

Cristiane França da Costa

**“PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE
NOVAS ANTRAQUINONAS, TETRAIDROPIRIMIDINAS E N-
ACILIDRAZONAS”**

Tese apresentada ao programa de Pós-
Graduação em Química, Universidade Federal
de Juiz de Fora como requisito parcial à
obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida (UFJF)

Co-orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Nora de Souza (FIOCRUZ/RJ)

JUIZ DE FORA

2011

Costa, Cristiane França da.

Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novas
antraquinonas, tetraidropirimidinas e *N*-acilidrazonas / Cristiane França
da Costa. – 2011

321 f. : il.

Tese (Doutorado em Química)–Universidade Federal de Juiz de Fora,
Juiz de Fora, 2011.

1. Química farmacêutica. 5. Óxido nítrico. 6. Esclerose múltipla. 7.
Tuberculose. I. Título.

CDU 615.19

Dedico este trabalho aos meus pais,
Ivo e Miralta, aos meus irmãos Nilcéa, Gilcéa,
Nildicéa, Lucinéa e Ivo, e ao meu querido marido
Daniel por sempre me apoiarem nos momentos
de grandes dificuldades: **Amo muito todos
você!**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus, pela presença constante em minha vida, por me dar a maravilhosa oportunidade de viver e pelas bênçãos que me permitiram alcançar mais um objetivo da minha vida.

Ao meu orientador Mauro Vieira de Almeida, pelo exemplo de sabedoria e por todos os ensinamentos desde a Iniciação Científica, que acenderam as primeiras luzes para o meu caminhar. Não há palavras que possam descrever minha eterna gratidão por tudo que tem feito por mim e pela compreensão do grande momento de dificuldade que enfrentei nesta reta final.

Ao meu orientador Marcus Vinícius Nora de Souza por me acolher em seu laboratório, pelo exemplo de profissional, pela dedicação, confiança e grande compreensão. Nunca esquecerei suas palavras de incentivo e preocupação.

À Profa. Ana Paula Ferreira, aos doutorandos Caio César de Souza Alves e Sandra Bertelli Ribeiro de Castro pela realização dos testes de imunossupressão *in vitro* e *in vivo*.

À pesquisadora Maria Cristina S. Lourenço pela realização dos testes de atividade antituberculose.

Ao pesquisador Jochen Junker pela realização de experimentos de RMN com altas temperaturas e 2D.

A Simone e Alice, secretárias da pós-graduação e graduação em química, e a todos os professores e funcionários do Departamento de Química da UFJF. Obrigada pela contribuição valiosa em minha formação como profissional e pessoa.

Aos amigos do Laboratório 1 (NUPEQ/UFJF): Lucas Lopardi, Camila Almeida, Patrícia Gomes, Taís Corrêa, João Vitor Assis, Maurício Saraiva, Celso Rezende, Carlos Augusto Rezende (Guto), Samira Reis e Wilian Caneschi por incontáveis momentos de alegria e pelo apoio incondicional.

Aos meus queridos amigos Valdilei José, Maria Vanda Marinho, Charlane Côrrea e Heveline Silva que compartilhamos de grandes momentos de alegria, obrigado pela presença em todos os momentos da minha vida.

Às professoras Flávia Cavalieri, Mara Rubia Couri e Mireile Le Hyaric por toda ajuda, por compartilharem seus ensinamentos e pela amizade.

Aos amigos da Síntese 2: Cláudia Gomes, Marcele Moreth, Victor Luz, Valquíria Kopke, Jocasta Ávila, Daniele Cardinot, Juliana Ferreira, Marcela Avelar, Samir Carvalho,

Daniele Freire, Ramon, Vanessa e Priscila pelos muitos bons momentos de alegria e pelo grande apoio.

Em especial à Alessandra Campbell por todas as contribuições no decorrer deste trabalho e por toda sua boa vontade em ajudar.

Ao Silvio Duarte por tanta disponibilidade em ajudar, por ser um amigo em que sempre posso confiar e por todas as discussões sobre os diversos assuntos.

Aos demais colegas da síntese 3: Raoni Schroeder, Emerson Teixeira, Camilo Lima, Thaís Nogueira, Laura Nogueira, Bruna Abreu, Liana Jasmim e Mariana Cardoso por todos os momentos vividos.

À Central Analítica de Farmanguinhos/Fiocruz pelo empenho na realização dos espectros integrantes dessa tese.

Aos meus amados pais, Ivo Costa e Miralta Costa, pela dedicação, confiança, apoio e amor por todos estes anos que me proporcionaram mais esta conquista, sem eles eu nada seria. Aos meus amados irmãos, Nilcéa Dornelas, Gilcéa Dias, Nildicéa Gomes, Lucinéa Santos e Ivo Costa, pelo apoio, grande companheirismo e preocupação com meu bem estar. Ao meu querido tio Eduardo, meu irmãozinho de coração, pelo imenso carinho e por se orgulhar de mim. Não há palavras o bastante para expressar o quanto significam para mim, vocês são o alicerce da minha vida.

Ao meu marido Daniel Pires, pelos incontáveis momentos de paciência e companheirismo, por me dar coragem para enfrentar as dificuldades e nunca me deixar desistir. Você trouxe mais alegria para minha vida.

Aos meus queridos sogrinhos, Clério Pires e Maria do Socorro Pires, minha segunda família, obrigada por todo o carinho e por me acolherem como uma verdadeira filha, e também, por não medirem esforços para que eu esteja bem e feliz.

À minha avó Efigênia (*in memoriam*) a quem tenho tanta saudade, onde estiver, sei que está muito feliz por mim.

A Capes e a UFJF pelo apoio financeiro.

Palco da Vida

“Você pode ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes, mas não se esqueça de que sua vida é a maior empresa do mundo. E você pode evitar que ela vá à falência.

Há muitas pessoas que precisam, admiram e torcem por você. Gostaria que você sempre se lembrasse de que ser feliz não é ter um céu sem tempestade, caminhos sem acidentes, trabalhos sem fadigas, relacionamentos sem decepções.

Ser feliz é encontrar força no perdão, esperança nas batalhas, segurança no palco do medo, amor nos desencontros.

Ser feliz não é apenas valorizar o sorriso, mas refletir sobre a tristeza. Não é apenas comemorar o sucesso, mas aprender lições nos fracassos. Não é apenas ter júbilo nos aplausos, mas encontrar alegria no anonimato.

Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise.

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar um autor da própria história. É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no recôndito da sua alma.

Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos. É saber falar de si mesmo. É ter coragem para ouvir um “não”. É ter segurança para receber uma crítica, mesmo que injusta.

Ser feliz é deixar viver a criança livre, alegre e simples, que mora dentro de cada um de nós. É ter maturidade para falar “eu errei”. É ter ousadia para dizer “me perdoe”. É ter sensibilidade para expressar “eu preciso de você”. É ter capacidade de dizer “eu te amo”. É ter humildade da receptividade.

Desejo que a vida se torne um canteiro de oportunidades para você ser feliz... E, quando você errar o caminho, recomece, pois assim você descobrirá que ser feliz não é ter uma vida perfeita, mas usar as lágrimas para irrigar a tolerância.

Usar as perdas para refinar a paciência.

Usar as falhas para lapidar o prazer.

Usar os obstáculos para abrir as janelas da inteligência.

Jamais desista de si mesmo.

Jamais desista das pessoas que você ama.

Jamais desista de ser feliz, pois a vida é um espetáculo imperdível, ainda que se apresentem dezenas de fatores a demonstrarem o contrário.

Pedras no caminho? Guardo todas... Um dia vou construir um castelo!”

Fernando Pessoa

RESUMO

O presente trabalho explorou, num primeiro momento, a síntese de novas antraquinonas e tetraidropirimidinas, potenciais agentes imunossupressores. Em um segundo capítulo foi realizado a síntese de *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos, com potencial atividade antituberculose.

A primeira parte do capítulo 1 consistiu na síntese e avaliação imunossupressora de derivados da 1,4-diaminoantraquinona e 1,4-diidroxi-antraquinona. Para tal foram sintetizados 10 substâncias, sendo 9 inéditas, a saber: 2 derivados da 1,4-diaminoantraquinona e 7 derivados da 1,4-diidroxi-antraquinona em rendimentos moderados a satisfatórios (31-90%). As substâncias **12**, **13**, **15**, **16**, **19** e **22-26** foram submetidas à avaliação *in vitro* de inibição de produção de NO no Laboratório de Imunologia da UFJF. Os resultados mostraram que a diamina **12** apresentou melhor atividade imunossupressora conseguindo inibir 92,6% da produção de NO. As substâncias **13** e **22** foram avaliadas no modelo de encefalomielite auto-imune experimental (EAE), no qual foi observado melhora nos sinais clínicos da doença nos camundongos tratados com estas substâncias.

A segunda parte do capítulo 1 consistiu na síntese e avaliação imunossupressora de 5 derivados tetraidropirimidínicos inéditos, que foram obtidos por reação de etionamida com diaminas *N*-alquiladas. Os resultados do teste de inibição de produção de NO das substâncias **31a**, **31d** e **31e** não foram significativos devido a citotoxicidade apresentada nos testes de viabilidade celular.

Como parte do estágio de doutorando realizado em Farmanguinhos/Fiocruz, o capítulo 2 deste trabalho consistiu na síntese e avaliação antituberculosa de novas *N*-acilidrazonas (**48a-q**) derivadas de aminoácidos, obtidas em rendimentos moderados a satisfatórios (25-84%). Estas substâncias foram testadas quanto a sua atividade antibacteriana frente ao *M. tuberculosis* no IPEC-FioCruz-RJ. Os resultados da avaliação mostraram a importância dos grupos 5-nitrofurânicos e Cbz para a atividade, sendo o derivado da fenilalanina **48c** o mais ativo com CIM de 12,5 µg/mL.

Palavras-chave: antraquinona, tetraidropirimidina, *N*-acilidrazona, imunossupressor, óxido nítrico, esclerose múltipla, tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*.

ABSTRACT

The present work explored, in a first part, the synthesis of novel anthraquinones and tetrahydropyrimidines, potential immunosuppressive agents. In a second chapter was realized a synthesis of the *N*-acylhydrazones amino acids derivatives.

The first part of chapter 1 consisted of synthesis and immunosuppressive evaluation of the 1,4-diamineanthraquinone and 1,4-dihydroxyanthraquinone derivatives. For this, ten substances were synthesized; two derivatives of 1,4-diamineanthraquinone and 7 derivatives of 1,4-dihydroxyanthraquinone, in moderate to satisfactory yields (31-90%). Substances **12**, **13**, **15**, **16**, **19** and **22-26** were submitted to *in vitro* evaluation of inhibition of NO production in the Laboratory of Immunology from UFJF. The results showed that diamine **12** had better immunosuppressive activity, being able to inhibit 92.6% of NO production. Substances **13** and **22** were evaluated under the model of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), in which was observed improvement in clinical signs of the mice disease that were treated with these substances.

The second part of chapter 1 consisted of the synthesis and immunosuppressive evaluation of 5 tetrahydropyrimidines that were unpublished, they were obtained by reaction of ethionamide with *N*-alkyl diamines. The test results of inhibition of NO production of substances **31a**, **31d** and **31e** were not significant due to cytotoxicity presented in cell viability tests.

As part of the doctor stage held in Farmanguinhos/Fiocruz, chapter 2 of this work consisted of the synthesis and antituberculous evaluation of new *N*-acylhydrazones (**48a-q**), amino acid derivatives, obtained in moderate to satisfactory yields (25-84%). These substances were tested for antibacterial activity against *M. tuberculosis* in IPEC-Fiocruz/RJ. The evaluation results showed the importance of the 5- nitrofuranyl and Cbz for the activity, and the phenylalanine derivative **48c** is the most active with MIC of 12.5 mg / mL.

Keywords: anthraquinone, tetrahydropyrimidine, *N*-acylhydrazone, immunosuppressive, nitric oxide, multiple sclerosis, tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

a.C.: antes de Cristo

AIDS (SIDA): “Acquired Immunodeficiency Syndrome” (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)

ap: antiperiplanar

BBR2778: pixantrona

BCG: Bacillus Calmette-Guérin

BK: bacilo de Koch

Boc: *tert*-butoxicarbonil

Boc₂O: dicarbonato de di-*tert*-butila

Cbz : benziloxicarbonil

CCF: cromatografia em camada fina

CD₃OD: metanol deuterado

CDCl₃: clorofórmio deuterado

CIM: concentração inibitória mínima

Cosy: “Correlated Spectroscopy” mapa de contorno ¹Hx¹H

CsA: ciclosporina A

d: duplete

dd: duplete duplo

DEPT: “Distortionless Enhancement by Polarization Transfer” (Intensificação sem Distorção por Transferência de Polarização)

DMA: dimetilacetamida

DMF: dimetilformamida

DMSO: dimetilsulfóxido

DMSO-d₆: dimetilsulfóxido deuterado

DNA: “Deoxyribonucleic Acid” (ácido desoxirribonucléico)

DP: doença de Parkinson

E: etambutol

EAE: encefalomielite auto-imune experimental

EM: esclerose múltipla

EMPP: esclerose múltipla primária progressiva

EMRR: esclerose múltipla recorrente-remitente

EMSP: esclerose múltipla secundária progressiva

FDA: Food and Drug Administration (Administração Federal de Alimentos e Medicamentos)

FK-506: tacrolimus

H: isoniazida

Hz: hertz

IC₅₀: concentração inibitória mínima necessária para inibir 50% do crescimento

IgE: imunoglobulina E

IgG: imunoglobulina G

IgM: imunoglobulina M

IV: infravermelho

J: constante de acoplamento

KBr: brometo de potássio

LLA: leucemia linfóide aguda

m: multiplete

MCF-7: linhagem de célula de carcinoma de mama

MHz: megahertz

MMF: micofenolato de mofetila

mmol: milimol

MO: microondas

MPTP: 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina

Ms: mesil

MS: Ministério da Saúde

MTX: mitoxantrona

NAD: nicotinamida adenina dinucleotídeo

NEED: naftiletlenodiamina

NO: óxido nítrico

OH: hidroxila

OMS: Organização Mundial da Saúde

Pd/C: paládio suportado em carvão ativo

PF: ponto de fusão

pi: piridina

PIX: pixantrona

ppm: partes por milhão

q: quarteto

qu: quinteto

R: rifampicina

RHT: reação de hipersensibilidade tardia

RMN de ¹³C: ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ¹H: ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RNA: ácido ribonucléico

s: simpleto

sl: sinal largo

SNC: sistema nervoso central

sp: sinperiplanar

t.a.: temperatura ambiente

t: tripleto

TB: tuberculose

TBAB: brometo de tetrabutilamônio

TB-MDR: tuberculose multiresistentes

***t*-ButOK:** *terc*-butóxido de potássio

TB-XDR: tuberculose extremamente resistentes

Th1: citocinas

THF: tetraidrofurano

TMS: tetrametilsilano

Z: pirazinamida

δ: deslocamento químico

μ: micro

SUMÁRIO

PREFÁCIO	i
1. SÍNTESE E AVALIAÇÃO IMUNOSSUPRESSORA DE DERIVADOS ANTRAQUINÔNICOS E TETRAIDROPIRIMIDÍNICOS	16
1.1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1.1. Função Biológica do Óxido Nítrico (NO).....	19
1.1.2. Fármacos Imunossupressores.....	20
1.1.3. Mitoxantrona (MTX).....	24
1.1.4. Mitoxantrona no Tratamento da Esclerose Múltipla.....	25
1.1.5. Análogos Mitoxantrona.....	29
1.1.6. Substância com atividade em outras doenças autoimunes.....	32
1.2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA.....	35
1.2.1. Objetivo Geral.....	35
1.2.2. Objetivos Específicos.....	35
1.2.2.1. Obtenção dos derivados antraquinônicos.....	35
1.2.2.2. Obtenção dos derivados tetraidropirimidínicos.....	37
1.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
1.3.1. Síntese de derivados antraquinônicos com cadeias longas.....	38
1.3.1.1. Tentativas de <i>N</i> -alquilação de 1,4-diaminoantraquinona.....	38
1.3.1.2. Síntese de <i>N</i> -[4-(dodecanoilamino)-9,10-dioxo-9,10-diidro-1-antracênil]dodecanamida 13	40
1.3.1.3. Síntese de laurato de 4-(dodecanoiloxi)-9,10-dioxo-9,10-diidro-1-antracênila 15	44
1.3.1.4. Síntese de 1,4-bis(dodeciloxi)antra-9,10-quinona 16	47
1.3.1.5. Síntese de 1,4-bis(dodecilamino)antra-9,10-quinona 12	50
1.3.2. Síntese de derivados antraquinônicos com cadeias curtas.....	53
1.3.3. Síntese de derivados tetraidropirimidínicos 31a-e	77
1.4. ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	86

1.4.1. Preparo dos Compostos para Teste <i>in vitro</i>	87
1.4.2. Teste de Viabilidade Celular.....	87
1.4.3. Avaliação da Inibição de Produção de NO.....	88
1.4.4. Análise dos Resultados de Viabilidade Celular e Inibição de NO.....	89
1.4.5. Viabilidade celular e inibição de produção de NO dos derivados tetraidropirimidínicos 31a , 31d-e	92
1.4.6. Ensaio de EAE.....	93
1.4.6.1. Animais utilizados.....	93
1.4.6.2. Indução à EAE.....	93
1.4.6.3. Avaliação Clínica.....	94
1.4.6.4. Tratamento com diamida 13 , diiodeto 22 e Mitoxantrona.....	94
1.4.6.5. Resultados de EAE.....	94
1.5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	96
2. SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTITUBERCULOSE DE N-ACILIDRAZONAS DERIVADAS DE AMINOÁCIDOS	97
2.1. INTRODUÇÃO GERAL.....	98
2.1.1. A tuberculose (TB).....	99
2.1.2. Estatísticas sobre a tuberculose.....	100
2.1.3. Estrutura do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	102
2.1.4. Fármacos utilizados no tratamento da tuberculose.....	104
2.1.5. O fenômeno da resistência bacteriana.....	109
2.1.6. Atividade dos fármacos anti-TB.....	110
2.1.7. Compostos promissores no combate a TB.....	112
2.1.8. A importância das N-acilidrazonas.....	114
2.2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS.....	118
2.2.1. Objetivo Geral.....	118
2.2.2. Objetivos Específicos.....	118
2.2.2.1. Obtenção dos derivados N-acilidrazônicos.....	118
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	120
2.3.1. Análise Retrossintética.....	120
2.3.2. Obtenção dos ésteres derivados de aminoácidos 44a-c	121
2.3.3. Obtenção dos derivados 45a-c protegidos com o grupamento Boc.....	124
2.3.4. Obtenção dos derivados 46a-b protegidos com Cbz.....	128

2.3.5. Síntese das <i>N</i> -acilidrazinas 47a-g	132
2.3.6. Síntese das <i>N</i> -acilidrazonas 48a-q	136
2.4. ENSAIOS BIOLÓGICOS	144
2.4.1. Teste <i>in vitro</i>	144
2.4.2. Análise dos resultados do teste <i>in vitro</i> das <i>N</i> -acilidrazinas e <i>N</i> -acilidrazonas.....	145
2.4.3. Atividade antituberculose dos derivados tetraidropirimidínicos obtidos no Capítulo 1.....	148
2.5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	150
3. PARTE EXPERIMENTAL	151
3.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS DE CARACTERIZAÇÃO	152
3.2. METODOLOGIAS SINTÉTICAS	154
3.2.1. Preparação dos compostos do Capítulo 1.....	154
3.2.1.1. Síntese dos derivados antraquinônicos de cadeias lipofílicas.....	154
3.2.1.2. Síntese dos derivados antraquinônicos de cadeias curtas.....	158
3.2.1.3. Metodologia geral para síntese das diaminas <i>N</i> -alquiladas 30a-e	164
3.2.1.4. Metodologia geral para síntese dos derivados tetraidropirimidínicos 31a-e	167
3.2.2. Preparação dos compostos do Capítulo 2.....	172
3.2.2.1. Metodologia geral para preparação dos ésteres derivados dos aminoácidos 44a-c	172
3.2.2.2. Metodologia geral para obtenção dos derivados 45a-c	174
3.2.2.3. Metodologia geral para obtenção dos derivados 46a-b	176
3.2.2.4. Metodologia geral para obtenção de <i>N</i> -acilidrazinas 47a-g	178
3.2.2.5. Metodologia geral para obtenção de <i>N</i> -acilidrazonas 48a-q	184
4. ESPECTROS	199
5. REFERÊNCIAS	302
ANEXOS	318

PREFÁCIO

Esta tese está dividida em 5 capítulos. O capítulo 1 descreve a síntese de derivados antraquinônicos e derivados tetraidropirimidinícos com avaliação imunossupressora. O Capítulo 2 descreve a síntese de novas *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos com avaliação antituberculose. Em cada um destes 2 capítulos, estão apresentados os resultados e discussões, testes biológicos e conclusões. No capítulo 3 tem-se a parte experimental, o capítulo 4 foi destinado aos espectros e o capítulo 5 se refere às referências bibliográficas.

*Capítulo 1. Síntese e avaliação imunossupressora de derivados
antraquinônicos e tetraidropirimidínicos*

1.1. INTRODUÇÃO

O sistema imunológico é constituído por uma intrincada rede de órgãos, células e moléculas, e tem por finalidade manter a homeostase do organismo, combatendo as agressões em geral (CRUVINEL *et al*, 2010). A resposta imune tem papel fundamental na defesa contra agentes infecciosos e se constitui no principal impedimento para a ocorrência de infecções disseminadas, habitualmente associadas com alto índice de mortalidade. É também conhecido o fato de que, para a quase totalidade das doenças infecciosas, o número de indivíduos expostos à infecção é bem superior ao dos que apresentam doença, indicando que a maioria das pessoas tem condições de destruir esses microrganismos e impedir a progressão da infecção (MACHADO, ARAÚJO e CARVALHO, 2004). Sendo assim, o sistema imune sadio deve manter o balanço entre a capacidade de responder a agentes infecciosos e de sustentar a auto-tolerância (CRUVINEL *et al*, 2008). O conhecimento dos principais mecanismos de defesa permite a compreensão da resposta imune do organismo contra várias patologias. A resposta imune é também muito importante nos mecanismos de rejeição de órgãos e tecidos (IZAR, 2005).

A função imunológica tem sido conceitualmente dividida em imunidade celular e imunidade humoral. A imunidade inata ou celular é o primeiro mecanismo de defesa do organismo contra microrganismos intracelulares obrigatórios, como os vírus e algumas bactérias, ou seja, representa uma resposta rápida e estereotipada a um número grande, mas limitado, de estímulos (MEDZHITOV e JANEWAY, 2000). É mediada principalmente por linfócitos T, conjuntamente com outras células como monócitos e macrófagos, no controle ou eliminação de patógenos, não se altera qualitativa ou quantitativamente após o contato, logo é um tipo de reconhecimento inespecífico. A imunidade adaptativa ou humoral ocorre por reconhecimento específico de substâncias estranhas (antígenos), é o principal mecanismo de defesa contra patógenos extracelulares e suas toxinas secretadas, sendo mediada por moléculas secretadas pelos linfócitos B, que estão localizadas no plasma ou no soro. Essas moléculas são chamadas de anticorpos ou imunoglobulinas, e são importantes no reconhecimento específico e na eliminação de vários tipos de antígenos (FERREIRA e TEIXEIRA, 2005).

A primeira defesa do organismo a um dano tecidual é a resposta inflamatória, um processo biológico complexo que envolve componentes vasculares, celulares e uma diversidade de substâncias solúveis, além de apresentar como sinais clínicos característicos

rubor, calor, edema, dor e prejuízo funcional. A finalidade desse processo é remover o estímulo indutor da resposta e iniciar a recuperação tecidual local (ABBAS e LICHTMAN, 2003). Durante a inflamação, alguns sistemas bioquímicos são ativados, auxiliando no estabelecimento, evolução e resolução do processo. Em geral, o sucesso na remoção do estímulo desencadeador leva ao término da resposta aguda e reparo tecidual completo.

A resposta inflamatória é, em geral, benéfica ao organismo, resultando na eliminação de microrganismos por fagocitose, diluição ou neutralização de substâncias irritantes ou tóxicas pelo extravasamento local de fluidos ricos em proteínas, e limitação da lesão inicial pela deposição de fibrina. Em algumas situações, entretanto, pode ter consequências indesejáveis, como, por exemplo, nas reações alérgicas e nas doenças autoimunes. As reações inflamatórias exacerbadas, mediadas pelo sistema imune, denominadas reações de hipersensibilidade, são classificadas de acordo com o mecanismo desencadeador (Tabela 1.1). As reações de hipersensibilidade dos tipos I, II e III são mediadas por anticorpos, enquanto o tipo IV é mediado por células T e macrófagos (BATKHUU *et al*, 2002) (células de grandes dimensões do tecido conjuntivo, ricos em lisossomos, que fagocitam elementos estranhos ao corpo).

Tabela 1.1. Classificação das reações de hipersensibilidade segundo Gell e Coombs

Tipo	Nome Alternativo	Doenças Associadas	Mediadores
I	Hipersensibilidade imediata	-Atopia -Anafilaxia -Asma	Imunoglobulina E (IgE)
II	Hipersensibilidade mediada por anticorpos	-Anemia hemolítica auto-imune -Síndrome de Goodpasture -Eritroblastose fetal	Imunoglobulina G (IgG) ou M (IgM) e complementos
III	Hipersensibilidade mediada por imunocomplexos	-Doença do soro -Reação de Arthus -Nefrite lúpica	Imunoglobulina G (IgG) e complementos
IV	Hipersensibilidade tardia	-Rejeição de transplante -Dermatite de contato -Tuberculose	Células T, macrófagos, histiócitos

A reação de hipersensibilidade tardia (RHT), ou tipo IV, é uma forma de imunidade celular na qual a célula efetora final é o fagócito mononuclear (macrófago) ativado. Esse tipo de imunidade celular é parte do mecanismo de defesa primário contra bactérias intracelulares.

Se o antígeno não for um microrganismo, as RHT produzirão lesão tecidual sem proporcionar uma função protetora (hipersensibilidade) (ABBAS e LICHTMAN, 2003). *In vitro*, a ação anti-inflamatória pode ser avaliada através da capacidade do composto em inibir a ativação de macrófagos sendo caracterizada através da produção de óxido nítrico (NO), enquanto a reação de hipersensibilidade tardia à ovoalbumina é um modelo muito utilizado para avaliação *in vivo* do efeito imunossupressor de determinados compostos (FERREIRA *et al*, 1995; WANG, 2007).

1.1.1. Função Biológica do Óxido Nítrico (NO)

As células fagocíticas, dentre elas monócitos e macrófagos, após interiorizarem um microorganismo sintetizam vários produtos capazes de inibir seu crescimento ou levá-lo a morte. Entre os produtos gerados, estão os intermediários de oxigênio (superóxido, peróxido de hidrogênio, radicais hidroxila) e nitrogênio (óxido nítrico, nitrito e nitrato). A produção de NO por macrófagos é considerada como principal mecanismo microbicida contra vários patógenos (DENIS *et al*, 2006).

O óxido nítrico, um radical livre altamente tóxico e reativo (BECKMAN e KOPPENOL, 1996), participa do metabolismo oxidativo dos macrófagos sendo importante na resposta inflamatória. Este mediador está envolvido na patogênese e no controle de doenças infecciosas e de tumores, nos processos autoimunes e de doenças degenerativas. É um excelente mensageiro intercelular, devido a sua alta permeabilidade em membranas. Em contato com receptores da membrana celular ele desencadeia uma série de sinais intracelulares que promove modificações na célula. Desta forma, faz parte da primeira linha de defesa do organismo, já que penetra nas células sem auxílio de intermediários membranosos (FILHO e ZILBERSTEIN, 2000). NO é sintetizado por ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), a partir do aminoácido L-arginina, gerando citrulina e NO, necessitando da presença de dois co-fatores, o oxigênio e o fosfato de dinucleotídeo adenina nicotinamida (NADPH) (BOGDAN *et al*, 2000). O NO pode induzir reações tóxicas contra outros tecidos do hospedeiro, no caso de doenças autoimunes e situações de sobrecarga exageradas do organismo (ROTHER e KOLB, 1999), por exemplo, na asma, atuando como toxina conforme a concentração e o tecido em questão, desempenhando um papel pró-inflamatório (BARNES e LIEW, 1995). Esta molécula também pode atuar como anti-inflamatório ou agente

imunossupressor através de seus efeitos inibitórios ou apoptóticos em células (MACIEJEWSKI *et al*, 1995; LI e BILLAR, 2000).

O NO controla uma variedade de organismos intracelulares como *Leishmania* (INIESTA *et al*, 2001), *Plasmodium* (CHIWAKATA *et al*, 2000), *Tripanosoma* (SAEFTEL *et al*, 2001), infecções virais (REISS e KOMATSU, 1998) e fúngicas (LIRK *et al*, 2002), porém o papel do NO em infecções bacterianas não está totalmente definido. Os mecanismos potenciais incluem efeito microbicida direto através da reação do óxido nítrico com grupos do ferro ou tiolato formando um complexo que inativa as enzimas fundamentais na respiração mitocondrial ou na replicação do DNA. O óxido nítrico tem também a capacidade de reagir com superóxidos formando oxidantes reativos capazes de danificar as células alvo (TRIPATHI *et al*, 2007; NATHAN e SHILOH, 2000).

Dentre as várias funções descritas para o NO podemos citar efeitos antiviral, antimicrobiano, imunoestimulador (pró-inflamatório) e imunossupressivo (anti-inflamatório), além de ações citotóxicas e citostáticas que promovem a destruição de microrganismos. A citotoxicidade do NO resulta da sua ação direta ou da sua reação com outros compostos liberados durante o processo inflamatório (BOGDAN, 1997).

1.1.2. Fármacos Imunossupressores

O crescimento dos conhecimentos de imunologia clínica tem revelado a fisiopatologia de doenças causadas por exacerbação da resposta imune e por imunodeficiências em diversas áreas da medicina. Os fármacos utilizados para regulação do sistema imunológico são denominados imunomoduladores, estes podem ser de uso tópico e/ou sistêmico, são utilizados no tratamento de doenças causadas por hipersensibilidades ou imunodeficiências. São divididos em dois grupos básicos: o dos imunoestimuladores, que conduzem ao aumento da imunidade inata e adaptativa, e o dos imunossupressores, que diminuem a atividade do sistema imune (LIMA, 2007).

Os imunossupressores são utilizados para tratamento em processos alérgicos, em várias doenças auto-imunes (lúpus eritematoso, artrite reumatóide e psoríase) e em transplantes de órgãos. Tais fármacos inibem a produção de interleucina-2, inibem a expressão dos genes das citocinas e atuam através de mecanismos citotóxicos, inibindo a síntese de purinas ou pirimidinas (RANG, DALE e RITTER, 2001). Podem também induzir a tolerância, através da depleção de linfócitos, desviando o tráfego destas células ou bloqueando suas vias

de sinalização de linfócitos T (GUIMARÃES *et al*, 1996). Entretanto, essas terapias requerem tratamentos de longo prazo e supressão inespecífica de todo o sistema imunitário, expondo os doentes a riscos consideráveis de infecções e cancro.

A Ciclosporina A (Figura 1.1) começou a ser utilizada clinicamente na Inglaterra como fármaco regulador da resposta imune, em meados de 1976, seu excelente efeito imunossupressor em pacientes transplantados de órgão sólidos, mudou a história dos transplantes no mundo. Seu uso foi um marco na história dos transplantes de órgãos e, desde então, a medicina sofreu um grande avanço nesta área (MIES *et al*, 2005). Mais tarde, em 1983, sua fórmula original foi liberada para uso em transplantes pela FDA (Food and Drug Administration). Sua nefrotoxicidade, como efeito colateral, é um fator limitante para seu uso. Desde então, uma série de novos fármacos imunossupressores foram desenvolvidos, estudados e liberados para uso clínico (CURVELLO NETO *et al*, 2000).

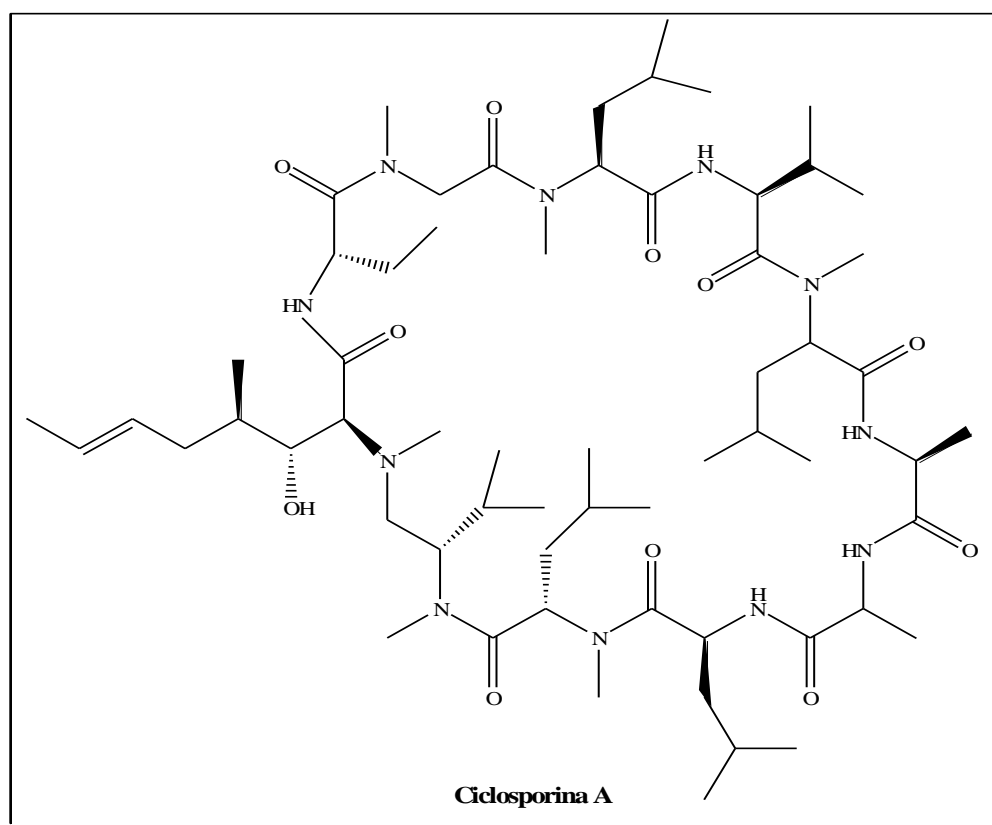


Figura 1.1. Estrutura da Ciclosporina A.

Os principais fármacos utilizados como imunossupressores são (Figura 1.1 e Figura 1.2):

- Ciclosporina A (CsA): é um decapeptídeo fúngico originado do *Tolypocladium inflatum gams*. Seu mecanismo de ação consiste em inibir a ativação de linfócitos T, pela interação com uma imunofilina citoplasmática específica: a ciclofilina. É utilizado em pacientes submetidos a transplante pulmonar, cardíaco, renal, hepático e pancreático (GARCIA *et al*, 2004). Apresenta nefrotoxicidade relacionada à dosagem administrada.

- Tacrolimus (FK-506): é um antibiótico macrolídeo isolado da cultura de um microrganismo denominado *Streptomyces tsukubaensis*, com mecanismo de ação virtualmente idêntico ao da ciclosporina (VELLA e SAYEGH, 1997). É utilizado para sobrevivência de pacientes que fizeram transplantes de fígado, rim, coração, pulmão, pâncreas e intestino. Também é usado para tratar doenças como a psoríase, uveíte, resistência a corticosteróide, síndrome nefrótica, pioderma gangrenoso recalcitrantes, diabetes do tipo 1, hepatite auto-imune crônica ativa, enteropatia auto-imune pediátrica, doença de Crohn e dermatite atópica. Apresenta nefrototoxicidade e neurotoxicidade como reações adversas (LETKO *et al*, 1999).

- Micofenolato de mofetila (MMF): é um pré-fármaco derivado do ácido micofenólico, este é um antibiótico originado do *Penicillium stoloniferum*. Bloqueia a biossíntese de nucleotídeos purínicos pela inibição da enzima inosina monofosfato desidrogenase. Previne a proliferação de células T, linfócitos e a formação de anticorpos pelas células B. Pode inibir também o recrutamento de leucócitos a regiões de inflamação. É um imunossupressor não-nefrotóxico e não-aterogênico. Os principais efeitos colaterais do MMF são a anemia, leucopenia e distúrbios gastrointestinais (vômitos, diarreias e cólicas abdominais), que determinam em 10% a 20% dos casos de suspensão do tratamento.

- Sirolimus ou Rapamicina: também é um antibiótico macrolídeo do fungo *Streptomyces higrscopicus* encontrado na ilha Rapa Nui. Penetra livremente nas células, unindo-se à mesma imunofilina do tacrolimus (FKBP12), formando um complexo fármaco-proteína que reduz a síntese de proteínas, bloqueando a proliferação e diferenciação celular (OLIVEIRA *et al*, 2009). Utilizado principalmente em pacientes pós-transplante renal. O sirolimus não é nefrotóxico e pode determinar reações colaterais como dose-dependentes, plaquetopenia, anemia, leucopenia e hiperlipidemia (LASMAR e LASMAR, 2003).

- Azatioprina: é um derivado purínico que age inibindo a síntese do DNA. É utilizado no tratamento de doenças inflamatórias intestinais, leucemia linfóide aguda (LLA), esclerose múltipla e na imunossupressão pós-transplante. Em razão do seu efeito anti-inflamatório, também tem sido utilizada em pacientes com doenças auto-ímmunes, como lúpus, vasculites, alterações dermatológicas e artrite reumatoide. Possui efeito citotóxico ocasionando depressão da medula óssea, leucopenia e lesões hepáticas (NETO *et al*, 2008).

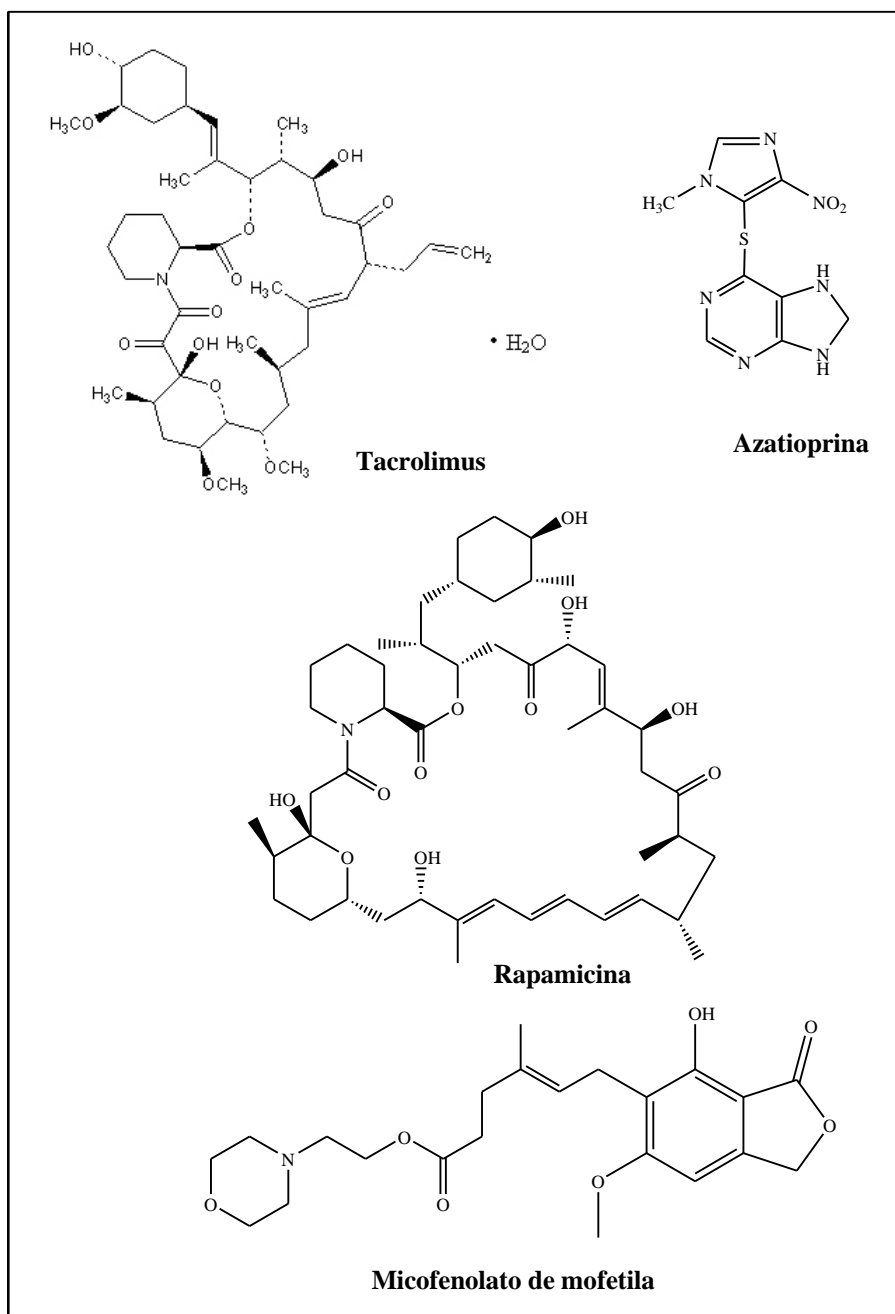


Figura 1.2. Fármacos imunossupressores.

1.1.3. Mitoxantrona (MTX)

Mitoxantrona é um antibiótico pertencente ao grupo das antracenodionas e possui estrutura semelhante a das antraciclina (Figura 1.3). É comercializada com o nome de Novantrone[®] na forma de cloridrato de mitoxantrona. MTX é um agente antineoplásico usado clinicamente sozinho ou em combinação com outros quimioterápicos para o tratamento de uma variedade de tipos de câncer, particularmente carcinoma de pulmão, leucemia, melanoma e linfoma, doença de Hodgkin e câncer de mama (ALIABADI, TABARZADI e ZARGHI, 2004). O uso prolongado de agentes antitumorais leva às vezes ao aparecimento de populações de células multiresistentes a estes agentes, sendo esse efeito uma das principais falhas da terapia antitumoral.

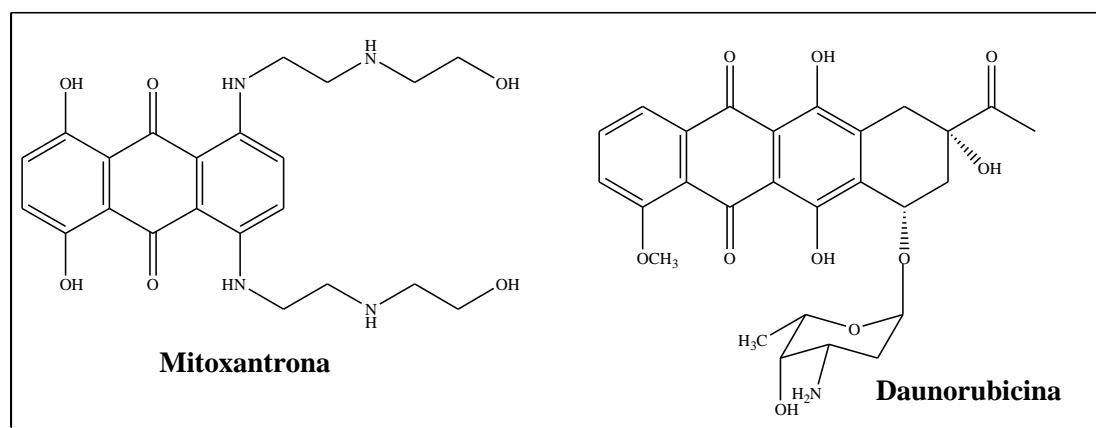


Figura 1.3. Estruturas químicas da mitoxantrona e daunorubicina (tipo de antraciclina).

Muitos esforços têm sido direcionados para o desenvolvimento de novos agentes citotóxicos com a capacidade de superar esta resistência a múltiplos fármacos (STEFANSKA, B. *et al*, 2005). A MTX pertence a um grupo de medicamentos chamados de antibióticos citotóxicos, ou seja, seu efeito citotóxico tem ação contra células multiresistentes e é usada inclusive em casos de metástase de mama e próstata (KALIKS, GUERRA e GIGLIO, 2010). Seu mecanismo de ação ainda não foi completamente elucidado, mas sabe-se que interage com o DNA através de intercalação. Este mecanismo tem a finalidade de acomodar o ligante (MTX). Com a penetração deste, o DNA deve passar por uma mudança conformacional que implica num aumento da separação vertical entre os pares de bases criando uma cavidade para a entrada do fármaco. A dupla hélice é, assim, parcialmente desenrolada, o que leva a distorções da cadeia de açúcar-fosfato e as mudanças no ângulo de torção entre pares de bases sucessivos, logo o agente intercalante (MTX) se insere entre os pares de bases adjacentes perpendicularmente ao eixo da hélice e sem perturbar o padrão geral de empilhamento.

(Figura 1.4) (AVENDAÑO e MENÉNDEZ, 2008). Deste modo, a intercalação interfere nas funções normais do DNA, interferindo na síntese de proteínas e inibindo as topoisomerases 2, que são responsáveis por manter a integridade do DNA, ou seja, fazem sua transcrição, reparação e replicação (SILVA, FERREIRA e SOUZA, 2003).

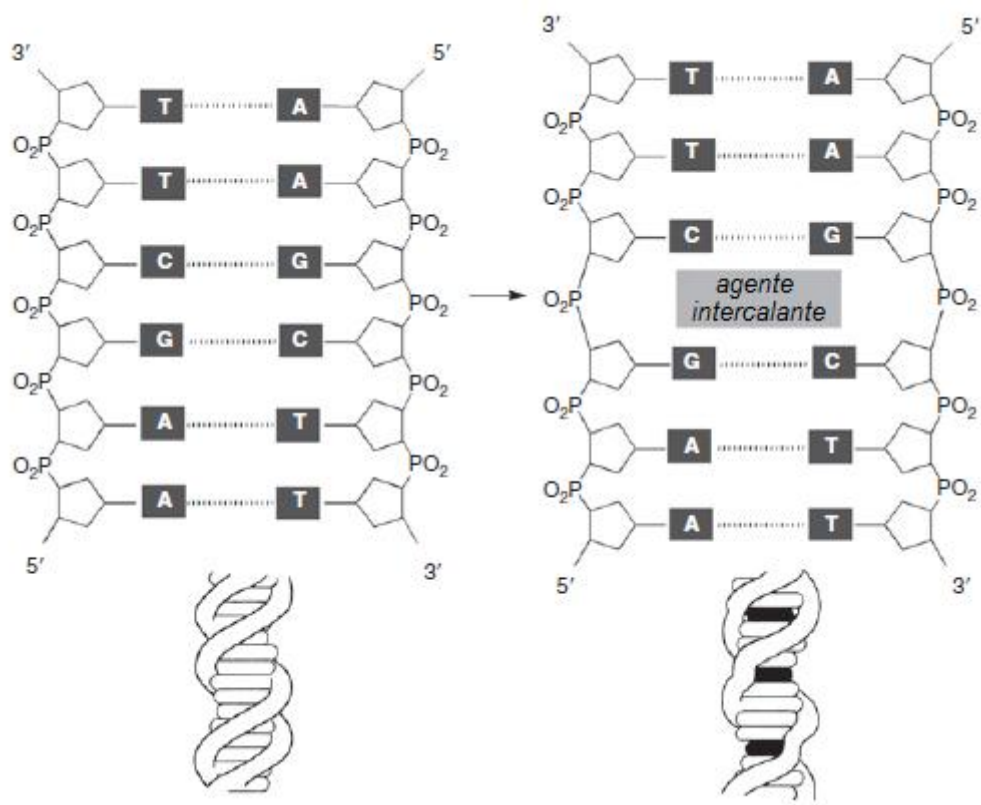


Figura 1.4. Deformação do DNA pela mitoxantrona (agente intercalante).

A mitoxantrona também é um potente agente imunossupressor visando à proliferação imunológica, seu mecanismo de ação envolve a inibição de replicação de células T, células B e macrófagos (GBADAMOSI *et al.*, 2003). MTX foi um dos primeiros fármacos imunossupressores a serem aprovados nos Estados Unidos da América e na Europa, para o tratamento da leucemia aguda e de várias formas de esclerose múltipla (NEUHAUS, KIESEIER e HARTUNG, 2006).

1.1.4. Mitoxantrona no tratamento da Esclerose Múltipla

Esclerose Múltipla (EM) é uma doença crônica, inflamatória e desmielinizante (danos a mielina). EM afeta mais de 1 milhão de pessoas em todo o mundo, sua etiologia é desconhecida e dados estatísticos mostram que ocorre predominantemente nos países

ocidentais mais frios (NEUHAUS, KIESEIER e HARTUNG, 2006). Os sintomas mais comuns da EM são fraqueza muscular, parestesias (alterações da sensibilidade), deficiências visuais, incoordenação motora e incontinência urinária são alguns dos sintomas dos surtos, que podem ocorrer isoladamente e duram no mínimo 24 horas. É mais comum em mulheres, sendo que as primeiras manifestações clínicas ocorrem frequentemente na idade adulta (dos 20-40 anos) (SILVA, PAULA e FERREIRA, 2008). Padrões clínicos de EM foram estabelecidas por consenso internacional (LUBLIN *et al.*, 1996). Aproximadamente 85% dos pacientes inicialmente tratados, podem ter uma ou mais recaídas, seguido por uma recuperação completa ou incompleta. Esta fase clínica padrão é denominada Esclerose Múltipla Recorrente-Remitente (EMRR), em que há surtos (sintomas neurológicos), que podem deixar seqüelas ou não, seguidos por remissão (intervalo). Após 10 anos, 50% dos pacientes tratados podem passar para Esclerose Múltipla Secundária Progressiva (EMSP), em que os pacientes já apresentam incapacidade física progressiva, ou seja, esta fase é caracterizada pela piora gradual das deficiências, com ou sem recaídas (NEUHAUS, KIESEIER e HARTUNG, 2006). Aproximadamente 10% dos pacientes apresentam um tipo clínico que é progressivo, ou seja, aumenta gradativamente desde o início das manifestações, sem melhora. Este padrão clínico é denominado Esclerose Múltipla Primária Progressiva (EMPP).

O sistema imunológico desempenha um papel central na patogênese de EM devido à grande variedade de anormalidades imunes. Cada indivíduo tem no Sistema Nervoso Central (SNC) células T antígeno-autoreativas, em indivíduos geneticamente propensos a susceptibilidade a EM, por uma quebra de tolerância, com base em mecanismos ainda não identificados. A ativação dessas células T ocorre na periferia, provavelmente por mimetismo molecular. Isso permite que as células T auto-reativas migrem através da barreira hematoencefálica e invadam o cérebro e a medula espinhal. Reativado dentro do SNC, essas células T liberam citocinas Th1 pró-inflamatórias e começa a destruição da bainha de mielina por vários tipos de células imunes, tais como os linfócitos B e macrófagos que secretam mais mediadores citotóxicos (Figura 1.5). A bainha de mielina é rica em lipídeos, e é a membrana que recobre o axônio - parte do neurônio responsável pela condução rápida e energeticamente eficiente dos impulsos elétricos para o cérebro. Uma vez afetada prejudica a condução de sinais nos nervos afetados, causando prejuízos na sensação, movimento, cognição e outras funções dependendo dos nervos envolvidos (HEMMER, ARCHELOS e HARTUNG, 2002).

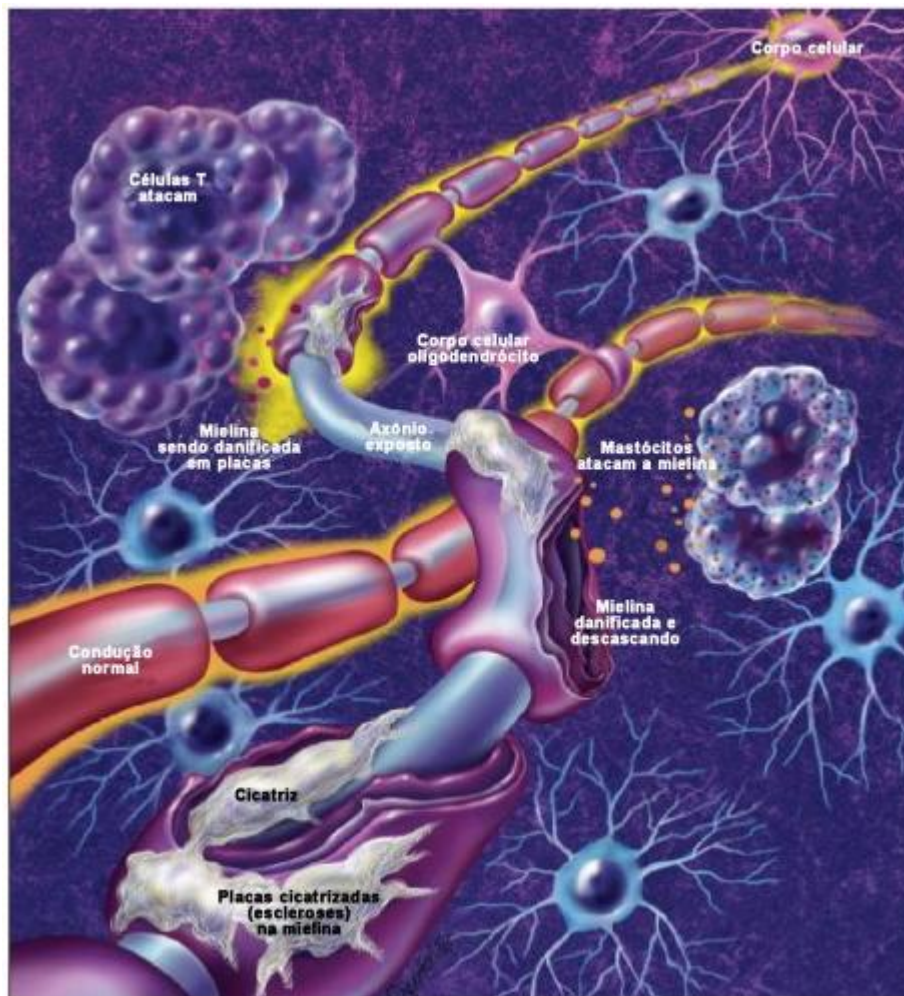


Figura 1.5. Bainha de mielina sendo atacada nas placas por células T

(<http://bancadirecta.blogspot.com/2010/02/o-misterio-da-substancia-branca-fois-e.html>).

Até meados dos anos 90, os corticosteróides eram os únicos fármacos comprovadamente eficazes na redução de ataques agudos de EM, enquanto o tratamento medicamentoso eficaz, a longo prazo, não era eficiente. O tratamento terapêutico em EM é baseado em três princípios:

- i) tratamento de recidivas usando corticosteróides;
- ii) tratamento a longo prazo empregando imunossupressores;
- iii) tratamento sintomático.

Para o tratamento de EM, os imunossupressores agem suprimindo a inflamação ativa, gerada pelas células T, com o objetivo de prevenir a danificação da mielina e conseqüentemente do axonal e, assim, prevenindo a incapacidade de suas funções. Durante

anos, foram utilizados imunossupressores inibidores de componentes cruciais do sistema imunológico como, por exemplo, ciclofosfamida (Figura 1.6). Nesses casos, os potenciais efeitos benéficos em EM foram limitados devido a efeitos adversos sistêmicos, como o aumento do risco de câncer ou infecção.

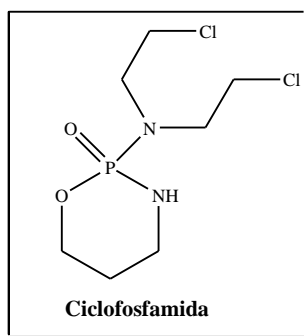


Figura 1.6. Imunossupressor utilizado no tratamento de EM.

Estudos pré-clínicos iniciados na década de 80 mostraram que MTX foi eficaz em Encefalomielite Auto-imune Experimental (EAE), que consiste num modelo animal experimental para doença desmielinizante SNC. Neste modelo, os sinais patológicos são similares à EM, incluindo focos perivasculares e periventriculares de inflamação e desmielinização. A desmielinização subpial subjacente às infiltrações meníngeas também ocorre, o que também é um sinal de encefalomielite aguda disseminada (WATSON *et al*, 1991; LEVINE e SALTZMAN, 1986). No estudo foi observado efeito dose-dependente de inibição em determinada avaliação clínica de histopatologia em ratos EAE (RIDGE *et al*, 1985). Curiosamente, MTX foi 10-20 vezes mais eficaz do que ciclofosfamida em suprimir o desenvolvimento da EAE. Além disso, em um modelo de transferência adotiva, células T tratadas com MTX não eram mais capazes de induzir a doença, indicando um efeito inibitório da MTX sobre células T (LEVINE e SALTZMAN, 1986). Neste modelo de desmielinização, foi observado que MTX inibiu macrófagos responsáveis por decomposição da mielina e exerceu um efeito supressor sobre anticorpos específicos e inespecíficos de produção (WATSON *et al*, 1991).

Em estudos clínicos foram observados uma redução significativa de novas lesões e uma diminuição da carga da doença. Com isso, MTX foi aprovada em vários países para o tratamento de EMRR e EMSP. Para pacientes EMPP, ainda não há provas suficientes da eficácia clínica de MTX.

Um dos grandes problemas com MTX é seu efeito cardiotoxico, como o tratamento para EM é prolongado, é aconselhável que este não exceda 3 anos. Estudos realizados de necropsias humanas indicaram grande concentração de MTX primeiramente no fígado, seguidos de tireóide e coração, isso explica parcialmente seu efeito cardiotoxico (STEWART *et al*, 1986).

Os pacientes tratados com MTX devem ser monitorados constantemente com exames cardiológicos e hemograma, devido aos riscos de alterações cardíacas e problemas no fígado (NEUHAUS, KIESEIER e HARTUNG, 2006). Além desses efeitos adversos, podem apresentar outros, que incluem infertilidade em homens e mulheres, alopecia reversível, náuseas, vômitos, dores de cabeça e dismenorreia (STÜVE *et al*, 2004).

1.1.5. Análogos da Mitoxantrona

Devido à importância da MTX no tratamento de neoplasias, doenças auto-imunes e esclerose múltipla, diversos grupos de pesquisas têm buscado sintetizar análogos da MTX que possam apresentar efeitos clínicos e imunológicos mais eficazes e com menor efeito cardiotoxico.

Em 1985, Krapcho e colaboradores desenvolveram uma antracenodiona análoga a mitoxantrona denominada pitoxantrona (PIX) ou BBR2778, a qual possui um átomo de nitrogênio no núcleo aromático e ausência de dois grupos hidroxila (acredita-se que estes sejam responsáveis pelo caráter cardiotoxico de MTX), como resultado da substituição do anel 5,8-diidroxifenila da MTX por uma anel piridina (Figura 1.7). A investigação sobre os efeitos tóxicos aos tecidos cardíacos foi detalhada, sendo o produto desenvolvido um substituto para MTX com atividade antitumoral comparável à mesma. Estudos antitumorais e de EAE mostraram que o efeito citotóxico de PIX foi definitivamente menor do que de MTX. Os ensaios clínicos de fase I e II mostraram que PIX tem apresentado eficácia similar a MTX como imunossupressor, em diversos tipos de neoplasias e em alguns tipos de EM, mas ainda estão sendo realizados estudos mais aprofundados de seus efeitos a longo prazo (GONSETTE, 2004).

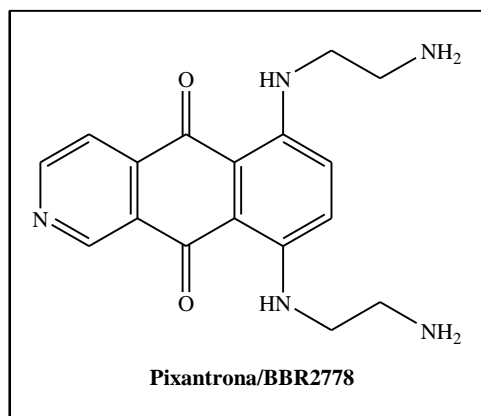


Figura 1.7. Análogo a MTX com menor cardiotoxicidade.

Alguns grupos de pesquisa têm buscado sintetizar compostos análogos a MTX com cadeias mais lipofílicas, a fim de facilitar a penetração celular como, por exemplo, os compostos **1** e **2** (Figura 1.8). Nestes compostos foram realizados testes *in vitro* de atividade citotóxica sobre linhagens de células de carcinoma de mama (MCF-7) e adenocarcinoma epitelial cervical. Os resultados, apresentados na Tabela 1.2, mostraram que as substâncias **1** e **2** foram apresentaram melhor atividade inibitóriaar que MTX contra as células tumorais testadas. Acredita-se que esse bom resultado pode ser atribuído a lipofilicidade dos substituintes que teria facilitado a afinidade pela membrana celular (KUMAR *et al*, 2011).

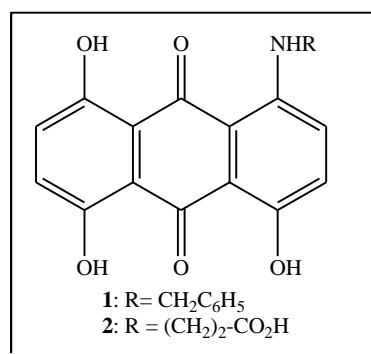


Figura 1.8. Estruturas de análogos lipofílicos da MTX.

Tabela 1.2. Atividade citotóxica das substâncias **1** e **2** em células HeLa (linhagem de adenocarcinoma cervical) e de células MCF-7 (linhagem de carcinoma de mama).

Composto	CI ₅₀ (nM) HeLa	CI ₅₀ (nM) de MCF-7
Mitoxantrona	59,36	101,16
1	73,70	105,78
2	79,51	115,20

Há um contínuo interesse e busca por novos compostos bioativos que contenham o núcleo antraquinônico, pois representam um alvo atraente na busca de novos agentes anticancerígenos, devido ao seu papel no controle da proliferação celular (HUANG *et al*, 2003). Alguns trabalhos descritos na literatura relatam, através de cálculos de modelagem computacional que posteriormente foram confirmados por dados experimentais, que amidoantraquinonas podem se ligar e intercalar ao DNA (HUANG *et al*, 2004). Huang e colaboradores sintetizaram várias diamidoantraquinonas que foram avaliadas *in vitro* quanto as suas ações antitumorais. O composto **3** se refere a uma dessas diamidas que apresentou CI₅₀ = 1,01 μM em células de hepatoma humano, enquanto MTX apresentou CI₅₀ = 2,00 μM neste mesmo teste (Figura 1.9).

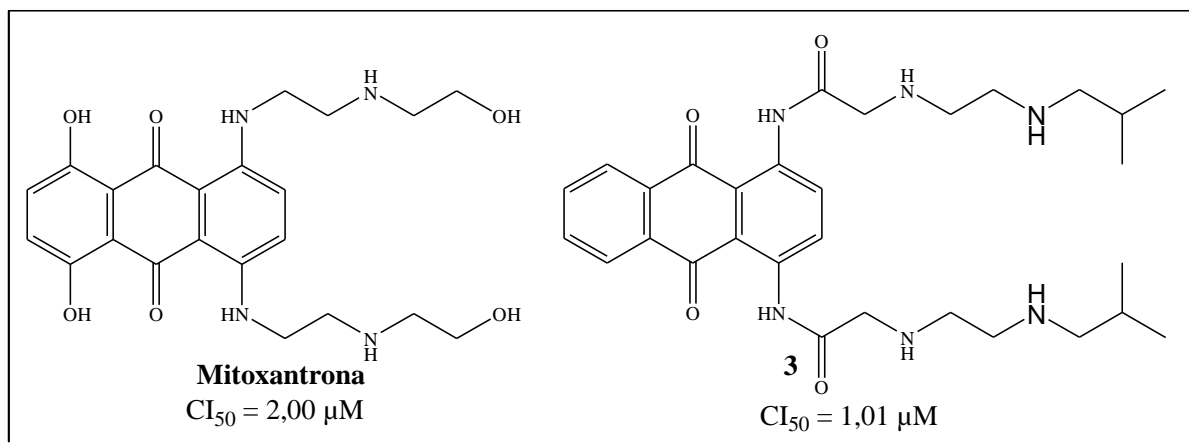


Figura 1.9. Mitoxantrona e diamida-antraquinona **3**, ambas com os resultados do teste *in vitro* contra células de hepatoma humano.

Estudos de modelagem molecular indicaram que o aumento da cadeia lateral presente em uma série de análogos da mitoxantrona e pixantrona (Figura 1.10), permitiram uma maior flexibilidade no acesso a resíduos de DNA e também ocasionaram uma melhor estabilidade na formação de adutos com o DNA (MANSOUR *et al*, 2010).

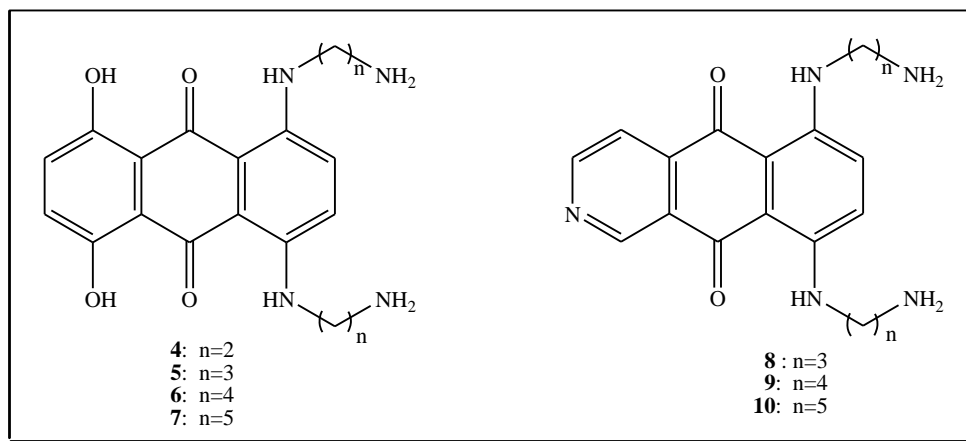


Figura 1.10. Análogos a mitoxantrona e pixantrona com aumento do espaçador da cadeia lateral.

1.1.6. Substância com atividade em outras doenças autoimunes

A doença de Parkinson (DP) ou Mal de Parkinson, é uma doença autoimune, degenerativa, crônica e progressiva, que acomete em geral pessoas idosas. Ela ocorre pela perda de neurônios do SNC em uma região conhecida como substância negra (ou nigra). Os neurônios dessa região sintetizam o neurotransmissor dopamina, cuja diminuição nessa área provoca sintomas principalmente motores. Entretanto, também podem ocorrer outros sintomas, como depressão, alterações do sono, diminuição da memória e distúrbios do sistema nervoso autônomo. Os principais sintomas motores se manifestam por tremor, rigidez muscular, diminuição da velocidade dos movimentos e distúrbios do equilíbrio e da marcha.

Embora a DP caracteriza-se pela deficiência de dopamina nas vias nigro-estritais do cérebro, logo o tratamento não pode ser feito por administração de dopamina, pois esta não consegue penetrar a barreira hemato-encefálica. No entanto, o tratamento se faz com L-dopa ou levodopa que ultrapassa a barreira hemato-encefálica e é rapidamente descarboxilada por enzimas a dopamina (Figura 1.11), logo a levodopa é um dos principais fármaco utilizados no tratamento da DP. Com isso o déficit de dopamina é assim corrigido, mas de forma inespecífica, pois toda a área é inundada e não apenas as sinapses deficientes. Sendo assim, tal administração melhora o quadro clínico, mas não cura a doença (VERNIER *et al*, 2004).

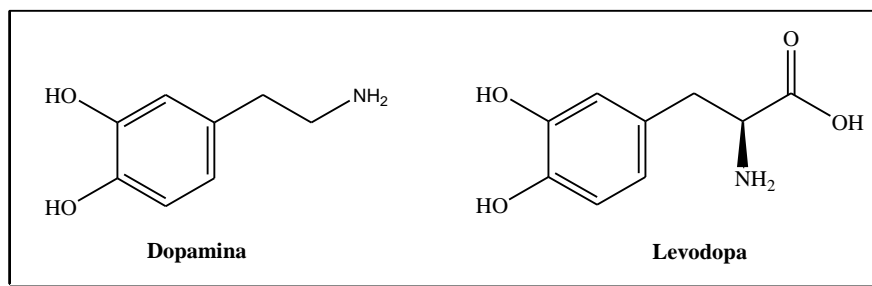


Figura 1.11. Fármaco utilizado no tratamento da Doença de Parkinson.

A MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina) é uma neurotoxina que provoca sintomas permanentes da doença de Parkinson, destruindo neurônios dopaminérgicos (Figura 1.11). Esta substância tem sido usada para induzir animais à doença de Parkinson para estudos (EIDELBERG *et al*, 1986). Esse tipo de modelo animal de DP, por sua vez, possui como característica provocar a perda neuronal de maneira abrupta (PETROSKE *et al*, 2001).

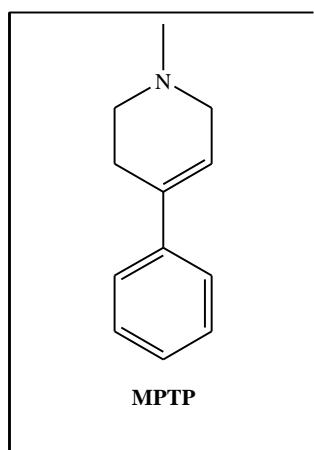


Figura 1.12. Neurotoxina utilizada para induzir doença de Parkinson em animais.

O CDD-0102 é uma tetraidropirimidina (Figura 1.12) que está em estudos pré-clínicos por estimular receptores muscarínicos em cérebros de ratos melhorando suas funções de memória, logo, estudos estão sendo realizados a fim de verificar sua ação em processos inflamatórios e desordens neurodegenerativas, como por exemplo DP.

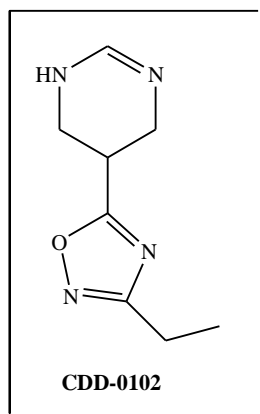


Figura 1.13. Tetraidropirimidina em teste clínicos contra doenças neurodegenerativas, como por exemplo DP.

1.2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

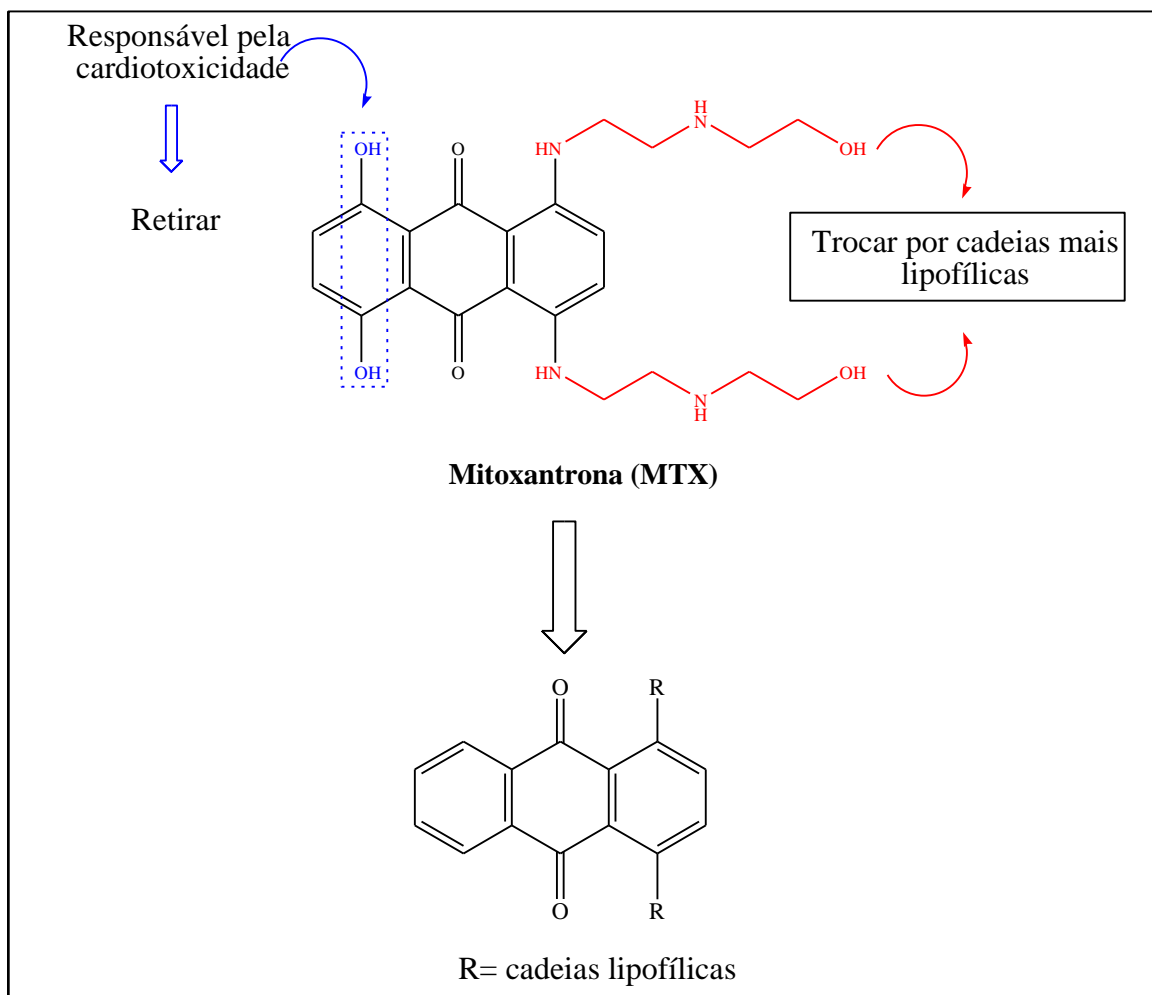
1.2.1. Objetivo Geral

Tendo em vista a alarmante situação global de doenças relacionadas ao sistema imunológico, bem como as reações adversas inerentes ao tratamento, faz-se necessário o desenvolvimento de novos fármacos que proporcionem uma melhoria na qualidade de vida do paciente, estimulando sua resposta imune e reduzindo os efeitos cardiotóxicos (HUANG *et al*, 2004). Com este intuito, o objetivo deste trabalho foi desenvolver substâncias capazes de inibir a produção de NO e/ou que apresentem resultados promissores no modelo de encefalomielite auto-imune experimental (EAE).

1.2.2. Objetivos Específicos

1.2.2.1. Obtenção dos derivados antraquinônicos

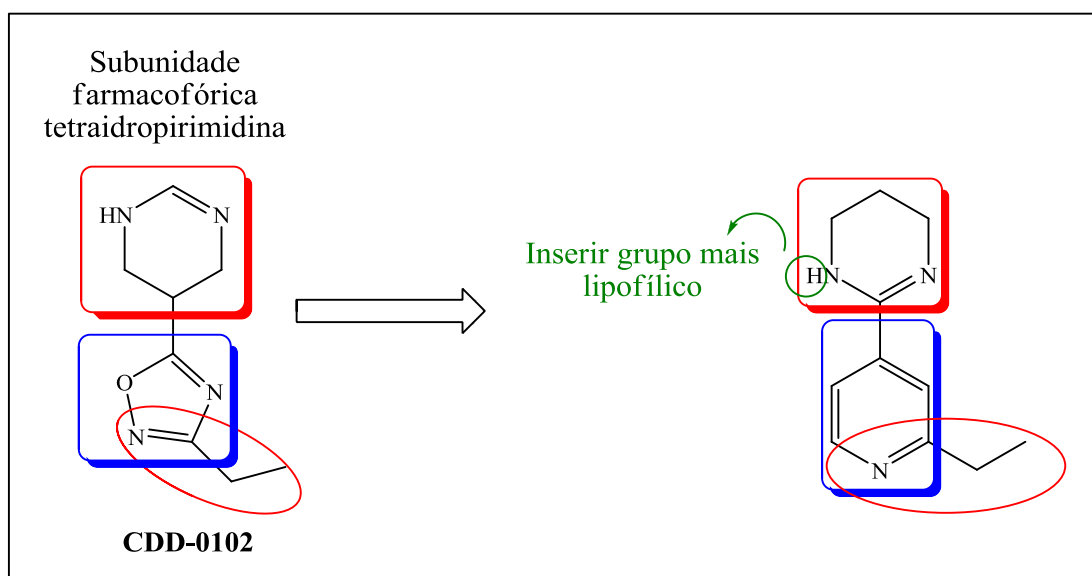
Os derivados antraquinônicos foram planejados estruturalmente tendo em vista a potente ação antitumoral e imunossupressora da mitoxantrona. Com isso, elegeu-se o núcleo antraquinônico como ponto de partida deste trabalho. Optou-se por utilizar o núcleo antraquinônico sem as hidroxilas com o intuito de diminuir a citotoxicidade. É sabido que compostos lipofílicos conseguem uma melhor penetração pela membrana hemato-encefálica, sendo assim, optou-se por inserir cadeias alifáticas lipofílicas, de maneira a permitir que se avaliassem as distintas contribuições das mesmas para as atividades investigadas (Esquema 1.1).



Esquema 1.1. Planejamento estrutural dos derivados antraquinônicos.

1.2.2.2. Obtenção dos derivados tetraidropirimidínicos

Os derivados tetraidropirimidínicos foram planejados estruturalmente tendo em vista a ação de CDD-0102 em doenças neurodegenerativas. Sendo assim, foi proposta uma mudança estrutural de CDD-0102, no qual optou-se por manter a subunidade farmacofórica tetraidropirimidina e o núcleo heteroaromático, porém optou-se por trocar o núcleo oxadiazol por anel piridínico com o intuito de se obter um protótipo com perfil de atividade em doenças auto-imunes. A cadeia lateral (etila) foi mantida. Para aumentar a lipofilicidade do composto, decidiu-se introduzir uma cadeia alquílica no grupamento amino (Esquema 1.2).



Esquema 1.2. Planejamento estrutural dos derivados tetraidropirimidínicos.

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

1.3.1. Síntese de derivados antraquinônicos com cadeias longas

Neste trabalho optou-se por utilizar antraquinonas sem as duas hidroxilas nas posições 5 e 8 pois, como já mencionado, trabalhos na literatura reportam que este grupamento, nestas posições, seria responsável pelo efeito cardiotoxico da mitoxantrona (Figura 1.10) (GONSETTE, 2004). O interesse em inserir cadeias longas se faz com o intuito de tornar a molécula mais lipofílica, visando facilitar a penetração do composto pela membrana celular. Com isso, o trabalho foi iniciado com reações de alquilação da 1,4-diaminoantraquinona **11**.

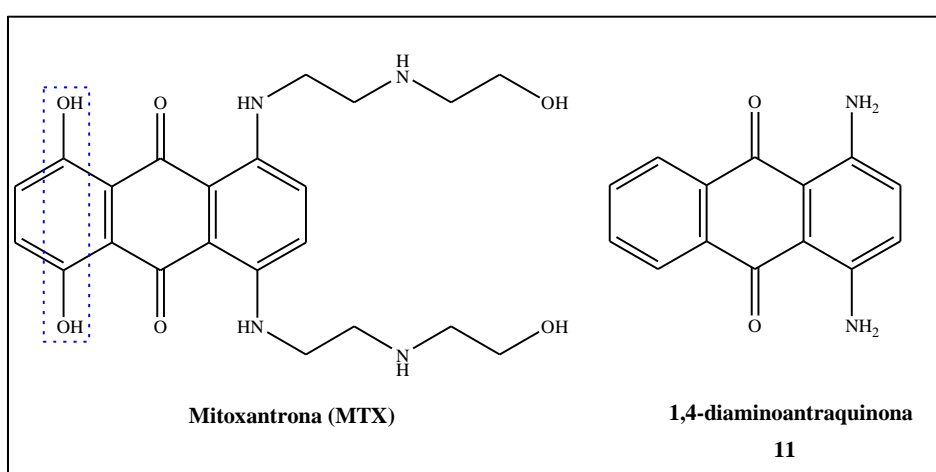
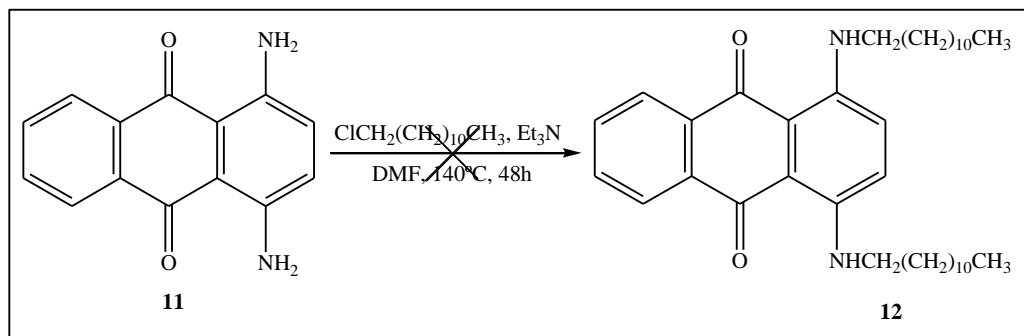


Figura 1.14. Mitoxantrona com as hidroxilas das posições 5 e 8 destacadas em comparação com 1,4-diaminoantraquinona.

1.3.1.1. Tentativas de *N*-alquilação de 1,4-diaminoantraquinona

Iniciou-se o trabalho fazendo a *N*-alquilação da 1,4-diaminoantraquinona **11** com cloreto de dodecila, utilizando-se trietilamina como base e dimetilformamida como solvente (Esquema 1.3.). Esta reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 80°C durante 24 horas. Após esse período, através de cromatografia em camada fina (CCF), não foi observada formação de produto, logo a temperatura foi aumentada gradualmente até 140 °C, durante 2 dias, novamente não houve formação de produto.



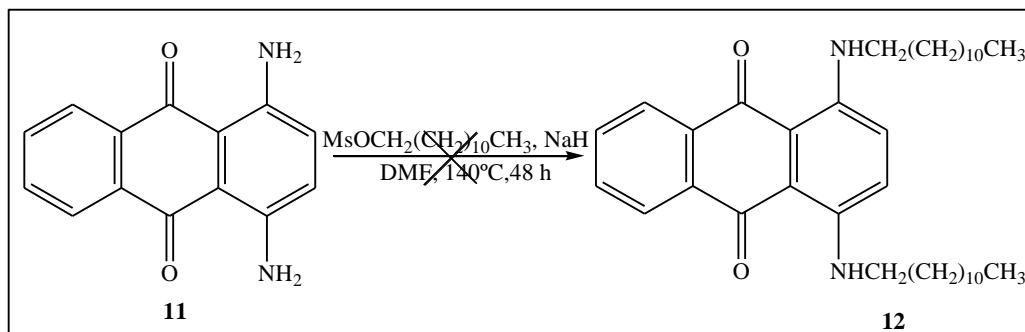
Esquema 1.3. Tentativa de alquilação de 1,4-diaminoantraquinona.

Várias outras tentativas foram feitas utilizando bases mais fortes que a trietilamina, porém nenhuma delas levou a formação do produto desejado. As bases utilizadas estão listadas na Tabela 1.3.

Tabela 1.3. Bases utilizadas nas tentativas de obtenção do composto **12**.

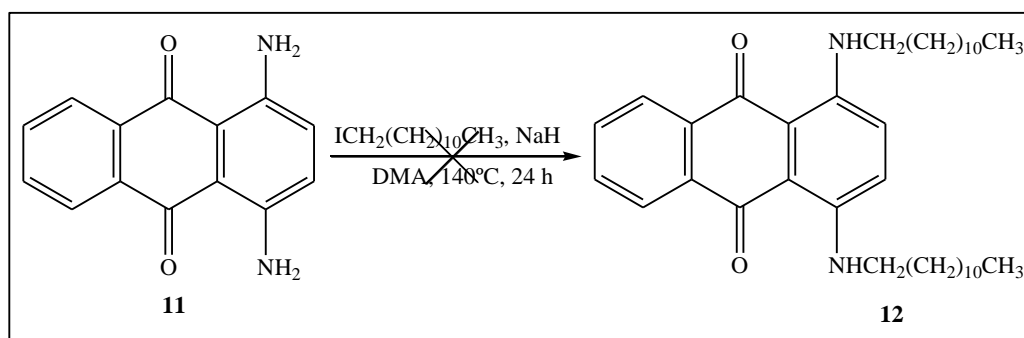
Tentativas	Bases
2 ^a	NaH
3 ^a	NaNH ₂
4 ^a	<i>t</i> -ButOK

Devido às tentativas de *N*-alquilação com cloreto de dodecila não ter levado ao produto desejado, decidiu-se utilizar mesilato de dodecila, pois é sabido que o grupamento mesila é um melhor grupo abandonador que o cloro. (Esquema 1.4).



Esquema 1.4. Tentativa de obtenção do composto **12** com mesilato de dodecila.

Huang e colaboradores descrevem a síntese de várias amidas a partir de **11** utilizando *N,N*-dietilacetamida como solvente (HUANG *et al*, 2004). Devido a disponibilidade em nosso laboratório da *N,N*-dimetilacetamida (DMA), resolvemos mudar o solvente para DMA. Nestas condições também não houve formação do composto **12**. Nossa última tentativa foi trocar o mesilato de dodecila por iodeto de dodecila, utilizando-se hidreto de sódio como base e dimetilacetamida como solvente (Esquema 1.5). Esta condição também não conduziu a formação do produto desejado.



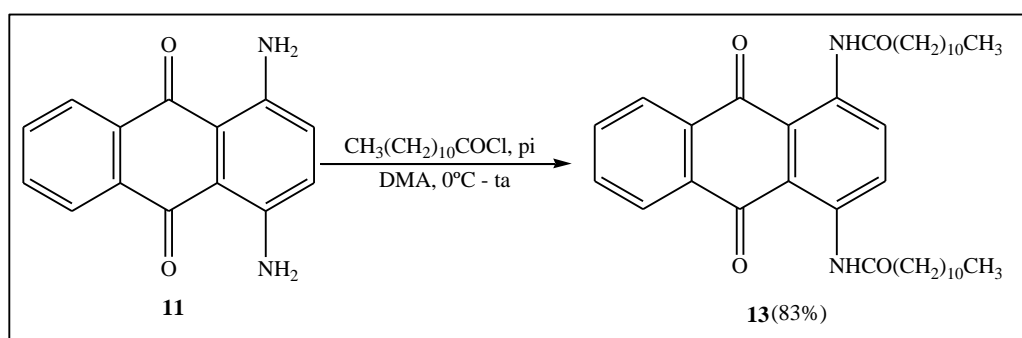
Esquema 1.5. Tentativa de síntese do composto **12** utilizando iodeto de dodecila.

Diante dos resultados negativos nas tentativas de alquilação da amina, optamos por sintetizar amidas com cadeia longa, haja vista que trabalhos na literatura reportam que derivados antraquinônicos contendo grupamento amido demonstraram citotoxicidade em algumas linhagens de células tumorais (HUANG *et al*, 2004).

1.3.1.2. Síntese de *N*-[4-(dodecanoilamino)-9,10-dioxo-9,10-diidro-1-antracênil]dodecanamida **13**

A reação para síntese do composto **13** foi realizada a partir da prévia preparação do cloreto de dodecanoíla, obtido por reação do ácido dodecanóico com cloreto de tionila, empregando-se como solvente diclorometano e dimetilformamida catalítico, em rendimento quantitativo. A 1,4-diaminoantraquinona foi solubilizada em dimetilacetamida, e a essa solução adicionou-se cloreto de dodecanoíla e piridina; a temperatura inicial foi de 0 °C e depois mantida a temperatura ambiente. A reação permaneceu sob agitação magnética por aproximadamente 24 horas (Esquema 1.6). A diamida **13** foi purificada por cromatografia em coluna fornecendo um sólido vermelho com rendimento de 83%. Sua caracterização foi

realizada através da análise de seu espectro de infravermelho, RMN de ^1H , de ^{13}C e DEPT 135.



Esquema 1.6. Síntese da diamida **13**.

No espectro na região do infravermelho do composto **13** (Figura 1.15) verificou-se a presença de duas bandas de absorção intensas referentes à deformação axial C-H alifático em 2918 e 2848 cm^{-1} ; uma banda em 1695 cm^{-1} à deformação axial de C=O do anel antraquinônico e uma banda em 1635 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O de amida.

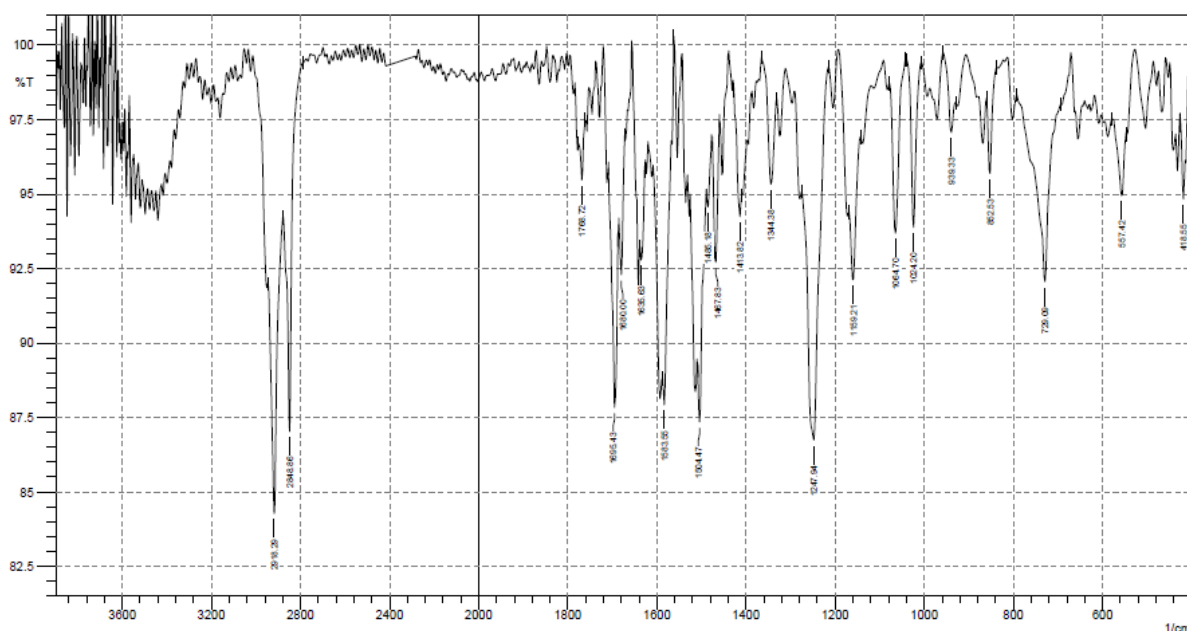


Figura 1.15. Espectro de infravermelho do composto **13** (KBr).

Através da análise do espectro de RMN de ^1H de **13** (Figura 1.16) foi possível verificar sinais na região próxima ao TMS referentes aos hidrogênios das duas cadeias alifáticas. O tripleto em δ 2,54 ppm foi atribuído aos 4 hidrogênios de CH_2CONH , o duplete duplo em δ 7,82 ppm atribuído aos hidrogênios H-5 e H-8, outro duplete duplo em δ 8,28

ppm atribuído aos hidrogênios H-9 e H-10 e um singlete em δ 9,17 ppm correspondente aos hidrogênios H-6 e H-7.

No espectro de RMN de ^{13}C de **13** (Figura 1.17), pode-se observar a presença de sinais entre δ 14,1 ppm e δ 39,1 ppm correspondentes aos carbonos da cadeia alifática. O sinal em δ 186,9 ppm foi atribuído ao carbono carbonílico do anel antraquinônico e outro sinal em δ 173,2 ppm corresponde ao carbono carbonílico de amida. Também foi realizado um DEPT 135 (Figura 1.18), onde se observa os sinais correspondentes aos carbono de CH da porção aromática: o sinal em δ 127,0 ppm foi atribuído aos carbonos C-2 e C-3, o sinal em δ 129,1 ppm refere-se aos carbonos C-5 e C-8 e os demais sinais correspondem aos carbonos não hidrogenados dos anéis aromáticos.

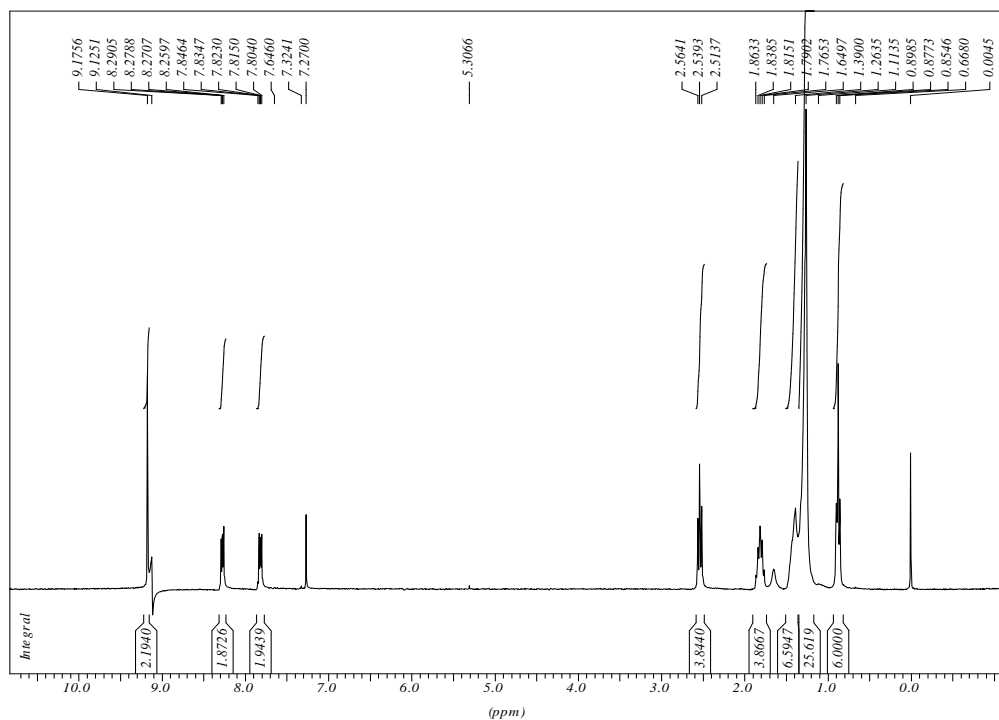


Figura 1.16. Espectro de RMN de ^1H do composto **13** (CDCl_3 , 300 MHz)

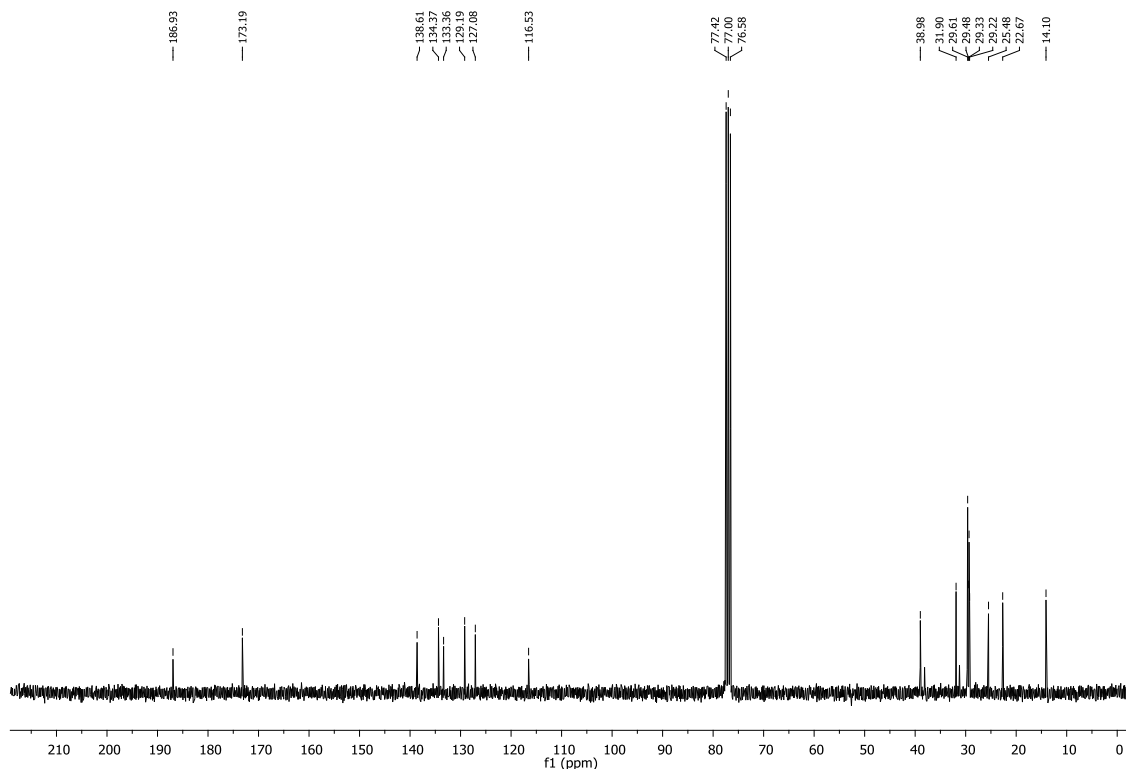


Figura 1.17. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **13** (CDCl_3 , 75 MHz)

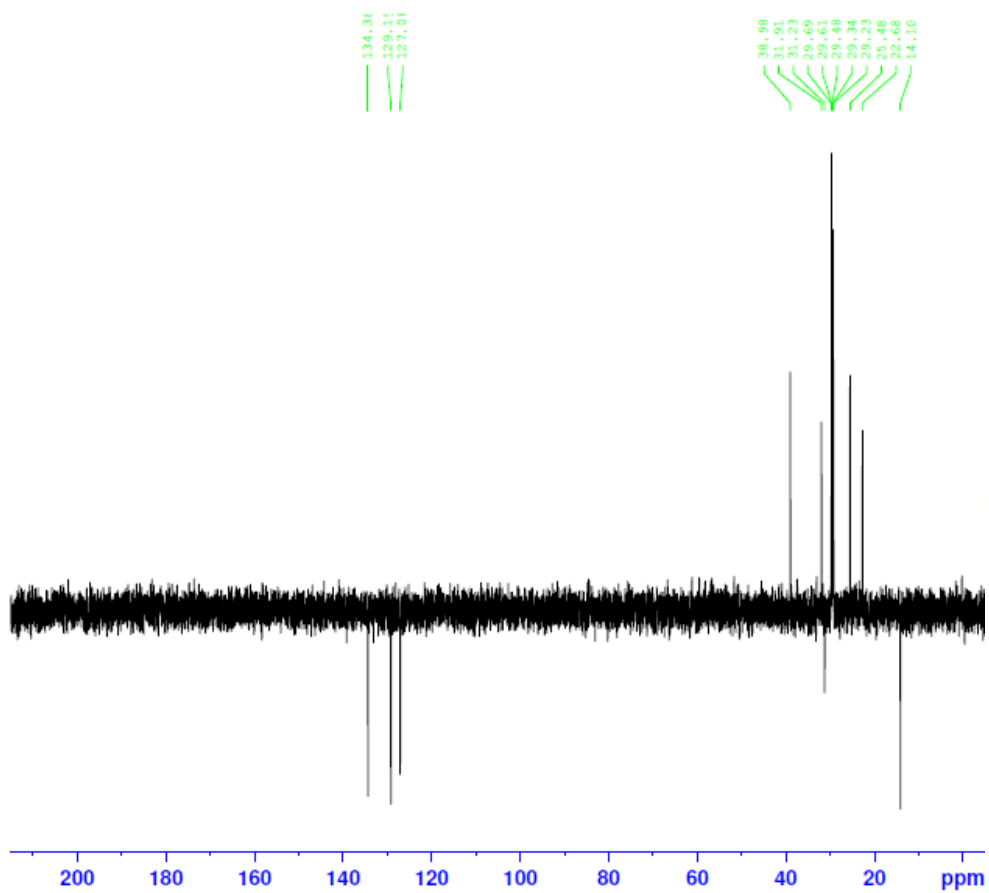
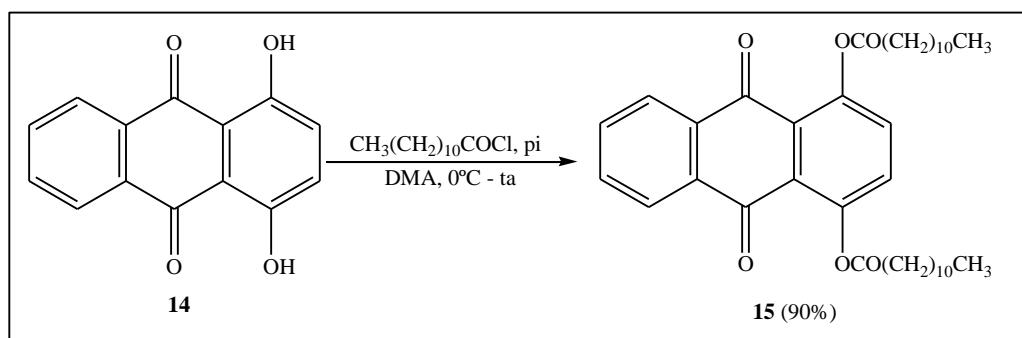


Figura 1.18. Espectro de DEPT 135 do composto **13** (CDCl_3 , 75 MHz)

A diamida **13** foi enviada para teste *in vitro* de inibição de NO, no entanto, por ser muito apolar, esta apresentou alguns problemas de solubilidade nos solventes usualmente utilizados nestes testes. Com isso, começamos a utilizar a 1,4-diidroxiantraquinona por ser mais polar que 1,4 diaminoantraquinona. Logo, para fins de comparação com a diamida **13**, optamos por sintetizar um diéster utilizando a mesma condição de obtenção de **13**.

1.3.1.3. Síntese de laurato de 4-(dodecanoiloxi)-9,10-dioxo-9,10-diidro-1-antracênila **15**

A síntese do composto **15** foi realizada pelo tratamento da 1,4-diidroxiantraquinona **14** com cloreto de dodecanoíla em dimetilacetamida e piridina com a temperatura variando de 0 °C a temperatura ambiente. A reação permaneceu sob agitação magnética por 24 horas (Esquema 1.7). Tal metodologia permitiu a obtenção do diéster **15** como um sólido amarelo claro (PF: 78-81°C) em 90% de rendimento. Sua caracterização foi realizada através da análise de seu espectro de infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.7. Obtenção do diéster **15**.

No espectro vibracional na região do infravermelho da substância **15** (Figura 1.19) verificou-se a presença de duas bandas de absorção intensas referentes à deformação axial C-H alifático em 2916 e 2848 cm^{-1} ; uma banda de absorção intensa em 1678 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico e uma banda de absorção intensa em 1774 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O de éster.

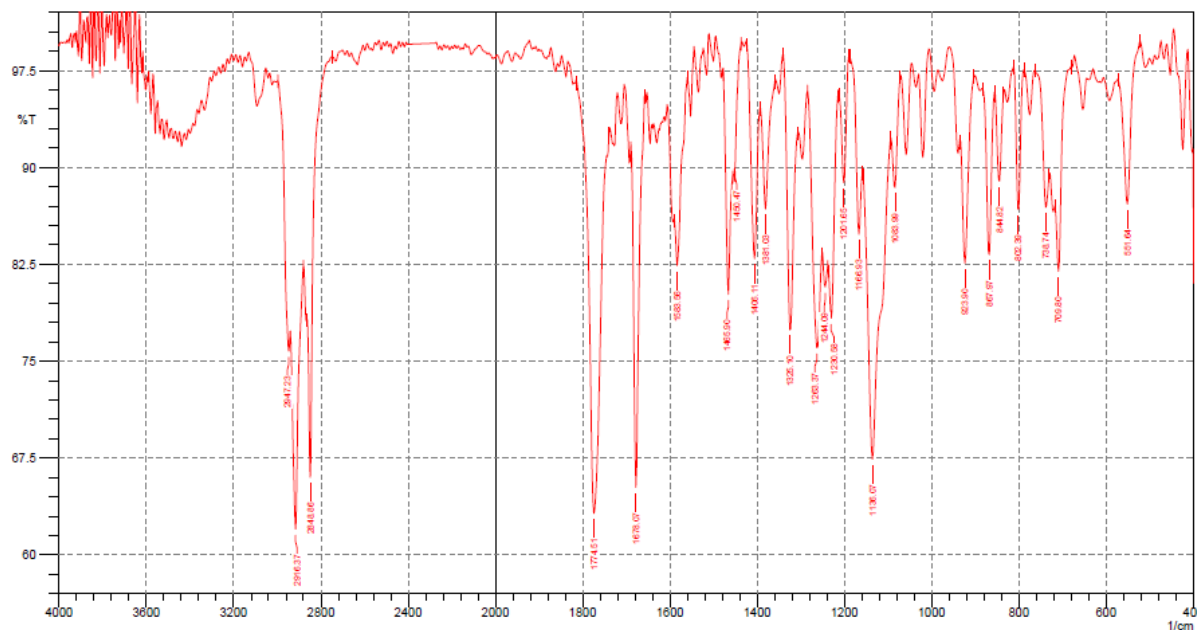


Figura 1.19. Espectro de infravermelho da substância **15** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H da substância **15** (Figura 1.20) observou-se sinais em região próxima ao TMS, um tripleto em δ 0,88 ppm referente aos hidrogênios de metila da porção alifática, sinais entre δ 1,25 a 2,57 ppm correspondentes aos hidrogênios metilênicos e um tripleto em δ 2,79 ppm atribuído ao grupo metilênico ligado a carbonila de éster. Na região de maior desblindagem, observou-se um simpleto em δ 7,41 ppm referente aos hidrogênios H-2 e H-3 e dois dupletos duplos em δ 7,74 e 8,16 ppm atribuídos aos hidrogênios H-5 e H-8 e H-6 e H-7.

No espectro de RMN de ^{13}C da substância **15** (Figura 1.21) observou-se sinais entre δ 14,3 e 34,6 ppm correspondentes aos carbonos alifáticos. Os sinais entre δ 126,4 e 148,4 ppm foram atribuídos aos carbonos aromáticos. Os sinais em δ 172,4 e 181,8 ppm foram atribuídos as carbonilas de éster e de cetona, respectivamente.

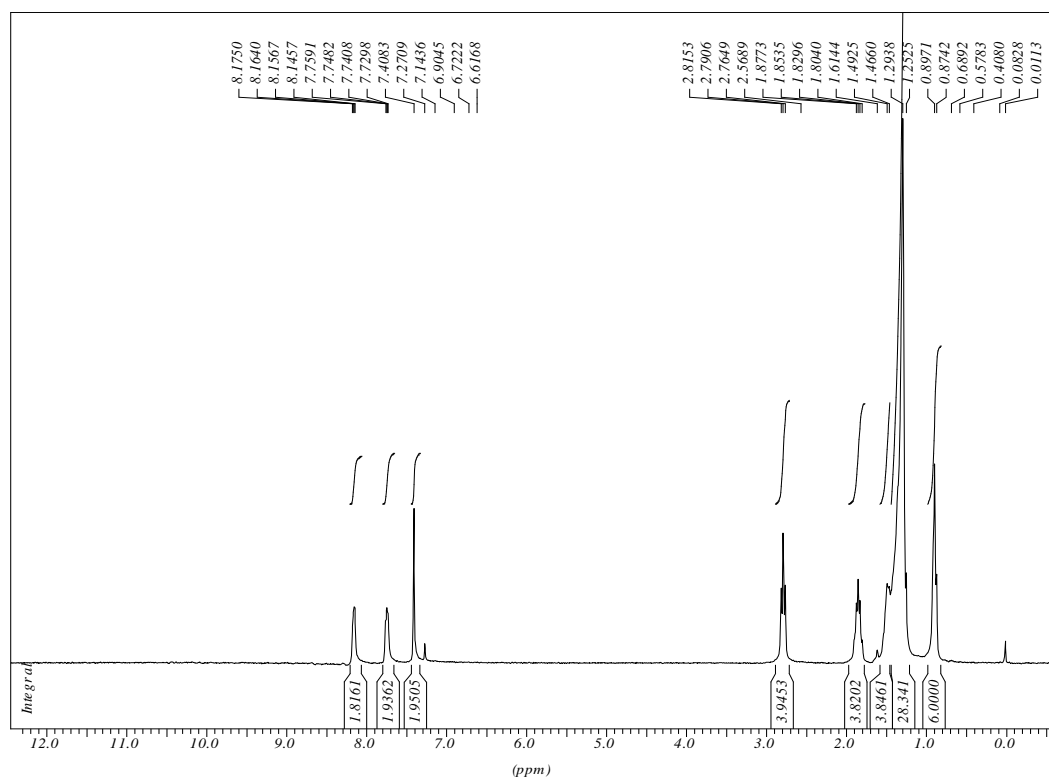


Figura 1.20. Espectro de RMN de ^1H da substância **15** (CDCl_3 , 300 MHz).

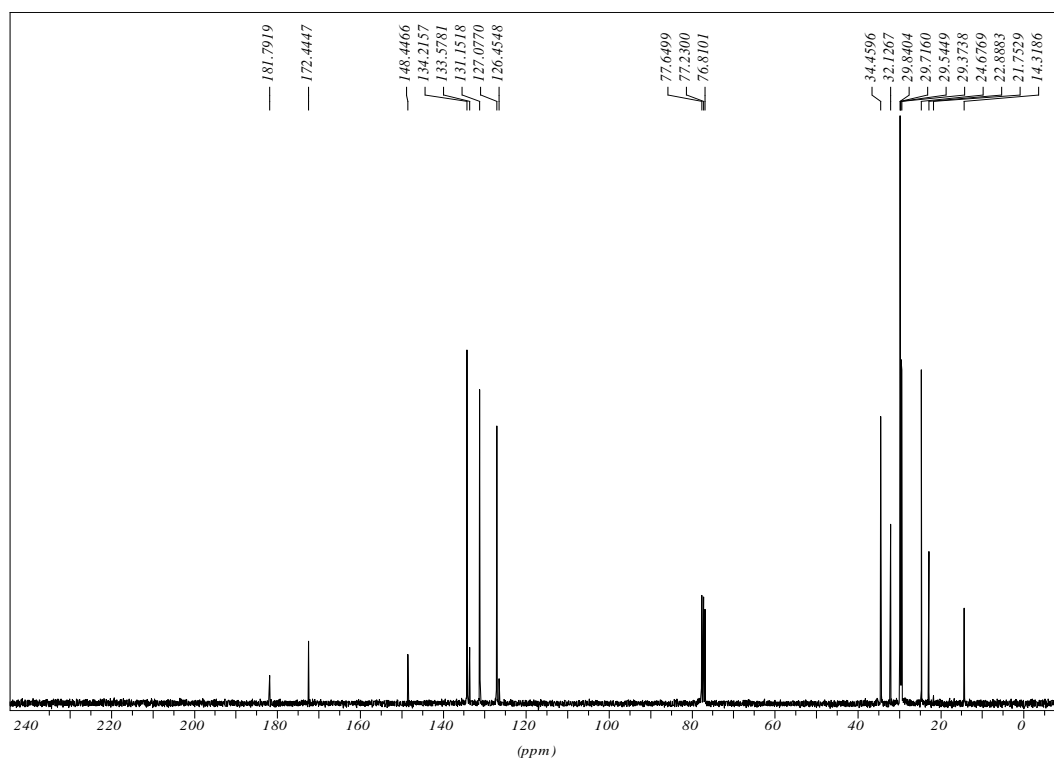
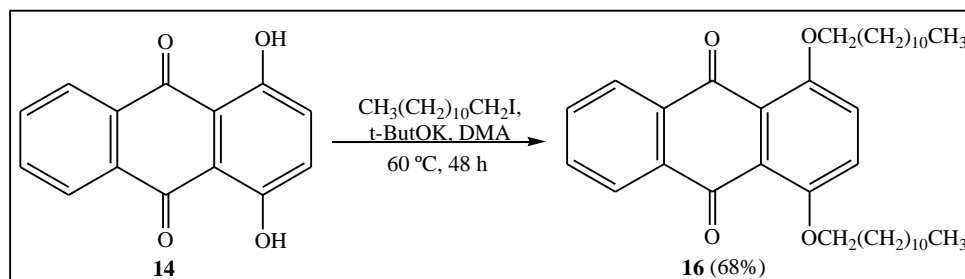


Figura 1.21. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **15** (CDCl_3 , 75 MHz).

1.3.1.4. Síntese de 1,4-bis(dodeciloxi)antra-9,10-quinona **16**

Tendo em vista a importância de cadeias lipofílicas na atividade de derivados antraquinônicos, decidiu-se sintetizar um éter com o mesmo número de carbonos na porção alquílica que o éster **15**. A síntese do diéter **16** foi realizada a partir da prévia preparação do iodeto de dodecila, o qual foi obtido em 90% de rendimento pela reação de 1-dodecanol com iodo molecular, imidazol e trifetilfosfina, empregando tolueno como solvente. Feito isso, a 1,4-diidroxiantraquinona **14** foi solubilizada em dimetilacetamida e à solução adicionou-se *tert*-butóxido de potássio. Essa mistura foi mantida sob agitação magnética durante 1 hora a temperatura ambiente para a formação do íon alcóxido *in situ*, que foi observada pela alteração da coloração marrom tijolo para preto (MAMMAT *et al*, 2009). Logo, adicionou-se o iodeto de dodecila e a reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 60 °C durante 48 horas (Esquema 1.8). A reação culminou na formação de 3 compostos, sendo formados os derivados mono e di-alquilados (majoritário), além de um terceiro produto de eliminação, o dodeceno. Para a purificação utilizou-se coluna cromatográfica que permitiu a obtenção do diéter **16** como um sólido amarelo (PF: 69-71°C) em 68% de rendimento, que foi caracterizado através da análise de seus espectros no infravermelho e de RMN de ¹H e de ¹³C.



Esquema 1.8. Síntese da substância **16**

No espectro vibracional na região do infravermelho da substância **16** (Figura 1.22) verificou-se a presença de duas bandas de absorção intensas referentes à deformação axial C-H alifático em 2918 e 2848 cm^{-1} ; uma banda de absorção intensa em 1674 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico e uma banda de absorção intensa em 1242 cm^{-1} referente à de deformação axial de C-O-C de éter.

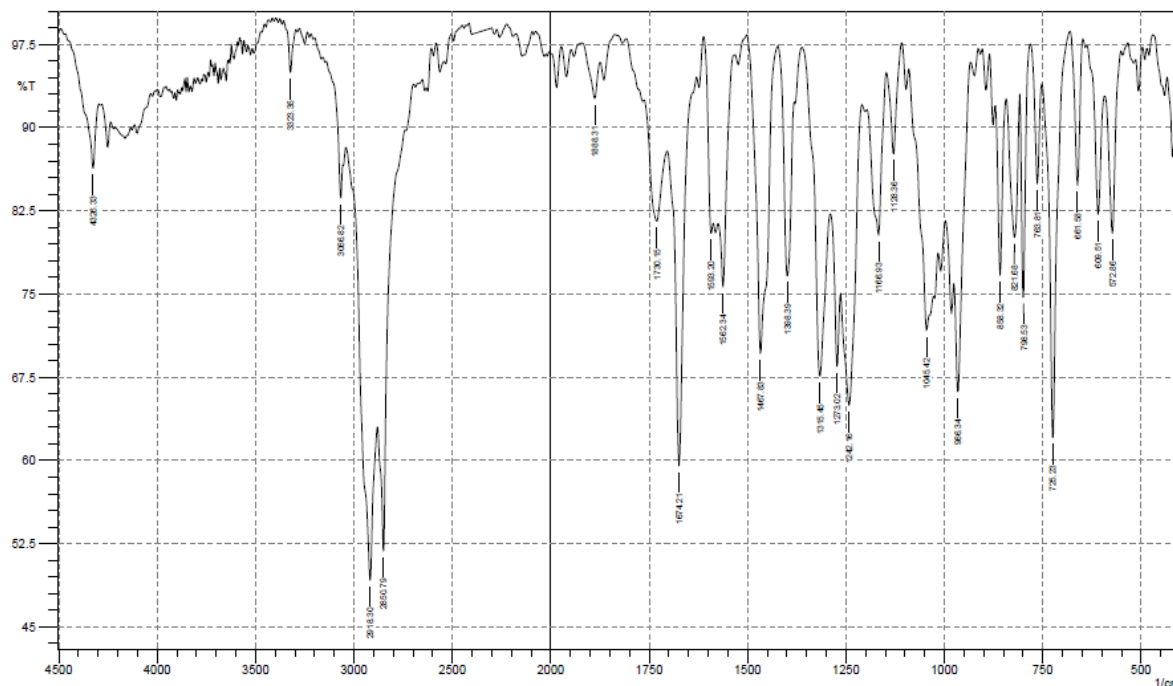


Figura 1.22. Espectro de infravermelho da substância **16** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H do composto **16** (Figura 1.23) observou-se sinais em região próxima ao TMS: um tripleto centrado em δ 0,87 ppm referente aos hidrogênios metilênicos da porção alifática, sinais entre δ 1,27 a 1,95 ppm correspondentes aos hidrogênios metilênicos e um tripleto a δ 4,10 ppm atribuído ao grupo CH_2O . Na região de maior desblindagem, observou-se um simpleto em δ 7,30 ppm referente aos hidrogênios H-2 e H-3 e dois dupletos duplos em δ 7,71 e 8,18 ppm atribuídos aos hidrogênios H-5 e H-8/H-6 e H-7.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **16** (Figura 1.24) observou-se sinais entre δ 14,3 e 32,9 ppm correspondentes aos carbonos alifáticos, um sinal em δ 70,6 ppm correspondente ao carbono do grupo CH_2O . Os sinais entre δ 122,4 e 148,4 ppm foram atribuídos aos carbonos aromáticos. O sinal em δ 154,1 ppm foi atribuído ao carbono aromático ligado diretamente ao oxigênio de éter e o sinal em δ 183,5 ppm corresponde ao carbono carbonílico.

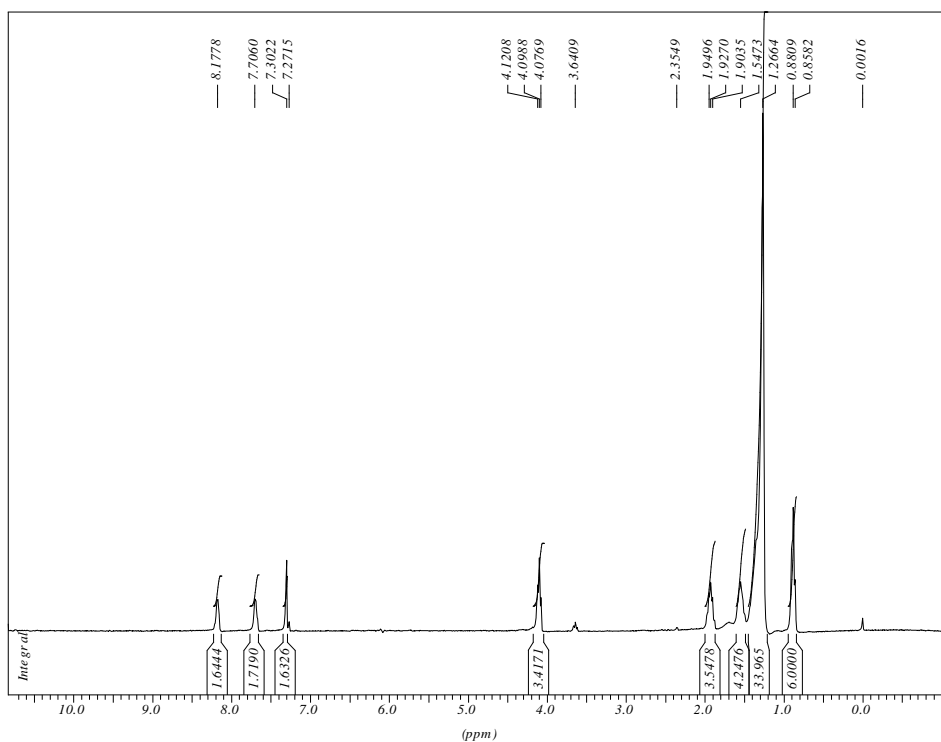


Figura 1.23. Espectro de RMN de ^1H da substância **16** (CDCl_3 , 300 MHz)

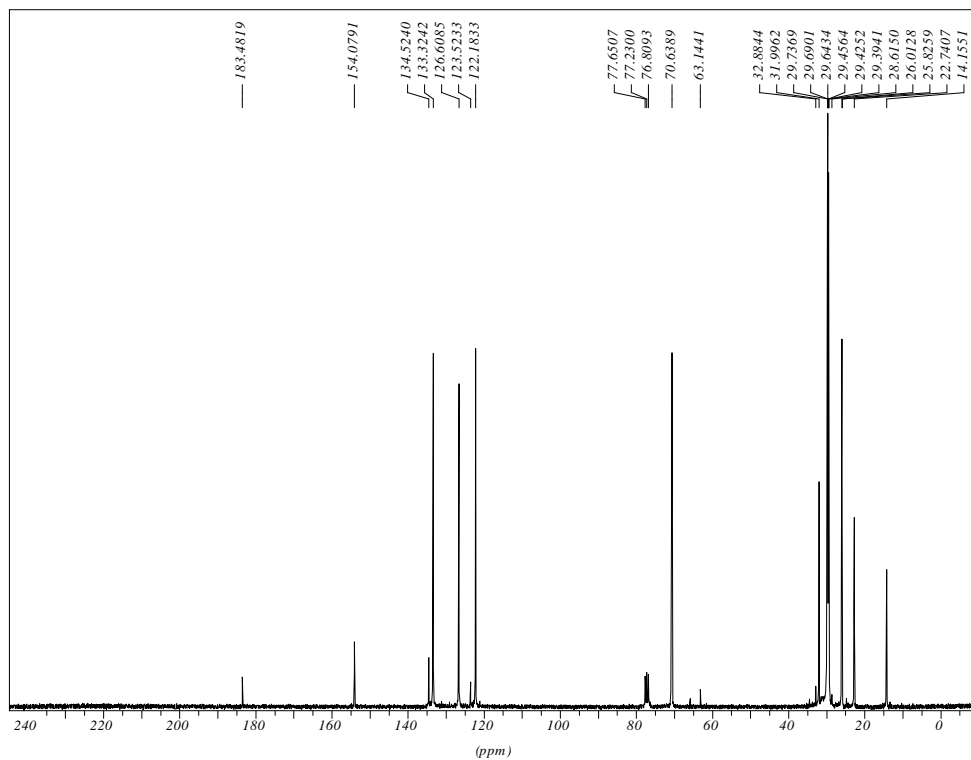


Figura 1.24. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **16** (CDCl_3 , 75 MHz).

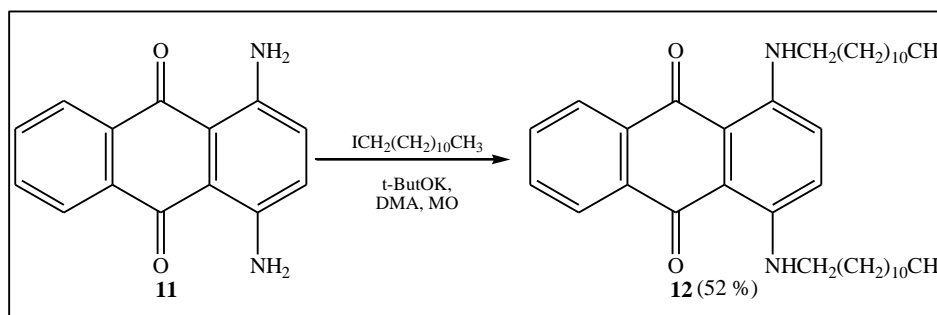
1.3.1.5. Síntese de 1,4-bis(dodecilamino)antra-9,10-quinona 12

Para completar a série de derivados antraquinônicos planejada, contendo cadeia alifática com 12 átomos de carbono e variando o grupo funcional, resolveu-se tentar novas metodologias para a *N*-alquilação de **11**. Na tentativa de se obter a diamina **12**, optou-se pela utilização de radiação de micro-ondas como fonte de energia. Com este intuito, foi utilizado um forno de micro-ondas doméstico adaptado para síntese (Figura 1.25). As adaptações realizadas no aparelho foram feitas pelo nosso grupo de pesquisa e baseadas em trabalhos descritos na literatura (PECORARO, DAVOLOS e JAFELICCI, 1997).



Figura 1.25. Aparelho de forno de micro-ondas doméstico adaptado para síntese.

A síntese do composto **6** foi realizada pelo tratamento da 1,4-diaminoantraquinona **5** com o iodeto de dodecila em dimetilacetamida e presença de *tert*-butóxido de potássio. Foram realizados 4 pulsos, de 15 minutos cada (Esquema 1.9). A substituição do aquecimento convencional pelo aquecimento por micro-ondas levou a formação dos respectivos derivados mono- e di-alquilados (majoritário). Para a purificação utilizou-se coluna cromatográfica que permitiu a obtenção da diamina **6** como um sólido azul com 52% de rendimento. Sua caracterização foi realizada através da análise de seu espectro de infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.9. N-alkilação de **11**.

No espectro vibracional da região do infravermelho da substância **12** (Figura 1.26) verificou-se a presença de uma banda referente à deformação axial de N-H em 3201 cm^{-1} ; uma banda em 3065 cm^{-1} foi atribuída à de deformação axial de C-H aromático; duas bandas de absorção intensa foram atribuídas à deformação axial C-H alifático em 2914 e 2851 cm^{-1} ; uma banda de média absorção em 1637 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial de C=O do anel antraquinônico.

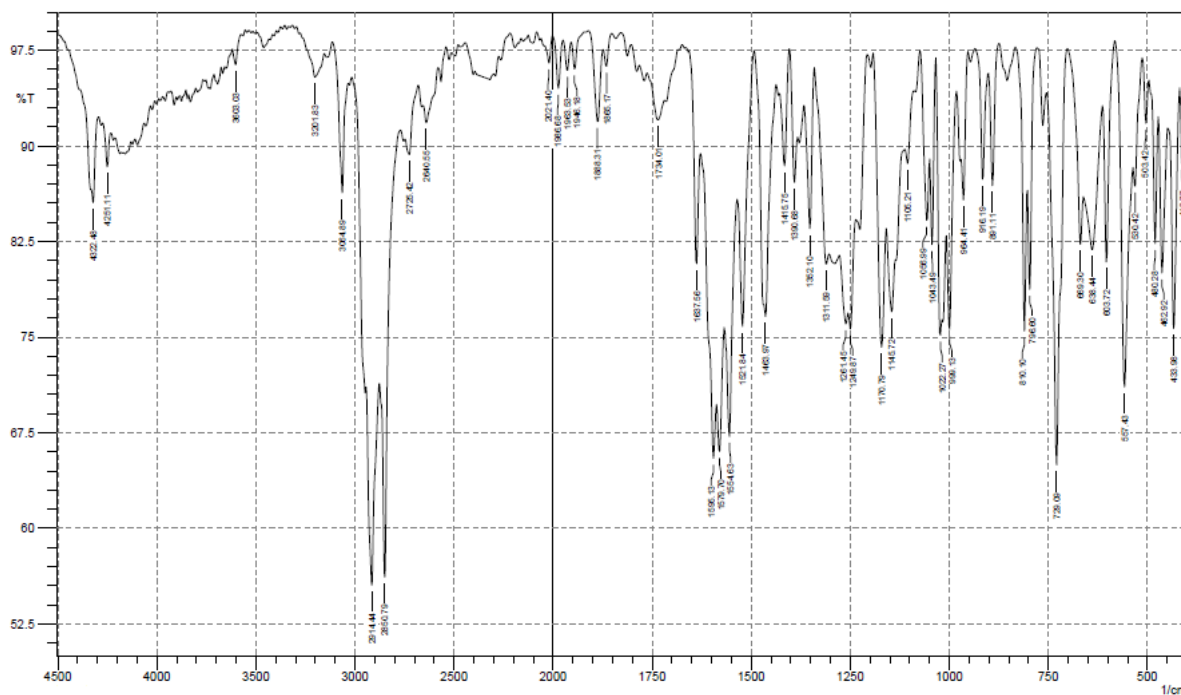


Figura 1.26. Espectro de infravermelho de **12** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **12** (Figura 1.27) observou-se, na região próxima ao TMS, um tripleto em δ 0,86 ppm referente aos dois grupos metila, além dos sinais entre δ

0,88 a 1,80 ppm correspondentes aos hidrogênios metilênicos da porção alifática. O sinal largo centrado em δ 3,40 ppm foi atribuído aos 4 hidrogênios do grupo metilênico CH_2N . O simpleto em δ 7,20 ppm e dois dupletos duplos em δ 8,34 e δ 7,67 ppm correspondem aos 6 hidrogênios aromáticos do anel antraquinônico.

No espectro de RMN de ^{13}C de **12** (Figura 1.28) observou-se sinais entre δ 14,3 e 32,1 ppm correspondentes aos carbonos alifáticos e um sinal em δ 70,6 ppm correspondente ao carbono de CH_2NH . O sinal em δ 146,4 ppm foi atribuído ao carbono aromático ligado diretamente ao átomo de nitrogênio. O sinal em δ 182,4 ppm corresponde ao carbono carbonílico. Os sinais entre δ 109,8 e 134,9 ppm foram atribuídos aos demais carbonos aromáticos.

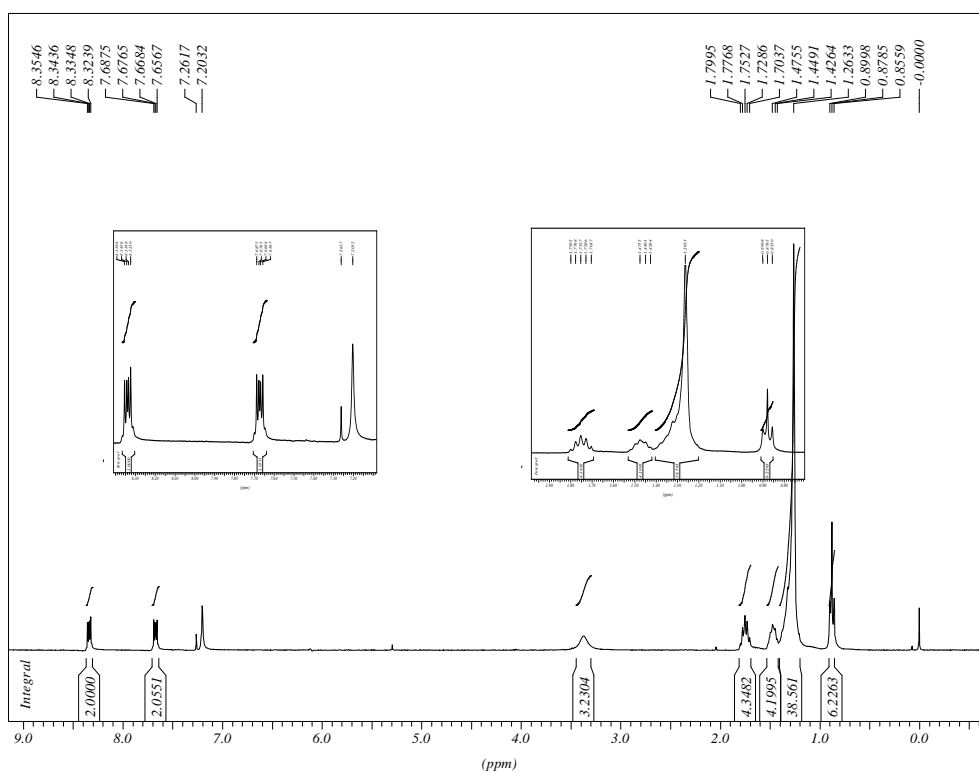


Figura 1.27. Espectro de RMN de ^1H da substância **12** (CDCl_3 , 300 MHz).

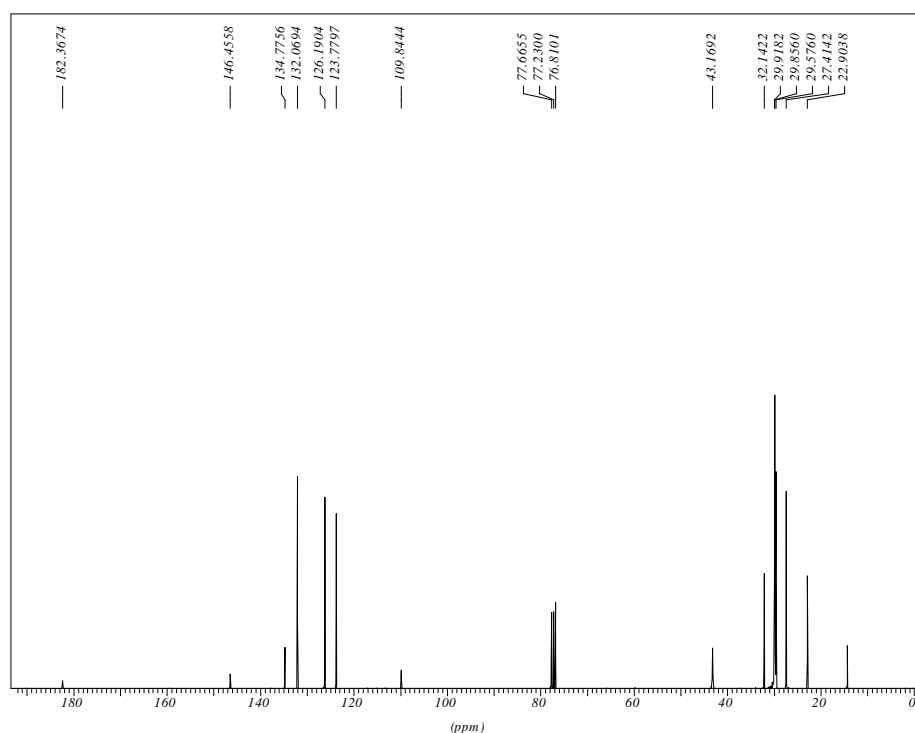
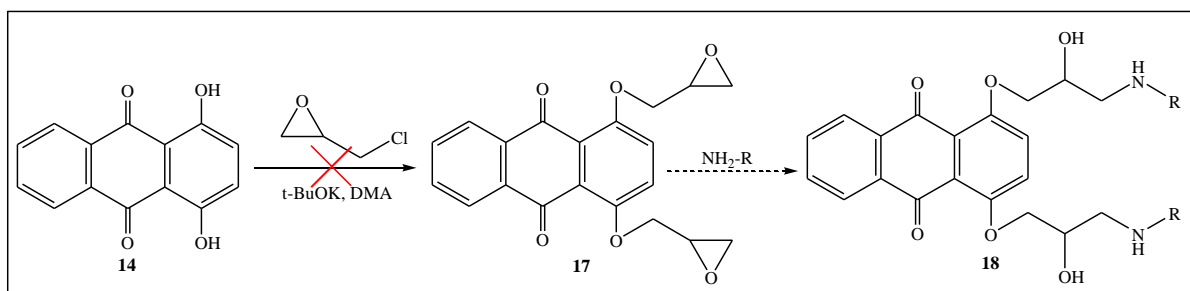


Figura 1.28. Espectro de RMN de ^1H da substância **12** (CDCl_3 , 300 MHz).

1.3.2. Síntese de derivados antraquinônicos com cadeias curtas

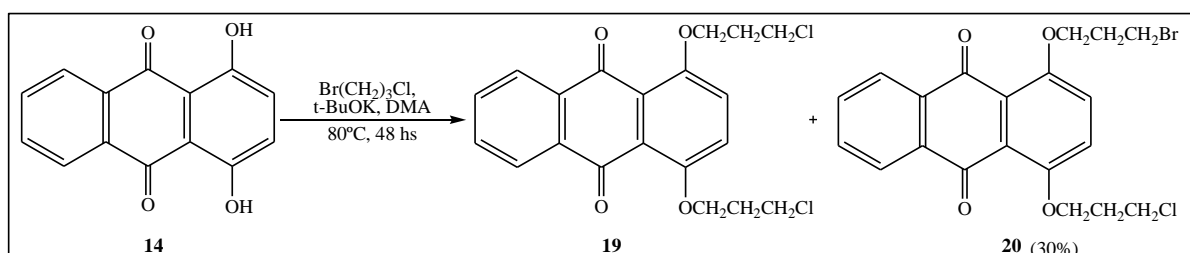
Devido às dificuldades encontradas nas reações supracitadas com a 1,4-diaminoantraquinona, optamos por utilizar nesta parte do trabalho apenas a 1,4-diidroxi-antraquinona. Objetivamos ainda nesse estudo a obtenção de análogos de MTX, pela introdução de uma cadeia carbônica alifática contendo elementos eletronegativos como nitrogênio, oxigênio e halogênios.

Iniciamos esta parte com uma reação na qual utilizou-se epícloridrina como agente alquilante (Esquema 1.10). Posteriormente seriam usados nucleófilos como aminas, diaminas e/ou amino-álcoois para abertura desse intermediário epóxido. Para esta reação, utilizamos a mesma condição proposta para a obtenção do diéter **16**, sendo a 1,4-diidroxi-antraquinona **14** solubilizada em dimetilacetamida e à solução adicionou-se *tert*-butóxido de potássio. Esta solução foi mantida sob agitação magnética durante 1 hora para a formação do íon alcóxido *in situ*, que foi observada pela alteração da coloração marrom tijolo para preto (MAMAT *et al*, 2009). Após 1 hora foi adicionado a epícloridrina. A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 60°C durante 48 horas. Por CCF observou-se consumo da antraquinona, mas houve formação de uma mistura complexa. Diante da dificuldade de purificação, optamos por utilizar outro agente alquilante.



Esquema 1.10. Tentativa de síntese com epicloroidrina.

Com o intuito de manter o mesmo tamanho do espaçador e, devido à disponibilidade em laboratório, optamos por utilizar o 1-bromo-3-cloro-propano, a fim de se obter um produto antraquinônico clorado **19**, com o intuito de servir como intermediário para posterior reação de substituição nucleofílica do átomo de cloro por aminas, diaminas e/ou aminoálcoois. Para esta reação, utilizou-se a mesma condição reacional que a utilizada para reação com epicloroidrina. Sendo assim, a 1,4-diidroxiantraquinona **14** foi solubilizada em dimetilacetamida e à solução adicionou-se *terc*-butóxido de potássio, após 1 hora, foi adicionado o 1-bromo-3-cloro-propano (Esquema 1.11). A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura de 60°C durante 48 horas. Por meio do monitoramento por CCF constatou-se que houve formação de vários subprodutos, logo foi feita uma coluna cromatográfica. Por análise das frações retiradas da coluna, constatou-se que houve formação de **19**, porém este não foi o produto majoritário e não foi possível obtê-lo puro. Outro subproduto formado foi um produto de eliminação da cadeia alquílica, sendo formado portanto, o dialceno. O produto majoritário foi isolado, através da análise dos espectros de massa e RMN de ¹H e ¹³C constatou-se que este composto é 1-(3-bromopropoxi)-4-(3-cloropropoxi)antra-9,10-quinona **20**.



Esquema 1.11. Tentativa de síntese de **19**.

No espectro de massa do composto **20** (Figura 1.29) tem-se um pico em 437 m/z referente ao íon molecular (M+H) e um pico em 439,0 m/z referente à abundância isotópica do átomo de bromo.

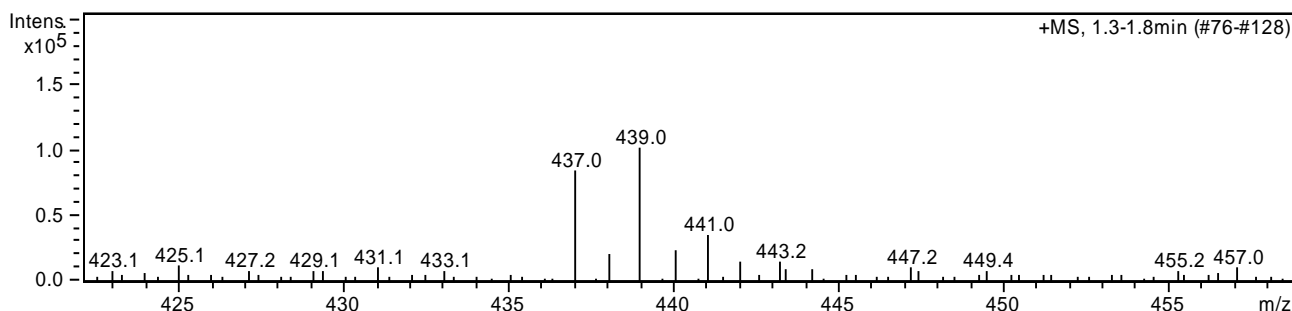


Figura 1.29. Espectro de massa da substância **20**.

No espectro de RMN de ^1H do composto **20** (Figura 1.30), foram observados dois quintetos um em δ 2,34 ppm e outro em δ 2,42 ppm que foram atribuídos aos hidrogênios de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, respectivamente. Os dois tripletos em δ 3,84 ppm e δ 3,97 ppm foram atribuídos aos hidrogênios de CH_2Br e CH_2Cl , respectivamente. O multipletto em δ 4,24 ppm refere-se aos hidrogênios ligados diretamente ao oxigênio das duas cadeias (CH_2O). Os sinais em δ 7,32, δ 7,68 e δ 8,13 ppm foram atribuídos aos hidrogênios aromáticos.

No espectro de RMN de ^{13}C de **20** (Figura 1.31) foram observados sinais em δ 30,8 e δ 42,0 ppm que foram atribuídos aos carbonos de CH_2Br e CH_2Cl , respectivamente. Os sinais em δ 32,4 e δ 32,5 ppm foram atribuídos aos carbonos de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, respectivamente. Os sinais em δ 66,8 e δ 67,8 ppm correspondem aos carbonos da cadeia alquílica ligados diretamente ao oxigênio, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ e $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, respectivamente. O sinal em δ 153,8 ppm foi atribuído ao carbono aromático ligado ao oxigênio. O sinal em δ 183,2 ppm foi atribuído ao carbono da carbonila, os demais sinais entre δ 122,2 e δ 134,4 ppm são atribuídos aos carbonos aromáticos.

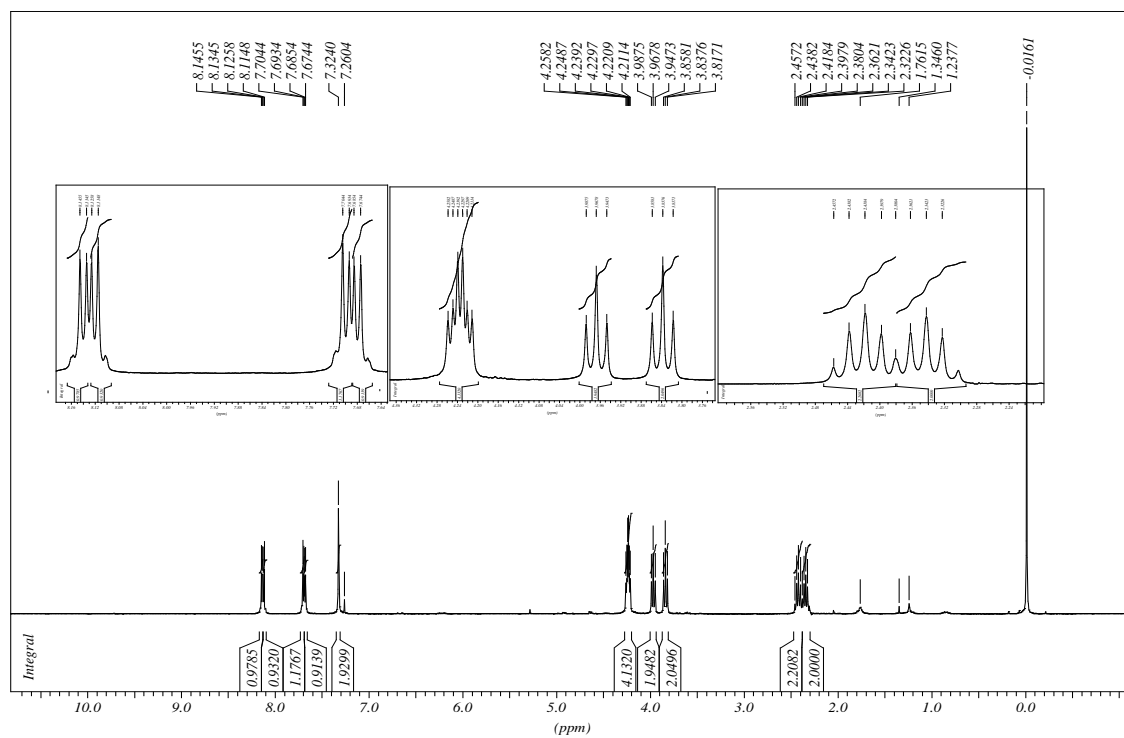


Figura 1.30. Espectro de RMN de ^1H da substância **20** (CDCl_3 , 300 MHz).

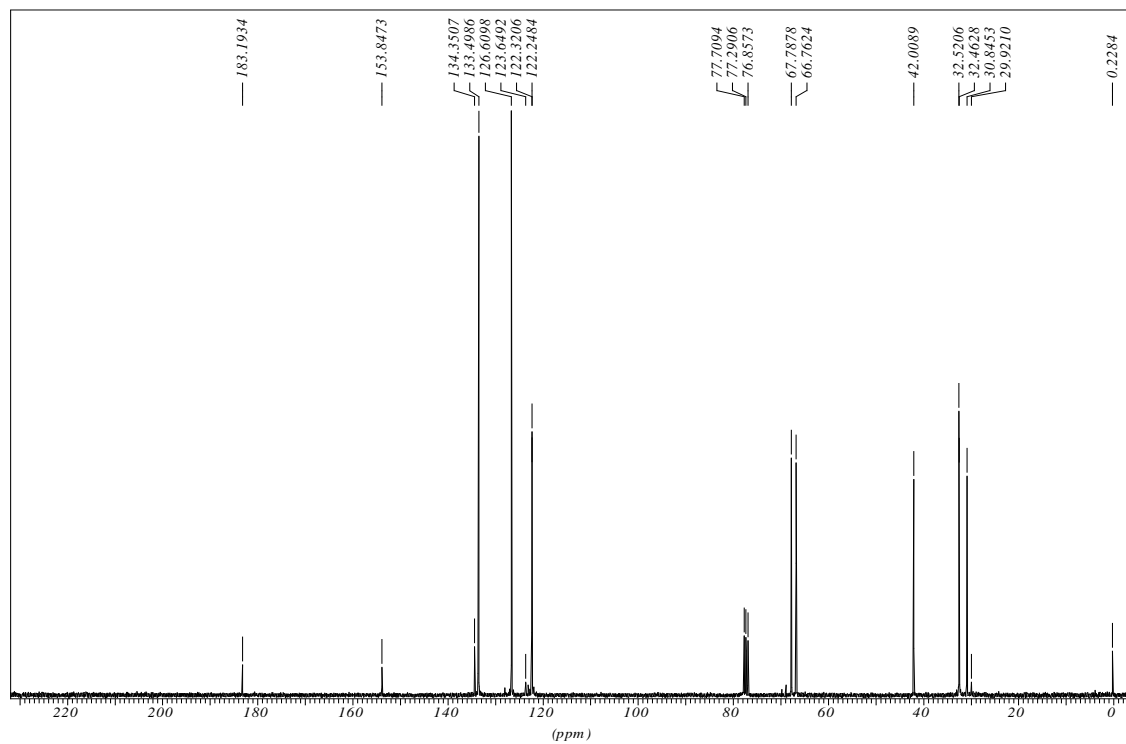
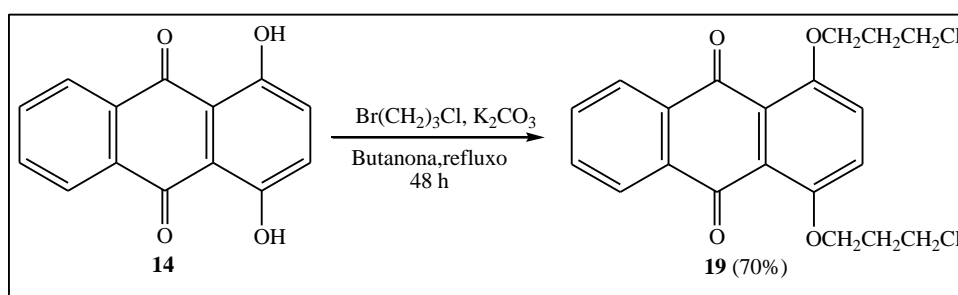


Figura 1.31. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **20** (CDCl_3 , 300 MHz).

Devido à formação de vários subprodutos inerentes a metodologia adotada, foi necessário otimizá-la a fim de se evitar a formação de produtos de eliminação. Optou-se por utilizar o carbonato de potássio, por ser uma base mais fraca, e a butanona como solvente (WOO *et al*, 2007). A síntese da substância **19** consistiu em solubilizar a 1,4-diidroxiantraquinona **14** em butanona e adicionar o carbonato de potássio para a formação *in situ* do íon alcóxido. Após 60 minutos, foi adicionado o 1-bromo-3-cloro-propano (Esquema 1.12). Esta reação foi mantida em refluxo durante 24 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, em seguida foi feita extração em diclorometano e água. O produto diclorado **19** foi isolado em 70% de rendimento por coluna cromatográfica e sua estrutura foi evidenciada pela análise dos seus espectros de infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.12. Síntese da substância **19**.

