



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIAS  
CÂMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS HENRIQUE SANTILLO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
MESTRADO EM CIÊNCIAS APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE (CAPS)

**SÍNTESE DE DERIVADOS  $\beta$ -CETOINDOIS E AVALIAÇÃO DA  
INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE**

ANÁPOLIS – GO  
2018

ERICK DE OLIVEIRA LEMES

## SÍNTESE DE DERIVADOS $\beta$ -CETOINDOIS E AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.

**Área de concentração:** Pesquisa e Obtenção de Produtos Naturais e Sintéticos.

**Orientador:** Prof. Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

LL552s Lemes, Erick de Oliveira  
SÍNTESE DE DERIVADOS B-CETOINDOIS E AVALIAÇÃO DA  
INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE / Erick de Oliveira Lemes;  
orientador Gilberto Lúcio Benedito de Aquino. -- Anápolis, 2018.  
160 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação Mestrado  
Acadêmico em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) --  
Câmpus-Anápolis CET, Universidade Estadual de Goiás, 2018.

1. Derivados B-cetoindois. 2. Doença de Alzheimer. 3.  
Acetilcolinesterase. 4. Butirilcolinesterase. 5. Antioxidante. I. Aquino,  
Gilberto Lúcio Benedito de, orient. II. Título.


Erick de Oliveira Lemes

**"Síntese de derivados  $\beta$ -cetoindois e avaliação da inibição da acetilcolinesterase"**

Dissertação defendida no Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde da Universidade Estadual de Goiás, para a obtenção do título de Mestre, aprovada em 28 de maio de 2018, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores

  
Prof. Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino  
Presidente da Banca  
UEG

  
Profa. Dra. Juliana Muniz Vila Verde  
Membro Interno  
UEG

  
Prof. Dr. Marcelo do Nascimento Gomes  
Membro Externo  
FAMA

*Dedico este trabalho a Deus por seu amor infinito.*

*Á minha mãe e a meu pai por toda dedicação e amor incondicional,*

*Aos familiares e amigos pelo apoio e presença nos momentos difíceis e felizes de  
minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Essa parte deveria ser a mais fácil de escrever de todo o trabalho, mas não é. A dúvida em agradecer alguém não é quem incluir, mas quem não será mencionado. Então, a todos que contribuíram com sua amizade e sugestões efetivas, minha gratidão.

Agradeço a Deus por me dar a vida e tudo que tenho alcançado em minha vida.

Ao professor Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino, orientador dessa dissertação, pelos ensinamentos, incentivo, confiança, exemplo e amizade, por quem tenho profunda admiração.

À professora Dr.<sup>a</sup> Giulina Muniz Vila Verde e professora Dr.<sup>a</sup> Marilene Silva Oliveira pelo incentivo e apoio.

À Renata Awad, parceira neste trabalho, por toda ajuda, disposição e paciência. Foi ótimo trabalhar com você.

À Amanda Sousa Francisco pelo apoio, paciência, incentivo e conselhos nos momentos de dificuldade.

Aos companheiros do grupo de pesquisa: Hérika, Ingrid, Priscilla, Tabhita, Letícia e Helder. Em especial a Jaqueline Evangelista de Queiroz que me ajudou incansavelmente durante a pesquisa.

Agradeço a todos os meus colegas do Laboratório de Pesquisa de Bioprodutos e Síntese LPBios pela ajuda e pelos momentos que passamos juntos.

Agradeço aos meus familiares que nunca duvidaram do meu sucesso, incentivaram a não desistir e me mostraram que é necessário lutar para galgar algo na vida.

Aos professores Dr. Paulo Eduardo Narcizo de Souza (UNB), Dr. Eric de Souza Gil (UFG) e Dr.<sup>a</sup> Carmen Lúcia Cardoso (USP- Ribeirão Preto) pelas análises de atividade biológica.

A Universidade Estadual de Goiás pelo espaço de trabalho, a CAPES, CNPQ e FAPEG pelo apoio financeiro e bolsa concedida.

*“No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade.”*

Albert Einstein

## RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) afeta a população de países desenvolvidos e em desenvolvimento e causa impacto na vida dos pacientes. É considerada a forma mais comum de demência, afetando principalmente a população idosa. A doença possui diversas hipóteses que buscam explicar as suas causas com base em vários fatores, como a colinérgica, cascata amiloide, hiperfosforilação da Tau e estresse oxidativo. Estão disponíveis medicamentos que são capazes de inibir as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE). A utilização de substâncias como os derivados indólicos também é considerada uma estratégia promissora para evitar os danos causados por radicais livres, que podem ser empregadas na prevenção e tratamento da DA. O objetivo deste estudo foi sintetizar derivados  $\beta$ -cetoindóis e avaliar a inibição da enzima acetilcolinesterase e atividade antioxidante por estes compostos. Para a síntese de derivados  $\beta$ -cetoindóis foi necessário realizar a otimização do método. A atividade anticolinesterásica e butirilcolinesterase foram avaliadas por ensaios de triagem de inibição pontual *in vitro* com o emprego da cromatografia líquida de alta performance acoplada ao espectrômetro de massas (CLAE-EM). Os derivados indólicos sintetizados (**3a-3l**) apresentaram a capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase de *electrophorus electricus* (AChE<sub>ee</sub>) e a enzima butirilcolinesterase humana (BChE<sub>hu</sub>), e sete dos compostos (**3e,3g-3l**) inibiram a enzima acetilcolinesterase humana (AChE<sub>hu</sub>). Complementarmente, o potencial antioxidante dos compostos (**3a-3l**) foram avaliados pelas técnicas de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta/visível (UV/Vis), espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e voltametria de pulso diferencial (VPD), levando em consideração a recente utilização de compostos antioxidantes no tratamento complementar e na prevenção de doenças neurodegenerativas. Diante disso, os derivados  $\beta$ -cetoindóis podem ser promissores para ser empregados como futuros protótipos para o tratamento da DA.

**Palavras-chave:** Derivados  $\beta$ -cetoindóis, Doença de Alzheimer; Acetilcolinesterase, Butirilcolinesterase, Antioxidante.

## ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) affects the population of developed and developing countries and impacts the lives of patients. Considered the most common form of dementia, affecting mainly the elderly population. The disease has several hypotheses that seek to explain its causes based on several factors, such as cholinergic, amyloid cascade, Tau hyperphosphorylation and oxidative stress. Drugs that are capable of inhibiting the enzymes acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) are available. The use of antioxidants is also considered a promising strategy to avoid free radical damage, which can be used to prevent and treat AD. The objective of this study was to synthesize  $\beta$ -ketoindole derivatives and to evaluate the inhibition of the enzyme acetylcholinesterase and antioxidant activity. For the synthesis of derivatives  $\beta$ -ketoindole it was necessary to perform the optimization of the method. The anticholinesterase and butyrylcholinesterase activity was evaluated in vitro by puncture inhibition tests with the use of high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometer (HPLC-MS). Indole derivatives synthesized (**3a-3l**) showed the ability to inhibit of *electrophorus electricus* enzyme (AChE<sub>ee</sub>) and human butyrylcholinesterase enzyme (BChE<sub>hu</sub>), and seven of the compounds (**3e,3g-3l**) inhibited the human acetylcholinesterase enzyme (AChE<sub>hu</sub>). In addition, the antioxidant potential of the compounds (**3a-3l**) were evaluated by ultraviolet/visible (UV/Vis) spectroscopy, electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy and differential pulse voltammetry (DPV) in consideration of the recent use of antioxidant compounds in the complementary treatment and prevention of neurodegenerative diseases.  $\beta$ -ketoindole derivatives are promising to be used as future prototypes for the treatment of AD.

**Keywords:**  $\beta$ -ketoindole derivatives, Alzheimer's disease; Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase, Antioxidant.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura molecular da chalcona.....	25
<b>Figura 2</b> - Estrutura molecular do indol.....	25
<b>Figura 3</b> - Estrutura molecular dos derivados $\beta$ -cetoindois.....	26
<b>Figura 4</b> - Diferença entre o cérebro normal e com DA. ....	29
<b>Figura 5</b> - Fases do desenvolvimento da DA.....	30
<b>Figura 6</b> - Estrutura molecular do donepezil.....	32
<b>Figura 7</b> - Estrutura molecular da rivastigmina. ....	33
<b>Figura 8</b> - Estrutura molecular da tacrina. ....	33
<b>Figura 9</b> - Estrutura molecular da galantamina.....	34
<b>Figura 10</b> - Formula estrutural da memantina.....	34
<b>Figura 11</b> - Ação da acetilcolinesterase na hidrólise da acetilcolina.....	35
<b>Figura 12</b> - Representação esquemática da estrutura da AChE. ....	36
<b>Figura 13</b> - Ação do antioxidante em sequestrar radicais livres. ....	39
<b>Figura 14</b> - Equação do índice eletroquímico. ....	42
<b>Figura 15</b> - Formula estrutural dos flavonoides. ....	44
<b>Esquema 1</b> - Rota biossintética de metabólitos secundários.....	45
<b>Figura 16</b> - Mecanismo de condensação aldólica de Claisen-Schmidt.....	47
<b>Figura 17</b> - Reação de Friedel-Crafts. ....	49
<b>Figura 18</b> - Estrutura molecular da indolchalcona. ....	50
<b>Figura 19</b> - Reator de micro-ondas.....	51
<b>Figura 13</b> - Síntese das chalconas. ....	53
<b>Figura 21</b> - Síntese dos derivados $\beta$ -cetoindois. ....	57
<b>Figura 22</b> - Curva padrão empregada na técnica de UV-Vís.....	72
<b>Figura 23</b> - Curva padrão empregada no experimento de EPR.....	73
<b>Figura 24</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1a</b> ) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz). ....	100
<b>Figura 25</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1a</b> ) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz). ....	100
<b>Figura 26</b> - Espectro de infravermelho de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1a</b> ).....	101

<b>Figura 27</b> - Cromatograma de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1a</b> )....	102
<b>Figura 28</b> - Espectro ultravioleta-visível de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1a</b> ).....	102
<b>Figura 29</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1b</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	103
<b>Figura 30</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1b</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	103
<b>Figura 31</b> - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1b</b> ).....	104
<b>Figura 32</b> - Cromatograma de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1b</b> ). ..	105
<b>Figura 33</b> - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1b</b> ).....	105
<b>Figura 34</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1c</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	106
<b>Figura 35</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1c</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	106
<b>Figura 36</b> - Espectro de infravermelho de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1c</b> )..	107
<b>Figura 37</b> - Cromatograma de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1c</b> ).....	108
<b>Figura 38</b> - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1c</b> ). .....	108
<b>Figura 39</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1d</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	109
<b>Figura 40</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1d</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	109
<b>Figura 41</b> - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1d</b> ).....	110
<b>Figura 42</b> - Cromatograma de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1d</b> )....	111
<b>Figura 43</b> - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona ( <b>1d</b> ).....	111
<b>Figura 44</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1e</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	112
<b>Figura 45</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1e</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	112

<b>Figura 46</b> - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1e</b> ). .....	113
<b>Figura 47</b> - Cromatograma de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1e</b> ). .....	114
<b>Figura 48</b> - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1e</b> ). .....	114
<b>Figura 49</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1f</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz). .....	115
<b>Figura 50</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1f</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz). .....	115
<b>Figura 51</b> - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1f</b> ). .....	116
<b>Figura 52</b> - Cromatograma de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona ( <b>1f</b> ). .....	117
<b>Figura 53</b> - Espectro ultravioleta-visível do composto <b>1f</b> . .....	117
<b>Figura 54</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3a</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz). .....	118
<b>Figura 55</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3a</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz). .....	118
<b>Figura 56</b> - Espectro de infravermelho de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3a</b> ). .....	119
<b>Figura 57</b> - Cromatograma de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3a</b> ). .....	120
<b>Figura 58</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3a</b> ). .....	120
<b>Figura 59</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3b</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz). .....	121
<b>Figura 60</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3b</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz). .....	121
<b>Figura 61</b> - Espectro de infravermelho de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3b</b> ). .....	122
<b>Figura 62</b> - Cromatograma de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3b</b> ). .....	123

<b>Figura 63</b> - Espectro ultravioleta-visível de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3b</b> ).	123
<b>Figura 64</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3c</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).	124
<b>Figura 65</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3c</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).	124
<b>Figura 66</b> - Espectro de infravermelho de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3c</b> ).	125
<b>Figura 67</b> - Cromatograma de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3c</b> ).	126
<b>Figura 68</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3c</b> ).	126
<b>Figura 69</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3d</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).	127
<b>Figura 70</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3d</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).	127
<b>Figura 71</b> - Espectro de infravermelho de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3d</b> ).	128
<b>Figura 72</b> - Cromatograma de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3d</b> ).	129
<b>Figura 73</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3d</b> ).	129
<b>Figura 74</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3e</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).	130
<b>Figura 75</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3e</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).	130
<b>Figura 76</b> - Espectro de infravermelho de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3e</b> ).	131
<b>Figura 77</b> - Cromatograma de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3e</b> ).	132
<b>Figura 78</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3e</b> ).	132
<b>Figura 79</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3f</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).	133

<b>Figura 80</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3f</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz). .....	133
<b>Figura 81</b> - Espectro de infravermelho de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3f</b> ).....	134
<b>Figura 82</b> - Cromatograma de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3f</b> ). .....	135
<b>Figura 83</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3f</b> ).....	135
<b>Figura 84</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3g</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	136
<b>Figura 85</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3g</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz). .....	136
<b>Figura 86</b> - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3g</b> ).....	137
<b>Figura 87</b> - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3g</b> ).....	138
<b>Figura 88</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3g</b> ).....	138
<b>Figura 89</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3h</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz). .....	139
<b>Figura 90</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3h</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz). .....	139
<b>Figura 91</b> - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3h</b> ).....	140
<b>Figura 92</b> - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3h</b> ).....	141
<b>Figura 93</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3h</b> ). .....	141
<b>Figura 94</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3i</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	142
<b>Figura 95</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3i</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	142
<b>Figura 96</b> - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3i</b> ). .....	143

<b>Figura 97</b> - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3i</b> ).....	144
<b>Figura 98</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3i</b> ).....	144
<b>Figura 99</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3j</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	145
<b>Figura 100</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3j</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	145
<b>Figura 101</b> - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3j</b> ).....	146
<b>Figura 102</b> - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3j</b> ).....	147
<b>Figura 103</b> - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3j</b> ).....	147
<b>Figura 104</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3k</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	148
<b>Figura 105</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3k</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	148
<b>Figura 106</b> - Espectro de infravermelho de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3k</b> ).....	149
<b>Figura 107</b> - Cromatograma de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3k</b> ).....	150
<b>Figura 108</b> - Espectro ultravioleta-visível de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3k</b> ).....	150
<b>Figura 109</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3l</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz).....	151
<b>Figura 110</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3l</b> ) (CDCl <sub>3</sub> , 101 MHz).....	151
<b>Figura 111</b> - Espectro de infravermelho de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3l</b> ).....	152
<b>Figura 112</b> - Cromatograma de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3l</b> ).....	153
<b>Figura 113</b> - Espectro ultravioleta-visível de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3l</b> ).....	153

<b>Figura 114</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3a</b> )	154
<b>Figura 115</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona ( <b>3b</b> )	154
<b>Figura 116</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3c</b> )	155
<b>Figura 117</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3d</b> )	155
<b>Figura 118</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3e</b> )	156
<b>Figura 119</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona ( <b>3f</b> )	156
<b>Figura 120</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3g</b> )	157
<b>Figura 121</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona ( <b>3h</b> )	157
<b>Figura 122</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3i</b> )	158
<b>Figura 123</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3j</b> )	158
<b>Figura 124</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona ( <b>3k</b> )	159
<b>Figura 125</b> - Voltamograma de pulso diferencial de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona ( <b>3l</b> )	159

## **LISTA DE ESQUEMAS**

<b>Esquema 1 - Rota biossintética de metabólitos secundários.....</b>	<b>45</b>
---	-----------

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Fórmula química, fabricante e grau de pureza. ....	52
<b>Tabela 2</b> - Percentuais de rendimento das chalconas. ....	75
<b>Tabela 3</b> - Tentativa para desenvolver um método assistido por micro-ondas. ....	76
<b>Tabela 4</b> - Percentual de rendimento dos derivados $\beta$ -cetoindois. ....	77
<b>Tabela 5</b> - Porcentagem de inibição dos derivados $\beta$ -cetoindois sobre a AChE <sub>ee</sub> . ...	78
<b>Tabela 6</b> - Percentuais de inibição dos derivados $\beta$ -cetoindois sobre a AChE <sub>hu</sub> e BChE <sub>hu</sub> . ....	79
<b>Tabela 7</b> - Valores do potencial anódico e índice eletroquímico. ....	85
<b>Tabela 8</b> - Atividade antioxidante dos compostos ( <b>3a-3l</b> ) realizada por espectroscopia de absorção na região do UV/Vís e RPE. ....	160

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> - Atividade antioxidante dos compostos <b>3a-3f</b> realizada por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.....	82
<b>Gráfico 2</b> - Atividade antioxidante dos compostos <b>3a-3f</b> realizada por espectroscopia de RPE.....	83
<b>Gráfico 3</b> - Atividade antioxidante dos compostos <b>3g-3l</b> realizada por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.....	83
<b>Gráfico 4</b> - Atividade antioxidante dos compostos <b>3g-3l</b> realizada por espectroscopia de RPE.....	84

## LISTA DE ABREVIATURAS

DA	Doença de Alzheimer
IV	Infravermelho
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
CG	Cromatografia gasosa
AChE <sub>hu</sub>	Acetilcolinesterase humana
AChE <sub>ee</sub>	Acetilcolinesterase de <i>electrophorus electricus</i>
BChE <sub>hu</sub>	Butirilcolinesterase humana
UV/VIS	Ultravioleta/visível
RPE	Ressonância Paramagnética Eletrônica
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
$\beta$ A	Beta amilóide
AChE	Acetilcolinesterase
BChE	Butirilcolinesterase
ACh	Acetilcolina
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SNC	Sistema Nervoso Central
DTNB	5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico
CLAE-EM	Cromatografia líquida de alta performance acoplada ao espectrômetro de massas
CLAE	Cromatografia líquida de alto desempenho
ATP	Adenosina trifosfato
ER	Espécies reativas
ERO	Espécies reativas de oxigênio
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
IE	Índice eletroquímico
E	Potencial anódico
KOH	Hidróxido de potássio
PTSA	Ácido p-toluenossulfônico
CCD	Cromatografia em camada delgada

PA	Padrão analítico
TMS	Tetrametilsilano
RCEI	Reator capilar com enzima imobilizada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
P <sub>i</sub>	Presença do inibidor
P <sub>0</sub>	Ausência de inibidor
DMF	Dimetilformamida
CCDC	<i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	24
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	27
2.1 Objetivo geral .....	27
2.2 Objetivos específicos .....	27
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	28
3.1 A doença de Alzheimer.....	28
3.2 Enzima Acetilcolinesterase .....	34
3.2.1 Determinação da inibição da enzima AChE e BChE.....	37
3.3 Atividade Antioxidante .....	38
3.3.1 Determinação da atividade antioxidante.....	40
3.3.1.1 Técnica espectroscopia de absorção na região do UV/Vís .....	40
3.3.1.2 Técnica de espectroscopia de RPE .....	41
3.3.1.3 Técnica de VPD.....	41
3.4 Química Medicinal.....	43
3.5 Chalcona.....	44
3.6 Indol .....	48
3.8 Derivado $\beta$ -cetoindol .....	48
3.9 Síntese assistida por irradiação de micro-ondas.....	50
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	52
4.1 Reagentes e solventes utilizados .....	52
4.2 Síntese das chalconas.....	52
4.2.1 (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (1a).....	53
4.2.2 (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (1b).....	54
4.2.3 (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona (1c).....	54
4.2.4 (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (1d) .....	55
4.2.5 (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (1e) .....	56
4.2.5 (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (1f) .....	56
4.3 Síntese dos derivados $\beta$ -cetoindóis.....	57
4.3.1 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil) -3-fenilpropan-1-ona (3a).....	58
4.3.2 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (3b).....	59
4.3.3 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (3c).....	59

4.3.4 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (3d).....	60
4.3.5 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (3e) .....	61
4.3.6 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (3f).....	62
4.3.7 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (3g) .....	62
4.3.8 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (3h) .....	63
4.3.9 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona (3i) ..	64
4.3.10 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3il)propan-1-ona (3j).....	65
4.3.11 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (3k) ..	65
4.3.12 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3il)propan-1-ona (3l) .....	66
4.4 Métodos analíticos .....	67
4.5 Identificação estrutural.....	68
4.6 Inibição da enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase.....	68
4.6.1 Instrumentação .....	69
4.6.2 Informações da amostra .....	69
4.6.3 Ensaio de inibição pontual com enzimas imobilizadas.....	69
4.7 Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> .....	71
4.7.1 Determinação da capacidade de captação do radical DPPH por espectroscopia de absorção na região do UV/Vís .....	71
4.7.2 Determinação da capacidade antioxidante por RPE .....	72
4.7.3 Técnica de VPD .....	73
4.8 Análise estatística .....	74
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>75</b>
5.1 Síntese das chalconas.....	75
5.2 Síntese de derivados $\beta$ -cetoindóis .....	75
5.3 Inibição da enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase.....	78
5.3.1 Inibição da enzima AChE <sub>ee</sub> .....	78
5.3.2 Inibição das enzimas AChE <sub>hu</sub> e BChE <sub>hu</sub> .....	79
5.4 Atividade antioxidante .....	81
5.4.1 Técnica de espectroscopia de absorção na região do UV/Vís e espectroscopia de RPE .....	82
5.4.3 Técnica de VPD .....	85
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>87</b>

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>88</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>99</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) afeta a população de países desenvolvidos e em desenvolvimento, podendo causar impacto na vida dos pacientes e para os seus familiares. A DA é a forma mais comum de demência, um problema de saúde pública. A DA provoca a neurodegeneração progressiva, que é um tipo de demência que normalmente atinge as pessoas idosas, causando danos a memória e dificuldade cognitiva. Esta doença deteriora o córtex cerebral, hipocampo, córtex entorrinal e o córtex cerebral frontal. É relacionada também à disfunção do sistema colinérgico, que é primordial na função adequada da memória (CHEN et al., 2013).

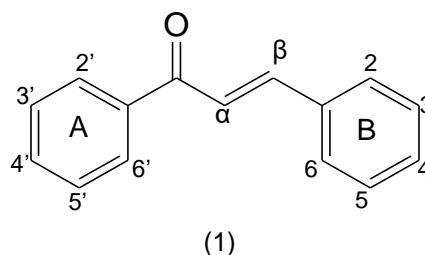
O diagnóstico da doença só é conclusivo após a realização de autópsia ou biópsia, pois falta um marcador ideal para a detecção da DA. Os medicamentos existentes não são considerados totalmente eficazes, se faz necessário, a realização de estudos com o intuito de desenvolver novos compostos com atividade biológica, além das moléculas naturais que possuem potencial no tratamento da DA, como os flavonoides, que são polifenóis de baixo peso molecular (KANDA; OLIVEIRA; FRAGA, 2017).

Os flavonoides são considerados um dos maiores grupos de metabolitos secundários de origem natural com ampla atividade terapêutica, como exemplo, anti-inflamatória, antialérgica e antioxidante. Suas principais classes são flavonóis, flavonas, flavanas, isoflavonoides, antocianinas e as chalconas, que são encontrados em flores, vegetais e frutas (VENTURELLI et al., 2016; JABEEN et al., 2017).

As chalconas estão presentes em plantas e são consideradas uma subclasse de flavonoides, sua estrutura bicíclica (1,3-diarilpropano) possibilita a substituição nos anéis aromáticos. As chalconas apresentam atividade antioxidante, anticâncer, antimicrobiana, anti-inflamatória e outras (BATOVSKA; TODOROVA, 2010). A substituição eletrofílica na posição *para* é a de escolha, pois enfraquece eletricamente o carbono  $\beta$  tornando-o um centro eletrofílico de interesse (VENTURELLI et al., 2016).

As chalconas (Figura 1) são classificadas como cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas, os grupamentos aromáticos são separadas a três carbonos, referentes a porção olefinica e carbonila ( $C=C-C=O$ ), apresentam núcleo 1,3-diarilprop-2-en-1-ona, possíveis para o desenvolvimento de fármacos (MARIÑO et al., 2015).

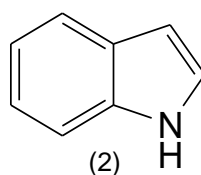
**Figura 1** - Estrutura molecular da chalcona.



Fonte: O autor (2018).

O indol é um composto orgânico, aromático heterocíclico com uma estrutura bicíclica, com um anel pirrólico acoplado a um anel benzênico, conhecido como anel heterocíclicoindol (Figura 2). A porção indol é relacionado a atividades biológicas de produtos naturais ou sintéticos, como anti-inflamatória, antineoplásica e outras (DOAN et al., 2016). A sua síntese tem despertado a atenção de diversos pesquisadores que possuem principalmente como linha de pesquisa, a síntese de compostos orgânicos (KARTHIKEYAN et al., 2009).

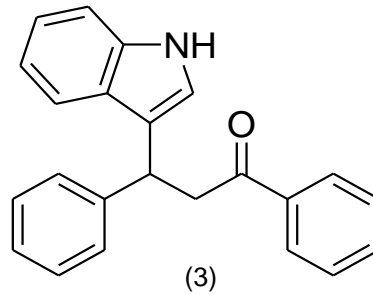
**Figura 2** - Estrutura molecular do indol.



Fonte: O autor (2018).

A adição nucleofílica em ligação dupla C-C de compostos  $\alpha,\beta$  carbonílicos para a obtenção de nova ligação é realizada na síntese orgânica e fornece uma alternativa fácil na obtenção de derivados de chalcona com indol. São conhecidos como derivados  $\beta$ -cetoindois (Figura 3), as suas propriedades químicas e biológicas são consideradas atraentes, e podem ser utilizados também na síntese de produtos naturais (JADHAV et al., 2016).

**Figura 3** - Estrutura molecular dos derivados  $\beta$ -cetoindóis.



Fonte: O autor (2018).

Os derivados de indol são considerados uma classe de compostos com atividades biológicas, tais como, anticancerígena, antioxidante, anti-reumatóides e anti-HIV, possuem também importância no sistema imunológico. Diversos derivados de indol são eliminadores potente de radicais livres que pode ser empregado na prevenção e tratamento de doenças neurodegenerativas, como a DA (FARGHALY, 2010).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Sintetizar derivados  $\beta$ -cetoindois e avaliar a potencial inibição da enzima acetilcolinesterase e atividade antioxidante.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Obter chalconas intermediarias para a síntese dos derivados  $\beta$ -cetoindois;
- ✓ Otimizar o processo de síntese de derivados  $\beta$ -cetoindois utilizando a técnica de aquecimento assistido por irradiação de micro-ondas;
- ✓ Analisar estruturalmente as chalconas intermediarias da síntese e os derivados  $\beta$ -cetoindois obtidos por Espectroscopia de Infravermelho (IV), Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ ) e cromatografia gasosa (CG);
- ✓ Avaliar a inibição pontual *in vitro* possível das enzimas acetilcolinesterase humana (AChE<sub>hu</sub>) e de *Electrophorus electricus* (AChE<sub>ee</sub>), bem como a enzima butirilcolinesterase humana (BChE<sub>hu</sub>);
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante dos derivados indólicos obtidos, com o emprego das técnicas de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta/visível (UV/Vis), espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e voltametria de pulso diferencial (VPD).

## **3 REVISÃO DA LITERATURA**

### **3.1 A doença de Alzheimer**

O primeiro diagnóstico de DA foi realizado em 1906 por Alois Alzheimer, que era psiquiatra e neuropatologista. Ele acompanhava uma paciente desde 1901, que possuía problemas relacionados ao nível de cognição, comportamento e linguagem, apresentava a perda da memória de curto prazo, e confusão mental. Alois realizou autópsia no cérebro da paciente após a sua morte em 1906 e observou a presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares (MÜLLER; WINTER; GRAEBER, 2013).

Considerados como um desafio social e de saúde pública; a DA assim como o câncer e a doenças vasculares apresentam altas taxas de riscos de morte. O aumento no número de pacientes diagnosticados com DA é justificado pelo aumento da expectativa de vida. Os indivíduos estão vivendo mais em decorrência do desenvolvimento tecnológico, que propicia o desenvolvimento de novos fármacos, métodos de diagnóstico e novas terapias (GREENLUND et al., 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica a DA como uma doença de etiologia desconhecida e degenerativa primária. A evolução da doença varia de acordo com cada paciente, pode ser curto ou longo, com início em pacientes já idosos ou antes dos 65 anos, antecedentes familiares corroboram para estes casos (ASSOCIATION, 2014).

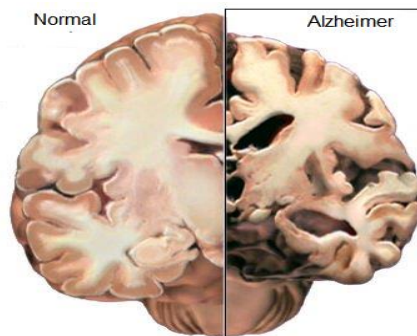
A DA é relacionada com a idade, considerada a causa mais comum de demência e a sua ocorrência é considerada tardia. Na DA ocorre o declínio na função cognitiva e alterações patológicas. As principais mudanças observáveis que são maiores das que normalmente são relacionadas a idade, são dificuldade de aquisição de linguagem, pensamento crítico e problema de memória (CRYSTAL et al., 2014).

A demência é considerada um grupo de sinais e sintomas relacionados com a deterioração da função intelectual. Diversas habilidades intelectuais podem ser afetadas, incluindo o raciocínio, tomada de decisão, linguagem e memória. Nas pessoas com quadro de demência as deficiências cognitivas são acompanhadas por

mudanças na personalidade, comportamento social e regulação emocional. Estas mudanças podem interferir na capacidade de o indivíduo realizar tarefas diárias, como realizar compras, cozinhar e cuidados pessoais (KOROLEV, 2014).

A DA é uma doença que é relacionada com a atrofia do hipocampo. Este é localizado no lobo temporal e possui como função a transferência da memória de curto prazo para a de longo prazo, considerado primordial na memória. As áreas que circundam o hipocampo também são acometidas, como o giro paraipocampal. Após um período, as lesões atingem todo o cérebro, provocando atrofia de todo o tecido nervoso (CRYSTAL et al., 2014) (Figura 4).

**Figura 4** - Diferença entre o cérebro normal e com DA.



Fonte: Adaptado de Mandal (2017).

A doença possui três estágios de evolução relacionado ao comprometimento do sistema límbico (Figura 5). O estágio inicial se caracteriza pela perda da memória a curto prazo, sua duração é de 2 a 4 anos, neste estágio o indivíduo pode ter problemas relacionados a comunicação, aprendizagem e na realização de atividades simples que realiza diariamente, ocorre a deterioração de neurônios do sistema límbico, em particular os do hipocampo responsáveis pela memória. O segundo estágio da doença ou fase intermediária que dura de 2 a 10 anos após o diagnóstico, nesse estágio da doença o paciente pode apresentar dificuldade na realização de atividades ocupacionais, risco de acidentes, dificuldade de compreender o que acontece ao seu redor e são agressivos. Continua a deterioração do sistema límbico e o hipocampo continua perdendo neurônios de forma drástica. No estágio avançado ou fase grave da DA o indivíduo apresenta apatia, não conseguem realizar nenhum

tipo de atividade, necessita de cuidado integral e há perda da memória recente totalmente. A duração é de 1 a 3 anos, cerca de 90 % do hipocampo é comprometido, em decorrência do comprometimento de quase todo o sistema límbico (SERRANO-POZO et al., 2011).

**Figura 5** - Fases do desenvolvimento da DA.



Fonte: Adaptado de Alzheimer's Association (2017).

A DA é representada como uma reação auto-inflamatória que resulta na ativação do sistema imune, em resposta a proteínas aberrantes localizados no cérebro, o que provoca a neurotoxicidade e a perda progressiva de neurónios (KULKARNI et al., 2015). As características patológicas da DA são placas extracelulares beta amilóide ( $\beta$ A) e emaranhados neurofibrilares intracelulares. A função anormal das  $\beta$ A intracelulares e extracelulares resultam em morte de neurônios (MURPHY; III, 2010).

A doença é caracterizada pela perda sináptica, diminuição da função colinérgica, degeneração de neurônios, aumento das placas  $\beta$ A e emaranhados neurofibrilares. Este processo é favorecido pela redução da acetilcolina na fenda sináptica. A  $\beta$ A acumulada na fenda sináptica contribui para lesões sinápticas e perda cognitiva, culminando na redução da ação da acetilcolina, processo relacionado ao desenvolvimento da DA (FISHER, 2012; ARANDA-ABREU et al., 2011).

A doença possui diversas hipóteses que buscam explicar as suas causas com base em vários fatores. As principais características da DA são os depósitos de

proteína precursora amiloide, emaranhados neurofibrilares intracelulares, neurite distrófica e angiopatia amiloide. As principais hipóteses para a DA são a colinérgica, cascata amiloide, hiperfosforilação da Tau e estresse oxidativo (MOHANDAS; RAJMOHAN; RAGHUNATH, 2017).

Na hipótese colinérgica o cérebro de pacientes com DA tem uma redução na atividade de colina, acetiltransferase e acetilcolinesterase no córtex cerebral. A perda de neurotransmissores colinérgicos no córtex e em outras áreas do cérebro, contribui de forma significativa para a perda de funções cognitivas na DA (CRAIG; HONG; MCDONALD, 2011).

Na hipótese da cascata amiloide, ocorre a acumulação de forma anormal de placas  $\beta$ A em diferentes áreas do cérebro (ECKROAT; MAYHOUB; GARNEAU-TSODIKOVA, 2013). A acumulação de placas  $\beta$ A atua como um gatilho para a DA, incluindo as lesões neuríticas, formação de emaranhados neurofibrilares que provoca disfunção neuronal e morte celular. As placas  $\beta$ A são componentes proteínáceo de peptídeos, que são 39-43 resíduos de aminoácidos derivados da ação enzimática  $\beta$ -secretase e  $\gamma$ -secretase (BARAGE; SONAWANE, 2015).

As proteínas tau são pertencentes da família das proteínas associadas a microtúbulos e encontradas principalmente em neurônios. Na DA estão presentes nas lesões neurofibrilares intraneuronais, elas desempenham papel importante na montagem de microtúbulos e na estabilização da rede de microtúbulos neuronais. Na ligação da proteína tau aos microtúbulos, estas estão presentes em 3 ou 4 repetições de 18 aminoácidos (MOHANDAS; RAJMOHAN; RAGHUNATH, 2017).

Na hipótese do estresse oxidativo ocorre a disfunção do sistema antioxidante ou a geração de espécies reativas de oxigênio, induzido pelo desequilíbrio no estado redox que é aumentado no cérebro em decorrência do envelhecimento. Os radicais livres são capazes de provocar danos ao sistema nervoso central e periférico, em decorrência da sua vulnerabilidade a radicais livres, pois apresenta um consumo maior de oxigênio do que outros tecidos (HUANG; ZHANG; CHEN, 2016).

O diagnóstico de DA é realizado com base no histórico clínico do paciente, através da observação de declínio funcional para que seja descartado outras doenças que causam declínio cognitivo. Para o diagnóstico definitivo só é possível se houver

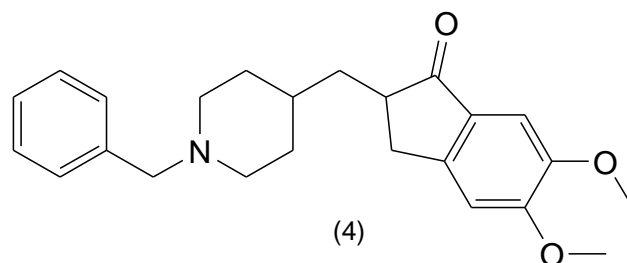
uma apresentação clínica consistente de DA e a confirmação é através de autópsia ou biópsia (TARAWNEH; HOLTZMAN, 2012).

A doença não possui uma causa definida e as alterações causadas são consideradas próprias do processo de envelhecimento, fator que gera obstáculos para o diagnóstico precoce e o início do tratamento adequado para o paciente, o que motiva o desenvolvimento de biomarcadores a fim de diagnóstico precoce da DA (NEUGROSCHL; WANG et al., 2017).

O tratamento da DA envolve diversos aspectos desde o controle de sintomas comportamentais, prevenção ou retardo do progresso da doença, bem como medicamentos que são capazes de inibir a enzima acetilcolinesterase (AChE) e a enzima butirilcolinesterase (BChE). Os fármacos que possuem este mecanismo de ação são considerados eficazes para o tratamento da DA e estão citados abaixo (POHANKA, 2014).

Donepezil (Aricept®) é considerado um medicamento de longa duração, com meia vida de 70 horas, responsável por inibir de forma reversível a AChE, o seu uso é por apenas uma única administração diária (Figura 6). No início do tratamento é administrado ao paciente 5 mg do medicamento, que pode aumentar para 10 mg, dependendo da necessidade. É indicado para estágios moderados a graves da DA (POHANKA, 2014).

**Figura 6** - Estrutura molecular do donepezil.

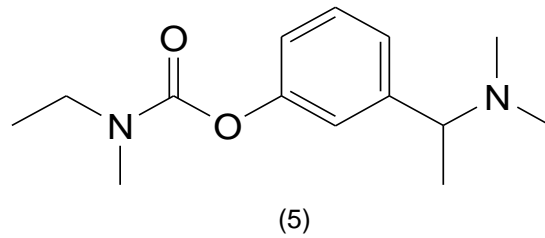


Fonte: O autor (2018).

Rivastigmina (Exelon®) é um inibidor pseudo-irreversível da AChE e BChE, possui meia vida de 1 hora. Por causa desta capacidade de inibição simultânea, o

fármaco (Figura 7) demonstra ser mais eficaz nos casos avançados da DA, por causa que a BChE geralmente está aumentada nessa fase da doença (CRUZ; HERNÁNDEZ, 2013).

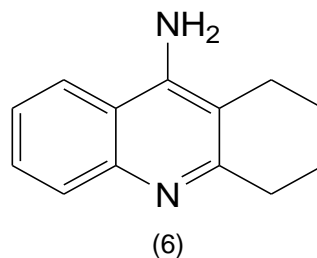
**Figura 7** - Estrutura molecular da rivastigmina.



Fonte: O autor (2018).

Tacrina (Cognex®) é um fármaco inibidor reversível da AChE e BChE, que possui meia-vida de 2 a 4 horas, foi o primeiro medicamento empregado no tratamento da DA (Figura 8). É indicado para ser empregado na reposição colinérgica, como estratégia no tratamento da DA (MEHTA; ADEM; SABBAGH, 2012).

**Figura 8** - Estrutura molecular da tacrina.

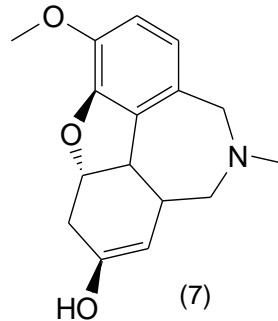


Fonte: O autor (2018).

Galantamina (Reminyl®) é um medicamento que atua na AChE a inibindo de forma reversível, com meia vida de 7-8 horas, além desta atividade o fármaco apresenta modulação alostérica dos receptores nicotínicos de acetilcolina (ACh)

(Figura 9). O medicamento consegue estabilizar os danos cognitivos e funcionais da DA (INDU et al., 2016).

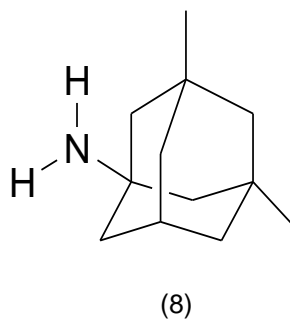
**Figura 9** - Estrutura molecular da galantamina.



Fonte: O autor (2018).

Memantina (Ebix®), possui meia vida de 60-100 horas, é capaz de bloquear o glutamato. É um antagonista do receptor N-metil-D-aspartato pela ligação competitiva aos íons  $Mg^{2+}$  diminuindo o aumento de glutamato, inibe os receptores nicotínicos da AChE (Figura 10). O medicamento é indicado para o tratamento da DA (HONG-QI; ZHI-KUN; SHENG-DI, 2012).

**Figura 10** - Formula estrutural da memantina.



Fonte: O autor (2018).

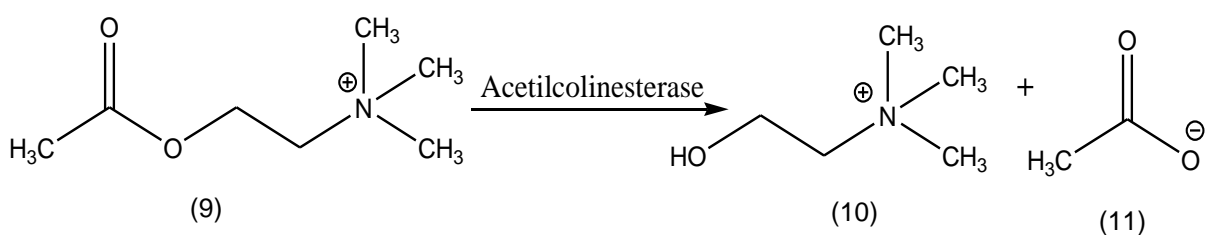
### 3.2 Enzima Acetilcolinesterase

A DA é uma doença considerada complexa e com progresso multifatorial, causa déficits funcionais e cognitivos. Este déficit é relacionado com a degeneração do

sistema colinérgico, que causa a diminuição da quantidade de ACh presente. A ACh é difundida por todo o sistema nervoso, podendo haver variações com relação a região que está presente, no sistema nervoso periférico é liberada no sistema nervoso somático pelos neurônios motores; no sistema nervoso autônomo é liberada pelos neurônios pré-ganglionares e pós-ganglionares; no sistema nervoso central é distribuída de forma ampla (LOMBARDO; MASKOS, 2015).

O sistema colinérgico corresponde a uma porção do Sistema Nervoso Periférico (SNP). Este possui sinapses que tem como neurotransmissor a ACh, as sinapses colinérgicas estão presentes tanto no SNP quanto no Sistema Nervoso Central (SNC), na parte somática e nas junções ganglionares. A AChE (9) é responsável pela hidrólise da ACh em colina (10) e ácido acético (11). AChE possui uma atividade catalítica muito alta, cada molécula é capaz de degradar cerca de 25 mil moléculas de ACh por segundo (Figura 11). A colina que é degradada é transportada até os terminais nervosos para ser reutilizada na síntese de novas moléculas de ACh. AChE é pertencente à família de hidrolases cujo local ativo é caracterizado por uma tríade catalítica dos aminoácidos histidina, serina e ácido aspártico (PUNDIR; CHAUHAN, 2012; COLOVIC et al., 2013).

**Figura 11** - Ação da acetilcolinesterase na hidrólise da acetilcolina.

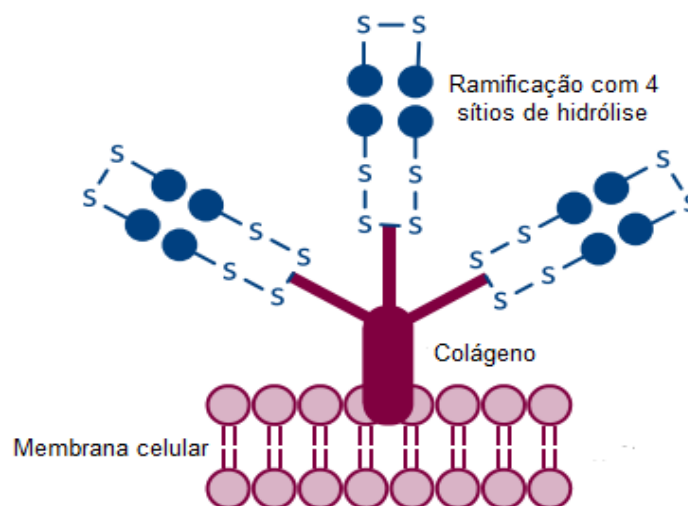


Fonte: Adaptado de Araújo, Santos, Gonsalves (2016).

A síntese de AChE é realizada no retículo endoplasmático na célula neuronal que é transportada para o local de ação, que é o terminal pré-sináptico, através de microtúbulos axonais. A sua função primordial é degradar a ACh, o que causa a perda da sua atividade estimulante (ATANASOVA et al., 2015).

A AChE é ligada por pontes dissulfeto com três ramificações, fixada na membrana celular por colágeno, cada quatro subunidades proteicas possuem uma unidade enzimática, que torna possível a hidrólise de ACh, tendo um total de 12 sítios ativos para cada AChE (Figura 12). A AChE necessita de resíduos de histidina e serina, que são aminoácidos importantes na hidrólise da ACh. O neurotransmissor possui dois pontos essenciais para que se tenha a interação com a enzima, que é o iônico e esteárico, o primeiro existe uma interação entre a carga positiva do nitrogênio da ACh e a carga negativa do resíduo de aspartato; o segundo o grupo éster da ACh realiza ligação de hidrogênio com o resíduo de tirosina (KANG et al., 2011; KRACMAROVA; SRTINOVA; POHANKA, 2015).

**Figura 12** - Representação esquemática da estrutura da AChE.



Fonte: Adaptado de Araújo, Santos, Gonsalves (2016).

A deficiência de ACh pode gerar diferentes consequências, por conta que esse neurotransmissor é relacionado ao aprendizado, memória, controle motor e alerta. A ACh é importante na manutenção de inúmeras funções fisiológicas. A ACh é um éster de colina que é sintetizada no terminal pré-sináptico a partir de acetil-coenzima A e colina, a enzima colina acetiltransferase é responsável por catalisar a reação. A ACh é armazenada em vesículas, cujo conteúdo é liberado na fenda sináptica através de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  (PICCIOTTO; HIGLEY; MINEUR, 2013).

Na DA pode ocorrer o aumento da atividade da AChE em torno das placas amiloide, que é constituída de proteína  $\beta$ A, essa perturbação pode ser relacionada a homeostase de cálcio e proteínas tau. A estratégia de utilização de inibidores de AChE é justificado por esta relação (GARCIA-AYLLÓN et al., 2011).

Além da AChE que é capaz de hidrolisar a ACh, tem-se a BChE que também hidrolisa a ACh. A BChE atua em menos substrato específico do que a AChE que é predominante no sistema nervoso. A BChE é responsável pela hidrolise secundária da ACh, a BChE é encontrada nos emaranhados neurofibrilares e placas amiloides na DA. A BChE é sintetizada no fígado e distribuída para diversas partes do organismo, incluindo o cérebro. A BChE tem um aumento no cérebro em pacientes idosos, em principal no hipocampo e no córtex temporal, o que é correlacionado a perda da memória e declínio cognitivo na DA (BONO et al., 2015; BBRIEL et al., 2017).

O bloqueio da AChE e BChE são alvos de interesse para a busca de novos agentes que possam evitar que a ACh seja hidrolisada, e para que este neurotransmissor esteja presente em maior quantidade, o que propicia a sua permanencia por um período maior na fenda sináptica, o que torna possível a melhor transmissão colinérgica (BAJDA et al., 2018; COLOVIC et al., 2013).

Na medicina tradicional a DA não possui um medicamento capaz de reverter os danos já causados ou proporcionar a cura, fator motivante para a busca de novas moléculas com potencial ação na doença e métodos de diagnosticar a doença na sua fase inicial, para a eficácia do tratamento (COLOVIC et al., 2013).

### **3.2.1 Determinação da inibição da enzima AChE e BChE**

A inibição da AChE e BChE pode ser avaliada por diferentes métodos, o mais utilizado é o desenvolvido por Ellman. Neste método a AChE e BChE é usado como substrato para forma a tiocolina que possui a capacidade de reagir com o ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) produzindo cor amarela (ELLMAN et al., 1961). No entanto, este teste pode sofrer interferências e produzir resultados falsos positivos ou falsos negativos, por ser um método colorimétrico (VILELA et al., 2018).

A escolha de um ensaio adequado é importante para verificar a atividade de inibição do composto a ser testado, para superar as desvantagens do método desenvolvido por Ellman, vários métodos para a triagem de potenciais inibidores de

AChE e BChE foram desenvolvidos, como o ensaio fluorimétrico, cromatografia em camada delgada (CCD, cromatografia líquida de alto desempenho (CLAE), eletroforese capilar e espectrometria de massas (MANJUNATHA et al., 2017).

A utilização de biorreator enzimático acoplado a um instrumento de cromatografia líquida de alta performance acoplado (CLAE) ao espectrômetro de massas (EM) é um método que necessita de poucas reações, curto tempo para a análise, baixo custo e alta sensibilidade. Estas são as principais vantagens deste método em relação aos que são utilizados normalmente para testar a inibição da AChE e BChE (VANZOLINI et al., 2013).

### **3.3 Atividade Antioxidante**

A oxidação é um processo de transferência de elétrons de um átomo para outro, considerado essencial no metabolismo e essencial na vida aeróbica. O oxigênio é o que recebe elétrons no sistema de fluxo eletrônico para a produção de energia na forma de adenosina trifosfato (ATP). O desacoplamento no fluxo de elétrons gera radicais livres, como espécies reativas (ER), incluem óxido nítrico, alcoxila, peroxila e superóxido (NIMSE; PAL, 2015).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) são geradas pelo processo de fosforilação oxidativa mitocondrial, de forma endógena, ou podem surgir através da interação com fontes exógenas. O aumento dos níveis de ERO no sistema de defesa antioxidante celular provoca uma diminuição da capacidade antioxidante celular, o que provoca o estresse oxidativo, que resulta em implicações como neurodegeneração, diabetes e envelhecimento (RAY; HUANG; TSUJI, 2012).

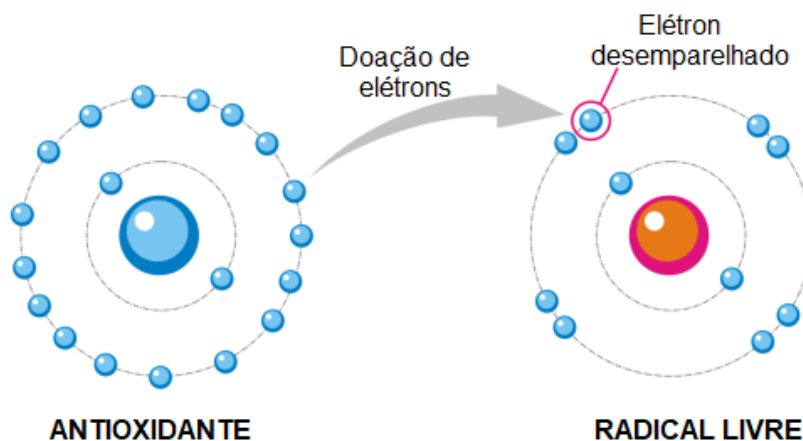
O estresse oxidativo é considerado uma das principais causas para o desenvolvimento de DA, por influência de ER. O cérebro é rico em ácidos graxos que são facilmente peroxidáveis, essas moléculas podem ser atacadas pelos radicais livres, provocando danos na formação de novas estruturas (WOJTUNIK-KULESZA et al., 2016).

O acúmulo de ERO possui como causador as disfunções mitocondriais, que provocam defeitos na cadeia respiratória e a formação de radicais livres na DA. Os depósitos extracelulares de A $\beta$  induzem os processos inflamatórios e ativa a microglia, que é considerado outra fonte potencial de ERO e a formação de peróxido de

hidrogênio, que é induzido pela ligação dos metais ativos redox aos depósitos A $\beta$ . Desta forma, a produção de radicais livres no desenvolvimento da DA, pode ser através de placas A $\beta$  e também por reações inflamatórias (PADURARIU et al., 2013).

A substância capaz de adiar ou inibir o dano oxidativo é definida como antioxidante, a sua principal característica é a capacidade de sequestrar os radicais livres (Figura 13). Os ácidos fenólicos, polifenóis e os flavonóides possuem a capacidade de eliminar o peróxido ou hidroperóxido, desta forma, inibem os mecanismos oxidativos, como por exemplo, nas doenças degenerativas (MAHDI-POUR et al., 2012; CHEN; ZHANG; HUANG, 2016).

**Figura 13** - Ação do antioxidante em sequestrar radicais livres.



Fonte: Adaptado de Juicing for Health (2017).

Os antioxidantes são classificados como exógenos que são encontrados nos alimentos, que incluem compostos naturais ou sintéticos, e os enzimáticos que podem possuir várias maneiras de atuação, como na remoção de dióxido e na inibição da formação de ERO (JADON et al., 2017). O sistema antioxidante natural pode ser classificado como enzimáticos ou não enzimáticos. Este último grupo incluem antioxidantes capazes de doar elétrons ou agentes quelantes (MECOSSI; POLIDORI, 2012).

A utilização de substâncias antioxidantes é considerada uma estratégia promissora para evitar os danos causados pelos radicais livres, como por exemplo na

prevenção de doenças neurodegenerativas. Os antioxidantes como a rutina, o ácido lipoico, vitamina E que foi um dos primeiros antioxidantes testados, vitamina C e  $\beta$ -caroteno, são compostos que possuem ação contra os radicais livres, desta forma, pode melhorar a qualidade de vida (FENG; WANG, 2012; GUPTA; KALPANA; MALIK, 2012).

### **3.3.1 Determinação da atividade antioxidante**

O potencial antioxidante pode ser verificado por diferentes métodos, envolvendo desde testes bioquímicos, como o que utiliza espectroscopia de absorção na região do UV/Vis, a ensaios considerados mais complexos como a espectroscopia de RPE e VPD (SIVAKUMAR; PRABHAKAR; DUBLE, 2011).

#### **3.3.1.1 Técnica espectroscopia de absorção na região do UV/Vis**

A técnica de UV/Vis é utilizada na maioria dos casos para determinar a atividade antioxidante, a sua realização é rápida e fácil, o que possibilita avaliar grande quantidade de amostras em pouco tempo e com custo baixo. Com o emprego desta técnica é possível avaliar o potencial antioxidante de substâncias puras ou misturas, como substâncias isoladas ou extratos (KEDARE; SINGH, 2011).

No teste de UV/Vis é um método colorimétrico altamente sensível, consegue detectar pequenas concentrações da amostra testada. O 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) é um radical livre proveniente do elétron desemparelhado presente no átomo de nitrogênio que liga o grupamento difenila com o picril-hidrazila (GARCIA et al., 2012). A mudança de coloração de violeta a amarelo ocorre quando o composto testado age como doador de átomos de hidrogênio ou elétrons, e através da captura de espécie radicalar pelo DPPH, este é reduzido a difenil-picril-hidrazila DPPH<sub>2</sub> (MORALES; PAREDES, 2014; MUNIYANDI et al., 2017).

A utilização do radical DPPH foi proposto pela primeira vez por Brand-Williams, Cuvelier, Berset (1995), neste método os compostos com potencial antioxidante reagem com o radical estável em uma solução contendo como solvente o etanol ou metanol. O DPPH na forma de radical possui absorvância em 517nm, a absorvância decai na presença de um composto com atividade antioxidante, ou seja, o elétron desemparelhado recebe um átomo de hidrogênio do composto que possui atividade

antioxidante, a cor da solução altera para amarela (HANGUN-BALKIR; MCKENNEY, 2012; ISHTIQ et al., 2014).

### **3.3.1.2 Técnica de espectroscopia de RPE**

No RPE é possível verificar o potencial antioxidante de compostos, este é considerado mais sensível por ser empregado outro tipo de equipamento para leitura das amostras, utiliza-se uma espécie reativa que pode ser o DPPH para que seja testada a capacidade do radical estável DPPH em interagir com o composto antioxidante testado, que é avaliado pela mudança na intensidade do espectro de RPE (GROZAV et al., 2017).

As análises são realizadas através de medições da absorção de radiação eletromagnética, com frequência de micro-ondas por espécies paramagnéticas. O sinal de absorção é convertido pelo equipamento de RPE durante a leitura, as moléculas que possuem comportamento paramagnético são detectadas pela intensidade do sinal de RPE (RANA et al., 2010).

Os compostos que possuem elétrons desemparelhados podem ser analisados por RPE, esse método possibilita a detecção de radicais inorgânicos, orgânicos e complexos. Através de um campo magnético é possível realizar a medição de transição dos elétrons desemparelhados dos radicais livres, o que propicia o surgimento de momento dipolo magnético resultante não nulo, que se alinha de forma paralela ou não paralelamente com o campo magnético externo aplicado (KOHNO, 2010; CHIESA; GIAMELLO, 2013).

O emprego do RPE possui algumas vantagens quando comparada a outras técnicas, como o teste UV/Vís. A análise por RPE é rápida, pode ser utilizada em amostras líquidas, gasosas ou sólidas, detecta radicais livres em pequenas quantidades a nível de micromolar em microlitros, é uma técnica sensível, não destrutiva e não é utilizado radiação ionizante (OLCZYK et al., 2015; HE et al., 2014).

### **3.3.1.3 Técnica de VPD**

A voltametria é uma técnica eletroanalítica que pode ser usada na determinação da atividade antioxidante, através da identificação de picos de oxidação. Os compostos antioxidantes possuem a facilidade de oxidar a superfície dos

eletrodos, atuando como agentes redutores. Desta forma, é possível determinar a capacidade antioxidante utilizando métodos analíticos (SOCHOR et al., 2013; KEFFOUS et al., 2016).

Essa técnica possui algumas vantagens quando comparada aos métodos espectrofotômetro empregados para determinar o potencial antioxidante, possui limite baixo de detecção, maior sensibilidade, baixo custo de equipamento, além de ser um método que segue os princípios da química verde, por não ser empregado grande quantidade de solvente. Outra vantagem é que não é necessário utilizar espécies reativas como o DPPH para a avaliação da atividade antioxidante, já que utiliza as propriedades elétricas do próprio composto testado (SABRY et al., 2009; LINO et al.; 2014).

Para verificar o potencial antioxidante é necessário realizar o cálculo do índice eletroquímico (IE) (Figura 14). Para realizar o cálculo é necessário levar em consideração o valor da corrente (IA, IB, IC...) e o potencial (EA, EB, EC...) anódico, através da soma das razões entre a intensidade da corrente e o potencial de oxidação. A ocorrência de valores baixos do potencial anódico (E) associados com valores altos na intensidade da corrente contribui para um alto poder antioxidante do composto testado (LINO et al., 2014).

**Figura 14** - Equação do índice eletroquímico.

$$IE = \frac{IA}{EA} + \frac{IB}{EB} + \frac{IC}{EC} \dots$$

Fonte: Lino et al. (2014).

As análises voltamétricas são divididas em voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e VPD. O método de VPD estuda o eletrodo e a solução, levando em consideração três parâmetros durante a análise: a corrente elétrica, voltagem e o tempo. Essa técnica proporciona uma melhor resolução dos picos, tornando possível a caracterização deles. Os compostos que apresentam  $E < 0,5$  na VPD são considerados antioxidantes com atividade endógena (GUPTA et al., 2011; JADON et al., 2017).

### 3.4 Química Farmacêutica

A química medicinal traz consigo uma diferenciação nos processos relacionados a obtenção de fármacos. Envolve técnicas analíticas, além de farmacologia, metabolismo, garantia de qualidade e pesquisa para o desenvolvimento de medicamentos (HUGHES et al., 2011).

Para o desenvolvimento de novos fármacos é necessário o cumprimento de duas principais etapas, que inicia com o estudo da estrutura molecular, após é necessário buscar o desenvolvimento de moléculas que possuam ação no sitio ativo. Poucas moléculas apresentam ação, este é o principal obstáculo encontrado na obtenção de novos compostos biologicamente ativo (RAJAM et al., 2016).

Os compostos heterocíclicos são apontados como importante no desenvolvimento de novos fármacos. É de interesse o estudo dessas substâncias, tanto em fatores práticos quanto teóricos. Existe uma ampla quantidade de substâncias heterocíclicas sintéticas, como por exemplo derivados pirrolidínicos, pirrólicos, tiofênicos, piperidínicos, furânicos e tiazólicos; tais substâncias podem ser empregadas como intermediários nas reações de síntese para obtenção de outros compostos (AYATI et al., 2015).

A troca de um átomo de hidrogênio por grupos de alquila, halogênio, ciano ou nitro pode causar alterações na duração, potência e até no efeito farmacológico da molécula. É realizado estudos com base nos resultados obtidos do substituinte no anel aromático, a maioria dos compostos bioativos ou fármacos possuem ação relacionada ao anel (MATTA, 2017).

Uma das bases da química orgânica moderna está ligado ao conceito de substituintes orgânicos e a influência que causa nas propriedades moleculares, servindo de base para análises entre atividade biológica e a estrutura química. Com a organização adequada de variações na estrutura molecular é possível a obtenção de resultados biológicos eficazes do composto sintetizado, pois propicia a obtenção de uma melhor atividade e uma menor toxicidade (RAJAM et al., 2016).

Os estudos em síntese orgânica limitam as condições experimentais ideais para estabelecer os parâmetros estruturais que indicam o caminho para ser seguido quando se deseja a obtenção de compostos que são biologicamente ativos e que

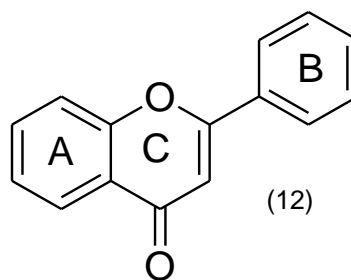
tenham maior potência que os precursores, como por exemplo a chalcona que pode ser sintetizada a partir da acetofenona e benzaldeído (MATTA, 2017; ATTARDE et al., 2014).

### 3.5 Chalcona

Os compostos fenólicos são amplamente distribuídos na natureza, mais de 8000 compostos fenólicos já foram encontrados em plantas, possuem em sua estrutura grupos benzênicos e substituintes hidroxilas. Estes compostos possuem uma grande diversidade e são divididos em flavonoides e não-flavonoides (TIAN et al., 2017).

Os flavonoides são constituídos por três anéis fenólicos, possui um anel benzeno que é condensado com o sexto carbono do terceiro anel e o terceiro se apresenta na forma pirona (Figura 15) (TIAN et al., 2017). As duplas ligações dos anéis benzênicos, a dupla ligação da função oxo (-C=O) e as diferentes posições dos anéis A, B e C, proporcionam aos flavonoides atividade antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, antiparasitária e outras (LAGO et al., 2014).

**Figura 15** - Formula estrutural dos flavonoides.



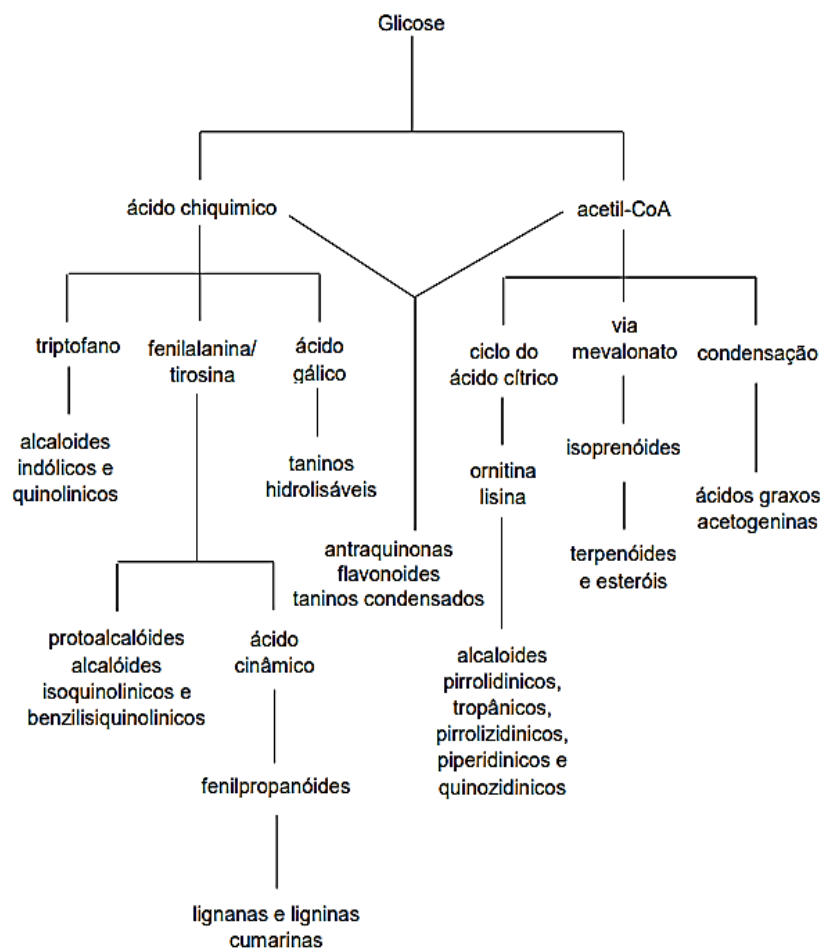
Fonte: O autor (2018).

