, 2018. DOI: 10.21577/0103-5053.20180158. Disponível em: http://jbcs.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid=5381&nomeArquivo=2018-0243AR.pdf.

DOS SANTOS, Daiane S. et al. Antiproliferative activity of synthetic fatty acid amides from renewable resources. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 340–347, 2015. DOI: 10.1016/j.bmc.2014.11.019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2014.11.019>.

FU, Nina; WANG, Suiliang; ZHANG, Yuqian; ZHANG, Caixia; YANG, Dongliang; WENG, Lixing; ZHAO, Baomin; WANG, Lianhui. Efficient click chemistry towards fatty acids containing 1,2,3-triazole: Design and synthesis as potential antifungal drugs for *Candida albicans*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 136, p. 596–602, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.05.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.001>.

GAO, Xiao-hui; LIU, Lin-bo; LIU, Hao-ran; TANG, Jing-jing; KANG, Lu; WU, Hongnian; CUI, Peiwu; YAN, Jianye. Structure–activity relationship investigation of benzamide and picolinamide derivatives containing dimethylamine side chain as acetylcholinesterase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 110–114, 2018. DOI: 10.1080/14756366.2017.1399885. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1399885>.

GHIANO, Diego G.; DE LA IGLESIA, Agustina; LIU, Nina; TONGE, Peter J.; MORBIDONI, Héctor R.; LABADIE, Guillermo R. Antitubercular activity of 1,2,3-triazolyl fatty acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 125, p. 842–

852, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.09.086. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523416308224>.

GUO, Zongru. The modification of natural products for medical use. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 119–136, 2017. DOI: 10.1016/j.apsb.2016.06.003. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211383516300466>.

JACOBSEN, P. L.; LEVY, L. Mechanism by Which Hydnocarpic Acid Inhibits Mycobacterial Multiplication. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 373–379, 1973. DOI: 10.1128/AAC.3.3.373. Disponível em: <http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.3.3.373>.

LIMA, J. A.; OLIVEIRA, A. S.; MIRANDA, A. L. P. De; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of an acid fraction of the seeds of *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) (Flacourtiaceae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S. l.], v. 38, n. 7, p. 1095–1103, 2005. DOI: 10.1590/S0100-879X2005000700013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2005000700013&lng=en&tlng=en.

LIU, Siyun; RUAN, Weibin; LI, Jing; XU, Hua; WANG, Jingan; GAO, Yubao; WANG, Jingguo. Biological Control of Phytopathogenic Fungi by Fatty Acids. **Mycopathologia**, [S. l.], v. 166, n. 2, p. 93–102, 2008. DOI: 10.1007/s11046-008-9124-1. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11046-008-9124-1>.

LOESCHE, Anne; WIEMANN, Jana; AL HALABI, Zayan; KARASCH, Julia; SIPPL, Wolfgang; CSUK, René. Unexpected AChE inhibitory activity of (2E) α,β -unsaturated fatty acids. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 28, n. 20, p. 3315–3319, 2018. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.09.013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.09.013>.

MAJEED, Rabiya et al. Synthesis of 3-O-propargylated betulinic acid and its 1,2,3-triazoles as potential apoptotic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 63, p. 782–792, 2013. DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.03.028. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.03.028>.

MAREDDY, Jyoti; SURESH, N.; KUMAR, C. Ganesh; KAPAVARAPU, Ravikumar; JAYASREE, A.; PAL, Sarbani. 1,2,3-Triazole-nimesulide hybrid: Their design, synthesis and evaluation as potential anticancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 518–523, 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.12.030. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.12.030>.

MASOOD, Mir Mohammad et al. Anti-leishmanial and cytotoxic activities of amino acid-triazole hybrids: Synthesis, biological evaluation, molecular docking and in silico physico-chemical properties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 27, n. 9, p. 1886–1891, 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.03.049. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.03.049>.

MATA-SANTOS, Taís et al. *Toxocara canis*: Larvicidal activity of fatty acid amides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 739–741, 2016. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.01.002. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960894X16300026>.

MERICLI, Filiz; BECER, Eda; KABADAYI, Hilal; HANOGLU, Azmi; YIGIT HANOGLU, Duygu; OZKUM YAVUZ, Dudu; OZEK, Temel; VATANSEVER, Seda. Fatty acid composition and anticancer activity in colon carcinoma cell lines of *Prunus dulcis* seed oil.

Pharmaceutical Biology, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 1239–1248, 2017. DOI:

10.1080/13880209.2017.1296003. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13880209.2017.1296003>.

MOAZAMI, Yasamin; GULLEDGE, Travis V.; LASTER, Scott M.; PIERCE, Joshua G. Synthesis and biological evaluation of a series of fatty acid amides from *Echinacea*.

Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, [S. l.], v. 25, n. 16, p. 3091–3094, 2015. DOI:

10.1016/j.bmcl.2015.06.024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.06.024>.

MORADI, Alireza et al. Synthesis, docking study, and biological evaluation of novel umbelliferone/hymecromone derivatives as acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase inhibitors. **Medicinal Chemistry Research**, [S. l.], v. 27, n. 7, p. 1741–1747, 2018. DOI:

10.1007/s00044-018-2187-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00044-018-2187-8>.

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, [S. l.], v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016. DOI:

10.1021/acs.jnatprod.5b01055. Disponível em:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>.

NGUYEN, Thanh Tra et al. New Cyclopentyl Fatty Acid and Cyanohydrin Glycosides from Fruits of *Hydnocarpus hainanensis*. **Natural Product Communications**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 1934578X1701200, 2017. DOI: 10.1177/1934578X1701200228. Disponível em:

<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1934578X1701200228>.

OLIVEIRA, Adriana S.; LIMA, Josélia A.; REZENDE, Claudia M.; PINTO, Angelo C.

Ácidos ciclopentênicos do óleo da sapucainha (*Carpotroche brasiliensis* Endl,

Flacourtiaceae): O primeiro antileprótico usado no Brasil. **Quim.Nova.**, [S. l.], v. 32, n. 1, p.

139–145, 2009.

OLIVEIRA, Catarina et al. Hydroxybenzoic Acid Derivatives as Dual-Target Ligands:

Mitochondriotropic Antioxidants and Cholinesterase Inhibitors. **Frontiers in Chemistry**, [S.

l.], v. 6, n. APR, 2018. DOI: 10.3389/fchem.2018.00126. Disponível em:

<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fchem.2018.00126/full>.

SAHOO, Manas Ranjan; DHANABAL, S. P.; JADHAV, Atul N.; REDDY, Vishali;

MUGULI, Ganesh; BABU, U. V.; RANGESH, Paramesh. *Hydnocarpus*: An

ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review. **Journal of**

Ethnopharmacology, [S. l.], v. 154, n. 1, p. 17–25, 2014. DOI: 10.1016/j.jep.2014.03.029.

Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874114002190>.

SANABRIA-RÍOS, David J. et al. Synthesis of novel C5-curcuminoid-fatty acid conjugates and mechanistic investigation of their anticancer activity. **Bioorganic & Medicinal**

Chemistry Letters, [S. l.], v. 25, n. 10, p. 2174–2180, 2015. DOI:

10.1016/j.bmcl.2015.03.065. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.03.065>.

SANTOS, Fernando Sergio Dumas Dos; SOUZA, Letícia Pumar Alves De; SIANI, Antonio

Carlos. O óleo de chaulmoogra como conhecimento científico: a construção de uma

terapêutica antileprótica. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 29–

46, 2008. DOI: 10.1590/S0104-59702008000100003. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702008000100003&lng=pt&tlng=pt.

SCHWARZ, M.; KOPCKE, B.; WEBER, R.; STERNER, O.; ANKE, H. 3-Hydroxypropionic acid as a nematocidal principle in endophytic fungi. **Phytochemistry**, [S. l.], v. 65, n. 15, p. 2239–2245, 2004. DOI: 10.1016/j.phytochem.2004.06.035. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031942204002973>.

SHANG, Hai; LI, Ling-Yu; CHENG, Wei-Hua; LUO, Jun; ZHANG, Hong-Wu; ZOU, Zhong-Mei. Semisynthetic and SAR Studies of Amide Derivatives of Neocrotocembraneic Acid as Potential Antitumor Agents. **Molecules**, [S. l.], v. 21, n. 11, p. 1581, 2016. DOI: 10.3390/molecules21111581. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/11/1581>.

TREMBLAY, Hugo; ST-GEORGES, Catherine; LEGAULT, Marc-André; MORIN, Caroline; FORTIN, Samuel; MARSAULT, Eric. One-pot synthesis of polyunsaturated fatty acid amides with anti-proliferative properties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 24, n. 24, p. 5635–5638, 2014. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.10.084. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.10.084>.

WALIA, Mayanka; RAWAT, Kiran; BHUSHAN, Shashi; PADWAD, Yogendra S.; SINGH, Bikram. Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidant and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from apple pomace. **Journal of the Science of Food and Agriculture.**, [S. l.], v. 94, n. 5, p. 929–934, 2014. DOI: 10.1002/jsfa.6337. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.6337>.

WANG, Jun-Feng et al. Antituberculosis Agents and an Inhibitor of the para-Aminobenzoic Acid Biosynthetic Pathway from *Hydnocarpus anthelminthica* Seeds. **Chemistry & Biodiversity.**, [S. l.], v. 7, n. 8, p. 2046–2053, 2010. DOI: 10.1002/cbdv.201000072. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/cbdv.201000072>.

WANG, Jun-Feng; YIN, Ge-Fen; ZHOU, Xiao-Jiang; SU, Jia; LI, Yan; ZHONG, Hui-Min; DUAN, Gang; CHENG, Yong-Xian. Anti-inflammatory flavonolignans from *Hydnocarpus anthelminthica* seeds. **Journal of Asian Natural Products Research**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 80–83, 2011. DOI: 10.1080/10286020.2010.543131. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10286020.2010.543131>.

WEI, Yan; MIAO, Kai-Long; HAO, Shuang-Hong. Novel 4-Methylumbelliferone Amide Derivatives: Synthesis, Characterization and Pesticidal Activities. **Molecules**, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 122, 2018. DOI: 10.3390/molecules23010122. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/1/122>.

XU, Man; PENG, Yongzhi; ZHU, Li; WANG, Shulin; JI, Jiayou; RAKESH, K. P. Triazole derivatives as inhibitors of Alzheimer's disease: Current developments and structure-activity relationships. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 180, p. 656–672, 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.07.059. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.059>.

ZHANG, Wei-pu; RUAN, Wei-bin; DENG, Yun-ying; GAO, Yu-bao. Potential Antagonistic Effects of Nine Natural Fatty Acids Against *Meloidogyne incognita*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 60, n. 46, p. 11631–11637, 2012. DOI: 10.1021/jf3036885. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf3036885>.

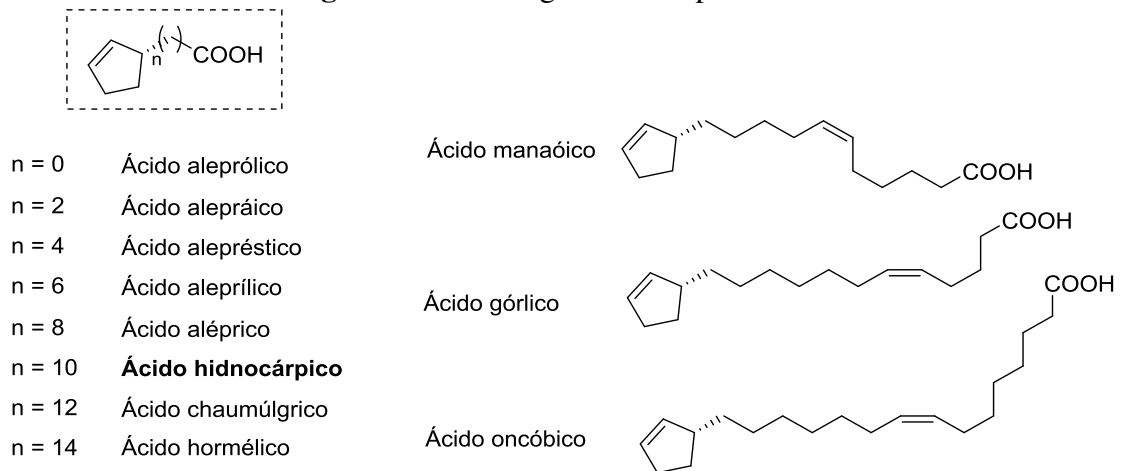
CAPÍTULO 2

OBTENÇÃO DO EXTRATO DAS SEMENTES DE *Carpotroche brasiliensis* E ISOLAMENTO DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO

1. INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos ciclopentênicos pertencem a uma classe de lipídeos de ocorrência natural, em diferentes espécies de Flacourtiaceae. Esses ácidos são conhecidos de acordo com seu uso no tratamento da Hanseníase e o nome da espécie que pertencem (**Figura 10**) (ALMAHLI, 2017). Mislow e Steinberg, (1954) determinaram a estereoquímica do ácido chaulmúgrico. Nesse estudo, os autores concluíram que os ácidos graxos ciclopentênicos, homólogos do ácido chaulmúgrico, possuem a configuração (*R*) no anel ciclopent-2-enil (MISLOW; STEINBERG, 1955).

Figura 10. Ácidos graxos ciclopentênicos



Fonte: Almahli, 2017, modificado.

Cole e Cardoso, (1938) estudaram a composição do óleo da *Carpotroche brasiliensis* e determinaram as constantes físico-químicas, tais como a rotação específica e o índice de iodo. Os autores extraíram e esterificaram o óleo das sementes. Posteriormente, a fração de ésteres de etila foi submetida à destilação fraccionada, obtendo-se os ácidos: hidnocárpico (45%), chaulmúgrico (24,4%) e górlico (15,4%) que foram relatados como majoritários nessa espécie. Além disso, foram relatados os ácidos palmítico (6,6%) e oleico (6,3%) (COLE; CARDOSO, 1938). Os resultados sobre a composição das sementes foram comparados com estudos relatados anteriormente (PAGET, 1937).

Laksmminarayana e Septcmbor, (1969) analisaram a mistura de ácidos graxos no óleo da *Hydnocarpus wightiana*. Os autores estudaram o comportamento dos ácidos ciclopentênicos e ciclopentânicos quando analisados por cromatografia em camada delgada impregnada com nitrato de prata. Para isso, fizeram esterificação da mistura de ácidos graxos e posteriormente, submetem os ésteres a fracionamento e cromatografia de íons prata em camada delgada (Argentação-CCD). A separação do chaulmugrato e hidnocarpato dos componentes da mistura foi observada. Seguidamente, a fração contendo o chaulmugrato e hidnocarpato foi submetida a destilação fracionada obtendo os ésteres puros (LAKSMMINARAYANA; SEPTCMBOR, 1969).

Estudos recentes, propõem a extração e fracionamento dos compostos das sementes da *Hydnocarpus pentandra* por meio da extração por maceração do moído das sementes usando como solventes: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Os autores observaram que o extrato hexânico foi obtido com maior rendimento, quando comparado com os outros solventes. Posteriormente, o óleo foi submetido a fracionamento empregando cromatografia em coluna de sílica gel e usando eluição gradiente com hexano: acetato de etila (SIVARAMAN *et al.*, 2017). Palyzová e Rezanka, (2020) estudaram a separação enantiomérica de ácidos graxos cíclicos, na forma de triacilgliceróis, provenientes do óleo das sementes de *Sterculia foetida* e *Hydnocarpus wightiana*, utilizando colunas de fase reversa (RP18) e fase quiral. No óleo de chaulmúgra, identificaram triacilgliceróis contendo os ácidos: hidnocárpico, chaulmúgrico e górlico (PALYZOVÁ; ŘEZANKA, 2020). Momchilova e Nikolova-Damyanova (2012) relataram o uso de cromatografia de íons prata para separação de ácidos graxos e triacilgliceróis (MOMCHILOVA; NIKOLOVA-DAMYANOVA, 2012).

A cromatografia de íons de prata permite a separação de ácidos graxos naturais ou modificados, presentes em misturas, que diferem pelo número, configuração e posição de ligações duplas na molécula (DOBSON; CHRISTIE; NIKOLOVA-DAMYANOVA, 1995; MOMCHILOVA; NIKOLOVA-DAMYANOVA, 2012). Essa técnica utiliza o princípio de complexação do íon prata com ligações duplas, aplicado a técnicas cromatográficas conhecidas como cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia em coluna flash (MOMCHILOVA; NIKOLOVA-DAMYANOVA, 2012).

Assim, o objetivo desse capítulo foi isolar o ácido hidnocárpico do extrato das sementes dos frutos maduros de *Carpotroche brasiliensis*. Para isso, as sementes foram maceradas com hexano, o extrato bruto foi submetido à cromatografia em coluna com sílica-

gel para seu fracionamento. Finalmente, O ácido hidnocárpico foi isolado por cromatografia em coluna de íons de prata, obtendo-se um sólido branco.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Informações gerais

Todos os solventes e reagentes foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos) e foram utilizados sem purificação adicional. Colunas cromatográficas foram realizadas utilizando-se sílica-gel 60 (70-230 mesh, Macherey-Nagel, Düren, Alemanha) e cromatografia em coluna flash foi empregada em sílica gel 60 (35-70 mesh, Fluka-Analytical, St. Gallen, Swiss).

O espectro de infravermelho (IV) foi registrado num espectrofotômetro VARIAN 660-IR (Varian, Palo Alto, CA, EUA) equipado com GladiATR *scanning* de 4000 para 500 cm^{-1} do Departamento de Química- Universidade Federal de Viçosa.

O cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas foi usado para obter o cromatograma por ionização por impacto eletrônico (EI, 70 eV) no equipamento SHIMADZU CGMS-QP5050A (Shimadzu Europe, Duisburg, Alemanha) do Departamento de Química - Universidade Federal de Viçosa.

O espectro de RMN de ^1H (400 MHz) e de ^{13}C (100 MHz) foi obtido em espectrômetro BRUKER 400MHz (Billerica, Massachusetts, EUA) do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais. CDCl_3 foi utilizado como solvente e referenciado usando o sinal de solvente. Os dados do RMN de ^1H foram apresentados como deslocamento químico (δ), em ppm, seguido de multiplicidade, valores de J em Hertz (Hz), número de H em H correspondentes. As multiplicidades são designadas como s (simpleto), t (triplete), m (multiplete).

A numeração da estrutura foi utilizada para assinalar os hidrogênios e carbonos nos espectros de RMN e não segue o sistema da IUPAC que foi o utilizado para a nomenclatura. O *software* ChemDraw Ultra 12.0[®] (Chemical Structure Drawing Standard, PerkinElmer) foi utilizado para a obtenção do nome do composto orgânico.

A análise de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) foi realizada usando o espectrômetro de massas Impact II bruker ESI-Q-TOF-MS (electrospray ionization-quadrupole-time of flight) (Bruker Daltonics Corporation, Bremen, Germany) na Universidade Estadual de Maringá.

A faixa de fusão foi registrada no equipamento MQAPF-302 Microchemistry (Microquímica Equipamentos, Santa Catarina, Brazil) na Universidade Federal de Viçosa.

O valor do ângulo de rotação (α) foi medido no polarímetro ADP220, número de série PF05050 (Bellingham+Stanley Ltd., Tunbridge Wells, Kent, UK) do Departamento de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais. Sódio foi utilizado como fonte de luz monocromática ($\lambda = 598,3$ nm), caminho óptico (l) de meio dm e temperatura de 24 °C. A amostra foi solubilizada em 2 mL de clorofórmio e a concentração final (c) da solução foi calculada em $\text{g } 100^{-1} \text{ mL}^{-1}$.

Os cálculos para obtenção da rotação específica foram realizados empregando-se a **Equação 1**:

$$[\alpha]_D^{24} = \frac{100\alpha}{lc} \quad (1)$$

2.2. Material vegetal

Os frutos de *Carpotroche brasiliensis* foram adquiridos no município de Porto Firme (20°40'24"S e 43°05'04"W), Minas Gerais, Brasil. O Patrimônio Genético/CTA do *Carpotroche brasiliensis* foi registrado no SisGen N° A391362.

2.3. Extração

Após a remoção do pericarpo, as sementes de *Carpotroche brasiliensis* foram lavadas com água destilada, secas a 40 °C por 48 h e quebradas para remover as nozes no interior. Estes últimos foram pulverizados em um liquidificador e processados por maceração para a extração usando hexano como solvente durante 48 horas (400 g de semente, 600 mL de hexano). O extrato foi filtrado sob vácuo e o filtrado obtido foi concentrado a 45 °C usando um evaporador rotativo para produzir 88 g (22%) do extrato bruto oleoso. Foi realizada a hidrólise e silição do extrato para investigar sua composição por CG-MS. Uma série de análises por CCD usando diferentes misturas de solventes foi conduzida para selecionar a fase móvel hexano: acetato de etila: ácido acético (95:5:0,5 v/v) capaz de fornecer a melhor separação do ácido hidnocárpico.

2.4. Procedimento para derivatização do extrato

2.4.1. Hidrólise

Uma solução do extrato bruto (20 mg em 10 mL de solução metanólica de KOH 1 mol L⁻¹) foi transferida para um balão de fundo redondo de 25 mL e refluxada por 24 h. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente e acidificada com HCl 1 mol L⁻¹. Em seguida, foi extraída com diclorometano (3 x 20 mL). A fase orgânica foi concentrada usando um evaporador rotativo. Um óleo amarelo foi obtido e submetido a sililação.

2.4.2. Sililação

A derivatização do extrato foi realizada por sililação. Foram utilizados 3 mg de amostra em 60 mL de piridina seca e 100 µL de bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida em 1% de trimetilclorosilano. A mistura foi aquecida 70 °C por 30 min. Em seguida, uma alíquota de 1 µL da solução resultante foi utilizada para análise por CG-MS (OLIVEROS-BASTIDAS; DEMUNER; BARBOSA, 2013).

2.5. Fracionamento do extrato de *Carpotroche brasiliensis*

O extrato orgânico bruto (25 g) foi submetido a cromatografia em coluna usando sílica gel (70-230 mesh) e fase móvel hexano: acetato de etila: ácido acético (95:5:0,5 v/v), resultando em 60 frações de 25 mL. As frações foram analisadas por CCD, usando vanilina como revelador, e agrupadas em duas frações principais, F1: 6-19 e F2: 20-60. Posteriormente, a caracterização foi realizada pelo CG-MS. Cinco gramas (20%) de mistura de ácidos graxos, incluindo o ácido hidnocárpico, foram obtidos na fração F2. A identificação foi realizada com base nos espectros de massa dos constituintes.

2.6. Isolamento do ácido hidnocárpico (1)

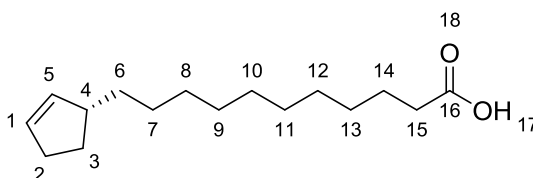
O isolamento do ácido hidnocárpico foi realizado por coluna cromatográfica utilizando sílica gel 60 (35-70 mesh) impregnada com AgNO₃ e fase móvel hexano: acetato de etila: ácido acético (95:5:0,5 v/v), resultando em 26 frações de 15 mL (ANDREÃO *et al.*, 2010).

A impregnação da sílica foi realizada pela adição de solução de AgNO₃ em água (10% m/v) à sílica-gel. A mistura foi mantida em estufa por 3 horas na faixa de (105-110 °C) para ativação, obtendo-se a concentração final de AgNO₃ na sílica de 20% (m/m).

A coluna foi compactada e 500 mg da mistura de ácidos graxos (Fração 2) foram incorporados na sílica anteriormente impregnada. A coluna foi protegida da luz usando-se papel alumínio. A eluição foi monitorada usando CG-MS. As frações foram combinadas de acordo com sua composição em 4 frações principais: H1: 8-12, H2: 17-18, H3: 20-24 e H4: 25-26. Sessenta miligramas de ácido hidnocárpico puro (12%) foram obtidos na fração H4, cuja identidade foi confirmada por IV, CG-MS, RMN de ^1H e de ^{13}C e HRMS.

2.7. Dados físicos e experimentais do composto isolado

Ácido (*R*)-11-(ciclopent-2-enil)undecanóico (**1**)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 252,39 g mol⁻¹

CCD, R_r: 0,30 (hexano: acetato de etila: ácido acético 95:5:0.5 v/v)

Rendimento: 12%

Faixa de fusão: 55,7-56,5 °C

[α]_D²⁴: + 6,0 (*c* 1,0; CHCl₃);

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3049, 2917, 2850, 1701, 1472, 1049, 1207, 1186, 912, 717.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,27-1,42 (m, 16H, H6 a H13); 1,60-1,67 (m, 2H, H14); 1,98-2,06 (m, 1H, H3); 2,34 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,61 (s, 1H, H4); 5,66-5,71 (m, 2H, H1, H5).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,84 (C14); 28,12 (C7); 29,21 (C8); 29,38 (C9); 29,57 (C10); 29,72 (C11); 29,77 (C12); 30,02 (C13); 32,12 (C2 e C3); 34,09 (C6); 36,31 (C15); 45,76 (C4); 130,12 (C1); 135,61 (C5); 179,60 (C16).

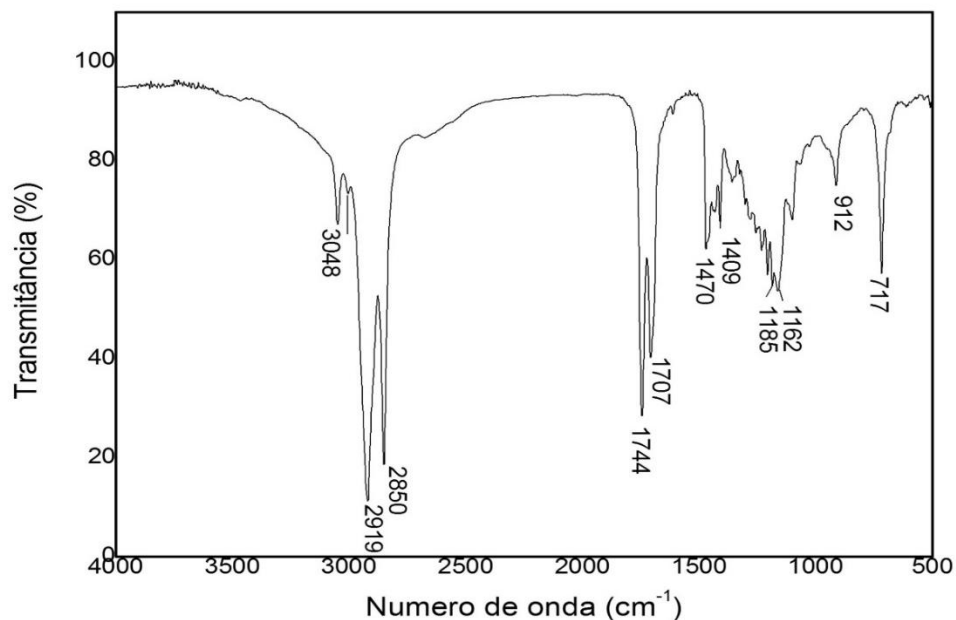
MS, *m/z* (%): 252 (M⁺ 3), 235 (2), 123 (2), 95 (4), 82 (45), 67 (100), 55 (25), 41 (30).

ESI-MS DE ALTA RESOLUÇÃO *m/z* [M+H]⁺: Calculado para C₁₆H₂₈O₂: 275,1977; encontrado: 275,1982.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo das sementes dos frutos maduros de *Carpotroche brasiliensis* contém ácidos graxos livres e triacilgliceróis (WAKTOLA *et al.*, 2019). No espectro de IV do extrato hexânico (**Figura 11**) foram observadas as bandas de estiramento de $C_{sp2}-H$ e $C_{sp3}-H$ em 3048 cm^{-1} e $2850-2919\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. As bandas em 1744 cm^{-1} e 1707 cm^{-1} são referentes ao estiramento $C=O$ para ésteres e ácidos carboxílicos, respectivamente. Portanto, foi realizada a derivatização por sililação do óleo para análise dos constituintes por CG-MS (Anexos).

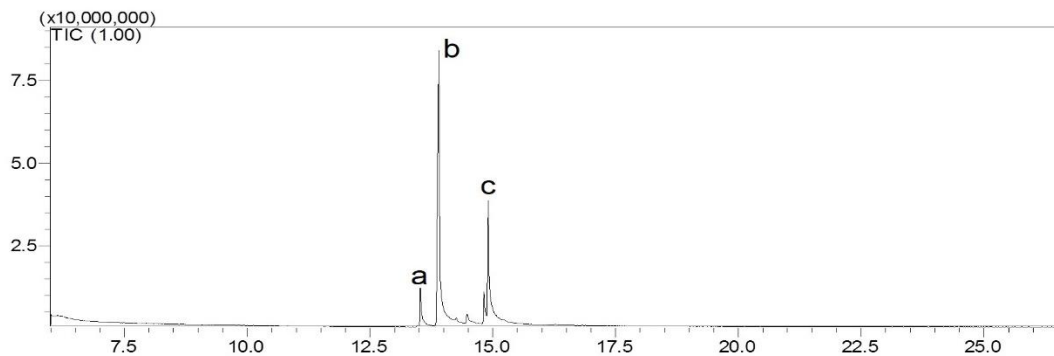
Figura 11. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do extrato hexânico de *Carpotroche brasiliensis*.



Fonte: autoria própria.

O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico obtido produziu duas frações, sendo F2 constituída por um sólido branco. As frações obtidas foram caracterizadas pela técnica de CG-MS. A análise de F2 mostrou uma mistura de ácidos graxos de cadeia linear e ciclopentênicos, na forma de ácidos graxos livres. Essa fração foi analisada por CG-MS (**Figura 12**) (**Tabela 1**) e os constituintes identificados com base nos espectros de massa (Anexos) como ácidos: palmítico, hidnocárpico e chaulmúgrico. Esses resultados foram verificados com outros estudos relatados (WAKTOLA *et al.*, 2019) e os compostos identificados por comparação com a livreria NIST do equipamento com 95% de similaridade.

Figura 12. Cromatograma obtido para a fração F2. Os ácidos graxos identificados foram palmítico (a), hidnocárpico (b) e chaulmúgrico (c).



Fonte: autoria própria.

Tabela 1. Identificação dos constituintes da fração F2 obtida do fracionamento do extrato de *Carpotroche brasiliensis*.

Posição	Tempo de retenção (min)	Ácido	Fórmula molecular	Área (%)
a	13,54	Palmítico	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	5,5
b	13,92	Hidnocárpico	C ₁₆ H ₂₈ O ₂	71,9
c	14,91	Chaulmúgrico	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	22,6

Fonte: Autoria própria.

Por exemplo, Waktola *et al.*, (2019) analisou o óleo de *Carpotroche brasiliensis* e determinou o conteúdo de ácidos graxos e triacilgliceróis por cromatografia gasosa-acoplada a espectrometria de massa por impacto eletrônico (CG-EIMS). Os autores determinaram a composição dos ácidos graxos ciclopentênicos, hidnocárpico (36,1%), chaulmúgrico (26,5%) e górlico (23,6%). Além disso, identificaram os ácidos graxos de cadeia linear: palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico e linoleico. A identificação do óleo esterificado de *Carpotroche brasiliensis* relatada na literatura é apresentada na **Tabela 2**.

Tabela 2. Identificação dos constituintes do óleo esterificado de *Carpotroche brasiliensis* relatada na literatura.

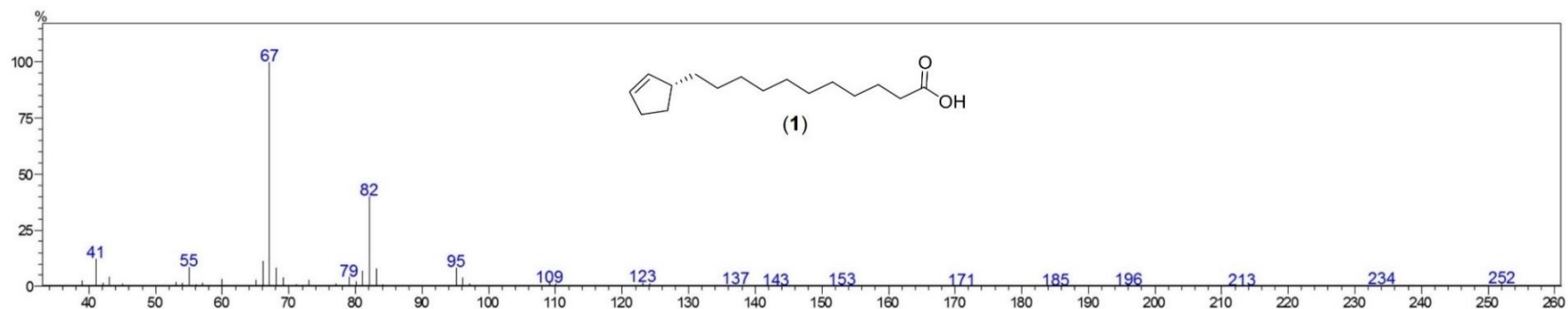
Tempo de retenção (min)	Nome	Fórmula molecular	Área (%)
13,34	Palmitoleico	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	1,10
13,64	Palmítico	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	6,32
14,50	Hidnocárpico	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	36,09
16,34	Linoleico	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	0,71
16,48	Oleico	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	4,98
16,96	Esteárico	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0,66
17,64	Górlico	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	23,62
18,15	Chaulmúgrico	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	26,51

Fonte: Waktola *et al.*, (2019).

Como a separação por coluna cromatográfica da mistura de ácidos graxos (F2) utilizando sílica convencional é difícil, foi utilizada cromatografia de íons de prata para o isolamento do composto **1**. Essa técnica é usada para aumentar a seletividade da fase estacionária e permite a separação de acordo com o número, configuração geométrica e posição de ligações duplas, sendo útil na resolução de misturas não polares complexas (DOBSON *et al.*, 1995; ANDREÃO *et al.*, 2010).

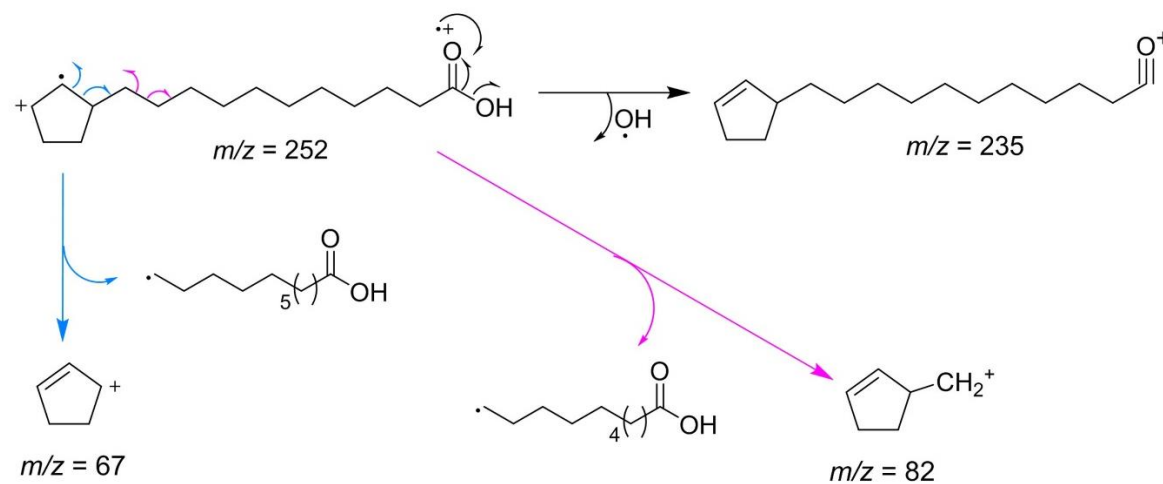
O cromatograma obtido na análise por CG-MS confirmou a separação do ácido hidnocárpico (Anexos). O espectro de massa (**Figura 13**) mostrou o pico do íon molecular em m/z 252 $[M]^+$, que é consistente com a massa molecular do ácido hidnocárpico (**1**). O pico base em m/z 67, característico do cátion ciclopentenila, e um fragmento em m/z 235, consistente com a perda do hidroxila pelo íon molecular, o pico m/z 82, devido à clivagem β no anel (m/z 81, $C_5H_7CH_2^+$) com transferência de um átomo de hidrogênio da cadeia, também são compatíveis com a estrutura do ácido hidnocárpico (WAKTOLA *et al.*, 2019). Na **Figura 14** é apresentada uma proposta para explicar as fragmentações descritas anteriormente.

Figura 13. Espectro de massas do ácido hidnocárpico (1) (70 eV).



Fonte: autoria própria.

Figura 14. Proposta de fragmentações para alguns picos presentes no espectro de massas do composto 1.

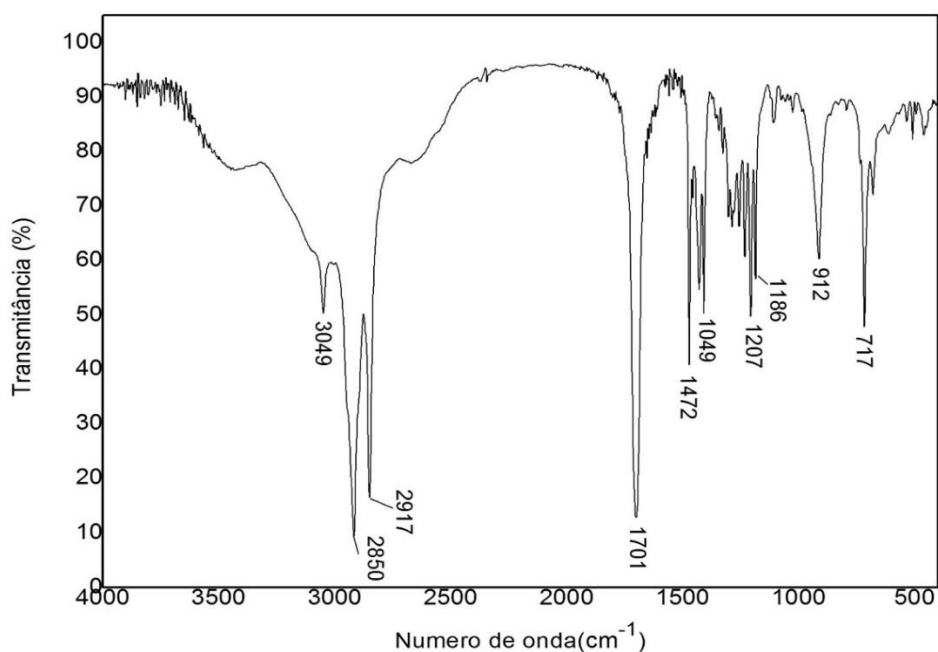


Fonte: autoria própria.

O ácido hidnocárpico (**1**) foi caracterizado por espectroscopia de IV, RMN de ^1H e de ^{13}C . A fórmula molecular do ácido hidnocárpico (**1**) foi confirmada HRMS (Anexos).

O espectro IV do composto **1** (**Figura 15**), apresenta uma banda característica de ácidos carboxílicos na região de $3100\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ devido ao estiramento OH. O estiramento $\text{C}=\text{O}$ é observado em 1701 cm^{-1} . As bandas de vibrações de estiramento de $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$ e $\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H}$ são observadas em 3049 cm^{-1} e $2850\text{-}2917\text{ cm}^{-1}$, respectivamente. As bandas em 1472 cm^{-1} e 1409 cm^{-1} são referentes às vibrações de deformação angular de CH_2 e CH_3 , respectivamente. As bandas na região de $1207\text{-}1186\text{ cm}^{-1}$ são produzidas pelo estiramento de C-O . A banda em 912 cm^{-1} é referente à deformação angular fora do plano de $=\text{C-H}$ e finalmente, a banda em 717 cm^{-1} devido à deformação angular fora do plano de CH_2 (Barbosa, 2007).

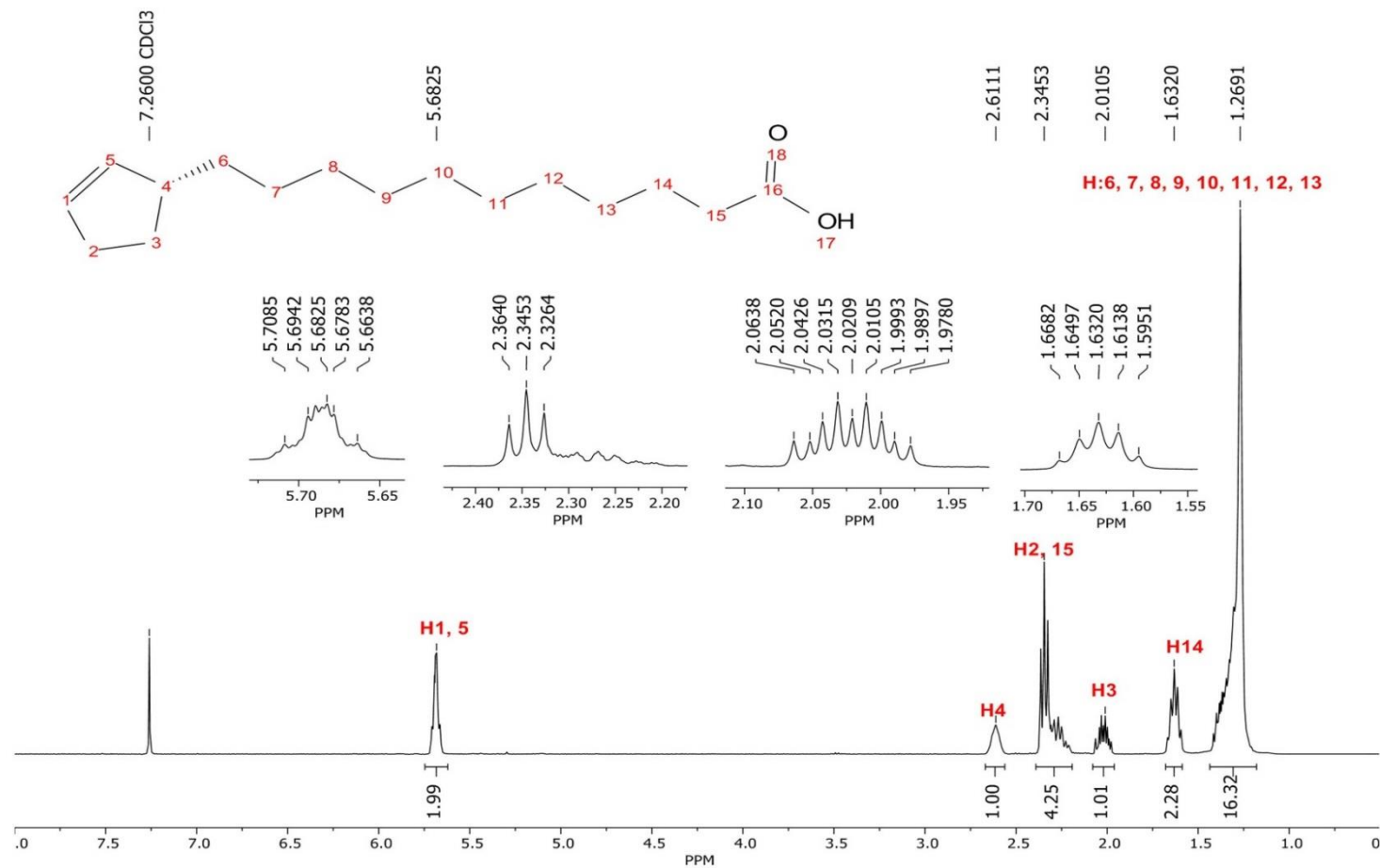
Figura 15. Espectro no Infravermelho (FTIR-ATR) do ácido hidnocárpico.



Fonte: autoria própria.

No espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN de ^1H) do composto **1** (**Figura 16**) foi observado um multipletto na faixa de δ 5,68, integrado para dois hidrogênios (H_1 , H_5), correspondente aos hidrogênios olefínicos do anel ciclopenteno. Um simpleto na faixa de δ 2,61 foi atribuído ao hidrogênio do carbono diastereotópico (H_4), e o sinal na faixa de δ 1,27-1,42, integrado para dezesseis hidrogênios, referente aos hidrogênios metilênicos da cadeia lateral ($\text{H}_6\text{-H}_{13}$) (BLAISE; FARINES; SOULIER, 1997).

Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do ácido hidnocárpico (1).



Fonte: autoria própria.

Os sinais químicos de carbono foram compatíveis com a estrutura do ácido hidnocárpico no espectro RMN de ^{13}C (**Figura 17**). O sinal em δ 179,60 corresponde ao carbono da carbonila (C16). Os sinais em δ 135,62 (C1) e δ 130,12 (C5) são referentes aos carbonos da ligação dupla. O sinal em δ 45,76 (C4) atribuído ao carbono diastereotópico. Finalmente, os sinais entre δ 30,03-29,21 correspondem aos carbonos metilênicos da cadeia lateral (C8-C13) (BLAISE; FARINES; SOULIER, 1997). Os dados de caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C obtidos permitiram confirmar a estrutura do ácido hidnocárpico (**1**) e foram comparados com os valores relatados por outros autores. Os dados experimentais foram obtidos em espectrômetro Bruker 400MHz (Billerica, Massachusetts, EUA) utilizando como solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3) e referenciado usando o sinal do solvente. Os dados relatados na literatura foram obtidos em espectrômetro Je400MHz ol EX400 (Tóquio, Japão) usando como solvente CDCl_3 e referenciado usando tetrametilsilano (**Tabela 3**).

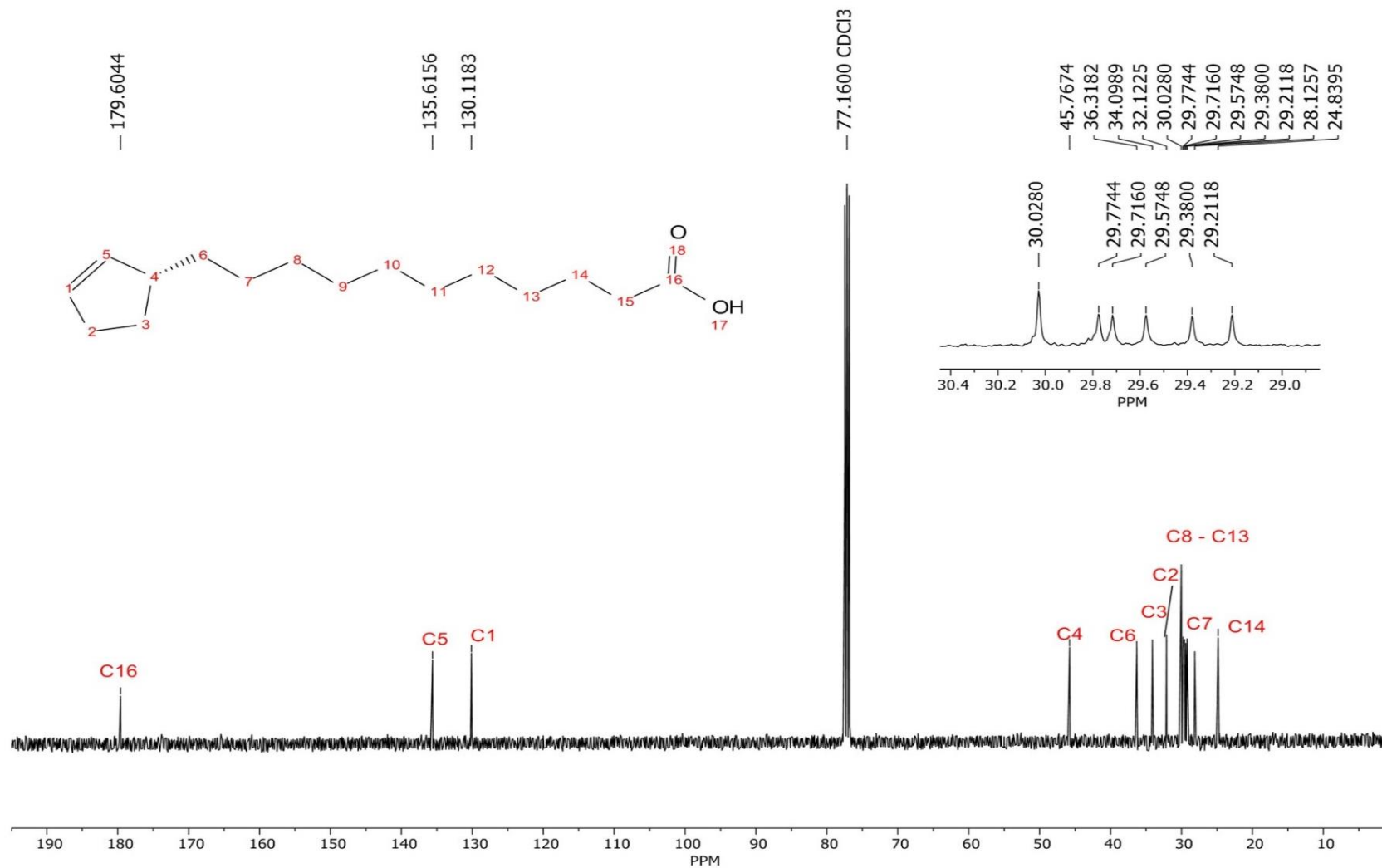
Blaise *et al.*, (1997) identificaram os metil ésteres dos ácidos graxos ciclopentênicos: chaulmúgrico, hidnocárpico e górlico por ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C para o óleo das sementes de *Hydnocarpus*. A análise mostrou os sinais característicos do anel ciclopentênico confirmando a presença desses ácidos graxos no óleo.

Tabela 3. Dados de caracterização por RMN de ^1H e de ^{13}C experimentais e relatados na literatura para o ácido hidnocárpico (1). *A numeração da estrutura foi a mesma utilizada para assinalar os carbonos e hidrogênios nos espectros de RMN apresentados.

Número de carbono*	Deslocamento químico (ppm)			
	Dados experimentais		Dados na literatura	
	RMN de ^{13}C	RMN de ^1H	RMN de ^{13}C	RMN de ^1H
1	130,12	5,68	135,43	5,68
2	32,12	2,34	31,94	2,30
3	32,12	2,01	29,85	2,02/1,27
4	45,76	2,61	45,58	2,60
5	135,61	5,68	135,43	5,68
6	34,09	1,27/1,42	36,15	1,25/1,35
7	28,12	1,27/1,42	27,97	1,25/1,35
8	29,21	1,27/1,42	29,23	1,25/1,35
9	29,38	1,27/1,42	29,12	1,25/1,35
10	29,57	1,27/1,42	29,43	1,25/1,35
11	29,72	1,27/1,42	29,56	1,25/1,35
12	29,77	1,27/1,42	27,62	1,25/1,35
13	30,02	1,27/1,42	29,62	1,25/1,35
14	24,84	1,63	24,93	1,61
15	36,31	2,34	31,94	2,30
16	179,60	-	174,40	-

Fonte: Blaise *et al.*, (1997) com modificações.

Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do ácido hidnocárpico (1).



Fonte: autoria própria.

4. CONCLUSÃO

A análise do extrato bruto das sementes dos frutos maduros de *Carpotroche brasiliensis* demonstrou uma mistura de ácidos graxos, incluindo o ácido de interesse (**1**). O ácido hidnocárpico (**1**) foi isolado por cromatografia de íons de prata como um sólido branco com 12% de rendimento. A caracterização completa desse composto foi realizada por IV, CG-MS, RMN de ^1H e de ^{13}C , e HRMS. A técnica de cromatografia de íons de prata se mostrou útil para a separação dos compostos na fração F2, que possuem estruturas que diferem pelo número e posição de ligações duplas, o que seria difícil de separar usando cromatografia em coluna convencional. Além disso, a cromatografia de íons de prata permitiu reduzir o tempo requerido para a separação da mistura quando comparada com a técnica convencional.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMAHLI, Hadia. Cyclopentenyl Fatty Acids: History, Biological Activity and Synthesis. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 17, n. 26, p. 2903–2912, 2017. DOI: 10.2174/1568026617666170821125233. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/155071/article>.
- ANDREÃO, Patrícia S. S.; GIACOMINI, Rosana A.; STUMBO, Alexandre M.; WALDMAN, Walter R.; BRAZ-FILHO, Raimundo; LIGIÉRO, Carolina B. P.; MIRANDA, Paulo C. M. L. Utilização e recuperação de sílica gel impregnada com nitrato de prata. **Química Nova**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 212–215, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000100036. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000100036&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.
- BLAISE, Pierre; FARINES, Marie; SOULIER, Jacques. Identification of cyclopentenyl fatty acids by ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, [S. l.], v. 74, n. 6, p. 727–730, 1997. DOI: 10.1007/s11746-997-0209-7. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1007/s11746-997-0209-7>.
- COLE, Howard Irving; CARDOSO, Humberto T. Analysis of Chaulmoogra Oils. I. *Carpotroche brasiliensis* (Sapucainha) Oil. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 614–617, 1938. DOI: 10.1021/ja01270a033.
- DOBSON, Gary; CHRISTIE, William W.; NIKOLOVA-DAMYANOVA, Boryana. Silver ion chromatography of lipids and fatty acids. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, [S. l.], v. 671, n. 1–2, p. 197–222, 1995. DOI: 10.1016/0378-4347(95)00157-E.
- LAKSMINARAYANA, Gollmudi; SEPTCMBOR, Received. The thin-layer chromatographic behaviour of cyclopentanyl and cyclopentenyl fatty acid methyl esters. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 39, n. 182–185, 1969.
- MISLOW, Kurt; STEINBERG, I. V. The Synthesis and Stereochemistry of Chaulmoogric Acid. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 77, n. 14, p. 3807–3810, 1955. DOI: 10.1021/ja01619a038. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01619a038>.
- MOMCHILOVA, Svetlana M.; NIKOLOVA-DAMYANOVA, Boryana M. Advances in silver ion chromatography for the analysis of fatty acids and triacylglycerols-2001 to 2011. **Analytical Sciences**, [S. l.], v. 28, n. 9, p. 837–844, 2012. DOI: 10.2116/analsci.28.837.
- OLIVEROS-BASTIDAS, Alberto de J.; DEMUNER, Antonio J.; BARBOSA, Luiz Claudio de Almeida. Chemical characterization by GC-MS and phytotoxic potential of non-polar and polar fractions of seeds of *Dioteryx odorata* (Aubl.) Willd. from Venezuelan regions. **Química Nova**, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 502–506, 2013. DOI: 10.1590/S0100-40422013000400003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422013000400003&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
- PAGET, Humphrey. 196. The liquid acids of sapucainha oil. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, [S. l.], n. 0, p. 955b, 1937. DOI: 10.1039/jr937000955b. Disponível em:

<http://xlink.rsc.org/?DOI=jr937000955b>.

PALYZOVÁ, Andrea; ŘEZANKA, Tomáš. Enantiomeric separation of triacylglycerols containing fatty acids with a ring (cyclofatty acids). **Journal of Chromatography A**, [S. l.], n. xxxx, 2020. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461103.

SIVARAMAN, Govindan; PAULRAJ, Michael Gabriel; BALAKRISHNA, Kedike; STEPHEN IRUDAYARAJ, Santiago; IGNACIMUTHU, Savarimuthu; AL-DHABI, Naif Abdullah. Biological effects of active fraction isolated from *Hydnocarpus pentandra* (Bunch. –Ham.) Oken seeds against *Helicoverpa armigera* (Hub.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, [S. l.], v. 50, n. 5–6, p. 262–274, 2017. DOI: 10.1080/03235408.2017.1299416. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2017.1299416>.

WAKTOLA, Habtewold D.; KULSING, Chadin; NOLVACHAI, Yada; REZENDE, Claudia M.; BIZZO, Humberto R.; MARRIOTT, Philip J. Gas chromatography–mass spectrometry of sapucainha oil (*Carpotroche brasiliensis*) triacylglycerols comprising straight chain and cyclic fatty acids. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 411, n. 7, p. 1479–1489, 2019. DOI: 10.1007/s00216-019-01579-7. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00216-019-01579-7>.

CAPITULO 3

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE DERIVADOS DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO

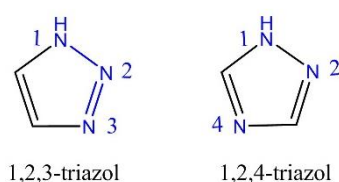
1. INTRODUÇÃO

1.1. Triazóis

A hibridização molecular permite a combinação de moléculas biologicamente ativas com a finalidade de melhorar as interações das moléculas com os receptores biológicos e potencializar as atividades (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; DIAS *et al.*, 2018). Uma estratégia utilizada é a incorporação de anéis heterocíclicos tais como o anel 1,2,3-triazol, um grupo farmacofórico amplamente explorado pelas suas propriedades biológicas (FU *et al.*, 2017; GHIANO *et al.*, 2017). As propriedades químicas do anel triazólico, como a formação de ligações de hidrogênio e as interações dipolo-dipolo aumentam a afinidade com alvos biológicos e melhoram a solubilidade (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; FU *et al.*, 2017).

Os triazóis são compostos orgânicos heterocíclicos que contêm um anel de cinco membros com três átomos de nitrogênio e dois de carbono. Existem duas formas isoméricas conhecidas como 1,2,3-triazol e 1,2,4-triazol (**Figura 18**) (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; XU *et al.*, 2019).

Figura 18. Formas isoméricas do anel triazólico.



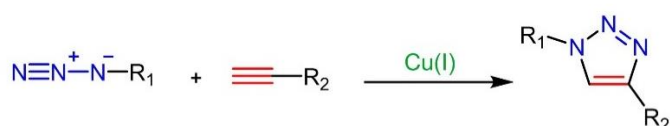
Fonte: XU *et al.*, 2019 com modificações.

O campo da química *click* oferece uma abordagem para a síntese de moléculas contendo a porção triazólica (GHIANO *et al.*, 2017). Um dos métodos clássicos para sua obtenção é a cicloadição térmica 1,3-dipolar envolvendo azidas orgânicas e alcinos terminais, também conhecida como cicloadição de Huisgen (FREITAS *et al.*, 2011). Inicialmente, essa reação não foi muito empregada devido a suas limitações, como longos tempos reacionais, altas temperaturas, baixos rendimentos e formação de mistura de regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; FREITAS *et al.*, 2011).

Sharpless *et al.*, (2001) mostraram que a utilização de Cu(I) acelerava a reação de obtenção de 1,2,3-triazóis, levando à formação exclusiva do regioisômero 1,4-dissubstituído (**Esquema 1**) (KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001; SCHULZE; SCHUBERT, 2014). Os autores desenvolveram a reação de Huisgen na presença de cobre(I), como catalisador, em condições mais brandas, com rendimentos superiores e de fácil elaboração (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; FREITAS *et al.*, 2011; KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001). Além disso, alcinos e azidas são grupos funcionais de fácil obtenção e inertes em diversas condições de reação e em ambientes aquosos. Assim, a reação envolvendo estes dois grupos funcionais pode ocorrer facilmente mesmo na presença de outros grupos reativos nas moléculas envolvidas (FREITAS *et al.*, 2011).

Em suma, as reações consideradas *click* são termodinamicamente favoráveis, quimioseletivas e regioespecíficas, permitindo a obtenção de produtos com altos rendimentos e de purificação simples (KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001; SCHULZE; SCHUBERT, 2014). Todas essas vantagens fizeram que a reação fosse amplamente utilizada e conhecida como reação *click* ou CuAAC (FREITAS *et al.*, 2011).

Esquema 1. A reação “*click*” ou CuAAC para a obtenção de 1,2,3-triazóis.

