

JOÃO LUCAS BRUNO PRATES

Síntese de derivados piridínicos inspirados na (-)-espectralina na busca de *hits* para doenças negligenciadas

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vanderlan da Silva Bolzani

Coorientadora: Dr^a Marília Valli

Araraquara

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

P912s Prates, João Lucas Bruno
Síntese de derivados piridínicos inspirados na (-)-
espectralina na busca de *hits* para doenças negligenciadas /
João Lucas Bruno Prates. – Araraquara : [s.n.], 2017
117 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Vanderlan da Silva Bolzani

Coorientador: Marília Valli

1. Compostos heterocíclicos. 2. Alcaloides.
3. *Trypanosoma cruzi*. 4. *Plasmodium falciparum*.
5. Leishmaniose. I. Título.

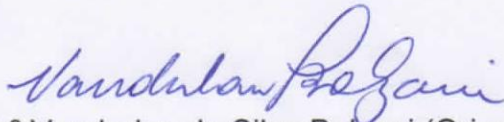
Elaboração: Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Biblioteca do Instituto de Química, Unesp, câmpus de Araraquara

JOÃO LUCAS BRUNO PRATES

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 24 de julho de 2017.

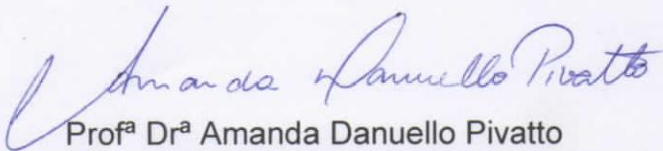
BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Vanderlan da Silva Bolzani (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Dr. Nivaldo Boralle
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Profª Drª Amanda Danuello Pivatto
Universidade Federal do Triângulo Mineiro / UFTM / Uberaba – MG

DADOS CURRICULARES

Nome: João Lucas Bruno Prates

Formação acadêmica:

2015 – Atual

Mestrado em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Unesp, Araraquara, Brasil.

Título: Síntese de derivados piridínicos inspirados na (-)-
espectralina na busca de *hits* para doenças
negligenciadas.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Vanderlan da Silva Bolzani
Coorientador: Dr^a. Marília Valli
Bolsista CAPES

2010 – 2014

Licenciatura em Química

Universidade Federal do Triângulo Mineiro, UFTM,
Uberaba, Brasil.

Título: Desenvolvimento de membranas assimétricas
produzidas através do acetato de celulose oriundo do
pseudocaule da bananeira.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Alves Cerqueira

Participação de eventos científicos:

8TH Brazilian Symposium in Medicinal Chemistry (BrazMedChem), 2016, Armação
dos Búzios – RJ.

Outros:

XVI Encontro Nacional dos Grupos PET (ENAPET), 12 a 16 de julho de 2011,
Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia – GO.

IV Encontro dos grupos PET de Minas Gerais (Uai PET), 23 a 25 de março de 2012,
Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina –
MG.

*“Dedico este trabalho, primeiramente, a Deus por sempre guiar os meus passos
nesta jornada”.*

*“Aos meus pais, João Luiz e Regina Lucia e as minhas irmãs, Érica e Eliane, por
serem meus exemplos, apoio e incentivo”.*

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, prof^a. Dr^a. Vanderlan da Silva Bolzani, pela orientação, confiança e, principalmente, pelas orientações e princípios cidadania que todo cientista, ou melhor, todo cidadão deve ter.

Ao MS. Gustavo Claro Monteiro pelo auxílio incessante na bancada, escritas e nas prévias, mostrando-se sempre prestativo e solidário, apesar da “delicadeza”... Brincadeira... Muito obrigado, nunca vou esquecer a sua enorme ajuda, valeu irmão.

A Dr^a. Marília Valli por toda assistência no mestrado, sua ajuda foi de grande valia...Muito obrigado.

Ao Celso pela ajuda na parte experimental e teórica.

A prof^a. Dr^a. Amanda Danuello Pivatto pelo incentivo ao mestrado.

A prof. Dr. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior por sua contribuição no trabalho e pelas IPAs.

A todo grupo de pesquisa NuBBE.

Aos funcionários do Instituto de Química, Vilma, Nivaldo, Lucinéia, Silvia, Juliana, Marcos, Alberto, Nayra e João.

Aos meus amigos do NuBBE, Andressa (Blossom), Alana, Antônio (Tony), Afif, Alene, Bianca, Denise, Jhennifer, Lilian, Leonardo (Léo), Vitor (gota), Viviane (Vivi), Thais, Paula (Paulinha) e Gabriel.

Aos meus amigos que a vida proporcionou em Araraquara, Érika, Isabella (Isa), Keylla (more), Karen, Alexandra (Alê), Laura (Laurinha), Maraylla e Max.

A minha amiga-irmã Mariana (Mari Jundiaí) por sempre estar do meu lado, principalmente nos momentos mais difíceis, servindo-me de apoio. Muito obrigado, nunca irei esquecer de você... Nossa como chorei minhas pitangas com você.

Aos amigos da Republica Lira, Armando, Luís Paulo, Rodolfo (Rodolfinho), Thulio e Vitor pelos bons momentos, churrascos, cervejas e cacarejo. Vocês foram a minha família durante o mestrado.

A Nadia, ao Caíque (filinho) e a Sombra (pseudocã) por toda ajuda quando mais precisei, ao café da família e os roles de bike.

Aos meus amigos da faculdade, Ana, Andressa Joyce, Igor, Francielle (Fran), Gabrielle (Gabi), Fernando (Gali), Gáveni, Wesley, Rayla, Alessandra, Daniel (Dani), Maria Rosa e Samira.

Ao meu amigo-irmão Moizés Rodrigues, mesmo distante, jamais vai deixar de ser meu irmão caçula.

Aos professores da minha graduação (UFTM) por todo auxílio e incentivo.

Ao meu sobrinho lindo Lorenzo, não é pelo fato de ser o meu sobrinho, mas o menino tem presença.

A minha afilhada feminista e independente de 10 anos, Maria Fernanda.

Aos meus primos Angélica, Fabrício e Danilo.

Ao meu cunhado Rodrigo (Digão).

Aos meus amigos de Serrana, Sandra, Claudinei, Rodolfo, Mayara e Sirlei (Irmã).

A Capes pela bolsa concedida e ao Instituto de Química – Unesp, pela oportunidade.

“Os químicos são uma estranha classe de mortais, impelidos pelo impulso quase insano a procurar seus prazeres em meio a fumaça e vapor, fuligem e chamas, venenos e pobreza, e, no entanto, entre todos esses males, tenho a impressão de viver tão agradavelmente que preferiria morrer a trocar de lugar com o rei da Pérsia”.
(STRATHERN, 2002, p. 179).

RESUMO

Na presente pesquisa foram sintetizados vários derivados piridínicos objetivando a descoberta de constituintes com atividade antiparasitária potencial. Estes compostos foram planejados a partir do alcaloide (-)-espectralina isolado de *Senna spectabilis* (Fabaceae), empregando alguns processos usuais da química medicinal como a simplificação molecular, isosterismo clássico e funcional. Deste procedimento experimental, foram sintetizados 18 substâncias, sendo todas obtidas por meio de reações simples, a partir de compostos comerciais. Das substâncias sintéticas produzidas, 14 foram submetidas à avaliação para atividade em *Trypanosoma cruzi*, visando potenciais antichagásicos, e em *Leishmania infantum* para identificar potenciais leishmanicidas. Os compostos testados mostraram-se inativos na inibição destes protozoários. Contudo, dois análogos (**48** e **52**) apresentaram atividade inibitória das cepas de *Plasmodium falciparum*, com $CI_{50} = 5,0 \mu M$ e índice de seletividade bastante interessante (IS >50).

Palavras-chave: Compostos heterocíclicos, Alcaloides, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*, Leishmaniose.

ABSTRACT

In the present research, several pyridine derivatives were synthesized aiming at the discovery of new constituents with potential antiparasitic activity. All compounds were planned from the (-)-spectaline alkaloid isolated from *Senna spectabilis* (Fabaceae), employing some usual medicinal chemistry procedures, such as molecular simplification, classical and functional isosterism. From this experimental procedure, 18 compounds were synthesized, and all of these were obtained by means of simple reactions, from commercial compounds. Of the synthetic substances produced, 14 were evaluated for activity in *Trypanosoma cruzi*, aimed at the search for potential antichagasics, and against *Leishmania infantum* to identify potential leishmanicidal derivatives. All compounds tested were inactive to the inhibition of these protozoa. However, two analogues (48 and 52) showed inhibitory activity against *Plasmodium falciparum* strains, with $IC_{50} = 5.0 \mu\text{M}$ and an interesting selectivity index ($IS > 50$).

Keywords: Heterocyclic compounds, Alkaloids, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium falciparum*, Leishmaniasis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	18
Figura 2 – Benzonidazol utilizado no tratamento da doença de Chagas e derivados sintéticos inibidores de <i>T. cruzi</i>	19
Figura 3 – Ciclo de vida de espécies de <i>Leishmania</i>	20
Figura 4 – Fármacos disponíveis para o tratamento de leishmaniose	21
Figura 5 – Estrutura dos derivados piridínicos bis(indol)-piridina ativos como leishmanicida.....	22
Figura 6 – Ciclo de vida do gênero <i>Plasmodium</i>	23
Figura 7 – Fármacos atualmente utilizados para o tratamento da malária.....	24
Figura 8 – Estrutura do derivado piridínico sintético com atividade antimalarial	25
Figura 9 – Alcaloides isolados de <i>S. spectabilis</i>	26
Figura 10 – Isosterismo clássico, isosterismo funcional e simplificação molecular utilizados para o planejamento dos análogos piridínicos	29
Figura 11 – Estrutura química dos compostos planejados.....	30
Figura 12 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da mistura do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et ₃ N, em 2 horas de reação.....	34
Figura 13 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) na região dos hidrogênios aromáticos do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et ₃ N, em 2 horas de reação	35
Figura 14 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da mistura do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et ₃ N, em 12 horas de reação.....	36
Figura 15 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) na região dos hidrogênios aromáticos do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et ₃ N, 12 horas de reação	37
Figura 16 – Espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da mistura do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et ₃ N, em 24 horas de reação.....	38
Figura 17 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) na região dos hidrogênios aromáticos do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et ₃ N, 24 horas de reação	39

LISTAS DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Análise retróssintética para o planejamento das etapas sintéticas de obtenção dos análogos 28-33	30
Esquema 2 – Análise retróssintética para o planejamento das etapas sintéticas de obtenção dos análogos 35-40 e 41-46	31
Esquema 3 – Proposta do mecanismo de reação de esterificação da glicina	32
Esquema 4 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (27) com os cloridratos e glicinatos 26 a-f , para obtenção dos análogos (28-33).....	39
Esquema 5 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (34) com os cloridratos e glicinatos 26 a-f , para obtenção dos análogos (35) e (41), em 12 horas de reação	40
Esquema 6 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (34) com os cloridratos e glicinatos 26 a-f , para obtenção dos análogos (35) e (41), em 24 horas de reação	41
Esquema 7 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (34) com os cloridratos glicinatos 25 a-f, para obtenção dos análogos 35-40 e 41-46	41
Esquema 8 – Proposta do mecanismo de reação de S_NAr para obtenção do composto 28	42
Esquema 9 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (47) com os cloridratos glicinatos 26 a-f	43
Esquema 10 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (48) com os cloridratos glicinatos 26 a-f	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores da CE ₅₀ dos compostos sintetizados obtidos nos ensaios com cepas de <i>P. falciparum</i> (3-d7)	44
Tabela 2 – Valores de CI ₅₀ dos análogos 48 e 52 obtidos nos ensaios citotóxicos com células HepG2	45
Tabela 3 – Índice de Seletividade (IS) dos análogos 48 e 52	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNTs – Doenças Negligenciadas Tropicais

WHO – World Health Organization

NuBBE – Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais

CIBFar – Centro de Pesquisa e Inovação em Biodiversidade e Fármacos

LNBio – Laboratório Nacional de Biociências

CNPEM – Centro de Pesquisa em Energia e Materiais

CI₅₀ – Concentração Inibitória de 50%

CE₅₀ – Concentração Efetiva de 50%

DL₅₀ – Dose Letal mediana

IS – Índice de Seletividade

HepG2 – Linhagem celular de Hepatoma humano

AChE – Acetilcolinesterase

S_NAr – Substituição Nucleofílica Aromática

DCC – *N,N'*-diciclo-hexilcarbodiimida

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

THF – Tetraidrofurano

Et₃N – Trietilamina

AcOEt – Acetato de etila

Hex - Hexano

t.a. – temperatura ambiente

Sumário

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas	17
1.1.1 Doença de Chagas.....	17
1.1.2 Leishmaniose	20
1.1.3 Malária.....	22
1.2 Propriedades farmacológicas dos alcaloides de <i>Senna spectábilis</i>	25
2 OBJETIVOS	28
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
3.1 Planejamento dos análogos piridínicos do alcaloide (-)-espectalina	29
3.2 Planejamento da rota sintética (análise retrossintética)	30
3.3 Síntese dos compostos planejados	31
3.3.1 Otimização e preparação dos compostos 26 a-f	31
3.3.2 Otimização e preparação dos compostos (28-33), (35-40) e (41-46).....	32
3.4 Avaliação frente às atividades antichagásica e leishmanicida	44
3.5 Avaliação frente à atividade antimalárica	45
4 CONCLUSÕES	46
5 PARTE EXPERIMENTAL	47
5.1 Reagentes e solventes	47
5.2 Métodos cromatográficos	47
5.3 Análises espectrométricas	48
5.4 Métodos do ensaios biológicos	48
5.4.1 Ensaios contra cepas de <i>Plasmodium falciparum</i> (3D7)	48
5.4.2 Ensaio leishmanicida da forma promastigota de <i>L. infantum</i>	49
5.5 Métodos sintéticos	49
5.5.1 Procedimento para obtenção dos cloretos de amínio acetato 26 a-f.....	49
5.5.2 Preparação dos compostos 28-33.....	51
5.5.3 Preparação dos compostos 35-40.....	53
5.5.4 Preparação dos compostos 41-46.....	56
REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs)

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são enfermidades infecciosas e parasitárias, provocadas por vírus, bactérias ou protozoários, sendo estas endêmicas de países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais da terra. Algumas causas podem ser identificadas para o aumento das doenças negligenciadas, e uma destas causas é a deficiência de um sistema de saúde e saneamento básicos eficientes (ANDRICOPULO; FERREIRA, 2014).

O termo “doenças negligenciadas” é atribuído para um conjunto de enfermidades com origem em problemas de ordem econômica devido, a falta de investimentos em vigilância sanitária, esgotos, combate a pobreza, por falta de políticas públicas de estado. Outro fator que contabiliza para este quadro é a falta de investimentos em pesquisa e desenvolvimento voltados para a descoberta de novos medicamentos pelas indústrias farmacêuticas. Este setor não vê retorno lucrativo esperado para a produção em larga escala de medicamentos a preços populares de novos fármacos para estas parasitoses, nos países pobres do mundo (WERNECK et al., 2011). Existem poucos medicamentos aprovados para as DTNs, sendo que no período de 2000 a 2011, do total de 336 fármacos novos aprovados, apenas 4 foram destinados para as doenças negligenciadas (PEDRIQUE et al., 2013).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization – WHO*) cerca de 1 bilhão de pessoas são afetadas por alguma das doenças tropicais negligenciadas, em todo o mundo (WORLD..., 2017). Atualmente, são identificadas 17 tipos de DTNs (MOLYNEUX et al., 2016), onde estão incluídas a doença de Chagas, leishmaniose e malária.

1.1.1 Doença de Chagas

A doença de chagas, comum nos países da América Latina, é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e transmitida por insetos do gênero *Triatoma* (triatomíneo), que é o hospedeiro intermediário e o homem, o hospedeiro definitivo (TEIXEIRA et al., 2011).

A infecção humana ocorre quando o triatomíneo contaminado libera os protozoários na forma tripomastigota, que invadem macrófagos, fibroblastos e tecidos musculares locais (TEIXEIRA et al., 2011). Após a inoculação do protozoário, estes se diferenciam e passam para forma amastigota, que se multiplicam por divisão binária e diferenciam-se para a forma tripomastigota. Novamente, estes são liberados pelo rompimento da célula hospedeira, alojando-se em outras células ou contaminando outros triatomíneos, durante o repasto sanguíneo. Já no inseto, após ingerir o sangue contaminado, os tripomastigota se transformam em epimastigota, no intestino do vetor. Em seguida, estes se multiplicam por divisão binária e se diferenciam na forma tripomastigota, o qual é eliminado pelas fezes, infectando outro indivíduo (LANA; TAFURI; 2005). A Figura 1 ilustra o ciclo de vida do *T. cruzi*.

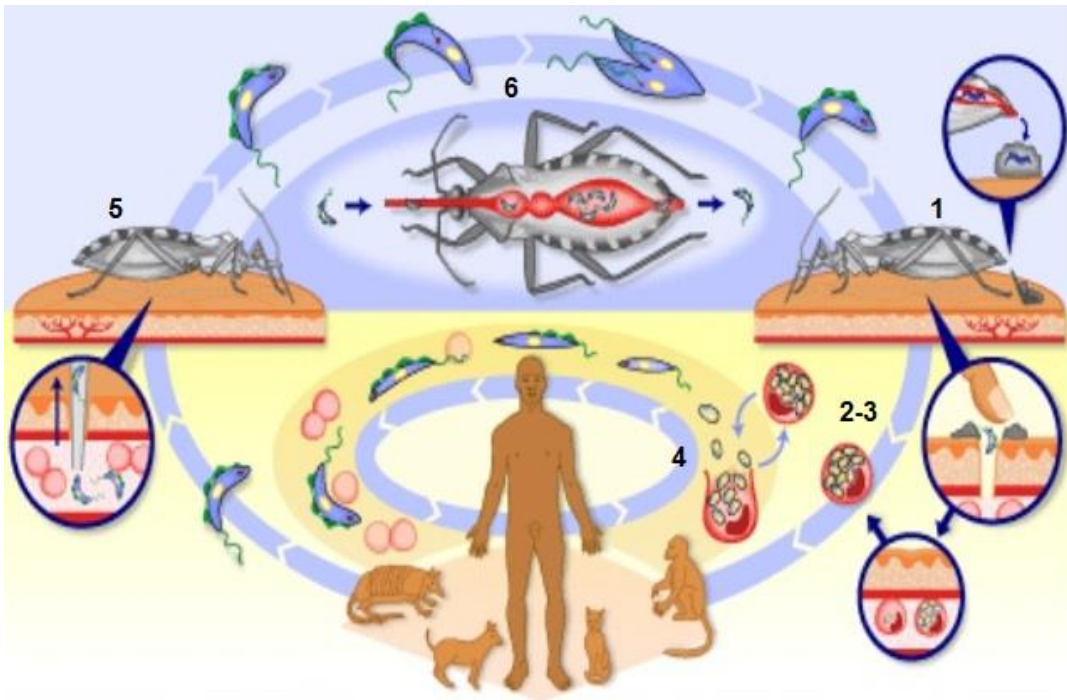


Figura 1 – Ciclo de vida do *T. cruzi* no hospedeiro vertebrado (mamíferos) e hospedeiro invertebrado (inseto). 1) Infecção com o protozoário durante o repasto sanguíneo; 2) Inoculação da forma tripomastigota metacíclicos em macrófagos de tecidos musculares; 3) Diferenciação e multiplicação da forma amastigota; 4) Transformação para a forma tripomastigota e rompimento das células hospedeiras; 5) Contaminação do *Triatoma* durante o repasto sanguíneo; 6) Transformação para a forma tripomastigota no intestino do vetor.

Fonte: Adaptado de VIRTOUS (2017).

A doença manifesta-se em duas fases: aguda e crônica. Na fase aguda, o paciente pode apresentar sintomas como, febre, mal-estar, dores de cabeça, inchaço do coração, fígado e baço, podendo levar a óbito. Na fase crônica, os sintomas não são tão pronunciados na maioria dos doentes, porém, em alguns a doença pode conduzir a uma série de complicações como, megaesôfago, megacólon, distúrbios no sistema digestivo e no sistema nervoso central (TEIXEIRA et al., 2011).

Atualmente, cerca de 7 milhões de pessoas são afetadas pela doença, sendo fatal para mais de 7 mil delas por ano (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2016). De acordo com o Ministério da Saúde, estima-se que no Brasil existam aproximadamente de 2 a 3 milhões de casos da doença de Chagas (A DOENÇA..., 2014). Um fármaco já existente para o tratamento da doença é o benzonidazol (1, Figura 2), no entanto, este apresenta baixa eficiência, principalmente na fase crônica da doença (SERAFIM et al., 2014). O grupo nitro (NO₂) presente na estrutura molecular é responsável pela atividade biológica deste fármaco (PAULA, et. al., 2009).

Carvalho e colaboradores (2012) planejaram e sintetizaram uma série de derivados na busca por novos inibidores antichagásicos, sendo que três destes (2, 3 e 4, Figura 2) apresentaram atividade inibitória para as formas tripomastigotas de *T. cruzi* (CARVALHO, et al., 2012).

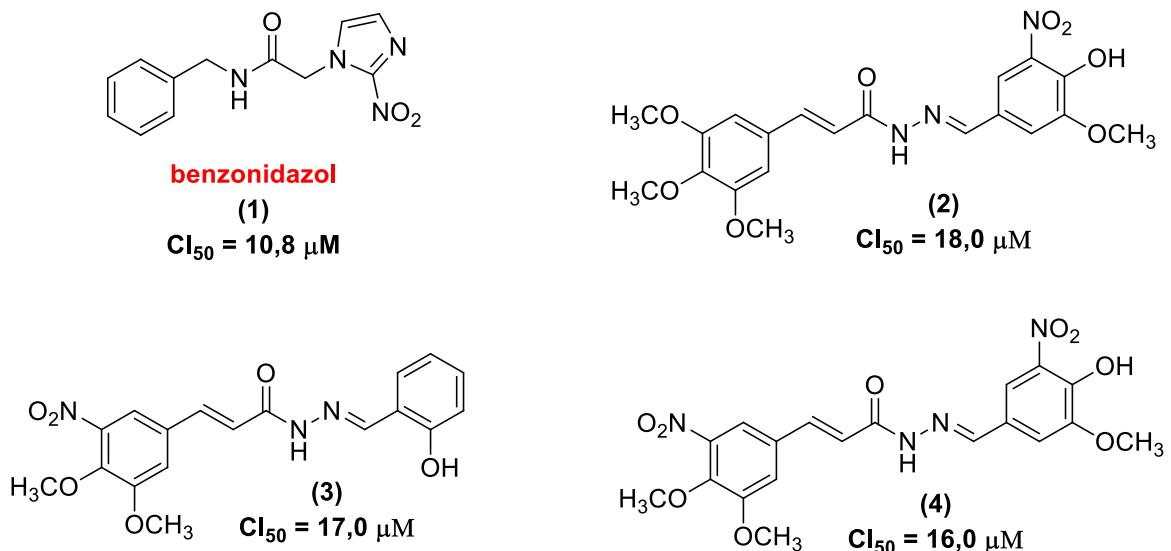


Figura 2 – Benzonidazol utilizado no tratamento da doença de Chagas e derivados sintéticos inibidores de *T. cruzi*.

Fonte: (1) FERREIRA; ANDRICOPULO (2016); (2-4) CARVALHO, et al., 2012.

1.1.2 Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, os quais são transmitidos por fêmeas de insetos do gênero *Lutzomyia* (FREITAS JUNIOR et al., 2012). A infecção ocorre durante o repasto sanguíneo, no qual o protozoário é inoculado na sua forma promastigota metacíclico, sendo estes fagocitados por macrófagos residentes na pele ou em órgãos linfoides, transformando-se na forma amastigota. Após sua formação, os amastigotas são liberados e se espalham contaminando outras células e insetos. No vetor por sua vez, a forma amastigota é liberada pelo rompimento dos macrófagos na qual se multiplicam e transformam-se para a forma promastigota (Figura 3) (MICHALICK, 2005).

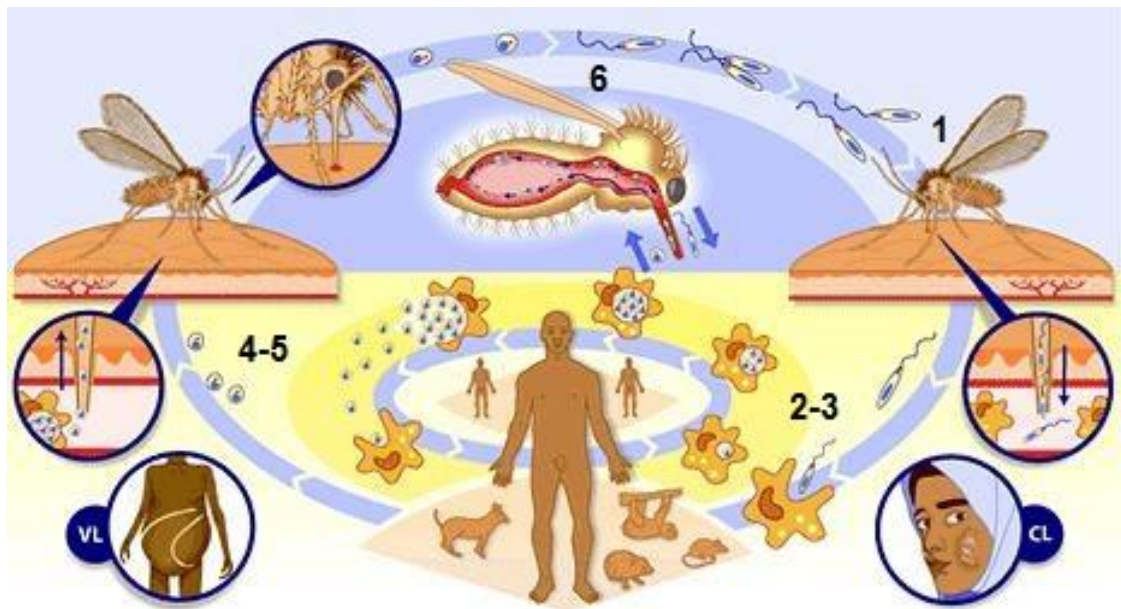


Figura 3 – Ciclo de vida do gênero *Leishmania* no hospedeiro vertebrado (mamíferos) e hospedeiro invertebrado (inseto). 1) Infecção com o protozoário durante o repasto sanguíneo; 2) Inoculação da forma promastigota em macrófagos da pele e órgãos linfoides; 3) Transformação e multiplicação da forma amastigota; 4) Rompimento das células hospedeiras e infecção em outras células; 5) Contaminação do inseto fêmea *Lutzomyia* durante o repasto sanguíneo; 6) Transformação para a forma amastigota no sistema digestivo do vetor.

Fonte: Adaptado de HARRYR (2017).

Em humanos, o protozoário infecta células superficiais ou viscerais, desencadeando uma série de enfermidades como leishmaniose cutânea, que são ferimentos na pele e leishmaniose visceral, podendo levar a hepatomegalia (FREITAS JUNIOR et al., 2012). Estima-se que a cada ano, aproximadamente, 300 mil casos de leishmaniose visceral e 1 milhão de casos cutâneos ocorrem no mundo. (WORLD..., 2016a). Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil existem cerca de 3,5 mil casos de leishmaniose visceral (A LEISHMANIOSE..., 2016) e 21 mil casos de leishmaniose cutânea (AS TRÊS ..., 2016).

Para o tratamento da doença, os fármacos utilizados são a anfotericina B, paromomicina e a miltefosina (5-7, Figura 4) (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2016). No entanto, estes medicamentos apresentam efeitos colaterais severos (MATTA et al., 2015). Portanto, tornam-se necessários estudos e pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novos agentes leishmanicidas mais eficazes e seguros (KHAN, et al., 2017).

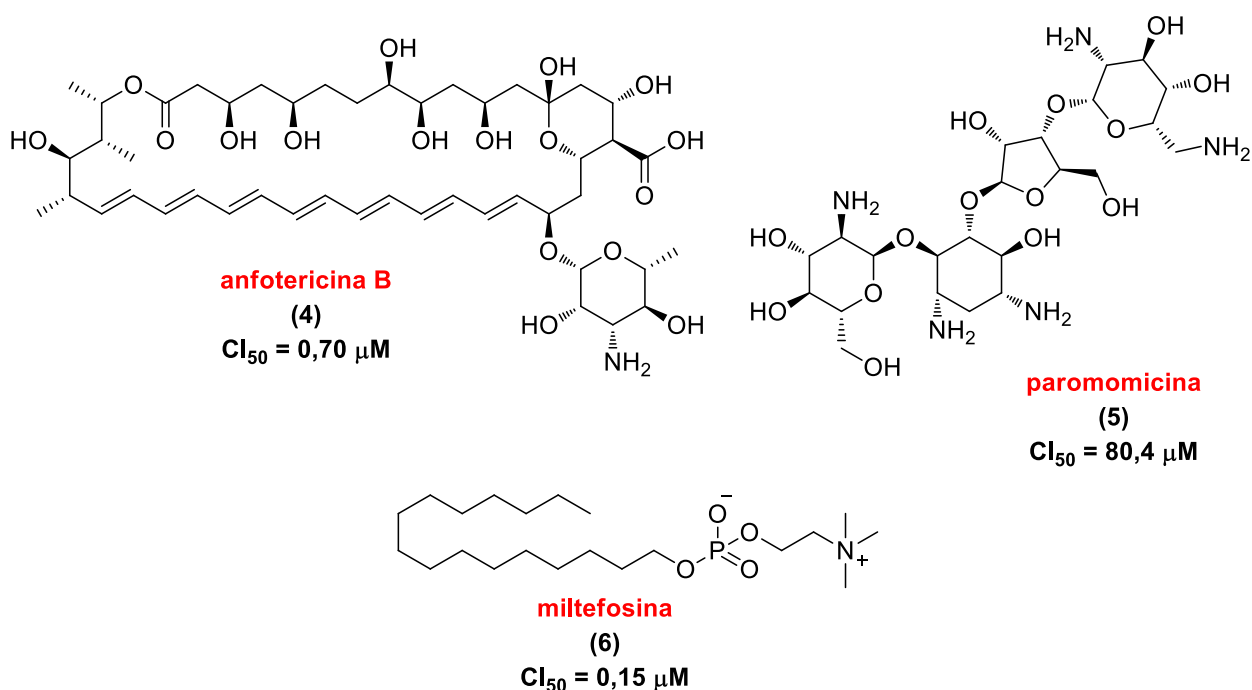


Figura 4 – Fármacos disponíveis para o tratamento de leishmaniose.

Fonte: (4) FERREIRA; ANDRICOPULO (2016) e COSTA et al., (2016); (5) FERREIRA; ANDRICOPULO (2016) e JAISWAL et al., (2016); (6) FERREIRA; ANDRICOPULO (2016) e DEA-AYUELA et al., (2016).

Na busca por novos compostos leishmanicida, Khan e pesquisadores (2017), sintetizaram uma série de derivados bis(indol)-piridínicos, dos quais os compostos (7

e 8, Figura 5) apresentaram boa inibição nos testes para *Leishmania donovani*, em relação ao controle positivo gluconato de sódio ($CI_{50} = 490 \mu\text{M}$) (KHAN, et al., 2017).

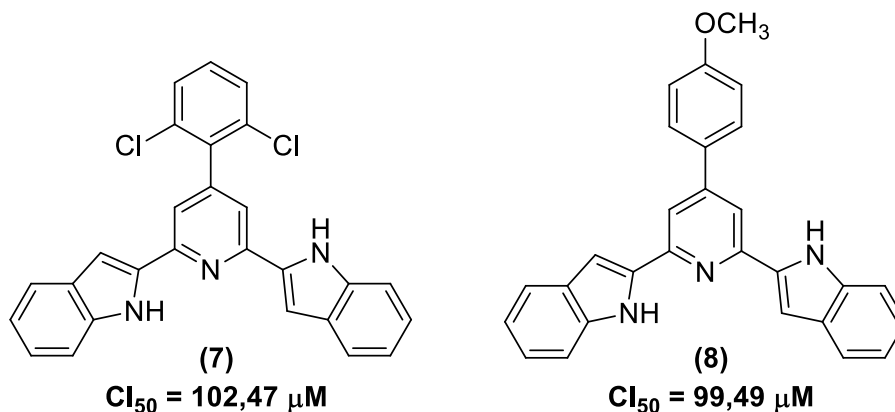


Figura 5 – Estrutura dos derivados piridínicos bis(indol)-piridina ativos como leishmanicida.

Fonte: KHAN, et al., 2017.

1.1.3 Malária

A malária é uma doença causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo transmitida pelo mosquito fêmea do gênero *Anopheles*. A infecção ocorre quando o mosquito contaminado inocula esporozoítos durante o repasto sanguíneo, onde estes se hospedam em hepatócitos, e se multiplicam em esquizontes e, depois em merozoítos. Após o rompimento dos hepatócitos, os merozoítos são liberados na corrente sanguínea, onde invadem eritrócitos, transformando-se na forma trofozoíta. Logo se transformam em merozoítos, que são liberados invadindo outros eritrócitos, e o ciclo se repete. Estes trofozoítos utilizam os aminoácidos da globina presente na hemoglobina como fonte de nutrição, sendo que neste processo ocorre à formação de ferroprotoporfirina IX (Heme), um subproduto tóxico responsável pela degradação das membranas. Como mecanismo de defesa, o protozoário polimeriza a heme conduzindo à produção de hemozoína (pigmento malárico) (BRAGA; FONTES, 2005).

No inseto, o ciclo do *Plasmodium* inicia-se quando o mosquito se contamina com os merozoítos durante o repasto sanguíneo, porém apenas os gametócitos participam do ciclo do protozoário. Os gametas masculino e feminino são fecundados, formando o zigoto, sendo este transformado para oocioneto móvel que

migra para células do intestino do vetor, que por sua vez, são transformados em oocisto e formam-se os esporozoítos, no qual são liberados e migram para as glândulas salivares (Figura 6) (BRAGA; FONTES, 2005).

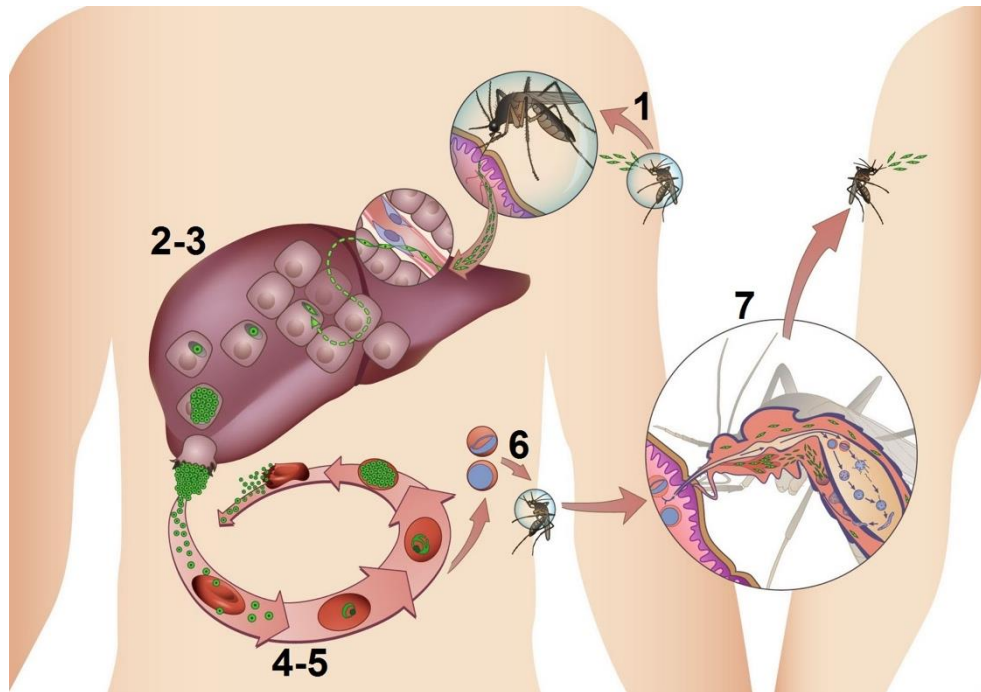


Figura 6 – Ciclo de vida do gênero *Plasmodium* no hospedeiro vertebrado (mamíferos) e hospedeiro invertebrado (inseto). 1) Infecção com o protozoário durante o repasto sanguíneo; 2) Inoculação de esporozoítos em hepatócitos; 3) Transformação em merozoítos e rompimento dos hepatócitos; 4) Invasão dos merozoítos em eritrócitos e transformação em trofozoítos; 5) Transformação em merozoítos e rompimento de hemácias; 6) Contaminação do inseto *Anopheles* durante o repasto sanguíneo; 7) Formação dos esporozoítos no sistema intestino do vetor.

Fonte: Adaptado de QUEVEDO (2010).

A Infecção pelo protozoário em seres humanos é ocasionada por quatro espécies de *Plasmodium*, o *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium oval* e *Plasmodium vivax*. Os principais sintomas da doença são paroxismo periódico, calafrios, sudorese, dores no corpo, dor de cabeça, náuseas, fraqueza e prostração. Contudo, a infecção por *Plasmodium falciparum* pode ser agravado, levando a problemas de insuficiência renal aguda, tornando-se um fator de risco para a vida do paciente (ASSERRAJI et al., 2016). De acordo com Organização Mundial da Saúde, foram registrados cerca de 212 milhões de casos

da doença no ano de 2015 em todo o mundo (WORLD..., 2016b). Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil ocorrem aproximadamente 250 mil casos por ano da doença (A MALÁRIA, 2017).

Nas últimas décadas, foram sintetizados e empregados compostos associados à ao núcleo quinona que podem ser relevantes para o estudo de novos medicamentos para o tratamento da malária, como por exemplo, a cloroquina (**8**, Figura 7). No entanto, devido ao uso extensivo do mesmo, surgiram cepas resistentes de *Plasmodium*, principalmente da espécie *P. falciparum*, desta forma, faz-se necessária à busca por novos agentes terapêuticos mais eficazes para o tratamento desta zoonose (SCHUCK et al., 2014).

Na busca por novas entidades químicas (NCE- new chemical entities) contra a malária, a pesquisadora Youyou Tu, dividiu o Prêmio Nobel no ano de 2015 com os cientistas William C. Campbell, da Irlanda, e Satoshi Omura, do Japão. Ela foi laureada pelas suas pesquisas com artemisinina (**9**, Figura 7), isolada de *Artemisia annua* (Asteraceae), espécie utilizada na medicina tradicional chinesa para tratamento de malária (EFFERTH, et al., 2015).

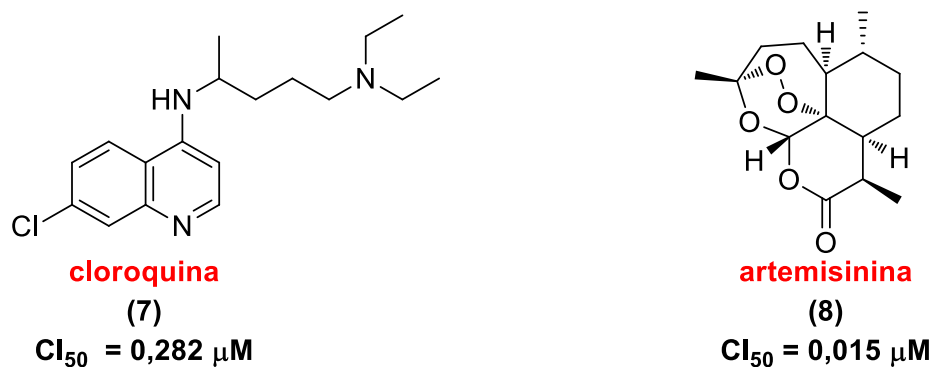


Figura 7 – Fármacos atualmente utilizados para o tratamento da malária.

Fonte: (7) Adaptado de SCHUCK et al., (2014) e VIJAYARAGHAVAN; MAHAJAN (2017); (8) ASANO; IWAHASHI (2016) e VIJAYARAGHAVAN; MAHAJAN (2017).

Bekhit e colaboradores (2012) sintetizaram 14 derivados piridínicos objetivando a obtenção de derivados com atividade antimalárica. Das substâncias produzidas, composto 9 (Figura 8) apresentou potente atividade na inibição de *P. falciparum*, em comparação com o padrão cloroquina ($CI_{50} = 0,188 \mu M$) (BEKHIT, et al., 2012).

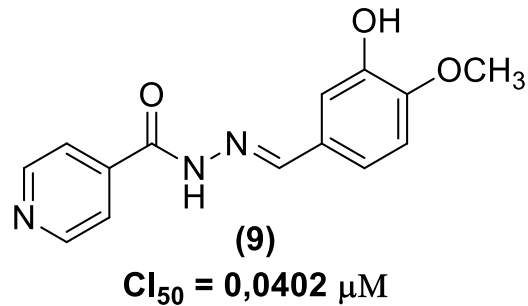


Figura 8 – Estrutura do derivado piridínico sintético com atividade antimalarial.

Fonte: BEKHIT, et al., 2012.

1.2 Propriedades farmacológicas dos alcaloides de *Senna spectabilis*

Desde épocas remotas, o homem utiliza princípios ativos de plantas, para cura de doenças, rituais religiosos e controle de pragas. Vários fármacos foram descobertos a partir de produtos naturais isolados e estes são modelos excelentes para o planejamento e síntese de novos fármacos, especialmente mais efetivos e com menos efeitos colaterais (VIEGAS Jr. et al., 2006). Neste cenário, o Brasil ganha destaque por possuir uma rica biodiversidade distribuída em seus diversos biomas. Ainda assim, o país possui apenas cerca de 10 a 20% de suas espécies conhecidas e dentre essas, *Senna spectabilis* (VALLI et al., 2012) vem sendo estudada há vários anos no NuBBE, devido à presença de alcaloides piperidínicos e piridínicos com atividades biológicas promissoras para identificação de modelos de fármacos (MELO et al., 2014).

Senna spectabilis (syn. *Cassia spectabilis*) é uma espécie pertencente à família Fabaceae, encontrada na América Central, América do Sul e em regiões da América do Norte (JOTHY et al., 2012). Em países como Índia e China, a planta é utilizada na medicina tradicional (PIVATTO et al., 2005). No Brasil, a planta é utilizada na urbanização de cidades de alguns estados e também empregada para o tratamento de constipação, insônia, ansiedade, disenteria e epilepsia (VIEGAS Jr. et al., 2013). Estudos fitoquímicos de *Senna spectabilis*, revelaram que parte das atividades farmacológicas, está relacionada à presença de alcaloides (VIEGAS Jr. et al., 2006). Nos primeiros trabalhos realizados com folhas de *S. spectabilis*, foram isolados e identificados alguns alcaloides, como (+)-espectralina e (-)-iso-6-cassina, mais tarde, pesquisadores isolaram estes mesmo alcaloides de sementes de *S. spectabilis*, assim como outros dois inéditos, a (-)-espectalinina e (-)-iso-6-

carnavalina. Outros grupos de pesquisadores, trabalhando com flores e frutos verdes de *Senna spectabilis*, isolaram e identificaram (-)-3-O-acetil-espectralina, 7-hidróxi-espectralina e iso-6-espectralina (**10-16**, Figura 9) (JOTHY et al., 2012). No trabalho desenvolvido por Silva e colaboradores (2010) a presença do alcaloide (-)-cassina junto com (-)-espectralina (**17** e **18**, Figura 9), em extrato de *Senna spectabilis* foi detectada pela técnica de espectrometria de massa (SILVA et al., 2010). Além disso, outros estudos fitoquímicos de flores e frutos de *Senna spectabilis*, efetuados por Viegas e pesquisadores (2013), relataram a presença de um novo alcaloide (-)-7-hidroxi-cassina (**19**, Figura 9) (VIEGAS et al., 2013).

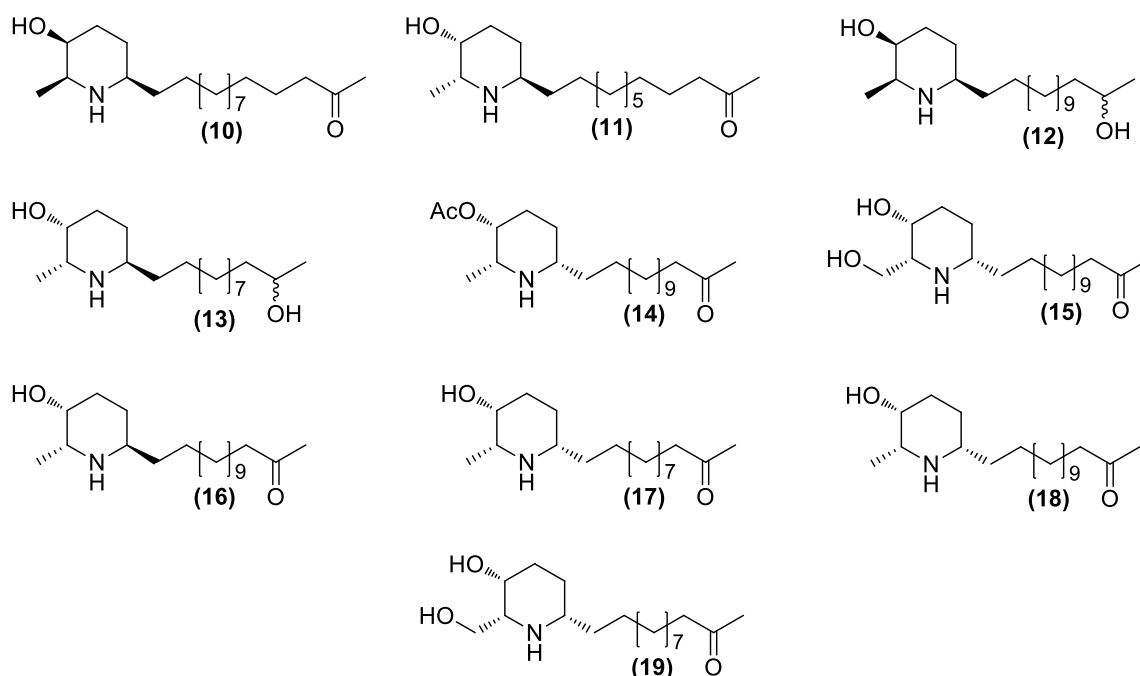


Figura 9 – Alcaloides isolados de *S. spectabilis*.

Fonte: (10-12) VIEGAS Jr. et al., (2006); (13 e 14) SILVA et al., (2010); (15 e 16) VALLI et al., (2012); (17 e 18) Adaptado de SILVA et al., (2010); (19) VIEGAS et al., (2013).

Dentre os compostos isolados e identificados de *S. spectabilis*, os alcaloides são os constituintes majoritários encontrados na planta, sendo que alguns destes apresentaram atividade farmacológica (VIEGAS Jr. et al., 2006).

No trabalho realizado por Melo e colaboradores (2014) a mistura dos compostos (-)-cassina e (-)-espectralina obtidos das flores de *S. spectabilis*, apresentaram atividade leishmanicida frente à forma promastigota de *Leishmania*

major, O valor reportado de CI_{50} foi 24,9 $\mu\text{g/mL}$ comparado com o padrão pentamidina ($CI_{50} = 0,9 \mu\text{g/mL}$), mostrando-se promissores inibidores do protozoário (MELO et al., 2014). Neste mesmo ano, Pivatto e colaboradores (2014) isolaram as substâncias (-)-cassina e (-)-espectralina de flores de *S. spectabilis* e avaliaram os compostos como inibidores de eritrócitos infectados com *Plasmodium falciparum*. Os alcaloides mostraram-se ativos com $CI_{50} = 1,82 \mu\text{M}$ e $CI_{50} = 2,76 \mu\text{M}$, respectivamente, em relação ao controle positivo cloroquina ($CI_{50} = 0,30 \mu\text{M}$), sendo considerados novos candidatos para o planejamento e produção de novos fármacos (PIVATTO et al., 2014).

O Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais - NuBBE, continua as pesquisas com produtos naturais da biodiversidade brasileira e mais recentemente investindo em química medicinal de produtos naturais bioativos. A consolidação das pesquisas vigentes podem ser vislumbradas nos projetos de longa duração aprovados recentemente: CEPID-Fapesp, Centro de Pesquisa e Inovação em Biodiversidade e Fármacos (CIBFar) e INCT-CNPq Instituto Nacional de Biodiversidade e Produtos Naturais (INCTBioNat), voltados para a descoberta de *hits* e *leads* de produtos naturais como agentes antibacterianos, antiparasitários e anticancerígenos (CENTRO ..., 2017). Dentro dos objetivos do NuBBE, o trabalho de pesquisa de mestrado consistiu na síntese de análogos piridínicos inspirados no alcaloide (-)-espectralina, cuja meta foi a obtenção de compostos com atividade antiparasitária.

2 OBJETIVOS

Planejamento e síntese de análogos piridínicos de (-)-espectralina, visando a obtenção de novos compostos bioativos para o tratamento de doenças parasitárias tropicais negligenciadas.

Objetivos específicos:

- Planejamento da rota sintética, análise retrossintética da estrutura molecular;
- Síntese dos derivados via reações simples;
- Avaliação dos compostos sintetizados para detecção de atividades antichagásica, antimalárica e leishmanicida.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Planejamento dos análogos piridínicos do alcaloide (-)-espectralina

No presente trabalho, foram planejados derivados piridínicos do alcaloide (-)-espectralina utilizando as técnicas de simplificação molecular. A técnica consiste na substituição do anel piperidínico do alcaloide natural, por um sistema aromático piridínico, eliminando os três centros estereogênicos. Além disso, a técnica de isosterismo clássico foi utilizada, trocando o grupo metileno do alcaloide pelo nitrogênio. Finalmente, o grupo cetona do alcaloide foi substituído pelo grupamento éster, pela técnica de isosterismo funcional (Figura 10) (Valli et. al., 2011).

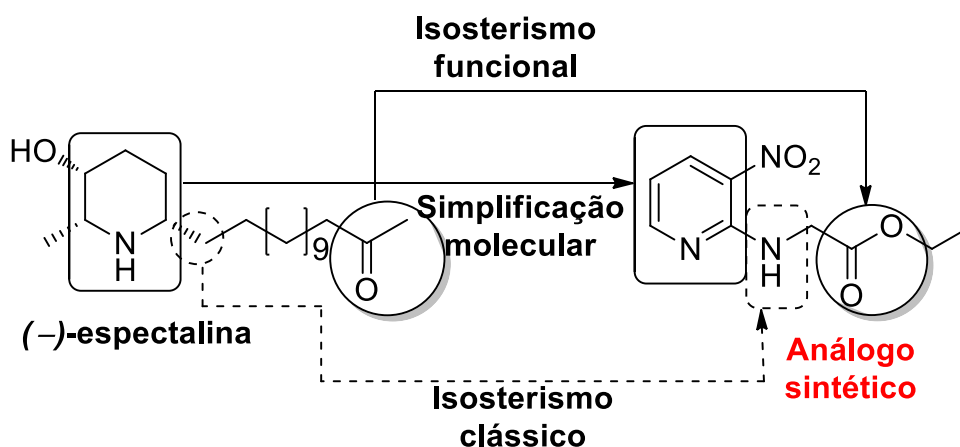


Figura 10 – Planejamento racional dos análogos sintéticos, por técnicas de Isoterismo clássico, isosterismo funcional e simplificação molecular para obtenção dos análogos piridínicos.

Fonte: Autor (2017)

Desta forma, foram planejados 5 séries de análogos a partir do alcaloide (-)-espectralina, sendo obtidos 6 compostos por série, o que resultou em 30 análogos sintetizados (Figura 11).

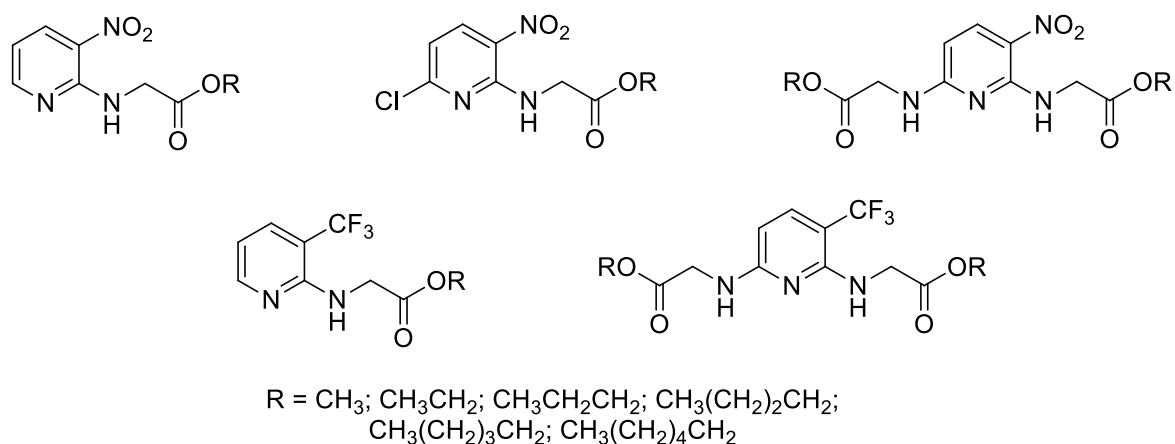
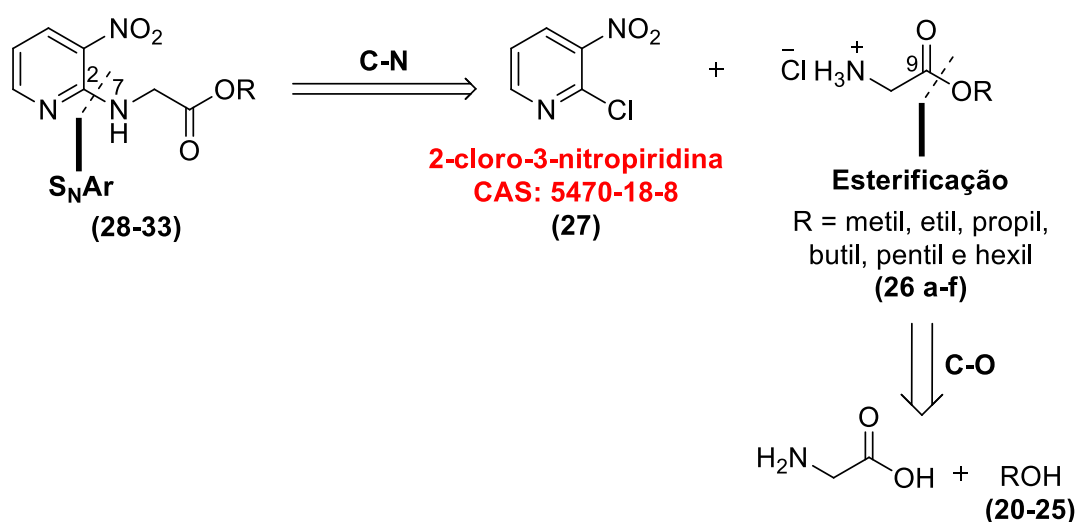


Figura 11 – Estrutura química dos compostos sintetizados.