Dentre as propriedades terapêuticas dos flavonoides a presença do grupo catecol (3,4-dihidroxi) no anel B contribui para o aumento da atividade antioxidante deste composto (SARIAN et al., 2017). São atribuídos diferentes mecanismos antioxidantes aos flavonoides, como a capacidade de agirem como agentes redutores,

inibição das oxidases e doadores de hidrogênio, além de possuírem a capacidade de agir como quelantes de metais (LAGO et al., 2014; FERREIRA et al., 2015).

Os flavonoides são biosintetizados pela combinação de duas vias: ácido chiquimico e acetil-CoA (Esquema 1). A partir do aminoácido fenilalanina é formada a porção fenilpropanoídica, que é precursor do ácido cinâmico, este é originado pelo ácido chiquimico. O intermediário central da biossíntese dos flavonoides é o tio-éster p-coumaroil-CoA, formado a partir da fenilalanina. Através de descarboxilações da enzima chalcona sintase, ocorre a síntese da acetil-CoA, por meio da condensação de uma unidade do p-coumaroil-CoA com três unidades do malonil-CoA é formado uma chalcona (SIMÕES et al., 2004; YU et al., 2012).

**Esquema 1** - Rota biossintética de metabólitos secundários.



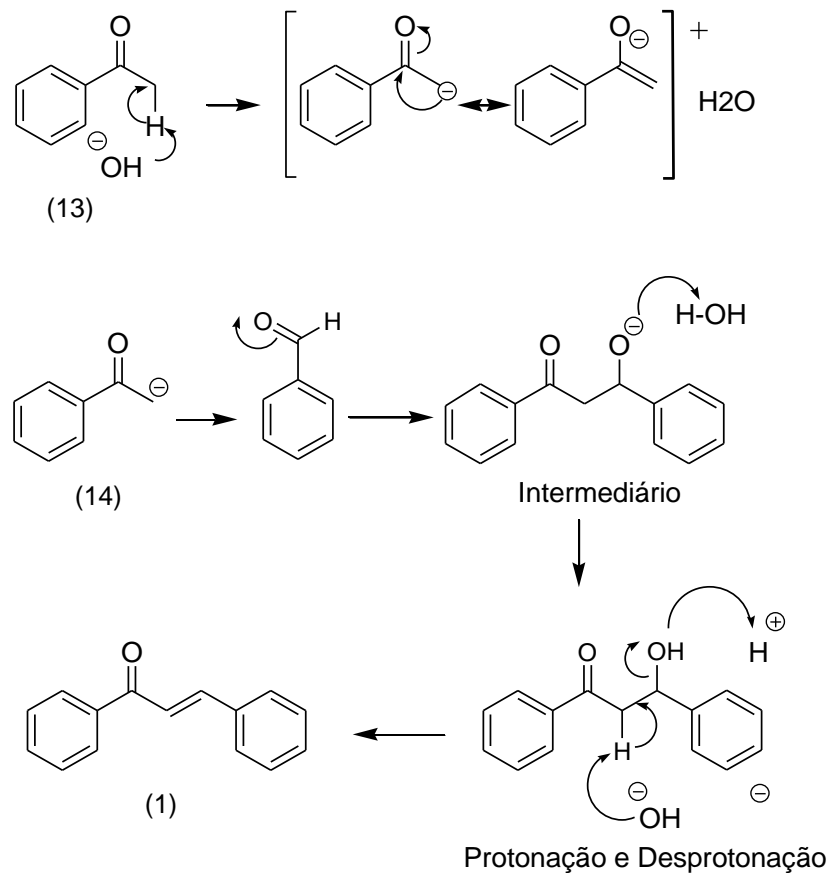
Fonte: Adaptado de Simões et al. (2004).

As chalconas são amplamente distribuídas no reino vegetal, encontradas principalmente nas pétalas de flores, consideradas importantes na polinização das plantas e contra patógenos. Apesar da sua ocorrência em plantas, podem ser sintetizadas em laboratório (DÍAZ-TIELAS et al., 2016; SUN et al., 2015).

O interesse da síntese de chalconas e a sua utilização está relacionado ao seu esqueleto comum e as possibilidades de modificações que esta apresenta, em relação ao mecanismo de estrutura e atividade. São características básicas da estrutura da chalcona a abertura de um terceiro anel, presentes na classe de flavonoides, o que torna possível a formação de uma ligação dupla com os carbonos denominados  $\alpha$  e  $\beta$  na função carbonila (PATEL; PATEL, 2012).

As chalconas podem ser obtidas na natureza e também através da síntese, por reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt (Figura 16). Possui inúmeras possibilidades de substituições nos anéis aromáticos presentes na estrutura da chalcona, a existência de diferentes tipos de acetofenonas (13) e benzaldeídos (14) possibilita a obtenção de uma variedade de chalconas (1) (PAREEK et al., 2013; JIOUIA et al., 2016).

**Figura 16** - Mecanismo de condensação aldólica de Claisen-Schmidt.



Fonte: Adaptado de Attarde et al. (2014).

As chalconas possuem uma diversidade de atividade terapêutica, que é atribuída as diversas possibilidades de substituições nos anéis aromáticos. São consideradas moléculas multifuncionais, característica que contribui para as diferentes atividades biológicas deste composto, como antioxidante, antimalárica, anti-inflamatória, bactericida, antiparasitária, anti-Leishmania e na inibição do ciclo celular (YAZDAN; SAGAR; SHAIK, 2015).

Por sua vez, reações entre chalconas e indoís são consideradas importantes para a obtenção de compostos biologicamente ativos, como os derivados  $\beta$ -cetoindoís que possuem inúmeras atividades biológicas, como por exemplo anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e outras (FARGHALY, 2010; MARIÑO et al., 2015).

### 3.6 Indol

O indol é encontrado na natureza, presente em diversos compostos naturais com atividade biológica, como derivados simples ou alcaloides complexos. Os alcaloides são substâncias cíclicas, com caráter básico, possui atividade biológica, em sua fórmula pode ter nitrogênio, hidrogênio, oxigênio e carbono. O indol é extensivamente investigado devido a sua importância terapêutica (TABER; TIRUNAHARI, 2014).

O indol possui estrutura bicíclica, com um anel benzênico que é acoplado a um anel pirrólico, considerado um composto orgânico heterocíclico **2**. Esse composto possui um par eletrônico não ligante do nitrogênio, que é capaz de participar do sistema aromático (HAMID; RAMLI; YUSOFF, 2017).

Diversos métodos para preparação de indóis e seus análogos já foram descobertos e aperfeiçoados, como a ligação direta C-H ou por funcionalização de C-C ou C-N (KARTHIKEYAN et al., 2009). O desenvolvimento de métodos de preparação de indol é motivado pelas possíveis utilizações deste na investigação de novos compostos com ação farmacológica ou no desenvolvimento de métodos (BEUKEAW; UDOMSASPORN; YOTPHAN, 2015).

O indol alvo de pesquisas que buscam a síntese de compostos com a sua presença, que o caso dos derivados  $\beta$ -cetoindóis. A porção indol é responsável por diferentes propriedades biológicas, como psicoativo, anticâncer, antiviral, antibacteriana e outras (CHADHA; SILAKARI, 2017).

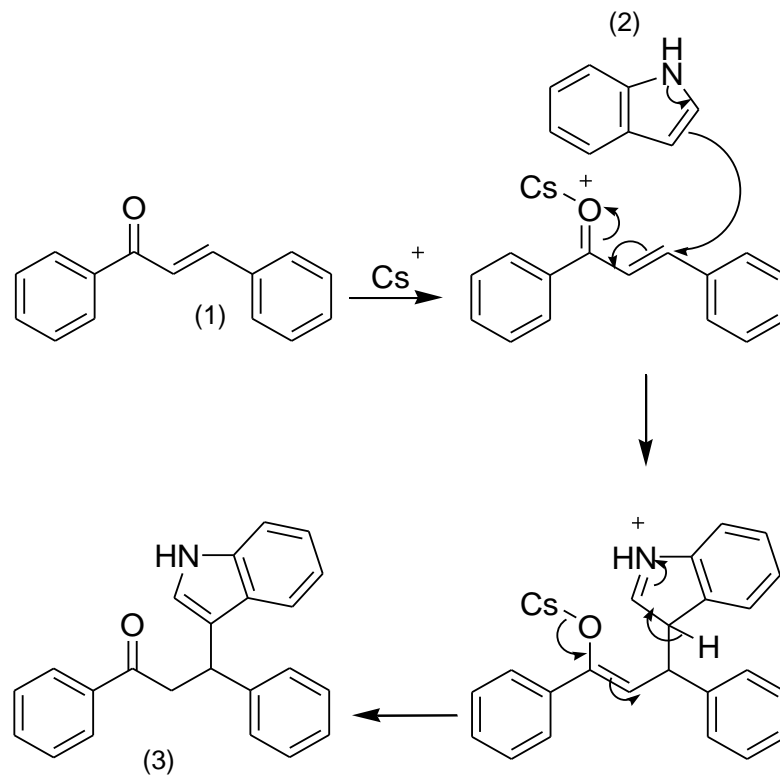
### 3.8 Derivado $\beta$ -cetoindol

Os derivados  $\beta$ -cetoindóis são considerados importantes material de investigação na química orgânica. Para a sua síntese é necessário a reação entre indol e chalcona, com a utilização de catalizador ácido. A chalcona possui várias possibilidades de alterações da sua estrutura, com a modificação da acetofenona ou benzaldeído utilizado para sua síntese, o que possibilita a obtenção de diferentes derivados  $\beta$ -cetoindóis (YU; LIU, 2009).

Apesar do grande interesse no desenvolvimento de procedimentos sintéticos, os  $\beta$ -cetoindóis são pouco explorados quanto ao seu potencial biológico, apesar da

chalcona e o indol serem relacionados a diversas atividades biológicas, como a antioxidante e a anticolinesterásica (BHALE et al., 2017). Através da reação de Friedel-Crafts (Figura 17), com adição de chalcona (1) com indol (2), são obtidos os  $\beta$ -cetoindóis (3) (SCETTRI; VILLANO; ACOCELLA, 2009; YU; LIU, 2009).

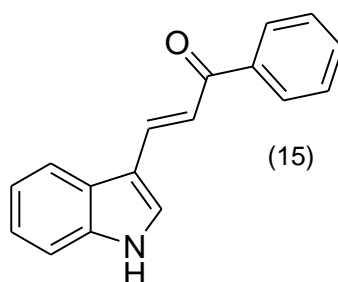
**Figura 17** - Reação de Friedel-Crafts.



Fonte: Adaptado de Khabazzadeh, Kermany, Eghbali (2016).

Os  $\beta$ -cetoindóis são análogos à indolchalcona (15) (Figura 18), estas são alvos de interesse na busca de novos compostos com potencial biológico, por conta das diferentes atribuições terapêuticas existentes, como por exemplo antioxidante, anti-inflamatório, antitumoral e outras (MARIÑO et al., 2015; YAN et al., 2016).

**Figura 18** - Estrutura molecular da indolchalcona.



Fonte: O autor (2018).

### 3.9 Síntese assistida por irradiação de micro-ondas

As micro-ondas são consideradas uma forma de energia eletromagnética, que se situa na região entre 300 a 300.000 MHz do espectro eletromagnético, situa-se entre a região de infravermelho e ondas de rádio, o seu comprimento de onda é de 1 mm a 1m. As estruturas das moléculas não são afetadas pela energia que é gerada, que é de 0,037 Kcal/mol, não é suficiente esta energia para a quebra de ligação (RAVICHANDRAN; KARTHIKEYAN, 2011).

Existem dois tipos de mecanismos que transformam a energia eletromagnética em calor no micro-ondas, que é a rotação de dipolo, relacionado ao alinhamento da molécula com o campo elétrico aplicado; o segundo é por condução iônica, o calor é gerado através das perdas por fricção, que é possível graças a migração de íons sob a ação do campo eletromagnético do sistema (ANWAR et al., 2015).

As reações realizadas com a utilização do reator de micro-ondas (Figura 19) são consideradas mais reprodutíveis quando comparadas aos métodos convencionais, pois há um melhor controle dos parâmetros, como temperatura, potência, pressão e o tempo que será realizada a reação (GABA; DHINGRA, 2011).

**Figura 19** - Reator de micro-ondas.



Fonte: Adaptado de Cem (2018).

As reações assistidas por irradiação de micro-ondas possuem uma ampla vantagem quando comparada com os métodos de aquecimento tradicional, no qual é necessário longo período de reação. No micro-ondas as reações podem ser realizadas em curto tempo, com elevado rendimento e maior seletividade (DAS; BHOWMIK; CHAUDHURI, 2012).

A síntese com a utilização do reator de micro-ondas é considerada atrativa, por seguir os princípios da química verde, que busca o desenvolvimento de processos químicos que sejam sustentáveis e que possa ser benéfico ao ser humano sem que tenha danos ao meio ambiente (SHAH; MOHANRAJ, 2017).

As reações podem ser realizadas sem a utilização de solventes ou com a utilização destes em menor quantidade, estes são caros, complicados de se usar e tóxicos, fato este, que torna interessante a utilização deste tipo de equipamento quando possível na síntese de compostos (SRIVASTAVA, 2008).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Reagentes e solventes utilizados

Os reagentes e solventes empregados na síntese das chalconas e dos derivados  $\beta$ -cetoindóis, encontram-se descritos na tabela 1.

**Tabela 1** - Fórmula química, fabricante e grau de pureza.

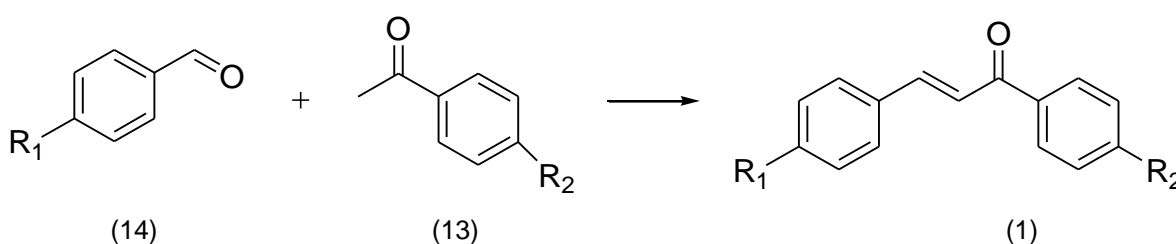
Reagentes	Fórmula Química	Fabricante e grau de pureza
<b>4-Metoxiacetofenona</b>	$C_9H_{10}O_2$	Sigma Aldrich 97%
<b>Acetofenona</b>	$C_8H_8O$	Sigma Aldrich 99%
<b>4-Fluorbenzaldeído</b>	$FC_6H_4CHO$	Sigma Aldrich 97%
<b>4-Metoxibenzaldeído</b>	$C_8H_8O_2$	Sigma Aldrich 98%
<b>Benzaldeído</b>	$C_7H_6O$	Acros Organics 98%
<b>4-bromobenzaldeído</b>	$C_7H_5BrO$	Sigma Aldrich 99%
<b>Indol</b>	$C_8H_7N$	Sigma Aldrich 97%
<b>1-metilindol</b>	$C_9H_9N$	Sigma Aldrich 97%
<b>Álcool etílico 95% PA</b>	$C_2H_5OH$	Neon
<b>Álcool Isopropílico</b>	$C_3H_8O$	Dinâmica
<b>Acetonitrila</b>	$CH_3CN$	Dinâmica

### 4.2 Síntese das chalconas

Uma mistura de acetofenona (13) e aldeído aromático (14) em uma quantidade de 1 ml de etanol absoluto a temperatura ambiente e hidróxido de potássio (KOH)

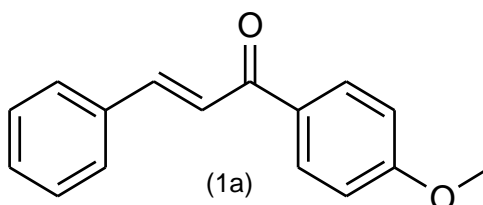
pulverizado foram adicionados na mistura de reação, que foi agitada à temperatura ambiente até a precipitação ou a formação de um sistema bifásico, a mistura reacional foi arrefecida e o sólido foi separado por filtração e recristalização em etanol absoluto para gerar as chalconas (2) (Figura 20), as chalconas obtidas foram transferidas para frascos e armazenadas.

**Figura 13** - Síntese das chalconas.



Fonte: Adaptado de Attarde et al. (2014).

#### 4.2.1 (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (1a)



Foram utilizados 0,30 g (3 mmol) de benzaldeído e 0,45 g (3 mmol) de 4-metoxiacetofenona. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 94%; faixa de ponto de fusão: 78-80 °C.

Fórmula molecular: C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> (238,28 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 8,721 min e 100 % de pureza.

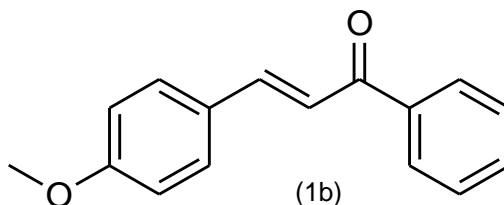
**I.V.:** C=O (1655 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1580, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-O (1261 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alceno (2938 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> alceno (3059 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 240 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 8,06 (m, 2H); 7,83 (d, J = 15,7 Hz, 1H); 7,67 (m, 2H); 7,57 (d, J = 15,7 Hz, 1H); 7,43 (m, 3H); 7,03 (m, 2H); 3,91 (s, 3H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  188,74; 163,46; 143,98; 135,11; 131,12; 130,84; 130,34; 128,94; 128,37; 121,92; 113,87; 55,51.

#### 4.2.2 (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (1b)



Foram utilizados 0,39 g (3 mmol) de 4-metoxibenzaldeído e 0,36 g (3 mmol) de acetofenona. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 95%; faixa de ponto de fusão: 112-114 °C.

Fórmula molecular:  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2$  (238,28 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 10,059 min e 100 % de pureza.

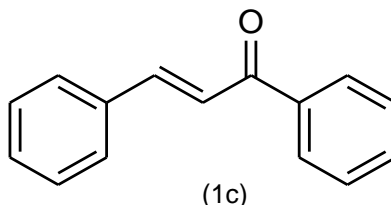
**I.V.:** C=O ( $1659\text{ cm}^{-1}$ ); C=C aromático ( $1600, 1580, 1500, 1450\text{ cm}^{-1}$ ); C-O ( $1268\text{ cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^3$  alcano ( $2931\text{ cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^2$  alceno ( $3059\text{ cm}^{-1}$ ).

$\lambda$  máx.: 233 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  8,03 (m, 2H); 7,73 (d, J = 15.6 Hz; 1H); 7,64 (m, 2H); 7,59 (dd, J= 8,6 Hz; 1H); 7,53 (m, 2H); 7,50 (d, J = 15.6 Hz; 1H); 6,99 (m, 2H); 3,89 (s, 3H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  188,40; 163,57; 142,52; 134,03; 132,17; 130,92; 130,85; 129,72; 124,54; 122,41; 113,92; 55,53.

#### 4.2.3 (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona (1c)



Foram utilizados 0,30 g (3 mmol) de benzaldeído e 0,36 g (3 mmol) de acetofenona. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração amarela. Rendimento: 92%; faixa de ponto de fusão: 49-51 °C.

Fórmula molecular:  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}$  (208,26 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 7,740 min e 100 % de pureza.

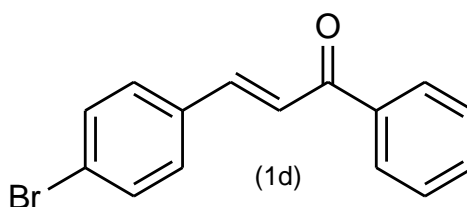
**I.V.:** C=O (1666  $\text{cm}^{-1}$ ); C=C aromático (1600, 1580, 1450  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^3$  alcano (2927  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^2$  alceno (3059  $\text{cm}^{-1}$ ).

**$\lambda$  máx.:** 241 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,94 (m, 2H); 7,73 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H); 7,56 (m, 2H); 7,51(m, 2H); 7,42 (m, 3H); 7,33 (m, 2H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  190,61; 144,88; 138,23; 134,91; 132,81; 130,58; 128,99; 128,65; 128,53; 128,48; 122,13.

#### 4.2.4 (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (1d)



Foram utilizados 0,54 g (3 mmol) de 4-bromobenzaldeído e 0,36 g (3 mmol) de acetofenona. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 98%; faixa de ponto de fusão: 115-117  $^{\circ}\text{C}$ .

Fórmula molecular:  $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{BrO}$  (287,15 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 8,758 min e 100 % de pureza.

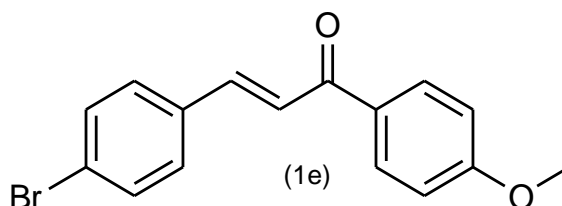
**I.V.:** C=O (1659  $\text{cm}^{-1}$ ); C=C aromático (1600, 1500, 1450  $\text{cm}^{-1}$ ); C-Br (680  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^3$  alcano (2920  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^2$  alceno (3054  $\text{cm}^{-1}$ ).

**$\lambda$  máx.:** 242 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  8,02 (d,  $J = 7,1$  Hz; 2H); 7,94 (m, 2H); 7,74 (d,  $J = 15,7$  Hz; 1H); 7,63 (m, 2H); 7,26 (d,  $J = 15,7$  Hz; 1H);  $\delta$  7,14 (d,  $J = 7,1$  Hz; 2H);  $\delta$  7,14 (dd,  $J = 7,1; 5,1$  Hz; 1H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  143,38; 138,11; 133,83; 132,95; 132,23; 129,80; 128,69; 128,51; 124,90; 124,78; 122,60.

#### 4.2.5 (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (1e)



Foram utilizados 0,54 g (3 mmol) de 4-bromobenzaldeído e 0,45 g (3 mmol) de 4-metoxiacetofenona. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 70%; faixa de ponto de fusão: 156-158 °C.

Fórmula molecular: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>2</sub> (317,18 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 10,156 min e 100 % de pureza.

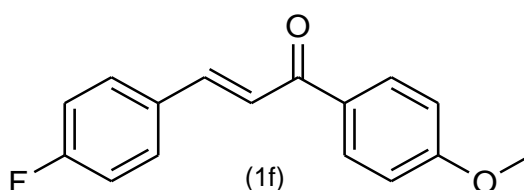
**I.V.:** C=O (1659 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-O (1261 cm<sup>-1</sup>); C-Br (640 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2938 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> alceno (3015 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 212 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 8,05 (m, 2H); 7,74 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H); 7,54 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H); 7,54 (m, 4H); 7,03 (m, 2H); 3,91 (s, 3H).

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 188,38; 163,57; 142,50; 134,03; 132,17; 130,91; 130,85; 129,72; 124,54; 122,40; 113,92; 55,53.

#### 4.2.5 (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (1f)



Foram utilizados 0,36 g (3 mmol) de 4-fluorbenzaldeído e 0,45 g (3 mmol) de 4-metoxiacetofenona. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 98%; faixa de ponto de fusão: 110-112 °C.

Fórmula molecular: C<sub>16</sub>H<sub>13</sub>FO<sub>2</sub> (256,27 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 8,638 min e 100 % de pureza.

**I.V.:** C=O (1666 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-O (1229 cm<sup>-1</sup>); C-F (1178 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2920 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> alceno (3048 cm<sup>-1</sup>).

$\lambda$  máx.: 229 nm.

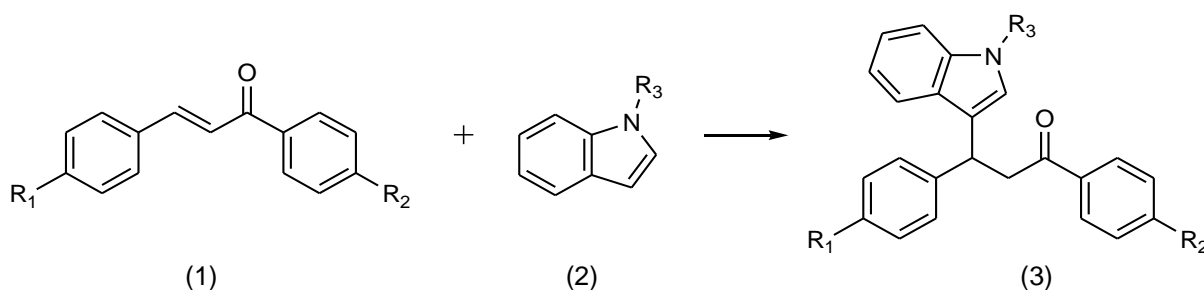
**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  8,17 (m, 2H); 7,81 (d,  $J = 15,6$  Hz, 1H); 7,63 (m, 2H); 7,41 (d,  $J = 15,6$  Hz, 1H); 7,17 (m, 2H); 6,96 (m, 2H); 3,95 (s, 3H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  188,89; 166,76; 164,23; 161,79; 144,93; 134,85; 134,82; 131,02; 130,93; 130,28; 127,51; 119,27; 115,78; 115,56; 114,47; 55,44.

### 4.3 Síntese dos derivados $\beta$ -cetoindoís

Uma mistura de chalcona (3), indol e o 1-metilindol (4), ácido p-toluenosulfônico (PTSA) e isopropanol foi irradiada na presença de micro-ondas em um recipiente fechado. Depois de repousar por um período de tempo, a mistura reacional foi arrefecida, o precipitado foi filtrado e a mistura bruta foi recristalizada a partir de isopropanol, para a obtenção dos derivados  $\beta$ -cetoindoís (5) (Figura 21).

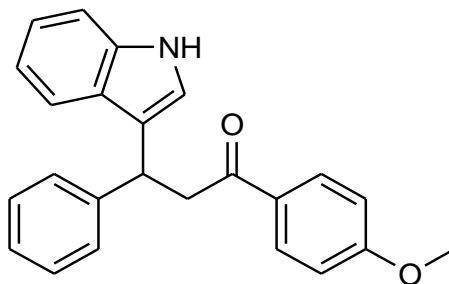
**Figura 21** - Síntese dos derivados  $\beta$ -cetoindoís.



Fonte: Adaptado de Khabazzadeh, Kermany, Eghbali (2016).

Para a realização das reações assistida por irradiação micro-ondas foi utilizado um reator Discover SP/ CEM, as reações com indol e 1-metilindol foram realizadas em um recipiente fechado, por 5 min, em uma temperatura de  $110^\circ\text{C}$ , pressão de 8 bar, potência de 300 W. As condições utilizadas para síntese dos derivados  $\beta$ -cetoindoís foram definidas com base em dados existentes na literatura (BARAKAT et al., 2013; ATANASOVA et al., 2015; KHAKSAR; VAHDAT; REZAAE, 2013).

### 4.3.1 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (3a)



(3a)

Foram utilizados 0,23 g (1mmol) de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona e 0,11 g (1mmol) de indol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 93%; faixa de ponto de fusão: 168-170 °C.

Fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub> (355,43 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 16,277 min e 100 % de pureza.

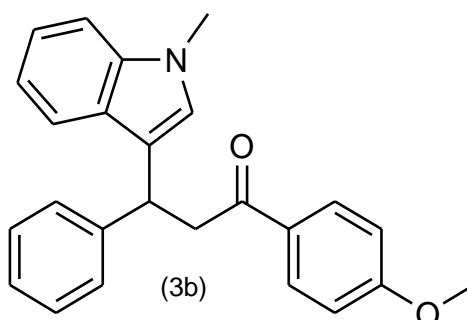
**I.V.:** C=O (1666 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-O (1246 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2936 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3048 cm<sup>-1</sup>); N-H (3402 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 207 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 8,28 (s, 1H); 7,85 (m, 2H); 7,36 (d, J = 7,9 Hz; 2H); 7,18 (m, 4H); 7,07 (m, 2H); 6,93 (dd, J = 8,8; 5,5 Hz; 2H); 6,82 (m, 2H); 4,99 (dd, J = 7,6 Hz; 6,9 Hz; 1H); 3,80 (s, 3H); 3,69 (dd, J = 16,4; 6,9 Hz; 1H); 3,59 (dd, J = 16,4; 7,6 Hz; 1H).

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz; CDCl<sub>3</sub>):** δ 197,07; 163,41; 144,37; 136,64; 130,40; 130,27; 128,41; 127,84; 126,69; 126,25; 122,13; 121,42; 119,61; 119,48; 119,39; 113,71; 111,08; 55,47; 44,85; 38,38.

### 4.3.2 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (3b)



Foram utilizados 0,23 g (1mmol) de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona e 0,13 g (1mmol) de 1-metilindol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração alaranjada. Rendimento: 87%; faixa de ponto de fusão: 152-154 °C.

Fórmula molecular: C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub> (369,46 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 23,196 min e 100 % de pureza.

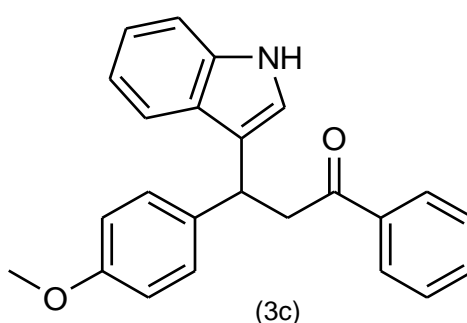
**I.V.:** C=O (1666 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-O (1250 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alceno (2916 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3048 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 240 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,92 (d, J = 8,8 Hz; 2H); 7,42 (dd, J = 11,7; 4,9 Hz; 1H); 7,35 (d, J = 7,5 Hz; 2H); 7,25 (s, 3H); 7,16 (q, J = 7,7 Hz; 2H); 7,00 (t, J = 7,5 Hz; 1H); 6,89 (d, J = 8,8 Hz; 2H); 6,83 (s, 1H); 5,04 (d, J = 14,3 Hz; 1H); 3,84 (s, 3H); 3,70 (m, 5H).

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 197,06; 163,41; 144,56; 137,35; 130,40; 130,26; 128,41; 127,83; 127,05; 126,25; 126,20; 121,65; 119,65; 118,83; 117,95; 113,70; 109,19; 55,47; 44,98; 38,28; 32,70.

### 4.3.3 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (3c)



Foram utilizados 0,23 g (1mmol) de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona e 0,12 g (1mmol) de indol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração alaranjada. Rendimento: 92%; faixa de ponto de fusão: 130-132 °C.

Fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub> (355,43 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 24,598 min e 100 % de pureza.

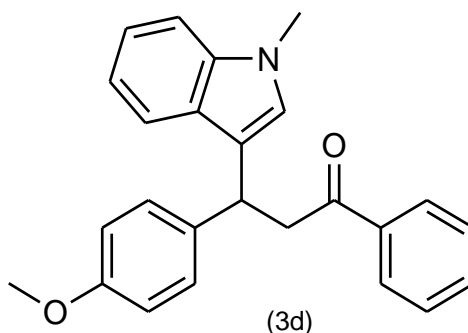
**I.V.:** C=O (1659 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-O (1250 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2959 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3048 cm<sup>-1</sup>); N-H (3385 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 241 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,92 (s, 1H); 7,83 (m, 2H); 7,44 (t, J = 7.4 Hz, 1H); 7,32 (t, J = 7,8 Hz; 3H); 7,18 (dd, J = 13,3; 8,5 Hz; 3H); 7,04 (t, J = 7,6 Hz; 1H); 6,92 (t, J = 7,5 Hz; 1H); 6,85 (s, 1H); 6,70 (t, J = 5,7 Hz; 2H); 4,93 (t, J = 7,2 Hz; 1H); 3,64 (m, 5H).

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz; CDCl<sub>3</sub>):** δ 198,88; 157,99; 137,20; 136,69; 136,39; 133,03; 128,79; 128,61; 128,15; 126,64; 122,13; 121,37; 119,60; 119,38; 118,70; 113,85; 111,19; 55,22; 45,42; 37,52.

#### 4.3.4 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (3d)



Foram utilizados 0,23 g (1mmol) de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona e 0,13 g (1mmol) de 1-metilindol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração amarela. Rendimento: 97%; faixa de ponto de fusão: 125-127 °C.

Fórmula molecular: C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub> (369,46 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 15,541 min e 100 % de pureza.

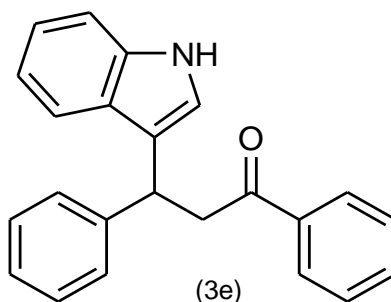
**I.V.:** C=O (1677  $\text{cm}^{-1}$ ); C=C aromático (1600, 1500, 1450  $\text{cm}^{-1}$ ); C-O (1235  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^3$  alcano (2931  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^2$  aromático (3059  $\text{cm}^{-1}$ ).

**$\lambda$  máx.:** 232 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,82 (m; 2H); 7,40 (dd;  $J = 4,9; 3,6$  Hz; 1H); 7,32 (dt;  $J = 15,3; 7,7$  Hz; 3H); 7,15 (m; 3H); 7,09 (m; 1H); 6,94 (m; 1H); 6,70 (m; 3H); 4,92 (t;  $J = 7,6; 76,5$  Hz; 1H); 3,58 (m;  $J = 16,7; 7,6$  Hz; 8H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  198,73; 158,00; 137,43; 137,24; 136,58; 133,01; 128,80; 128,61; 128,16; 127,04; 126,20; 121,72; 119,70; 118,88; 118,23; 113,86; 109,26; 55,23; 45,56; 37,45; 32,70.

#### 4.3.5 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (3e)



Foram utilizados 0,20 g (1mmol) de (E)-3-phenyl-1-phenylprop-2-en-1-one e 0,11 g (1mmol) de indol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração roxa. Rendimento: 72%; faixa de ponto de fusão: 102-104  $^{\circ}\text{C}$ .

Fórmula molecular:  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}$  (325,40 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 13,486 min e 100 % de pureza.

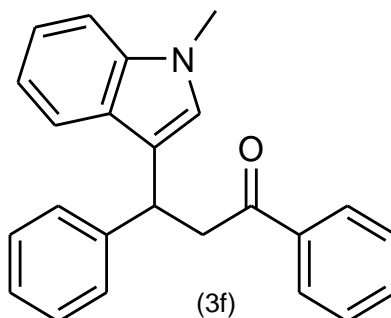
**I.V.:** C=O (1666  $\text{cm}^{-1}$ ); C=C aromático (1600, 1500, 1450  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^3$  alcano (2916  $\text{cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^2$  aromático (3059  $\text{cm}^{-1}$ ); N-H (3412  $\text{cm}^{-1}$ ).

**$\lambda$  máx.:** 240 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,88 (s; 1H); 7,57 (t;  $J = 7,4$  Hz; 2H); 7,33 (dd;  $J = 7,4$  Hz; 3H); 7,26 (m; 3H); 7,15 (dd;  $J = 11,6; 4,2$  Hz; 3H); 7,05 (dd; 2H); 6,87 (s; 2H); 5,09 (2;  $J = 7,7; 6,7$  Hz; 1H); 3,78 (m;  $J = 16,8; 7,7$  Hz; 2H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  198,61; 144,25; 137,16; 136,64; 133,03; 128,60; 128,46; 128,12; 127,85; 126,66; 126,32; 122,16; 121,44; 119,57; 119,43; 119,32; 111,14; 111,03; 45,23; 38,25.

#### 4.3.6 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (3f)



Foram utilizados 0,20 g (1mmol) de (E)-3-phenyl-1-phenylprop-2-en-1-one e 0,13 g (1mmol) de 1-metilindol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração alaranjada. Rendimento: 93%; faixa de ponto de fusão: 174-176 °C.

Fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>NO (339,43 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 12,469 min e 100 % de pureza.

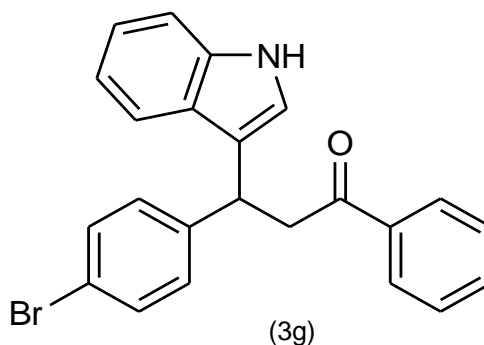
**I.V.:** C=O (1672 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1580, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2931 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3059 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 234 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,98 (m; 2H); 7,57 (t; *J* = 7,4 Hz; 1H); 7,46 (m; 3H); 7,39 (d; *J* = 7,4 Hz; 2H); 7,28 (m; 3H); 7,21 (dd; *J* = 11,6; 4,2 Hz; 2H); 7,05 (m; 1H); 6,87 (s; 1H); 5,09 (2; *J* = 7,7; 6,7 Hz; 1H); 3,84 (dd; *J* = 16,8; 6,7 Hz; 1H); 3,78 (dd; *J* = 16,8; 7,7 Hz; 4H).

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 198,53; 144,41; 137,36; 137,16; 132,98; 128,57; 128,44; 128,12; 127,83; 127,02; 126,25; 121,70; 119,62; 118,87; 117,83; 109,21; 45,36; 38,15; 32,71.

#### 4.3.7 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (3g)



Foram utilizados 0,28 g (1mmol) de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona e 0,11 g (1mmol) de indol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração roxa. Rendimento: 96%; faixa de ponto de fusão: 149-151 °C.

Fórmula molecular: C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>BrNO (403,06 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 18,914 min e 100 % de pureza.

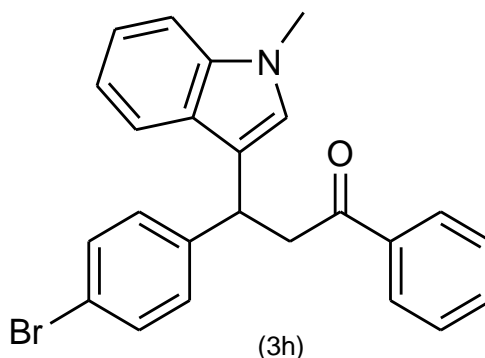
**I.V.:** C-Br (747 cm<sup>-1</sup>); C=O (1666 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2920 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3059 cm<sup>-1</sup>); N-H (3396 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 240 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,99 (s; 1H); 7,95 (m; 2H); 7,55 (t; *J* = 7,4 Hz; 1H); 7,45 (d; *J* = 7,8 Hz; 2H); 7,40 (dd; *J* = 12,3; 4,2 Hz; 2H); 7,35 (m; 2H); 7,24 (m; 2H); 7,16 (t; *J* = 7,3 Hz; 2H); 7,02 (dd; *J* = 13,9; 6,6 Hz; 2H); 5,06 (dd; *J* = 8,1; 6,3 Hz; 1H); 3,80 (dd; *J* = 16,8; 6,3 Hz; 1H); 3,69 (dd; *J* = 16,8; 8,1 Hz; 1H).

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 198,14; 143,28; 136,99; 136,65; 133,16; 131,51; 129,65; 128,64; 128,08; 126,42; 122,36; 121,35; 120,06; 119,59; 119,41; 118,89; 111,19; 45,03; 38,11.

#### 4.3.8 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (3h)



Foram utilizados 0,28 g (1mmol) de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona e 0,13 g (1mmol) de 1-metilindol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 88%; faixa de ponto de fusão: 142-144 °C.

Fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>BrNO (418,33 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 16,828 min e 100 % de pureza.

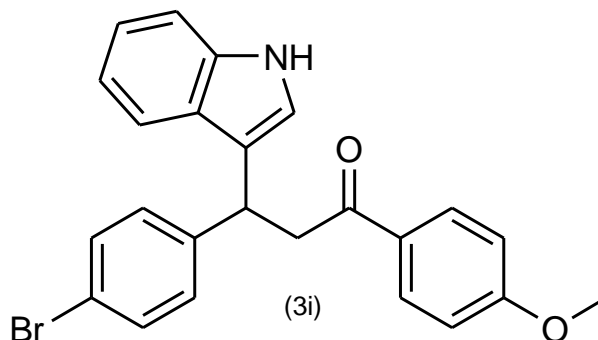
**I.V.:** C=O (1672 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1580, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3048 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2916 cm<sup>-1</sup>).

$\lambda$  máx.: 241 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,92 (m, 2H); 7,51 (m, 1H); 7,43 (dd,  $J = 12,8; 5,4$  Hz, 2H); 7,36 (m, 2H); 7,26 (s, 3H); 7,19 (m, 2H); 7,02 (m, 1H); 5,02 (m, 1H); 3,73 (m, 3H); 1,58 (s, 3H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  198,15; 143,46; 137,37; 136,99; 133,13; 131,49; 129,63; 128,63; 128,08; 126,78; 126,19; 121,87; 119,99; 119,44; 119,01; 117,31; 109,30; 45,03; 37,54; 32,73.

#### 4.3.9 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona (3i)



Foram utilizados 0,31 g (1mmol) de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona e 0,11 g (1mmol) de indol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 96%; faixa de ponto de fusão: 212-214 °C.

Fórmula molecular:  $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{BrNO}_2$  (434,33 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 24,008 min e 100 % de pureza.

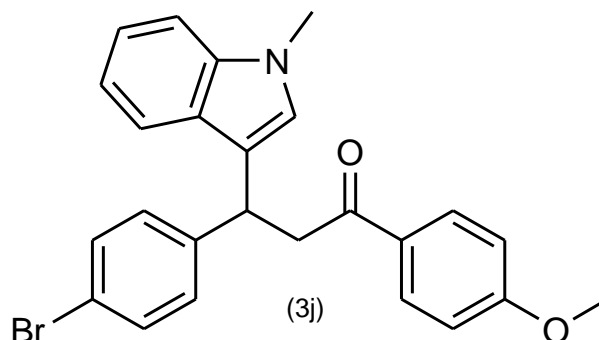
**I.V.:** C-Br ( $746\text{ cm}^{-1}$ ); C=O ( $1659\text{ cm}^{-1}$ ); C=C aromático ( $1600, 1580, 1500, 1450\text{ cm}^{-1}$ ); C-O ( $1246\text{ cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^3$  alcano ( $2970\text{ cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^2$  aromático ( $3048\text{ cm}^{-1}$ ); N-H ( $3385\text{ cm}^{-1}$ ).

$\lambda$  máx.: 223 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  8,01 (s, 1H); 7,44 (d,  $J = 12,3$  Hz, 1H); 7,38 (m, 3H); 7,28 (m, 2H); 7,01 (m, 2H); 5,02 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H); 3,88 (m, 3H); 2,83 (d,  $J = 13,3$  Hz, 4H); 2,07 (m,  $J = 6,6, 2,2$  Hz, 3H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  210.66; 210.46; 210.27; 201.19; 150.18; 142.26; 142.11; 136.20; 135.57; 135.42; 123.82; 122.16; 118.86; 60.21; 49.27; 42.90; 34.77; 34.72; 33.75; 33.56.

#### 4.3.10 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3il)propan-1-ona (3j)



Foram utilizados 0,31 g (1mmol) de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona e 0,13 g (1mmol) de 1-metilindol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração branca. Rendimento: 88%; faixa de ponto de fusão: 222-224 °C.

Fórmula molecular:  $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{BrNO}_2$  (448,35 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 27,751 min e 100 % de pureza.

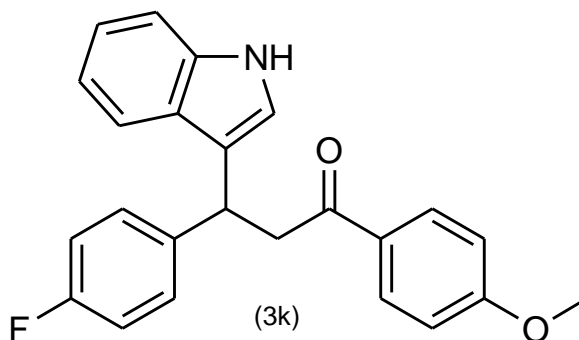
**I.V.:** C-Br ( $748\text{ cm}^{-1}$ ); C=O ( $1659\text{ cm}^{-1}$ ); C=C aromático ( $1600, 1580, 1500, 1450\text{ cm}^{-1}$ ); C-O ( $1246\text{ cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^3$  alceno ( $2938\text{ cm}^{-1}$ ); C-H  $\text{sp}^2$  aromático ( $3054\text{ cm}^{-1}$ ).

$\lambda$  máx.: 232 nm.

**RMN DE  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  7,91 (d;  $J = 8,9\text{ Hz}$ ; 2H); 7,37 (dd;  $J = 16,6; 8,2\text{ Hz}$ ; 1H); 7,28 (m; 2H); 7,23 (m; 4H); 7,03 (dt;  $J = 14,4; 5,1\text{ Hz}$ ; 1H); 6,90 (m;  $J = 8,9\text{ Hz}$ ; 2H); 6,81 (d; 1H); 5,00 (dd;  $J = 8,1; 6,3\text{ Hz}$ ; 1H); 3,85 (s; 3H); 3,72 (m;  $J = 3,5\text{ Hz}$ ; 5H).

**RMN DE  $^{13}\text{C}$  (101 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  196,68; 163,53; 143,61; 137,38; 131,46; 130,38; 130,09; 129,64; 126,82; 126,20; 121,84; 119,93; 119,49; 118,98; 117,44; 113,77; 109,29; 55,49; 44,65; 37,69; 32,73.

#### 4.3.11 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (3k)



Foram utilizados 0,25 g (1mmol) de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona e 0,11 g (1mmol) de indol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração amarela. Rendimento: 88%; faixa de ponto de fusão: 222-224 °C.

Fórmula molecular: C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>FNO<sub>2</sub> (373,42 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 15,847 min e 100 % de pureza.

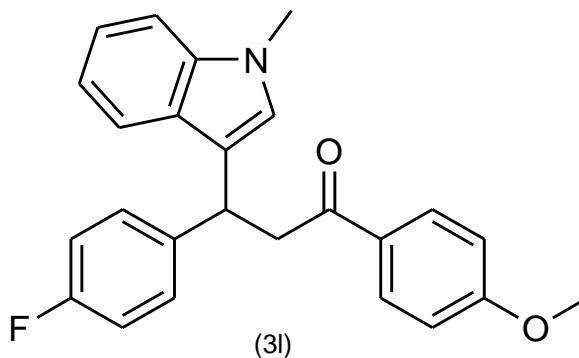
**I.V.:** C=O (1672 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1580, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-F (1385 cm<sup>-1</sup>); C-O (1250 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2920 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3048 cm<sup>-1</sup>); N-H (3407 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 212 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,89 (s; 1H); 7,86 (ddd; *J* = 8,2; 5,2; 2,4 Hz; 2H); 7,35 (d; *J* = 7,9 Hz; 1H); 7,24 (d; *J* = 8,1 Hz; 1H); 7,18 (m; 3H); 7,06 (m; 1H); 7,01 (m; 2H); 6,94 (dt; *J* = 10,9; 1,9 Hz; 1H); 6,89 (d; *J* = 1,9 Hz; 1H); 6,71 (m; 2H); 4,92 (t; *J* = 7,2 Hz; 1H); 3,67 (dd; *J* = 16,4; 6,6 Hz; 4H); 3,58 (dd; *J* = 16,5; 7,9 Hz; 1H).

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz; CDCl<sub>3</sub>):** δ 197,20; 166,94; 164,41; 158,03; 136,67; 136,17; 133,63; 133,61; 130,78; 130,69; 128,73; 126,57; 122,20; 121,29; 119,59; 119,57; 119,44; 115,76; 115,54; 113,85; 111,14; 55,20; 45,25; 37,58.

#### 4.3.12 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3il)prop an-1-ona (3l)



Foram utilizados 0,25 g (1mmol) de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona e 0,13 g (1mmol) de 1-metilindol. Ao final da reação foi obtido um sólido de coloração roxa. Rendimento: 88%; faixa de ponto de fusão: 222-224 °C.

Fórmula molecular: C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>FNO<sub>2</sub> (387,45 g/mol).

**CG:** Tempo de retenção de 17,888 min e 100 % de pureza.

**I.V.:** C=O (1666 cm<sup>-1</sup>); C=C aromático (1600, 1580, 1500, 1450 cm<sup>-1</sup>); C-F (1352 cm<sup>-1</sup>); C-O (1246 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>3</sup> alcano (2942 cm<sup>-1</sup>); C-H sp<sup>2</sup> aromático (3048 cm<sup>-1</sup>).

**λ máx.:** 224 nm.

**RMN DE <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,98 (m; 2H); 7,34 (t; *J* = 10,1 Hz; 1H); 7,18 (t; *J* = 4,3 Hz; 4H); 7,01 (m; 1H); 6,93 (m; 1H); 6,72 (dt; *J* = 4,9; 2,7 Hz; 1H); 6,62 (m; 3H); 4,91 (t; *J* = 7,2 Hz; 1H); 3,64 (m; 7H); 3,59 (dd; *J* = 16,5; 8,0 Hz; 1H),

**RMN DE <sup>13</sup>C (101 MHz; CDCl<sub>3</sub>):** δ 199,34; 197,20; 166,99; 166,94; 164,41; 158,03; 136,67; 136,17; 133,63; 133,61; 130,78; 130,69; 128,73; 126,63; 122,20; 121,29; 119,57; 119,44; 115,76; 115,54; 113,85; 111,14; 55,20; 45,25; 37,58.

#### 4.4 Métodos analíticos

O progresso de cada reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada (CCD), com a utilização de gel de sílica Merck (60 F254) sobre chapas de alumínio. Foi utilizado o sistema de solventes hexano/acetato de etila (9:1, 8:2 e 7:3) para os compostos 1-6 e diclorometano/hexano (6:4, 7:3 e 8:2) para os compostos 7-18. Para a visualização das manchas foi utilizado luz UV de λ 254 nm e/ou 360 nm, o revelador utilizado foi a solução de vanilina em ácido sulfúrico padrão analítico (PA).

As reações foram acompanhadas também através da utilização de CG, com o emprego do equipamento GC-2010 Plus da SHIMADZU. As alíquotas foram injetadas com a utilização do auto injetor AOC-20i da SHIMADZU, através de uma seringa de

0,5 ml, as amostras foram diluídas em diclorometano. Foi empregado o nitrogênio com pureza de 99,999% como gás de arraste, com fluxo de coluna de 1 ml/min<sup>-1</sup>, coluna RTX5, com comprimento de 30 metros e diâmetro de 0,25 mm, temperatura do injetor 280 °C. A temperatura inicial foi de 120 °C, isoterma de 2 min, aumentou de 120 °C para 300 °C a 40 °C/min<sup>-1</sup> e isoterma por 30 min.

#### 4.5 Identificação estrutural

Para confirmar estrutural dos compostos sintetizados, foram utilizadas as técnicas espectroscópicas de RMN de hidrogênio e carbono 13 (RMN <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C), IV e UV/VIS.

As faixas de fusão dos compostos 1-18 foram determinadas em aparelho Microquímica MQAPF-301.

Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE 400 operando a 400 MHz (<sup>1</sup>H) e 101 MHz (<sup>13</sup>C), com clorofórmio deuterado, como solvente. Os deslocamentos químicos foram expressos em valores adimensionais (ppm) em relação a um padrão interno de tetrametilsilano (TMS). A visualização dos espectros foi realizada por meio do programa MestReNova.

Os espectros de UV/VIS e IV foram obtidos no laboratório de análise instrumental da Universidade Estadual de Goiás.

Os espectros de UV/VIS foram obtidos a partir de varreduras em equipamento UV/VIS SPECTROMETER LAMBDA 25, PERKIN-ELMER. As amostras foram solubilizadas em metanol e foi utilizada para as leituras a concentração analítica de 1 mg para 25 ml de metanol.

Os espectros no IV foram obtidos a partir de pastilhas de KBr em equipamento FT-IR PERKIN-ELMER modelo Spectrum frontier.

O processamento dos espectros de UV/VIS e IV obtidos foi realizado com o auxílio do programa Origin (versão 8.0).

#### 4.6 Inibição da enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase

Os ensaios de inibição dos compostos para as enzimas acetilcolinesterase humana (AChE<sub>hu</sub>) e de *electrophorus electricus* (AChE<sub>ee</sub>), bem como para a enzima

butirilcolinesterase humana (BChE<sub>hu</sub>), foi realizada no laboratório de Cromatografia de Bioafinidade e Produtos Naturais da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, em colaboração com a Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carmen Lúcia Cardoso. Com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), número do processo PROEM 2014/50299-5 a partir do qual foram adquiridos os recursos para a aquisição dos instrumentos analíticos utilizados.

#### 4.6.1 Instrumentação

Foi utilizado um sistema de cromatografia líquida modelo Nexera XR equipado com duas bombas de alta pressão modelo LC-20ADXR, uma bomba modelo LC-20AD, câmara de mistura modelo MR180uLII (volume interno de 180 uL), degaseificador de membrana (on-line) modelo DGU-20A3R, um auto injetor modelo SIL-20A, um detector de ultravioleta com comprimento de onda variável modelo SPDM20A, forno de colunas modelo CTO-20A e uma interface SHIMADZU CBM-20A. O equipamento foi acoplado a um espectrômetro de massas Bruker modelo *Amazon Speed* com fonte de *ions electrospray*, duplo funil de íons e analisador do tipo Ion Trap controlado pelo *software* Compass 1.7.

#### 4.6.2 Informações da amostra

As soluções estoques de cada amostra foram preparados solubilizando o conteúdo de cada Eppendorf em 1mL de metanol P.A. A solubilização de cada solução estoque foi auxiliada por maceração em banho de ultrassom por 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente, cada solução foi centrifugada por 5min a 10.000 rpm. Soluções de trabalho (1mM) foram posteriormente preparadas em metanol.

#### 4.6.3 Ensaio de inibição pontual com enzimas imobilizadas

As amostras foram submetidas ao ensaio de inibição para as enzimas AChE<sub>hu</sub> e AChE<sub>ee</sub>, bem como para a enzima BChE<sub>hu</sub>.

Para este ensaio foram utilizadas as enzimas AChE<sub>hu</sub> (recombinante humana), a de peixe elétrico (AChE<sub>ee</sub>) e a BChE<sub>hu</sub> (soro humano) imobilizadas covalentemente em capilar de sílica fundida (30 cm x 0,375mm x 100 µm d.i.) sendo nominadas com

reator capilar com enzima imobilizada (RCEI), RCEI-AChE<sub>hu</sub>, RCEI-AChE<sub>ee</sub> e RCEI-BChE<sub>hu</sub>, respectivamente.

Os RCEI-AChE<sub>hu</sub>, RCEI-AChE<sub>ee</sub> e RCEI-BChE<sub>hu</sub> foram utilizados como biorreatores enzimáticos acoplados individualmente entre um instrumento de cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a um espectrômetro de massas (CLAE-EM) formando um sistema *on-flow* para a realização de ensaios de screening de inibidores enzimáticos. Neste sistema a reação enzimática é monitorada pela quantificação direta do produto de hidrólise enzimática *m/z* 104, sendo verificado utilizando a Galantamina como inibidor padrão.

A triagem de inibição pontual foi conduzida da seguinte forma:

- Fase móvel: solução de acetato de amônio 15 mM, pH 8,0
- Vazão de 0,05 mL.min<sup>-1</sup>
- Volume de injeção: 10 µL da solução contendo 70 µM de ACh e 100 µM do composto candidato a inibidor
- Inibidor padrão utilizado: Galantamina (100 µM)

A partir de cada solução estoque de cada um dos compostos (1 mM) são alíquotas 10 µL (100 µM concentração final) e adicionados 20 µL da solução estoque de ACh, 350 µM (70 µM concentração final) e 70 µL da solução de acetato de amônio 15 mM, pH 8,0. O volume final do meio reacional foi de 100 µL. As soluções foram preparadas em duplicatas e alíquotas de 10 µL foram injetadas no sistema de cromatografia líquida com detecção ultravioleta, contendo separadamente os RCEI-AChE<sub>hu</sub>, RCEI-AChE<sub>ee</sub> e RCEI-BChE<sub>hu</sub>.

Entre a análise de cada amostra é realizado um controle positivo, que consiste na avaliação da atividade enzimática sem o composto candidato a inibidor, sendo o meio reacional constituído por 70 µL da solução de acetato de amônio 15 mM, pH 8,0, 20 µL da solução de ACh, e 10 µL do solvente de solubilização dos compostos (metanol).

Posteriormente ao ensaio de cada amostra é realizado um controle negativo, que consiste da avaliação de um branco de cada composto na presença do substrato da enzima, porém utilizando um reator sem a enzima imobilizada. Esse ensaio é realizado para avaliar a interferência do composto no auto hidrólise do substrato.

Os percentuais de inibição foram obtidos comparando-se a área da atividade da enzima na presença do inibidor ( $P_i$ ) com a área da atividade da enzima na ausência de inibidor ( $P_0$ ), de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ de inibição} = \left[ 1 - \frac{P_i - S_b}{P_0 - S_b} \right] \times 100$$

onde  $S_b$  representa a área da colina resultante da hidrólise espontânea do substrato, para esse controle um capilar vazio foi utilizado.

## **4.7 Avaliação da atividade antioxidante *in vitro***

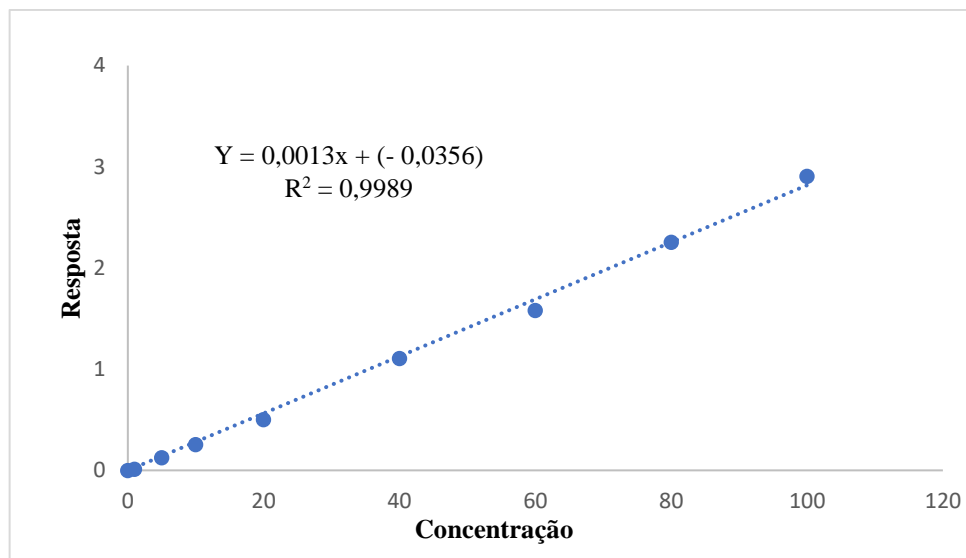
### **4.7.1 Determinação da capacidade de captação do radical DPPH por espectroscopia de absorção na região do UV/Vís**

O teste de eliminação de radicais livres dos derivados  $\beta$ -cetoindóis foi realizado conforme sugerido por Hu et al. (2008) e Sivakumar, Prabhakar, Doble (2011) com algumas modificações. Foi pesado 2 mg de cada composto e estes foram diluídos em 5 ml de metanol (Solução padrão), após foi adicionado 150 microlitros de Dimetilformamida (DMF).

A partir da solução padrão, foi utilizada diferentes concentrações (50, 100, 150, 200 e 250  $\mu\text{M}$ ), foi levado em consideração a massa molar de cada composto para cada alíquota que foram solubilizadas em 5 ml de metanol. Foi empregada microplacas de 96 poços para realização do teste em triplicata, foi misturada 100  $\mu\text{L}$  das amostras nas cinco diferentes concentrações com 200  $\mu\text{L}$  (proporção de 2:1) de DPPH (0,1 mmol) preparado com metanol.

Em seguida, incubou-se em ambiente com ausência de luz durante 30 minutos e depois a absorbância foi medida em um espectrômetro com capacidade de leitura de 96 poços com comprimento de onda de 517 nm. Para verificar a redução de DPPH foi empregada a curva de calibração (Figura 22), após foi realizado o cálculo para obtenção do percentual de redução de cada composto.

**Figura 22** - Curva padrão empregada na técnica de UV-Vís.



Fonte: O autor (2018).

#### 4.7.2 Determinação da capacidade antioxidante por RPE

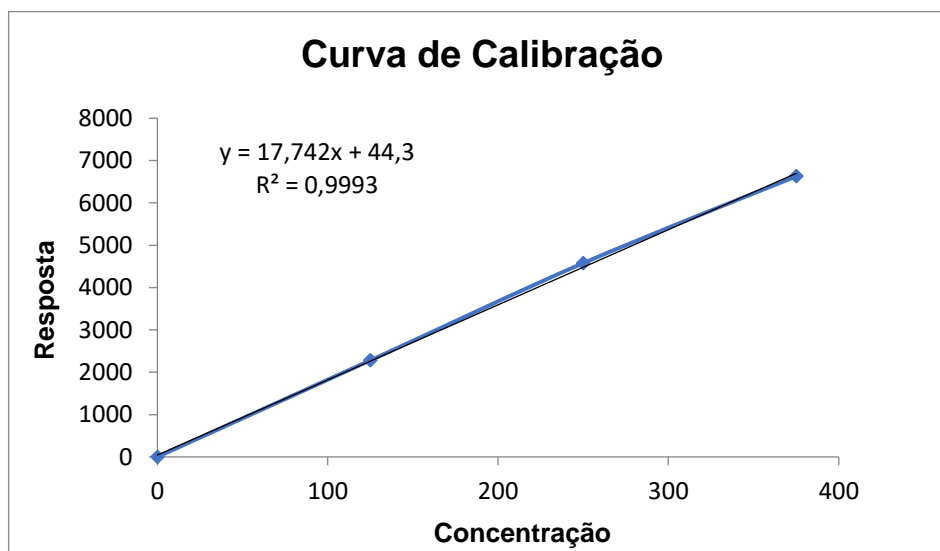
A avaliação da atividade antioxidante por RPE dos derivados  $\beta$ -cetoindóis, foi realizada no Laboratório de Ressonância Paramagnética Eletrônica da Universidade de Brasília, em colaboração com o Prof. Dr. Paulo Eduardo Narcizo de Souza.

A atividade de eliminação de DPPH por RPE foi realizado conforme Sivakumar, Prabhakar, Doble (2011). Foram utilizadas cinco diferentes concentrações das amostras em triplicata, como no item anterior. Foi utilizado 100  $\mu$ L de amostra solubilizada em metanol misturada com 200  $\mu$ L (proporção de 2:1) de DPPH (0,1 mmol), que foram acondicionados em eppendorf, após foram incubados na ausência de luz por 1 hora e congelados em nitrogênio líquido. A leitura foi realizada no espectrômetro de RPE, com o empregado de capilares com capacidade de 50  $\mu$ L da BLAUBRAND® intraMark.

As leituras por RPE foram registradas através da utilização do Espectrômetro Bruker EMX plus, operado em banda x (9,4 GHz, com cavidade de alta sensibilidade 4119 HS, com largura de varredura de 100 G, tempo de varredura de 5 s, campo de modulação de 100 KHz, potência de 0,6 mW, as medidas foram realizadas em temperatura ambiente.

Para verificar a redução de DPPH foi empregada a curva de calibração (Figura 23), após foi realizado o cálculo para obtenção do percentual de redução de cada composto.

**Figura 23** - Curva padrão empregada no experimento de EPR.



Fonte: O autor (2018).

### 4.7.3 Técnica de VPD

A avaliação da atividade antioxidante por VPD dos derivados  $\beta$ -cetoindóis, foi realizada no laboratório de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, em colaboração com o Prof. Dr. Eric de Souza Gil.

