

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Vanessa do Nascimento

**ATIVIDADE DE SELENETOS E SELENÓXIDOS COMO  
MIMÉTICOS DA ENZIMA GLUTATIONA PEROXIDASE:  
REVISÃO DO CICLO CATALÍTICO.**

Florianópolis  
2011



Vanessa do Nascimento

**ATIVIDADE DE SELENETOS E SELENÓXIDOS COMO  
MIMÉTICOS DA ENZIMA GLUTATIONA PEROXIDASE:  
REVISÃO DO CICLO CATALÍTICO.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga

Florianópolis  
2011

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária  
da  
Universidade Federal de Santa Catarina

N244a Nascimento, Vanessa do

Atividade de selenetos e selenóxidos como miméticos da  
enzima glutathione peroxidase [dissertação] / Vanessa do  
Nascimento ; orientador, Antonio Luiz Braga. -  
Florianópolis, SC, 2011.

116 p.: il., grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.  
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Selenóxido. 3. Seleneto. 4.  
Ciclo Catalítico. I. Braga, Antonio Luiz. II. Universidade  
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em  
Química. III. Título.

CDU 54

Vanessa do Nascimento

**ATIVIDADE DE SELENETOS E SELENÓXIDOS COMO  
MIMÉTICOS DA ENZIMA GLUTATIONA PEROXIDASE:  
REVISÃO DO CICLO CATALÍTICO.**

Esta Dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Mestre em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis-SC, 28 de fevereiro de 2011.

---

Prof. Dr. Almir Spinelli  
Coordenador do Programa

**Banca examinadora:**

---

Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera (UFSC)

---

Prof. Dr. Ricardo José Nunes (UFSC)

---

Prof. Dr. Ricardo Samuel Schwab (UNISC)

---

Prof. Dr. Antonio Luiz Braga (Orientador)





*"Dizei do Senhor: Ele é o meu refúgio e a minha fortaleza, o meu Deus,  
em quem confio."  
(SALMO 91)*

*A Deus, obrigada Senhor pelos dons e pela saúde para poder realizar este  
trabalho. Obrigada por ouvir sempre minhas lamentações e por entender as tantas vezes  
que, por cansaço, dormi sem agradecer!*



*"Tudo o que um sonho precisa para ser realizado é alguém que acredite que ele possa ser realizado."*

*(Roberto Shinyashiki)*

*Pai, Mãe e Carol...você acreditaram em mim, sonharam comigo, e graças à isso tive forças para chegar até aqui! Obrigada por tudo! Esta conquista é dedicada a vocês...amores da minha vida!*

*"Quando eu te invade de silêncio  
Você conforta a minha dor com atenção  
E quando eu durmo no seu colo  
Você me faz sentir de novo o que eu já não sentia mais  
Você me faz tão bem..."  
(Você me faz tão bem/Detonatas)*

*Ao Bruno, meu namorado, que sempre me incentivou para que eu pudesse chegar  
onde estou. Amor, obrigada pelos teus sorrisos, pelas tuas palavras, pelo teu carinho.  
EU TE AMO!*

*"Se deres um peixe a um homem faminto, vais alimentá-lo por um dia. Se o ensinares a pescar, vais alimentá-lo toda a vida."*

*(Lao-Tsé)*

*Ao Prof. Braga, que me recebeu de braços abertos desde a iniciação científica. Obrigado pelos ensinamentos e pela amizade, que me fizeram uma química e, principalmente, uma pessoa melhor. Obrigada por me ensinar a pescar!*



## AGRADECIMENTOS

Aos antigos colegas do tempo do Labselen Santa Maria: Anna, Cris, Graciane, Minéia, Amarello, Josimar, Franciele, Renata, Kashif, Senthil, Devender, Salman, Ricardo, Letiere, Rafael, Anderson (Boss), Diego, Fabiano.

Aos atuais colegas do Labselen Floripa: Daiane (Daia), Greice, Juliano (Bolachinha), Luanna, Fábio (Galletto), Tiago Frizon, Marcelo (Cabelo), Giancarlo, Gustavo (Largato), Rômulo, Daniel (Jovem), Eduardo (Jovenzinho). A vocês meus colegas, deixo um agradecimento especial em nome de nossa amizade e convivência diária.

Aos colegas do laboratório do Prof. Hugo Gallardo, pela ajuda ofertada no início de nossa empreitada em Florianópolis e pela disposição em nos ajudar em todos os momentos.

Aos colegas do laboratório do Prof. Faruk e Prof. Josiel. Deixo registrado um agradecimento especial pela permissão ao uso do UV-VIS e do stopped-flow, respectivamente, que muito colaboraram em meu trabalho.

Aos nossos “vizinhos” e colegas do laboratório da professora Maria da Graça do Nascimento.

Aos colegas do Laboratório do professor Gilson Zeni em Santa Maria.

Aos colegas do Laboratório do professor Claudio Silveira, principalmente a Mari-Mocréia.

Em especial, ao Rômulo, pela leitura do trabalho e sugestões, e ao Frizonline, pela ajuda computacional!

Ao Alfredo e ao Tiago pela ajuda no stopped-flow.

Ao Eduardo, ao Jovem e ao Walker, obrigada pela grande colaboração nesta pesquisa e por me agüentarem no dia-a-dia. “Este trabalho também é de vocês!”

Ao Prof. Braga e a Prof<sup>a</sup> Simone, pela acolhida em sua residência durante a realização das provas de mestrado.

Ao Jasquer e a Pri, e, mais uma vez, ao Eduardo, por terem me orientado em minha iniciação científica. Muito obrigado por me ensinarem grande parte daquilo que hoje eu sei de trabalho de laboratório/química e por me incentivarem a prosseguir na pesquisa.

Aos Professores Oscar e Luciano, por sempre me receberem de braços abertos em seu laboratório em Santa Maria.

Ao Prof. Hélio Stéfani e Leandro Helguera por terem me recebido muito bem em seus laboratórios quando precisei.

À Priscila e ao Jasquer por me hospedarem em São Paulo.

Ao Jadir e a Greice, pelo trabalho eficiente frente à coordenação da pós graduação.

Aos demais funcionários do departamento de química da UFSC.

Às agencias financiadoras FAPESC, CNPq e CAPES, pelas bolsas e auxílios concedidos.

Ao Cabelo, Juliano, Paulinho e Tiago por iniciarem comigo o desafio de montar o nosso laboratório em Florianópolis.

Aos meus professores e amigos dos tempos de faculdade na UFSM, principalmente a Liange, que me hospedou nas últimas viagens.

Aos meus amigos, principalmente, a Rafa e a Carol, obrigado por essa amizade que só se fortalece ao longo dos anos.

Aos meus familiares, por sempre acreditarem em minha capacidade. Graças ao apoio de vocês chego ao final de mais uma etapa importante em minha vida.

Deixo, por fim registrado, um agradecimento a todos os professores que tive ao longo de toda minha vida acadêmica. A eles, que nem sempre são valorizados como deveriam nesse país, mas que são de profunda importância para todos nós, deixo registrado o meu Muito Obrigado!

## RESUMO

O presente trabalho apresenta a síntese de uma série de selenetos e selenóxidos com grande diversidade estrutural e a avaliação de seus potenciais para mimetizar a enzima glutathione peroxidase. Para este estudo empregou-se o método de Tomoda, o qual utiliza  $H_2O_2$  como peróxido e PhSH como substituto da glutathione e acompanha-se a 305 nm a formação do PhSSPh (produto oxidado da reação). A estratégia sintética adotada permitiu a preparação de diversos compostos e, conseqüentemente, o estudo da relação de suas estruturas/atividades. Além disso, a partir de evidências cinéticas, foi proposto um novo ciclo catalítico para os mesmos, quando empregados na reação de oxidação de PhSH com  $H_2O_2$ . Os catalisadores de selênio sintetizados e empregados nesse estudo foram: Ebselen **1**, benzil fenil seleneto **2**, 1-(2-(benzil)benzilseleneto)pirrolidina **3**, benzil fenil selenóxido **4**, benzil(4-metóxfenil)selenóxido **5**, benzil(3,5-bis(trifluorometil)fenil)selenóxido **6**, (2-(benzil)fenilselenóxido)metanol **7**, 1-(2-(benzil)benzilselenóxido)pirrolidina **8**. Sabe-se que compostos orgânicos de selênio são catalisadores eficientes em uma variedade de reações de oxidação utilizando peróxidos, incluindo GPx *like*. Esta capacidade está intimamente associada à natureza eletrônica dos substituintes do catalisador. Sendo assim, com os compostos **2** - **8** em mãos, partiu-se para a investigação do uso dos mesmos, em quantidades catalíticas para obter-se a relação entre suas estruturas e atividades como miméticos da GPx, utilizando o Ebselen **1** como padrão. As atividades dos compostos foram apresentadas em termos de velocidades iniciais, a partir de um gráfico traçado pela Absorbância (em 305 nm) em função do Tempo. Os selenóxidos **4**, **5** e **6** apresentaram atividade semelhante, concluindo-se que no mecanismo desse tipo de compostos como miméticos da GPx, os substituintes (doadores ou retiradores de elétrons) não causam grande influência na atividade catalítica. Porém, quando empregou-se os selenóxidos **7** e **8**, houve um significativo aumento da velocidade de formação do produto (PhSSPh) em comparação com os outros selenóxidos. Esta diferença de

atividade foi associada ao fato de que nos selenóxidos **7** e **8** os átomos de nitrogênio ou oxigênio podem quelar-se ao átomo de selênio. Com o intuito de determinar o mecanismo da reação, realizou-se alguns ensaios em quantidades estequiométricas, a fim de facilitar a observação da formação do PhSSPh. Foram preparadas soluções dos compostos **2** e **4** como ativadores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, na oxidação de PhSH, ambas em metanol. O mecanismo da reação de selenetos e selenóxidos como miméticos da GPx, utilizando-se PhSH como cofator, foi revisado. As evidências experimentais e cinéticas observadas sugeriram que durante a oxidação de PhSH pelos selenóxidos na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uma nova espécie, presume-se que seja a perhidróxi selenona, foi formada. Esta espécie é um melhor agente oxidante do que o selenóxido. Isso se deve, pois nos ensaios realizados, a velocidade inicial de oxidação do PhSH frente ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ativada por selenóxidos, foi 9000 vezes maior do que na reação sem peróxido. Além disso, selenóxidos não foram reduzidos ao correspondente seleneto, como era descrito previamente, uma vez que isolou-se o mesmo depois de 30 minutos de reação.

**Palavras chave:** selenóxido, seleneto, GPx *like*, perhidróxi selenona, ciclo catalítico.



## ABSTRACT

This thesis presents the synthesis of a small library of selenides and selenoxides with high structural diversity as well as the evaluation of these compounds as mimetics of glutathione peroxidase enzyme (GPx). For this study employed the Tomoda's method, which uses H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as peroxide and PhSH as a substitute for glutathione and the formation of PhSSPh (oxidized product of the reaction) is monitored at 305 nm.

The synthetic strategy afforded the preparation of various compounds allowing a structure activity relationship (SAR) study. Moreover, kinetic studies allowed us to propose a new catalytic cycle when these selenium derivatives are used in the oxidation of PhSH with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The organoselenium catalysts employees in this study were: Ebselen **1**, Benzyl phenyl selenide **2**, 1-(2-(benzyl)benzylselenide)pyrrolidine **3**, Benzyl phenyl selenoxide **4**, Benzyl(4-methoxyphenyl)selenoxide **5**, Benzyl(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)selenoxide **6**, (2-(benzyl)phenylselenoxide)methanol **7**, 1-(2-(benzyl)benzylselenoxide)pyrrolidine **8**.

It is known that selenium compounds are efficient catalysts in a variety of oxidation using peroxides including GPx like. This ability is closely associated with the electronic nature of substituents of the catalyst. Thus, with compounds **2-8** in hand, followed for the investigation of their use in catalytic amounts to obtain the SAR towards the oxidation of PhSH with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, using Ebselen as standard. The activities of the compounds were presented in terms of initial velocities from a graph tracing the absorbance (at 305nm) *versus* time. The selenoxides **4**, **5** and **6** showed similar activity, concluding that the mechanism of such compounds as GPx mimetics, the substituents (donor or electron withdrawing) do not follow a clear trend and the impact of substituents on their performance is small if any. On the other hand, a significant improvement in the catalytic performance of selenoxides was observed when the compounds **7** and **8** were tested. This difference in activity was associated with the fact that in the selenoxides **7** and **8** the oxygen and nitrogen atoms, respectively, can chelate to the selenium atom.

With the goal to determine the mechanism of the reaction, the tests took place in stoichiometric amounts in order to facilitate the observation of product formation. We prepared methanolic solutions of compounds **2** and **4** as activators of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the oxidation of PhSH. Experimental and kinetic evidences strongly suggest that during the oxidation of PhSH by selenoxides in presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a new specie, presumably perhydroxy selenane, is formed. This specie is a stronger oxidizing agent than selenoxide. In preparative runs, the initial oxidation rate of PhSH by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, which is activated by selenoxide, is 9000 orders of magnitude higher than the oxidation rate of selenoxide without oxygen peroxide. Besides, selenoxide is not reduced to the corresponding selenide by PhSH in the presence of peroxide.

**Keywords:** selenoxide, selenide, GPx *like*, perhydroxy selenane, catalytic cycle

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas da selenocisteína <b>9</b> e glutathiona <b>10</b> .....	2
Figura 2. Compostos organoselênio sintéticos com capacidade de mimetizar a GPx .....	4
Figura 3. Estrutura geral dos selenóxidos a serem sintetizados.....	5
Figura 4. Compostos análogos ao Ebselen <b>1</b> com atividade mimética da GPx.....	9
Figura 5. Diversas estruturas de disselenetos com atividade mimética GPx.....	12
Figura 6. Disselenetos com grupamentos amina ou amida com atividade mimética GPx .....	13
Figura 7. Selenetos com atividade GPx <i>like</i> .....	16
Figura 8. Disselenetos utilizados na síntese dos selenóxidos deste trabalho .....	22
Figura 9. Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>7</b> em DMSO-d <sub>6</sub> a 400 MHz.....	30
Figura 10. Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto <b>7</b> em DMSO-d <sub>6</sub> a 100 MHz.....	32
Figura 11. Gráfico da ΔAbsorbância <i>versus</i> Tempo para as velocidades iniciais de aparecimento do PhSSPh utilizando <b>1</b> (○), <b>2</b> (◀), <b>3</b> (●), <b>4</b> (◆), <b>5</b> (□), <b>6</b> (★), <b>7</b> (⬢) e <b>8</b> (■) como catalisadores..	34

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Estruturas e rendimentos dos selenetos <b>2</b> e <b>74a-c</b> .....	23
Tabela 2. Estruturas e rendimentos dos selenóxidos <b>4-8</b> .....	27
Tabela 3. Atividade dos catalisadores de selênio <b>1-8</b> como miméticos da enzima glutathione peroxidase.....	35
Tabela 4. Reações de oxidação de PhSH utilizando quantidade estequiométrica dos compostos <b>2</b> ou <b>4</b> .....	39
Tabela 5. Dados do cristal e refinamento da estrutura obtida do composto <b>7</b> .....	90

## LISTA DE ABREVIATURAS

$\epsilon$  – absorvidade molar  
 $\Delta$ Abs – variação da absorbância  
 $A_t$  – absorbância em função do tempo  
 $b$  – caminho ótico  
 $c$  - concentração  
CC - cromatografia em coluna  
CCD - cromatografia em camada delgada  
 $d$  – dubleto  
 $dA/dt$  – derivada da absorbância em função do tempo  
 $dd$  - duplo dubleto  
ERO – Espécie reativa de oxigênio  
EtOH - etanol  
GOx – Enzima glutatona oxidase  
GPx – Enzima glutatona peroxidase  
GSH – Glutaciona  
GSSG – Dissulfeto da glutaciona  
 $J$  - constante de acoplamento  
 $k_0$  – aumento linear inicial da absorbância em função do tempo  
 $m$  – múltiplo  
MCPBA – ácido *m*-cloro-perbenzóico  
nm – nanômetros  
NaOEt – etóxido de Sódio  
ppm – partes por milhão  
 $[\text{PhSSPh}]_t$  – concentração do produto em função do tempo  
RMN  $^{13}\text{C}$  - Ressonância Magnética Nuclear de Carbono  
Treze  
RMN  $^1\text{H}$  - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio  
 $s$  – singleto  
SAR – structure activity relationship  
sl – singleto largo  
SOD – enzima superóxido dismutase  
 $t$  – tripleto  
THF – tetra-hidrofeno  
TMS - tetrametilsilano  
UV-VIS - ultravioleta na região do visível  
 $V_0$  – velocidade inicial

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E OBJETIVOS..ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.</b>	
1.1	Introdução e Objetivos Gerais .....	1
1.2	Objetivos Específicos .....	5
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>7</b>
2.1	Compostos Organoselênio com Atividade Mimética da Enzima GPx e seu Mecanismo de Ação.....	7
2.2	Compostos Orgânicos de Selênio em Reações de Oxidação. 17	
2.2.1	Selenóxidos em Reações de Oxidação..... Erro! Indicador não definido.	
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
3.1	Preparação dos Selenóxidos 4-8 .....	22
3.2	Avaliação do Potencial dos Selenetos e Selenóxidos em Mimetizar a Atividade da Enzima Glutathiona Peroxidase (GPx).....	32
3.2.1	Estudo do Mecanismo da Reação de Selenetos e Selenóxidos como Miméticos da Enzima Glutathiona Peroxidase.....	38
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES, CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS ...</b>	<b>45</b>
<b>5</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>47</b>
5.1	Materiais e Métodos .....	47
5.1.1	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	47
5.1.2	Espectrometria de Massas de Alta Resolução .....	47
5.1.3	Espectroscopia de Absorção UV-Vis.....	47
5.1.4	Rotaevaporadores .....	48
5.1.5	Determinação do Ponto de Fusão .....	48
5.1.6	Determinação da Estrutura de Raio-X do Composto 7.....	48

5.1.7	Solventes e Reagentes.....	48
<b>5.2</b>	<b>Procedimentos Experimentais .....</b>	<b>49</b>
5.2.1	Procedimento para a Síntese dos Selenetos <b>2</b> e <b>74a-c</b> .....	49
5.2.2	Procedimento para a Síntese do Seleneto <b>(3)</b> .....	50
5.2.3	Procedimento Geral para a Síntese dos Selenóxidos <b>4-7</b> .....	51
5.2.4	Procedimento para a Síntese do Selenóxido <b>(8)</b> .....	53
5.2.5	Procedimento para Avaliação da Atividade Antioxidante dos Selenetos <b>(2)</b> e <b>(3)</b> e Selenóxidos <b>(4-8)</b> em Quantidade Catalítica e Estequiométrica .....	54
5.2.6	Recuperação do Aril Benzil Selenóxido <b>(4)</b> depois da Reação com Peróxido de Hidrogênio e Tiofenol .....	55
<b>5.3</b>	<b>Cálculos Realizados para Obtenção das Velocidades Iniciais .....</b>	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>56</b>
<b>7</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>74</b>
<b>7.1</b>	<b>Espectros Seleccionados .....</b>	<b>74</b>







# 1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

## 1.1 Introdução e Objetivos Gerais

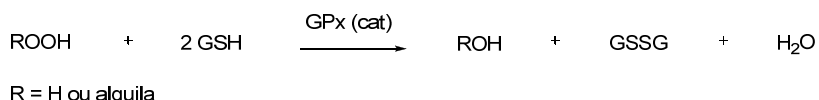
Os organismos aeróbicos obtêm energia através da respiração, na qual o oxigênio é reduzido em um processo de transferência de um elétron que ocorre no interior da mitocôndria. Durante o metabolismo do oxigênio são formadas pequenas quantidades de peróxidos e superóxidos, também conhecidos como Espécies Reativas de Oxigênio (EROs).<sup>(1)</sup>

Uma característica importante desses compostos é a facilidade com que formam espécies radicalares, que por sua vez causam danos às membranas celulares e a outros componentes celulares importantes (estresse oxidativo)<sup>(2-3)</sup> desencadeando a iniciação e propagação de processos inflamatórios<sup>(4)</sup>. Inúmeras doenças podem ser associadas à presença e atividade das EROs, tais como o envelhecimento precoce, mal de Parkinson e Alzheimer.<sup>(5-7)</sup>

O nosso organismo possui um complexo e elaborado sistema de desintoxicação e de defesa contra os malefícios causados pelas EROs. Nesse sistema, destacam-se a atividade das enzimas intracelulares e extracelulares, superóxido dismutase (SOD)<sup>(8)</sup> e glutathiona peroxidase (GPx).<sup>(9-10)</sup> Essas duas enzimas atuam de forma complementar, a primeira promovendo a decomposição do superóxido a oxigênio e peróxido de hidrogênio, que é então reduzido à água pela GPx.<sup>(11-12)</sup>

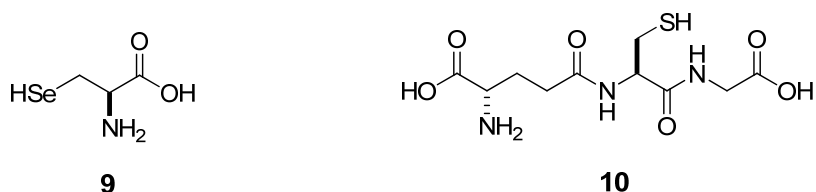
A partir dos anos 70, o interesse em compostos organocalcogênicos cresceu rapidamente devido à identificação de diversas seleno-proteínas, inicialmente encontradas em bactérias,<sup>(13-14)</sup> e posteriormente nos mamíferos.<sup>(15)</sup> Uma das descobertas mais expressivas indicou que o selênio desempenha papel fundamental na atividade da enzima glutathiona peroxidase. A enzima GPx apresenta atividade antioxidante, catalisando a redução de peróxidos de hidrogênio e peróxidos orgânicos, como

os hidroperóxidos de cumeno e de *terc*-butila, consumindo tióis, formando água e/ou álcoois e dissulfeto (Esquema 1).<sup>(16-17)</sup>



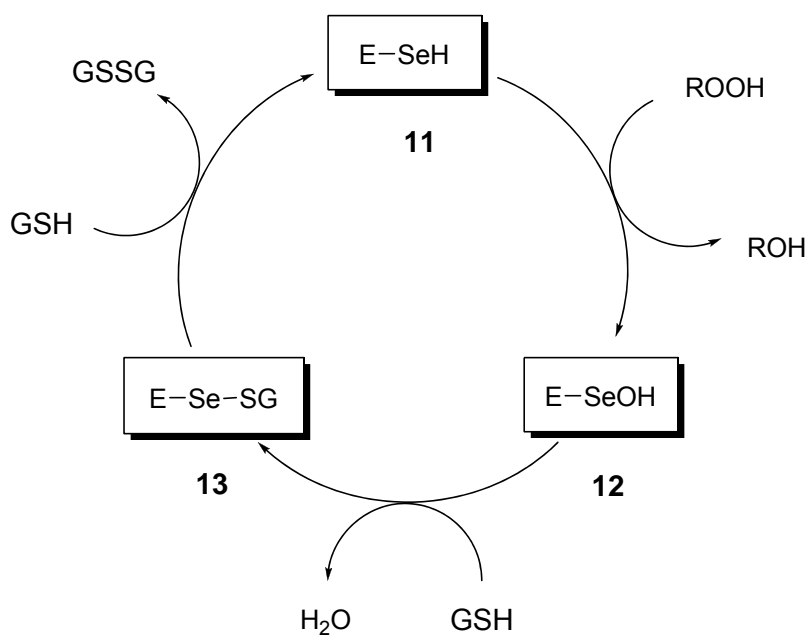
**Esquema 1.** Redução de peróxidos catalisada pela enzima glutationa peroxidase.

Foi constatado que faz parte do sítio ativo destas enzimas um resíduo do aminoácido selenocisteína **9**,<sup>(18)</sup> o qual age em conjunto com a glutationa (GSH) **10**, um peptídeo endógeno com um fragmento tiol proveniente do aminoácido L-cisteína que funciona como agente redutor (Figura 2).<sup>(19)</sup>



**Figura 1.** Estruturas da selenocisteína **9** e glutationa **10**.

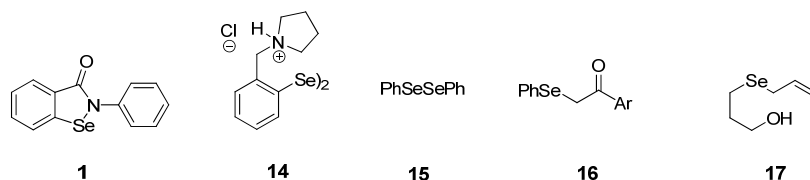
O ciclo catalítico proposto (Esquema 2)<sup>(20-21)</sup> envolve a participação do átomo de selênio da enzima glutationa peroxidase **11**, na forma de selenol, que reage com o peróxido reduzindo-o à água ou álcool e formando ácido selenênico **12**. Este então reage com um equivalente de glutationa **10**, para formar o selenosulfeto **13** e liberar água. Por último, um segundo equivalente de **10** ataca o selenosulfeto formando a glutationa oxidada (GSSG) e regenerando a enzima na sua forma ativa para o ciclo catalítico. No processo global, dois equivalentes de glutationa são oxidados a dissulfeto e água, enquanto o hidroperóxido é convertido ao álcool correspondente ou água.