Fonte: Autor (2017).

3.2 Planejamento da rota sintética (análise retrossintética)

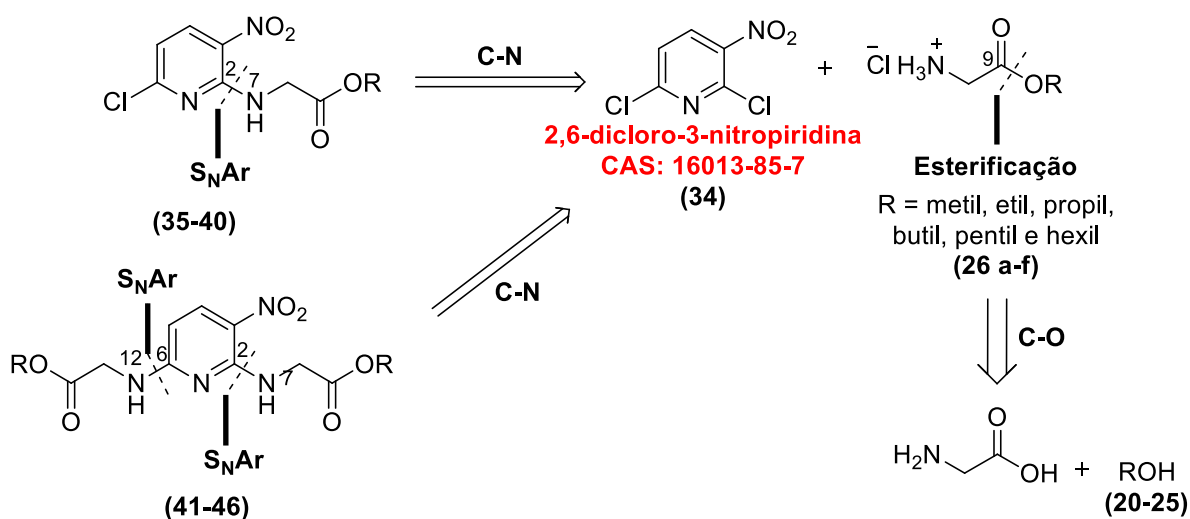
Por meio de análise retrossintética (Esquema 1) foi possível observar que a ligação C–N (fragmento NH-OR), dos compostos **28-33** poderiam ser desconectadas, levando ao composto aromático comercial 2-cloro-3-nitropiridina (**27**) e aos cloretos de amínio acetato (**26 a-f**). Os cloretos de amínio acetato podem ser desconectados na ligação C9-O, levando à glicina comercial e aos respectivos álcoois (**20-25**).



Esquema 1 – Análise retrossintética para o planejamento das etapas sintéticas de obtenção dos análogos **28-33**.

Fonte: Autor, 2017.

A retrosíntese para os compostos **35-40** é similar ao da obtenção dos análogos **28-33**, sendo que a diferença é que a desconexão C-N conduz ao aromático comercial 2,6-dicloro-3-nitropiridina (**34**). Da mesma maneira, para os compostos **41-46** são necessárias duas desconexões C-N, levando ao mesmo composto comercial. No Esquema 2 estão ilustradas as retrosínteses dos compostos **34-39** e **40-45**.



Esquema 2 – Análise retrosintética para o planejamento das etapas sintéticas de obtenção dos análogos **35-40** e **41-46**.

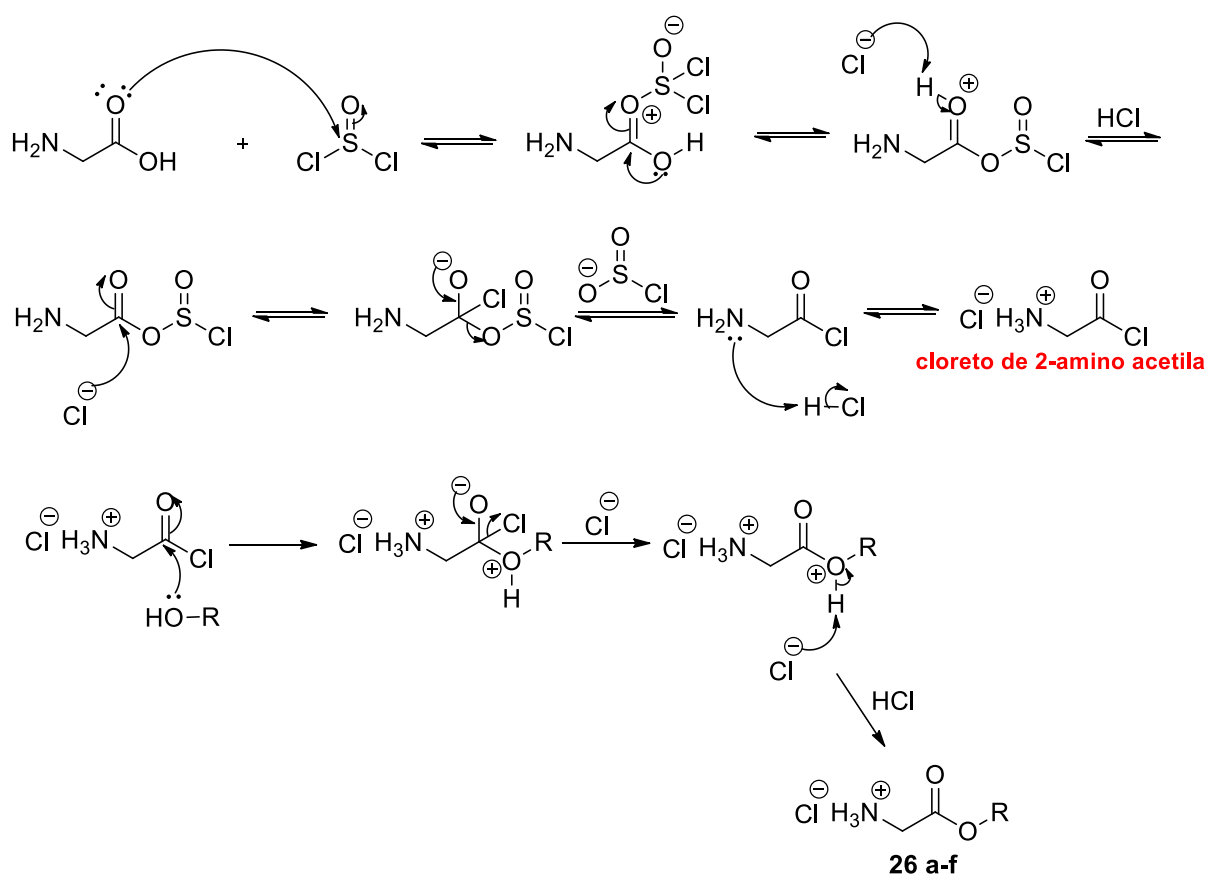
Fonte: Autor, 2017.

3.3 Síntese dos compostos planejados

3.3.1 Otimização e preparação dos compostos 26 a-f

A primeira etapa da rota sintética envolveu as reações de esterificação da glicina com uma série de álcoois. Inicialmente estas reações foram realizadas pelo método clássico de esterificação de Steglich, no qual é utilizado *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC), como agente de partida e 4-dimetilaminapiridino (DMAP), como catalisador, na presença de diclorometano (DIAS et al., 2012). No entanto, devido à baixa solubilidade da glicina no meio reacional, não houve formação do produto.

O segundo procedimento foi realizado de acordo com Nascimento-Júnior (2013), que consiste na esterificação da glicina com os álcoois na presença de cloreto de tionila (Esquema 3). A reação se processa pela formação do intermediário cloreto de 2-amino acetila, um composto derivado de ácido carboxílico muito reativo frente à nucleófilos (Isenmann, 2013). Com a formação deste intermediário, o álcool atua como nucleófilo, atacando o carbono da carboxila e levando à formação dos cloretos de amíno acetato (**26 a-f**), com rendimentos superiores a 98%, considerado muito bom para a finalidade, qual seja método simples de obtenção de substâncias bioativas.



Esquema 3 – Proposta do mecanismo de reação de esterificação da glicina.

Fonte: Autor, 2017.

3.3.2 Otimização e preparação dos compostos (**28-33**), (**35-40**) e (**41-46**)

Para a obtenção dos análogos **28-33**, **35-40** e **41-46**, os cloretos de amônio acetato **26 a-f** foram acoplados com os compostos aromáticos comerciais **27** e **34**, por reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr).

Inicialmente, as reações foram executadas utilizando THF como solvente, em banho de gelo e hidreto de sódio, porém, não foi observada a formação do produto esperado. A condição reacional foi então modificada, de forma que as reações passaram a ser realizadas sob temperatura ambiente com agitação vigorosa e a base foi substituída por trietilamina (Et_3N). Desta forma, a reação foi realizada com Et_3N , THF como solvente, durante 2 horas. A reação foi acompanhada por Cromatografia de Camada Delgada (CCD), no qual indicou que havia uma mistura do material de partida e o composto **28**, além disso, as duas substâncias apresentaram o mesmo fator de retenção ($R_f = 0,42$), indicando uma coeluição entre os compostos. Para o isolamento do análogo **28**, foi utilizado Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em ACN/ H_2O na proporção de 45/55.

A proporcionalidade de produto formado, em relação ao aromático comercial **27**, foi quantificada por análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de hidrogênio (1H), em 300 MHz. Pela intensidade dos sinais de hidrogênio, da mistura das substâncias, mostrou que a proporção entre o material de partida (composto aromático comercial **27**) ainda era maior que do análogo **28** formado em duas horas de reação (Figura 12).

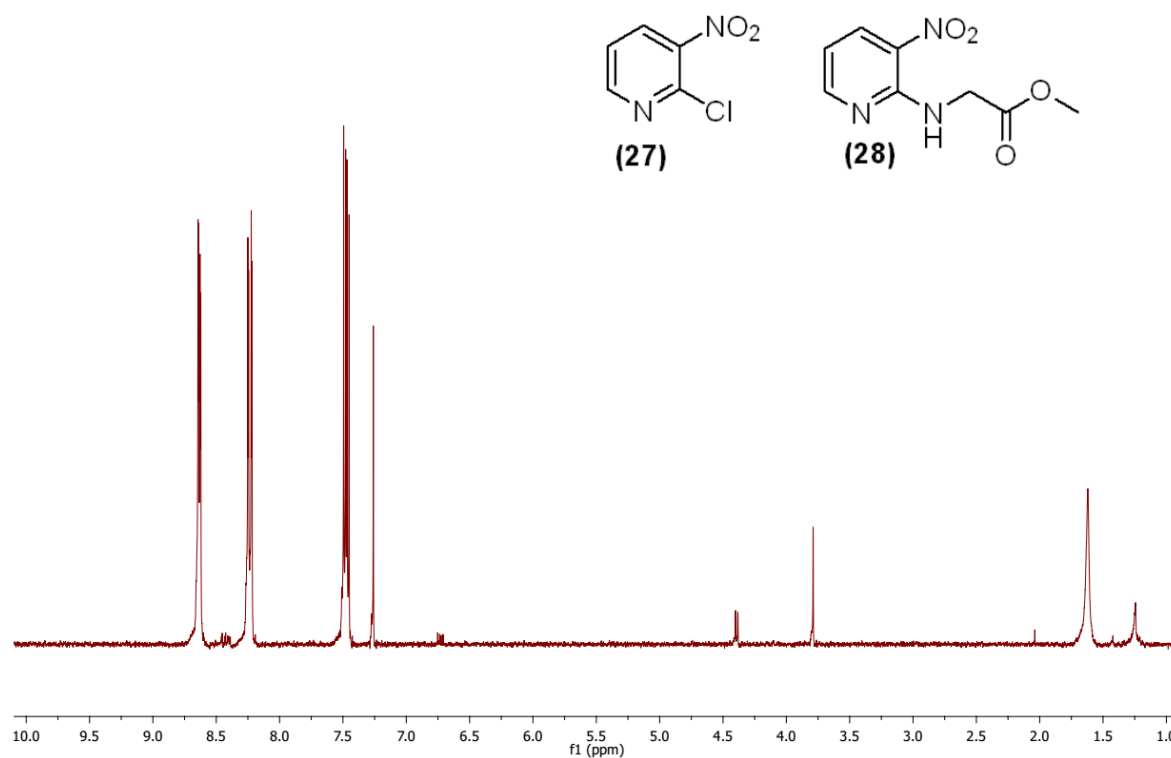


Figura 12 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) da mistura do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et₃N, em 2 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

Fazendo um cálculo aproximado com as integrais dos sinais dos hidrogênios aromáticos dos compostos, houve apenas 2% de conversão do aromático comercial 27 para o análogo 28 (Figura 13).

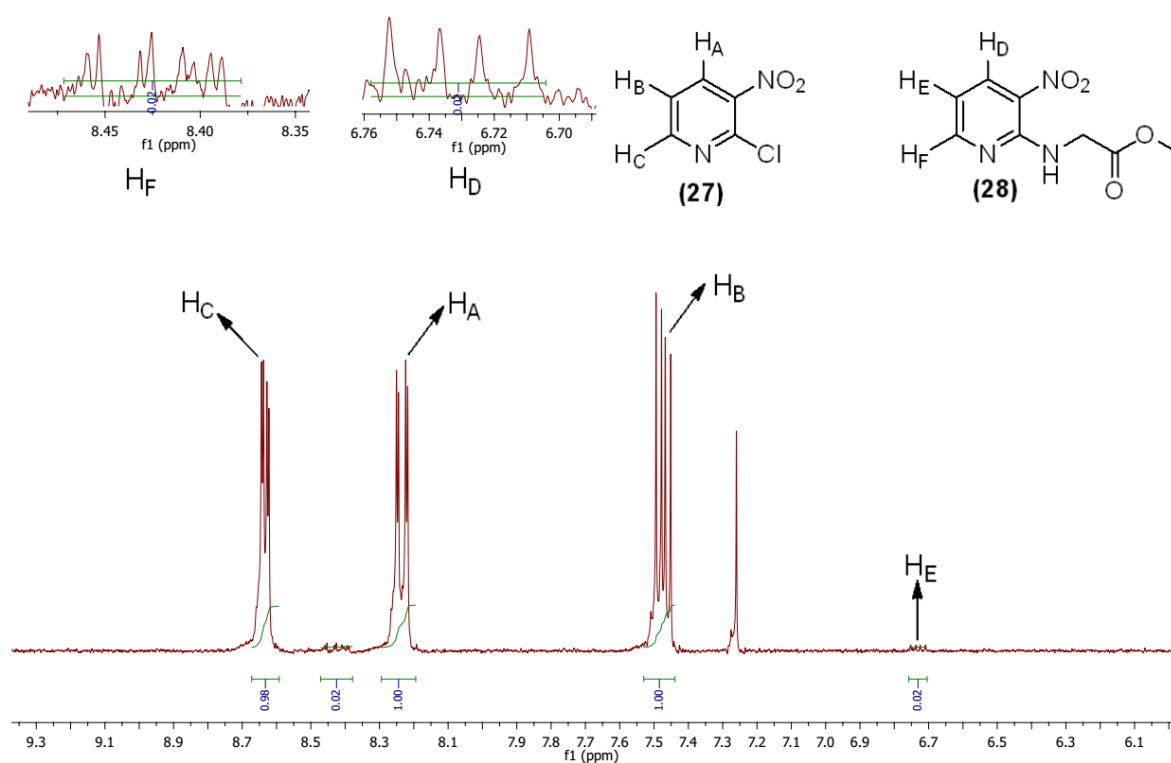


Figura 13 – Ampliação do espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) na região dos hidrogênios aromáticos do composto comercial **(27)** e do análogo **(28)**, utilizando Et_3N , em 2 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

Com isto, o tempo de reação foi expandido para 12 horas, e desta forma foi observado um aumento na proporção da produção do análogo **28** com relação ao material de partida **(27)** (Figura 14).

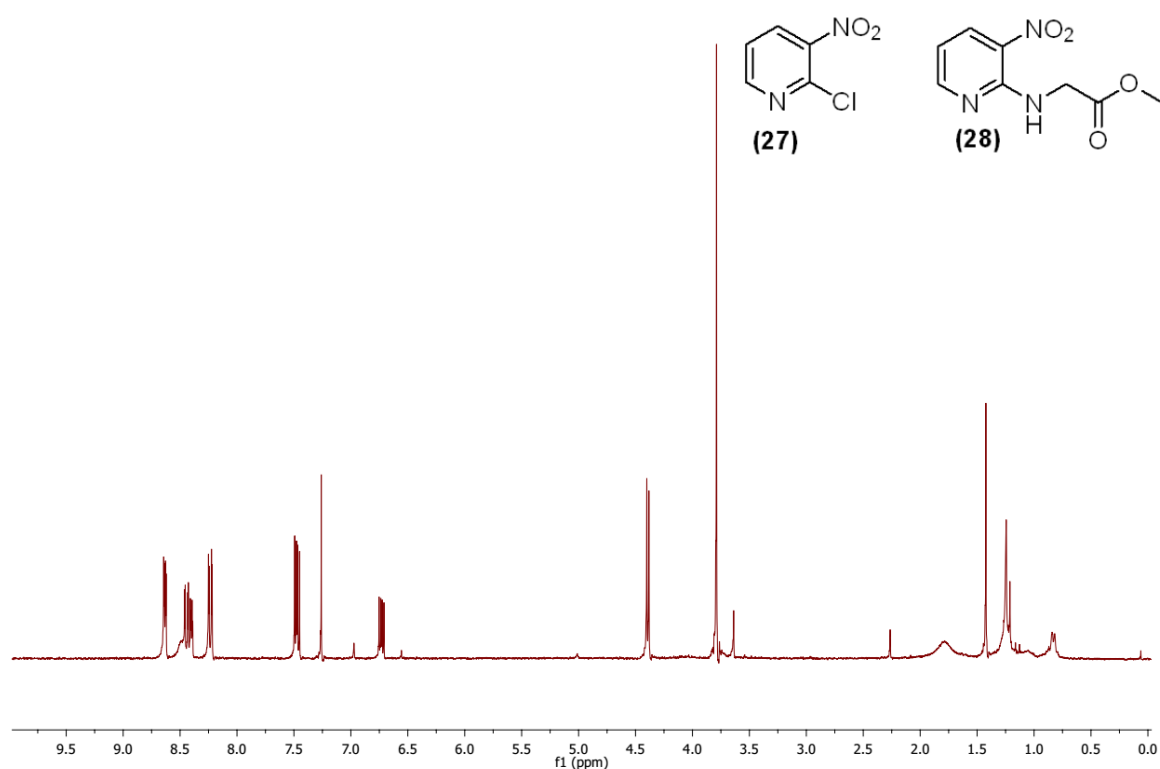


Figura 14 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) da mistura do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et₃N, em 12 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

Analisando o espectro na região dos hidrogênios aromáticos (Figura 14), foi possível verificar que houve aproximadamente 50% de conversão do composto comercial 27, para o produto esperado (28).

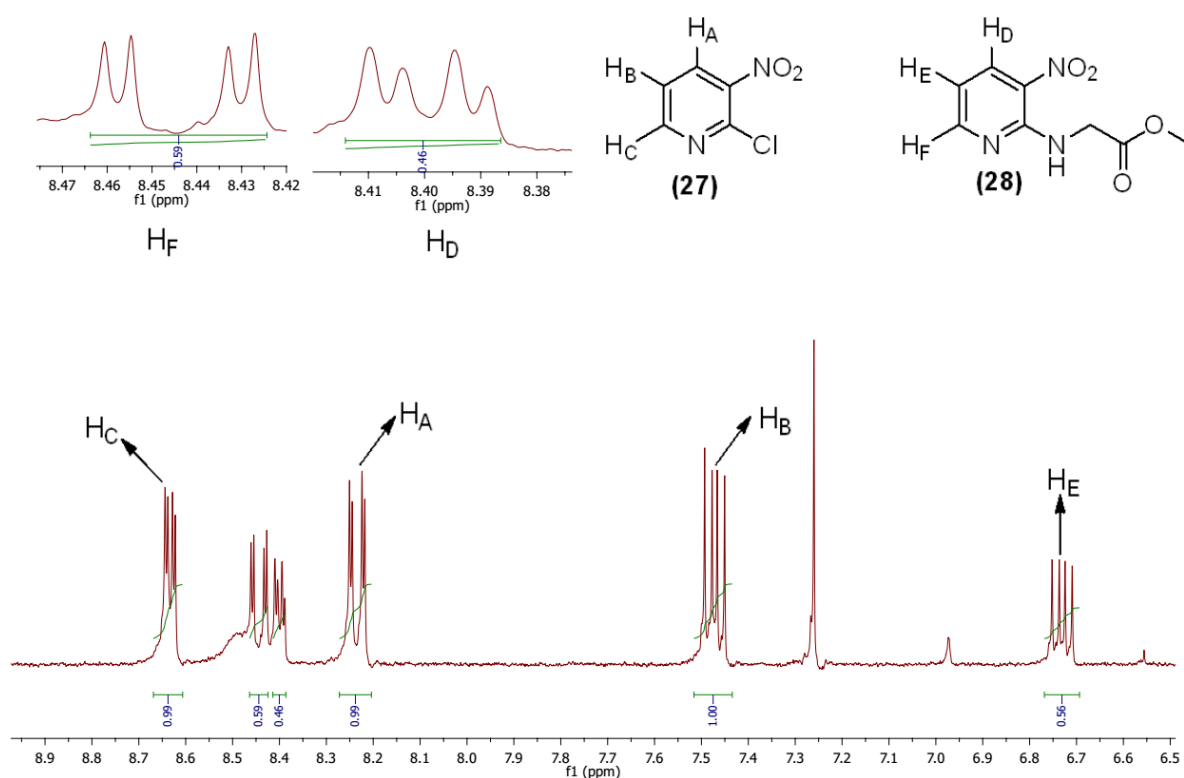


Figura 15 – Ampliação do espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) na região dos hidrogênios aromáticos do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et_3N , 12 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

Com o objetivo de aumentar o rendimento da etapa reacional que envolve a conversão do material de partida (27) no análogo 28, aumentou-se o tempo de reação da síntese para 24 horas. No entanto, notou-se, pelo espectro de RMN ^1H 300 MHz (Figura 16), uma diminuição da proporção do produto formado (28).

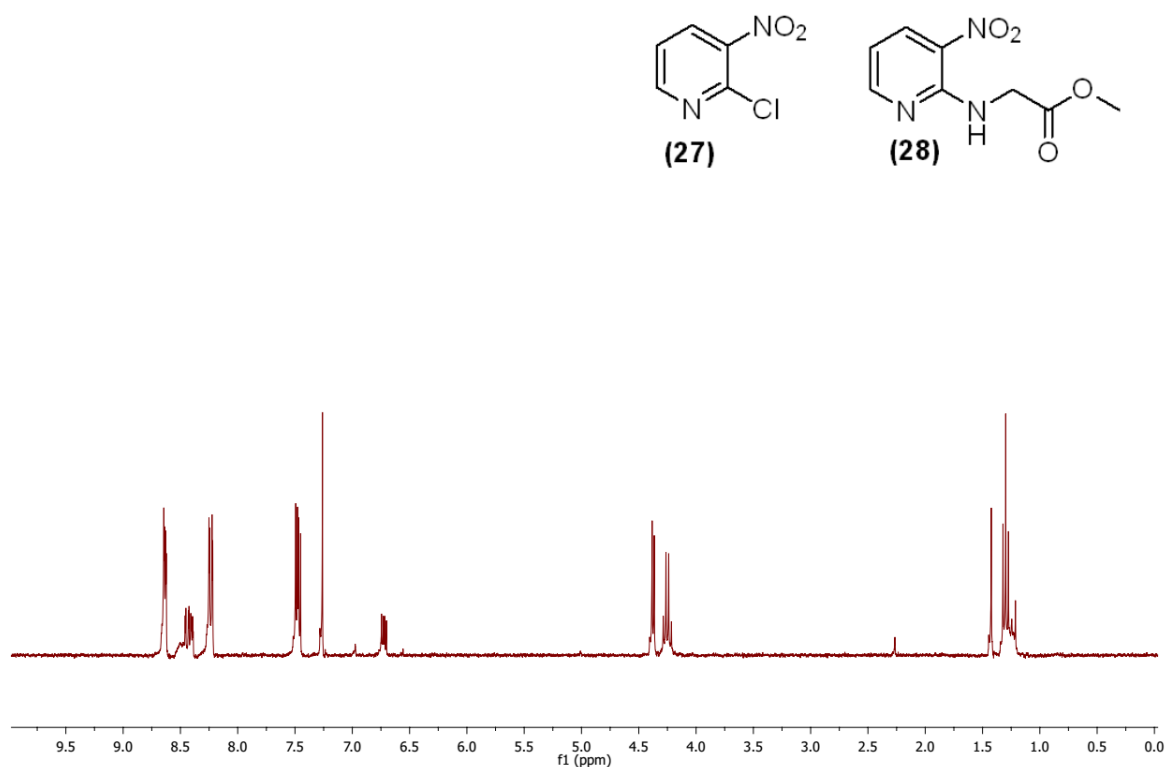


Figura 16 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) da mistura do compostos comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et₃N, em 24 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

Pelos cálculos das integrais dos hidrogênios dos aromáticos, foi possível obter aproximadamente 30% de conversão do aromático comercial **27** em relação ao análogo **28**, comparando os sinais de hidrogênio aromático deste compostos (Figura 17).

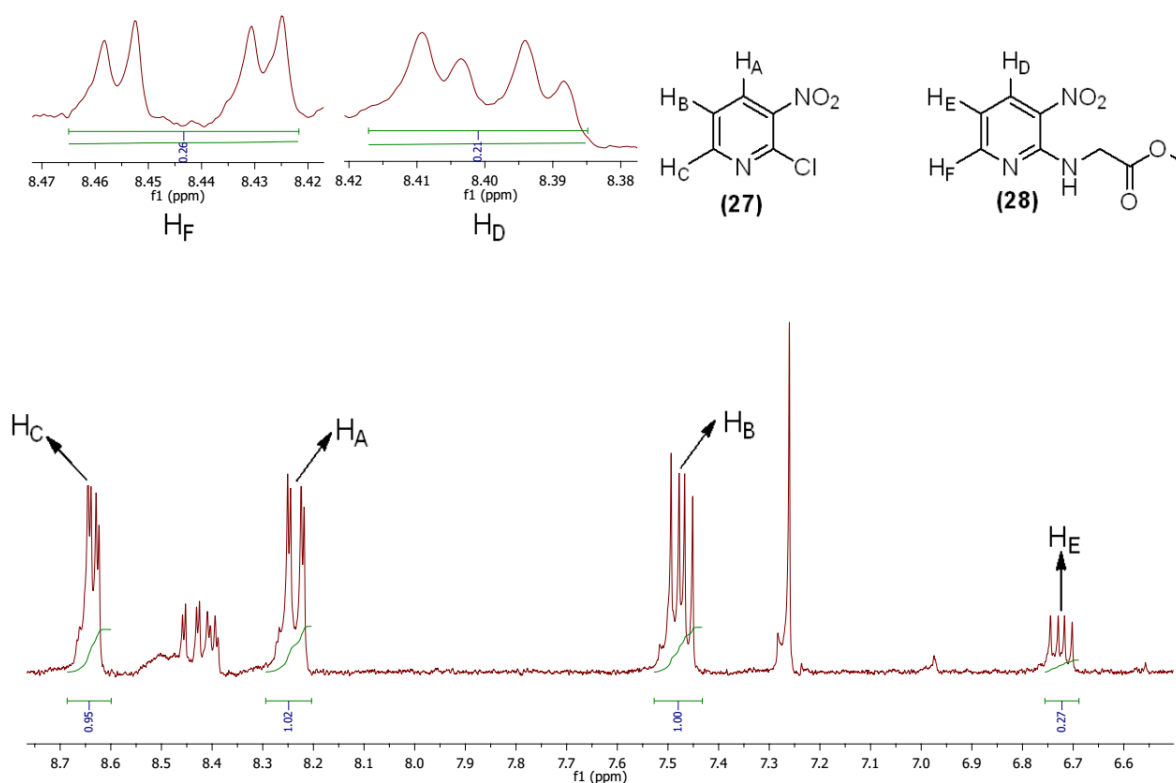
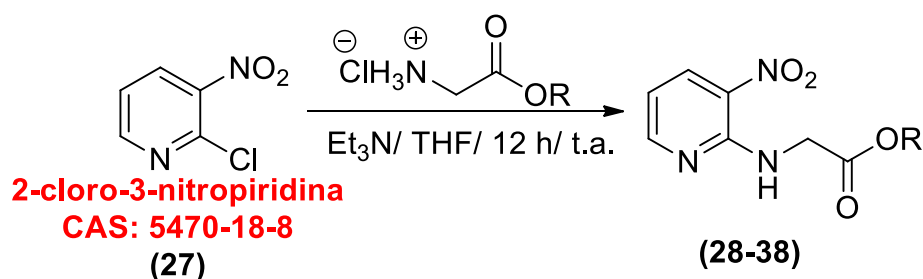


Figura 17 – Ampliação do espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) na região dos hidrogênios aromáticos do composto comercial (27) e do análogo (28), utilizando Et_3N , 24 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

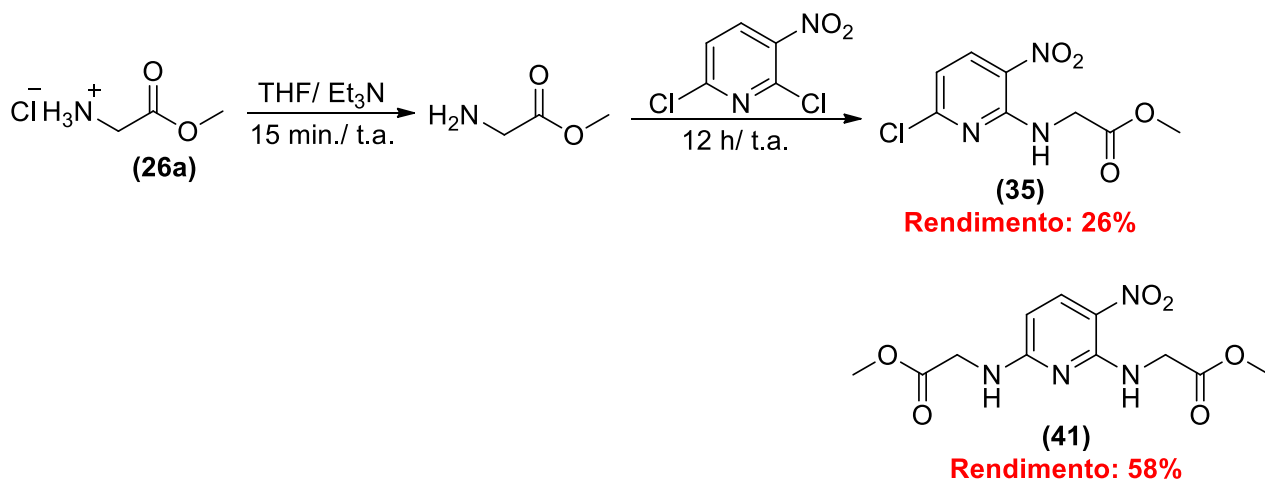
Finalmente, a condição reacional otimizada para os análogos monossustituídos (28-33, Esquema 5) se deu com a utilização da Et_3N como base, em 12 horas de reação.



Esquema 4 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) do aromático comercial (27) com os cloretos de amônio acetato 26 a-f, para obtenção dos análogos (28-33).

Fonte: Autor, 2017.

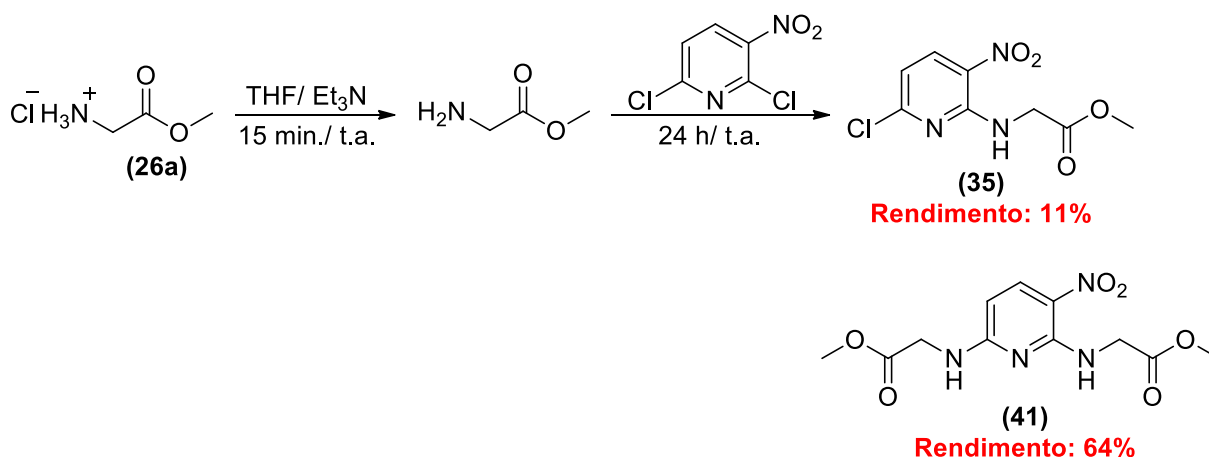
A mesma metodologia foi utilizada para obtenção dos análogos **35-40** e **41-46**, no qual se obteve a mistura dos produtos monossubstituído e dissustituídos. No esquema 5 está ilustrado a formação dos análogos (**35**) e (**41**) com seus valores de rendimentos.



Esquema 5 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (**34**) com os cloretos de amino acetato **26 a-f**, para obtenção dos análogos (**35**) e (**41**), em 12 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

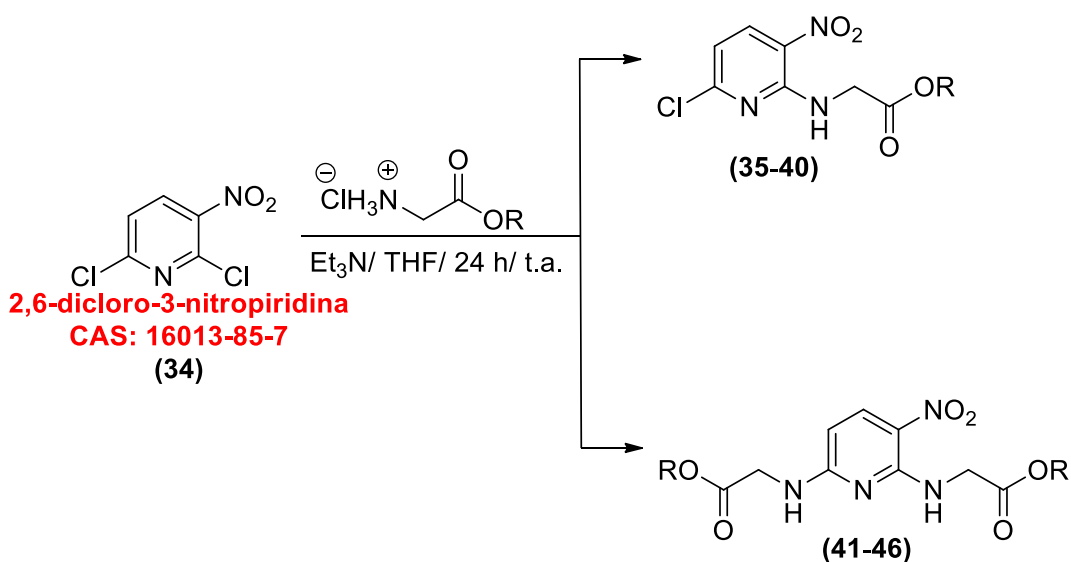
Para obtenção dos produtos com melhores rendimentos, o tempo de reação foi alterado para 24 horas, no qual levou ao aumento no rendimento do análogo **41**, porém houve uma diminuição na formação do composto **35** (Esquema 6).



Esquema 6 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (34) com os cloretos de amíneo acetato 26 a-f, para obtenção dos análogos (35) e (41), em 24 horas de reação.

Fonte: Autor, 2017.

Assim, a metodologia para produção dos análogos 35 e 41 foi similar, no entanto, para obtenção do composto 35, as quantidades dos reagentes na reação, foram diminuídas levando ao aumento no rendimento do composto para 64%. Portanto, para obtenção dos análogos 35-40 e 41-46, foi otimizado em tempo reacional de 24 horas, alterando apenas na proporção dos reagentes na reação. No esquema 7 está ilustrado a condição reacional.

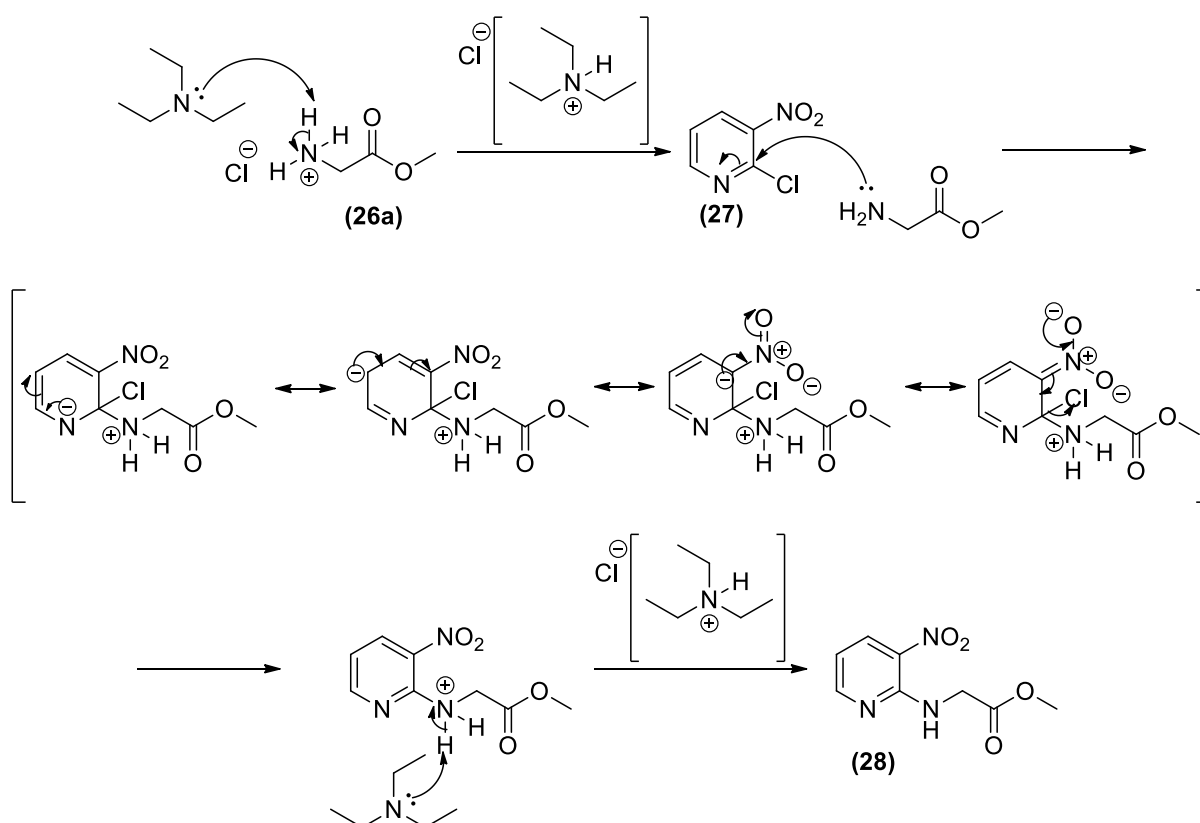


Esquema 7 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (34) com os cloretos de amíneo acetato 26 a-f, para obtenção dos análogos 35-40 e 41-46.

Fonte: Autor, 2017.

A reação para a produção dos análogos ocorre com a desprotonação dos cloretos de amíno acetato em meio básico (Et_3N), levando aos amíno acetato que atuam como nucleófilos. O carbono do reagente aromático ligado ao grupo abandonador é o grupo reativo. Após a adição do amíno acetato, a carga resultante negativa é estabilizada pela ressonância do sistema aromático, auxiliada pelos grupos retiradores de elétrons (NO_2), presentes no composto aromático (Carey, 2007). Em seguida o cloreto é eliminado do intermediário, conduzindo à formação dos compostos planejados.

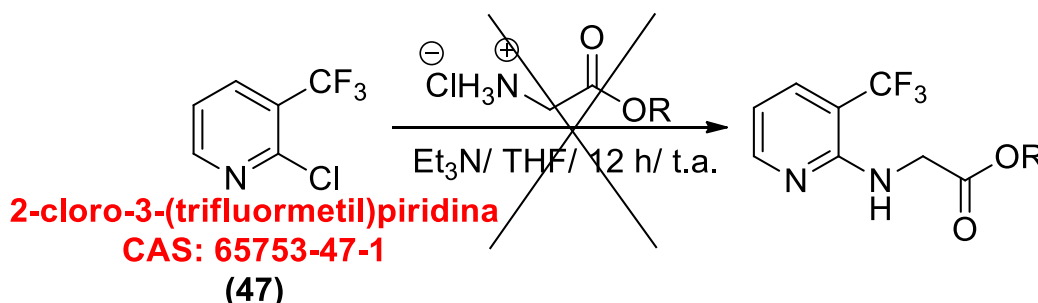
No esquema 8 está ilustrada a proposta do mecanismo da reação de substituição nucleofílica aromática entre o composto aromático **27** e o cloreto de amíno acetato **26a** com a formação de **28**, sendo que este é similar para os demais compostos **29-33** e **35-46**.



Esquema 8 – Proposta do mecanismo de reação de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ para obtenção do composto **28**.

Fonte: Autor, 2017.

Para as reações do composto comercial 2-cloro-3-(trifluormetil)piridina (**47**) foi utilizado o mesmo procedimento experimental para obtenção dos análogos 28-33, porém nestas condições, não houve formação de produtos (Esquema 9).

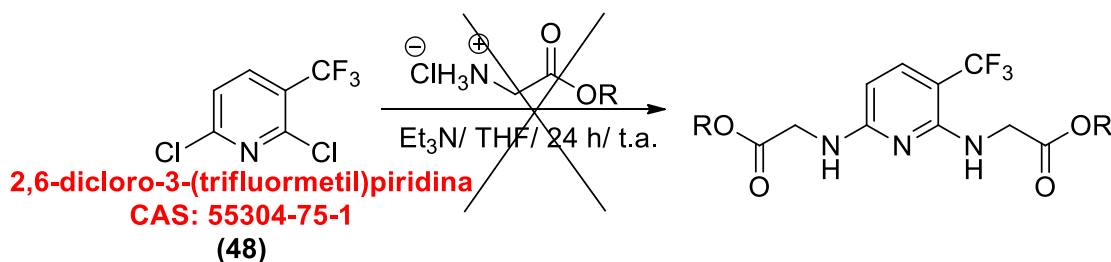


Esquema 9 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (**47**) com os cloretos de amíno acetato **26 a-f**.

Fonte: Autor, 2017.

O procedimento experimental foi modificado pelo aumento no tempo de reação da síntese, que foi realizada em 24 horas, e mesmo assim, não houve formação de produto esperado. Na segunda condição reacional, com mudança da temperatura para 40 °C, em 24 horas, também não foi possível obter os análogos.

Para as reações com o composto comercial 2,6-dicloro-3-(trifluormetil)piridina (**48**), também não foram possíveis obter os análogos desejados. A metodologia adotada foi à mesma para obtenção dos compostos **35-46**, no entanto, não foi possível obter os análogos nesta condição reacional (Esquema 10).



Esquema 10 – Reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) do aromático comercial (**48**) com os cloretos de amíno acetato **26 a-f**.

Fonte: Autor, 2017.

As modificações na metodologia foram similares para as reações com o composto **48**, sendo a primeira mudança o aumento na temperatura para 40 °C e a

segunda condição foi a substituição do meio básico por hidreto de sódio, no entanto, nas duas condições, não houve formação dos compostos.

Neste trabalho foi possível obter 18 análogos sintéticos, com rendimentos variados, sendo que alguns derivados foram obtidos com bons rendimentos, variando de 75% a 88% e outros com rendimentos baixos em torno de 40% a 65%.

3.4 Avaliação frente à atividade antimalárica

Os ensaios para avaliação da atividade de inibição de *P. falciparum*-3-d7 foram realizados sob a coordenação do Prof. Dr. Rafael Victorio Carvalho Guido, Prof. Dr. Glaucius Oliva e a Dra. Anna Caroline C. Aguiar, do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (IFSC-USP), um grupo oficialmente credenciado na Organização Mundial de Saúde para ensaios antiparasitários visando identificar *hits* e *leads*. Devido à baixa concentração dos análogos **38**, **39** e **40** obtidos, apenas os demais compostos foram avaliados. O ensaio antimalárico baseia-se na determinação da concentração de inibição média (CI₅₀) do protozoário, expostos a dosagem seriada dos análogos. Os compostos foram testados em concentrações entre 50 e 0,75 µM, sendo o artesunato utilizado como controle positivo.

Dos análogos avaliados apenas os compostos **42** e **46** mostraram-se ativos. Na tabela 1 estão descritos os valores de CI₅₀ obtidos para os dois compostos, e para o controle positivo artesunato. Os demais foram considerados inativos CI₅₀ acima de 20 µM.

Tabela 1: Valores da CI₅₀ obtidos no ensaio antimalárico com *P. falciparum* (3-d7).

Compostos	<i>P. falciparum</i> CI ₅₀ (µM)		
	Exp. 1	Exp. 2	Média
42	6,2	4,4	5,0
46	5,7	3,3	5,0
Artesunato	0,006	0,004	0,005

Fonte: Autor, 2017.

Adicionalmente, os compostos ativos (**42** e **46**) foram submetidos a ensaios de toxicidade com linhagem celular de hepatoma humano (HepG2). Os resultados obtidos mostraram que ambos os compostos apresentaram baixa toxicidade. A tabela 2 ilustra os valores de CI_{50} para os compostos e para o controle positivo.

Tabela 2: Valores de CI_{50} dos análogos 42 e 46 obtidos no ensaio de toxicidade com células HepG2.

Compostos	HepG2 CI_{50} (μM)		
	Exp. 1	Exp. 2	Média
42	>250	>250	>250
46	>250	>250	>250
Artesunato	288	313	305

Fonte: Autor, 2017.

O Índice de Seletividade (IS) foi determinado para ambos os compostos e estão dispostos na Tabela 3. Os compostos **42** e **46** mostraram-se seletivos, indicando que os análogos são ativos para o parasita sem causar danos para as outras células.

Tabela 3: Índice de Seletividade (IS) dos análogos **42** e **46**.

Compostos	IS
42	>50
46	>50
Artesunato	61000

Fonte: Auto, 2017.

Os análogos sintéticos **42** e **46** revelaram-se como antimaláricos potentes na inibição de cepas de *P. falciparum* e, também, mostraram-se seletivos com baixa citotoxicidade.

3.5 Avaliação das atividades antichagásica e leishmanicida

A avaliação das atividades antichagásica e leishmanicida foi realizada em colaboração com a Dr^a. Carolina Borsoi Moraes do Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), do Centro de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM).

Os ensaios foram efetuados utilizando células humanas U2OS infectadas com o protozoário da espécie *Trypanosoma cruzi*, para atividade antichagásica. Para a avaliação leishmanicida, foram utilizadas células humanas THP-1 infectadas com a forma promastigota de *Leishmania infantum*.

Estes ensaios consistem em medir a concentração de efeito em 50% de redução de infecção (CE₅₀) do protozoário nas células testadas, com isto, foi avaliado o potencial das atividades antichagásica e leishmanicida, dos compostos sintéticos, em comparação com os controles positivos benzonidazol e anfotericina B, respectivamente. Dos análogos sintéticos obtidos, apenas os compostos **28**, **29**, **30**, **32**, **33**, **35**, **36**, **37** e **41-46** foram submetidos aos testes devido à quantidade de massa disponível. Contudo, os compostos avaliados foram considerados inativos nos ensaios realizados, apresentando CE₅₀ maior que 10 µM para ambos os ensaios.

4. CONCLUSÕES

A presente pesquisa resultou na síntese de 18 derivados piridínicos tendo como modelo o alcaloide (-)-espectralina. O processo sintético fundamentado em reações simples de S_NAr, teve como material de partida as substâncias aromáticas comerciais **27** e **34**. A tentativa de obter compostos antiparasitários análogos à (-)-espectralina foi baseada no artigo de Melo e colaboradores (2014), tendo como base que os alcaloides naturais (-)-cassina/(-)-espectralina apresentaram atividade leishmanicida (CI₅₀ = 24,9 µg/mL). No entanto, nenhum dos compostos sintetizados mostrou-se ativo com relação à atividade leishmanicida.

Já com relação à atividade antimalárica, os análogos **42** e **46** mostraram-se ativos com CI₅₀ = 5,0 µM (ambos) e seletivos (IS >50), frente à inibição de cepas de *Plasmodium falciparum*, indicativos de bons *hits* para a atividade antimalárica. Os dados obtidos são importantes, pois corroboram os estudos desenvolvidos por Pivatto e colaboradores (2014), no qual o alcaloide (-)-espectralina apresentou potente atividade antimalárica (CI₅₀ = 2,76 µM), substância natural utilizada como modelo para o procedimento de simplificação molecular, isosterismo clássico e

funcional empregada para planejamento e síntese dos derivados obtidos neste estudo.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Reagentes e solventes

As reações envolvendo condições anidras, foram realizadas sob atmosfera inerte de argônio, onde os solventes, diclorometano (CH_2Cl_2) e tetrahidrofurano (THF), foram previamente tratados com hidreto de sódio/ sódio metálico. Os reagentes descritos a seguir utilizados para as reações foram adquiridos comercialmente e utilizados sem prévio tratamento: cloreto de tionila (Vetec), trietilamina (Et_3N - Dinâmica), hidróxido de potássio 85% (KOH - Vetec), *N,N'*-diciclo-hexilcarbodiimida (DCC, Sigma-Aldrich), 4-dimetilaminapiridino (DMAP, Sigma-Aldrich), glicina, 2-cloro-3-nitropiridina (Sigma-Aldrich), 2,6-dicloro-3-nitropiridina (Sigma-Aldrich), 2-cloro-5-(trifluormetil)pirazina (Sigma-Aldrich), hidreto de sódio 60% (NaH, Sigma-Aldrich) e 1,4-dioxano (Sigma-Aldrich).

5.2 Métodos cromatográficos

As separações das substâncias obtidas foram feitas por cromatografia em coluna utilizando sílica gel (230-400 mesh, Sigma-Aldrich), e hexano (Hex), acetato de etila (AcoEt), acetonitrila (ACN), metanol (MeOH) e água como eluentes. As análises utilizando Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foram realizadas em placas de alumínio impregnadas com sílica gel 60 (Macherey-Nagel), com indicador de fluorescência UV_{254} .

As análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram realizadas em equipamento Shimadzu com bomba A (água) e B (solvente orgânico) LC-6AD, degasser DGU-20A_{5R}, injetor automático (modo analítico) SIL-10AF, injetor manual (modo preparativo) Rheodyne, detector SPD-M20A e controladora CBM-20. No modo analítico, foi utilizada a coluna analítica Phenomenex Luna C18, dimensões de 250 x 4,60 mm e partícula com tamanho de 5,0 μm . As separações em modo preparativo foram realizadas com coluna preparativa Phenomenex Luna C18, dimensões de 150 x 21,20 mm e partícula com tamanho de 5,0 μm .

5.3 Análises espectrométricas

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN ^1H e ^{13}C) foram obtidos em equipamento Bruker Fourier 300 MHz (7,1 T), acoplado com sonda Easy Probe Dul 300 MHz S1 5mm z Gradient com dois canais para ^1H e ^{13}C , detecção inversa com sensibilidade superior para ^{13}C , auto sintonizável, com bobina de gradiente z (55 G/cm) e temperatura de análise de 5 a 65°C. Além disso, o aparelho possui softwares Windows 7 e TopSpin 3.2.

Outros espectros de RMN ^1H e ^{13}C , assim como o DEPT 135 e os bidimensionais (HSQC e HMBC) foram adquiridos no equipamento da Bruker Avance III 600 MHz (14,1 T), acoplado com sonda *Triple Inverse TCI Cryo-probehead*, com criogênica de 5 e detecção inversa de três canais para ^1H , ^{13}C e ^{15}N , bobina gradiente em z (50 G/m), em temperatura de análise de 0 a 80°C e sistema ATMA para os três canais. Ademais, o aparelho possui Windows 7, TopSpin 3.2 e IconNMR.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados pelo sinal de água (D_2O), clorofórmio (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido ($\text{DMSO-}d_6$) deuterados (4,79; 7,26 e 2,50 ppm, respectivamente, para RMN ^1H e clorofórmio em 77,16 ppm, para RMN ^{13}C). A multiplicidade dos sinais dos hidrogênios nos espectros de RMN ^1H foi indicada segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete), t (triplete), q (quadruplete), dd (duplo duplete) e m (multiplete).

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em equipamento VERTEX 70 (BRUKER) com transformada de Fourier, no modo ATR, com detector DLaTGS e faixa de leitura de 400 a 4000 cm^{-1} .

5.4 Ensaios biológicos

5.4.1 Ensaio antimalárico com cepas de *Plasmodium falciparum* (3D7)

Os análogos **28-33**, **35-37** e **41-46** foram avaliados para detecção de parasitose em sangue contaminado com cepas de *Plasmodium falciparum* 3D7. Os estágios de anel sincronizados de sorbitol foram incubados com os compostos **28-**

33, 35-37 e 41-46, previamente diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) 0,05% (v/v). Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados foram comparados com as culturas de controle em meio completa onde não continha composto teste nem controle positivo. A cloroquina foi utilizada como controle antipalúdico. Os efeitos dos compostos foram medidos por meio de ensaio *SYBR Green*. As placas foram centrifugadas a 700 g durante 5 minutos a temperatura ambiente para remover o meio, lavadas com 1X PBS e incubadas durante 30 min com solução tampão de lise [2.4228 g TRIS, ultra-puro (para solução 20 mM), pH 7,5, 1,8612 g de EDTA 5 mM ultrapura (para solução 5 mM); 80 µg de saponina (0,008% p / v); 800 µL de Triton X 100 (0,08% v / v), água Tipo I] e SYBR Green I DNA (1:20000). A fluorescência foi medida em fluorímetro (Spectra Max340PC384) a 485/535 nm.

A Concentração Média Inibitória (CI₅₀) foi estimada por ajustamento de curva utilizando software da OriginLab Corporation e comparado com o crescimento do parasita no meio isento de fármaco.