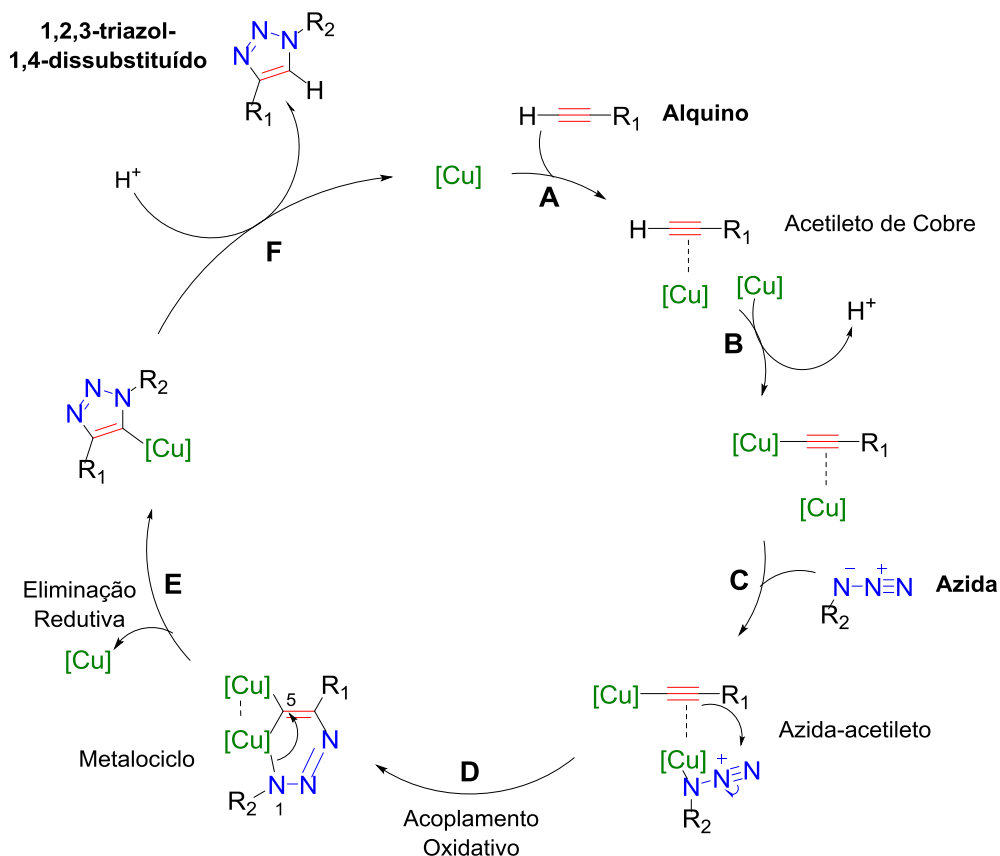


Fonte: FREITAS *et al.*, 2011, modificado.

As reações CuAAC podem ser catalisadas por Cu(I), mas as fontes de cobre utilizadas podem variar, sendo empregadas sais de Cu(I) e sais de Cu(II) (POLA *et al.*, 2014; TASDELEN; KISKAN; YAGCI, 2016). Uma alternativa que se tornou muito útil é o uso de sais estáveis de Cu(II), como o sulfato penta-hidratado (CuSO₄·5H₂O) na presença de um agente redutor fraco, como o ascorbato de sódio, que promove redução de Cu(II), formando o Cu(I) *in situ* (FREITAS *et al.*, 2011; POLA *et al.*, 2014; TASDELEN; KISKAN; YAGCI, 2016). Estudos relataram o uso de água como solvente, uma vez que o sulfato de cobre e o agente redutor são hidrossolúveis (FREITAS *et al.*, 2011; KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001). Meldal *et al.*, (2002) implementaram o uso de solventes orgânicos, depois de observar que os solventes dissolviam de forma mais eficiente os sais de Cu(I) e os compostos adicionados como ligantes (FREITAS *et al.*, 2011).

A proposta mecanística da reação CuAAC envolve aspectos da coordenação do Cu(I), que explicam a regioespecificidade, e é apresentada no ciclo catalítico mostrado no **Esquema 2** (SCHULZE; SCHUBERT, 2014).

Esquema 2. Mecanismo proposto para a reação CuAAC.



Fonte: SCHULZE; SCHUBERT, 2014 com modificações.

O mecanismo proposto inicia com a coordenação da espécie de Cu(I) à ligação π do alquino (A). A acidez do alquino aumenta, favorecendo a desprotonação no meio aquoso (B), ocorrendo a formação da primeira espécie de acetileno de cobre.

Na seguinte etapa, a azida se coordena ao acetileno contendo duas espécies de cobre (C) formando o complexo azida-acetileno. Essa complexação ocorre devido ao nitrogênio substituído, que aumenta a densidade eletrônica no centro de coordenação π do Cu(I), favorecendo o acoplamento oxidativo (D).

A seletividade para o 1,4-regioisômero em relação ao 1,5-regioisômero pode ser explicada pela coordenação da primeira espécie de Cu(I), que torna o carbono β -vinilidênico mais nucleofílico, assim como, a segunda espécie de Cu(I) torna o nitrogênio terminal da azida mais eletrofílico, favorecendo a formação do metalociclo. Esta etapa é endotérmica e

define a regioespecificidade da reação, que apresenta energia de ativação menor do que a energia de ativação para a reação não catalisada, ocorrendo a diminuição da velocidade de reação (FREITAS *et al.*, 2011; SCHULZE; SCHUBERT, 2014).

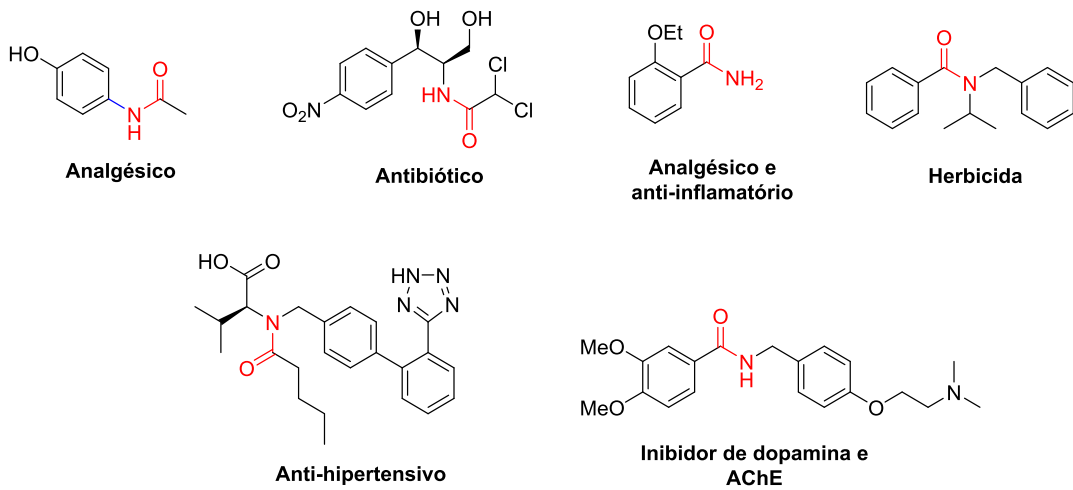
Posteriormente, ocorre uma contração do anel devido à tensão, que pode ser explicada pela interação orbitalar entre N-1 e C-5, expulsando uma espécie de Cu(I), num processo altamente exotérmico. Conseqüentemente, forma-se a triazóila de cobre através da eliminação reductiva (E). Finalmente, a triazóila de Cu(I) sofre protonólise (F) em meio aquoso, obtendo-se o produto 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído com regeneração do catalisador.

Assim, a química “click” oferece uma estratégia importante para o desenvolvimento de novos fármacos contendo o anel 1,2,3-triazólico, favorecendo as modificações daqueles já existentes, com a finalidade de melhorar as propriedades de diferentes compostos bioativos (DHEER *et al.*, 2017). Além disso, moléculas contendo o anel triazólico já foram reportadas como biologicamente ativas, apresentando atividades como antifúngica (FU *et al.*, 2017), anticâncer (MAREDDY *et al.*, 2017), antiviral (XU *et al.*, 2019) e antituberculose (GHIANO *et al.*, 2017). Diante das atividades farmacológicas atribuídas aos ácidos ciclopentênicos e o núcleo 1,2,3-triazol, o objetivo desse capítulo é sintetizar 1,2,3-triazóis derivados do ácido hidnocárpico (**1**) e caracterizar os novos compostos utilizando técnicas espectrométricas e espectroscópicas.

1.2. Amidas

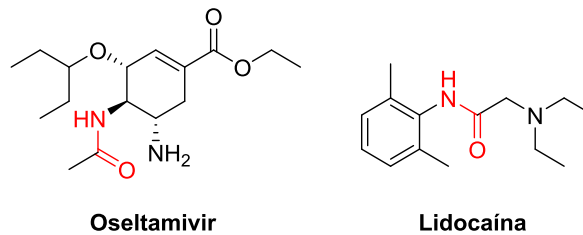
As amidas são um grupo funcional presente em moléculas sintéticas ou naturais biologicamente ativas (SIRGAMALLA *et al.*, 2018; ZENG *et al.*, 2019) (**Figura 19**). Essa função possui aplicações importantes para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos, polímeros e agroquímicos (CHIKKULAPALLI *et al.*, 2015; SAIKIA *et al.*, 2016). Compostos que contêm amidas em sua estrutura apresentaram atividades antiviral (KUMAR; BHATT; KUMAR, 2018), analgésica (NITHYABALAJI *et al.*, 2020) e inibidora de colinesterase (HASSAN *et al.*, 2018), que ganharam importância na química farmacêutica, estando presentes em vários medicamentos disponíveis comercialmente, tais como a lidocaína e o paracetamol (**Figura 20**) (ZENG *et al.*, 2019).

Figura 19. Exemplos de compostos bioativos que contêm o grupamento amida em sua estrutura



Fonte: SIRGAMALLA *et al.*, 2018 com modificações.

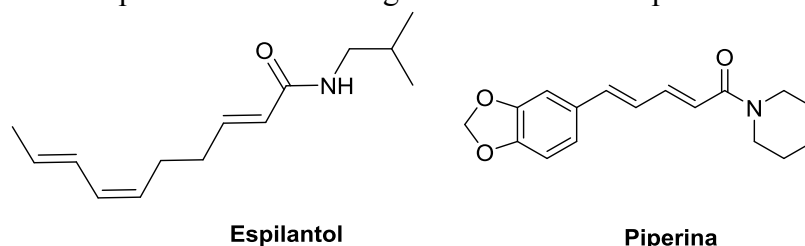
Figura 20. Exemplos de fármacos comerciais contendo o grupo funcional amida com atividade antiviral e analgésica.



Fonte: ZENG *et al.*, 2019 com modificações.

Por outro lado, as amidas de origem natural (BERTIN *et al.*, 2012; FARRELL; MERKLER, 2008) são conhecidas por possuírem diversas atividades biológicas como antifúngica (KUMAR; BHATT; KUMAR, 2018), inseticida (WEI; MIAO; HAO, 2018), antiviral (KUMAR; BHATT; KUMAR, 2018), anti-inflamatória (KUMAR; BHATT; KUMAR, 2018), analgésica (NITHYABALAJI *et al.*, 2020) e antibacteriana (ALEKSIC *et al.*, 2017). Por exemplo, o espilantol, uma isobutilamida isolada de *Spilanthes acmella* e a piperina, a primeira amida isolada das espécies de Piperáceas apresentaram atividades analgésicas, anti-inflamatórias e inseticidas (**Figura 21**) (KUMAR; BHATT; KUMAR, 2018).

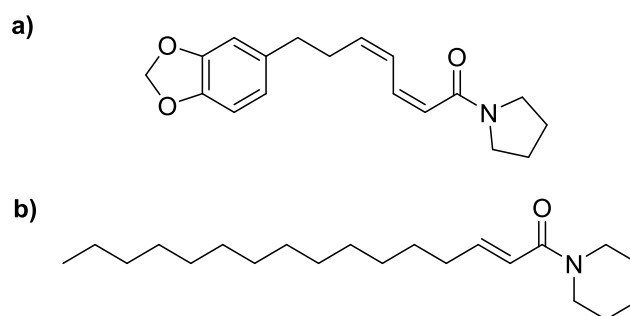
Figura 21. Exemplos de amidas biologicamente ativas em produtos naturais.



Fonte: (KUMAR; BHATT; KUMAR, 2018), modificado.

Kumar *et al.*, (2018), relataram a presença de amidas graxas derivadas das pirrolidinas e piperidinas em plantas. Essas amidas são constituídas por uma cadeia carbonada linear, pertencente aos ácidos graxos, substituída pela porção piperonal. Como exemplos, a *N*-[7-(3',4'-metilenodioxifenil)-2*Z*,4*Z*-heptadienoil]pirrolidina (**Figura 22, a**) isolada das folhas de *Piper hispidum* apresentou atividade antifúngica contra *C. sphaerospermum* com o MIC de $2,6 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Por outro lado, o estudo de atividade biológica do fruto de *P. longum* levou ao isolamento da amida piperlongimin B (**Figura 22, b**), que revelou atividade citotóxica moderada contra a proliferação celular de leucemia humana (HL-60).

Figura 22. Exemplos de amidas graxas bioativas em produtos naturais. *N*-[7-(3',4'-metilenodioxifenil)-2*Z*,4*Z*-heptadienoil]pirrolidina (**a**), e piperlongimin B (**b**).



Fonte: (KUMAR; BHATT; KUMAR, 2018), modificado.

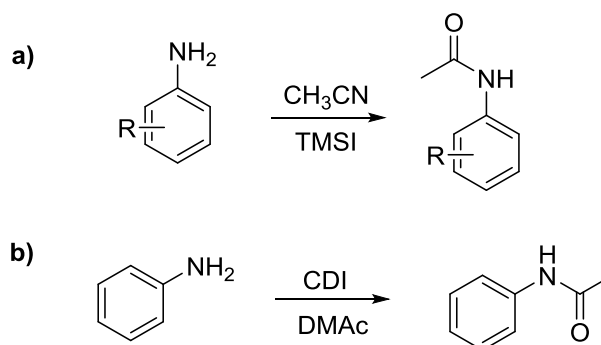
Considerando a importância biológica de amidas sintéticas e naturais, surgiu o interesse por desenvolver diferentes métodos para a obtenção de compostos contendo o grupamento amida. (SIRGAMALLA *et al.*, 2018; ZENG *et al.*, 2019). Os métodos clássicos de amidificação, tais como a *N*-acetilação de aminas, envolvem ácidos carboxílicos ou seus derivados, como anidridos, cloretos de acila ou ésteres (CHIKKULAPALLI *et al.*, 2015; SAIKIA *et al.*, 2016). Embora esses métodos sejam eficientes, têm algumas limitações, como

a necessidade de ativação de ácidos carboxílicos usando reagentes de acoplamento, o que leva a formação de resíduos de difícil remoção (SIRGAMALLA *et al.*, 2018; ZENG *et al.*, 2019). Além disso, anidridos e cloretos de acila são higroscópicos, e podem reagir facilmente com água para produzir ácidos como subprodutos, tornando o isolamento mais complicado (ZENG *et al.*, 2019). Assim, o desenvolvimento de um novo sistema de reagentes para N-acetilação seletiva de aminas, sem o uso de cloretos de acetila ou anidridos, pode ser útil na obtenção de amidas (PIAZZOLLA; TEMPERINI, 2018; SAIKIA *et al.*, 2016).

Por exemplo, Saikia *et al.*, (2016) desenvolveram uma metodologia para N-acetilação seletiva de aminas aromáticas usando acetonitrila, como agente acilante, e iodeto de trimetilsilil (TMSI), como catalisador. Os autores obtiveram amidas aromáticas com bons rendimentos em condições brandas, com tempos de reação curtos e sem o uso de solventes clorados (**Esquema 3, a**)).

Outros estudos relataram um método para a conversão de ácidos carboxílicos em *N, N*-dimetilamidas usando *N, N*-dimetilacetamida (DMAc), como fonte de acetil e dimetilamina, na presença de *N, N*-carbonildiimidazol (CDI). Os autores concluíram que a metodologia desenvolvida foi eficiente e conveniente para a N-acetilação de aminas, obtendo-se amidas com excelentes rendimentos em condições brandas (**Esquema 3, b**)) (CHIKKULAPALLI *et al.*, 2015).

Esquema 3. Exemplos de estratégias usadas para a síntese de amidas via N-acetilação de aminas.



Fonte: (CHIKKULAPALLI *et al.*, 2015; SAIKIA *et al.*, 2016) com modificações.

No presente trabalho, foi utilizada a metodologia relatada por (CVETOVICH; DIMICHELE, 2006) com modificações. Os autores desenvolveram um procedimento *one-pot* para a formação de acrilanilidas, acrilamidas e amidas diretamente de ácidos carboxílicos em dimetilacetamida (DMAc). Essa metodologia utiliza dimetilacetamida com cloreto de tionila

e quantidades estequiométricas de anilinas, obtendo amidas com excelentes rendimentos, à temperatura ambiente e sem o uso adicional de bases.

Assim, dada a importância das amidas em vários campos, e o interesse em desenvolver compostos contendo esse grupamento, utilizando metodologias eficientes, o objetivo desse capítulo é sintetizar derivados do ácido hidnocárpico (**1**) contendo a porção amida e caracterizar os novos compostos utilizando técnicas espectrométricas e espectroscópicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Informações gerais

Todos os reagentes e solventes foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos) e foram utilizados sem purificação adicional. Todas as reações foram monitorizadas por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de sílica pré-revestidas com suporte de alumínio (Macherey-Nagel DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254, Düren, Alemanha). As placas CCD foram reveladas sob luz UV ($\lambda = 254$ nanômetros, nm) e solução de vanilina.

A cromatografia em coluna flash foi realizada utilizando-se sílica gel 60 (35-70 mesh, Fluka-Analytical, St. Gallen, Swiss).

Os espectros de IV foram registrados num espectrofotômetro VARIAN 660-IR (Varian, Palo Alto, CA, EUA) equipado com GladiATR *scanning* de 4000 para 500 cm^{-1} do Departamento de Química - Universidade Federal de Viçosa.

Os espectros RMN de ^1H (300 e 400 MHz) e de ^{13}C (75 e 100 MHz) foram obtidos em espectrômetro BRUKER MHz (Billerica, Massachusetts, EUA) dos Departamento de Química da Universidade Federal de Alfenas e Universidade Federal de Minas Gerais. CDCl_3 foi utilizado como solvente e referenciado usando o sinal de solvente. Os dados do RMN de ^1H foram apresentados como deslocamento químico (δ), em ppm, seguido de multiplicidade, valores de J em Hertz (Hz), número de H e C correspondentes. As multiplicidades são designadas como s (simpleto), sl (simpleto largo), t (triplete), m (multiplete).

A numeração das estruturas foi utilizada para assinalar os hidrogênios e carbonos no espectro e não segue o sistema da IUPAC, que foi a utilizada para a nomenclatura. O *software* ChemDraw Ultra 12.0[©] (Chemical Structure Drawing Standard, PerkinElmer) foi utilizado para a obtenção dos nomes dos compostos orgânicos.

A análise de HRMS foi realizada na Universidade Estadual de Maringá, usando o espectrômetro de massas Impact II bruker ESI-Q-TOF-MS (electrospray ionization-quadrupole-time of flight) (Bruker Daltonics Corporation, Bremen, Germany).

Os valores dos ângulo de rotação (α) foram medidos no polarímetro ADP220, número de série PF05050 (Bellingham+Stanley Ltd., Tunbridge Wells, Kent, UK) do Departamento de Farmácia - Universidade Federal de Minas Gerais. Sódio foi utilizado como fonte de luz monocromática ($\lambda = 598,3$ nm) a temperatura de 24 °C e $0,5$ dm de caminho óptico (l). As amostras foram solubilizadas em 2 mL de clorofórmio e a concentração final (c) das soluções foi calculada em $\text{g } 100^{-1} \text{ mL}^{-1}$.

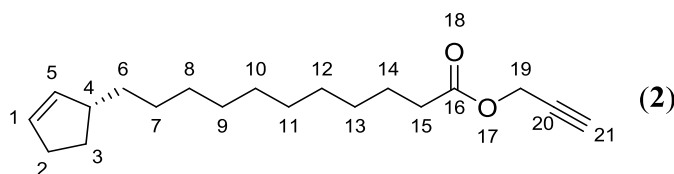
Os cálculos para obtenção da rotação específica foram realizados empregando-se a **Equação 1**:

$$[\alpha]_D^{24} = \frac{100\alpha}{lc} \quad (1)$$

2.2. Sínteses

2.2.1. Síntese do (*R*)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (**2**)

Uma solução do ácido (*R*)-11-(ciclopent-2-enil)undecanóico (**1**) ($0,100$ g, $0,40$ mmol) em acetona (10 mL), carbonato de potássio ($0,111$ g, $0,8$ mmol) e 3-bromoprop-1-in ($0,045$ mL, $0,48$ mmol) foram sequencialmente transferidos para um balão de fundo redondo de 25 mL e refluxados por 24 h. A reação foi resfriada com 5 mL de uma mistura de água fria/diclorometano ($1:1$ v/v). A mistura de reação foi elaborada com diclorometano (2×20 mL) e lavada com solução de cloreto de sódio (NaCl). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O óleo amarelo obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel usando como eluente hexano:acetato de etila $95:5$ (v/v). A estrutura do composto **2** foi confirmada pelos seguintes dados.



Característica: Óleo amarelo

Massa molecular: $290,24 \text{ g mol}^{-1}$

CCD, R_r: $0,69$ (hexano: acetato de etila $9:1$ v/v)

Rendimento: 82%

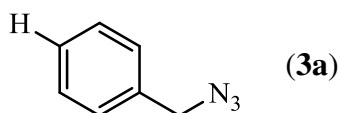
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2921, 2852, 1729, 1485, 1373, 1232, 1178, 1098, 985, 824, 720;

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (atribuição): 1,26 (sl, 16H, H6 a H13); 1,61-1,65 (m, 2H, H14); 1,95-2,07 (m, 2H, H3); 2,33 (t, 4H, $J = 7.5$ Hz, H2, H15); 2,45 (s, 1H, H21); 2,60 (s, 1H, H4); 4,66-4,67 (m, 2H, H19); 5,65-5,70 (m, 2H, H1, H5);

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (atribuição): 24,52 (C14); 29,12 (C7); 29,58-31,66 (C8-C13); 32,12 (C2 e C3); 33,69 (C15); 35,86 (C6); 45,32 (C4); 51,41 (C19); 74,35 (C21); 76,31 (C20); 129,65 (C1); 135,13 (C5); 172,62 (C16).

2.2.2. Síntese das azidas orgânicas (**3a-3h**)

Brometos de benzila e cloretos de benzila (1 eq), azida de sódio (2,0 eq) e 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) foram utilizados para obter as azidas orgânicas. O sistema de reação foi deixado em agitação por 5 h em temperatura ambiente. Após o tempo reacional a mistura reagente adicionou-se água gelada e extraiu-se com acetato de etila (3x30 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaCl (3x15 mL), seca com MgSO_4 , filtrada e concentrada sob pressão reduzida em evaporador rotatório à 45 °C, fornecendo um óleo amarelo usado na síntese dos derivados triazólicos.



Nome: (azidometil)benzeno

Característica: Óleo amarelo

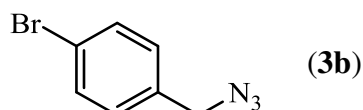
Massa molecular: 133,15 g mol⁻¹

CCD, Rr: 0,93 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 95%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3065, 3032, 2931, 2876, 2088, 1702, 1495, 1454, 1348, 1251, 1200, 1077, 1028, 875, 735, 695, 567, 461;

EM (IE), m/z (%): 133 (M^+ 27), 104 (67), 91 (100), 77 (64), 65 (16), 52 (34), 51 (64).



Nome: 1-(azidometil)-4-bromobenzeno

Característica: Óleo amarelo

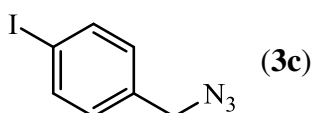
Massa molecular: 212,05 g mol⁻¹

CCD, Rr: 0,90 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 95%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3065, 3032, 2921, 2877, 2090, 1654, 1495, 1451, 1252, 1057, 1026, 951, 874, 736, 696, 566, 461;

EM (IE), m/z (%): 212 (M^+ 2), 184 (79), 169 (52), 155 (18), 77 (47), 44 (100).



Nome: 1-(azidometil)-4-iodobenzeno

Característica: Sólido branco

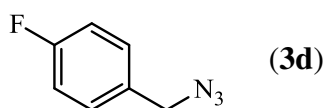
Massa molecular: 259,05 g mol⁻¹

CCD, Rr: 0,87 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 94%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3025, 2911, 2856, 2515, 2203, 2116, 1898, 1796, 1635, 1583, 1480, 1440, 1395, 1337, 1099, 1005, 929, 829, 795, 664, 593, 551, 478;

EM (IE), m/z (%): 259 (M^+ 3), 231 (6), 217 (100), 90 (32), 77 (61), 50 (84).



Nome: 1-(azidometil)-4-fluorobenzeno

Característica: Óleo amarelo

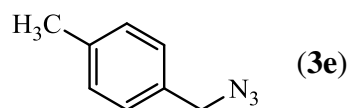
Massa molecular: 151,14 g mol⁻¹

CCD, Rr: 0,90 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 95%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3044, 2932, 2880, 2092, 1893, 1601, 1508, 1416, 1343, 1221, 1157, 1098, 1057, 1015, 949, 879, 819, 765, 664, 538, 478;

EM (IE), m/z (%): 151 (M^+ 7), 122 (22), 109 (37), 95 (21), 40 (100).



Nome: 1-(azidometil)-4-metilbenzeno

Característica: Óleo amarelo

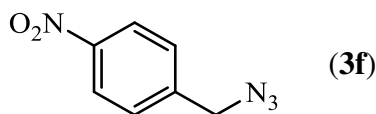
Massa molecular: 147,18 g mol⁻¹

CCD, R_f: 0,90 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 94%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3024, 2922, 2873, 2089, 1610, 1489, 1446, 1378, 1262, 1233, 1156, 1093, 1040, 920, 863, 776, 739, 697, 538, 556, 508, 435;

EM (IE), m/z (%): 147 (M^+ 32), 118 (61), 105 (90), 91(100), 65 (33), 51 (28), 39 (30).



Nome: 1-(azidometil)-4-nitrobenzeno

Característica: Óleo amarelo

Massa molecular: 178,15 g mol⁻¹

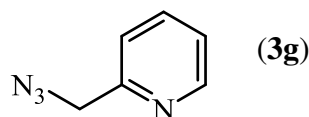
CCD, R_f: 0,86 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 95%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3074, 2933, 2872, 2093, 1618, 1584, 1524, 1480, 1437, 1346, 1254, 1095, 1055, 923, 870, 801, 730, 687, 579, 554, 475;

EM (IE), m/z (%): 178 (M^+ 4), 150 (34), 136 (38), 104 (77), 77 (88), 51 (100).

Álcoois piridínico e piperonílico (1 eq) foram mesilados previamente para obter as azidas orgânicas **3g** e **3h**, respectivamente. O álcool e diclorometano anidro (5 mL) foram transferidos para um balão de fundo redondo em ambiente inerte. Logo, o sistema de reação foi resfriado a -50 °C e adicionada trietilamina anidra (2 eq). Em seguida, foi adicionado cloreto de mesila (1,5 eq) e o sistema reacional deixado em agitação por 8 h em temperatura ambiente. Após o tempo reacional, foi obtido um óleo amarelo usado na síntese das azidas.



Nome: 2-(azidometil)piridina

Característica: Óleo amarelo

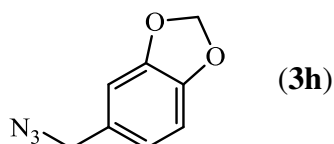
Massa molecular: 134,14 g mol⁻¹

CCD, Rr: 0,83 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 96%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3054, 3013, 2932, 2869, 2091, 1744, 1590, 1572, 1474, 1434, 1341, 1269, 1148, 1097, 995, 961, 886, 834, 750, 662, 625, 583, 554, 464;

EM (IE), m/z (%): 134 (M^+ 1), 106 (28), 79 (78), 52 (100), 49 (57), 44 (24).



Nome: 5-(azidometil)benzo[*d*][1,3]dioxol

Característica: Óleo amarelo

Massa molecular: 177,16 g mol⁻¹

CCD, Rr: 0,86 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 95%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2894, 2780, 2089, 1848, 1608, 1502, 1488, 1443, 1366, 1328, 1242, 1194, 1098, 1034, 925, 855, 807, 769, 690, 517, 504, 420;

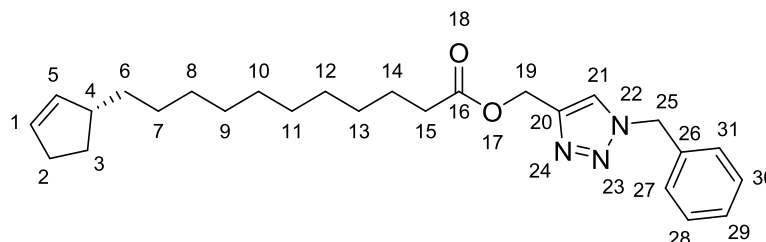
EM (IE), m/z (%): 177 (M^+ 40), 148 (48), 135 (100), 121 (16), 91 (6), 77 (3), 63 (42), 51 (34).

2.2.3. Síntese dos derivados triazólicos (T1-T8)

Após a obtenção das azidas e do alquino, 1 eq de alquino **2** (0,500 g, 0,17 mmol), 2,0 eq de azida orgânica, ascorbato de sódio (0,014 g, 0,07 mmol) e CuSO₄·5H₂O (0,008 g, 0,03 mmol) foram adicionados em 4 mL de uma solução de diclorometano/água destilada (1:1 v/v). A mistura de reação foi vigorosamente agitada à temperatura ambiente por 12 h. O progresso da reação foi monitorado por CCD. A mistura foi então extraída com diclorometano

(2 x 20 mL), e a fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de bicarbonato de sódio (15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna sobre sílica gel, eluída com hexano: acetato de etilo (2:1 v/v). As estruturas dos compostos sintetizados foram suportadas pelos seguintes dados.

(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T1)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 423,59 g mol⁻¹

CCD, R_f: 0,40 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 50%

[α]_D²⁴: + 25,53 (c 1,175; CHCl₃);

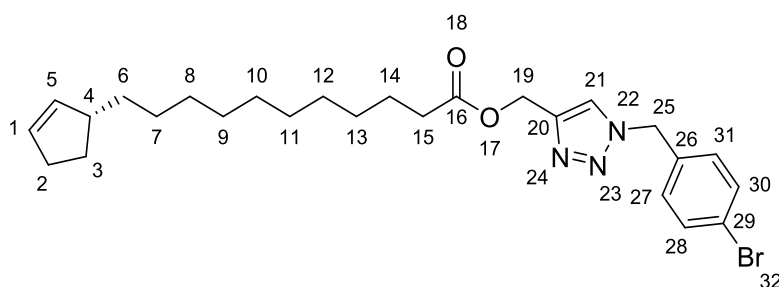
IV (ART) ν_{max}/cm⁻¹: 3064, 2918, 2850, 1728, 1548, 1455, 1165, 1054, 720;

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,24-1,37 (m, 16H, H6 a H13); 1,56-1,59 (m, 2H, H14); 1,97-2,05 (m, 1H, H3); 2,29 (t, 4H, J = 7,5 Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,17 (s, 2H, H19); 5,51 (s, 2H, H25); 5,66-5,70 (m, 2H, H1, H5); 7,27-7,28 (m, 2H, H29, H31); 7,35-7,37 (m, 3H, H27, H28, H30); 7,50 (s, 1H, H21);

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,91 (C14); 28,09 (C7); 29,18 (C8); 29,32 (C9); 29,53 (C10); 29,68 (C11); 29,73 (C12); 29,96 (C13); 32,08 (C2 e C3); 34,21 (C6); 36,27 (C15); 45,70 (C4); 54,32 (C25); 57,54 (C19); 123,67 (C21); 128,24-128,95 (C27 e C31); 129,26 (C28); 130,08 (C30); 134,50 (C1); 135,56 (C5); 143,52 (C20); 173,83 (C16).

ESI-MS de alta resolução m/z [M+H]⁺: Calculado para C₂₆H₃₇N₃O₂: 424,2932; encontrado: 424,2958.

(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-bromobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T2)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 502,49 g mol⁻¹

CCD, R_r: 0,36 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 45%

[α]_D²⁴: + 25,45 (c 0,550; CHCl₃);

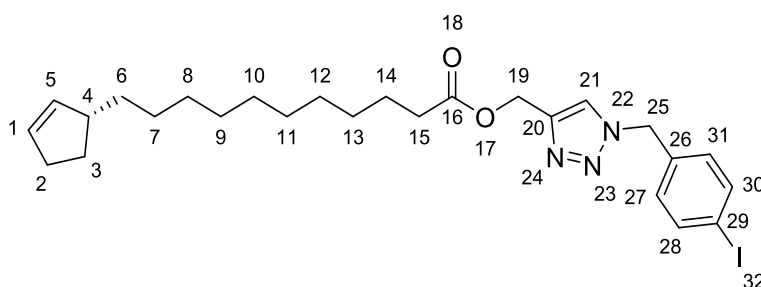
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3055, 2916, 2849, 1728, 1489, 1468, 1223, 1164, 1053, 785, 486;

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,24 (sl, 16H, H6 a H13); 1,55-1,59 (m, 2H, H14); 1,97-2,07 (m, 2H, H3); 2,29 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,61 (s, 1H, H4); 5,18 (s, 2H, H19); 5,47 (s, 2H, H5); 5,65-5,70 (m, 2H, H1, H5); 7,13 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz, H27, H31); 7,48 (s, 1H, H21); 7,51 (s, 2H, H28, H30);

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,92 (C14), 28,10 (C7), 29,19 (C8), 29,34 (C9), 29,55 (C10), 29,75- 29,96 (C11 e C12), 30,00 (C13), 32,09 (C2 e C3), 34,21 (C6), 36,29 (C15), 45,70 (C4), 53,62 (C25), 57,49 (C19), 123,15 (C21), 123,71 (C27), 123,71 (C27), 129,83 (C31), 130,10 (C28), 132,45 (C30), 133,51 (C1), 135,57 (C5), 143,74 (C20), 173,87 (C16);

ESI-MS de alta resolução *m/z* [M+Na]⁺: Calculado para C₂₆H₃₆BrN₃O₂: 524,1871; encontrado: 524,1883.

(R)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-iodobenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metila (T3)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 549,49 g mol⁻¹

CCD, R_f: 0,36 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 47%

[α]_D²⁴: + 25,40 (c 0,630; CHCl₃);

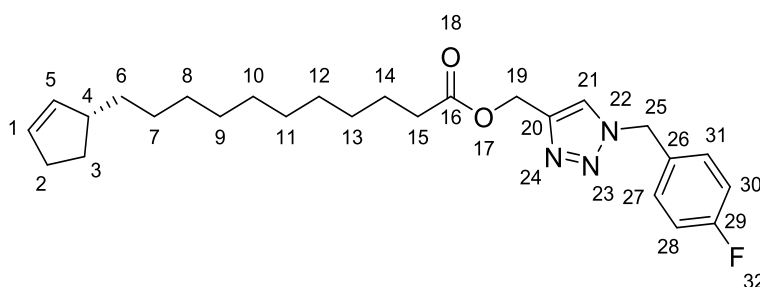
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3049, 2917, 2849, 1725, 1469, 1222, 1163, 1057, 1009, 786, 718, 473;

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,24-1,39 (m, 16H, H6 a H13); 1,56-1,59 (m, 2H, H14); 1,97-2,06 (m, 2H, H3); 2,29 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,61 (m, 1H, H4); 5,18 (s, 2H, H19); 5,46 (s, 2H, H25); 5,66-5,70 (m, 2H, H1, H5); 7,02 (d, 2H, *J* = 9,6 Hz, H27, H31); 7,51 (s, 1H, H21); 7,70 (d, 2H, *J* = 9,6 Hz, H28, H30);

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,94 (C14), 28,12 (C7), 29,21 (C8), 29,35 (C9), 29,56 (C10), 29,77 (C11), 29,73 (C12), 29,99 (C13), 32,11 (C2 e C3), 34,23 (C6), 36,30 (C15), 45,73 (C4), 53,74 (C25), 57,52 (C19), 94,81 (C29), 123,70 (C21), 129,99 (C27 e 31), 134,18 (C1), 135,59 (C5), 138,43 (C28 e C30), 143,77 (C20), 173,88 (C16);

ESI-MS de alta resolução *m/z* [M+Na]⁺: Calculado para C₂₆H₃₆IN₃O₂: 572,1719; encontrado: 572,1744.

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-fluorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (T4)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 441,58 g mol⁻¹

CCD, R_f: 0,37 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 46%

[α]_D²⁴: + 24,0 (*c* 0,500; CHCl₃);

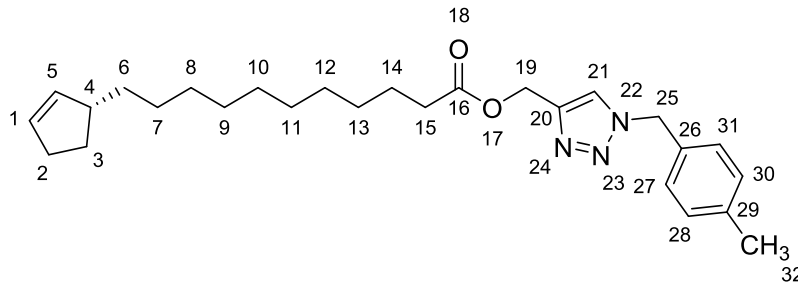
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3067, 2916, 2849, 1726, 1608, 1513, 1469, 1239, 1160, 1053, 953, 789, 718;

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,23 (sl, 16H, H6 a H13); 1,55-1,59 (m, 2H, H14); 1,95-2,06 (m, 2H, H3); 2,28 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,17 (s, 2H, H19); 5,47 (s, 2H, H25); 5,64-5,70 (m, 2H, H1, H5); 7,02-7,08 (m, 2H, H27, H28); 7,23-7,25 (m, 2H, H30, H31); 7,50 (s, 1H, H21);

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,92 (C14); 29,18 (C7); 29,19-30,00 (C8-C13); 32,08 (C2 e C3); 34,21 (C6); 36,27 (C15); 45,71 (C4); 53,56 (C25); 57,50 (C19); 116,43 (d, *J* = 21,6 Hz, C28 e C30); 123,60 (C21); 130,08 (d, *J* = 8,2 Hz, C27); 130,42 (d, *J* = 2,9 Hz, C31); 135,56 (C1); 138,51 (C5); 143,68 (C20); 161,37 (d, *J* = 248,0 Hz, C29); 173,85 (C16);

ESI-MS de alta resolução *m/z* [M+Na]⁺: Calculado para C₂₆H₃₆FN₃O₂: 464,2651; encontrado: 464,2683.

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (T5)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 437,62 g mol⁻¹

CCD, R_f: 0,40 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 46%

[α]_D²⁴: + 28,0 (*c* 0,500; CHCl₃);

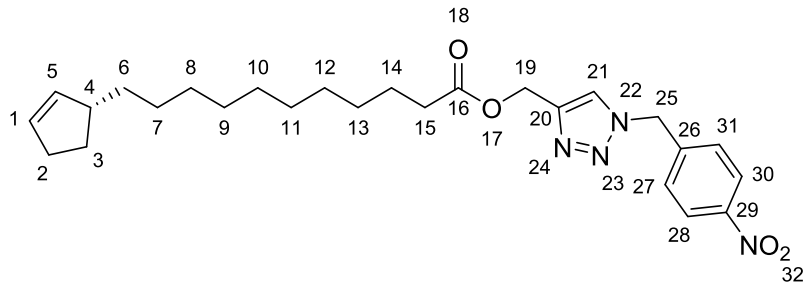
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3052, 2918, 2850, 1726, 1468, 1222, 1163, 1055, 954, 789, 718, 475;

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,24 (sl, 16H, H6 a H13); 1,55-1,59 (m, 2H, H14); 1,95-2,06 (m, 2H, H3); 2,28 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,34 (s, 3H, H32); 2,60 (s, 1H, H4); 5,17 (s, 2H, H19); 5,47 (s, 2H, H25); 5,64-5,70 (m, 2H, H1, H5); 7,17 (s, 4H, H27, H28, H30, H31); 7,48 (s, 1H, H21);

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 21,30 (C32) 24,92 (C14); 28,11 (C7); 29,19 (C8); 29,34 (C9); 29,55 (C10); 29,82-29,96 (C11 e C12); 30,00 (C13); 32,09 (C2 e C3); 34,22 (C6); 36,29 (C15); 45,71 (C4); 54,16 (C25); 57,52 (C19); 123,59 (C21); 128,32 (C27 e C31); 129,93 (C31 e C28); 130,09 (C26); 131,41(C1); 135,57 (C5); 143,40 (C20); 173,87 (C16);

ESI-MS de alta resolução *m/z* [M+H]⁺: Calculado para C₂₇H₃₉N₃O₂: 438,3115; encontrado: 438,3106.

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-nitrobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (T6)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 468,69 g mol⁻¹

CCD, R_f: 0,36 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 55%

[α]_D²⁴: + 20,0 (*c* 0,500; CHCl₃);

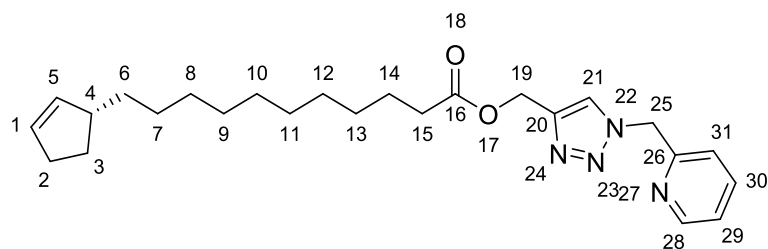
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3085, 2917, 2849, 1726, 1535, 1347, 1169, 960, 808, 722;

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,24 (sl, 16H, H6 a H13); 1,55-1,60 (m, 2H, H14); 1,95-2,04 (m, 2H, H3); 2,30 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,20 (s, 2H, H19); 5,63 (s, 2H, H25); 5,64-5,70 (m, 2H, H1, H5); 7,57-7,59 (m, 2H, H27, H31); 7,62 (s, 1H, H21); 8,15-8,24 (m, 2H, H28, H30);

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,93 (C14); 28,11 (C7); 29,21 (C8); 29,34 (C9); 29,56 (C10); 29,83 (C11 e C12); 30,01 (C13); 32,10 (C2 e C3); 34,21 (C6); 36,30 (C15); 45,72 (C4); 53,29 (C25); 57,43 (C19); 123,02 (C21); 124,00 (C28 e C30); 130,12 (C31); 130,48 (C27); 134,03 (C1); 135,58 (C5); 136,59 (C20 e C26); 173,93 (C16);

ESI-MS de alta resolução *m/z* [M+Na]⁺: Calculado para C₂₆H₃₆N₄O₄: 491,2629; encontrado: 491,2624.

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (T7)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 424,58 g mol⁻¹

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

Rendimento: 70%

$[\alpha]_D^{24}$: + 28,89 (*c* 0,900; CHCl₃);

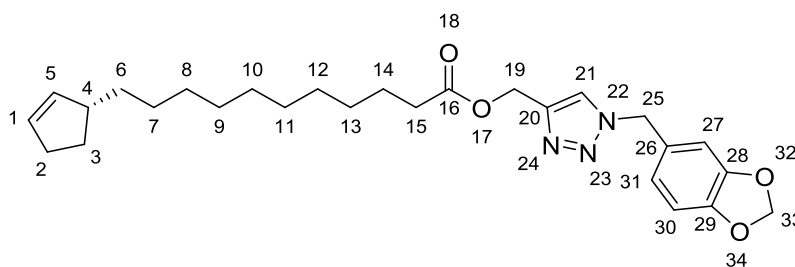
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3051, 2918, 2850, 1730, 1593, 1462, 1437, 1358, 1228, 1157, 1049, 1751, 719;

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,25 (sl, 16H, H6 a H13); 1,57-1,64 (m, 2H, H14); 1,96-2,07 (m, 2H, H3); 2,30 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,20 (s, 2H, H19); 5,64 (s, 2H, H25); 5,68-5,71 (m, 2H, H1, H5); 7,18-7,24 (m, 2H, H29, H31); 7,68 (t, 1H, *J* = 7,7 Hz, H30); 7,74 (s, 1H, H21); 8,59 (d, 1H, *J* = 4,8 Hz, H28);

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,57 (C14); 27,70 (C7); 28,82 (C8); 28,94 (C9); 29,15 (C10); 29,29 (C11); 29,34 (C12); 29,60 (C13); 31,69 (C2 e C3); 33,86 (C6); 35,89 (C15); 45,34 (C4); 55,39 (C25); 57,20 (C19); 122,18 (C29); 123,19 (C31); 123,89 (C21); 129,68 (C1); 135,18 (C5); 137,06 (C30); 143,19 (C20); 149,56 (C28); 153,98 (C26); 173,38 (C16);

ESI-MS de alta resolução m/z [M+H]⁺: Calculado para C₂₅H₃₆N₄O₂: 425,2897; encontrado: 425,2911.

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il) metila (T8)



Característica: Óleo branco

Massa molecular: 467,60 g mol⁻¹

CCD, Rr: 0,37 (hexano: acetato de etila 2:1 v/v)

Rendimento: 60%

$[\alpha]_D^{24}$: + 18,57 (*c* 1,185; CHCl₃);

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3052, 2916, 2849, 1727, 1542, 1493, 1444, 1256, 1164, 1043, 928, 775, 717;

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,23-1,38 (m, 16H, H6 a H13); 1,56-1,59 (m, 2H, H14); 1,97-2,05 (m, 1H, H3); 2,28 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,17 (sl, 2H, H19); 5,40 (sl, 2H, H25); 5,65-5,70 (m, 2H, H1, H5); 5,96 (sl, 2H, H33); 6,74 (s, 1H, H27); 6,78 (sl, 2H, H28, H31); 7,49 (s, 1H, H21);

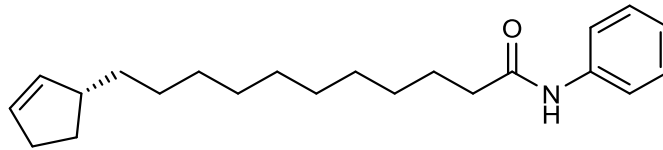
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 24,92 (C14); 28,09 (C7); 29,19 (C8); 29,32 (C9); 29,54 (C10); 29,68 (C11); 29,99-30,05 (C13); 32,08 (C2 e C3); 34,22 (C6); 36,27 (C15); 45,71 (C4); 54,17 (C25); 57,54 (C19); 101,56 (C33); 108,73 (C28 e C31); 122,16 (C21); 123,45 (C27); 128,06 (C26); 130,09 (C1); 135,57 (C5); 143,49 (C20); 148,24 (C30); 173,85 (C16);

ESI-MS de alta resolução *m/z* [M+H]⁺: Calculado para C₂₇H₃₇N₃O₄: 490,2672; encontrado: 490,2676.

2.2.4. Síntese das amidas

Uma solução de dimetilacetamida (2 mL) e o ácido (*R*)-11-(ciclopent-2-enil)undecanóico (**1**) (1 eq) foram transferidos para um balão de fundo redondo de 25 mL em ambiente inerte e deixados em agitação por 5 minutos. Depois, o sistema reacional foi resfriado a -5 °C, adicionado gota a gota o cloreto de tionila (2 eq) e deixado em agitação por 15 minutos. Posteriormente, anilina (3 eq) foi adicionada à mistura de reação e deixada em agitação em temperatura ambiente por 1h. Após o tempo de reação, água destilada (8 mL) foi adicionada na mistura e mantida em agitação por mais 1h. Finalmente, a mistura foi elaborada com diclorometano (2 x 20 mL) e lavada com água destilada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O sólido obtido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel usando como eluente hexano:acetato de etila 7:3 (v/v). As estruturas dos compostos foram confirmadas pelos seguintes dados.

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-fenilundecanamida (A1)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 327,51 g mol⁻¹

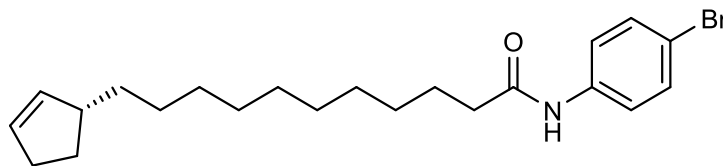
CCD, R_r: 0,76 (hexano: acetato de etila 7:3 v/v)

Rendimento: 70%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3330, 3059, 2916, 2849, 2361, 2148, 1659, 1598, 1530, 1440, 1309, 1248, 1178, 755, 717, 691;

EM (IE), m/z (%): 327 (M⁺ 3), 135 (15), 120 (3), 93 (96), 67 (100), 41 (51).

(*R*)-*N*-(4-bromofenil)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanamida (A2)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 406,41 g mol⁻¹

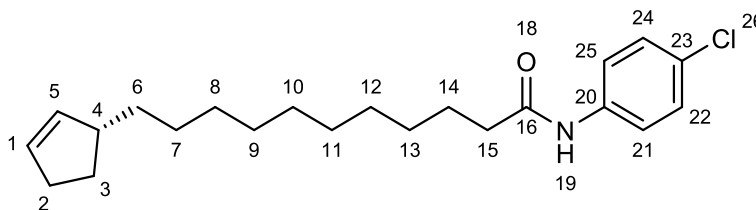
CCD, R_r: 0,76 (hexano: acetato de etila 7:3 v/v)

Rendimento: 86%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3288, 3049, 2916, 2847, 2361, 2162, 2022, 1750, 1655, 1587, 1525, 1487, 1393, 1242, 1176, 1701, 816, 717;

EM (IE), m/z (%): 407 (M⁺ 2), 326 (1), 234 (2), 213 (4), 173 (85), 67 (100), 41 (40).

(*R*)-*N*-(4-clorofenil)-11-(ciclopent-2-en-1-il) undecanamida (A3)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 361,95 g mol⁻¹

CCD, R_r: 0,73 (hexano: acetato de etila 7:3 v/v)

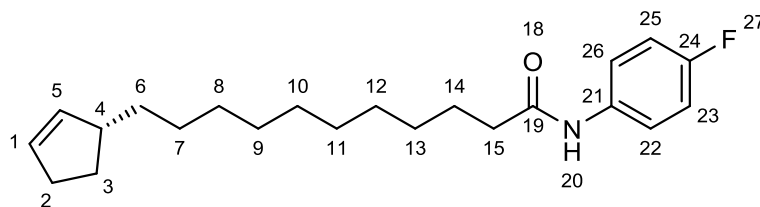
Rendimento: 82%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3288, 3047, 2916, 2847, 2360, 2162, 2027, 1887, 1654, 1593, 1524, 1491, 1469, 1395, 1279, 1091, 828, 714;

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,26 (m, 16H, H6 a H13); 1,71 (m, 2H, H14); 2,02 (m, 1H, H3); 2,33 (t, 4H, $J = 7,5$ Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,68 (m, 2H, H1, H5); 7,17 (sl, 1H, NH); 7,28 (m, 2H, H21, H23); 7,45 (m, 2H, H20, H24);

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 26,00 (C14); 28,43 (C7); 29,71 (C8); 29,34 (C9); 29,56 (C10); 29,68 (C11); 29,73 (C12); 29,96 (C13); 30,34 (C2) 32,43 (C3); 36,62 (C6); 38,24 (C15); 46,07 (C4); 121,44 (C20 e C24); 129,45 (C23 e C21); 130,44 (C5 e C1); 135,90 (C22); 136,97 (C19); 171,86 (C16).

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(4-fluorofenil) undecanamida (A4)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 345,50 g mol⁻¹

CCD, R_r: 0,76 (hexano: acetato de etila 7:3 v/v)

Rendimento: 80%

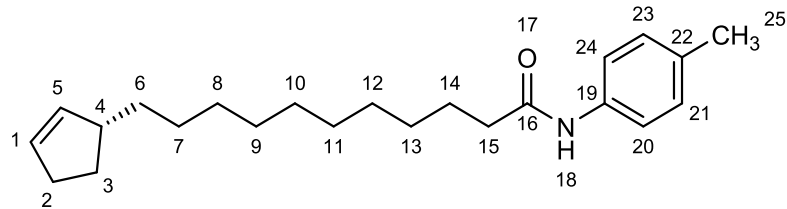
IV (ART) $\tilde{\nu}_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3292, 3048, 2916, 2849, 2361, 1740, 1654, 1613, 1530, 1509, 1469, 1405, 1221, 1177, 1096, 829, 716, 513;

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,26 (m, 16H, H6 a H13); 1,70 (m, 2H, H14); 2,02 (m, 1H, H3); 2,33 (t, 4H, $J = 7,5$ Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,68 (m, 2H, H1, H5); 6,98 (m, 2H, H21, H23); 7,38 (sl, 1H, NH); 7,45 (m, 2H, H20, H24);

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 25,76 (C14); 28,11 (C7); 29,76 (C8); 29,34 (C9); 29,56 (C10); 29,68 (C11); 29,73 (C12); 29,96 (C13); 32,09 (C2 e C3); 36,29 (C6);

37,77 (C15); 45,72 (C4); 115,83 (C23 e C21); 121,74 (C20 e C24); 130,11 (C1); 134,05 (C5); 135,57 (C19); 161,00 (C-F); 171,66 (C16).

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(*p*-tolil)undecanamida (A5)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 341,54 g mol⁻¹

CCD, R_r: 0,76 (hexano: acetato de etila 7:3 v/v)

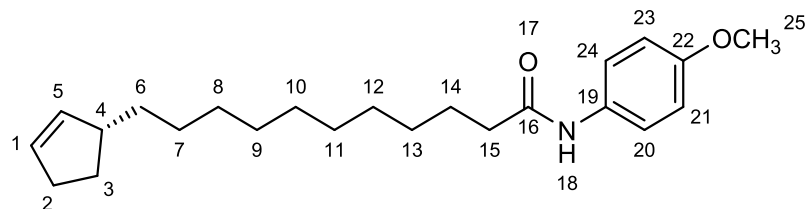
Rendimento: 76%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3285, 3047, 2916, 2848, 2361, 1654, 1595, 1526, 1470, 1403, 1249, 1179, 1109, 961, 813, 716, 503;

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 1,26 (m, 16H, H6 a H13); 1,71 (m, 2H, H14); 2,01 (m, 1H, H3); 2,27 (sl, 3H, H25); 2,30 (t, 4H, *J* = 7,5 Hz, H2, H15); 2,61 (s, 1H, H4); 5,68 (m, 2H, H1, H5); 7,09 (m, 2H, H21, H23); 7,18 (sl, 1H, NH); 7,39 (m, 2H, H20, H24);

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (atribuição): 20,97 (C25); 25,82 (C14); 28,11 (C7); 29,71 (C8); 29,34 (C9); 29,41 (C10); 29,68 (C11); 29,77 (C12); 30,00 (C13); 32,09 (C2 e C3); 36,29 (C6); 37,89 (C15); 45,72 (C4); 120,03 (C20 e C24); 129,54 (C23 e C21); 130,09 (C5 e C1); 133,85 (C22); 135,58 (C19); 171,55 (C16).

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(4-metoxifenil)undecanamida (A6)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 357,54 g mol⁻¹

CCD, R_r: 0,70 (hexano: acetato de etila 7:3 v/v)

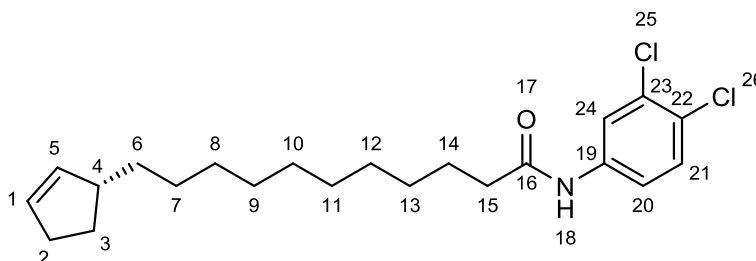
Rendimento: 74%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3294, 3048, 2917, 2849, 1724, 1652, 1530, 1511, 1468, 1410, 1236, 1178, 1029, 824, 733, 519;

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (atribuição): 1,25 (m, 16H, H6 a H13); 1,71 (m, 2H, H14); 2,00 (m, 1H, H3); 2,32 (t, 4H, $J = 7,5$ Hz, H2, H15); 2,61 (s, 1H, H4); 5,68 (m, 2H, H1, H5); 6,85 (m, 2H, H21, H23); 7,10 (sl, 1H, NH); 7,41 (m, 2H, H20, H24);

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (atribuição): 25,86 (C14); 28,12 (C7); 29,44 (C8); 29,77 (C9); 29,41 (C10); 29,68 (C11); 29,77 (C12); 30,01 (C13); 32,11 (C2 e C3); 36,31 (C6); 37,82(C15); 45,75 (C4); 55,62 (26); 114,27 (C23 e C21); 121,87 (C20 e C24); 130,11 (C1); 135,61 (C5); 156,50 (C22); 171,41 (C16).

(*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(3,4-diclorofenil)undecanamida (A7)



Característica: Sólido branco

Massa molecular: 396,40 g mol⁻¹

CCD, R_r: 0,70 (hexano: acetato de etila 7:3 v/v)

Rendimento: 78%

IV (ART) $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3287, 3044, 2916, 2848, 1652, 1578, 1517, 1470, 1389, 1285, 1236, 1177, 1028, 911, 863, 815, 715, 566, 440

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (atribuição): 1,26 (m, 16H, H6 a H13); 1,71 (m, 2H, H14); 2,02 (m, 1H, H3); 2,34 (t, 4H, $J = 7,5$ Hz, H2, H15); 2,60 (s, 1H, H4); 5,68 (m, 2H, H1, H5); 7,14 (sl, 1H, NH); 7,34 (m, 2H, H20, H21); 7,76 (sl, 1H, H24);

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (atribuição): 25,60 (C14); 28,11 (C7); 29,36 (C8); 29,76 (C9); 29,41 (C10); 29,68 (C11); 29,77 (C12); 30,00 (C13); 32,10 (C2 e C3); 36,30 (C6); 37,82 (C15); 45,72 (C4); 119,06 (21); 121,54 (C20); 130,56 (C23 e C24); 132,84 (C1); 135,57 (C5); 137,59 (C19); 171,80 (C16).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

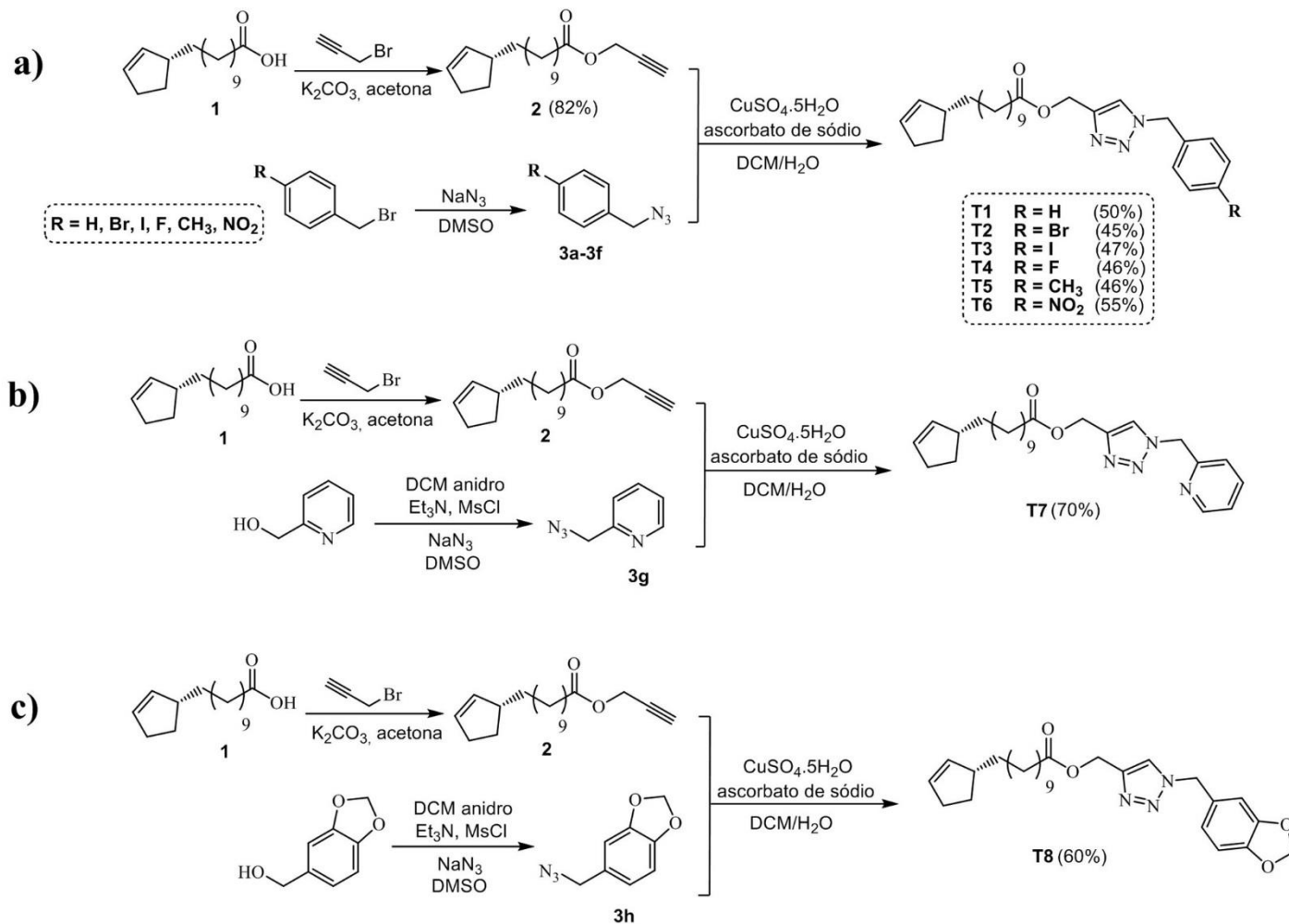
3.1. Triazóis

Após a caracterização química do ácido hidnocárpico (**1**) como principal metabólito isolado das sementes, este composto foi submetido à modificação química para produzir uma série de derivados que apresentam diferentes anéis substituídos de 1,2,3-triazol. A síntese dos 1,2,3-triazóis derivados do ácido hidnocárpico (**1**) foi realizada via CuAAC entre as azidas funcionalizadas (**3a-3h**) e o alcino terminal (**2**). Para isso, o ácido hidnocárpico (**1**) foi primeiro propargilado para produzir o alcino **2** com 82% de rendimento.