**Esquema 2.** Ciclo catalítico da enzima glutatona peroxidase.

Essas descobertas impulsionaram a busca por compostos organoselênio sintéticos de baixo peso molecular, uma vez que eles eram considerados excelentes candidatos a atuar como miméticos da enzima GPx, devido ao seu ciclo de oxirredução entre as espécies de selênio (II) e (IV).<sup>(22-24)</sup> O Ebselen 1, sintetizado em 1924 por Lesser e Weiss,<sup>(25)</sup> foi o primeiro composto organoselênio sintético relatado a apresentar essas características.<sup>(26-28)</sup>

Desde então, a síntese e a avaliação biológica de novos compostos contendo selênio destacam-se como um importante segmento interdisciplinar, envolvendo áreas do conhecimento como a química orgânica e medicinal, biologia e bioquímica.<sup>(29-36)</sup> A Figura 2 mostra exemplos representativos de compostos estruturalmente diversificados com atividade GPx *like*.<sup>(37-39)</sup>

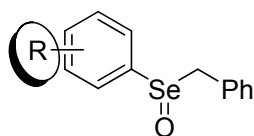


**Figura 2.** Compostos organoselênio sintéticos com capacidade de mimetizar a GPx.

Além disso, também são encontrados na literatura uma ampla variedade de trabalhos, nos quais os autores realizam estudos da aplicação de compostos orgânicos de selênio em outras reações de oxidação.

Grieco e colaboradores,<sup>(40)</sup> na década de 70, descreveram a epoxidação de derivados do geraniol, mediadas por compostos de selênio, e a partir daí, a aplicação de compostos de selênio em reações de oxidação de sulfetos a sulfóxidos,<sup>(41-43)</sup> em reações de Baeyer-Villiger,<sup>(44-48)</sup> epoxidações,<sup>(44,49-53)</sup> reações de bromação de substratos orgânicos,<sup>(46,50-53)</sup> oxidação alílica de alcenos,<sup>(54)</sup> entre outras,<sup>(55)</sup> vêm crescendo significativamente.

Em concordância às afirmações supracitadas, percebeu-se a importância de explorar os possíveis benefícios da utilização de compostos de selênio que já haviam apresentado boa atividade como catalisadores em outras reações de oxidação em reações como miméticos da enzima glutationa peroxidase. Partindo-se deste pressuposto, planejou-se a síntese de selenetos e selenóxidos com modificações em sua estrutura geral, conforme mostrado na Figura 3. Cabe ressaltar que os selenóxidos com substituintes 2-OHCH<sub>2</sub> e 2-(CH)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub> são inéditos.



R = H; 2-OHCH<sub>2</sub>; 4-MeO; 3,5-CF<sub>3</sub>; 2-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>

**Figura 3.** Estrutura geral dos selenóxidos a serem sintetizados.

Em um segundo momento, aplicá-los como miméticos da enzima glutationa peroxidase e verificar suas atividades perante as modificações propostas, uma vez que, até então, eles nunca foram testados como miméticos da GPx. Adicionalmente, objetiva-se neste trabalho re-estudar o mecanismo de selenetos e selenóxidos nesse tipo de reação.

## 1.2 Objetivos Específicos

- Preparar selenetos a partir dos disselenetos correspondentes.
- Identificar os selenetos sintetizados através das técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono e hidrogênio e espectrometria de massas de alta resolução.
- Obter os selenóxidos a partir de reações de oxidação dos respectivos selenetos.
- Identificar os compostos sintetizados através das técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono e hidrogênio e espectrometria de massas de alta resolução.
- Proceder com o estudo dos selenóxidos como miméticos da enzima GPx, utilizando quantidade catalítica dos mesmos, seguindo as condições estabelecidas pelo Método de Tomoda, em que o peróxido utilizado é o peróxido de hidrogênio, o tiol é o tiofenol, a solução é feita em metanol e a formação do produto (dissulfeto de difenila) é acompanhada a 305 nm. Analisar a influência da estrutura dos compostos na atividade como catalisadores da reação.

- Estudar o mecanismo da reação de redução de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , utilizando PhSH como cofator, identificando as espécies envolvidas no ciclo catalítico de selenetos e selenóxidos como miméticos da enzima glutathione peroxidase. Para estes ensaios utilizaremos quantidades estequiométricas de selenetos e selenóxidos puros, utilizando um espectrofotômetro UV visível.

- Realizar um estudo cinético de ambas as reações, através do método das velocidades iniciais, traçando gráficos da absorbância em função do tempo.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Compostos Organoselênio com Atividade Mimética da Enzima GPx e seu Mecanismo de Ação

O selênio e seus derivados, do ponto de vista biológico, foram considerados por muito tempo como espécies tóxicas, até a descoberta de que esse elemento atuava como micronutriente para bactérias, mamíferos e pássaros.<sup>(56)</sup> Outro fato importante, ocorreu em 1973 quando foram descobertas duas enzimas bacterianas, do tipo desidrogenase e glicina redutase,<sup>(13-14)</sup> contendo selênio em suas estruturas. Concomitantemente, o papel bioquímico do selênio em mamíferos foi claramente estabelecido pelo descobrimento de que ele faz parte do sítio ativo da enzima antioxidante glutathione peroxidase.<sup>(9-10)</sup>

Após esse período, inúmeros relatos têm surgido na literatura onde diversas funções biológicas de compostos orgânicos de selênio têm sido descritas, desempenhando funções importantes na prevenção do câncer, imunologia, envelhecimento precoce, reprodução humana, bem como em outros processos fisiológicos.<sup>(57-58)</sup> Esses compostos também se mostraram importantes agentes terapêuticos, que variam de agentes antivirais e antitumorais a suplementos alimentares naturais.<sup>(59-63)</sup>

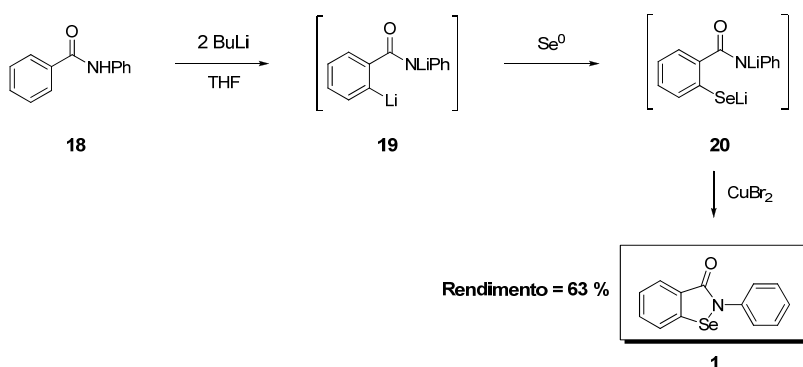
O aprofundamento dos conhecimentos acerca da forma de atuação dos compostos organoselênio, bem como o desenvolvimento de métodos para a síntese de substâncias que possam mimetizar a atividade de compostos de ocorrência natural, constituem um campo muito atrativo e ainda em expansão na química orgânica.

Nesse contexto, a síntese de uma ampla quimioteca de compostos organoselênio têm sido descrita na literatura nos últimos anos. O primeiro composto organoselênio sintético com capacidade de atuar como mimético da GPx foi o composto **1**, popularmente conhecido como Ebselen.<sup>(26-28)</sup> Originalmente sua síntese foi descrita na literatura em 1924 por Lesser e Weiss,<sup>(25)</sup> e desde então várias rotas sintéticas foram desenvolvidas para a obtenção do mesmo.<sup>(64-68)</sup> Este composto heterocíclico exibe,



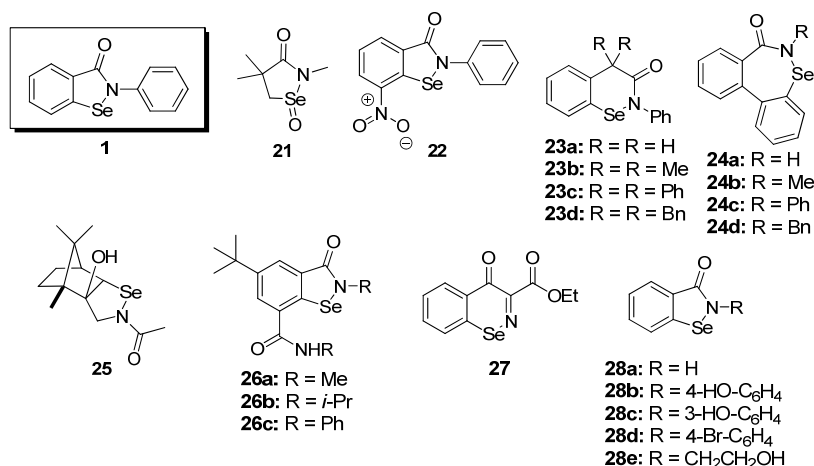
devido a sua baixa toxicidade, aplicações terapêuticas como anti-inflamatório, anti-aterosclerótico e propriedades citoprotetoras.<sup>(69)</sup> Em virtude disso, o Ebselen tem sido usado como fármaco padrão para comparações com outros compostos de selênio em termos de atividade mimética GPx.

Uma das metodologias de síntese para o Ebselen **1** mais utilizadas atualmente foi proposta por Engman e colaboradores<sup>(70)</sup> em 1989 (Esquema 3). Esta consiste em uma reação "one pot" a partir do tratamento da *N*-fenilbenzamida **18** com dois equivalentes de butil lítio em THF, para gerar o diânion **19**. A adição de selênio elementar forma o intermediário **20**, que é ciclizado mediante a adição do oxidante CuBr<sub>2</sub> para formar o Ebselen em apenas uma etapa reacional e com rendimento de 63 %.



**Esquema 3.** Síntese do Ebselen descrita por Engman.

O sucesso obtido empregando o Ebselen como GPx *like* impulsionou a busca por outros compostos com as mesmas características. Inicialmente acreditava-se que a condição fundamental para que um composto sintético reduzisse peróxidos à custa de tiol fosse a ligação selênio - nitrogênio. A Figura 4 mostra exemplos representativos de compostos que apresentam essa característica e que possuem capacidade de atuarem como GPx *like*.<sup>(70-75)</sup>

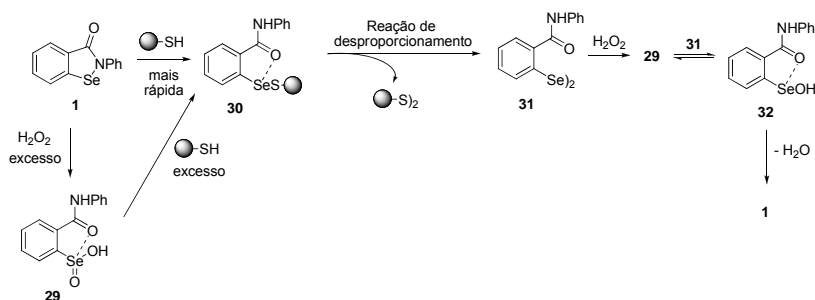


**Figura 4.** Compostos análogos ao Ebselen **1** com atividade mimética da GPx.

O efeito do substituinte possui uma significativa influência na atividade desses catalisadores. Em vista disso, um aumento na eficiência dos compostos **26a-b**, que possuem grupo amida na posição *orto* ao selênio, é observado quando estes são comparados ao seu análogo Ebselen. Já o **26c**, com o substituinte fenila, possui uma atividade menor. Esta diferença foi atribuída às diferentes intensidades de interações do tipo não ligante entre o oxigênio da amida e o selênio, ocasionados pelo volume espacial ocupado pelos substituintes "R" nos compostos **26a-c**.<sup>(76)</sup> Grupamentos alquila, diferentemente do anel aromático, não comprometem a ressonância eletrônica entre o par eletrônico do nitrogênio e a carboxila. Desta maneira, com grupamentos alquila, o oxigênio da amida está mais rico em elétrons, exercendo influência sobre o átomo de selênio. Outros exemplos bem sucedidos na oxidação de tióis utilizando peróxidos, de compostos análogos do Ebselen, são **28b-e**, que contém diferentes substituintes ligados ao nitrogênio.<sup>(77)</sup>

No entanto, apesar de a efetiva atividade catalítica do Ebselen e seus derivados em oxidar tióis na presença de peróxidos ser bem estabelecida, o mecanismo de ação para

estas moléculas ainda não está completamente elucidado.<sup>(71-79)</sup> Todavia, algumas evidências experimentais foram coletadas em reações isoladas para estes compostos, o que nos sugerem um melhor entendimento para o exato mecanismo (Esquema 4).



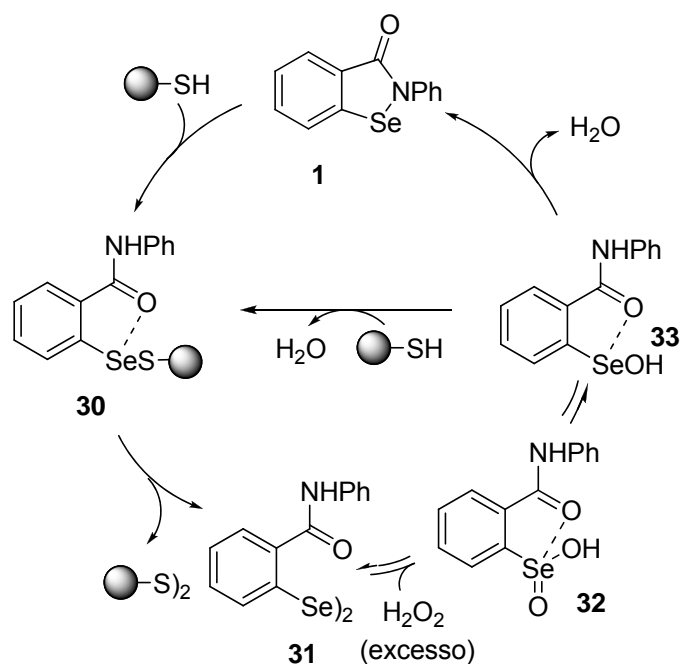
**Esquema 4.** Diferentes reações do Ebselen com  $\text{H}_2\text{O}_2$  ou tiol.

A reação do Ebselen **1** com excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  produz exclusivamente o ácido selenínico **29** correspondente, no qual o átomo de selênio encontra-se estabilizado por uma interação com o átomo de oxigênio do grupo funcional amida. Quando **29** reage com excesso de tiol, o sulfeto de selenenila **30** é o produto obtido.

Adicionalmente, o sulfeto de selenenila **30** é também obtido pela reação entre o Ebselen **1** com tiol. Esta reação é mais rápida comparada àquela do Ebselen **1** e o  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

O sulfeto de selenenila **30** sofre reação de desproporcionamento para o dissulfeto e o disseleneto **31**, o qual é o único produto na ausência de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . A partir da formação do disseleneto **31**, este reage com  $\text{H}_2\text{O}_2$ , produzindo, inicialmente, o ácido selenínico **29**, o qual está em equilíbrio com o restante disseleneto **31**, e estes produzem o ácido selenênico **32**.<sup>(80-83)</sup> Este, por sua vez, é rapidamente convertido ao Ebselen **1** pela perda de uma molécula de água, desfazendo o equilíbrio entre **29** e **31**, favorecendo a formação do ácido selenênico e consequentemente, do Ebselen **1**.<sup>(84)</sup>

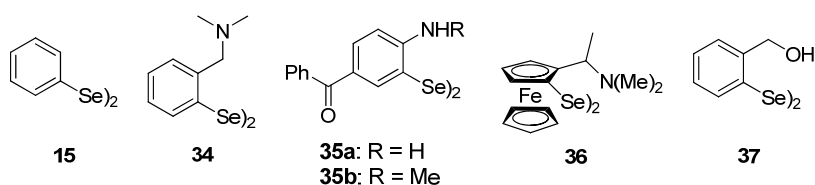
De acordo com essas evidências, um ciclo catalítico revisado foi proposto por Mugesh e colaboradores (Esquema 5).<sup>(84)</sup>



**Esquema 5.** Ciclo catalítico proposto para o Ebselen **1** como mimético da GPx.

Primeiramente, o Ebselen **1** reage com um equivalente de tiol para formar o sulfeto de selenenila **30**. Esta espécie decompõe-se em dissulfeto e disseleneto **31**. Dependendo da natureza do tiol, a formação do disseleneto **31** a partir de **30** é interrompida pela reação conhecida como “*thiol exchange*” no átomo de selênio.<sup>(85-86)</sup> Uma vez formado, o disseleneto **31** reagiria com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em condições que o peróxido esteja em excesso, e estaria em equilíbrio com o ácido selenênico **33**. Na última etapa da reação dois caminhos diferentes são possíveis: a eliminação de uma molécula de água, a partir de **33**, regenerando-se o Ebselen **1**, ou a reação de **33** com outro equivalente de tiol produzindo o sulfeto de selenenila **30**, ambos voltando ao ciclo catalítico.

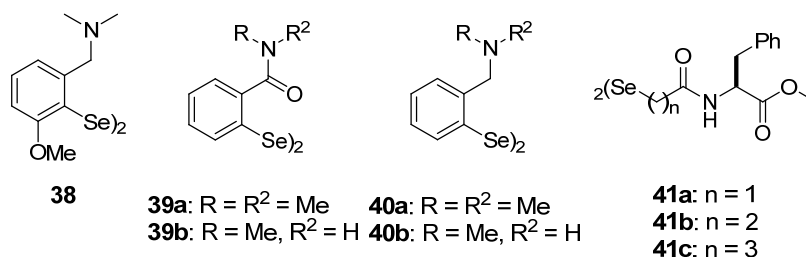
Considerando que disselenetos fazem parte do ciclo catalítico do Ebselen **1** e seus derivados para a oxidação de tióis na presença de  $H_2O_2$ , é viável assumir a hipótese de que disselenetos por si só, deveriam ser bons catalisadores nessas reações. Em vista disso, o emprego desses compostos como miméticos da enzima glutationa peroxidase foi desenvolvido com sucesso. A Figura 5 traz alguns desses exemplos bem sucedidos. Um deles, é o disseleneto de difenila **15** que apresenta-se duas vezes mais eficiente do que o conhecido mimético da GPx, Ebselen **1**. Similarmente a outras reações de oxidação promovidas por peróxidos e que se utilizam de catalisadores orgânicos de selênio, o desempenho dos disselenetos também é afetado pelo efeito dos substituintes. Seguindo esta observação, disselenetos contendo grupamentos aminas, alcoóis ou amidas, apresentam um aumento considerável em sua atividade catalítica. Sendo assim, o disseleneto **34** é aproximadamente 5 vezes mais efetivo que o disseleneto de difenila **15**.<sup>(37)</sup> O mesmo efeito é observado nas atividades para os exemplos **35**,<sup>(87)</sup> **36**,<sup>(88-89)</sup> e **37**.<sup>(90)</sup>



**Figura 5.** Diversas estruturas de disselenetos com atividade mimética GPx.

Outro exemplo que cabe destacar, é a adição da metoxila próximo ao átomo de selênio, no composto **38** (Figura 6), o qual produz um efeito positivo na eficiência deste catalisador, aumentando a atividade quando comparado com **34**.<sup>(91)</sup> Uma diferença notável é a performance catalítica entre amidas secundárias e terciárias **39a-b**, como também em aminas secundárias e terciárias **40a-b**. Mugesh e colaboradores<sup>(92-93)</sup> apresentaram um estudo em que a troca do átomo de hidrogênio em amidas secundárias **39b** por um grupamento metila **39a**, leva a um aumento de vinte vezes na atividade mimética dessa

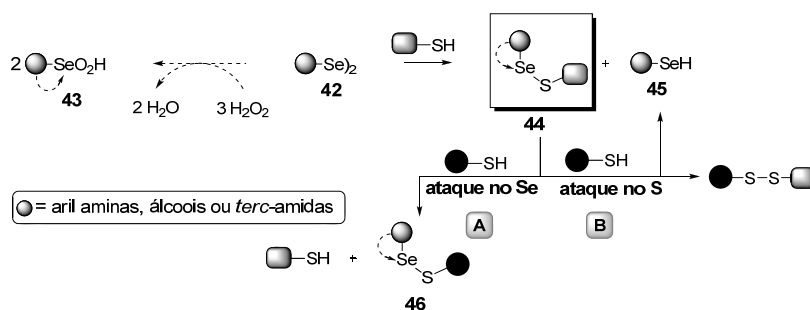
molécula. No entanto, aminas secundárias **40b**, são aproximadamente, duas vezes mais efetivas na redução de peróxidos em presença de tiol, do que aminas terciárias **39a**. Seguindo este estudo, Braga e colaboradores<sup>(94)</sup> observaram que, em disselenetos derivados de aminoésteres **41a-c**, a capacidade de promover a oxidação de tióis na presença de  $H_2O_2$  está relacionada ao comprimento da cadeia carbônica ligada ao átomo de selênio, ou seja, a distância entre o selênio e o grupo funcional. Neste estudo, os disselenetos **41a-b** mostraram-se pouco efetivos como catalisadores, no entanto, com uma cadeia carbônica maior, o exemplo **41c** por sua vez, é mais efetivo que o descrito disseleneto de difenila **15**, pois permite a interação do selênio com o oxigênio da amida.



**Figura 6.** Disselenetos com grupamentos amina ou amida com atividade mimética GPx.

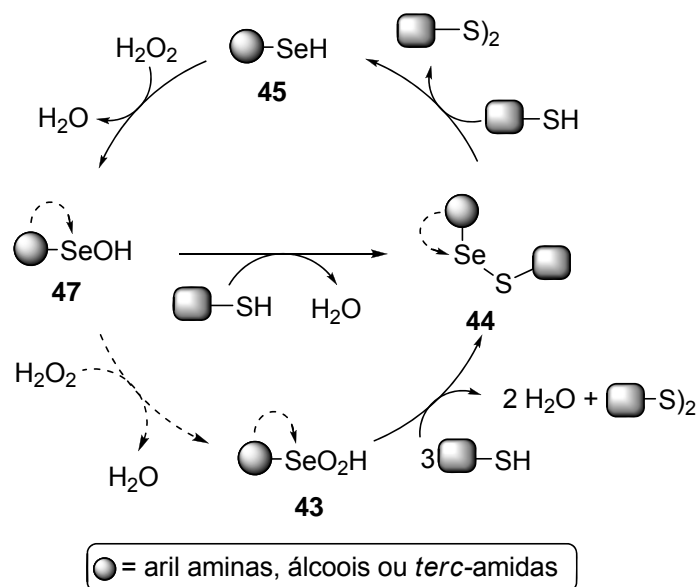
Do ponto de vista mecanístico é relatado que a primeira etapa do ciclo catalítico para disselenetos é a reação deste **42** com o tiol para gerar o sulfeto de selenenila **44** e o selenol **45**, e que esta reação é mais rápida que a do disseleneto **42** com  $H_2O_2$  para produzir o ácido selenínico **43** (Esquema 6).<sup>(93,95)</sup> O átomo de selênio da espécie **44** é deficiente em elétrons e recebe assistência dos pares de elétrons de grupamentos ligados à estrutura do catalisador. Esta interação do selênio com os grupamentos vizinhos é responsável pela maior atividade de catalisadores com função amina, amida ou álcool, em relação ao dissulfeto de difenila. Apesar de disselenetos contendo grupos quelantes serem considerados melhores catalisadores em reações de oxidação de tióis usando  $H_2O_2$ , dependendo da força

dessa interação entre o átomo coordenante e o selênio, no intermediário sulfeto de selenenila **44**, a reação “*thiol exchange*” pode ocorrer, interferindo negativamente na atividade desses compostos.<sup>(96)</sup> Evidências experimentais, bem como, cálculos teóricos, sugerem que fortes interações na espécie **44**, favorece o ataque de um segundo equivalente de tiol no átomo de selênio, caminho “A”, o qual diminui a eficiência desses catalisadores devido à reação “*thiol exchange*”, traduzindo: “troca de tiol”. Por outro lado, interações fracas em **44**, direciona o ataque do segundo equivalente de tiol, direto no átomo de enxofre, caminho “B”, levando à formação do dissulfeto e de sua espécie ativa, selenol **45**. Adicional a isso, a natureza do tiol também influencia de maneira crucial na presença ou não desta reação de “*thiol exchange*”. Enquanto para aril tióis (como tiofenol e álcool tiobenzílico) a existência dessa reação é alta, quando a glutatona é usada como cofator, essa indesejável reação é reduzida drasticamente.<sup>(39,85-86,97)</sup> Portanto é somente uma limitação dos ensaios.



**Esquema 6.** Reações do disseleneto **42** na presença de  $H_2O_2$  e tióis; Reação de “*thiol exchange*” para o sulfeto de selenenila **44**.

De posse dessas evidências, um ciclo catalítico para a oxidação de tióis na presença de  $H_2O_2$  ativado por disselenetos, é apresentado no Esquema 7.



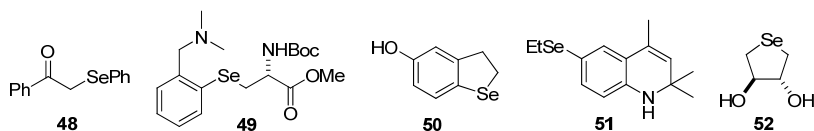
**Esquema 7.** Ciclo catalítico para disselenetos como miméticos da GPx.

