

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Planejamento, Síntese e Avaliação *in vitro* de Híbridos 1,2,3-triazol-4-  
Clorometilcumarinas com Potencial Atividade Antioxidante**

ANNA CAROLINA SCHNEIDER ALVES

PORTO ALEGRE, 2017.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Planejamento, Síntese e Avaliação *in vitro* de Híbridos 1,2,3-triazol-4-  
Clorometilcumarinas com Potencial Atividade Antioxidante**

Dissertação apresentada por  
Anna Carolina Schneider Alves  
ao Pós-graduação em Ciências  
Farmacêuticas (PPGCF-  
UFRGS) para obtenção do  
GRAU DE MESTRE em  
Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dra<sup>a</sup> Vera Lucia Eifler-Lima

PORTO ALEGRE, 2017.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 22.03.2017, pela banca constituída por:

Prof. Dr. Aloir Antonio Merlo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Gilsane Lino Von Poser

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Marcelo Dutra Arbo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Alves, Anna Carolina Schneider  
Planejamento, Síntese e Avaliação in vitro de  
Híbridos 1,2,3-triazol- 4-Clorometilcumarinas com  
Potencial Atividade Antioxidante / Anna Carolina  
Schneider Alves. -- 2017.  
122 f.

Orientadora: Vera Lucia Eifler-Lima.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa  
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2017.

1. Cumarinas. 2. Antioxidantes. 3. Click  
chemistry. 4. Síntese assistida por microondas. I.  
Eifler-Lima, Vera Lucia, orient. II. Título.

*Agradecimentos à CAPES, órgão que financiou a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho, e ao Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal e ao Laboratório de Toxicologia que disponibilizaram equipamentos e materiais necessários para a realização dos experimentos práticos na elaboração da presente dissertação.*



## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, dedico este trabalho a Deus, Autor e Consumador da minha fé. Sem Ele nada poderia ter sido feito.

Ao meu pai, meu exemplo, minha inspiração e quem sempre me incentivou a ir além em tudo que faço.

À minha mãe, que com seu cuidado e carinho me deu suporte e foi o meu “porto seguro” em meio às dificuldades.

Aos meus avós, Celeste, Maria Celina e José, por serem fonte de carinho e encorajamento.

À Andressa, minha amiga mais chegada que uma irmã, pelo companheirismo nos momentos de alegria e de tristeza.

Ao meu grande amigo e mestre, professor Daniel Kawano, pelos seus ensinamentos durante meu tempo como bolsista da graduação e como orientador de meu Trabalho de Conclusão de Curso (TCC).

À Thaís, pela oportunidade de aprender a ensinar – o que é uma experiência ímpar - e, pela amizade que se foi construindo com o passar do tempo e que se foi transformando em companheirismo e pro-atividade nos experimentos.

Ao casal Camila e Fabrício, pelo carinho, companheirismo e suporte passados, por mensagens, ligações e visitas. Deus é bom.

As minhas amigas Bianca, Jéssica, Larissa e Rafaela, pelo suporte e pelos momentos de diversão que tornaram essa jornada mais agradável.

À igreja, minha segunda família, sempre em oração, em todos os momentos de dificuldades, problemas de saúde que passei, os quais não foram poucos.

Aos meus antigos e atuais colegas do Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal pela amizade e companheirismo.

À Fabiana, pelo apoio e amizade nos momentos de dificuldade e pelas boas risadas.

À Maristela, pelo suporte técnico, pelo carinho e pelos momentos de descontração.

Às colegas do Laboratório de Toxicologia pela cumplicidade, companheirismo e pelos momentos divertidos que tivemos ao longo desses anos. Em especial à Bruna que realizou os testes *in vitro* deste trabalho.

Finalmente, à professora Vera, minha primeira orientadora na graduação e agora no mestrado, por permitir a realização deste trabalho. Por sua disposição em me orientar, compartilhar conhecimentos tornando, com isso, as tarefas que envolveram a pesquisa dinâmicas e instigantes.



## RESUMO

Cumarinas são metabólitos secundários de plantas encontrados majoritariamente nas espécies das famílias *Asteraceae*, *Rutaceae* e *Umbeliferae*. Quimicamente, são compostos fenólicos, formados pela fusão de um benzeno e de um anel  $\alpha$ -pirona, chamados de benzopironas. Elas apresentam diversas propriedades farmacológicas, associadas com baixa toxicidade. Nosso grupo de pesquisa sintetiza cumarinas pela reação de Pechmann, que ocorre através da condensação de um fenol com um  $\beta$ -cetoéster, na presença de um ácido de Bronsted ou Lewis. Um dos trabalhos mais recentes foi a síntese de 6-metil-4-clorometilcumarinas com um  $IC_{50}$  menor do que 1,6  $\mu$ M para atividade antitripanocida. Em outro trabalho, um grupo de compostos de híbridos cumarina-triazol foi sintetizado e apresentou potencial atividade como agente antitumoral. Baseado nesses trabalhos, foi planejado a síntese de análogos da 6-metil-4-clorometilcumarina via condensação de Pechmann, com diferentes substituintes na posição 6, obtidos através das reações de *click chemistry*, no intuito de aumentar a atividade antioxidante desses compostos. Assim, para obter esses compostos, foi realizada uma condensação de Pechmann com hidroquinona e 4-cloroacetoacetato de etila. Após, uma eterificação de Williamson com brometo de propargila foi feita. Finalmente, a reação de *click chemistry* foi realizada sob irradiação de micro-ondas com diversas azidas previamente sintetizadas no laboratório, conduzindo à obtenção de diversos análogos da 6-metil-clorometilcumarina que foram avaliados quanto a viabilidade celular através ensaio do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio). Também foi testada a sua capacidade antioxidante pelo método do DCFH-DA (diacetato de 2',7' -diidroclorofluoresceína). Dessa maneira, sob as condições reacionais utilizadas neste trabalho, foi possível sintetizar 12 compostos inéditos com rendimentos entre 9 e 61%. Os ensaios biológicos preliminares indicaram que os compostos sintetizados apresentam potencial atividade antioxidante e algumas moléculas tiveram potencialidade como agente citotóxico.

Palavras-chave: cumarinas; antioxidante; *click chemistry*; síntese assistida por micro-ondas.



## ABSTRACT

Coumarins are secondary plant metabolites typically found in species of the *Asteraceae*, *Rutaceae* and *Umbeliferae* families that demonstrate diverse pharmacological properties associated with low toxicity to humans. Chemically, they are phenolic compounds characterized by the fusion of benzene with an  $\alpha$ -pyrone ring, yielding the benzopyrone nucleus. Our research group usually synthesizes coumarins by the Pechmann reaction, through the condensation of phenols with  $\beta$ -ketoesters catalyzed by Bronsted or Lewis acids. One of the most recent works performed at our laboratory describes the synthesis of 6-methyl-4-chloromethylcoumarins with an  $IC_{50}$  of 1.6  $\mu$ M concerning the anti-trypanocidal activity. Another work described the syntheses of coumarin-triazole hybrids with potential activity as anticancer agents. Based on the previous works, it was designed the synthesis of 4-chloromethylcoumarins via Pechmann condensation with several substituents at the position 6 of the coumarin ring through click chemistry reactions to improve their antioxidant activities. The synthesis of the coumarins started with Pechmann condensation using hydroquinone and ethyl 4-chloroacetate followed by functionalization of the phenolic hydroxyl with propargyl bromide via Williamson ether synthesis. Subsequently, the click chemistry reactions were performed under microwave irradiation using different organic azides previously synthesized at our laboratory, yielding several 6-substituted-4-chloromethylcoumarin analogues which were evaluated for cell viability through MTT 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. Their antioxidant capacity was also tested by the DCFH-DA (2',7'-dihydrochlorofluorescein diacetate) method. Therefore, under the reaction conditions used in this study, it was possible to synthesize 12 novel compounds with yields between 9 and 61%. Preliminary biological assays indicated that the compounds synthesized have potential antioxidant activity and some molecules had potential as an antitumor agent.

Keywords: Antioxidant, click chemistry, coumarins, microwave assisted synthesis.



## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	23
1. SÍNTESE DE HÍBRIDOS 4-CLOROMETIL-6-TRIAZOL-CUMARINAS.....	29
1.1. INTRODUÇÃO.....	31
1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
1.4. EXPERIMENTAL.....	46
1.4.1. 4-(prop-2-iniloxi)fenol.....	46
1.4.2. Condensação de Pechmann.....	46
1.4.3. Síntese de Williamsom - Propargilação.....	48
1.4.4. Procedimento Geral Para as Azidas Aromáticas.....	50
1.4.5. Procedimento Geral para Obtenção de Azidas Alifáticas.....	52
1.4.6. Formação de Triazóis por Click Chemistry.....	53
2. AVALIAÇÃO BIOLÓGICA IN VITRO DE HÍBRIDOS 4-CLOROMETIL-6-TRIAZOL-CUMARINAS.....	61
2.1. INTRODUÇÃO.....	63
2.2. Materiais e Reagente para os ensaios in vitro.....	65
2.2.1. Ensaio DCF-DA.....	66
2.2.2. Ensaio MTT.....	67
2.2.3. Análise Estatística.....	67
2.3. Resultados e Discussões.....	68
2.3.1. Ensaios de Viabilidade (MTT) em células saudáveis.....	68
2.3.2. Ensaios de Capacidade antioxidante em células (DCF-DA).....	70
2.4. Conclusões e Perspectivas.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	75
ANEXOS.....	83

### Esquemas

Esquema 1. Condensação de Knoevenagel e Perkin, respectivamente.....	34
Esquema 2. Condensação de Pechmann.....	34
Esquema 3. Proposta de Mecanismo para Click Chemistry <sup>45</sup> .....	36
Esquema 4. Rota Sintética Proposta Inicialmente.....	38
Esquema 5. Rota Sintética Atual (US: Ultrassom, MW: microondas).....	38
Esquema 6. Síntese de azidas aromáticas (23-31).....	39

Esquema 7. Síntese de Azidas Alifáticas(32-35) .....	39
Esquema 8. Eterificação partindo de 49 .....	47
Esquema 9. Eterificação da 4-Clorometil-6-hidroxicumarina .....	48

## **Figuras**

Figura 1. Núcleo comum das cumarinas.....	24
Figura 2. Reação de Pechmann. ....	24
Figura 3. Híbridos triazóis-7-hidroxi-4-metilcumarinas.....	32
Figura 4. 4-Clorometilcumarinas e seus respectivos valores de IC <sub>50</sub> epimastigotas de Trypanosoma cruzi .....	33
Figura 5. Esqueleto dos compostos a serem sintetizados .....	37
Figura 6. Espectro FT-IR do LaSOM 311 .....	44
Figura 7. Cadeia Respiratória - Produção de ROS.....	64
Figura 8. Representação da clivagem do DCFH2-DA a DCF-DA por esterases .....	65
Figura 9. Avaliação da citotoxicidade na linhagem sadia de fibroblastos do LaSOM 310, 311, 313, 316, 318 e 322, em concentrações de 5 a 50 µM.....	68
Figura 10. Representação da viabilidade celular através do ensaio de MTT para cada composto testado.). .....	69
Figura 11. Avaliação da capacidade antioxidante na linhagem sadia de fibroblastos do LaSOM 310, 311, 313, 316, 318 e 322, em concentrações de 5, 10 e 50 µM.....	70
Figura 12. Representação da capacidade antioxidante através do ensaio de DCF-DA para cada composto testado.....	71

## **Tabelas**

Tabela 1 . Otimização da Síntese de Williansom.....	39
Tabela 2 . Azidas Sintetizadas.....	40
Tabela 3 . Híbridos Sintetizados e seus respectivos dados.....	42
Tabela 4 . Deslocamentos químicos da estrutura básica.....	45
Tabela 5 . Dados Azidas Aromáticas .....	51

## **Anexos**

Anexo 1. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 310 .....	85
Anexo 2. Espectro de <sup>1</sup> H do composto LaSOM 310 (400 MHz – DMSO-d <sub>6</sub> ) .....	86
Anexo 3. Espectro de <sup>13</sup> C do composto LaSOM 310 (101 MHz – DMSO-d <sub>6</sub> ) .....	87
Anexo 4. Espectro de FT-IR do composto 4-(prop-2-iniloxi)fenol .....	88
Anexo 5. Espectro de <sup>1</sup> H RMN do composto 4-(prop-2-iniloxi)fenol (400 MHz – CDCl <sub>3</sub> )...	89

Anexo 6. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 311 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	90
Anexo 7. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do $\text{CDCl}_3$ utilizado na análise do LaSOM 311 (400 MHz).....	91
Anexo 8. Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto LaSOM 311 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	92
Anexo 9. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 312.....	93
Anexo 10. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 312 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	94
Anexo 11. Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto LaSOM 312 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	95
Anexo 12. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 313.....	96
Anexo 13. Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto LaSOM 313 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	97
Anexo 14. Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto LaSOM 313 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	98
Anexo 15. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 314 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	99
Anexo 16. Espectro de FT-IR do Composto LaSOM 315 .....	100
Anexo 17. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 315 (400 MHz – $\text{DMSO-d}_6$ ) .....	101
Anexo 18. Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto LaSOM 315 (101 MHz – $\text{DMSO-d}_6$ ).....	102
Anexo 19. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 316 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	103
Anexo 20. Espectro de $^{13}\text{C}$ do composto LaSOM 316 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	104
Anexo 21. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 317 .....	105
Anexo 22. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 317 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	106
Anexo 23 . Espectro de $^{13}\text{C}$ do composto LaSOM 317 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	107
Anexo 24. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 318.....	108
Anexo 25. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 318 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	109
Anexo 26. Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do composto LaSOM 318 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	110
Anexo 27. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 319 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	111
Anexo 28. Espectro de $^{13}\text{C}$ do composto LaSOM 318 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	112
Anexo 29. Espectro de $^{13}\text{C}$ do composto LaSOM 319 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	113
Anexo 30. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 320.....	114
Anexo 31. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 320 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	115
Anexo 32. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 321 .....	116
Anexo 33. Espectro de $^1\text{H}$ do composto LaSOM 321 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ).....	117
Anexo 34. Espectro de $^{13}\text{C}$ do composto LaSOM 321 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	118
Anexo 35. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 322.....	119
Anexo 36. Espectro de $^1\text{H}$ RMN do composto LaSOM 322 (400 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	120
Anexo 37. Espectro de $^{13}\text{C}$ do composto LaSOM 322 (101 MHz – $\text{CDCl}_3$ ) .....	121





## Lista de Abreviaturas

$^1\text{H}$  RMN - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1

$^{13}\text{C}$  RMN - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

$\text{CDCl}_3$  - Clorofórmio Deuterado

d – Duplete

dd – Duplo duplete

DCFH-DA - Diacetato de 2',7' –diidroclorofluoresceína

DMSO – Dimetilsulfóxido

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

FT-IR Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

$\text{IC}_{50}$  – Concentração capaz de inibir 50% da atividade enzimática ou do crescimento celular

$J$  – Constante de acoplamento

m - Multiplete

MTT – Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazólio

$R_f$  – Fator de Retenção

s – Singleto



## **EQUIPAMENTOS E TÉCNICAS**

### **Análises Cromatográficas**

As análises por cromatografia em camada delgada analítica (CCD) foram realizadas em placas de sílica Merck 60 F254. As separações por cromatografia em coluna foram realizadas utilizando Sílica Gel 60 para coluna cromatográfica 0.063 – 0.2 mm, marca Fluka.

### **Determinação do Ponto de fusão (PF)**

As análises de ponto de fusão foram realizadas no equipamento Fisatom Mod. 431 (São Paulo, Brasil), pertencente ao LaSOM/UFRGS, não sendo corrigidas.

### **Reator de Micro-ondas (MO)**

As reações em reator de micro-ondas foram realizadas no equipamento reator de micro-ondas CEM Discover BenchMate System (Matthews, EUA), pertencente ao LaSOM/UFRGS.

### **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em espectrômetro Anasazi operando na frequência de 60 MHz e 15 MHz, respectivamente, e no espectrômetro Ascend operando na frequência de 400 MHz e 101 MHz, respectivamente. Os dados foram adquiridos conforme os parâmetros fornecidos pelo equipamento e processados no software MestRenova 6.0.2. Os valores de deslocamento químico foram expressos em partes por milhão (ppm), utilizando tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os solventes utilizados nas análises foram DMSO- $d_6$  e  $\text{CDCl}_3$ . As constantes de acoplamento estão representadas pela letra *J* e expressas em Hz. As notações utilizadas para a multiplicidade dos sinais nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram: s (simpleto), d (duplete), t (triplete), q (quarteto), e m (multiplete).

### **Espectroscopia na região do Infravermelho**

Os espectros de infravermelho foram gerados em espectrofotômetro de infravermelho Spectrum BXII Perkin Elmer pertencente ao Programa de Pós-Graduação de

Ciências Farmacêuticas. Os espectros foram gerados por Transformada de Fourier (FT- IR) sendo que as vibrações axiais e angulares estão expressas em  $\text{cm}^{-1}$ .

### **Plano de gerenciamento de resíduos**

O Plano de Gerenciamento de Resíduos (PGR) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) é um conjunto de procedimentos de planejamento e gestão que tem o intuito de minimizar a produção de resíduos e proporcionar aos resíduos gerados um encaminhamento seguro e de forma eficiente.

Os resíduos químicos líquidos foram coletados conforme as normas contidas no Plano de Gerenciamento de Resíduos da faculdade de Farmácia através da Comissão de Saúde e Ambiente de Trabalho (COSAT), ou seja, em frascos de 1 litro de boca larga. No início da utilização dos frascos os mesmos são rotulados, preenchendo informações sobre o tipo de resíduo, a sala, o telefone, a data do início do envase, o responsável e o pH da solução final, sendo os mesmos preenchidos até aproximadamente oitenta por cento da capacidade. Os resíduos sólidos são armazenados em recipientes plásticos, rotulados e enviados para aterro.

\*Os solventes utilizados neste trabalho foram previamente purificados, quando necessário, conforme PERRIN, D.D.; ARMAREGO, W.L.F. Purification of Laboratory Chemicals, 5ª ed. New York: Butterworth-Heinemann, 2003, p.608.





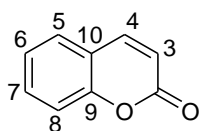
## INTRODUÇÃO GERAL

Desde o surgimento da humanidade, há relatos do uso de plantas com finalidade terapêutica. Ao longo dos anos, a indústria farmacêutica passou a utilizar essas plantas para o isolamento dos compostos ativos e para a investigação das atividades farmacológicas exercidas por estes. Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, foi possível desenvolver análogos mais ativos do que os fármacos naturais como é o caso da codeína e da naloxona, derivados sintéticos da morfina cuja síntese total é complexa e gera um isômero inativo, sendo unicamente obtida de fonte natural<sup>1,2</sup>. As cumarinas são um grupo de produtos naturais e metabólitos secundários de plantas encontradas no reino vegetal. Podem ser detectadas nas sementes, hastes, frutos, flores e raízes, sendo mais encontrados nas flores e frutos<sup>3</sup> e, também, podem serem encontradas em bactérias e fungos<sup>4,5</sup>.

Originalmente, a cumarina foi isolada por Vogel em 1820 da espécie *Dipteryx odorata* e sintetizada pela primeira vez por Perkin em 1868. O nome “cumarina” provem da palavra francesa *coumarou*, que designa as sementes da planta *D. odorata*, conhecido como cumaru (*Coumarona odorata*)<sup>3,5,6</sup>. As cumarinas e seus derivados são encontrados principalmente em espécies pertencentes às famílias *Asteraceae*, *Rutaceae* e *Umbeliferae*. São descritas como metabólitos secundários de plantas, tendo como função defesa contra herbívoros e microorganismos. Bioquimicamente, essas moléculas são provenientes da fenilalanina, sintetizadas pela via ácido chiquímico.<sup>3,5,7,8</sup>

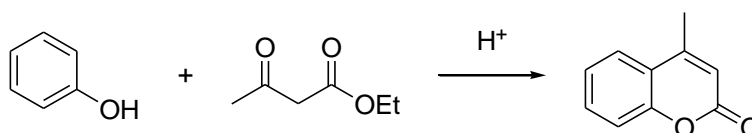
As cumarinas são encontradas em plantas comum à medicina tradicional e à etnomedicina, sendo encontrado registros inclusive nos sistemas de Medicina Ayurveda e de Medicina Tradicional Chinesa<sup>3</sup>. Podemos encontrar esses compostos, por exemplo, no cumaru, lavanda e canela<sup>9</sup>. Conseqüentemente, estão despertando interesse na indústria farmacêutica, por mostrarem propriedades farmacológicas diversas e relevantes, associadas à baixa toxicidade<sup>4,5</sup>.

Estruturalmente, compreendem um grande grupo de compostos fenólicos, formados da fusão de um bezeno e um anel  $\alpha$ -pirona, conhecidos como benzopironas. São lactonas do ácido *o*-hidróxi-cinâmico (2*H*-1-benzopiran-2-onas), sendo o representante mais simples a 1,2-benzopirona<sup>10,11</sup> (Figura 1).



**Figura 1.** Núcleo comum das cumarinas.

A síntese de cumarinas pode ocorrer por vários tipos de reações, dentre elas a reação de Pechmann, condensação de Knoevenagel, rearranjo de Claisen, Perkin, Reformatski, Wittig, além da reação de ciclização catalítica. A reação de Pechmann permite a síntese de cumarinas pela condensação de um fenol com  $\beta$ -cetoéster, (Figura 2), conduzindo ao produto metilado na posição 4 com bons rendimentos. Essa reação origina várias cumarinas e é realizada em presença de um ácido de Brønsted ou de Lewis<sup>12</sup>.



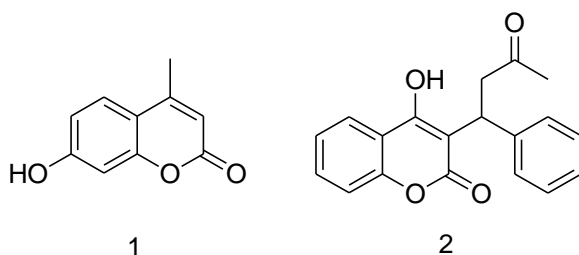
**Figura 2.** Reação de Pechmann.

As cumarinas possuem uma extensa variedade de efeitos farmacológicos: anticoagulante, fotossensibilizante, antimicrobiano, antiviral (HIV), antifúngico, vasodilatador, sedativo, hipnótico, imunossupressor, anti-inflamatório, antibacteriano, antitumoral e citotóxica, antileishmaniose, analgésico e hipotérmico<sup>5,14,16,17,18,19</sup>. Existem relatos de que elas possam estar envolvidas também na inibição da glutathione-S-transferase de filárias, o que mostra que este sistema pode ser um bom ponto de partida para o desenvolvimento de agentes que combatam a filariose<sup>20</sup>.

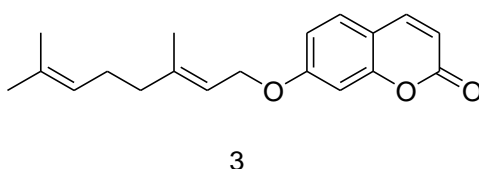
Um exemplo dos representantes desta classe é a 7-hidroxycumarina, também conhecida como umbeliferona (**1**), precursora *in vivo* das cumarinas 6,7-di-hidroxiladas e 6,7,8-tri-hidroxiladas, que pode apresentar-se metilada ou glicosilada nos vegetais<sup>21</sup>. Esta cumarina é importante por ser a precursora do primeiro fármaco descoberto com ação anticoagulante por via oral, a varfarina (**2**), e, ainda, constitui-se como protótipo para desenvolvimento desta classe<sup>16,22,23</sup>. Dentre as aplicações deste medicamento podem ser destacadas seu efeito anticoagulante, espasmolítico, bacteriostático, anti-HIV, antifúngico e herbicida<sup>24</sup>. Ainda, há estudos que demonstram um potencial antitumoral para a varfarina<sup>25</sup>. Em relação à atividade anticoagulante, além da varfarina, o acenocumarol e o femprocumona são muito utilizados para profilaxia e tratamento de trombose arterial e venosa. Todos atuam como antagonistas da vitamina K através da enzima epóxido



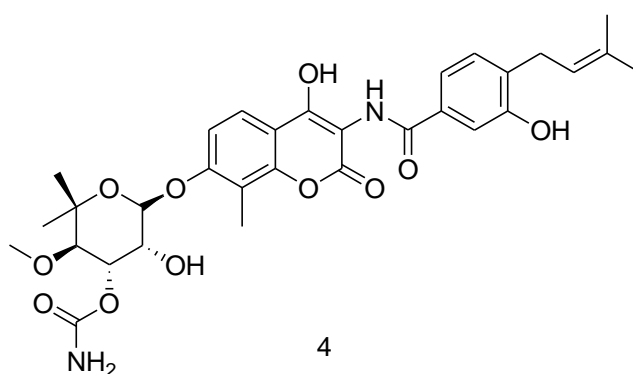
redutase<sup>3,7</sup>.