No espectro vibracional na região do infravermelho de **19** (Figura 1.32) verificou-se a presença de duas bandas de absorção referentes à deformação axial C-H alifático em 2935 e 2881 cm^{-1} , uma banda de absorção intensa em 1664 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico, uma banda de baixa intensidade em 3068 cm^{-1} referente à C-H aromático e uma banda de absorção intensa em 1240 cm^{-1} referente à deformação axial de C-O-C de éter. Verificou-se, também, uma banda de absorção de média intensidade em 648 cm^{-1} referente à ligação de C-Cl.

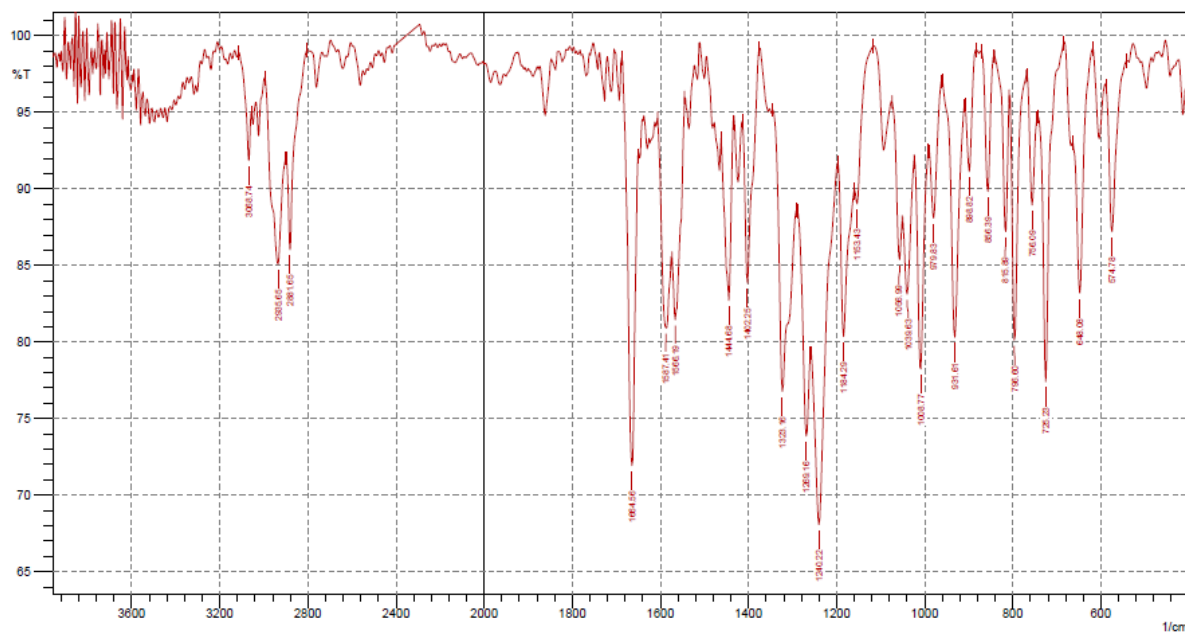


Figura 1.32. Espectro de infravermelho de **19** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **19** (Figura 1.33) observou-se sinais que caracterizam a entrada das duas cadeias alquílicas e com o mesmo halogênio terminal (cloro), tais sinais são: um quinteto em δ 2,35 ppm que foi atribuído aos hidrogênios metilênicos centrais da cadeia ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), um tripleto em δ 3,98 ppm atribuído aos hidrogênios de CH_2Cl e outro tripleto em δ 4,25 ppm atribuídos aos hidrogênios de CH_2O . O simpleto em δ 7,33 ppm corresponde aos hidrogênios H-2 e H-3. O duplete duplo em δ 7,70 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-6 e H-7 e o duplete duplo em δ 8,14 ppm foi atribuído aos hidrogênios H-5 e H-8.

No espectro de RMN de ^{13}C de **19** (Figura 1.34) observou-se sinais que confirmam a entrada do grupamento alquílico, sendo um sinal em δ 32,4 ppm atribuído aos carbonos de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, um sinal δ 42,0 ppm referente aos carbonos ligado diretamente ao cloro (CH_2Cl) e um sinal em δ 66,7 ppm atribuído aos carbonos metilênicos ligados ao oxigênio (CH_2O). O sinal em δ 153,8 ppm foi atribuído ao carbono aromático ligado ao oxigênio. O sinal em δ 183,2 ppm corresponde ao carbono carbonílico, os demais sinais foram atribuídos aos carbonos aromáticos.

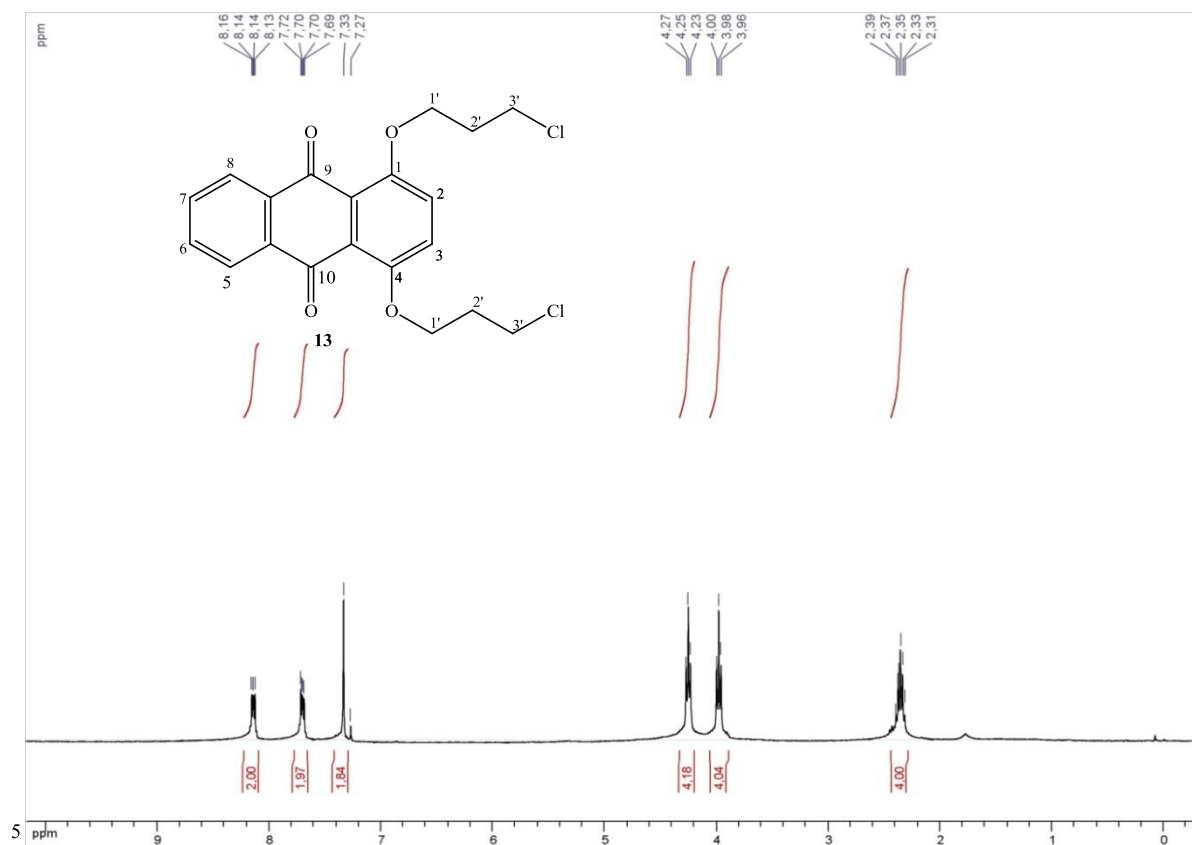


Figura 1.33. Espectro de RMN de ¹H de **19** (CDCl₃, 300 MHz).

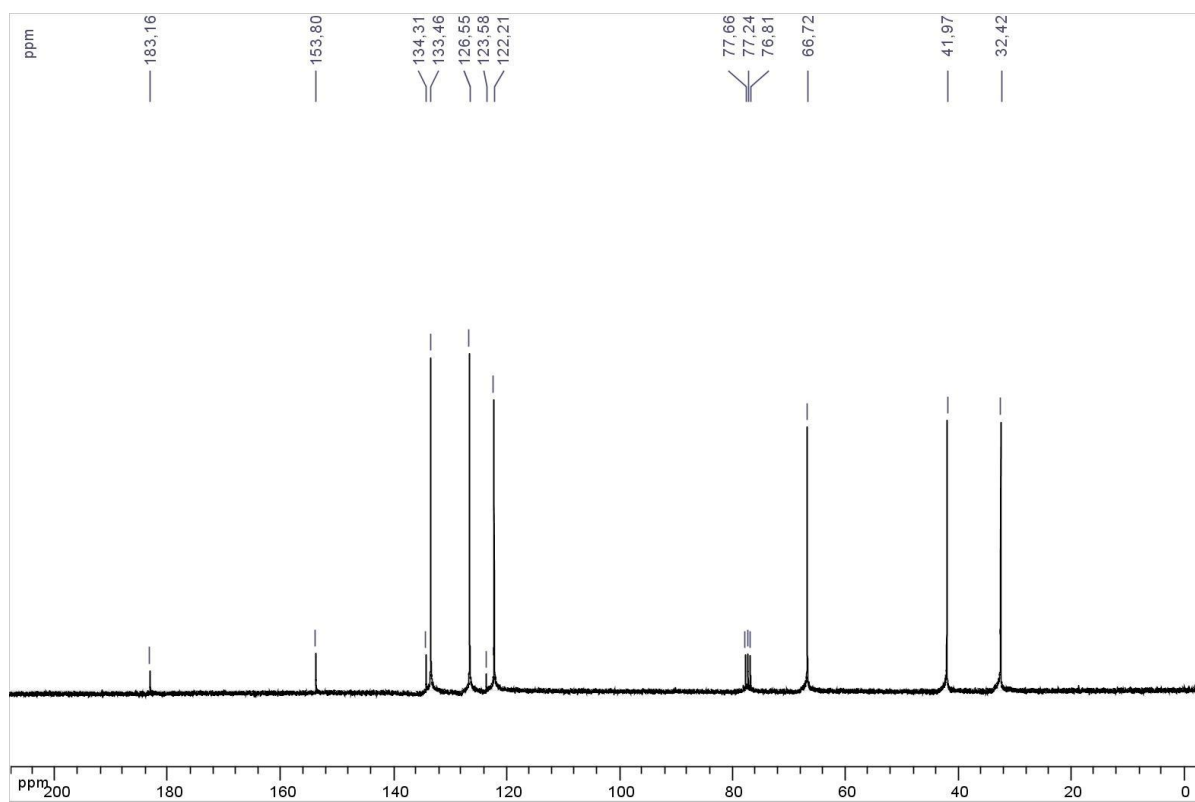
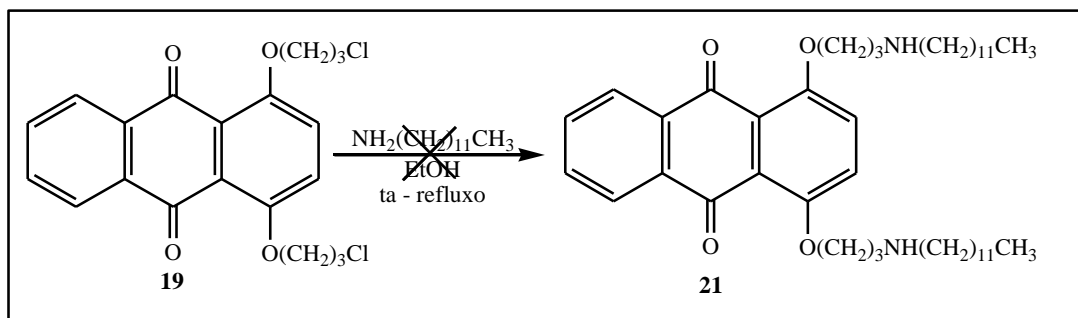


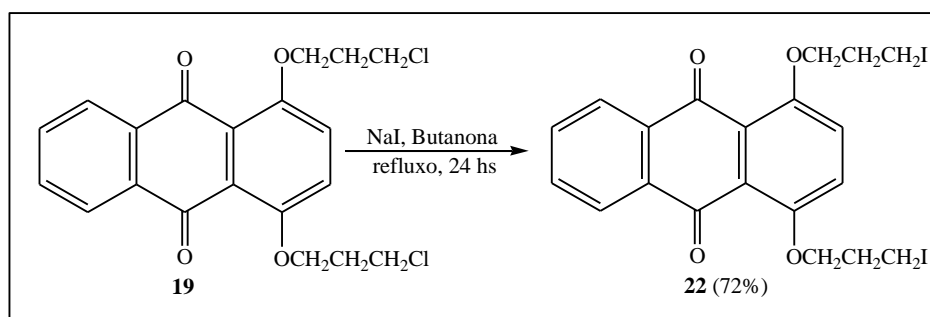
Figura 1.34. Espectro de RMN de ¹³C de **19** (CDCl₃, 300 MHz).

Tenda em vista nosso objetivo de sintetizar análogos lipofílicos da MTX, foi feito o tratamento do composto **19**, solubilizado em etanol, com a dodecilamina (Esquema 1.13) (HUANG *et al*, 2004). Esta reação foi mantida sob agitação magnética durante 48 horas em refluxo e não conduziu a formação do produto almejado **21**.



Esquema 1.13. Síntese do composto **21** a partir da substância diclorada **19**.

Atribui-se a não ocorrência da reação de formação do composto **21** ao fato do átomo de cloro não ser um bom grupo abandonador, logo optou-se por fazer a troca do cloro por iodo. Esta reação consistiu em solubilizar o dicloreto **19** em butanona, e a esta solução foi adicionado iodeto de sódio e manteve-se a reação sob refluxo durante 24 horas (Esquema 1.14) (PRETZE *et al*, 2010). Esta metodologia levou a formação do diiodeto **22**, que foi isolado por coluna cromatográfica com 72% de rendimento. Sua estrutura foi caracterizada através da análise dos seus espectros de massa, infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.14. Síntese do composto **22**.

No espectro de massa de **22** (Figura 1.35) tem-se um pico em 598,9 m/z referente ao íon molecular mais 23 ($\text{M}+\text{Na}$).

No espectro vibracional na região do infravermelho de **22** (Figura 1.36) verificou-se a presença de duas bandas de absorção referentes à deformação axial C-H alifático em 2947 e 2870 cm^{-1} , de uma banda de absorção intensa em 1660 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico, de uma banda de baixa intensidade em 3068 cm^{-1} referente à deformação axial de C-H aromático e de uma banda de absorção intensa em 1244 cm^{-1} referente à deformação axial de C-O-C de éter. Verificou-se, também, uma banda de absorção de média intensidade em 516 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação de C-I.

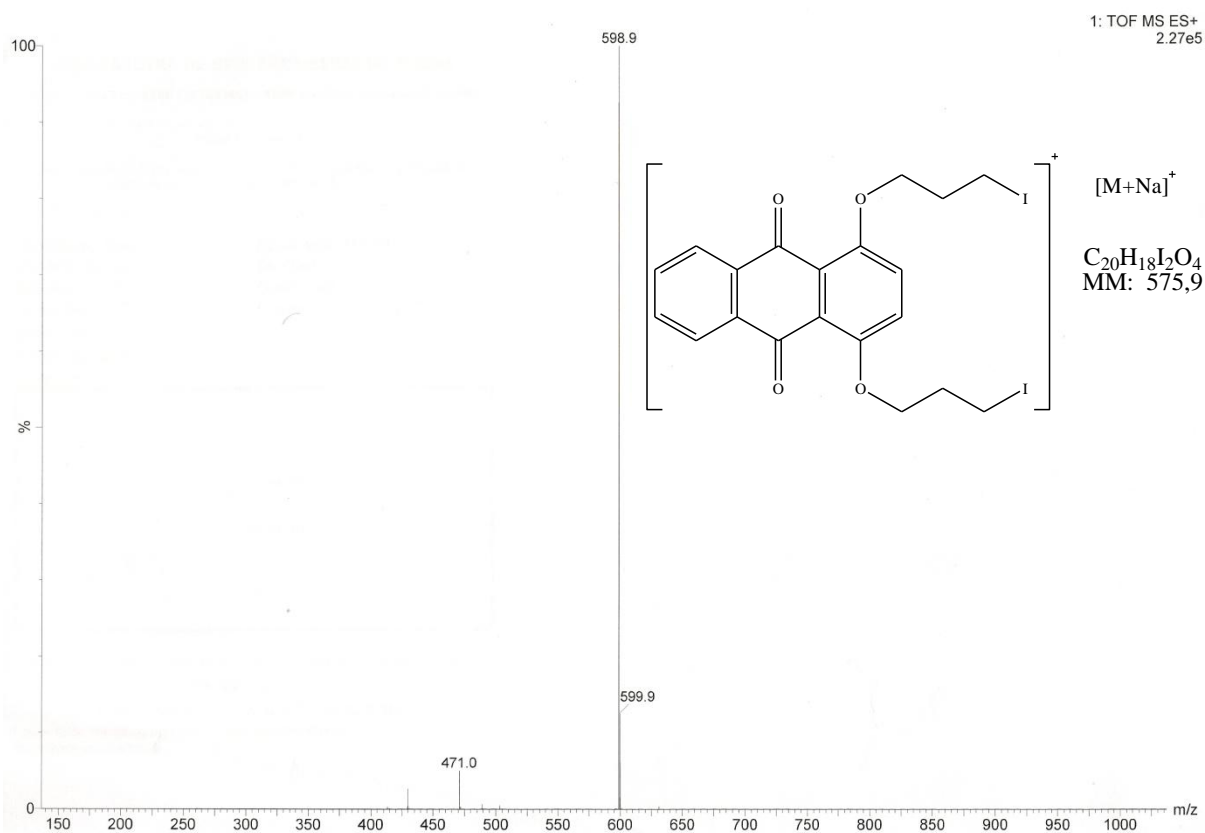


Figura 1.35. Espectro de massa da substância **22**.

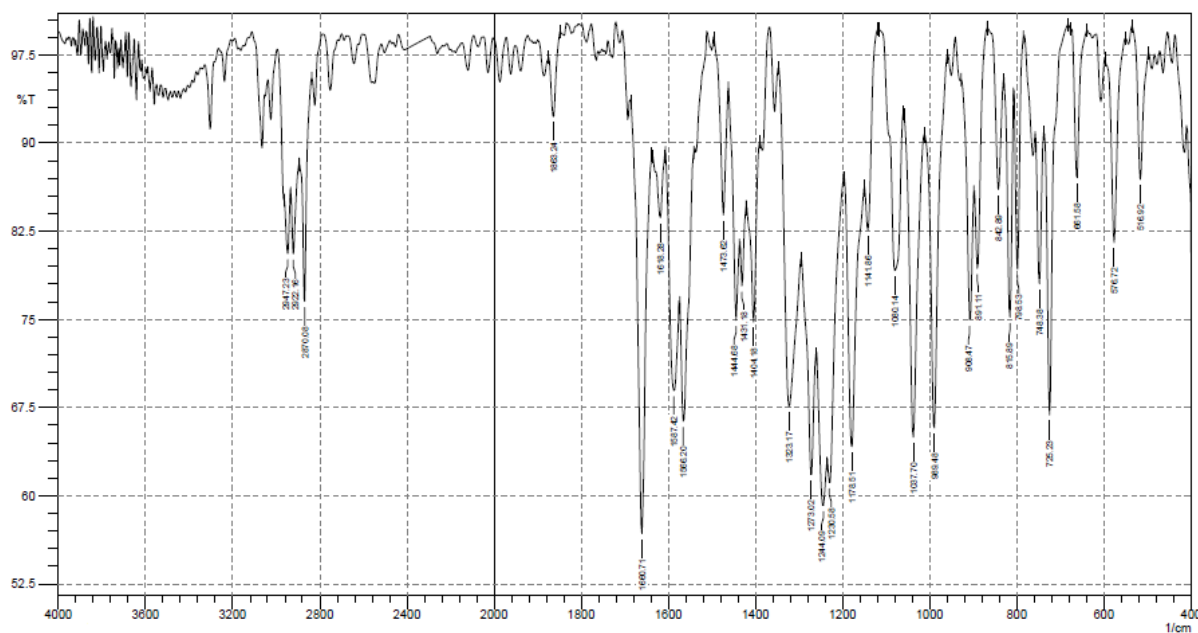


Figura 1.36. Espectro de infravermelho da substância **22** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **22** (Figura 1.37) foi observado um tripleto em δ 3,60 ppm (Figura 1.38a) correspondente aos hidrogênios metilênicos de CH_2I , este sinal aparece em região de maior blindagem se comparado ao sinal de hidrogênios de CH_2Cl (δ 3,98 ppm) do material de partida. Observa-se também um quinteto a δ 2,35 ppm atribuído aos hidrogênios de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$ (Figura 1.38b) e um tripleto a δ 4,15 ppm que corresponde aos hidrogênios de CH_2O . Os demais sinais em região de menor blindagem correspondem aos hidrogênios da porção aromática.

No espectro de RMN de ^{13}C de **22** (Figura 1.39) foi observado um sinal em δ 3,9 ppm atribuído ao carbono ligado ao iodo e não foi observado o sinal em δ 42,0 ppm correspondente ao carbono ligado a cloro, evidenciando, mais uma vez, a troca do cloro por iodo nas duas porções alquílicas. O sinal em δ 32,9 ppm foi atribuído ao carbono central da porção alquílica, enquanto que o sinal em δ 69,6 ppm foi atribuído ao carbono metilênico ligado ao oxigênio. Os demais sinais entre δ 122,2 e δ 183,0 correspondem aos hidrogênios dos anéis aromáticos.

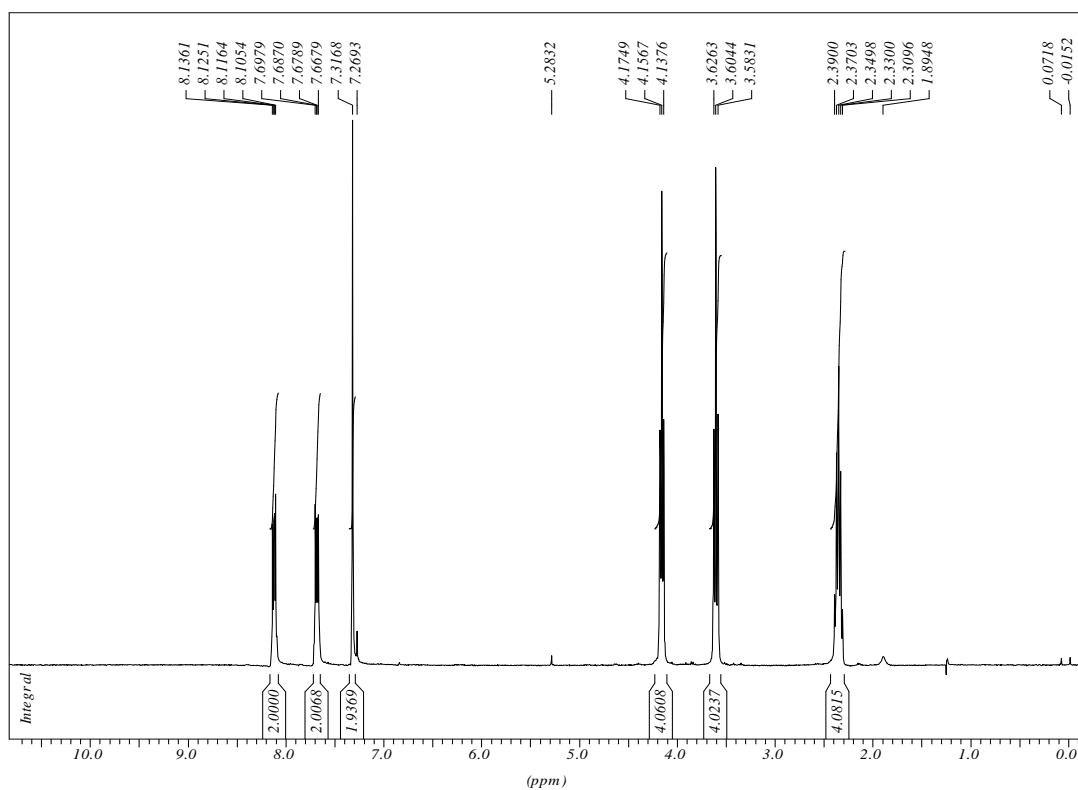


Figura 1.37. Espectro de RMN de ^1H da substância **22** (CDCl_3 , 300 MHz).

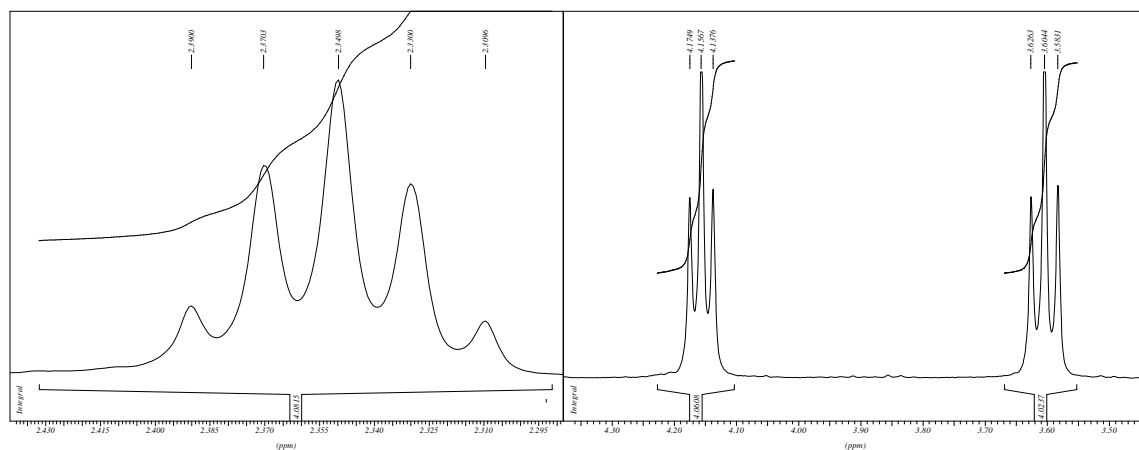


Figura 1.38. Expansão de espectro de RMN de ^1H de **22**: **a.** Quinteto centrado em δ 2,35 ppm; **b.** Dois tripletos centrados a δ 3,60 ppm e δ 4,15 ppm.

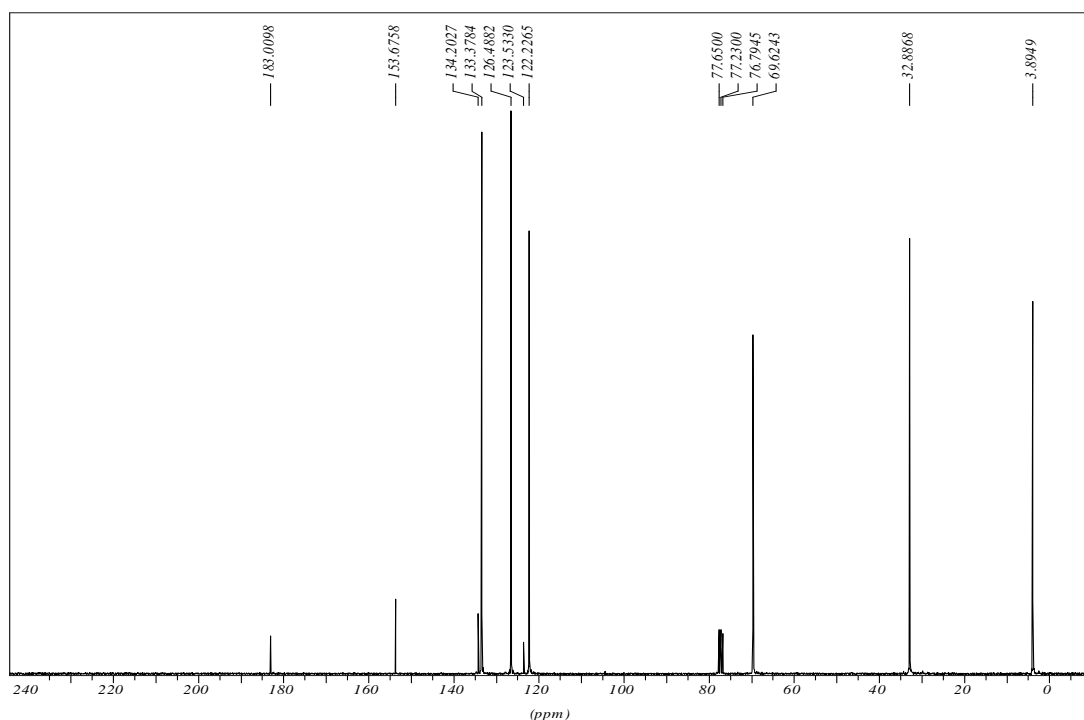
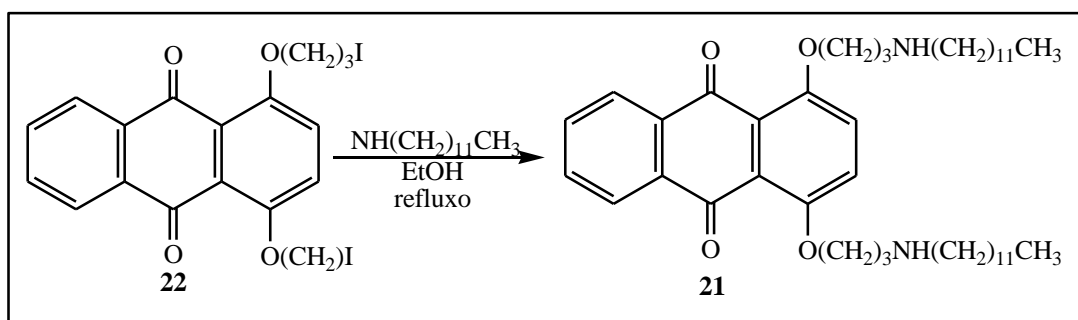


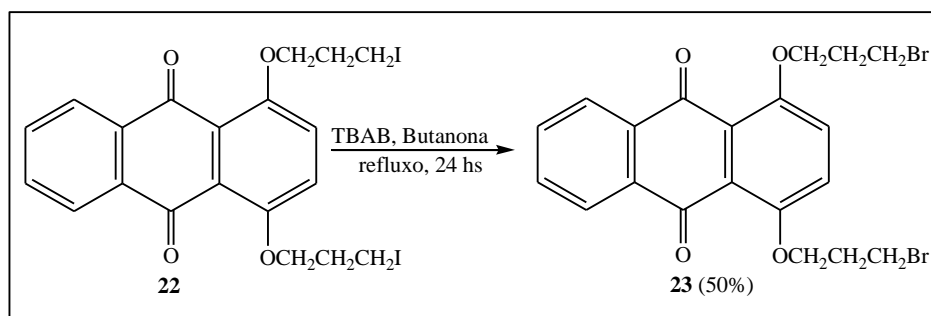
Figura 1.39. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **22** (CDCl_3 , 75 MHz).

Dando continuidade ao trabalho, com o intuito de obter análogos lipofílicos da MTX e agora, com material de partida que possui um melhor grupo abandonador, foi feito o tratamento de **22**, previamente solubilizado em etanol, com dodecilamina (Esquema 1.15) (HUANG *et al*, 2004). Esta reação foi mantida em agitação magnética e refluxo durante 48 horas. A análise por cromatografia em camada fina nos mostrou que houve formação de 5 compostos. Foi feita uma coluna cromatográfica a fim de se isolar e caracterizar estes compostos. Observou-se que ocorria a decomposição dos compostos formados durante a purificação. Outras tentativas foram feitas utilizando aminas secundárias e amino-álcoois e o mesmo comportamento foi observado durante a purificação.



Esquema 1.15. Síntese de **21** a partir do diiodeto **22**.

Enquanto essas tentativas de sintetizar derivados antraquinônicos com cadeias longas eram realizadas, os compostos **19** e **22** foram enviados para teste biológico de avaliação de inibição de NO. Resultados preliminares se mostraram promissores para estes compostos halogenados. Diante destes resultados, decidiu-se sintetizar uma série de compostos contendo o mesmo espaçador, porém variando o grupo funcional terminal a fim de verificarmos a influência desse grupo na atividade dos compostos. Com este intuito, foi feita a reação para obtenção do composto dibrometo **23**. A reação consistiu em solubilizar o diiodeto **22** em butanona e adicionar o brometo de tetrabutilamônio. Esta reação foi mantida em refluxo sob agitação magnética durante 24 horas (Esquema 1.16). O dibrometo **23** foi isolado por coluna cromatografia como um sólido amarelo com 45% de rendimento e sua estrutura foi caracterizada por infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.16. Síntese da substância **23**.

No espectro vibracional na região do infravermelho de **23** (Figura 1.40) verificou-se a presença de duas bandas de absorção referentes à deformação axial C-H alifático em 2933 e 2879 cm^{-1} , de uma banda de absorção intensa em 1664 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico, de uma banda de baixa intensidade em 3066 cm^{-1} referente à deformação axial de C-H aromático e de uma banda de absorção intensa em 1240 cm^{-1} referente à deformação axial de C-O-C de éter. Verificou-se, também, uma banda de absorção de média intensidade em 571 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação de C-Br.

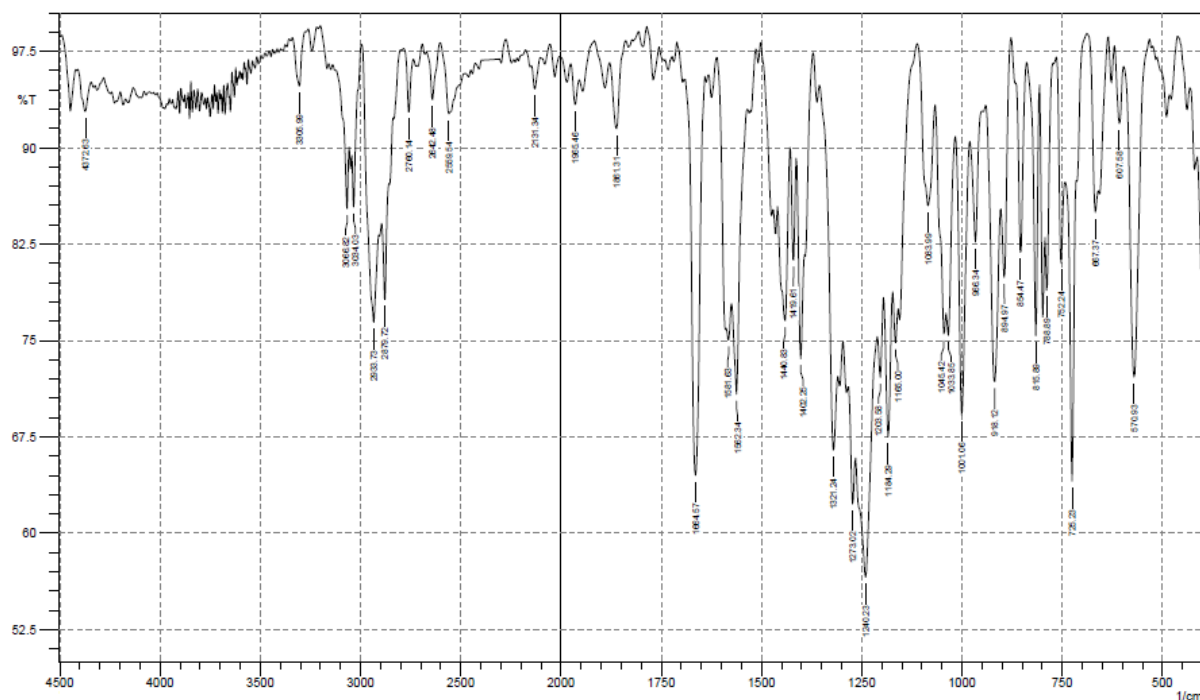


Figura 1.40. Espectro de infravermelho de **23** (KBr)

No espectro de RMN de ^1H de **23** (Figura 1.41) foi observado um tripleto em δ 3,85 ppm correspondente aos hidrogênios metilênicos de CH_2Br , os quais estão menos blindados se comparados aos hidrogênios de CH_2I (δ 3,60 ppm) devido ao efeito indutivo inerente ao bromo ser mais eletronegativo. Observou-se também um quinteto a δ 2,44 ppm atribuído aos hidrogênios de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ e um tripleto a δ 4,26 ppm que corresponde aos hidrogênios de CH_2O . Os demais sinais em região de maior frequência correspondem aos hidrogênios da porção aromática.

No espectro de RMN de ^{13}C de **23** (Figura 1.42) verifica-se a presença de um sinal em δ 30,9 ppm atribuído ao carbono metilênico CH_2Br . Não foi observado o sinal em δ 3,9 ppm referente ao carbono de CH_2I presente no espectro do material de partida, evidenciando assim a troca do átomo de iodo pelo bromo. O sinal em δ 32,5 ppm foi atribuído ao carbono central da porção alquílica. O sinal em δ 67,8 ppm foi atribuído ao carbono metilênico ligado ao oxigênio. Os demais sinais entre δ 100,2 e δ 183,2 correspondem aos carbonos dos anéis aromáticos.

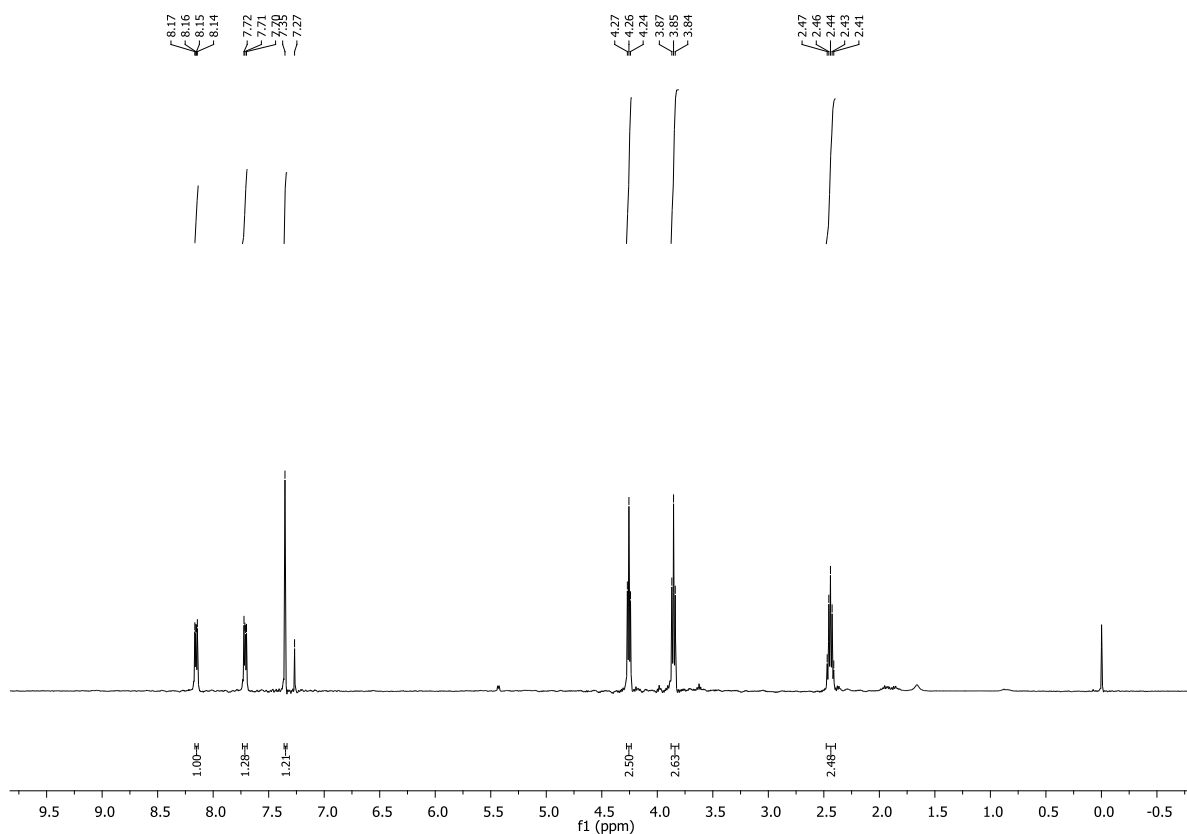


Figura 1.41. Espectro de RMN de ^1H da substância **23** (CDCl_3 , 400 MHz).

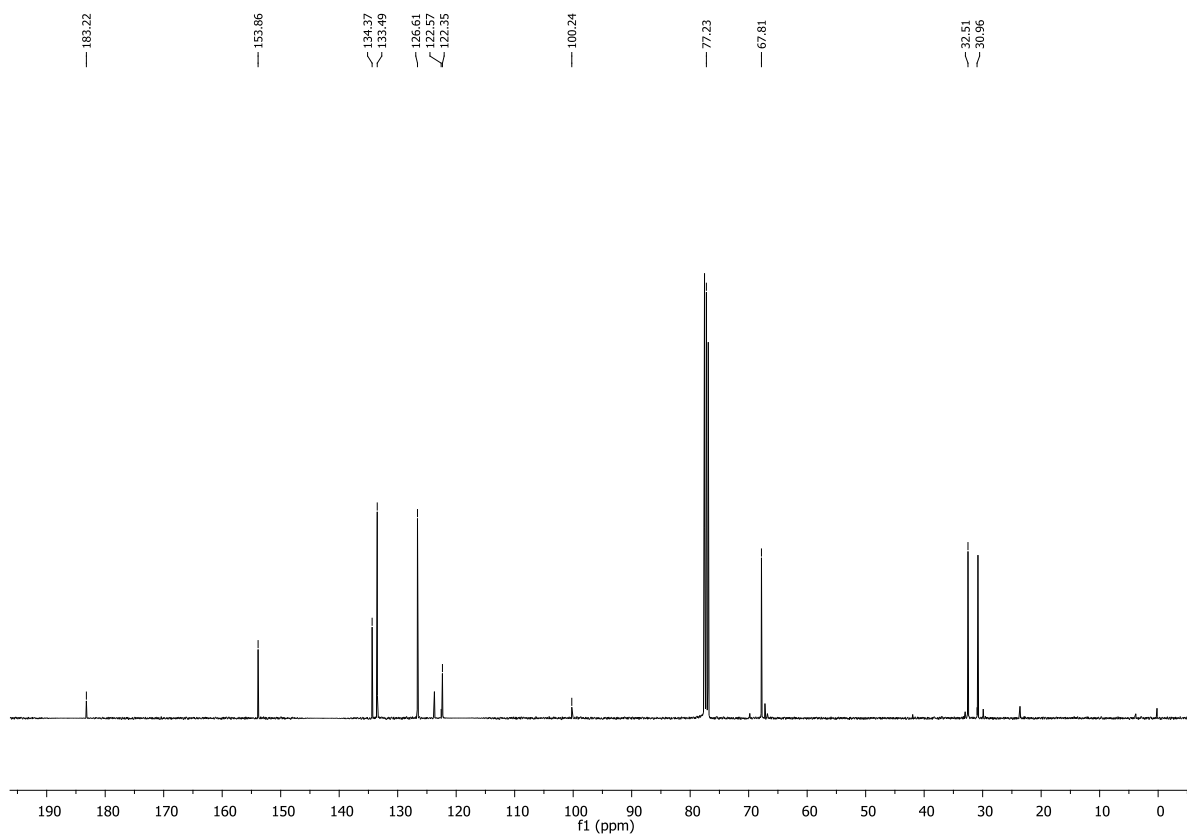
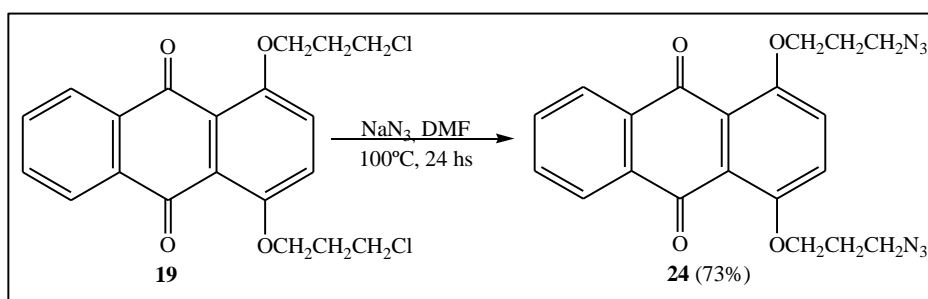


Figura 1.42. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **23** (CDCl_3 , 100 MHz).

Outros produtos que nos pareceram interessantes para este trabalho, pois nos permitiria investigar os diferentes substituintes na cadeia alquila, seriam aqueles contendo os grupamentos azido ou amino. A obtenção do primeiro foi feita pelo tratamento do composto diclorado **19** com azida de sódio em dimetilformamida (Esquema 1.17) (ALVAREZ e ALVAREZ, 1997). A reação foi mantida à temperatura de 100°C por 24 horas fornecendo a diazida **24** em 73% de rendimento, que foi caracterizada através da análise dos seus espectros de massa, infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.17. Síntese da substância **24**.

No espectro de massa de **24** (Figura 1.43) tem-se um pico em 429,1 m/z referente ao íon molecular mais 23 (M+Na).

No espectro vibracional da região do infravermelho de **24** (Figura 1.44) verificou-se a presença de duas bandas de absorção referentes à deformação axial C-H alifático em 2933 e 2885 cm^{-1} , de uma banda de baixa intensidade em 3060 cm^{-1} referente à deformação axial de C-H aromático e de uma banda de absorção intensa em 1240 cm^{-1} referente à deformação axial de C-O-C de éter. Verificou-se, também, uma banda de absorção intensa em 2090 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação de N=N=N e uma banda de absorção intensa em 1668 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico.

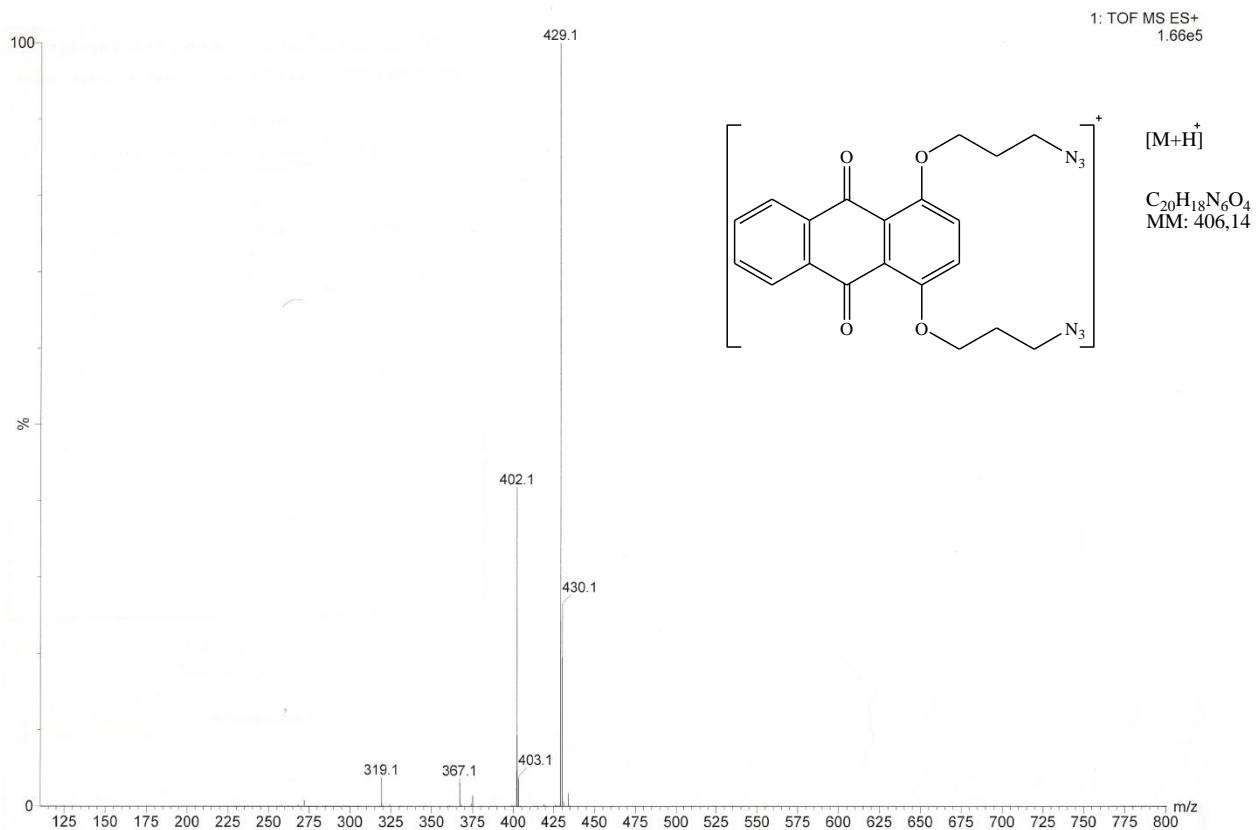


Figura 1.43. Espectro de massa da substância 24.

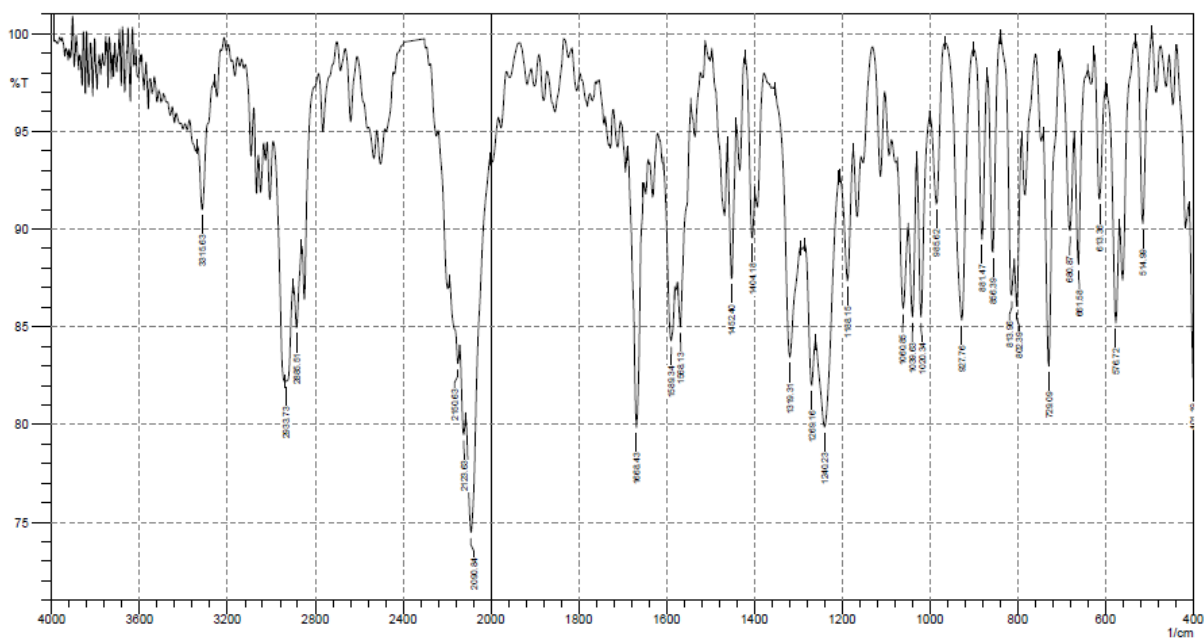
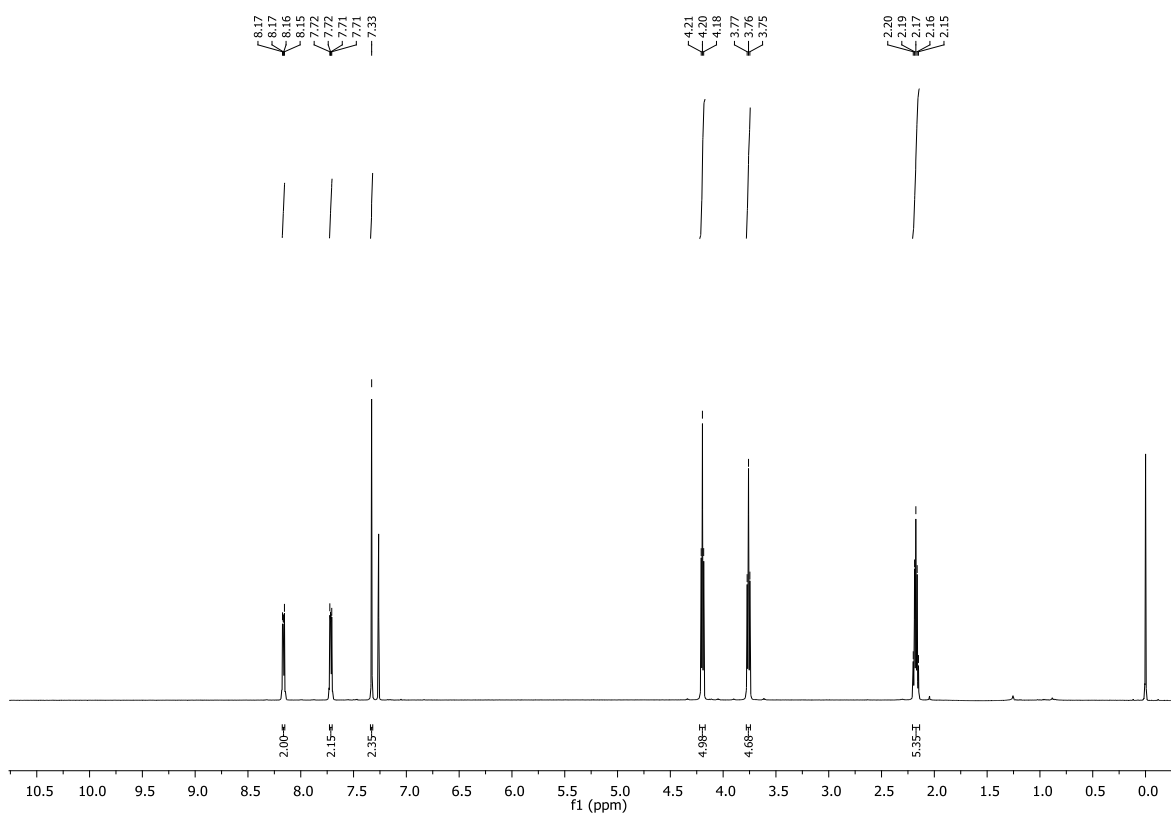


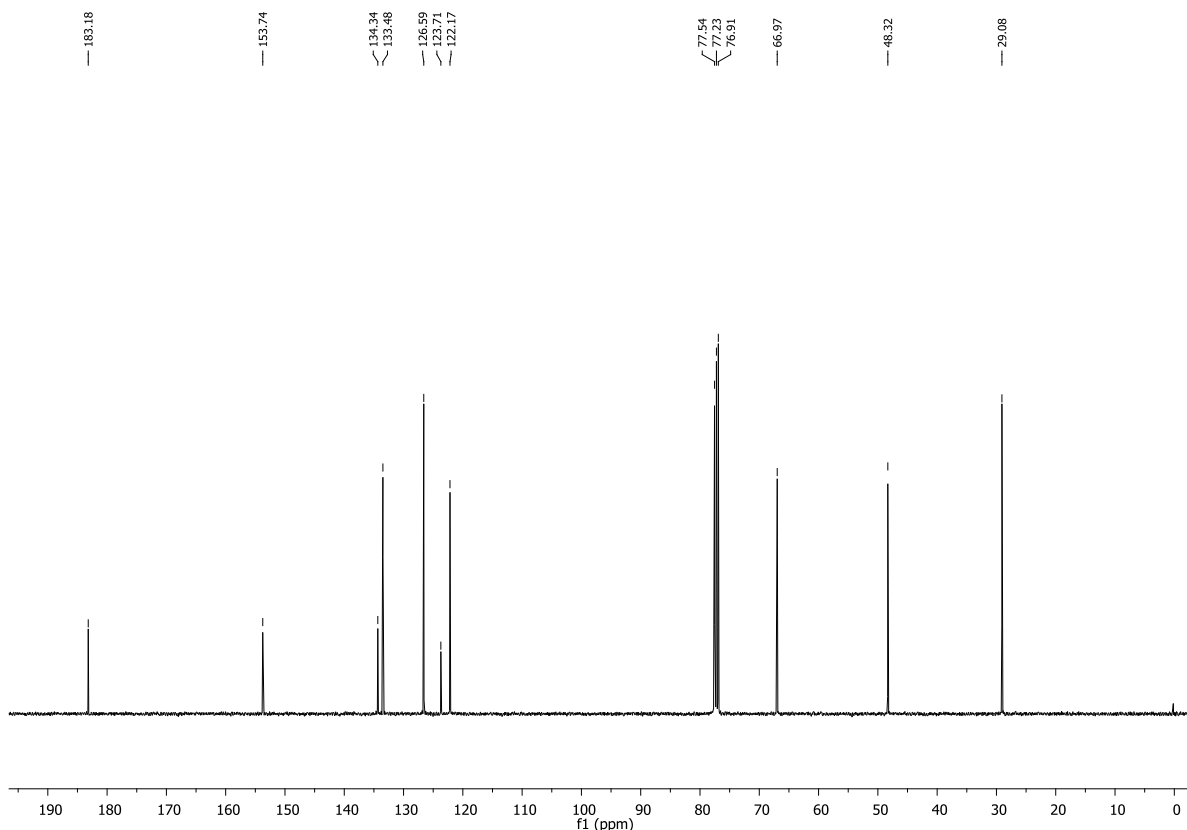
Figura 1.44. Espectro de infravermelho da substância 24 (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **24** (Figura 1.45) foi observado um tripleto em δ 3,76 ppm atribuído aos hidrogênios metilênicos CH_2N_3 e não foi observado o sinal em δ 3,98 ppm referente aos hidrogênios de CH_2Cl presente no material de partida, evidenciando a troca do átomo de cloro pelo grupamento azido. Observou-se, também, um quinteto a δ 2,17 ppm que foi atribuído aos hidrogênios de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ e um tripleto a δ 4,20 ppm que corresponde aos hidrogênios de CH_2O . Os demais sinais em região de maior frequência correspondem aos hidrogênios da porção aromática.

No espectro de RMN de ^{13}C de **24** (Figura 1.46) verifica-se a presença de um sinal em δ 48,3 ppm atribuído ao carbono metilênico CH_2N_3 e não foi observado o sinal em δ 66,7 ppm referente ao carbono de CH_2Cl presente no material de partida, evidenciando assim a troca do átomo de cloro pelo grupamento azido. O sinal em δ 29,1 ppm foi atribuído ao carbono central da porção alquílica. O sinal em δ 67,0 ppm refere-se ao carbono metilênico ligado ao oxigênio. Os demais sinais entre δ 122,2 e δ 183,2 correspondem aos carbonos dos anéis aromáticos.

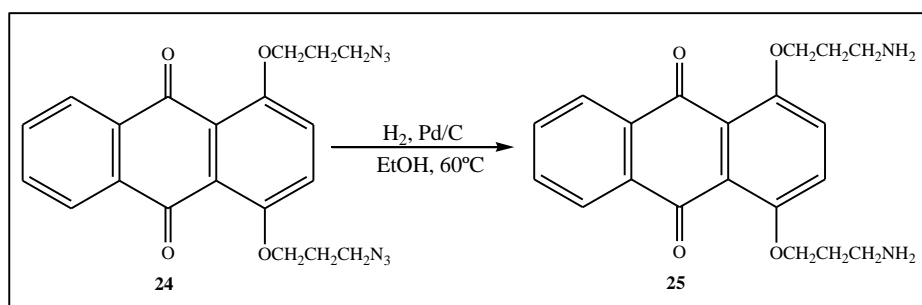


Espectro 1.45. Espectro de RMN de ^1H da substância **24** (CDCl_3 , 400 MHz).



Espectro 1.46. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **24** (CDCl_3 , 100 MHz).

Para a obtenção da diamina **25** foi feita a redução da diazida **24** pelo tratamento com hidrogênio gasoso em um reator Parr à pressão de 7,0 atm e temperatura de 60°C em etanol e presença catalítica de Pd/C 10% (Esquema 1.18). Após 3 dias o material de partida foi consumido e o produto foi purificado por coluna cromatográfica e placa preparativa. Porém, verificou-se que o produto diaminado **25** não é estável, decompondo-se facilmente. Foram feitas tentativas de formar o correspondente dicloridrato ou a acilação deste composto, as quais foram infrutíferas, pois ocorreu decomposição do material. Por esse motivo, mostraremos os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C com as impurezas destacadas.



Esquema 1.18. Síntese da substância **25**.

No espectro vibracional da região na infravermelho do composto **25** (Figura 1.47) verificou-se a presença uma banda referente à deformação axial de N-H em 3338 cm^{-1} ; uma banda em 3130 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial de C-H aromático; duas bandas de absorção intensa foram atribuídas à deformação axial C-H alifático na região de 2920 e 2850 cm^{-1} e uma banda de forte intensidade em 1635 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico.

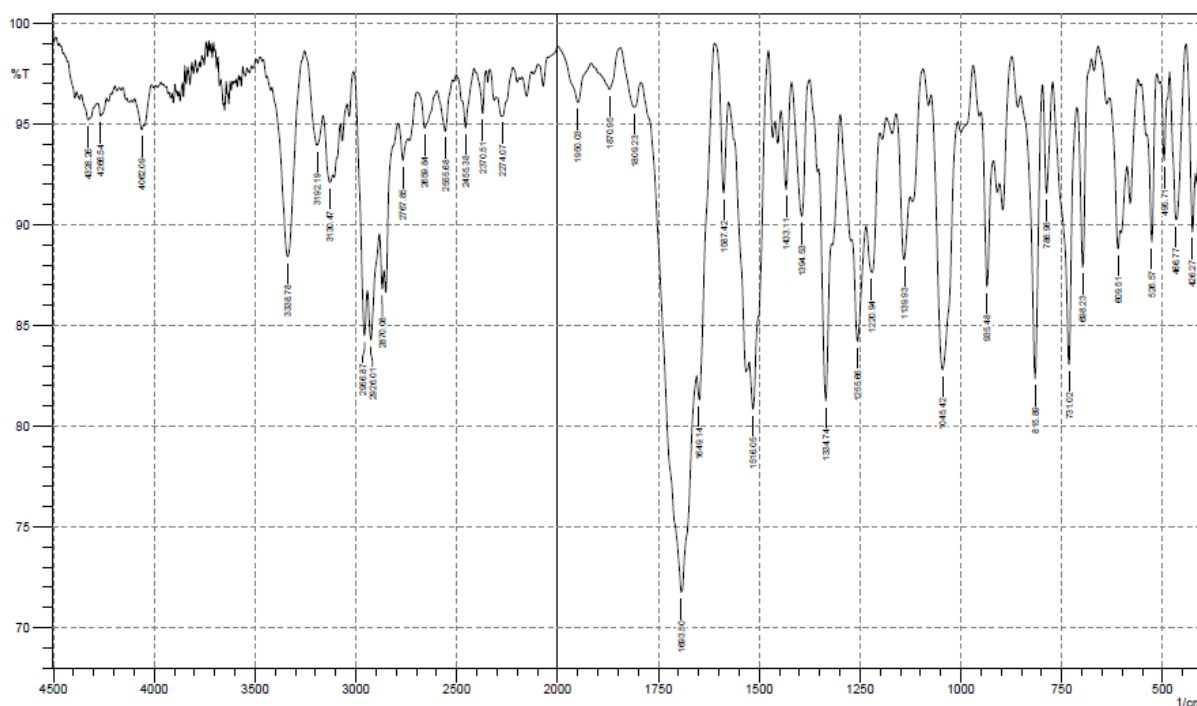


Figura 1.47. Espectro de infravermelho da substância **25** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **25** (Figura 1.48) não se observa o sinal em $\delta 3,76\text{ ppm}$, presente no material de partida e referente ao grupo CH_2N_3 e verifica-se a presença de um sinal $\delta 3,83\text{ ppm}$ atribuído ao carbono metilênico CH_2NH_2 . Observa-se também um quinteto a $\delta 2,24\text{ ppm}$ que foi atribuído aos hidrogênios de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ e um triplete a $\delta 4,26\text{ ppm}$ corresponde aos hidrogênios de CH_2O . Os demais sinais em região de maior frequência correspondem aos hidrogênios da porção aromática.

No espectro de RMN de ^{13}C de **25** (Figura 1.49) verifica-se a presença de um sinal em $\delta 48,5\text{ ppm}$ atribuído ao carbono aminado. O sinal em $\delta 29,3\text{ ppm}$ foi atribuído ao carbono central da porção alquílica. O sinal em $\delta 67,2\text{ ppm}$ refere-se ao carbono metilênico ligado ao oxigênio. Os demais sinais entre $\delta 120,7$ e $\delta 158,7$ correspondem aos carbonos dos anéis aromáticos.

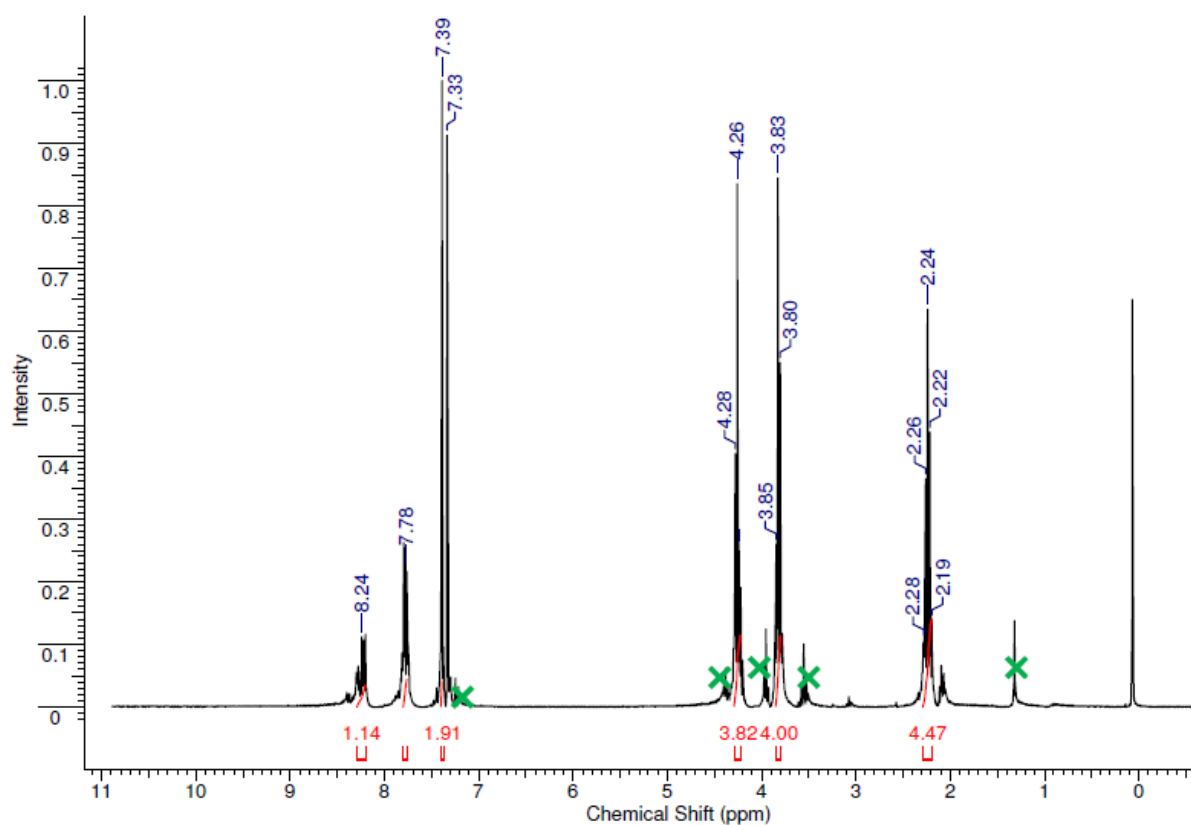


Figura 1.48. Espectro de RMN de ¹H de **25** (CDCl₃, 300 MHz).

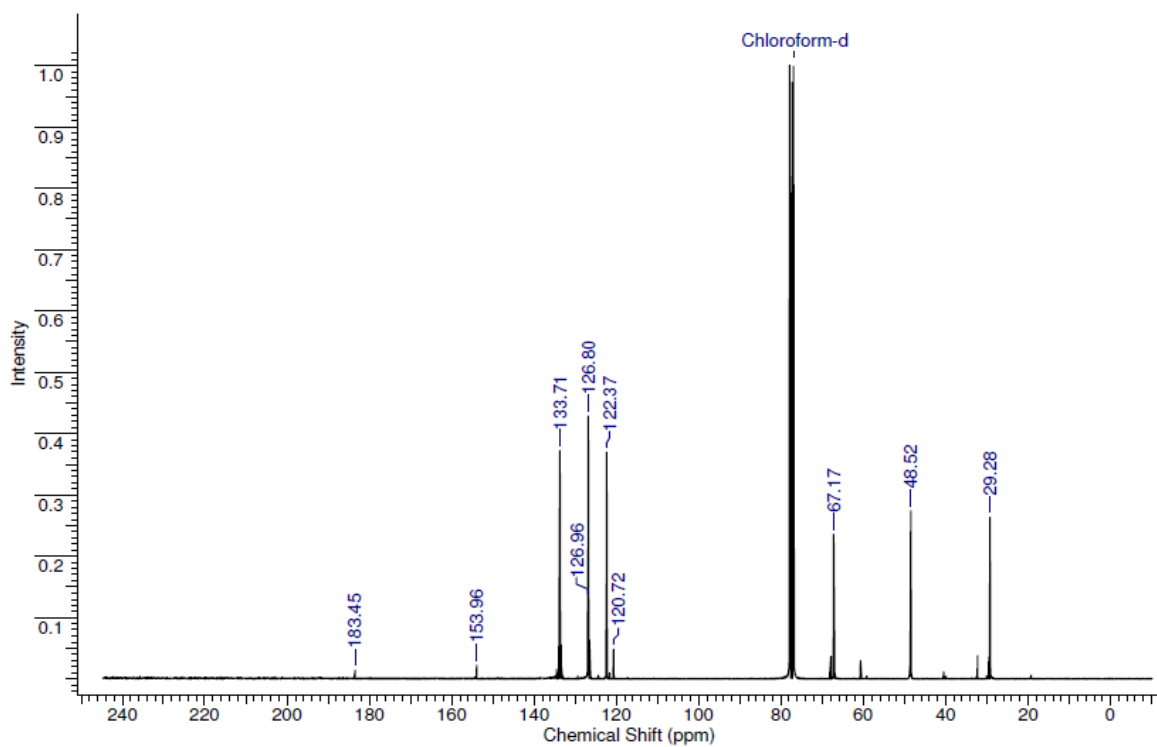
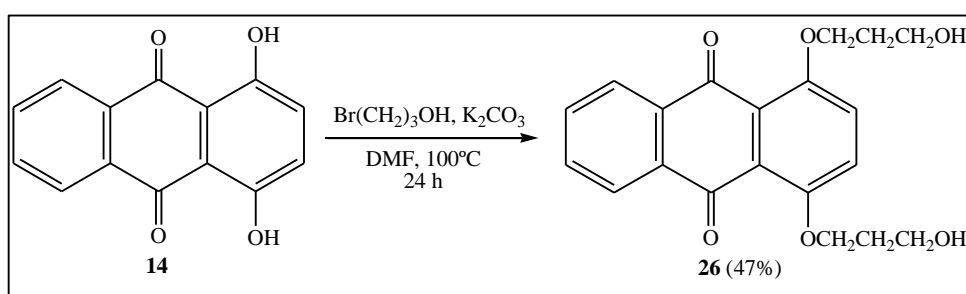


Figura 1.49. Espectro de RMN de ¹³C de **25** (CDCl₃, 75 MHz).

Outro grupo que nos pareceu interessante de introduzir na cadeia lateral foi a hidroxila. Assim, a 1,4-diidroxi-antraquinona **14** foi inicialmente tratada com carbonato de potássio em dimetilformamida. Esta mistura foi mantida sob agitação magnética durante 1 hora para a formação *in situ* do íon alcóxido. Em seguida, foi adicionado 3-bromo-1-propanol e a reação foi mantida a 100°C durante 24 horas (Esquema 1.19) (CHANDRU *et al.*, 2007; HASEGAWA *et al.*, 2005). A substância **26** foi purificada por coluna cromatográfica e obtida como um sólido laranja em 47% de rendimento. Sua estrutura foi caracterizada pela análise de seus espectros de massa, infravermelho, RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 1.19. Síntese da substância **26**.

No espectro de massa de **26** (Figura 1.50) tem-se um pico em 356,1 m/z referente ao íon molecular mais 1 (M+H).

No espectro vibracional na região do infravermelho de **26** (Figura 1.51) verificou-se a presença de duas bandas de absorção referentes à deformação axial C-H alifático em 2943 e 2877 cm^{-1} , de uma banda de absorção intensa em 1660 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do anel antraquinônico, de uma banda de baixa intensidade em 3076 cm^{-1} referente à deformação axial de C-H aromático e de uma banda de absorção intensa em 1251 cm^{-1} referente à deformação axial de C-O-C de éter. Verificou-se, também, uma banda de absorção intensa em 3437 cm^{-1} referente à deformação axial de ligação de OH.

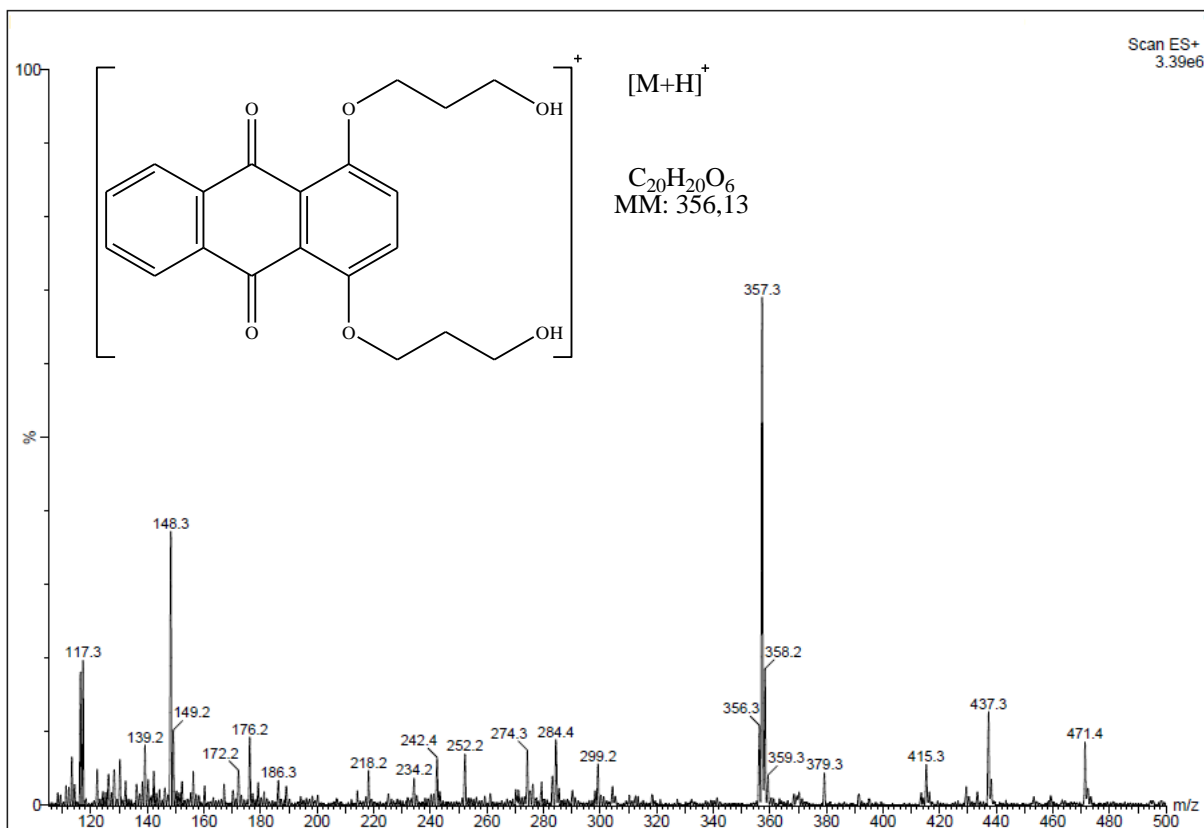


Figura 1.50. Espectro de massa de 26.

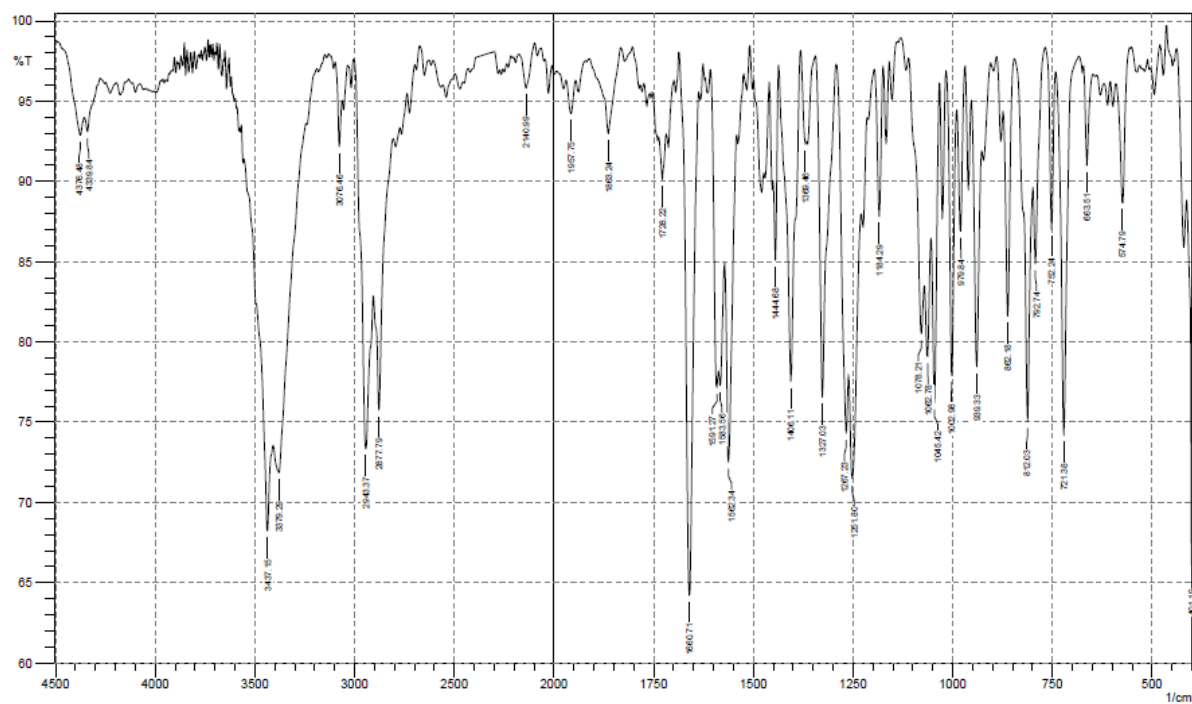


Figura 1.51. Espectro de infravermelho de 26 (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **26** (Figura 1.52) observa-se um quinteto a δ 2,19 ppm o qual foi atribuído aos hidrogênios de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$. O tripleto em δ 3,99 corresponde aos hidrogênios do carbono hidroxilado CH_2OH . Um tripleto a δ 4,28 ppm corresponde aos hidrogênios de CH_2O . Os demais sinais em região de maior frequência correspondem aos hidrogênios da porção aromática.

No espectro de RMN de ^{13}C de **26** (Figura 1.53) verifica-se a presença de um sinal em δ 62,0 ppm atribuído ao carbono hidroxilado. O sinal em δ 32,1 ppm foi atribuído ao carbono central da porção alquílica. O sinal em δ 70,1 ppm foi atribuído ao carbono metilênico CH_2OH . O sinal em δ 183,5 ppm foi atribuído ao carbono da carbonila. Os demais sinais entre δ 120,1 e 153,6 ppm correspondem aos hidrogênios dos anéis aromáticos.

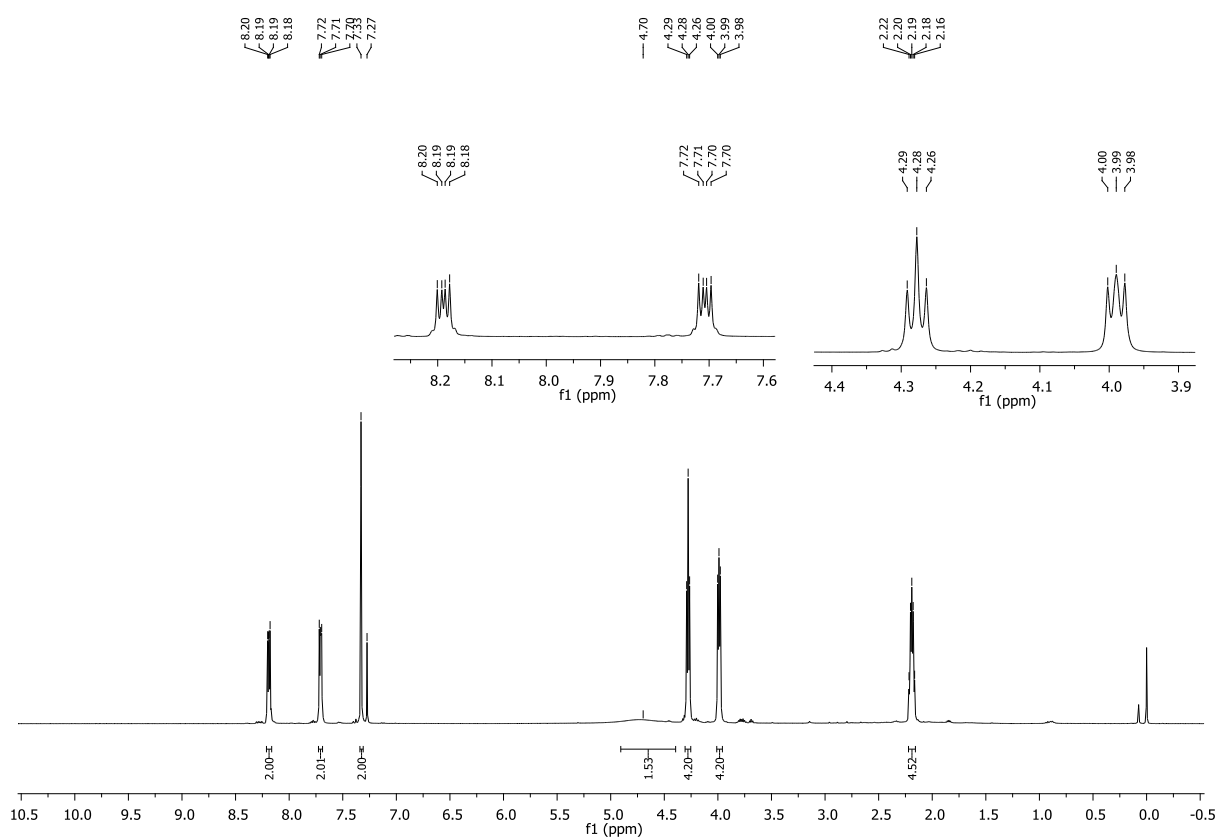


Figura 1.52. Espectro de RMN de ^1H de **26** (CDCl_3 , 400 MHz).

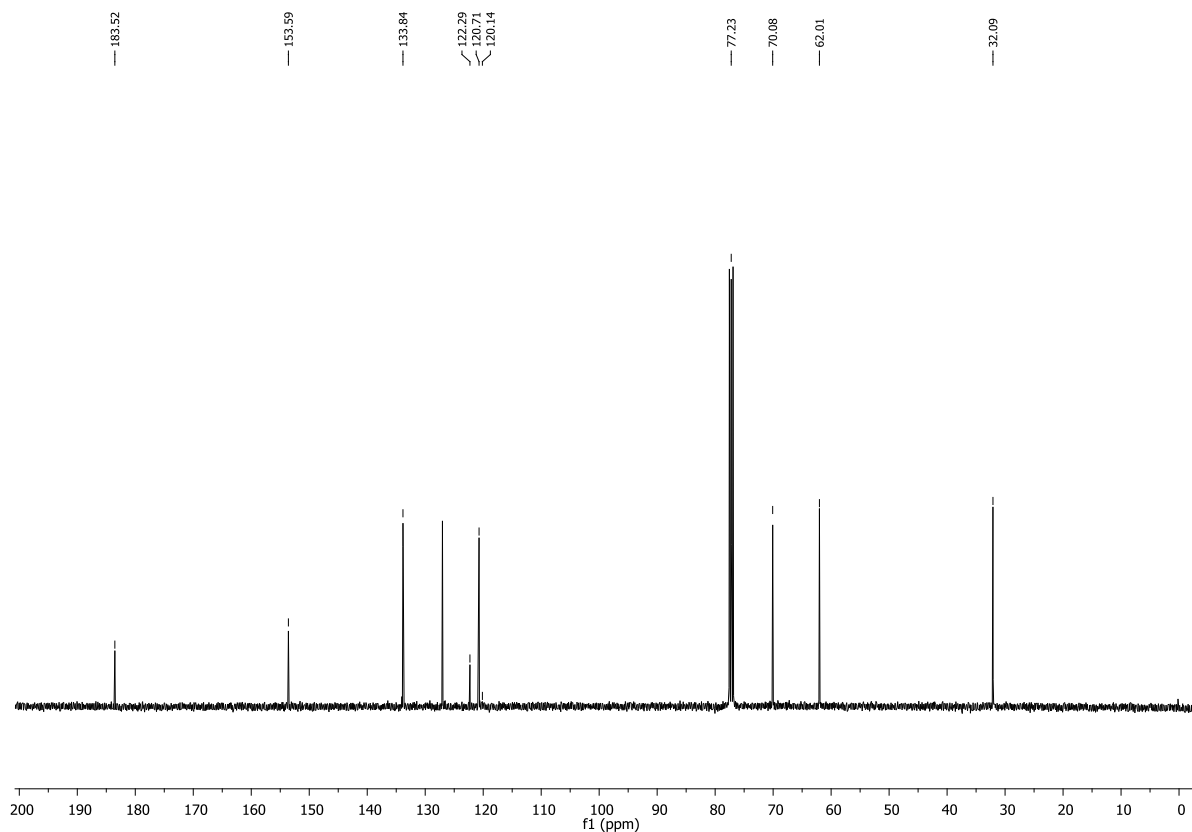
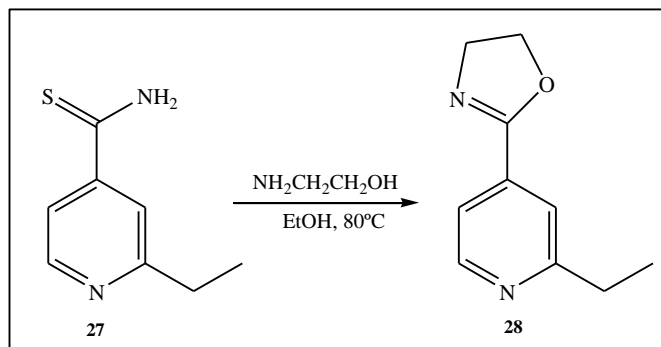


Figura 1.46. Espectro de RMN de ¹³C de **26** (CDCl₃, 100 MHz).

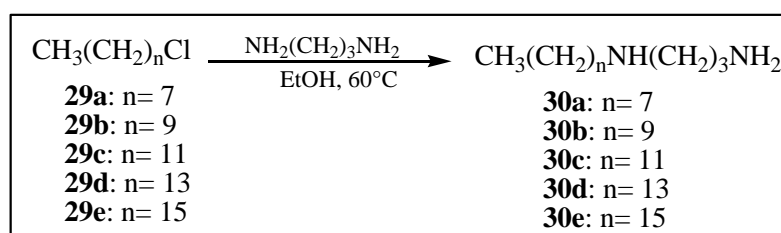
1.3.3. Síntese de derivados tetraidropirimidínicos

Conforme foi discutido anteriormente sobre a importância biológica das tetraidropirimidinas, nessa parte do trabalho descrevemos a síntese de uma série de derivados dessa classe de substâncias, as quais são análogas a CDD-0102. As tetraidropirimidinas aqui sintetizadas foram planejadas baseando-se em trabalhos desenvolvidos recentemente em nosso grupo de pesquisa, nos quais foi feita uma reação entre a etionamida **27** e a 1,2-etanolamina a fim de se obter uma “trans-tioamidação” (Esquema 1.20) (CARDOSO, 2008). Nesse caso ocorreu uma ciclização, ou seja, formação de um anel oxazolínico **28**. Baseados nesse resultado e conhecendo a importância das tetraidropirimidinas, planejou-se reagir a etionamida **27** com uma série de 1,3-propanodiaminas *N*-alquiladas para obtenção e avaliação biológica de compostos desta classe.



Esquema 1.20. Reação de obtenção de um anel oxazólico.

Inicialmente foram preparadas as diaminas *N*-alquiladas, as quais foram obtidas a partir da reação da 1,3-propanodiamina com os cloretos de alquila **29a-e** em etanol a 60°C durante 20 horas (Esquema 1.21) (ALMEIDA *et al*, 2007). Foi usado excesso de diamina no intuito de minimizar a formação dos respectivos derivados *N,N*-dissubstituídos. Todas as diaminas *N*-alquiladas foram caracterizadas pela análise de seus espectros de massa, IV, RMN de ¹H e de ¹³C.



Esquema 1.21. Síntese das diaminas *N*-alquiladas **30a-e**.

Por apresentarem estruturas químicas similares, discutiremos apenas a caracterização do composto **30d**.

No espectro de massa de **30d** (Figura 1.54) tem-se um pico em 271,4 m/z referente ao íon molecular mais 1 (M+H).

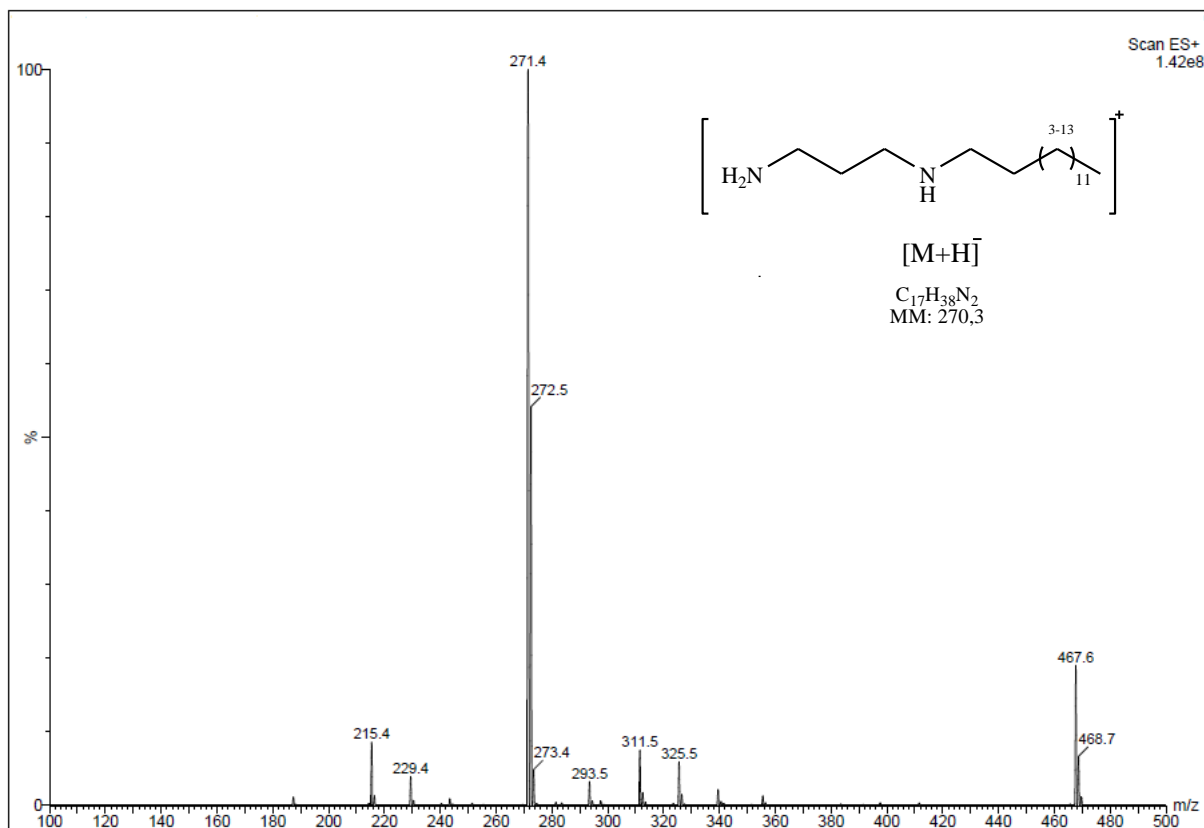


Figura 1.54. Espectro de massa de **30d**.

No espectro vibracional na região de infravermelho do composto **30d** (Figura 1.55), a presença do grupo amino é evidenciada pela banda intensa em 3350 cm^{-1} inerente à deformação axial de N-H. Observa-se igualmente nesse espectro duas banda referentes à deformação axial da ligação C-H alifático em 2960 e 2890 cm^{-1} e um sinal de absorção referente à deformação axial de C-H alifático na região de 1469 cm^{-1} . Verifica-se também uma banda de absorção em 1570 cm^{-1} referentes à deformação angular das ligações N-H.

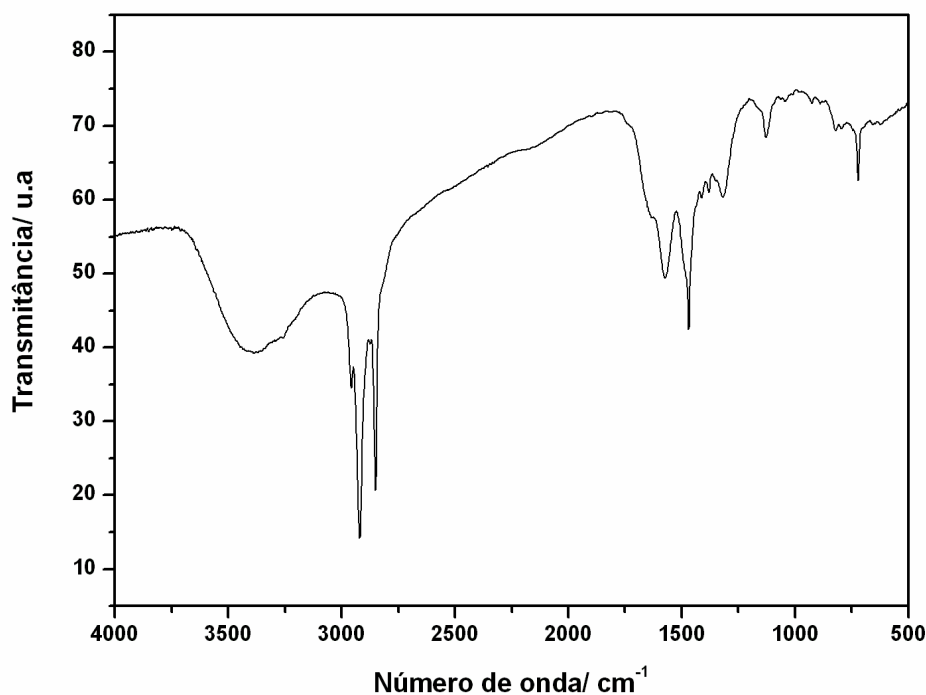


Figura 1.55. Espectro de infravermelho de **30d** (KBr)

No espectro de RMN de ^1H de **30d** (Figura 1.56) observa-se sinais que evidenciam a formação do composto desejado, são eles: um tripleto em δ 0,86 ppm correspondente aos hidrogênios de CH_3 alifático; um multipletto centrado em δ 1,23 ppm correspondente aos hidrogênios metilênicos alifáticos; um quinteto em δ 1,66 ppm atribuído ao grupo $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$. Os dois tripletos em δ 2,57 e δ 2,65 ppm foram atribuídos aos hidrogênios CH_2NH . O simpleto largo em δ 2,73 ppm foi atribuído aos hidrogênios NH , NH_2 e CH_2NH_2 .

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **30d** (Figura 1.57), atribui-se os seguintes sinais de ressonância: um sinal em δ 14,3 ppm correspondente ao carbono metílico; sinais entre δ 22,9 a δ 30,1 ppm referentes a vários carbonos metilênicos da cadeia carbônica; um sinal em δ 32,1 ppm correspondente ao carbono metilênico central da porção 1,3-propanodiamina ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$) e três sinais referentes aos carbonos metilênicos CH_2N em δ 40,5, δ 47,9 e δ 50,2 ppm.



Figura 1.56. Espectro de RMN de ^1H de **30d** (CDCl₃, 300MHz).

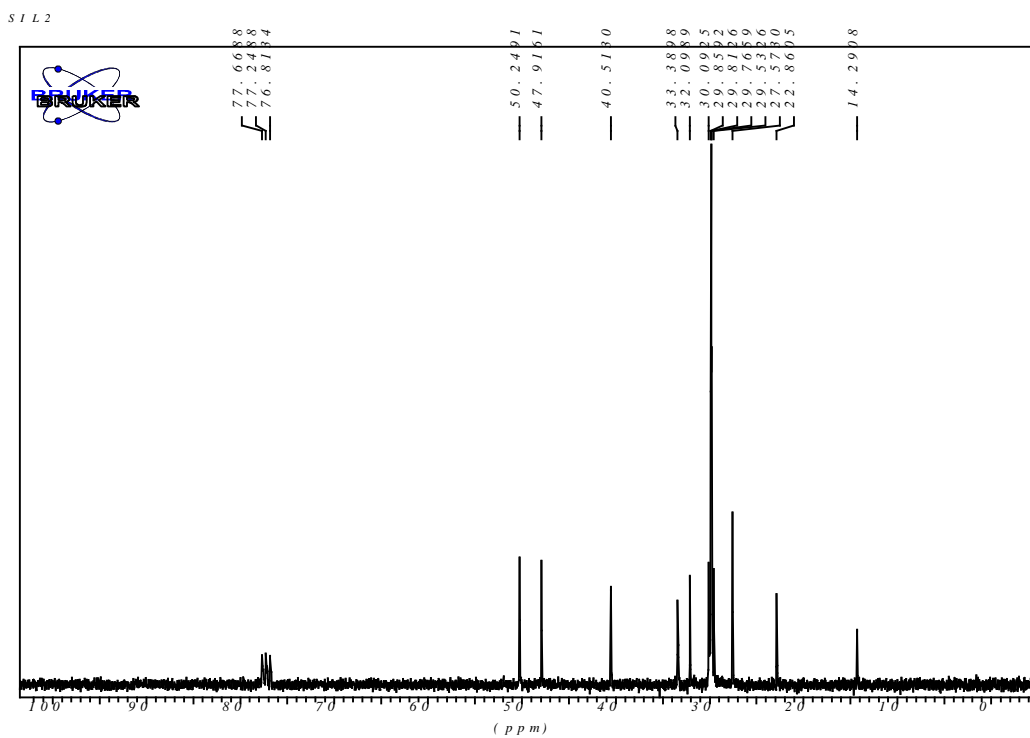
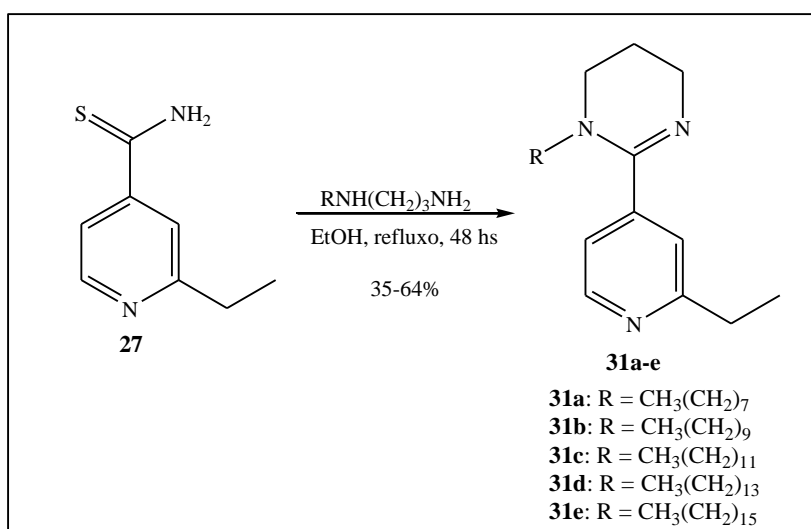


Figura 1.57. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **30d** (CDCl₃, 75MHz).

Os derivados tetraidropirimidínicos foram obtidos por reação da etionamida **27** em etanol com as diaminas *N*-alquiladas **30a-e** sob refluxo (Esquema 1.22). Cada reação durou em média 48 horas e os produtos foram purificados por coluna cromatográfica e/ou placa preparativa. Esses compostos foram obtidos em 35% a 63% de rendimento. Como esses compostos possuem estruturas químicas semelhantes, neste capítulo serão mostrados e analisados os espectros de massa, RMN de ^1H e ^{13}C do composto **31d**.



Esquema 1.22. Síntese dos derivados tetraidropirimidínicos **31a-e**.

No espectro de massa de **31d** (Figura 1.58) tem-se um pico em 386,5 m/z referente ao íon molecular mais um (M+H).

No espectro vibracional da região de infravermelho do composto **31d** (Figura 1.59), observou-se uma banda de baixa intensidade atribuída à deformação axial de C-H aromático em 3161 cm^{-1} . Observa-se igualmente nesse espectro duas bandas referente à deformação axial da ligação C-H alifático em 2927 e 2853 cm^{-1} . A banda em 2063 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial de C-C=N.

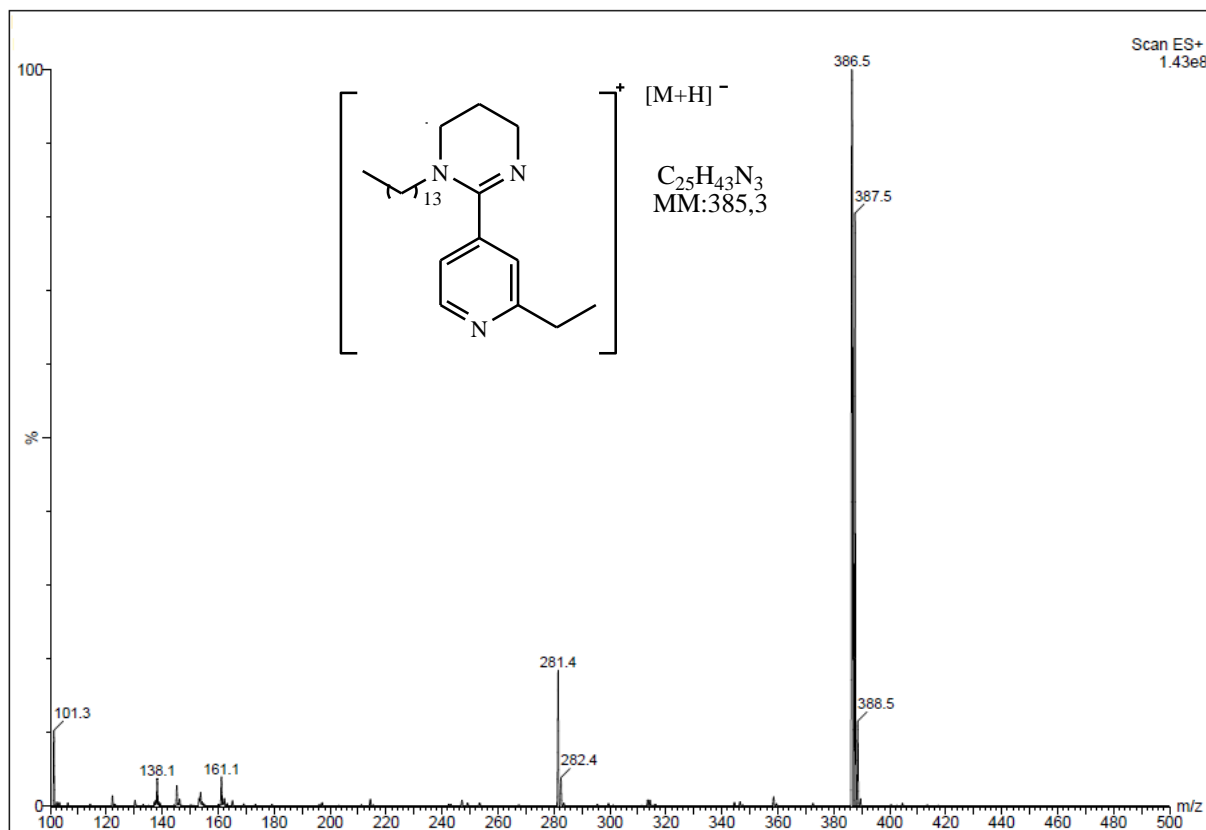


Figura 1.58. Espectro de massa de 31d.

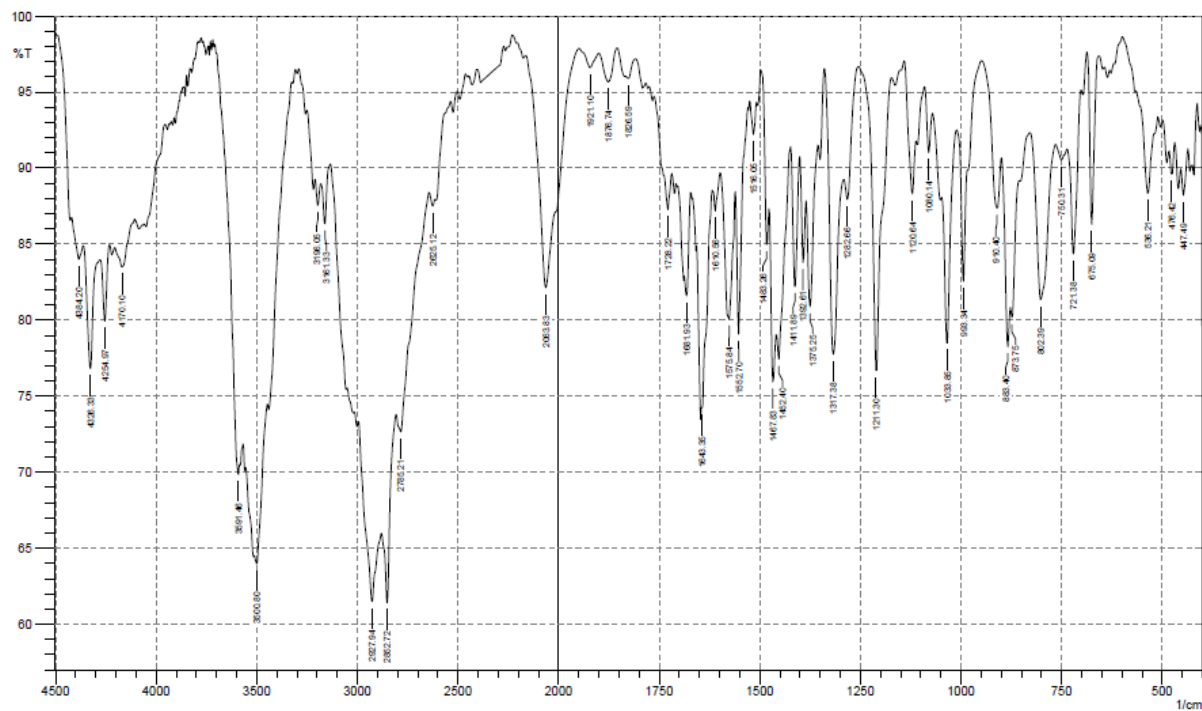


Figura 1.59. Espectro de infravermelho de 31d (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **31d** (Figura 1.60) foi observado um triplete em δ 0,96 ppm atribuído aos hidrogênios de metila H-14'. O multipletto centrado em δ 1,33 ppm corresponde aos hidrogênios metilênicos H-13' a H-3'. O triplete em δ 1,42 ppm foi atribuído a metila H-2'''. O simpleto em δ 7,46 ppm foi atribuído a H-3'' e H-5''. O dupletto em δ 8,80 ppm foi atribuído a H-6''. A correta atribuição dos demais hidrogênios puderam ser realizadas pela análise do mapa de contornos ^1H x ^1H (COSY) (Figura 1.61). Os multiplettos centrados em δ 1,65 e 2,26 ppm foram atribuídos a H-2' e H-5, respectivamente. O simpleto largo em δ 3,00 ppm foi atribuído a H-1'''. O triplete em δ 3,32 ppm foi atribuído a H-1'. O multipletto em δ 3,70 ppm foi atribuído a hidrogênios de CH_2N de H-4 e H-6.

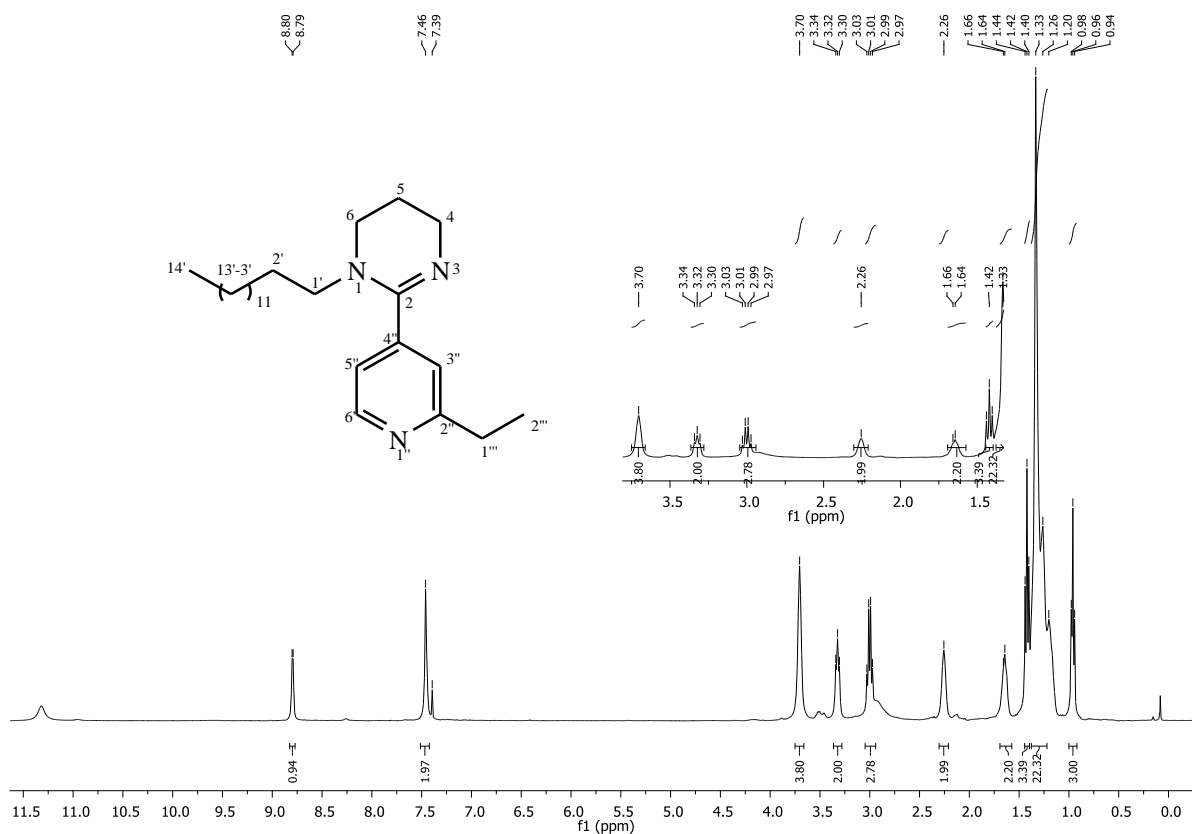


Figura 1.53. Espectro de RMN de ^1H de **31d** (CDCl_3 , 400 MHz).

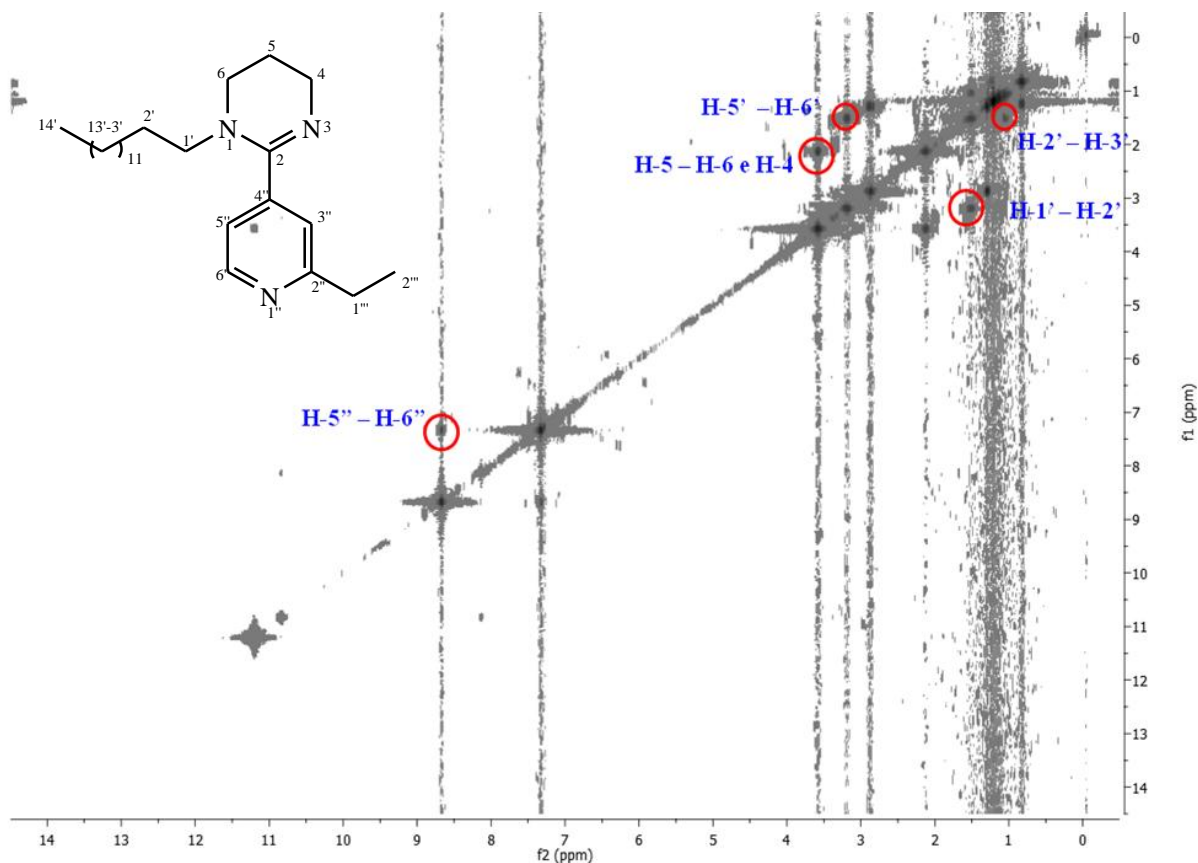


Figura 1.61. Mapa de contornos COSY do composto **31d** (CDCl₃, 400 MHz).

No espectro de RMN de ¹³C de **31d** (Figura 1.62) foi observado um sinal em δ 13,5 ppm referente ao carbono de metila (C-14') da porção alifática. Os sinais entre δ 14,1 e 31,4 ppm foram atribuídos aos carbonos metilênicos da cadeia alquila (C-13' a C-2'). O sinal em δ 31,9 foi atribuído a C-1'''. Os sinais em δ 39,2, 45,9 e 53,0 ppm foram atribuídos a C-1', C-4 e C-6. Os sinais entre δ 119,6 e 159,8 ppm correspondem aos carbonos piridínicos. O sinal em δ 165,0 ppm foi atribuído ao carbono de imina C-2.

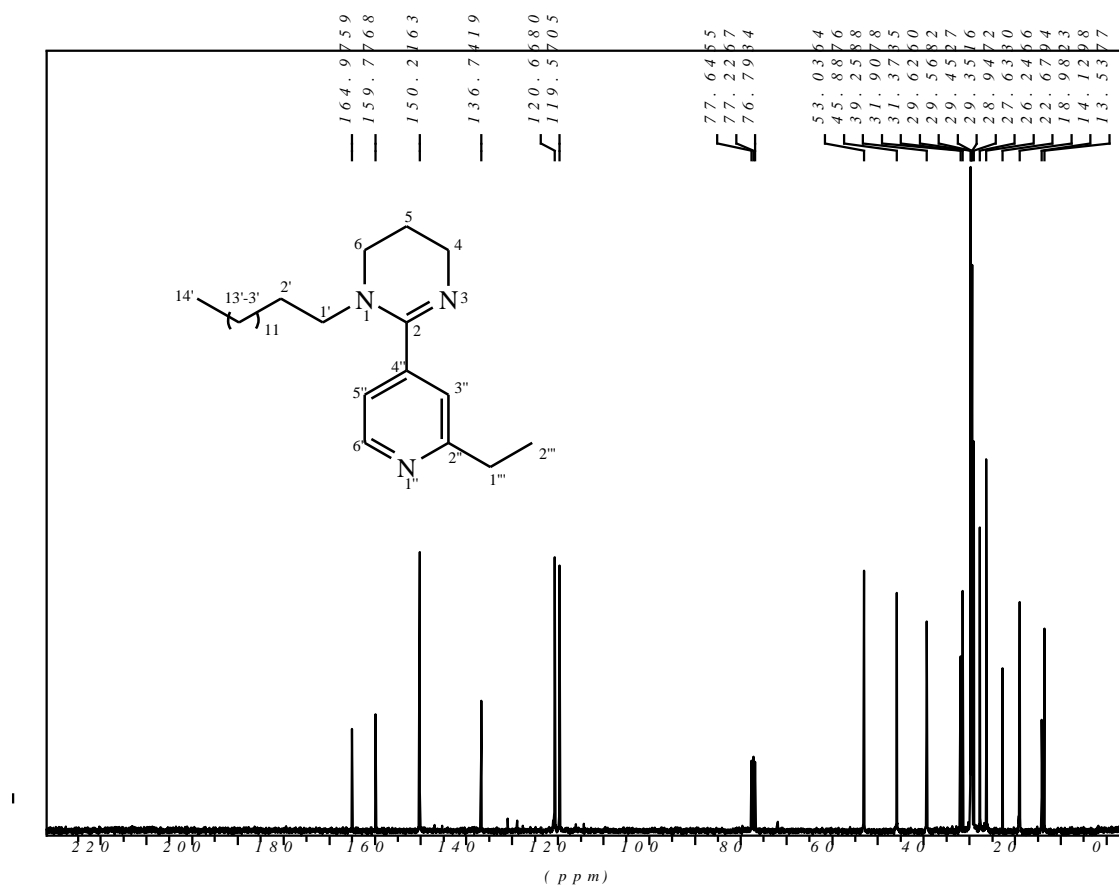


Figura 1.62. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **31d** (CDCl_3 , 75 MHz).

1.4. ENSAIOS BIOLÓGICOS

Conforme foi descrito anteriormente, o óxido nítrico participa do metabolismo oxidativo dos macrófagos, sendo importante na resposta inflamatória (BECKMAN e KOPPENOL, 1996). Entretanto, ele pode induzir reações tóxicas contra outros tecidos do hospedeiro, no caso de doenças autoimunes e situações de sobrecarga exageradas do organismo (ROTHER e KOLB, 1999). A redução da liberação de NO pode ser caracterizada como uma propriedade anti-inflamatória. Além disso, a inibição de NO poderia aliviar os efeitos adversos do excesso de produção que ocorre durante o processo inflamatório crônico (KIM *et al*, 2009).

Diferentes estudos com derivados antraquinônicos têm mostrado seu potencial efeito inibitório sobre a liberação de NO (DREWINKO *et al*, 1983). Sendo assim, os compostos **12**,

13, 15, 16, 19, 22-26, 31a e 31d-e foram submetidos a teste de viabilidade celular e avaliação de produção de NO.

Os testes foram realizados no Laboratório de Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB/UFJF) pelos doutorandos Caio César de Souza Alves e Sandra Bertelli Ribeiro de Castro, sob a coordenação da profa. Dra. Ana Paula Ferreira.

1.4.1. Preparo dos Compostos para Teste *in vitro*.

O fármaco de referência utilizado neste ensaio foi a mitoxantrona (MTX) (Quiral Química do Brasil SA, Juiz de Fora, MG, Brasil). Os compostos **12, 13, 15, 16, 19, 22-26, 31a e 31d-e** foram avaliados *in vitro*. Estes e a mitoxantrona foram diluídos inicialmente em dimetilsulfóxido, filtrado em filtro milipore 13mm de diâmetro, e as diluições sucessivas foram feitas em meio RPMI – 1640 suplementado com 5% de soro fetal bovino, 1% de aminoácidos essenciais e 1% de antibiótico penicilina-estreptomicina (Gibco – Invitrogen, CA, USA).

1.4.2. Teste de Viabilidade Celular

A viabilidade celular e a citotoxicidade foram determinadas pelo método colorimétrico do MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]}, baseado na redução do tetrazólio sódico em formazan pelas desidrogenases mitocondriais (TEIXEIRA *et al*, 2005). Após 48 horas de cultivo das células de linhagem J774.A-1, foi adicionado 100 mL de meio RPMI-1640 suplementado, em seguida 10 mL da solução de MTT a 5 mg/mL às células restantes (Figura 1.63). As células foram incubadas na presença do mitoxantrone e/ou de seus análogos (0,2, 1, 5 e 25 µg/mL) por 1 hora e, posteriormente, estimulada por LPS (1 µg/mL) e IFN-γ (0,9 ng/mL) e mantidas em cultura a 37 °C em atmosfera de 5% CO₂ durante 48 horas para dosagem de NO. A reação do MTT foi interrompida utilizando-se 100 mL de uma solução de isopropanol-ácido clorídrico (50 mL isopropanol + 50 mL HCl 10N) e incubada por 10 minutos. A leitura foi realizada a 570 nm em leitor de microplacas (Spectramax 190 – Molecular Devices – US).

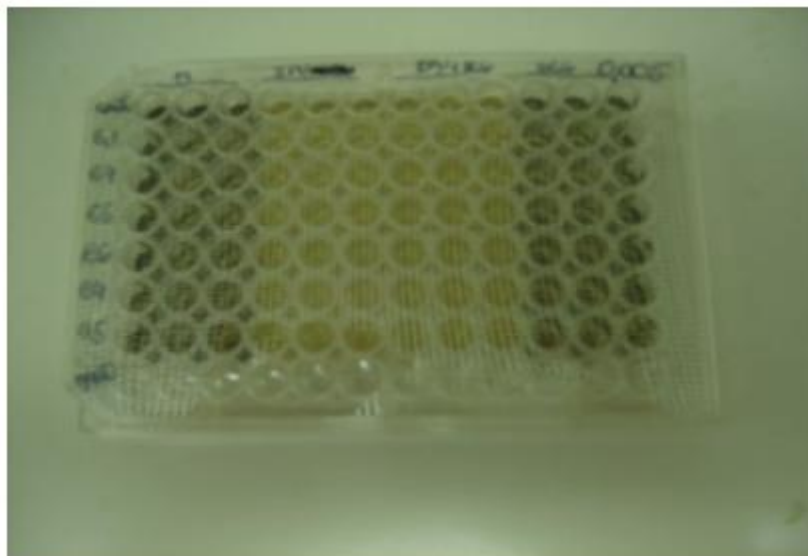


Figura 1.56. Ensaio de viabilidade celular pelo método MTT.

1.4.3. Avaliação da Inibição de Produção de NO

O NO (óxido nítrico) é biosintetizado através da L-arginina pela enzima óxido nítrico sintase. Como o NO possui uma vida curta, a produção de NO foi estimada pelo acúmulo de nitrito (NO_2), um produto estável da oxidação do NO, usando o reagente de Griess (GREEN *et al*, 1982).

Para as dosagens de NO foram utilizadas alíquotas de 50 mL das amostras de sobrenadantes da cultura de células da linhagem J774.A-1, colhidas anteriormente. As amostras foram colocadas em poços de placas de 96 poços, em triplicata, e em seguida adicionado 100 mL do reagente de Griess: 50 mL de sulfanilamida (Sigma) 1% + 50 mL de dicloridrato de α -naftiletilenodiamina (Sigma) 0,1% em ácido fosfórico 2,5% (Sigma)-NEED. O reagente também foi adicionado à curva. Foi feita uma solução estoque inicial de NaNO_2 1M, para realização da curva-padrão. Esta solução foi diluída a 200 mM para dar início à curva até 11ª diluição na razão dois, em água destilada. Foram utilizados 100 mL da diluição em cada poço. A leitura da absorbância foi realizada em leitor de microplacas, com comprimento de onda de 540 nm (Spectramax 190–Molecular Devices – US) (Figura 1.64). A produção do NO_2 foi quantificada através de comparação à curva-padrão.



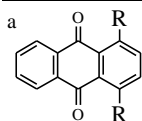
Figura 1.64. Leitor de microplacas Spectramax, utilizado no Método do MTT e no Método de Griess.

Análise dos Resultados de Viabilidade Celular e Inibição de NO

Na Tabela 1.5 encontram-se os resultados de viabilidade celular dos derivados antraquinônicos. Podemos observar que as substâncias com cadeias lipofílicas (**12**, **13**, **15** e **16**), o dicloreto **19** e a diamina com cadeia curta **25** não foram citotóxicas nas concentrações testadas. As demais substâncias diiodeto **22**, dibrometo **23**, diazida **24** e diol **26**, além da mitoxantrona, foram citotóxicas na concentração máxima de 25 µg/mL.

Tabela 1.5. Resultados de viabilidade celular dos derivados antraquinônicos **12**, **13**, **15**, **16**, **19**, **22-26** em linhagem de células J774 A.1.

Compostos	R ^a	Viabilidade Celular (%)			
		Concentração (µg/mL)			
		25 ^b	5	1	0,2
12	NHCH ₂ (CH ₂) ₁₀ CH ₃	100	100	100	100
13	NHCO(CH ₂) ₁₀ CH ₃	100	100	100	100
15	OCO(CH ₂) ₁₀ CH ₃	100	100	100	100
16	OCH ₂ (CH ₂) ₁₀ CH ₃	100	100	100	100
19	O(CH ₂) ₃ Cl	100	100	100	100
22	O(CH ₂) ₃ I	76,4	100	100	100
23	O(CH ₂) ₃ Br	74,3	100	100	100
24	O(CH ₂) ₃ N ₃	71,3	100	100	100
25	O(CH ₂) ₃ NH ₂	100	100	100	100
26	O(CH ₂) ₃ OH	82,4	100	100	100
Mitoxantrona	-	20,7	21,1	35,4	54,8



Os resultados de inibição de NO (Tabela 1.6) mostraram que dentre as substâncias que não foram citotóxicas, a diamina **12**, contendo cadeia lipofílica, inibiu 92,6% da produção de NO na concentração máxima de forma dependente. Esta substância apresentou melhor resultado se comparado com o fármaco de referência mitoxantrona, cuja inibição foi de 90,4%, sendo que esta última é citotóxica em todas as concentrações testadas, logo sua inibição está relacionada com sua citotoxicidade. As demais substâncias lipofílicas **13**, **15** e **16** também apresentaram valores de inibição significativos na concentração máxima, sendo estes de 58,4%, 73,4% e 62,4%, respectivamente.

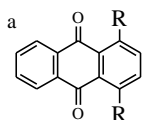
Dentre as substâncias com cadeia curta, o dicloreto **19** e o diiodeto **22** apresentaram maior taxa de inibição na concentração máxima, sendo de 57,8 % e 103,9%, respectivamente. Apesar da citotoxicidade do diiodeto **22** na concentração máxima, este apresentou uma significativa inibição de NO de 53,4 % na concentração de 5 µg/mL, sem afetar a viabilidade celular. Este também apresentou porcentagem de inibição acima de 100%, tal valor se faz

devido ao crescimento celular, logo esta substância também conseguiu inibir NO das células que proliferaram.

O dibrometo **23** não apresentou efeito inibitório nas concentrações testadas. Os demais derivados **24-26** não apresentaram efeito inibitório significativo.

Tabela 1.6. Resultados de Inibição de NO dos derivados **12, 13, 15, 16, 19, 22-26.**

Compostos	R ^a	NO ^b (%)			
		Concentração (µg/mL)			
		25	5	1	0,2
12	NHCH ₂ (CH ₂) ₁₀ CH ₃	92,6	8,8	0	0
13	NHCO(CH ₂) ₁₀ CH ₃	58,4	16,8	13,7	8,0
15	OCO(CH ₂) ₁₀ CH ₃	73,4	24,0	22,4	20,9
16	OCH ₂ (CH ₂) ₁₀ CH ₃	62,4	16,3	7,9 ^s	1,2
19	O(CH ₂) ₃ Cl	57,8	14,4	4,1	1,3
22	O(CH ₂) ₃ I	103,9 ^{cit}	53,4	23,5	23,2
23	O(CH ₂) ₃ Br	0	0	0	0
24	O(CH ₂) ₃ N ₃	32,5 ^{cit}	11,1	14,7	9,0
25	O(CH ₂) ₃ NH ₂	6,8	0	0	0
26	O(CH ₂) ₃ OH	23,7 ^{cit}	0	0	0
Mitoxantrone	-	90,4 ^{cit}	69,1 ^{cit}	41,4 ^{cit}	22,3 ^{cit}



^bA porcentagem de inibição foi calculada em relação ao LNMA inibição e estímulo das células controle (LPS e IFN- γ). Os resultados foram calculados usando $100 - ((\bar{x}_1 - A) / (\bar{x}_2 - A)) * 100$, considerando-se \bar{x}_1 e \bar{x}_2 a média da concentração de NO (M) em poços contendo o derivado e com células estimuladas por si só, respectivamente. "A" corresponde à concentração de NO no sobrenadante de células não-estimuladas.

^{cit} inibição relacionada à citotoxicidade.

1.4.5. Viabilidade Celular e Inibição de Produção de NO dos Derivados Tetraidropirimidínicos 31a, 31d-e

Os resultados de viabilidade celular (Tabela 1.7) dos compostos **31a** e **31d-e**, mostraram que estes foram citotóxicos na maioria das concentrações testadas para a linhagem de células J774 A.1. Na Tabela 1.8, tem-se os resultados de inibição de NO destes mesmos derivados, foi observado alto poder inibitório, todavia estes valores de inibição de NO não são considerados significativos, haja vista que tal resultado é atribuído a citotoxicidade dos mesmos.

Tabela 1.7. Resultados de viabilidade celular dos derivados tetraidropirimidínicos **31a** e **31d-e** em linhagem de células J774 A.1.

Compostos	n ^a	Viabilidade Celular (%)			
		Concentração (µg/ml)			
		50	5	0,5	0,05
31a	7	3,0	3,9	4,9	68,9
31d	13	23,0	33,1	83,3	89,3
31e	15	32,1	28,2	79,2	91,4

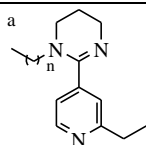
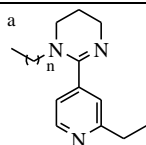


Tabela 1.8. Resultados de Inibição de NO dos derivados tetraidropirimidínicos **31a** e **31d-e**.

Compostos	n ^a	NO (%)			
		Concentração (µg/ml)			
		50 ^b	5	0,5	0,05
31a	7	156,9	111,2	64,4	65,4
31d	13	157,2	157,6	65,0	34,3
31e	15	155,2	155,9	74,7	62,8



^b Concentrações testadas (µg/ml).

1.4.6. Ensaios de EAE

Conforme mencionado na introdução deste trabalho, a EAE (Encefalomielite Auto-imune Experimental) é um modelo animal experimental que pode ser usado para estudar a esclerose múltipla (EM). Uma das estratégias para o tratamento de doenças auto-imunes como EM é a exclusão de células-T auto-agressivas. Além disso, as terapias para impedir o curso da EM ainda são inseguras e ineficientes para aliviar os danos e incapacidade causada pela doença (PIAO *et al*, 2007).

No decorrer dos ensaios de inibição de NO, as substâncias que apresentaram resultados *in vitro* satisfatórios foram submetidos a estudos de EAE. Estas substâncias foram a diamida **13** e o diiodeto **22**. Estes não foram os compostos que apresentaram melhor resultado biológico, porém, no momento em questão, eram os que possuíam os valores mais significativos, pois a diamina **12** e o diéster **15** ainda não haviam sido sintetizados e, consequentemente, avaliados.

1.4.6.1. Animais utilizados

Foram utilizadas fêmeas de camundongos do tipo C57BL de 6-8 semanas de idade obtidas do Biotério da UFJF. Todos os procedimentos utilizados foram de acordo com os princípios do Código Brasileiro para o Uso de Animais de Laboratório. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFJF sobre o uso de animais de laboratório (protocolo número 006/2008).

1.4.6.2. Indução à EAE

Grupos de 5-7 camundongos foram imunizados pela cauda por via subcutânea com 100 mg de MOG 35-55 peptídeo (Sigma Chemical Co., Saint Louis, EUA) emulsionados vol / vol em adjuvante de Freund completo (CFA) (Sigma) suplementado com 400 mg de *Mycobacterium tuberculosis* atenuado H₃₇RA (Difco, Detroit, EUA). Toxina pertussis, 300 ng/animal (Sigma), foi injetada por via intraperitoneal no dia da imunização e novamente 48 horas depois. Camundongos não imunizados e imunizados, mas não tratado (EAE) foram utilizados como controle. Os animais foram monitorados diariamente e o comprometimento neurológico foi quantificado (006/2008).

1.4.6.3. Avaliação Clínica

Os camundongos foram pesados e observados os sinais clínicos da EAE diariamente até 21 dias pós-imunização.

1.4.6.4. Tratamento com diamida 7, diiodeto 16 e Mitoxantrona

Os camundongos imunizados foram divididos em quatro grupos. Um grupo não recebeu nenhum tratamento, enquanto os outros receberam de acordo com seu peso corporal mg/kg de mitoxantrona (MTX), **13** e **22** em dimetilsulfóxido (Sigma) ip 10% diária (PIAO *et al*, 2007; DE PAULA *et al*, 2008). O tratamento foi introduzido durante 7 dias. No grupo não imunizado foi aplicado apenas DMSO 10%

1.4.6.5. Resultados de EAE

A citotoxicidade de MTX das substâncias **13** e **22** foi determinada pelos ensaios de viabilidade celular (Tabela 1.5), no qual **7** não foi citotóxico nas concentrações testadas, **22** foi citotóxico apenas na concentração máxima e mitoxantrona foi citotóxica em todas as concentrações testadas.

O dano axonal em um modelo de EAE é representado por sinais bem definidos, tais como perda de peso, paralisia da cauda e fraqueza dos membros posteriores (DE PAULA *et al*, 2008). A gravidade de EAE foi registrada diariamente usando uma medição de peso e uma escala de pontuação clínica. Os camundongos imunizados apresentavam sinais de EAE como fraqueza ou paralisia de sua cauda e membros, bem como perda de peso corporal, que se tornou aparente em torno de 10-12 dias após imunização. A evidência clínica de doença nos grupos tratados atingiu um máximo de 16 dias após a imunização, mantendo uma pontuação clínica baixa, enquanto o grupo não tratado atingiu seu pico no dia 19, com uma pontuação clínica elevada, de acordo com a avaliação de suas pontuações clínicas. A partir do 17º dia, os grupos tratados com **13**, **22** e MTX apresentaram diferenças pronunciadas em EM se comparados aos não-tratados. Todavia não houve diferença entre os tratados com **13**, **22** e MTX.

Após 21 dias os camundongos foram sacrificados por overdose de quetamina e xilazina, foram isolados extratos teciduais do cérebro e analisados. A análise dos tecidos cerebrais mostrou que nos grupos tratados com **13**, **22** e MTX houve diminuição da produção de citocinas no cérebro (IL-12p40, IL-17, IFN- γ e TGF- β), sugerindo que houve uma alteração na diferenciação de células Th17. Muitos autores mostraram que as citocinas IL-17 e IFN- γ

desempenham um papel importante na indução e gravidade de EM e EAE (LEADBETTER *et al*, 1998; MCGEACHY *et al*, 2007). IL-17 está envolvida na coordenação da inflamação do tecido local através do aumento de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (IMLER e PETRO, 2009), sendo assim a deficiência de IL-17 impede o desenvolvimento ou a redução da gravidade de EAE (MCGEACHY *et al*, 2007).

Além disso, o tratamento com **13** mostrou que houve uma diminuição da porcentagem de células T (CD4, CD8 e CD3) no baço, sugerindo que esta substância tem o mesmo perfil apresentado por MTX no qual sua função supressora foi reforçada. Estudo anterior mostrou que uma outra substância antracênica semelhante a MTX foi capaz de reduzir o número de células T no baço (FIDLER *et al*, 1998; PIAO *et al*, 2007).

Os efeitos de **13** e **22** podem ser comparados aos de MTX e, com base nos resultados apresentados, sugere-se que o principal mecanismo responsável pelos efeitos clínicos desta substância é a ação citotóxica não-específica sobre os linfócitos. No entanto, são necessários estudos adicionais para verificar a eficácia, segurança e riscos toxicológicos em EM.

1.5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

1.5.1. Conclusões

Nesta parte do trabalho foram sintetizados primeiramente 10 derivados antraquinônicos, 4 com cadeias lipofílicas e 6 com cadeias curtas, destes apenas o dibrometo **23** não é inédito. Foram realizados experimentos de viabilidade celular das substâncias **12-13**, **15-16**, **19** e **22-26**. Todas as substâncias foram menos citotóxicas que a Mitoxantrona nas concentrações testadas e em seguida estas substâncias foram avaliadas quanto à capacidade de inibição de produção de NO. As substâncias contendo cadeias lipofílicas apresentaram o melhor poder de inibição de NO, destacando a diamina **12** com 92,6 %. As substâncias **13** e **22** foram submetidas a testes no modelo de EAE em camundongos, os resultados mostraram que os camundongos tratados com estas substâncias obtiveram uma melhora nos sinais clínicos da doença.

A segunda parte deste capítulo consistiu na síntese de 5 novas tetraidropirimidinas **31a-e** que foram obtidas em rendimentos baixos a moderados devido a formação de vários subprodutos e pela dificuldade de purificação. As tetraidropirimidinas **31a**, **31d** e **31e** também foram submetidas a teste de viabilidade celular e de inibição de NO, todavia foram citotóxicas em todas as concentrações testadas.

1.5.2. Perspectivas

- Dar continuidade aos testes *in vivo* com as substâncias **13** e **22** no modelo de EAE, pois possuem menor efeito cardiotóxico se comparado com Mitoxantrona;
- Testar a substância **12** no modelo de EAE.

*Capítulo 2. Síntese e avaliação antituberculose de N-acilidrazonas
derivadas de aminoácidos*

2.1. INTRODUÇÃO GERAL

Apesar de ser uma das doenças infecciosas mais antigas, bem conhecidas e há mais de meio século vulnerável ao tratamento medicamentoso, a tuberculose (TB) permanece como um dos principais agravos à saúde a ser enfrentado em âmbito global. Contribui para esse fato as desigualdades sociais, insuficiência de pesquisas visando o desenvolvimento de novos tratamentos, fármacos e vacinas, fluxos migratórios, deficiências do sistema de saúde e alta prevalência dos casos de tuberculose resistentes e associados à infecção pelo HIV (BARREIRA e GRANGEIRO, 2007).

Foi considerada durante muito tempo como uma doença negligenciada, todavia, em 1993, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a situação da tuberculose como uma emergência pública mundial. Com isso, diversos segmentos têm voltado a atenção a essa problemática, principalmente em países onde a epidemia é mais severa (NETTO, 2002).

Curável desde os anos de 1950, a TB é atualmente, um grave problema de saúde pública nos países em desenvolvimento. Como exemplo, podemos citar o Brasil, que ocupa a 19ª posição no ranking mundial em números absolutos de casos. O crescimento dessa doença nas nações mais ricas, onde esteve controlada por décadas, é um alerta para que todos os profissionais de saúde fiquem mais atentos à doença, que corre o risco de voltar a ser incurável (GALESI e SANTOS, 2004).

2.1.1. A tuberculose (TB)

A tuberculose é uma doença contagiosa grave, tão antiga quanto à humanidade, haja vista que documentos antigos de hindus e chineses já descreviam uma doença pulmonar semelhante à tuberculose. Existem também relatos da evidência da TB em ossos humanos pré-históricos encontrados na Alemanha e datados de 8000 a.C. (KRITSKI e RUFINO, 2000). No entanto, somente em 1882 a bactéria responsável pela doença, o *Mycobacterium tuberculosis* (Figura 2.1) foi isolado pelo cientista alemão Robert Koch e, em sua homenagem, o bacilo da tuberculose ficou conhecido como bacilo de Koch (BK) (BLOOMFIELD, 2002).

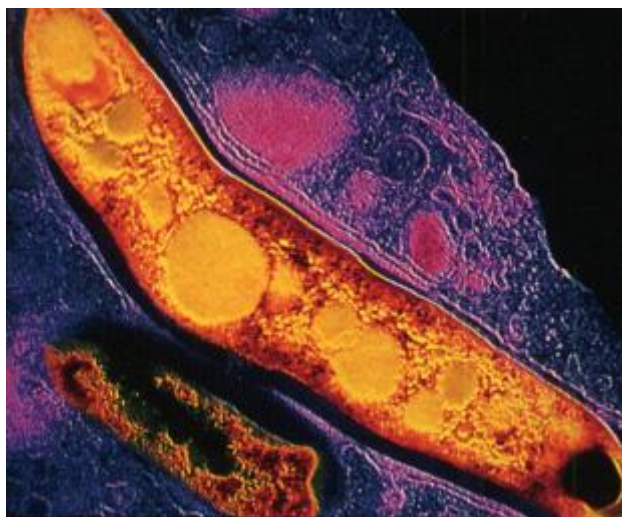


Figura 2.1. Foto de microscopia eletrônica do *Mycobacterium tuberculosis* (<http://www.health-healths.com/usually-mycobacterium-tuberculosis/usually-mycobacterium-tuberculosis.php>).

A TB é transmitida basicamente pelo ar e pode atingir todos os órgãos do corpo, porém como o BK se reproduz e se desenvolve rapidamente em áreas do corpo com muito oxigênio, o pulmão é o principal órgão atingido pela doença. O espirro ou tosse de uma pessoa infectada joga no ar cerca de dois milhões de bacilos que permanecem em suspensão durante horas. Após um período de 15 dias, os bacilos passam a se multiplicar facilmente nos pulmões, pois ainda não há proteção natural do organismo contra a doença. Se o sistema de defesa não conseguir destruir o bacilo, instala-se a TB primária, caracterizada por pequenas lesões (nódulos) nos pulmões. Com o tempo e sem o devido tratamento, o avanço da doença começa a provocar sintomas mais graves. De pequenas lesões, os bacilos cavam as chamadas

cavernas tuberculosas, que costumam inflamar com freqüência e sangrar. A tosse, nesse caso, não é seca, mas com pus e sangue, é a chamada hemoptise. Os sintomas de uma pessoa que foi infectada pelo bacilo geralmente são: tosse crônica, febre, suor noturno, dor no tórax, anorexia e adinamia (falta de disposição) (SOUZA e VASCONCELOS, 2005).

As formas extra-pulmonares mais freqüentes da doença são a pleural (que ocorre por ruptura de pequenos focos pulmonares subpleurais) - 45%, a linfática - 15%, a gênito-urinária - 16%, a miliar (disseminação por ruptura de lesão dentro de um vaso sanguíneo com disseminação dos bacilos por todo organismo) - 10% e a osteo-articular - 7%. A forma extra-pulmonar representa cerca de 18% do total de casos notificados (SOUZA, 2005).

São mais suscetíveis à doença, idosos, as crianças, profissionais de saúde, mineiros portadores de silicose, pessoas com problemas de alcoolismo e nutrição, usuários de medicamentos como corticóides e portadores de outras doenças como o diabete, neoplasias (mais comumente os linfomas e a AIDS) e a sarcoidose (DE SOUZA e FERREIRA, 2008).

Os exames usados na tentativa do diagnóstico de certeza são a baciloscopia do escarro, a radiologia do tórax e o teste tuberculínico (PPD) que evidencia o contato prévio com o bacilo e a cultura do escarro ou outros líquidos sem meio apropriado. Outro teste utilizado é o teste de Mantoux, que pode auxiliar no diagnóstico da doença. Este teste é feito injetando-se tuberculina (uma substância extraída da bactéria) debaixo da pele. Se, após 48-72h, houver uma grande reação de pele, significa que pode haver uma infecção ativa ou uma hipersensibilidade pela vacinação prévia com BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) feita na infância. Este exame não confirma o diagnóstico, mas pode auxiliar o médico.

– Com o surgimento, em 1981, da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA/AIDS), vem-se observando, tanto em países desenvolvidos como nos países em desenvolvimento, um crescente número de casos notificados de tuberculose em pessoas infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). A associação (HIV/TB) constitui, nos dias atuais, um sério problema de saúde pública mundial, podendo levar ao aumento da morbidade e mortalidade pela tuberculose em muitos países (COKER, 2003).

2.1.2. Estatísticas sobre a tuberculose

A estatística mundial não deixa dúvidas para a problemática da saúde no que concerne à tuberculose. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima-se que dois bilhões de pessoas estejam infectadas pelo *M. tuberculosis*, o que representa aproximadamente um terço da população mundial. Estima-se que em 2009, 9 milhões de pessoas desenvolveram a

forma ativa da doença culminando em 1,7 milhões de óbitos, sendo a maior causa de morte por doença infecciosa no mundo (OMS (a), 2010). Os maiores índices da doença são registrados no continente africano e asiático (Figura 2.2), que juntos englobam 50 % dos casos.

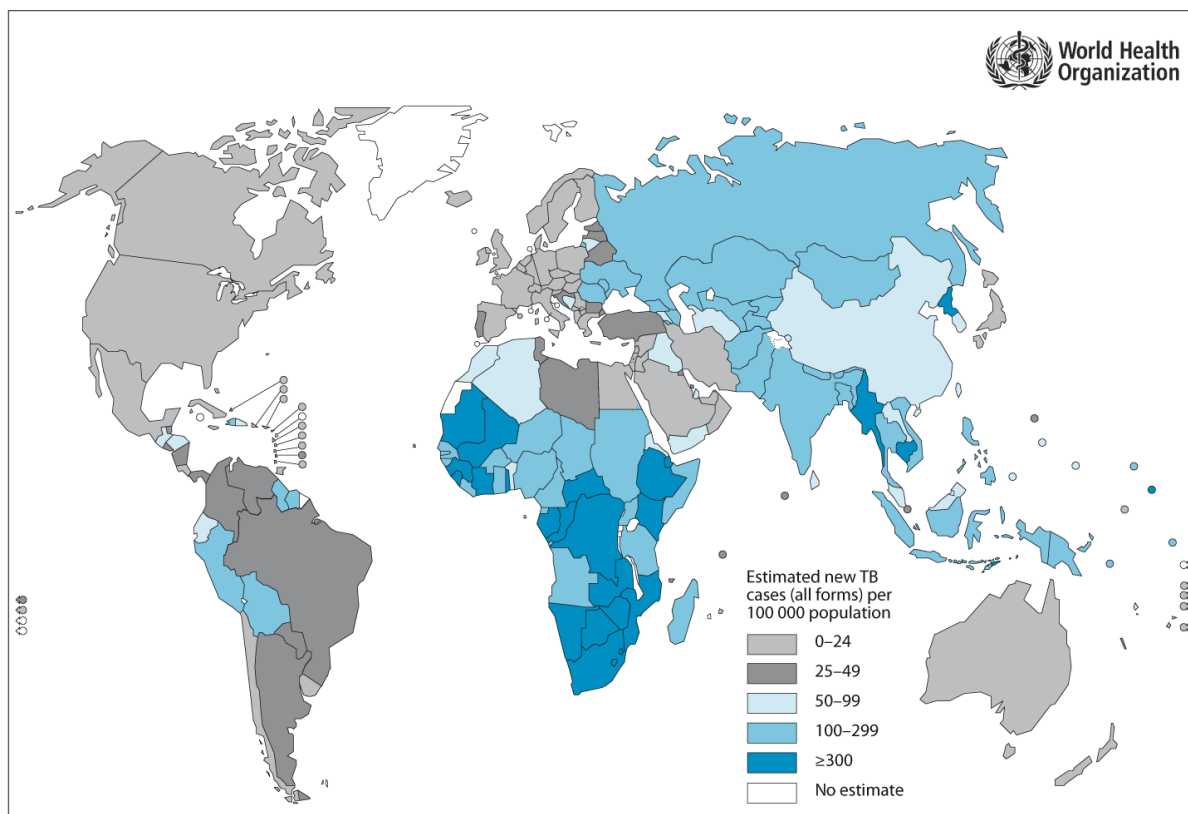


Figura 2.2. Taxa de incidência estimada por país em 2009 (OMS(a), 2010). Dados divulgados em 18/11/2010.