Neste ciclo catalítico, o selenol **45**, produzido a partir da reação do disseleneto com tiol, reage com  $\text{H}_2\text{O}_2$  para produzir o ácido selenênico **47**, o qual, em excesso de peróxido, é oxidado ao ácido selenínico **43**. Este composto é reduzido por 3 equivalentes de tióis e forma o sulfeto de selenenila **44**. Alternativamente, **44** é produzido a partir do ácido selenênico **47**, pela reação com excesso de tiol. A última etapa, na sequência, é a reação do sulfeto de selenenila **44** com o tiol para gerar o dissulfeto e restituir o selenol **45** ao ciclo catalítico.<sup>(93)</sup>

Embora selenoamidas e seus derivados bem como disselenetos, sejam bem conhecidos como catalisadores em reações de oxidação de tióis na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a habilidade de mimetizar a atividade da enzima glutationa peroxidase não está restrita somente a essas duas classes de compostos. Selenosubutilisina, uma selenoenzima artificial e seus derivados, possuem uma alta eficiência como miméticos da selenoenzima natural GPx.<sup>(98-100)</sup> Além disso, alguns organoselenetos

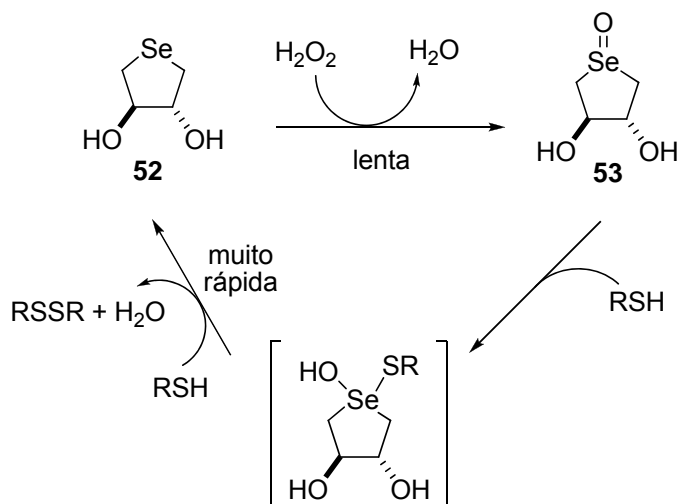


apresentados na Figura 7, também apresentam atividade e vários mecanismos de ação. Os selenetos **46** e **47**, são considerados pré-catalisadores, os quais reagindo com tiol produzem o respectivo sulfeto de selenenila,<sup>(101)</sup> em sequência reagem com o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para produzir o ácido selenênico.<sup>(102)</sup> Por outro lado, os selenetos **50-52**, ao reagirem com peróxidos, produzem *in situ* o selenóxido correspondente, o qual promove a oxidação de tiois à dissulfetos.<sup>(103-105)</sup>



**Figura 7.** Selenetos com atividade GPx *like*.

Desses selenetos mostrados na Figura 7, destaca-se o **52**, pois apresenta solubilidade em água, a qual é extremamente desejada para futuras investigações terapêuticas. Para este mesmo exemplo, Kumakura e colaboradores<sup>(105)</sup> propuseram um ciclo catalítico quando este é empregado como mimético da enzima glutationa peroxidase. Neste, o selenóxido formado **53**, a partir da reação do seleneto com peróxido de hidrogênio (etapa lenta da reação), é dito ser a espécie oxidante (Esquema 8).

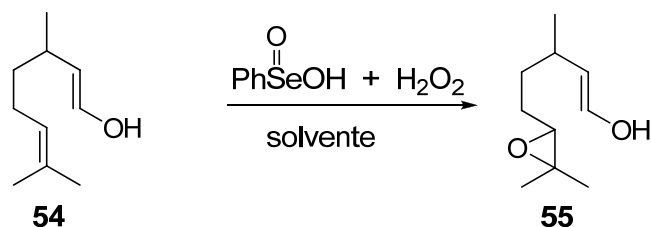


**Esquema 8.** Ciclo catalítico para o seleneto **52**.

## 2.2 Compostos Orgânicos de Selênio em Reações de Oxidação

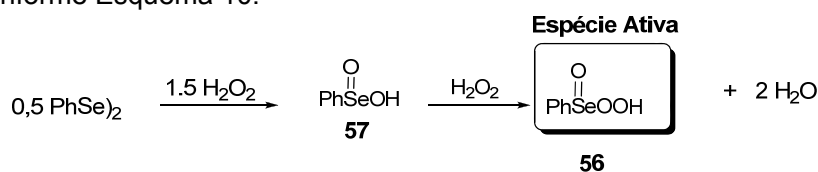
Reações de oxidação são processos fundamentais amplamente aplicados em síntese orgânica. Selênio elementar e, mais frequentemente, seus compostos, tem sido empregados com sucesso como reagentes estequiométricos ou como catalisadores na oxidação de diferentes substratos orgânicos.<sup>(55)</sup>

A utilização de compostos orgânicos de selênio e seus derivados, em reações de oxidação, tornou-se uma importante estratégia sintética a partir dos anos 70, através dos estudos pioneiros de Grieco e colaboradores.<sup>(106)</sup> Estes observaram que a mistura de ácido selenínico com uma solução aquosa de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e posterior adição a terpenos, derivados do geraniol **54**, levavam à formação do epóxido **55**, Esquema 9.



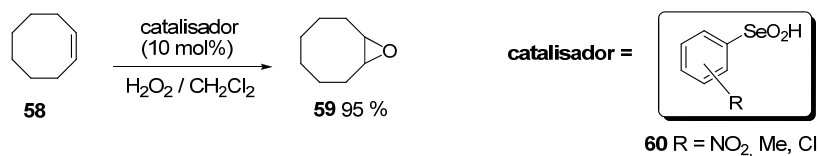
**Esquema 9.** Epoxidação dos derivados do geraniol **54** mediadas por selênio.

Foi postulado que a espécie ativa na reação é o ácido perselenínico **56**. Este composto pode ser facilmente gerado *in situ* a partir da adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ao ácido selenínico **57**, que por sua vez é gerado através da oxidação do  $\text{PhSe}_2$  com  $\text{H}_2\text{O}_2$ , conforme Esquema 10.



**Esquema 10.** Reação de formação do ácido perselenínico **56**.

Posteriormente, Sharpless e colaboradores<sup>(80)</sup> descobriram a possibilidade de utilizar uma quantidade catalítica de ácido selenínico **60** (10 mol% em relação ao substrato). Na reação de epoxidação do ciclo-octeno **58** (Esquema 11), o epóxido **59**, foi obtido com rendimento de 95%.



**Esquema 11.** Epoxidação do ciclo-octeno **58** mediada por catalisador de selênio.

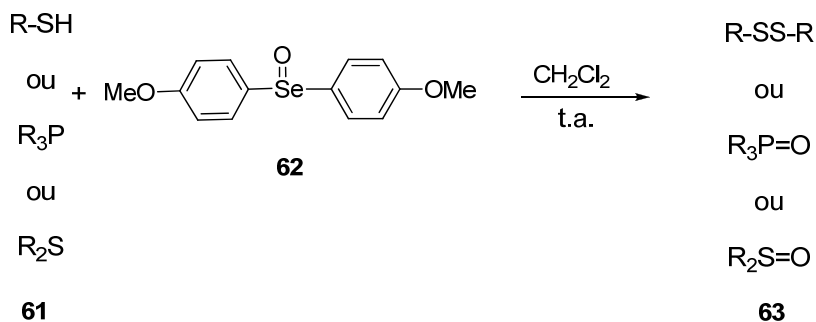
Outra descoberta relevante desse autor foi quanto à natureza eletrônica dos grupamentos ligados ao anel benzênico do ácido selenínico. Na qual, constatou-se que grupos fortemente retiradores de elétrons apresentaram desempenho superior quando comparados aos doadores de elétrons.

Desde então, vêm sendo publicados trabalhos acerca da aplicação de compostos orgânicos contendo o átomo de selênio em uma série de reações de oxidação.<sup>(40-55)</sup>

### 2.2.1 Selenóxidos em Reações de Oxidação

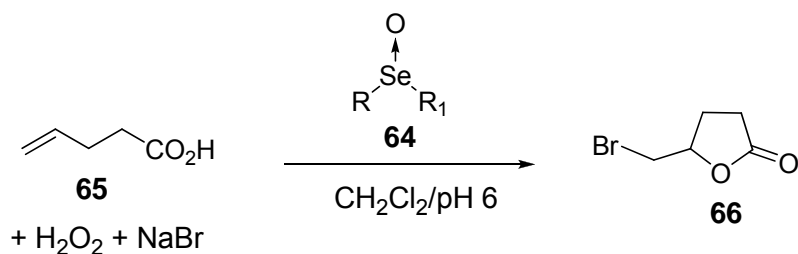
O interesse na química de oxidação-redução de selenetos e selenóxidos vem aumentando, principalmente com relação às suas aplicações biológicas.<sup>(43,76,94,105,107-112)</sup> Um interesse particular em estudar selenóxidos, está no fato deles serem sinteticamente úteis, possuírem habilidade de estabilizar centros aniônicos adjacentes, mesmo sendo instáveis termicamente.<sup>(113)</sup>

Em vista destas informações, selenóxidos vêm sendo aplicados como ativadores de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em várias reações de oxidação, em quantidades estequiométricas, na oxidação de sulfetos a sulfóxidos, tióis a dissulfetos, dentre outras (Esquema 12).<sup>(41,114,115)</sup>

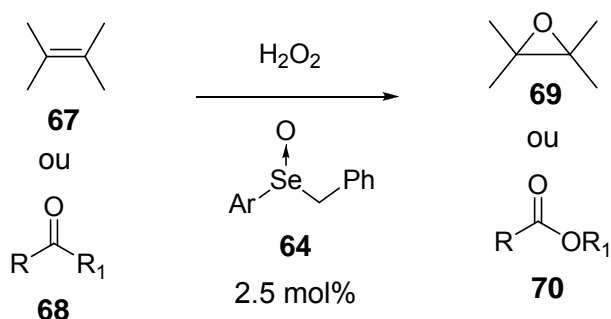


**Esquema 12.** Exemplo da utilização de quantidade estequiométrica de selenóxido na oxidação de tióis, fosfinas e sulfetos.

Já em quantidades catalíticas, Detty e colaboradores<sup>(53,112)</sup> descrevem o uso de selenóxidos **64** em reações de bromação de substratos orgânicos **65** (Esquema 13), epoxidação de alcenos **67** e oxidação de Baeyer-Villiger de aldeídos e cetonas **68** (Esquema 14).



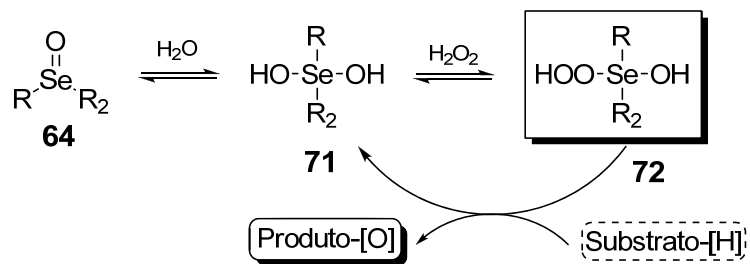
**Esquema 13.** Reação de bromação de substratos orgânicos catalisada por selenóxidos.



**Esquema 14.** Reação de epoxidação e oxidação de Baeyer-Villiger catalisada por selenóxidos.

A melhor atividade desses compostos em reações de oxidação com relação aos seus análogos, sulfóxidos, está relacionada à ligação selênio-oxigênio que é mais fraca.<sup>(41)</sup> Nestas reações, o mecanismo proposto é este apresentado no Esquema 15, no qual o selenóxido **64** na presença de água está

em equilíbrio com a espécie dihidróxi selenona **71**, que ao reagir com o  $\text{H}_2\text{O}_2$ , forma a espécie peridróxi selenona **72**, sendo esta responsável pela oxidação dos substratos.<sup>(53,112-113)</sup>



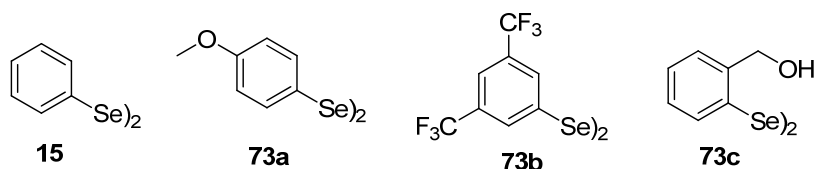
**Esquema 15.** Mecanismo proposto para reações de oxidação promovidas por selenóxidos.

Embora selenóxidos sejam comumente descritos como a espécie ativa quando selenetos são usados como miméticos da enzima GPx, conforme citado anteriormente, nenhum trabalho até então os descreve como catalisadores nessas reações. Assim, planejou-se nesse trabalho estudos envolvendo essas espécies com vistas na revisão do mecanismo para selenetos e selenóxidos como miméticos da GPx.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

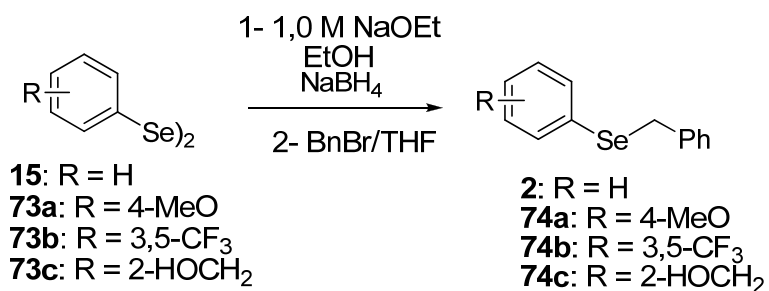
#### 3.1 Preparação dos Selenóxidos 4 – 8

A primeira etapa realizada foi a preparação dos disselenetos **15** e **73a-c** (Figura 8). Os disselenetos **15** e **73a-b** já foram sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa.<sup>(116)</sup> Já o disseleneto **73c**, foi sintetizado de acordo com a metodologia descrita por Back e colaboradores.<sup>(117)</sup>



**Figura 8.** Disselenetos utilizados na síntese dos selenóxidos deste trabalho.

Com os compostos **15** e **73a-c** em mãos, partiu-se para a síntese dos selenetos **2** e **74a-c**. Tratou-se os disselenetos apropriados, com uma solução 1,0 M NaOEt em EtOH sob atmosfera de argônio, com o agente redutor boroidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ). Após refluxo, sob essas condições, o ânion selenolato ( $\text{RSe}^-$ ) é gerado *in situ*, o qual reage, em seguida, com o brometo de benzila (Esquema 17). A reação ocorreu de maneira satisfatória levando aos selenetos **2** e **74a-c** em bons e excelentes rendimentos (Tabela 1).



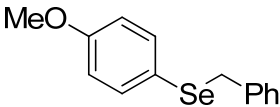
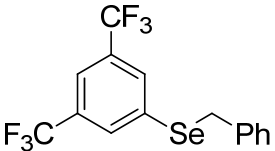
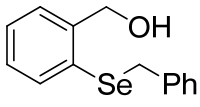
**Esquema 17.** Síntese dos selenetos **2** e **69a-c**.

As estruturas dos selenetos obtidos pela clivagem dos respectivos disselenetos, bem como os rendimentos dos mesmos estão listados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Estruturas e rendimentos dos selenetos **2** e **74a-c**.

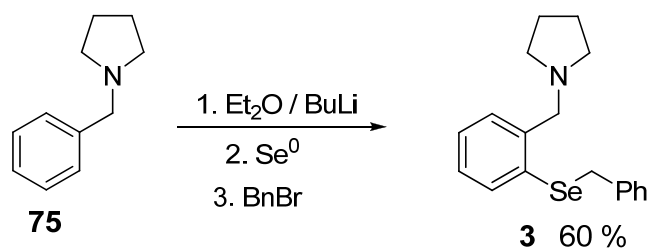
Reação	Disseleneto	Produto	Rendimento(%) <sup>a</sup>
1	15		90
		<b>2</b>	



2	<b>73a</b>		86
		<b>74a</b>	
3	<b>73b</b>		84
		<b>74b</b>	
4	<b>73c</b>		88
		<b>74c</b>	

<sup>a</sup> Rendimento isolado.

Para obtenção do seleneto **3**, empregou-se uma reação de ortolitação,<sup>(112)</sup> na qual a amina benzopirrolidina **75** foi tratada com BuLi sob atmosfera de argônio e em solução de éter etílico seco, seguida da adição de selênio elementar. Após, adicionou-se à mistura reacional o brometo de benzila, obtendo-se o seleneto **3** com rendimento de 60 % (Esquema 18).

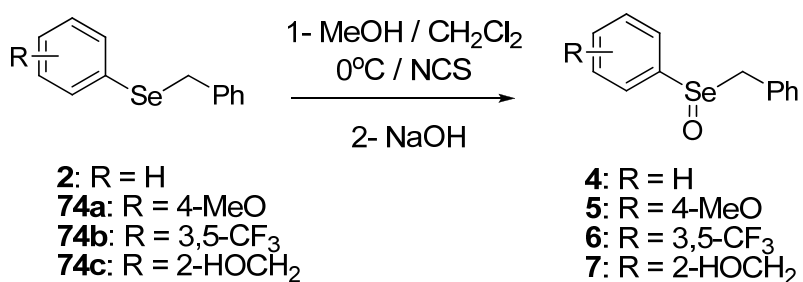


**Esquema 18.** Síntese do seleneto **3**.

Estes compostos foram, na sua maioria, obtidos puros após a extração com solvente específico (diclorometano ou éter etílico) descrito detalhadamente na Parte Experimental. Quando necessário, foram purificados através de coluna cromatográfica utilizando hexano/acetato de etila como eluentes.

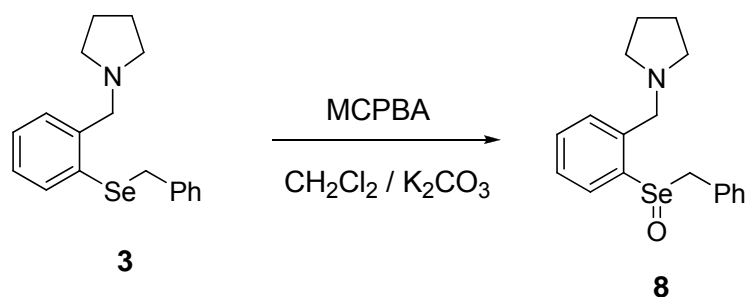
Determinou-se as estruturas dos selenetos **2**, **3** e **74a-c** através de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono, e para os compostos inéditos **3** e **74c** realizou-se as análises de espectrometria de massas de alta resolução, cujos dados estão apresentados na Parte Experimental.

Em seguida, realizou-se a oxidação do átomo de selênio, para levar a formação dos produtos desejados **4-7**. Para tal, submeteu-se os selenetos **2** e **74a-c**, previamente sintetizados, ao tratamento com espécies oxidantes.<sup>(112)</sup> Sobre uma solução dos selenetos **2** e **74a-c** em metanol e diclorometano, foram adicionados 1,2 equivalentes de *N*-cloro-succinimida (NCS). Posteriormente, adicionou-se uma solução 10 % de hidróxido de sódio, para obter-se os respectivos selenóxidos **4-7** em excelentes rendimentos após recristalização com hexano/diclorometano na razão de 4:1 (Esquema 18).



**Esquema 18.** Síntese dos selenóxidos 4-7.

No entanto, para obter-se o selenóxido **8** derivado da benzopirrolidina, utilizou-se outro procedimento experimental. Neste caso, adicionou-se sobre a solução do composto **3**, dissolvido em diclorometano, a mesma quantidade de solução saturada de carbonato de potássio. Em seguida, acrescentou-se a solução do agente oxidante, no caso, o ácido *m*-cloro-perbenzóico (MCPBA) em diclorometano, para obter-se o selenóxido esperado em bom rendimento (Esquema 19). Em ambas as reações de oxidação, não necessitou-se de atmosfera inerte, além do tempo reacional ser curto. A purificação foi feita por recristalização com hexano/diclorometano na razão de 4:1.

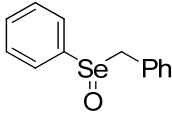
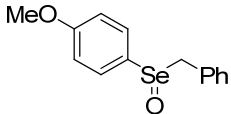
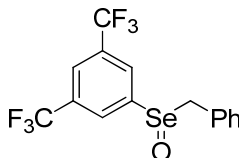


**Esquema 19.** Síntese do selenóxido **8**.

As estruturas de todos os compostos sintetizados nesta etapa, assim como os rendimentos, estão listados na Tabela 2.

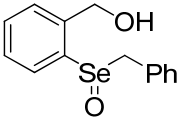
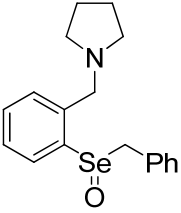
Obteve-se os compostos listados na Tabela 2, na sua maioria, puros após a recristalização em diclorometano/hexano. Quando necessário, purificou-se através de sucessivas lavagens dos cristais com éter etílico ou hexano.

**Tabela 2.** Estruturas e rendimentos dos selenóxidos 4-8.

Reação	Seleneto	Oxidante	Produto	Rendimento (%) <sup>a</sup>
1	2	NCS	 4	98
2	74a	NCS	 5	94
3	74b	NCS	 6	64

Continuação da Tabela 2.

---

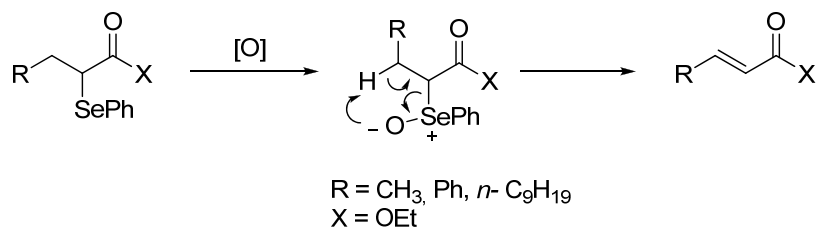
4	74c	NCS		98
7				
5	3	MCPBA		92
8				

---

<sup>a</sup> Rendimento isolado.

Como pode-se verificar, o intuito da síntese dessa gama de selenóxidos é a variação estrutural dos mesmos, uma vez que foram sintetizados compostos com grupamentos fortemente doadores (4-MeO) e retiradora (3,5-CF<sub>3</sub>), de elétrons, diferentes átomos com potencial quelante (oxigênio e nitrogênio), assim como, sem nenhum substituinte. Isso nos permitiria uma avaliação profunda da influência das estruturas na atividade como miméticos da GPx.

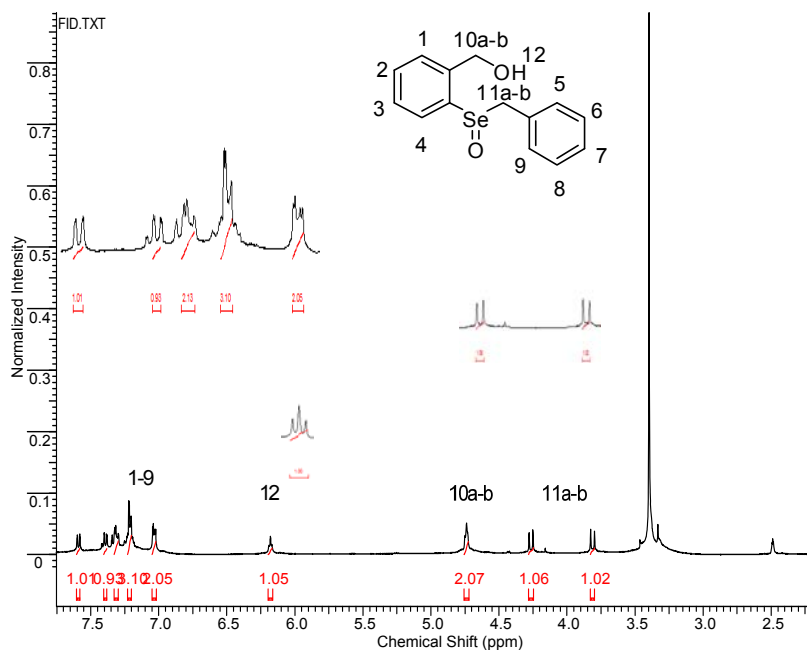
Cabe ressaltar que os selenóxidos sintetizados não possuem hidrogênio em posição β que levaria a indesejada reação de eliminação sin (Esquema 20).<sup>(122)</sup>



**Esquema 20.** Mecanismo de eliminação sin para compostos de selênio com hidrogênio na posição  $\beta$ .

Os selenóxidos são estáveis quando armazenados sob refrigeração e suas estruturas foram confirmadas através de análises de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Para os selenóxidos inéditos **7** e **8**, adicionalmente, realizou-se as análises de espectrometria de massas de alta resolução, conforme os dados descritos na Parte Experimental desta Dissertação. Cabe ressaltar que para o selenóxido **7** foi realizado o Raio-X (Anexos), uma vez que, após recristalização o cristal obtido se apresentou de forma apropriada para essa análise.