O aurapteno (**3**) possui uma cadeia lateral hidrofóbica, constituída de 10 átomos de carbono e duas insaturações, que podem ser relevantes para as atividades encontradas em doenças degenerativas e nos casos de câncer<sup>27</sup>. Esta cumarina também demonstrou atividade antileishmanicida através da inibição do crescimento das formas promastigotas de *Leishmania major*<sup>27,28</sup>.



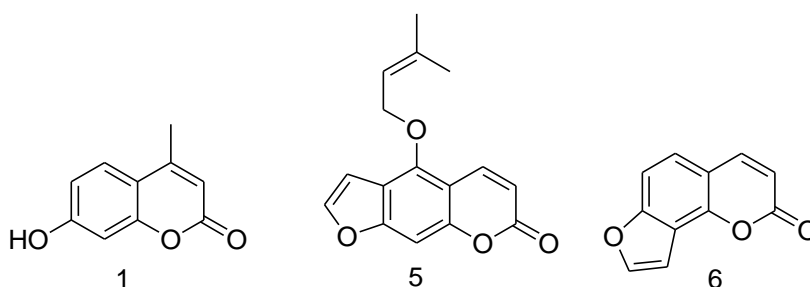
Outro exemplo é a aminocumarina novobiocina (**4**), um antibiótico natural produzido pelo actinomiceto *Streptomyces spheroides*, da ordem *Actinobacteria*. Esta aminocumarina é um potente agente inibidor da DNA-girase bacteriana, mesmo alvo das quinolonas<sup>29</sup>.



O núcleo cumarínico (1,2-benzopirano) por si só já apresenta atividade anti-inflamatória bem estabelecida embora bi e tri-heterociclos e 1-azacumarinas com anéis benzofuranos, furanos e tiazóis também apresentem potencial atividade anti-inflamatória em modelos animais<sup>5</sup>. Sugere-se esse efeito provavelmente ao potencial redutor de espécies reativas de oxigênio (ERO's) proveniente dos processos inflamatórios<sup>30</sup>. Essa

capacidade antioxidante desses compostos é descrita em vários trabalhos e deve-se provavelmente às hidroxilas ligadas ao anel aromático. Dessa forma, adquirem a capacidade de remover os ERO's, prevenindo a formação eicosanoides da via de supressão de inflamação do ácido araquidônico<sup>8</sup>.

Entre outras atividades descritas para esse grupo de moléculas, a atividade antitumoral vem se destacando, estando associada à regulação da resposta imune, crescimento e diferenciação celular, ou, sinergicamente, com os ácidos *trans* retinóicos<sup>31</sup>. Entre estes, o dicumarol, que era comumente utilizado como anticoagulante, removido atualmente do uso terapêutico, tem se destacado por apresentar atividade antiproliferativa, estando relacionado à ligação da tubulina e à estabilização da dinâmica dos microtúbulos. A varfarina tem sido usada na quimioterapia, em linhagens celulares V2 de linfócitos, macrófagos e granulocitose, e a umbeliferona **1**, em câncer de pulmão<sup>7</sup>. Outros estudos apontam inibição da proliferação celular em células de carcinoma gástrico, de cólon (CaCo-2), hepáticas (HepG2) e linfoblásticas (CEM CCRF) por esses compostos que, além de inibirem a angiogênese, induzem a apoptose<sup>30</sup>.



Essas substâncias são extensamente utilizadas na indústria como adoçante, fixador de perfumes, intensificador de óleos naturais, aditivo alimentar em combinação com a vanilina, flavorizante em cigarros, mascaramento do odor de tintas, como redutor de porosidade e no aumento do brilho de depósitos metálico, a exemplo do níquel. Dessa forma, pode-se ver que elas estão muito presentes no nosso dia-a-dia, refletindo, em parte, a baixa toxicidade da maioria dos compostos cumarínicos. Em doses elevadas, cerca de 1900 vezes a dose proveniente da alimentação e dos cosméticos, pode causar irritação na mucosa, gerando erupções cutâneas.<sup>30,32</sup>

Elas são metabolizadas pelo citocromo P-450, resultando na hidroxilação anterior a fase II de conjugação. Geralmente a hidroxilação ocorre nas posições 3 e 7 (3-OCH ou 7-OCH). 3-OHC pode ainda ser metabolizado, sem sofrer ação enzimática, ao ácido O-hidroxifenil-lático e ao ácido O-hidroxifenilacético. Os metabólitos gerados na fase II são

na maioria glicuronídeos conjugados. Concernente à farmacocinética, tanto a cumarina quanto a 7-OHC são classificadas em modelo de dois compartimentos em que a via de administração não afeta o tempo de meia-vida. Isso levou alguns autores a considerarem a cumarina como um pro-fármaco, uma vez que é rapidamente metabolizado a 7-OHC<sup>30</sup>.

Assim, considerando a importância das cumarinas do ponto de vista farmacológico e se baseando nos resultados anteriores do nosso grupo de pesquisa<sup>30,32,33</sup>, esse trabalho propõe a inserção de 1,2,3-triazóis na posição 6 do anel cumarínico com a finalidade de aumentar a atividade antioxidante destes compostos. Poucos autores descrevem substituições nessa posição que geralmente são mais simples do que os triazóis, sendo a maioria metiladas ou acetiladas<sup>12</sup>.

Dessa forma, esta dissertação está dividida em dois capítulos, como descritos a seguir:

- No primeiro capítulo será relatado a síntese da 4-clorometil-6-hidroxicumarina através da condensação de Pechmann, que será utilizada como material de partida para a formação de 12 híbridos cumarina-1,2,3-triazóis.
- O capítulo 2 descreve os testes antioxidantes *in vitro* realizados utilizando os híbridos sintéticos descritos no capítulo 1.



## **CAPÍTULO 1**

### **1. SÍNTESE DE HÍBRIDOS 4-CLOROMETIL-6-TRIAZOL-CUMARINAS**

---



O texto do capítulo 1, que no texto completo da dissertação defendida ocupa as páginas 29-59, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Consta da descrição do processo de planejamento, síntese e purificação dos híbridos 4-clorometil-6-triazol-cumarinas.



































































## **CAPÍTULO 2**

### **1. AVALIAÇÃO BIOLÓGICA *IN VITRO* DE HÍBRIDOS 4-CLOROMETIL-6-TRIAZOL-CUMARINAS**

---



O texto do capítulo 2, que no texto completo da dissertação defendida ocupa as páginas 61-72, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Consta da descrição da avaliação biológica in vitro dos híbridos 4-clorometil-6-triazol-cumarinas.























## CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Este trabalho teve como finalidade a síntese de 12 híbridos cumarina-1,2,3-triazóis inéditos a partir a 4-clorometil-6-hidroxicumarina, composto também inédito. Após uma modificação na rota sintética e a otimização da etapa que se obtém o alcino da cumarina, foi possível obter esses compostos. Mesmo que alguns rendimentos tenham sido baixos (9-61%), cabe ressaltar que a reatividade na posição 6 é diminuída se comparada a posição 7 e, além disso, existem poucos relatos na literatura de compostos sintéticos com substituições em C6. A 4-clorometil-6-hidroxicumarina e 5 dessas moléculas foram testadas frente a linhagem de fibroblasto de camundongo (3T3) a fim de avaliar a viabilidade celular e capacidade antioxidante.

Os ensaios biológicos *in vitro* preliminares indicaram promissora atividade antioxidante dos compostos sintetizados, bem como uma possível atividade antitumoral para alguns, que deve ser investigado com maior profundidade. Em relação a atividade antioxidante, o LaSOM 316, 318 e 322 foram os com resultados mais significativos, porém apenas o LaSOM 322 não foi citotóxico, sendo, portanto, o mais promissor. Com exceção do LaSOM 322, os compostos testados foram citotóxicos em células sadias, isto poderia ser um indício de que estes compostos poderiam ser potenciais agentes tumorais, porém este aspecto deve ser melhor estudado. Estão em andamento os testes de triagem de 6 moléculas sintetizadas neste trabalho, assim poderemos selecionar mais adequadamente os compostos mais promissores.



## REFERÊNCIAS

- [1] PATRICK, G.L., SPENCER, J. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. New York, Oxford University Press, 2009.
- [2] BUSS, A. D.; COX, B.; WAIGH, R. D. Natural Products as Leads for New Pharmaceuticals. In: ABRAHAM, D.J. **Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery** 6 ed., Vol 1, Wiley-Interscience, 2003, p 238-239.
- [3] MATOS, M. J.; SANTANA, L.; URIARTE, E.; ABREU, O. A.; MOLINA, E.; YORDI, E. G. Coumarins — An Important Class of Phytochemicals. (Org) **Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health**, In: Dr. RAO V., 2015, InTech, DOI: 10.5772/59982. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/phytochemicals-isolation-characterisation-and-role-in-human-health/coumarins-an-important-class-of-phytochemicals>.
- [4] MURRAY, R. D. H. Coumarins. **Nat. Prod. Rep.** 1989, 591-618.
- [5] HOULT, J.R.S.; PAYÁ, M. Pharmacological and Biochemical Actions of Simple Coumarins: Natural Products with Therapeutic Potential. **Gen. Pharmacol.**, 1996, 27, 713-722.
- [6] SOINE, T. O.; Naturally occurring coumarins and related physiological activities. **J. Pharm. Sci.**, 1964, 53, 3, 231-264.
- [7] WU, L.; WANG, X.; XU, W.; FARZANEH, F.; XU, R. The Structure and Pharmacological Functions of Coumarins and Their Derivatives **Curr. Med. Chem.** 2009, 16, 4260.
- [8] DIGHE, N. S.; PATTAN, S. R.; DENGALÉ, S. S.; MUSMADE, D. S.; SHELAR, M.;

TAMBE, V.; HOLE, M. B. Synthetic and pharmacological profiles of coumarins: A review. **Arc. Apl. Sci. Res.**, 2, 2, 65-71.

[9] EGAN, D.; O'KENNEDY, R.; MORAN, E.; COX, D.; PROSSER; THORNES, D. THE PHARMACOLOGY. Metabolism analysis and applications of compounds coumarin and coumarin related. **Drug Met. Rev.** 1990, 22,5, 503-529.

[10] KUSTER, R. M.; ROCHA, L. M. CUMARINAS, CROMONAS E XANTONOMAS. IN: SIMÕES, C. O. S. et al. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/UFRGS/ Ed. da UFSC, 2003. p. 537-556.

[11] PATEL, A.K.; PATEL, N.H.; PATEL, M.A.; BRAHMBHATT, D.I. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some 4-aryl-2,6-di(coumarin-3-yl)pyridines. **Arkivoc**, 2010, 28-38.

[12] BORGES, F.; ROLEIRA, F.; MILHAZES, N.; SANTANA, L; URIARTE, E. Simple Coumarins and Analogues in Medicinal Chemistry: Occurrence, Synthesis and Biological Activity. **Curr. Med. Chem.** 2005, 12, 887-916.

[13] GOTTLIEB, O.; KAPLAN, M.A.C.; BORIN, M.R. M.B. **Biodiversidade, um enfoque químico-biológico**, Rio de Janeiro, Editora UFRJ, 1996.

[14] GUILLET, D.; HÉLESLEUX, J.J.; SÉRAPHIN, D.; SÉVENET, T.; RICHMME, P.; BRUNETON, J. Novel Cytotoxic 4-Phenylfuranocoumarins from *Calophyllum dispar*. **Journal of Natural Products**, 2001, 64, 563-568.

[15] OJALA, T. **Biological Screening of Plant Coumarins**. Academic Dissertation, University of Helsinki. 2001.

- [16] PIZZOLATTI, M.G.; CRISTIANO, R.; MONACHE, F.D.; BRANCO, A. Artefatos cumarínicos isolados de *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae). **Rev. bras. farmacogn.** 2002, 12, 1, 21-26.
- [17] VERMELHO, R.B.; CALLEJON, D.R.; FELICIANO, P.R.; CONTINI, S.H.T.; BARUFFI, M.; NONATO, M.C.; LOPES, J.L.C. **Síntese e Avaliação Biológica de Derivados Cumarínicos**. In: 15° SIICUSP. 2007.
- [18] LUCHINI, A.C. Tese. Universidade Estadual Paulista, 2009.
- [19] SHI, Y.; ZHOU, C.H. Synthesis and evaluation of a class of new coumarin triazole derivatives as potential antimicrobial agents. **Bioorgan. Med. Chem. Lett.**, 2011, 21, 956-960.
- [20] TRIPATHI, R.P.; TRIPATHI, R. BHADURI, A.P.; SINGH, S.N.; CHATTERJEE, R.K.; MURTHY, P.K. Antifilarial activity of some 2H-1-benzopyran-2-ones (coumarins). **Acta Tropica**. 2000, 76, 101-106.
- [21] VAZ, M.M., MOREIRA, G. CUMARINAS. **Química dos Produtos Naturais**, Universidade Federal do Pará, 2009.
- [22] HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. **The pharmacological basis of therapeutics**. Ed. Goodman e Gilman's. 9ed. New York: McGraw Hill, 1996.
- [23] EDWARDS, A.J.; PRICE, R.J.; RENWICK, A.B.; LAKE, B.G. Lack of effect of coumarin on unscheduled DNA synthesis in the in vivo rat hepatocyte DNA repair assay. **Food Chem Toxicol**, 2000, 38, 403-409.
- [24] JOULE, J. A.; MILLS, K. Benzopyryliums and benzopyrones: reactions and synthesis. IN:

KANCHEVA, V.D.; BORANOVA, P.V.; NECHEV, J.T.; MANOLOV, I.I. **Biochimie**, 2010, 92, 1138-1146.

[25] BHATTACHARYYA, S.S.; PAUL, S.; MANDAL, S.K.; BANERJEE, A.; BOUJEDAINI, N.; KHUDA-BAKSH, A.R. A synthetic coumarin (4-methyl-7 hydroxy coumarin) has anti-cancer potentials against DMBA-induced skin cancer in mice. **Eur. J. Pharmacol.** 2009, 614, 128-136.

[26] CURINI, M.; CARVOTTO, G.; EPIFANO, F.; GIANNONE, G. Chemistry and biological activity of natural and synthetic prenyloxycoumarins. **Curr. Med. Chem.**, 2006, 13, 199-222.

[27] IRANSHAHI, M.; ARFA, P.; RAMEZANI, M.; JAAFARI, M.R.; SADEGHIAN, H.; BASSARELLO, C.; PIACENTE, S.; PIZZA, C. Sesquiterpene coumarins from *Ferula szowitsiana* and in vitro antileishmanial activity of 7-prenyloxycoumarins against promastigotes. **Phytochemistry**, 2007, 68, 554-561.

[28] NAPOLITANO, H.B.; SILVA, M.; ELLENA, J.; RODRIGUES, B.D.G.; ALMEIDA, A.L.C.; VIEIRA, P.C.; OLIVA, G.; THIEMANN, O.H. Aurapten, a coumarin with growth inhibition against *Leishmania major* promastigotes. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 2004, 37, 1847-1852.

[29] SMITH C. G., DIETZ A., SOKOLSKI W. T., SAVAGE G. M. Streptonivicin, a new antibiotic. I. Discovery and biologic studies. **Antibiot. Chemother.**, 1956, 6, 135–142.

[30] SOARES, F.G.N. **Síntese de 4-aminocumarinas, avaliação da atividade antichagásica e análise toxicológica**. PPGCF. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado 2015.

[31] RIVIERO, O.; SHAYO, C.; MONEZOR, F.; FERNANDEZ, N.; BALDI, A.; DE KIMPE, N.; ROSSI, J.; DEBENEDETTI, S.; DAVIO, C. Induction of cell differentiation in human

leukemia U-937 cells by 5-oxygenated-6,7-methylenedioxcoumarins from *Pterocaulon polystachyum* **Cancer Lett.** 2004, 210, 179-188.

[32] TORRES, F. C. **Isolamento de cumarinas de espécies de Pterocaulon (Asteraceae) e síntese de 4-metilcumarinas.** PPGCF, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado, 2014.

[33] TORRES, F.C., BRUCKER, N.; ANDRADE, S.F.; KAWANO, D.F; GARCIA, S.C.; VON POSER, G.L.; EIFLER-LIMA, V.L. New Insights into the Chemistry and Antioxidant Activity of Coumarins. **Curr. Top. Med. Chem.** 2014, 14, 24, 2600-2623.

[34] VIANNA, D. R; RUSCHEL, L.; DIETRICH, F.; FIGUEIRÓ, F.; MORRONE, F. B.; CANTO, R. F. S.; CORVELLO, F.; VELHO, A.; CRESTANI, A.; TEIXEIRA, H.; VON POSER, G. L.; BATTASTINI, A. M. O.; EIFLER-LIMA, V. L. 4-Methylcoumarins with cytotoxic activity against T24 and RT4 human bladder cancer cell lines. **Med. Chem. Comm.**, 2015 ,6, 905-911.

[35] BUBOLS, G.; VIANNA, D. R. MEDINA-REMON, A.; VON POSER, G.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M.; GARCIA, S. C.; EIFLER-LIMA, V. L. The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. **Mini-Reviews Med. Chem.**, 2013, 13, 318-334.

[36] FRANCISCO, C.S.; RODRIGUES, L.R.; CERQUEIRA, N.M.; OLIVEIRA-CAMPOS, A.M.; RODRIGUES, L.M. Synthesis of novel psoralen analogues and in vitro antitumor activity. **Eur. J. Med. Chem.** 2012, 47, 370–376.

[37] WITAICENIS, A.; LUCHINI, A.C.; HIRUMA-LIMA, C.A.; FELISBINO, S.L.; GARRIDOMESA, N.; UTRILLA, P.; GALVEZ, J.; DI STASI, L.C. Suppression of TNBS-induced colitis in rats by 4-methylesculetin, a natural coumarin: comparison with prednisolone and sulphasalazine. **Chem. Biol. Interact.** 2012, 195, 76–85.

[38] VIANNA, D.R.; HAMERSKI, L.; FIGUEIRÓ, F.; BERNARDI, A.; VISENTIN, L.C.; PIRES, E.N.S.; TEIXEIRA, H.F.; SALBEGO, C.G.; EIFLER-LIMA, V.L.; BATTASTINI, A.M.O.; VON POSER, G.L.; PINTO, A.C. Selective cytotoxicity and apoptosis induction in glioma cell lines by 5-oxygenated-6,7- methylenedioxy coumarins from *Pterocaulon* species. **Eur. J. Med. Chem.**, 2012, 57, 268-274.

[39] SURYA, K. D; GIBBS, R. A. An Efficient and Practical Procedure for the Synthesis of 4-Substituted Coumarins. **Synthesis**, 2005, 1231-1233.

[40] JOULE, J. A.; MILLS, K.; SMITH, G. F. **Heterocyclic Chemistry**, 4th Ed, Oxford: Blackwell Science, 2000 238-239.

[41] VAHABI V.; HATAMJAFARI, F. Microwave Assisted Convenient One-Pot Synthesis of Coumarin Derivatives via Pechmann Condensation Catalyzed by FeF<sub>3</sub> under Solvent-Free Conditions and Antimicrobial Activities of the Products. **Molecules**, 2014, 19, 13093-13103.

[42] KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angew. Chem.** 2001, 40, 2004.

[43] ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V.V.; SHARPLESS, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes. **Angew. Chem.**, 2002, 41, 2596-2599.

[44] BOREN, B. C.; NARAYAN, S.; RASMUSSEN, L. K.; ZHANG, L.; ZHAO, H.; LIN, Z.; JIA, G.; FOKIN, V. V. Ruthenium-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition: Scope and Mechanism **J. Am. Chem. Soc.**, 2008, 130, 8923-8930.

[45] WORRELL, B. T.; MALIK, J. A.; FOKIN, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper



intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. **Science**, 2013, 340, 6131, 457-460.

[46] HIMO, F.; LOVELL, T.; HILGRAF, R.; ROSTOVTSEV, V. V.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. **J. Am. Chem. Soc.**, 2005, 127, 210-216.

[47] BOCK, V.D.; SPEIJER, D.; HIEMSTRA, H.; MAARSEVEEN, J.H.V. 1,2,3-Triazoles as peptide bond isosteres: synthesis and biological evaluation of cyclotetrapeptide mimics. **Org. Biomol. Chem.** v. 5, p. 971-976, 2007.

[48] VATMURGE, N.S.; HAZRA, B.G.; PORE, V.S.; SHIRAZI, F.; CHAVAN, P.S.; DESHPANDE, M.V. Synthesis and antimicrobial activity of beta-lactam-bile acid conjugates linked via triazole. **Bioorgan. Med. Chem. Lett.**, 2008, 18, 2043-2047.

[49] MATOS, M. J.; MURA, F.; VAZQUEZ-RODRIGUEZ, S.; BORGES, F.; SANTANA, L.; E. URIARTE; OLEA-AZAR, C. Study of coumarin-resveratrol hybrids as potent antioxidant compounds. **Molecules**, 2015, 20, 3290-3308.

[50] MILLER, D.M.; BUETTNER, G.R.; AUST, S.D. Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. **Free Radical Biol. Med.**, 1990, 8, 1, 95-108.

[51] ANDRADE, E.R.; MELO-STERZA, F.A.; SENEDA, M.M.; ALFIERI, A.A.; Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, 2010, 34, 2, 79-85.