Todos os experimentos foram feitos em estado sólido, ou seja, os compostos foram imobilizados por oclusão em pasta de carbono (5 mg de composto, 70 mg de grafite (Sigma) e 30 mg de óleo mineral/nujo, amplitude de pulso de 50 mV, velocidade efetiva de 10 mV/s. Potenciostato micro autolab, *The Netherlands*. Eletrodo de referência Ag/AgCl/KCl sat, eletrodo auxiliar de espiral de platina com célula de 2 mL em tampão fosfato 0,1 M, pH 7.

O processamento dos resultados obtidos foi realizado com o auxílio do programa Origin (versão 8.0).

## **4.8 Análise estatística**

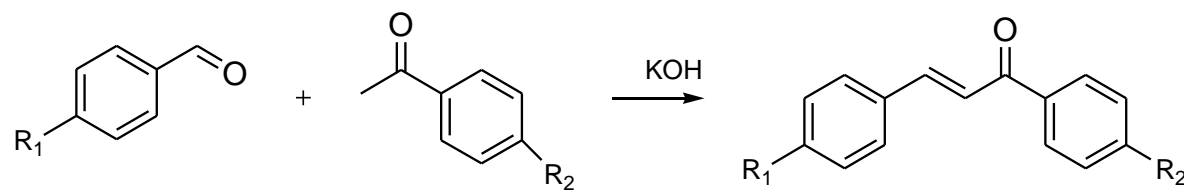
Para determinar as diferenças significativas entre as médias foi empregada a análise de variância (ANOVA) pelo teste de Tukey, através do programa GraphPad Prism 5.01. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativamente diferentes.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Síntese das chalconas

A combinação de benzaldeídos e acetofenonas com diferentes padrões de substituição em quantidades equimolares, possibilitou a formação das respectivas chalconas com alto rendimento e grau de pureza (tabela 2).

**Tabela 2** - Percentuais de rendimento das chalconas.



Composto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Faixa de fusão (°C)	Rendimento (%)
<b>1a</b>	H	OCH <sub>3</sub>	78-80	94
<b>1b</b>	OCH <sub>3</sub>	H	112-114	95
<b>1c</b>	H	H	49-51	92
<b>1d</b>	Br	H	115-117	98
<b>1e</b>	Br	OCH <sub>3</sub>	156-158	70
<b>1f</b>	F	OCH <sub>3</sub>	110-112	98

Os compostos **1d** e **1f** tiveram rendimentos de 98%, estes se destacaram dentre as demais, o primeiro tinha substituinte bromo em R<sub>2</sub> e o segundo metoxila em R<sub>1</sub> e flúor em R<sub>2</sub>. O rendimento dos demais compostos variaram entre 70 a 95%.

As chalconas sintetizadas foram usadas em reações posteriores para a obtenção dos derivados  $\beta$ -cetoindoís.

### 5.2 Síntese de derivados $\beta$ -cetoindoís

Os derivados  $\beta$ -cetoindoís foram obtidos através da condensação entre chalconas e indol ou 1-metilindol, através da reação de Michael catalisada por ácido. Muitos métodos já foram descritos na literatura para preparação destes compostos, tais como o uso de sílica impregnada com ácido sulfúrico, Sml<sub>3</sub>, CuBr<sub>2</sub>, BiCl<sub>3</sub>, etc (XU

et al., 2009). Entretanto estes métodos envolvem o uso de condições fortemente ácidas, baixo rendimento na formação dos produtos, quantidade estequiométrica de catalisadores e manipulação complexa.

Na tentativa de desenvolver um método assistido por micro-ondas, inicialmente, a adição de Michael entre chalcona **1a** e indol foi realizado em diferentes condições na presença de diferentes catalisadores. Todas reações foram realizadas em 5 min. Sob aquecimento de micro-ondas. As condições empregadas são descritas na tabela 3.

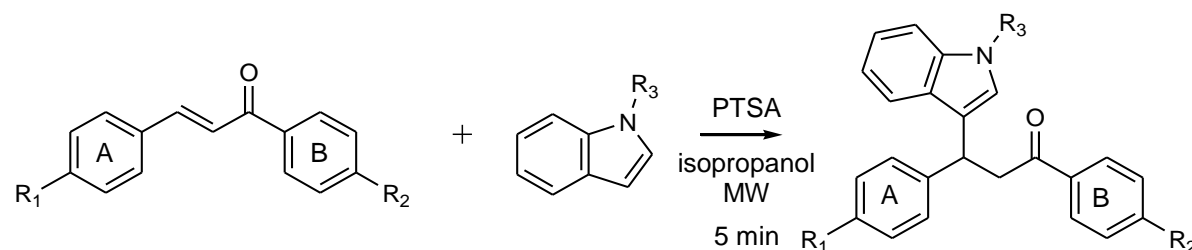
**Tabela 3** - Tentativa para desenvolver um método assistido por micro-ondas.

Teste	solvente	catalisador	temperatura (°C)	potência (W)	Rendimento (%)
1	H <sub>2</sub> O	-	180	300	10
2	EtOH	BF <sub>3</sub> .OEt <sub>2</sub>	90	250	-
3	EtOH	InCl <sub>3</sub>	90	250	-
4	EtOH	SOCl <sub>2</sub>	90	250	12
5	EtOH	PTSA	90	250	66
6	<i>i</i> PrOH	PTSA	90	250	84
7	<i>i</i> PrOH	PTSA	110	250	88

Inicialmente a reação foi realizada na ausência de catalisador com aquecimento do meio reacional próximo a temperatura crítica da água 296° C, nestas condições a água pode ter características de solventes orgânico além de ter a sua acidez aumentada, sob esta condição foi obtida conversão de 10% (KREMSNER; KAPPE, 2005). As reações catalisadas por BF<sub>3</sub>, OEt<sub>2</sub> e InCl<sub>3</sub> a 90°C, 250 W de potência por 5 min., não foram observadas a formação do produto de adição, o uso de PTSA sob as mesmas condições levou a obtenção de 66% de rendimento, sob as mesmas condições, mas quando foi utilizado isopropanol como solvente foi obtido 84% de rendimento, o aumento da temperatura para 110°C levou a obtenção de rendimento de 88%.

Desta forma, a adição de Michael de indol e N-metilindol as chalconas **1a-1f**, foi explorada sob as condições otimizadas na presença de PTSA. Os resultados encontram-se sumarizados na tabela 4. As reações foram realizadas em condições brandas para produzir os correspondentes produtos alquilados na posição 3, sem a formação de produtos de N-alkilação. Os compostos **3b**, **3i** e **3l** sintetizados são inéditas, com base no banco de dado *Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)* e na literatura pesquisada.

**Tabela 4** - Percentual de rendimento dos derivados  $\beta$ -cetoindois.



Composto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Faixa de fusão (°C)	Rendimento (%)
<b>3a</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	168-170	93
<b>3b</b>	H	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	152-154	87
<b>3c</b>	OCH <sub>3</sub>	H	H	130-132	92
<b>3d</b>	OCH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	125-127	97
<b>3e</b>	H	H	H	102-104	72
<b>3f</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	174-176	93
<b>3g</b>	Br	H	H	149-151	96
<b>3h</b>	Br	H	CH <sub>3</sub>	142-144	88
<b>3i</b>	Br	OCH <sub>3</sub>	H	212-214	96
<b>3j</b>	Br	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	222-224	88
<b>3k</b>	F	OCH <sub>3</sub>	H	130-132	86
<b>3l</b>	F	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	149-151	72

As reações realizadas com o derivado indólico (R=H) levou sempre a formação do produto de adição com maiores rendimentos, produtos isolados, quando comparados aos respectivos produtos da reação com o derivado indólico R=CH<sub>3</sub>, entretanto todas reações apresentaram altas taxas de conversão, a diminuição do rendimento pode ser atribuída a solubilidade dos produtos metilados no solvente

utilizado. Tanto que foi necessário o uso de acetonitrila como solvente para síntese do composto **3l**.

### 5.3 Inibição da enzima acetilcolinesterase e butirilcolinesterase

A avaliação da inibição anticolinesterásica foi realizada pela técnica de cromatografia de afinidade seletiva, embora a maioria descrita na literatura são realizadas por técnicas colorimétricas (reagente de Ellman) (MANJUNATHA et al., 2017). A utilização de biorreator enzimático acoplado a cromatografia fornece resultados precisos e rápidos, e os compostos podem ser solubilizados em solvente orgânicos (VANZOLINI et al., 2013; VILELA et al., 2018).

#### 5.3.1 Inibição da enzima AChE<sub>ee</sub>

A capacidade dos derivados  $\beta$ -cetoindois de inibir a enzima AChE<sub>ee</sub> foram testados. Os resultados obtidos com os compostos **3a-3l** na concentração de 100 $\mu$ M foram compilados na tabela na tabela 5.

**Tabela 5** - Porcentagem de inibição dos derivados  $\beta$ -cetoindois sobre a AChE<sub>ee</sub>.

Composto	% inibição RCEI-AChE <sub>ee</sub>	<sup>2</sup> EPM RCEI-AChE <sub>ee</sub>
Galantamina <sup>1</sup>	87,4	2,2
<b>3a</b>	14,7	1,6
<b>3b</b>	39,1	2,2
<b>3c</b>	40,6	3,2
<b>3d</b>	17,7	1,9
<b>3e</b>	29,9	0,0
<b>3f</b>	21,2	1,7
<b>3g</b>	41,0	2,0
<b>3h</b>	22,6	2,2
<b>3i</b>	26,2	0,8
<b>3j</b>	34,7	1,9
<b>3k</b>	42,4	0,0
<b>3l</b>	37,7	4,6

<sup>1</sup>Inibidor padrão de AChE (100  $\mu$ M); <sup>2</sup> Erro padrão da média

Os compostos **3a** (14,7%) e **3c** (40,6%) possuem apenas a modificação do substituinte metoxila no anel A e B, o que interferiu diretamente no percentual de inibição da AChE<sub>ee</sub>.

Os compostos **3c**, **3g** e **3k** possuem em comum o mesmo substituinte em **R<sub>3</sub>**. Estes tiveram melhor capacidade de inibir a enzima AChE<sub>ee</sub>, com percentuais de 40,6; 41,0 e 42,4% respectivamente.

Todos os compostos testados tiveram a capacidade de inibir a AChE<sub>ee</sub> que é uma técnica capaz de demonstrar a inibição de forma geral. Para verificar a capacidade de inibição de cada composto sintetizado em condições mais específicas as condições da fisiologia humana, através do teste de inibição da AChE<sub>hu</sub> e BChE<sub>hu</sub> (VILELA et al., 2018).

A inibição de ambas as enzimas por um fármaco pode se tornar preferível no tratamento da DA, ambas as estratégias buscam conter a progressão do dano tecidual e auxiliar na sobrevivência neurológica (WANG et al., 2017). Quando o composto é capaz de inibir ambas as enzimas podem se tornar promissora no tratamento da DA, pois eleva ainda mais a neurotransmissão colinérgica (NG; OR; IP, 2015).

### 5.3.2 Inibição das enzimas AChE<sub>hu</sub> e BChE<sub>hu</sub>

O padrão utilizado para a avaliação da inibição das enzimas AChE<sub>hu</sub> e BChE<sub>hu</sub> foi a Galantamina. Os resultados de inibição anticolinesterásica dos derivados indólicos estão descritos na **tabela 6**.

**Tabela 6** - Percentuais de inibição dos derivados β-cetoindóis sobre a AChE<sub>hu</sub> e BChE<sub>hu</sub>.

Compostos	% inibição ± EPM <sup>2</sup>	% inibição ± EPM <sup>2</sup>
	RCEI-AChE <sub>hu</sub>	RCEI-BChE <sub>hu</sub>
<b>Galantamina</b> <sup>1</sup>	94,8 ± 0,3	73,2 ± 0,6
<b>3a</b>	0,0	7,3 ± 2,3
<b>3b</b>	0,0	32,9 ± 2,9
<b>3c</b>	0,0	8,7 ± 0,4
<b>3d</b>	0,0	16,2 ± 1,2
<b>3e</b>	5,2 ± 4,1	32,7 ± 1,8

Compostos	% inibição $\pm$ EPM <sup>2</sup>	% inibição $\pm$ EPM <sup>2</sup>
	RCEI-AChE <sub>hu</sub>	RCEI-BChE <sub>hu</sub>
<b>3f</b>	0,0	8,7 $\pm$ 3,7
<b>3g</b>	15,5 $\pm$ 0,0	7,5 $\pm$ 0,0
<b>3h</b>	13,2 $\pm$ 5,5	5,0 $\pm$ 0,6
<b>3i</b>	9,2 $\pm$ 0,6	6,2 $\pm$ 1,8
<b>3j</b>	8,9 $\pm$ 3,1	7,1 $\pm$ 1,3
<b>3k</b>	15,6 $\pm$ 0,0	6,1 $\pm$ 2,0
<b>3l</b>	19,4 $\pm$ 1,2	15,8 $\pm$ 4,8

<sup>1</sup> Inibidor padrão de AChE e BChE; <sup>2</sup> Erro padrão da média

Os compostos **3e**, **3g**, **3h**, **3i**, **3j**, **3k** e **3l** apresentaram a capacidade de inibir a AChE<sub>hu</sub>, apresentam em sua estrutura substituintes halogenados (Br ou F), com exceção do **3e**.

As modificações estruturais interferem na atividade inibitória da AChE (SUKUMARAN et al., 2016). Os substituintes halogenados (Br ou F) demonstram maior atividade em relação aos demais substituintes. Desta forma, os compostos **3i**, **3j**, **3k** e **3l** que apresentam substituintes halogenados (Br e F) promoveram a inibição da AChE<sub>hu</sub> quando comparado aos compostos **3a**, **3b**, **3c**, **3d** ausentes destes substituintes.

Os maiores percentuais de inibição da AChE<sub>hu</sub> foram apresentados pelos compostos **3k** (15,6%) e **3l** (19,4%), ambos possuem substituintes semelhantes nos anéis A e B.

O composto **3g** também se destacou, com substituinte bromo na posição para no anel A, apresentou inibição de 15,5% da AChE<sub>hu</sub>.

Todos os compostos (**3a-3l**) inibiram a BChE<sub>hu</sub>. Os maiores percentuais de inibição da BChE<sub>hu</sub> foram apresentados pelos compostos **3b** (32,9%) e **3l** (32,7%), que não possuem substituintes no anel A.

O composto **3b** e **3d** possuem apenas a inversão dos substituintes no anel A e B, com capacidade de inibição da BChE<sub>hu</sub> de 32,9% e 16,2% respectivamente, o que demonstra que a modificação do substituinte nos anéis pode interferir na capacidade de inibição da enzima no teste realizado.

Os compostos **3a**, **3b**, **3c** e **3d** inibiram a BChE<sub>hu</sub>, ambos possuem o substituinte metoxila no anel A ou B. Os grupos doadores de elétrons possuem melhor capacidade de inibir a BChE<sub>hu</sub> (CAVALLARO et al., 2018).

Os resultados obtidos demonstraram que os compostos testados tiveram melhor capacidade de inibir a enzima BChE<sub>hu</sub> do que AChE<sub>hu</sub>. Na DA a enzima BChE tem um aumento de atividade, a sua inibição é considerada uma importante estratégia para ser empregada no tratamento (BBRIEL et al., 2017).

No entanto, os compostos que apresentaram ausência de atividade (**3a-3d** e **3f**) contra AChE<sub>hu</sub>, não devem ser ignorados, podem ser úteis em futuros testes, com a inserção de novos substituintes ou a troca de posição em que se encontra os substituintes nos anéis A ou B. A posição em que se encontra os substituintes, provavelmente fazem que os mesmos não consigam interagir com o sitio ativo das enzimas. A maioria dos compostos testados demonstraram atividade anticolinesterásica em pelo menos em uma das enzimas, a partir dos resultados obtidos com esse estudo. Além disso, a remoção das enonas das chalconas proporciona a diminuição da toxicidade dos derivados  $\beta$ -cetoindois (RAHIM et al., 2015).

Os testes foram realizados com o emprego de uma técnica considera mais sensível e confiável. Permite que os compostos sejam solubilizados em solventes orgânicos, Além disso, a atividade anticolinesterásica utilizando a CLAE, diferentemente de outras técnicas, como acontece com o teste de Ellman, neste teste calorimétrico a solubilidade dos compostos é um fator limitante e pode ter interferências nos resultados obtidos, como falso-positivo (VILELA et al., 2018; ELLMAN et al, 1961).

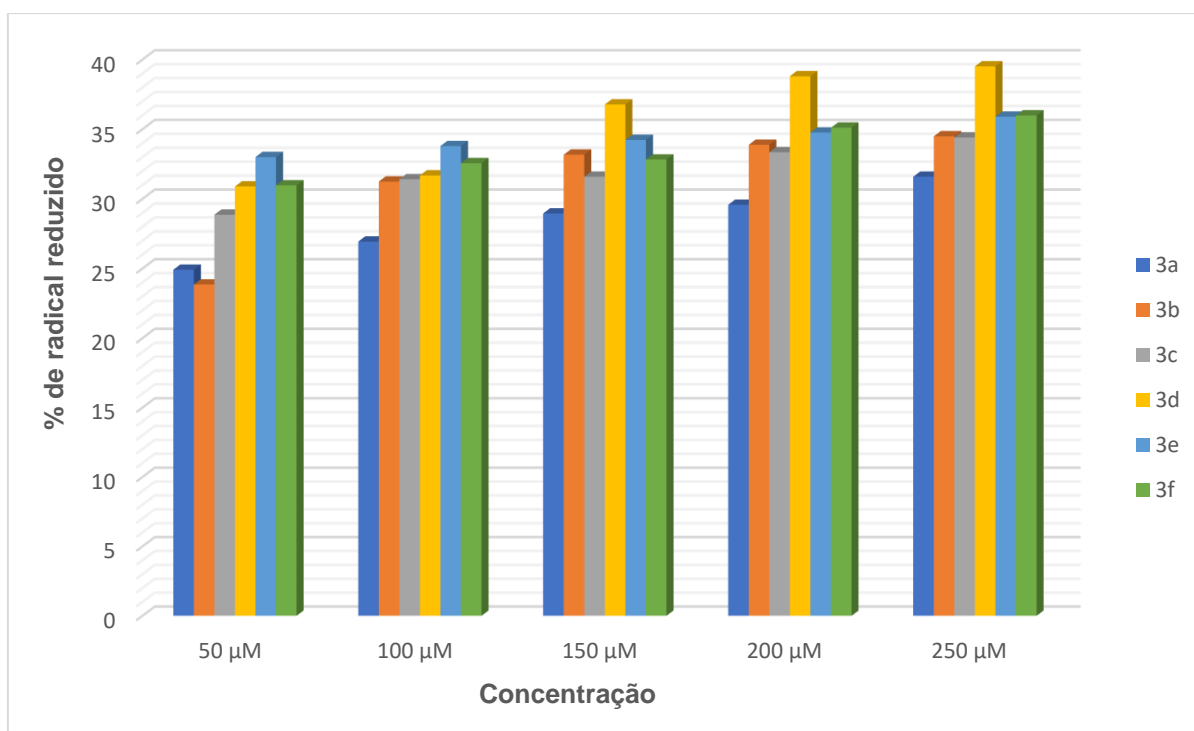
#### **5.4 Atividade antioxidante**

Foi realizada a avaliação da atividade antioxidante dos derivados  $\beta$ -cetoindois utilizando mais de um método. O estudo realizado por diferentes técnicas garante uma avaliação fidedigna dos resultados obtidos com os testes (TERPINC et al., 2012).

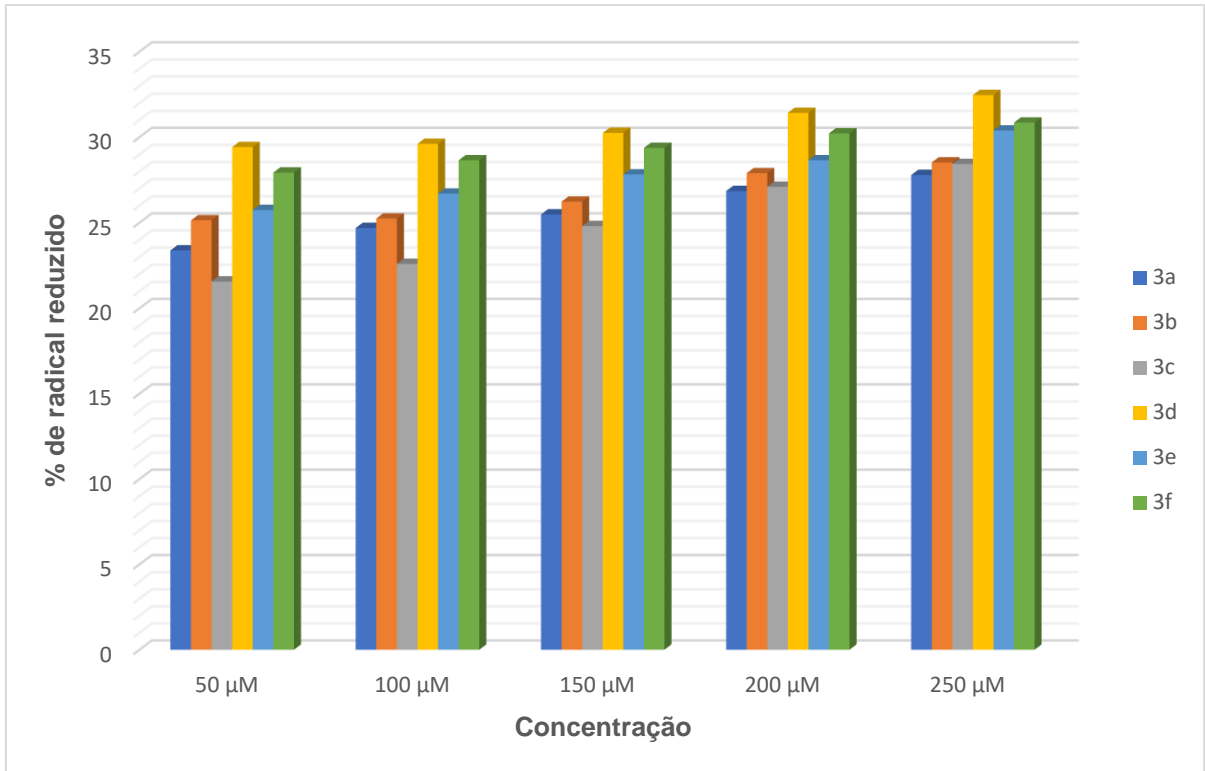
### 5.4.1 Técnica de espectroscopia de absorção na região do UV/Vis e espectroscopia de RPE

Foram preparadas concentrações crescentes (50, 100, 150, 200, 250  $\mu\text{M}$ ) de solução metanólica dos derivados indólicos pelo método de captação do radical DPPH pela análise espectroscópica de absorção na região do UV-Vis e espectroscopia de RPE. Os resultados da avaliação antioxidante dos derivados indólicos estão compilados nos gráficos 1-4 (Anexo- página 160).

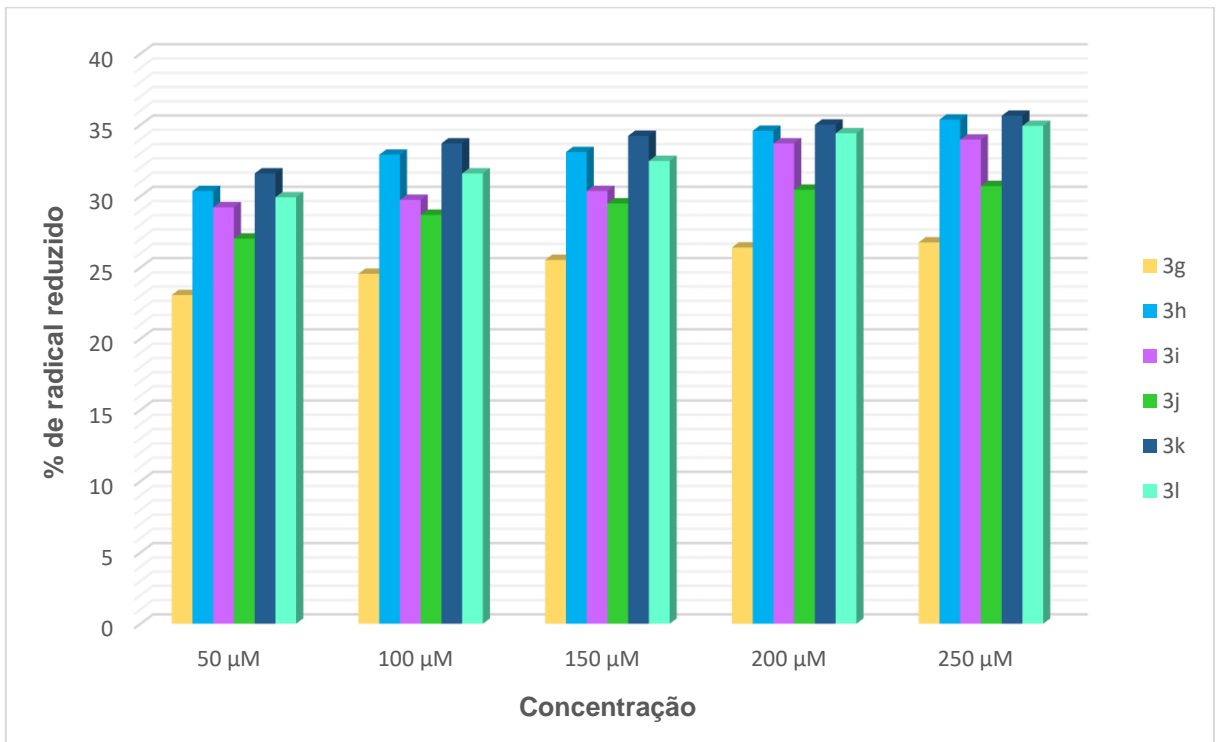
**Gráfico 1** - Atividade antioxidante dos compostos **3a-3f** realizada por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.



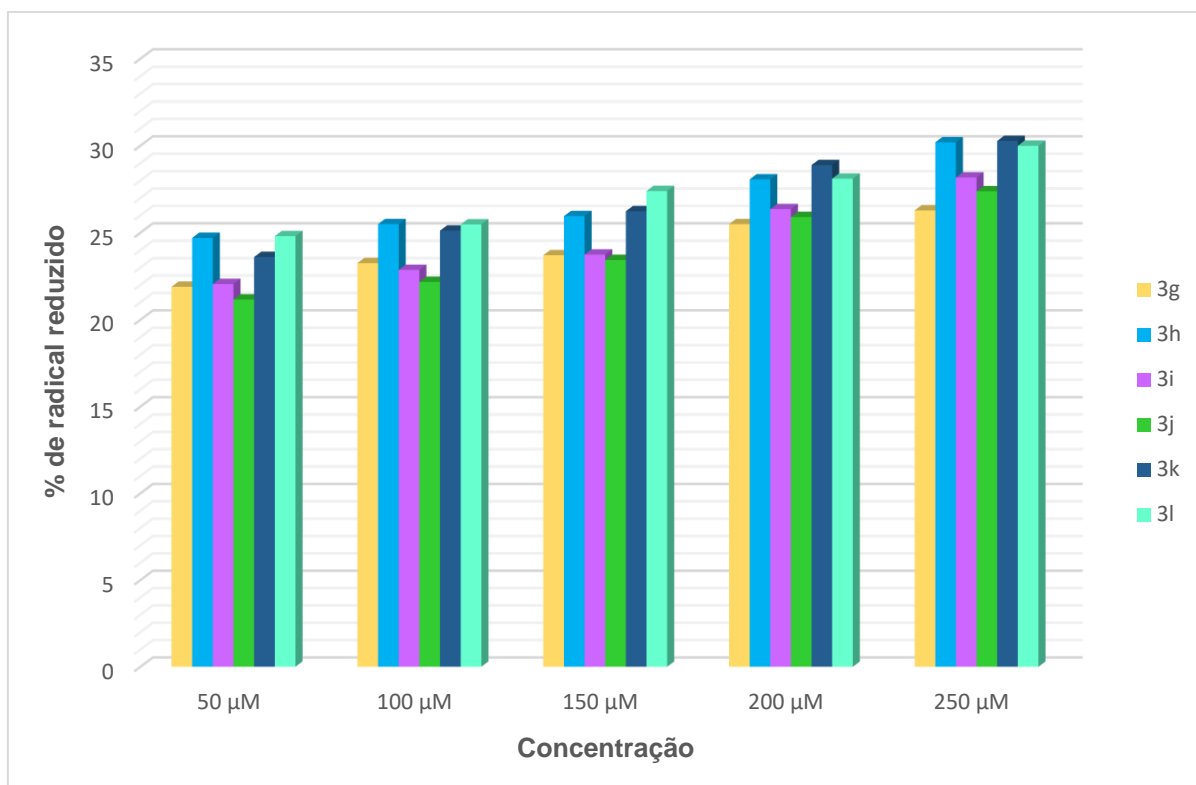
**Gráfico 2** - Atividade antioxidante dos compostos **3a-3f** realizada por espectroscopia de RPE.



**Gráfico 3** - Atividade antioxidante dos compostos **3g-3l** realizada por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.



**Gráfico 4** - Atividade antioxidante dos compostos **3g-3l** realizada por espectroscopia de RPE.



Como observado nos gráficos acima, a atividade antioxidante dos derivados indólicos apresentaram uma relação de concentração dependente. Os resultados obtidos nos testes de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e RPE em diferentes concentrações foram proporcionais, ambas as técnicas se baseiam na captura do radical DPPH.

Os compostos **3e** e **3f** destacaram entre os demais nos dois testes, ambos não possuem substituintes nos anéis A e B. O seu potencial antioxidante pode ser justificado pelos elétrons disponíveis no anel aromático. O indol é relatado na literatura como o centro reativo para espécies de radicais, a reatividade tem sido atribuída com a sua alta capacidade de estabilizar por ressonância, gerando uma barreira de energia, considerada pequena para as reações radicalares (ESTEVÃO et al., 2010).

As moléculas estudas podem neutralizar os radicais livres aceitando ou doando elétrons, diversos antioxidantes possuem em sua estrutura anel aromático, como dos derivados indólicos sintetizados, que são capazes de deslocar o elétron não emparelhado (LÜ et al., 2010).

Os dados obtidos pelos métodos espectroscópicos (UV-Vis e RPE) se mostram eficientes para avaliação da atividade antioxidante pelo método do radical DPPH, que se mostraram excelente ferramenta para desenvolver uma relação entre a estrutura e atividade. O emprego da técnica de espectroscopia de RPE foi justificável pela sua maior sensibilidade e menor interferência, quando comparado ao UV/Vis. Apesar da técnica de RPE ser considerada um método “padrão ouro” para a detecção da inibição de radicais em sistemas químicos, biológicos e médicos, esse serviu para validar os resultados obtidos com a técnica de espectroscopia de absorção na região do UV/Vis (DAVIES, 2016).

#### 5.4.3 Técnica de VPD

A avaliação da atividade antioxidante por VPD se baseia na eletrólise do composto testado, a partir da formação de picos de oxidação. O valor do E é considerado o primeiro parâmetro para classificação do potencial antioxidante dos compostos. Os antioxidantes endógenos apresentam E em torno de 0,45-0,5V, como o ácido ascórbico e tocoferol. As moléculas que oxidam abaixo de 0,5V tendem a reduzir os antioxidantes endógenos (JADON et al., 2017; WATANABE et al., 2014).

Os compostos que apresentaram o primeiro pico de oxidação de  $E < 0,5$  foi realizado o cálculo do índice eletroquímico (IE) (Determinado pela equação na página 39), que é o segundo parâmetro para classificação dos compostos quanto a sua atividade antioxidante (LINO et al., 2014). Os voltagramas dos derivados indólicos estão inseridos nas páginas 154-159. Os valores do E e IE dos compostos **3a-3f** estão descritos na tabela 7.

**Tabela 7** - Valores do potencial anódico e índice eletroquímico.

Composto	E (V)	IE ( $\mu\text{A/V}$ )
<b>3a</b>	0,07	5,30
<b>3b</b>	0,06	140,23
<b>3c</b>	0,02	5,59
<b>3d</b>	0,08	13,75
<b>3e</b>	0,23	24,94
<b>3f</b>	0,20	44,71

Composto	E (V)	IE ( $\mu$ A/V)
<b>3g</b>	0,62	-
<b>3h</b>	0,25	6,38
<b>3i</b>	0,18	13,61
<b>3j</b>	0,02	22,10
<b>3k</b>	0,20	17,29
<b>3l</b>	0,90	-

O composto **3b** foi o que apresentou maior IE, visto que quanto maior o resultado desse cálculo maior é a atividade antioxidante, seguido pelos compostos **3f, 3e, 3j, 3k, 3d, 3i, 3h, 3c e 3a**, respectivamente.

Neste teste era desejável que os compostos tivessem picos de oxidação  $<0,5$  para ser considerado com potencial antioxidante. O organismo humano consegue atingir correntes até  $0,5V$ ; desta forma compostos que possuem picos  $<0,5V$  são considerados capazes de atuarem contra o dano oxidativo provocado pelos radicais livres (OLIVEIRA-NETO et al., 2016; WATANABE et al., 2014; JADON et al., 2017).

Os compostos **3g** e **3l** apresentam picos  $>0,5V$  no teste, o que significa que as substâncias apresentaram perfil antioxidante fraco. Todos os compostos apresentaram eletroatividade.

Os compostos analisados por VPD não tiveram uma correlação com os demais testes antioxidantes. Os desvios dos resultados obtidos com o emprego da técnica de espectroscopia de absorção na região UV/Vís e espectroscopia de RPE são relacionadas as diferenças nos princípios de cada método. A VPD é uma técnica capaz de demonstrar não somente o potencial redox de um composto, mas os elétrons envolvidos, influência de prótons, entre outros, considera uma técnica mais sensível que as espectroscópicas (LINO et al.; 2014; OLIVEIRA-NETO et al., 2017).

## 6 CONCLUSÃO

Foi possível estabelecer um novo método, mais eficiente e mais ecologicamente sustentável para síntese dos derivados  $\beta$ -cetoindois;

Foram sintetizados **12** diferentes derivados  $\beta$ -cetoindois (**3a-3l**), a partir da reação com **6** diferentes chalconas (**1a-1f**) com indol ou 1-metilindol, com rendimentos satisfatórios. Os compostos sintetizados foram identificados por RMN, CG e IV;

Os compostos sintetizados (**3a-3l**) apresentaram a capacidade de inibir a AChE<sub>ee</sub> e a BChE<sub>hu</sub>, e sete dos compostos (**3e**, **3g-3l**) inibiram a AChE<sub>hu</sub>. A utilização de biorreator enzimático acoplado entre um instrumento de CLAE-EM, demonstra maior sensibilidade e confiabilidade;

Houve uma correlação com os resultados obtidos dos compostos (**3a-3l**) no teste do radical DPPH por espectroscopia de absorção na região do UV-Vis e RPE (Tabela 8);

Todos os derivados indólicos com exceção do **3g** e **3l** apresentaram o primeiro pico de oxidação  $E < 0,5V$ , podendo ser enquadrados como potenciais antioxidantes endógenos, o mais promissor foi o composto **3b** pelo maior valor no cálculo do IE verificado por VPD;

Dessa forma, através do presente estudo, foi observado que a maioria dos compostos podem ser considerados futuros protótipos para terapêutica da DA por apresentarem atividade anticolinesterásica e antioxidante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZHEIMER'S ASSOCIATION. **La progresión a través del cerebro**, 2017.

ANWAR, J.; SHAFIQUE, U.; ZAMAN, W.; REHMAN, R.; SALMAN, M.; DAR, A.; ANZANO, J. M.; ASHRAF, U.; ASHRAF, S. Microwave chemistry : Effect of ions on dielectric heating in microwave ovens. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 100–104, 2015.

ARANDA-ABREU, G. E.; HERNÁNDEZ-AGUIAR, M. E.; HERRERA-RIVERO, M.; GARCIA-HERNÁNDEZ, L. I. Drugs for Alzheimer's. **Journal of Addiction Research & Therapy**, v. 5, p. 1–6, 2011.

ARAÚJO, C. R. M.; SANTOS, V. L. A.; GONSALVES, A. A. Acetilcolinesterase - AChE: uma enzima de interesse farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818-1834, 2016.

ASSOCIATION, A. Alzheimer ' s Association Report 2014 Alzheimer ' s disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 10, p. 47–92, 2014.

ATANASOVA, M.; STAVRAKOV, G.; PHILIPOVA, I.; ZHELEVA, D.; YORDANOV, N.; DOYTCHINOVA, I. Galantamine derivatives with indole moiety: Docking, design, synthesis and acetylcholinesterase inhibitory activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 17, p. 5382–5389, 2015.

ATTARDE, M.; VORA, A.; VARGHESE, A.; KACHWALA, Y. Synthesis and evaluation of chalcone derivatives for its alpha amylase inhibitory activity. **Organic Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 192-204, 2014.

AYATI, A.; EMAMI, S.; ASADIPOUR, A.; SHAFIEE, A.; FOROUMADI, A. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 699–718, 2015.

BAJDA, M.; LATKA, K.; HEBDA, M.; JONCZYK, J.; MALAWSKA, B. Novel carbamate derivatives as selective butyrylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, Available online, p. 1-26, 2018.

BARAGE, S. H.; SONAWANE, K. D. Neuropeptides Amyloid cascade hypothesis : Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. **Neuropeptides**, v. 52, p. 1–18, 2015.

BARAKAT, A.; ISLAM, M. S.; KARAM, M. A.; AL-OTHAM, Z. A. Highly anantioselective FriedeleCrafts alkylation of indoles with  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketones with simple Cu(II)eoxazolineeimidazoline catalysts. **Tetrahedron**, v. 69, p. 5185-5192, 2013.

BATOVSKA, D. I.; TODOROVA, I. T. Trends in utilization of the pharmacological potential of chalconas. **Current Clinical Pharmacology**, v. 5, n. 1, p. 1-29, 2010.

BEUKEAW, D.; UDOMSASPORN, K.; YOTPHAN, S. Iodine-catalyzed oxidative cross coupling of indoles and azoles: regioselective synthesis of N-linked 2-(azol-1-yl) indole derivatives. **Journal of Organic Chemistry**, v. 80, p. 3447-3454, 2015.

BHALE, P. S.; CHAVAN, H. V.; DONGARE, S. B.; SHRINGARE, S. N.; MULE, Y. B.; NAGANE, S. S.; BANDGAR, B. P. Synthesis of extended conjugated indolyl chalcones as potent anti-breast cancer, anti-inflammatory and antioxidant agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, p. 1502-1507, 2017.

BONO, G. F.; SIMÃO-SILVA, D. P.; BATISTELA, M. S.; JOSVIK, N. D.; DIAS, P. F. R.; NASCIMENTO, G. A.; SOUZA, R. L. R.; PIOVEZAN, M. R.; SOUZA, R. K.M.; FURTADP-ALLE, L. Butyrylcholinesterase: K variant, plasma activity, molecular forms and rivastigmine treatment in Alzheimer's disease in a Southern Brazilian population. **Neurochemistry International**, v. 81, p. 57-62, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CAVALLARO, V.; MOGLIE, Y. F.; MURRAY, A. P.; RADIVOY, G. E. Alkynyl and ketophosphonates: Selective and potent butyrylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 77, p. 420-428, 2018.

CEM. **Discover SP - microwave synthesizer**, 2018.

CHADHA, N.; SILAKARI, O. European Journal of Medicinal Chemistry Indoles as therapeutics of interest in medicinal chemistry: Bird's eye view. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 134, p. 159-184, 2017.

CHEN, R.; CHANG, W.; LIN, Y.; CHENG, P.; CHEN, Y. Alzheimer's Amyloid- $\beta$  Oligomers Rescue Cellular Prion Protein Induced Tau Reduction via Fyn Pathways. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 4, n. 9, p. 1287-1296, 2013.

CHEN, W. W.; ZHANG, X.; HUANG, W. J. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). **Molecular Medicine Reports**, v. 13, n. 4, p. 3391-3396, 2016.

CHIESA, M.; GIAMELLO, E. **Electron Spin Resonance Spectroscopy**. John Wiley & Sons, p. 1-34, 2013.

COLOVIC, M. B.; KRSTIC, D. Z.; LAZAREVIC-PASTI, T. D.; BONDZIC, A. M.; VASIC, V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current Neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p. 315-335, 2013.

CRAIG, L. A.; HONG, N. S.; MCDONALD, R. J. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 35, n. 6, p. 1397-1409, 2011.

CRUZ J. A. J.; HERNÁNDEZ, B. Rivastigmine as treatment for patients with mild to moderately severe Alzheimer disease under normal clinical practice conditions. The

ENTERPRISE study. **Neurologia (Barcelona, Spain)**, v. 29, n. xx, p. 1–10, 2013.

CRYSTAL, H. A.; SCHNEIDER, J. A.; BENNET, D. A.; LEURGANS, S.; LEVINE, S. R. Associations of Cerebrovascular and Alzheimer's Disease Pathology with Brain Atrophy. **Current Alzheimer Research**, v. 11, n. 4, p. 309–316, 2014.

DAS, B. C.; BHOWMIK, D.; CHAUDHURI, S. Microwave System. **The Pharma Innovation**, v. 1, n. 6, p. 1–17, 2012.

DAVIES, M. J. Detection and characterization of radicals using electron paramagnetic resonance (EPR) spin trapping and related methods. **Methods**, v. 109, p. 21-30, 2016.

DÍAZ-TIELAS, C.; GRANA, E.; REIGOSA, M. J.; SANCHEZ-MOREIRAS, A. M. Atividades Biológicas e Novas Aplicações das Chalconas. **Planta Daninha**, v. 34, n. 3, p. 607–616, 2016.

DOAN, S. H.; NGUYEN, K. D.; HUYNH, P. T.; NGUYEN, T. T.; PHAN, N. T. S. Direct C-C coupling of indoles with alkylamides via oxidative C-H functionalization using Fe<sub>3</sub>O(BDC)<sub>3</sub> as a productive heterogeneous catalyst. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. v. 423, p. 433-440, 2016.

ECKROAT, T. J.; MAYHOUB, A. S.; GARNEAU-TSODIKOVA, S. Amyloid-β probes: review of structure-activity and brain-kinetics relationships. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 9, p. 1012-1044, 2013.

ELLMAN, G. L.; LOURTNEY, D. K.; ANDRES, V.; GMELIN, G. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**. v. 7, p. 88–95, 1961.

ESTEVIÃO, M. S.; CARVALHO, C. L.; RIBEIRO, D.; COUTO, D.; FREITAS, M.; GOMES, A.; FERREIRA, L. M.; FERNANDES, E.; MARQUES, M. B. Antioxidant activity of unexplored indole derivatives: Synthesis and screening. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 4869-4878, 2010.

FARGHALY, A. A. H. Synthesis of some new indole derivatives containing pyrazoles with potential antitumor activity. **Arkivoc**, v. 2010, n. 11, p. 177-187, 2010.

FENG, Y.; WANG, X. Antioxidant Therapies for Alzheimer's Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 1-17, 2012.

FERREIRA, R. Q.; GRECO, S. J.; DELARMELENA, M.; WEBER, K. C. Electrochemical quantification of the structure/antioxidant activity relationship of flavonoids. **Electrochimica Acta**, v. 163, p. 161-166, 2015.

FISHER, A. Cholinergic modulation of amyloid precursor protein processing with emphasis on M1 muscarinic receptor: perspectives and challenges in treatment of Alzheimer's disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 120, suppl. 1, p. 22-33, 2012.

- BBRIEL, A. J.; ALMEIDA, M. R.; RIBEIRO, M. H.; DURÂES, J.; TÁBUAS-PEREIRA, M.; PINHEIRO, A. C.; PASCOAL, R.; SANTANA, I.; BALDEIRAS, I. Association between butyrylcholinesterase and cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease patients. **Neuroscience Letters**, v. 641, p. 101-106, 2017.
- GARCIA, E. J.; OLDONI, T. L. C.; ALENCAR, S. M.; REIS, A. LOGUERCIO, A. D.; GRANDE, R. H. M. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. **Braslian Dental Journal**, v. 23, n. 1, p. 22-27, 2012.
- GABA, M.; DHINGRA, N. Microwave Chemistry : General Features and Applications. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 45, n. 2, p. 175–183, 2011.
- GARCIA-AYLLÓN, M. S.; SMALL, D. H. AVILA, J.; SAEZ-VALENO, J. Revisiting the role of acetylcholinesterase in Alzheimer ' s disease : cross-talk with P-tau and  $\beta$  - amyloid. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 4, n. September, p. 1–9, 2011.
- GREENLUND, K. J.; KEENAN, N. L.; CLAYTON, P. F.; PANDEY, D. K.; HONG, Y. Public health options for improving cardiovascular health among older americans. **American Journal of Public Health**, v. 102, n. 8, p. 1498–1507, 2012.
- GROZAV, A.; PORUMB, I.; GĂINĂ, L. I.; FILIP, L. Cytotoxicity and antioxidante potential of novel 2-(2-((1H-indol-5yl)methylene)-hydrazinyl)-thiazole derivatives. **Molecules**, v. 22, n. 260, p-1-12, 2017.
- GUPTA, A. K.; KALPANA, S.; MALIK, J. K. Synthesis and in vitro antioxidante activity of new 3-substituted-2-oxindole derivatives. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, n. 5, p. 481-486, 2012.
- GUPTA, V. K.; JAIN, R.; RADHAPYARI, K.; JADON, N.; AGARWAL, S. Voltammetric techniques for the assay of pharmaceuticals- a review. **Analytical Biochemistry**, v. 408, p. 179-196, 2011.
- HAMID, H. A.; RAMLI, A. N. M.; YUSOFF, M. M. Indole Alkaloids from Plants as Potential Leads for Antidepressant Drugs : A Mini Review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, n. February, p. 1–7, 2017.
- HANGUN-BALKIR, Y.; MCKENNEY, M. L. Determination of antioxidant activities of berries and resveratrol. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 5, n. 2, p. 147-153, 2012.
- HE, W.; LIU, Y.; WAMER, W. G.; YIN, J. Electron spin resonance spectroscopy for the study of nanomaterial-mediated generation of reactive oxygen species. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 22, n. 1, p. 49-63, 2014.
- HONG-QI, Y.; ZHI-KUN, S.; SHENG-DI, C. Current advances in the treatment of Alzheimer's disease: focused on considerations targeting  $A\beta$  and tau. **Translational neurodegeneration**, v. 1, n. 1, p. 21, 2012.

HU, C.; LIN, J.; LU, F.; CHOU, F.; YANG, D. Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 439-446, 2008.

HUANG, W.; ZHANG, X.; CHEN, W. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. **Biomedical Reports**, v. 4, n. 5, p. 519-522, 2016.

HUGHES, J. P.; REES, S.; KALINDJIAN, S. B.; PHILPOTT, K. L. Principles of early drug discovery. **British Journal of Pharmacology**, v. 162, n. 6, p. 1239–1249, 2011.

INDU, T. H.; RAJA, D.; MANJUNATHA, B.; PONNUSANKAR, S. Can Galantamine Act as an Antidote for Organophosphate Poisoning? A Review. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, n. 4, p. 428–435, 2016.

ISHTIQ, S.; AHMAD, M.; HANIF, U.; AKBAR, S.; MEHJABEEN; KAMRAN, S. H. Phytochemical and in vitro antioxidant evaluation of different fractions of *amaranthus graecizans* subsp. *silvestris* (Vill.) brenan. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, n. 1, p. 5342-5347, 2014.

JABEEN, E.; JANJUA, N. K.; AHMED, S.; MURTAZA, I.; ALI, T.; HAMEED, S. Radical scavenging propensity of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  complexes of flavonoids and in vivo radical scavenging by  $\text{Fe}^{3+}$ -primuletin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 171, p. 432-438, 2017.

JADHAV, S. A.; MANE, D. V.; SHINDE, D. B.; PARDESHI, R. K. Manganese chloride catalysed synthesis of 3-(1H-indol-3yl)-1,3-diphenylpropan-1-ones in water under microwave irradiation method. **Heterocyclic Letters**, v. 6, n. 2, p. 283-288, 2016.

JADON, N.; JAIN, R.; ARIBAM, N. G.; CHAUHAN, P. Review- monitoring of endogenous antioxidants: an electroanalytical approach. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 164, n. 4, p. 266-277, 2017.

JIOUIA, I.; DÂNOUNA, K.; SOLHYC, A.; JOUIADD, M.; ZAHOUILYA, M.; ESSAIDE, B.; LENF, C.; FIIHRI, A. Modified fluorapatite as highly efficient catalyst for the synthesis of chalcones via Claisen–Schmidt condensation reaction. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 39, n. 25, p. 218-225, 2016.

JUICING FOR HEALTH. **An easy-to-understand guide of antioxidants**, 2017.

KANDA, A. M.; OLIVEIRA, E. F.; FRAGA, F. J. EEG epochs with less alpha rhythm improve discrimination of mild alzheimer's. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 128, p. 12-22, 2017.

KANG, T. S.; GEORGIEVA, D.; GENOV, N.; MURAKAMI, M. T.; SINHA, M.; KUMAR, R. P.; KAUR, P.; KUMAR, S.; DEY, S.; SHARMA, S.; VRIELINK, A.; BETZEL, C.; TAKEDA, S.; ARNI, R. K.; SINGH, T. P. KINI, R. M. Enzymatic toxins from snake venom: Structural characterization and mechanism of catalysis. **FEBS Journal**, v. 278, n. 23, p. 4544–4576, 2011.

KARTHIKEYAN, S. V.; PERUMAL, S.; SHETTY, K. A.; YOGESHWARI, P.; SRIRAM, D. A microwave-assisted facile regioselective Fischer indole synthesis and antitubercular evaluation of novel 2-aryl-3,4-dihydro-2H-thieno[3,2-b]indoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, p. 3006-3009, 2009.

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.

KEFFOUS, F.; BELBOUKHARI, N.; SEKKOUM, K.; DJERADI, H.; CHERITI, A.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Determination of the antioxidant activity of limoniastrum feei aqueous extract by chemical and electrochemical methods. **Cogent Chemistry**, v. 2, p. 1-11, 2016.

KHABAZZADEH, H.; KERMANY, E. T.; EGHBALI, M. Cs<sub>2.5</sub>H<sub>0.5</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>-catalyzed conjugate addition of indole to  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated ketones. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. 659-662, 2016.

KHAKSAR, S.; VAHDAT, S. M.; REZAEI, F. Highly effective and regioselective Michael addition of indoles to  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated ketones promoted by pentafluorophenylammonium triflate. **Comptes Rendus Chimie**, v. 16, n. 2, p. 144-147, 2013.

KOHNO, M. Applications of electron spin resonance spectrometry for reactive oxygen species and reactive nitrogen species research. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 47, n. 1, p. 1-11, 2010.

KOROLEV, I. Alzheimer's Disease: A Clinical and Basic Science Review. **Medical Student Research Journal**, v. 4, n. Fall, p. 24-33, 2014.

KRACMAROVA, A.; SRTINOVA, L.; POHANKA, M. Possibility of acetylcholinesterase overexpression in Alzheimer disease patients after therapy with acetylcholinesterase inhibitors. **Acta Medica**, v. 58, n. 2, p. 37-42, 2015.

KREMSNER, J. M.; KAPPE, C. O. Microwave-assisted organic synthesis in near critical water at 300 °C – a proof-of-concept study. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2005, n. 17, p. 3672- 3679, 2005.

KULKARNI, P. V. ALHASAN M.; CHIGURU, S.; ARORA, V.; SLAVINE, N.; HAO, G.; SUN, X.; ANTICH, P.; BONTE, F. J. Early detection of amyloid plaques in mouse models of Alzheimer's Disease by PET with 18F-hydroxy quinolone. **Journal of Clinical Neurology**, v. 2, n. 8, p. 1-7, 2015.

LAGO, J. H. G.; TOLEDO-ARRUDA, A. C.; MERNAK, M.; BARROSA, K. H.; MARTINS, M. A.; TIBÉRIO, I. F. L. C.; PREDO, C. M. Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3570-3595, 2014.

LINO, F. M. A.; SÁ, A. L. Z.; TORRES, I. M. S.; ROCHA, M. L.; DINIS, T. C. P.; GHEDINI, P. C.; SOMERSET, V. S.; GIL, E. S. Voltammetric and spectrometric

determination of antioxidant capacity of selected wines, **Electrochimica Acta**, v. 128, p. 25–31, 2014.

LOMBARDO, S.; MASKOS, U. Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. **Neuropharmacology**, v. 96, n. PB, p. 255–262, 2015.

LÜ, J.; LIN, P. H.; YAO, Q.; CHEN, C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. v. 14, n. 4, p. 840-860, 2010.

NG, Y. P.; OR, T. C. T.; IP, N. Y. Plant alkaloids as drug leads for Alzheimer's disease. **Neurochemistry International**, v. 89, p. 260-270, 2015

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 5, p. 27986–28006, 2015.

MAHDI-POUR, B.; JOTHY, S. L.; LATHA, L. Y.; CHEN, Y.; SASIDHARAN, S. Antioxidant activity of methanol extracts of different parts of Lantana camara. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 12, p. 960-965, 2012.

MANDAL, A. **Que causa a demência?** News Medical, 2017.

MANJUNATHA, K. S.; MANU, C. P.; SATYANARAYAN, N. D.; VINAY, K. N.; VINEETHA, M. S; SUNIL M. S. Acetylcholinesterase inhibitory effect of 3-(1h-indol-3-yl)-1, 3-diphenylpropan-1-one derivatives. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 10, n. 8, p. 83-86, 2017.

MARIÑO, P, A.; PEREIRA, D. B.; SANTI, G.; SOUZA, R. O.; FAORO, D.; OLIVEIRA, L. F.; MACHADO, M. M.; PAULA, F. R. In vitro and in silico toxicity evaluation of bioactive 4'-aminochalcone derivatives. **Drug and Chemical Toxicology**, p. 1-6, 2015.

MATTA, C. F. Modeling biophysical and biological properties from the characteristics of the molecular electron density, electron localization and delocalization matrices, and the electrostatic potential. **Journal of Computational Chemistry**, v. 35, n. 16, p. 1165–1198, 2017.

MECOSSI, P.; POLIDORI, M. C. Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1822, n. 5, p. 631-638, 2012.

MEHTA, M.; ADEM, A.; SABBAGH, M. New Acetylcholinesterase Inhibitors for Alzheimer ' s Disease. **2 International Journal of Alzheimer's Disease**, v. 2012, p. 1–8, 2012.

MOHANDAS, E.; RAJMOHAN, V.; RAGHUNATH, B. Neurobiology of Alzheimer ' s disease. **Indian Journal Psychiatry**, v. 51, n. 1, p. 55–61, 2017.

MORALES, G.; PAREDES, A. Antioxidant activities of Lampaya medicinalis extracts

and their main chemical constituents. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 259, p. 1-12, 2014.

MÜLLER, U.; WINTER, P.; GRAEBER, M. B. A presenilin 1 mutation in the first case of Alzheimer's disease: Revisited. **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 2, p. 129–130, 2013.

MUNIYANDI, K.; GEORGE, E.; MUDILI, V.; KALAGATUR, N. K.; ANTHUVAN, A. J.; KRISHNA, K.; THANGARAJ, P.; NATARAJAN, G. Antioxidant and anticancer activities of *Plectranthus stocksii* Hook. f. leaf and stem extracts. **Agriculture and Natural Resources**, v. 51, n. 2, p. 63-73, 2017.

MURPHY, M. P.; III, H. L. Alzheimer's Disease and the  $\beta$ -Amyloid Peptide. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 19, n. 1, p. 1–17, 2010.

NEUGROSCHL, J.; WANG, S. Alzheimer's Disease: Diagnosis and Treatment Across the Spectrum of Disease Severity. **Mount Sinai Journal of Medicine**, v. 78, n. 4, p. 596–612, 2012.

OLCZYK, P.; KOMOSINSKA-VASSEV, K.; RAMOS, P.; MENCNER, L.; OLCZYK, K.; PILAWA, B. Application of electron paramagnetic resonance spectroscopy for examination of free radical scavenging properties of insulin analogs. **Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research**, v. 72, n. 6, p. 1133-1140, 2015.

OLIVEIRA-NETO, J. R.; REZENDE, S. G.; LOBÓN, G. S.; GARCIA, T. A.; MACEDO, I. Y. L.; GARCIA, L. F.; ALVES, V. F.; TORRES, I. M. S.; SANTIAGO, M. F.; SCHMIDT, F.; GIL, E. S. Electroanalysis and laccase-based biosensor on the determination of phenolic content and antioxidant power of honey samples. **Food Chemistry**, v. 237, p. 1118-1123, 2017.

OLIVEIRA-NETO, J. R.; REZENDE, S. G.; REIS, C. F.; BENJAMIN, S. R.; ROCHA, M. L.; GIL, E. S. Electrochemical behavior and determination of major phenolic antioxidants in selected coffee samples. **Food Chemistry**, v. 190, p. 506-512, 2016.

PADURARIU, M.; CIOBICA, A.; LEFTER, R.; SERBAN, I. L.; STEFANESCU, C.; CHIRITA, R. The oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. **Psychiatria Danubina**, v. 25, n. 4, p. 401-409, 2013.

PAREEK, A.; RANI, P.; KUMAR, N.; SHARMA, P.; KISHORE, D. An efficient synthesis and applications of chalcones in organic synthesis. **International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 19–24, 2013.

PATEL, R. N.; PATEL, P. V. Synthesis on study of novel chalcone derivatives and their antimicrobial activity. **Pelagia Research Library 1492**, v. 2, n. 5, p. 1492–1496, 2012.

PICCIOTTO, M. R.; HIGLEY, M. J.; MINEUR, Y. S. NIH Public Access. **Neuron.**, v. 76, n. 1, p. 116–129, 2013.

POHANKA, M. Inhibitors of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase meet

immunity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 6, p. 9809–9825, 2014.

PUNDIR, C. S.; CHAUHAN, N. Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: A review. **Analytical Biochemistry**, v. 429, n. 1, p. 19–31, 2012.

RAHIM, F.; JAVED, M. T.; ULLAH, H.; TAHA, M.; SHRAF, M.; AIN, Q.; KHAN, F.; MIRZA, S.; KHAN, K. M. Synthesis, molecular docking, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory potential of thiazole analogs as new inhibitors for Alzheimer disease. **Bioorganic Chemistry**, v. 62, p. 106-116, 2015.

RAJAM, S.; STELLA, C. R. P.; DILEEPAN, B. A. G.; RANJITH, R. Review Article The chemistry and biological significance of imidazole , benzimidazole , benzoxazole , tetrazole and quinazolinone nucleus. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 5, p. 505–526, 2016.

RANA, S.; CHAWLA, R.; KUMAR, R.; SINGH, S.; ZHELEVA, A.; DIMITROVA, Y.; GADJEVA, V.; ARORA, R.; SULTANA, S.; SHARMA, R. K. Electron paramagnetic resonance spectroscopy in radiation research: current status and perspectives. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 2, n. 2, p. 80-87, 2010.

RAVICHANDRAN, S.; KARTHIKEYAN, E. Microwave synthesis - a potential tool for green chemistry. **International Journal of ChemTech Research**, v. 3, n. 1, p. 466-470, 2011.

RAY, P. D.; HUANG, B.; TSUJI, Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. **Cell Signal**, v. 24, n. 5, p. 981-990, 2012.

SABRY, S. M.; BELAL, T. S.; BARARY, M. H.; IBRAHIM, M. E. A. Spectrophotometric, spectrofluorimetric and voltammetric analyses of naftidrofuryl oxalate in its tablets. **International Journal of Biomedical Science**, v. 5, n. 3, p. 283-292, 2009.

SARIAN, M. N.; AHMED, Q. U.; SO'AD, S. Z. M.; ALHASSAN, A. M.; MURUGESU, S.; PERUMAL, V.; MOHAMAD, S. N. A. S.; KHATIB, A.; LATIP, J. Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoids: a structure-activity relationship based study. **Biomed Research International**, v. 2017, p. 1-14, 2017.

SCETTRI, A.; VILLANO, R.; ACOCELLA, M. R. Asymmetric friedel-crafts alkylation of indole with chalcones catalyzed by chiral phosphoric acids. **Molecules**, v. 14, n. 8, p. 3030–3036, 2009.

SERRANO-POZO, A.; FROSCH, M. P.; MASLIAH, E.; HYMAN, B. T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 1, n. 1, p. 1–23, 2011.

SHAH, J. J.; MOHANRAJ, K. Comparison of Conventional and Microwave-assisted Synthesis of Benzotriazole Derivatives. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 76, n. 1, p. 46–53, 2017.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P., MENTZ, L. A. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2004.

SIVAKUMAR, P. M.; PRABHAKAR, P. K.; DUBLE, M. Synthesis, antioxidante evaluation, and quantitative structure-activity relationship studies os chalcones. **Medicinal Chemistry Research**, v. 20, p. 482-492, 2011.

SOCHOR, J.; DOBES, J.; KRYSTOFOVA, O.; RUTTKAY-NEDECKY, B.; BABULA, P.; POHANKA, M.; JURIKOVA, T.; ZITKA, O.; ADAM, V.; KLEJDUS, B.; KIZEK, R. Electrochemistry as a tool for studying antioxidant properties. **International Journal of Electrochemical Science**, v. o, p. 8464-8489, 2013.

SRIVASTAVA, Y. K. Ecofriendly microwave assisted synthesis of some chalconas. **Rasayan Journal of Chemistry**., v. 1, n.4, p. 884-886, 2008.

SUKUMARAN, S. D.; CHEE, C. F.; VISWANATHAN, G.; BUCKLE, M. J. C.; OTHMAN, R.; RAHMAN, N. A.; CHUNG, L. Y. Synthesis biological evaluation and molecular modelling of 2'-hydroxychalcones as acetylcholinesterase inhibitors. **Molecules**, v. 91, n. 955, p. 1-10, 2016.

SUN, W.; MENG, X.; LIANG, L.; JIANG, W.; HUANG, Y.; HE, J.; HU, H.; ALMQVIST, J.; GAO, X.; WANG, L. Molecular and Biochemical Analysis of Chalcone Synthase from *Freesia* hybrid in Flavonoid Biosynthetic Pathway. **PLOS ONE**, v. 5, p. 1–18, 2015.

TABER, D. F.; TIRUNAHARI, P. K. Indole synthesis: a review and proposed classification Douglass. **Tetrahedron**, v. 67, n. 38, p. 7195–7210, 2014.

TARAWNEH, R.; HOLTZMAN, D. M. The Clinical Problem of Symptomatic Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment. **Cold Spring Harbor Perspectives Medicine**, v. 2, p. 1–16, 2012.

TERPINC, P.; CEH, B.; ULRIH, N. P.; ABRAMOVI, H. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 39, p. 210 – 217, 2012.

TIAN, Y.; LIIMATAINEN, J.; ALANNE, A.; LINDSTEDT, A.; LIU, P.; SINKKONEN, J.; KALLIO, H.; YANG, B. Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. **Food Chemistry**, v. 220, p. 266-281, 2017.

VANZOLINI, K. L.; VIEIRA, L. C. C.; CORRÊA, A. G.; CARDOSO, C. L.; CASS, Q. B. Acetylcholinesterase immobilized capillary ractors-tandem mass spectrometry: na on-flow tool for ligand screening. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, p. 2038-2044, 2013.

VENTURELLI, S.; BURKARD, M.; BIENDL, M.; LAUER, U.M.; FRANK, J.; BUSCH, C. Prenylated chalcones and flavonoids for the prevention and treatment of cancer. **Nutrition**, v. 32, p. 1171-1178, 2016.

VILELA, A. F. L.; SEIDL, C.; LIMA, J. M.; CARDOSO, C. L. An improved immobilized enzyme reactor-mass spectrometry-based label free assay for butyrylcholinesterase ligand screening. **Analytical Biochemistry**, v. 549, p. 53-57, 2018.

XU, R.; DING, J. C.; CHEN, X. A.; LIU, M. C.; WU, H. Y. Gallium trichloride-catalyzed conjugate addition of indole and pyrrole to  $\alpha, \beta$ -unsaturated ketones in aqueous media. **Chinese Chemical Letters**, v. 20, p. 676-679, 2009.

WANG, L.; WANG, Y.; TIAN, Y.; SHANG, J.; SUN, X.; CHEN, H.; WANG, H.; TAN, W. Design, synthesis, biological evaluation, and molecular modeling studies of chalcone-rivastigmine hybrids as cholinesterase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 360-371, 2017.

WATANABE, H.; VELMURUGAN, J.; MIRKIN, M. V.; SVIRSKY, M. A.; LALWANI, A. K.; LLINAS, R.R. Scanning electrochemical microscopy as a novel proximity sensor for atraumatic cochlear implant insertion. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 61, n. 6, p. 1822-1832, 2014.