Concomitantemente, foram preparadas as azidas orgânicas por meio de uma reação de substituição nucleofílica molecular (S_N2) entre brometos ou cloretos de benzila e azida de sódio. Em seguida, as azidas foram reagidas com o alcino **2** para obter os derivados triazólicos como produtos finais. Foram obtidos 8 triazóis (**T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8**) com rendimentos variando de 45 a 70%. As etapas para a obtenção dos triazóis são apresentadas no **Esquema 4** e as estruturas dos derivados sintetizados na **Figura 23**. O derivado alcino (**2**) foi caracterizado por espectroscopia de IV, RMN de 1H e ^{13}C . As azidas (**3a-3h**) foram caracterizadas por espectroscopia de IV e CG-MS (Anexos). Os triazóis obtidos foram caracterizados por espectroscopia de IV, RMN de 1H e ^{13}C , HRMS e rotação específica, $[\alpha]_D$.

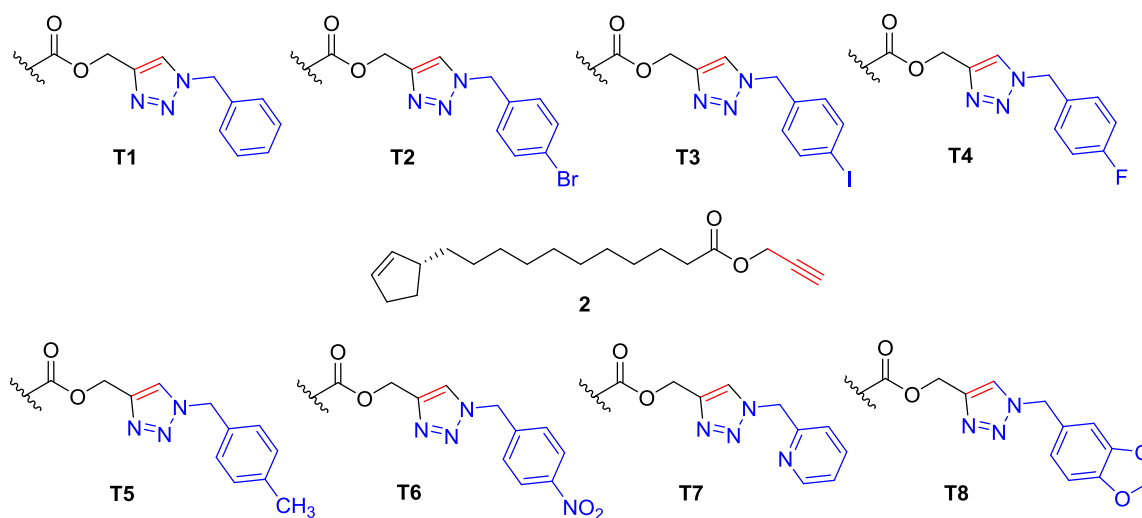
No espectro IV do derivado alcino (**2**) (**Figura 24**) aparecem as bandas de vibrações de estiramento de $C_{sp^2}-H$ e $C_{sp^3}-H$, em 2922 cm^{-1} e 2852 cm^{-1} , respectivamente. Uma banda em 2130 cm^{-1} corresponde a $C\equiv C$ do alcino terminal. A banda na região de 1739 cm^{-1} referente ao estiramento $C=O$. As bandas observadas em 1459 cm^{-1} e $1437-1417\text{ cm}^{-1}$ são referentes às vibrações de deformação angular de CH_2 e CH_3 , respectivamente. A banda na região de 1157 cm^{-1} é produzida pelo estiramento $C-CO-O$ e a banda em 1098 cm^{-1} é atribuída ao estiramento $O-C-C$. Por último, observa-se a banda em 719 cm^{-1} devido à deformação angular fora do plano de CH_2 (Barbosa, 2007).

Esquema 4. Etapas para obtenção dos triazóis derivados do ácido hidnocárpico.



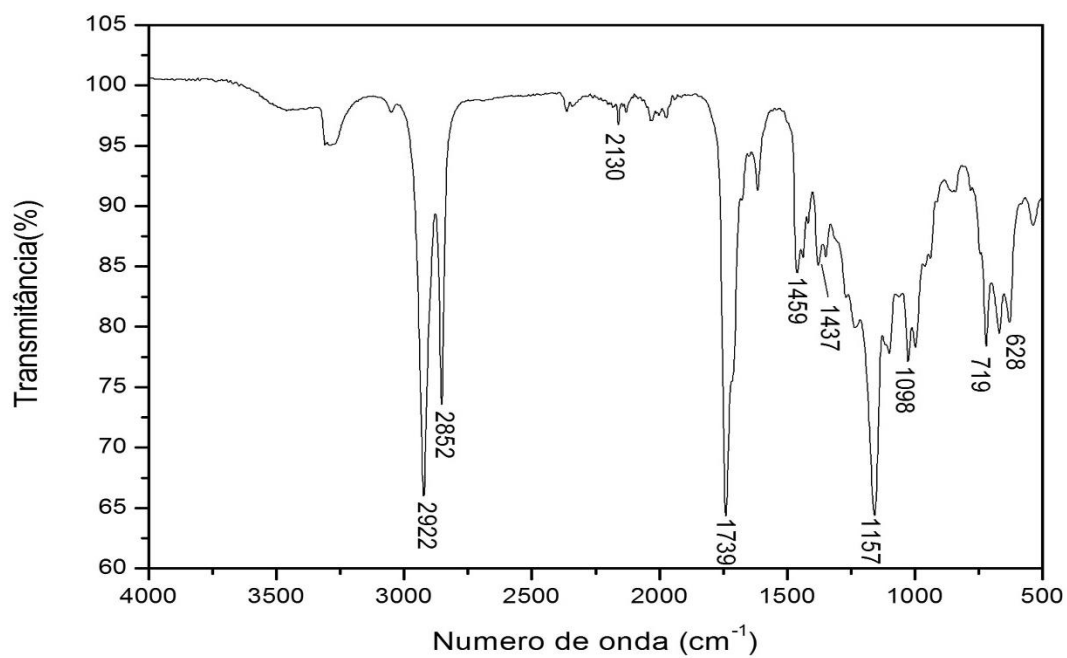
Fonte: autoria própria.

Figura 23. Derivados sintetizados a partir do alcino **2**.



Fonte: autoria própria.

Figura 24. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (*R*)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (**2**).

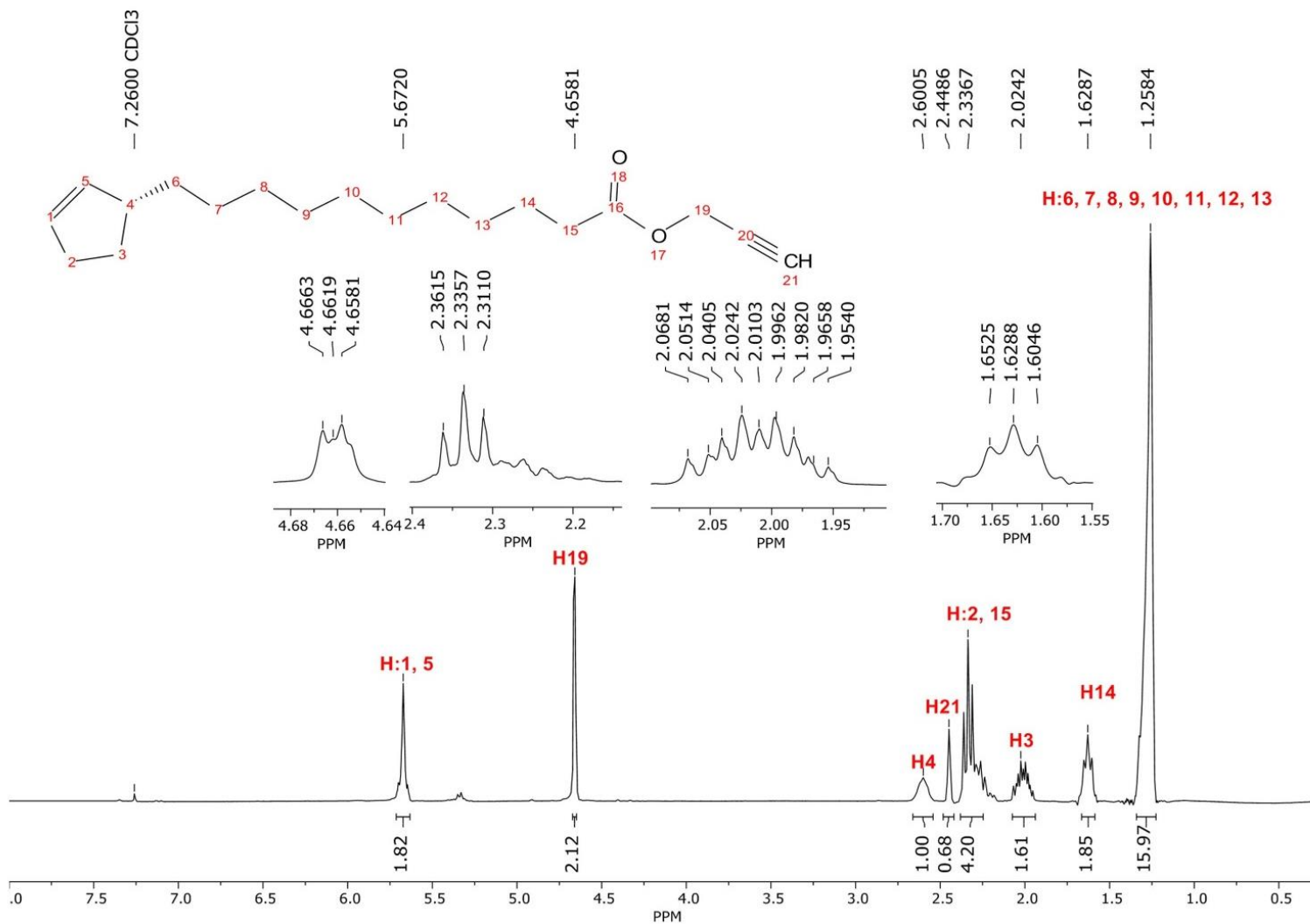


Fonte: autoria própria.

O espectro de RMN de ^1H do derivado alquino (**2**) (**Figura 25**) apresenta um multiplete em δ 5,67, integrado para 2H que correspondem a H1 e H5 ligado ao carbono olefínico C1 e C5. Um multiplete em δ 4,64 (2H) atribuído ao H19 do carbono metilênico C19. Um simpleto em δ 2,58 (1H) relativo ao hidrogênio H4 correspondente ao carbono C4 do anel. Pode-se observar um outro simpleto em δ 2,45 (1H) referente ao H21, e um triplete em δ 2,33 (t, $J = 7.5$ Hz, 4H) relativos aos hidrogênios H2 e H15 ligados aos carbonos C2 e C15 da cadeia. O multiplete em δ 2,02 (m, 2H) refere-se ao hidrogênio H3. Por último, observam-se um multiplete e um simpleto largo referentes aos hidrogênios metilênicos dos carbonos C14 e C6-13 nos deslocamentos de δ 1,63 e δ 1,26, respectivamente.

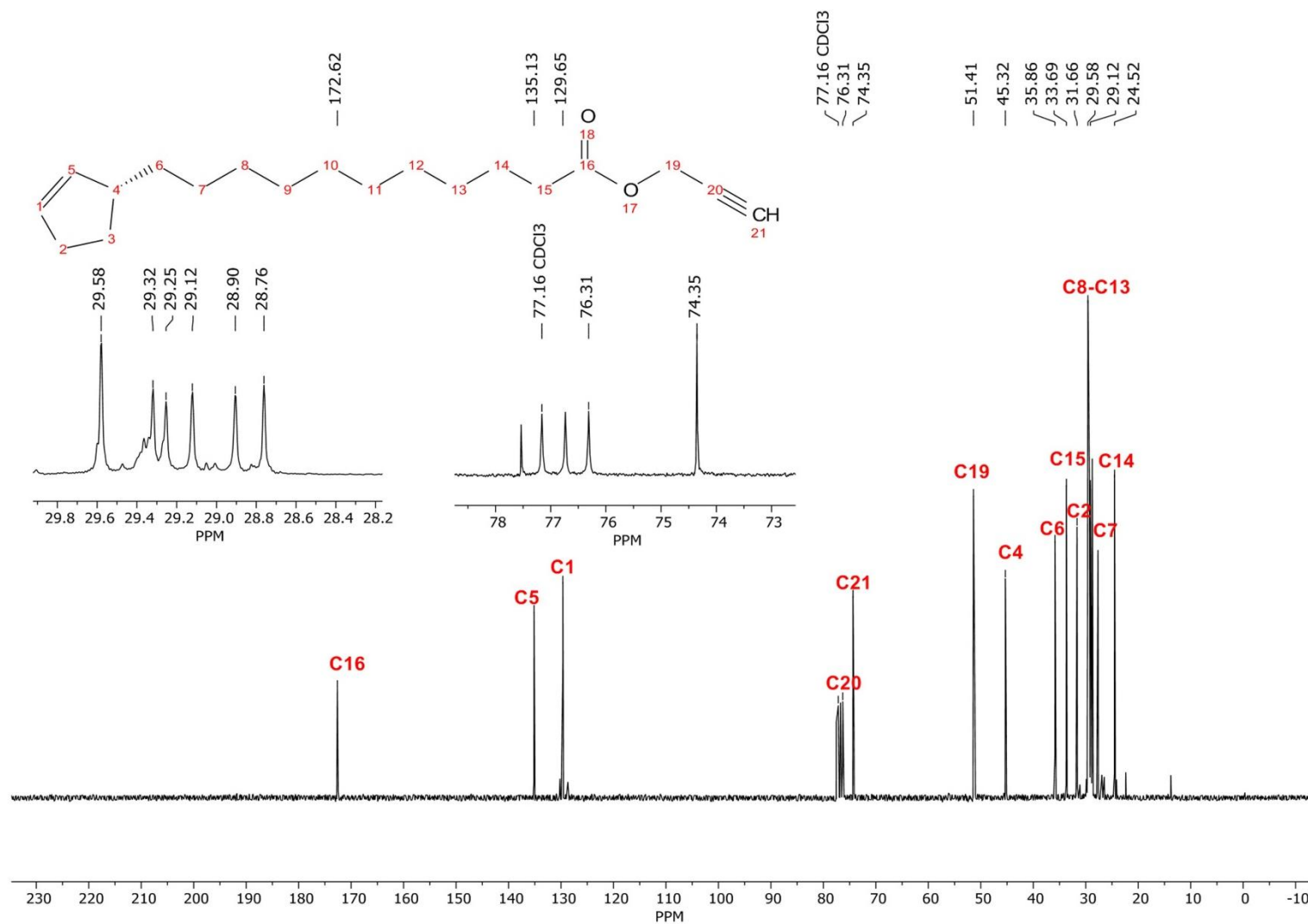
No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 26**), observa-se um sinal em δ 172,62 atribuído ao carbono da carbonila (C16). Os carbonos da ligação dupla (C5 e C1) aparecem em δ 135,13 e 129,65. Os sinais entre δ 76,31 e 74,35 correspondem aos carbonos C20 e C21 atribuídos aos carbonos da ligação tripla. Foi observado um sinal δ 51,41 que corresponde ao C19 ligado ao éster. Foi observado um sinal em δ 45,32 devido ao C4 do anel ciclopentênico. Finalmente, os sinais entre δ 35,86 até 24,52 correspondem aos carbonos metilênicos do anel e da cadeia lateral (C6-C15).

Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (**2**).



Fonte: autoria própria.

Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopent-2-enil)undecanoato de prop-2-inila (**2**).



Fonte: autoria própria.

Por outro lado, os espectros de IV mostraram as bandas esperadas para os derivados triazólicos como 3085-3052 cm^{-1} (estiramento $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$), 1730-1726 cm^{-1} (estiramento C=O) e 1535-1468 cm^{-1} (estiramento C=C).

O espectro de RMN de ^1H de todos os produtos exibiu o sinal do próton olefínico do anel triazólico como um simpleto próximo a δ 7,50. Os sinais correspondentes aos hidrogênios do anel benzeno foram observados na faixa de δ 7,00 a 7,69. No caso do derivado **T8**, além de apresentar os sinais anteriormente descritos, foi observado um simpleto δ 5,96 (s, 2H) que corresponde aos hidrogênios ligados ao carbono metilênico do anel piperonílico (Anexos).

Os sinais químicos de carbono foram compatíveis com a estrutura dos compostos no espectro de RMN de ^{13}C . Todos os compostos exibiram os sinais na faixa de δ 173,83-173,93, δ 130,08-130,48 e δ 134,03-135,58 atribuídos aos carbonos da carbonila (C16) e olefínicos (C1 e C5), respectivamente. O composto **T4** contendo flúor como substituinte no anel aromático fornece as constantes de acoplamento típicas, sendo observado o sinal em δ 161,37 (d, $J = 248,0$ Hz) correspondente ao carbono ligado ao substituinte (F) e os sinais observados entre δ 130,42 (d, $J = 2,9$ Hz), 130,08 (d, $J = 8,2$ Hz) e 116,43 (d, $J = 21,6$ Hz) atribuídos aos carbonos do anel aromático (Anexos). O derivado **T8** apresentou um sinal em δ 101,56 que corresponde ao carbono metilênico do anel piperonílico (Anexos).

Finalmente, as fórmulas moleculares foram confirmadas por análise HRMS, e os valores de $[\alpha]_D$ foram calculados para cada derivado triazólico.

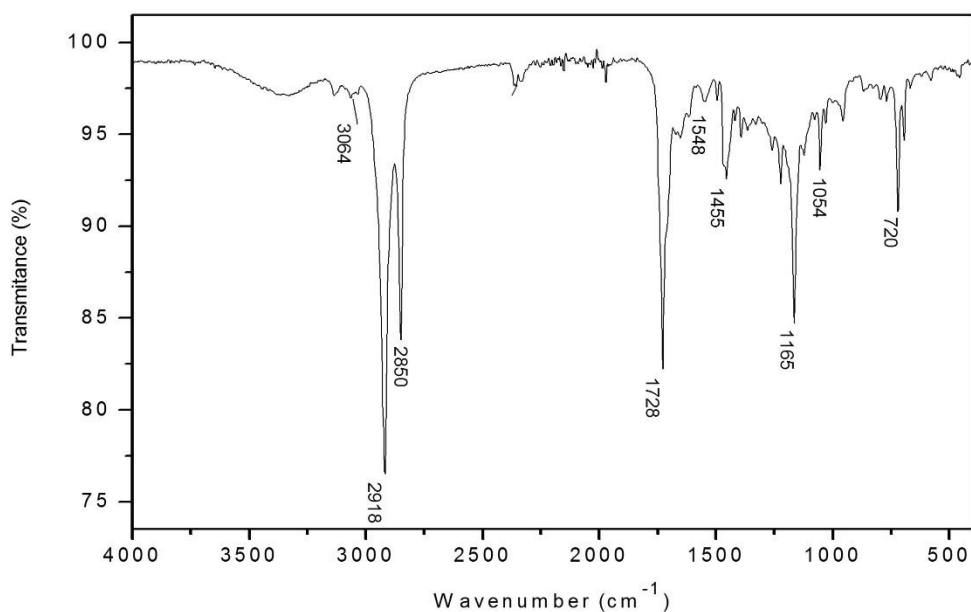
Como exemplo, o espectro de IV do derivado triazólico (**T1**) (**Figura 27**) apresenta as bandas de vibrações de estiramento de $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$ e $\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H}$ em 3064 cm^{-1} e 2918-2850 cm^{-1} , respectivamente. A banda em 1728 cm^{-1} referente ao estiramento C=O . A banda em 1548 cm^{-1} corresponde ao estiramento de ligação C=C . Uma banda em 1455 cm^{-1} é referente às vibrações de deformação angular de CH_2 e CH_3 . A banda em 1165 cm^{-1} é devida ao estiramento O-C-C. Uma banda observada em 1054 cm^{-1} corresponde ao estiramento C-O e, finalmente, a banda em 720 cm^{-1} é atribuída à deformação angular fora do plano de CH_2 (Barbosa, 2007).

No espectro de RMN de ^1H do derivado triazólico (**T1**) (**Figura 28**) um singleto em δ 7,50 (s, 1H) atribuído ao hidrogênio H21 que corresponde ao carbono olefínico do anel triazólico. Um multipletto em δ 7,36 (m, 3H) que corresponde aos hidrogênios H27, 28 e 30, o multipletto em δ 7,27 (m, 2H) atribuído aos hidrogênios H29 e H31, todos os hidrogênios anteriores são atribuídos ao anel benzênico. Observa-se um multipletto δ 5,68 (m, 2H) que

corresponde a H1 e H5, ligados aos carbonos olefínico C1 e C5. Dois singletos δ 5,51 (s, 2H) e 5,17 (s, 2H) que correspondem aos hidrogênios H25 e H19. Outro simpleto em δ 2,60 (s, 1H) relativo ao hidrogênio H4 correspondente ao carbono C4 do anel. Pode-se observar um tripleto em δ 2,29 (t, 4H) referente ao H2 e ao H15. O multipletto em δ 2,02 (m, 1H) é referente ao hidrogênio H3. Por último, observam-se dois multipletos referentes aos hidrogênios metilênicos dos carbonos C14 e C6-13 nos deslocamentos de δ 1,57 e δ 1,26.

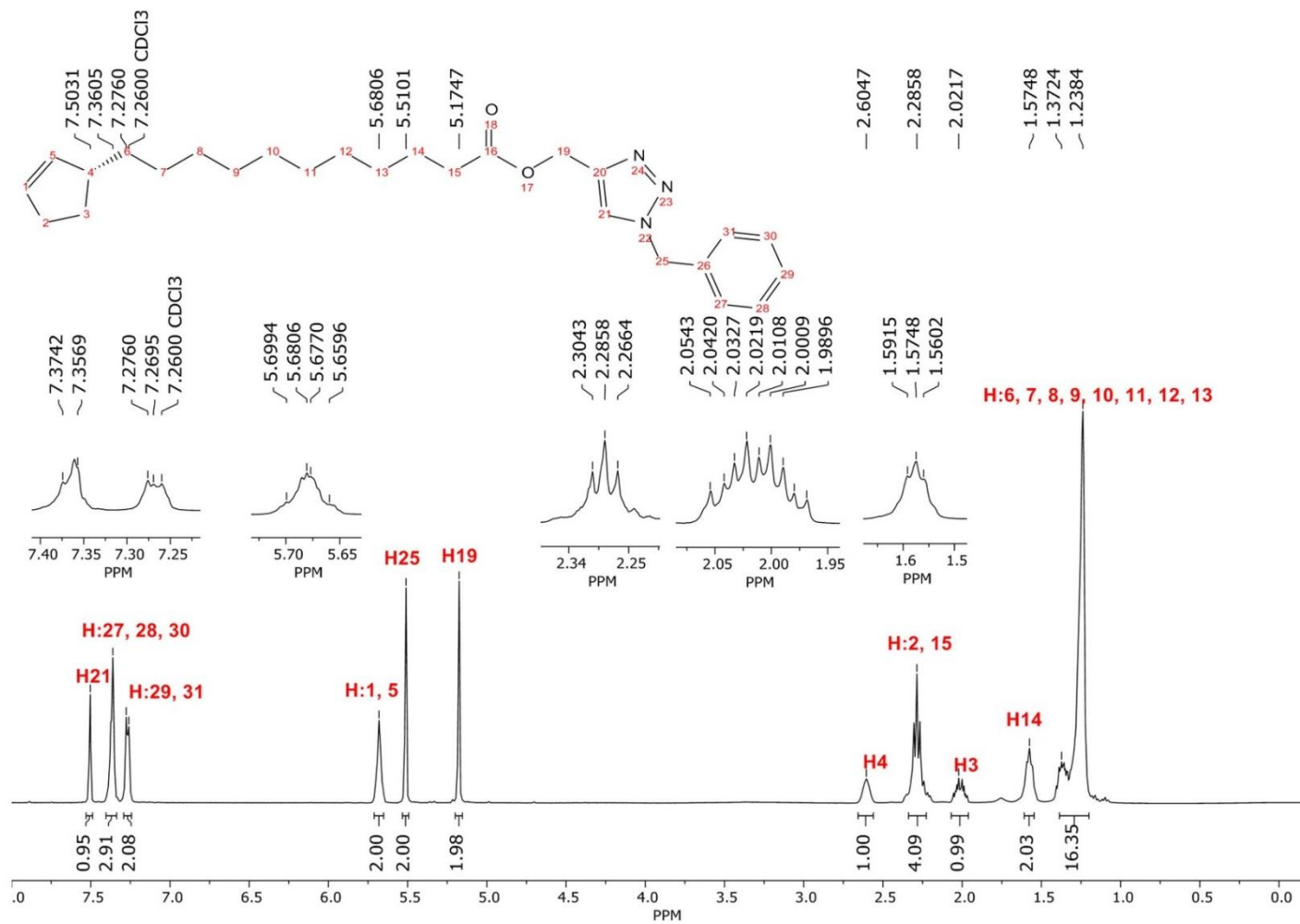
No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 29**), foi observado um sinal em δ 173,83 atribuído ao carbono da carbonila (C16). Os sinais entre δ 143,52 e 130,08 correspondem aos carbonos C20 da ligação dupla no anel triazólico e C28 e C30 atribuídos aos carbonos do anel aromático, respectivamente. Dessa forma, os sinais entre δ 129,26 e 128,23 correspondem aos carbonos do anel aromático C27, C29 e C31. Os carbonos da ligação dupla (C5 e C1) aparecem em δ 135,56 e 134,50. Foi observado um sinal δ 57,54 que corresponde ao C19 ligado ao éster. Um sinal em δ 54,32 (C25) devido ao carbono metilênico que corresponde ao substituinte benzílico. Finalmente, foram observados os sinais correspondentes aos carbonos metilênicos do anel e da cadeia lateral.

Figura 27. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T1**)



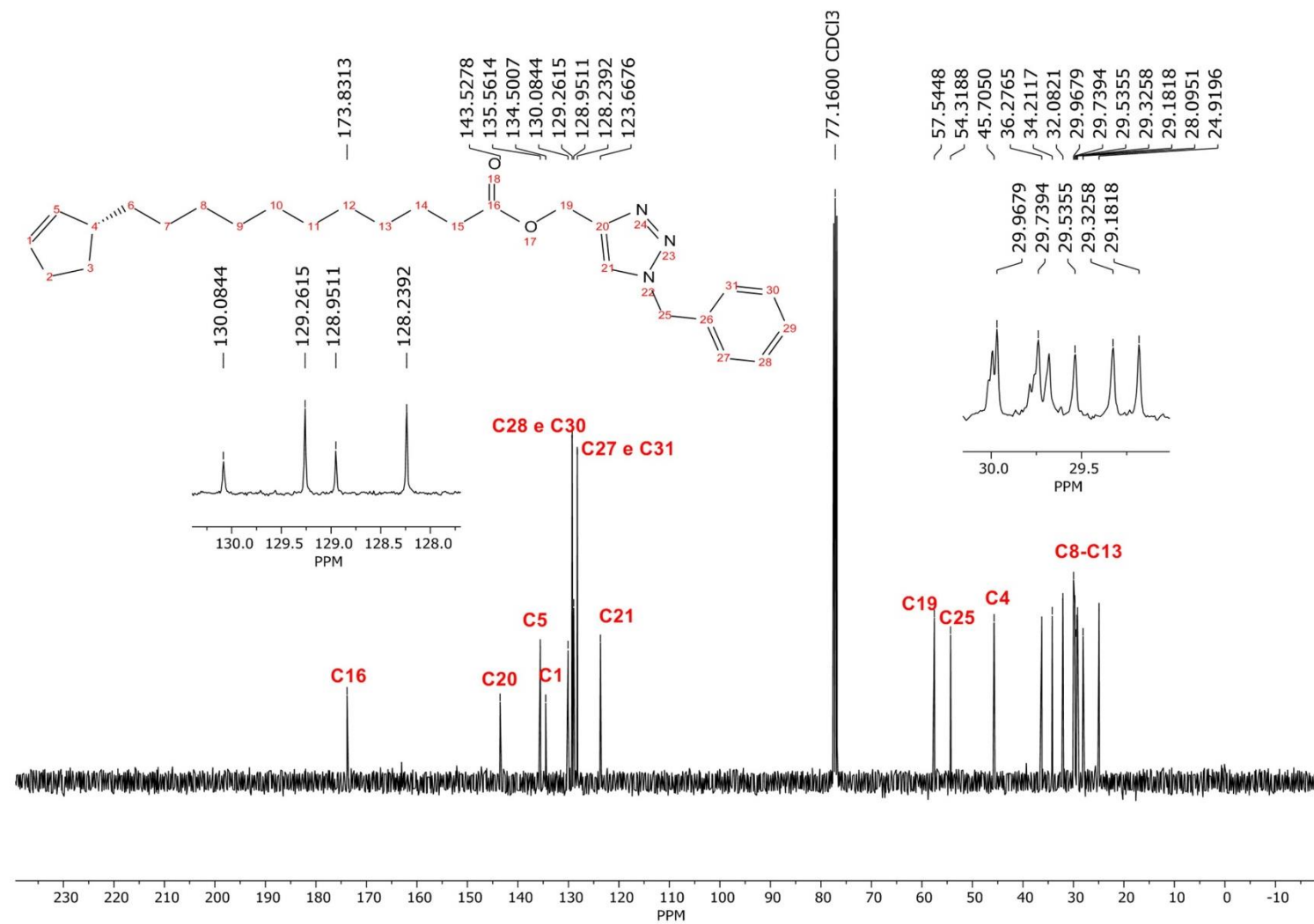
Fonte: autoria própria.

Figura 28. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T1**).



Fonte: autoria própria.

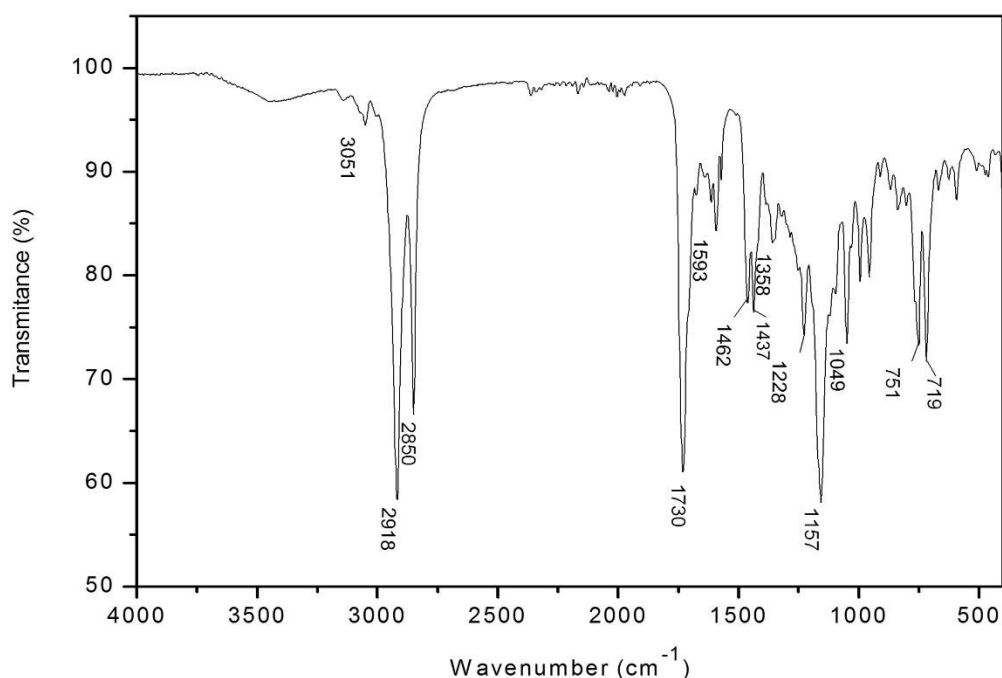
Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T1**)



Fonte: autoria própria.

Por último, no espectro de IV do derivado **T7** (**Figura 30**) observa-se uma banda em 1730 cm^{-1} referente ao estiramento C=O. As bandas de vibrações de estiramento de $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H}$ e $\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H}$ aparecem em 3051 cm^{-1} e $2918\text{-}2850\text{ cm}^{-1}$ respectivamente. A banda em 1593 cm^{-1} corresponde ao estiramento de ligação C=C. As bandas em $1462\text{-}1437\text{ cm}^{-1}$ são referentes às vibrações de deformação angular de CH_2 e CH_3 . Uma banda em 1157 cm^{-1} é devida ao estiramento O-C-C. A banda observada em 1049 cm^{-1} corresponde ao estiramento C-O e, finalmente, a banda em 719 cm^{-1} é atribuída à deformação angular fora do plano de CH_2 (Barbosa, 2007).

Figura 30. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T7**)



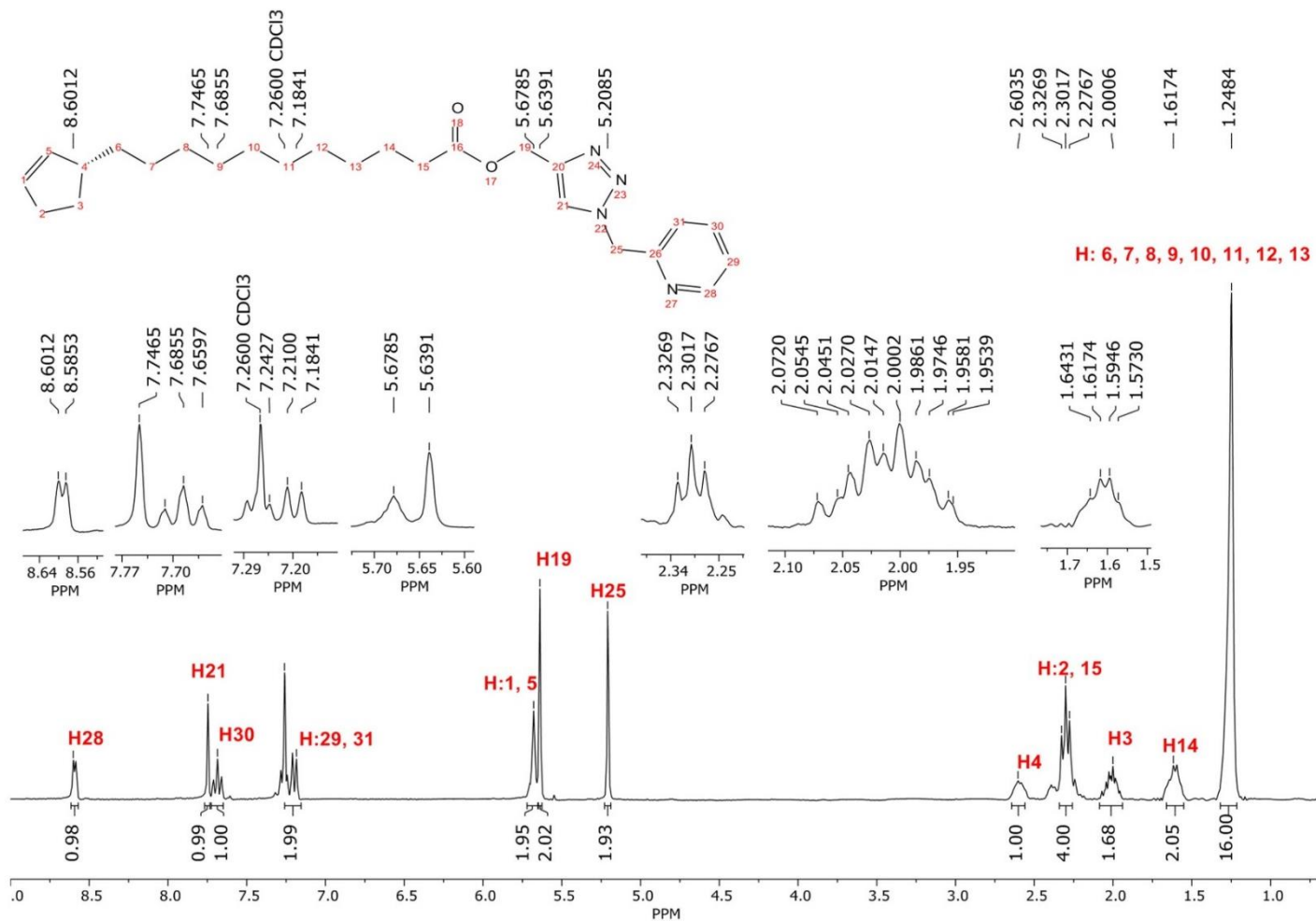
Fonte: Autoria própria

No espectro de RMN de ^1H do derivado **T7** (**Figura 31**) observa-se um duplete em δ 8,59 (d, J 4,58 Hz, 1H) atribuído ao hidrogênio H28 do anel piridínico. Um singlete em δ 7,74 (s, 1H) que corresponde ao hidrogênio H21 ligado ao carbono olefinico do anel triazólico. O tripleto e o multipeto em δ 7,68 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H30) e δ 7,21 (m, 2H), respectivamente, são atribuídos aos hidrogênios H30, H29 e 31, todos os hidrogênios anteriores correspondem ao anel piridínico. Observa-se um multipeto δ 5,68 (m, 2H) que corresponde a H1 e H5, ligados aos carbonos olefínicos do anel ciclopentênico. Dois simpletos δ 5,64 (s, 2H) e 5,20 (s, 2H) são atribuídos aos hidrogênios H25 e H19. Um simpleto em δ 2,60 (m, 1H) relativo ao hidrogênio H4 correspondente ao carbono C4 do anel. Um tripleto em δ 2,30 (t, 4H, J 7,5 Hz)

é atribuído à H2 e H15. Por último, observam-se os multipletos referentes aos hidrogênios metilênicos dos carbonos C3, C14 e C6-13.

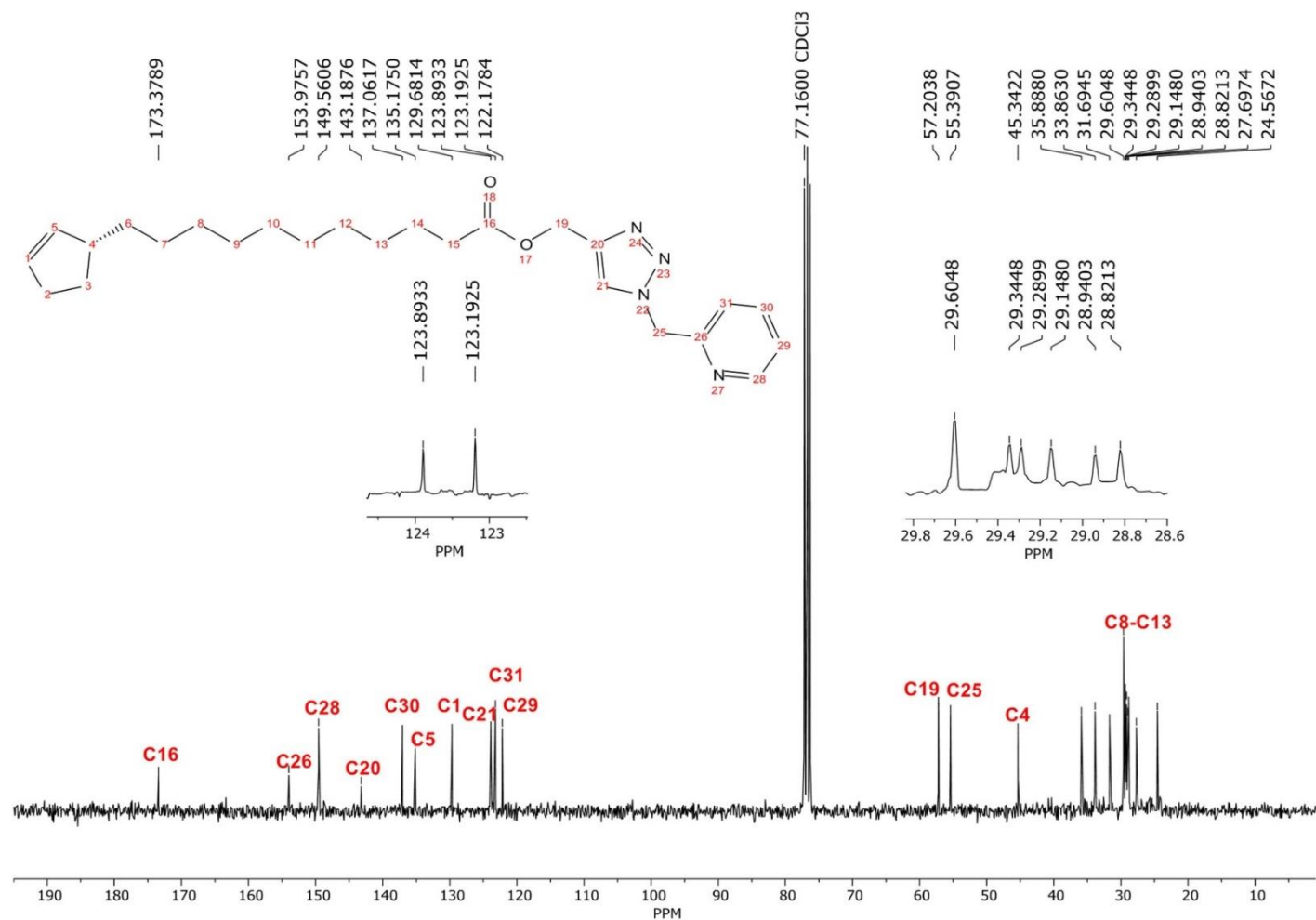
No espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 32**) um sinal em δ 173,38 atribuído ao carbono da carbonila (C16). Os sinais observados entre δ 153,98 e δ 149,56 são atribuídos aos carbonos C26 e C28 do anel piridínico, respectivamente. Os sinais em δ 143,19 e δ 122,18 correspondem aos carbonos C20 e C21, carbonos oleofinicos do anel triazólico. Os carbonos da ligação dupla do anel ciclopentênico (C5 e C1) aparecem em δ 135,18 e 129,68. Foi observado um sinal δ 55,39 que corresponde ao C19 ligado ao éster. Um sinal em δ 57,20 devido ao C25 do carbono metilênico. Foi observado um sinal em δ 45,34 que corresponde ao C4 do anel ciclopentênico. Finalmente, foram observados os sinais correspondentes aos carbonos metilênicos do anel e da cadeia lateral.

Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopet-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T7**)



Fonte: Autoria própria

Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T7**)

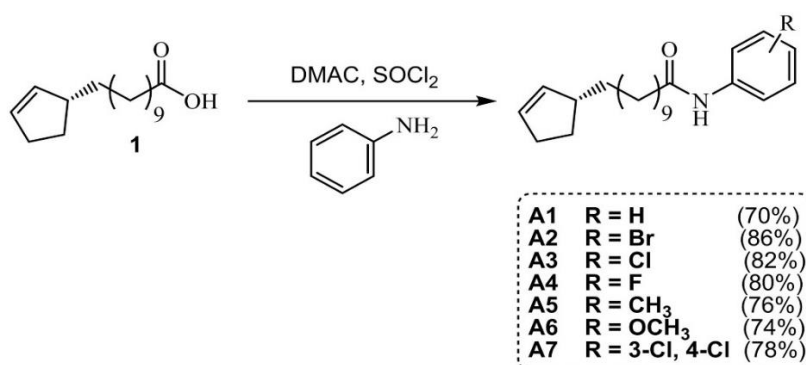


Fonte: Autoria própria

3.2. Amidas

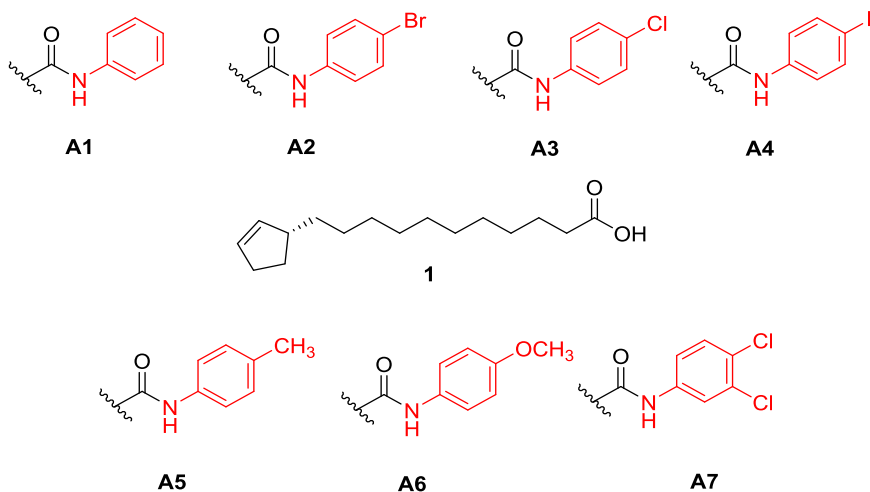
O ácido hidnocárpico (**1**) isolado das sementes de *Carpotroche brasiliensis* foi utilizado para produzir uma série de amidas aromáticas com diferentes substituintes. A síntese das amidas derivadas do ácido hidnocárpico (**1**) foi realizada *one-pot* por meio de uma reação de amidação empregando ácidos carboxílicos em dimetilacetamida. Para isso, o ácido hidnocárpico (**1**) foi reagido com cloreto de tionila, formando o cloreto de ácido. Em seguida, as amidas foram preparadas por meio de uma reação de substituição nucleofílica entre as anilinas substituídas com o cloreto de ácido, na presença de dimetilacetamida usada como solvente e catalisador. Finalmente, foram obtidas 7 amidas (**A1**, **A2**, **A3**, **A4**, **A5**, **A6**, **A7**) com rendimentos variando de 70 a 86%. As etapas para a obtenção das amidas são apresentadas no **Esquema 5**. As amidas obtidas foram caracterizadas por espectroscopia de IV e RMN de ^1H e ^{13}C e as estruturas são apresentadas na **Figura 33**.

Esquema 5. Reação geral para a obtenção das amidas derivadas do ácido hidnocárpico.



Fonte: Autoria própria.

Figura 33. Amidas sintetizadas a partir do ácido hidnocárpico (**1**).



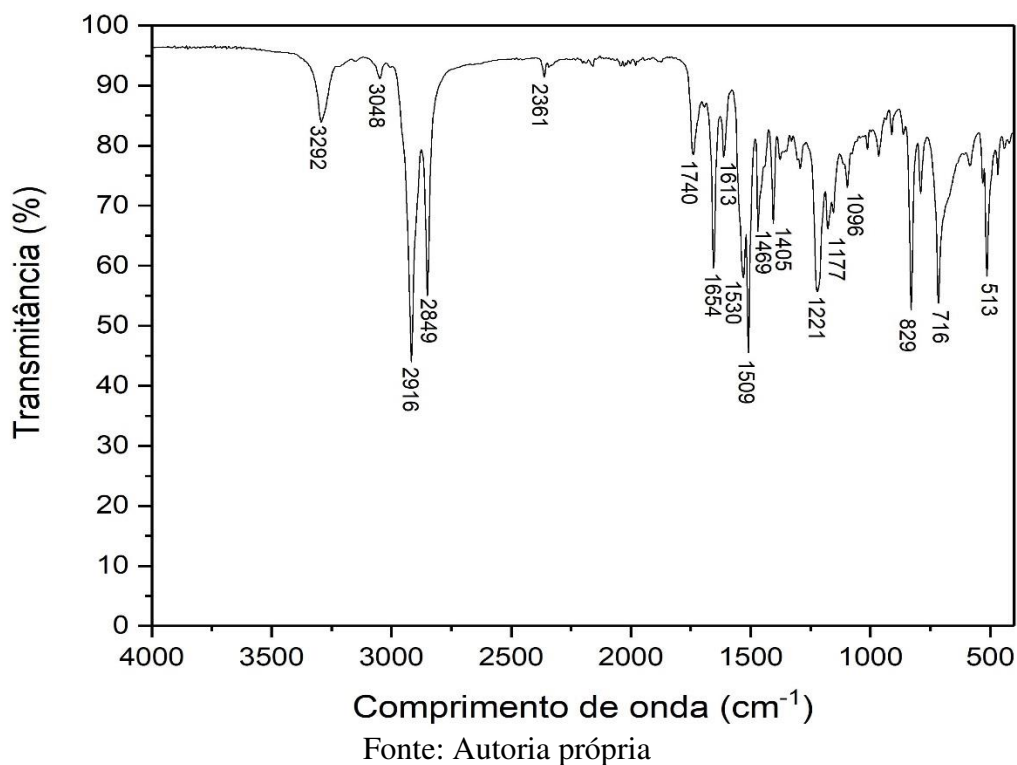
Fonte: Autoria própria.

Os espectros de IV mostraram as bandas esperadas para as amidas como 3330-3287 cm^{-1} (estiramento N-H), 3059-3044 cm^{-1} e 2917-2849 cm^{-1} (estiramento $\text{C}_{\text{sp}2}$ -H e $\text{C}_{\text{sp}3}$ -H) 1659-1652 cm^{-1} (estiramento C=O), 1525-1470 cm^{-1} (estiramento C=C) e 1468-1389 cm^{-1} (estiramento C-N).

O espectro de RMN de ^1H de todos os compostos exibiu o sinal dos hidrogênios ligados ao anel ciclopentênico como um multipletto em δ 5,68. Os sinais correspondentes aos hidrogênios do anel benzeno foram observados na faixa de δ 6,85-6,98 a δ 7,45-7,76. O sinal correspondente ao hidrogênio da ligação amida (NH) foi observado como um simpleto δ 7,10-7,17 (s, 1H). Além disso, o composto **A5** exibiu um singleto em δ 2,27 (s, 3H, H25) atribuído aos hidrogênios do substituinte metila no anel benzeno (Anexos). Para o composto **A6** foi observado um singleto em δ 3,78 (s, 3H, H26) correspondente aos hidrogênios do substituinte metoxila (Anexos).

Como exemplo, no espectro IV do composto **A4** (**Figura 34**) foi observada uma banda na região de 3292 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação N-H. As bandas de vibrações de estiramento de $\text{C}_{\text{sp}2}$ -H e $\text{C}_{\text{sp}3}$ -H aparecem em 3048 cm^{-1} e 2916 cm^{-1} , respectivamente. A banda presente em 1654 cm^{-1} é atribuída ao estiramento da ligação C=O para amidas. As bandas em 1530–1469 cm^{-1} correspondem ao estiramento de ligação C=C. As bandas na região 1469-1405 cm^{-1} são atribuídas ao estiramento da ligação C-N. Uma banda em 716 cm^{-1} devida a deformação angular fora do plano da ligação N-H e, finalmente a banda em 513 cm^{-1} devida a deformação angular fora do plano próprio de ligações =C-H.

Figura 34. Espectro no infravermelho (FTIR-ATR) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(4-fluorofenil) undecanamida (A4)

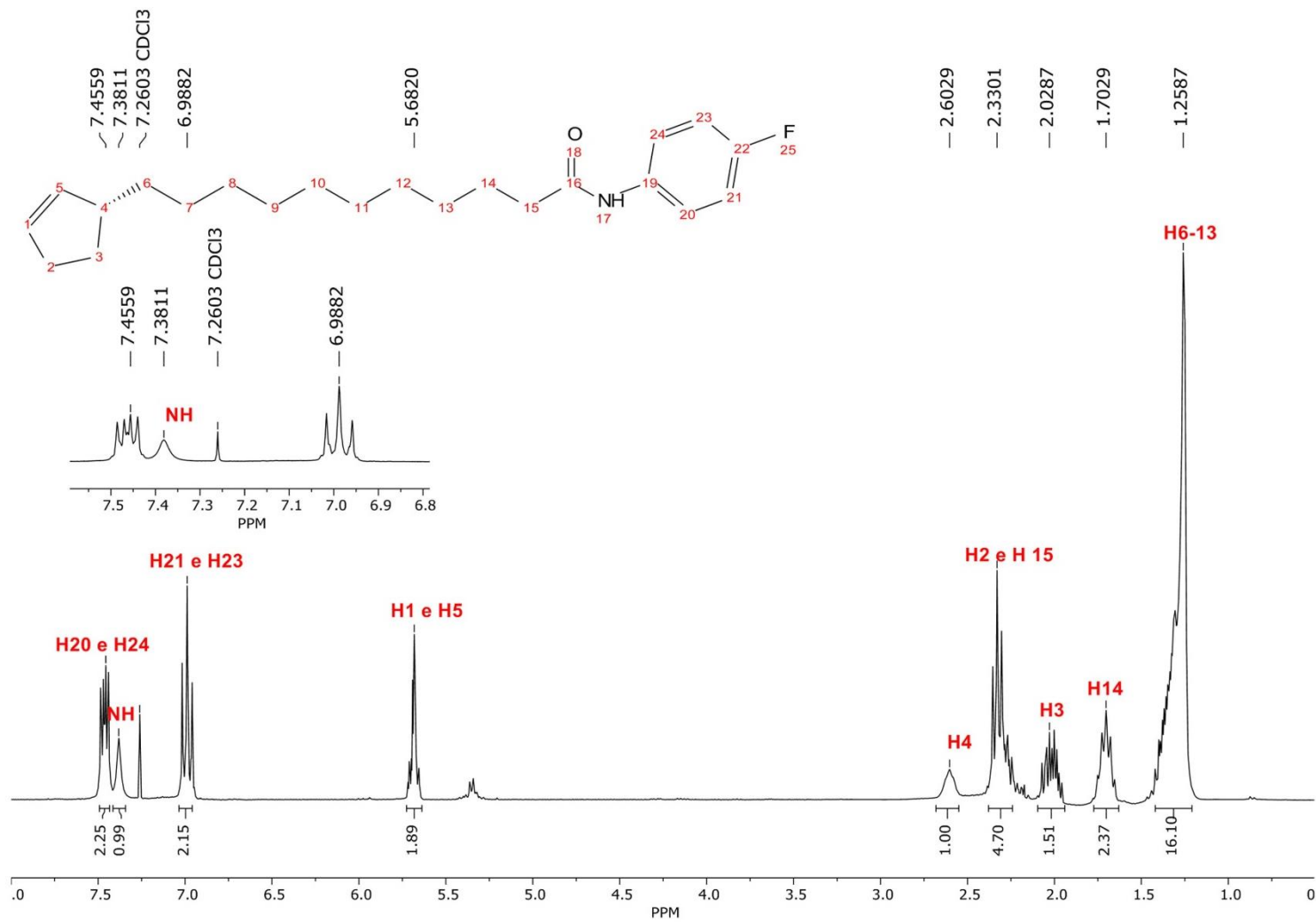


No espectro de RMN de ^1H (**Figura 35**) do composto **A4** foi observado um multipeto em δ 7,45 (m, 2H) atribuído aos hidrogênios H20 e H24 do anel benzeno. Um singlete em δ 7,38 (s, 1H) que corresponde ao hidrogênio da ligação amida (NH). O multipeto em δ 6,98 (m, 2H) corresponde aos hidrogênios H21 e H23 do anel benzeno. Observa-se um multipeto δ 5,68 (m, 2H) que corresponde a H1 e H5 ligados aos carbonos olefínicos do anel ciclopentênico. Um simpleto em δ 2,60 (m, 1H) relativo ao hidrogênio H4 correspondente ao carbono C4 do anel. Um triplete em δ 2,30 (t, 4H, J 7,5 Hz) é atribuído à H2 e H15. Por último, observam-se os multipetos referentes aos hidrogênios metilênicos dos carbonos C8-13 e C14.

Finalmente, os sinais químicos de carbono foram compatíveis com a estrutura dos compostos no espectro de RMN de ^{13}C . Todos os compostos exibiram os sinais na faixa de δ 171,41-171,86 e δ 130,11-130,56 e δ 133,85-132,84 atribuídos aos carbonos da carbonila (C16) e olefínicos (C1 e C5), respectivamente. Além disso, o composto **A5** exibiu um sinal em δ 20,97 atribuído ao carbono do substituinte metila (C25) (Anexos). Para o composto **A6** foi observado um sinal em δ 55,62 correspondente ao carbono do substituinte metoxila (C26) (Anexos).

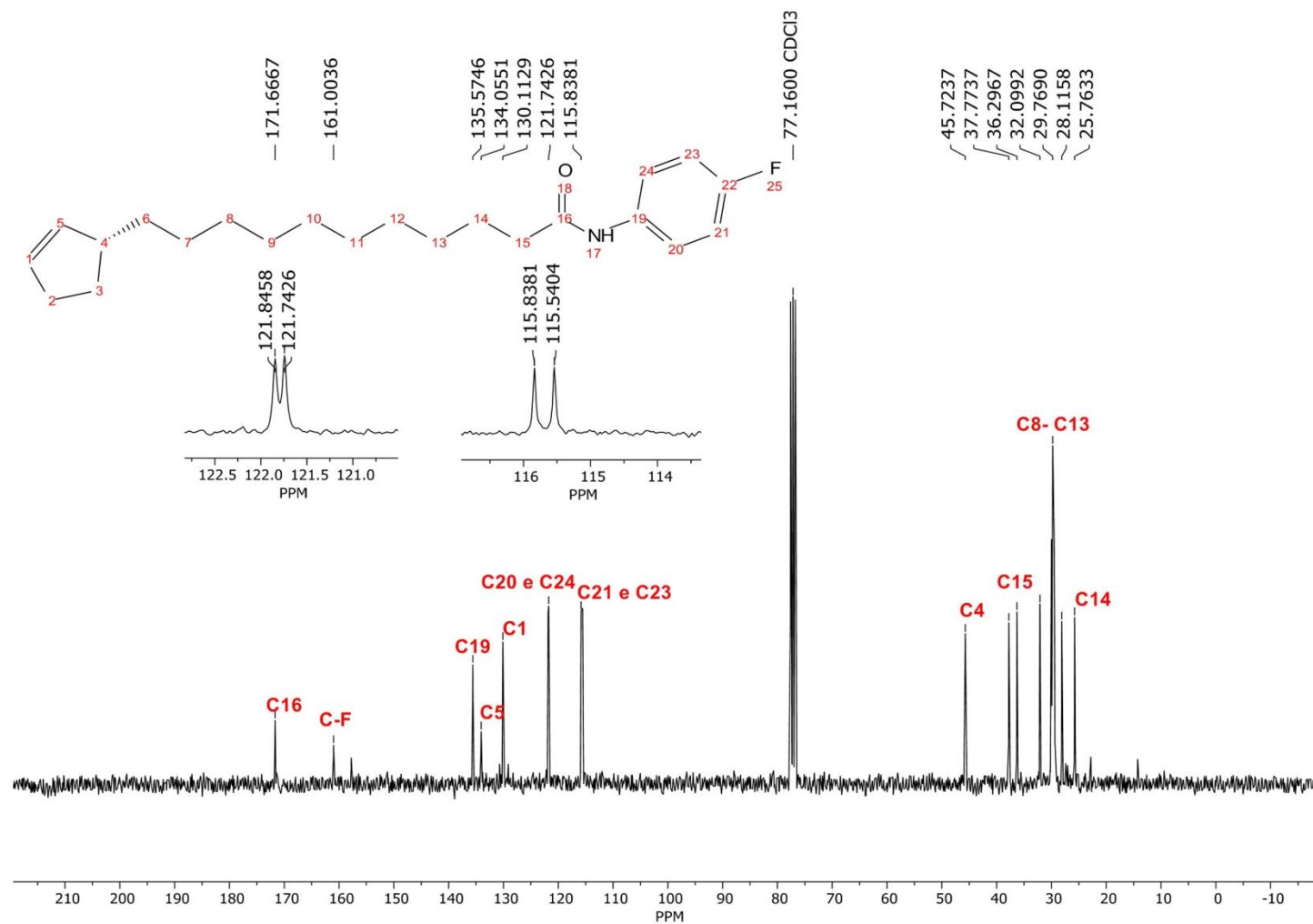
Como exemplo, o espectro de RMN de ^{13}C (**Figura 36**) do composto **A4** contendo flúor como substituinte no anel aromático, forneceu as constantes de acoplamento típicas, observadas nos sinais em δ 161,00 (d, $J = 243,73$ Hz) correspondente ao carbono ligado ao substituinte (F^-) e os sinais entre δ 121,74 (d, $J = 22,17$ Hz) e 115,83 (d, $J = 21,87$ Hz) atribuídos aos carbonos do anel aromático C20 e C24; C21 e C23, respectivamente.