5.4.2 Ensaio leishmanicida da forma promastigota de *L. infantum*

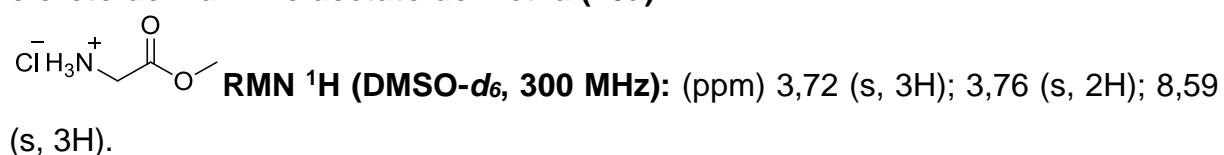
Os ensaios biológicos para atividade leishmanicida, para os análogos **28, 29, 30, 32, 33, 35, 36, 37 e 41-46**, foi realizada utilizando células humanas THP-1 infectadas com a forma promastigota de *L. infantum*. As células THP-1 foram plaqueadas em placas de 384 poços, em meio contendo PMA e incubado em período de 48 horas. Em seguida, foi adicionada a forma promastigota de seis dias de *L. infantum* e após 24 horas de infecção, foi adicionado o controle negativo (0,5% DMSO) e o controle positivo (10 µM de anfotericina B). Antes de adição dos compostos, as amostras foram diluídas em série (fator de diluição = 2), a partir de 100 µM. Antes da leitura no microscópio Operetta, as placas foram fixadas com 4% de PFA e coradas com *Draq 5*. O sistema de imagem automatizado de alto conteúdo da Operetta foi usado para adquirir imagens e o *software Harmony* foi otimizado para produzir parâmetros múltiplos de leitura: número de células do hospedeiro, relação de infecção e número de parasitas por célula infectada.

5.5 Métodos sintéticos

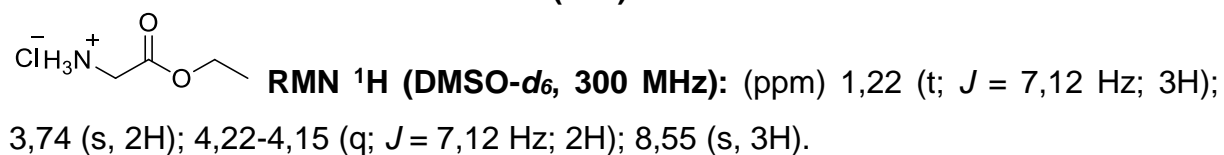
5.5.1 Procedimento para obtenção dos cloretos de amínio acetato **26 a-f**

A uma suspensão contendo glicina (5,0 mmol) e álcool (metanol, etanol, n-propanol, n-butanol, 1-petanol e 1-hexanol, 53,0 mmol), sob fluxo de argônio a 0 °C, foi adicionado gota a gota o cloreto de tionila (16,0 mmol). Em seguida, a suspensão foi mantida sob agitação a 60 °C, por 12 horas. O sistema tornou-se homogêneo, sendo que para sua finalização, a solução foi concentrada sob pressão reduzida, levando à formação dos cloretos de amíno acetato **26 a-f** com rendimentos superiores a 98%.

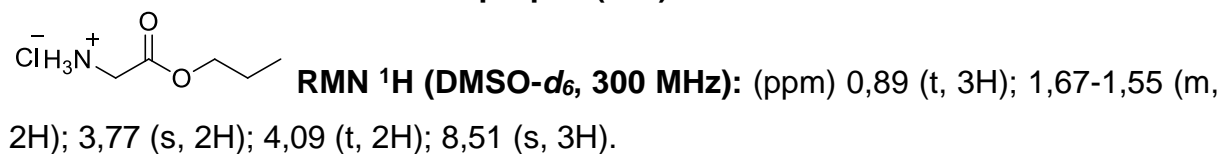
cloreto de 2-amíno acetato de metila (26a)



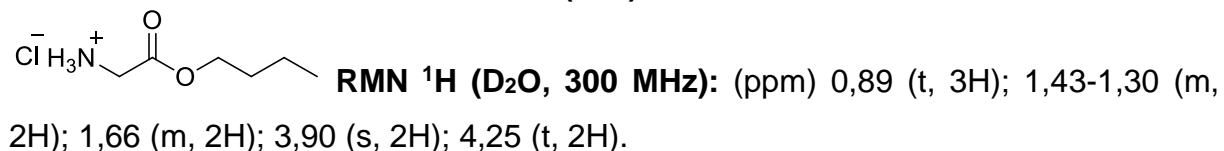
cloreto de 2-amíno acetato de etila (26b)



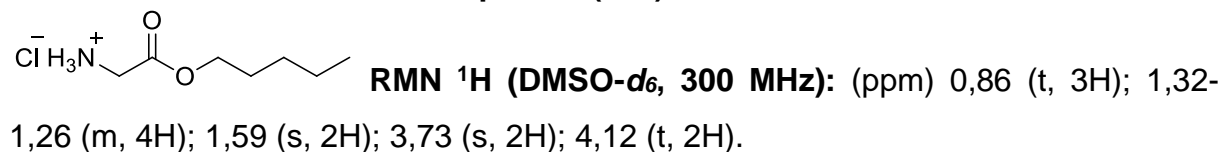
cloreto de 2-amíno acetato de propila (26c)



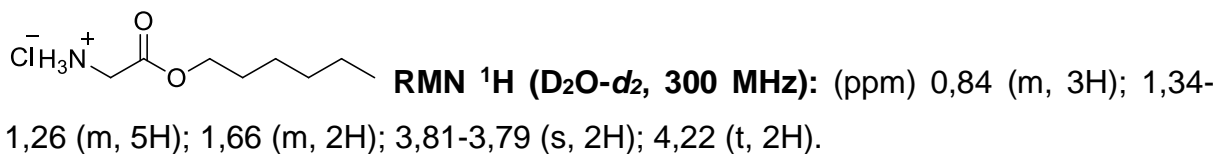
cloreto de 2-amíno acetato de butila (26d)



cloreto de 2-amíno acetato de pentila (26e)



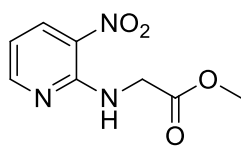
cloreto de 2-amíno acetato de hexila (26f)



5.5.2 Preparação dos compostos **28-33**.

A uma suspensão contendo o cloreto de amônio acetato (3,0 eq/mmol) em 3,0 mL de THF, adicionou-se Et₃N (6,0 eq/mmol) sob agitação magnética a temperatura ambiente. Após 15 minutos, foi adicionado o 2-cloro-3-nitropiridina (1 eq/mmol), mantendo-se sob agitação magnética por 12 horas, e temperatura ambiente. Em seguida, a suspensão foi filtrada e o filtrado foi lavado com porções de THF (3 x 2,0 mL). A solução resultante foi concentrada sob pressão reduzida e o produto foi purificado por cromatografia em coluna (40% AcOEt/Hex), CCD preparativo (40% AcOEt/Hex) e CLAE (25% ACN/H₂O) e (45% ACN/H₂O).

[(3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de metila (**28**)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 3,79 (s, 3H); 4,39 (d, *J* = 5,68 Hz; 2H); 6,73 (dd, *J* = 4,60; 8,30 Hz; 1H); 8,39 (dd, *J* = 1,38; 4,50 Hz; 1H); 8,44 (dd, *J* = 1,64; 8,30 Hz; 1H); 8,48 (s, 1H).

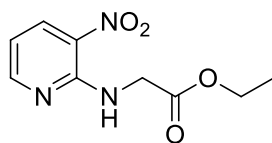
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 43,12; 52,54; 112,87; 128,93; 135,34; 152,01; 155,04; 170,57.

IV (ATR, cm⁻¹): 3378, 1744, 1607, 1564, 1500, 1442, 1347.

Rf 0,42 (40% ACN/H₂O)

Rendimento: 9%

[(3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de etila (**29**)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 1,29 (t, *J* = 7,14 Hz; 3H); 4,25 (q, *J* = 7,14 Hz; 2H); 4,37 (d, *J* = 5,46 Hz; 2H); 6,72 (dd, *J* = 4,57; 8,27 Hz; 1H); 8,39 (dd, *J* = 1,64; 4,57 Hz; 1H); 8,44 (dd, *J* = 1,64; 8,29 Hz; 1H); 8,49 (s, 1H).

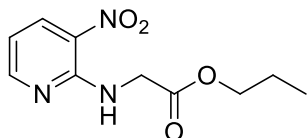
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 14,31; 43,34; 61,62; 112,79; 128,88; 135,33; 152,05; 155,40; 170,07.

IV (ATR, cm⁻¹): 3375, 1728, 1611, 1566, 1507, 1442, 1341.

Rf 0,50 (45% ACN/H₂O)

Rendimento: 19%

[(3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de propila (30)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,93 (t, 3H); 1,68 (m, 2H); 4,15 (t, 2H); 4,38 (d, *J* = 5,45 Hz; 2H); 6,72 (dd, *J* = 4,53; 8,29 Hz; 1H); 8,39 (dd, *J* = 1,51; 4,49 Hz; 1H); 8,44 (dd, *J* = 1,66; 8,27 Hz; 1H); 8,50 (s, 1H).

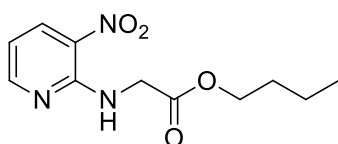
RMN ¹³C (CDCl₃-*d*, 150 MHz, ppm): 10,42; 22,06; 43,34; 67,14; 112,78; 128,88; 135,33; 152,05; 155,40; 170,13.

IV (ATR, cm⁻¹): 3381, 1729, 1608, 1569, 1505, 1443, 1390.

Rf 0,53 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 9%

[(3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de butila (31)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,92 (t, 3H); 1,37 (m, 2H); 1,64 (m, 2H); 4,19 (t, 2H); 4,37 (d, *J* = 5,42 Hz; 2H); 6,72 (dd, *J* = 4,49; 8,27 Hz; 1H); 8,39 (dd, *J* = 1,68; 4,52 Hz; 1H); 8,44 (dd, *J* = 1,66; 8,27 Hz; 1H); 8,50 (s, 1H).

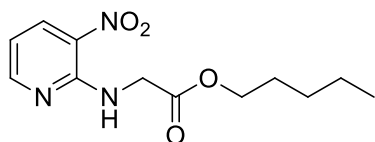
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 13,80; 19,16; 30,69; 43,36; 65,46; 112,79; 135,39; 152,06; 155,40; 170,14.

IV (ATR, cm⁻¹): 3391, 1742, 1604, 1573, 1502, 1443, 1346.

Rf 0,64 (50% AcOEt/Hex)

Rendimento: 56%

[(3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de pentila (32)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,89 (t, 3H); 1,35-1,30 (m, 4H); 1,65 (m, 2H); 4,19 (t, 2H); 4,37 (d, *J* = 5,47 Hz; 2H); 6,72 (dd, *J* = 4,56; 8,27 Hz; 1H); 8,34-8,39 (dd, *J* = 1,65; 4,54 Hz; 1H); 8,44 (dd, *J* = 1,70; 8,32 Hz; 1H); 8,50 (s, 1H).

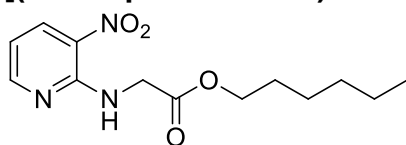
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 14,11; 22,41; 28,09; 28,38; 43,38; 65,75; 112,80; 128,90; 135,35; 152,08; 155,41; 170,15.

IV (ATR, cm⁻¹): 3392, 1740, 1607, 1570, 1502, 1445, 1349.

Rf 0,60 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 88%

[(3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de hexila (33)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,88 (m, 3H); 1,35-1,27 (m, 6H); 1,65 (m, 2H); 4,18 (t, 2H); 4,3237 (d, *J* = 5,49 Hz; 2H); 6,72 (dd, *J* = 4,48; 8,25 Hz; 1H); 8,39 (dd, *J* = 1,63; 4,52 Hz; 1H); 8,44 (dd, *J* = 1,64; 8,25 Hz; 1H); 8,50 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 14,13; 22,67; 25,61; 28,64; 31,51; 43,38; 65,76; 112,80; 128,89; 135,34; 152,07; 155,40; 170,14.

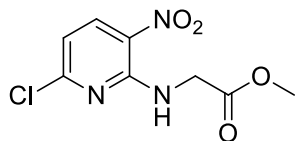
IV (ATR, cm⁻¹): 3391, 1741, 1607, 1570, 1501, 1445, 1347.

Rf 0,68 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 43%

5.5.3 Preparação dos compostos 35-40

A uma suspensão contendo o cloreto de amônio acetato (2,0 eq/mmol) em 3,0 mL de THF, foi adicionado Et₃N (4,0 eq/mmol) sob agitação magnética e temperatura ambiente. Após 15 minutos a 2,6-dicloro-3-nitropiridina (1,0 eq/mmol) foi adicionada, e a reação foi mantida sob agitação, em temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, a suspensão foi filtrada e lavada com THF (3 x 2,0 mL). A solução resultante foi concentrada sob pressão reduzida, e o produto purificado por CCD preparativo (40% AcOEt/Hex).

[(6-cloro-3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de metila (35)

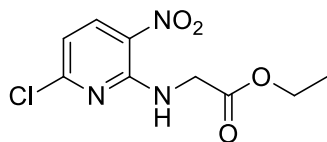
RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 3,81 (s, 3H); 4,38 (d, *J* = 5,31 Hz; 2H); 6,70 (d; *J* = 8,60 Hz; 1H); 8,38 (d; *J* = 8,58 Hz; 1H); 8,61 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃-d, 150 MHz, ppm): 43,26; 52,72; 113,06; 127,50; 137,78; 151,66; 156,60; 170,00.

IV (ATR, cm⁻¹): 3379, 1729, 1597, 1562, 1490, 1374.

Rf 0,87 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 64%

[(6-cloro-3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de etila (36)

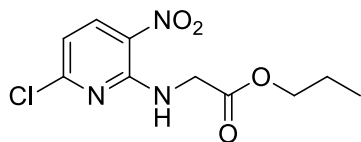
RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 1,31 (t; *J* = 7,18 Hz; 3H); 4,26 (q; *J* = 7,16 Hz; 2H); 4,35 (d, *J* = 5,31 Hz; 2H); 6,69 (d; *J* = 8,63 Hz; 1H); 8,37 (d; *J* = 8,61 Hz; 1H); 8,62 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 14,32; 43,51; 61,84; 112,97; 127,48; 137,77; 151,67; 156,58; 169,50.

IV (ATR, cm⁻¹): 3371, 1733, 1603, 1563, 1498, 1344.

Rf 0,83 (20% AcOEt/Hex/MeOH)

Rendimento: 60%

[(6-cloro-3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de propila (37)

RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,95 (t, 3H); 1,70 (m, 2H); 4,17 (t, 2H); 4,36 (d, *J* = 5,26 Hz; 2H); 6,69 (d; *J* = 8,60 Hz; 1H); 8,37 (d; *J* = 8,62 Hz; 1H); 8,63 (s, 1H).

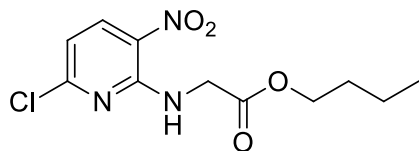
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 10,45; 22,07; 43,50; 67,37; 112,97; 127,48; 137,76; 151,68; 156,60; 169,56.

IV (ATR, cm⁻¹): 3377, 1737, 1604, 1566, 1490, 1405.

Rf 0,87 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 45%

[(6-cloro-3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de butila (38)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,93 (t, 3H); 1,39 (m, 2H); 1,65 (m, 2H); 4,21 (t, 2H); 4,36 (d, *J* = 5,37 Hz; 2H); 6,69 (d; *J* = 8,58 Hz; 1H); 8,38 (d; *J* = 8,57 Hz; 1H); 8,62 (s, 1H).

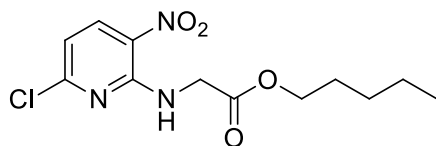
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 13,79; 19,17; 22,79; 30,70; 43,52; 65,68; 112,98; 137,76; 151,70; 156,61; 169,58.

IV (ATR, cm⁻¹): 3380, 1741, 1603, 1563, 1490, 1385.

Rf 0,76 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 46%

[(6-cloro-3-nitropiridino-2-ila) amino] acetato de pentila (39)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,90 (m, 3H); 1,34-1,32 (m, 4H); 1,67 (m, 2H); 4,20 (t, 2H); 4,36 (d, *J* = 5,27 Hz 2H); 6,69 (d; *J* = 8,48 Hz; 1H); 8,38 (d; *J* = 8,53 Hz; 1H); 8,63 (s, 1H).

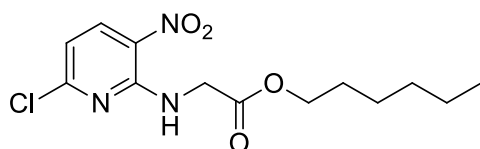
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 14,09; 22,41; 28,09; 28,38; 43,53; 65,97; 112,98; 137,76; 151,70; 156,61; 169,56.

IV (ATR, cm⁻¹): 3371, 1726, 1603, 1563, 1490, 1409.

Rf 0,86 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 37%

[(6-cloro-3-nitropirino-2-ila) amino] acetato de hexila (40)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,88 (m, 3H); 1,37-1,30 (m, 6H); 1,68-1,64 (m, 2H); 4,20 (t, 2H); 4,36 (d, *J* = 5,35 Hz; 2H); 6,69 (d; *J* = 8,46 Hz; 1H); 8,37 (d; *J* = 8,50 Hz; 1H); 8,62 (s, 1H).

RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3\text{-d}$, 150 MHz, ppm): 14,24; 22,76; 25,72; 28,75; 31,61; 43,63; 66,09; 113,08; 137,87; 151,80; 156,71; 169,67.

IV (ATR, cm^{-1}): 3380, 1741, 1603, 1563, 1506, 1393.

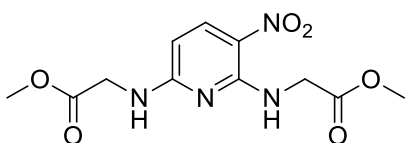
Rf 0,93 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 60%

5.5.4 Preparação dos compostos **41-46**

A uma suspensão contendo o cloreto de amônio acetato (4,0 eq/mmol) em 3,0 mL de THF, foi adicionado Et_3N (8,0 eq/mmol) sob agitação magnética e temperatura ambiente. Após 15 minutos a 2,6-dicloro-3-nitropiridina (1,0 eq/mmol) foi adicionada, e a reação foi mantida sob agitação, em temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, a suspensão foi filtrada e lavada com THF (3 x 2,0 mL). A solução resultante foi concentrada sob pressão reduzida, e o produto purificado por CCD preparativo (40% AcOEt/Hex).

2,2'-[(3-nitropiridino-2,6-diila) bisaminodiil] diacetato de dimetila (41)



RMN ^1H (CDCl_3 , 600 MHz, ppm): 3,76 (s, 3H); 3,79 (s, 3H); 4,15 (d, $J = 4,96$ 2H); 4,24 (d, $J = 5,59$ Hz, 2H); 5,71 (s, 1H); 5,90 (d; $J = 9,07$ Hz; 1H); 8,15 (d; $J = 9,12$ Hz; 1H); 8,98 (s, 1H).

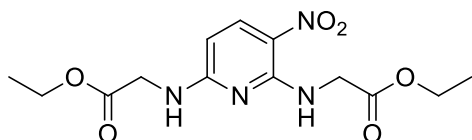
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 150 MHz, ppm): 43,25; 43,33; 52,41; 52,65; 120,50; 136,52; 153,55; 159,48; 170,49; 170,57.

IV (ATR, cm^{-1}): 3371, 1751, 1731, 1598, 1528, 1367, 1301.

Rf 0,14 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 61%

2,2'-[(3-nitropiridino-2,6-diila) bisaminodiil] diacetato de dietila (42)



RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 600 MHz, ppm): 1,20 (t, 6H);

4,05 (d, *J* = 5,77 Hz; 2H); 4,10 (q, 4H); 4,16 (d, *J* = 5,65 Hz; 2H); 6,09 (d; *J* = 9,11 Hz; 1H); 8,04 (d; *J* = 9,16 Hz; 1H); 8,47 (m, 1H); 9,06 (m, 1H).

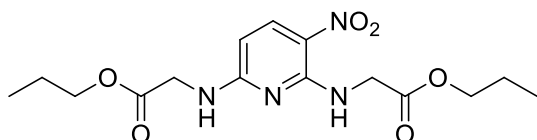
RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 150 MHz, ppm): 14,08; 42,59; 42,71; 60,45; 60,50; 101,39; 118,37; 135,14; 153,29; 159,97; 169,79; 169,85.

IV (ATR, cm⁻¹): 3367, 1745, 1728, 1595, 1530, 1422, 1301.

Rf 0,25 (20% AcOEt/Hex/MeOH)

Rendimento: 43%

2,2'-(3-nitropiridino-2,6-diila) bisaminodiiil] diacetato de dipropila (43)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,94 (m,

6H) 1,68 (m, 4H); 4,16-4,12 (m, 6H); 4,26 (d, *J* = 5,46 Hz, 2H); 5,68 (s, 1H); 5,90 (d; *J* = 9,02 Hz; 1H); 8,16 (d; *J* = 8,98 Hz; 1H); 9,01 (s, 1H).

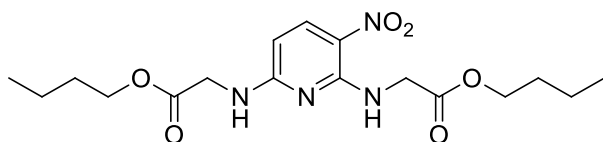
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 10,42; 10,44; 22,03; 22,05; 43,41; 43,46; 67,06; 67,43; 120,40; 136,46; 153,56; 159,44; 170,02; 170,22.

IV (ATR, cm⁻¹): 3331, 1731, 1593, 1534, 1441, 1390, 1365.

Rf 0,30 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 19%

2,2'-(3-nitropiridino-2,6-diila) bisaminodiiil] diacetato de dibutila (44)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm): 0,92

(m, 6H); 1,37 (m, 4H) 1,67-1,61 (m, 4H); 4,21-4,15 (m, 6H); 4,25 (d, *J* = 5,41 Hz; 2H); 5,67 (s, 1H); 5,89 (d; *J* = 8,98 Hz; 1H); 8,16 (d; *J* = 9,09 Hz; 1H); 9,01 (s, 1H).

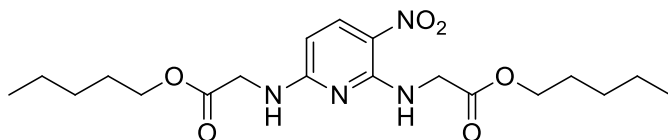
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 13,78; 19,12; 19,17; 30,67; 30,69; 43,43; 43,47; 65,35; 65,74; 120,40; 136,48; 153,57; 159,44; 170,04; 170,21.

IV (ATR, cm⁻¹): 3322, 1726, 1593, 1526, 1442, 1394, 1369

Rf 0,26 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 82%

2,2'-[(3-nitropiridino-2,6-diila) bisaminodiil] diacetato de dipentila (45)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz, ppm):

0,91-0,87 (m, 7H); 1,34-1,30 (m, 9H) 1,69-1,62 (m, 2H); 4,20-4,15 (m, 6H); 4,25 (d, $J = 5,40$ Hz; 2H); 5,67 (s, 1H); 5,89 (d; $J = 9,01$ Hz; 1H); 8,17 (d; $J = 9,07$ Hz; 1H); 9,01 (s, 1H).

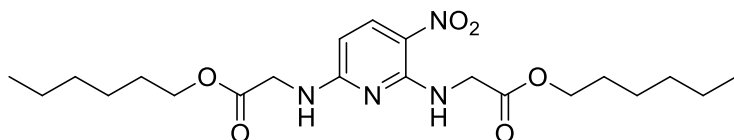
RMN ¹³C (CDCl₃, 150 MHz, ppm): 14,05; 14,07; 22,40; 28,06; 28,08; 28,36; 28,38; 43,44; 43,49; 65,63; 66,06; 120,40; 136,50; 153,57; 159,43; 170,03; 170,21.

IV (ATR, cm⁻¹): 3314, 1729, 1591, 1526, 1439, 1388, 1308.

Rf 0,37 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 87%

2,2'-[(3-nitropiridino-2,6-diila) bisaminodiil] diacetato de dihexila (46)



RMN ¹H (CDCl₃, 600 MHz,

ppm): 0,90-0,86 (m, 6H); 1,37-1,26 (m, 14H) 1,68-1,61 (m, 2H); 4,20-4,16 (m, 6H); 4,25 (d, $J = 5,43$ Hz; 2H); 5,66 (s, 1H); 5,89 (d; $J = 8,97$ Hz; 1H); 8,17 (d; $J = 9,06$ Hz; 1H); 9,01 (s, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃-d, 150 MHz, ppm): 14,12; 22,64; 25,60; 25,62; 28,63; 28,64; 31,39; 31,40; 43,45; 43,48; 65,65; 66,05; 120,42; 136,49; 153,56; 159,43; 170,04; 170,20.

IV (ATR, cm⁻¹): 3313, 1731, 1589, 1530, 1441, 1390, 1310.

Rf 0,39 (40% AcOEt/Hex)

Rendimento: 75%

REFERÊNCIAS

- ALVES, E.; IGLESIAS, B. A.; DEDA, D. K.; BUDU, A.; MATIAS, T. A.; BUENO, V. B.; MALUF, F. V.; GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G.; CATALANI, L. H.; ARAKI, K.; GARCIA, C. R. S. Encapsulation of metalloporphyrins improves their capacity to block the viability of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 11, p. 351-358, 2015.
- ANDRICOPULO, A.; FERREIRA, L. Medicinal chemistry approaches to neglected diseases drug discovery. **Journal of Modern Medicinal Chemistry**, v. 2, n. 1, p. 20-31, Mar. 2014.
- ASANO, M.; IWAHASHI, H. Determination of the structures of radicals formed in the reaction of antimalarial drug artemisinin with ferrous ion. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 127, p. 740-747, 2017.
- ASSERRAJI, M.; BELARDI, M.; ZEMRAOUI, N. Malaria vaccine: good news for african nephrologists. **Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation**, v. 27, n. 5, p. 1071-1072, 2016.
- BEKHIT, A. A.; HYMETE, A.; DAMTEW, A.; MOHAMED, A. M. I.; BEKHIT, A. el-D. A. Synthesis and biological screening of some pyridine derivatives as anti-malarial agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 69-77, 2012.
- BRAGA, E. M.; FONTES, C. J. F. *Plasmodium* - malária. In: NEVES, D. P. (Ed). **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap. 17, p. 143-162.
- CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. Aromatic substitution. In: _____. **Advanced organic chemistry Part A: structure and mechanisms**. 5th ed. New York: Springer Verlag, 2007. Chap. 9, p. 816-831.
- CARVALHO, S. A.; FEITOSA, L. O.; SOARES, M.; COSTA, T. E. M. M.; HENRIQUES, M. G.; SALOMÃO, K.; CASTRO, S. L. de; KAISER, M.; BRUN, R.; WARDELL, J. L.; WARDEL, S. M. S. V.; TROSSINI, G. H. G.; ANDRICOPULO, A. D.; SILVA, E. F. da; FRAGA, C. A. M. Design and synthesis of new (*E*)-cinnamic *N*-acylhydrazones as potent antitrypanosomal agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 512-521, June 2012.
- CENTRO DE PESQUISA E INOVAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E FÁRMACOS. **Sobre o CibFar**. São Carlos, 2013. Disponível em: <<http://cibfar.ifsc.usp.br/sobre-o-cibfar/>>. Acesso em: 28 mar. 2017.
- COSTA, E. C.; CASSAMALE, T. B.; CARVALHO, D. B.; BOSQUIROLI, L. S. S.; OJEDA, M.; XIMENES, T. V.; MATOS, M. F. C.; KADRI, M. C. T.; BARONI, A. C. M.; ARRUDA, C. C. P. Antileishmanial activity and structure-activity relationship of triazolic compounds derived, from the Neolignans Grandisin, Veraguensin, and Machilin G. **Molecules**, v. 21, p. 802-812, June 2016.

DEA-AYUELA, M. A.; BILBAO-RAMOS, P.; BOLÁS-FERNÁNDEZ, F.; GONZÁLES-CARDENETE, M. A. Synthesis and antileishmanial activity of C7- and C12-functionalized dehydroabietylamine derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 121, p. 445-450, June 2016.

DIAS, L. R. S.; SANTOS, M. B.; ALBUQUERQUE, S.; CASTRO, H. C.; SOUZA, A. M. T.; FREITAS, A. C. C.; DIVAIO, M. A. V.; CABRAL, L. M.; RODRIGUES, C. R. Synthesis, in vitro evaluation, and SAR studies of a potential antichagasic 1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine series. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 211-219, 2007.

DIAS, L. C.; MONTEIRO, G. C.; AMARANTE, G. W.; CONEGERO, L. S.; FINELLI, F. G. Stereoselective synthesis and analogues of the macrolactone of isomigrastatin. **Tetrahedron Letters**, v. 53, n. 6, p. 707-709, Feb. 2012.

[A DOENÇA de Chagas]. **Portal da Saúde**, mar. 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/646-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/doenca-de-chagas/l2-doenca-de-chagas/11113-descricao-da-doenca-de-chagas>>. Acesso em: 15 nov. 2016.

EFFERTH, T.; ZACCHINO, S.; GEORGIEV, M. I.; LIU, L.; WAGNER, H.; PANOSSIAN, A. Nobel Prize for artemisinin brings phytotherapy into the spotlight. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, v. 22, n. 13, p. A1-A3, 2015.

FERREIRA, L. G.; ANDRICOPULO, A. D. Drug repositioning approaches to parasitic diseases: a medicinal chemistry perspective. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 10, p. 1699-1710, Oct. 2016.

FREITAS JUNIOR, L. H.; CHATELAIN, E.; KIM, H. A.; SIQUEIRA NETO, J. L. Visceral leishmaniasis treatment: what do we have, what do we need and how to deliver it? **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 11-19, Dec. 2012.

HARRYR, R. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://roxanahanryr.blogspot.com.br/>>. Acesso em: 25 mar. 2017.

ISENMANN, A. F. Reações no grupo carbonila. In:_____. **Princípios da síntese orgânica**. 2. ed. Timóteo, 2013. Cap. 5, p. 356-453.

JAISSWAL, A. K.; RAO, K. B.; KUSHWAHA, P.; RAWAT, K.; MODUKURI, R. K.; KHARE, P.; JOSHI, S.; MISHRA, S.; RAI, A.; SASHIDHARA, K. V.; DUBE, A. Development of *Leishmania donovani* stably expressing DsRed for flow cytometry-based drug screening using chalcone thiazolyl-hydrazone as a new antileishmanial target. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 48, p. 695-702, Sept. 2016.

JOTHY, S. L.; TOREY, A.; DARAH, I.; CHOONG, Y. S.; SARAVANAN, D.; CHEN, Y.; LATHA, L. Y.; DEIVANAI, S.; SASIDHARAN, S. *Cassia spectabilis* (DC) Irwin et Barn: a promising traditional herb in health improvement. **Molecules**, v. 17, n. 9, p. 10292-10305, Aug. 2012.

KHAN, F. A. K.; ZAHEER, Z.; SANGSHETTI, J. N.; PATIL, R. H.; FAROOQUI, M. Antileishmanial evaluation of clubbed bis(indolyl)-pyridine derivatives: one-pot synthesis, in vitro biological evaluations and in silico ADME prediction. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, p. 567-573, 2017.

LANA, M.; TAFURI, W. L. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. In: NEVES, D. P. (Ed). **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap. 11, p. 85-108.

[A LEISHMANIOSE visceral]. **Portal da Saúde**, mar. 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/726-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-visceral-lv/11330-descricao-da-doenca>>. Acesso em: 15 nov. 2016.

[A MALÁRIA]. **Portal da saúde**. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/662-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/malaria/11343-informacoes-tecnicas>>. Acesso em: 29 jun. 2017.

MATTA, C. B. B. da; QUEIROZ, A. C.; SANTOS, M. S.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; GONÇALVES, V. T.; CISTIA, C. D. N.; SANT'ANNA, C. M. R.; COSTA, J. B. N. Novel dialkylphosphorylhydrazones: synthesis, leishmanicidal evaluation and theoretical investigation of the proposed mechanism of action. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 1-12, June 2015.

MELO, G. M. A.; SILVA, M. C. R.; GUIMARÃES, T. P.; PINHEIRO, K. M.; MATTA, C. B. B.; QUEIROZ, A. C.; PIVATTO, M.; BOLZANI, V. S.; VIEGAS JUNIOR, C. Leishmanicidal activity of the crude extract, fractions and major piperidine alkaloids from the flowers of *Senna spectabilis*. **Phytomedicine**, v. 21, n. 3, p. 277-281, Feb. 2014.

MICHALICK, M. S. M. Gênero *Leishmania*. In: NEVES, D. P. (Ed). **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap. 7, p. 41-46.

MOLYNEUX, D. H.; SAVIOLI, L.; ENGELS, D. Neglected tropical diseases: progress towards addressing the chronic pandemic. **The Lancet**, v. 389, p. 312-325, 2017.

MONTEIRO, G. C. **Síntese e avaliação farmacológica de análogos estruturais da macrolactona migrastatina**. 2012. 98 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.

MONTENEGRO, R. A. **Avaliação do RNA mensageiro (RNAm) do *Mycobacterium tuberculosis* como marcador de cura em paciente com tuberculose pulmonar**. 2012. 92 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2012.

NASCIMENTO JÚNIOR, N. M. **Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos ligantes de receptores de quimiocinas CC e CXC**. 2013. 359 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1013-1020, nov. 2009.

PEDRIQUE, B.; STRUB-WOURGAFT, N.; SOME, C.; OLLIARO, P.; TROUILLER, P.; FORD, N.; PÉCOUL, B.; BRADOL, J. H. The drug and vaccine landscape for neglected diseases (2000-11): a systematic assessment. **The Lancet Global Health**, v. 1, n. 6, p. 371-379, Dec. 2013.

PIVATTO, M.; CROTTI, A. E. M.; LOPES, N. P.; CASTRO-GAMBOA, I.; REZENDE, A.; VIEGAS JUNIOR, C.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S. Electrospray ionization mass spectrometry screening of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* (Fabaceae) extracts: fast identification of new constituents and co-metabolites. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, 1431-1438, Dec. 2005.

PIVATTO, M.; BACCINI, L. R.; SHARMA, A.; DANUELLO, A.; VIEGAS JUNIOR, C.; GARCIA, C. R. S.; BOLZANI, V. S. Antimalarial activity of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* and semisynthetic derivatives. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 10, p. 1900-1906, out. 2014.

QUEVEDO, K. Malária. In: BIOMEDICINA: a profissão do futuro. 25 set. 2010. Disponível em: <<http://biomedicinaunic.blogspot.com.br/2010/09/malaria.html>>. Acesso em: 26 mar. 2015.

SCHUCK, D. C.; JORDÃO, A. K.; NAKABASHI, M.; CUNHA, A. C.; FERREIRA, V. F.; GARCIA, C. R. S. Synthetic indole and melatonin derivatives exhibit antimalarial activity on the cell cycle of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 78, p. 375-382, Mar. 2014.

SERAFIM, R. A. M.; GONÇALVES, J. E.; SOUZA, F. P.; LOUREIRO, A. P. M.; STORPIRTIS, S.; KROGH, R.; ANDRICOPULO, A. D.; DIAS, L. C.; FERREIRA, E. I. Design, synthesis and biological evaluation of hybrid bioisoster derivatives of N-acylhydrazone and furoxan groups with potential and selective anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 82, p. 418-425, June 2014.

SHARMA, A.; SANTOS, I. O.; GAUR, P.; FERREIRA, V. F.; GARCIA, C. R. S.; ROCHA, D. R. Addition of thiols to o-quinone methide: new 2-hydroxy-3-phenylsulfanylmethyl[1,4]naphthoquinones and their activity against the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* (3D7). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, p. 48-53, 2013.

SILVA, D. H. S.; VIEGAS JUNIOR, C.; CASTRO-GAMBOA, I.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; PIVATTO, M.; YOUNG, M. C. M.; CASTRO, N. G.; ROCHA, M. S.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Espectralina, cassina e análogos semissintéticos como potenciais candidatos a fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 38-46, ago. 2010.

TEIXEIRA, A. R. L.; HECHT, M. M.; GUIMARO, M. C.; SOUSA, A. O.; NITZ, N. Pathogenesis of Chagas' disease: parasite persistence and autoimmunity. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 3, p. 592-630, July 2011.

[AS TRÊS principais espécies da *Leishmania*]. **Portal da Saúde**, mar. 2014. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/723-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-tegumentar-americana-lta/11324-descricao-da-doenca>>. Acesso em: 15 nov. 2016.

VALLI, M.; DANUELLO, A.; PIVATTO, M.; SALDAÑA, J. C.; HEINZEN, H.; DOMÍNGUEZ, L.; CAMPOS, V. P.; MARQUI, S. R.; YOUNG, M. C. M.; VIEGAS JUNIOR, C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S. Anticholinesterasic, nematostatic and anthelmintic activities of pyridinic and pyrazinic compounds. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 22, p. 3423-3430, June 2011.

VALLI, M.; PIVATTO, M.; DANUELLO, A.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, Â. R.; FURLAN, M.; LOPES, M. N.; BOLZANI, V. S. Tropical biodiversity: has it been a potential source of secondary metabolites useful for medicinal chemistry? **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2278-2287, Oct. 2012.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, jan. 2006.

VIEGAS JUNIOR, C.; REZENDE, A.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBÔA, I.; BARREIRO, E. J.; YOUNG, M. Aspectos químicos e biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1279-1286, ago. 2006.

VIEGAS JUNIOR, C.; PIVATTO, M.; REZENDE, A.; HAMERSKI, L.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S. 7-hydroxycassine: a new 2,6-dialkylpiperidin-3-ol alkaloid and other constituents isolated from flowers and fruits of *Senna spectabilis* (Fabaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 2, p. 230-235, jan. 2013.

VIJAYARAGHAVAN, S.; MAHAJAN, S. Docking, synthesis and antimalarial activity of novel 4-anilinoquinoline. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, p. 1693-1697, Mar. 2017.

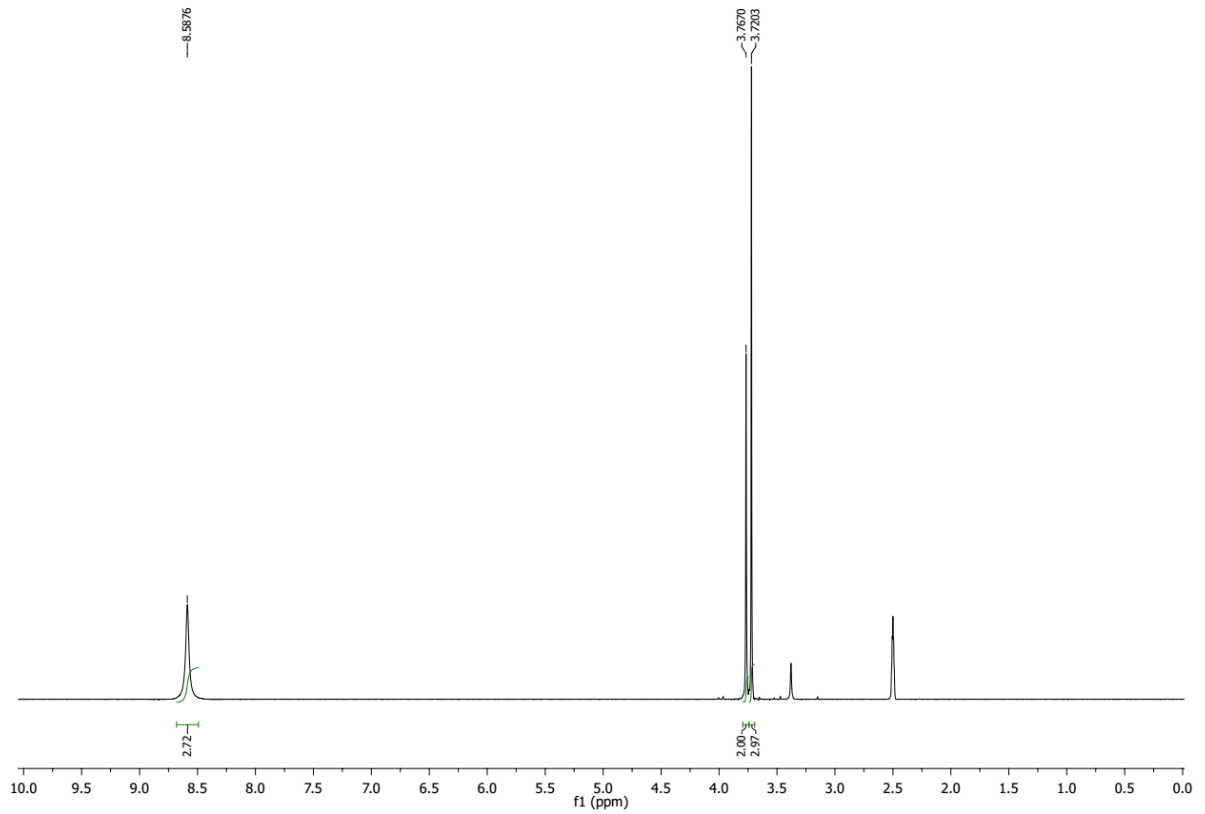
VIRTOUS. Doença de Chagas. **Só Biologia**. Disponível em: <<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Reinos/DoencadeChagas.php>>. Acesso em: 25 mar. 2017.

WERNECK, L. G.; HASSELMANN, M. H.; GOUVÊA, G. T. Panorama dos estudos sobre nutrição e doenças negligenciadas no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 39-62, 2011.

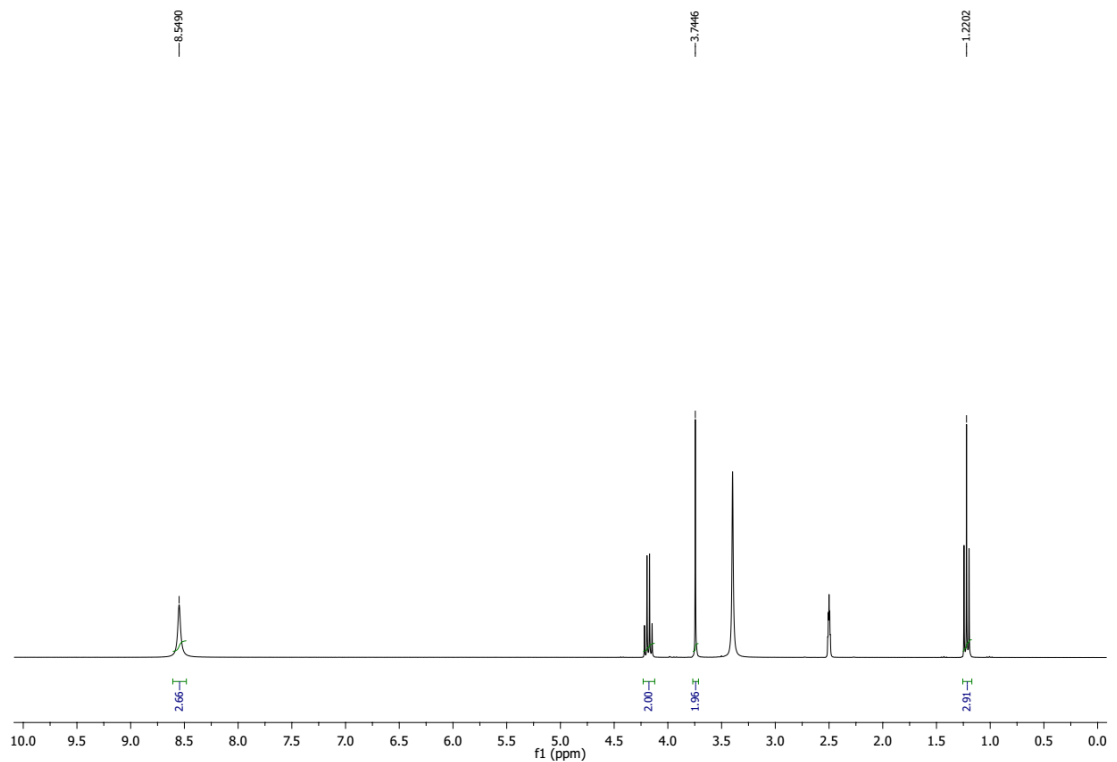
WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniases**. Disponível em:
<<http://www.who.int/leishmaniasis/en/>>. Acesso em: 10 nov. 2016a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Malária**. Disponível em:
<<http://www.who.int/malaria/en/>>. Acesso em: 10 nov. 2016b.

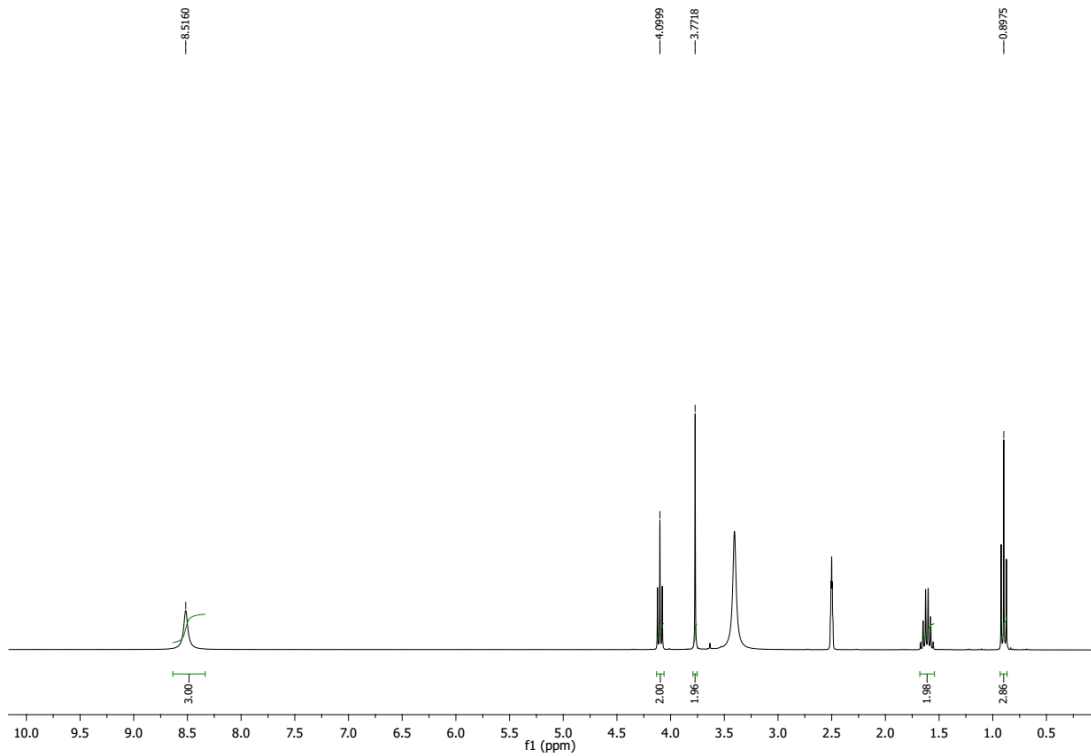
ANEXOS

ANEXO 0 - Espectro de RMN ¹H de 26a (DMSO-*d*₆, 300 MHz).

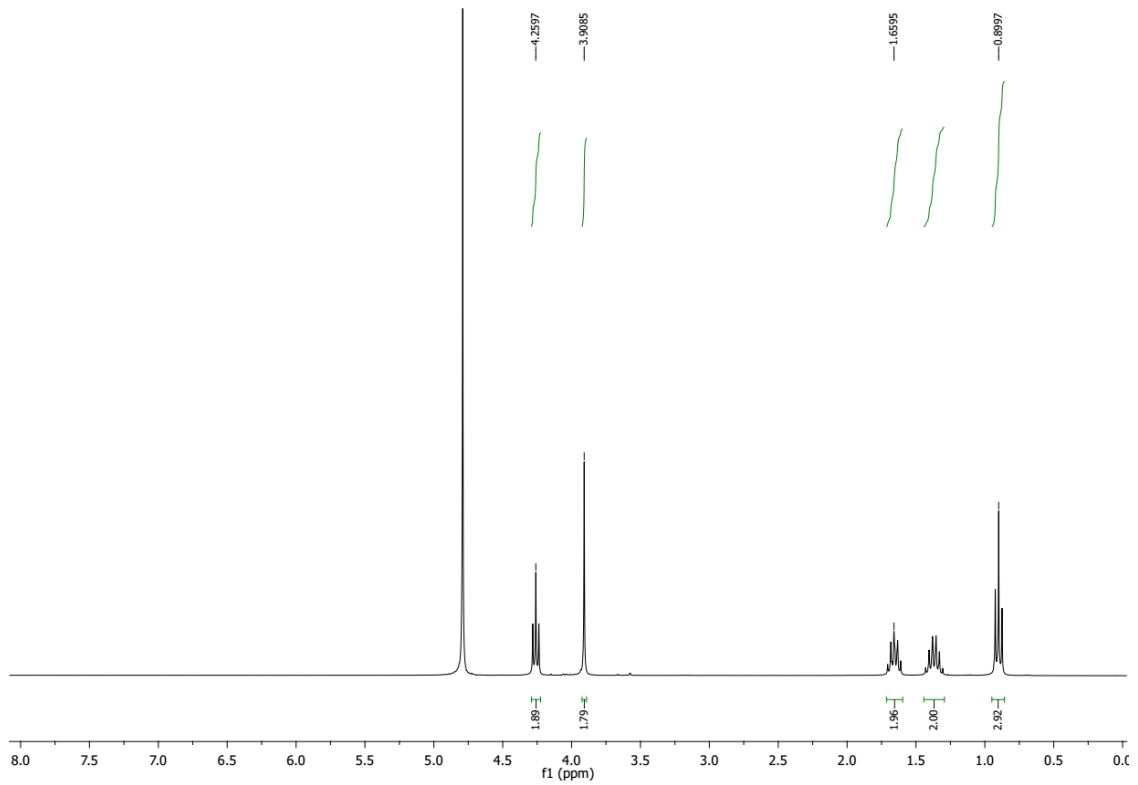
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 1 - Espectro de RMN ¹H de 26b (DMSO-*d*₆, 300 MHz).

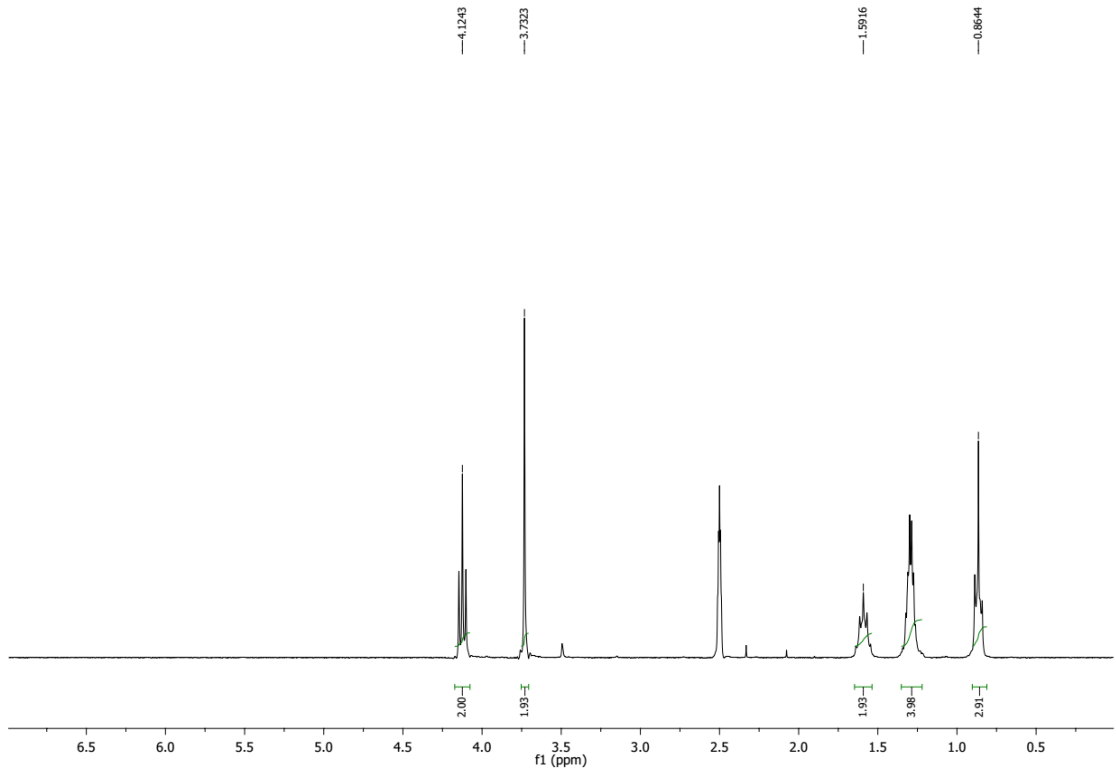
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 2 - Espectro de RMN ^1H de 26c (DMSO- d_6 , 300 MHz).