WOJTUNIK-KULESZA, K. A.; ONISZCZUK, A.; ONISZCZUK, T.; WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M. The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 78, p. 39-49, 2016.

YAN, J.; CHEN, J.; ZHANG, S.; HU, J.; HUANG, L.; LI, X. Synthesis, evaluation, and mechanism study of novel indole-chalcone derivatives exerting effective antitumor activity through microtubule destabilization in vitro and in vivo. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 11, p. 5264-5283, 2016.

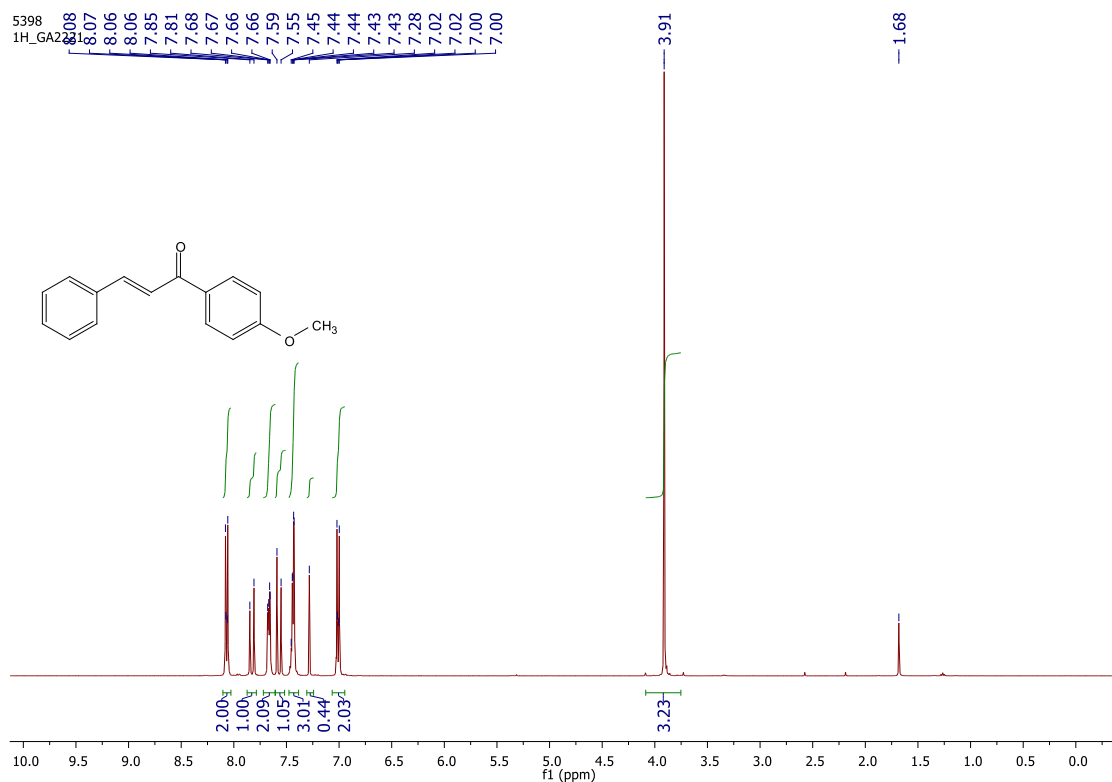
YAZDAN, S. K.; SAGAR, D. V.; SHAIK, A. B. Organic & Medicinal Chemistry Chemical and Biological Potentials of Chalcones : A Review. **Organic & Medicinal Chemistry International Journal 2'**, v. 1, n. 1, p. 1-9, 2015.

YU, C. J.; LIU, C. J. Conjugate addition of indoles to  $\alpha, \beta$ -unsaturated ketones using a bronsted acid ionic liquid as an efficient catalyst. **Molecules**, v. 14, p. 3222-3228, 2009.

YU, D.; XU, F.; ZENG, J.; ZHAN, J. Type III polyketide synthases in natural product biosynthesis. **IUBMB Life**, v. 64, n. 4, p. 285-295, 2012.

## **ANEXOS**

**Figura 24** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**1a**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 25** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**1a**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

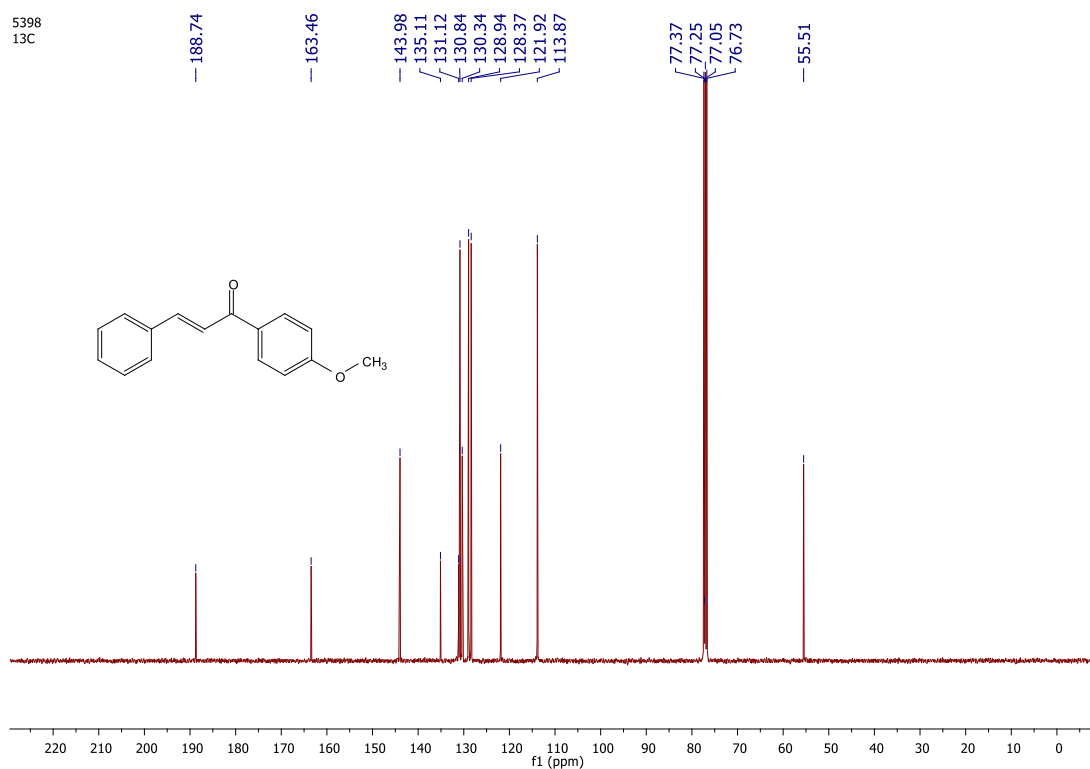
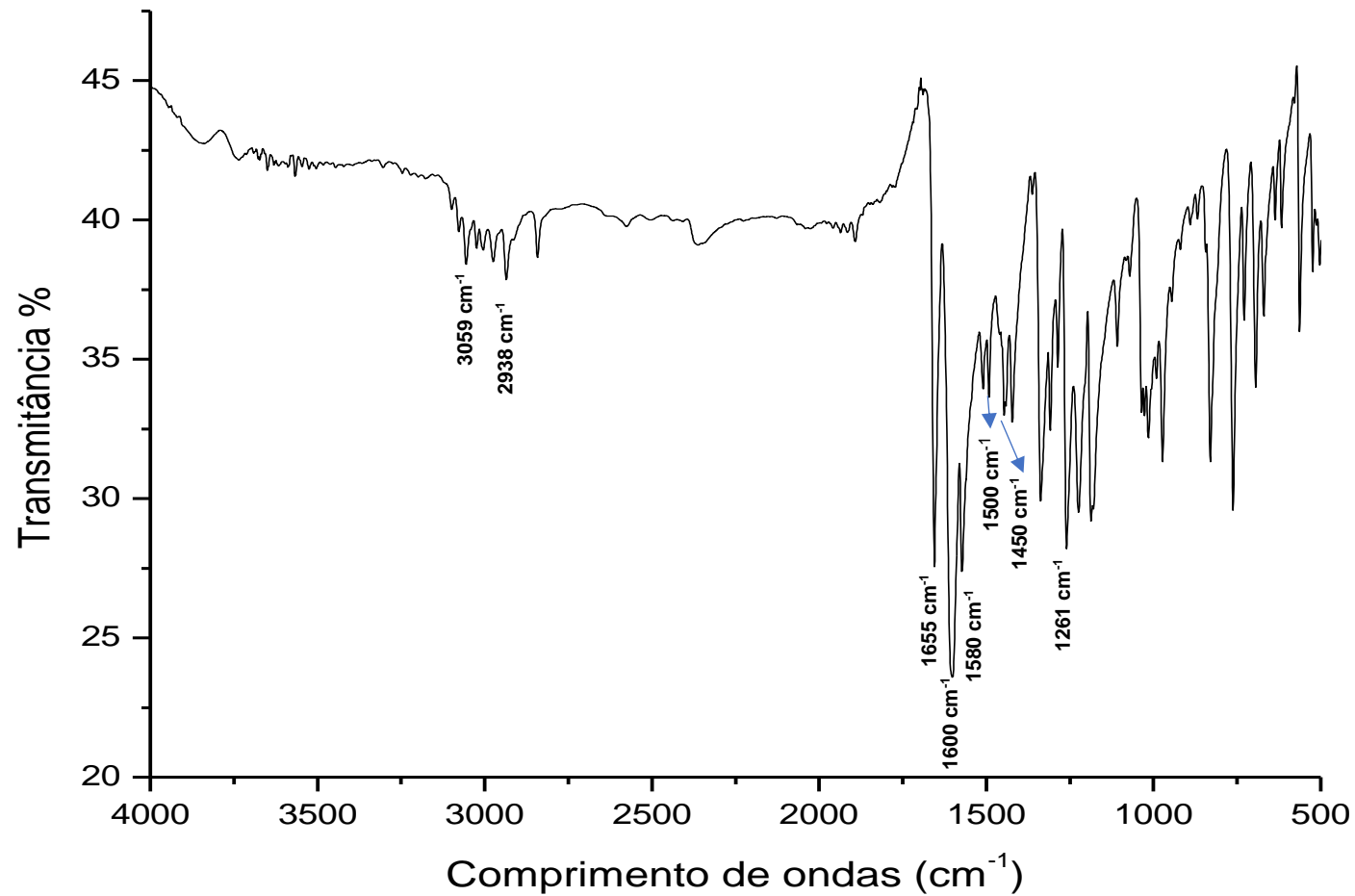
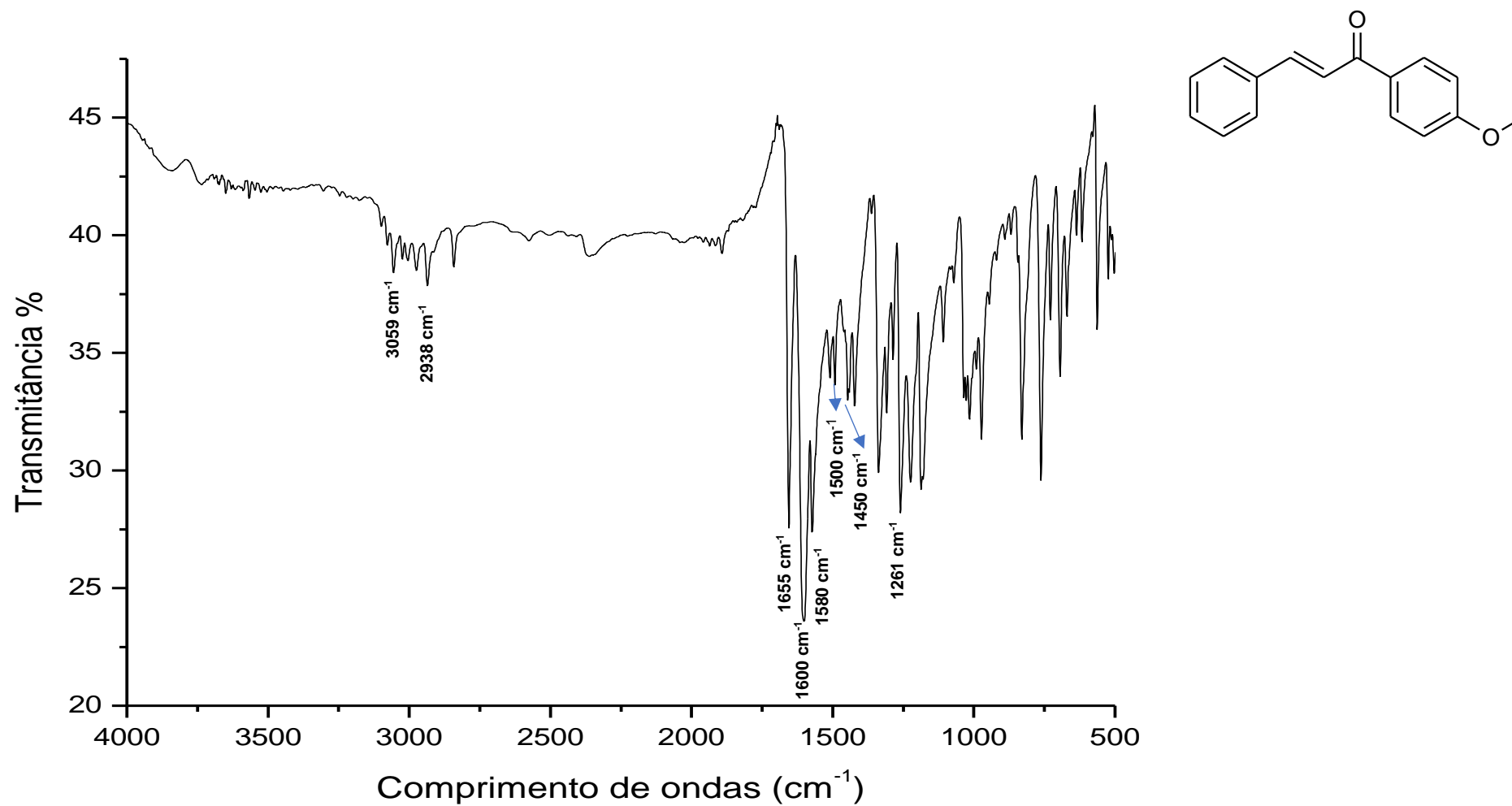
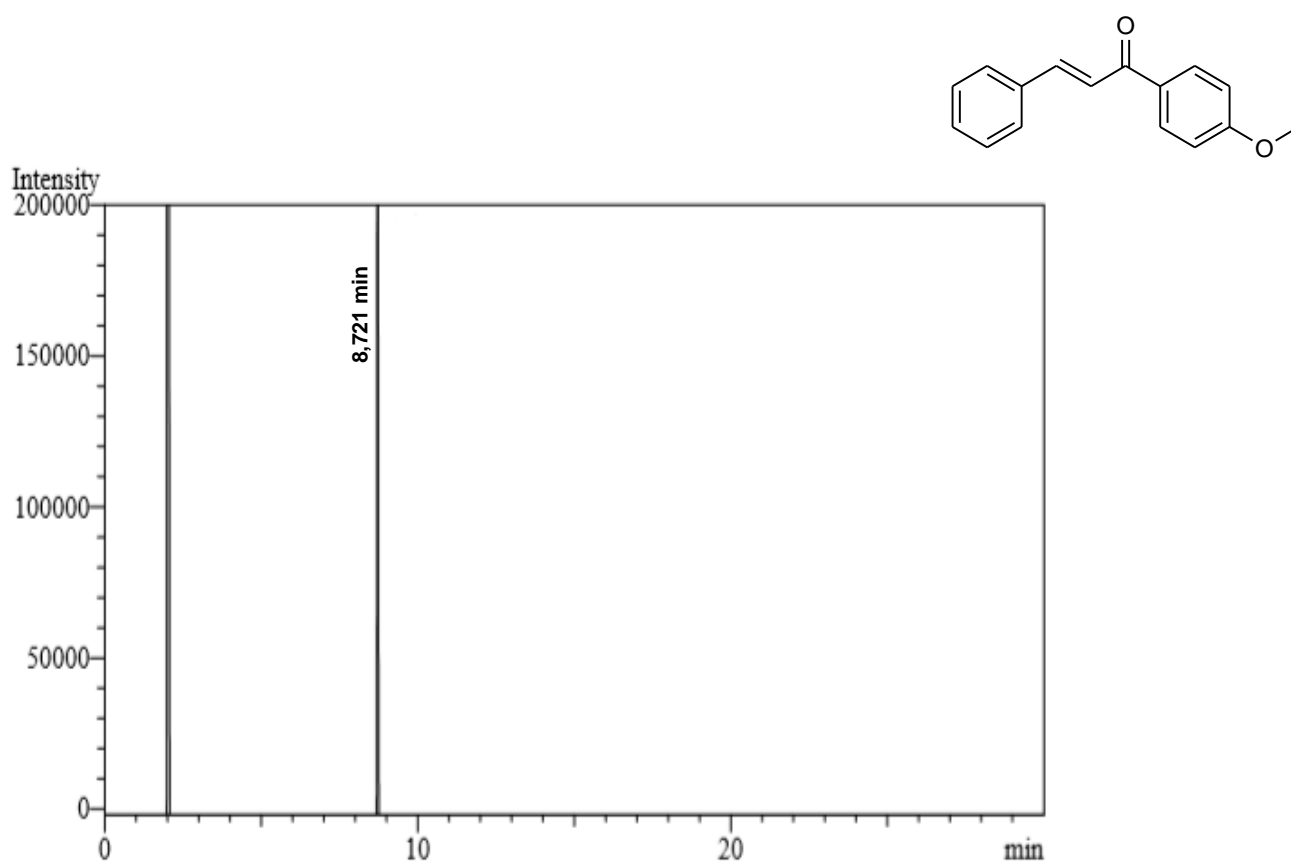
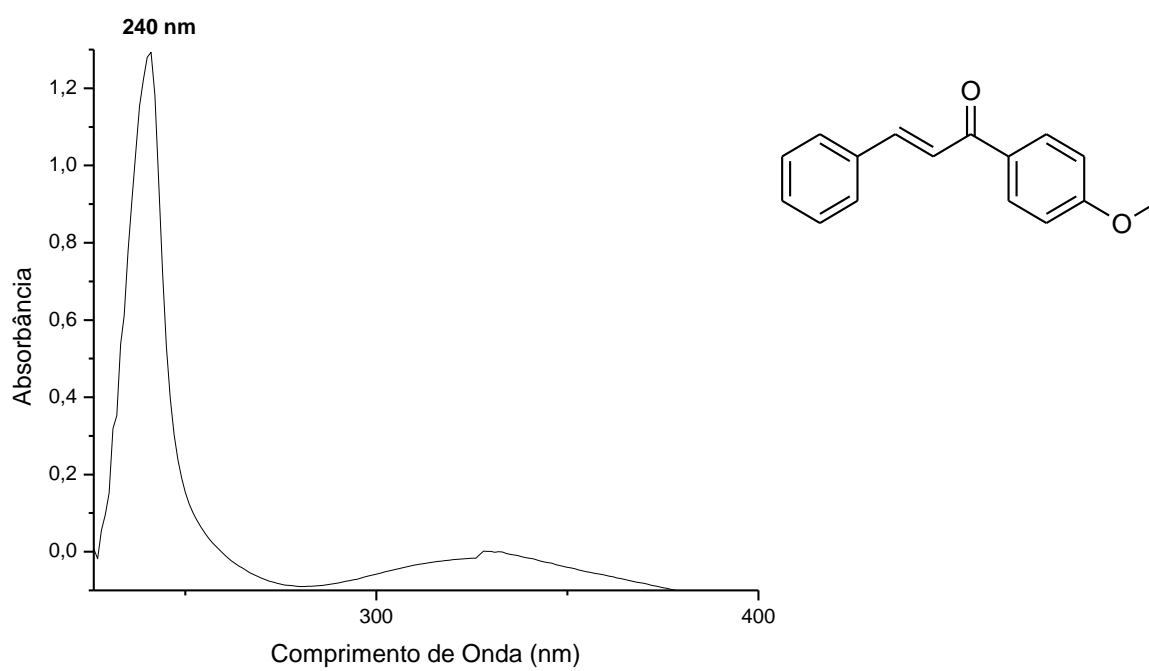
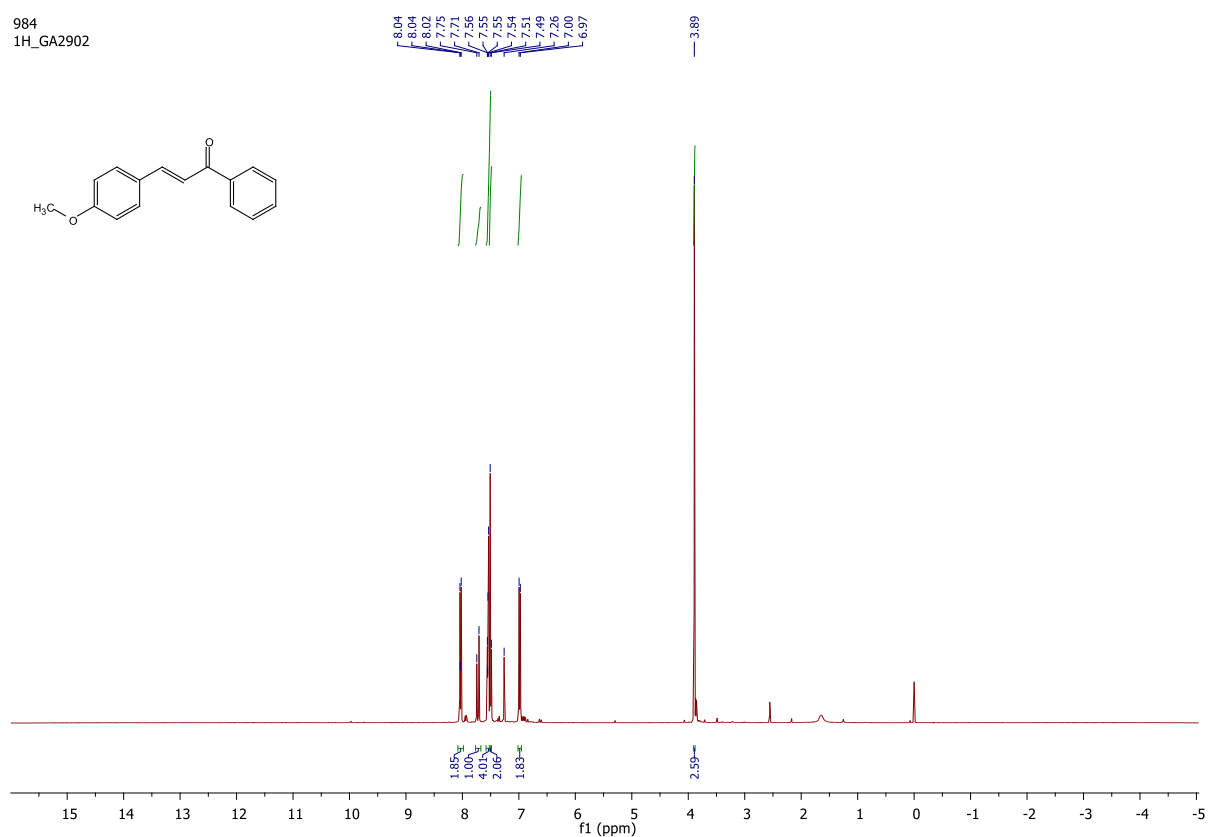


Figura 26 - Espectro de infravermelho de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**1a**).



**Figura 27** - Cromatograma de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**1a**).**Figura 28** - Espectro ultravioleta-visível de (E)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (**1a**).

**Figura 29** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1b**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 30** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1b**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

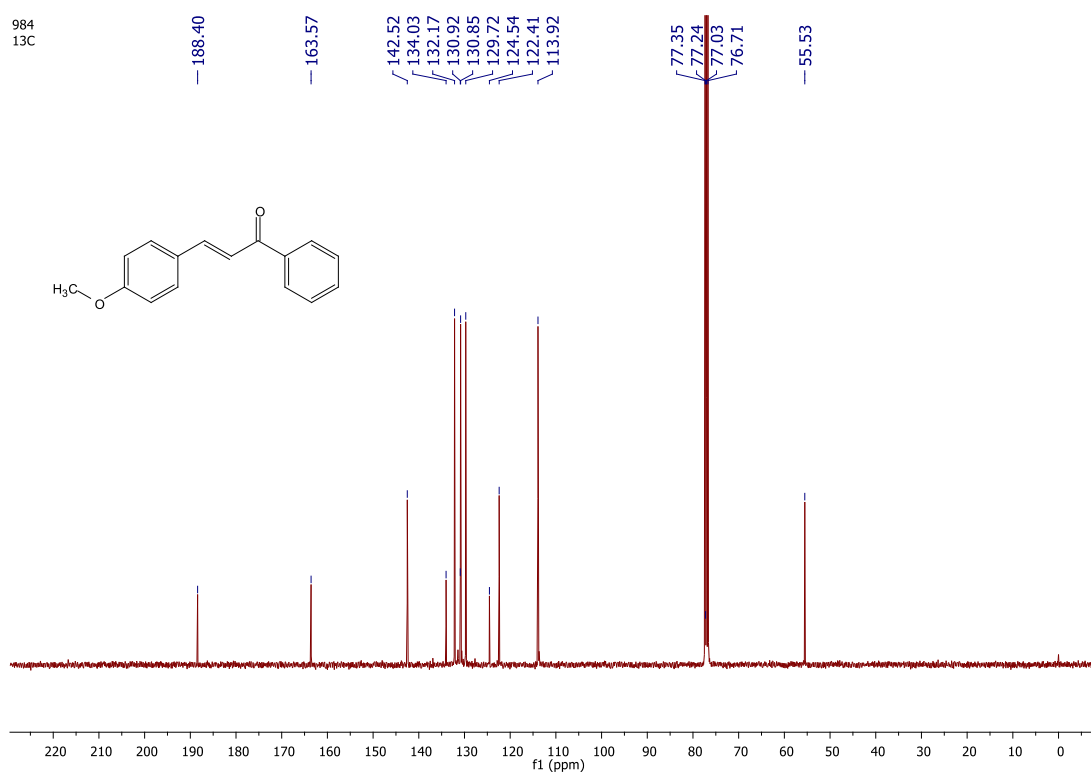
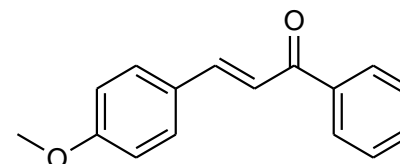
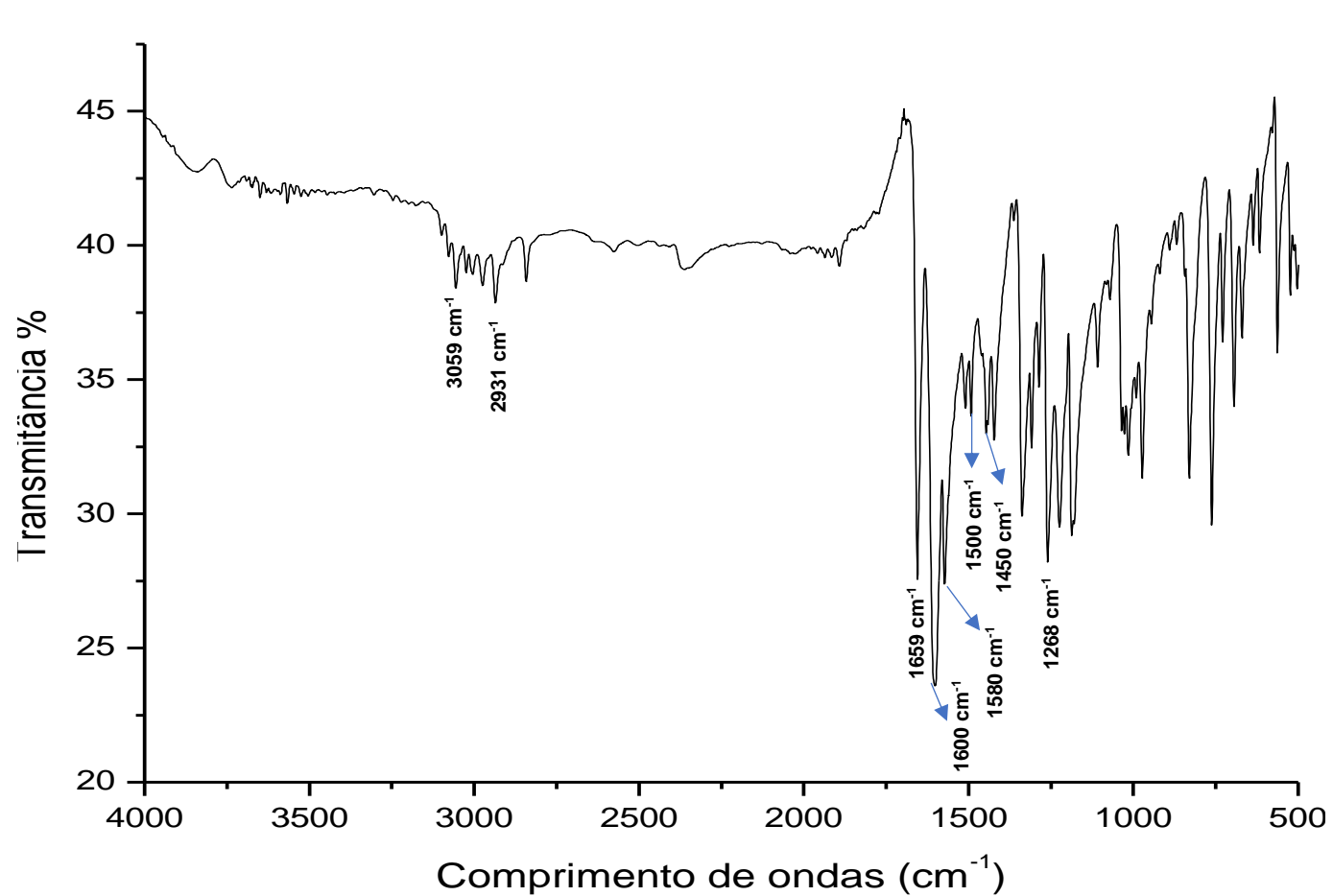
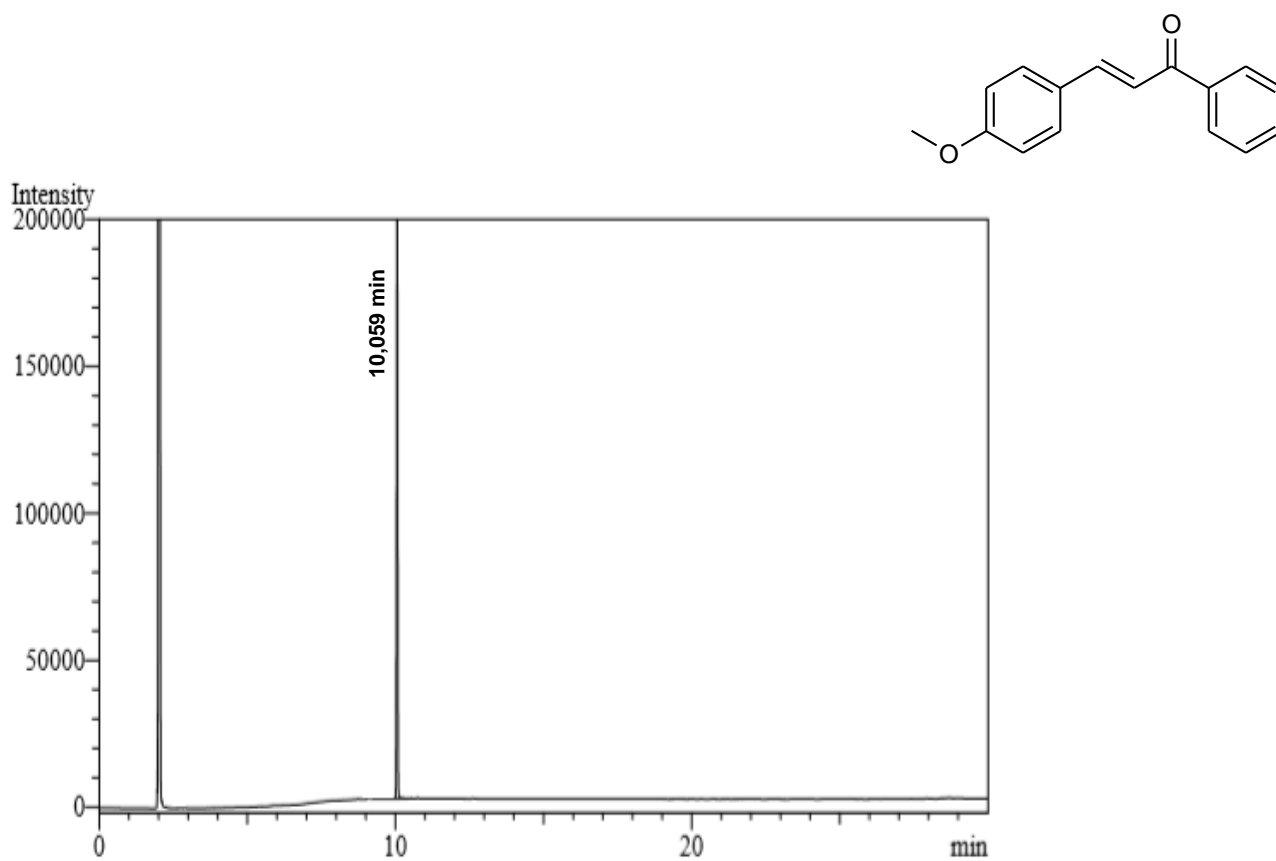
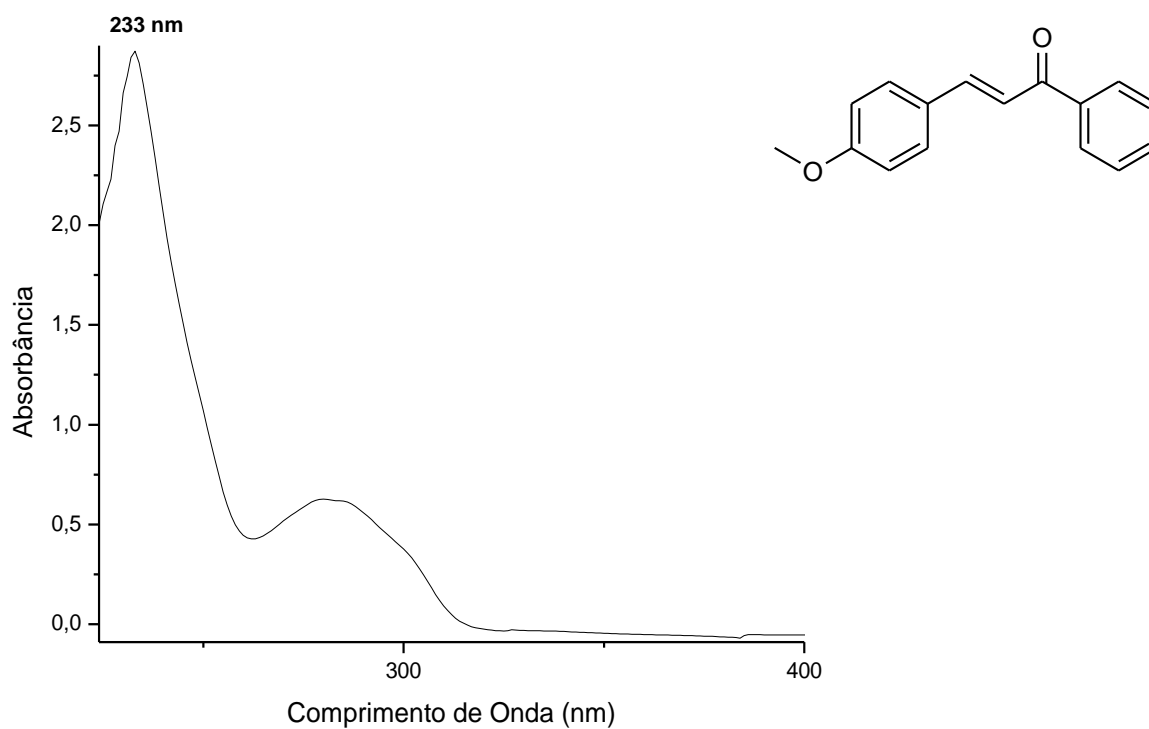
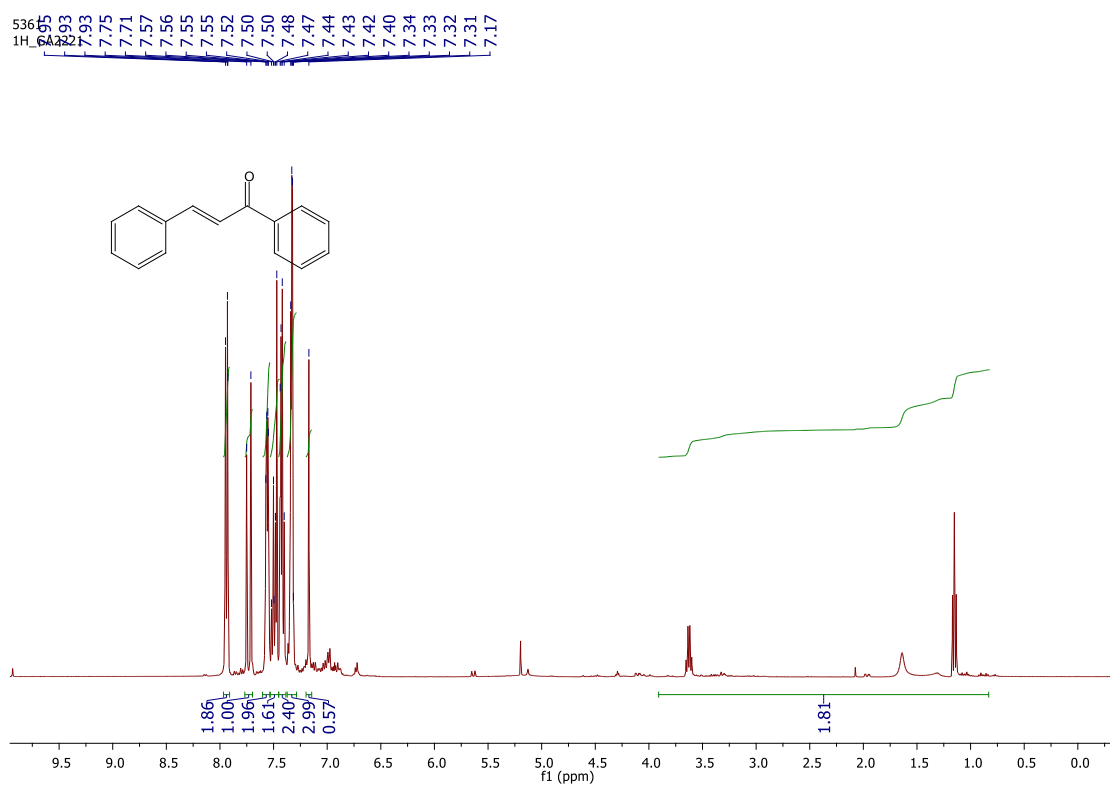


Figura 31 - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1b**).



**Figura 32** - Cromatograma de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1b**).**Figura 33** - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1b**).

**Figura 34** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1c**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 35** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1c**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

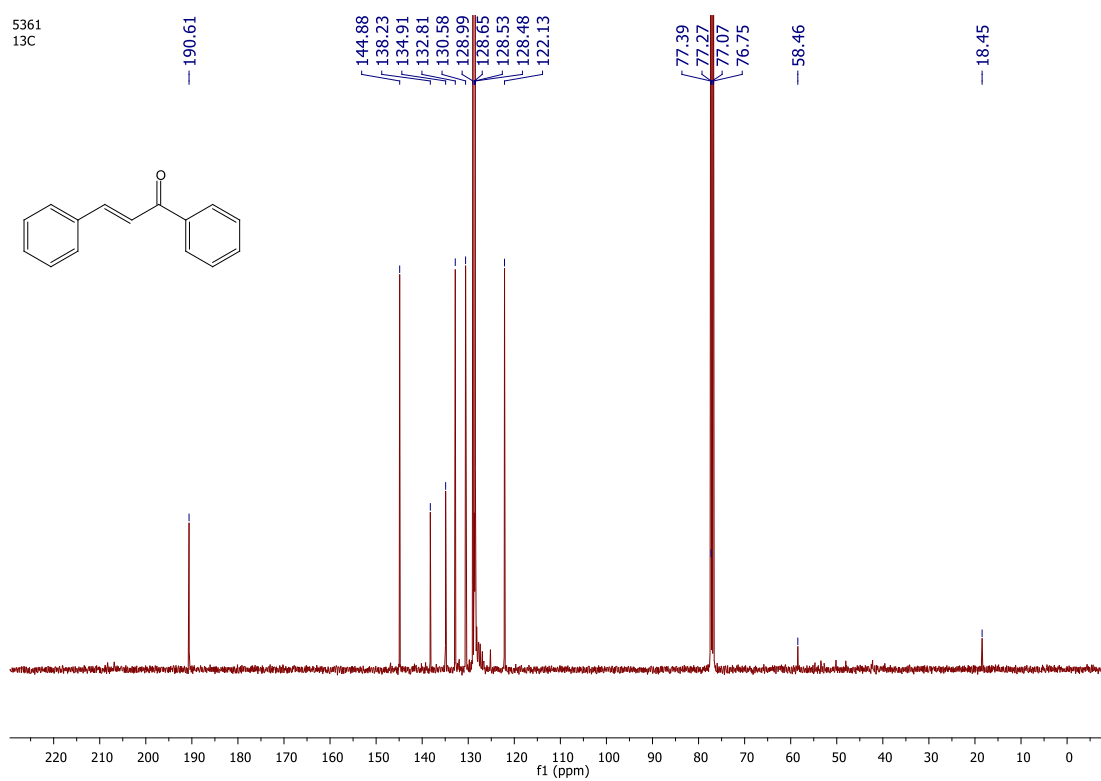
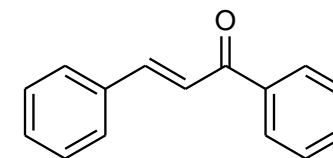
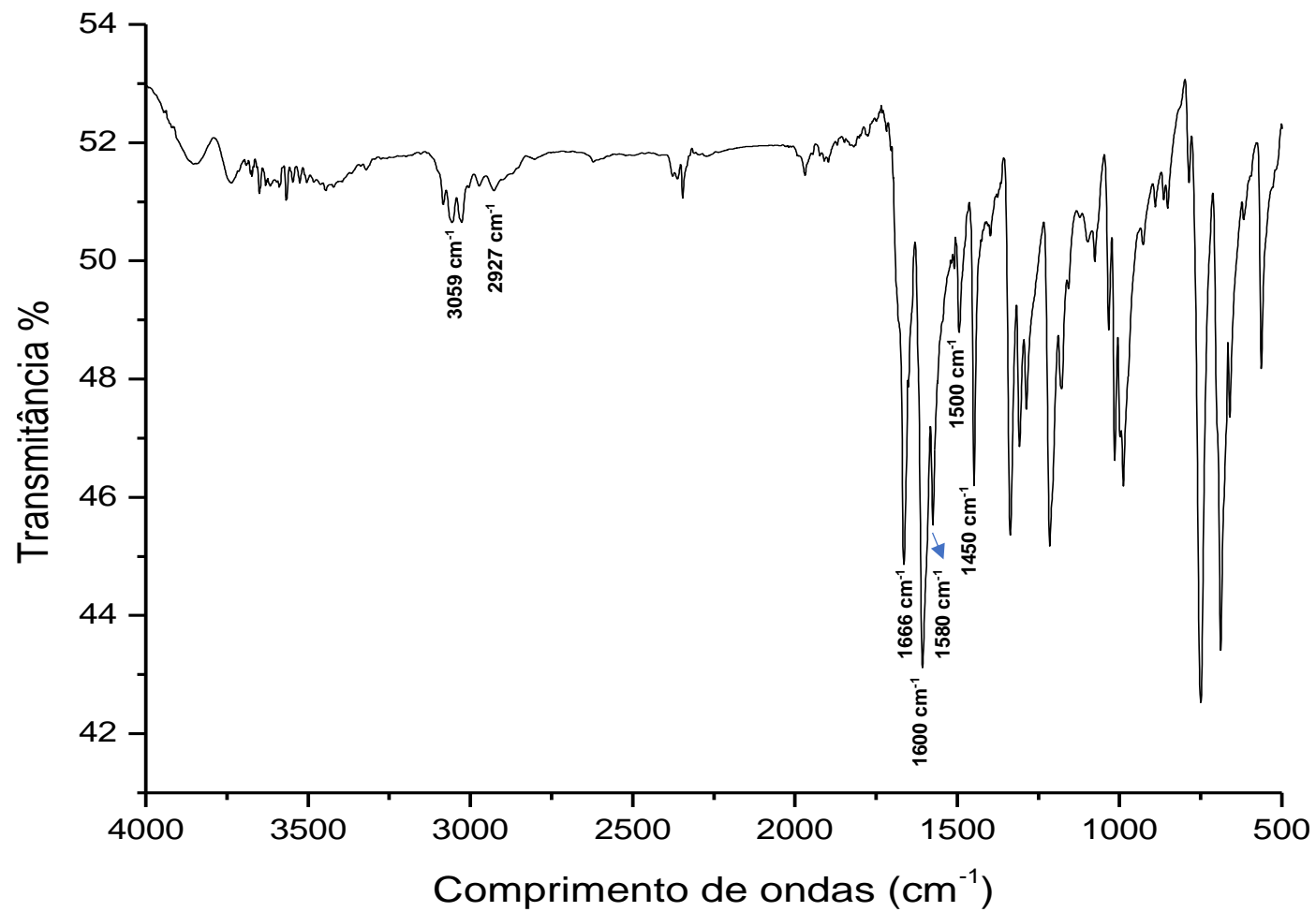
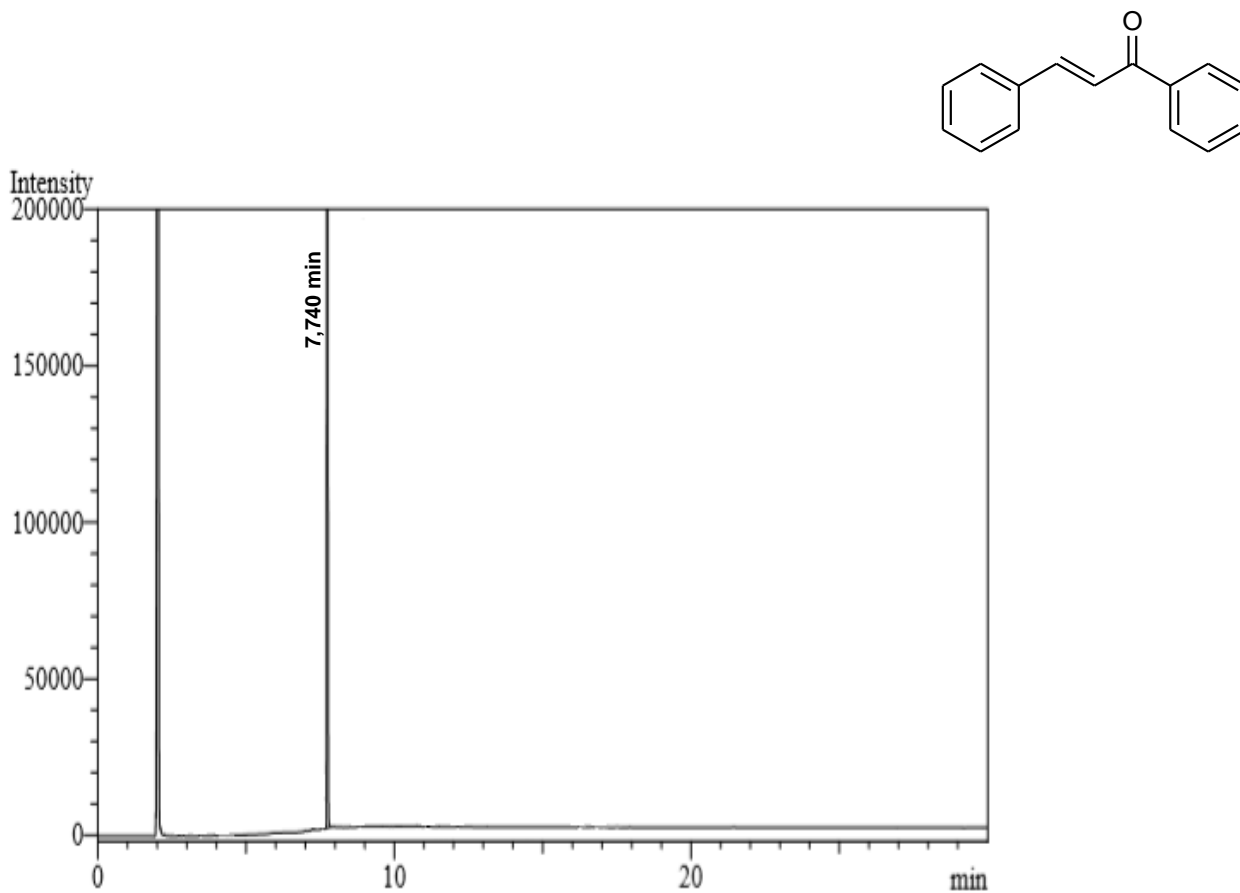
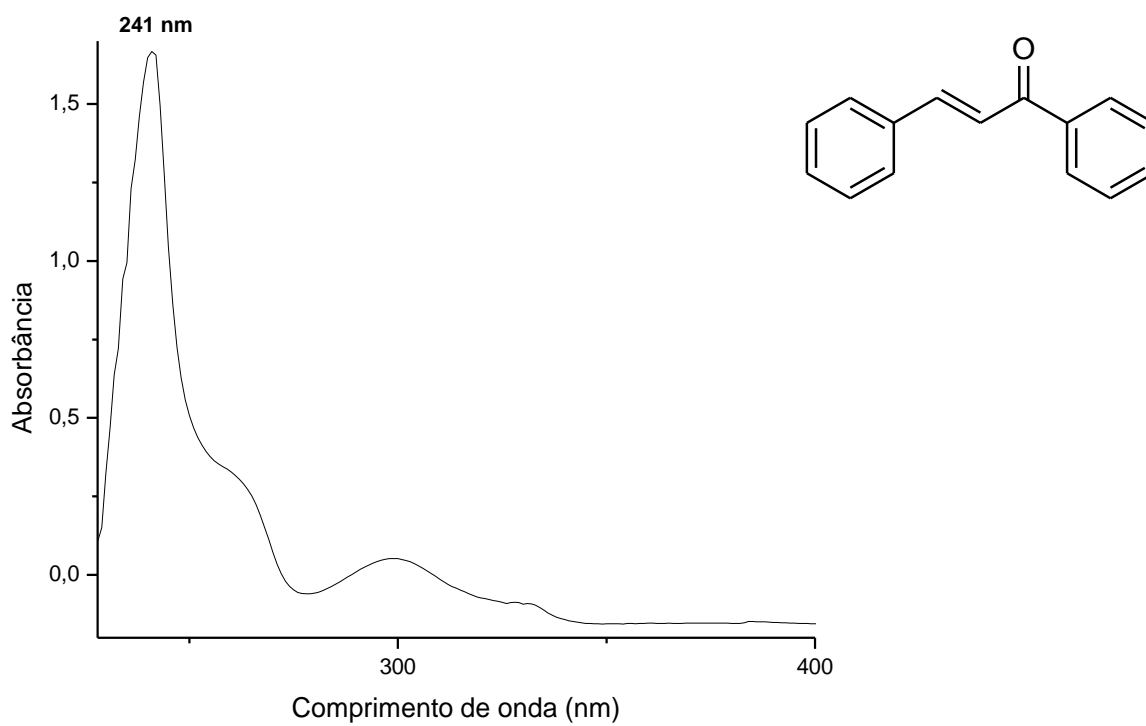
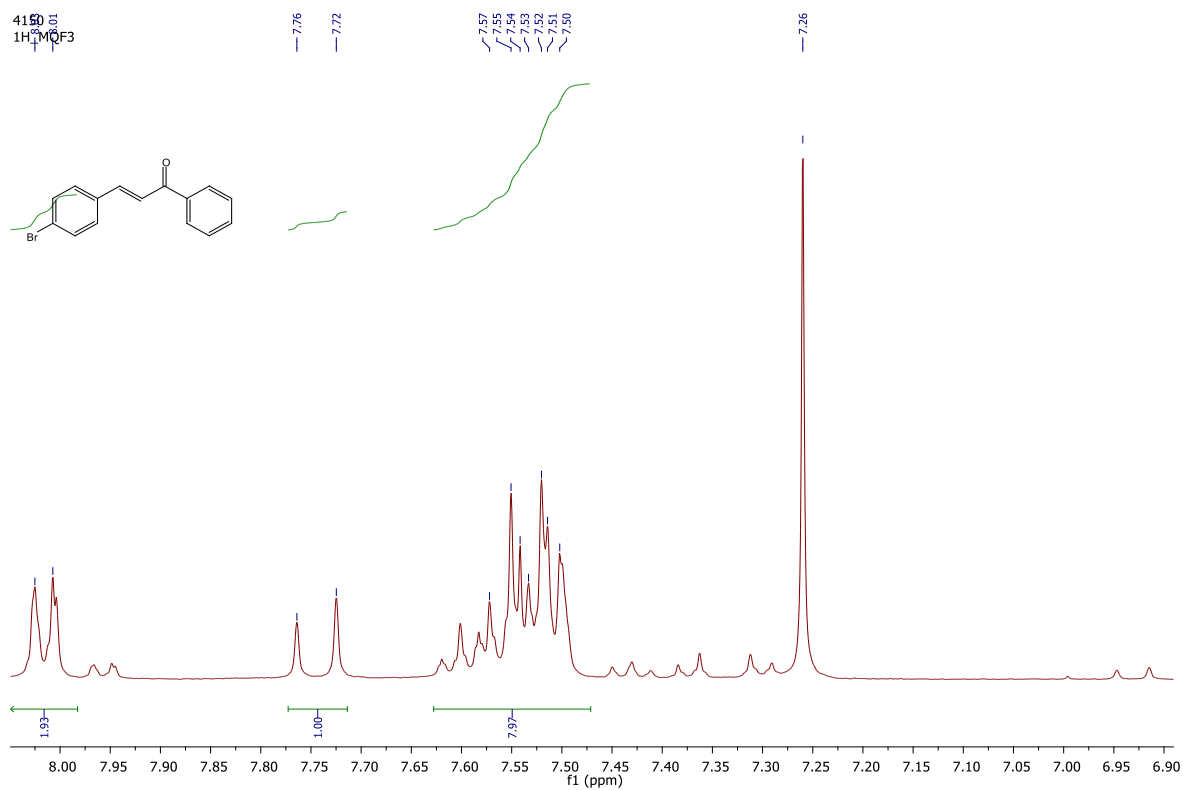


Figura 36 - Espectro de infravermelho de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1c**).



**Figura 37** - Cromatograma de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1c**).**Figura 38** - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-fenil-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1c**).

**Figura 39** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1d**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 40** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1d**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

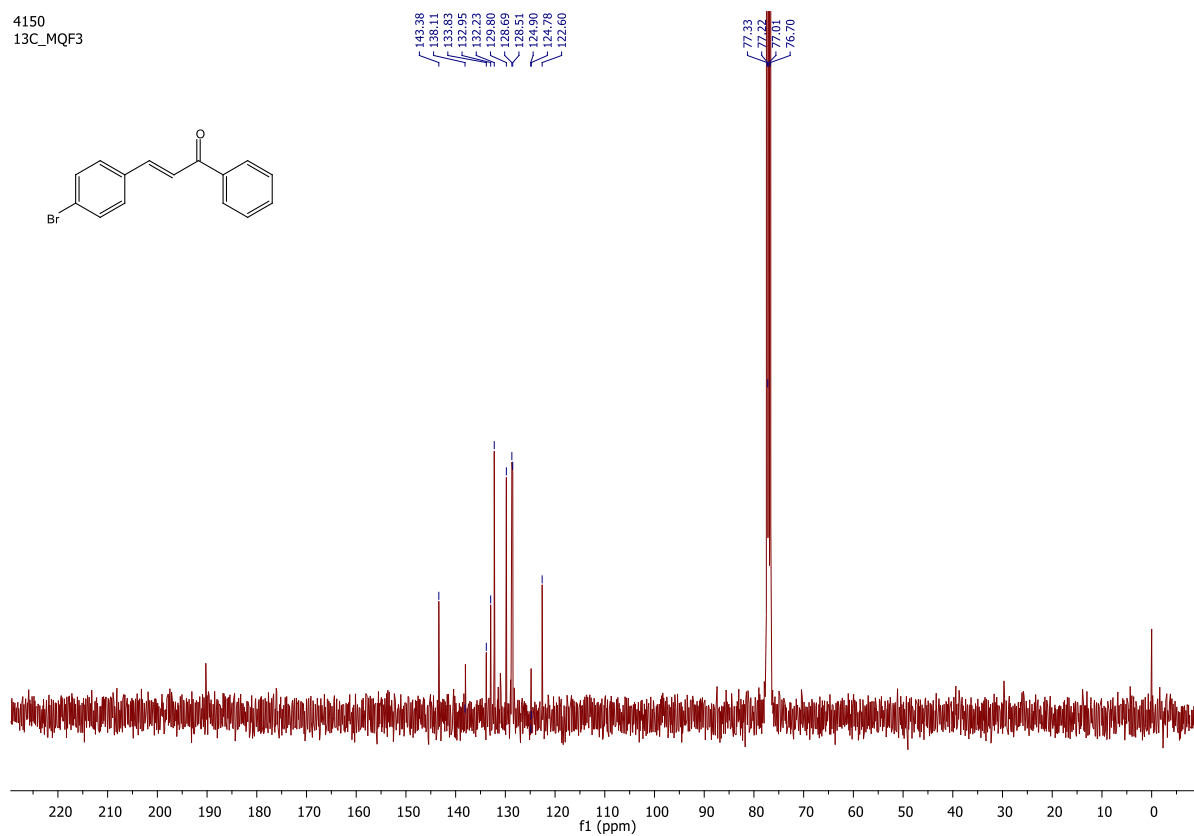
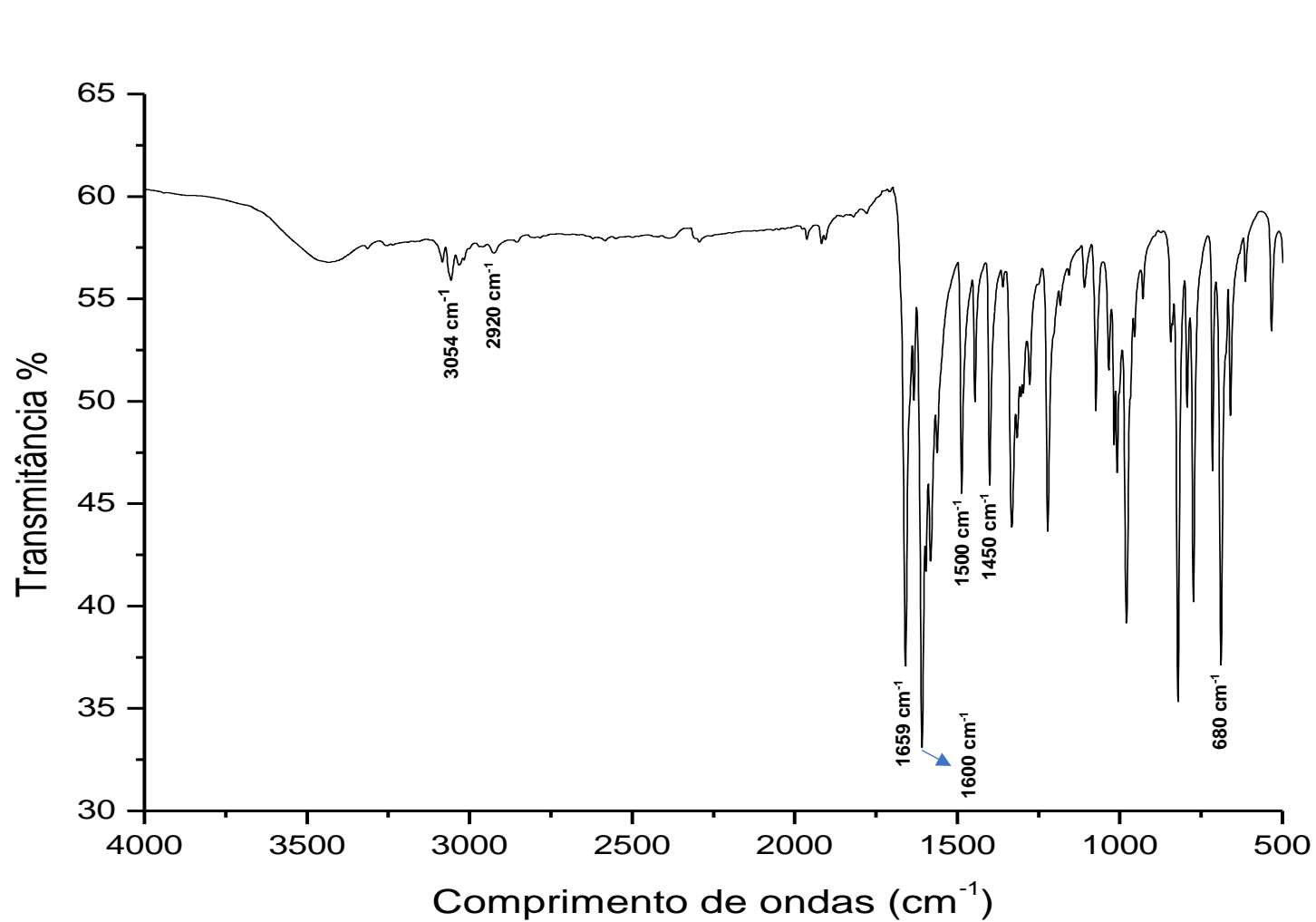
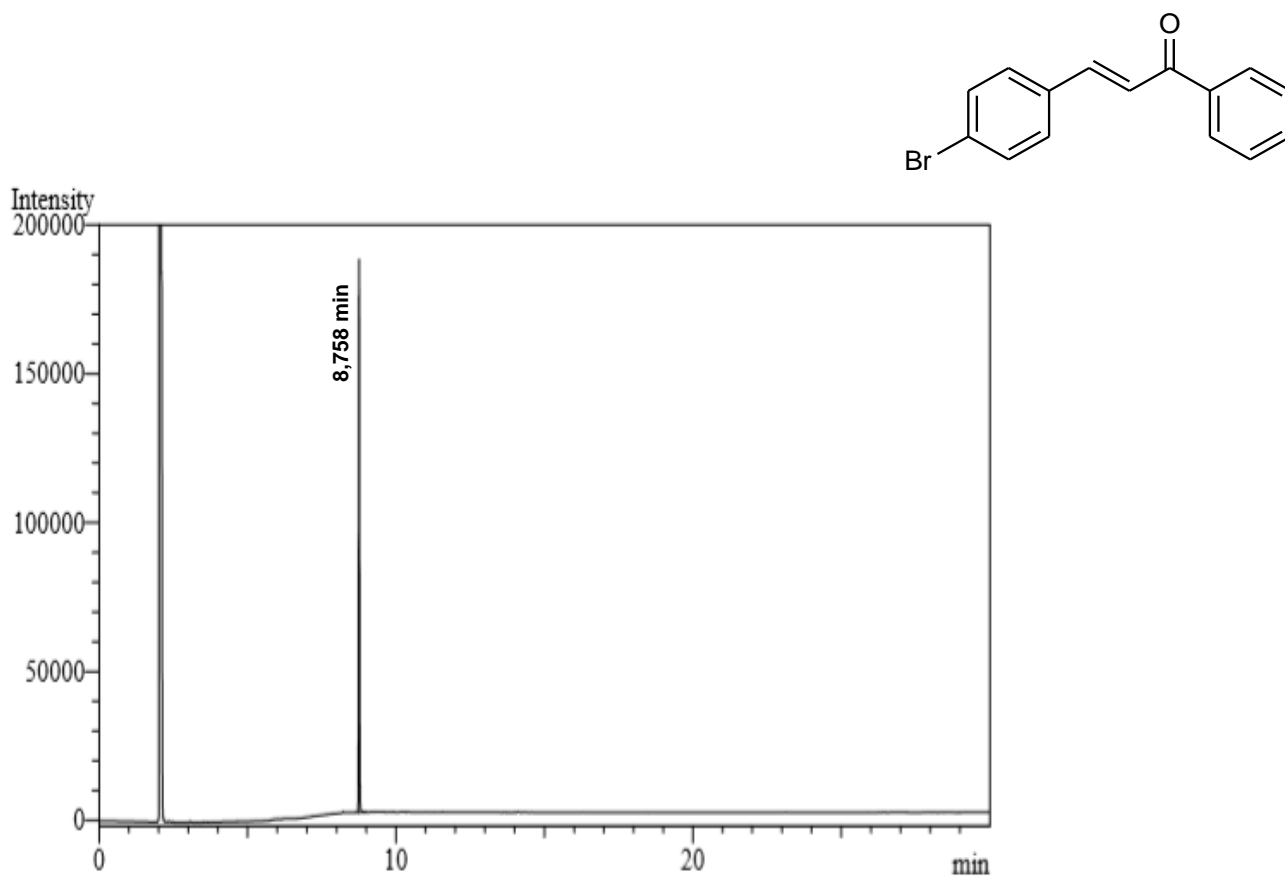
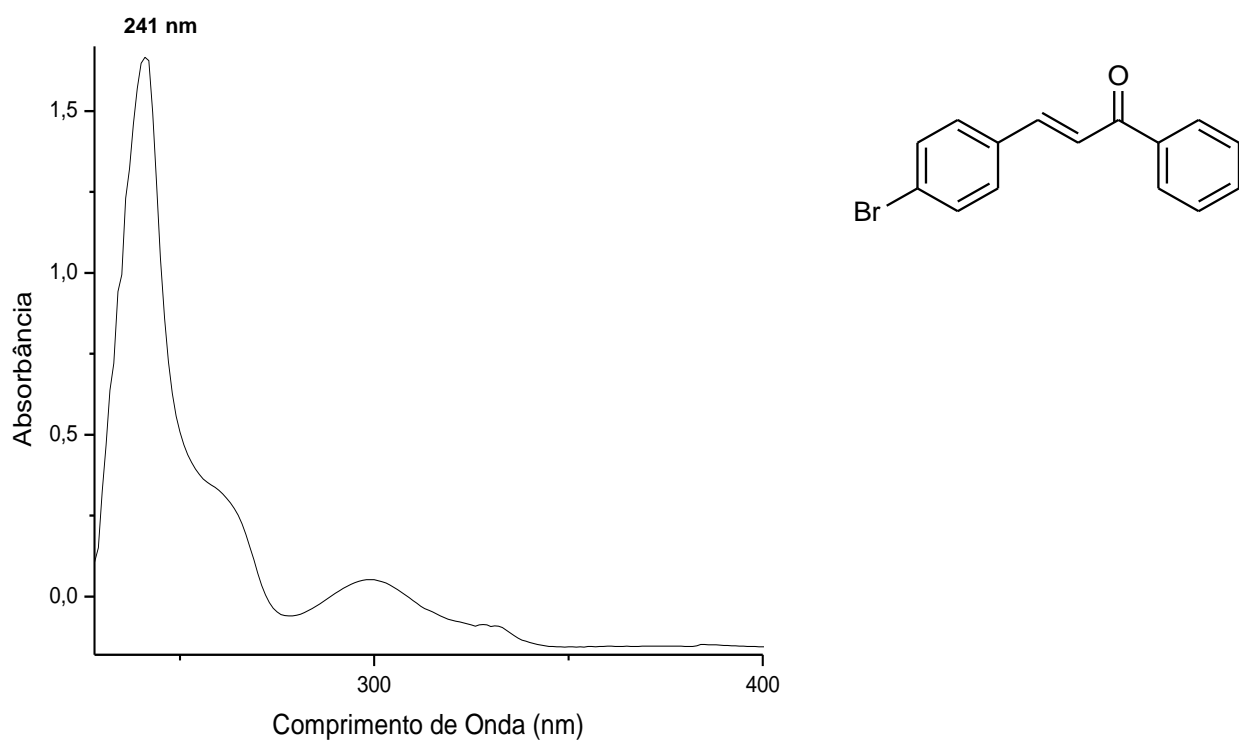
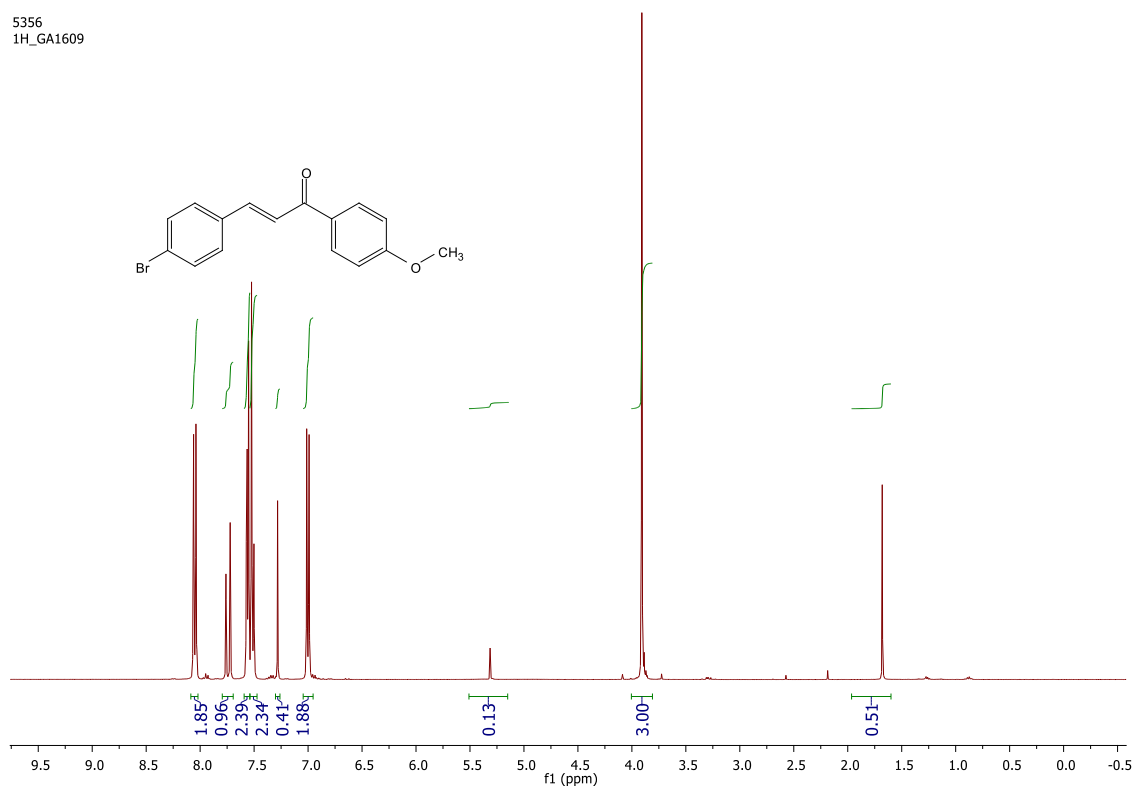


Figura 41 - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1d**).



