



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO**  
**ESCOLA DE FARMÁCIA**  
**DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**



**RÚBIA CASTRO FERNANDES MELO REIS**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA,  
TRIPANOCIDA E CITOTÓXICA DE NOVOS DERIVADOS DO EUGENOL E  
ANÁLOGOS**

**OURO PRETO-MG**

**2019**

RÚBIA CASTRO FERNANDES MELO REIS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA,  
TRIPANOCIDA E CITOTÓXICA DE NOVOS DERIVADOS DO EUGENOL E  
ANÁLOGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à banca examinadora da  
Universidade Federal de Ouro Preto  
como requisito para a obtenção do título  
de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Belarmino de Souza

OURO PRETO-MG

2019

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

R375s Reis, Rúbia Castro Fernandes Melo.  
Síntese e avaliação das atividades antimicrobiana, tripanocida e  
citotóxica de novos derivados do eugenol e análogos. [manuscrito] /  
Rúbia Castro Fernandes Melo Reis. - 2019.  
61 f.: il.: color., tab., mapa.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Belarmino de Souza.  
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola  
de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Agentes anti-infecciosos. 2. Tripanossomicidas. 3. Eugenol. 4. Cravo-  
da-índia. I. Souza, Thiago Belarmino de. II. Universidade Federal de Ouro  
Preto. III. Título.

CDU 615.45

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Rúbia Castro Fernandes Melo Reis**

**Síntese e avaliação das atividades antimicrobiana, tripanocida e citotóxica de novos derivados do eugenol e análogos**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutica

Aprovada em 12 de Dezembro de 2019

### Membros da banca

Dr. Thiago Belarmino de Souza - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto  
Ma. Adriana Cotta Cardoso Reis - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dr. Saulo Fehelberg Pinto Braga - Universidade Federal de Ouro Preto

Thiago Belarmino de Souza, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 10/01/2020



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Belarmino de Souza, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 20/07/2022, às 13:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0365045** e o código CRC **5FDBE375**.

*À minha família, por todo apoio  
incondicional*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, à minha família por todo suporte para que eu pudesse concluir parte do meu sonho. Em especial, aos meus pais, patos e ao meu primo João por todos os conselhos nas horas difíceis, sem vocês nada disso teria sido possível.

Aos meus amigos do Teto Preto (todas as gerações) e do Morro, pela convivência por todos esses anos, principalmente Bárbara, Vivi e Ana, por aguentarem meus dramas e desabafos! Amo todos vocês.

Às lindas, Paula, Sabrina, Talita, Thaís, Jéssica e Márcia pelo companheirismo, pela convivência, pelas risadas e choros compartilhados. Conhecer e estar com vocês fez com que a caminhada fosse mais leve. Obrigada por tudo! Amo vocês.

Aos amigos do grupo que não deve ser nomeado, em especial, Malu e Gabi, por todos os momentos e roles aleatórios pra beber de boa. Amo vocês.

Aos amigos do Farmamor que, independente da distância, sempre estiveram presentes nos melhores e piores momentos. Obrigada por todas as consultas, dicas, desabafos e risadas! Amo vocês.

Aos professores, agradeço não só pelos conhecimentos, mas pela paciência, dedicação e carinho. Em especial à Carla, Glenda, Viviane, Tânia e Renata Guerra, por todo o apoio e incentivo.

Aos colegas do LAPAC, pelos meses de convívio e ensinamentos. Foi gratificante estagiar com vocês.

Aos amigos do Laboratório de Química Medicinal e Bioensaios, por tornarem esses últimos anos os melhores do o curso. Obrigada por todas as risadas, todas as unidades e também por todos os momentos difíceis. Em especial, agradeço aos professores Geraldo Célio e Saulo, que por tantas vezes me auxiliaram em tudo que precisei. Saibam que são muito especiais pra mim! Amo vocês.

Por último e não menos importante, agradeço ao Thiago Belarmino, por ser simplesmente o melhor orientador que eu poderia ter. Obrigada por todos os xingos, brincadeiras, puxões de orelha e por estar sempre comigo quando precisei. Você é um exemplo pra mim! Obrigada por tudo.

## RESUMO

O eugenol é um fenilpropanóide natural presente nos óleos essenciais de algumas espécies vegetais, como o cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e canela brava (*Croton zehntneri*). Muitos autores têm relatado diferentes atividades biológicas para o eugenol, análogos e derivados, como ação antimicrobiana, antineoplásica, anti-inflamatória e antiparasitária. Recentemente, nosso grupo de pesquisa descobriu um derivado 1,2,3-triazólico do diidroeugenol potencialmente ativo contra *Micrococcus luteus* (ensaios *in vitro*) e *Trypanosoma cruzi* (ensaios *in vitro* e *in vivo*). Em vista do potencial antimicrobiano e tripanocida desta substância, aliado à necessidade de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos úteis para o tratamento de infecções bacterianas e para o tratamento da doença de Chagas, neste trabalho foram sintetizados 8 derivados  $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol (e análogos) a partir de reações de condensação aldólica entre duas cetonas e quatro aldeídos, sendo destes 4 produtos inéditos. Além de serem potencialmente ativos devido à semelhança estrutural com o protótipo descrito, também há relatos na literatura de derivados  $\alpha,\beta$ -insaturados ativos contra *T. cruzi*, o que justifica ainda mais o padrão proposto neste trabalho. As substâncias foram obtidas com rendimentos variando entre 28-94% e com massa suficiente para caracterização e avaliações biológicas. Os derivados foram quimicamente caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . A avaliação da atividade antimicrobiana e tripanocida das substâncias encontra-se em fase final de execução. Os produtos finais obtidos foram avaliados quanto à citotoxicidade frente a linhagem de células de fibroblastos de pulmão humano (MRC-5) e linhagens de células tumorais HeLa, T24 e TOV-21G, referentes à câncer de colo do útero, bexiga e ovário, respectivamente. Os derivados **7**, **14** e **10** apresentaram resultados interessantes frente às linhagens de células HeLa ( $\text{IC}_{50} = 7,07 \mu\text{M}$ ;  $\text{IC}_{50} = 8,85 \mu\text{M}$  e  $\text{IC}_{50} = 2,04 \mu\text{M}$ , respectivamente) e T24 ( $\text{IC}_{50} = 11,66 \mu\text{M}$ ;  $\text{IC}_{50} = 17,74 \mu\text{M}$  e  $\text{IC}_{50} = 2,29 \mu\text{M}$ , respectivamente). Para a linhagem TOV-21G, os derivados **14** e **10** apresentaram  $\text{IC}_{50} = 4,71 \mu\text{M}$  e  $2,74 \mu\text{M}$ , respectivamente. Todos derivados testados foram citotóxicos para as células normais (MRC-5), sendo que o derivado **12** apresentou o menor valor de  $\text{IC}_{50}$  ( $105,99 \mu\text{M}$ ), sendo menos citotóxico. Os índices de seletividade variaram de 0,22 a 10,12, o que faz tais substâncias potenciais protótipos para pesquisas futuras que visem a descoberta de novos candidatos a fármacos antineoplásicos.

**Palavras-chave:** eugenol; diidroeugenol; atividades biológicas; condensação aldólica

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estruturas químicas do eugenol (I), diidroeuogenol (II), isoeugenol (III) e do derivado 1,2,3-triazólico do diidroeuogenol (IV), potencialmente antimicrobiano e tripanocida. Fonte: da autora. ....	2
<b>Figura 2:</b> Padrão estrutural proposto neste trabalho. Fonte: da autora. ....	2
<b>Figura 3:</b> Distribuição de casos de infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i> no mundo. Fonte: WHO, 2010, adaptação da autora. ....	4
<b>Figura 4:</b> Ciclo biológico do parasito. Fonte: da autora. ....	5
<b>Figura 5:</b> Estruturas químicas do Benznidazol e Nifurtimox, respectivamente. Fonte: da autora. ....	6
<b>Figura 6:</b> Diferenciação das estruturas das paredes celulares de bactérias Gram positivas e Gram negativas. Fonte: adaptação da autora. ....	7
<b>Figura 7:</b> Descoberta das diferentes classes de fármacos antimicrobianos. Fonte: da autora. ....	8
<b>Figura 8:</b> Representação esquemática dos alvos moleculares das diferentes classes de antimicrobianos atuais. Fonte: da autora. ....	9
<b>Figura 9:</b> Estimativa de mortes por infecções bacterianas até 2050. Fonte: A review on Antibiotic Resistance; adaptação da autora. ....	11
<b>Figura 10:</b> Estrutura do eugenol (I) e do diidroeuogenol (II). Fonte: da autora. ....	12
<b>Figura 11:</b> Glicosídeos derivados do eugenol sintetizados por Souza et al. (2013, 2015a), potencialmente antigúnficos. Fonte: da autora. ....	12
<b>Figura 12:</b> Derivados do eugenol sintetizados por SOUZA et al. (2019), com potencial atividade tripanocida. Fonte: da autora. ....	13
<b>Figura 13:</b> Substâncias sintetizadas por Azevedo-Barbosa et al. (2019) e seus respectivos protótipos. Fonte: da autora. ....	13
<b>Figura 14:</b> Triazóis derivados do eugenol sintetizados por SOUZA et al. (2015b). Fonte: da autora. ....	14
<b>Figura 15:</b> Substâncias sintetizadas por BRAGA et al., (2014), com potencial atividade tripanocida. Fonte: da autora. ....	15
<b>Figura 16:</b> Padrão estrutural proposto neste trabalho e respectivos substituintes. Fonte: da autora. ....	15
<b>Figura 17:</b> Síntese dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos. Fonte: da autora. ....	17

<b>Figura 18:</b> Análise retrossintética para a obtenção das substâncias propostas. Fonte: da autora. ....	26
<b>Figura 19:</b> Proposta de mecanismo para a reação de formilação do eugenol e do diidroeuugenol na presença de hexamina. Fonte: da autora. ....	27
<b>Figura 20:</b> Proposta de mecanismo para a reação de condensação aldólica em meio básico. Fonte: da autora. ....	28

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Quantidades de reagentes utilizados para as reações de formilação. ....	19
<b>Tabela 2:</b> Quantidades de reagentes utilizados para a síntese das substâncias 7 e 11...	21
<b>Tabela 3:</b> Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos compostos 8 e 12....	22
<b>Tabela 4:</b> Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos compostos 9 a 14....	23
<b>Tabela 5:</b> Citotoxicidade (MRC-5, HeLa, T24 e TOV-21G), e respectivos desvios padrões (n=3) e índice de seletividade (IS), das substâncias de síntese, realizada por meio do ensaio colorimétrico do MTT .....	34

## LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS E SÍMBOLOS

<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>
<b>CAM</b>	Molibdato sérico de amônio
<b>CC<sub>50</sub></b>	Concentração citotóxica para 50% das células
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada delgada
<b>CCS</b>	Cromatografia em coluna de sílica
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Clorofórmio deuterado
<b>CMB</b>	Concentração mínima bactericida
<b>CFI</b>	Concentração mínima inibitória
<b>d</b>	Dupleto
<b>dd</b>	Dupleto duplo
<b>DEPT</b>	Intensificação sem distorção via transferência de polarização ( <i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i> )
<b>DHF</b>	Diidrofolato
<b>DMEM</b>	Meio Eagle modificado por Dulbecco ( <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i> )
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DMSO-<i>d</i><sub>6</sub></b>	Dimetilsulfóxido deuterado
<b>DNA</b>	cido desoxirribonucleico ( <i>Desoxyribonucleic acid</i> )
<b>dt</b>	Dupleto triplo
<b>eq.</b>	Equivalente
<b>F.M.</b>	Fórmula molecular
<b>g</b>	Gramas
<b>HIV</b>	Vírus da imunodeficiência humana ( <i>Human immunodeficiency vírus</i> )
<b>Hz</b>	Hertz
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentração capaz de inibir 50% do crescimento celular
<b>IC<sub>90</sub></b>	Concentração capaz de inibir 90% do crescimento celular
<b>IS</b>	ndice de seletividade
<b>J</b>	Constante de acoplamento
<b>LogP</b>	Logartimo do coeficiente de partição
<b>m</b>	Multipleto
<b>M.M</b>	Massa molar

<b>mg</b>	Miligramas
<b>MHz</b>	Mega Hertz
<b>mL</b>	Mililitros
<b>MTT</b>	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
<b>NAG</b>	<i>N</i> -acetilglicosamina
<b>NAM</b>	Ácido <i>N</i> -acetilmurâmico
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico ( <i>Ribonucleic acid</i> )
<b>s</b>	simpleto
<b>sex</b>	sexteto
<b>SFB</b>	Soro fetal bovino
<b>t</b>	tripleto
<b>THF</b>	Tetraidrofolato
<b>TMS</b>	Tetrametilsilano
<b>WHO</b>	World Health Organization
<b>δ</b>	Deslocamento químico (ppm)
<b>μM</b>	Micromolar

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	3
2.1. Doença de Chagas.....	3
2.2. Infecções bacterianas .....	6
2.2.1. Fármacos antibacterianos .....	7
2.2.2. Resistência bacteriana.....	9
2.3. Eugenol, derivados e análogos.....	11
2.4. Compostos $\alpha,\beta$ -insaturados .....	14
3. OBJETIVOS.....	16
3.1. Objetivos específicos .....	16
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
4.1. Procedimentos gerais para as reações e caracterizações químicas .....	17
4.2. Síntese das substâncias propostas .....	17
4.2.1. Procedimento geral para a obtenção dos derivados formilados do eugenol (3) e diidroeu­genol (4).....	18
4.2.2. Procedimentos gerais para a obtenção dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados 7 e 11 .....	20
4.2.3. Procedimentos gerais para a obtenção dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados 8 e 12 .....	22
4.2.4. Procedimento geral para a síntese dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados da <i>o</i> -vanilina (9 e 13) e do salicilaldeído (10 e 14).....	23
4.3. Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
5.1. Planejamento dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos.....	26
5.2. Síntese e caracterização dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos .....	27
5.2.1. Síntese dos intermediários formilados do eugenol e do diidroeu­genol (3 e 4) .....	27
5.2.2. Síntese dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol, diidroeu­genol, <i>o</i> -vanilina e salicilaldeído em meio básico .....	28
5.2.3. Caracterização química dos derivados do eugenol (7 e 11) .....	29
5.2.4. Caracterização química dos derivados do diidroeu­genol (8 e 12).....	30
5.2.5. Caracterização química dos derivados da <i>o</i> -vanilina (9 e 13).....	31
5.2.6. Caracterização química dos derivados do salicilaldeído (10 e 14).....	32
5.3. Resultados das avaliações do potencial biológico <i>in vitro</i> das substâncias sintetizadas .....	33

6.	CONCLUSÕES .....	36
7.	REFERÊNCIAS .....	37
8.	ANEXOS .....	40
8.1.	Anexo 1 .....	40
8.2.	Anexo 2 .....	43
8.3.	Anexo 3 .....	46
8.4.	Anexo 4 .....	49
8.5.	Anexo 5 .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (Tripanossomíase Americana) é uma doença causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi* e transmitida aos humanos através da picada de insetos triatomíneos infectados, e posterior defecação dos mesmos no local da ferida. Essa doença ainda é considerada negligenciada, mesmo após 100 anos de sua descoberta, e afeta mais de 8 milhões de pessoas, principalmente na América Latina. A resistência natural aos dois derivados nitroheterocíclicos (Benznidazol e Nifurtimox), disponíveis para o tratamento da doença, aliado ao fato desses fármacos serem efetivos apenas na fase aguda da doença, representam um fator importante na explicação das baixas taxas de cura detectadas em pacientes chagásicos (YOUNG *et al.*, 2000).

Por outro lado, considerando as infecções microbianas, a resistência dos micro-organismos aos antibióticos disponíveis tem sido cada vez mais problemática para a saúde humana. Grande parte dos antimicrobianos utilizados na atualidade foi descoberta há mais de 70 anos, sendo que as versões mais recentes foram geradas por modificações químicas baseadas nesses compostos, visando contornar a resistência bacteriana, melhorando assim sua efetividade (SOUZA *et al.* 2015a).

De acordo com SOUZA e colaboradores (2015a), o agente antimicrobiano ideal deve exibir uma alta atividade biológica, baixa capacidade de induzir a resistência destes micro-organismos, amplo espectro de ação e baixa toxicidade. Entretanto, atualmente, não se encontram fármacos que preencham todos estes requisitos, sendo extremamente necessária a busca por novos compostos potencialmente ativos contra agentes microbianos.

Diante disso, o eugenol, um dos principais componentes do cravo da Índia (YADAV *et al.* 2015), além de seus análogos têm sido utilizados como protótipos para a síntese de derivados e posterior avaliação biológica por diversos grupos de pesquisa.

O eugenol e seus análogos, como o diidroeugenol e isoeugenol (Figura 1) foram recentemente utilizados como protótipos pelo nosso grupo de pesquisas, que descobriu um derivado 1,2,3-triazólico do diidroeugenol (Figura 1), potencialmente bacteriostático e bactericida (IC<sub>50</sub>: 10,6 µM e IC<sub>90</sub>: 21,2 µM) contra *Micrococcus luteus*, em ensaios *in vitro* (resultados ainda não divulgados). Embora essa espécie não seja considerada patogênica para humanos, *M. luteus* pode atuar como um agente infeccioso oportunista,

já que vários casos de óbitos decorrentes por endocardite associada com *M. luteus* têm sido reportados recentemente.

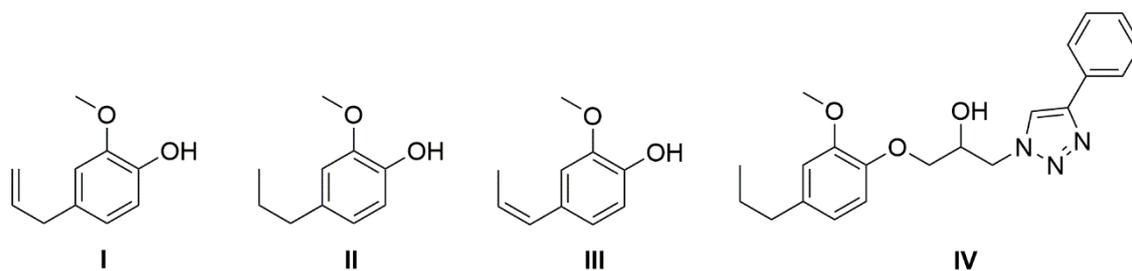


Figura 1: Estruturas químicas do eugenol (I), diidroeugenol (II), isoeugenol (III) e do derivado 1,2,3-triazólico do diidroeugenol (IV), potencialmente antimicrobiano e tripanocida. Fonte: da autora.

Adicionalmente, este mesmo derivado apresentou interessante atividade contra formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*. (IC<sub>50</sub>: 42,8 µM) em ensaios *in vitro*. Ao ser avaliado *in vivo*, o composto **IV** reduziu mais de 50% da parasitemia em ratos infectados com formas tripomastigotas de *T. cruzi* quando tratados oralmente com 100 mg/Kg deste composto (SOUZA *et al.*, 2019).

Em vista do potencial antimicrobiano e tripanocida observado para o derivado triazólico do diidroeugenol, aliado à necessidade de desenvolvimento de novos candidatos a fármacos úteis para o tratamento de infecções bacterianas, assim como para o tratamento da Doença de Chagas, neste trabalho é proposta a síntese e avaliação biológica de novos derivados cetônicos  $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol (e análogos fenilpropanóides), contendo um padrão estrutural semelhante ao protótipo acima citado descoberto por nosso grupo de pesquisa. Além de serem potencialmente ativos por serem semelhantes ao protótipo, também há relatos na literatura de derivados  $\alpha,\beta$ -insaturados ativos contra *T. cruzi* (BRAGA *et al.*, 2014), o que justifica ainda mais o padrão estrutural proposto neste trabalho (Figura 2). Espera-se, com isso, a descoberta de novas substâncias mais potentes, menos tóxicas, com um maior espectro de ação antimicrobiano, e que ainda possam ser ativas contra as diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*.

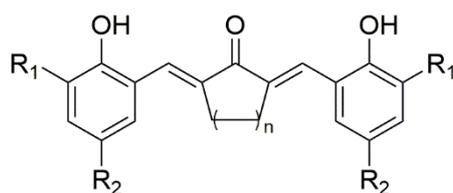


Figura 2: Padrão estrutural proposto neste trabalho. Fonte: da autora.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Doença de Chagas

A doença de Chagas (tripanosomíase americana) é uma parasitose amplamente distribuída no continente americano, e apesar de ter sido descoberta apenas em 1909 por Carlos Chagas, os vetores que transmitem o parasito da doença já existiam há quase 10 milhões de anos (WHO, 2019).

O *Trypanosoma cruzi*, protozoário responsável pela parasitose, vivia restrito à situação silvestre, circulando entre animais selvagens, mamíferos e em ambiente natural através de vetores ou até mesmo por via oral, com ingestão destes e/ou de animais infectados com o parasito. Com o passar das décadas, a ação antrópica, o aumento das atividades agrícolas, domesticação e criação de animais fizeram com que o homem fosse incluso no ciclo biológico do parasito, disseminando assim a infecção ao homem (VINHARES, 2000; WHO, 2019).

Segundo VINHARES (2000), a urbanização progressiva da população rural transformou a doença de Chagas em um problema grave de saúde pública, proporcionando vias secundárias de transmissão devido ao aumento dos casos de infecção, como transfusão sanguínea, transmissão congênita e coinfeções virais, como *T. cruzi*-HIV. Estima-se que cerca de 8 milhões de pessoas no mundo, sobretudo na América Latina e populações residentes em condições precárias, são ou foram atingidas por essa endemia.

O mapa da Figura 3 mostra a distribuição de casos de infecções por *Trypanosoma cruzi* baseados em transmissão vetorial no mundo, evidenciando que até 2009, a grande maioria dos casos da doença concentraram-se na América Latina, sobretudo no Brasil, Argentina e no sul da América do Norte (WHO, 2009).

O gênero *Triatoma spp.* é pertencente à subfamília *Triatominae* e corresponde a insetos popularmente conhecidos como “barbeiros”, cujo principal representante e vetor de transmissão do parasito da doença de Chagas na América do Sul é a espécie *Triatoma infestans* (Figura 3). Estes possuem hábitos noturnos e estão aptos a viver próximos ao domicílio e/ou peri-domicílio humano e, como são hematófagos obrigatórios, raramente migram para outros locais.

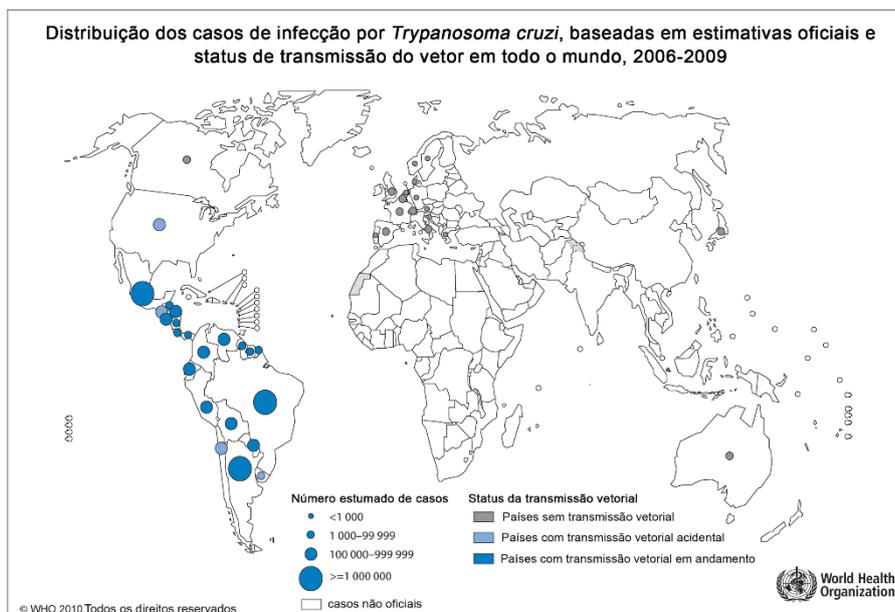


Figura 3: Distribuição de casos de infecção por *Trypanosoma cruzi* no mundo. Fonte: WHO, 2010, adaptação da autora.