Figura 35. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(4-fluorofenil) undecanamida (**A4**)



Fonte: autoria própria.

Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-(4-fluorofenil) undecanamida (**A4**)



Fonte: autoria própria.

4. CONCLUSÕES

No presente estudo, uma série de triazóis foram obtidos por conjugação entre o ácido hidnocárpico e azidas funcionalizadas por meio da reação CuAAC. Como produtos finais, foram sintetizados oito derivados inéditos com rendimentos variando de 45 a 70%. Os derivados foram caracterizados por meio de espectroscopia de IV, RMN de ^1H e ^{13}C , HRMS e rotação específica.

Ao mesmo tempo, uma série de amidas foram obtidas por conjugação entre o ácido hidnocárpico e anilinas substituídas por meio de uma reação de amidação. Foram sintetizados sete derivados inéditos com rendimentos variando de 70 a 86%. Os derivados foram caracterizados por meio de espectroscopia na região do infravermelho e espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C .

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEKSIC, Ivana; PETKOVIC, Milos; JOVANOVIC, Milos; MILIVOJEVIC, Dusan; VASILJEVIC, Branka; NIKODINOVIC-RUNIC, Jasmina; SENEROVIC, Lidija. Anti-biofilm Properties of Bacterial Di-Rhamnolipids and Their Semi-Synthetic Amide Derivatives. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, n. DEC, p. 1–16, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02454. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02454/full>.
- BERTIN, Matthew J.; ZIMBA, Paul V.; BEAUCHESNE, Kevin R.; HUNCIK, Kevin M.; MOELLER, Peter D. R. The contribution of fatty acid amides to *Prymnesium parvum* Carter toxicity. **Harmful Algae**, [S. l.], v. 20, p. 117–125, 2012. DOI: 10.1016/j.hal.2012.08.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2012.08.004>.
- BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho de Compostos orgânicos**. Viçosa: Editora UFV, 2007, 189 p.
- CHIKKULAPALLI, Anil; AAVULA, Sanjeev Kumar; MONA NP, Rifahath; KARTHIKEYAN, Karthikeyan; KUMAR C.H., Vinodh; SULUR G., Manjunatha; SUMATHI, Shanmugam. Convenient N-acetylation of amines in *N,N*-dimethylacetamide with *N,N*-carbonyldiimidazole. **Tetrahedron Letters**, [S. l.], v. 56, n. 24, p. 3799–3803, 2015. DOI: 10.1016/j.tetlet.2015.04.077. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.04.077>.
- CVETOVICH, Raymond J.; DIMICHELE, Lisa. Formation of Acrylanilides , Acrylamides , and Amides Directly from Carboxylic Acids Using Thionyl Chloride in Dimethylacetamide in the Absence of Bases. **Org. Proc. Res. Dev.**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 944–946, 2006. DOI: 10.1021/op060125. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/op060125%2B>.
- DHEER, Divya; SINGH, Virender; SHANKAR, Ravi. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 71, p. 30–54, 2017. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.01.010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.01.010>.
- DIAS, Maria; GULARTE, Thiago; TEIXEIRA, Róbson; SANTOS, Jorge; PILAU, Eduardo; MENDES, Tiago; DEMUNER, Antônio; DOS SANTOS, Marcelo. Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives of 4,4'-Dihydroxybenzophenone and Evaluation of Their Elastase Inhibitory Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 00, n. 00, p. 1–11, 2018. DOI: 10.21577/0103-5053.20180158. Disponível em: http://jbcs.s bq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=5381&nomeArquivo=2018-0243AR.pdf.
- FARRELL, Emma K.; MERKLER, David J. Biosynthesis, degradation and pharmacological importance of the fatty acid amides. **Drug Discovery Today**, [S. l.], v. 13, n. 13–14, p. 558–568, 2008. DOI: 10.1016/j.drudis.2008.02.006.
- FREITAS, Luiza Baptista de Oliveira; RUELA, Fernando Armini; PEREIRA, Guilherme Rocha; ALVES, Rosemeire Brondi; FREITAS, Rossimiriam Pereira De; SANTOS, Leandro José Dos. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, [S. l.], v. 34, n. 10, p. 1791–1804, 2011. DOI: 10.1590/S0100-40422011001000012.
- FU, Nina; WANG, Suiliang; ZHANG, Yuqian; ZHANG, Caixia; YANG, Dongliang; WENG, Lixing; ZHAO, Baomin; WANG, Lianhui. Efficient click chemistry towards fatty acids

containing 1,2,3-triazole: Design and synthesis as potential antifungal drugs for *Candida albicans*. **European Journal of Medicinal Chemistry.**, [S. l.], v. 136, p. 596–602, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.05.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.001>.

GHIANO, Diego G.; DE LA IGLESIA, Agustina; LIU, Nina; TONGE, Peter J.; MORBIDONI, Héctor R.; LABADIE, Guillermo R. Antitubercular activity of 1,2,3-triazolyl fatty acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry.**, [S. l.], v. 125, p. 842–852, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.09.086. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523416308224>.

HASSAN, Mubashir; ABBASI, Muhammad Athar; AZIZ-UR-REHMAN; SIDDIQUI, Sabahat Zahra; HUSSAIN, Ghulam; SHAH, Syed Adnan Ali; SHAHID, Muhammad; SEO, Sung Yum. Exploration of synthetic multifunctional amides as new therapeutic agents for Alzheimer's disease through enzyme inhibition, chemoinformatic properties, molecular docking and dynamic simulation insights. **Journal of Theoretical Biology**, [S. l.], v. 458, p. 169–183, 2018. DOI: 10.1016/j.jtbi.2018.09.018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.09.018>.

KOLB, Hartmuth C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. Barry. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie International Edition.**, [S. l.], v. 40, n. 11, p. 2004–2021, 2001. DOI: 10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/1521-3773%2820010601%2940%3A11%3C2004%3A%3AAID-ANIE2004%3E3.0.CO%3B2-5>.

KUMAR, Vishal; BHATT, Vinod; KUMAR, Neeraj. **Amides From Plants: Structures and Biological Importance**. 1. ed. [s.l.] : Elsevier B.V., 2018. v. 56 DOI: 10.1016/B978-0-444-64058-1.00009-1. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-64058-1.00009-1>.

MAREDDY, Jyoti; SURESH, N.; KUMAR, C. Ganesh; KAPAVARAPU, Ravikumar; JAYASREE, A.; PAL, Sarbani. 1,2,3-Triazole-nimesulide hybrid: Their design, synthesis and evaluation as potential anticancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 518–523, 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.12.030. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.12.030>.

NITHYABALAJI, Rajendran; KRISHNAN, Hariharasubramanian; SUBHA, Jeyachandran; SRIBALAN, Rajendran. Synthesis, molecular structure, in vitro and in silico studies of 4-phenylmorpholine-heterocyclic amides. **Journal of Molecular Structure**, [S. l.], v. 1204, p. 127563, 2020. DOI: 10.1016/j.molstruc.2019.127563. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127563>.

PIAZZOLLA, Francesca; TEMPERINI, Andrea. Recent advances in chemoselective acylation of amines. **Tetrahedron Letters**, [S. l.], v. 59, n. 27, p. 2615–2621, 2018. DOI: 10.1016/j.tetlet.2018.05.065. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.05.065>.

POLA, Robert; BRAUNOVÁ, Alena; LAGA, Richard; PECHAR, Michal; ULBRICH, Karel. Click chemistry as a powerful and chemoselective tool for the attachment of targeting ligands to polymer drug carriers. **Polym. Chem.**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 1340–1350, 2014. DOI: 10.1039/C3PY01376F.

SAIKIA, Ujwal Pratim; HUSSAIN, Farhaz L.; SURI, Mrinaly; PAHARI, Pallab. Selective N-

acetylation of aromatic amines using acetonitrile as acylating agent. **Tetrahedron Letters**, [*S. l.*], v. 57, n. 10, p. 1158–1160, 2016. DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.01.108. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.01.108>.

SCHULZE, Benjamin; SCHUBERT, Ulrich S. Beyond click chemistry supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles. **Chemical Society Reviews**, [*S. l.*], v. 43, n. 8, p. 2522, 2014. DOI: 10.1039/c3cs60386e.

SIRGAMALLA, Rambabu; KOMMAKULA, Ashok; BANOTH, Sonyanaik; DHARAVATH, Ravi; ADEM, Kurumanna; P, Madhu; BODA, Sakram. Synthesis of amides from aliphatic acids and amines by using of I2/tbhp at room temperature. **ChemistrySelect**, [*S. l.*], v. 3, n. 4, p. 1062–1065, 2018. DOI: 10.1002/slct.201702286.

TASDELEN, Mehmet Atilla; KISKAN, Baris; YAGCI, Yusuf. Externally stimulated click reactions for macromolecular syntheses. **Progress in Polymer Science**, [*S. l.*], v. 52, p. 19–78, 2016. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2015.09.003.

WEI, Yan; MIAO, Kai-Long; HAO, Shuang-Hong. Novel 4-Methylumbelliferone Amide Derivatives: Synthesis, Characterization and Pesticidal Activities. **Molecules**, [*S. l.*], v. 23, n. 1, p. 122, 2018. DOI: 10.3390/molecules23010122. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/1/122>.

XU, Man; PENG, Yongzhi; ZHU, Li; WANG, Shulin; JI, Jiayou; RAKESH, K. P. Triazole derivatives as inhibitors of Alzheimer's disease: Current developments and structure-activity relationships. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [*S. l.*], v. 180, p. 656–672, 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.07.059. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.059>.

ZENG, Yao Fu; LI, Yi Na; ZHANG, Na Na; KANG, Huan; DUAN, Pan; XIAO, Fang; GUO, Yu; WEN, Xianghao. Synthesis of acetamides from aryl amines and acetonitrile by diazotization under metal-free conditions. **Synlett**, [*S. l.*], v. 30, n. 19, p. 2169–2172, 2019. DOI: 10.1055/s-0039-1690237.

CAPÍTULO 4

ATIVIDADE ANTIPROLIFERATIVA DOS 1,2,3 TRIAZÓIS DERIVADOS DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO ISOLADO DO ÓLEO DE SEMENTES DE *Carpotroche brasiliensis*

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença multifatorial que surge dos efeitos combinados de fatores genéticos, epigenéticos e ambientais (HANAHAN; WEINBERG, 2011; SHENG *et al.*, 2015). As células malignas apresentam um crescimento seletivo, vantagem proliferativa e resposta alterada ao estresse, favorecendo a sobrevivência global, vascularização, invasão e metástase (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

O câncer de pulmão tem sido a principal causa de morte relacionada ao câncer, com cerca de 1,6 milhão de mortes relacionadas ao tumor ocorrendo anualmente em todo o mundo. O câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) é responsável por quase 85% de todos os casos recém-diagnosticados (HERBST; MORGENSZTERN; BOSHOFF, 2018). Infelizmente, a maioria dos pacientes é diagnosticada em estágio avançado da doença, quando a cirurgia não é mais viável. A terapia padrão para pacientes com NSCLC localmente irremediável avançado é a combinação de terapia citotóxica e radiação torácica. Em geral, o regime de quimioterapia é baseado no uso combinado de compostos à base de platina com outros medicamentos citotóxicos. No entanto, um resultado clínico modesto foi observado em resposta a múltiplos esquemas de tratamento, empregando substâncias citotóxicas, que foram usados em pacientes com NSCLC em estágio avançado (HERBST; MORGENSZTERN; BOSHOFF, 2018). Assim, é imperativo identificar novas substâncias para melhorar as propostas terapêuticas contra o NSCLC.

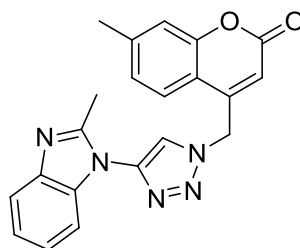
Com base no pressuposto de que moléculas geradas pela combinação de grupos farmacofóricos podem ter maior potencial biológico, muitas dessas moléculas híbridas, particularmente compostos heterocíclicos, foram produzidas e investigadas como agentes anticâncer (CHAVAN *et al.*, 2019). Entre a grande variedade de classes químicas investigadas como blocos de construção para a produção de moléculas híbridas, a estrutura do anel triazol tem mostrado aplicação promissora, sendo capaz de atuar tanto como parte essencial do grupo

farmacofórico quanto como ligante para outras porções moleculares (COSTA *et al.*, 2020; DIAS *et al.*, 2018; GHIANO *et al.*, 2017).

No contexto da hibridação molecular, a reação click oferece uma abordagem para a síntese de compostos contendo exclusivamente o anel 1,2,3-triazol (KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001). Os triazóis ganharam destaque no campo da química medicinal devido à estabilidade do anel de triazol contra a degradação metabólica e sua capacidade de formar ligações de hidrogênio, que podem favorecer respectivamente a ligação às biomoléculas e a solubilidade dos compostos nos meios biológicos (COSTA *et al.*, 2020; FU *et al.*, 2017; GHIANO *et al.*, 2017).

Uma série de moléculas que apresentam o esqueleto de 1,2,3-triazol mostrou efeitos promissores contra uma variedade de linhagens celulares tumorais (DHEER; SINGH; SHANKAR, 2017; MAREDDY *et al.*, 2017; QUEIROZ *et al.*, 2019). Por exemplo, KRALJEVIĆ *et al.*, 2016 sintetizaram híbridos entre o núcleo 1,2,3-triazol e a cumarina e avaliaram sua atividade antiproliferativa contra cinco linhagens de carcinoma humano. Naquele estudo, cinco derivados exibiram elevada atividade antiproliferativa, destacando-se o composto 2-metilbenzimidazol (**Figura 37**), que exibiu a maior citotoxicidade contra HepG2 ($IC_{50} = 0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Figura 37. Derivado triazólico com atividade antiproliferativa contra carcinoma hepatocelular (HepG2).



Fonte: (KRALJEVIĆ *et al.*, 2016), modificado.

Da mesma forma, estudos demonstraram que muitos compostos derivados de ácidos graxos de ocorrência natural mostraram propriedades terapêuticas interessantes, incluindo atividade anticâncer contra uma diversidade de linhagens celulares tumorais (DAILEY *et al.*, 2011; DOS SANTOS *et al.*, 2015; MERICLI *et al.*, 2017; SANABRIA-RÍOS *et al.*, 2015). Entre eles, os ácidos graxos ciclopentênicos exibiram efeitos anti-inflamatórios (LIMA *et al.*, 2005) e antituberculose (JACOBSEN; LEVY, 1973; WANG *et al.*, 2010). Relatos de medicina tradicional mostraram que o óleo extraído das sementes de *Carpotroche brasiliensis*

tem atividades inseticida, parasitida, função antileprótica e também é eficaz no combate à caspa, piolhos e manifestações herpéticas (DOS SANTOS; DE SOUZA; SIANI, 2008; NORTON, 1994; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

O presente estudo é a primeira tentativa de investigar a atividade anticâncer dos ácidos graxos ciclopentênicos e seus derivados. Assim, considerando que os ácidos graxos ciclopentênicos demonstraram outras propriedades biológicas relevantes, e que muitos dos esqueletos do anel 1,2,3-triazol foram considerados como uma porção estrutural chave em algumas moléculas anticâncer, o presente trabalho teve como objetivo produzir uma série de derivados do ácido hidnocárpico contendo anéis triazol e investigar sua atividade antitumoral.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Ensaio biológicos

2.1.1. Linhagens celulares e condições de cultura

As linhagens celulares tumorais humanas utilizadas neste estudo foram: A549 (adenocarcinoma de pulmão), MCF-7 (carcinoma de mama estrogênio-positivo) e HepG2 (carcinoma hepatocelular). A linhagem celular de queratinócitos HaCaT, derivada de pele humana adulta, também foi examinada. As culturas celulares foram mantidas em meio *Dulbecco's Modified Eagle's Minimum Essential* (DMEM, Sigma, CA, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS, Cultilab, São Paulo, Brasil). As células foram cultivadas em atmosfera umidificada de 95% de ar e 5% de CO₂ a 37 °C.

2.1.2. Ensaio de viabilidade celular

As células foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 1×10^4 (HepG2, MCF-7 e HaCaT) e 5×10^3 (A549) células/poço. Os compostos **1** e **T1**, **T2**, **T3**, **T4**, **T7** e **T8** foram testados na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o experimento foi realizado por 48 horas. A viabilidade celular foi avaliada por MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio) usando o Kit CellTiter 96[®] Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation (Promega Corporation, Madison, WI, EUA). Esse método é baseado na conversão do sal tetrazólio em formazano por células metabolicamente ativas. A análise foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm. A taxa de viabilidade foi calculada de acordo com a **equação 3**. Os experimentos foram realizados em quadruplicata e os dados apresentados mostram a média \pm desvio padrão (DP) de três experimentos independentes.

$$\text{Viabilidade celular (\%)} = (\text{Ab amostra} \times 100) / \text{Ab controle} \quad (3)$$

Onde Ab é o valor da absorvância.

As células A549 e HaCaT foram tratadas com os compostos **1** e **T7** em diferentes concentrações (12,5, 25, 50, 100 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$) por 48 horas. Os valores de IC_{50} (concentração capaz de inibir 50% do crescimento) foram determinados a partir de curvas de regressão não linear usando o programa GraphPad Prism 5.0[®] (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA).

2.1.3. Imunofluorescência e determinação da frequência de células em mitose

As células A549 foram semeadas em placas de 35 mm de diâmetro (2×10^5 células/placa) sobre lamínulas. As amostras foram tratadas com **T7** ($60 \mu\text{mol L}^{-1}$) por 48 horas. As células foram fixadas em formaldeído a 3,7% em PBS (solução salina tamponada com fosfato) por 30 minutos e incubadas com Triton X-100 (0,5% em PBS) por 10 minutos. Posteriormente, as amostras foram incubadas com anti-tubulina (1:100, Sigma-Aldrich, Califórnia, EUA) a 4 °C durante a noite. Em seguida, foi adicionado anticorpo secundário (anti-IgG de camundongo conjugado à fluoresceína) (1:50, Sigma) e a amostra foi incubada por 2 horas a 4 °C. Para análise dos filamentos de actina (actina-F), as amostras foram coradas com faloidina conjugada com TRITC (Sigma-Aldrich, Califórnia, EUA) durante 2 horas à temperatura ambiente. Os núcleos foram corados com dicloridrato de 4',6-diamidina-2'-fenilindole (DAPI, Sigma-Aldrich, Califórnia, EUA) e as lamínulas foram montadas com Vecta Shield (Vector[®]). A análise foi realizada usando um microscópio de fluorescência (Nikon) (aumento de 400x). As preparações citológicas foram usadas para determinar a frequência da mitose. Os ensaios foram realizados em triplicata e os dados foram apresentados como a média \pm DP de dois experimentos independentes. Foram analisadas 500 células por amostra.

2.1.4. Ensaio clonogênico

O ensaio clonogênico foi realizado de acordo com FRANKEN *et al.*, 2006. As células A549 foram semeadas em baixa densidade (100 células por placa de 35 mm de diâmetro) e tratadas por 24 horas com **T7** a 30 e 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Posteriormente, as culturas foram recuperadas em meio fresco sem a presença dos compostos por 15 dias. As colônias foram então fixadas em metanol (Sigma) por 30 minutos e coradas com cristal violeta. Somente

colônias com mais de 50 células foram contadas por inspeção visual direta usando um estereomicroscópio com ampliação de 20x. Os ensaios foram realizados em triplicata e os dados foram apresentados como média \pm DP de três experimentos independentes.

2.1.5. Análise de progressão do ciclo celular

A análise da progressão do ciclo celular foi realizada de acordo com AZEVEDO-BARBOSA *et al.*, 2019. As células foram semeadas em placas de Petri com 35 mm de diâmetro a uma densidade de 2×10^5 células/placa. As células foram tratadas com **T7** a 30 e 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ por 48 horas. Após o tratamento, as células foram coletadas por digestão enzimática (solução de tripsina-EDTA/Sigma Aldrich LTDA, Brasil) e transferidas para tubos Falcon. O precipitado celular foi obtido por centrifugação (5 minutos a 1000 rpm). As amostras foram fixadas com etanol a 4 °C (75% em PBS) por 30 minutos. Após centrifugação adicional, as células foram coradas por 30 minutos em uma solução contendo PBS, RNase ($1,5 \text{ mg mL}^{-1}$) e iodeto de propídio ($90 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Guava Technologies-Merck Millipore). A análise foi realizada usando um citômetro de fluxo (Guava Mini EasyCyte, 8HT) usando o software GuavaSoft 2.7 (EMD Millipore Corporation, Hayward, CA, USA, 2013). Os dados foram apresentados como a média \pm DP de cinco experimentos independentes realizados em duplicata.

2.1.6. Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm DP. Análise de variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey foram utilizados. O software utilizado foi o (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA, 2007).

3. RESULTADOS

As atividades citotóxicas dos derivados triazólicos **T1**, **T2**, **T3**, **T4**, **T7** e **T8**, juntamente com seu protótipo **1** foram avaliadas em relação a três linhagens celulares tumorais diferentes (MCF-7, HepG2 e A549). Os compostos foram submetidos a uma triagem inicial acessando seu perfil citotóxico a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. A linhagem celular MCF-7 foi resistente aos compostos testados, enquanto as linhagens HepG2 e A549 foram responsivas aos compostos **T7** e **T8** (**Figura 38a**). A viabilidade celular foi reduzida em torno de 35% e 26% nas culturas de HepG2 tratadas com **T7** e **T8**, respectivamente. Um perfil de atividade

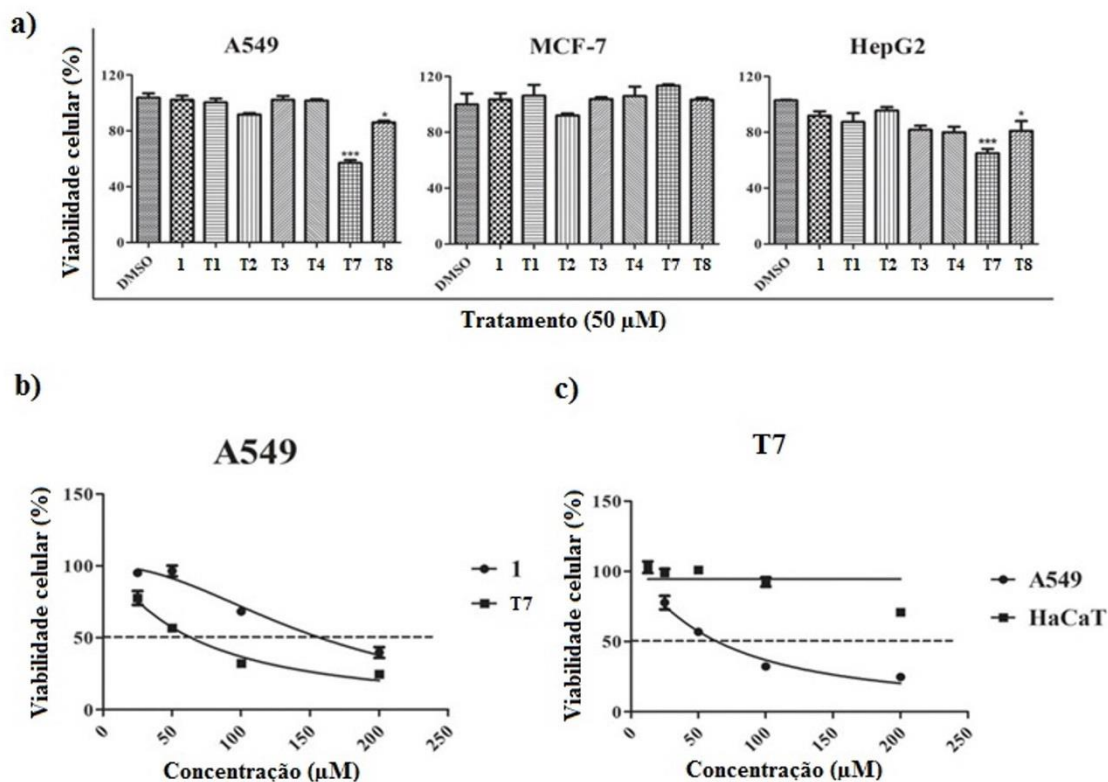
semelhante foi observado para a linhagem celular A549, cuja taxa de viabilidade foi reduzida em aproximadamente 43% e 14% em culturas tratadas com **T7** e **T8**, respectivamente. Diante dos resultados obtidos na triagem, as células A549 e o composto **T7** foram selecionados para investigações adicionais.

As curvas de dose-resposta foram obtidas para o composto **T7** e seu protótipo **1** frente a linhagem celular A549. Os valores de IC_{50} encontrados foram: $63,96 \pm 3,98 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $157,30 \pm 9,57 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os resultados mostraram que o derivado triazólico **T7** foi 2,5 vezes mais eficaz que seu protótipo **1** (**Figura 38b**). Também foi incluída uma linhagem celular não tumorigênica (HaCaT) para analisar o perfil de seletividade de **T7** para células tumorais. Não foi evidenciada atividade citotóxica para **T7** nas células HaCaT (**Figura 38c**), indicando uma boa seletividade deste composto para as células tumorais A549.

Em uma próxima etapa, procuramos investigar se **T7** possui atividade antiproliferativa nas células A549. Para isso, diferentes abordagens metodológicas foram realizadas. Foi registrada uma redução significativa na formação de colônias de culturas de células A549 tratadas com **T7** a 30 e 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (**Figura 39, A e B**), indicando que **T7** inibe efetivamente a capacidade clonogênica dessas células. Esses dados mostram que **T7** é um promissor antitumoral, uma vez que a progressão do tumor e os processos de metástase estão intimamente associados ao comportamento proliferativo das células tumorais (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

As características morfológicas das células A549 não tratadas e tratadas são mostradas na **Figura 39C**. Células alongadas foram observadas em culturas tratadas com **T7** por 48 h. A análise do ciclo celular mostrou um aumento de células em G0/G1 e diminuição da população nas fases S e G2/M, em comparação ao grupo não tratado (**Figuras 39, D e E**). Portanto, **T7** induziu bloqueio do ciclo na transição G1/S. A desregulação do ciclo celular é uma característica fundamental das células tumorais e, nesse sentido, compostos capazes de regular a progressão do ciclo celular são considerados bons protótipos candidatos a fármacos antineoplásicos.

Figura 38. Viabilidade celular determinada pelo ensaio MTS após 48 h de tratamento. (A) Culturas celulares foram tratadas com derivados de triazólicos **T1-T4**, **T7** e **T8** (**4-9**) e ácido hidnocárpico (**1**) a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Células A549 foram tratadas com **1** e **T7** (**8**) em diferentes concentrações. (C) Células A549 e HaCaT foram tratadas com **T7** (**8**) em diferentes concentrações. * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$ de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey. DMSO é um grupo de controle.



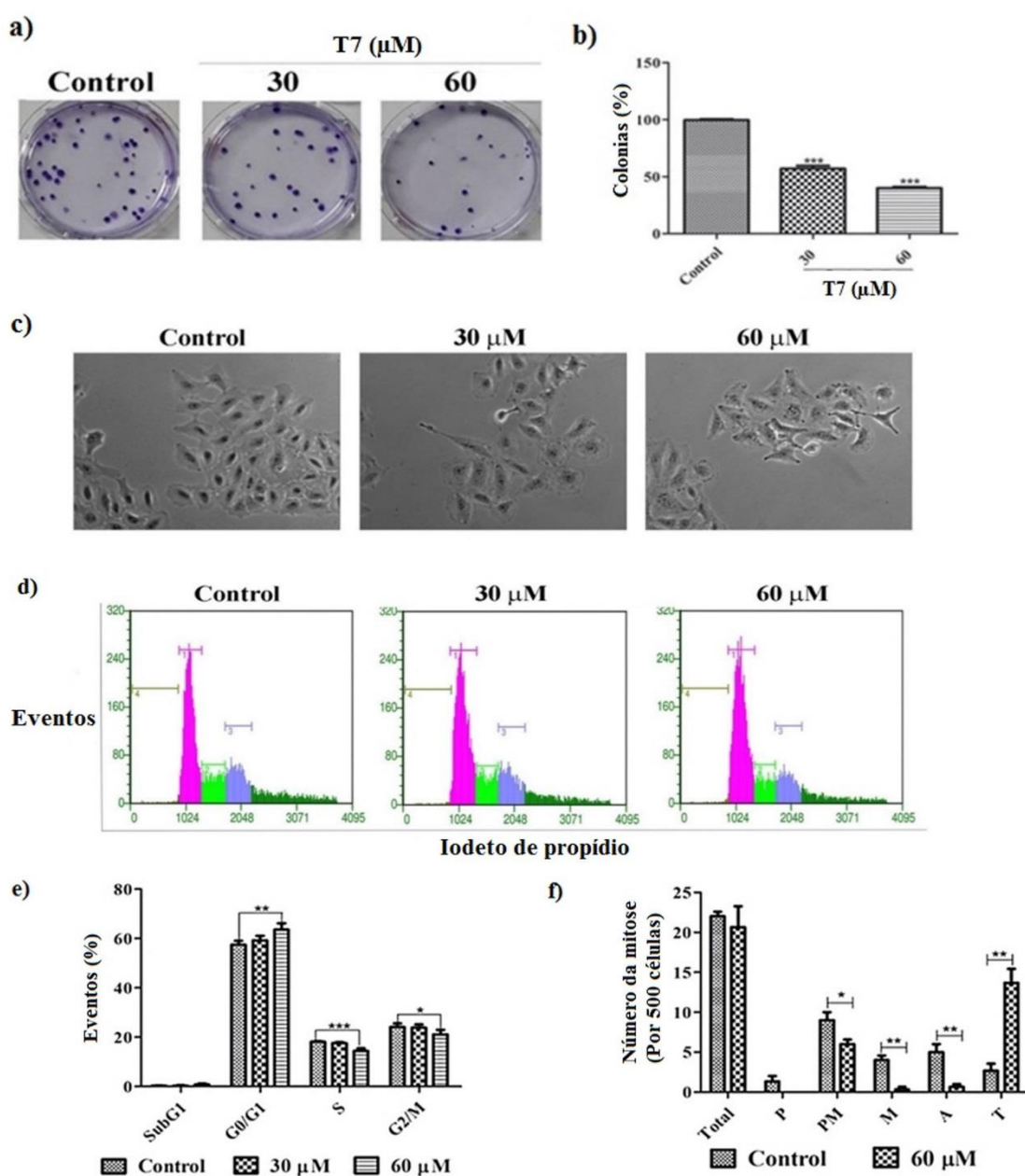
Fonte: autoria própria.

Muitas proteínas estão envolvidas na regulação da progressão G1 e da transição G1/S, incluindo ciclinas D e E, CDK 4/6, CDK2, p21 e p16 (LAPENNA; GIORDANO, 2009). Superexpressão da ciclina D1 foi relatada em pacientes com NSCLC, e parece estar associado à baixa sobrevida livre de recidiva (LEE *et al.*, 2015). A atividade antitumoral de muitas substâncias sobre NSCLC tem sido associada à sua capacidade de reduzir a expressão da ciclina D1. Portanto, mais estudos devem ser realizados para identificar um alvo molecular associado à atividade antiproliferativa do composto **T7** nas células A549.

Por fim, também avaliamos a possível interferência de **T7** na progressão da mitose. Nenhuma diferença significativa foi detectada no número total de células mitóticas comparando os grupos tratados e controle. No entanto, detectamos uma redução drástica de células na prófase, prometáfase, metáfase e anáfase, com um aumento de células na telófase nas culturas tratadas em comparação ao grupo controle. Estudos adicionais devem ser

realizados para avaliar se a alteração na dinâmica de progressão pela mitose está associada ao aumento da população G0/G1 previamente observada por citometria de fluxo.

Figura 39. (A, B) Imagens ilustrativas e análise quantitativa do ensaio de capacidade clonogênica. (C) Imagens representativas obtidas por microscopia de contraste de fase (ampliação de 60×) mostrando características morfológicas das células A549 imediatamente antes da análise do ciclo celular. (D) Histogramas ilustrativos mostrando populações celulares distribuídas em diferentes fases do ciclo celular após 48 h de tratamento com **T7** (8). As barras marrom, rosa, verde e azul representam, respectivamente, populações sub-G1, G0/G1, S e G2/M. (E) Análise do ciclo celular. (F) Frequência de mitose determinada pela contagem de células em microscopia de fluorescência. *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ e * $p < 0,05$ de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey.



Fonte: autoria própria.

4. CONCLUSÕES

Esta é a primeira tentativa de sintetizar derivados de 1,2,3-triazol a partir do ácido hidnocárpico e investigar sua atividade contra linhagens de células de câncer humano. O ácido hidnocárpico e seus derivados foram testados contra linhagens de células de carcinoma de mama estrogênio-positivo (MCF-7), carcinoma hepatocelular (HepG2) e câncer de pulmão de células não pequenas (A549). Nós demonstramos que o derivado (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(piridin-2-ilmetil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T7**) apresentou atividade antiproliferativa promissora contra células A549. Demonstramos que este composto reduz seletivamente a taxa de viabilidade das culturas de células A549. Além disso, o composto **T7** inibiu a capacidade clonogênica das células A549, e esse efeito foi associado, pelo menos em parte, à sua capacidade de inibir a progressão do ciclo celular na fase G1. Esses dados indicam que **T7** é um agente antitumoral promissor sobre células A549 e apóiam estudos adicionais para avaliar os mecanismos moleculares envolvidos com sua atividade antiproliferativa. Além disso, o ácido hidnocárpico deve ser considerado como um protótipo químico promissor para a obtenção de novos agentes antineoplásicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO-BARBOSA, Helloana; FERREIRA-SILVA, Guilherme Álvaro; SILVA, Carolina Faria; DE SOUZA, Thiago Belarmino; DIAS, Danielle Ferreira; DE PAULA, Ana Claudia Chagas; IONTA, Marisa; CARVALHO, Diogo Teixeira. Phenylpropanoid-based sulfonamide promotes cyclin D1 and cyclin E down-regulation and induces cell cycle arrest at G1/S transition in estrogen positive MCF-7 cell line. **Toxicology in vitro**, [S. l.], v. 59, p. 150–160, 2019. DOI: 10.1016/j.tiv.2019.04.023.

CHAVAN, Pramod V.; DESAI, Uday V.; WADGAONKAR, Prakash P.; TAPASE, Savita R.; KODAM, Kisan M.; CHOUDHARI, Amit; SARKAR, Dhiman. Click chemistry based multicomponent approach in the synthesis of spirochromenocarbazole tethered 1,2,3-triazoles as potential anticancer agents. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 85, p. 475–486, 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.01.070. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.070>.

COSTA, Adilson V. *et al.* 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**, [S. l.], v. 31, n. 4, p. 821–832, 2020. DOI: 10.21577/0103-5053.20190246.

DAILEY, Oliver D.; WANG, Xi; CHEN, Feng; HUANG, Guohui. Anticancer activity of branched-chain derivatives of oleic acid. **Anticancer Research**, [S. l.], v. 31, n. 10, p. 3165–3169, 2011.

DHEER, Divya; SINGH, Virender; SHANKAR, Ravi. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 71, p. 30–54, 2017. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.01.010.

DIAS, Maria; GULARTE, Thiago; TEIXEIRA, Róbson; SANTOS, Jorge; PILAU, Eduardo; MENDES, Tiago; DEMUNER, Antônio; DOS SANTOS, Marcelo. Synthesis of 1,2,3-Triazole Derivatives of 4,4'-Dihydroxybenzophenone and Evaluation of Their Elastase Inhibitory Activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 00, n. 00, p. 1–11, 2018. DOI: 10.21577/0103-5053.20180158.

DOS SANTOS, Daiane S. *et al.* Antiproliferative activity of synthetic fatty acid amides from renewable resources. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 340–347, 2015. DOI: 10.1016/j.bmc.2014.11.019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2014.11.019>.

DOS SANTOS, Fernando Sergio Dumas; DE SOUZA, Letícia Pumar Alves; SIANI, Antonio Carlos. O óleo de chaulmoogra como conhecimento científico: A construção de uma terapêutica antileprótica. **Historia, Ciências, Saude - Manguinhos**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 29–47, 2008. DOI: 10.1590/S0104-59702008000100003.

FRANKEN, Nicolaas A. P.; RODERMOND, Hans M.; STAP, Jan; HAVEMAN, Jaap; VAN BREE, Chris. Clonogenic assay of cells *in vitro*. **Nature Protocols**, [S. l.], v. 1, n. 5, p. 2315–2319, 2006. DOI: 10.1038/nprot.2006.339.

FU, Nina; WANG, Suiliang; ZHANG, Yuqian; ZHANG, Caixia; YANG, Dongliang; WENG, Lixing; ZHAO, Baomin; WANG, Lianhui. Efficient click chemistry towards fatty acids

containing 1,2,3-triazole: Design and synthesis as potential antifungal drugs for *Candida albicans*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 136, p. 596–602, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.05.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.001>.

GHIANO, Diego G.; DE LA IGLESIA, Agustina; LIU, Nina; TONGE, Peter J.; MORBIDONI, Héctor R.; LABADIE, Guillermo R. Antitubercular activity of 1,2,3-triazolyl fatty acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 125, p. 842–852, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.09.086.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell**, [S. l.], v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013. HERBST, Roy S.; MORGENZTERN, Daniel; BOSHOFF, Chris. The biology and management of non-small cell lung cancer. **Nature**, [S. l.], v. 553, n. 7689, p. 446–454, 2018. DOI: 10.1038/nature25183.

JACOBSEN, P. L.; LEVY, L. Mechanism by which hydnocarpic acid inhibits mycobacterial multiplication. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 373–379, 1973. DOI: 10.1128/AAC.3.3.373.

KOLB, Hartmuth C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. Barry. Click Chemistry : Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie International Edition in English**, [S. l.], v. 40, p. 2004–2021, 2001.

KRALJEVIĆ, Tatjana Gazivoda; HAREJ, Anja; SEDIĆ, Mirela; PAVELIĆ, Sandra Kraljević; STEPANIĆ, Višnja; DRENJANČEVIĆ, Domagoj; TALAPKO, Jasminka; RAIĆ-MALIĆ, Silvana. Synthesis, *in vitro* anticancer and antibacterial activities and *in silico* studies of new 4-substituted 1,2,3-triazole–coumarin hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 124, p. 794–808, 2016. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.08.062.

LAPENNA, Silvia; GIORDANO, Antonio. Cell cycle kinases as therapeutic targets for cancer. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 547–566, 2009. DOI: 10.1038/nrd2907.

LEE, Eunju; JIN, Dong Hao; LEE, Bo Bin; KIM, Yujin; HAN, JoungHo; SHIM, Young Mog; KIM, Duk Hwan. Negative effect of cyclin D1 overexpression on recurrence-free survival in stage II-IIIa lung adenocarcinoma and its expression modulation by vorinostat *in vitro*. **BMC Cancer**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–10, 2015. DOI: 10.1186/s12885-015-2001-7.

LIMA, J. A.; OLIVEIRA, A. S.; DE MIRANDA, A. L. P.; REZENDE, C. M.; PINTO, Angelo C. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of an acid fraction of the seeds of *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) (Flacourtiaceae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S. l.], v. 38, n. 7, p. 1095–1103, 2005. DOI: 10.1590/S0100-879X2005000700013.

MAREDDY, Jyoti; SURESH, N.; KUMAR, C. Ganesh; KAPAVARAPU, Ravikumar; JAYASREE, A.; PAL, Sarbani. 1,2,3-Triazole-nimesulide hybrid: Their design, synthesis and evaluation as potential anticancer agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 518–523, 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.12.030.

MERICLI, Filiz; BECER, Eda; KABADAYI, Hilal; HANOGLU, Azmi; HANOGLU, Duygu

Yigit; YAVUZ, Dudu Ozkum; OZEK, Temel; VATANSEVER, Seda. Fatty acid composition and anticancer activity in colon carcinoma cell lines of *Prunus dulcis* seed oil.

Pharmaceutical Biology, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 1239–1248, 2017. DOI: 10.1080/13880209.2017.1296003.

NORTON, Scott A. Useful plants of dermatology. I. Hydnocarpus and chaulmoogra. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [S. l.], v. 31, n. 4, p. 683–686, 1994. DOI: 10.1016/S0190-9622(08)81744-6. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622\(08\)81744-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622(08)81744-6).

OLIVEIRA, Adriana S.; LIMA, Josélia A.; REZENDE, Claudia M.; PINTO, Angelo C. Ácidos ciclopentênicos do óleo da sapucainha (*Carpotroche brasiliensis* Endl, Flacourtiaceae): o primeiro antileprótico usado no Brasil. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 139–145, 2009. DOI: 10.1590/S0100-40422009000100027.

QUEIROZ, Thayane M.; OROZCO, Erika V. M.; SILVA, Valdenizia R.; SANTOS, Luciano S.; SOARES, Milena B. P.; BEZERRA, Daniel P.; PORTO, André L. M. Semi-synthesis of β -keto-1,2,3-triazole derivatives from ethinylestradiol and evaluation of the cytotoxic activity. **Heliyon**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 1–6, 2019. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02408.

SANABRIA-RÍOS, David J. *et al.* Synthesis of novel C5-curcuminoid-fatty acid conjugates and mechanistic investigation of their anticancer activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 25, n. 10, p. 2174–2180, 2015. DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.03.065. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.03.065>.

SHENG, Jiang; MA, Nan; WANG, Ying; YE, Wen-Cai; ZHAO, Bing-Xin. The application of click chemistry in the synthesis of agents with anticancer activity. **Drug Design, Development and Therapy**, [S. l.], v. 9, p. 1585, 2015. DOI: 10.2147/DDDT.S56038.

WANG, Jun Feng *et al.* Antituberculosis agents and an inhibitor of the para-aminobenzoic acid biosynthetic pathway from *Hydnocarpus anthelminthica* seeds. **Chemistry and Biodiversity**, [S. l.], v. 7, n. 8, p. 2046–2053, 2010. DOI: 10.1002/cbdv.201000072.

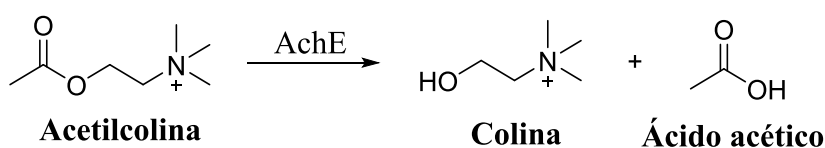
CAPÍTULO 5

DOCKING MOLECULAR E ATIVIDADE INIBIDORA DE COLINESTERASES DOS DERIVADOS DO ÁCIDO HIDNOCÁRPICO

1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é um distúrbio neurodegenerativo conhecido como principal causa de demência senil no mundo (ANDRADE *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2019). A doença é caracterizada por perda de memória a curto e a longo prazo, desorientação, dificuldade em falar ou escrever, perda de raciocínio, habilidades e delírios, entre outros sintomas (XU *et al.*, 2019). Embora a causa exata da DA ainda não seja completamente conhecida, alguns fatores têm papel significativo na patogênese de doença como déficit de acetilcolina (ACh) (DELOGU *et al.*, 2016). Assim, um dos possíveis tratamentos para o aumento do nível de acetilcolina no cérebro é o uso de inibidores da acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) (ABDUL WAHAB *et al.*, 2016; DELOGU *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2011). Essas enzimas parecem ser simultaneamente ativas na hidrólise sináptica da Ach (**Figura 40**), diminuindo a ação do neurotransmissor e co-regulando os níveis de ACh (FAIS *et al.*, 2019).

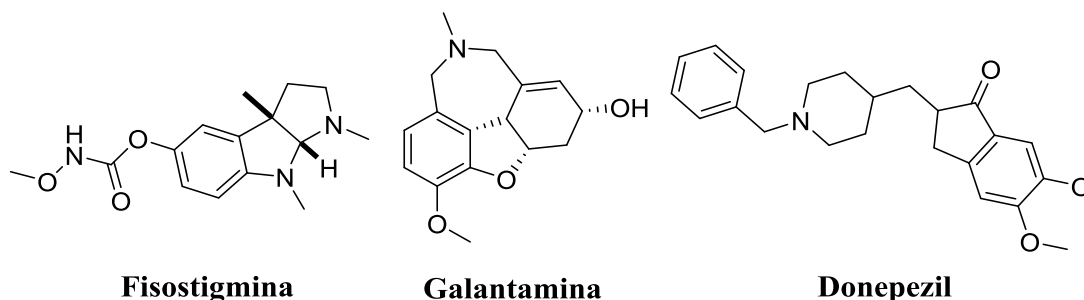
Figura 40. Hidrólise de Acetilcolina.



Fonte: autoria própria.

Atualmente, quatro inibidores da AChE comumente prescritos, incluindo fisostigmina, galantamina e donepezil (**Figura 41**) foram aprovados pelas autoridades reguladoras da Europa e dos Estados Unidos (XU *et al.*, 2019). No entanto, os medicamentos atualmente disponíveis controlam apenas os sintomas em estágio inicial da doença (ANDRADE *et al.*, 2019). Portanto, novos inibidores de colinesterases estão sendo procurados como candidatos a medicamentos para o tratamento da DA e distúrbios neurodegenerativos relacionados (LEE *et al.*, 2011). Portanto, é essencial buscar novas estratégias para o tratamento da DA.

Figura 41. Inibidores de acetilcolinesterase utilizados como fármacos no tratamento da Doença de Alzheimer.

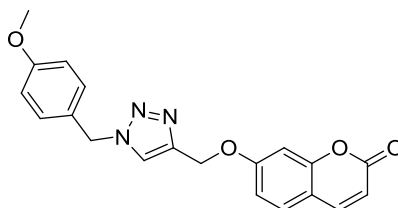


Fonte: XU *et al.*, 2019, modificado.

Compostos medicinais constituídos por heterociclos contendo nitrogênio têm recebido um interesse significativo devido à sua importância biológica (XU *et al.*, 2019). Os heterociclos à base de 1,2,3-triazóis foram bem explorados para o desenvolvimento de drogas medicinais que exibem diversas atividades como anti-HIV (DA SILVA *et al.*, 2009), anticâncer (BANERJI *et al.*, 2018; HOU *et al.*, 2017; MAREDDY *et al.*, 2017) e antibacteriana (TORRES *et al.*, 2019). Somado a isso, derivados contendo triazol já mostraram atividades promissoras *in vitro* como inibidores de colinesterases (MORADI *et al.*, 2018) e para o tratamento da doença de Alzheimer (DI PIETRO *et al.*, 2016) e atraíram grande interesse na busca de novos agentes terapêuticos contra essa desordem (XU *et al.*, 2019).

Por exemplo, MORADI *et al.*, 2018 sintetizaram híbridos, via anel triazólico, entre a 4-metilumbeliferona e benzil aminas, e avaliaram suas atividades inibidoras de AChE e BChE, usando o ensaio modificado de ELLMAN. Naquele trabalho, os autores evidenciaram o composto, 7-((1-(3-Metoxibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)-2*H*-cromen-2-ona (**Figura 42**) como mais ativo, apresentando valores de IC₅₀ iguais a 3,4 e 1,1 μmol L⁻¹, respectivamente para AChE e BChE.

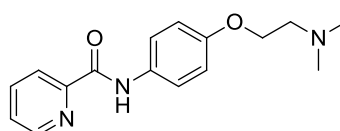
Figura 42. Estrutura de um inibidor de colinesterases contendo núcleo triazólico.



Fonte: MORADI *et al.*, 2018, modificado.

Dentro dos compostos heterocíclicos podemos destacar ainda os que contém o grupo amida, que também apresentam uma gama de atividades biológicas, incluindo antitumoral (SHANG *et al.*, 2016), antibacteriana (ALEKSIC *et al.*, 2017), pesticida (WEI; MIAO; HAO, 2018), antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2018) e como inibidores de ChE (OLIVEIRA *et al.*, 2018). GAO *et al.*, 2018 sintetizaram e investigaram a inibição de derivados de benzamida contra AChE e BChE. O composto *N*-(3-(2-dimetilamino)etoxi)fenil)isonicotinamida (**Figura 43**) inibiu seletivamente AChE ($IC_{50} = 2,49 \pm 0,19 \mu\text{mol L}^{-1}$). Os autores ainda destacaram, por análise de *docking* molecular, a interação desse composto com o sítio catalítico enzimático. Investigação da relação estrutura-atividade revelou que a posição da substituição do anel arila influenciou a atividade.

Figura 43. Estrutura de um inibidor de acetilcolinesterase, derivado de benzamida.



Fonte: GAO *et al.*, 2018, modificado.

Além disso, estudos tem demonstrado o uso de óleos vegetais e extratos de plantas, com maior teor de ácidos graxos insaturados e monossaturados, como possíveis inibidores de colinesterases (ChE) (LOESCHE *et al.*, 2018). Os ácidos graxos ciclopentênicos, incluindo o ácido hidnocárpico, são uma classe de lipídeos encontrados no óleo de sementes de muitas espécies de plantas pertencentes à família Flacourtiaceae (ALMAHLI, 2017). Na década de 1850, esses ácidos eram considerados os principais agentes antilepróticos da Índia. Posteriormente, esses ácidos graxos foram reportados como agentes antiinflamatórios (LIMA *et al.*, 2005) e antituberculose (JACOBSEN; LEVY, 1973). As propriedades dos ácidos graxos de cadeia longa e seus derivados despertaram nosso interesse em investigar o potencial dos derivados do ácido hidnocárpico como inibidores de ChE.

Considerando o potencial biológico associado a moléculas híbridas contendo grupos farmacofóricos, nós investigamos os 1,2,3-triazóis derivados do ácido hidnocárpico contra as enzimas AChE e BChE. Para melhor entender a inibição enzimática, em relação aos substituintes e suas posições nos compostos apresentados, também foram realizados estudos de *docking* molecular e correlação de parâmetros físico-químicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Ensaio de inibição enzimática dos derivados triazólicos

A avaliação da inibição enzimática foi realizada contra AChE (*Electrophorus electricus*, tipo VI, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e BChE (soro equino, pó liofilizado, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). O ensaio foi realizado pela técnica espectrofotométrica em microplaca de 96 poços (TPP, Trasadingen Suíça), de acordo com a metodologia de Ellman *et al.*, 1961, com modificações. Os ensaios foram realizados em parceria com o Laboratório de Biodiversidade (Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - UFV).

As amostras (**1, 2, T1, T4, T5, T6, T8**) foram preparados na concentração de 2500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em MeOH grau HPLC (TEDIA[®]), sendo a massa exata considerada para o preparo das soluções. Essa solução foi armazenada no congelador e reutilizada para a produção da solução intermediária das repetições (três dias consecutivos). Dessa forma, foram utilizadas três microplacas, com triplicata para cada composto, totalizando nove pontos. A cada dia, as amostras eram solubilizadas por banho ultrassônico (Sander[®], modelo Soniclean 2), com frequência de 40 kHz e temperatura entre 35 e 40 °C, e diluídas cinco vezes em tampão A (Tris-HCl 50 mmol L^{-1} , pH 8,0). Obtia-se, então, a solução intermediária na concentração de 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Aos microtubos de 1,5 mL foram adicionados 200 μL de solução de albumina sérica bovina (0,1 % de BSA em tampão A), 100 μL de solução de iodeto de acetiltiocolina em água ultrapura (14,5 mmol L^{-1}), 500 μL de solução de ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (3 mmol L^{-1} de DTNB em tampão A contendo 10 mmol L^{-1} de NaCl e 20 mmol L^{-1} de MgCl_2) e 100 μL da solução intermediária. Um microtubo foi destinado cada espécie química. Os substratos usados foram iodetos de acetiltiocolina e *S*-butiriltiocolina para AChE e BChE, respectivamente. Os controles negativo e positivo foram realizados utilizando-se metanol grau HPLC (TEDIA[®]) e salicilato de fisostigmina (14 $\mu\text{mol L}^{-1}$), respectivamente. A concentração dos compostos testada foi de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A montagem da placa foi realizada retirando-se uma alíquota de 225 μL , em triplicata de cada microtubo. Procedeu-se com a leitura do *background* a 405 nm e 30 °C em espectrofotômetro (Thermoplate, modelo TP-reader). Para realizar o ensaio cinético 25 μL (0,2 U mL^{-1} , 0,1% de tampão A) da enzima foram adicionados e efetuou-se a leitura da placa ($\lambda = 405 \text{ nm}$, à 30 °C) a cada 5 minutos, por 25 minutos.

A inibição da hidrólise enzimática (%) foi calculada de acordo com a **equação 4**, a partir da diferença de valores de absorvância do *background* (sem adição enzimática) e do ensaio cinético (com adição da enzima, após 20 minutos).

$$Inibição (\%) = 100 - \frac{[(Ab \text{ ensaio cinético} - Ab \text{ background}) \times 100]}{Ab \text{ controle negativo}} \quad (4)$$

No qual Ab é o valor de absorvância.

2.2. Ensaio de inibição enzimática das amidas

As amidas **A1-A4**, **A6**, **A7** foram testadas contra AChE (*Electrophorus electricus*, tipo VI, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA), conforme descrito no item anterior, com modificações. As amostras foram preparadas na concentração de 1 mg mL⁻¹ em MeOH grau HPLC (TEDIA[®]), resultando em solução intermediária à 200 µg mL⁻¹. A concentração dos compostos testada foi de 20 µg mL⁻¹.

As amidas que apresentaram inibição contra AChE superior à 40% (**A1**, **A2**) foram avaliadas como possíveis inibidoras de BChE (soro equino, pó liofilizado, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Esses derivados foram testados à 20 µg mL⁻¹.

2.3. Docking molecular dos derivados triazólicos

O *docking molecular* foi realizado no laboratório de Proteômica e Bioinformática (BIOAGRO-UFV), usando o *software* AutoDockVina[®] 1.1.2 (TROTT, O., OLSON, 2019), segundo (FERREIRA *et al.*, 2018).

Os receptores foram as enzimas AChE da espécie *Torpedo californica* e butirilcolinesterase humana (hBuChE), obtidas do banco de dados de proteínas (*Protein Data Bank*, código: 6G1U, (GALDEANO *et al.*, 2018; 1,79 Å e 1P0I; (NICOLET *et al.*, 2003, 2.00 Å, respectivamente) em formato PDB. A edição dos receptores, incluindo retirada das moléculas de água, adição de hidrogênios não polares e cálculo das cargas da proteína, foi realizada pelo *software* AUTODOCKTOOLS[®] (MORRIS *et al.*, 2009), e os arquivos foram convertidos para o formato PDBQT.

Os ligantes, compostos desenvolvidos no presente trabalho, foram desenhados no *software* MarvinSketch[®], com todos os hidrogênios explícitos, e salvos no formato PDB. O *software* PyRx[®] Python Prescription 0.8 foi utilizado para converter os arquivos para o formato PDBQT.

Os possíveis inibidores foram ancorados contra a enzima usando o *software* AutoDockVina[®] 1.1.2 (TROT E OLSON, 2010). Um prisma de base retangular foi criado de modo que os ligantes pudessem interagir em toda a proteína, adotando-se a estratégia de *docking* não-dirigido. As dimensões do prisma (eixos x, y e z, respectivamente) para AChE e BChE foram de 66 x 70 x 74 Å e 72 x 72 x 80 Å, respectivamente. Os primas foram centralizados em x = -3,333; y = 2,167 e z = 20,917 e x = 138,003; y = 122,704 e z = 38,764, respectivamente para AChE e BChE. Mapas farmacofóricos foram projetados no BIOVIA Discovery Studio 2016 16.1.0.15350 (Dessault Systèmes Biovia Corp, San Diego, EUA).

2.4. Parâmetros físico-químicos

Os parâmetros físico-químicos analisados foram massa molar (g mol⁻¹), MlogP, refratividade molar, TPSA (Å²) e volume de Van der Waals (Å³). A massa molar, o MlogP e o volume de van der Waals foram calculados por ChemDraw Ultra 12.0.2.1076[®] (Chemical Structure Drawing Standard, PerkinElmer), MedChem Designer[®] 3.1.0.30 (Simulations Plus, Inc, Lancaster, EUA) e Marvin Sketch[®] 17.28.0 (ChemAxon, Budapeste, Hungria), respectivamente. A refratividade molar e o TPSA foram calculados por Swiss-ADME (DAINA; ZOETE, 2016).

2.5. Análise estatística

Os dados foram expressos como média ± DP. Análise de ANOVA e pós-teste de Tukey foram utilizados. A correlação não paramétrica (Spearman) foi utilizada para avaliar os parâmetros físico-químicos. O *software* utilizado foi o GraphPad Prism[®] 5.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Derivados triazólicos

3.1.1. Ensaio de inibição enzimática

As atividades inibitórias dos compostos sintetizados (**T1**, **T4**, **T5**, **T6**, **T8**), ácido hidnocárpico (**1**) e alcino (**2**) contra a colinesterase foram testadas usando as enzimas AChE de *Electrophorus electricus* e BChE de soro equino. Os ensaios de inibição foram realizados de acordo com Ellman *et al.*, 1961, utilizando 50 µmol L⁻¹ para cada composto. A

fisostigmina, um inibidor conhecido de AChE e BChE, foi usada como padrão de referência. A Tabela 1 mostra o efeito inibitório dos compostos e o padrão de referência.

O ácido hidnocárpico (**1**) mostrou-se inativo tanto para AChE quanto para BChE. Este resultado é consistente com (LOESCHE *et al.*, 2018), que investigaram os efeitos inibitórios de ácidos graxos contra AChE e BChE. Naquele estudo, os autores observaram que o comprimento da cadeia é crucial para a obtenção de uma eficácia inibitória. Além disso, os autores relataram a influência significativa das ligações duplas na cadeia de carbonos.