**Figura 42** - Cromatograma de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1d**).**Figura 43** - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona (**1d**).

**Figura 44** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1e**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 45** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1e**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

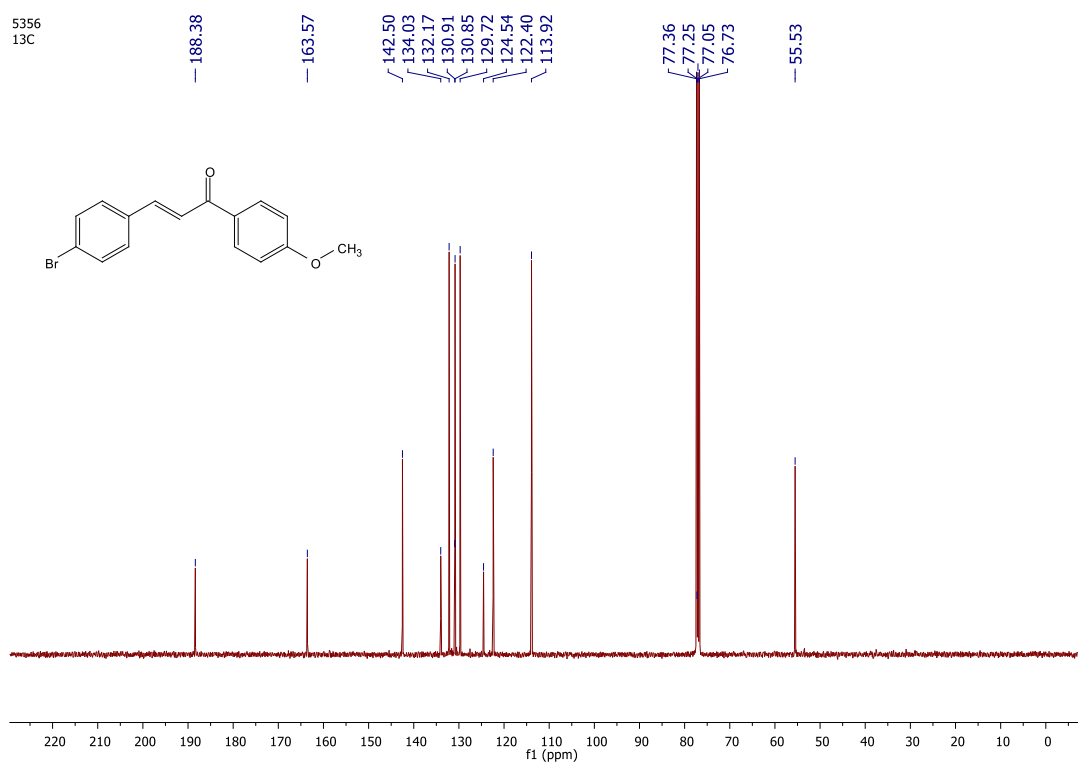
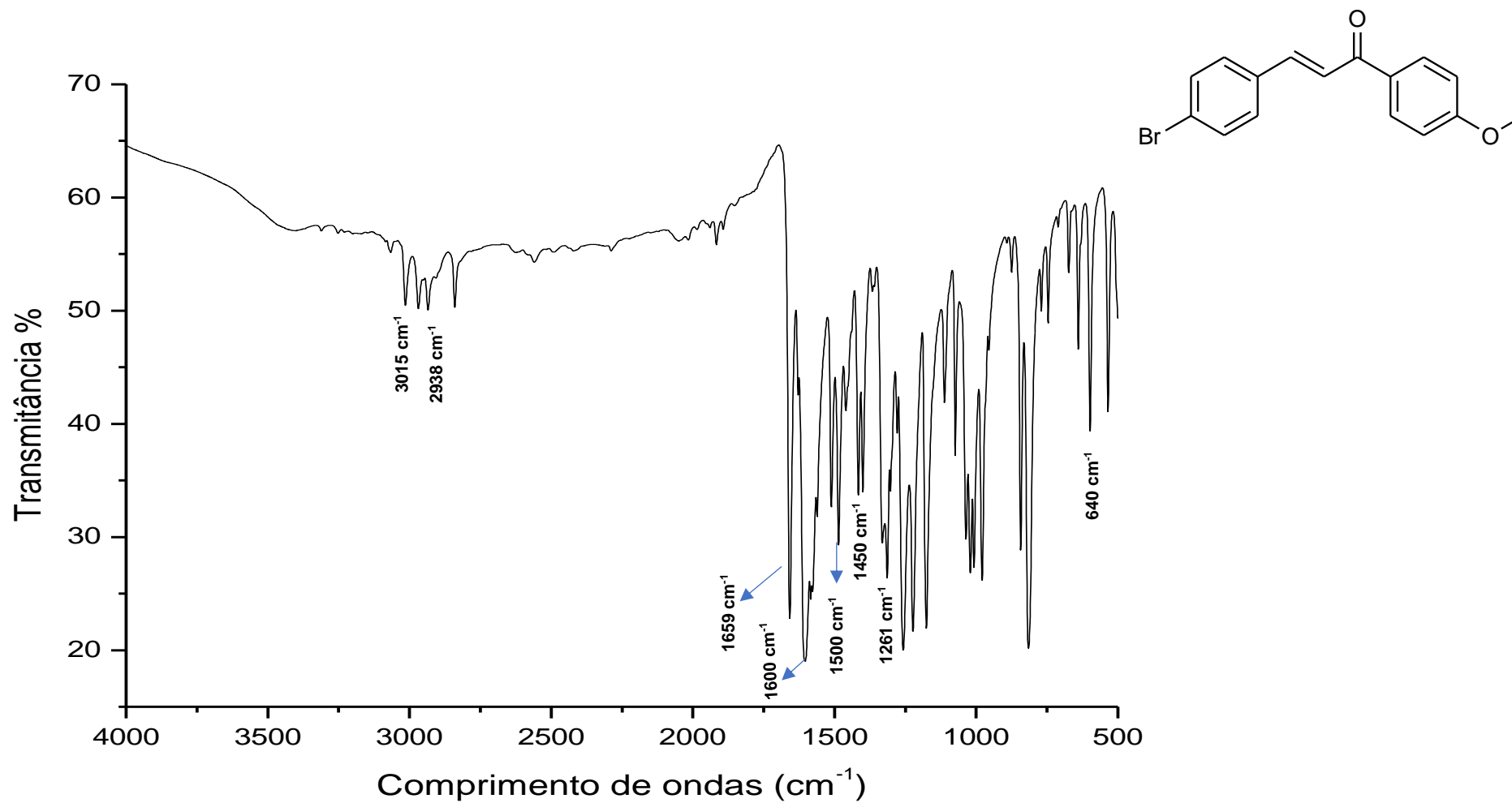
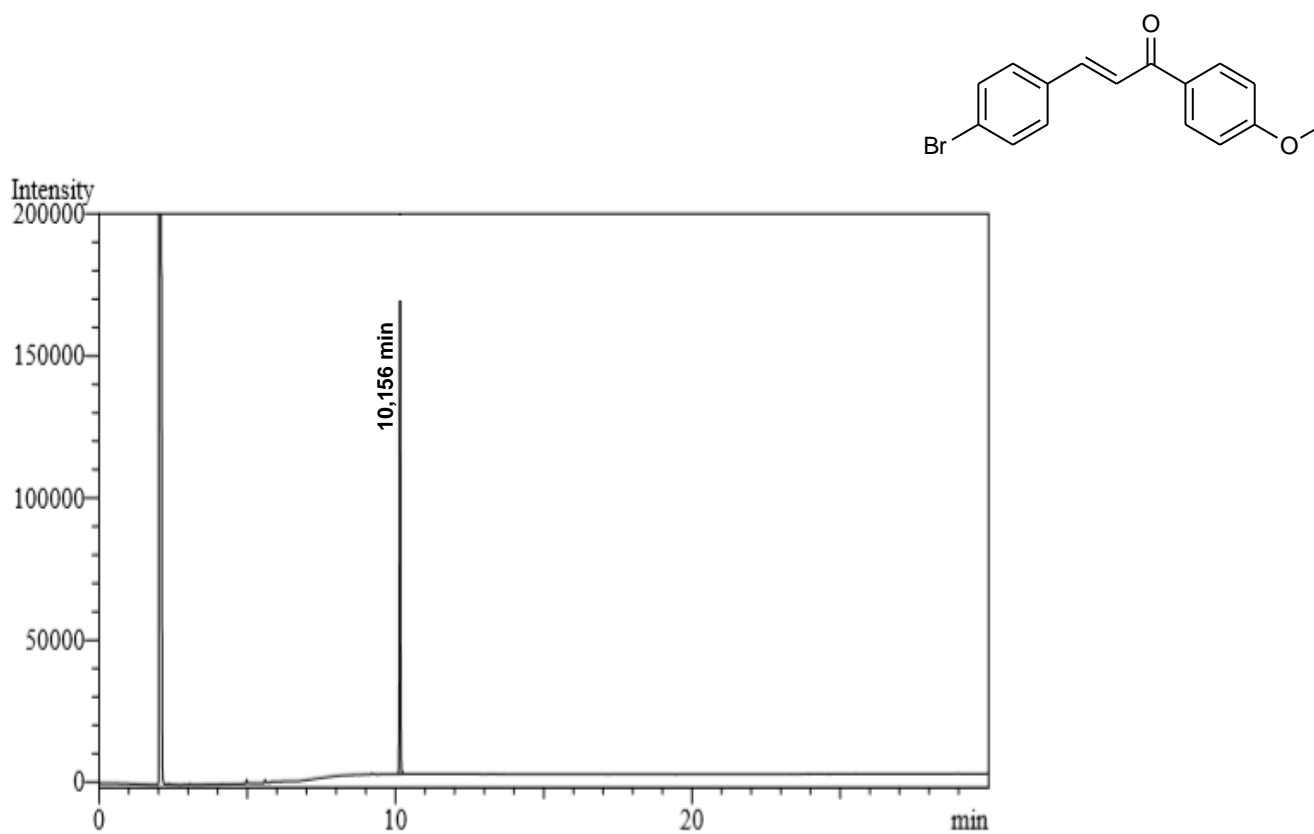
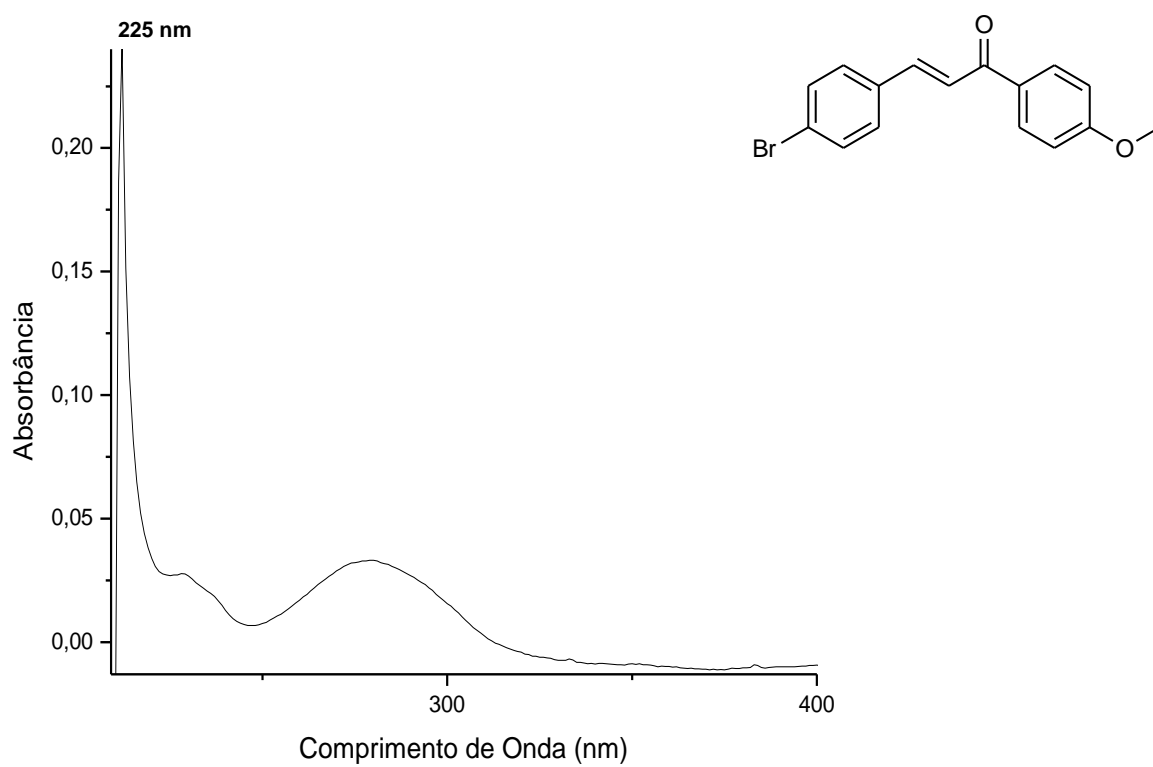
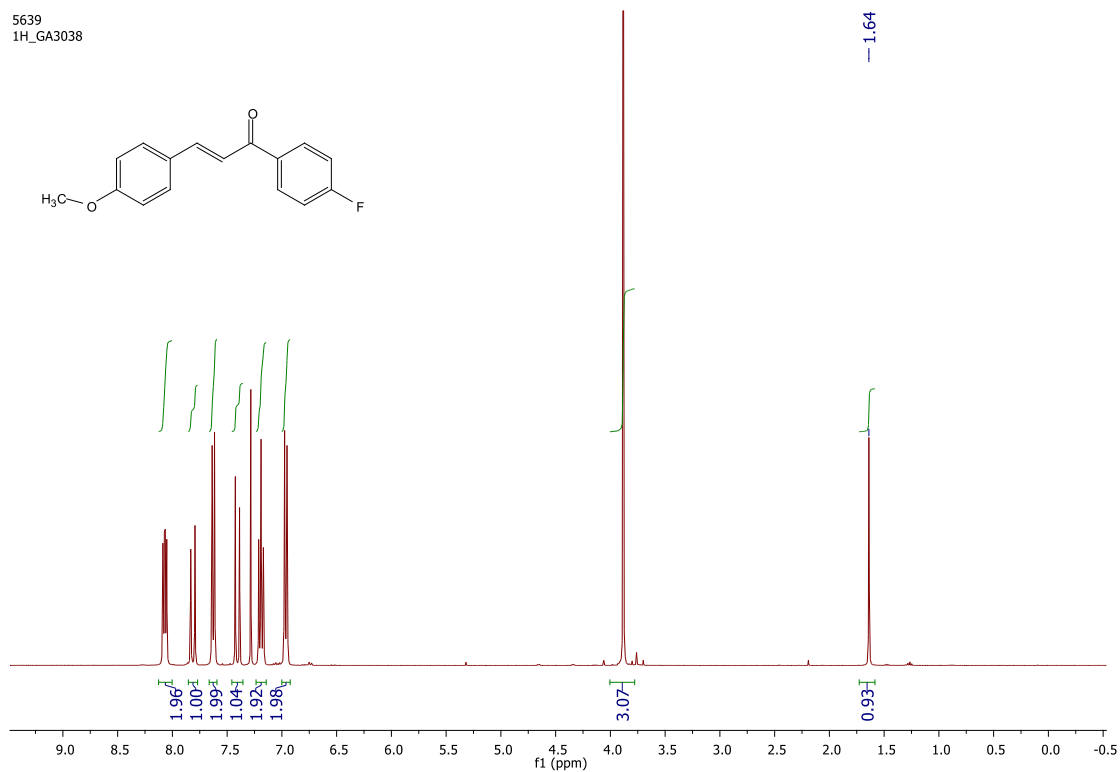


Figura 46 - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1e**).



**Figura 47** - Cromatograma de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1e**).**Figura 48** - Espectro ultravioleta-visível de (E)-3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1e**).

**Figura 49** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1f**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 50** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1f**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

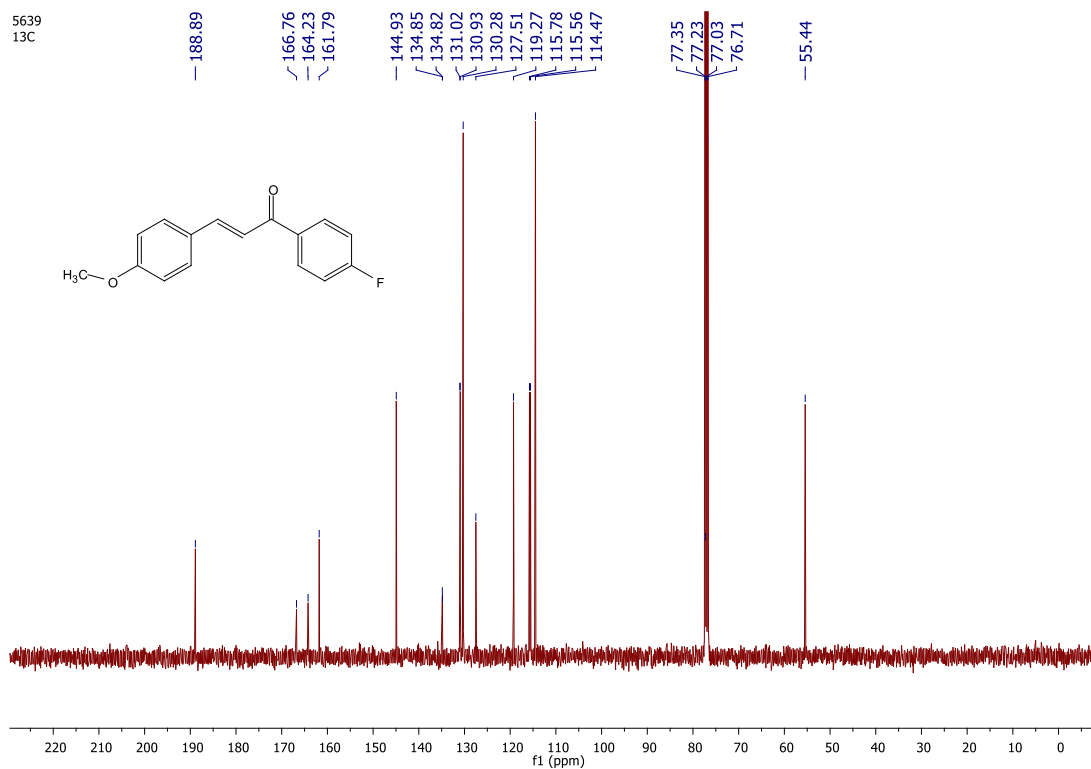
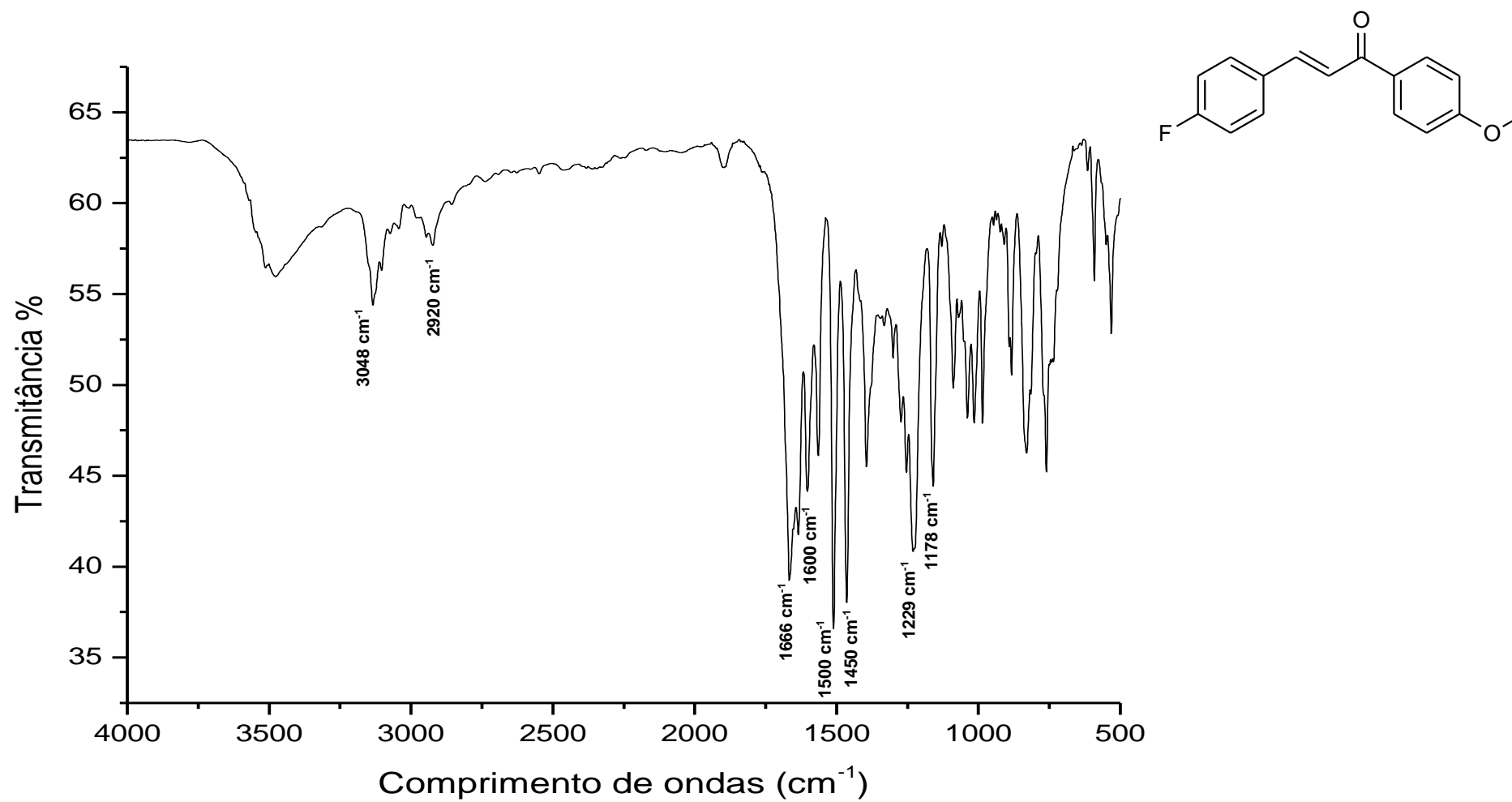
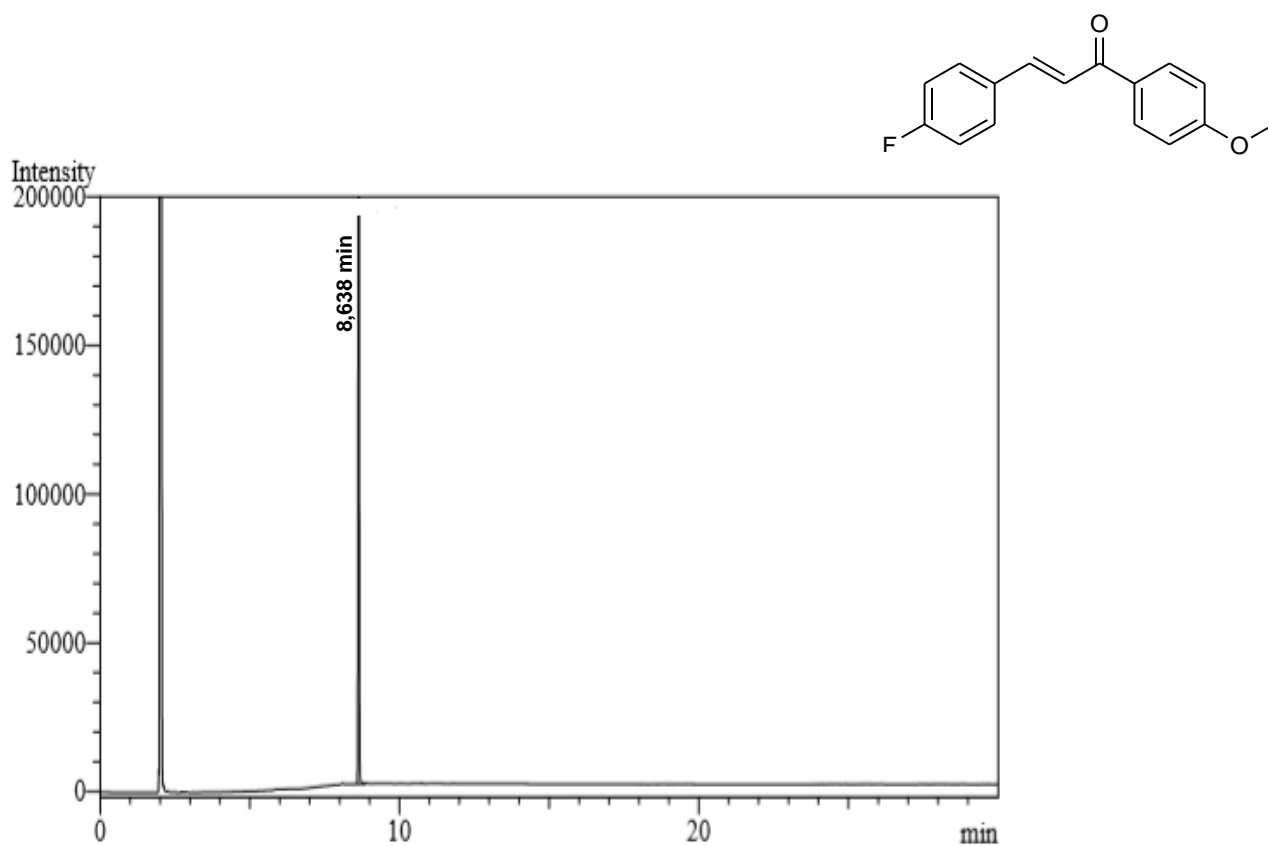
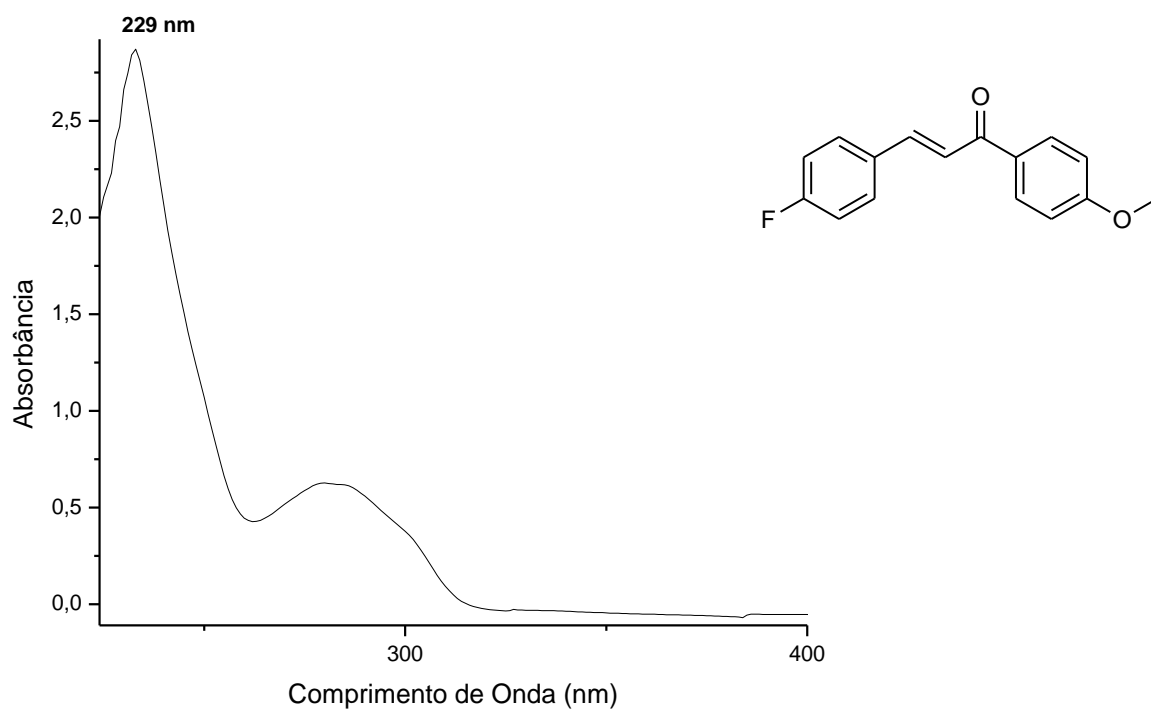
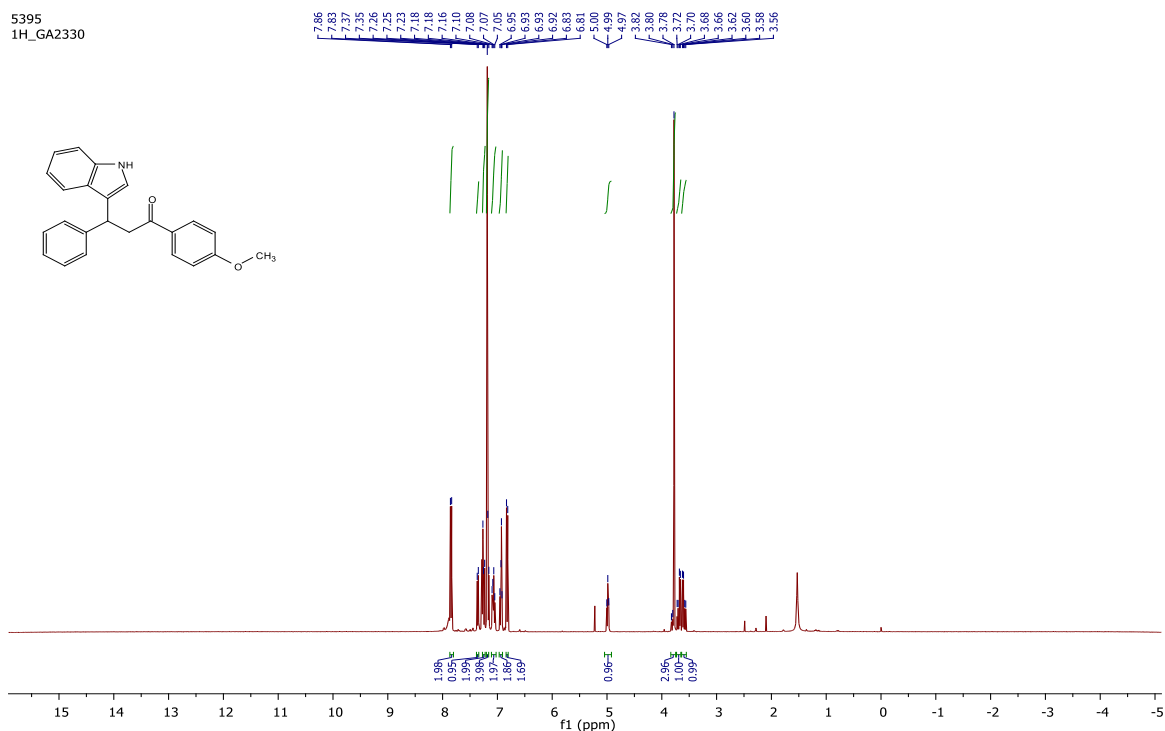


Figura 51 - Espectro de infravermelho de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1f**).



**Figura 52** - Cromatograma de (E)-3-(4-fluorfenil)-1-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (**1f**).**Figura 53** - Espectro ultravioleta-visível do composto **1f**.

**Figura 54** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (**3a**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 55** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (**3a**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

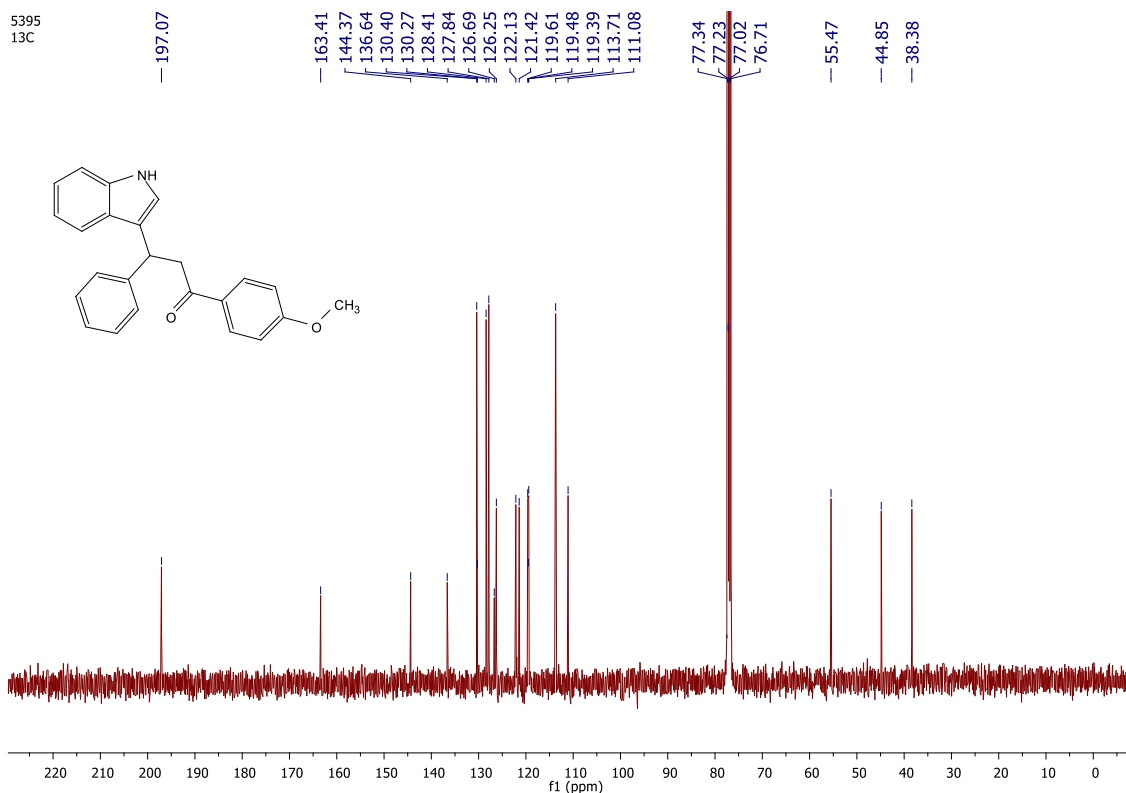
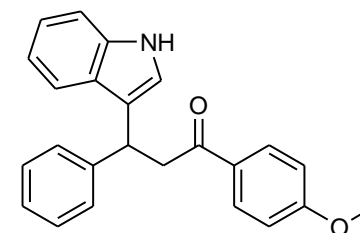
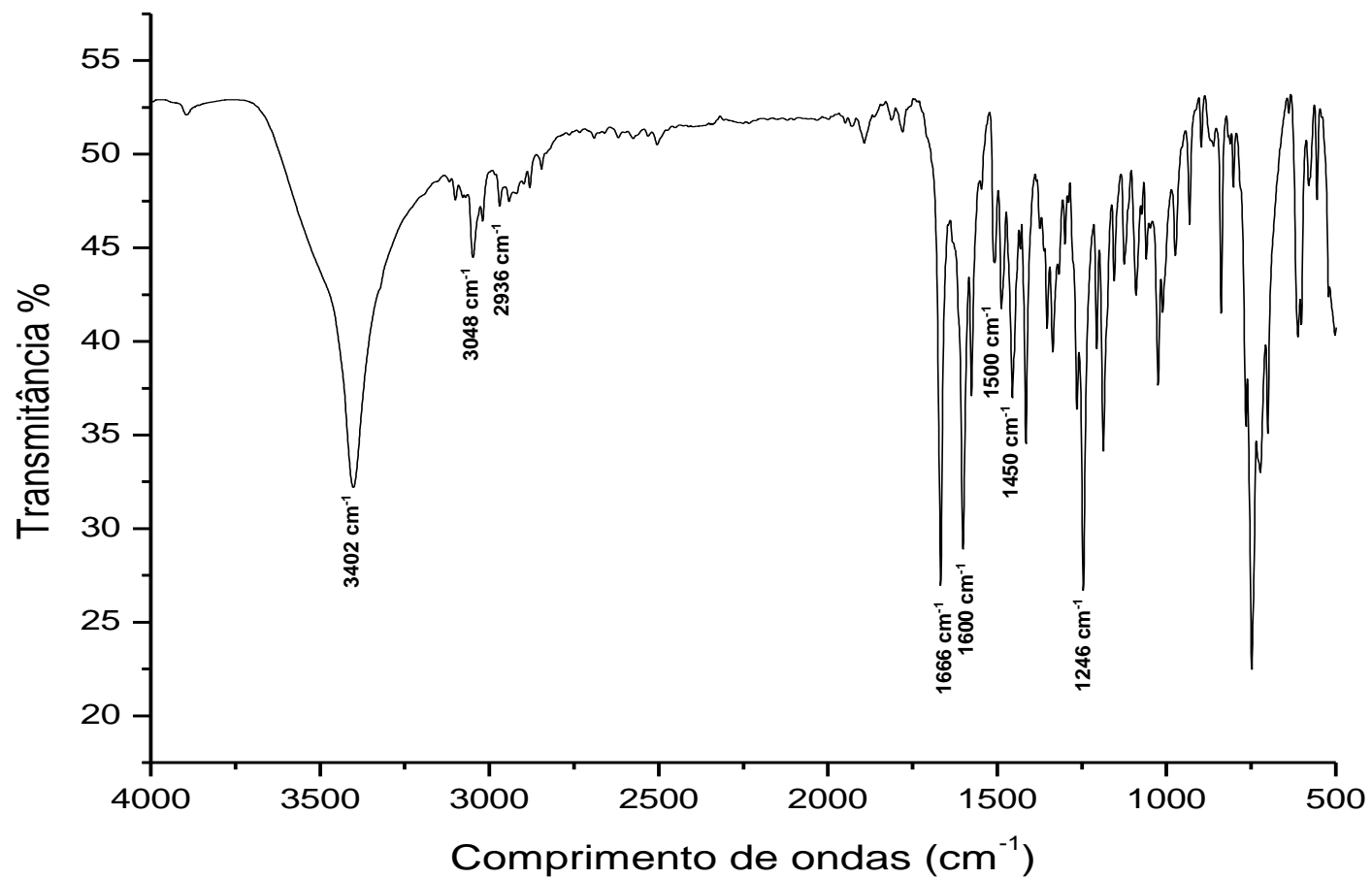
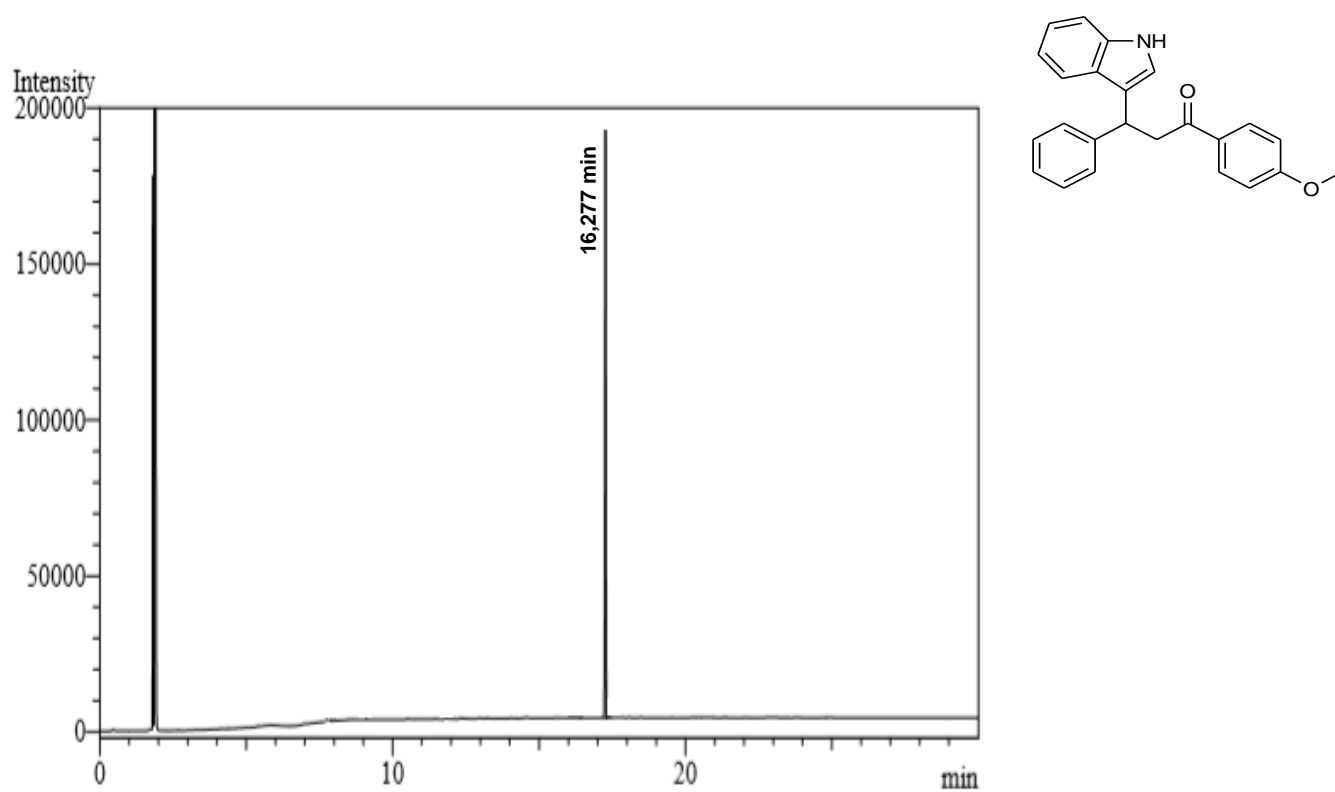
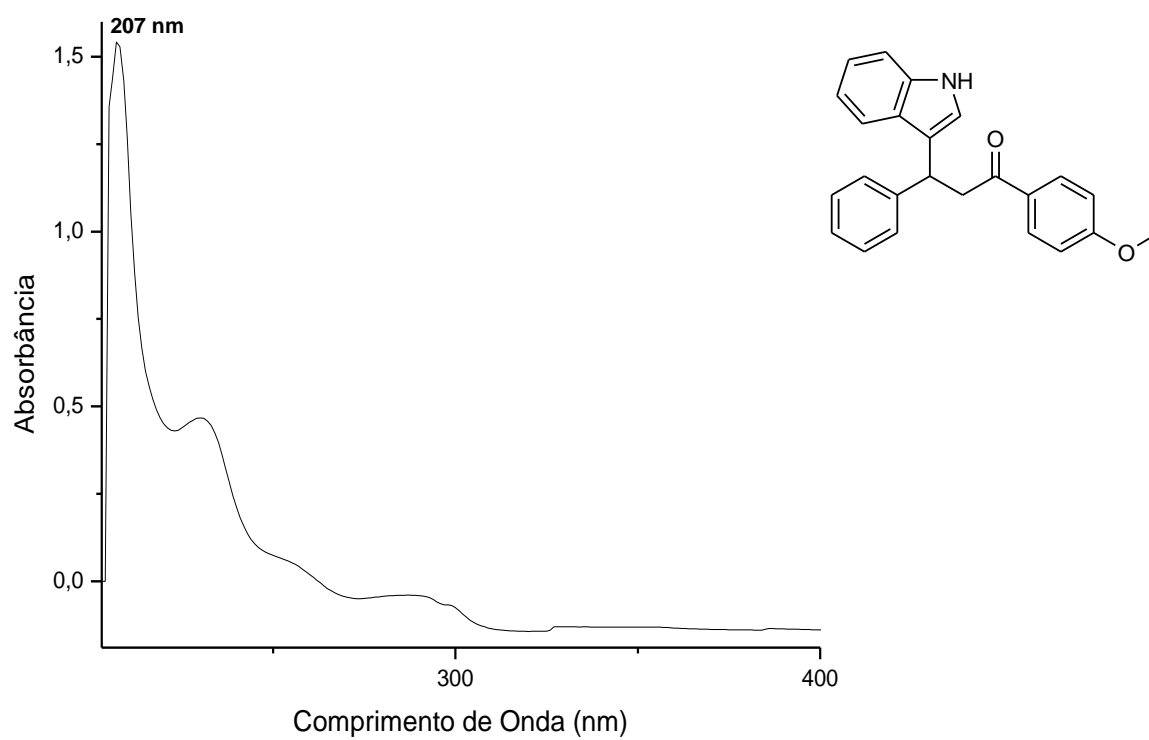
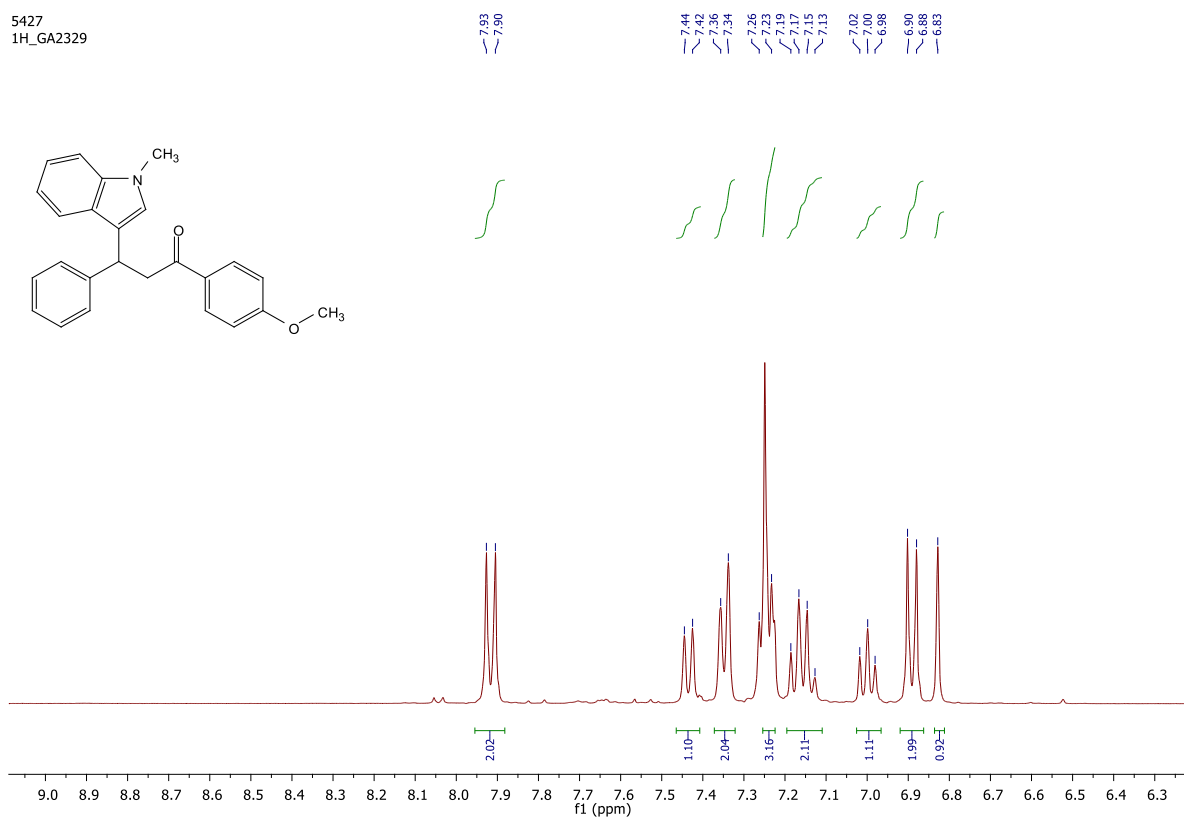


Figura 56 - Espectro de infravermelho de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (**3a**).



**Figura 57** - Cromatograma de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (**3a**).**Figura 58** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (**3a**).

**Figura 59** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (**3b**) (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



**Figura 60** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (**3b**) (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz).

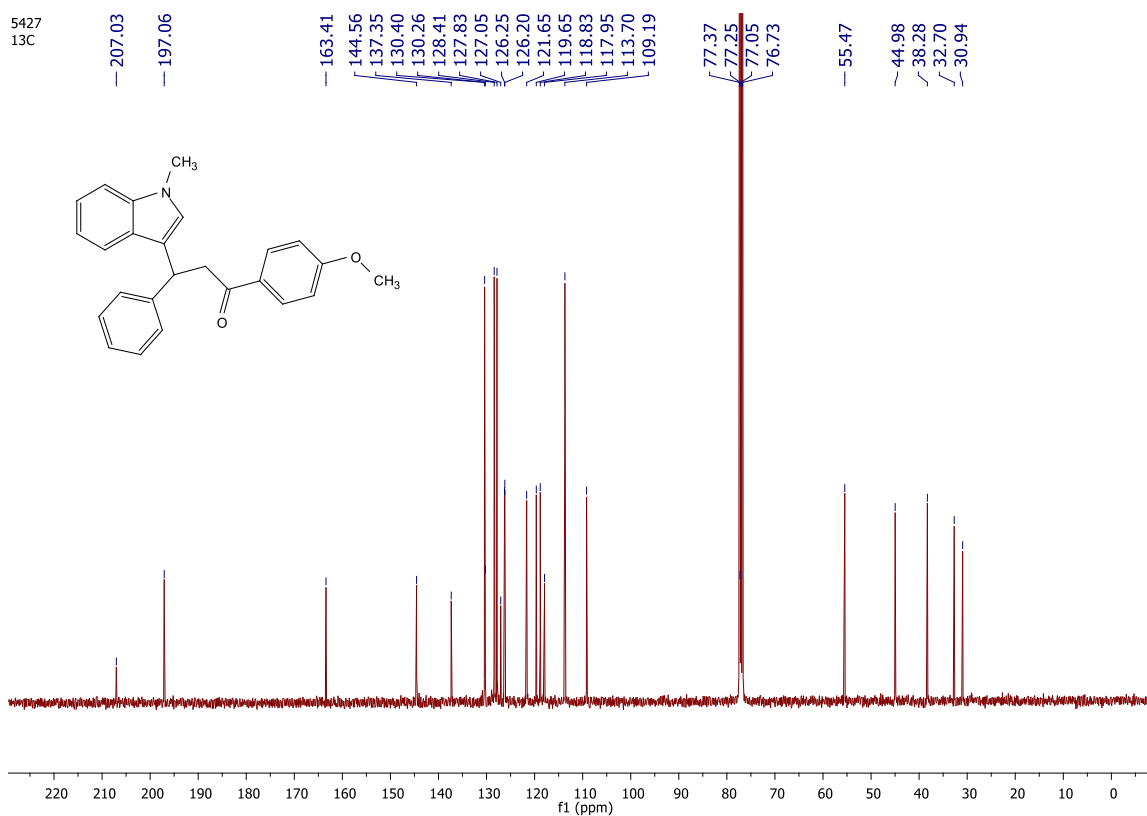
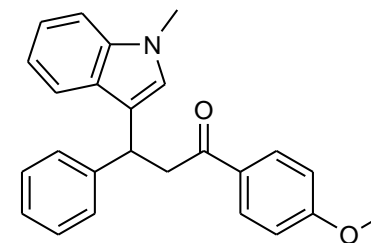
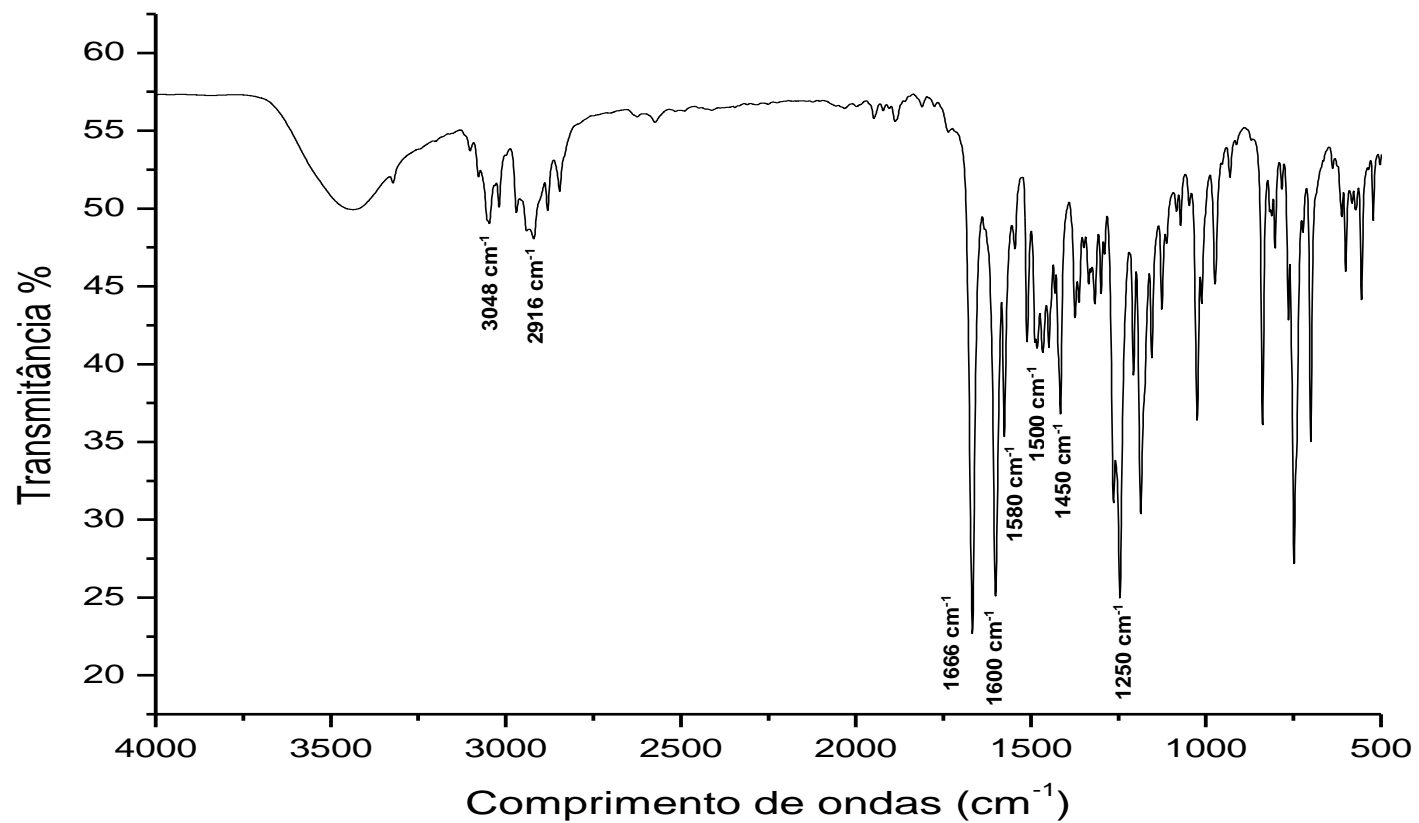
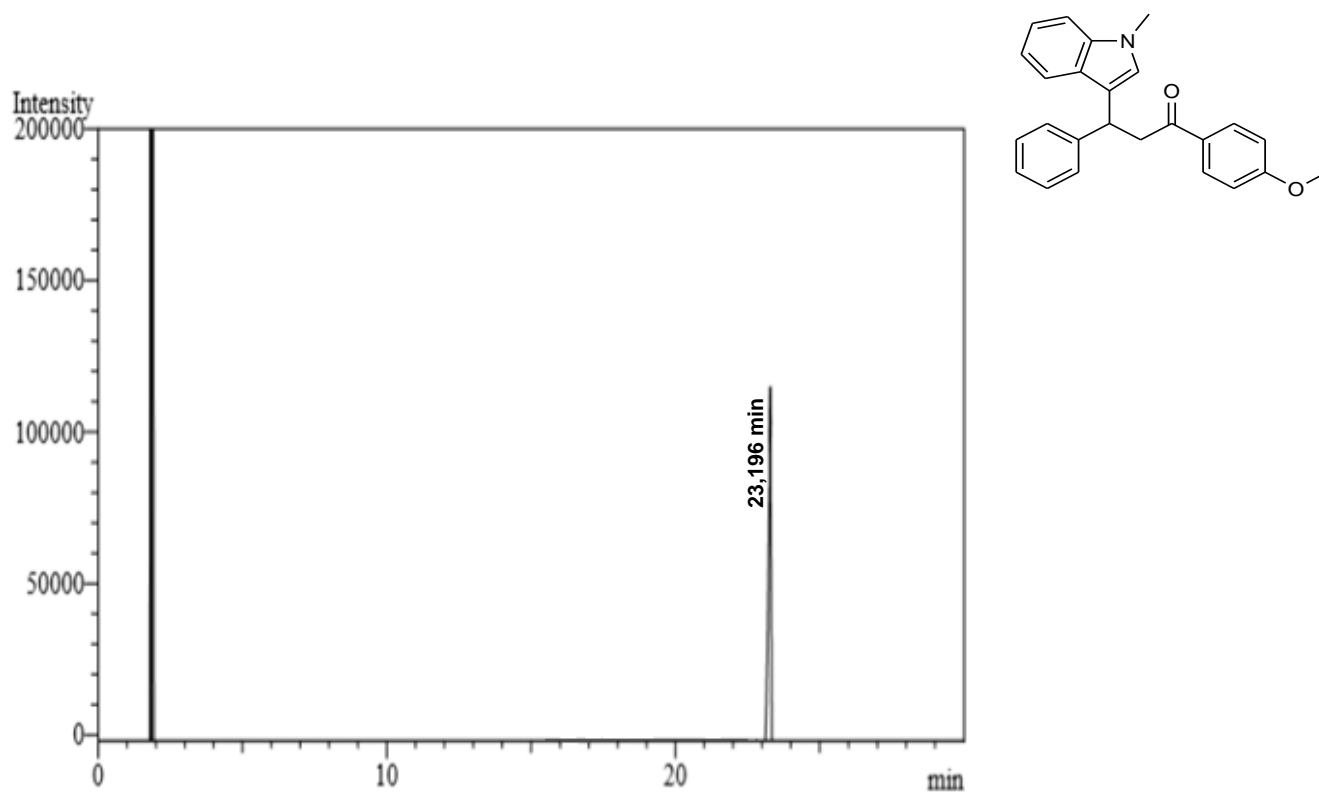
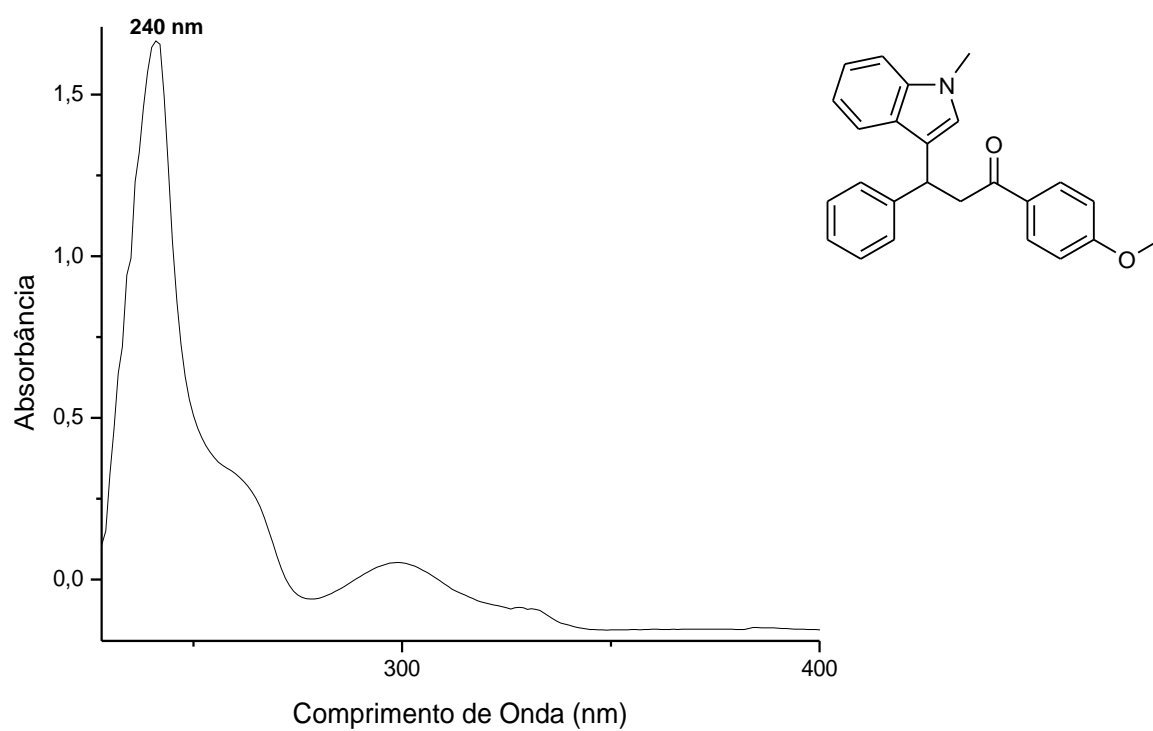
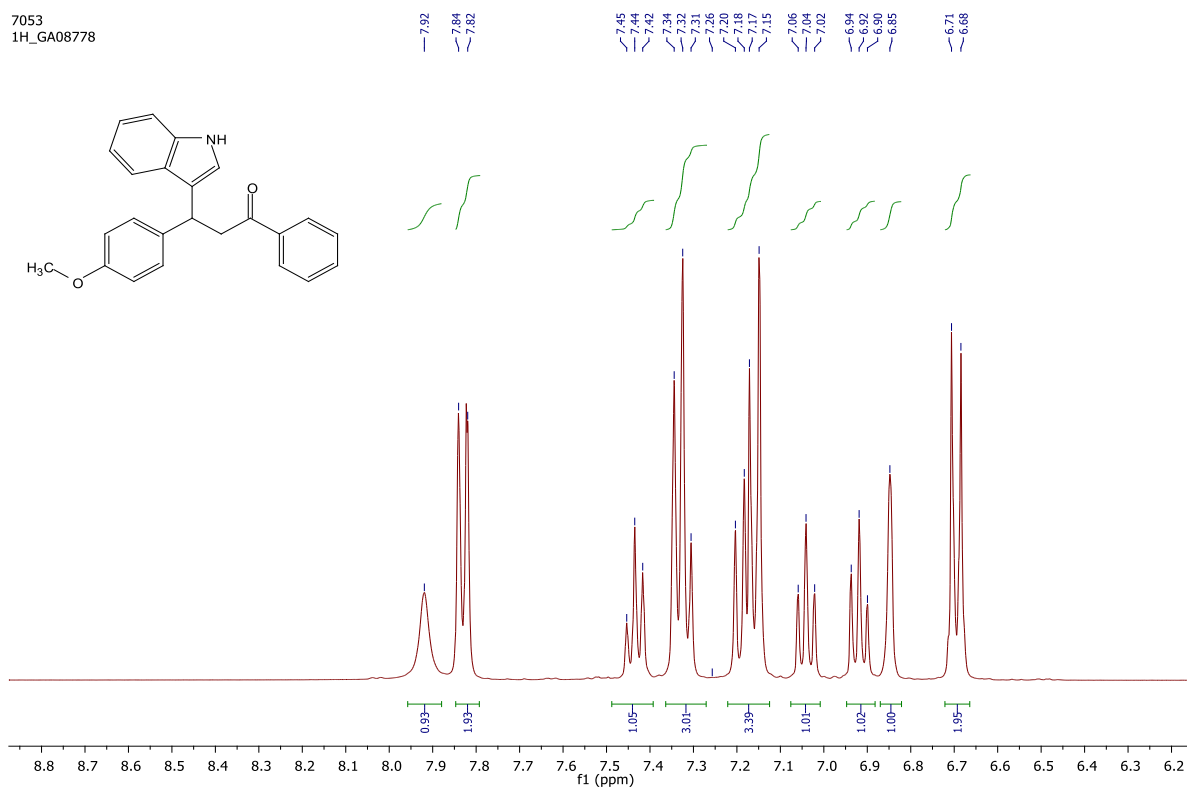


Figura 61 - Espectro de infravermelho de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (**3b**).