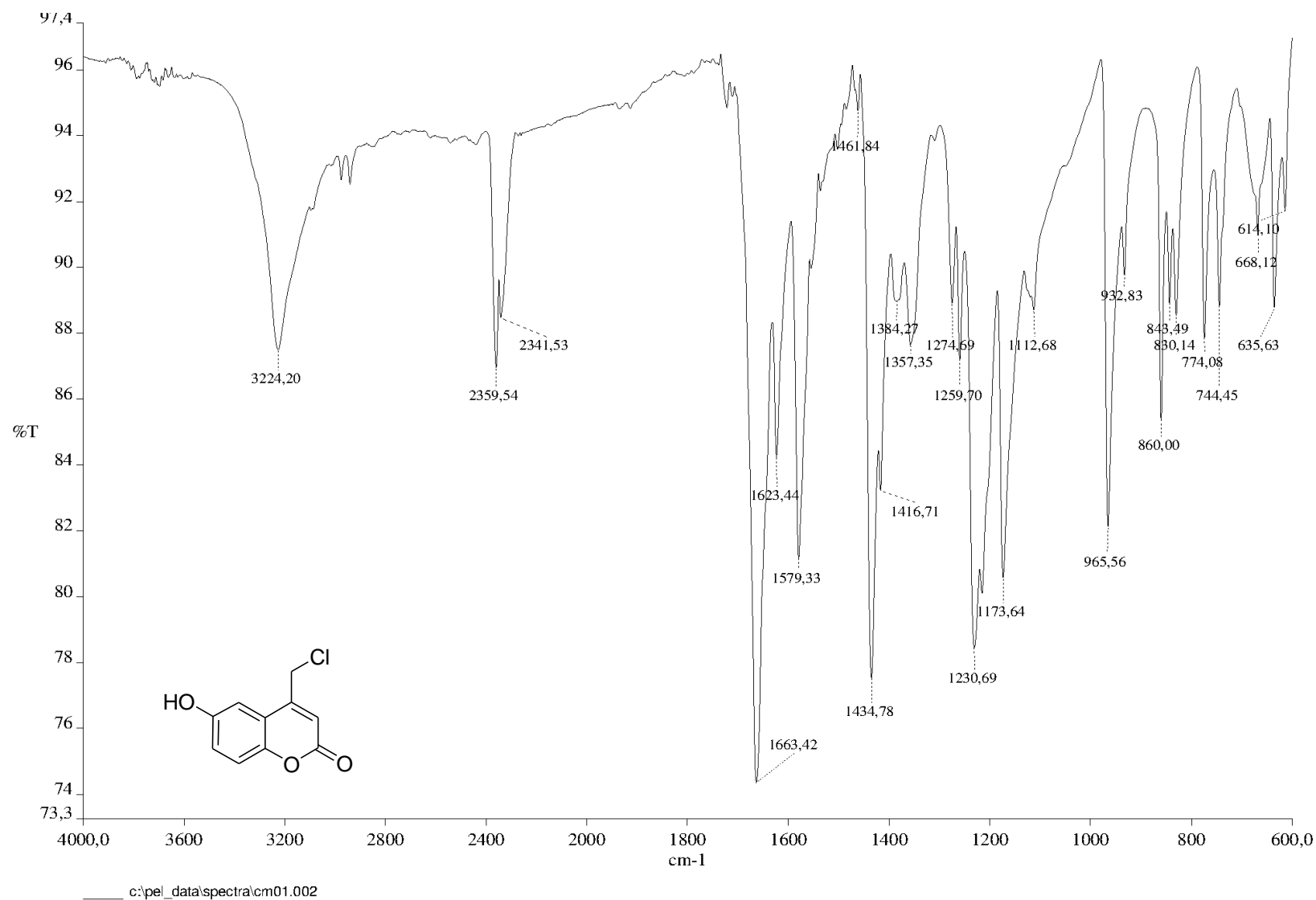
[52] SHAIKH, M. H.; SUBHEDAR, D. D.; SHINGATE, B. B.; KHAN, F. A. K.; SANGSHETTI, J. N.; KHEDKAR, V. M.; NAWALE, L.; SARKAR, D.; NAVALE, G. R.; SHINDE, S. S. **Med. Chem. Res.** ,2016, 25, 790–804

[53] VIANNA, D. R.; BUBOLS, G.; MEIRELLES, G.; SILVA, B.; ROCHA, A.; LANZMASTER, M.; MONSERRAT, J.M.; GARCIA, S.C.; VON POSER, G.; EIFLER-LIMA, V.L. Evaluation of the Antioxidant Capacity of Synthesized Coumarins. **Int. J. Mol. Sci.** 2012,13, 7260-7270.

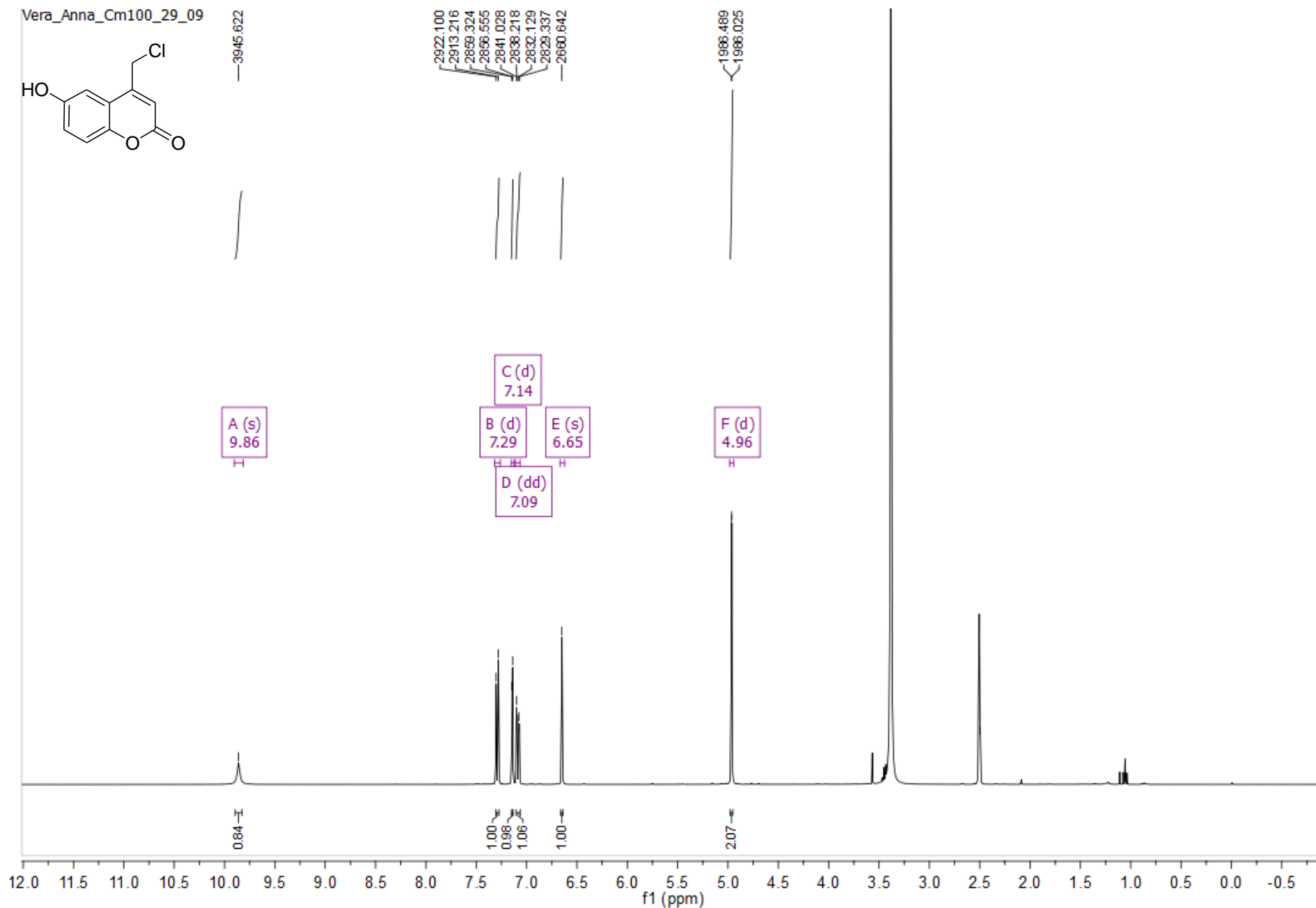




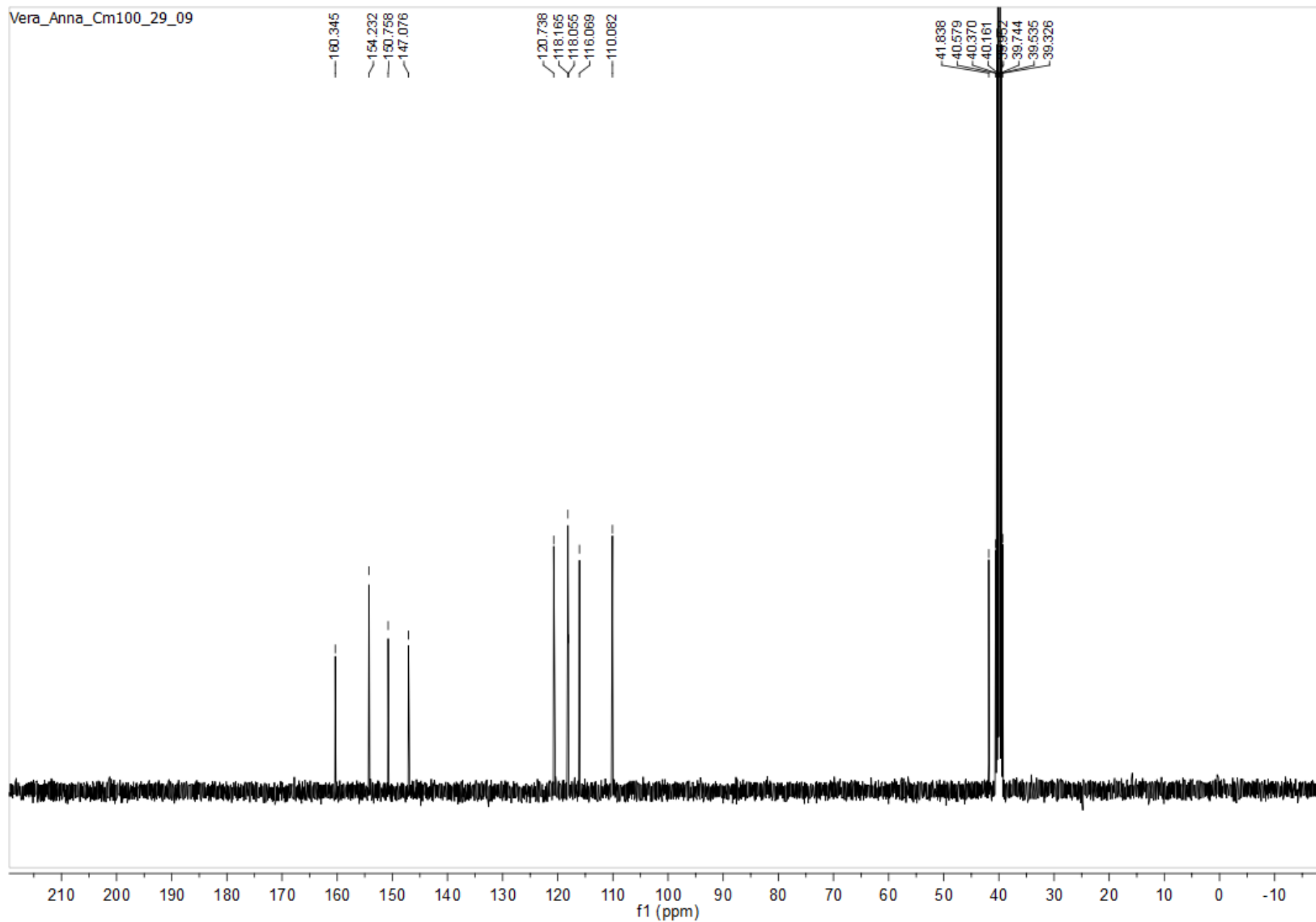
# Anexo 1. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 310



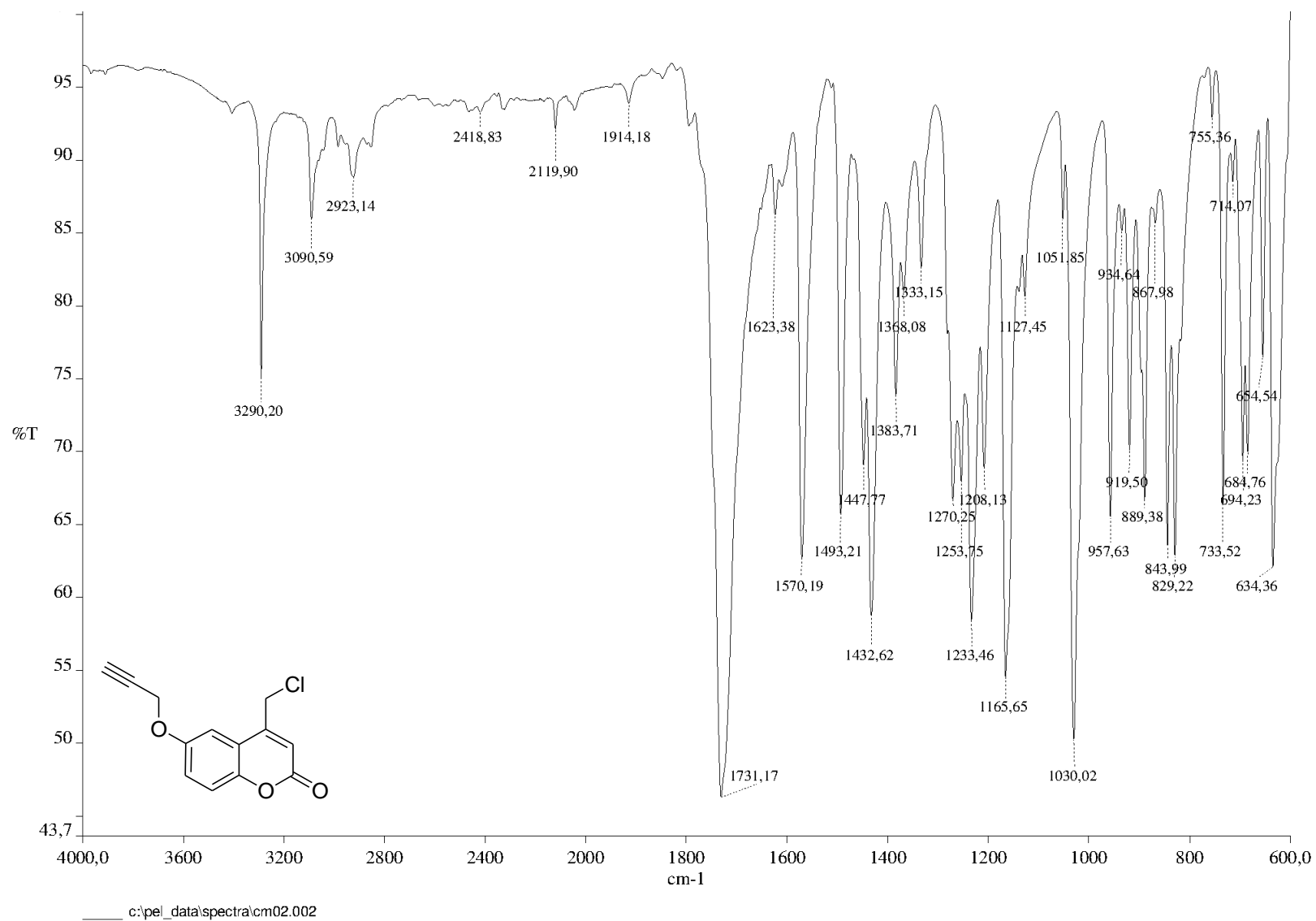
Anexo 2. Espectro de  $^1\text{H}$  do composto LaSOM 310 (400 MHz – DMSO- $d_6$ )



Anexo 3. Espectro de  $^{13}\text{C}$  do composto LaSOM 310 (101 MHz – DMSO- $d_6$ )

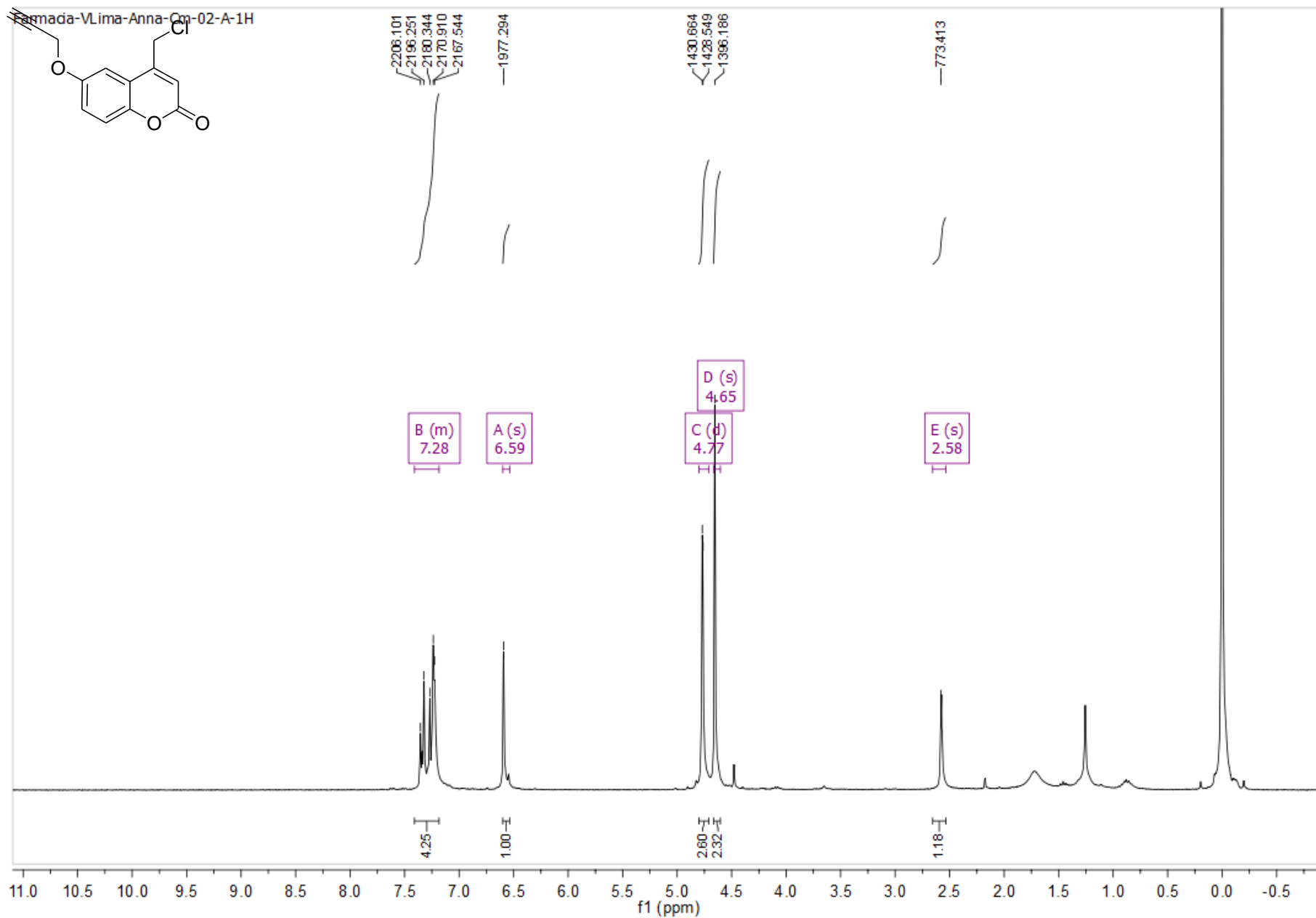


#### Anexo 4. Espectro de FT-IR do composto 4-(prop-2-iniloxi)fenol

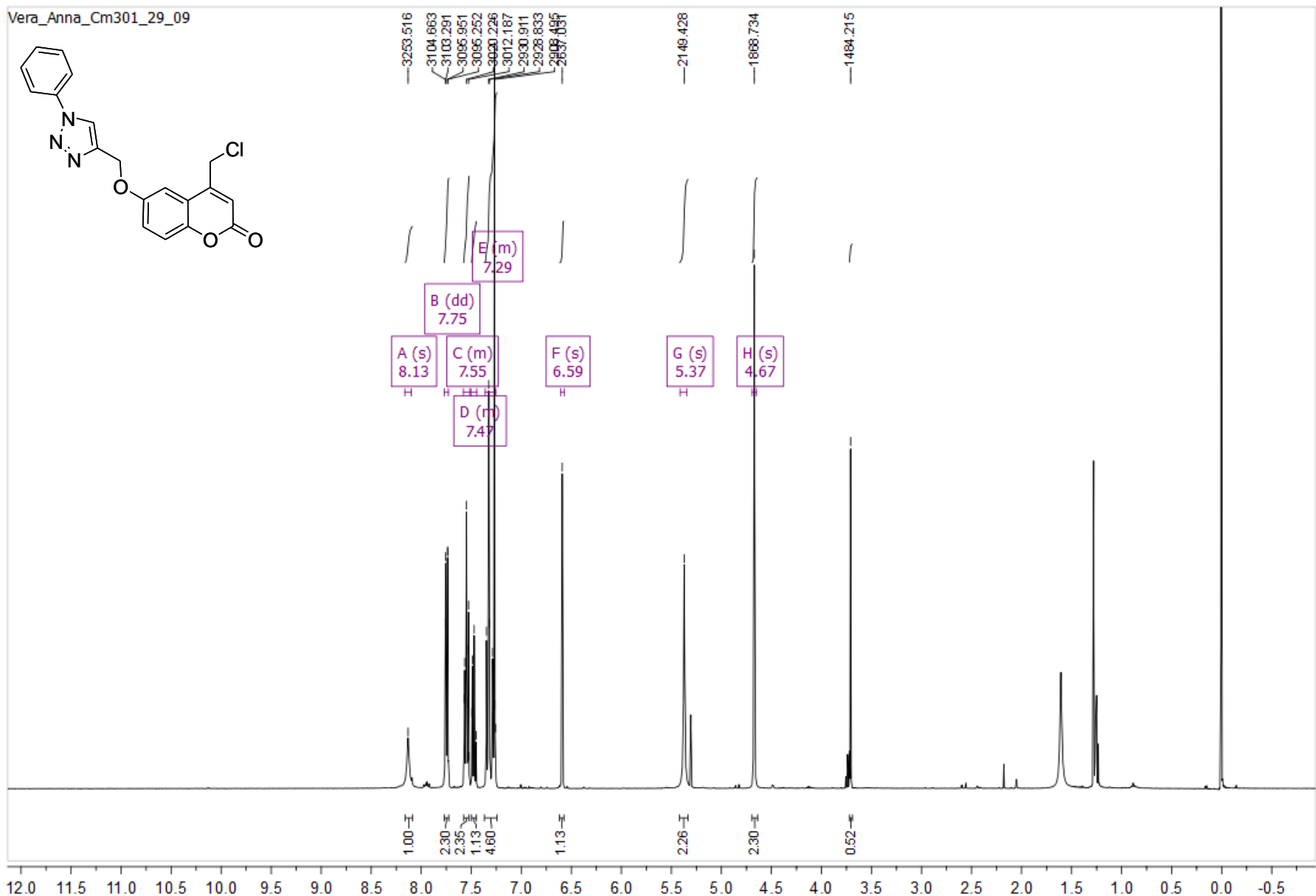




Anexo 5. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto 4-(prop-2-iniloxi)fenol (400 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )



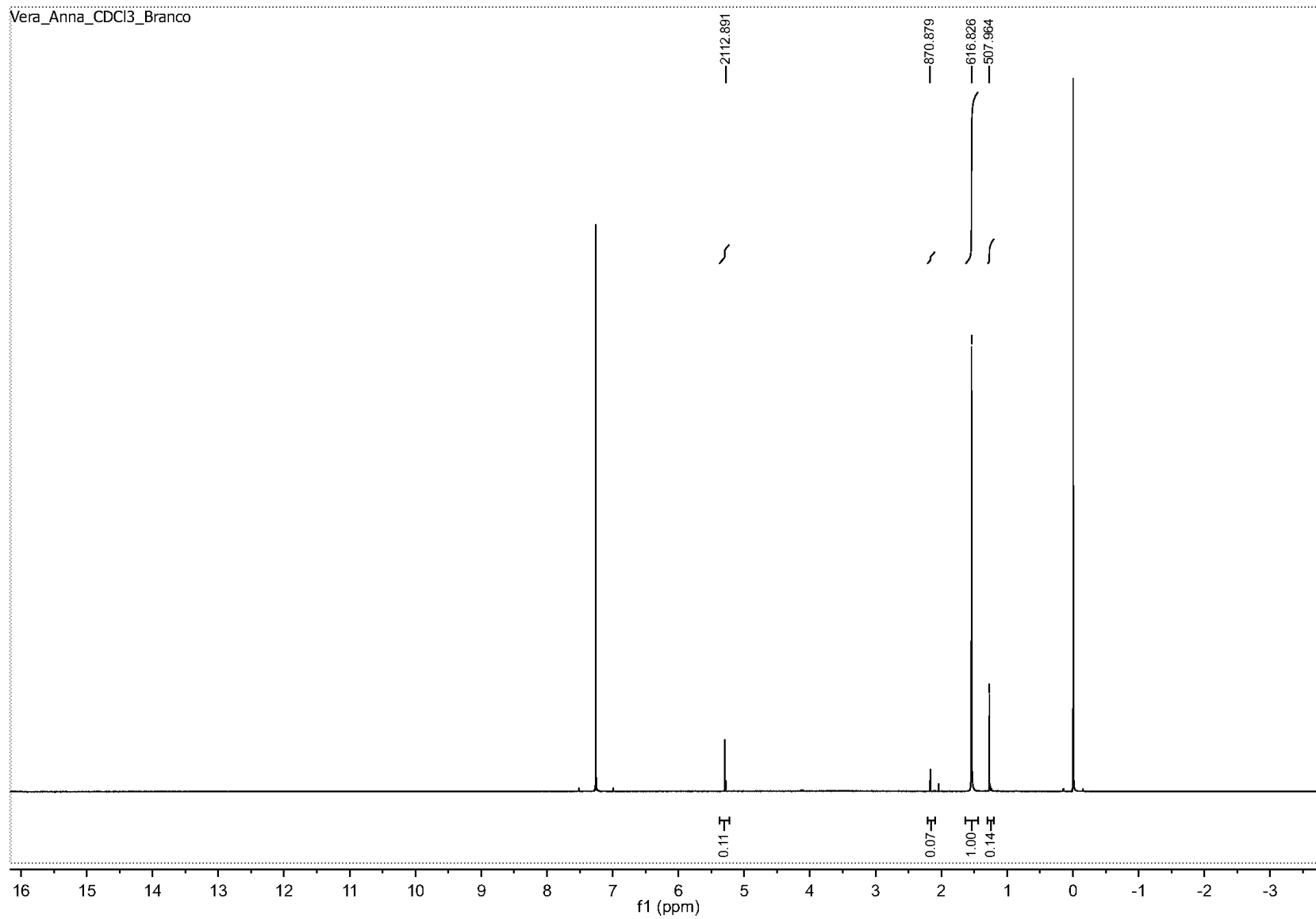
Anexo 6. Espectro de 1H RMN do composto LaSOM 311 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