A família *Trypanosomatidae* reúne nove diferentes gêneros e diferentes hospedeiros, entretanto, os gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* são os representantes com importância clínica. Estes são parasitos heteróxeos de vertebrados sendo transmitidos por insetos hematófagos estritos, e apresentam uma alternância de formas celulares em seus ciclos biológicos devido à diferenciação celular, evidente principalmente na transição entre os hospedeiros invertebrado e vertebrado.

A transmissão do parasito ao hospedeiro vertebrado se dá a partir da picada do inseto triatomíneo e posterior defecação no local da ferida, possibilitando o contato do parasito com os tecidos do hospedeiro. A Figura 4 ilustra o ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi* que, ao ser liberado nas fezes do inseto na forma tripomastigota metacíclica, entra em contato com a corrente sanguínea do humano (A) e se distribui entre os tecidos, sobretudo coração, pulmão e intestino, diferenciando-se na forma amastigota. Em B, ocorre a multiplicação das formas amastigotas por fissão binária nos tecidos e, posteriormente, diferenciam-se em tripomastigotas, que são liberados na corrente sanguínea (C).

Ao picar o hospedeiro, o triatomíneo ingere o sangue com a forma tripomastigota do parasito e estes se diferenciam em epimastigotas no intestino médio do inseto (D e E, respectivamente), que se multiplicam por fissão binária (F) e se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos (G), sendo liberados novamente nas fezes do hospedeiro invertebrado e dando início a um novo ciclo.

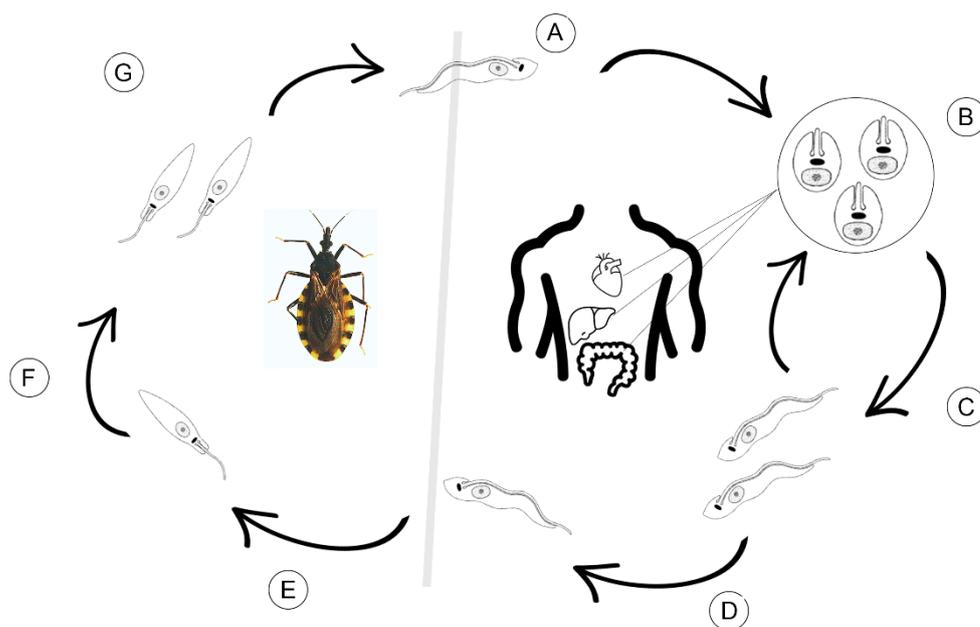


Figura 4: Ciclo biológico do parasito. Fonte: da autora.

A fase aguda da doença pode ser sintomática, com ocorrência principalmente na infância e levando à morte em cerca de 10% dos casos, ou assintomática. Os sinais clássicos da fase aguda ocorrem através de manifestações locais, como sinal de Romaña e chagoma de inoculação, resultantes da penetração do *T. cruzi* na conjuntiva e na pele, respectivamente. A fase crônica também apresenta uma forma assintomática (indeterminada) e uma forma sintomática.

A fase indeterminada caracteriza-se pelo período em que os sobreviventes à fase aguda passam por um longo tempo (10-30 anos – assintomáticos), onde os exames sorológicos e/ou parasitológicos confirmam a positividade para a doença, mas os sinais e sintomas estão ausentes. Após permanecerem assintomáticos, os pacientes chagásicos podem apresentar sintomatologias relacionadas com o sistema cardíaco e digestivo, caracterizando a fase crônica sintomática da doença. Nesta, observam-se aumento do processo inflamatório e danos nestes órgãos, podendo culminar em cardiomiopatias e hepatopatias graves, ou até mesmo em óbito. Cabe ressaltar que nem sempre esses danos estão relacionados à presença do parasito, visto que nessa fase o mesmo encontra-se escasso no organismo do paciente.

Atualmente, apenas dois fármacos estão disponíveis clinicamente para o tratamento da doença de Chagas, Benznidazol (V, figura 5) e Nifurtimox (VI, figura 5),

sendo que ambos tem uma atuação de curta duração e são efetivos apenas na fase aguda da doença (FILARDI *et al.* 1986).

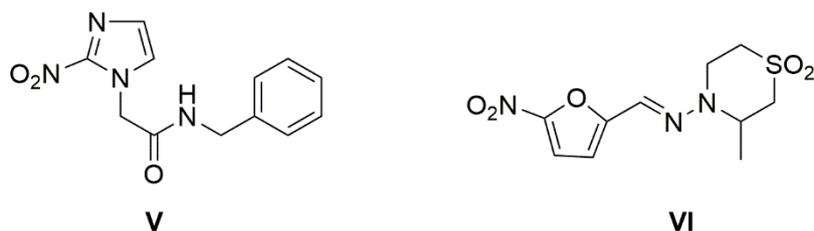


Figura 5: Estruturas químicas do Benznidazol e Nifurtimox, respectivamente. Fonte: da autora.

Os fármacos disponíveis citados são derivados nitroheterocíclicos com elevada toxicidade, sendo o Beznidazol de primeira escolha na dose de 5mg/kg/dia para adultos e, para criança, 5-10 mg/kg/dia. O Nifurtimox é recomendado em casos de resistência natural e/ou efeitos colaterais graves associados ao Benznidazol (FERREIRA *et al.* 2019; BRENER, 1984).

A resistência natural do *Trypanosoma cruzi* aos referidos fármacos é sugerida como um fator para a baixa taxa de eficácia e de cura detectadas em pacientes chagásicos, acarretando em mais riscos do que benefícios aos mesmos. Além disso, dentre os efeitos adversos mais graves associados ao Benznidazol, estão a depressão da medula óssea e polineuropatia periférica que, em alguns casos, pode levar à interrupção do tratamento (FERREIRA *et al.* 2019).

## 2.2. Infecções bacterianas

As bactérias são seres procariotos que possuem estruturas fundamentais para a viabilidade das células e que as diferenciam dos seres eucariotos. Dentre elas, a parede celular, membrana celular, ribossomo e genoma, que além de serem estruturas fundamentais, são os principais alvos dos agentes antimicrobianos atuais.

A parede celular bacteriana é responsável pela rigidez, proteção osmótica, mecânica e passível de reações tintoriais do tipo Gram e Ziehl-Neelsen. A coloração de Gram é a principal forma de diferenciação entre as bactérias pela composição da parede celular, divididas em Gram positivas e negativas.

As bactérias Gram positivas possuem uma camada mais espessa de peptidoglicanos, formados pela ligação cruzada de aminoácidos do ácido *N*-acetilmurâmico (NAM) e *N*-acetilglicosamina (NAG), ácidos teicóicos e ácidos

lipoteicóicos, enquanto que as bactérias Gram negativas possuem uma membrana externa com fosfolípides de membrana, lipopolissacarídeos, porinas, e uma camada mais fina de peptídeoglicanos, como representado na Figura 6.

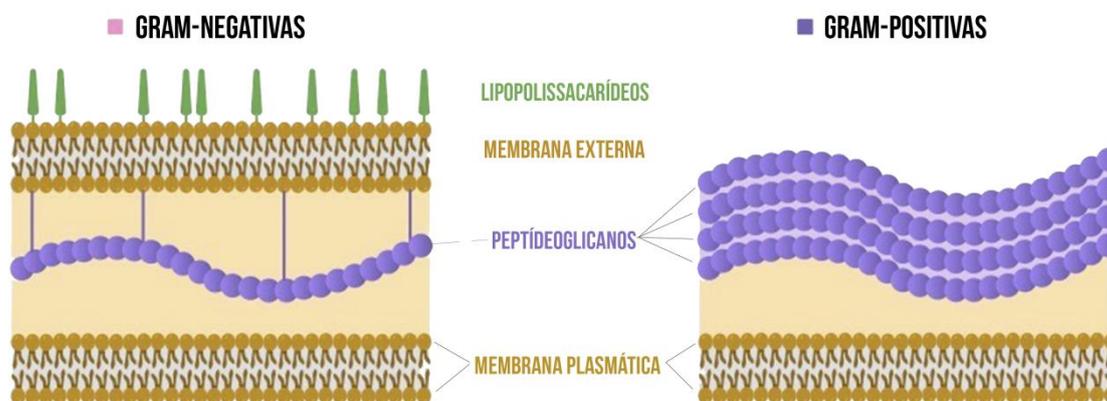


Figura 6: Diferenciação das estruturas das paredes celulares de bactérias Gram positivas e Gram negativas. Fonte: adaptação da autora.

As infecções bacterianas são doenças decorrentes da proliferação de bactérias patógenas no interior do corpo, sendo uma das principais causas de morte na terceira idade. Devido à complexidade da parede celular das bactérias Gram negativas, as infecções por elas causadas normalmente requerem uma atenção especial quanto ao tratamento, uma vez que a membrana externa impede a entrada de determinados fármacos na célula. Além disso, possuem grande capacidade de troca de material genético, podendo compartilhar o gene de resistência a bactérias de mesma ou diferentes espécies.

As bactérias Gram positivas por sua vez, por apresentarem uma estrutura mais simples, são lentas no desenvolvimento de resistência a antibióticos, facilitando o tratamento em relação às primeiras. As principais infecções causadas por bactérias atualmente são a tuberculose, pneumonia e, em casos extremamente graves, septicemia.

### 2.2.1. Fármacos antibacterianos

A descoberta de fármacos antimicrobianos foi, de fato, um grande avanço para a terapêutica, uma vez que estes são de extrema importância na redução da morbidade e mortalidade relacionadas a doenças infecciosas. A antibioticoterapia é utilizada como primeira opção para o tratamento dessas infecções, com uma variedade de classes de princípios ativos eficazes contra micro-organismos causadores dessas enfermidades (MOTA *et al.* 2005).

As diferentes classes de fármacos antibacterianos podem ser classificadas como bactericidas (aqueles que são capazes de induzir a morte celular) ou bacteriostáticos (impedindo o crescimento e a replicação dessas células), atuando em alvos moleculares distintos e com diferentes mecanismos de ação (GUIMARÃES *et al.* 2010). De acordo com SOUZA e colaboradores (2015), o antibiótico ideal é aquele que atua em um alvo presente apenas no micro-organismo, aumentando assim sua seletividade e consequente segurança e eficácia.

Os primeiros antibióticos foram sintetizados entre 1910 e 1934 e utilizados para o tratamento da sífilis e infecções e feridas profundas durante a Segunda Guerra Mundial, porém, estes apresentavam alta toxicidade para infecções bacterianas sistêmicas, evidenciando a necessidade de agentes mais seletivos, consequentemente mais eficazes e menos tóxicos (GUIMARÃES *et al.* 2010).

Segundo GUIMARÃES e colaboradores (2015), somente em 1935 Gerhard Domagk descobriu que o prontosil, corante vermelho, apresentava atividade *in vivo* contra infecções causadas por espécies de *Streptococcus*, sendo um pró-fármaco que deu origem à uma nova classe de antimicrobianos, as sulfonamidas. Apesar da atividade frente à infecções sistêmicas, as sulfas apresentavam um espectro de ação limitado, sendo pouco utilizadas atualmente.

O grande marco da antibioticoterapia ocorreu com a descoberta das penicilinas por Alexander Fleming, em 1928, com um espectro de ação superior ao das sulfas, entretanto, estas só foram introduzidas como substâncias terapêuticas em 1941 (MOTA *et al.* 2005; GUIMARÃES *et al.* 2010). A partir daí, novas classes de medicamentos foram inseridas na terapêutica, como evidenciado na Figura 7.

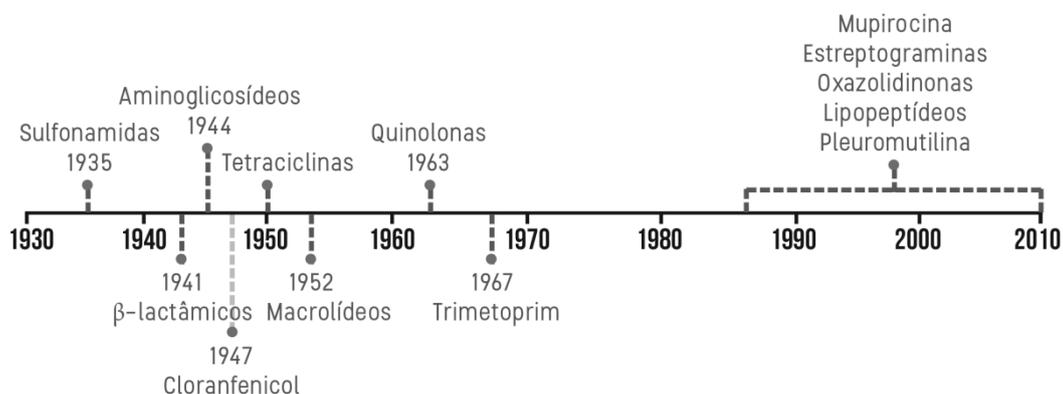


Figura 7: Descoberta das diferentes classes de fármacos antimicrobianos. Fonte: da autora.

Estes agentes podem atuar em diferentes alvos moleculares. Os fármacos  $\beta$ -lactâmicos, como as penicilinas e cefalosporinas, atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana, impedindo a formação de ligações cruzadas entre os peptidoglicanos ao inibirem a enzima transpeptidase.

As tetraciclinas e os aminoglicosídeos, por sua vez, atuam se ligando na subunidade 30s do ribossomo da célula bacteriana, prejudicando a síntese de proteínas e consequente replicação das células. Os macrolídeos e os anfenicois também atuam inibindo a síntese de proteínas, porém, o sítio de ação ocorre na subunidade 50s ribossomal.

Existem também fármacos que atuam no DNA bacteriano, inibindo sua síntese ou alterando sua função e/ou estrutura, como as sulfas e quinolonas, respectivamente. Um esquema resumido de diferentes alvos moleculares dos fármacos antibacterianos encontra-se representado na Figura 8.

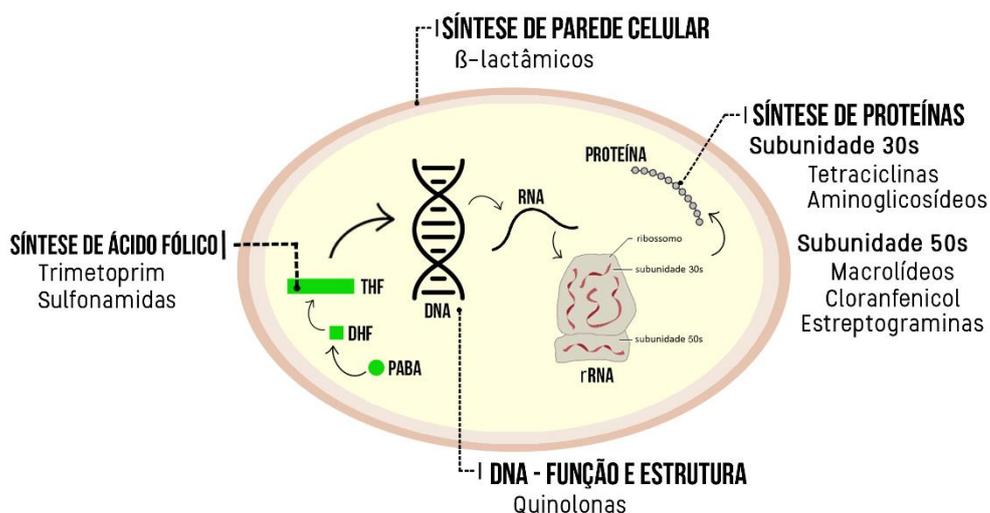


Figura 8: Representação esquemática dos alvos moleculares das diferentes classes de antimicrobianos atuais. Fonte: da autora.

De acordo com MOTA *et al.* (2005), a variabilidade genética dos agentes bacterianos faz com que a resistência dos mesmos aos antimicrobianos atuais seja um problema grave de saúde pública no mundo, principalmente associado ao uso indevido e indiscriminado dos fármacos.

### 2.2.2. Resistência bacteriana

A sensibilidade ou resistência das bactérias a um determinado fármaco é classificada de acordo com dados de concentração mínima inibitória (CMI) ou

concentração mínima bactericida (CMB), sendo que as mesmas são ditas resistentes quando são inibidas *in vitro* em concentrações superiores às aquelas atingidas *in vivo*. Porém, o sucesso terapêutico depende também de fatores estruturais e propriedades físico-químicas dos fármacos, como pKa, solubilidade e constante de lipofilicidade (LogP), para que estes consigam atingir o órgão ou sítio alvo (DEL FIO *et al.* 2000).

Segundo DEL FIO e colaboradores (2000), essa resistência pode ser classificada como intrínseca, ou seja, aquela que faz parte das características naturais e fenotípicas do micro-organismo, que serão transmitidas verticalmente à prole, ou adquiridas, quando esta é uma nova característica manifestada na espécie que era ausente nas células genitoras.

Conhecendo o agente etiológico da doença e os mecanismos de ação dos fármacos disponíveis, é possível contornar a resistência bacteriana intrínseca. O maior desafio para a descoberta de novos fármacos é voltado para a resistência adquirida, uma vez que esta é resultante de alterações genéticas que podem levar ao aparecimento de cepas resistentes que não perdem sua patogenicidade frente aos tratamentos disponíveis (MOTA *et al.* 2005; DEL FIO *et al.* 2000; GUIMARÃES *et al.* 2010).

De acordo com ZAMAN e colaboradores (2017), estima-se que, até 2050, as mortes decorrentes de infecções bacterianas superarão os casos de óbito por doenças cardiovasculares e até mesmo de neoplasias, devido à resistência não natural das bactérias à terapia medicamentosa disponível. O mapa da Figura 9 mostra uma estimativa para essa teoria, sendo os maiores números de casos observados na Ásia e África, respectivamente.

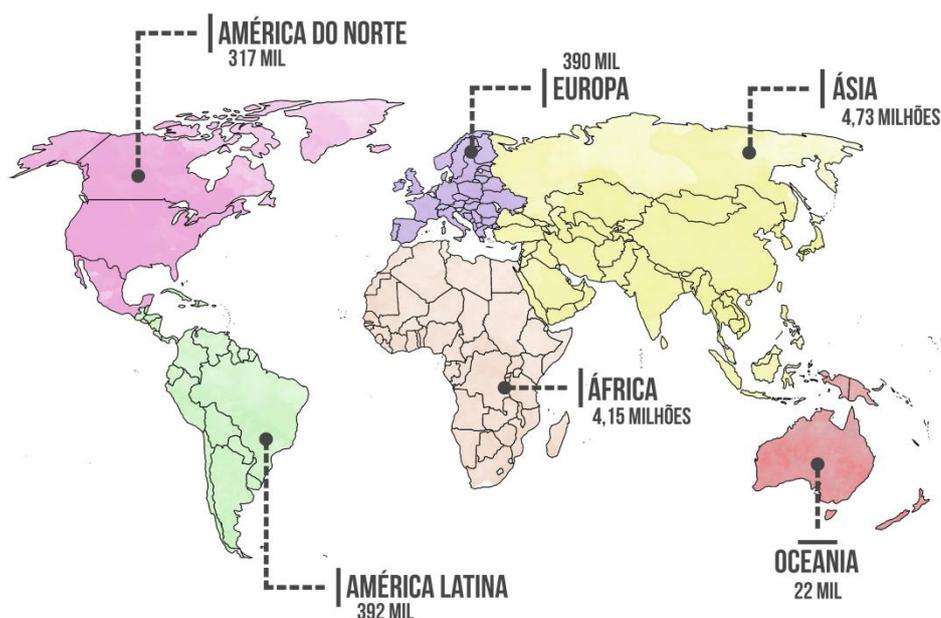


Figura 9: Estimativa de mortes por infecções bacterianas até 2050. Fonte: A review on Antibiotic Resistance; adaptação da autora.

O uso indiscriminado de antibacterianos tanto em animais quanto em homens está diretamente relacionado ao aumento dessa resistência, nos mecanismos patogênicos ou não. Dessa forma, é de extrema importância que a escolha da terapia seja correta e o tempo de tratamento seja respeitado, evitando-se, dessa forma, o surgimento de cepas resistentes aos fármacos disponíveis.

### 2.3. Eugenol, derivados e análogos

Os óleos essenciais são amplamente utilizados em diversas terapias, uma vez que os produtos naturais são responsáveis pela biossíntese de uma gama de substâncias bioativas. O eugenol (4-alil-2-metoxifenol), estrutura **I** mostrada na figura 10, é um alilfenol extraído principalmente do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) e da canela brava (*Croton zenhtneri*), com propriedades biológicas anti-inflamatórias, anti-tumorais, anti-microbianas e tripanocidas (SOUZA *et al.*, 2015a).

Segundo SOUZA e colaboradores (2015a), o eugenol e seu análogo, o diidroeuugenol (2-metoxi-4-propilfenol), estrutura **II** mostrada na figura 10, podem ser submetidos a diversas modificações químicas para aumentar sua eficácia e diminuir sua toxicidade por meio de alterações de seus grupos funcionais e de suas propriedades físico-químicas. A Figura 10 apresenta as estruturas dos fenóis em questão.

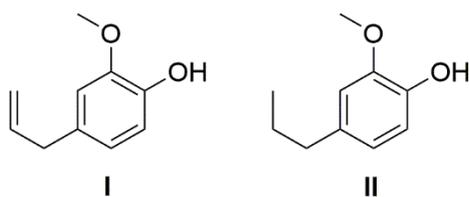


Figura 10: Estrutura do eugenol (I) e do diidroeugenol (II). Fonte: da autora

Sabe-se que as doenças fúngicas vem se tornando, a cada dia, um sério desafio para a saúde pública, representando uma ameaça global. Estas quase não foram levadas em consideração devido ao grande “boom” das epidemias bacterianas no início do século XX, porém, a influência do número de casos de pacientes imunodeficientes, como aqueles infectados pelo HIV, fez com que esses casos aumentassem abruptamente. Com o aumento da resistência aos antimicrobianos atuais, diversos grupos de pesquisa têm descrito o eugenol como um potente protótipo antibacteriano e antifúngico, desenvolvendo assim, estratégias de modificações moleculares para aumentar sua potência frente aos antimicrobianos de referência (VANDEPUTTE *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2013).

Existem diversos relatos na literatura descrevendo a síntese de diferentes derivados do eugenol e análogos (na forma de diferentes padrões estruturais) potencialmente antimicrobianos, tripanocidas e citotóxicos, como os trabalhos descritos a seguir.

SOUZA e colaboradores (2013 e 2015a) descreveram a síntese e a avaliação antimicrobiana de glicosídeos derivados do eugenol contra espécies de *Candida*, observando que os derivados **VII** e **VIII** (Figura 11) foram mais ativos que o Fluconazol contra a espécie *Candida glabrata*.

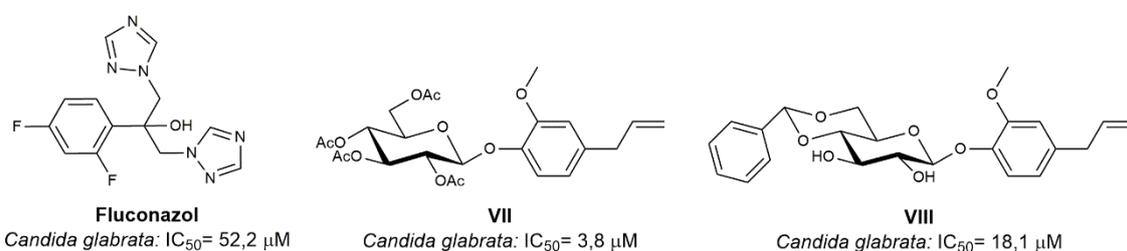


Figura 11: Glicosídeos derivados do eugenol sintetizados por Souza et al. (2013, 2015a), potencialmente antifúngicos. Fonte: da autora.