**Figura 62** - Cromatograma de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (**3b**).**Figura 63** - Espectro ultravioleta-visível de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (**3b**).

**Figura 64** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (**3c**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 65** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (**3c**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

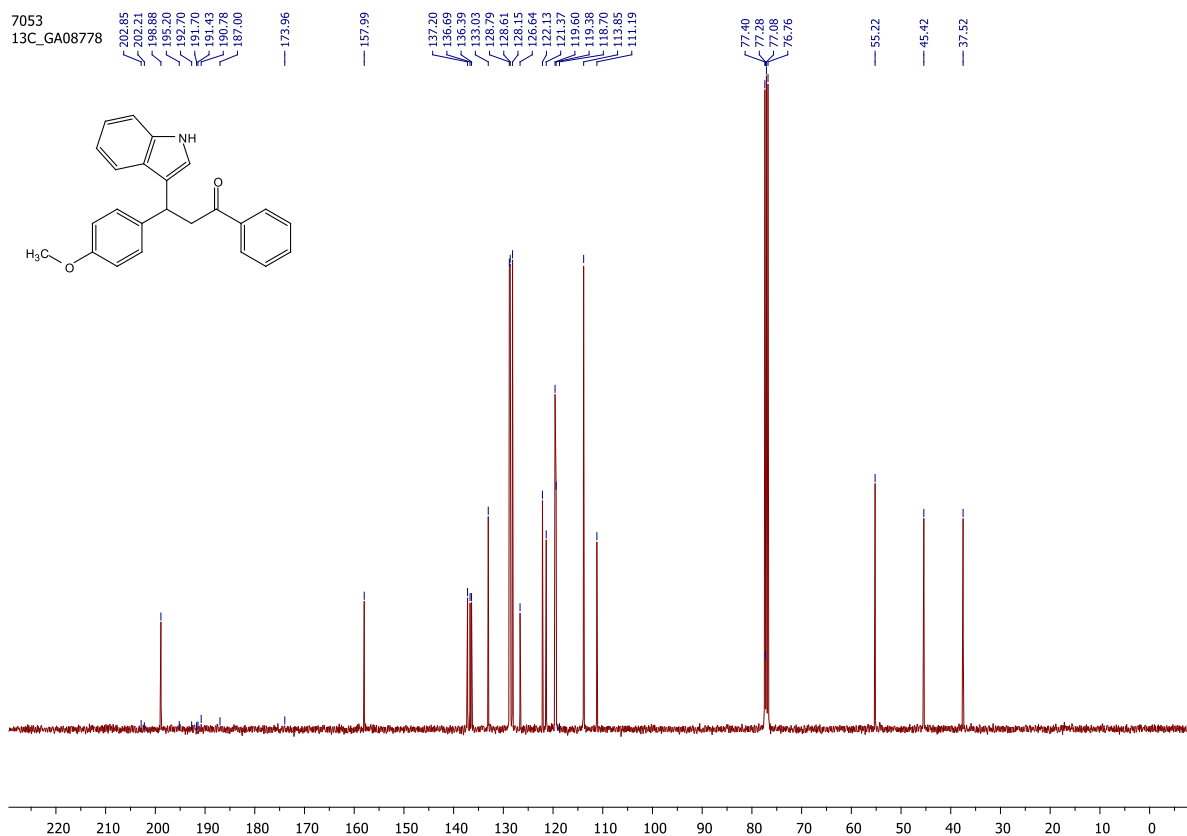
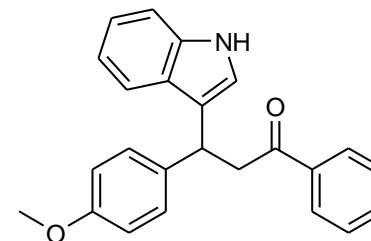
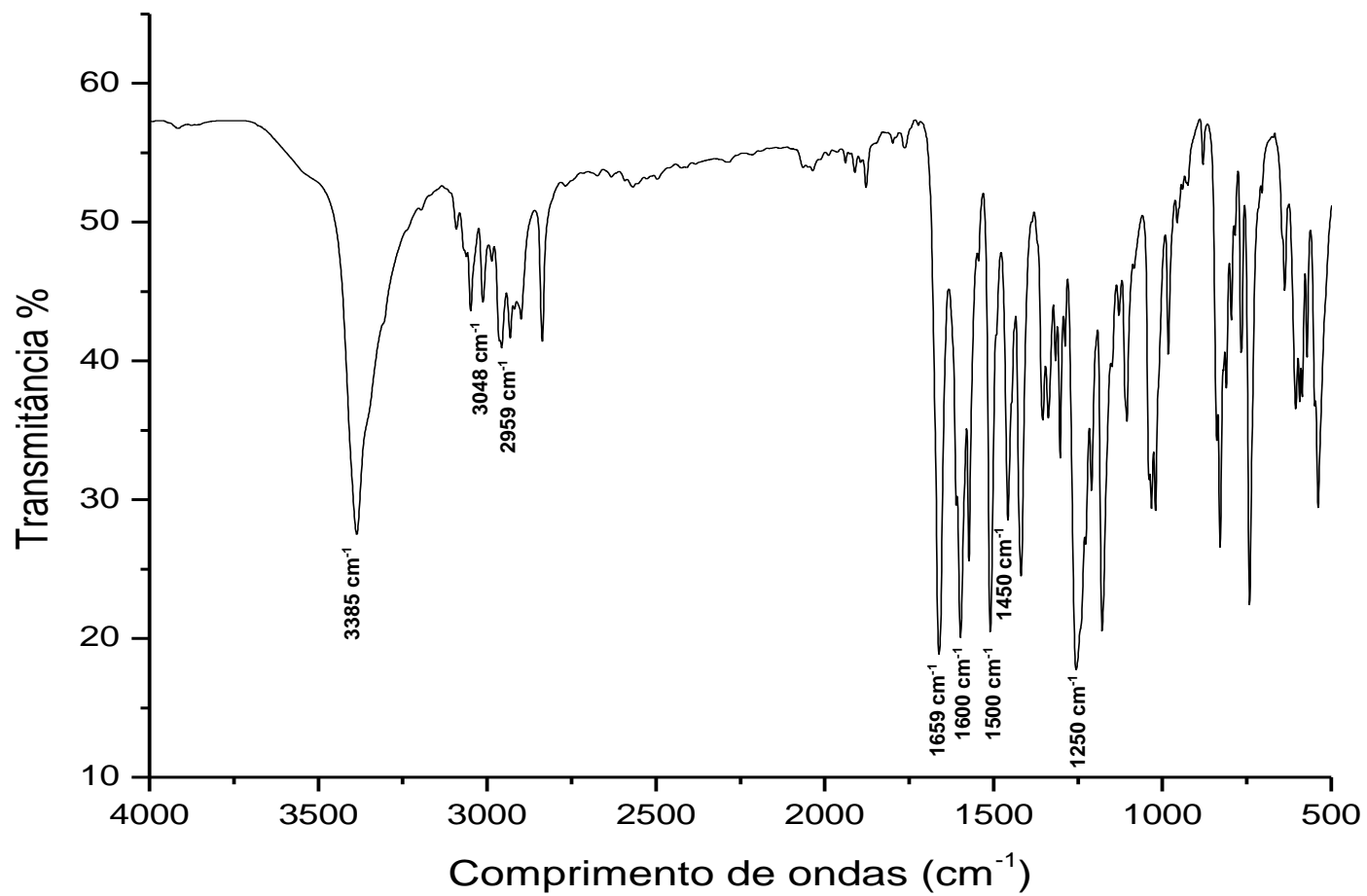
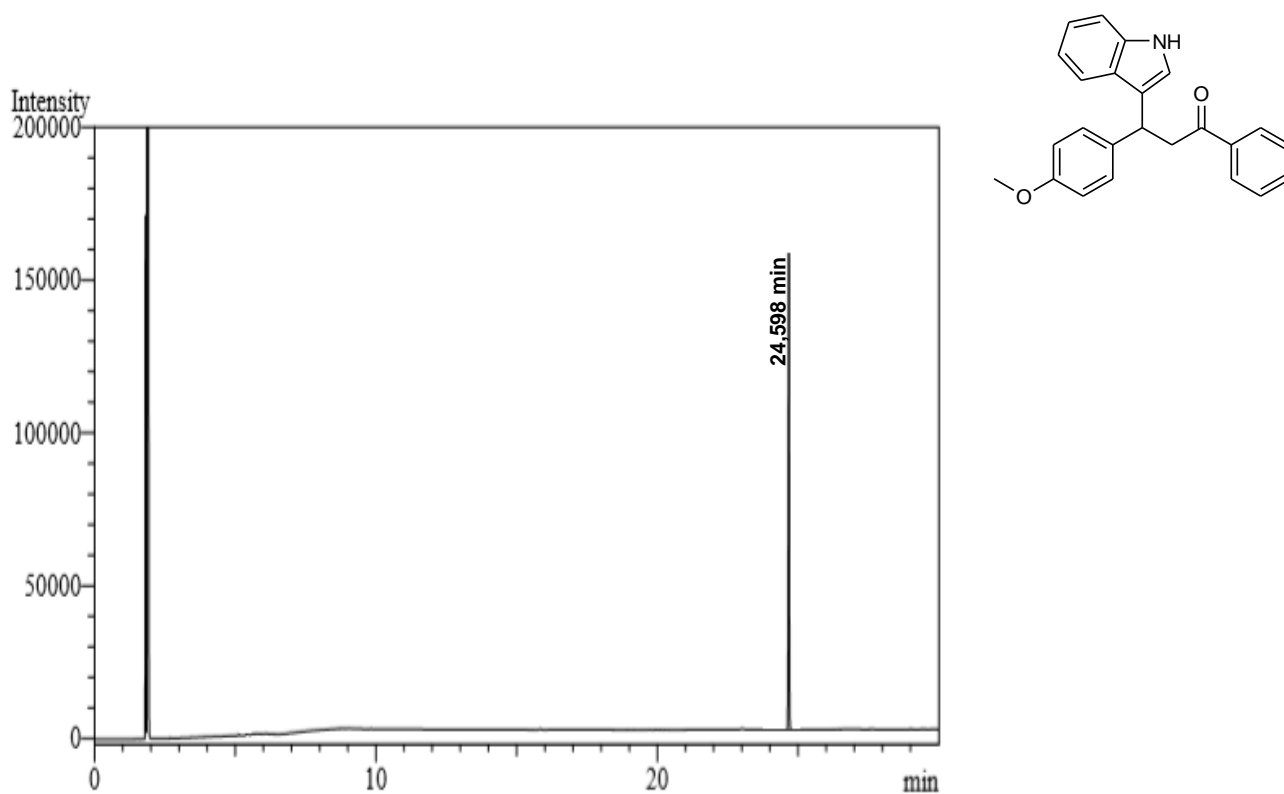
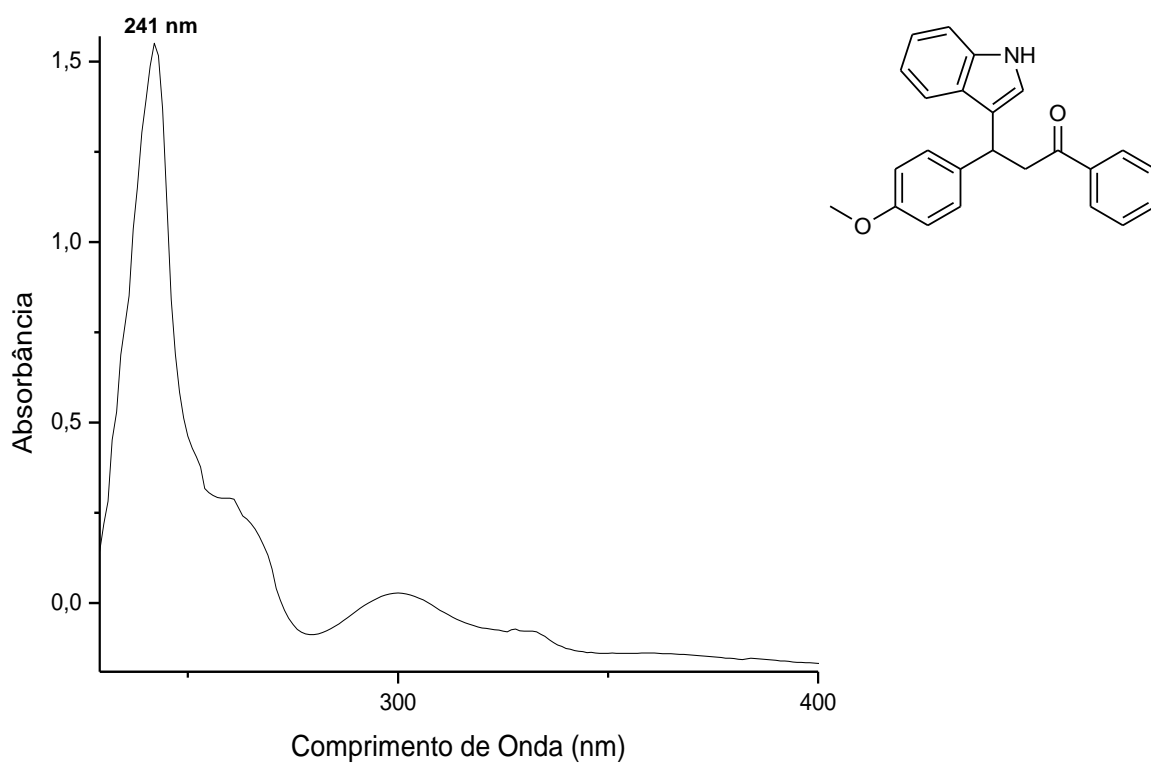
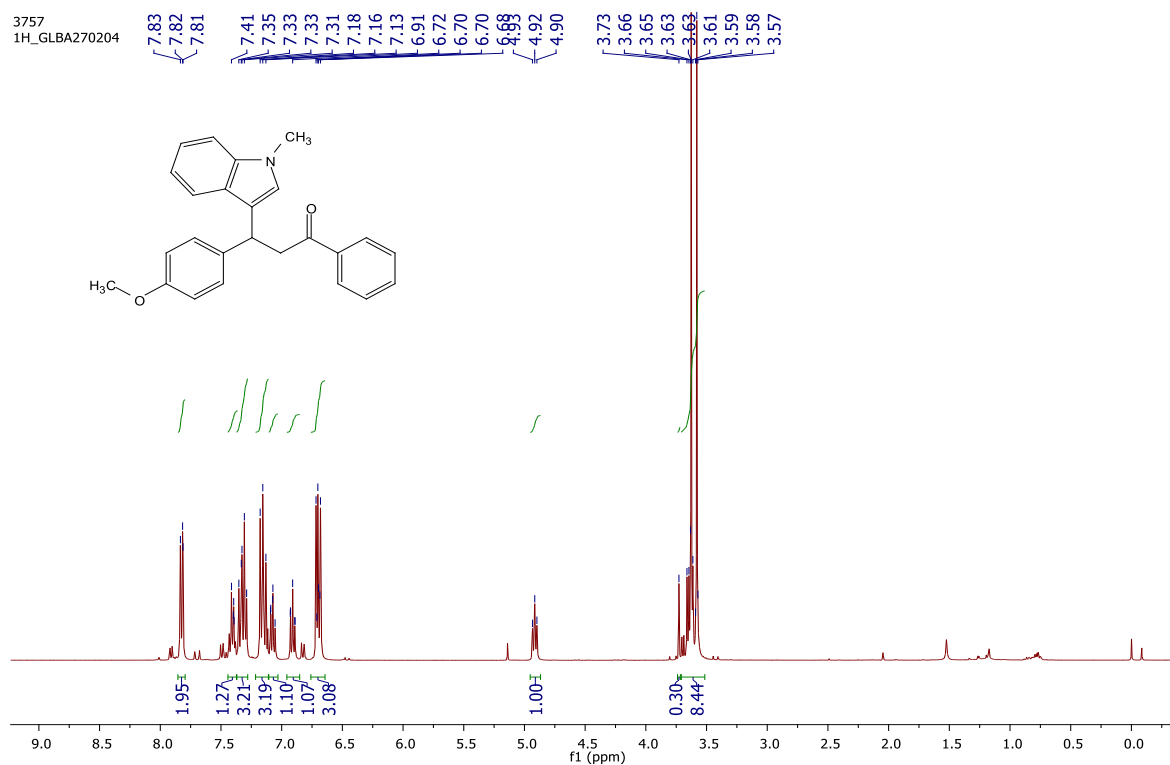


Figura 66 - Espectro de infravermelho de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (**3c**).



**Figura 67** - Cromatograma de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (**3c**).**Figura 68** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (**3c**).

**Figura 69** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3d**) (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



**Figura 70** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3d**) (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz).

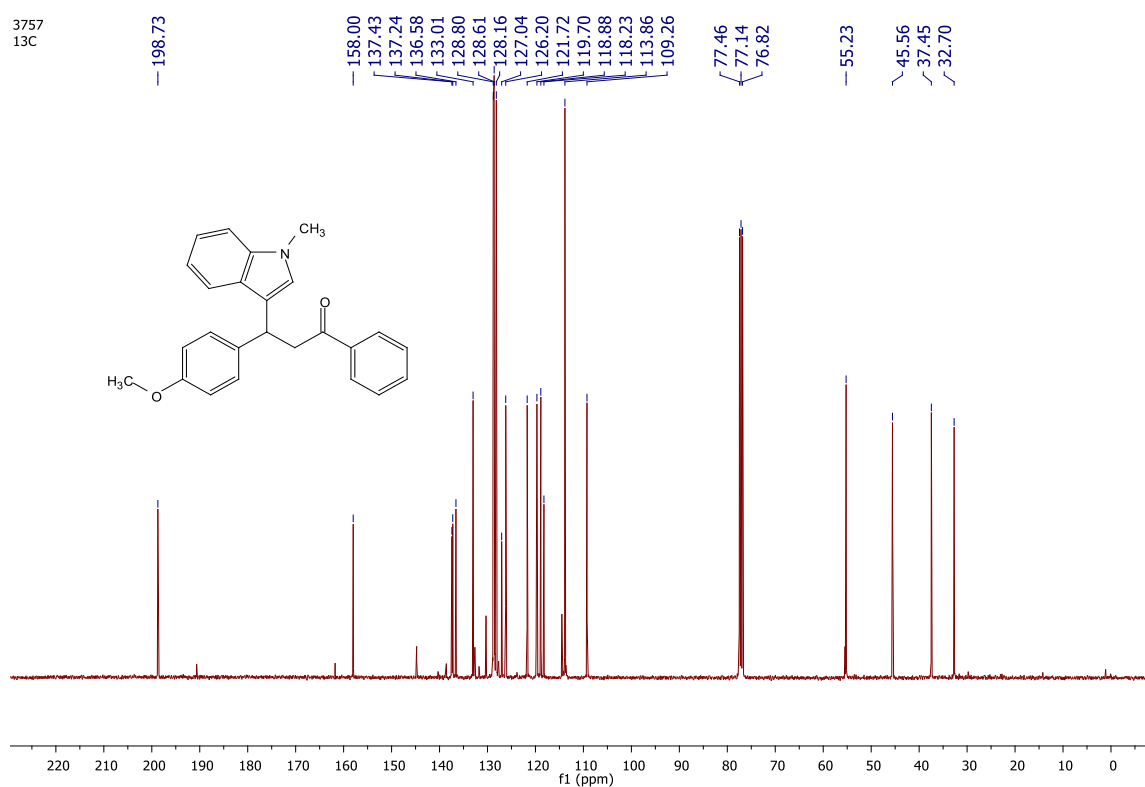
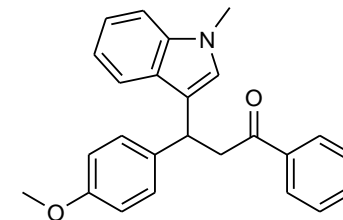
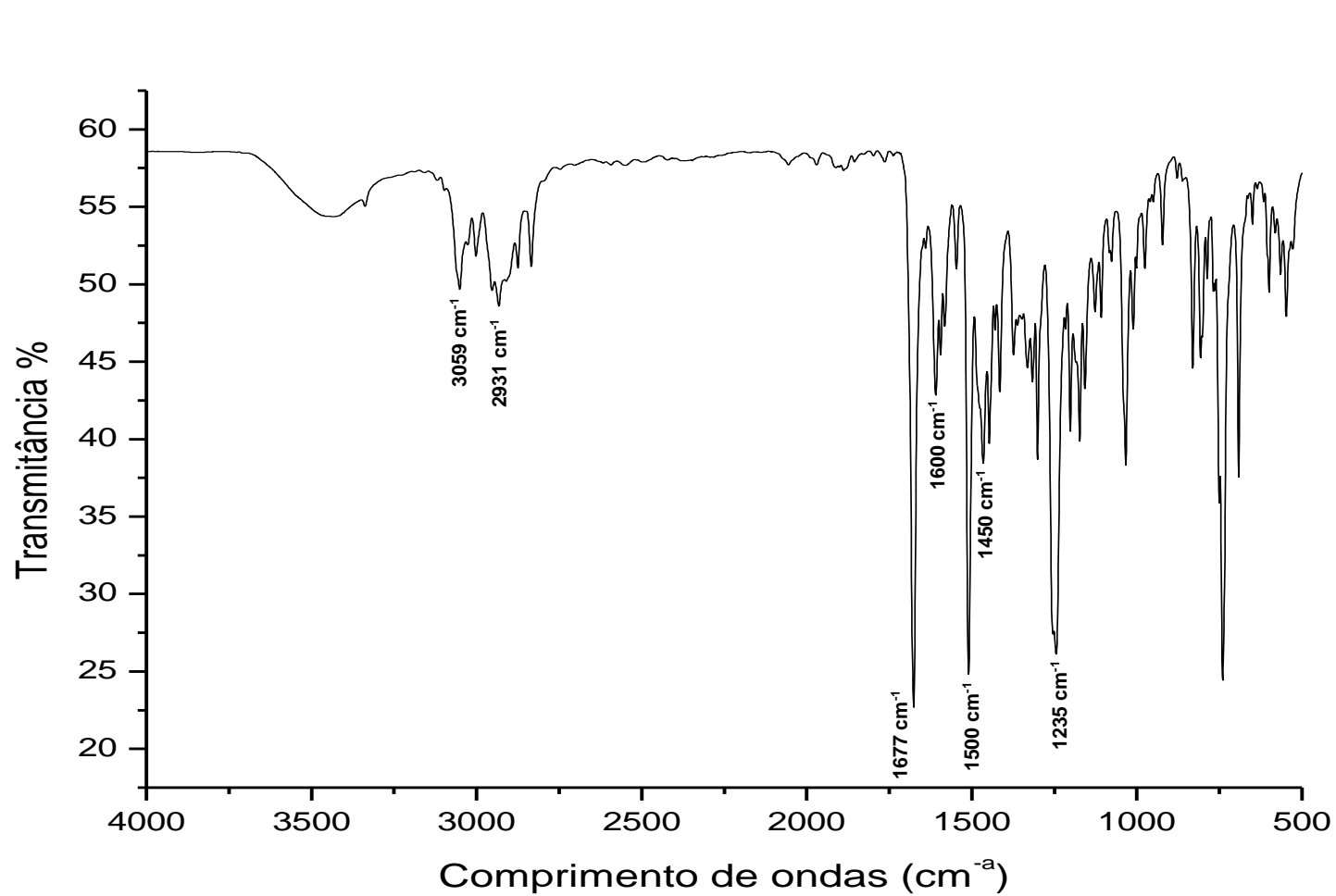
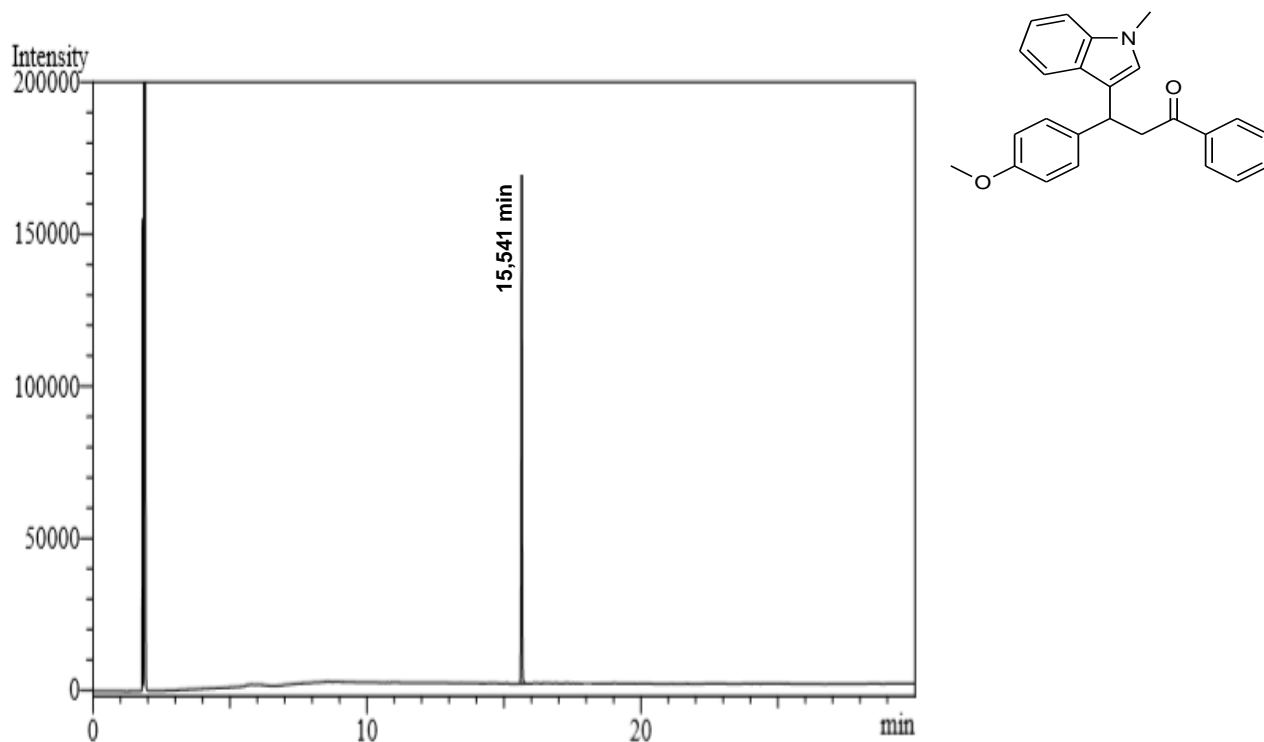
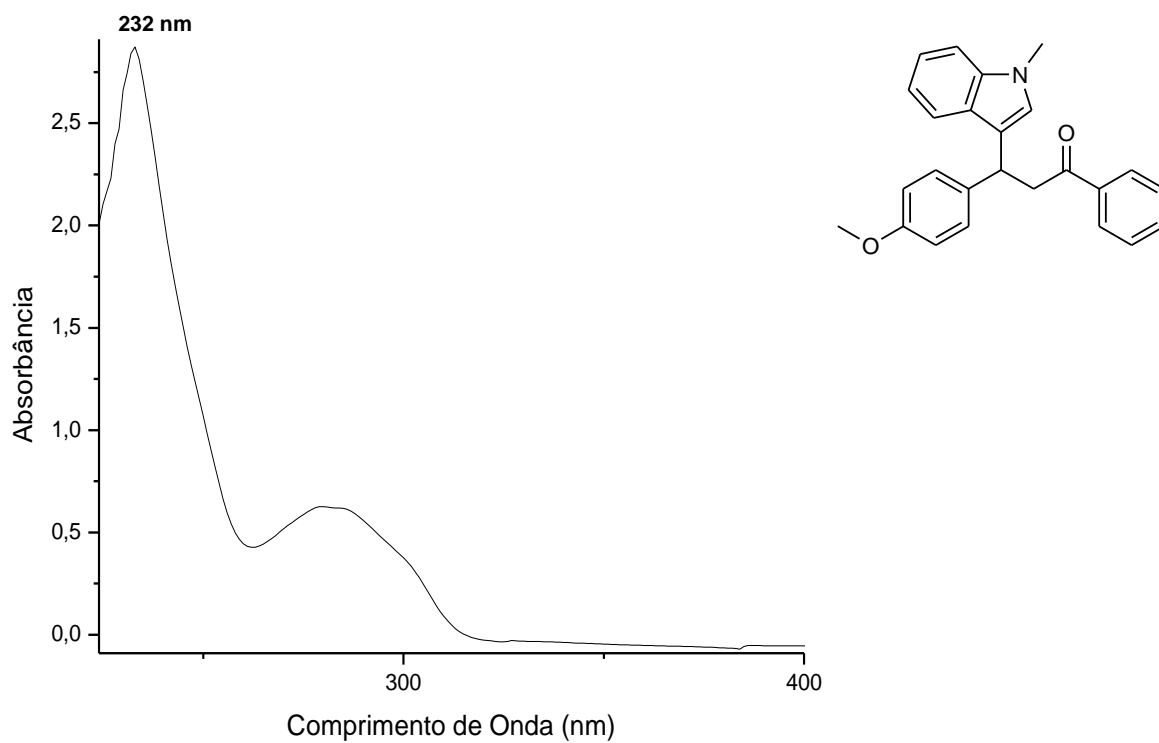
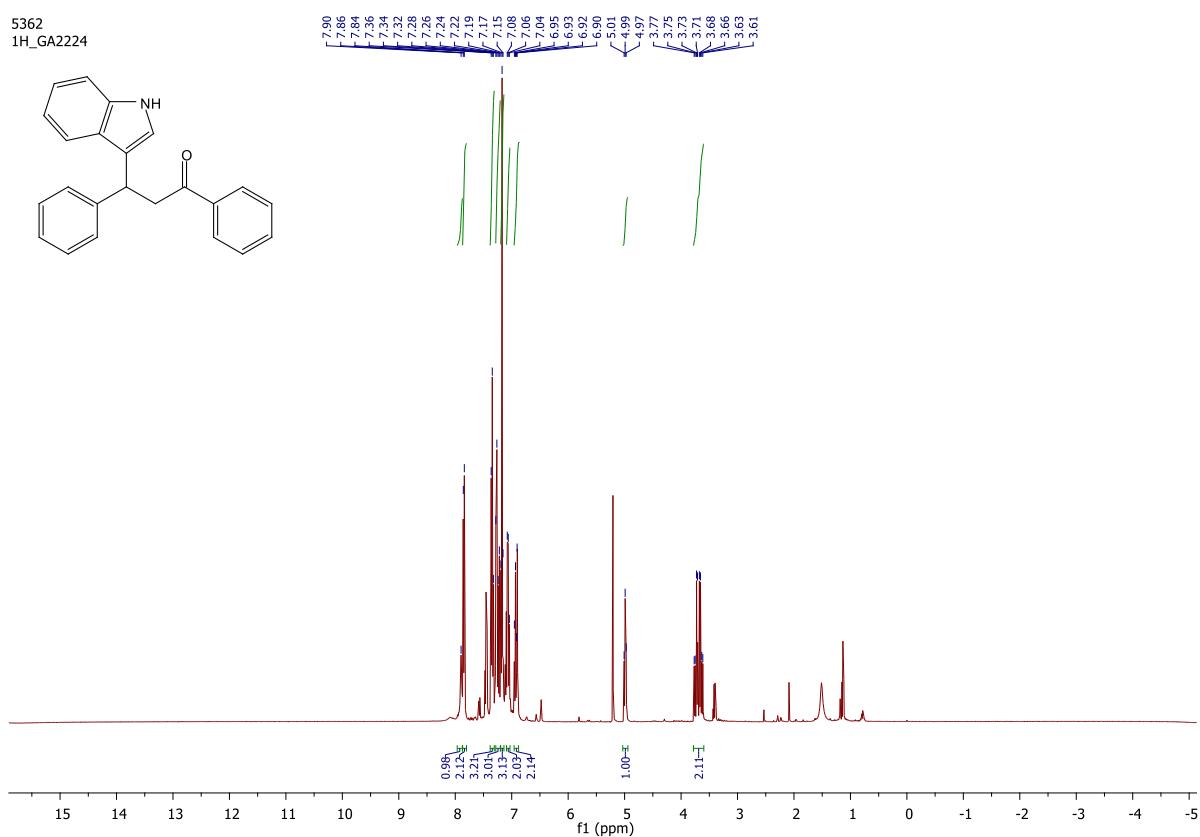


Figura 71 - Espectro de infravermelho de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3d**).



**Figura 72** - Cromatograma de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3d**).**Figura 73** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3d**).

**Figura 74** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3e**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 75** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3e**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

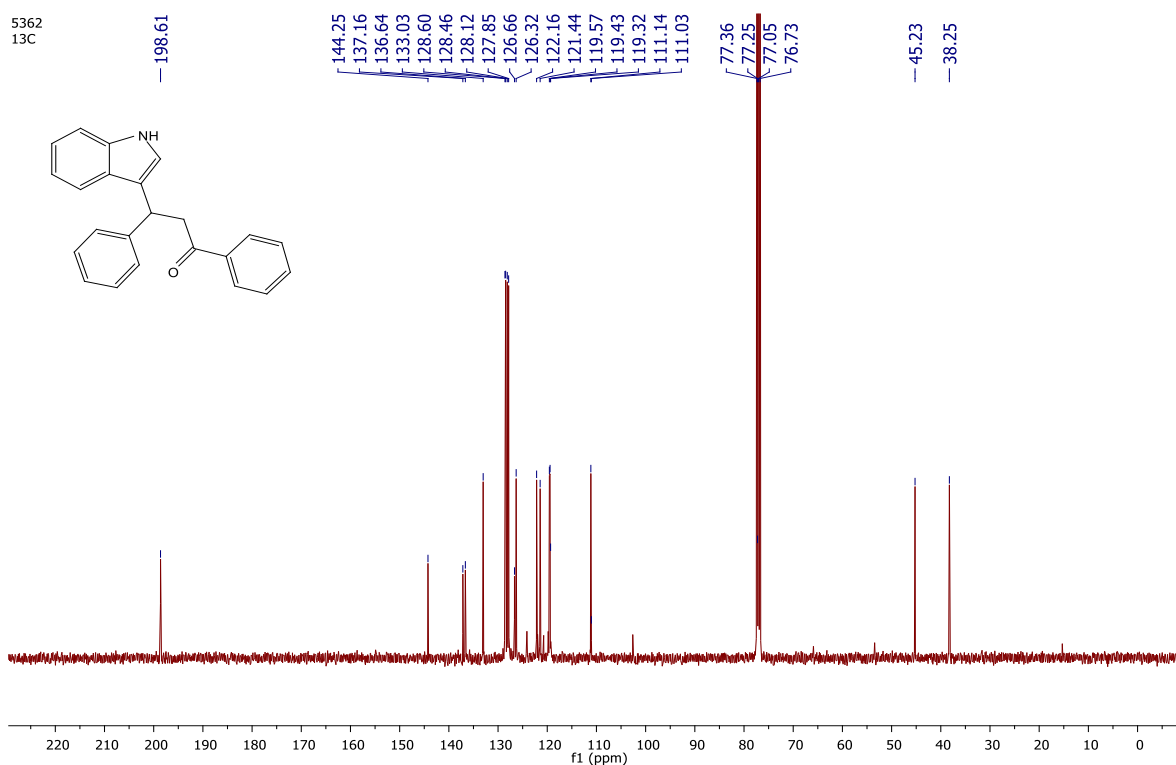
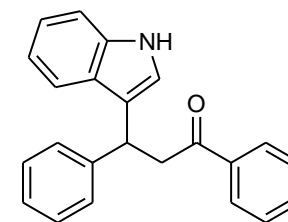
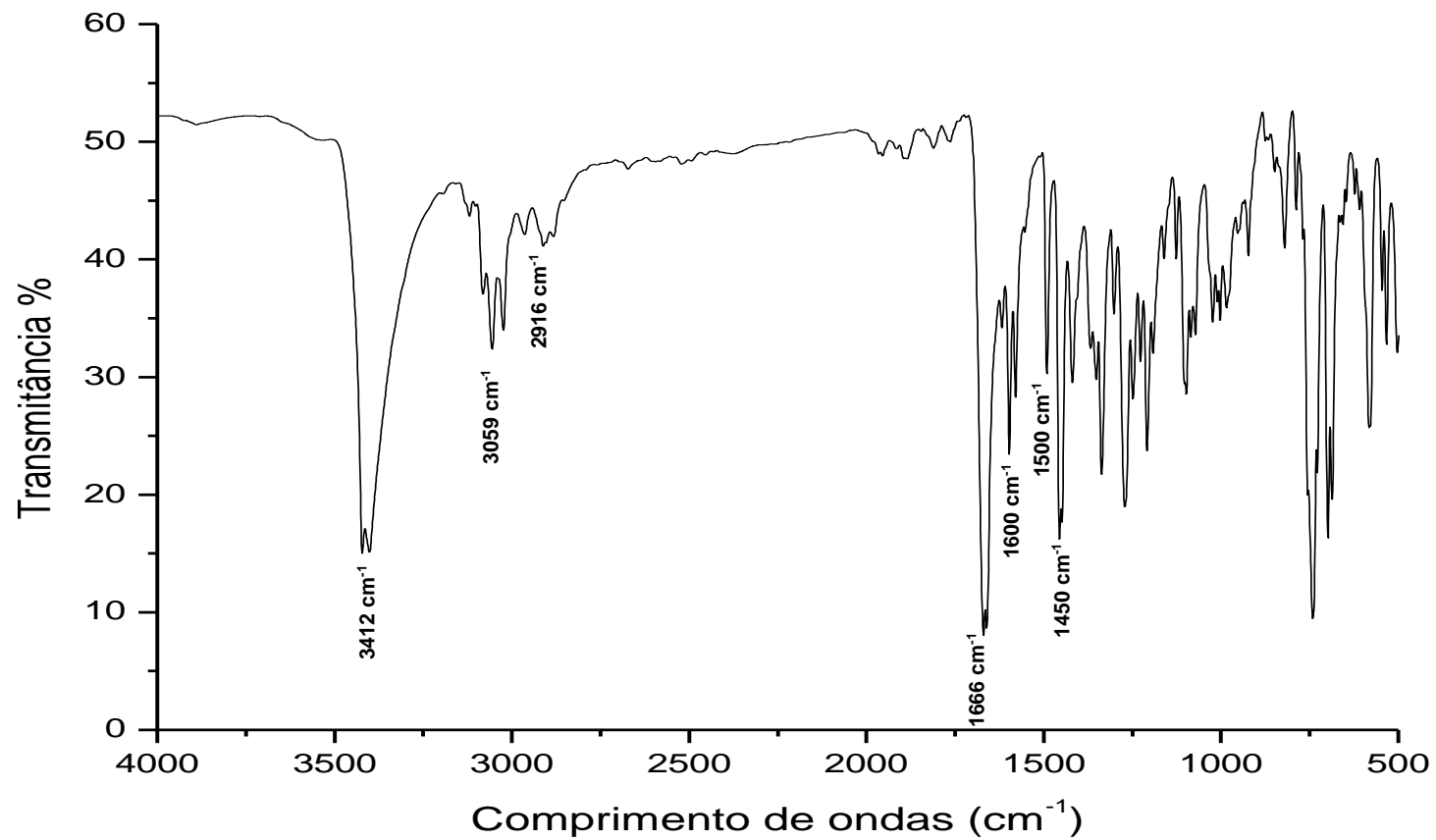
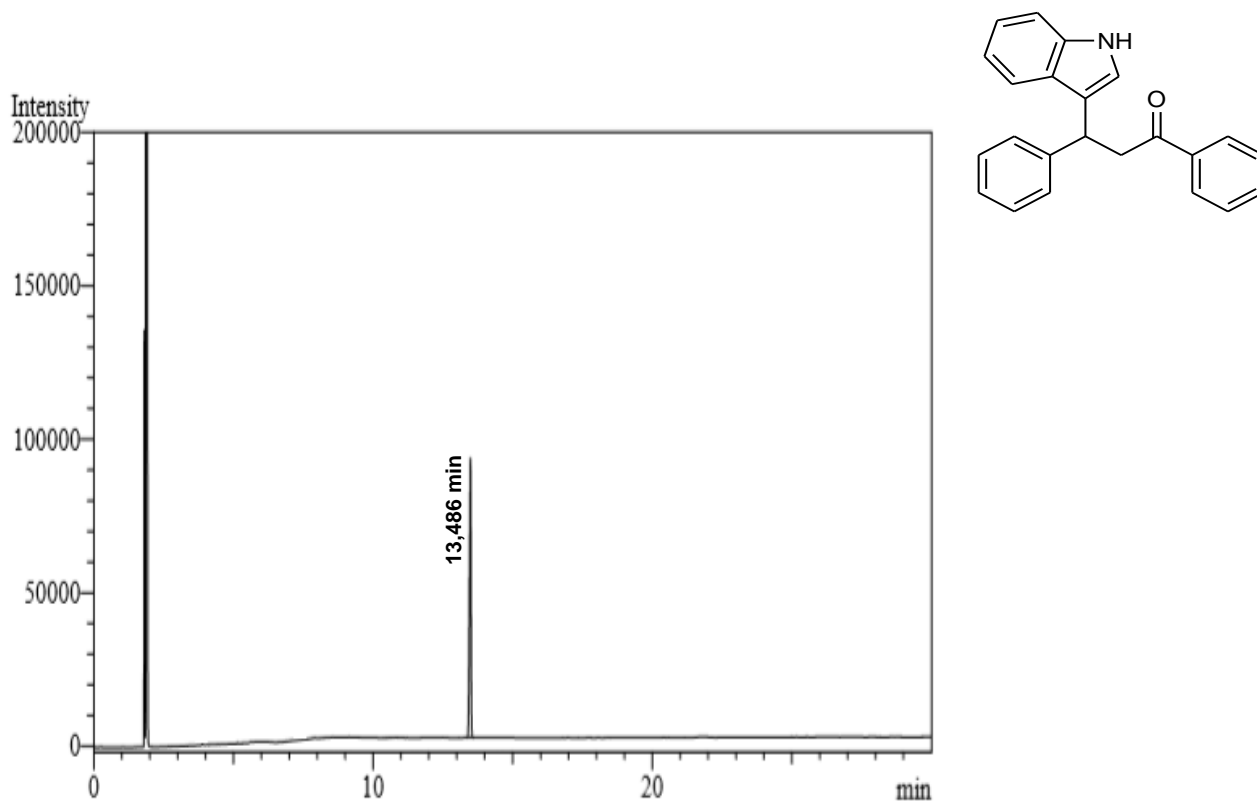
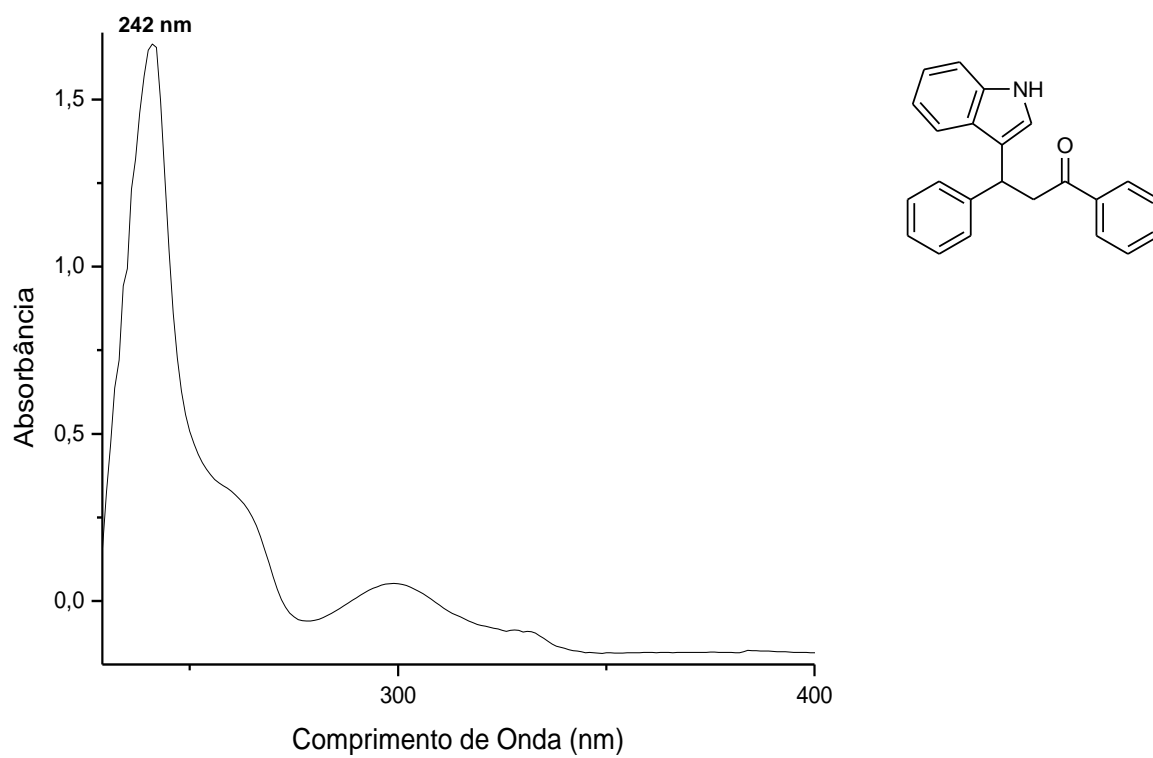
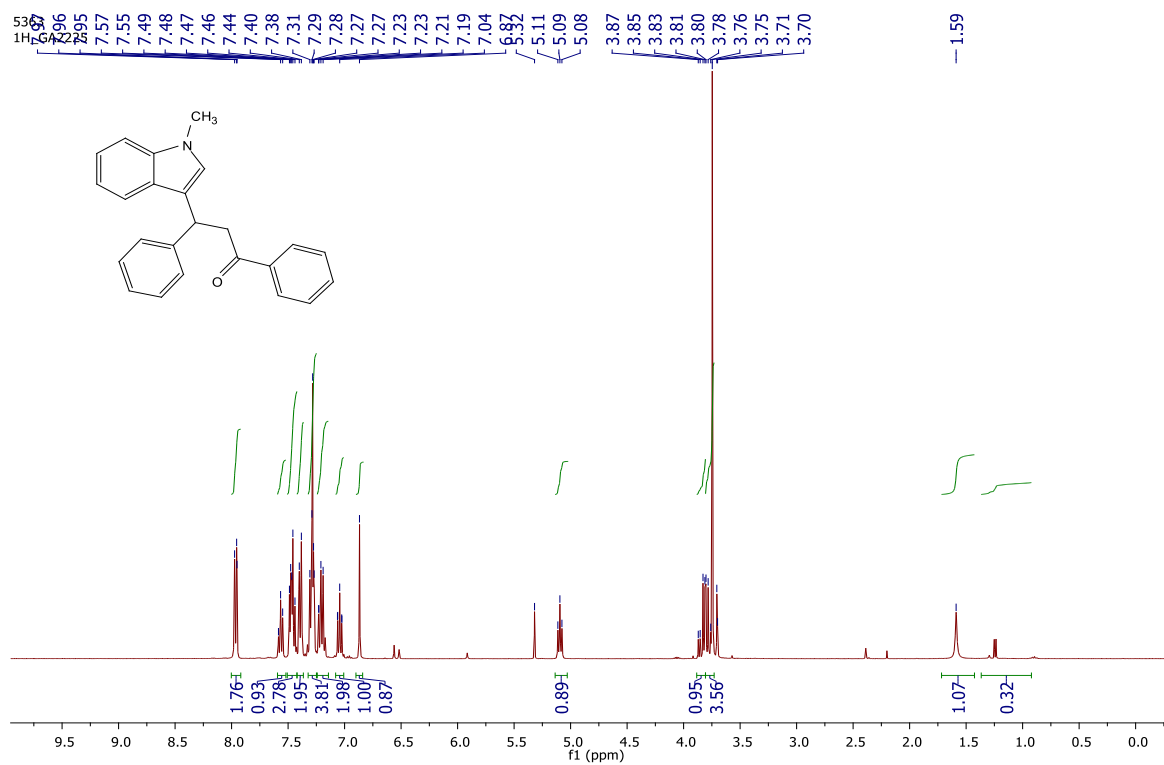


Figura 76 - Espectro de infravermelho de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3e**).



**Figura 77** - Cromatograma de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3e**).**Figura 78** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3e**).

**Figura 79** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3f**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 80** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3f**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

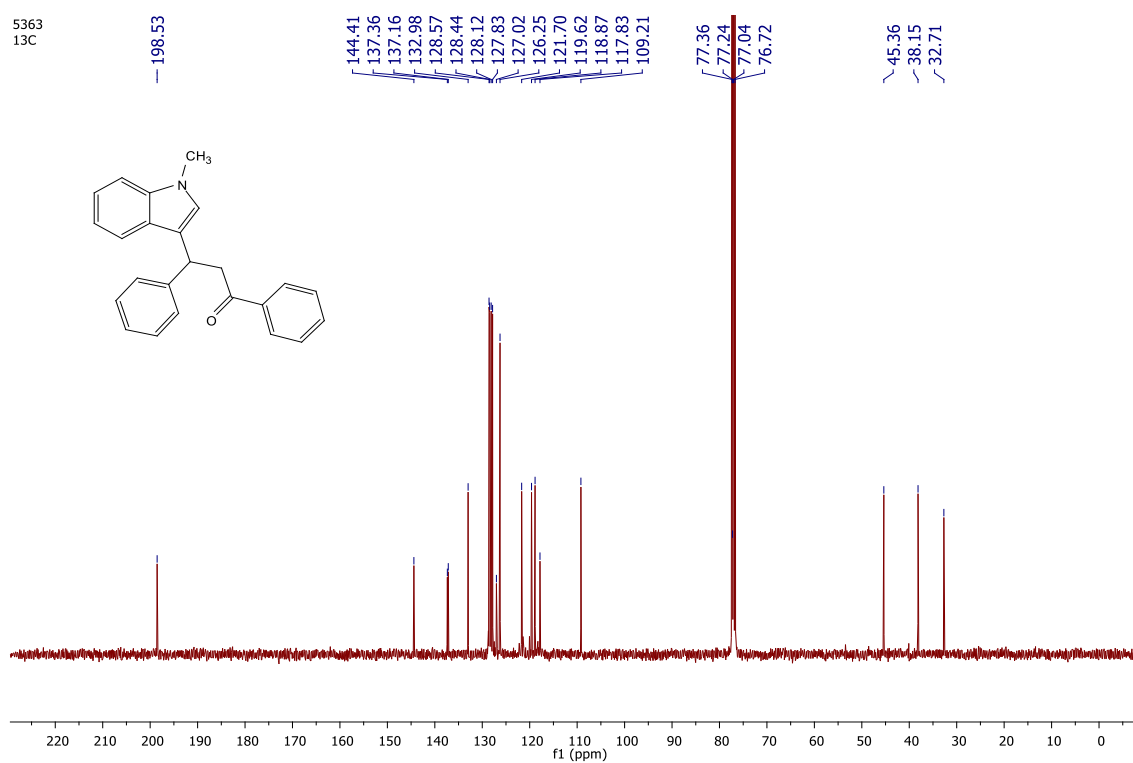
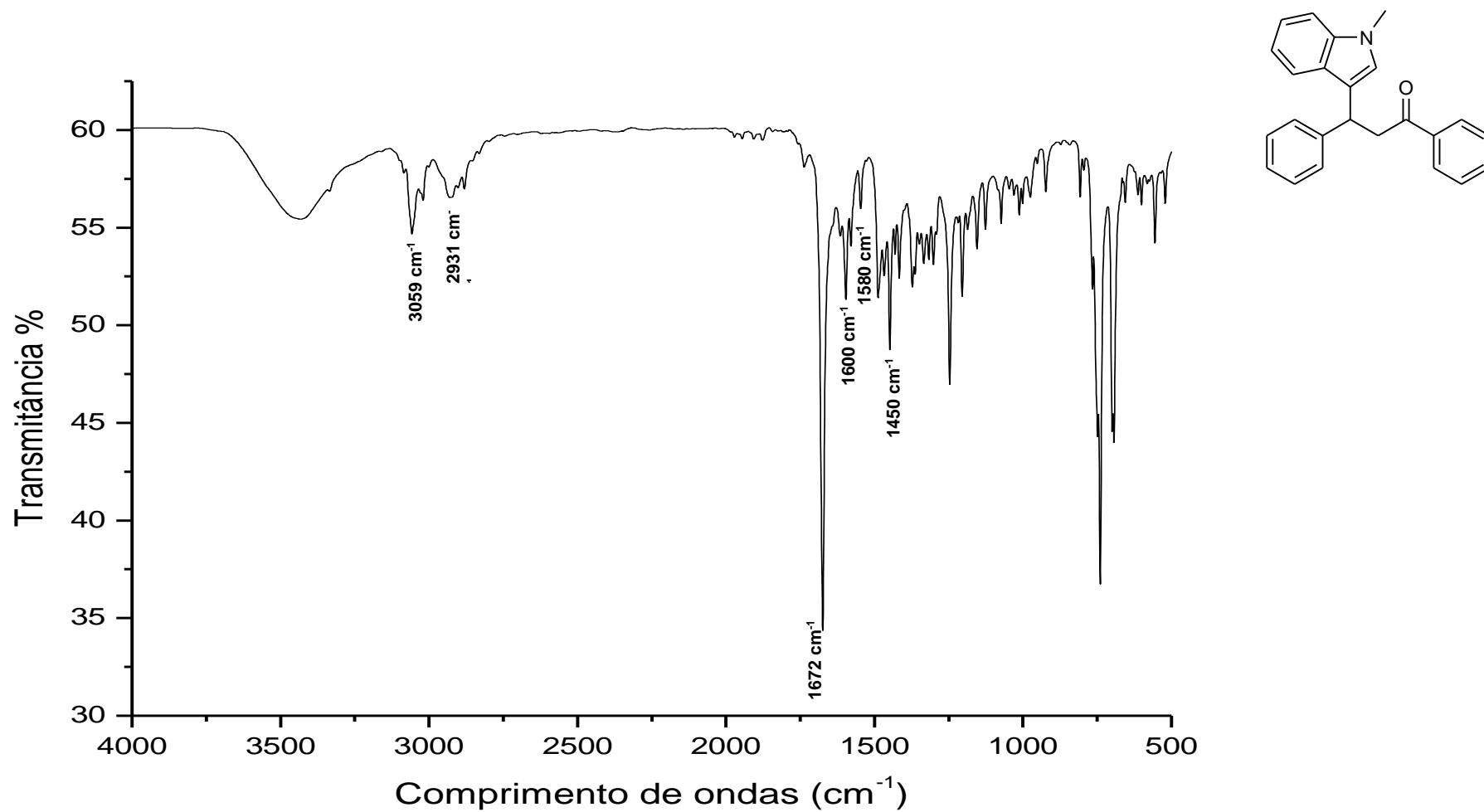
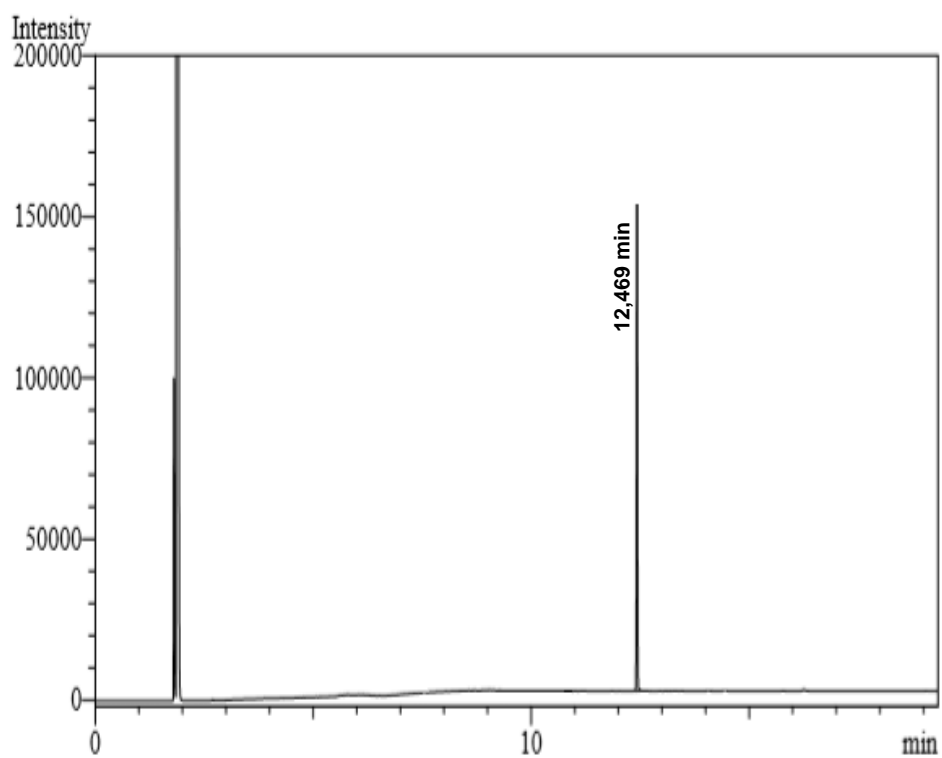
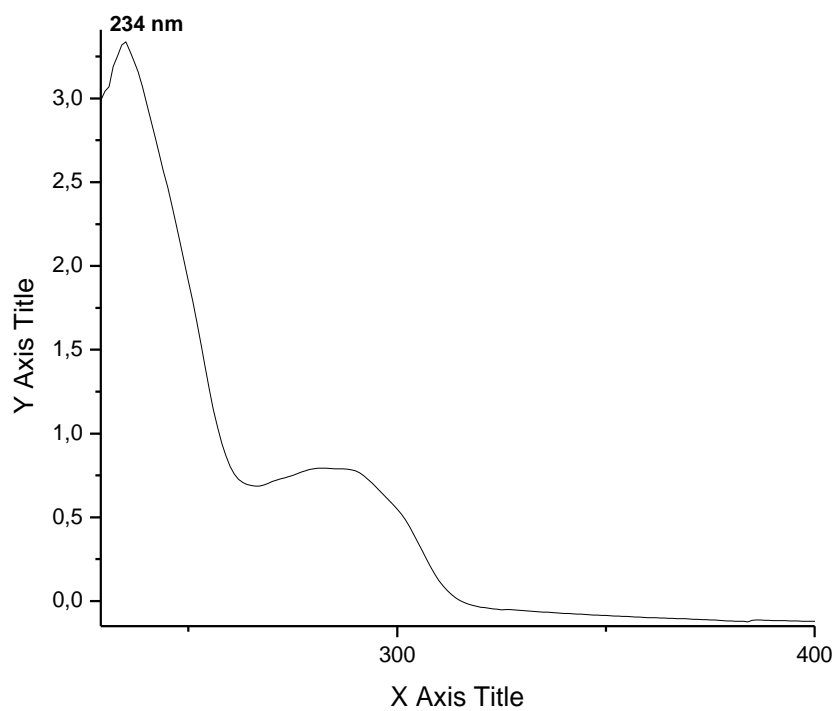
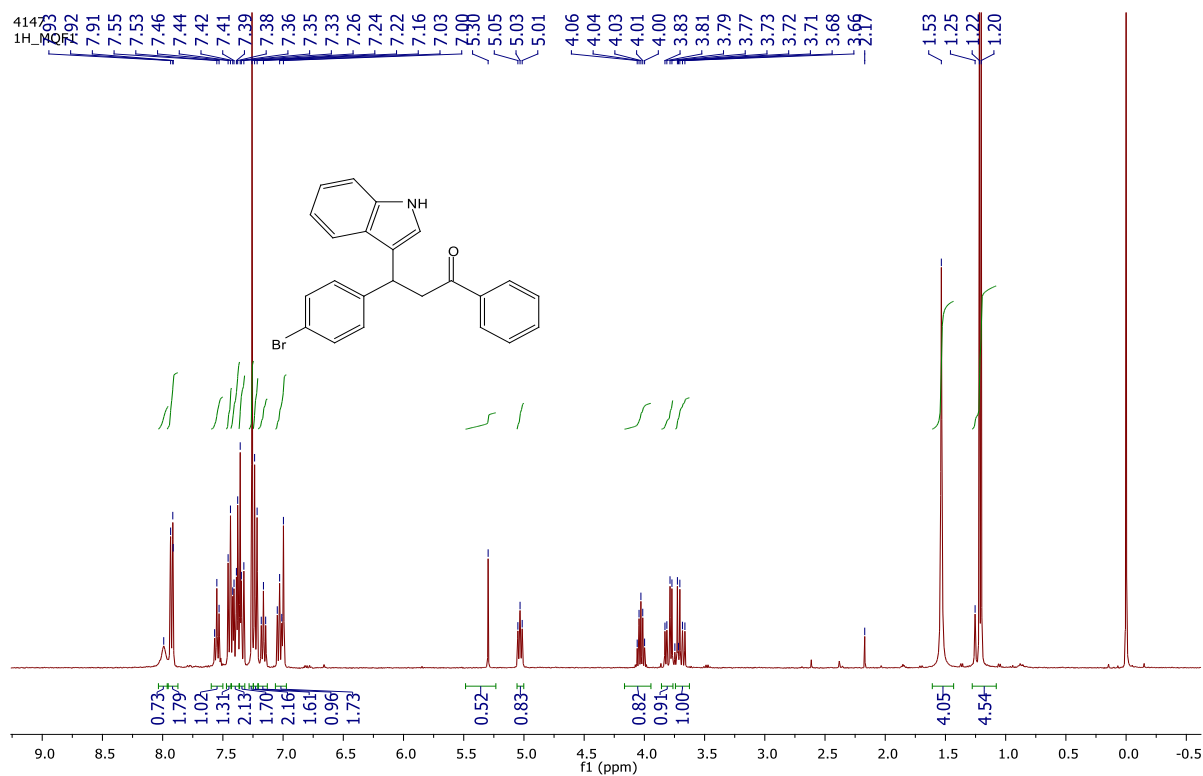


Figura 81 - Espectro de infravermelho de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3f**).