A título de exemplo, serão discutidos a seguir os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do composto **7**. A Figura 9 apresenta o espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , obtido na frequência de 400 MHz e utilizando  $\text{DMSO-d}_6$  como solvente.



**Figura 9.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **7** em  $\text{DMSO-d}_6$  a 400 MHz.

Na região entre 7,58 e 7,02 ppm encontram-se sinais na forma de multipletos referentes aos hidrogênios aromáticos. Esses apresentam valor relativo às integrais somadas de 9H. Com deslocamento de 6,18 ppm observa-se um tripleto, proveniente do hidrogênio 12 ligado diretamente ao átomo de oxigênio. Na região entre 4,75 e 4,73 ppm encontra-se um multipletos com integração de 2H relativo aos H 10a-b, pertencentes ao carbono que está ligado diretamente ao átomo de oxigênio.

Em campo mais alto observa-se dois dubletos, um em 4,26 e o outro em 3,81 ppm. Cada um com integração para 1H e que podem ser atribuídos aos hidrogênios 11a e 11b, química e magneticamente não equivalentes, pois são

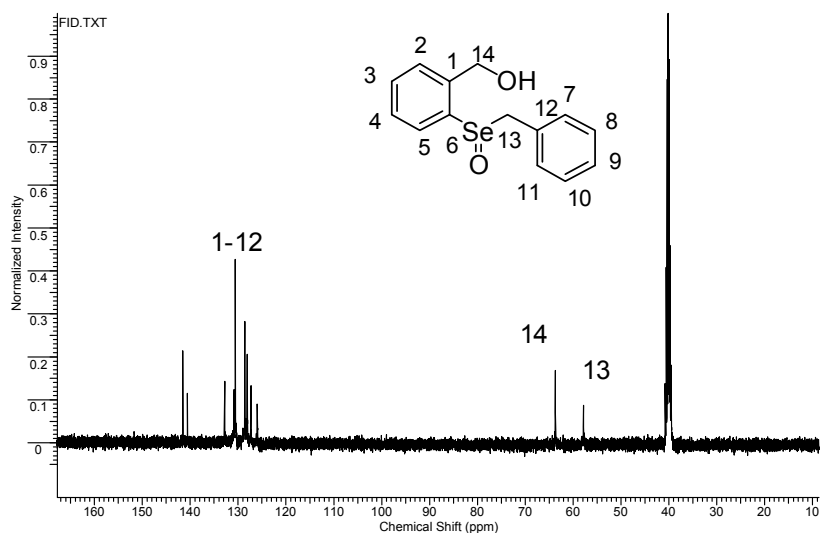
hidrogênios diastereotópicos. Eles apresentam acoplamento entre si e o cálculo das constantes de acoplamento apresentou valor de  $J = 12,0$  Hz, condizente com a constante de acoplamento de hidrogênios geminais que está na faixa entre 12 e 15 Hz. Este desdobramento ocorre, pois o selênio formando dupla com o oxigênio é um centro pró-quiral, uma vez que, para o mesmo seleneto, o sinal observado referente à esses dois hidrogênios é um singlete.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 10) obtido na frequência de 100 MHz e utilizando DMSO- $\text{d}_6$  como solvente, observa-se os picos esperados para este composto. Como o composto se resume praticamente em carbonos aromáticos e mais dois carbonos ligados a heteroátomos, torna-se um espectro simples de ser analisado.

Portanto, na região compreendida entre 141,53 e 126,00 ppm encontram-se os sinais referentes aos carbonos dos dois anéis aromáticos do composto, sendo os mais desblindados pertencentes aos carbonos aromáticos quaternários mais próximos aos heteroátomos.

Observa-se na região de 63,73 ppm o sinal do carbono 14, ligado ao oxigênio, e logo a seguir, em 57,84 ppm aparece o carbono 13 que está ligado ao átomo de selênio.



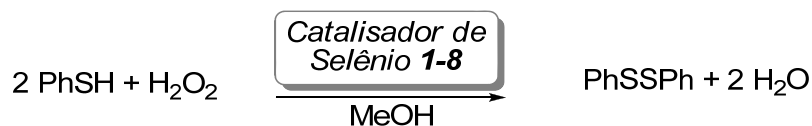


**Figura 10.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C do composto **7** em DMSO-d<sub>6</sub> a 100 MHz.

### 3.2 Avaliação do Potencial dos Selenetos e Selenóxidos em Mimetizar a Atividade da Enzima Glutathiona Peroxidase (GPx)

Neste tópico serão apresentados os resultados da avaliação dos selenóxidos e, alguns dos seus respectivos selenetos, quanto à capacidade de mimetizarem a atividade da enzima glutathiona peroxidase. Cabe salientar que esses testes foram realizados no laboratório do professor Dr. Faruk José Nome Aguilera (Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais - UFSC).

Utilizou-se os selenóxidos **4-8** e selenetos **2-3** em quantidades catalíticas para promover a redução de peróxido de hidrogênio à água, oxidando tiofenol a dissulfeto de difenila conforme Esquema 21, seguindo o método descrito por Tomoda e colaboradores<sup>(95)</sup> e utilizando o Ebselen **1** como padrão.



**Esquema 21.** Redução de peróxido de hidrogênio catalisada por **1-8**.

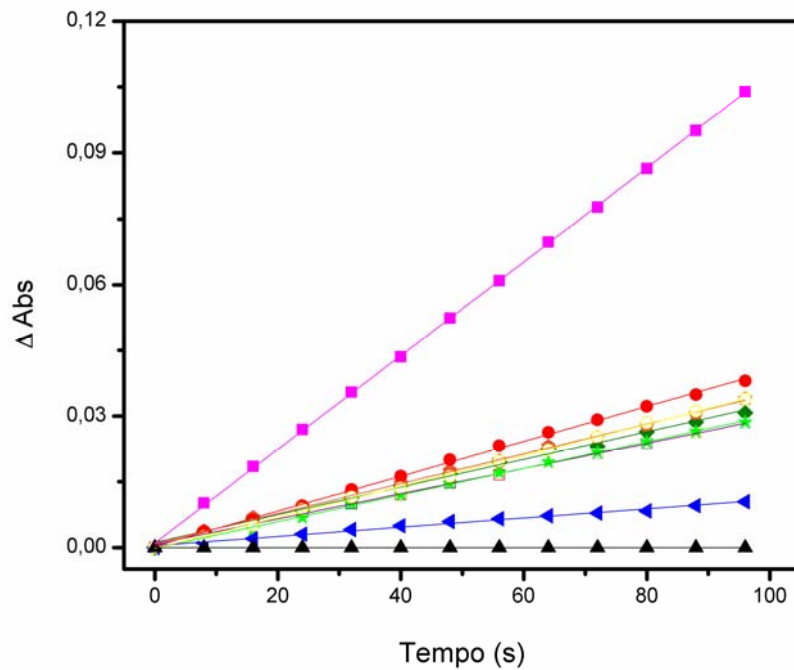
Utilizou-se os compostos como agentes antioxidantes em quantidades catalíticas de 0,1 mol%, em relação à quantidade de tiofenol. A capacidade de reduzir o peróxido de hidrogênio à água foi monitorada espectrofotometricamente através do aumento da absorção de luz ultravioleta em comprimento de onda de 305 nm, característico do dissulfeto de difenila.<sup>(95)</sup> O aumento linear da absorbância,  $k_0$ , na unidade  $\Delta A \cdot s^{-1}$ , onde  $A$  é a absorbância em 305 nm, foi observado durante o estágio inicial da reação. Corrigiu-se estes valores em relação à reação controle (sem catalisador) e converteu-se para as velocidades iniciais,  $v_0$ , nas unidades de  $\mu\text{M min}^{-1}$ .<sup>(119-120)</sup> Os valores obtidos para as velocidades iniciais estão listados na Tabela 3.

Inicialmente avaliou-se os selenóxidos **4-8**. Dissolveu-se cada um em metanol à uma concentração de 400  $\mu\text{M}$  e 25  $\mu\text{L}$  dessa solução contendo o catalisador foram adicionados na cubeta. Em seguida, adicionou-se 400  $\mu\text{L}$  de uma solução de tiofenol e metanol a uma concentração de 25 mM. Posteriormente, completou-se o volume de 1 mL, com metanol. Durante cem segundos, a absorbância dessa solução foi monitorada para averiguar se os selenóxidos por si só não oxidariam o tiofenol a dissulfeto de difenila, e isso não ocorreu; pois não observou-se um aumento significativo da absorbância durante este período de tempo. Esse procedimento é importante, pois indica se o composto analisado não apresenta atividade da enzima glutatona oxidase (GOx). A enzima GOx desempenha papel inverso ao da GPx, formando espécies reativas de oxigênio a partir de  $\text{O}_2$ .

Seguindo o mesmo sistema, após cem segundos adicionou-se ao meio reacional 120  $\mu\text{L}$  de uma solução 65 mM de peróxido de hidrogênio em metanol, para avaliar se os

selenóxidos **4-8** poderiam mimetizar *in vitro* a atividade da enzima glutationa peroxidase. Considerou-se o momento da adição do peróxido tempo igual a zero.

A Figura 11, apresenta o gráfico da variação da absorvância em função do tempo. Nele observa-se um crescimento linear da absorvância (formação do produto) em função do tempo logo após a adição do peróxido de hidrogênio, significando que a concentração molar de dissulfeto de difenila (expressa em  $\mu\text{M}$ , para uma solução de 1 mL) aumentou rapidamente. Esse dado indica que o tiofenol foi oxidado a dissulfeto de difenila.

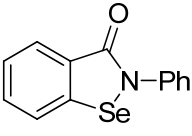
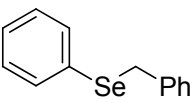
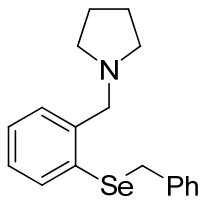


controle

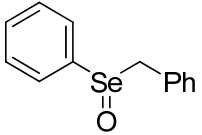
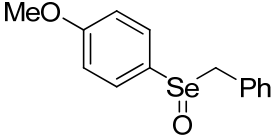
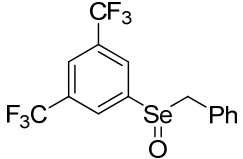
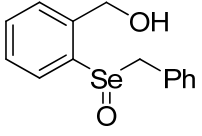
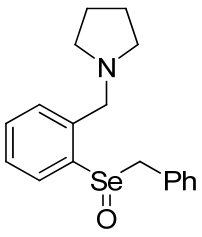
**Figura 11.** Gráfico da  $\Delta$ Absorbância *versus* Tempo para as velocidades iniciais de aparecimento do PhSSPh utilizando **1**(○), **2**(◀), **3**(●), **4**(◆), **5**(□), **6**(★), **7**(◐) e **8**(■) como catalisadores.

As velocidades iniciais para cada composto testado foram obtidas a partir da equação de Lambert Beer ( $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ ), que foi descrita detalhadamente na Parte Experimental e corrigidas a partir do controle. Todos esses dados, bem como as suas velocidades relativas, comparadas com o Ebselen **1**, estão listadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Atividade dos catalisadores de selênio **1-8<sup>a</sup>** como miméticos da enzima glutationa peroxidase.

Reação	Catalisador	$v_0, \mu\text{M min}^{-1\text{b}}$	$V_{\text{rel}}$
1	 <b>1</b>	$17,18 \pm 0,169$	1,0
2	 <b>2</b>	$5,08 \pm 0,135$	0,30
3	 <b>3</b>	$19,29 \pm 0,189$	1,12

Continuação da **Tabela 3**.

4	 <p style="text-align: center;"><b>4</b></p>	15,27 ± 0,300	0,89
5	 <p style="text-align: center;"><b>5</b></p>	13,92 ± 0,155	0,81
6	 <p style="text-align: center;"><b>6</b></p>	14,71 ± 0,131	0,86
7	 <p style="text-align: center;"><b>7</b></p>	16,50 ± 0,189	0,96
8	 <p style="text-align: center;"><b>8</b></p>	51,77 ± 0,184	3,01

<sup>a</sup> Condições das análises: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (concentração final = 10,4 mM in MeOH), PhSH (concentração final = 10,0 mM em MeOH) e catalisadores de selênio **1-8** (concentração final = 10,0 μM em MeOH) à temperatura de 276,8 ± 0,4 K. <sup>b</sup> Valores de  $v_0$  foram corrigidos a partir da reação controle (ausência de

catalisador de selênio) e foram feitas as médias das análises em triplicata, sendo o valor  $\pm$  estabelecido como desvio.

O gráfico e a tabela mostram que os selenóxidos **4-6** tiveram desempenhos satisfatórios e semelhantes. Para questões de comparação, utilizou-se o composto Ebselen **1**, obtido comercialmente, como padrão, devido à sua conhecida atividade como mimético da GPx. Observou-se que os diferentes substituintes, doadores (4-MeO) e atraentes (3,5-CF<sub>3</sub>) de elétrons, apresentam pouco impacto no desempenho dos selenóxidos como catalisadores, não proporcionando influência significativa na atividade dos compostos analisados. Enquanto a atividade do benzil fenil selenóxido **4** se aproxima da atividade do Ebselen, os selenóxidos **5**, com grupamento doador de elétrons, e **6**, com grupamentos retiradores de elétrons, mostraram-se também com atividade próxima àquela apresentada por **1** (Reações 1,4-6).

Observou-se também, um pequeno crescimento no desempenho desses catalisadores quando empregou-se o selenóxido **7**. Este ligeiro aumento observado, credita-se ao fato desse composto possuir o grupamento hidroxila, que pode quelar-se ao átomo de selênio (Reação 7). Porém, mais notável ainda, foi o aumento na atividade para o selenóxido **8**, contendo como grupamento quelante o átomo de nitrogênio. A velocidade inicial para a formação do dissulfeto de difenila, com a utilização desse catalisador foi de  $51,77 \mu\text{M min}^{-1}$ , este foi o catalisador com melhor desempenho de todos os selenóxidos testados, sendo ele 3 vezes mais eficaz que o Ebselen na conversão do PhSH para dissulfeto de difenila às custas do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Reação 8).

Em adição a estes testes realizou-se, sob as mesmas condições, os ensaios para os selenetos **2** e **3**. Os resultados obtidos podem ser observados também na Figura 13. As atividades como miméticos da enzima GPx dos selenetos **2** e **3** foram significativamente menores do que seus respectivos selenóxidos. Porém, destaca-se a atividade do seleneto **3** que foi maior do que os selenóxidos **4-7**, isto evidencia a influência imprescindível da presença do átomo de nitrogênio como quelante no catalisador (Reações 2-3).

Portanto, depois dessas análises, pode-se concluir que, no mecanismo da reação de selenetos e selenóxidos, os substituintes do anel não possuem influência significativa na atividade mimética desses compostos. Porém uma importante observação nesses experimentos, foi a de que, com grupamentos quelantes, o desempenho dos mesmos catalisadores torna-se maior e isso resulta em evidências importantes, no que diz respeito ao mecanismo da reação e seus intermediários ativos, como será discutido a seguir.

### **3.2.1 Estudo do Mecanismo da Reação de Selenetos e Selenóxidos como Miméticos da Enzima Glutathiona Peroxidase**

Como o mecanismo de ação de selenetos e selenóxidos como miméticos da GPx ainda deixa algumas lacunas, mostradas anteriormente, partiu-se então para a elucidação de um possível mecanismo para essas espécies quando empregadas neste tipo de reação.

Utilizou-se os compostos de selênio em quantidades estequiométricas em relação ao tiofenol, uma vez que sabia-se que algumas reações seriam lentas, principalmente àquelas envolvendo selenetos, e a observação do produto formado, dissulfeto de difenila, seria dificultada e/ou impossível de ser analisada através da técnica utilizada. A capacidade de reduzir o peróxido de hidrogênio à água foi monitorada espectrofotometricamente através do aumento da absorção de luz ultravioleta em comprimento de onda de 305 nm, característico do dissulfeto de difenila.<sup>(95)</sup> O aumento linear da absorbância,  $k_0$ , na unidade  $\Delta A s^{-1}$ , onde  $A$  é a absorbância em 305 nm, foi observado durante o estágio inicial da reação. Corrigiu-se estes valores em relação à média dos três ensaios e convertidos para as velocidades iniciais,  $v_0$ , nas unidades de  $\mu M \text{ min}^{-1}$ .<sup>(119)</sup> Os valores obtidos para as velocidades iniciais estão listados na Tabela 4, a seguir.

**Tabela 4.** Reações de oxidação de PhSH utilizando quantidade estequiométrica dos compostos **2** ou **4**.

Reação	Catalisador	$v_0$ , $\mu\text{M min}^{-1}$ <sup>a</sup>
1	-	0,54 ± 0,0063
2	<b>2</b> <sup>b</sup>	2,092 ± 0,0020
3	<b>2</b> <sup>c</sup>	7,109 ± 0,0161
4	<b>4</b> <sup>b,d</sup>	18.574,400 ± 67,26
5	<b>4</b> <sup>c,d</sup>	18.962,400 ± 65,81
6	<b>4</b> <sup>e</sup>	2,021 ± 0,044

<sup>a</sup> Para os valores de  $v_0$  foi feita a média de 3 análises independentes, sendo  $\pm$  o desvio padrão. <sup>b</sup> Condições do ensaio: 0,5 equiv. de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (concentração final = 0,5 mM em MeOH); 1 equiv. de PhSH (concentração final = 1 mM em MeOH); 0,5 equiv. do composto de selênio **2** ou **4** (concentração final = 0,5 mM em MeOH) à temperatura de 276,8 ± 0,4 K. <sup>c</sup> Condições do ensaio: 1 equiv. de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (concentração final = 1,04 mM em MeOH); 1 equiv. of PhSH (concentração final = 1 mM em MeOH); 0,5 equiv. do composto de selênio **2** ou **4** (concentração final = 0,5 mM em MeOH) à temperatura de 276,8 ± 0,4 K. <sup>d</sup> Progresso da reação monitorado através do *stopped-flow*. <sup>e</sup> Reação sem a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



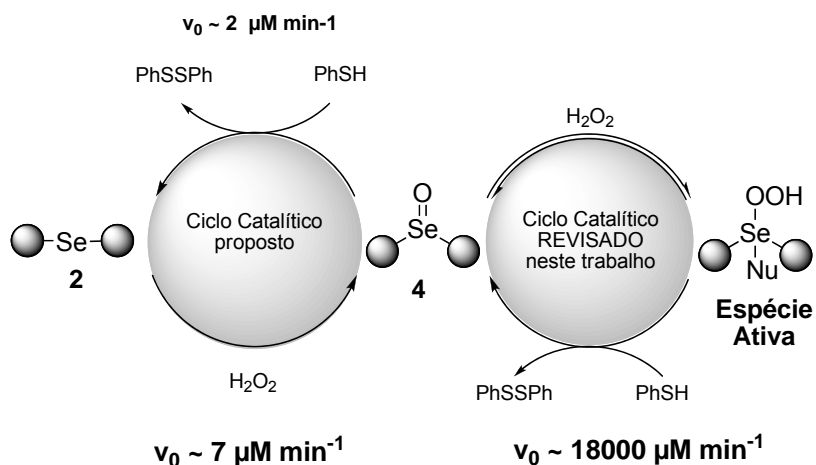
Apesar das quantidades diferentes, os ensaios realizados seguiram os mesmos procedimentos. Cabe salientar que embora o melhor resultado tenha sido obtido com o selenóxido **8**, devido à facilidade na síntese e menor custo adotou-se o selenóxido **4** como padrão nas análises uma vez que seriam utilizadas quantidades equimolar dos substratos.

Inicialmente preparou-se soluções dos compostos **2** e **4**. Dissolveu-se cada um em metanol à uma concentração de 0,5 mM. Em seguida, preparou-se as soluções de PhSH (1 mM) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,04 mM e 0,5mM), ambas em metanol. O primeiro experimento realizado foi o da reação controle, ou seja, sem composto de selênio. Adicionou-se à cubeta 500 µL da solução de PhSH e 500 µL da solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o monitoramento através da espectroscopia na região UV-Vis mostrou pouca mudança na absorbância em 305 nm, sendo que a velocidade inicial,  $v_0$ , obtida foi de 0,54 µM min<sup>-1</sup> para ambas as soluções de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Em um próximo teste, para a avaliação do comportamento do seleneto **2** na oxidação do PhSH frente ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, adicionou-se na cubeta, as quantidades das soluções necessárias para obter-se em 1 mL as seguintes equivalências: 1 equiv. de tiofenol, 0,5 equiv. de peróxido de hidrogênio e 0,5 equiv. de seleneto, para os ensaios da Reação 2; 1 equiv. de tiofenol, 1,04 equiv. de peróxido de hidrogênio e 0,5 equiv. de seleneto, para os ensaios da Reação 3. Depois de uma hora monitorando a formação do PhSSPh, obteve-se as velocidades iniciais de 2,092 e 7,109 µM min<sup>-1</sup>, respectivamente. Para um melhor entendimento as reações e os resultados estão ilustrados no Esquema 22.

Dando sequência aos ensaios, nas mesmas quantidades citadas anteriormente, analisou-se a reação do selenóxido **4**, porém o primeiro teste foi realizado na ausência de peróxido de hidrogênio, que resultou em uma velocidade inicial de 2,02 µM min<sup>-1</sup> (Reação 6). O segundo teste, agora com quantidade equimolar de peróxido de hidrogênio, mostrou uma alta taxa de formação do produto e o estudo foi realizado através da técnica do "stopped-flow". Para estes testes (Reações 4 e 5) as velocidades iniciais foram de 18.574,400 e 18.962,400 µM min<sup>-1</sup>.

Surpreendentemente, a velocidade da reação de oxidação do PhSH usando o seleneto **2** e 2 equivalentes de peróxido de hidrogênio, em relação ao seleneto **2**, foi 3,5 vezes mais rápida

do que a reação utilizando o selenóxido **4** na ausência de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Reações 3 e 6). Este resultado vem de encontro ao que já vinha sendo estudado, em que a etapa de oxidação de tióis por selenóxidos é a etapa rápida da reação.<sup>(105)</sup> No entanto, quando utilizou-se 1:1 de seleneto e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , encontrou-se uma velocidade inicial muito próxima àquela do selenóxido sem  $\text{H}_2\text{O}_2$ , o que concluiria-se que a etapa de formação do selenóxido não seria a etapa lenta da reação.



**Esquema 22.** Ciclos catalíticos para selenetos e selenóxidos.

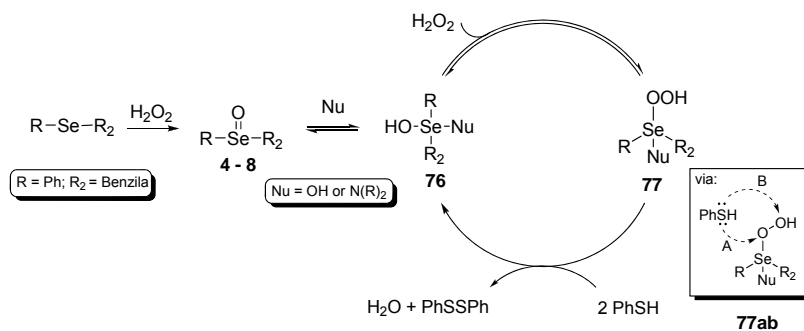
Por outro lado, quando utilizou-se o selenóxido **4** e, tanto 1 quanto 2 equivalentes de peróxido de hidrogênio (em relação ao selenóxido) um aumento de 9000 vezes em ordem de magnitude foi observado em ambas as velocidades iniciais da reação, comparada com a mesma reação na ausência de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Reações 4, 5 vs 6). Embora a habilidade de selenóxidos, como reagentes, em promover a oxidação de tióis a dissulfetos ser conhecida,<sup>(114-115)</sup> os resultados indicam, claramente, que o agente oxidante ativo nos ensaios de selenetos / selenóxidos como miméticos da GPx (com excesso ou não de peróxido) não é o selenóxido. Esta

espécie formada é de longe melhor agente oxidante do que selenóxidos.

Adicionalmente, o selenóxido **4** não é reduzido por 2 equivalentes de PhSH ao respectivo seleneto **2** nas reações com a presença de 2 ou 1 equivalentes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Em concordância com essa informação, o selenóxido foi isolado puro (tanto com 1 e 2 equivalentes), com aproximadamente 91 % de rendimento, para ambas, após 30 minutos de reação (descrito na Parte Experimental).

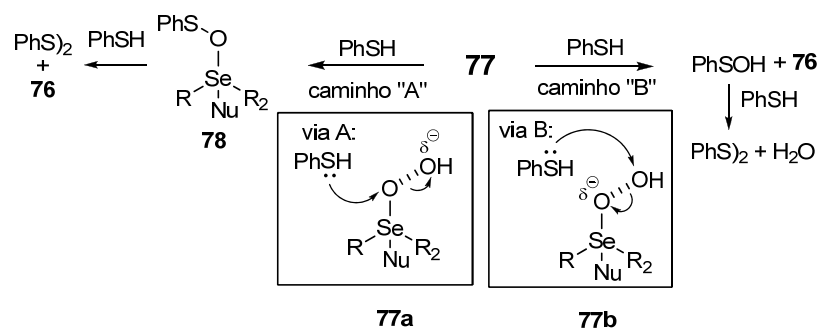
Cabe salientar que, mesmo em excesso de peróxido, a velocidade da reação de oxidação de tióis à dissulfetos não teve mudança significativa. Isto é mais um indício de que, quando selenóxidos são utilizados como catalisadores nesse tipo de reação, o importante para a velocidade da mesma é a formação desse intermediário ativo, a qual ocorre somente com um equivalente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, não influenciando quando este está em excesso.