SOUZA e seu grupo de pesquisas (2019) também sintetizaram substâncias derivadas do eugenol que continham um anel triazólico em sua estrutura, submeteram à testes *in vivo* e *in vitro* para avaliar a atividade frente à cepas de *T. cruzi* e obtiveram resultados interessantes quanto a valores de  $IC_{50}$ , como descritos na Figura 12, e comparados com o Benznidazol. Além de interessante atividade *in vitro*, o derivado **IV** foi capaz de reduzir, *in vivo*, mais de 50% da parasitemia em ratos infectados com a forma tripomastigota de *T. cruzi*, quando tratados a 100 mg/kg dessa substância.

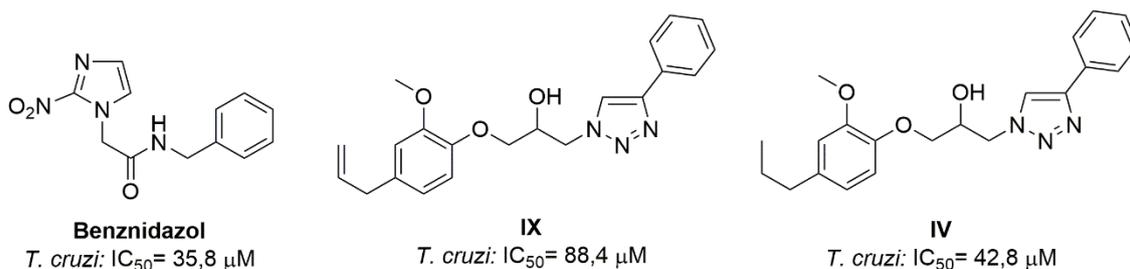


Figura 12: Derivados do eugenol sintetizados por SOUZA et al. (2019), com potencial atividade tripanocida. Fonte: da autora

Atualmente, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo (TORRE *et al.*, 2016), ficando atrás apenas de doenças cardiovasculares. A grande dificuldade da quimioterapia atual é a baixa seletividade dos fármacos antineoplásicos para as células tumorais, cuja consequência é uma imunodeficiência grave devido à uma quebra abrupta na quantidade de células de defesa normais e funcionais do indivíduo.

Diante da necessidade de novos fármacos antitumorais mais seletivos, Azevedo-Barbosa e colaboradores (2019) propuseram uma hibridização molecular entre eugenol (ou diidroeuogenol) e a sulfanilamida, obtendo substâncias com valores de  $IC_{50}$  abaixo de 200  $\mu$ M contra as linhagens MCF-7 (mama), uma atividade antitumoral promissora e mais potente que a dos seus protótipos. Os derivados **X**, **XI** e **XII** obtidos estão representados na Figura 13.

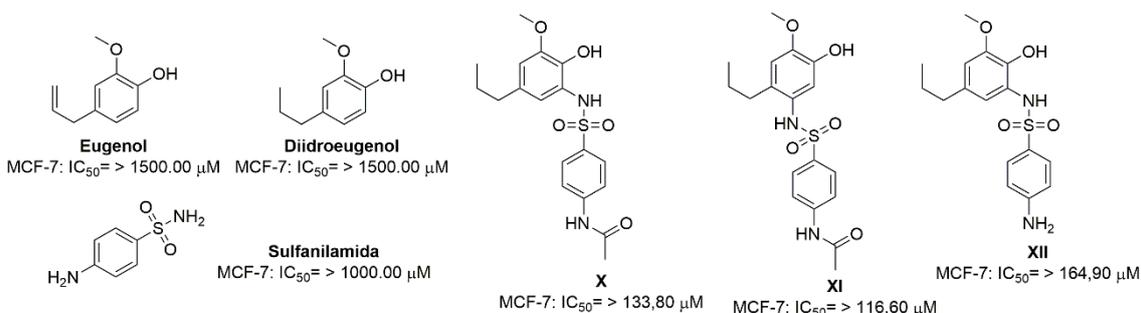


Figura 13: Substâncias sintetizadas por Azevedo-Barbosa et al. (2019) e seus respectivos protótipos. Fonte: da autora

No contexto dos fármacos antimicrobianos, devido ao aumento das espécies e cepas bacterianas resistentes aos antibióticos atuais e a necessidade de sintetizar novos fármacos ideais, SOUZA *et al.* (2015b) propuseram a síntese de glicosídeos triazólicos derivados do eugenol com potencial atividade contra bactérias e obtiveram resultados interessantes, sobretudo contra as espécies *Micrococcus luteus* e *Salmonella typhimurium*, como os derivados **XIII** ( $IC_{50} = 49,73 \mu M$ ), **XIV** ( $IC_{50} = 88,54 \mu M$ ) e **IV** ( $IC_{50} = 10,2 \mu M$ ;  $IC_{90} = 21,2 \mu M$ ), respectivamente, apresentados na Figura 14.

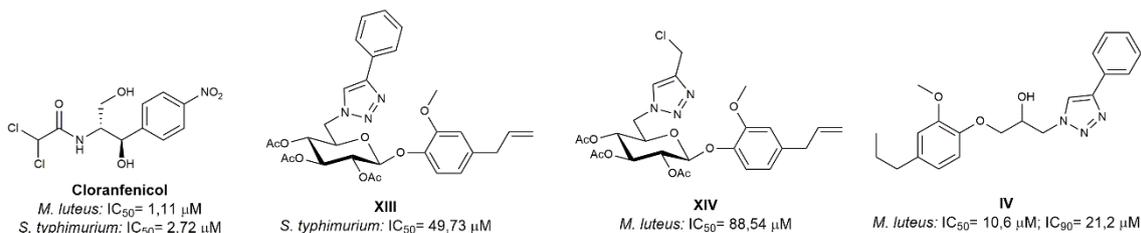


Figura 14: Triazóis derivados do eugenol sintetizados por SOUZA *et al.* (2015b). Fonte: da autora.

## 2.4. Compostos $\alpha,\beta$ -insaturados

Os compostos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados podem ser sintetizados por reações de condensação aldólica tanto em meio ácido quanto em meio básico, envolvendo aldeídos e cetonas, a partir da captura de um  $H_{\alpha}$  à carbonila, formando um nucleófilo que, posteriormente, cataliza um ataque nucleofílico a um carbono deficiente em elétrons (BRUICE, 2016). Se um dos compostos carbonílicos não possuir um  $H_{\alpha}$  em sua estrutura, o  $\alpha,\beta$ -insaturado formado terá maior valor sintético, uma vez que a reação não apresentará subprodutos (reação de Claisen-Schmidt).

A preparação destes compostos tem pode levar à a diversificação da classe de compostos disponíveis para o tratamento de diversas doenças, como infecções microbianas, doença de Chagas e neoplasias, obtendo compostos cada vez mais eficientes quando comparados aos seus protótipos.

Diante da busca por esses novos agentes potencialmente ativos, BRAGA e colaboradores (2013) sintetizaram uma série de substâncias carboniladas  $\alpha,\beta$ -insaturadas por meio reações de condensação aldólica, potencialmente ativas contra as formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* e promastigotas de *Leishmania amazonenses*, apresentando  $IC_{50}$  próximos aos fármacos de referência avaliados, Benznidazol e Anfotericina B (Figura 15).

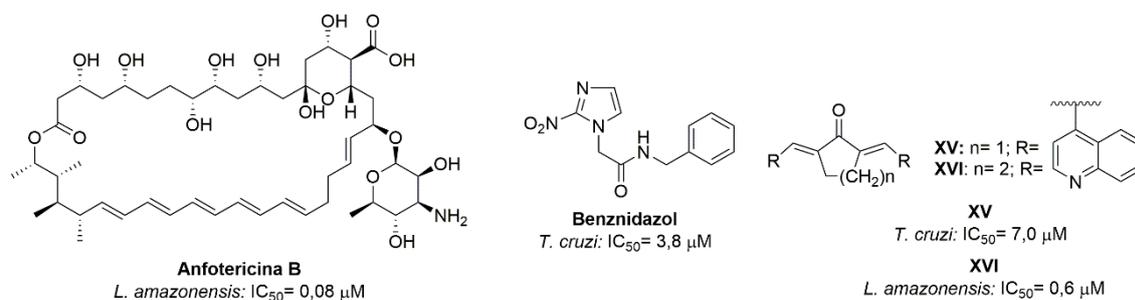


Figura 15: Substâncias sintetizadas por BRAGA et al., (2014), com potencial atividade tripanocida. Fonte: da autora.

Baseado na interessante atividade do derivado triazólico (IV) e nas atividades de compostos  $\alpha,\beta$ -insaturados já descritos na literatura, a proposta deste trabalho foi sintetizar novos derivados do eugenol e análogos com potencial atividade antimicrobiana e tripanocida seguindo o padrão proposto na figura 16.

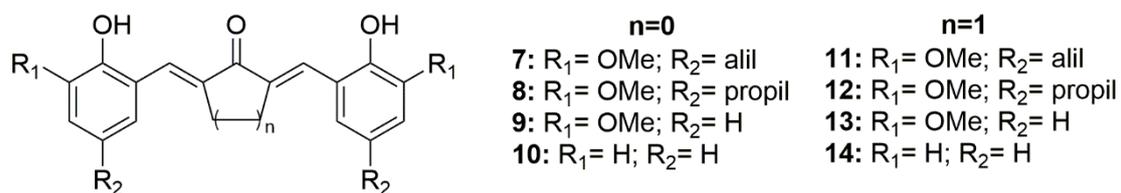


Figura 16: Padrão estrutural proposto neste trabalho e respectivos substituintes. Fonte: da autora.

### 3. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo principal a síntese de novos derivados do eugenol e análogos contendo o padrão estrutural mostrado na Figura 16, substâncias potencialmente antibacterianas e tripanocidas.

#### 3.1. Objetivos específicos

- Síntese das substâncias propostas e, posteriormente, purificação por recristalização e/ou cromatografia em coluna de sílica (CCS) de cada substância;
- Caracterização das substâncias obtidas por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  (RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ );
- Avaliação da atividade antibacteriana e tripanocida dos derivados do eugenol e análogos obtidos;
- Determinação da citotoxicidade das substâncias contra células saudáveis;
- Estabelecimento da relação estrutura-atividade da série de substâncias sintetizadas.
- Determinação do índice de seletividade dessas substâncias.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Procedimentos gerais para as reações e caracterizações químicas

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas no Laboratório Multiusuário da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP-MG), obtidas em espectrômetro Bruker AC-400 MHz. Foi empregado como padrão interno o tetrametilsilano (TMS) e como solventes clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) ou dimetilsulfóxido deuterado ( $\text{DMSO-}d_6$ ), e os valores descritos em deslocamento químico ( $\delta$ , ppm).

As determinações de faixa de fusão das substâncias sintetizadas foram realizadas no Laboratório de Química Medicinal e Bioensaios (LQMB) da UFOP-MG, obtidas em aparelho Reichert Austria

A evolução das reações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de sílica gel e, como reveladores, foram utilizados solução aquosa de cloreto férrico (5%), vapores de iodo e molibdato sérico de amônio (CAM). As purificações por cromatografia em camada de sílica (CCS) foram realizadas com sílica gel 60 (MERK) e os eluentes empregados estão descritos em cada procedimento.

### 4.2. Síntese das substâncias propostas

Os derivados  $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos foram sintetizados no Laboratório de Química Medicinal e Bioensaios da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto conforme a rota sintética apresentada na Figura 17.

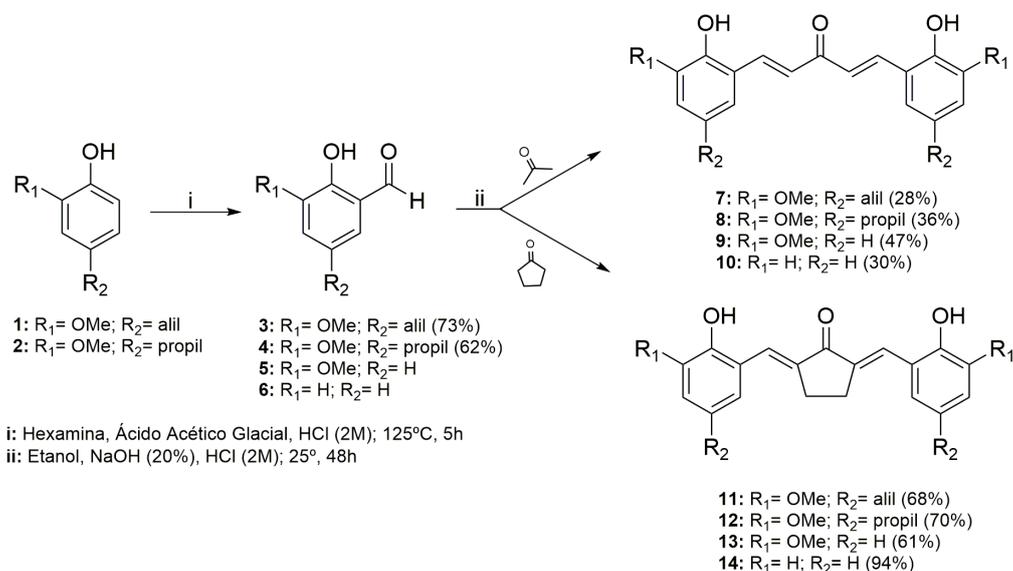
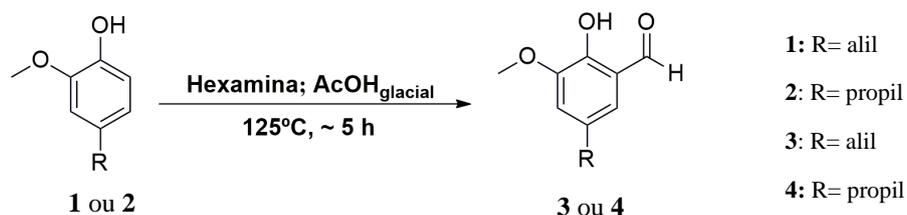


Figura 17: Síntese dos derivados  $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos Fonte: da autora.

#### 4.2.1. Procedimento geral para a obtenção dos derivados formilados do eugenol (3) e diidroeugenol (4)



- *Técnica I*

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados 0,5 g de eugenol (0,00304 mol) e, em seguida, adicionou-se 0,9301 g de hexametilenotetramina (hexamina; 0,00666 mol) e 20 mL de ácido acético glacial. A reação foi submetida a um sistema de refluxo a 120°C e agitação magnética constante por 5 horas e monitorada através de cromatografia em camada delgada (CCD), com o intuito de avaliar se todo o material de partida havia sido consumido. Como eluente para a CCD, foi utilizada uma mistura de solventes hexano/acetato de etila (7:3), e como reveladores, foram utilizados vapores de iodo e solução aquosa de cloreto férrico 5%.

Após cinco horas de reação, constatou-se que o eugenol ainda não havia sido totalmente consumido, sendo assim, a reação continuou sob agitação magnética sem aquecimento por mais 72 horas. Após esse tempo, diante da observação de que ainda havia material de partida no meio reacional, adicionou-se mais 0,5 eq de hexamina à reação, e a mesma foi submetida a refluxo novamente à aproximadamente 115°C.

Observando-se o total consumo do material de partida, o conteúdo do balão foi transferido para um béquer de 250 mL e, sob banho de gelo, adicionou-se uma solução saturada de bicarbonato de sódio até pH 7. Após a neutralização, o produto bruto foi extraído com éter etílico (4 x 30 mL), e a fase orgânica obtida foi reunida e extraída com solução de NaOH 20% (4 x 25 mL). Reuniu-se, então, a fase aquosa obtida, e adicionou-se a ela HCl concentrado, sob banho de gelo, até pH 2. Após acidificação, a fase aquosa foi novamente extraída com éter etílico (4 x 30 mL), seca com sulfato de sódio anidro, que foi, na sequência, filtrada, e após evaporação do solvente em evaporador rotatório, obteve-se um líquido levemente amarelado.

Para a purificação do produto bruto, adicionou-se éter de petróleo ao balão contendo o produto concentrado (esse procedimento foi feito 5 vezes com 25 mL de éter

de petróleo), e o solvente foi transferido para um balão de fundo redondo de 125 mL, que posteriormente foi evaporado em evaporador rotatório fornecendo o produto de interesse puro.

A massa do produto obtida foi de 0,1084 g (18% de rendimento) e, diante desse baixo rendimento, foi realizada outra técnica na tentativa de se obter o produto de interesse com um maior rendimento.

- **Técnica II**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, adicionou-se 5 equivalentes de hexamina e, em seguida, adicionou-se 40 mL de ácido acético glacial. A reação foi submetida a um sistema de refluxo a 125°C e agitação magnética constante por 10 minutos, e após esse tempo, adicionou-se à reação eugenol (**1**; 1 eq.) ou diidroeugenol (**2**; 1 eq.) (TABELA 1), que foi mantida sob refluxo por cerca de 5 horas.

A reação foi monitorada por CCD (utilizando-se como eluente uma mistura de hexano/acetato de etila (7:3) e como reveladores, vapores de iodo e solução aquosa de cloreto férrico a 5%) e após cinco horas de reação, foram adicionados 10 mL de solução aquosa de HCl ao balão, ainda sob agitação e refluxo à 125°C, e aguardou-se mais trinta minutos.

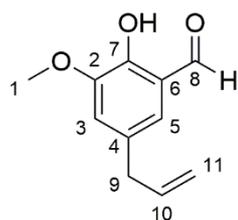
Após o resfriamento do conteúdo do balão até temperatura ambiente, a mistura foi transferida para um béquer de 250 mL e, então, neutralizada com uma solução supersaturada de bicarbonato de sódio, sob banho de gelo, até pH 7. A fase aquosa foi extraída com diclorometano (5 x 25 mL), a fase orgânica foi reunida e seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada, e concentrada em evaporador rotatório.

O produto bruto puro foi obtido através de cromatografia em coluna de sílica (CCS), utilizando como fase estacionária sílica gel 60 (MERK) e como fase móvel mistura de solventes hexano e acetato de etila, na proporção de 9,5:0,5 (H:A). As massas referentes aos produtos **3** e **4** foram de 0,8586 g (73% de rendimento) e 0,7234 g (62% de rendimento), respectivamente.

Tabela 1: Quantidades de reagentes utilizados para as reações de formilação.

<b>Fenol</b>	<b>Hexamina</b>
<b>1</b> (1,0 g; 0,00609 mol)	4,27 g (0,0304 mol)
<b>2</b> (1,0 g; 0,00602 mol)	4,22 g (0,0301 mol)

## 4.2.1.1. Dados de caracterização do derivado 3

4-*alil*-7-hidroxi-2-metoxibenzaldeído

Óleo marrom-amarelado

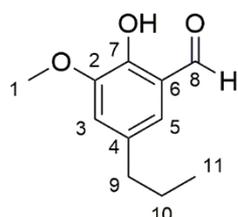
Massa obtida: 0,8586g (0,00447 mol, 73% de rendimento)

F.M: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> M.M: 192,21 g.mol<sup>-1</sup>

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 10,97 (d; 1H; CHO); 9,87 (s; OH); 6,98 (d; 1H; <sup>4</sup>J = 1,92 Hz, H-3); 6,93 (d; 1H; <sup>4</sup>J = 1,72 Hz; H-5); 5,93 (m; 1H; H-10); 5,10 (m; 2H; H-9); 3,90 (s; 3H; H-1); 3,36 (d; 2H; <sup>3</sup>J = 6,64 Hz; H-11).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 196,62 (CHO); 150,07 (C-2); 148,22 (C-7); 136,73 (C-10); 131,43 (C-4); 123,72 (C-5); 120,45 (C-6); 118,70 (C-3); 116,55 (C-11); 56,30 (C-1); 39,42 (C-9).

## 4.2.1.2. Dados de caracterização do derivado 4

4-*propil*-7-hidroxi-2-metoxibenzaldeído

Óleo amarelo

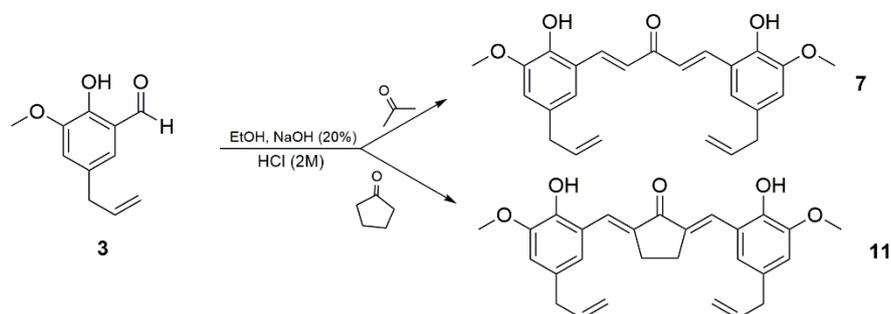
Massa obtida: 0,7234g (0,00372 mol, 62% de rendimento)

F.M: C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> M.M: 194,23 g.mol<sup>-1</sup>

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 10,96 (s; 1H; CHO); 9,90 (s; OH); 6,99 (d; 1H; <sup>4</sup>J = 1,92 Hz; H-5); 6,96 (d; 1H; <sup>4</sup>J = 1,80 Hz; H-3); 3,93 (s; 3H; H-1); 2,59 (t; 2H; <sup>3</sup>J = 8,32 Hz; H-9); 1,66 (sex; 2H; <sup>3</sup>J = 7,56 Hz; H-10); 0,97 (t; 2H; <sup>3</sup>J = 6,8 Hz; H-11).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 196,69 (CHO); 149,71 (C-2); 148,03 (C-7); 134,10 (C-4); 123,57 (C-5); 120,41 (C-6); 118,73 (C-3); 56,30 (C-1); 37,32 (C-9); 24,46 (C-10); 15,66 (C-11).

## 4.2.2. Procedimentos gerais para a obtenção dos derivados α,β-insaturados 7 e 11



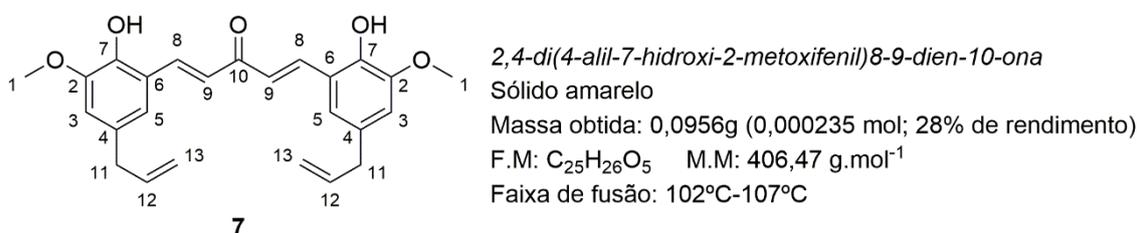
Em um balão de fundo redondo de 25 mL contendo 2 eq do formil eugenol (**3**), foram adicionados 3,0 mL de etanol e a mistura foi mantida sob agitação magnética até completa solubilização. Foi, então, adicionado ao balão, 1 eq da cetona correspondente (ciclopentanona ou acetona), ainda sob agitação constante. As massas exatas de cada reagente empregado são mostrados na Tabela 2. Posteriormente, foram adicionados 1,5

mL de NaOH 20%, gota a gota, à mistura, que foi mantida sob agitação magnética por cerca de 24 horas, quando se observou o total consumo do material de partida por CCD (hexano/acetato 1:1; vapores de iodo e cloreto férrico 5%). Após esse tempo, a reação foi neutralizada com HCl 2M, adicionado, gota a gota, sob banho de gelo, observando a formação de um sólido amarelo. Diante disso, fez-se uma filtração à vácuo e constatou-se que o produto de interesse puro era sólido observado.

Tabela 2: Quantidades de reagentes utilizados para a síntese das substâncias 7 e 11.