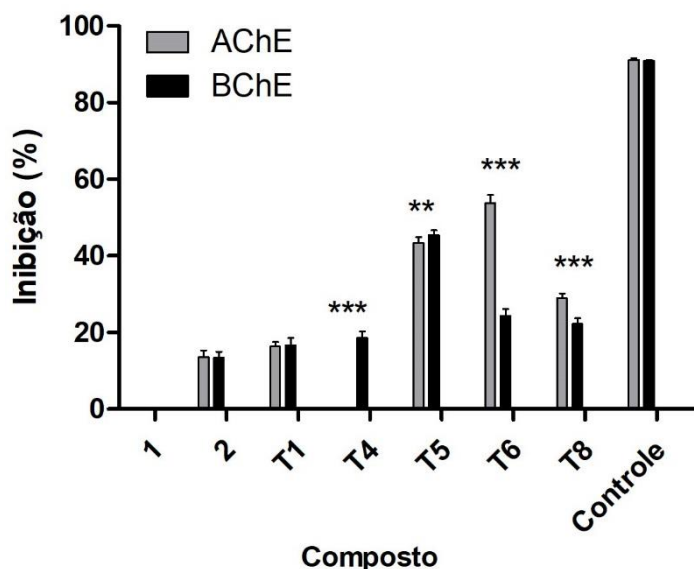
Em relação às modificações estruturais, as atividades inibitórias do alcino **2** não foram significativas contra AChE e BChE ($13,58 \pm 1,70$ e $13,34 \pm 1,65\%$, respectivamente) (**Tabela 4 e Figura 44**). Esse fato sugere que a propargilação do grupo carboxila na cadeia lateral teve influência positiva nas propriedades inibitórias. Recentemente, (KUMAR *et al.*, 2019) investigaram o papel do grupo propargila como potente inibidor da AChE, com base em estudos de (ZINDO; JOUBERT; MALAN, 2015). Estes estudos abordaram o grupo propargila como parte funcional no projeto e desenvolvimento de drogas multifuncionais para vários distúrbios neurológicos (ZINDO; JOUBERT; MALAN, 2015). Além disso, os compostos triazólicos **T4**, **T5**, **T6** e **T8** mostraram inibição significativa da AChE e BChE quando comparados ao alcino **2** na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ (**Figura 44**). A inserção do núcleo triazólico com o grupo substituinte benzílico (**T1**) teve pouca influência, embora significativa, nas atividades enzimáticas (inibição de 16,5%, em média) em comparação com **2**. Além disso, **T1** não inibiu significativamente a atividade de colinesterases (**Figura 44**). Os compostos **T4** e **T6** apresentaram perfis diferentes quanto a inibição da AChE e BChE. A presença de flúor no grupo benzila (**T4**) parece favorecer a inibição do BChE ($p < 0,005$), enquanto o grupo nitro (**T6**) influencia, em maior porcentagem, a inibição da AChE ($p < 0,005$). O composto **T6** exibiu a maior inibição da atividade da AChE, com valor de IC_{50} de cerca de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Comparando a inibição das colinesterases, **T6** foi aproximadamente 121% mais ativo contra essa enzima do que BChE. O anel piperonil contendo triazol (**T8**) também favoreceu a inibição da AChE ($28,98 \pm 1,26\%$) em comparação ao **2**. O composto **T4** mostrou inibição específica contra BChE, embora pequena ($18,63 \pm 1,64\%$), na concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. O composto contendo o grupo metila (**T5**) apresentou alta inibição contra as duas enzimas, atingindo quase 50% de inibição a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Tabela 4. Inibição do ácido hidnocárpico (**1**), alcino **2** e derivados triazólicos contra (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) de soro equino (média \pm desvio padrão). Letras diferentes foram usadas para comparar a significância entre os compostos na mesma enzima ($p < 0,05$ de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey).

Composto (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Inibição contra AChE (%)	Inibição contra BChE (%)
1	0 ^a	0 ^a
2	13,58 \pm 1,70 ^b	13,34 \pm 1,65 ^b
T1	16,39 \pm 1,13 ^c	16,61 \pm 1,97 ^c
T4	0 ^a	18,63 \pm 1,64 ^d
T5	43,40 \pm 1,48 ^d	45,46 \pm 1,22 ^e
T6	53,67 \pm 2,21 ^e	24,29 \pm 1,86 ^f
T8	28,98 \pm 1,26 ^f	22,21 \pm 1,47 ^g
Fisostigmina (14 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	91,14 \pm 0,386 ^g	90,96 \pm 0,179 ^h

Fonte: Autoria própria.

Figura 44. Inibição do alcino **2** e triazóis derivados do ácido hidnocárpico (**1**) contra a acetilcolinesterase (AChE) *Electrophorus electricus* e butirilcolinesterase (BChE) do soro equino. A análise estatística foi realizada por comparação dos derivados com o composto **1**. Percentagem de inibição da enzima a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (média \pm desvio padrão). *** $p < 0,005$, ** $p < 0,01$ de acordo com o teste t. Controle: fisostigmina.



Fonte: autoria própria.

Em resumo, embora o ácido hidnocárpico (**1**) não tenha sido ativo a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ contra as colinesterases testadas e seu derivado propargilado **2** seja um inibidor fraco, a maioria dos derivados triazólicos apresentaram atividade inibitória. Em relação às

modificações estruturais, esses resultados demonstraram que o aumento da lipofilicidade, bem como a presença do anel triazólico tende a ser proporcional à inibição da AChE e BChE (STRELNIK *et al.*, 2016). Além disso, o substituinte no grupo benzil mostrou ter influenciado o aumento ou diminuição da atividade inibitória.

3.1.2. Docking molecular e propriedades físico-químicas

De acordo com os resultados experimentais, foi realizado o acoplamento molecular para os derivados triazólicos (**T1**, **T4**, **T5**, **T6**, **T8**), alcino (**2**) e ácido hidnocárpico (**1**), utilizando o AChE *Torpedo californica* e BChE humana. Essas enzimas foram escolhidas para o ensaio de acoplamento devido à resolução. Considerando as diferentes conformações exibidas pelos ligantes ao interagir com as enzimas, a energia de afinidade de interação é mostrada na **Tabela 5** para cada ligante de acordo com as melhores conformações moleculares.

Tabela 5. Energias de afinidade de interação dos ligantes para as conformações de menor energia. AChE e BChE indicaram acetilcolinesterase e butirilcolinesterase, respectivamente.

Composto	Energias de afinidade de interação (kcal mol ⁻¹)	
	contra AChE	contra BChE
1	-6,2	-6,6
2	-7,4	-5,8
T1	-7,7	-7,1
T4	-5,9	-7,2
T5	-7,6	-7,0
T6	-5,2	-8,1
T8	-6,1	-7,2

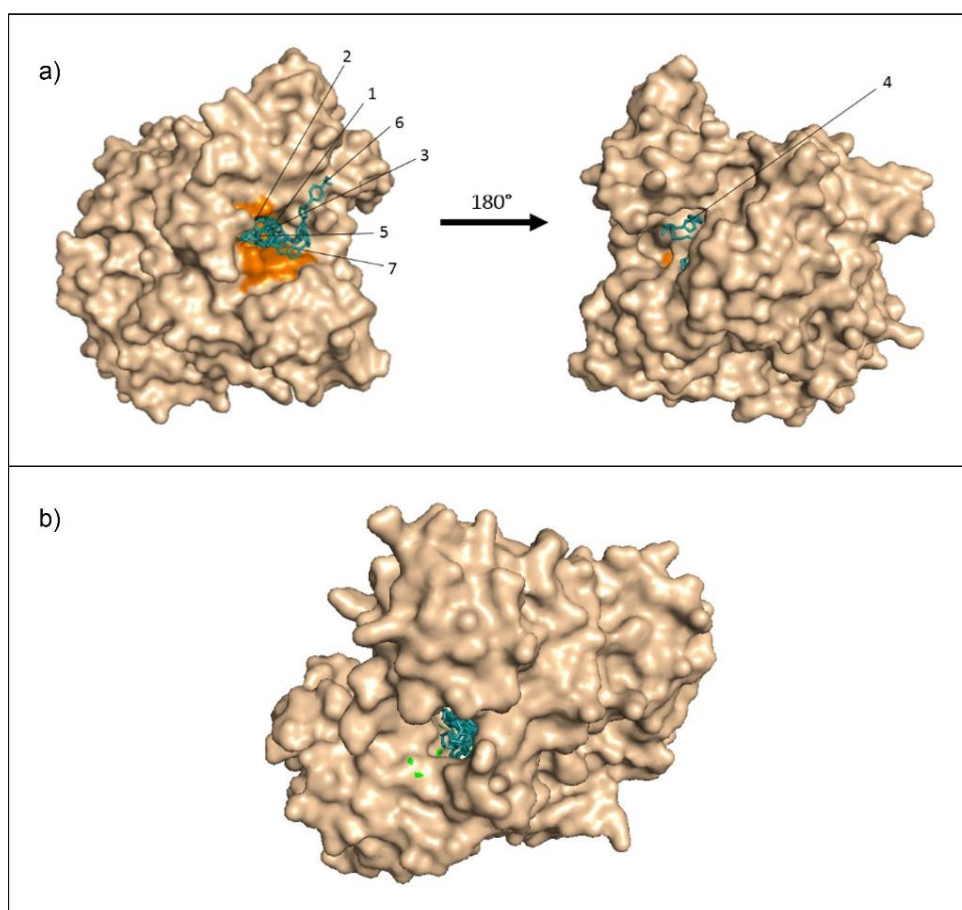
Fonte: Autoria própria.

Após a avaliação da afinidade de ligação enzimática, os locais de ancoragem do ligante foram analisados quanto às enzimas AChE e BChE (**Figura 45**) para determinar se eles pertenciam ao local de atividade catalítica. O composto **T4** apresentou a menor energia de afinidade contra AChE (**Tabela 4**) e mostrou interação fora do sítio ativo dessa enzima (**Figura 45a**), corroborando com a não inibição apresentada *in vitro*. Os demais triazóis ancoraram no sítio catalítico da AChE. Todos os compostos foram previstos para se ligarem ao local catalítico da BChE.

Os sítios ativos das colinesterases são divididos em tríade catalítica, cavidade oxianion, bolso acila e porção PAS (*Peripheral Anionic Site*) (**Figura 46**). A tríade catalítica para AChE/BChE contém os aminoácidos Ser200/198, His440/438 e Glu327/325 e é

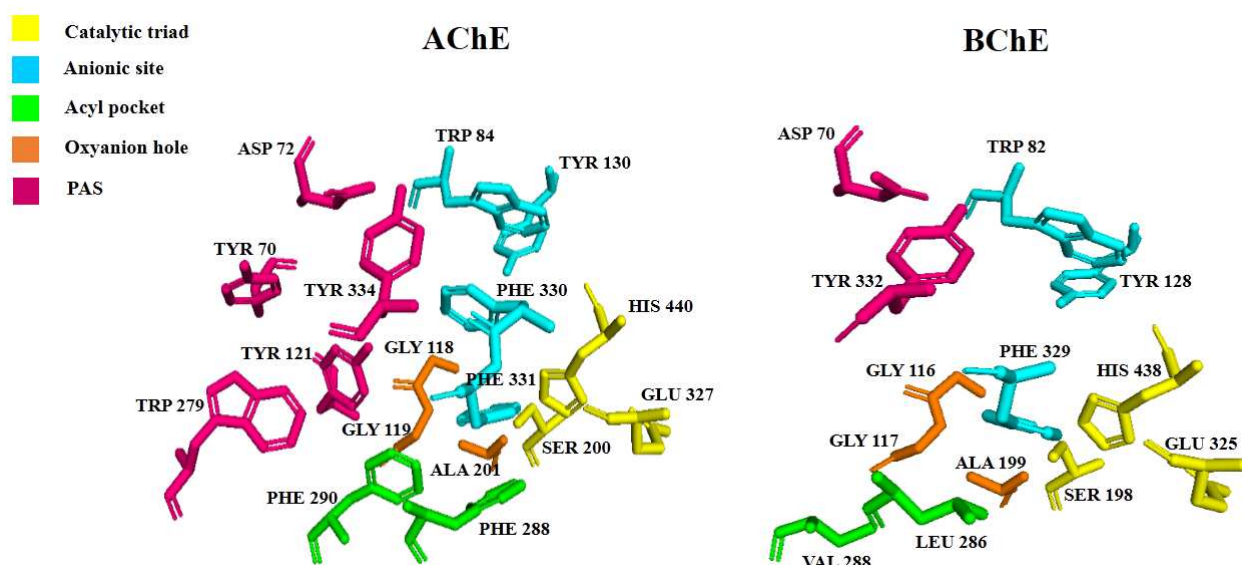
responsável por transferir o grupo alquila do substrato para a serina. Os resíduos de aminoácidos do sítio aniônico de AChE e BChE são Tyr130, Trp84, Phe330, Phe331 e Trp82, Tyr128, Phe329, respectivamente. A estabilização do estado de transição do complexo enzima-substrato é possibilitada pela cavidade oxianion (Gly118/116, Gly119/117, Ala201/199, AChE/BChE). A bolsa acila impede a entrada de moléculas não específicas no centro catalítico e é formada por Phe288, Phe290 (AChE) e Val288, Leu286 (BChE). A porção PAS (Asp72, Tyr334, Tyr70, Trp279, Tyr121 a AChE e Asp70, Tyr332 a BChE) está relacionada à ligação do inibidor, bem como à porção aniônica (BAJDA *et al.*, 2013).

Figura 45. Acoplamento dos compostos triazólicos com AChE (PDB: 6G1, GALDEANO *et al.*, 2018) e BChE (PDB: 1P0I, NICOLET *et al.*, 2003). A estrutura da superfície da proteína é mostrada em bege e os compostos são representados em azul. a) AChE, o sítio ativo é destacado em laranja; b) BChE, o site ativo é destacado em verde. 1 = 1, 2 = 2, 3 = T1, 4 = T4, 5 = T5, 6 = T6, 7 = T8.



Fonte: autoria própria.

Figura 46. Sítio ativo da acetilcolinesterase (**AChE**-*Torpedo californica*); Sítio ativo da butirilcolinesterase (**BChE**-butirilcolinesterase humana).



Fonte: autoria própria

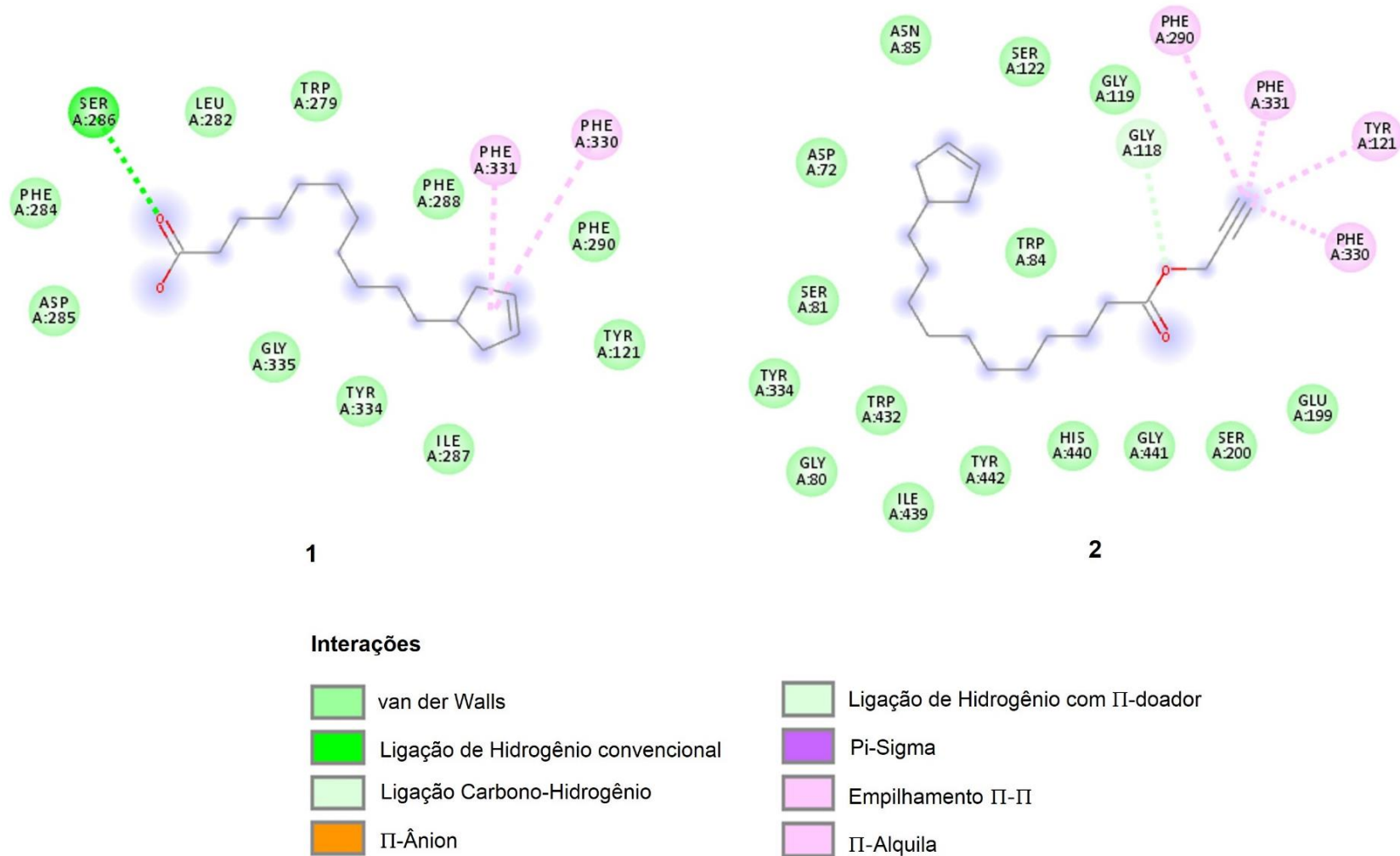
Os mapas farmacofóricos foram simulados para os compostos que interagiram com os sítios catalíticos. Assim, as interações ligantes-AChE (**1**, **2**, **T1**, **T5**, **T6**, **T8**) e ligantes-BChE (**1**, **2**, **T1**, **T4**, **T5**, **T6**, **T8**) são mostradas nas **Figuras 47, 48, 49, 50 e 51**. Todos os compostos interagem com pelo menos dois aminoácidos do local catalítico, fazendo mais de três interações. O protótipo **1** possui uma das afinidades mais baixas e um dos menores números de interações (**Figura 47 e 48**). Esses fatos podem explicar o porquê de **1** não ter inibido nenhuma das enzimas. O ácido hidnocárpico interagiu com apenas dois resíduos de aminoácidos do sítio catalítico de ambas as enzimas, sendo interações do tipo π e doador desfavoráveis, enquanto 75% dos compostos apresentaram interação com o local aniônico AChE e todos com BChE no mesmo local. O alcino **2** apresentou maior número de interações que seu precursor (**1**), indicando que é melhor inibidor enzimático do que ele (**Figura 47 e 48**). A maioria dos derivados triazólicos mostrou, para ambas as enzimas, maior afinidade e número de interações com aminoácidos que o composto **1**. O composto **T1** mostrou interação com três resíduos de aminoácidos, tanto no local ativo de BChE quanto na AChE, sendo consistente com a ausência de diferença significativa nos ensaios *in vitro* (**Figura 49 e 50**). O triazol **T5** apresentou interação com quatro e três resíduos de aminoácidos de AChE e BChE, respectivamente, corroborando com a grande atividade contra ambas as enzimas (**Figura 49 e 50**). O composto **T8** interagiu apenas com Trp279 no sítio ativo de AChE (**Figura 49**), mas interagiu com mais três aminoácidos próximos a esta região. O

mesmo derivado apresentou interação de seis aminoácidos no BChE (**Figura 50**). Mesmo assim, as colinesterases foram inibidas em menos de 30% por este composto.

O composto **T4** também mostrou interações com três aminoácidos do BChE e inibiu quase a mesma porcentagem de BChE que o **T1** (**Figura 51**).

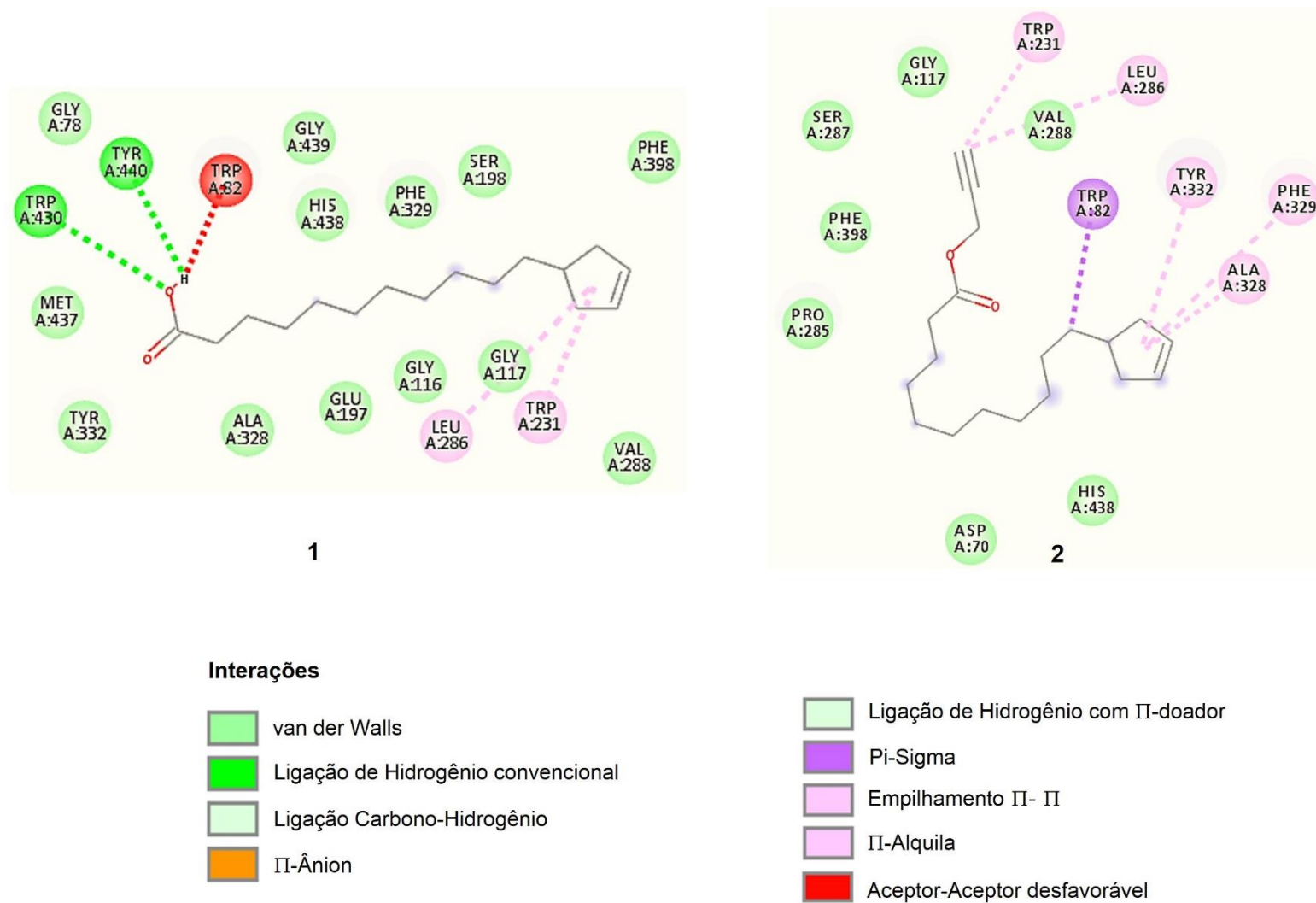
O derivado **T6** apresentou o mesmo número de interação com o aminoácido no sítio catalítico e a menor e a maior afinidade energética, respectivamente, contra AChE e BChE (**Figura 49 e 50**). No entanto, **T6** mostrou inibição da AChE cerca de 121% maior que a BChE. A **Figura 52** demonstra as interações de **T6** com os aminoácidos de AChE.

Figura 47. Mapas farmacofóricos das interações ligante-acetilcolinesterase (AChE) do composto 1 (ácido hidnocárpico) e composto 2 (alcino).



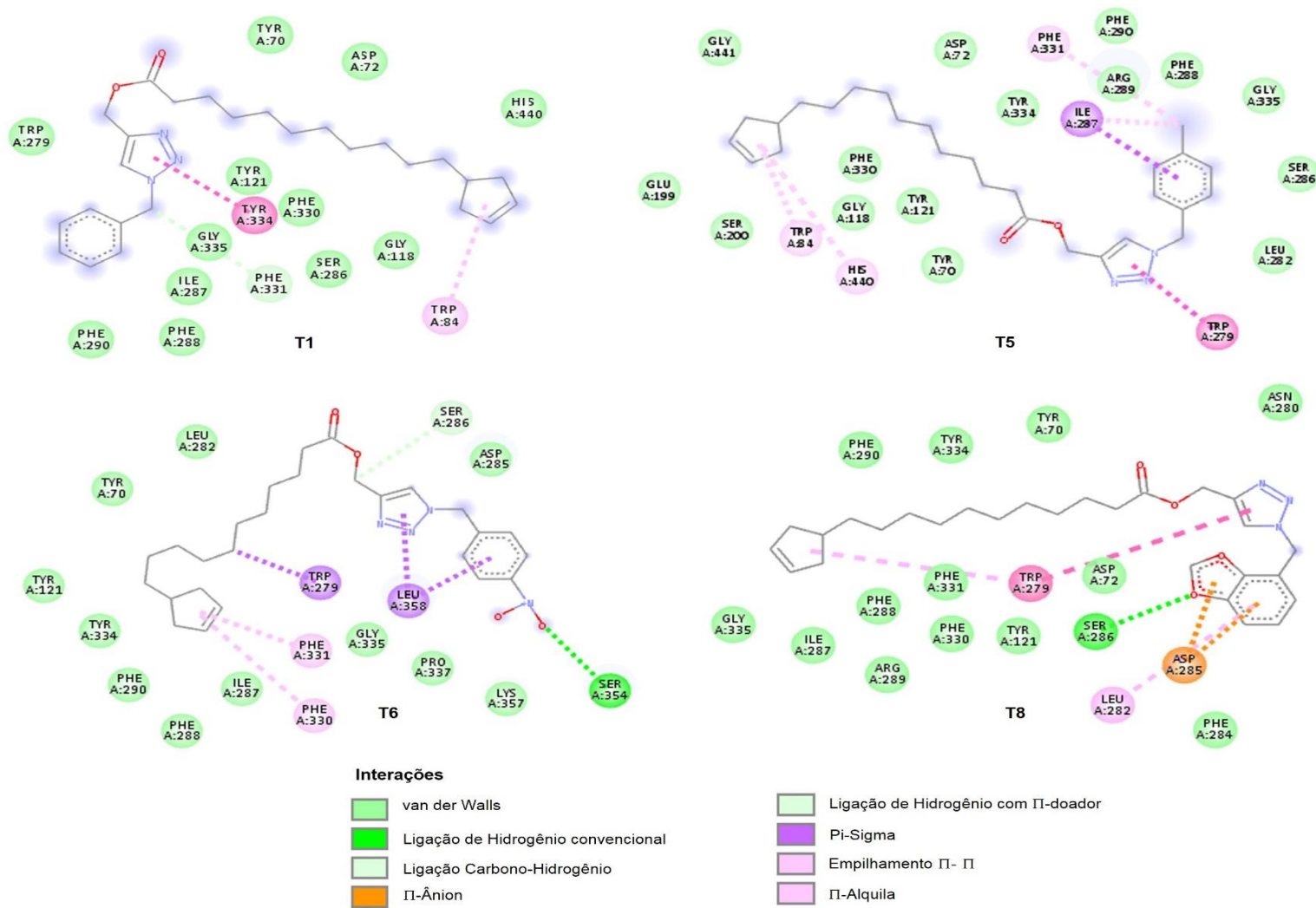
Fonte: Autoria própria.

Figura 48. Mapas farmacofóricos das interações ligante-butirilcolinesterase (BChE) do composto 1 (ácido hidnocárpico) e composto 2 (alcino).



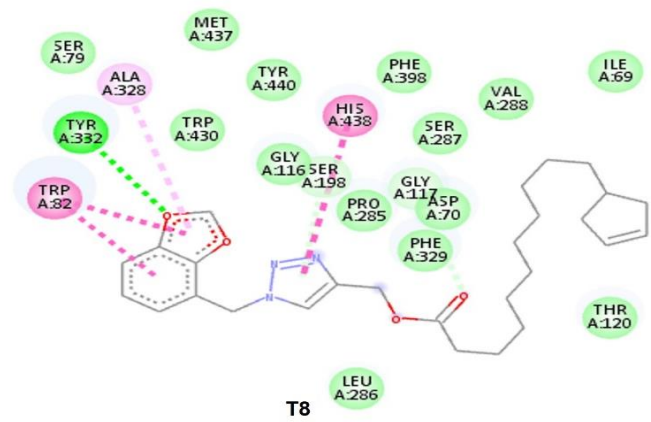
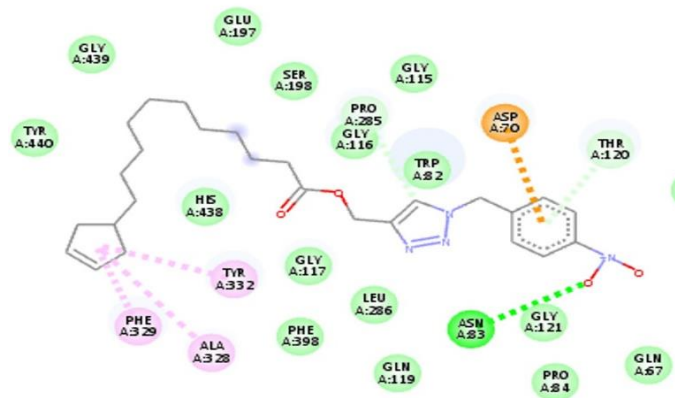
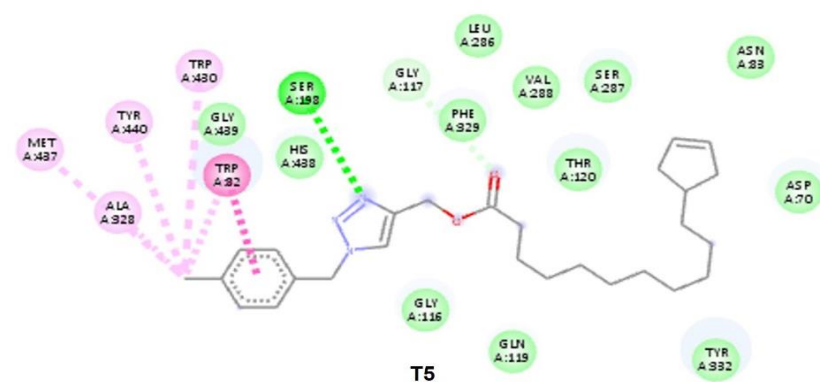
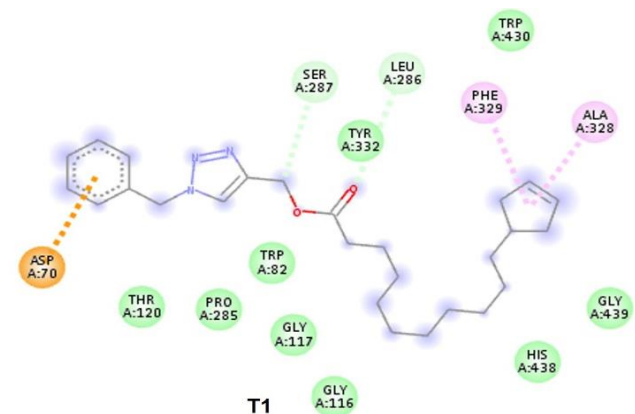
Fonte: Autoria própria.

Figura 49. Mapas farmacofóricos das interações ligante-acetilcolinesterase (AChE) dos derivados triazólicos T1, T5, T6, T8.



Fonte: Autoria própria.

Figura 50. Mapas farmacofóricos das interações ligante-butirilcolinesterase (BChE) dos derivados de triazol T1, T5, T6 e T8.

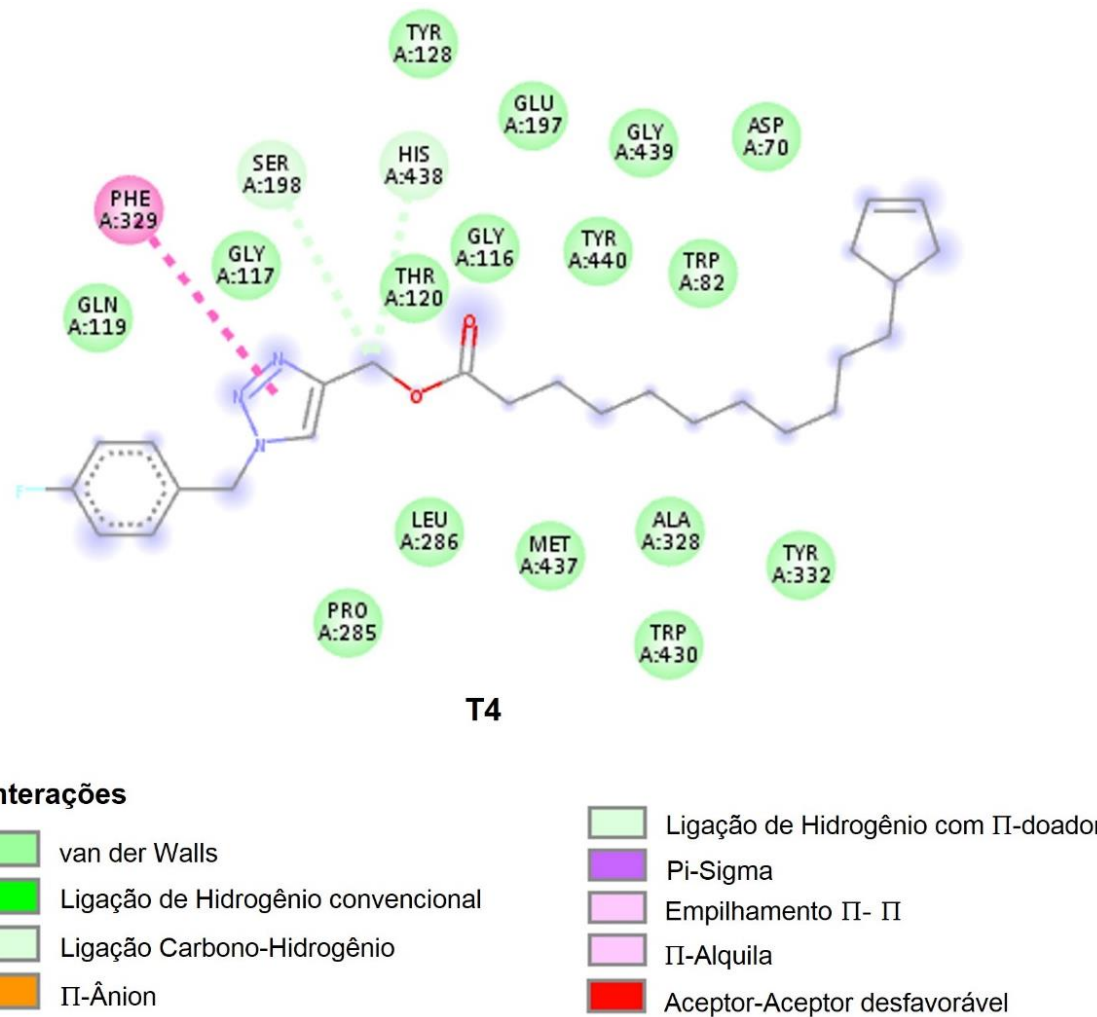


Interações

- van der Walls
- Ligação de Hidrogênio convencional
- Ligação Carbono-Hidrogênio
- π -Ânion
- Ligação de Hidrogênio com π -doador
- π -Sigma
- Empilhamento π - π
- π -Alquila
- Aceptor-Aceptor desfavorável

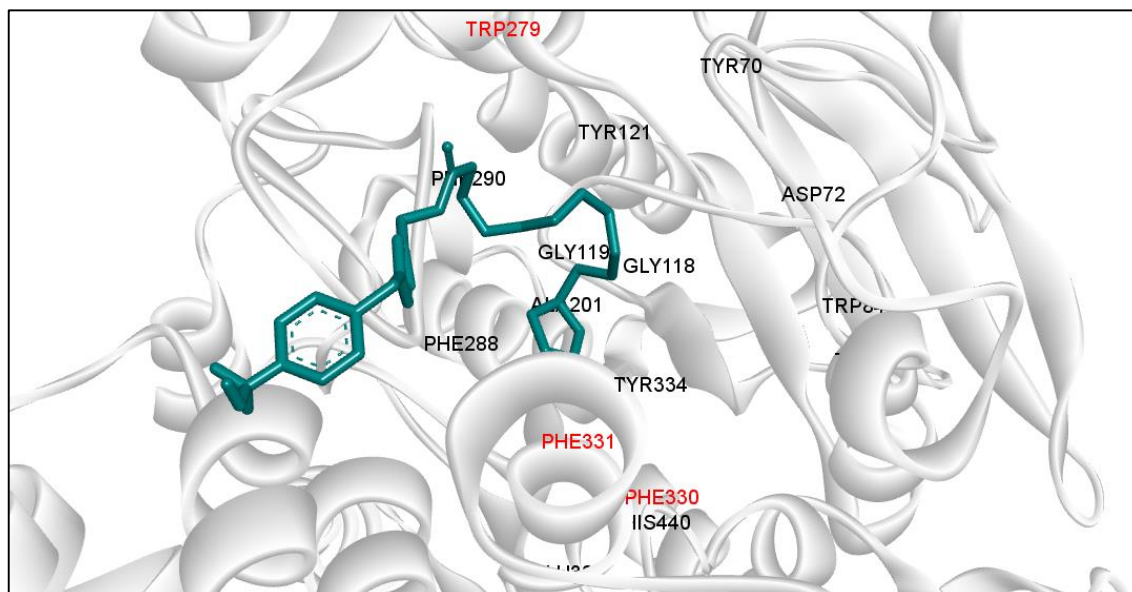
Fonte: Autoria própria.

Figura 51. Mapa farmacofórico das interações ligante-butirilcolinesterase (BChE) do derivado de triazol T4.



Fonte: Autoria própria.

Figura 52. Interação potencial do composto mais ativo T6 com aminoácidos catalíticos (Phe330, Phe331 e Trp279) da enzima acetilcolinesterase.



Fonte: autoria própria.

Em suma, o acoplamento molecular permitiu inferir que o protótipo **1** é inativo contra as colinesterases, mostrando apenas duas interações com aminoácidos do local catalítico das enzimas. Além disso, o *docking* molecular explica o comportamento dos triazóis **T1**, **T4** e **T5**. Mas esse método não foi suficiente para explicar o resultado da inibição de **T6** e **T8**.

Portanto, decidimos investigar quais fatores físico-químicos poderiam estar relacionados à atividade inibitória. Testamos a relação entre valores de inibição e massa molar, MlogP (logP calculado pelo método de Moriguchi), volume de Van der Waals, refratividade molar e TPSA.

As **Figuras 53** e **54** a seguir representam a correlação de cada um desses parâmetros com as porcentagens de inibição contra AChE e BChE, respectivamente. As relações encontradas se aplicam ao conjunto de moléculas estudadas, pois estão estruturalmente correlacionadas. Alguns desses parâmetros influenciaram positivamente a inibição enzimática, embora não isoladamente. Encontramos uma relação positiva entre os valores de inibição e refratividade molar, volume de Van der Waals e TPSA para ambas as enzimas (**Figura 53** a, b, c e **Figura 54** a, b, c, d).

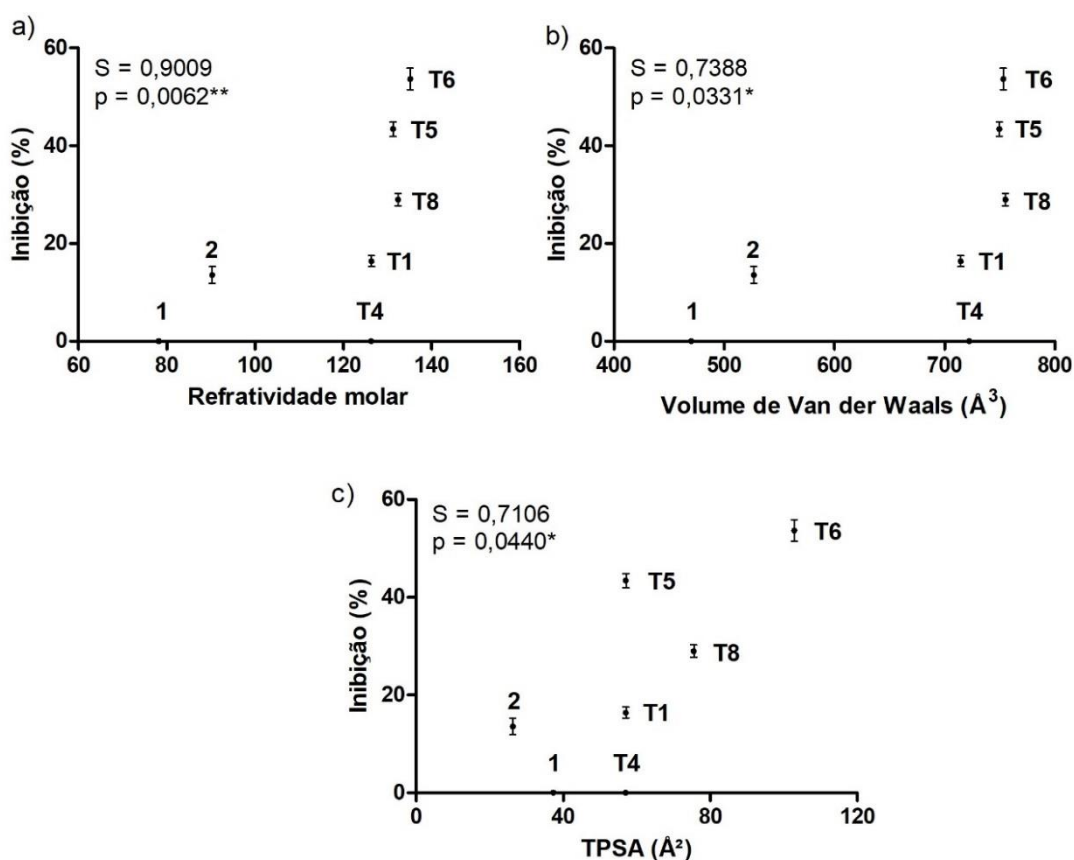
A refratividade molar está relacionada à capacidade de uma molécula de distorcer sua nuvem eletrônica. Esse fator pode estar associado às interações eletrostáticas enzimáticas, porque está diretamente relacionado ao ajuste da molécula ao seu receptor. Corroborando com a hipótese de que os parâmetros podem influenciar a ligação inibidor-enzima, o aumento do

volume de Van der Waals (Marvin Sketch[®]) pode estar relacionado ao aumento da capacidade da molécula de ocupar o sítio ativo da enzima, aumentando as interações ligante-enzima. TPSA é a soma da superfície de todos os átomos polares presentes em uma molécula e é indicativo da capacidade da molécula de permear membranas biológicas e atingir seu alvo.

Além disso, a massa molar e o MlogP (MedChem Designer[®]) foram significativamente correlacionados apenas com a inibição da BChE (**Figura 54** c, e). O aumento da massa molar pode estar relacionado ao aumento da superfície de contato entre inibidor e enzima, dificultando a entrada do substrato no local catalítico. O MlogP pode ser associado a interações do inibidor com resíduos de aminoácidos hidrofóbicos na enzima ou na sua proximidade.

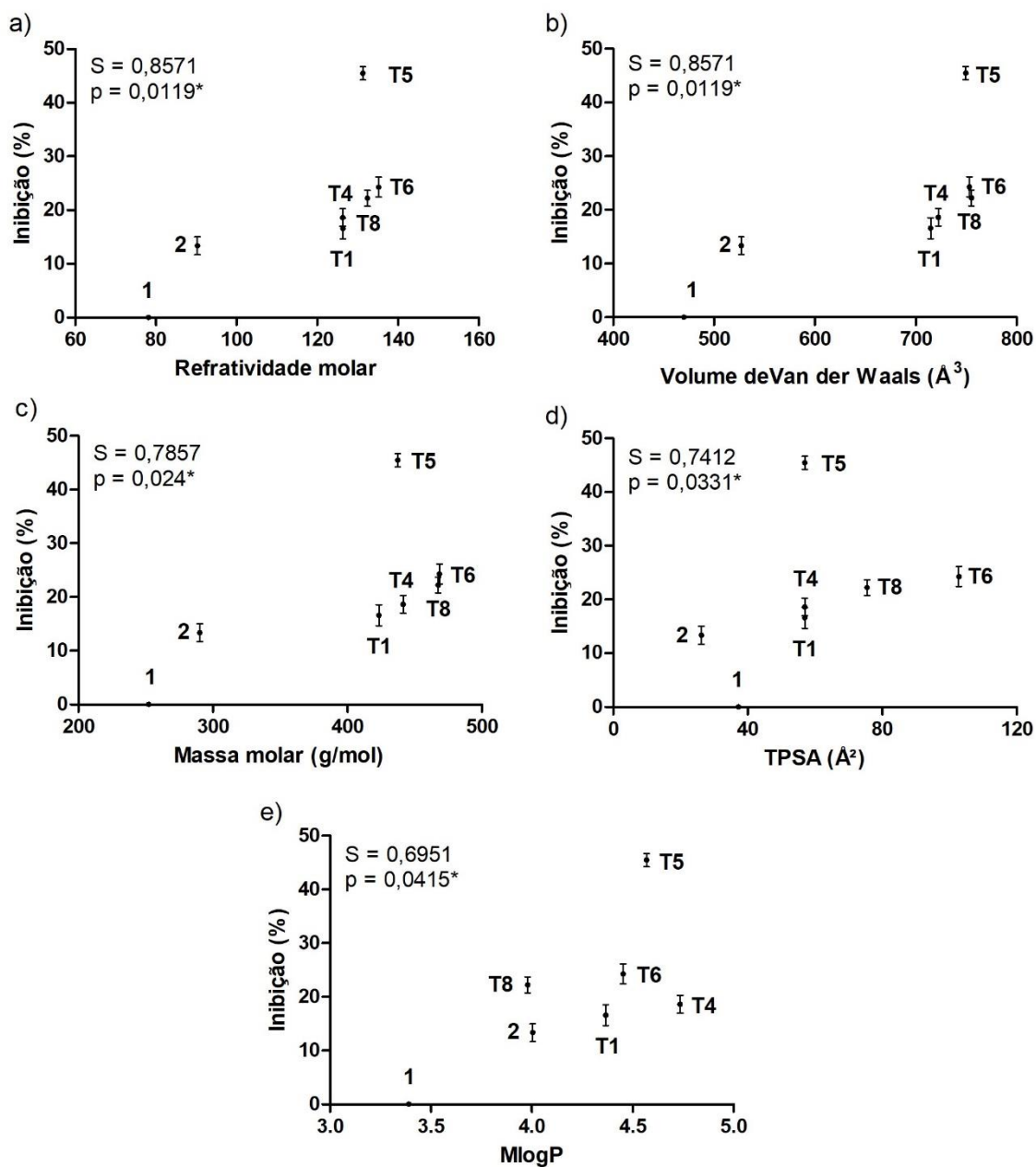
Estudos mais detalhados, usando o *software* apropriado, são necessários para confirmar as observações sobre a relação estrutura-atividade.

Figura 53. Relação entre a inibição da AChE (%) e os parâmetros físico-químicos dos compostos a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. a) Refratividade molar (Swiss-ADME), b) Volume de Van der Waals (Marvin Sketch[®]), c) Área de superfície polar topológica (TPSA, Swiss-ADME). **p < 0,01 e *p < 0,05 de acordo com a correlação não paramétrica (Spearman).



Fonte: autoria própria.

Figura 54. Relação entre a inibição de BChE (%) e parâmetros físico-químicos dos compostos a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. a) Refratividade molar (Swiss-ADME), b) Volume de Van der Waals (Marvin Sketch[®]) c) Massa molar (Chemdraw), d) Área de superfície polar topológica (TPSA, Swiss-ADME) e) MlogP (MedChem Designer[®]) * $p < 0,05$ de acordo com a correlação não paramétrica (Spearman).



Fonte: autoria própria.

3.2. Amidas

3.2.1. Ensaio de inibição enzimática

O ensaio de inibição da enzima AChE foi realizado com o ácido hidnocárpico (**1**) e seus derivados solúveis em metanol: o composto propargílico (**2**) e as amidas (**A1**, **A2**, **A3**, **A4**, **A6**, **A7**).

O ácido hidnocárpico não foi ativo à $87 \mu\text{mol L}^{-1}$ (**Tabela 6**). A amida **A3** foi estatisticamente igual ao material de partida ($p < 0,05$), podendo ser considerada não inibidora de AChE. As amidas **A4**, **A6** e **A7** não diferiram estatisticamente entre si na inibição ($p < 0,05$) e apresentaram pequena inibição. Entretanto, os compostos **A1** e **A2** inibiram aproximadamente 50% da AChE, mesmo sendo testadas em concentrações inferiores a **1**. **A1** inibiu $53,65 \pm 4,59\%$ da ação da AChE à $67 \mu\text{mol L}^{-1}$ enquanto **A2** apresentou inibição de $46,10 \pm 2,52\%$ da enzima na concentração de $79 \mu\text{mol L}^{-1}$ (**Tabela 6**).

Tabela 6. Inibição das amidas derivadas do ácido hidnocárpico contra acetilcolinesterase *Electrophorus electricus*, tipo VI (média \pm desvio padrão). Letras diferentes foram usadas para comparar a significância entre os compostos ($p < 0,05$ de acordo com a ANOVA seguida pelo pós-teste de Tukey).

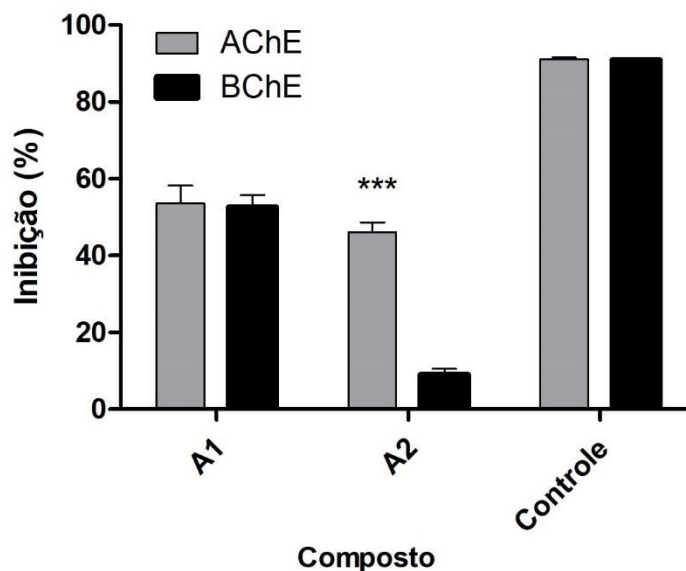
Composto	Concentração ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Inibição (%)
1	87	0,00 ^a
A1	67	$53,65 \pm 4,59^b$
A2	79	$46,10 \pm 2,52^c$
A3	61	$3,75 \pm 0,82^{ad}$
A4	87	$4,17 \pm 2,71^{de}$
A6	76	$5,86 \pm 2,17^{de}$
A7	90	$4,27 \pm 2,20^{de}$
Fisostigmina	14	$91,14 \pm 0,386^f$

Fonte: Autoria própria.

Em relação às mudanças estruturais, a presença do anel benzílico sem substituinte (**A1**) e com o substituinte bromo (**A2**) favoreceram, em grande escala, a atividade enzimática contra AChE. Portanto, essas amidas foram testadas contra BChE nas mesmas condições.

A amida **A1** não apresentou diferença estatística como inibidor de AChE e BChE, mostrando ser um inibidor em potencial para colinesterases (**Figura 55**). Em contrapartida, **A2** foi aproximadamente quatro vezes mais ativa contra AChE do que contra BChE.

Figura 55. Inibição do alcino **2** e amidas derivadas do ácido hidnocárpico (**1**) contra a acetilcolinesterase (AChE) *Electrophorus electricus* e butirilcolinesterase (BChE) do soro equino. Percentagem de inibição da enzima a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ (média \pm desvio padrão). *** $p < 0,005$, de acordo com o teste t. Controle: fisostigmina.



Fonte: autoria própria.

4. CONCLUSÕES

O presente estudo mostra pela primeira vez que o ácido hidnocárpico (**1**) isolado do extrato de *Carpotroche brasiliensis* não é ativo contra as colinesterases a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. No entanto, a associação desse ácido graxo com o núcleo triazólico aumenta a atividade inibitória. O (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-nitrobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T6**) foi o mais ativo contra AChE, inibindo mais de 50% a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Por outro lado, o composto (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanoato de (1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metila (**T5**) foi o mais ativo contra BChE, inibindo 45,46%, na mesma concentração. O acoplamento molecular e os parâmetros físico-químicos, juntos, explicaram a relação entre os compostos testados e suas atividades inibitórias.

Em relação aos derivados amida do ácido hidnocárpico, os compostos (*R*)-11-(ciclopent-2-en-1-il)-*N*-fenilundecanamida (**A1**) e (*R*)-*N*-(4-bromofenil)-11-(ciclopent-2-en-1-il)undecanamida (**A2**) inibiram aproximadamente 50% da atividade da AChE nas concentrações de 67 e $79 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. **A2** apresentou uma porcentagem de inibição de BChE estatisticamente igual à inibição contra AChE, indicando ser promissor contra colinesterases. Esses resultados indicam que o ácido hidnocárpico pode ser considerado um protótipo importante para o desenvolvimento de novos compostos, contendo o núcleo triazólico ou amidas, capazes de inibir as colinesterases.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL WAHAB, Siti Mariam; SIVASOTHY, Yasodha; LIEW, Sook Yee; LITAUDON, Marc; MOHAMAD, Jamaludin; AWANG, Khalijah. Natural cholinesterase inhibitors from *Myristica cinnamomea* King. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 26, n. 15, p. 3785–3792, 2016. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.05.046. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.05.046>.

ALEKSIC, Ivana; PETKOVIC, Milos; JOVANOVIC, Milos; MILIVOJEVIC, Dusan; VASILJEVIC, Branka; NIKODINOVIC-RUNIC, Jasmina; SENEROVIC, Lidija. Antibiofilm properties of bacterial di-rhamnolipids and their semi-synthetic amide derivatives. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 8, p. 1–16, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02454.

ALMAHLI, Hadia. Cyclopentenyl Fatty Acids: History, Biological Activity and Synthesis. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 17, n. 26, p. 2903–2912, 2017. DOI: 10.2174/1568026617666170821125233. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/155071/article>.

ANDRADE, Stephanie; RAMALHO, Maria João; LOUREIRO, Joana Angélica; PEREIRA, Maria do Carmo. Natural Compounds for Alzheimer's Disease Therapy: A Systematic Review of Preclinical and Clinical Studies. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 9, p. 2313, 2019. DOI: 10.3390/ijms20092313. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/9/2313>.

BANERJI, Biswadip; CHANDRASEKHAR, Kadaiahgari; SREENATH, Kancham; ROY, Saheli; NAG, Sayoni; SAHA, Krishna Das. Synthesis of Triazole-Substituted Quinazoline Hybrids for Anticancer Activity and a Lead Compound as the EGFR Blocker and ROS Inducer Agent. **ACS Omega**, [S. l.], v. 3, n. 11, p. 16134–16142, 2018. DOI: 10.1021/acsomega.8b01960.

DA SILVA, Fernando de C. *et al.* Synthesis, HIV-RT inhibitory activity and SAR of 1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazole derivatives of carbohydrates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 373–383, 2009. DOI: 10.1016/j.ejmech.2008.02.047. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0223523408001244>.

DAINA, Antoine; ZOETE, Vincent. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. **ChemMedChem**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 1117–1121, 2016. DOI: 10.1002/cmdc.201600182. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/cmdc.201600182>.

DELOGU, Giovanna L.; MATOS, Maria J.; FANTI, Maura; ERA, Benedetta; MEDDA, Rosaria; PIERONI, Enrico; FAIS, Antonella; KUMAR, Amit; PINTUS, Francesca. 2-Phenylbenzofuran derivatives as butyrylcholinesterase inhibitors: Synthesis, biological activity and molecular modeling. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 26, n. 9, p. 2308–2313, 2016. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.03.039. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.03.039>.

DI PIETRO, Ornella *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of *N*-methyl-*N*-[(1,2,3-

triazol-4-yl)alkyl]propargylamines as novel monoamine oxidase B inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 24, n. 20, p. 4835–4854, 2016. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.06.045. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2016.06.045>.

ELLMAN, George L.; COURTNEY, K. Dian.; ANDRES, Valentino; FEATHERSTONE, Robert M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 88–95, 1961. DOI: 10.1016/0006-2952(61)90145-9.

FAIS, Antonella; KUMAR, Amit; MEDDA, Rosaria; PINTUS, Francesca; DELOGU, Francesco; MATOS, Maria J.; ERA, Benedetta; DELOGU, Giovanna L. Synthesis, molecular docking and cholinesterase inhibitory activity of hydroxylated 2-phenylbenzofuran derivatives. **Bioorganic Chemistry**, [S. l.], v. 84, p. 302–308, 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.11.043. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.11.043>.

FERREIRA, P. G. *et al.* Detection of the antiviral activity of epicatechin isolated from *Salacia crassifolia* (Celastraceae) against Mayaro virus based on protein C homology modelling and virtual screening. **Archives of Virology**, [S. l.], v. 163, n. 6, p. 1567–1576, 2018. DOI: 10.1007/s00705-018-3774-1. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3774-1>.

GALDEANO, Carles *et al.* Increasing Polarity in Tacrine and Huprine Derivatives: Potent Anticholinesterase Agents for the Treatment of Myasthenia Gravis. **Molecules**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 634, 2018. DOI: 10.3390/molecules23030634. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/3/634>.

GAO, Xiao hui; LIU, Lin bo; LIU, Hao ran; TANG, Jing jing; KANG, Lu; WU, Hongnian; CUI, Peiwu; YAN, Jianye. Structure–activity relationship investigation of benzamide and picolinamide derivatives containing dimethylamine side chain as acetylcholinesterase inhibitors. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 33, n. 1, p. 110–114, 2018. DOI: 10.1080/14756366.2017.1399885.

HOU, Wei; LUO, Zhi; ZHANG, Guanjun; CAO, Danhui; LI, Di; RUAN, Haoqiang; RUAN, Benfang Helen; SU, Lin; XU, Hongtao. Click chemistry-based synthesis and anticancer activity evaluation of novel C-14 1,2,3-triazole dehydroabiatic acid hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 138, p. 1042–1052, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.07.049.

JACOBSEN, P. L.; LEVY, L. Mechanism by Which Hydnocarpic Acid Inhibits Mycobacterial Multiplication. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 373–379, 1973. DOI: 10.1128/AAC.3.3.373. Disponível em: <http://aac.asm.org/cgi/doi/10.1128/AAC.3.3.373>.

KUMAR, Bhupinder; KUMAR, Vijay; PRASHAR, Vikash; SAINI, Suresh; DWIVEDI, Ashish Ranjan; BAJAJ, Beenu; MEHTA, Devashish; PARKASH, Jyoti; KUMAR, Vinod. Dipropargyl substituted diphenylpyrimidines as dual inhibitors of monoamine oxidase and acetylcholinesterase. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 177, p. 221–234, 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.05.039. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.039>.

LEE, Ik Soo; AHN, Bo Ra; CHOI, Jae Sue; HATTORI, Masao; MIN, Byungsun; BAE, Ki Hwan. Selective cholinesterase inhibition by lanostane triterpenes from fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 21, n. 21, p. 6603–6607, 2011. DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.04.042. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.04.042>.

LIMA, J. A.; OLIVEIRA, A. S.; MIRANDA, A. L. P. De; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of an acid fraction of the seeds of *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) (Flacourtiaceae). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S. l.], v. 38, n. 7, p. 1095–1103, 2005. DOI: 10.1590/S0100-879X2005000700013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2005000700013&lng=en&tlng=en.

LOESCHE, Anne; WIEMANN, Jana; AL HALABI, Zayan; KARASCH, Julia; SIPPL, Wolfgang; CSUK, René. Unexpected AChE inhibitory activity of (2E) α,β -unsaturated fatty acids. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 28, n. 20, p. 3315–3319, 2018. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.09.013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.09.013>.

MAREDDY, Jyoti; SURESH, N.; KUMAR, C. Ganesh; KAPAVARAPU, Ravikumar; JAYASREE, A.; PAL, Sarbani. 1,2,3-Triazole-nimesulide hybrid: Their design, synthesis and evaluation as potential anticancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 518–523, 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.12.030. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.12.030>.