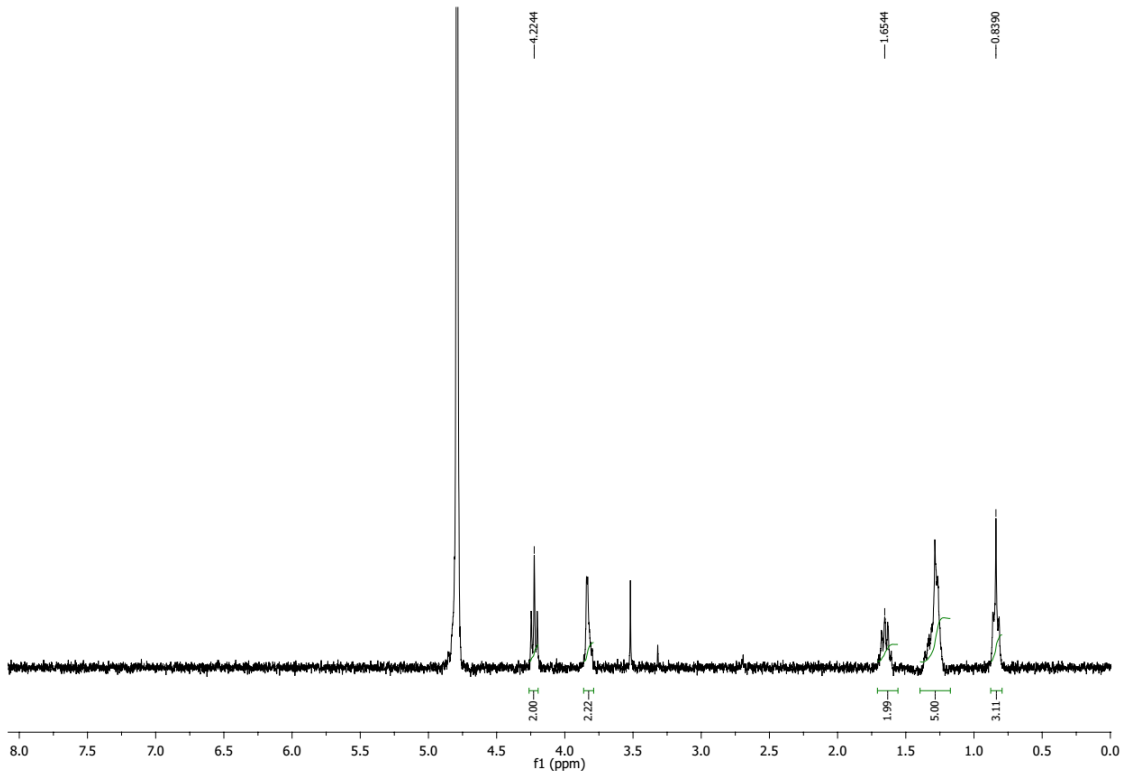
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 3 - Espectro de RMN ^1H de 26d (D $_2$ O, 300 MHz).

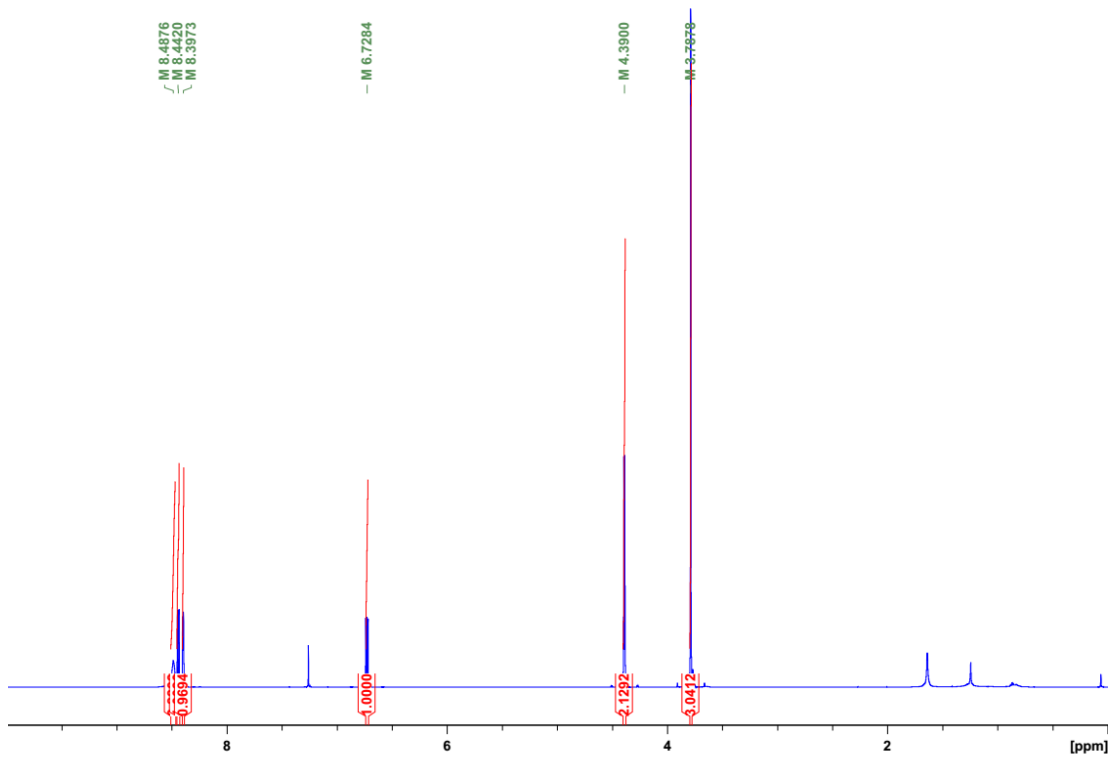
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 4 - Espectro de RMN ^1H de 26e (DMSO- d_6 , 300 MHz).

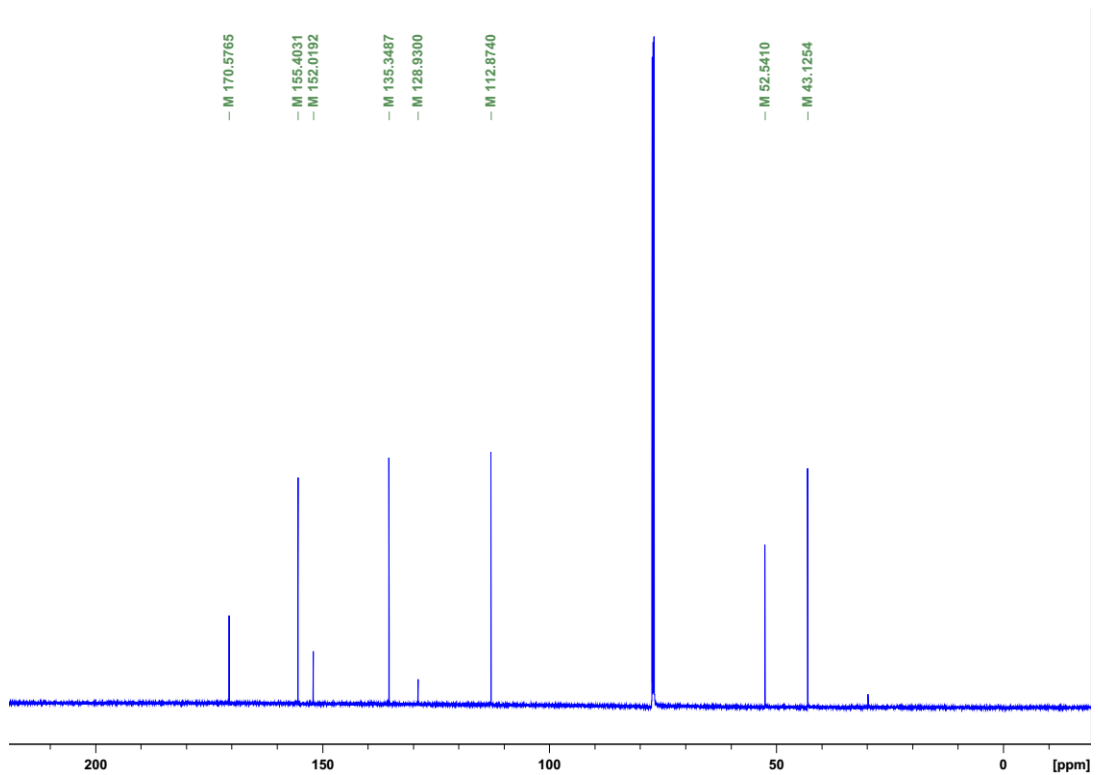
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 5 - Espectro de RMN ^1H de 26f (D $_2$ O, 300 MHz).

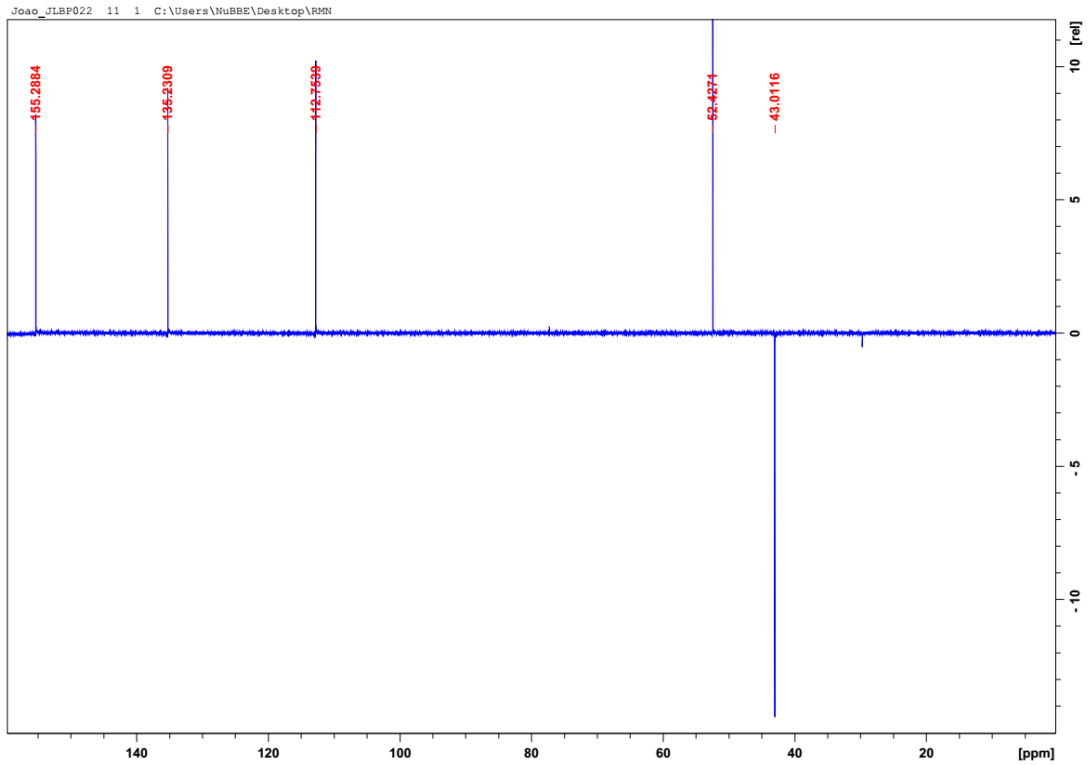
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 6 - Espectro de RMN ^1H de 28 (CDCl_3 , 600 MHz).

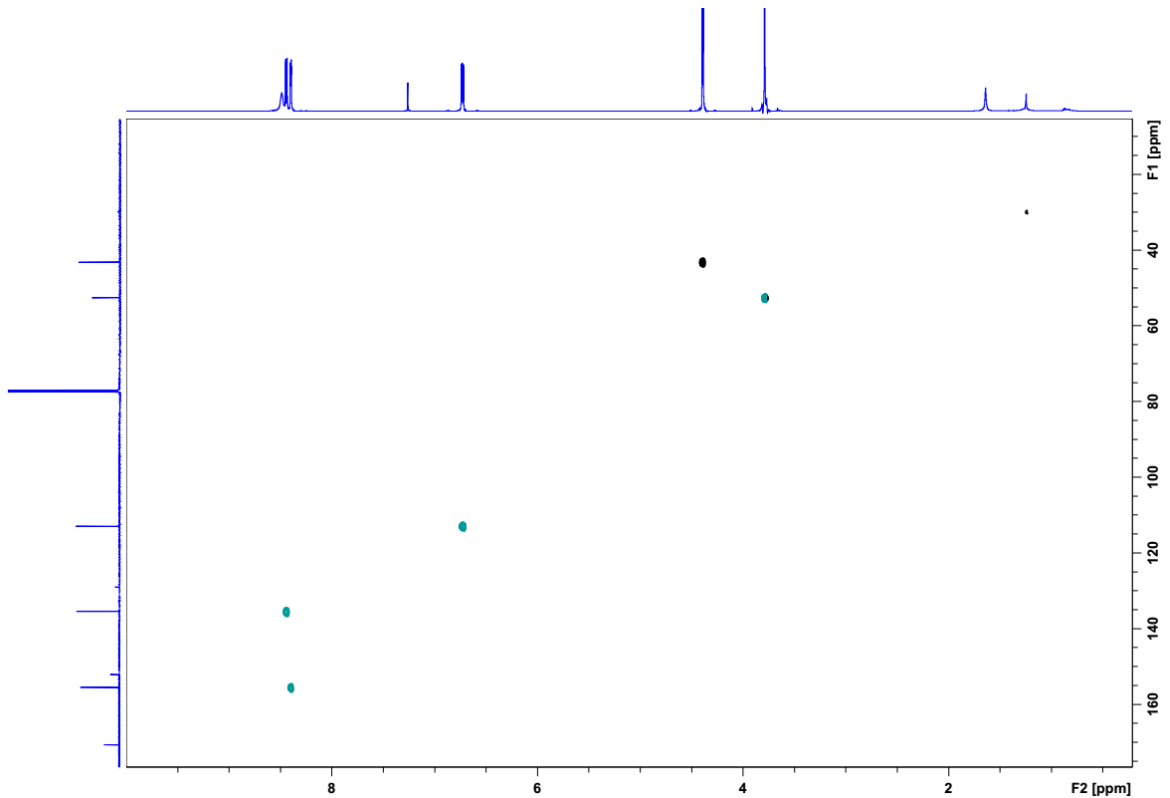
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 7 - Espectro de RMN ^{13}C de 28 (CDCl_3 , 150 MHz).

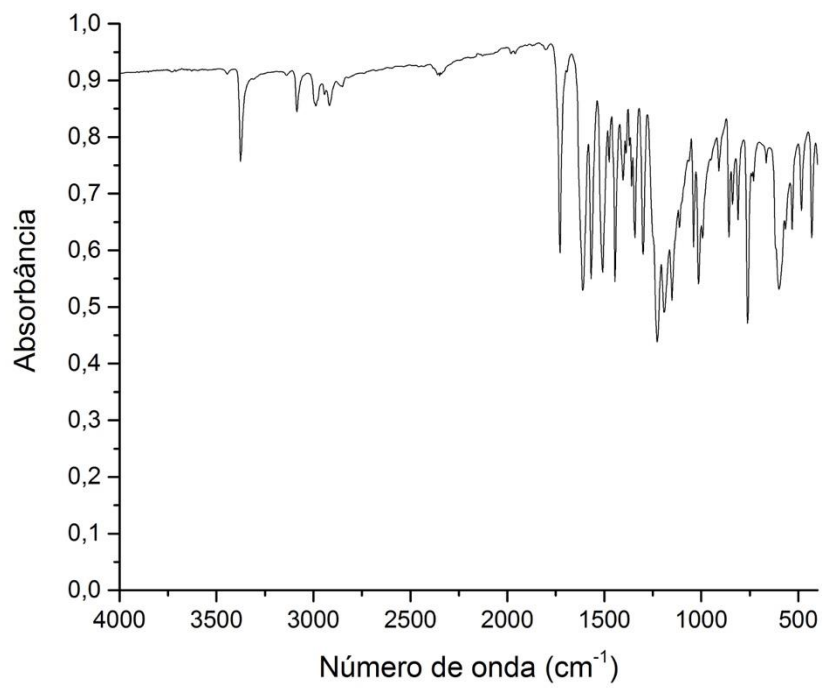
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 8 - Espectro de RMN DEPT 135 de 28 (CDCl₃, 150 MHz).

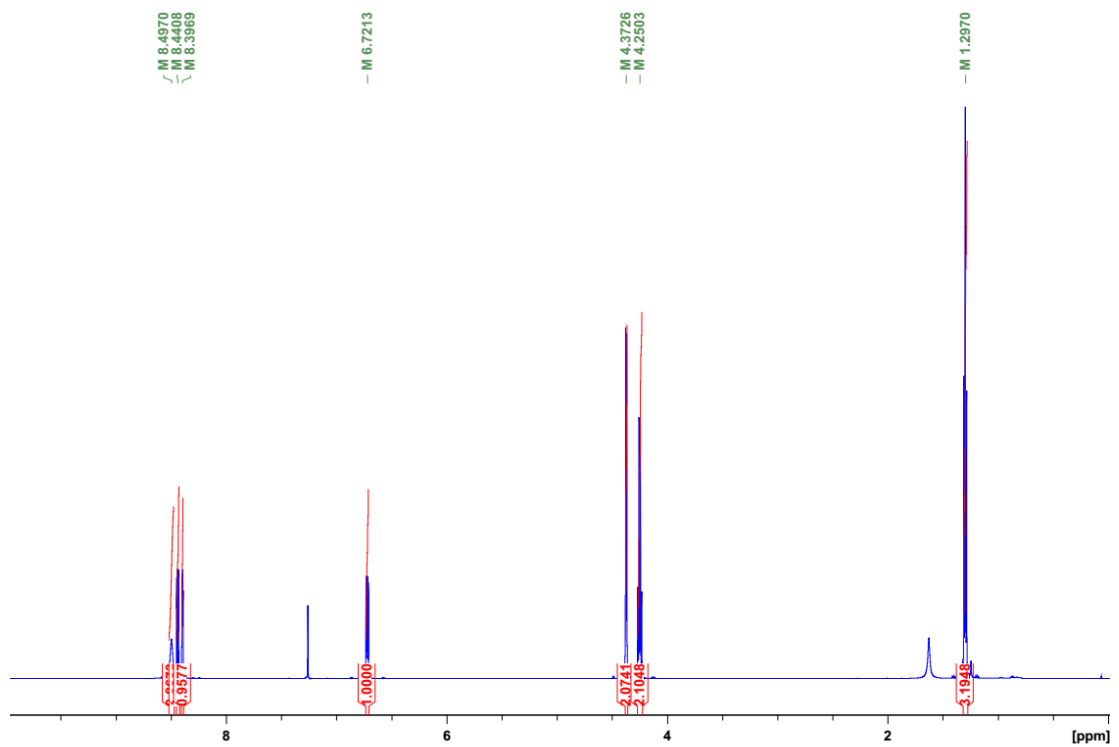
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 9 - Espectro de RMN HSQC de 28 (CDCl₃, 600 14,1 T).

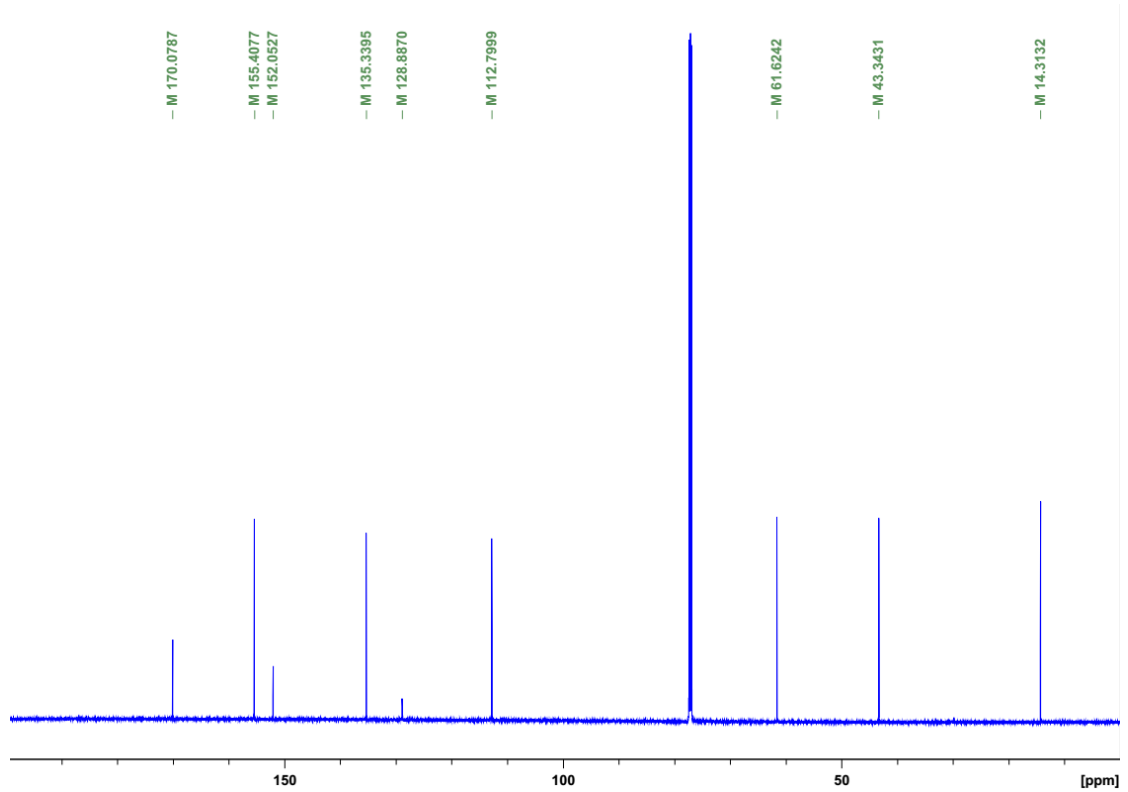
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 10 - Espectro de IV de 28 (modo ATR).

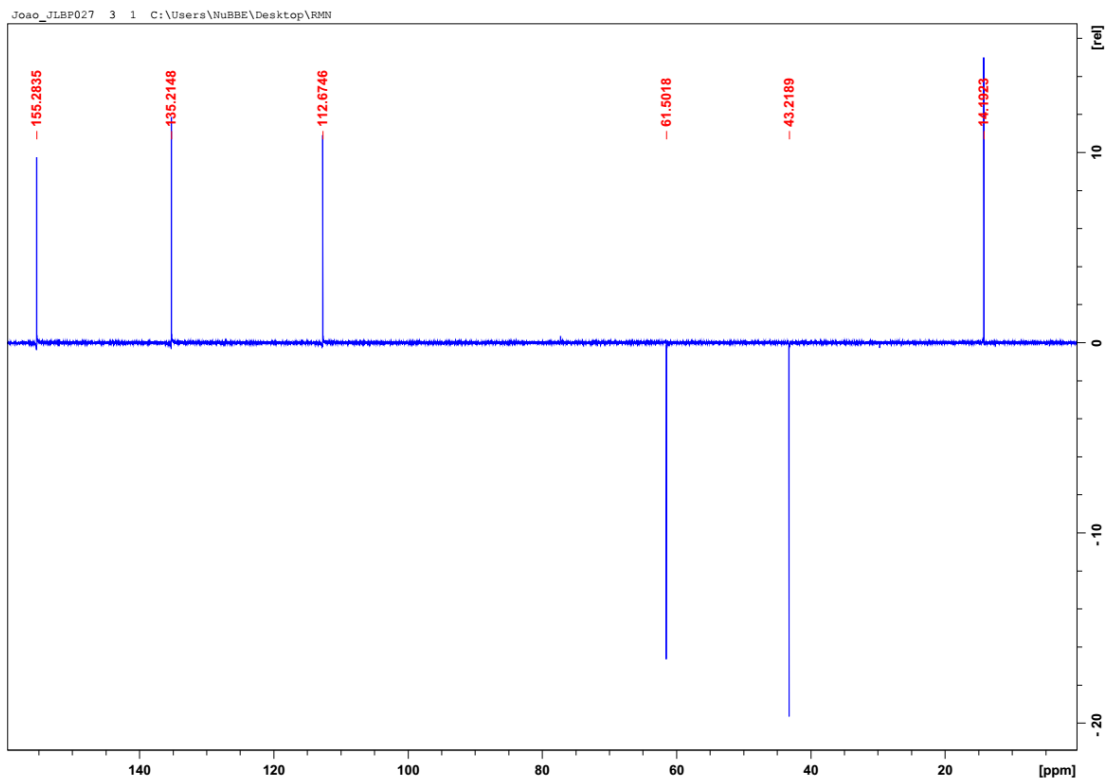
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 11 - Espectro de RMN ¹H de 29 (CDCl₃, 600 MHz).

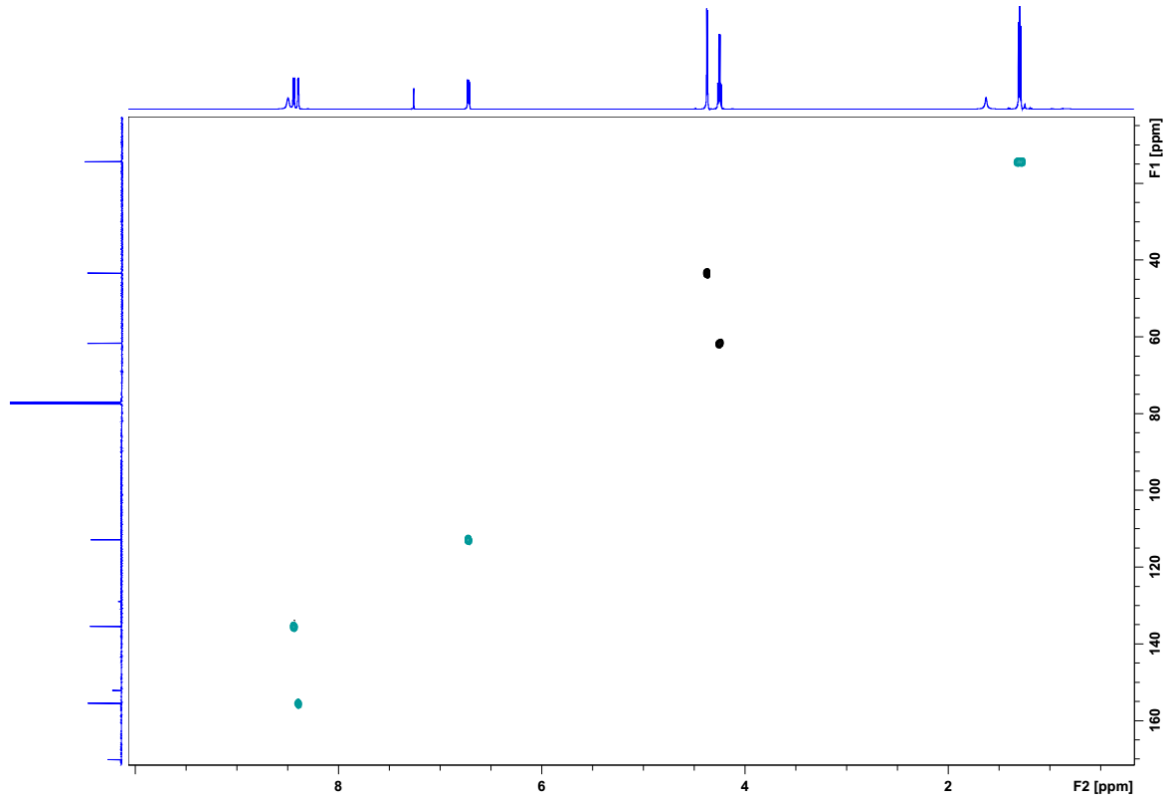
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 12 - Espectro de RMN ^{13}C de 29 (CDCl_3 , 150 MHz).

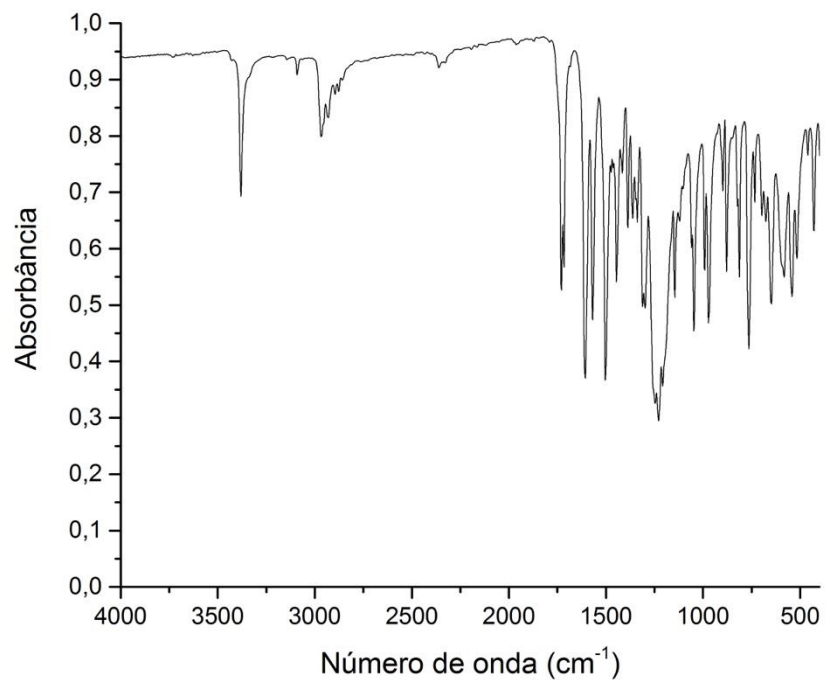
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 13 - Espectro de RMN DEPT 135 de 29 (CDCl_3 , 150 MHz).

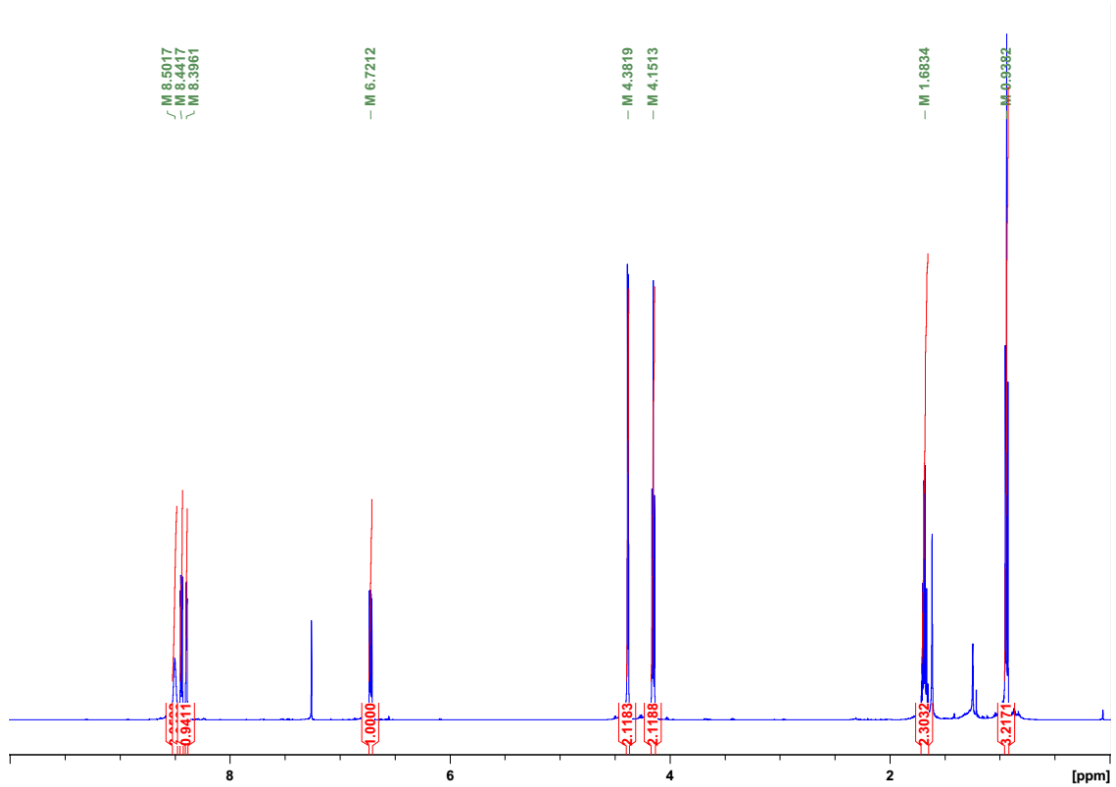
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 14 - Espectro de RMN HSQC de 29 (CDCl₃, 600 14,1 T).

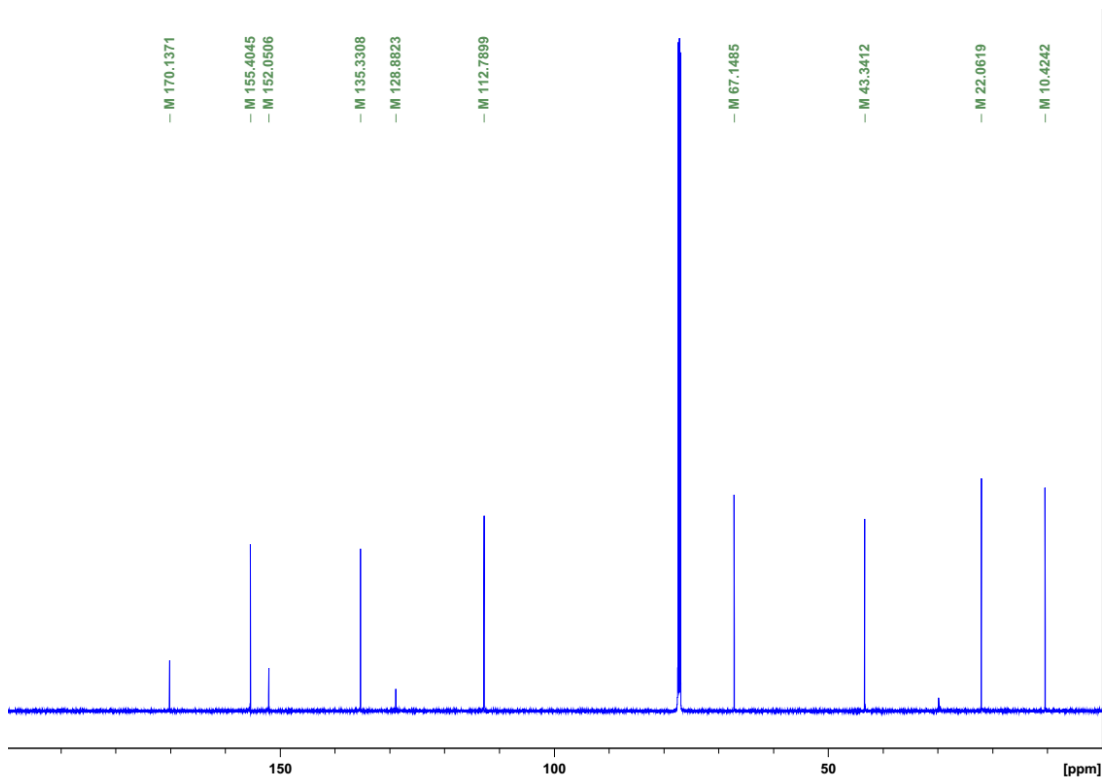
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 15 - Espectro de IV de 29 (modo ATR).

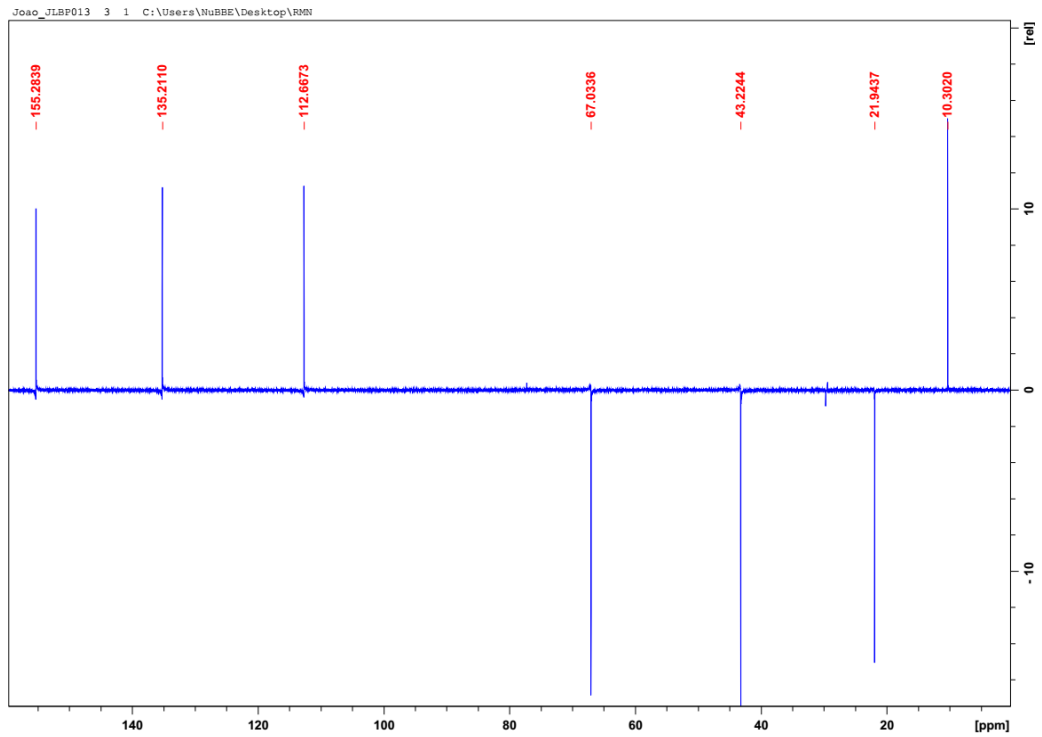
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 16 - Espectro de RMN ^1H de 30 (CDCl_3 , 600 MHz).

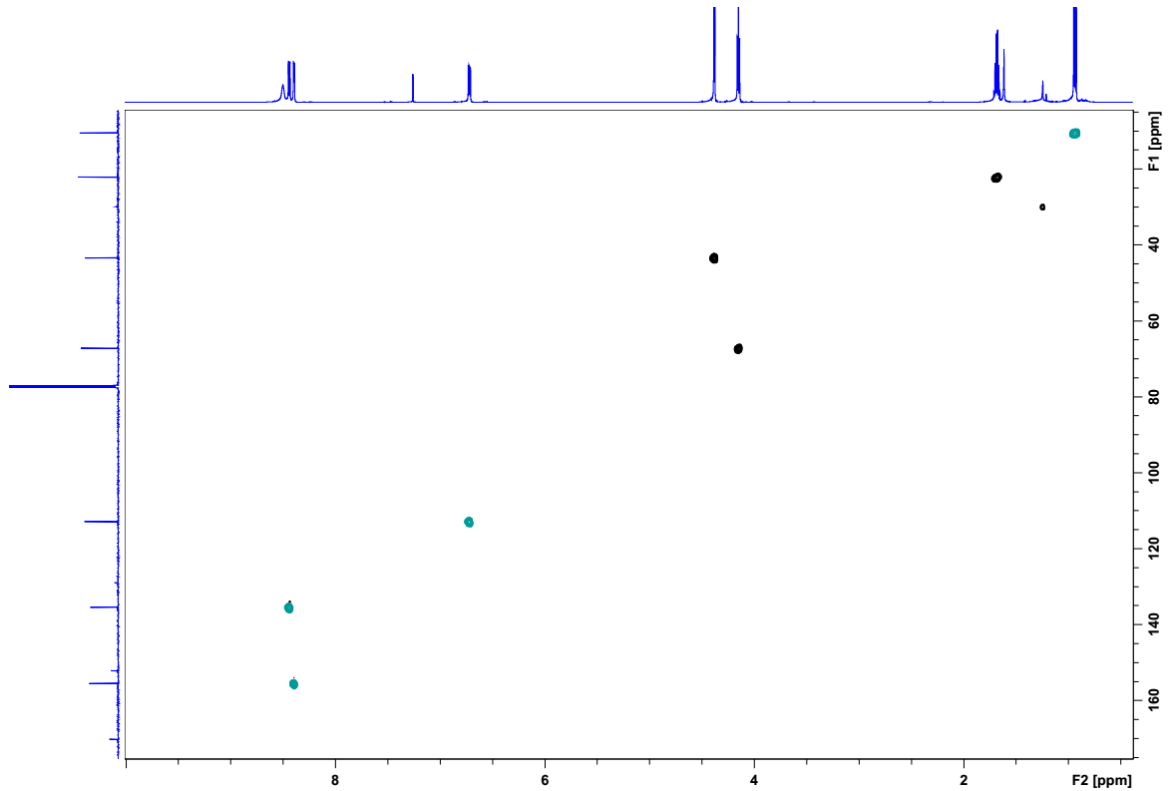
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 17 - Espectro de RMN ^{13}C de 30 (CDCl_3 , 150 MHz).

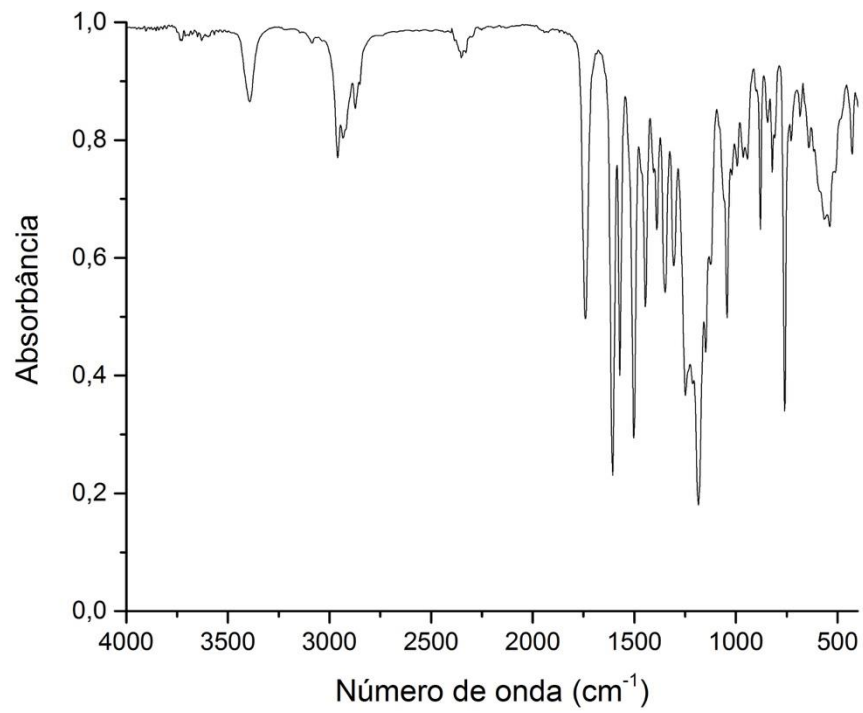
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 18 - Espectro de RMN DEPT 135 de 30 (CDCl₃, 150 MHz).

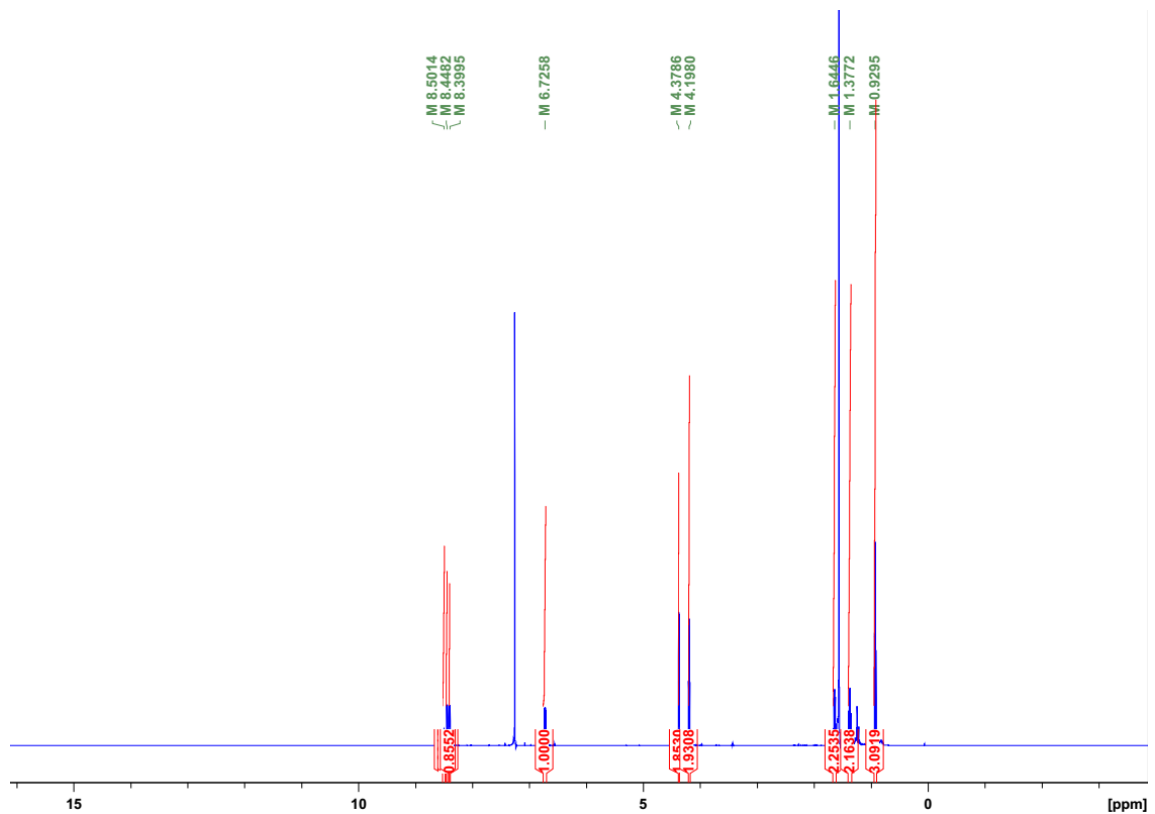
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 19 - Espectro de RMN HSQC de 30 (CDCl₃, 600 14,1 T).

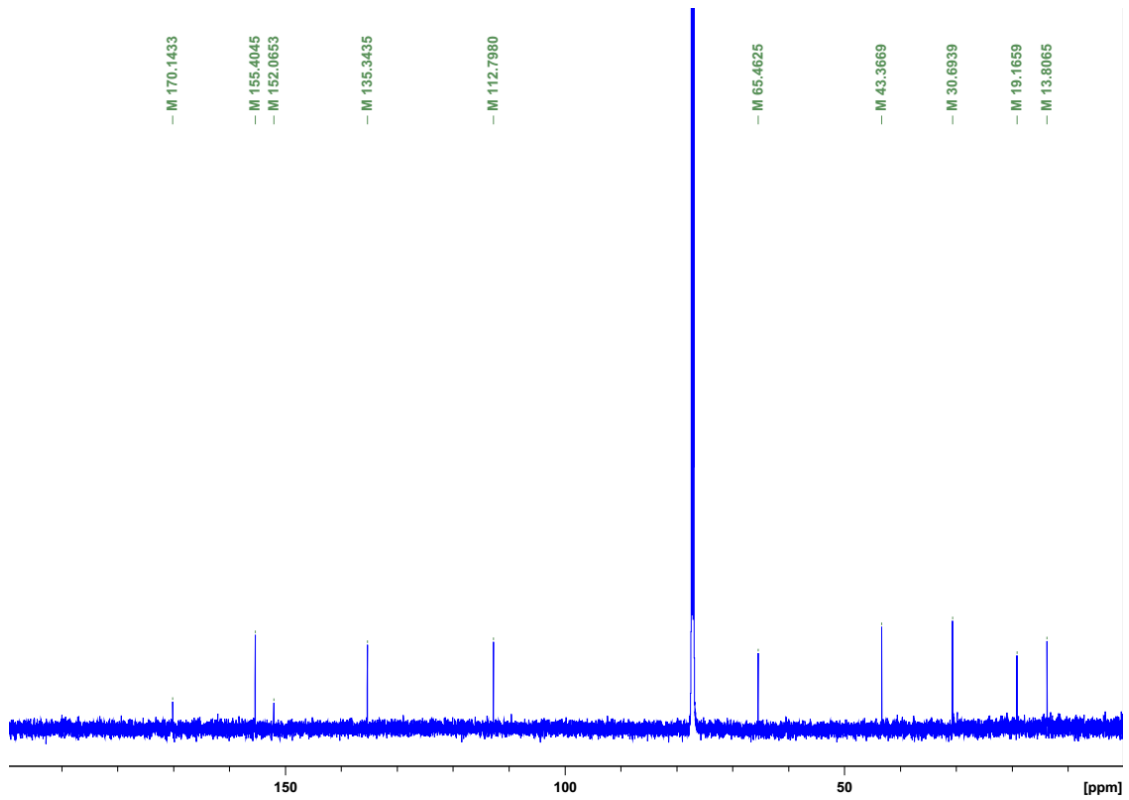
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 20 - Espectro de IV de 30 (modo ATR).

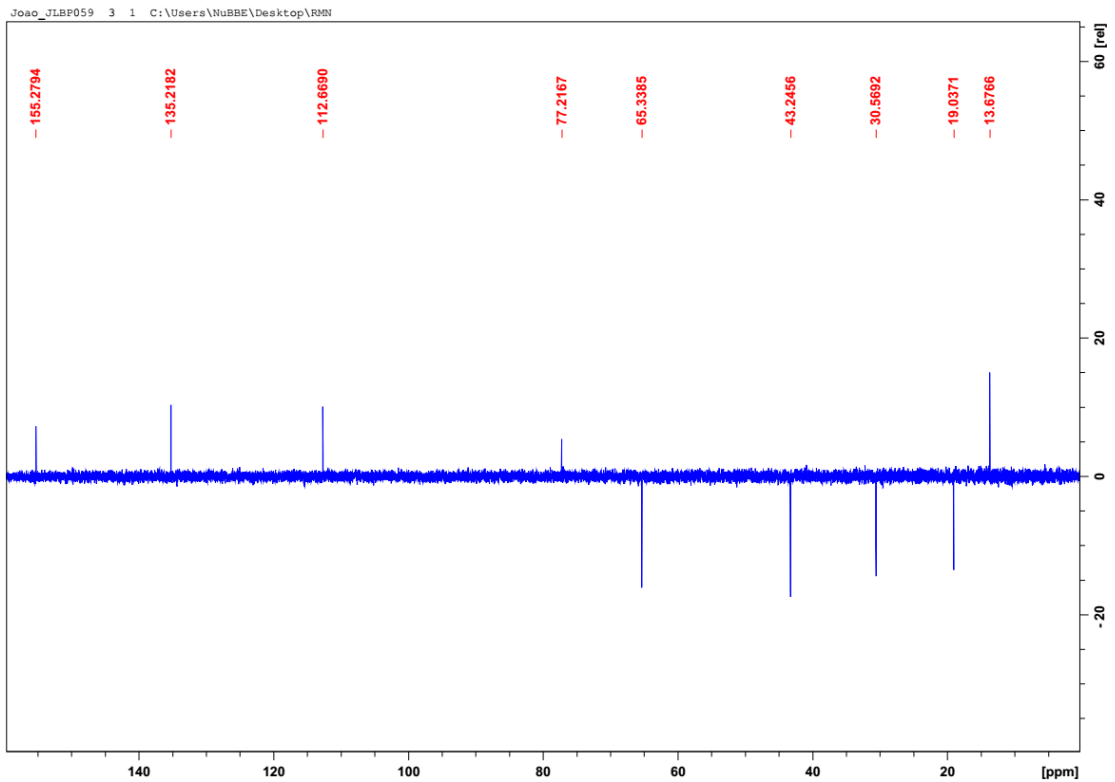
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 21 - Espectro de RMN ¹H de 31 (CDCl₃, 600 MHz).

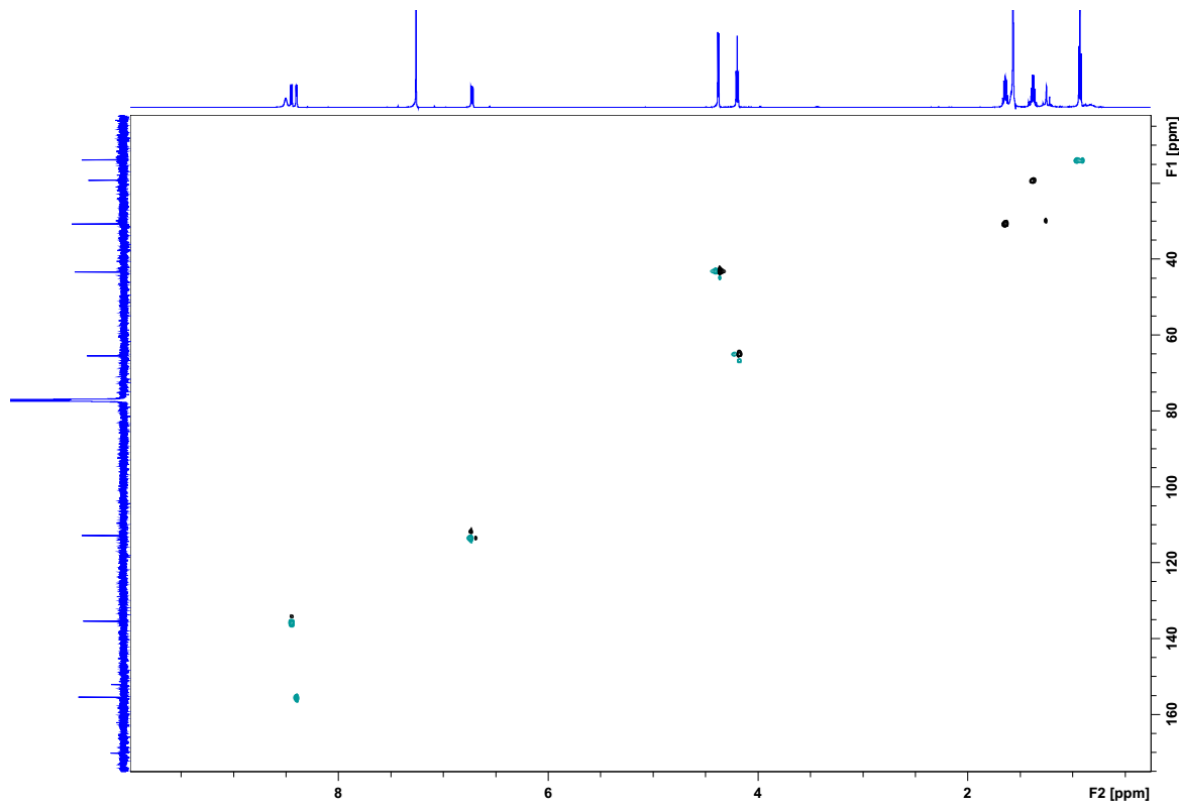
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 22 - Espectro de RMN ^{13}C de 31 (CDCl_3 , 150 MHz).