Aldeído	Cetona
<b>3</b> (0,1414 g; 0,000734 mol)	<b>Ciclopentanona:</b> 0,03260 g (0,000367 mol)
<b>3</b> (0,3499 g; 0,00182 mol)	<b>Acetona:</b> 0,050 g (0,000910 mol)

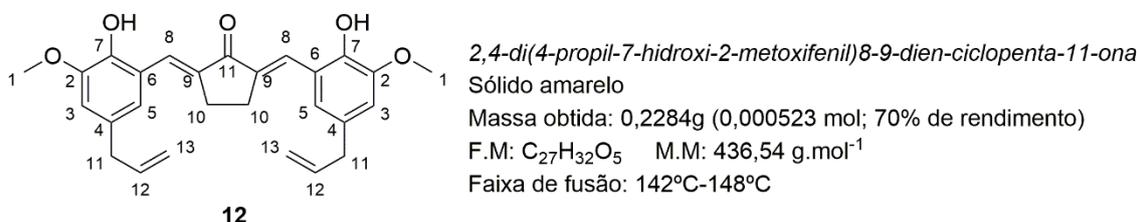
#### 4.2.2.1. Dados de caracterização do derivado 7



**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,84 (d; 2H; <sup>3</sup>J = 16,48 Hz; H-8); 6,97 (s; 2H; H-3); 6,82 (d; 2H; <sup>4</sup>J = 16,48 Hz; H-9); 6,73 (d; 2H; <sup>4</sup>J = 1,44 Hz; H-5); 5,53 (m; 4H; H13); 3,93 (s; 6H; H-1); 3,35 (d; 4H; <sup>3</sup>J = 6,68 Hz; H-11)

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 199,31 (C-10); 146,74 (C-2); 143,69 (C-7); 138,35 (C-8); 137,21 (C-12); 131,53 (C-4); 128,01 (C-9); 120,36 (C-6); 119,75 (C-5); 116,15 (C-13); 112,58 (C-3); 56,18 (C-1); 39,86 (C-11).

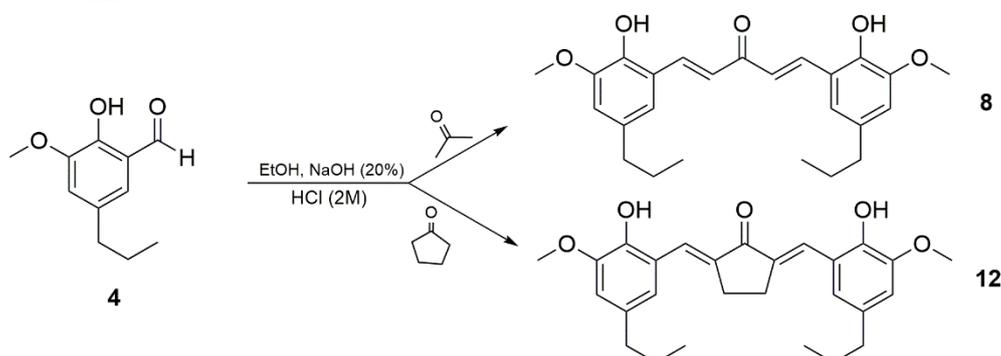
#### 4.2.2.2. Dados de caracterização do derivado 11



**RMN de <sup>1</sup>H (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 9,21 (s; 2H; OH); 7,78 (s; 2H; H-8); 6,98 (d; 2H; H-5); 6,86 (d; 2H; <sup>4</sup>J = 1,20 Hz; H-3); 5,98 (m; 2H; H-12); 5,07 (m; 4H; H-13); 3,81 (s; 6H; H-1); 3,33 (d; 4H; <sup>3</sup>J = 6,76 Hz; H-11); 2,98 (s; 4H; H-10).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 195,30 (C-11); 147,65 (C-2); 145,06 (C-7); 137,90 (C-8); 136,53 (C-9); 130,19 (C-4); 127,06 (C-12); 122,49 (C-6); 120,52 (C-5); 15,72 (C-13); 113,39 (C-3); 55,90 (C-1); 39,22 (C-11); 26,65 (C-10).

### 4.2.3. Procedimentos gerais para a obtenção dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados **8** e **12**

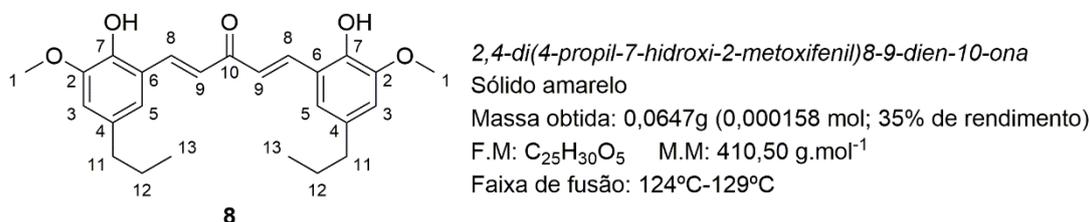


O procedimento usado para a síntese dos derivados **8** e **12** é o mesmo descrito no item 4.2.2. As quantidades de reagentes utilizados para cada reação estão descritas na TABELA 3.

Tabela 3: Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos compostos **8** e **12**.

Aldeído	Cetona
<b>4</b> (0,150 g; 0,000772 mol)	<b>Ciclopentanona:</b> 0,06309 g (0,000386 mol)
<b>4</b> (0,0963 g; 0,000496 mol)	<b>Acetona:</b> 0,02619 g (0,000248mol)

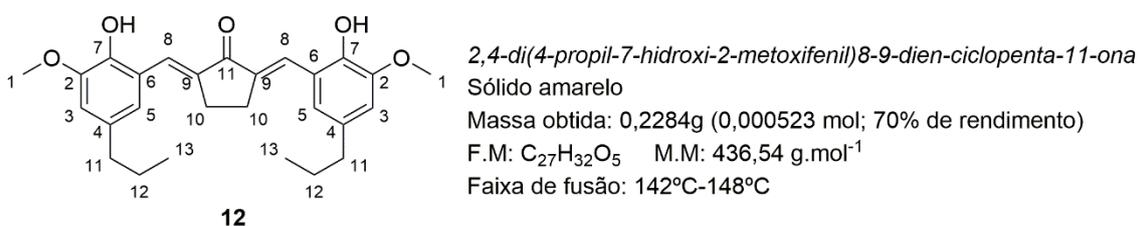
#### 4.2.3.1. Dados de caracterização do derivado **8**



**RMN de <sup>1</sup>H ( $\delta$ ; DMSO-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz):** 9,21 (s; 2H; OH); 7,93 (d; 2H; <sup>3</sup>J = 16,08 Hz; H-8); 7,24 (d; 2H; <sup>4</sup>J = 16,08 Hz; H-9); 7,11 (s; 2H; H-5); 6,86 (d; 2H; <sup>4</sup>J = 1,36 Hz; H-3); 3,82 (s; 6H; H-1); 1,60 (sex; 4H; <sup>3</sup>J = 7,60 Hz; H-12); 0,91 (t; 6H; <sup>3</sup>J = 7,28 Hz; H-13)

**RMN de <sup>13</sup>C ( $\delta$ ; DMSO-*d*<sub>6</sub>; 400 MHz):** 188,96 (C-10); 148,29 (C-2); 144,96 (C-7); 138,12 (C-8); 133,39 (C-4); 125,85 (C-9); 121,5811 (C-6); 119,42 (C-5); 114,32 (C-3); 56,39 (C-1); 37,40 (C-11); 24,67 (C-12); 14,14 (C-13)

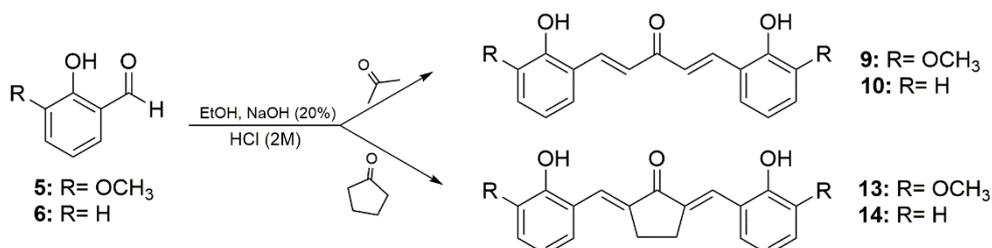
#### 4.2.3.2. Dados de caracterização do derivado **12**



**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ; DMSO- $d_6$ ; 400 MHz):** 9,08 (s; 2H; OH); 7,79 (s; 2H; H-8); 6,96 (s; 2H; H-3); 6,87 (s; 2H; H-5); 3,82 (s; 6H; H-1); 2,99 (s; 4H; H-10); 2,52 (m; 4H; H-11); 1,60 (sex; 4H;  $^3J = 7,52$  Hz; H-12); 0,91 (t; 6H;  $^3J = 6,88$  Hz; H-13)

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ; DMSO- $d_6$ ; 400 MHz):** 199,77 (C-11); 147,99 (C-2); 145,21 (C-7); 136,96 (C-9); 133,02 (C-4); 127,64 (C-8); 122,77 (C-6); 120,83 (C-5); 113,83 (C-3); 56,34 (C-1); 26,57 (C-10); 24,72 (C-13); 14,13 (C-14).

#### 4.2.4. Procedimento geral para a síntese dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados da *o*-vanilina (9 e 13) e do salicilaldeído (10 e 14)

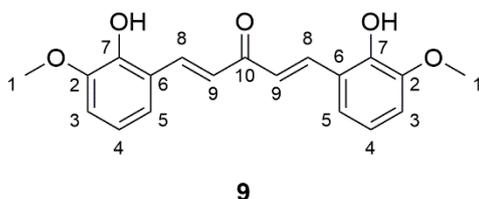


Os procedimento usado para a síntese dos derivados **9**, **10**, **13** e **14** foi o mesmo descrito no item 4.2.2. As quantidades de reagentes utilizados para cada reação estão descritas na TABELA 4.

Tabela 4: Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos compostos 9 a 14.

Aldeído	Cetona
5 (0,4347 g; 0,00356 mol)	Ciclopentanona: 0,150 g (0,00178 mol)
5 (0,630 g; 0,00516 mol)	Acetona: 0,150 g (0,00258 mol)
6 (0,100 g; 0,000657 mol)	Ciclopentanona: 0,0276 g (0,000330 mol)
6 (0,100 g; 0,000657 mol)	Acetona: 0,01916 g (0,000330 mol)

##### 4.2.4.1. Dados de caracterização do derivado 9



2,4-di(7-hidroxi-2-metoxifenil)8-9-dien-10-ona

Sólido amarelo

Massa obtida: 0,1124g (0,0002738 mol; 47%)

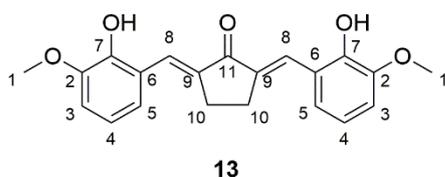
F.M: C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> M.M: 326,35 g.mol<sup>-1</sup>

Faixa de fusão: 157°C-162°C

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ; DMSO- $d_6$ ; 400 MHz):** 9,47 (s; 2H; OH); 7,96 (d; 2H;  $^3J = 16,08$  Hz; H-8); 7,30 (d; 2H;  $^3J = 7,8$  Hz; H-5); 7,26 (d; 2H;  $^3J = 16,08$  Hz; H-9); 7,02 (d; 2H;  $^3J = 7,92$  Hz; H-3); 6,83 (t; 6H;  $^3J = 7,96$  Hz H-4); 3,83 (s; 6H; H-1).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ; DMSO- $d_6$ ; 400 MHz):** 189,06 (C-10); 148,48 (C-7); 146,88 (C-2); 138,11 (C-8); 126,07 (C-9); 122,07 (C-6); 120,36 (C-4); 119,62 (C-5); 113,87 (C-3); 56,42 (C-1)

## 4.2.4.2. Dados de caracterização do derivado 13

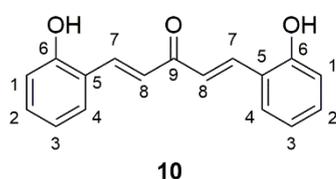


2,4-di(4-propil-7-hidroxi-2-metoxifenil)8-9-dien-ciclopenta-11-ona  
 Sólido amarelo  
 Massa obtida: 0,0693g (0,000197 mol; 61% de rendimento)  
 F.M: C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub> M.M: 352,38 g.mol<sup>-1</sup>  
 Faixa de fusão: 182°C-184°C

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 9,30 (s; 2H; OH); 7,81 (s; 2H; H-8); 7,16 (dd; 2H; <sup>3</sup>J = 7,96 Hz; <sup>4</sup>J = 1,12 Hz; H-3); 7,03 (dd; 2H; <sup>3</sup>J = 8,12 Hz; <sup>4</sup>J = 1,20 Hz; H-5); 6,86 (t; 2H; <sup>3</sup>J = 8,0 Hz; H-4); 3,83 (s; 6H; H-1); 2,99 (s; 4H; H-10).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 195,35 (C-11); 147,76 (C-7); 146,76 (C-2); 136,69 (C-9); 127,01 (C-8); 122,73 (C-6); 121,11 (C-5); 118,90 (C-4); 112,98 (C-3); 55,94 (C-1); 26,04 (C-10).

## 4.2.4.3. Dados de caracterização do derivado 10

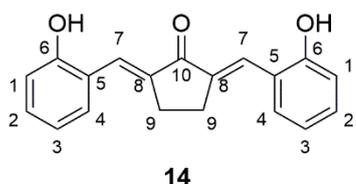


(6-hidroxifenil)7-8-dien-9-ona  
 Sólido marrom  
 Massa obtida: 0,1957g (0,000735 mol; 29% de rendimento)  
 F.M: C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> M.M: 266,30 g.mol<sup>-1</sup>  
 Faixa de fusão: 80°C-83°C

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 7,93 (d; 2H; <sup>3</sup>J = 16,08 Hz; H-8); 7,78 (d; 2H; <sup>3</sup>J = 16,48 Hz; H-7); 7,70 (dd; 2H; <sup>3</sup>J = 7,80 Hz; <sup>4</sup>J = 1,52 Hz; H-1); 7,59 (dd; 2H; <sup>3</sup>J = 7,84 Hz; <sup>4</sup>J = 1,56 Hz; H-4); 7,25 (m; 2H; H-3); 6,93 (dt; 2H; <sup>3</sup>J = 6,7 Hz; <sup>4</sup>J = 0,96 Hz; H-2).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 188,73 (C9); 156,91 (C6); 138,49 (C7); 128,77 (C-2); 128,62 (C-4); 126,61 (C-8); 125,41 (C-5); 120,93 (C-3); 116,22 (C-1)

## 4.2.4.4. Dados de caracterização do derivado 14



(6-hidroxifenil)7-8-dien-ciclopenta-10-ona  
 Sólido laranja  
 Massa obtida: 0,8424g (0,002882 mol; 94% de rendimento)  
 F.M: C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub> M.M: 292,33 g.mol<sup>-1</sup>  
 Faixa de fusão: 148°C-152°C

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 10,17 (s; 2H; OH); 7,80 (s; 2H; H-7); 7,54 (dd; 2H; <sup>3</sup>J = 7,88 Hz; <sup>4</sup>J = 1,44 Hz; H-1); 7,24 (m; 2H; H-3); 6,94 (dd; 2H; <sup>3</sup>J = 8,20 Hz; <sup>4</sup>J = 1,04 Hz; H-4); 6,89 (m; 2H; H-2); 3,01 (s; 4H; H-9).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; DMSO-d<sub>6</sub>; 400 MHz):** 195,36 (C-10); 157,51 (C-6); 136,47 (C-8); 131,01 (C-7); 129,53 (C-2); 126,95 (C-4); 122,44 (C-5); 119,21 (C-1); 115,76 (C-3); 26,14 (C-9).

4.3. Avaliação da citotoxicidade *in vitro*

A atividade citotóxica das substâncias foi realizada sob a responsabilidade do Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão (Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP/MG) e executada pela doutoranda Adriana Cotta Cardoso Reis (Universidade Federal de Ouro

Preto – UFOP/MG) pelo método colorimétrico do MTT. Suspensões de células MRC-5 (ATCC® CCL-171™, linhagem celular derivada de tecido pulmonar normal) foram distribuídas em microplacas de 96 cavidades contendo  $5,0 \times 10^4$  células/cavidade. As placas foram incubadas em atmosfera úmida, a 5% de CO<sub>2</sub>, a 37 °C por 24 horas. Foram preparadas diluições das amostras, em meio de cultivo DMEM 1% SFB, em concentrações que variaram entre 100,0 – 0,78125 µg/mL. Como controle positivo foi utilizada a podofilotoxina. Após a formação da monocamada celular na superfície das cavidades, o meio de cultura foi removido e 100 µL das soluções diluídas das amostras e 100 µL de meio de cultura DMEM 1% SFB foram adicionados. Decorridas 72 horas da adição das amostras, o meio de cultura foi removido e a solução de MTT (2 mg/mL em tampão fosfato) foi adicionada 120 minutos antes das leituras (MOSMANN, 1983; TWENTYMAN; LUSCOMBE, 1987), que foram feitas em leitor de microplacas, a 490 nm. A multiplicação celular foi comparada com controle celular.

A toxicidade celular foi expressa em termos de concentração citotóxica a 50% (CC<sub>50</sub>). A porcentagem citotóxica foi calculada como  $[(A-B)/A] \times 100$ , onde A e B são as densidades óticas a 490 nm (DO<sub>492</sub>) das cavidades onde estão presentes células não tratadas (A) e tratadas (B), respectivamente.

Foi utilizado o Teste *t* de Student, nas análises de variância para avaliar diferenças entre as médias nos ensaios de citotoxicidade, realizados em triplicata, em comparação com os controles. Foi aceito para todos os testes o nível de significância de 5%. Foi utilizado o pacote estatístico do GraphPad Prism 5.04.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Planejamento dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos

A síntese dos derivados cetônicos  $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos, foi proposta devido aos relatos de atividade antimicrobiana, antifúngica, antitumoral e tripanocida dos fenóis em questão. Sendo assim, derivados formilados de tais fenóis foram submetidos a reações de condensação aldólica com o intuito de se obter novas substâncias mais potentes que seus precursores.

Os diferentes derivados propostos se diferenciam quanto à cadeia lateral na posição *para* do anel aromático e as cetonas utilizadas como nucleófilos na reação, sendo elas acetona e ciclopentanona. Além disso, foram sintetizadas outras substâncias derivadas de outros dois fenóis, como a *o*-vanilina (sem o substituinte na posição *para* a hidroxila) e o salicilaldeído (sem os substituintes nas posições *orto* e *para* a hidroxila), afim de comparar a importância dos grupos metoxila, alil ou propil presentes no eugenol e seu análogo diidroeugenol. Ressalta-se que, até o momento, não foram encontrados relatos na literatura com o mesmo padrão estrutural proposto, sendo quatro destas substâncias aqui desenvolvidas, inéditas.

Os derivados cetônicos  $\alpha,\beta$ -insaturados **7-14** foram obtidos por meio da técnica de condensação aldólica em meio básico. Os intermediários **3** e **4** foram obtidos a partir de uma reação de formilação, em meio ácido, utilizando a hexamina como eletrófilo e o eugenol (**1**) ou o diidroeugenol (**2**) como nucleófilo, conforme ilustrado na análise retrossintética apresentada na Figura 18.

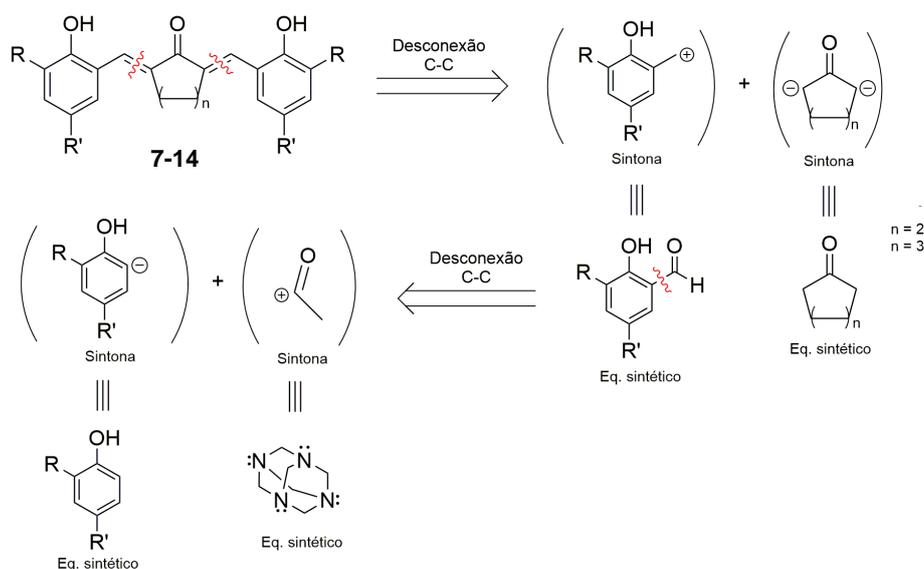


Figura 18: Análise retrossintética para a obtenção das substâncias propostas. Fonte: da autora.

## 5.2. Síntese e caracterização dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos

### 5.2.1. Síntese dos intermediários formilados do eugenol e do diidroeuogenol (3 e 4)

A reação de formilação dos fenóis para a obtenção dos intermediários de interesse procedeu-se conforme técnica descrita por BRANCAGLION e colaboradores (2018). A metodologia mostrou-se a mais factível e adequada diante das condições e materiais disponíveis no nosso laboratório de pesquisa, além de apresentar um alto rendimento. Na prática, o rendimento dos produtos obtidos foi inferior àquele descrito na literatura, mas suficiente para que se desse continuidade ao trabalho.

Trata-se de uma reação de substituição eletrofílica aromática (SEA), em meio ácido, que necessita da formação de uma espécie eletrofílica que, neste caso, se dá pela reação entre a hexamina e o ácido acético glacial utilizado. Como resultado, será formada uma espécie protonada cíclica que, posteriormente, levará à formação de um eletrófilo ionizado. Como o íon é altamente reativo, este sofre ataque de uma ligação  $\pi$  (C=C) do anel aromático do eugenol (**1**) ou do diidroeuogenol (**2**), formando o íon arênio, que é estabilizado por ressonância (etapa lenta). Em seguida, para restaurar a aromaticidade do anel, uma base presente no meio, provavelmente a base conjugada do ácido acético resultante da reação com a hexamina, capta um próton do íon arênio, reestabelecendo a ligação  $\pi$  e formando os produtos **3** ou **4**, sendo considerada etapa rápida. O provável mecanismo proposto para essa reação está ilustrado na Figura 19.

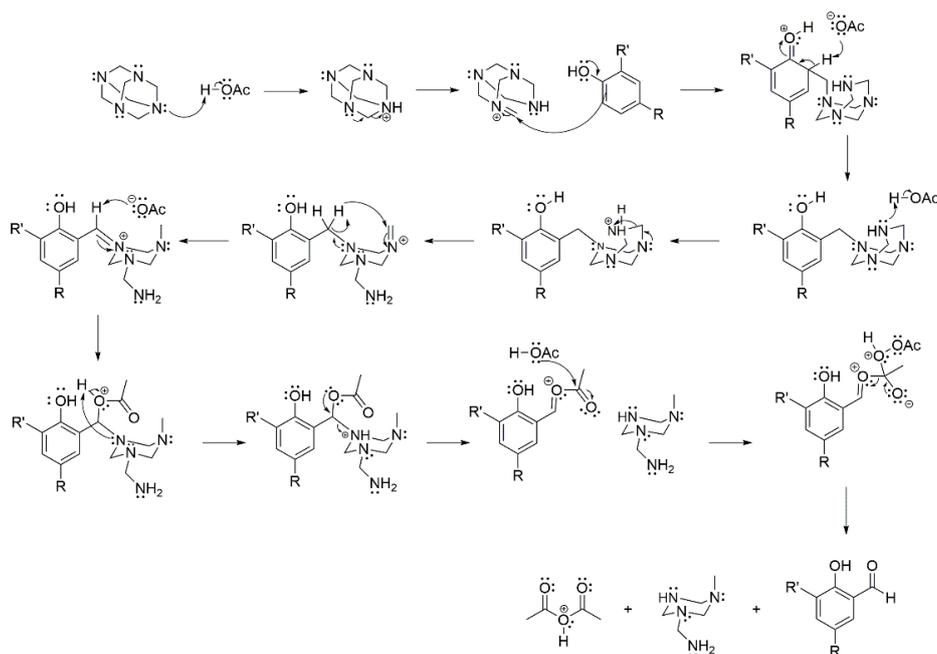


Figura 19: Proposta de mecanismo para a reação de formilação do eugenol e do diidroeuogenol na presença de hexamina. Fonte: da autora.