NICOLET, Yvain; LOCKRIDGE, Oksana; MASSON, Patrick; FONTECILLA-CAMPS, Juan C.; NACHON, Florian. Crystal Structure of Human Butyrylcholinesterase and of Its Complexes with Substrate and Products. **Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 278, n. 42, p. 41141–41147, 2003. DOI: 10.1074/jbc.M210241200. Disponível em: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M210241200>.

OLIVEIRA, Catarina et al. Hydroxybenzoic acid derivatives as dual-target ligands: Mitochondriotropic antioxidants and cholinesterase inhibitors. **Frontiers in Chemistry**, [S. l.], v. 6, 2018. DOI: 10.3389/fchem.2018.00126.

SHANG, Hai; LI, Ling Yu; CHENG, Wei Hua; LUO, Jun; ZHANG, Hong Wu; ZOU, Zhong Mei. Semisynthetic and SAR studies of amide derivatives of neocrotocembraneic acid as potential antitumor agents. **Molecules**, [S. l.], v. 21, n. 11, p. 1–10, 2016. DOI: 10.3390/molecules21111581.

STRELNIK, Alexey D.; PETUKHOV, Alexey S.; ZUEVA, Irina V.; ZOBOV, Vladimir V.; PETROV, Konstantin A.; NIKOLSKY, Evgeny E.; BALAKIN, Konstantin V.; BACHURIN, Sergey O.; SHTYRLIN, Yurii G. Novel potent pyridoxine-based inhibitors of AChE and BChE, structural analogs of pyridostigmine, with improved in vivo safety profile. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 26, n. 16, p. 4092–4094, 2016. DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.06.070. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.06.070>.

TORRES, L. M. F. C. *et al.* Antimicrobial alumina nanobiostructures of disulfide- and triazole-linked peptides: Synthesis, characterization, membrane interactions and biological

activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [*S. l.*], v. 177, p. 94–104, 2019. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.01.052. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.01.052>.

TROTT, O., OLSON, A. J. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking. **Journal of Computational Chemistry**, [*S. l.*], v. 31, n. 2, p. 455–461, 2019. DOI: 10.1002/jcc.21334.AutoDock.

WEI, Yan; MIAO, Kai Long; HAO, Shuang Hong. Novel 4-methylumbelliferone amide derivatives: Synthesis, characterization and pesticidal activities. **Molecules**, [*S. l.*], v. 23, n. 1, 2018. DOI: 10.3390/molecules23010122.

XU, Man; PENG, Yongzhi; ZHU, Li; WANG, Shulin; JI, Jiayou; RAKESH, K. P. Triazole derivatives as inhibitors of Alzheimer's disease: Current developments and structure-activity relationships. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [*S. l.*], v. 180, p. 656–672, 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.07.059. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.059>.

ZINDO, Frank T.; JOUBERT, Jacques; MALAN, Sarel F. Propargylamine as functional moiety in the design of multifunctional drugs for neurodegenerative disorders: MAO inhibition and beyond. **Future Medicinal Chemistry**, [*S. l.*], v. 7, n. 5, p. 609–629, 2015. DOI: 10.4155/fmc.15.12. Disponível em: <http://www.future-science.com/doi/10.4155/fmc.15.12>.

CONCLUSÃO GERAL

Os principais objetivos desse trabalho foram obter o extrato da *Carpotroche brasiliensis* e isolar o constituinte maioritário, o ácido hidnocárpico, com o fim de sintetizar novos derivados dele e avaliar o potencial biológico dos mesmos. O isolamento do ácido foi realizado por meio de cromatografia em coluna de íons de prata. A partir do isolamento e modificação química do ácido hidnocárpico foi possível sintetizar oito derivados triazólicos e sete amidas, sendo todos os derivados inéditos. Tanto o ácido isolado quanto seus derivados foram caracterizados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas.

A partir do alcino terminal do ácido hidnocárpico, utilizando a abordagem sintética *click*, foi possível sintetizar uma série de derivados triazólicos, sendo sintetizados oito compostos inéditos com rendimentos que variaram de 45% a 70%.

Quanto as avaliações das bioatividades dos compostos triazólicos, foi possível verificar a partir do ensaio de atividade anti-proliferativa, contra linhagens de células de carcinoma de mama estrogênio-positivo (MCF-7), carcinoma hepatocelular (HepG2) e câncer de pulmão de células não pequenas (A549), que dentre os compostos avaliados **T1-T4** e **T7, T8**, o derivado **T7** apresentou atividade anti-proliferativa promissora contra células A549.

O composto **T7** provou inibir seletivamente a viabilidade das culturas de células A549. Além disso, **T7** inibiu a capacidade clonogênica das células A549, e esse efeito foi associado, pelo menos em parte, à sua capacidade de inibir a progressão do ciclo celular na fase G1. Estudos adicionais deveram ser feitos para avaliar os mecanismos moleculares subjacentes à atividade antiproliferativa de **T7**.

Os derivados triazólicos também foram testados como possíveis inibidores de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE). As atividades enzimáticas foram avaliadas para o composto **1**, alcino **2** e seus derivados triazóis (**T1, T4, T5, T6, T8**). Os ensaios de inibição enzimática mostraram que o ácido hidnocárpico (**1**) isolado do extrato de *Carpotroche brasiliensis* não é ativo contra as colinesterases. Entanto que o derivado **T6** foi o mais ativo contra AChE, inibindo mais de 50% e o composto **T5** foi o mais ativo contra BChE, inibindo 45,46%. Estudos de *docking* molecular e parâmetros físico-químicos juntos, explicaram a relação entre os compostos testados e suas atividades inibitórias *in vitro*.

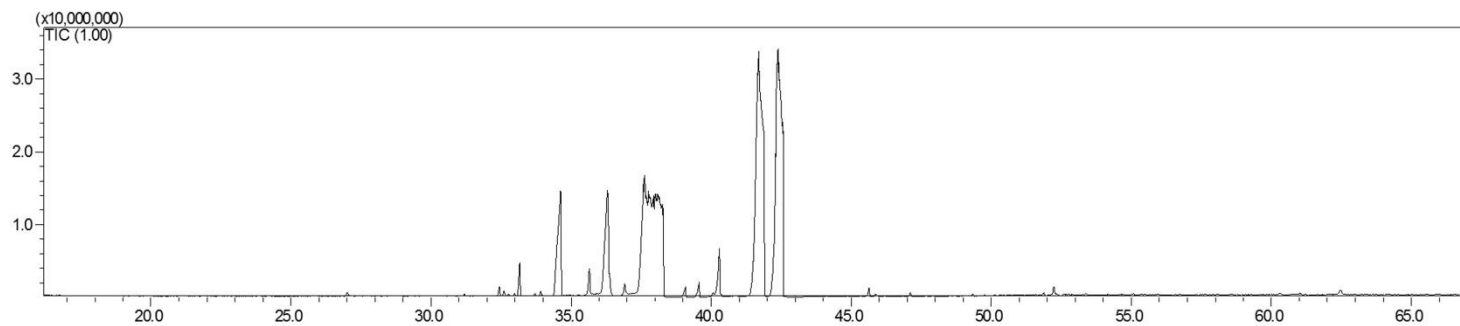
Quanto a síntese das amidas, estas foram obtidas por meio de uma reação de amidação, usando o ácido hidnocárpico isolado, obtendo-se sete amidas inéditas com rendimentos variando de 70 a 86%.

Os ensaios de atividade inibitória contra AChE e BChE mostraram que os compostos **A1** e **A2** inibiram aproximadamente 50% da atividade da AChE. Entanto que, **A2** apresentou uma porcentagem de inibição de BChE estatisticamente igual à inibição contra AChE.

Sendo assim, os resultados obtidos no desenvolvimento deste trabalho indicam que, o ácido hidnocárpico deve ser considerado como um protótipo químico promissor para o desenvolvimento de novos compostos, contendo o núcleo triazólico ou amidas, como novos agentes antineoplásicos ou capazes de inibir as colinesterases.

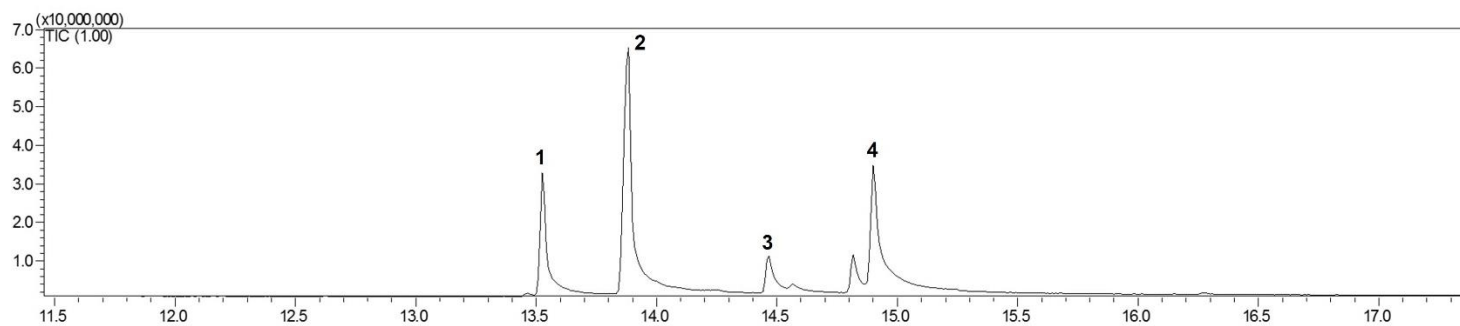
ANEXOS

Figura 56. Cromatograma dos ésteres sililados presentes no extrato de *Carpotroche brasiliensis*.



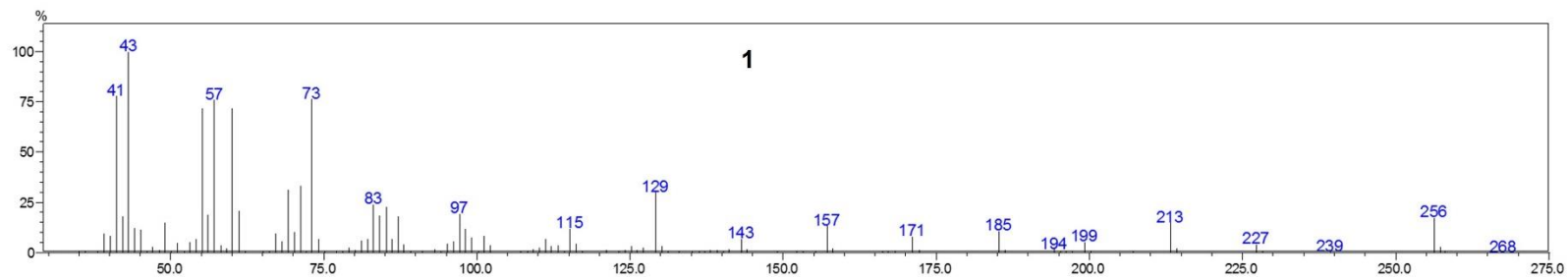
Fonte: Autoria própria

Figura 57. Cromatograma da fração F1 obtida do fracionamento do extrato de *Carpotroche brasiliensis*.



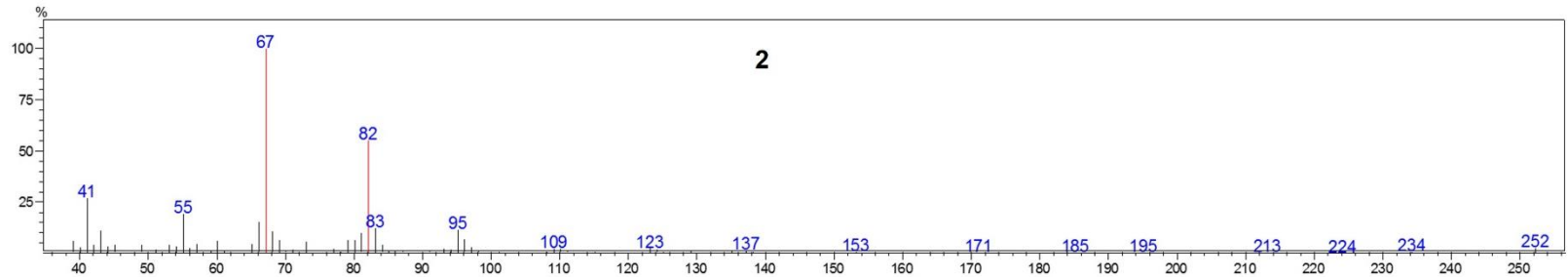
Fonte: Autoria própria

Figura 58. Espectro de massas do ácido palmítico (1) presente na fração F1.



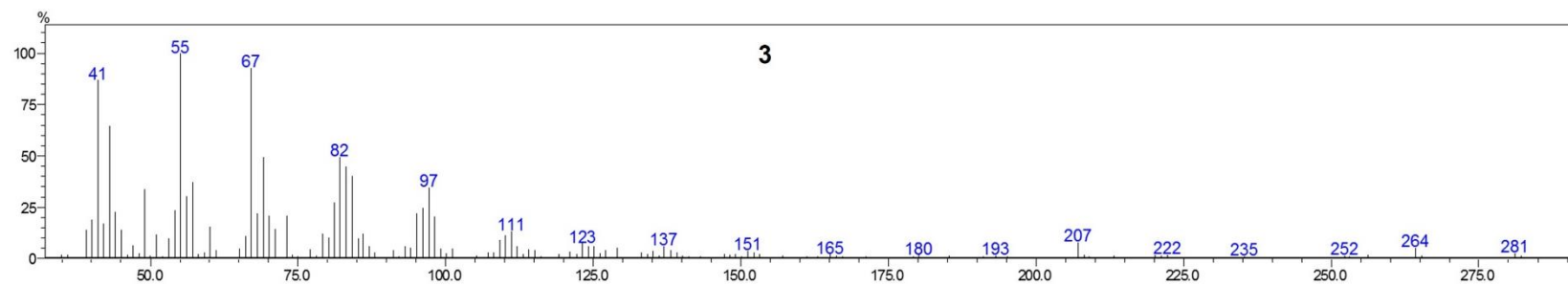
Fonte: Autoria própria

Figura 59. Espectro de massas do ácido hidnocárpico (2) presente na fração F1.



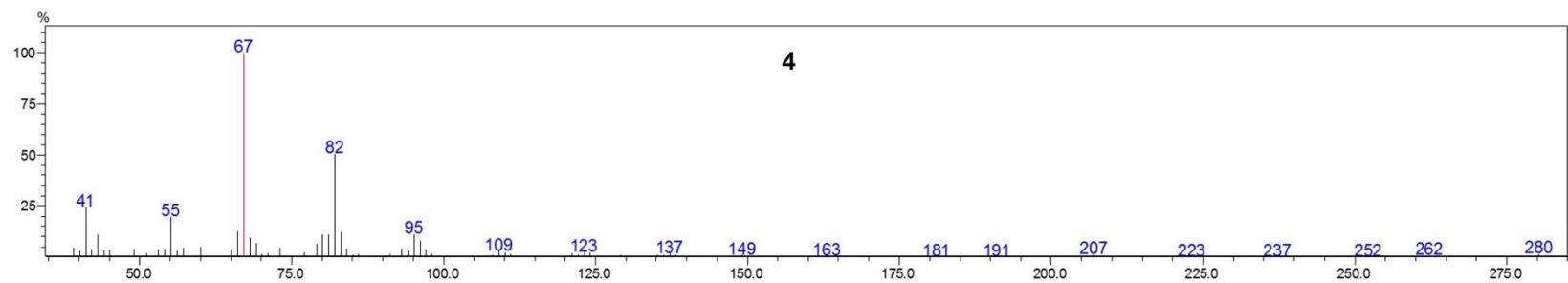
Fonte: Autoria própria

Figura 60. Espectro de massas do ácido oleico (3) presente na fração F1.



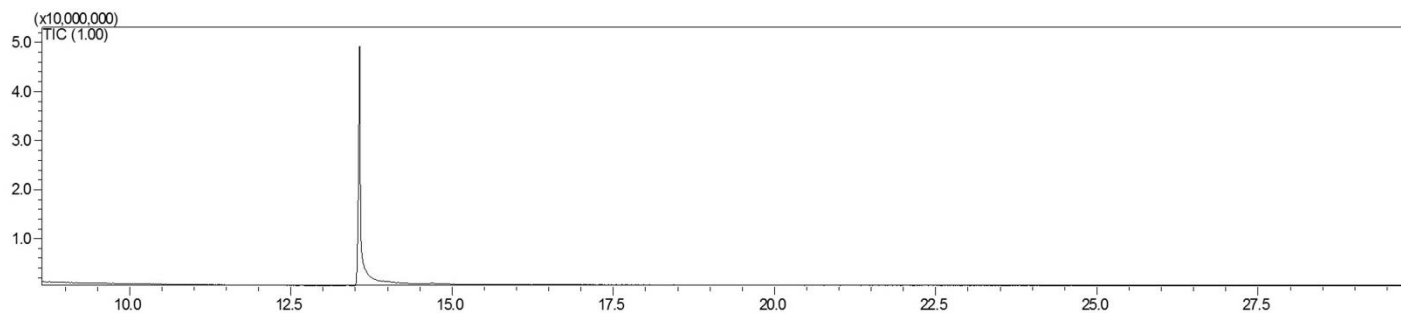
Fonte: Autoria própria

Figura 61. Espectro de massas do ácido chaulmúgrico (4) presente na fração F1.



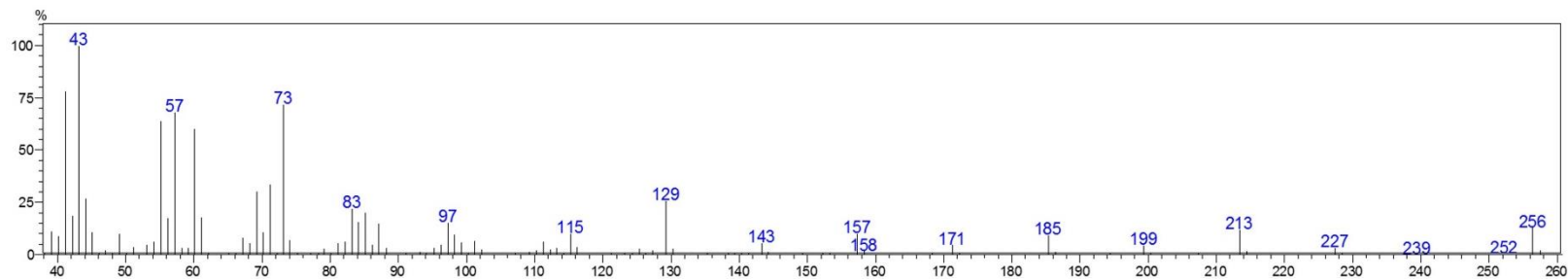
Fonte: Autoria própria

Figura 62. Cromatograma do ácido palmítico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.



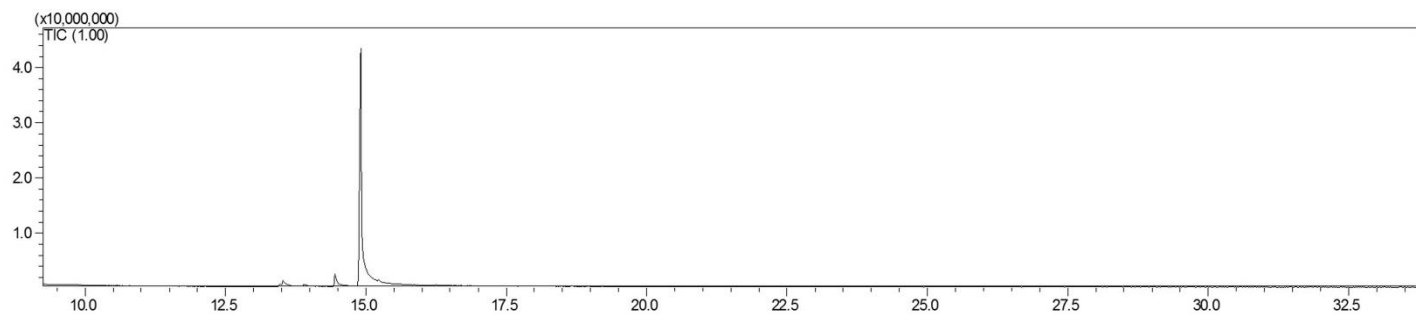
Fonte: Autoria própria

Figura 63. Espectro de massas do ácido palmítico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.



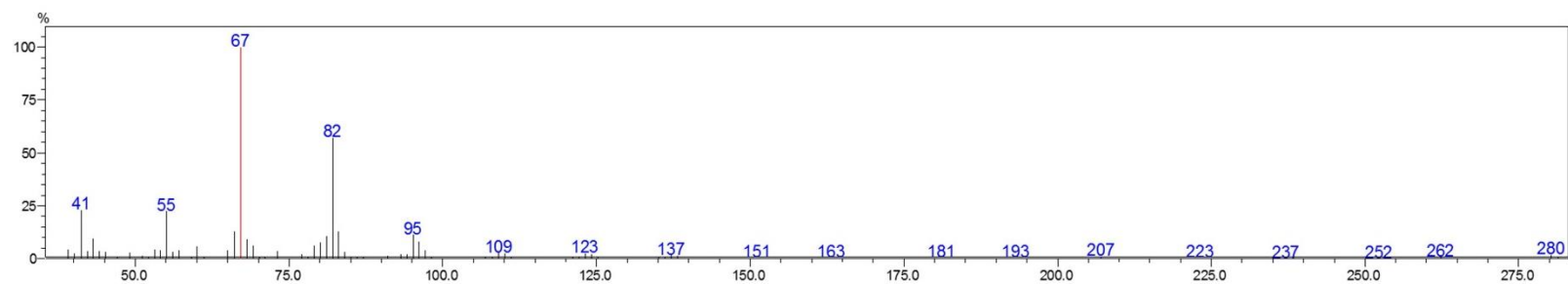
Fonte: Autoria própria

Figura 64. Cromatograma do ácido chaulmúgrico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.



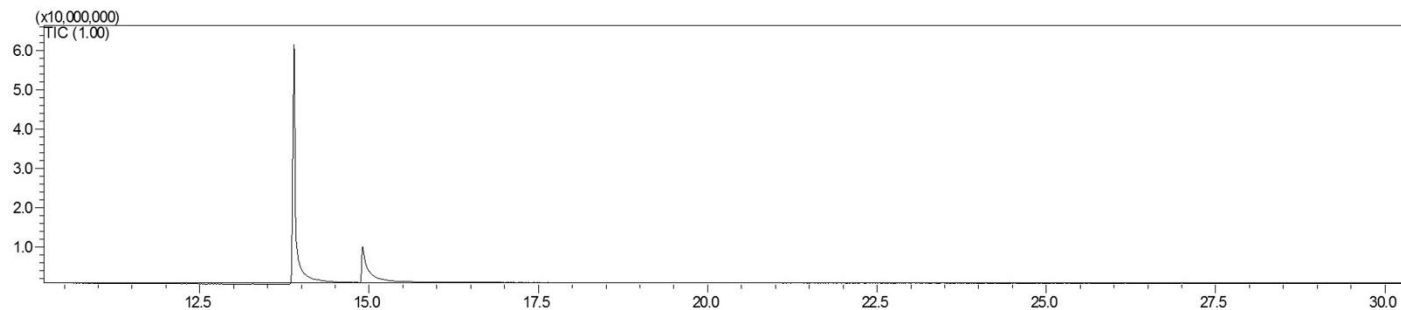
Fonte: Autoria própria

Figura 65. Espectro de massas do ácido chaulmúgrico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.



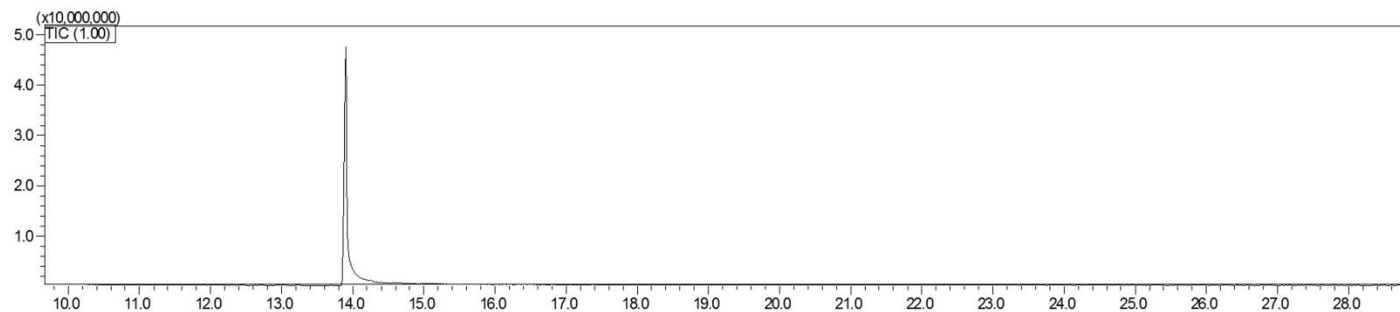
Fonte: Autoria própria

Figura 66. Cromatograma da mistura de ácidos hidnocárpico e chaulmúgrico da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.



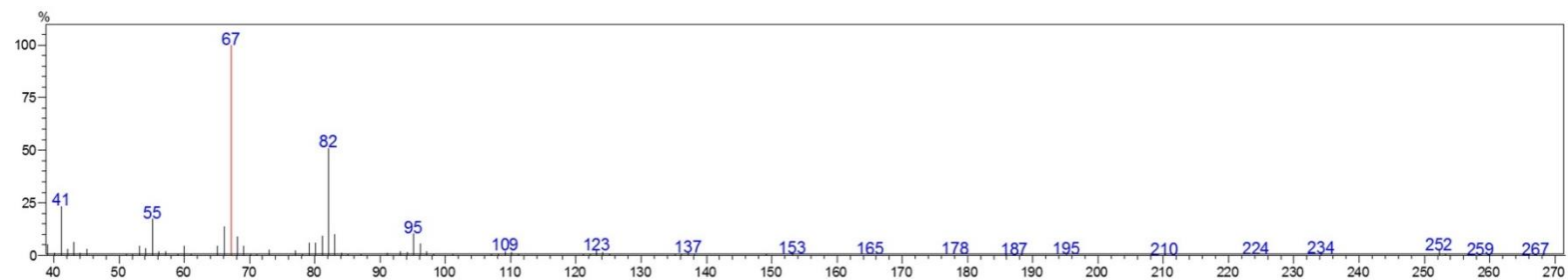
Fonte: Autoria própria

Figura 67. Cromatograma do ácido hidnocárpico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.



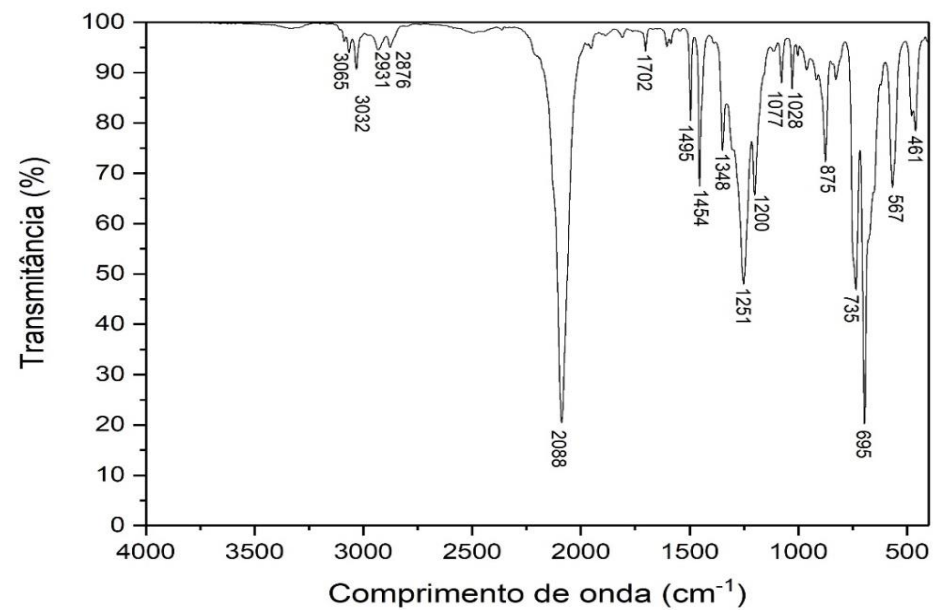
Fonte: Autoria própria

Figura 68. Espectro de massas do ácido hidnocárpico isolado da fração F2 usando cromatografia em coluna de íons prata.



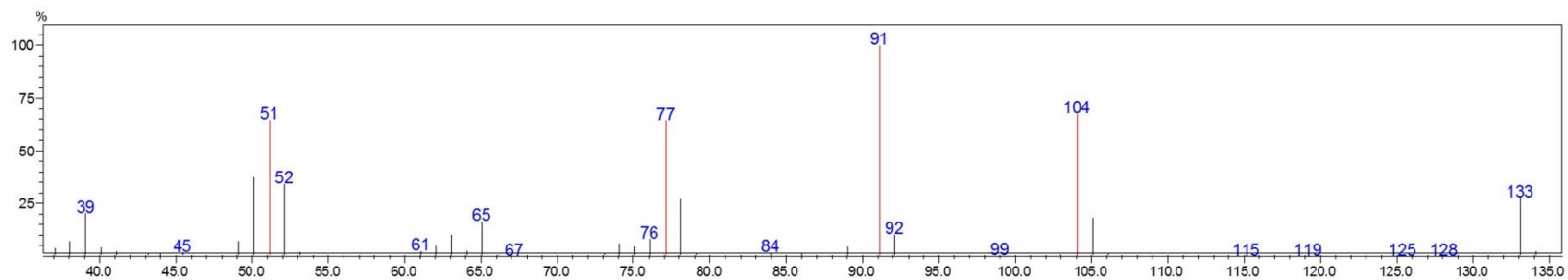
Fonte: Autoria própria

Figura 69. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3a.



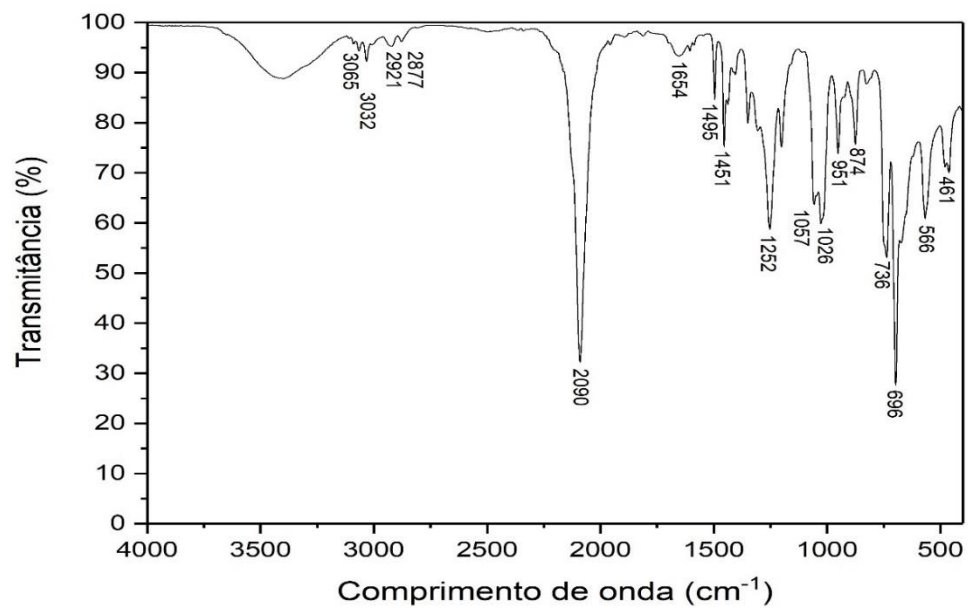
Fonte: Autoria própria

Figura 70. Espectro de massas da azida orgânica 3a.



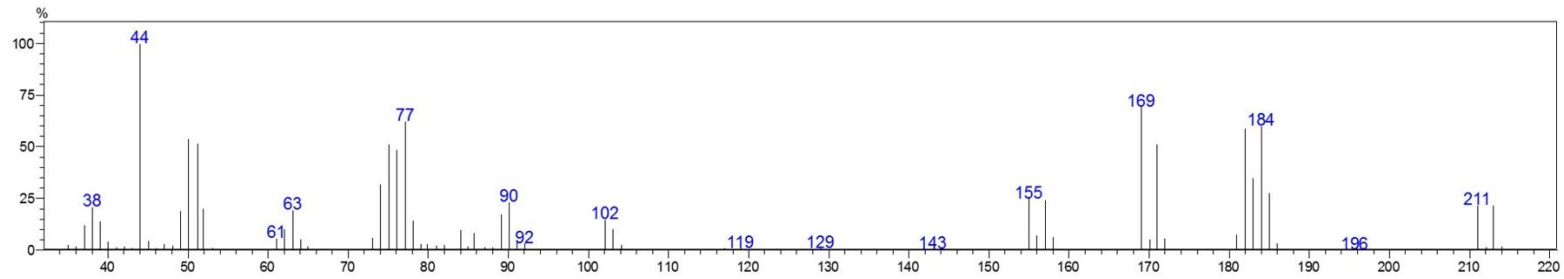
Fonte: Autoria própria

Figura 71. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3b.



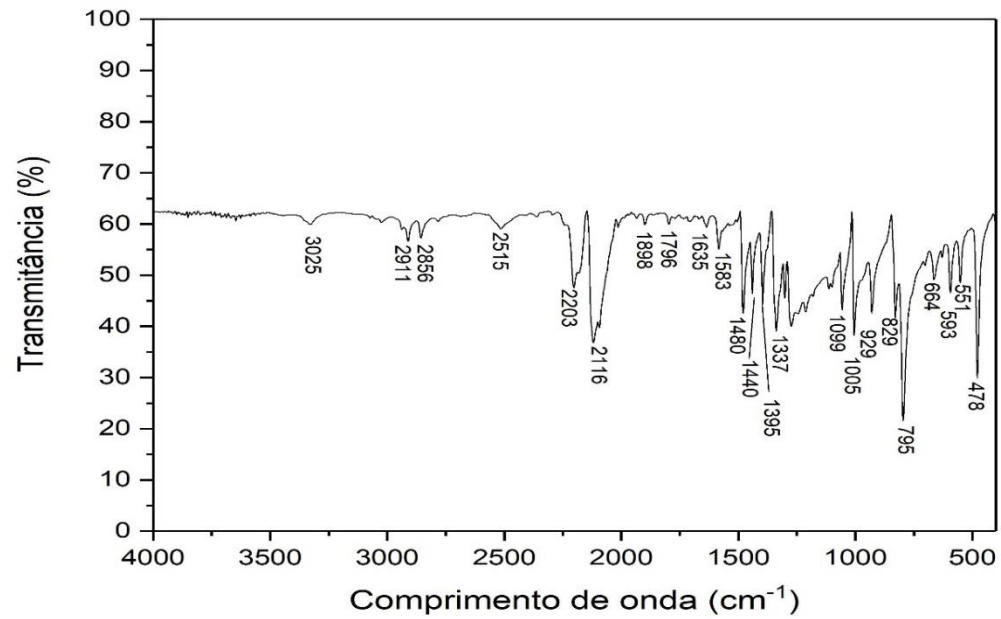
Fonte: Autoria própria

Figura 72. Espectro de massas da azida orgânica 3b.



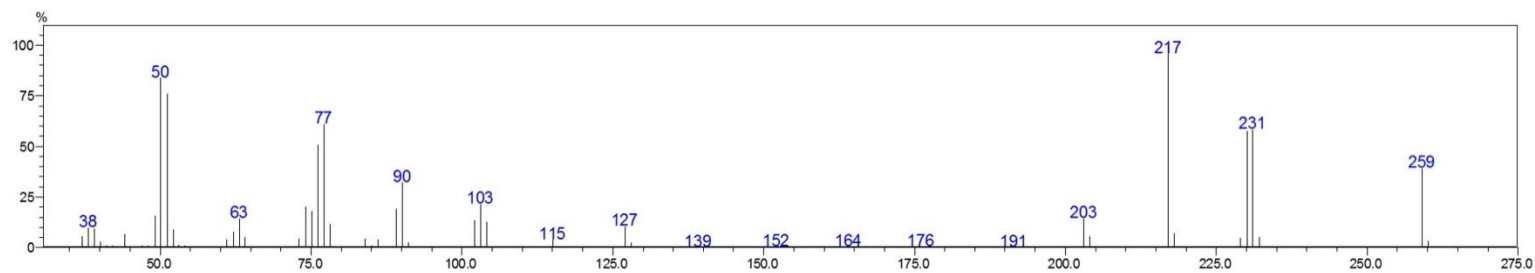
Fonte: Autoria própria

Figura 73. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3c.



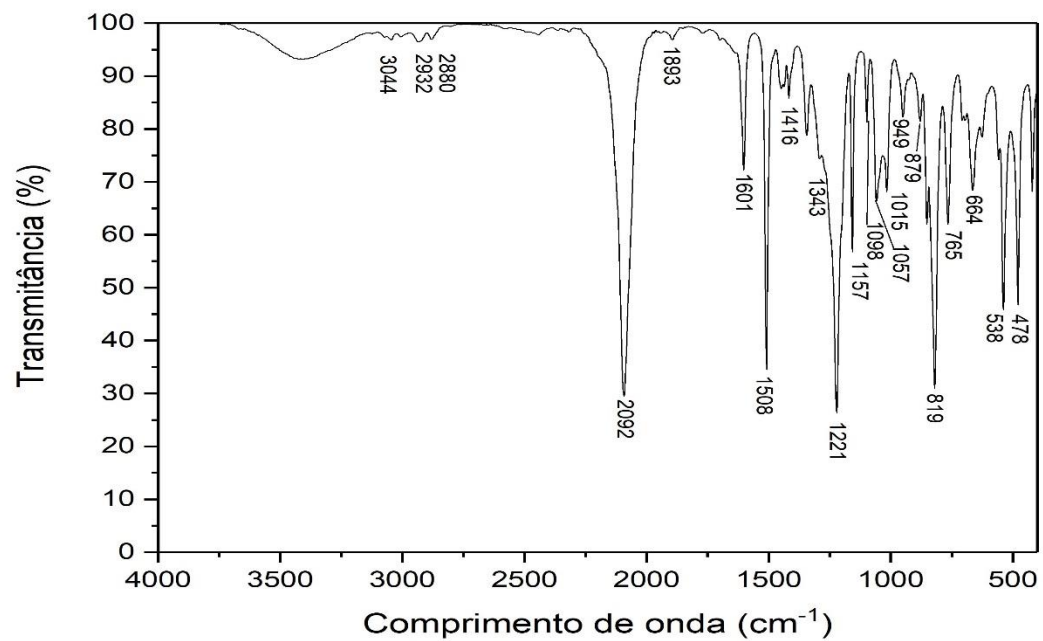
Fonte: Autoria própria

Figura 74. Espectro de massas da azida orgânica 3c.



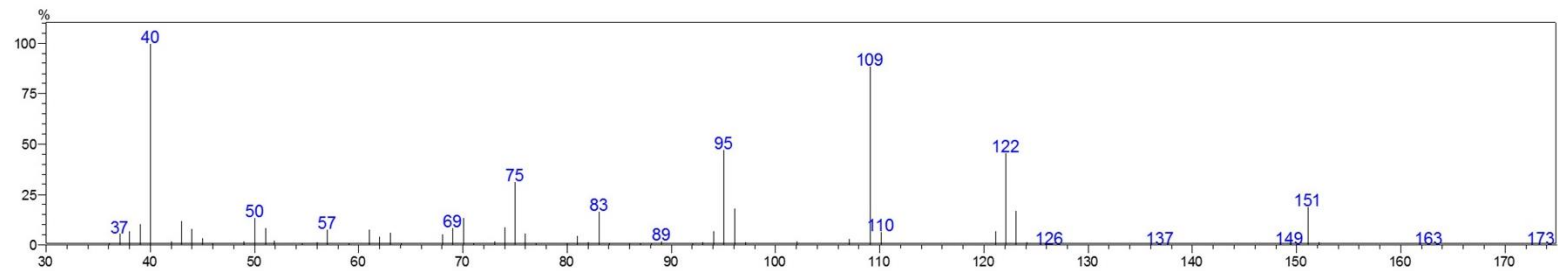
Fonte: Autoria própria

Figura 75. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3d.



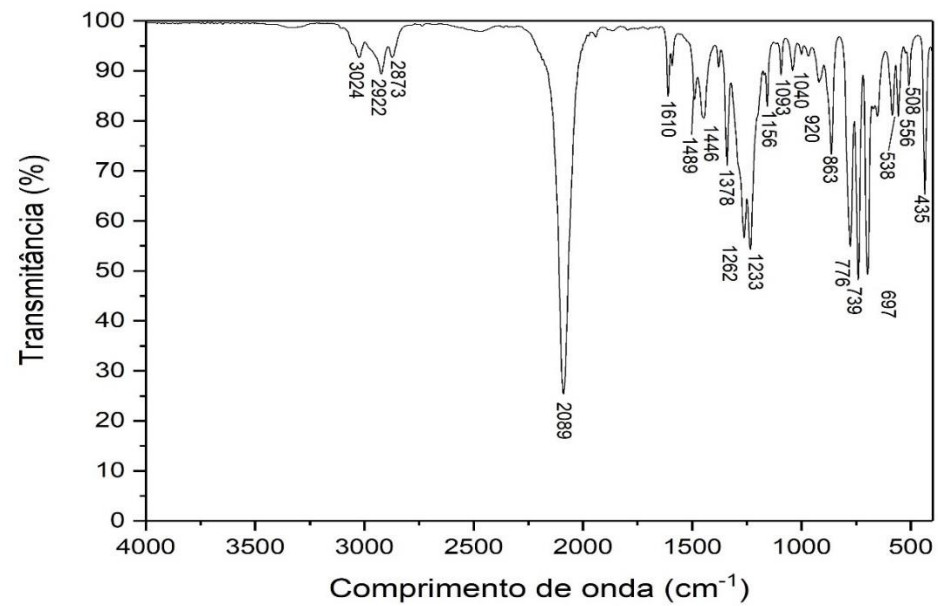
Fonte: Autoria própria

Figura 76. Espectro de massas da azida orgânica 3d.



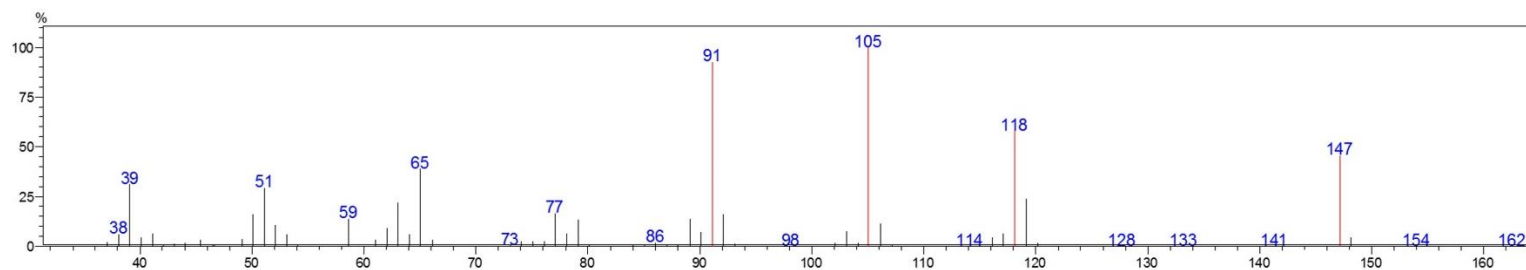
Fonte: Autoria própria

Figura 77. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3e.



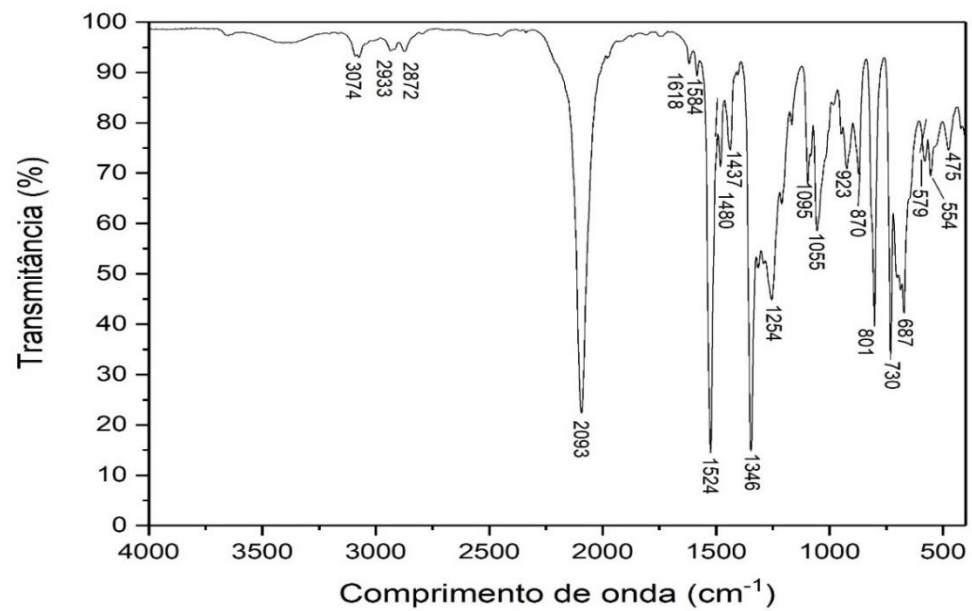
Fonte: Autoria própria

Figura 78. Espectro de massas da azida orgânica 3e.



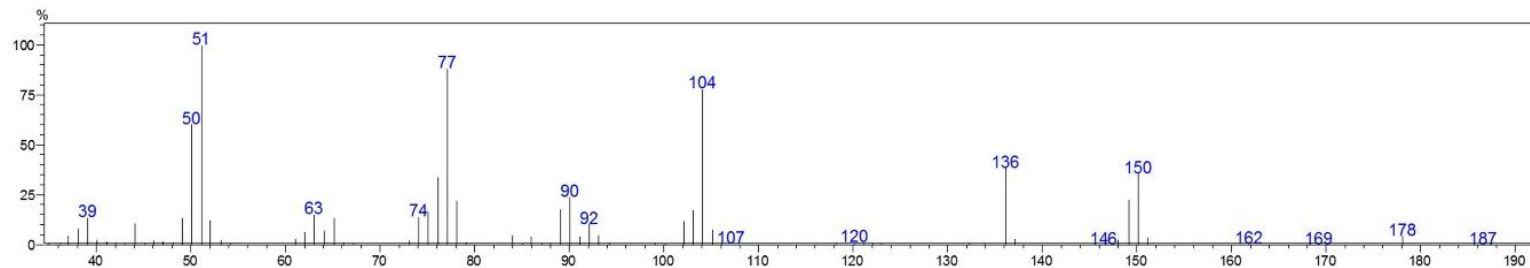
Fonte: Autoria própria

Figura 79. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3f.



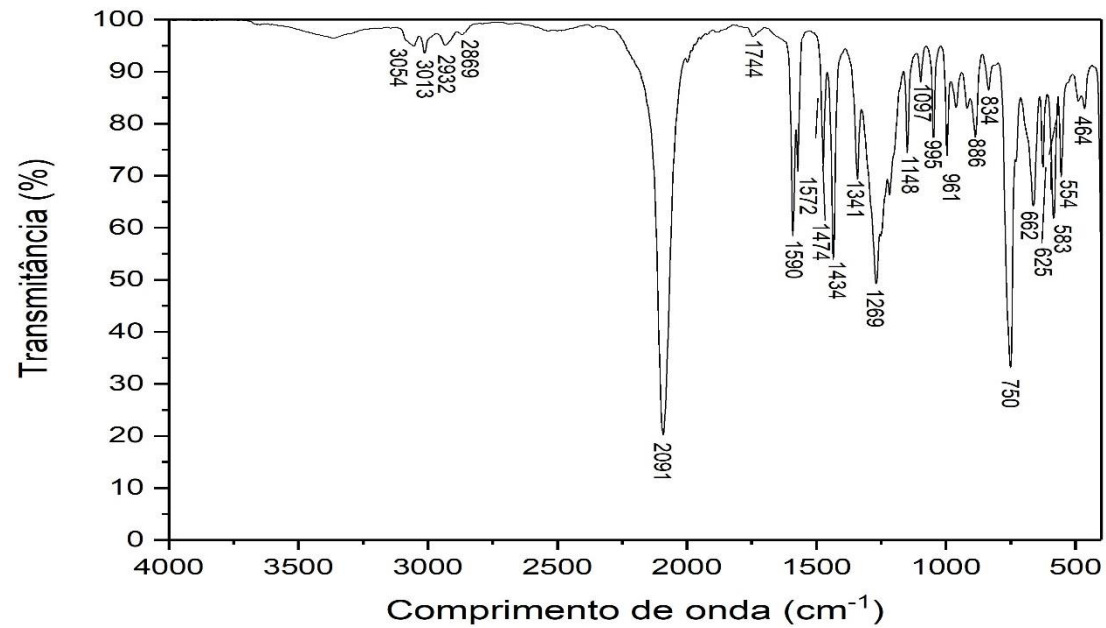
Fonte: Autoria própria

Figura 80. Espectro de massas da azida orgânica 3f.



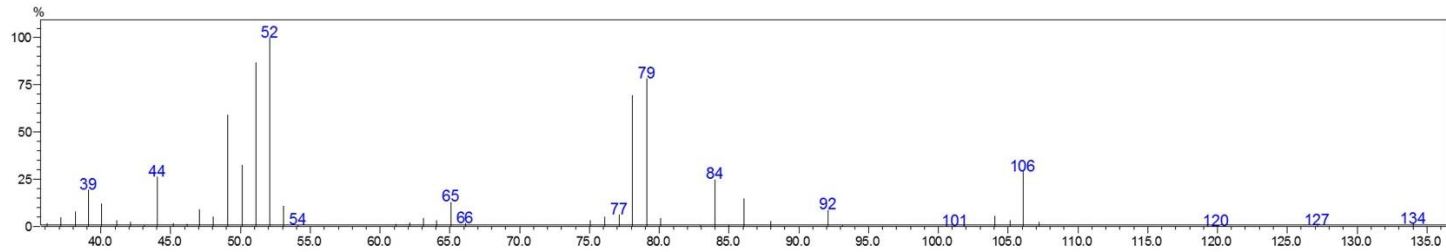
Fonte: Autoria própria

Figura 81. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3g.



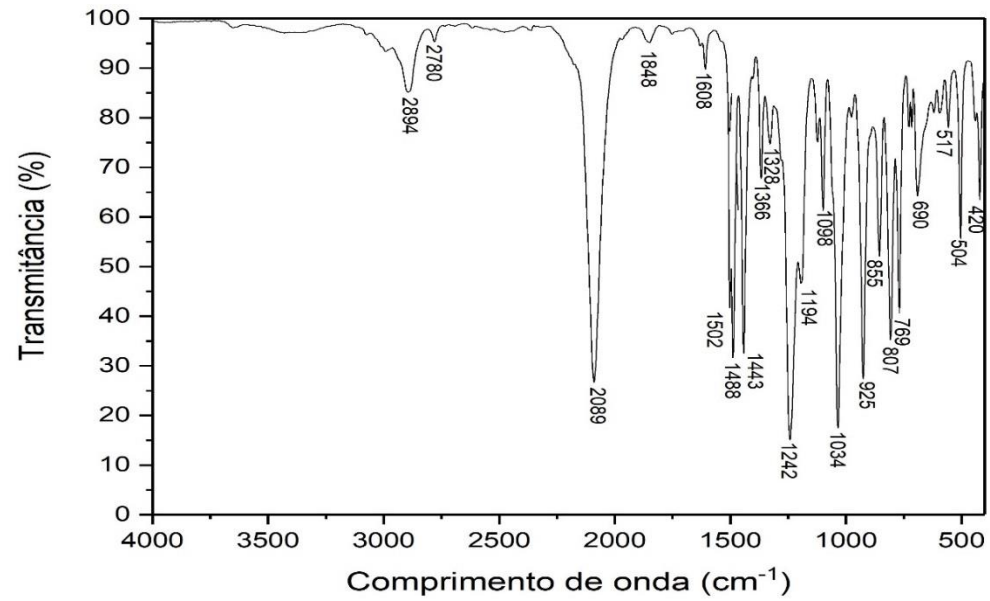
Fonte: Autoria própria

Figura 82. Espectro de massas da azida orgânica 3g.



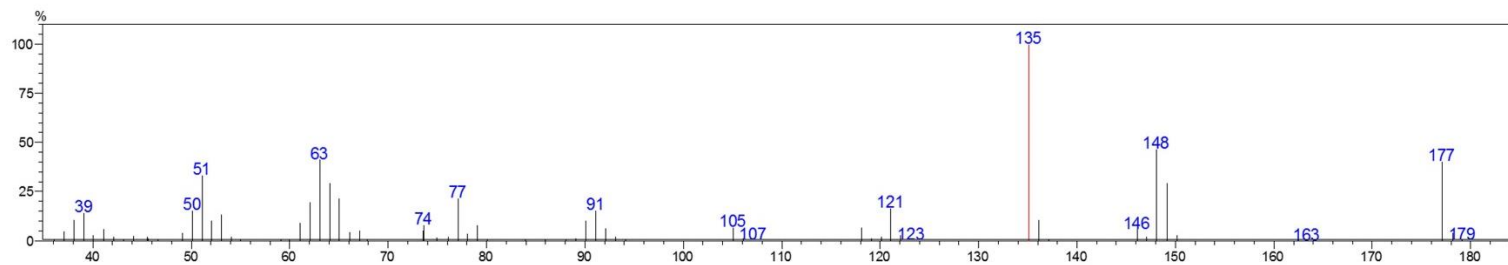
Fonte: Autoria própria

Figura 83. Espectro FTIR (ATR) da azida orgânica 3h.



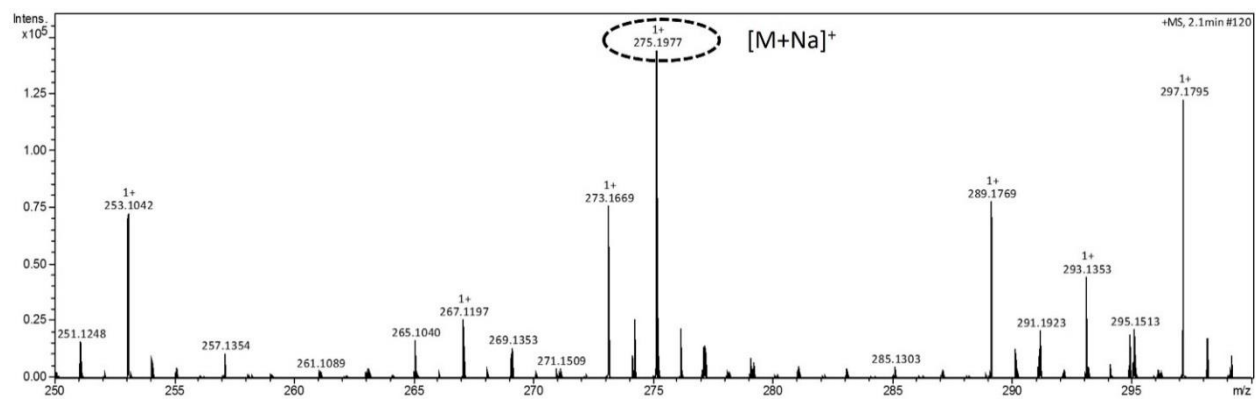
Fonte: Autoria própria

Figura 84. Espectro de massas da azida orgânica 3h.



Fonte: Autoria própria

Figura 85. Espectro de ESI(+)-QTOF do ácido hidnocárpico (1).



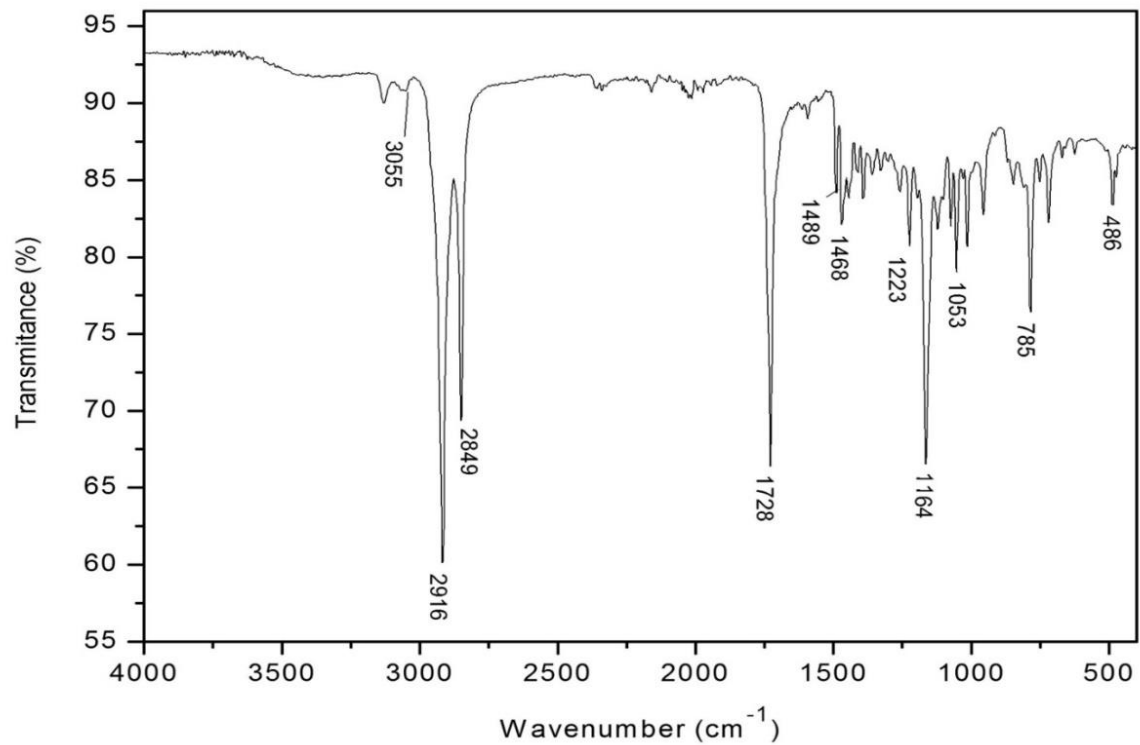
Fonte: Autoria própria

Figura 86. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T1.



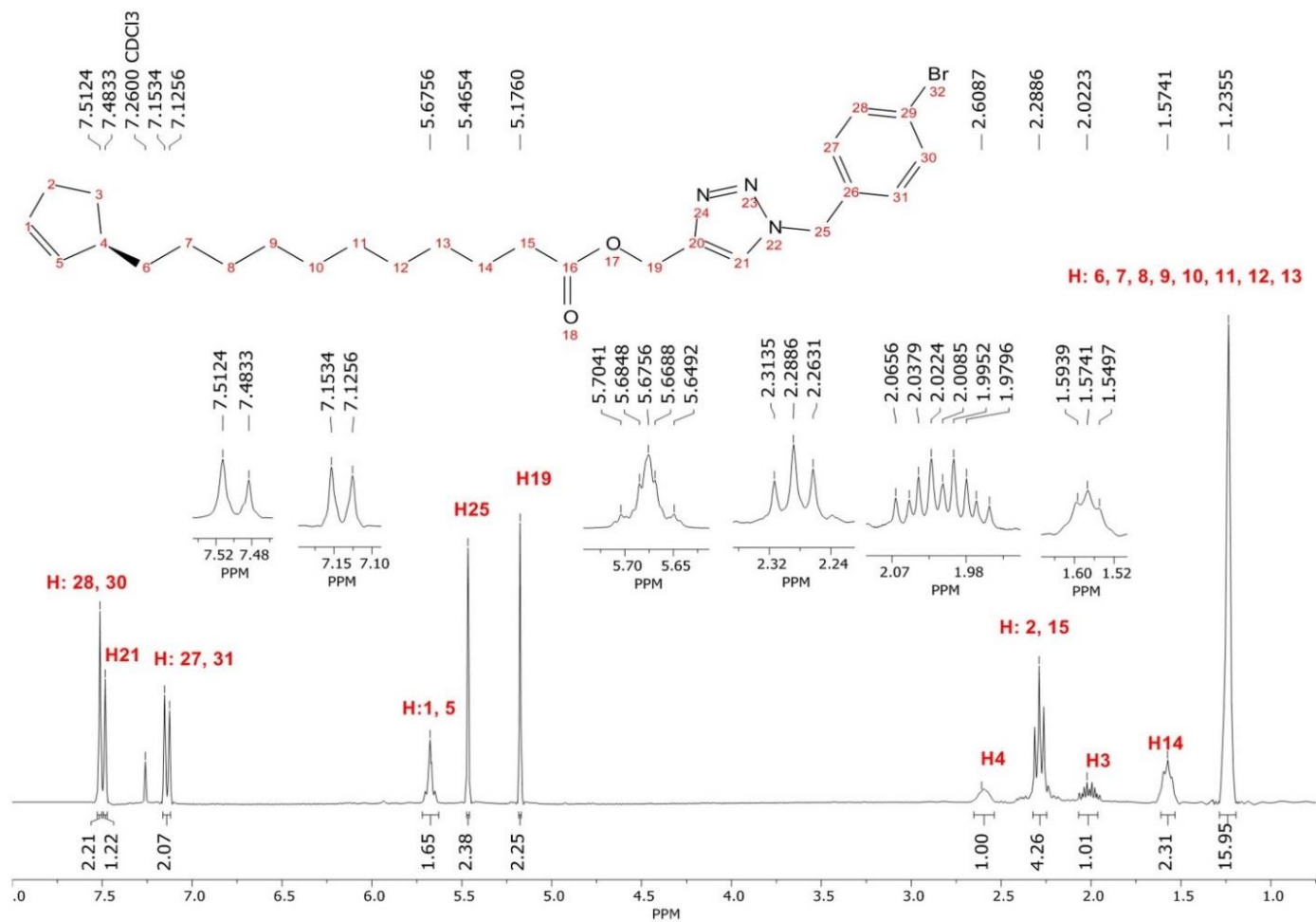
Fonte: Autoria própria

Figura 87. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T2.