Foi divulgado pelo Ministério da Saúde (MS) em abril de 2011, os índices de novos casos de TB no Brasil, sendo que houve uma redução de 73 mil para 70 mil casos, entre 2008 e 2010. Com esta redução, a taxa de incidência (número de pacientes por 100 mil habitantes) baixou de 38,82 para 37,99. São números positivos, mas que ainda fazem da tuberculose um dos principais problemas de saúde pública do Brasil. No país, a tuberculose é a terceira causa de óbitos por doenças infecciosas e a primeira entre pacientes com HIV-positivo. O Rio de Janeiro é o estado brasileiro com a maior incidência de casos de tuberculose 68,64 para cada 100 mil habitantes, seguido por Amazonas (67,88), Pernambuco (47,61), Pará (43,72), Ceará (43,2) e Rio Grande do Sul (42,53) (Figura 2.3).

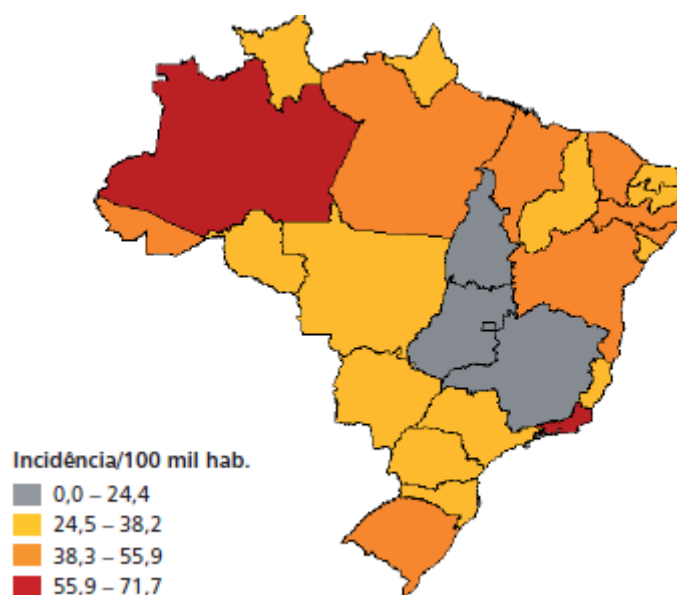


Figura 2.3. Taxas de incidência de casos de TB no Brasil (Boletim Epidemiológico divulgado pelo MS (b) relativo a 2009).

2.1.3. Estrutura do *Mycobacterium tuberculosis*

Sabe-se que as bactérias se classificam geralmente em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas, sendo uma de suas principais diferenças a constituição de sua parede celular. A parede celular das bactérias Gram-positivas possui uma espessa camada de peptidoglicano, espaço periplasmático e membrana plasmática (Figura 2.4.a), enquanto as bactérias Gram-negativas são constituídas por estruturas de múltiplas camadas, bastante complexas, sendo composta por uma camada de peptidoglicano e espaço periplasmático contendo enzimas, dupla camada lipídica, bem como polissacarídeos complexos que formam componentes importantes da superfície externa (Figura 2.4.b) (TRABULSI e ALTERTHUM, 2004).

O gênero *Mycobacterium tuberculosis* é um tipo de bactéria Gram-positiva, e grande parte da definição estrutural do seu gênero *Mycobacterium sp.* já era conhecida desde as décadas de 1960 e 70. Recentemente a evolução das técnicas analíticas e o estudo do genoma do *M. tuberculosis* resultaram em uma maior compreensão, não só da estrutura de sua parede celular, mas também de sua base genética e biossíntese, definindo, assim, um potencial alvo para o desenvolvimento de novos fármacos (BRENNAN e CRICK, 2007).

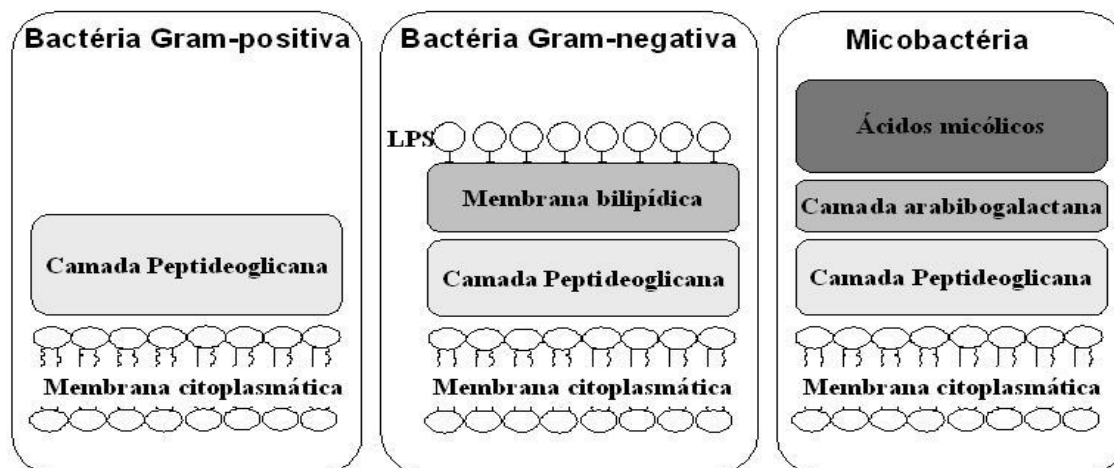
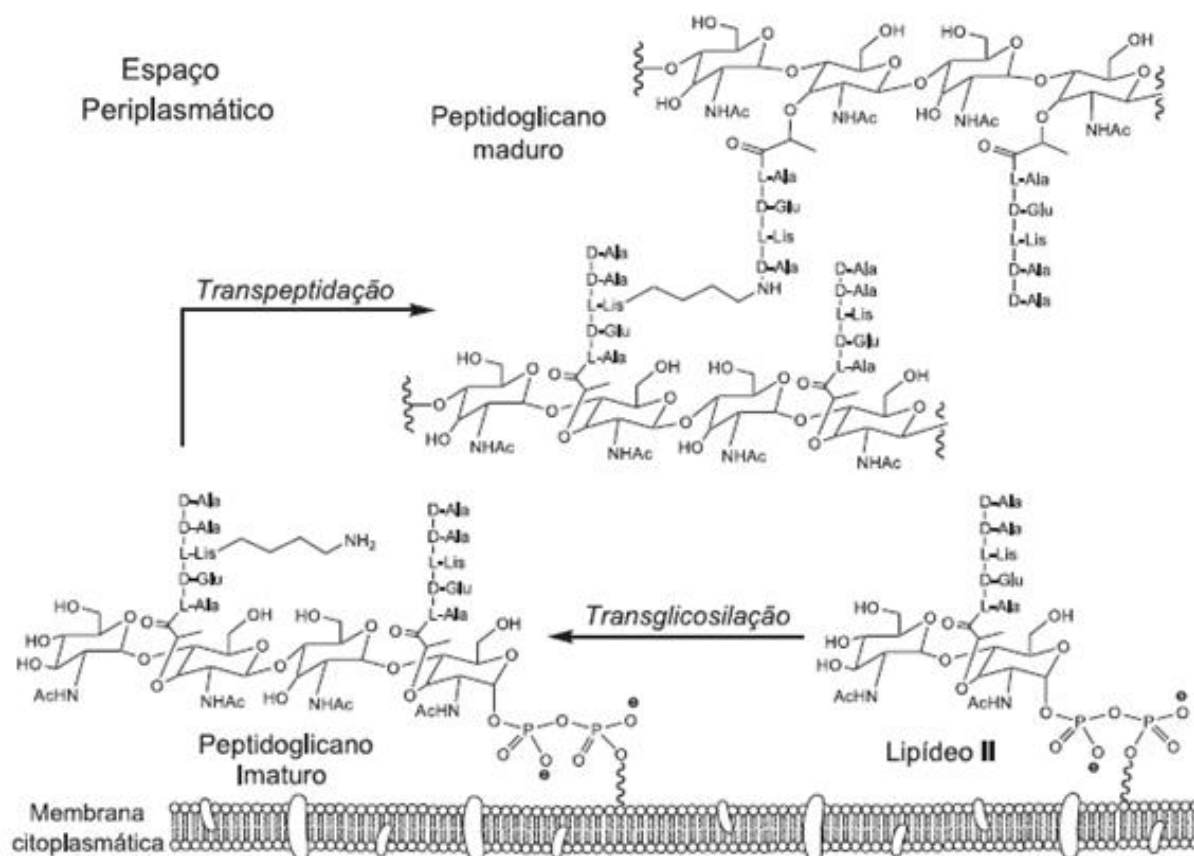


Figura 2.4. Estrutura da parede celular de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e de micobactéria.

A parede celular do *M. tuberculosis* é composta basicamente por três subestruturas ligadas covalentemente: ácidos micólicos, arabinogalactana e peptidoglicano, que representam mais de 60% do peso seco de células (SOUZA *et al*, 2008). O peptidoglicano é um heteropolímero formado por cadeias extensas de polissacarídeos e peptídeos. Essa estrutura molecular é responsável pela rigidez e forma da parede celular das bactérias, além de protegê-las da osmólise quando em meio hipotônico, devido a sua baixa permeabilidade a substâncias hidrofílicas capazes de penetrar na célula através dos canais de porina (SILVEIRA *et al*, 2006).

A biossíntese de um peptidoglicano está representada no Esquema 2.1, no qual ocorre a polimerização do lipídeo II catalisada pela enzima transglicosilase produzindo o peptidoglicano imaturo, constituído de cadeias longas de polissacarídeos, os quais são transversalmente ligados por transpeptidases. Para formar o peptidoglicano maduro, as cadeias longas de polissacarídeos são unidas através de resíduos de aminoácidos, sendo a alanina o aminoácido terminal dessa cadeia (Esquema 2.1). Baseados nesses fatos, muitos antibióticos tem como alvo alterar o metabolismo de construção da parede celular das bactérias.



Esquema 2.1. Síntese bioquímica do peptidoglicano (SILVEIRA, 2006).

2.1.4. Fármacos utilizados no tratamento da tuberculose

Até a descoberta dos antibióticos, o tratamento da tuberculose consistia no repouso ao ar livre em sanatórios especializados, onde metade dos pacientes faleciam. Contudo, a história da medicina começou a mudar em 1928, com a descoberta da Penicilina (Figura 2.5) por Alexander Fleming, sendo considerado um dos maiores acontecimentos da medicina moderna no século XX. Apesar de ser um medicamento extremamente eficaz contra várias doenças, a penicilina se mostrou ineficaz no tratamento da tuberculose. No entanto, o impacto de sua descoberta foi extraordinário e abriu caminho para o estudo e pesquisa de outros antibióticos (FRIEDEN e DRIVER, 2003).

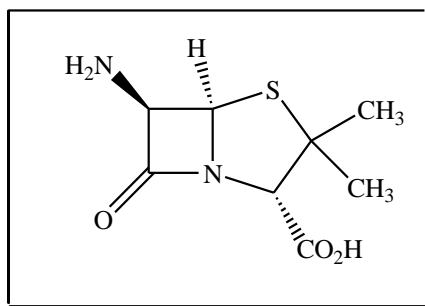


Figura 2.5. Estrutura química da penicilina.

O primeiro fármaco a atuar efetivamente contra o *M. Tuberculosis* foi a estreptomicina (Figura 2.6), que foi descoberta em 1943 por Selman Waksman (DE SOUZA, 2008).

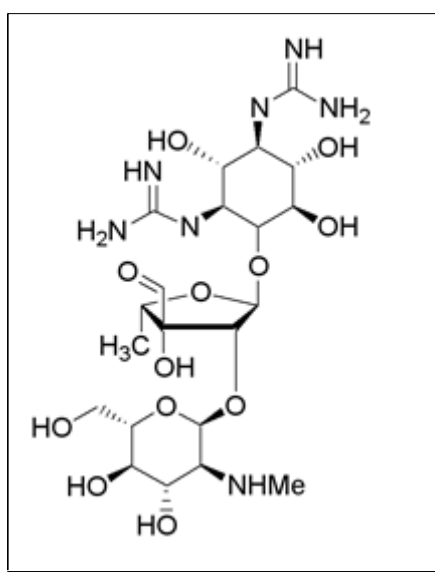


Figura 2.6. Estrutura química da estreptomicina.

Após a descoberta de Waksman, várias substâncias foram sintetizadas e testadas com sucesso no tratamento da TB, destacando-se assim: isoniazida e pirazinamida (década de 1950), etambutol (década de 1960) e rifampicina (final da década de 1960) (Figura 2.7) (DE SOUZA, 2008).

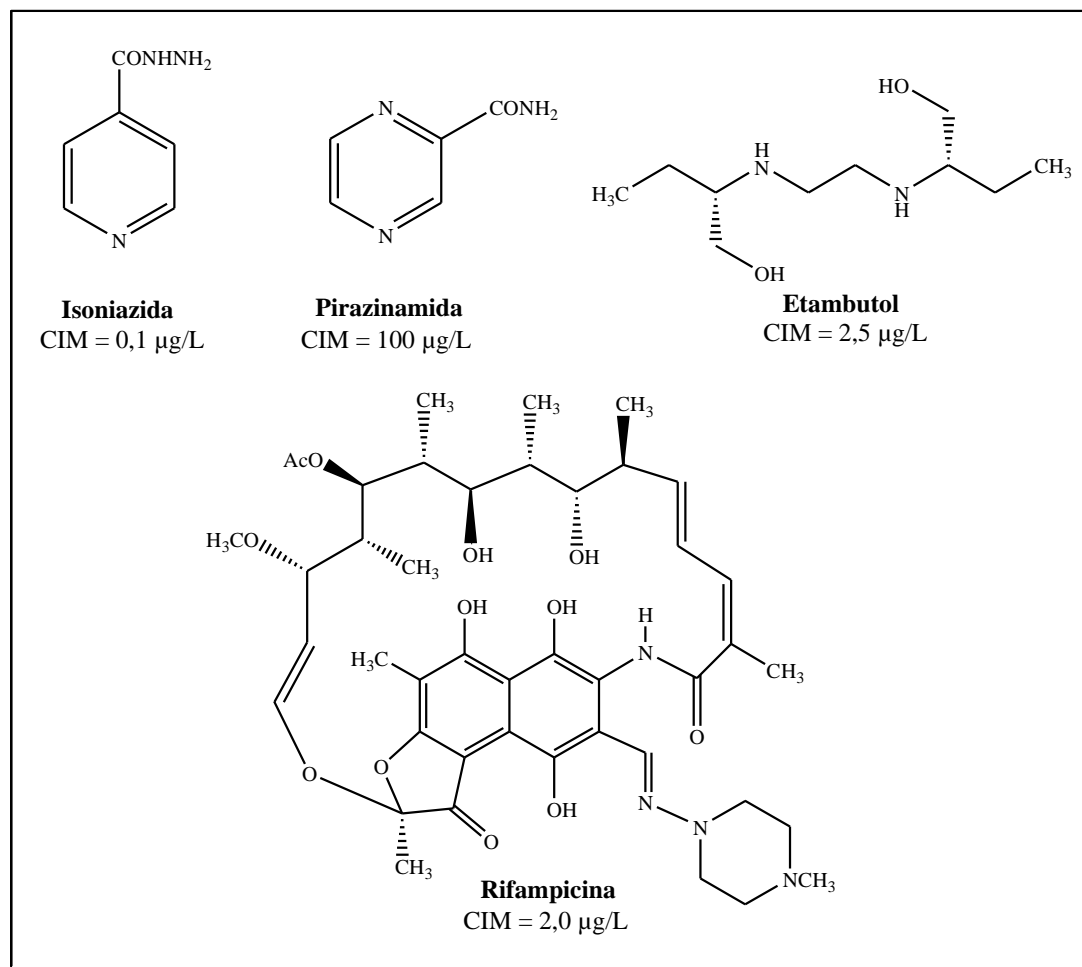


Figura 2.7. Estrutura química dos fármacos de primeira escolha contra a tuberculose e seus respectivos CIM (concentração inibitória mínima).

Os fármacos utilizados no tratamento da tuberculose podem ser classificados em duas categorias, os fármacos de primeira e segunda escolha. Os fármacos comumente chamados de primeira escolha são a primeira opção ao tratamento, podendo ser eficazes na maioria dos casos, sendo estes isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol (Figura 2.7). Os fármacos conhecidos como os de segunda escolha são uma alternativa ao tratamento para pacientes que adquiriram resistência bacteriana aos fármacos de primeira linha, geralmente isto ocorre em função da não adesão total ao tratamento completo. Os fármacos de segunda escolha são: etionamida, ácido *p*-aminosalicílico, cicloserina, tiacetazona, canamicina, amicacina e capreomicina (Figura 2.8) (DE SOUZA *et al*, 2006). Os fármacos podem apresentar efeito bacteriostático ou bactericida, sendo que os bacteriostáticos inibem o

crescimento, desenvolvimento e proliferação celular, enquanto que os fármacos bactericidas eliminam as bactérias, mas não destroem seus metabólitos (ZHANG *et al*, 2005).

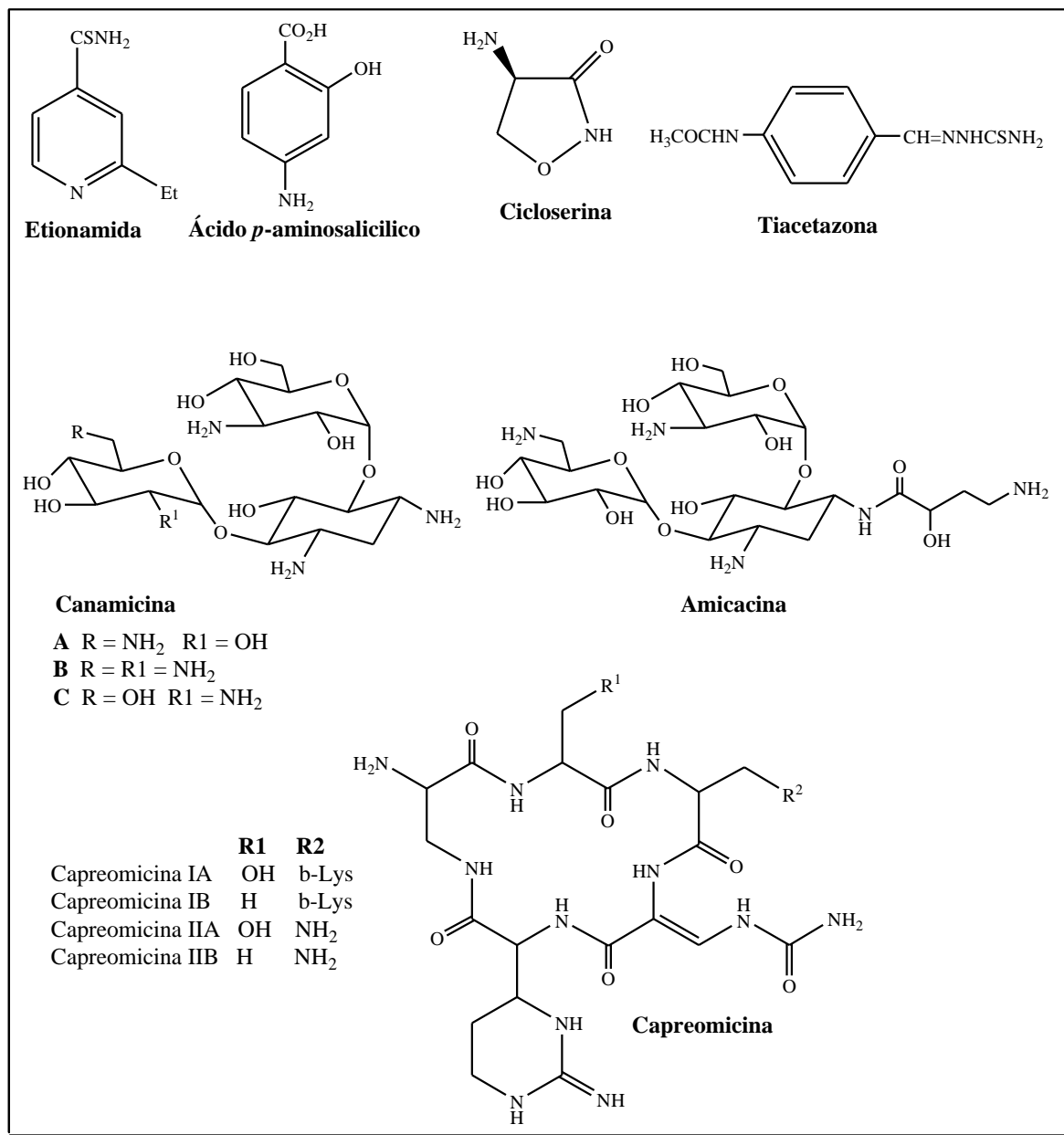


Figura 2.8. Estrutura química dos fármacos de segunda escolha.

O tratamento estabelecido pelo Ministério da Saúde (MS) no Brasil é o mesmo adotado pela OMS. Em pacientes nunca antes tratados contra tuberculose é adotado o “Esquema Básico I”, que consiste de um período de 6 meses. Os 2 primeiros meses é chamado de fase intensiva, e se faz uso de uma combinação de 4 fármacos, rifampicina, isoniazida, etambutol e pirazinamida. Os últimos 4 meses subsequentes, são considerados a

fase de manutenção, utilizando-se apenas isoniazida e rifampicina. Na tabela 2.1 estão representados os esquemas de tratamento e suas posologias (MS (c)). Essa combinação de fármacos se deve primeiramente ao fato da rifampicina ser um fármaco com potente atividade bactericida, capaz de destruir bacilos não eliminados pela isoniazida, como, por exemplo, os bacilos persistentes. Isso torna a combinação eficaz, possibilitando a redução do tempo de tratamento e a prevenção à resistência a outros tipos de fármacos anti-TB. A combinação da pirazinamida no esquema terapêutico é também importante, apesar de ser um fármaco de baixa potência bactericida é um bom bacteriostático, já que é capaz de eliminar bacilos presentes no interior das células onde o pH do meio é ácido, como por exemplo os macrófagos. A pirazinamida é utilizada apenas nos dois primeiros meses do tratamento, porque é durante esse período de tempo que esse fármaco atinge seu máximo efeito esterilizante, existindo muito pouco benefício em seu uso prolongado. A combinação desses três fármacos anteriormente mencionados é tão eficaz que, após duas semanas de tratamento, o paciente infeccioso deixa de propagar a TB, além de ser capaz de curar a TB por completo em mais de 95% dos casos (DE SOUZA, 2005). No Brasil, até 2009 essa fase inicial não continha o etambutol, no entanto com o aumento da resistência bacteriana a isoniazida, baseado nos resultados preliminares apresentados pelo II Inquérito Nacional de Resistência aos medicamentos anti-TB, o Programa Nacional de Controle da Tuberculose, juntamente com o seu Comitê Técnico Assessor reviu o sistema de tratamento e incluiu o etambutol.

Tabela 2.1. Esquema básico de tratamento anti-TB em adolescentes e adultos (MS).

Regime	Fármacos	Faixa de peso	Unidade/dose	Duração
2 RHZE* Fase Intensiva	RHZE* 150/75/400/275 Comprimido em dose fixa combinada	20 a 35 Kg	2 comprimidos	2 meses
		36 a 50 Kg	3 comprimidos	
		□ 50 Kg	4 comprimidos	
4 RH* Fase de Manutenção	RH* Comprimido ou cápsula 300/200 ou 150/100	20 a 35 Kg	2 comprimidos	4 meses
		36 a 50 Kg	3 comprimidos	
		□ 50 Kg	4 comprimidos	

*R=rifampicina; H=isoniazida; Z=pirazinamida; E=etambutol

Por não estarem sob patentes, os fármacos de primeira escolha apresentam baixo custo, cerca de US\$ 10-20 para o período de seis meses de tratamento. Contudo, muitos

pacientes relatam efeitos colaterais como náuseas, vômitos, icterícia, perda de equilíbrio, asma, alterações visuais, diminuição da audição, neuropatia periférica e até cegueira, sendo a aderência a esse tratamento reduzida. A não continuidade a esse tratamento conduz ao desenvolvimento de resistência bacteriana, sendo necessária a utilização dos fármacos de segunda escolha (Figura 2.8). No entanto, o uso desses fármacos, apresenta algumas desvantagens, como maiores efeitos colaterais, maior duração do tratamento (entre 18 e 24 meses) e um alto custo, que varia entre US\$ 1500 e 3000 por tratamento (SOUZA e VASCONCELOS, 2005).

2.1.5. O fenômeno da resistência bacteriana

Constata-se hoje que a resistência bacteriana é bem mais complexa do que se pensava e tem aumentado a cada ano. Muitos são os fatores relacionados a esse fato, dentre eles, destacam-se: uso abusivo ou descontínuo de antibióticos; globalização facilitando a migração de patógenos de um país para outro e envelhecimento da população. Se não houver a devida atenção a essa problemática, por parte dos pacientes e dos órgãos governamentais, podemos chegar ao antigo patamar de status incurável da doença (GURGEL e CARVALHO, 2008). Segundo a OMS, há dois níveis de resistência bacilar: bacilos multiresistentes (TB-MDR) e extremamente resistentes (TB-XDR).

Os pacientes que não se curam após tratamento com os esquemas padronizados pelo MS, portadores, em geral, de bacilos resistentes a mais de dois fármacos, incluindo isoniazida e rifampicina, constituem um grupo de doentes classificados no Consenso Brasileiro de Tuberculose, em 1997, como portadores de tuberculose multirresistente (TB-MDR). A este grupo são agregados os pacientes que apresentam resistência primária a rifampicina, isoniazida e a outros fármacos utilizados, geralmente a estreptomicina e/ou etambutol.

Tem crescido também os caso de tuberculose extremamente resistente (TB-XDR), neste grupo são agregados os pacientes que apresentam resistência à isoniazida, a rifampicina a qualquer fluorquinolona e a pelo menos um dos medicamentos injetáveis de segunda escolha (Figura 2.8) (MS (b), 2002).

2.1.6. Atividade dos fármacos anti-TB

Sabidamente um dos meios de se controlar o avanço dos índices da tuberculose é a prevenção por meio de imunização com vacinas BCG. Contudo, enquanto esse intento não é alcançado, faz-se necessário o uso de agentes poliquimioterápicos. Sendo assim, é de suma importância a elucidação dos mecanismos de ação desses fármacos, haja visto que serão administrados concomitantemente, e esses apresentam distintos alvos no metabolismo bacteriano (ZHANG *et al*, 2005).

Como já reportado anteriormente (2.1.4), os fármacos de primeira escolha para o tratamento são administrados em conjunto, sendo estes rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol. Os alvos de ação desses fármacos estão ilustrados na Figura 2.9, onde se observa:

- a rifampicina atua inibindo a síntese de RNA bacteriano através da ligação à subunidade β da enzima RNA-polimerase dependente de DNA. É um dos mais potentes agentes antituberculose disponível, tem efeito bactericida em bactérias intra e extra-celulares.
- a isoniazida é um pró-fármaco, possui como alvo a inibição da síntese de ácidos micólicos, que são componentes essenciais das paredes celulares micobacterianas.
- a pirazinamida também é um pró-fármaco, seu mecanismo de ação não está totalmente elucidado, todavia acredita-se que age como antimetabólito de nicotinamida e interfere na síntese de NAD e também, consegue romper a membrana plasmática.
- o etambutol inibe as arabinosil transferases envolvidas na polimerização da D-arabinofuranose para arabinoglicana, que é um importante componente da parede celular bacteriana. É um agente bacteriostático, contudo em altas doses tem ação bactericida.

Na Tabela 2.2 estão representados fármacos de segunda escolha, seus mecanismo de ação e o efeito como antibiótico (DU TOIT *et al*, 2006).

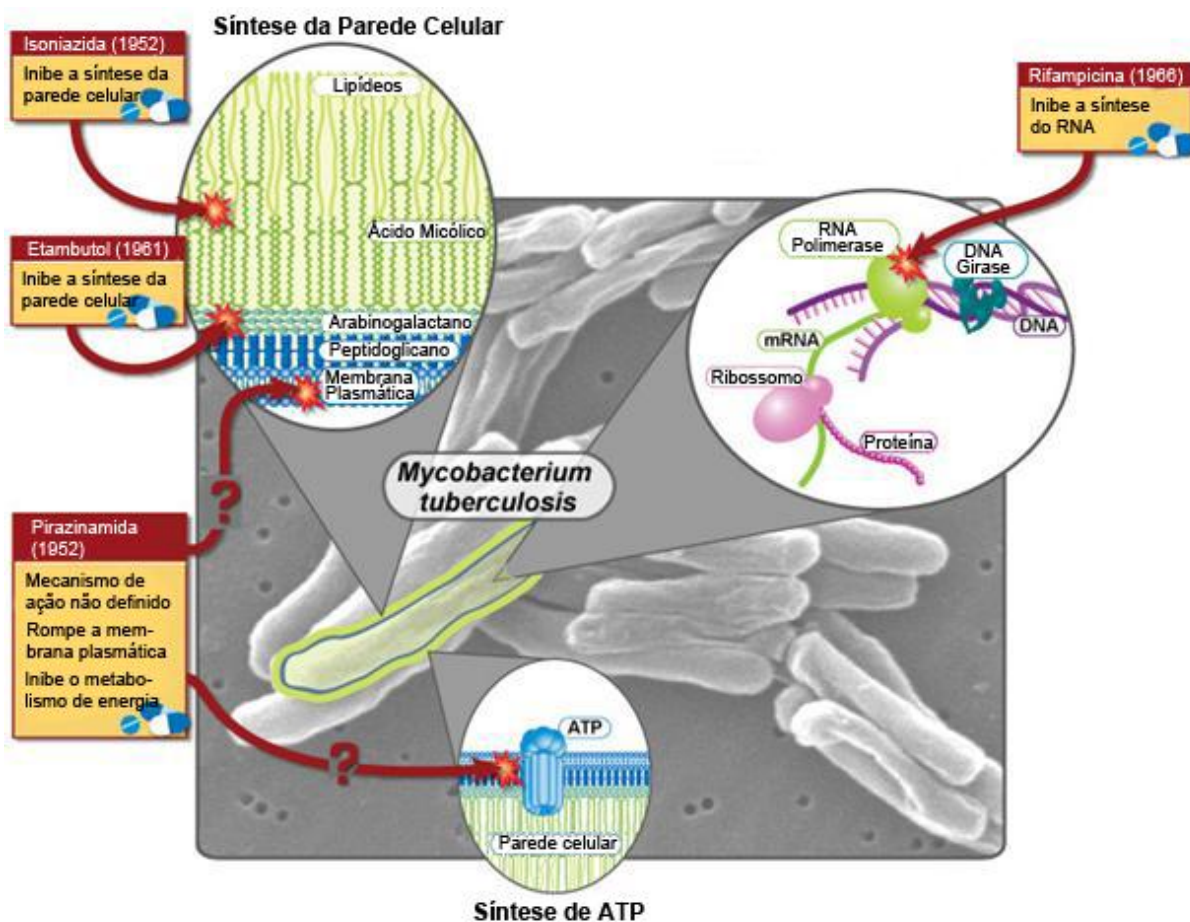


Figura 2.9. Fármacos de primeira escolha anti-TB e seus respectivos alvos bacterianos (www.niaid.nih.gov/SiteCollectionImages/topics/tuberculosis/tb1.jpg).

Tabela 2.2. Fármacos de segunda escolha, efeito e mecanismo de ação no tratamento da tuberculose.

Fármaco	Mecanismo de ação	Efeito
Etionamida	Inibe a síntese de ácidos micólicos	bacteriostático
Cicloserina	Inibição de D-alanina racemase na peptidoglicana	bacteriostático
Ácido <i>p</i> -amino salicílico	Inibidores da síntese de proteínas	bacteriostático
Tiacetazona	Não elucidado claramente	bacteriostático
Fluoroquinolonas	Inibição da replicação do DNA por inibição de topoisomerase II	bactericida
Aminoglicosídeos	Inibição da síntese de proteínas	bactericida

2.1.7. Compostos promissores no combate a TB

Um problema no que tange o desenvolvimento de novos medicamentos para tratar a TB consiste no fato dos fármacos atuarem sobre o metabolismo da micobactéria, não conseguindo atuar sobre os bacilos em estado latente, inativo, sendo esse um grande desafio para se alcançar uma terapia mais eficiente.

Um novo tratamento deveria conter pelo menos uma das seguintes melhorias em relação ao regime atualmente adotado:

- diminuição do tempo total de tratamento e/ou redução do número de doses a serem administradas;
- melhoria do tratamento de TB multiresistente, que não pode ser tratada com a isoniazida e rifampicina;
- elaboração de um tratamento mais efetivo para combater a infecção latente.

O fármaco ideal para esse tratamento deveria alcançar todas as 3 metas supracitadas (KAISER *et al*, 2007).

Neste contexto, alguns candidatos a fármacos encontram-se hoje em fase avançada de testes clínicos, podendo dentro em breve estarem no mercado. Na figura 2.10 tem-se as estruturas dessas substâncias e na tabela 2.3 estão listados seus mecanismos de ação e a classe química a qual pertencem (CASENGUI *et al*, 2006; ONAJOLE *et al*, 2009).

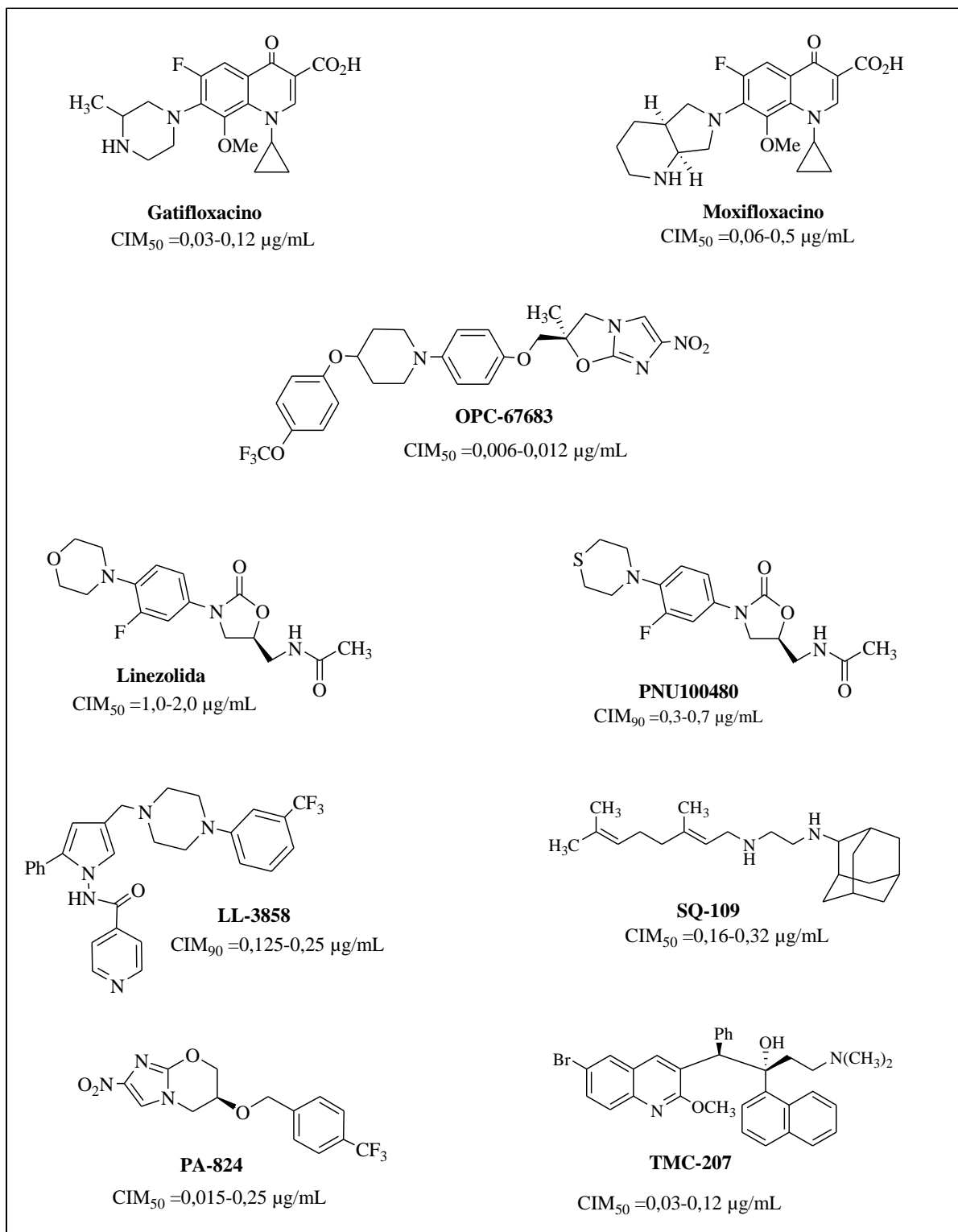


Figura 2.10. Candidatos a fármacos anti-TB em testes clínicos.

Tabela 2.3. Candidatos a fármacos anti-TB em testes clínicos e seus mecanismos de ação.

Fase clínica	Substância (Indústria)	Classe	Mecanismo de ação
III	Gatifloxacino (BMS)	fluoroquinolona	Inibição da DNA girase
III	Moxifloxacino (Bayer)	fluoroquinolona	Inibição da DNA girase
II	OPC 67683 (Otsuka Pharmaceutical)	nitroimidazol	Múltiplos, incluindo inibição da biossíntese de lipídeos e proteínas
II	Linezolida (Pfizer)	oxazolidinona	Inibição da síntese de proteínas
I	PNU-100480 (Pfizer)	oxazolidinona	Inibição da síntese de proteínas
I	LL-3858 (Lupin Ltd.)	isonicotinamida	Não elucidado
II	SQ-109 (Sequella Inc.)	diamina	Inibição da biossíntese da parede celular
II	PA-824 (PathoGenesis Inc.)	nitroimidazol	Múltiplos, incluindo inibição da biossíntese de lipídeos e proteínas
II	TMC-207 (Jonhson and Jonhson)	diarilquinolina	Inibição ATP sintase

2.1.8. A importância das *N*-acilidrazonas

As *N*-acilidrazonas constituem uma importante classe de substâncias no desenvolvimento de novos fármacos, apresentando um amplo espectro de atividade biológica, oriundo do grupo farmacofórico -CO-NHN=CH-. Essa classe de substâncias apresenta um amplo espectro de atividade tais como: antimicrobiana, anticonvulsivante, analgésica, anti-inflamatória, antitumoral e tuberculostática (ROLLAS e KÜÇÜKZEL, 2007).

Algumas *N*-acilidrazonas já são utilizadas como fármacos e estão disponíveis comercialmente, dentre as quais podemos destacar o antisséptico intestinal nifuroxazida **32** e o anti-inflamatório antinocepcivo **33**, que podem ser obtidos a partir do produto natural safrol (LIMA, 2000). As substâncias **34a** e **34b** são *N*-acilidrazonas com efeito analgésico superior ao apresentado pela morfina e aspirina (Figura 2.11) (SALGIN-GÖLSEN *et al*, 2007).

Destacam-se também *N*-acilidrazonas **35a** e **35b** com atividade leishmanicida contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* (BERNARDINO *et al*, 2006). As substâncias **36a** e **36b** apresentaram notáveis efeitos vasodilatadores (SILVA *et al*, 2005) (Figura 2.11).

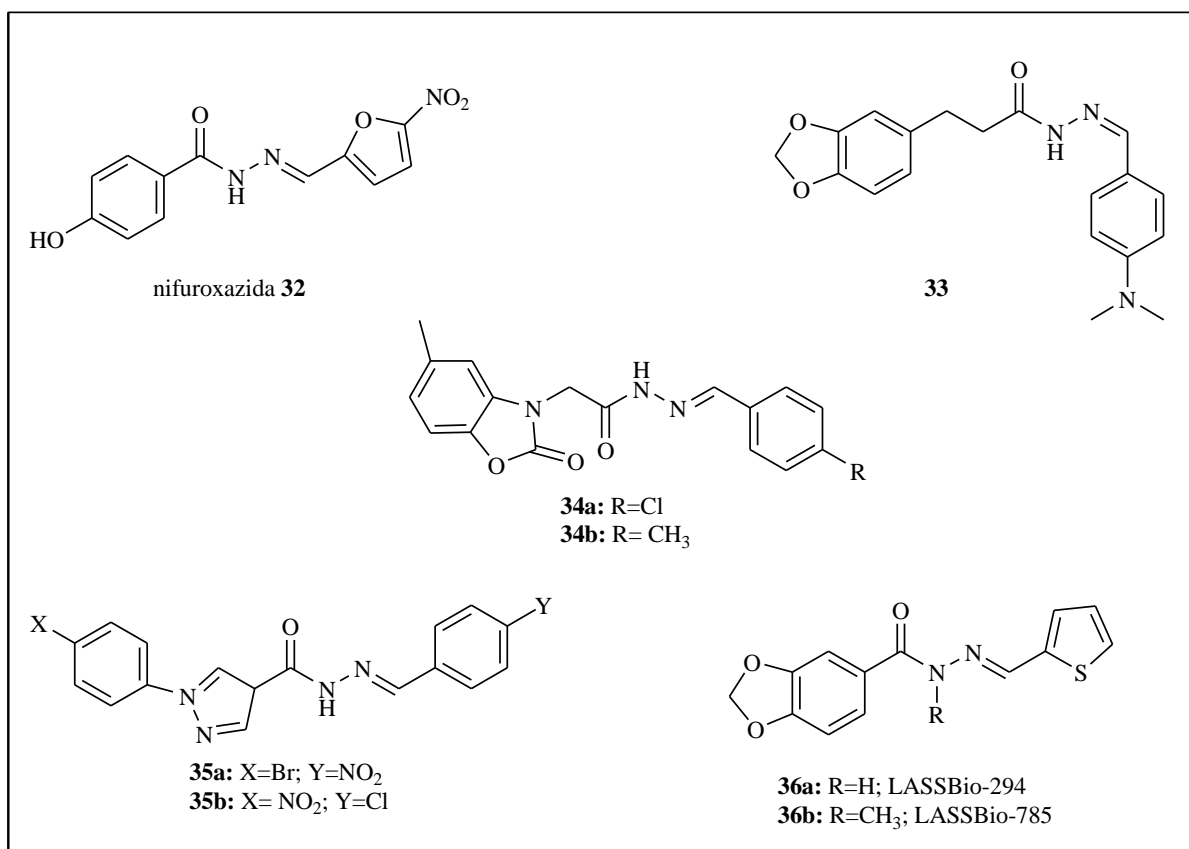


Figura 2.11. Exemplos de *N*-acilidrazonas com atividade biológica.

Vários trabalhos na literatura reportam a importância dessa classe de substâncias no combate às infecções bacterianas. Por exemplo, SAH e colaboradores descreveram uma série de *N*-acilidrazonas **37** oriundas da reação da isoniazida com vários aldeídos e cetonas, esses derivados apresentaram potente atividade inibitória *in vivo* contra várias cepas do *M. tuberculosis*, apresentando também menor efeito citotóxico se comparado a isoniazida (Figura 2.12) (SAH *et al.*, 1954).

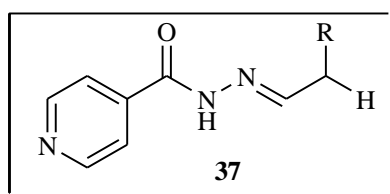


Figura 2.12. *N*-acilidrazona derivada da isoniazida.

Outro exemplo importante foi apresentado por Buu-Hoi e colaboradores, que sintetizaram algumas *N*-acilidrazonas que apresentaram menor citotoxicidade que suas correspondentes *N*-acilidrazinas, estando este fato associado à ligação C=N. Essas descobertas

deram suporte ao desenvolvimento de *N*-acilidrazonas como agentes tuberculostáticos (BUU-HOI *et al*, 1953).

A partir dos estudos anteriormente mencionados, novas substâncias contendo *N*-acilidrazonas em suas estruturas foram desenvolvidas e suas atividades avaliadas frente ao *M. tuberculosis*. Sendo assim, podemos destacar a *N*-acilidrazona **38** contendo um núcleo tiofeno (Figura 2.13) (RANDO *et al*, 2002).

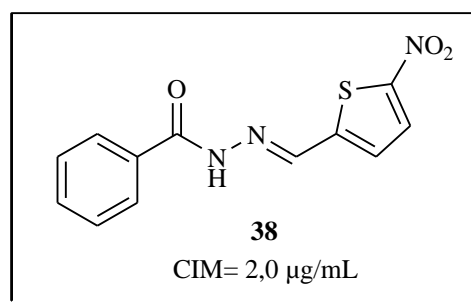


Figura 2.13. *N*-acilidrazona contendo o núcleo tiofeno com sua respectiva atividade frente ao *M. tuberculosis*.

Estudos relevantes visando à obtenção de *N*-acilidrazonas ativas contra o *M. tuberculosis* também foram conduzidos por SRIRAM e colaboradores, que prepararam uma série de *N*-acilidrazonas derivadas das isoniazida. Uma dessas substâncias que apresentou promissor resultado foi o derivado piperazínico **39**, devido a sua atividade *in vivo* equivalente à da isoniazida (Figura 2.14) (SRIRAM *et al*, 2005).

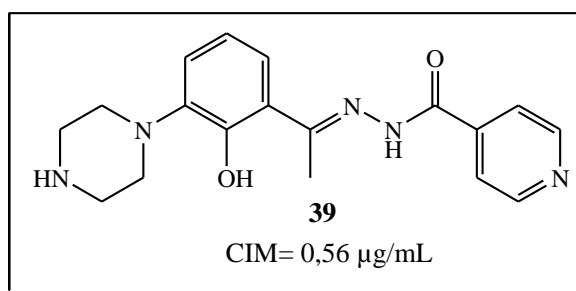


Figura 2.14. *N*-acilidrazona contendo o núcleo piperazínico.

Outros derivados da isoniazida também foram sintetizados por nosso grupo de pesquisa com o intuito de se obter novas *N*-acilidrazonas partindo de diversos aldeídos

aromáticos (Figura 2.15) (LOURENÇO *et al*, 2008; FERREIRA *et al*, 2008; FERREIRA *et al*, 2010).

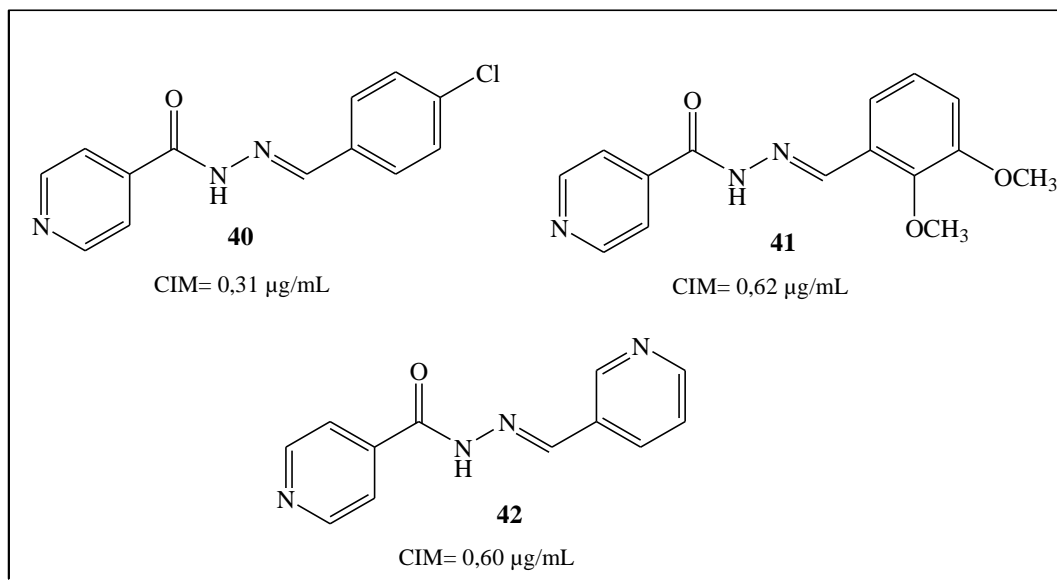


Figura 2.15. *N*-acilidrazonas com potente atividade anti-TB sintetizadas em nosso grupo de pesquisa.

2.2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

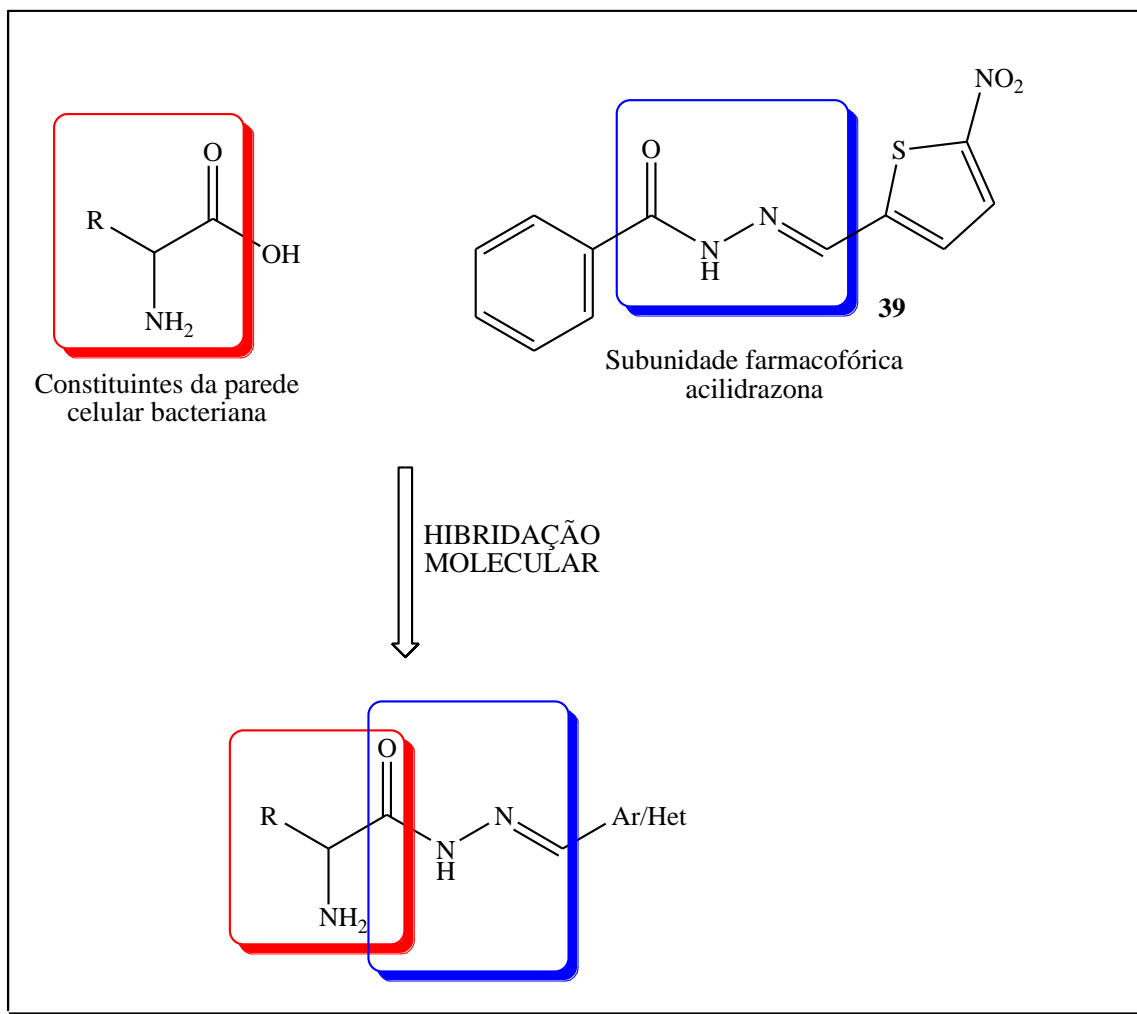
2.2.1. Objetivo Geral

Tendo em vista a alarmante situação global da tuberculose, bem como os problemas inerentes ao tratamento, faz-se necessário o desenvolvimento de novos fármacos que proporcionem uma melhoria na qualidade de vida do paciente com menos reações adversas, com menor tempo de tratamento e conseqüentemente, reduzindo as taxas de abandono do tratamento, que é apontado como uma das principais causas do aumento da resistência bacteriana. Com esse intuito, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma série de *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos candidatas a novos agentes antituberculose.

2.2.2. Objetivos Específicos

2.2.2.1. Obtenção dos derivados *N*-acilidrazônicos

Os derivados *N*-acilidrazônicos foram planejados estruturalmente, tendo em vista a potente atividade frente ao *M. tuberculosis* de substâncias contendo grupamento farmacofórico *N*-acilidrazona. É sabido que os aminoácidos são importantes constituintes da construção da parede celular bacteriana, sendo assim, optou-se por utilizá-los como ponto de partida deste trabalho, o que nos permitirá investigar as distintas contribuições desses na atividade investigada. Com o intuito de se obter um protótipo com perfil de atividade antituberculose, decidiu-se por utilizar na construção da ligação C=N, aldeídos aromáticos e heteroaromáticos, que já têm sido previamente estudados por nosso grupo de pesquisa (Esquema 2.2).



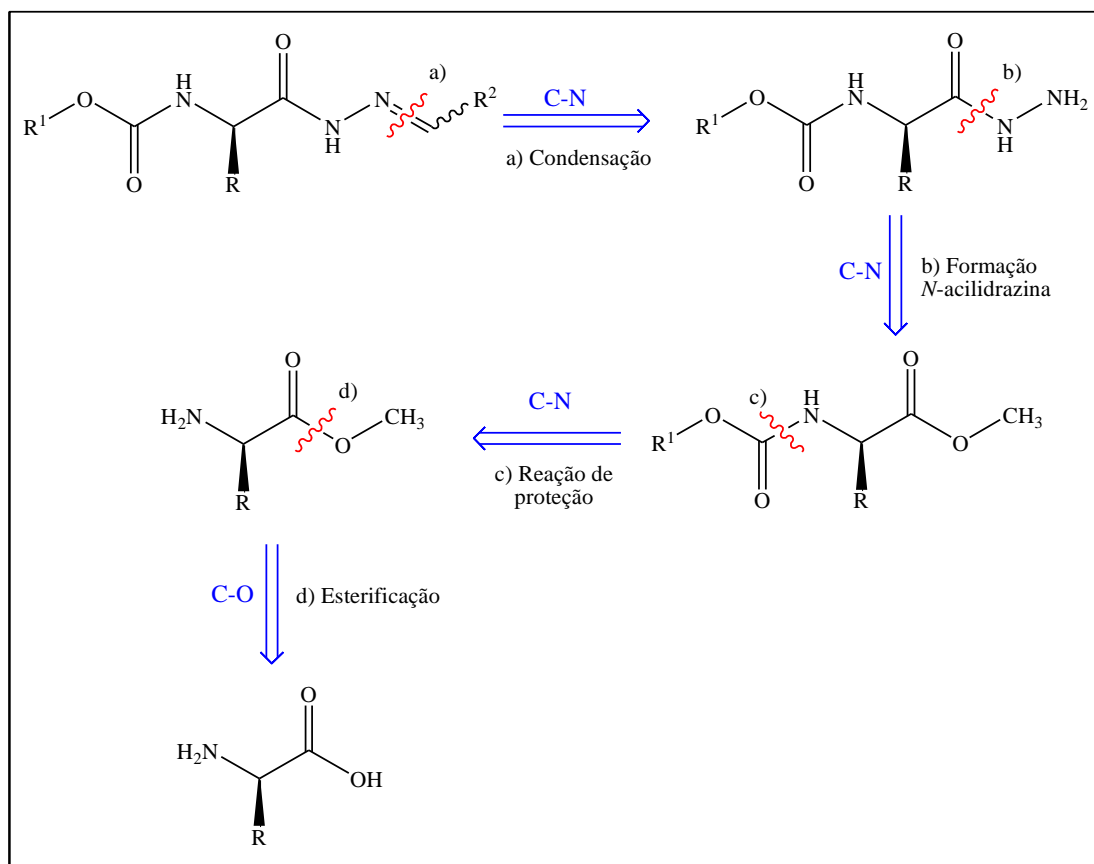
Esquema 2.2. Planejamento estrutural das novas *N*-acilidrazonas.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.3.1. Análise Retrossintética

Tendo em vista o estudo para identificação de novas substâncias potencialmente ativas contra o *M. tuberculosis* foram planejadas novas *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos, haja vista a importância dessa classe de substâncias, na construção da parede celular bacteriana.

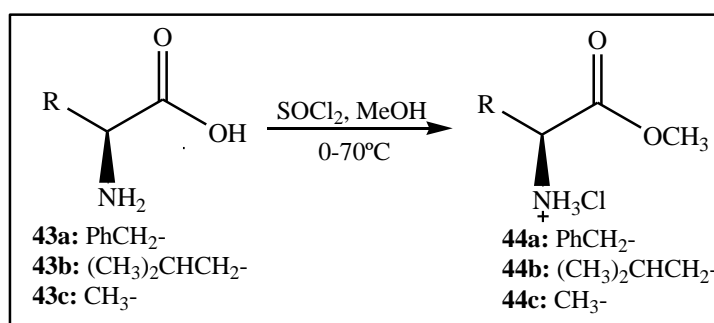
A metodologia sintética proposta para a preparação das novas *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos foi baseada na análise retrossintética descrita no Esquema 2.4. As *N*-acilidrazonas **48a-q** poderiam ser obtidas pela clássica reação de condensação de hidrazidas com aldeídos aromáticos ou heteroaromáticos. As hidrazidas **47a-g** seriam preparadas pelo ataque nucleofílico de hidrazina hidratada a amino éster devidamente protegido. Os derivados protegidos **45a-c** e **46a-b** poderiam advir por simples reação de proteção de seus grupamentos amino com benziloxicarbonil (Cbz) ou *tert*-butoxicarbonil (Boc). Os ésteres **44a-b** poderiam ser obtidos por reação de esterificação dos L-aminoácidos (L-fenilalanina, L-leucina ou L-alanina) **43a-c**.



Esquema 2.4. Análise retrossintética das novas *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos **44a-q**.

2.3.2. Obtenção dos ésteres derivados de aminoácidos 44a-c

Iniciou-se o trabalho pela reação de esterificação dos aminoácidos L-fenilalanina, L-leucina ou L-alanina **43a-c**, utilizando uma metodologia que consistiu em adicionar sob banho de gelo lentamente cloreto de tionila em metanol. Após 20 minutos de reação, foi adicionado o correspondente L-aminoácido **43a-c** e a reação permaneceu sob refluxo durante 4 horas (Esquema 2.5) (VERGARA *et al*, 2009). Os respectivos ésteres foram obtidos puros na forma de cloridratos, em rendimentos quantitativos e purificados por recristalização em acetonitrila. Os compostos foram caracterizados por espectro de massa, infravermelho e RMN de ^1H e ^{13}C .



Esquema 2.5. Síntese dos ésteres **44a-c**.

Com o intuito de exemplificar a formação da função química éster, discutiremos os espectros referente ao composto **44a**.

No espectro de massa de **44a** não foi observado o pico referente ao íon molecular do cloridrato, devido a presença de íons sódio presentes no electrospray juntamente com os íons cloreto da substância **44a**, culminou na formação de cloreto de sódio. Sendo assim, na Figura 2.16 detectou-se um pico em 179,9 m/z referente ao íon molecular $[\text{M}]^+$ do amino éster livre.

No espectro vibracional na região do infravermelho de **44a** (Figura 2.17) verificou-se a presença de uma banda intensa de absorção larga característica de sais de aminas primárias, nesta banda foram referentes à deformação axial C-H aromático na região de 2983 cm^{-1} e uma banda de absorção intensa em 1745 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O do éster. A banda de baixa intensidade em 3060 cm^{-1} refere-se à deformação axial de C-H aromático. Também pode ser observada uma banda de absorção de média intensidade em 1240 cm^{-1} referente à deformação axial de C-O do grupo metoxila.

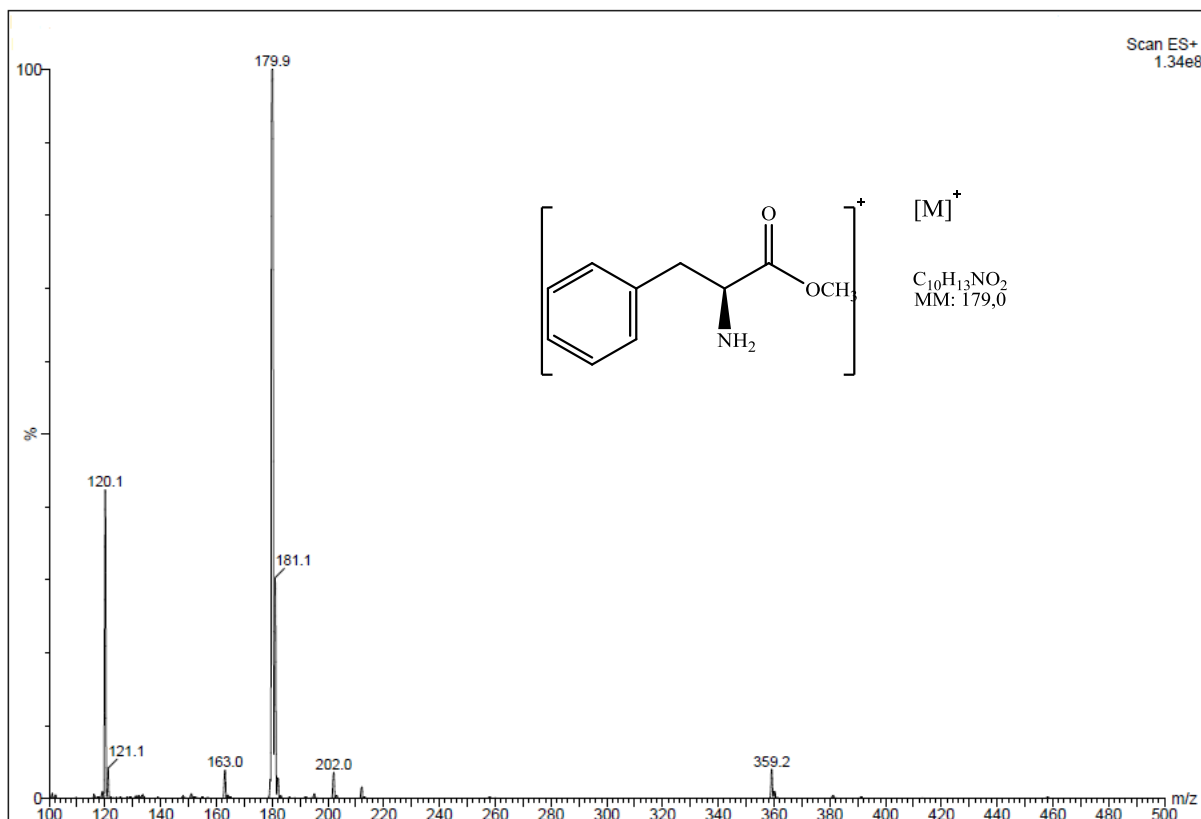


Figura 2.16. Espectro de massa do composto 44a.

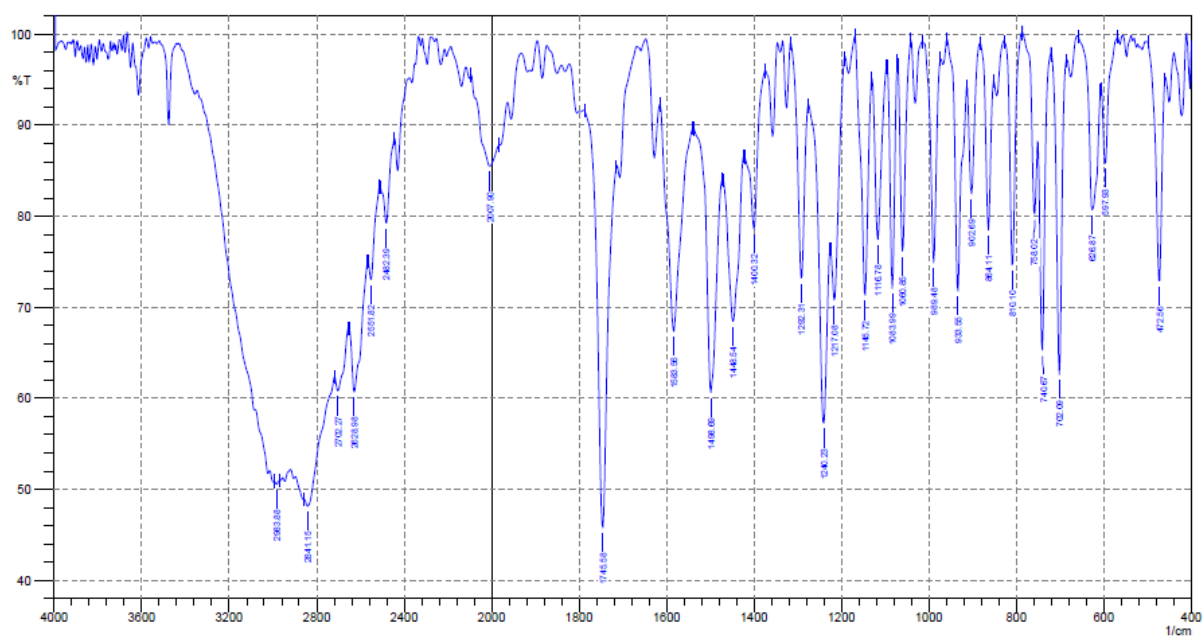


Figura 2.17. Espectro de infravermelho do composto 44a (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **44a** (Figura 2.18) foram observados dois dupletos duplos centrados em δ 3,19 e 3,26 ppm referentes aos hidrogênios de CH_2Ph . Esses dois hidrogênios são diastereotópicos, ou seja, não são magneticamente equivalentes, resultando nos desdobramentos observados. Foi observado também um simpleto em δ 3,79 ppm atribuídos aos hidrogênios do grupo metoxila evidenciando, desta maneira, a ocorrência da reação. O sinal em δ 4,32 ppm foi atribuído a CHNH_2 . Puderam ser observados também, em região de maior desblindagem, sinais em δ 7,26, 7,32 e 7,35 ppm atribuídos aos hidrogênios aromáticos.

No espectro de RMN de ^{13}C de **44a** (Figura 2.19) foram observados: um sinal em δ 37,5 ppm atribuído ao carbono metilênico; um sinal em δ 53,7 ppm atribuído ao carbono do grupo metoxila e um sinal em δ 55,4 ppm atribuído ao carbono nitrogenado e um sinal em δ 170,5 ppm referente ao carbono carbonílico. Os demais sinais entre δ 129,0 e 135,5 ppm correspondem aos carbonos aromáticos.



Figura 2.18. Espectro de RMN de ^1H de **44a**. (CD_3OD , 500 MHz)

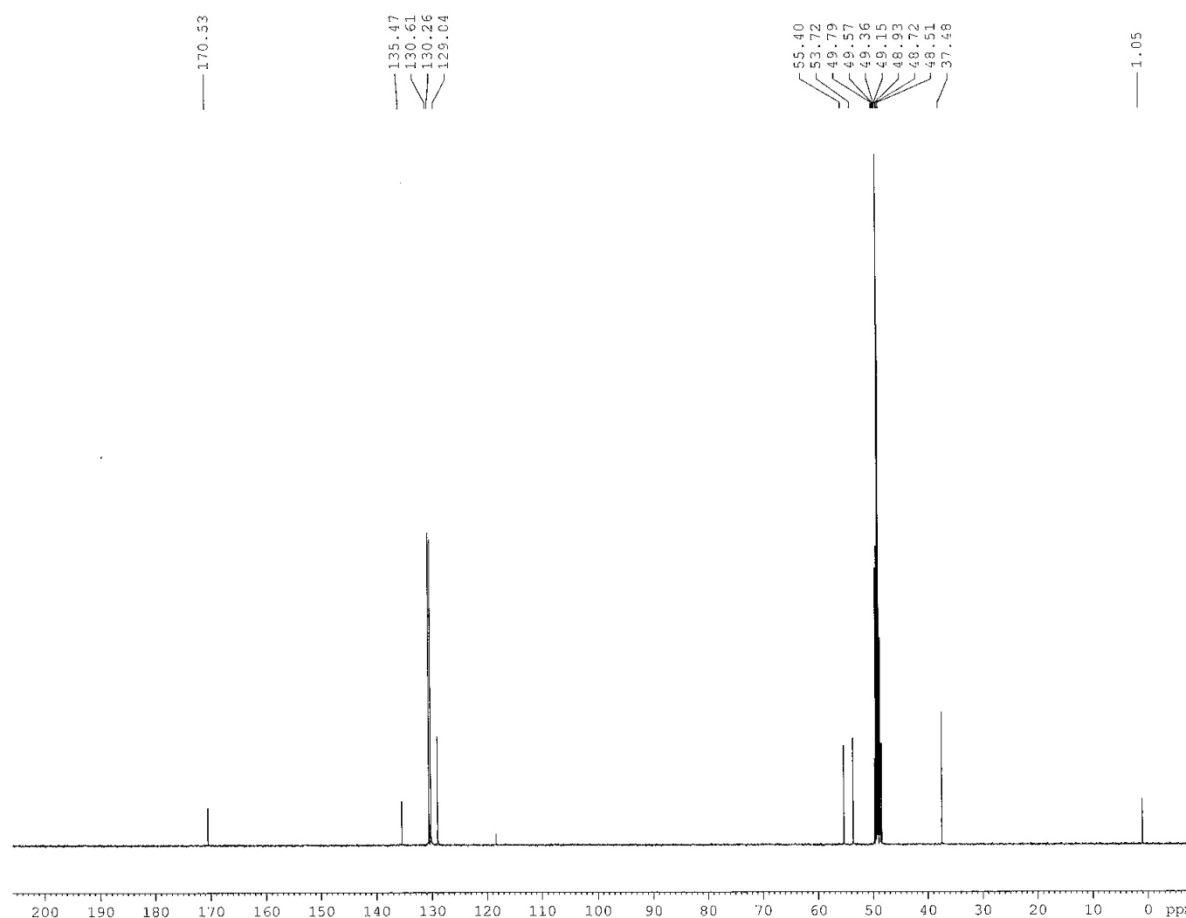


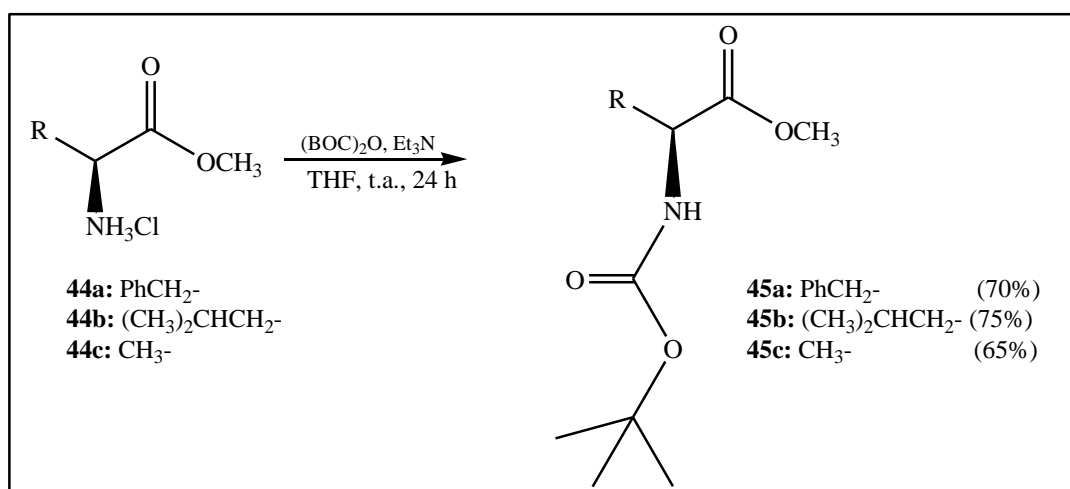
Figura 2.19. Espectro de RMN de ¹³C de **44a** (CD₃OD, 125 MHz).

Optou-se por proteger o grupamento amino dos aminoácidos para facilitar a purificação na etapa subsequente de formação da *N*-acilidrazina, e também para possibilitar a investigação da influência do grupo protetor na atividade a ser avaliada. Com este intuito, optou-se por utilizar dois grupos protetores distintos, sendo estes, o benziloxicarbonil (Cbz) e *tert*-butoxicarbonil (Boc).

2.3.3. Obtenção dos derivados **45a-c** protegidos com o grupamento Boc

Os ésteres **45a-c** foram solubilizados em THF, e a essa solução foram adicionados a temperatura ambiente trietilamina e dicarbonato de di-*tert*-butila (Boc₂O) (Esquema 2.6) (ZHANG *et al*, 2005). Após 24 h de reação as substâncias **45a-c** foram isoladas por coluna cromatográfica, sendo obtidas na forma de óleo com rendimentos variando entre 65 e 75%.

As estruturas foram caracterizadas por espectro de massa, infravermelho e RMN de ^1H e de ^{13}C .



Esquema 2.6. Síntese das substâncias 45a-c.

Devido à similaridade das estruturas das substâncias formadas, discutiremos os espectros de 45a.

No espectro de massa de 45a (Figura 2.20) tem-se um pico em 301,9 m/z referente ao íon molecular mais 23 (M+Na).

No espectro vibracional na região do infravermelho de 45a (Figura 2.21) verificou-se a presença de uma banda de absorção de média intensidade referente à deformação axial N-H aromático em 3360 cm⁻¹. As bandas intensas de absorção em 1750 e 1745 cm⁻¹ foram atribuídas à deformações axiais de C=O dos grupos funcionais éster e carbamato. A banda de média absorção em 1496 cm⁻¹ foi atribuída à deformação axial de C=O do grupo carbamato. Foi observada também, uma banda de absorção de média intensidade em 1166 cm⁻¹ referente à deformação axial de C-O do grupo metoxila.

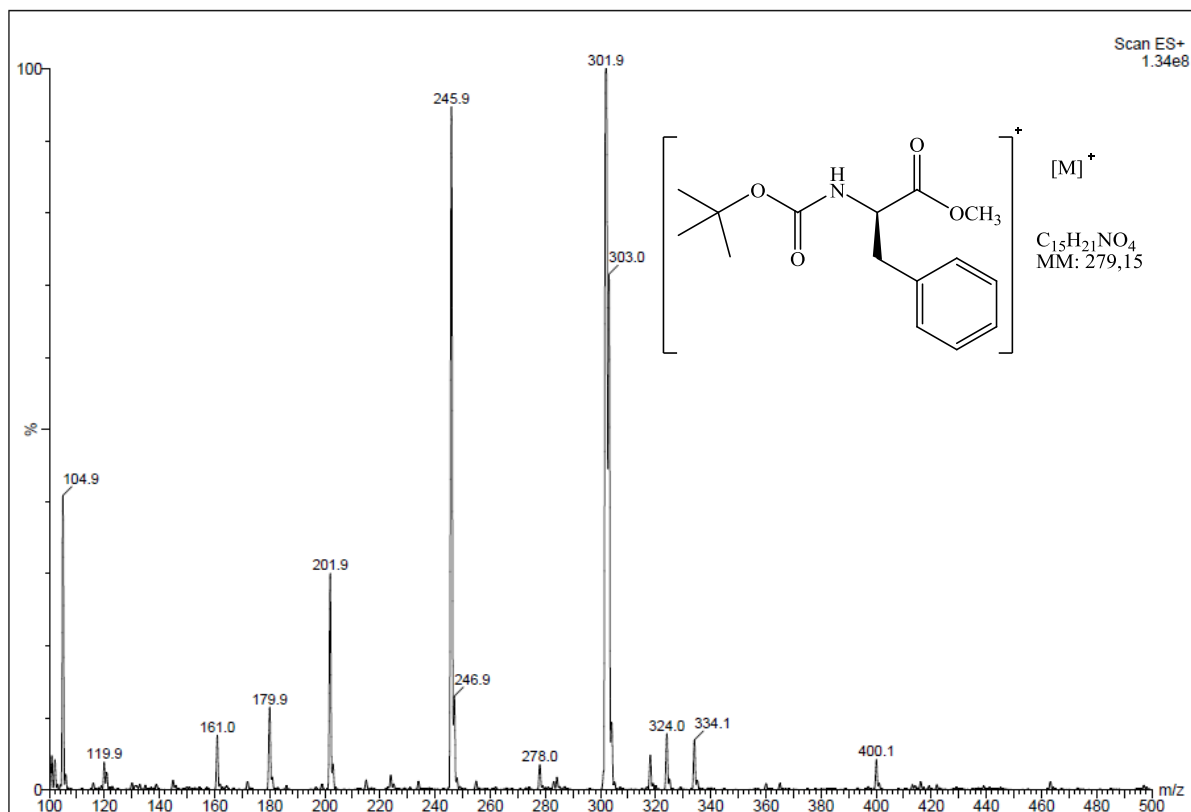


Figura 2.20. Espectro de massa de 45a.

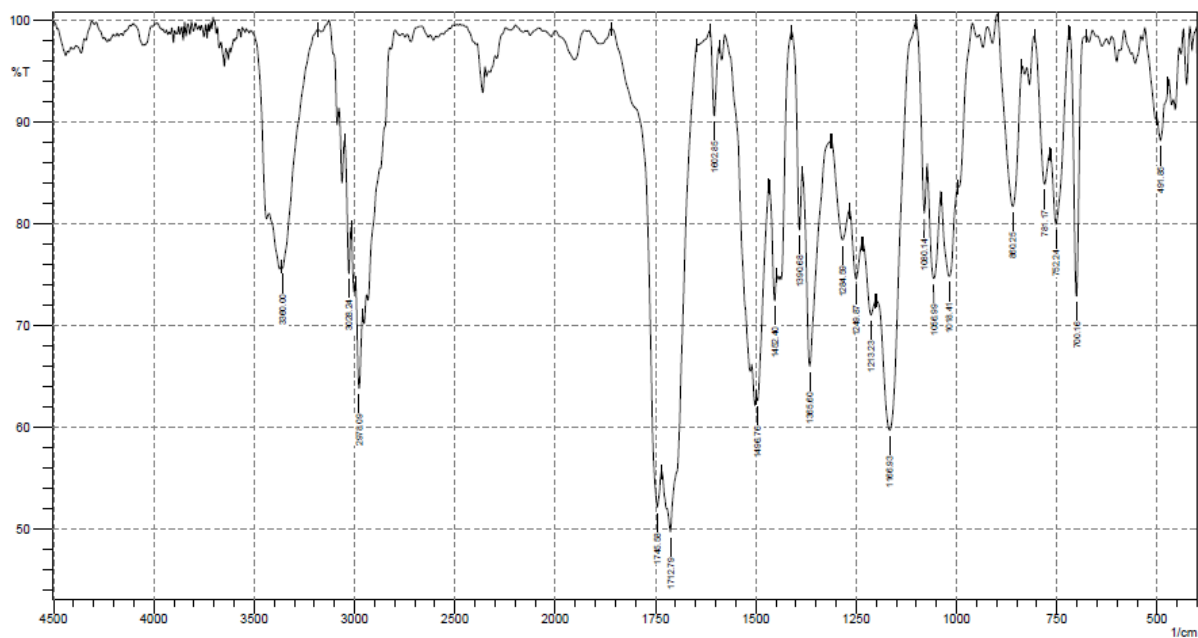


Figura 2.21. Espectro de infravermelho de 45a (Nujol).

No espectro de RMN de ^1H de **45a** (Figura 2.22) foi observado um simpleto intenso em região próxima ao TMS atribuído aos 9 hidrogênios de metila do grupo Boc. Foram observados dois dupletos duplos centrados em δ 2,90 e 3,09 ppm referentes aos hidrogênios de CH_2Ph e um simpleto em δ 3,68 ppm atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila. O duplete duplo em δ 4,26 ppm foi atribuído a CHNH . Puderam ser observados igualmente, em região de maior desblindagem, sinais em δ 7,21 e 7,27 ppm atribuídos aos 5 hidrogênios da porção aromática.

No espectro de RMN de ^{13}C de **45a** (Figura 2.23) foram observados: um sinal em δ 22,7 ppm correspondente aos carbonos do grupo metila do grupo Boc; um sinal em δ 37,3 ppm atribuído ao carbono metilênico CH_2Ph ; um sinal em δ 51,1 ppm atribuído ao carbono do grupo metoxila; um sinal em δ 55,4 ppm atribuído ao carbono nitrogenado e um sinal em δ 79,2 ppm correspondente ao carbono não-hidrogenado do grupo Boc. Os sinais em δ 156,4 e 172,0 ppm foram referentes as carbonilas dos grupos funcionais carbamato e éster, respectivamente, e os demais sinais entre δ 125,8 e 135,5 ppm corresponderam aos carbonos aromáticos.

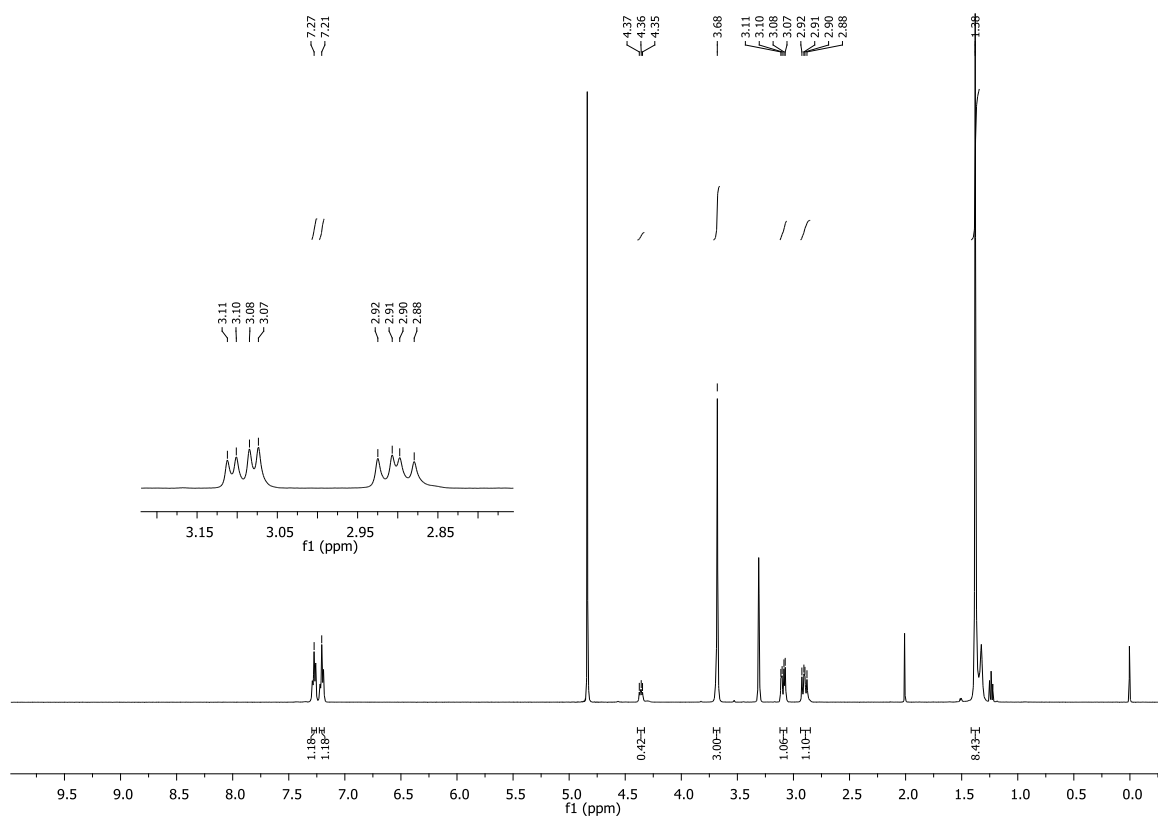


Figura 2.22. Espectro de RMN de ^1H de **45a** (CD_3OD , 500 MHz).

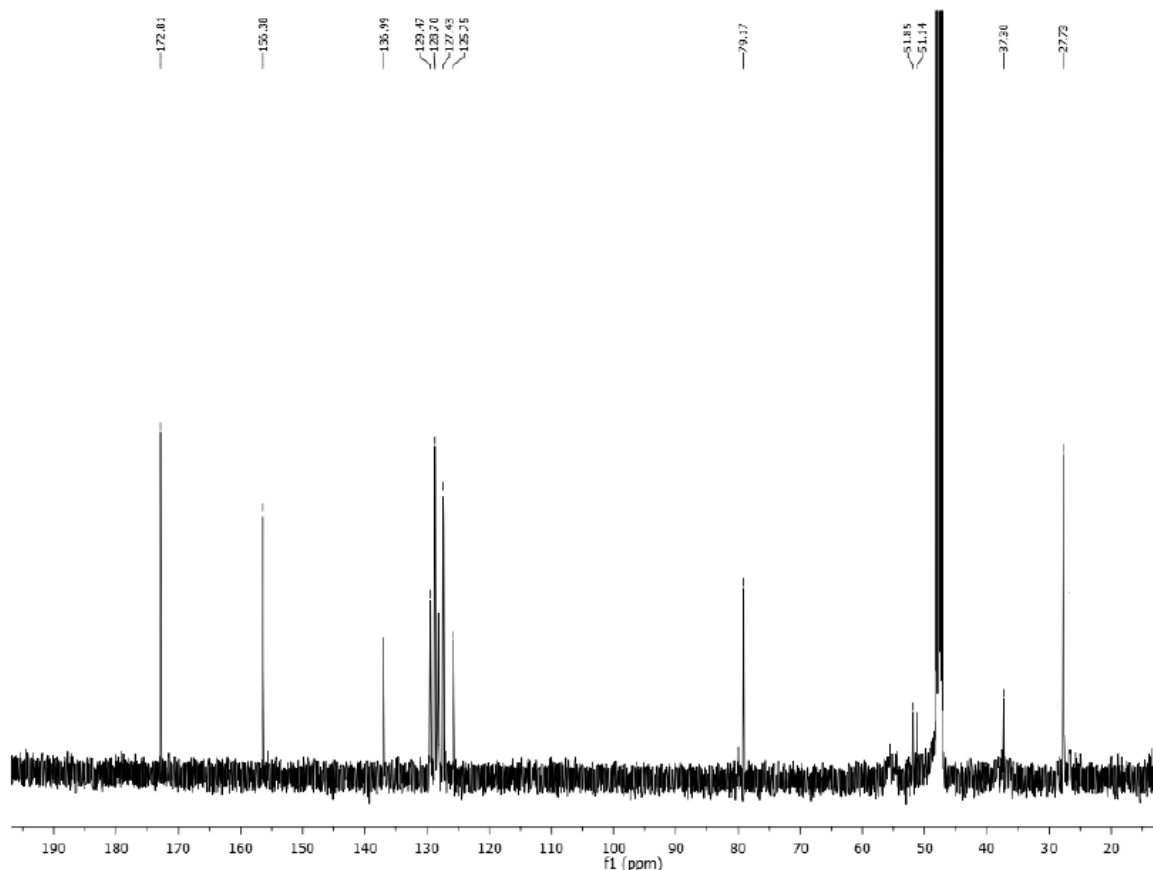
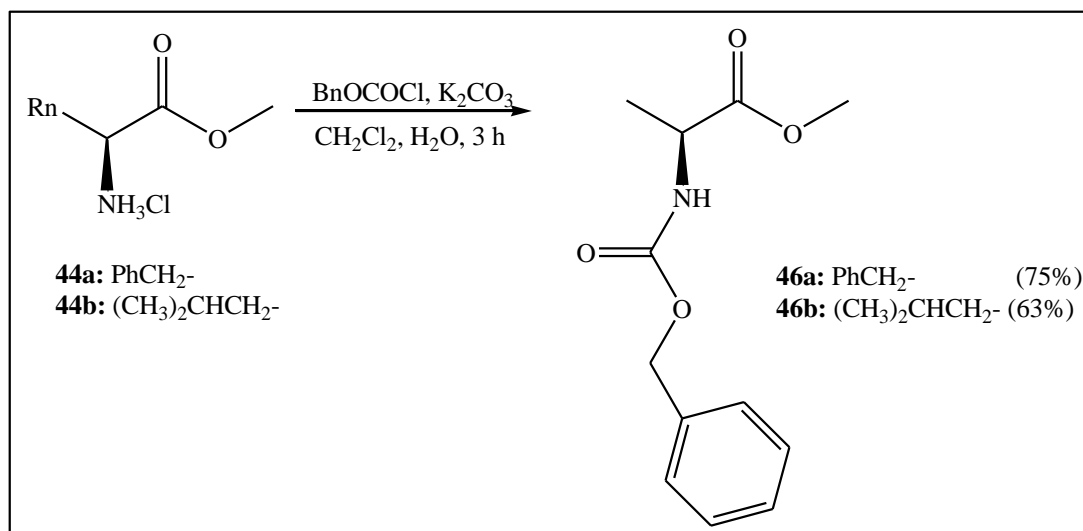


Figura 2.23. Espectro de RMN de ^{13}C de **45a** (CD_3OD , 125 MHz).

2.3.4. Obtenção dos derivados **46a-b** protegidos com Cbz

A uma solução contendo os ésteres **43a-b** diclorometano e água foi adicionado sob banho de gelo bicarbonato de sódio e clorofornato de benzila (Esquema 2.7) (ZHANG *et al*, 2005). Após 3 horas foi feita extração em diclorometano e água. As substâncias **46a** e **46b** foram purificadas por coluna cromatográfica, sendo obtidos na forma de óleos com rendimentos de 75 e 63%, respectivamente.



Esquema 2.7. Síntese dos compostos **46a** e **46b**.

Com o intuito de exemplificar uma substância formada, discutiremos os espectros da substância **46a**.

No espectro de massa de **46a** (Figura 2.24) tem-se um pico em 336,1 m/z referente ao íon molecular mais 23 (M+Na).

No espectro vibracional da região do infravermelho de **46a** (Figura 2.25) verificou-se a presença de uma banda de absorção de média intensidade referente à deformação axial N-H em 3354 cm⁻¹. A banda de absorção intensa em 1745 cm⁻¹ atribuída à deformação axial de C=O de éster. A banda de absorção de média intensidade em 1516 cm⁻¹ corresponde à deformação axial de C=O de carbamato. A banda de absorção de média intensidade em 1213 cm⁻¹ refere-se à deformação axial de C-O de metoxila.

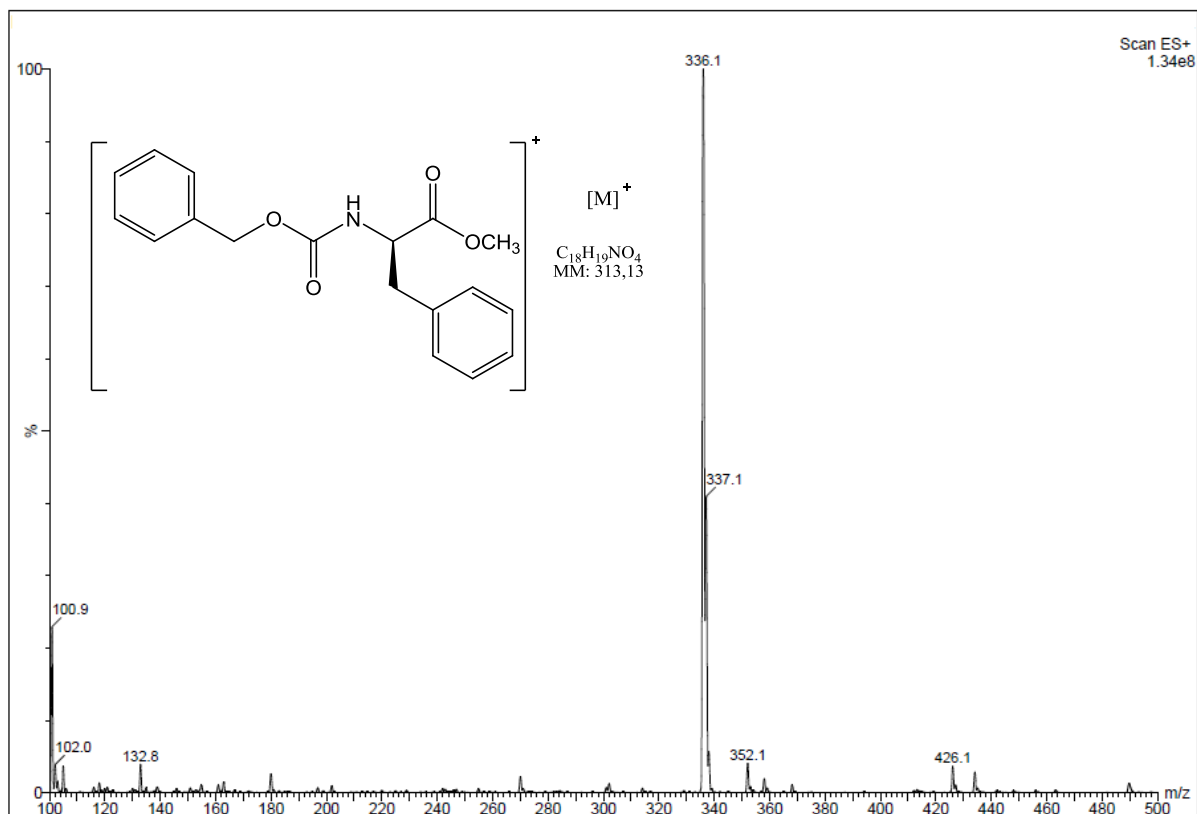


Figura 2.24. Espectro de massa de 46a.

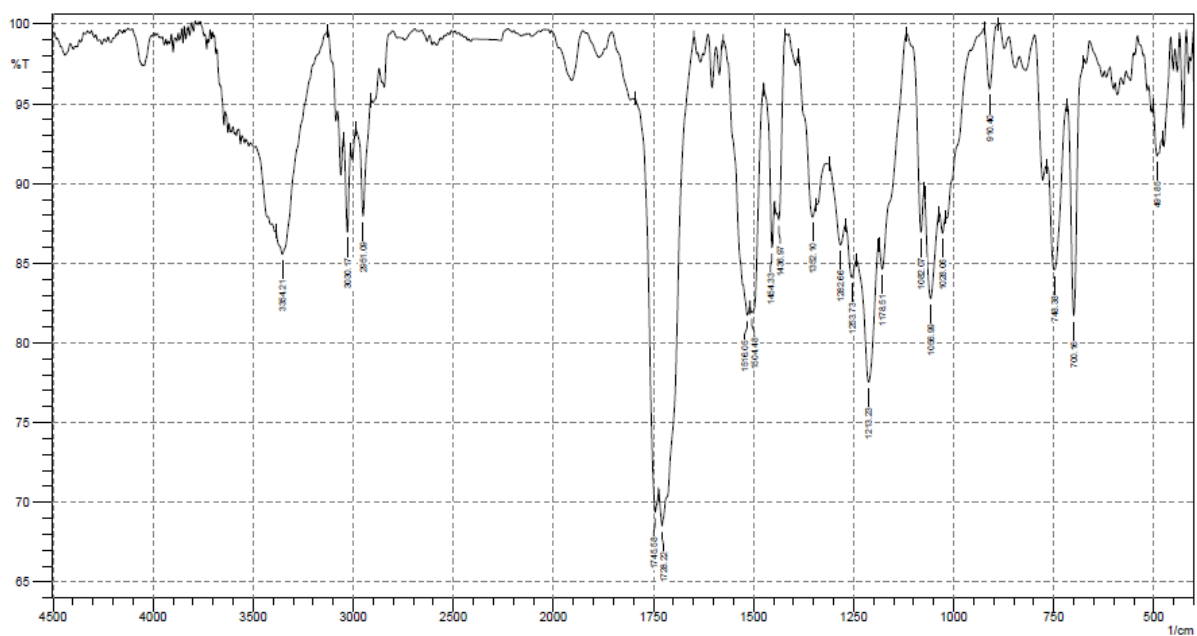


Figura 2.25. Espectro de infravermelho de 46a (Nujol).

No espectro de RMN de ^1H de **46a** (Figura 2.26) foram observados dois dupletos duplos centrados em δ 2,92 e 3,14 ppm referentes aos hidrogênios de CH_2Ph . Foi observado um simpleto em δ 3,68 ppm atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila; um sinal em δ 4,44 ppm foi atribuído ao hidrogênio de CHNH . O simpleto em δ 5,03 ppm corresponde aos hidrogênios de CH_2O . Foi observado também, em região de maior desblindagem, um multipletto entre δ 7,18 e 7,32 ppm atribuídos aos 10 hidrogênios aromáticos das unidades fenilalanina e Cbz.

No espectro de RMN de ^{13}C de **46a** (Figura 2.27) foram observados: um sinal em δ 38,7 ppm atribuído ao carbono metilênico; um sinal em δ 52,8 ppm atribuído ao carbono de metoxila e um sinal em δ 57,1 ppm atribuído ao carbono nitrogenado; um sinal em δ 67,7 ppm correspondente ao carbono da porção CH_2O . Os sinais em δ 158,5 e 174,1 ppm foram atribuídos as carbonilas de carbamato e éster, respectivamente, e os demais sinais entre δ 127,9 e 138,4 ppm corresponderam aos carbonos aromáticos.

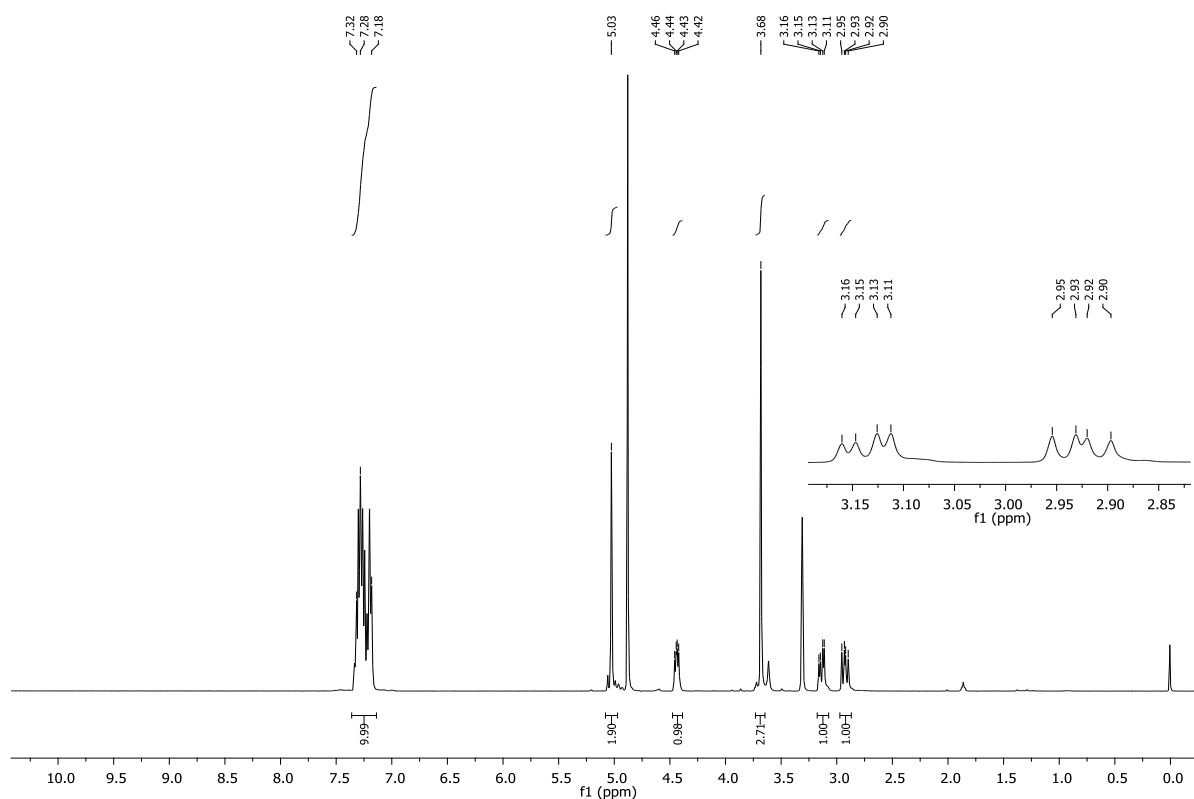


Figura 2.26. Espectro de RMN de ^1H de **46a** (CD_3OD , 400 MHz).

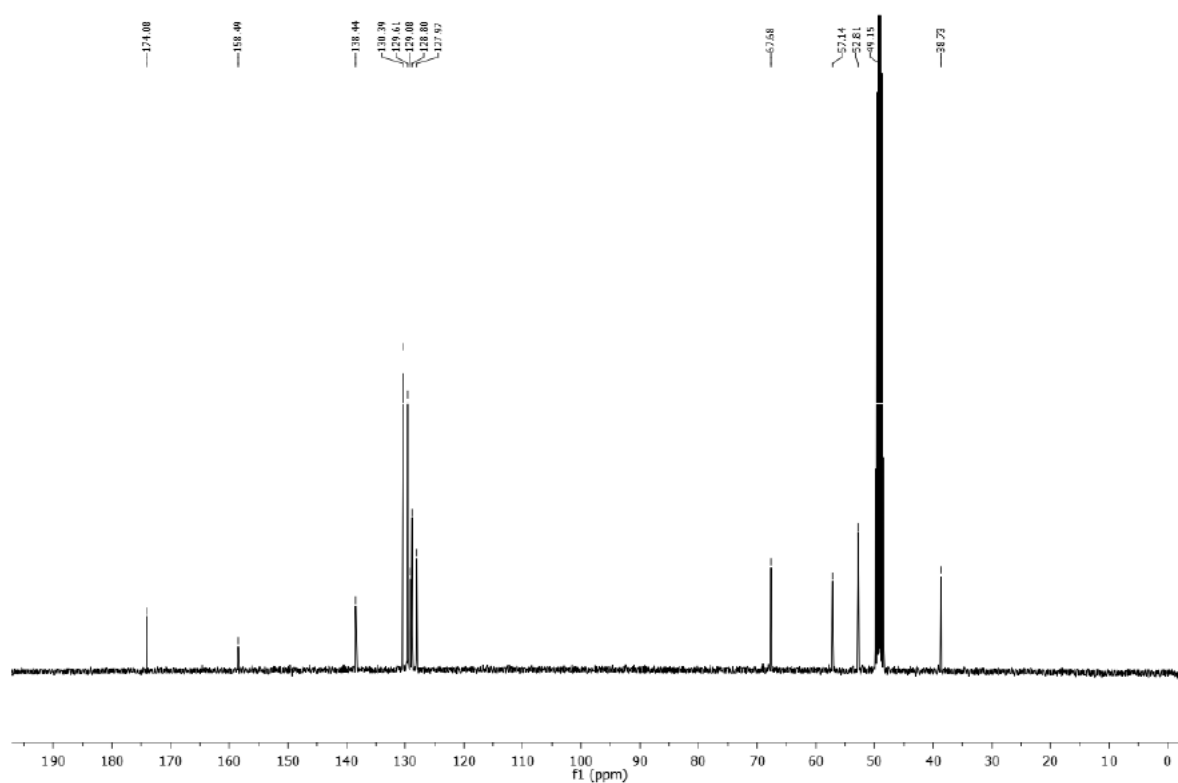


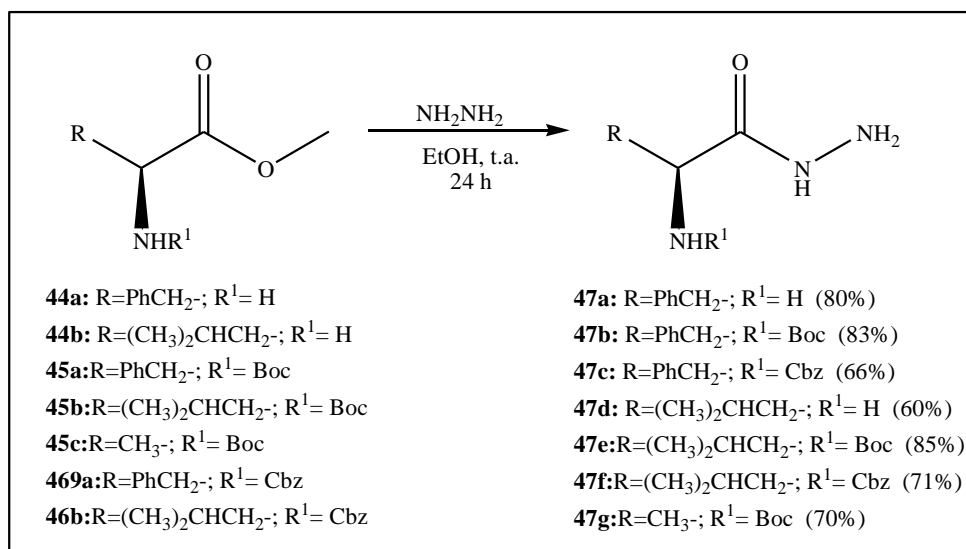
Figura 2.27. Espectro de RMN de ^{13}C de **46a** (CD_3OD , 100 MHz).

2.3.5. Síntese das *N*-acilidrazinas **47a-g**

Os ésteres **44a-b**, **45a-c** e **46a** e **46b** foram solubilizados em etanol e adicionou-se a essa solução a temperatura ambiente hidrato de hidrazina 80% (Esquema 2.8) (VERGARA *et al*, 2009). Após agitação por 24 horas, as substâncias **47a-g** foram isoladas e purificadas por coluna cromatográfica, sendo obtidas na forma de sólidos brancos com rendimentos entre 59 e 85%.

Com o intuito de exemplificar uma substância formada, discutiremos os espectros de **47c**.

No espectro de massa de **47c** (Figura 2.28) tem-se um pico em 336,1 m/z referente ao íon molecular ($M+\text{Na}$).



Esquema 2.8. Síntese das *N*-acilhidrazinas **47a-g**.

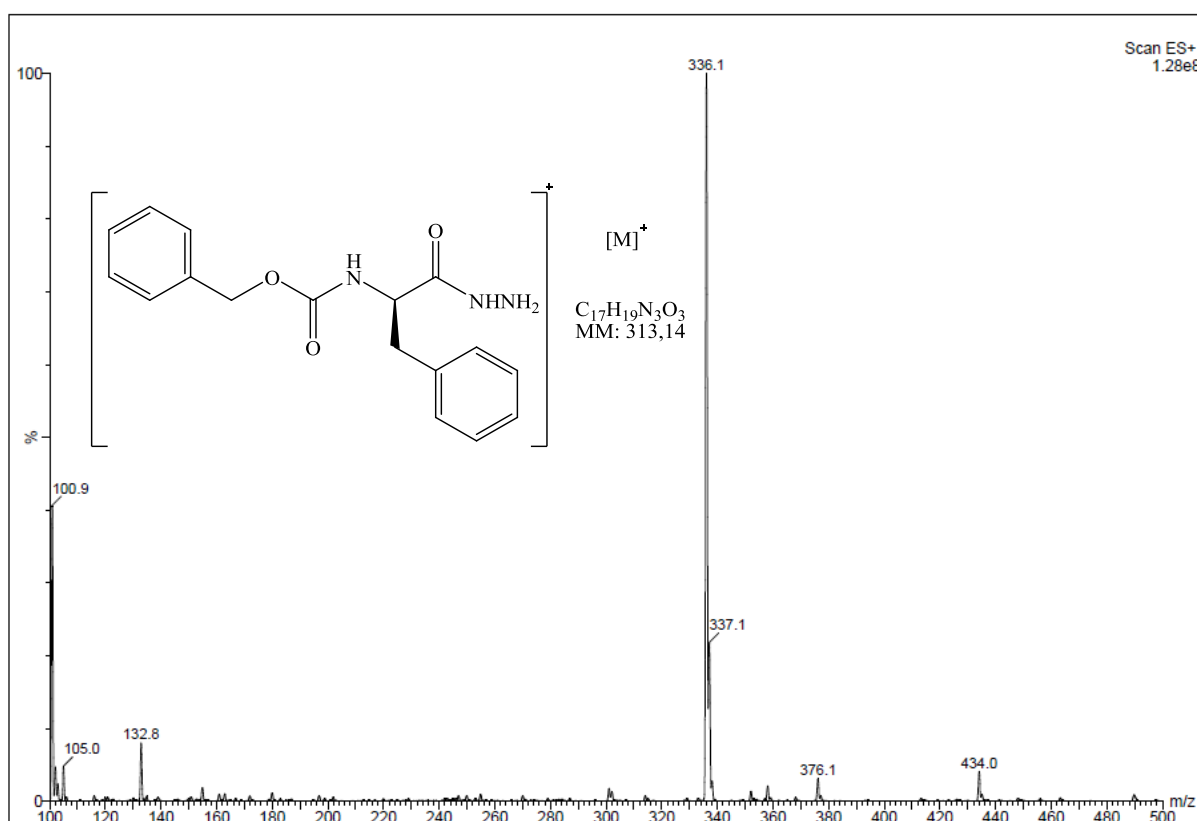


Figura 2.28. Espectro de massa de **47c**.

No espectro vibracional na região do infravermelho de **47c** (Figura 2.29) verificou-se a presença de uma banda de absorção intensa referente à deformação axial N-H em 3300 cm^{-1} . A banda de baixa intensidade em 3030 cm^{-1} refere-se à deformação axial de C-H aromático. A banda de absorção intensa em 1685 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial de C=O de hidrazida e a banda de absorção de média intensidade em 1530 cm^{-1} foi atribuída à deformação axial de C=O de carbamato.

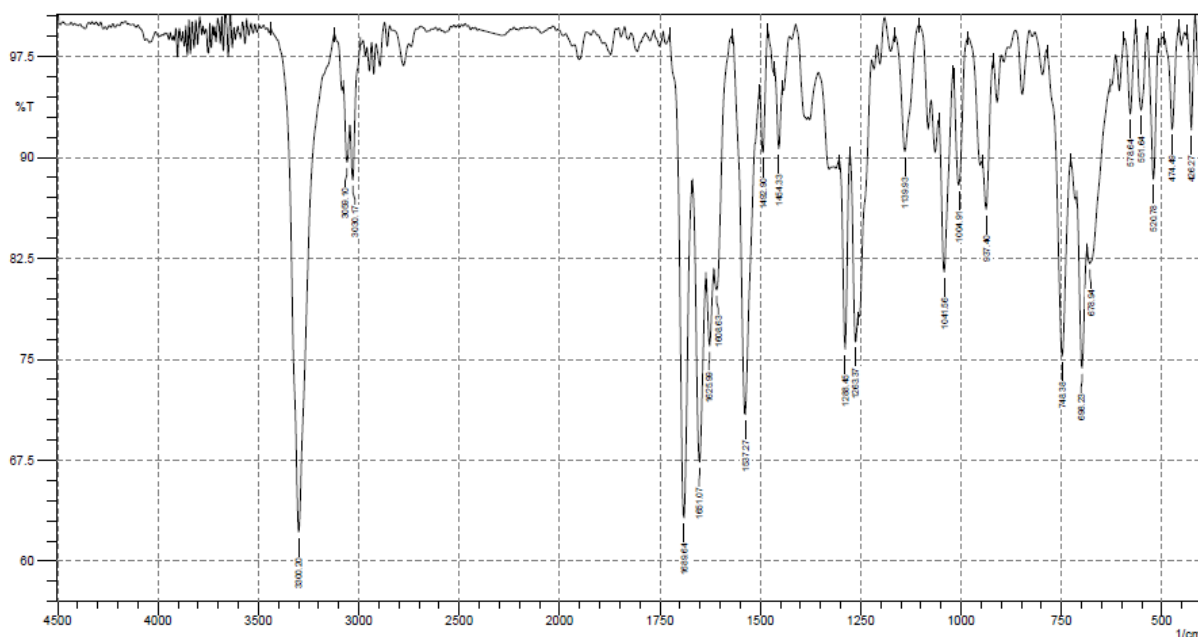


Figura 2.29. Espectro de infravermelho de **47c** (KBr).

No espectro de RMN de ^1H de **47c** (Figura 2.30) foram observados dois dupletos duplos centrados em δ 2,86 e 3,07 ppm correspondentes aos hidrogênios de CH_2Ph . Não foi observado simpleto em δ 3,68 ppm atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila, evidenciando assim a ocorrência da reação. O duplete duplo em δ 4,32 ppm foi atribuído ao hidrogênio do carbono nitrogenado (CHNH). O sinal em δ 5,01 ppm corresponde aos hidrogênios de CH_2O . Foi observado também, em região de maior desblindagem, um multiplete entre δ 7,20 e 7,32 ppm atribuídos aos 10 hidrogênios aromáticos das unidades fenilalanina e Cbz.

No espectro de RMN de ^{13}C de **47c** (Figura 2.31) foi observado um sinal em δ 39,4 ppm atribuído ao carbono metilênico. Não foi observado o sinal em δ 52,8 ppm referente ao carbono da metoxila, sugerindo a formação do produto desejado. O sinal em δ 56,2 ppm foi atribuído ao carbono nitrogenado (CHNH) e o sinal em δ 68,9 ppm correspondeu ao carbono de CH_2O . Os sinais em δ 158,3 e 173,2 ppm foram atribuídos as carbonilas de carbamato e

éster, respectivamente. Os demais sinais entre δ 127,3 e 138,5 ppm correspondem aos carbonos aromáticos.

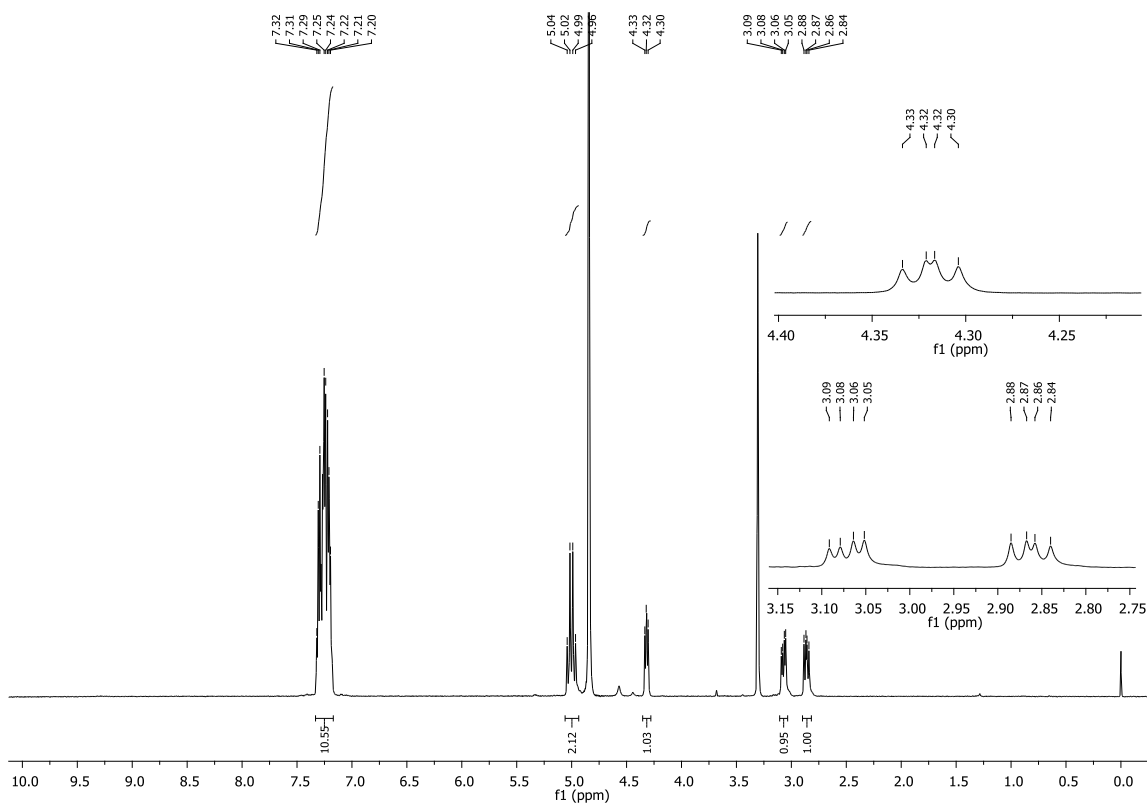


Figura 2.30. Espectro de RMN de ^1H de **47c** (CD_3OD , 400 MHz).

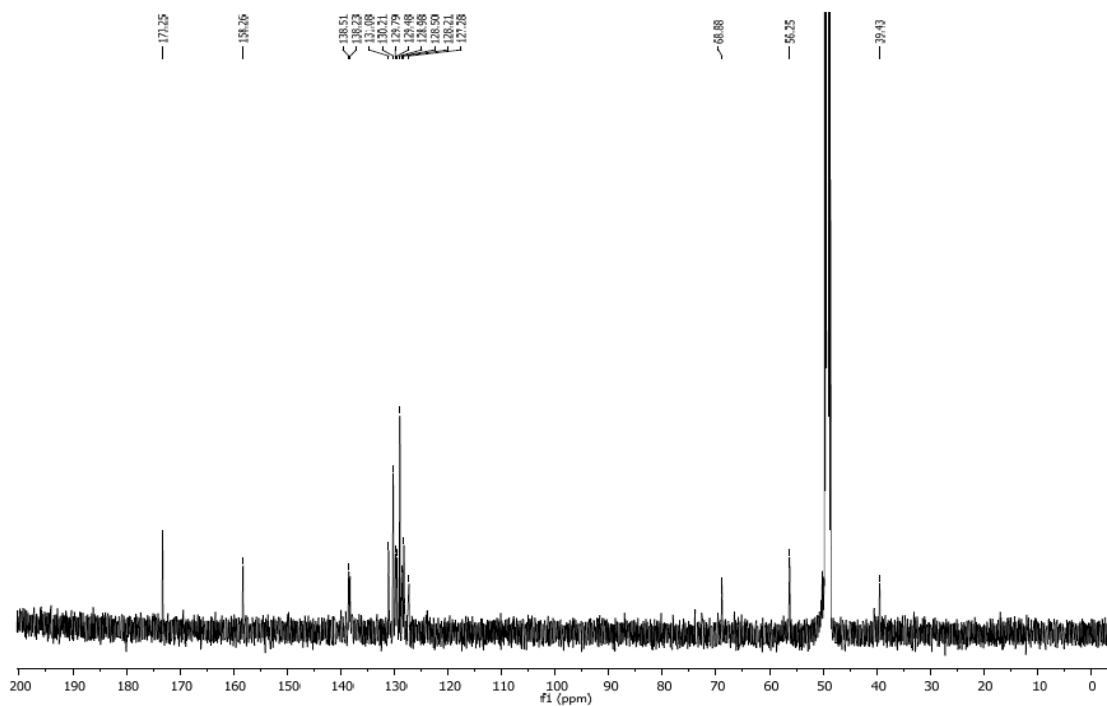
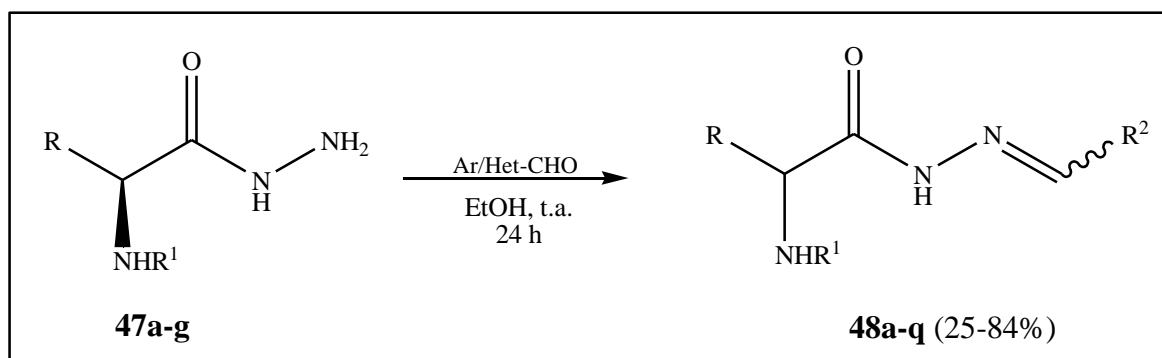


Figura 2.31. Espectro de RMN de ^{13}C de **47c** (CD_3OD , 100 MHz).

2.3.6. Síntese das *N*-acilidrazonas 48a-q

As *N*-acilidrazonas foram obtidas através da clássica reação de condensação de *N*-acilidrazinas com os aldeídos aromáticos e heteroaromáticos correspondentes em etanol (Esquema 2.9) (VERGARA, 2009). Empregando-se esse processo, os compostos **48a-q** foram obtidos em 25 a 84% de rendimento conforme descrito na Tabela 2.4. As primeiras *N*-acilidrazonas sintetizadas foram as desprotegidas e derivadas do *p*-NO₂-benzaldeído. Devido a problemas de solubilidade apresentados pelas mesmas, optou-se por proteger o grupamento amino com o intuito de torná-la mais apolar e utilizar aldeídos heteroaromáticos. Os análogos da L-alanina protegidos com Cbz não foram sintetizados em virtude dos resultados insatisfatórios de atividade biológica dos análogos com Boc. Os compostos **48a-q** foram purificados por cristalização ou coluna cromatográfica e suas estruturas foram caracterizadas por espectros de massa, infravermelho, RMN de ¹H e de ¹³C.



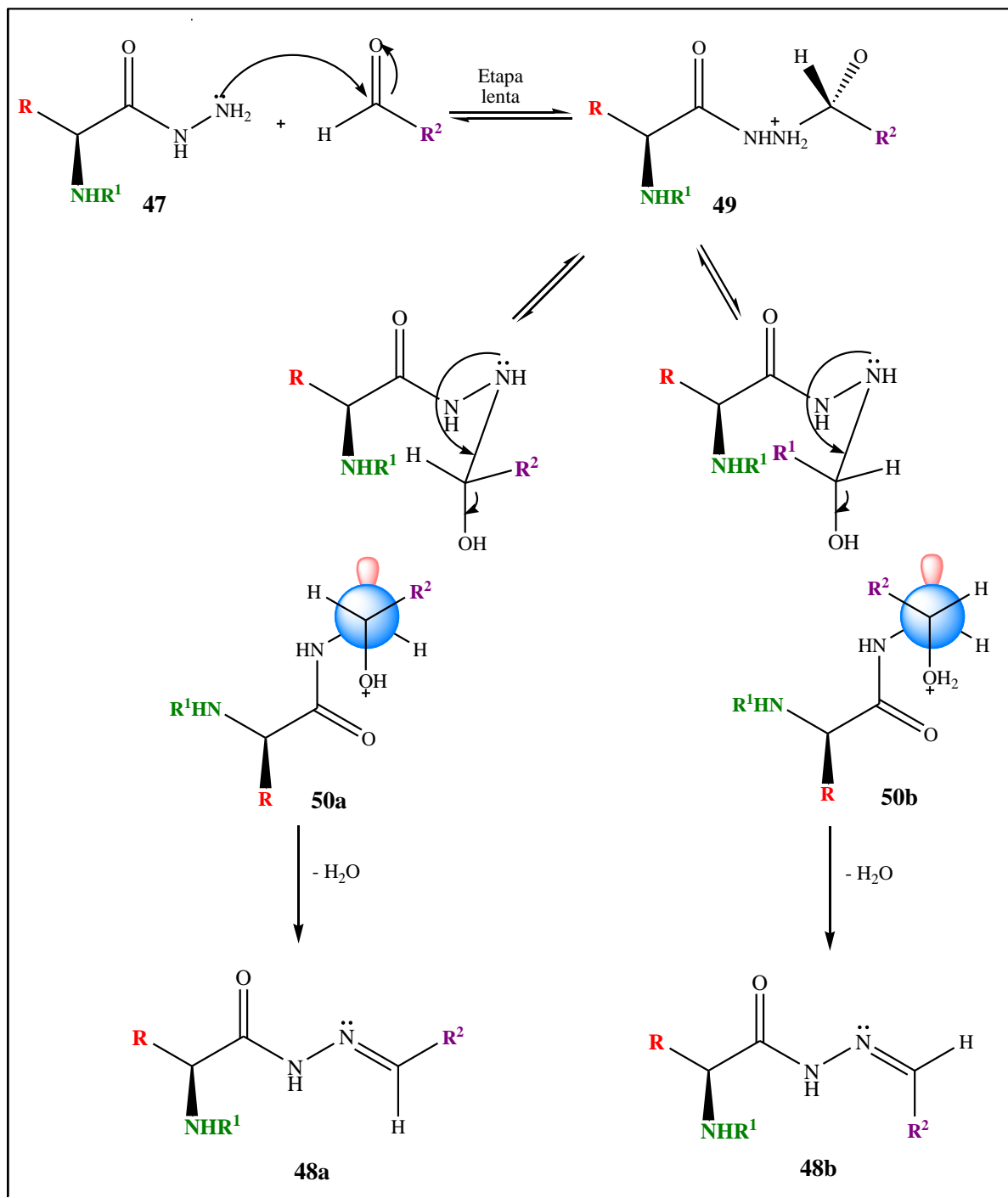
Esquema 2.9. Síntese das *N*-acilidrazonas 48a-q.

Na Tabela 2.4 estão representadas as *N*-acilidrazonas **48a-q** sintetizadas com os respectivos rendimentos obtidos e as respectivas faixas de fusão.

Tabela 2.4. Rendimento e faixa de fusão das substâncias 48a-q.

Composto	R	R ¹	R ²	Rendimento (%)	Faixa de Fusão (°C)
48a	PhCH ₂	Boc	2-NO ₂ -fúril	70	174,7-175,6
48b	PhCH ₂	Boc	2-NO ₂ -tienil	84	180,9-182,8
48c	PhCH ₂	Cbz	2-NO ₂ -fúril	25	179,5-181,4
44d	PhCH ₂	Cbz	2-NO ₂ -tienil	77	147,6-149,9
48e	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	H	<i>p</i> -NO ₂ -benzil	43	133,5-135,2
48f	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	H	2-NO ₂ -fúril	35	125,2-127,4
48g	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Boc	2-NO ₂ -fúril	54	112,4-113,5
48h	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Boc	2-NO ₂ -tienil	71	103,0-105,4
48i	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Boc	fúril	60	140,1-141,5
48j	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Boc	tienil	69	169,5-173,1
48l	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Cbz	2-NO ₂ -fúril	70	89,3-92,6
48m	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Cbz	2-NO ₂ -tienil	75	90,8-94,0
48n	CH ₃	Boc	2-NO ₂ -fúril	54	136,2-138,3
48o	CH ₃	Boc	2-NO ₂ -tienil	62	143,1-145,9
48p	CH ₃	Boc	fúril	65	158,0-159,6
48q	CH ₃	Boc	tienil	80	160,1-161,9

A proposta mecanística para essa reação consiste no ataque nucleofílico do nitrogênio básico da hidrazida a carbonila do aldeído, levando a formação do intermediário hemiaminal *N*-protonado tetraédrico **49**. Nesse intermediário ocorre rápida transferência do próton do nitrogênio para o oxigênio **50a** e **50b**, via solvente, permitindo assim, a eliminação de uma molécula de água (Esquema 2.10) (COSTA, 2003). Durante a eliminação, dois possíveis produtos podem ser formados, os isômeros geométricos com configuração relativa *E* (**48a**) e *Z* (**48b**) (Esquema 2.10).



Esquema 2.10. Mecanismo proposto para a síntese das *N*-acilidrazonas **48a-q** (Adaptado de KÜMMERLE, 2009).

Devido à isomeria geométrica (*E/Z*) em relação à ligação dupla $\text{N}=\text{C}$ e à presença de dois possíveis confôrmeros, onde os hidrogênios de NH encontram-se *sinperiplanar* (*sp*) ou *antiperiplanar* (*ap*) em relação ao oxigênio da carbonila, as *N*-acilidrazonas podem existir como quatro possíveis estereoisômeros (Figura 2.32) (SYAKAEV, 2006; LOPES, 2010).

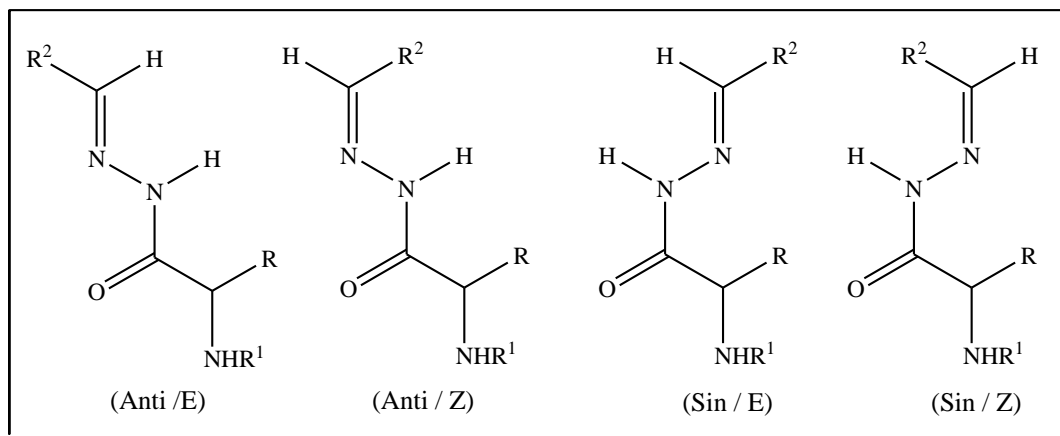


Figura 2.32. Estruturas dos isômeros *E/Z* e dos confôrmeros *ap/sp* das *N*-acilidrazonas **48a-q** (LOPES, 2010).

Considerando-se a importância do grupamento farmacofórico *N*-acilidrazônico na possível atividade biológica das moléculas planejadas, a compreensão de seu arranjo espacial é de suma importância.

Através da análise dos espectros de RMN de ¹H das *N*-acilidrazonas **48a-q** pode-se observar a duplicação de alguns sinais. Neste caso, esses sinais duplicados poderiam ser oriundos da presença de dois possíveis confôrmeros (*sp/ap*) ou da presença de dois possíveis isômeros geométricos (*E/Z*) da ligação C=N (Figura 2.32). Sendo assim, decidiu-se realizar um experimento de RMN de ¹H, à temperatura de 85°C, com o intuito de verificar se haveria coalescência dos sinais duplicados supracitados. É sabido que com o aumento da temperatura atinge-se a energia necessária para se suplantar a barreira rotacional da ligação entre o carbono carbonílico e o N (HNC=O), ocorrendo à rápida interconversão de um confôrmero em outro e a consequente coalescência dos sinais, o que não é observado nos isômeros geométricos (*E/Z*) da ligação C=N. Para exemplificação dessa observação, ater-se-a à discussão dos espectros pertinentes ao composto **48b**. No espectro de RMN de ¹H de **48b** à temperatura ambiente (Figura 2.33a), pode-se observar os sinais relativos aos hidrogênios de NHN e N=CH duplicados; contudo no espectro obtido a 85 °C (Figura 2.33b) pode-se observar que houve a coalescência dos sinais correspondentes a esses hidrogênios, indicando a presença de confôrmeros.

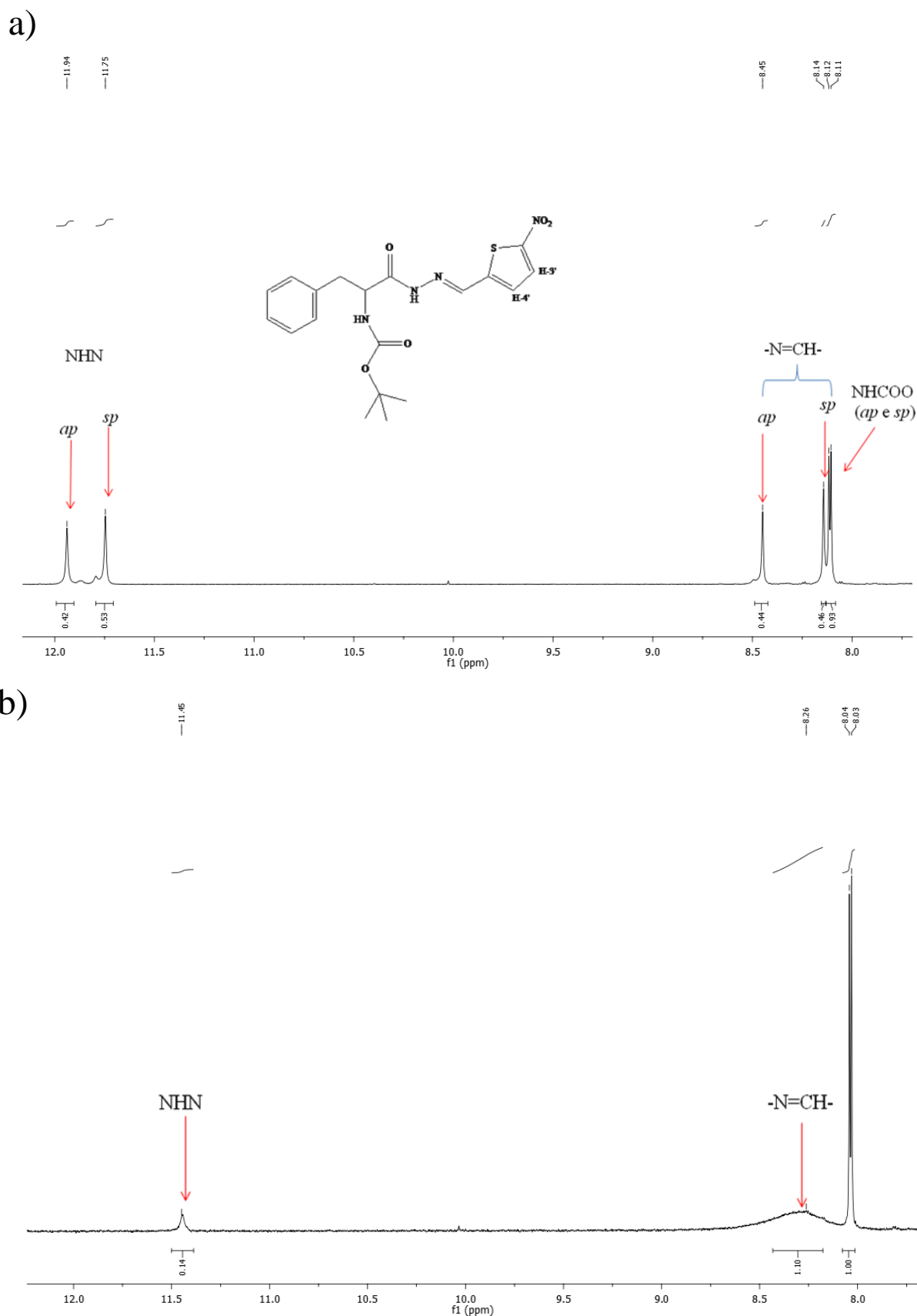


Figura 2.33. Expansão da região de alta frequência do espectro de RMN de ^1H de **48b** realizado a diferentes temperaturas: **a)** 25 °C; **b)** 85 °C ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz).

Essa conversão não é observada à temperatura ambiente devido à contribuição do tautômero **2**, procedente do efeito de ressonância entre o par de elétrons do átomo de nitrogênio e a ligação π da carbonila (Figura 2.34), pois esse confere à ligação amida um caráter parcial da ligação HO-C=N (iminol), tornando lenta esta rotação (CARVALHO, 2011).

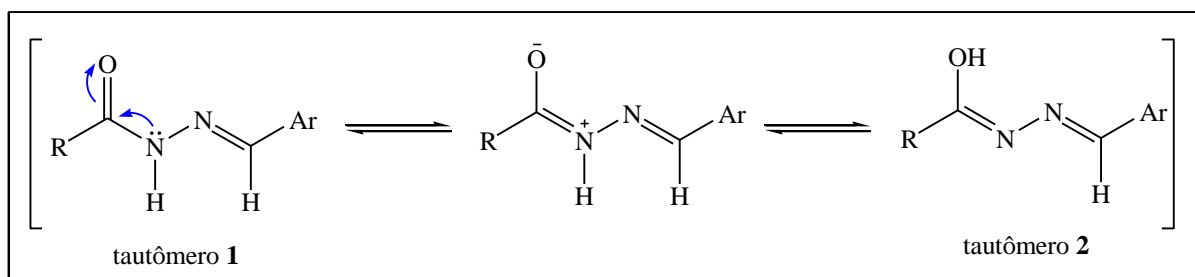


Figura 2.34. Equilíbrio entre os tautômeros **1** e **2**.

Outra estratégia utilizada para analisar a questão da presença de diastereoisômeros nesta série *N*-acilidrazônica **48a-q** consistiu na reação de metilação do grupamento NHN, utilizando o iodeto de metila como agente alquilante. Este experimento consistiu em verificar a possibilidade de haver o isômero conformacional *sp* da ligação amida, devido a ausência dos possíveis tautômeros **1** e **2** ao nível da ligação amida do grupo *N*-acilidrazônico.

No espectro de RMN de ^1H de **48b** (Figura 2.35a) pode ser observado dois simpletos a δ 11,75 e 11,94 ppm referentes aos confômeros *ap/sp* dos hidrogênios da amida, e dois outros simpletos a δ 8,14 e 8,45 ppm referentes aos confômeros *ap/sp* dos hidrogênios de N=CH. Todavia no espectro de RMN de ^1H da substância metilada **51** (Figura 2.35b) observou-se a presença de um simpleto em δ 3,30 ppm e não foram observados os sinais relativos ao hidrogênio de amida, evidenciando a ocorrência da reação de metilação. Além disso, foi observado apenas um sinal correspondente ao hidrogênio de imina, evidenciando dessa forma que há a presença do confômero *sp*.

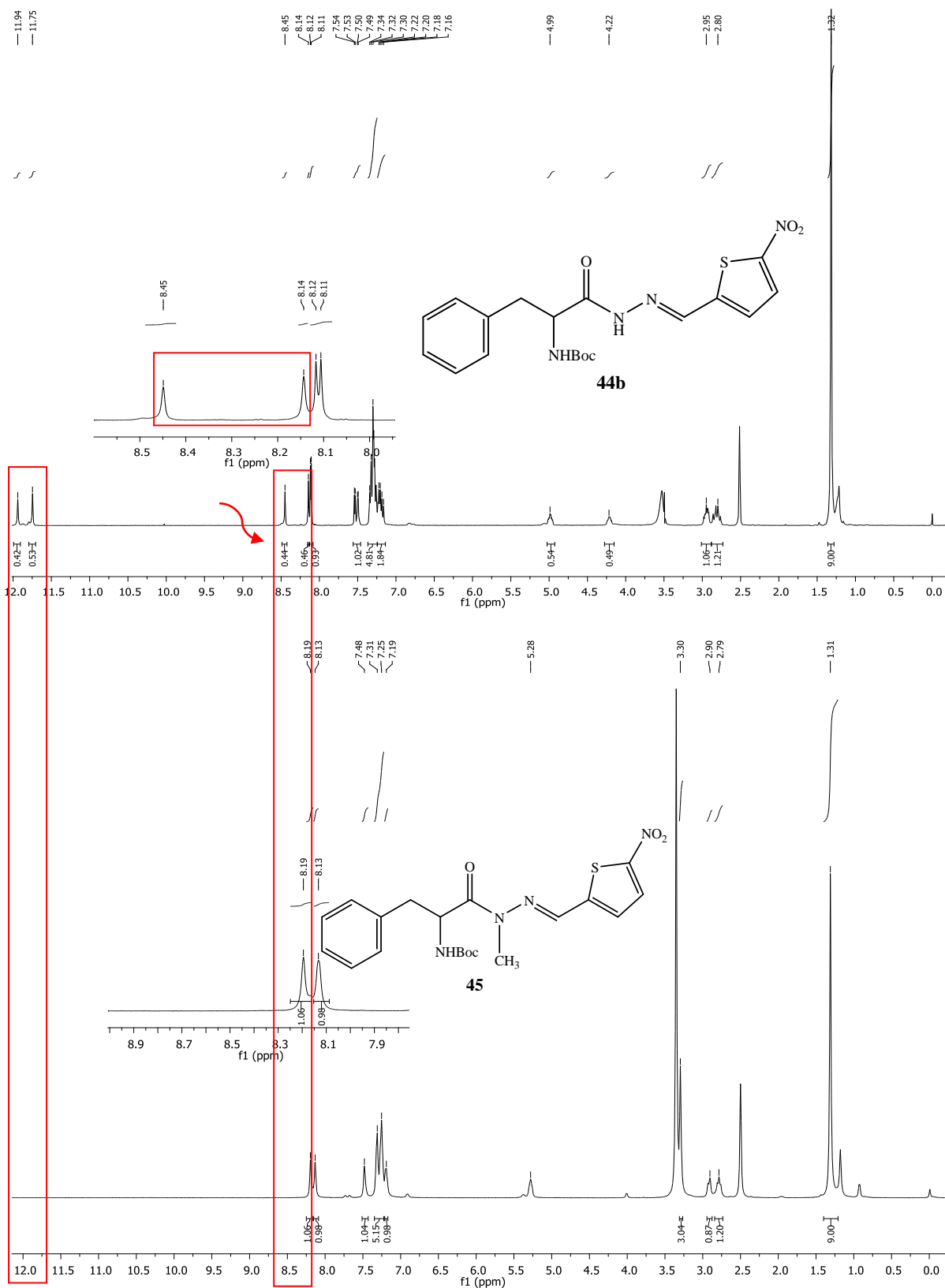


Figura 2.35. a) Espectro de RMN de ^1H de **48b** (DMSO- d_6 , 400 MHz); b) Espectro de RMN de ^1H de **51** (DMSO- d_6 , 400 MHz);

Estas investigações também foram realizadas para as *N*-acilidrazonas derivadas do aminoácido L-alanina, para as quais foram feitas as mesmas observações que em **48b**. Sendo assim, através dos resultados apresentados, acredita-se que os compostos da série **48a-q** foram obtidos na forma de um único isômero geométrico, e em solução encontram-se em equilíbrio na forma de dois confôrmeros estáveis *sp/ap* que se interconvertem pela rotação da ligação amídica. Devido a prévia experiência em nosso grupo de pesquisa com *N*-acilidrazonas derivadas do aminoácido L-serina, acredita-se que o isômero formado seja o *E*, pois este é mais favorecido termodinamicamente (PINHEIRO, 2010). Estudos de raios-X serão realizados futuramente para comprovar essa hipótese.

De acordo com o que vem sendo relatado na literatura (PALLA *et al*, 1986; WYRZYKIEWICZ *et al*, 1998), a presença de confôrmeros em compostos *N*-acilidrazônicos, geralmente, é observada naqueles que apresentam um grupo espaçador entre a carbonila e o anel aromático ou ainda em compostos alquil-*N*-acilidrazonas.

2.4. ENSAIOS BIOLÓGICOS

As *N*-acilidrazinas **47a-g** e *N*-acilidrazonas **48a-q** foram avaliadas pelo método Alamar Blue® quanto às suas propriedades antituberculares. Os ensaios foram realizados no Instituto de Pesquisas Clínicas Evandro Chagas (IPEC) / FIOCRUZ-RJ, sob a coordenação da pesquisadora Maria Cristina Lourenço.

2.4.1. Teste *in vitro*

Para este ensaio foi utilizada uma cepa de *Mycobacterium tuberculosis* H37 RvATCC 27294 que cresceu em meio Loweinstein-Jensen a 37°C por três semanas e depois foi pré-incubada em meio líquido Middlebrook 7H9 a 37°C por dez dias, até que a densidade bacteriana correspondesse a 1,0 na escala de turbidez McFarland. As suspensões foram então diluídas na proporção 1:25 no mesmo meio (Middlebrook 7H9) antes da inoculação ($4 \cdot 10^5$ micobactérias/mL).

As soluções estoques de cada composto foram preparadas em DMSO, esterilizadas pela passagem em filtro PFTE 0,22 µm e armazenadas a -80°C. As diluições foram feitas em meio líquido Middlebrook 7H9. A rifampicina foi utilizada como controle interno.

Os testes foram desenvolvidos de acordo com o ensaio de microdiluição em placa utilizando como revelador o corante Alamar Blue® (sal de reazurina). Primeiramente, 100 mL de suspensão de micobactérias foram acrescentados à microplaca contendo 100 mL de uma série de diluições dos compostos (0,5 a 1000 µmol/L). Após a incubação a 37°C por seis dias, adicionaram-se 25 µL de uma mistura 1:1 (v/v) de Alamar Blue e 10% de twen 80 e as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. A cor azul indica ausência do crescimento bacteriano. Uma mudança de cor de azul para rosa foi observada nas placas onde a micobactéria cresceu (Figura 2.36). As concentrações mínimas inibitórias (MIC) foram definidas como as menores concentrações das substâncias que impediram a mudança de cor.



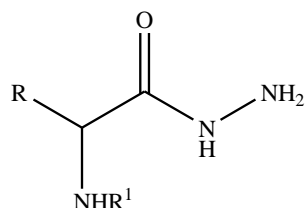
Figura 2.36. Exemplo de microplacas de 96 poços utilizada no método Alamar Blue[®].

2.4.2. Análise dos resultados do teste *in vitro* das *N*-acilidrazinas e *N*-acilidrazonas

Os resultados dos ensaios *in vitro* estão apresentados em 4 tabelas. Na Tabela 2.5 estão os resultados relativos aos intermediários *N*-acilidrazinas **47a-g**, no qual podemos observar que a substância **47a**, um derivado da L-fenilalanina não protegido, foi o único que se mostrou ativo frente ao *M. tuberculosis*, com CIM de 100 µg / mL.

Dentre todos os compostos sintetizados, o derivado da L-fenilalanina contendo a subunidade 5-nitrofurila **48c** foi o que apresentou melhor atividade CIM 12,5 µg/mL sendo mais ativo que o fármaco tuberculostático D-cicloserina. Dessa série, somente o **48a**, que é um derivado não-protégido contendo a subunidade *p*-nitrobenzila, não foi ativo. Esses resultados mostram a importância do grupo 5-nitrofurila na atividade investigada (Tabela 2.6). Não foi encontrado relação da atividade biológica com a lipofilicidade apresentada pelas substâncias.

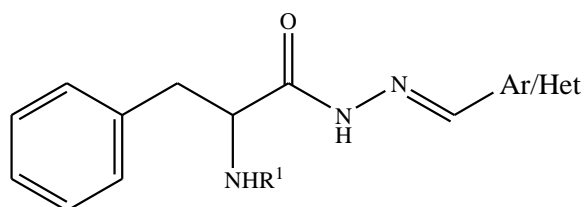
Tabela 2.5. Atividade *in vitro* das *N*-acilidrazinas **47a-g** contra o *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294, sensíveis a D-cicloserina).



Composto	R	R ¹	logP ^a	CIM (µg/mL)
47a	C ₆ H ₅ CH ₂ -	H	-1,363	100
47b	C ₆ H ₅ CH ₂ -	BOC	2,380	resistente
47c	C ₆ H ₅ CH ₂ -	Cbz	2,790	resistente
47d	CH ₃ (CH ₂) ₂ CHCH ₂ -	H	-1,514	resistente
47e	CH ₃ (CH ₂) ₂ CHCH ₂ -	BOC	2,229	resistente
47f	CH ₃ (CH ₂) ₂ CHCH ₂ -	Cbz	2,638	resistente
47g	CH ₃ -	BOC	0,919	resistente
cicloserina	-	-	-	20

^a Calculado por <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

Tabela 2.6. A atividade *in vitro* de *N*-acilidrazonas derivadas da L-fenilalanina **48a-d** contra o *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294, sensíveis a D-cicloserina).

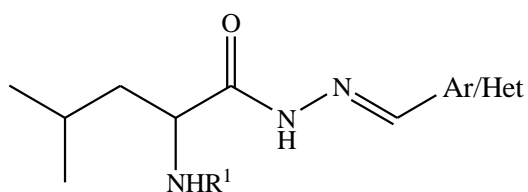


Substância	R ¹	Ar/Het	logP ^a	CIM (µg/mL)
48a	BOC	5-nitro-2-furil	5,137	100
48b	BOC	5-nitro-2-tienil	5,779	50
48c	Cbz	5-nitro-2-furil	5,546	12,5
48d	Cbz	5-nitro-2-tienil	6,188	50
cicloserina	-	-	-	20

^a Calculado por <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

Ao analisarmos os resultados da atividade dos derivados da L-leucina **48e-m** percebemos a importância do grupo 5-nitrofuril para a atividade biológica dos compostos sintetizados, pois os derivados contendo os grupos *p*-nitrobenzil **48e** e os não-nitrados **48i** e **48j** não se mostraram ativos. Os derivados protegidos com Cbz (**48l** e **48m**) e o não-protetido **48f**, foram os mais ativos desta série com CIM de 25 µg/mL (Tabela 2.7).

Tabela 2.7. Atividade *in vitro* de *N*-acilidrazonas derivadas da L-leucina **48e-m** contra o *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294, sensíveis a D-cicloserina).