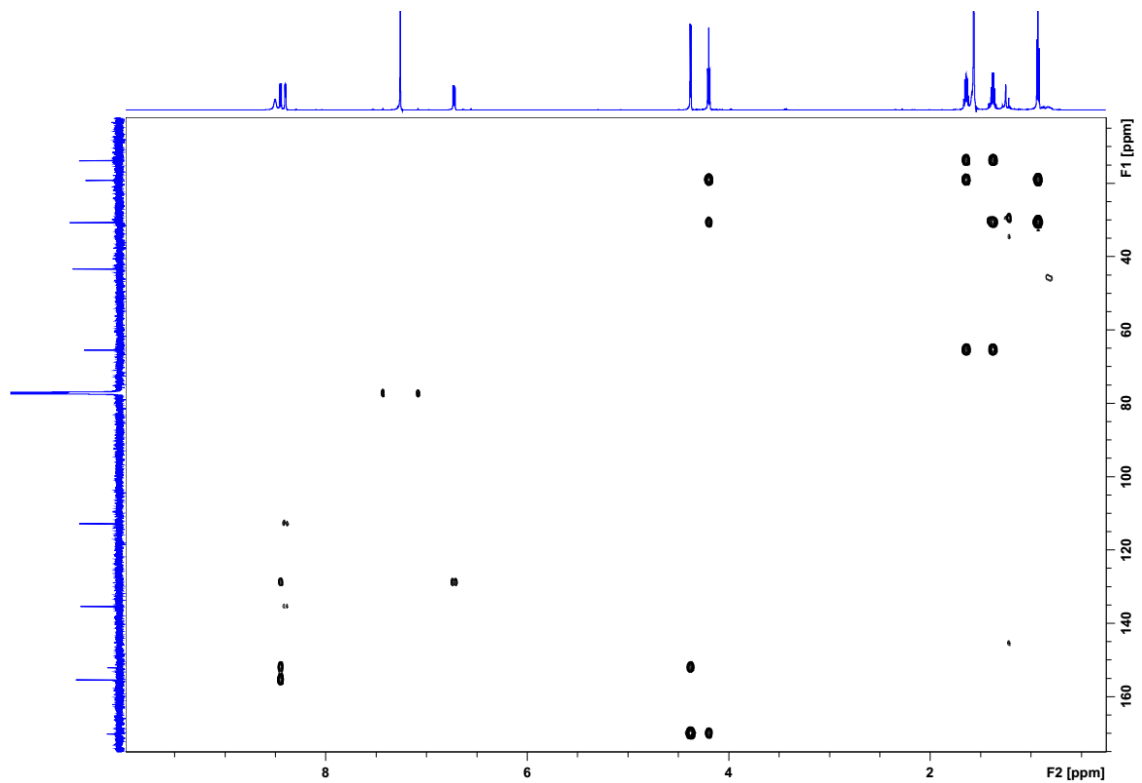
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 23 - Espectro de RMN DEPT 135 de 31 (CDCl_3 , 150 MHz).

Fonte: Autor, 2017.

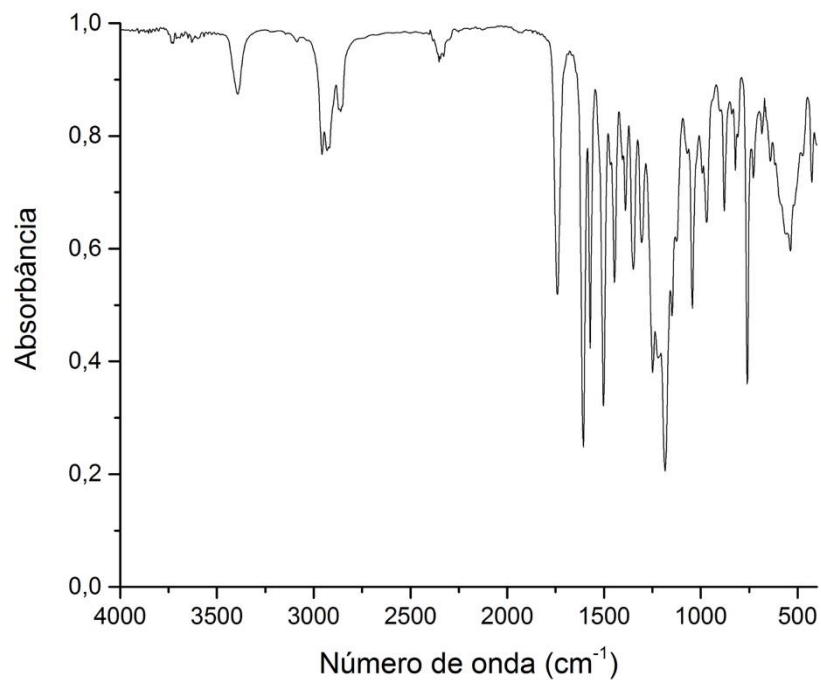
ANEXO 24 - Espectro de RMN HSQC de 31 (CDCl₃, 600 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 25 - Espectro de RMN HMBC de 31 (CDCl₃, 14,1 T).

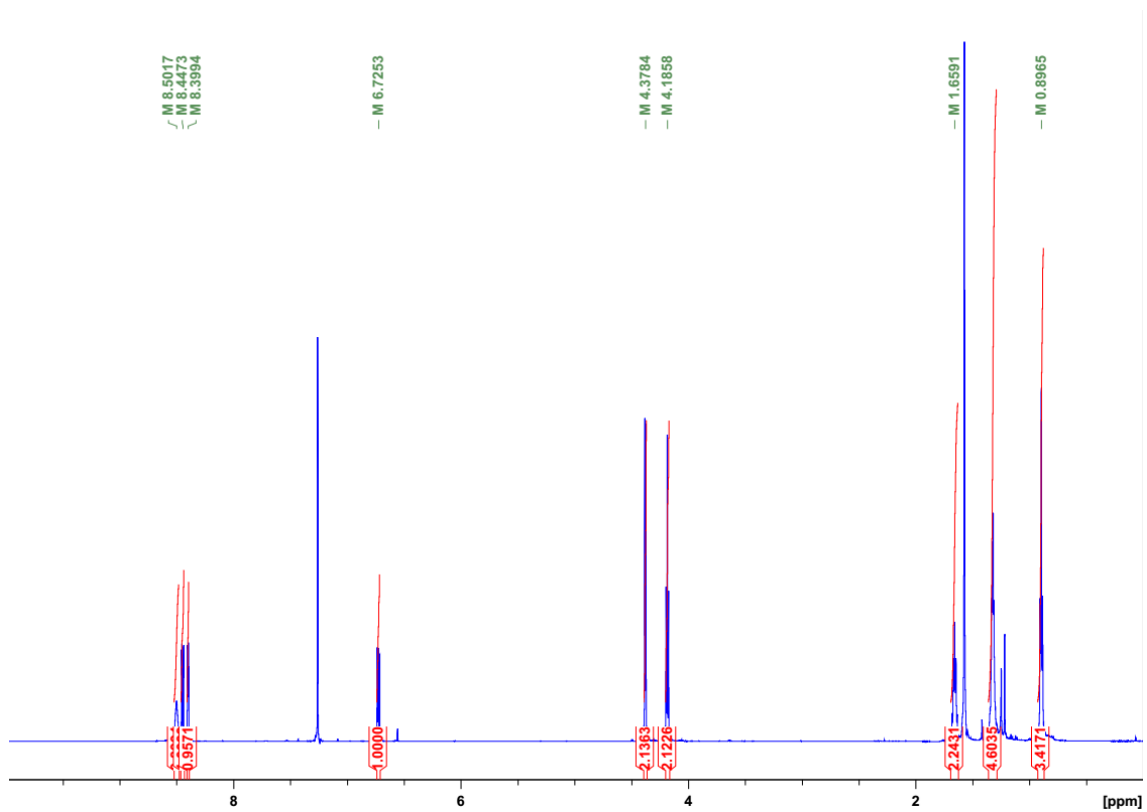
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 26 - Espectro de IV de 31 (modo ATR).



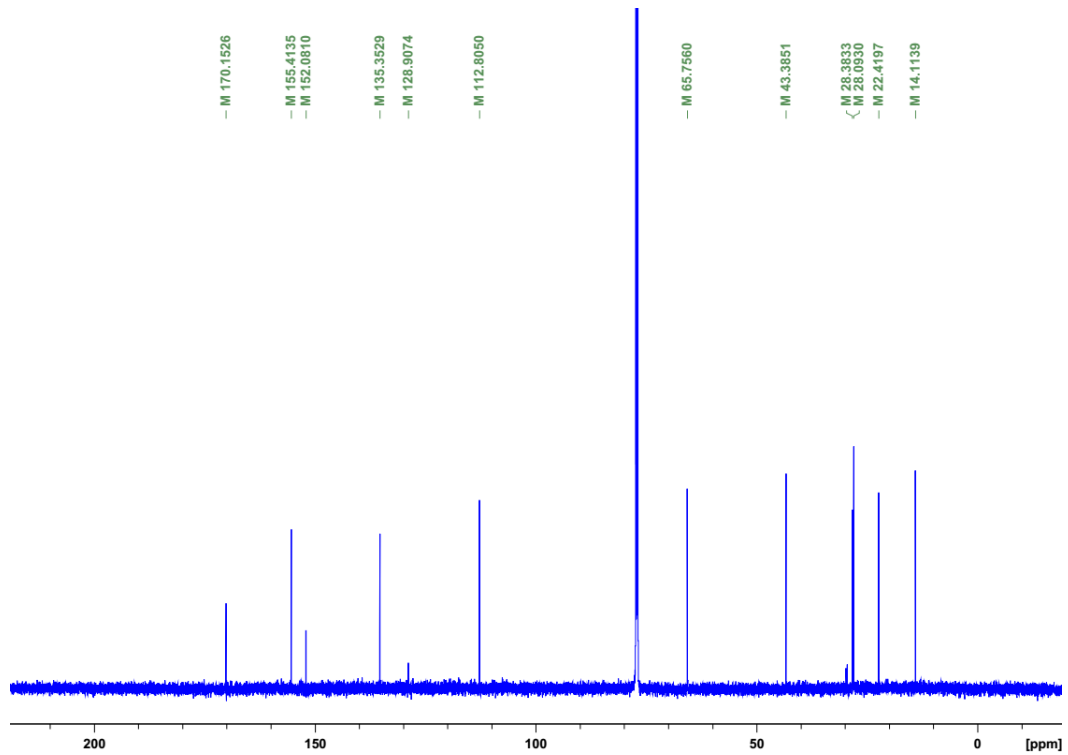
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 27 - Espectro de RMN ¹H de 32 (CDCl₃, 600 MHz).



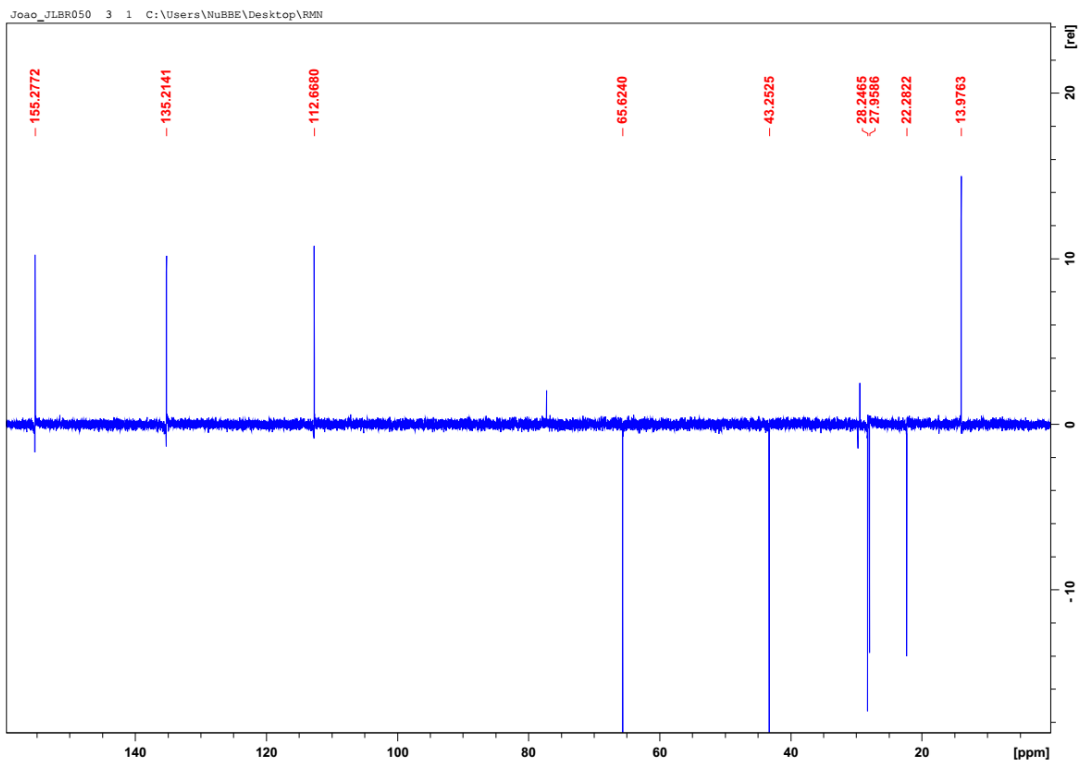
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 28 - Espectro de RMN ^{13}C de 32 (CDCl_3 , 150 MHz).

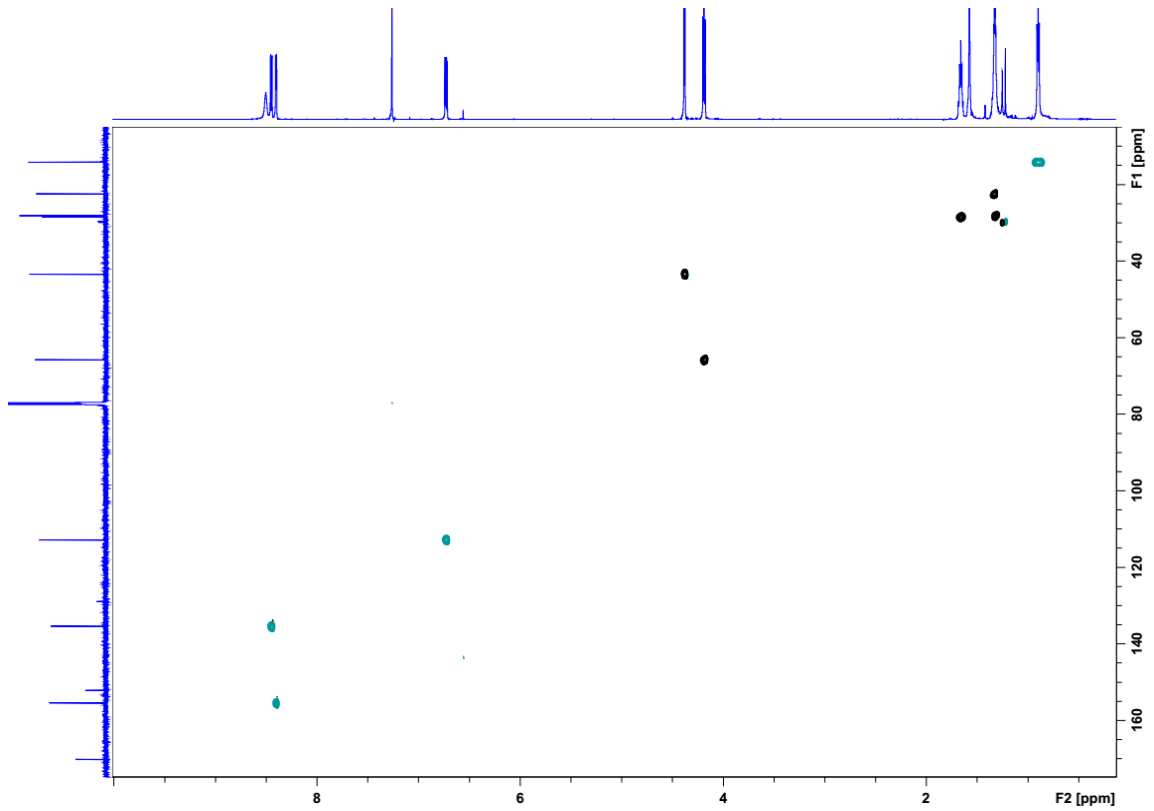


Fonte: Autor, 2017.

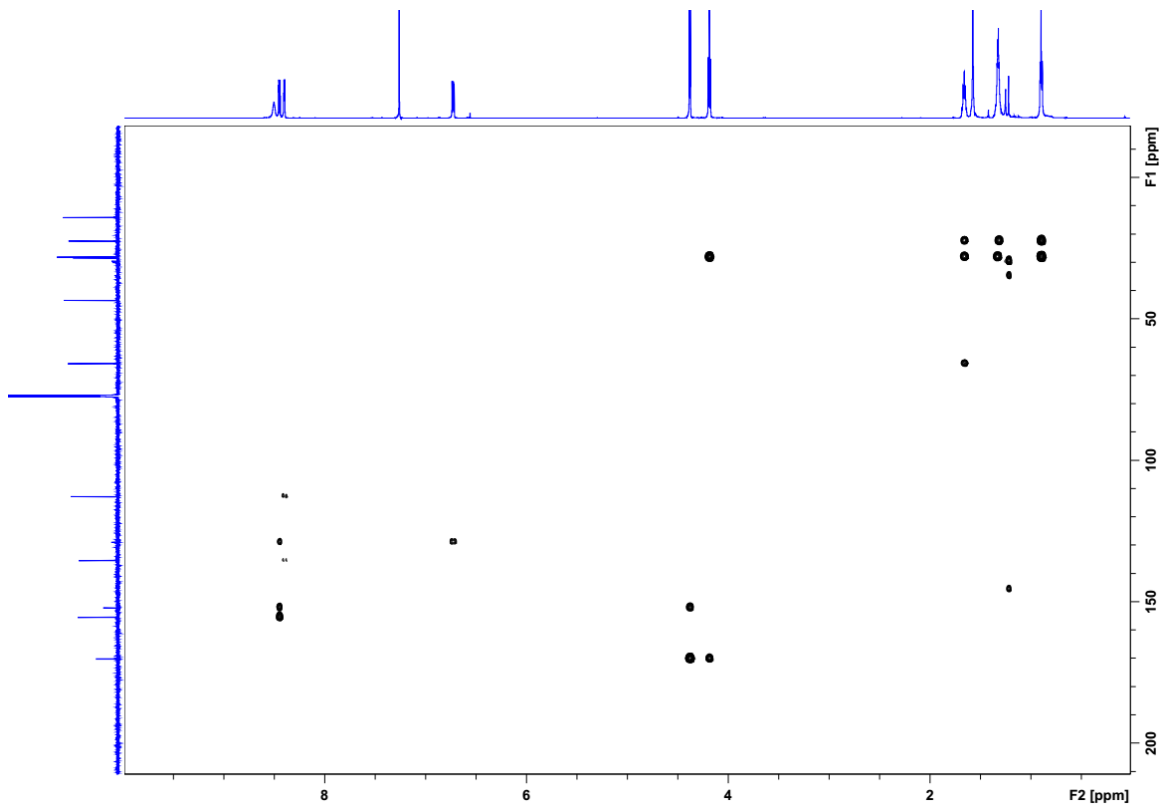
ANEXO 29 - Espectro de RMN DEPT 135 de 32 (CDCl_3 , 150 MHz).



Fonte: Autor, 2017.

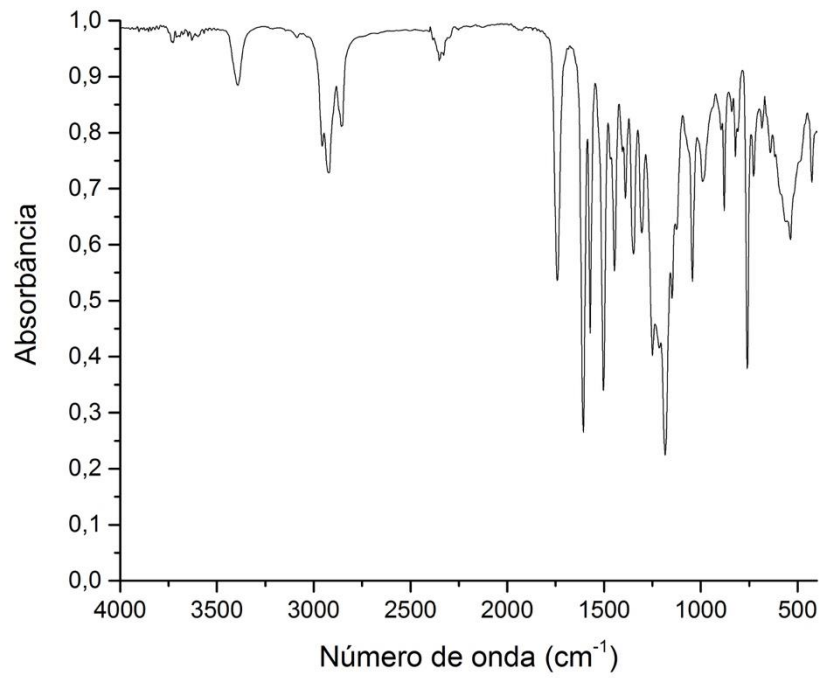
ANEXO 30 - Espectro de RMN HSQC de 32 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 31 - Espectro de RMN HMBC de 32 (CDCl₃, 14,1 T).

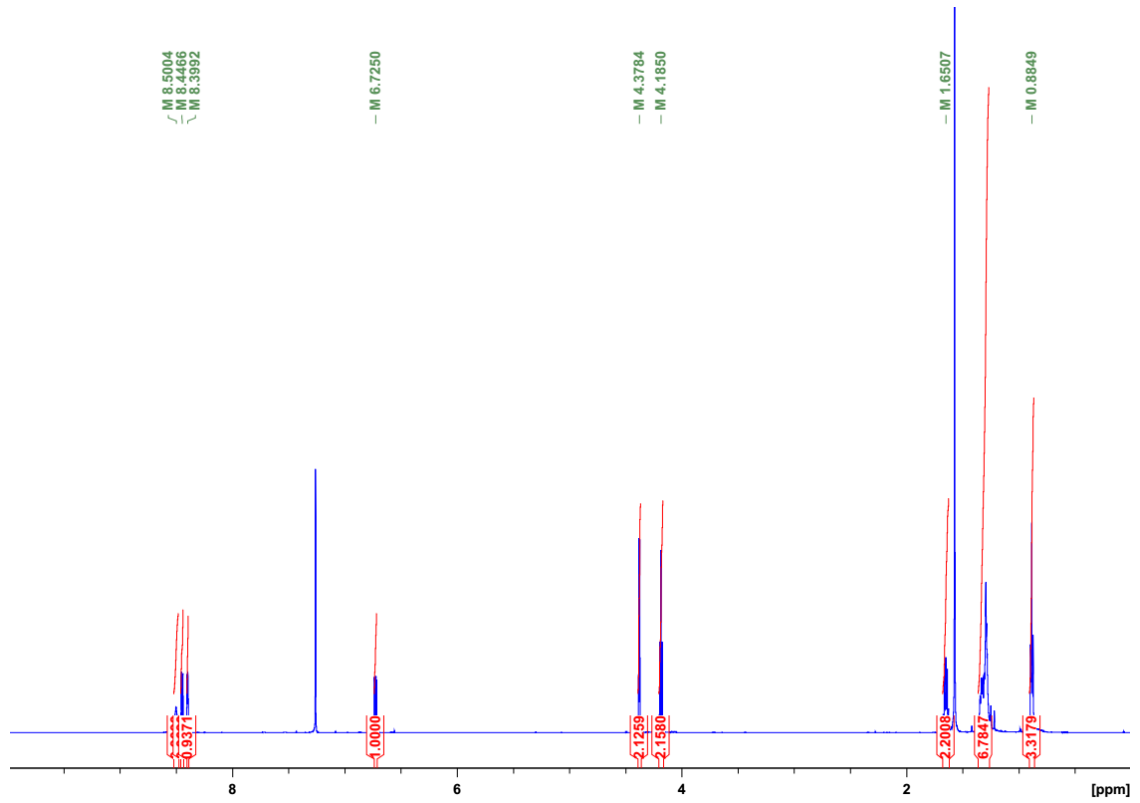
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 32 - Espectro de IV de 32 (modo ATR).



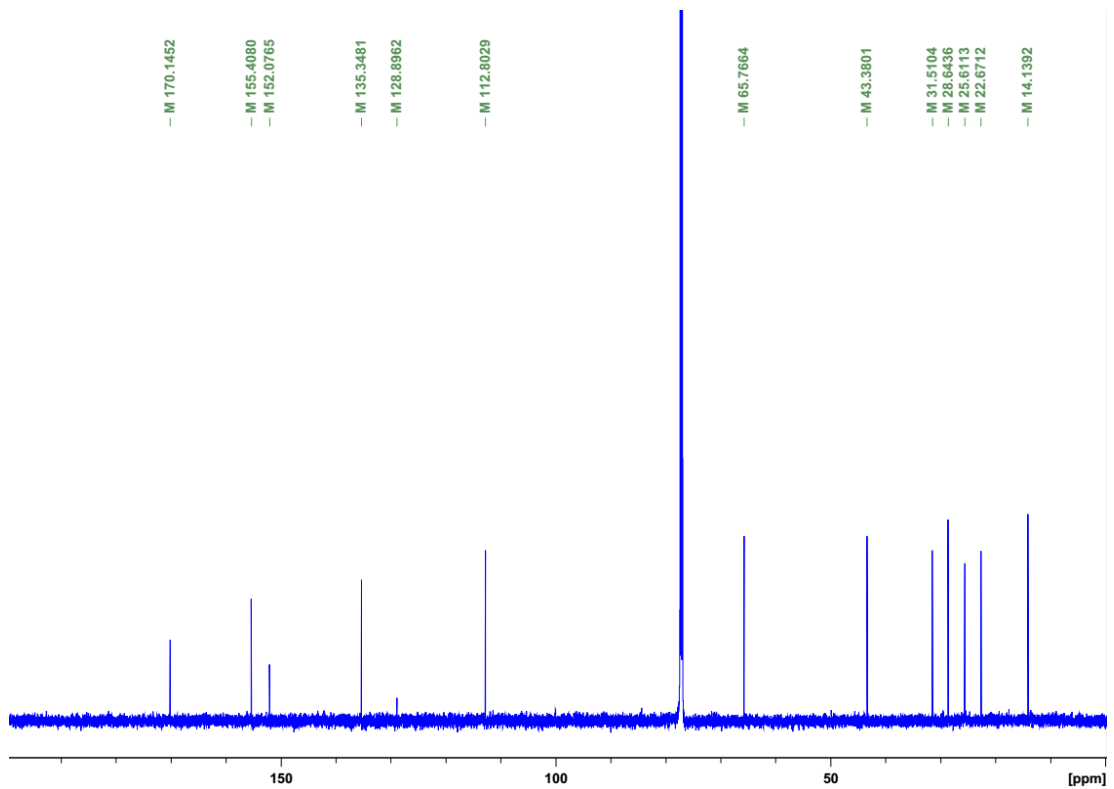
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 33 - Espectro de RMN ¹H de 33 (CDCl₃, 600 MHz).



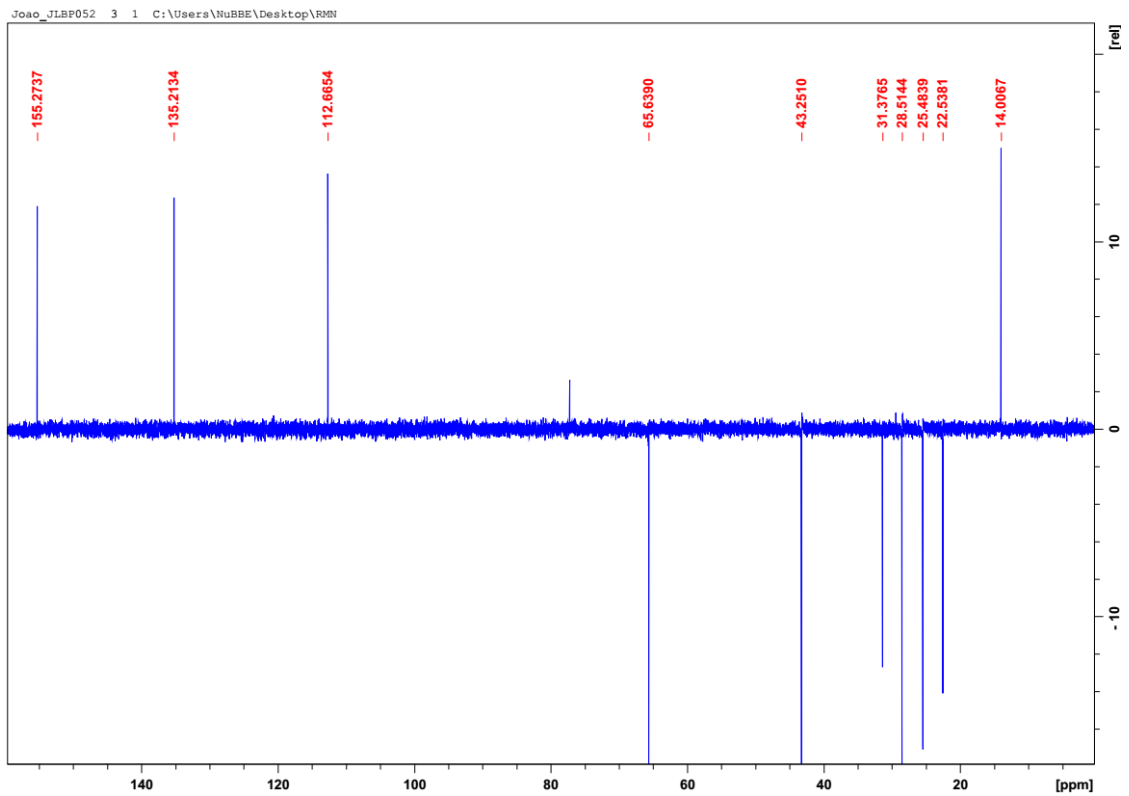
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 34 - Espectro de RMN ^{13}C de 33 (CDCl_3 , 150 MHz).

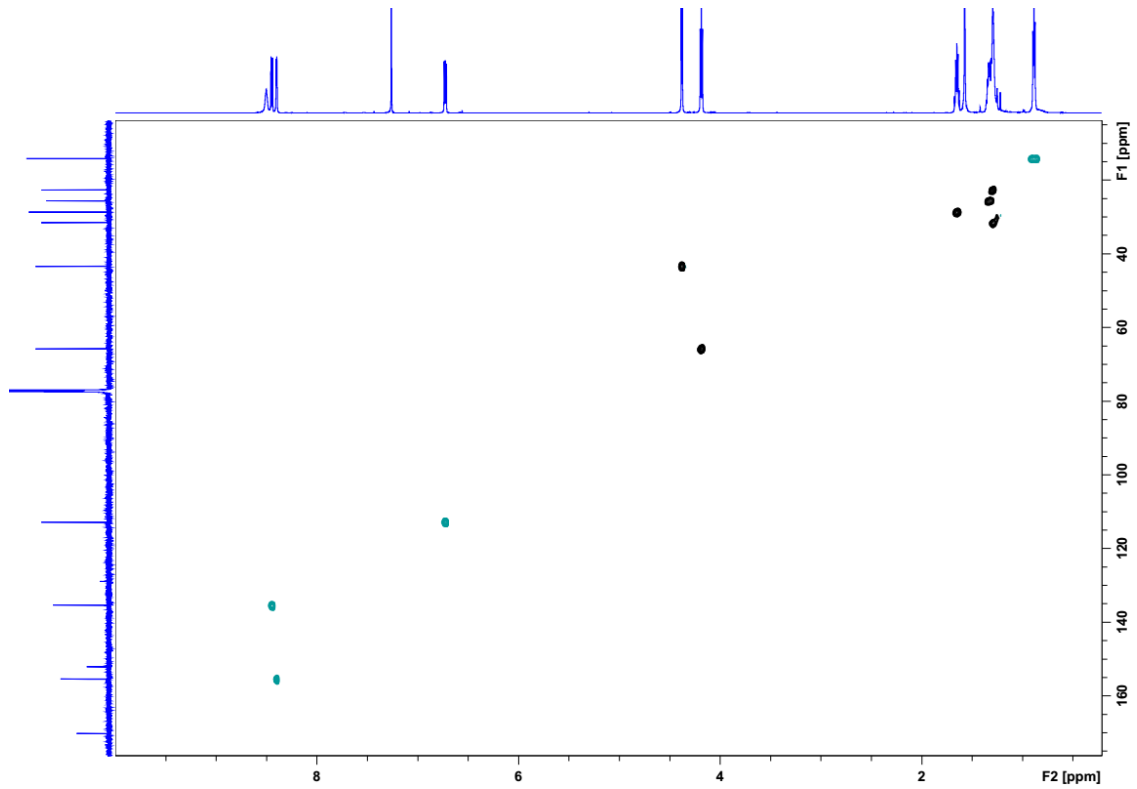


Fonte: Autor, 2017.

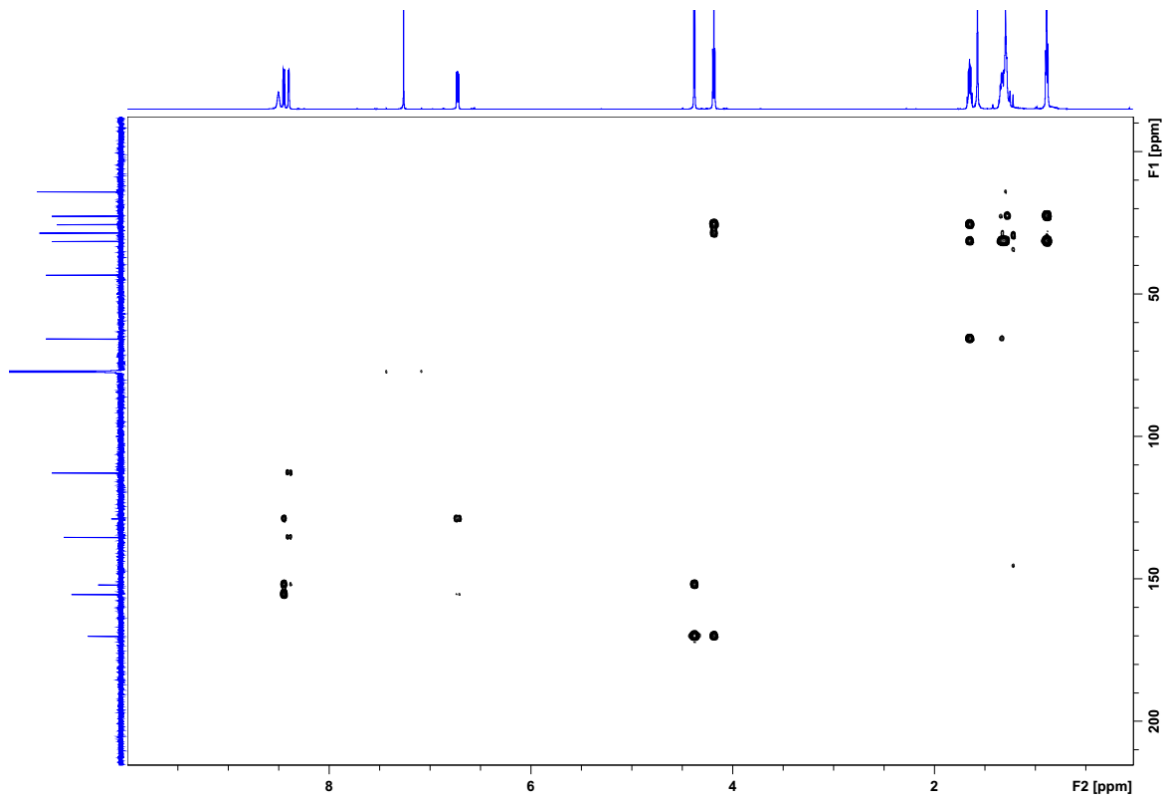
ANEXO 35 - Espectro de RMN DEPT 135 de 33 (CDCl_3 , 150 MHz).



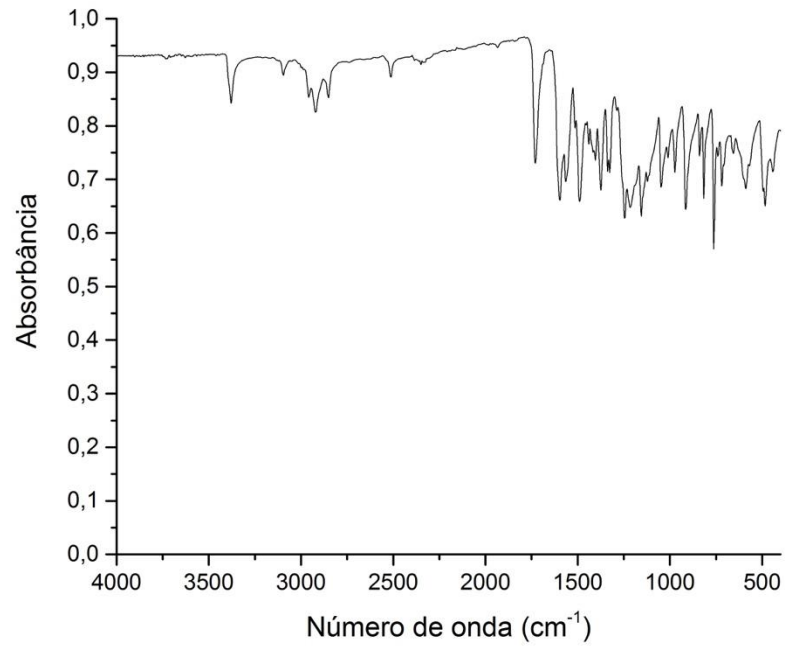
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 36 - Espectro de RMN HSQC de 33 (CDCl₃, 14,1 T).

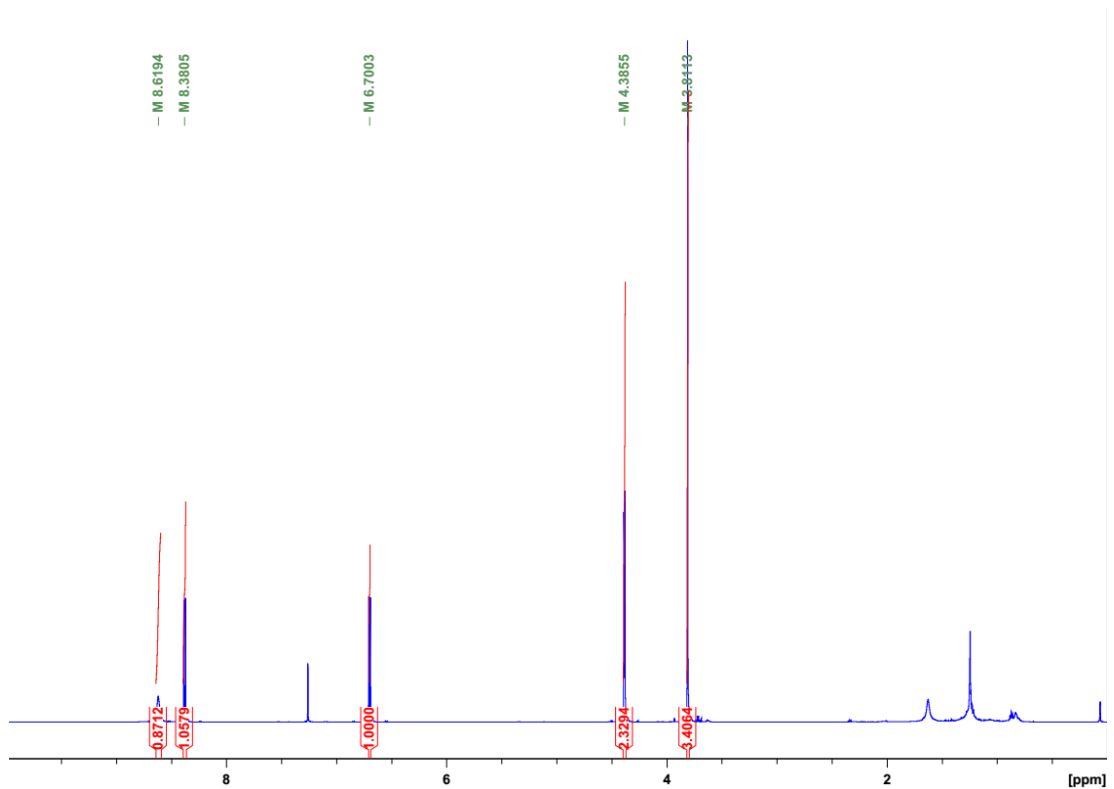
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 37 - Espectro de RMN HMBC de 33 (CDCl₃, 14,1 T).

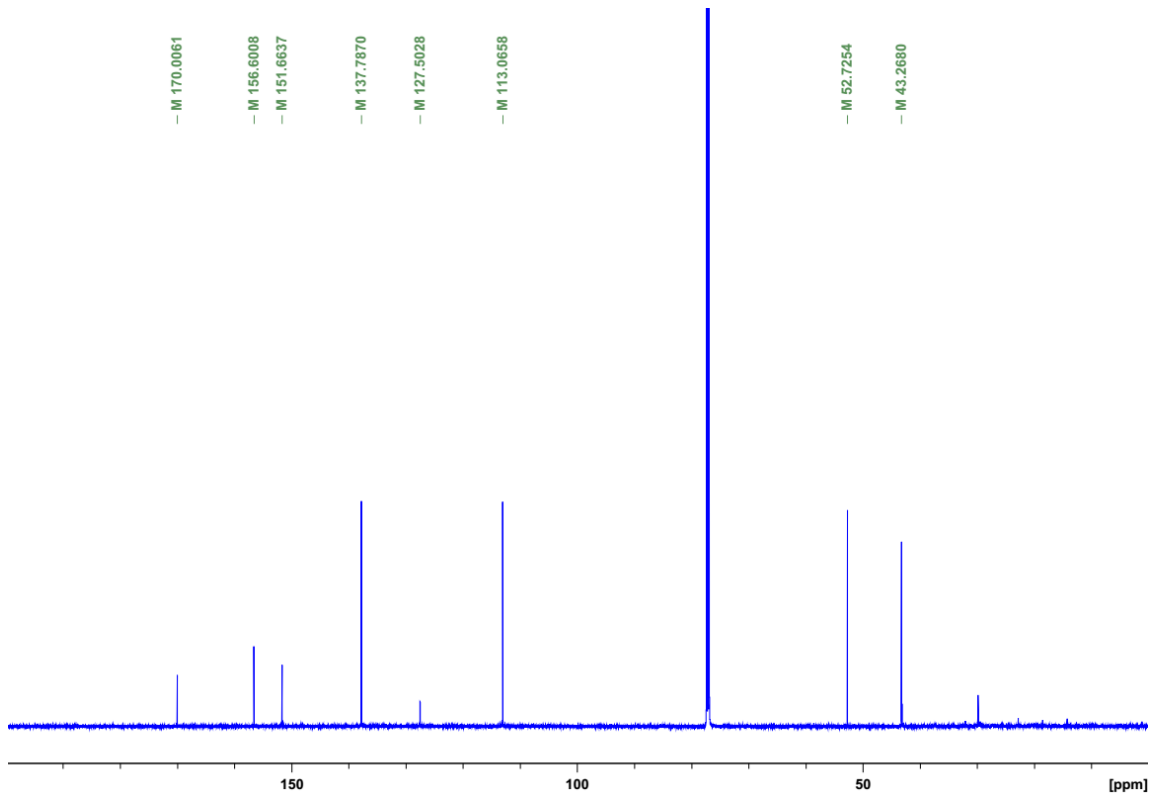
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 38 - Espectro de IV de 33 (modo ATR).

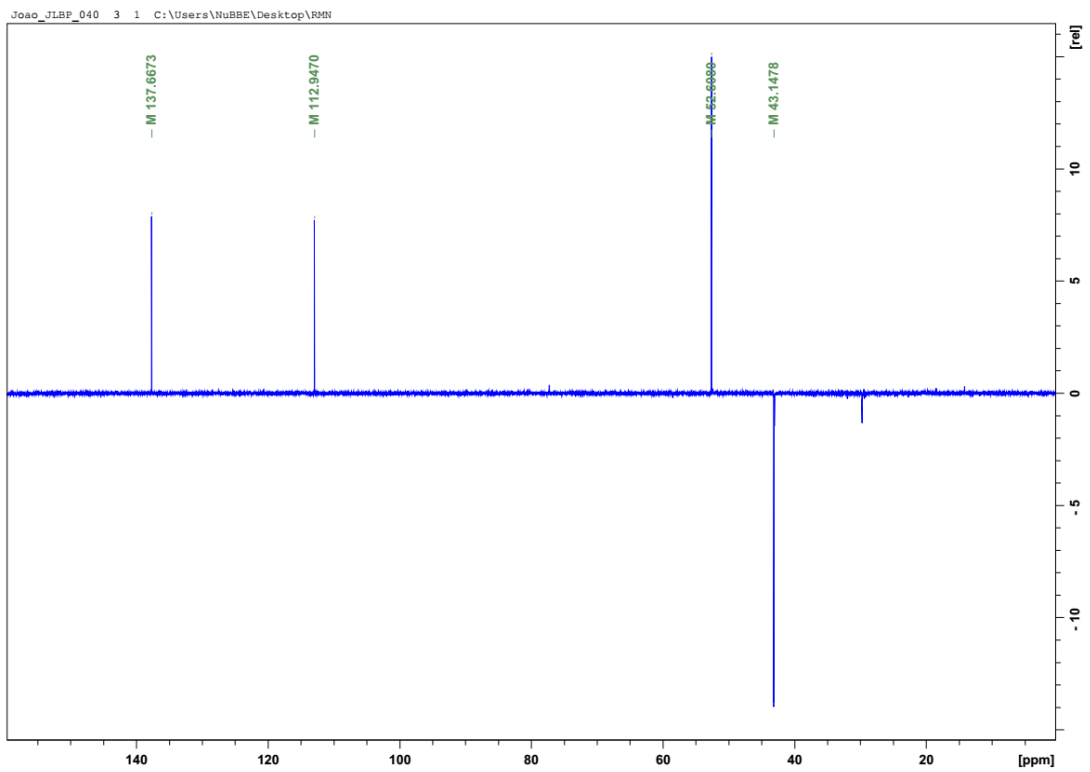
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 39 - Espectro de RMN ¹H de 35 (CDCl₃, 600 MHz).

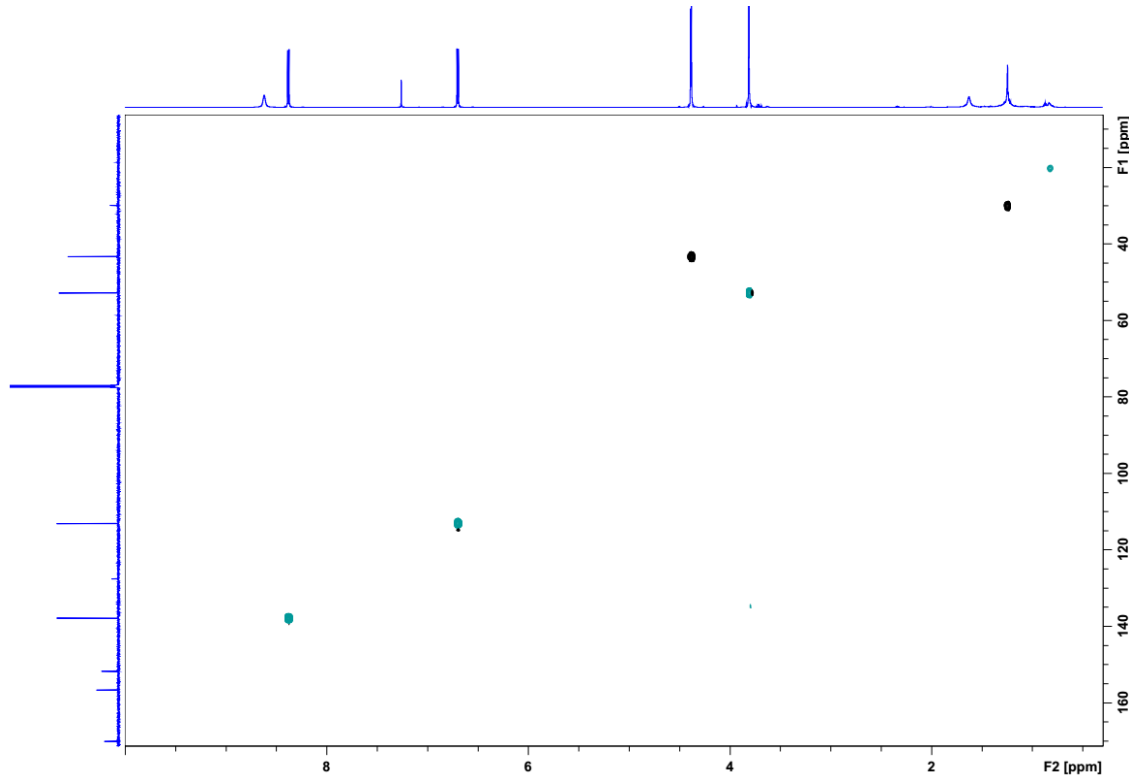
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 40 - Espectro de RMN ^{13}C de 35 (CDCl_3 , 150 MHz).

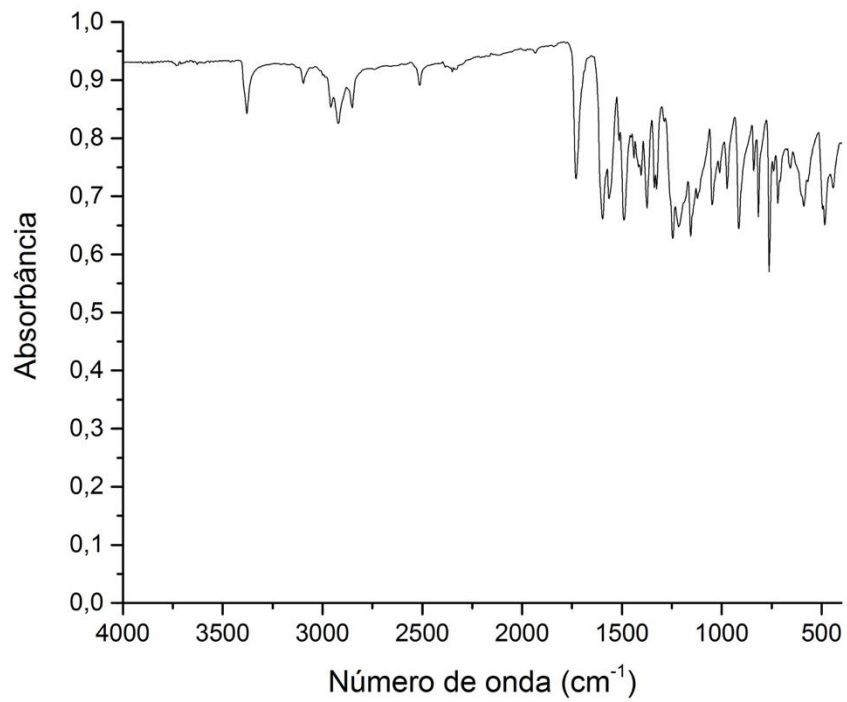
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 41 - Espectro de RMN DEPT 135 de 35 (CDCl_3 , 150 MHz).

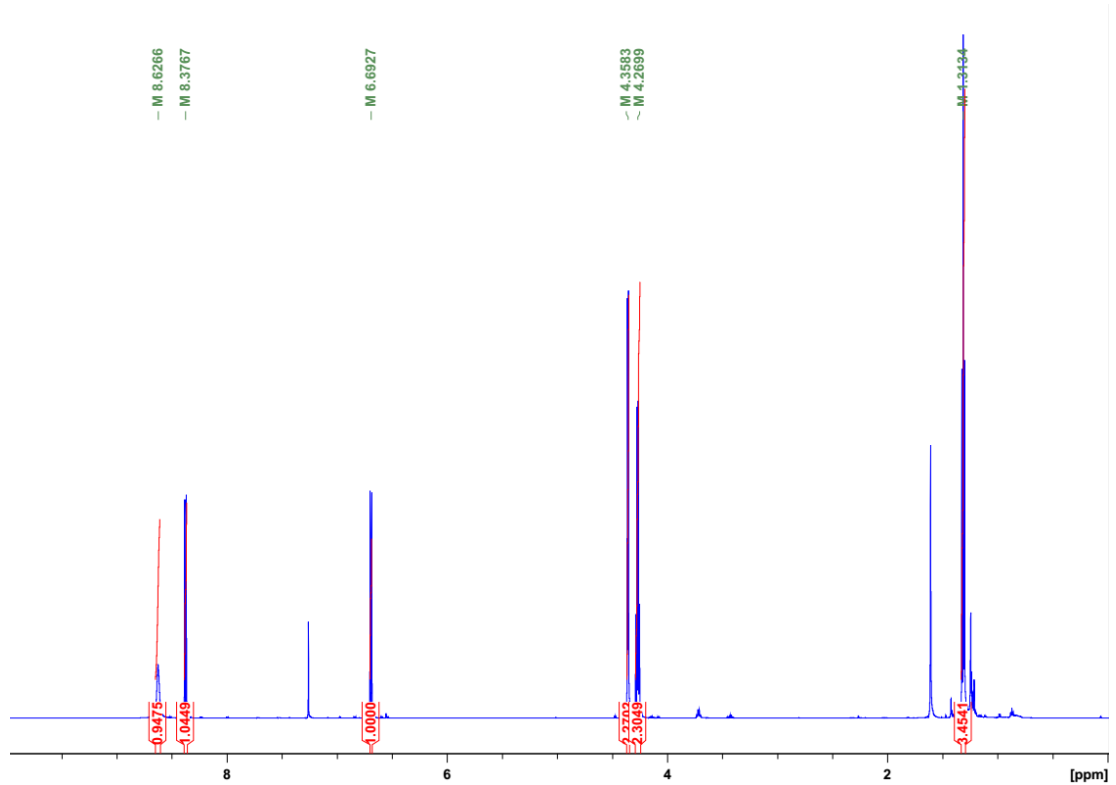
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 42 - Espectro de RMN HSQC de 35 (CDCl₃, 14,1 T).

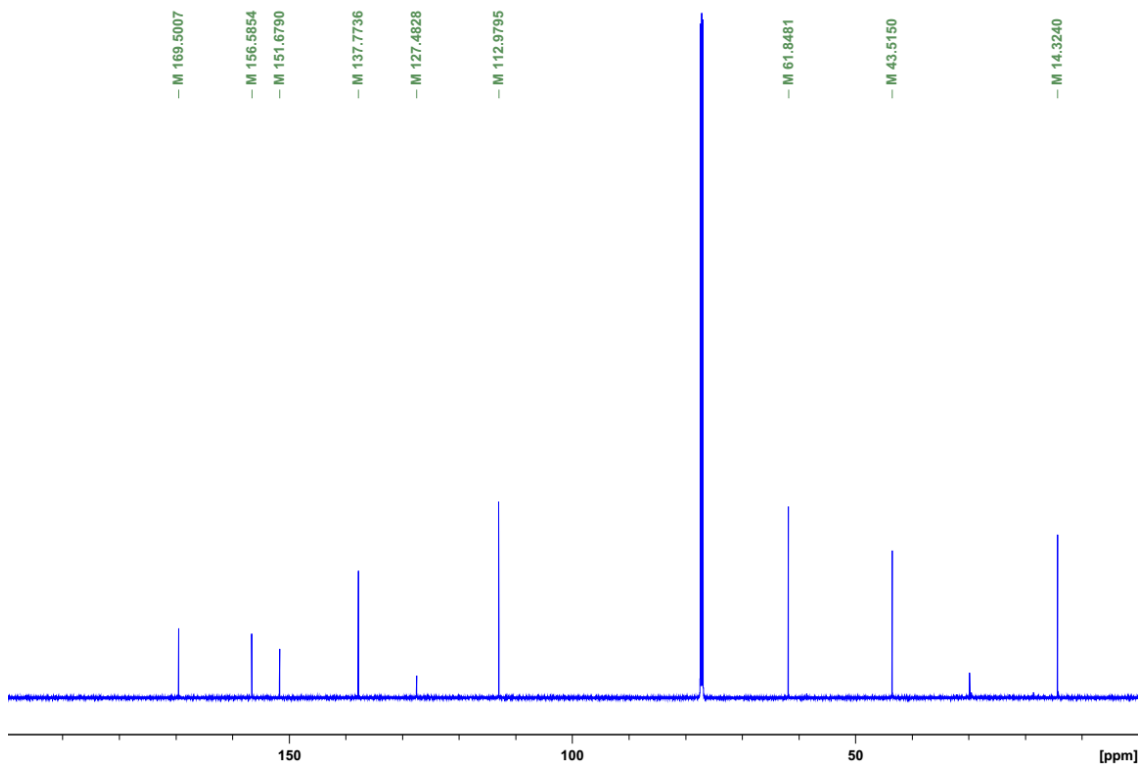
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 43 - Espectro de IV de 35 (modo ATR).