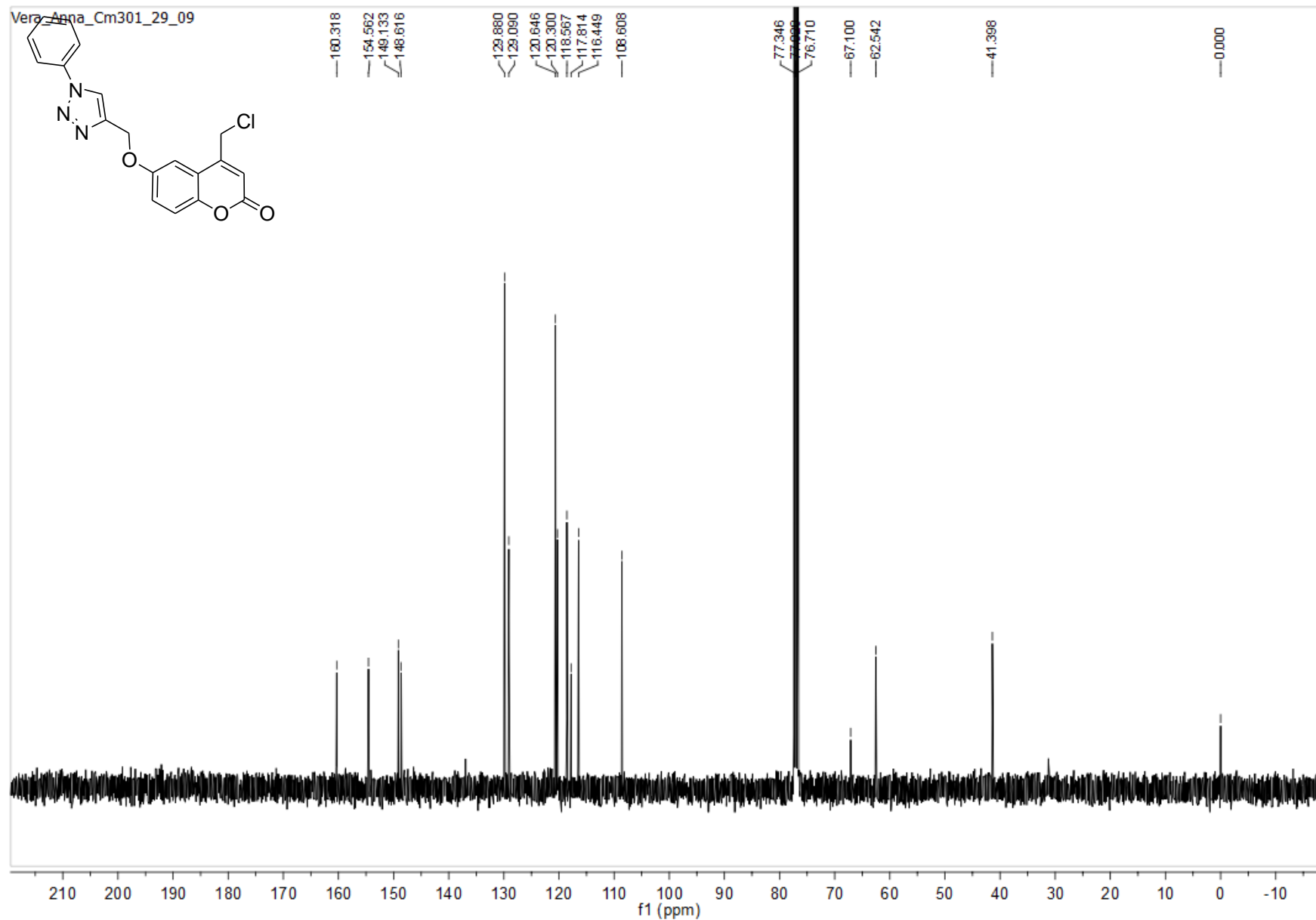
\*Etanol (ppm): 3,70, 1,60, 1,25 (junto com o sinal da água).<sup>f1</sup> (ppm)

\*\*Impureza do solvente deuterado. Ver próximo espectro. 90

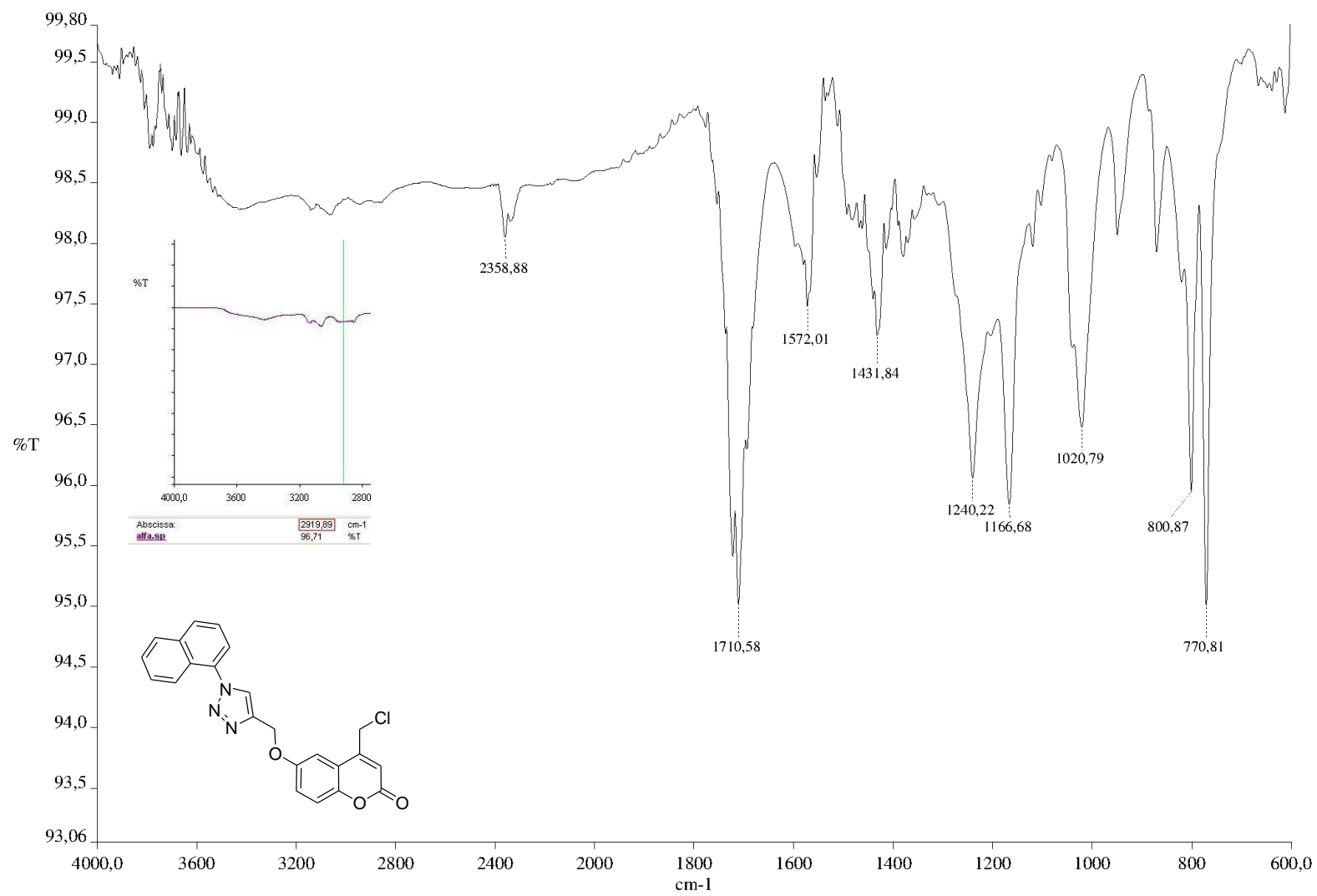
Anexo 7. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do  $\text{CDCl}_3$  utilizado na análise do LaSOM 311 (400 MHz)



Anexo 8. Espectro de <sup>13</sup>C RMN do composto LaSOM 311 (101 MHz – CDCl<sub>3</sub>)

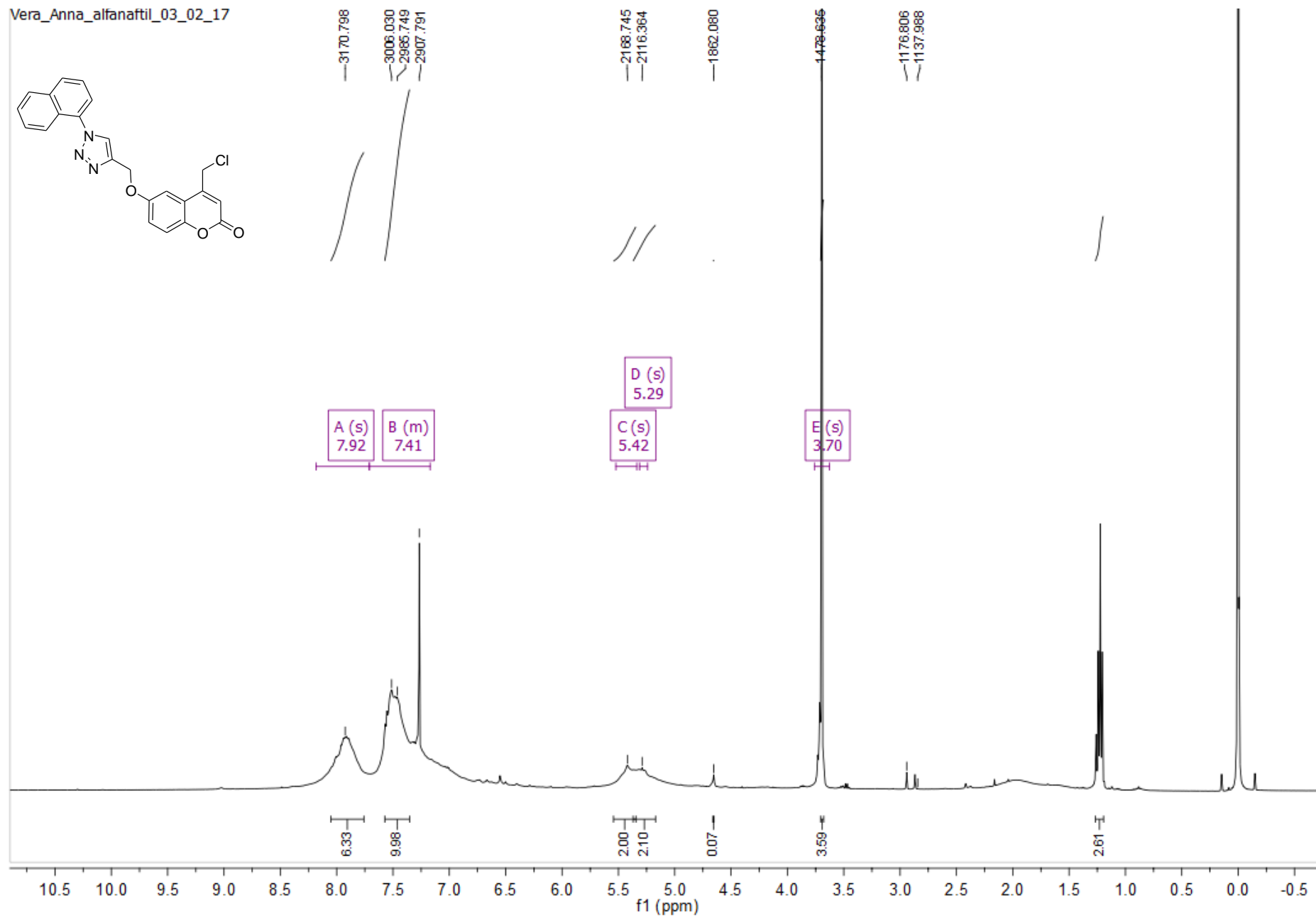


## Anexo 9. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 312



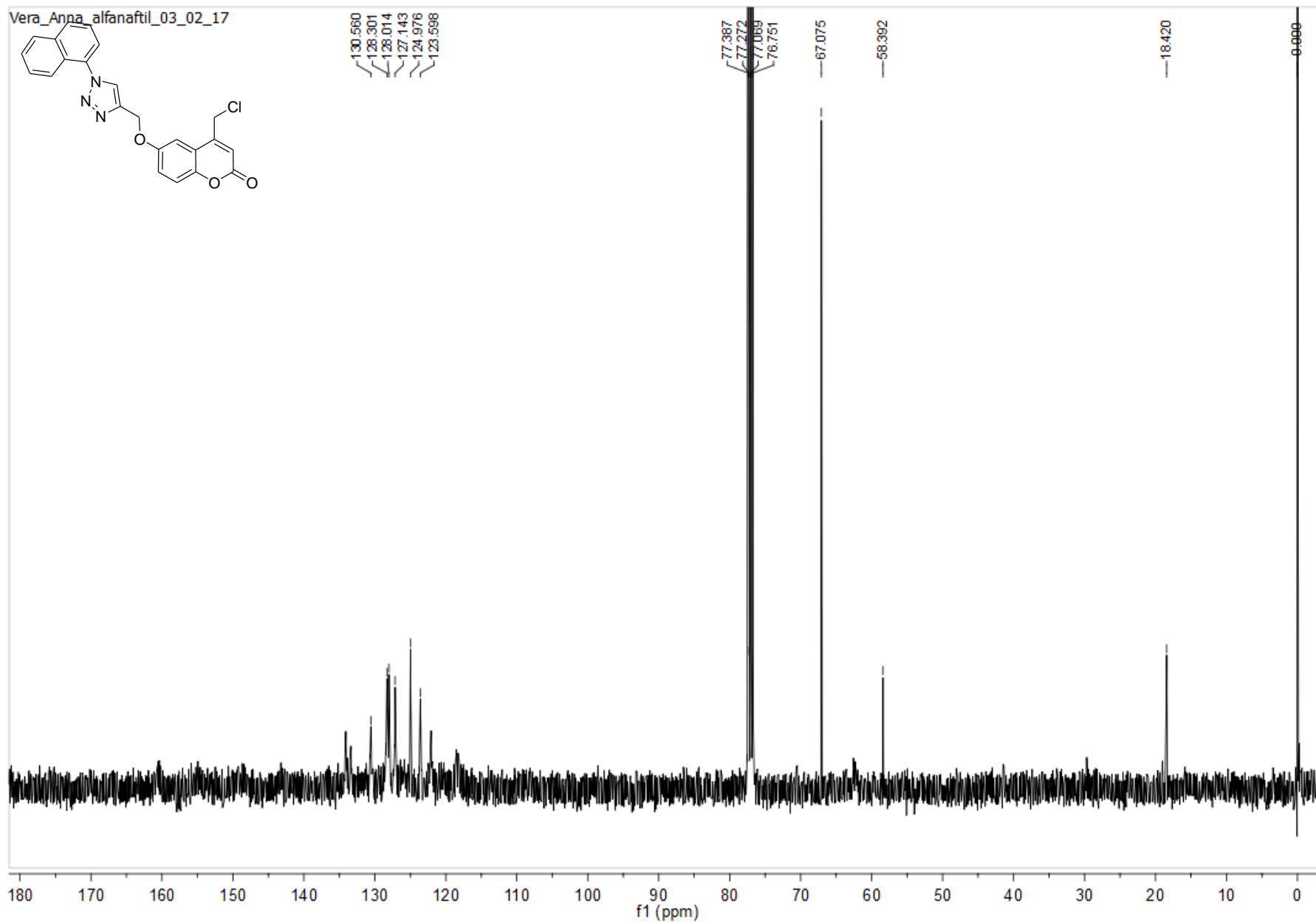
c:\documents and settings\usuario\desktop\lasom 2016\anna\alfaclick.sp

Anexo 10. Espectro de 1H RMN do composto LaSOM 312 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



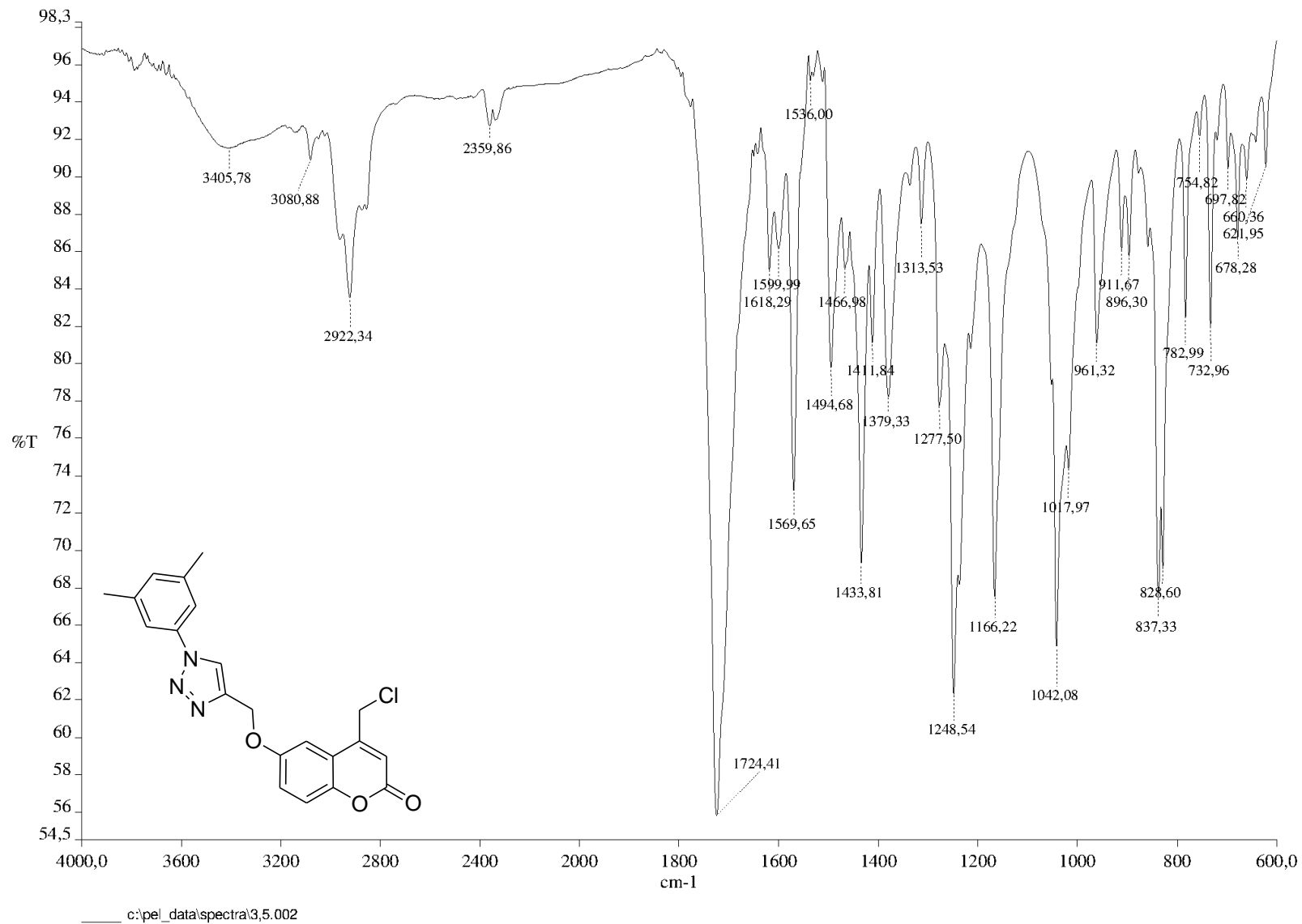
\*Etanol (ppm): 3,70, 1,60, 1,25(junto com o sinal da água). 94

Anexo 11. Espectro de <sup>13</sup>C RMN do composto LaSOM 312 (101 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



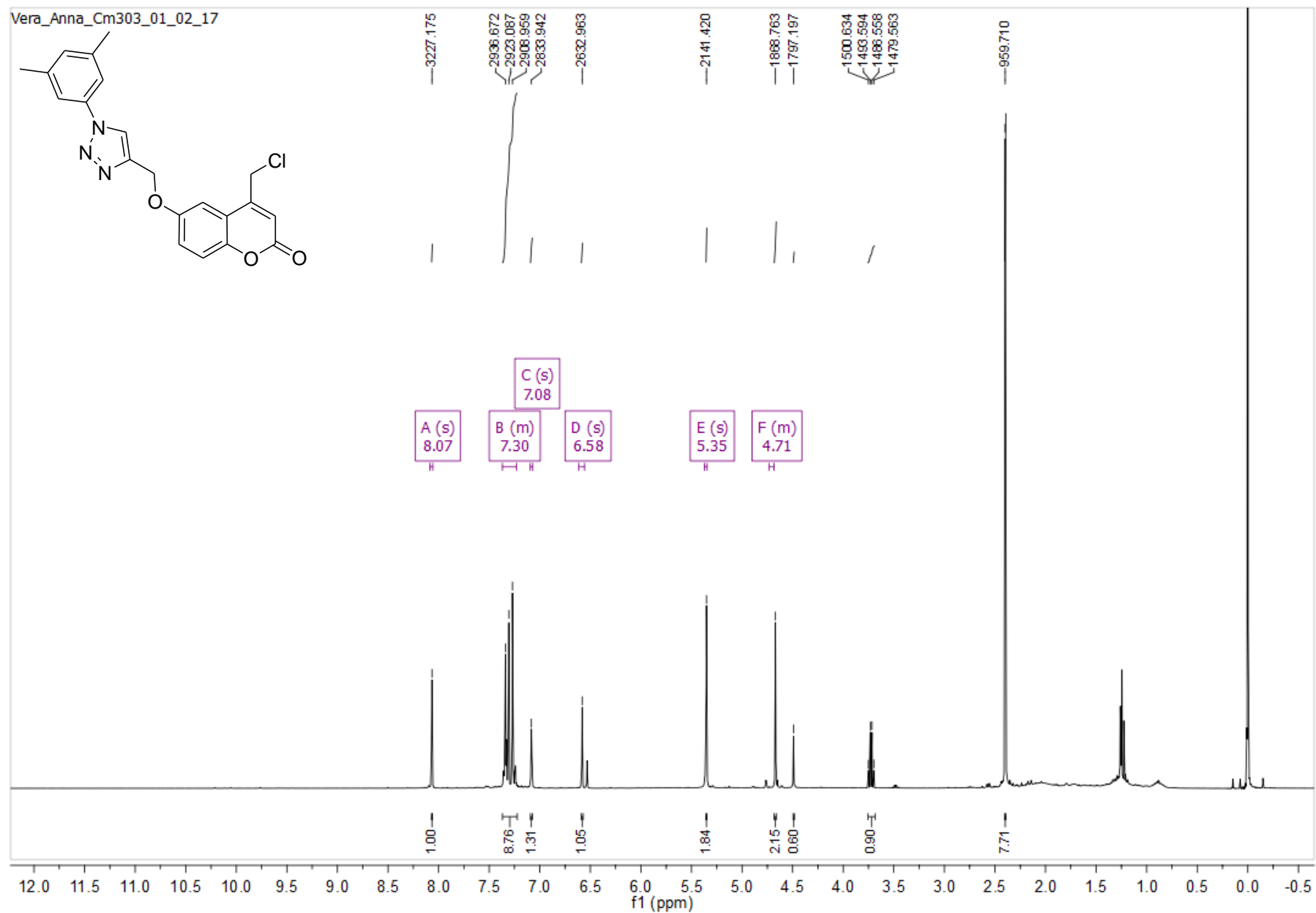
\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.