Em virtude de tais evidências experimentais, um novo ciclo catalítico para a atividade de selenetos e selenóxidos como miméticos da enzima glutathione peroxidase foi proposto neste trabalho (Esquema 23). A sequência da reação começa com a oxidação do seleneto aos selenóxidos **4-8** que na presença de água produziram a espécie conhecida como hidróxi selenona **76**.<sup>(112)</sup> Subsequentemente, adiciona-se a **76** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> numa etapa reversível para produzir o agente oxidante final, peridróxi selenona **77**. A última etapa consistiria na reação de **77** com dois equivalentes de tiol, presumidamente via **77ab**, para produzir o dissulfeto e regenerar **71** pra recomeçar a sequência do ciclo catalítico. Cabe destacar aqui que realizou-se análises do pH da reação, sendo que antes de adicionar o catalisador de selênio (solução de tiofenol e peróxido de hidrogênio em metanol) o pH da reação foi de 6,2; depois de adicionar o catalisador e deixar a reação se completar, o pH medido foi de 5,9. Este ambiente levemente ácido favorece a protonação do selenóxido, acelerando a formação da hidróxi selenona **76**.<sup>(39,97,118-121)</sup>



**Esquema 23.** Novo ciclo catalítico revisado para selenetos e selenóxidos como miméticos da enzima glutatona peroxidase.

Uma vez que a peridróxi selenona **77** é formada, dois caminhos diferentes para oxidação do PhSH podem ser propostos (Esquema 24). No caminho "A", o PhSH reage com **77** para produzir **78**, o qual reage com outro equivalente de PhSH para gerar o PhSSPh e **76** para recomençar o ciclo catalítico com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Como outra alternativa, no caminho "B", o PhSH deveria atacar o oxigênio terminal da espécie **77b**, fornecendo **76** e PhSOH, o qual reage com outro equivalente de PhSH para produzir PhSSPh. Ambas as propostas são plausíveis, mas de acordo com o efeito dos substituintes observados na performance dos selenóxidos **4-8** o caminho favorecido é o "A". A carga negativa desenvolvida no estado de transição **77a** devido ao ataque do tiol através do caminho "A", é mais distante do átomo de selênio e, conseqüentemente, menos influenciado pelos efeitos eletrônicos dos substituintes no momento do ataque. Adicionalmente, a atividade superior do selenóxido **8** com o nitrogênio como grupo quelante, pode ser explicado pelo aumento da basicidade do oxigênio em **76**. Esta interação com o par de elétrons do nitrogênio resulta em uma reação mais rápida de **76** com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para fornecer o agente oxidante ativo, a peridróxi selenona **77**.<sup>(112)</sup>



**Esquema 24.** Sequência para oxidação de PhSH a partir de **77**.

Avaliações quanto ao efeito causado pela variação da quantidade de catalisador utilizada, bem como a análise dos resultados em maiores concentrações para efeito de comparação com outros resultados descritos na literatura ainda estão em andamento.

#### 4 Conclusões, Considerações Finais e Perspectivas

Considerando-se os objetivos propostos para este trabalho e analisando-se os resultados obtidos, algumas considerações finais podem ser feitas frente ao estudo realizado.

Durante o curso de Mestrado o objetivo principal esteve focado na avaliação do potencial mimético da enzima GPx de compostos orgânicos de selênio, selenetos e selenóxidos. Concomitantemente à síntese e avaliação, os estudos para a proposição de um novo mecanismo para o ciclo catalítico dessas espécies na reação de oxidação de tióis à dissulfetos frente à peróxidos, foi objeto de interesse permanente.

Do ponto de vista sintético, é possível concluir que novos selenóxidos, com grupamentos quelantes, foram sintetizados em bons rendimentos. A estratégia sintética adotada, além de propiciar o acesso rápido à estes compostos, ainda foi valiosa pois forneceu-os com bons rendimentos.

No que diz respeito à avaliação do potencial mimético dos compostos sintetizados, inicialmente eles foram testados como agentes antioxidantes. Esses compostos foram estudados como miméticos da enzima glutathione peroxidase, uma importante enzima encontrada em nosso organismo. Os estudos indicaram que os selenóxidos apresentaram capacidade de atuar como miméticos da GPx, promovendo *in vitro*, a oxidação do tiofenol a dissulfeto de difenila e reduzindo peróxido de hidrogênio à água.

Em resumo, neste trabalho é mostrado que a atividade catalítica de organoselenetos não segue o ciclo redox do Se (II) / Se (IV) preconizados até então. Evidências cinéticas revelam que na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, selenóxidos são convertidos à peridróxi selenonas, as quais são, consideravelmente, melhores agentes oxidantes que selenóxidos. A oxidação do tiofenol por quantidades estequiométricas de peridróxi selenona é mais rápida do que a oxidação promovida por selenóxidos em 9000 ordens de magnitude. A partir dessas evidências, um novo ciclo catalítico foi proposto. Em ambiente aquoso os selenóxidos formados pela oxidação inicial dos selenetos estão em equilíbrio

com as selenonas correspondentes. Na presença de excesso de  $H_2O_2$  estas são convertidas em peridróxi selenonas, as quais são os agentes oxidantes ativos. O desempenho dos catalisadores não é afetado pelos diferentes ambientes eletrônicos no átomo de selênio, mas compostos orgânicos de selênio contendo grupos com potencial quelante, especialmente nitrogênio, mostraram ser melhores catalisadores, promovendo a oxidação do PhSH, na presença de  $H_2O_2$  com uma velocidade 3,01 vezes maior do que o bem conhecido mimético da GPx, Ebselen 1.

É importante ressaltar, também, que os resultados desse trabalho resultaram em outros projetos que continuam sendo objeto de pesquisa em nosso grupo. Novos compostos com diferentes grupamentos ligados ao átomo de nitrogênio vêm sendo sintetizados e serão avaliados, assim como os aqui relatados. Outro segmento importante a ser estudado, diz respeito ao isolamento e caracterização das espécies oxidantes ativas que participam do ciclo catalítico. Esses estudos poderão agregar ainda mais valor a este projeto de pesquisa.

Por fim, cabe salientar que o estudo que deu origem a este documento está concluído e, em breve será submetido a um periódico de nível internacional.

## **5 PARTE EXPERIMENTAL**

### **5.1 Materiais e Métodos**

#### **5.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  foram obtidos em espectrômetro Varian AS-400, operando em 400 MHz e 100 MHz, respectivamente (Central de Análises / Departamento de Química – UFSC). As amostras foram dissolvidas em clorofórmio e dimetilsulfóxido deuterados, empregando-se tetrametilsilano (TMS) como referência. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) estão relacionados em parte por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizado como padrão interno para os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $\text{CDCl}_3$  para os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ . Nos dados dos deslocamentos químicos, entre parênteses estão a multiplicidade (s = singleto, d = dubleto, dd = duplo dubleto, t = tripleto, m = multipleteo, sl = singleto largo), o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa e a constante de acoplamento (J) expressa em Hertz (Hz).

#### **5.1.2 Espectrometria de Massas de Alta Resolução**

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos a partir de um aparelho Bruker BioApex 70e (Bruker Daltonics, Billerica, EUA) operando em modo ESI (Ion Electron Spray Ionization) no 627 Natural Sciences Complex, North Campus, Buffalo, New York 14260, USA.

#### **5.1.3 Espectroscopia de Absorção UV-Vis**

Os dados de absorção de luz ultravioleta foram obtidos a partir de um espectrofotômetro com arranjo de diodos, com célula termostática do LACFI – Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais - UFSC. Os sistemas com alto desempenho foram realizados em um stopped-flow (modelo SX-



18MV) e associado a um sistema computacional manufaturado por Applied Photophysics do Departamento de Química – UFSC.

#### **5.1.4 Rotaevaporadores**

Para remoção dos solventes das soluções orgânicas, foram utilizados:

- Rota-evaporador Heidolph VV 2000;
- Rota-evaporador - M Büchi HB -140;
- Linha de vácuo equipada com uma bomba de alto-vácuo Vacuumbrand modelo RD 4, 4,3 m<sup>3</sup>/ h.

#### **5.1.5 Determinação do Ponto de Fusão**

Para medir o ponto de fusão dos compostos isolados, foi utilizado um aparelho digital Micro Química MQA PF – 301.

#### **5.1.6 Determinação da Estrutura de Raio-X do composto 7<sup>(123)</sup>**

A determinação da estrutura de raio-x do composto **7** foi realizada na Universidade Federal de Santa Maria. Os dados foram coletados em um difratômetro com detector de área, do tipo Bruker APEX II CCD, com grafite-monocromático e radiação Mo-K<sub>a</sub>. As estruturas foram salvas diretamente utilizando o método SHELXS-97. Subsequentes análises do mapa das diferenças de Fourier forneceram as posições dos átomos diferentes de hidrogênio. Todos os refinamentos foram feitos com o pacote SHELXL-97. Os dados do cristal e mais detalhes estão contidos na Tabela 5 (ANEXOS).

#### **5.1.7 Solventes e Reagentes**

Os solventes foram purificados e secos antes de serem utilizados, conforme técnicas usuais<sup>(124)</sup>. Os reagentes restantes foram obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

As placas de cromatografia em camada delgada foram obtidas de fontes comerciais; Sílica G/UV<sub>254</sub> (0,20 mm). Utilizou-se, como método de revelação, cuba de iodo, luz ultravioleta e solução ácida de vanilina.

Para os produtos purificados utilizando cromatografia em coluna, o material usado foi uma coluna de vidro, gel de sílica 60 (230-400 mesh – MERCK) e, como eluente, um solvente ou mistura de solventes adequados.

Para os produtos purificados pela recristalização, foram utilizados também uma mistura de solventes adequados.

## 5.2 Procedimentos Experimentais

### 5.2.1 Procedimento para a Síntese dos Selenetos 2 e 74a-c<sup>(112)</sup>

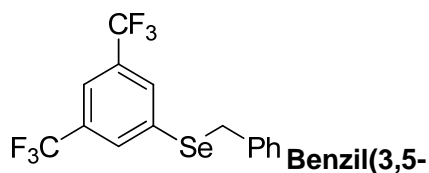
Em um balão de duas bocas munido de condensador de refluxo, sob atmosfera de argônio, adicionou-se lentamente 0,2 equivalentes de boroidreto de sódio sobre uma solução de 1,0 M NaOEt em EtOH do disseleneto desejado (0,25 mmol de disseleneto de diarila / mL). Em seguida, refluxou-se esta mistura até a solução tornar-se pálida e transparente. Posteriormente, adicionou-se o brometo de benzila (1,1 equivalentes) dissolvido em THF e, então, refluxou-se a solução “*overnight*”. Após, concentrou-se a mistura reacional e suspendeu-se o resíduo em água. Extraiu-se três vezes a fase aquosa com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e combinou-se a fase orgânica, secou-se com MgSO<sub>4</sub> e evaporou-se o solvente. Os selenetos foram oxidados diretamente ao respectivo selenóxido, sem purificação prévia.



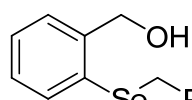
**Benzil fenil seleneto (2)**<sup>(112)</sup>: Rendimento Bruto: 90 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ = 7,50-7,42 (m, 2H); 7,28-7,14 (m, 8H); 4,10 (s, 2H); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz) δ = 138,6; 133,5; 130,4; 128,9; 128,8; 128,4; 127,3; 126,8; 32,2.



Rendimento Bruto: 86 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) δ = 7,36 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 7,26-7,10 (m, 5H); 6,77 (d, J = 8,6 Hz, 2H); 4,0 (s, 2H); 3,79 (s, 3H); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz) δ = 159,6; 139,1; 136,5; 128,8; 128,3; 126,6; 120,0; 114,6; 55,2; 33,2.



Rendimento Bruto: 84 %. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 7,78 (s, 1H); 7,73 (s, 2H); 7,32-7,19 (m, 5H); 4,20 (s, 2H); O acoplamento dos átomos de flúor com o carbono no espectro de RMN <sup>13</sup>C, impedem uma interpretação exata dos sinais.

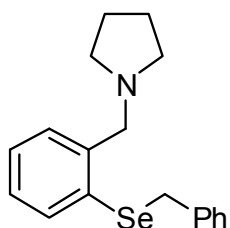


Sólido amarelo. Rendimento Bruto: 88 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ = 7,54-7,11 (m, 9H); 4,58 (d, J = 8 Hz, 2H); 4,06 (s, 2H); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ = 143,50; 138,76; 135,69; 129,93; 128,96; 128,72; 128,67; 128,50; 127,25; 65,59; 32,94. HRMS *m/z* calculado para C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>OSe 278,0204; encontrado 278,01956.

### 5.2.2 Procedimento para a Síntese do Seleneto 3<sup>(112)</sup>

Em balão de duas bocas, sob atmosfera de argônio e agitação magnética, adicionou-se a benzilpirrolidina (14 mmol) e dissolveu-se em 112,5 mL de éter etílico seco. Em seguida, adicionou-se uma solução 2,5 M de *n*-BuLi (17 mmol) gota a gota, e a solução resultante foi agitada por 24 h à temperatura

ambiente. Passadas essas 24 h, adicionou-se rapidamente Se elementar (14 mmol) e então, agitou-se a reação durante 3 h à temperatura ambiente. Depois desse tempo, a mistura reacional foi resfriada à 0 °C e, então, adicionou-se, gota a gota, uma solução de brometo de benzila (14 mmol) em 15 ml de éter etílico seco. Posteriormente, agitou-se a solução resultante durante 2 h à 0 °C e, subsequentemente, aquecida até a temperatura ambiente. Após esse período, lavou-se a mistura reacional com 200 mL de água e separou-se a fase aquosa, a qual foi extraída com éter (3 x 50 mL). Combinou-se as fases orgânicas, secou-se com MgSO<sub>4</sub> e concentrou-se. Obteve-se um óleo amarelo, após purificação através de cromatografia, sendo o eluente uma mistura de hexano / acetato (85:15).

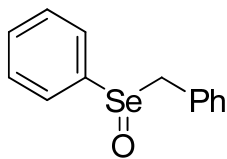


**1-(2-(benzil)benzil)selenetopirrolidina (3):**  
 Rendimento: 60 %; RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ = 7,51-7,48 (m, 1H); 7,34-7,15 (m, 8H); 4,10 (s, 2H); 3,66 (s, 2H); 2,49-2,46 (m, 4H); 1,75-1,72 (m, 4H); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ = 141,07; 138,81; 134,04; 131,83; 129,31; 129,21; 128,67; 127,72; 126,94; 126,49; 60,66; 53,64; 31,61; 23,89. HRMS *m/z* calculado para C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>NSe 332,0912; encontrado 332,09134.

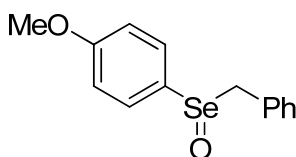
### 5.2.3 Procedimento Geral para a Síntese dos Selenóxidos 4-7<sup>(112)</sup>

Em balão de uma boca sob agitação magnética, dissolveu-se o aril benzil seleneto desejado (0,5 mmol) em uma solução 1:1 de MeOH / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL / mmol) e, em seguida, resfriou-se a 0 °C. Posteriormente, adicionou-se *N*-Clorosuccinimida (1,2 equivalentes) e a mistura resultante foi conduzida sob agitação durante 30 minutos a 0 °C. Após, dilui-se a mistura reacional com igual volume de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, e adicionou-se uma solução 10% de

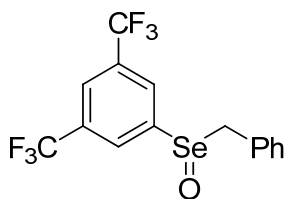
NaOH (10 mL / mmol). Agitou-se a mistura resultante por mais 5 minutos e separou-se a fase orgânica. Esta foi seca com MgSO<sub>4</sub> e concentrada. Os selenóxidos foram recristalizados com hexano / diclorometano (4:1).



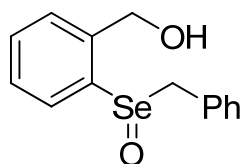
**Benzil fenil selenóxido (4)**<sup>(112)</sup>: Rendimento Bruto: 98 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz,)  $\delta$  = 7,50-7,33 (m, 5H); 7,29-7,17 (m, 3H); 6,96-6,93 (m, 2H); 4,18 (d, 1H, *J* = 12 Hz); 3,94 (d, 1H, *J* = 12 Hz); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 50 MHz)  $\delta$  = 138,02; 136,92; 131,49; 130,27; 129,99; 129,41; 129,12; 128,76; 127,39; 124,25; 32,52.



**Benzil(4-metóxiifenil)selenóxido (5)**<sup>(112)</sup>: Rendimento Bruto: 94 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  = 7,32 (d, 2 H, *J* = 8,8 Hz); 7,25 (m, 3 H); 6,95 (m, 4 H); 4,18 (d, 1 H, *J* = 11,2 Hz); 3,91 (d, 1 H, *J* = 11,2 Hz); 3,85 (s, 3 H); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  = 160,9; 136,55; 135,45; 134,59; 128,82; 128,41; 121,98; 114,75; 55,32; 44,26.



**Benzil(3,5bis(trifluorometil)fenil)selenóxido (6)**<sup>(112)</sup>: Rendimento Bruto: 64 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  = 7,94 (s, 1H); 7,71 (s, 2H); 7,33-7,23 (m, 3H); 6,90-6,87 (m, 2H); 4,33 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H); 3,93 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  = 142,4; 132,4; 129,7; 128,9; 128,8; 128,3; 126,6; 125,0; 121,4; 59,1.

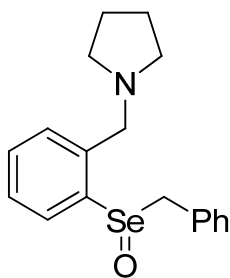


**(2-(benzil)fenilselenóxido)metanol (7):**

Cristal incolor. Rendimento Bruto: 98 %. Ponto de fusão: 102-104 °C. RMN <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ = 7,42-7,38 (m, 1H); 7,34-7,30 (m, 3H); 7,25-7,18 (m, 4H); 7,05-7,02 (m, 2H); 6,18 (t, 1H); 4,75-4,73 (m, 2H); 4,26 (d, *J* = 12 Hz, 1H); 3,81 (d, *J* = 12 Hz, 1H); RMN <sup>13</sup>C (DMSO-d<sub>6</sub>, 100 MHz) δ = 141,53; 140,59; 132,81; 130,87; 130,57; 128,58; 128,10; 127,33; 126,00; 63,73; 57,84. HRMS *m/z* calculado para C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub>Se 295,0232; encontrado 295,02216.

**5.2.4 Procedimento para a Síntese do Selenóxido (8)<sup>(112)</sup>**

Em balão de uma boca, sob agitação magnética, adicionou 16 mL de uma solução saturada de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sobre uma solução do seleneto **3** (1,61 mmol) em 16 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Em seguida, adicionou-se, gota a gota, uma solução de ácido *m*-cloroperbenzóico (2,0 mmol) em 8 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e agitou-se a mistura reacional por 3 h em temperatura ambiente. Após, acrescentou-se 32 mL de água. A fase orgânica foi separada, e a fase aquosa extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 50 mL). Combinou-se as fases orgânicas, secou-se com MgSO<sub>4</sub> e evaporou-se o solvente. O produto obtido foi lavado com hexano (5 x 30 mL), resultando em um óleo marrom.



**1-(2-(benzil)benzil)selenóxido)pirrolidina (8):**

Rendimento Bruto: 92 %. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  = 7,73-7,71 (m, 1H); 7,35-7,18 (m, 6H); 7,11-7,04 (m, 2H); 4,16 (d, 1H); 3,93 (d,  $J$  = 12 Hz, 1H), 3,83-3,80 (d,  $J$  = 12 Hz, 1H); 3,67 (d, 1H); 2,68-2,63 (m, 2H); 2,49-2,59 (m, 2H); 1,87-1,69 (m, 4H); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  = 138,92; 131,38; 130,67; 130,38; 128,53; 128,51; 128,20; 127,69; 127,19; 59,88; 56,26; 53,91; 23,88. HRMS  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ONSe}$  348,0861; encontrado 348,08563.

**5.2.5 Procedimento para Avaliação da Atividade Antioxidante dos Selenetos (2) e (3) e Selenóxidos (4-8) em Quantidade Catalítica e Estequiométrica<sup>(95,125)</sup>**

Os experimentos foram realizados em um espectrofotômetro com arranjo de diodos, com controle de temperatura, a 25 °C. Acompanhou-se a formação do PhSSPh em 305 nm e as reações iniciaram pela adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à uma solução de metanol contendo PhSH e o respectivo catalisador de selênio (seleneto ou selenóxido). Adicionou-se,  $1,04 \times 10^{-5}$  mol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (160  $\mu\text{L}$  de uma solução 65 mM);  $1,0 \times 10^{-5}$  mol de PhSH (400  $\mu\text{L}$  de uma solução 25 mM);  $1 \times 10^{-8}$  mol de catalisador (25  $\mu\text{L}$  de uma solução 400  $\mu\text{M}$ ) e 415  $\mu\text{L}$  de MeOH. Os valores da Absorbância *versus* Tempo foram diretamente armazenados em um microcomputador, e as velocidades iniciais foram estimadas a partir das retas plotadas ( $\Delta\text{Abs} \times \text{Tempo}$ ) usando um programa de mínimos quadrados; coeficientes de correlação foram  $>0.999$  para todos os ensaios cinéticos.

Os sistemas com alta atividade catalítica foram estudados por meio da técnica do *stopped-flow* e os experimentos foram realizados em um stopped-flow modelo SX-18MV, associado

com um sistema computacional manufaturado por Applied Photophysics. A unidade de manipulação de amostra foi equipada com duas seringas de unidade que são montadas no interior de um compartimento de banho termostático a 25 ° C. A célula de detecção óptica foi criada no comprimento do percurso de 10 mm. Em uma das seringas foi colocada uma solução de 1 mM de PhSH, e na outra seringa, uma mistura de uma solução 0,5 mM de catalisador de selênio e 1,04 mM ou 0,5 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Realizou-se a média de três corridas, em que cada seringa injetava 250 µL da solução.

### 5.2.6 Recuperação do Aril Benzil Selenóxido (4) Depois da Reação com Peróxido de Hidrogênio e Tiofenol

O aril benzil selenóxido **4** (0,19 mmol) foi dissolvido em 20 mL de metanol. Em seguida adicionou-se o peróxido de hidrogênio (0,42 mmol e 0,20 mmol) e a mistura reacional foi agitada por 5 minutos a temperatura ambiente. Passado este tempo, adicionou-se 0,4 mmol de PhSH. A reação foi agitada durante 30 minutos, em seguida evaporou-se o solvente. O sólido resultante foi lavado 5 vezes com 20 mL de hexano. O selenóxido foi isolado com rendimento em torno de 91% para ambos os ensaios.

### 5.3 Cálculos Realizados para Obtenção das Velocidades Iniciais<sup>(125-126)</sup>

Considerando que o gráfico é dado por Absorbância *versus* Tempo.

$A_t = \epsilon \cdot b \cdot c$ ; onde  $A_t$  é a absorbância da solução de PhSSPh em 305 nm no tempo  $t$ ,  $b$  é o caminho ótico (1 cm),  $c$  é a concentração (mol/L) do produto (PhSSPh) formado no tempo  $t$  e  $\epsilon$  é a absorvidade molar do PhSSPh naquele comprimento de onda ( $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ ).

$A_t = [produto]_t \cdot \epsilon_{produto} \cdot b$ ; derivando esta equação em função do tempo (eixo  $x$ ):

$dA_t/dt = d[produto]/dt \cdot \epsilon$ ; como velocidade é dada pela derivada da [concentração]/tempo, isolando:

$$(dA_t/dt)/\epsilon = d[produto]/dt = \text{velocidade em } M \cdot s^{-1}$$



## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AUST, D.; SVINGEN, B. A. Free Radicals in Biology, **Academic Press**, New York, 1982.
2. SIES, H. Oxidative Stress: Introductory Remark. **Academic Press**, London, 1985.
3. SIES, H. Biochemistry of Oxidative Stress. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 25, p. 1058-1071, 1986.
4. HALLIWELL, B.; HOULT, J. R.; BLAKE, D. R. Oxidants, inflammatory, and anti-inflammatory drugs. **FASEB Journal**. v. 2, p. 2867-2873, 1982.
5. PRYOR, W. A. Free Radicals in Biology, **Academic Press**, New York, 1976.
6. ARMSTRONG, D.; SOHAL, R. S.; CUTLER, R. G.; SLATER, T. F. Free Radicals in Molecular Biology, Aging and Disease. **Raven Press**, New York, 1984.
7. PARNHAM, M. J.; GRAF, E. Seleno-organic compounds and the therapy of hydroperoxide-linked pathological conditions. **Biochemical Pharmacology**. v. 36, p. 3095-3102, 1987.
8. McCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. J. Superoxide dismutase: an enzyme function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). **Journal Biological Chemistry**. v. 244, p. 6049-6055, 1969.
9. ROTRUCK, J. T.; POPE, A. L.; GANTHER, H. E.; SWANSON, A. B.; HAFEMAN, D. G.; HOEKSTRA, W. G. Selenium: Biochemical Role as a Component of Glutathione Peroxidase. **Science**. v. 179, p. 588-590, 1973.