### 5.2.2. Síntese dos derivados $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol, diidroeuugenol, *o*-vanilina e salicilaldeído em meio básico

Para a obtenção dos derivados cetônicos  $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol, diidroeuugenol e dos fenóis comerciais *o*-vanilina e salicilaldeído (7-14), foi feita uma reação de condensação aldólica em meio básico utilizando dois equivalentes dos aldeídos (sintéticos e comerciais) e um equivalente da cetona correspondente, conforme descrito por BRAGA e colaboradores (2014). O rendimento prático dos produtos foi inferior àqueles descritos na literatura, porém, suficiente para o prosseguimento do trabalho.

A reação em meio básico se dá a partir da captação de um hidrogênio ácido  $\alpha$  à carbonila da cetona correspondente ( $H_\alpha$ ) formando um carbânion com potencial nucleofilicidade para promover um ataque no carbono carbonílico do aldeído do eugenol (3) ou diidroeuugenol (4), deslocando o par de elétrons da ligação  $\pi$  C=O, formando um íon carregado negativamente que, posteriormente, será neutralizado por uma água presente no meio, provavelmente formada pela captação do  $H_\alpha$ . Na sequência, ocorre outra captação da base ao outro hidrogênio ácido da cetona, gerando uma nova dupla ligação C=C, após eliminação da outra hidroxila para o meio. Como o produto de interesse é dissustituído, o mesmo mecanismo ocorre com os dois  $H_\alpha$  presentes na cetona, formando então o derivado  $\alpha,\beta$ -insaturado estável. O provável mecanismo proposto para essa reação está ilustrado na Figura 20.

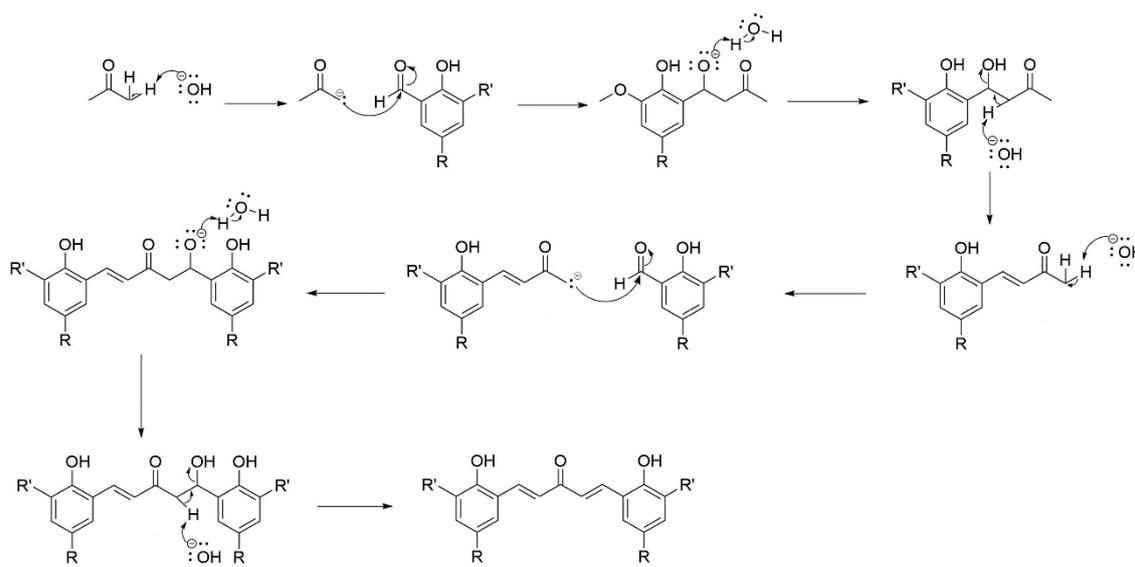
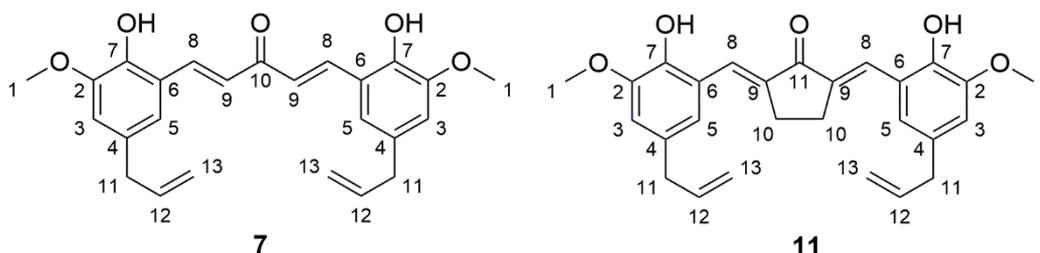


Figura 20: Proposta de mecanismo para a reação de condensação aldólica em meio básico. Fonte: da autora

### 5.2.3. Caracterização química dos derivados do eugenol (7 e 11)

As substâncias sintetizadas foram caracterizadas por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  (RMN de  $^1\text{H}$ ) e de  $^{13}\text{C}$  (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) e os espectros estão apresentados no ANEXO 2.



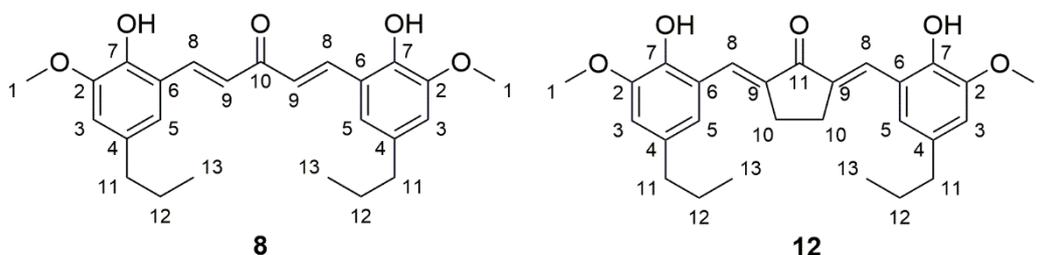
Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos derivados do **7** e **11** (ANEXO 2), foram observados sinais característicos da cadeia lateral alílica do eugenol, com um duplete em  $\delta 3,33$  ( $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ;  $^3J = 6,76$  Hz; 4H), um multiplete em  $\delta 5,98$  ( $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ; 2H) e outro multiplete em torno de  $\delta 5,07$  ( $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ; 4H). Observou-se também simpletos (integral = 6) em aproximadamente  $\delta 3,81$  referentes aos hidrogênios das metoxilas ( $\text{OCH}_3$ ). Além disso, para o derivado **11**, foi possível observar um simpleto e um duplete em  $\delta 6,89$  e  $\delta 6,86$  referentes aos hidrogênios aromáticos H-3 (2H) e H-5 ( $^4J = 1,20$  Hz; 2H), caracterizados pelo acoplamento aromático do tipo  $^4J$  (*meta H-5*). Ainda para essa substância (**11**), observou-se um simpleto em cerca de  $\delta 2,98$  referente aos hidrogênios do carbono 10 (C-10, 4H). Outros dois simpletos foram observados em  $\delta 7,78$  (2H) e  $\delta 9,21$  (2H) referentes a H-8 e OH, respectivamente. Já para o derivado **7**, em  $\delta 6,97$  e  $\delta 6,73$ , foram observados um duplete e um simpleto referentes aos hidrogênios aromáticos H-3 (2H) e H-5 ( $^4J = 1,44$  Hz; 2H), nesta ordem. Somado à isso, observou-se dois dupletos largos referentes aos hidrogênios H-8 ( $\delta 6,82$ ; 2H) e H-9 ( $\delta 7,84$ ; 2H), característicos de um acoplamento em *trans* com uma constante de acoplamento maior ( $^3J = 16,48$  Hz), sendo padrão neste trabalho para os derivados cuja cetona utilizada foi a acetona.

Cabe ressaltar que a simetria das moléculas justificam as integrais duplicadas, provando assim que os derivados obtidos foram dissustituídos, como proposto no trabalho e observado nos espectros do ANEXO 2.

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (ANEXO 2) dessas mesmas substâncias, observou-se em  $\delta 55,90$  o sinal relativo ao carbono do grupo metoxila ( $\text{OCH}_3$ ; 2C), além dos sinais referentes aos carbonos da cadeia alílica do eugenol e carbonos aromáticos, sendo os

primeiros em torno de  $\delta 39,22$  ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ; 2C),  $\delta 127,06$  ( $\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}_2$ ; 2C) e  $\delta 115,72$  ( $\text{CH}_2\text{-CH}=\underline{\text{C}}\text{H}_2$ , 2C) e, em sequência, sinais em  $\delta 113,39$  (C-3; 2C) e  $\delta 120,52$  (C-5; 2C). Em aproximadamente  $\delta 147,65$ ;  $\delta 145,06$ ;  $\delta 130,19$  e  $\delta 122,49$ , observou-se os sinais referentes aos carbonos aromáticos não hidrogenados do fenol, sendo em sequência: C-2 (2C), C-7 (2C), C-4 (2C) e C-6 (2C). Tratando-se da substância **11**, foram também observados sinais referentes aos carbonos C-8, C-9 e C-10 em  $\delta 137,90$  (2C);  $\delta 136,56$  (2C) e  $\delta 26,65$  (2C), nesta ordem, e um sinal característico em  $\delta 195,30$  (1C) referente ao carbono carbonílico da cetona. Já no derivado **7**, os sinais relativos aos carbonos C-8 e C-9 apareceram em  $\delta 138,35$  (2C) e  $\delta 128,01$  (2C), respectivamente, enquanto que o carbono carbonílico da cetona foi registrado em  $\delta 199,31$  (1C). Os subespectros DEPT-135 (ANEXO 1) dos derivados sintetizados auxiliaram na confirmação das atribuições feitas nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

#### 5.2.4. Caracterização química dos derivados do diidroeugenol (**8** e **12**)



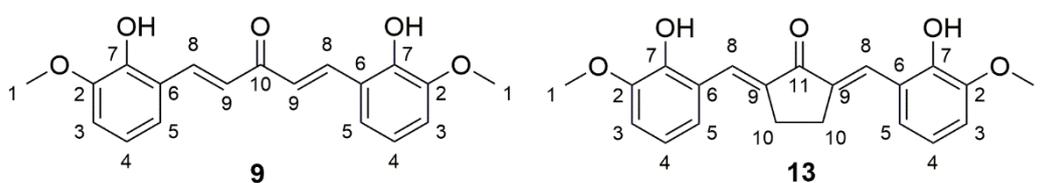
Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos derivados **8** e **12** (ANEXO 3), foram observados sinais característicos da cadeia lateral propílica do diidroeugenol, com um sexteto em aproximadamente  $\delta 1,60$  ( $\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}_3$ ;  $^3J = 7,52$  Hz; 4H), um triplete em aproximadamente  $\delta 0,91$  ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ;  $^3J = 6,88$  Hz; 4H) e um multipeto em torno de  $\delta 2,52$  ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ ; 4H). Observou-se também simpletos em aproximadamente  $\delta 3,82$  referentes aos hidrogênios das metoxilas ( $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ; 6H). Para o derivado **12**, observou-se dois simpletos em  $\delta 6,96$  (2H) e  $\delta 6,87$  (2H) referentes aos hidrogênios aromáticos H-3 e H-5, que apareceram devido ao acoplamento aromático tipo  $^4J$  (*meta* H-5). Ainda para essa substância, observou-se um simpleto próximo de  $\delta 2,99$  (4H) referente aos hidrogênios do carbono 10 da cetona correspondente (núcleo ciclopentanônico). Outros dois simpletos foram registrados em  $\delta 9,08$  (2H) e  $\delta 7,79$  (2H), referentes aos hidrogênios das hidroxilas e aos hidrogênios H-8, respectivamente. Já para o derivado **8**, foram observados dois sinais característicos de acoplamento de hidrogênios *trans* em  $\delta 7,92$  (2H)

e  $\delta 7,24$  (2H), com  $^3J = 16,08$ , referentes a H-8 e H-9, sequencialmente. Os hidrogênios aromáticos H-3 e H-5 foram registrados em  $\delta 7,11$  (2H) e  $\delta 6,86$  (2H), respectivamente.

Ressalta-se que, devido à simetria da molécula, as integrais encontraram-se duplicadas, provando que o produto formado é dissustituído, como proposto no trabalho e observado nos ANEXO 3

Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (ANEXO 3) dessas mesmas substâncias, observaram-se a aproximadamente  $\delta 56,34$  o sinal relativo ao carbono do grupo metoxila ( $\text{OCH}_3$ ; 2C), além dos sinais referentes aos carbonos da cadeia propílica do diidroeuogenol e carbonos hidrogenados do anel aromático, sendo os primeiros em torno de  $\delta 37,54$  ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ; 2C),  $\delta 24,72$  ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ; 2C) e  $\delta 14,13$  ( $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ ; 2C) e os últimos em  $\delta 113,83$  (C-3; 2C) e  $\delta 120,83$  (C-5; 2C). Em aproximadamente  $\delta 147,99$ ;  $\delta 145,21$ ;  $\delta 133,02$  e  $\delta 122,77$ , observou-se os sinais referentes aos carbonos aromáticos não hidrogenados, sendo em sequência: C-2 (2C), C-7 (2C), C-4 (2C) e C-6 (2C). Foram também observados sinais referentes aos carbonos C-8, C-9 e C-10 em  $\delta 127,64$  (2C);  $\delta 136,96$  (2C) e  $\delta 26,57$  (2C), nesta ordem, e um sinal característico em  $\delta 199,77$  (1C) referente ao carbono carbonílico da cetona. Os subspectros DEPT-135 (ANEXO 3) dos derivados sintetizados auxiliaram na confirmação das atribuições feitas nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

### 5.2.5. Caracterização química dos derivados da *o*-vanilina (9 e 13)

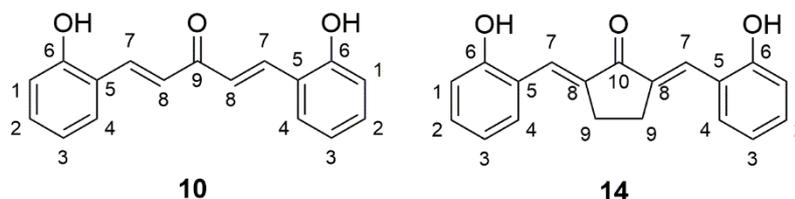


Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos derivados **13** (ANEXO 4), observou-se um simpleto em  $\delta 9,30$  referente aos hidrogênios das hidroxilas ( $\text{OH}$ ; 2H) e outro simpleto em  $\delta 7,81$  referente ao H-8. Considerando o anel aromático, foi possível observar dois duplos dupletos em  $\delta 7,16$  (2H;  $^3J = 7,96$  Hz;  $^4J = 1,12$  Hz; H-3) e  $\delta 7,03$  (2H;  $^3J = 8,12$  Hz;  $^4J = 1,20$  Hz; H-5) e um tripleto em  $\delta 6,86$  (2H;  $^3J = 8,0$  Hz; H-4). Os hidrogênios da metoxila ( $\text{OCH}_3$ ; 6H) apareceram em  $\delta 3,83$  com um simpleto, enquanto o simpleto correspondente aos hidrogênios H-10 da cetona (ciclopentanona) apareceu em  $\delta 2,99$  (4H). Já para o derivado **9**, foram observados dois dupletos característicos de acoplamento de

hidrogênios *trans* em  $\delta 7,96$  (2H) e  $\delta 7,26$  (2H), com  $^3J = 16,08$ , referentes a H-8 e H-9, sequencialmente. Os hidrogênios aromáticos 3 e 5 foram registrados em  $\delta 7,02$  (2H;  $^3J = 7,92$ ) e  $\delta 7,30$  (2H;  $^3J = 7,80$ ), respectivamente.

No espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos derivados **9** e **13** (ANEXO 4), observou-se um sinal em  $\delta 55,94$  referente aos carbonos das metoxilas ( $\text{OCH}_3$ ; 2C). Em  $\delta 147,76$  (2C),  $\delta 146,76$  (2C),  $\delta 122,76$  (2C), foram registrados os sinais referentes aos carbonos não hidrogenados do anel aromático, sendo em sequência: C-7, C-2 e C-6, ao passo que os carbonos aromáticos hidrogenados C-3, C-4 e C-5 apareceram em  $\delta 112,98$  (2C),  $\delta 118,90$  (2C) e  $\delta 121,11$  (2C), respectivamente. Os carbonos C-8, C-9 e C-10 foram registrados em  $\delta 127,01$  (2C),  $\delta 136,69$  (2C) e  $\delta 26,04$  (2C), respectivamente. Para o derivado **13**, observou-se um sinal característico do carbono carbonílico da cetona correspondente (ciclopentanona) em  $\delta 195,92$  (1C), enquanto que para o derivado **9**, o sinal carbonílico foi registrado em  $\delta 188,06$  (1C).

### 5.2.6. Caracterização química dos derivados do salicilaldeído (**10** e **14**)



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **14** (ANEXO 5) apresentou um simpleto em  $\delta 10,17$  correspondente às hidroxilas ( $\text{OH}$ ; 2H) e outros dois simpletos em  $\delta 7,80$  referente aos hidrogênios H-7 (2H) e  $\delta 3,01$  correspondente ao H-9 (4H). Quanto aos hidrogênios aromáticos, observou-se: um duplete duplo em  $\delta 7,54$  (2H;  $^3J = 7,88$  Hz;  $^4J = 1,44$  Hz; H-1), um multiplete em  $\delta 7,24$  (2H; H-3), um duplete duplo em  $\delta 6,94$  (2H;  $^3J = 8,20$  Hz;  $^4J = 1,04$  Hz; H-4) e um multiplete em  $\delta 6,89$  referente ao H-2 (2H). Já no espectro da substância **10** (ANEXO 5), observou-se dois dupletos em  $\delta 7,93$  (2H) e  $\delta 7,78$  (2H) referentes aos hidrogênios H-7 e H-8, respectivamente, com padrão de acoplamento típicos de H *trans*, com  $^3J = 16,48$  Hz. Quanto aos hidrogênios do anel aromático, observou-se: dois dupletos duplos em  $\delta 7,70$  (2H;  $^3J = 7,80$  Hz;  $^4J = 1,52$  Hz; H-1) e em  $\delta 7,59$  (2H;  $^3J = 7,84$  Hz;  $^4J = 1,56$  Hz; H-4), um multiplete em  $\delta 7,25$  (2H; H-3) e um duplete triplo em  $\delta 6,93$  (2H;  $^3J = 6,70$  Hz;  $^4J = 0,96$  Hz; H-2).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado **14** (ANEXO 5) apresentou um sinal em  $\delta 195,36$  característico de carbonila de cetona (ciclopentanona, 1C), sinais em  $\delta 157,51$  (2C),  $\delta 136,47$  (2C) correspondentes aos carbonos não hidrogenados do anel aromático, sendo eles C-6 e C-8, em sequência, ao passo que os carbonos aromáticos hidrogenados apareceram em  $\delta 119,21$  (2C),  $\delta 129,53$  (2C).  $\delta 115,76$  (2C),  $\delta 126,95$  (2C) sendo C-1, C-2, C-3 e C-4, respectivamente. Além disso, observam-se sinais referentes aos carbonos C-7 em  $\delta 131,01$  (2C), C-8 em  $\delta 136,47$  (2C) e em  $\delta 26,14$  correspondente aos carbonos C-9 (2C). Já no espectro do derivado **10** (ANEXO 5), os sinais referentes aos carbonos aromáticos hidrogenados encontram-se em  $\delta 116,22$  (2C),  $\delta 128,77$  (2C).  $\delta 120,93$  (2C),  $\delta 128,64$  (2C), sendo C-1, C-2, C-3 e C-4, nesta ordem, enquanto que os carbonos não hidrogenados aparecem com sinais em  $\delta 156,91$  (2C; C-6) e  $\delta 125,41$  (2C; C-5). O carbono carbonílico característico da acetona foi registrado em  $\delta 188,73$  e os carbonos C-7 e C-8 apareceram em  $\delta 138,49$  e  $\delta 126,61$ , respectivamente.

### **5.3. Resultados das avaliações do potencial biológico *in vitro* das substâncias sintetizadas**

A ação biológica *in vitro* dos derivados finais (**7- 14**) está sendo avaliada quanto ao potencial antibacteriano sobre espécies de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus*, sob responsabilidade da Profa. Dra. Amanda Latércia Tranches Dias (UNIFAL-MG), bem como a avaliação do potencial tripanocida, ainda em andamento, sobre formas epimastigotas da cepa Y do *Trypanosoma cruzi*, sob responsabilidade da Profa. Dra. Marta de Lana (UFOP-MG).

Já o potencial antitumoral das substâncias **7, 10, 11, 12, 13** e **14** foi avaliado sobre linhagens de células HeLa, T24 e TOV-21G por meio do ensaio colorimétrico do MTT sob responsabilidade do Prof. Dr. Geraldo Célio Brandão (UFOP-MG) e executado pela doutoranda Adriana Cotta Cardoso Reis (UFOP-MG). Os resultados das avaliações do potencial antitumoral encontram-se na Tabela 5, expressos em valores de  $\text{IC}_{50}$  (concentração da substância que inibe 50% do crescimento celular). Nos ensaios foi utilizado como controle positivo a Podofilotoxina.

Tabela 5: Citotoxicidade (MRC-5, HeLa, T24 e TOV-21G), e respectivos desvios padrões (n=3) e índice de seletividade (IS), das substâncias de síntese, realizada por meio do ensaio colorimétrico do MTT

SUBSTÂNCIA	CC <sub>50</sub> (µM)						
	MRC-5	HeLa	IS	T24	IS	TOV-21G	IS
<b>12</b>	105,99 ± 1,99	172,47 ± 1,63	0,62	29,13 ± 1,35	1,46	45,45 ± 1,76	2,33
<b>7</b>	37,56 ± 1,25	7,07 ± 1,85	5,31	11,66 ± 1,39	3,22	27,33 ± 1,24	1,37
<b>11</b>	50,10 ± 1,36	70,75 ± 1,25	0,71	11,66 ± 1,43	4,3	40,29 ± 1,71	1,24
<b>10</b>	13,40 ± 1,31	2,04 ± 1,45	6,59	2,29 ± 1,68	5,85	2,74 ± 1,38	4,88
<b>14</b>	47,75 ± 1,45	8,85 ± 1,55	5,39	17,74 ± 1,41	2,69	4,71 ± 1,43	10,12
<b>13</b>	60,13 ± 1,18	> 100,00	0,22	33,88 ± 1,40	1,78	73,35 ± 1,62	0,82
<b>Podofilotoxina</b>	0,3231 ± 1,49	0,3120 ± 1,48	1,04	0,0062 ± 1,43	51,72	0,0117 ± 1,75	27,9

IS (Índice de seletividade): MRC-5/Linhagem celular tumoral

Dentre os resultados apresentados na Tabela 5, observou-se que todas as substâncias foram citotóxicas frente a linhagem de células normais (MRC-5), com IC<sub>50</sub> variando de 13,40-105,99 µM, com destaque para os derivados **10** (mais citotóxico) e **12** (menos citotóxico), sugerindo que a presença da cadeia propílica e do grupo metoxila do derivado **12** diminui o efeito tóxico frente as células normais quando comparado aos demais produtos.

Observou-se também que dentre os derivados avaliados, aqueles que apresentaram maior atividade foram: **7, 14 e 10**, tratando-se da linhagem de células HeLa (IC<sub>50</sub> de 7,07 µM; 8,85 µM e 2,04 µM, respectivamente), e da linhagem T24 (IC<sub>50</sub> de 11,66 µM; 17,74 µM e 2,29 µM, respectivamente); **14 e 10** para a linhagem TOV-21G (IC<sub>50</sub> de 4,71 µM; 2,74 µM respectivamente).

Dentre todas as substâncias analisadas, pode-se obter informações preliminares acerca da relação estrutura-atividade entre os derivados da ciclopentanona e da acetona, sendo que a atividade é maior naqueles derivados da segunda cetona, comprovando que o maior número de carbonos e a ciclização da molécula interfere negativamente na atividade antitumoral das moléculas.