**Figura 82** - Cromatograma de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3f**).**Figura 83** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3f**).

**Figura 84** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3g**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 85** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3g**)  
( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

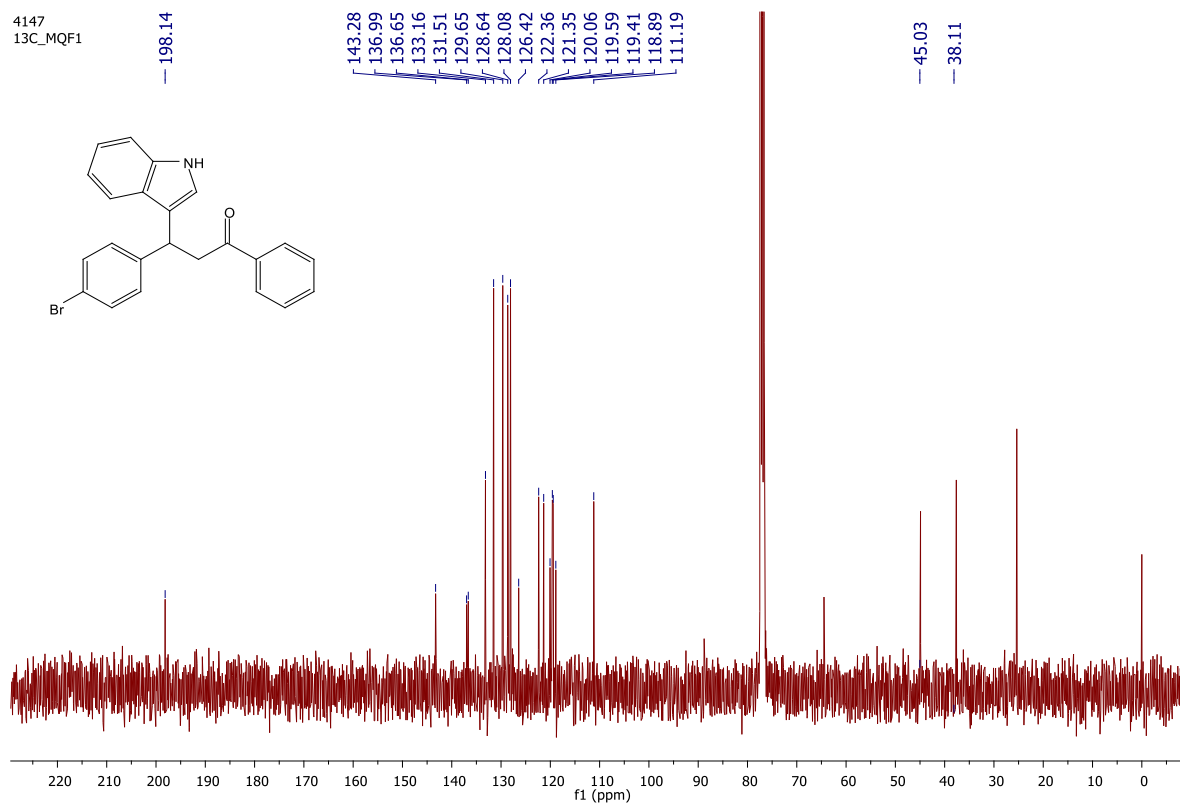
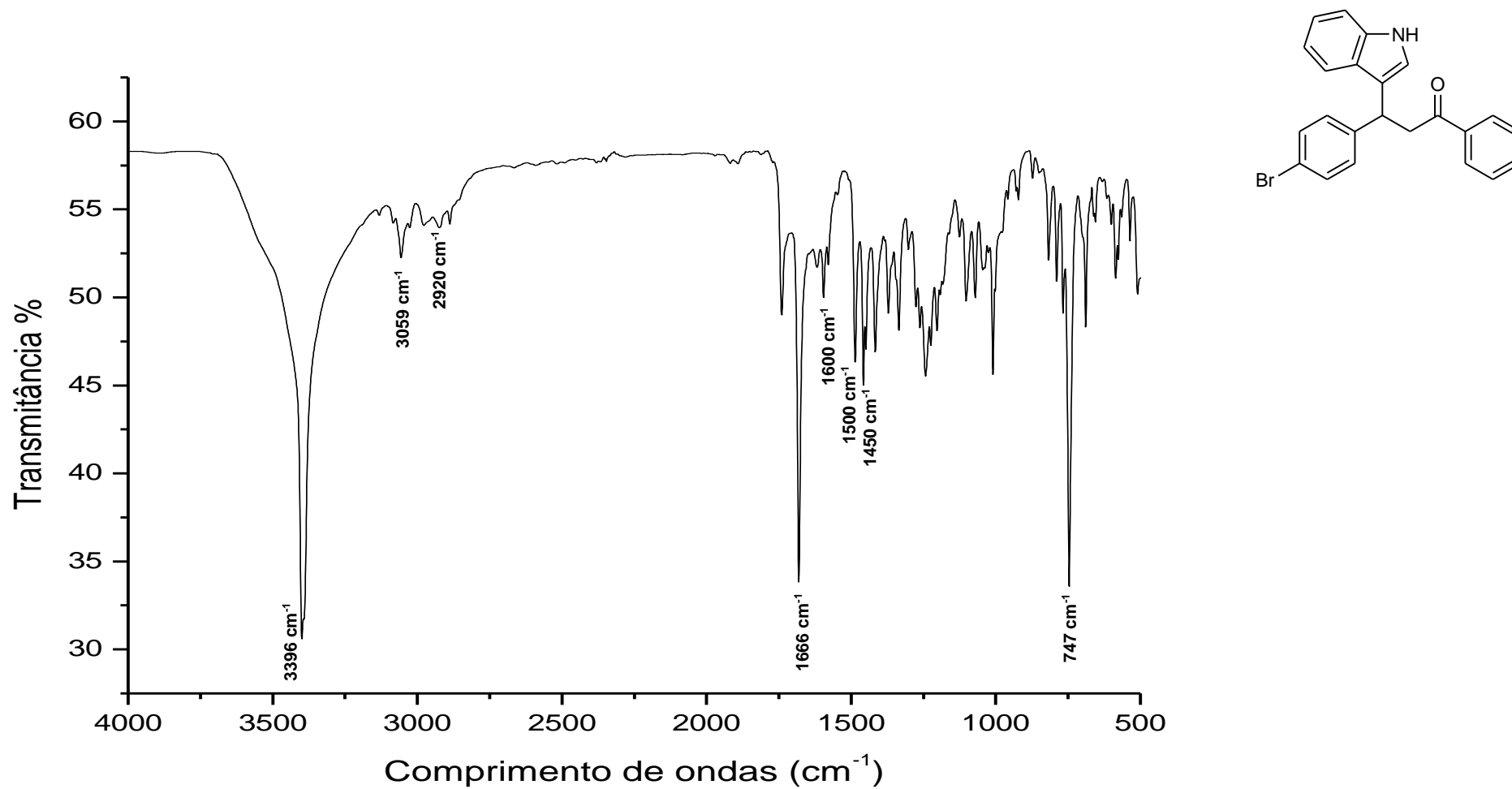
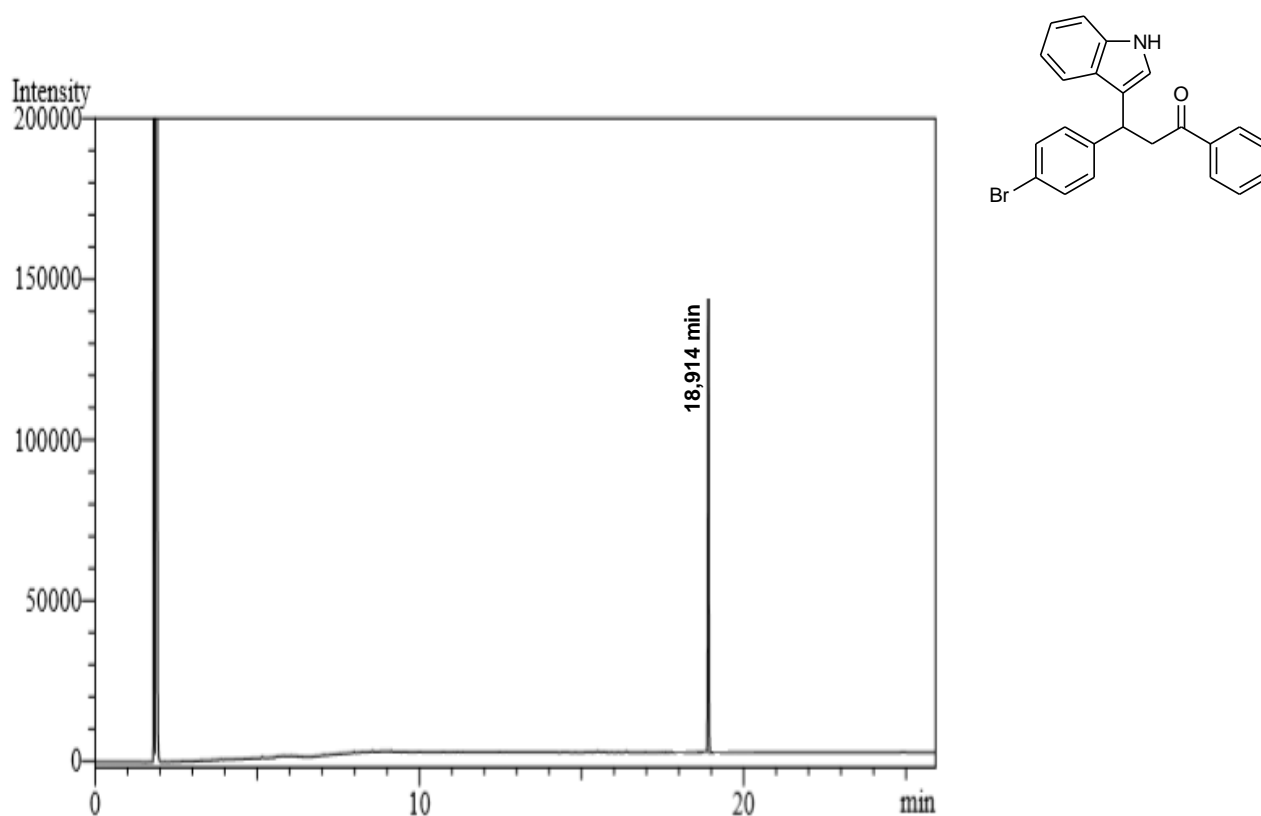
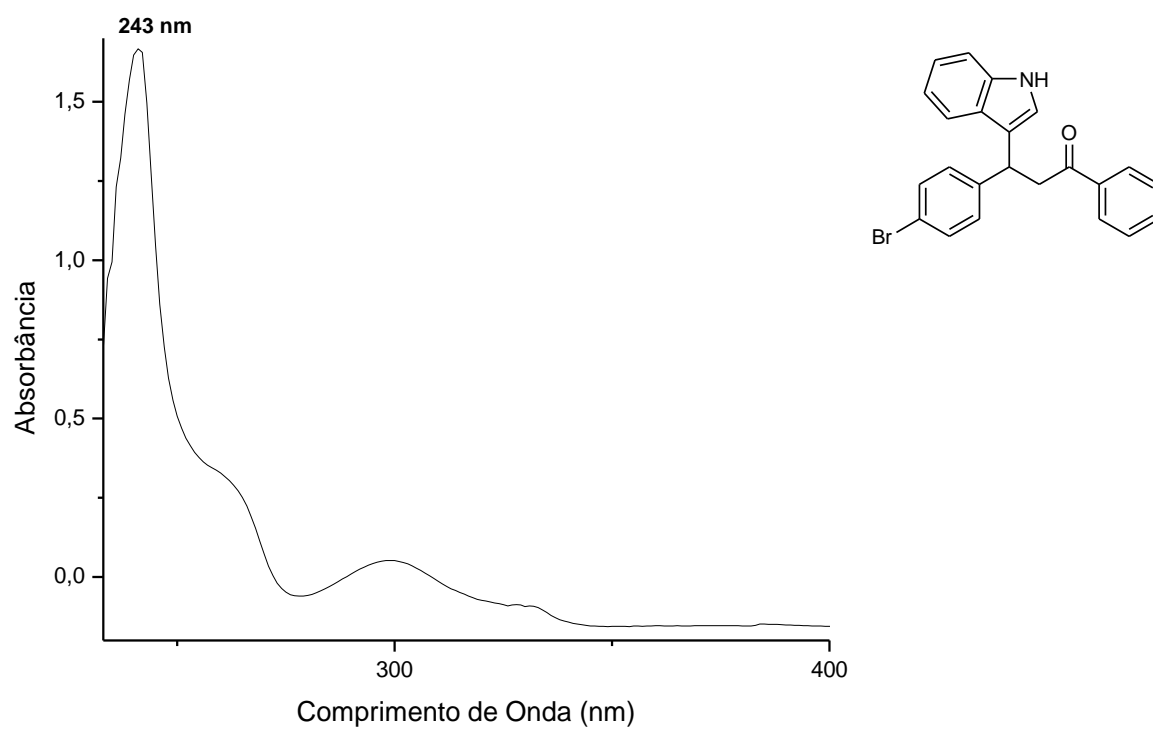
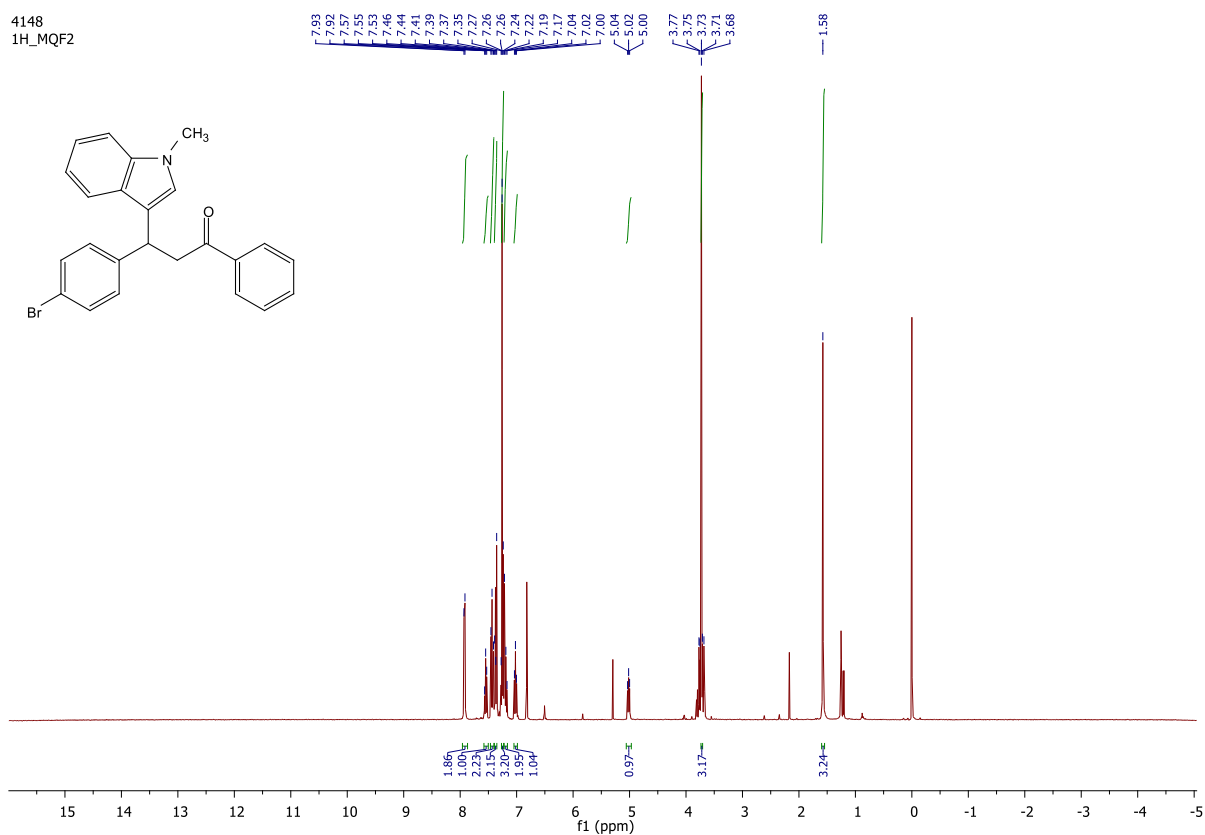


Figura 86 - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3g**).



**Figura 87** - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3g**).**Figura 88** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3g**).

**Figura 89** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3h**) (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



**Figura 90** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3h**) (CDCl<sub>3</sub>, 101 MHz).

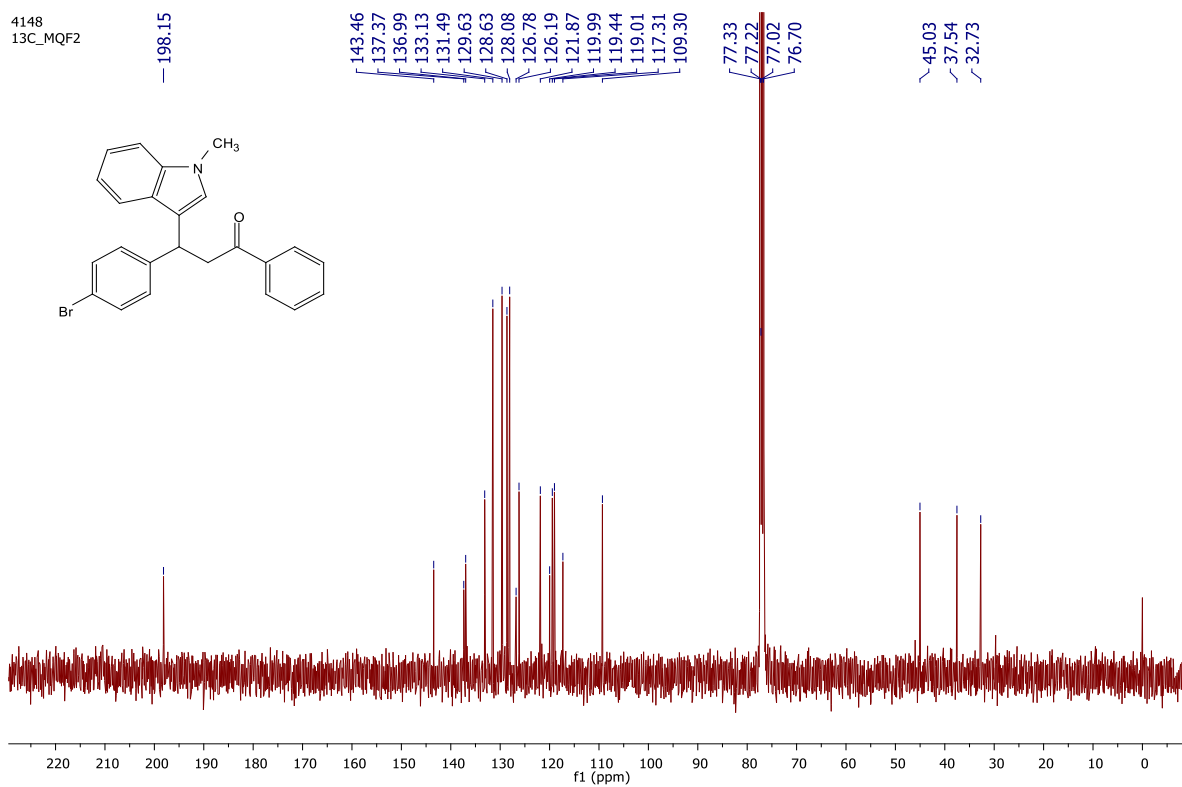
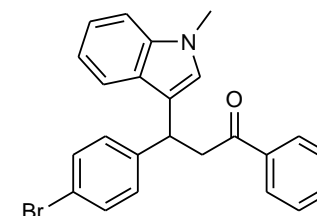
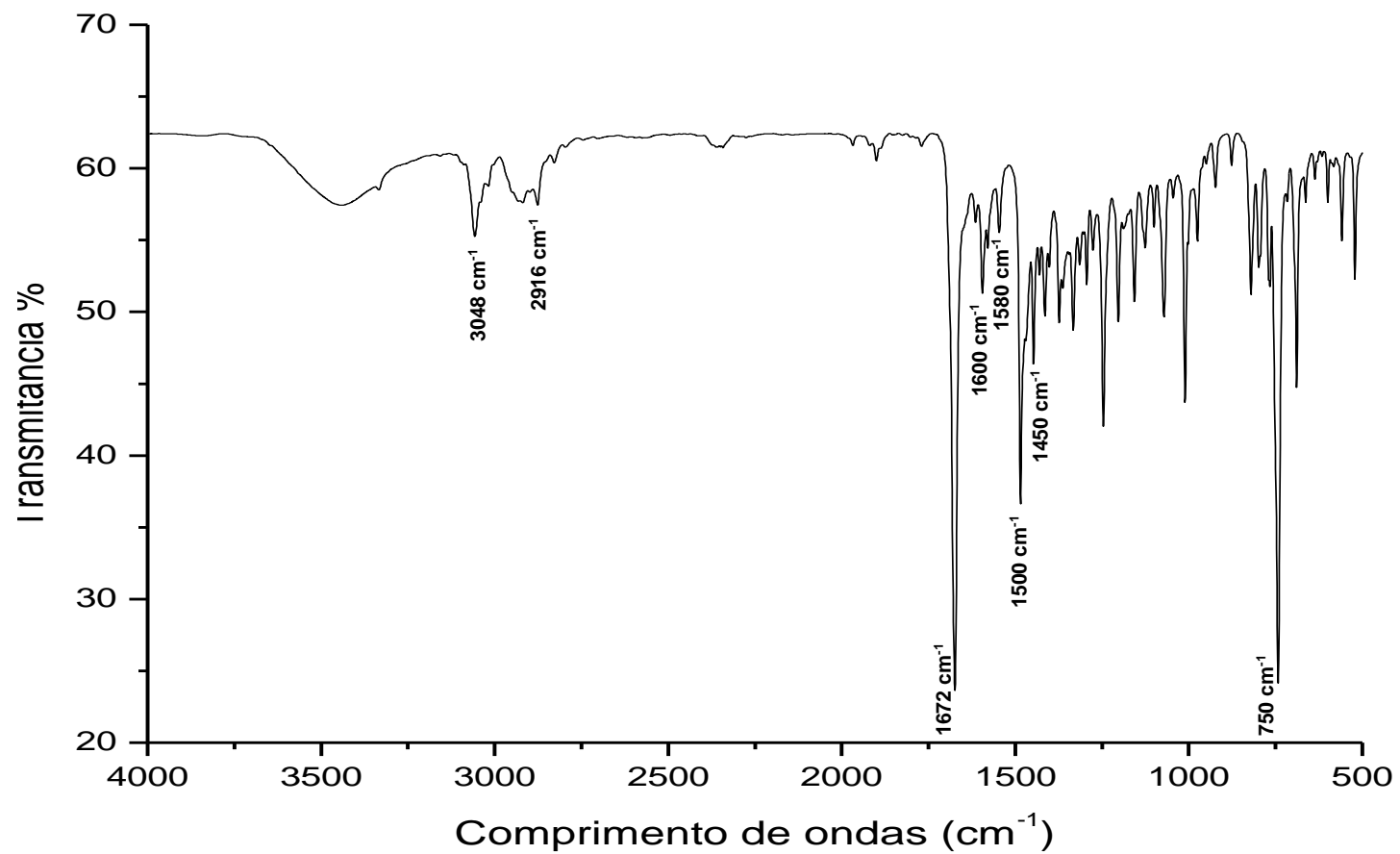
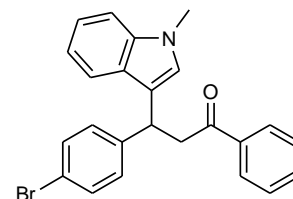
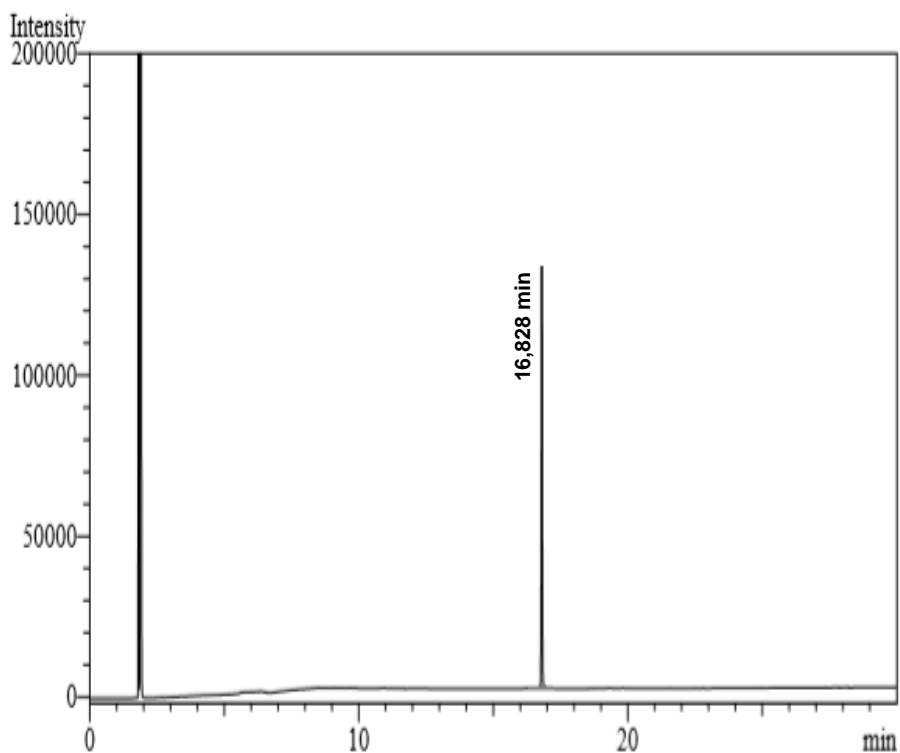
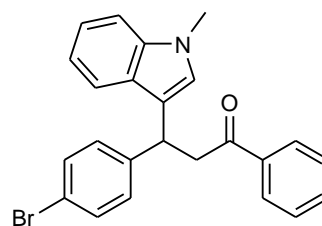
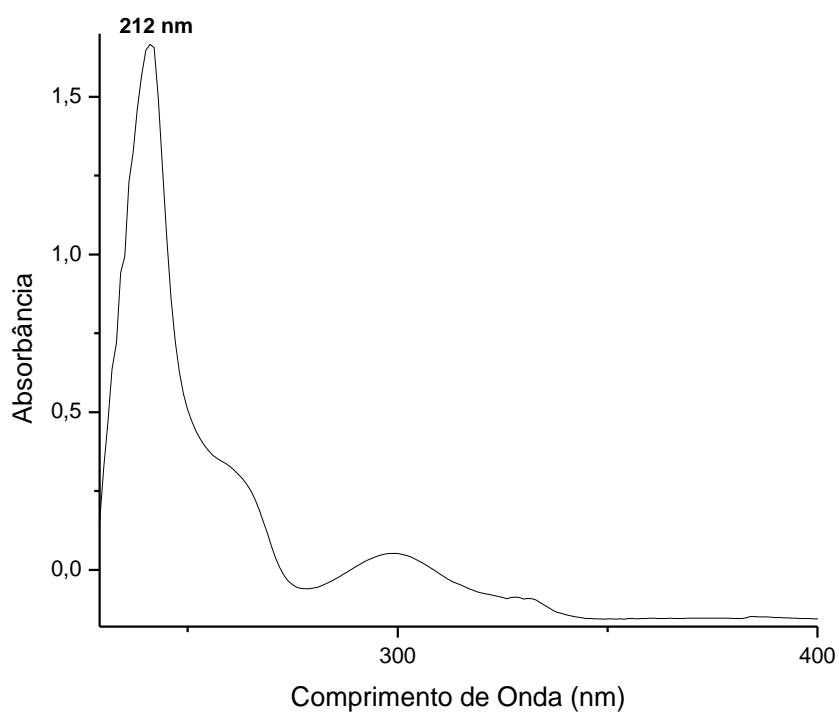
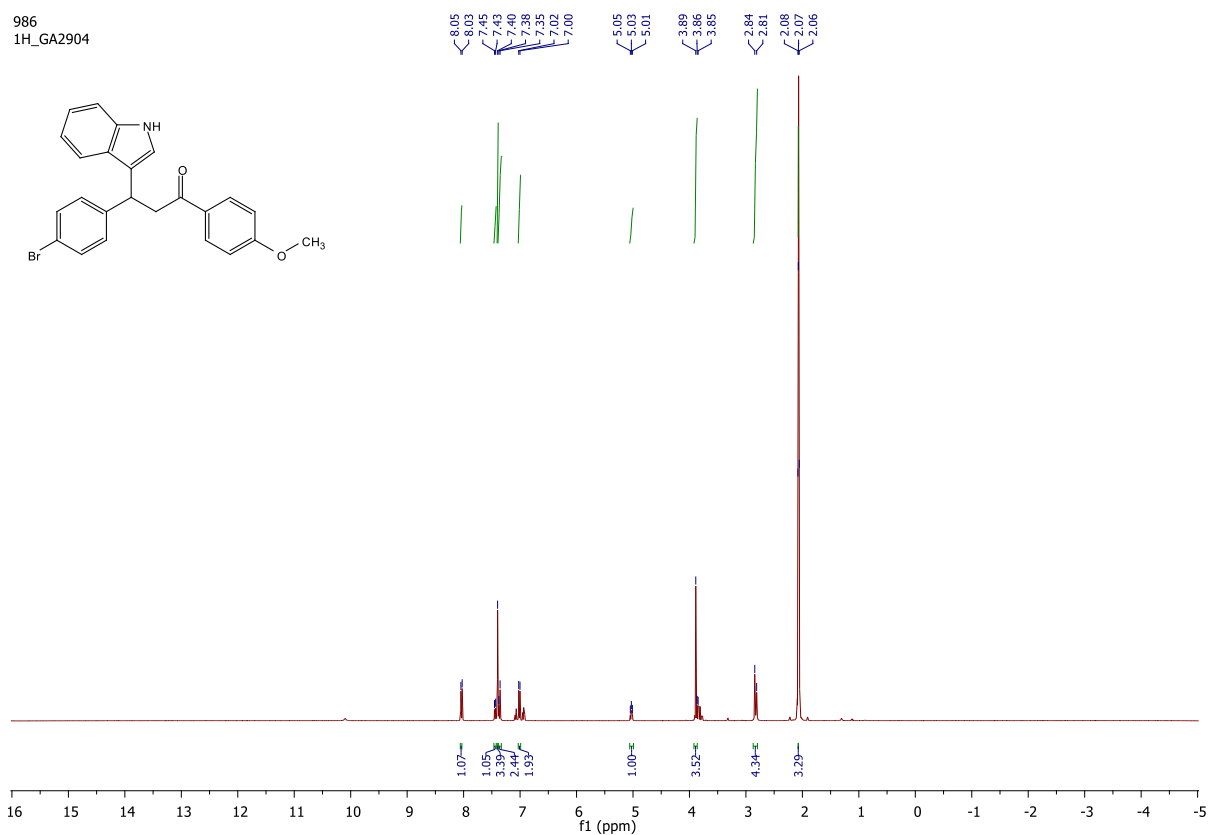


Figura 91 - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3h**).



**Figura 92** - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3h**).**Figura 93** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3h**).

**Figura 94** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona **(3i)** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 95** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona **(3i)** ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

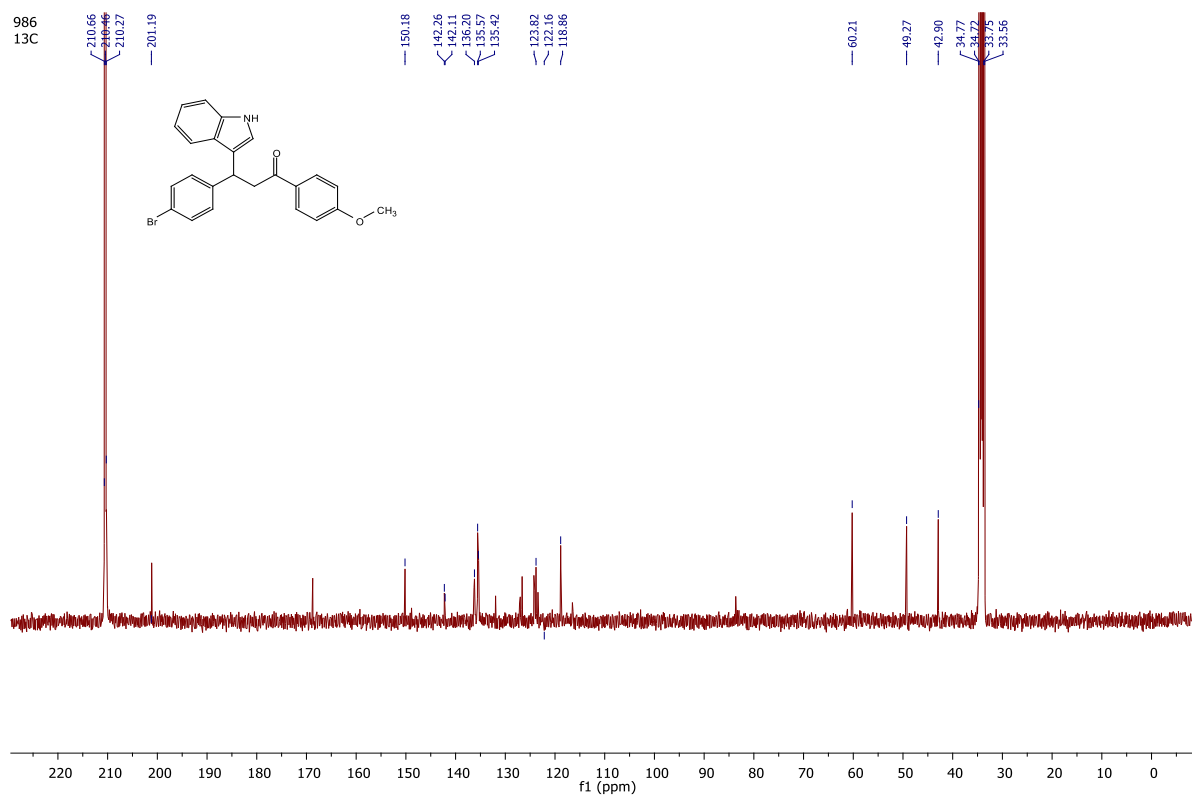
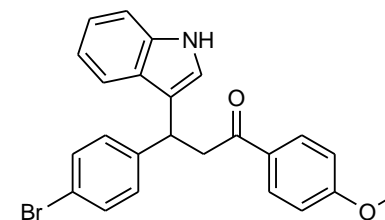
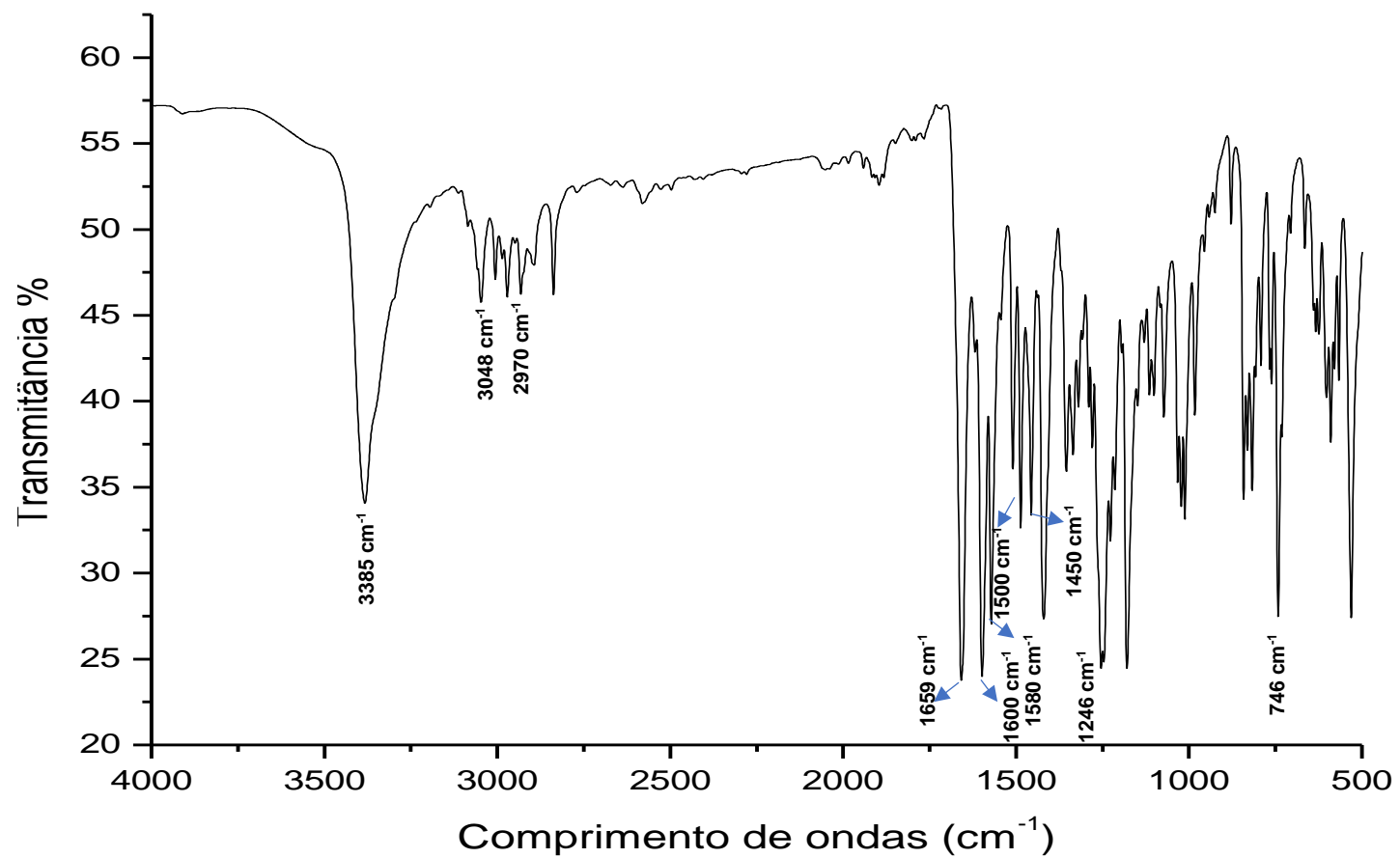
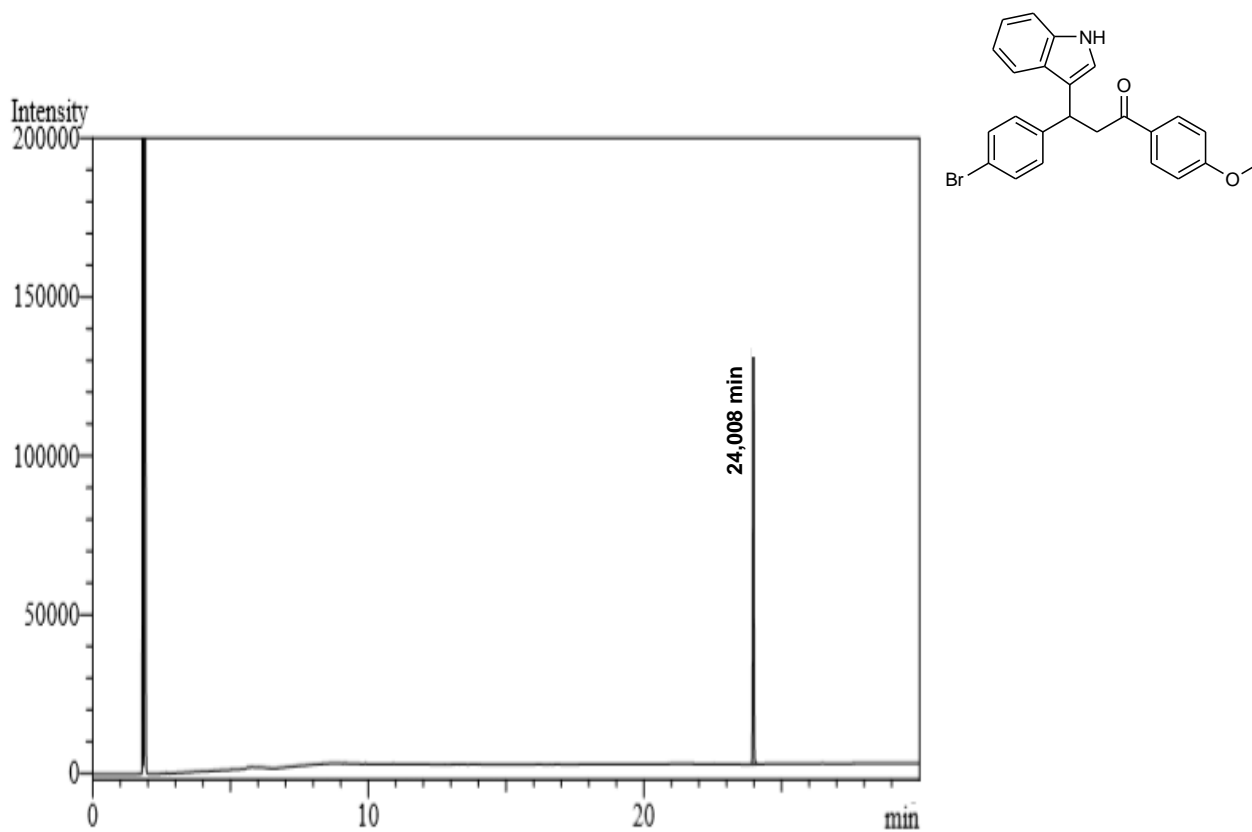
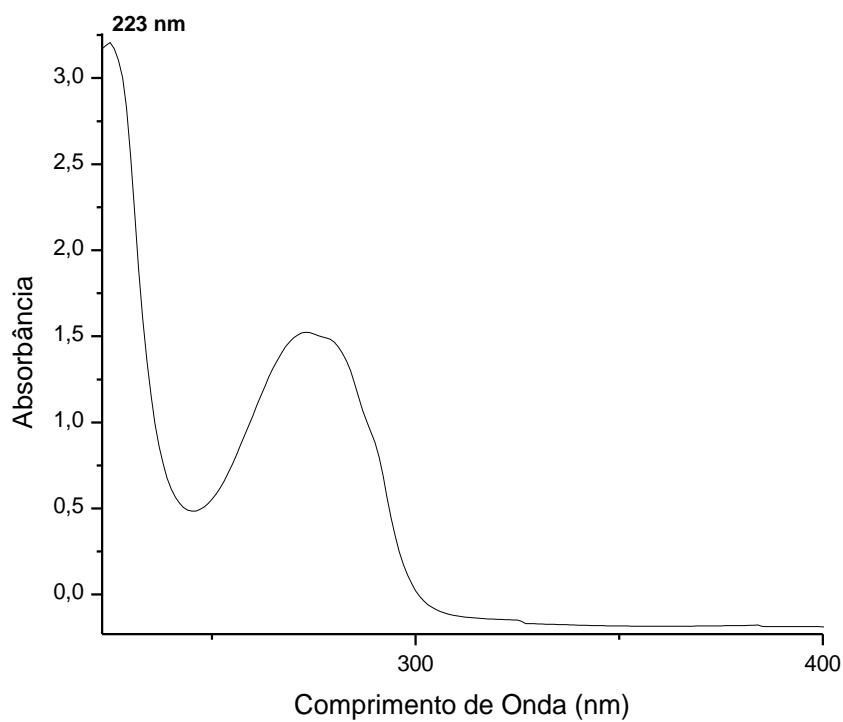
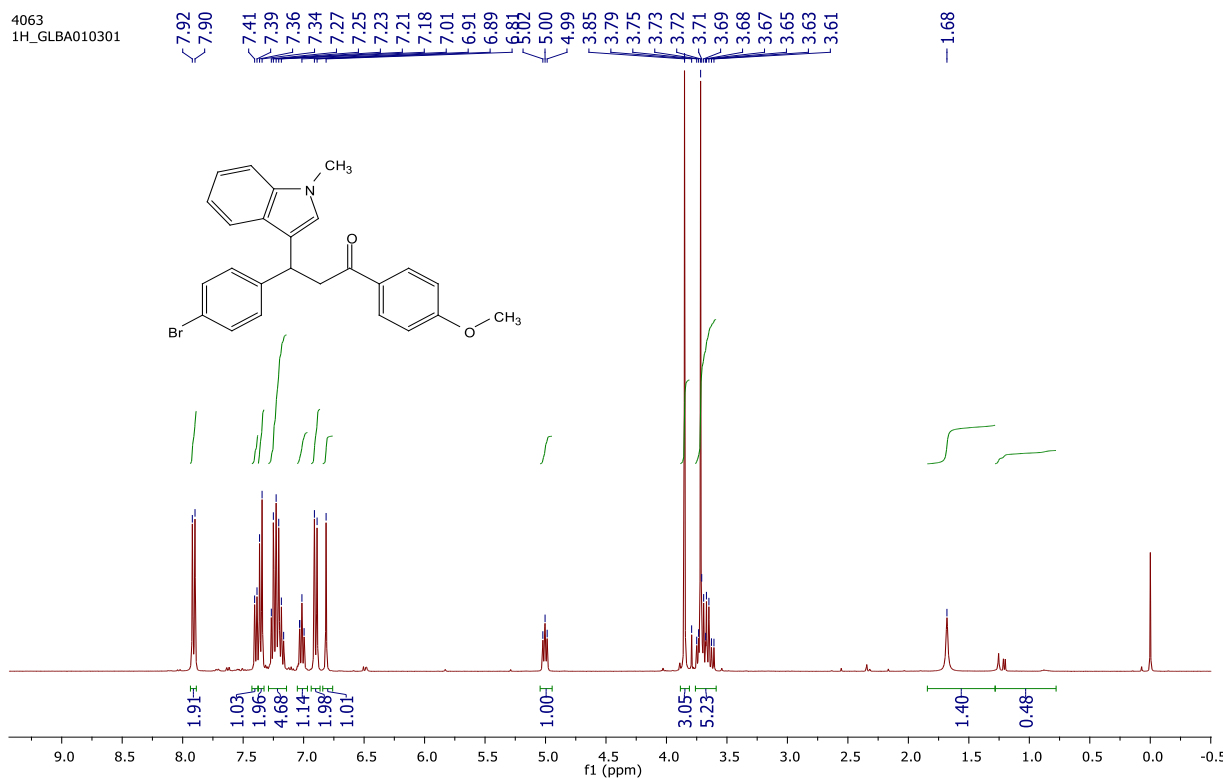


Figura 96 - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3i**).



**Figura 97** - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3i**).**Figura 98** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3i**).

**Figura 99** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3j**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 100** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3j**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

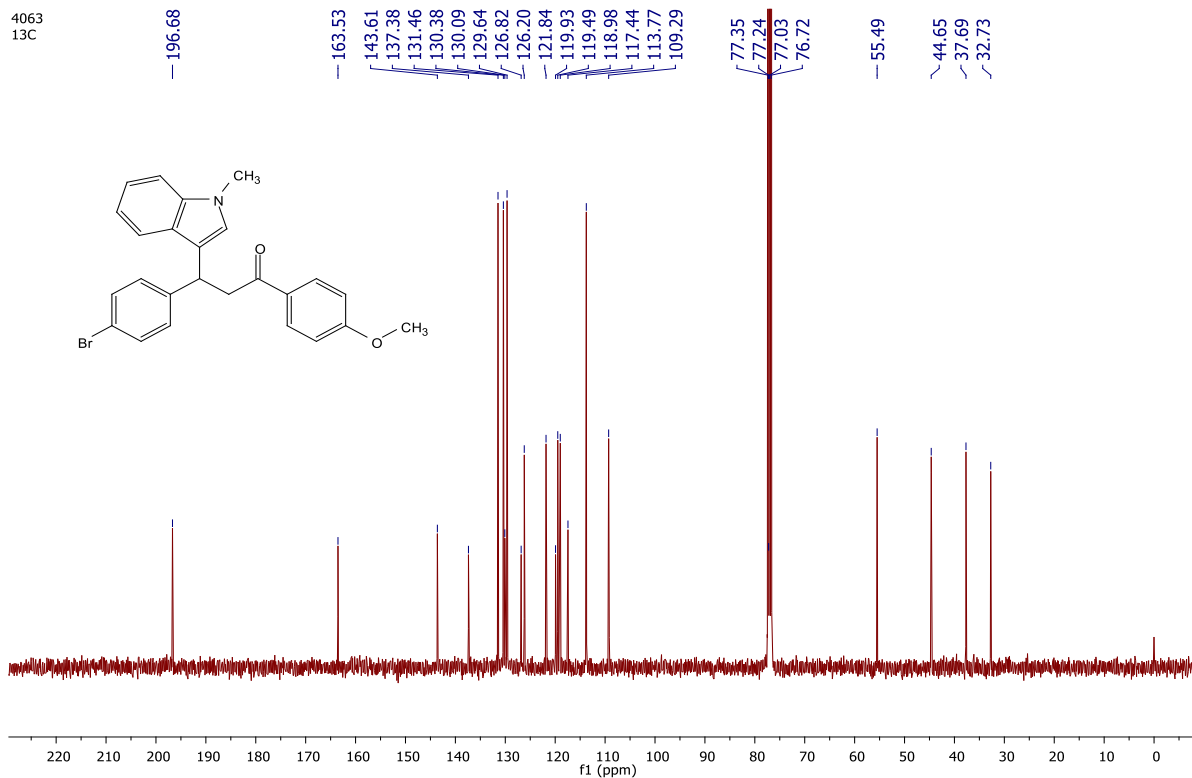
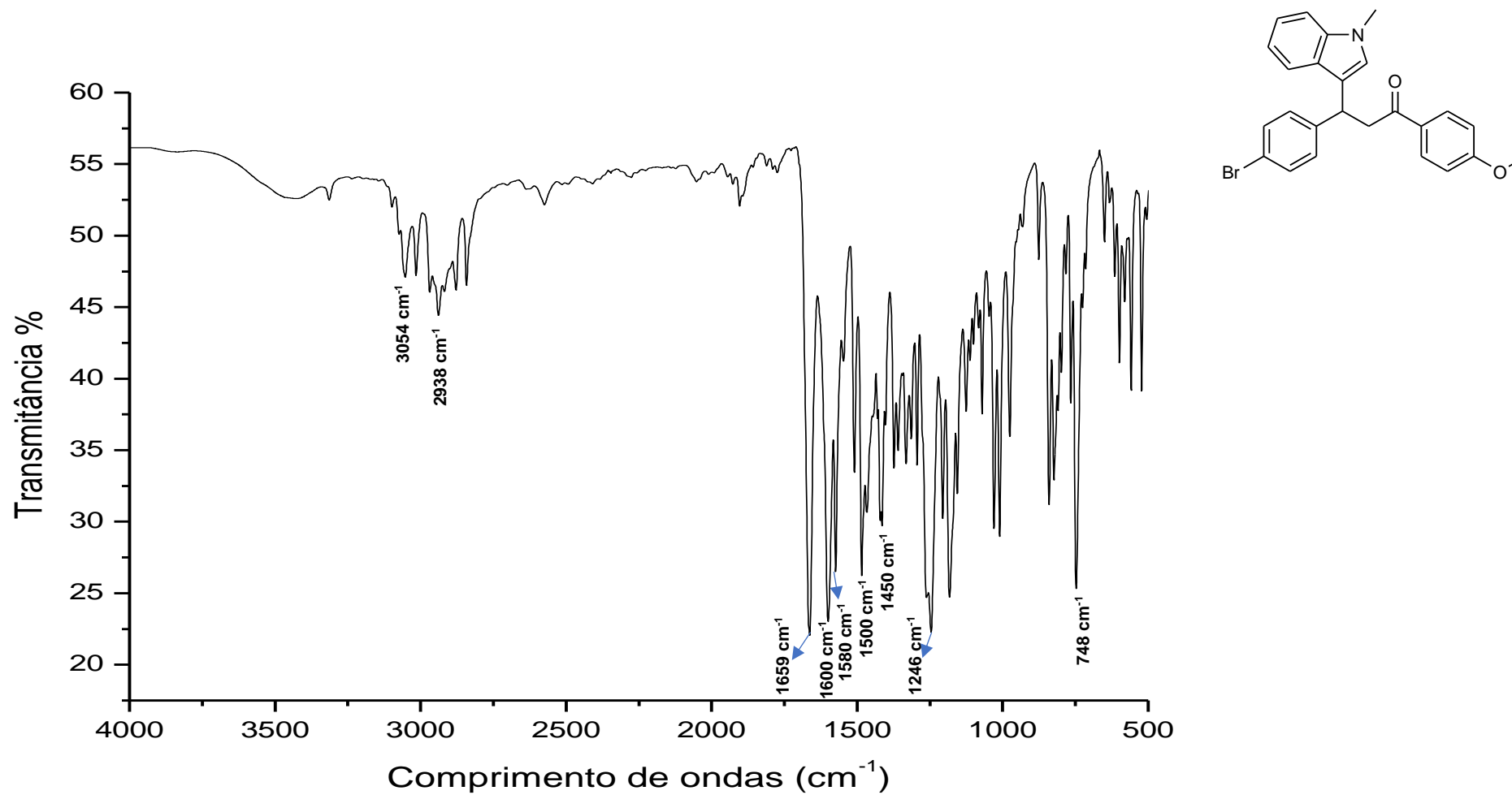
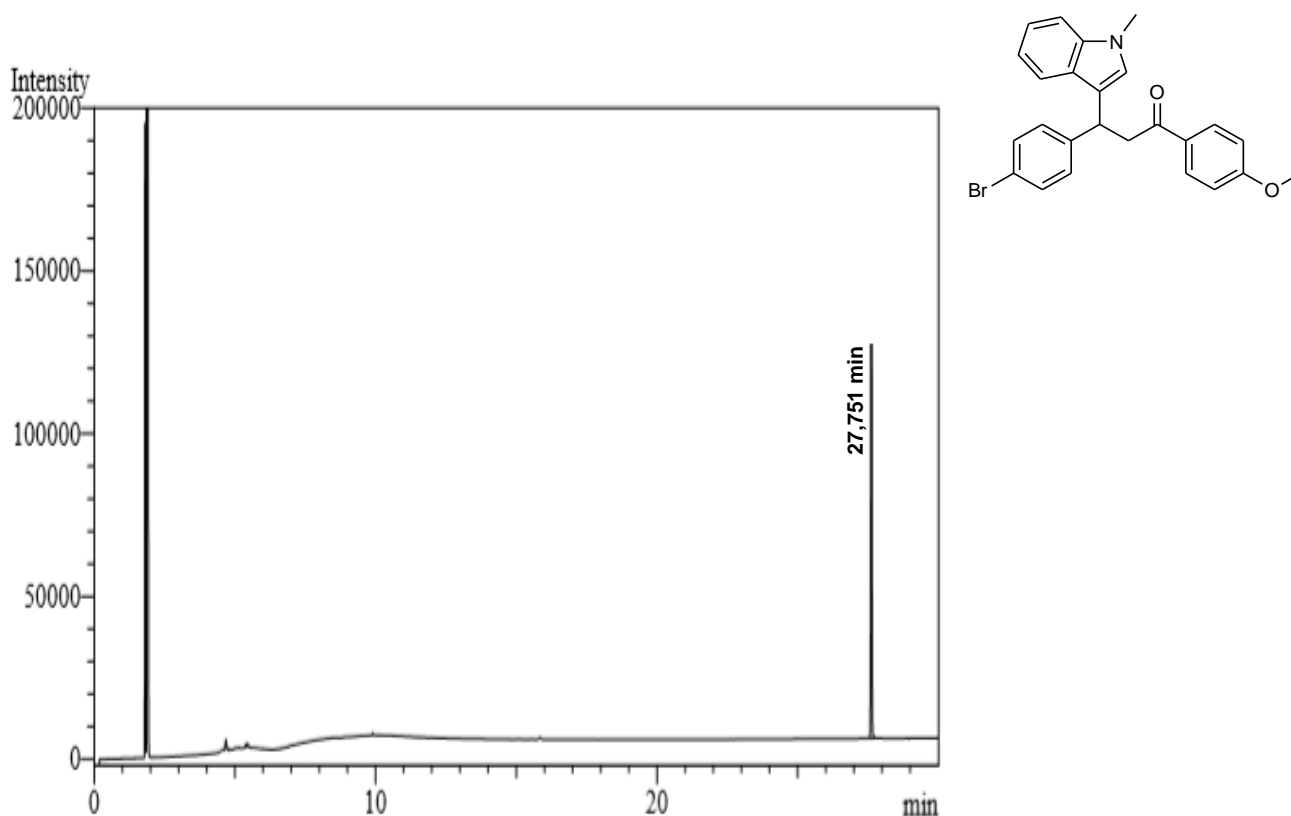


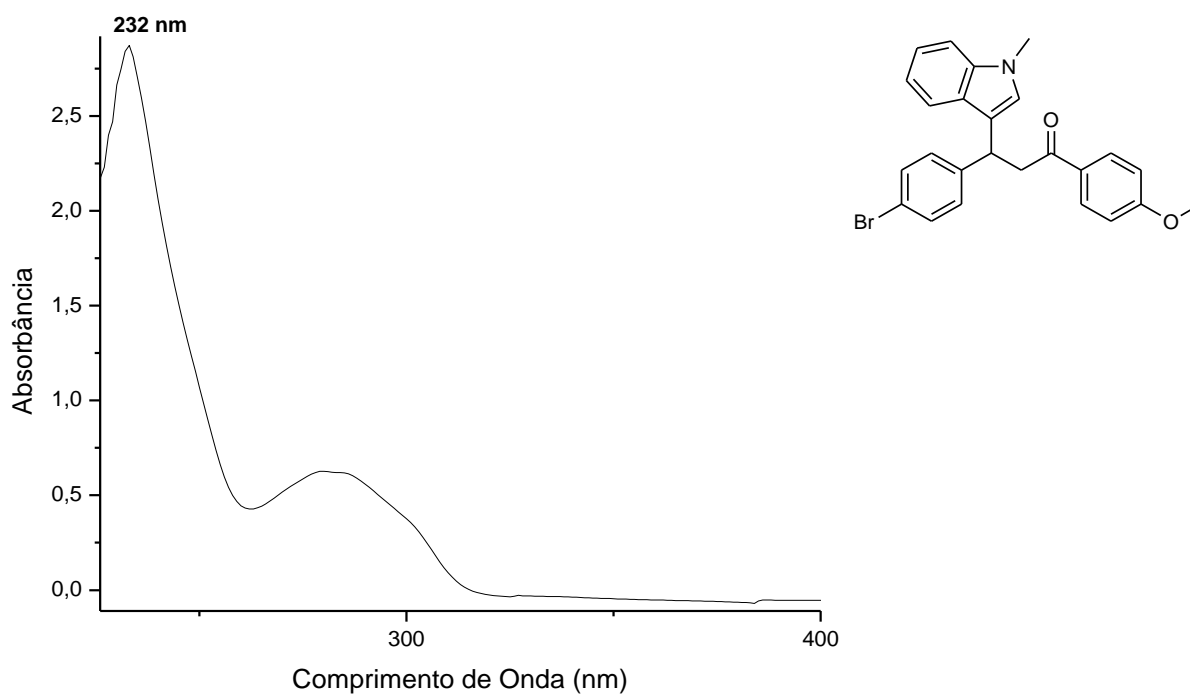
Figura 101 - Espectro de infravermelho de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3**).