## Anexo 12. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 313

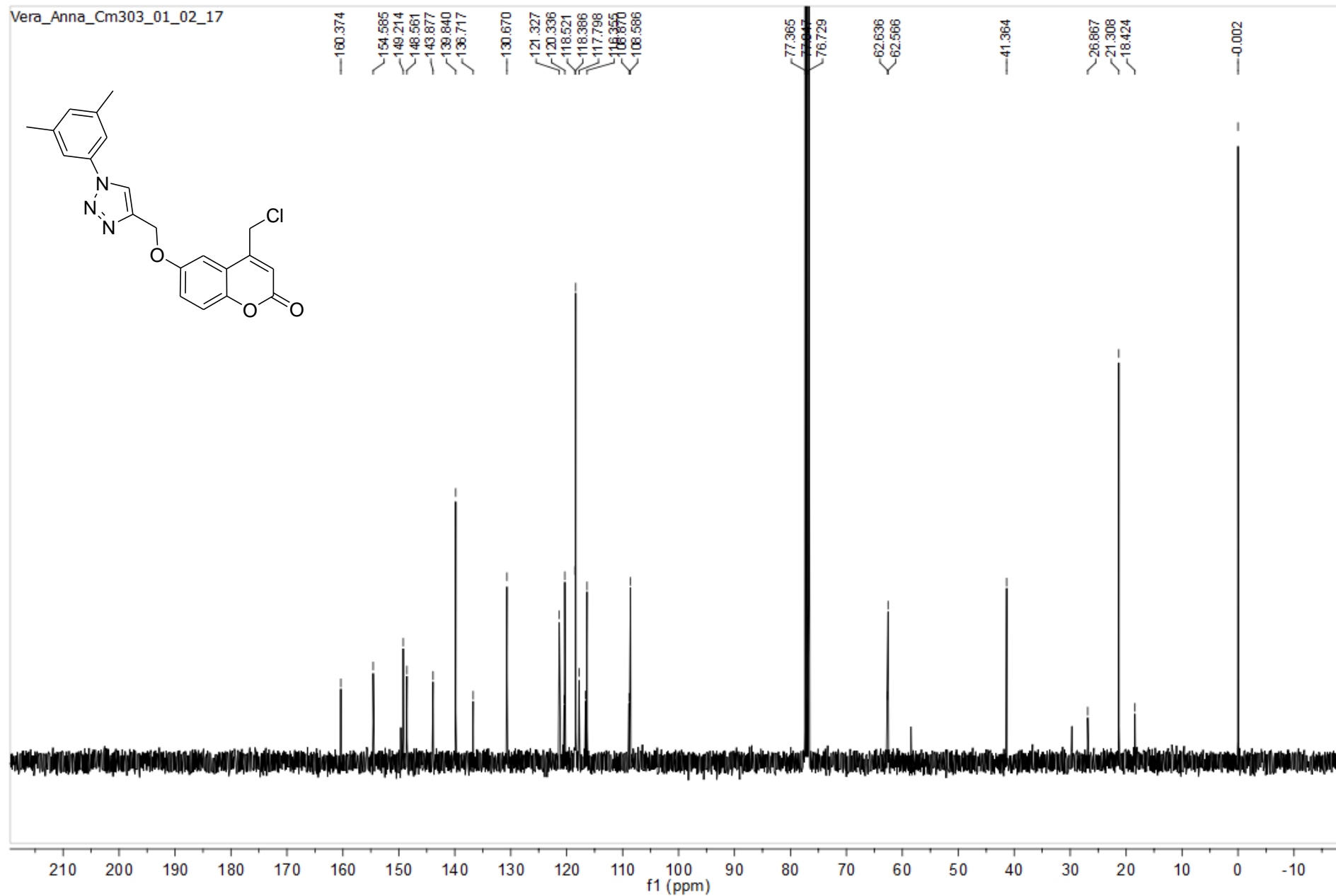




Anexo 13. Espectro de <sup>13</sup>H RMN do composto LaSOM 313 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)

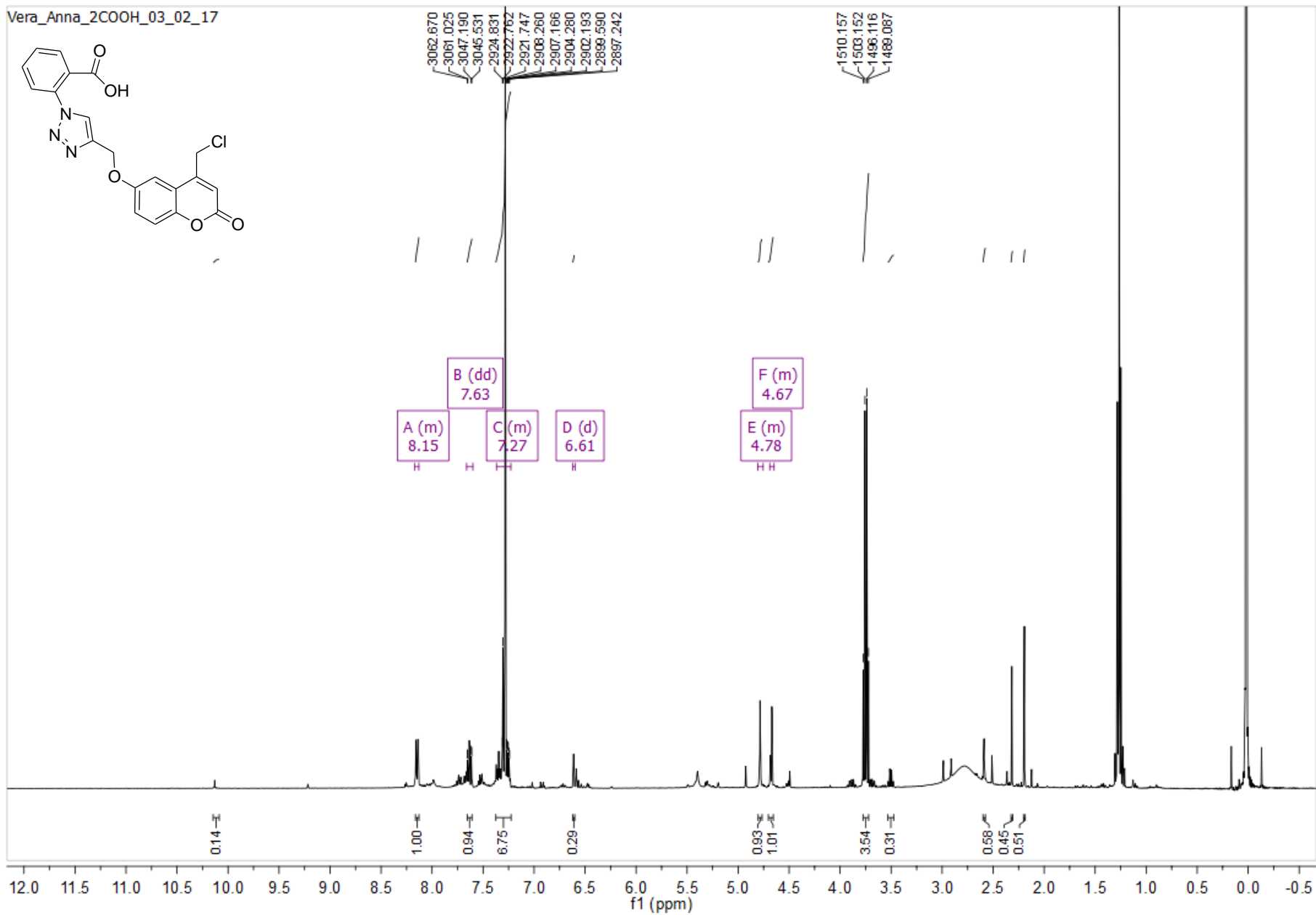


Anexo 14. Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto LaSOM 313 (101 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )

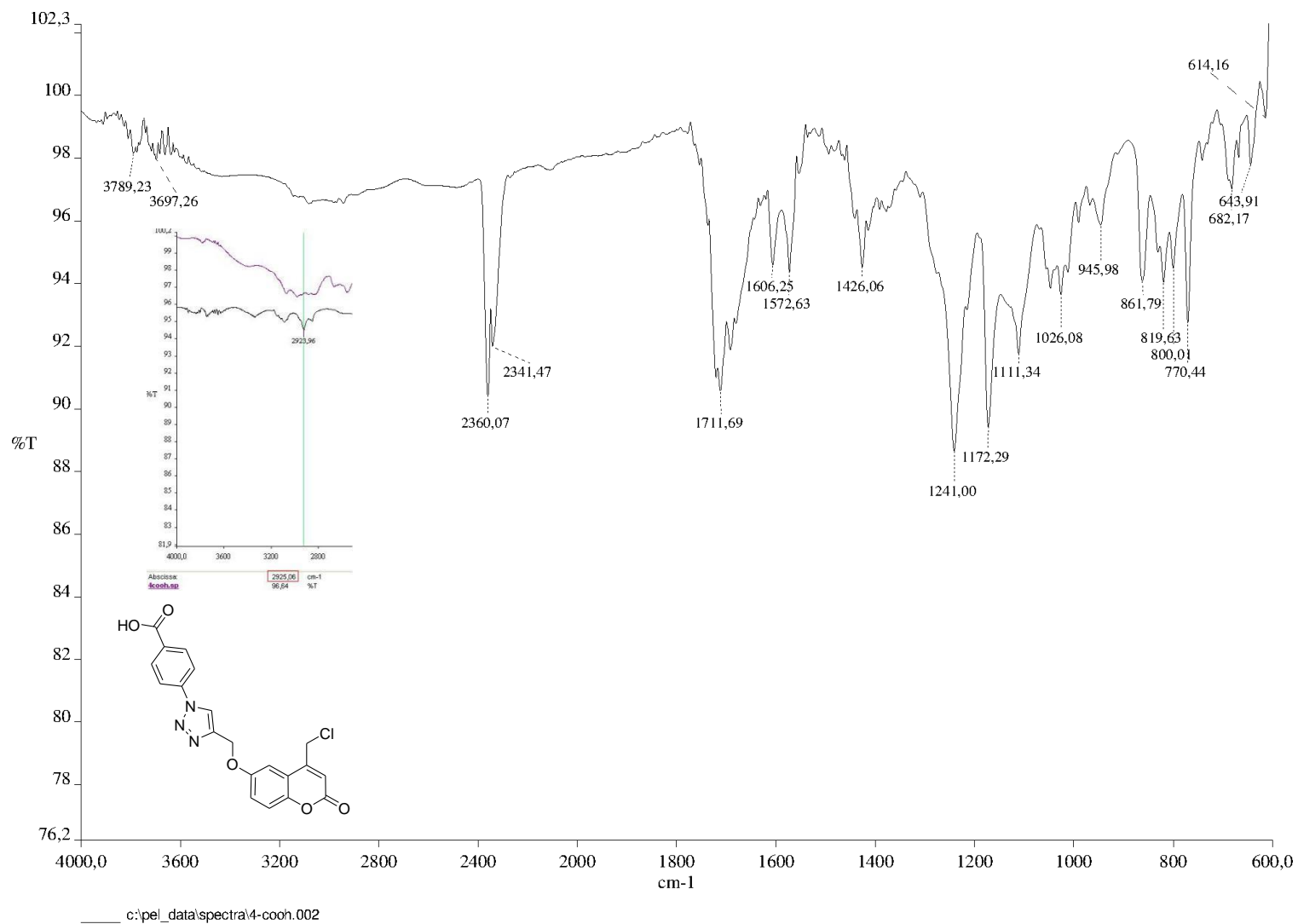


\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.

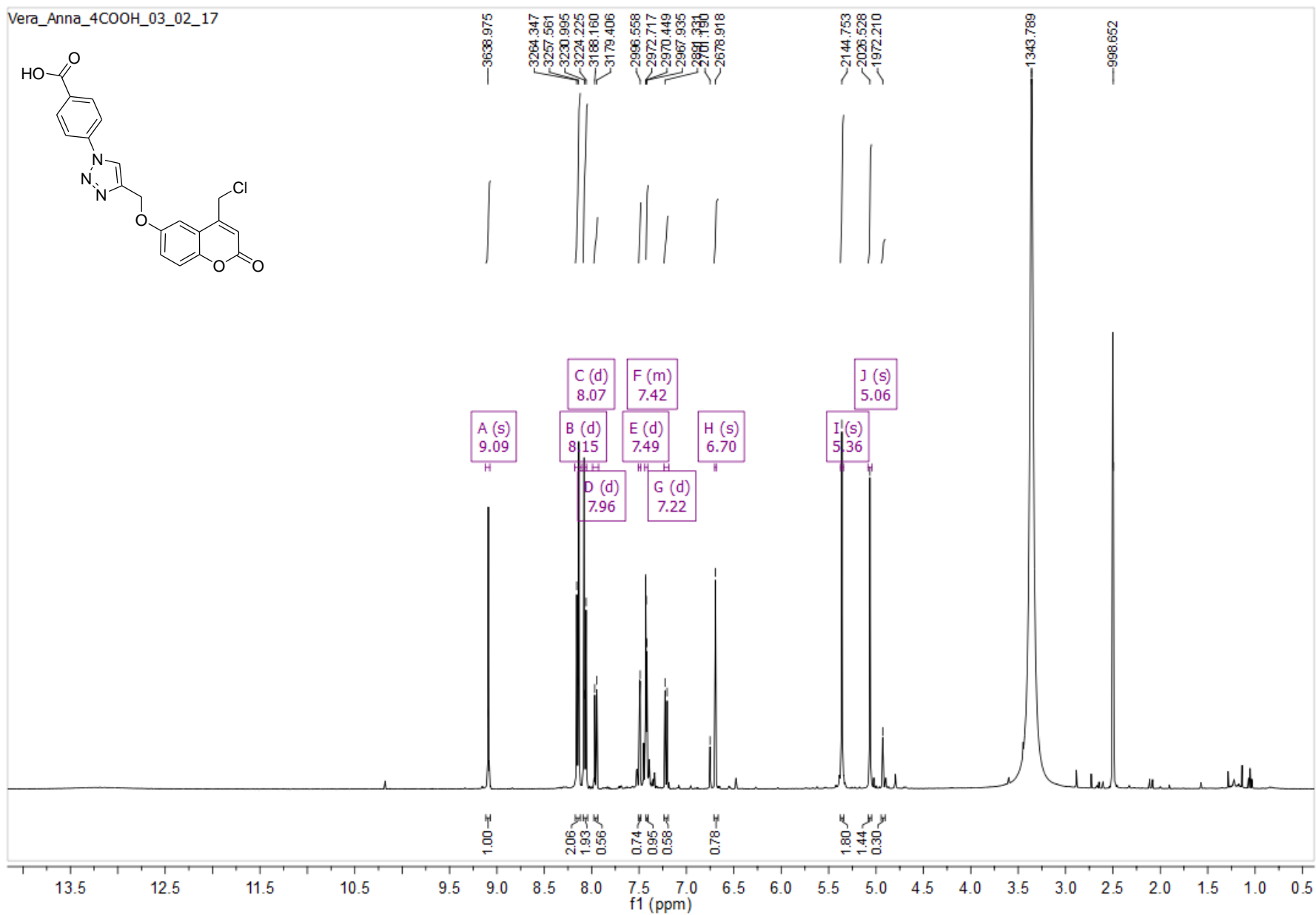
Anexo 15. Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto LaSOM 314 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



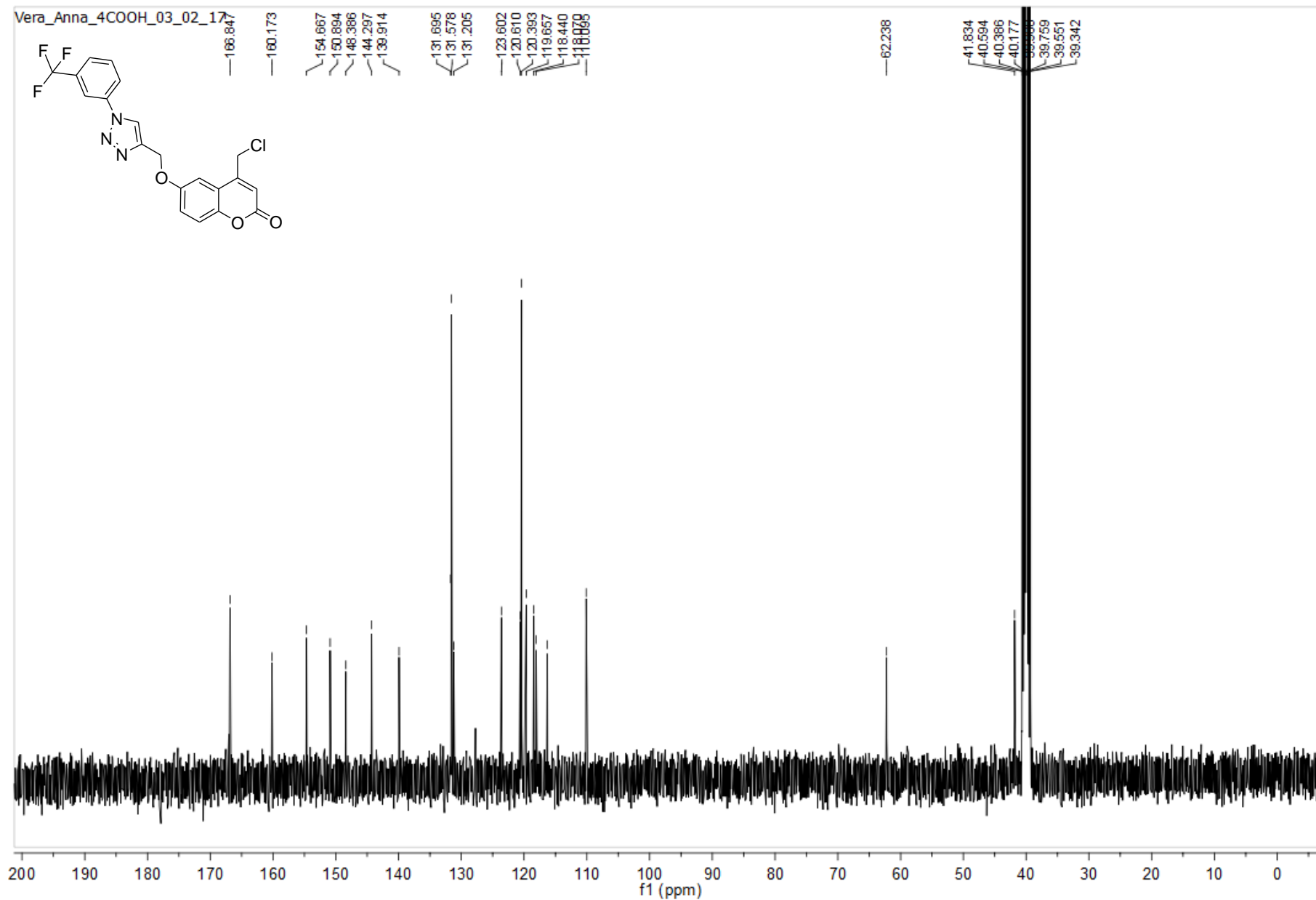
# Anexo 16. Espectro de FT-IR do Composto LaSOM 315



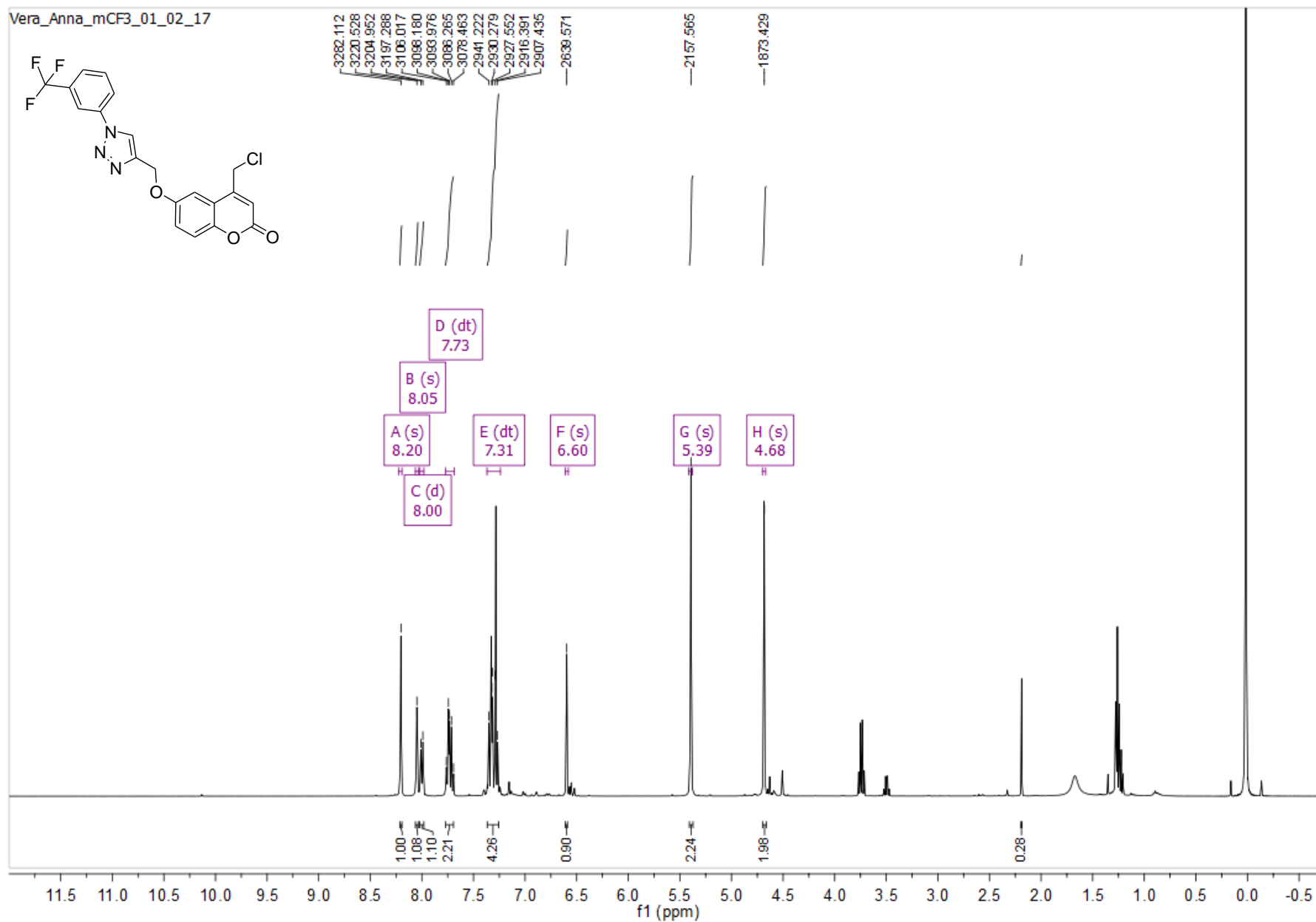
Anexo 17. Espectro de 1H RMN do composto LaSOM 315 (400 MHz – DMSO-d<sub>6</sub>)



Anexo 18. Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto LaSOM 315 (101 MHz – DMSO- $\text{d}_6$ )