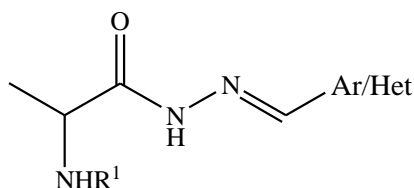


Substância	R ¹	Ar/Het	logP ^a	CIM (µg/mL)
48e	H	<i>p</i> -nitrobenzil	1,862	resistente
48f	H	5-nitro-2-furil	1,242	25
48g	BOC	5-nitro-2-furil	4,986	50
48h	BOC	5-nitro-2-tienil	5,627	50
48i	BOC	2-furil	4,903	resistente
48j	BOC	2-tienil	5,545	resistente
48l	Cbz	5-nitro-2-furil	5,395	25
48m	Cbz	5-nitro-2-tienil	6,037	25
cicloserina	-	-		20

^a Calculado por <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

Os derivados da L-alanina **48n-q**, que são protegidos com Boc, não apresentaram resultados biológicos significativos, em função destes resultados os respectivos análogos protegidos com Cbz não foram sintetizados (Tabela 2.8).

Tabela 2.8. Atividade *in vitro* de *N*-acilidrazonas derivadas da L-alanina **48n-q** contra o *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294, sensíveis a D-cicloserina).



Substância	R ¹	Ar/Het	logP ^a	CIM (µg/mL)
48n	BOC	5-nitro-2-furil	3,676	resistente
48o	BOC	5-nitro-2-tienil	4,318	resistente
48p	BOC	2-furil	3,593	100
48q	BOC	2-tienil	4,235	100
cicloserina	-	-	-	20

^a Calculado por <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

2.4.3. Atividade antituberculose dos derivados tetraidropirimidínicos e diaminas obtidas no Capítulo 1

Raju e colaboradores descreveram uma série de tetraidropirimidinas que se mostraram ativas frente às cepas do *M. tuberculosis*. Uma dessas substâncias que apresentou promissores resultados foi o composto **52** (Figura 2.37) (RAJU, 2011).

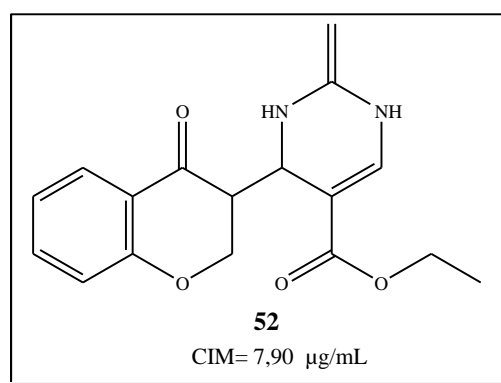


Figura 2.37. Derivado tetraidropirimidínico com atividade anti-TB.

Muitos trabalhos na literatura relatam a importância de poliaminas com atividade antimicrobiana (CATÃO, 2010), baseado nesta atividade e no resultado apresentado por Raju e colaboradores, decidiu-se testar as diaminas **30a-e** e os derivados tetraidropirimidínicos **31a-e** sintetizados no Capítulo 1 do presente trabalho, pois os mesmos foram obtidos por

reação de diaminas lipofílicas **30a-e** com a etionamida, que é um fármaco análogo a isoniazida com atividade anti-TB. Sendo assim, pensou-se que os derivados **31a-e** poderiam apresentar atividade anti-TB relevantes, haja vista que esses poderiam ser planejados estruturalmente por hibridação molecular da subunidade farmacofórica tetraidropirimidina com a etionamida.

Os derivados tetraidropirimidínicos **31a-e** e seus intermediários, as diaminas **30a-e**, foram avaliados quanto as suas propriedades tuberculostáticas. Dentre as diaminas, destaca-se a **30c** que apresentou CIM=25 µg/mL. Destacam-se também, os derivados tetraidropirimidínicos **31b** e **31e**, que apresentaram CIM=12,5 µg/mL (Figura 2.38). Os demais derivados não puderam ser avaliados, pois precipitaram ao serem introduzidos no meio celular bacteriano. Esses resultados preliminares mostraram-se promissores, indicando que deve haver uma melhor investigação da ação anti-TB desses derivados, buscando novos análogos estruturais, podendo vir a ser promissoras classes de compostos na busca por um protótipo com perfil tuberculostático.

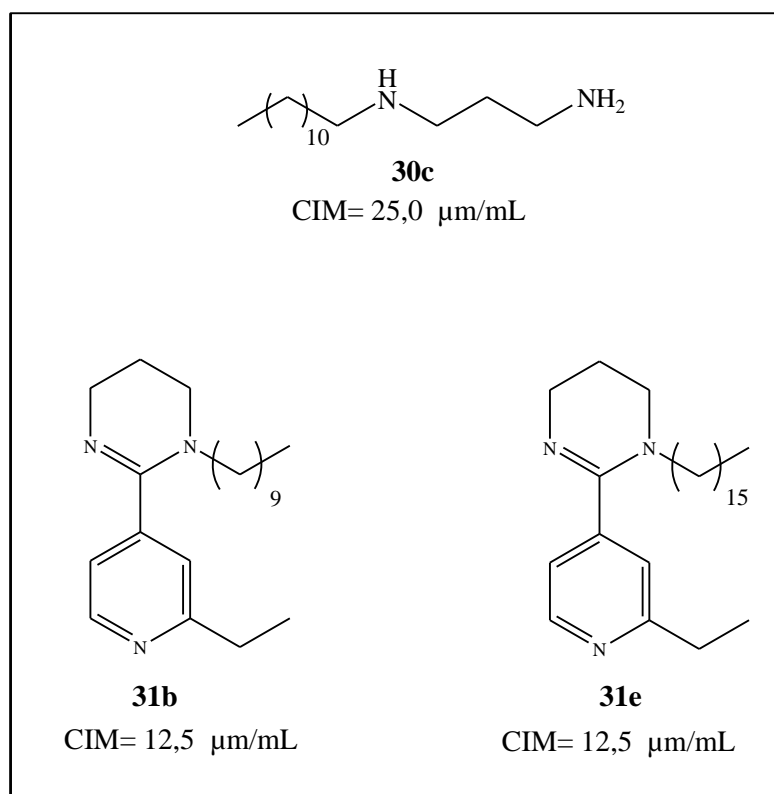


Figura 2.38. Diamina **30c** e tetraidropirimidinas **31b** e **31e** com atividade anti-TB.

2.5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

2.5.1. Conclusões

Nesta parte do trabalho foram sintetizadas 31 substâncias, sendo 8 ésteres (**44a-c**, **45a-c** e **46a-b**), 7 hidrazidas (**47a-g**) e 16 *N*-acilidrazonas (**48a-q**), destes apenas os ésteres não são inéditos. Todas as substâncias foram obtidas por metodologias simples, as quais apresentaram bons rendimentos.

Todas as hidrazidas e *N*-acilidrazonas foram submetidas a teste de avaliação antitubercular. Dentre as hidrazidas, a substância **47a** foi a única que apresentou atividade com CIM de 100 µg / mL. De acordo com os resultados dos testes das *N*-acilidrazonas, pode-se perceber que os melhores resultados foram obtidos para as substâncias derivadas da L-leucina e L-fenilalanina. E também, pôde-se constatar a importância dos grupos 5-nitrofurânicos e do grupo protetor Cbz para a atividade das *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos, dentre as quais destaca-se a substância **48c** mais ativa que o fármaco de referência D-cicloserina, com CIM de 12,5 µg / mL.

Os estudos de metilação da *N*-acilidrazona e o experimento de RMN de ¹H em altas temperaturas sugeriram que as hidrazonas foram obtidas na forma de um único isômero geométrico e que em solução se apresentam na forma de conformeros *sp/ap*.

2.5.2. Perspectivas

- Fazer reações de metilação com as demais *N*-acilidrazonas com o intuito de se verificar a influência deste grupamento na atividade antituberculose;
- Realizar a determinação estrutural por difração de raios-X da substância **48c**.

3.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS DE CARACTERIZAÇÃO

Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada fina (CCF), utilizando sílica-gel 60G (Merck) suportada em lâminas de vidro ou cromatofolhas suportadas em placas de alumínio de Kiesegel 60F₂₅₄ (Merck). Como reveladores foram utilizados vapores de iodo, solução etanólica de ácido sulfúrico a 20% v/v, solução etanólica de ninidrina a 1 % p/v e solução etanólica de vanilina 3% e ácido sulfúrico 2%.

Para cromatografia em coluna de sílica utilizou-se sílica-gel 60G 0,063-0,200mm (70-230 mesh ASTM) e para coluna cromatográfica “flash” utilizou-se sílica-gel 60G 0,040-0,063 mm 9230-400 mesh ASTM), ambas da marca Merck.

Nos procedimentos de purificação, por extração ou coluna cromatográfica, foram utilizados solventes P.A. Vetec, Isofar, Nuclear e Tedia.

As reações conduzidas por aquecimento com irradiação por micro-ondas foram realizadas em forno de microondas doméstico Newtech® modelo MO1180 de 2450 MHz com alimentação de 120v/60 MHz especialmente adaptado para síntese conforme descrito na literatura (PECORARO *et al.*, 2007).

Os espectros de massa (EM), método ESI (*Electrospray Ionization* em solução aquosa de NH₄Cl), foram feitos em espectrômetro modelo ZQ quadrupolo simples (Farmanguinhos-Fiocruz/RJ)

As faixas de fusão foram obtidas em aparelho digital MQAPF-Microquímica no Departamento de Química (DQ), ICE, UFJF.

Os espectros de infravermelho (IV) foram registrados em espectrofotômetros BOMEM-FTIR MB-102 (DQ-UFJF), Thermo Nicolet Nexus 670 e Perkin-Elmer FT-IR, Spectrum One, de feixe duplo (Farmanguinhos-Fiocruz/RJ), as análises foram realizadas em pastilhas de KBr anidro (sólidos), Nujol (óleos) e CsI (óleos). Os valores para as absorções foram expressos em número de onda, utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm⁻¹).

Os espectros de RMN de ¹H foram obtidos a 300 MHz em aparelho Bruker Advance DRX300 (DQ-UFJF), a 400 ou 500 MHz em aparelho Bruker Avance (Farmanguinhos-Fiocruz/RJ). O espectro de COSY e RMN de ¹H em altas temperaturas foram obtidos a 400 MHz em aparelho Bruker Avance (Farmanguinhos-Fiocruz/RJ). A referência interna foi o tetrametilsilano (TMS). Os valores de deslocamento químico (δ) foram referidos em partes por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento (*J*) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica, e suas multiplicidades foram

descritas da seguinte forma: s – simpleto; sl -simpleto largo; d – duplete; dd - duplete duplo; t- tripleto; q – quarteto; qu – quinteto; m – multiplete.

Os espectros de RMN de ^{13}C foram obtidos a 75 MHz em aparelho Bruker Advance DRX300 (DQ-UFJF), a 100 ou 125 MHz em aparelho Bruker Avance (Farmanguinhos-Fiocruz/RJ). O espectro de DEPT 135 foi obtido a 125MHz em aparelho Bruker AC300 Gif-sur-Yvette-França). A referência interna foi o sinal de ^1H residual do solvente deuterado. Os valores de deslocamento químico foram referidos em partes por milhão (ppm).

Os coeficientes de partição das substâncias foram teoricamente calculados pelo programa mipc – molinspiration property calculator, disponível em www.molinspiration.com.

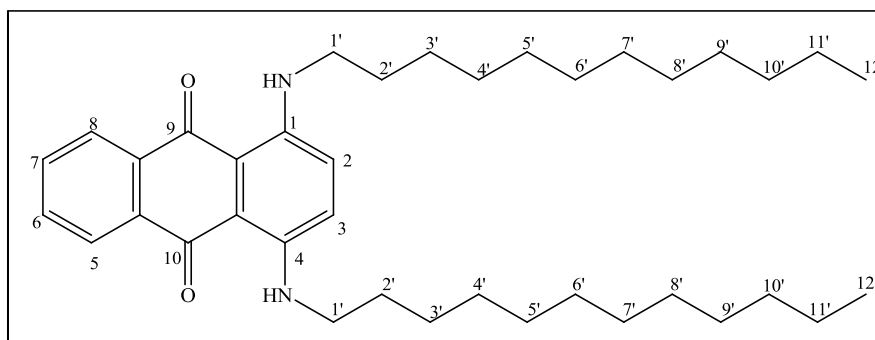
3.2. METODOLOGIAS SINTÉTICAS

3.2.1. Preparação dos compostos do Capítulo 1

3.2.1.1. Síntese dos derivados antraquinônicos de cadeias lipofílicas

3.2.1.1.1. 1,4-bis(dodecilamino)antra-9,10-quinona **12**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foi adicionado 1,4-diaminoantraquinona (120 mg; 0,5 mmol), que foi solubilizado em dimetilacetamida (10 mL), seguido da adição de *tert*-butóxido de potássio (112 mg; 1 mmol). Após 30 minutos, foi adicionado iodeto de dodecila previamente preparado (592 mg; 2 mmol), sendo o iodeto de dodecila obtido por reação de 1-dodecanol com iodo molecular, imidazol e trifetilfosfina, utilizando-se tolueno como solvente. A reação foi realizada em microondas doméstico adaptado, sendo efetuado 4 pulsos de 15 minutos cada. A reação foi acompanhada por CCF, empregando-se como eluente diclorometano e revelador lâmpada de ultravioleta. Após evaporação sob pressão reduzida o resíduo obtido foi purificado por CCF, eluente diclorometano/metanol, fornecendo **12** como um sólido azul em 52% de rendimento (148 mg, 0,26 mmol).

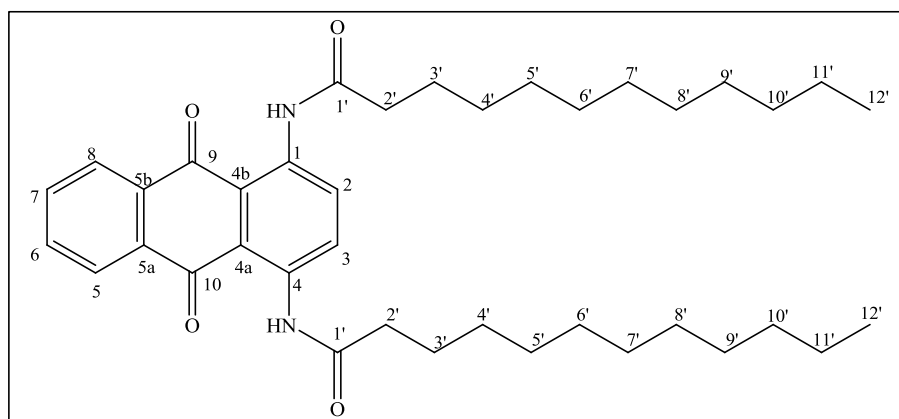


- **FM:** C₃₈H₅₈N₂O₂; **MM:** 574,45 g/mol; **PF:** 71-74°C (sólido azul).
- **IV (KBr) ν (cm⁻¹):** 3201 (deformação axial de N-H), 3065 (deformação axial de C-H aromático), 2914 e 2850 (deformação axial C-H alifático), 1637 (deformação axial de C=O cetona cíclica).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,16 (dd, 2H, J₁ = 5,9 Hz, J₂ = 3,3 Hz, H-5 e H-8); 7,67 (dd, 2H, J₁ = 5,9 Hz, J₂ = 3,3 Hz, H-6 e H-7); 7,20 (s, 2H, H-2 e H-3); 3,32 (m, 2H, H-1'); 1,75 (qu, 4H, J = 6,8 Hz, H-2'); 1,45 (m, 4H, H-3'); 1,29 (m, 32H, H-4'-H-11'); 0,86 (t, 6H, J = 6,9 Hz, H-12').

- **RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 182,4 (C-9 e C-10); 146,4 (C-1 e C-4); 134,8 (C-5a e C-5b); 132,1 (C-5 e C-8); 126,2 (C-6 e C-7); 123,8 (C-4a e C-4b); 109,8 (C-2 e C-3); 32,9 (C-1'); 29,9-22,9 (C-11'-C-3'); 14,3 (C-12').

3.2.1.1.2. *N*-[4-(dodecanoilamino)-9,10-dioxo-9,10-diidro-1-antracênil]dodecanamida **13**

Em um balão de fundo redondo de 100 mL contendo uma solução de 1,4-diaminoantraquinona (350 mg; 1,47 mmol) em dimetilacetamida (20 mL) e piridina (0,3 mL) a temperatura de 0°C, foi adicionado cloreto de dodecanoíla (1g; 4,57 mmol). A mistura reacional foi mantida em agitação magnética e temperatura ambiente, sendo acompanhada por CCF, utilizando-se como eluente hexano/acetato de etila (9:1). Após 24 horas, o volume foi reduzido sob pressão reduzida e foi feita extração líquido-líquido com água/clorofórmio. A fase orgânica foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo formado foi purificado por CCF, eluente hexano/acetato de etila, fornecendo 734 mg (1,2 mmol) de **13** como um sólido vermelho em 83 % de rendimento.

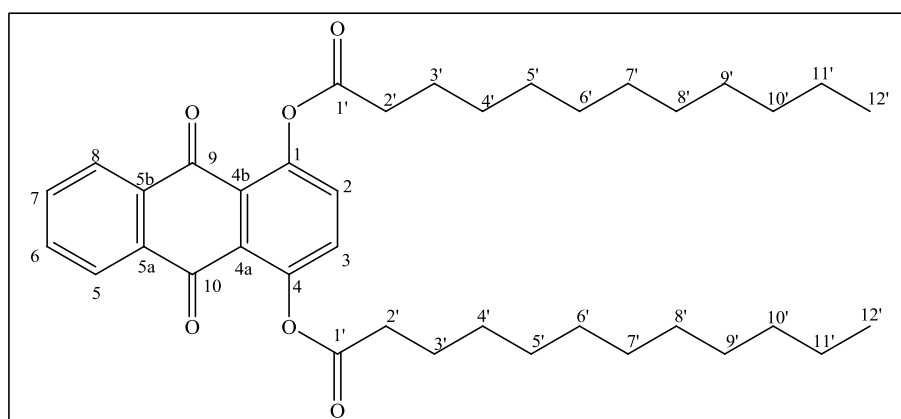


- **FM:** $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_4$; **MM:** 602,41 g/mol; **PF:** 130,5-131,5°C (sólido vermelho).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3402 (deformação axial de N-H), 3157 (deformação axial de C-H aromático), 2918 e 2848 (deformação axial C-H alifático), 1695 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1635 (deformação axial de C=O amida), 1504 (deformação angular de C=O amida).
- **RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 9,17 (s, 2H, H-2 e H-3); 8,27 (dd, 2H, $J_1 = 5,9$ Hz, $J_2 = 3,3$ Hz, H-5 e H-8); 7,82 (dd, 2H, $J_1 = 5,9$, $J_2 = 3,5$ Hz, H-6 e H-7); 2,54 (t, 4H, $J = 7,4$ Hz, H-2'); 1,81 (qu, 4H, $J = 7,4$ Hz, H-3'); 1,39 (m, 4H, H-4'); 1,26 (m, 28H, H-5'-H-11'); 0,88 (t, 6H, $J = 6,8$ Hz, H-12').

- **RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 186,9 (C-9 e C-10); 173,2 (C-1'); 138,6 (C-1 e C-4); 134,4 (C-5a e C-5b); 133,4 (C-6 e C-7); 129,2 (C-5 e C-8); 127,1 (C-2 e C-3); 116,5 (C-4a e C-4b); 39,0 (C-2'); 31,9 (C-3'); 29,6-29,2 (C-9'-C-2'); 25,5 (C-10); 22,7 (C-11'); 14,1 (C-12').

3.2.1.1.3. Laurato de 4-(dodecanoiloxi)-9,10-dioxo-9,10-diidro-1-antracênica **15**

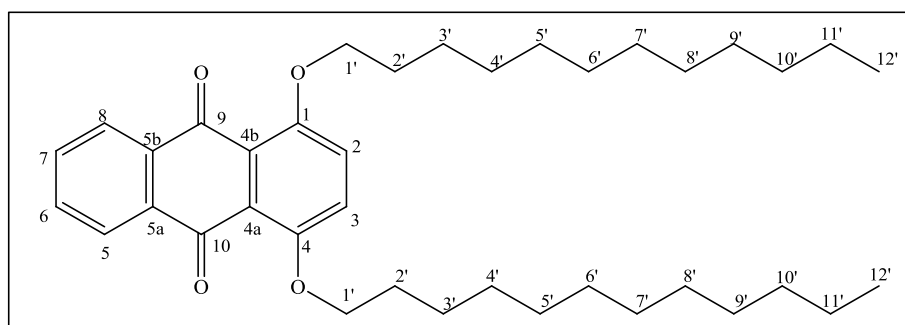
Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo solução de 1,4-diidroxi-antraquinona (535 mg; 2,25 mmol) em dimetilacetamida (20 mL) e piridina (0,30 mL) a 0°C, foi adicionado cloreto de dodecanoíla (1,09 g; 5 mmol), previamente preparado por reação do ácido dodecanóico com cloreto de tionila. A mistura reacional foi mantida em agitação magnética a temperatura ambiente durante 24 horas, sendo acompanhada por CCF, usando-se como eluente CH_2Cl_2 . O precipitado formado foi filtrado e lavado com hexano fornecendo **15** como um sólido amarelo claro em 90% de rendimento (1,22 g; 2 mmol).



- **FM:** $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{O}_6$; **MM:** 604,38 g/mol; **PF:** 78-81°C (sólido amarelo claro).
- **IV(KBr) ν (cm^{-1}):** 3157 (deformação axial de C-H aromático), 2916 e 2848 (deformação axial C-H alifático), 1678 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1774 (deformação axial de C=O éster), 1136 (deformação axial de C-O éster).
- **RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 8,16 (dd, 2H, $J_1 = 3,3\text{Hz}$, $J_2 = 5,5\text{ Hz}$, H-5 e H-8); 7,74 (dd, 2H, $J_1 = 3,3$, $J_2 = 5,5\text{ Hz}$, H-6 e H-7); 7,41 (s, 2H, H-2 e H-3); 2,79 (t, 4H, $J = 7,4\text{ Hz}$, H-2'); 1,84 (qu, 4H, $J = 7,7\text{ Hz}$, H-3'); 1,48 (m, 4H, H-4'); 1,29 (m, 28H, H-5'-H-11'); 0,88 (t, 6H, $J = 6,9\text{ Hz}$, C-12').
- **RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 181,8 (C-9 e C-10); 172,4 (C1'); 148,4 (C-1 e C-4); 134,2 (C-6 e C-7); 133,6 (C-5a e C-5b); 131,1 (C-5 e C-8); 127,1 (C-2 e C-3); 126,4 (C-4a e C-4b); 34,6 (C-2'); 32,1 (C-3'); 24,7-29,8 (C-4'-C-9'); 22,9 (C-10'); 21,7 (C-11'); 14,3 (C-12').

3.2.1.1.3. 1,4-bis(dodeciloxi)antra-9,10-quinona 16

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo solução de 1,4-diidroxiantraquinona (120 mg; 0,5 mmol) em dimetilacetamida (10 mL) foi adicionado *tert*-butóxido de potássio (244 mg; 2 mmol). Após 30 minutos foi adicionado iodeto de dodecila preparado previamente (592 mg; 2 mmol), sendo o iodeto de dodecila obtido por reação de 1-dodecanol com iodo molecular, imidazol e trifetilfosfina, empregando-se tolueno como solvente. A mistura reacional foi mantida em agitação magnética e temperatura de 60°C durante 2 dias, sendo acompanhada por CCF, usando-se como eluente diclorometano. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e foi realizada extração líquido-líquido com diclorometano e água. Após evaporação da fase orgânica sob pressão reduzida, o composto **16** foi isolado por coluna cromatográfica (eluente diclorometano/metanol) como um sólido amarelo em 68% de rendimento (197 mg; 0,33 mmol).

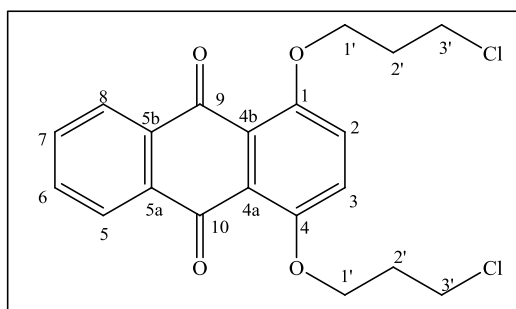


- **FM:** C₃₈H₅₆O₄; **MM:** 576,21 g/mol; **PF:** 69-71°C (sólido amarelo).
- **IV(KBr) v (cm⁻¹):** 2918 e 2848 (deformação axial C-H alifático), 1674 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1242 (deformação axial de C-O éter).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,18 (m, 2H, H-5 e H-8); 7,71 (m, 2H, H-6 e H-7); 7,30 (s, 2H, H-2 e H-3); 4,00 (t, 4H, *J* = 6,6 Hz, H-1'); 1,93 (qu, 4H, *J* = 6,8 Hz, H-2'); 1,40 (m, 4H, H-3'); 1,27 (m, 32H, H-4'-H-11'); 0,88 (t, 6H, *J* = 6.8 Hz, C-12').
- **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183,5 (C-9 e C-10); 154,1 (C-1 e C-4); 134,5 (C-5a e C-5b); 133,3 (C-5 e C-8); 126,6 (C-6 e C-7); 123,5 (C-4a e C-4b); 122,2 (C-2 e C-3); 70,6 (C-1'); 32,9 (C-2'); 29,7-28,6 (C-3'- C-9'); 25,8 (C-10'); 22,7 (C-11'); 14,1 (C-12').

3.2.1.2. Síntese dos derivados antraquinônicos de cadeias curtas

3.2.1.2.1. 1,4-bis(3-cloropropoxi)antra-9,10-quinona **19**

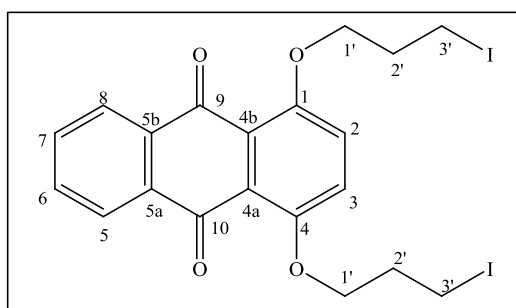
Em um balão de fundo redondo de 500 mL contendo solução de 1,4-diidroxiantraquinona **14** (10,24 g; 75 mmol) em 200 mL de butanona foi adicionado carbonato de potássio (10,36 g; 150 mmol). A reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 60 minutos. Após esse período de tempo, foi adicionado 1-bromo-3-cloropropano (23,62 g; 150 mmol) sendo a reação mantida sob agitação magnética em refluxo durante 48 horas. A reação foi acompanhada por CCF, (eluente diclorometano/hexano 9:1). Após o término da reação, o volume da mesma foi reduzido sob pressão reduzida e foi feita extração líquido-líquido em diclorometano e água. Após evaporação da fase orgânica sob pressão reduzida, o resíduo formado foi purificado por coluna cromatográfica (eluente diclorometano/metanol), fornecendo 6,76 g (17 mmol) de **19** como um sólido amarelo com 70% de rendimento.



- **FM:** C₂₀H₁₈Cl₂O₄; **MM:** 392,06 g/mol; **PF:** 119-122 °C (sólido amarelo).
- **IV(KBr) ν (cm⁻¹):** 3068 (deformação axial C-H aromático), 2935 e 2881 (deformação axial C-H alifático), 1664 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1240 (deformação axial de C-O éter), 648 (deformação angular de C-Cl).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,14 (2H, dd, $J_{1=}$ 3,0 Hz, $J_{2=}$ 6,0 Hz, H-5 e H-8); 7,70 (2H, dd, $J_{1=}$ 3,0 Hz, $J_{2=}$ 6,0 Hz, H-6 e H-7); 7,33 (2H, s, H-2 e H-3); 4,25 (t, 4H, $J =$ 6,0 Hz, H-1'); 3,98 (t, 4H, $J =$ 6,0 Hz, H-3'); 2,35 (4H, qu, $J =$ 6,0 Hz, H-2').
- **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183,2 (C-9 e C-10); 153,8 (C-1 e C-4); 134,3 (C-5a e C-5b); 133,5 (C-5 e C-8); 126,5 (C-6 e C-7); 123,6 (C-4a e C-4b); 122,2 (C-2 e C-3); 66,7 (C-1'); 42,0 (C-3'); 32,4 (C-2').

3.2.1.2.2. 1,4-bis(3-iodopropoxi)antra-9,10-quinona **22**

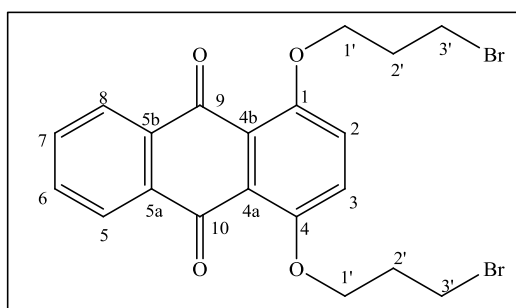
Em um balão de fundo redondo de 125 mL contendo uma solução do dicloreto **19** (1,17 g; 3 mmol) em 70 mL de butanona foi adicionado iodeto de sódio (1,799 g; 12 mmol). Essa reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura de 80°C durante 20 horas. A reação foi acompanhada por CCF, (eluente diclorometano/metanol 9,5:0,5). Após o término da reação, a mistura foi concentrada sob pressão reduzida e foi feita extração líquido-líquido em diclorometano e água. Após evaporação da fase orgânica sob pressão reduzida o resíduo formado foi purificado por coluna cromatográfica (eluente hexano/diclorometano), sendo obtido 1,244 g (2,2 mmol) de **22** como um sólido amarelo em 72% de rendimento.



- **FM:** C₂₀H₁₈I₂O₄; **MM:** 575,93 g/mol; **PF:** 110-112 °C (sólido amarelo).
- **IV(KBr) v (cm⁻¹):** 3068 (deformação axial C-H aromático), 2947 e 2870 (deformação axial C-H alifático), 1660 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1244 (deformação axial de C-O éter), 516 (deformação angular C-I).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,12 (2H, dd, $J_1 = 5,9$ Hz, $J_2 = 3,3$ Hz, H-8 e H-11); 7,68 (2H, dd, $J_1 = 5,7$ Hz, $J_2 = 3,3$ Hz, H-9 e H-10); 7,32 (2H, s, H-2 e H-3); 4,16 (4H, t, $J = 6,0$ Hz, H-1'); 3,60 (4H, t, $J = 6,4$ Hz, H-3'); 2,35 (4H, qu, $J_1 = 6,0$ Hz, H-2').
- **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183,0 (C-9 e C-10); 153,7 (C-1 e C-4); 134,2 (C-5a e C-5b); 133,4 (C-5 e C-8); 126,5 (C-6 e C-7); 123,5 (C-4a e C-4b); 122,2 (C-2 e C-3); 69,6 (C-1'); 32,9 (C-2'); 3,9 (C-3').

3.2.1.2.3. 1,4-bis(3-bromopropoxi)antra-9,10-quinona **23**

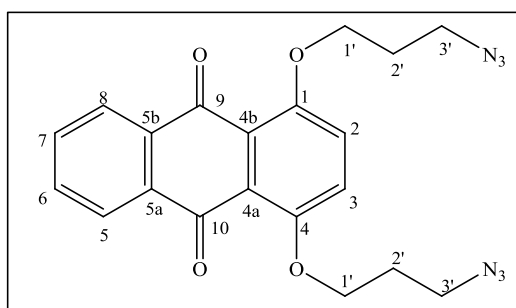
Em um balão de fundo redondo de 125 mL contendo uma solução do diiodeto **22** (300 mg; 0,5 mmol) em 70 mL de tetraidrofurano, foi adicionado brometo de tetrabutilamônio (967 mg; 3 mmol). Essa reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura de 80°C durante 20 horas e acompanhada por CCF (eluyente diclorometano/metanol 9,5:0,5). Após o término da reação, o volume da mesma foi reduzido sob pressão reduzida e foi feita extração líquido-líquido em diclorometano e água. Após evaporação da fase orgânica sob pressão reduzida, o resíduo formado foi purificado por coluna cromatográfica (eluyente hexano/diclorometano), sendo obtidos 125 mg (0,26 mmol) de **23** como um sólido amarelo em 45% de rendimento.



- **FM:** C₂₀H₁₈Br₂O₄; **MM:** 479,96 g/mol; **PF:** 128-130 °C (sólido amarelo).
- **IV(KBr) v (cm⁻¹):** 3066 (deformação axial C-H aromático), 2933 e 2879 (deformação axial C-H alifático), 1664 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1240 (deformação axial de C-O éter), 571 (deformação C-Br).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,15 (2H, dd, $J_{1=}$ 3,0 Hz, $J_{2=}$ 6,0 Hz, H-8 e H-11); 7,71 (2H, dd, $J_{1=}$ 3,0 Hz, $J_{2=}$ 6,0 Hz, H-9 e H-10); 7,35 (2H, s, H-2 e H-3); 4,26 (4H, t, $J_{=}$ 5,7 Hz, H-1'); 3,85 (4H, t, $J_{=}$ 6,5 Hz, H-3'); 2,44 (4H, quin, $J_{1=}$ 6,1 Hz, $J_{2=}$ 9,0 Hz, H-2').
- **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183,2 (C-6 e C-13); 153,9 (C-4 e C-11); 134,4 (C-7 e C-12); 133,5 (C-8 e C-11); 126,6 (C-9 e C-10); 122,6 (C-5 e C-14); 122,3 (C-2 e C-3); 67,8 (C-1'); 32,5 (C-2'); 30,9 (C-3').

3.2.1.2.4. 1,4-bis(3-azidopropoxi)antra-9,10-quinona **24**

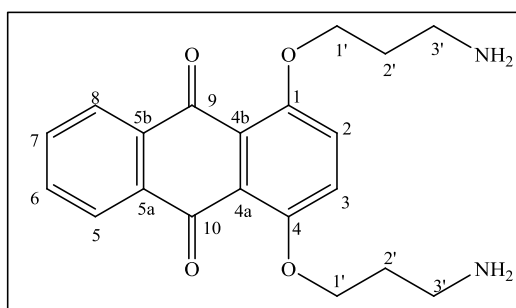
Em um balão de fundo redondo de 125 mL contendo uma solução do dicloreto **19** (1,17 g; 3 mmol) em 50 mL de DMF foi adicionado azida de sódio (0,78 g; 12 mmol). Essa reação foi mantida sob agitação magnética à temperatura de 100°C durante 24 horas. A reação foi acompanhada por CCF (eluente diclorometano/metanol 9:1). Após o término da reação foi realizada extração líquido-líquido em éter e água. Após evaporação da fase orgânica sob pressão reduzida o resíduo formado foi purificado por coluna cromatográfica (eluente diclorometano/metanol), sendo obtidos 885 mg (2,2 mmol) de **24** como um sólido amarelo escuro em 73% de rendimento.



- **FM:** C₂₀H₁₈N₆O₄; **MM:** 406,14 g/mol; **PF:** 63-66 °C (sólido amarelo escuro).
- **IV(KBr) v (cm⁻¹):** 3060 (deformação axial C-H aromático), 2933 e 2885 (deformação axial C-H alifático), 2090 (deformação axial N=N=N); 1664 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1240 (deformação axial de C-O éter).
- **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,16 (2H, dd, $J_{1=}$ 3,0 Hz, $J_{2=}$ 6,0 Hz, H-8 e H-11); 7,71 (2H, dd, $J_{1=}$ 3,0 Hz, $J_{2=}$ 6,0 Hz, H-9 e H-10); 7,33 (2H, s, H-2 e H-3); 4,20 (4H, t, $J_{=}$ 4,0 Hz, H-1'); 3,76 (4H, t, $J_{=}$ 4,0 Hz, H-3'); 2,17 (4H, qu, $J_{=}$ 4,0 Hz, H-2').
- **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183,2 (C-9 e C-10); 153,7 (C-1 e C-4); 134,3 (C-5a e C-5b); 133,5 (C-5 e C-8); 126,6 (C-6 e C-7); 123,7 (C-4a e C-4b); 122,2 (C-2 e C-3); 67,0 (C-1'); 48,3 (C-3'); 29,1 (C-2').

3.2.1.2.5. 1,4-bis(3-aminopropoxi)antra-9,10-quinona 25

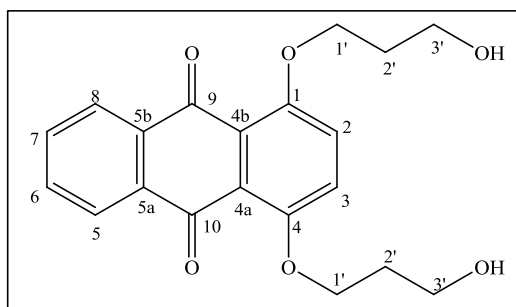
A uma solução contendo a substância **24** (140 mg; 0,35 mmol) em 50 mL de etanol foi adicionado paládio em carvão ativo 10%. Essa reação foi realizada em um reator Parr com hidrogênio em sistema hermeticamente fechado, à pressão de 7,04 atm e temperatura de 60°C durante 72 horas. A reação foi acompanhada por CCF (eluente diclorometano/metanol 8:2). Após o término da reação, o catalisador foi removido por filtração e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica (eluente diclorometano/metanol) fornecendo 40 mg de **25** como um sólido violeta com 31% de rendimento.



- **FM:** C₂₀H₂₂N₂O₄; **MM:** 354,16 g/mol; **PF:** 65-68 °C (sólido violeta).
- **IV(KBr) ν (cm⁻¹):** 3338 (deformação axial de N-H aromático), 3130 (deformação axial C-H aromático), 2920 e 2850 (deformação axial C-H alifático), 1635 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1255 (deformação axial de C-O éter).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,24 (2H, m, H-5 e H-8); 7,78 (2H, m, H-6 e H-7); 7,39 (2H, s, H-2 e H-3); 4,26 (4H, t, *J*₌ 6,0 Hz, H-1'); 3,83 (4H, t, *J*₌ 6,0 Hz, H-3'); 2,24 (4H, qu, *J*₌ 6,0 Hz, H-2').
- **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183,5 (C-9 e C-10); 153,9 (C-1 e C-4); 133,7 (C-5a e C-5b); 127,0 (C-5 e C-8); 126,8 (C-6 e C-7); 122,4 (C-4a e C-4b); 122,2 (C-2 e C-3); 67,2 (C-1'); 48,5 (C-3'); 29,3 (C-2').

3.2.1.2.6. 1,4-bis(3-hidroxiopropoxi)antra-9,10-quinona **26**

Em um balão de fundo redondo de 100 mL contendo 1,4-diidroxiantraquinona (238 mg; 1 mmol) em 40 mL de DMF foi adicionado carbonato de potássio (691 mg; 4 mmol). Essa reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente durante 60 minutos. Após esse período de tempo, foi adicionado 3-bromo-1-propanol (1,181 g; 7,5 mmol), sendo a reação mantida sob agitação magnética em refluxo durante 48 horas e acompanhada por CCF (eluente diclorometano/hexano (9:1)). Após o término da reação, o volume foi reduzido sob pressão reduzida e foi feita extração líquido-líquido em diclorometano e água. Em seguida, o composto **26** foi isolado por coluna cromatográfica (eluente diclorometano/metanol), sendo obtido 141 mg (0,4 mmol) de **26** como um sólido alaranjado em 40% de rendimento.



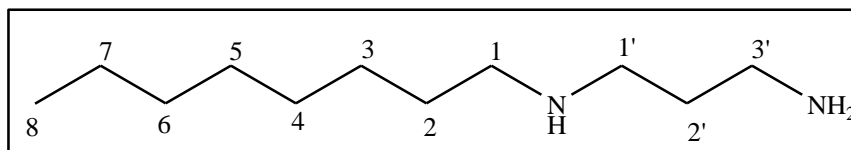
- **FM:** C₂₀H₂₀O₆; **MM:** 356,13 g/mol; **PF:** 89-91 °C (sólido alaranjado).
- **IV(KBr) ν (cm⁻¹):** 3437 (deformação axial O-H); 3076 (deformação axial C-H aromático), 2943 e 2877 (deformação axial C-H alifático), 1660 (deformação axial de C=O cetona cíclica), 1251 (deformação axial de C-O éter).
- **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,19 (2H, dd, *J*₁=8,0 Hz, *J*₂=4,0 Hz, H-5 e H-8); 7,71 (2H, d, H-6 e H-7); 7,33 (2H, s, H-2 e H-3); 4,70 (2H, s, OH); 4,28 (4H, t, *J*₌ 4,0 Hz, H-1'); 3,99 (4H, t, *J*₌ 4,0 Hz, H-3'); 2,19 (4H, qu, *J*₌ 4,0 Hz, H-2').
- **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183,5 (C-9 e C-10); 154,0 (C-1 e C-4); 133,8 (C-5 e C-8); 127,0 (C-6 e C-7); 122,3(C-5a e C-5b); 120,7 (C-4a e C-4b); 120,1 (C-2 e C-3); 70,1 (C-1'); 62,0 (C-3'); 32,1 (C-2').

3.2.1.3. Metodologia geral para síntese das diaminas *N*-alquiladas 30a-e

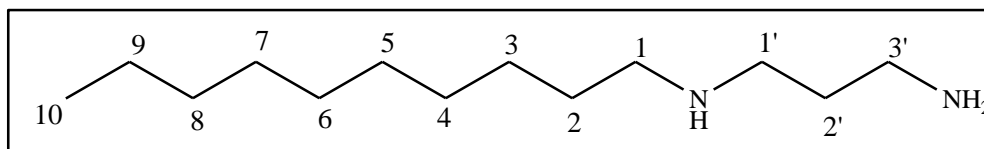
Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo solução etanólica (20 mL) de 1,3-propanodiamina (1,7 mL, 20 mmol) foi adicionado lentamente o respectivo cloreto de alquila (1,48 g, 10 mmol) (Tabela 3.1). A mistura foi aquecida sob refluxo e agitação magnética por 24 horas e acompanhada por CCDS (eluente: diclorometano/metanol/NH₄OH 9:1:0,3, reveladores: iodo e ninidrina). Em seguida, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi redissolvido em diclorometano (20 mL) e feita a extração com água (3x 20mL). A fase orgânica foi concentrada no rotavapor e o resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: diclorometano/metanol), fornecendo as diaminas **30a-e** com rendimentos na faixa de 42-65%.

Tabela 3.1. Estequiometria das reações e rendimento das substâncias **30a-e**

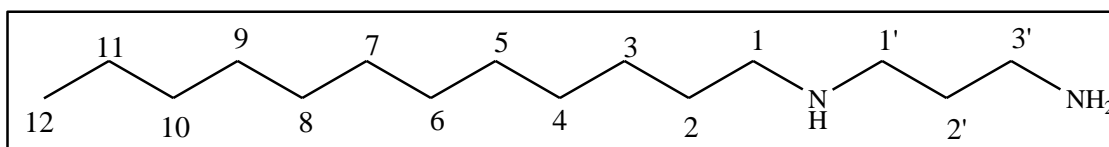
Substância	1,3-Propanodiamina (mL/mmol)	Quantidade do cloreto de alquila	Rend.(g;mmol; %)
30a	1,7/ 20	10 mmol (1,481 g) de cloreto de <i>n</i> -octila	0,84; 4,5; 45
30b	1,7/ 20	10 mmol (1,761 g) cloreto de <i>n</i> -decila	1,39; 6,5; 65
30c	1,7/ 20	10 mmol (2,041 g) de cloreto de <i>n</i> -dodecila	1,45; 6,0; 60
30d	1,7/ 20	10 mmol (2,322 g) de cloreto de <i>n</i> -tetradecila	1,24; 4,6; 46
30e	1,7/ 20	10 mmol (2,602 g) de cloreto de <i>n</i> -hexadecila	1,26;4,2; 42

3.2.1.3.1. *N*-octil-1,3-propanodiamina 30a

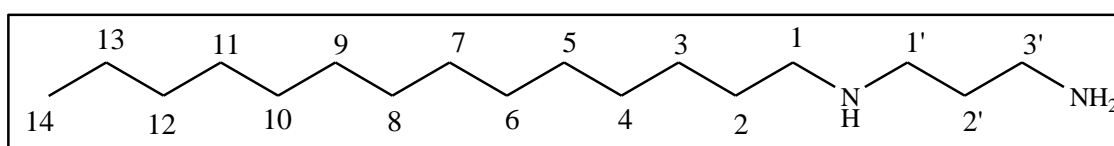
- **FM:** C₁₁H₂₆N₂; **MM:** 186,26 g/mol; Óleo.
- **IV(CsI) v (cm⁻¹):** 3352 (deformação axial N-H), 2956-2855 (deformação axial C-H alifático), 1635 (deformação angular N-H), 1470 (deformação angular C-H alifático).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 3,40 (3H, sl, NH e NH₂); 2,79 (2H, t, *J*= 7,0 Hz, H-3'); 2,69 (2H, t, *J*=7,0 Hz, H-1'); 2,60 (2H, t, *J*=7,0 Hz, H-1); 1,68 (2H, qu, *J*=7,0 Hz, H-2'); 1,49 (2H, m, H-2); 1,27 (10H, m, H-7-H-3); 0,87 (3H, t, *J*= 7,0 Hz, H-8).
- **RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 50,2 e 47,9 (C-1 e C-1'); 40,4 (C-3'); 33,1 e 32,0 (C-2' e C-2); 30,0-27,5 (C-3-C-6); 22,8 (C-7); 14,2 (C-8).

3.2.1.3.2. *N*-decil-1,3-propanodiamina 30b

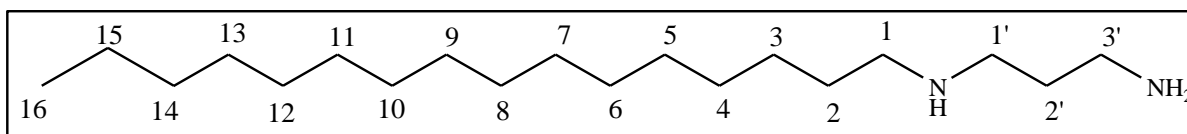
- **FM:** C₁₃H₃₀N₂; **MM:** 214,30 g/mol; Óleo.
- **IV(CsI) v (cm⁻¹):** 3365 (deformação axial N-H), 2920-2890 (deformação axial C-H alifático), 1577 (deformação angular N-H), 1465 (deformação angular C-H alifático), 1216 (deformação axial C-N).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 2,94 (3H, sl, N-H e NH₂); 2,74 (2H, t, *J*=6,8 Hz, H-3'); 2,64 (2H, t, *J*=6,8 Hz, H-1'); 2,56 (2H, t, *J*=6,8 Hz, H-1); 1,63 (2H, *J*=6,8 Hz, H-2'); 1,44 (2H, m, H-2); 1,23 (14H, sl, H-3-H-9); 0,85 (3H, t, *J*=7,1 Hz, H-10).
- **RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 50,2 e 47,9 (C-1 e C-1'); 40,5 (C-3'); 33,3 e 32,0 (C-2' e C-2); 30,1-27,5 (C-3-C-3); 22,8 (C-9); 14,2 (C-10).

3.2.1.3.3. *N*-dodecil-1,3-propanodiamina 30c

- **FM:** C₁₅H₃₄N₂; **MM:** 242,34 g/mol; **PF:** 45-48°C (sólido branco).
- **IV(KBr) v (cm⁻¹):** 3357 (deformação axial N-H), 2921-2852 (deformação axial C-H alifático), 1566 (deformação angular N-H), 1463 (deformação angular C-H alifático).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 2,74 (2H, t, *J*=7, 0Hz, H-3'); 2,62 (2H, t, *J*=7,0 Hz, H-1'); 2,51 (2H, t, *J*=7,2 Hz, H-1); 1,92 (3H, sl, N-H e NH₂); 1,62 (2H, m, H-2'); 1,43 (2H, m, H-2); 1,21 (18H, sl, H-3-H-11); 0,83 (3H, t, *J*=6,8 Hz, H-12).
- **RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 50,4 e 48,0 (C-1 e C-1'); 40,6 (C-3'); 33,9 e 32,0 (C-2' e C-2); 30,9-22,8 (C-3-C-11); 14,3 (C-12).

3.2.1.3.4. *N*-tetradecil-1,3-propanodiamina 30d

- **FM:** C₁₇H₃₈N₂; **MM:** 270,36 g/mol; **PF:** 47-52°C (sólido branco).
- **IV(KBr) v (cm⁻¹):** 3350 (deformação axial N-H), 2960-2890 (deformação axial C-H alifático), 1570 (deformação angular N-H), 1469 (deformação angular C-H alifático).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 2,73 (5H, m, NH₂, NH, H-3'); 2,65 (2H, t, *J*=7,0 Hz, H-1'); 2,57 (2H, t, *J*=7,0 Hz, H-1); 1,66 (2H, qu, *J*=7,0 Hz, H-2'); 1,46 (2H, m, H-2); 1,23 (22H, sl, H-3-H-13); 0,86 (3H, t, *J*=7,0 Hz, H-14).
- **RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 50,2 e 47,9 (C-1 e C-1'); 40,5 (C-3'); 33,4 e 32,1 (C-2' e C-2); 30,1-22,9 (C-3-C-13); 14,3 (C-14).

3.2.1.3.5. *N*-hexadecil-1,3-propanodiamina 30e

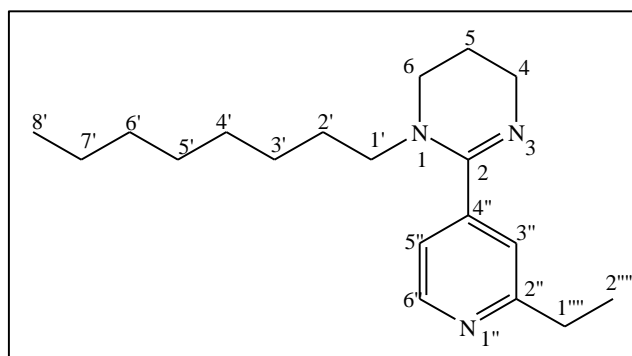
- **FM:** C₁₉H₄₂N₂; **MM:** 298,36 g/mol; **PF:** 72-75°C (sólido branco).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3421 (deformação axial N-H), 2918-2850 (deformação axial C-H alifático), 1467 (deformação angular C-H alifático), 1111 (deformação axial C-N).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 2,79 (2H, t, *J*=6,8 Hz, H-3'); 2,71 (2H, t, *J*=6,8 Hz, H-1'); 2,61 (2H, t, *J*=7,0 Hz, H-1); 1,96 (3H, s, NH₂ e NH); 1,67 (2H, qu, *J*=6,8 Hz, H-2'); 1,50 (2H, m, H-2); 1,25 (26H, m, H-15-H-3); 0,88 (3H, t, *J*=7,0 Hz, H-16).
- **RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 50,3 e 48,2 (C-1 e C-1'); 40,8 (C-3'); 33,7 e 33,2 (C-2' e C-2); 30,1-22,9 (C-3-C-15); 14,3 (C-16).

3.2.1.4. Metodologia geral para síntese dos derivados tetraidropirimidínicos 31a-e

Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo etionamida (1 mmol) em 10 mL de etanol foi adicionada, lentamente, a respectiva diamina *N*-alquilada **30a-e** (2 mmol). O meio reacional foi mantido em agitação magnética sob refluxo durante 48 horas. A reação foi acompanhada por CCF (eluente diclorometano/metanol 9:1, revelador ultravioleta e iodo). Após esse período de tempo, a solução foi resfriada a temperatura ambiente e ocorreu a formação de um precipitado que foi filtrado e lavado com hexano (tal cristal não se refere ao produto desejado). A água mãe foi evaporada sob pressão reduzida e o resíduo formado foi purificado por coluna cromatográfica ou por placa preparativa (eluente diclorometano/metanol 9:1), fornecendo as tetraidropirimidinas em 35-63% de rendimento (0,35-0,63 mmol) (Tabela 3.2).

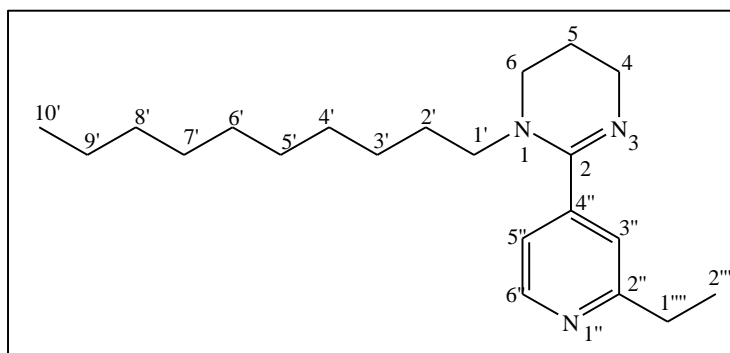
Tabela 3.2. Estequiometria das reações e rendimento das substâncias 31a-e.

Composto	Quantidade de diamina	Etionamida (mg/mmol)	Rend. (%)
31a	2 mmol (373 mg) de <i>N,N'</i> -octilpropanodiamina	166/1	63
31b	2 mmol (429 mg) de <i>N,N'</i> -decilpropanodiamina	166/1	35
31c	2 mmol (485 mg) de <i>N,N'</i> -dodecilpropanodiamina	166/1	49
31d	2 mmol (466 mg) de <i>N,N'</i> -tetradecilpropanodiamina	166/1	52
31e	2 mmol (268 mg) de <i>N,N'</i> -hexadecilpropanodiamina	166/1	40

3.2.1.4.1. 2-(2'-etilpiridin-4'-il)-*N*-octil-1,4,5,6-tetraidropirimidina 31a

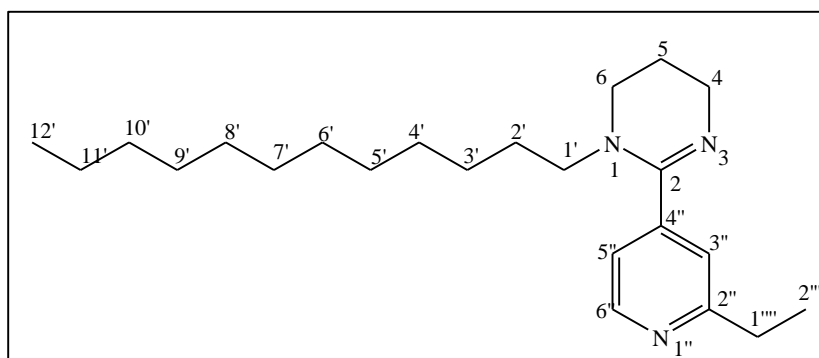
- **FM:** C₁₉H₃₁N₃; **MM:** 301,25 g/mol; Óleo.
- **IV (Nujol) v (cm⁻¹):** 2948 e 2852 (deformação axial de C-H alifático); 1678 e 1465 (deformação axial de C=C aromático); 1228 (deformação axial de C-N alifático).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,65 (1H, s, H-6''); 7,38 (2H, m, H-3'' e H-5''); 3,99 e 3,66 (4H, m, H-6 e H-4); 3,13 (2H, m, H-1'); 2,88 (32H, m, H-1'''); 1,98 (2H, m, H-5); 1,59 (2H, m, H-2'); 1,25 (15H, m, H-2'-H-7' e H-2'''); 0,87 (3H, m H-8').
- **RMN ¹³C (75MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 149,8 (C-2); 130,0 (C-2''); 129,8 (C-6''); 120,9 (C-4''); 119,6 (C-3' e C-5'); 65,4 (C-6); 50,3 (C-4); 48,3 (C-1'); 34,1 (C-2'''); 31,4-22,4 (C-2'-C-7'); 13,6 (C-8').

3.2.1.4.2. 2-(2'-etilpiridin-4'-il)-N-decil-1,4,5,6-tetraidropirimidina 31b



- **FM:** C₂₁H₃₅N₃; **MM:** 329,28 g/mol; Óleo.
- **IV (Nujol) v (cm⁻¹):** 2928 e 2852 (deformação axial de C-H alifático); 1641 e 1465 (deformação axial de C=C aromático); 1286 (deformação axial de C-N alifático).
- **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 7,70 (1H, m, H-6''); 7,53 (1H, m, H-5''); 7,36 (1H, m, H-3''); 3,67 e 3,61 (2H, m, H-6 e H-4); 3,22 (2H, m, H-1'); 2,91 (2H, m, H-1'''); 2,19 (2H, m, H-5); 1,42 (2H, m, H-2'); 1,25 (14H, m, H-3'-H-9'); 0,91 (6H, m, H-10' e H-2''').
- **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 168,0 (C-2); 165,4 (C-2''); 136,6 (C-6''); 131,1 (C-4''); 120,9 (C-3''); 119,6 (C-5''); 68,3 (C-6); 53,3 (C-4); 46,0 (C-1'); 38,9 (C-2'''); 30,6-14,2 (C-2'-C-7'); 11,1 (C-8').

3.2.1.4.3. 2-(2'-etilpiridin-4'-il)-N-dodecil-1,4,5,6-tetraidropirimidina 31c

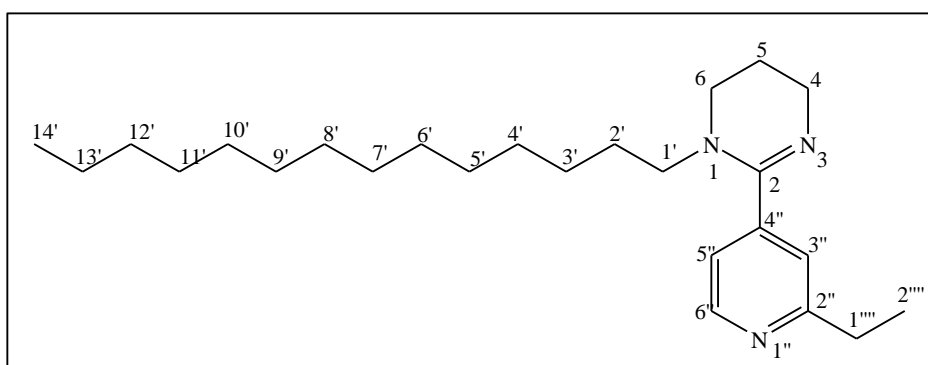


- **FM:** C₂₃H₃₉N₃; **MM:** 357,31 g/mol; Óleo.
- **IV (Nujol) v (cm⁻¹):** 2924 e 2826 (deformação axial de C-H alifático); 1688 e 1454 (deformação axial de C=C aromático).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,58 (1H, s, H-6''); 8,12 (1H, m, H-3''); 7,18 (1H, m, H-5''); 3,57 (4H, m, H-6 e H-4); 3,09 (2H, m, H-1'); 2,82 (2H, m, H-2'''); 1,25 (10H, m, H-3'-H-11').

2,10 (2H, m, H-5); 1,46 (2H, m, H-2'); 1,30 (3H, m, H-2''); 1,25 (18H, m, H-3'-H-11'); 0,87 (3H, m H-12').

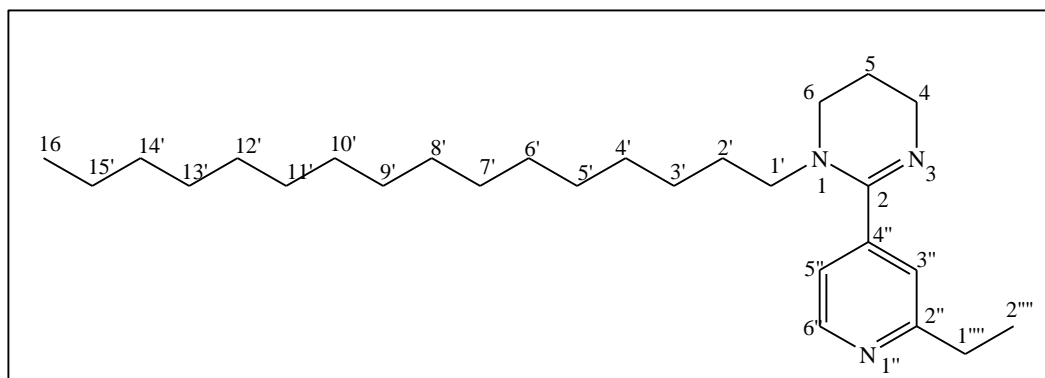
- **RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 170,9 (C-2); 149,6 (C-6''); 144,4 (C-4''); 119,3 (C-3'); 118,3 (C-5'); 49,4 (C-6); 41,9 (C-4); 37,5 (C-1'); 32,0 (C-2''); 14,2-31,3 (C-2'-C-11'); 13,8 (C-12').

3.2.1.4.4. 2-(2'-etilpiridin-4'-il)-N-tetradecil-1,4,5,6-tetraidropirimidina 31d



- **FM:** $\text{C}_{25}\text{H}_{43}\text{N}_3$; **MM:** 385,35 g/mol; **PF:** 46-48°C (sólido bege).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3161 (deformação axial de C-H aromático); 2927 e 2852 (deformação axial de C-H alifático); 2063 (deformação angular de C=C=N); 1643 e 1467 (deformação axial de C=C aromático); 1211 (deformação axial de C-N alifático).
- **RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 8,80 (1H, s, H-6''); 7,46 (2H, m, H-5'' e H-3''); 3,70 (4H, m, H-6 e H-4); 3,32 (2H, t, $J = 8,0$ Hz, H-1'); 3,00 (2H, q, $J = 8,0$ Hz, H-1''); 2,26 (2H, m, H-5); 1,65 (2H, m, H-2'); 1,42 (3H, t, $J = 8,0$ Hz, H-2''); 1,33 (22H, m, H-3'-H-13'); 0,96 (3H, t, $J = 8,0$ Hz, H-14').
- **RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 165,0 (C-2); 159,8 (C-2''); 150,2 (C-6''); 136,7 (C-4''); 120,7 (C-3'); 119,6 (C-5'); 53,0 (C-6); 45,9 (C-4); 39,2 (C-1'); 31,9 (C-2''); 31,4-14,1 (C-2'-C-13'); 13,5 (C-14').

3.2.1.4.5. 2-(2'-etilpiridin-4'-il)-N-hexadecil-1,4,5,6-tetraidropirimidina 31e



- **FM:** C₂₇H₄₇N₃; **MM:** 413,38 g/mol; **PF:** 59-62°C (sólido bege).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3037 (deformação axial de C-H aromático); 2922 e 2850 (deformação axial de C-H alifático); 2042 (deformação angular de C=C=N); 1641 e 1467 (deformação axial de C=C aromático); 1209 (deformação axial de C-N alifático).
- **RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 8,61 (1H, s, H-6''); 7,25 (2H, m, H-5'' e H-3''); 3,51 (4H, m, H-6 e H-4); 3,14 (2H, m, H-1'); 2,82 (2H, m, H-2'''); 2,06 (2H, m, H-5); 1,46 (2H, m, H-2'); 1,27 (3H, m, H-2'''); 1,15 (22H, m, H-3'-H-15'); 0,78 (3H, t, J=8,0 Hz, H-16').
- **RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 13,4 (C-16'); 14,0-31,3 (C-15'-C-2'); 31,8 (C-2'''); 38,9 (C-1'); 45,7 (C-4); 52,9 (C-6); 119,3 (C-5''); 120,5 (C-3'); 136,2 (C-4''); 150,1 (C-6''); 159,0 (C-2''); 165,0 (C-2).

3.2.2. Preparação dos compostos do Capítulo 2

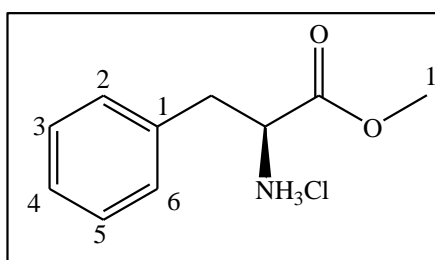
3.2.2.1. Metodologia geral para preparação dos ésteres derivados dos aminoácidos 44a-c

Em um balão de fundo redondo de 200 mL contendo 100mL de metanol à 0°C foram adicionados lentamente, através de funil de adição, 200 mmol de cloreto de tionila. Em seguida foram adicionados 40 mmol do aminoácido apropriado e a reação foi mantida à 80°C por cerca de 4 horas, sendo acompanhada por CCF (eluente diclorometano/metanol 8:2 e revelador vanilina). Após esse período de tempo, a mistura foi evaporada sob pressão reduzida e o sólido formado recristalizado em acetonitrila. Os ésteres **44a-c** foram obtidos em 96-98% de rendimento (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Estequiometria das reações de obtenção e rendimento dos ésteres **44a-c**.

Substância	Quantidade do aminoácido	SOCl ₂ (g/mmol)	Rend. (g; mmol; %)
44a	40 mmol (6,60 g) de L-fenilalanina	21,8 /200	8,28; 38; 96
44b	40 mmol (5,24 g) de L-leucina	21,8 /200	7,12; 39; 98
44c	40 mmol (3,56 g) de L-alanina	21,8 /200	5,36; 38; 96

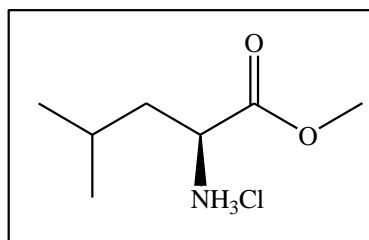
3.2.2.1.1. Cloridrato de (2S)-3-fenil-1-metoxi-1-oxo-2-propilamônio 44a



- **FM:** C₁₀H₁₄ClNO₂; **MM:** 215,07 g/mol; **PF:** 157-158 °C (sólido branco).
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 179,0 (M⁺, base livre), **encontrado:** 179,9 (M+H).
- **IV (KBr) ν (cm⁻¹):** 2983 e 2841 (deformação axial C-H alifático); 2702, 1745.
- **RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 7,35 (2H, t, J₌ 7,1 Hz, H-2 e H-6); 7,32 (1H, dd, J₁= 4,9 Hz, J₂= 9,6 Hz, H-4); 7,26 (2H, d, J₌ 7,1 Hz, H-3 e H-5); 4,32 (1H, t, J₌ 6,8 Hz, CHNH₂); 3,79 (3H, s, OCH₃); 3,26 (1H, dd, J₁= 6,2 Hz, J₂= 14,3 Hz, CHaPh); 3,19 (1H, dd, J₁= 6,2 Hz, J₂= 14,3 Hz, CHbPh); 2,03 (2H, s, NH).

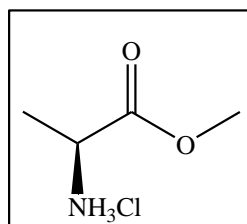
- **RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 170,5 (C=O); 135,5 (C-1); 130,6 (C-2 e C-6); 130,2 (C-3 e C-5); 129,0 (C-4); 55,4 (CHNH); 53,7 (C-1'); 37,5 (CH_2).

3.2.2.1.2. Cloridrato de (2S)-4-metil-1-metoxi-1-oxo-2-pentilamônio 44b



- **FM:** $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{ClNO}_2$; **MM:** 181,09 g/mol; **PF:** 134-136°C (sólido branco).
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 144,9 (M^+ , base livre), **encontrado:** 145,9 ($\text{M}+\text{H}$).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 2870 (deformação axial C-H alifático); 1737 (deformação axial C=O).
- **RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 4,05 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, CHNH); 3,85 (3H, s, OCH_3); 1,80 (2H, m, CH_2); 1,70 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_3$); 1,01 (6H, d, $J = 7,0$ Hz, $(\text{CH}_3)_2$).
- **RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 170,5 (C=O); 54,6 (CHNH); 53,6 (OCH_3); 48,7 (CH_2); 31,1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 18,6 e 18,3 ($(\text{CH}_3)_2$).

3.2.2.1.3. Cloridrato de (2S)-1-metoxi-1-oxo-2-propilamônio 44c



- **FM:** $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{ClNO}_2$; **MM:** 139,04 g/mol; Óleo incolor.
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 103,1 (M^+ , base livre), **encontrado:** 104,2 ($\text{M}+\text{H}$).
- **IV (Nujol) ν (cm^{-1}):** 3302 (deformação axial de N-H); 1678 (deformação axial C=O).
- **RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) δ (ppm):** 4,13 (1H, q, $J = 7,2$ Hz, CHNH); 3,85 (3H, s, OCH_3); 1,55 (3H, d, $J = 7,2$ Hz, CH_3).
- **RMN ^{13}C (125MHz, CD_3OD) δ (ppm):** 171,6 (C=O); 53,8 (OCH_3); 49,9 (CHNH); 16,3 (CH_3).

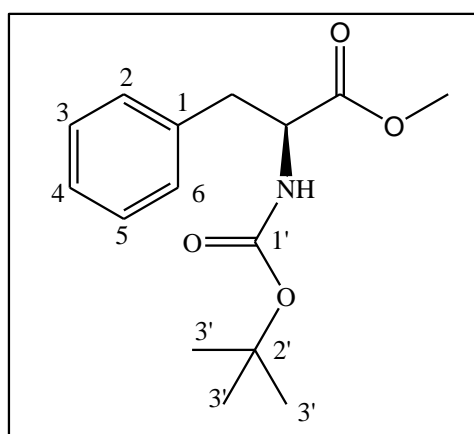
3.2.2.2. Metodologia geral para obtenção dos derivados 45a-c

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 20 mL de THF anidro, 9 mmol de **44a-c**, 13,5 mmol de dicarbonato de *terc*-butila e 10,8 mmol de trietilamina. A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas, sendo acompanhada por CCF (eluente hexano/acetato de etila 8:2 e revelador vanilina). Após este período, foi adicionado 20 mL de água destilada, sendo feita uma extração líquido-líquido usando acetato de etila (2x50mL). A fase orgânica obtida foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e evaporada sob pressão reduzida, e o resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila 0% a 15%). As substâncias formadas foram obtidas com rendimentos entre 65 e 75% (Tabela 3.4).

Tabela 3.4. Estequiometria das reações e rendimento das substâncias **45a-c**.

Composto	Quantidade de éster	(BOC) ₂ O (g/mmol)	Rend. (g; mmol; %)
45a	9 mmol (1,26 g) de 44a	2,95 /13,5	1,18; 5,8; 65
45b	9 mmol (1,63 g) de 44b	2,95 /13,5	1,65; 6,7; 75
45c	9 mmol (1,94 g) de 44c	2,95 /13,5	1,88; 6,4; 70

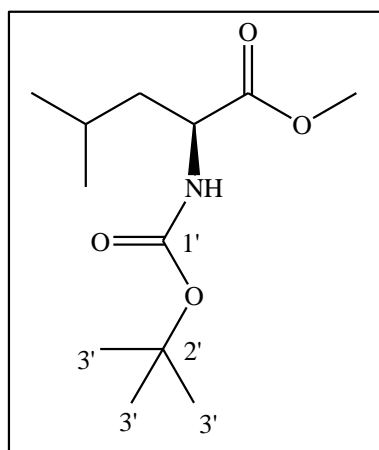
3.2.2.2.1. (2S)-2-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]-3-fenil-propanoato de metila **44a**



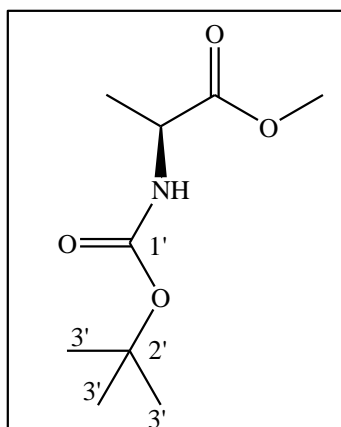
- **FM:** C₁₅H₂₁NO₄; **MM:** 279,15 g/mol; Óleo.
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 279,1 (M⁺, base livre), **encontrado:** 301,9 (M+Na).
- **IV (Nujol) ν (cm⁻¹):** 3380 (deformação axial de N-H); 3028 (deformação axial C-H aromático), 2978 (deformação axial C-H alifático); 1712 (deformação axial C=O de éster).

- **RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) δ (ppm):** 7,27 (2H, t, $J=7,5$ Hz, H-2 e H-6); 7,21 (3H, t, $J=7,5$ Hz, H-2, H-3, H-5 e H-6); 4,36 (1H, dd, $J_1=5,5$ Hz, $J_2=9,0$ Hz, CHNH); 3,68 (3H, s, OCH_3); 3,09 (1H, dd, $J_1=5,0$ Hz, $J_2=15,0$ Hz, CHaPh); 2,90 (1H, dd, $J_1=5,0$ Hz, $J_2=15,0$ Hz, CHbPh); 1,38 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3$).
- **RMN ^{13}C (125MHz, CD_3OD) δ (ppm):** 172,1 (C=O); 156,4 (C-1'); 134,0 (C-1); 129,5-125,8 (C-2- C-6); 79,2 (C-2'); 56,3 (CHNH); 51,1 (OCH_3); 37,3 (CH_2); 29,3 (C-3').

3.2.2.2.2. (2S)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-4-metil-pentanoato de metila 44b



- **FM:** $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{NO}_4$; **MM:** 245,16 g/mol; Óleo.
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 245,2 (M^+ , base livre), **encontrado:** 268,3 ($\text{M}+\text{Na}$).
- **IV (Nujol) ν (cm^{-1}):** 3334 (deformação axial de N-H); 2956 (deformação axial de C-H alifático); 1743 (deformação axial de C=O éster).
- **RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 4,32 (1H, m, CHNH); 3,73 (3H, s, OCH_3); 1,60 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_3$); 1,52-1,50 (2H, m, CH_2); 1,44 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3$); 0,94 (6H, q, $J_1=4,5$ Hz, $J_2=8,0$ Hz, $(\text{CH}_3)_2$).
- **RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 174,2 (C=O); 155,6 (C-1'); 80,0 (C-2'); 52,3 (OCH_3); 42,1 (CHNH); 25,0 (CH); 28,5 (C-3'); 23,0 ($(\text{CH}_3)_2$); e 22,1 (CH_2).

3.2.2.2.3. (2S)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-propanoato de metila 44c

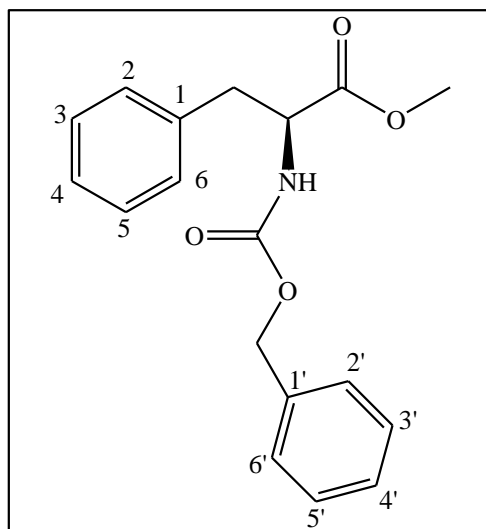
- **FM:** C₉H₁₇NO₄; **MM:** 203,12 g/mol; Óleo.
- **EM/ESI (*m/z*) calc.:** 203, 1 (M⁺, base livre), **encontrado:** 225,9 (M+Na).
- **IV (Nujol) ν (cm⁻¹):** 3328 (deformação axial de N-H); 2944 e 2820 (deformação axial de C-H alifático); 1744 (deformação axial de C=O éster).
- **RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 4,31 (1H, m, CHNH); 3,73 (3H, s, OCH₃); 1,43 (9H, s, (CH₃)₃); 1,37 (3H, d, *J*₌ 10,0 Hz, CH₃).
- **RMN ¹³C (125MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171,0 (C=O); 155,9 (C-1'); 80,2 (C-2'); 52,4 (OCH₃); 42,5 (CHNH); 28,5 (CH₃ e (CH₃)₃).

3.2.2.3. Metodologia geral para obtenção dos derivados 46a-b

Em um balão de fundo redondo de 150 mL foram adicionados 50 mL de água destilada, 40 mL de éter dietílico, 50 mmol de bicarbonato de potássio e 10 mmol de **44a-b**. Em seguida, sob agitação magnética, o meio reacional foi resfriado à 0°C e lentamente adicionados, através de funil de adição, 14 mmol de cloroformiato de benzila. A reação foi acompanhada por CCF (eluente hexano/acetato de etila 8:2 e revelador vanilina). Após 2 horas à 0°C e 1 hora em temperatura ambiente sob agitação foram adicionadas à mistura reacional 8 mL de piridina e 40 mL de água para solubilização dos sais presentes no meio reacional. A fase orgânica foi lavada com 30 mL de solução 2,5 N de HCl, seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila 0% a 20%). As substâncias formadas foram obtidas com rendimentos entre 63 e 75% (Tabela 3.5).

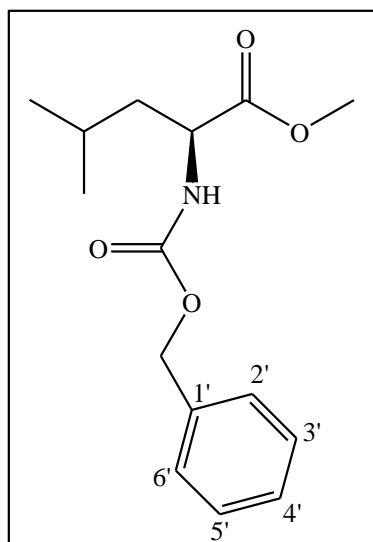
Tabela 3.5. Estequiometria das reações e rendimento das substâncias **46a-b**.

Composto	Quantidade de éster	BnOCOCl (g/mmol)	Rend. (g; mmol; %)
46a	10 mmol (1,82 g) de 44a	2,39 /14	1,75; 6,3; 63
46b	10 mmol (2,16 g) de 44b	2,39 /14	2,35; 7,5; 75

3.2.2.3.1. (2S)-2-[[[(benziloxi)carbonil]amino]-3-fenil-propanoato de metila **46a**

- **FM:** C₁₈H₁₉NO₄; **MM:** 313,15 g/mol; Óleo.
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 313,1 (M⁺), **encontrado:** 336,1 (M+Na).
- **IV (Nujol) v (cm⁻¹):** 3354 (deformação axial de N-H); 3030 (deformação axial de C-H aromático); 2951 (deformação axial de C-H alifático); 1728 (deformação axial de C=O éster).
- **RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 7,32-7,18 (10H, m, H-2-H-6 e H-2'-H-6'); 5,03 (2H, s, CH₂O); 4,44 (1H, dd, J₁=5,6 Hz, J₂=8,8 Hz, CHNH); 3,68 (3H, s, OCH₃); 3,14 (1H, dd, J₁=9,2 Hz, J₂=13,6 Hz, CH_aPh); 2,92 (1H, dd, J₁=9,2 Hz, J₂=13,6 Hz, CH_bPh).
- **RMN ¹³C (125MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 174,1 (COO); 158,5 (CONH); 138,4 e 138,3 (C-1' e C-1); 130,4-128,8 (C-2-C-6 e C-2'-C-6'); 67,7 (CH₂O); 57,1 (OCH₃); 52,8 (CHNH); 38,7 (CH₂).

3.2.2.3.2. (2S)-2-[[[(benziloxi)carbonil]amino]-4-metil-pentanoato de metila 46b



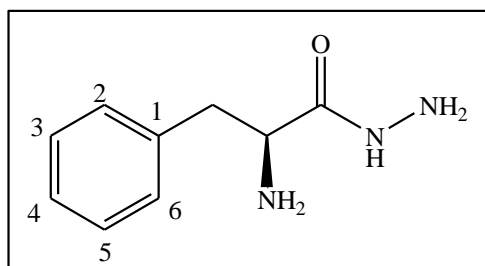
- **FM:** C₁₅H₂₁NO₄; **MM:** 279,15 g/mol; Óleo.
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 279,1 (M+), **encontrado:** 302,1 (M+Na).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3361 (deformação axial de N-H); 3032 (deformação axial de C-H aromático); 2958 e 2872 (deformação axial de C-H alifático); 1712 (deformação axial de C=O éster).
- **RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 7,36 (5H, s, H-2'-H-6'); 5,12 (1H, d, J=8,0 Hz, CHNH); 5,12 (2H, s, CH₂O); 4,41 (1H, m, CHNH); 3,74 (3H, s, OCH₃); 1,67 (2H, m, CH₂); 1,53 (1H, m, CH(CH₃)₂); 0,95 (6H, m, CH(CH₃)₂).
- **RMN ¹³C (125MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 173,8 (COO); 156,1 (CONH); 133,3 (C-1'); 129,3-127,7 (C-2'-C-6'); 67,2 (OCH₂); 53,2 (CHNH); 51,9 (OCH₃); 42,0 (CH₂); 25,4 e 22,5 (CH₃)₂.

3.2.2.4. Metodologia geral para obtenção de N-acilidrazinas 47a-g

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 25 mL de etanol, 10 mmol de **44a-b**, **45a-c** e **46a-b** e 40 mmol de hidrato de hidrazina a 80%. A mistura reacional foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 24 horas, sendo acompanhada por CCF (eluente: diclorometano/metanol 9:1, revelador ninidrina). Em seguida o meio reacional foi evaporado sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: diclorometano/metanol 0% a 5%). As substâncias foram obtidas com rendimentos entre 59 e 83% (Tabela 3.6).

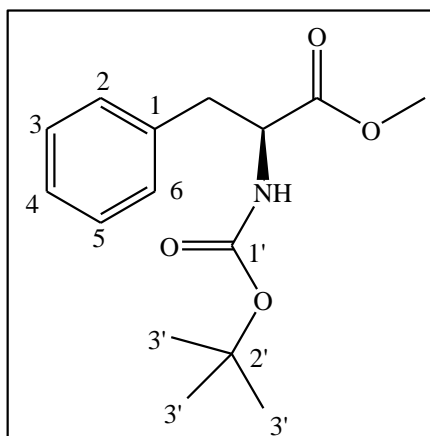
Tabela 3.6. Estequiometria das reações e rendimento das substâncias **47a-g**.

Substância	Quantidade de éster	NH ₂ NH ₂ .H ₂ O (g/mmol)	Rend. (g; mmol; %)
47a	10 mmol (2,16 g) de 44a	2,5 /40	1,43; 8,0; 80
47b	10 mmol (2,79 g) de 45a	2,5 /40	2,32; 8,3; 83
47c	10 mmol (3,13 g) de 46a	2,5 /40	2,07; 6,6; 66
47d	10 mmol (1,82 g) de 44b	2,5 /40	0,87; 6,0; 60
47e	10 mmol (2,45 g) de 45b	2,5 /40	2,08; 8,5; 85
47f	10 mmol (2,79 g) de 46b	2,5 /40	1,98; 7,1; 71
47g	10 mmol (2,03 g) de 45c	2,5 /40	1,42; 7,0; 70

3.2.2.4.1. (2S)-2-amino-3-fenilpropanoidrazida **47a**

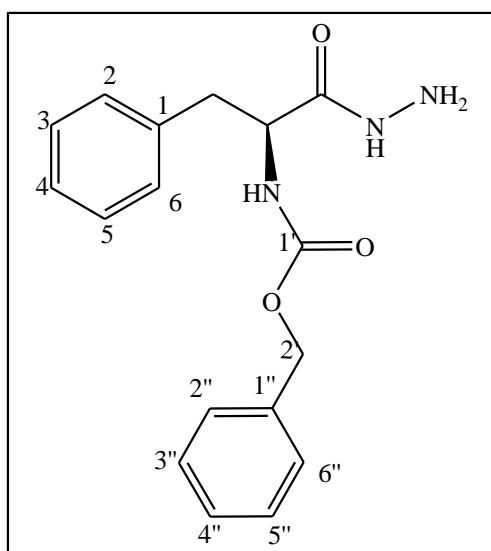
- **FM:** C₉H₁₃N₃O; **MM:** 179,11 g/mol; **PF:** 91,2-92,4 °C (sólido branco).
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 179,1 (M⁺), **encontrado:** 180,2 (M+H).
- **IV (KBr) ν (cm⁻¹):** 3348 e 3178 (deformação axial de N-H); 3024 (deformação axial de C-H aromático); 2928 e 2848 (deformação axial de C-H alifático), 1670 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 7,24 (5H, m, H-2-H-6); 3,48 (1H, m, CHNH₂); 2,97 (1H, dd, J₁=8,0 Hz, J₂=12,0 Hz CH_bPh); 2,80 (1H, dd, J₁=8,0 Hz, J₂=12,0 Hz, CH_aPh).
- **RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 175,7 (CO); 138,9 (C-1); 130,5 (C-2 e C-6); 129,7 (C-3 e C-5); 127,9 (C-4); 56,8 (CHNH); 42,7 (CH₂).

3.2.2.4.2. (1S)-1-benzil-2-hidrazino-2-oxoetilcarbamato de etila 47b



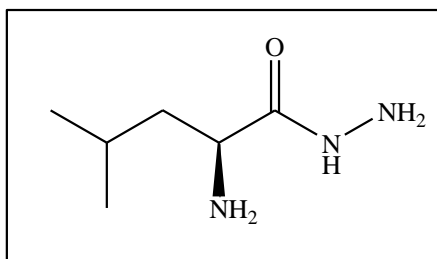
- **FM:** C₁₄H₂₁N₃O₃; **MM:** 279,16 g/mol; **PF:** 126,7-127,7°C (sólido branco).
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 279,2 (M⁺), **encontrado:** 302,0 (M⁺Na).
- **IV (KBr) ν (cm⁻¹):** 3327 (deformação axial de N-H); 3058 (deformação axial de C-H aromático); 2985 e 2881 (deformação axial de C-H alifático), 1689 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 7,28-7,20 (5H, m, H-2-H-6); 4,25 (1H, t, J =6,5 Hz; CHNH); 3,04 (1H, dd, J₁=5,0 Hz; J₂=10,0 Hz, CH_aPh); 2,83 (1H, dd, J₁=5,0 Hz; J₂=10,0 Hz; CH_bPh); 1,36 (9H, s, (CH₃)₃).
- **RMN ¹³C (125MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 172,0 (COO); 156,1 (CONH); 137,1 (C-1); 130,2-125,7 (C-2-C-6); 79,2 (C-2''); 56,3 (CHNH); 38,1 (CH₂); 27,7 (C-3').

3.2.2.4.3. (1S)-1-benzil-2-hidrazino-2-oxoetilcarbamato de benzila 47c

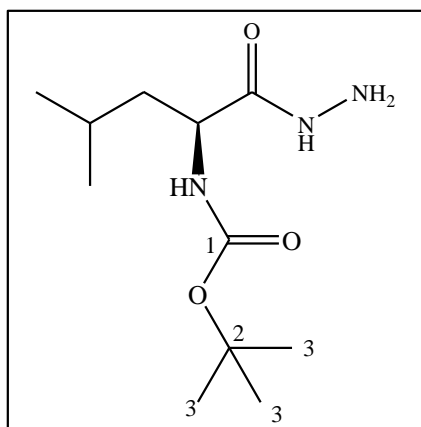


- **FM:** C₁₇H₁₉N₃O₃; **MM:** 313,14 g/mol; **PF:** 170,5-171,8°C (sólido branco).
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 313,1 (M+), **encontrado:** 336,1 (M+H).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3300 (deformação axial de N-H); 3058 e 3030 (deformação axial de C-H aromático); 1689 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 7,32-7,20 (10H, m, H-2-H-6 e H-2''-H-6''); 5,01 (2H, m, CH₂O); 4,32 (1H, dd, J₁=6,0 Hz, J₂=8,5 Hz, CHNH); 3,07 (1H, dd, J₁=10,0 Hz, J₂=15,0 Hz, CHaPh); 2,87 (1H, dd, J₁=5,0 Hz, J₂=15,0 Hz, CHbPh).
- **RMN ¹³C (125MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 173,2 (COO); 158,3 (CONH); 131,1-127,3 (C-2-C-6 e C-2''-C-6''); 67,7 (OCH₂); 56,2 (CHNH); 39,4 (CH₂Ph).

3.2.2.4.4. (2S)-2-amino-4-metilpentanoidrazida 47d

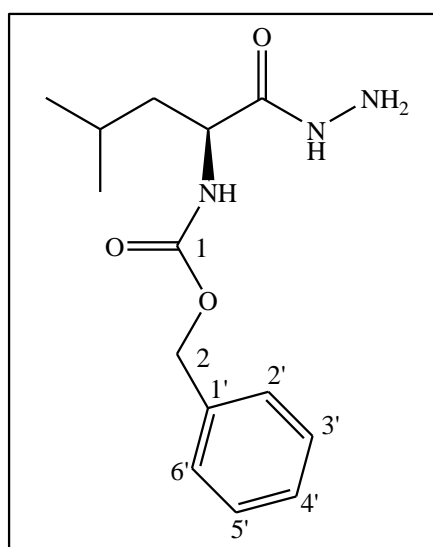


- **FM:** C₆H₁₅N₃O; **MM:** 145,12 g/mol; Óleo.
- **EM/ESI (m/z) calc.:** 146,1 (M+), **encontrado:** 169,1 (M+Na).
- **NMR-¹H (500 MHz, CD₃OD) δ: ppm.** **NMR-¹³C (125 MHz, CD₃OD) δ: ppm.** **IR (v, cm⁻¹, NaCl):**
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3302 (deformação axial de N-H); 2964 (deformação axial de C-H alifático), 1678 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 8,89 (1H, s, NHN); 4,16 (1H, m, CHNH); 1,73 (2H, m, CH₂); 0,93 (1H, m, CH(CH₃)₂); 0,82 (6H, m, CH(CH₃)₂).
- **RMN ¹³C (125MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 174,0 (COO); 59,1 (CHNH); 39,8 (CH₂); 31,9 (CH(CH₃)₂); 19,5 e 17,7 ((CH₃)₂).

3.2.2.4.5. (2S)-2-hidrazino-1-isobutil-2-oxoetilcarbamato de *tert*-butila 47e

- **FM:** C₁₁H₂₃N₃O₃; **MM:** 245,17 g/mol; **PF:** 73,4-75,0 °C (sólido branco).
- **MS/ESI (m/z) calc.:** 245,1 (M+), **encontrado:** 268,3 (M+Na).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3354 e 3273 (deformação axial de N-H); 2958 e 2870 (deformação axial de C-H alifático), 1681 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 9,29 (1H, sl, NHN); 7,83 (1H, sl, CHNH); 3,90 (1H, sl, CHNH); 2,07 (1H, sl, NH₂); 1,77 (2H, s, CH₂); 1,84 (1H, sl, CH(CH₃)₂); 1,42 (9H, s, H-3'); 1,37 (6H, s, CH(CH₃)₂).
- **RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 173,4 (COO); 153,3 (CONH); 78,7 (C-2); 60,5 (CHNH); 30,6 (CH(CH₃)₂); 28,1 (C-3); 24,9 (CH₂); 17,1 (CH₃)₂.

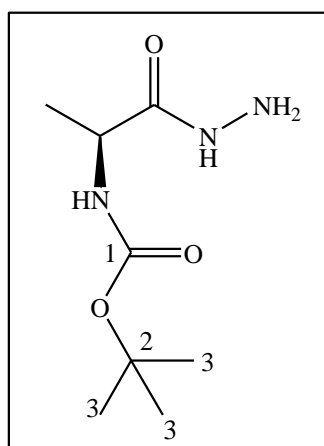
3.2.2.4.6. (2S)-2-hidrazino-1-isobutil-2-oxoetilcarbamato de benzila 47f



- **FM:** C₁₄H₂₁N₃O₃; **MM:** 279,16 g/mol; **PF:** 120,9-130,0°C (sólido branco).

- **EM/ESI (m/z) calc:** 279,2 (M+), **encontrado:** 302,1 (M+Na).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3305 (deformação axial de N-H); 3057 (deformação axial de C-H aromático); 2947 (deformação axial de C-H alifático); 1683 (deformação axial de C=O).
- **RMN ^1H (500 MHz, CD_3OD) δ (ppm):** 7,35 (5H, m, H-2'-H-6'); 5,08 (2H, m, CH_2O); 4,13 (1H, t, $J=6,0$ Hz, CHNH); 1,66 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1,54 (2H, m, CH_2); 0,93 (6H, q, $J=6,5$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).
- **RMN ^{13}C (125MHz, CD_3OD) δ (ppm):** 174,6 (COO); 158,5 (CONH); 138,3 (C-1'); 130,3-128,4 (C-2'-C-6'); 67,8 (CH_2O); 54,2 (CHNH); 42,3 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 26,4 (CH_2); 23,0 e 21,6 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

3.2.2.4.7. (2S)-2-hidrazino-1-metil-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 47g



- **FM:** $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$; **MM:** 203,13 g/mol; **PF:** 138,9-142,6°C (sólido branco).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 203,1 (M+), **encontrado:** 225,9 (M+Na).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3329 e 3253 (deformação axial de N-H); 2985 (deformação axial de C-H alifático); 1676 (deformação axial de C=O).
- **RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 9,50 (1H, s, NHN); 8,60 (1H, s, CHNH); 5,06 (1H, m, CHNH); 1,43 (9H, s, H-3); 1,35 (3H, d, $J=10,0$ Hz, CH_3).
- **RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 171,0 (COO); 155,9 (CONH); 80,2 (C-2); 52,41 (CHNH); 42,5 (CH_3); 28,5 (C-3).

3.2.2.5. Metodologia geral para obtenção de *N*-acilidrazonas 48a-q

Em um balão de fundo redondo de 25 mL foram adicionados 10 mL de etanol, 0,5 mmol dos substratos **47a-g** e 0,52 mmol do respectivo aldeído. A solução foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 24 horas, sendo acompanhada por CCF (eluente: hexano/acetato de etila 6:4, revelador ninidrina). Em seguida, o meio reacional foi evaporado sob pressão reduzida, e o resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica (eluente: hexano/acetato de etila gradiente de 10 a 30%). As substâncias **48a-q** foram obtidas com rendimentos entre 25 e 84% (Tabela 3.7).

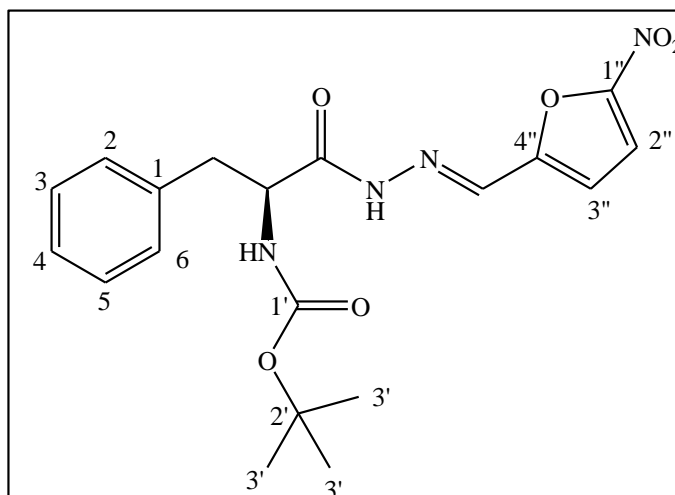
Tabela 3.7. Estequiometria das reações e rendimento das substâncias **48a-q**.

Substância	Quantidade de <i>N</i> -acilidrazina (mg)	Quantidade de Aldeído* (mg)	Rend. (mg; mmol; %)
48a	140 mg de 47b	73 mg de N-FUR	141; 0,35; 70
48b	140 mg de 47b	82 mg de N-TIO	176; 0,42; 84
48c	157 mg de 47c	73 mg de N-FUR	57; 0,13; 25
44d	157 mg de 47c	82 mg de N-TIO	172; 0,38; 77
48e	73 mg de 47d	78 mg de N-BZD	33; 0,21; 43
48f	73 mg de 47d	73 mg de N-FUR	42; 0,24; 48
48g	123 mg de 47e	73 mg de N-FUR	99; 0,27; 54
48h	123 mg de 47e	82 mg de N-TIO	138; 0,36; 71
44i	123 mg de 47e	50 mg de FUR	97; 0,30; 60
48j	123 mg de 47e	58 mg de TIO	115; 0,34; 69
48l	140 mg de 47f	73 mg de N-FUR	141; 0,35; 70
48m	140 mg de 47f	82 mg de N-TIO	155; 0,37; 75
48n	102 mg de 47g	73 mg de N-FUR	88; 0,27; 54
48o	102 mg de 47g	82 mg de N-TIO	106; 0,31; 62
48p	102 mg de 47g	50 mg de FUR	90; 0,32; 65
48q	102 mg de 47g	58 mg de TIO	119; 0,40; 80

*Na tabela acima as siglas representam: N-BZD (4-NO₂-benzaldeído); N-FUR (5-NO₂-furaldeído); N-TIO (5-NO₂-tiofenocarboxialdeído); FUR (furaldeído) e TIO (tiofenocarboxialdeído).

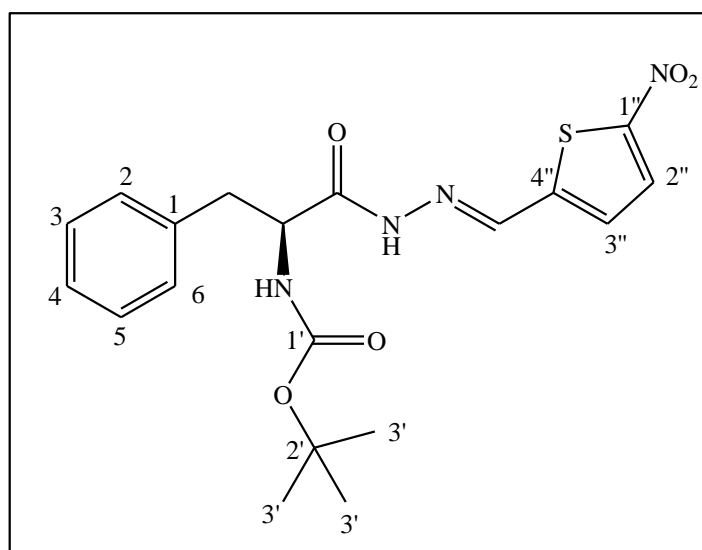
Conforme discutido no Capítulo 2 deste trabalho, pág.139, acredita-se que as *N*-acilidrazinas foram obtidas como o isômero *E* e apresentando confômeros *sp/ap* em solução, sendo assim os dados de RMN de ¹H e ¹³C serão expressos com os confômeros *sp/ap*.

3.2.2.5.1 (1S)-1-benzil-2-[(2E)-2-[(5-nitro-2-furil)metileno]hidrazino]-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48a



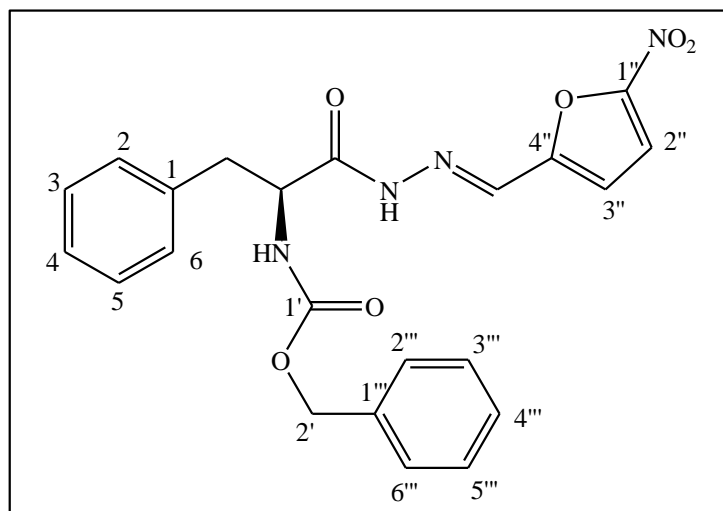
- **FM:** C₁₉H₂₂N₄O₆; **MM:** 402,15 g/mol; **PF:** 174,7-175,6°C (sólido amarelo claro).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 402,1 (M+), **encontrado:** 425,1 (M+Na).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3327 (deformação axial de N-H); 3026 (deformação axial de C-H aromático); 2983 (deformação axial de C-H alifático); 1670 (deformação axial de C=O); 1523 e 1352 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 11,94 e 11,77 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,16 e 7,96 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,13 (1H, s, CHNH); 7,56 e 7,22 (1H, m, H-2'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,53 e 7,20 (1H, m, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,30 (5H, m, H-2-H-6); 4,97 e 4,21 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 2,92 (1H, m, CH_aPh); 2,79 (1H, m, CH_bPh); 1,32 (9H, s, H-3').
- **RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 174,7 e 170,0 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,5 (CONH); 152,7 e 152,3 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 139,5 e 138,5 (C-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 135,7 (C-1''); 132,0 (C-3''); 130,2 (C-2''); 128,9-115,5 (C-1-C-6); 78,9 (C-2'); 56,1 e 54,8 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 37,0 e 36,9 (CH₂Ph confôrmeros *ap* e *sp*); 29,0 (C-3').

3.2.2.5.2. (1S)-1-benzil-2-{(2E)-2-(5-nitro-2-tienil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48b



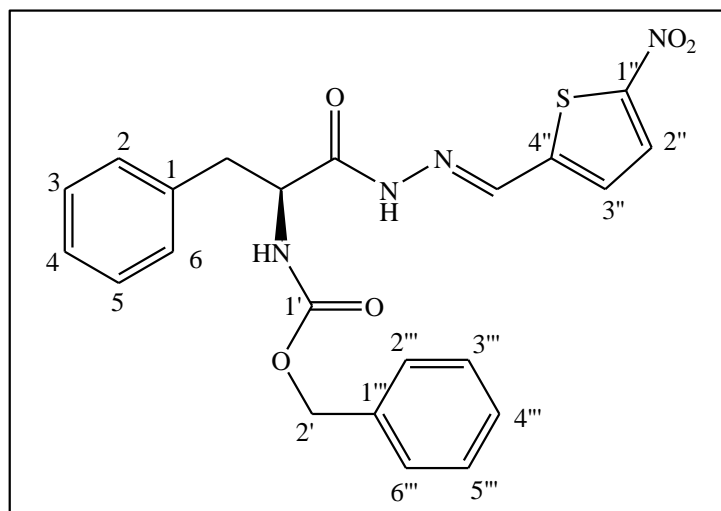
- **FM:** C₁₉H₂₂N₄O₅S; **MM:** 418,13 g/mol; **PF:** 180,9-182,8°C (sólido amarelo claro).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 418,1 (M+), **encontrado:** 457,1 (M+K).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3336 (deformação axial de N-H); 2983 e 2889 (deformação axial de C-H alifático); 1676 (deformação axial de C=O); 1527 e 1330 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 11,94 e 11,75 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,45 e 8,14 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,12 e 8,11 (1H, s, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 7,53 e 7,20 (1H, m, H-2'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,49 e 7,16 (1H, m, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,30 (4H, m, H-2-H-6); 4,99 e 4,22 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 2,95 (1H, m, CH_aPh); 2,80 (1H, m, CH_bPh); 1,32 (9H, s, H-3').
- **RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 173,8 e 169,1 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 155,6 (CONH); 151,6 e 151,5 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 138,7 e 137,6 (C-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 134,9 (C-1''); 131,1 (C-3''); 129,4-114,7 (C-2'' e C-1-C-6); 78,3 e 78,1 (C-2' confôrmeros *ap* e *sp*); 55,3 e 54,0 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 37,1 e 36,1 (CH₂Ph confôrmeros *ap* e *sp*); 28,2 (C-3').

3.2.2.5.3. (1S)-1-benzil-2-[(2E)-2-(5-nitro-2-furil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de benzila 48c

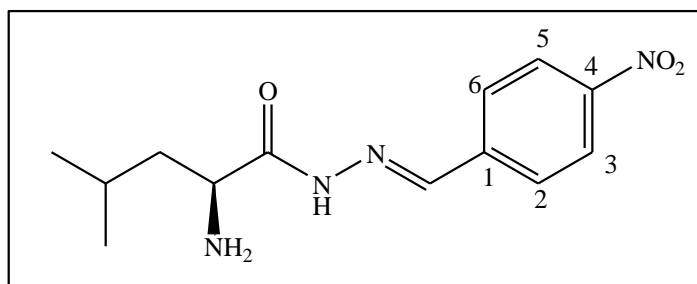


- **FM:** C₂₂H₂₀N₄O₆; **MM:** 452,12 g/mol; **PF:** 179,5-181,4°C (sólido amarelo claro).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 436,1 (M⁺), **encontrado:** 459,1 (M+Na).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3306 (deformação axial de N-H); 3089 e 3032 (deformação axial de C-H aromático); 1693 (deformação axial de C=O); 1535 e 1352 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 12,03 e 11,89 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,18 e 7,98 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 7,88 (1H, s, CHNH); 7,87 (1H, m, H-2''); 7,51 (1H, sl, H-3''); 7,31-7,23 (10H, m, H-2-H-6 e H-2'''-H-6'''); 4,98 (2H, m, CH₂O); 4,93 e 4,32 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 3,07 (1H, m, CHaPh); 2,75 (1H, m, CHbPh).
- **RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 173,4 e 168,7 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,1 e 154,0 (CONH confôrmeros *ap* e *sp*); 151,8 e 151,6 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 151,4 (C-4''); 135,0 e 131,3 (C-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 129,3-114,5 (C-3'', C-2'', C-1-C-6 e C-1'''-C-6'''); 62,2 (C-2'); 55,6 e 54,5 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 37,1 e 36,2 (CH₂Ph confôrmeros *ap* e *sp*).

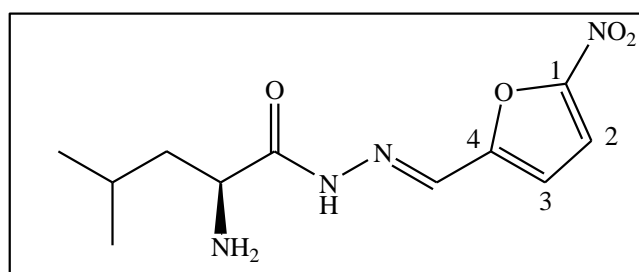
3.2.2.5.4. (1S)-1-benzil-2-[(2E)-2-[(5-nitro-2-tienil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de benzila 48d



- **FM:** C₂₂H₂₀N₄O₆; **MM:** 436,14 g/mol; **PF:** 147,6-149,9°C (sólido amarelo claro).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 436,1 (M⁺), **encontrado:** 459,1 (M+Na).
- **IV (KBr) ν (cm⁻¹):** 3305 (deformação axial de N-H); 3062 (deformação axial de C-H aromático); 1647 (deformação axial de C=O); 1531 e 1334 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 12,01 e 11,86 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,47 e 8,16 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,13 e 8,12 (1H, d, *J*=4,0 Hz CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 7,85 e 7,56 (1H, d, *J*=4,0 Hz, H-2'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,76 e 7,53 (1H, d, *J*=4,0 Hz, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,35-7,21 (1H, m, H-2-H-6 e H-2'''-H-6'''); 5,04 e 4,30 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 4,95 (2H, m, CH₂O); 2,99 (1H, dd, *J*₁=4,0 Hz, *J*₂=8,0 Hz, CH_aPh); 2,83 (1H, m, CH_bPh).
- **RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 173,2 e 168,8 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,0 (CONH); 151,0 e 150,6 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 151,0 e 150,6 (C-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 146,5 e 146,3 (C-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 140,8 (C-2''); 138,0 e 137,6 (C-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 130,6-126,5 (C-1-C-6 e C-1'''-C-6'''); 65,4 e 65,3 (C-2' confôrmeros *ap* e *sp*); 55,6 e 53,2 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 37,1 e 36,5 (CH₂Ph confôrmeros *ap* e *sp*).

3.2.2.5.5. *N'*-(4-nitrobenzilideno)-(2*S*)-amino-4-metilpentanoidrazida 48e

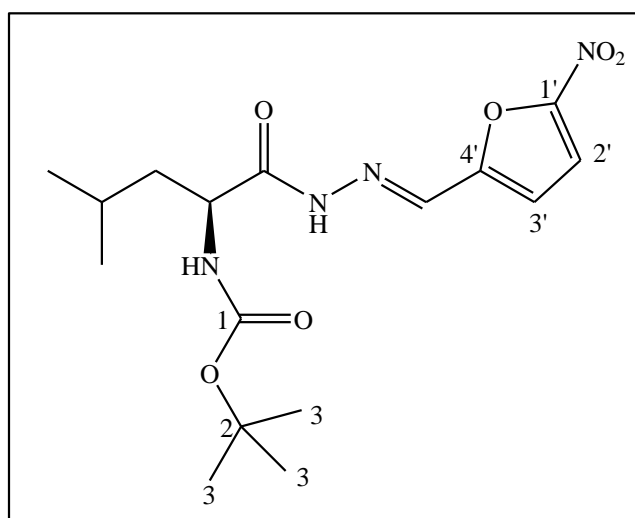
- **FM:** C₁₃H₁₈N₄O₃; **MM:** 278,14 g/mol; **PF:** 133,5-135,2°C (sólido marrom claro).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 278,1 (M⁺), **encontrado:** 301,1 (M+Na).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3342 (deformação axial de N-H); 2954 e 2870 (deformação axial de C-H alifático); 1695 (deformação axial de C=O); 1517 e 1336 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 9,60 (1H, s, NHN); 8,82 e 8,48 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,26-8,22 e 7,85-7,66 (5H, m, H-2-H-6 confôrmeros *ap* e *sp*); 4,06 e 3,83 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 2,09 e 2,00 (2H, m, CH₂); 1,44 (1H, m, CH(CH₃)₂); 1,00 e 0,92 (6H, m, CH(CH₃)₂).
- **RMN ¹³C (125 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 171,6 e 171,1 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 148,8 e 148,2 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 146,3 e 146,2 (C-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 140,2 e 140,1 (C-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 128,9-123,7 (C-2, C-3, C-5 e C-6); 62,5 e 61,8 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 30,3 e 30,0 (CH(CH₃)₂ confôrmeros *ap* e *sp*); 18,9 (CH₂); 17,4 e 17,2 ((CH₃)₂).

3.2.2.5.6. *N'*-[(-5-nitro-2-furil)metileno]-(2*S*)-amino-4-metilpentanoidrazida 48f

- **FM:** C₁₁H₁₅N₄O₄; **MM:** 267,11 g/mol; **PF:** 125,2-127,4°C (sólido marrom).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 267,1 (M⁺), **encontrado:** 265,2 (M-H).

- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3134 (deformação axial de C-H aromático); 2958 e 2872 (deformação axial de C-H alifático); 1712 (deformação axial de C=O); 1529 e 1352 (deformação axial de NO_2).
- **RMN ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm):** 9,21 e 9,02 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 7,58 e 7,51 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 6,96 (1H, m, H-2); 6,19 (1H, m, H-3); 3,87 (1H, m, CHNH); 2,86 (2H, sl, NH_2); 1,77 (1H, m, CH(CH $_3$) $_2$); 1,20 (2H, m, CH_2); 0,96 (6H, sl, CH(CH $_3$) $_2$).
- **RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm):** 173,4 e 170,9 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,2 e 156,1 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 153,6 e 153,1 (C-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 152,7 e 152,6 (C-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 140,7 e 139,4 (C-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 138,0 (C-2''); 70,9 e 70,2 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 42,5 e 42,2 ((CH(CH $_3$) $_2$) confôrmeros *ap* e *sp*); 26,2 (CH_2); 24,0 e 23,1 ((CH $_3$) $_2$).

3.2.2.5.7. (1S)-1-isobutil-2-[(2E)-2-[(5-nitro-2-furil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48g

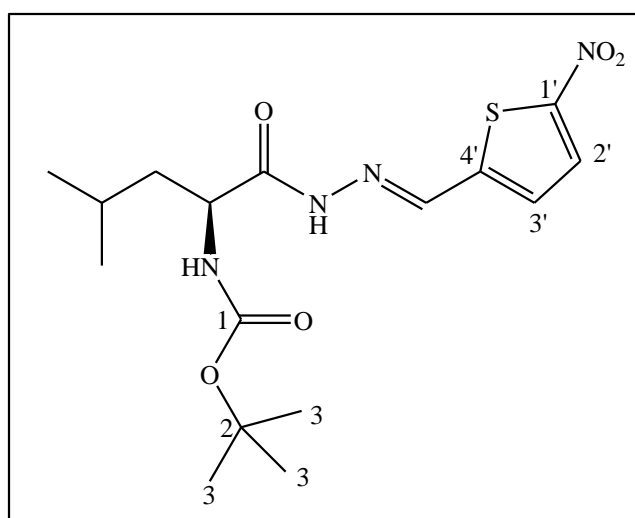


- **FM:** $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_6$; **MM:** 368,17 g/mol; **PF:** 112,4-113,5°C (sólido marrom claro).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 368,1 (M $^+$), **encontrado:** 367,1 (M-H).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3215 (deformação axial de N-H); 2958 e 2872 (deformação axial de C-H alifático); 1693 (deformação axial de C=O); 1516 e 1352 (deformação axial de NO_2).
- **RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm):** 11,31 e 10,89 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,25 e 7,946 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 7,35 (1H, s, CHNH); 7,30

e 7,10 (1H, m, H-2'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,29 e 6,86 (1H, m, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 5,11 e 4,32 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,86 (1H, m, CH(CH₃)₂); 1,67 e 1,53 (1H, m, CH₂); 1,44 (9H, s, H-3); 1,08 e 0,94 (6H, m, (CH₃)₂ confôrmeros *ap* e *sp*).

- **RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 176,6 e 170,9 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,6 e 152,0 (CONH confôrmeros *ap* e *sp*); 137,2 (C=NH); 132,7 (C-4'); 129,6 e 128,5 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 113,71 e 113,3 (C-3' confôrmeros *ap* e *sp*); 112,5 (C-2'); 80,4 (C-2); 52,5 e 50,3 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 41,8 (CH(CH₃)₂); 28,7 (C-3); 23,7 (CH₂); 21,8 ((CH₃)₂).

3.2.2.5.7.1. (1S)-1-isobutil-2-{(2E)-2-[(5-nitro-2-tienil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48h

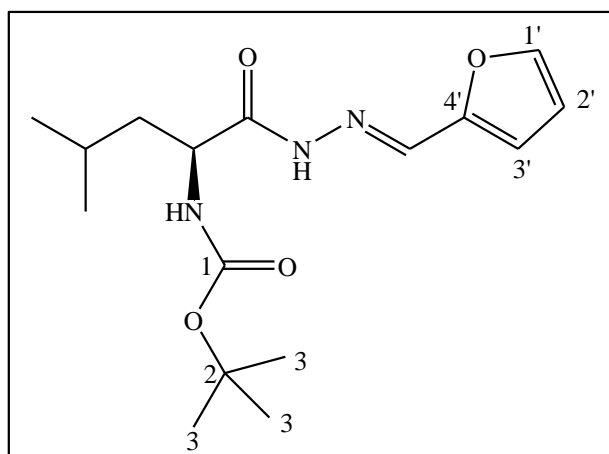


- **FM:** C₁₆H₂₄N₄O₅S; **MM:** 384,15 g/mol; **PF:** 103,0-105,4°C (sólido amarelo).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 384,1 (M+), **encontrado:** 266,1 (M-H).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3350 (deformação axial de N-H); 3134 (deformação axial de C-H aromático); 2958 e 2872 (deformação axial de C-H alifático); 1687 (deformação axial de C=O); 1516 e 1334 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 11,89 e 11,66 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,51 e 8,17 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,11 (1H, s, CHNH); 7,54 e 7,13 (1H, m, H-2'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,51 e 7,00 (1H, m, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 4,84 e 4,01 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,73 e 1,63 (1H, m, CH(CH₃)₂).

confôrmeros *ap* e *sp*); 1,51 (2H, m, CH₂); 1,38 (9H, s, H-3), 0,99 e 0,88 (6H, m, CH(CH₃)₂ confôrmeros *ap* e *sp*).

- **RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 174,7 e 169,8 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 155,5 e 155,4 (CONH confôrmeros *ap* e *sp*); 150,7 e 150,3 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 146,6 e 146,4 (C-4' confôrmeros *ap* e *sp*); 140,3 e 136,5 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 130,5 e 130,4 (C-3' confôrmeros *ap* e *sp*); 129,4 e 129,2 (C-2' confôrmeros *ap* e *sp*); 78,0 e 77,8 (C-2 confôrmeros *ap* e *sp*); 52,0 e 49,2 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 28,1 (C-3); 24,3 e 24,2 (CH(CH₃)₂ confôrmeros *ap* e *sp*); 23,1 e 22,8 (CH₂ confôrmeros *ap* e *sp*); 21,4 e 21,0 ((CH₃)₂).

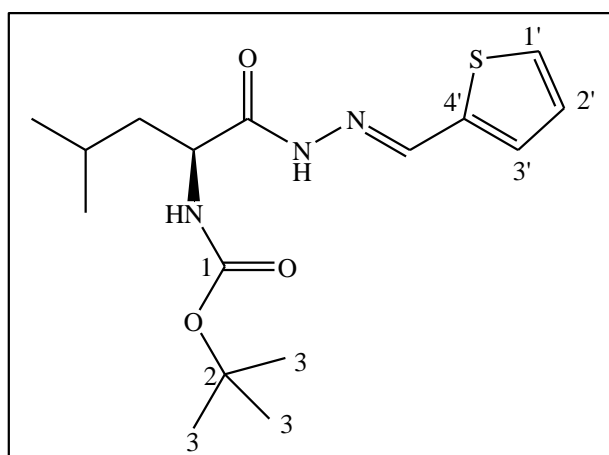
3.2.2.5.8. (1S)-1-isobutil-2-[(2E)-2-(fúril)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48i



- **FM:** C₁₆H₂₅N₃O₆; **MM:** 323,18 g/mol; **PF:** 140,1-141,5°C (sólido bege escuro).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 323,2 (M⁺), **encontrado:** 346,3 (M+Na).
- **IV (KBr) ν (cm⁻¹):** 3331 (deformação axial de N-H); 3064 (deformação axial de C-H aromático); 2966 e 2899 (deformação axial de C-H alifático); 1666 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 10,53 e 9,95 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,13 e 7,78 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 7,48 e 7,46 (1H, s, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 6,76 (d, *J*=3,2 Hz) e 6,47 (m) (1H, H-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 6,72 (d, *J*=3,6 Hz) e 6,43 (d, *J*=3,2 Hz) (1H, m, H-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 5,44 e 4,25 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 5,22 (1H, m, H-2''); 2,01 e 1,80 (1H, m, CH(CH₃)₂ confôrmeros *ap* e *sp*); 1,60 e 1,53 (2H, m, CH₂); 1,44 (9H, s, H-3), 1,07 e 0,92 (6H, m, CH(CH₃)₂ confôrmeros *ap* e *sp*).

- **RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 175,8 e 169,5 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,3 e 155,7 (CONH confôrmeros *ap* e *sp*); 149,5 e 149,3 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 144,6 e 144,4 (C-4' confôrmeros *ap* e *sp*); 138,8 e 134,7 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 113,4 (C-3'); 111,9 (C-2'); 80,4 e 79,6 (C-2 confôrmeros *ap* e *sp*); 52,1 e 50,0 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 28,4 (C-3); 25,0 e 24,7 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*); 23,4 e 22,8 (CH_2 confôrmeros *ap* e *sp*); 22,1 e 21,6 ($(\text{CH}_3)_2$).

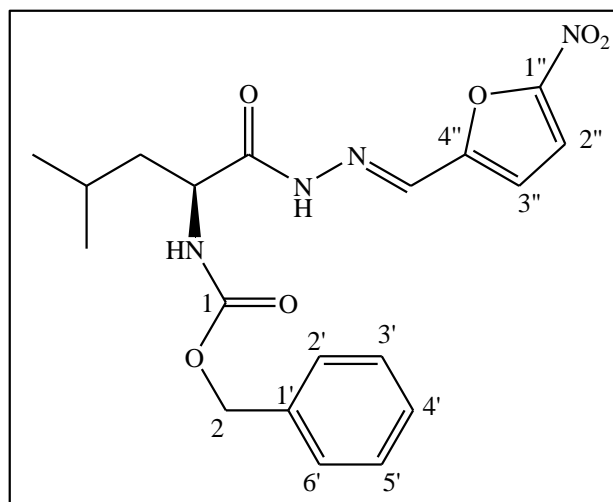
3.2.2.5.9. (1S)-1-isobutil-2-{(2E)-2-[2-(tienil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48j



- **FM:** $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$; **MM:** 339,16 g/mol; **PF:** 169,5-173,1°C (sólido amarelo claro).
- **EM/ESI (*m/z*) calcd:** 339,2 (M+), **encontrado:** 340,3 (M+H).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3367 (deformação axial de N-H); 2958 e 2870 (deformação axial de C-H alifático); 1689 (deformação axial de C=O).
- **RMN ^1H (500 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm):** 11,46 e 11,22 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,45 e 8,19 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,16 (1H, s, CHNH); 7,64 (d, $J=5,0$ Hz) e 7,44 (d, $J=3,2$ Hz) (1H, H-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,62 (d, $J=5,0$ Hz) e 7,40 (d, $J=3,2$ Hz) (1H, m, H-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,11 (1H, m, H-2''); 4,83 e 3,98 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,73 e 1,62 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*); 1,46 (2H, m, CH_2); 1,38 (9H, s, H-3); 0,99 e 0,88 (6H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*).
- **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) δ (ppm):** 174,2 e 169,3 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 155,6 e 155,4 (CONH confôrmeros *ap* e *sp*); 142,0 e 139,4 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 139,0 e 138,2 (C-4' confôrmeros *ap* e *sp*); 130,8 e 130,4 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 129,4 e 128,7 (C-3' confôrmeros *ap* e *sp*); 128,4 e 127,8 (C-2' confôrmeros

ap e *sp*); 78,0 e 77,8 (C-2 confôrmeros *ap* e *sp*); 51,9 e 49,4 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 28,2 (C-3); 24,5 e 24,3 ($\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*); 23,4 e 22,9 (CH_2 confôrmeros *ap* e *sp*); 21,6 e 21,2 ($(\text{CH}_3)_2$).

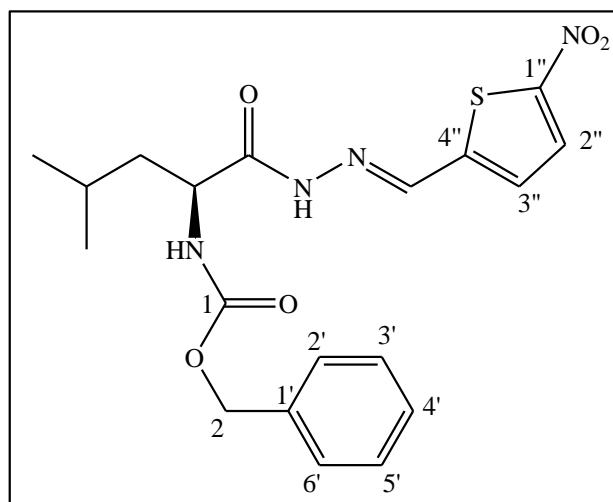
3.2.2.5.10. (1S)-1-isobutil-2-[(2E)-2-[(5-nitro-2-furil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de benzila 48l



- **FM:** $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6$; **MM:** 402,15 g/mol; **PF:** 89,3-92,6°C (sólido amarelo).
- **EM/ESI (*m/z*) calcd:** 402,1 (M⁺), **encontrado:** 425,1 (M+Na).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3209 (deformação axial de N-H); 3032 (deformação axial de C-H aromático); 2956 (deformação axial de C-H alifático); 1691 (deformação axial de C=O); 1517 e 1352 (deformação axial de NO_2).
- **RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm):** 11,96 e 11,72 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,21 e 7,93 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 7,77 (1H, m, CHNH); 7,69 (d, $J=8,0$ Hz) e 7,22 (d, $J=4,0$ Hz) (1H, H-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,55 (d, $J=8,0$ Hz) e 7,14 (d, $J=4,0$ Hz) (1H, m, H-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,35 (1H, sl, H-2'-H-6'); 5,03 (2H, m, CH_2O); 4,93 e 4,11 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,60 (2H, m, CH_2); 1,42 (1H, m, $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$); 0,99 e 0,89 (6H, m, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*).
- **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm):** 174,7 e 169,7 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,1 (CONH); 151,7 e 151,5 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 137,1 e 137,0 (C-4' confôrmeros *ap* e *sp*); 135,0 e 131,1 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 128,3-127,7 (C-1'-C-6'); 115,2 (C-3'); 114,6 e 114,4 (C-2' confôrmeros *ap* e *sp*); 65,5 e 65,3 (C-2 confôrmeros *ap* e *sp*); 52,4 e 50,0 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 24,5 e 24,28

($\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*); 23,2 e 22,8 (CH_2 confôrmeros *ap* e *sp*); 21,5 e 20,8 ($(\text{CH}_3)_2$).

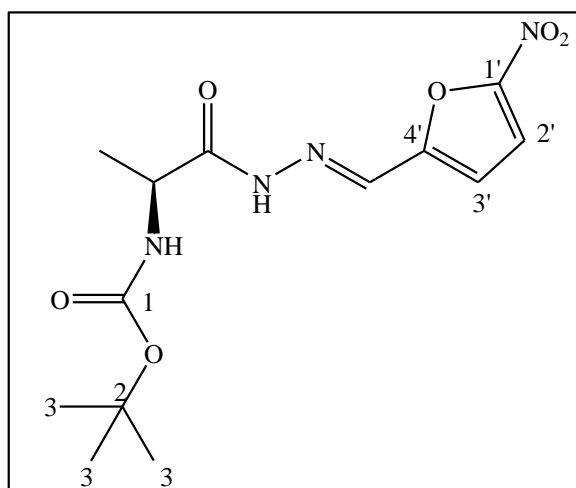
3.2.2.5.11. (1S)-1-isobutil-2-{(2E)-2-(5-nitro-2-tienil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de benzila 48m



- **FM:** $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$; **MM:** 418,13 g/mol; **PF:** 90,8-94,0°C (sólido bege).
- **EM/ESI (*m/z*) calcd:** 418,1 (M+), **encontrado:** 417,3 (M-H).
- **IV (KBr) ν (cm^{-1}):** 3331 (deformação axial de N-H); 3031 (deformação axial de C-H aromático); 2958 e 2870 (deformação axial de C-H alifático); 1691 (deformação axial de C=O); 1516 e 1334 (deformação axial de NO_2).
- **RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm):** 11,98 e 11,76 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,51 e 8,18 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,12 e 8,11 (1H, s, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 7,71 (d, $J=8,0$ Hz) e 7,55 (d, $J=5,0$ Hz) (1H, H-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,59 (d, $J=8,0$ Hz) e 7,52 (d, $J=5,0$ Hz) (1H, m, H-4'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,36 (1H, m, H-2'-H-6'); 5,04 (2H, m, CH_2O); 4,92 e 4,10 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,54 e 1,38 (1H, m, $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*); 1,23 (2H, m, CH_2); 1,00 e 0,89 (6H, m, $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$ confôrmeros *ap* e *sp*);
- **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm):** 174,4 e 169,1 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 156,2 (CONH); 150,9 e 150,5 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 146,7 e 146,6 (C-4' confôrmeros *ap* e *sp*); 140,7 e 136,9 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 130,7 e 130,5 (C-3' confôrmeros *ap* e *sp*); 129,7 e 129,4 (C-2' confôrmeros *ap* e *sp*); 128,4-127,8 (C-1'-C-6'); 65,4 (C-2); 52,4 e 49,8 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 29,08 e 28,8 ($\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$

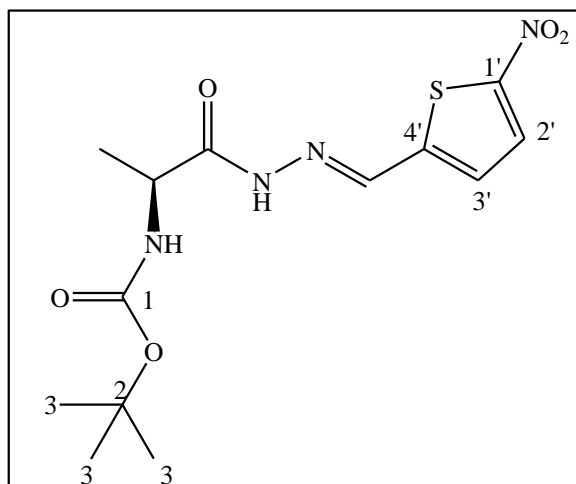
confômeros *ap* e *sp*); 24,5 e 24,3 (CH₂ confômeros *ap* e *sp*); 23,3-22,9 e 21,5-21,3 ((CH₃)₂ confômeros *ap* e *sp*).

3.2.2.5.12. (1S)-1-metil-2-{(2E)-2-(5-nitro-2-furil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48n



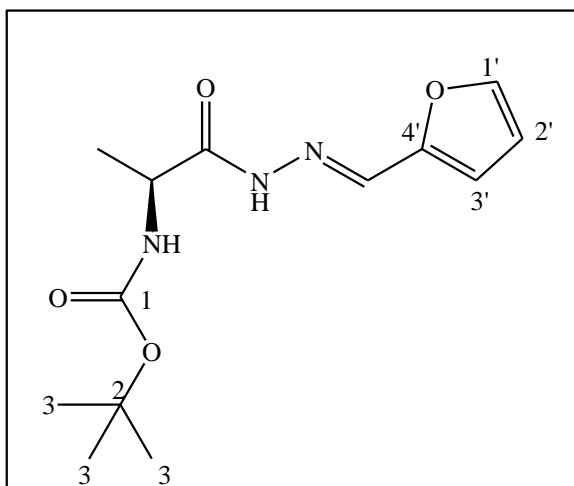
- **FM:** C₁₃H₁₈N₄O₆; **MM:** 326,12 g/mol; **PF:** 157,5-159,0 °C (sólido marrom).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 326,1 (M⁺), **encontrado:** 325,2 (M-H).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3327 (deformação axial de N-H); 3064 (deformação axial de C-H aromático); 2981 e 2872 (deformação axial de C-H alifático); 1670 (deformação axial de C=O); 1525 e 1352 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 10,80 e 10,56 (1H, s, NHN confômeros *ap* e *sp*); 8,28 e 7,89 (1H, s, CH=N confômeros *ap* e *sp*); 7,36 e 7,08 (1H, m, H-2'' confômeros *ap* e *sp*); 7,33 e 6,93 (1H, m, H-3''' confômeros *ap* e *sp*); 5,11 e 4,34 (1H, m, CHNH confômeros *ap* e *sp*); 1,46 (1H, m, CH₃); 1,44 (9H, s, H-3).
- **RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 176,2 e 170,4 (COO confômeros *ap* e *sp*); 156,4 e 155,9 (CONH confômeros *ap* e *sp*); 152,7 e 152,1 (C=NH confômeros *ap* e *sp*); 133,5 e 132,1 (C-4'); 114,0 (C-1'); 113,1 e 112,8 (C-3' confômeros *ap* e *sp*); 112,6 e 112,4 (C-2' confômeros *ap* e *sp*); 81,2 (C-2); 47,9 e 46,8 (CHNH confômeros *ap* e *sp*); 28,1 (C-3); 17,1 e 13,9 (CH₃).

3.2.2.5.13. (1S)-1-metil-{(2E)-2-[(5-nitro-2-tienil)metileno]hidrazino}-2-oxoetilcarbamato de *tert*-butila 48o



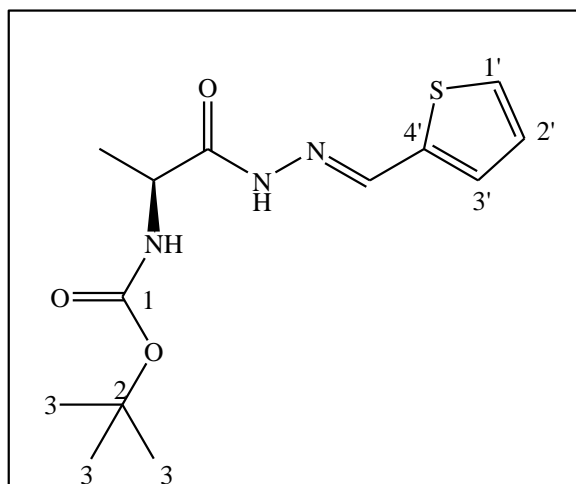
- **FM:** C₁₆H₂₄N₄O₅S; **MM:** 342,10 g/mol; **PF:** 143,1-145,9°C (sólido amarelo).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 342,1 (M+), **encontrado:** 365,2 (M+Na).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3338 (deformação axial de N-H); 2983 e 2933 (deformação axial de C-H alifático); 1678 (deformação axial de C=O); 1525 e 1332 (deformação axial de NO₂).
- **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 11,88 e 11,73 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,49 e 8,17 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 8,13 e 8,12 (1H, s, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 7,54 (d, *J*=4,0 Hz) e 7,20 (d, *J*=7,0 Hz) (1H, H-2'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,52 (d, *J*=4,0 Hz) e 7,11 (d, *J*=7,0 Hz) (1H, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 4,73 e 4,01 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,38 (9H, s, H-3), 1,23 (3H, m, CH₃).
- **RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 174,6 e 170,1 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 155,2 (CONH); 150,8 e 150,4 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 146,7 (C-4'); 140,3 e 136,5 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 130,7 e 130,5 (C-3' confôrmeros *ap* e *sp*); 129,6 e 129,1 (C-2' confôrmeros *ap* e *sp*); 79,2 (C-2); 49,1 e 46,7 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 28,2 (C-3); 17,6 e 16,7 (CH₃).

3.2.2.5.14. (1S)-1-metil-2-[(2E)-2-[(2-furil)metileno]hidrazino-2-oxoetil]carbamato de *tert*-butila 48p



- **FM:** C₁₃H₁₉N₃O₄; **MM:** 281,14 g/mol; **PF:** 158,0-159,6°C (sólido branco).
- **EM/ESI (m/z) calcd:** 281,1 (M⁺), **encontrado:** 280,2 (M-H).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3331 (deformação axial de N-H); 3064 (deformação axial de C-H aromático); 2966 e 2870 (deformação axial de C-H alifático); 1666 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 8,06 e 7,82 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 7,64 e 7,62 (1H, s, CHNH); 6,93 e 6,79 (1H, m, H-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 6,92 e 6,78 (1H, m, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 6,55 (1H, m, H-2''); 4,99 e 4,15 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,44 (9H, s, H-3); 1,36 (3H, d, J=7,0 Hz, CH₃).
- **RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 176,9 e 172,6 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 157,8 (CONH); 151,2 e 151,0 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 146,5 e 146,0 (C-4' confôrmeros *ap* e *sp*); 139,2 e 136,1 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 114,8 e 113,9 (C-3' confôrmeros *ap* e *sp*); 113,2 e 113,1 (C-2' confôrmeros *ap* e *sp*); 80,8 e 80,6 (C-2 confôrmeros *ap* e *sp*); 50,8 (CHNH); 28,9 (C-3); 18,5 e 18,1 (CH₃ confôrmeros *ap* e *sp*).

3.2.2.5.15. (1S)-1-metil-2-[(2E)-2-[(2-tienil)metileno]hidrazino]-2-oxoetilcarbamato de *terc*-butila 48q



- **FM:** C₁₃H₁₉N₃O₃S; **MM:** 297,11 g/mol; **PF:** 160,1-161,9°C (sólido bege).
EM/ESI (m/z) calcd: 297,1 (M+), **encontrado:** 320,3 (M+Na).
- **IV (KBr) v (cm⁻¹):** 3331 (deformação axial de N-H); 3057 (deformação axial de C-H aromático); 2983 e 2875 (deformação axial de C-H alifático); 1678 (deformação axial de C=O).
- **RMN ¹H (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 11,30 e 11,88 (1H, s, NHN confôrmeros *ap* e *sp*); 8,35 e 8,12 (1H, s, CH=N confôrmeros *ap* e *sp*); 7,52 (d, *J*=5,0 Hz) e 7,38 (d, *J*=3,5 Hz) (1H, H-1'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,49 (d, *J*=5,0 Hz) e 7,31 (d, *J*=3,5 Hz) (1H, m, H-3'' confôrmeros *ap* e *sp*); 7,08 (1H, m, H-2''); 4,96 e 4,14 (1H, m, CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 1,44 (9H, s, H-3); 1,36 (3H, d, *J*=7,0 Hz, CH₃);
- **RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 176,6 e 172,5 (COO confôrmeros *ap* e *sp*); 157,8 (CONH); 145,0 e 141,0 (C=NH confôrmeros *ap* e *sp*); 140,5 e 140,1 (C-4' confôrmeros *ap* e *sp*); 132,3 e 131,5 (C-1' confôrmeros *ap* e *sp*); 130,4 e 129,5 (C-3' confôrmeros *ap* e *sp*); 128,7 (C-3''); 80,8 (C-2); 50,8 e 49,7 (CHNH confôrmeros *ap* e *sp*); 28,9 (C-3); 18,5 e 18,0 (CH₃ confôrmeros *ap* e *sp*).

4.1. Espectros referentes às substâncias do Capítulo 1

4.1.1. Síntese de derivados antraquinônicos com cadeias longas 12-13 e 15-16

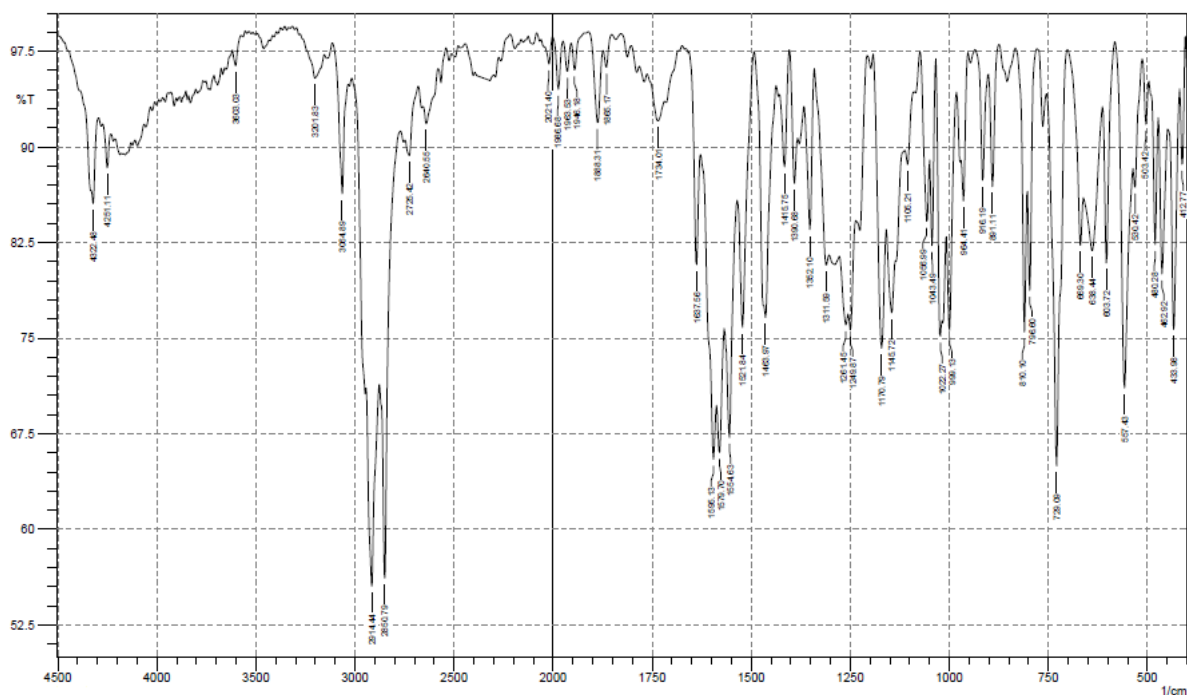


Figura 4.1. Espectro de infravermelho da substância **12**. (KBr).

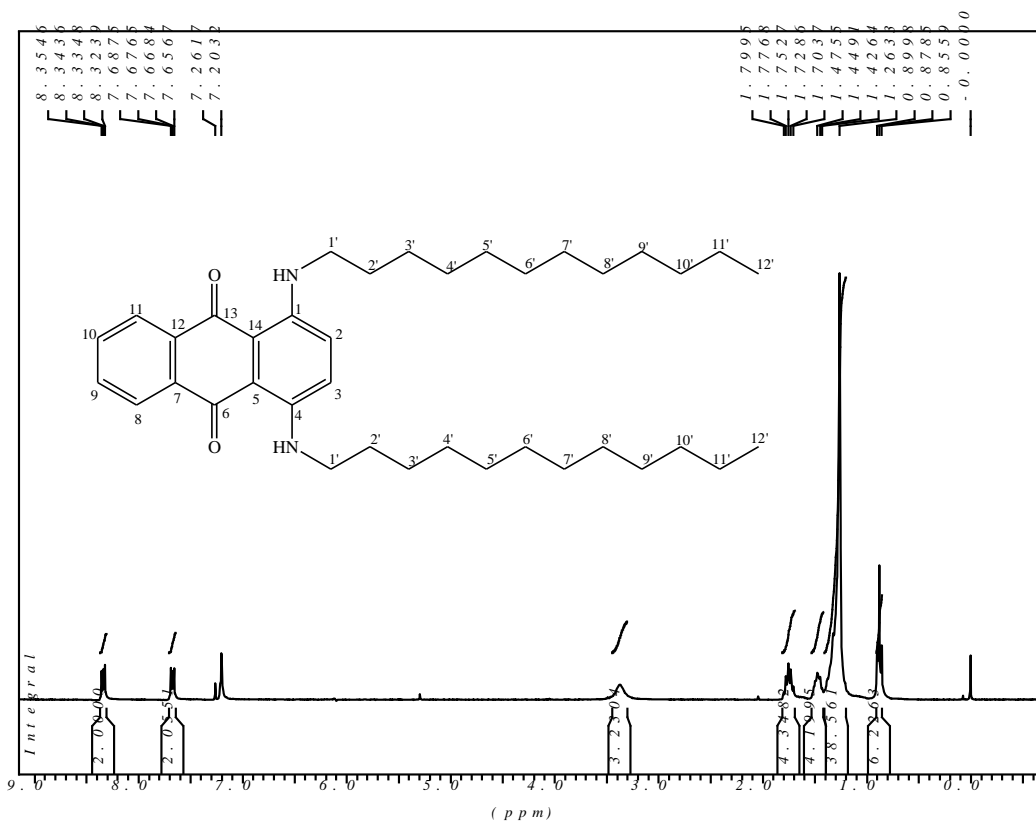


Figura 4.2. Espectro de RMN de ^1H da substância **12** (CDCl_3 , 300 MHz).

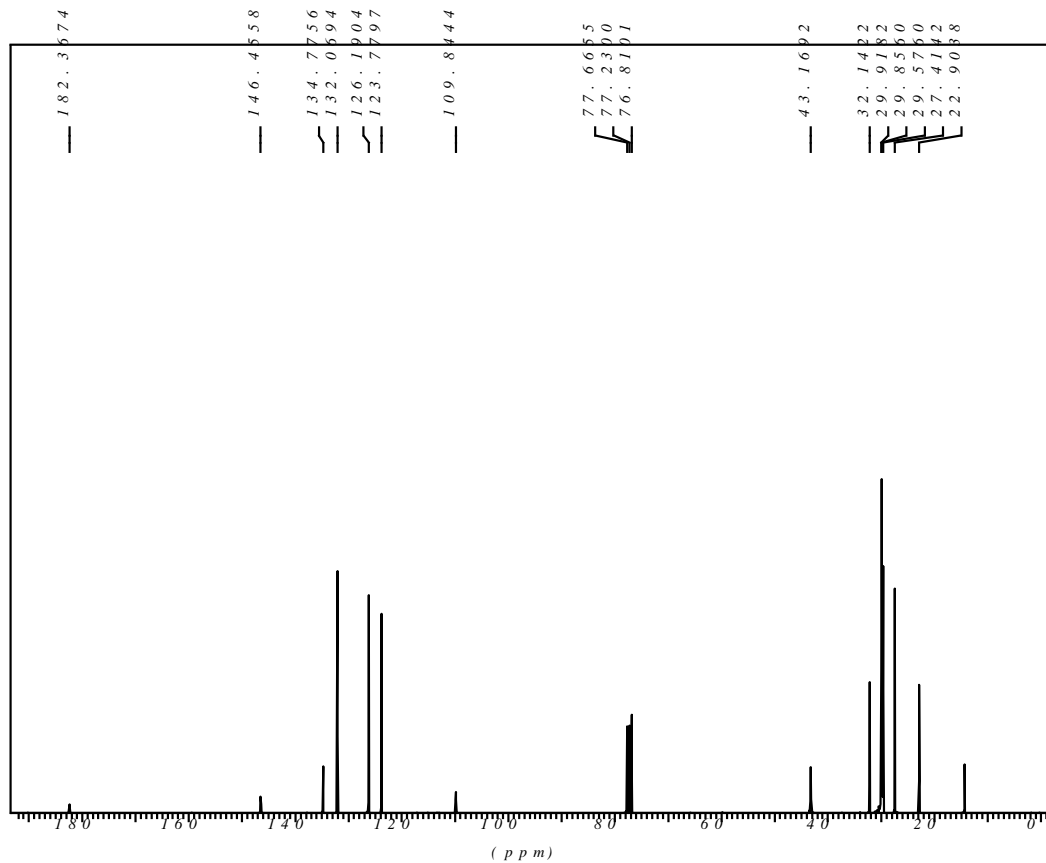


Figura 4.3. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **12** (CDCl_3 , 300 MHz).

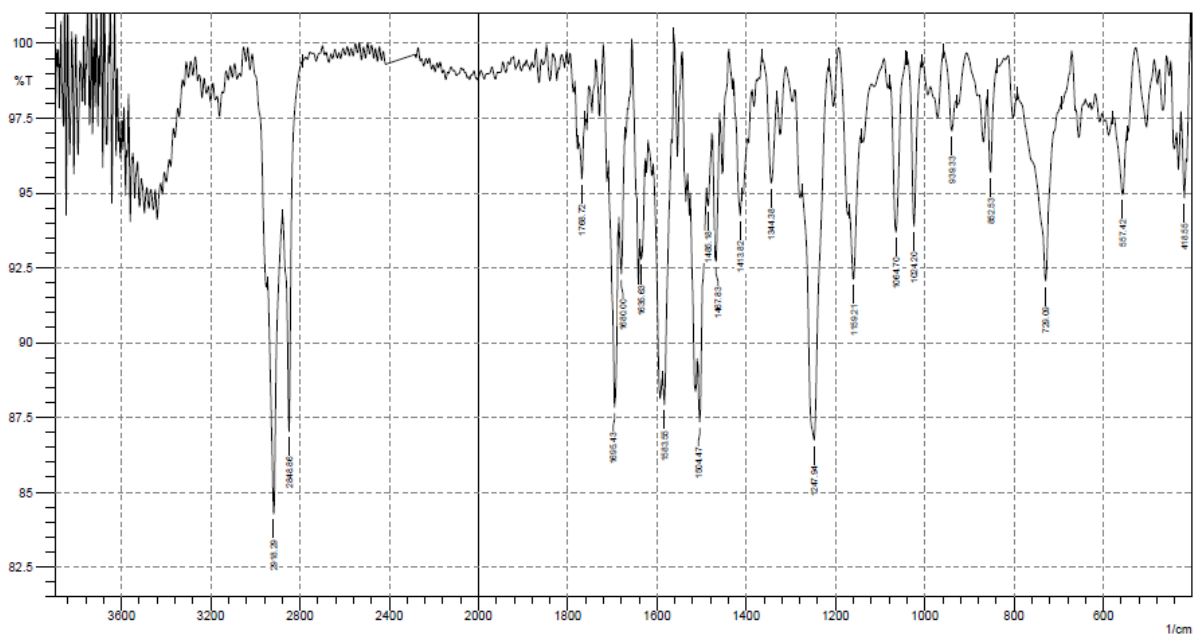


Figura 4.4. Espectro de infravermelho da substância **13** em KBr.

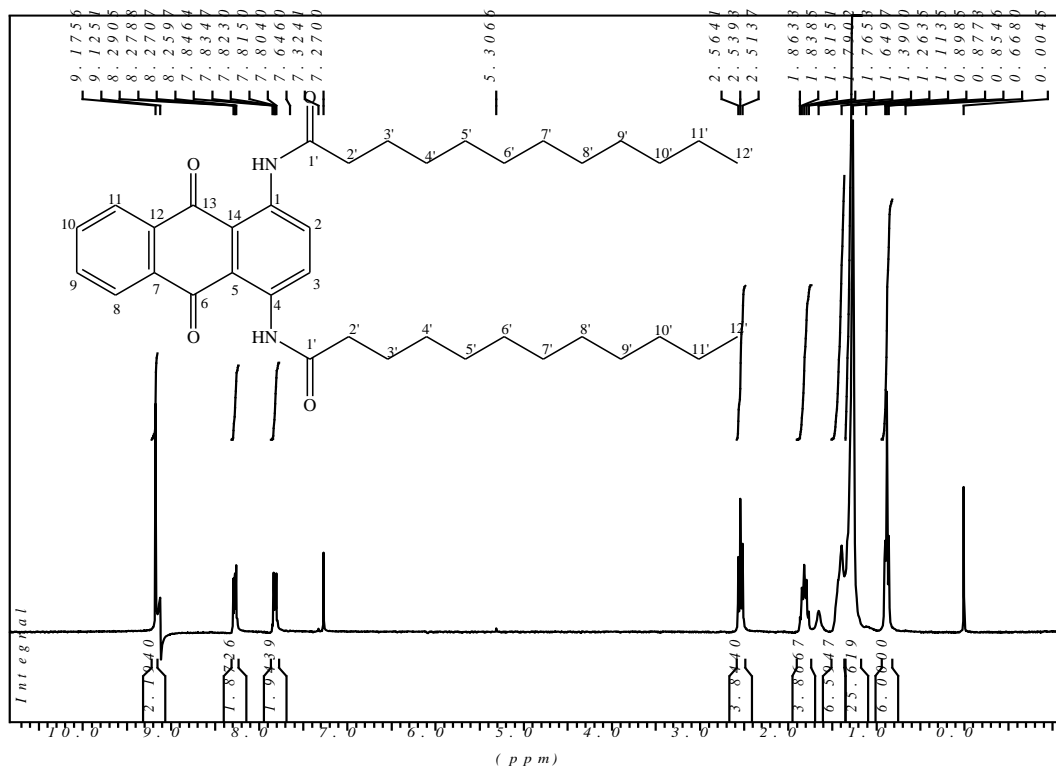


Figura 4.5. Espectro de RMN de ^1H da substância **13** (CDCl_3 , 300 MHz).