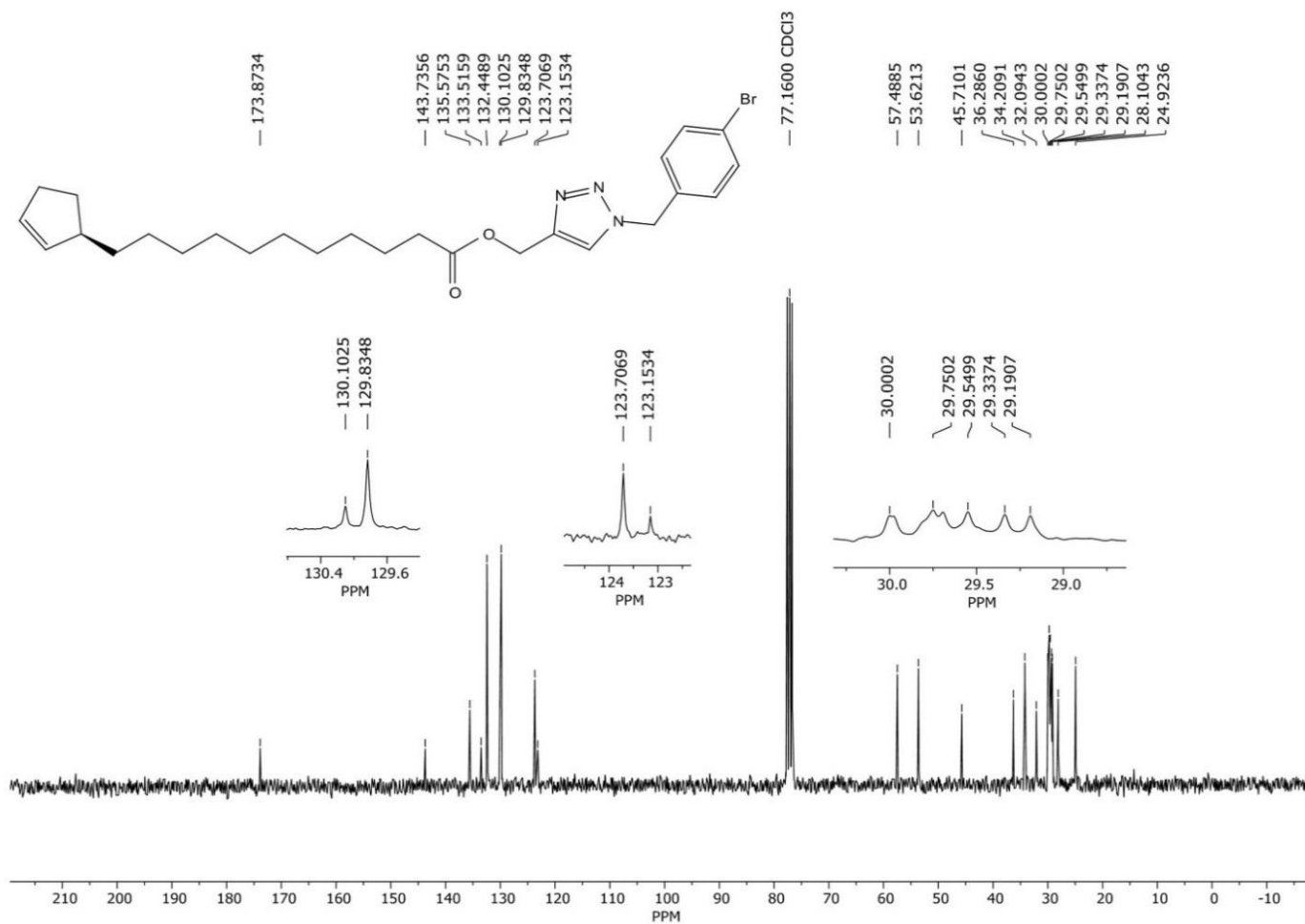
Fonte: Autoria própria

Figura 88. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T2. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro.



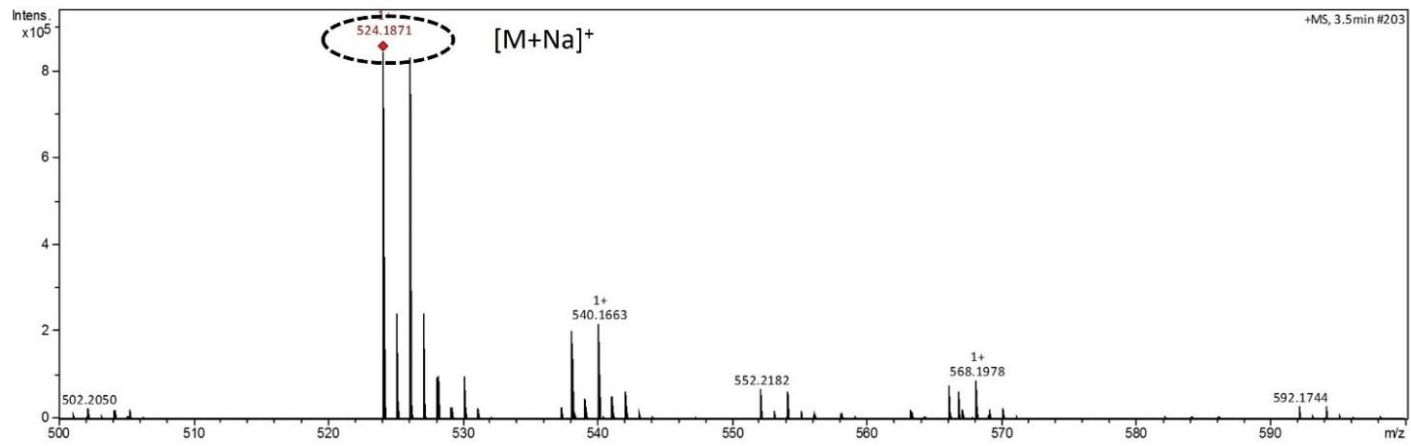
Fonte: Autoria própria

Figura 89. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T2. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



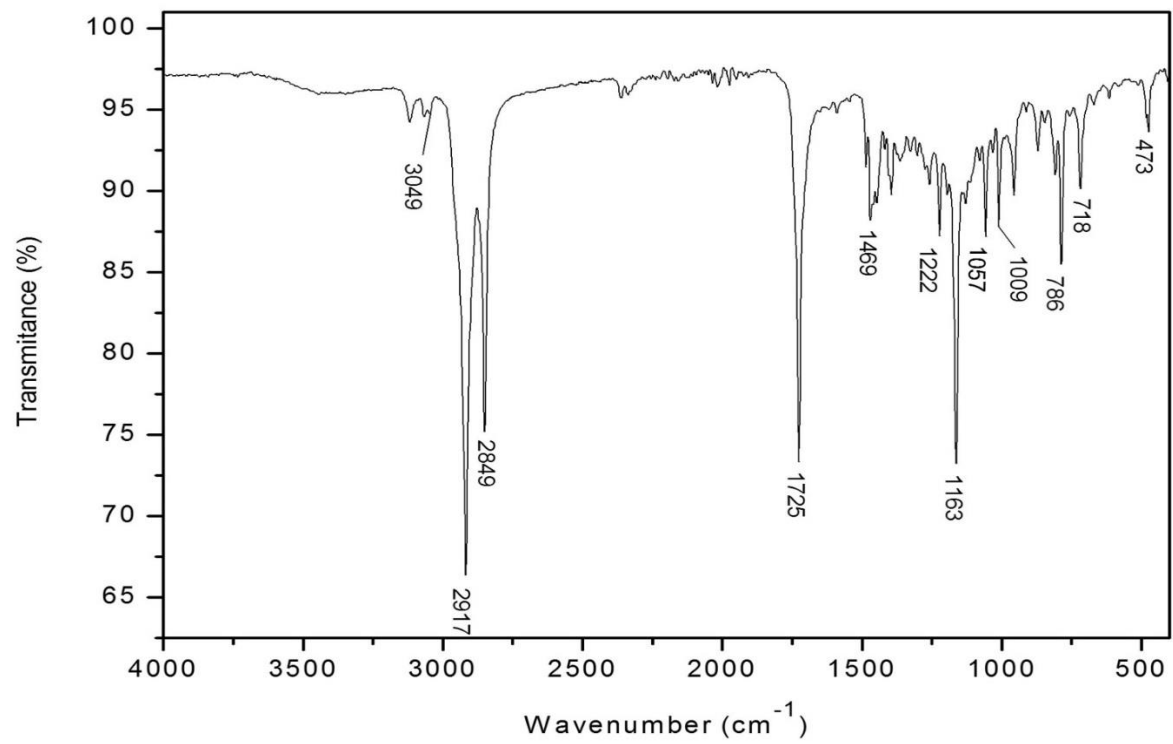
Fonte: Autoria própria

Figura 90. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T2.



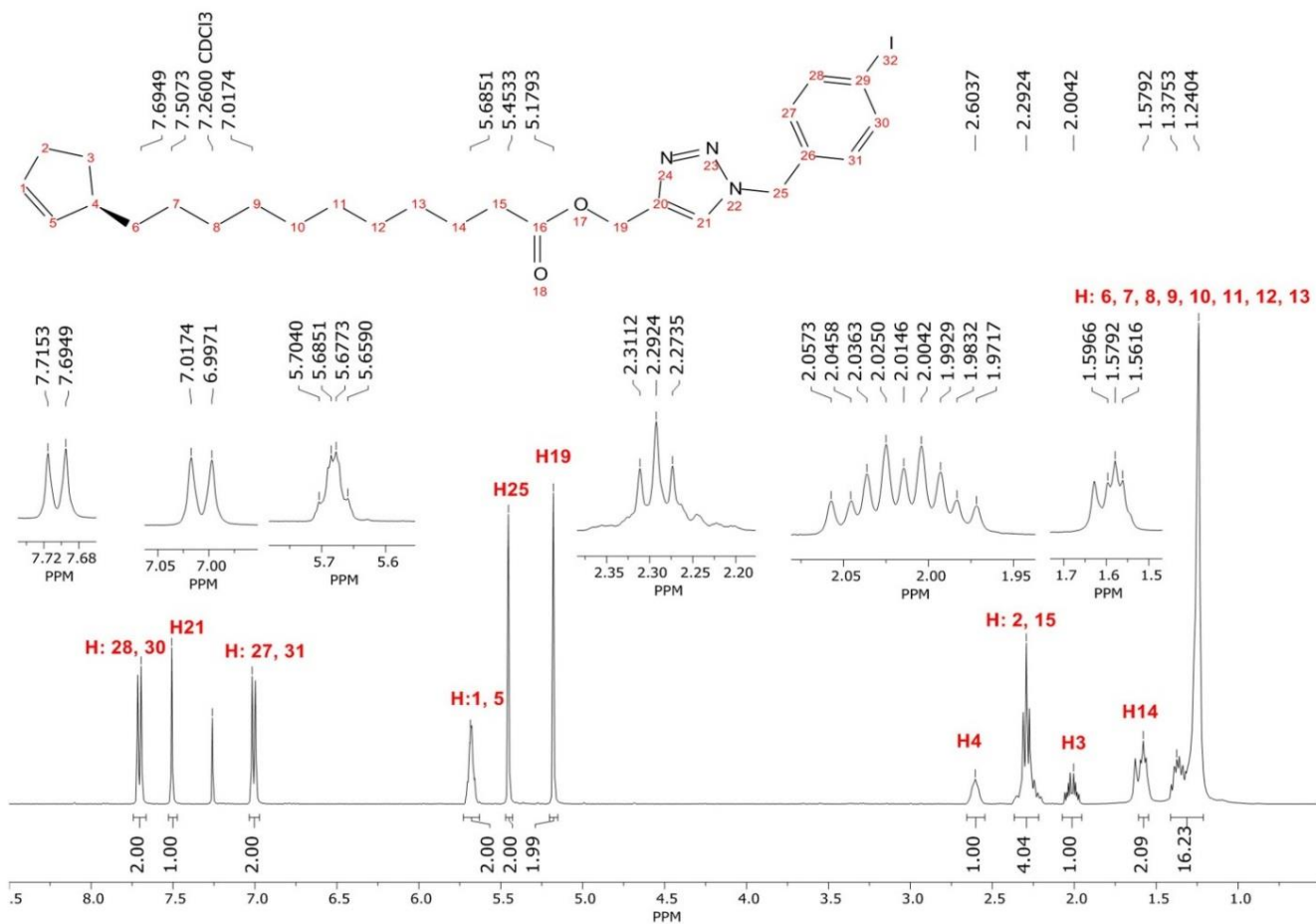
Fonte: Autoria própria

Figura 91. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T3.



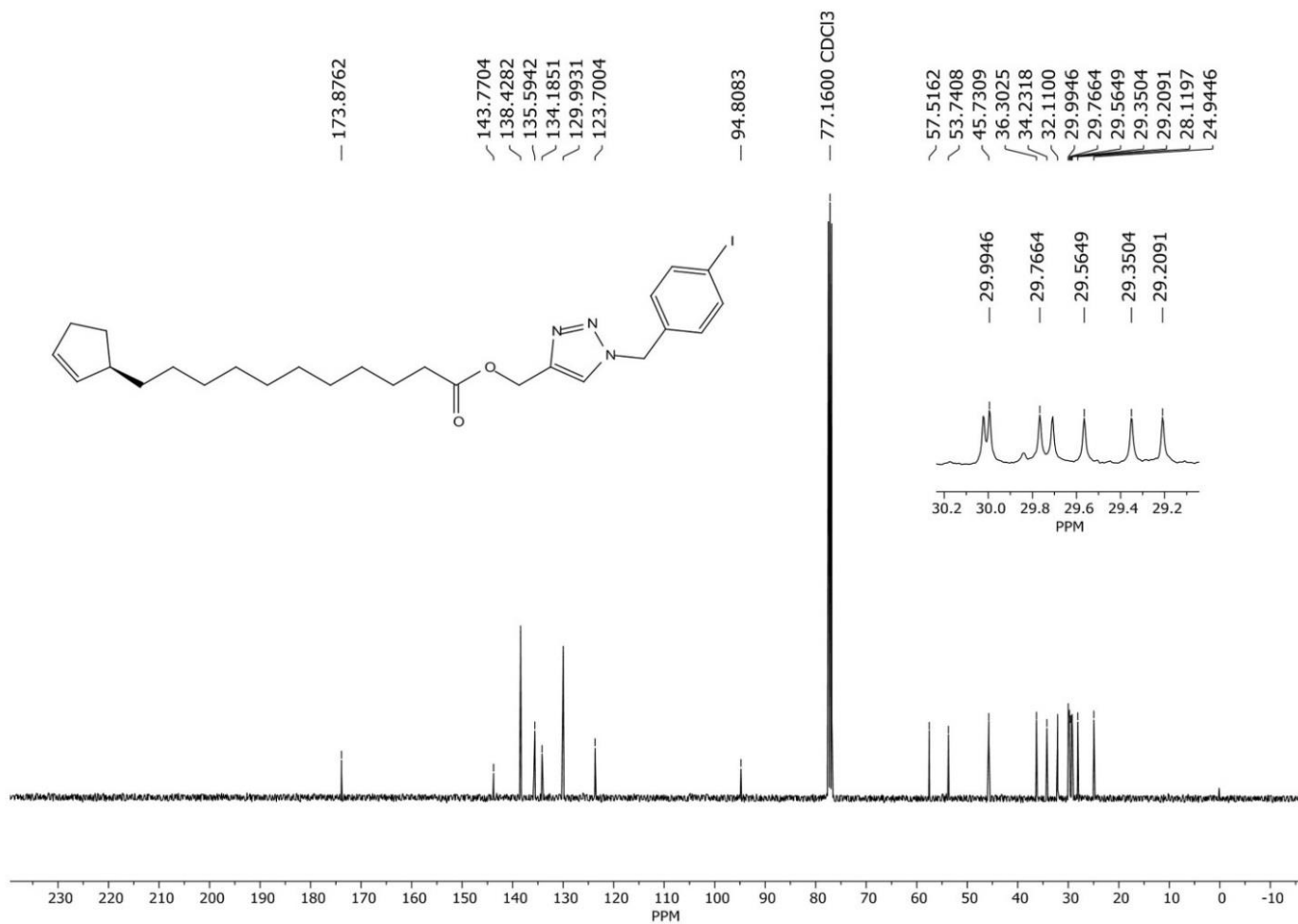
Fonte: Autoria própria

Figura 92. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



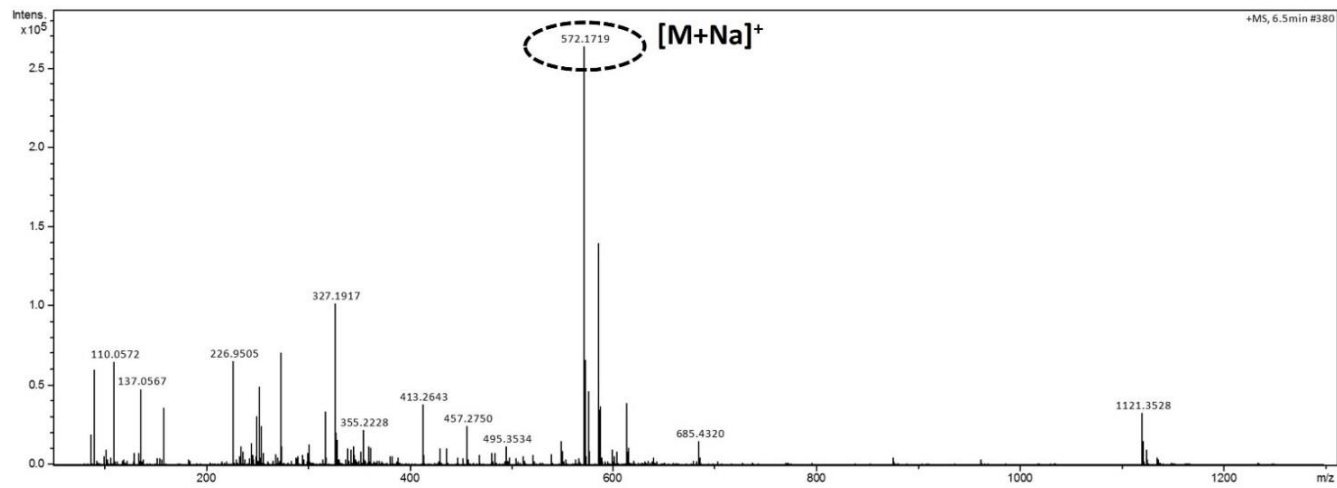
Fonte: Autoria própria

Figura 93. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



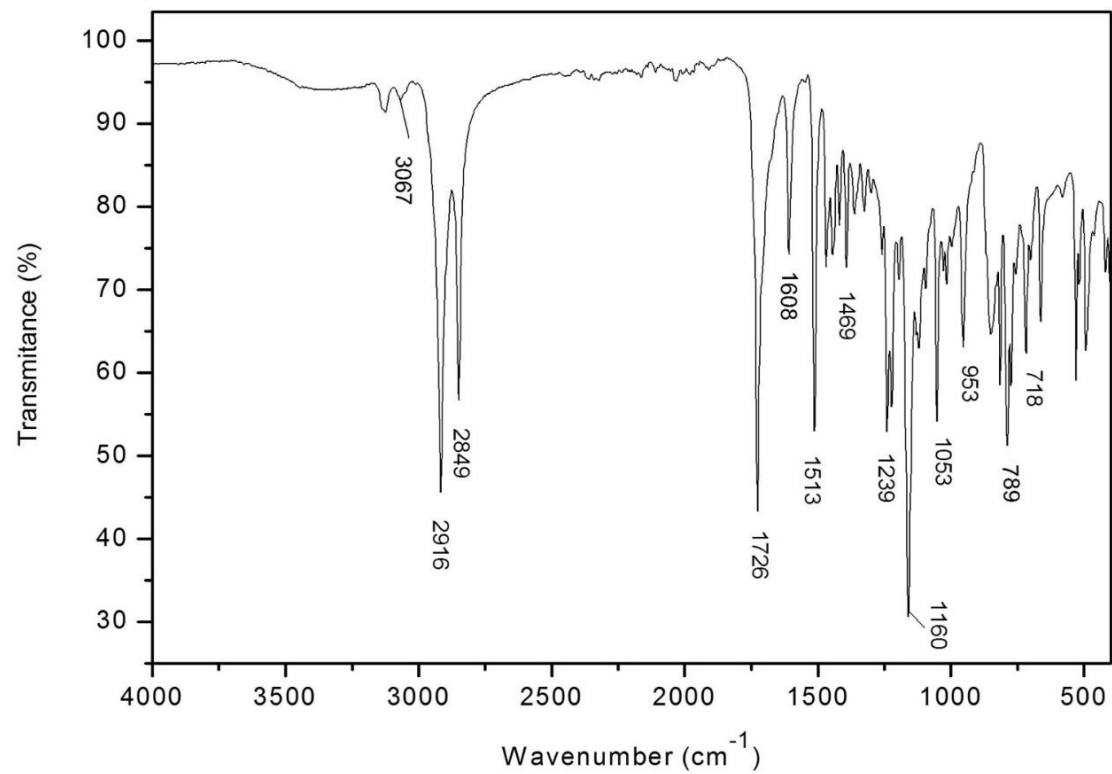
Fonte: Autoria própria

Figura 94. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T3.



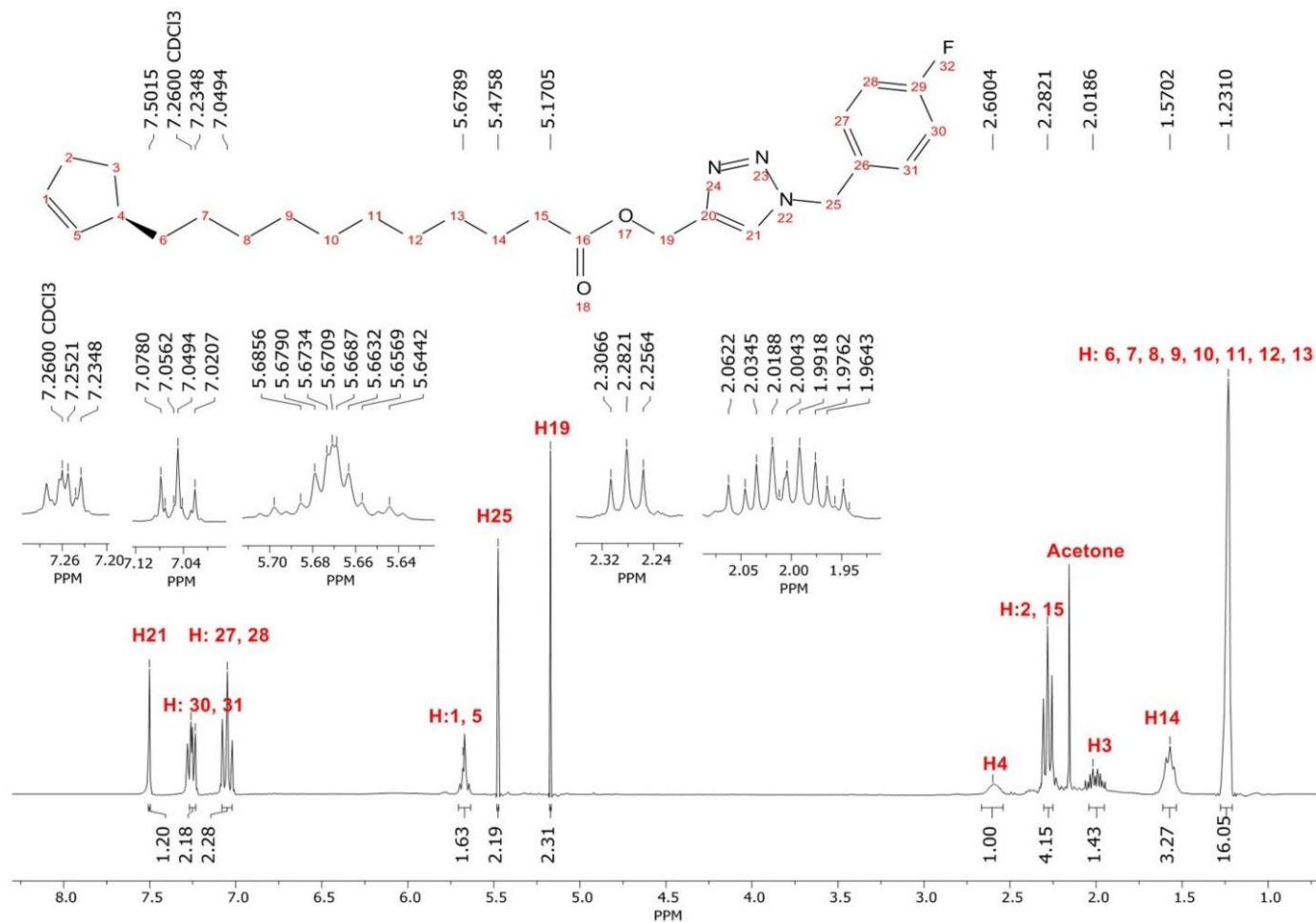
Fonte: Autoria própria

Figura 95. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T4.



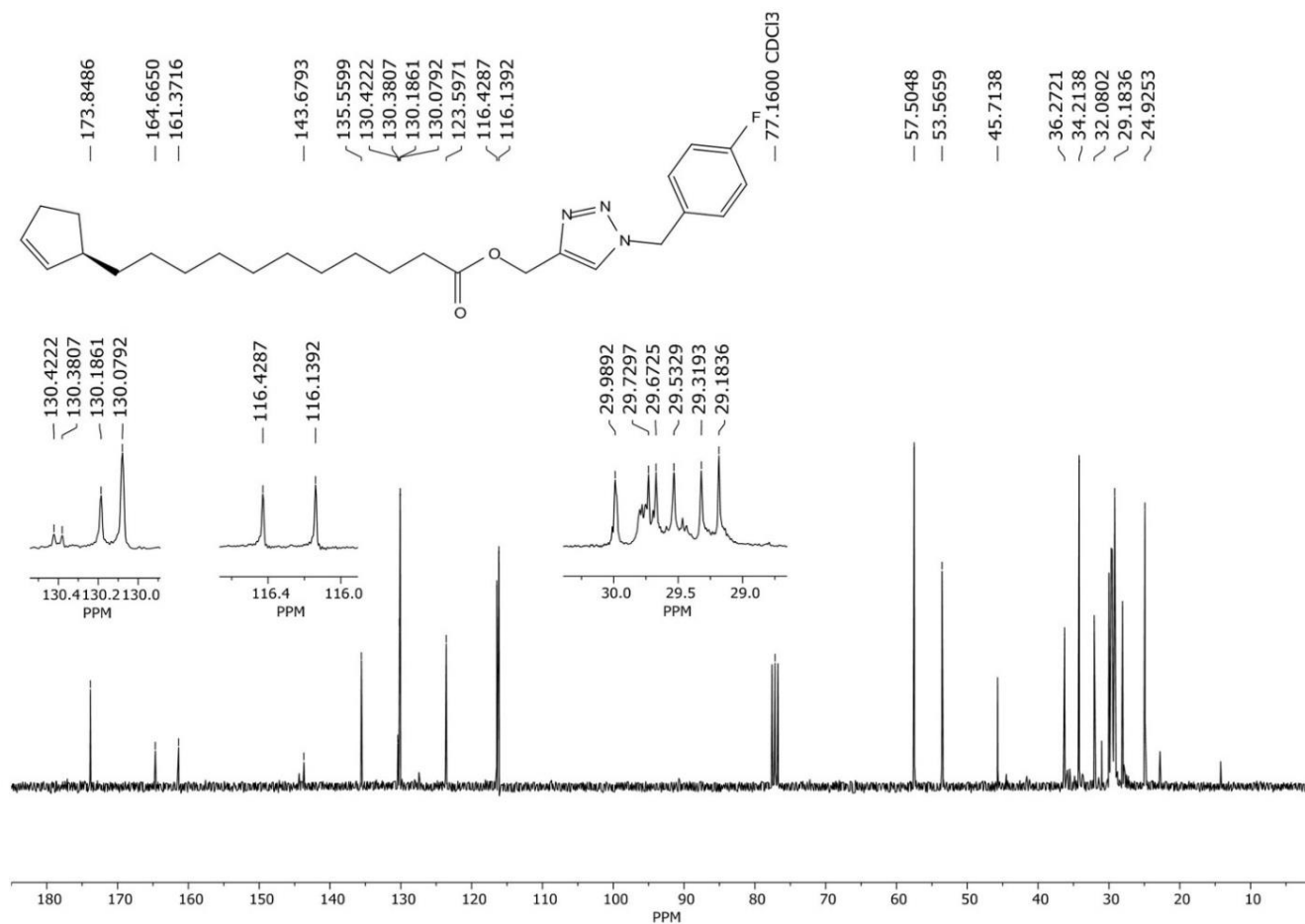
Fonte: Aatoria própria

Figura 96. Espectro de ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T4. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



Fonte: Autoria própria

Figura 97. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T4. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



Fonte: Autoria própria

Figura 98. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T4.

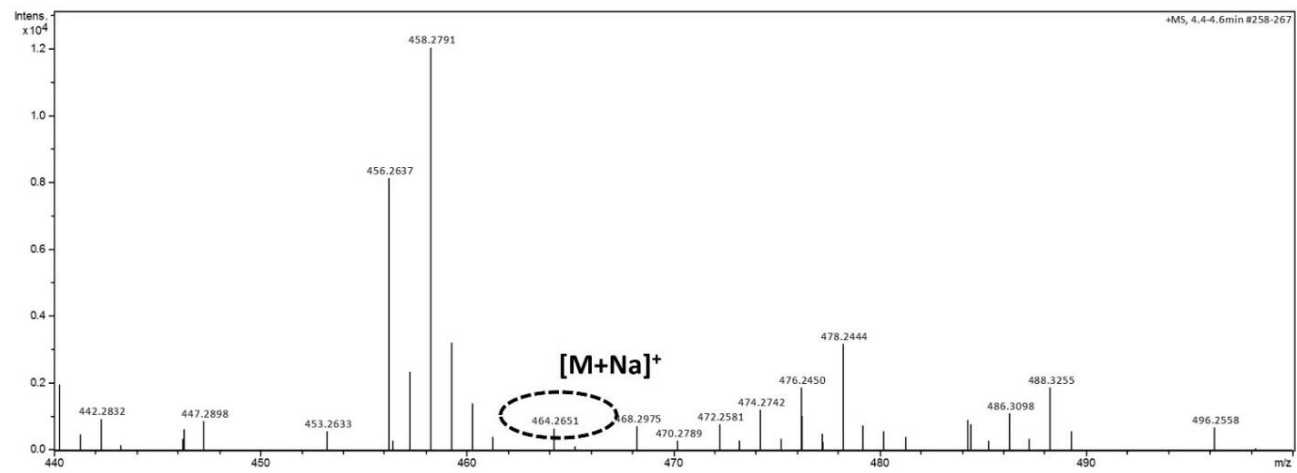
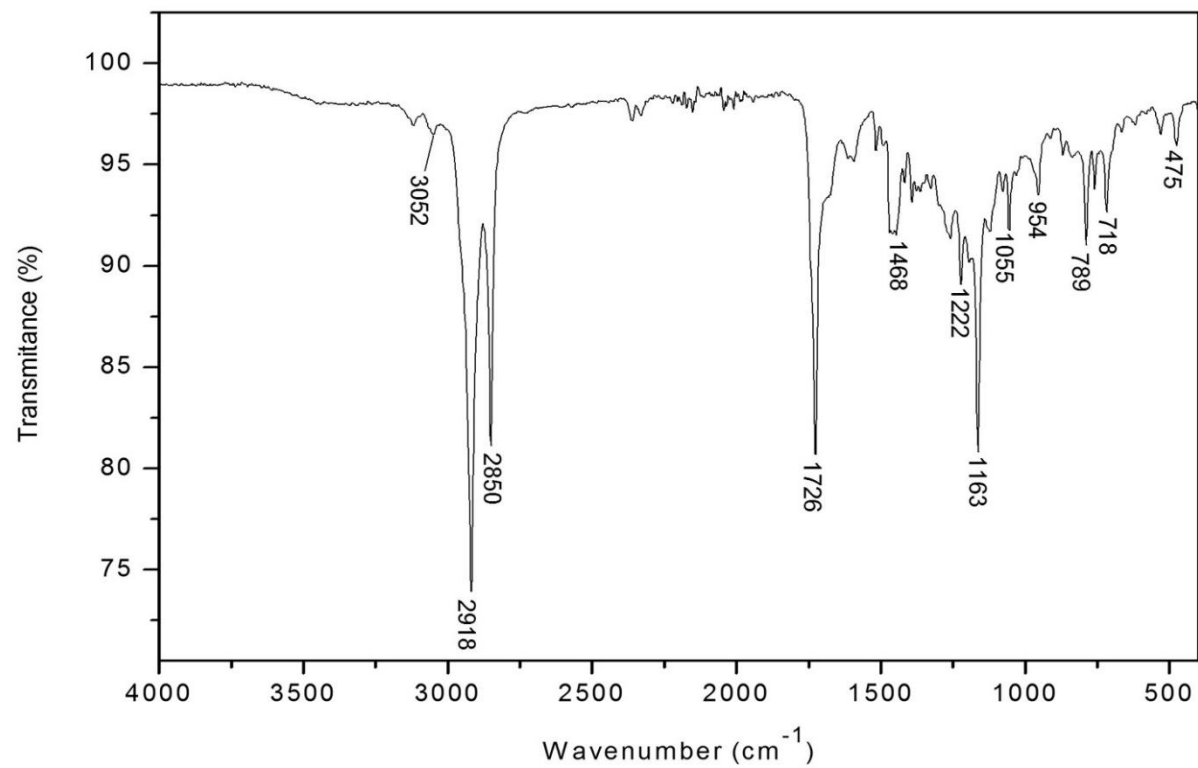
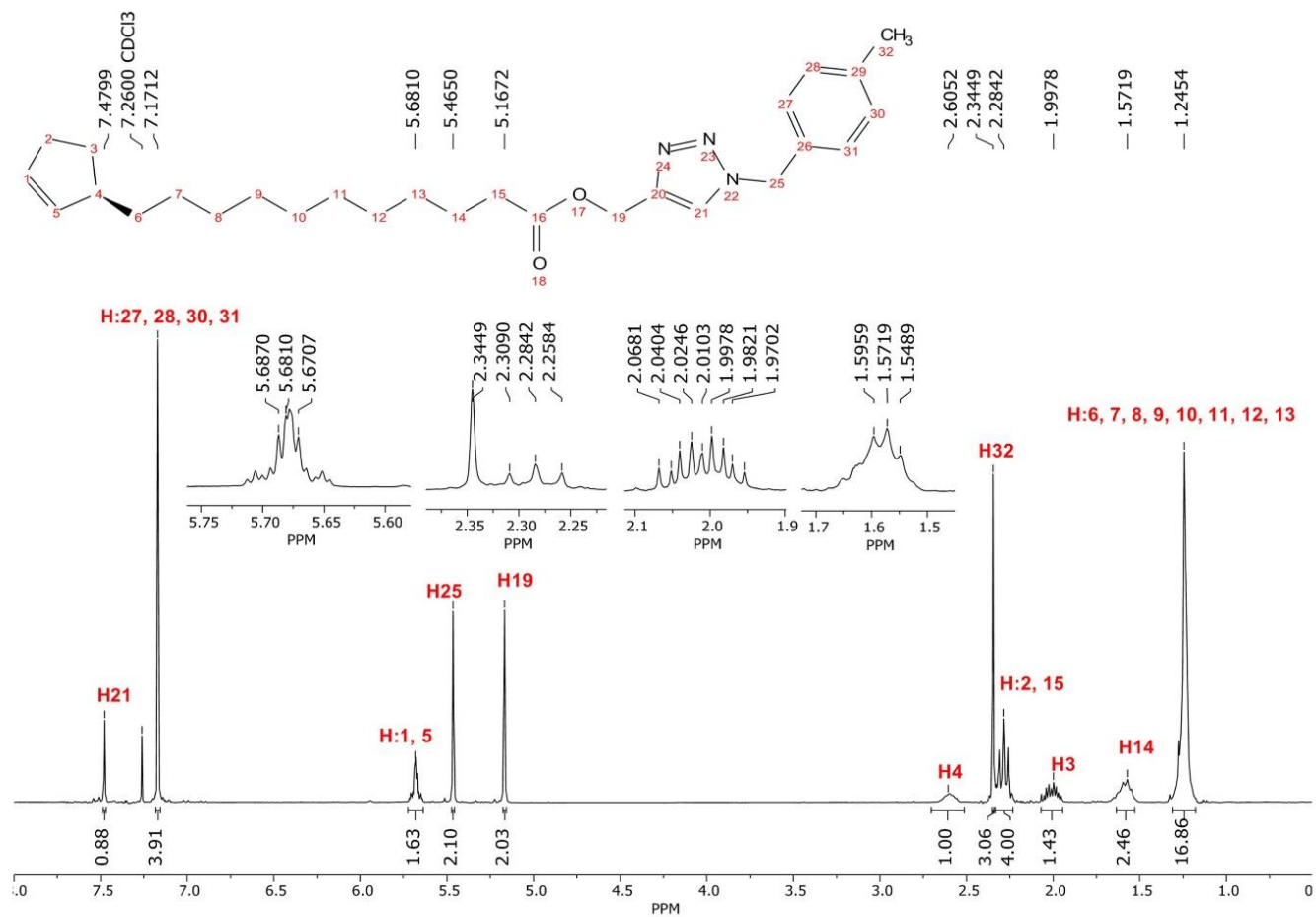


Figura 99. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T5.



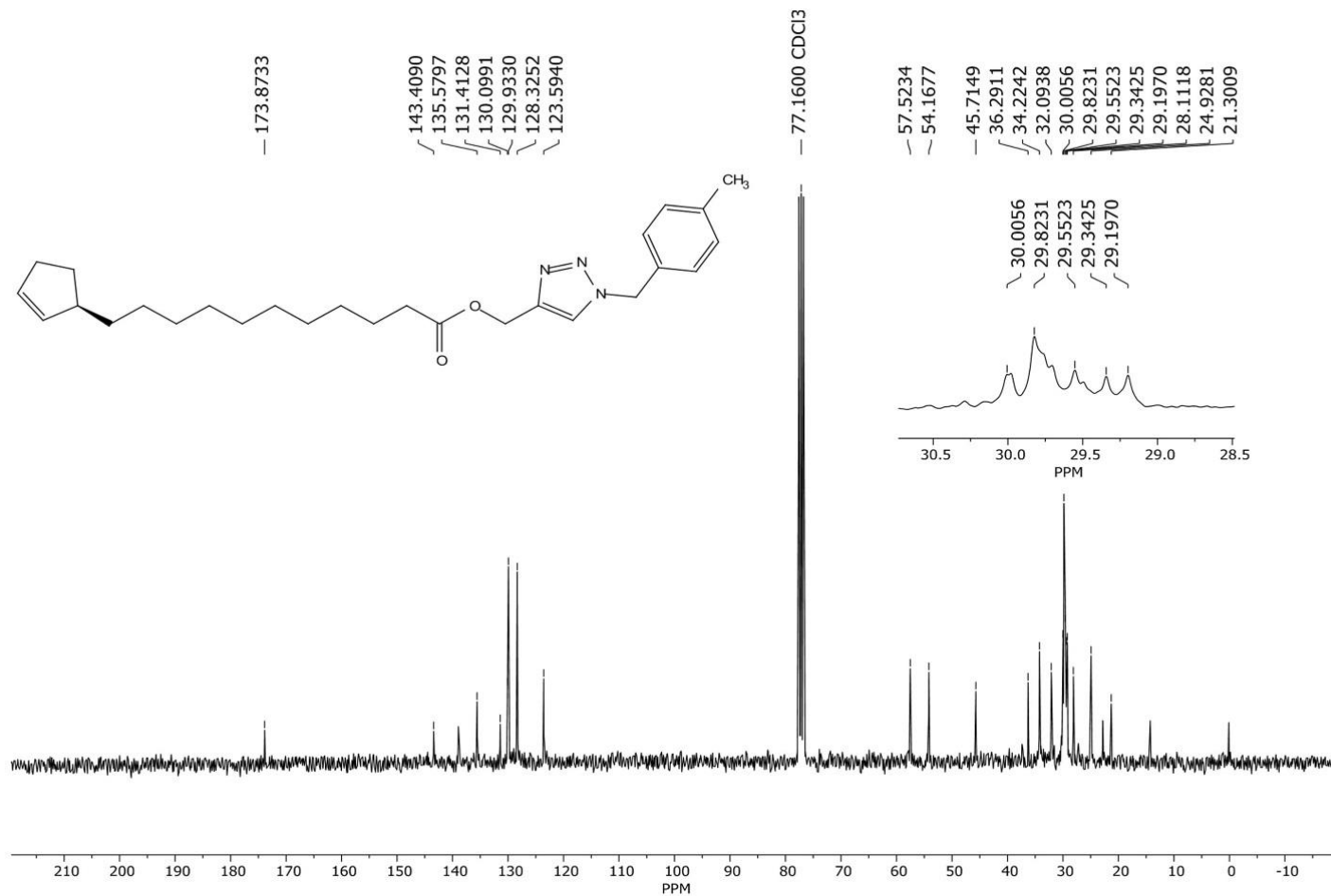
Fonte: Autoria própria

Figura 100. Espectro de ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



Fonte: Autoria própria

Figura 101. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



Fonte: Autoria própria

Figura 102. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T5.

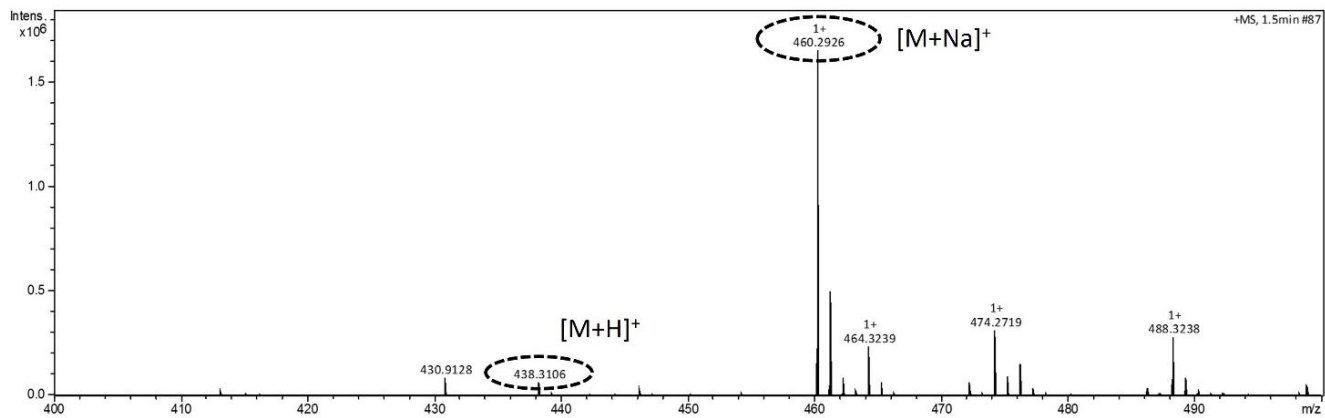
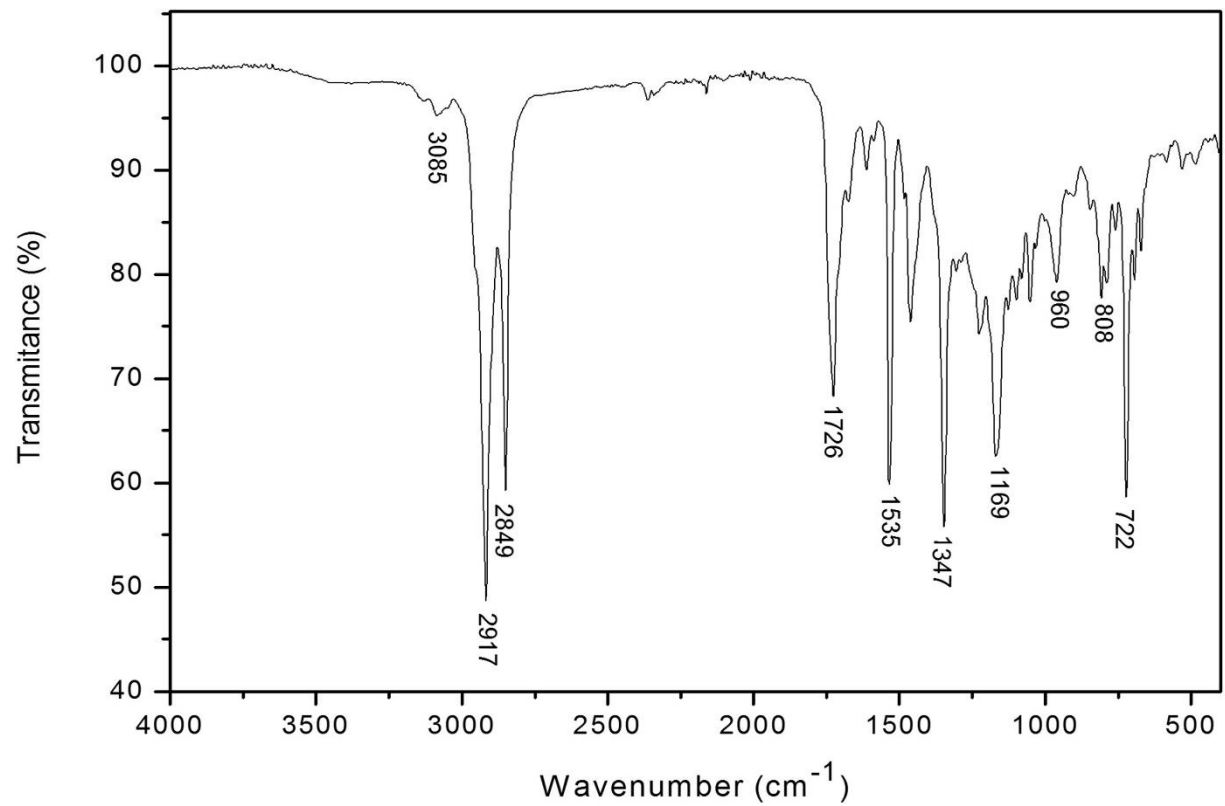
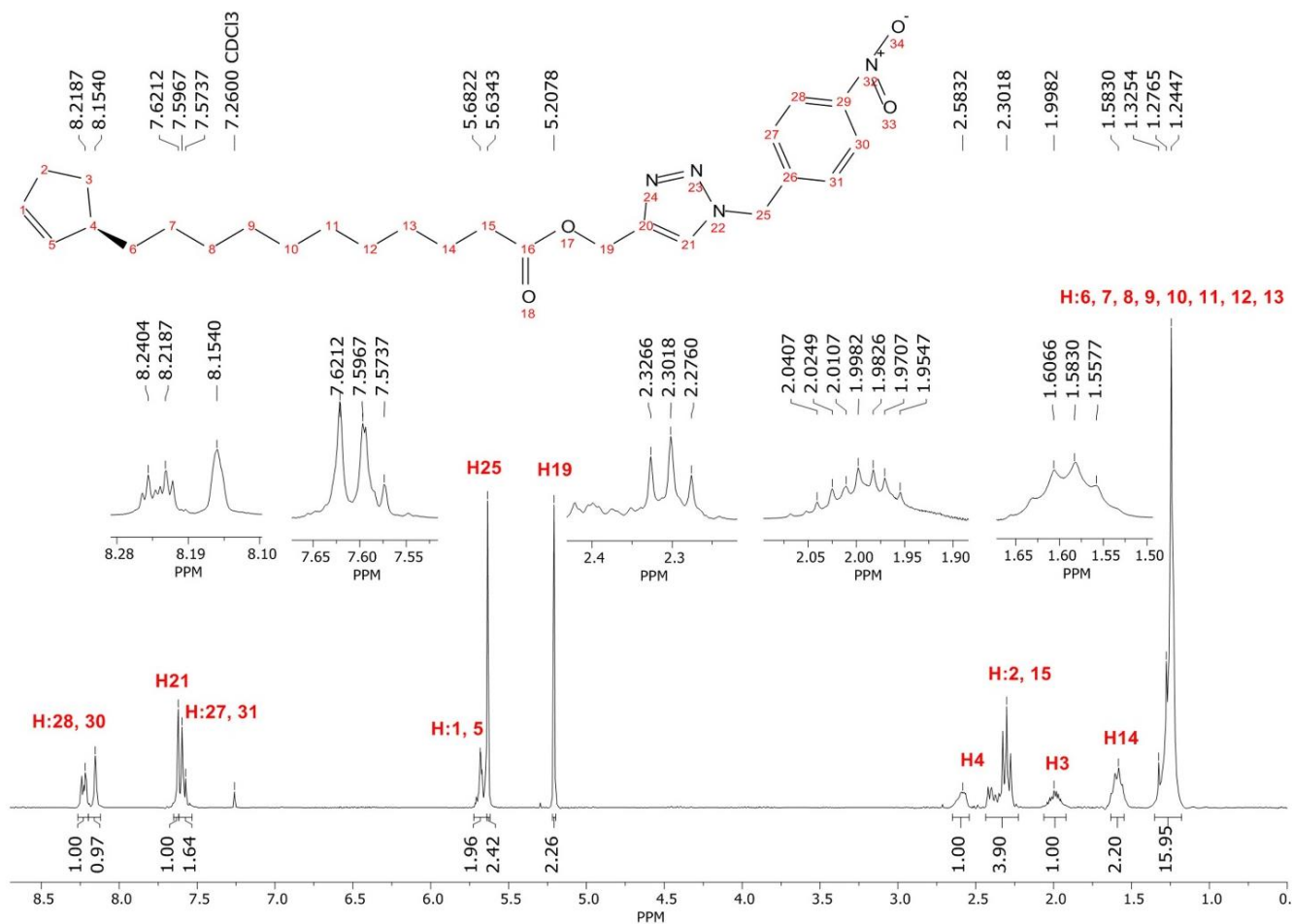


Figura 103. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T6.



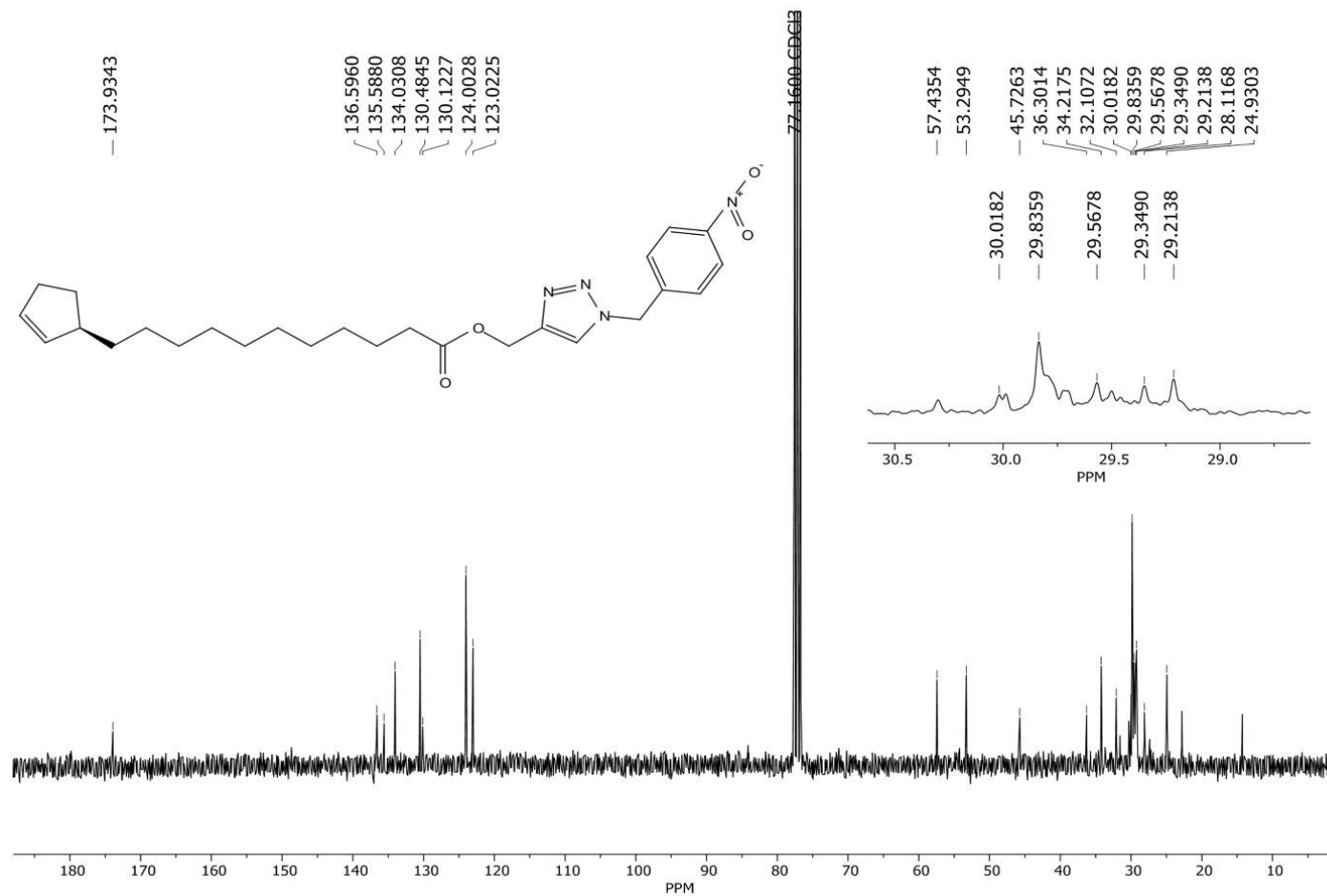
Fonte: Autoria própria

Figura 104. Espectro de ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



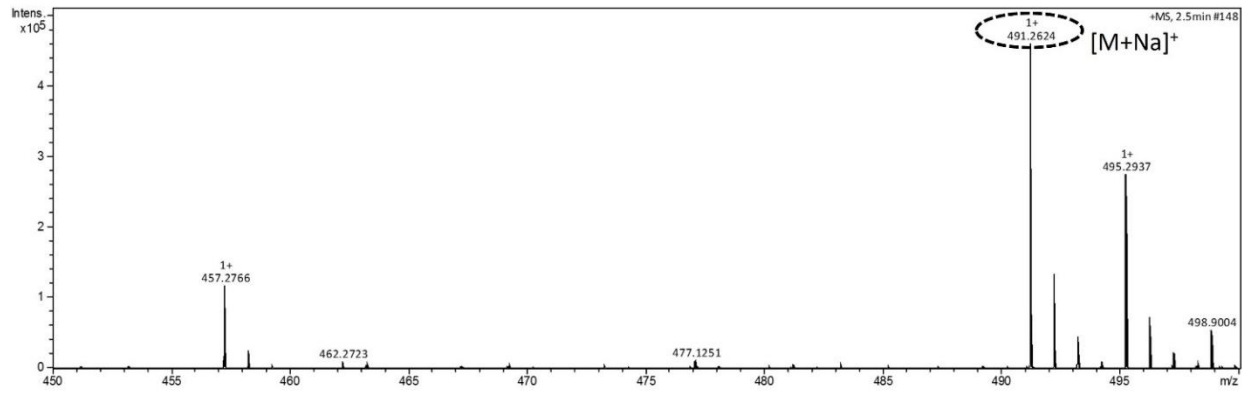
Fonte: Autoria própria

Figura 105. Espectro de ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



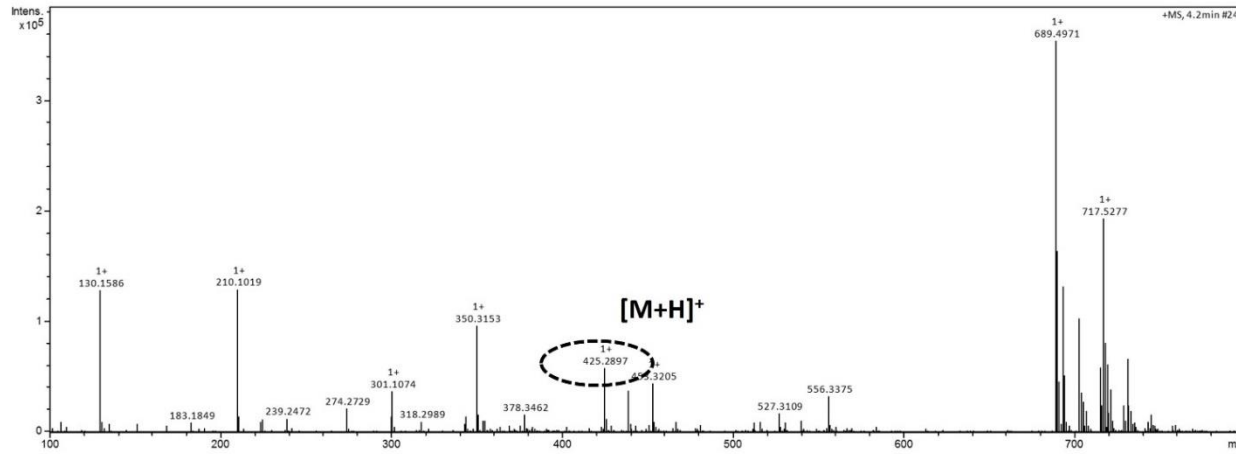
Fonte: Autoria própria

Figura 106. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T6.