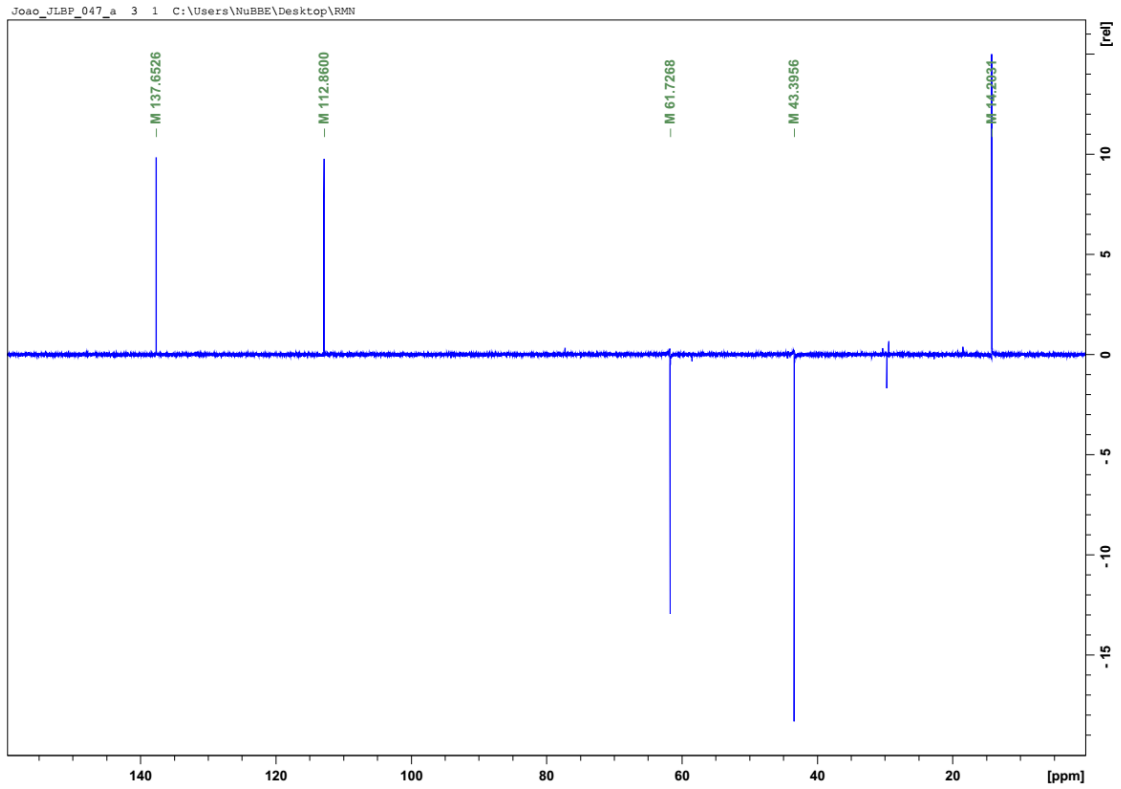
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 44 - Espectro de RMN ^1H de 36 (CDCl_3 , 600 MHz).

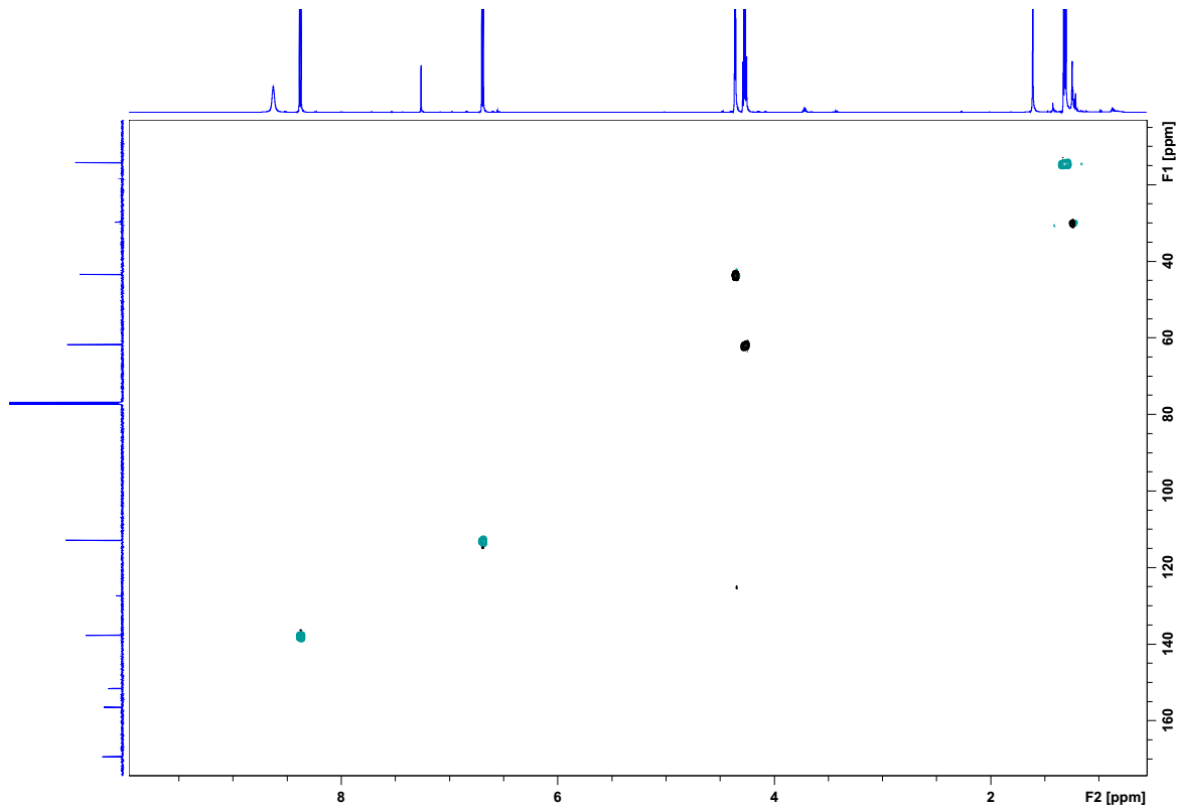
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 45 - Espectro de RMN ^{13}C de 36 (CDCl_3 , 150 MHz).

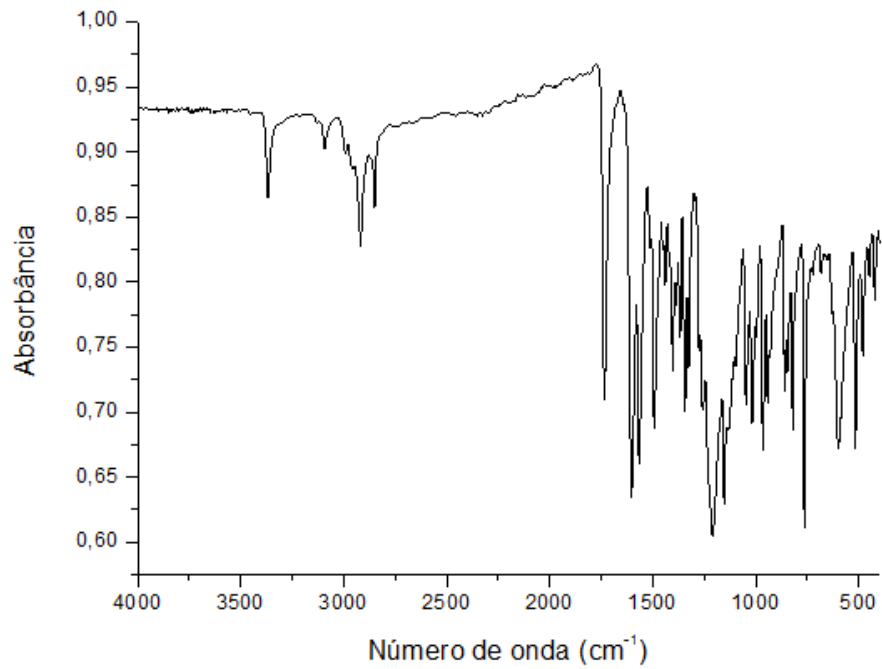
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 46 - Espectro de RMN DEPT 135 de 36 (CDCl₃, 150 MHz).

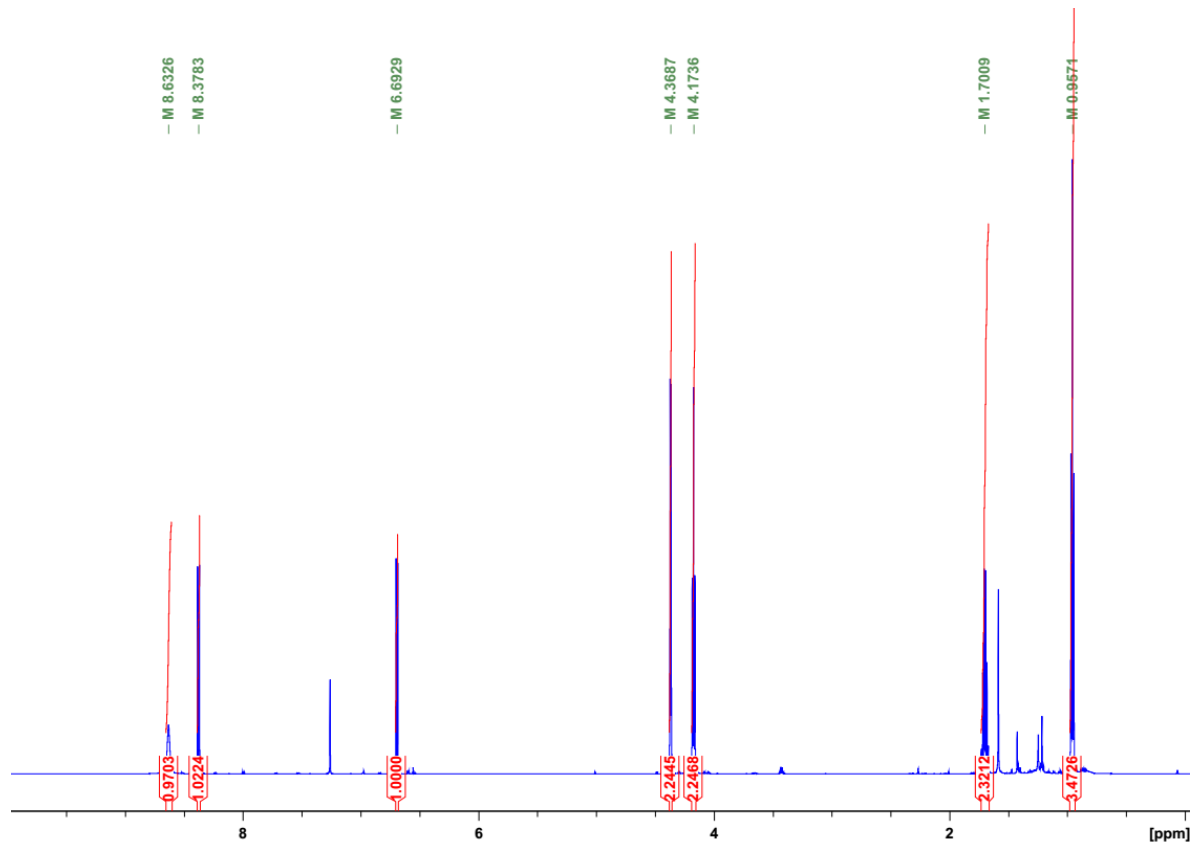
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 47 - Espectro de RMN HSQC de 36 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

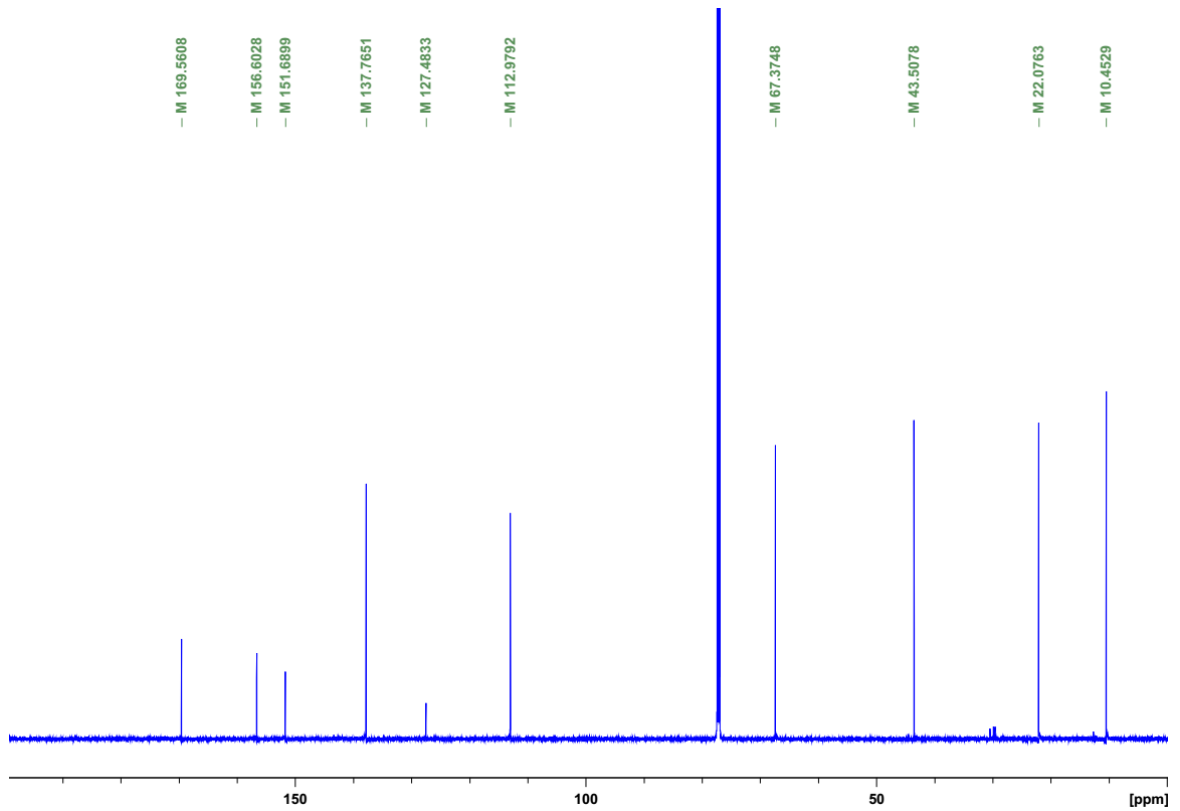
ANEXO 48 - Espectro de IV de 36 (modo ATR).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 49 - Espectro de RMN ¹H de 37 (CDCl₃, 600 MHz).

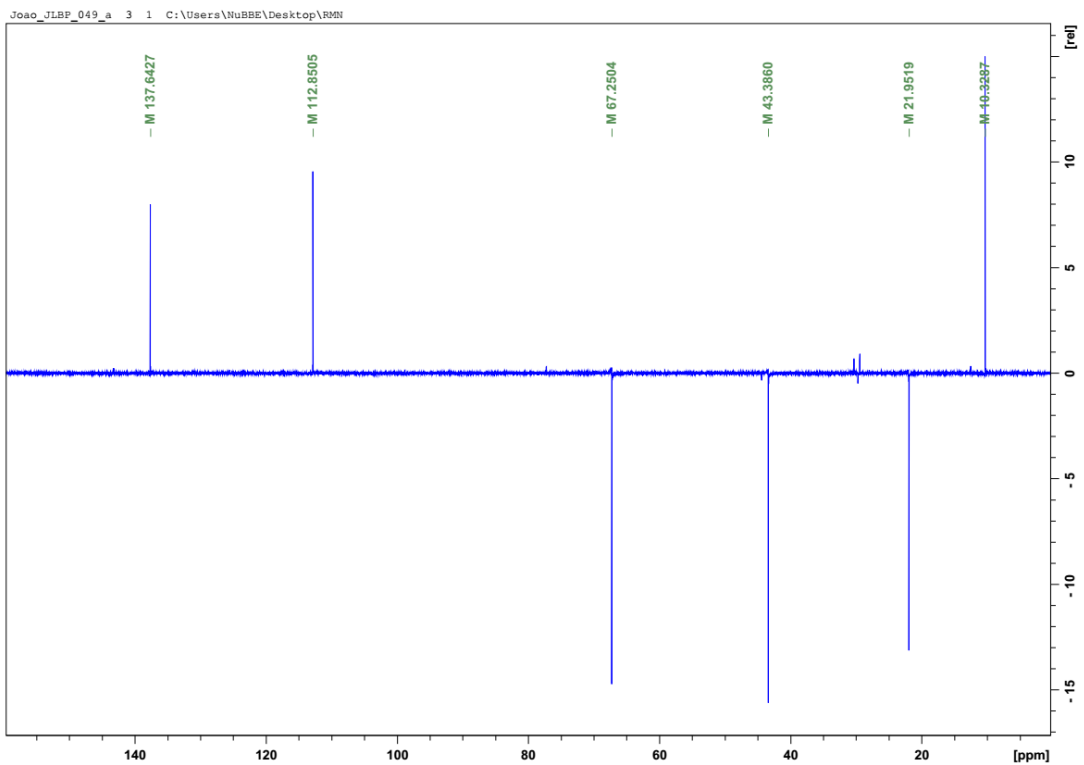
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 50 - Espectro de RMN ^{13}C de 37 (CDCl_3 , 150 MHz).

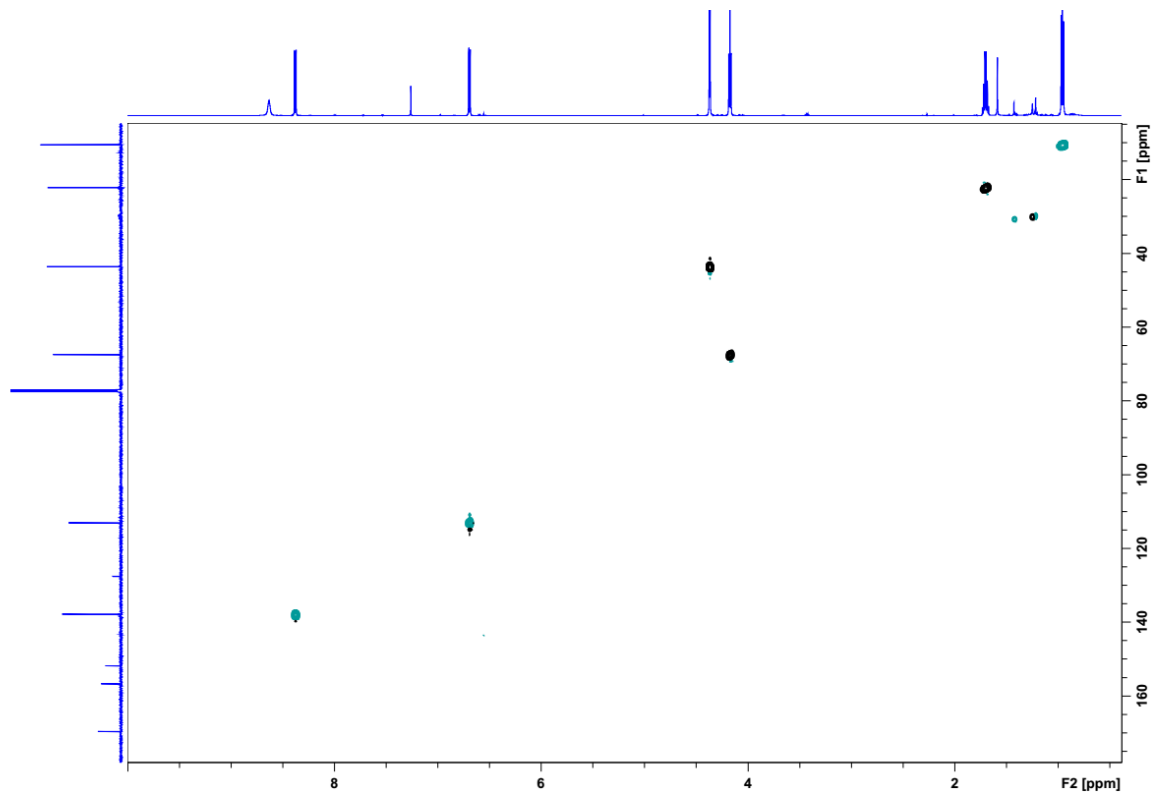


Fonte: Autor, 2017.

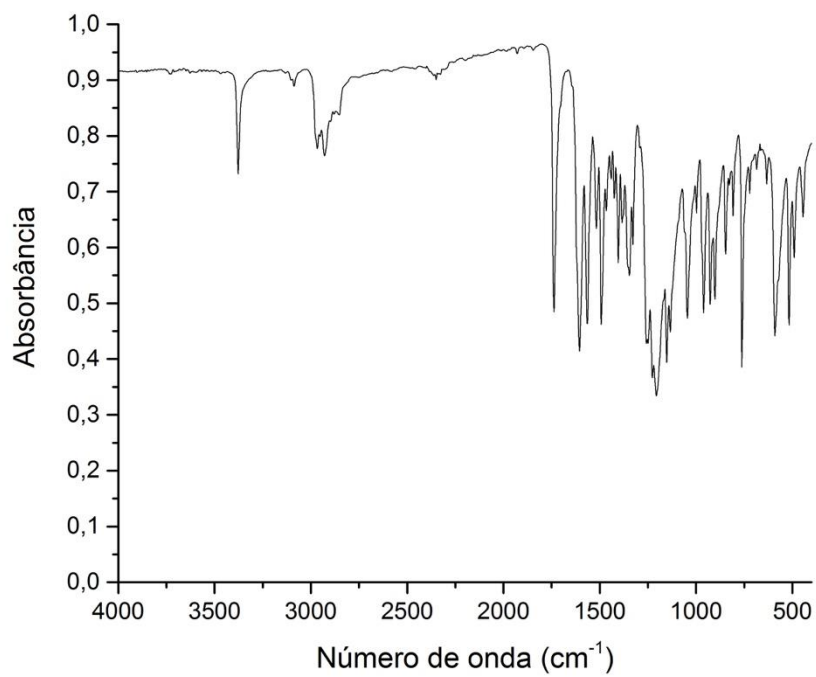
ANEXO 51 - Espectro de RMN DEPT 135 de 37 (CDCl_3 , 150 MHz).



Fonte: Autor, 2017.

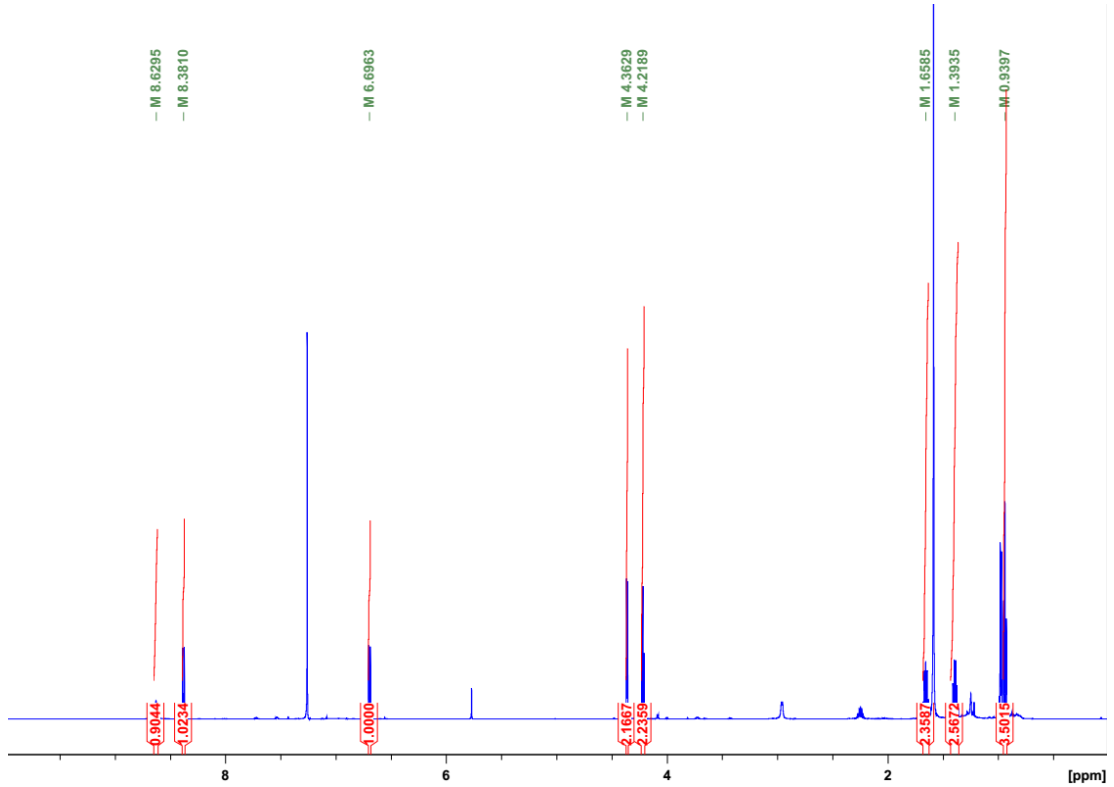
ANEXO 52 - Espectro de RMN HSQC de 37 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 53 - Espectro de IV de 37 (modo ATR).

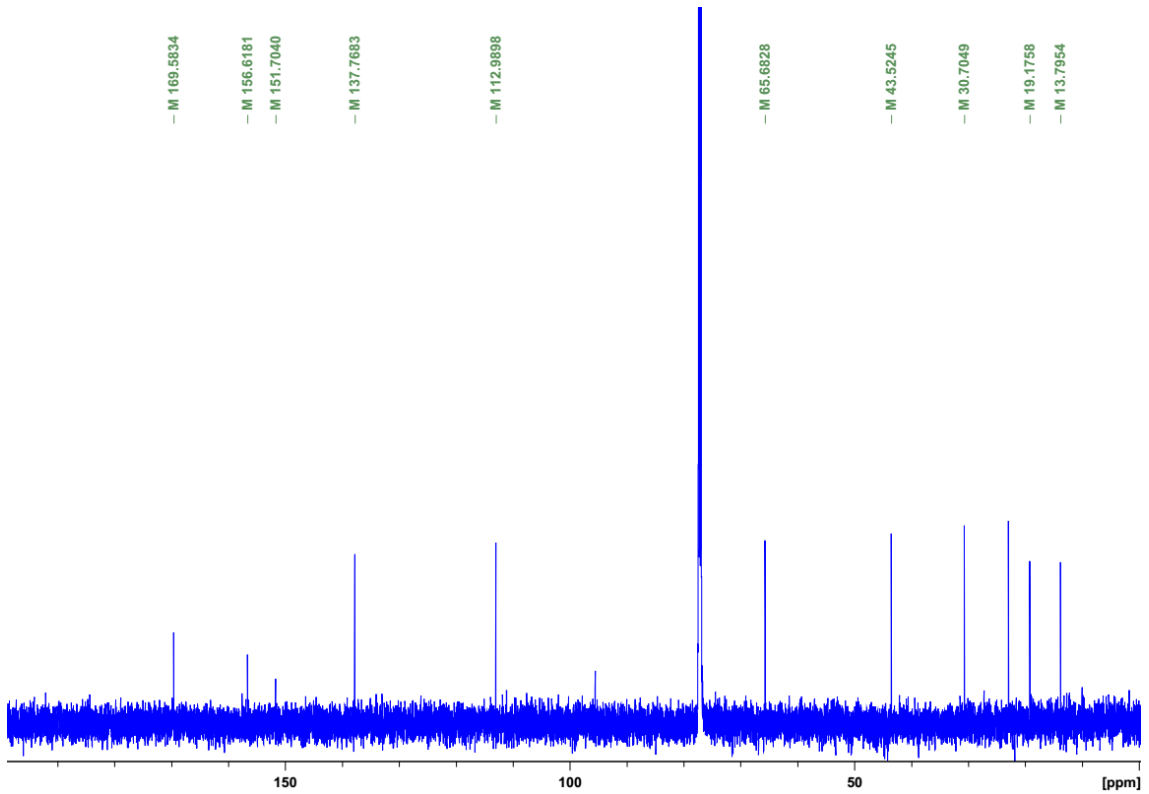
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 54 - Espectro de RMN ^1H de 38 (CDCl_3 , 600 MHz).

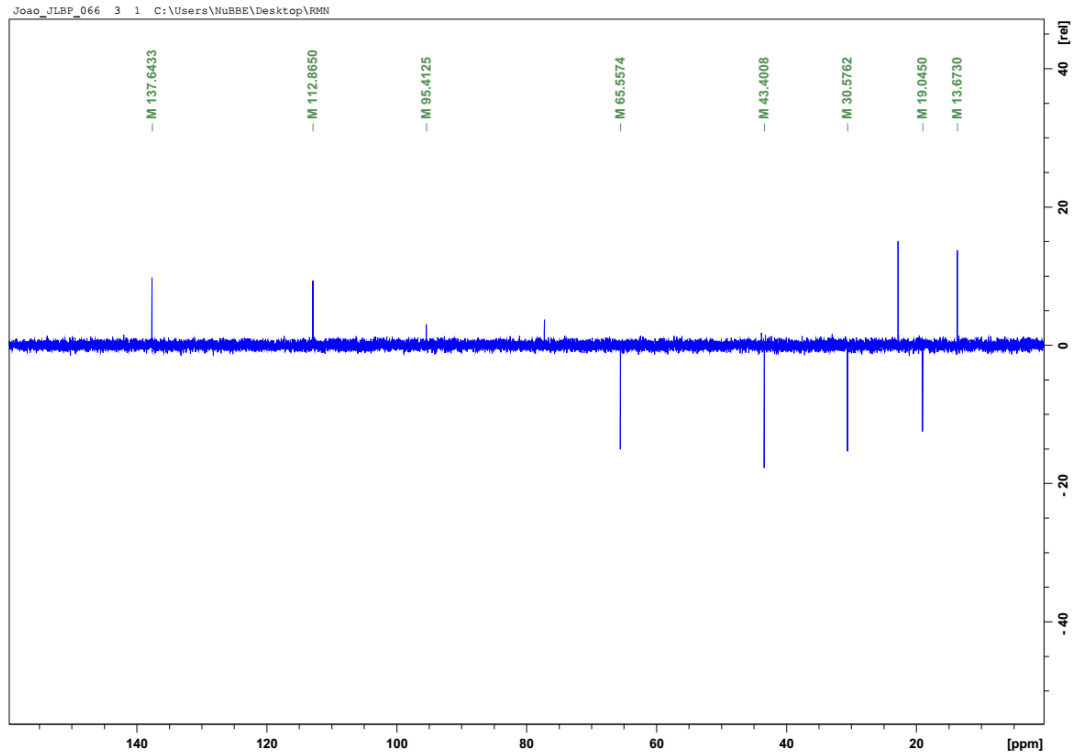


Fonte: Autor, 2017.

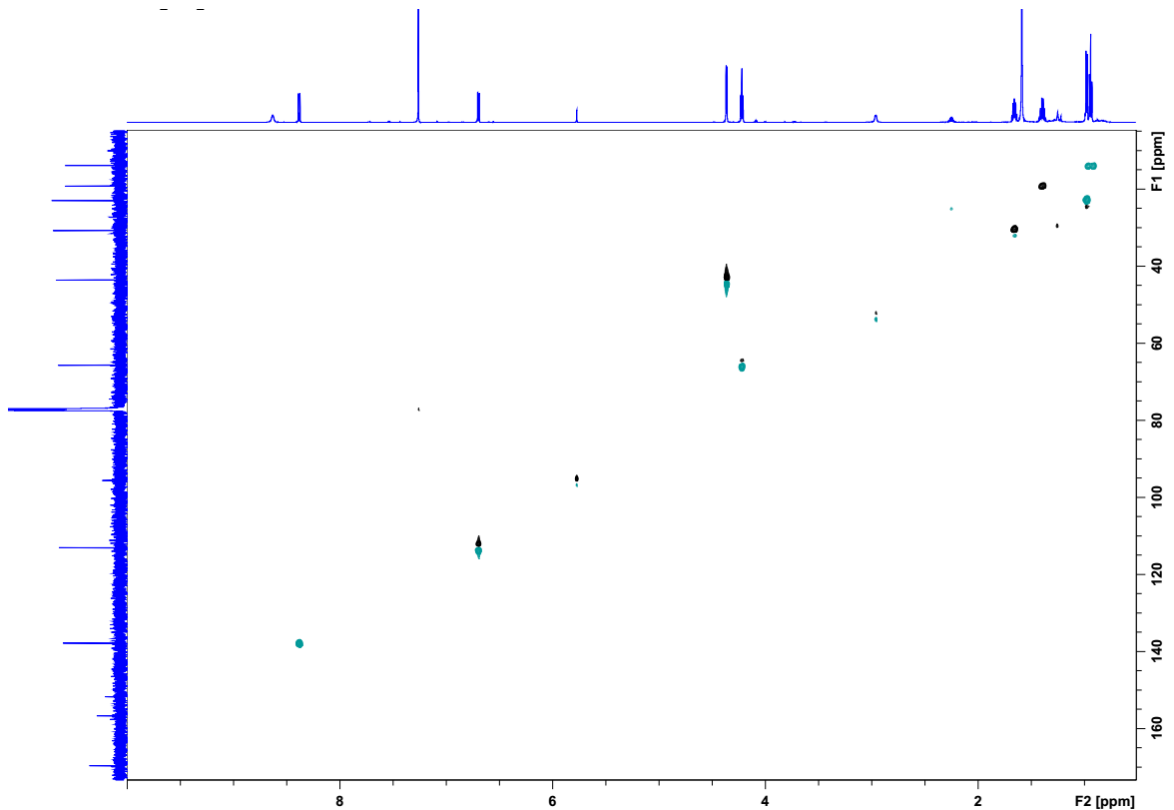
ANEXO 55 - Espectro de RMN ^{13}C de 38 (CDCl_3 , 150 MHz).



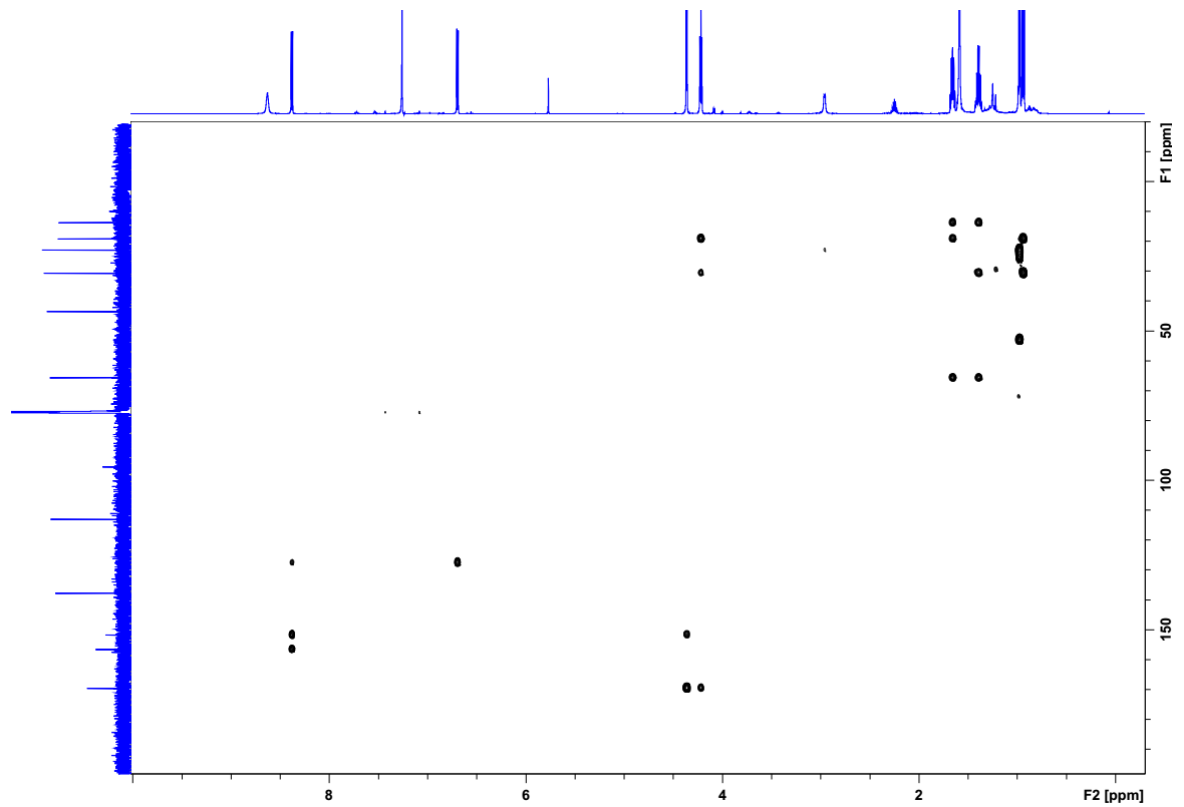
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 56 - Espectro de RMN DEPT 135 de 38 (CDCl₃, 150 MHz).

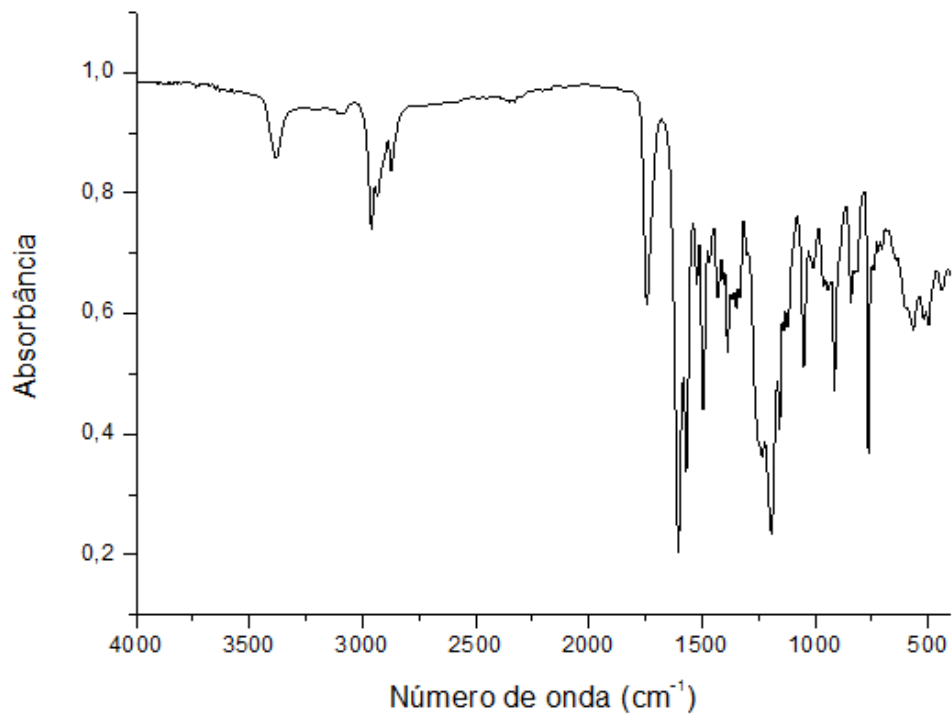
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 57 - Espectro de RMN HSQC de 38 (CDCl₃, 14,1 T).

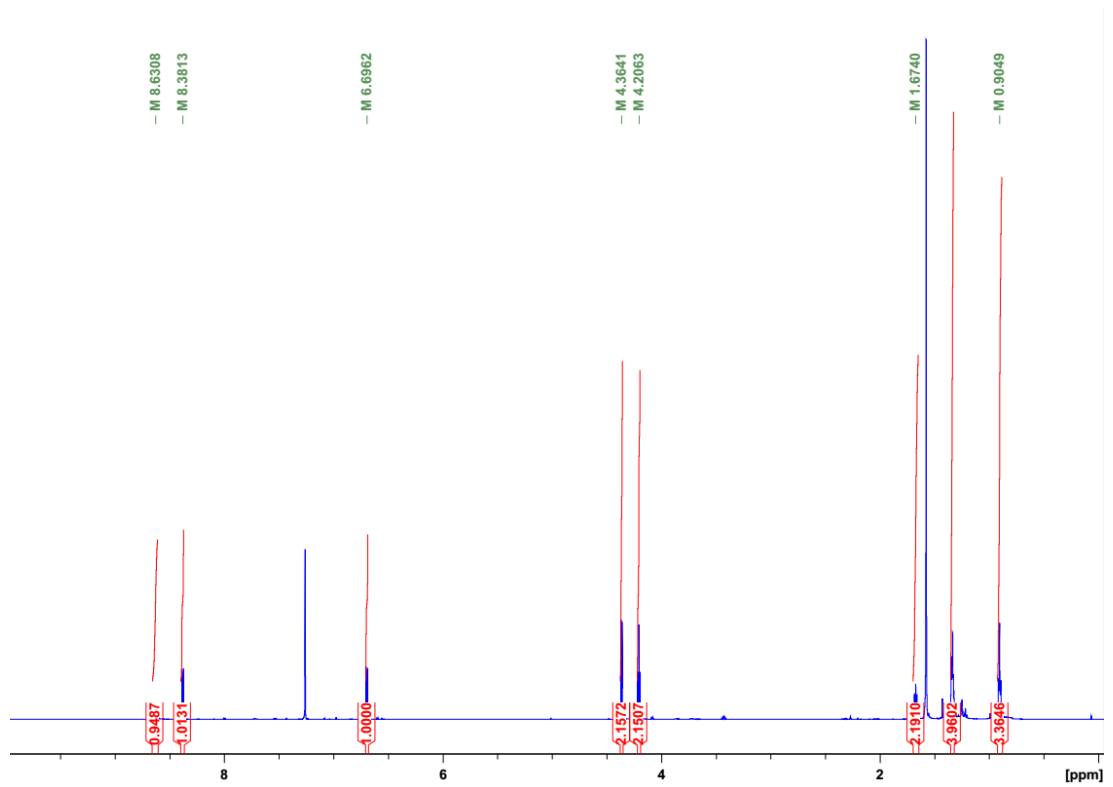
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 58 - Espectro de RMN HMBC de 38 (CDCl₃, 14,1 T).

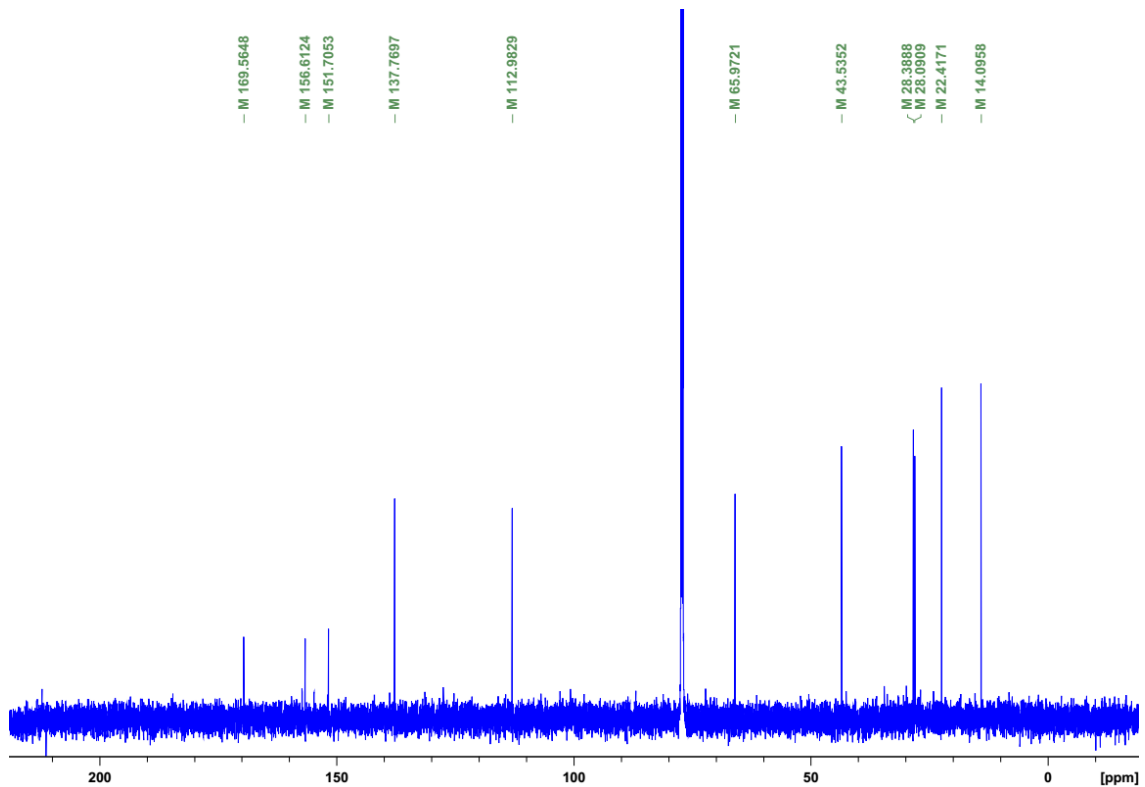
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 59 - Espectro de IV de 38 (modo ATR).

Fonte: Autor, 2017.

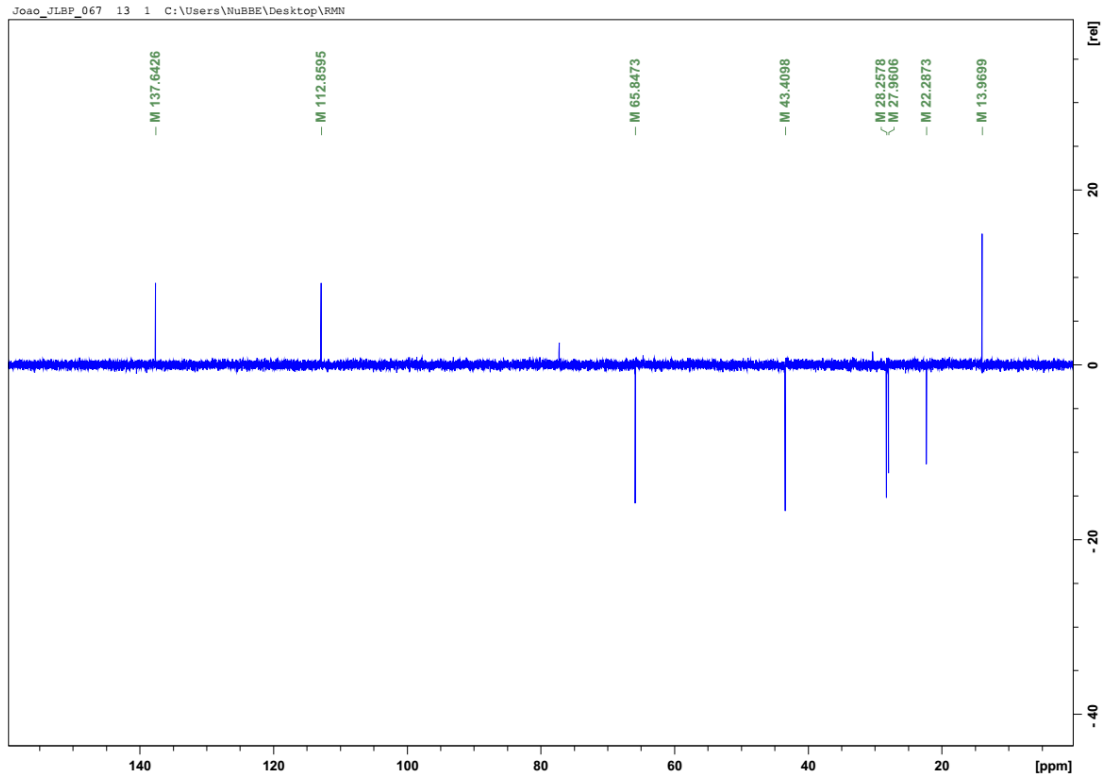
ANEXO 60 - Espectro de RMN ^1H de 39 (CDCl_3 , 600 MHz).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 61 - Espectro de RMN ^{13}C de 39 (CDCl_3 , 150 MHz).

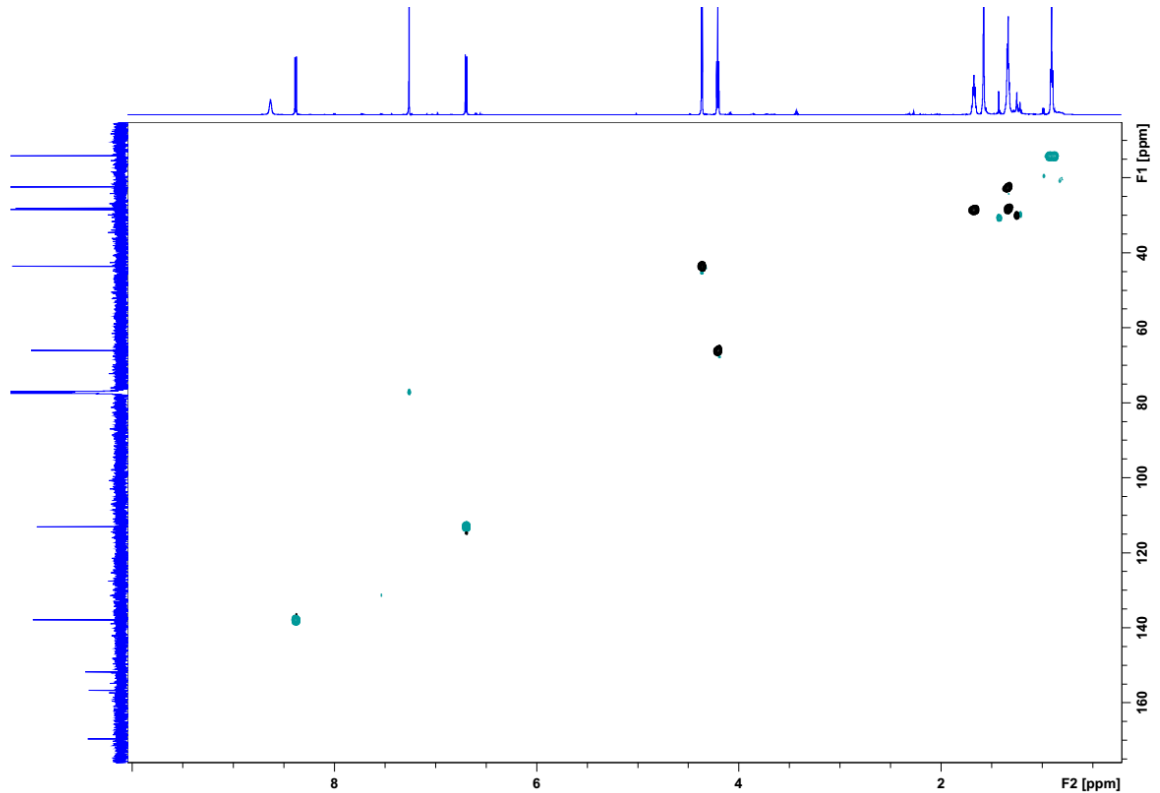
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 62 - Espectro de RMN DEPT 135 de 39 (CDCl₃, 150 MHz).

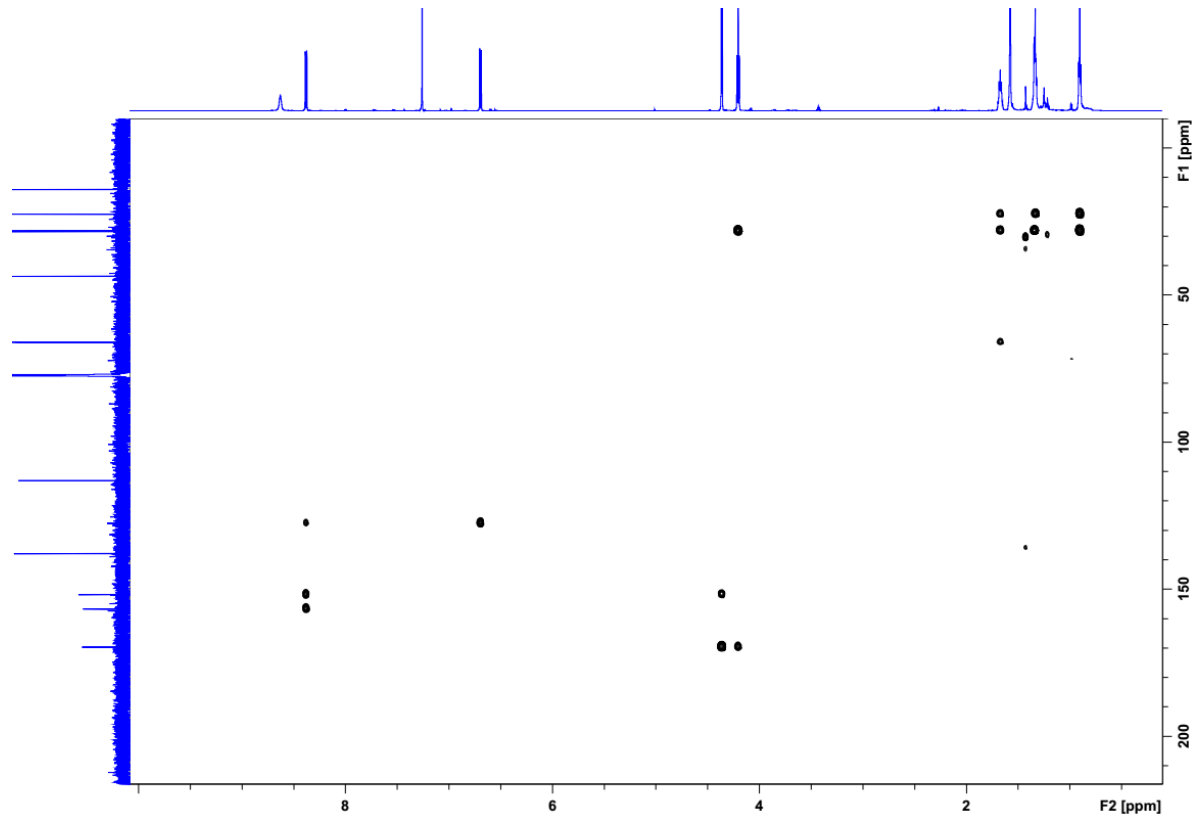


Fonte: Autor, 2017.