- 
10. FLOHÉ, L.; GÜNZLER, E. A.; SCHOCK, H. H. Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. **FEBS Letters**. v. 32, p. 132-134, 1973.
  11. FLOHÉ, L. Free Radicals in Biology, **Academic Press**, New York, 1982.
  12. MADDIPATI, K. R.; MARNETT, L. J. Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. **Journal Biological Chemistry**. v. 262, p. 17398-17403, 1987.
  13. ANDREESEN, J. R.; LJUNGDAHL, L. Formate Dehydrogenase of *Clostridium thermoaceticum*: Incorporation of Selenium-75, and the Effects of Selenite, Molybdate, and Tungstate on the Enzyme. **Journal of Bacteriology**. v. 116(2), p. 867-873, 1973.
  14. TURNER, D. C.; STADTMAN, T. C. Purification of protein components of the clostridial glycine reductase system and characterization of protein A as a selenoprotein **Archives of Biochemistry Biophysics** v. 154, p. 366-381, 1973.
  15. FORSTROM, J. W.; ZAKOWSKI, J. J.; TAPPEL, A. L. Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. **Biochemistry**. v. 17, p. 2639-2644, 1978.
  16. STADTMAN, T. C. Biosynthesis and function of selenocysteine-containing enzymes. **Journal Biological Chemistry**. v. 266, p. 16257-16260, 1991.
  17. URSINI, F.; PAOLETTI, R. Oxidative Processes and Antioxidants, **Raven Press**, New York, 1994.

- 
18. BÖCK, A. Encyclopedia of Inorganic Chemistry: Selenium Proteins Containing Selenocysteine, **John Wiley & Sons**, Chichester, 1994.
19. FLOHÉ, L. Glutathione: Chemical, Biochemical, Medical Aspects, **John Wiley & Sons**, New York, 1989.
20. WENDEL, A.; PILZ, W.; LADENSTEIN, R.; SAWATZKI, G.; WESER, U. Substrate-induced redox change of selenium in glutathione peroxidase studied by X-ray photoelectron spectroscopy. **Biochimica et Biophysica Acta- Enzymology**. v. 377, p. 211-215, 1975.
21. EPP, O.; LADENSTEIN, R.; WENDEL A. The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 0.2-nm resolution. **European Journal of Biochemistry**. v. 133, p. 51-69, 1983.
22. SHARPLESS, K. B.; GORDON, K. M.; LAUER, R. F.; PATRICK, D. W.; SINGER, S. P.; YOUNG, M. W. **Chem Scr** 8A:9, 1975.
23. REICH, H. J. Functional group manipulation using organoselenium reagents. **Accounts of Chemical Research**. v. 12(1), p. 22-30, 1979.
24. DETTY, M. R. Reaction pathways of telluroxide equivalents. Reductive elimination of hydrogen peroxide from dihydroxytelluranes and oxidation of carbon via intramolecular transfer of oxygen. **Organometallics**. v. 10(3), p. 702-712, 1991.
25. LESSER, R.; WEISS, R. Über selenhaltige aromatische Verbindungen (VI). **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**. v. 57, p. 1077-1082, 1924.

26. MÜLLER, A.; CADENAS, E.; GRAF, P.; SIES, H. A novel biologically active seleno-organic compound—1: Glutathione peroxidase-like activity *in vitro* and antioxidant capacity of PZ 51 (Ebselen). **Biochemical Pharmacology**. v. 33, p. 3235-3239, 1984.
27. WENDEL, A.; FAUSEL, M.; SAFAYHI, H.; TIEGS, G.; OTTER, R. A novel biologically active seleno-organic compound—II: Activity of PZ 51 in relation to Glutathione Peroxidase. **Biochemical Pharmacology**. v. 33, p. 3241-3245, 1984.
28. PARNHAM, M. J.; KINDT, S. A novel biologically active seleno-organic compound—III: Effects of PZ 51 (ebselen) on glutathione peroxidase and secretory activities of mouse macrophages **Biochemical Pharmacology**. v. 33, p. 3247-3250, 1984.
29. MUGESH, G.; SINGH, H. Synthetic organoselenium compounds as antioxidants: glutathione peroxidase activity. **Chemical Society Reviews**. v. 29, p. 347-357, 2000.
30. MUGESH, G.; -du MONT, W. W.; SIES, H. Chemistry of Biologically Important Synthetic Organoselenium Compounds. **Chemical Reviews**. v. 101, p. 2125-2180, 2001.
31. NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, J. B. T. Organoselenium and Organotellurium Compounds: Toxicology and Pharmacology. **Chemical Reviews**. v. 104, p. 6255-6286, 2004.
32. SIES, H. Biochemistry of Oxidative Stress. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 25, p. 1058-1071, 1986.
33. MUGESH, G.; MONT, W. W. Structure–Activity Correlation between Natural Glutathione Peroxidase (GPx) and Mimics: A Biomimetic Concept for the Design and

Synthesis of More Efficient GPx Mimics. **Chemistry: A European Journal**. v. 7, p. 1365-1370, 2001.

34. JACOB, C.; GILES, G. I.; GILES, N. M.; SIES, H. Sulfur and Selenium: The Role of Oxidation State in Protein Structure and Function. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 42, p. 4742-4758, 2003.

35. ALBERTO, E. E.; NASCIMENTO, V.; BRAGA, A. L. Catalytic Application of Selenium and Tellurium Compounds as Glutathione Peroxidase Mimetics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 2032-2041, 2010.

36. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. Functional Mimics of Glutathione Peroxidase: Bioinspired Synthetic Antioxidants. **Accounts of Chemical Research**. v. 43(11), p. 1408-1419, 2010.

37. WILSON, S. R.; ZUCKER, P. A.; HUANG, R. -R. C.; SPECTOR, A. Development of synthetic compounds with glutathione peroxidase activity. **Journal of the American Chemical Society**. v. 111(15), p. 5936-5939, 1989.

38. ENGMAN, L.; ANDERSSON, C.; MORGENSTERN, R.; COTGREAVE, I. A.; ANDERSSON, C. -M.; HALLBERGD, A. Evidence for a common selenolate intermediate in the glutathione peroxidase-like catalysis of  $\alpha$ -(phenylselenenyl) ketones and diphenyl diselenide. **Tetrahedron**. v. 50, p. 2929-2938, 1994.

39. BACK, T. G.; MOUSSA, Z. Remarkable Activity of a Novel Cyclic Seleninate Ester as a Glutathione Peroxidase Mimetic and Its Facile in Situ Generation from Allyl 3-Hydroxypropyl Selenide. **Journal of the American Chemical Society**. v. 124(41), p. 12104-12105, 2002.

40. GRIECO, P. A.; GILMAN, Y. Y. S.; NISHIZAWA, M. Organoselenium chemistry. Epoxidation of olefins with benzeneseleninic acid and hydrogen peroxide ("benzeneperoxyseleninic acid"). **Journal of Organic Chemistry**. v. 42(11), p. 2034-2036, 1977.
41. HU, N. X.; ASO, Y.; OTSUBO, T.; OGURA, F. Polymer-Supported Diaryl Selenoxide and Telluroxide as Mild and Selective Oxidizing Agents. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**. v. 59, p. 879-884, 1986.
42. MLOCHOWSKI, J.; GIURG, M.; KUBICZ, E.; SAID, S. B. Benzeneselenazol-3(2H)-ones and *bis*(2-Carbamoyl)phenyl Diselenides as New Catalysts for Hydrogen Peroxide Oxidation of Organic Compounds. **Synthetic Communication**. v. 26, p. 291-300, 1996.
43. PROCTER, D. J.; THORNTON-PETT, M.; RAYNER, C. M. Discovery, characterisation, and utilisation of selenoxide-sulfonic acid salts: A new class of selenoxide-based oxidant and stable selenoxide equivalent. **Tetrahedron**. v. 52, p. 1841-1854, 1996.
44. GRIECO, P. A.; YOKOYAMA, Y.; GILMAN, S.; OHFUNE, Y. Conversion of ketones into lactones with benzeneseleninic acid and hydrogen peroxide (benzeneperoxyseleninic acid): a new reagent for the Baeyer-Villiger reaction. **Journal of the Chemical Society Chemical Communications**. v. 23, p. 870-871, 1977.
45. SYPER, L. The Baeyer-Villiger Oxidation of Aromatic Aldehydes and Ketones with Hydrogen Peroxide Catalyzed by Selenium Compounds. A Convenient Method for the Preparation of Phenols. **Synthesis**. v. 03, p. 167-170, 1989.
46. ten BRINK, G. J.; VIS, J. M.; ARENDS, I. C. E.; SHELDON, R. A. Selenium-Catalyzed Oxidations with

Aqueous Hydrogen Peroxide. 2. Baeyer–Villiger Reactions in Homogeneous Solution. **Journal of Organic Chemistry**. v. 66(7), p. 2429-2433, 2001.

47. ten BRINK, G.J.; VIS, J. M.; ARENDS, I. C. E.; SHELDON, R. A. Selenium catalysed oxidations with aqueous hydrogen peroxide. Part 3: Oxidation of carbonyl compounds under mono/bi/triphasic conditions. **Tetrahedron**. v. 58, p. 3977-3983, 2002.

48. ICHIKAWA, H.; USAMI, Y.; ARIMOTO, M. Synthesis of novel organoselenium as catalyst for Baeyer–Villiger oxidation with 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Tetrahedron Letters**. v. 46, p. 8665-8668, 2005.

49. HORI, T.; SHARPLESS, K. B. Synthetic applications of arylselenenic and arylseleninic acids. Conversion of olefins to allylic alcohols and epoxides. **Journal of Organic Chemistry**. v. 43(9), p. 1689-1697, 1978.

50. REICH, H. J.; CHOW, F.; PEAKE, S. L. Seleninic Acids as Catalysts for Oxidations of Olefins and Sulfides Using Hydrogen Peroxide. **Synthesis**. p. 299-300, 1978.

51. BETZEMEIER, B.; LHERMITTE, F.; KNOCHEL, P. A Selenium Catalyzed Epoxidation in Perfluorinated Solvents with Hydrogen Peroxide. **Synlett**. p. 489-491, 1999.

52. ten BRINK, G. J.; FERNANDES, B. C. M.; van VLIET, M. C. A.; ARENDS, I. C. E.; SHELDON, R. A. Selenium catalysed oxidations with aqueous hydrogen peroxide. Part I: epoxidation reactions in homogeneous solution. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**. p. 224-228, 2001.

53. GOODMAN, M.; DETTY, M. R. Selenoxides as Catalysts for Epoxidation and Baeyer-Villiger Oxidation with Hydrogen Peroxide. **Synlett**. p. 1100-1104, 2006.
54. CRICH, D.; ZOU, Y. Catalytic Allylic Oxidation with a Recyclable, Fluorous Seleninic Acid. **Organic Letters**. v. 6(5), p. 775-777, 2004.
55. MLOCHOWSKI, J.; BRZASZCZ, M.; GIURG, M.; PALUS, J.; WÓJTOWICZ, H. Selenium-Promoted Oxidation of Organic Compounds: Reactions and Mechanisms. **European Journal of Organic Chemistry**. p. 4329-4339, 2003.
56. SCHWARTZ, K.; FOLTZ, C. M. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. **Journal of the American Chemical Society**. v. 79(12), p. 3292-3293, 1957.
57. KRYUKOV, G. V.; CASTELLO, S.; NOVOSELOV, S. V.; LOBANOV, A. V.; ZEHTAB, O.; GUIGÓ, R.; GLADYSHEV, V. N. Characterization of Mammalian Selenoproteomes. **Science**. v. 300, p. 1439-1443, 2003.
58. CLARK, L. C.; COMBS, G. F.; TURNBULL, B. W.; SLATE, E. H.; CHALKER, D. K.; CHOW, J.; DAVIS, L. S.; GLOVER, R. A.; GRAHAM, G. F.; GROSS, E. G.; KRONGRAD, A.; LESHER, J. L.; PARK, H. K.; SANDERS, B. B.; SMITH, C. L.; TAYLOR, J. R. Effects of Selenium Supplementation for Cancer Prevention in Patients With Carcinoma of the Skin: A Randomized Controlled Trial. **Journal of the American Medical Association**. v. 276, p. 1957-1963, 1996.
59. NICOLAOU, K. C.; PETASIS, N. A. In *Selenium in Natural Products Synthesis*, CIS, Inc.: Pennsylvania 1984; e referências citadas.



60. KRIEF, A.; DEROCK, M. Synthesis of diselenides and selenides from elemental selenium. **Tetrahedron Letters**. v. 43, p. 3083-3086, 2002.
61. KLAYMAN, D. L.; GÜNTER, W. H. H. In *Organoselenium Compounds: Their Chemistry and Biology*, **Wiley-Interscience**: New York, 1973.
62. SHAMBERGER, R. J. *Biochemistry of Selenium*, **Plenum Press**: New York, 1983.
63. MAY, S. W.; POLLOCK, S. H. **Drugs**. v. 56, p. 959, 1998.
64. RUWET, A.; RENSON, M. Obtention de cétones et aldéhydes aromatiques substitués possédant en ortho une fonction thioéther ou sélénioéther en vue de la synthèse d'hétérocycles sulfurés et séléniés. **Bulletin des Sociétés Chimiques Belges**. v. 78, p. 571-582, 1969.
65. WEBER, R.; RENSON, M. **Bulletin de la Societe Chimique de France**. p. 1124, 1976.
66. LAMBERT, C.; HILBERT, M.; CHRISTIAENS, L.; DEREU, N. Ortholithiation As a Tool for the Synthesis of Ebselen Analogues. **Synthetic Communication**. v. 21, p. 85-98, 1991.
67. FONG, M. C.; SCHIESSER, C. H. Intramolecular Homolytic Substitution with Amidyl Radicals: A Free-Radical Synthesis of Ebselen and Related Analogues. **Journal of Organic Chemistry**. v. 62, p. 3103-3108, 1997.
68. ZADE, S. S.; PANDA, S.; SINGH, H. B.; WOLMERSHÄUSER, G. Synthesis of diaryl selenides using the in situ reagent  $\text{SeCl}_2$ . **Tetrahedron Letters**. v. 46, p. 665-669, 2005.

- 
69. FONG, M. C.; SCHIESSER, C. H. Intramolecular Homolytic Substitution with Amidyl Radicals: A Free-Radical Synthesis of Ebselen and Related Analogues. **Journal of the Organic Chemistry**. v. 62, p. 3103-3108, 1997 e referências citadas.
70. ENGMAN, L.; HALLBERG, A. Expedient synthesis of ebselen and related compounds. **Journal of Organic Chemistry**. v. 54(12), p. 2964-2966, 1989.
71. REICH, H. J.; JASPERSE, C. P. Organoselenium chemistry. Redox chemistry of selenocysteine model systems. **Journal of the American Chemical Society**. v. 109(18), p. 5549-5551, 1987.
72. PARNHAM, M. J.; BIEDERMAN, J.; BITTNER, C.; DEREU, N.; LEYCK, S.; WETZIG, H. **Agents Actions**. v. 27, p. 306, 1989.
73. JACQUEMIN, P. V.; CHRISTIANES, L. E, RENSON, M. J. Synthesis of 2H,3-4-Dihydro-1,2-benzoselenazin-3-one and derivatives : A new heterocyclic ring system. **Tetrahedron Letters**. v. 33, p. 3863-3866, 1992.
74. MOHSINE, A.; CHRISTIAENS, L. Synthesis of Dibenzo[*d,f*]-1,2-selena and -1,2-thiazepin-3-ones Derivatives, Bis-homo-ebselen. **Heterocycles**. v. 43, p. 2567-2593, 1996.
75. BACK, T. G.; DYCK, B. P. A Novel Camphor-Derived Selenenamide That Acts as a Glutathione Peroxidase Mimetic. **Journal of the American Chemical Society**. v. 119(9), p. 2079-2083, 1997.
76. ZADE, S. S.; PANDA, S.; TRIPATHI, S. K.; SINGH, H. B.; WOLMERSHÄUSER, G. Convenient Synthesis, Characterization and GPx-Like Catalytic Activity of Novel

Ebselen Derivatives. **European Journal of Organic Chemistry**. p. 3857-3864, 2004.

77. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. Synthesis, Characterization, and Antioxidant Activity of Some Ebselen Analogues. **Chemistry: A European Journal**. v. 13, p. 4594-4601, 2007.

78. MESSALI, M.; CHRISTIAENS, L. E.; ALSHAHATEET, S. F.; KOOLI, F. Synthesis of 4*H*-benzo[e]-1,2-selanazin-4-one derivatives: a new heterocyclic ring system. **Tetrahedron Letters**. v. 48, p. 7448-7451, 2007.

79. GLASS, R. S.; FAROOQUI, F.; SABAHI, M.; EHLER, K. W. Formation of thiocarbonyl compounds in the reaction of Ebselen oxide with thiol. **Journal of Organic Chemistry**. v. 54(5), p. 1092-1097, 1989.

80. HORI, T.; SHARPLESS, K. B. Synthetic applications of arylselenenic and arylseleninic acids. Conversion of olefins to allylic alcohols and epoxides. **Journal of Organic Chemistry**. v. 43(9), p.1689-1697, 1978.

81. REICH, H. J.; WOLLOWITZ, S.; TREND, J. E.; CHOW, F.; WENDELBORN, D. F. Syn elimination of alkyl selenoxides. Side reactions involving selenenic acids. Structural and solvent effects of rates. **Journal of Organic Chemistry**. v. 43(9), p. 1697-1705, 1978

82. GANCARZ, R. A.; KICE, J., L. The oxidation of aryl diselenides with an equimolar amount of *tert*-butyl hydroperoxide: Evidence against the formation of significant amounts of a selenenic anhydride. **Tetrahedron Letters**. v. 22, p. 1661-1662, 1981.

83. REICH, H. J.; JASPERSE, C. P. Organoselenium chemistry. Preparation and reactions of 2,4,6-tri-*tert*-

butylbenzeneselenenic acid. **Journal of Organic Chemistry**. v. 53(10), p. 2389-2390, 1988.

84. SARMA, B. K.; MUGESH, G. Antioxidant Activity of the Anti-Inflammatory Compound Ebselen: A Reversible Cyclization Pathway via Selenenic and Seleninic Acid Intermediates. **Chemistry: A European Journal**. v. 14, p. 10603-10614, 2008.

85. SARMA, B. K.; MUGESH, G. Glutathione Peroxidase (GPx)-like Antioxidant Activity of the Organoselenium Drug Ebselen: Unexpected Complications with Thiol Exchange Reactions. **Journal of the American Chemical Society**. v. 127(32), p. 11477-11485, 2005.

86. SARMA, B. K.; MUGESH, G. Thiol cofactors for selenoenzymes and their synthetic mimics. **Organic and Biomolecular Chemistry**. v. 6, p. 965-974, 2008.

87. GALET, V.; BERNIER, J. L.; HÉNICHART, J. P.; LESIEUR, D.; ABADIE, C.; ROCHETTE, L.; LINDENBAUM, A.; CHALAS, J.; FAVERIE, J. F. R.; PFEIFFER, B.; RENARD, P. Benzoselenazolinone Derivatives Designed To Be Glutathione Peroxidase Mimetics Feature Inhibition of Cyclooxygenase/5-Lipoxygenase Pathways and Anti-inflammatory Activity. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 37(18), p. 2903-2911, 1994.

88. MUGESH, G.; PANDA, A.; SINGH, H. B.; PUNEKARB, N. S.; BUTCHER, R. J. Diferrocenyl diselenides: excellent thiol peroxidase-like antioxidants. **Chemical Communication**. p. 2227-2228, 1998.

89. MUGESH, G.; PANDA, A.; SINGH, H. B.; PUNEKAR, N. S.; BUTCHER, R. J. Glutathione Peroxidase-like Antioxidant Activity of Diaryl Diselenides: A Mechanistic Study. **Journal of the American Chemical Society**. v. 123(5), p. 839-850, 2001.

- 
90. TRIPATHI, S. K.; PATEL, U.; ROY, D.; SUNOJ, R. B.; SINGH, H. B.; WOLMERSHÄUSER, G.; BUTCHER, R. J. *o*-Hydroxymethylphenylchalcogens: Synthesis, Intramolecular Nonbonded Chalcogen···OH Interactions, and Glutathione Peroxidase-like Activity. **Journal of Organic Chemistry**. v. 70(23), p. 9237-9247, 2005.
91. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. A Simple and Efficient Strategy To Enhance the Antioxidant Activities of Amino-Substituted Glutathione Peroxidase Mimics. **Chemical: A European Journal**. v. 14, p. 8640-8651, 2008.
92. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. Amide-Based Glutathione Peroxidase Mimics: Effect of Secondary and Tertiary Amide Substituents on Antioxidant Activity. **Chemistry: An Asian Journal**. v. 4, p. 974-983, 2009.
93. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. Synthesis and Structure–Activity Correlation Studies of Secondary- and Tertiary-Amine-Based Glutathione Peroxidase Mimics. **Chemical: A European Journal**. v. 15, p. 9846-9854, 2009.
94. ALBERTO, E. E.; SOARES, L. C.; SUDATI, J. H.; BORGES, A. C. A.; ROCHA, J. B. T.; BRAGA, A. L. Efficient Synthesis of Modular Amino Acid Derivatives Containing Selenium with Pronounced GPx-Like Activity. **European Journal of Organic Chemistry**. p.4211-4214, 2009.
95. IWAOKA, M.; TOMODA, S. A Model Study on the Effect of an Amino Group on the Antioxidant Activity of Glutathione Peroxidase. **Journal of the American Chemical Society**. v. 116, p. 2557-2561, 1994.
96. MUKHERJEE, A. J.; ZADE, S. S.; SINGH, H. B.; SUNOJ, R. B. Organoselenium Chemistry: Role of

Intramolecular Interactions. **Chemical Reviews**. v. 110(7), p. 4357-4416, 2010.

97. BACK, T. G.; MOUSSA, Z. Diselenides and Allyl Selenides as Glutathione Peroxidase Mimetics. Remarkable Activity of Cyclic Seleninates Produced in Situ by the Oxidation of Allyl  $\omega$ -Hydroxyalkyl Selenides. **Journal of the American Chemical Society**. v. 125(44), p. 13455-13460, 2003.

98. WU, Z. P.; HILVERT, D. Selenosubtilisin as a glutathione peroxidase mimic. **Journal of the American Chemical Society**. v. 112(14), p. 5647-5648, 1992.

99. HOUSE, K. L.; DUNLAP, R. B.; ODOM, J. D.; WU, Z. P.; HILVER, D. Structural characterization of selenosubtilisin by selenium-77 NMR spectroscopy. **Journal of the American Chemical Society**. v. 114(22), p. 8573-8579, 1992.

100. LIU, L.; MAO, S. Z.; LIU, X. M.; HUANG, X.; XU, J. Y.; LIU, J. Q.; LUO, G. M.; SHEN, J. C. Functional Mimicry of the Active Site of Glutathione Peroxidase by Glutathione Imprinted Selenium-Containing Protein. **Biomacromolecules** v. 9, p. 363-368, 2008.

101. ENGMAN, L.; ANDERSSON, C.; MORGENSTERN, R.; COTGREAVE, I. A.; ANDERSSON, C. M.; HAUBERG, A. Evidence for a common selenolate intermediate in the glutathione peroxidase-like catalysis of  $\alpha$ -(phenylselenenyl) ketones and diphenyl diselenide. **Tetrahedron** v. 50, p. 2929-2938, 1994.

102. PHADNIS, P. P.; MUGESH, G. Internally stabilized selenocysteine derivatives: syntheses,  $^{77}\text{Se}$  NMR and biomimetic studies. **Organic and Biomolecular Chemistry**. v. 3, p. 2476-2481, 2005.