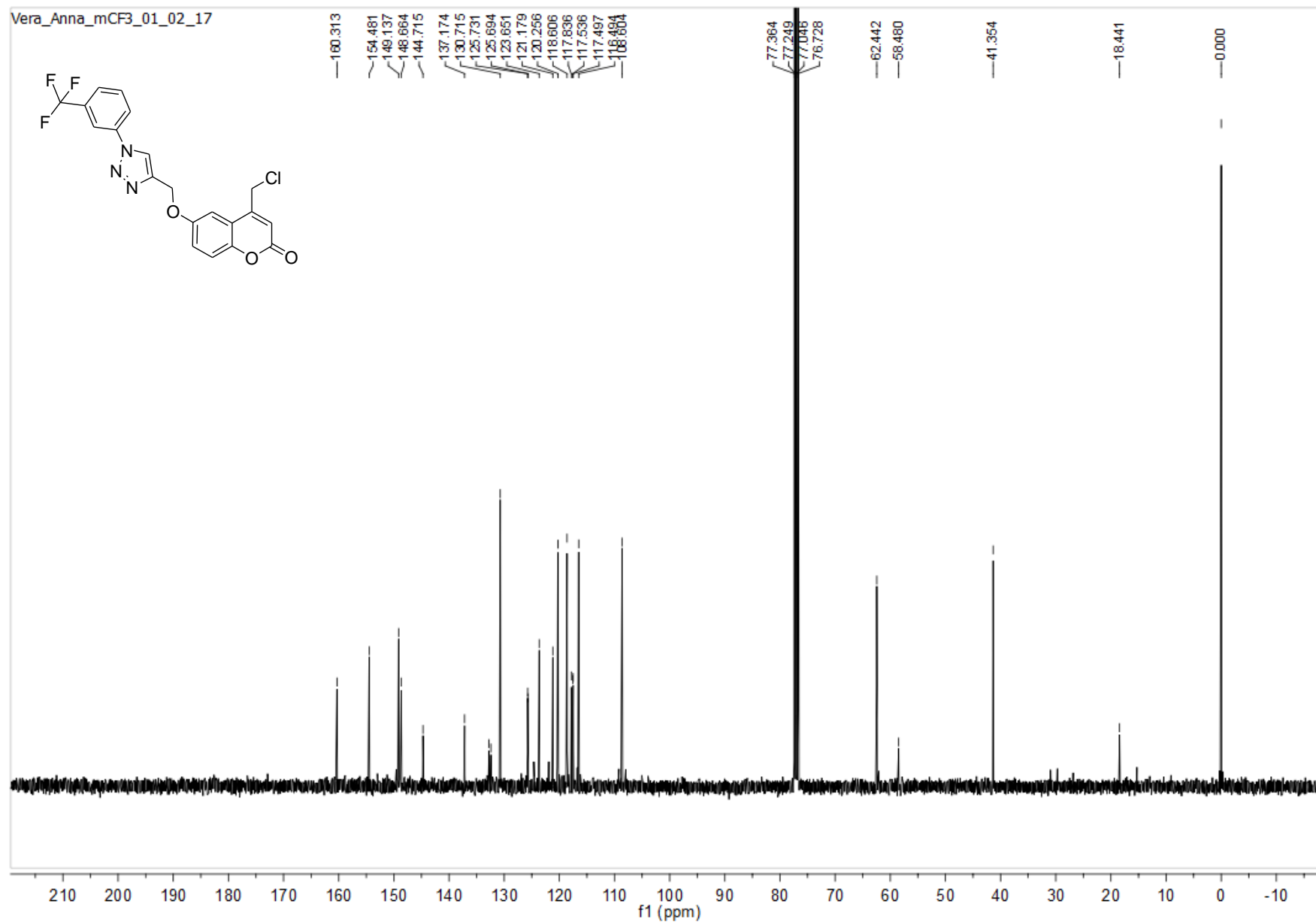


Anexo 19. Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto LaSOM 316 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



\*Etanol (ppm): 3,70, 1,60, 1,25 (junto com o sinal da água).

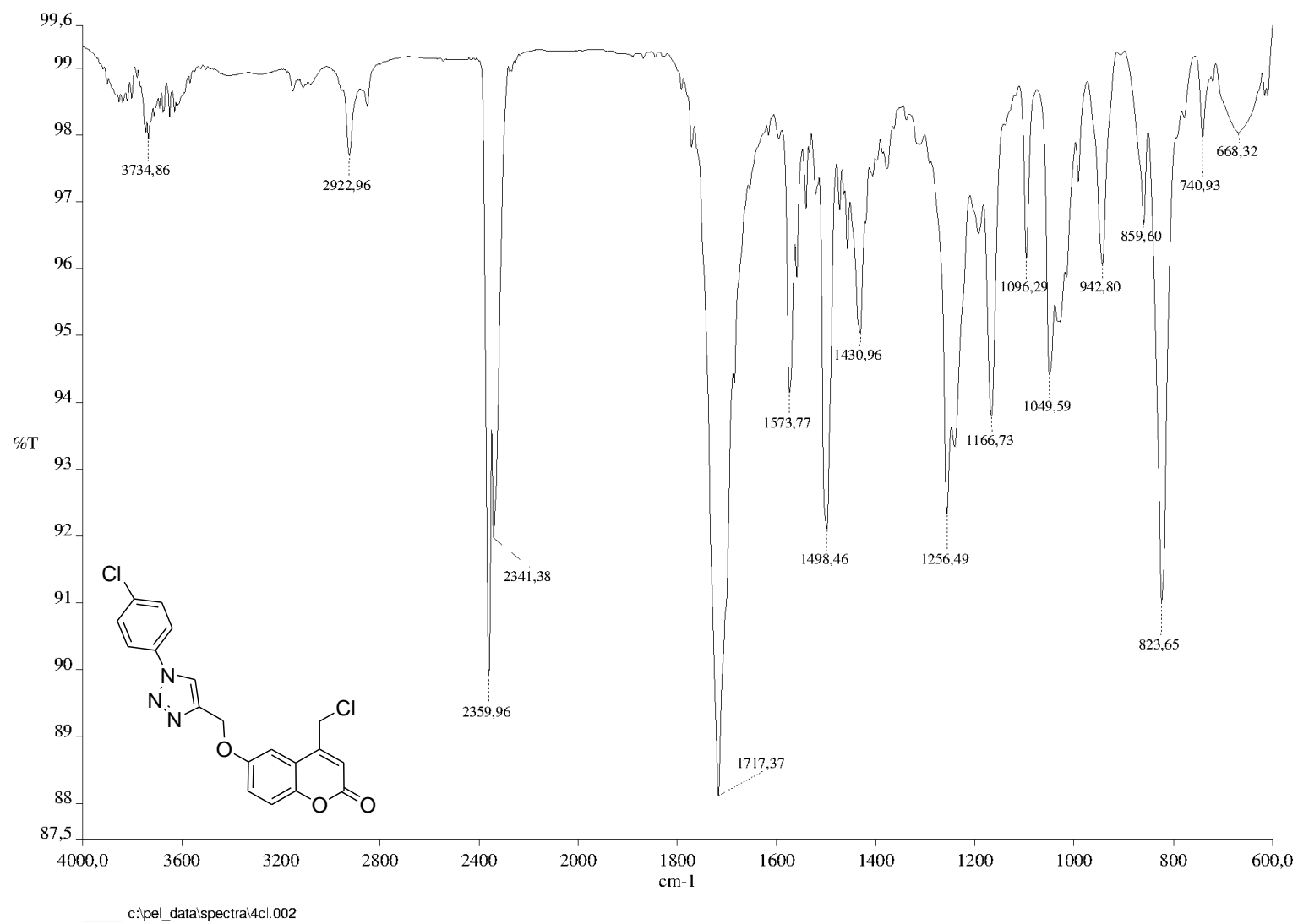
Anexo 20. Espectro de  $^{13}\text{C}$  do composto LaSOM 316 (101 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )



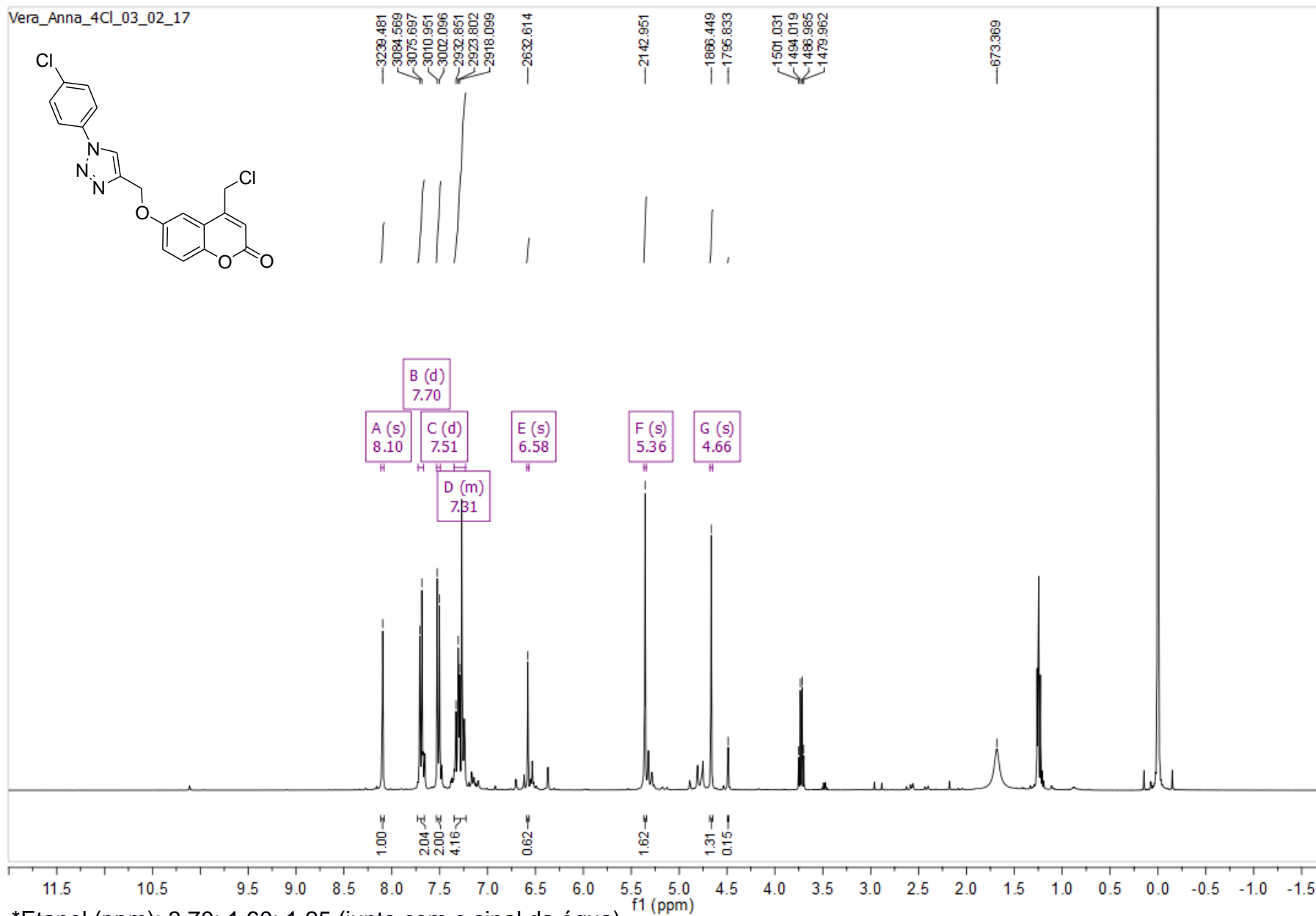
\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.



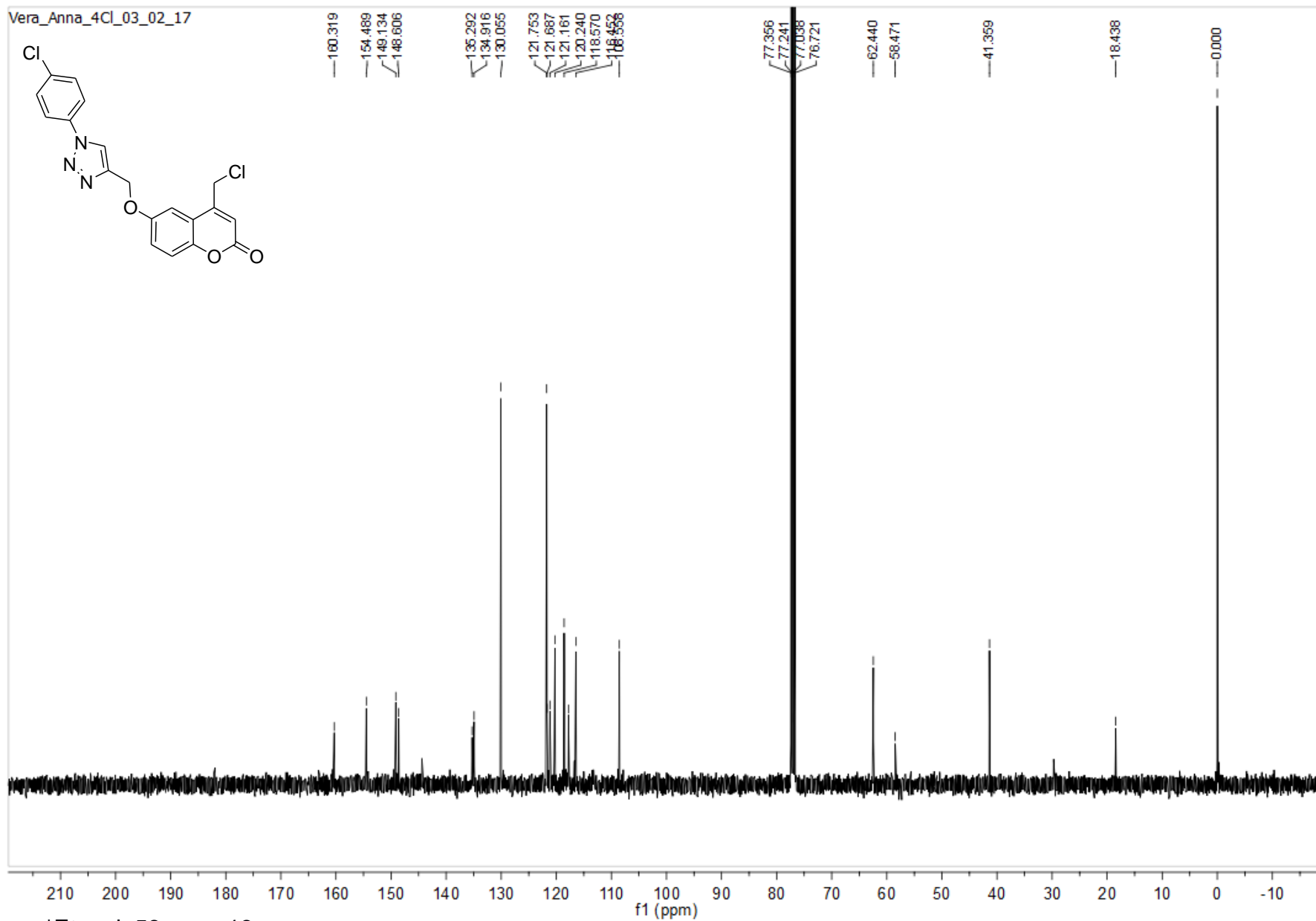
## Anexo 21. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 317



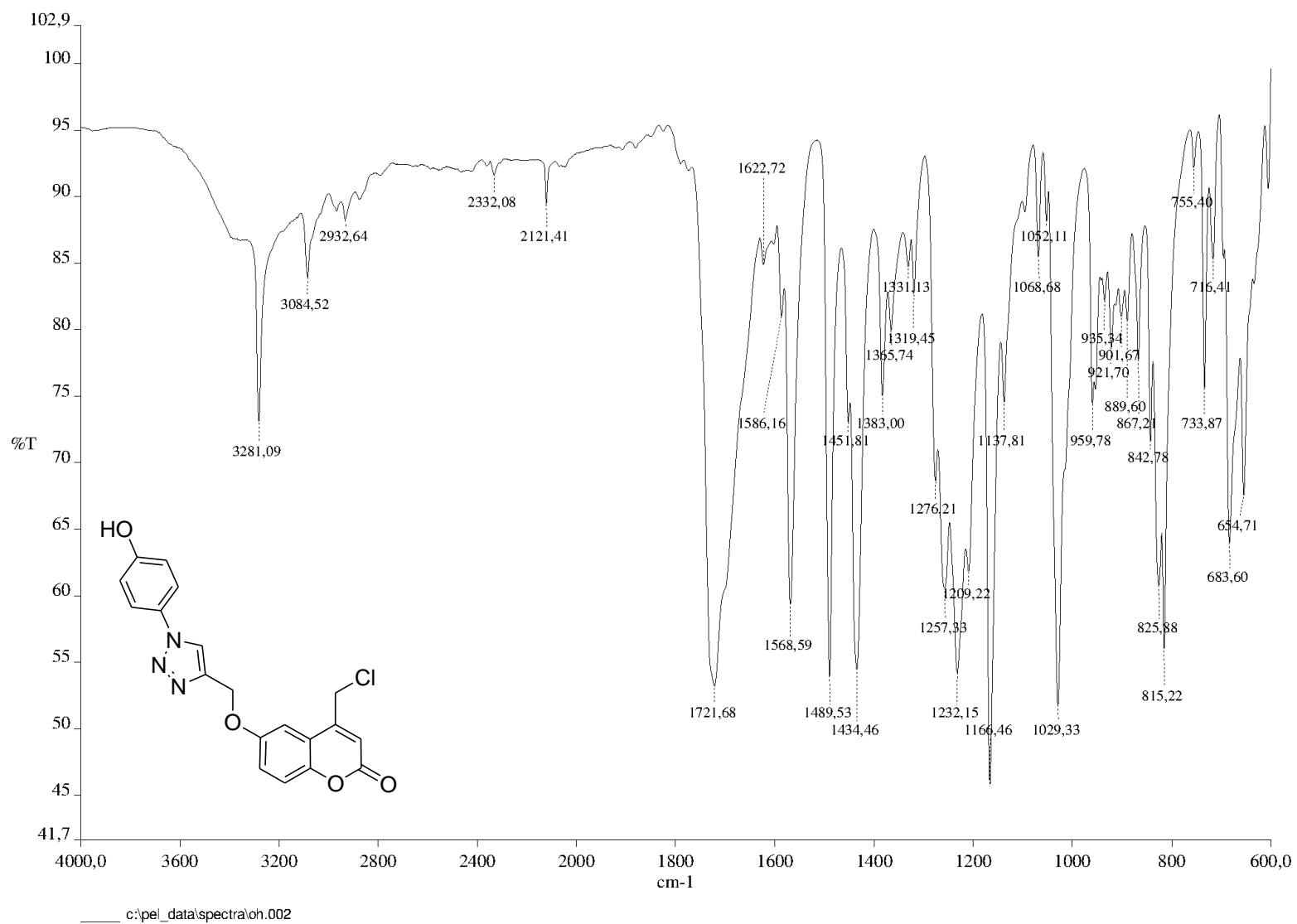
Anexo 22. Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto LaSOM 317 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



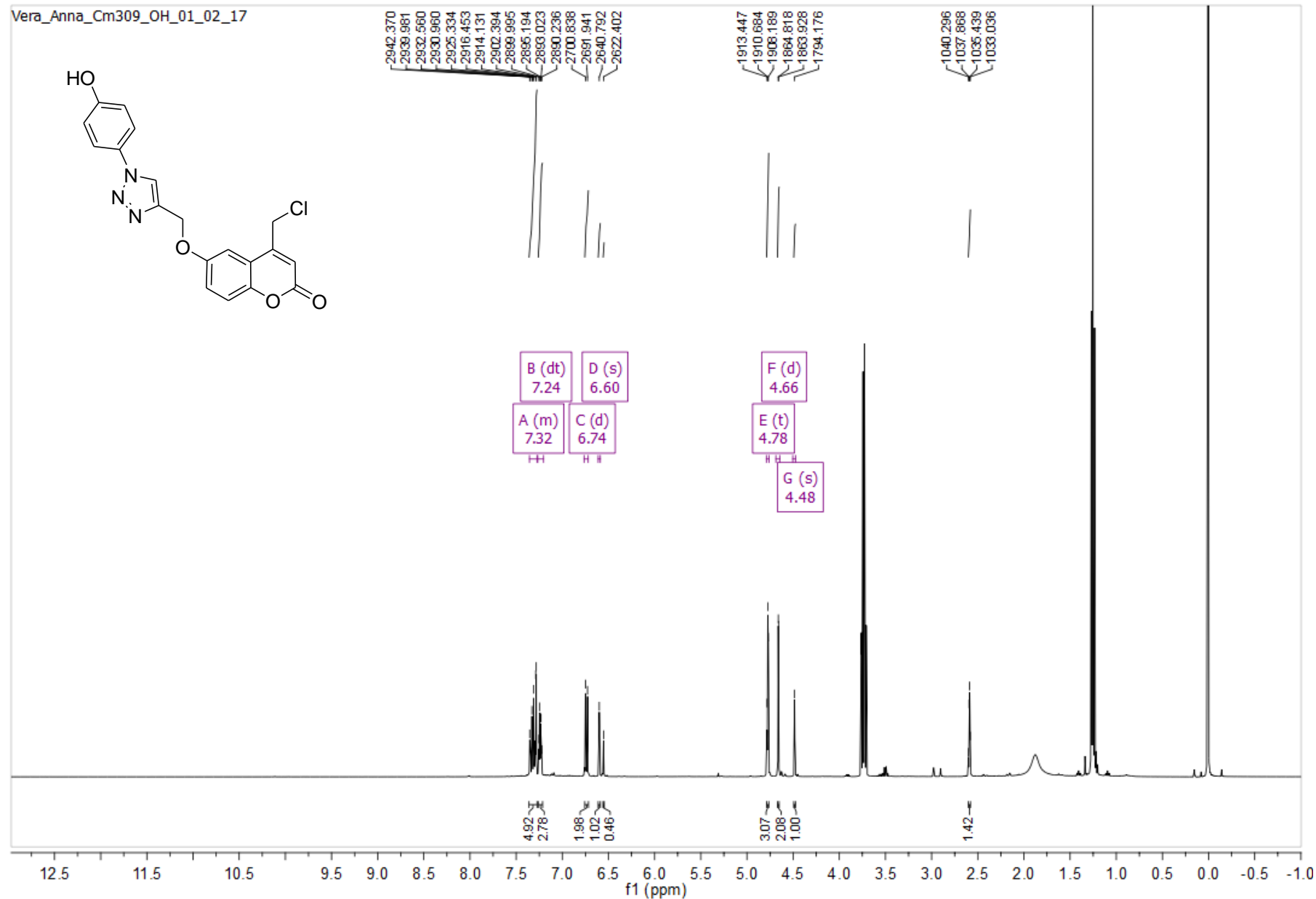
Anexo 23 . Espectro de  $^{13}\text{C}$  do composto LaSOM 317 (101 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )



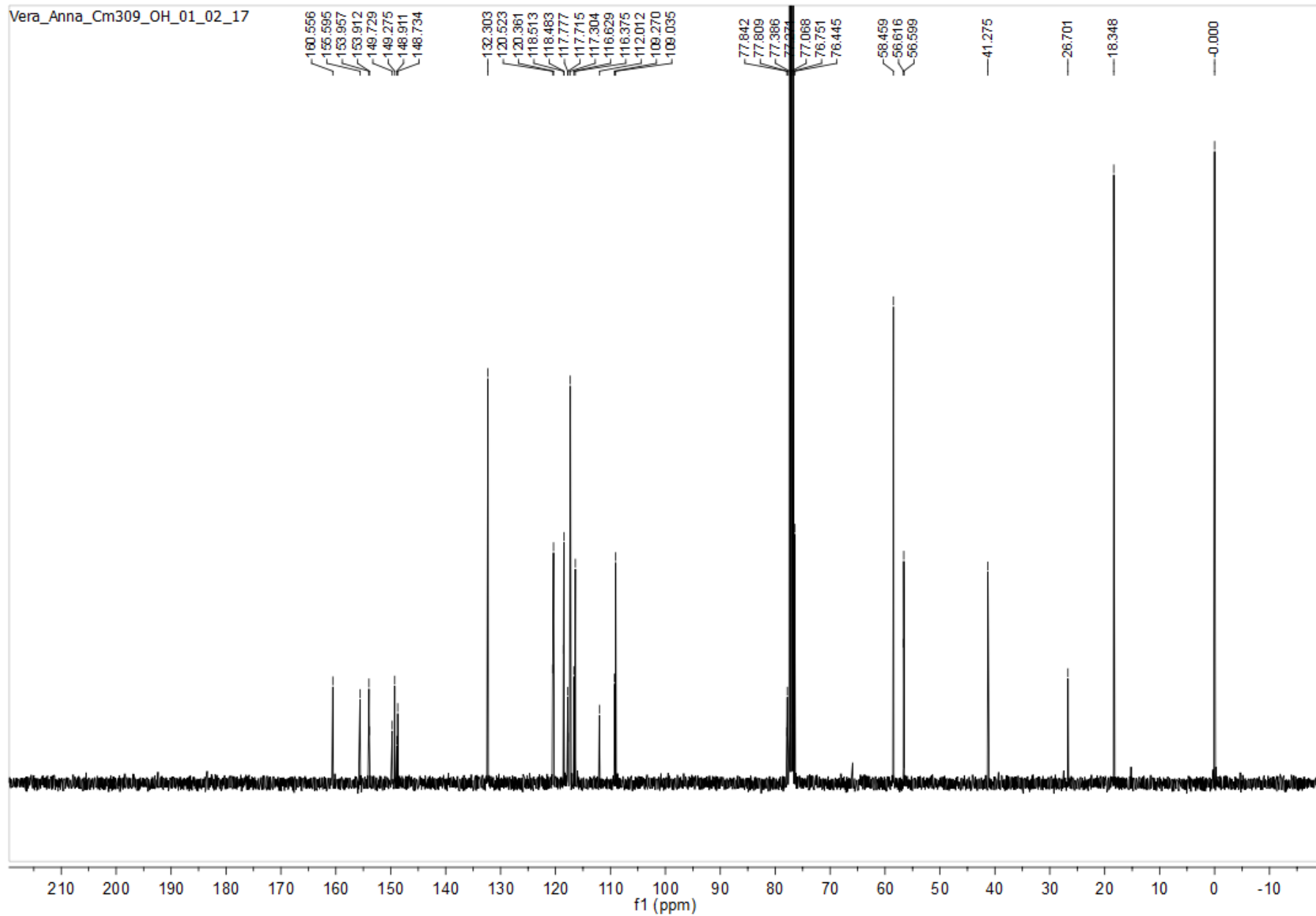
## Anexo 24. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 318



Anexo 25. Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto LaSOM 318 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



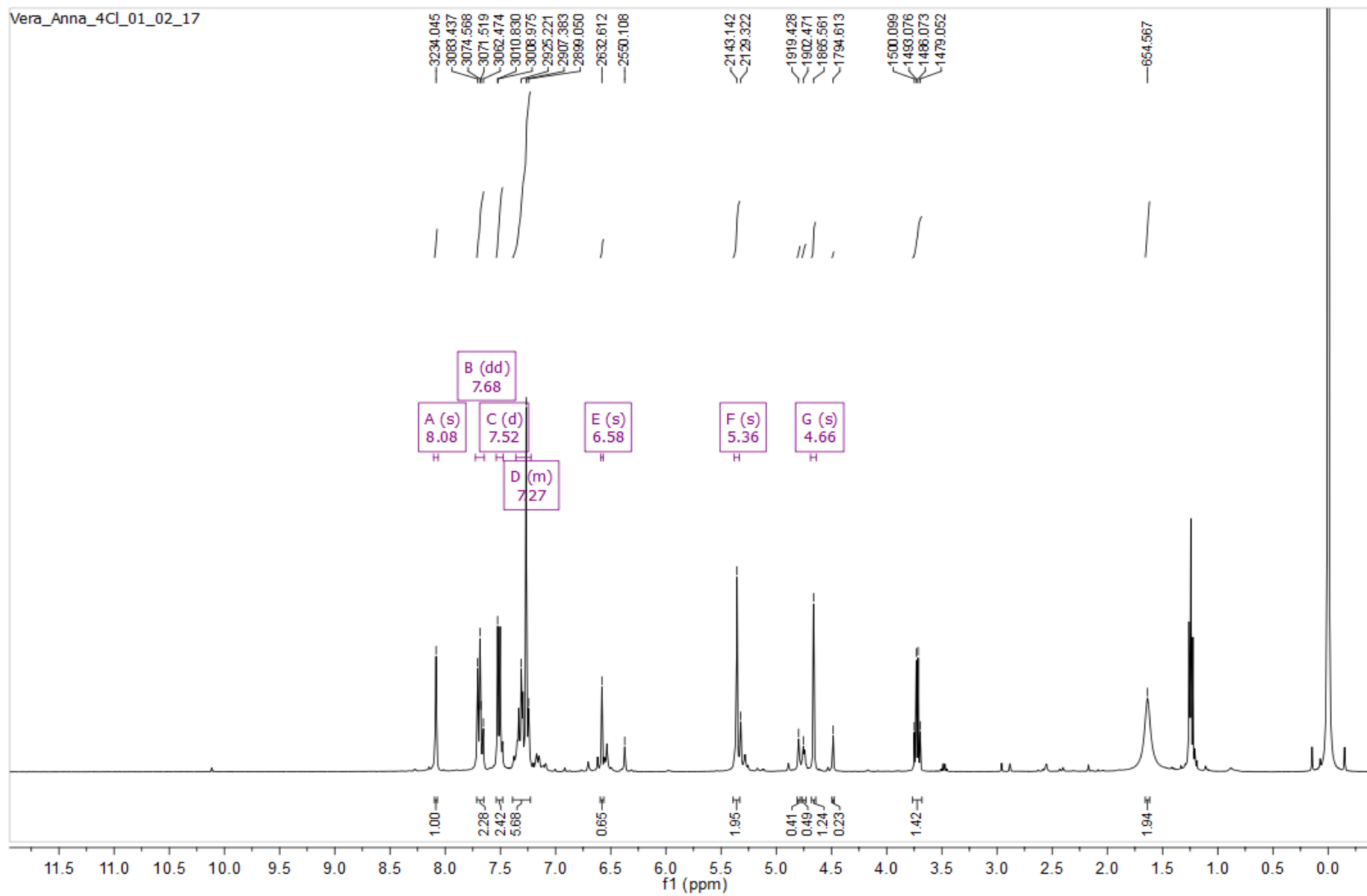
Anexo 26. Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do composto LaSOM 318 (101 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )



\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.

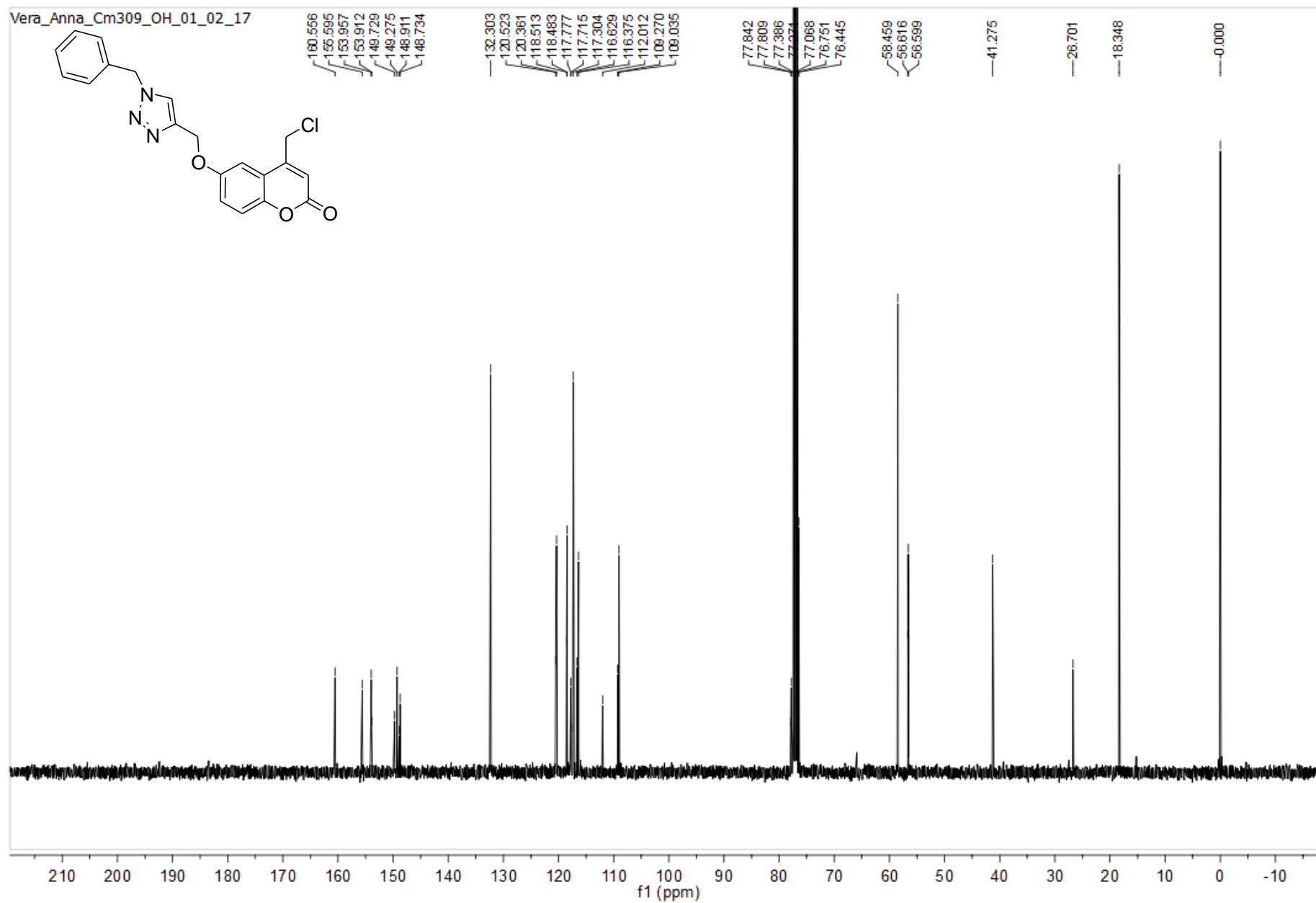
110

Anexo 27. Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto LaSOM 319 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



\*Etanol (ppm): 3,70; 1,60; 1,25 (junto com o sinal da água).

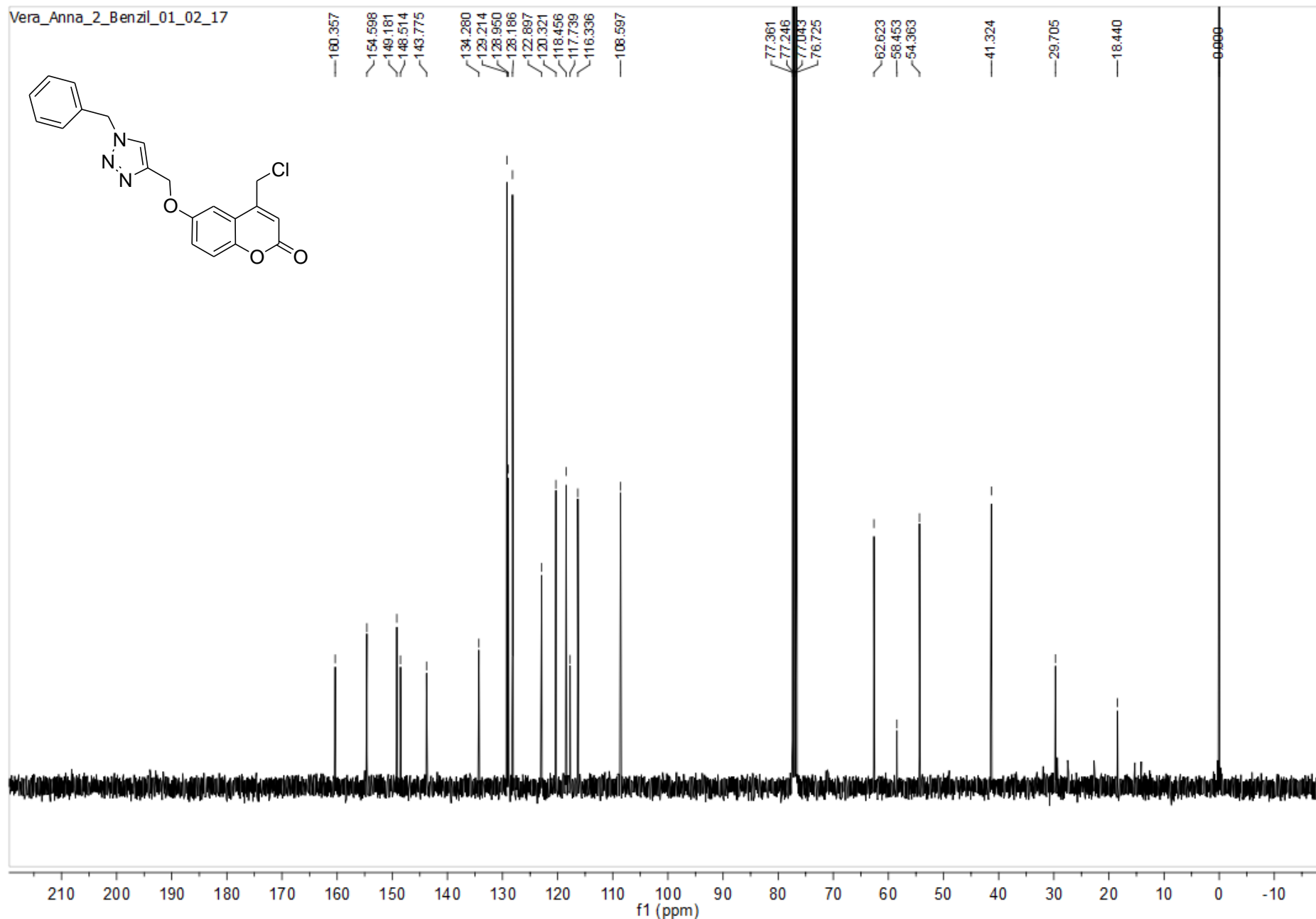
Anexo 28. Espectro de  $^{13}\text{C}$  do composto LaSOM 318 (101 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )



\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.

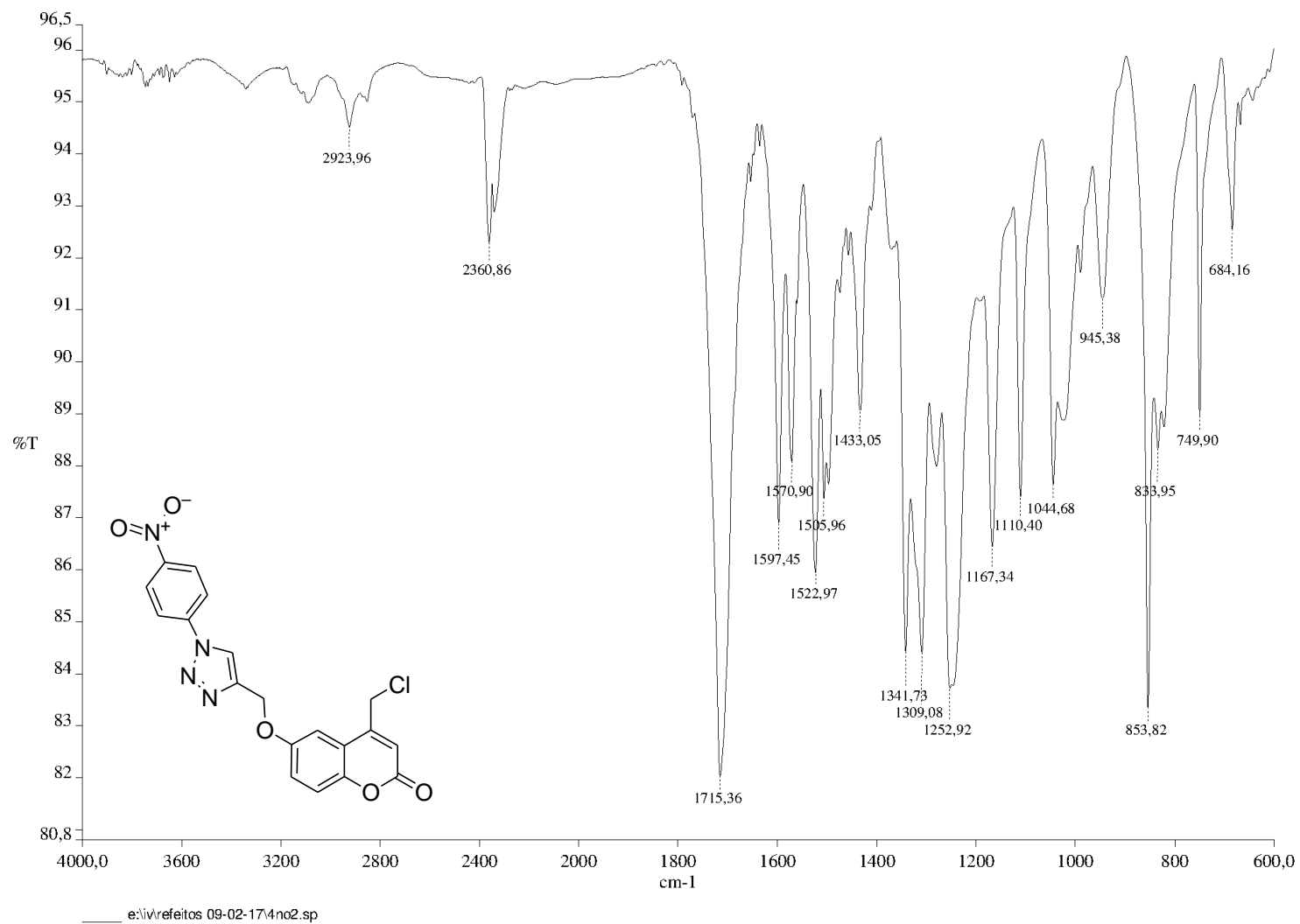


Anexo 29. Espectro de  $^{13}\text{C}$  do composto LaSOM 319 (101 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )

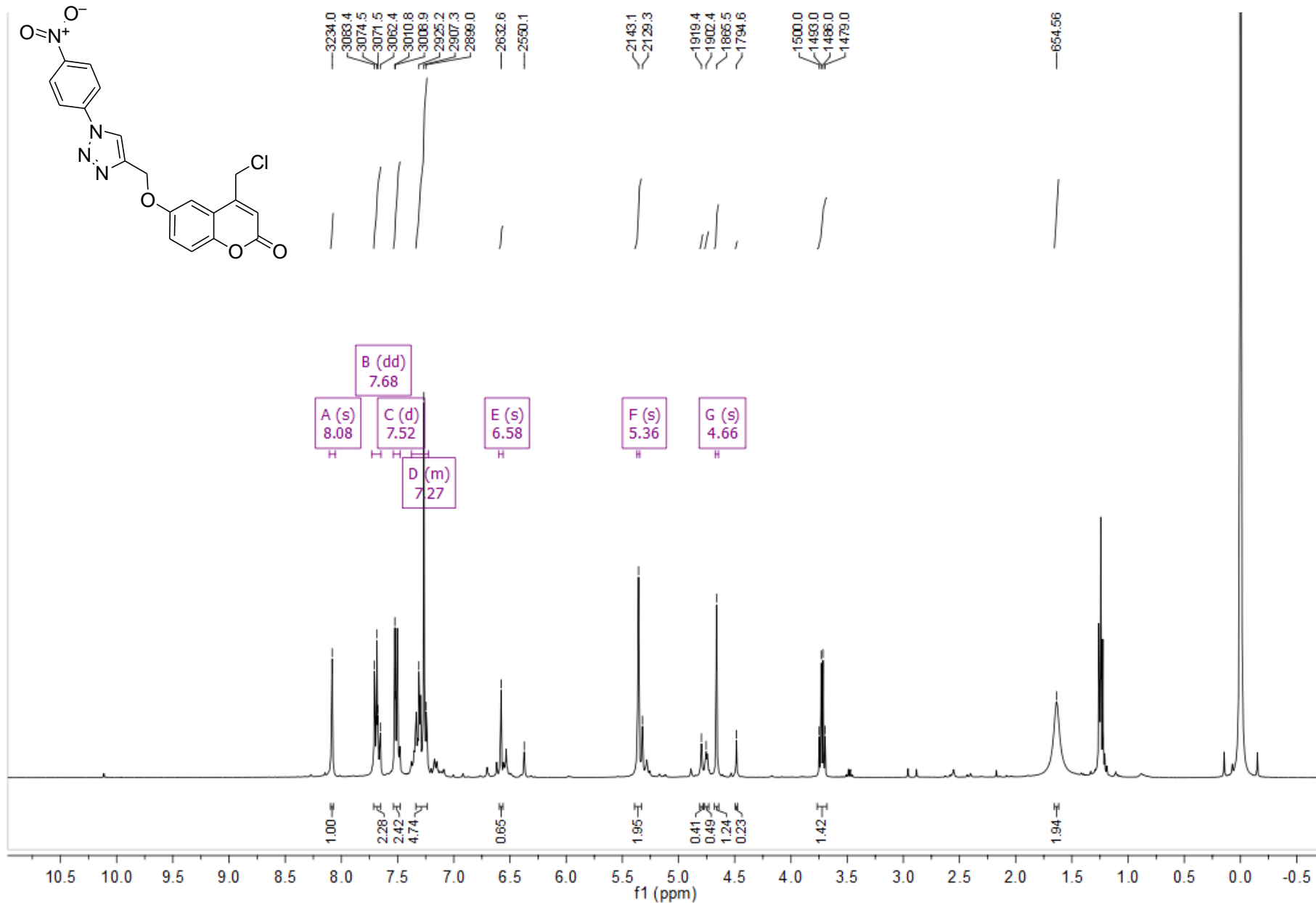


\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.