Além das diferentes cetonas utilizadas, foi proposta nesse trabalho a variação das cadeias laterais do eugenol, diidroeugenol, *o*-vanilina e salicilaldeído para avaliar a importância das mesmas na atividade do derivado. Pelos dados apresentados, observa-se que a ausência da metoxila e da cadeia lateral alílica ou propílica aumentou a atividade antitumoral das substâncias **14 e 10**.

O índice de seletividade entre a linhagem celular normal (MRC-5) e as linhagens celulares tumorais, mostrou-se interessante para os derivados com maior atividade (**7**, **14** e **10**), sendo superiores aos apresentados pelo controle positivo (Podofilotoxina) para a linhagem de células HeLa, como demonstrados na Tabela 5.

## 6. CONCLUSÕES

Foram sintetizados, purificados e caracterizados quimicamente, 8 derivados  $\alpha,\beta$ -insaturados do eugenol e análogos. De acordo com os resultados apresentados, pode-se concluir que as substâncias propostas apresentaram citotoxicidade para células saudáveis, exceto a substância **12**, derivada do diidroeuugenol e acetona. Entretanto, o índice de seletividade (IS), quando comparado com células tumorais foi interessante, principalmente para as substâncias **7**, **14** e **10**, que apresentaram os seguintes valores de IS: 5,31, 5,39 e 6,59, respectivamente, para a linhagem de células HeLa; 3,22, 2,69 e 5,85, respectivamente, para a linhagem T24. As substâncias **14** e **10**, derivadas do salicilaldeído com ciclopentanona e acetona, respectivamente, apresentaram IS de 10,12 e 4,88, o que torna as substâncias sintetizadas interessantes candidatos para futuras modificações químicas com o objetivo de se obter candidatos a novos fármacos antitumorais mais potentes e menos tóxicos.

## 7. REFERÊNCIAS

ABRÃO, P et al., Synthesis and biological evaluation of new eugenol Mannich bases as promising antifungal agents, **Chem. Biol. Drug. Des.** 86: 459-465, 2015.

Azevedo-Barbosa, H et al. Phenylpropanoid-based sulfonamide promotes cyclin D1 and cyclin E downregulation and induces cell cycle arrest at G1/S transition in estrogen positive MCF-7 cell line. **Toxicology in Vitro.** 59: 150-160, 2019.

BRAGA, S. et al., Synthesis and evaluation of the antiparasitic activity of bis-(arylmethylidene)cycloalkanones. **Eur. J. Med. Chem.** 71: 282-289, 2014.

BRANCAGLION, GA; TOYOTA, AE; CARDOSO MACHADO, JV; et al. In vitro and in vivo trypanocidal activities of 8-methoxy-3-(4-nitrobenzoyl)-6-propyl-2H-cromen-2-one, a new synthetic coumarin of low cytotoxicity against mammalian cells. **Chem Biol Drug Des.** 1–11, 2018.

BRENER, Z; DIAS, JCP, Chagas disease and blood transfusion. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 79 (Suppl.): 139-147, 1984.

CHAGAS DISEASE. WHO. Disponível em: < <https://www.who.int/chagas/en/>>.  
Acesso em: 18 out. 2019

DEL FIO, F et al., Resistência bacteriana. **Revista Brasileira de Medicina.** Rio de Janeiro, 57(10): 1129-1140, 2000.

FERREIRA, A et al., Reações adversas ao benzonidazol no tratamento da Doença de Chagas: revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e controlados. **Cadernos de saúde coletiva.** Rio de Janeiro, 27 (3): 354-362; 2019.

FERREIRA, H, Tratamento da forma indeterminada da doença de Chagas com Nifurtimox e Benzonidazol. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** 23(4): 209-211, out-dez 1990.

FILARDI, L. S.; BRENER, Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drugs used clinically in Chagas' disease. **Transactions Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene,** 81:755-759, 1986.

GUIMARÃES, D et al. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, 33(3): 667-679, 2010.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 16 dez. 1983.

MOTA, R et al., Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresistência bacteriana. **Braz J vet Resanim Sci**, São Paulo, 42(6): 465-470, 2005.

NEVES, DP. et al. Parasitologia Humana. 11 ed. Atheneu, cap. 11: 85-108, 2005.

ORTIZ, J et al., Cardiac evaluation in the acute phase of Chagas' disease with Post-treatment evolution in patients attended in the state of Amazonas, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. 112(3): 240-246, 2019.

SOUZA, T et al., New eugenol glucoside-based derivate shows fungistatic and fungicidal activity against opportunistic *Candida glabrata*. **Chem Biol Drug Des**. 87: 83-90, 2015a.

SOUZA, T et al., Synthesis and antimicrobial activity of 6-triazolo-6-deoxy eugenol glucosides, **Carbohydrate Research**. 410; 1-8, 2015b

SOUZA, T et al., Synthesis and in vitro evaluation of antigungal and cytotoxic activities of eugenol glycosides. **Medicinal Chemistry Research**. 23: 496-502, 2013.

SOUZA, T et al., Synthesis, activity and molecular modeling studies of 1,2,3- triazole derivatives from natural phenylpropanoids as new trypanocidal agentes. **Chem Biol Drug Des**. 2019.

TWENTYMAN, P.; LUSCOMBE, M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. **British Journal of Cancer**, v. 56, n. 3, p. 279-285, set. 1987.

VANDEPUTTE, P; FERRARI, S; COSTE AT, Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. **Int. J Microbiol**, 713687, 2012.

VINHARES, M; DIAS, J; Doença de Chagas no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, 16(Sup. 2): 7-12, 2000.

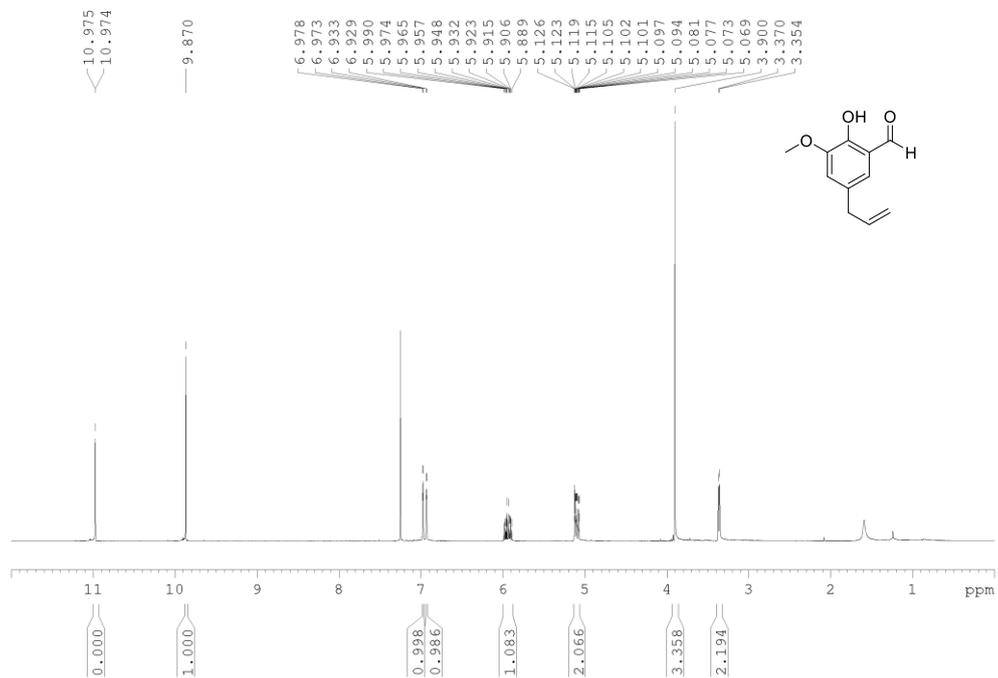
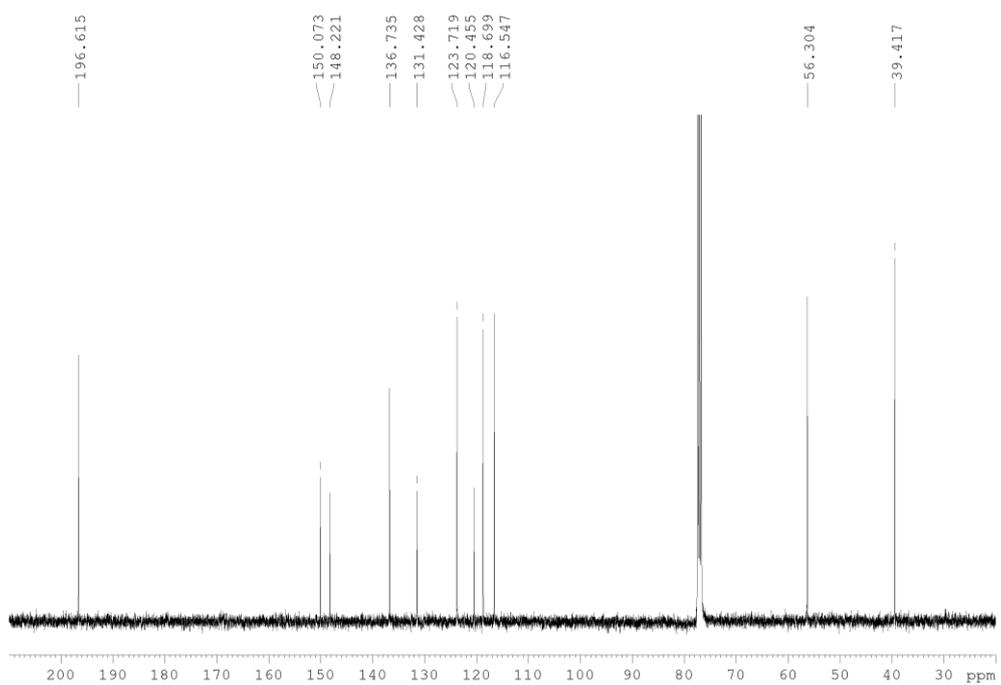
YADAV, M et al., Eugenol: a phyto-compound effective against methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* clinical strain biofilms, **PLoS ONE** 10 1-21, 2015

YOUNG, V et al., Altered expression of cruzipain and a cathepsin B-like target in a *Trypanosoma cruzi* cell line displaying resistance to synthetic inhibitors of cysteine-proteinases. **Molecular and Biochemical Parasitology** 109 (1), p. 47-59, 2000.

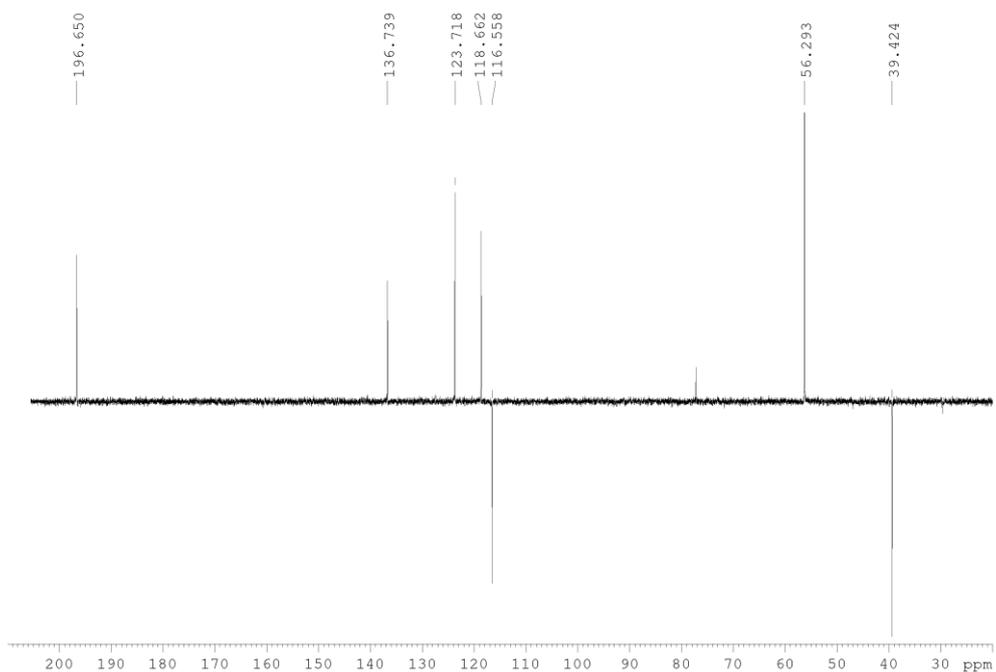
ZAMAN, S et al., A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. **Cureus** 9(6): e1403, 2017.

## 8. ANEXOS

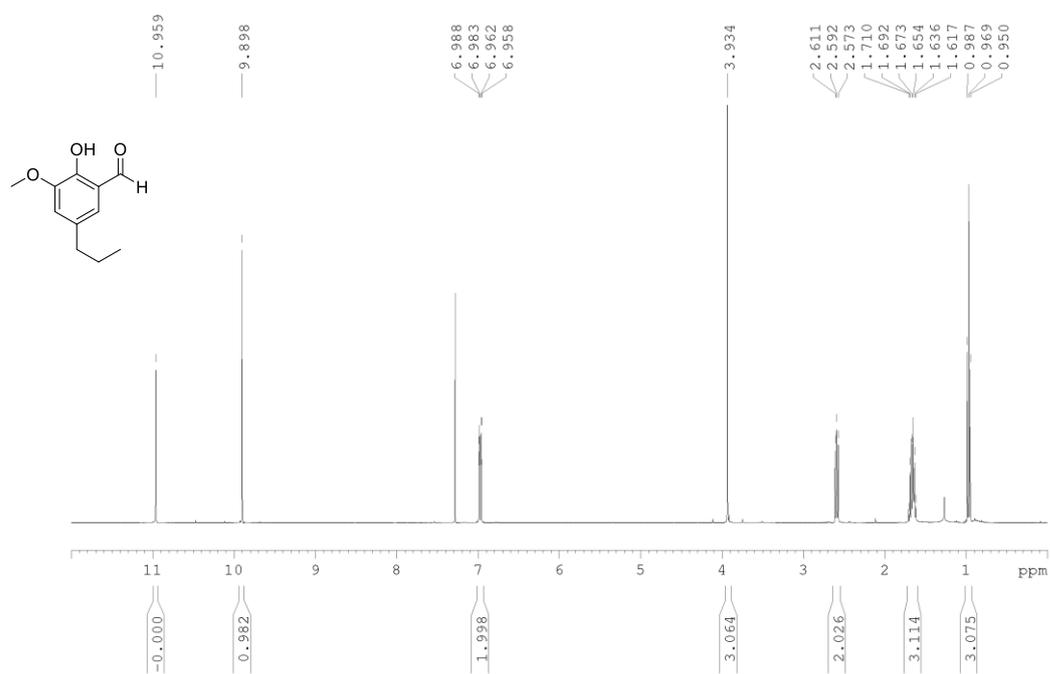
## 8.1. Anexo 1

Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do derivado **3** (δ, CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

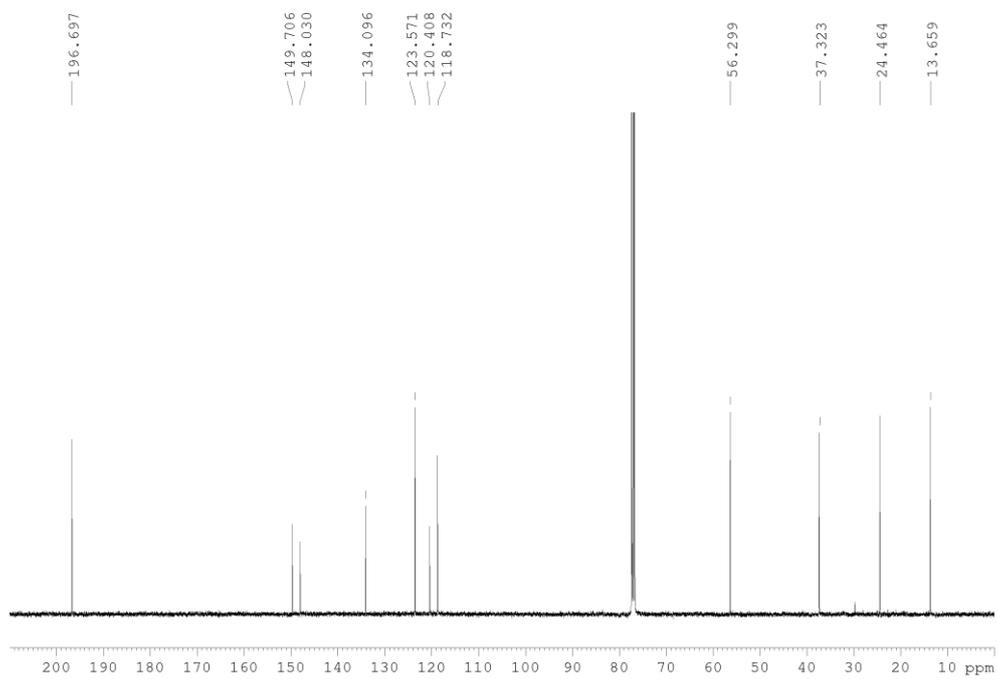
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado **3** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



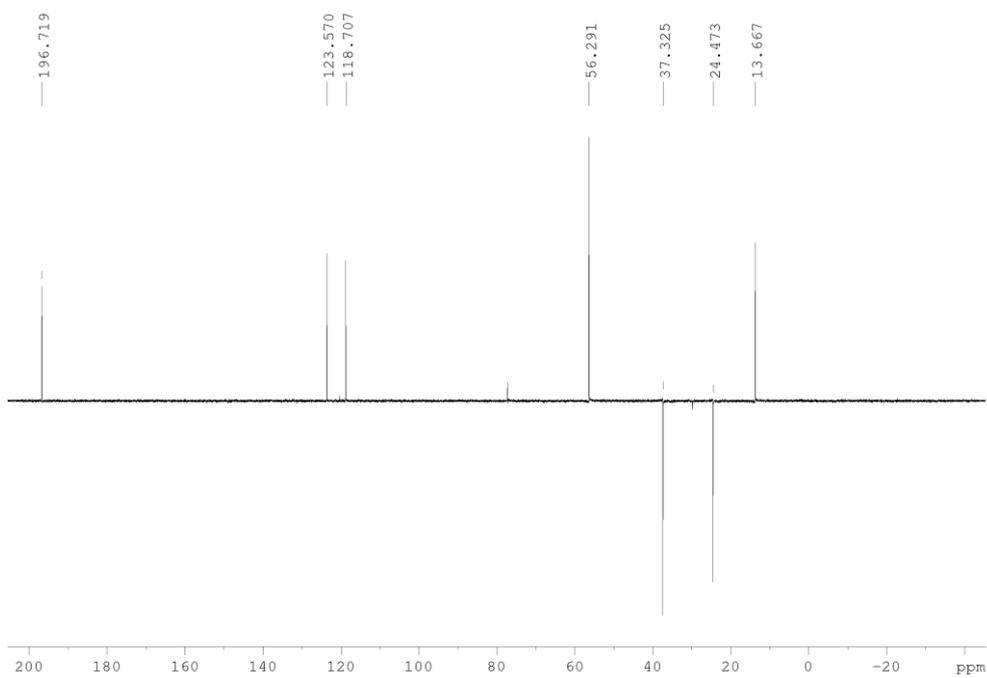
Subespectro DEPT-135 do derivado **3** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **4** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

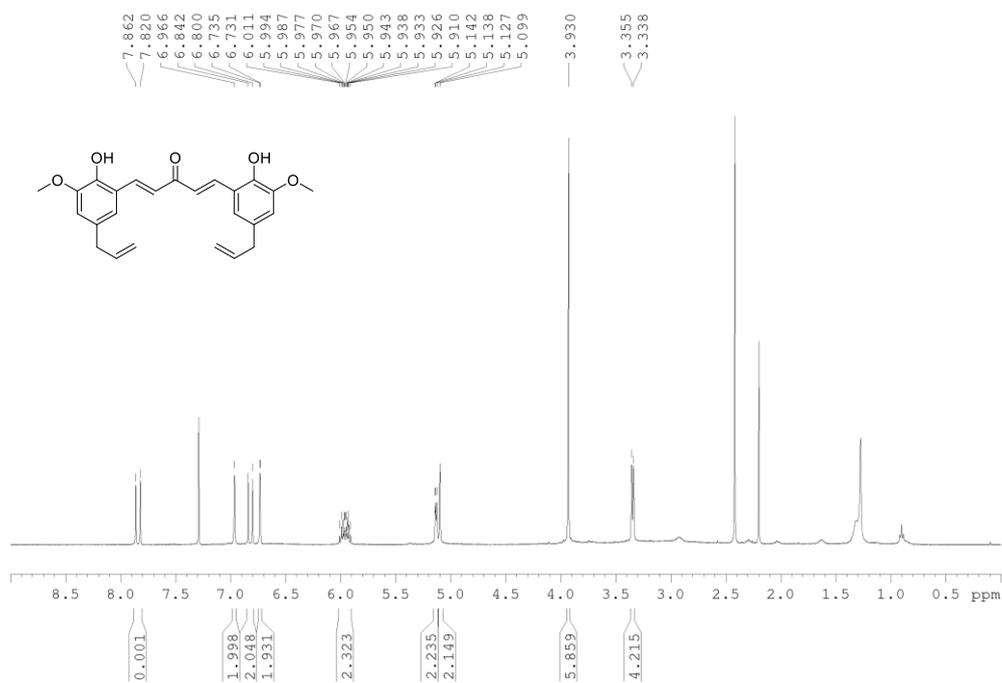
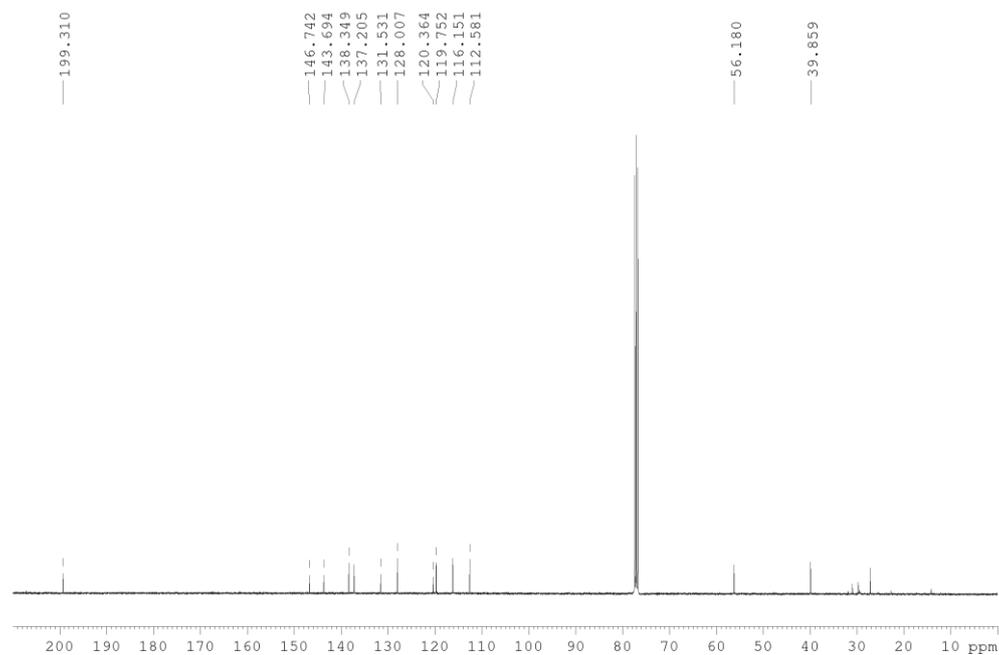