103. KUMAR, S.; JOHANSSON, H.; ENGMAN, L.; VALGIMIGLI, L.; AMORATI, R.; FUMO, M. G.; PEDULLI, G. F. Regenerable Chain-Breaking 2,3-Dihydrobenzo[*b*]selenophene-5-ol Antioxidants. **Journal of Organic Chemistry**. v. 72(7), p. 2583-2595, 2007.
104. KUMAR, S.; ENGMAN, L.; VALGIMIGLI, L.; AMORATI, R.; FUMO, M. G.; PEDULLI, G. F. Antioxidant Profile of Ethoxyquin and Some of Its S, Se, and Te Analogues. **Journal of Organic Chemistry**. v. 72(16), p. 6046-6055, 2007.
105. KUMAKURA, F.; MISHRA, B.; PRIYADARSINI, K. I.; IWAOKA, M. A Water-Soluble Cyclic Selenide with Enhanced Glutathione Peroxidase-Like Catalytic Activities. **European Journal of Organic Chemistry**. 440-445, 2010.
106. GRIECO, P. A.; GILMAN, Y. Y. S.; NISHIZAWA, M. Organoselenium chemistry. Epoxidation of olefins with benzeneseleninic acid and hydrogen peroxide ("benzeneperoxyseleninic acid"). **Journal of Organic Chemistry**. v. 42(11), p. 2034-2036, 1977.
107. COTGREAVE, I. A.; MOLDÉUS, P.; BRATTSAND, R.; HALLBERG, A.; ANDERSSON, C. M.; ENGMAN, L.  $\alpha$ -(Phenylselenenyl)acetophenone derivatives with glutathione peroxidase-like activity: A comparison with Ebselen. **Biochemical Pharmacology**. v. 43, p. 793-802, 1992.
108. SILVA, V. D.; WOZNICHAK, M. M.; BURNS, K. L.; GRANT, K. B.; MAY, S. W. Selenium Redox Cycling in the Protective Effects of Organoselenides against Oxidant-Induced DNA Damage. **Journal of the American Chemical Society**. v.126, p. 2409-2413, 2004.
109. DONG, Z.; HUANG, X.; MAO, S.; LIU, J.; LUO, G.; SHEN, J. A Synthetic Bifunctional Enzyme Model with

Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase Activities. **Chemistry Letters**. v. 34, p. 820–821, 2005.

110. MORODER, H.; KREUTZ, C.; LANG, K.; SERGANOV, A.; MICURA, R. Synthesis, Oxidation Behavior, Crystallization and Structure of 2'-Methylseleno Guanosine Containing RNAs. **Journal of the American Chemical Society**. v. 128, p. 9909–9918, 2006.

111. SAITO, Y.; UMEMOTO, D.; MATSUNAGA, A.; SATO, T.; CHIKUMA, M. Antioxidant Activities of Synthesized Selenocompounds without Selenol Groups. **Biomedical Research on Trace Elements**. v. 17, p. 423–426, 2006.

112. GOODMAN, M. A.; DETTY, M. R. Selenoxides as Catalysts for the Activation of Hydrogen Peroxide. Bromination of Organic Substrates with Sodium Bromide and Hydrogen Peroxide. **Organometallics**. v. 23(12), p. 3016-3020, 2004.

113. DETTY, M. Oxidation of Selenides and Tellurides with Positive Halogenating Species. **Journal of Organic Chemistry**. v. 45, p. 274-279, 1980.

114. HU, N. X.; ASO, Y.; OTSUBO, T.; OGURA, F. Mild and selective oxidations with polystyrene-bound diaryl selenoxide. **Chemistry Letters**. p. 603-606, 1985.

115. OGURA, F.; YAMAGUCHI, H.; OTSUBO, T.; TANAKA, H. Bis(*p*-methoxyphenyl) Selenoxide as a Mild and Selective Oxidizing Agent. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**. v. 55, p. 641-642, 1982.

116. SINGH, D.; DEOBALD, A. M.; CAMARGO, L. R. S.; TABARELLI, G.; RODRIGUES, O. E. D.; BRAGA, A. L. An Efficient One-Pot Synthesis of Symmetrical Diselenides or Ditellurides from Halides with CuO Nanopowder/Se<sup>0</sup> or Te<sup>0</sup>/Base. **Organic Letters**. v. 12, p. 3288-3291, 2010.

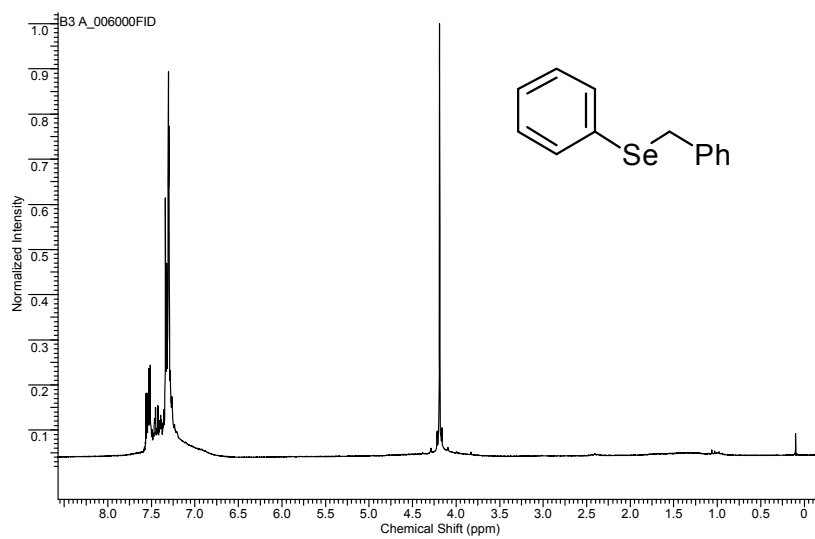


117. BACK, T. G.; KUZMA, D.; PARVEZ, M. Aromatic Derivatives and Tellurium Analogues of Cyclic Seleninate Esters and Spirodioxyselenuranes That Act as Glutathione Peroxidase Mimetics. **Journal of Organic Chemistry**. v. 70(23), p. 9230-9236, 2005.
118. BACK, T. G.; MOUSSA, Z.; PARVEZ, M. The Exceptional Glutathione Peroxidase-Like Activity of Di(3-hydroxypropyl) Selenide and the Unexpected Role of a Novel Spirodioxaselenanonane Intermediate in the Catalytic Cycle. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 43, p. 1268-1270, 2004.
119. KUZMA, D.; PARVEZ, M.; BACK T. G. Formation of a spirodiazaselenurane and its corresponding azaselenonium derivatives from the oxidation of 2,2'-selenobis(benzamide). Structure, properties and glutathione peroxidase activity. **Organic Biomolecular Chemistry**. v. 5, p. 3213-3217, 2007.
120. PRESS, D. J.; MERCIER, E. A.; KUZMA, D.; BACK, T. G. Substituent Effects upon the Catalytic Activity of Aromatic Cyclic Seleninate Esters and Spirodioxyselenuranes That Act as Glutathione Peroxidase Mimetics. **Journal of Organic Chemistry**. v. 73, p. 4252-4255, 2008.
121. SARMA, B. K.; MANNA, D.; MINOURA, M.; MUGESH, G. Synthesis, Structure, Spirocyclization Mechanism, and Glutathione Peroxidase-like Antioxidant Activity of Stable Spirodiazaselenurane and Spirodiazatellurane. **Journal of the American Chemical Society**. v. 132, p. 5364-5374, 2010.
122. SHARPLESS, K. B.; LAW, R. F.; TERANISHI, A. Y. Electrophilic and Nucleophilic Organoselenium Reagents. New Routes to alpha, beta-unsaturated Carbonyl Compounds. **Journal of the American Chemical Society**. v. 95(18), p. 6137-6139, 1973.

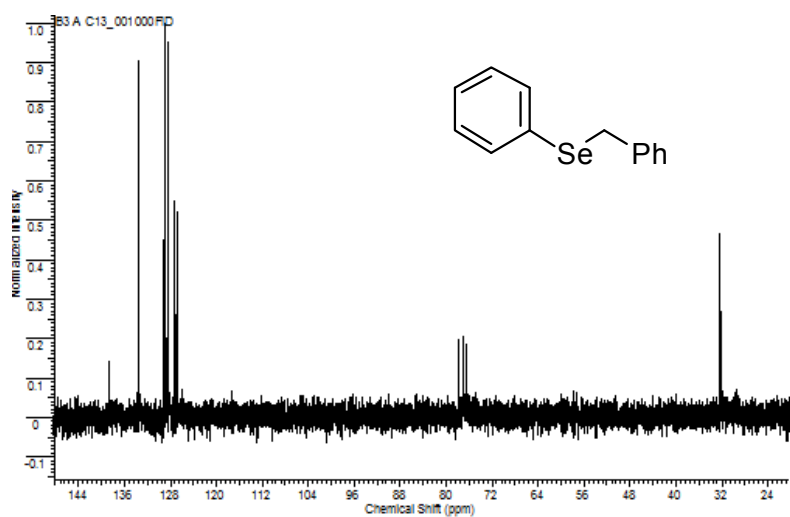
123. BACK, D. F.; OLIVEIRA, M. G.; VARGAS, J. P.; LANG, E. S.; TABARELLI, G. Chelation of  $\text{UO}_2^{2+}$  and  $\text{Th}^{\text{IV}}$  by *N,N*-bis(pyridoxylideneiminato)R (R = *n*-propyl, diethylamine), new dianionic Schiff bases derived from vitamin B6: Synthesis and structural features of  $[\text{Th}(\text{pyr}_2\text{pen})_2]$  (pen = 1,3-propylendiamine),  $[\text{UO}_2(\text{pyr}_2\text{pen})(\text{CH}_3\text{OH})]$  and  $[\text{UO}_2(\text{pyr}_2\text{dien})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (dien = diethylenetriamine). Searching further modelings for heavy metals damage inhibition in living beings. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 102, p. 666-672, 2008.
124. PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. Purification of Laboratory Chemicals, 4th ed. **Pergamon Press**, New York, 1996.
125. YOU, Y.; AHSAN, K.; DETTY, M. R. Mechanistic Studies of the Tellurium(II)/Tellurium(IV) Redox Cycle in Thiol Peroxidase-like Reactions of Diorganotellurides in Methanol **Journal of the American Chemical Society**. v. 125, p. 4918-4927, 2003.
126. ATKINS, P.; JONES, L. Tradução Ricardo Bicca de Alencastro. Princípios da química: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3 ed., Porto Alegre: **Bookman**, 2006.

## 7 ANEXOS

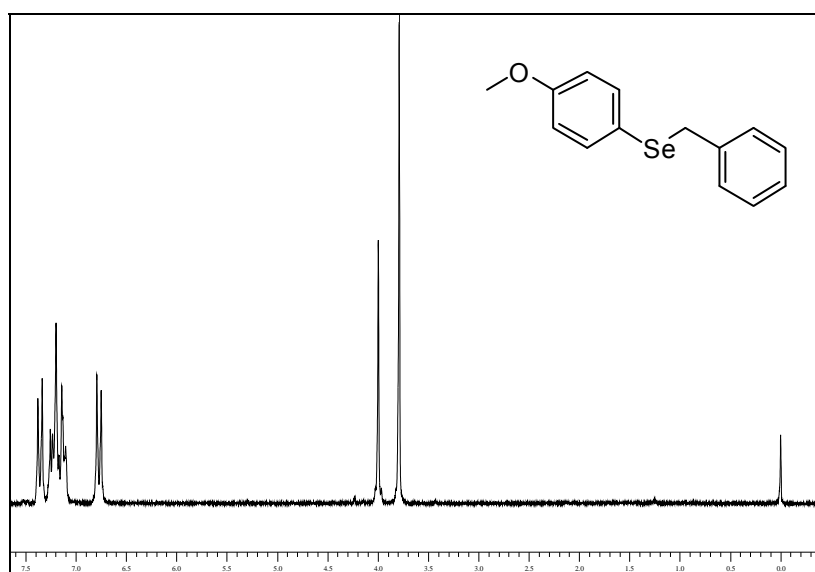
### 7.1 Espectros e Dados selecionados



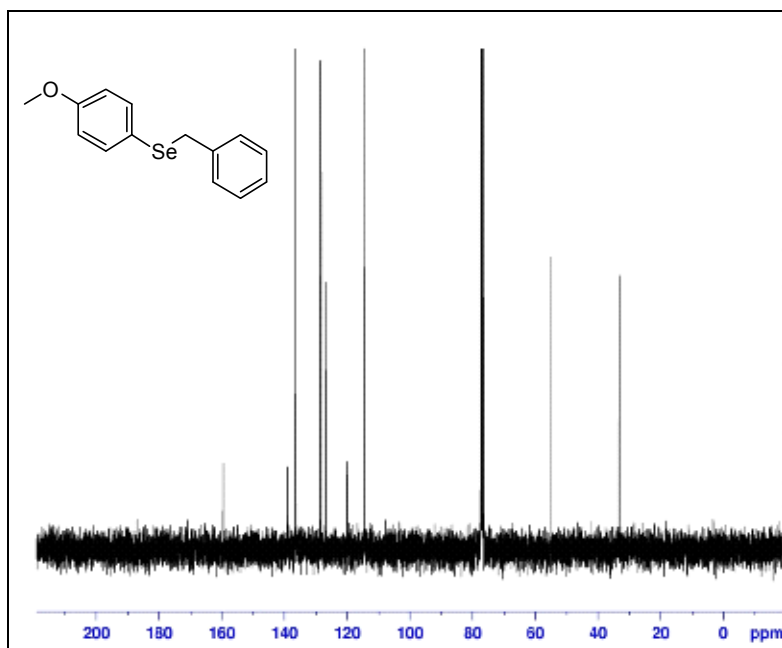
**Anexo 1.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2** em  $\text{CDCl}_3$  a 200 MHz.



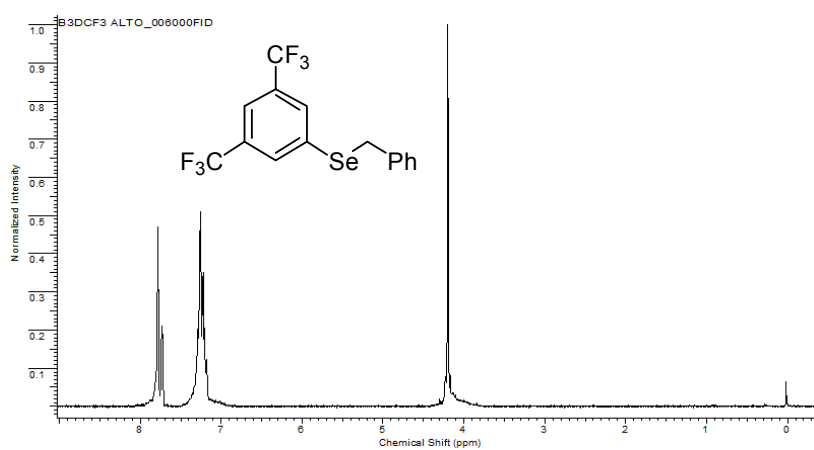
**Anexo 2.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **2** em  $\text{CDCl}_3$  a 50 MHz.



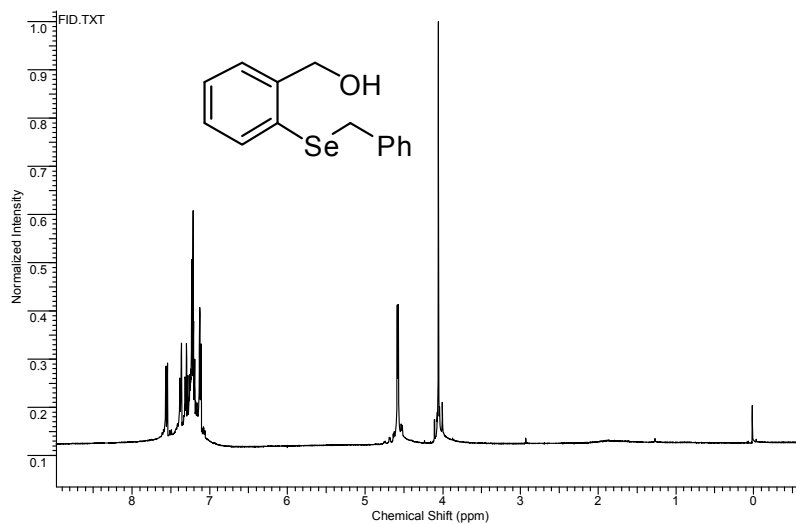
**Anexo 3.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **74a** em  $\text{CDCl}_3$  a 400 MHz.



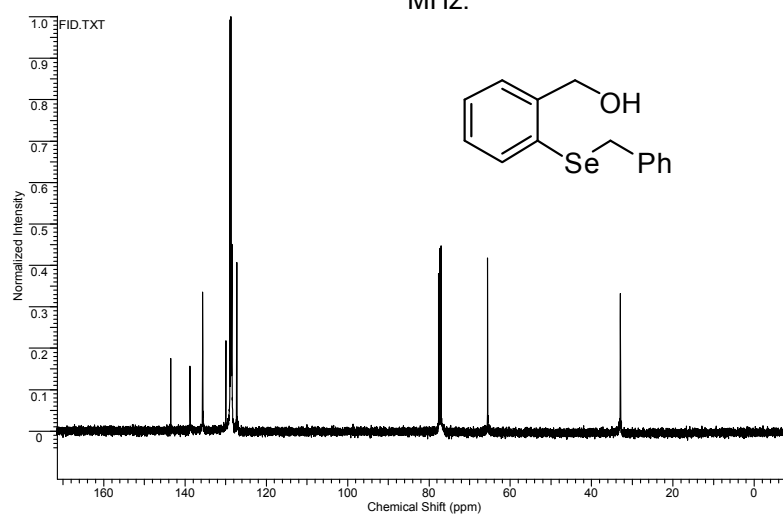
Anexo 4. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **74a** em  $\text{CDCl}_3$  a 100 MHz.



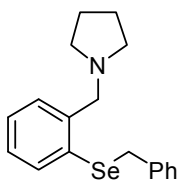
Anexo 5. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **74b** em  $\text{CDCl}_3$  a 200 MHz.

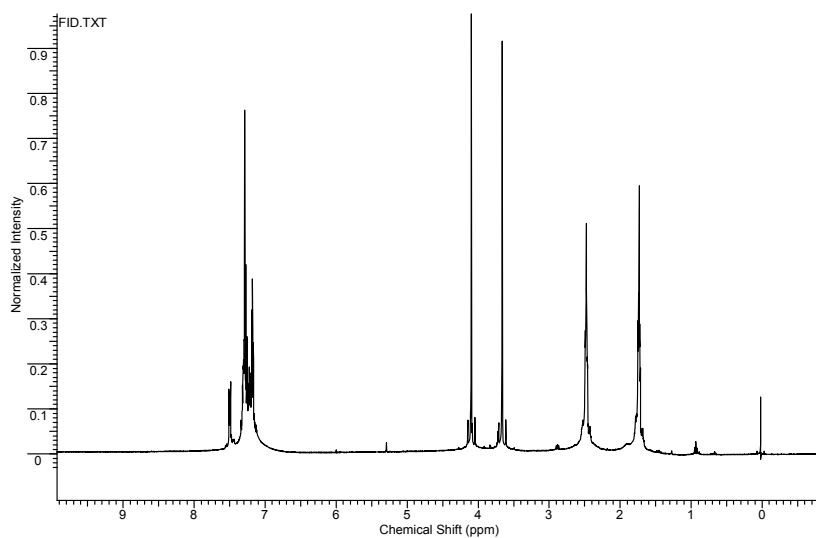


**Anexo 6.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **74c** em  $\text{CDCl}_3$  a 400 MHz.

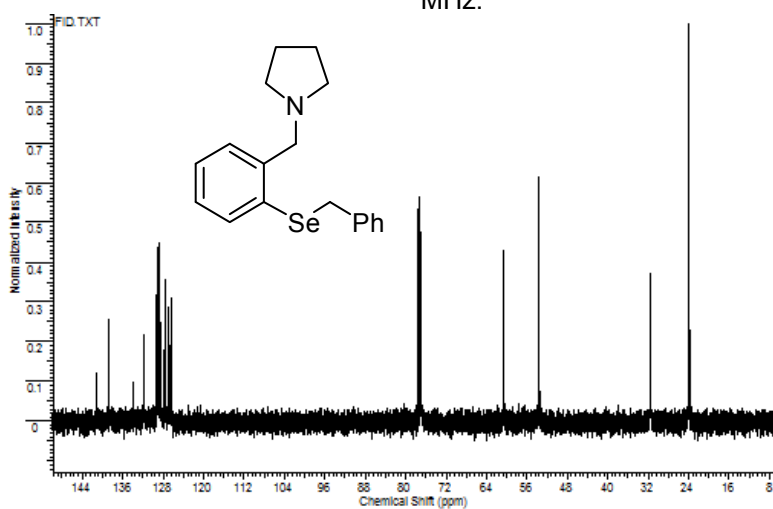


**Anexo 7.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **74c** em  $\text{CDCl}_3$  a 100 MHz.

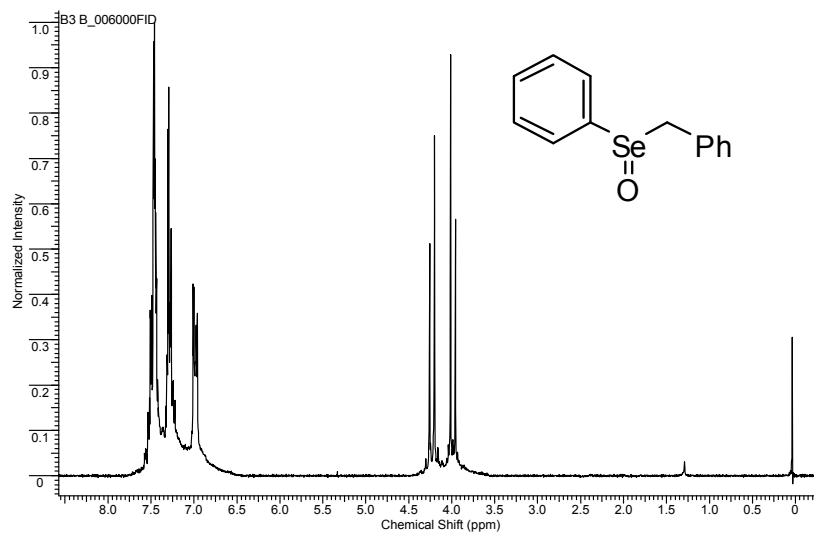




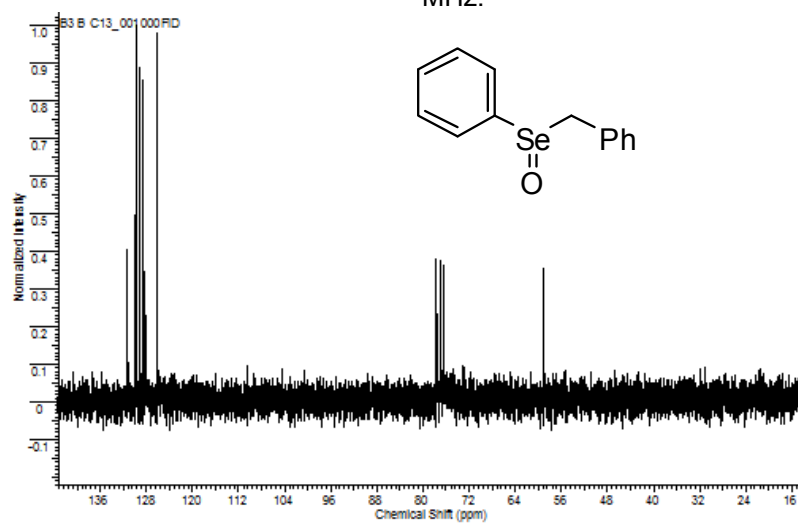
**Anexo 8.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **3** em  $\text{CDCl}_3$  a 400 MHz.



**Anexo 9.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **3** em  $\text{CDCl}_3$  a 100 MHz.

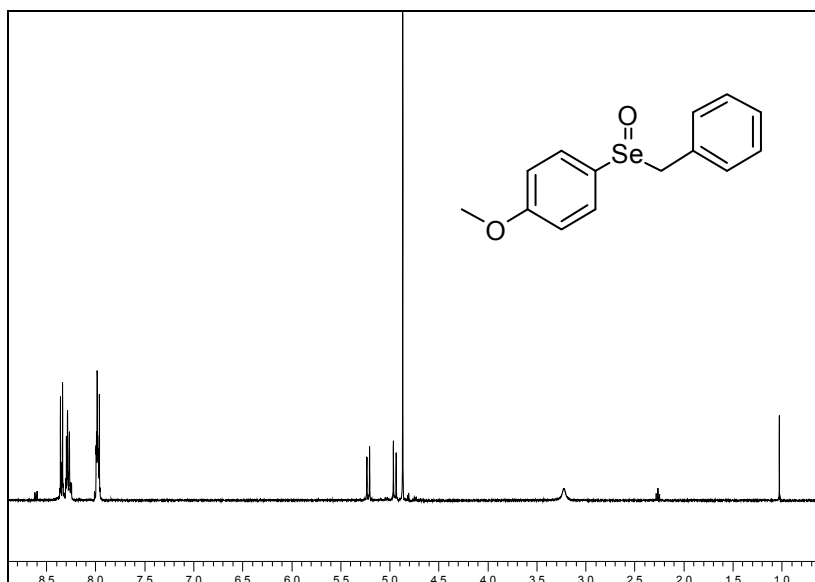


**Anexo 10.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **4** em  $\text{CDCl}_3$  a 200 MHz.

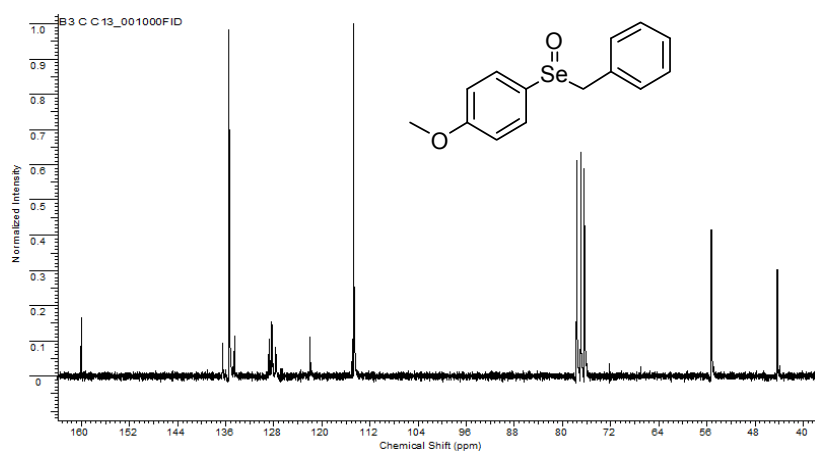


**Anexo 11.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **4** em  $\text{CDCl}_3$  a 50 MHz.

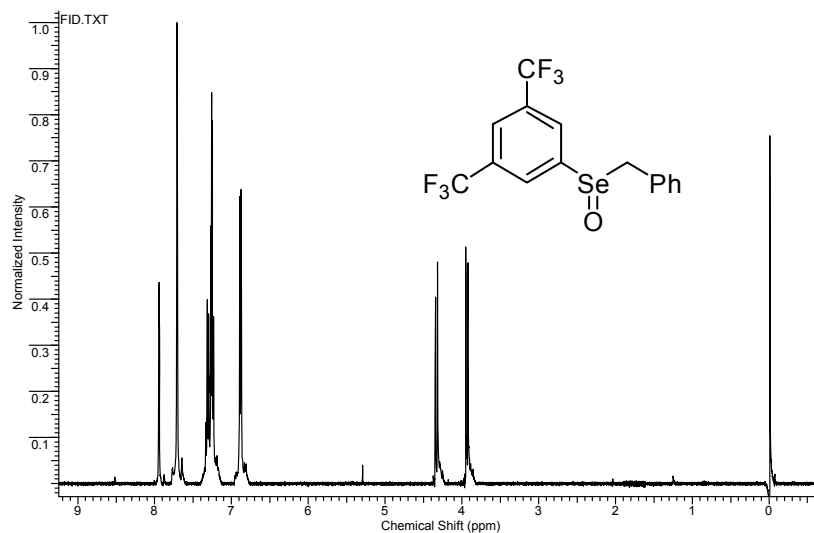




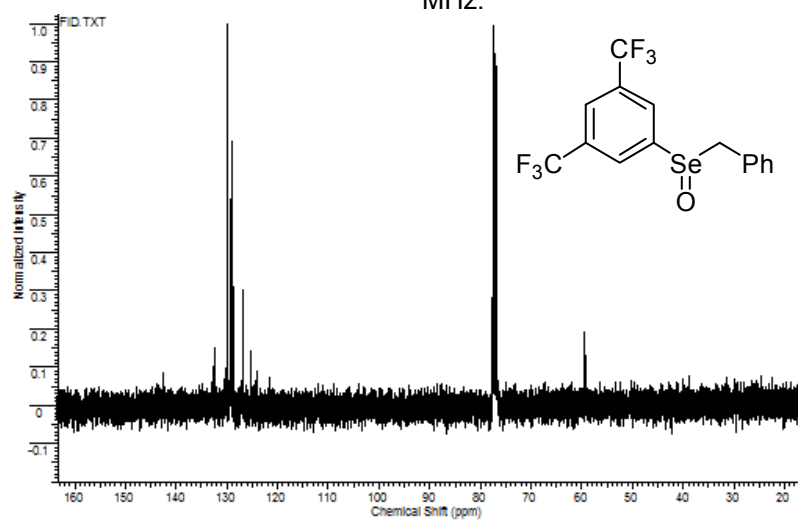
**Anexo 12.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 5 em  $\text{CDCl}_3$  a 400 MHz.



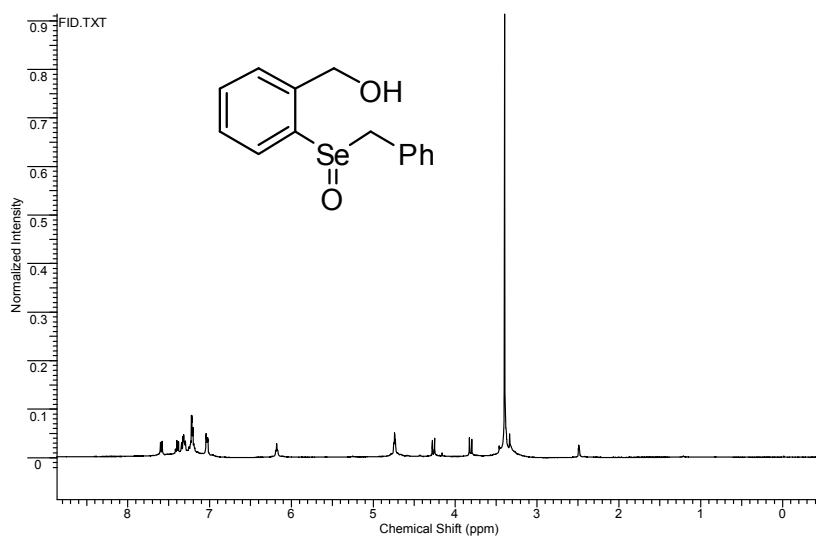
**Anexo 13.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 5 em  $\text{CDCl}_3$  a 50 MHz.



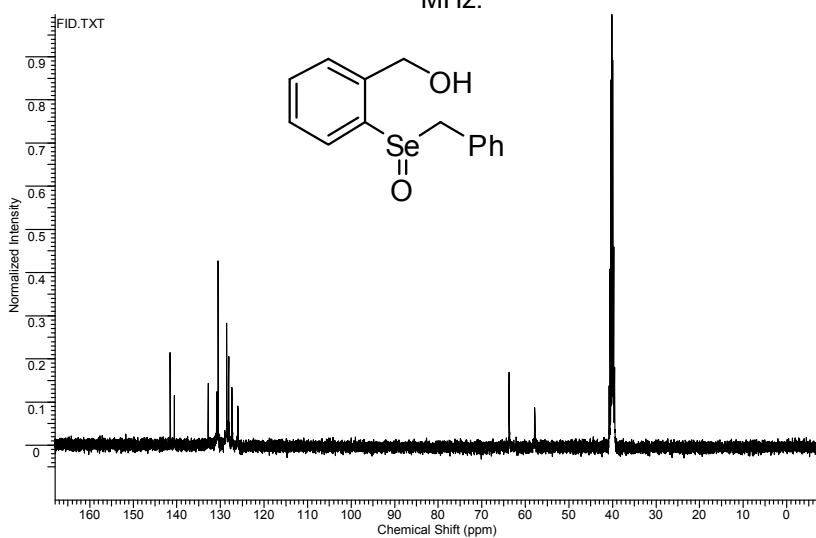
**Anexo 14.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **6** em CDCl<sub>3</sub> a 400 MHz.



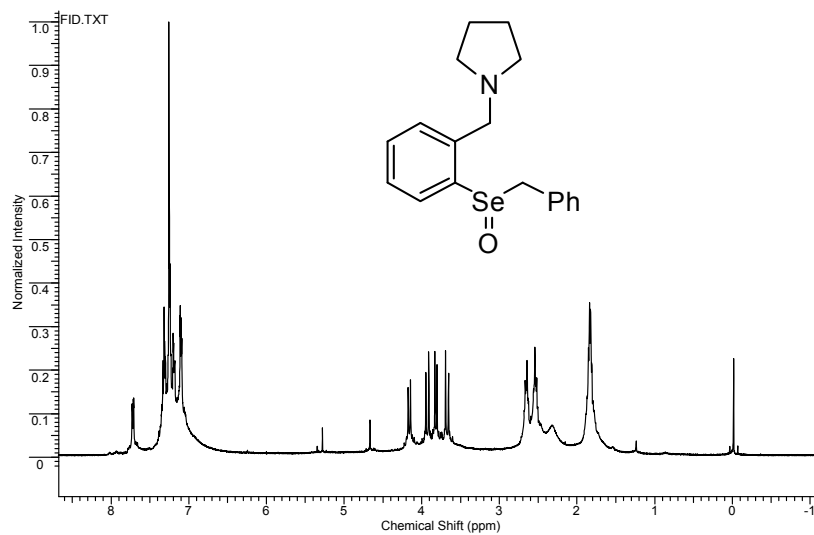
**Anexo 15.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C do composto **6** em CDCl<sub>3</sub> a 100 MHz.



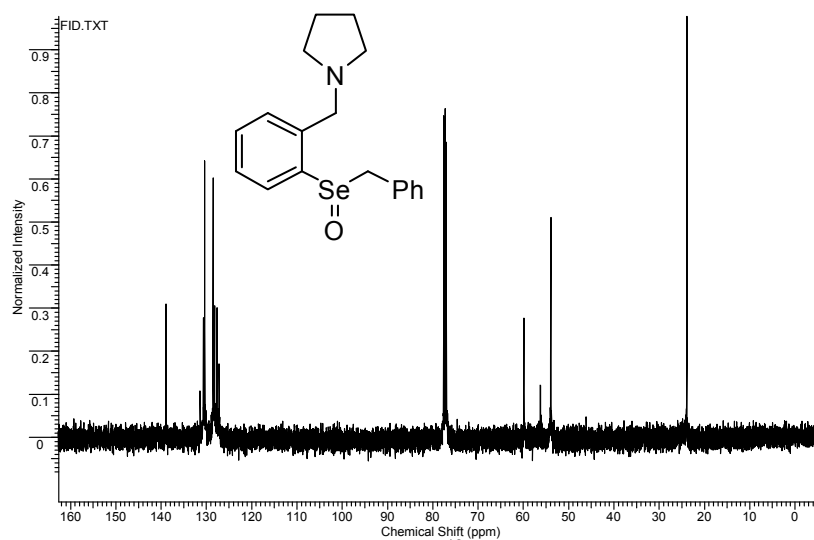
**Anexo 16.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **7** em  $\text{DMSO-d}^6$  a 400 MHz.



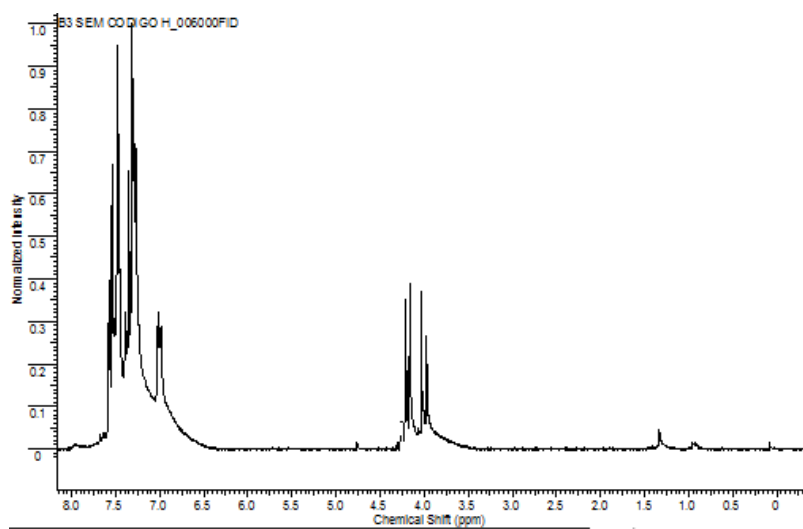
**Anexo 17.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **7** em  $\text{DMSO-d}^6$  a 100 MHz.



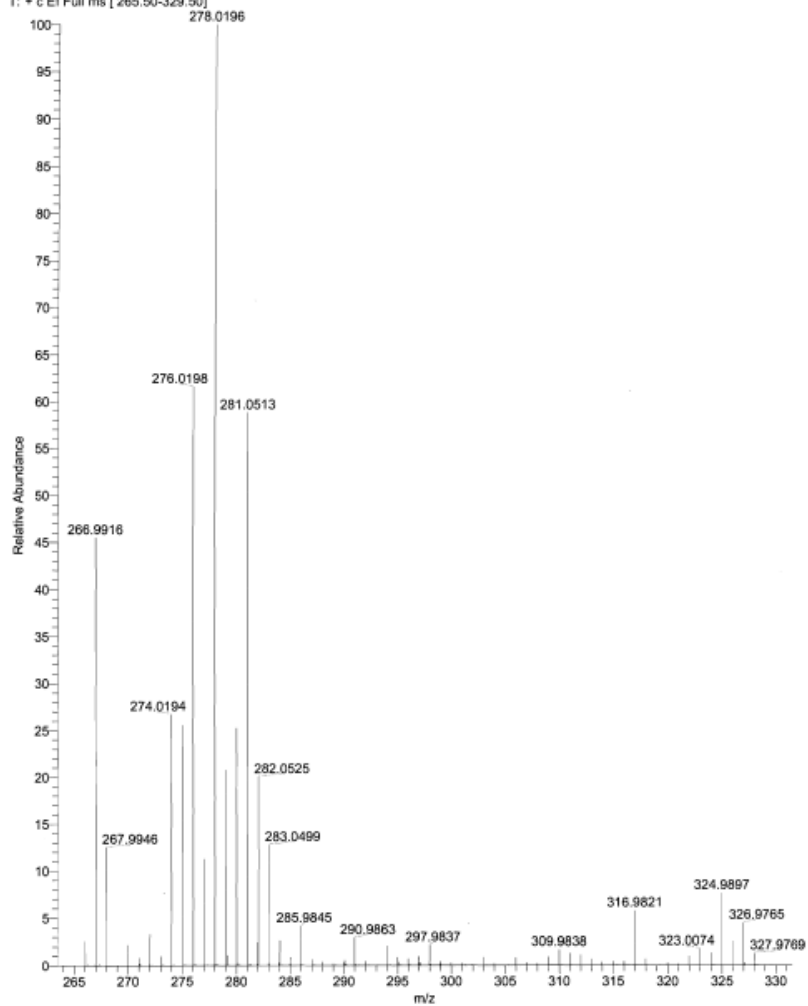
**Anexo 18.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **8** em  $\text{CDCl}_3$  a 400 MHz.



**Anexo 19.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **8** em  $\text{CDCl}_3$  a 100 MHz.

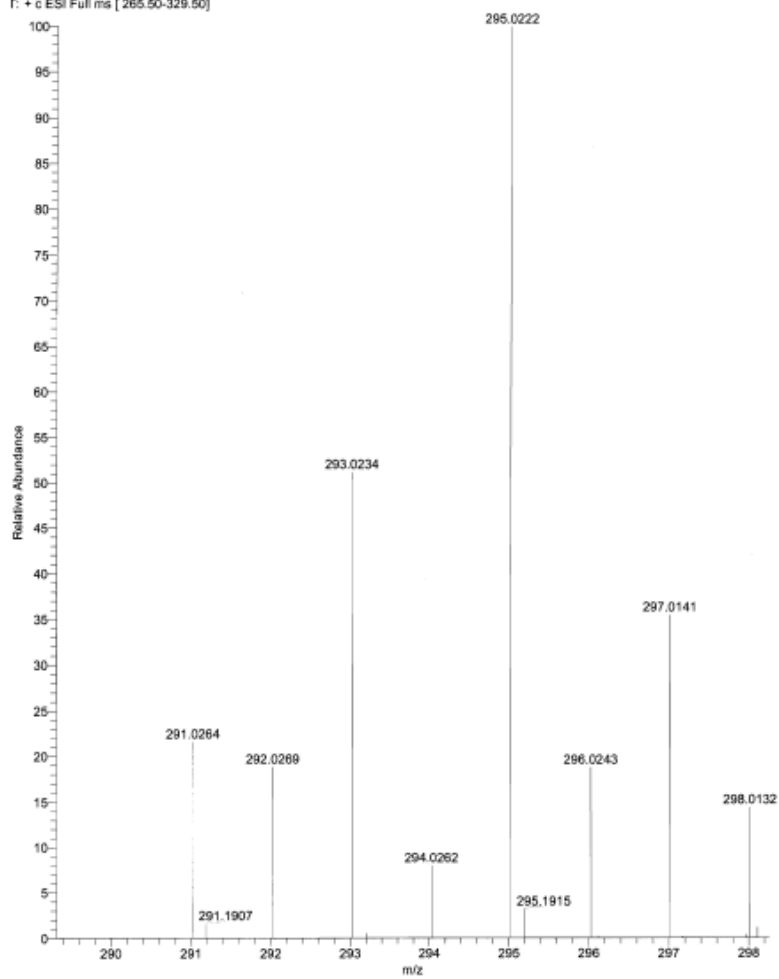


**Anexo 20.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz) para o composto **4** recuperado depois da reação de oxidação do PhSH com  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



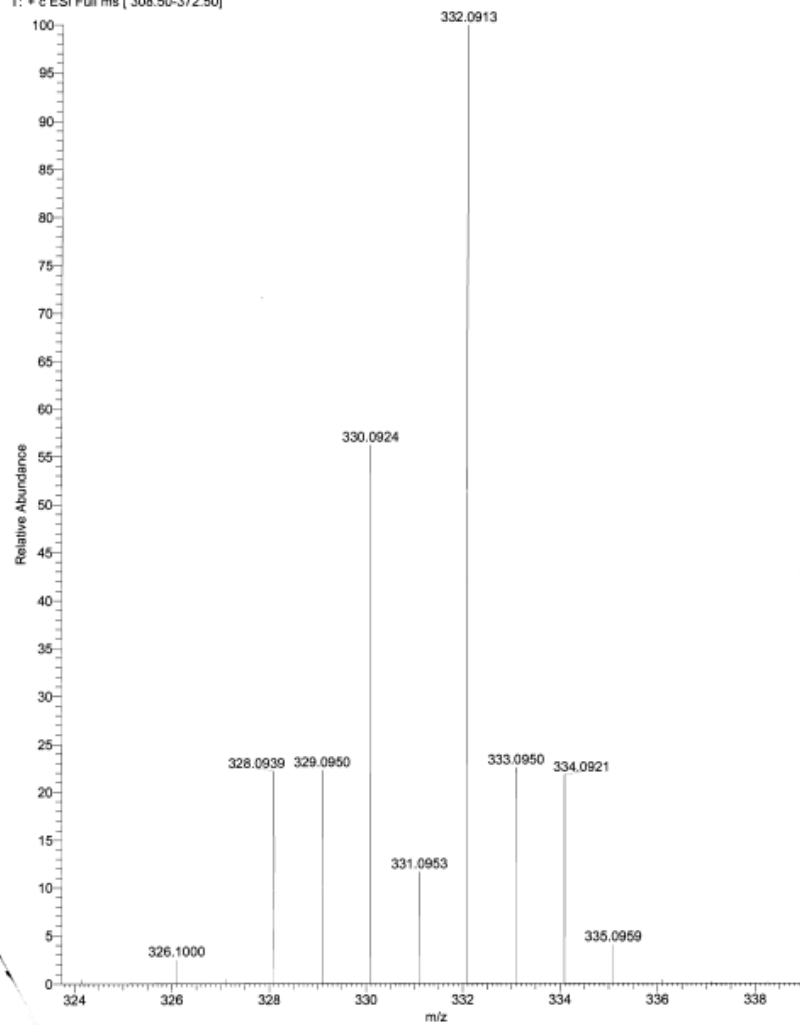
Anexo 21. Espectro de HRMS do composto **74c**.

je-b302-eshr-c1 #58-70 RT: 2.89-3.48 AV: 13 SB: 20 2.00-2.94 NL: 1.53E5  
T: + c ESI Full ms [ 265.50-329.50]



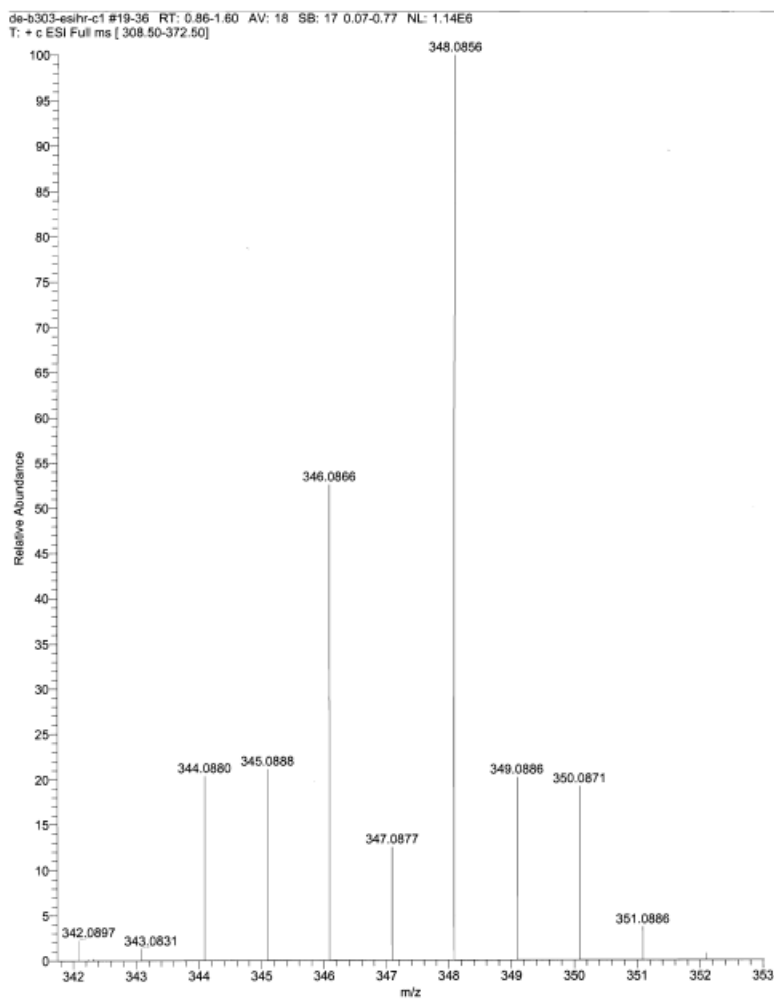
Anexo 22. Espectro de HRMS do composto 7.

de-b308-eshr-c1 #25-50 RT: 1.10-2.19 AV: 26 SB: 21 0.06-0.93 NL: 4.31E6  
T: \* c ESI Full ms [308.50-372.50]

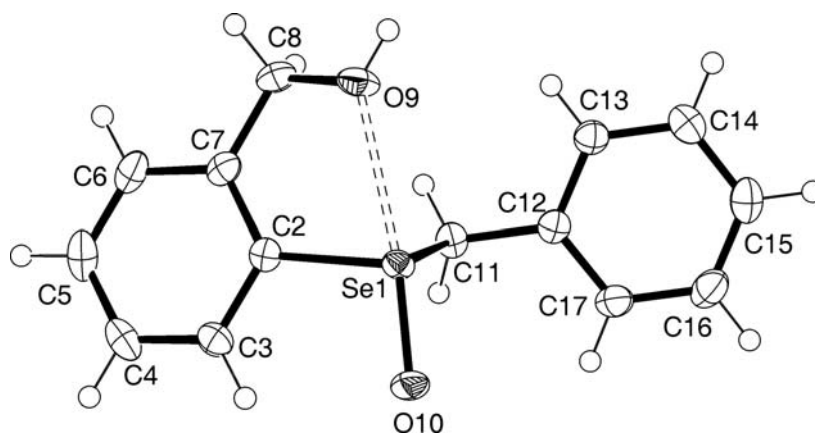


**Anexo 23.** Espectro de HRMS do composto **3**.





Anexo 24. Espectro de HRMS do composto 8.



**Anexo 25.** Estrutura Cristalina obtida para o composto 7.

**Tabela 5.** Dados do cristal e refinamentos da estrutura obtida do composto **7**.

Identification code	p212121
Empirical formula	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> Se
Formula weight	293.21
Temperature	150(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Orthorhombic
Space group	P2(1)2(1)2(1)
	Unit cell dimensions
	<b>a</b> = 4.76300(10) Å
	$\alpha$ = 90°
	<b>b</b> = 11.2526(2) Å
	$\beta$ = 90°
	<b>c</b> = 22.7956(5) Å
	$\gamma$ = 90°
Volume	1221.76(4) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.594 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	3.059 mm <sup>-1</sup>
F(000)	592
Crystal size	0.28 x 0.20 x 0.12
mm <sup>3</sup>	
Theta range for data collection	1.79 to 28.36°.
Index ranges	-2<=h<=6, -

15<=k<=14, -29<=l<=30	
Reflections collected	12087
Independent reflections	3057 [R(int) =
0.0258]	
Completeness to theta = 28.36°	99.8 %
Absorption correction	Gaussian
Max. and min. transmission	0.7103 and 0.4813
Refinement method	Full-matrix least-
squares on F <sup>2</sup>	
Data / restraints / parameters	3057 / 0 / 154
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.060
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0200, wR2 =
0.0489	
R indices (all data)	R1 = 0.0219, wR2 =
0.0497	
Absolute structure parameter	0.00
Largest diff. peak and hole	0.432 and -0.350
e.Å <sup>-3</sup>	

**Anexo 26.** Tabela com dados do cristal e refinamentos da estrutura obtida do composto **7**.