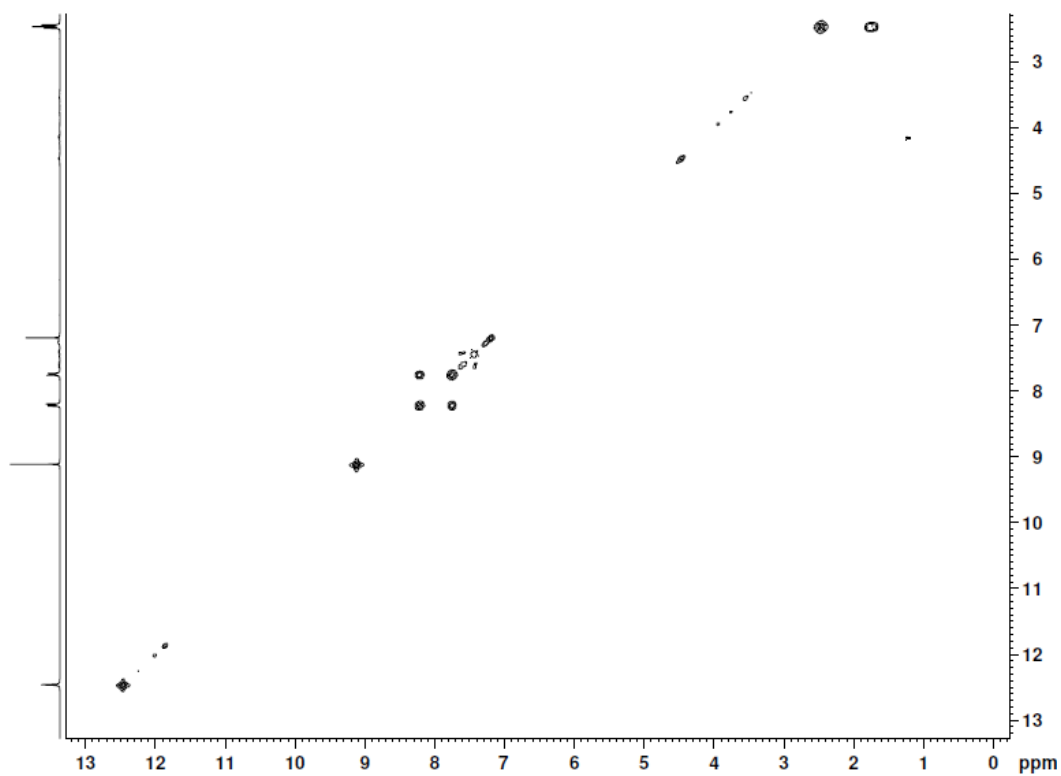


Figura 4.6. Mapa de contorno COSY da substância **13** (CDCl_3 , 300 MHz).

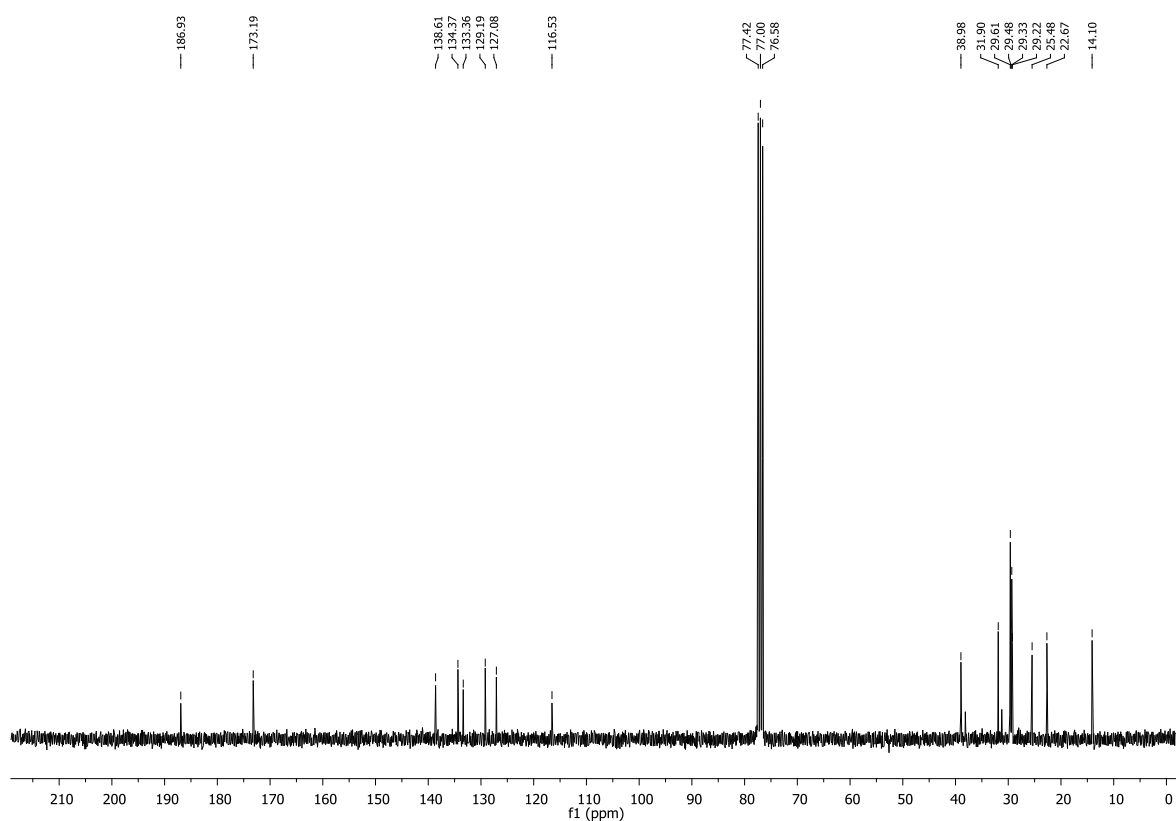


Figura 4.7. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **13** (CDCl_3 , 75 MHz).

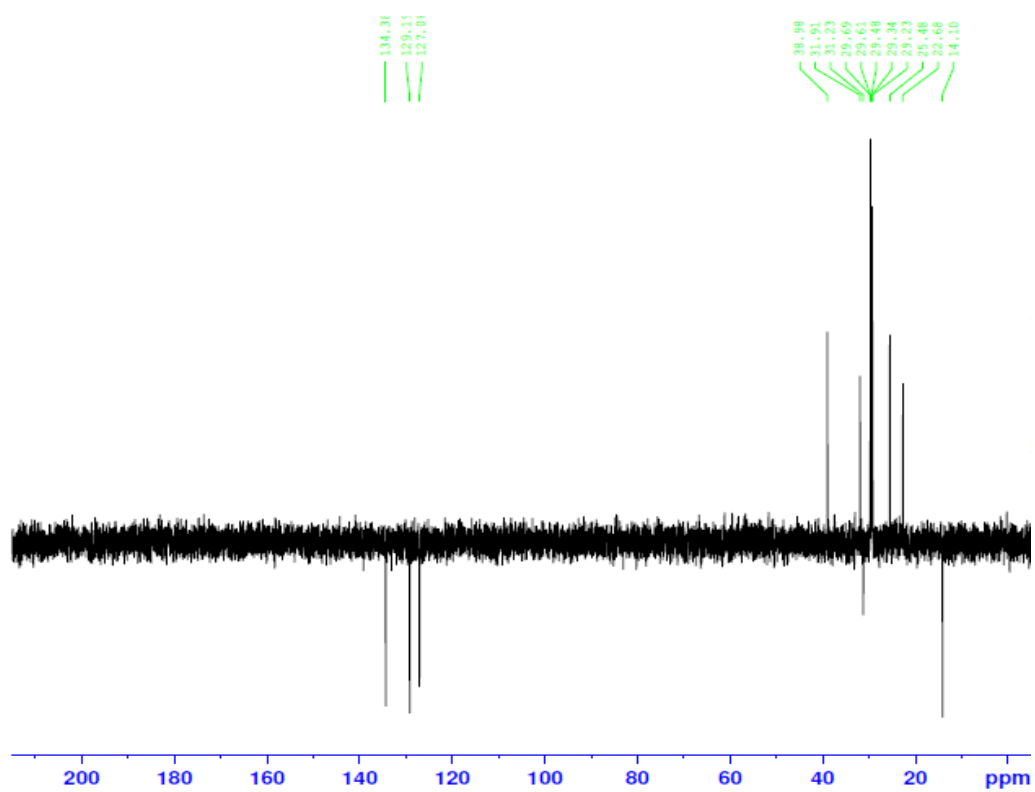


Figura 4.8. Espectro de DEPT 135 da substância **13** (CDCl_3 , 75 MHz).

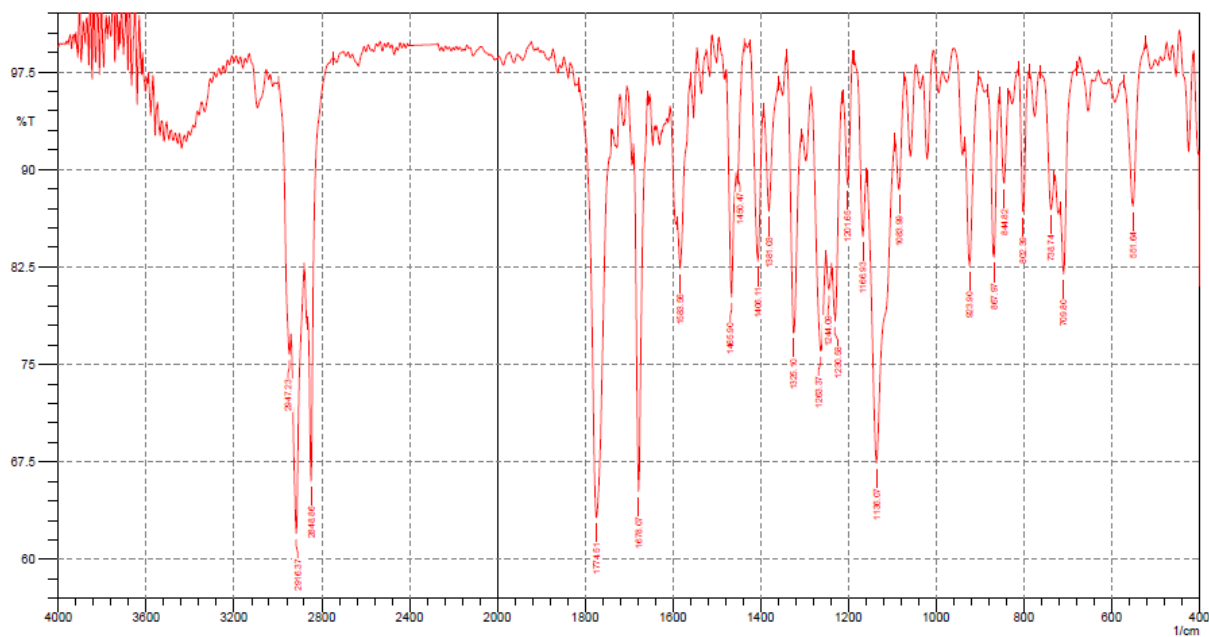


Figura 4.9. Espectro de infravermelho da substância 15 (KBr).

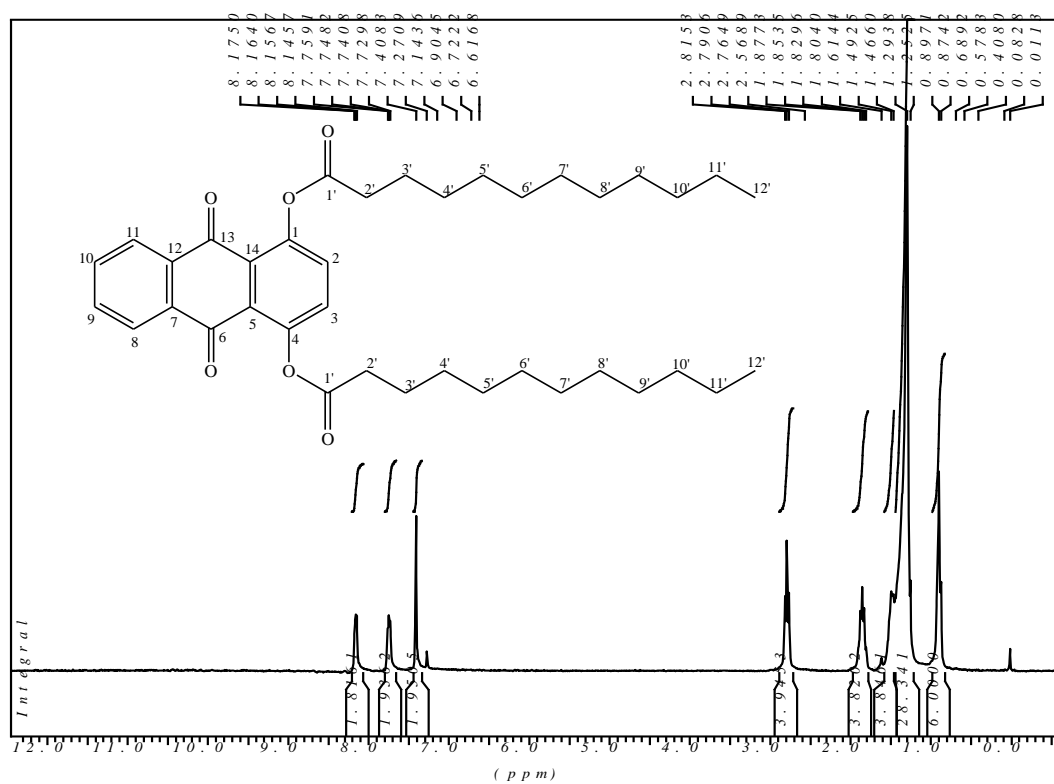


Figura 4.10. Espectro de RMN de ^1H da substância 15 (CDCl_3 , 300 MHz).

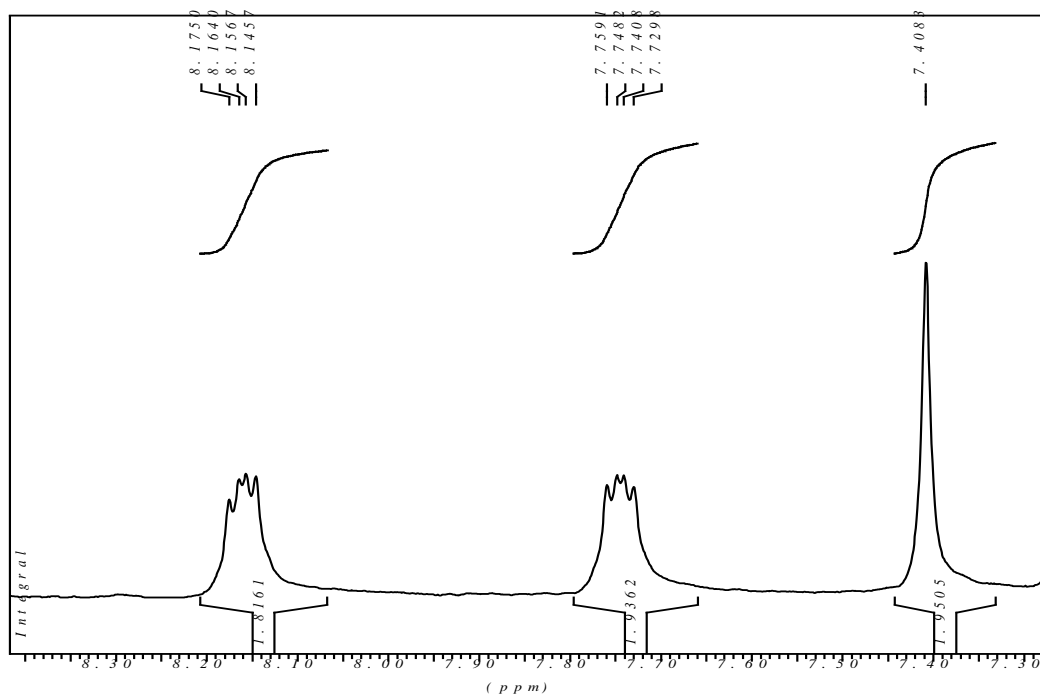


Figura 4.11. Expansão de RMN de ^1H da substância **15** (CDCl_3 , 300 MHz).

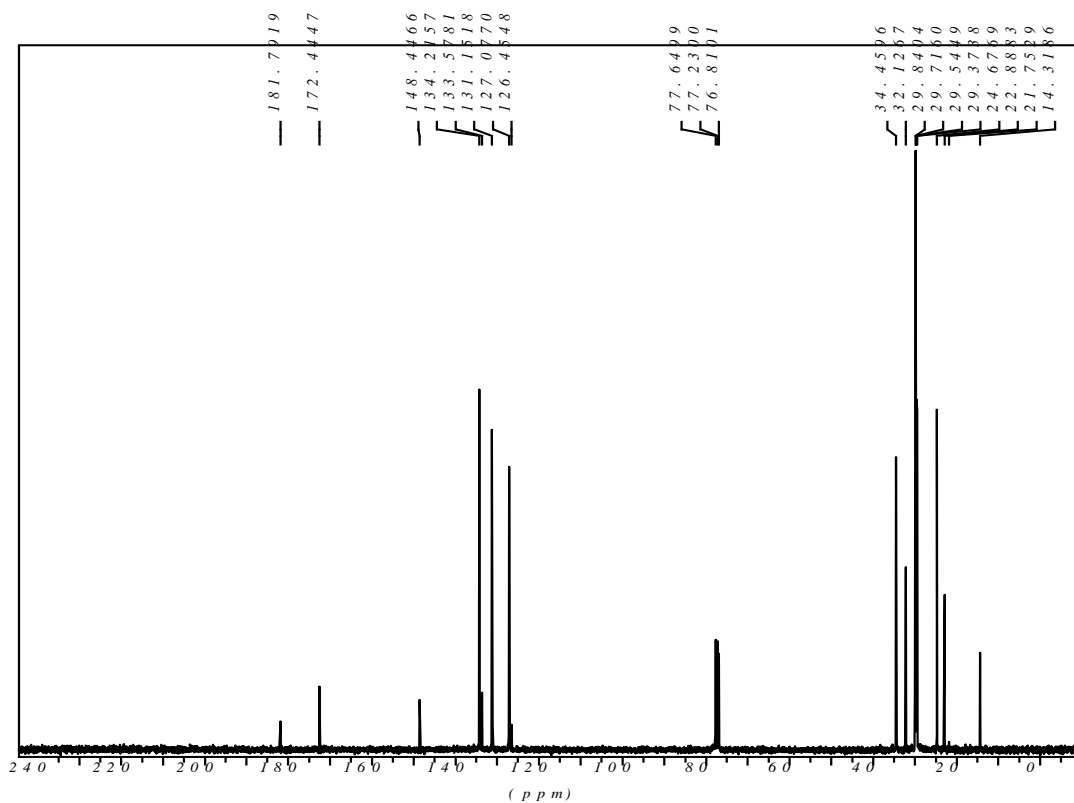


Figura 4.12. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **15** (CDCl_3 , 75 MHz).

4.1.2. Síntese de derivados antraquinônicos com cadeias curtas 19 e 22-26

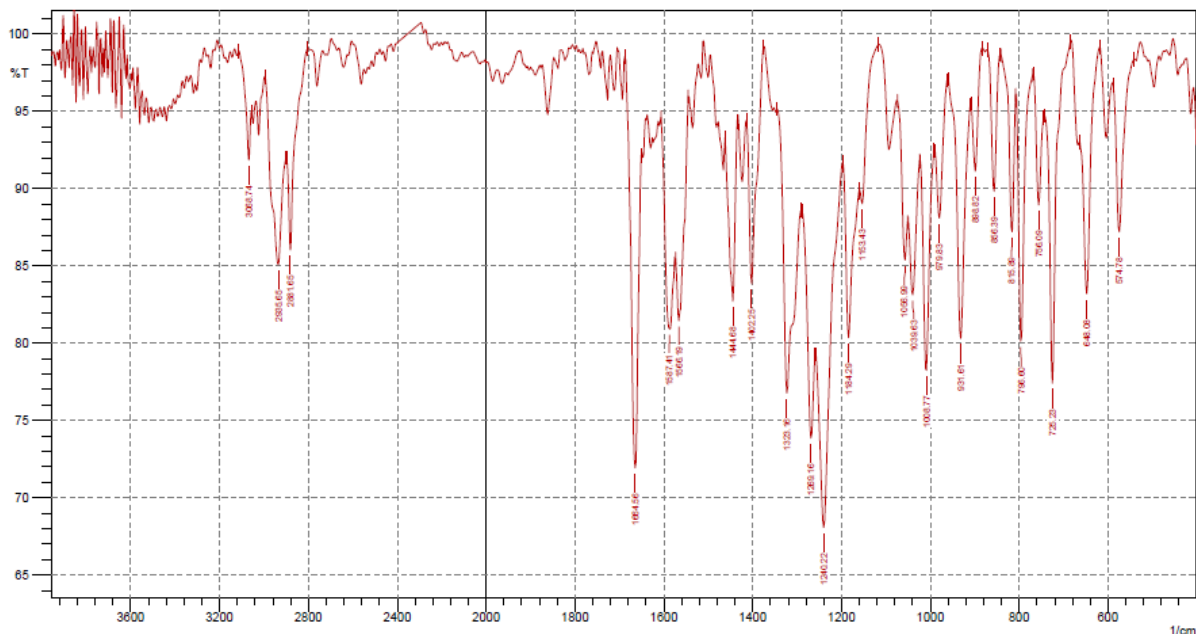


Figura 4.15. Espectro de infravermelho da substância 19 (KBr).

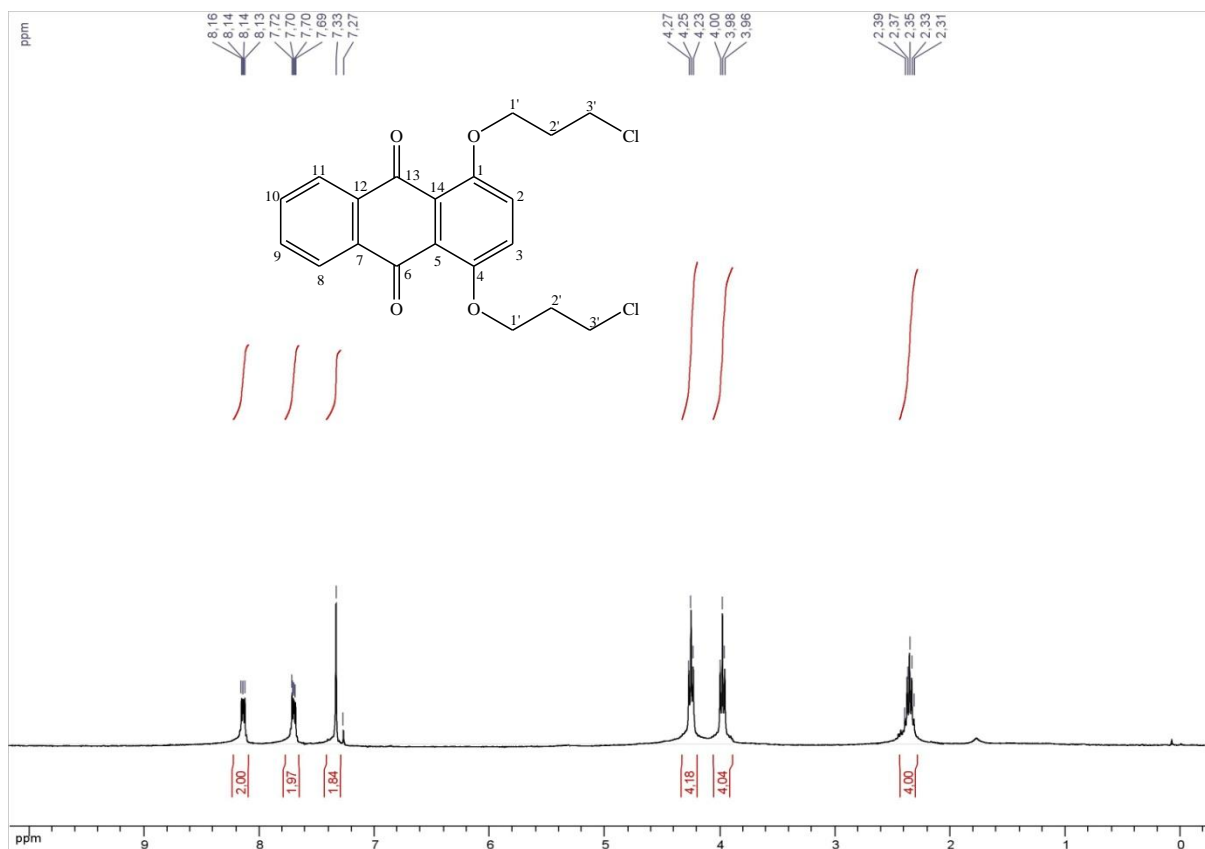


Figura 4.16. Espectro de RMN de ^1H da substância 19 (CDCl_3 , 300 MHz).

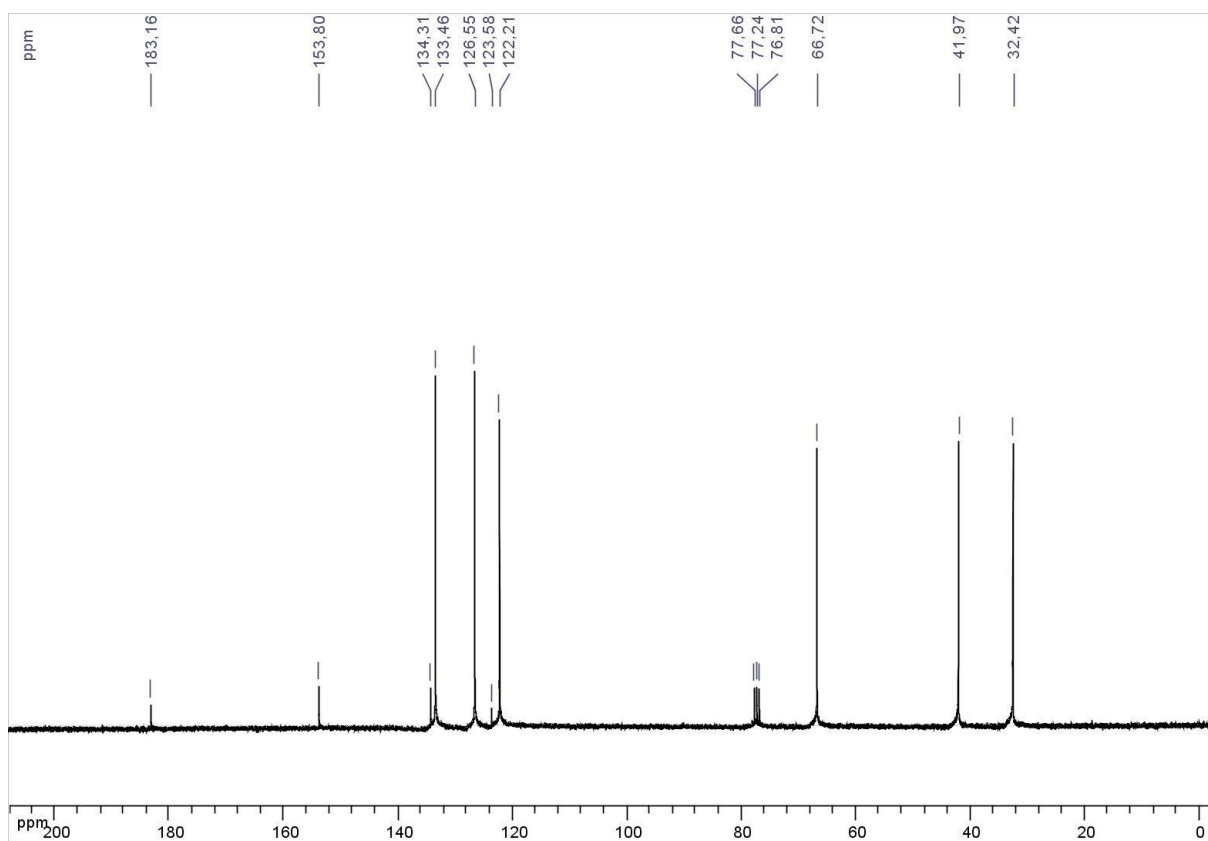


Figura 4.17. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **19** (CDCl_3 , 75 MHz).

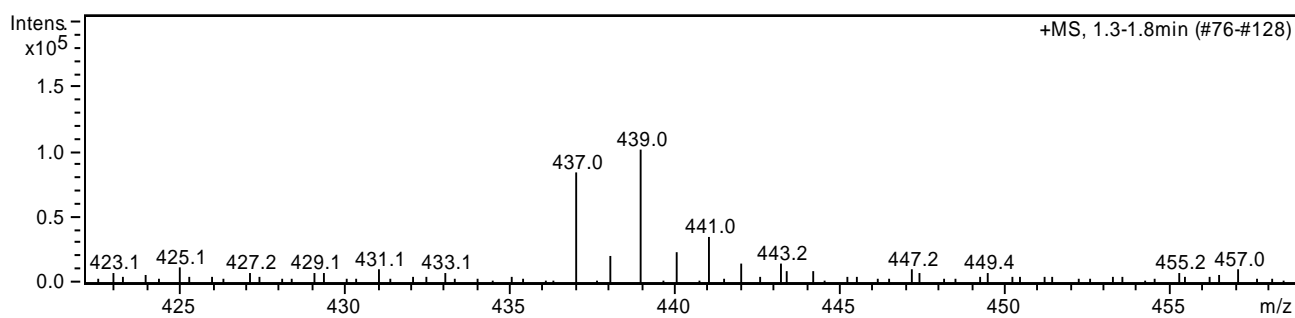


Figura 4.18. Espectro de massa da substância **20**.

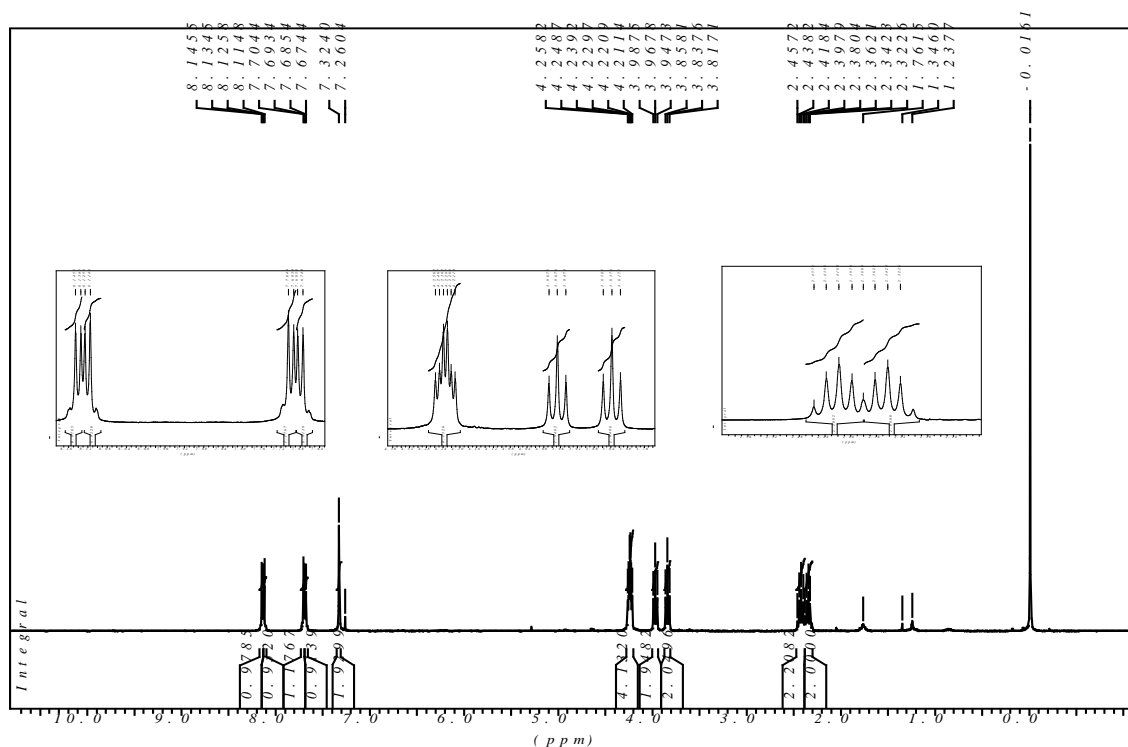


Figura 4.19. Espectro de RMN de ^1H da substância **20** (CDCl_3 , 300 MHz).

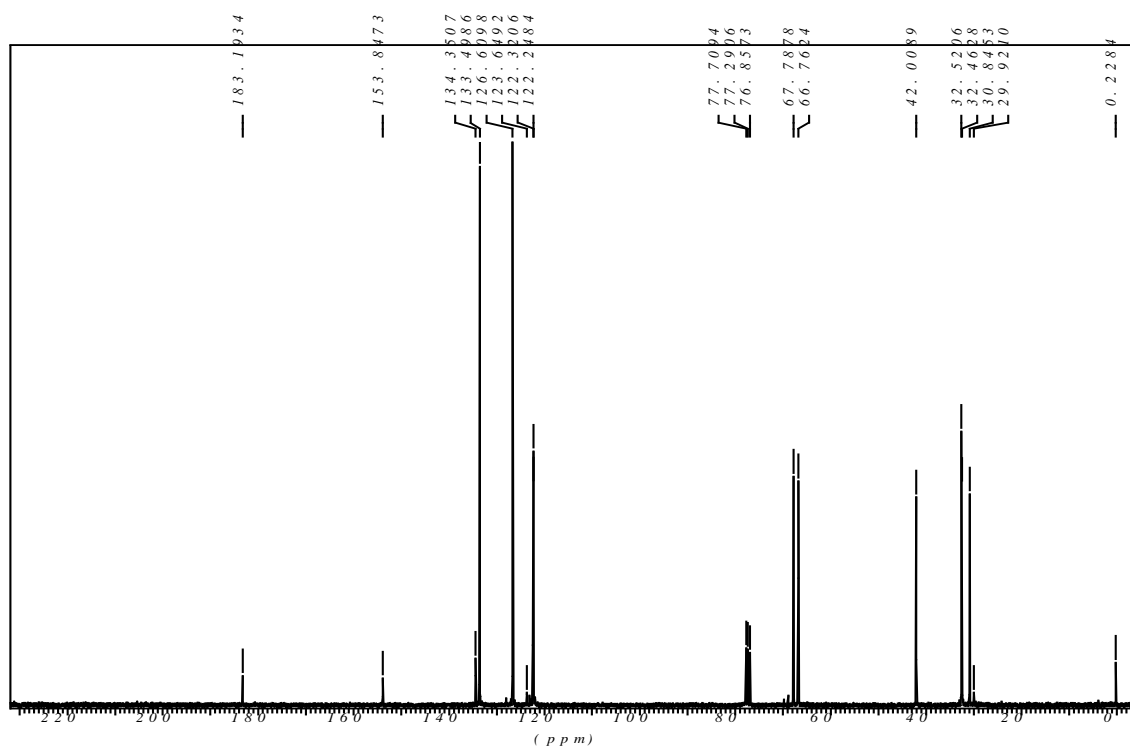


Figura 4.20. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **20** (CDCl_3 , 75 MHz)

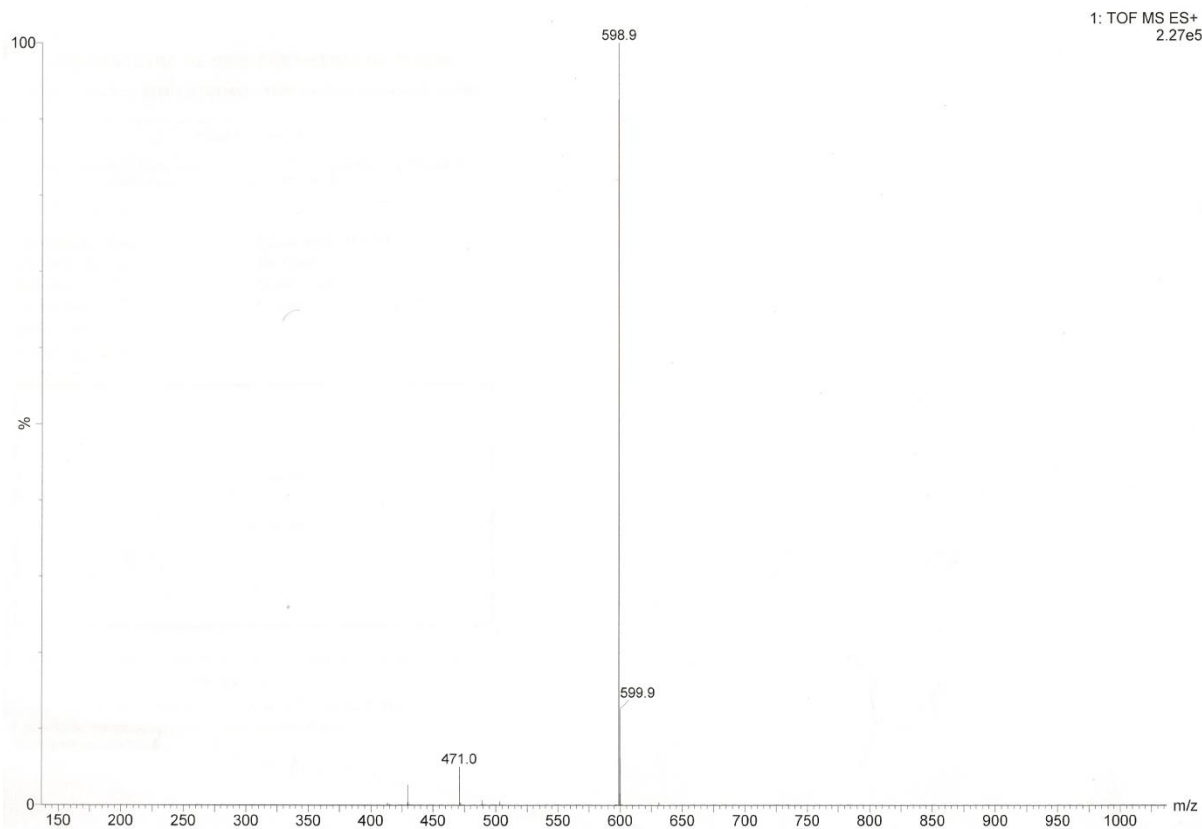


Figura 4.21. Espectro de massa da substância 22.

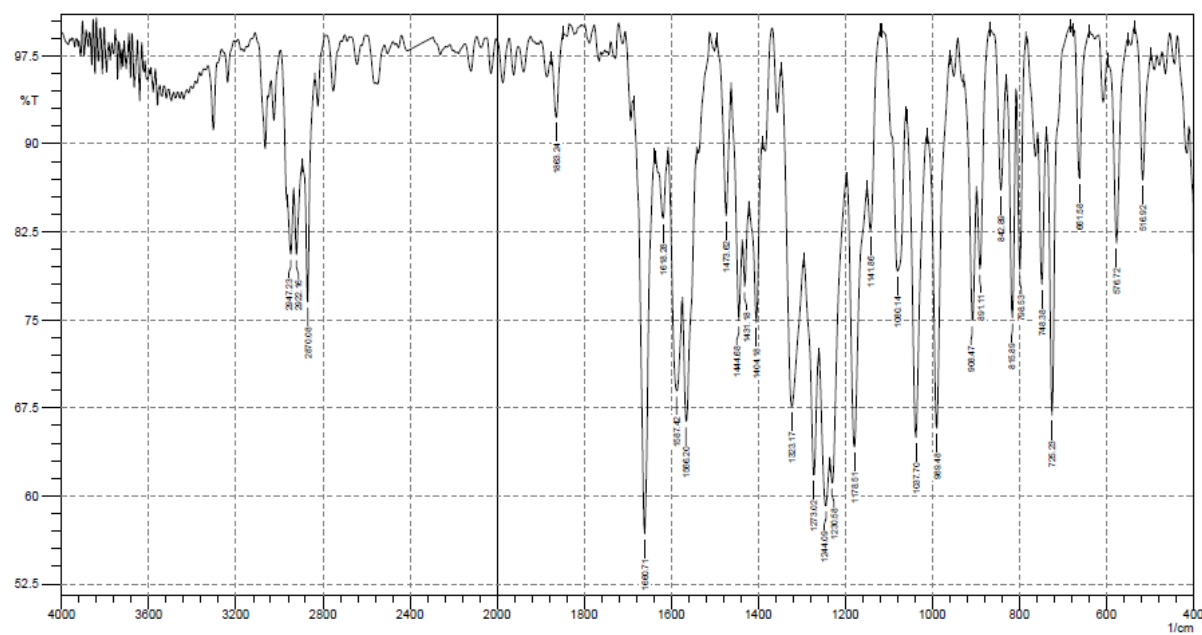


Figura 4.22. Espectro de infravermelho da substância 22 (CDCl₃, 300 MHz).

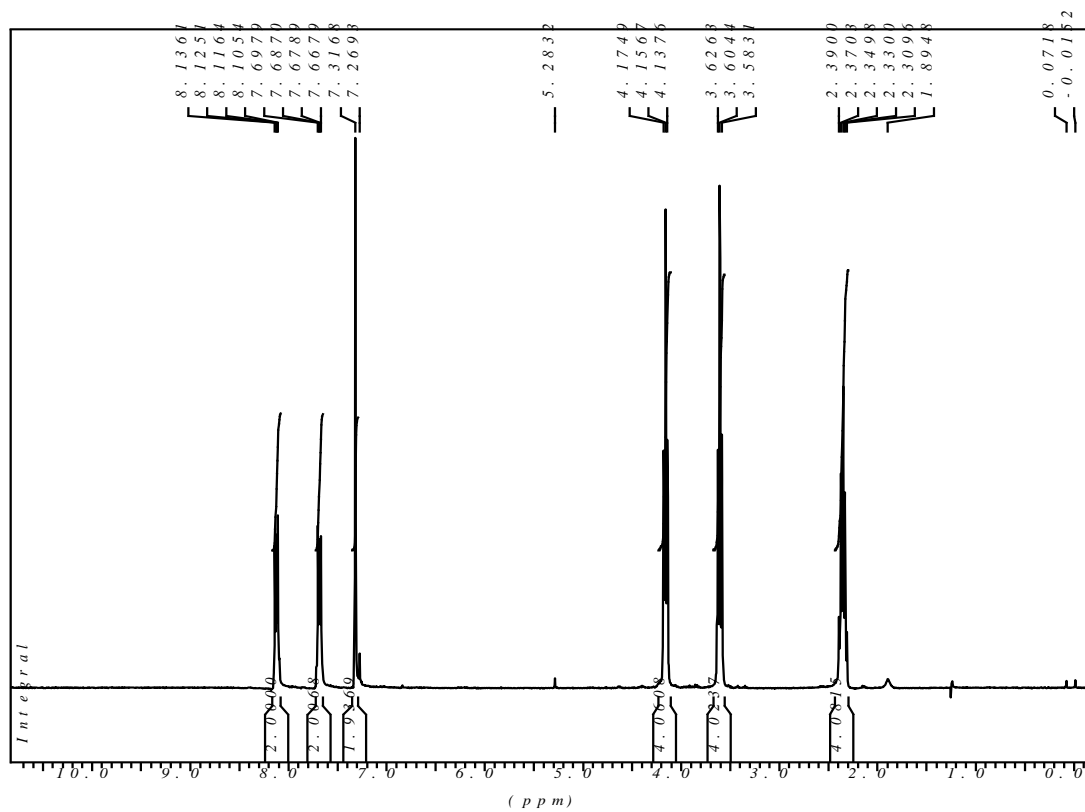


Figura 4.23. Espectro de RMN de ^1H da substância **22** (CDCl_3 , 300 MHz).

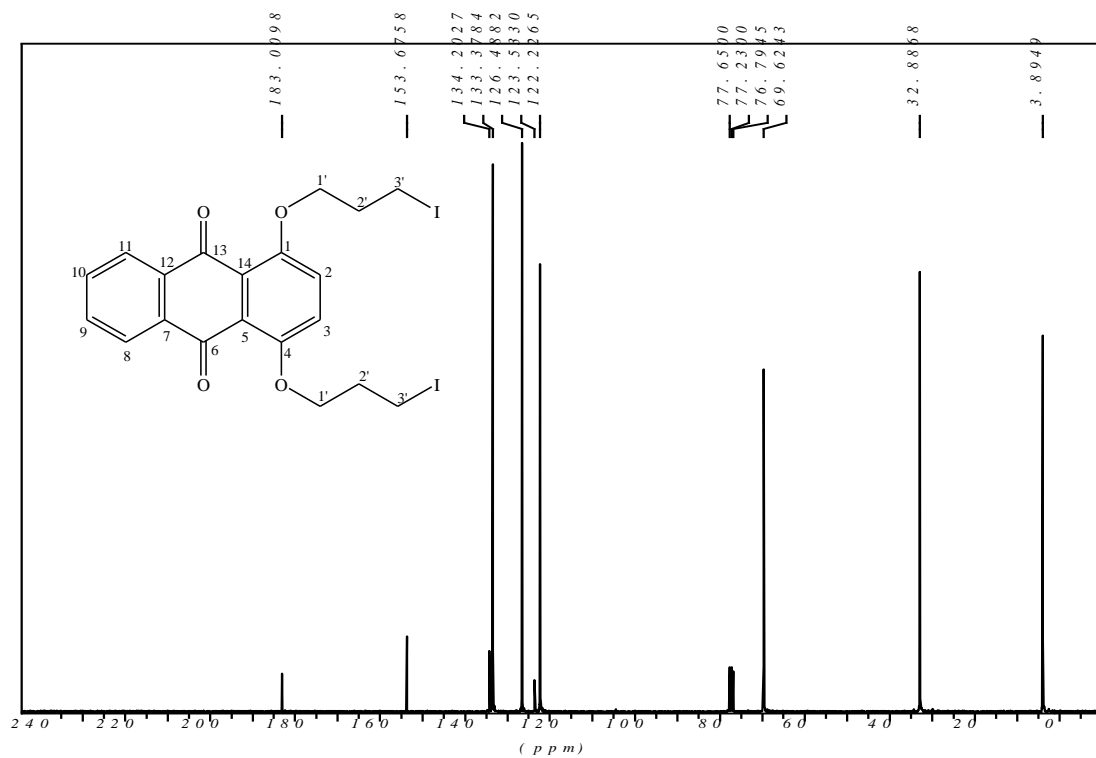


Figura 4.24. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **22** (CDCl_3 , 75 MHz).

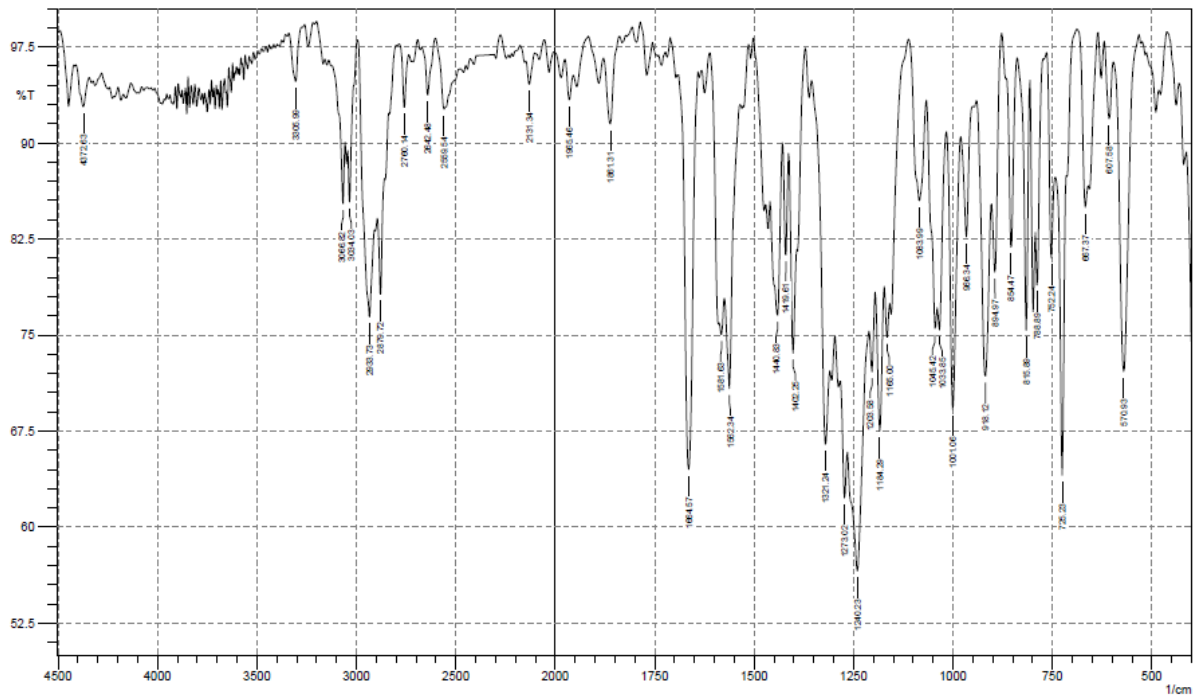


Figura 4.25. Espectro de infravermelho da substância **23** (KBr).

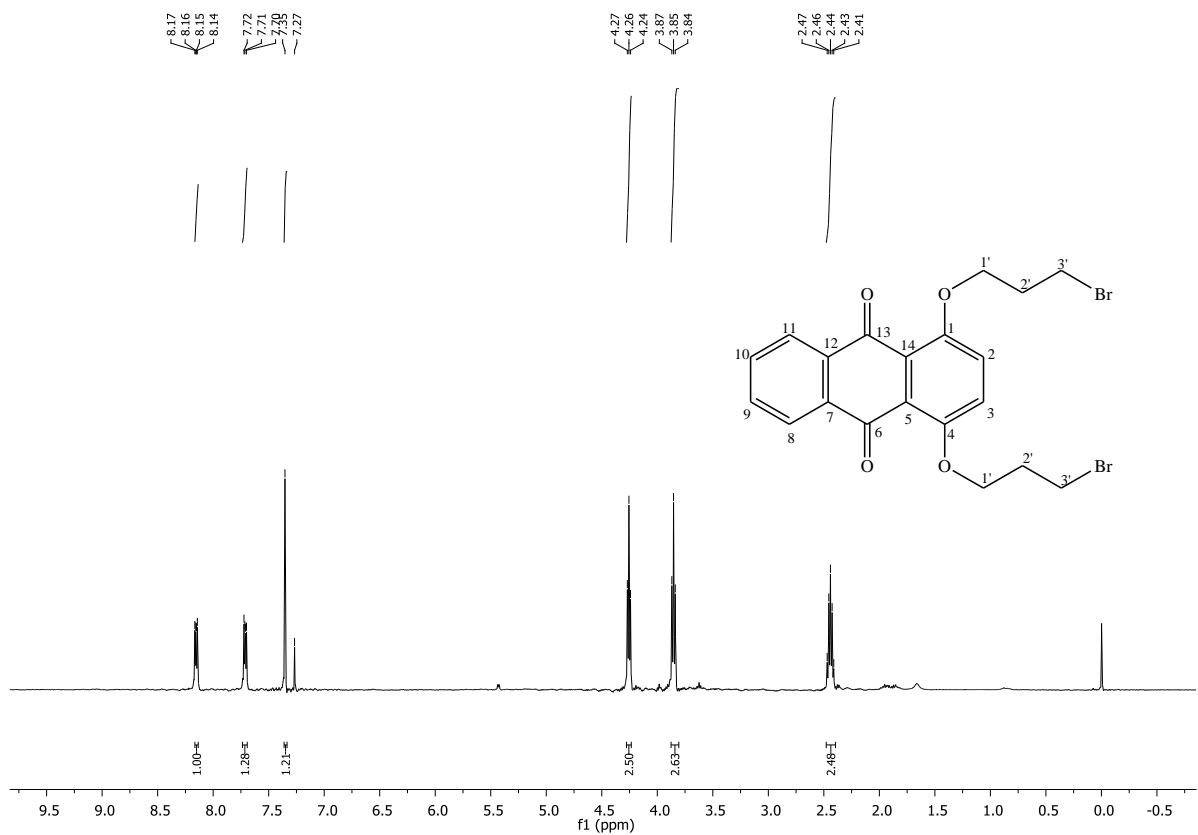


Figura 4.26. Espectro de RMN de ^1H da substância **23** (CDCl_3 , 400 MHz).

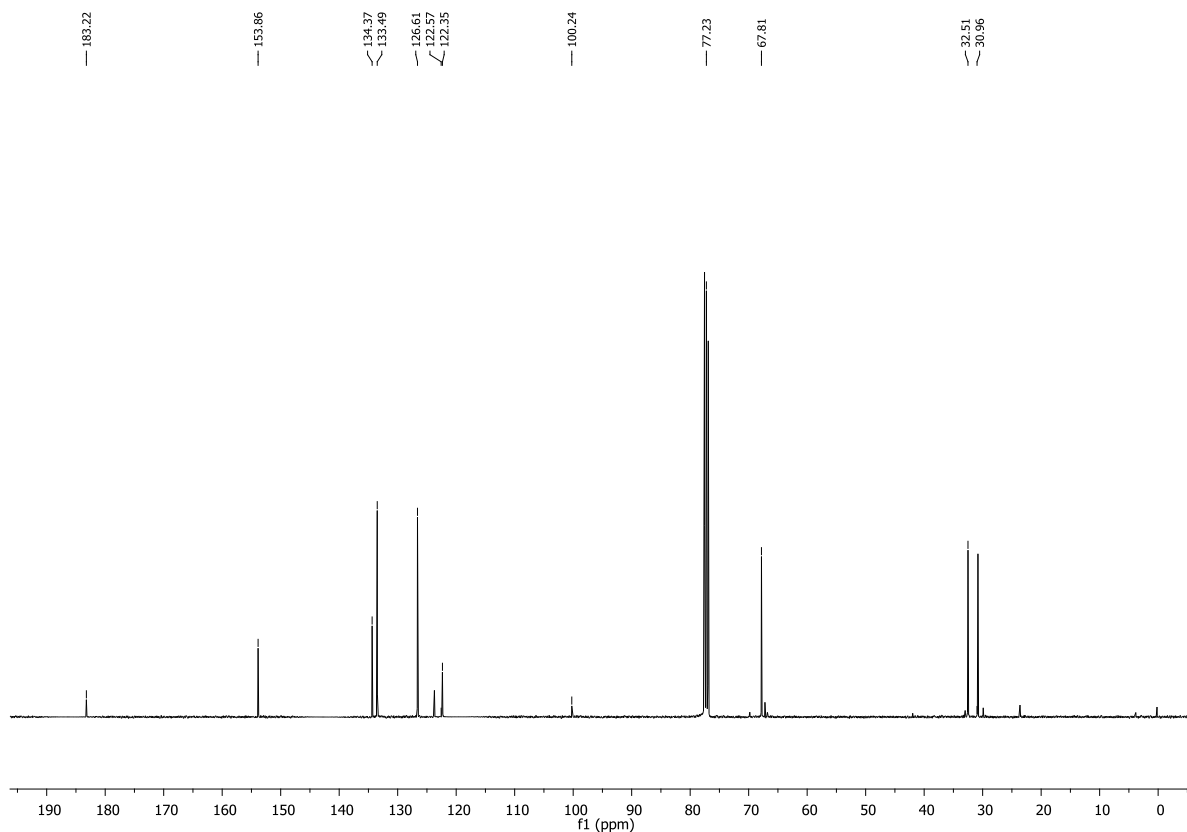


Figura 4.27. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **23** (CDCl_3 , 100 MHz).

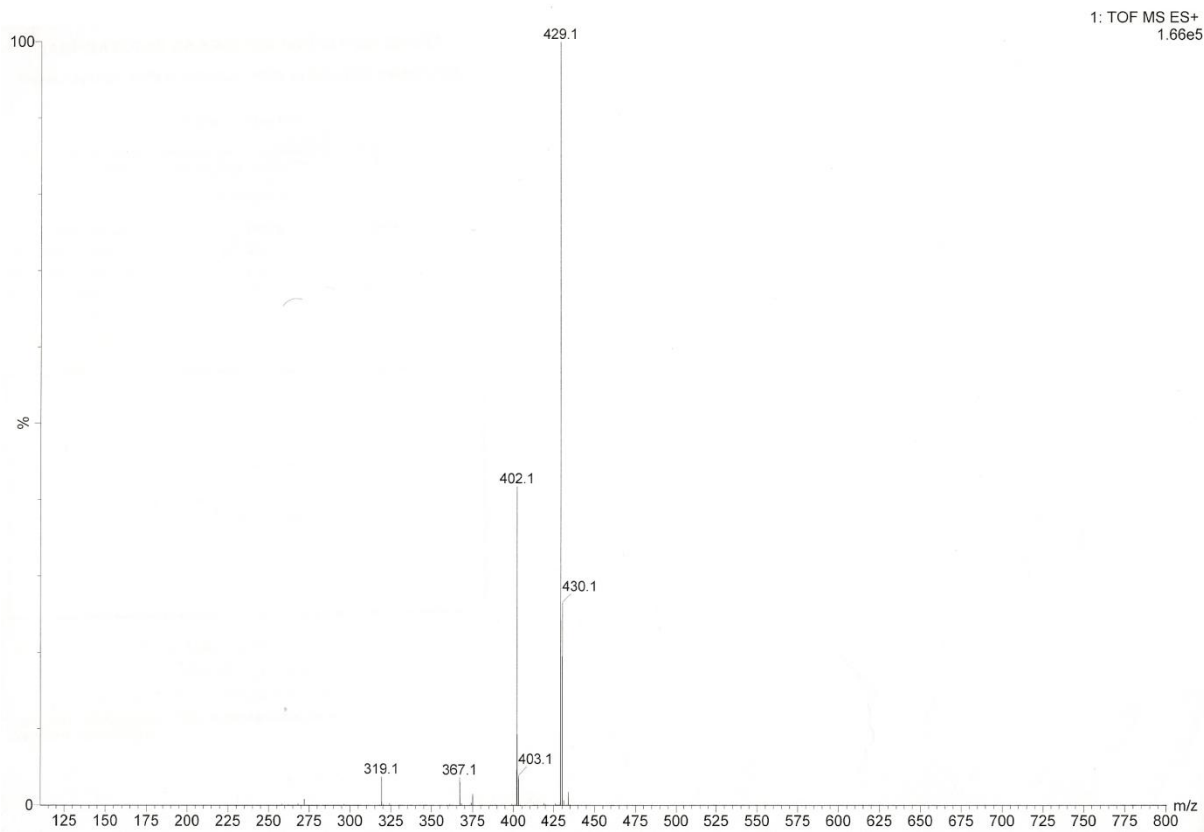


Figura 4.28. Espectro de massa da substância **24**.

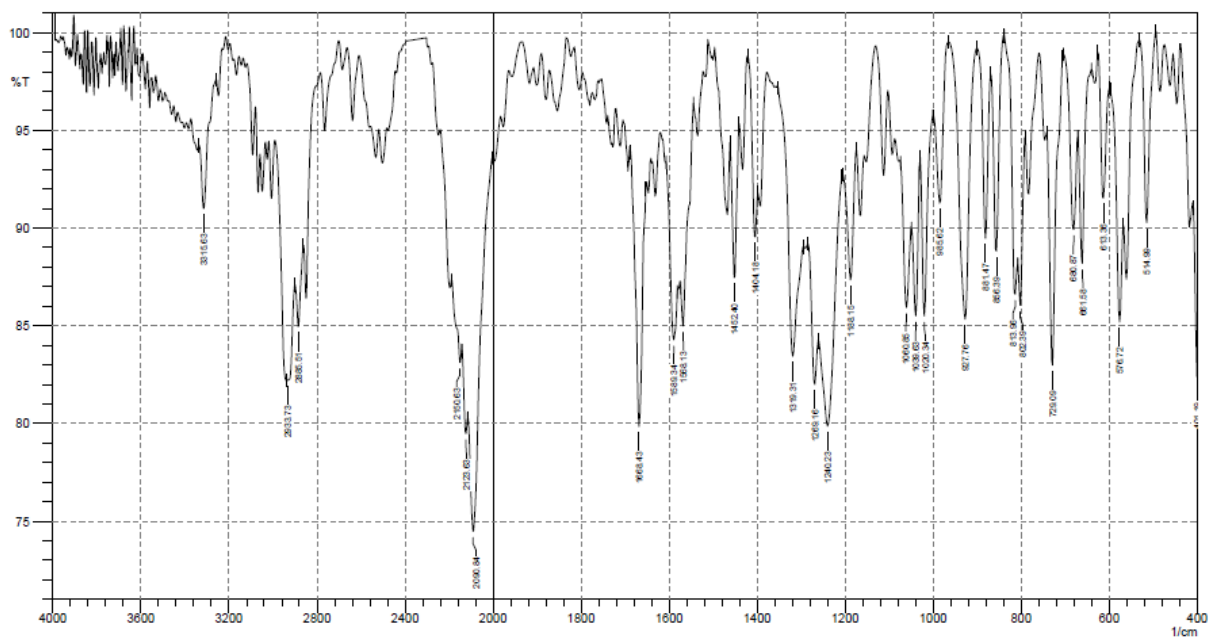


Figura 4.29. Espectro de infravermelho da substância 24 (KBr).

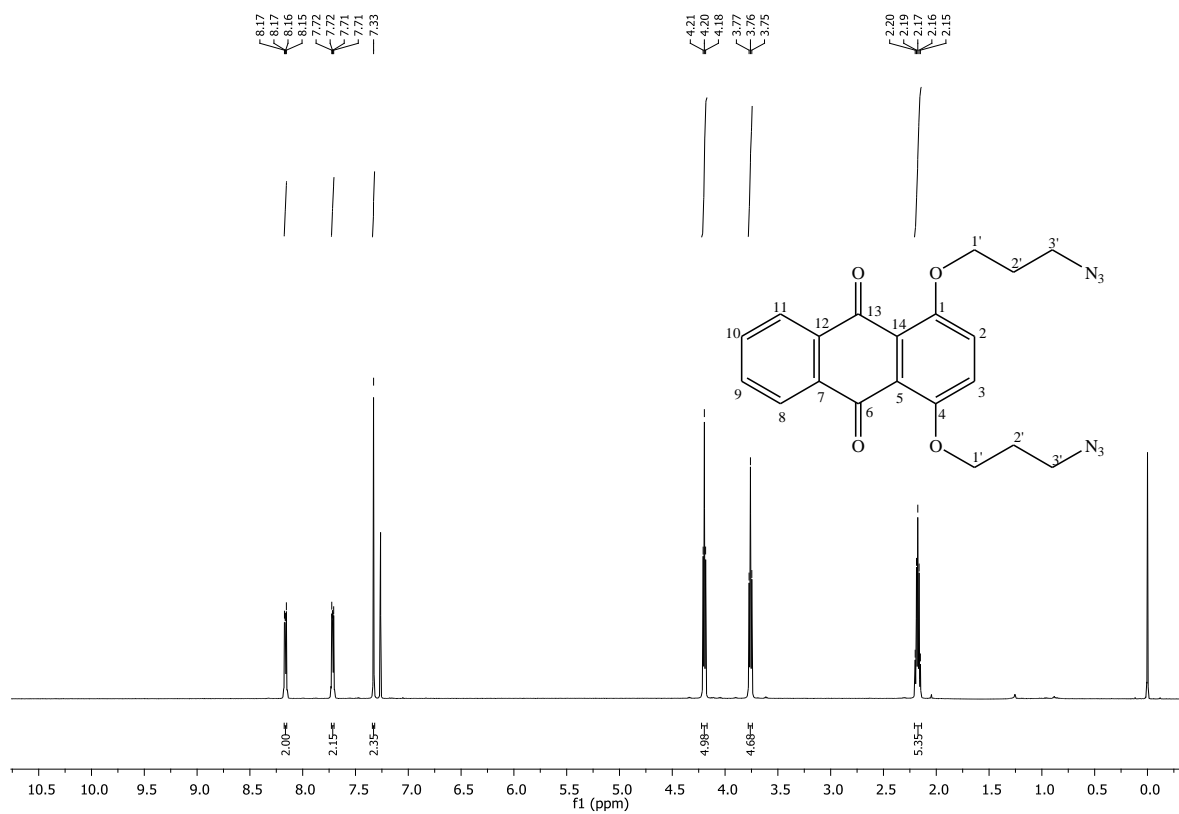


Figura 4.30. Espectro de RMN de ^1H da substância 24 (CDCl_3 , 400 MHz).

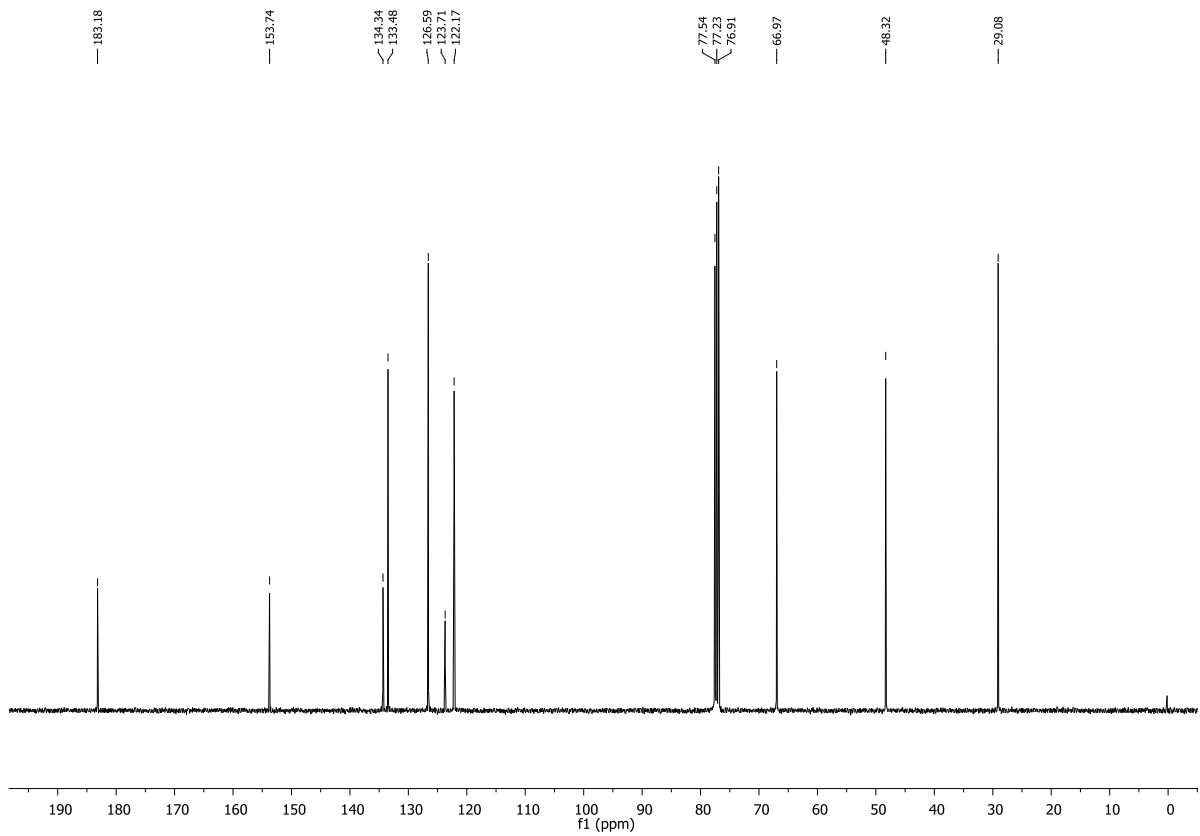


Figura 4.31. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **24** (CDCl_3 , 100 MHz).

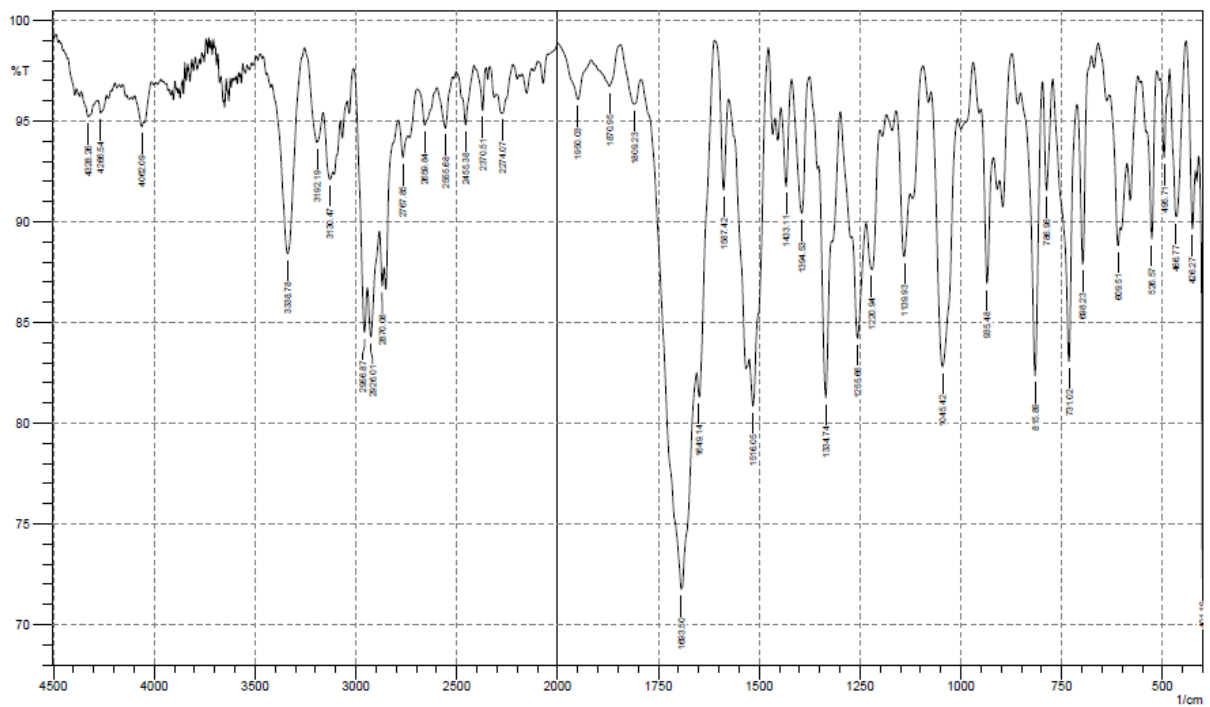


Figura 1.32. Espectro de infravermelho da substância **25** (KBr).

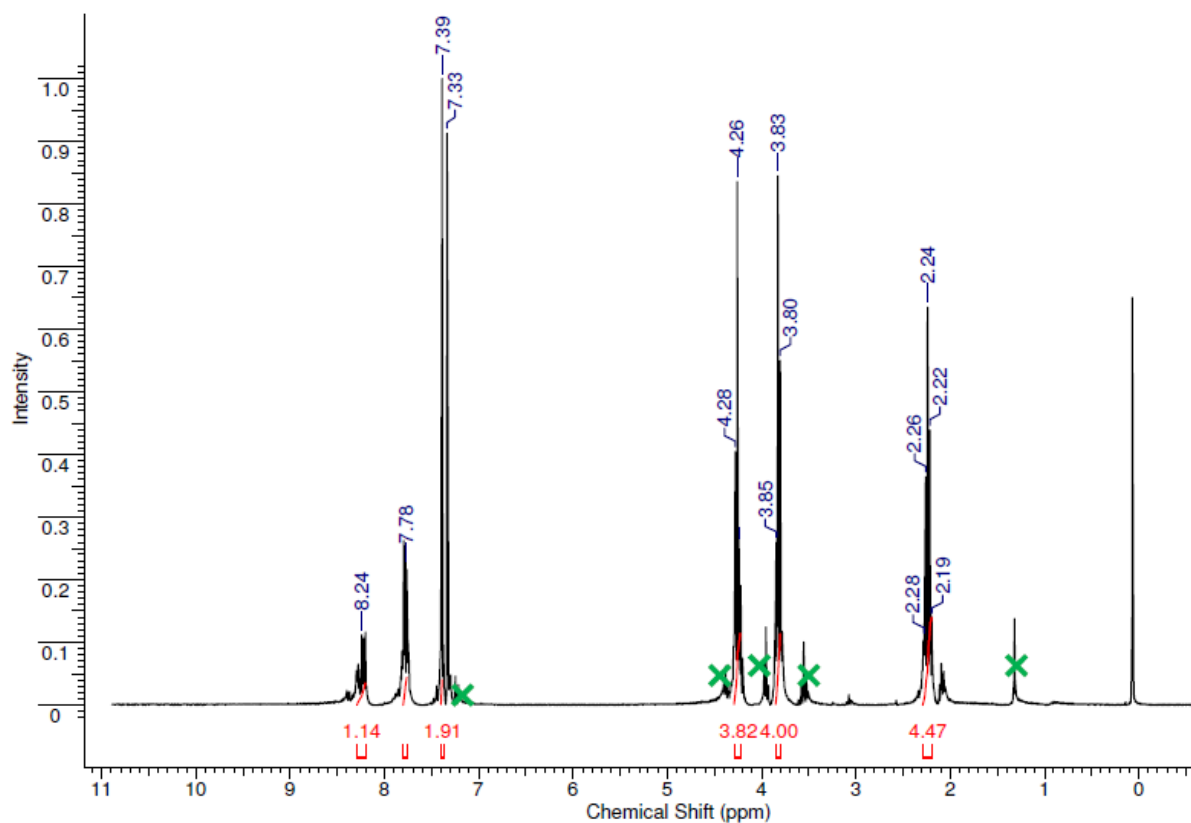


Figura 4.33. Espectro de RMN de ¹H da substância **25** (CDCl₃, 300 MHz).

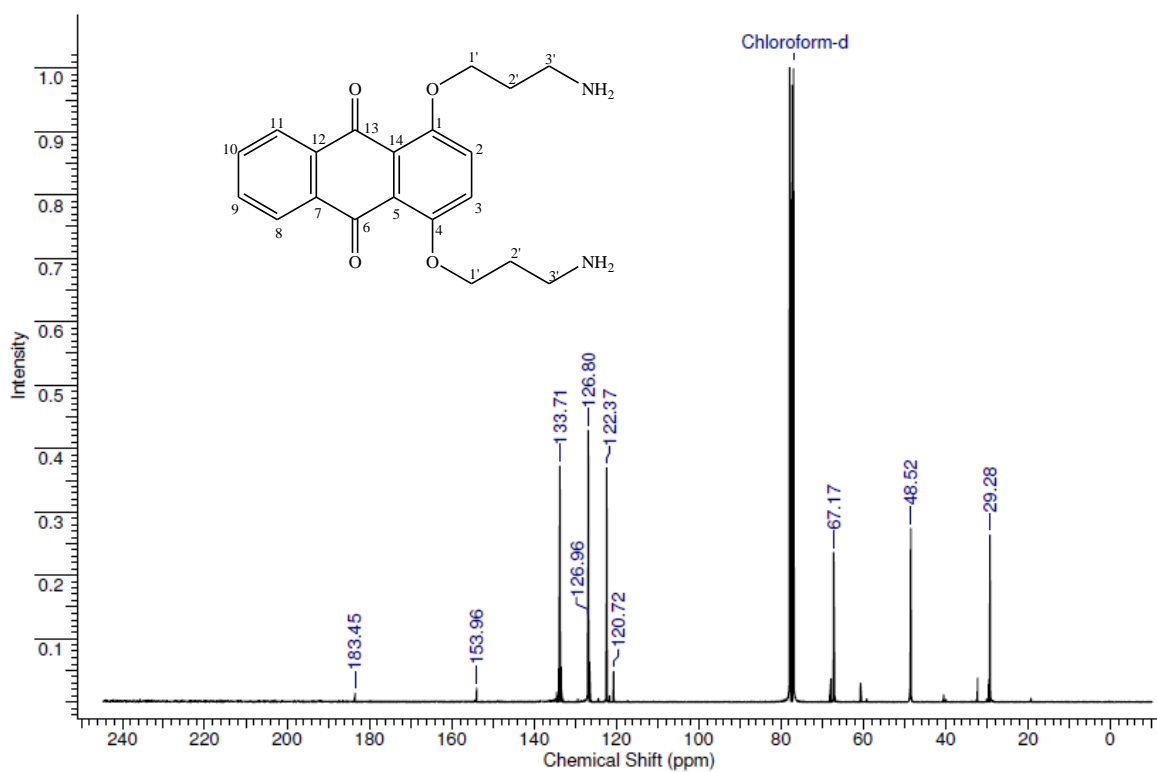


Figura 4.34. Espectro de RMN de ¹³C da substância **25** (CDCl₃, 75 MHz).

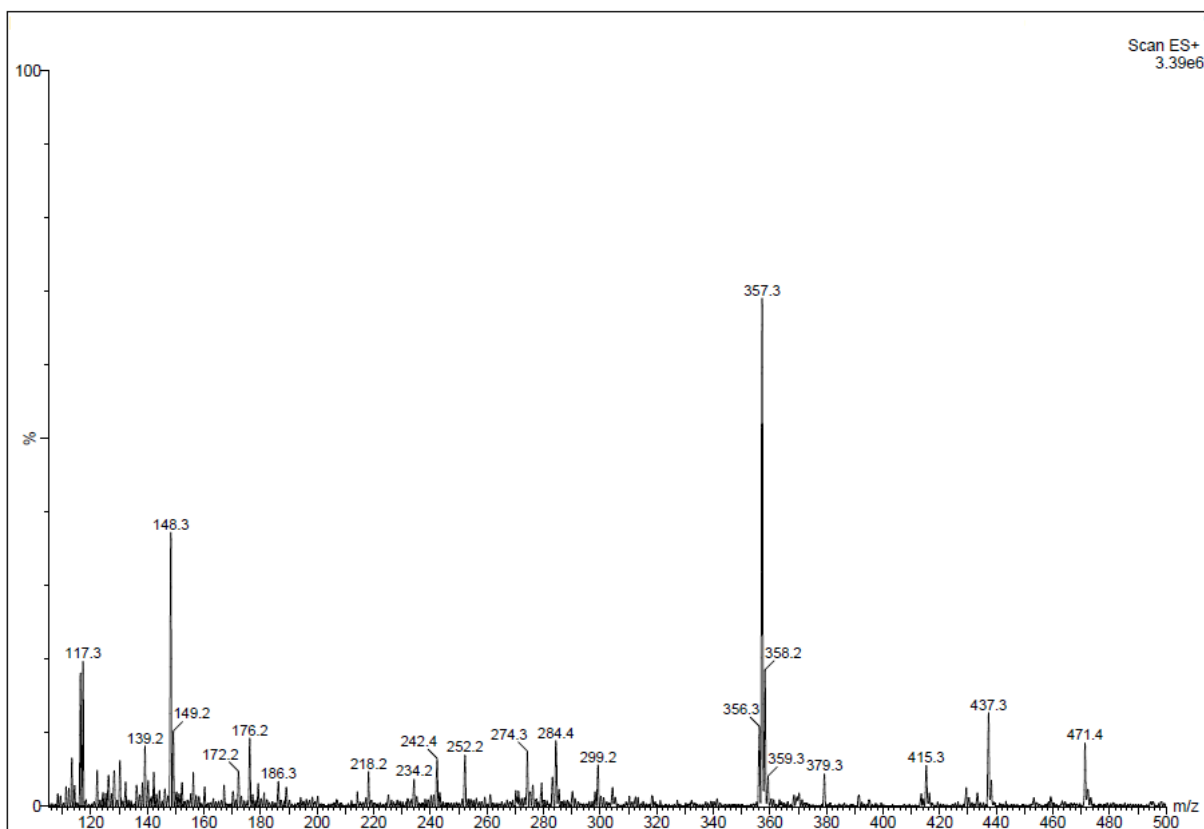


Figura 4.35. Espectro de massa da substância 26.

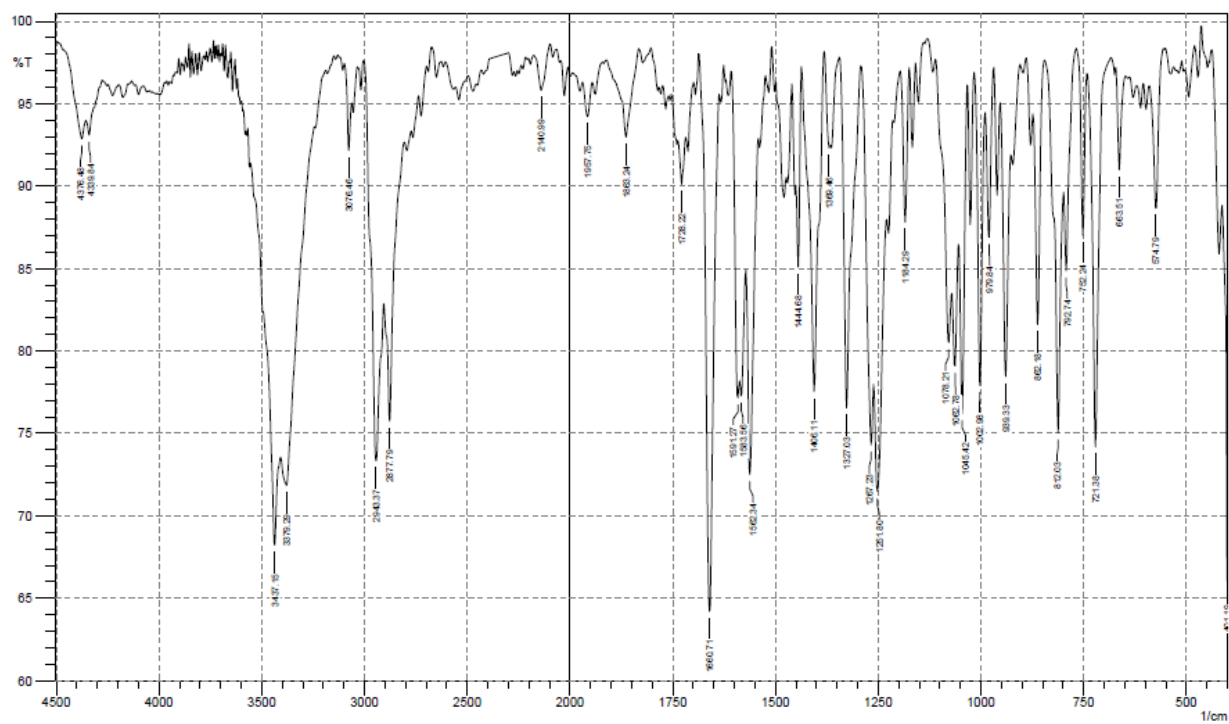


Figura 4.36. Espectro de infravermelho da substância 26 (KBr).

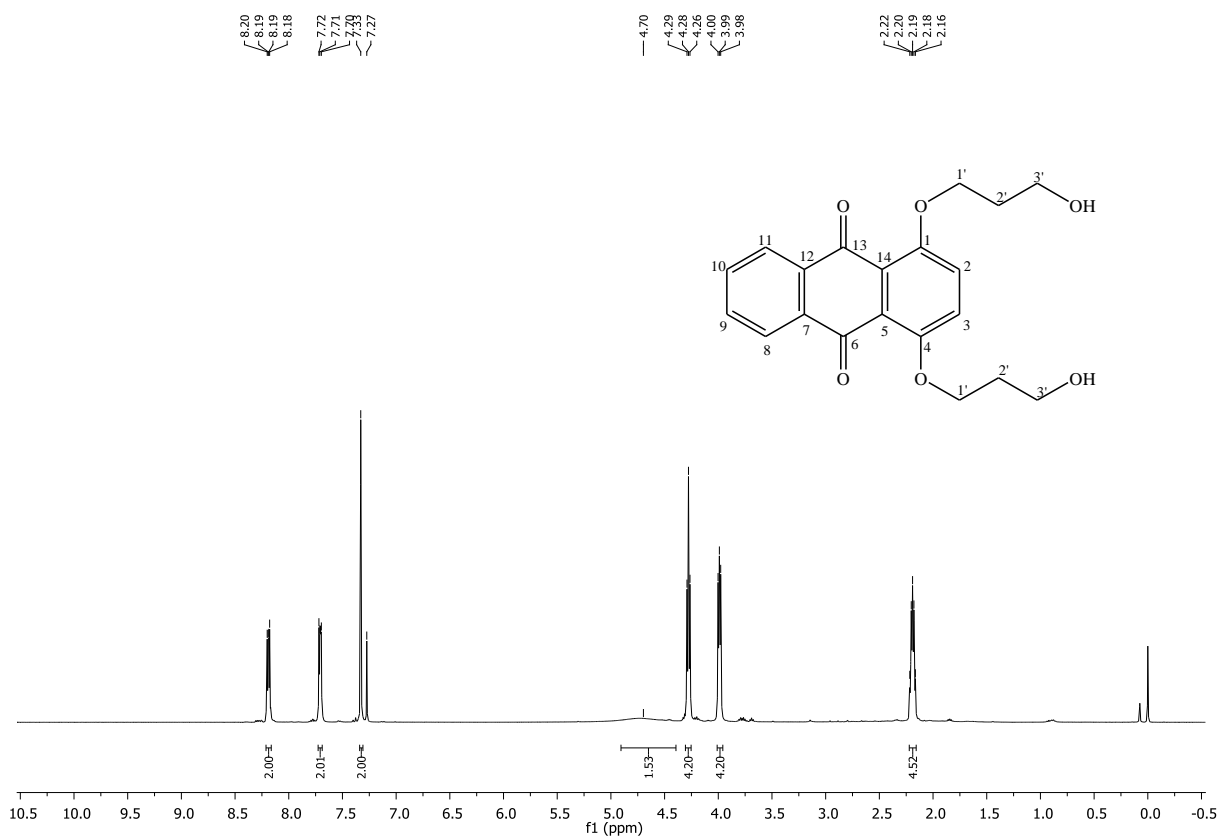


Figura 4.37. Espectro de RMN de ^1H da substância **26** (CDCl_3 , 400 MHz).

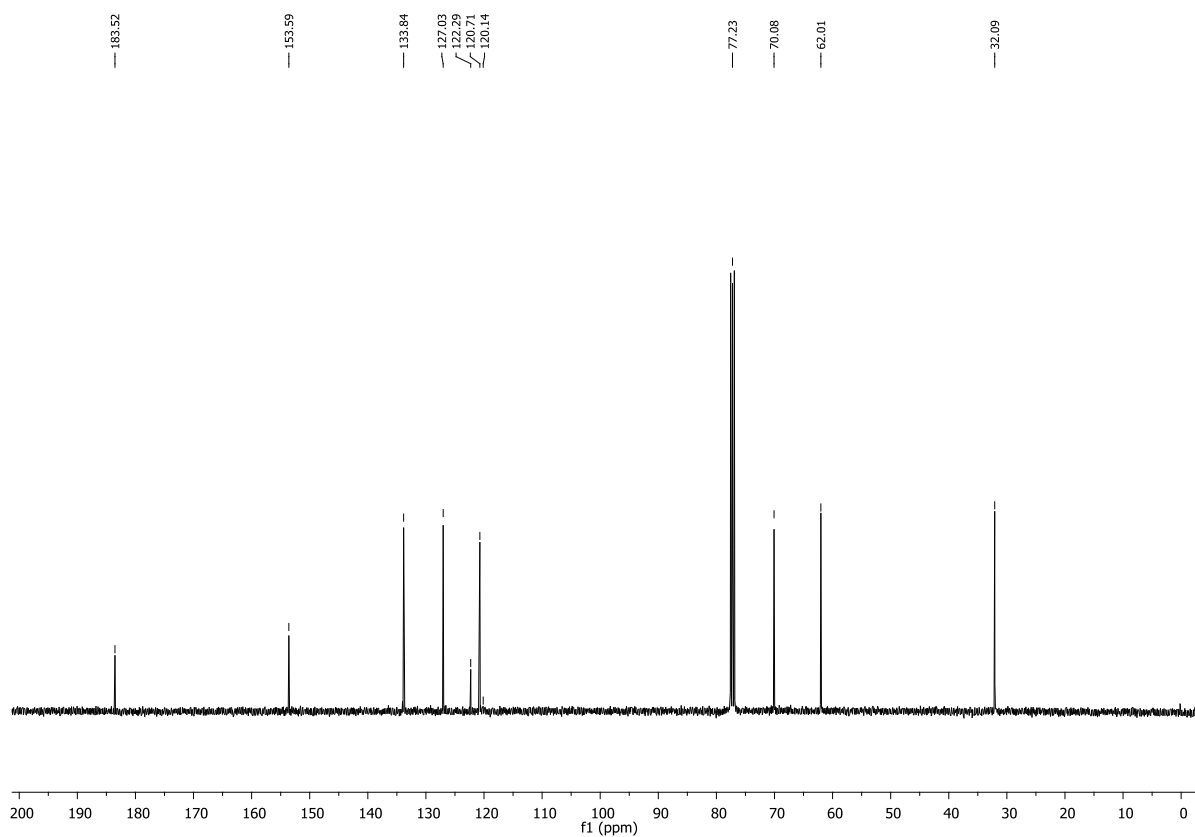


Figura 4.38. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **26** (CDCl_3 , 100 MHz).

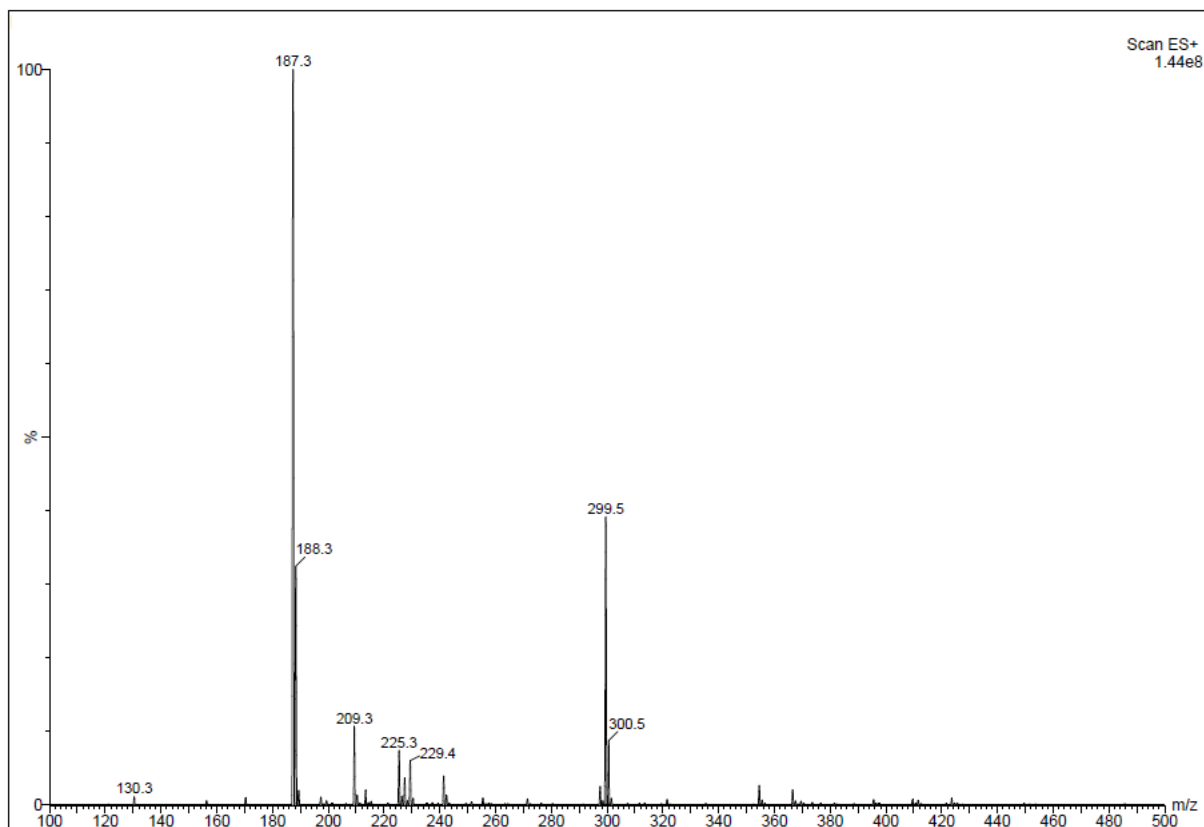
4.1.3. Síntese das diaminas *N*-alquiladas 30a-e

Figura 4.39. Espectro de massa da substância 30a.

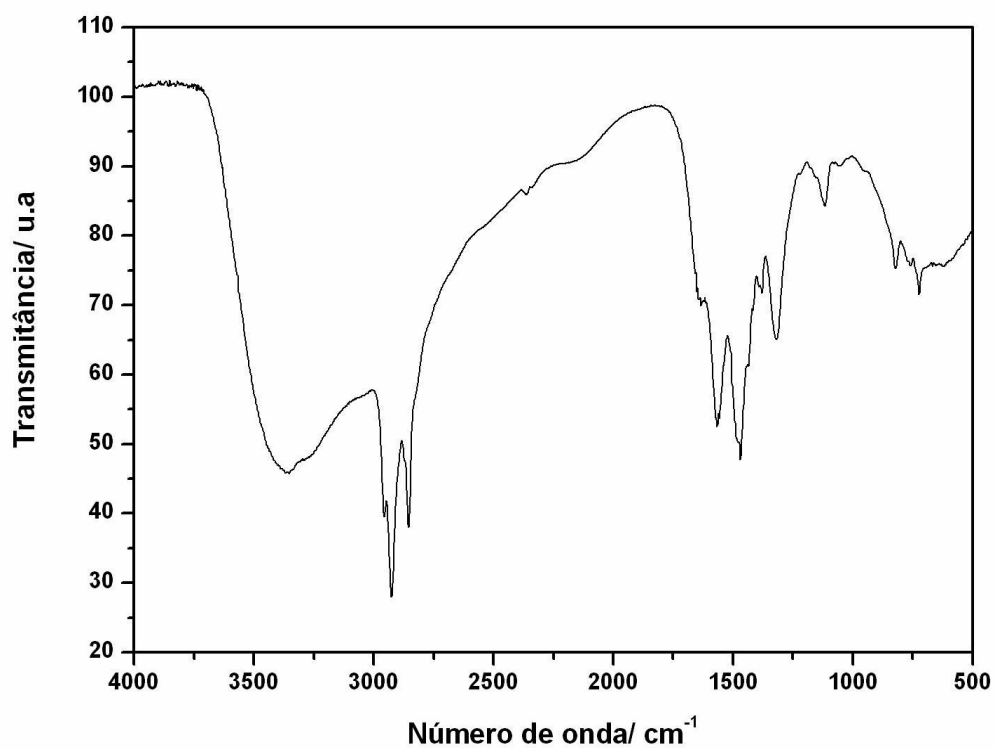


Figura 4.40. Espectro de infravermelho da substância 30a (CsI).

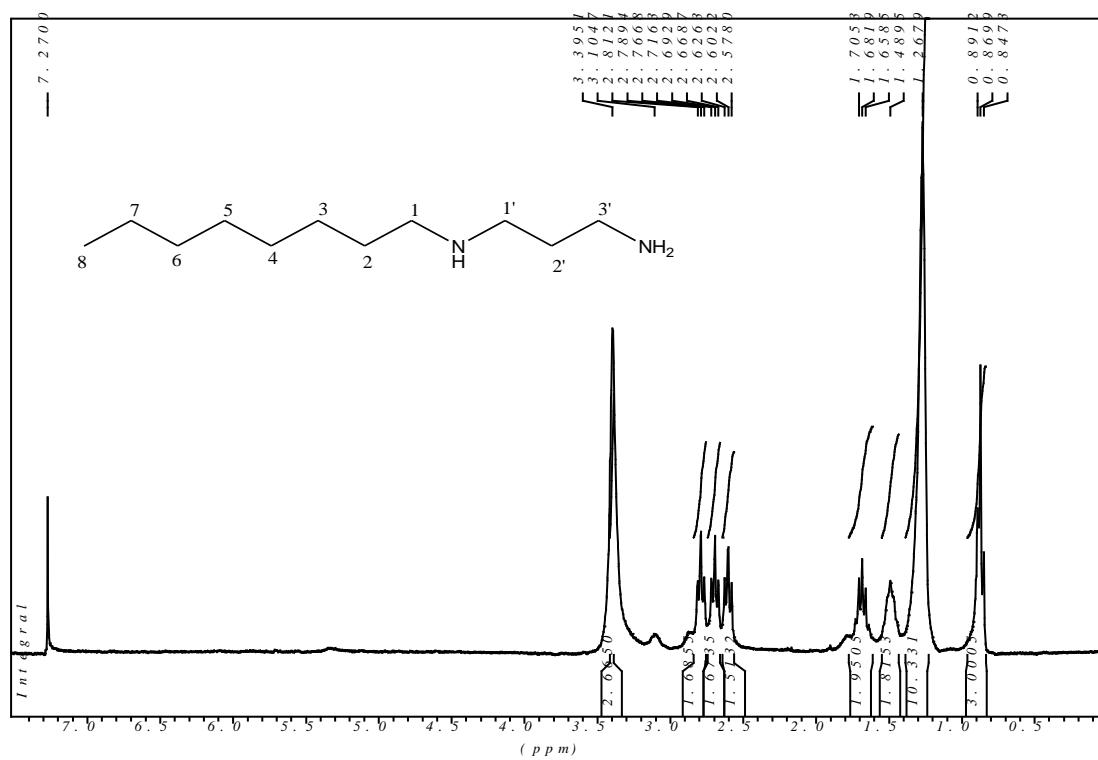


Figura 4.41. Espectro de RMN de ¹H da substância 30a (CDCl₃, 300MHz).

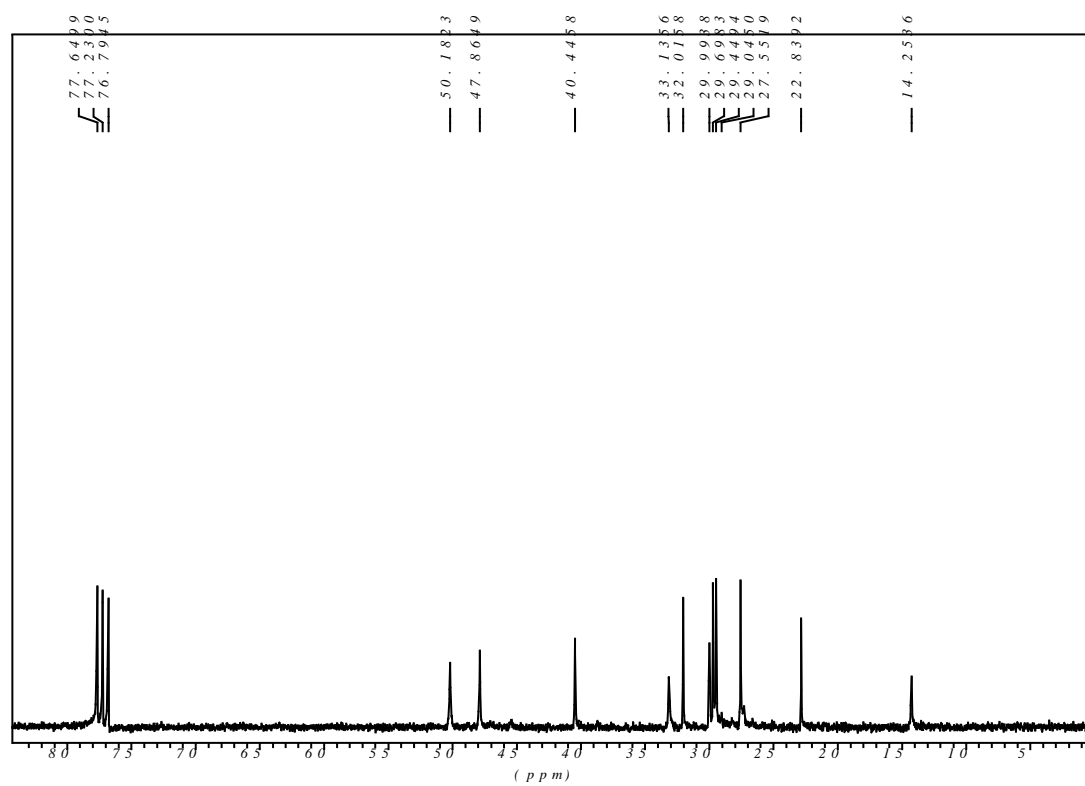


Figura 4.42. Espectro de RMN de ¹³C da substância 30a (CDCl₃, 75MHz).

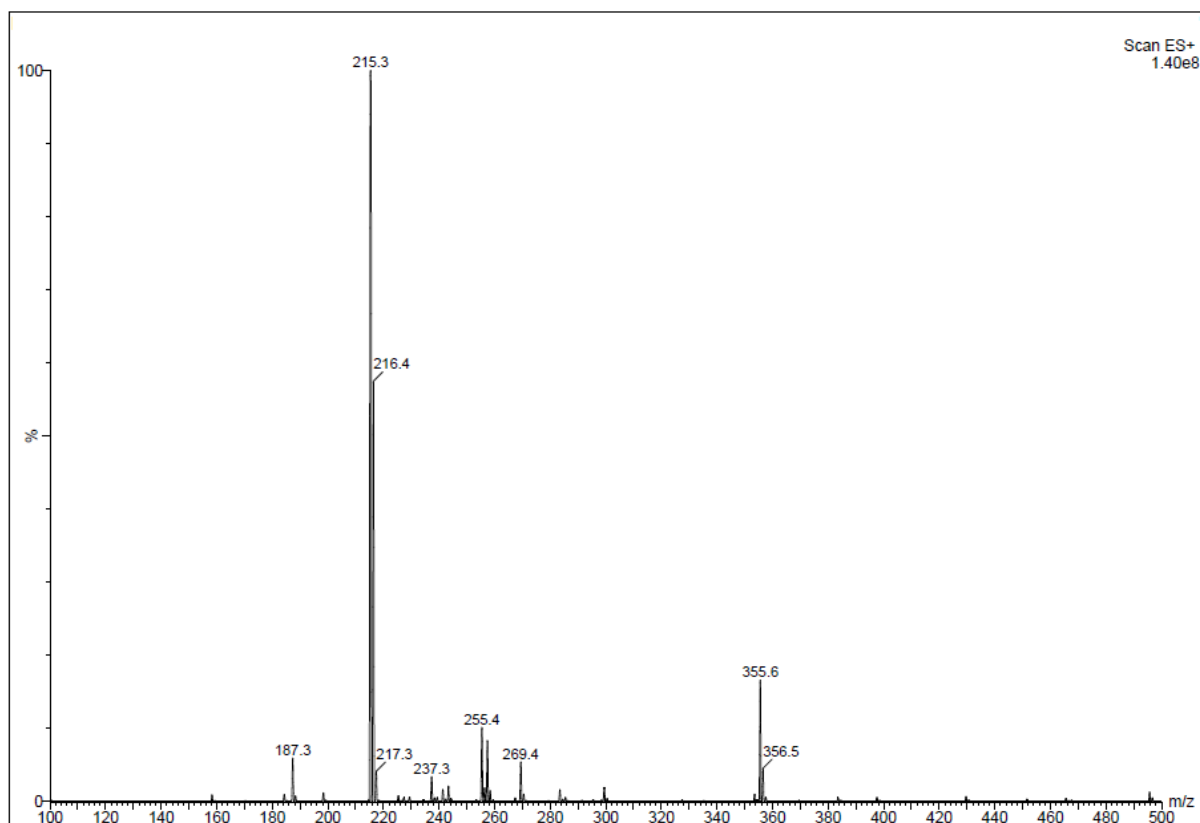


Figura 4.43. Espectro de massa da substância 30b.

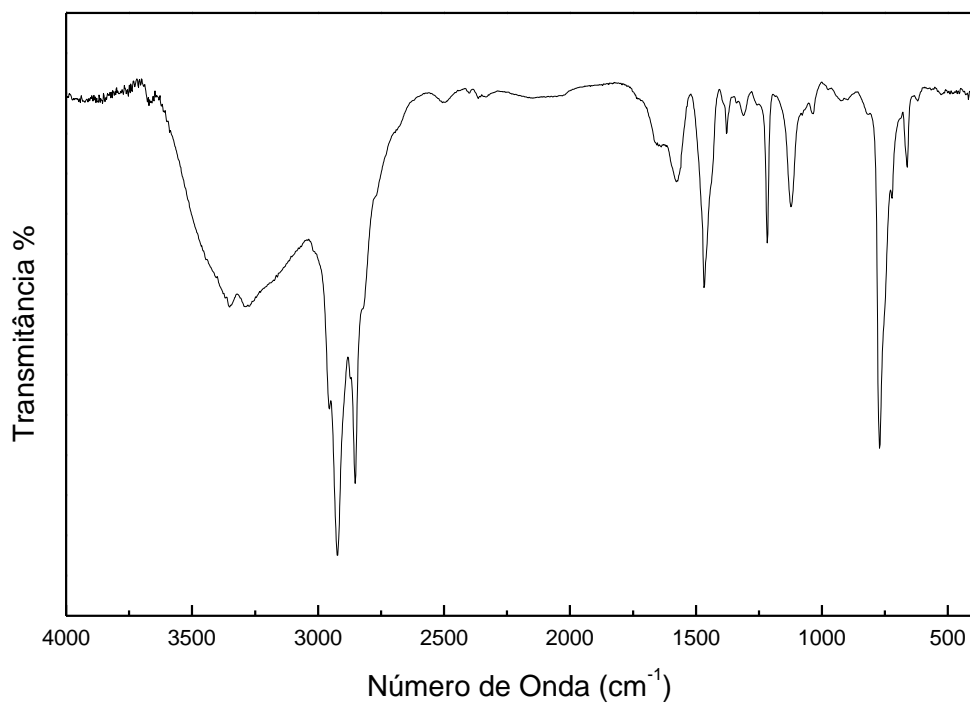


Figura 4.44. Espectro de infravermelho da substância 30b (CsI).

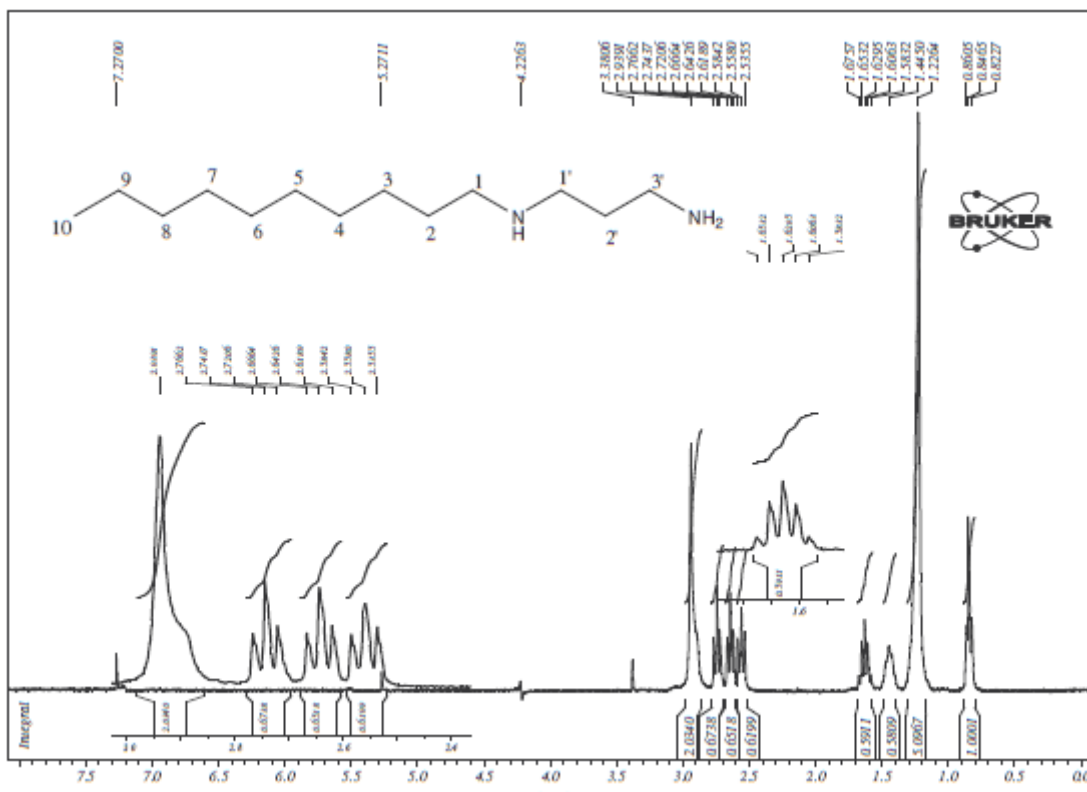


Figura 4.43. Espectro de RMN de ^1H da substância **30b** (CDCl_3 , 300MHz).

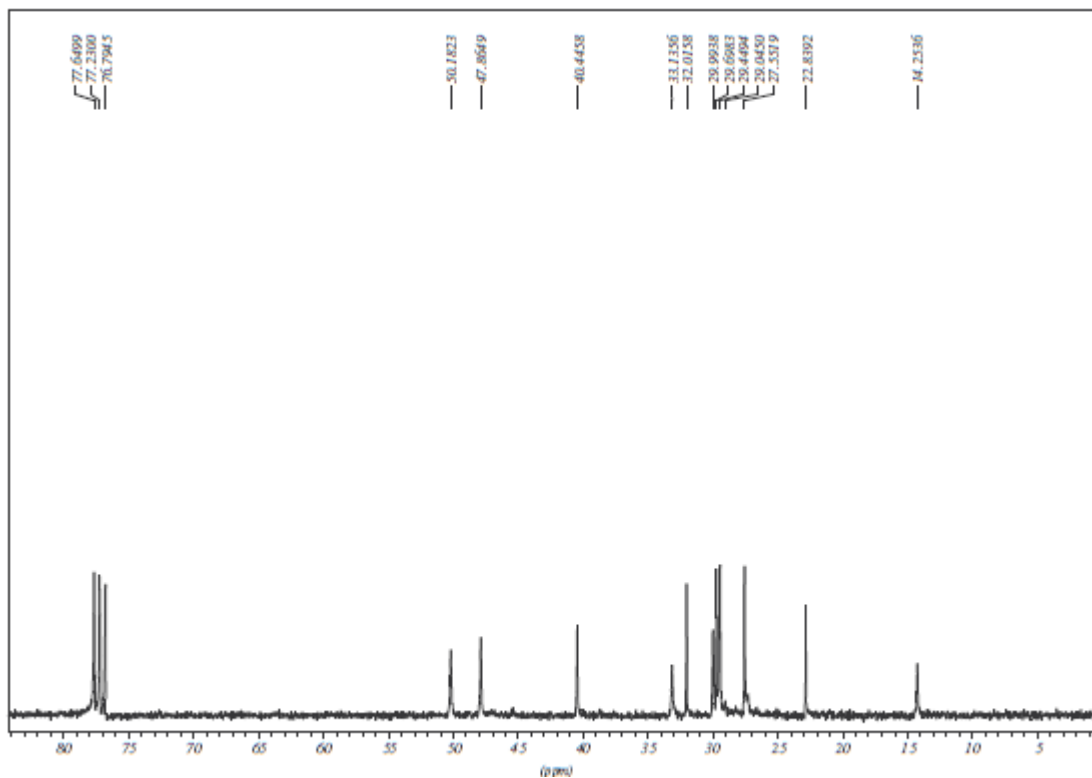


Figura 4.44. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **30b** (CDCl_3 , 75MHz).

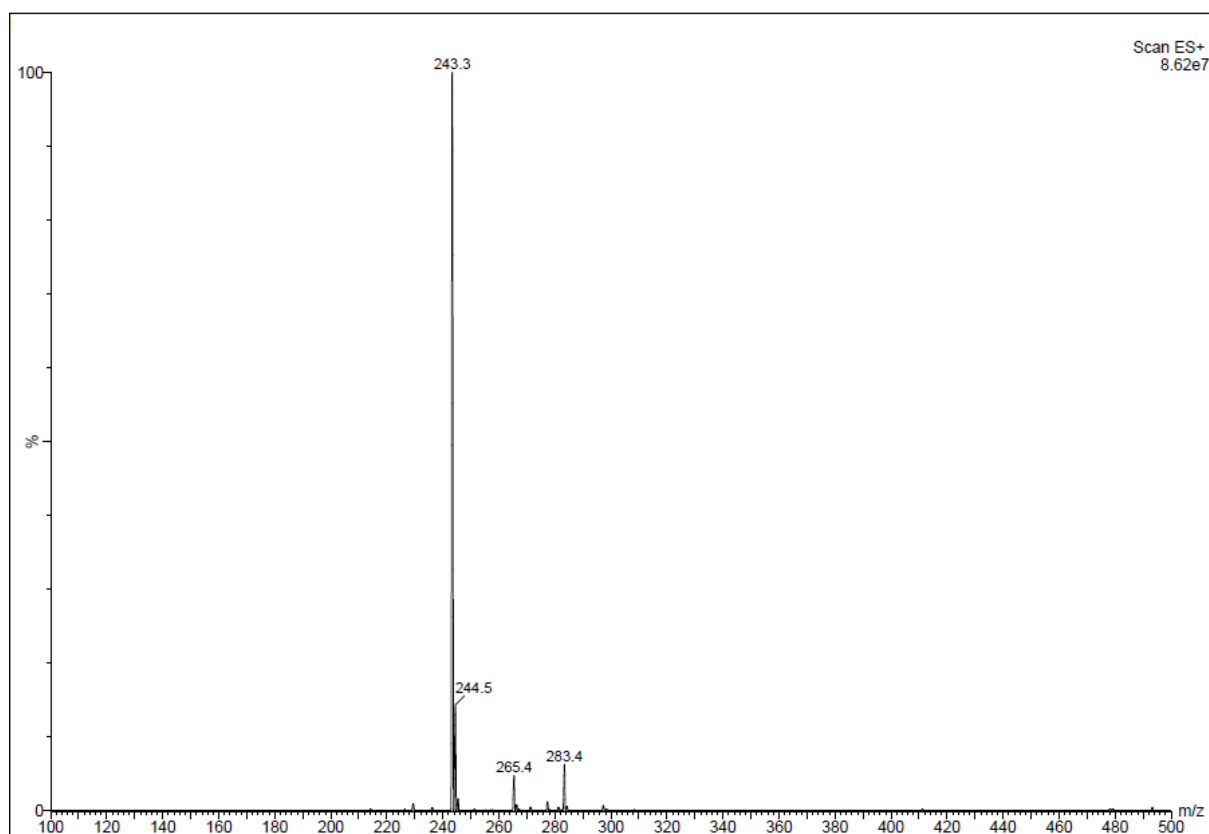


Figura 4.45. Espectro de massa da substância 30c.

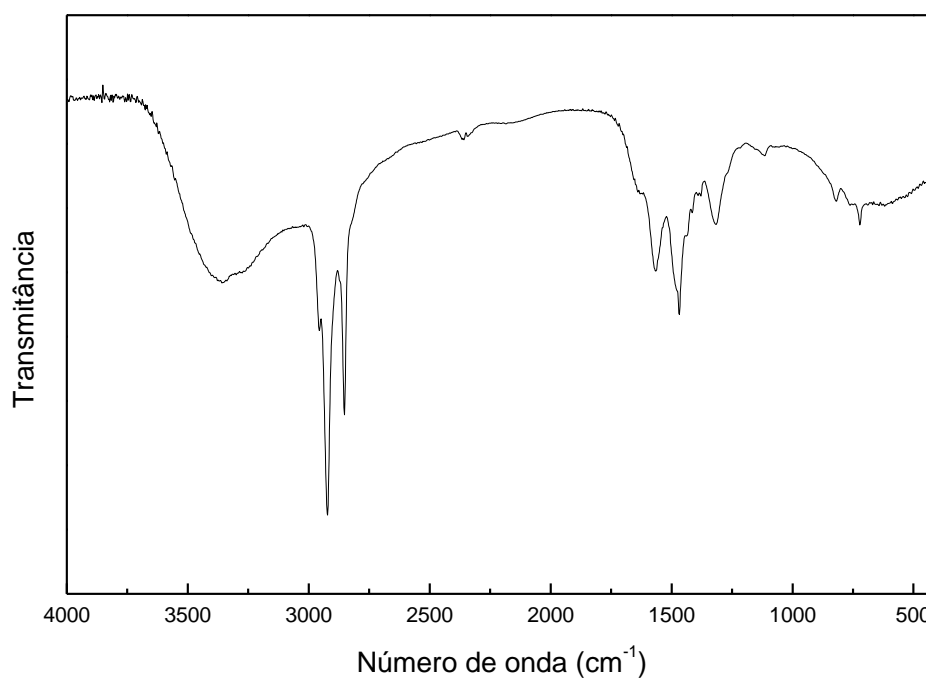


Figura 4.46. Espectro de infravermelho da substância 30c (KBr).

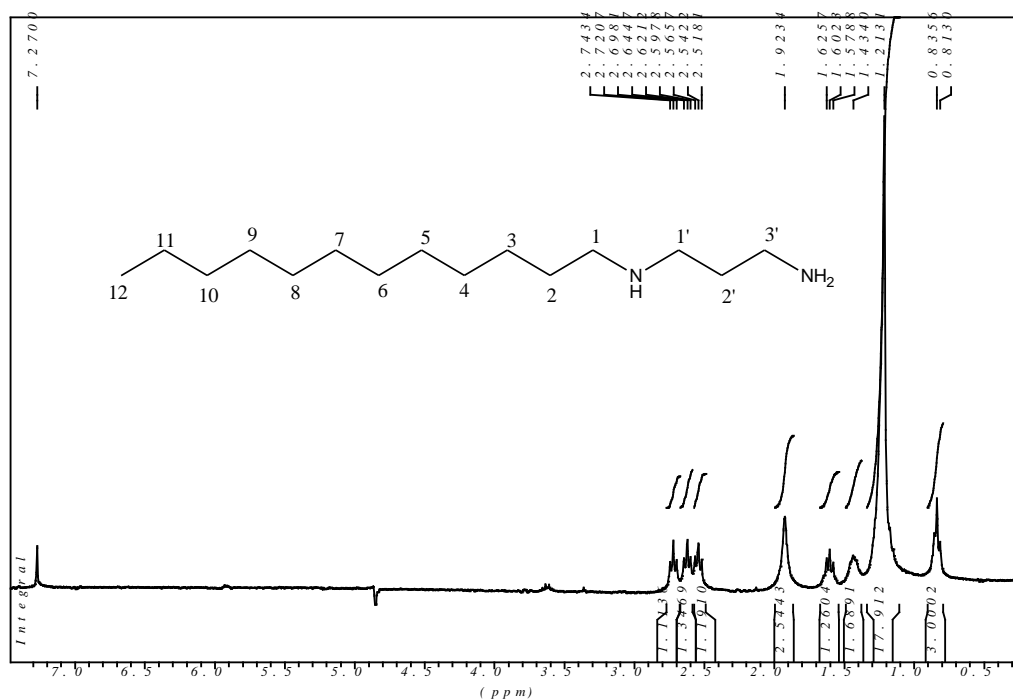


Figura 4.47. Espectro de RMN de ¹H da substância 30c (CDCl₃, 300MHz).

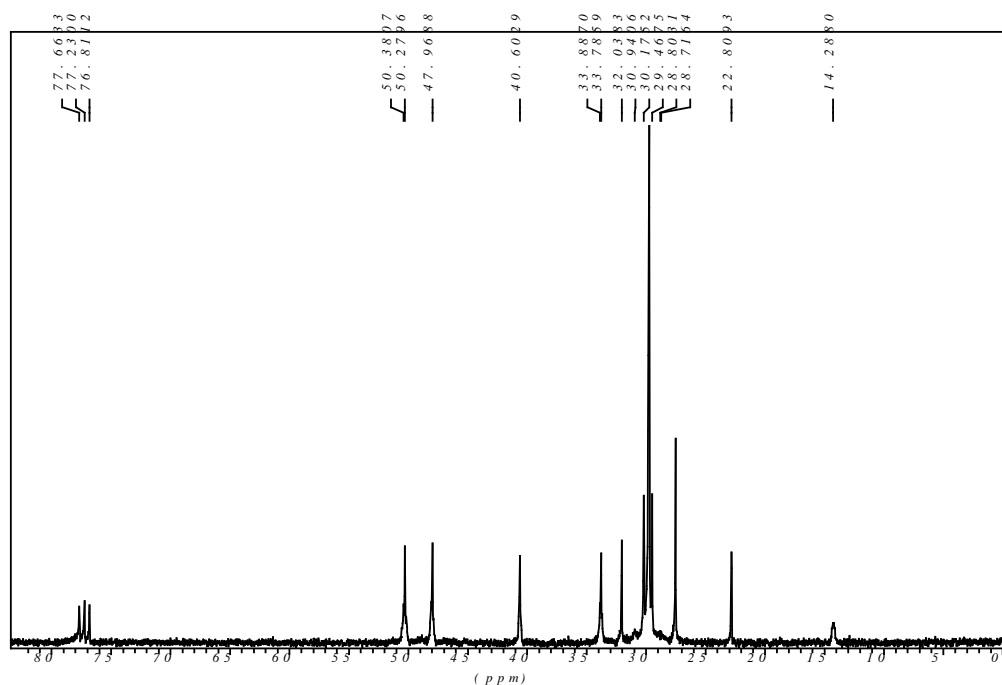


Figura 4.48. Espectro de RMN de ¹³C da substância 30c (CDCl₃, 75MHz).

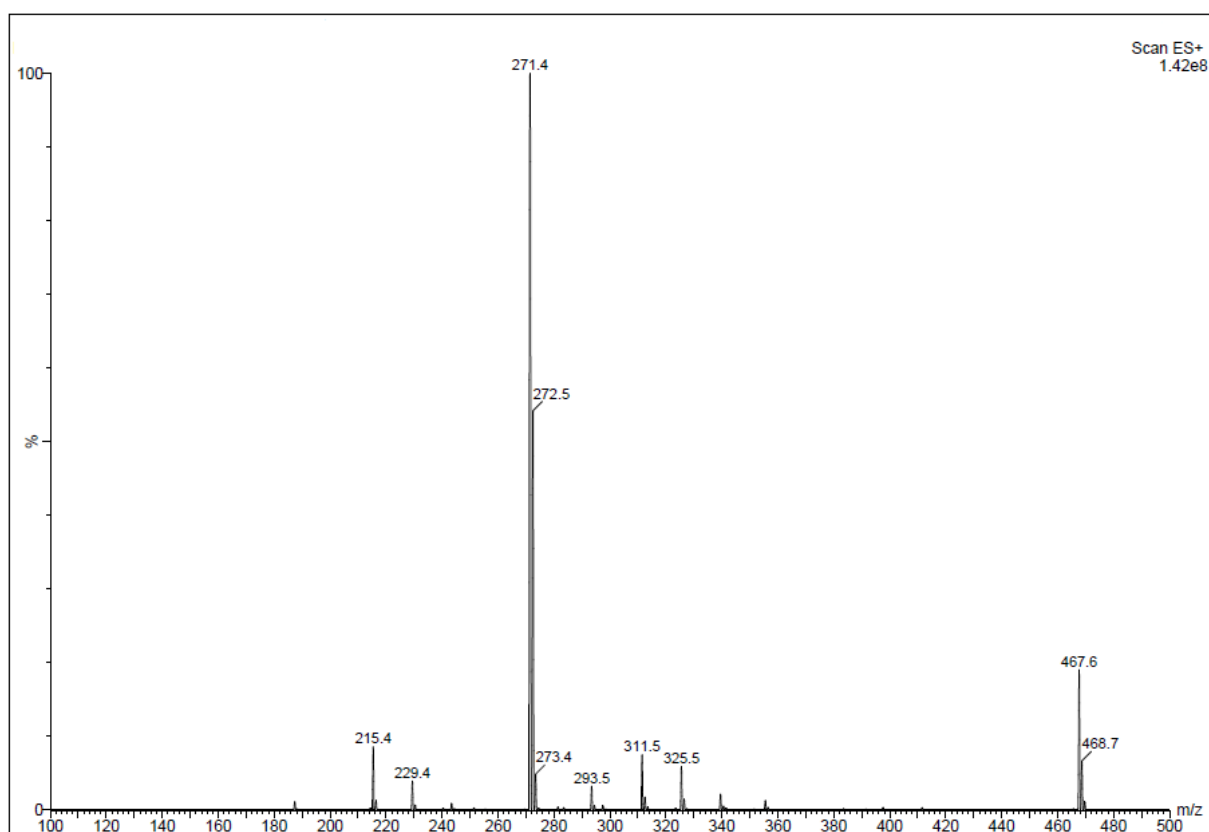


Figura 4.49. Espectro de massa da substância 30d.

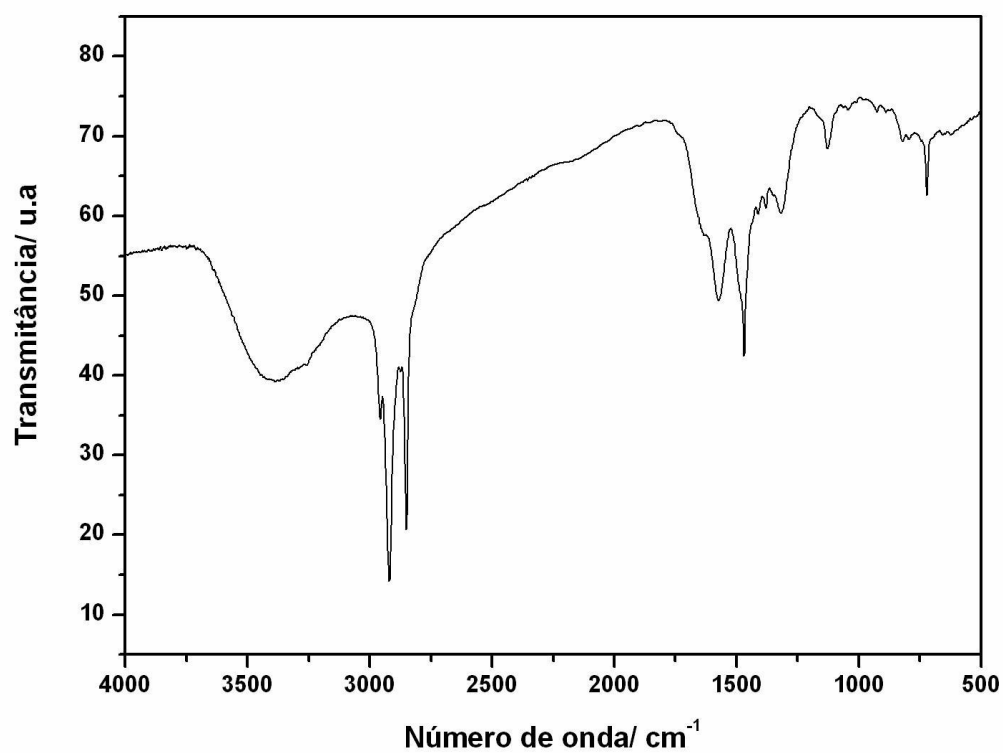


Figura 4.50. Espectro de infravermelho da substância 30d (KBr).

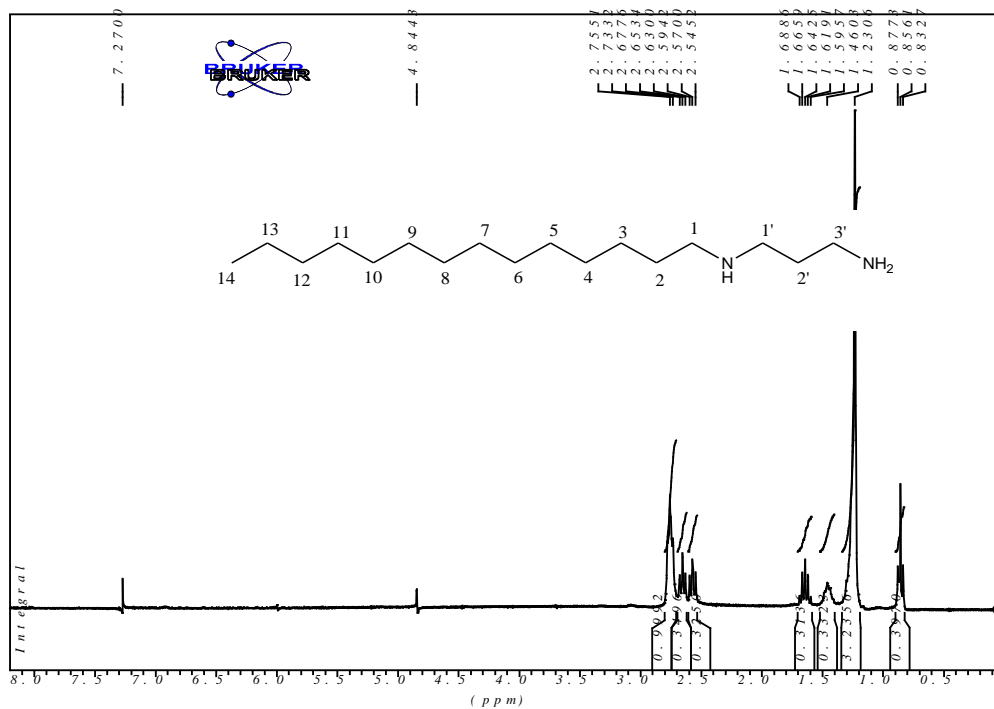


Figura 4.51. Espectro de RMN de ¹H da substância 30d (CDCl₃, 300MHz).

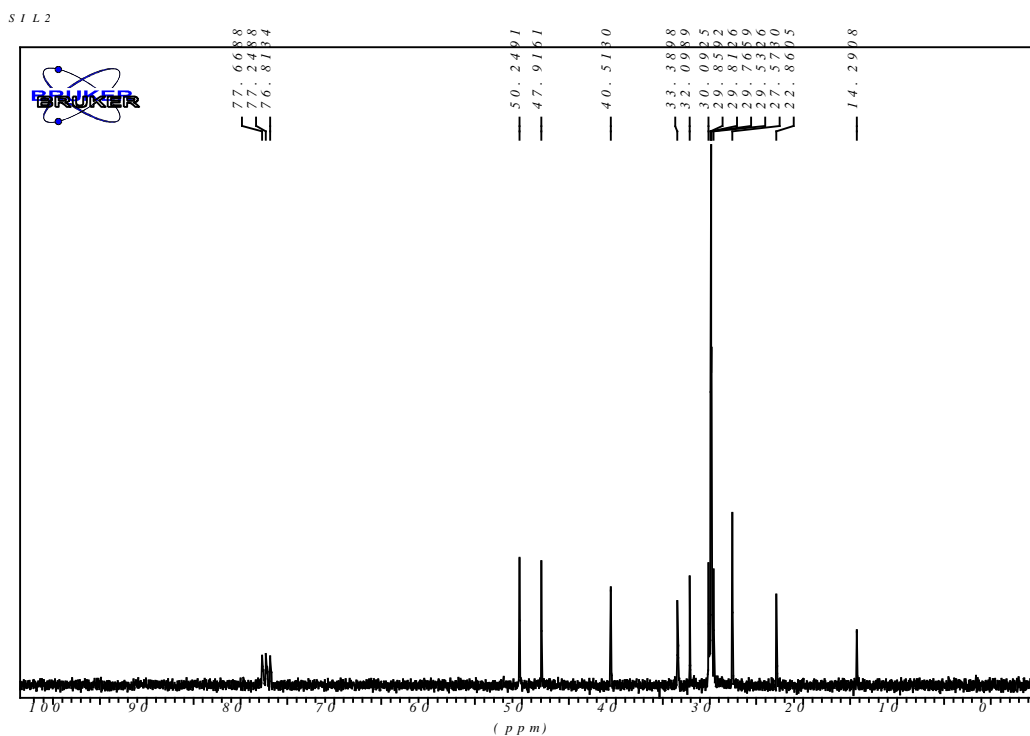


Figura 4.52. Espectro de RMN de ¹³C da substância 30d (CDCl₃, 75MHz).

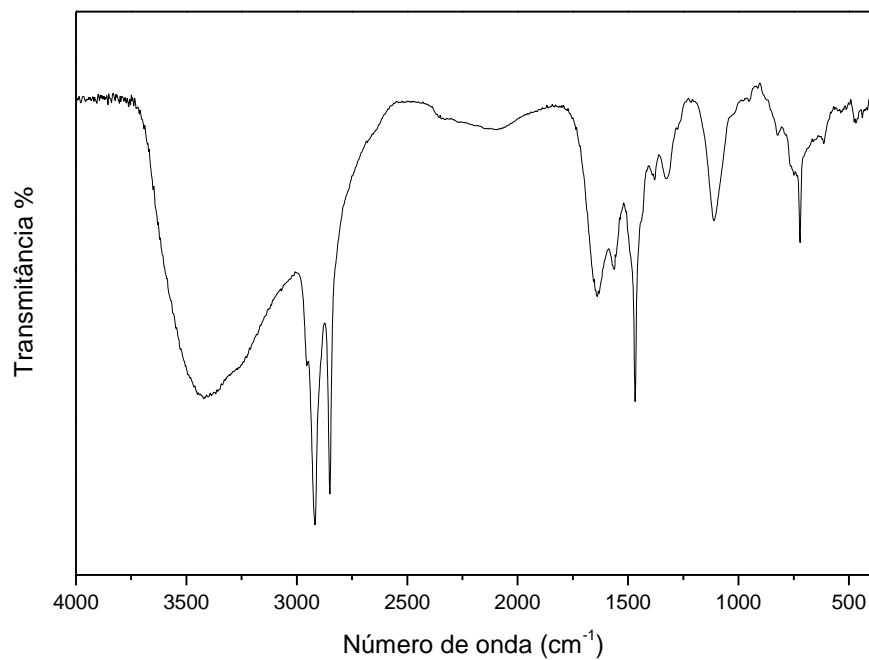


Figura 4.53. Espectro de infravermelho da substância 30e (KBr).

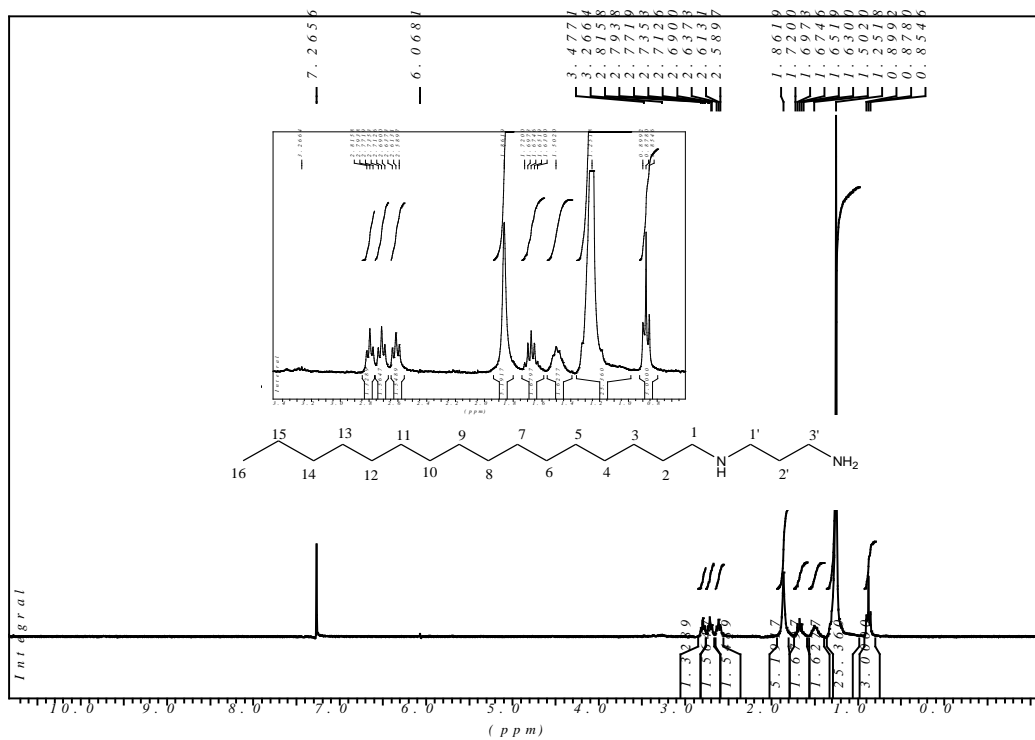


Figura 4.54. Espectro de RMN de ^1H da substância 30e (CDCl_3 , 300MHz).

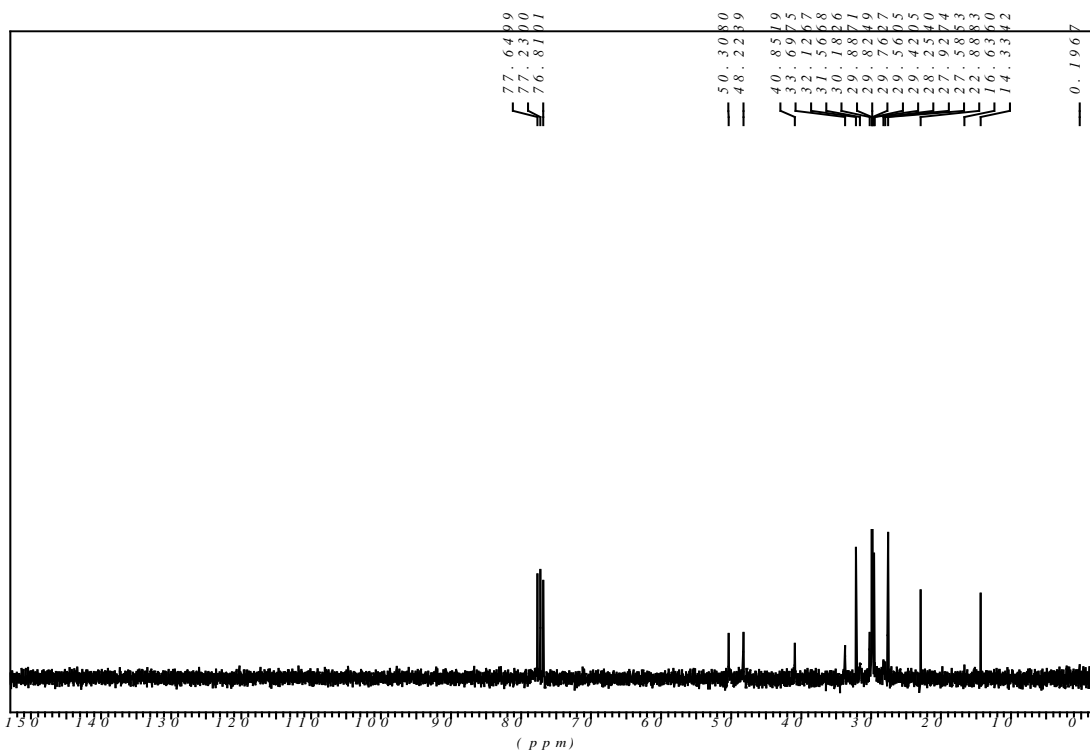


Figura 4.55. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **30e** (CDCl_3 , 75MHz).

4.1.4. Síntese de derivados tetraidropirimidínicos **31a-e**

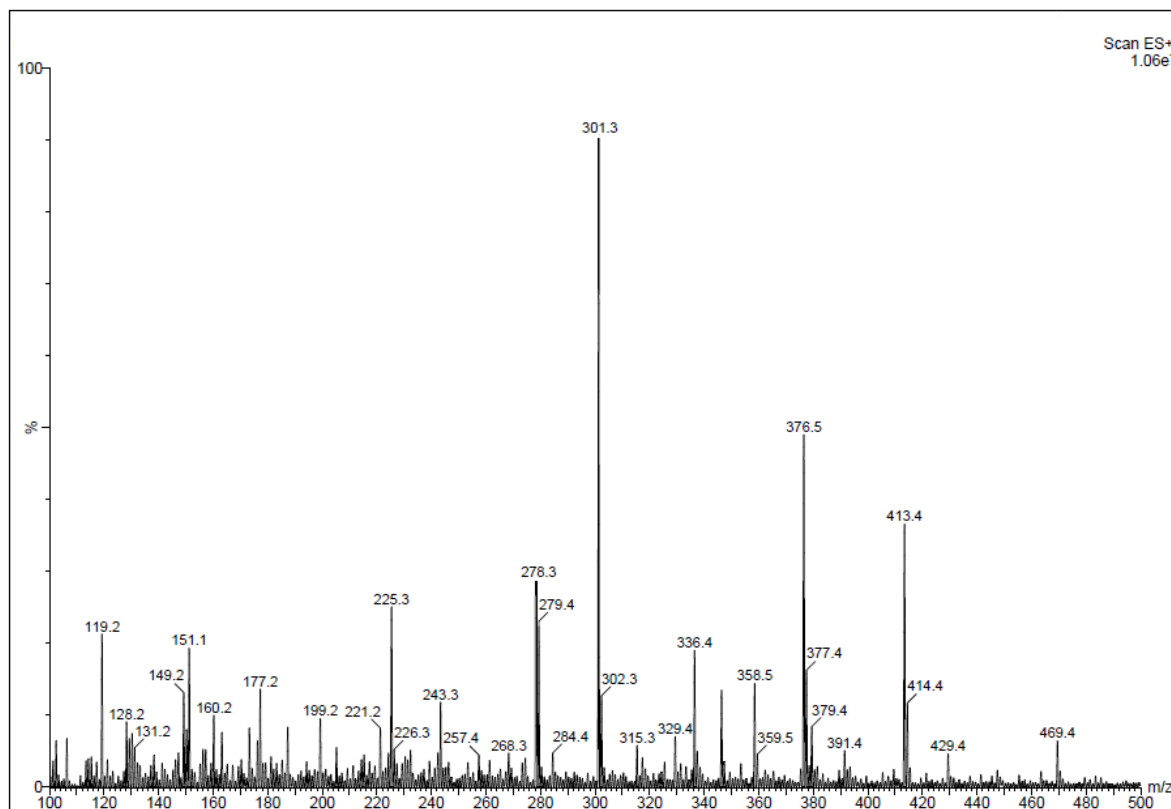


Figura 4.56. Espectro de massa da substância **31a**.

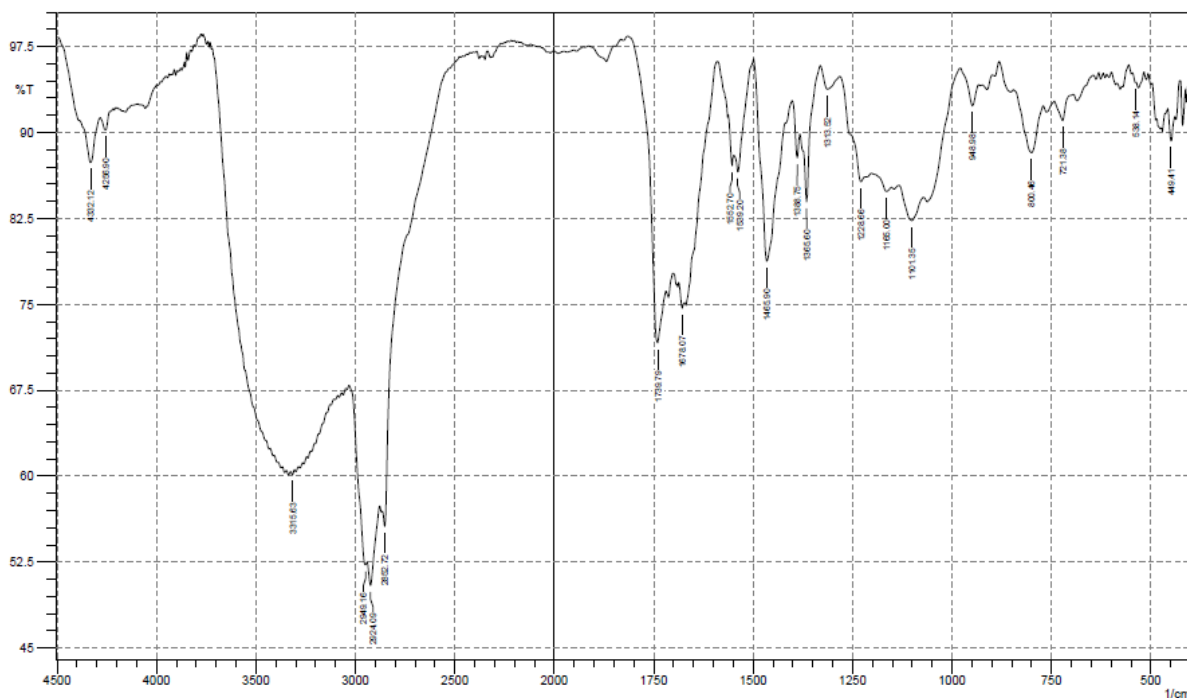


Figura 4.57. Espectro de infravermelho da substância 31a (Nujol).

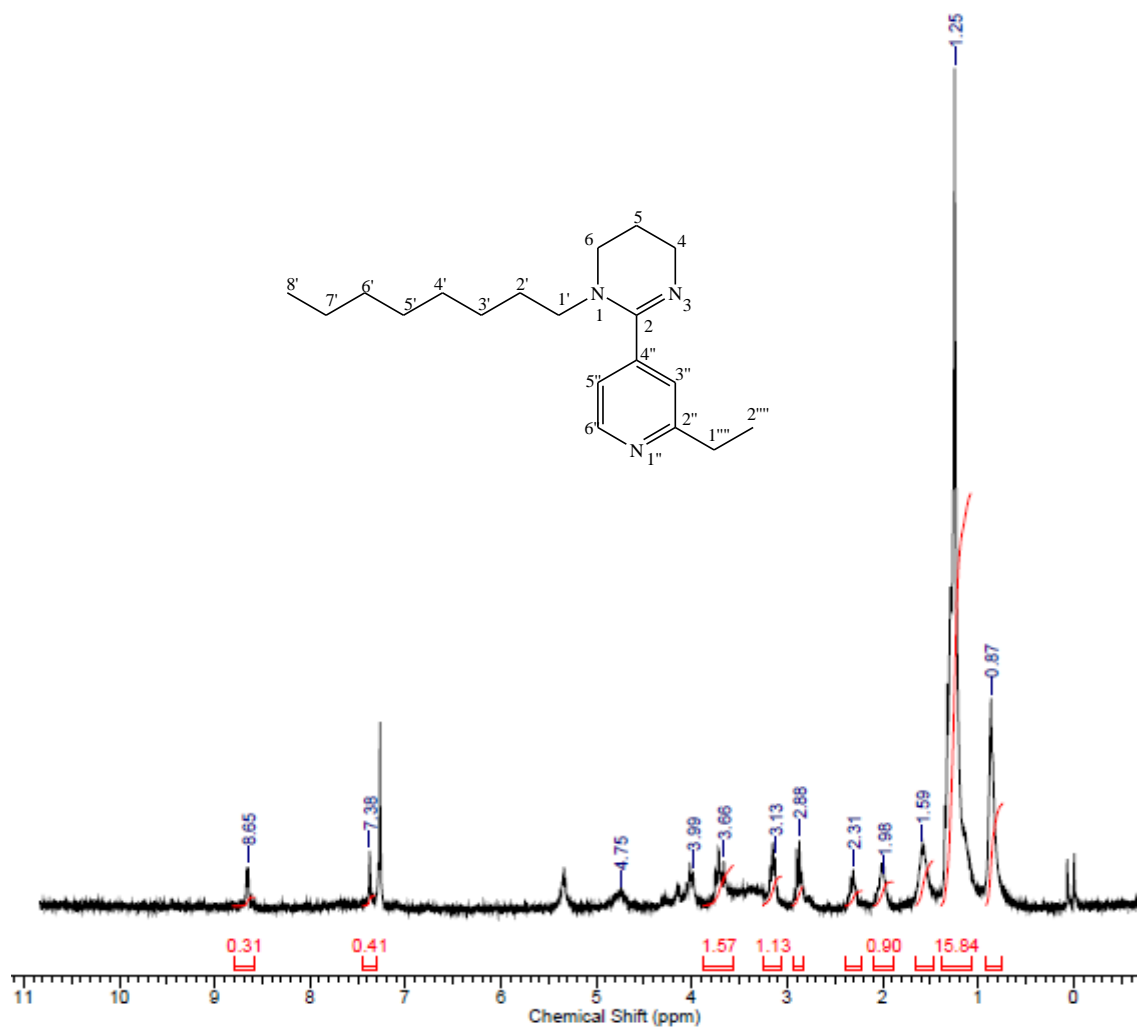


Figura 4.58. Espectro de RMN de ^1H da substância 31a (CDCl_3 , 300MHz).