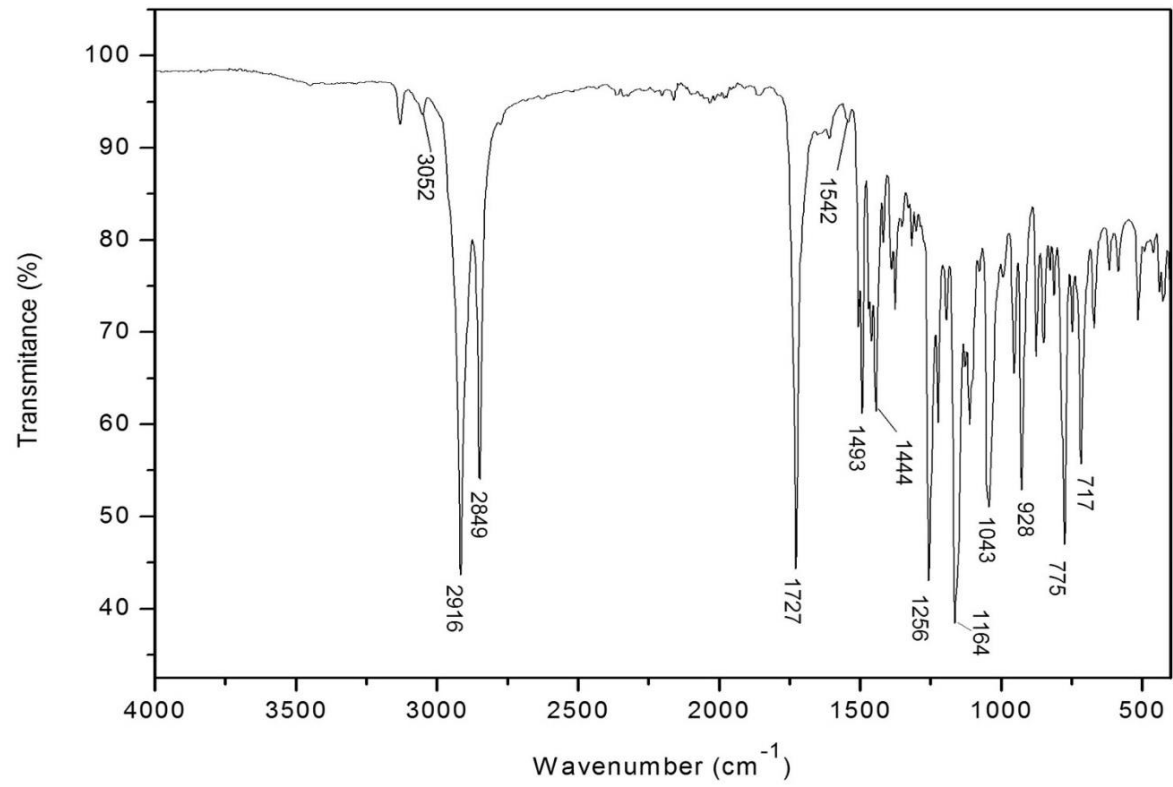
Fonte: Autoria própria

Figura 107. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T7.



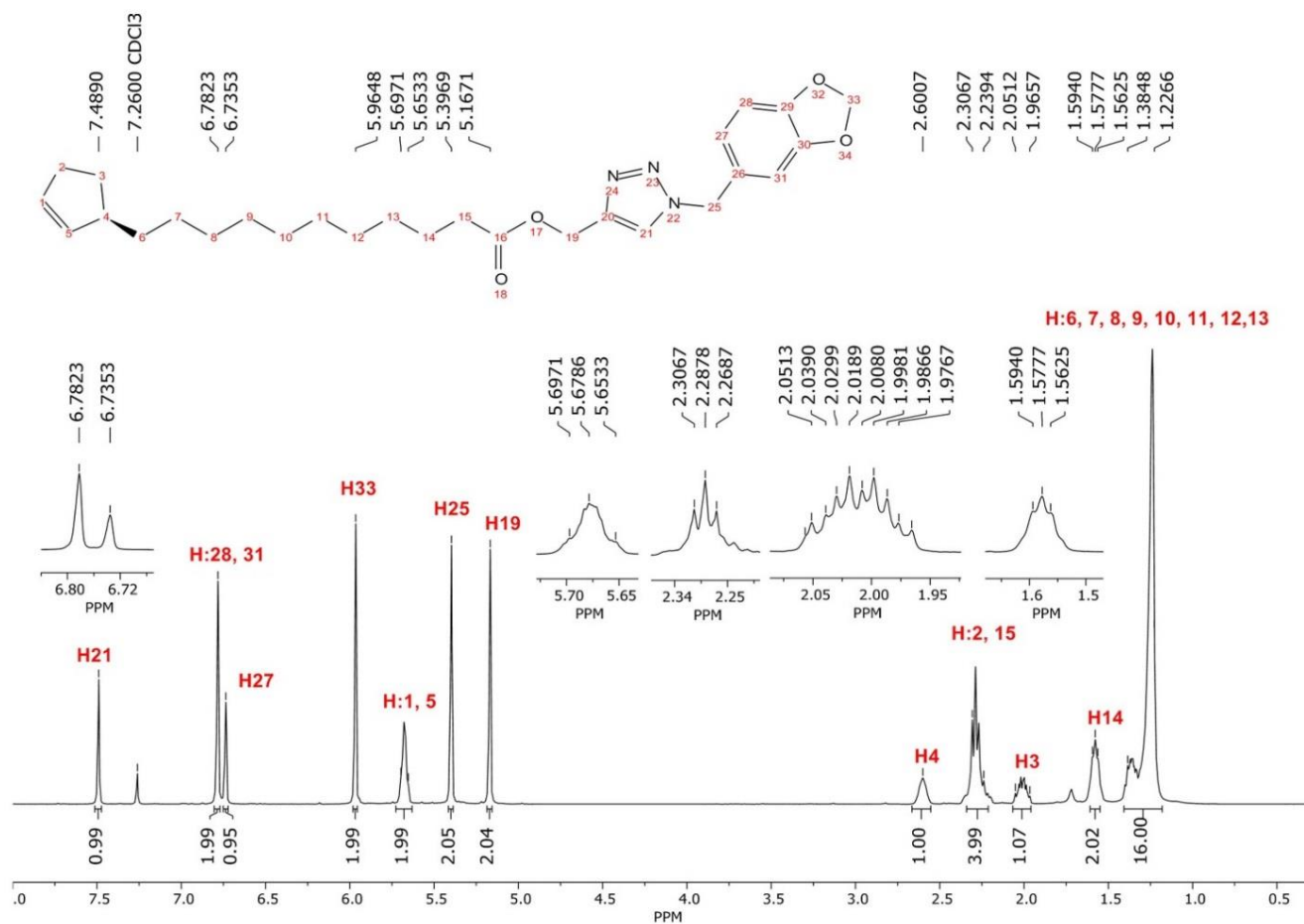
Fonte: Autoria própria

Figura 108. Espectro FTIR (ATR) do derivado triazólico.T8.



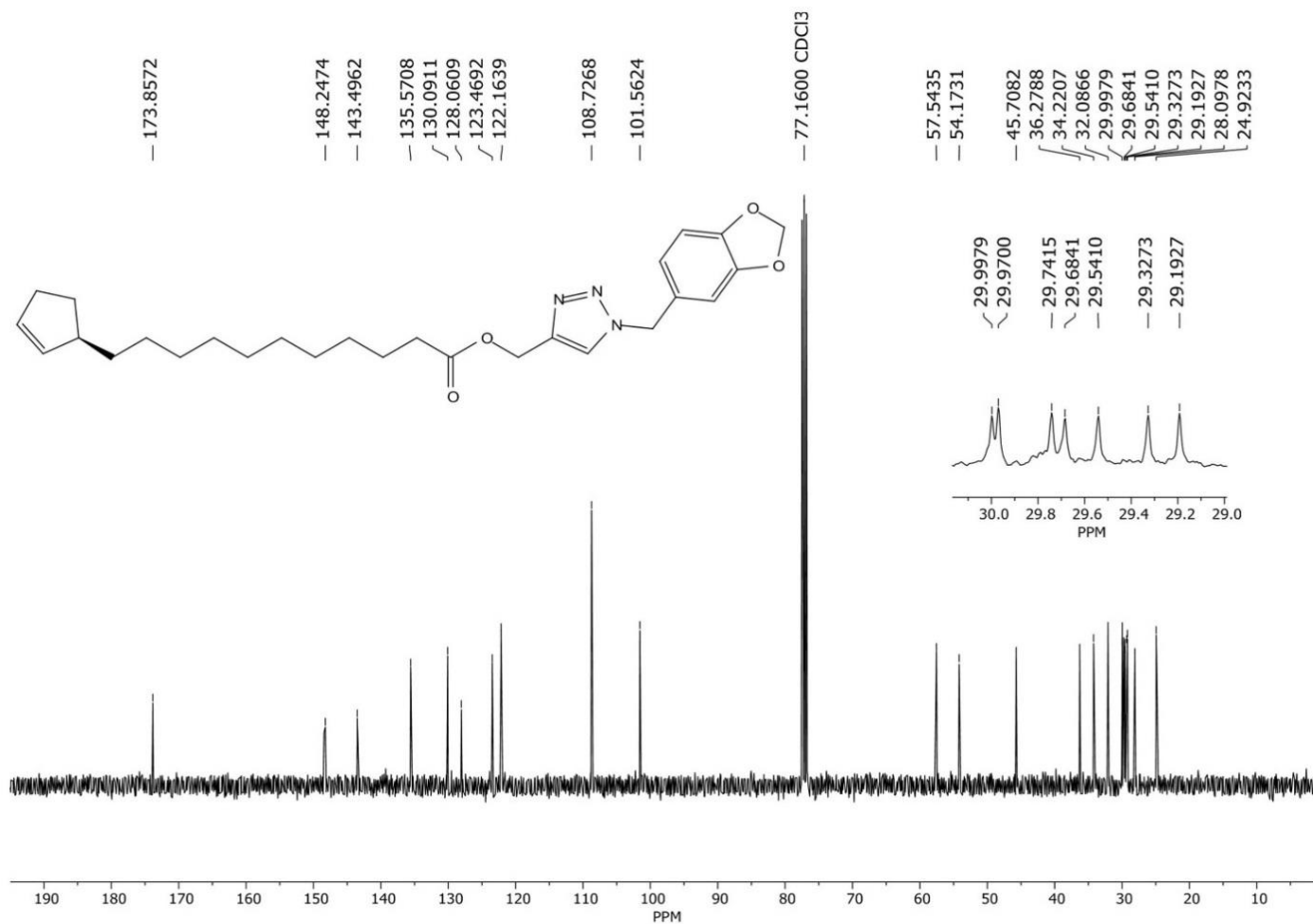
Fonte: Autoria própria

Figura 109. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T8. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



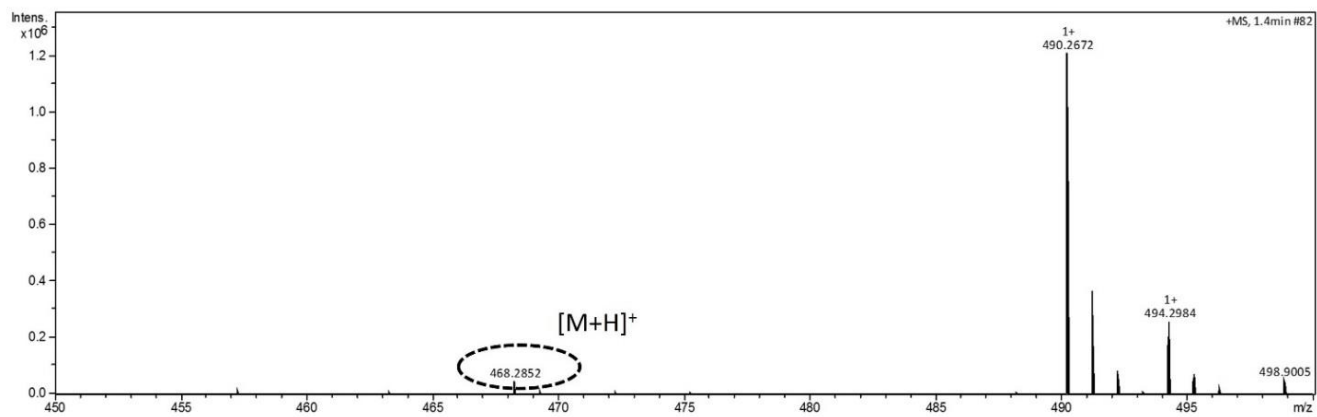
Fonte: Autoria própria

Figura 110. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) do derivado triazólico T8. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



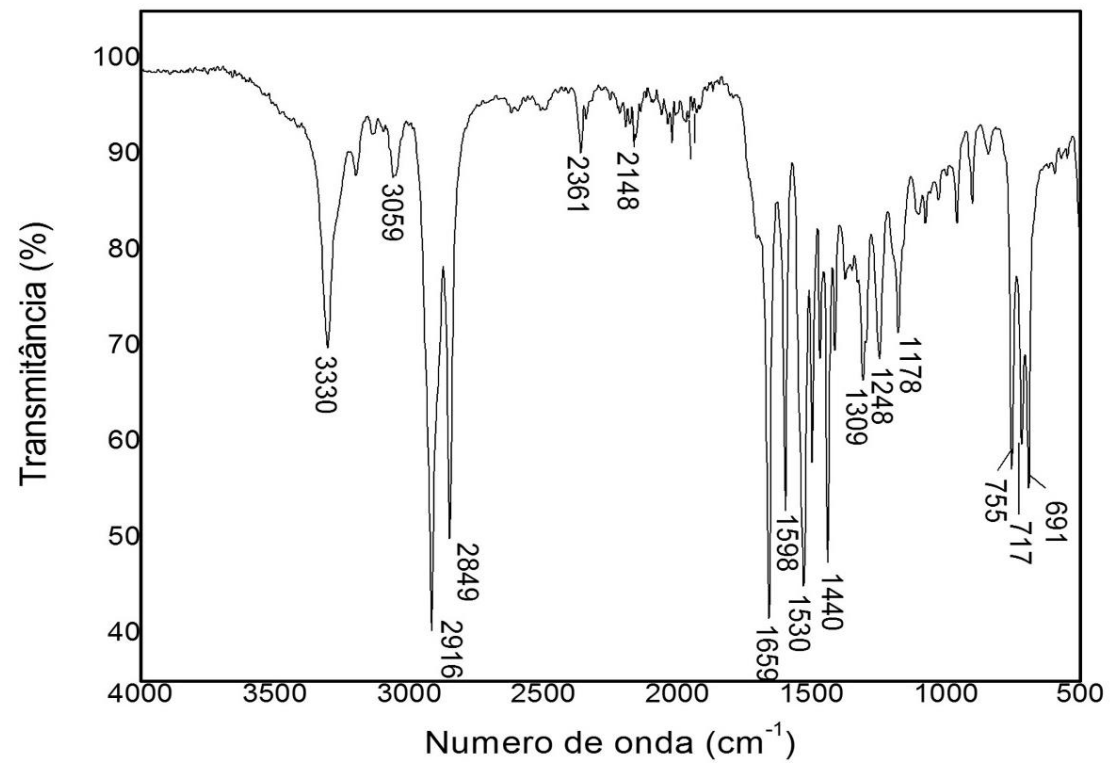
Fonte: Autoria própria

Figura 111. Espectro de ESI(+)-QTOF do derivado triazólico T8.



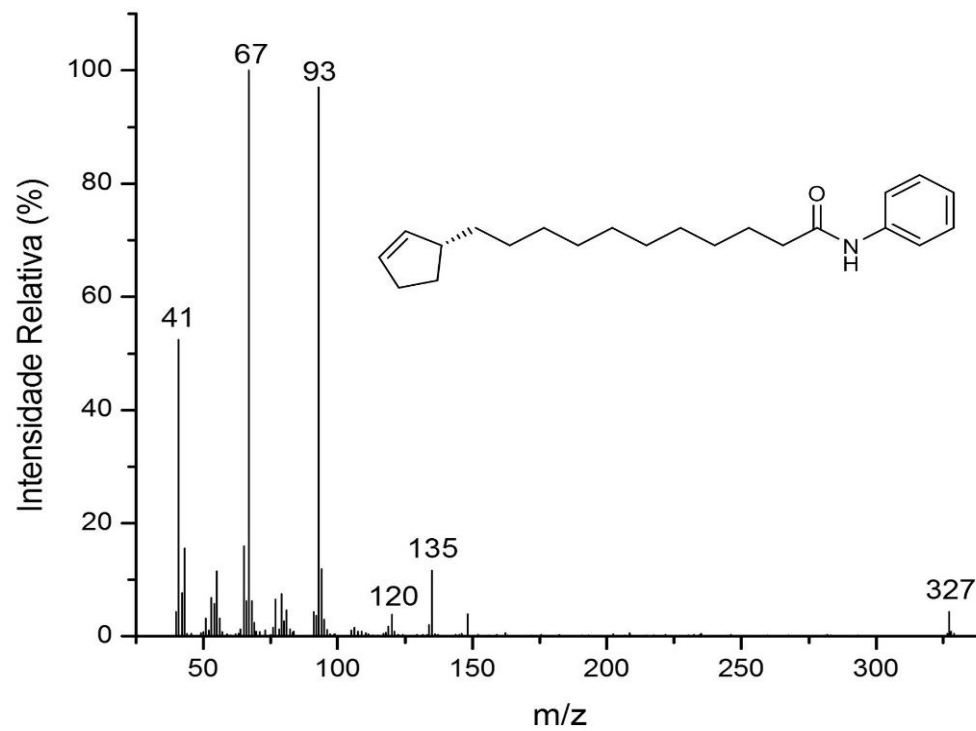
Fonte: Autoria própria

Figura 112. Espectro FTIR (ATR) da amida.A1.



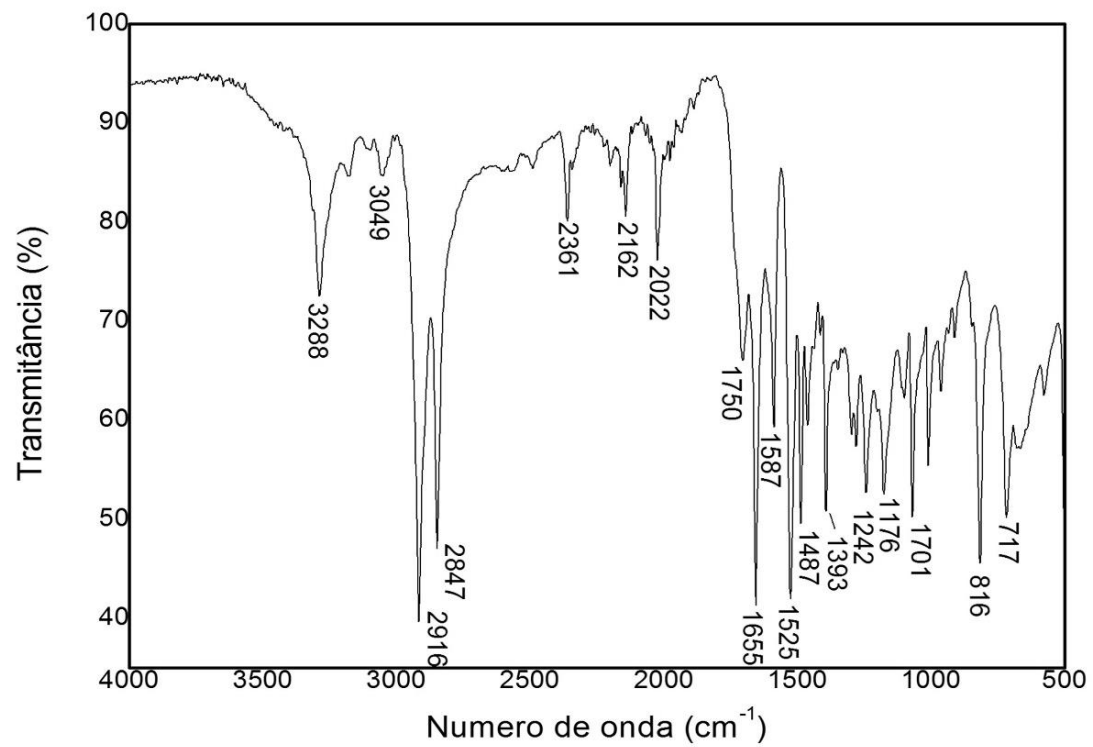
Fonte: Aatoria própria

Figura 113. Espectro EI-MS (EI, 70 eV) da amida A1.



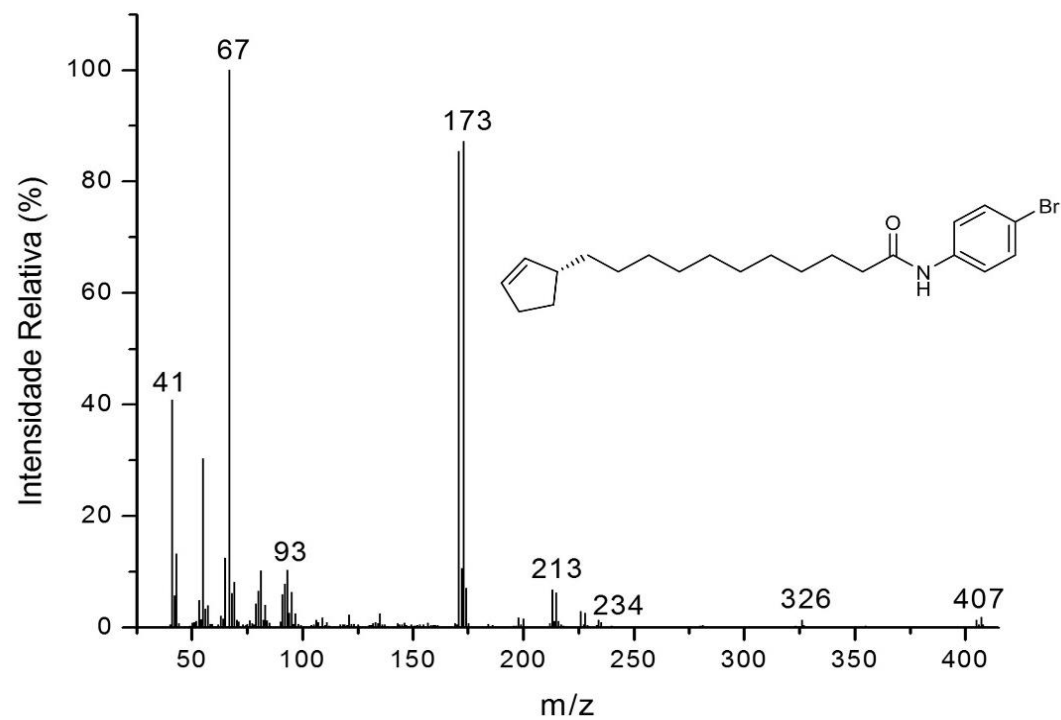
Fonte: Autoria própria

Figura 114. Espectro FTIR (ATR) da amida.A2.



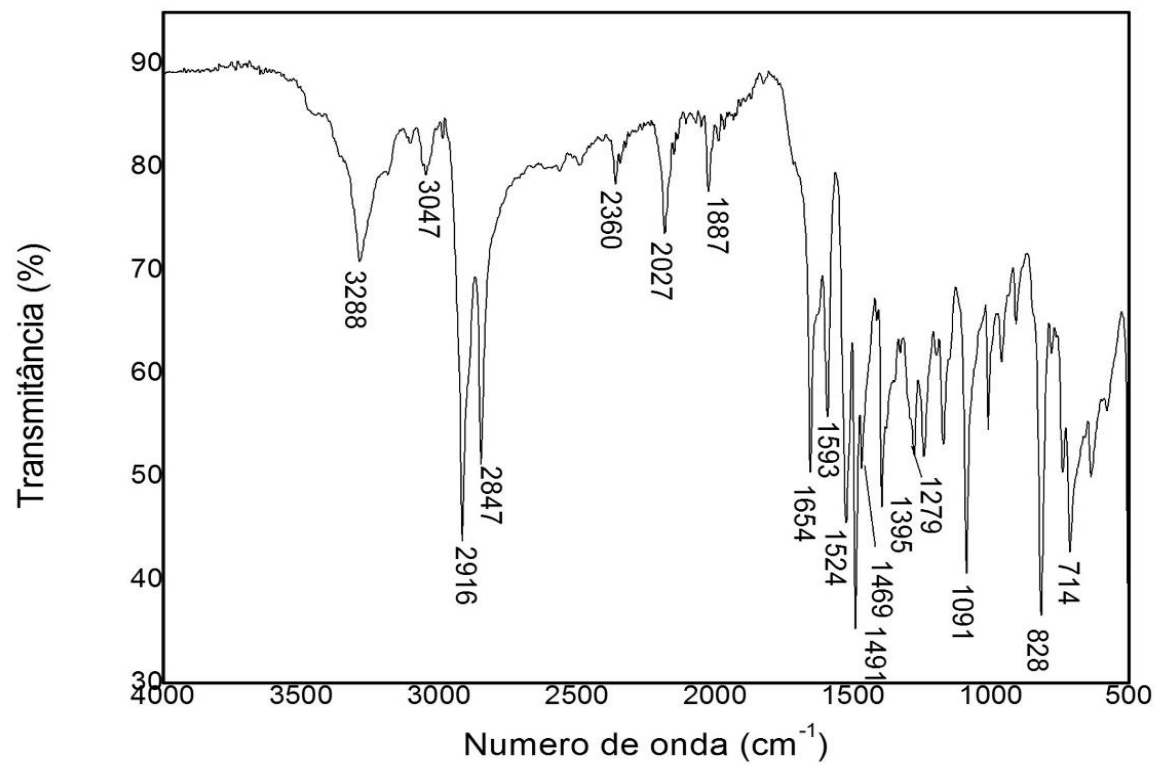
Fonte: Autoria própria

Figura 115. Espectro EI-MS (EI, 70 eV) da amida A2.



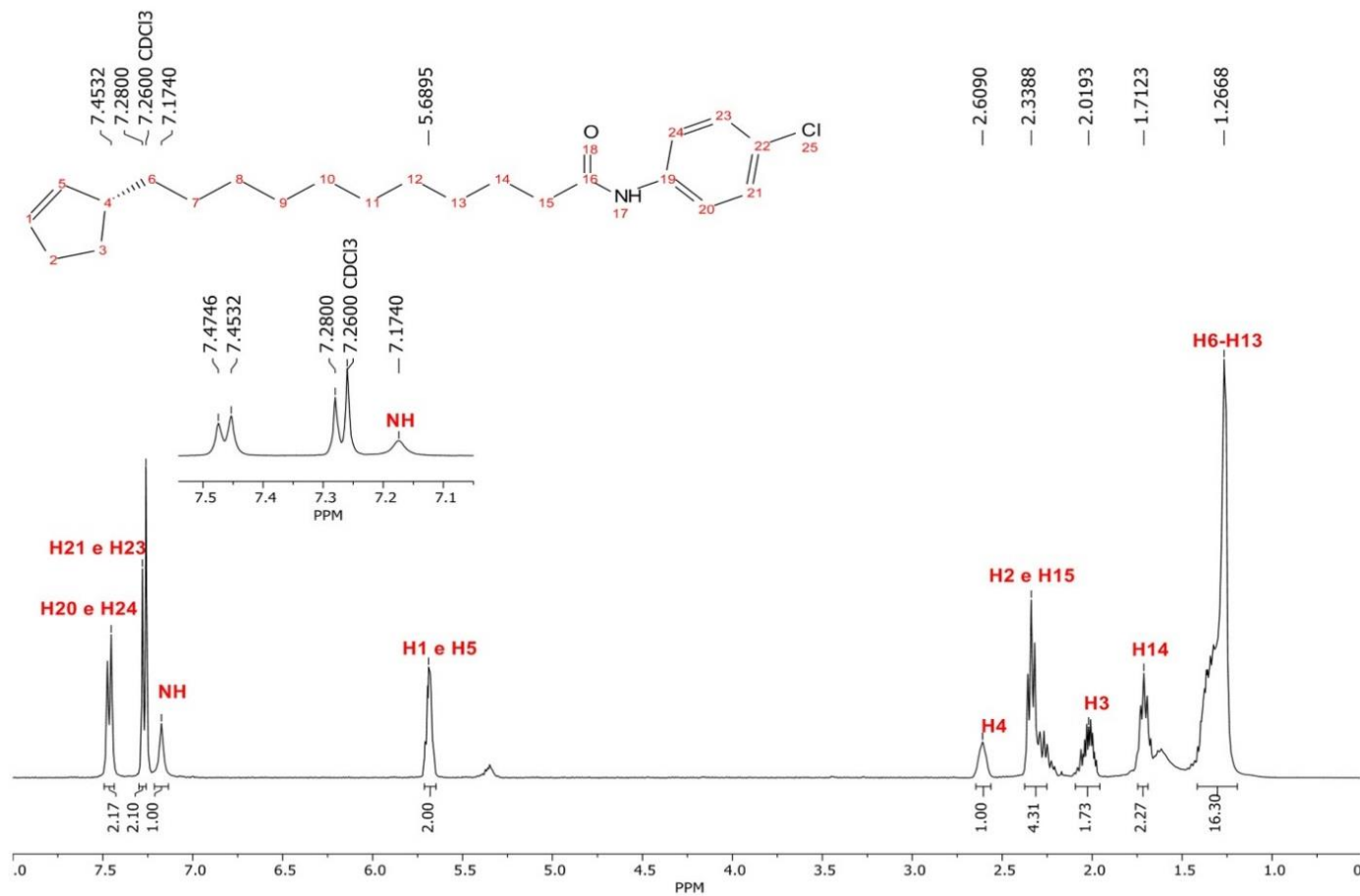
Fonte: Autoria própria

Figura 116. Espectro FTIR (ATR) da amida.A3.



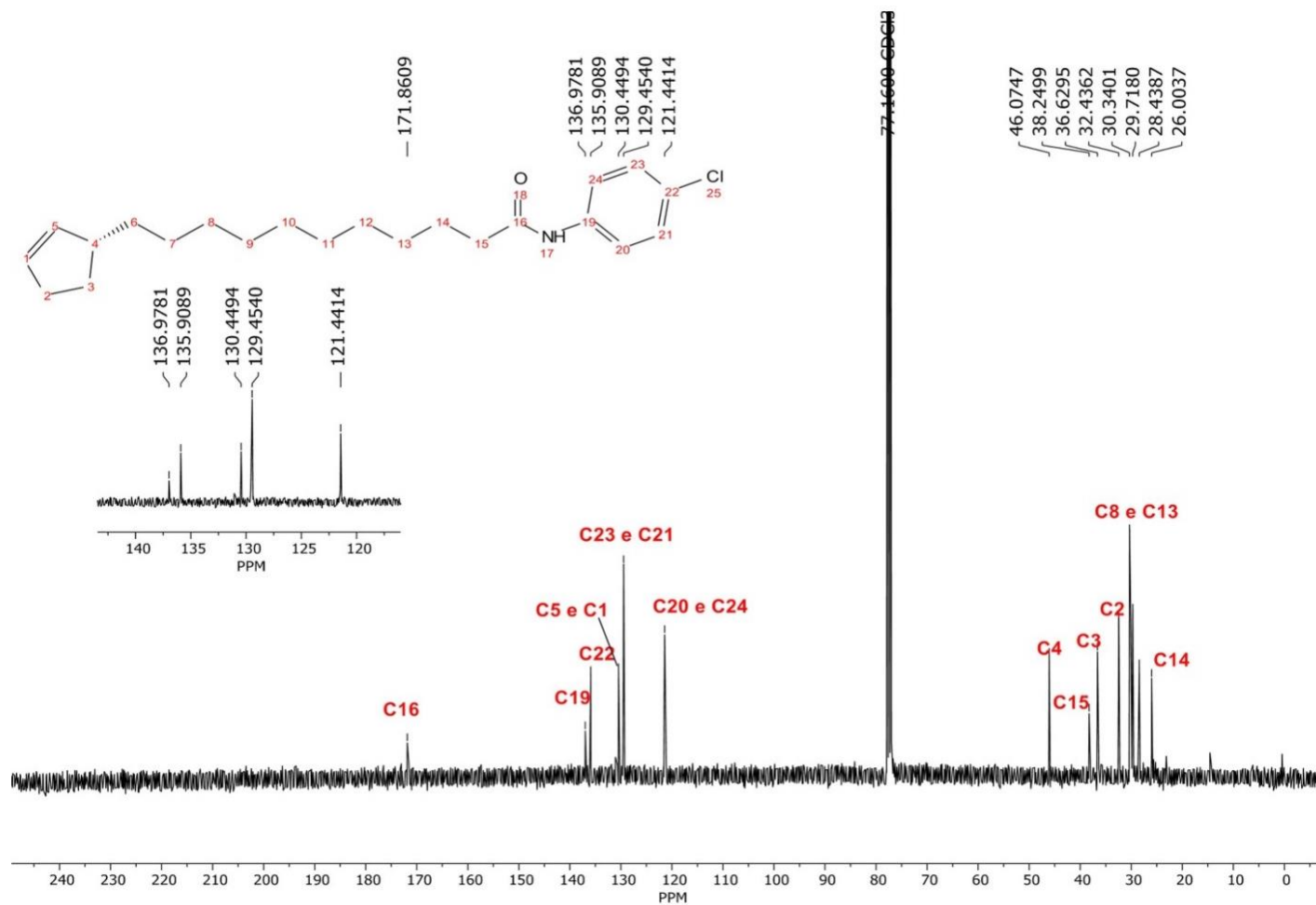
Fonte: Autoria própria

Figura 117. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro.



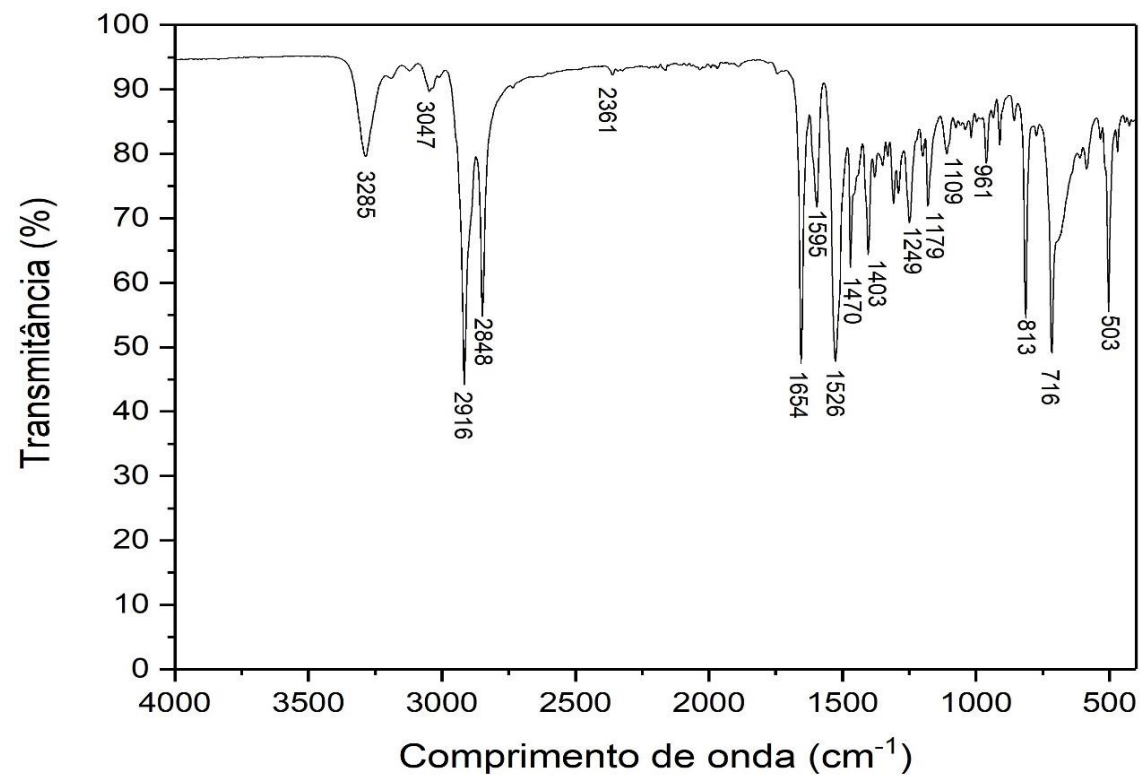
Fonte: Autoria própria

Figura 118. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) da amida A3. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



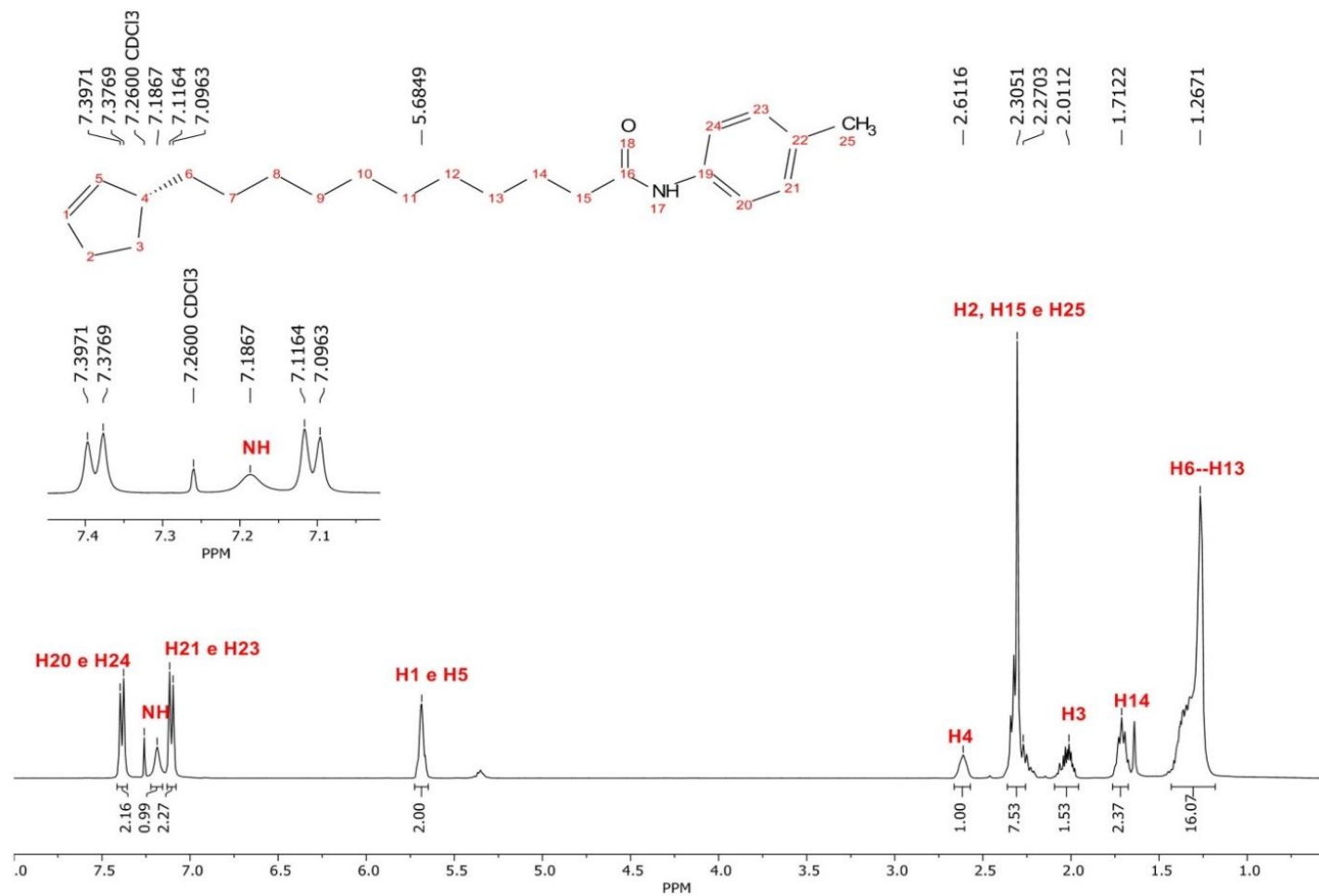
Fonte: Autoria própria

Figura 119. Espectro FTIR (ATR) da amida.A5.



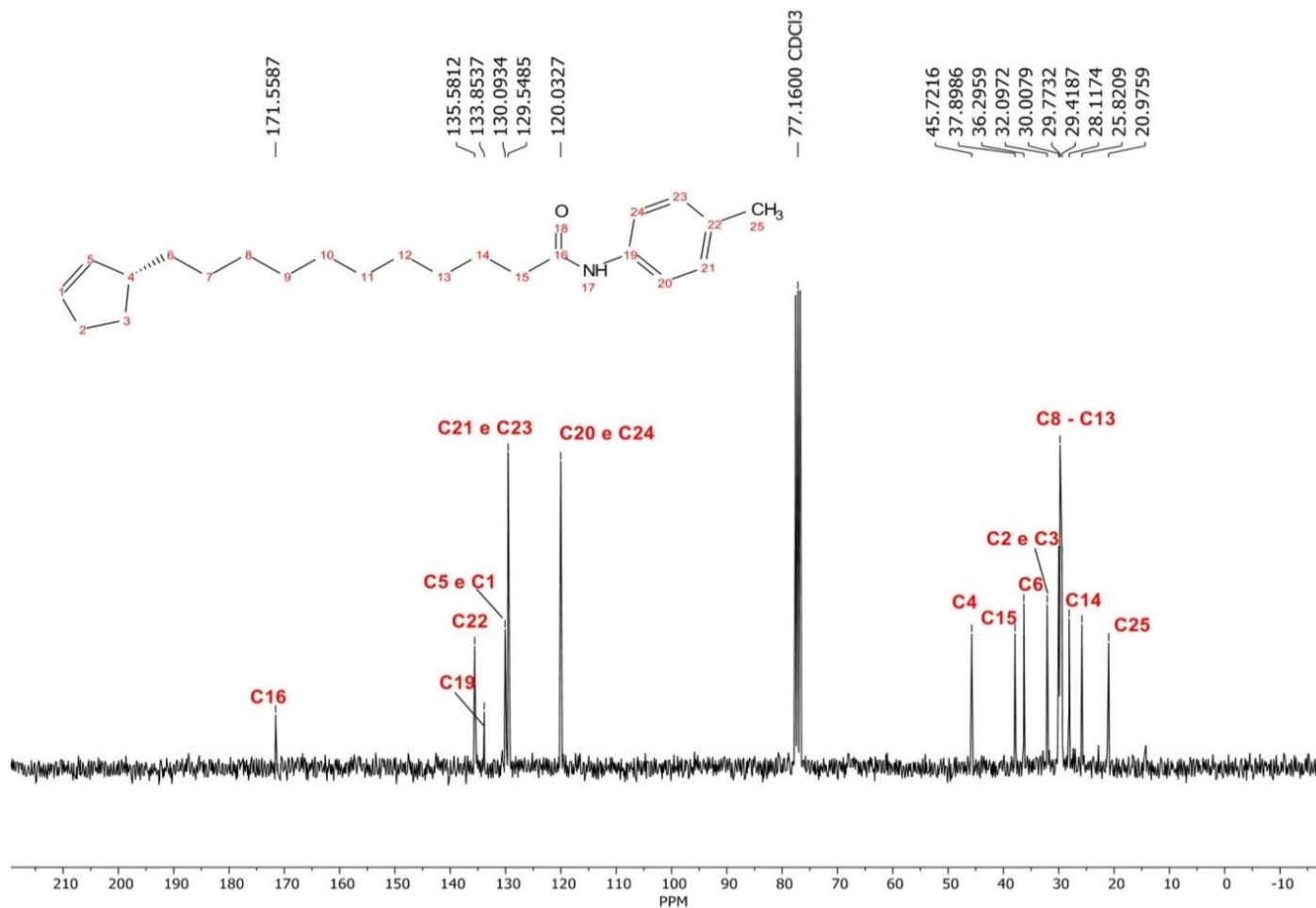
Fonte: Autoria própria

Figura 120. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



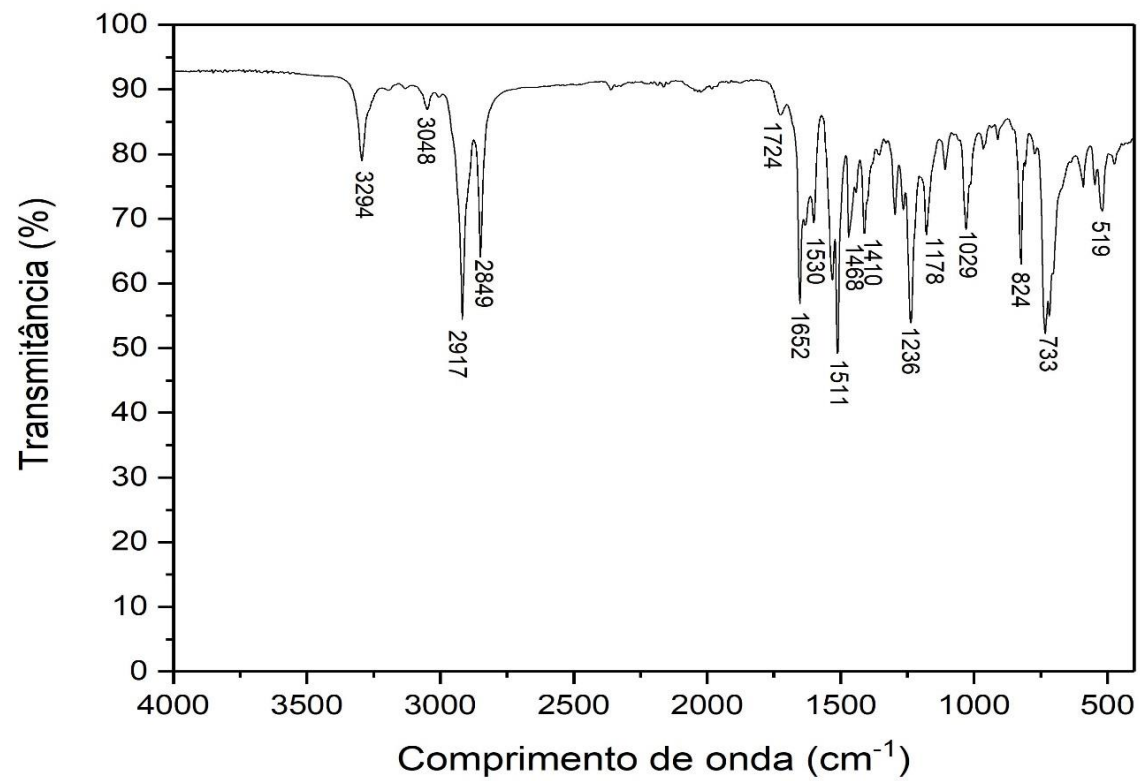
Fonte: Autoria própria

Figura 121. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) da amida A5. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



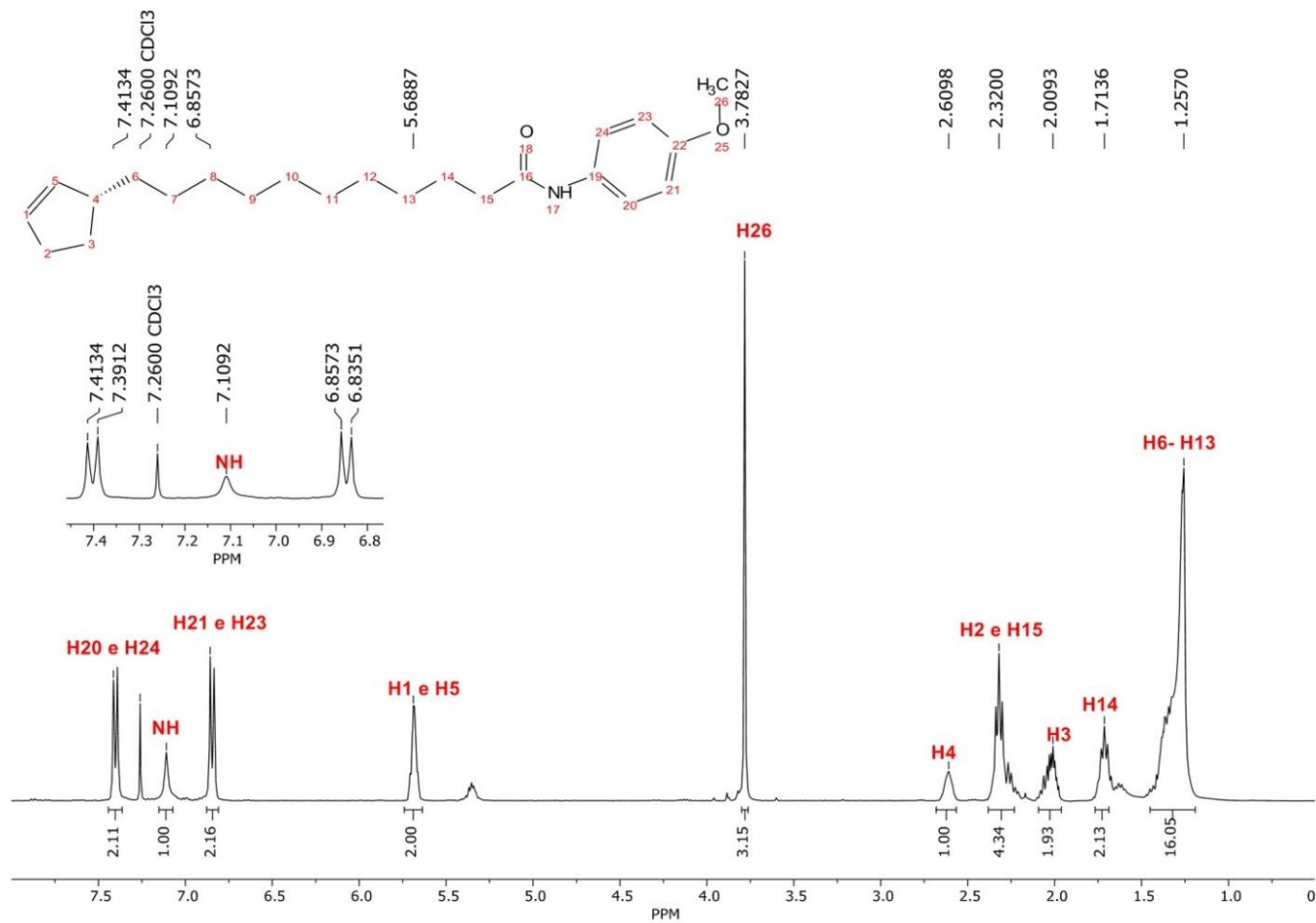
Fonte: Autoria própria

Figura 122. Espectro FTIR (ATR) da amida.A6.



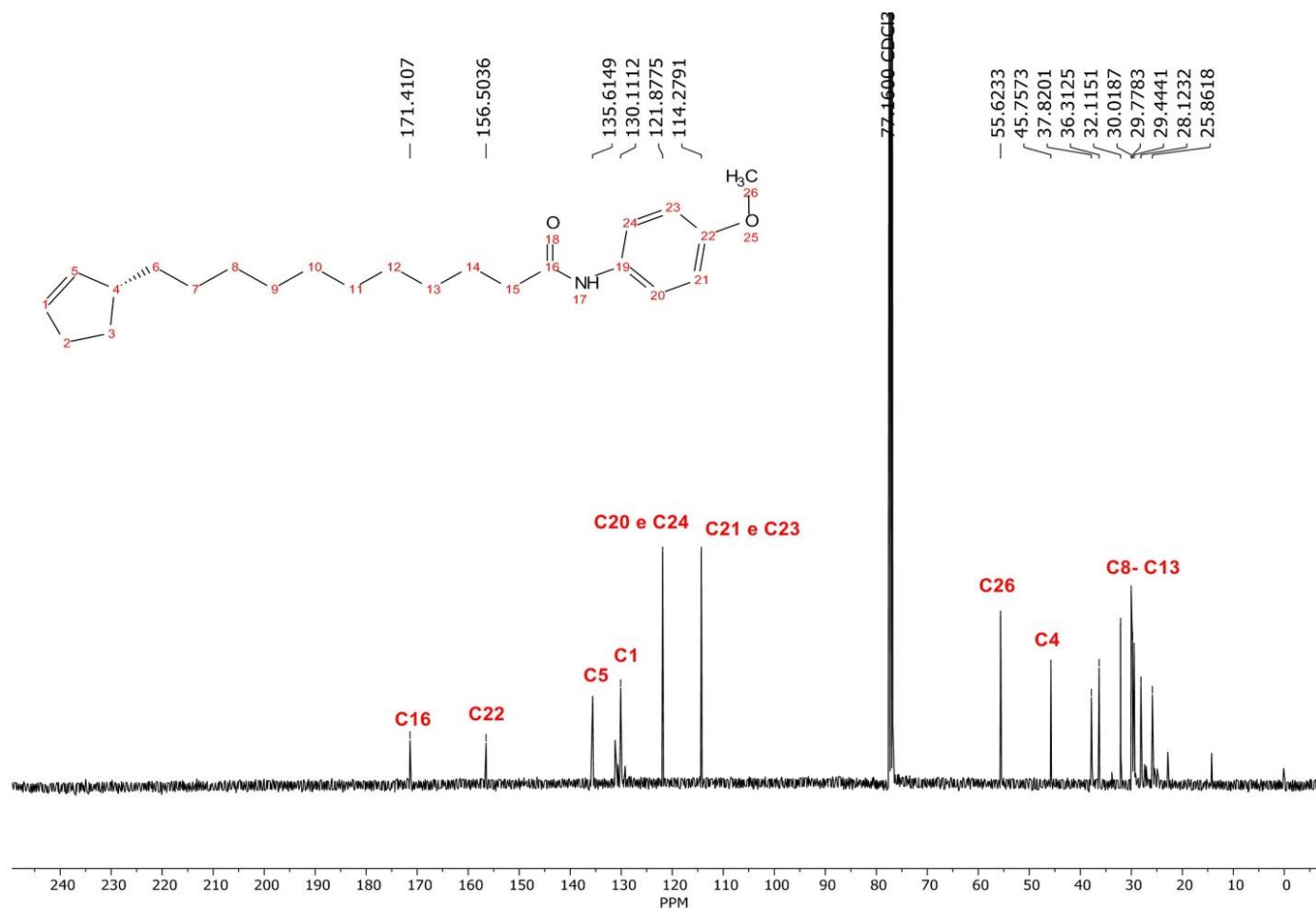
Fonte: Autoria própria

Figura 123. Espectro de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



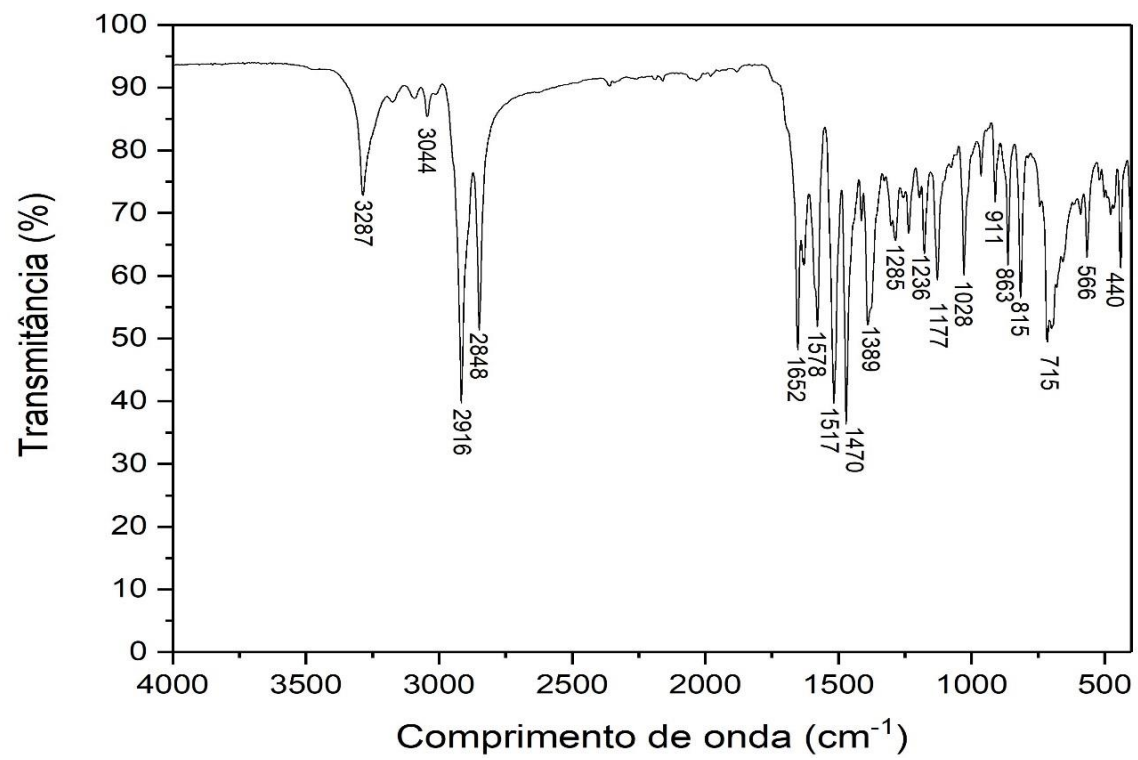
Fonte: Autoria própria

Figura 124. Espectro de ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) da amida A6. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os carbonos no espectro.



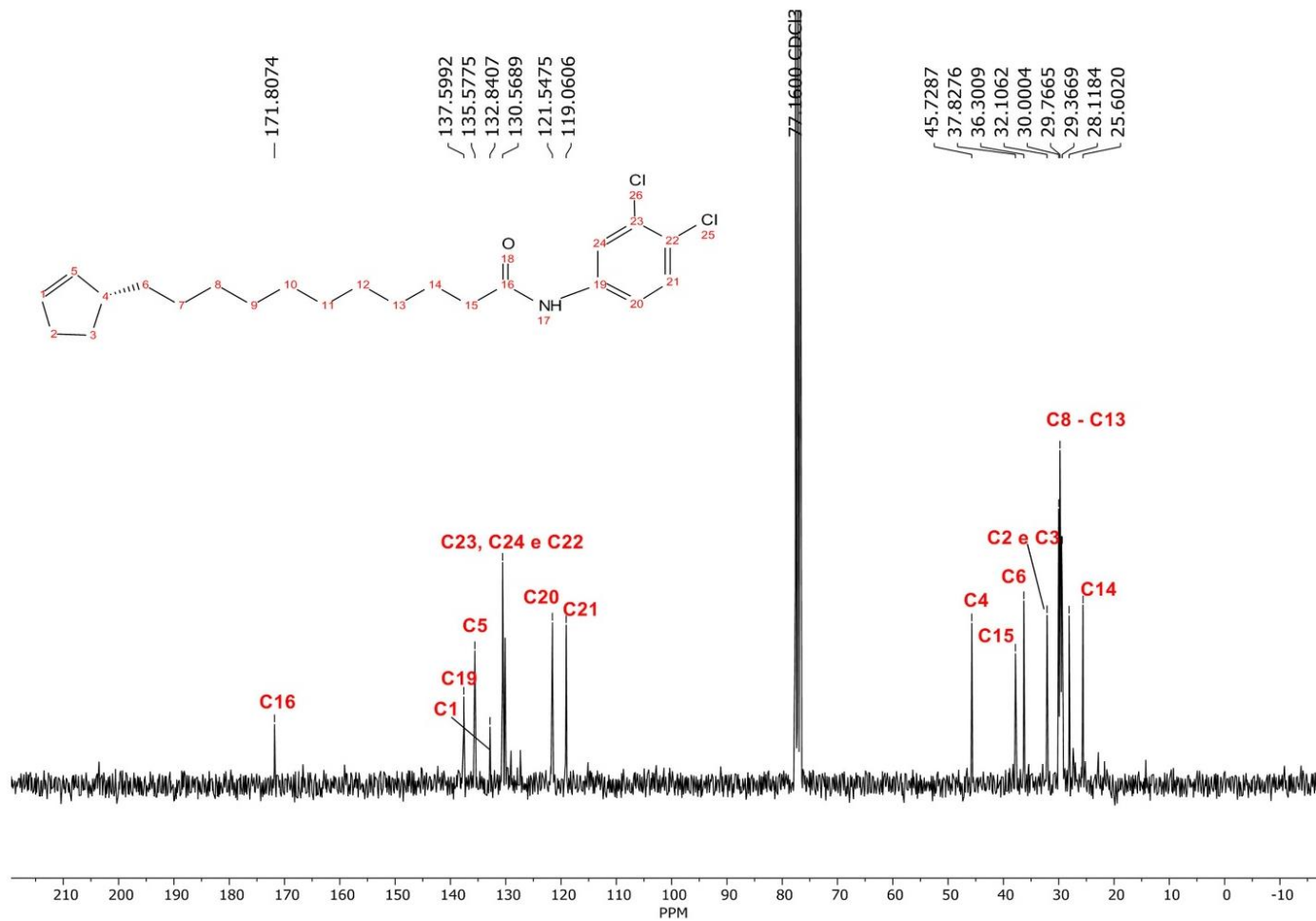
Fonte: Autoria própria

Figura 125. Espectro FTIR (ATR) da amida.A7.



Fonte: Autoria própria

Figura 127. Espectro de ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl_3) da amida A7. A numeração da estrutura não segue a nomenclatura da IUPAC. Foi usado apenas para assinar os hidrogênios no espectro



Fonte: Autoria própria