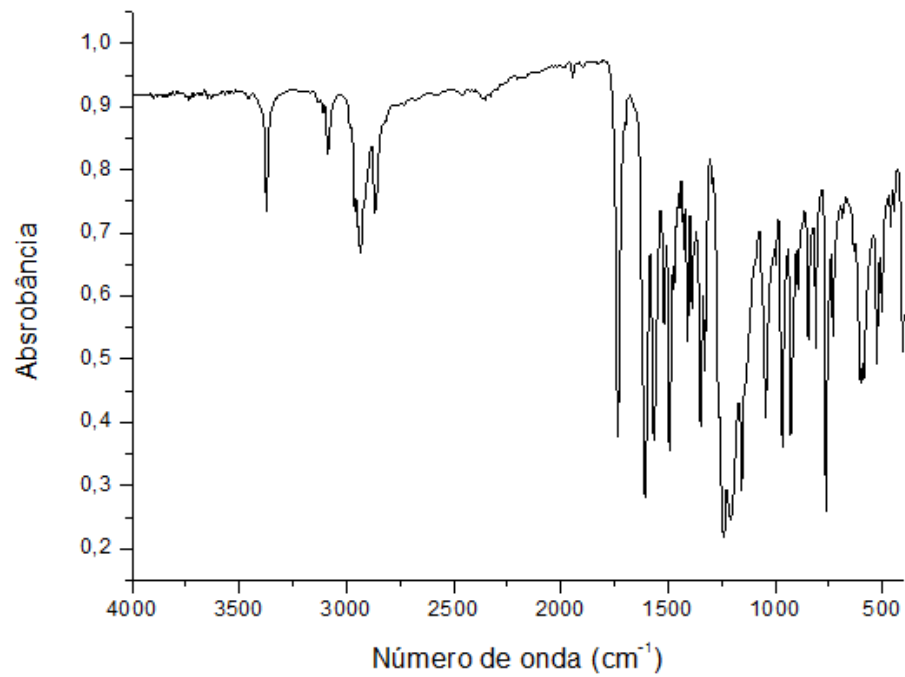
ANEXO 63 - Espectro de RMN HSQC de 39 (CDCl₃, 14,1 T).



Fonte: Autor, 2017.

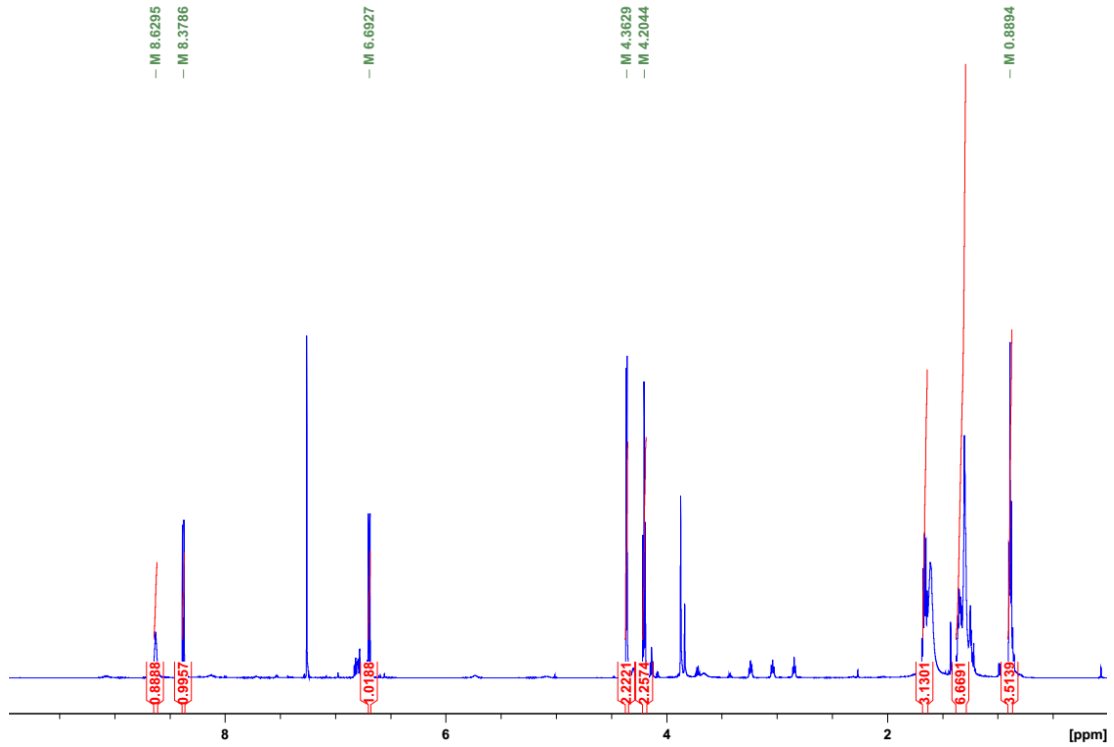
ANEXO 64 - Espectro de RMN HMBC de 39 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 65 - Espectro de IV de 39 (modo ATR).

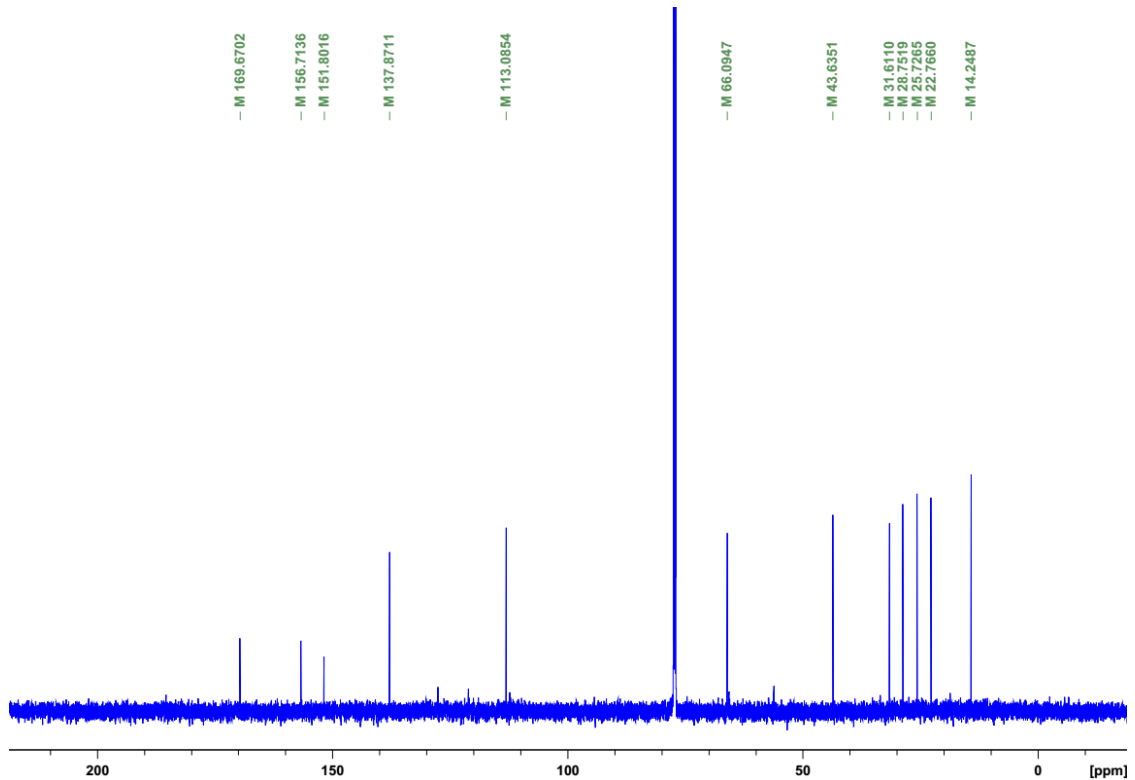
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 66 - Espectro de RMN ^1H de 40 (CDCl_3 , 600 MHz).

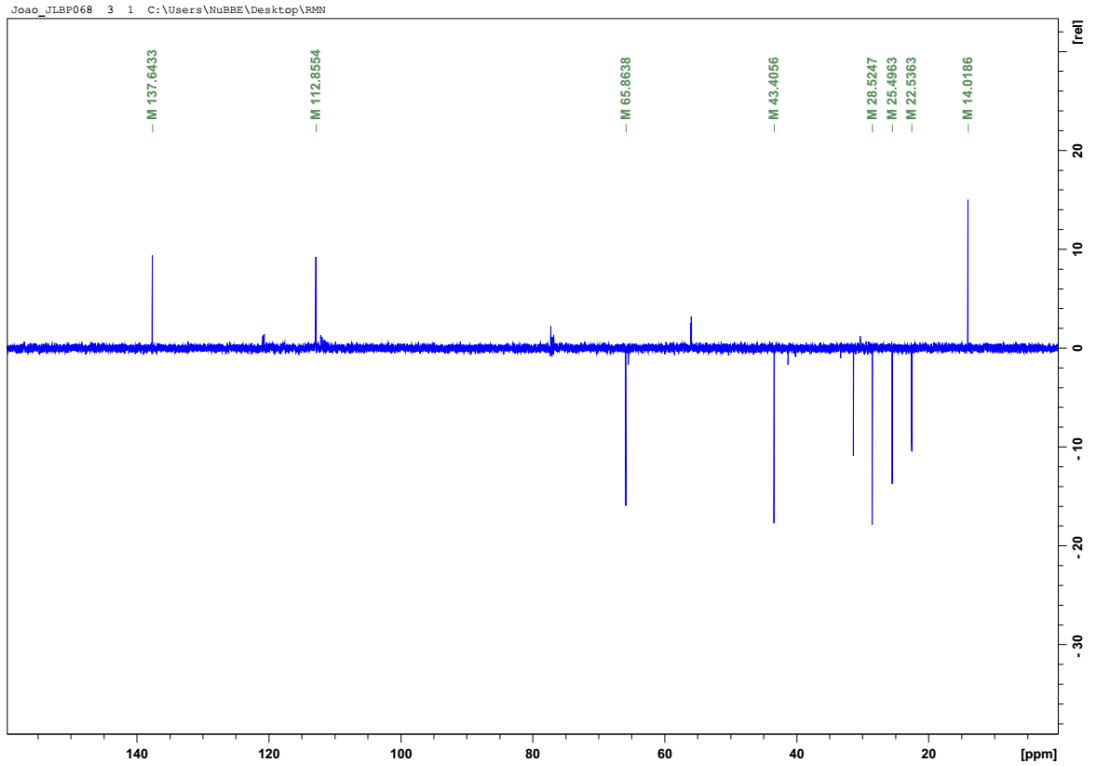


Fonte: Autor, 2017.

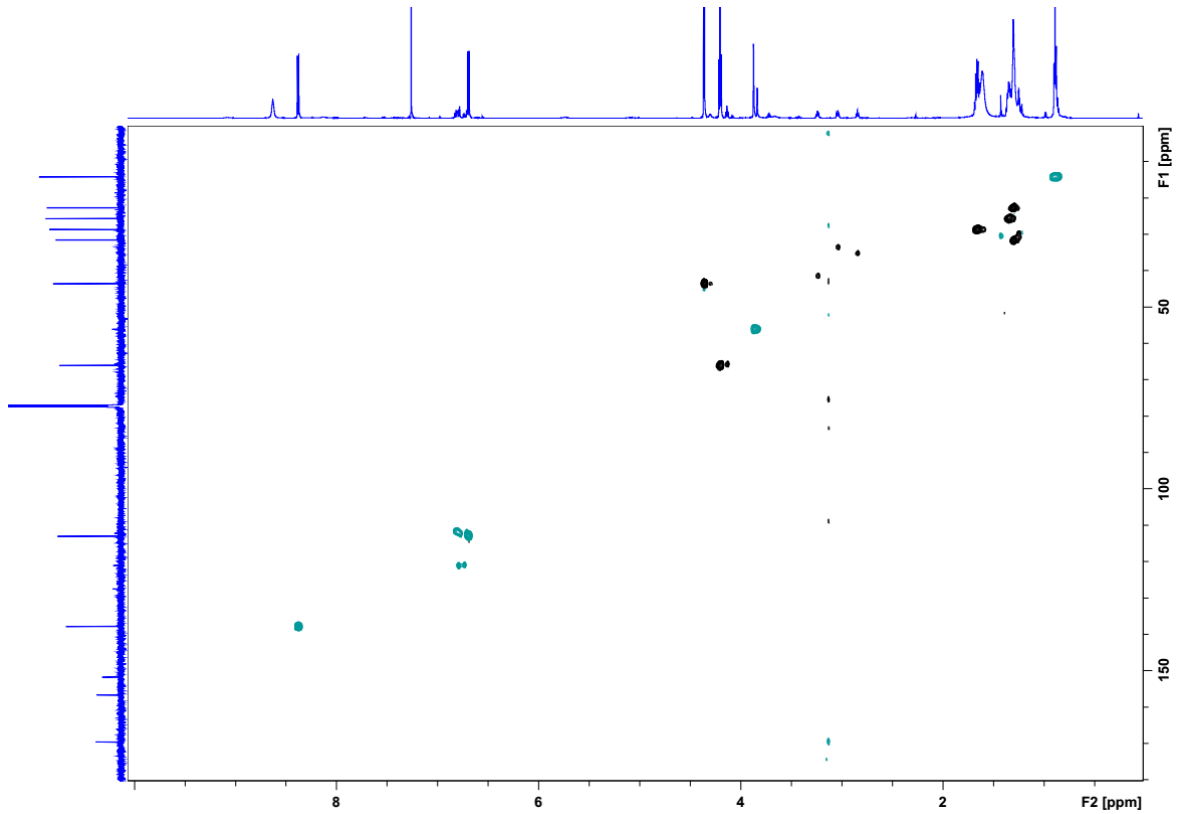
ANEXO 67 - Espectro de RMN ^{13}C de 40 (CDCl_3 , 150 MHz).



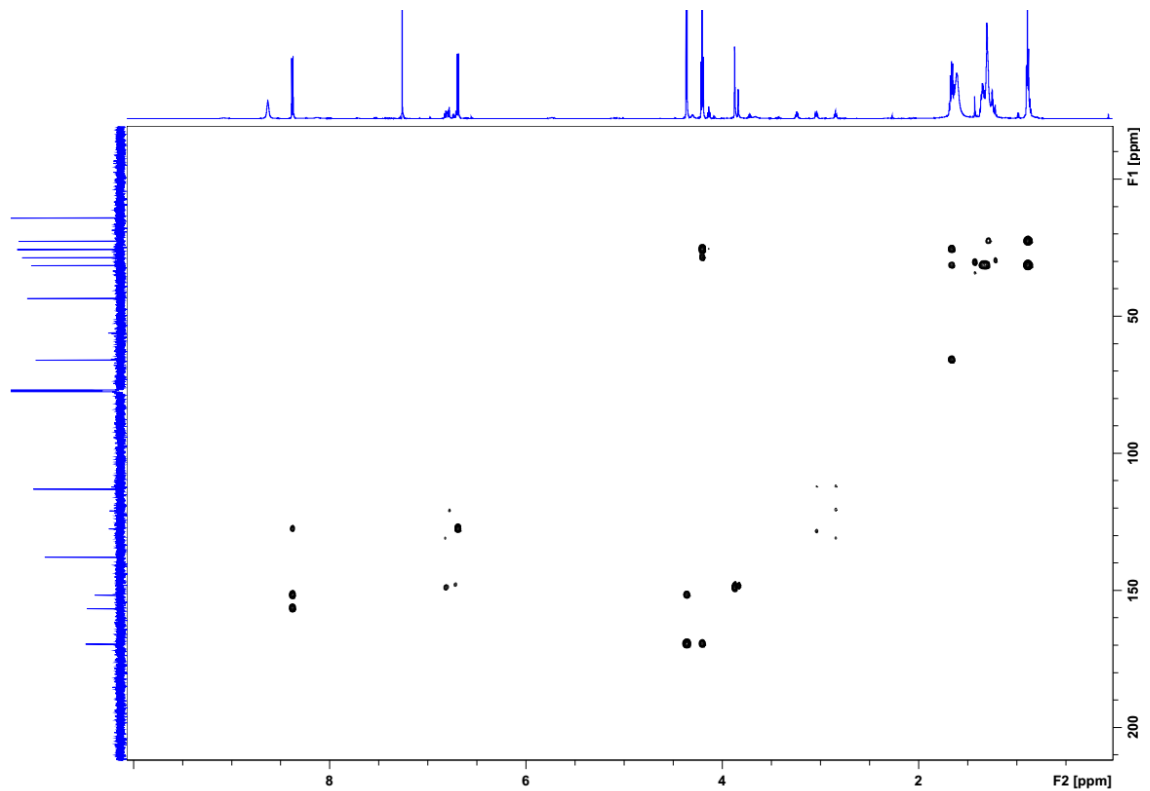
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 68 - Espectro de RMN DEPT 135 de 40 (CDCl₃, 150 MHz).

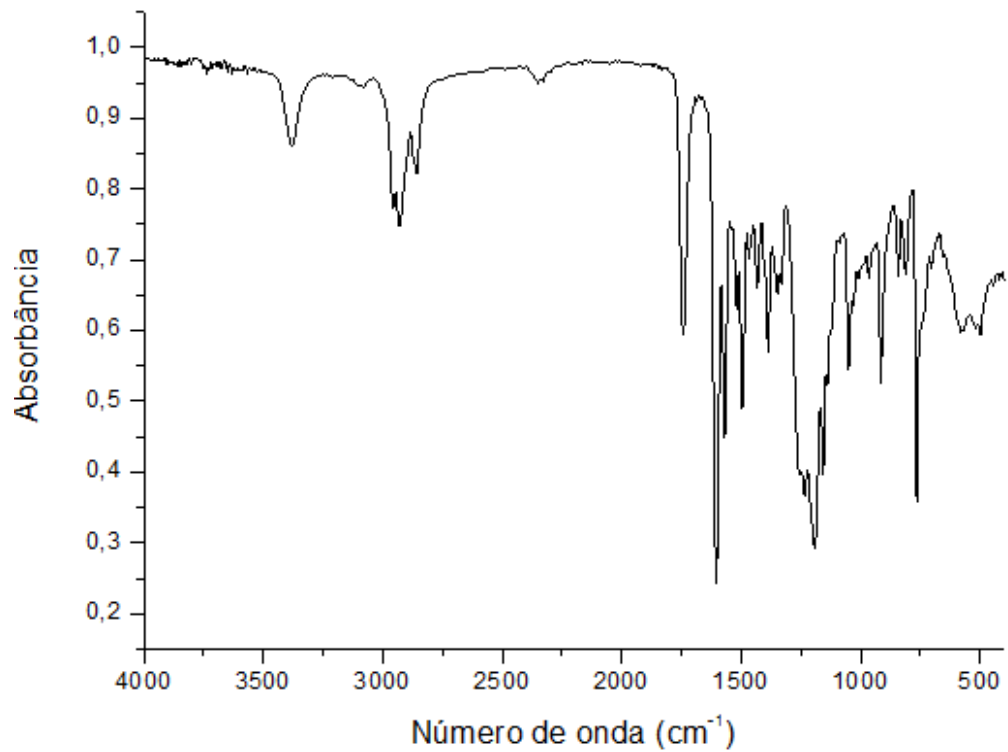
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 69 - Espectro de RMN HSQC de 40 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

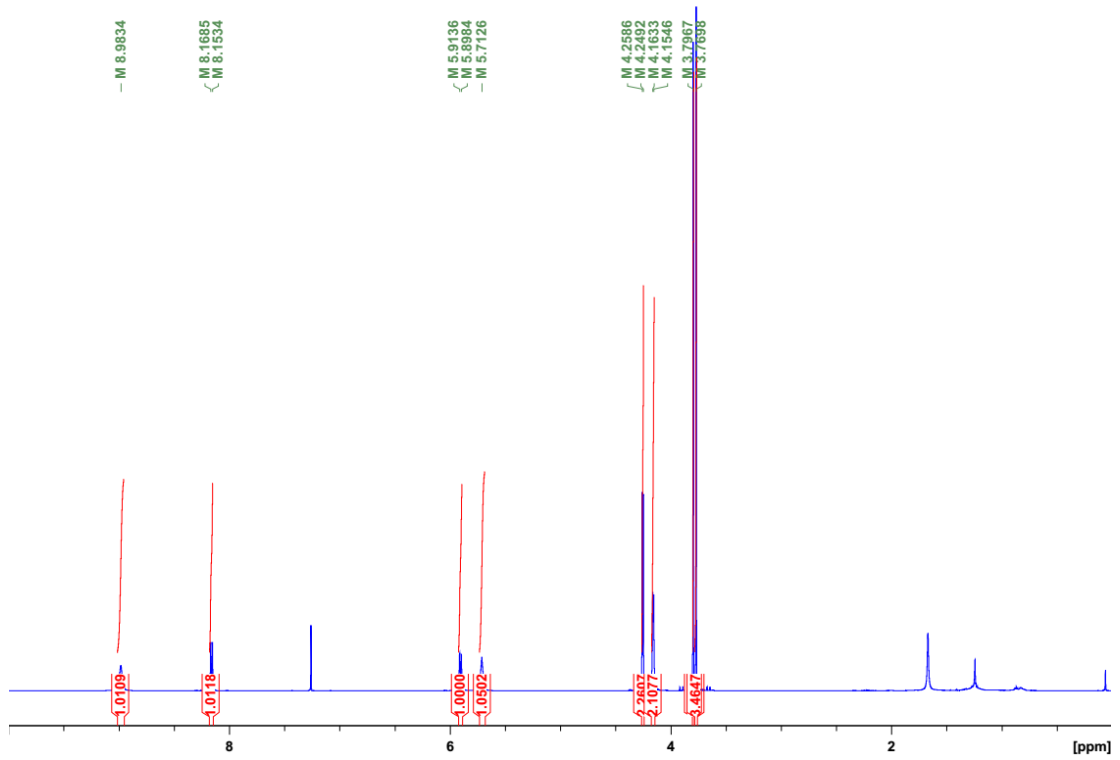
ANEXO 70 - Espectro de RMN HMBC de 40 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 65 - Espectro de IV de 40 (modo ATR).

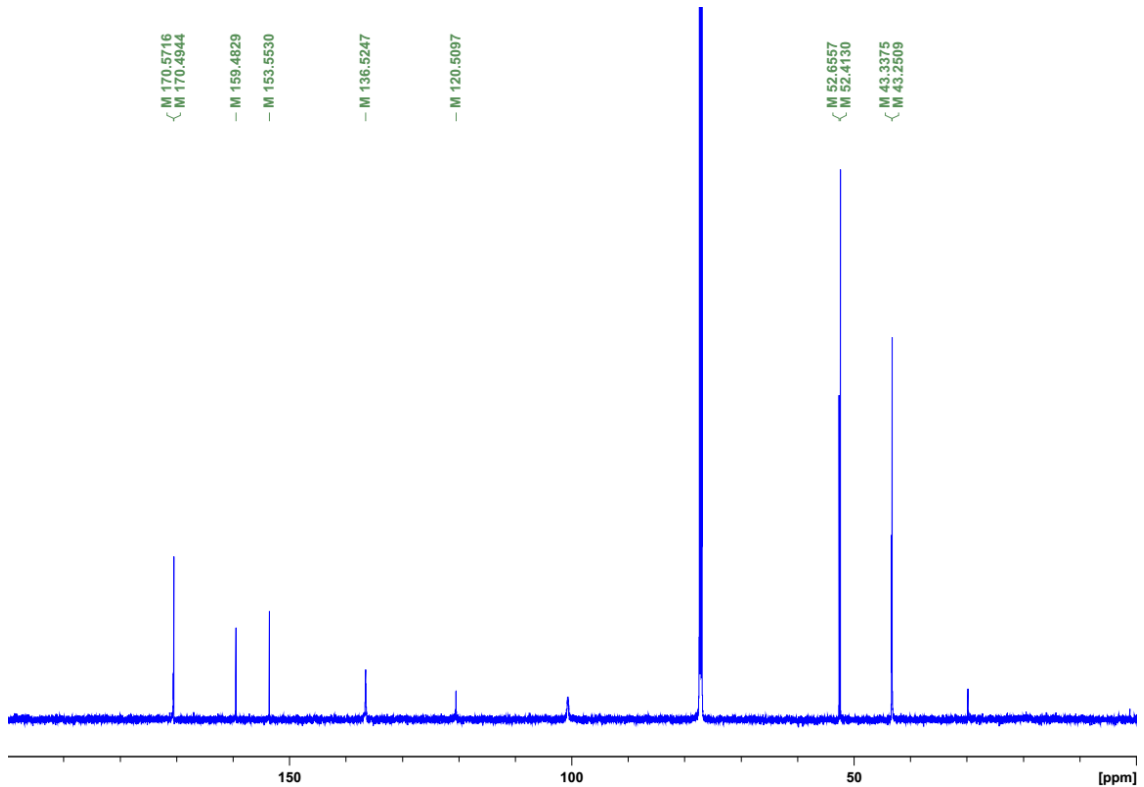
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 72 - Espectro de RMN ^1H de 41 (CDCl_3 , 600 MHz).

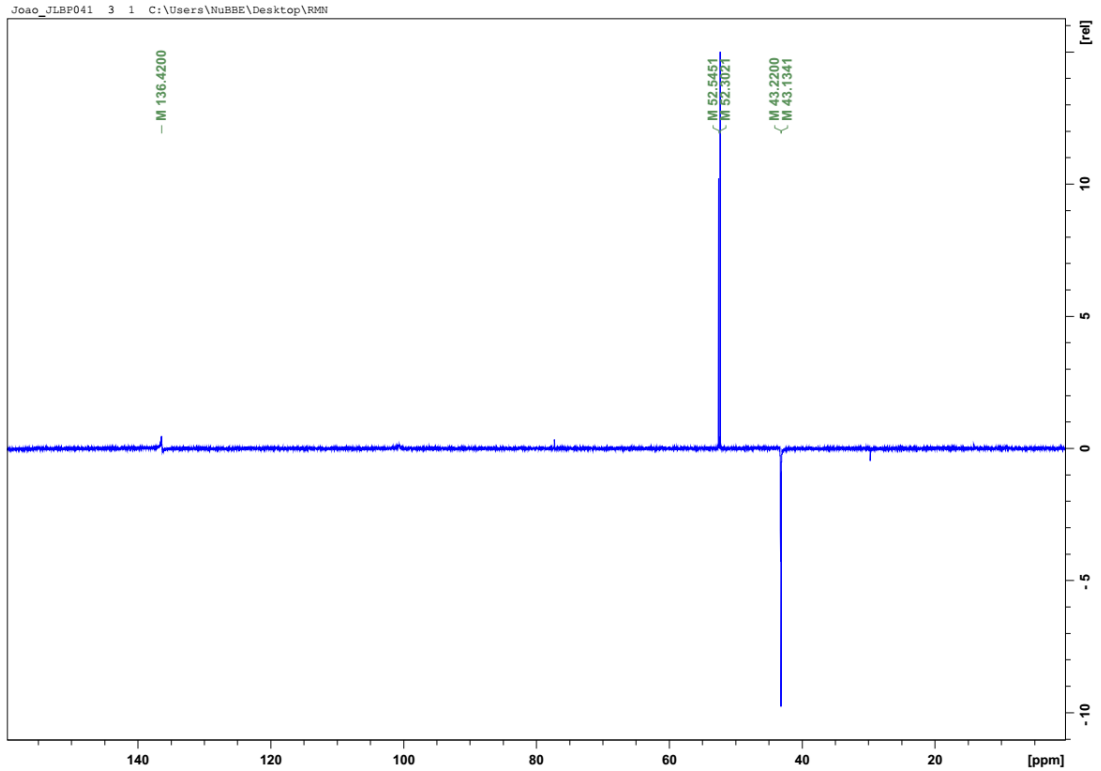


Fonte: Autor, 2017.

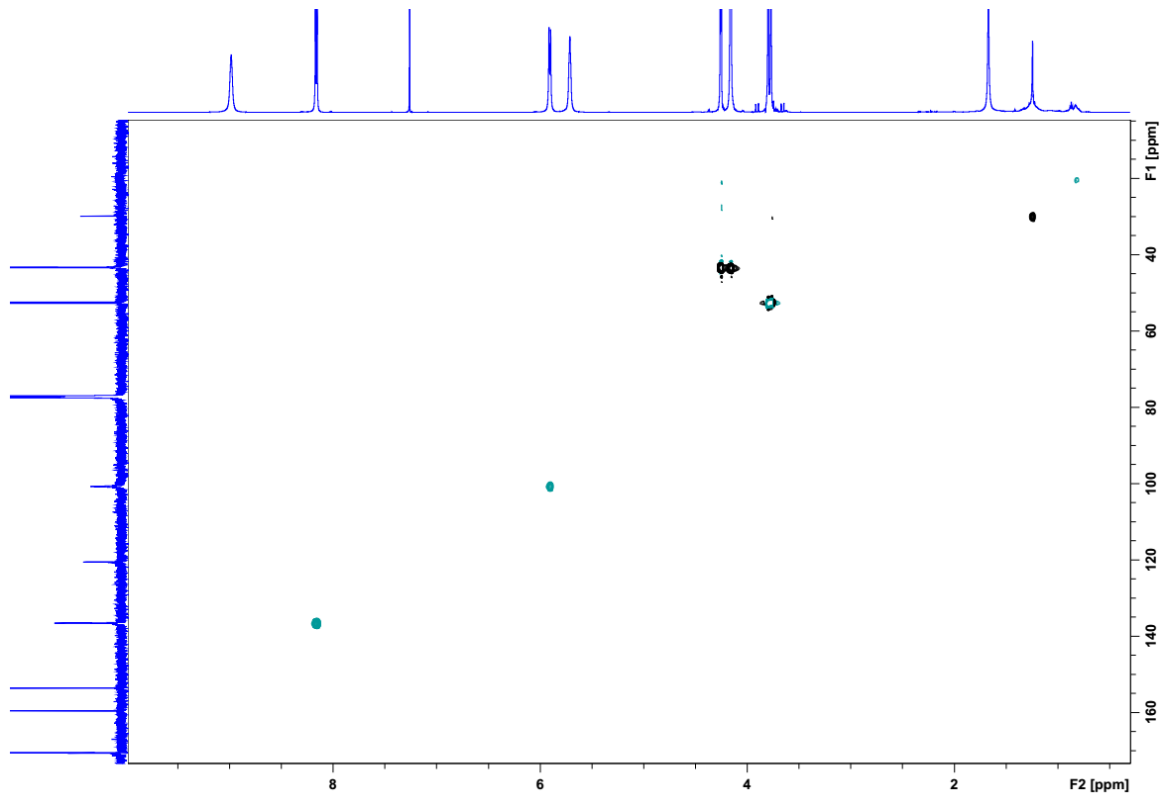
ANEXO 73 - Espectro de RMN ^{13}C de 41 (CDCl_3 , 150 MHz).



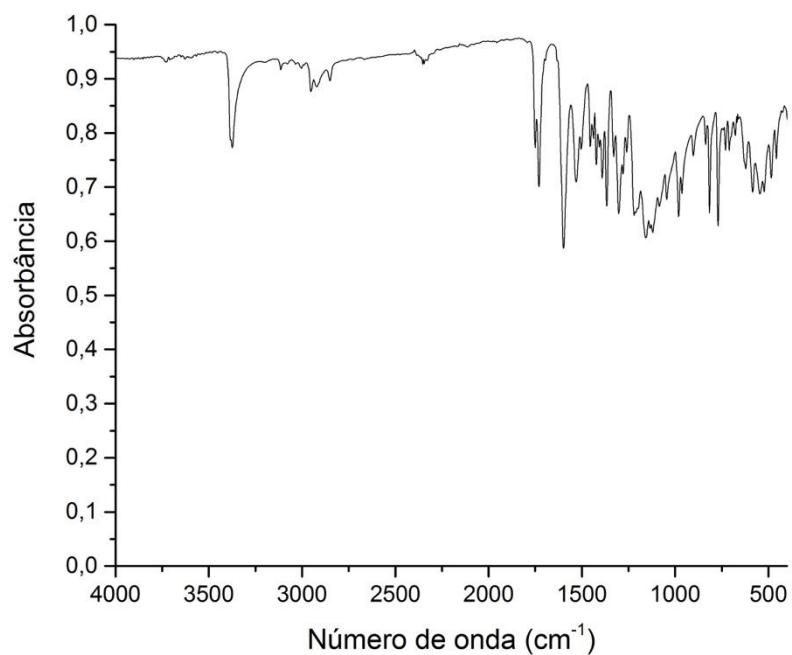
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 74 - Espectro de RMN DEPT 135 de 41 (CDCl₃, 150 MHz).

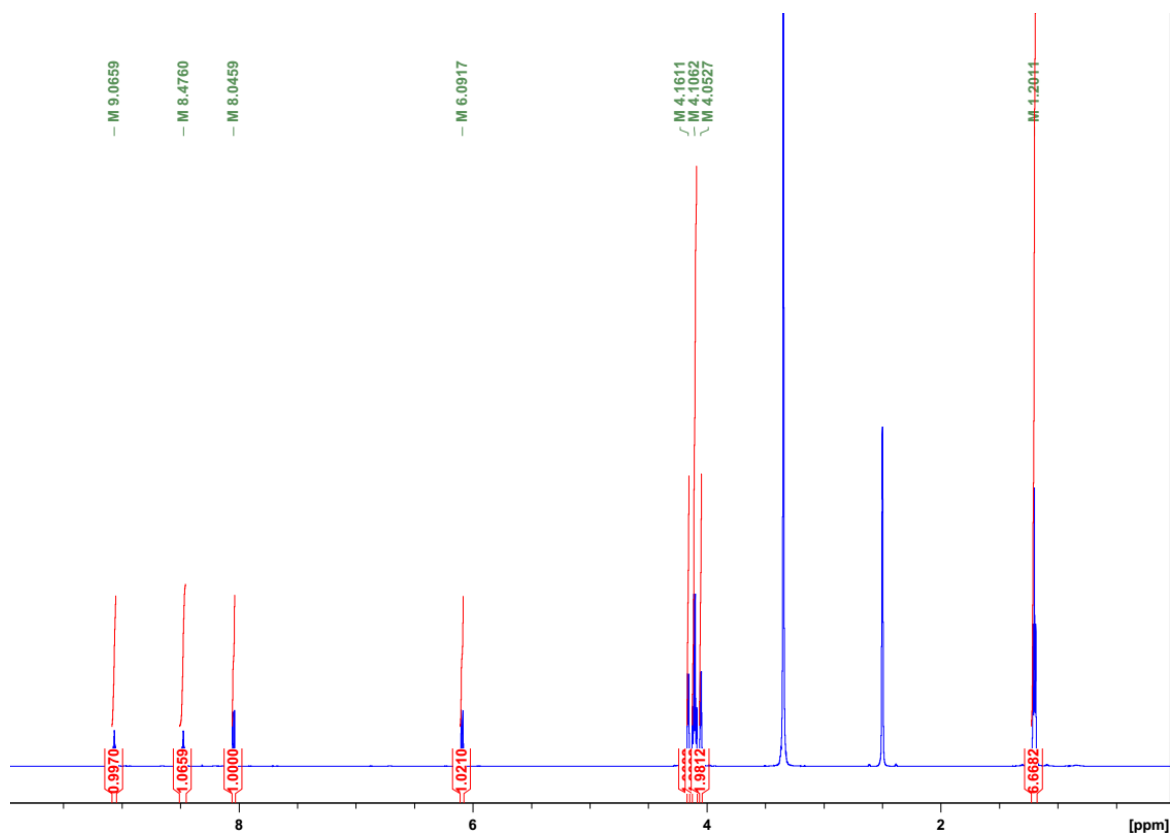
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 75 - Espectro de RMN HSQC de 41 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

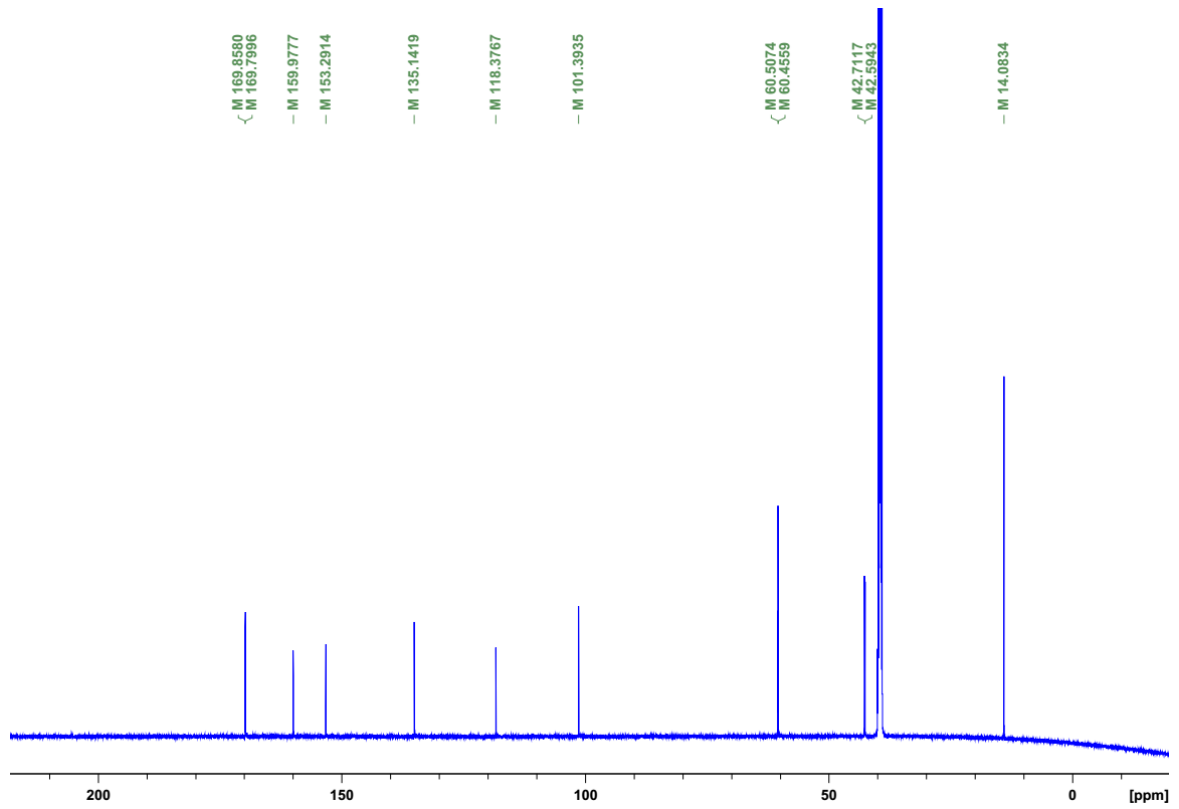
ANEXO 76 - Espectro de IV de 41 (modo ATR).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 77 - Espectro de RMN ¹H de 42 (DMSO-d₆, 600 MHz).

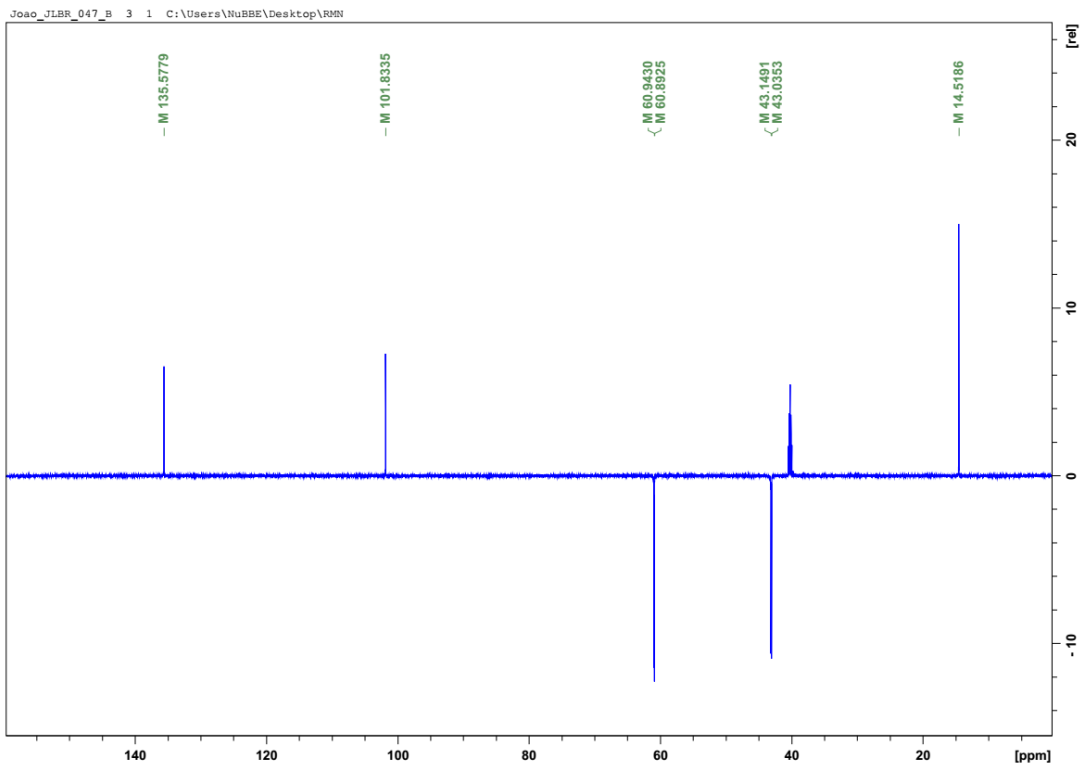
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 78 - Espectro de RMN ¹³C de 42 (DMSO-d₆, 150 MHz).

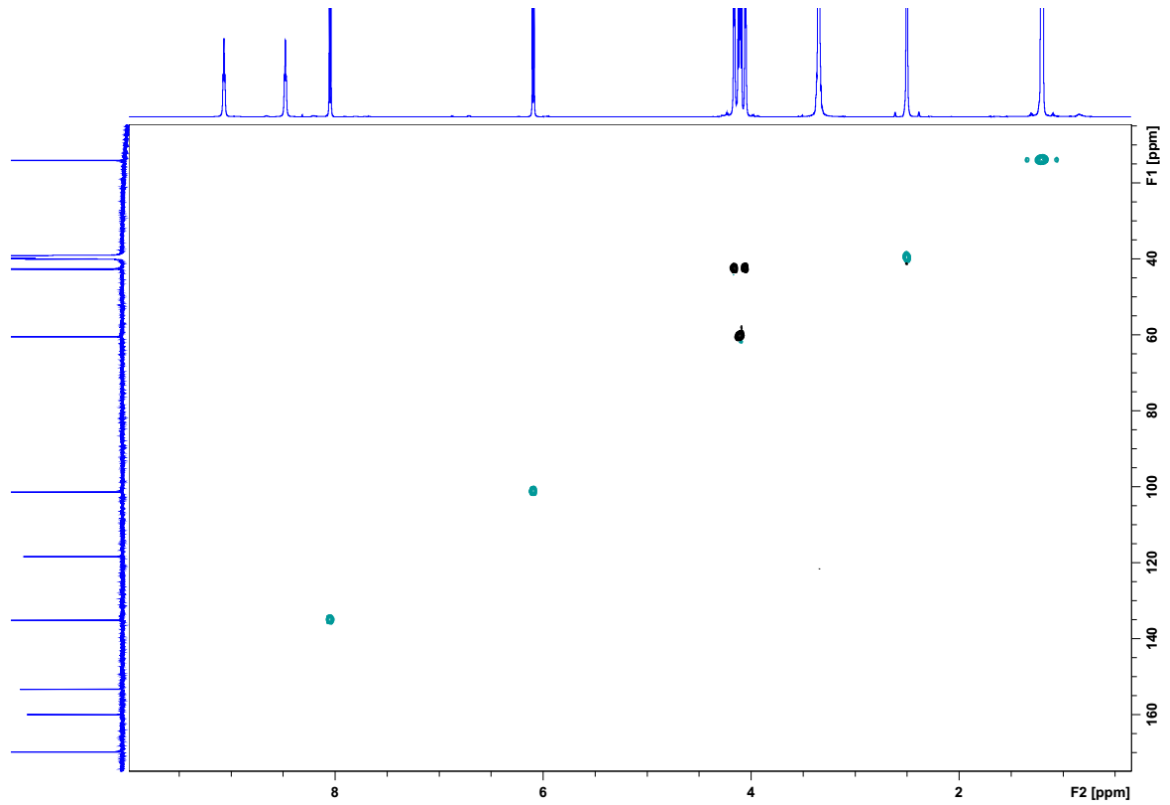


Fonte: Autor, 2017.

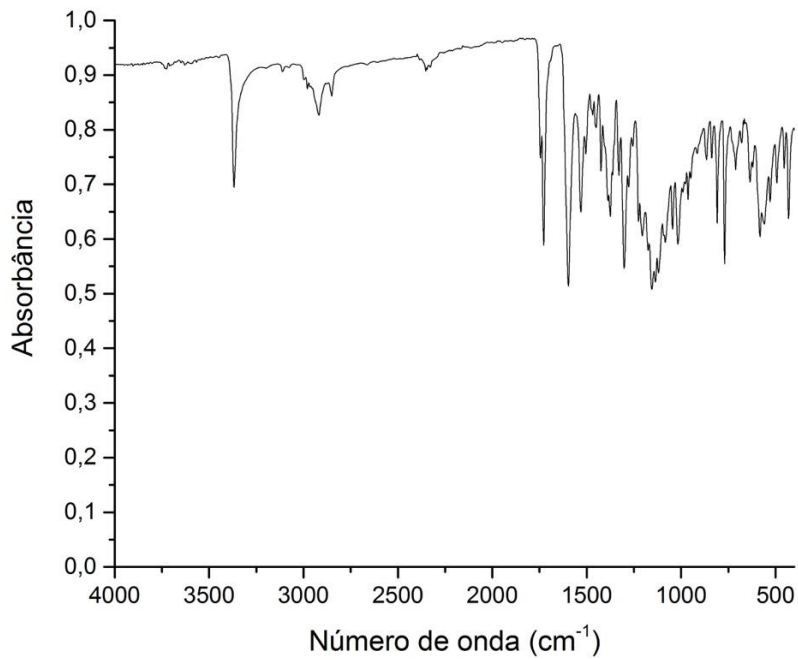
ANEXO 79 - Espectro de RMN DEPT 135 de 42 (DMSO-d₆, 150 MHz).



Fonte: Autor, 2017.

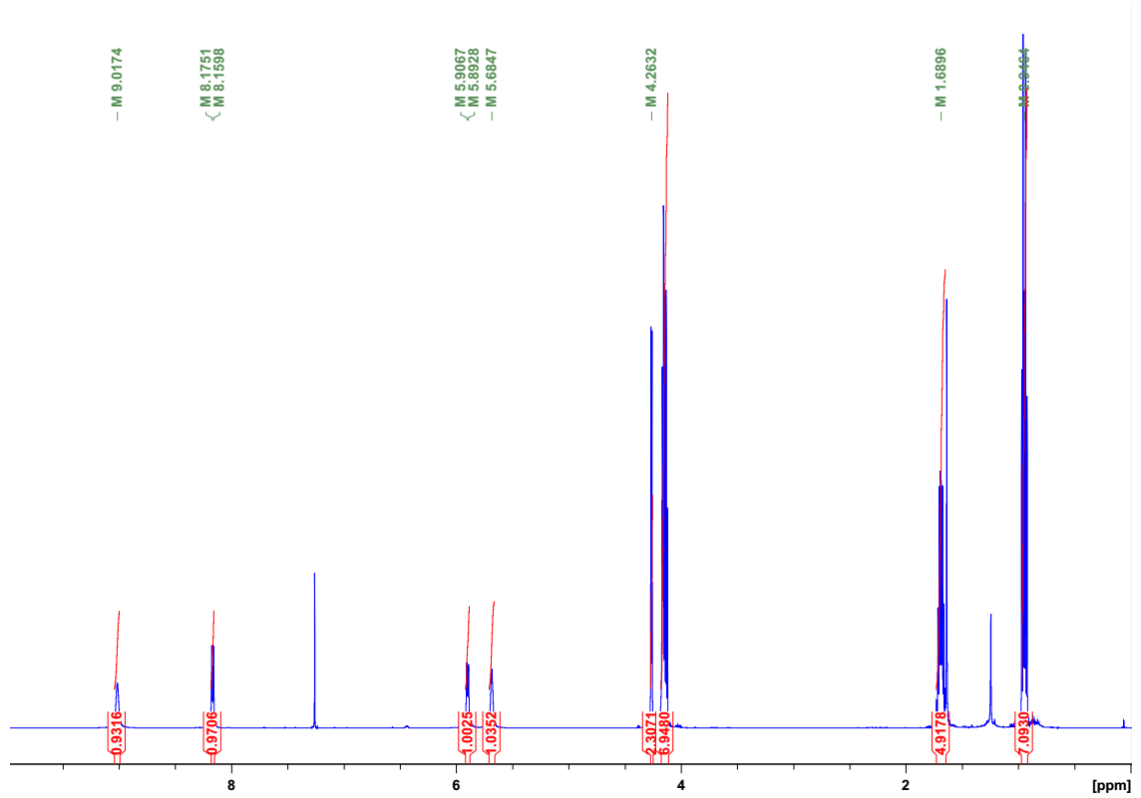
ANEXO 80 - Espectro de RMN HSQC de 42 (DMSO-*d*₆, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 80 - Espectro de IV de 42 (modo ATR).

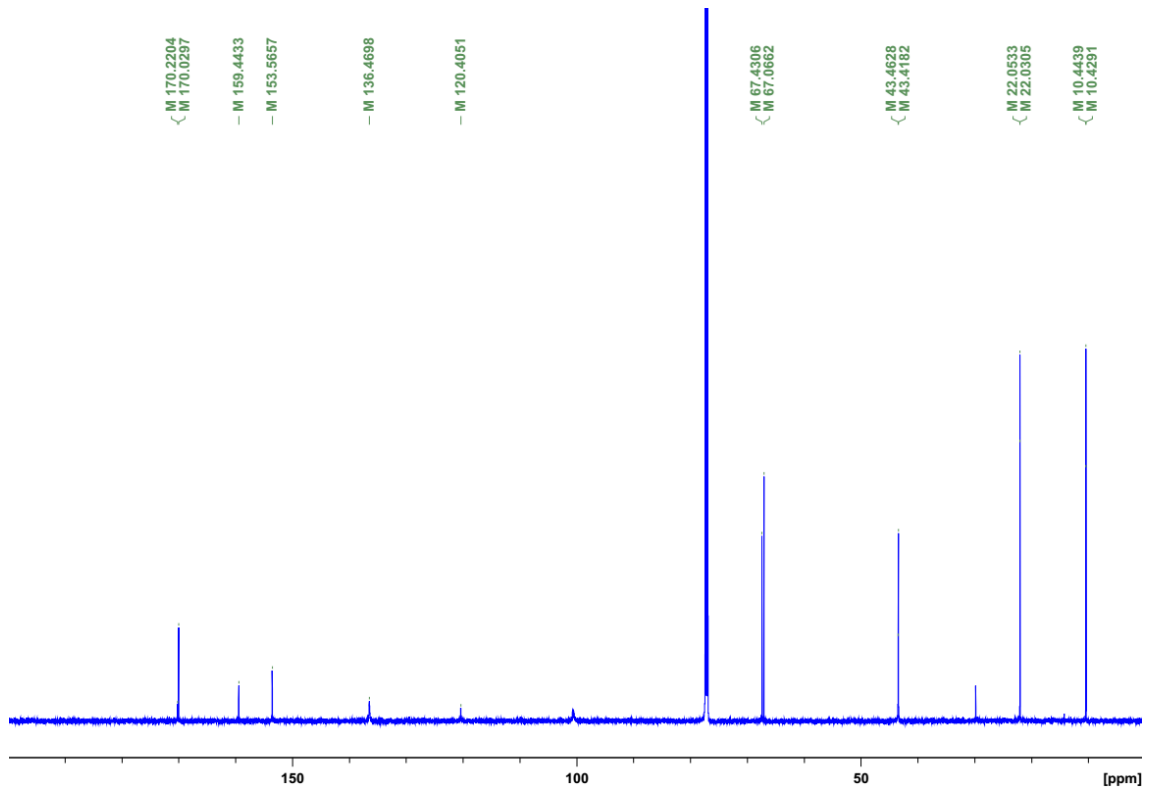
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 81 - Espectro de RMN ^1H de 43 (CDCl_3 , 600 MHz).

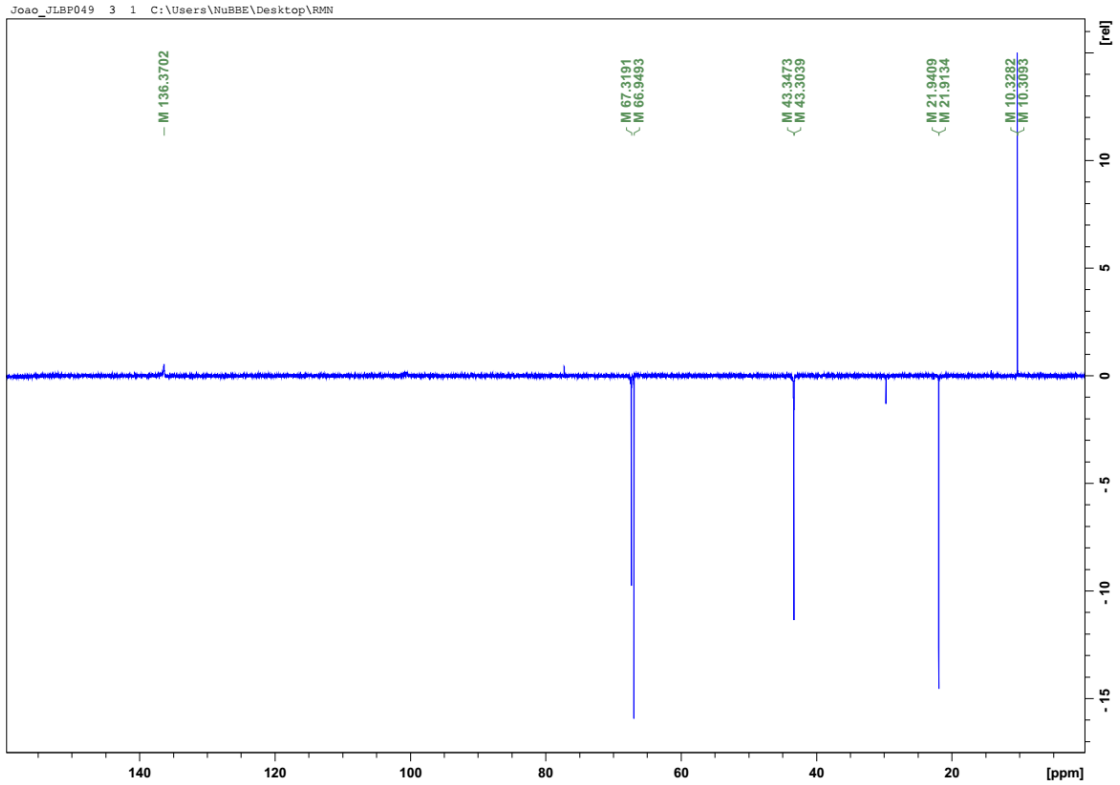


Fonte: Autor, 2017.