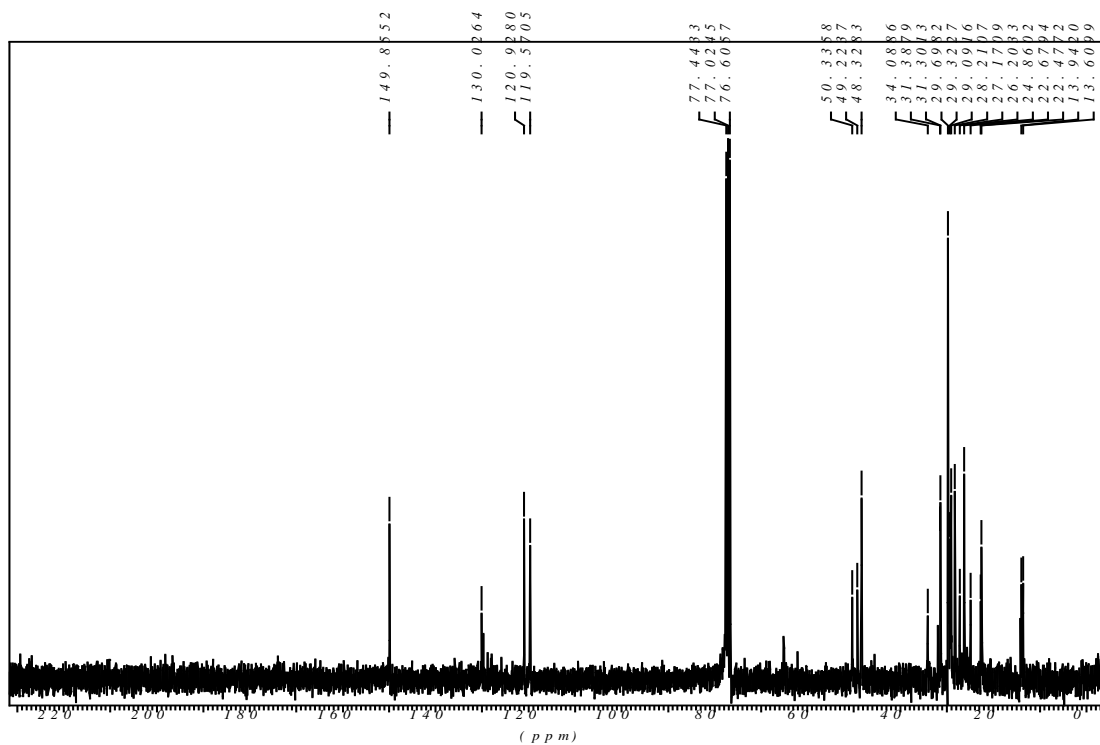


Figura 4.59. Espectro de RMN de ^1H da substância **31a** (CDCl_3 , 300MHz).

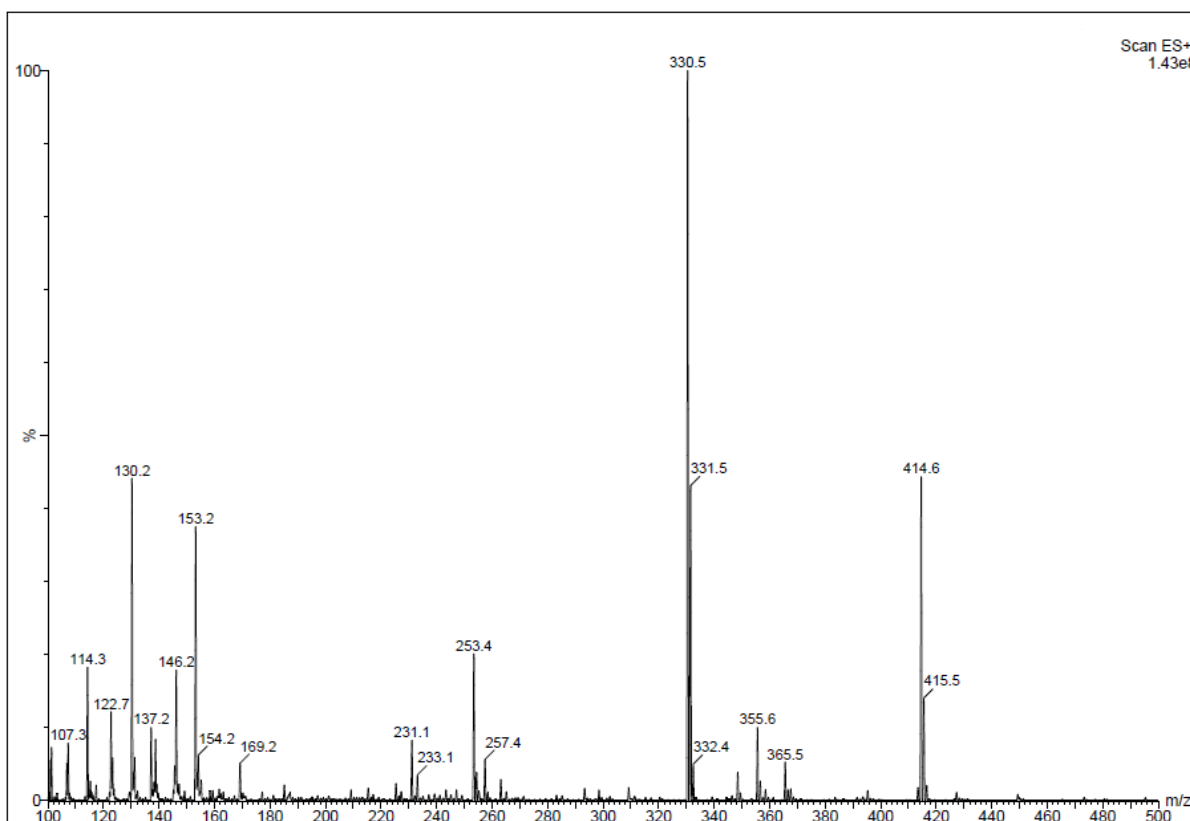


Figura 4.60. Espectro de massa da substância **31b**.

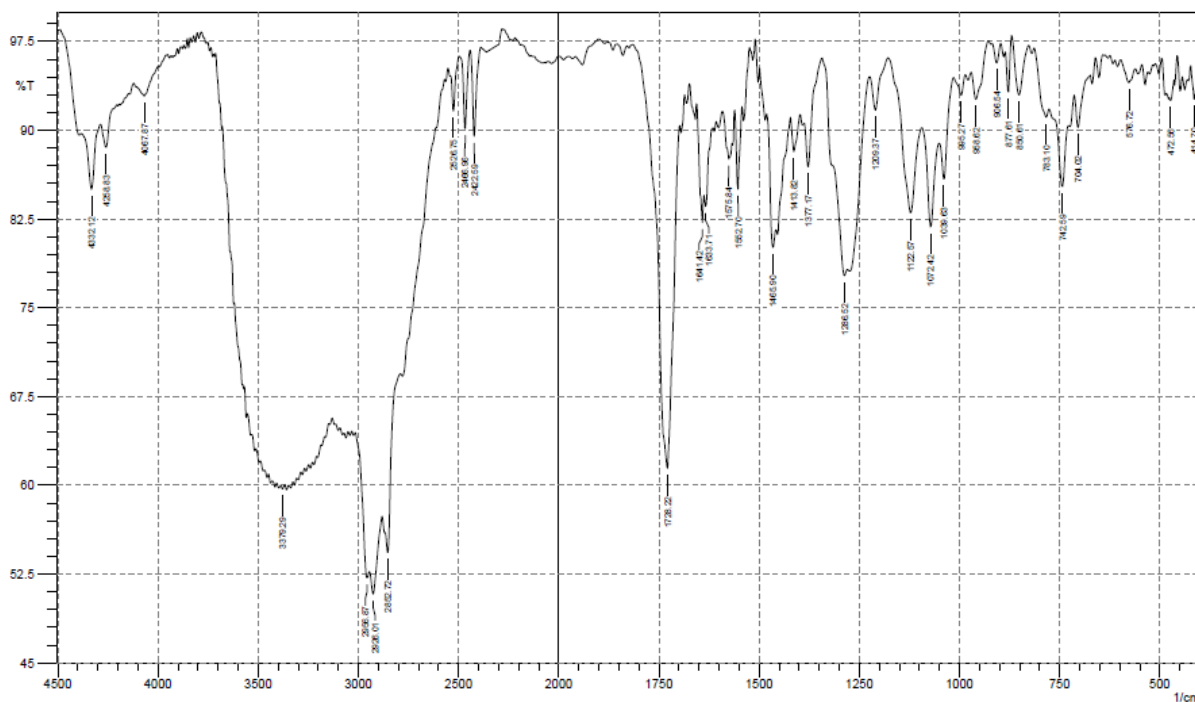


Figura 4.61. Espectro de massa da substância **31b** (Nujol).

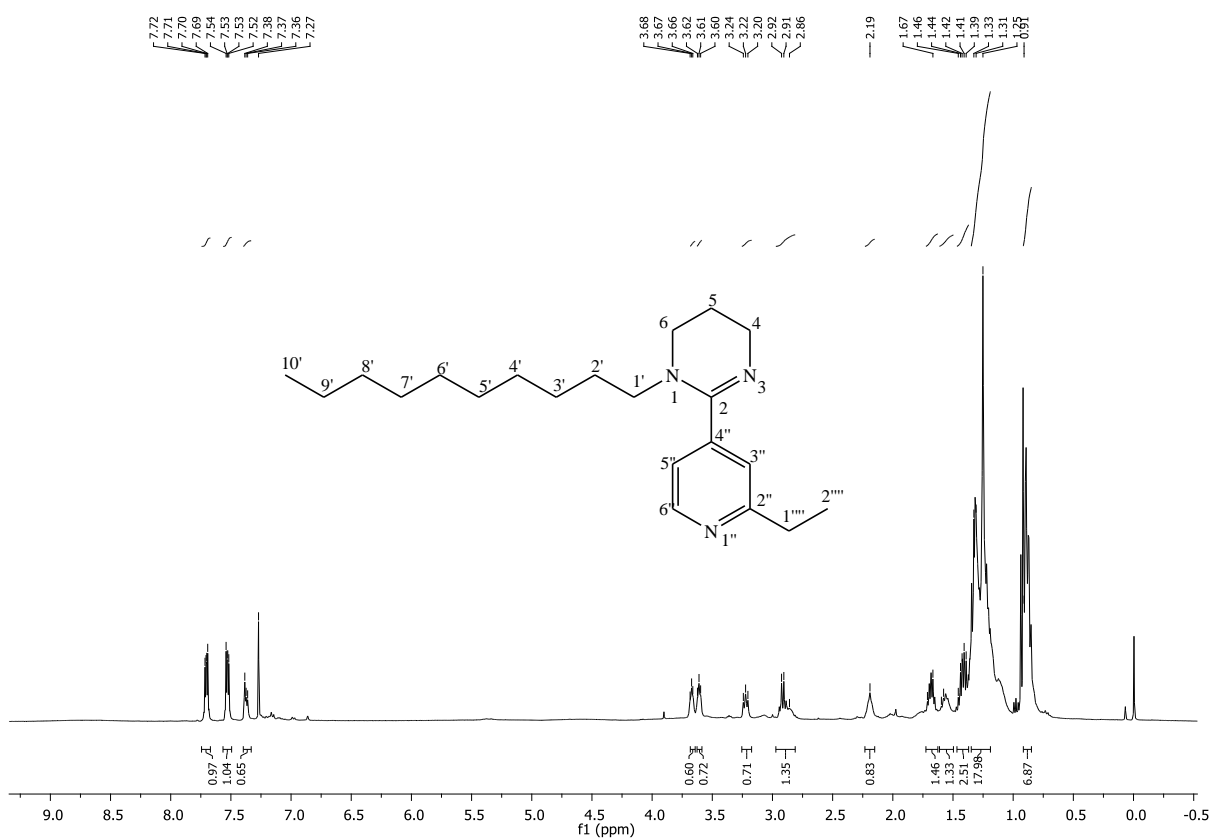


Figura 4.62. Espectro de RMN de ^1H da substância **31b** (CDCl_3 , 400 MHz).

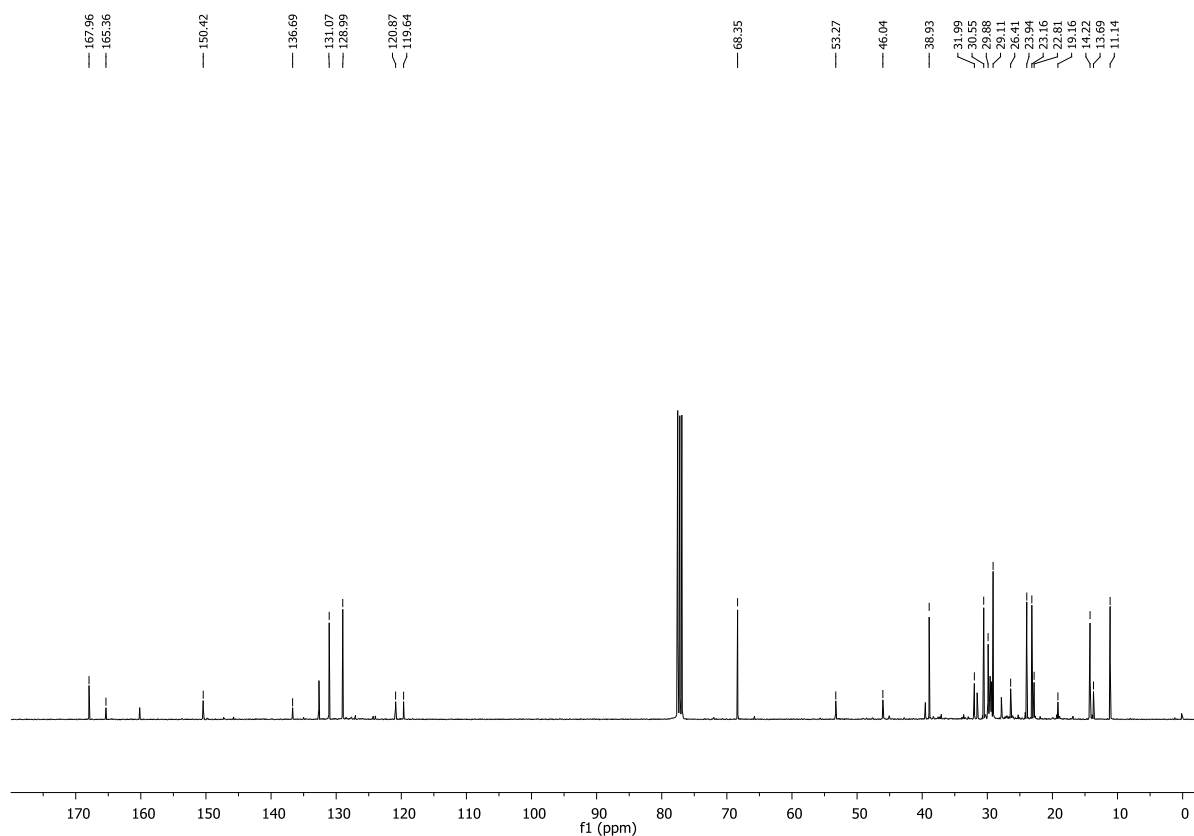


Figura 4.63. Espectro de RMN da substância **31b** (CDCl_3 , 400 MHz).

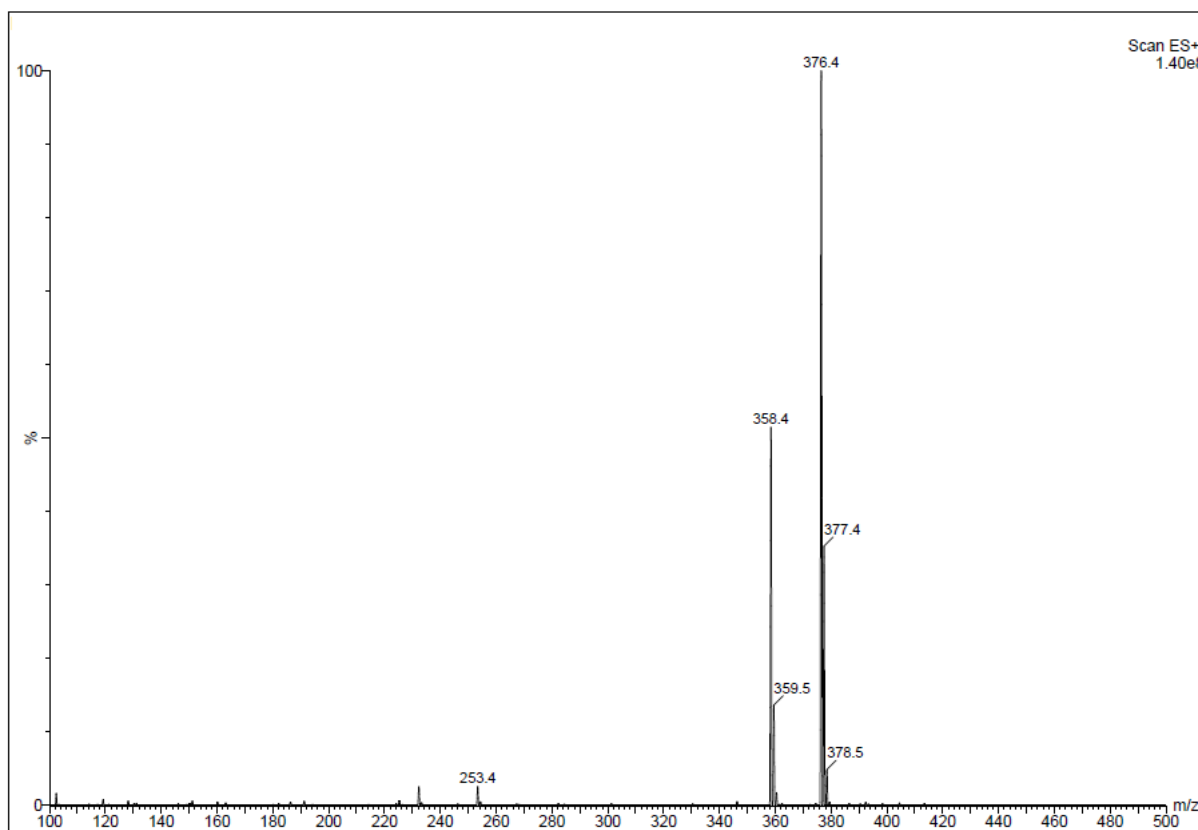


Figura 4.64. Espectro de massa da substância **31c**.

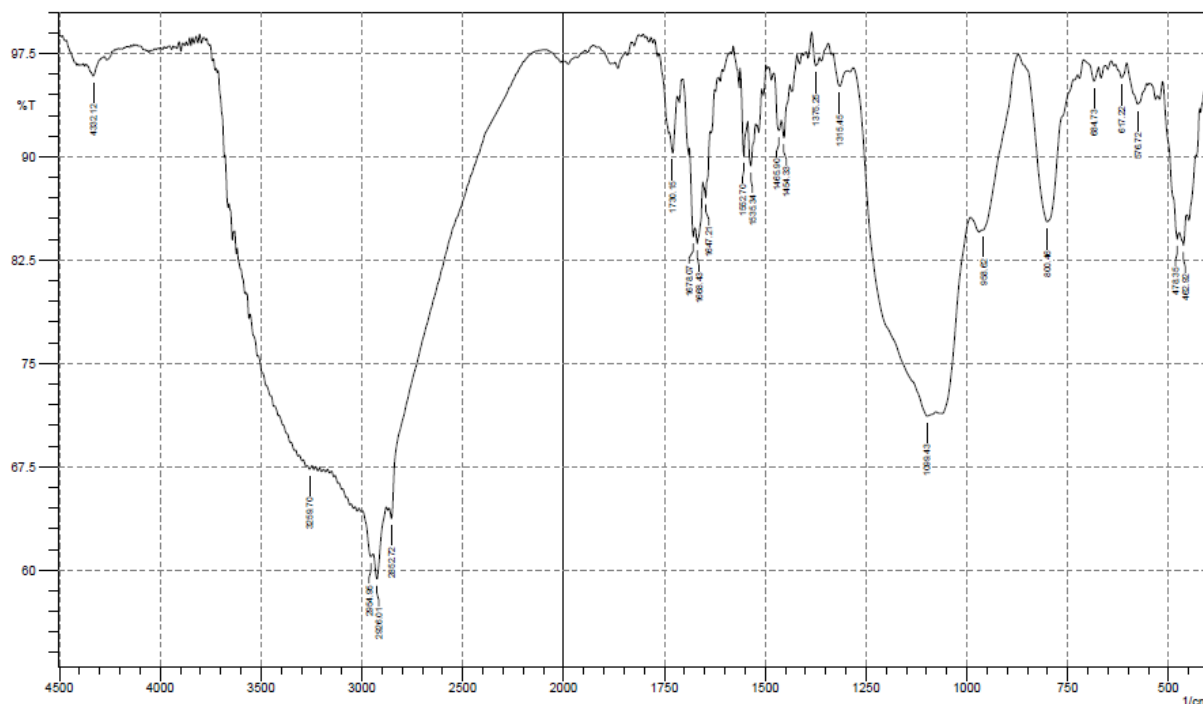


Figura 4.65. Espectro de infravermelho da substância 31c (Nujol).

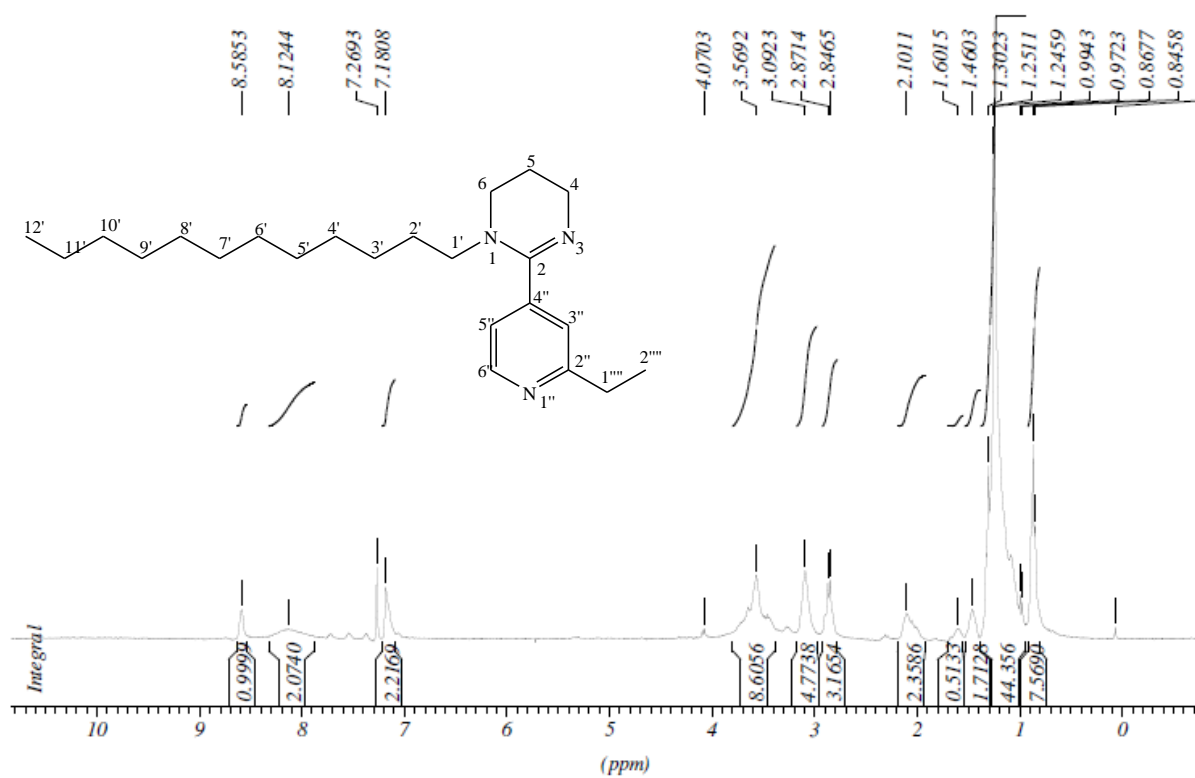


Figura 4.66. Espectro de RMN de ¹H da substância 31c (CDCl₃, 300 MHz).

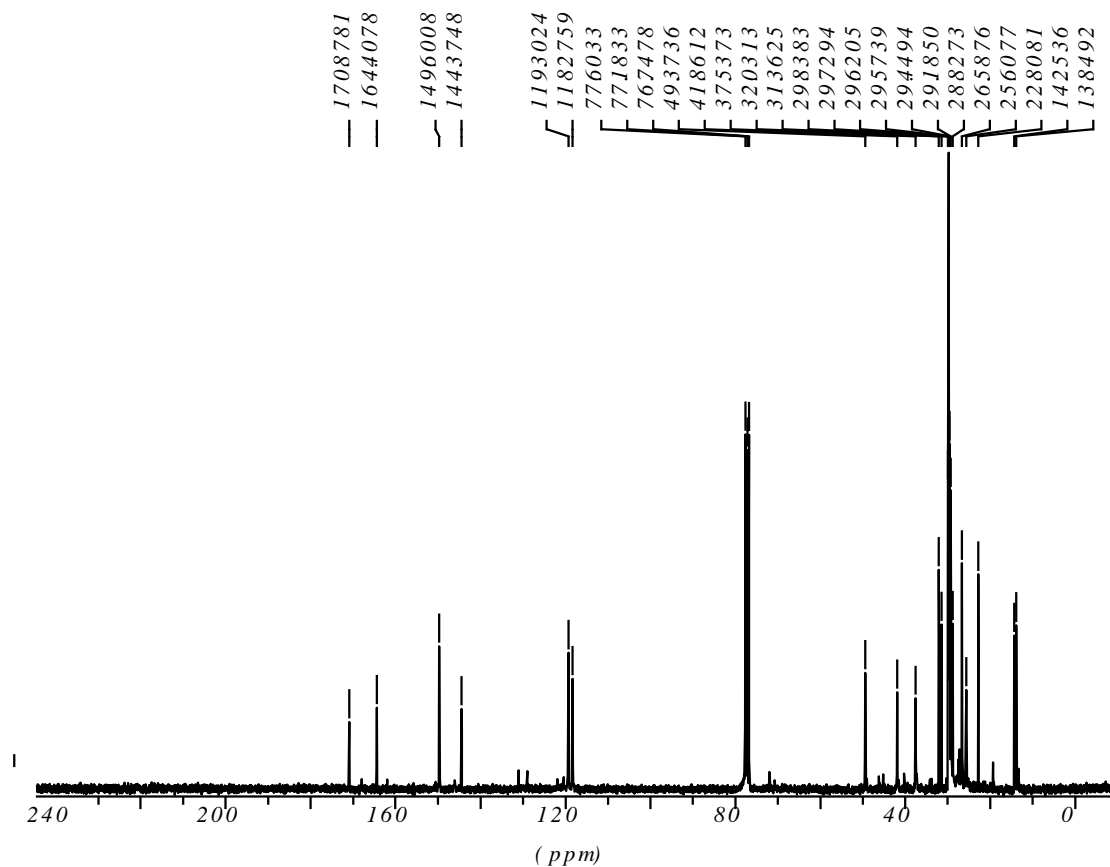


Figura 4.67. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **31c** (CDCl_3 , 75 MHz).

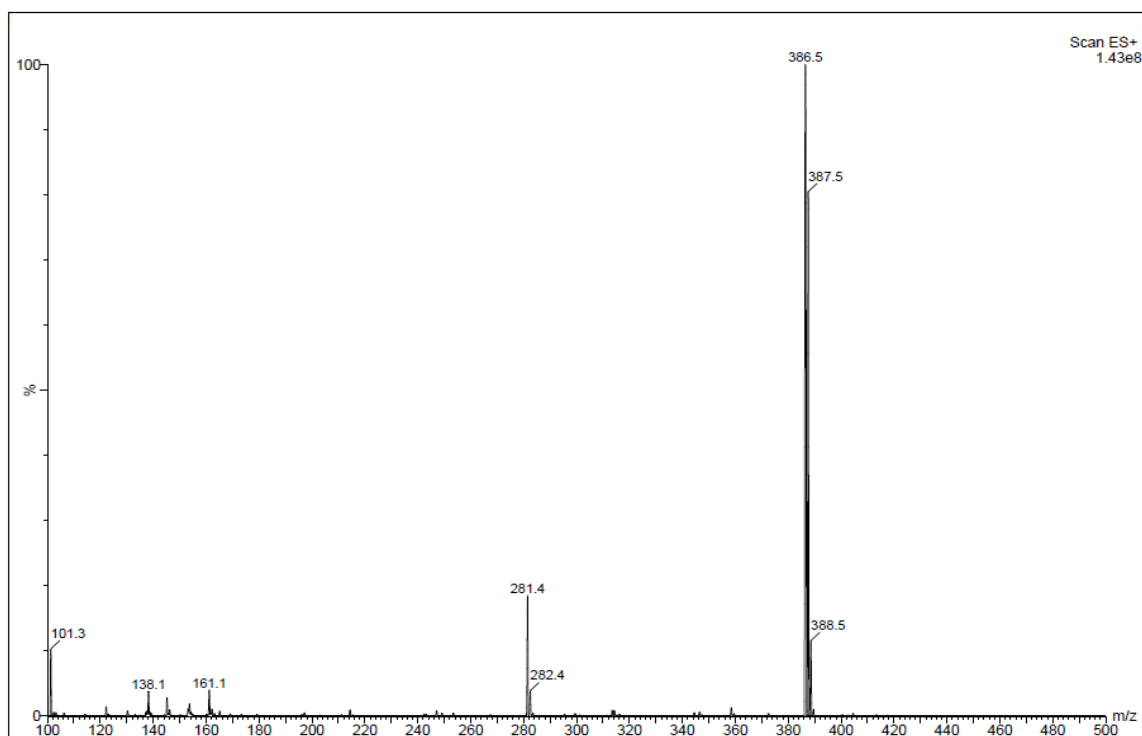


Figura 4.68. Espectro de massa da substância **31d**.

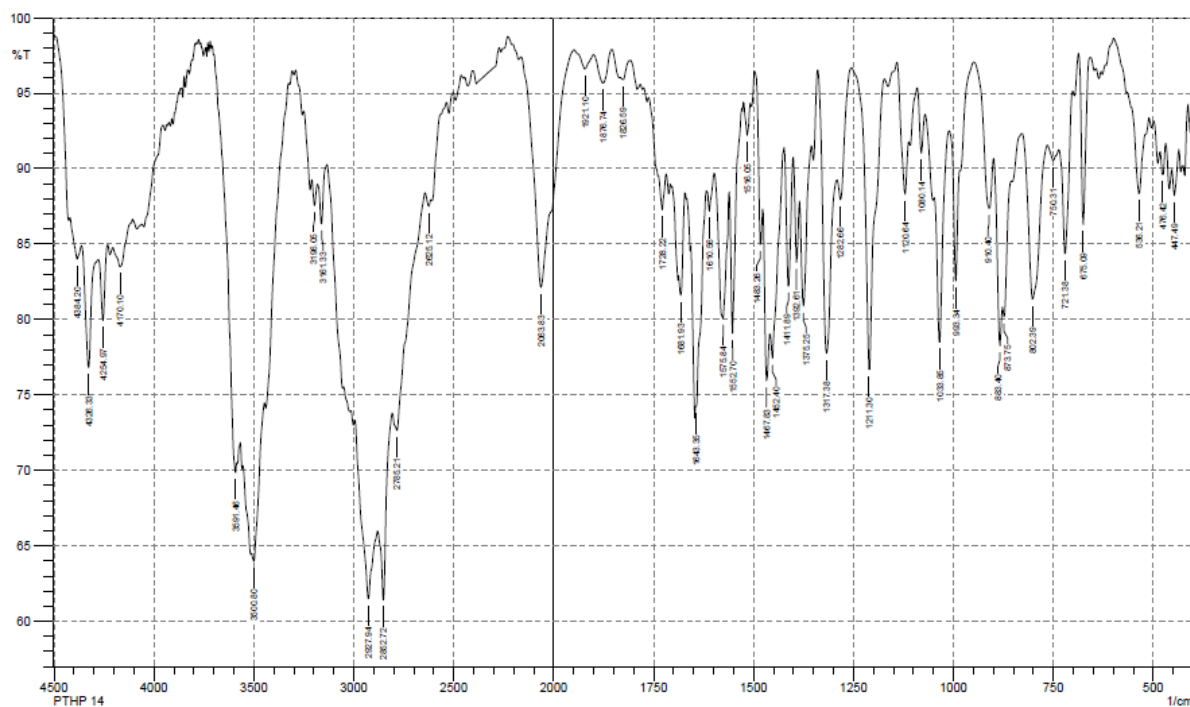


Figura 4.69. Espectro de infravermelho da substância 31d (KBr).

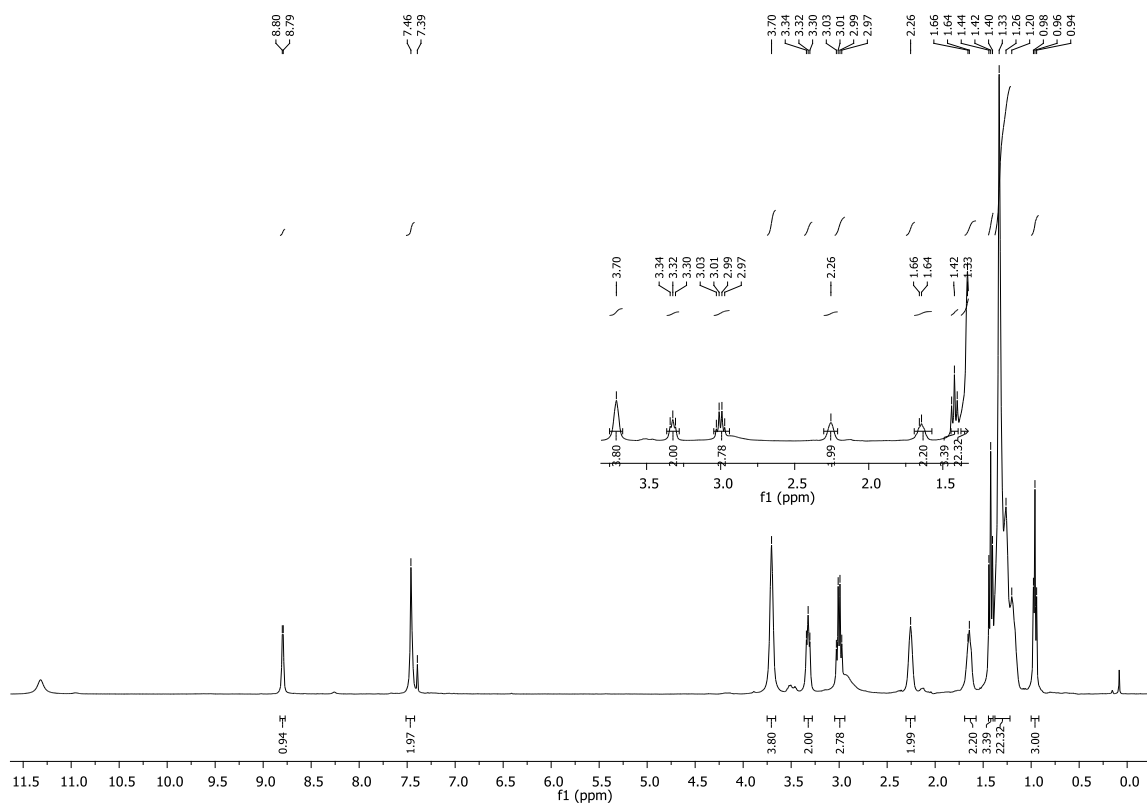


Figura 4.70. Espectro de RMN de ^1H de 31d (CDCl_3 , 400 MHz).

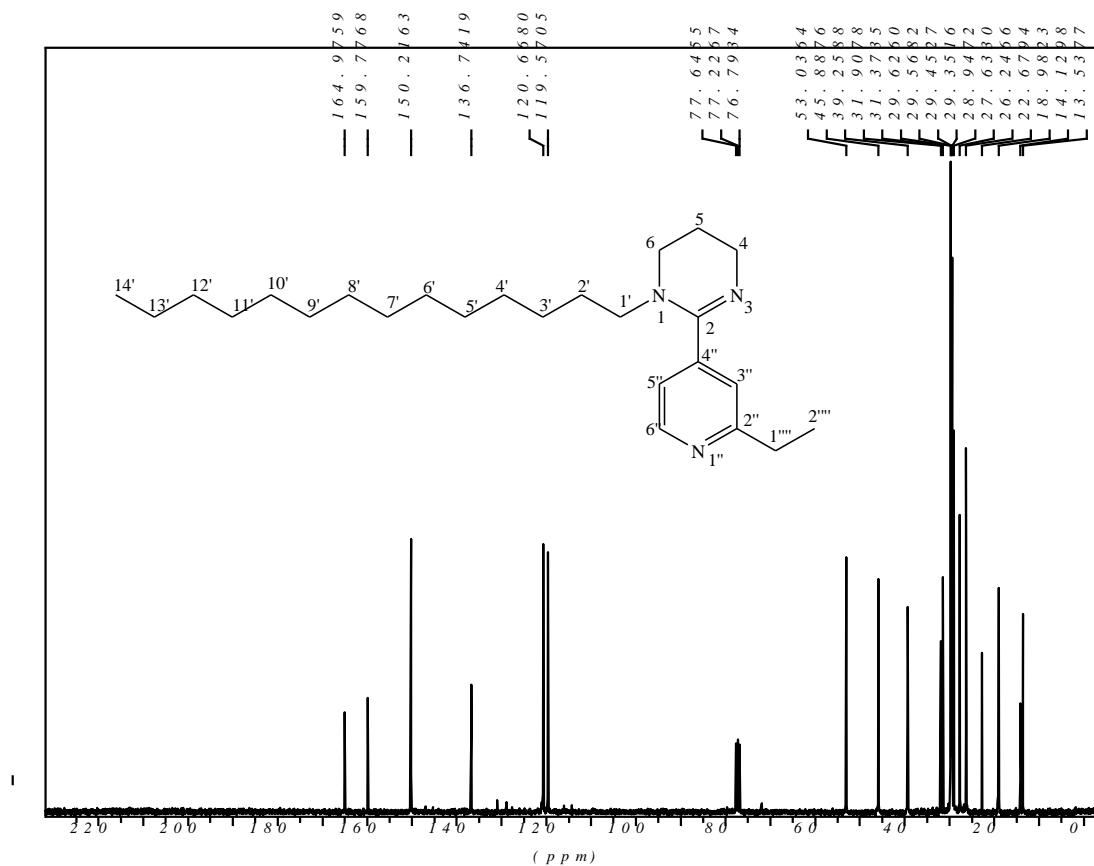


Figura 4.71. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **31d** (CDCl_3 , 75 MHz).

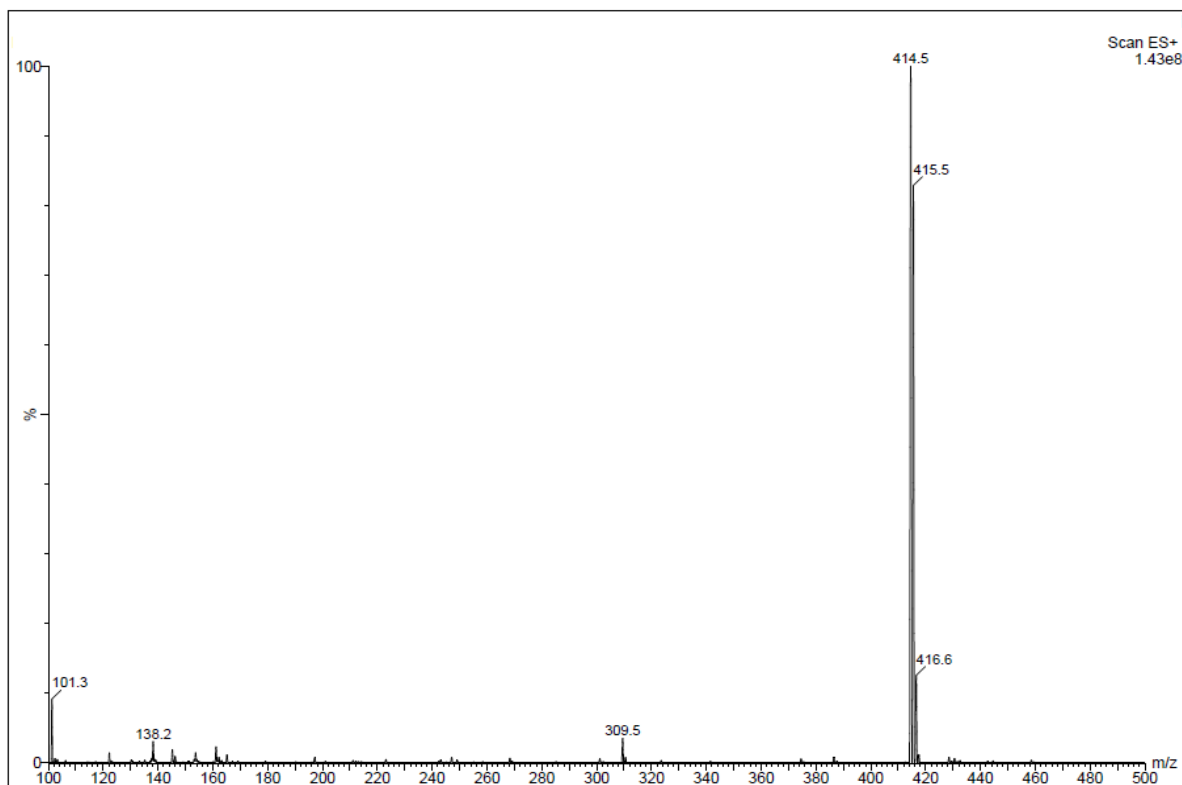


Figura 4.72. Espectro de massa da substância **31e**.

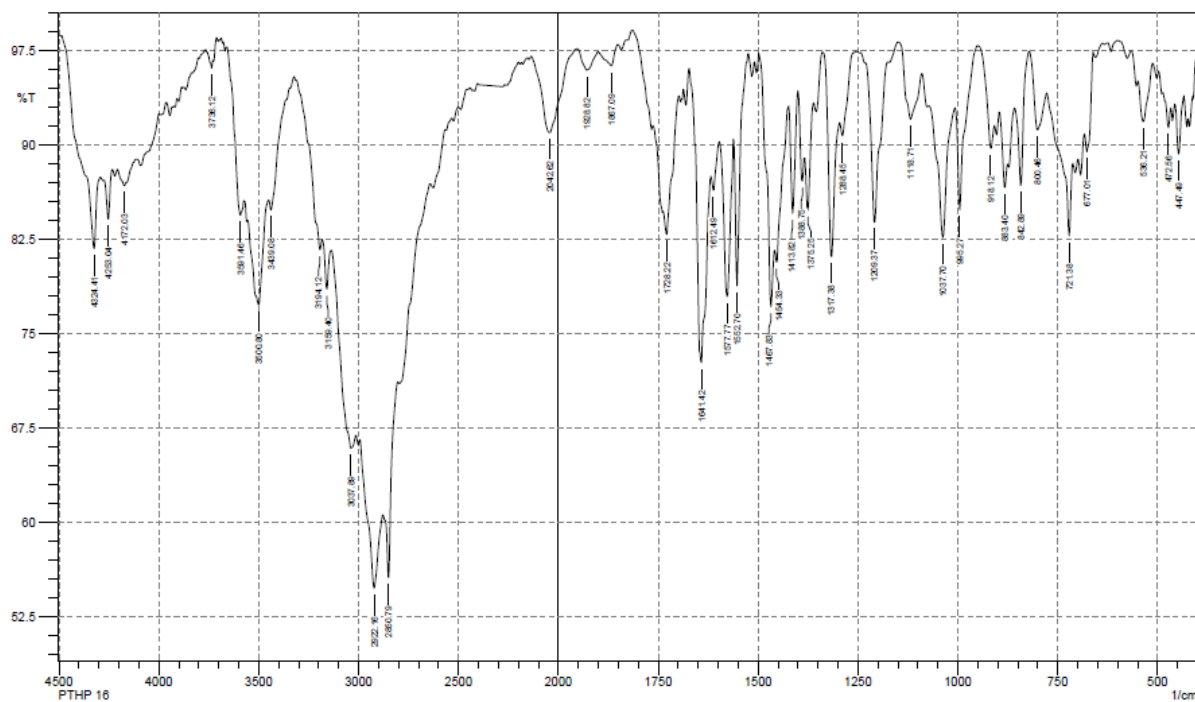


Figura 4.73. Espectro de infravermelho da substância 31e (KBr).

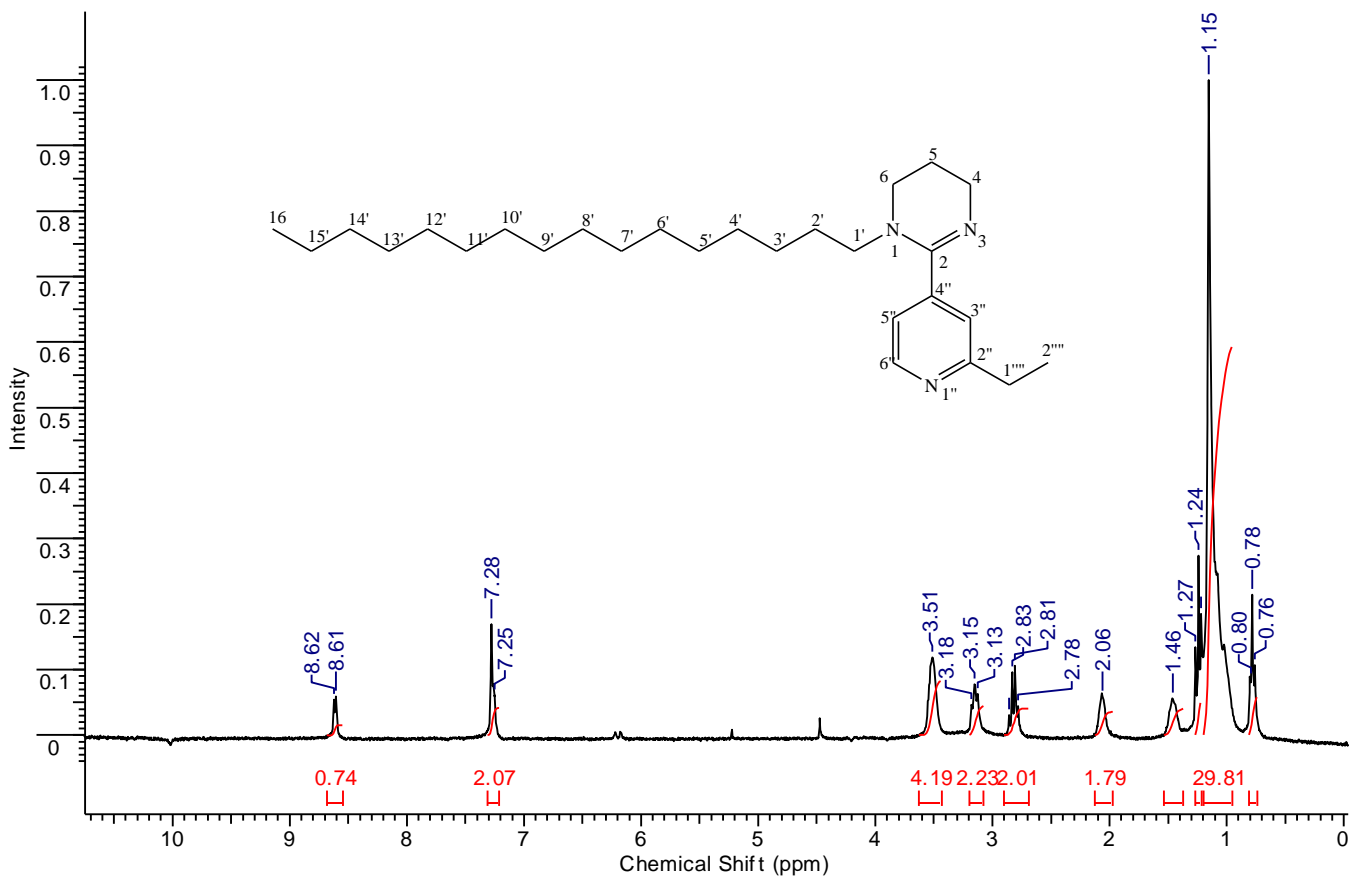


Figura 4.74. Espectro de RMN de ^1H da substância 31e (CDCl_3 , 300 MHz).

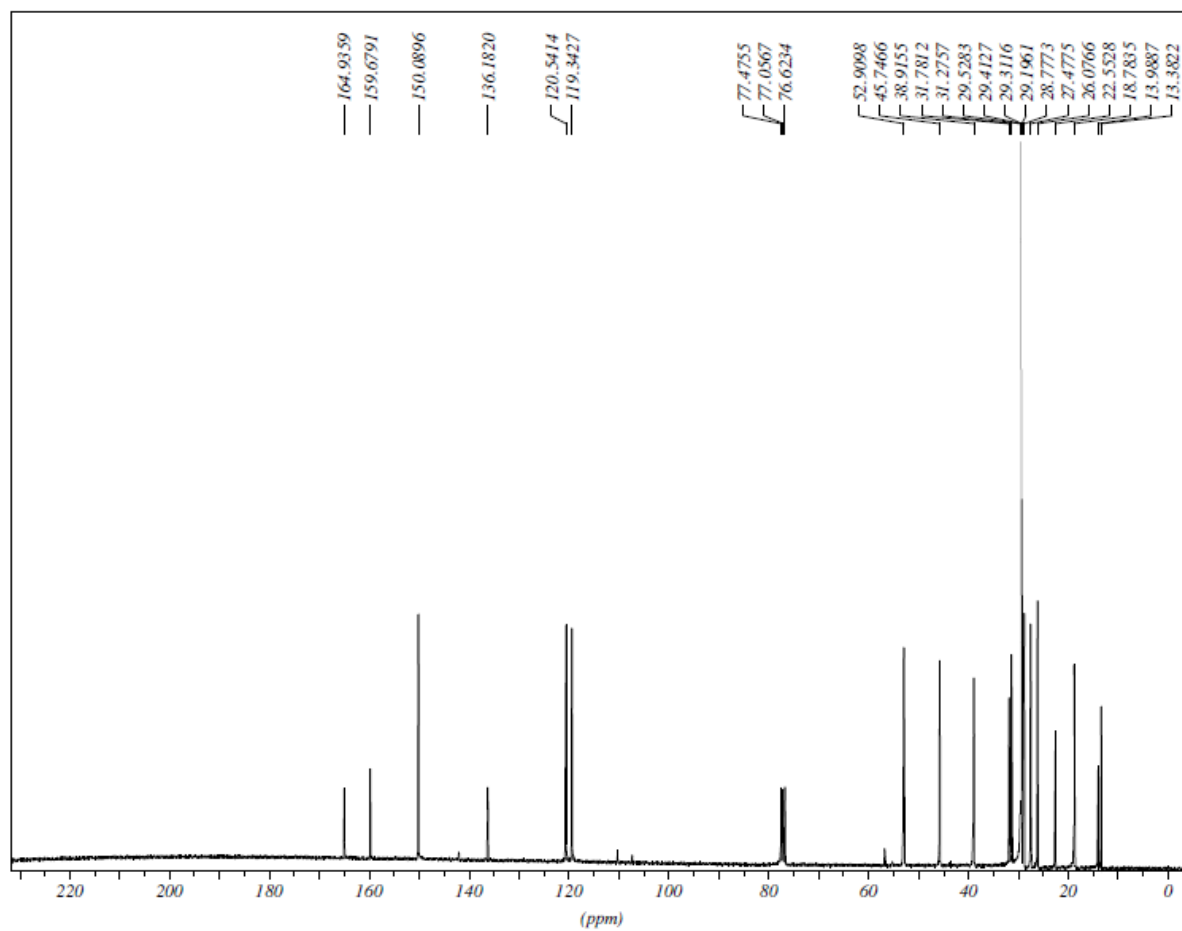


Figura 4.75. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **31e** (CDCl_3 , 75 MHz).

4.2. Espectros referentes às substâncias do Capítulo 2

4.2.1. Síntese do ésteres derivados de aminoácidos 44a-c

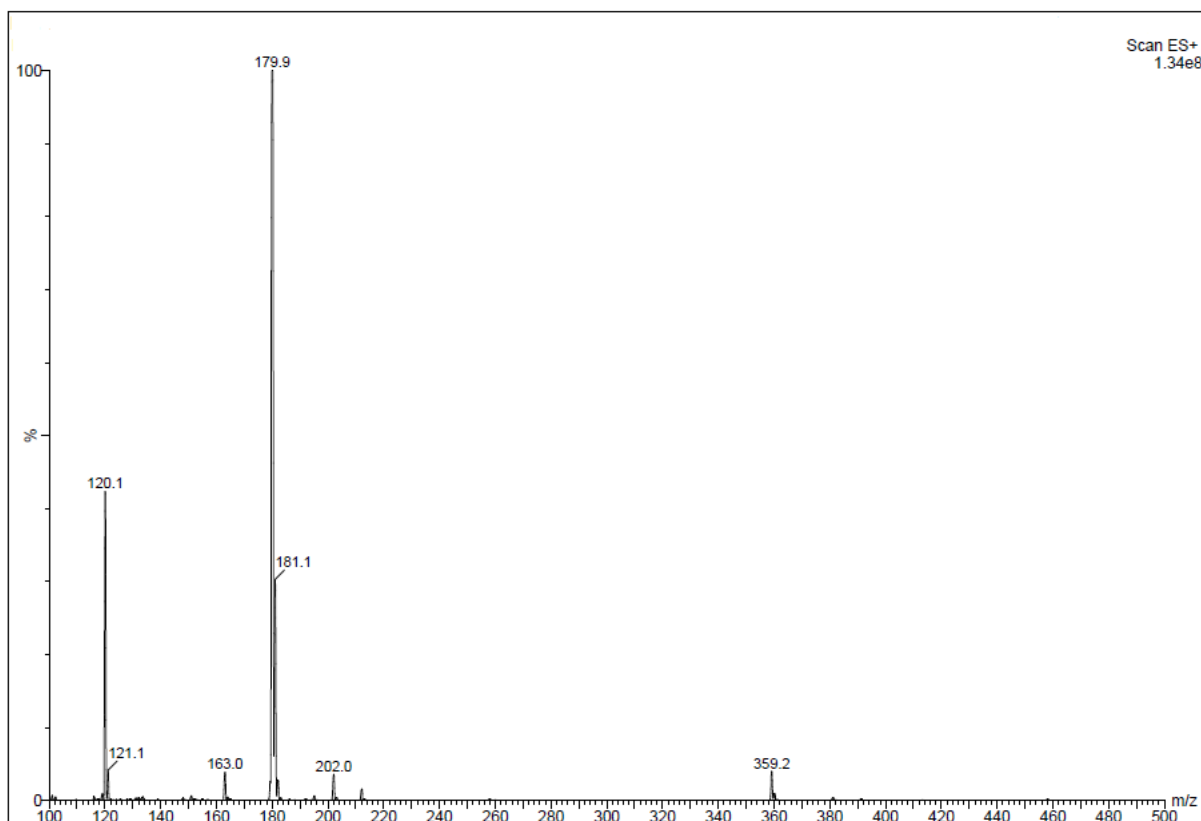


Figura 4.76. Espectro de massa da substância 44a.

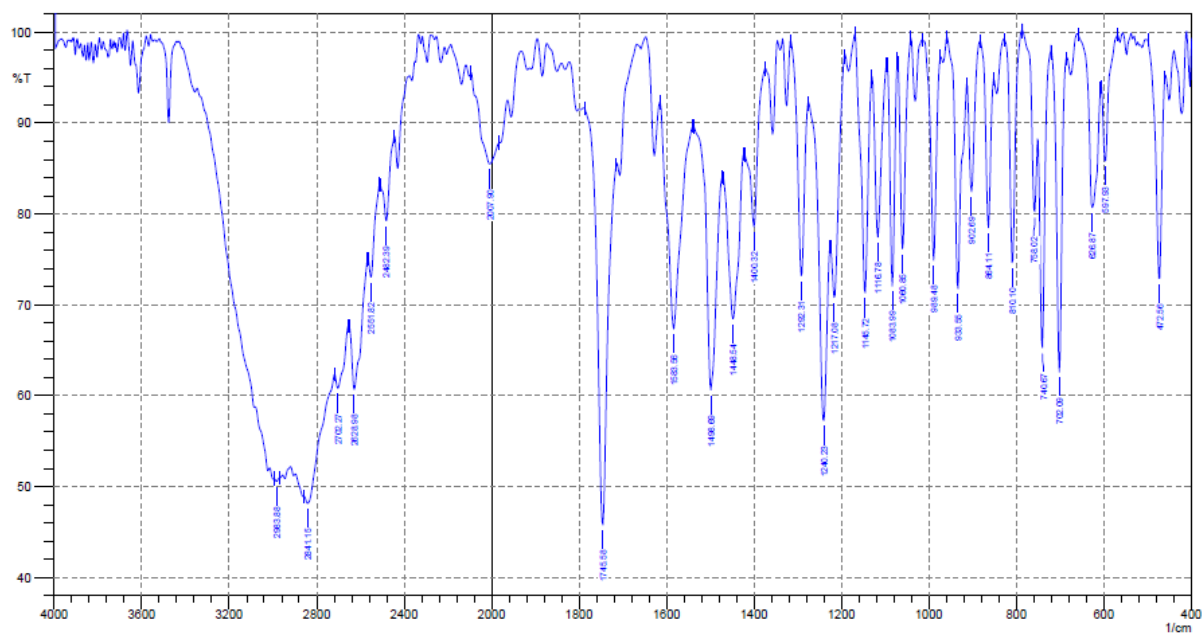


Figura 4.77. Espectro de infravermelho da substância 44a (KBr).

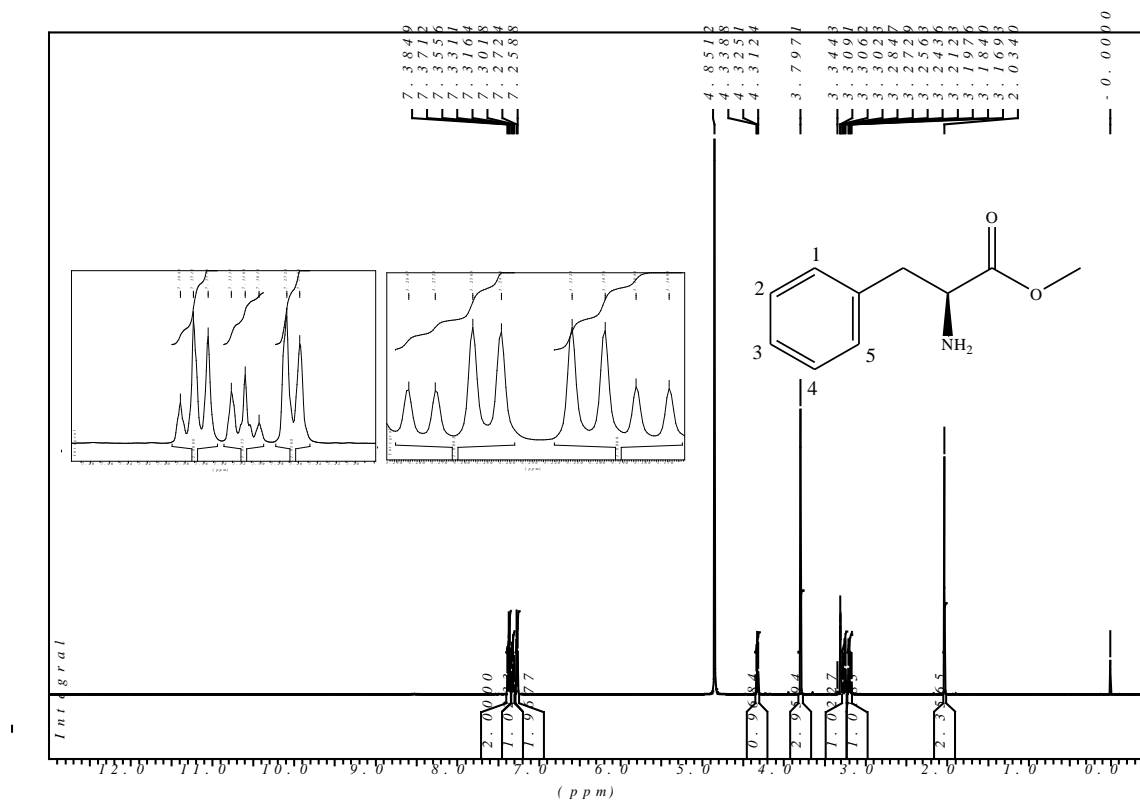


Figura 4.78. Espectro de RMN de ^1H da substância **44a** (CD_3OD , 500 MHz).

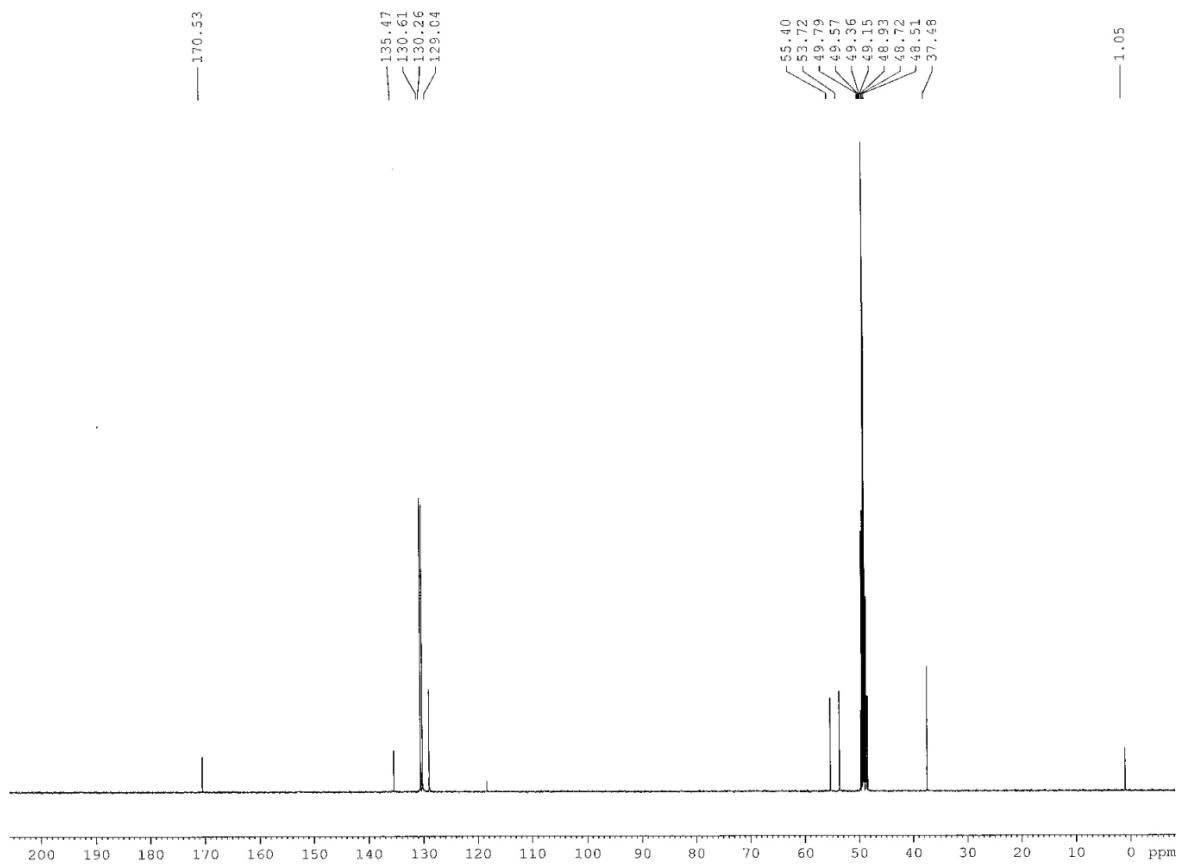


Figura 4.79. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **44a** (CD_3OD , 125 MHz).

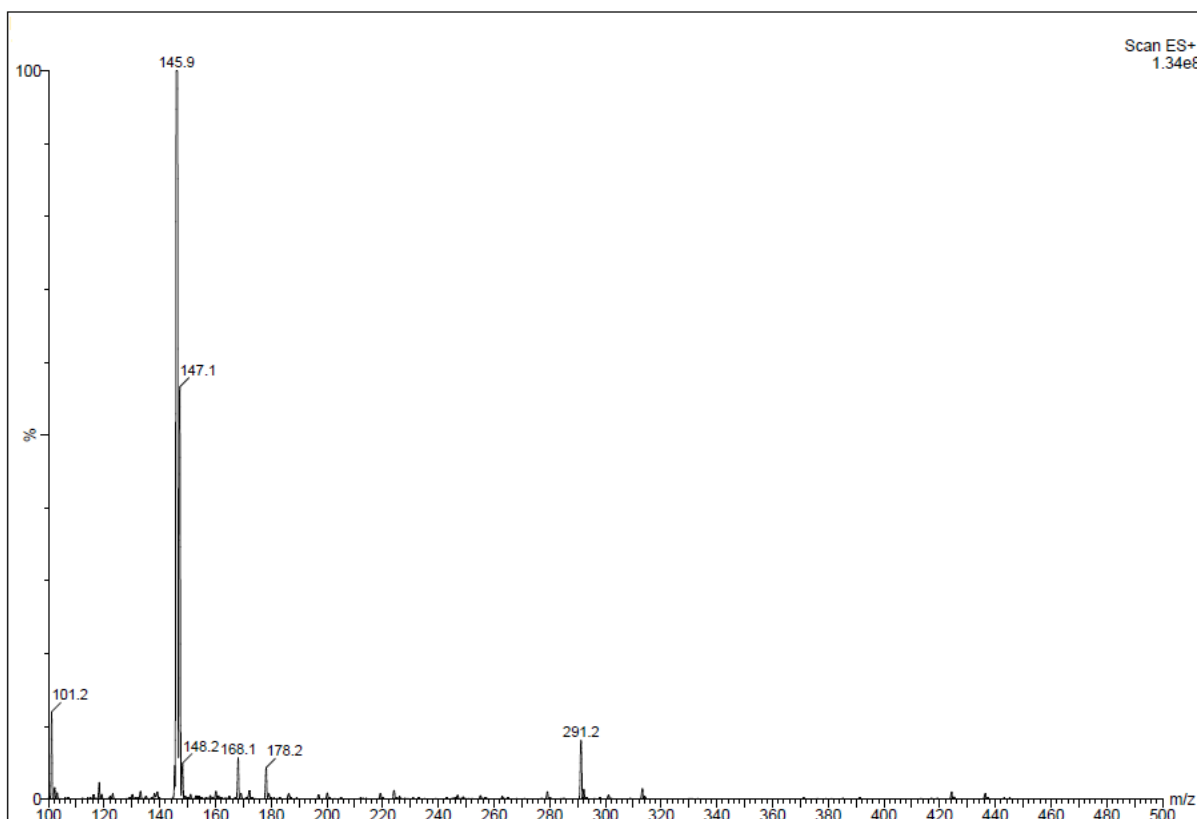


Figura 4.80. Espectro de massa da substância 44b.

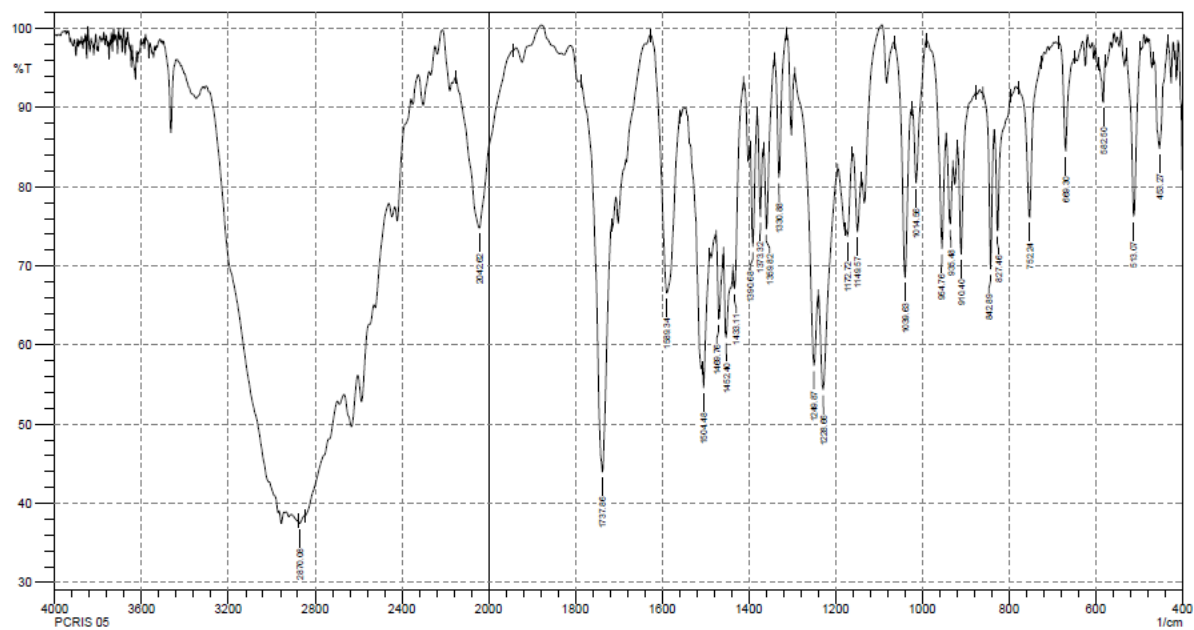


Figura 4.81. Espectro de infravermelho da substância 44b (KBr).

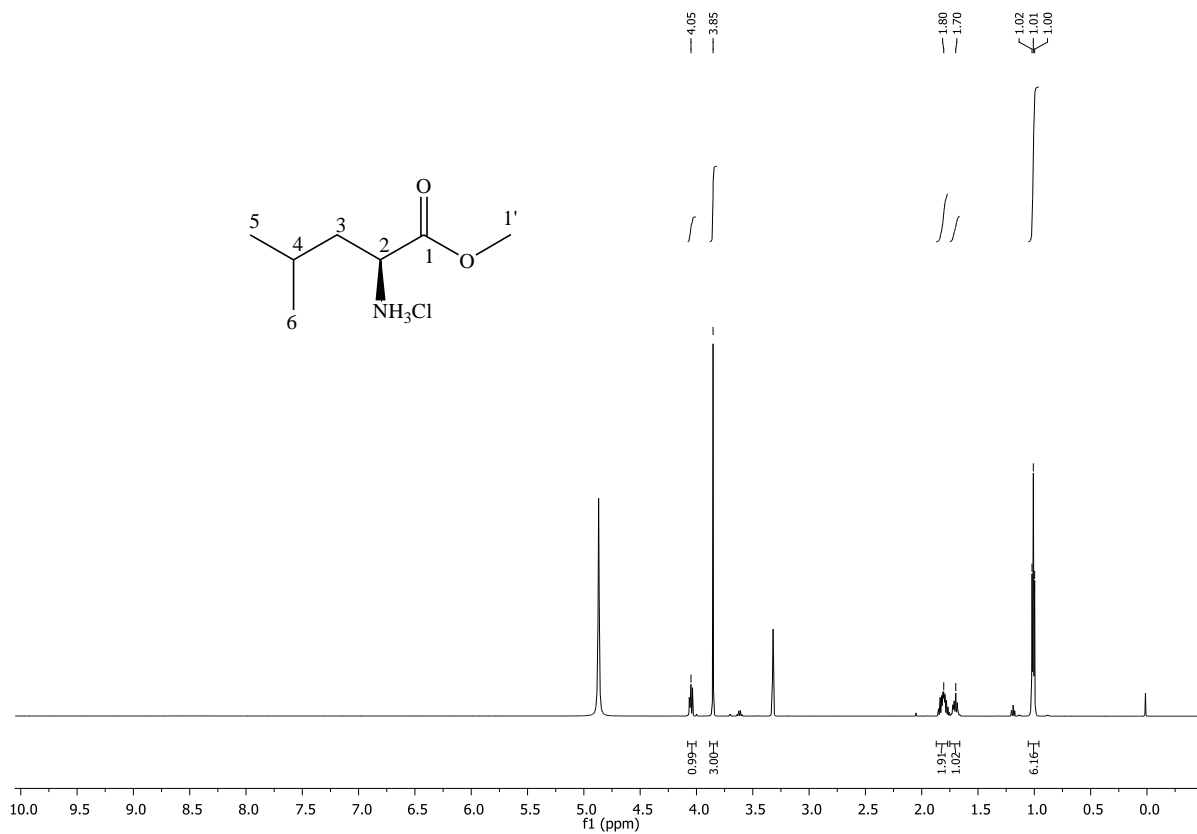


Figura 4.82. Espectro de RMN de ¹H da substância 44b (CD₃OD, 500 MHz).

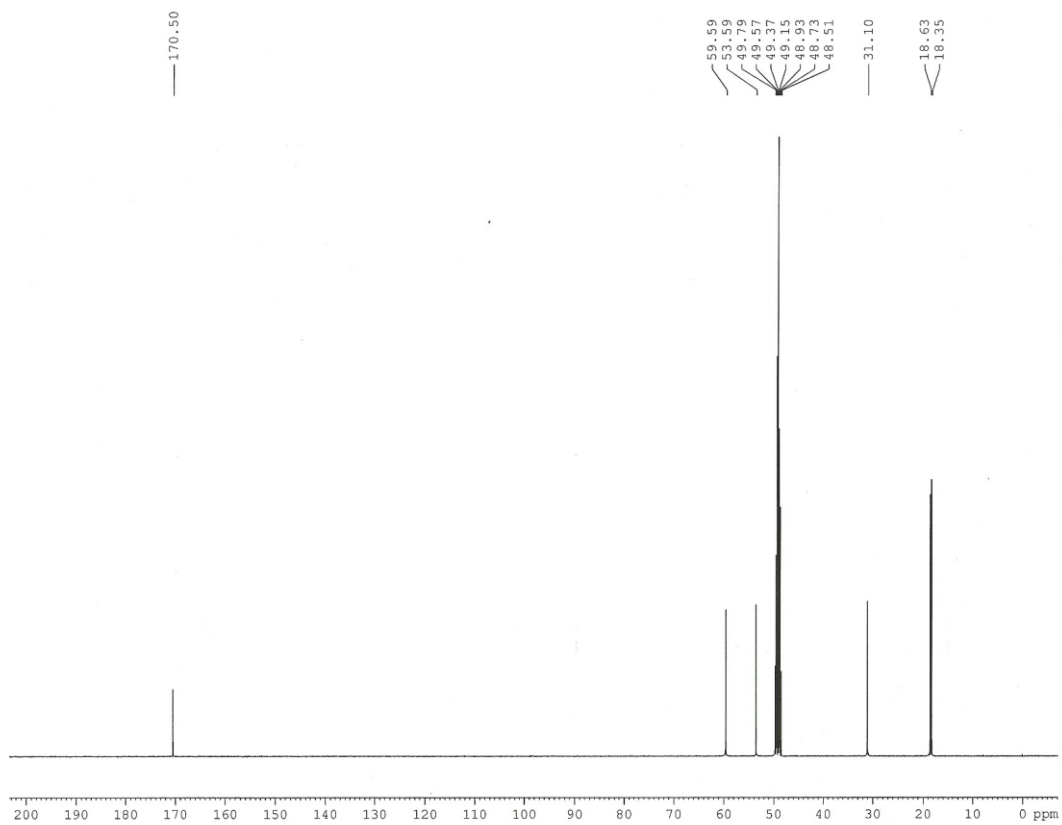


Figura 4.84. Espectro de massa da substância 44c.

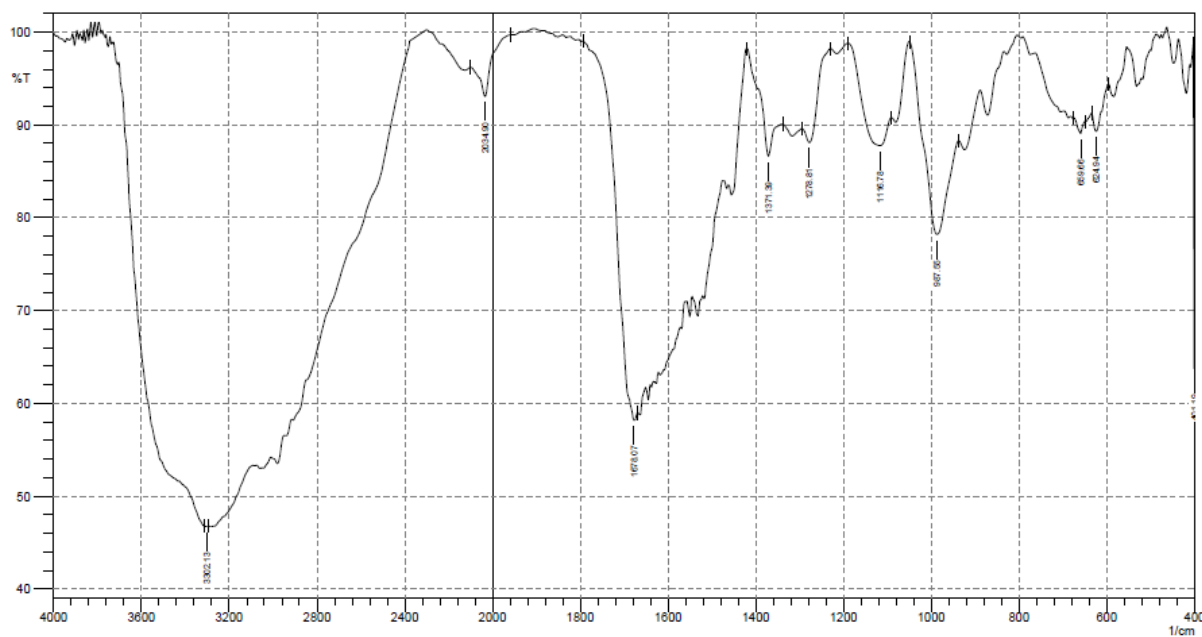


Figura 4.85. Espectro de infravermelho da substância **44c** (Nujol).

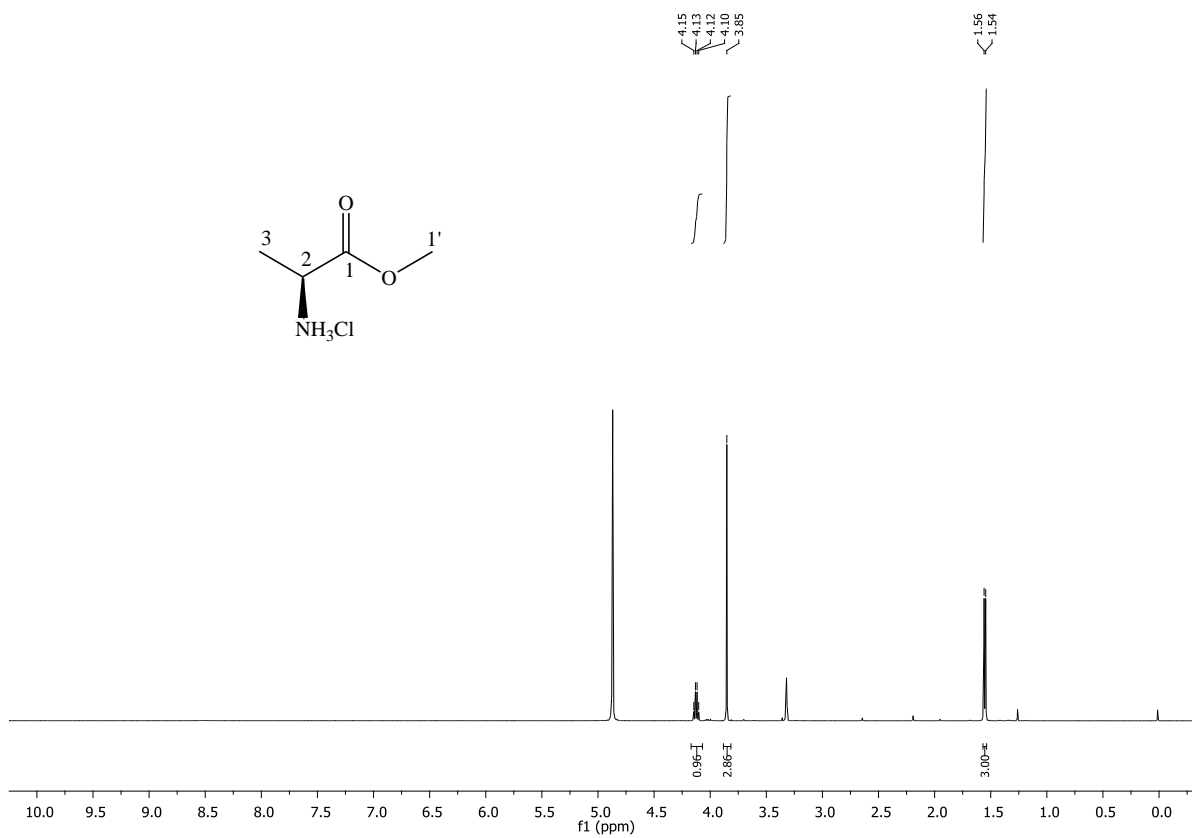


Figura 4.86. Espectro de RMN de ^1H da substância **44c** (CD_3OD , 500 MHz).

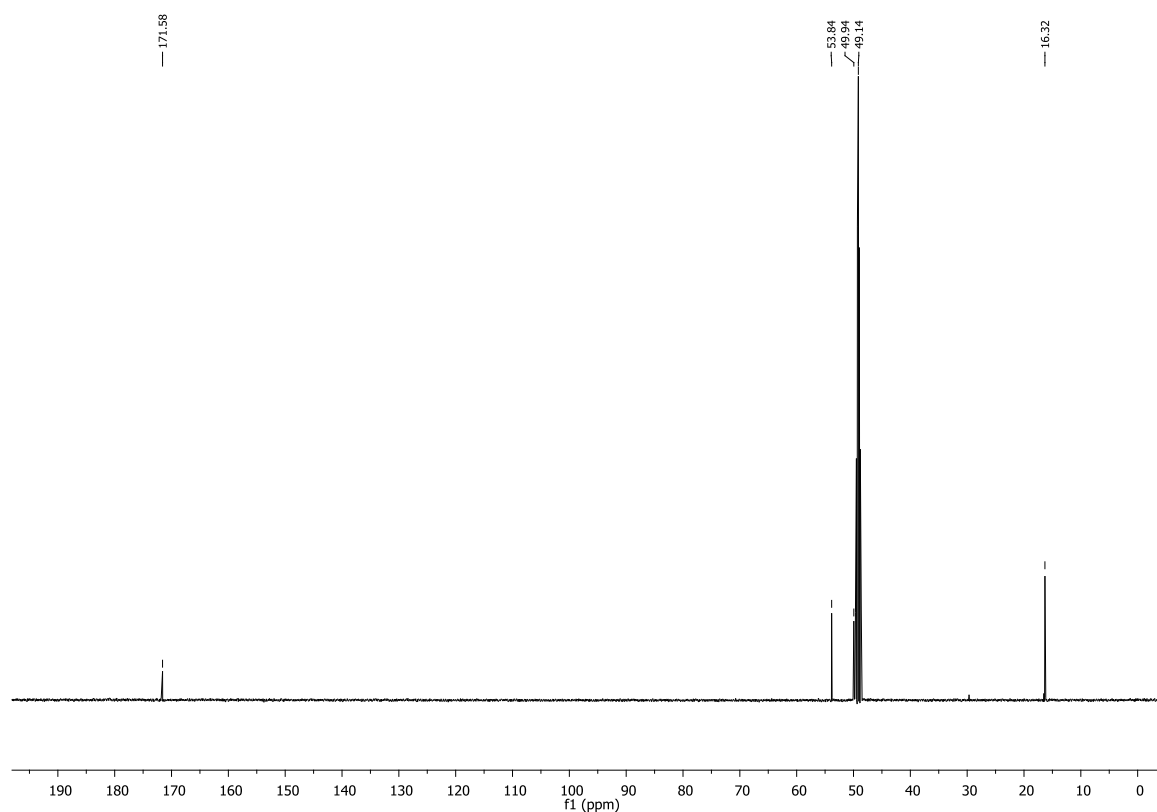


Figura 4.87. Espectro de RMN de ^1H de **44c** (CD_3OD , 125 MHz).

4.2.2. Síntese dos derivados 45a-c protegidos com Boc

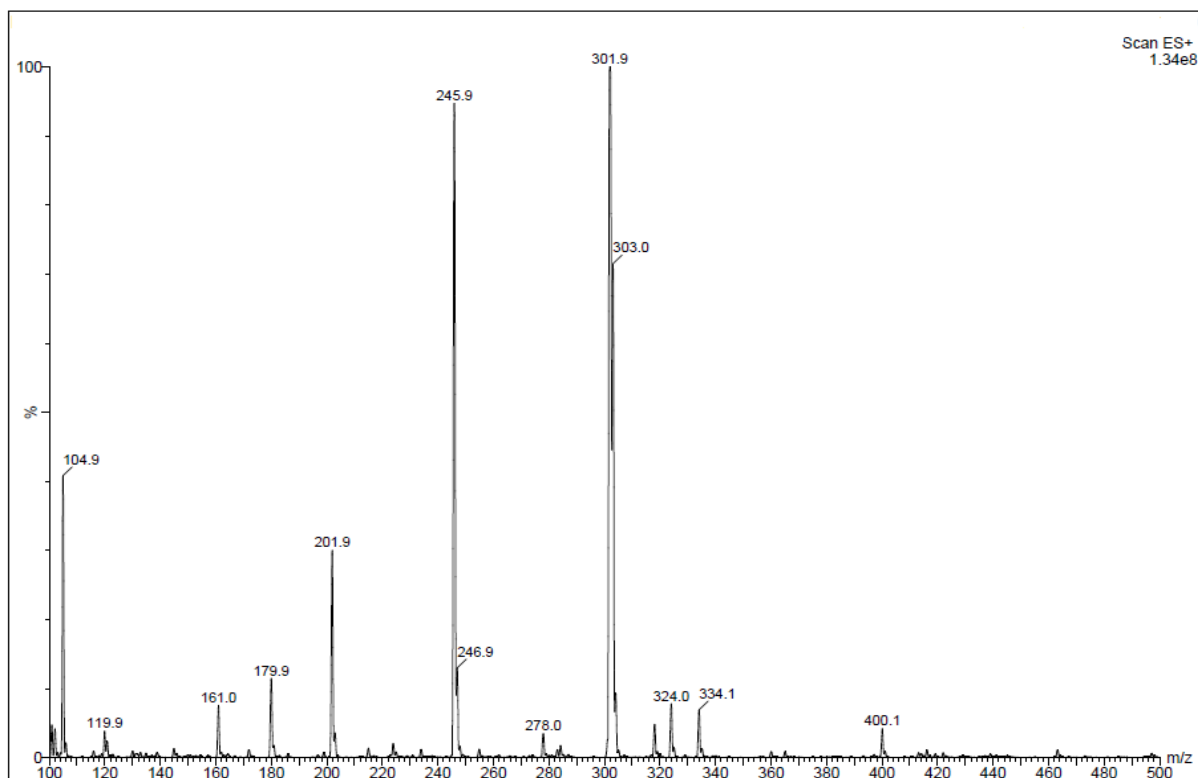


Figura 4.88. Espectro de massa da substância **45a**.

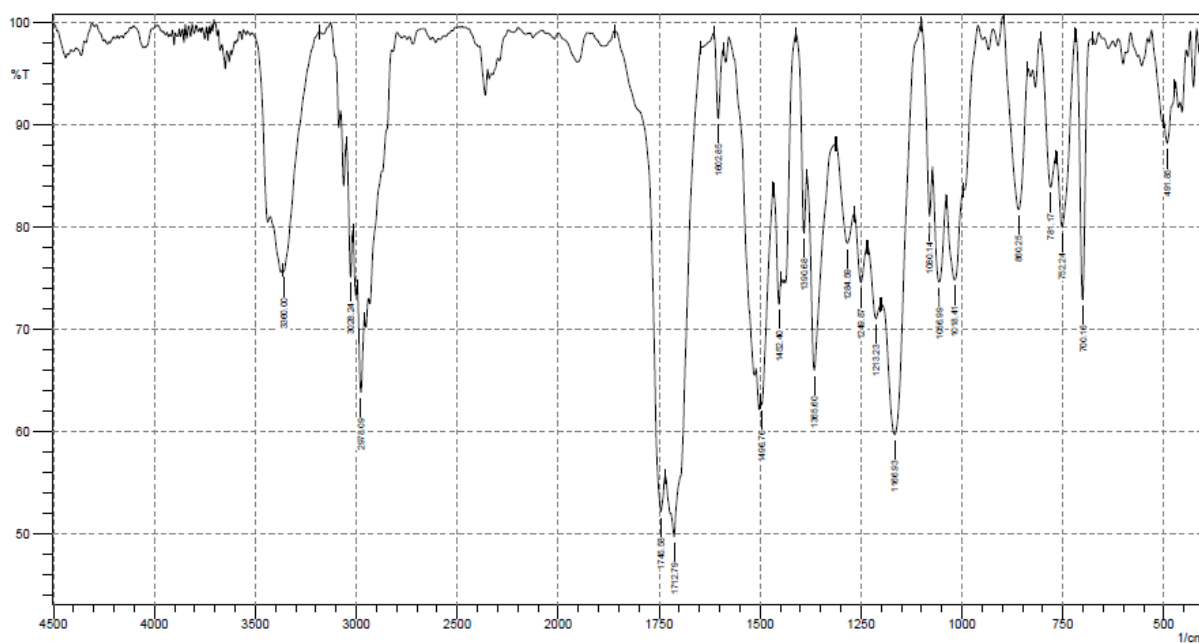


Figura 4.89. Espectro de infravermelho da substância 45a (Nujol).

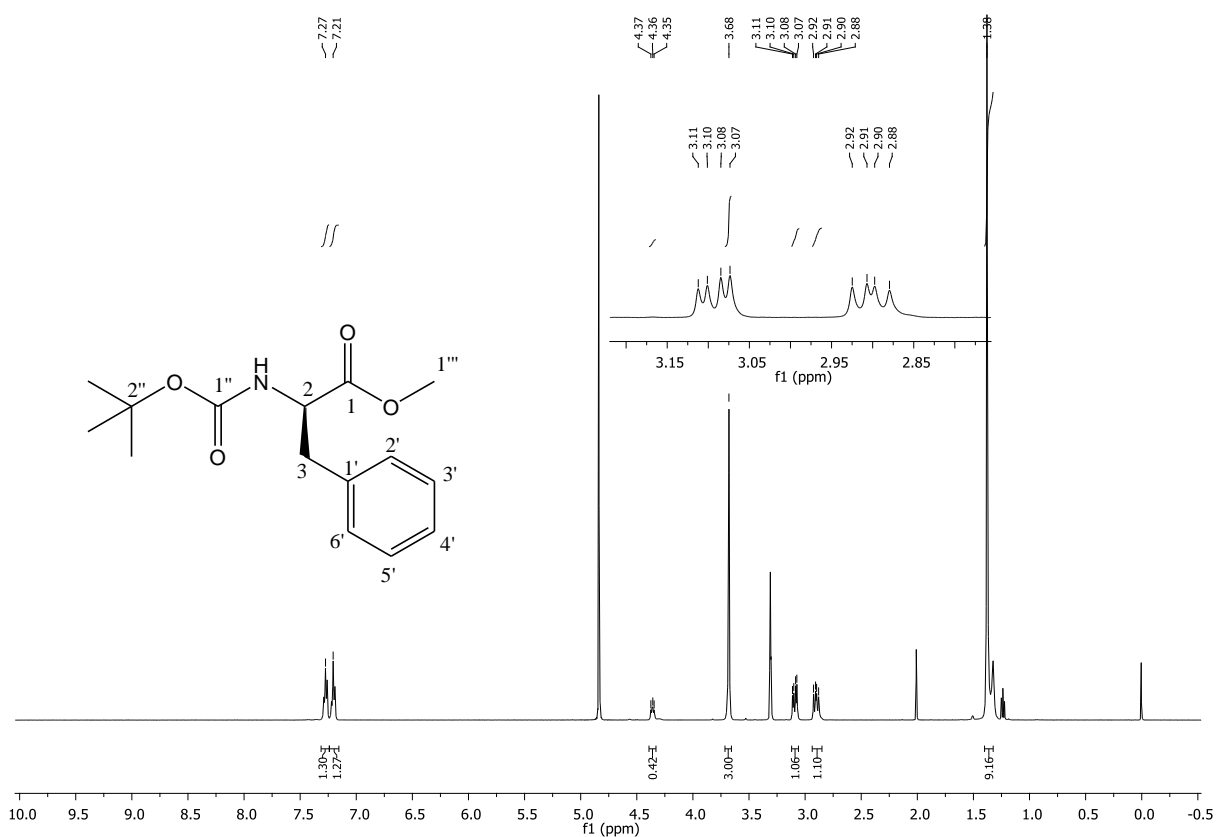


Figura 4.90. Espectro de RMN de ^1H da substância 45a (CD_3OD , 500 MHz).

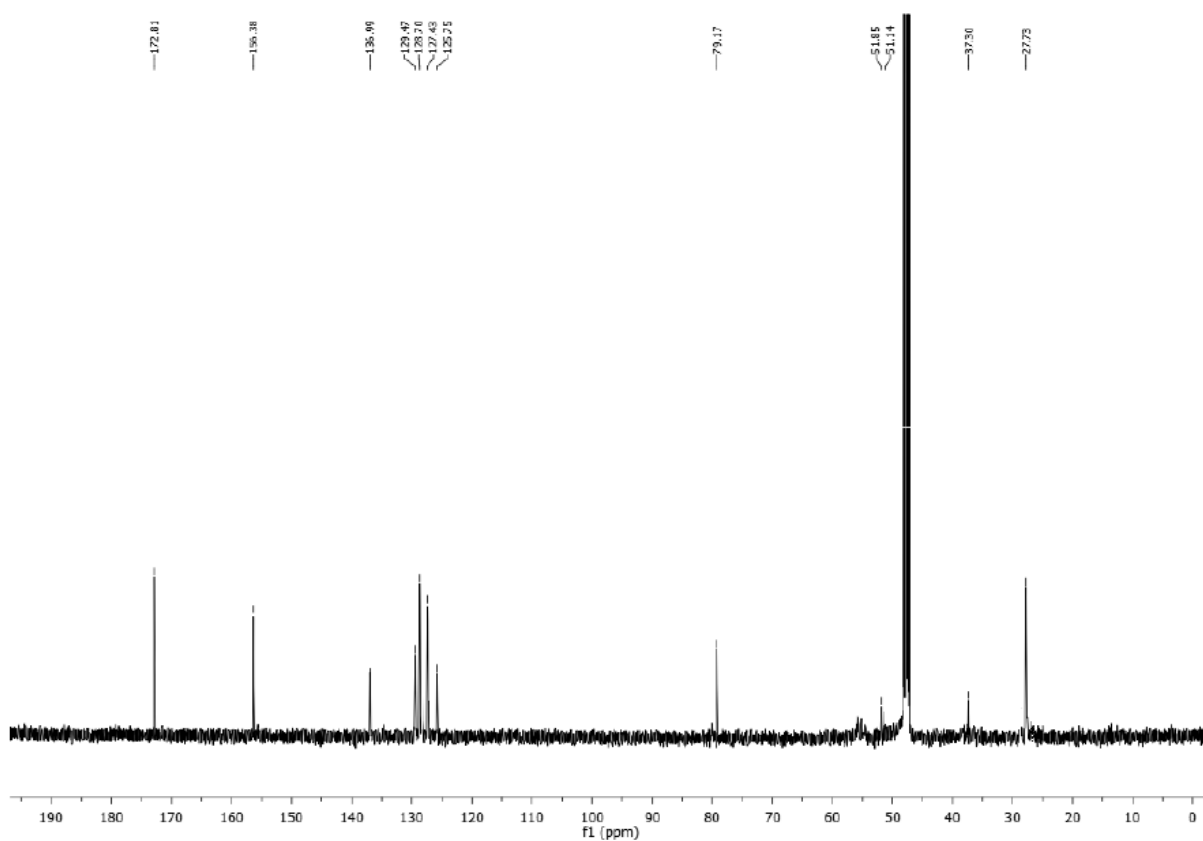


Figura 4.91. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **45a** (CD_3OD , 125 MHz).

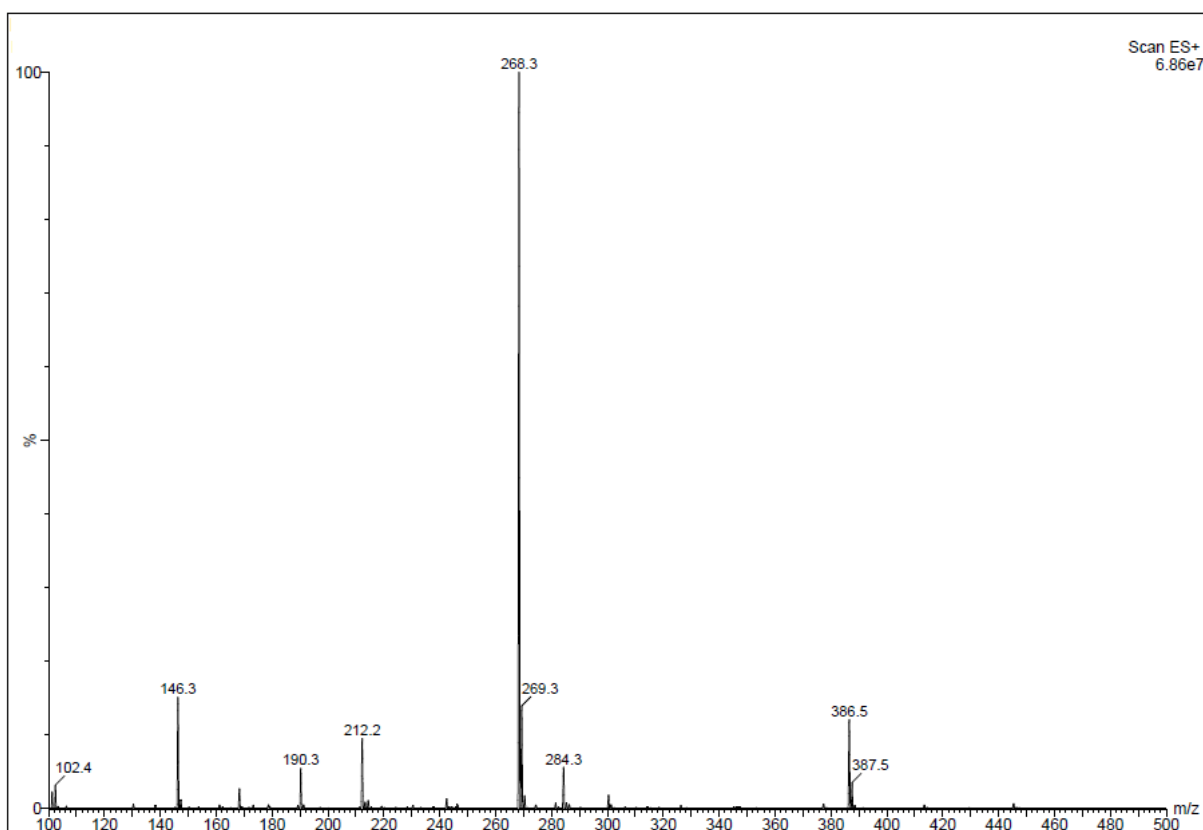


Figura 4.92. Espectro de massa da substância **45b**.

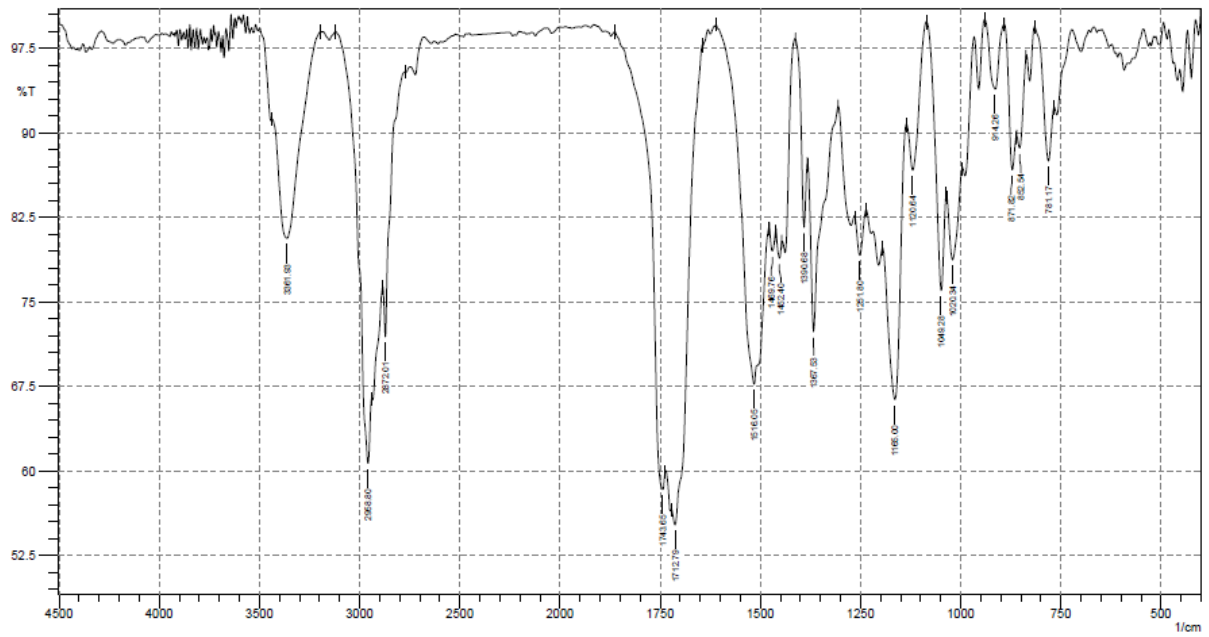


Figura 4.93. Espectro de infravermelho da substância **45b** (Nujol).

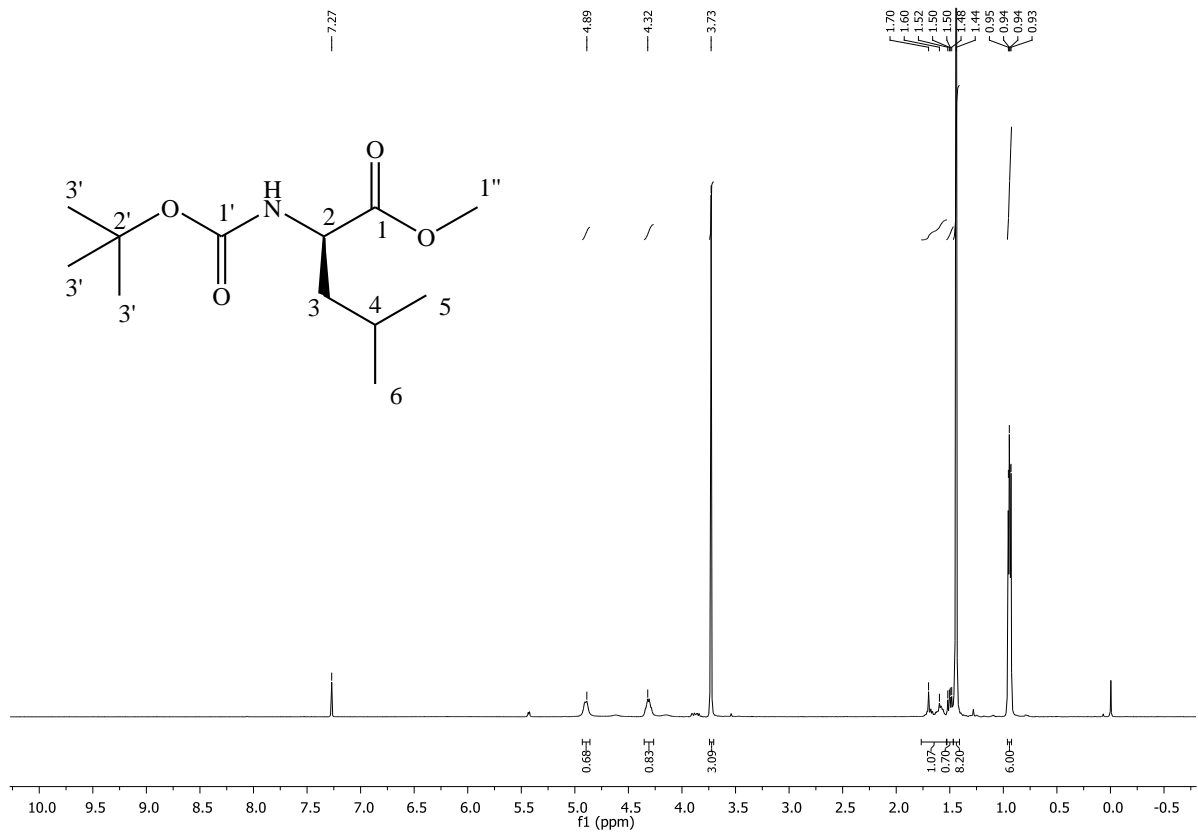


Figura 4.94. Espectro de RMN de ^1H da substância **45b** (CDCl_3 , 500 MHz).

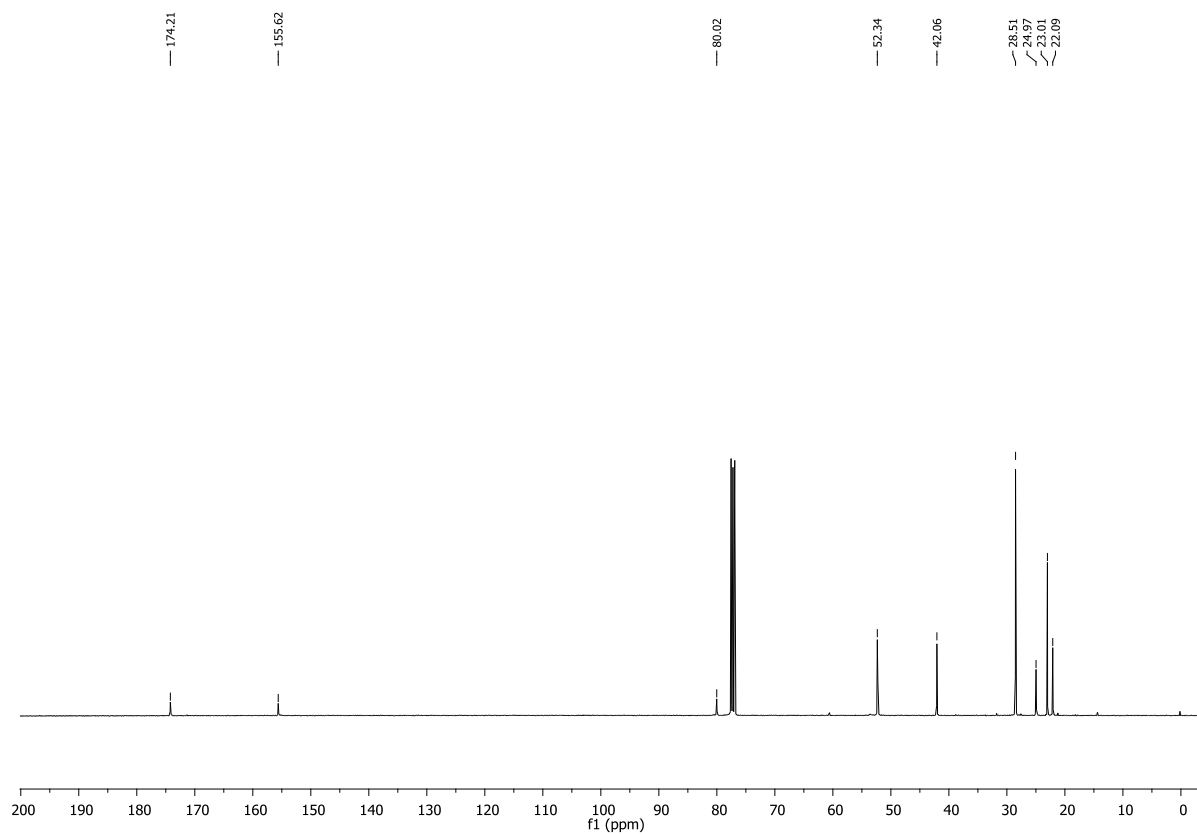


Figura 4.95. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **45b** (CDCl_3 , 125 MHz).

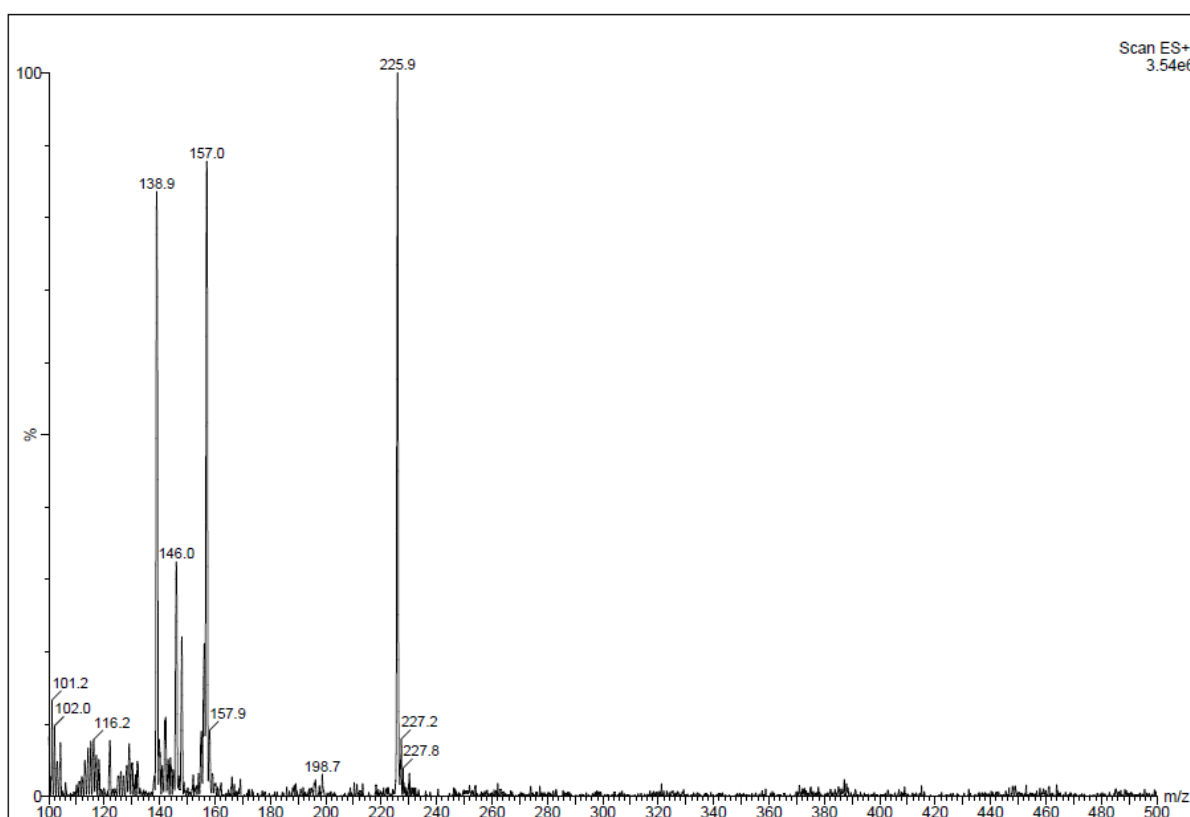


Figura 4.96. Espectro de massa da substância **45c**.

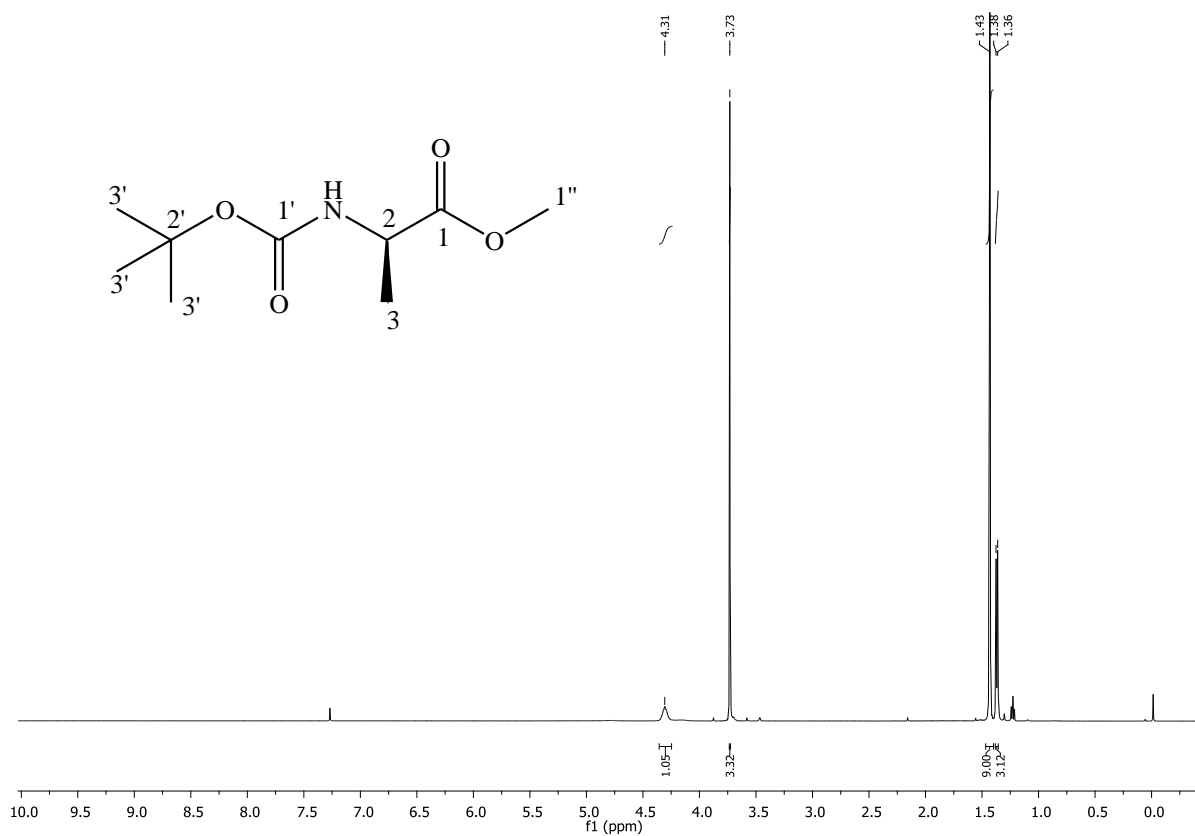


Figura 4.97. Espectro de RMN de ¹H da substância 45c (CDCl₃, 500 MHz).

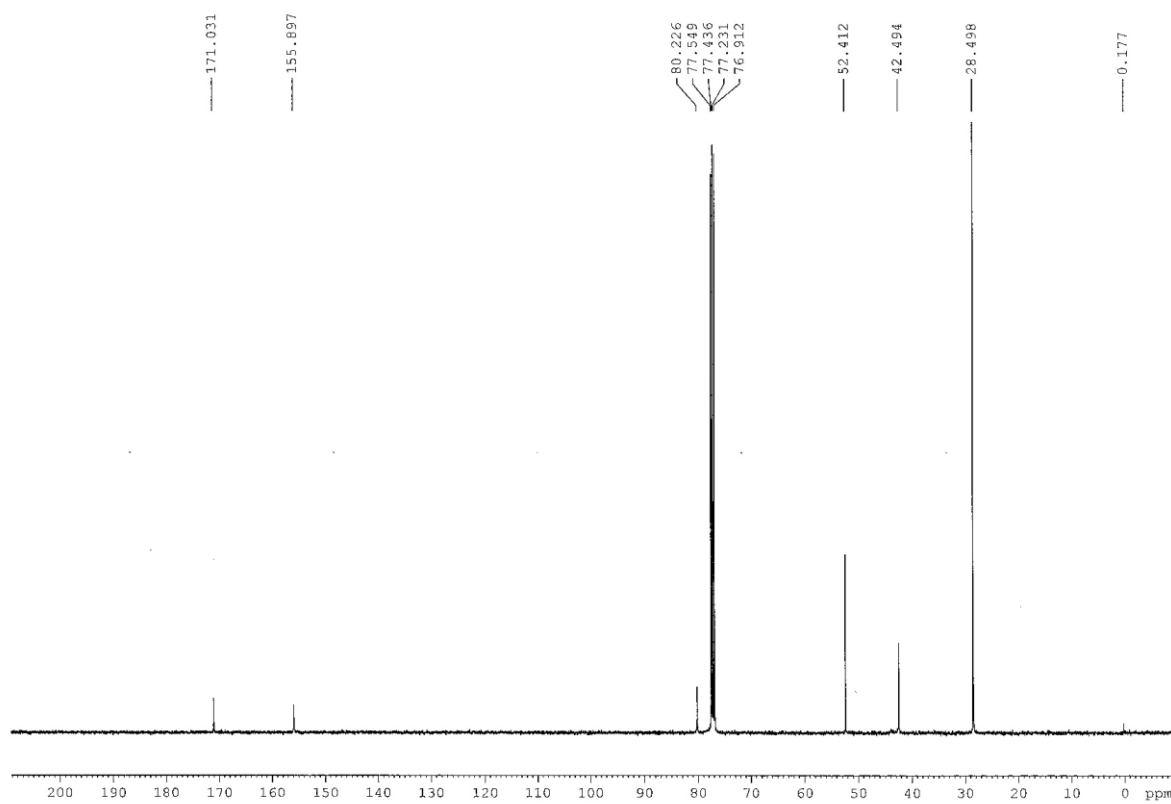


Figura 4.98. Espectro de RMN de ¹³C da substância 45c (CDCl₃, 125 MHz).

4.2.3. Síntese dos derivados 46a-b protegidos com Cbz

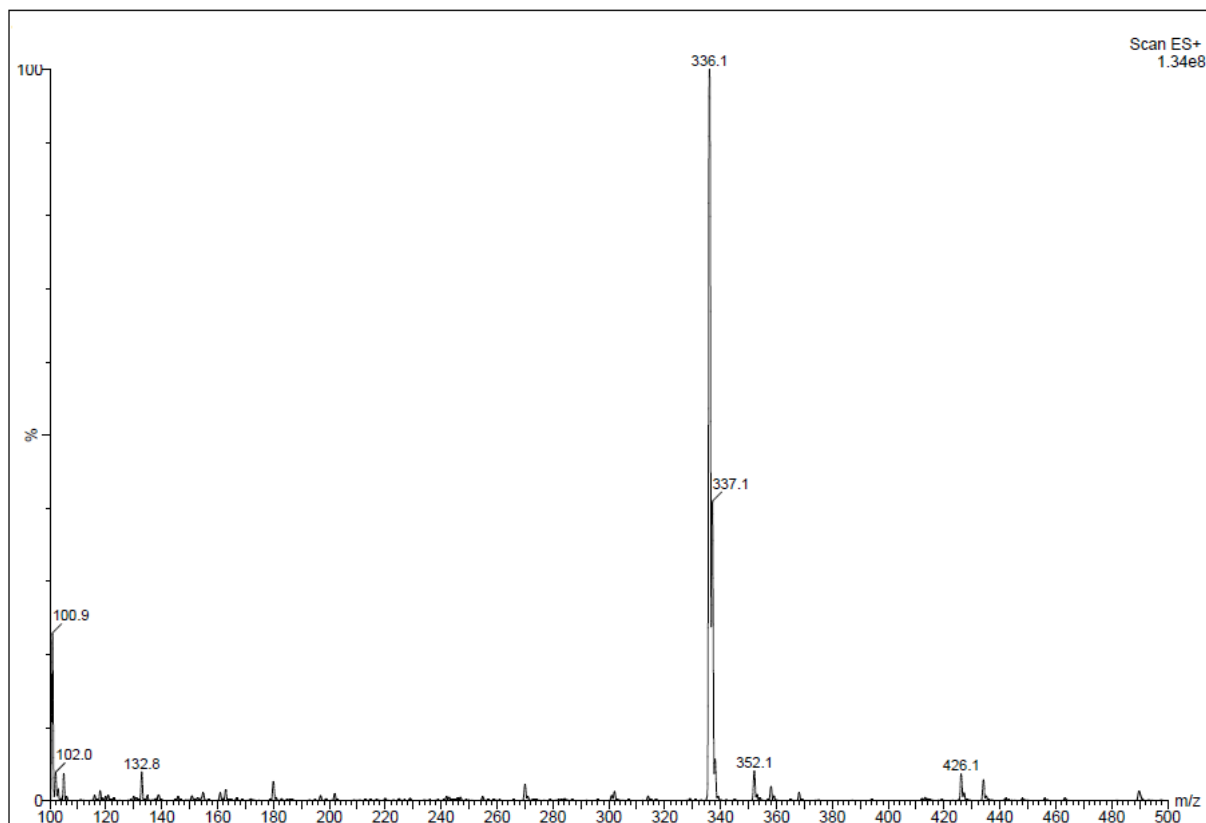


Figura 4.99. Espectro de massa da substância 46a.

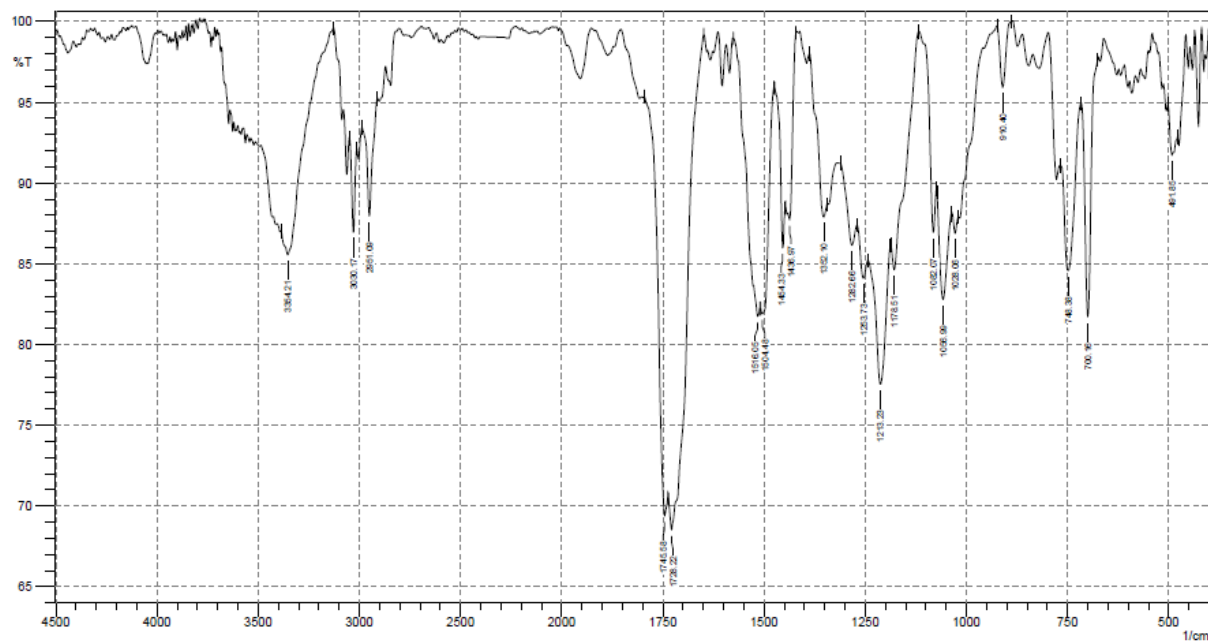


Figura 4.100. Espectro de infravermelho da substância 46a (KBr).

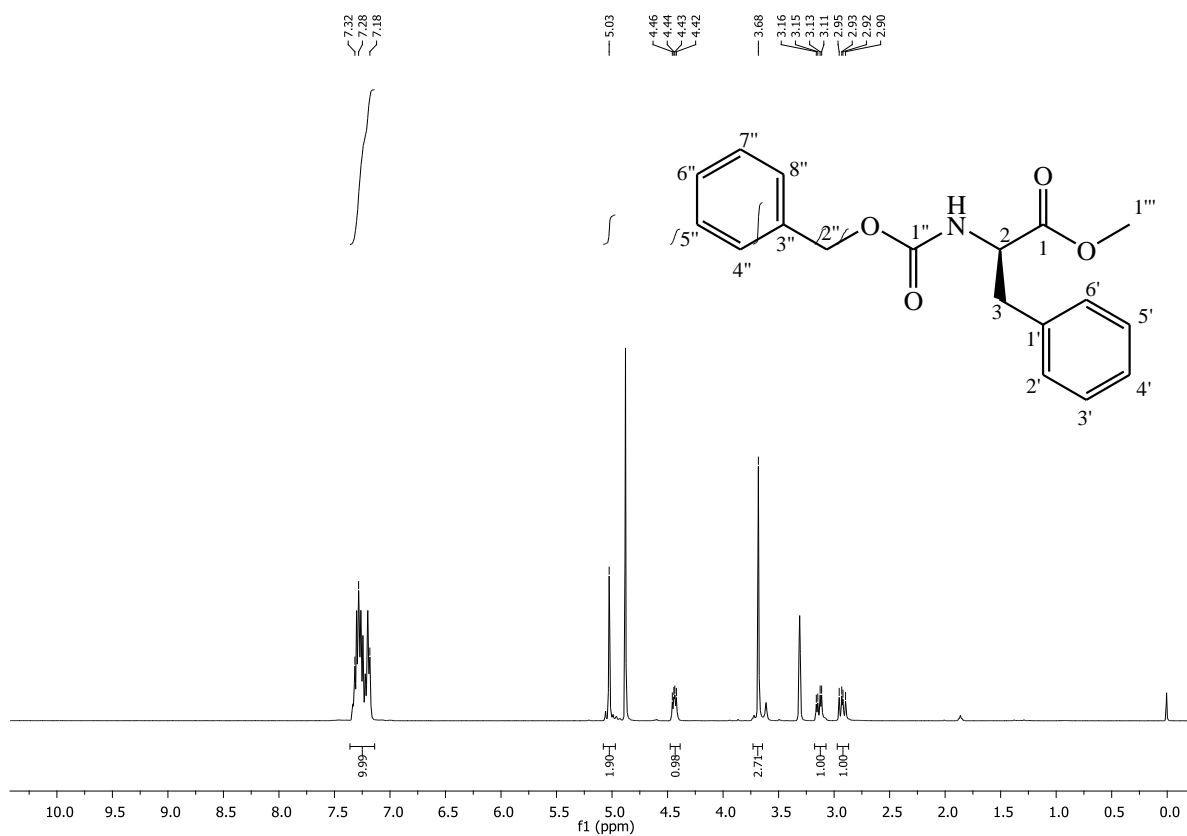


Figura 4.101. Espectro de RMN de ¹H da substância 46c (CD₃OD, 500 MHz).

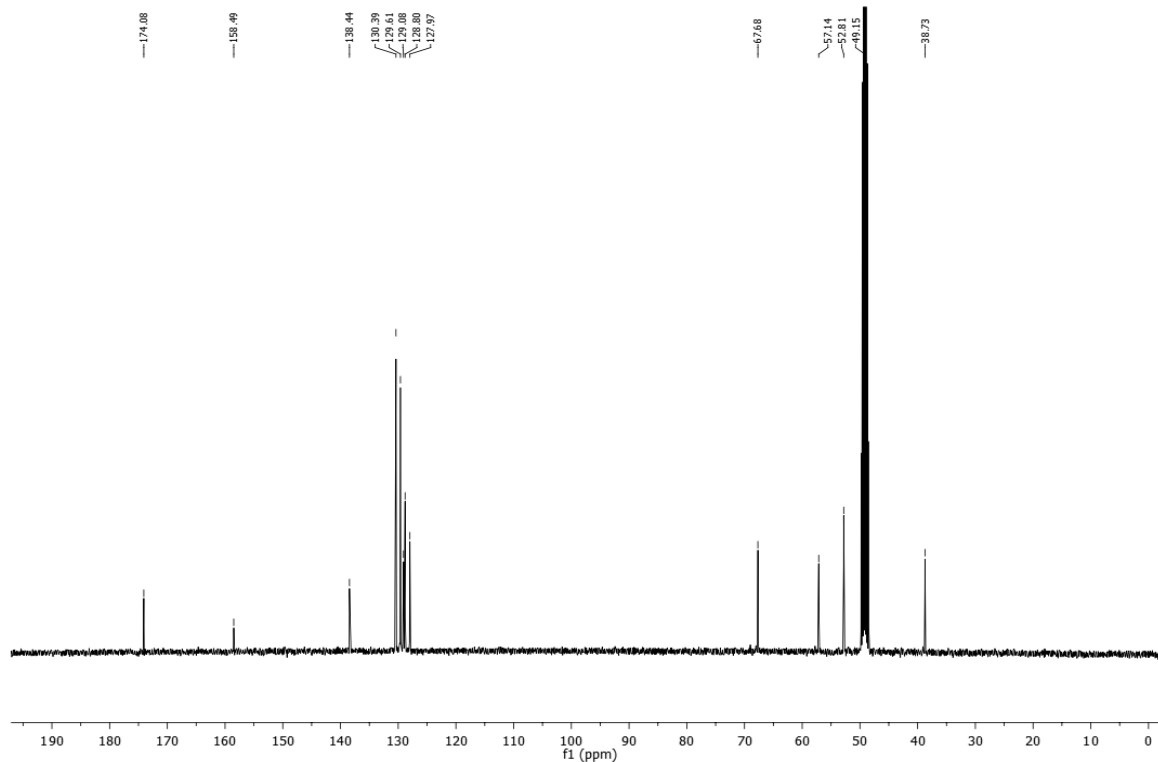


Figura 4.102. Espectro de RMN de ¹³C da substância 46a (CD₃OD, 125 MHz).

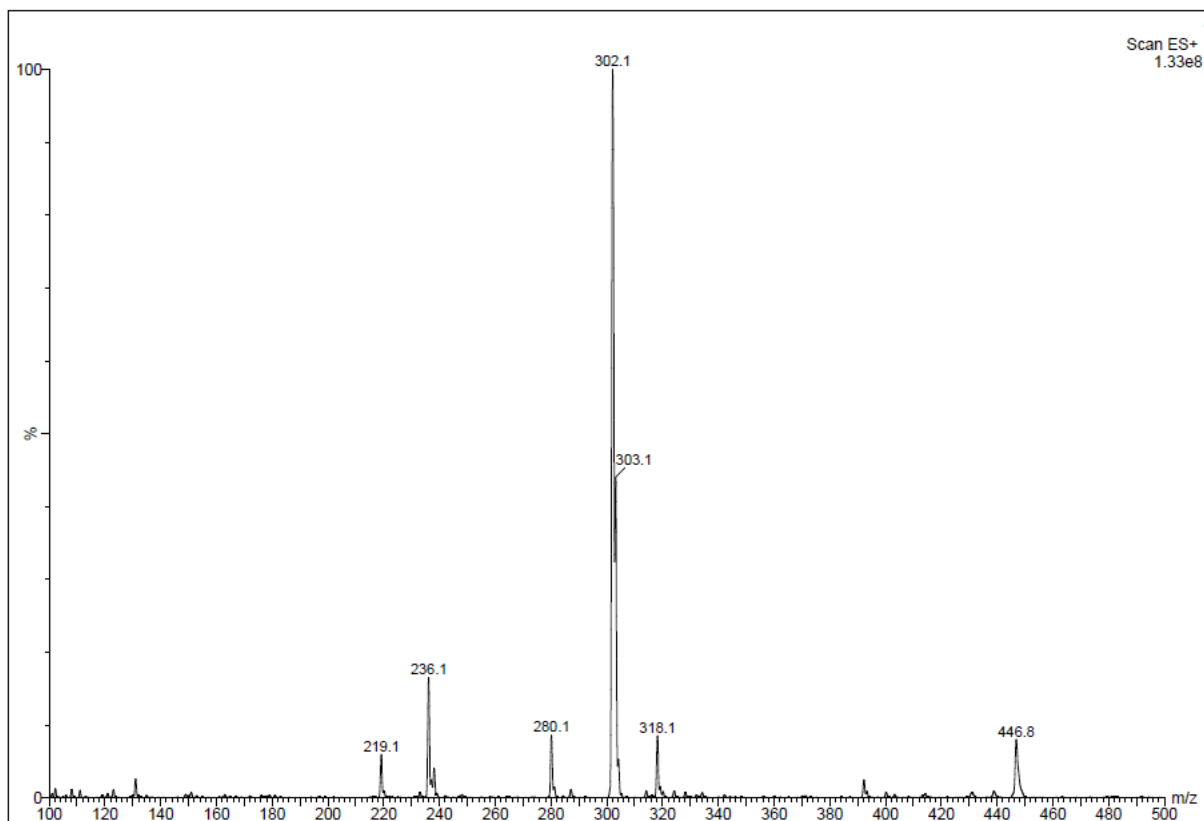


Figura 4.103. Espectro de massa da substância 46b.

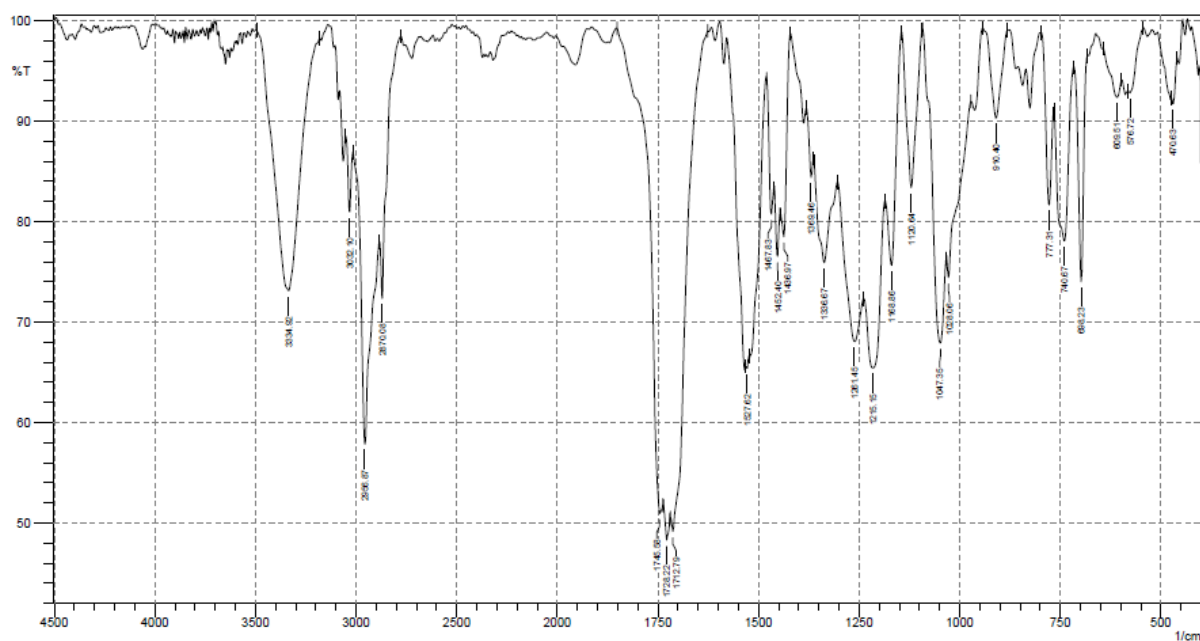


Figura 4.104. Espectro de infravermelho da substância 46b (KBr).

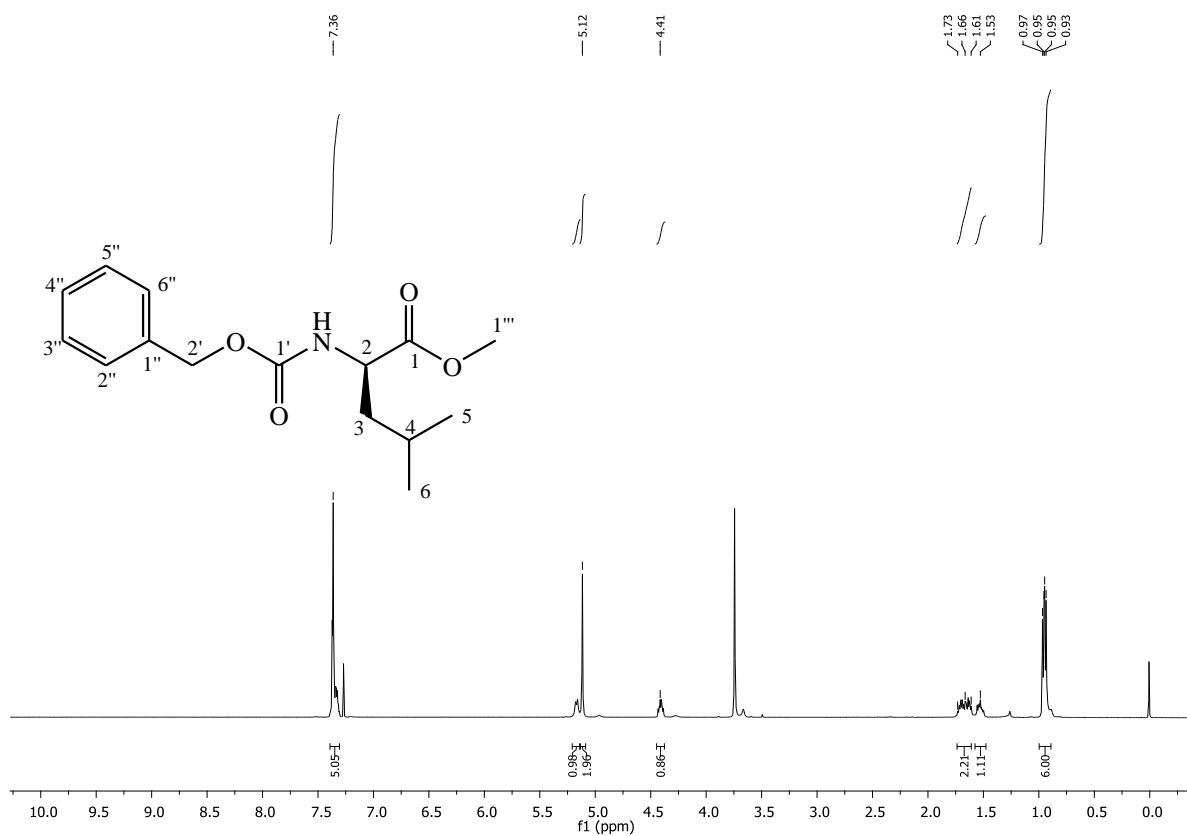


Figura 4.105. Espectro de RMN de ¹H da substância **46b** (CD₃OD, 500 MHz).

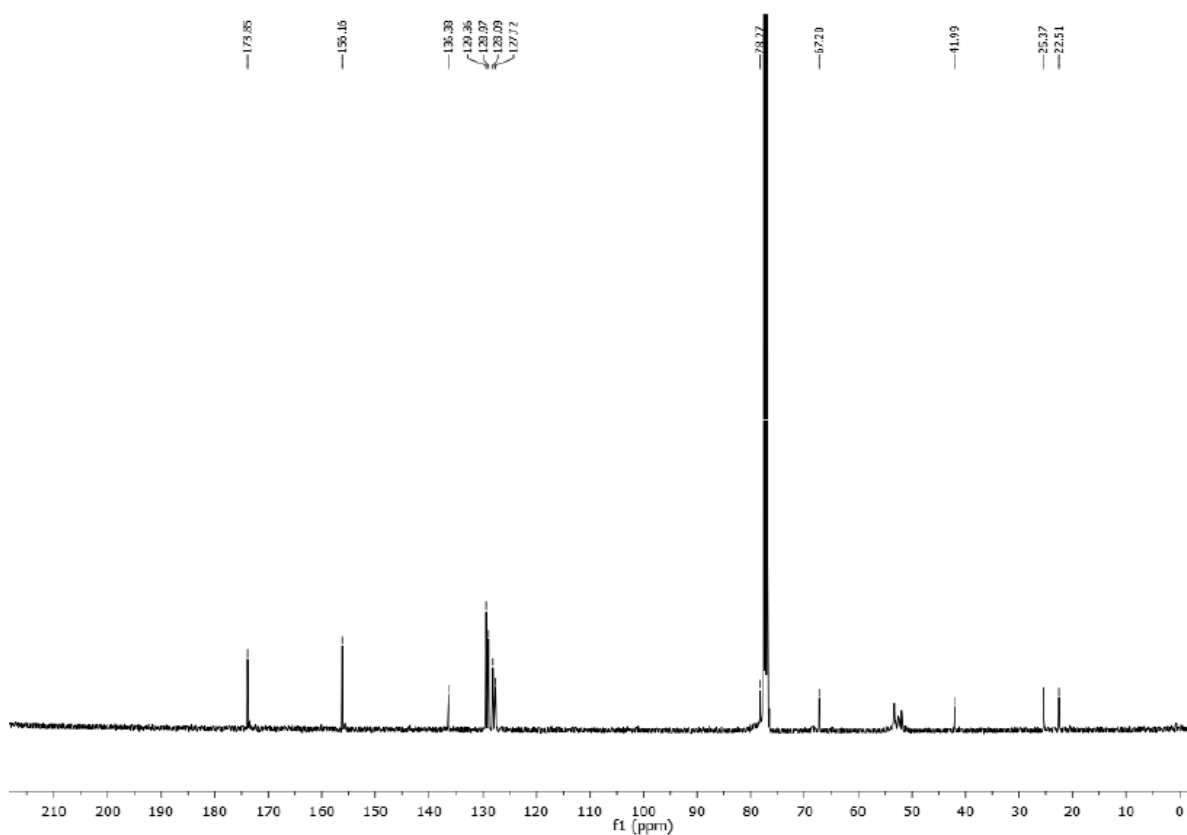


Figura 4.106. Espectro de RMN de ¹³C da substância **46b** (CD₃OD, 125 MHz).

4.2.4. Síntese de *N*-acilidrazinas 47a-g

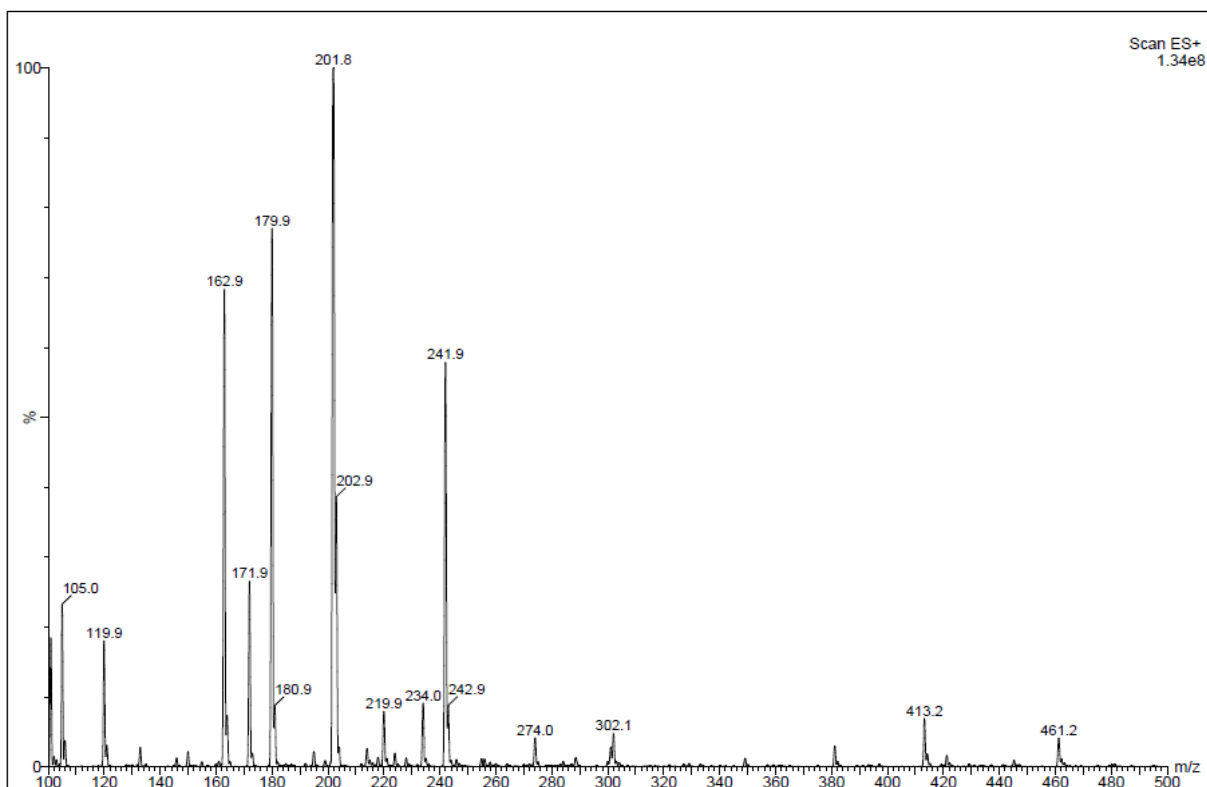


Figura 4.107. Espectro de massa da substância 47a.

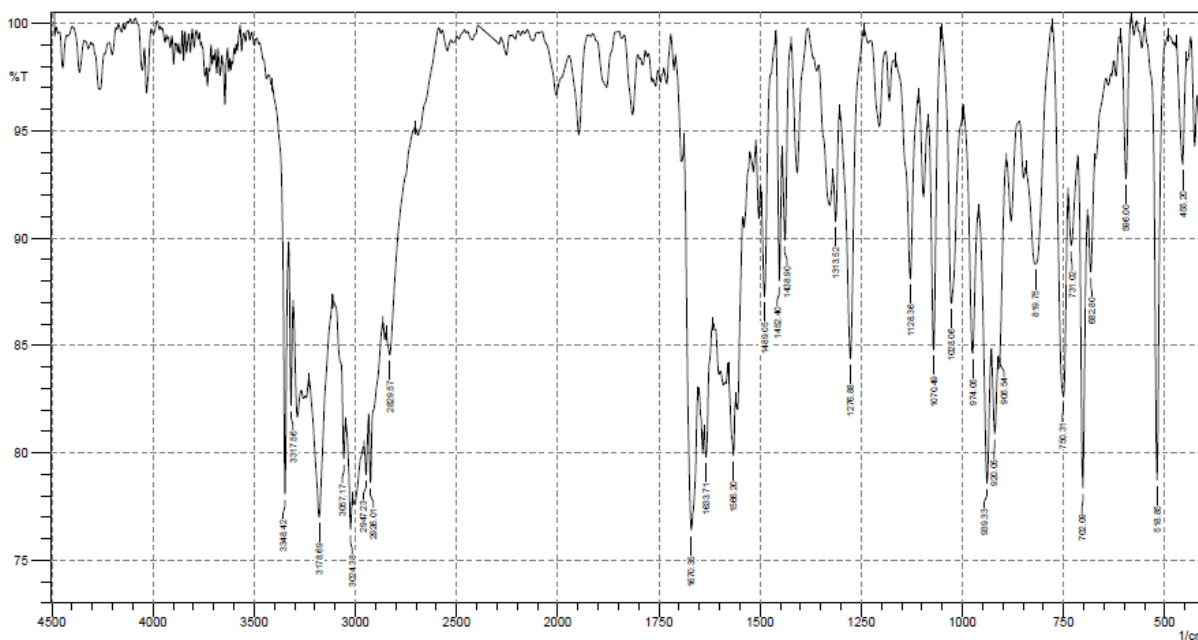


Figura 4.108. Espectro de infravermelho de 47a (KBr).

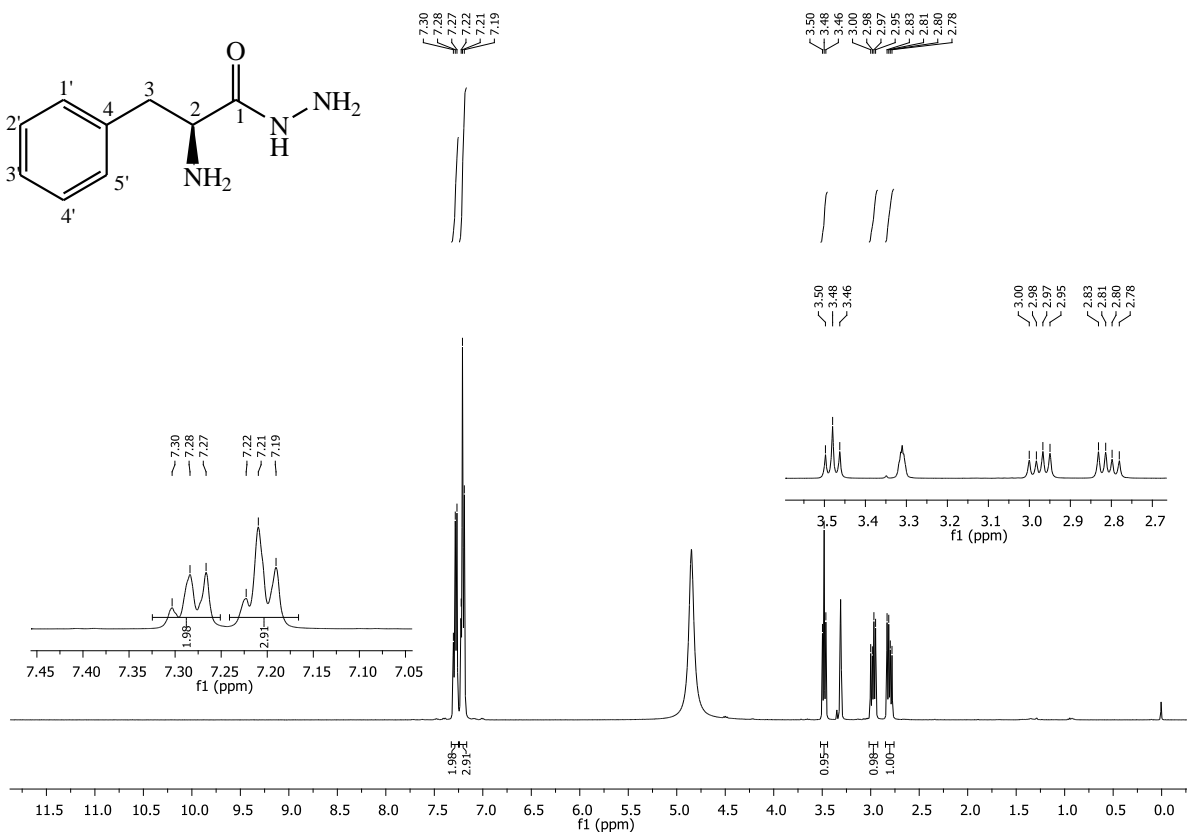


Figura 4.109. Espectro de RMN de ¹H da substância 47a (CD₃OD, 400 MHz).