### Anexo 30. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 320

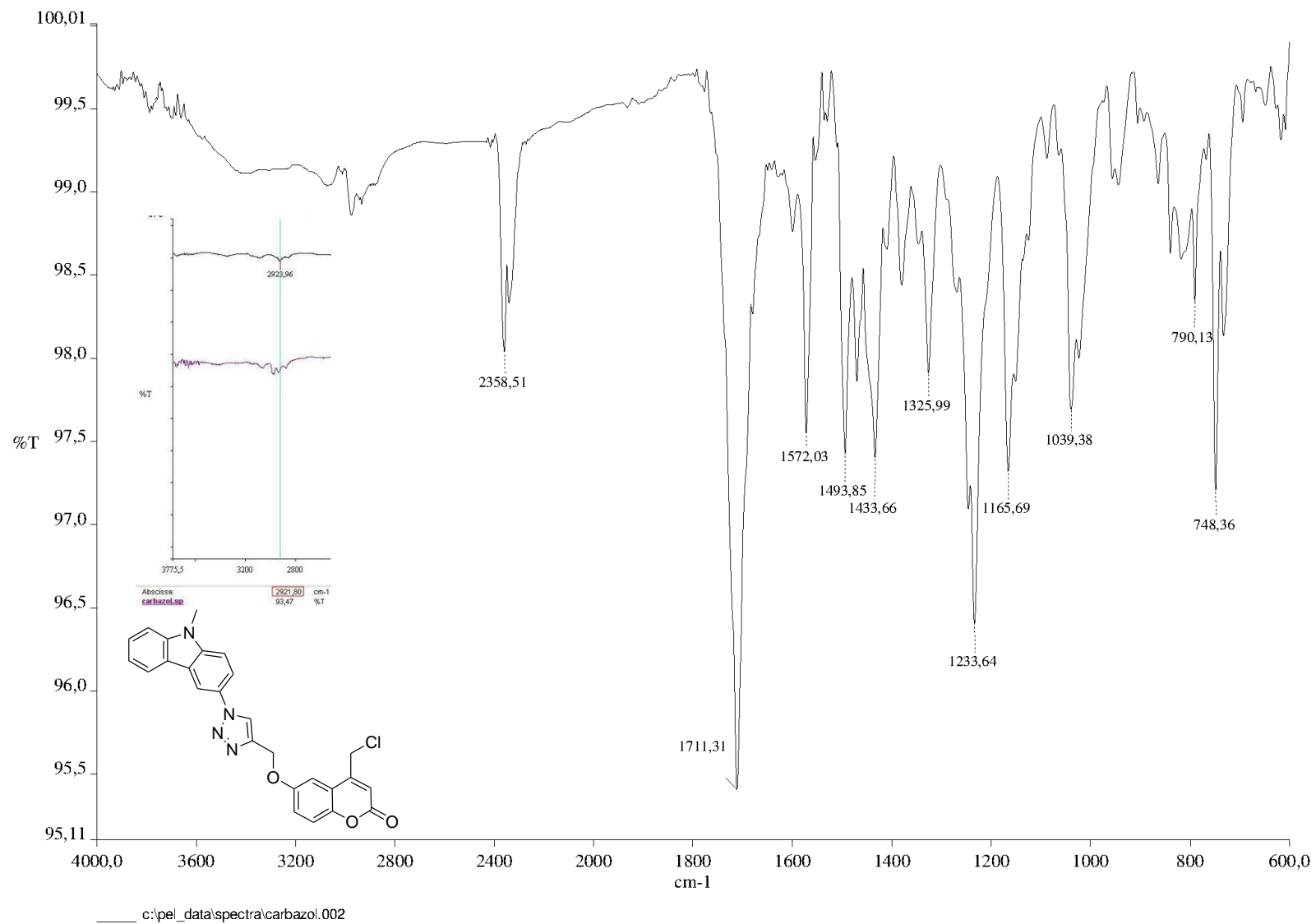


Anexo 31. Espectro de <sup>1</sup>H RMN do composto LaSOM 320 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)

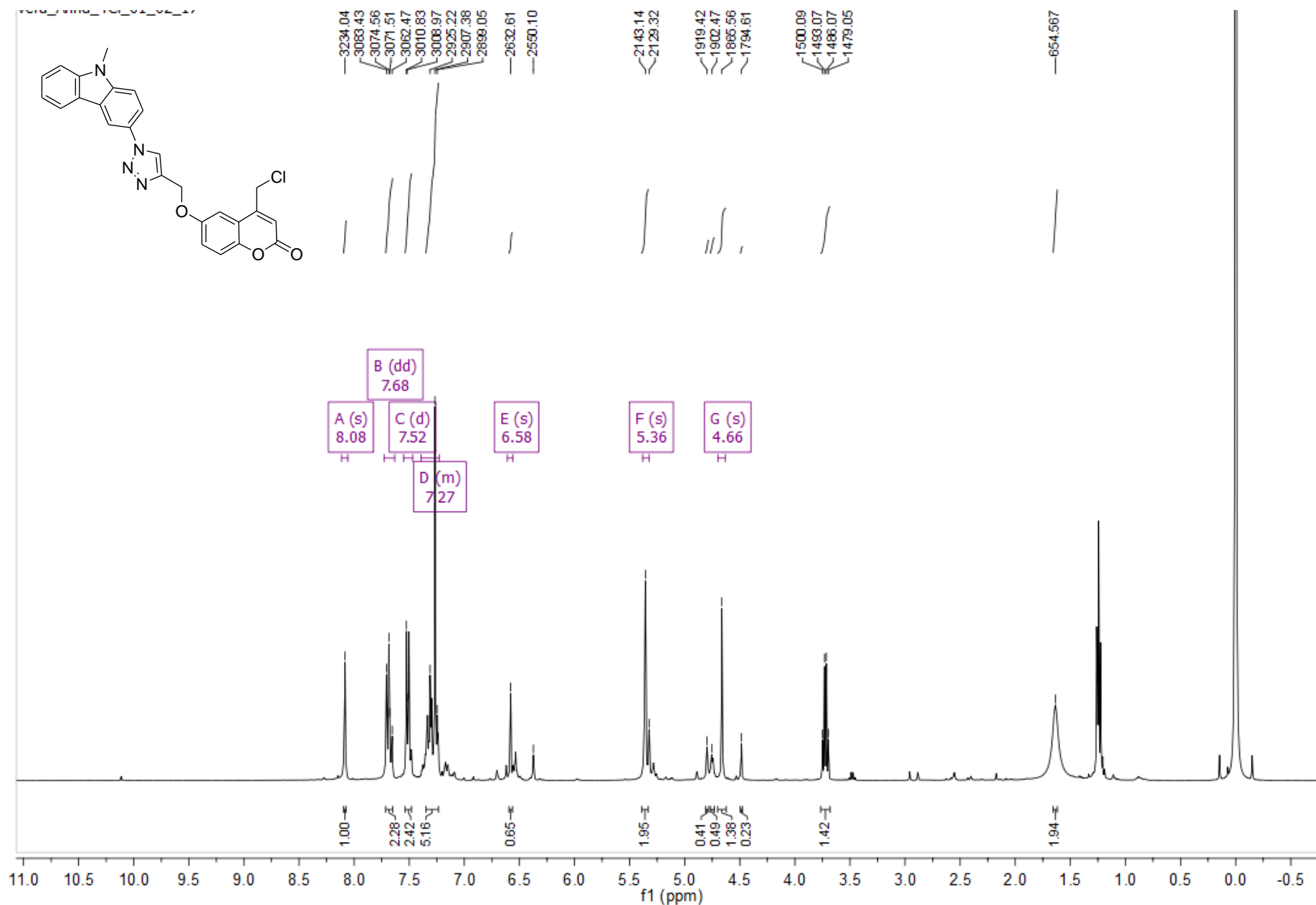


\*Etanol (ppm): 3,70; 1,60; 1,25 (junto com o sinal da água).

### Anexo 32. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 321

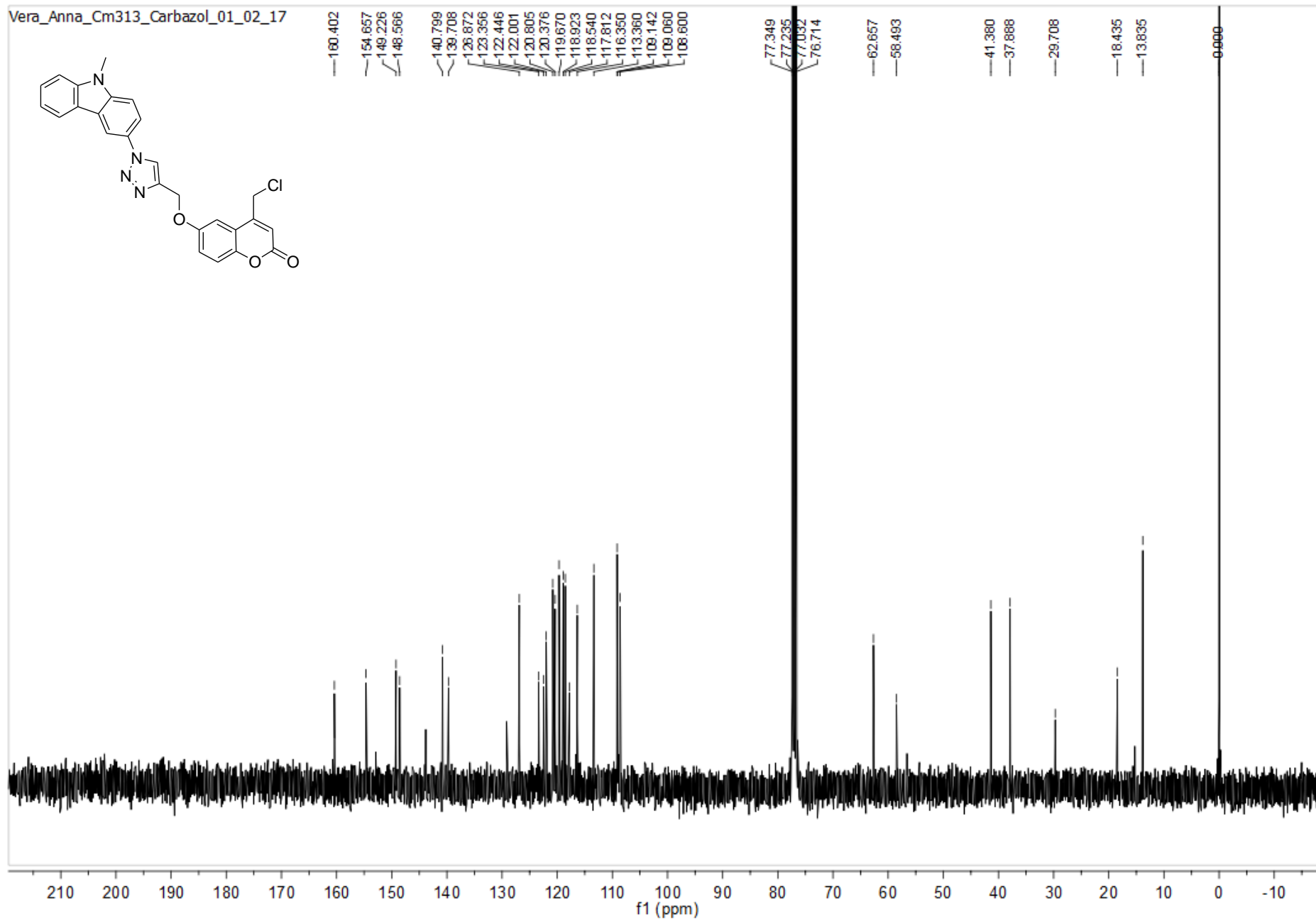


Anexo 33. Espectro de <sup>1</sup>H do composto LaSOM 321 (400 MHz – CDCl<sub>3</sub>)



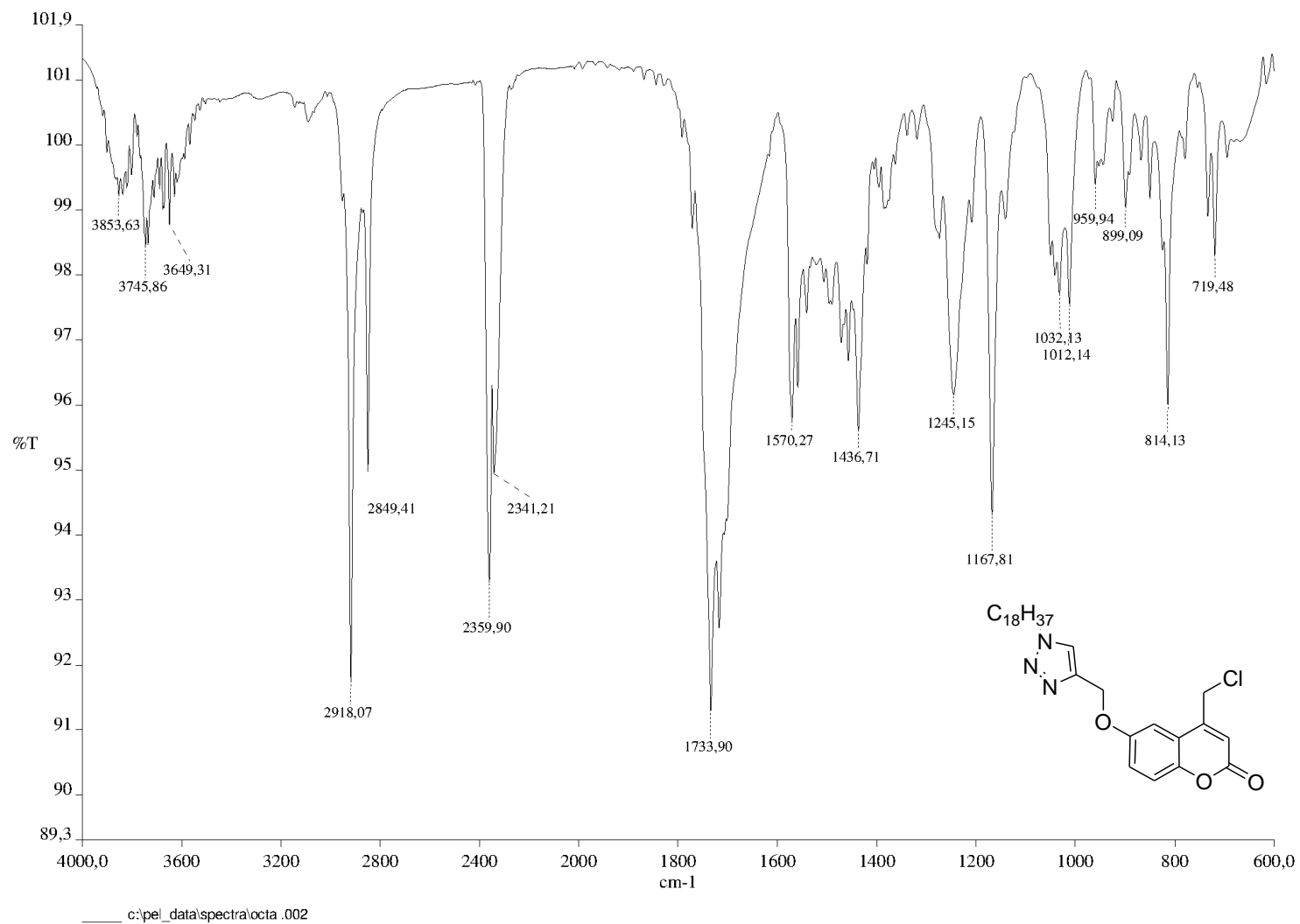
\*Etanol (ppm): 3,70; 1,60; 1,25 (junto com o sinal da água). 117

Anexo 34. Espectro de <sup>13</sup>C do composto LaSOM 321 (101 MHz – CDCl<sub>3</sub>)

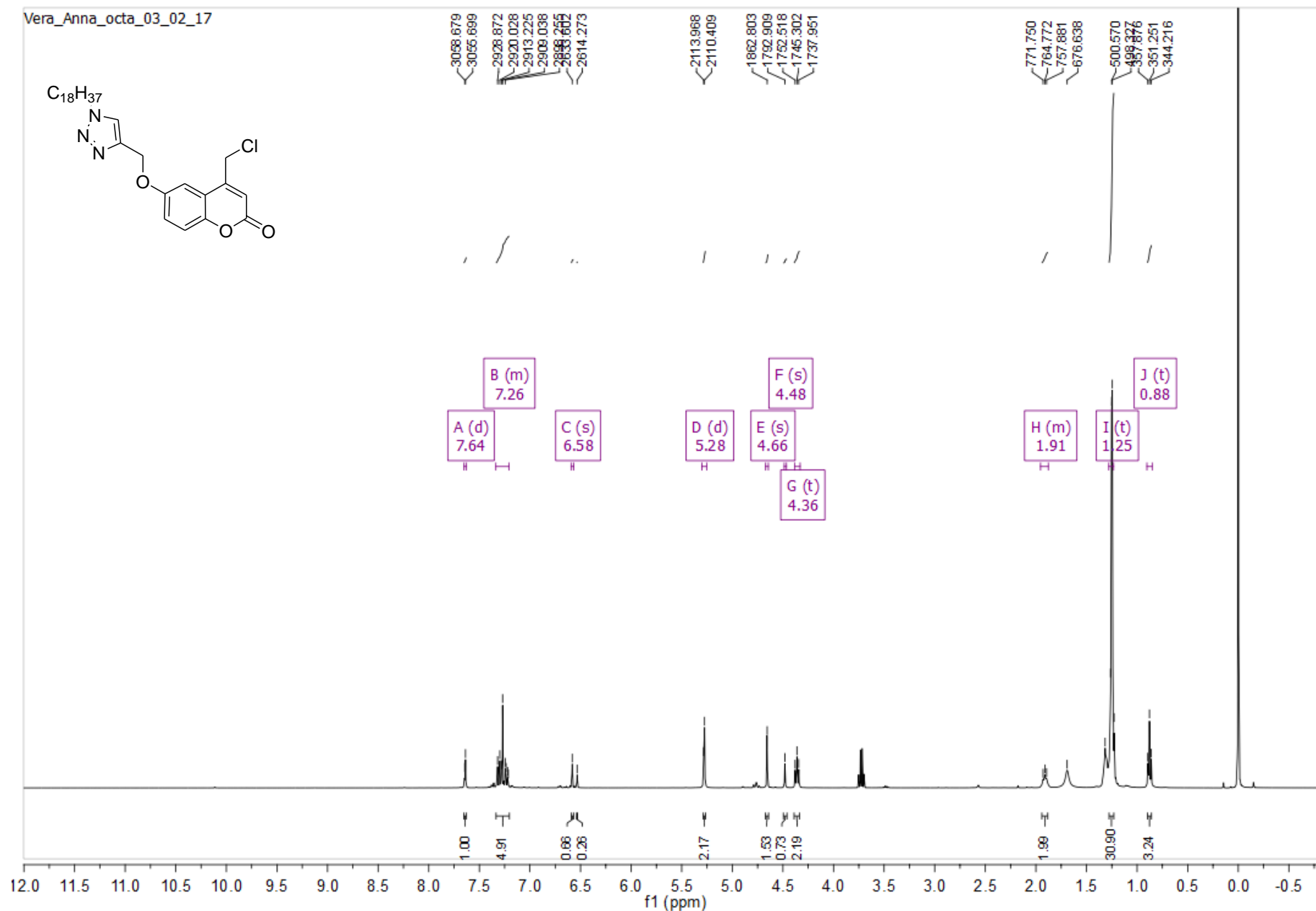


\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.

### Anexo 35. Espectro de FT-IR do composto LaSOM 322

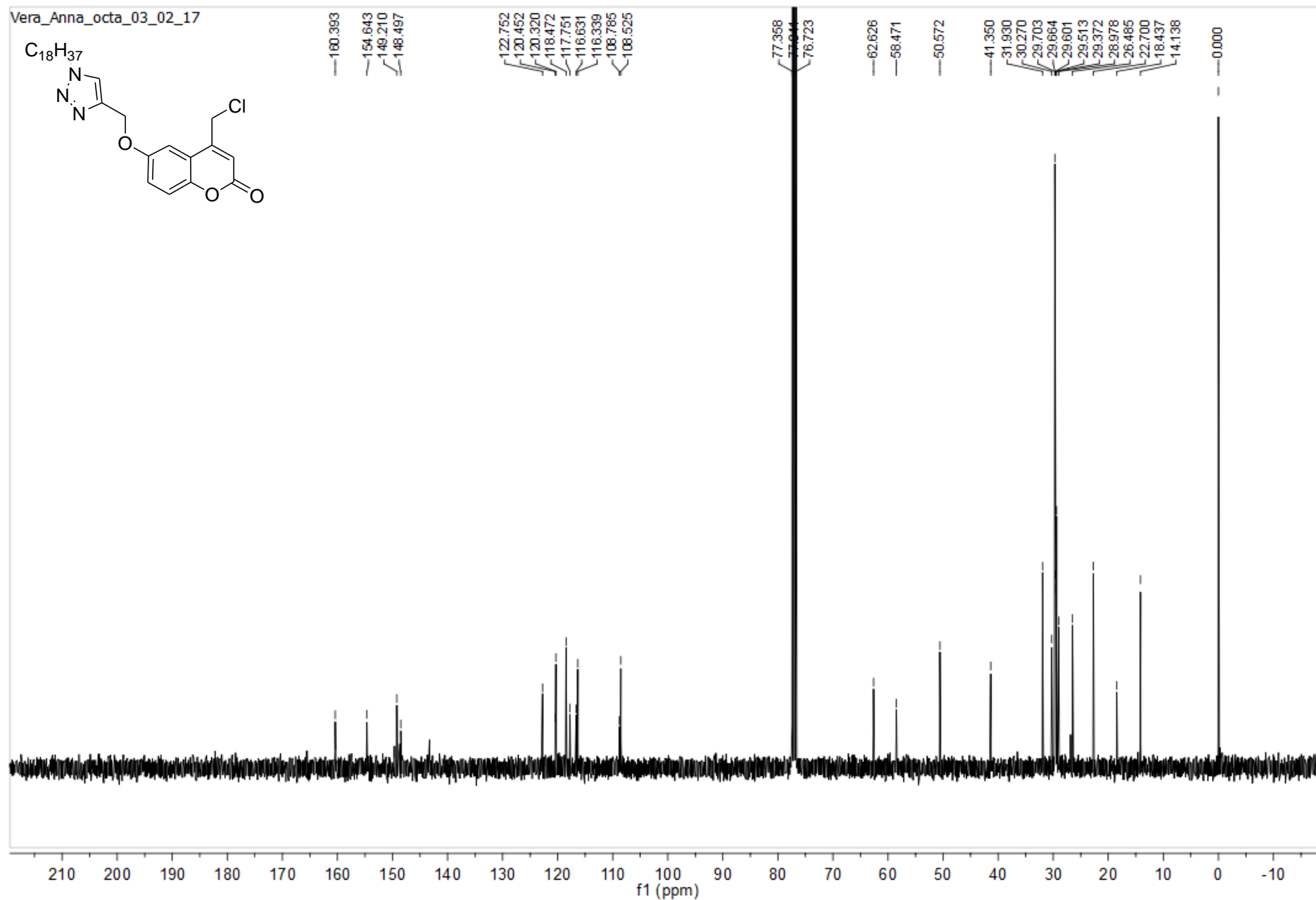


Anexo 36. Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do composto LaSOM 322 (400 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )



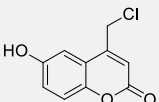
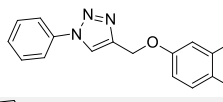
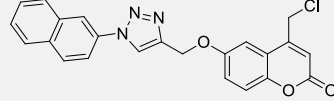
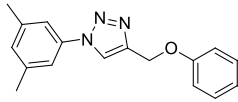
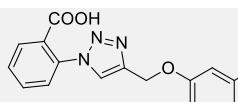
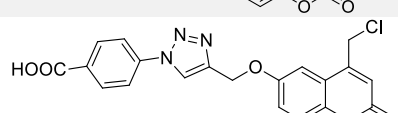
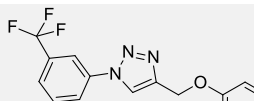
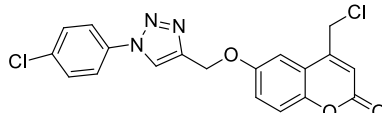
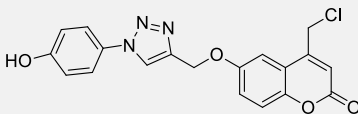
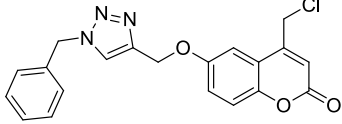
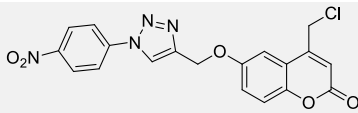
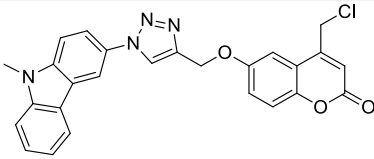
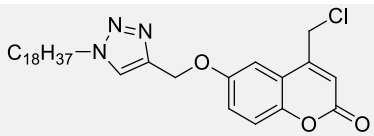


Anexo 37. Espectro de  $^{13}\text{C}$  do composto LaSOM 322 (101 MHz –  $\text{CDCl}_3$ )



\*Etanol: 58 ppm, 18 ppm.

### Anexo 38. Tabela Dados das Moléculas Sintetizadas

Código	Número na Dissertação	Estrutura	MM	LogP
LaSOM 310	16		210,00	1,78
LaSOM 311	32		367,07	3,08
LaSOM 312	33		417,09	4,80
LaSOM 313	34		395,10	4,78
LaSOM 314	35		411,79	3,36
LaSOM 315	36		411,79	3,36
LaSOM 316	37		435,06	4,72
LaSOM 317	38		401,03	4,36
LaSOM 318	39		383,07	3,41
LaSOM 319	40		381,09	3,87
LaSOM 320	41		412,06	1,04
LaSOM 321	42		470,11	4,63
LaSOM 322	43		543,32	9,22