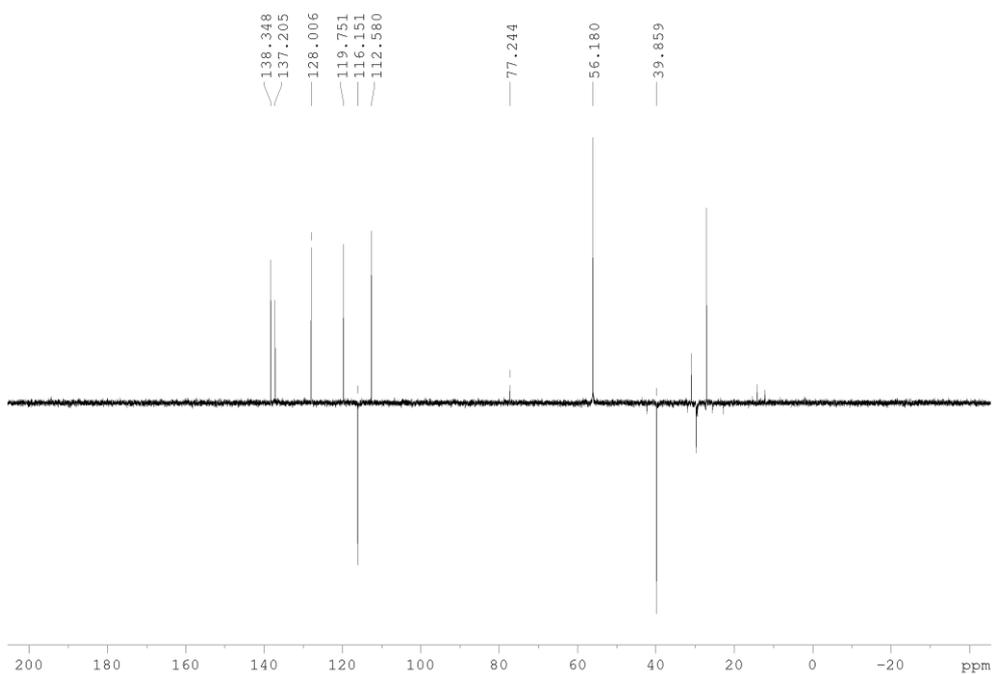
Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado **4** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



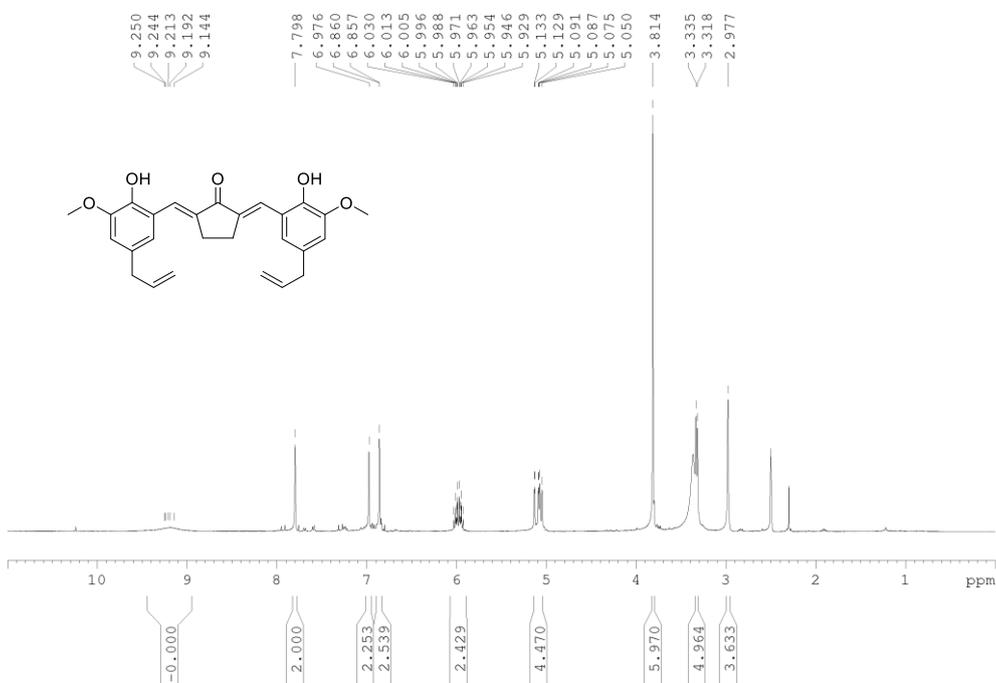
Subespectro DEPT-135 do derivado **4** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

## 8.2. Anexo 2

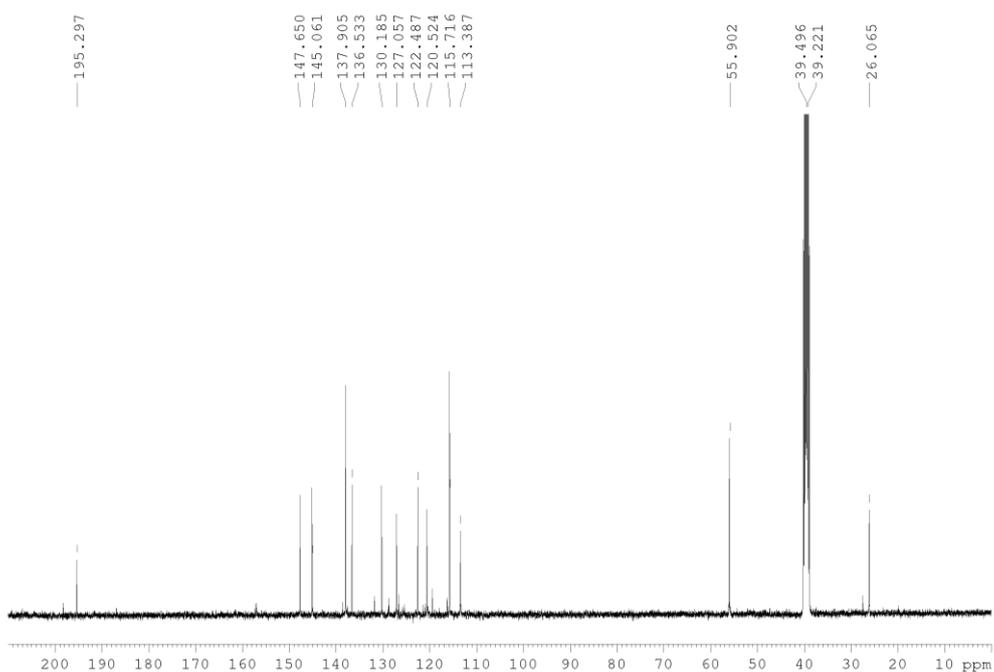
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **7** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado **7** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



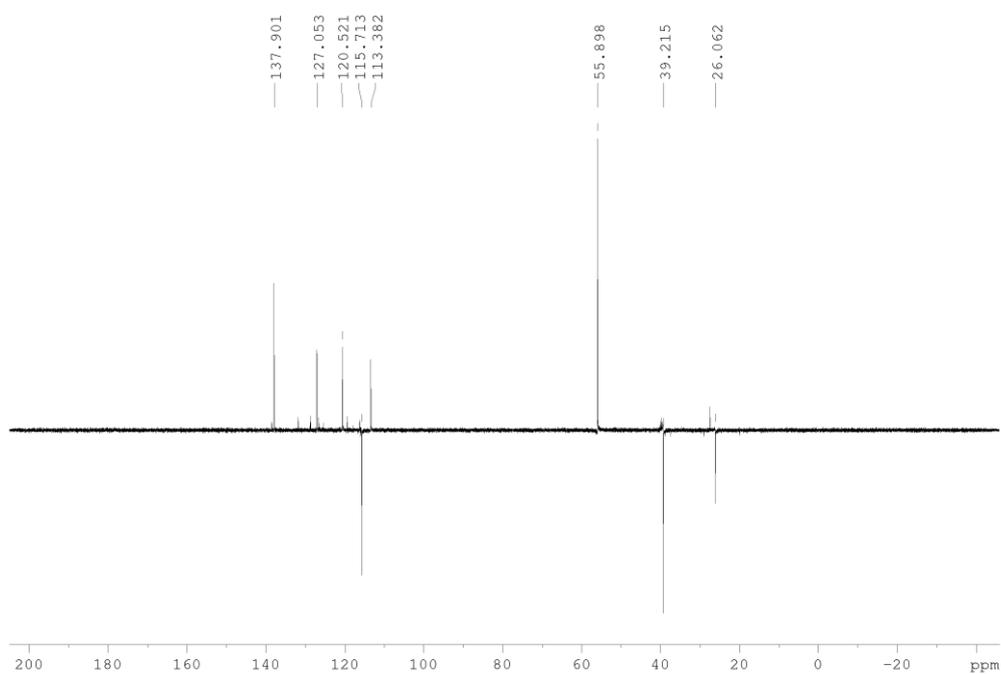
Subespectro DEPT-135 do derivado **7** ( $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **11** ( $\delta$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ , 400 MHz).

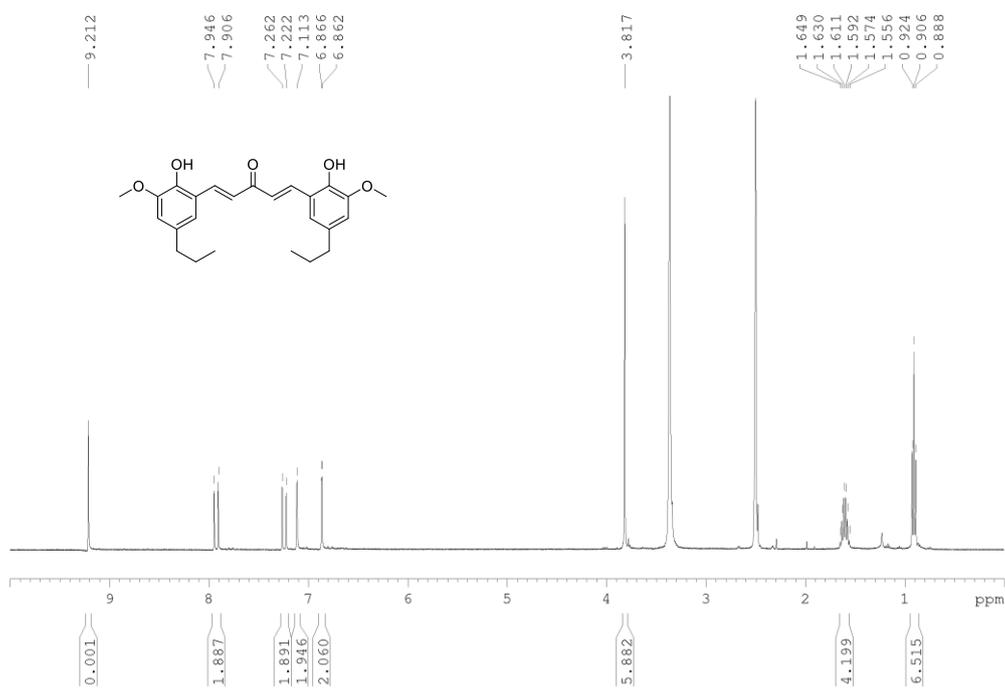
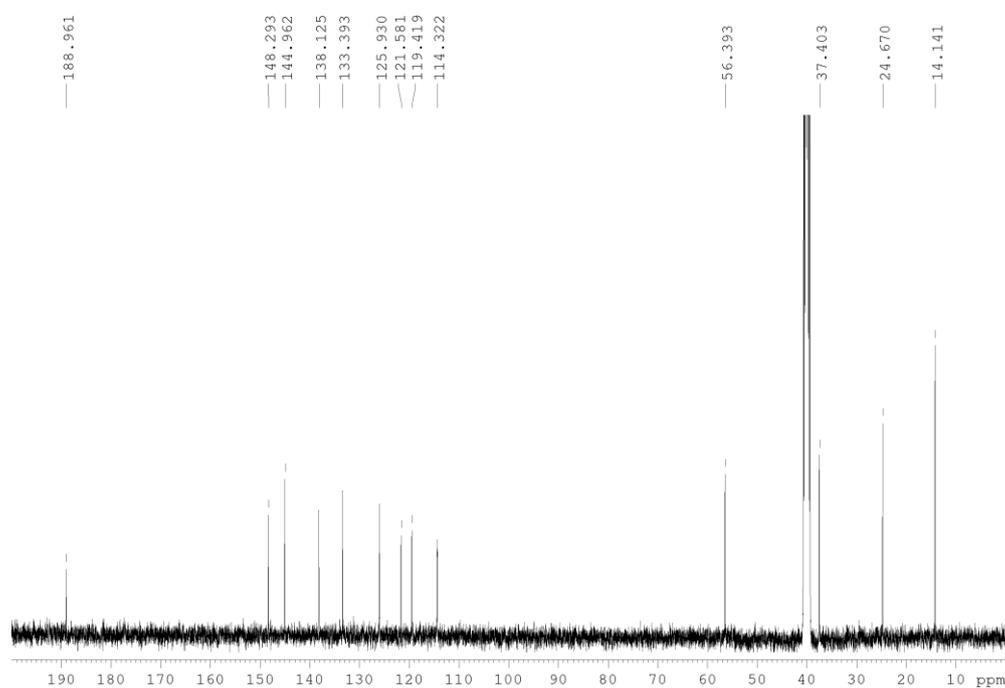


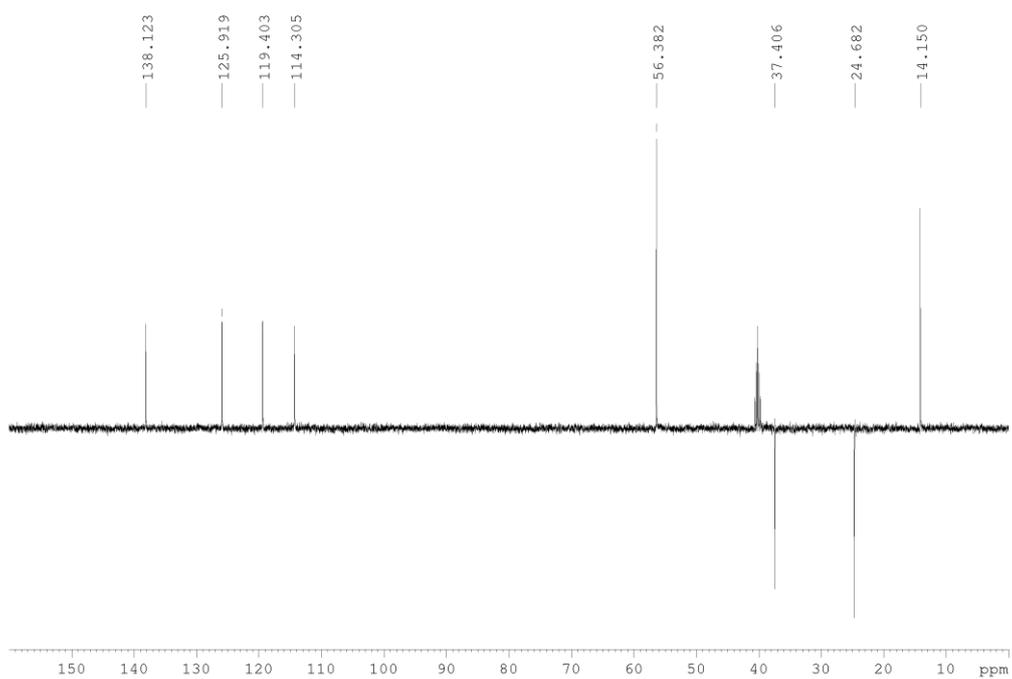
Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do derivado **11** ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).



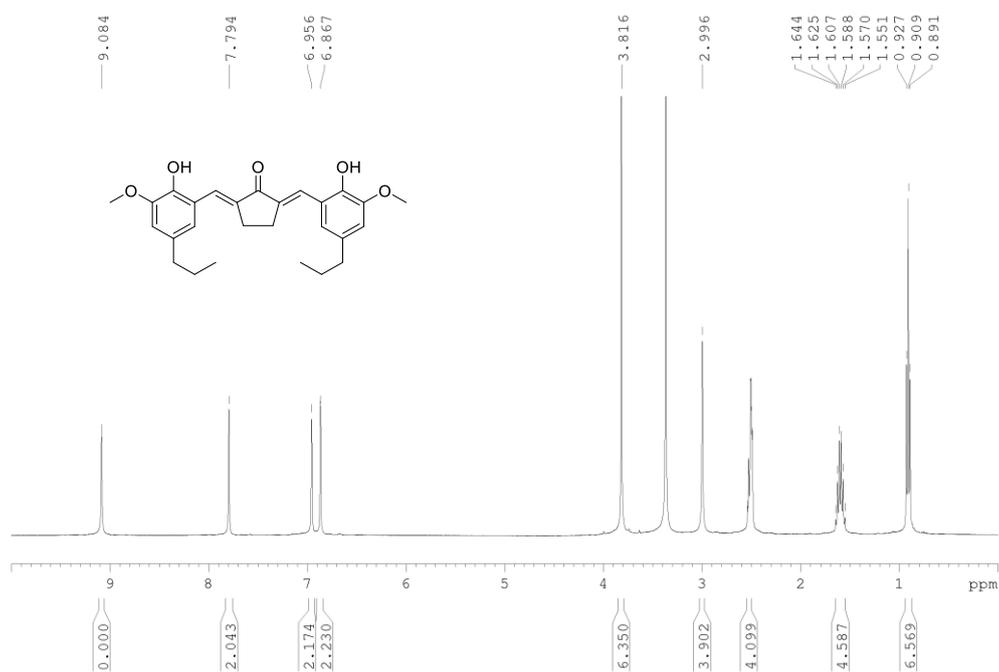
Subespectro DEPT-135 do derivado **11** ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

## 8.3. Anexo 3

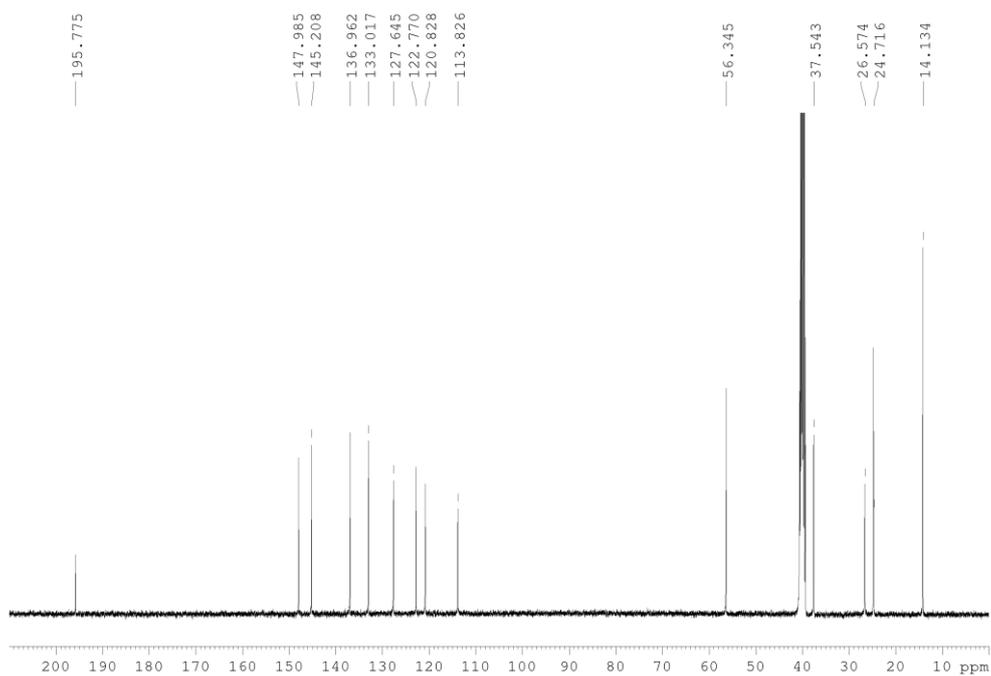
Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do derivado **8** (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do derivado **8** (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).



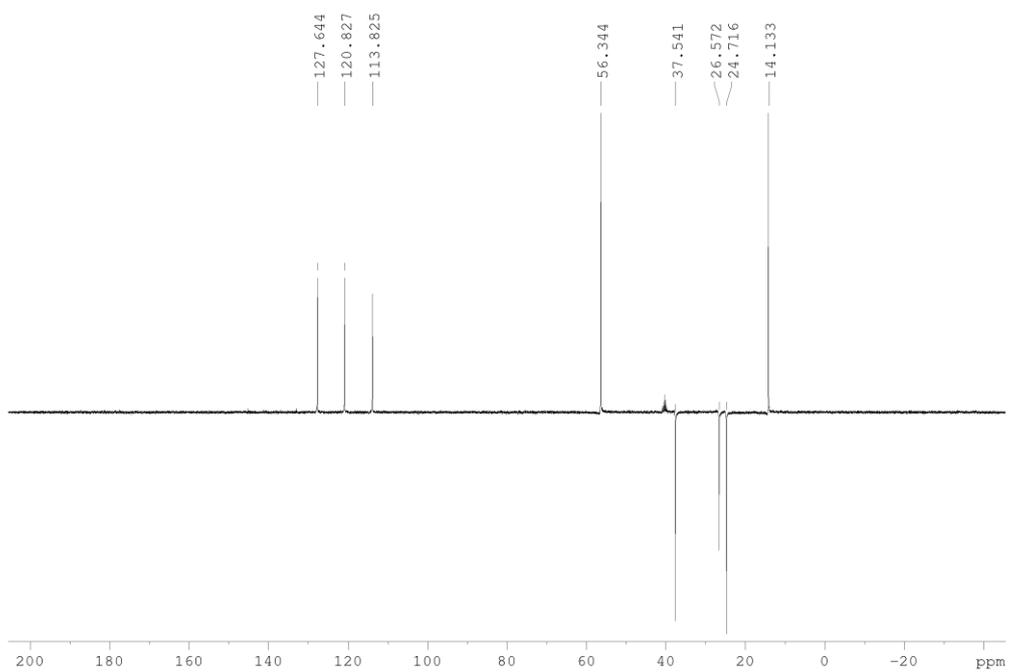
Subespectro DEPT-135 do derivado **8** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **12** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

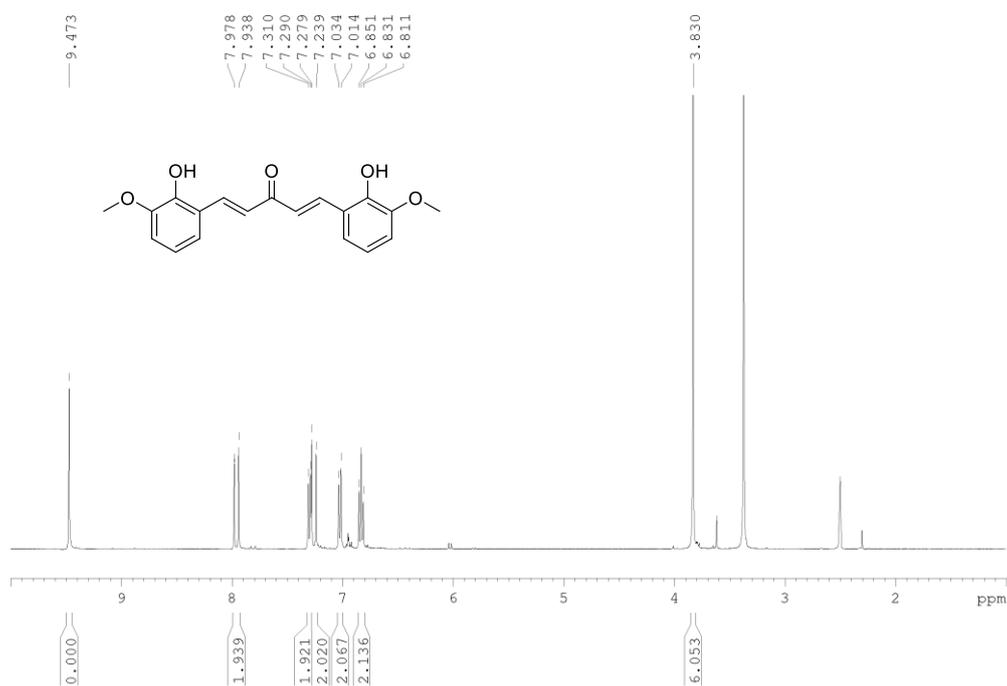
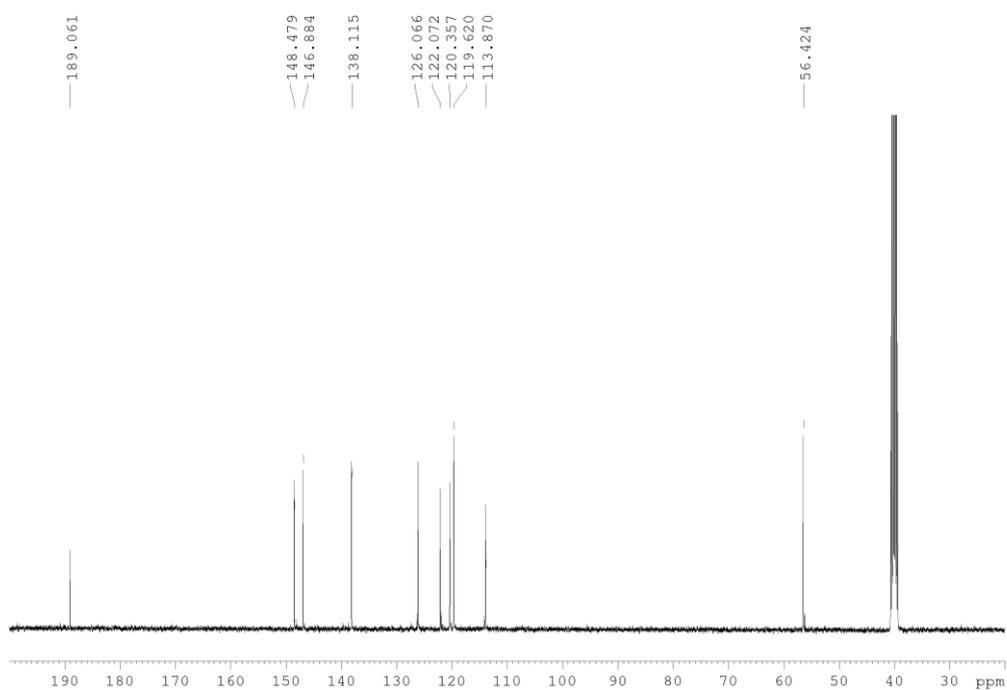