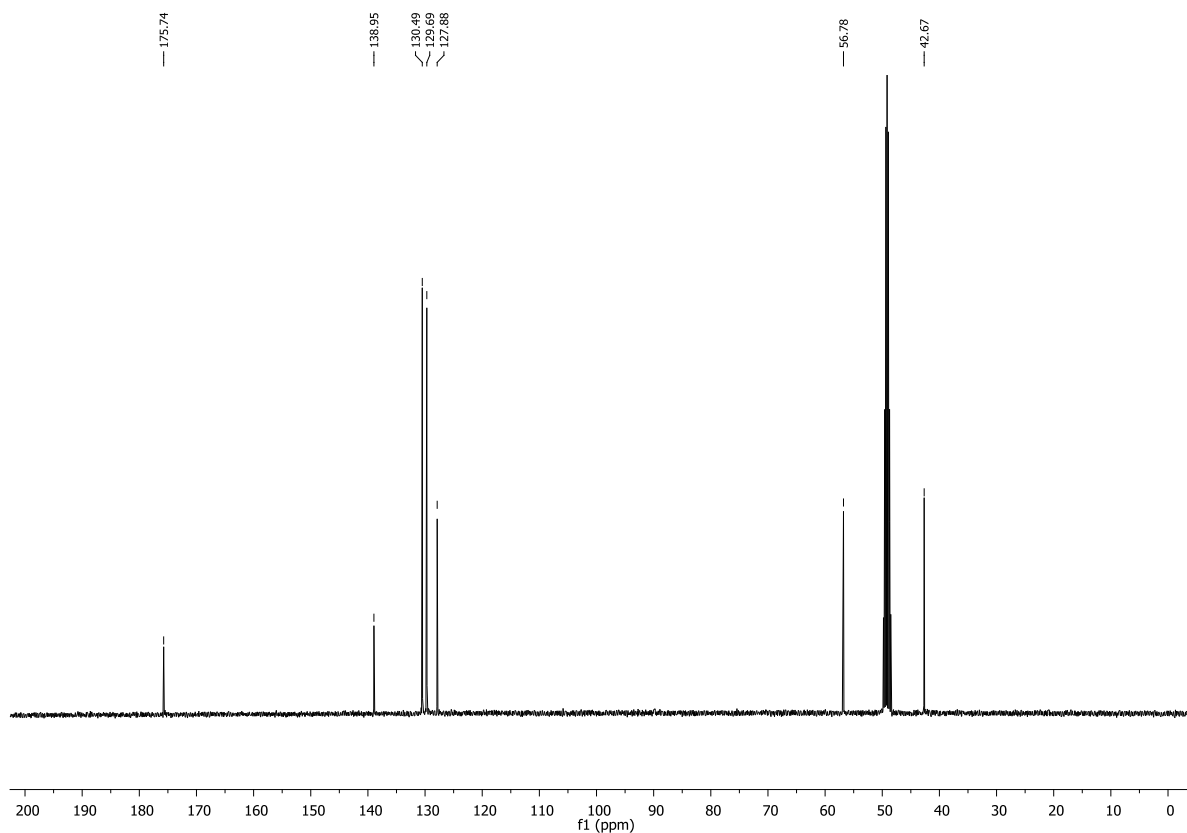


Figura 4.110. Espectro de RMN de ¹³C da substância 47a (CD₃OD, 100 MHz).

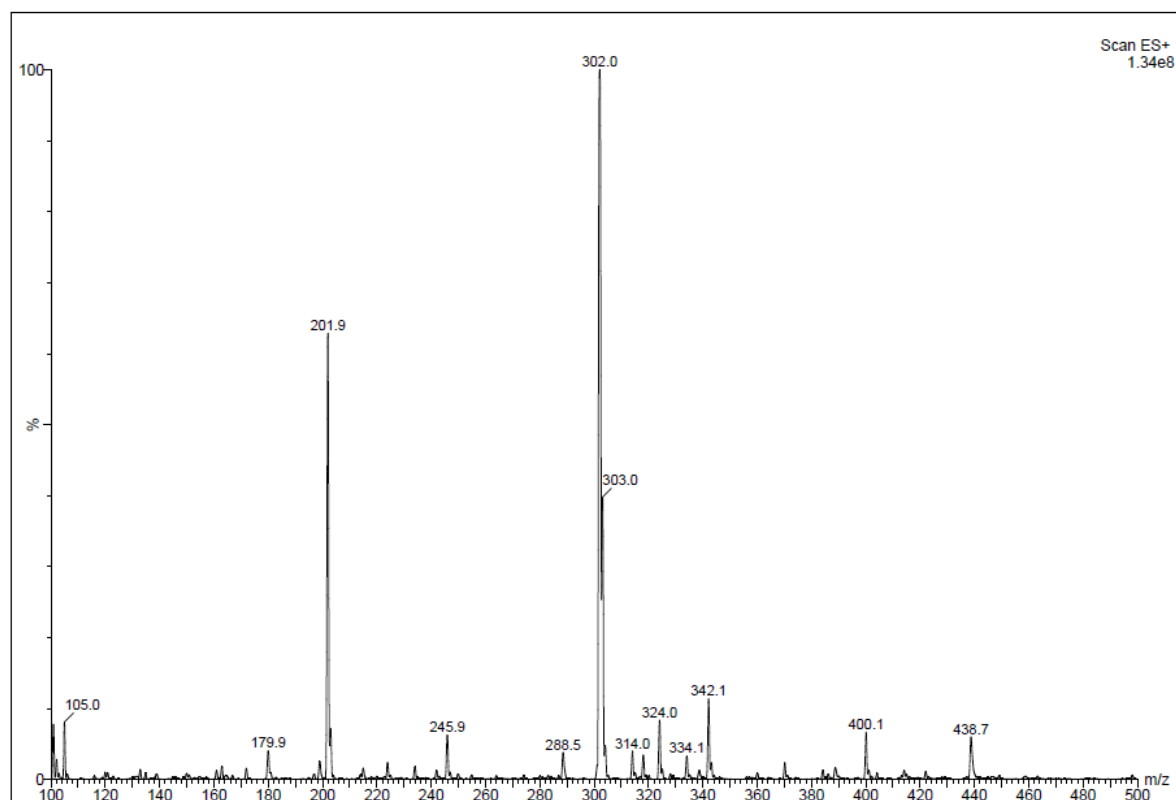


Figura 4.111. Espectro de massa da substância 47b.

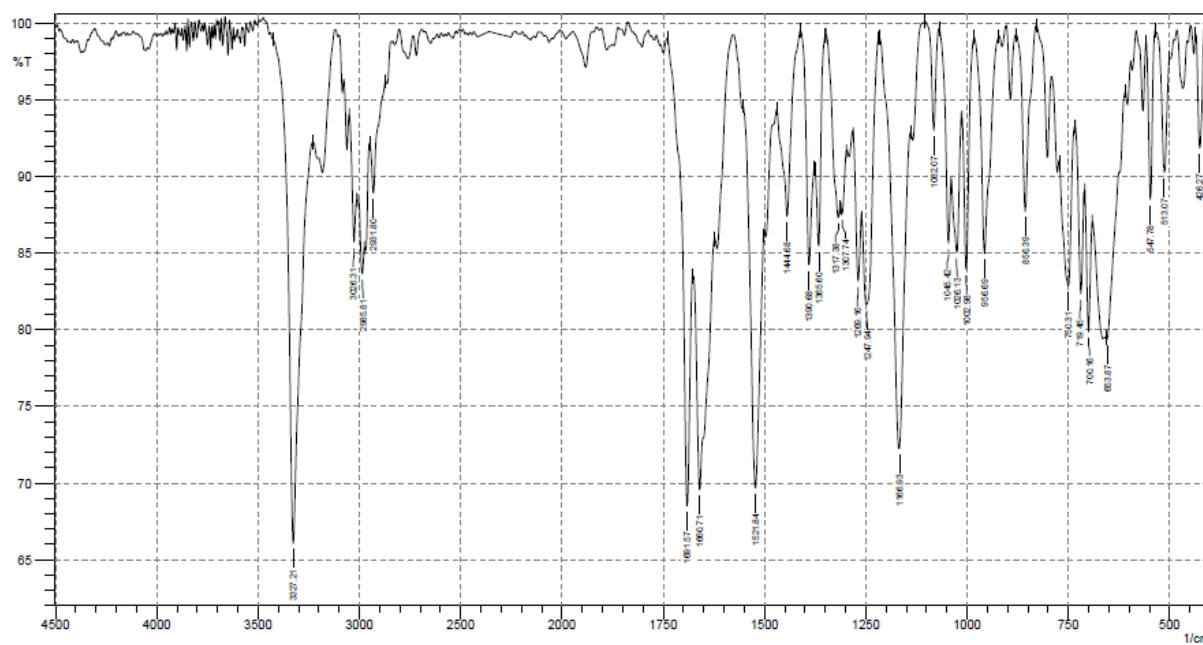


Figura 4.112. Espectro de infravermelho de 47b (KBr).

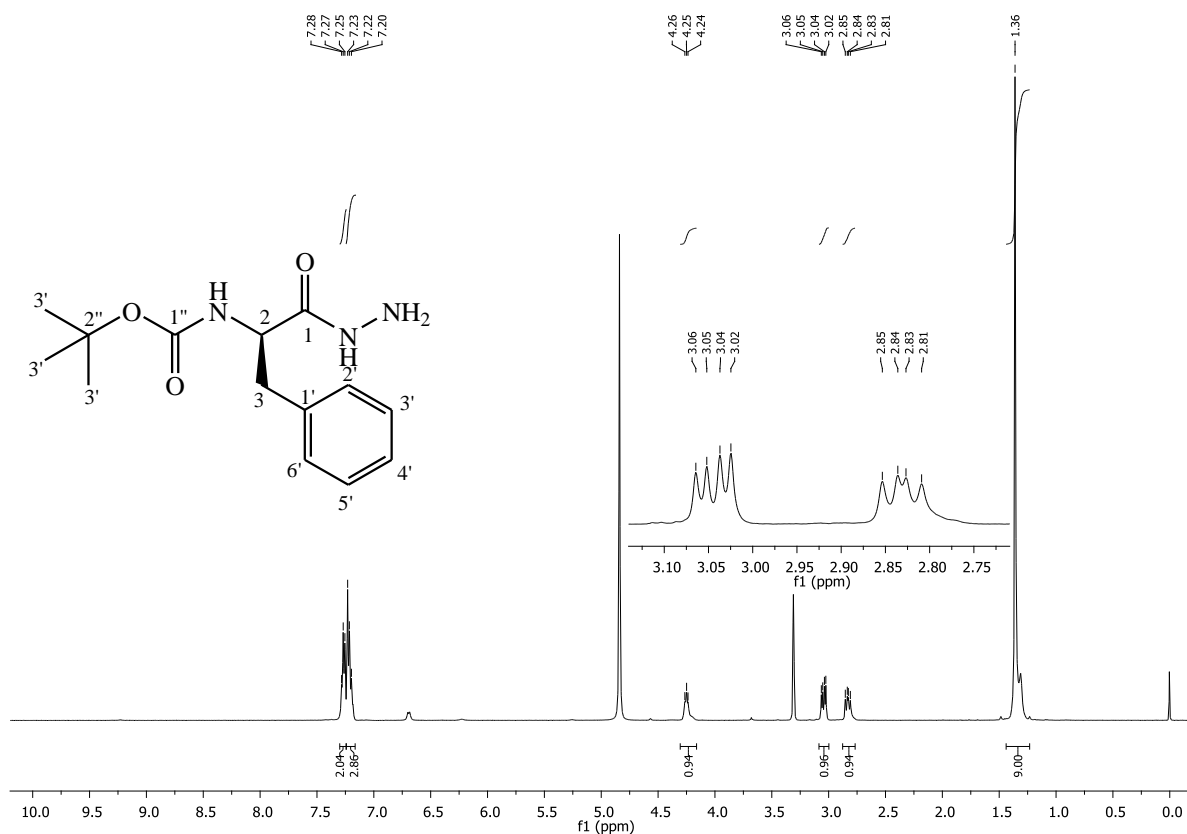


Figura 4.113. Espectro de RMN de ^1H da substância **47b** (CD₃OD, 500 MHz).

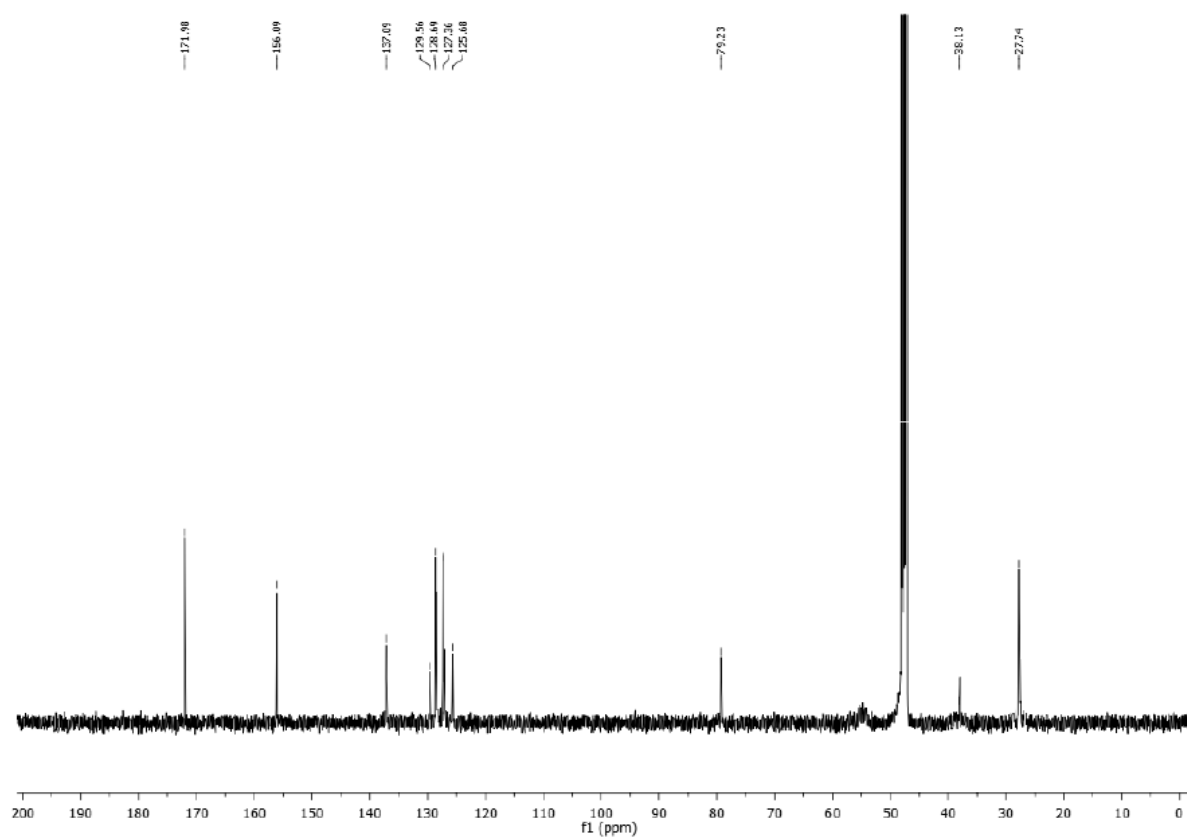


Figura 4.114. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **47b** (CD₃OD, 125 MHz).

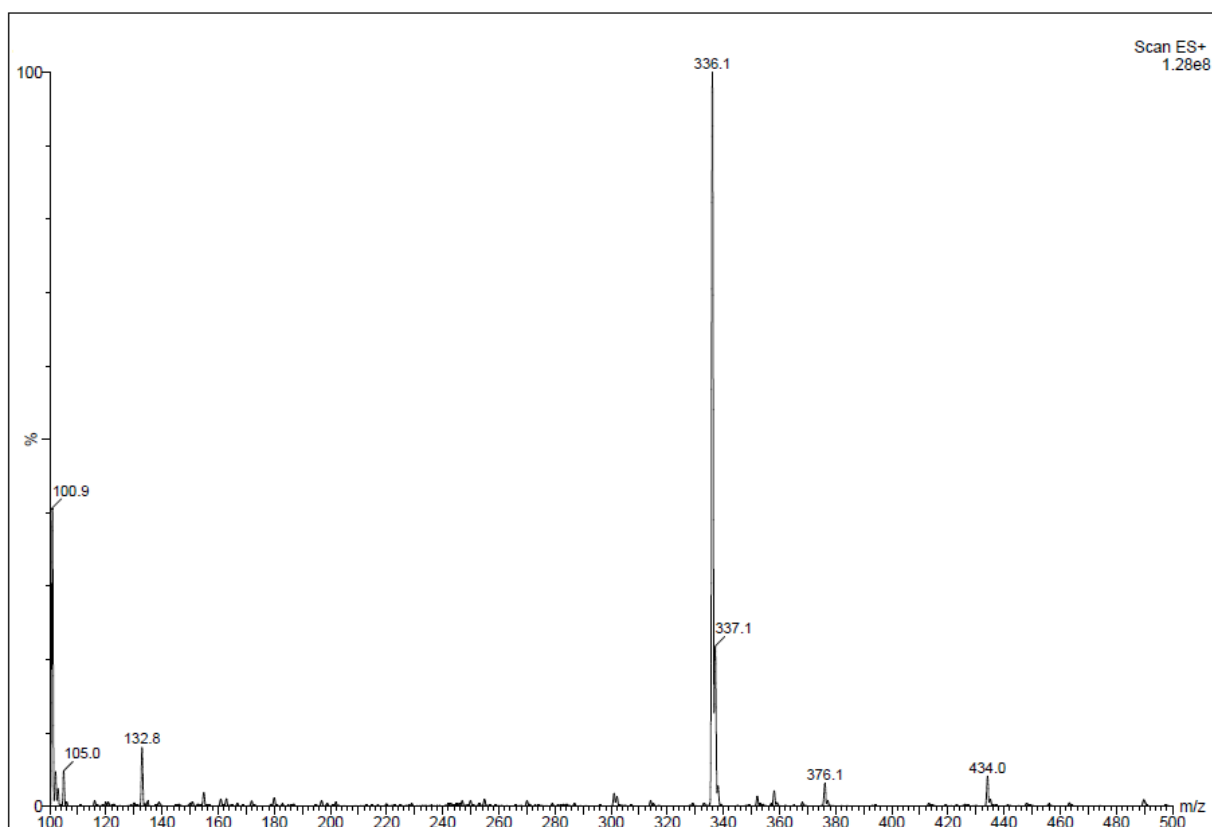


Figura 4.115. Espectro de massa da substância 47c.

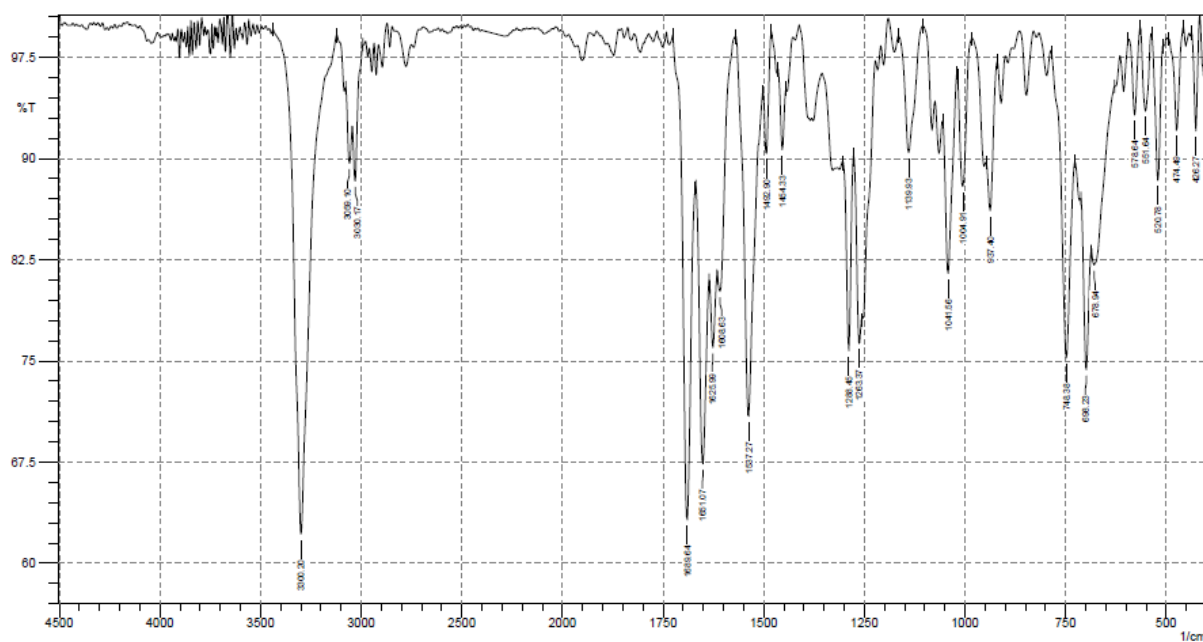


Figura 4.116. Espectro de infravermelho de 47c (KBr).

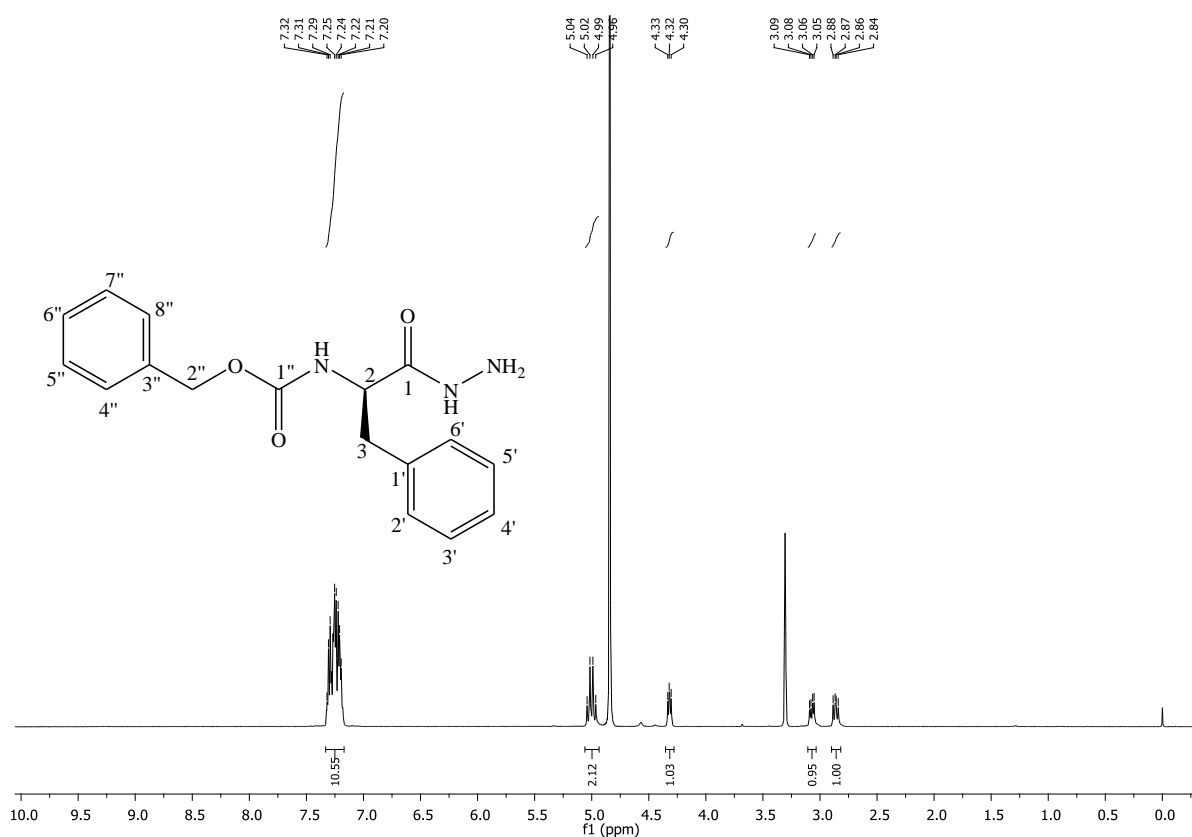


Figura 4.117. Espectro de RMN de ¹H da substância 47c (CD₃OD, 500 MHz).

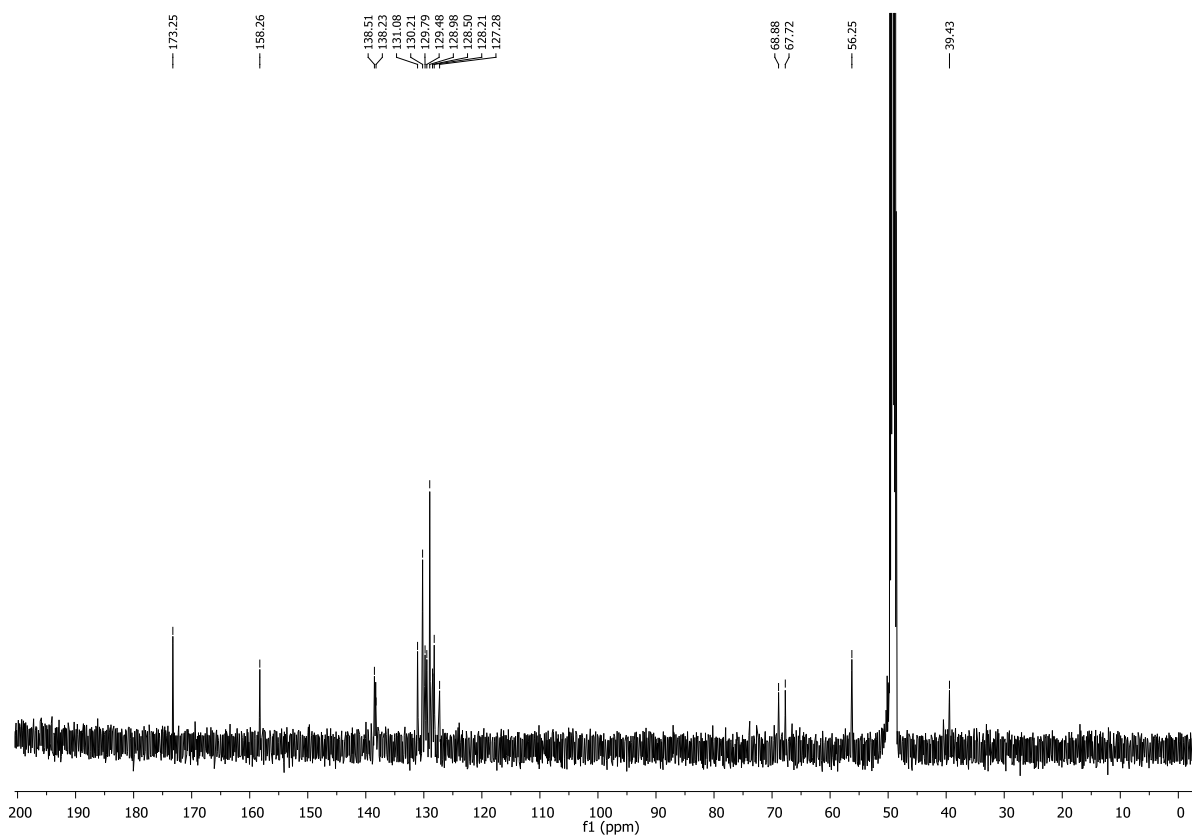


Figura 4.118. Espectro de RMN de ¹³C da substância 47c (CD₃OD, 125 MHz).

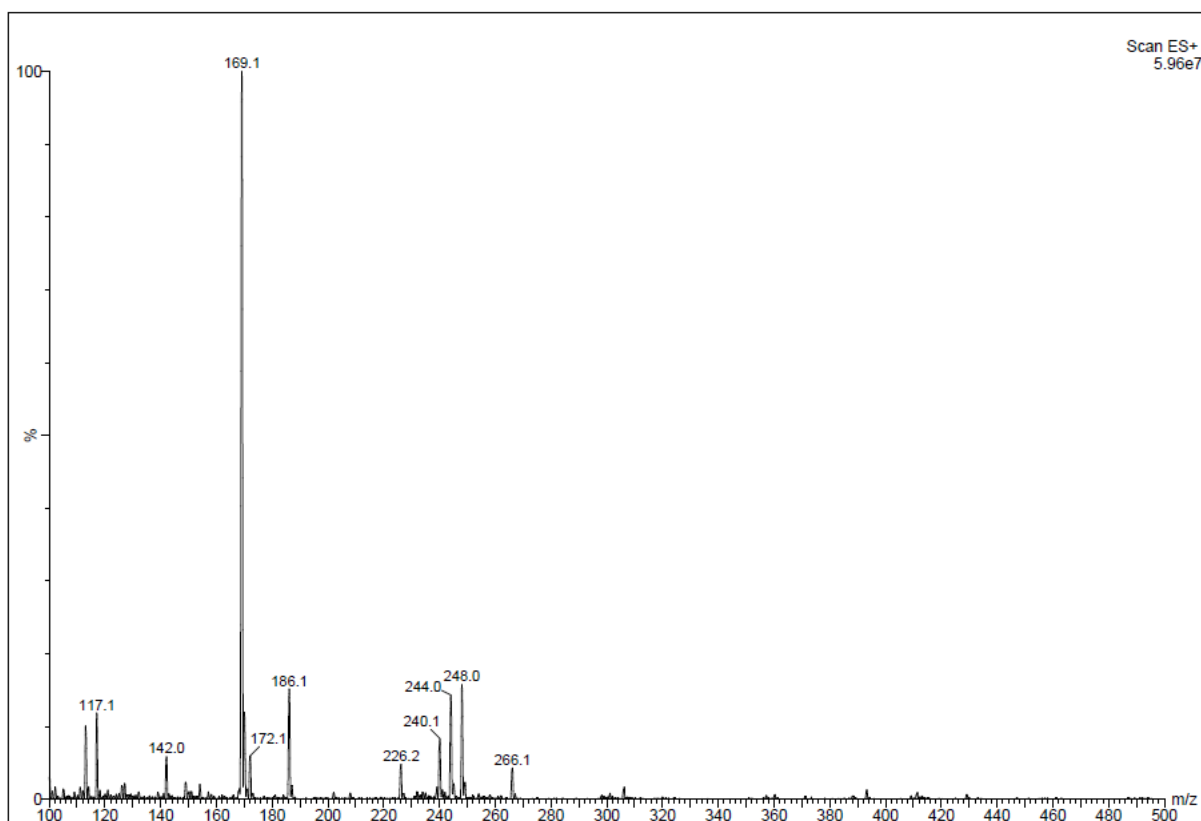


Figura 4.119. Espectro de massa da substância 47d.

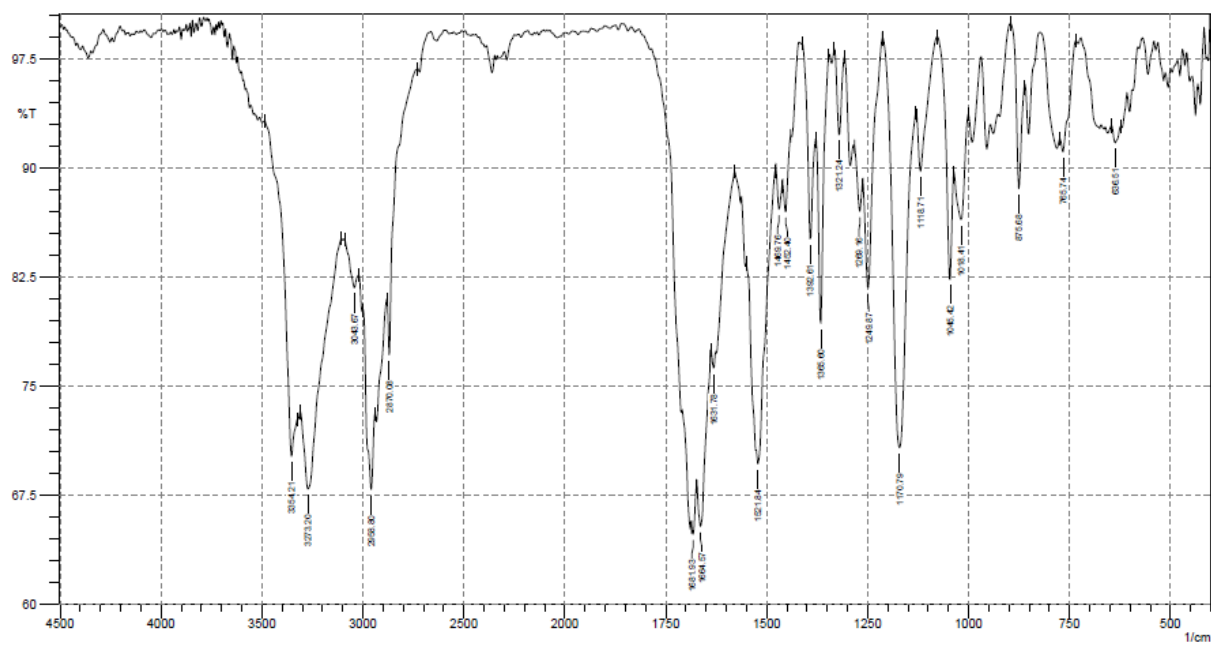


Figura 4.120. Espectro de infravermelho da substância 47d (KBr).

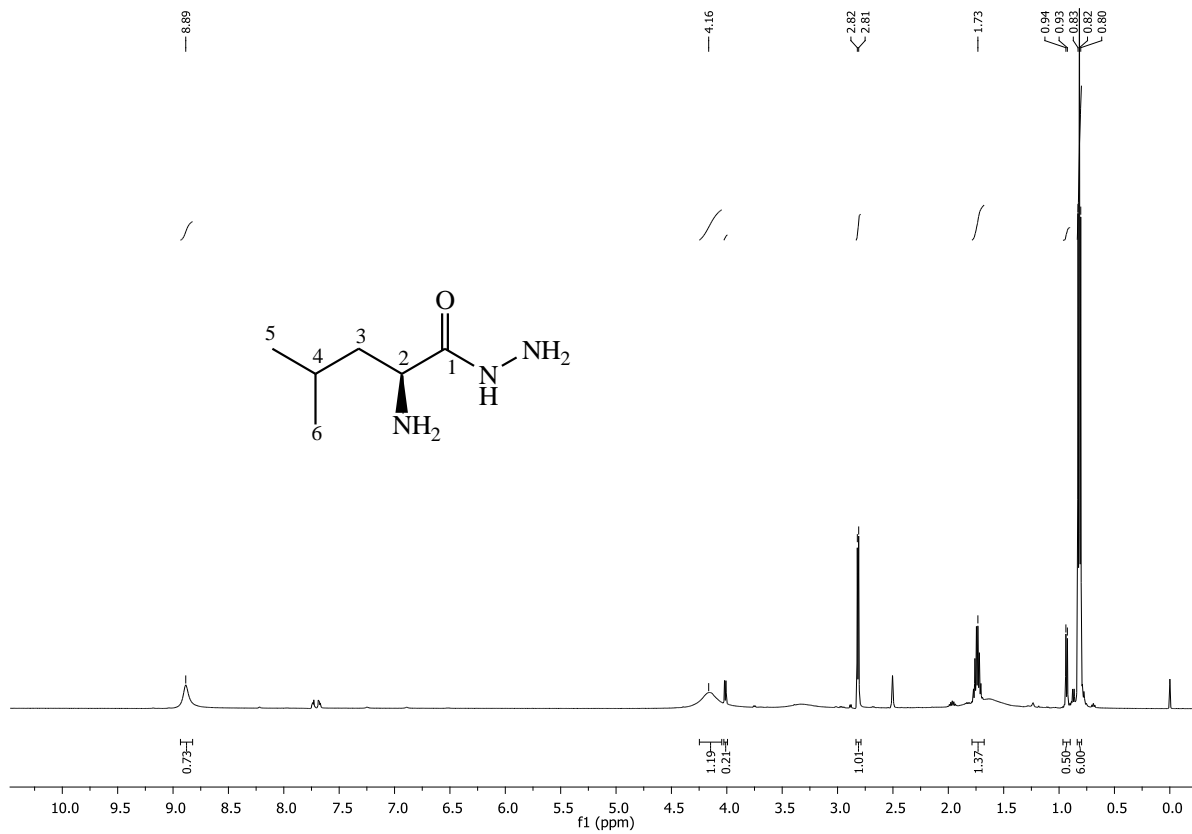


Figura 4.121. Espectro de RMN de ^1H da substância **47d** (DMSO- d_6 , 500 MHz).

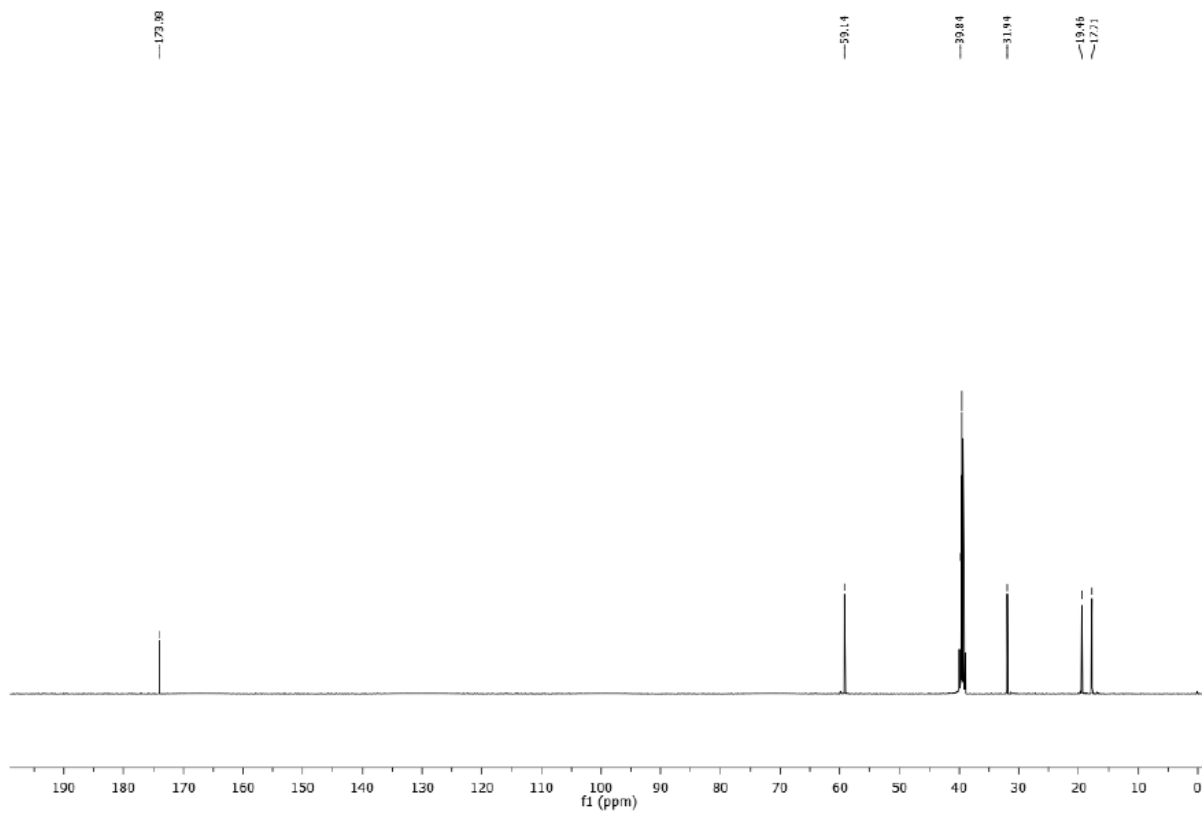


Figura 4.122. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **47d** (DMSO- d_6 , 125 MHz).

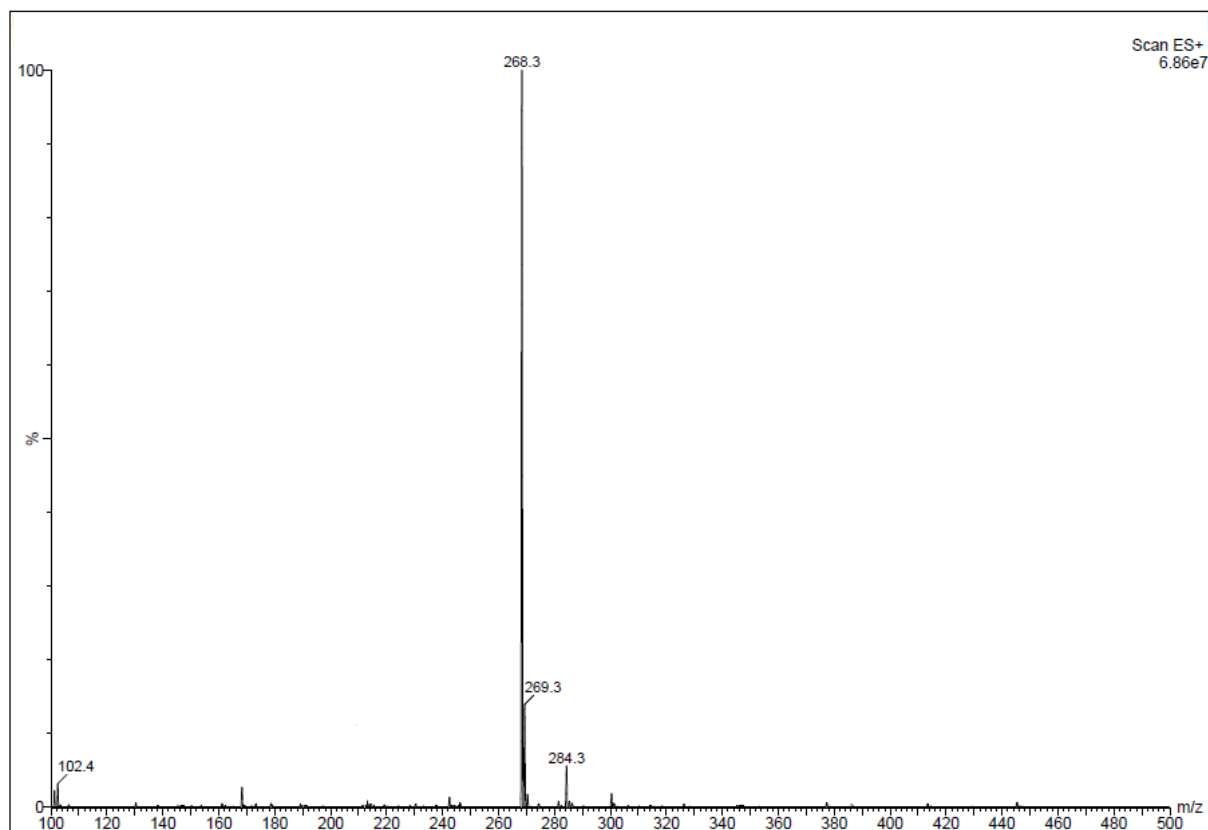


Figura 4.123. Espectro de massa da substância 47e.

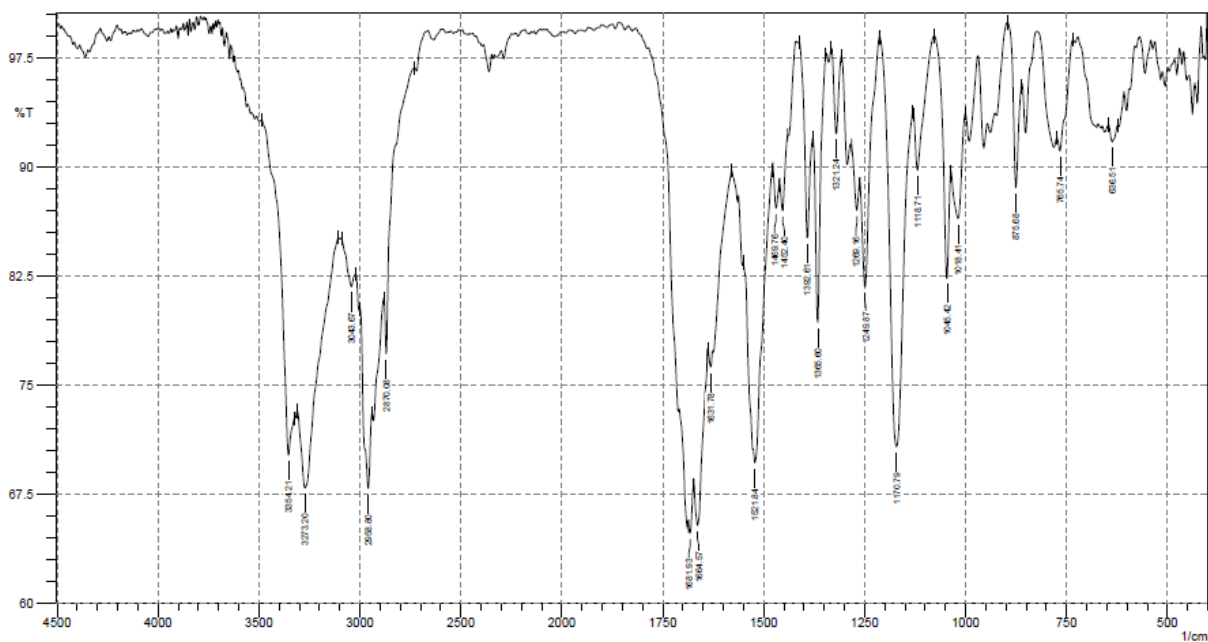


Figura 4.124. Espectro de infravermelho da substância 47e.

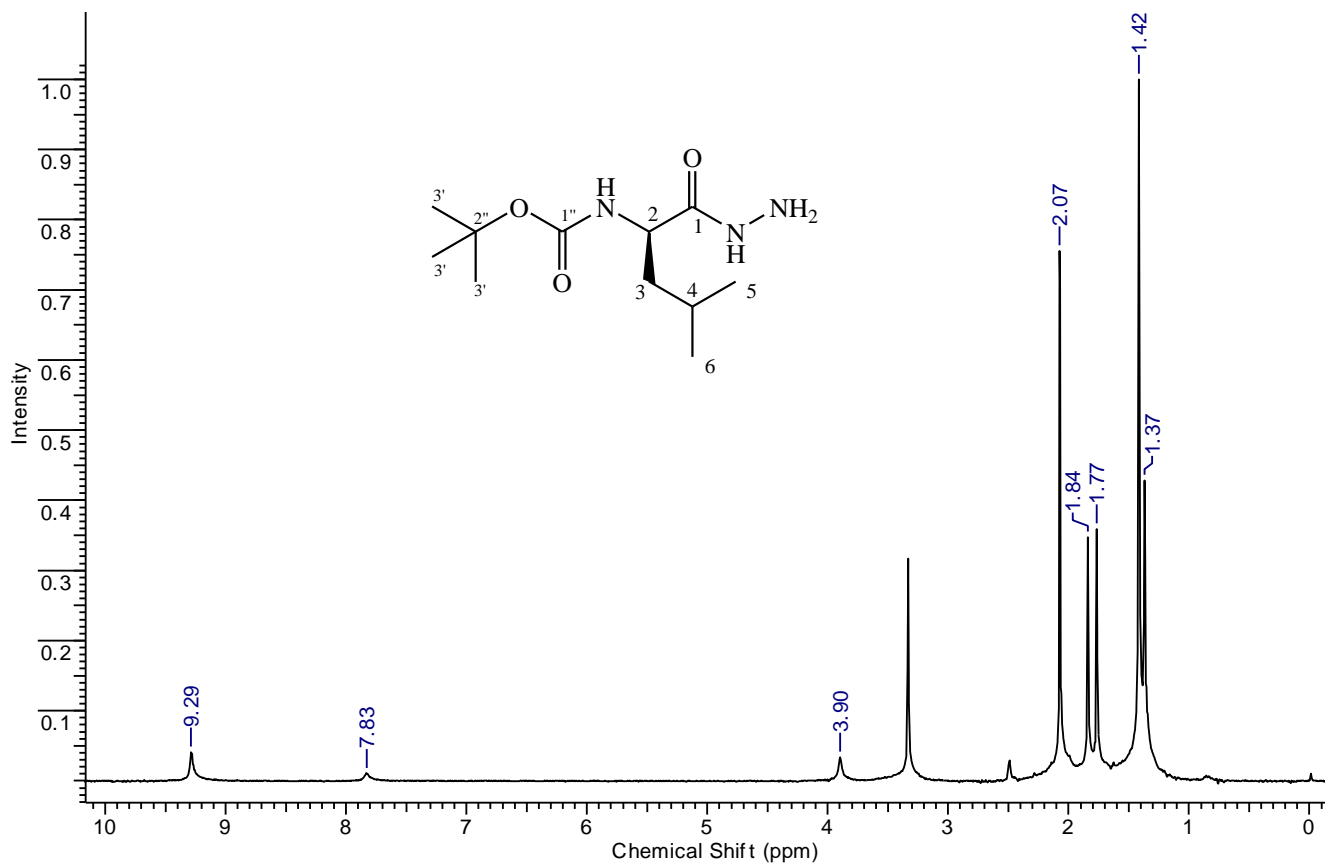


Figura 4.125. Espectro de RMN de ^1H da substância 47e (DMSO- d_6 , 300 MHz).

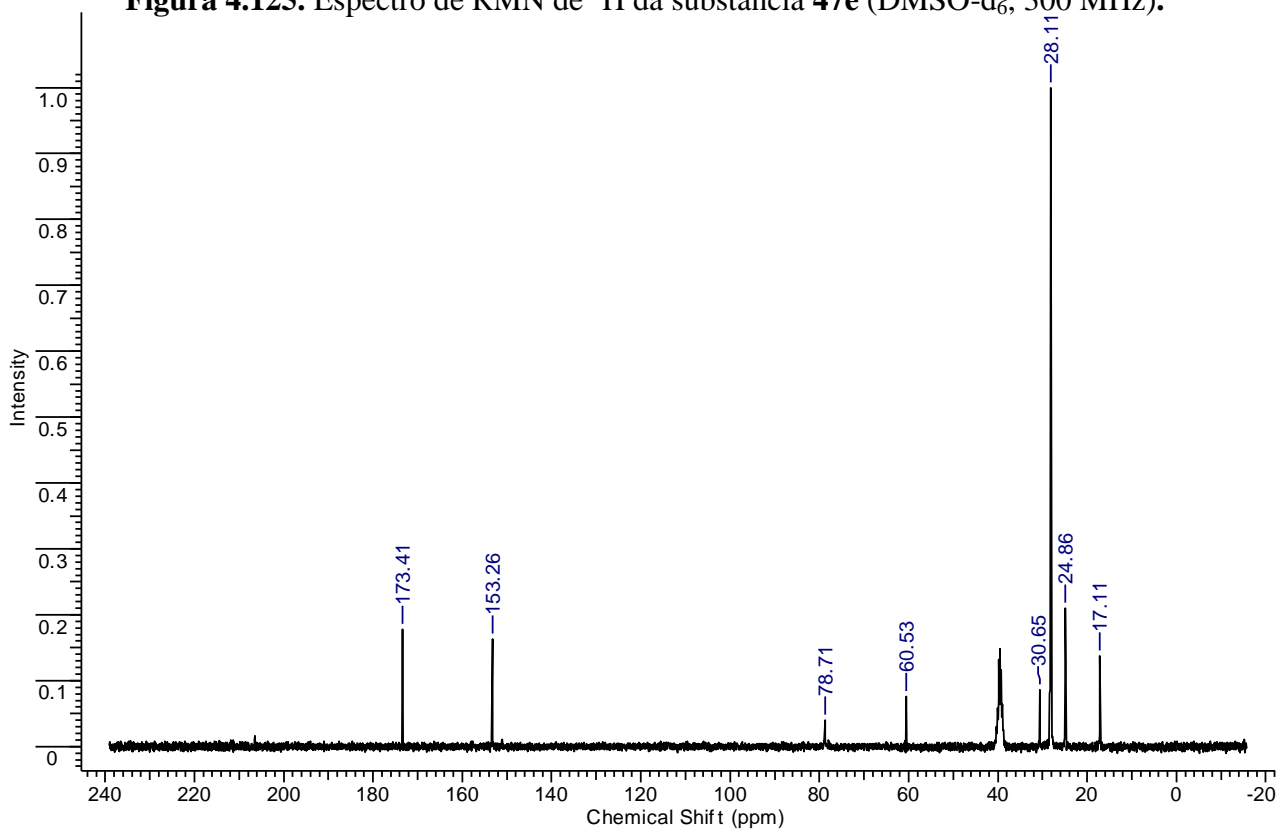


Figura 4.126. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 47e (DMSO- d_6 , 75 MHz).

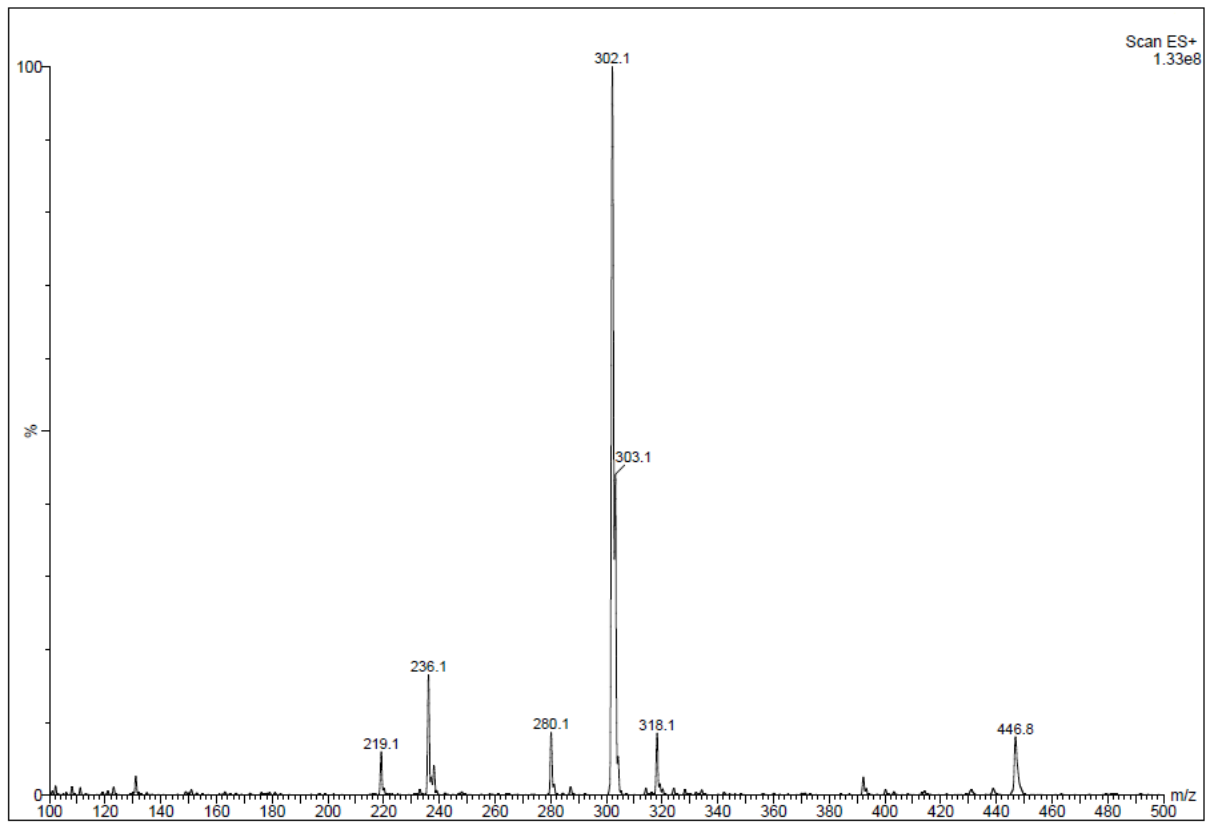


Figura 4.127. Espectro de massa da substância 47f.

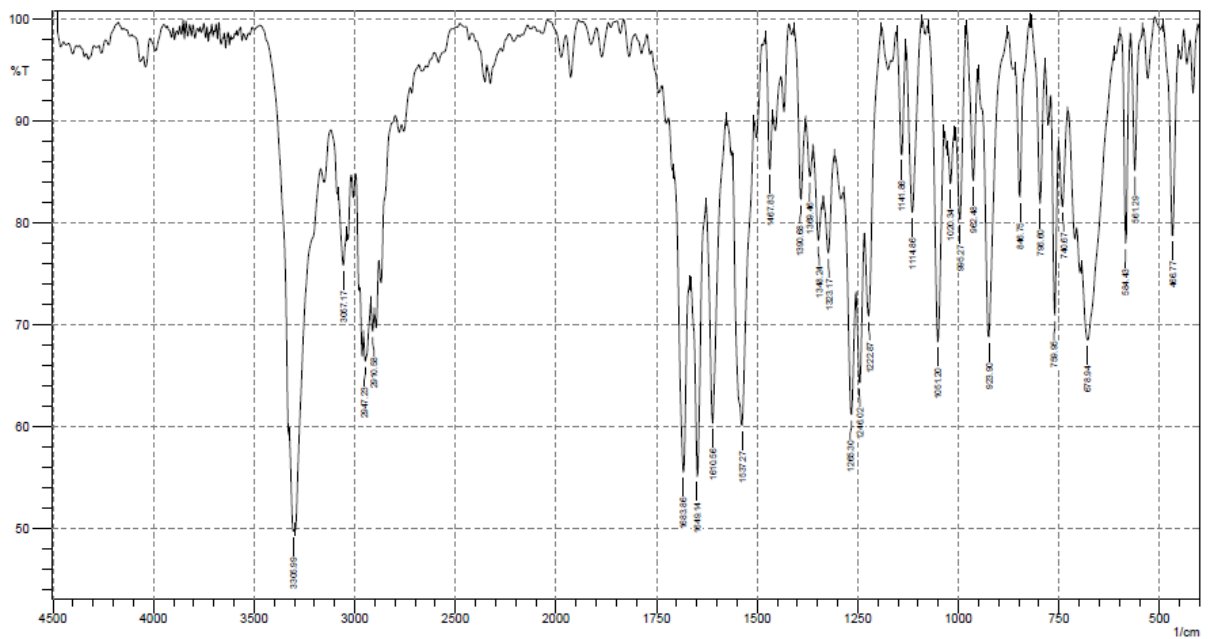


Figura 4.128. Espectro de infravermelho da substância 47f.

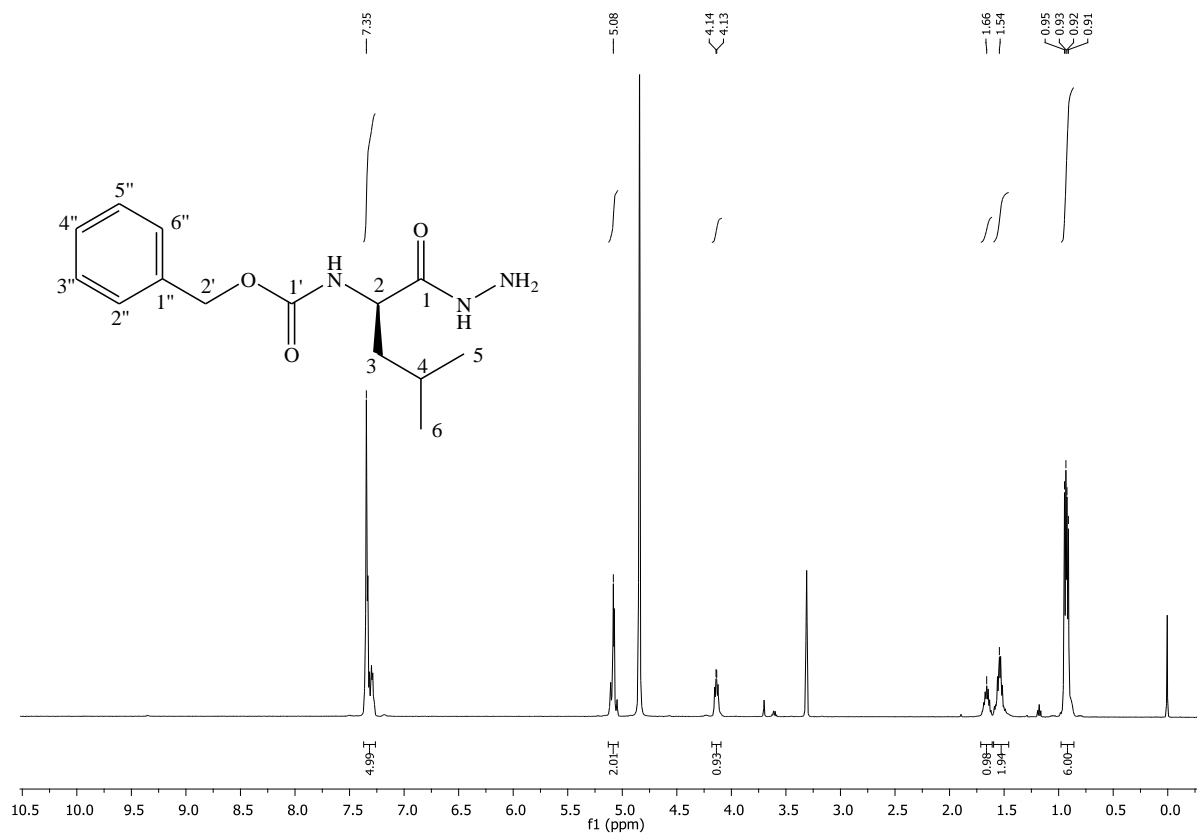


Figura 4.129. Espectro de RMN de ^1H da substância 47f (CD₃OD, 00 MHz).

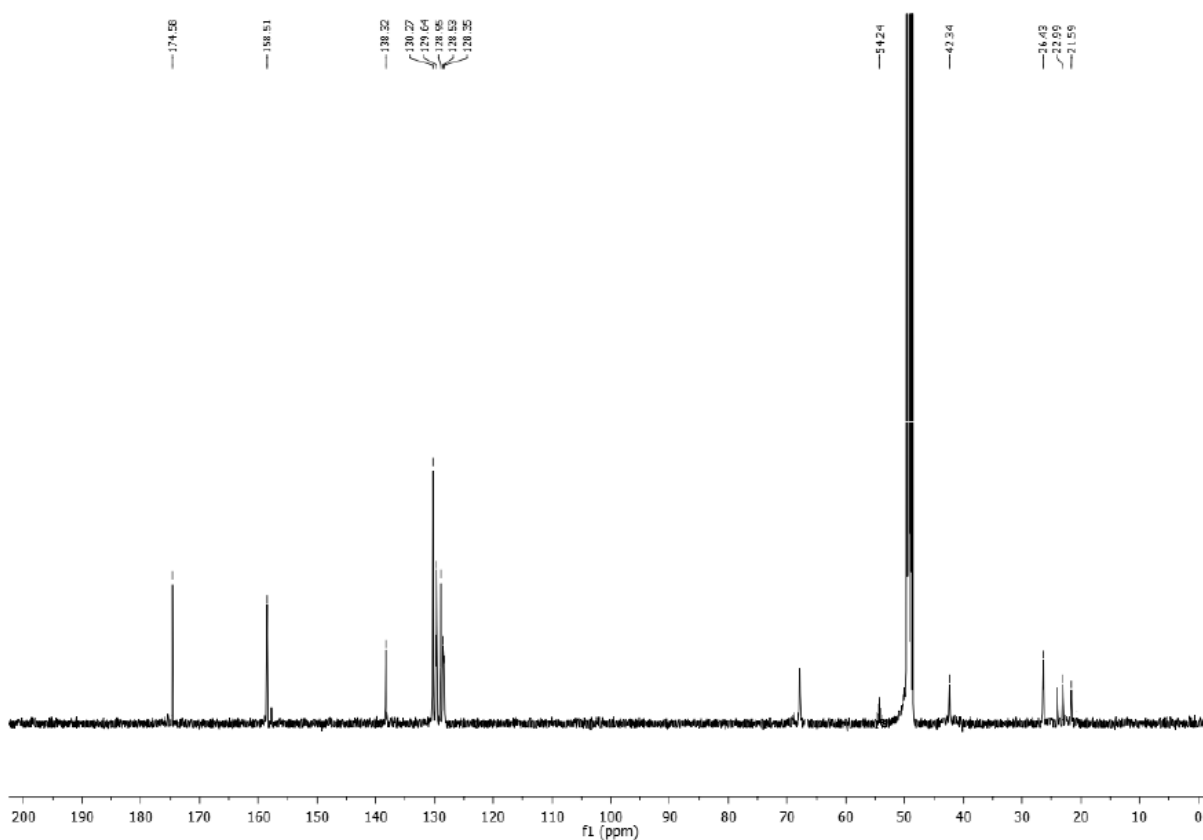


Figura 4.130. Espectro de RMN de ^{13}C da substância 47f (CD₃OD, 00 MHz).

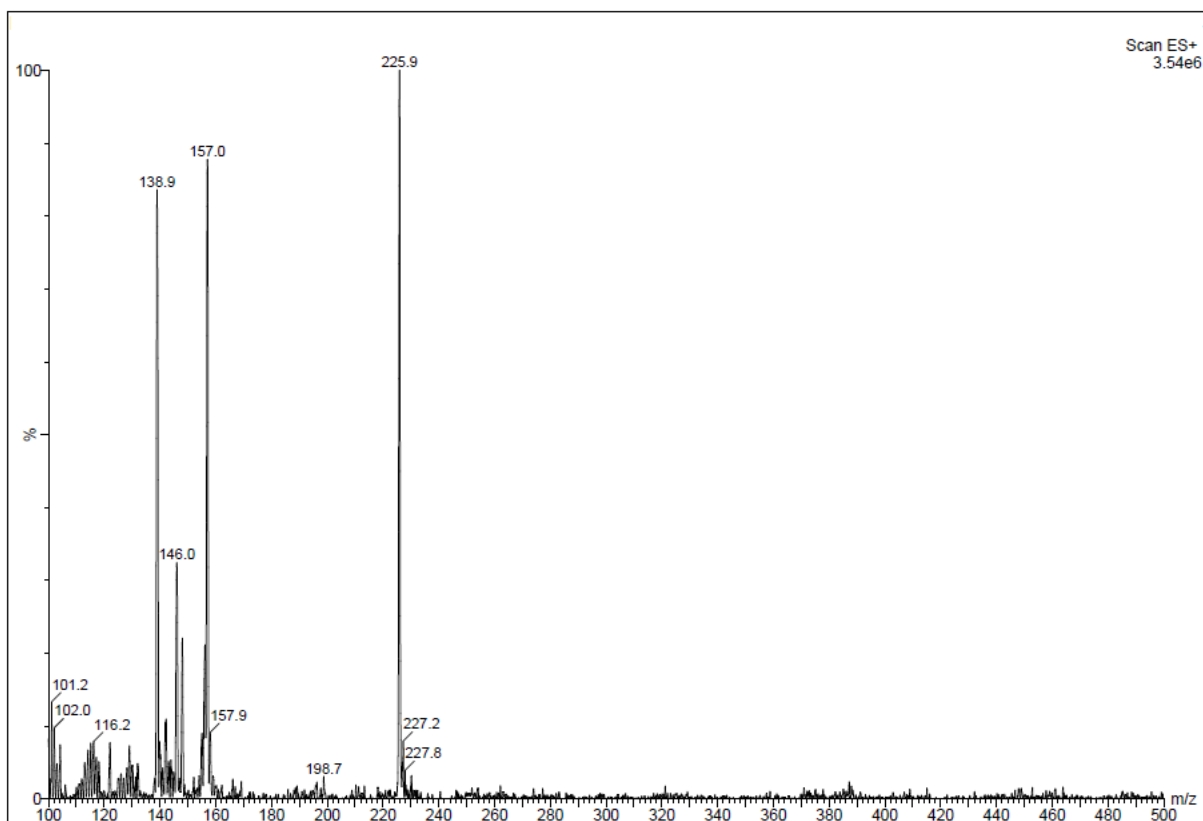


Figura 4.131. Espectro de massa da substância 47g.

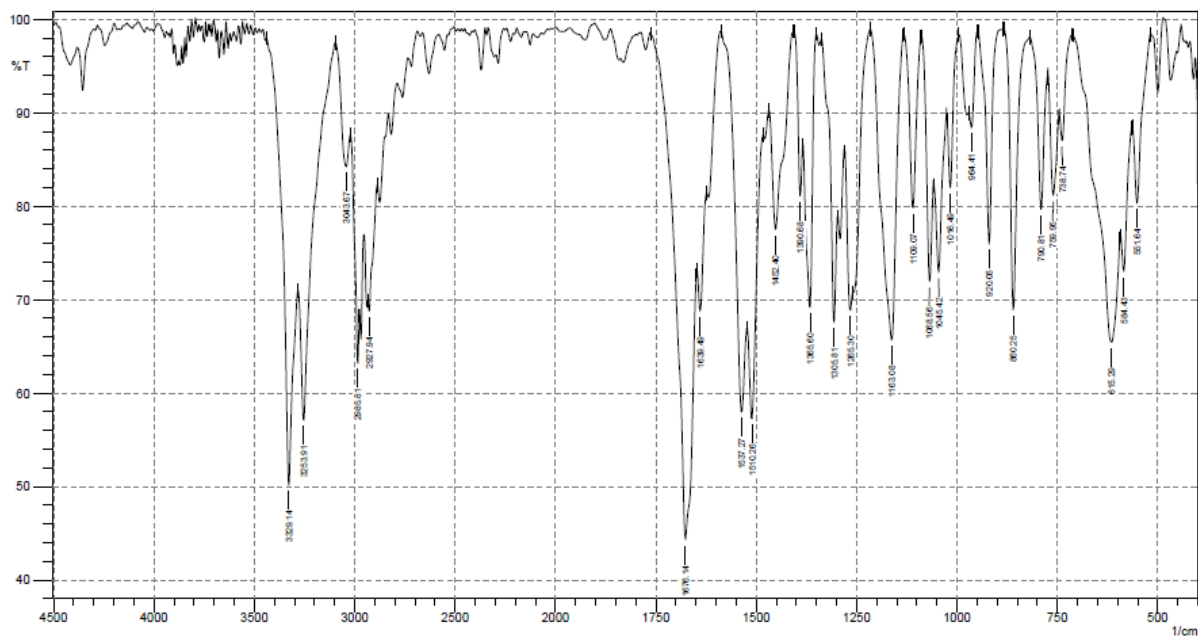


Figura 4.132. Espectro de infravermelho da substância 47g.

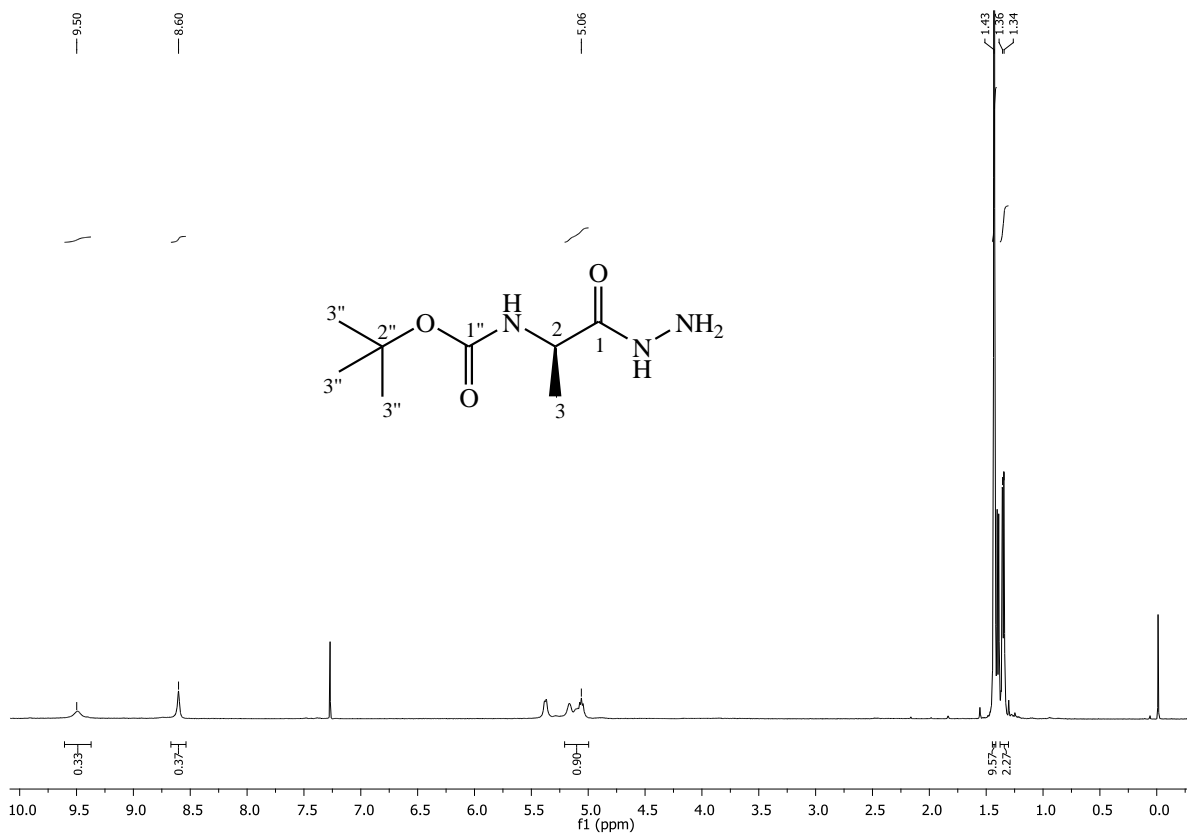


Figura 4.133. Espectro de RMN de ¹H da substância 47g (CDCl₃, 00 MHz).

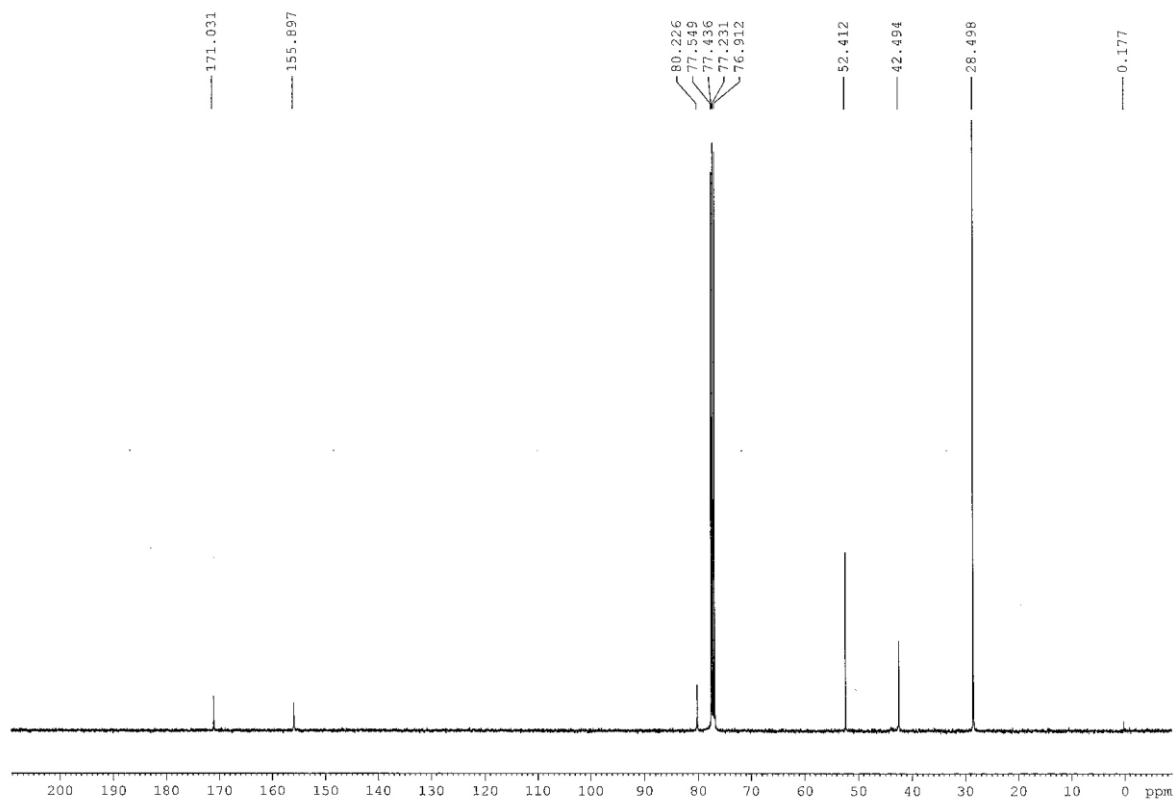


Figura 4.134. Espectro de RMN de ¹³C da substância 47g (CD₃OD, 00 MHz).

4.2.5. Síntese das *N*-acilidrazonas 48a-q

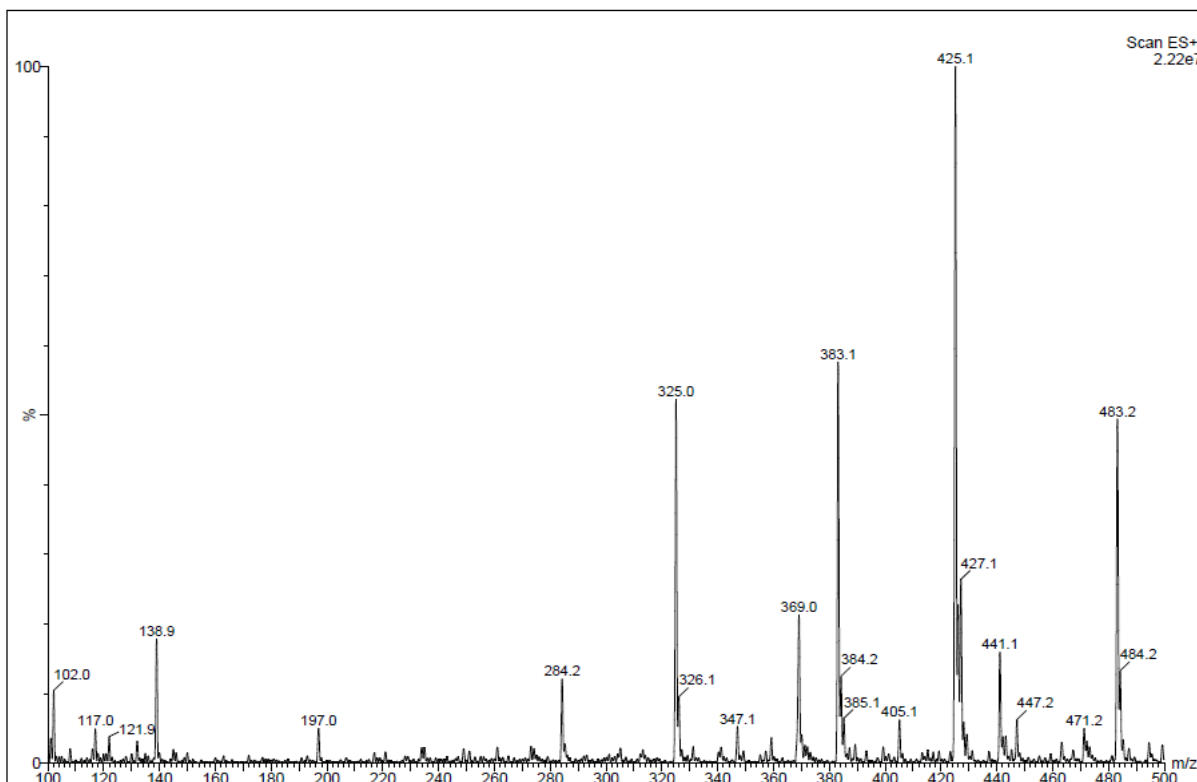


Figura 4.135. Espectro de massa da substância 48a.

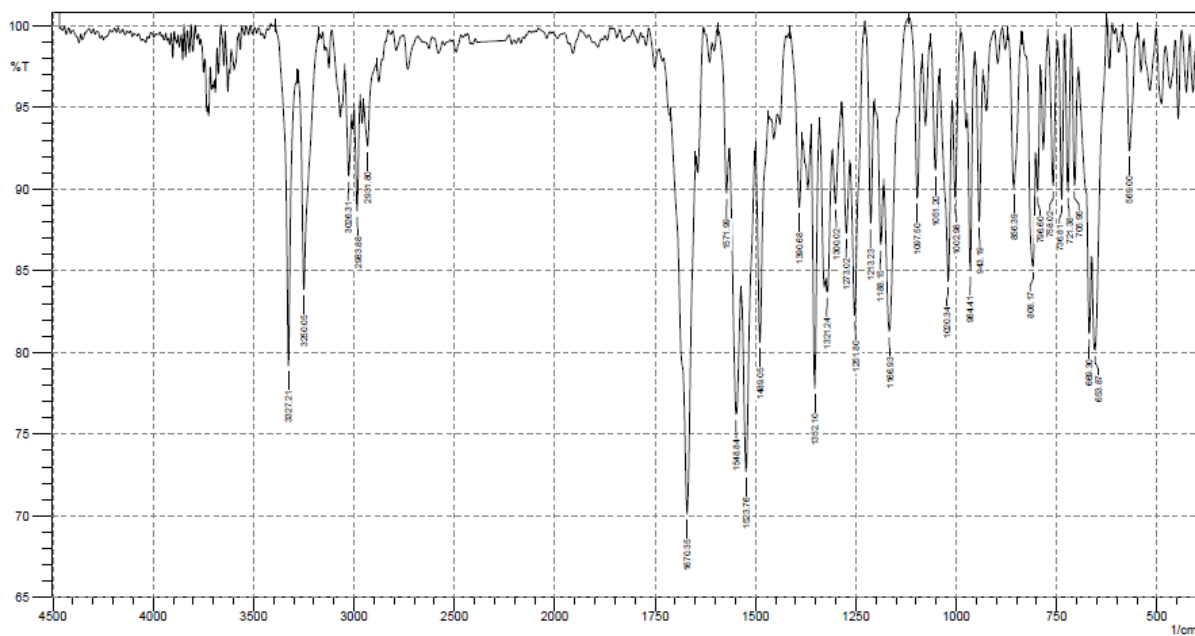


Figura 4.136. Espectro de infravermelho da substância 48a (KBr).

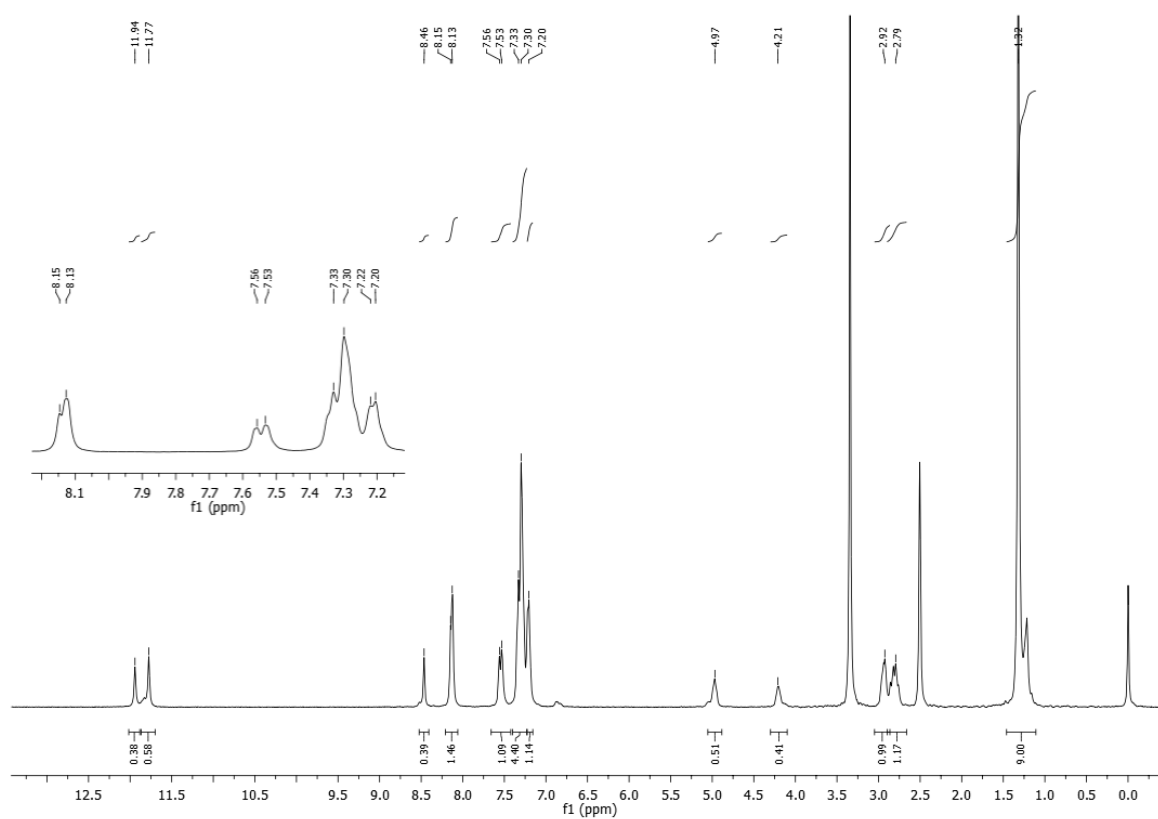


Figura 4.137. Espectro de RMN de ^1H da substância **48a** (DMSO-d_6 , 400 MHz).

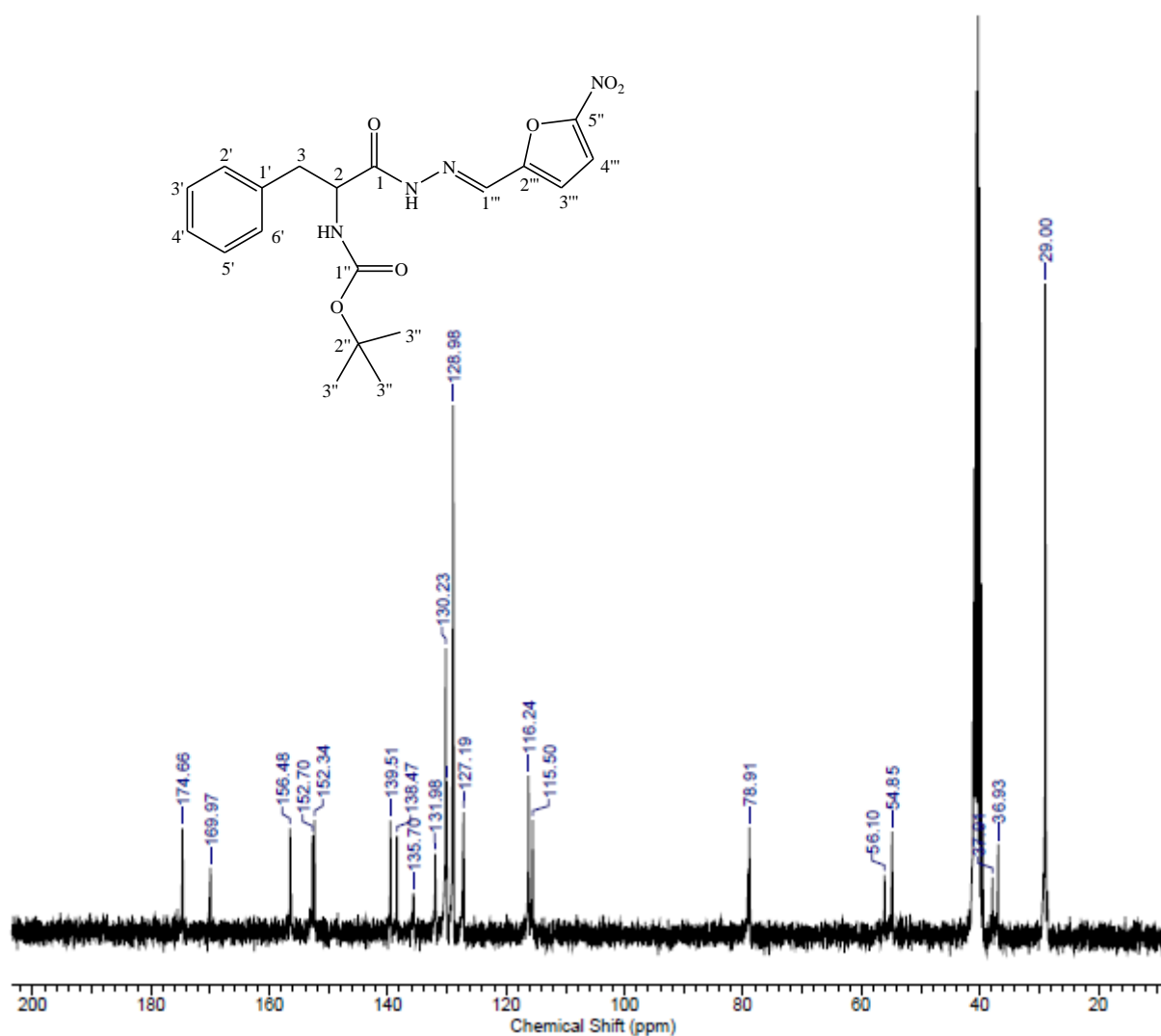


Figura 4.138. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48a** (DMSO- d_6 , 75 MHz).

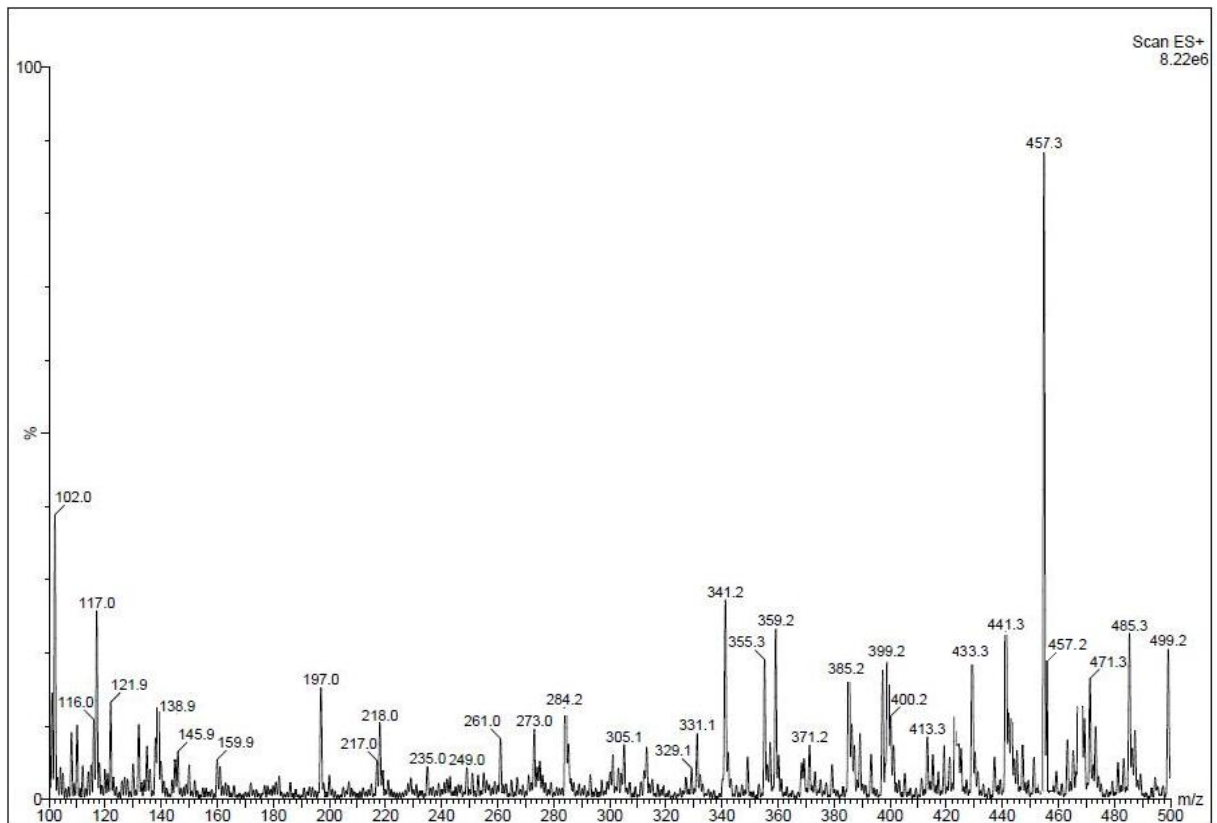


Figura 4.139. Espectro de massa da substância 48b.

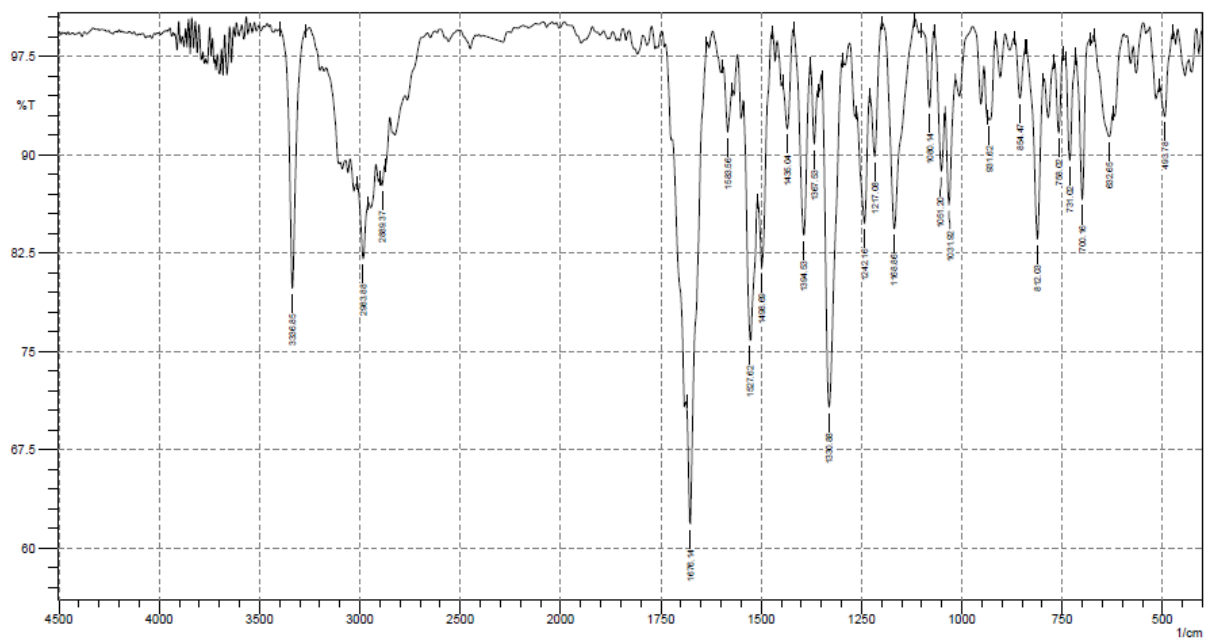


Figura 4.140. Espectro de infravermelho da substância 48b (KBr).

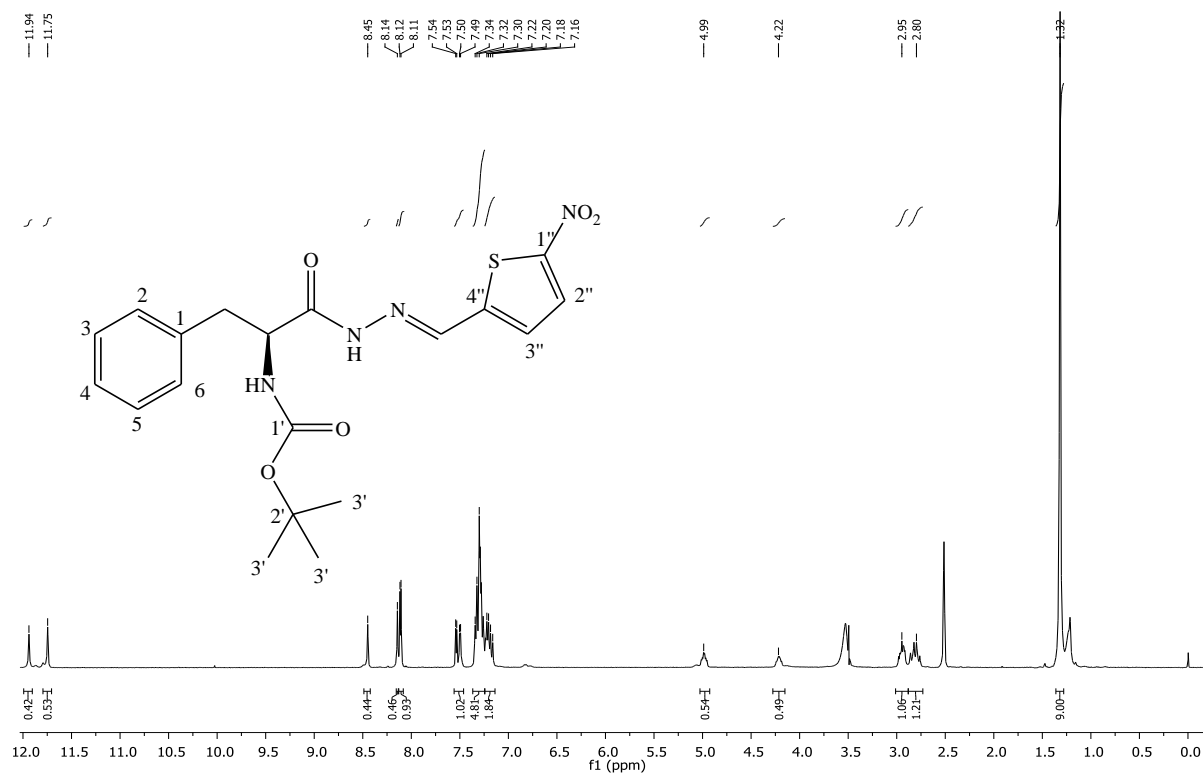


Figura 4.141. Espectro de RMN de ¹H da substância **48b** (DMSO-d₆, 400 MHz).

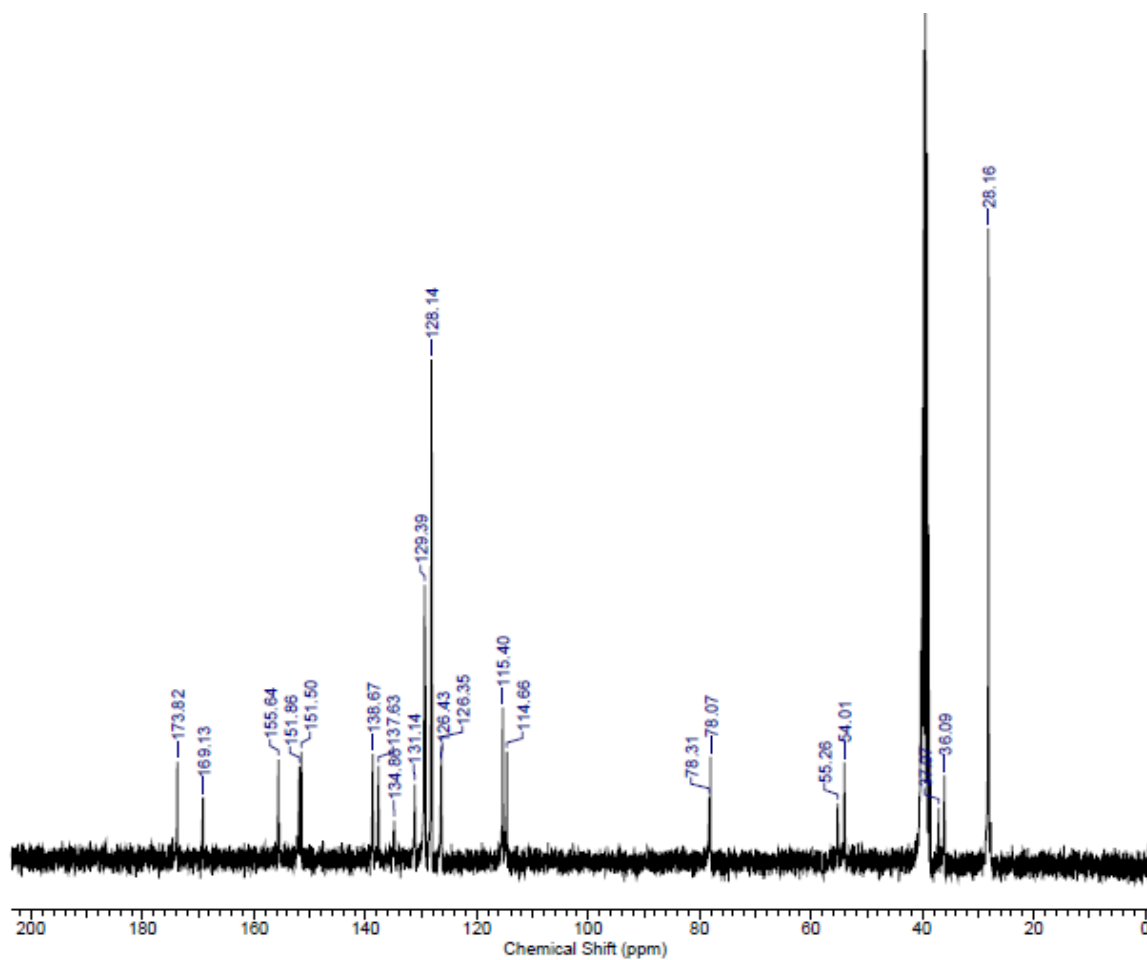


Figura 4.142. Espectro de RMN de ¹³C da substância **48b** (DMSO-d₆, 75 MHz).

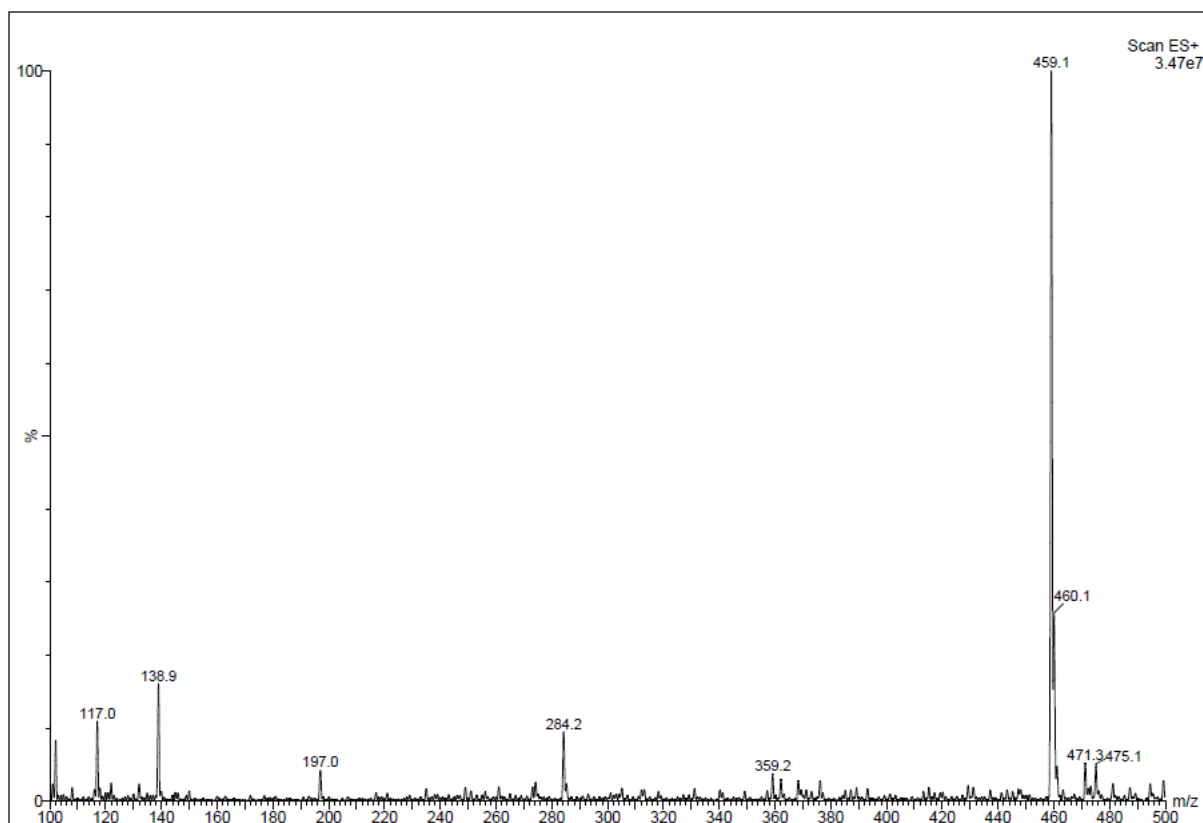


Figura 4.143. Espectro de massa da substância 48c.

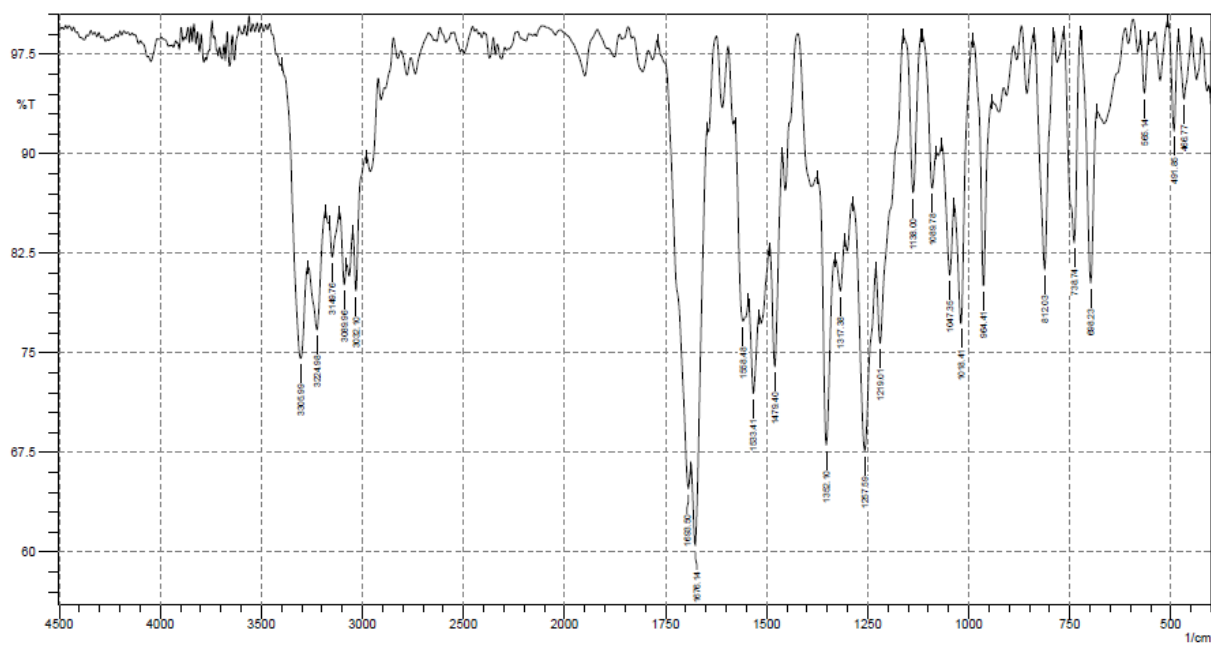


Figura 4.144. Espectro de infravermelho da substância 48c (KBr).

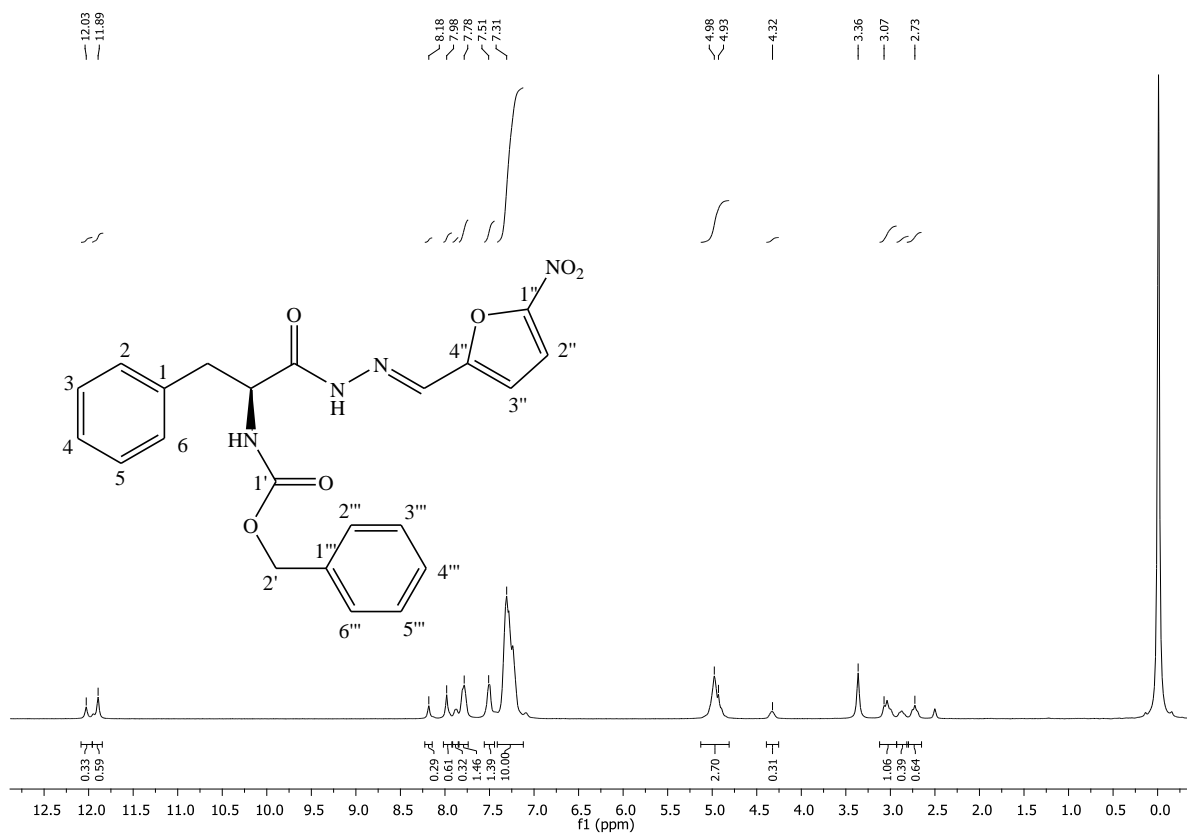


Figura 4.145. Espectro de RMN de ^1H da substância **48c** (DMSO- d_6 , 400 MHz).

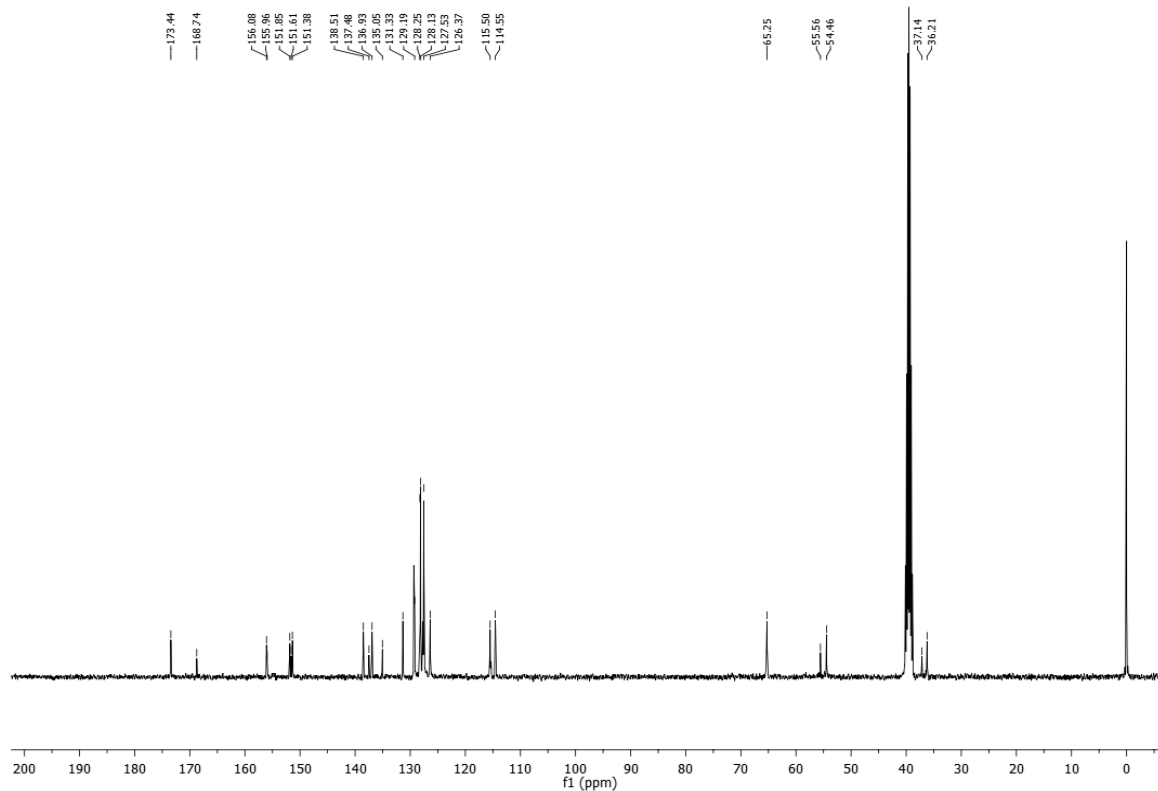


Figura 4.146. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48c** (DMSO- d_6 , 100 MHz).

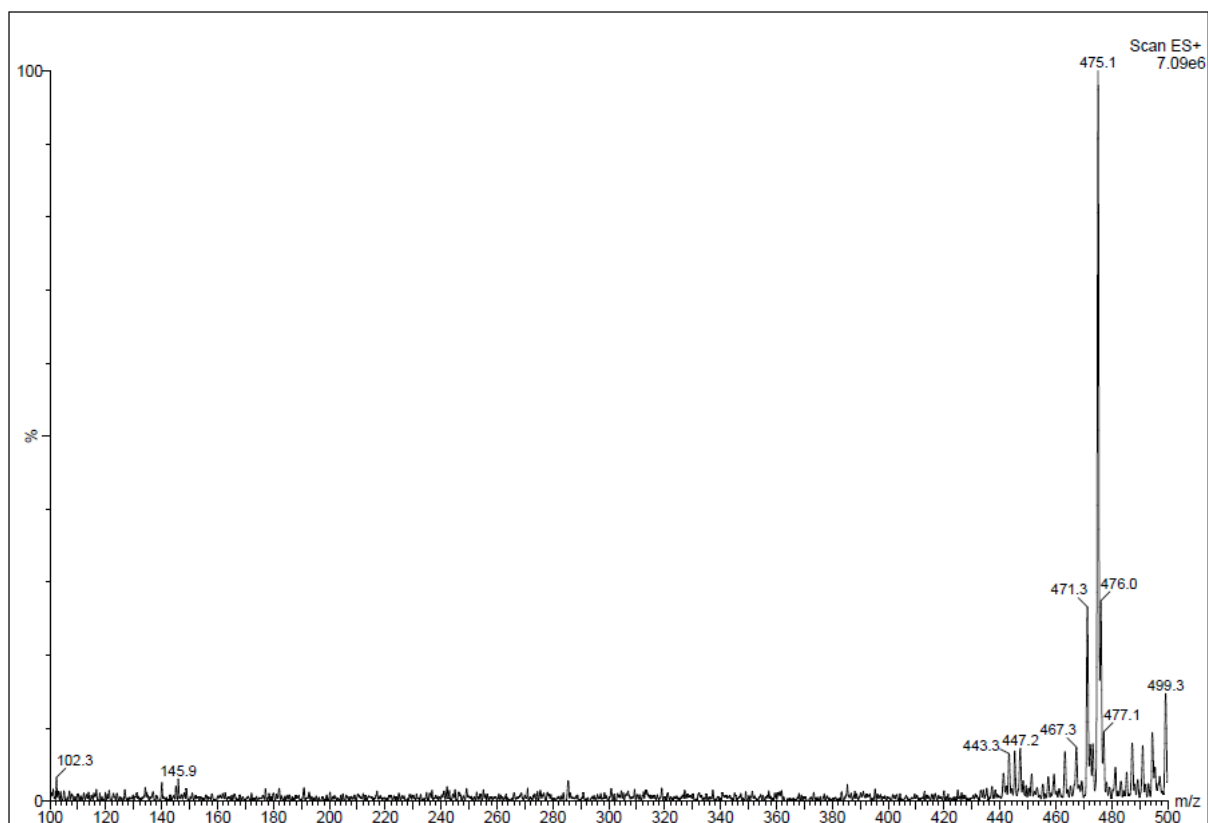


Figura 4.147. Espectro de massa da substância 48d.

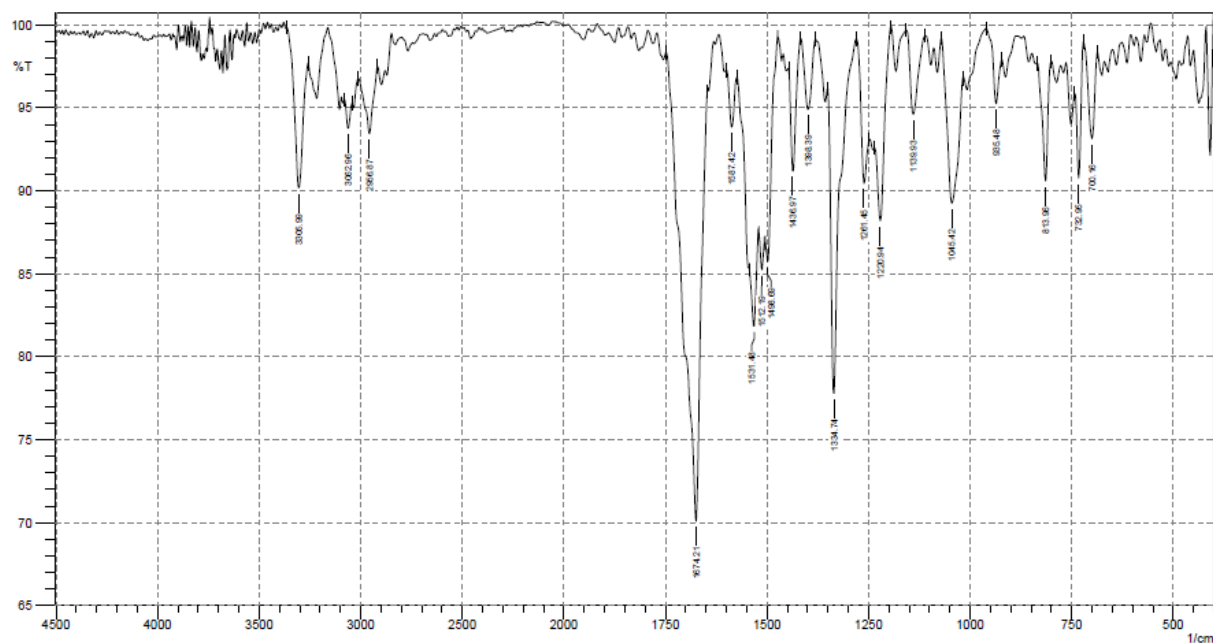


Figura 4.148. Espectro de infravermelho da substância 48d (KBr).

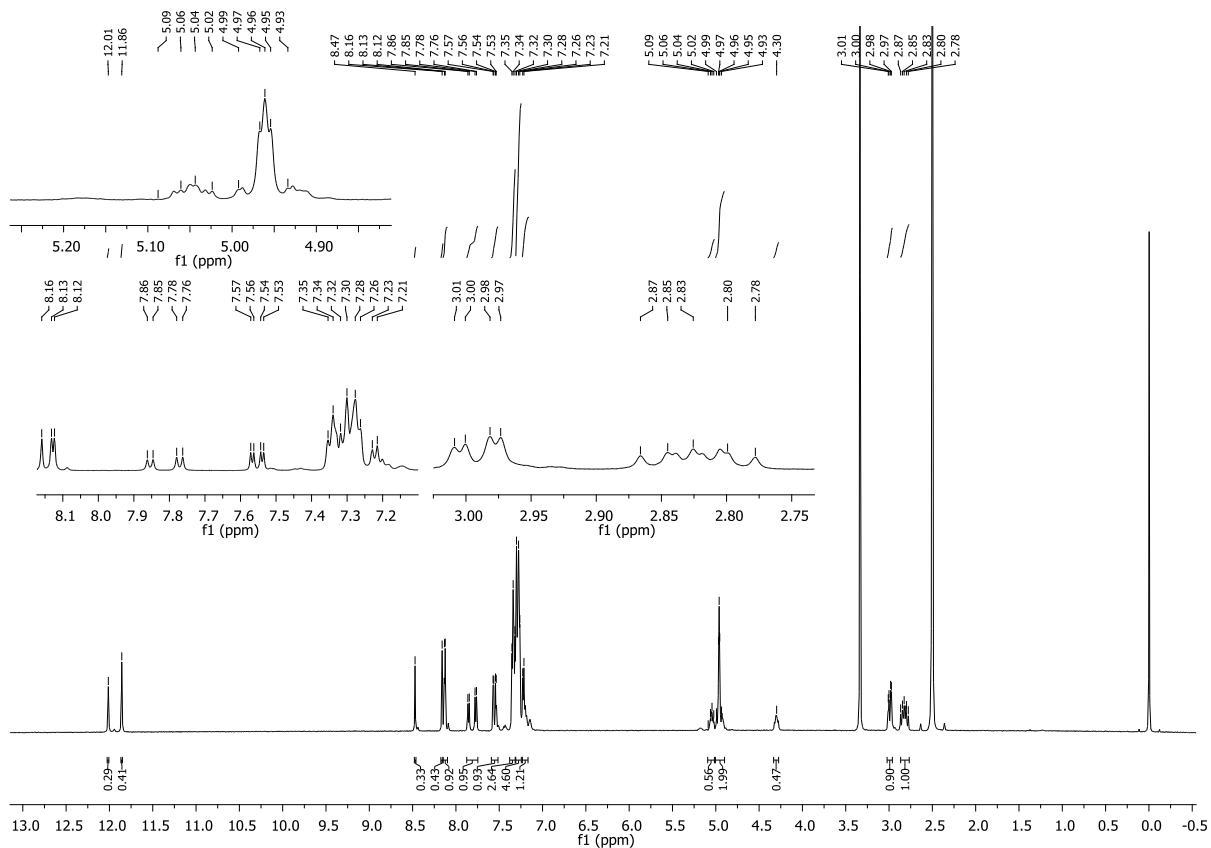


Figura 4.149. Espectro de RMN de ^1H da substância **48d** (DMSO- d_6 , 400 MHz).

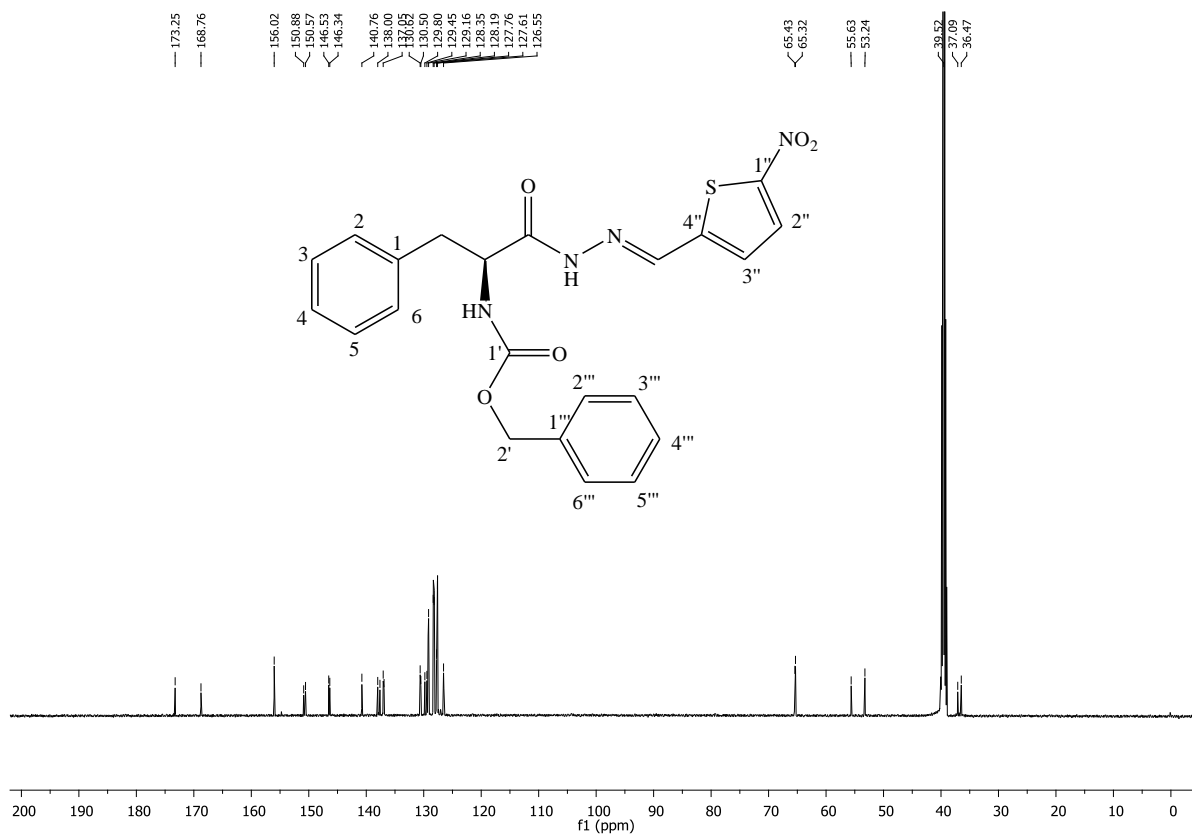


Figura 4.150. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48d** (DMSO- d_6 , 100 MHz).

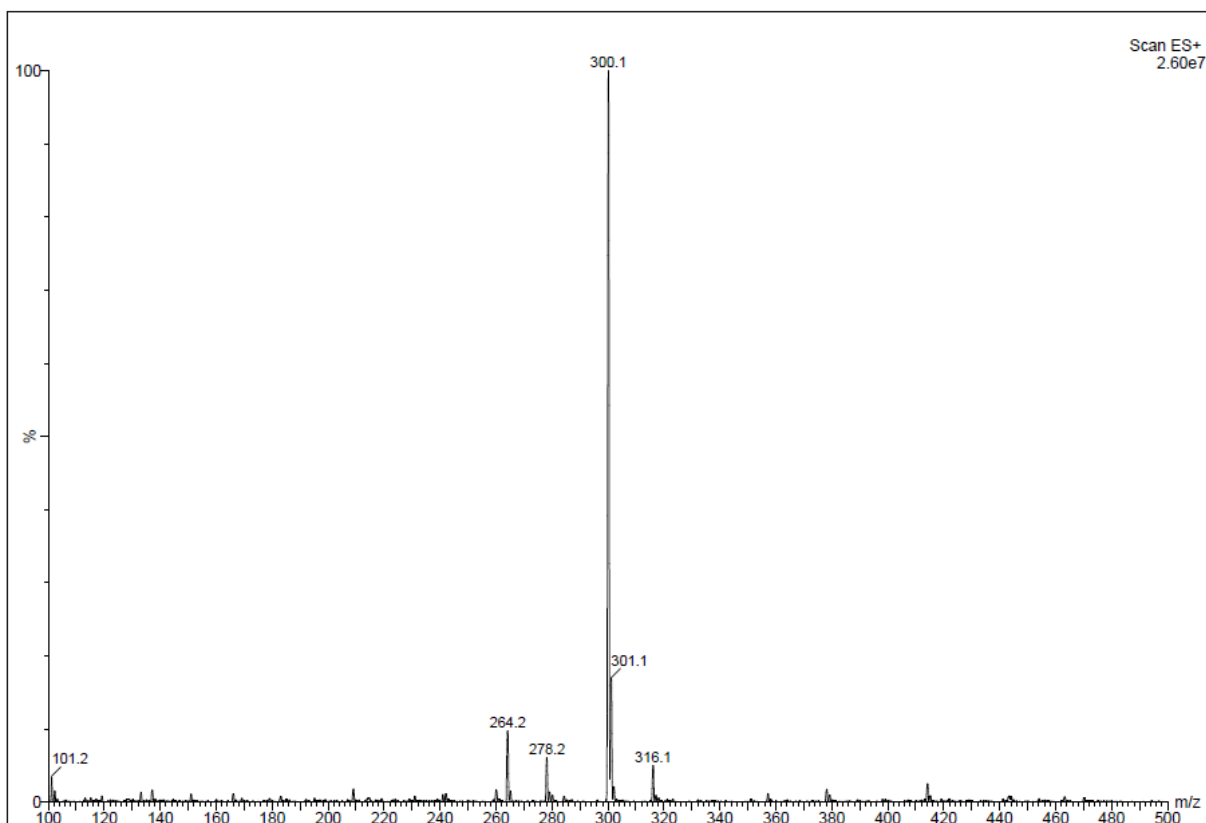


Figura 4.151. Espectro de massa da substância 48e.

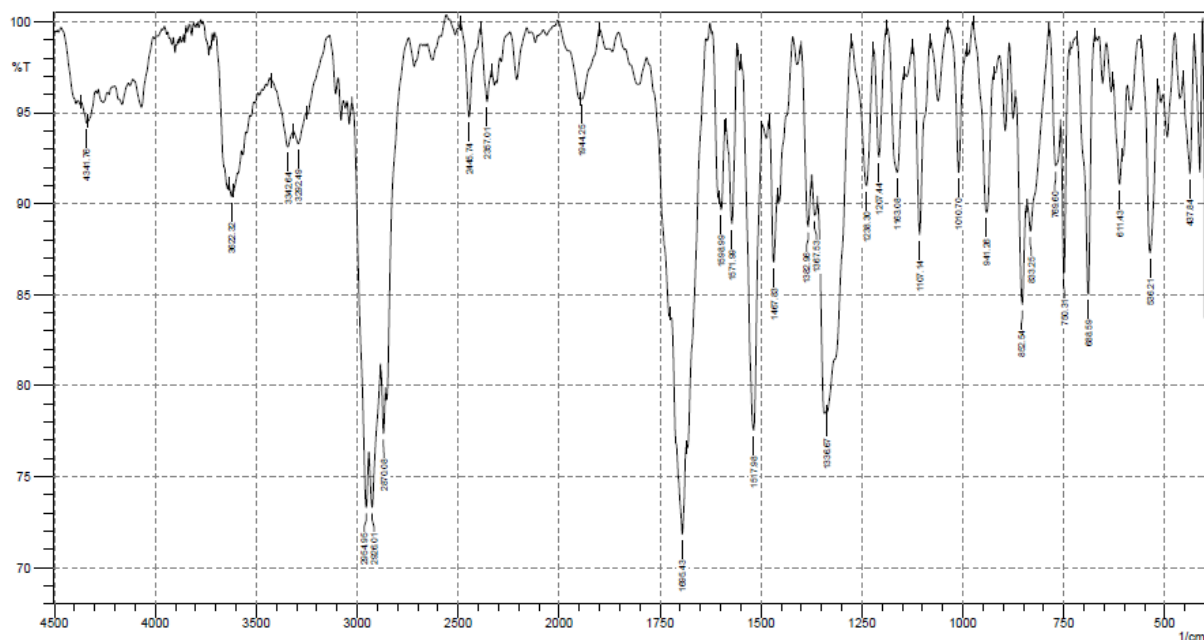


Figura 4.152. Espectro de infravermelho da substância 48e (KBr).

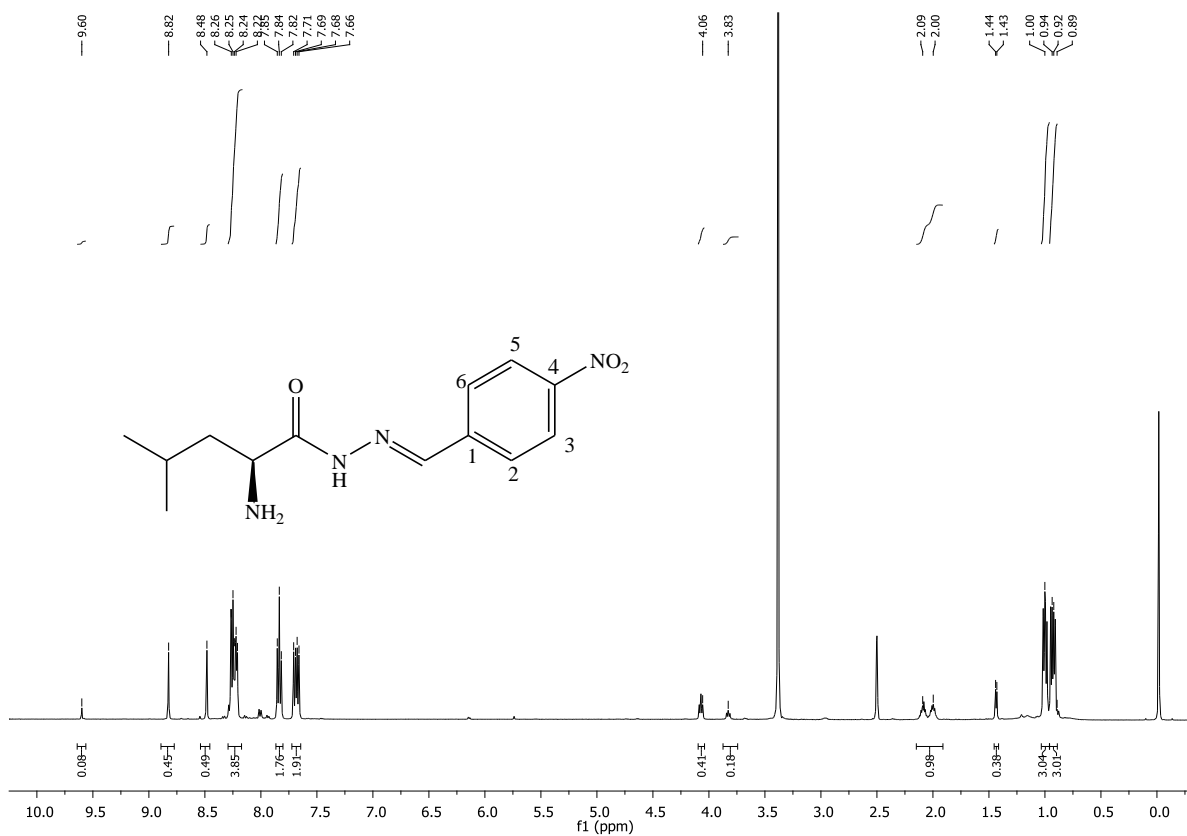


Figura 4.153. Espectro de RMN de ¹H da substância **48e** (DMSO-d₆, 400 MHz).

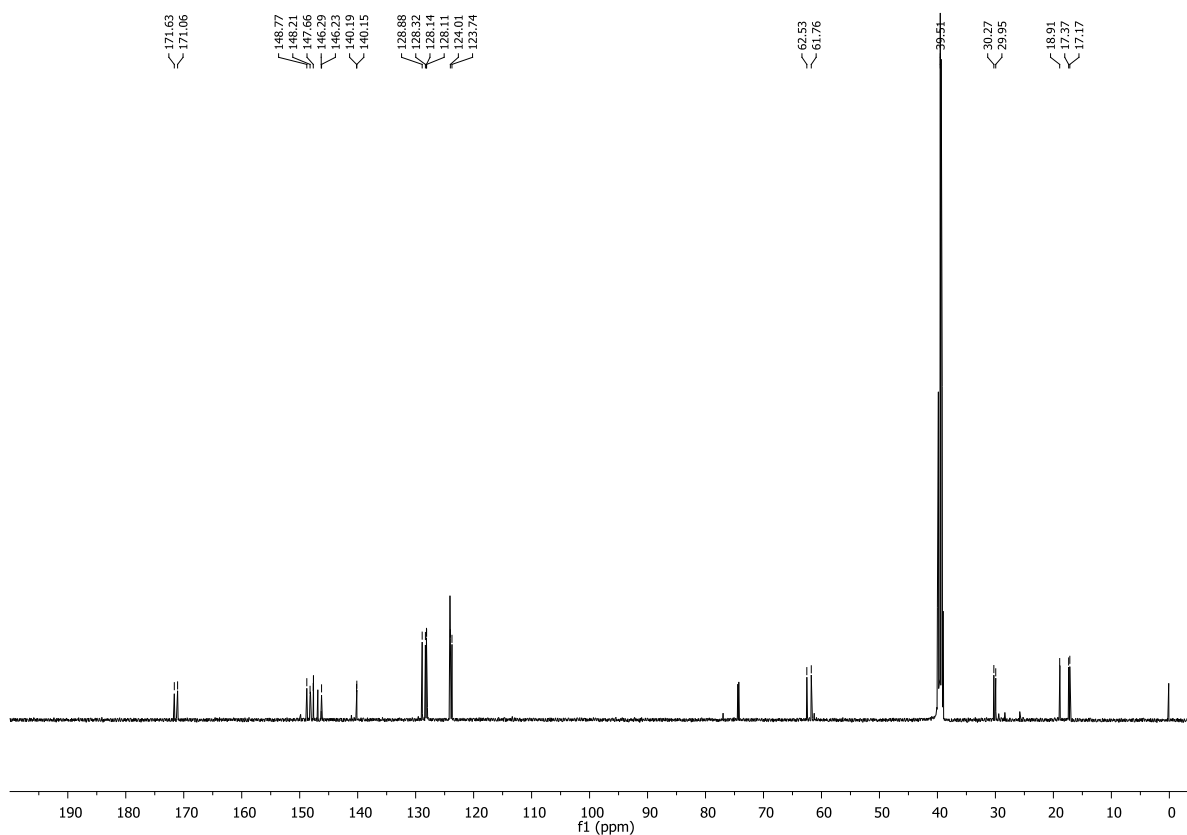


Figura 4.154. Espectro de RMN de ¹³C da substância **48e** (DMSO-d₆, 100 MHz).

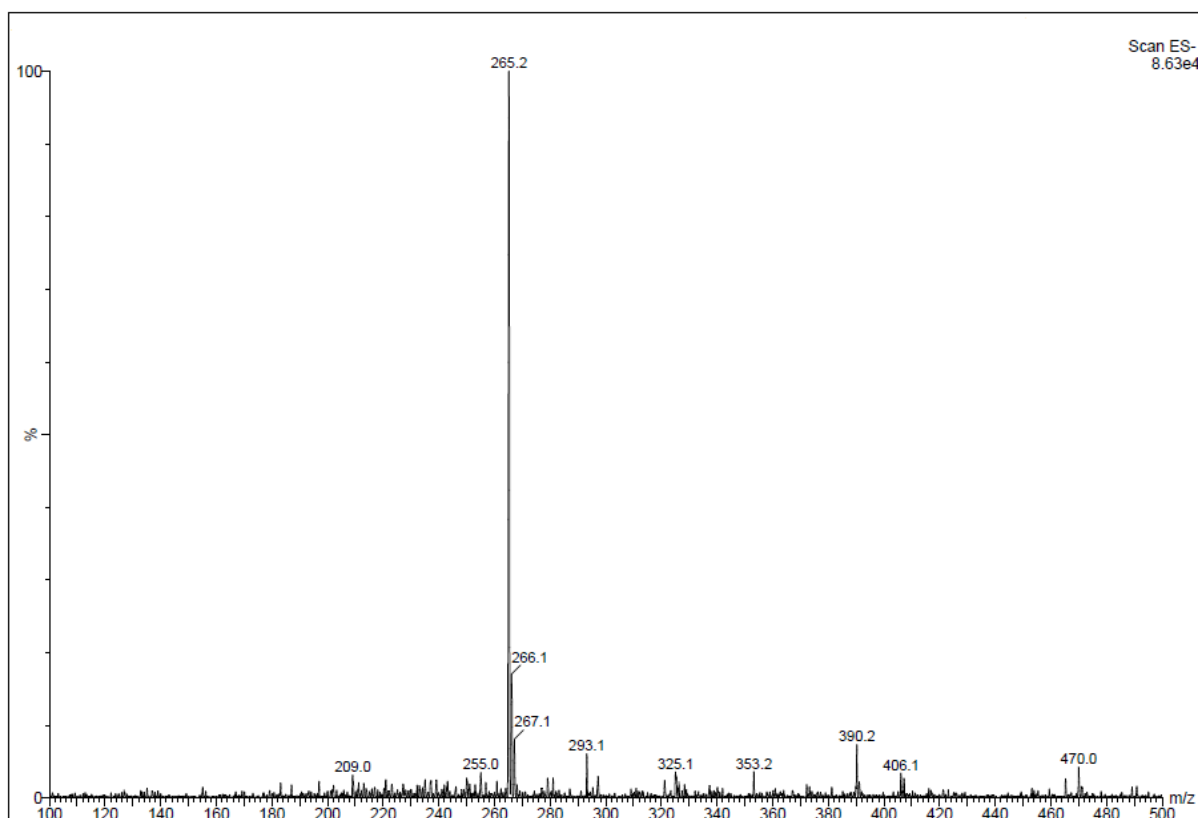


Figura 4.155. Espectro de massa da substância 48f.

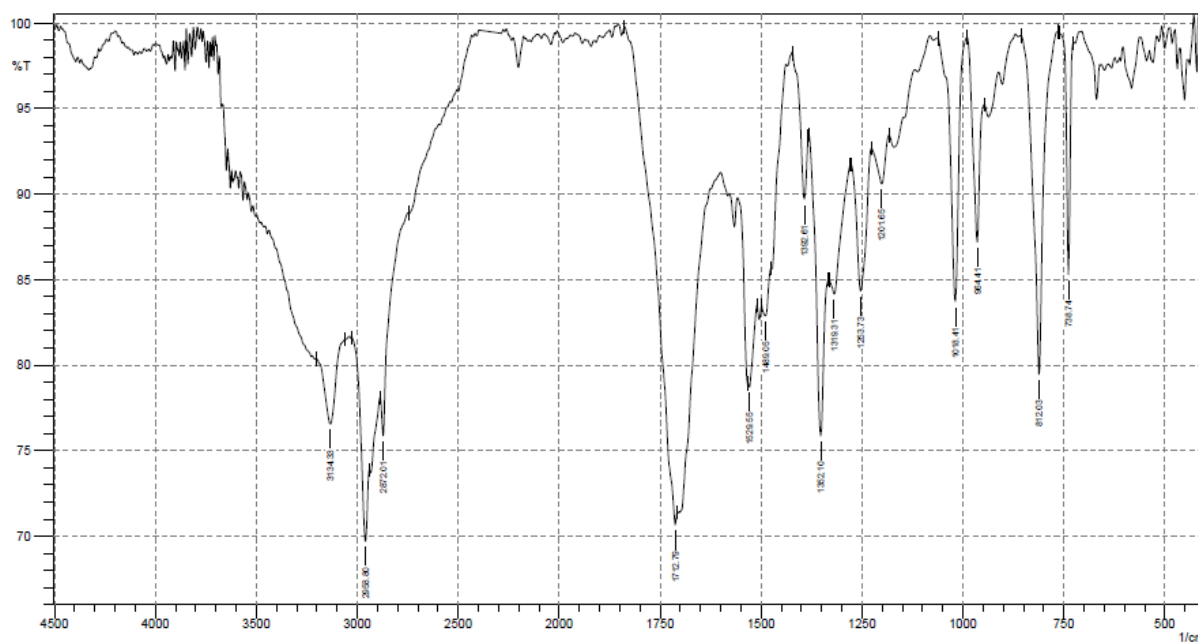


Figura 4.156. Espectro de infravermelho da substância 48f (KBr).

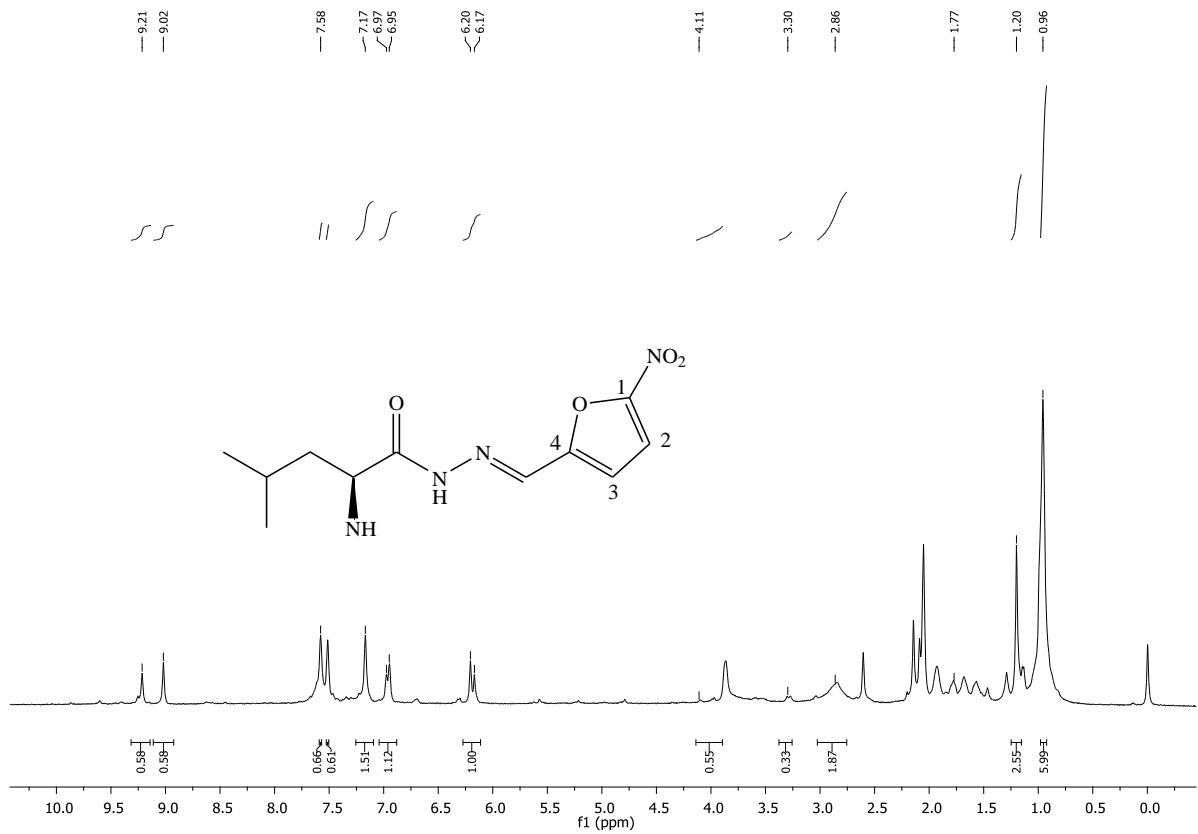


Figura 4.157. Espectro de RMN de ¹H da substância **48f** (DMSO-d₆, 400 MHz).