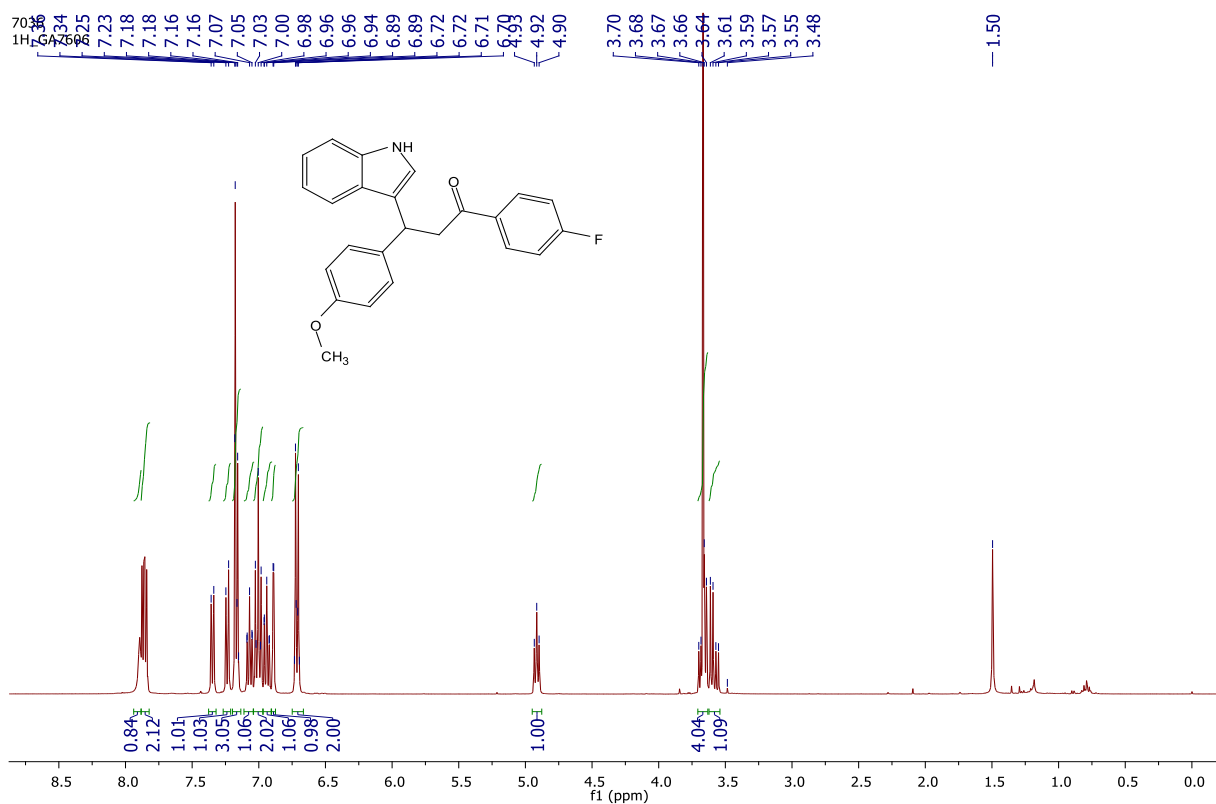
**Figura 102** - Cromatograma de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3j**).



**Figura 103** - Espectro ultravioleta-visível de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3j**).



**Figura 104** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3k**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 105** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3k**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

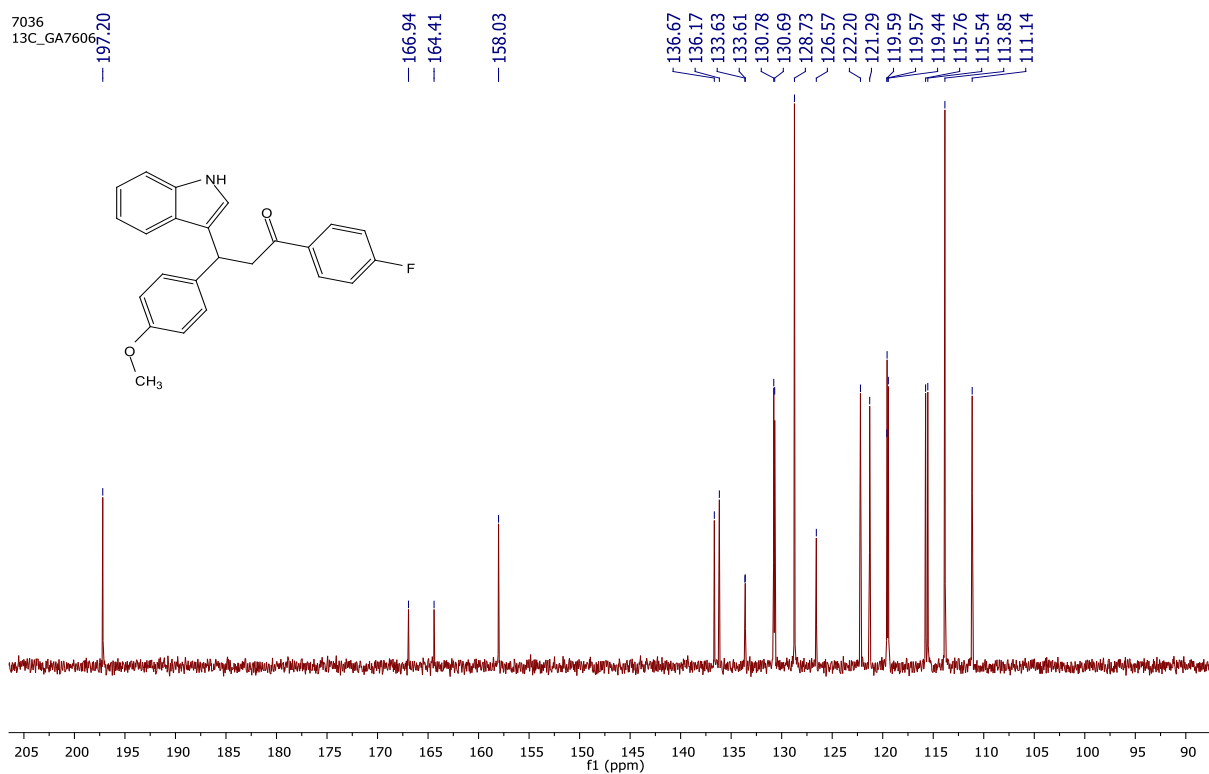
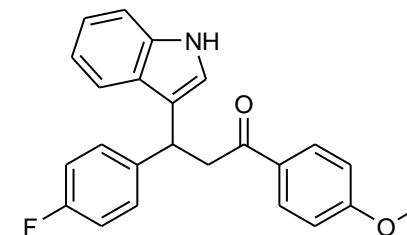
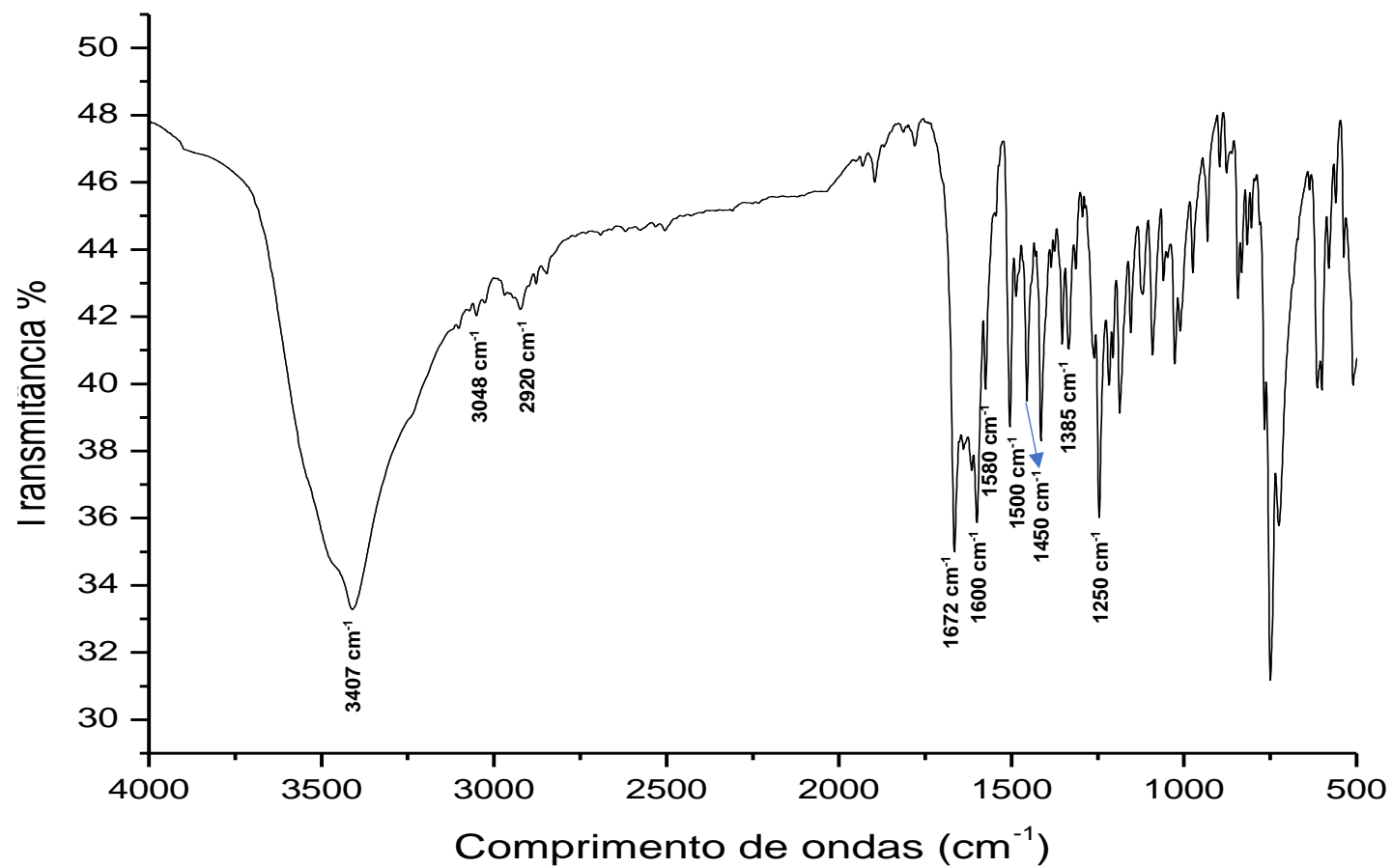
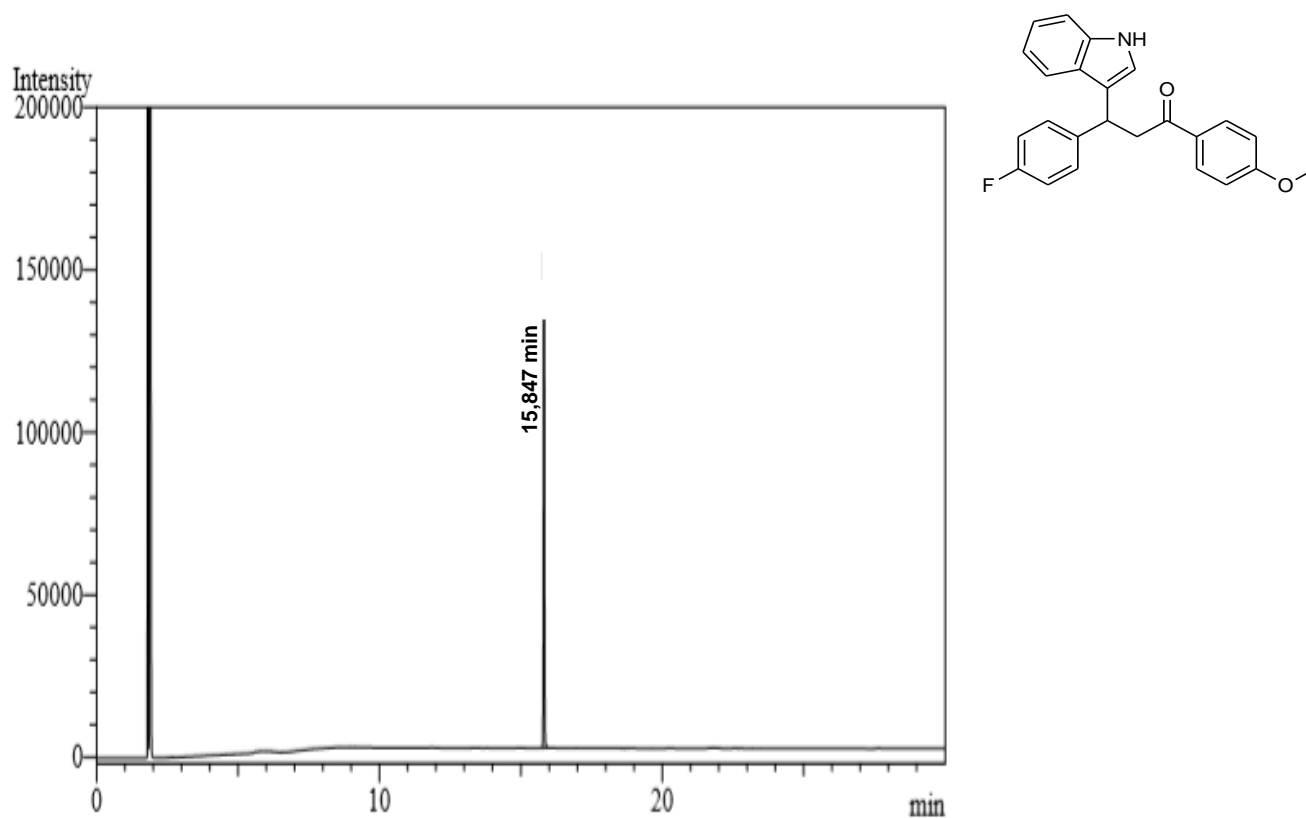
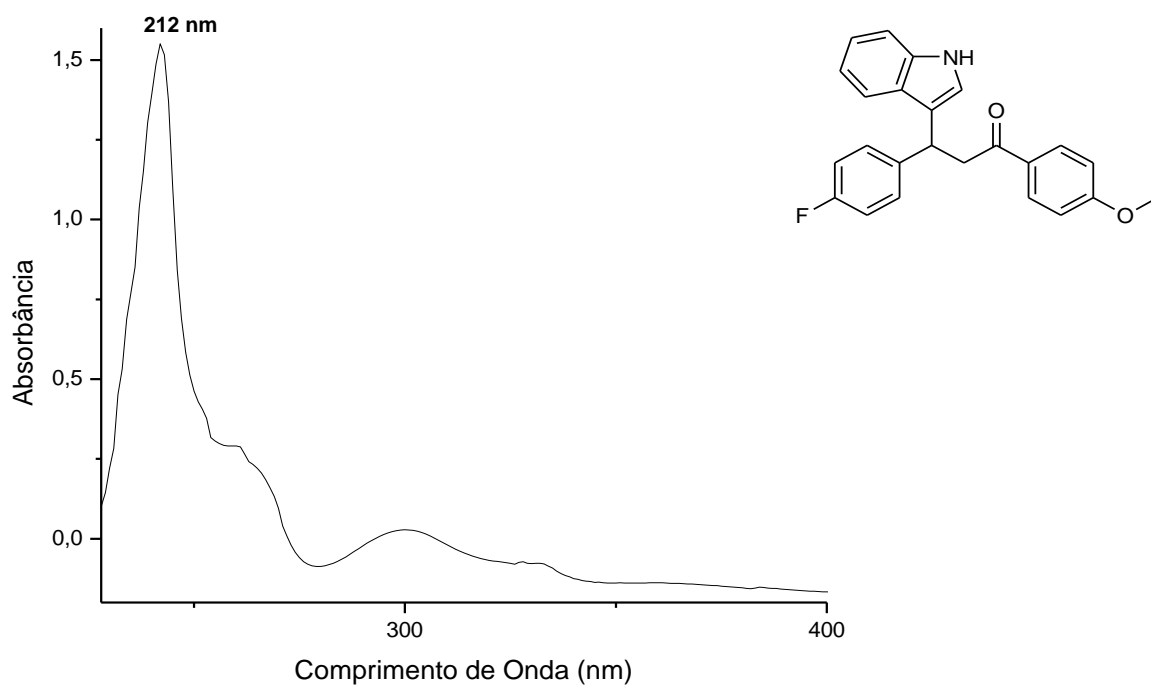
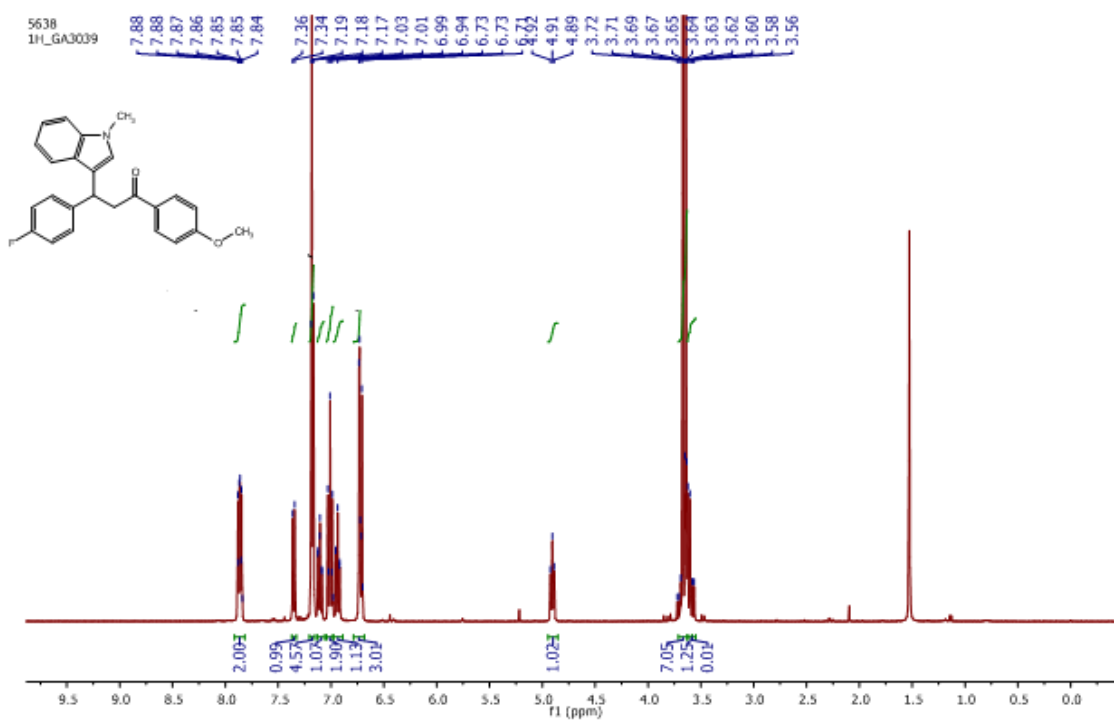


Figura 106 - Espectro de infravermelho de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3k**).



**Figura 107** - Cromatograma de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (3k).**Figura 108** - Espectro ultravioleta-visível de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (3k).

**Figura 109** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3**) ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



**Figura 110** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3**) ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz).

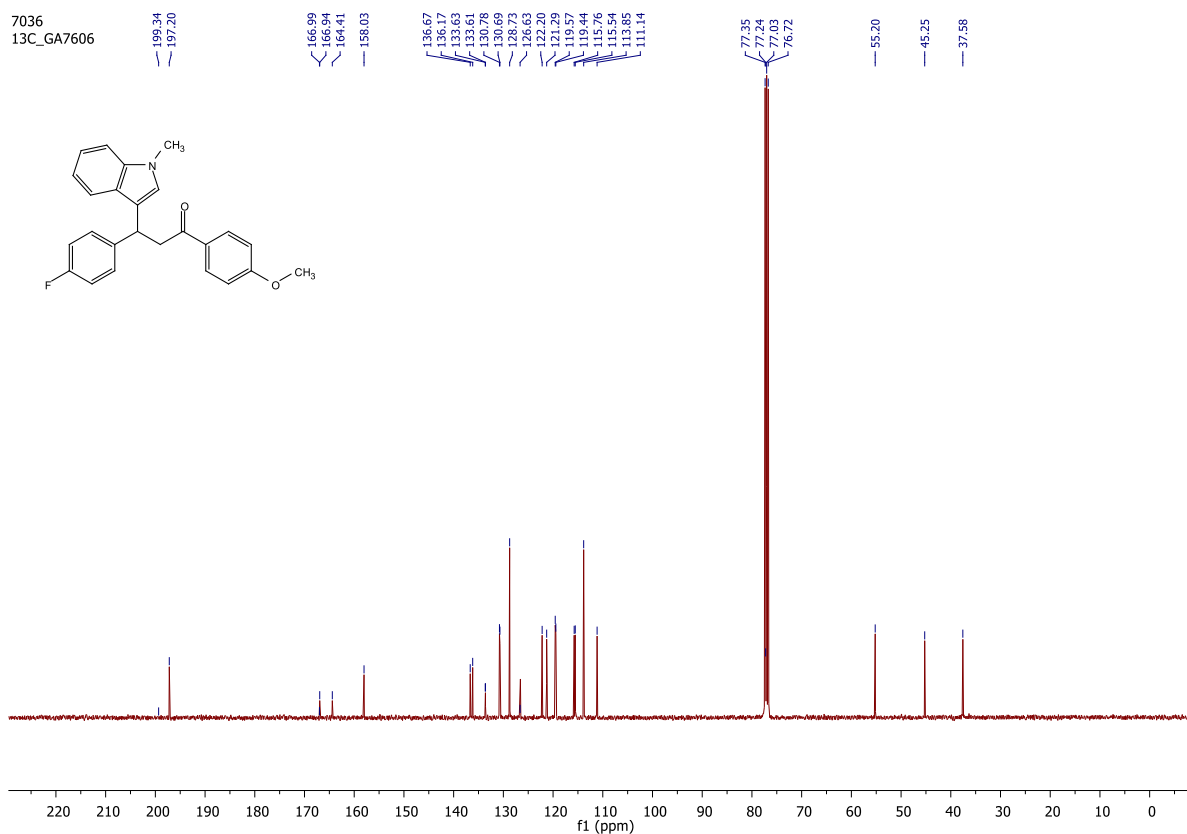
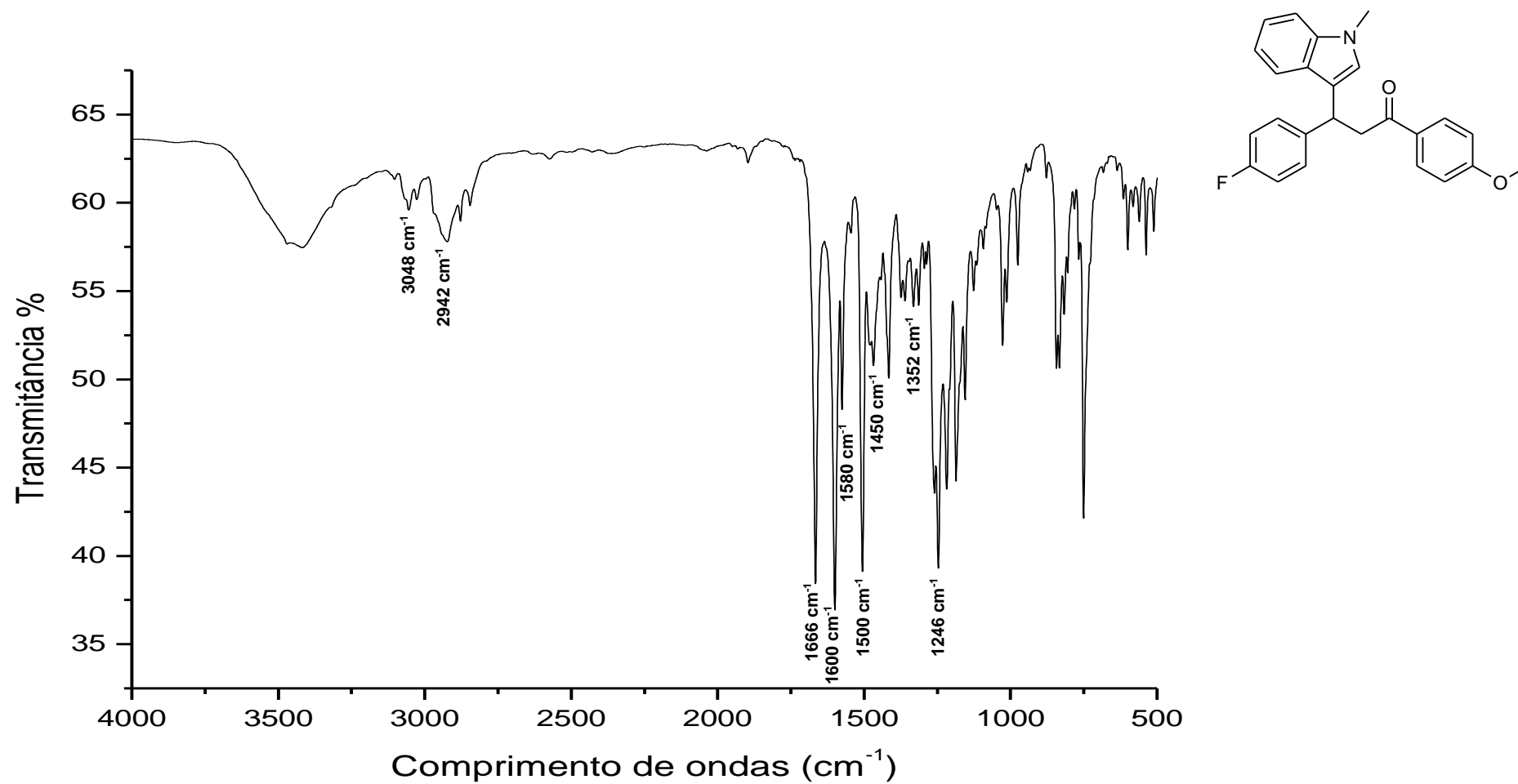
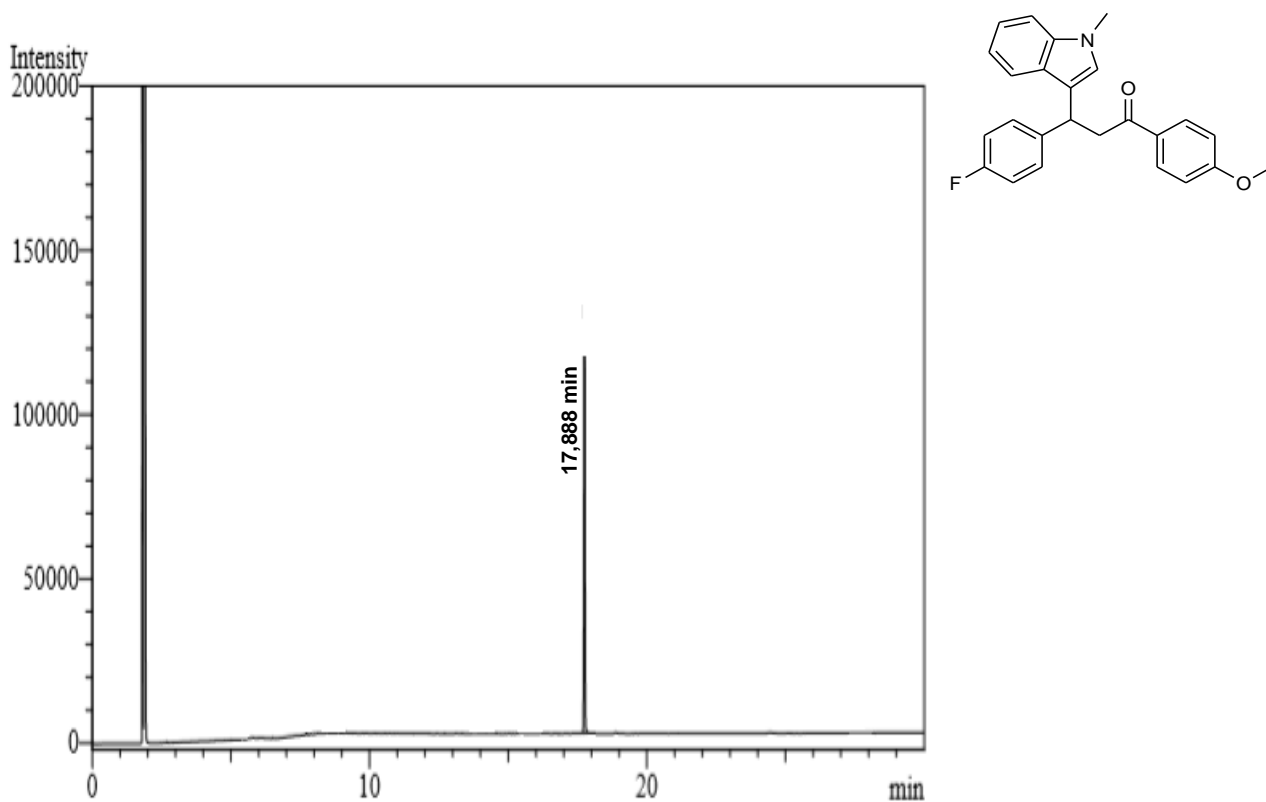


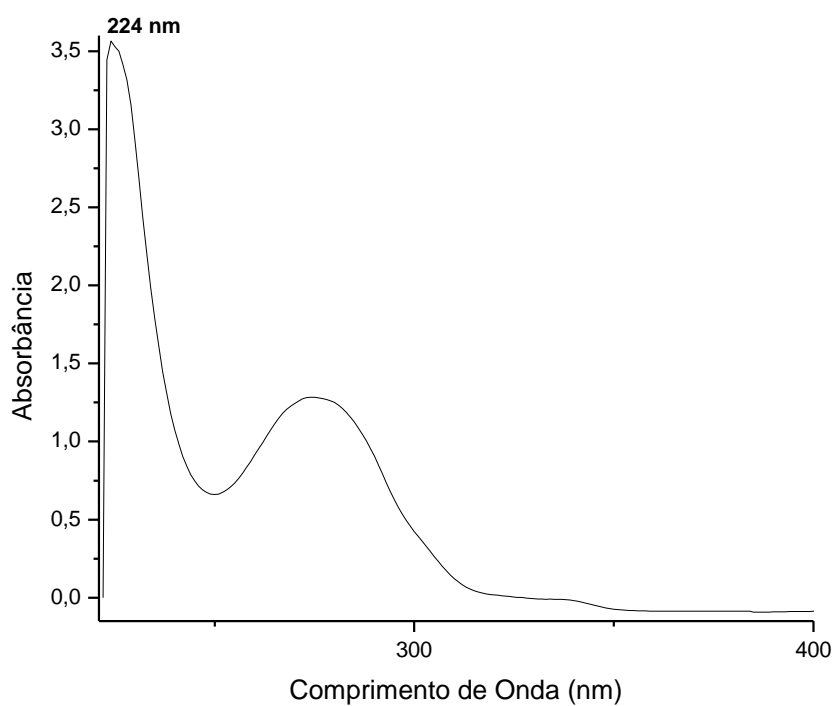
Figura 111 - Espectro de infravermelho de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3I**).



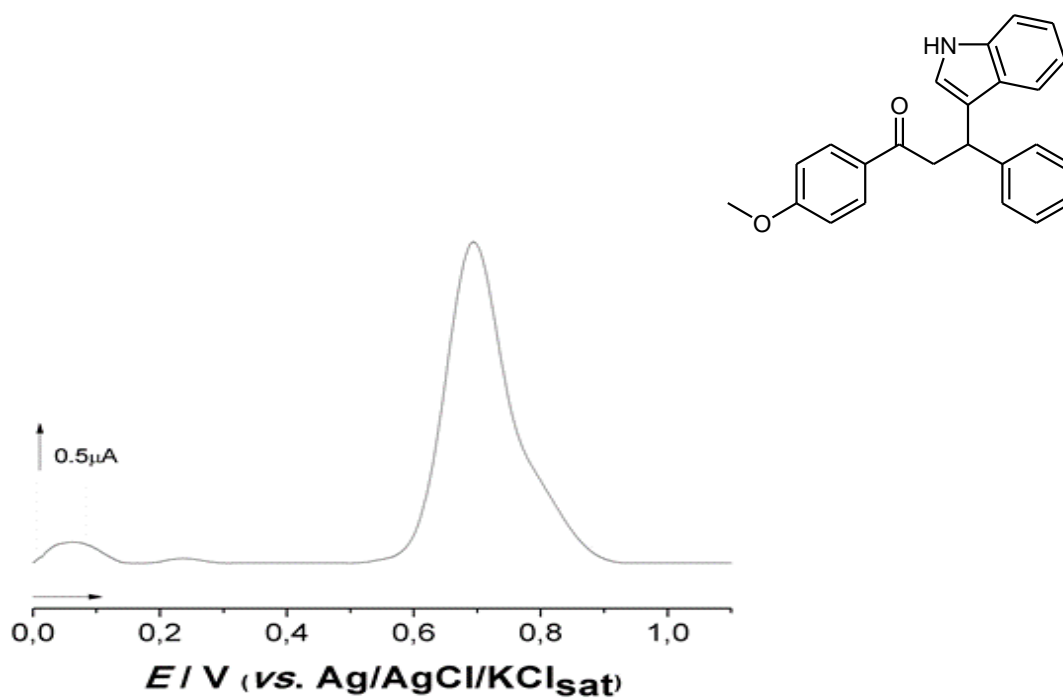
**Figura 112** - Cromatograma de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona **(3I)**.



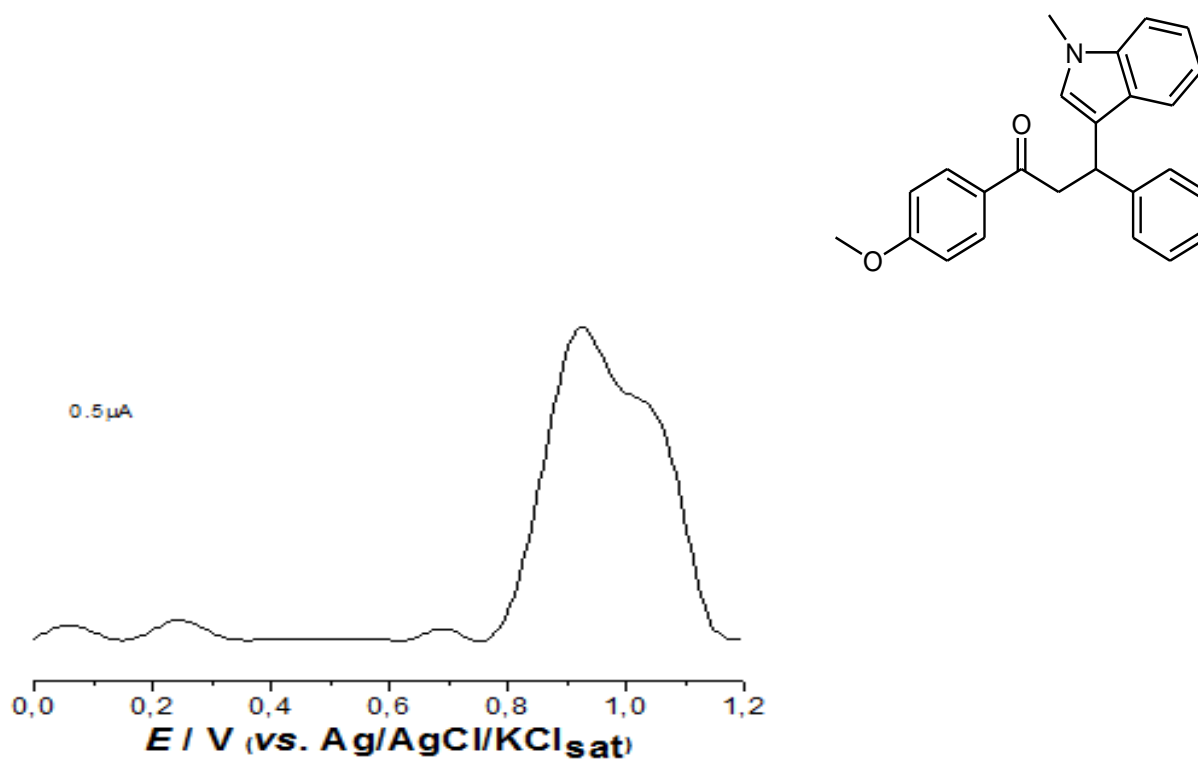
**Figura 113** - Espectro ultravioleta-visível de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona **(3I)**.



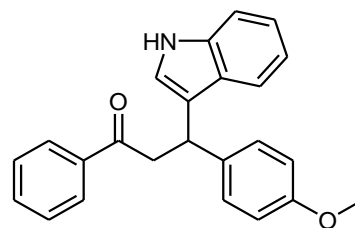
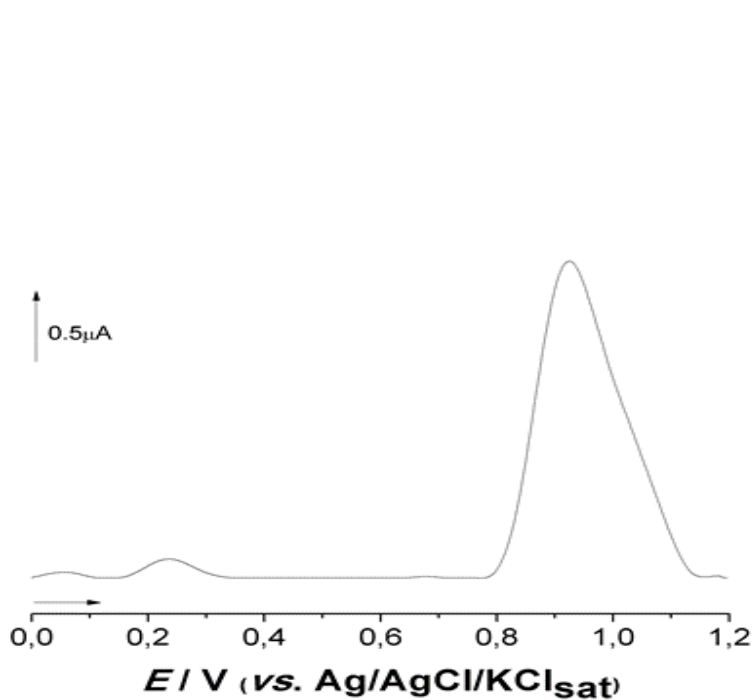
**Figura 114** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)-3-fenilpropan-1-ona (**3a**).



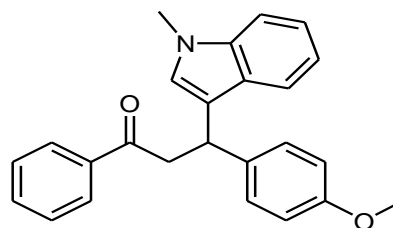
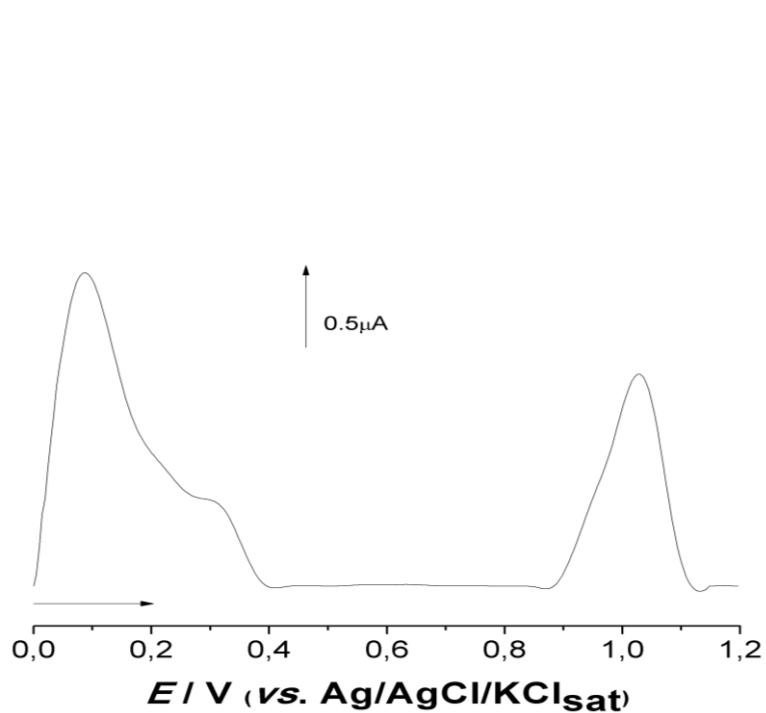
**Figura 115** - Voltamograma de pulso diferencial de 1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-3-fenilpropan-1-ona (**3b**).



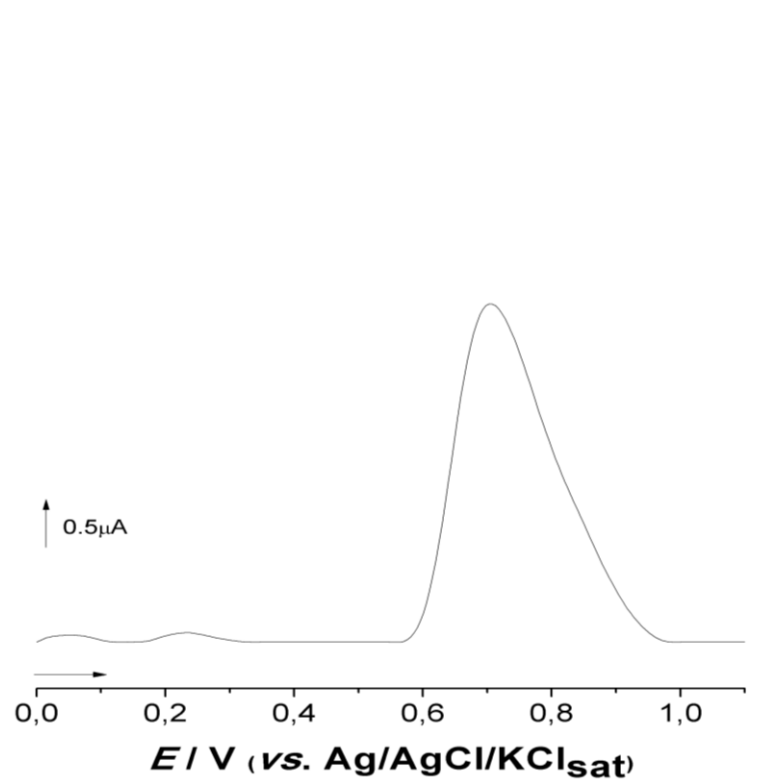
**Figura 116** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)-1-fenilpropan-1-ona (**3c**).



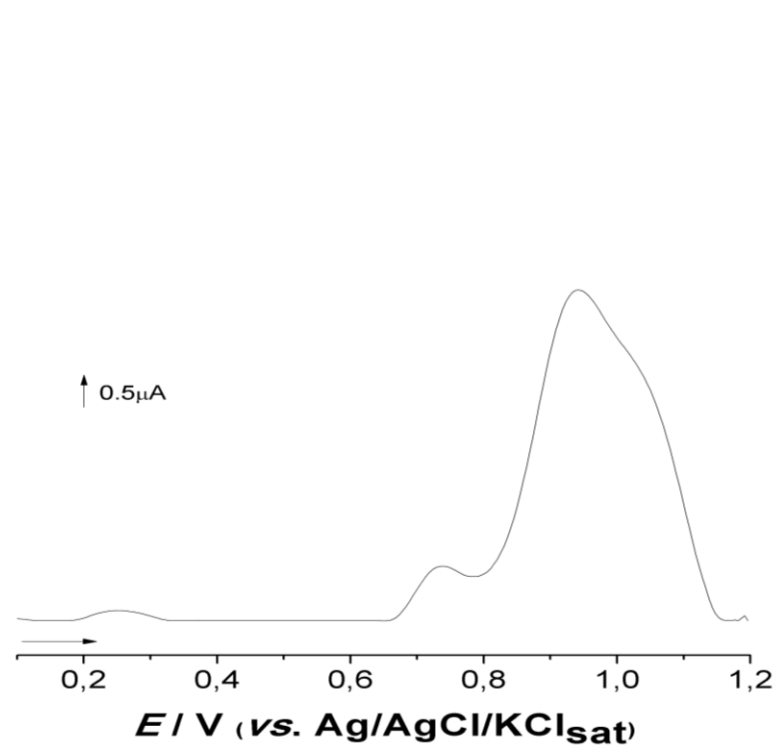
**Figura 117** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3d**).



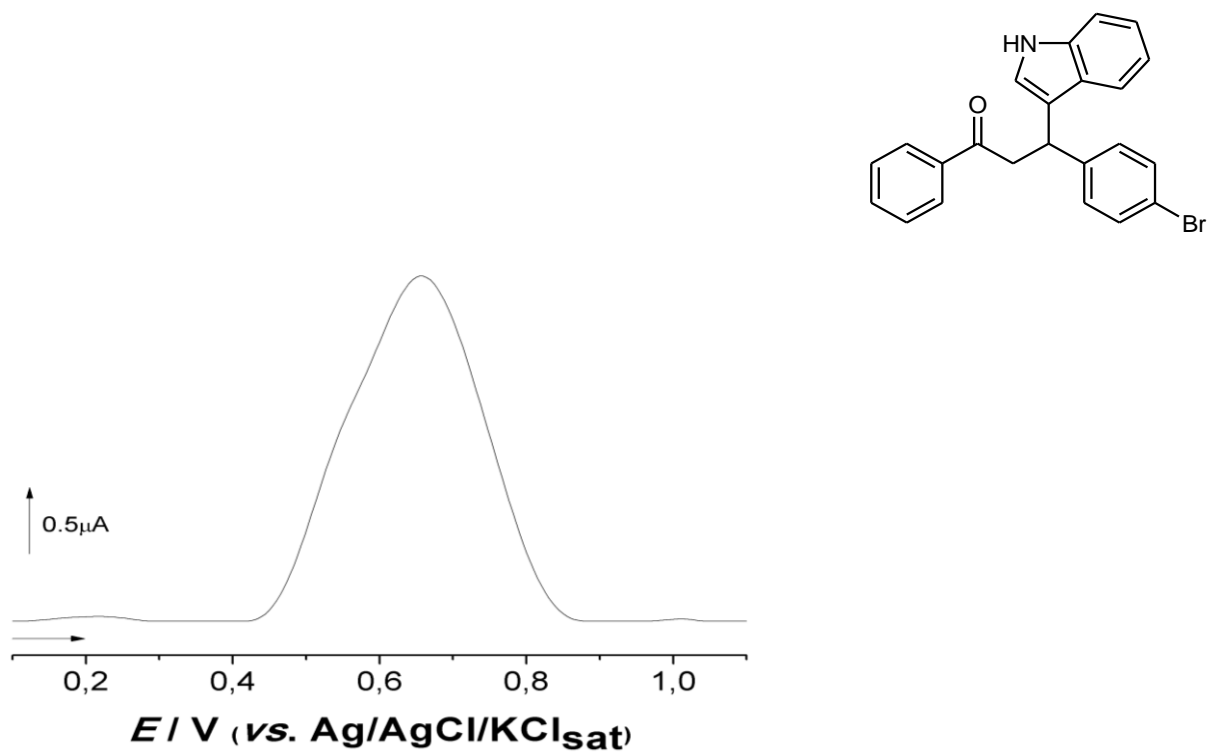
**Figura 118** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3e**).



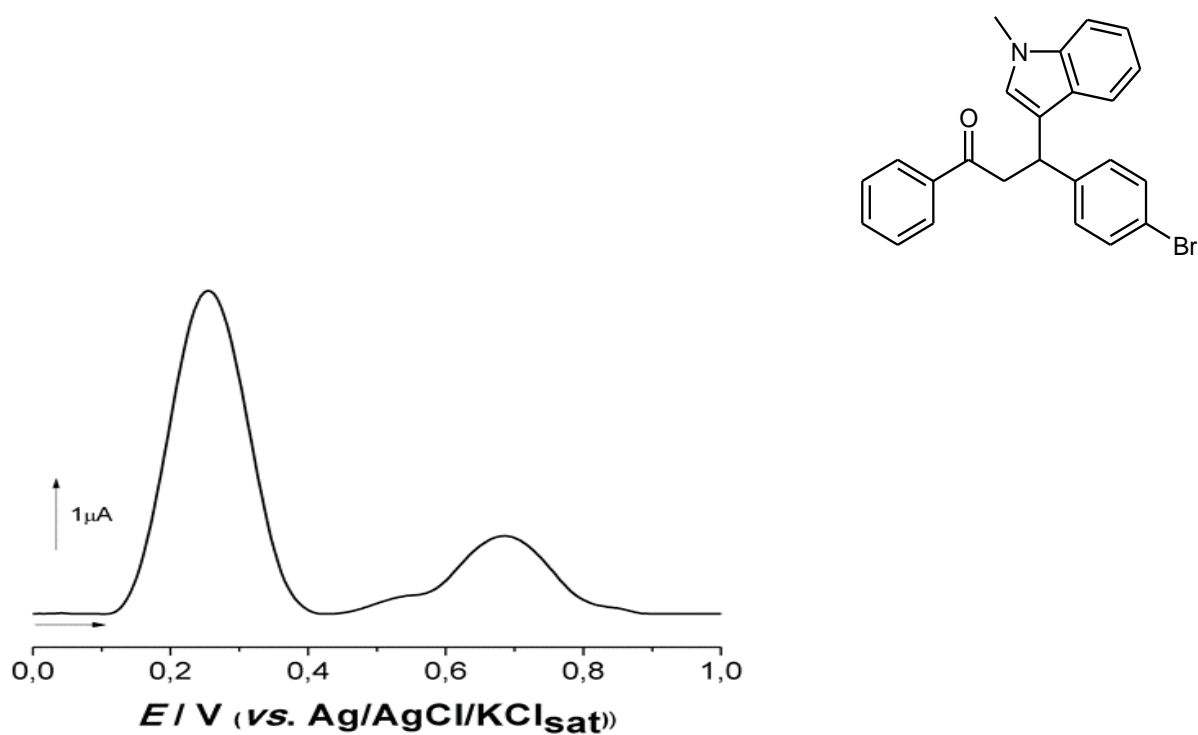
**Figura 119** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1,3-difenilpropan-1-ona (**3f**).



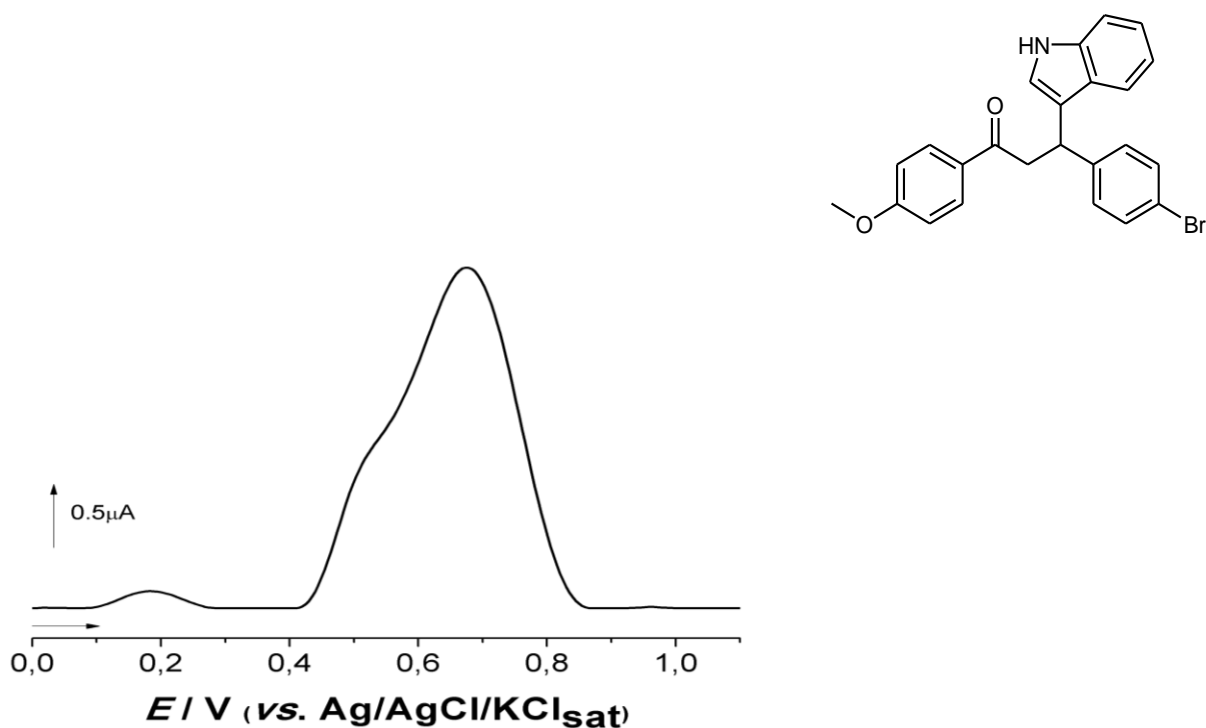
**Figura 120** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3g**).



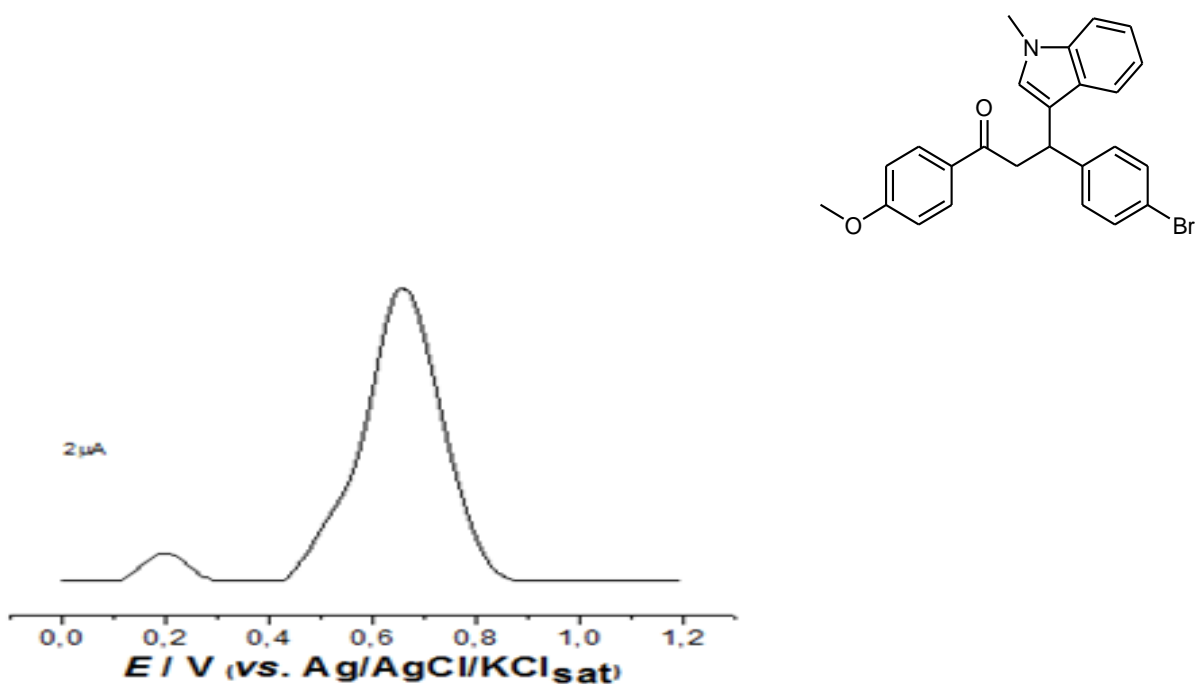
**Figura 121** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)-1-fenilpropan-1-ona (**3h**).



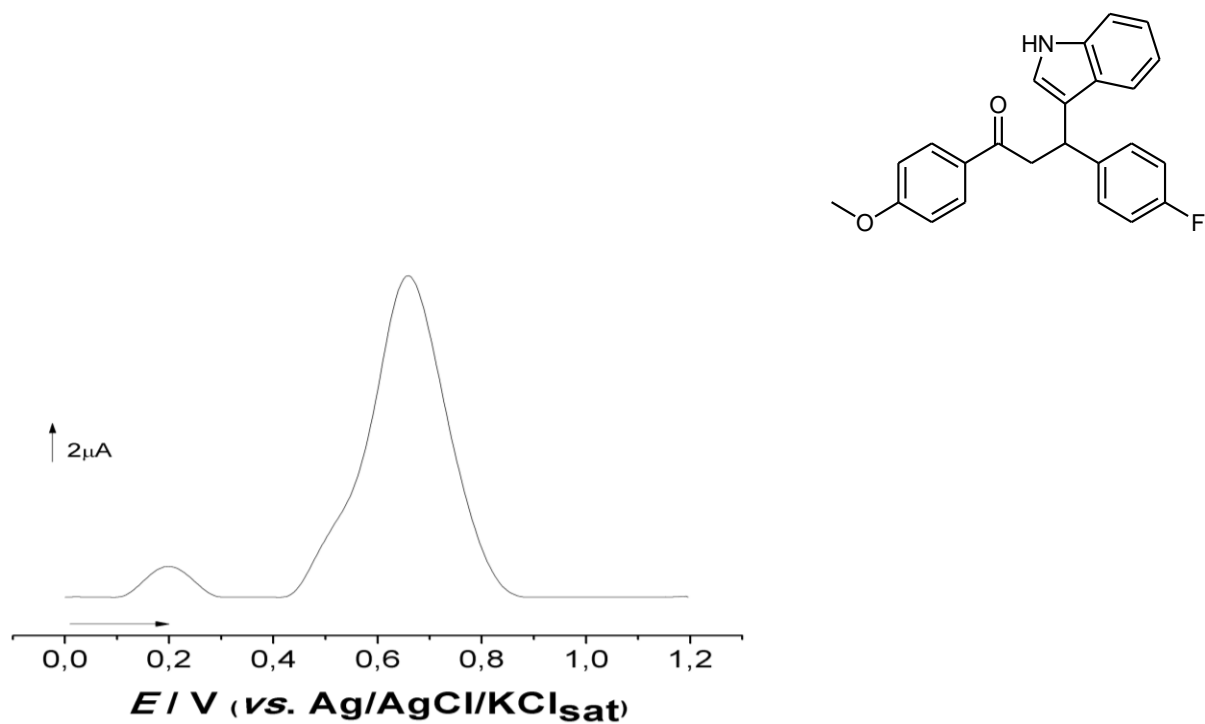
**Figura 122** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-3-(1H-indol-3-il)-1-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3i**).



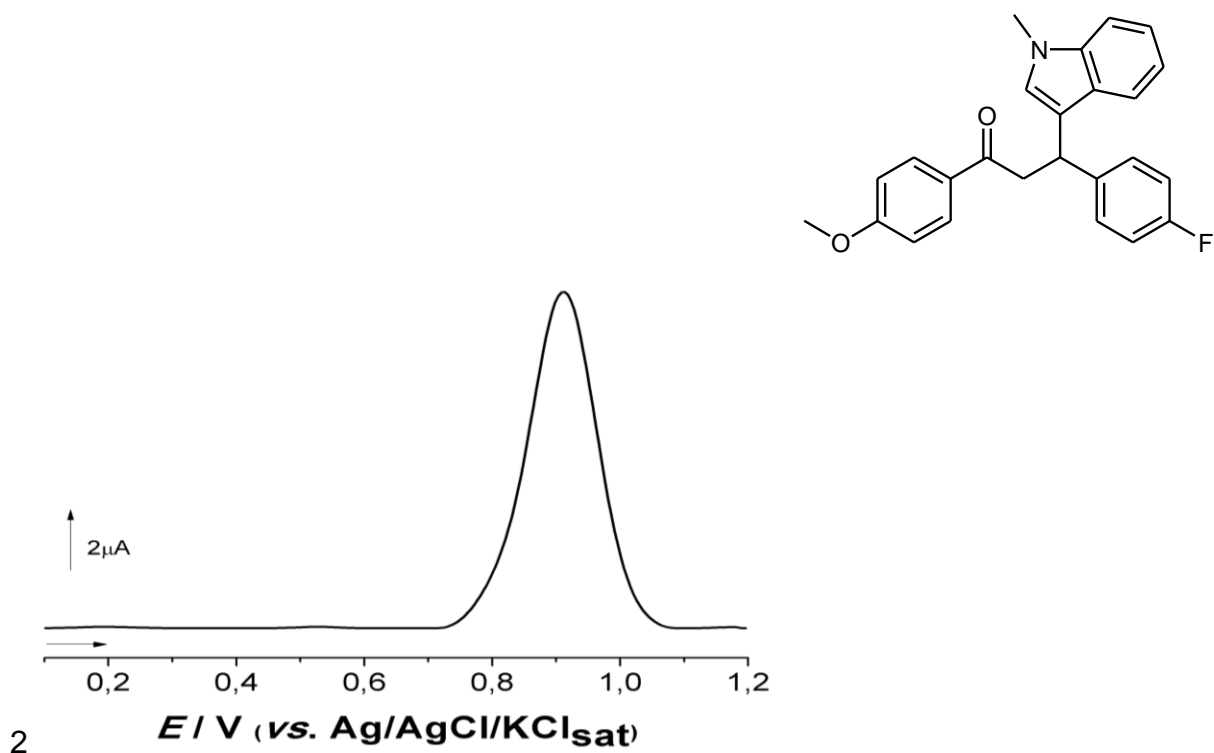
**Figura 123** - Voltamograma de pulso diferencial de 3-(4-bromofenil)-1-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3j**).



**Figura 124** - Voltamograma de pulso diferencial de 1-(4-fluorfenil)-3-(1H-indol-3-il)-3-(4-metoxifenil)propan-1-ona (**3k**).



**Figura 125** - Voltamograma de pulso diferencial de 1-(4-fluorfenil)-3-(4-metoxifenil)-3-(1-metil-1H-indol-3-il)propan-1-ona (**3l**).



**Tabela 8** - Atividade antioxidante dos compostos (3a-3l) realizada por espectroscopia de absorção na região do UV/Vis e RPE.

Compostos	50 $\mu$ M		100 $\mu$ M		150 $\mu$ M		200 $\mu$ M		250 $\mu$ M	
	UV/Vis	RPE	UV/Vis	RPE	UV/Vis	RPE	UV/Vis	RPE	UV/Vis	RPE
<b>3a</b>	24,91 +/-0,99	23,38 +/-0,89	26,93 +/-0,28	24,69 +/-0,98	28,95 +/-0,05	25,48 +/-0,01	29,57 +/-0,10	26,85 +/-0,30	31,59 +/-0,16	27,79 +/-0,00
<b>3b</b>	23,85 +/-0,99	25,14 +/-0,99	31,24 +/-0,36	25,24 +/-0,99	33,17 +/-0,99	26,23 +/-0,99	33,88 +/-0,99	27,89 +/-0,99	34,49 +/-1,08	28,52 +/-0,00
<b>3c</b>	28,86 +/-0,95	21,56 +/-0,57	31,41 +/-0,05	22,59 +/-0,97	31,59 +/-0,99	24,80 +/-0,52	33,35 +/-0,06	27,10 +/-0,89	34,41 +/-0,26	28,43 +/-0,99
<b>3d</b>	30,89 +/-0,66	29,42 +/-0,00	31,68 +/-0,25	29,61 +/-0,79	36,78 +/-0,99	30,25 +/-0,00	38,80 +/-0,18	31,42 +/-0,00	39,51 +/-0,11	32,46 +/-0,00
<b>3e</b>	33,00 +/-0,51	25,74 +/-0,35	33,79 +/-0,45	26,70 +/-0,99	34,23 +/-0,98	27,82 +/-0,07	34,76 +/-0,01	28,65 +/-0,99	35,90 +/-0,99	30,39 +/-0,99
<b>3f</b>	30,97 +/-0,02	27,93 +/-0,09	32,56 +/-0,15	28,65 +/-0,61	32,82 +/-0,54	29,37 +/-0,00	35,11 +/-0,98	30,22 +/-0,00	35,99 +/-0,01	30,85 +/-0,00
<b>3g</b>	23,06 +/-0,08	21,89 +/-0,99	24,55 +/-0,27	23,25 +/-0,99	25,52 +/-0,58	23,70 +/-0,99	26,40 +/-0,21	25,49 +/-0,99	26,75 +/-0,00	26,28 +/-0,02
<b>3h</b>	30,36 +/-0,93	24,70 +/-0,00	32,91 +/-0,38	25,49 +/- 0,34	33,09 +/-0,74	25,95 +/-0,00	34,58 +/-0,02	28,06 +/-0,00	35,37 +/-0,22	30,19 +/-0,00
<b>3i</b>	29,22 +/-0,06	22,05 +/-0,99	29,74 +/-0,05	22,86 +/-0,99	30,36 +/-0,02	23,74 +/-0,03	33,70 +/-0,99	26,35 +/-0,30	33,97 +/-0,02	28,17 +/-0,95
<b>3j</b>	27,02 +/-0,10	21,16 +/-0,05	28,69 +/-0,05	22,17 +/-0,66	29,49 +/-0,09	23,43 +/-0,00	30,45 +/-0,95	25,90 +/-0,00	30,71 +/-0,09	27,38 +/-0,00
<b>3k</b>	31,59 +/-0,06	23,60 +/-0,66	33,70 +/-0,10	25,12 +/-0,98	34,23 +/-0,04	26,23 +/-0,00	35,02 +/-0,01	28,88 +/-0,00	35,64 +/-0,85	30,27 +/-0,00
<b>3l</b>	29,92 +/-0,21	24,80 +/-0,85	31,59 +/-0,22	25,47 +/-0,99	32,47 +/-0,08	27,39 +/-0,00	34,41 +/-0,92	28,10 +/-0,04	34,93 +/-0,08	29,99 +/-0,00

Valores obtidos da atividade antioxidante em percentual (%).