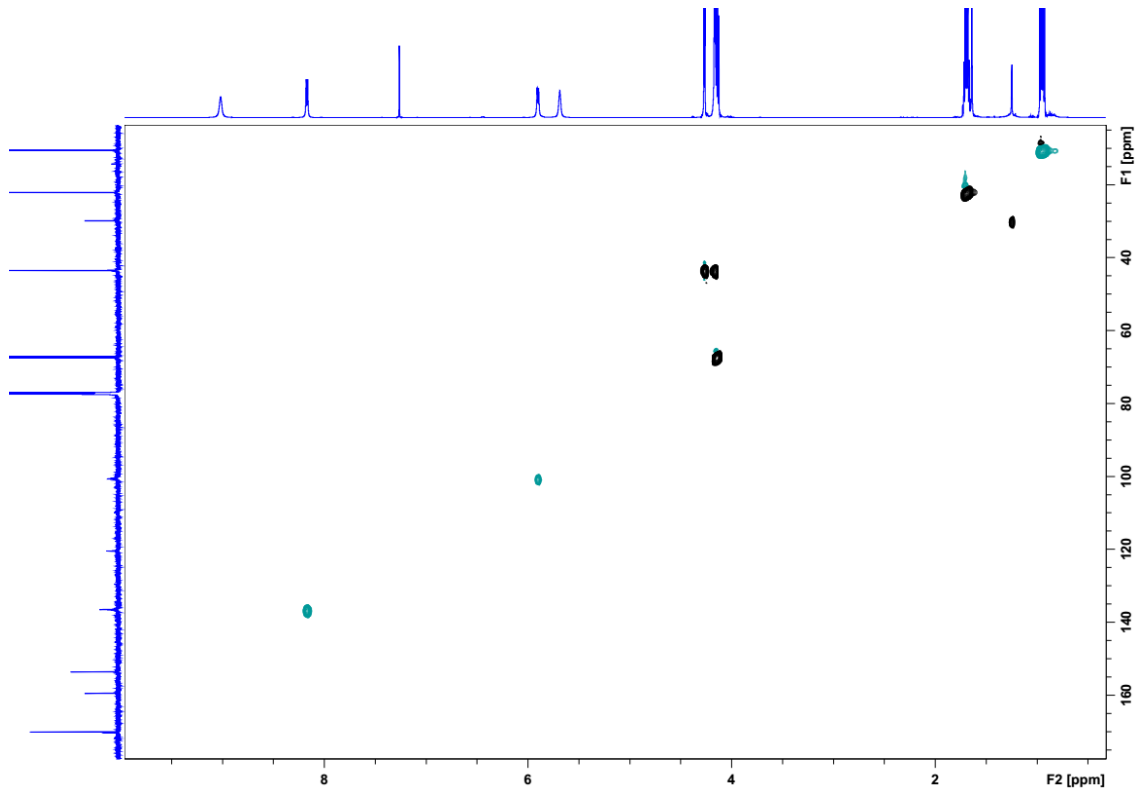
ANEXO 82 - Espectro de RMN ^{13}C de 43 (CDCl_3 , 150 MHz).



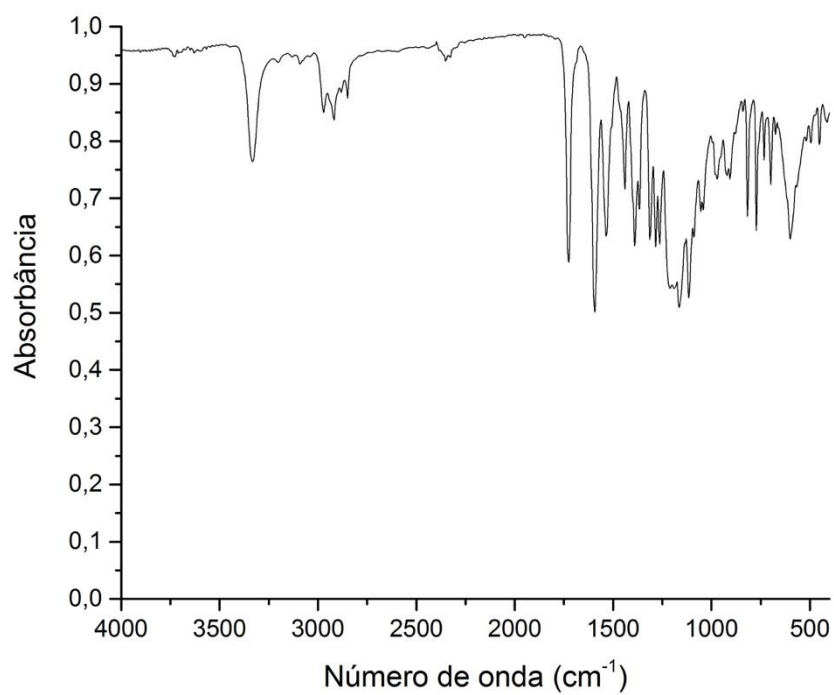
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 83 - Espectro de RMN DEPT 135 de 43 (CDCl₃, 150 MHz).

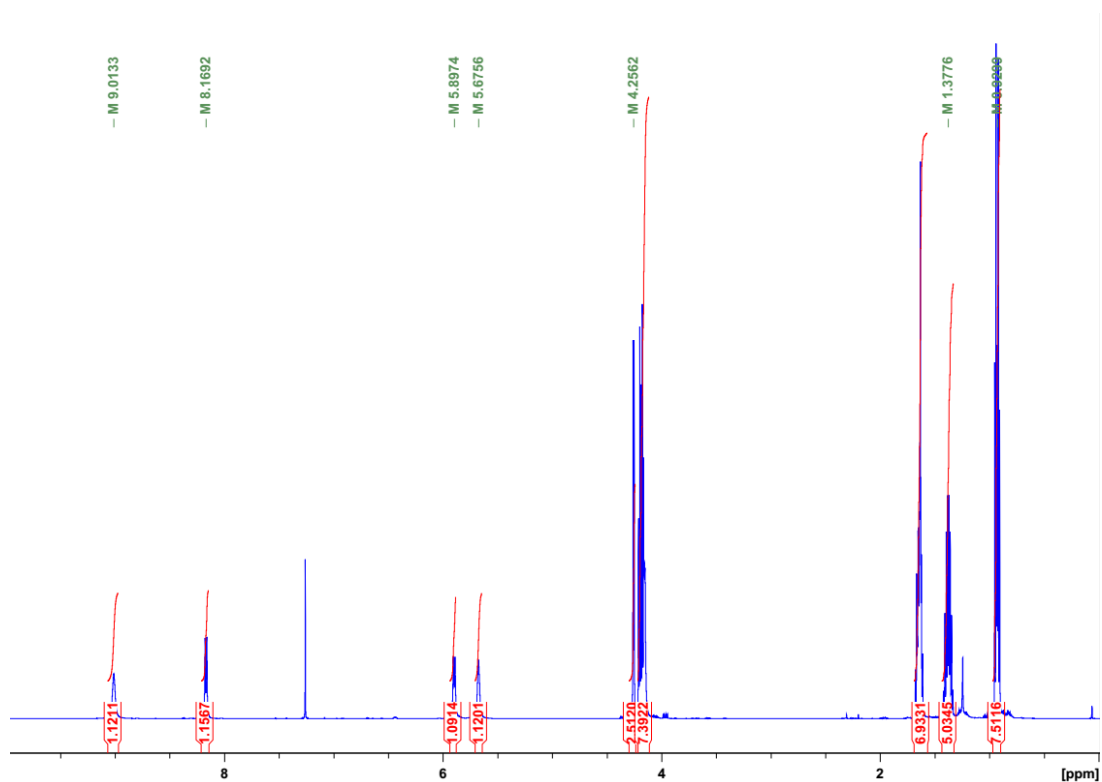
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 84 - Espectro de RMN HSQC de 43 (CDCl₃, 14,1 T).

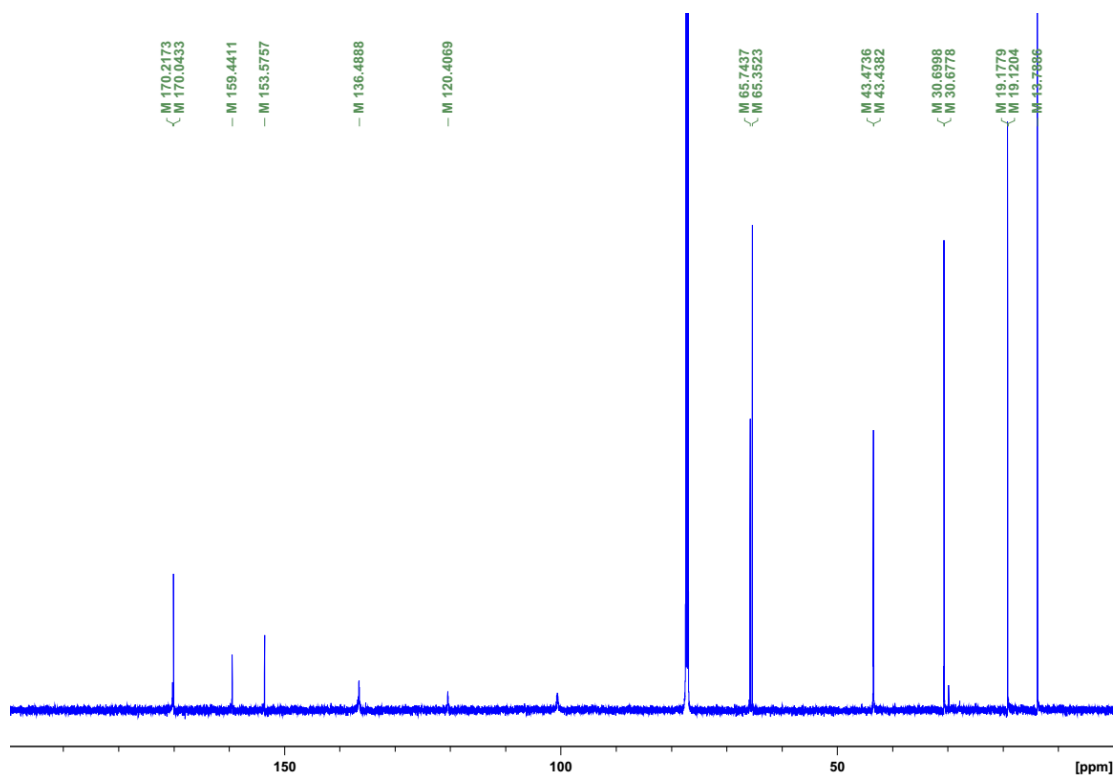
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 85 - Espectro de IV de IV de 43 (modo ATR).

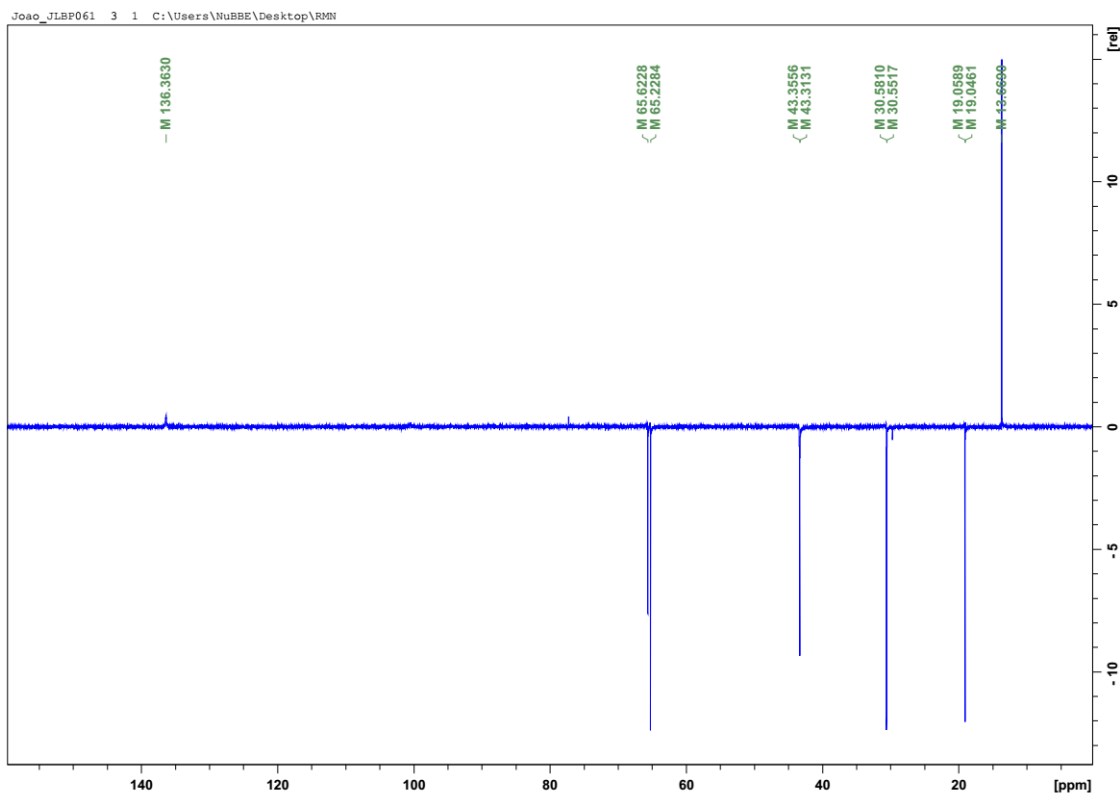
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 86 - Espectro de RMN ¹H de 44 (CDCl₃, 600 MHz).

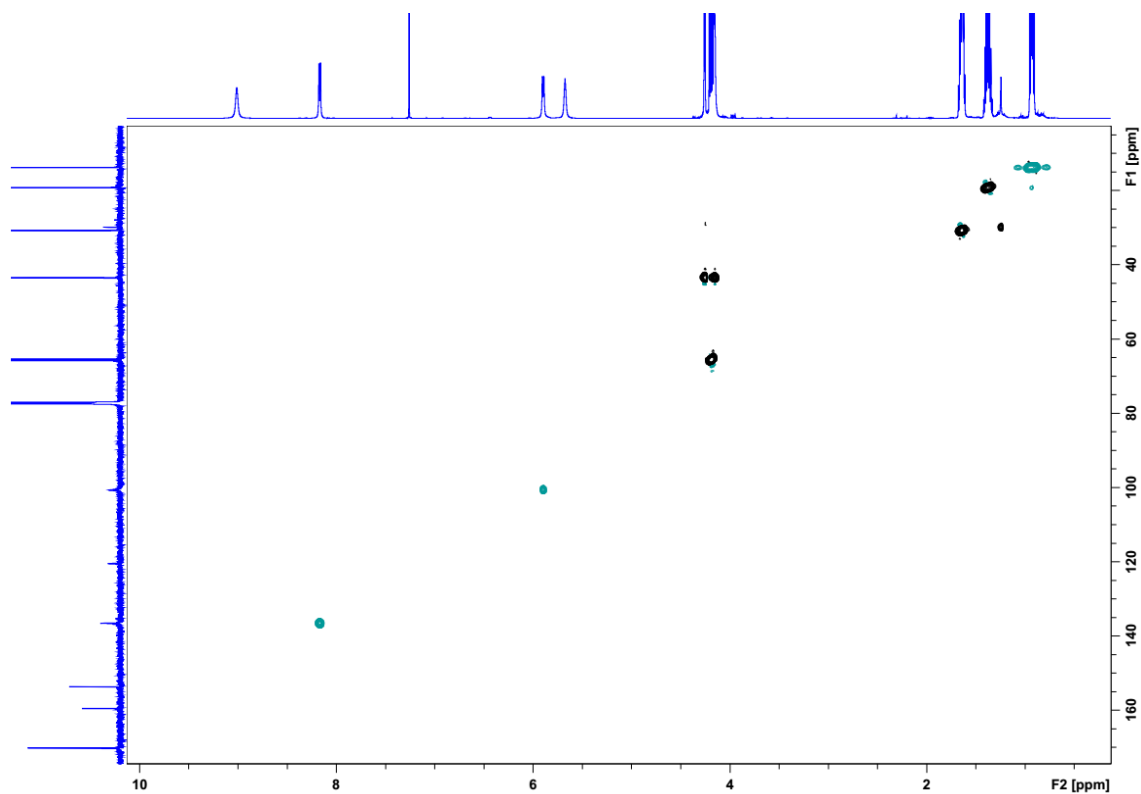
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 87 - Espectro de RMN ^{13}C de 44 (CDCl_3 , 150 MHz).

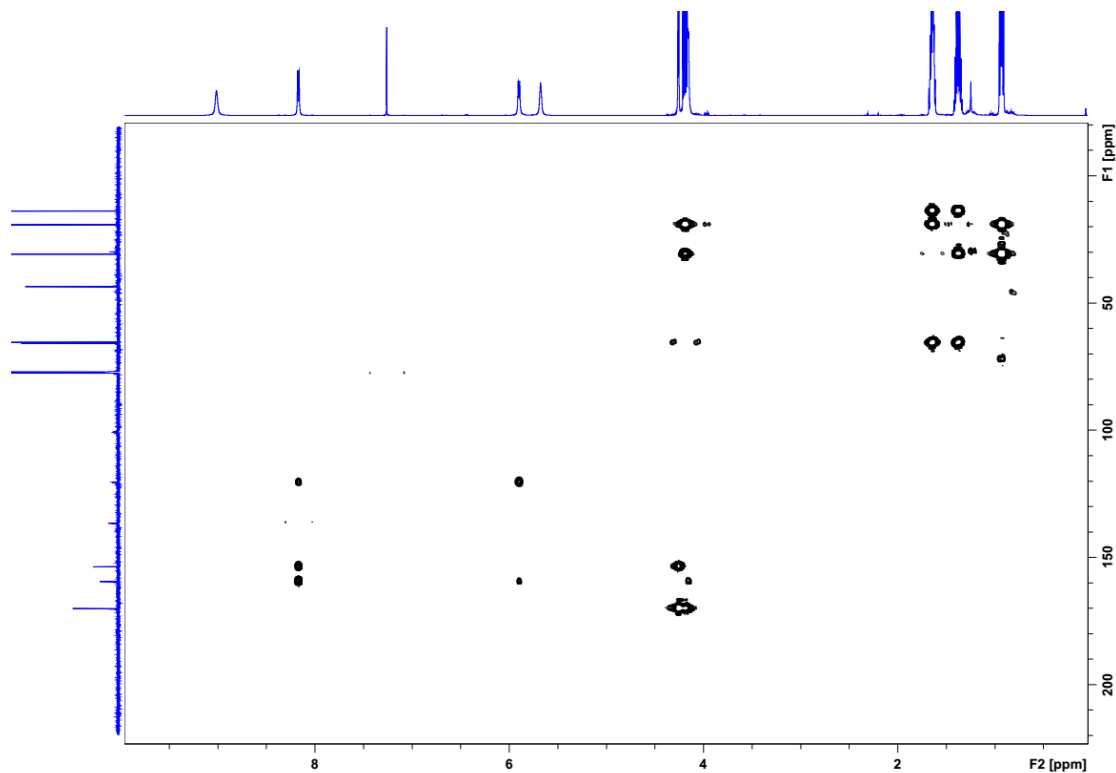
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 88 - Espectro de RMN DEPT 135 de 44 (CDCl_3 , 150 MHz).

Fonte: Autor, 2017.

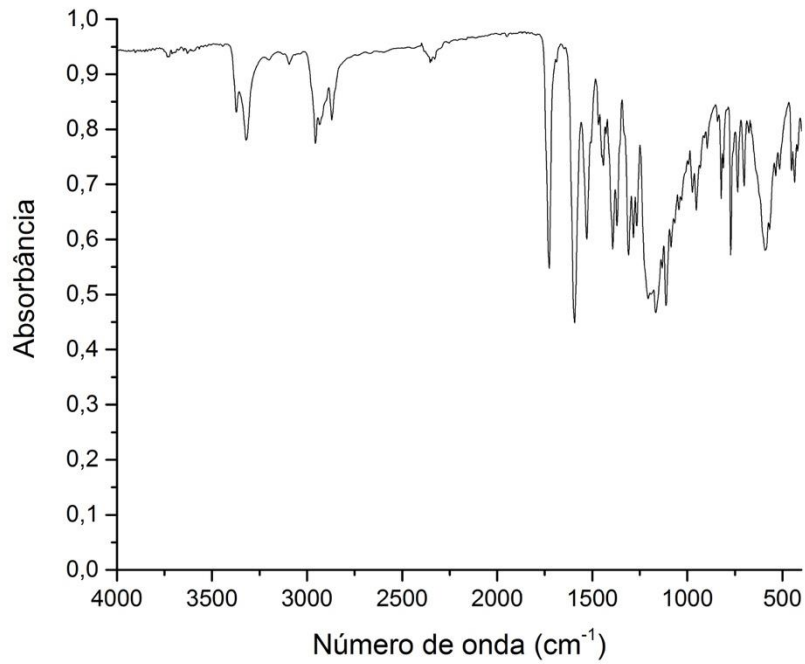
ANEXO 89 - Espectro de RMN HSQC de 44 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 90 - Espectro de RMN HMBC de 44 (CDCl₃, 14,1 T).

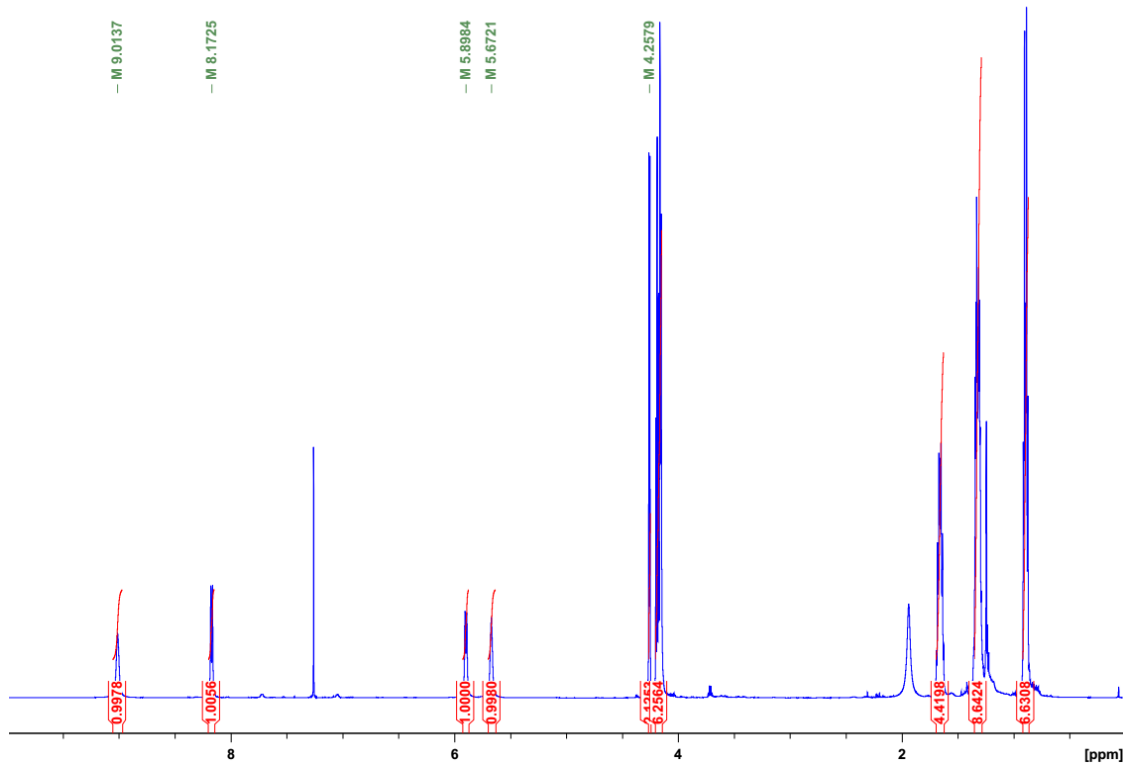
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 91 - Espectro de IV de 44 (modo ATR).



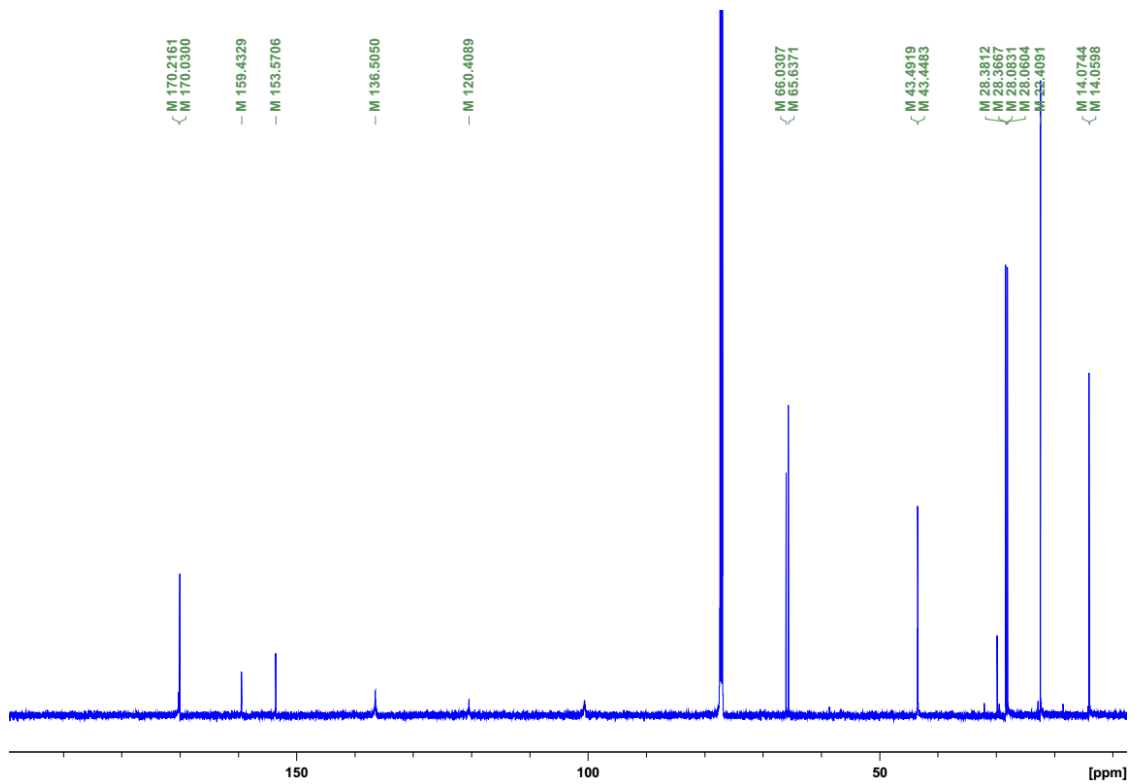
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 92 - Espectro de RMN ¹H de 45 (CDCl₃, 600 MHz).



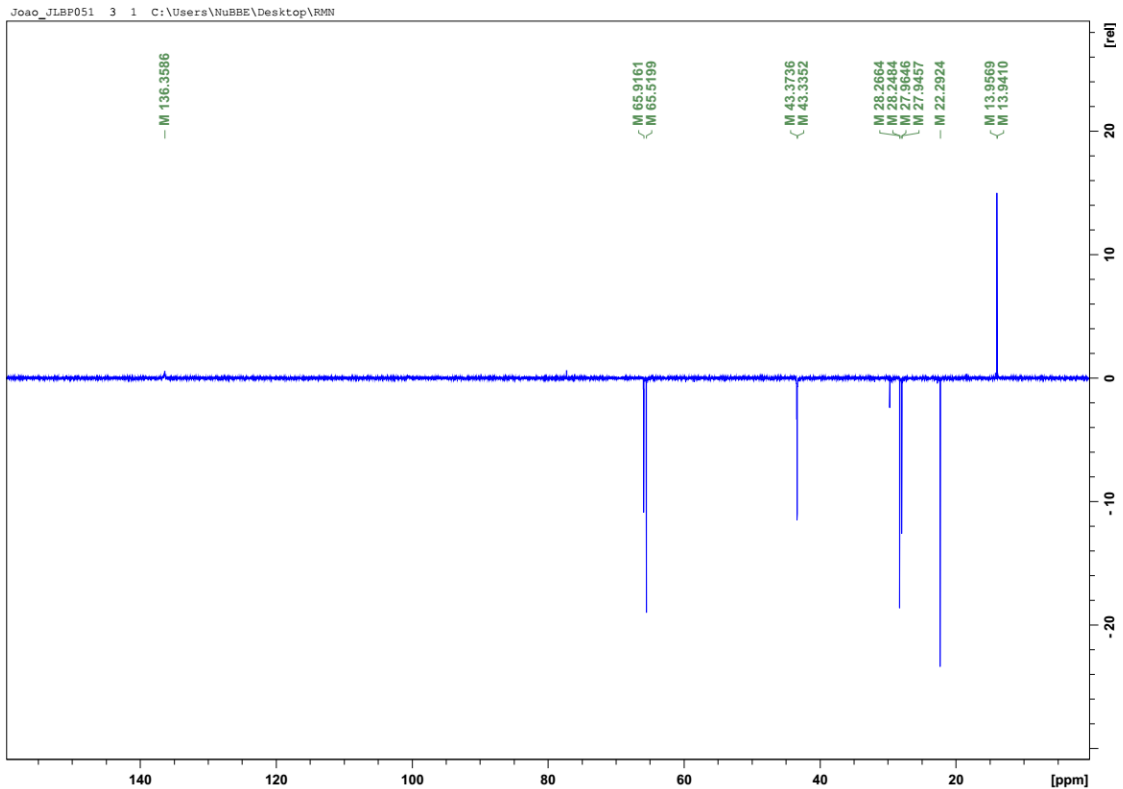
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 93 - Espectro de RMN ^{13}C de 45 (CDCl_3 , 150 MHz).

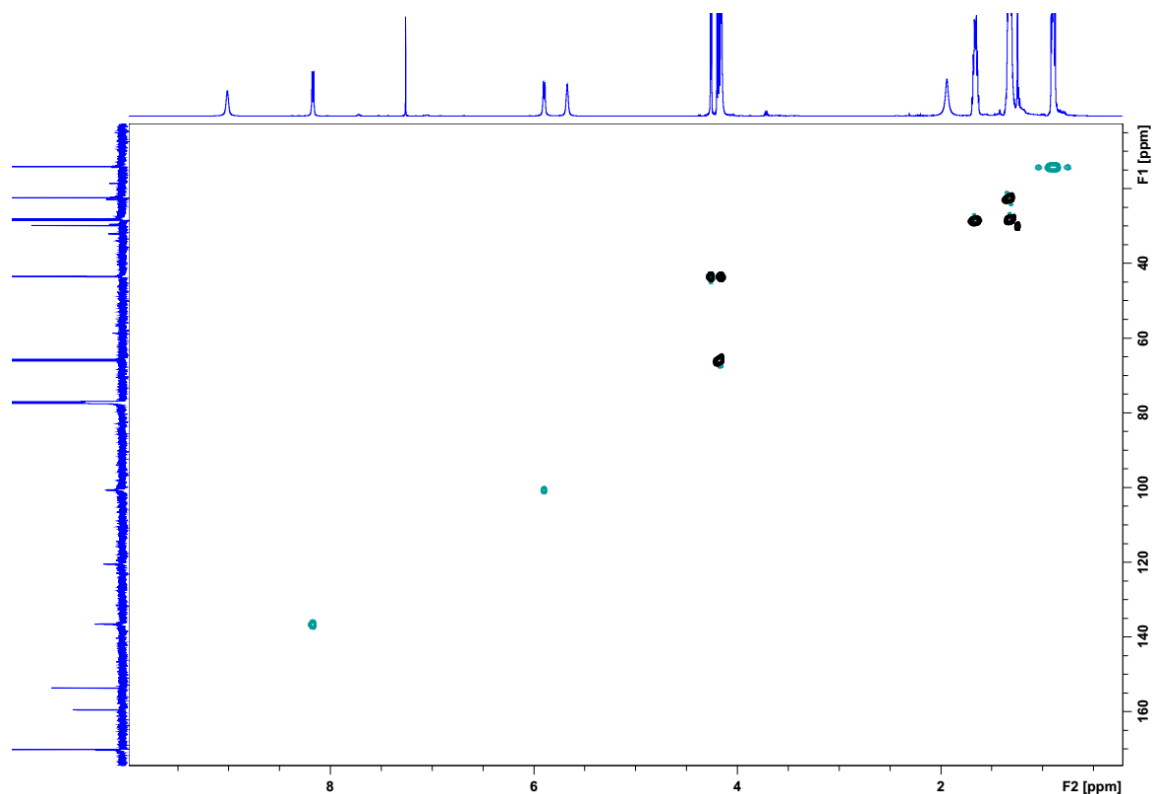


Fonte: Autor, 2017.

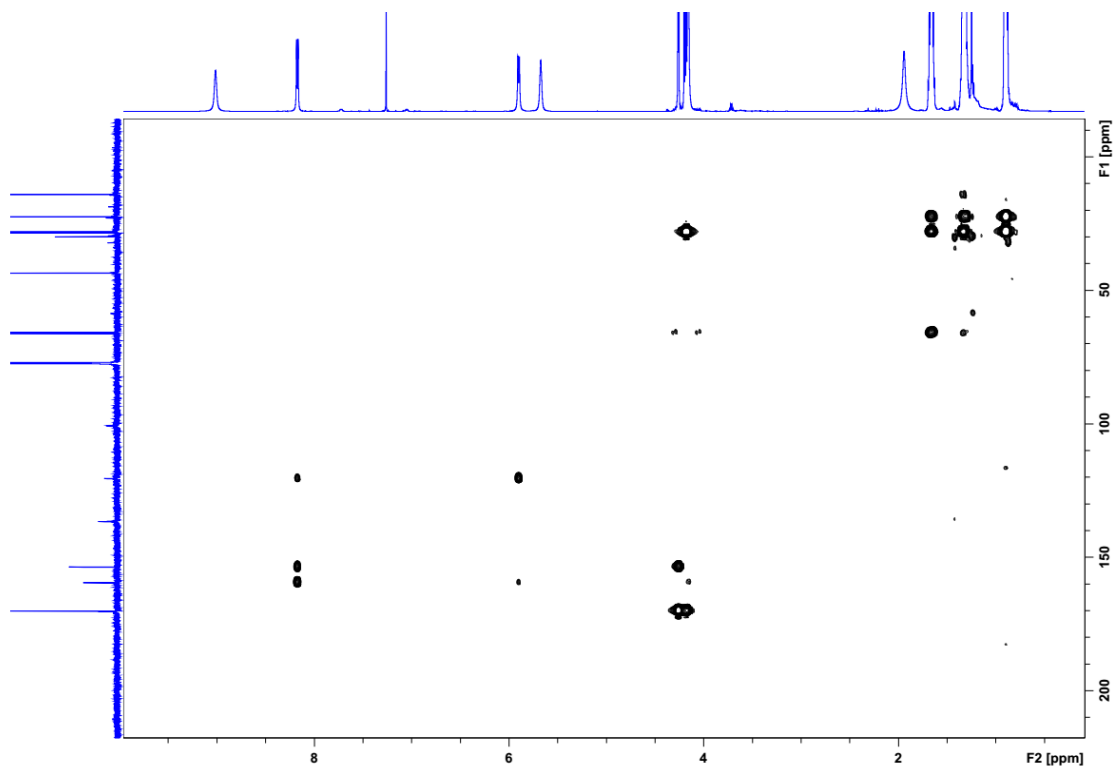
ANEXO 94 - Espectro de RMN DEPT 135 de 45 (CDCl_3 , 150 MHz).



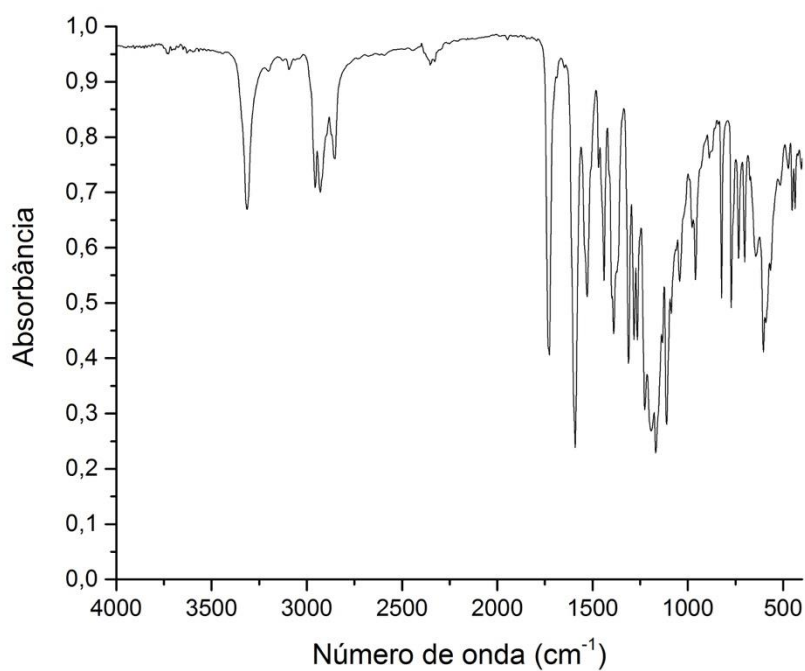
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 95 - Espectro de RMN HSQC de 45 (CDCl₃, 14,1 T).

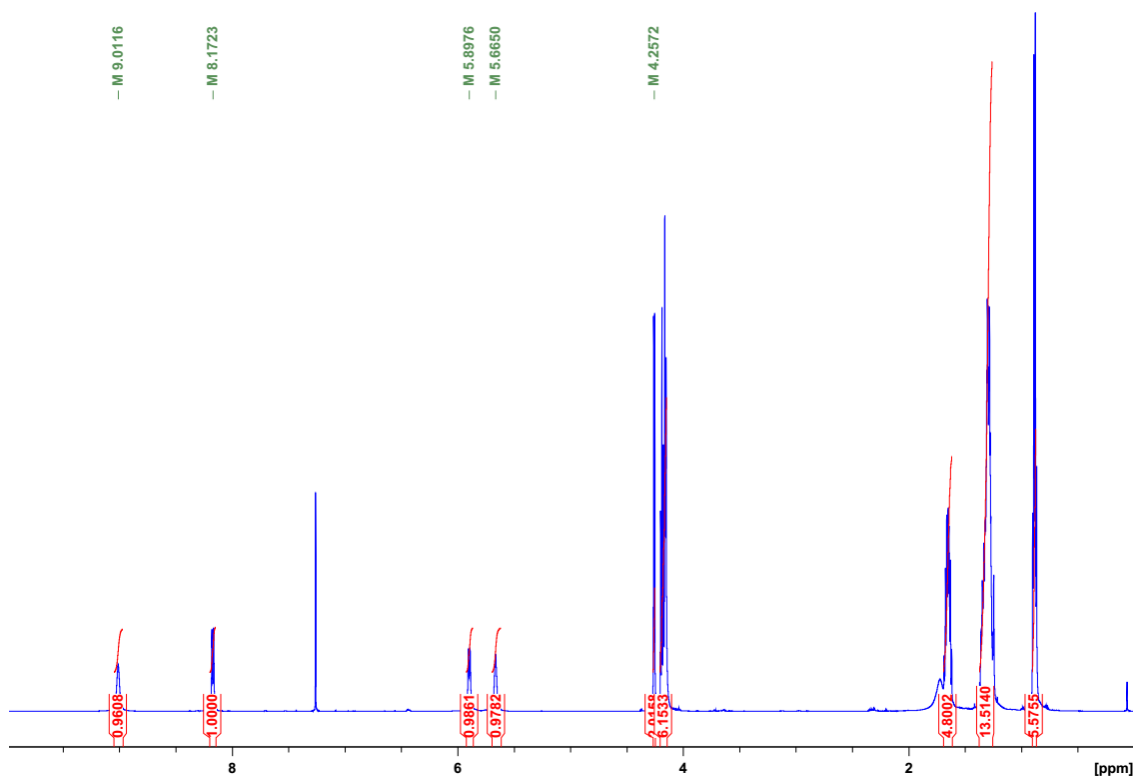
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 96 - Espectro de RMN HMBC de 45 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

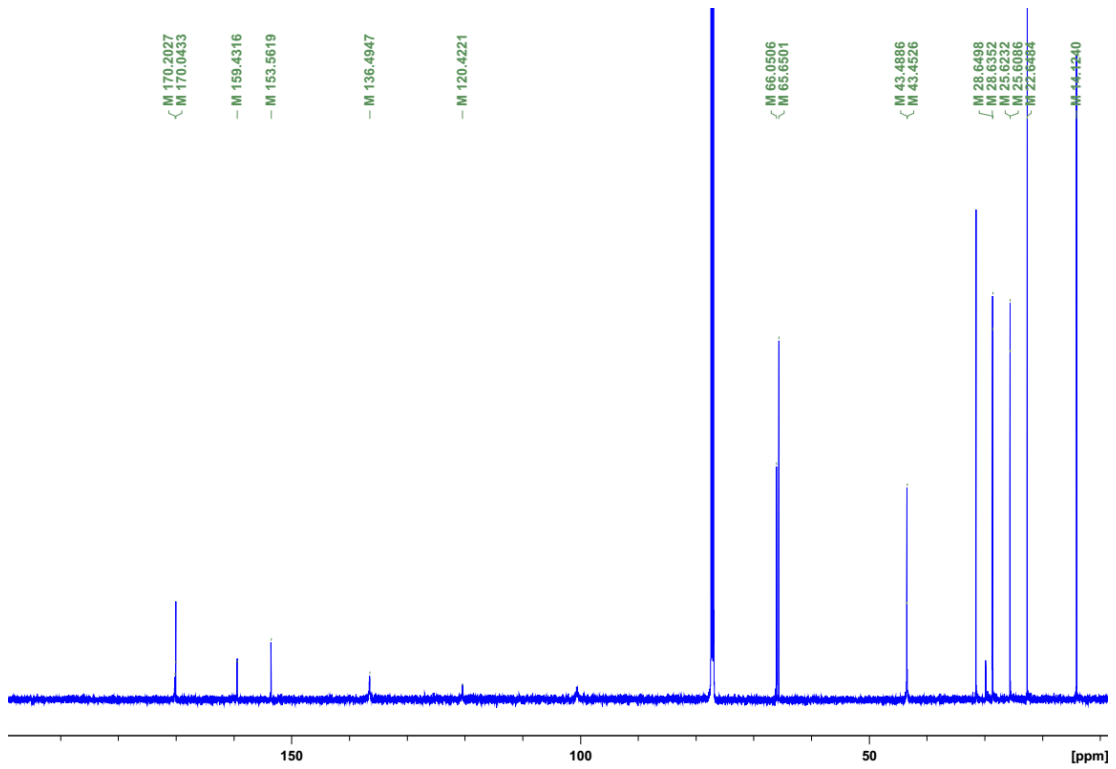
ANEXO 97 - Espectro de IV de 45 (modo ATR).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 98 - Espectro de RMN ¹H de 46 (CDCl₃, 600 MHz).

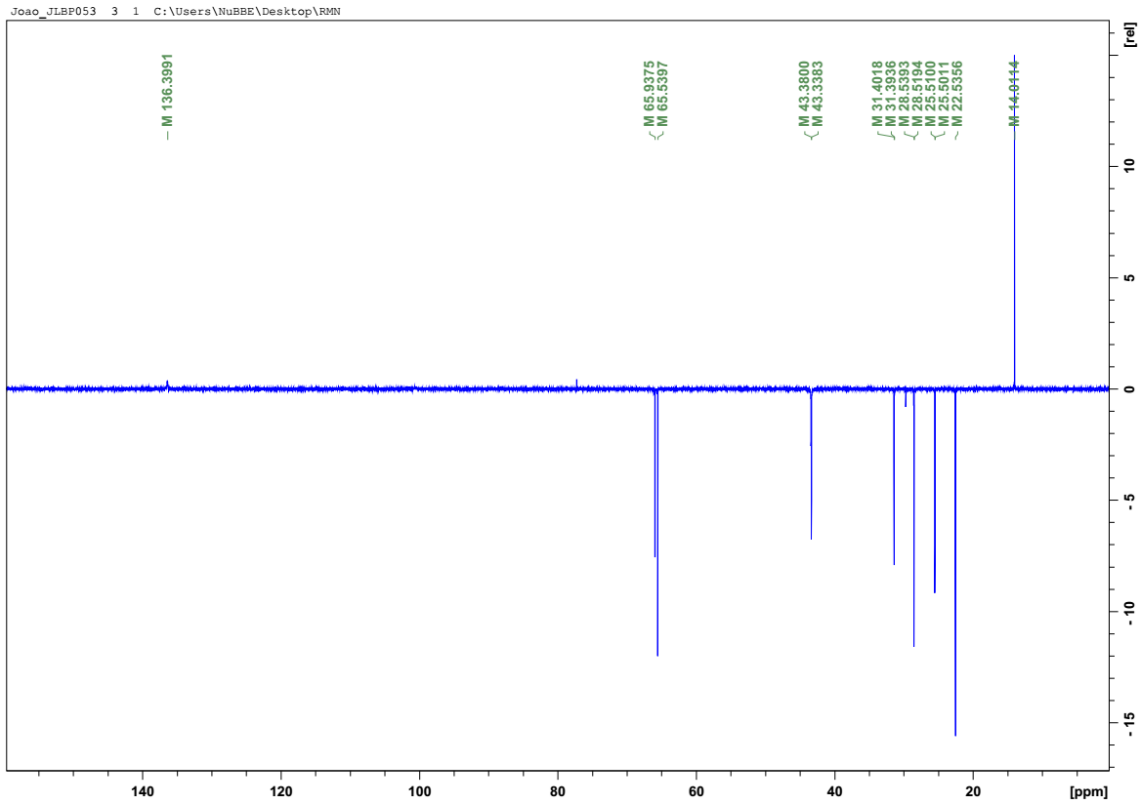
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 99 - Espectro de RMN ¹³C de 46 (CDCl₃, 150 MHz).

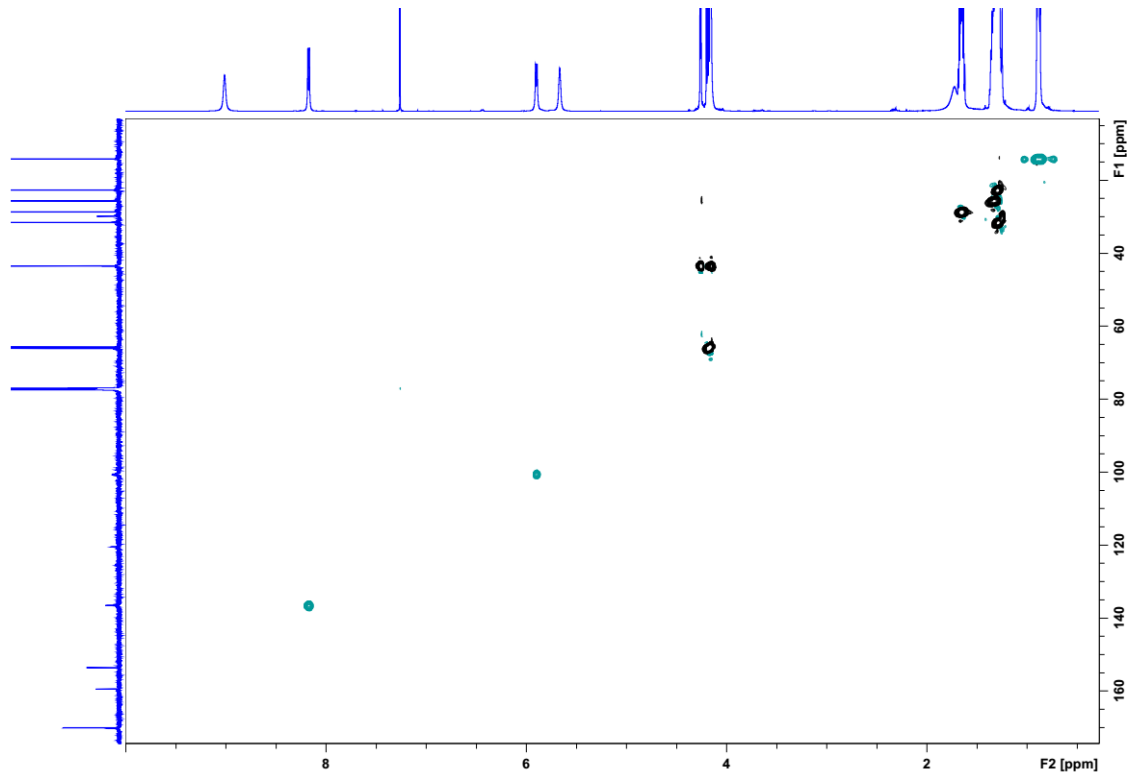


Fonte: Autor, 2017.

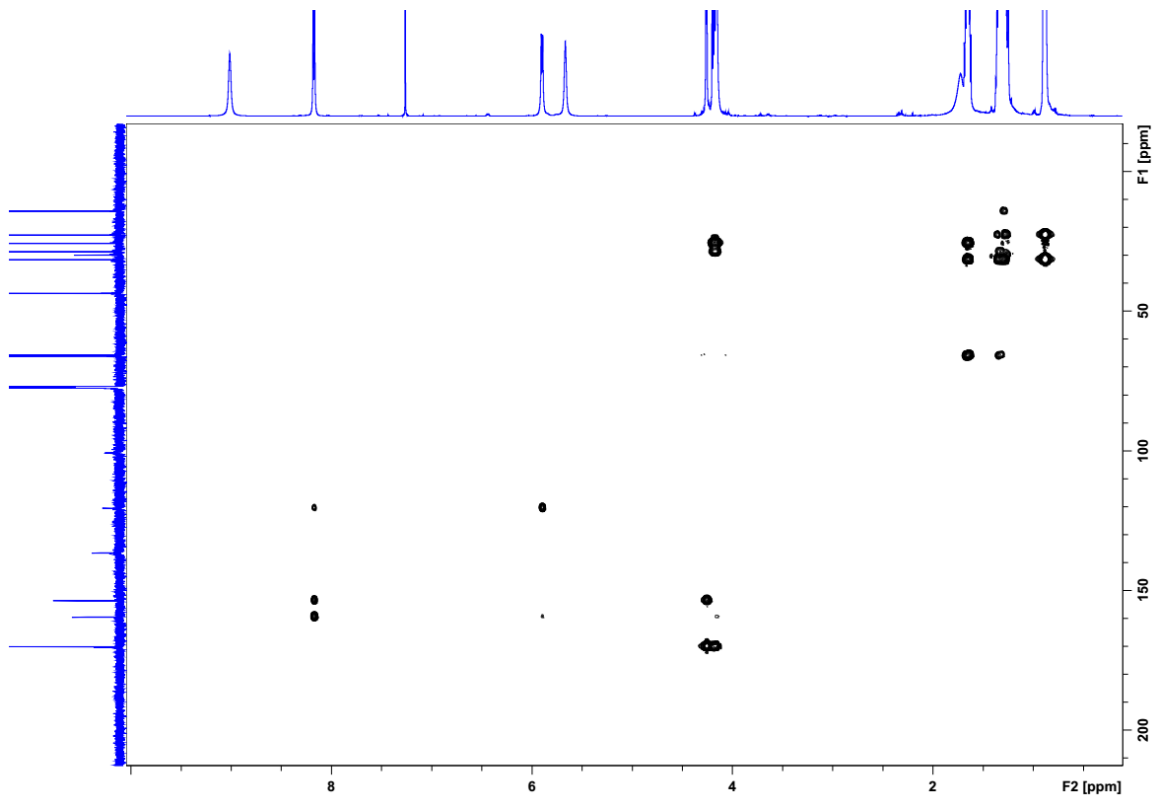
ANEXO 100 - Espectro de RMN DEPT 135 de 46 (CDCl₃, 150 MHz).



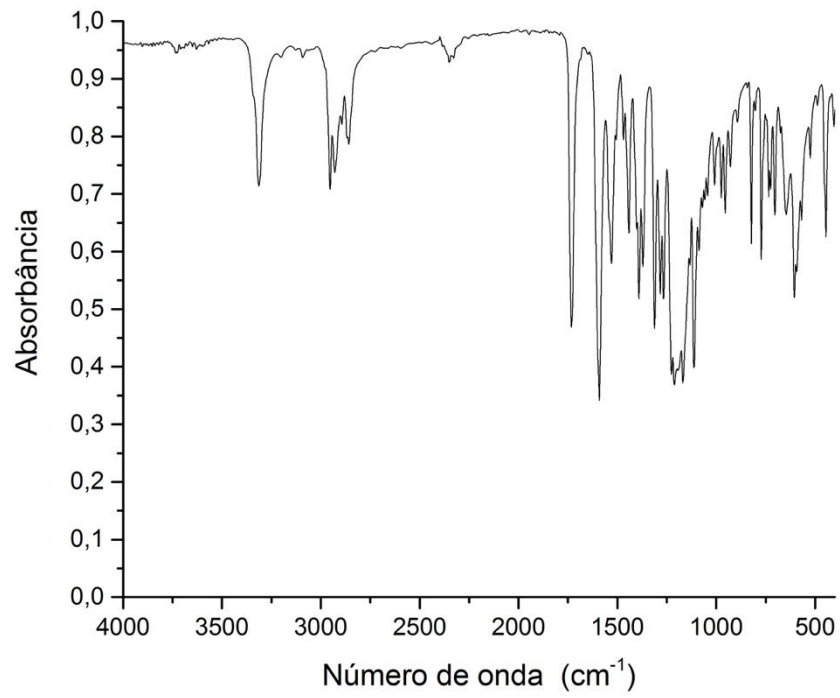
Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 101 - Espectro de RMN HSQC de 46 (CDCl₃, 14,1).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 102 - Espectro de RMN HMBC de 46 (CDCl₃, 14,1 T).

Fonte: Autor, 2017.

ANEXO 103 - Espectro de IV de 46 (modo ATR).

Fonte: Autor, 2017.