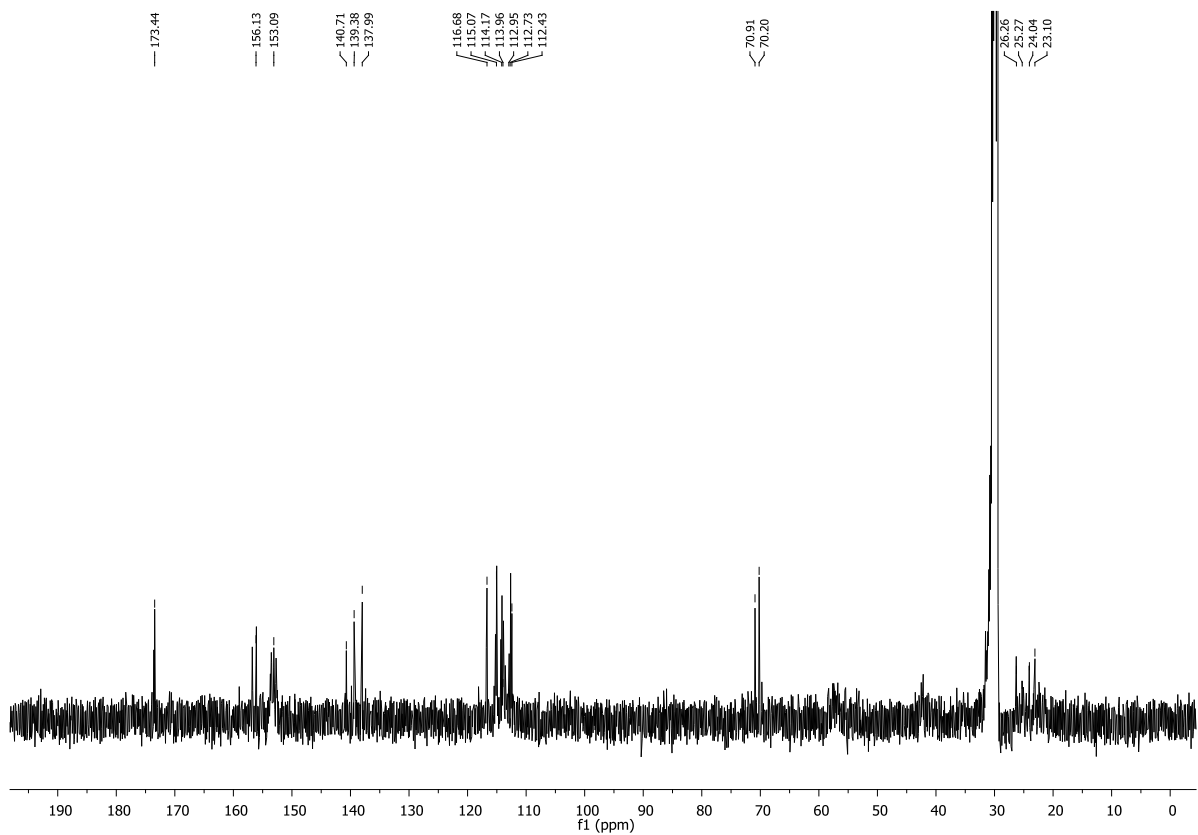


Figura 4.158. Espectro de RMN de ¹³C da substância **48f** (DMSO-d₆, 100 MHz).

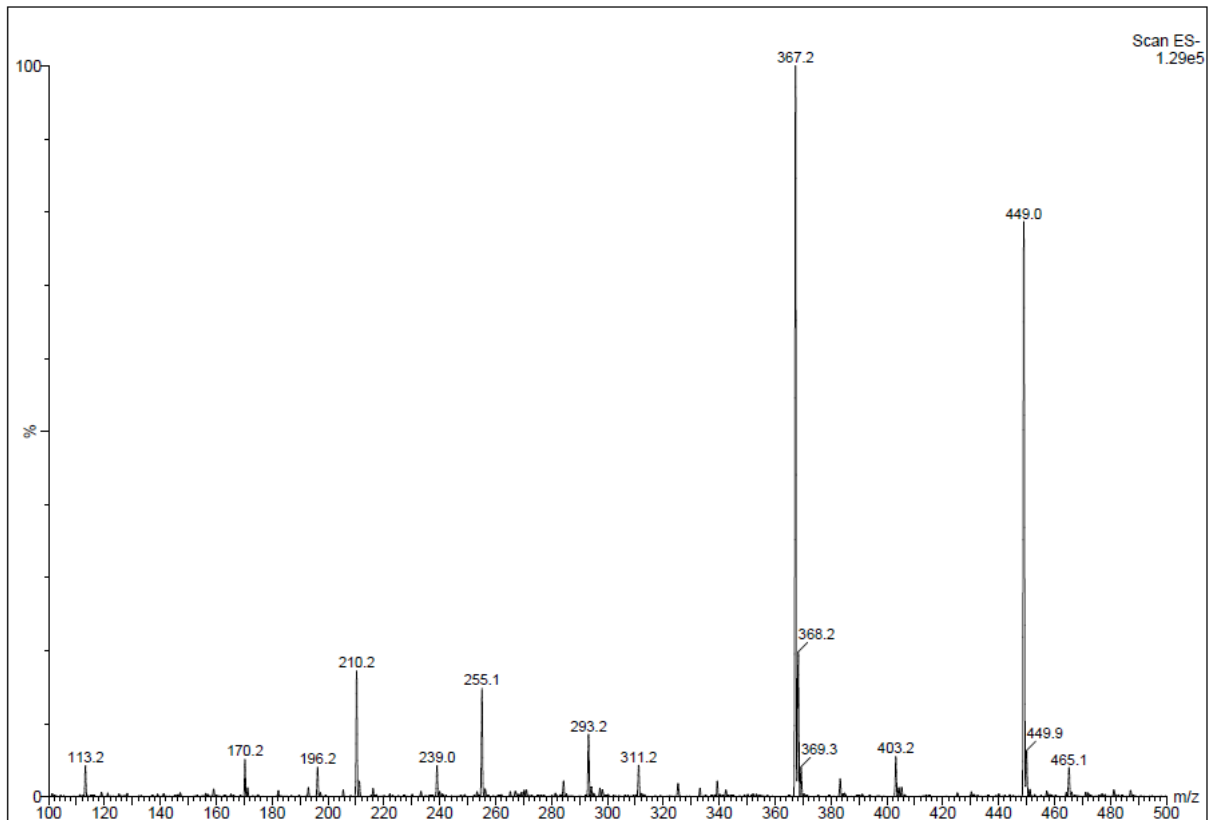


Figura 4.159. Espectro de massa da substância 48g.

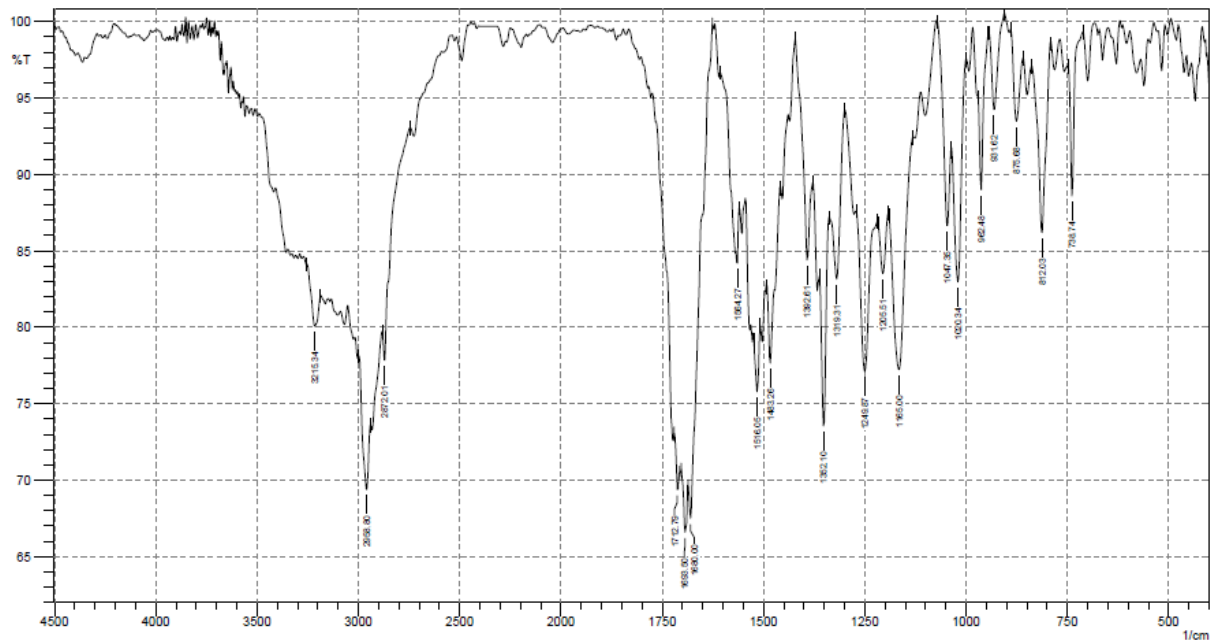


Figura 4.160. Espectro de infravermelho da substância 48g (KBr).

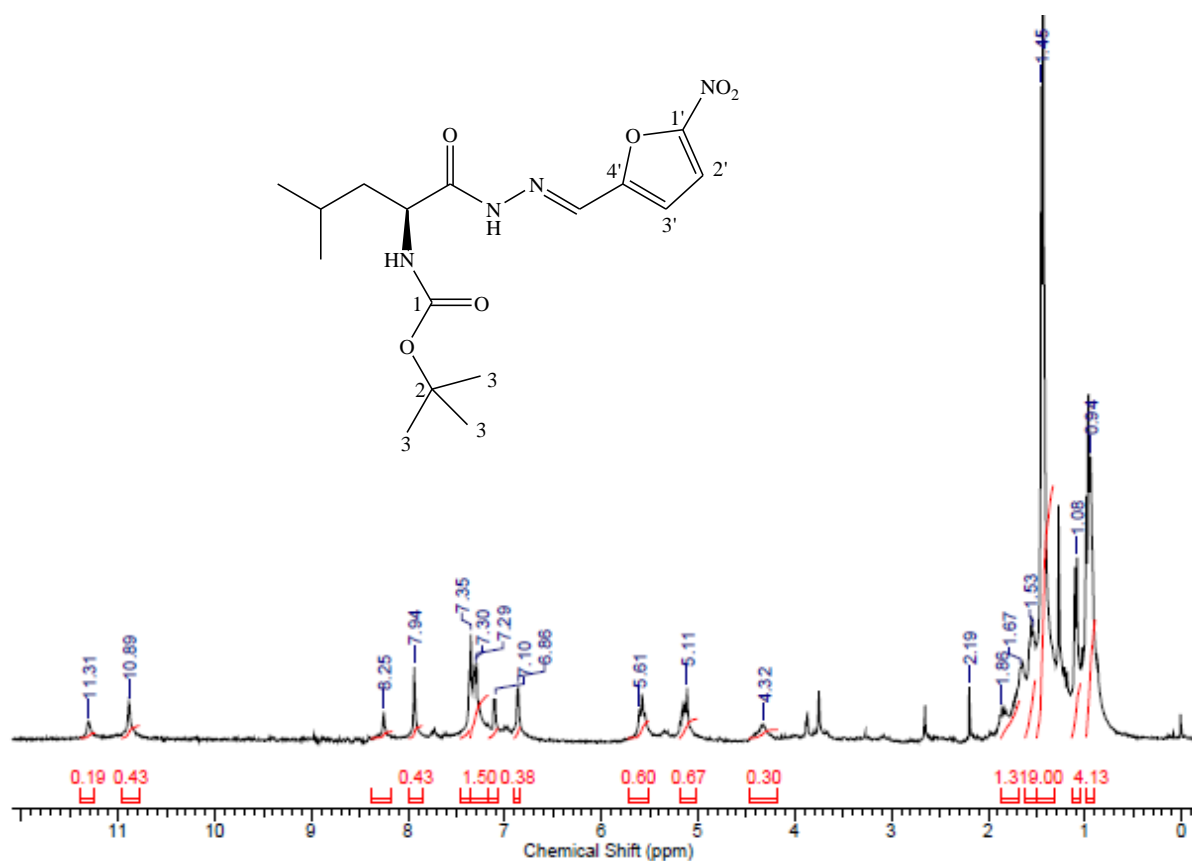


Figura 4.161. Espectro de RMN de ^1H da substância **48g** (DMSO- d_6 , 300 MHz).

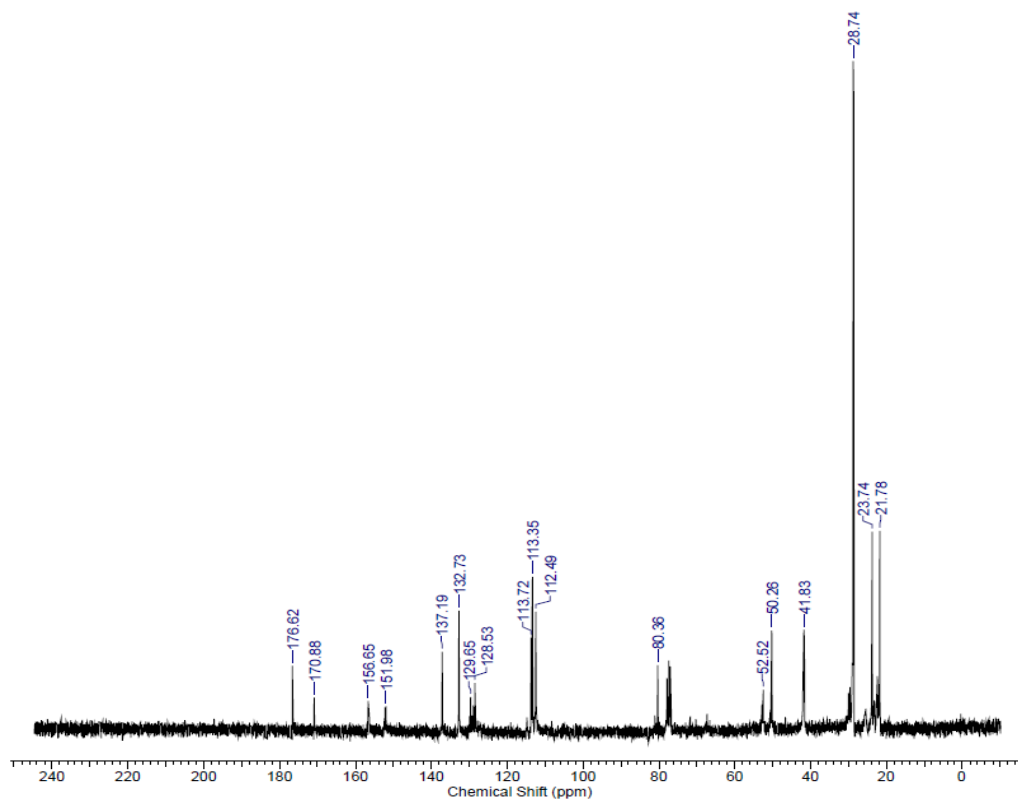


Figura 4.162. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48g** (DMSO- d_6 , 75 MHz).

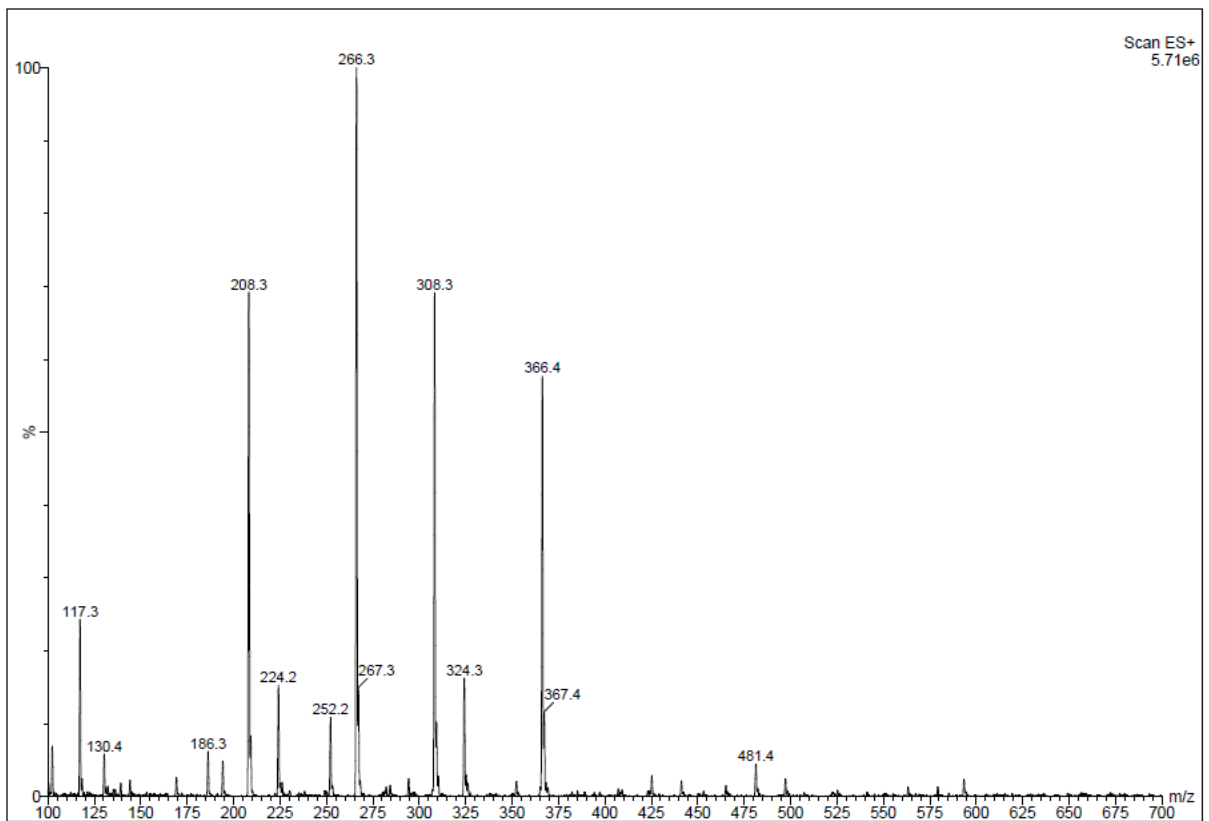


Figura 4.163. Espectro de massa da substância 48h.

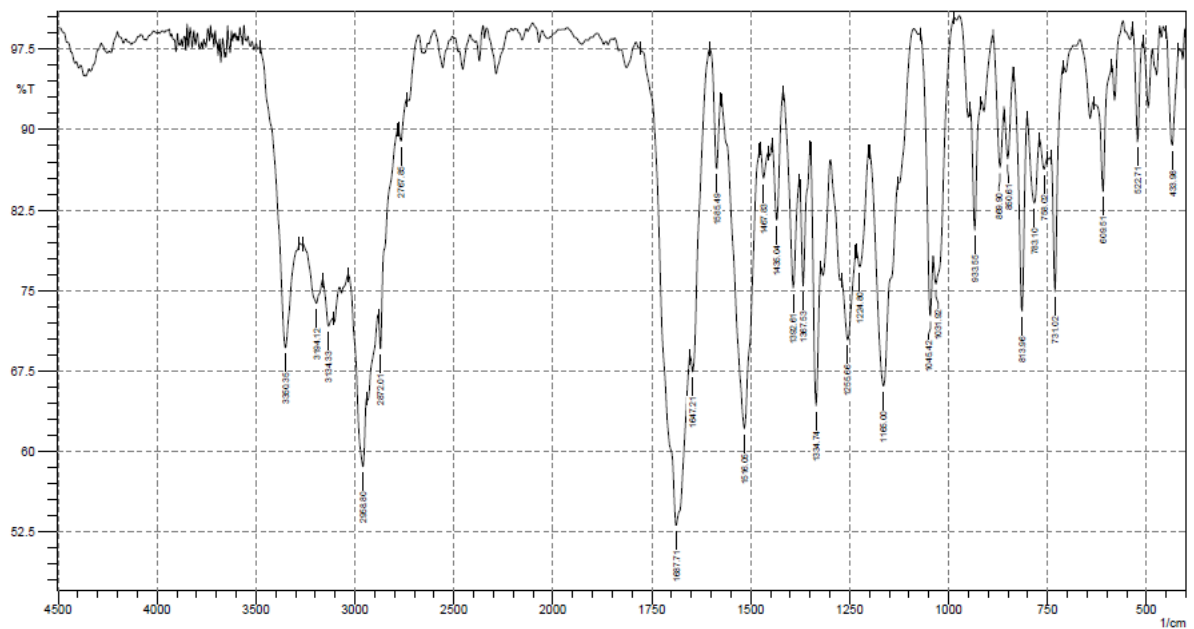


Figura 4.164. Espectro de infravermelho da substância 48h (KBr).

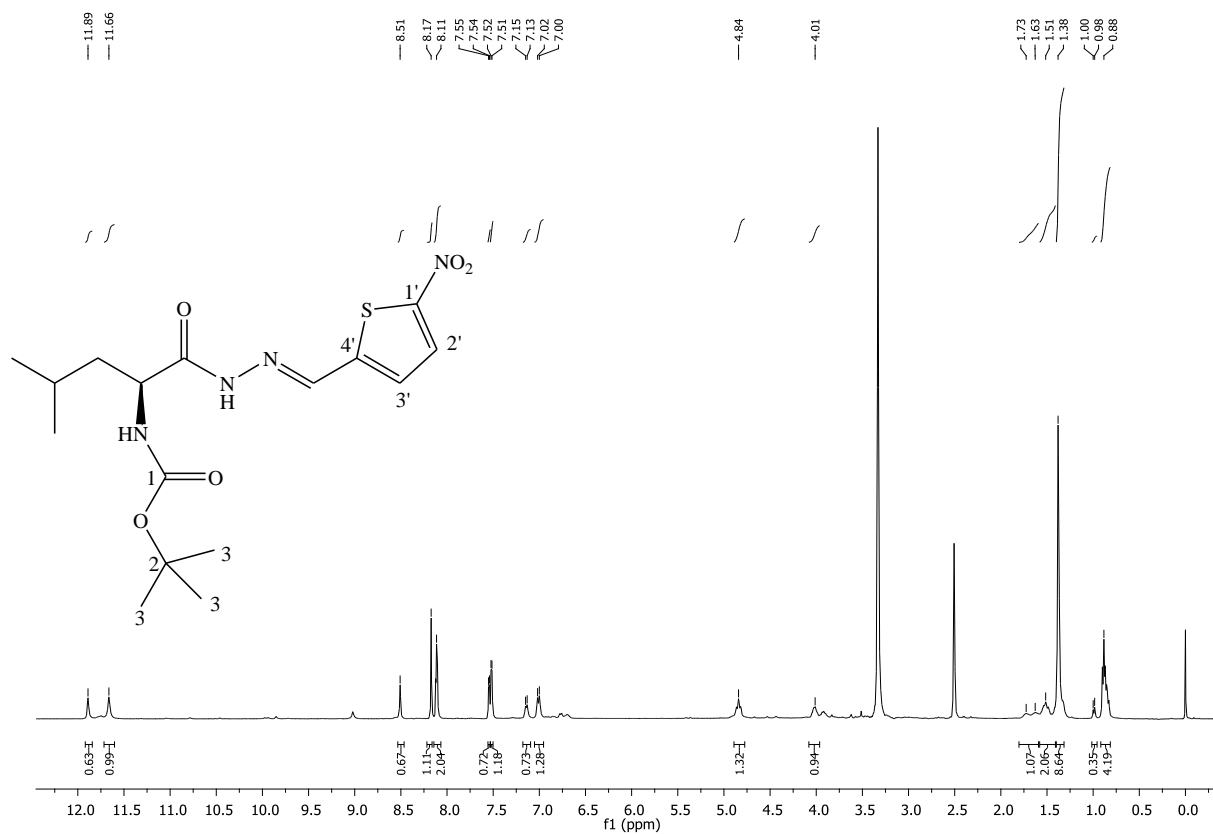


Figura 4.165. Espectro de RMN de ^1H da substância **48h** (DMSO- d_6 , 400 MHz).

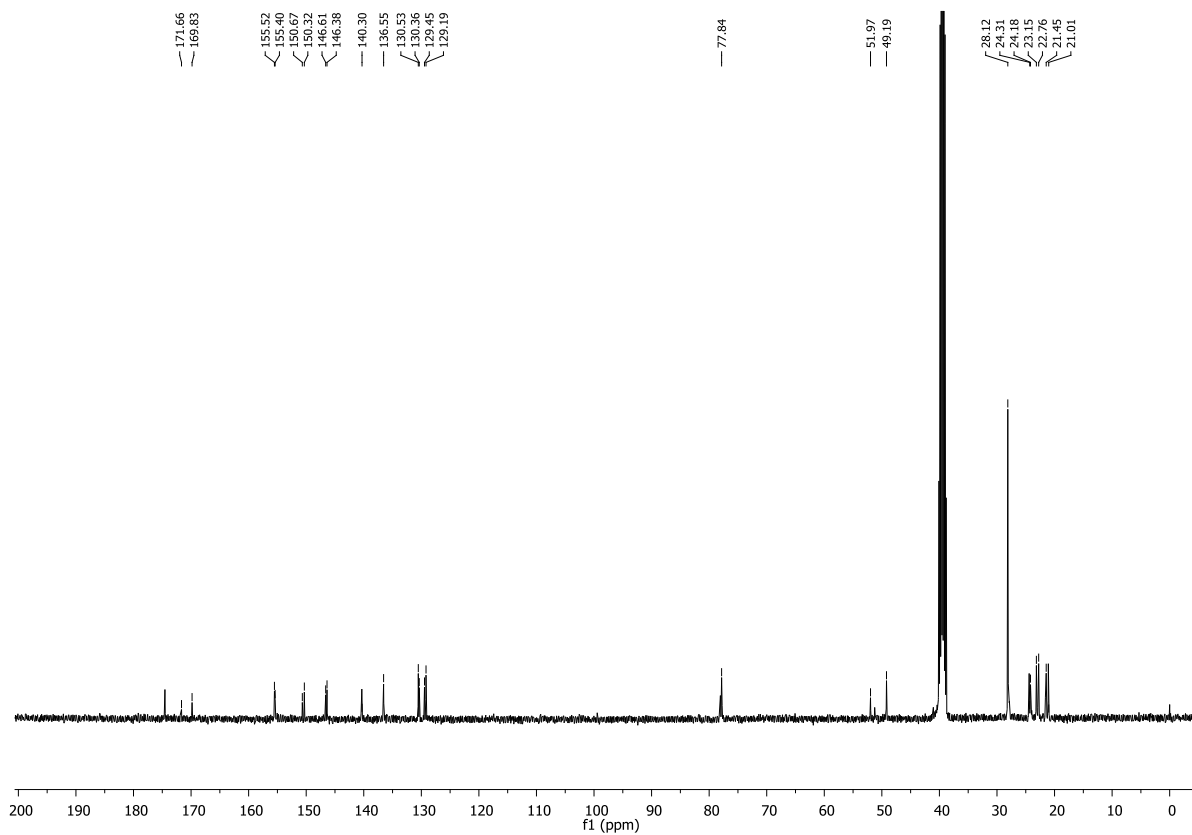


Figura 4.166. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48h** (DMSO- d_6 , 100 MHz).

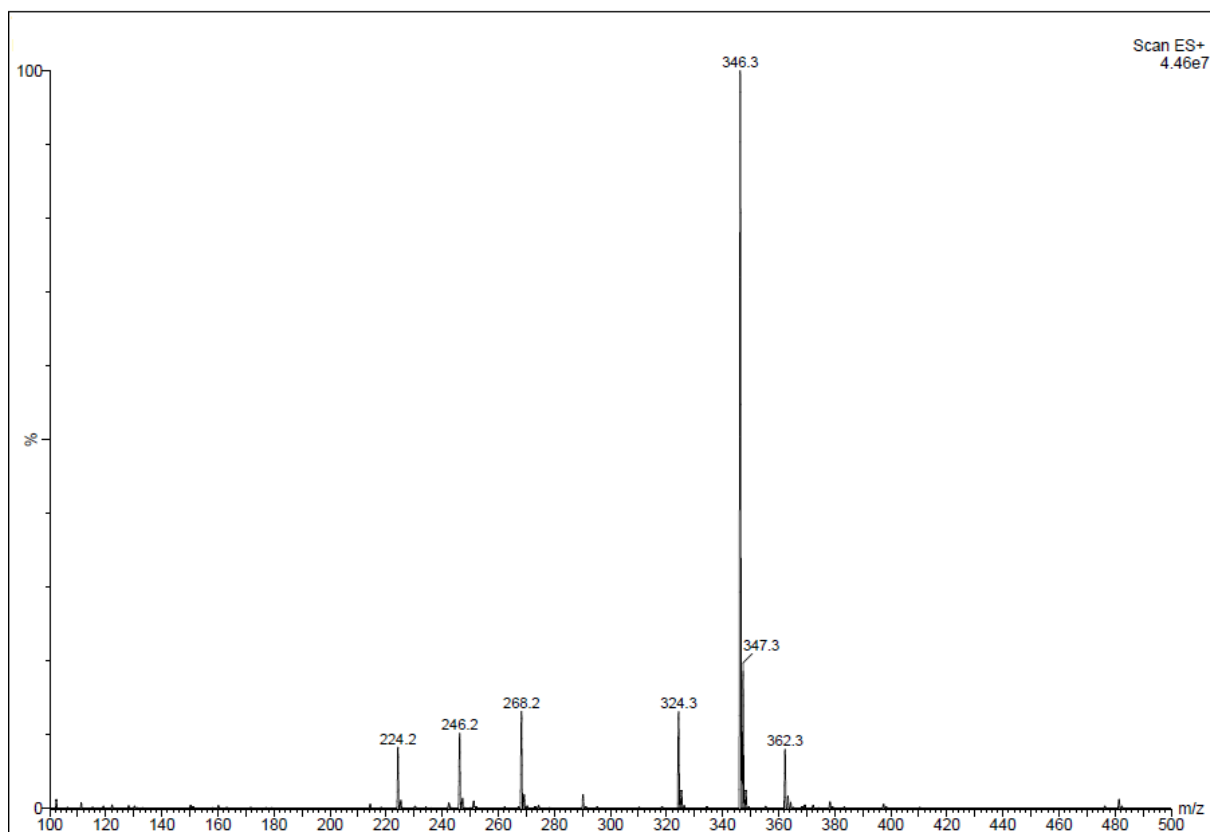


Figura 4.167. Espectro de massa da substância 48i.

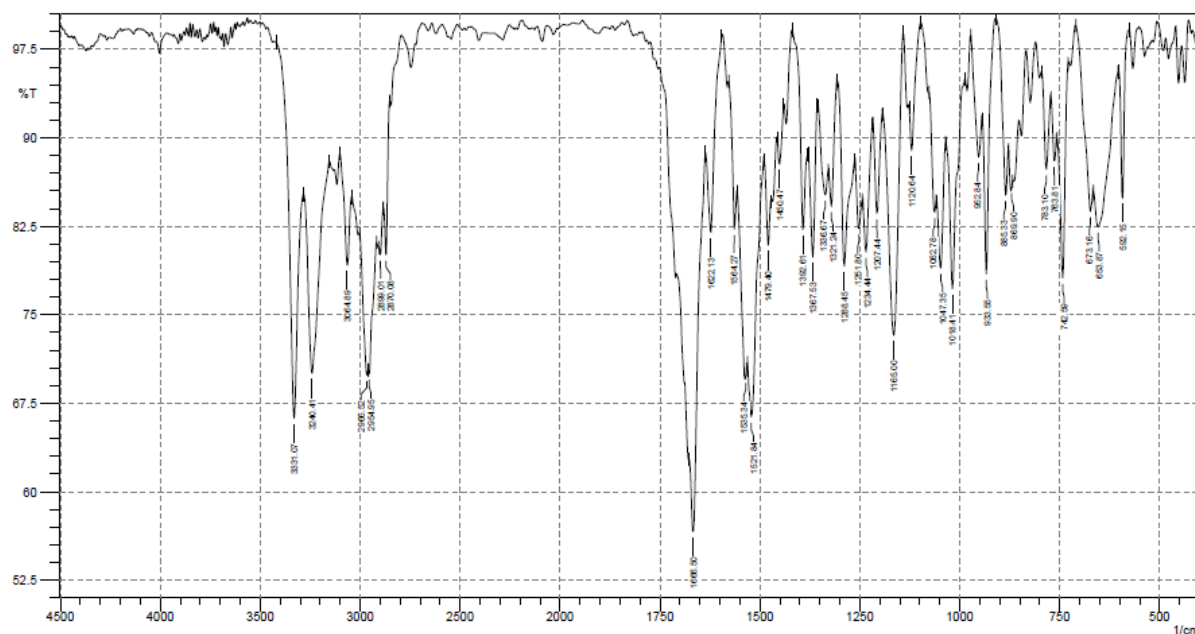


Figura 4.168. Espectro de infravermelho da substância 48i (KBr).

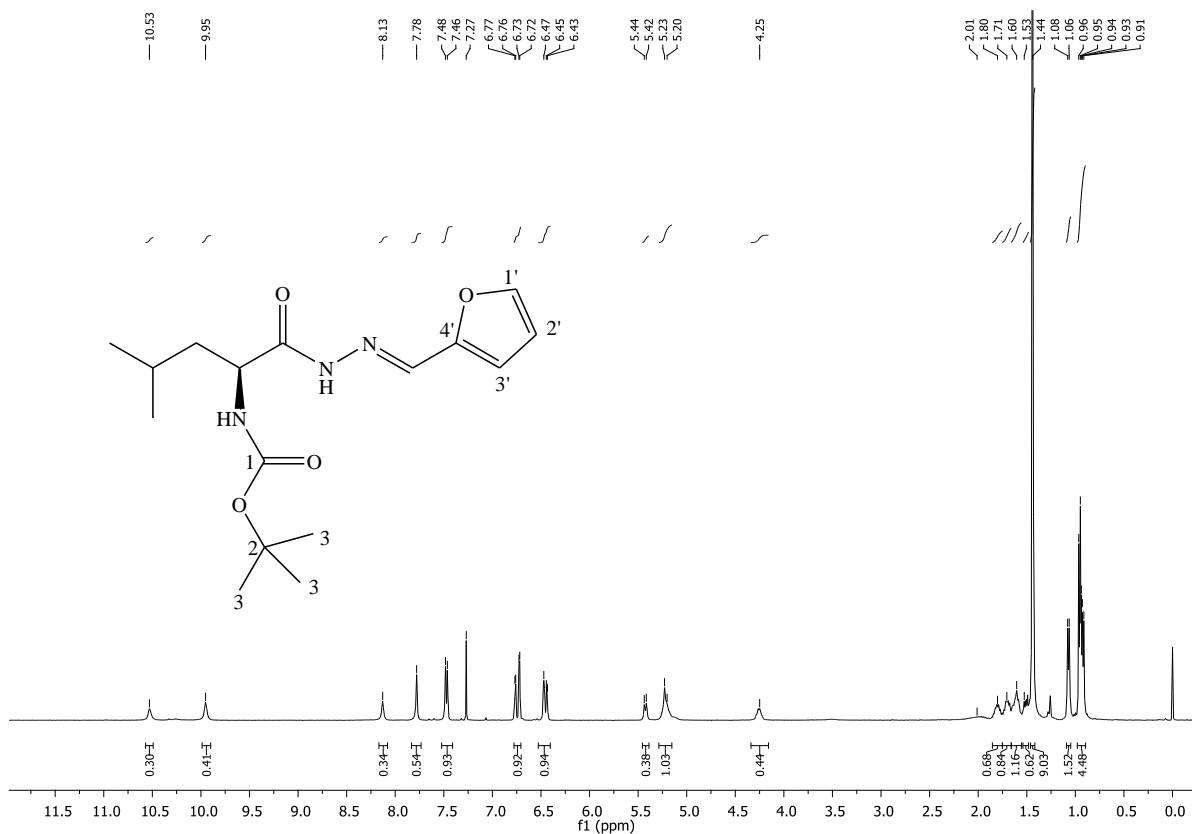


Figura 4.169. Espectro de RMN de ¹H da substância 48i (CDCl₃, 400 MHz).

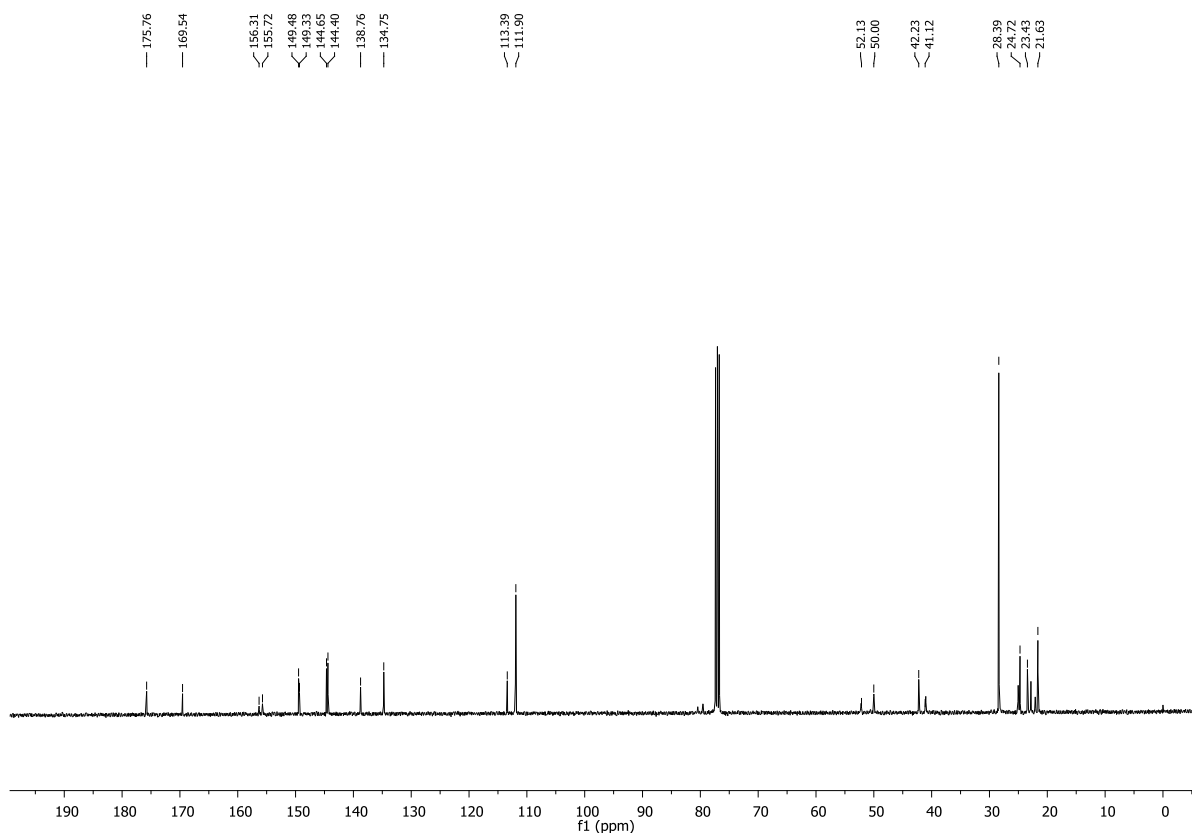


Figura 4.170. Espectro de RMN de ¹³C da substância 48i (CDCl₃, 100 MHz).

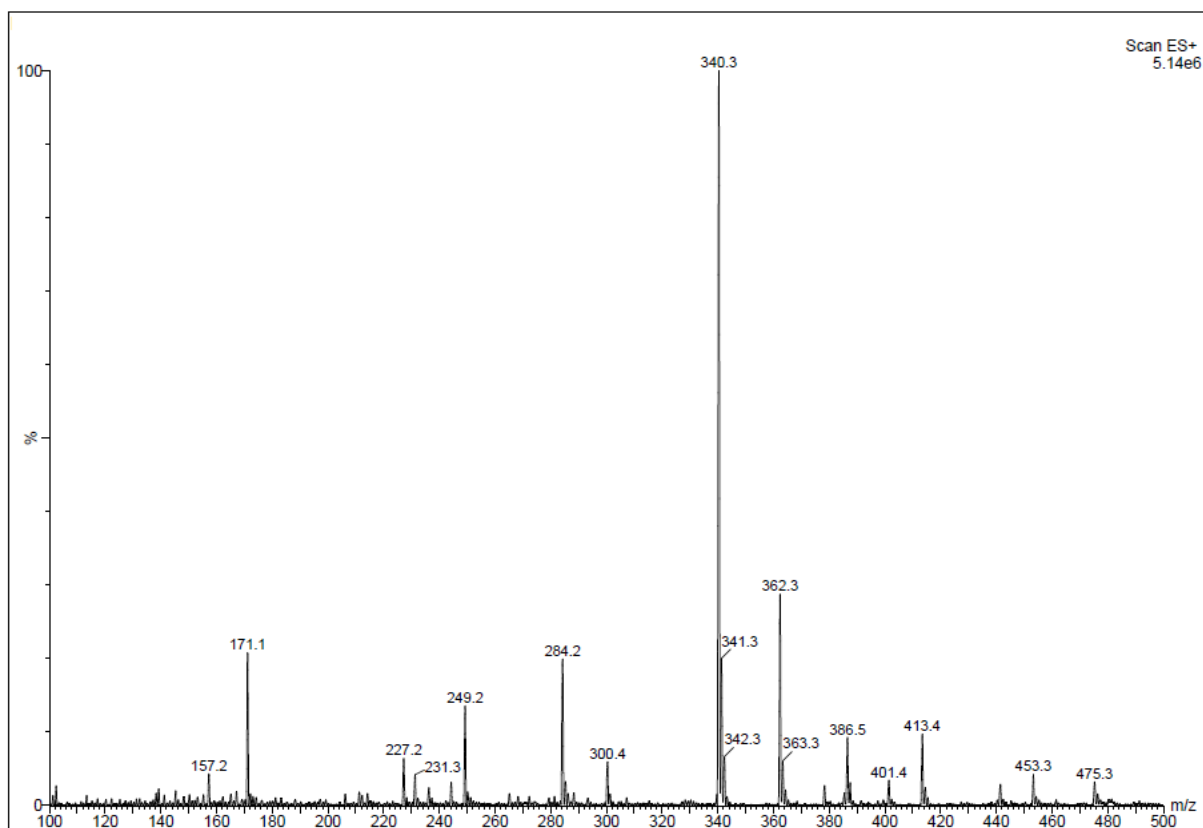


Figura 4.171. Espectro de massa da substância 48j.

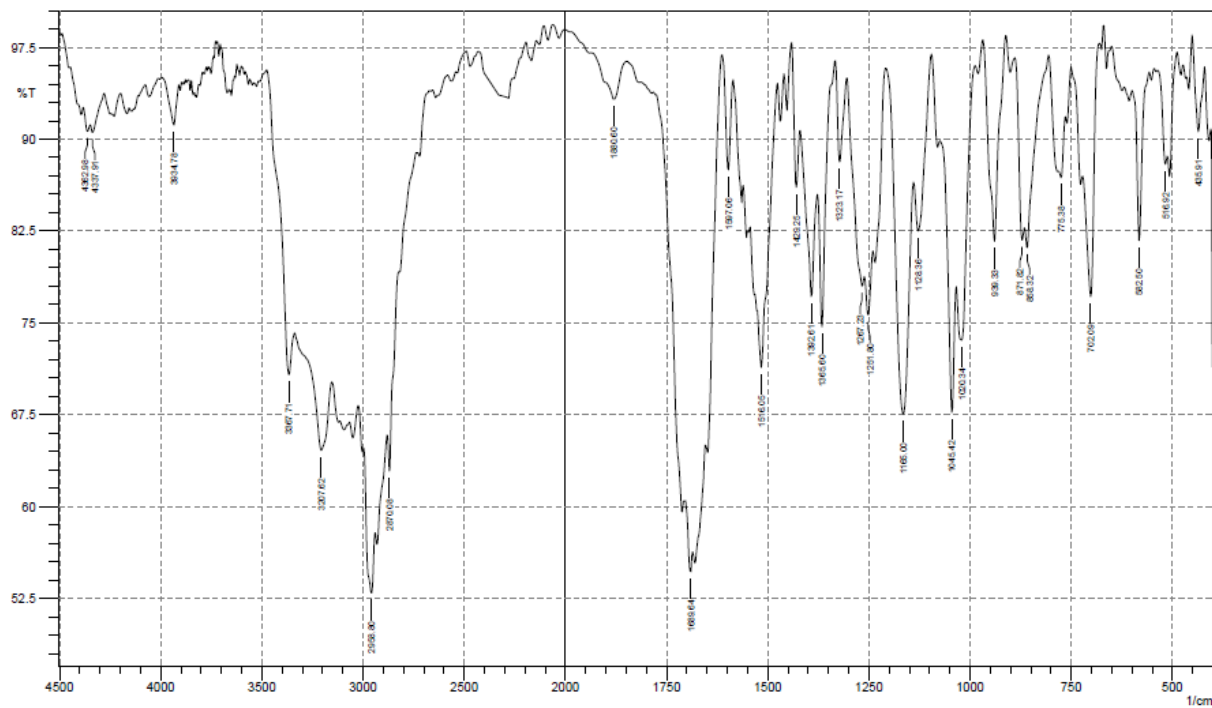


Figura 4.172. Espectro de infravermelho da substância 48j (KBr).

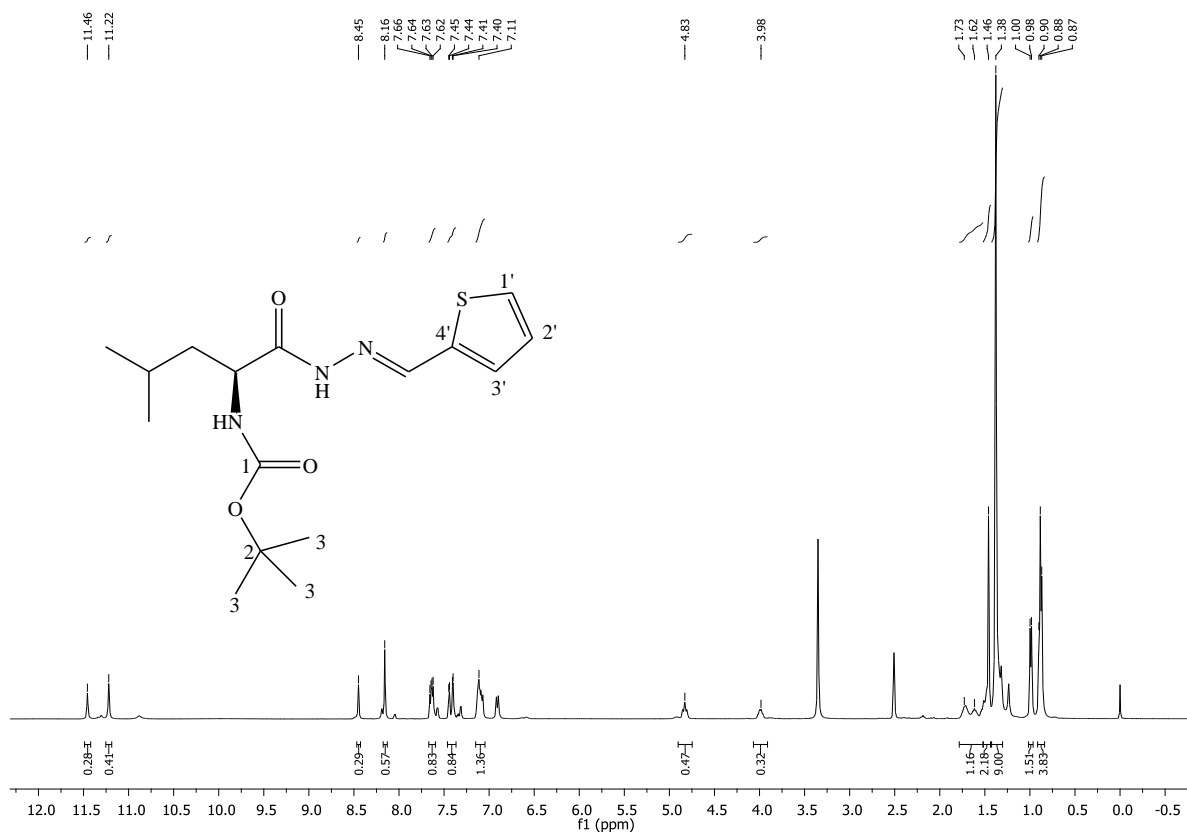


Figura 4.173. Espectro de RMN de ^1H da substância **48j**(DMSO- d_6 , 400 MHz).

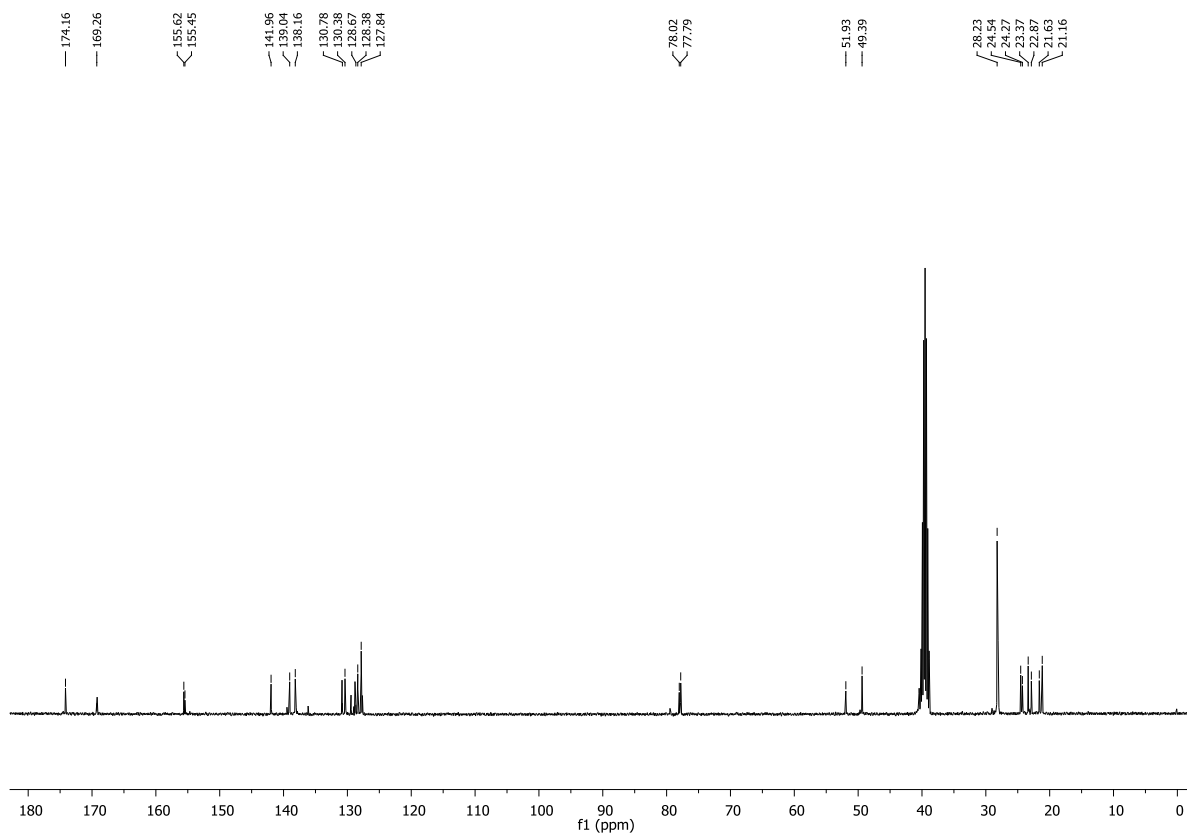


Figura 4.174. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48j** (DMSO- d_6 , 100 MHz).

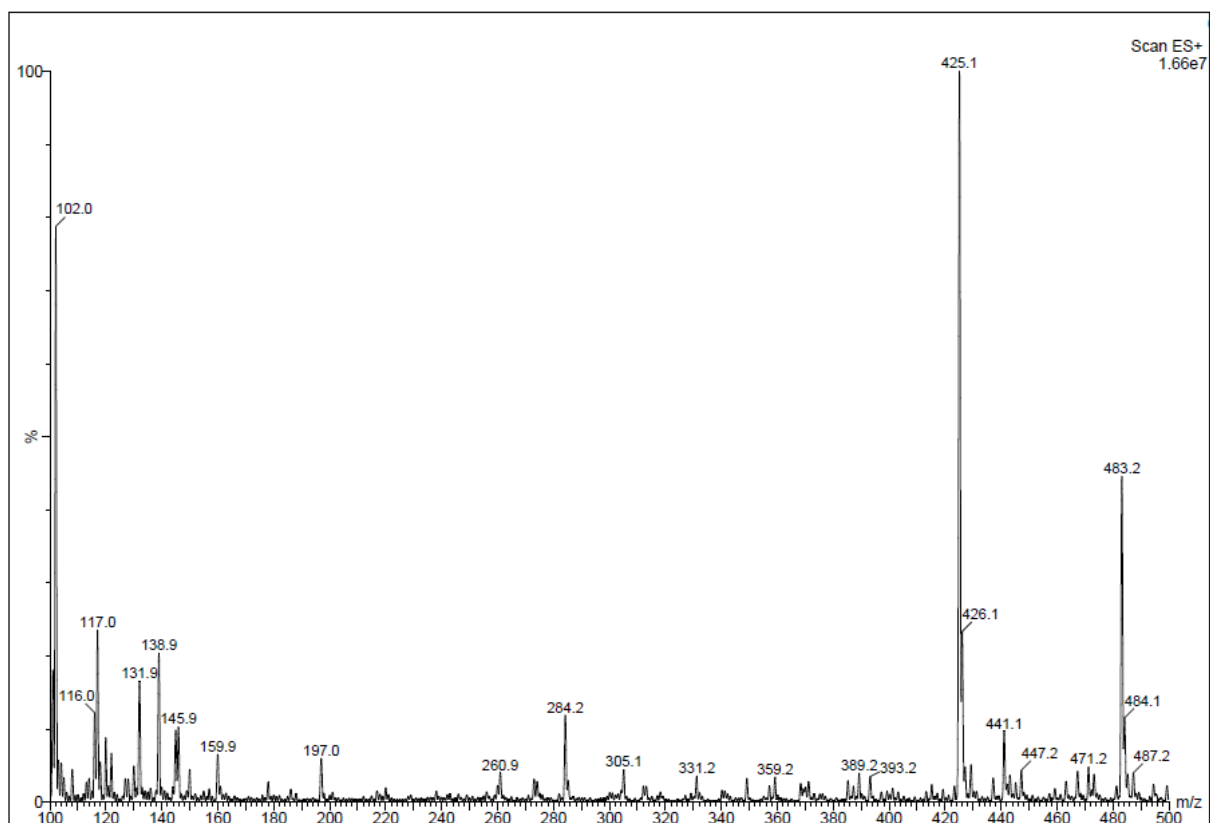


Figura 4.175. Espectro de massa da substância 481.

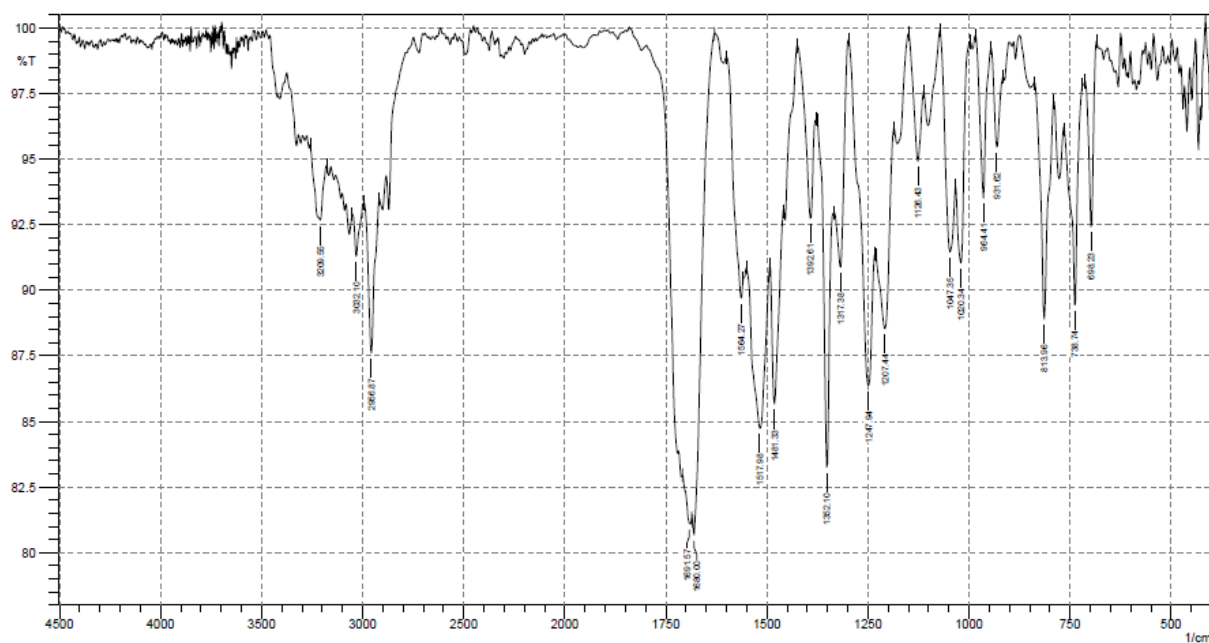
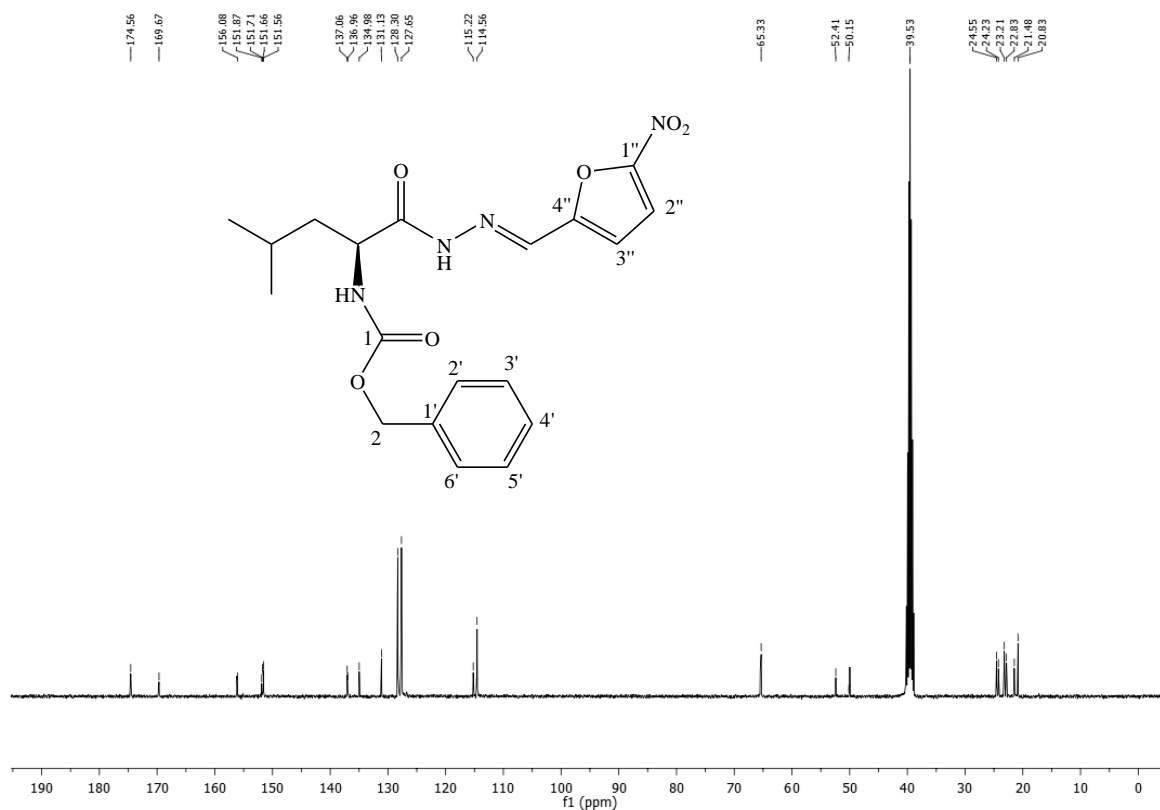
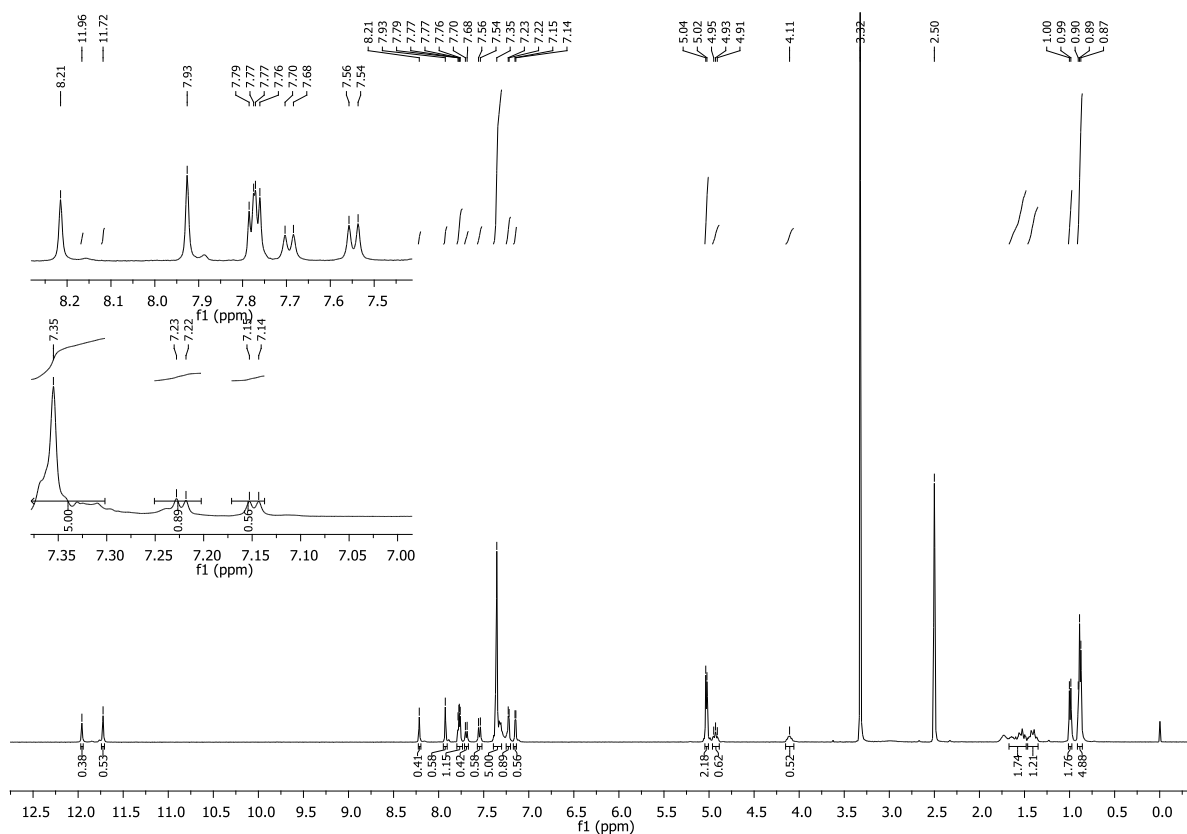


Figura 4.176. Espectro de infravermelho da substância 481 (KBr).



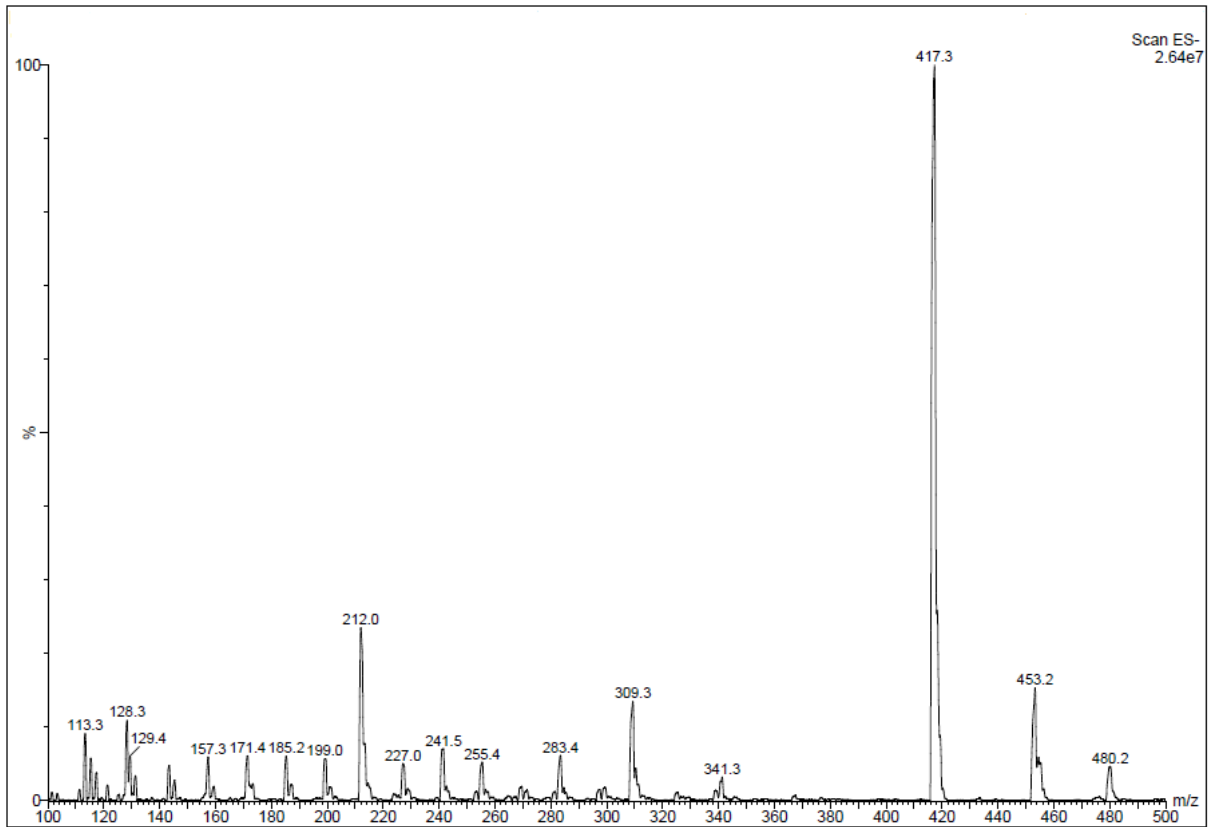


Figura 4.179. Espectro de massa da substância 48m.

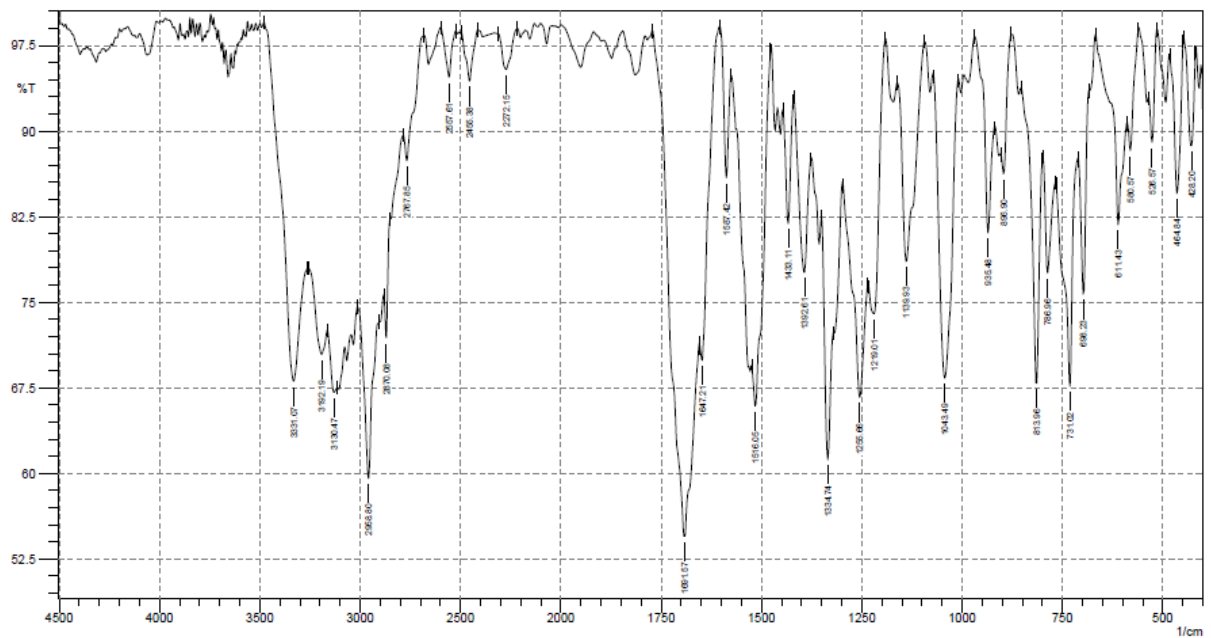


Figura 4.180. Espectro de infravermelho da substância 48m (KBr).

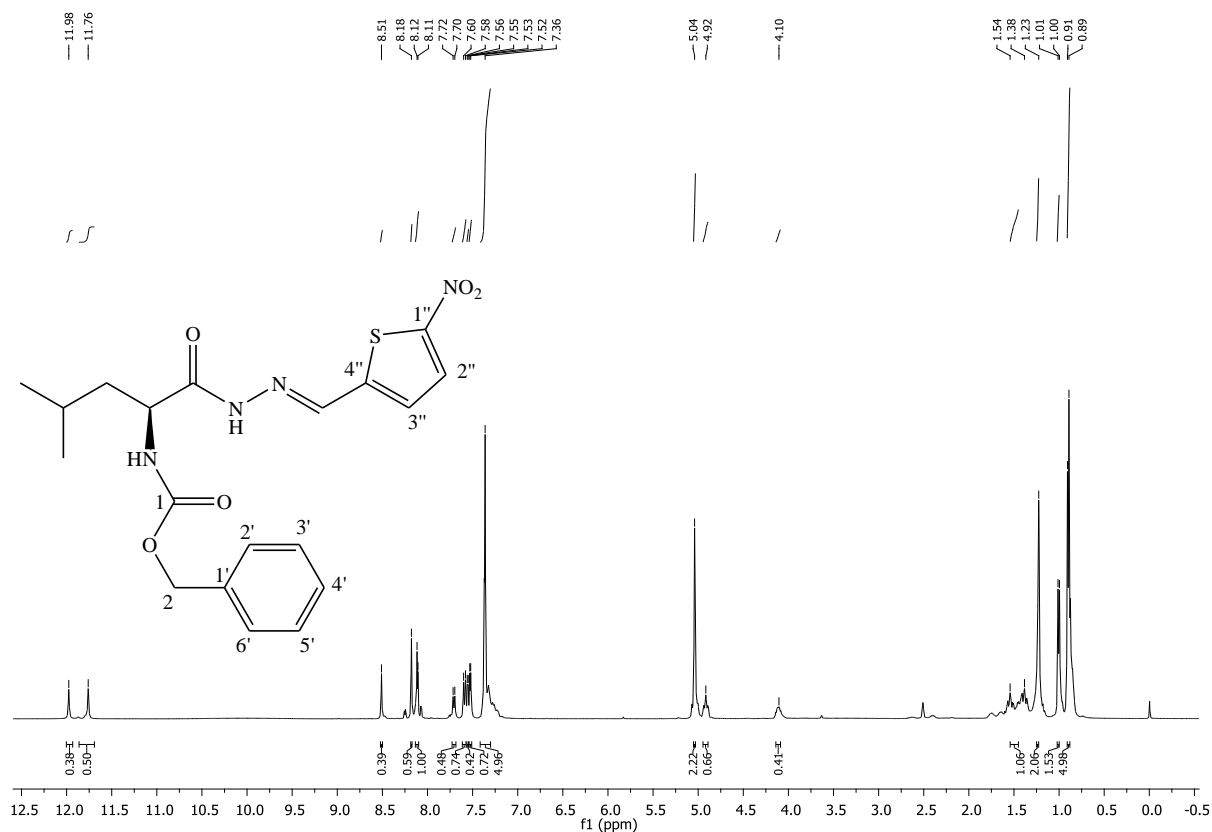


Figura 4.181. Espectro de RMN de ^1H da substância **48m** (DMSO- d_6 , 400 MHz).

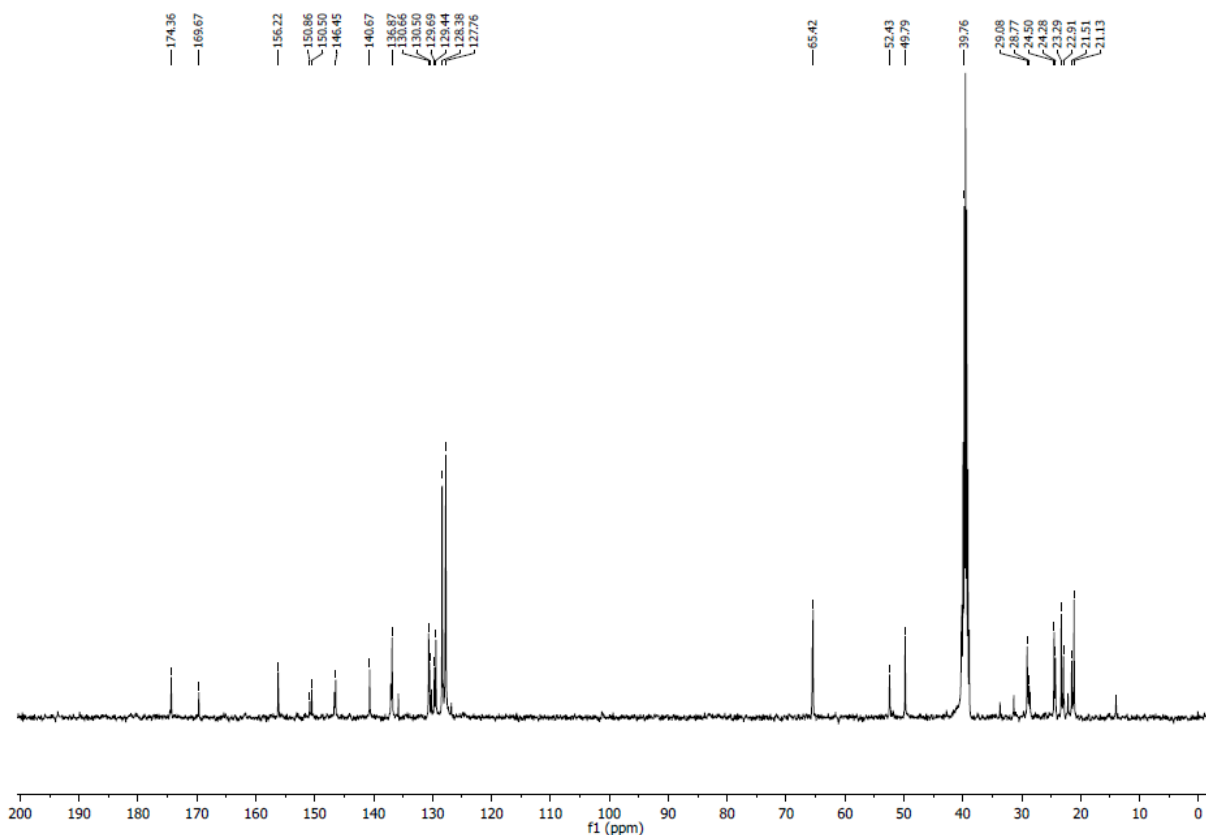


Figura 4.182. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48m** (DMSO- d_6 , 100 MHz).

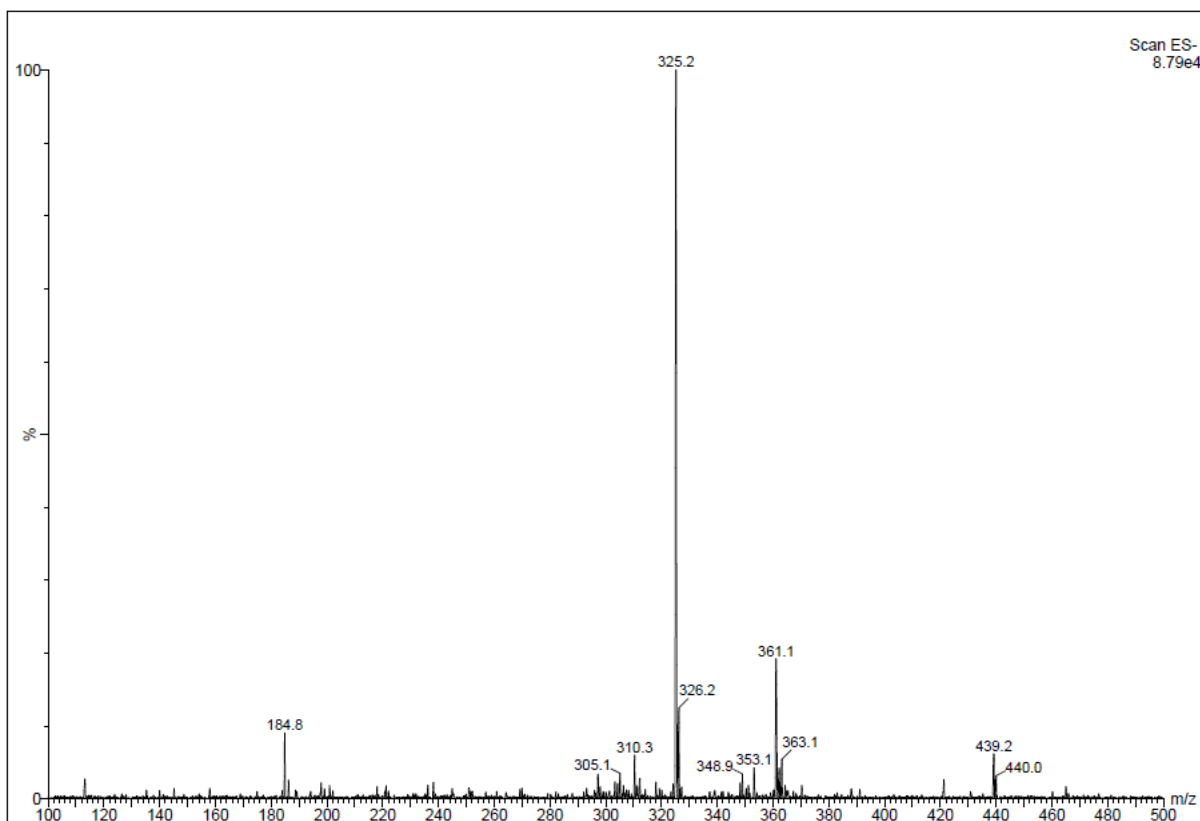


Figura 4.183. Espectro de massa da substância 48n.

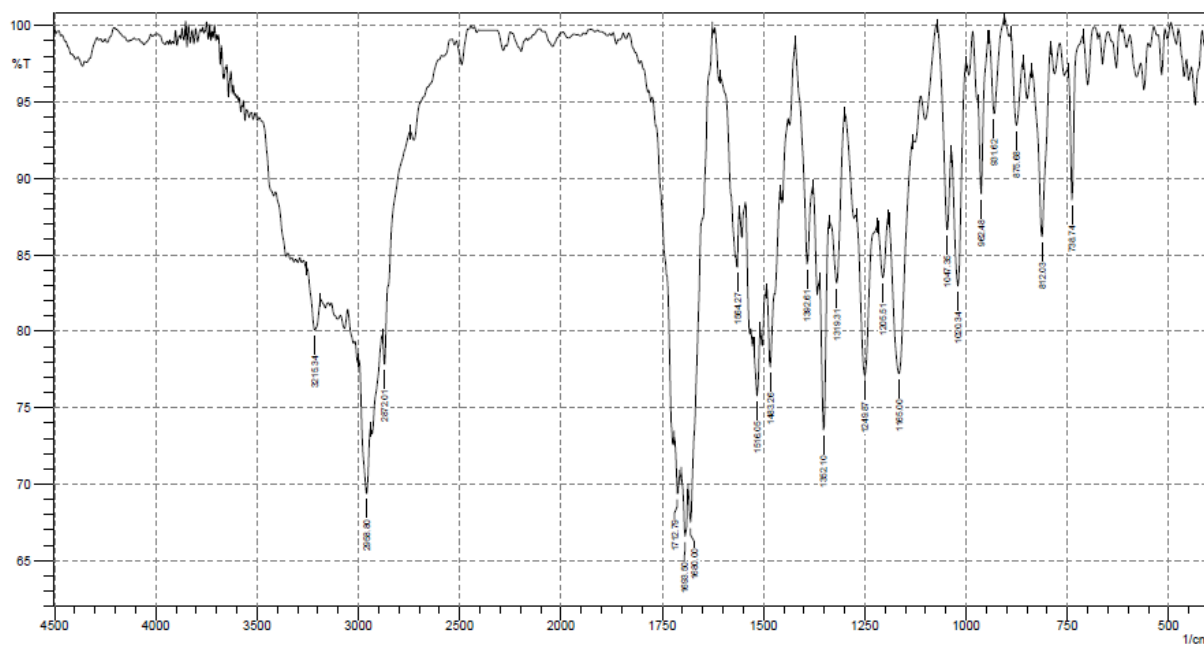


Figura 4.184. Espectro de infravermelho da substância 48n (KBr).

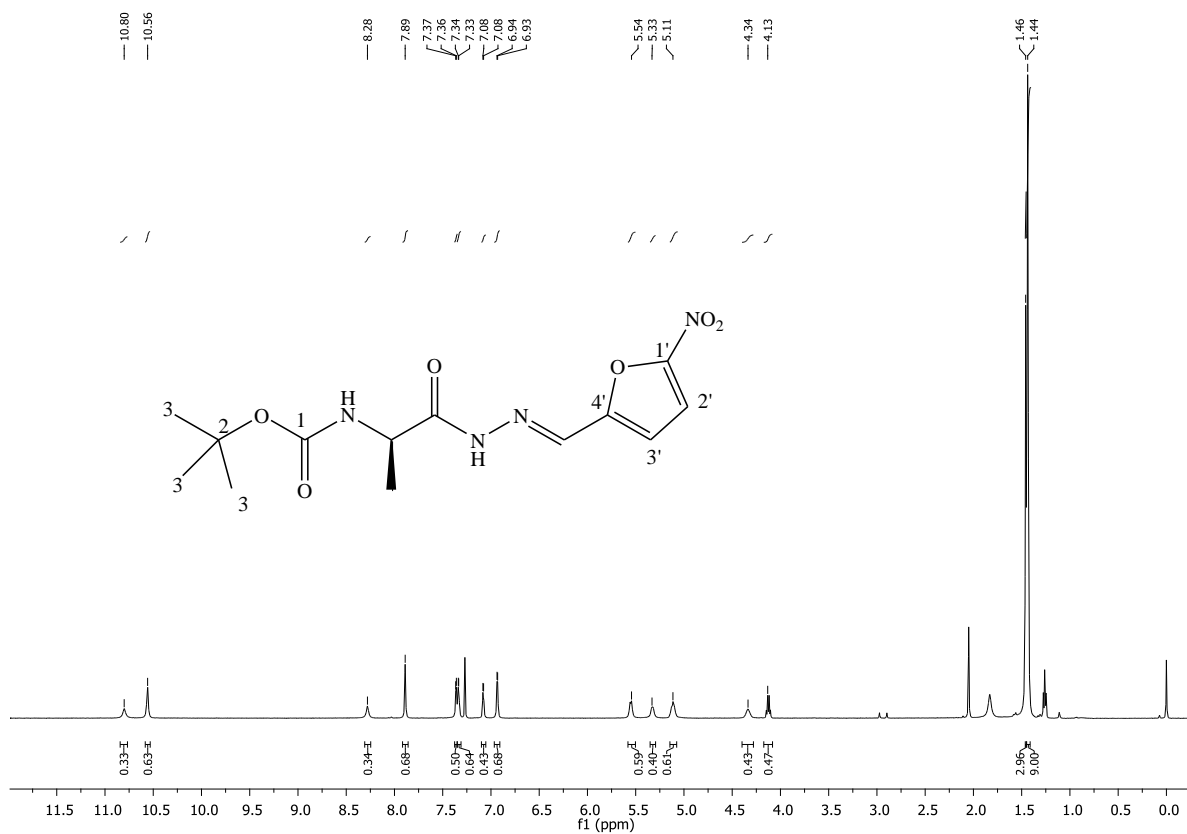


Figura 4.185. Espectro de RMN de ^1H da substância **48n** (CDCl_3 , 500 MHz).

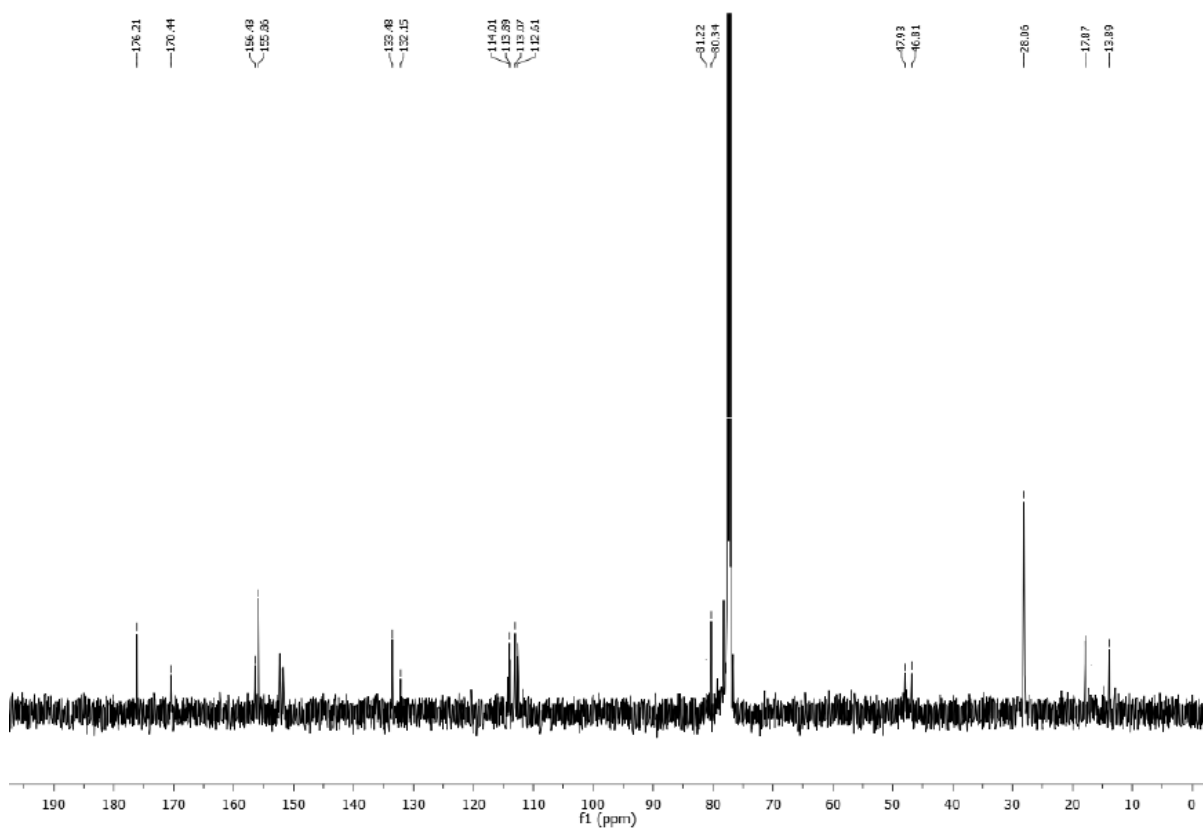


Figura 4.186. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48n** (CDCl_3 , 125 MHz).

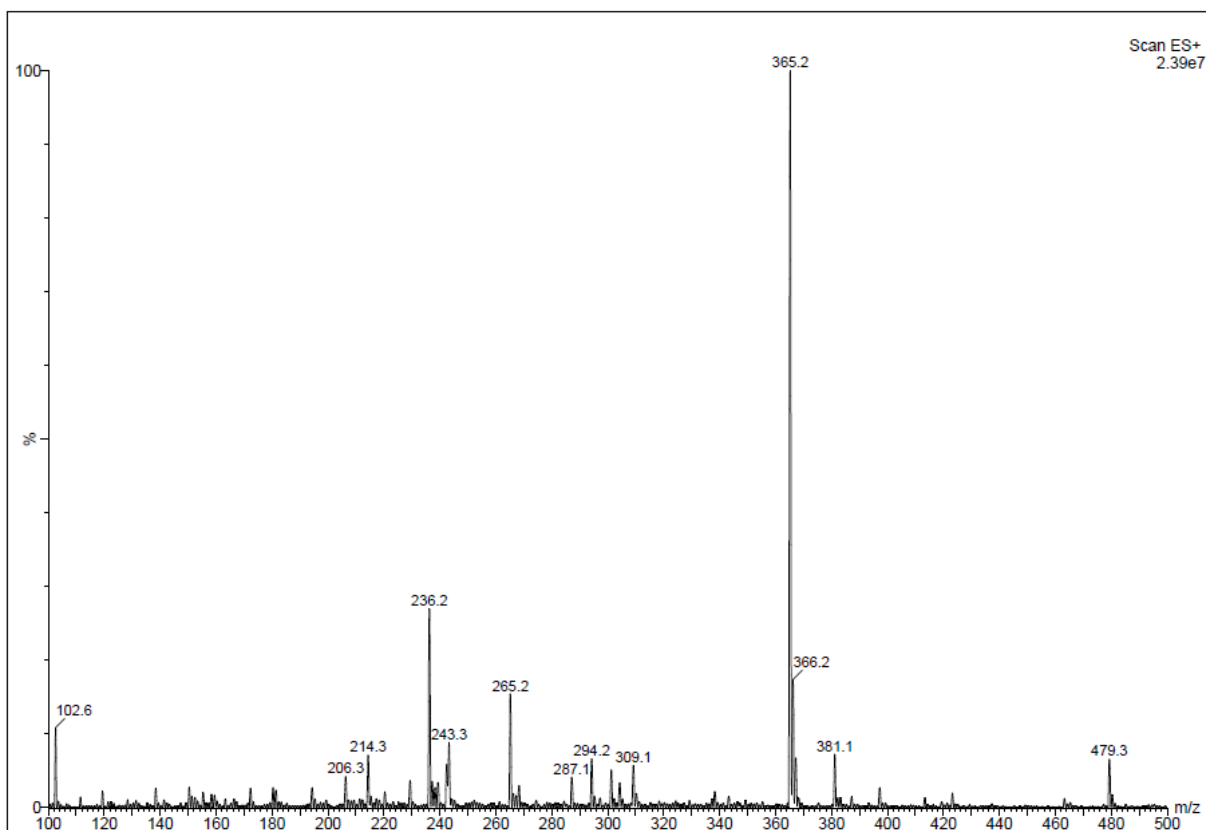


Figura 4.187. Espectro de massa da substância 48o.

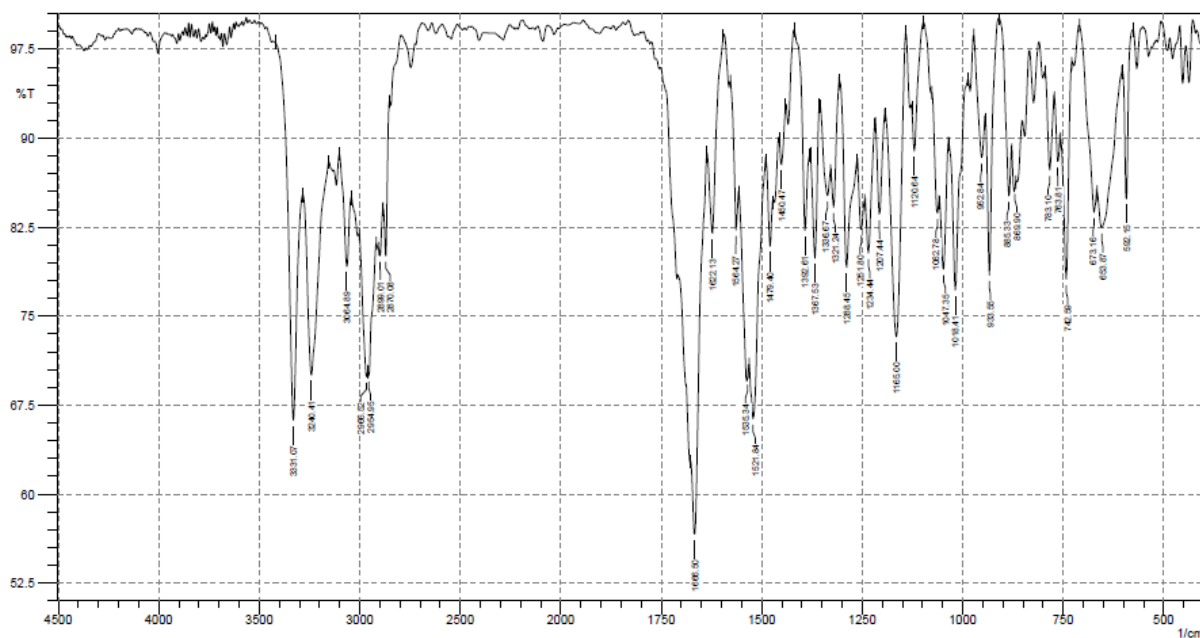


Figura 4.188. Espectro de infravermelho da substância 48o (KBr).

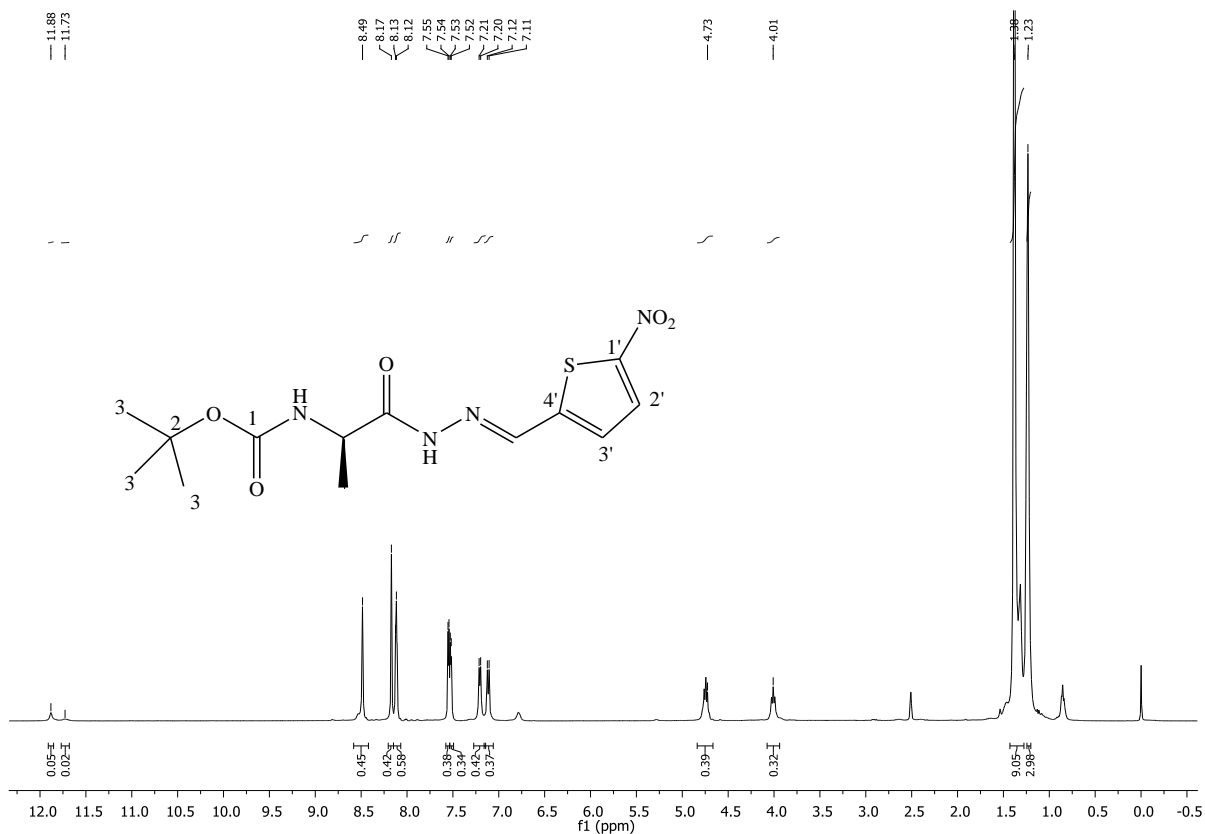


Figura 4.189. Espectro de RMN de ¹H da substância **48o** (DMSO-d₆, 400 MHz).

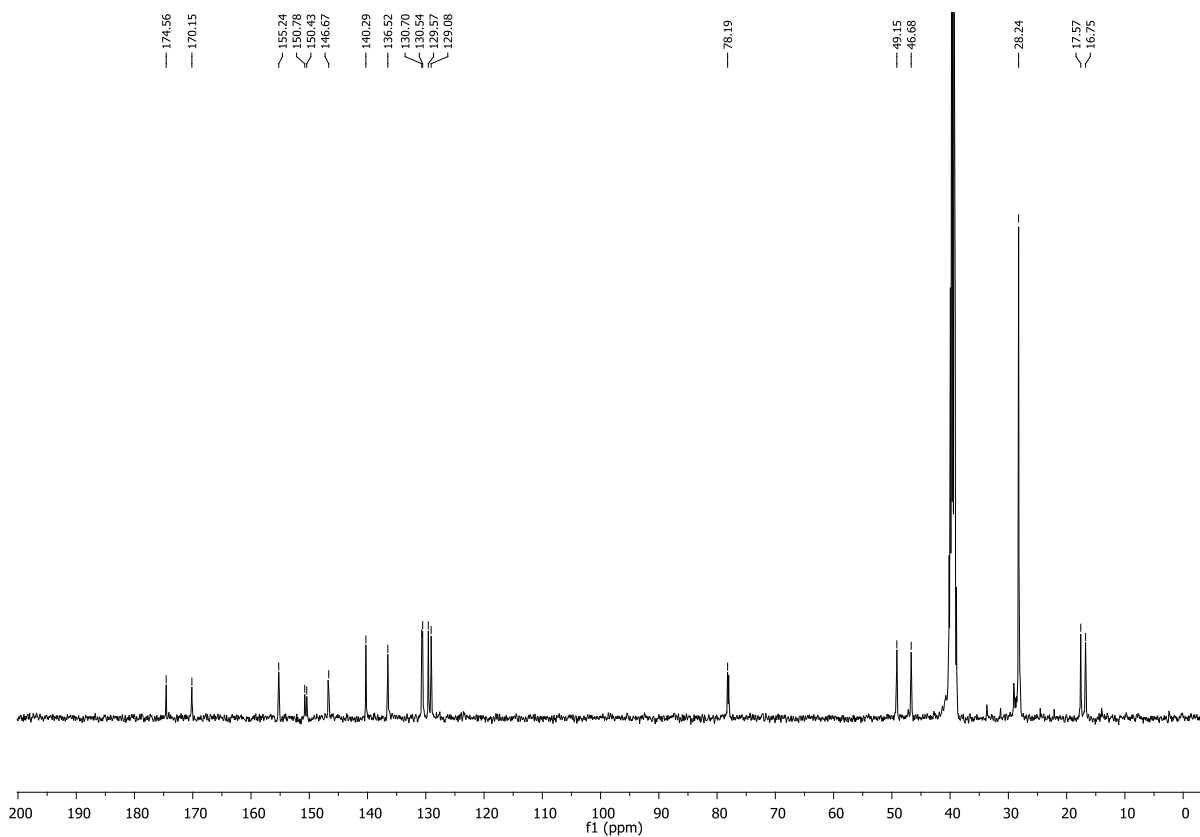


Figura 4.190. Espectro de RMN de ¹³C da substância **48o** (DMSO-d₆, 100 MHz).

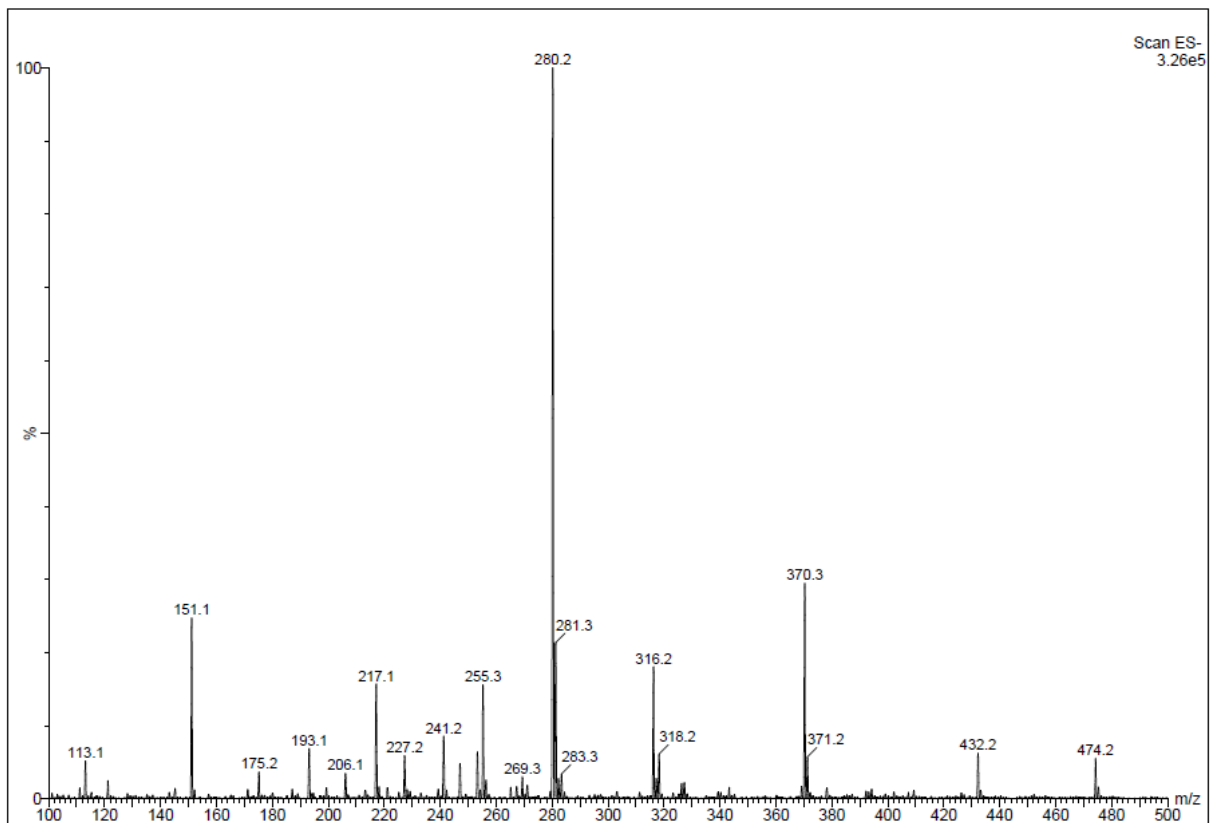


Figura 4.191. Espectro de massa da substância 48p.

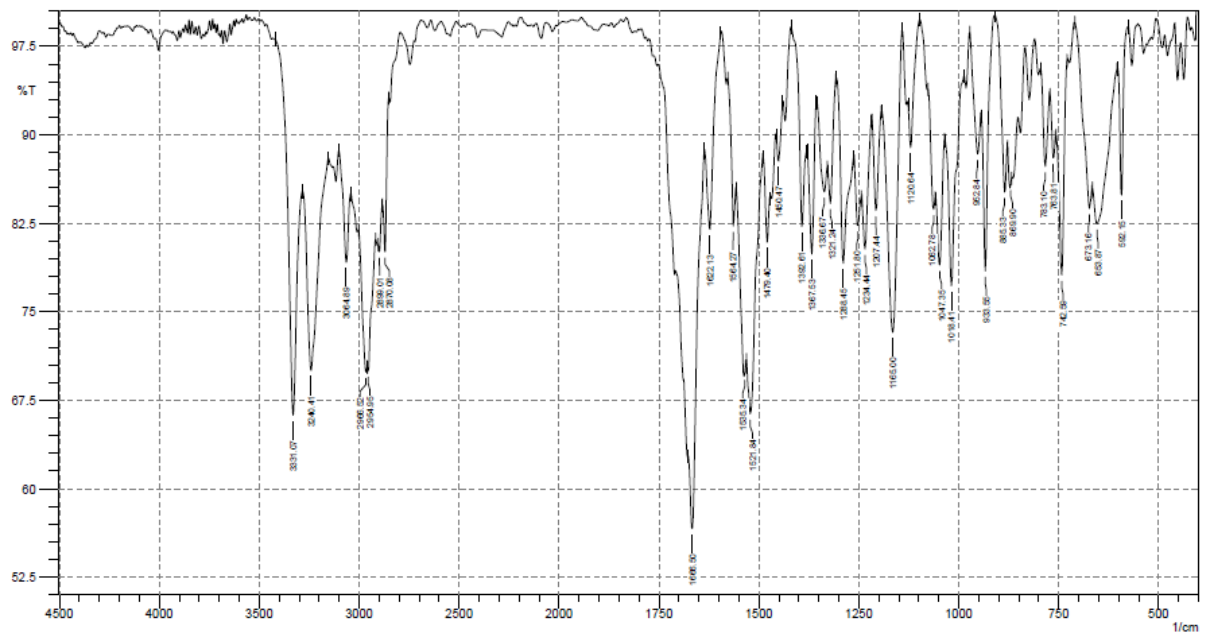


Figura 4.192. Espectro de infravermelho da substância 48p (KBr).

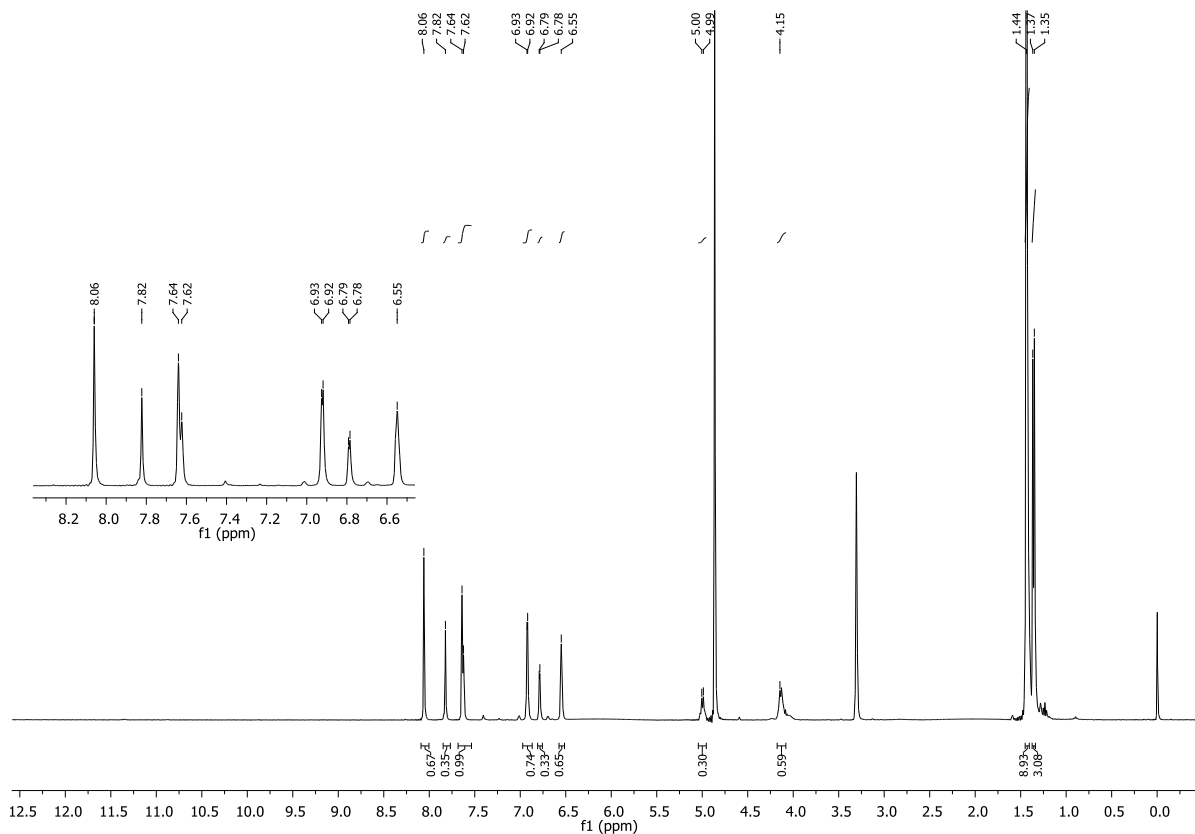


Figura 4.193. Espectro de RMN de ¹H da substância **48p** (CD₃OD, 400 MHz).

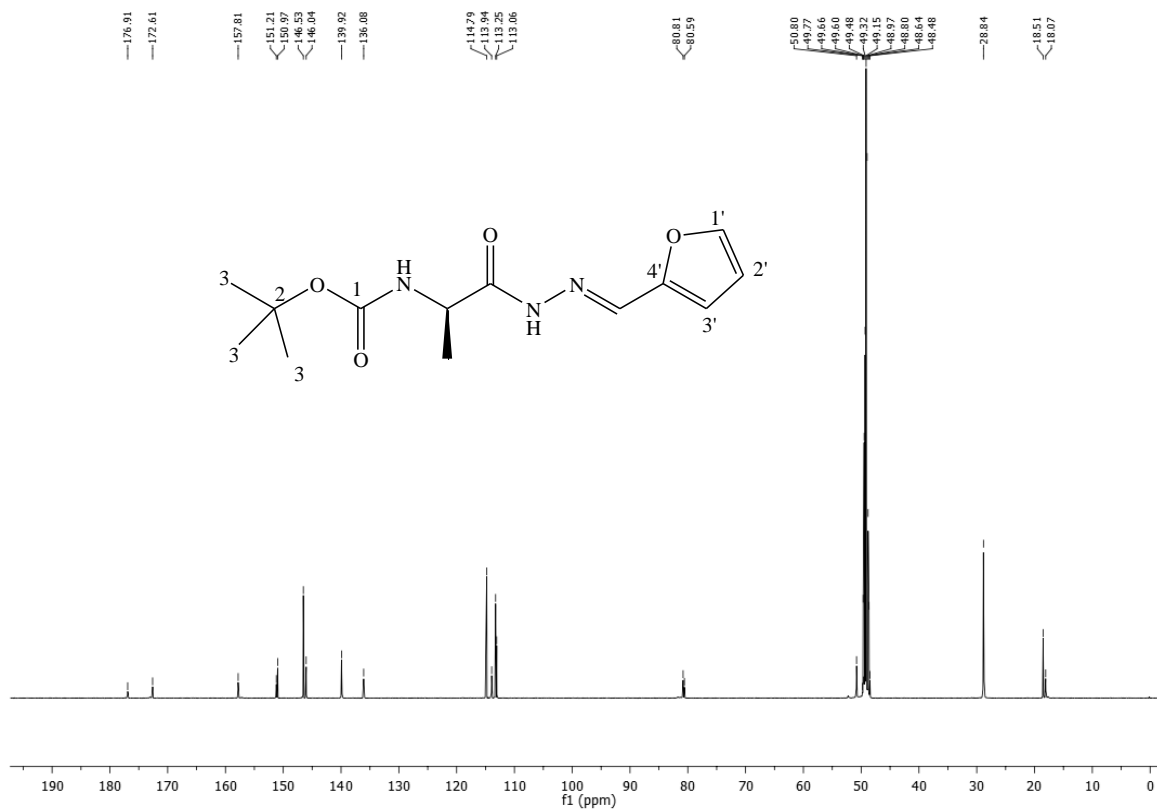


Figura 4.194. Espectro de RMN de ¹³C da substância **48p** (CD₃OD, 100 MHz).

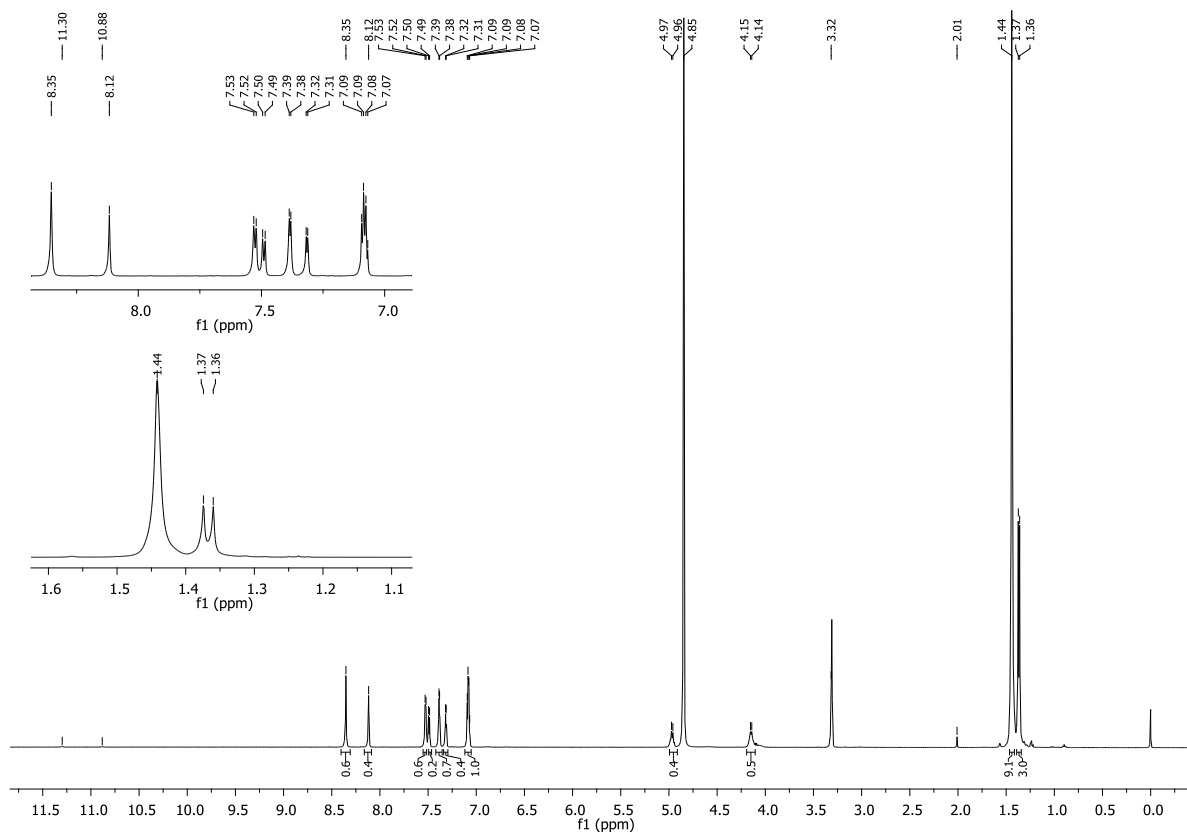


Figura 4.197. Espectro de RMN de ^1H da substância **48q** (CD_3OD , 400 MHz).

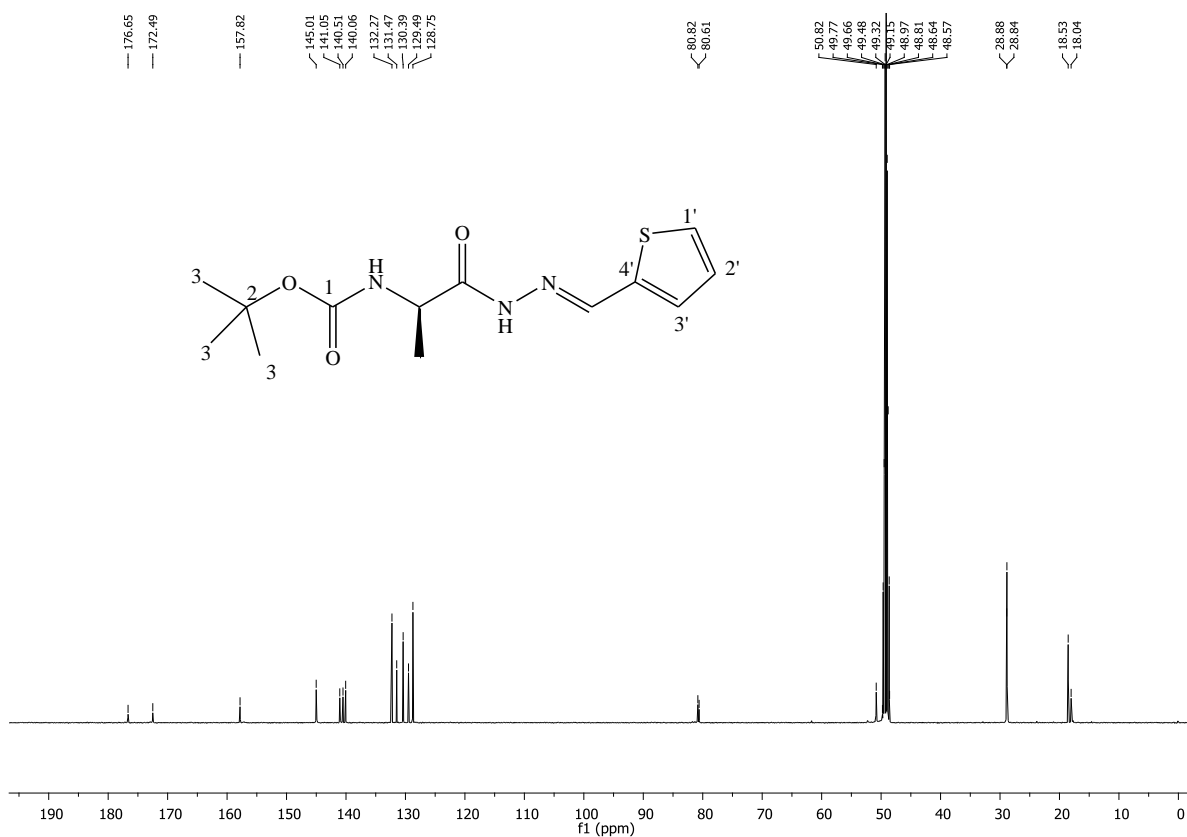


Figura 4.198. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **48q** (CD_3OD , 100 MHz).

Capítulo 5. Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A.H. **Cellular and Molecular Immunology**. 6th ed. Editora: Saunders, 2003.
- ALIABADI, H. S; TABARZADI, M.; ZARGHI, A. Synthesis and cytotoxic evaluation of two novel anthraquinone derivatives. **II Farmaco**, 2004, v. 59, p. 645–649.
- ALMEIDA, M. V. *et al.* Synthesis and antitubercular activity of lipophilic moxifloxacin and gatifloxacin derivatives. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, 2007, v. 17, p. 5661–5664.
- ALVAREZ, S. G; ALVAREZ, M. T. A practical procedure for the synthesis of alkyl azides at ambiente temperature in dimethyl sulfoxide in high purity and yield. **Synthesis**, v. 4, p. 413-414, 1997.
- AVENDAÑO, C.; MENÉNDEZ, J. C. **Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs**. First ed. Elsevier, 2008, p. 200-215.
- BARNES, P. J.; LIEW, F. Y. Nitric Oxide and asthmatic inflammation. **Immunology Today**, 1995, v. 16, p. 128-130.
- BARREIRA, D., GRANGEIRO, A. Evaluation of tuberculosis control strategies in Brazil. **Revista de Saúde Pública**. 2007, v. 41, supl. 1, p. 4-8.
- BATKHUU, J. *et al.* Suppression of NO production in activated macrophages in vitro and ex vivo by neoandrographolide isolated from *Andrographis paniculata*. **Biology Pharmaceutical Bulletin**, 2002, v. 25, p. 1169-1174.
- BECKMAN, J. S.; KOPPENOL J. H. Nitric oxid, superoxide and peroxinitrit: the god, the bad, and the ugly. **American Journal of Physiology**, 1996, v. 271, p. 1424- 1427.
- BERNARDINO, A. M.R., *et al.* Synthesis and leishmanicidal activities of 1-(4-X-phenyl)-N'-[(4-Y-phenyl)methylene]-1*H*-pyrazole-4-carbohydrazides. **European Journal Medicinal Chemistry**, 2006, v. 41, n. 1, p. 80-87.

- BLOOMFIELD, S. F. Proceedings of the society for applied microbiology symposium on campylobacter, helicobacter and arcobacter. **Symposium Series Society Applied Microbiology**, 2002, v. 31, p. 1S-162S.
- BOGDAN, C.; ROLLINGHOFF, M.; DIEFENBACH, A. The role of nitric oxide in innate immunity. **Immunology**, 2000, v. 173, p.17-26.
- BRENNAN, P. J., CRICK, D. C. The cell-wall core of *Mycobacterium tuberculosis* in the context of drug discovery. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, 2007, v. 7, p. 475-488.
- BUU-HOI, P., *et al.* Tuberculostatic hydrazides and their derivatives. **Journal of the Chemical Society**, 1953, p. 1358-1364.
- CARDOSO, S. H. “Síntese de Derivados do 2-Mercaptobenzotiazol, do 2-Mercaptobenzimidazol, da Isoniazida e da Etionamida, Candidatos a Novos Agentes Antimicrobianos” e “Estudos Visando a Síntese da Alloenduracididina”. Tese de Doutorado: UFJF, 2008, p. 117-119.
- CARVALHO, S. A. “Síntese e avaliação do perfil tripanomicida de N-acilidrazonas cinâmicas planejadas como potenciais agentes anti-chagásicos”. Tese de doutorado: UFRJ, 2011, p. 47-50.
- CASENGUI, M. Development of new drugs for TB chemotherapy: analysis of the current drug pipeline. **Campaign for Access to Essential Medicines-Médecins Sans Frontières**, 2006.
- CATÃO, R. M., *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e efeitos biológicos de riparinas sobre eliminação de resistência a drogas em amostras de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira Análises Clínicas**, 2010, v. 42, n. 1, p. 9-14.
- CHANDRU, H. *et al.* In vivo growth inhibitory and anti-angiogenic effects of synthetic novel dienone cyclopropoxy curcumin analogs on mouse Ehrlich ascites tumor. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 2007, v. 15, p. 7696-7703.

- CHIWAKATA, C. B.; HEMMER, C. J.; DIETRICH, M. High levels of inducible nitric oxide synthase mRNA are associated with increased monocyte counts in blood and have a beneficial role in *Plasmodium falciparum* malaria. **Infection and Immunity**, 2000, v. 68, p. 394-399.
- COKER, R. J. Public health impact of detention of individuals with tuberculosis: systematic literature review. **Public Health**, 2003, v. 117, n. 4, p. 281-287.
- COSTA, P.; VASCONCELLOS, M.; PILLI, R.; PINHEIRO, S. **Substâncias Carboniladas e Derivados**. Bookman Editora, 2003, 1º ed., p.412.
- CRUVINEL, W. M. *et al.* Células T Regulatórias Naturais (TREGS) em Doenças Reumáticas. **Revista Brasileira de Reumatologia**, 2008, v. 48, n.6, p. 342-355.
- CRUVINEL, W. M. *et al.* Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, 2010, v. 50, n. 4, p. 434-461.
- CURVELLO NETO, A. L. *et al.* Atualização em insuficiência renal aguda: Nefrotoxicidade aguda de drogas imunossupressoras. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, 2000, v. 22, n. 2, p. 114-120.
- DENIS, M., *et al.* Bactericidal activity of macrophages against *Streptococcus uberis* is different in mammary gland secretions of lactating and drying off cows. **Veterinary Immunology Immunopathology**, 2006, v. 15, p. 111-120.
- DE PAULA, M.L. *et al.* Genistein down-modulates pro-inflammatory cytokines and reverses clinical signs of experimental autoimmune encephalomyelitis. **International Immunopharmacology**, 2008, v. 8, p. 1291-1297.
- DE SOUZA, M.V.N. Promising current drug candidates in clinical trials and natural products against multidrug-resistant tuberculosis. In: Iqbal Ahmad and Farrukh Aqil. (Org.). **New Strategies Combating Bacterial Infection**. German - Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, 2008, 3, p. 71-87.

- DE SOUZA, M.V.N., FERREIRA, M.L. Estreptomicina, um fármaco que mudou a história da humanidade, salvando-a da Tuberculose. **Ciência Hoje**, 2008, v. 42, p. 36-41.
- DE SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A.; DE ALMEIDA, M. V.; CARDOSO, S. H. Fluoroquinolones: an important class of antibiotics against tuberculosis. **Current Medicinal Chemistry**, 2006, v. 13, p. 455-463.
- DE SOUZA, M. V. N.; Rifampicina, um importante fármaco no combate à tuberculose. Revista Brasileira de Farmácia – ABF. **Revista Brasileira de Farmácia**, 2005, v. 86, p. 92-94.
- DREWINKO B. *et al.* Comparative cytotoxicity of bisantrene, mitoxantrone, ametantrone, dihydroxyanthracenedione, dihydroxyanthracenedione diacetate, and doxorubicin on human cells *in vitro*. **Cancer Research**, 1983, v. 43, p. 2648-2653.
- DU TOIT, L. C.; PILLAY, V.; DANCKWERTS, M. P. Tuberculosis chemotherapy: current drug delivery approaches. **Respiratory Research**, 2006, v. 7, p. 1-18.
- EIDELBERG E. *et al.* Variability and functional recovery in the N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of parkinsonism in monkeys. **Neuroscience**, 1986, v. 18, p. 817-22.
- FERREIRA, A. P. *et al.* Immunization with *Ascaris suum* extract impairs T Cell functions in mice. **Cellular Immunology.**, 1995, v. 162, n. 2, p. 202-210.
- FERREIRA, A. P.; TEIXEIRA, H. C. **Tópicos de Imunologia Básica**, Juiz de Fora, 2005, p.74-76.
- FERREIRA, M. L., *et al.* Synthesis and antitubercular evaluation of N³-[(E)-(hydroxyl, methoxy and ethoxy-substituted-phenyl) methylidene]isonicotinohydrazide derivatives. **Letters Drug Design Discovery**, 2008, v. 5, p. 137-140.

- FERREIRA, M. L., *et al.* Synthesis and tubercular activity of heteroaromatic isonicotinoyl and 7-chloro-4-quinolinyl hydrazone derivatives. **The Scientific World Journal**, 2010, v. 10, p. 2010.
- FILHO, R. F.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira.**, 2000, v. 26, p. 265-271.
- FRIEDEN, T. R.; DRIVER, C. R. Tuberculosis control: past 10 years and future progress. **Tuberculosis**, 2003, v. 83, p. 82-85.
- GALESI, V. M. N., SANTOS, L. A. R. Tuberculose: A cura em estado de alerta. **Prática Hospitalar**, 2004, v. 6, n. 32.
- GARCIA, S. C. *et al.* Ciclosporina A e tacrolimus: uma revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 2004, v. 40, n. 6, p. 393-401.
- GBADAMOSI, J. *et al.* Effects of mitoxantrone on multiple sclerosis patients' lymphocyte subpopulations and production of immunoglobulin, TNF-alpha and IL-10. **European Neurology**, 2003, v. 49, p. 137– 141.
- GONSETTE, R. E. Pixantrone (BBR2778): a new immunosuppressant in multiple sclerosis with a low cardiotoxicity. **Journal of Neurology Sciences**, 2004, V. 223, p. 81– 86.
- GREEN, L. C. *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, 1982, v. 126, p.131-138.
- GUIMARÃES, V. C. *et al.* Immunossuppression of Thyroiditis. **Endocrinology**, 1996, v. 137, p. 2199-2207.

- GURGEL, T. C.; CARVALHO, W. S. A assistência farmacêutica e o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. **Latin American Journal of Pharmacy**, 2008, v. 27, n. 1, p. 118-123.
- HASEGAWA, J-y. *et al.* The application of phenylmethanethiol and benzenethiol derivatives as odorless organosulfur reagents in the synthesis of thiosugars and thioglycosides. **Carbohydrate Research**, 2005, v. 340, p. 2360-2368.
- HEMMER, B.; ARCHELOS, J. J.; HARTUNG, H. P. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. **Nature Reviews Neuroscience**, 2002, v. 3, p. 291– 301.
- HUANG, H. S. *et al.* Activation of human telomerase reverse transcriptase expression by some new symmetrical bis-substituted derivatives of the anthraquinone. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2003, v. 46, n. 15. p. 3300-3307.
- HUANG, H. S. *et al.* Synthesis and structure–activity correlations of the cytotoxic bifunctional 1,4-diamidoanthraquinone derivatives. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 2004, v.12, p. 6163–6170.
- INIESTA, V.; GOMES-NIETO, L. C.; CORRALIZA, I. The inhibition of arginase by *N*-hydroxy-L-arginine controls the growth of *Leishmania* inside macrophages. **Journal of Experimental Medicine**, 2001, v.193, p.777-783.
- IZAR, M. C. O. Hypolipidemic treatment under special conditions: posttransplant and/or immunosuppressive therapy. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2005, v. 85, suppl. 5, p. 50-57.
- KAISER, C. R., *et al.* Oxazolidinonas: uma nova classe de compostos no combate à tuberculose. **Revista Brasileira de Farmácia**, 2007, v. 88, n. 2, p. 83-88.

- KALIKS, R.; GUERRA, C.; GIGLIO, A. D. Efficacy and toxicity of mitoxantrone and oral etoposide in the treatment of hormone-refractory prostate cancer: pilot study. **Einstein**, 2010, v. 8, n. 3, p. 336-338.
- KITA, M. *et al* (2004). A phase II trial of mitoxantrone in patients with primary progressive multiple sclerosis. **Neurology**, 2004, v. 62, suppl. 5, A99.
- KIM S.H. *et al*. Chemical constituents isolated from *Polygala japonica* leaves and their inhibitory effect on nitric oxide production in vitro. **Journal of Enzyme Inhibition Medicinal Chemistry**, 2009, v. 24, p. 230-233.
- KOMIYAMA, Y., *et al*. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. **Journal of Immunology**, 2006, v. 177, p. 566-573.
- KRITSKI A. L.; RUFFINO-NETTO, A. Health sector reform in Brazil: impact on tuberculosis control and perspectives. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, 2000, v. 4, p. 622-626.
- KUMAR, P. H. *et al*. Synthesis of Mitoxantrone Analogues and their *in-vitro* Cytotoxicity. **International Journal of Chemical Technology Reserch**, 2011, v. 3, n. 2, p. 690-694.
- KÜMMERLE, A. E., *et al*. Studies towards the identification of putative bioactive conformation of potent vasodilator arylidene *N*-acylhydrazone derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2009, v. 44, n. 10, p. 4004-4009.
- IMLER, T. J. Jr, PETRO, T. M. Decreased severity of experimental autoimmune encephalomyelitis during resveratrol administration is associated with increased IL-17+IL-10+ T cells, CD4(-) IFN-gamma+ cells, and decreased macrophage IL-6 expression. **International Immunopharmacology**, 2009, v. 9, n. 1, p. 134-43.
- LACY, C. F., *et al*. **Medicamentos Lexi-comp Manole**. 1ª ed. Brasileira. Editora: Monele, 2009, p. 933-935.
- LASMAR, E. P.; LASMAR, M. F. Perspectivas Atuais e Futuras em Transplante de Órgãos. **Prática Hospitar**, 2003, v. set/out.

- LEADBETTER E. A., et al. Experimental autoimmune encephalomyelitis induced with a combination of myelin basic protein and myelin oligodendrocyte glycoprotein is ameliorated by administration of a single myelin basic protein peptide. **Journal of Immunology**, 1998, v. 161, p. 504-12.
- LETKO, E. *et al.* Tacrolimus (FK 506). **Annals Allergy Asthma Immunology**, 1999, v. 83, n. 3, p. 179-190.
- LEVINE, S.; SALTZMAN, A. Regional suppression, therapy after onset and prevention of relapses in experimental allergic encephalomyelitis by mitoxantrone. **Journal of Neuroimmunology**, 1986, v. 13, p. 175–181.
- LI, J.; BILLIAR, T.R. The role of nitric oxide in apoptosis. **Seminars in Perinatology**, 2000, v. 24, p. 46-50.
- LIMA, H. C. Fatos e mitos sobre imunomoduladores. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 2007, v.83, n. 3, p. 207-221.
- LIMA, P.C., *et al.* Synthesis and analgesic activity of novel N-acylhydrazones and isosters, derived from natural safrole. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2000, v. 35, p. 187-203.
- LIRK, P.; HOFFMANN, G.; RIEDER, J. Inducible nitric oxide synthase – time for reappraisal. **Current Drug Targets**, 2002, v. 1, p. 89-108.
- LOPES, A. B. “Síntese e avaliação das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória de compostos fenil-pirimidina-*N*-acilidrazonas planejados a partir de derivados imidazo[1,2-*a*]piridina-*n*-acilidrazonas”. Dissertação de mestrado: UFRJ, 2010, p. 77-84.
- LOURENÇO, M. C. S., *et al.* Synthesis and anti-mycobacterial activity of (E)-*N*'-9monosubstituted-benzylidene) isonicotinohydrazide derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2008, v. 43, p. 1344-1347.

- LUBLIN, F. D. *et al.* Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. **Neurology**, 2006, v. 46, p. 907–911.
- MACIEJEWSKI, J. P. *et al.* Nitric oxide suppression of human hematopoiesis *in vitro*. Contribution to inhibitory action of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha. **Journal Clinical Investigation**, 1995, v. 96, p. 1085-1092.
- MACHADO, P. R. L.; ARAÚJO, M. I. A. S.; CARVALHO, Lucas; CARVALHO, E. M. Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, 2004, v.79, n. 6, p. 647-664.
- MAMAT, C. *et al.* Synthesis of benzoate-functionalized phosphanes as novel building blocks for the traceless Staudinger ligation. **Synthesis**, 2009, p. 3311-3321.
- MANSOUR, O. C. *et al.* New Anthracenedione Derivatives with Improved Biological Activity by Virtue of Stable Drug-DNA Adduct Formation. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2010, v. 53, p. 6851–6866.
- MCGEACHY J.S., *et al.* TGF- β and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain TH-17 cell-mediated pathology. **Nature Immunology**, 2007, v. 8, n. 12, p. 1390-1397.
- MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C. Jr. Innate immunity. **New England Journal Medicine**, 2000, v. 343, p. 338-344.
- MIES, S. *et al.* Liver transplants. **Einstein**, 2005. Suppl. 1, p. 13-20.
- Ministério da Saúde (a) (MS),
<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/index.cfm/?portal=pagina.visualizarNoticia&codConteudo=617&codModuloArea=162&chamada=brasil-reduz-casos-novos-de-tuberculose>, acessado em julho de 2011.

Ministério da Saúde (b) (MS),

http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano09_n02_inf_eletr_tb.pdf, acessado em julho de 2011.

Ministério da Saúde (c) (MS), “Tuberculose – Guia de Vigilância Epidemiológica”, http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tuberculose.pdf, acessada em agosto de 2011.

MOLDOVAN, I. R., *et al.* Interferon gamma responses to myelin peptides in multiple sclerosis correlate with a new clinical measure of disease progression. **Journal of Neuroimmunology**, 2003, v. 141, p. 132–140.

NETTO, A. R. Tuberculosis: the neglected calamity. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2002, v. 35, n. 1, p. 51-58.

NETO, M. P. *et al.* Monitoração terapêutica da azatioprina: uma revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 2008, v. 44, n. 3, p. 161-167.

NEUHAUS, O.; KIESEIER, B. C.; HARTUNG, H. P. Mitoxantrone in multiple sclerosis. **Advances Neurology**, 2006, v. 98, p. 293-302.

NEUHAUS, O.; KIESEIER, B. C.; HARTUNG, H. Therapeutic role of mitoxantrone in multiple sclerosis. **Pharmacology Therapeutics**, 2006, v. 109, p. 198-209.

OLIVEIRA, N. I. *et al.* Eficácia, tolerabilidade e segurança do uso de sirolimo após transplante renal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, 2009, vol. 31, n. 2, p. 258-268.

ONAJOLE, O.K. Pentacyclo-undecane derived cyclic tetra-amines: Synthesis and evaluation as potent anti-tuberculosis agents. **European Journal Medicinal Chemistry**, 2009, v. 44, p. 4297-4305.

Organização Mundial da Saúde (a) (OMS), “Global Tuberculosis Control 2010, financing: Who Report 2009,

http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf, acessada em julho de 2011.

- PALLA, G., *et al.* Conformational behaviour and *E/Z* isomerization of *N*-acyl and *N*-arylhyazones. **Tetrahedron**, 1986, v. 42, n. 13, p. 3649-3654.
- PATTARINI, R.; SMEYNE, R. J.; MORGAN, J. I. Temporal mRNA profiles of inflammatory mediators in the murine 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine model of Parkinson's disease. **Neuroscience**, 2007, v. 145, n. 2, p. 654-658.
- PECORARO, E.; DAVOLOS, M. R.; JAFELICCI, M. Adaptações em forno de microondas doméstico para utilização em laboratório. **Química Nova**, 1997, v. 20, n. 1, p. 89-92.
- PETROSKE E. *et al.* Mouse model of parkinsonism: a comparison between subacute MPTP and chronic MPTP/probenecid treatment. **Neuroscience**, 2001, v. 106, p. 589–601.
- PIAO, W.H, *et al.* Therapeutic effect of anthracene-based anticancer agent ethonafide in an animal model of multiple sclerosis. **Journal of Immunology**, 2007, v. 179, p. 7415-7423.
- PINHEIRO, A. C. “Síntese de derivados da L-serina com potencial atividade contra a tuberculose”. Tese de doutorado: UFRJ, 2010, p. 70-76.
- PRETZE, M. *et al.* The traceless Staudinger ligation with fluorine-18: a novel and versatile labeling technique for the synthesis of PET-radiotracers. **Tetrahedron Letters**, 2010, v. 51, p. 6410–6414.
- RANDO, D.G., *et al.* Potential tuberculostatic agents. Topliss application on benzoic acid [(5-Nitro-thiophen-2-yl)-methylene]-hydrazide series. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 2002, v. 10, n. 3, p. 557-560.
- REISS, C. S.; KOMATSU, T. Does nitric oxide play a critical role in viral infections. **Journal Virology**, 1998, v. 72, p. 4547-4551.

- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 703-715.
- RIDGE, S. C. *et al.* Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by mitoxantrone. **Clinical Immunology Immunopathology**, 1985, v.35, p. 35–42.
- ROTHER, H.; KOLB, H. Strategies of protection from nitric oxide toxicity in islets inflammatorion. **Journal of Molecular Medicine**, 1999, v. 77, p. 40-44.
- ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜEL, G. Biological activities of hydrazones derivatives. **Molecules**, 2007, v. 12, p. 1910-1939.
- SAEFTEL. M.; FLEISCHER, B.; HOERAUF, A. Stage-dependent role of nitric oxide in control of *Trypanosoma cruzi* infection. **Infection Immunity**, 2001, v. 69, p. 2252-2259.
- SAH, P.P.T.; PEOPLES, S.A. Isonicotinyl hydrazones as antitubercular agents and derivatives for identification of aldehydes and ketones. **Journal of the American Pharmacists Association**, 1954, v. 43, p. 513-524.
- SALGIN-GÖKSEN, U. *et al.* 1-Acylthiosemicarbazides, 1,2,4-triazole-5(4H)-thiones, 1,3,4-thiadiazoles and hydrazones containing 5-methyl-2-benzoxazolinones: Synthesis, analgesic, anti-inflammatory and antimicrobial activities. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 2007, v. 15, n. 17, p. 5738-5751.
- SILVA, A. G., *et al.* Synthesis and vasodilatory activity of new *N*-acylhydrazone derivatives, designed as LASSBio-294 analogues. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 2005, v. 13, n. 10, p. 3431-3437.
- SILVA, A. K.; PAULA, M. L.; FERREIRA, A. P. Imunopatologia da encefalomielite auto-imune experimental murina mediada por linfócitos T. **HU Revista**, 2008, v. 34, n. 3, p. 205-212.

- SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados. **Química Nova**, 2003, Vol. 26, n. 3, p. 407-416.
- SILVEIRA, G. P., *et al.* Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Química Nova**, 2006, v. 29, n. 4, p. 844-855.
- SOUZA, M. V. N. Current status and future prospects for new therapies for pulmonary tuberculosis, **Current Opinion in Pulmonary Medicine**, 2006, v. 12, p. 167–171.
- SOUZA, M. V. N., VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. **Química Nova**, 2005, v. 28, n. 4, p. 678-682.
- SOUZA, M. V. N. *et al.* Mycolic acid and tuberculosis. **The Scientific World Journal**. 2008, v. 8, p. 720-751.
- SRIRAM, D.; YOGESHWARI, P.; MADHU, K. Synthesis and *in vitro* and *in vivo* antimicrobial activity of isonicotinoyl hydrazones. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, 2005, v.15, n. 20, p. 4502-4505.
- STEFANSKA, B. *et al.* 2,7-Dihydro-3H-pyridazino[5,4,3-kl]acridin-3-one derivatives, novel type of cytotoxic agents active on multidrug-resistant cell lines. Synthesis and biological evaluation. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, 2005, v. 13, p. 1969–1975.
- STEWART D. J. *et al.* Human autopsy tissue concentrations of mitoxantrone. **Cancer Treatment Reports**, 1986. V. 70, p.1255–61.
- STÜVE, O. *et al.* Mitoxantrone as a potential therapy for primary progressive multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis**, 2004, v. 10, p. 58-61.
- SYAKAEV, V. V., *et al.* NMR study conformation and isomerization of aryl- and heteroarylaldehyde 4-tert-butylphenoxyacetylhydrazones. **Journal Molecular Structure**, 2006, v.788, p. 55-62.

- TEIXEIRA, M. *et al.* Improvement of the inhibitory effect of Xanthenes on NO production by encapsulation in PLGA nanocapsules. **Journal Drug Target**, 2005, v. 13m, p. 129–135.
- TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. L. **Microbiologia**, Atheneu, 4º Ed., 2004.
- VERGARA, F. M. F. *et al.* Synthesis and antimycobacterial activity of N'-[(E)-(monosubstituted-benzyledene)]-2-pyrazinecarbohydrazide derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2009, v.44, p.4954-4959.
- VERNIER, P. *et al.* The Degeneration of Dopamine Neurons in Parkinson's Disease. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 2004, v. 1035, p. 231–249.
- WANG, J. X. Investigation of the immunosuppressive activity of artemether on T-cell activation and proliferation. **British Journal of Pharmacology**, 2007, v. 150, p. 652-661.
- WATSON, C. M., *et al.* Suppression of demyelination by mitoxantrone. **International Journal of Immunopharmacology**, 1991, v.13, p. 923–930.
- WEAVER, A., *et al.* An elevated matrix metalloproteinase (MMP) in an animal model of multiple sclerosis is protective by affecting Th1/Th2 polarization. **FASEB Journal**, 2005, v. 19, p. 1668–1670.
- WOO, S. *et al.* Synthesis of new xanthone analogues and their biological activity test-cytotoxicity, topoisomerases II inhibition, and DNA cross-linking study. **Bioorganic Medicinal Chemistry Letters**, 2007, v. 17, p.1163-1166.
- WYRZYKIEWICZ, E.; PRUKALA, D. New isomeric N-substituted hydrazones of 2-, 3-and 4-pyridinecarboxaldehydes. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, 1998, v. 35, n. 2, p. 381-387.
- ZHANG, Z., *et al.* Synthesis of Alanine and Proline Amino Acids with Amino or Guanidinium Substitution on the Side Chain. **Tetrahedron**, 2000, v. 16, p. 2513-2522.

ZHANG, Y. *et al.* The magic bullets and tuberculosis drug targets. **Annals Review of Pharmacology Toxicology**, 2005, v. 45, p. 529-564.

COMUNICAÇÕES CIENTÍFICAS E ARTIGOS RELACIONADOS A ESTE TRABALHO

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

- ✓ COSTA, C. F.; DE ALMEIDA, M. V.; JUNIOR, C. O. R.; REZENDE, C.A.M. Síntese e caracterização de derivados antraquinônicos, candidatos a agentes imunossupressores. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza-CE.
- ✓ JUNIOR, C. O. R.; COSTA, C. F.; FERREIRA, A. P.; ALMEIDA, M. V. Síntese e caracterização de derivados tetraidropirimidínicos, potenciais agentes imunossupressores. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza-CE.
- ✓ ALVES, C. C. S.; DIAS, A. T.; CASTRO, S. B. R.; ALVES, L. L.; COSTA, C. F.; TEIXEIRA, H. C.; ALMEIDA, M. V.; FERREIRA, A. P. Mitoxantrone analogue treatment decreases nitric oxide production in activated J774a.1 cells and improves clinical signs in eae-induced mice. XXXIV Congress of the Brazilian Society for Immunology and X International Symposium on Allergy and Clinical Immunology, 2009, Salvador-BA.
- ✓ ALVES, C.C.S.; FIGUEIREDO, N. S. V.; CASTRO, S. B. R.; DIAS, A. T.; COSTA, C. F.; ALMEIDA, M. V.; TEIXEIRA, H.C.; FERREIRA, A. P. Mitoxantrone analog *O,O'*-bis-(3'-iodopropyl)-1,4-dihidroxyanthraquinone reduces cytokine production and improves experimental autoimmune encephalomyelitis signs. XXXV Congress of the Brazilian Society for Immunology, 2010, Porto Alegre-RS.
- ✓ COSTA, C. F.; PINHEIRO, A. C.; ALMEIDA, M. V.; SOUZA, M. V. N. Síntese de novas *N*-acilidrazonas derivadas de aminoácidos. 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011, Florianópolis-SC.

Artigos completos publicados em periódicos durante o doutorado

- ✓ ALMEIDA, M. V.; SARAIVA, M. F.; SOUZA, M. V. N.; COSTA, C. F.; VICENTE, F. R. C.; LOURENCO M. C. S. Synthesis and antitubercular activity of lipophilic

- moxifloxacin and gatifloxacin derivatives.. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 17, p. 5661-5664, 2007.
- ✓ SILVA, H.; Barra, C. V.; COSTA, C. F.; ALMEIDA, M. V.; CESAR, E. T.; SILVEIRA, J. N.; SUILLEROT, A. G.; PAULA, F. C. S.; MAIA, E. P.; FONTES, A. P. S. Impact of the carbon chain length of novel platinum complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 102, p. 767-772, 2008.
 - ✓ COSTA, C.F. ; COIMBRA, E. S. ; BRAGA, F. G. ; REIS, R. C. N. ; SILVA, A. D. ; ALMEIDA, M. V. Preparation and antileishmanial activity of lipophilic N-alkyl diamines. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 63, p. 40-42, 2009.
 - ✓ GIORDANI, R. B.; DE ALMEIDA, M. V.; FERNANDES, E.; COSTA, C. F.; DE CARLI, G. A.; TASCA, T.; ZUANAZZI, J. A.S. Anti-Trichomonas vaginalis activity of synthetic lipophilic diamine and amino alcohol derivatives. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 63, p. 613-617, 2009.
 - ✓ JUNIOR, C. O. R.; HYARIC, M. L.; COSTA, C. F.; CORREA, T. A.; TAVEIRA, A. F.; ARAUJO, D. P.; Reis, E. F. C.; LOURENCO, M. C. S.; VICENTE, F. R. C.; ALMEIDA, M. V. PREPARATION AND ANTITUBERCULAR ACTIVITY OF LIPOPHILIC DIAMINES AND AMINO ALCOHOLS. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Online)*, v. 104, p. 703-709, 2009.
 - ✓ JUNIOR, C. O. R.; ALVES, R.O.; REZENDE, C.A.M.; COSTA, C. F.; SILVA, H.; HYARIC, M. L.; FONTES, A. P. S.; ALVES, R. J.; ROMANHA, R.J.; ALMEIDA, M. V. Trypanocidal activity of lipophilic diamines and amino alcohols. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 64, p. 624-626, 2010.
 - ✓ COIMBRA, E. S.; ALMEIDA, M. V.; JUNIOR, C. O. R.; TAVEIRA, A. F.; COSTA, C. F.; ALMEIDA, A. C.; Reis, E. F. C.; SILVA, A. D. Synthesis and Antileishmanial Activity of Lipidic. *Chemical Biology & Drug Design*, v. 75, p. 233-235, 2010.
 - ✓ DE SOUZA, N. B.; REZENDE, C. A. M.; TOLEDO, M. S.; LAGATTA, D. C.; OLIVEIRA, R. V. T.; COSTA, C. F.; SILVA, A. D.; ALVES, M. J. M.; CUPOLIO, S. M. N.; DE ALMEIDA, Mauro V.; ABRAMO, C. Antimalarial Activity of an N-alkyl diamine. *Letters in Drug Design & Discovery*, v. 8, p. 371-374, 2011.

Artigo aceito para publicação

- ✓ COSTA, C. F.; PINHEIRO, A. C.; ALMEIDA, M. V.; LOURENÇO, M. C. S.; SOUZA, M. V. N. Synthesis and antitubercular activity of novel amino acid

derivatives. *Chemical Biology & Drug Design*. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1747-0285.2011.01269.x>

Manuscritos em fase final de redação

- ✓ CRISTIANE F. DA COSTA, CAIO CÉSAR S. ALVES, SANDRA B. R. DE CASTRO, ANA PAULA FERREIRA, MAURO V. DE ALMEIDA*. Synthesis of Anthraquinones Derivatives and Evaluation of Inhibitory Effect on Nitric Oxide Production by J774A.1 Macrophages.
- ✓ CAIO C. S. ALVES, SANDRA B. R. CASTRO, CRISTIANE F. DA COSTA, ALYRIA T. DIAS, HENRIQUE C. TEIXEIRA, MAURO V. DE ALMEIDA, ANA PAULA FERREIRA*. Mitoxantrone analogue *O,O*-di-(3'-iodopropil)-1,4-dihidroxi-antraquinona down-regulates cytokines in the brain and ameliorates EAE.