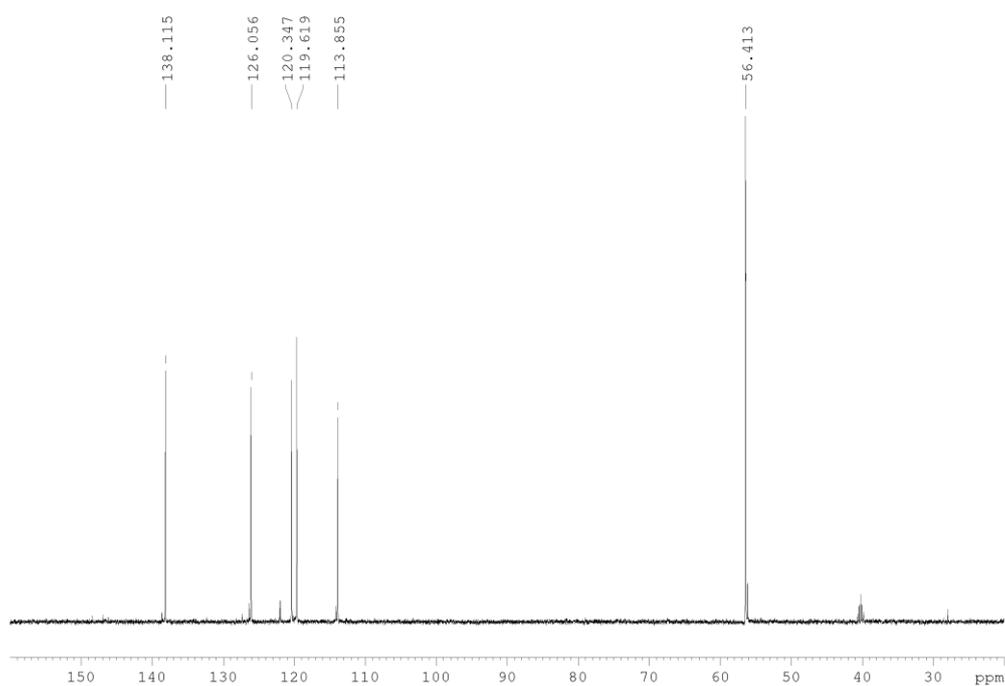
Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do derivado **12** (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).



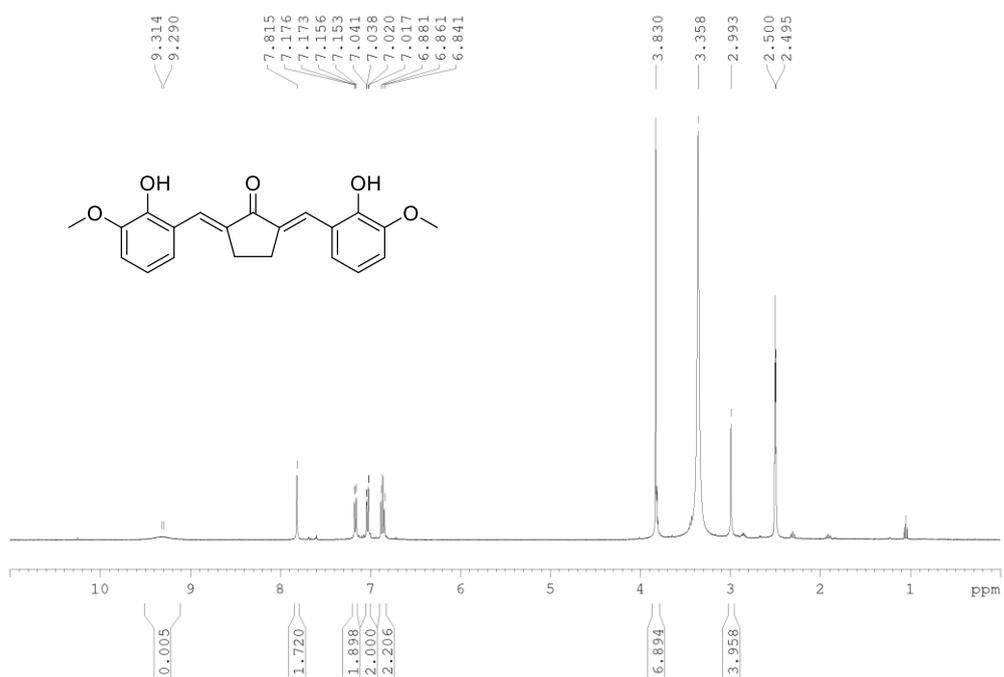
Subespectro DEPT-135 do derivado **12** (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

## 8.4. Anexo 4

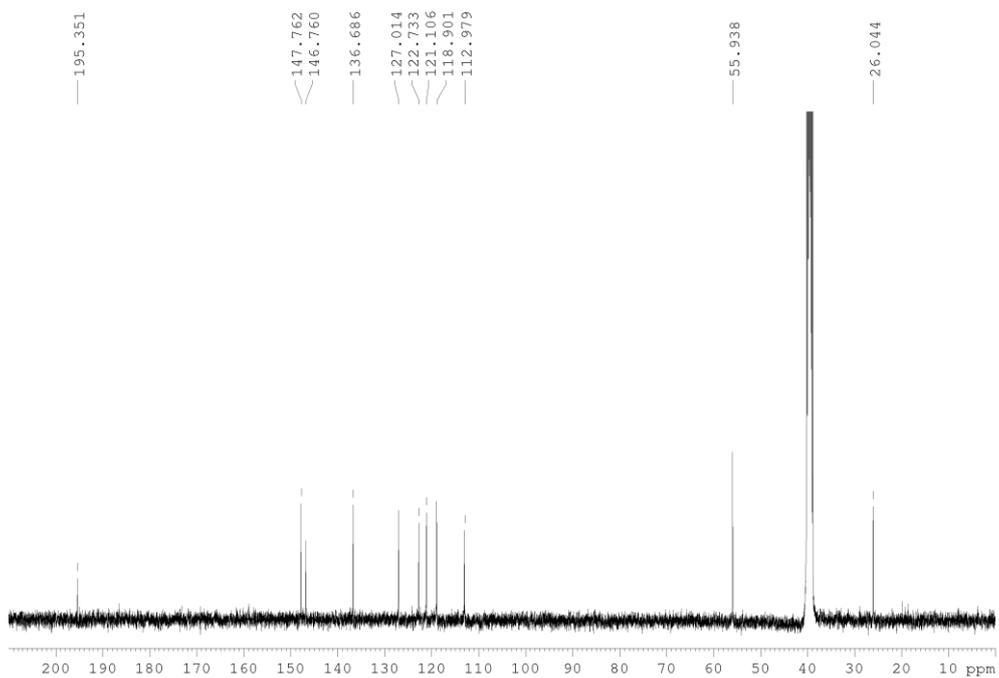
Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **9** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado **9** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).



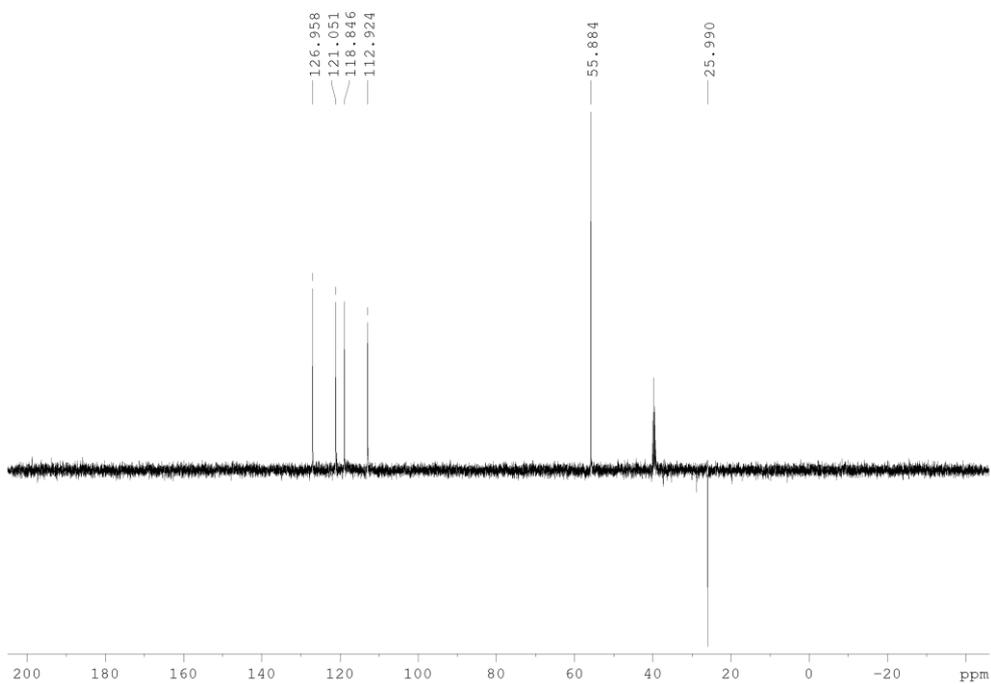
Subespectro DEPT-135 do derivado **9** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **13** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).

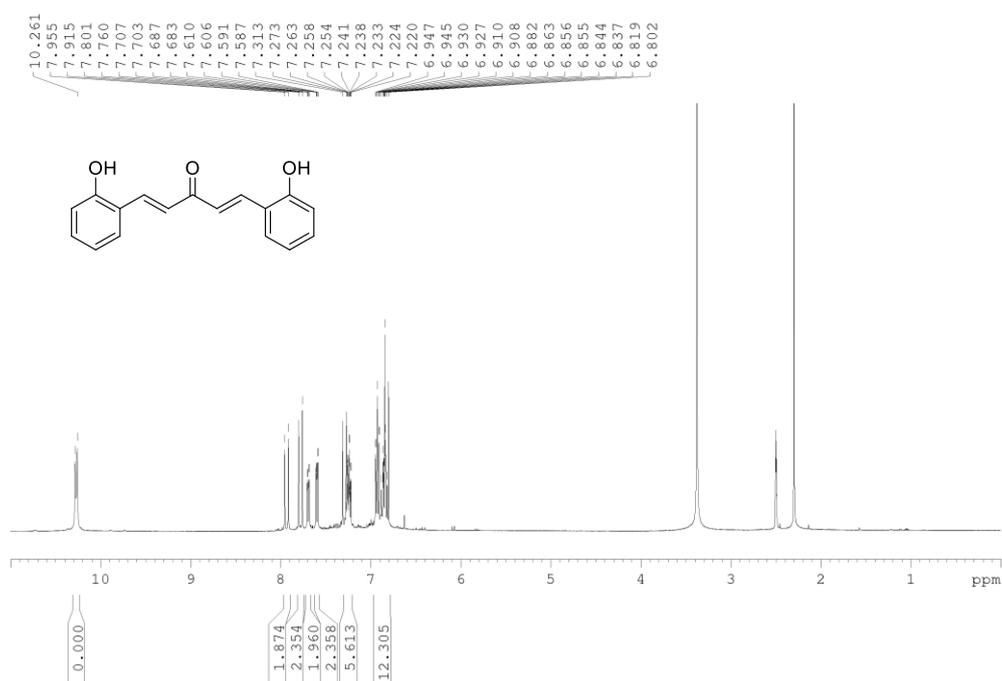
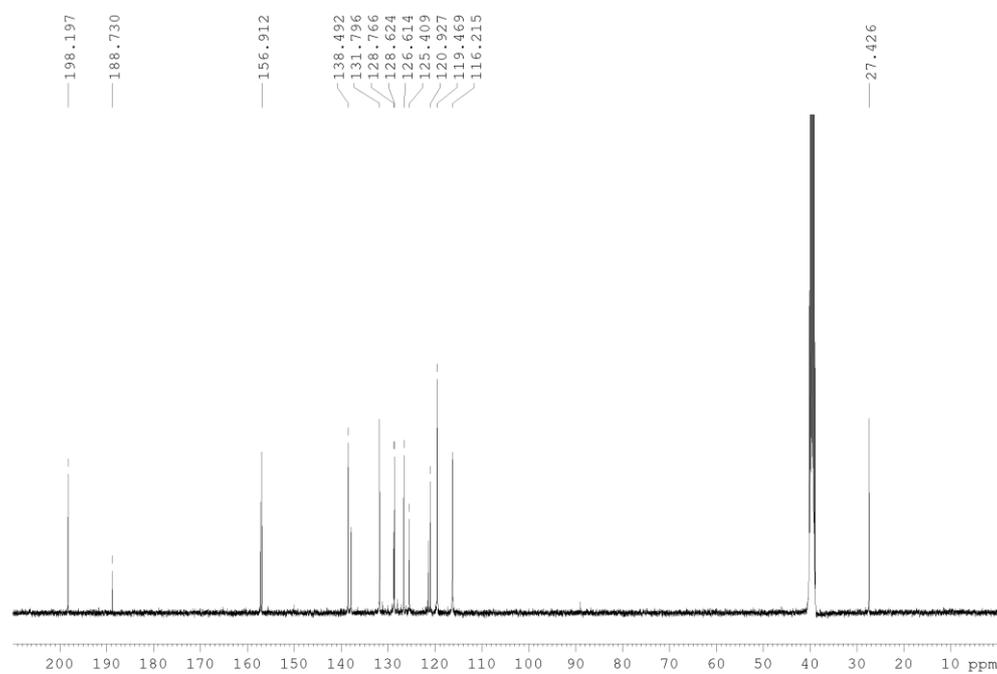


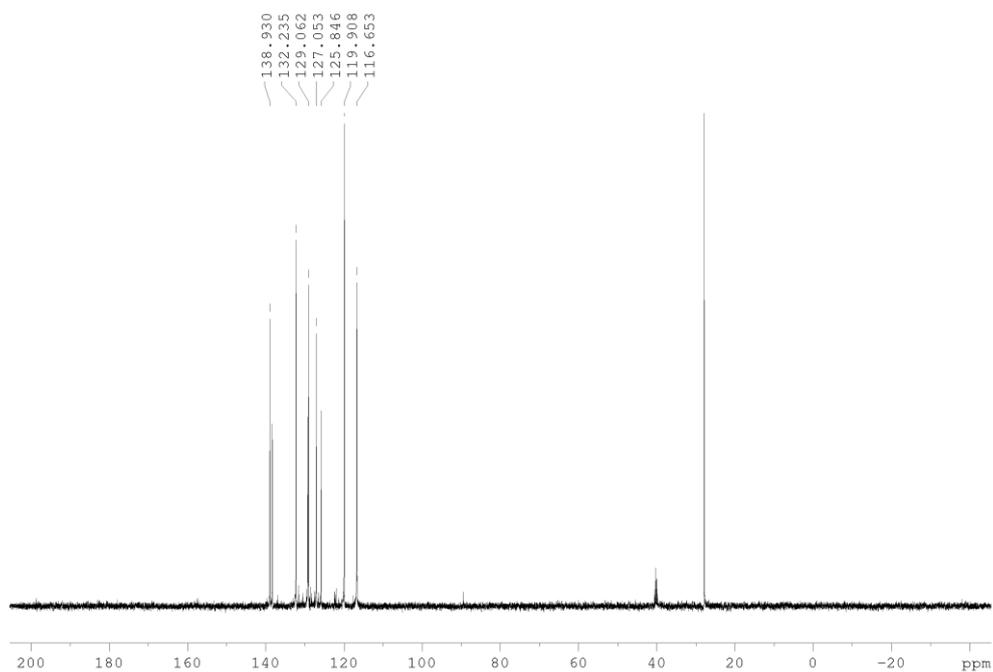
Espetro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado **13** ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).



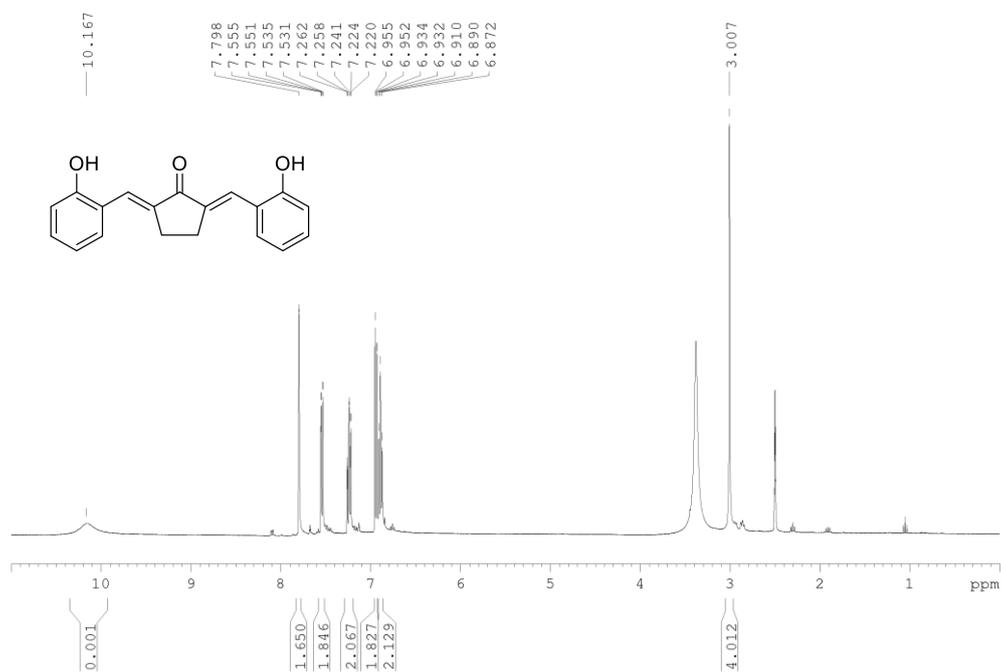
Subespectro DEPT-135 do derivado **13** ( $\delta$ , DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).

## 8.5. Anexo 5

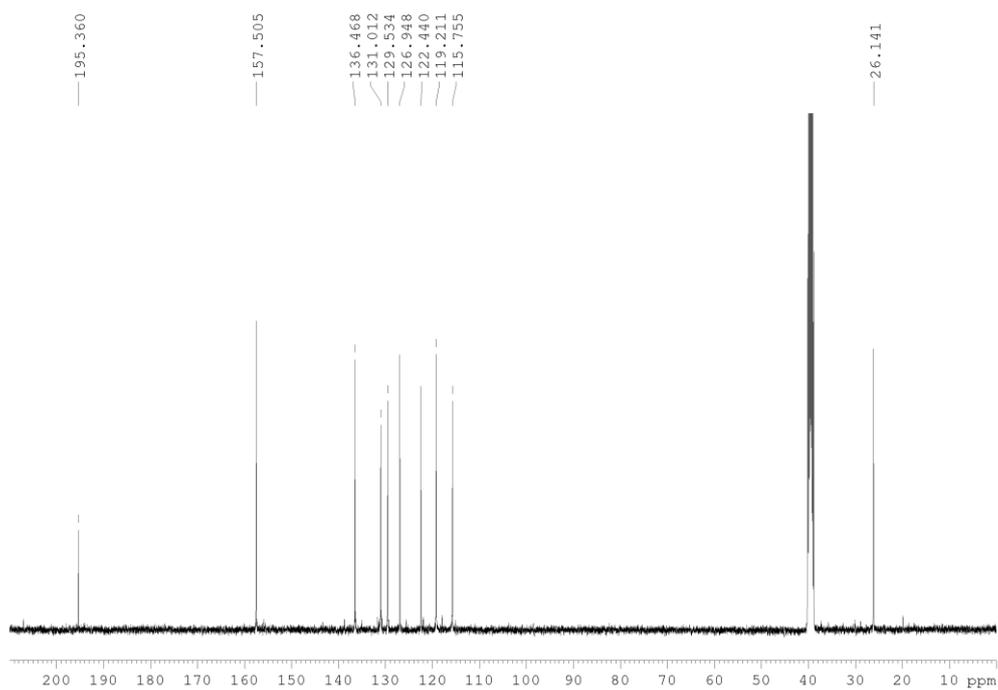
Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do derivado **10** (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).Espectro de RMN de <sup>13</sup>C do derivado **10** (δ, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz).



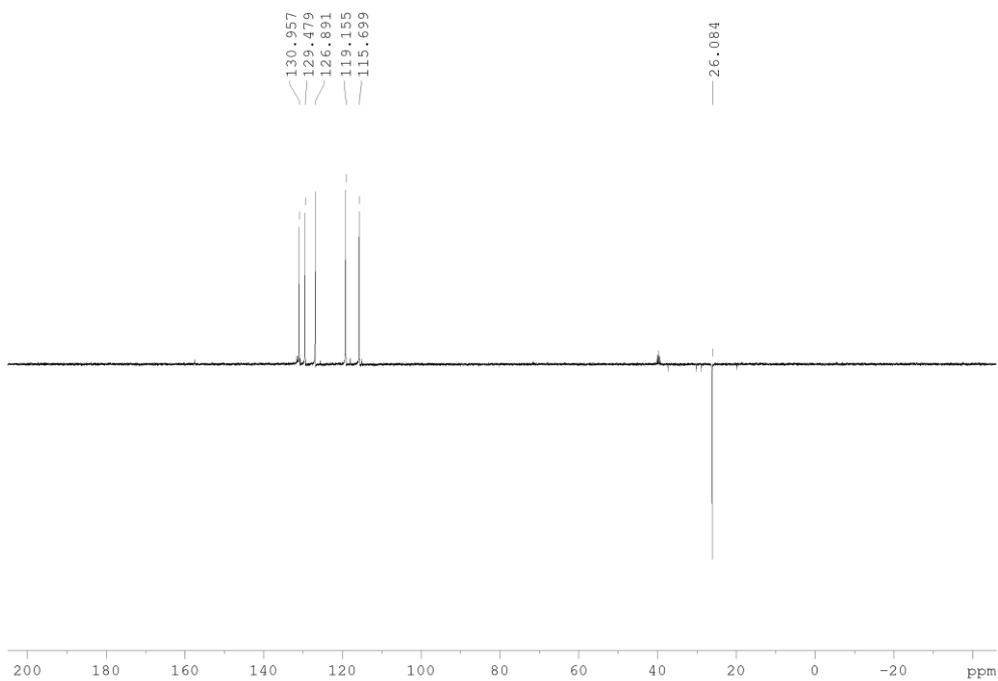
Subespectro DEPT-135 do derivado **10** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).



Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do derivado **14** ( $\delta$ , DMSO- $d_6$ , 400 MHz).



Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do derivado **14** ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).



Subespectro DEPT-135 do derivado **14** ( $\delta$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz).