

**UNIVERSIDADE REGIONAL DE BLUMENAU - FURB
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS - CCEN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA - PPGQ**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA E TRIPANOCIDA DE
1,6-NAFTIRIDINAS SUBSTITUÍDAS**

MELISSA GEÓRGIA SCHWARTZ

BLUMENAU – SC

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MELISSA GEÓRGIA SCHWARTZ

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA E TRIPANOCIDA DE
1,6-NAFTIRIDINAS SUBSTITUÍDAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Regional de Blumenau, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Iêda Maria Begnini

BLUMENAU – SC

2006

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA E TRIPANOCIDA DE
1,6-NAFTIRIDINAS SUBSTITUÍDAS**

MELISSA GEÓRGIA SCHWARTZ

Esta Dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do grau de **Mestre em Química** no **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Regional de Blumenau.

Blumenau, 10 de fevereiro de 2006.

Prof^a. Dra. Iêda Maria Begnini – Orientadora, FURB

Membro: Prof. Dr. Ricardo Andrade Rebelo, FURB

Membro: Prof^a. Dra. Angela Malheiros, UNIVALI

Membro: Prof^a. Dra. Flávia Aparecida Fernandes da Rosa, FURB

Blumenau, 10 de fevereiro de 2006.

Dedico este trabalho de forma especial à minha família, meus pais Jorge e Marisa, aos meus irmãos, Jorge Roberto e João Ricardo por me fazerem acreditar em meus ideais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me deu a vida e condições de chegar ao fim deste trabalho.

Aos meus familiares, especialmente aos meus pais, Jorge e Marisa, ao meu companheiro Rodrigo, pelo exemplo de vida e apoio na minha trajetória.

Agradeço à Profa. Dra. Iêda Maria Begnini e ao Prof. Dr. Ricardo Andrade Rebelo pelos conhecimentos transmitidos, pela simplicidade, incentivo e, acima de tudo, pela amizade, ajudando-me a crescer como profissional e como ser humano.

Aos professores da FURB: Flávia, Ivonete, Paulo e Antônio Carlos, meu especial reconhecimento pelas lições de conhecimento e amizade.

À Profa. Dra. Angela Malheiros (UNIVALI), pela colaboração em ler este trabalho e fazer parte da banca examinadora.

Aos meus colegas do mestrado, especialmente a Suzete, Silvana, Ranieri, Sandra e Joel, pelo carinho e ajuda em todas as horas de nossa jornada científica.

Ao Departamento de Química da FURB pelo espaço físico disponibilizado.

Ao Departamento de Química da UFSC (Central de Análises), pelos serviços prestados.

Ao Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSC, pelos ensaios de avaliação biológica.

“Existe um lugar dentro de cada um de nós que está totalmente unido à infinita sabedoria do universo. Nesse lugar ficam as respostas para todas as perguntas que possamos fazer. Aprenda confiar no seu eu interior.”

Louise L. Hay

RESUMO

A tripanossomíase e a leishmaniose são graves problemas de saúde pública, atingindo milhões de pessoas no país e no mundo. A maioria dos fármacos utilizados no tratamento destas doenças foi desenvolvida há muitas décadas, e apresentam pouca eficácia e fortes efeitos colaterais. A importância biológica das naftiridinas e o interesse em descobrir novos agentes leishmanicidas e tripanocidas estimularam a síntese de 1,6-naftiridinas-4-substituídas, e a avaliação do seu potencial leishmanicida e tripanocida. A metodologia utilizada para a preparação da 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina envolve o derivado metoximetilênico do ácido de Meldrum, que tem sido amplamente empregado como precursor de uma variedade de núcleos heterocíclicos. O aduto do ácido de Meldrum é facilmente obtido pela reação do ácido de Meldrum e ortoformato de trimetila com a 4-aminopiridina. A ciclização térmica do aduto em éter difenílico fornece a 1,6-naftiridina-4-(1*H*)-ona, que após cloração com POCl₃ obtém-se a 4-cloro-1,6-naftiridina. A conversão desta naftiridina em aminonaftiridina se dá através de uma reação de substituição nucleofílica com o 2-amino-5-dietilaminopentano. Esta reação foi repetida várias vezes, apresentando dificuldades na purificação do produto e baixos rendimentos, necessitando de otimização das condições de reação. Os compostos obtidos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ¹H e de ¹³C. A avaliação das propriedades leishmanicida e tripanocida foi feita para o composto 4-cloro-1,6-naftiridina, porém o mesmo não apresentou nenhuma atividade.

Palavras-chave: síntese, avaliação leishmanicida e tripanocida, 1,6-naftiridinas substituídas.

ABSTRACT

The trypanosomiasis and the leishmaniasis are serious problems of public health affecting millions of people in the country and worldwide. The majority of the drugs used in the treatment of these diseases was developed many decades ago, and present little efficacy and intense collateral effects. The biological importance of the naphthyridines and the interest in discovering new leishmanicides and trypanocides agents has stimulated the synthesis of 1,6-naphthyridine-4-substituted and the evaluation of its leishmanicidal and trypanocidal potential. The methodology used for the preparation of 4-(4'-diethylamino-1'-methylbutylamino)-1,6-naphthyridine involves the methoxymethylene derivative of Meldrum's acid that has been widely used as precursor of a variety of the heterocyclic cores. The adduct of Meldrum's acid is easily obtained by the reaction of Meldrum's acid and trimethyl orthoformate with the 4-amino-pyridine. The thermal cyclization of this adduct in diphenyl ether supplies 1,6-naphthyridine-4-(1*H*)-one, that after chlorination with POCl_3 results in 4-chloro-1,6-naphthyridine. The conversion of this compound in the aminonaphthyridine happens through a reaction of nucleophilic substitution with the 2-amino-5-diethylamino-pentane. This reaction was repeated many times, presenting difficulties in the purification of the product and low yields, thus it needs better reaction conditions. The obtained compounds were characterized by spectroscopic techniques of IR, ^1H NMR and ^{13}C NMR. The evaluation of the leishmanicidal and trypanocidal properties was made for the compound 4-chloro-1,6-naphthyridine, however it presented no activity.

Keywords: synthesis, leishmanicidal and trypanocidal evaluation, substituted 1,6-naphthyridines.

LISTA DE TABELAS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Constantes de ionização das 1,X - naftiridinas e quinolinas..... | 20 |
| Tabela 2 - Densidades eletrônicas dos isômeros naftiridínicos..... | 20 |
| Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN ^1H dos isômeros naftiridínicos..... | 21 |
| Tabela 4 - Deslocamentos químicos de RMN ^{13}C dos isômeros naftiridínicos..... | 21 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------------------------|---------------------------------------------|
| p.f. | Ponto de fusão |
| c.c.d. | Cromatografia em camada delgada |
| IV | Infravermelho |
| RMN ¹H | Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio |
| RMN ¹³C | Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13 |
| δ | Deslocamento químico |
| J | Constante de acoplamento |
| s | Singleto |
| d | Dubleto |
| t | Tripleto |
| CDCl₃ | Clorofórmio deuterado |
| EMME | Etoximetilenomalonato de dietila |
| DMF | <i>N,N</i> -Dimetilformamida |
| TMS | Tetrametilsilano |
| PhOPh | Éter difenílico |
| Ac₂O | Anidrido acético |

LISTA DE ESPECTROS

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Espectro 1 - Infravermelho do composto 2,2-dimetil-5-(4-piridilamino)metileno-1,3-dioxano-4,6-diona 39 em KBr..... | 58 |
| Espectro 2 - Infravermelho do composto 1,6-naftiridina-4-(1 <i>H</i>)-ona 40 em KBr..... | 58 |
| Espectro 3 – Infravermelho do composto 4-cloro-1,6-naftiridina 36 em KBr..... | 59 |
| Espectro 4 – Infravermelho do composto 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina 42 em CH ₂ Cl ₂ | 59 |
| Espectro 5 - RMN ¹ H do composto 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina 42 em CDCl ₃ | 60 |
| Espectro 6 - RMN ¹³ C do composto 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina 42 em CDCl ₃ | 60 |

SUMÁRIO

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 1.1 Síntese Orgânica | 13 |
| 1.2 Doença de Chagas e Leishmaniose..... | 13 |
| 1.3 Fármacos Empregados no Tratamento da Leishmaniose e Doença de Chagas..... | 16 |
| | 18 |
| 1.4 Naftiridinas..... | 19 |
| 1.4.1 Basicidade e Aromaticidade | 20 |
| 1.4.2 Densidade Eletrônica dos isômeros Naftiridínicos..... | 22 |
| 1.4.3 Propriedades Biológicas de 1-X-Naftiridinas | 27 |
| 1.4.4 Métodos de Obtenção do isômero 1,6-Naftiridínico..... | 27 |
| 1.4.4.1 Síntese do Isômero 1,6-naftiridínico pela reação de Skraup..... | 28 |
| 1.4.4.2 Obtenção de 1,6-naftiridina pelo método EMME..... | |
| 1.4.4.3 Preparação de 1,6-naftiridina pelo método Cascata de heterociclização..... | 28 |
| 1.4.4.4 Síntese da 4-cloro-1,6-naftiridina pelo método EMME..... | 29 |
| 1.5 O ácido de Meldrum e seus derivados na síntese de heterociclos nitrogenados..... | 30 |
| 1.6 Justificativa..... | 32 |
| 2 OBJETIVOS | 33 |
| 2.1 Objetivos Gerais..... | 33 |
| 2.2 Objetivos Específicos..... | 33 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 34 |
| 3.1 Síntese da 1,6-Naftiridina-4-substituída..... | 34 |
| 3.2 Avaliação das Propriedades Biológicas | 41 |
| 4. PARTE EXPERIMENTAL | 42 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.1 Equipamentos..... | 42 |
| 4.2 Reagentes e Solventes..... | 42 |
| 4.3 Procedimentos de Síntese..... | 43 |
| 4.3.1 Preparação da 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (ácido de Meldrum) 37 | 43 |
| 4.3.2 Preparação do 2,2-dimetil-(4-piridilaminometilênico)-1,3-dioxano-4,6-diona (aduto do ácido de Meldrum) 39 | 44 |
| 4.3.3 Preparação da 1,6-naftiridina-4(1 <i>H</i>)-ona 40 | 45 |
| 4.3.4 Preparação da 4-cloro-1,6-naftiridina 36 | 45 |
| 4.3.5 Preparação da 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina 42 | 46 |
| 5. PROTOCOLOS DE AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOLÓGICAS..... | 48 |
| 5.1 Composto Avaliado (4-cloro-1,6-naftiridina) 36 | 48 |
| 5.2 Parasitas..... | 48 |
| 5.3 Avaliação " <i>in vitro</i> " da atividade antiparasitária da 4-cloro-1,6-naftiridina contra formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> e promastigotas de <i>leishmania ssp</i> ... | 49 |
| 5.4 Avaliação " <i>in vitro</i> " da atividade tripanocida e leishmanicida da 4-cloro-1,6-naftiridina contra formas amastigotas de <i>T. cruzi</i> e <i>leishmania ssp</i> | 49 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 50 |
| ANEXOS | 52 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 53 |
| APÊNDICE | 58 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 Síntese Orgânica

A síntese orgânica tem evoluído significativamente nos últimos anos, sendo uma área de extrema importância quando se procura desenvolver novos fármacos. Neste contexto, cabe mencionar que a síntese orgânica é a principal fonte de medicamentos, correspondendo com cerca de 75 % do total de fármacos disponíveis no mercado farmacêutico.¹

Entretanto, a síntese orgânica é o processo de construção de moléculas orgânicas a partir de precursores mais simples, e é efetuada por vários motivos, dentre eles, o desenvolvimento de novos medicamentos para descobrir moléculas com atributos estruturais que aumentem certos efeitos medicinais ou que reduzam efeitos colaterais indesejáveis.²

1.2 Tripanossomíase e Leishmaniose

A tripanossomíase e a leishmaniose são crescentes problemas de saúde pública no país e em outras áreas do continente americano, sendo endemias em franca expansão geográfica. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), estão entre as doenças infecto-parasitárias que mais preocupam os órgãos de saúde pública, não só pela frequência, mas principalmente pelas dificuldades terapêuticas, deformidades e seqüelas que podem acarretar.³ Devido ao descaso das autoridades e condições precárias de moradia, há uma maior prevalência de instalação destes parasitas.⁴

A Doença de Chagas é um sério problema de saúde pública na América Central e América do Sul. Estima-se que 16 a 18 milhões de pessoas são infectadas na América Latina e 100 milhões são expostas ao risco da infecção.⁵

A Doença de Chagas, assim chamada pelo seu descobridor Carlos Chagas, é primitivamente uma zoonose que existe no continente Americano. Esta doença é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, conhecido vulgarmente por “barbeiro”. A distribuição espacial da doença, limitada ao continente Americano e, por isso, também chamada de Tripanosomíase Americana, depende da distribuição dos vetores e das condições geradas por esta doença. A desinformação e a falta de saneamento básico são fatores que determinam o convívio do homem com o vetor no ambiente domiciliar.⁶

A transmissão da Doença de Chagas é vetorial, se dá através das fezes dos vetores triatomíneos, e tanto os machos como as fêmeas são hematófagos, ou seja, alimentam-se de sangue. Esses, ao picar, em geral defecam após o repasto, eliminando formas infectantes presentes em suas fezes, e que penetram pelo orifício da picada, ou por solução de continuidade deixada pelo ato de coçar. Os reservatórios desta doença, além do homem, animais domésticos e silvestres, têm sido encontrados infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, cães, gatos, porco doméstico e ratos de esgotos.⁶

No Brasil, a transmissão do inseto vetor do *Trypanosoma cruzi* está sob controle. Entretanto, é relatado na literatura⁵ que a transmissão por transfusão sanguínea é um outro mecanismo de infecção da doença.

Dentre as formas clínicas da doença, Chagas dividiu em fase aguda e crônica, porém consta um maior número de casos crônicos comparados às formas

agudas em virtude da fase aguda inicial ser dificilmente diagnosticada, pois conta com pouca expressão clínica.⁵

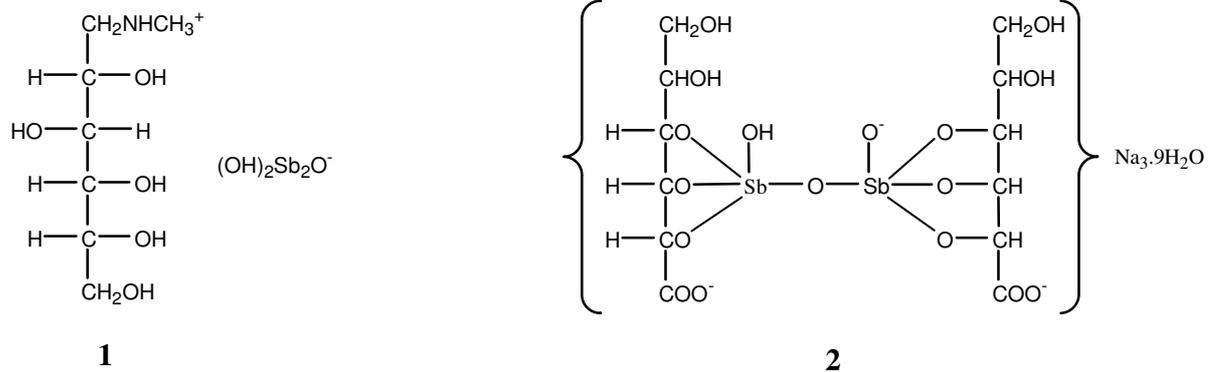
A leishmaniose é uma doença infecciosa zoonótica, distribuída em todo o mundo, que afeta o homem e os animais. Esta doença é causada por protozoários *leishmania* transmitida por insetos pertencentes aos gêneros *Phlebotomus*, ou seja, insetos de asa branca. Entretanto, são dípteros de atividade crepuscular e pós-crepuscular, somente as fêmeas são hematófagas, alimentam-se de sangue, e abrigam-se em lugares úmidos, sombrios e bem protegidos dos ventos. Este inseto também é conhecido como mosquito palha, Birigui e asa branca. A transmissão ocorre quando os flebótomos infectam-se ao picar o animal portador da doença, aspirando macrófagos parasitados ou amastigotas livres no sangue ou tecidos e podem, assim, transmitir a doença ao homem.⁷

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, 90% dos casos de leishmaniose são registrados em Bangladesh, Brasil, Nepal, Índia e Sudão. No Brasil, a leishmaniose ocorre em quase todos os estados e acomete pessoas de todas as faixas etárias e de ambos os sexos.⁸

Contudo, a falta de medicamentos para o tratamento destas doenças gerou a necessidade de novos agentes tripanocidas e leishmanicidas.

1.3 Fármacos Empregados no Tratamento da Leishmaniose e Doença de Chagas

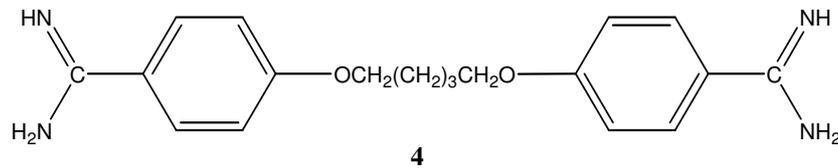
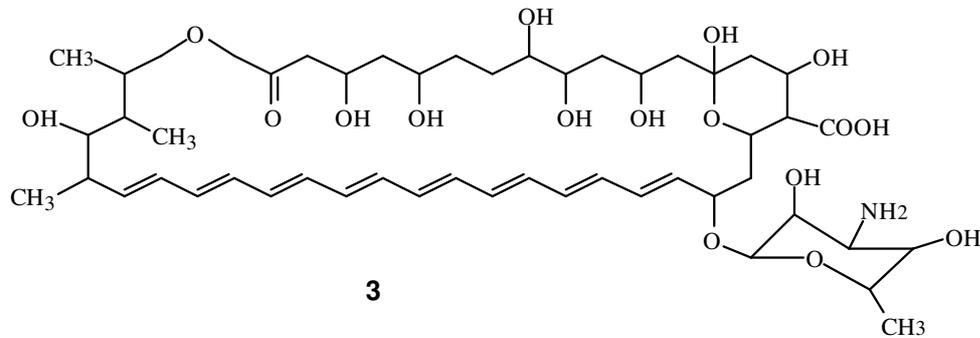
A primeira escolha na terapia da leishmaniose são medicamentos à base de antimônio, dentre eles destacam-se o antimoniato de *N*-metilglucamina **1** e o estibogluconato de sódio **2**.⁹



Estes medicamentos são eficazes no tratamento da leishmaniose cutânea, mucocutânea e visceral, provocando regressão rápida das manifestações clínicas e hematológicas da doença, bem como a esterilização do parasita. Porém, devido às baixas dosagens e tratamentos descontínuos, começam a ocorrer falhas na terapia e, conseqüentemente, o aumento da resistência destes parasitas. A Organização Mundial da Saúde preconiza que as doses não devem ultrapassar 20 mg/Kg e 850 mg de antimônio, devido sua alta toxicidade.⁹

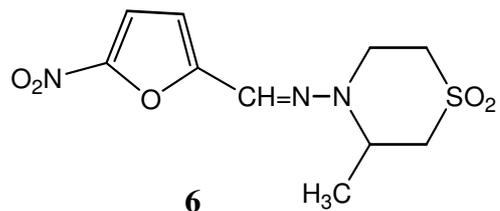
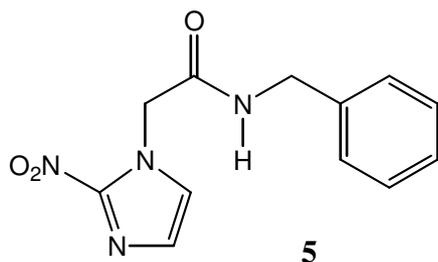
Os efeitos adversos mais comuns dos antimoniais são distúrbios gastrointestinais, dor muscular e rigidez nas articulações. Sendo assim, os fármacos à base de antimônio apresentam fortes efeitos colaterais, apresentando uma elevada toxicidade.

Além dos antimoniais, outros fármacos têm sido empregados no tratamento da leishmaniose visceral, entre os quais se destacam a anfotericina B **3** e a pentamidina **4**.



Segundo Rath e colaboradores,¹⁰ esses fármacos quando administrados por um longo período acarretam hipoglicemia, hipotensão, alterações cardiológicas, e até mesmo, mortes repentinas.

Atualmente, os fármacos disponíveis para o controle da Doença de Chagas são o benzonidazol **5** e nifurtimox **6**.⁵ Estes medicamentos podem melhorar ou até curar a fase aguda da Doença de Chagas, entretanto apresentam baixa eficiência, efeitos colaterais e acarretam distúrbios gastrointestinais, anorexia, neuropatias e erupções cutâneas.¹¹



Além da eficácia variável e da alta toxicidade, existem restrições para o uso parenteral prolongado e resistência do parasita.¹² Assim, estas características indesejáveis têm aumentado a necessidade de novos fármacos leishmanicidas e tripanocidas mais eficazes e menos tóxicos.

1.4 Naftiridinas

O interesse por estes compostos tem aumentado significativamente. Nos últimos quinze anos, mais de mil artigos relacionados ao núcleo naftiridínico foram publicados, constituindo-se quase metade desses em patentes.¹³ Os estudos concernentes às naftiridinas contemplam suas propriedades físico-químicas, reatividade e métodos gerais de síntese visando, dentre outras, a preparação de novos compostos para avaliação da sua citotoxicidade.

As naftiridinas, também chamadas de piridopiridinas, são compostos diazanaftalênicos que possuem em cada anel um átomo de nitrogênio. Elas se apresentam em seis possibilidades isoméricas, conforme mostrado na Figura 1.

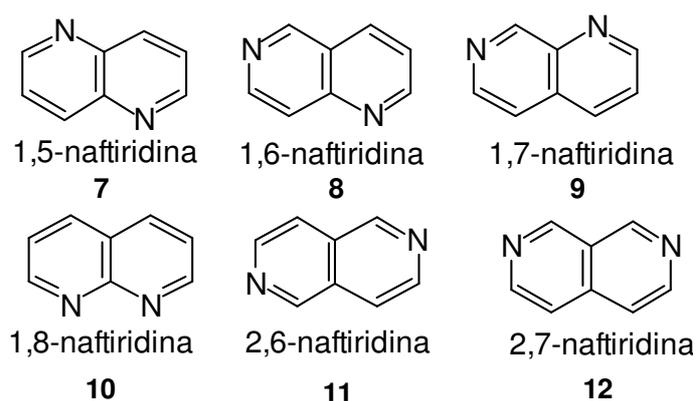


Figura 1 - Representação estrutural dos isômeros 1-X e 2-X naftirídnicos

O primeiro derivado naftirídínico foi preparado por Reissert em 1893,¹⁴ sendo o nome naftiridina sugerido naquela ocasião. Porém, as primeiras naftiridinas não substituídas, os isômeros 1,5 e 1,8 somente foram preparados em 1927.^{15,16} Os demais isômeros, incluindo o isômero 1,6-naftirídínico, foram preparados no período compreendido entre 1958 e 1965.^{17,18}

1.4.1 Basicidade e Aromaticidade

As naftiridinas são menos básicas que as quinolinas e isoquinolinas, conforme descrito na Tabela 1. Esta característica é atribuída ao efeito indutivo transmitido de um átomo de nitrogênio ao outro. A maior força básica dos isômeros 1,6 e 1,7-naftiridinas, quando comparados aos isômeros 1,5 e 1,8-naftiridinas, indica que a protonação ocorre preferencialmente nos nitrogênios N-6 e N-7, Tabela 1.^{13,19,20}

Tabela 1 – Constantes de ionização em água de 1, X-naftiridinas e quinolinas

| COMPOSTO | pK _a |
|-----------------|-----------------|
| 1,5-naftiridina | 2,91 |
| 1,6-naftiridina | 3,78 |
| 1,7-naftiridina | 3,63 |
| 1,8-naftiridina | 3,39 |
| Quinolina | 4,95 |
| Isoquinolina | 5,40 |

1.4.2 Densidade Eletrônica dos Isômeros Naftiridínicos

As naftiridinas possuem dez elétrons π deslocalizados em cinco orbitais moleculares ligantes, estando cada orbital distorcido devido à presença dos átomos de nitrogênio, causando um acúmulo eletrônico na direção dos heteroátomos. Esta distorção resulta em uma diminuição da densidade de elétrons π deslocalizados nas posições 2 e 4 em relação ao átomo de nitrogênio, constituindo-se em um sistema aromático π -deficiente, conforme apresentado na Tabela 2.¹⁹

Tabela 2 - Densidades eletrônicas dos isômeros naftiridínicos

| Composto | Posição | | | | | | | |
|-----------------|---------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 1,5-naftiridina | 1,42 | 0,79 | 0,99 | 0,89 | 1,42 | 0,79 | 0,99 | 0,89 |
| 1,6-naftiridina | 1,44 | 0,77 | 1,02 | 0,83 | 0,77 | 1,41 | 0,86 | 1,04 |
| 1,7-naftiridina | 1,41 | 0,78 | 0,98 | 0,86 | 0,99 | 0,89 | 1,38 | 0,81 |
| 1,8-naftiridina | 1,45 | 0,78 | 1,02 | 0,85 | 0,85 | 1,02 | 0,78 | 1,45 |
| 2,6-naftiridina | 0,79 | 1,38 | 0,89 | 0,99 | 0,79 | 1,39 | 0,89 | 0,99 |
| 2,7-naftiridina | 0,75 | 1,41 | 0,86 | 1,02 | 1,02 | 0,86 | 1,41 | 0,75 |

Estas diferenças nas densidades eletrônicas podem ser observadas nos deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C , conforme mostram as Tabelas 3 e 4, respectivamente.¹⁹

Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN de ^1H dos isômeros naftiridínicos.

| Composto | δ (^1H) (ppm) | | | | | | | |
|-----------------|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| | H-1 | H-2 | H-3 | H-4 | H-5 | H-6 | H-7 | H-8 |
| 1,5-naftiridina | - | 8,96 | 7,55 | 8,37 | - | 8,96 | 7,55 | 8,37 |
| 1,6-naftiridina | - | 9,03 | 7,43 | 8,20 | 9,22 | - | 8,75 | 7,87 |
| 1,7-naftiridina | - | 9,01 | 7,48 | 8,14 | 7,64 | 8,60 | - | 9,50 |
| 1,8-naftiridina | - | 9,15 | 7,51 | 8,21 | 8,21 | 7,51 | 9,15 | - |
| 2,6-naftiridina | 9,27 | - | 8,65 | 7,69 | 9,27 | - | 8,65 | 7,69 |
| 2,7-naftiridina | 9,37 | - | 8,68 | 7,59 | 7,59 | 8,68 | - | 9,37 |

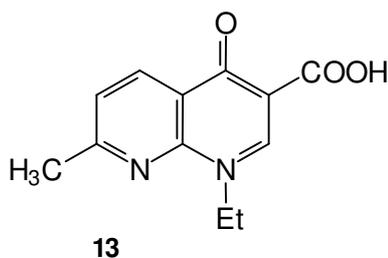
Tabela 4 - Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C dos isômeros naftiridínicos

| Composto | δ (^{13}C) (ppm) | | | | | | | |
|-----------------|------------------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| | C-1 | C-2 | C-3 | C-4 | C-5 | C-6 | C-7 | C-8 |
| 1,5-naftiridina | - | 151,0 | 124,1 | 137,2 | - | 151,0 | 124,1 | 137,2 |
| 1,6-naftiridina | - | 154,9 | 122,7 | 135,8 | 153,0 | - | 146,9 | 122,2 |
| 1,7-naftiridina | - | 152,1 | 125,2 | 134,7 | 119,9 | 144,0 | - | 154,5 |
| 1,8-naftiridina | - | 153,8 | 122,3 | 137,3 | 137,3 | 122,3 | 153,8 | - |
| 2,6-naftiridina | 152,0 | - | 144,9 | 119,3 | 152,0 | - | 144,9 | 119,3 |
| 2,7-naftiridina | 152,9 | - | 147,1 | 119,1 | 119,11 | 147,1 | - | 152,9 |

1.4.3 Propriedades Biológicas de 1-X-Naftiridinas

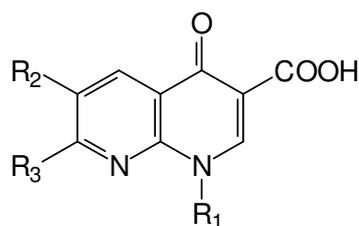
O grande interesse por esta classe de compostos pode ser visto em recente revisão bibliográfica, onde se mostra um aumento no número de publicações relacionado a derivados naftiridínicos e suas propriedades.¹³

Sendo assim, a primeira naftiridina de uso clínico foi o 3-carboxi-1-etil-7-metil-1,8-naftiridin-4-ona (ácido nalidíxico) **13**, sendo o novo fármaco eficaz contra a bactéria Gram-negativa encontrada em infecção crônica do sistema urinário, sendo também indutor do sono.²¹

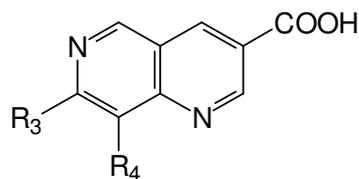


Vários exemplos de derivados 1,8-naftiridínicos 3,4-dissubstituídos **14** e alguns destes também substituídos na posição 7 com grupamento metilflúor ou uma amina cíclica, foram amplamente testados para atividade antibacteriana.^{22,23}

Também são relatadas as propriedades citotóxicas dos isômeros 1,6-naftiridínicos **15** com grupamento ácido na posição 3.^{17,22,24}



14 a-b

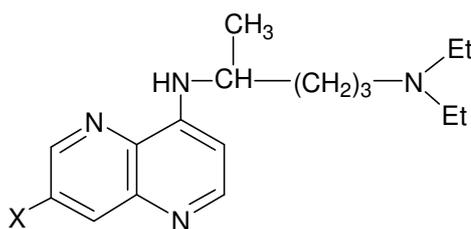


15

a = R₁ = Alquil b = R₁ = Ciclopropil
 R₂ = H R₂ = NH₂
 R₃ = CH₃F R₃ = Amina cíclica

R₃ = Piperidil
 R₄ = Me

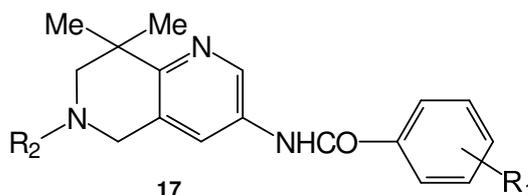
Ainda visando o seu uso farmacológico, derivados 1,8-naftiridínicos foram estudados como agentes antiviral,²⁵ anti-hipertensivo,^{26,27} antimalárico,²⁸ e herbicida.^{29,30} O número de estudos dos isômeros 1,6 e 1,8-naftiridínicos é maior quando comparado ao isômero 1,5-naftiridínico. A síntese do derivado 3-carbonoetoxi-1,5-naftiridin-4-(1*H*)-ona foi realizada com a finalidade de preparar uma aminonaftiridina **16a** e testar sua atividade contra malária.³¹ Também na busca de uma droga com propriedades antimaláricas preparou-se o derivado 1,5-naftiridínico **16b** onde seu substituinte é o 2-amino-5-dietilaminopentano.³²



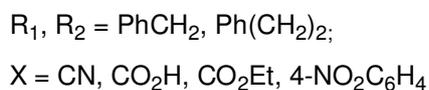
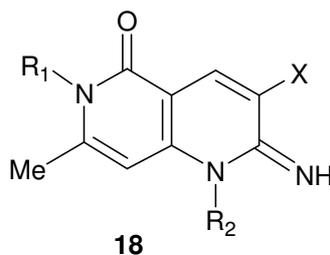
16

a = X = H
 b = X = Cl

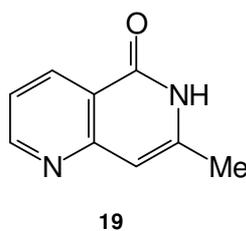
Visando seu uso farmacológico, derivados 1,6-naftiridínicos foram testados como anticonvulsivos,³³ e o 8,8-dimetil-[1,6]-naftiridina **17** apresenta uma melhoria nas propriedades farmacocinéticas e um potencial estimulante para o tratamento da epilepsia e profilaxia da enxaqueca.³³



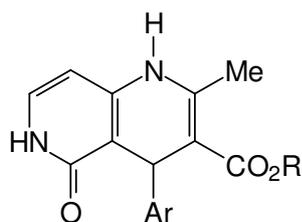
Outro derivado naftirídínico, 2-imino-1,6-naftiridina-5-(6*H*)-ona **18**, apresenta-se promissor para atividade antituberculose.³⁴



Também é relatado na literatura a 7-metil-1,6-naftiridina-5-(6*H*)-ona **19**, a qual é usada para eliminar efeito causado por radiação ou agente quimioterápico usado durante o tratamento de tumores.³⁵



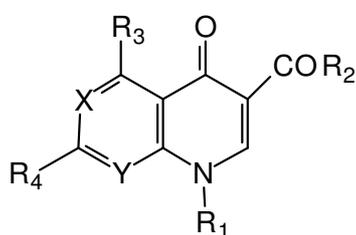
Outro derivado, 1,4-dihidro-1,6-naftiridina **20**, também demonstra ser promissor no tratamento de doença cardiovascular.³⁶



20

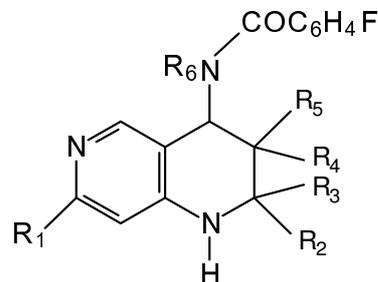
R= Me, Et, But

Os compostos **21**, incluindo derivados 1,6-naftiridínicos, bem como octahidronaftiridinas **22**, são de interesse do ponto de vista farmacológico. Assim, o composto **21** possui baixa toxicidade e é usado como componente de drogas para profilaxia e tratamento de doenças infecciosas causadas por várias bactérias patogênicas. Entretanto, a octahidronaftiridina **22** é usada no tratamento da depressão ou em casos de abstinência.³⁷



21

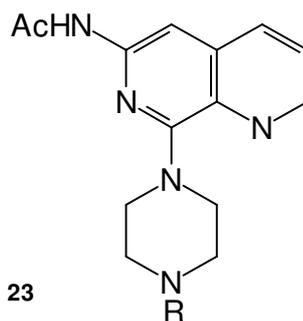
R₁ = H, Et, (CH₂)₂OH,
(CH₂)₂Cl, CH₂=CH,
Ciclo-alkil;
R₂ = OH, OAlquil;
R₃ = H, halogênio, NH₂;
R₄ = H, alquil, halogênio;
X, Y = N, CH



22

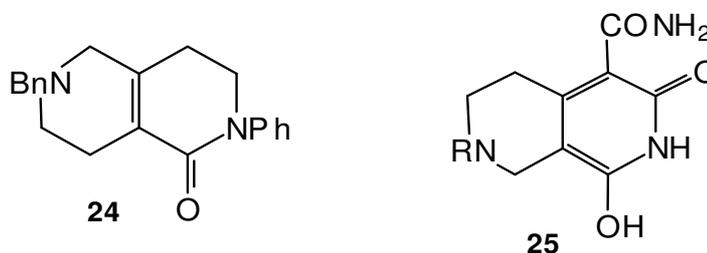
R₁ = H, alquil, CF₃, CN, NO₂;
R₂, R₃ = H, alquil (C₁ a C₄);
R₂ e R₃ = (CH₂)_n, n = 2 a 4;
R₄ = H, Me, Et;
R₅ = OPh, OBn, NO₂;
R₆ = H, alquil (C₁ a C₆)

Também são relatadas as propriedades biológicas de 6-acetamida-8-(4-R-piperazin-1-il)-1,7-naftiridinas **23** como anti-inflamatório,³⁸ cardiotônico,³⁹ vasodilatador,⁴⁰ bronco-lítico, diurético e anti-colinérgico.⁴¹



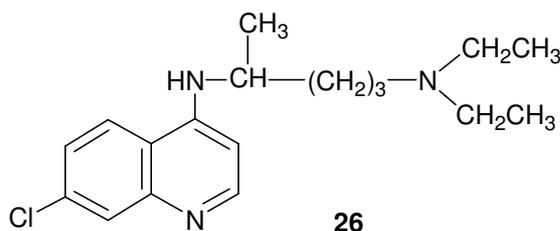
R= H, (CH₂)₂OH, CHO, Ar

Outros derivados 2,6 e 2,7-naftiridínicos, bem como octahidro-2,6-naftiridina **24**,⁴² são usados para profilaxia e tratamento de esquizofrenia e depressão. Entretanto, o derivado 4-amida-1-hidróxi-5,6,7,8-tetrahidro-3-oxo-2,7-naftiridina **25**, demonstra atividade antirrítmica.⁴³



R = Et, Bn

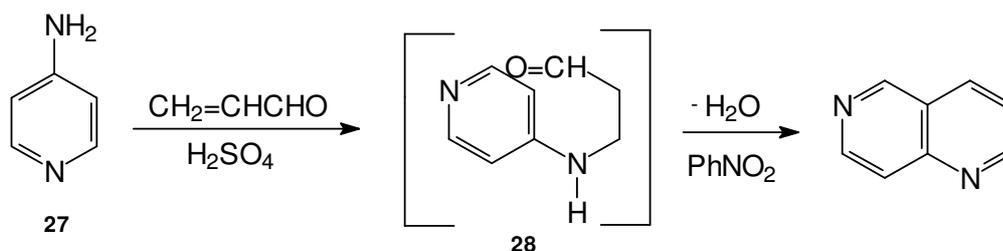
Como parte de um programa geral de obtenção de novos agentes citotóxicos, muitas moléculas têm sido preparadas incorporando substituintes nitrogenados, oxigenados e sulfurados, a exemplo da cloroquina **26**, onde o substituinte 2-amino-5-dietilaminopentano é responsável por sua atividade biológica contra malária. Por esta razão, vários compostos têm sido sintetizados contendo este substituinte e avaliadas as suas propriedades citotóxicas.³²



1.4.4 Métodos de Obtenção do Isômero 1,6-Naftiridínico

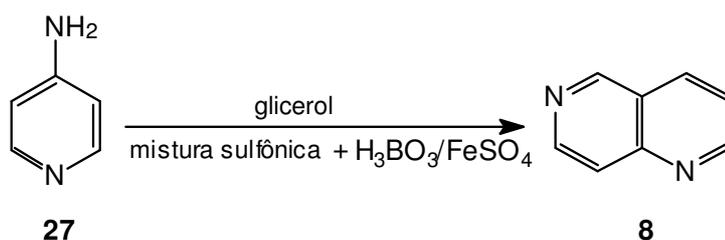
1.4.4.1 Síntese do isômero 1,6-naftiridínico pela reação de Skraup

A síntese de Skraup, conhecida há muitos anos, consta como uma patente europeia de 1990, onde a 1,6-naftiridina **8** foi obtida empregando-se a 4-aminopiridina e glicerol, ácido sulfúrico fumegante e nitrobenzeno a 135 °C por 48 h, conforme ilustrado no Esquema 1, porém os dados de rendimento não foram informados.⁴⁴



Esquema 1 - Preparação de 1,6-naftiridina pela reação de Skraup patenteada

Hamada e Takeuchi⁴⁵ em 1971 ponderaram as condições de reação anteriormente empregadas para a síntese de **8** e estabeleceram um procedimento modificado preparando a 1,6-naftiridina em uma mistura sulfônica ($\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{SO}_3$ e nitrobenzeno), H_3BO_3 , $\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, com rendimento de 70%, Esquema 2.

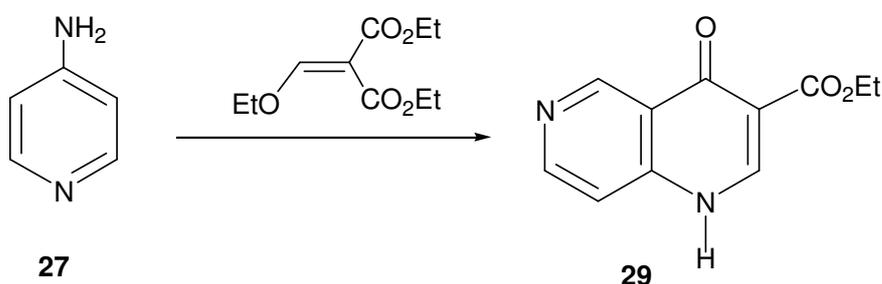


Esquema 2 - Síntese do isômero 1,6-naftiridínico pela reação de Skraup modificada

1.4.4.2 Obtenção de 1,6-naftiridina pelo método EMME

Outro método de preparação da 1,6-naftiridina é pela condensação da 4-aminopiridina com etoximetilenomalonato de dietila (EMME), seguida de ciclização térmica em solução para formação da carboetóxi naftiridinona **29**, Esquema 3.

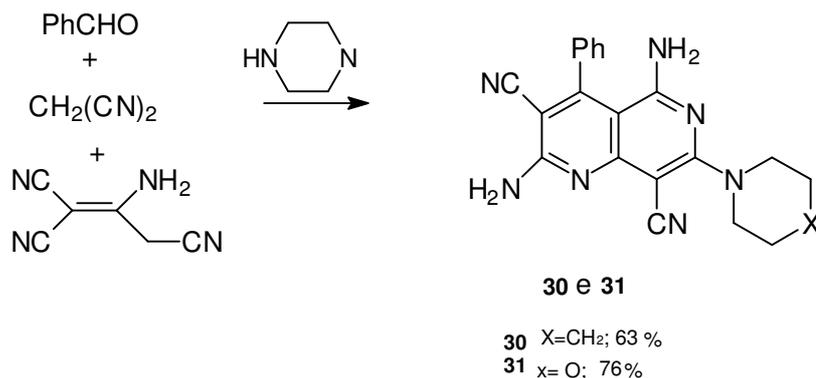
17,20,28



Esquema 3 - Síntese de 1,6-naftiridina pelo método EMME

1.4.4.3 Preparação de 1,6-naftiridinas pelo método cascata de heterociclização

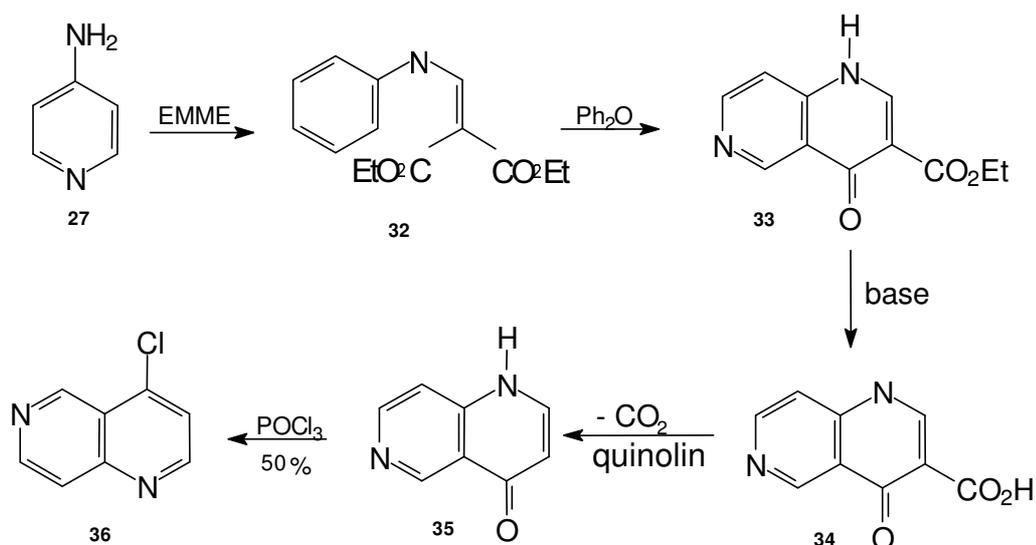
Um método bastante interessante de preparação de 1,6-naftiridinas contendo um resíduo aminocíclico na posição 7 é o método cascata de heterociclização onde a reação é executada em uma única etapa utilizando benzaldeído, malonitrila e seu dímero na presença de piperidina ou morfolina em etanol sob refluxo por 6 horas, Esquema 4.¹⁹



Esquema 4 - Método cascata de heterociclização

1.4.4.4 Síntese da 4-cloro-1,6-naftiridina pelo método EMME

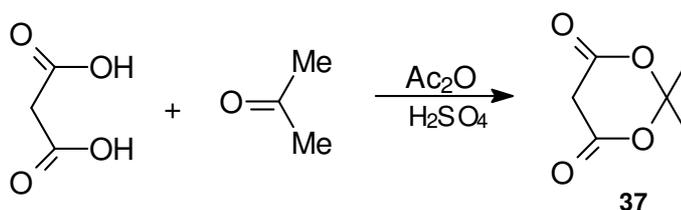
A 4-cloro-1,6-naftiridina **36** foi preparada por Albert ²⁰ a partir da 4-aminopiridina condensada com EMME seguida de uma seqüência de reações como: ciclização, hidrólise, descarboxilação e cloração, como mostrado no Esquema 5. Os rendimentos de algumas etapas foram omitidos, porém a pureza do aduto para ciclização é citada como a etapa determinante do rendimento.



Esquema 5 - Síntese da 4-cloro-1,6-naftiridina pelo método EMME

1.5 O Ácido de Meldrum e Seus Derivados na Síntese de Heterociclos Nitrogenados

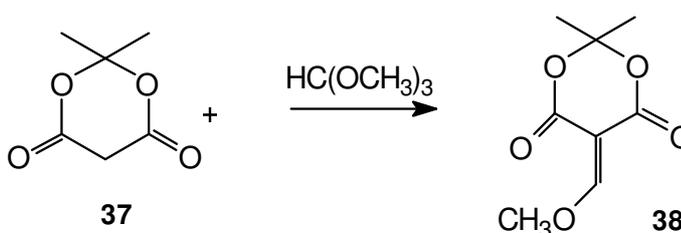
O ácido de Meldrum (2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona) **37** é um sólido cristalino branco, obtido pela condensação do ácido malônico e acetona em anidrido acético com adição de ácido sulfúrico concentrado, conforme Esquema 6.⁴⁶



Esquema 6 - Preparação do ácido de Meldrum **37**

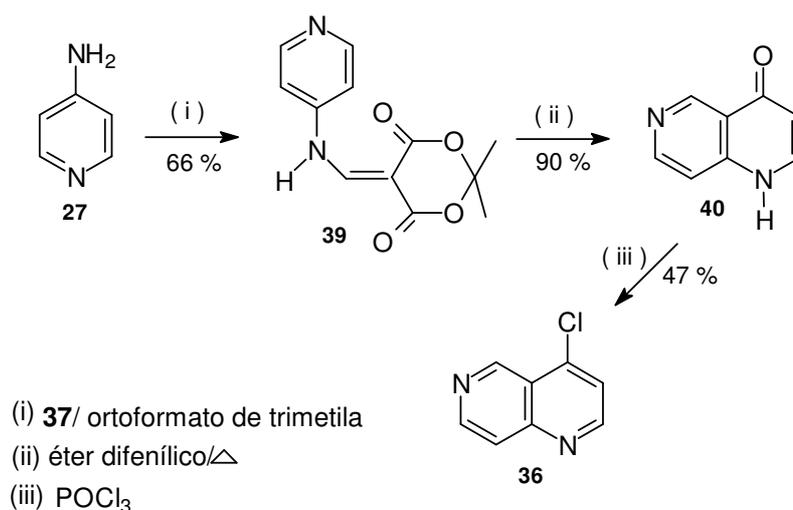
O ácido de Meldrum possui pKa próximo ao do ácido acético, apresentando caráter anfifílico, susceptível ao ataque nucleofílico nas posições 4 e 6, e eletrofílico na posição 5, deixando o anel intacto.⁴⁷

Como intermediário central da síntese de naftiridinas elegeram-se o derivado 5-metoximetileno-2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona **38** do ácido de Meldrum. Este derivado é amplamente utilizado na síntese de heterociclos, sendo prontamente obtido pela reação de **37** com ortoformato de trimetila, Esquema 7.⁴⁷



Esquema 7 - Preparação do derivado metoximetilênico do ácido de Meldrum *in situ* **38**

Na síntese das naftiridinas parte-se de piridinas, pois não é tão simples formar dois anéis heterocíclicos nitrogenados numa única etapa. Conforme descrito no item anterior, a maioria dos métodos empregados para preparação de 1,X-naftiridinas são os mesmos empregados na preparação de quinolinas, sendo os derivados piridínicos precursores necessários para obtenção destes compostos. Neste contexto, partiu-se da 4-aminopiridina **27** com intuito de condensá-la com o derivado metilênico do ácido de Meldrum **38**, o qual forma o aduto **39**, que é o composto chave na preparação do anel naftiridínico através da ciclização térmica, que seguida de cloração com POCl_3 fornece a 4-cloro-1,6-naftiridina **36**, conforme Esquema 8.



Esquema 8 - Preparação da 4-cloro-1,6-naftiridina **36**

1.6 Justificativa

A indústria pouco tem contribuído no desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento da leishmaniose e Doença de Chagas.

Entretanto, na permanente busca por novos agentes terapêuticos, as naftiridinas apresentam-se como uma alternativa promissora, conforme mencionado anteriormente, pode-se constatar a diversidade de aplicações das naftiridinas.

A maioria dos fármacos usados no tratamento destas doenças foi desenvolvida há muitas décadas atrás, possuem pouca efetividade, muitos efeitos adversos, deformidades, seqüelas que acarretam e requerem um longo tratamento, e as inúmeras descobertas ainda não levaram a uma solução efetiva desses problemas. Portanto, há a necessidade de se desenvolver novas drogas, que tenham efeito leishmanicida e tripanocida, visando uma possível melhora nas suas propriedades citotóxicas.

Por isso, este trabalho visa a síntese e avaliação das propriedades leishmanicida e tripanocida de 1,6-naftiridinas substituídas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

- Sintetizar a 1,6-naftiridina-4-substituída a partir da 4-aminopiridina, estabelecendo seu potencial leishmanicida e tripanocida.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar a 4-cloro-1,6-naftiridina a partir da 4-aminopiridina comercial.
- Submeter o composto clorado à reação de substituição nucleofílica utilizando o nucleófilo nitrogenado 2-amino-5-dietilaminopentano para obter a molécula alvo, a 4-(4'-dietilamino-1'-metil-butilamino)-1,6-naftiridina.
- Caracterizar os compostos sintetizados por análises espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C , massa e análise elementar.
- Testar *in vitro* a aminonaftiridina **42** substituída obtida quanto ao seu potencial leishmanicida e tripanocida.

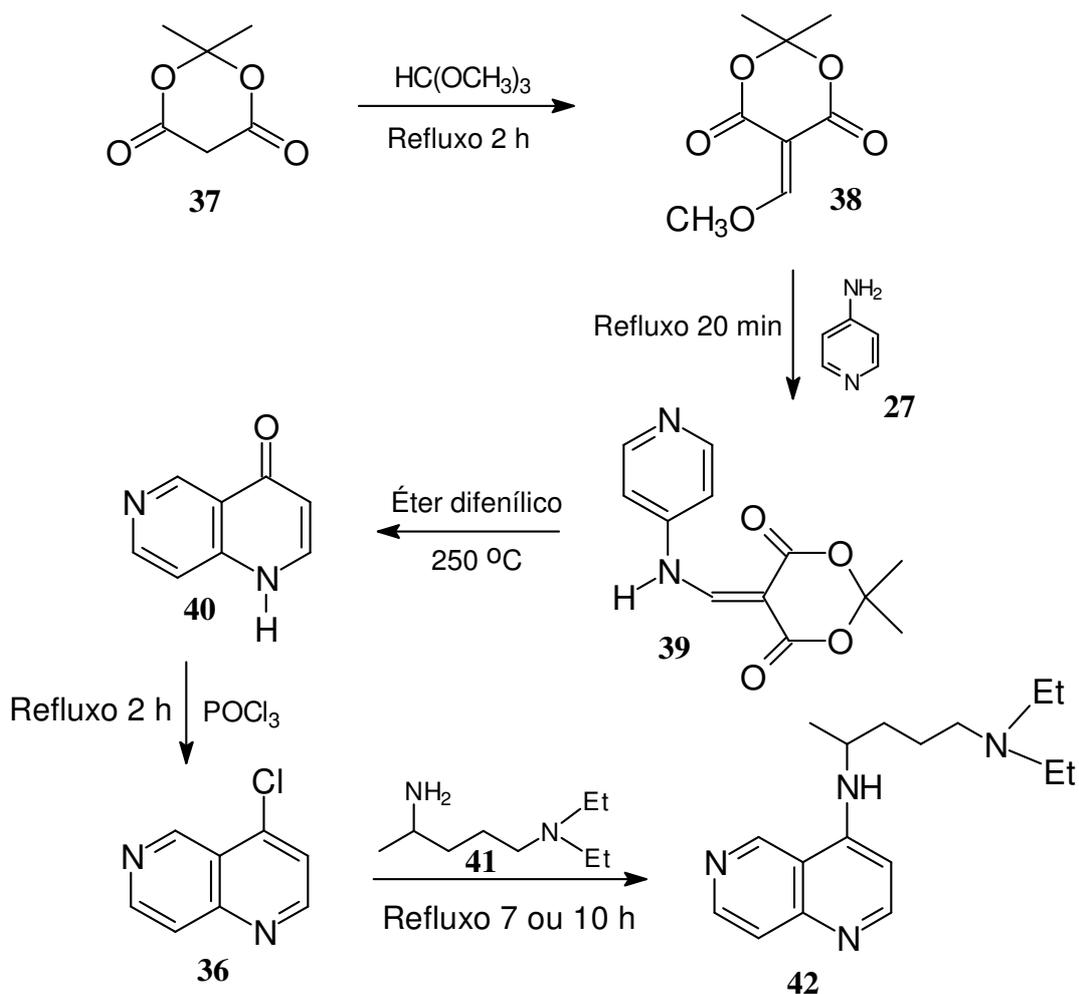
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese da 1,6-Naftiridina-4-substituída

A síntese de naftiridinas foi pouco explorada quando comparada à síntese de outros heterociclos, tais como piridina, quinolina e indol. Quando consideramos a síntese de compostos heterocíclicos, em primeiro lugar, devemos avaliar a disponibilidade comercial do material de partida já contendo o sistema heteroaromático desejado para então introduzirmos os substituintes, como na química do benzeno.¹⁸ Assim, o interesse em preparar esse sistema naftiridínico foi baseado na oportunidade de explorar sua atividade biológica, visto que existem várias publicações neste sentido, conforme mencionado anteriormente.

A maioria dos métodos empregados para preparação de 1,X-naftiridinas são os mesmos empregados na preparação de quinolinas, sendo os derivados piridínicos precursores necessários para obtenção destes compostos. As metodologias descritas na literatura para a construção dos sistemas naftiridínicos mostram basicamente que o passo mais importante é a construção do anel naftiridínico.

Os métodos empregados para a preparação destes compostos apresentam inconvenientes de utilizar muitas etapas na sua elaboração e baixos rendimentos. A metodologia proposta para a síntese da 4-(4'-dietilamino-1'-metil-butilamino)-1,6-naftiridina **42** pode ser observada no Esquema 9, onde o aduto do ácido de Meldrum **39** é o composto chave na formação do anel naftiridínico.

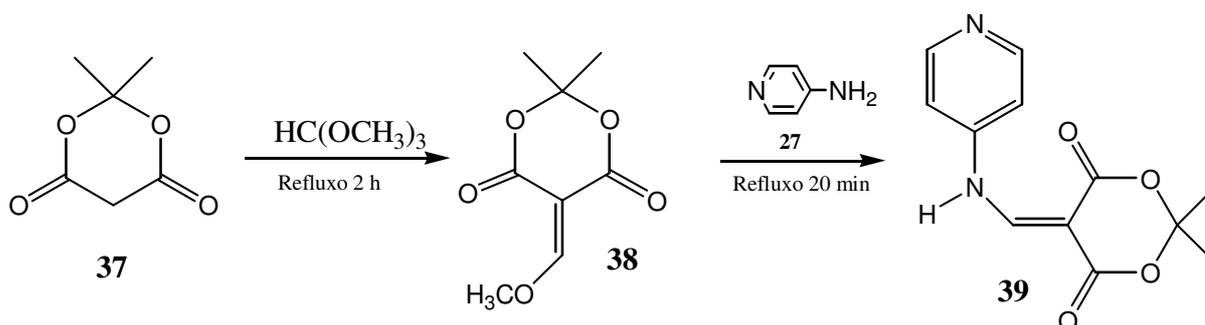


Esquema 9 - Metodologia proposta para a síntese da aminonaftiridina

Assim, para a formação do aduto do ácido de Meldrum foi necessária a preparação do ácido de Meldrum **37** já conhecido na literatura.⁴⁷ Este foi preparado pela reação do ácido malônico, anidrido acético e acetona na presença catalítica de ácido sulfúrico concentrado, obtendo-se um sólido cristalino branco, com rendimento de 58%, e foi caracterizado pelo seu ponto de fusão, que foi de 94-95,8 °C (lit. 94-95 °C).⁴⁷

Como intermediário central da síntese de naftiridinas elegeu-se o derivado 2,2-dimetil-5-(4-piridilamino-metileno-1,3-dioxano-4,6-diona) **39**, aduto do ácido de Meldrum. A preparação do derivado piridilaminometilênico do ácido de Meldrum **39** foi conduzida pela reação do ácido de Meldrum **37** com ortoformato de trimetila sob

refluxo, com a formação do metoximetileno do ácido de Meldrum **38**. Este não foi isolado, mas reagiu *in situ* com a 4-aminopiridina **27** formando a 2,2-dimetil-5-(4-piridilamino-metileno-1,3-dioxano-4,6-diona) **39**, aduto do ácido de Meldrum, Esquema 10. O rendimento obtido foi de 66%, obtendo-se um sólido vermelho alaranjado e a análise por CCD em acetato de etila indicou tratar-se de um composto puro, com ponto de fusão de 222,5-223,9 °C (lit.223,5-224 °C).^{47,48}

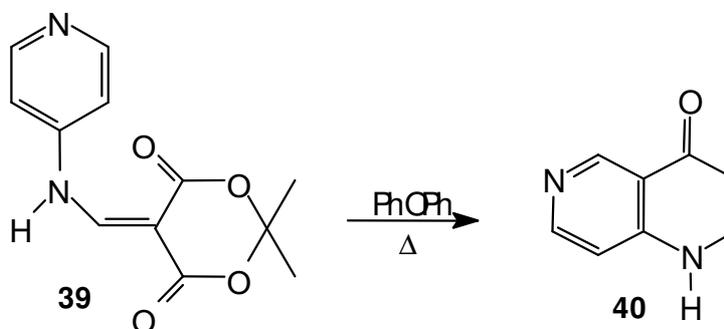


Esquema 10 - Preparação do aduto do ácido de Meldrum 39

O espectro de infravermelho do aduto **39** mostra absorções em 3.200 cm⁻¹, referente a deformação axial de N-H; duas absorções em 3.033 cm⁻¹ e em 3.077 cm⁻¹ referentes a deformação axial de =C-H do anel aromático; em 2.999 cm⁻¹ deformação axial de C-H alifático; um conjunto de três absorções 1.735, 1.663, e em 1.636 cm⁻¹ características do sistema - N-C=C(C=O)₂, de um vinílogo de amida; uma absorção em 1.272 cm⁻¹ referente a deformação axial de C-N do anel aromático (Apêndice, Espectro 1).

A construção do anel naftiridínico foi efetivada mediante reação de ciclização térmica do aduto **39**, em éter difenílico em ebulição, levando à formação da naftiridinona **40** com 90% de rendimento, Esquema 11. Durante a termólise do aduto **39**, a adição deste ao éter difenílico sob refluxo deve ser conduzida rapidamente, se possível em uma única adição, mantendo-se o refluxo por mais 4 minutos. Quando isso não acontece, ocorre carbonização do aduto. A análise por

CCD em acetato de etila indicou tratar-se de um composto puro. O ponto de fusão encontrado foi de 284,5-285,8 °C (lit acima de 300 °C).²⁰



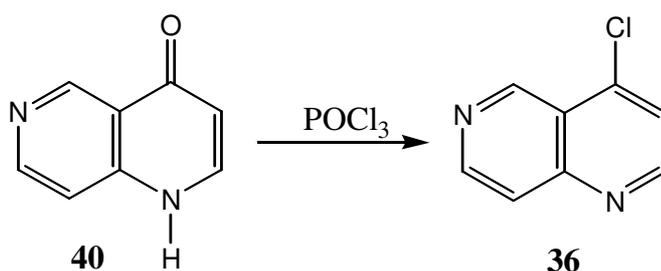
Esquema 11 - Preparação da 1,6-naftiridina-4-(1H)-ona **40**

O espectro de infravermelho da 1,6-naftiridina-4-(1H)-ona **40**, mostra bandas características dos estiramentos NH em 3.100 cm^{-1} , em 1.650 cm^{-1} deformação axial de C=O, em 1.566 cm^{-1} deformação axial de C=C, em 1.215 cm^{-1} deformação axial de C-N; em 603 cm^{-1} deformação angular de =C-H, estas informações podem indicar a formação do anel naftiridona (Apêndice, Espectro 2).

A próxima etapa, conversão da naftiridona à 4-cloro-1,6-naftiridina **36**, foi feita através de métodos clássicos de halogenação e deu-se através da reação de Meisenheimer, a qual segue o mecanismo de substituição nucleofílica. Esta conversão é realizada utilizando-se POCl_3 previamente destilado e hidróxido de amônio para alcalinização do meio, Esquema 12.

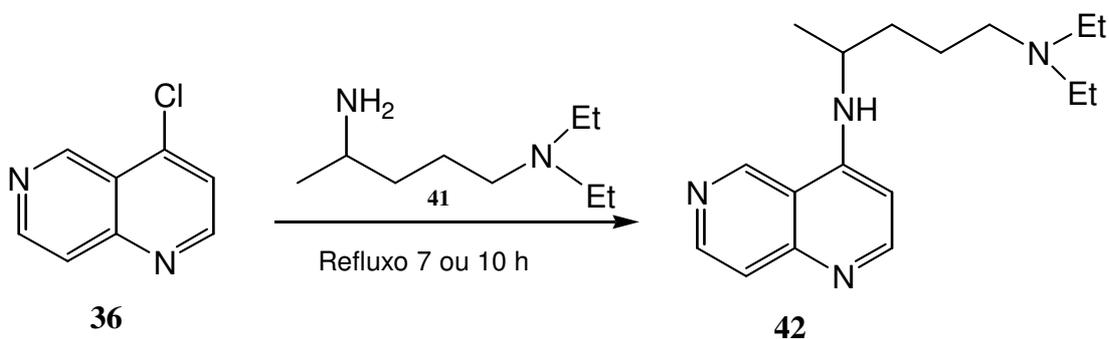
A 4-cloro-1,6-naftiridina é muito susceptível a hidrólise, podendo ser atribuída à conjugação da posição 4 aos dois nitrogênios anelares, tornando-a altamente eletrofílica. Assim, este procedimento deve ser realizado com muita cautela. A adição dos primeiros pedaços de gelo e a alcalinização deve ser feita vagarosamente, visto ocorrer um grande aquecimento do sistema e, conseqüentemente, hidrólise do composto. O ponto de fusão do produto obtido foi

de 87,7-88,1 °C (lit. 90°C)¹⁹ e este mostrou-se puro conforme análise por CCD em acetato de etila. O rendimento obtido foi de 47%. Os dados de infravermelho apresentam as bandas correspondentes: em 1.598 cm⁻¹ e 1.548 cm⁻¹ deformação axial de C-N, em 1.090 cm⁻¹ deformação axial de C-Cl, sendo verificada a ausência da banda da carbonila em 1.650 cm⁻¹. (Apêndice, Espectro 3).



Esquema 12 - Preparação da 4-cloro-1,6-naftiridina **36**

A última etapa, conversão da 4-cloro-1,6-naftiridina **36** no produto 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina **42**, segue o mecanismo de substituição nucleofílica, utilizando-se o 2-amino-5-dietilaminopentano **41** como nucleófilo, que foi purificado previamente por destilação e analisado por cromatografia gasosa, Esquema 13.



Esquema 13 - Preparação da 4-(4'-dietilamino-1'- metilbutilamino)-1,6-naftiridina **42**

Esta reação foi repetida várias vezes, mudando-se as condições de reação, como tempo de refluxo, temperatura e quantidades de reagentes. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se excesso do nucleófilo e refluxo por sete ou dez horas, em dois procedimentos diferentes. No primeiro, foi colocado excesso de nucleófilo (1:2) e a reação foi mantida em refluxo por dez horas e acompanhada por CCD, apresentando a formação da possível aminonaftiridina e o consumo da cloronaftiridina. Ao término da reação, a mistura foi solubilizada em clorofórmio e a amina excedente foi retirada lavando-se com várias porções de água destilada e, posteriormente, concentrada em evaporador rotatório obtendo-se um óleo castanho escuro, com um rendimento de 68%. Em seguida, a aminonaftiridina foi purificada várias vezes em coluna cromatográfica "flash" utilizando-se como eluente uma mistura de hidróxido de amônio e etanol na proporção de 2:1. O produto obtido forneceu um óleo castanho escuro com baixo rendimento, pois apesar das várias tentativas de purificação, o produto analisado por CCD ainda apresenta impurezas.

No segundo método utilizado para sintetizar a molécula alvo **42**, foi usado excesso de nucleófilo (1:5), e a reação mantida em refluxo por sete horas. Ao término da reação, a mistura foi destilada para retirar o excesso do 2-amino-5-dietilaminopentano **41** e, posteriormente, lavada várias vezes com hexano, fornecendo um óleo castanho escuro com um rendimento bruto de 75%. Em seguida, o produto foi purificado em coluna cromatográfica "flash" utilizando-se como eluente inicialmente diclorometano e, em seguida, uma mistura de hidróxido de amônio e etanol na proporção de 2:1. O produto obtido forneceu um óleo castanho escuro com rendimento de 30%.

O espectro de infravermelho da 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina **42** apresenta as bandas a seguir: em 3.271 cm^{-1} deformação axial de N-H,

apresentando uma única banda de amina secundária; em 3.100 cm^{-1} deformação axial de $=\text{C-H}$ aromático; em 2.966 cm^{-1} e 2.935 cm^{-1} deformação axial de C-H alifático; em 1.560 cm^{-1} deformação angular de N-H ; em 1.454 cm^{-1} deformação axial de C=C . Em 1.265 cm^{-1} deformação axial de C-N do anel aromático (Apêndice, Espectro 4).

O composto 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina **42** também foi caracterizado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear. O espectro de RMN ^1H em CDCl_3 apresenta em 9,26 ppm um singlete integrando um hidrogênio relativo ao Hd; em 8,52 ppm e 8,51 ppm, dois dubletos sobrepostos integrando dois hidrogênios correspondentes aos Ha, com constantes de acoplamento de 3,6 Hz e 4,4 Hz, respectivamente; em 7,63 ppm um dubleto integrando um hidrogênio com constante de acoplamento 5,6 Hz relativo ao Hc; em 6,41 ppm um dubleto integrando um hidrogênio com constante de acoplamento 5,6 Hz referente ao Hb. Em 3,66 ppm um multiplete integrando um hidrogênio relativo ao hidrogênio do grupo C-H da cadeia alifática ligado ao N-H (He); em 3,00 ppm um singlete largo do hidrogênio do grupo N-H ; em 2,53 ppm um multiplete integrando quatro hidrogênios, correspondente aos hidrogênios dos CH_2 do grupo $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ (Hj); em 2,44 ppm um triplete integrando dois hidrogênios relativo aos hidrogênios do CH_2 ligado ao nitrogênio da cadeia alifática (Hi). Em 1,74 ppm um multiplete integrando dois hidrogênios relacionado com os hidrogênios do CH_2 do grupo $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHNH})$ da cadeia alifática (Hh); em 1,60 ppm um multiplete integrando dois hidrogênios relativo aos hidrogênios do CH_2 do grupo $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHNH})$ (Hg); Em 1,26 ppm um dubleto integrando três hidrogênios correspondente aos hidrogênios do CH_3 do grupo $-\text{NH-CH-CH}_3$ (Hf) e em 0,97 ppm

um tripleto integrando seis hidrogênios relativo aos hidrogênios dos dois grupos metila ligados ao $-NCH_2CH_3$ (Hk) (Apêndice, Espectro 5).

Analisando-se o espectro de RMN ^{13}C em $CDCl_3$ verifica-se a presença de quinze sinais, sendo oito carbonos sp^2 do anel 1,6-naftiridínico e 7 sinais de carbonos sp^3 da cadeia alifática, caracterizando assim o composto **42** como inédito (Apêndice, Espectro 6).

3.2 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

Devido as dificuldades de purificação e baixo rendimento do composto 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina **42** não foi possível avaliar as propriedades leishmanicida e tripanocida. Contudo, foi feita a avaliação das propriedades leishmanicida e tripanocida do composto 4-cloro-1,6-naftiridina, sendo que o mesmo não apresentou qualquer atividade. A avaliação destas propriedades foi realizada no Laboratório de Protozoologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFSC.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Equipamentos

A elucidação dos compostos obtidos foi acompanhada empregando-se a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se como suporte sílica gel 60 G-F254 com os compostos visualizados por irradiação UV (254 nm). Esta técnica foi utilizada também para avaliar o grau de pureza dos reagentes e produtos.

Os pontos de fusão foram determinados através do aparelho elétrico do tipo Kofler (Microquímica APF-301). Os pontos de fusão não foram corrigidos.

Os espectros de infravermelho foram realizados em um espectrofotômetro Shimadzu Prestige-21A, empregando-se pastilhas de KBr (FURB).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13 foram realizados em um espectrômetro Bruker de 400 e 200 MHz, (UFSC), empregando-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno e CDCl_3 como solvente.

4.2 Reagentes e Solventes

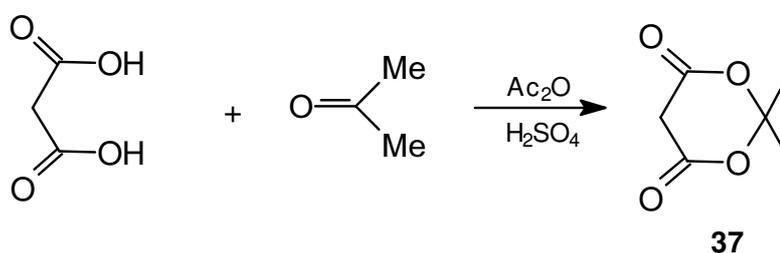
Os solventes e reagentes utilizados são de pureza analítica e de procedência Merck, Aldrich Chemical Company, Vetec e Carlo Erba.

Os reagentes orgânicos usados não foram purificados, com exceção do cloreto de fosforila e o 2-amino-5-dietilaminopentano, que foram previamente purificados por destilação.

Na purificação dos compostos sintetizados empregaram-se técnicas de cristalização, extração e separação em coluna cromatográfica.

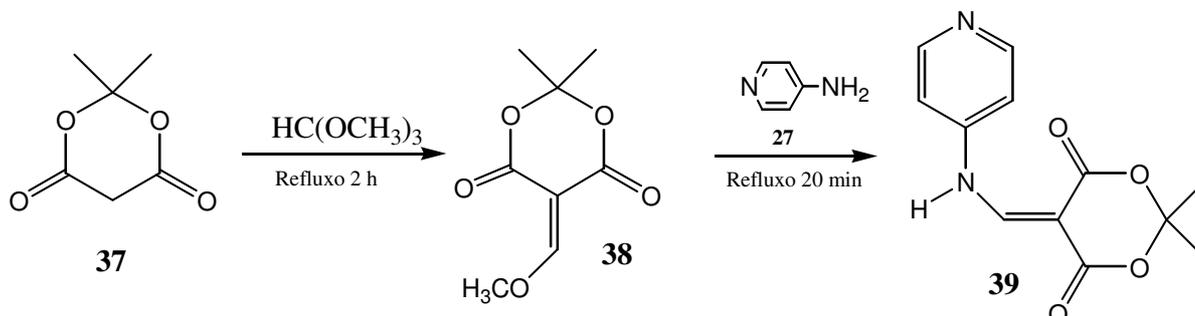
4.3 Procedimentos de Síntese

4.3.1 Preparação da 2,2-dimetil-1,3-dioxano-4,6-diona (*Ácido de Meldrum*) 37



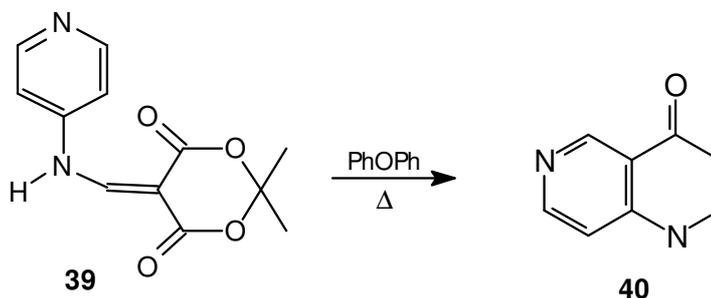
Em Erlenmeyer de 250 mL foram adicionados à temperatura ambiente ácido malônico (26g; 0,25 mol), anidrido acético (30 mL; 0,30 mol) e ácido sulfúrico (0,75 mL). A solução resultante foi resfriada em banho de água e gelo, sendo adicionada a ela acetona (20 mL; 0,27 mol) sob agitação, gota a gota, fazendo-se que a temperatura reacional não ultrapassasse 7 °C. Ao término da adição, a solução foi agitada por mais trinta minutos e levada ao refrigerador por 24 horas. O sólido cristalino formado foi coletado por filtração a vácuo e lavado com água gelada, sendo recristalizado pela dissolução em acetona (55 mL) à temperatura ambiente e posterior adição de água destilada (110 mL), deixando a solução final em um refrigerador por 24 horas. Os cristais transparentes formados foram filtrados por sucção e lavados com água gelada. O produto obtido foi seco em um dessecador sob vácuo, apresentando um rendimento de 58% e ponto de fusão de 94–95,8 °C (lit. 94-95 °C).⁴⁷

4.3.2 Preparação da 2,2-dimetil-5-(4-piridilamino)-metileno-1,3-dioxano-4,6-diona (*Aduto do Ácido de Meldrum*) **39**



Em balão de fundo redondo de duas bocas, adaptado com condensador de refluxo, foram colocados ácido de Meldrum **37** (3,41g; 0,023 mmol) e ortoformato de trimetila (14,3 mL; 172 mmol). A solução foi refluxada por duas horas numa temperatura de 75 °C. À solução resultante foi adicionada 4-aminopiridina **27** (1,6g; 0,017 mmol) obtendo-se uma coloração amarelo-avermelhada e foi mantida em refluxo por mais 20 minutos. Ao precipitado formado foi adicionado éter etílico (13 mL) à temperatura ambiente, e deixado em repouso por 30 minutos. O precipitado foi coletado por filtração a vácuo e lavado com etanol gelado. O produto foi seco em estufa a vácuo (25 mmHg e 25 °C). O ponto de fusão foi de 222,5-223,9 °C (lit. 223,5-224,0 °C)^{48,49} e o rendimento foi de 66 %. IV (KBr, cm^{-1}): 3.200, 3.033, 2.999, 1.735, 1.663, 1.272.

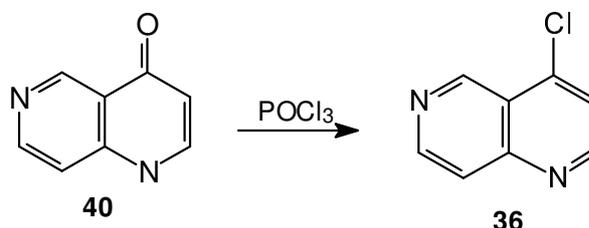
4.3.3 Preparação da 1,6-naftiridina-4-(1H)-ona **40**



Em balão de fundo redondo contendo éter difenílico (110 mL) em refluxo, aproximadamente a 250 °C, foi adicionado cuidadosamente o aduto do ácido de Meldrum **39** (2,29g; 9,2 mmol). Após a adição, o refluxo foi mantido por mais 3 minutos e a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente. À solução adicionou-se éter de petróleo (50 mL) e deixou-se em repouso por mais 20 minutos. O precipitado formado foi filtrado e lavado com éter de petróleo a quente. O sólido foi, então, seco em estufa a vácuo (25 mmHg e temperatura de 60 °C). O rendimento obtido foi de 90% e o ponto de fusão foi de 284,5-285,8 °C (lit. acima de 300 °C).²⁰

IV (KBr, cm^{-1}): 3.100, 1.650, 1.566, 1.215, 603.

4.3.4 Preparação da 4-cloro-1,6-naftiridina **36**

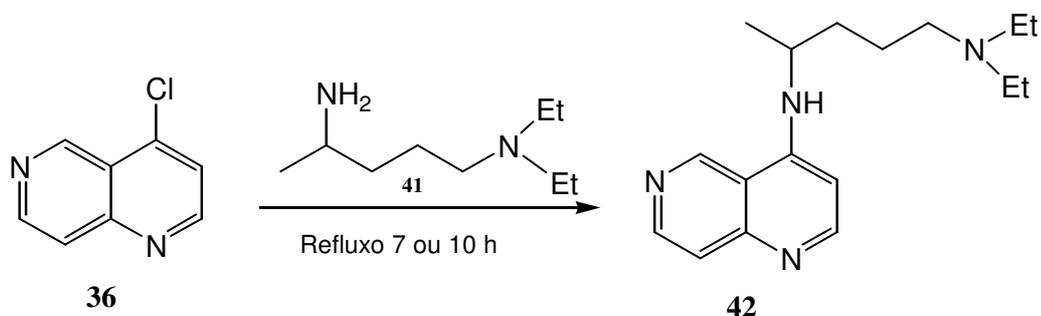


Em balão de fundo redondo foram adicionados 1,6-naftiridina-4-(1H)-ona (1,0g; 6,8 mmol) e oxiclureto de fósforo (POCl_3) (16,06g; 9,62 mL; 104,6 mmol). A solução foi aquecida sob refluxo por 2 horas. Sob banho de gelo, ao líquido viscoso

foi acrescentado gelo moído. A mistura reacional foi basicada com hidróxido de amônio e água 1:1 (20mL), e o produto foi extraído com clorofórmio (5 x 15mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada em evaporador rotatório. O rendimento total obtido foi de 47 % e o ponto de fusão de 87,7-88,1 °C (lit. 90 °C).¹⁹

IV (KBr, cm^{-1}): 1.598, 1.548, 1.090.

4.3.5 Preparação da 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina **42**



Procedimento I:

Em um balão de fundo redondo foram colocadas a 4-cloro-1,6-naftiridina **36** (0,1g; 0,60 mmol) **36** e excesso de nucleófilo 2-amino-5-dietilaminopentano **41** (0,22 mL: 0,13 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo por dez horas na temperatura de 120 °C. Ao óleo formado, adicionou-se 10 mL de solução de hidróxido de potássio 5%. O produto foi extraído com clorofórmio (3 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com água destilada (6 x 10 mL) para retirar o excesso de 2-amino-5-dietilaminopentano e seca com sulfato de sódio anidro. A solução foi filtrada e concentrada em evaporador rotatório, obtendo-se um óleo castanho escuro com um rendimento de 68 %. O produto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se como eluente etanol e hidróxido de amônio 2:1.

IV (KBr, cm^{-1}): 3.271, 3.100, 2.966, 2.935, 1.560, 1.454, 1.336, 1.265.

RMN ^1H (CDCl_3 , ppm): 9,26 (s, 1H, Hd); 8,52 (d, 1H, Ha, $J=3,6$ Hz); 8,51 (d, 1H, Ha, $J=4,4$ Hz); 7,63 (d, 1H, Hb, $J=5,6$ Hz); 6,41 (d, 1H, Hc, $J=5,6$ Hz); 3,66 (m, 1H); 2,53 (m, 4H); 2,44 (t, 2H); 1,74 (m, 2H); 1,60 (m, 2H); 1,25 (d, 3H); 0,97 (t, 6H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , ppm): 155,15; 151,74; 150,41; 148,80; 146,06; 122,40; 115,40; 100,61; 52,59; 48,65; 47,08; 34,54; 29,70; 20,18; 11,15.

Procedimento II:

Em um balão de fundo redondo, foram colocadas a 4-cloro-1,6-naftiridina **36** (0,1g; 0,60 mmol) e excesso de 2-amino-5-dietilaminopentano **41** (1,5 mL; 9,8 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo por sete horas na temperatura de 150°C . Ao término da reação, destilou-se para retirar o excesso do nucleófilo. Em seguida, o produto foi lavado várias vezes com hexano e purificado em coluna cromatográfica “flash”, utilizando-se como eluentes, diclorometano e, posteriormente, etanol e hidróxido de amônio 2:1. Obteve-se um óleo castanho escuro com um rendimento real de 30 %.

5. PROTOCOLOS DE AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

A realização das análises das propriedades biológicas foi conduzida conforme descrito na literatura.^{50,51}

5.1 Composto Avaliado (4-cloro-1,6-naftiridina)

Este foi previamente solubilizado em Dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 50 mg/mL, filtrado em membrana de 0,22 µm e mantido a 4°C até o uso. Como drogas controle foram utilizados o cristal violeta e Benzonidazol (Rochagan®) para os experimentos com *T. cruzi* e a Anfotericina B para *Leishmania* spp.

5.2 Parasitas

Neste estudo foram utilizadas formas epimastigotas de cultura, tripomastigotas sangüíneas e amastigotas de cultivo celular da cepa Y de *T. cruzi* e amastigotas de cultivo celular e promastigotas de cultura de *Leishmania braziliensis* (cepa L-2904), *L. amazonensis* (cepa H1) e *L. chagasi* (cepa PH8) mantidos no Laboratório de Protozoologia da UFSC.

5.3 Avaliação “*in vitro*” da atividade antiparasitária da 4-cloro-1,6-naftiridina contra formas epimastigotas de *T. cruzi* e promastigotas de *Leishmania* spp

Os ensaios foram realizados em placas de culturas de 96 orifícios Nunc[®], contendo concentrações em ordem decrescente: 1000, 200 µg/mL dos extratos, 500, 100, 20, 5 e 1 µg/mL do composto em um volume final de 200 µL contendo 5x10⁶ epimastigotas ou promastigotas/mL.

5.4 Avaliação “*in vitro*” da atividade tripanocida e leishmanicida da 4-cloro-1,6-naftiridina contra formas amastigotas de *T. cruzi* e *Leishmania* spp

A avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida contra amastigotas foi ensaiada em duas linhagens celulares distintas: Vero e linhagem de promonócitos murinos J774G8.^{52,53}

6. CONCLUSÃO

A síntese da 4-cloro-1,6-naftiridina **36** foi obtida em três etapas reacionais, com rendimento total de 47%, a partir da 4-aminopiridina comercial.

A metodologia proposta para a síntese da 1,6-naftiridina-4-substituída com o nucleófilo nitrogenado 2-amino-5-dietilaminopentano **41**, obtendo-se a 4-(4'-dietilamino-1'-metil-butilamino)-1,6-naftiridina **42**, apresentou dificuldades na purificação e baixo rendimento, 30%.

Os compostos **36**, **39**, **40**, e **42** apresentaram resultados espectrais de IV, RMN de ^1H e ^{13}C condizentes com as estruturas propostas.

Entretanto, é necessária a busca de melhores condições de reação visando um rendimento maior, e complementar a caracterização da aminonaftiridina através de técnicas espectroscópicas convencionais.

Foi feita a avaliação das propriedades leishmanicida e tripanocida do composto 4-cloro-1,6-naftiridina **36**, porém o mesmo não apresentou qualquer atividade.

Devido a dificuldades de purificação e baixo rendimento, até o momento não foi possível realizar os estudos de avaliação das propriedades leishmanicida e tripanocida da 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina.

Contudo, as características estruturais e químicas dos compostos obtidos com os fármacos empregados para o tratamento de várias doenças indicam um potencial de aplicação e requerem novos estudos.

Perspectivas

- Sintetizar compostos 1,6-naftirídínicos com diferentes nucleófilos nitrogenados, oxigenados e sulfurados.
- Otimizar as condições experimentais de reação e caracterizar melhor, por técnicas espectrométricas convencionais como massa e análise elementar, a aminonaftiridina obtida.
- Avaliar *in vitro* as propriedades leishmanicida e tripanocida da aminonaftirida obtida.
- Publicar em periódico, indexado e arbitrado, nas áreas relacionadas ao trabalho.

ANEXOS

1. Comunicações em Congressos

BEGNINI, I. M.; SCHWARTZ, M. G.; REBELO, R. A.; CHEFFE, M. J. Síntese e avaliação do potencial antiprotozoário de 1,6-naftiridinas-4-substituídas. 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química e XXVI Congresso Latinoamericano de Química. Salvador, BA. 30/5 a 02/6, QO-002, 2004.

BEGNINI, I. M.; SCHWARTZ, M. G.; REBELO, R. A.; CHEFFE, M. J. Síntese e avaliação do potencial antiprotozoário de 1,6-naftiridinas-4-substituídas. 13-SBQSul, XIII Encontro de Química da Região Sul. Florianópolis, SC. 02 a 04/11, QO-027, 2005.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CECHINEL FILHO, V. **Obtenção de Compostos Farmacologicamente Ativos a Partir de Produtos Naturais. Correlação Estrutura Química-Atividade Biológica.** Florianópolis, 1995. Tese (Doutoramento em Química). Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina.
2. SOLOMONS, G. T. W. **Química Orgânica.** 7^a ed. v 1. Rio de Janeiro. 2001.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Communicable Disease Surveillance and Responce.** Disponível em: <<http://www.who.int/emc/diseases/leish/leisgeo1.html>> Acesso em: 20 de janeiro de 2004.
4. GRISARD, E. C et al. Characterization of Leishmania sp. Strains from autochthonous cases of human cutaneous leishmaniasis in Santa Catarina State, Southern Brazil. **Acta Trop.** V. 74, p. 89-93, 2000.
5. FARIA, T. J.; FONSECA e SILVA, L. G.; SOUZA, J. D.; CHIARI, E.; OLIVEIRA, A. B. Synthesis and Trypanocidal Activity of 7,2'-Dioxygenated Isoflavones and Oxypropanolamine Derivatives. **J. Braz. Chem. Soc.**; vol. 16. No. 6B, 1415-1419, 2005.
6. REY, L. **Parasitologia.** 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 731 p.
7. PESSOA, S. B; MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica.** 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 872 p.
8. CASTRO, E. et al. Epidemiological and clinical study of 332 cases of cutaneous leishmaniasis in the north of Parana State from 1993 to 1998. **Rev. Med. Trop.**, v. 35, n. 5, p. 445-452, 2002.
9. RATH, S. et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Quím. Nova**, v. 26, n. 4, 2003.
10. BERMAM, J. D. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. **Rev. Infect. Dis**, v. 10, p. 560-586, 1997.
11. BERGER, I. et al. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections II. Activity of extracts and frations of five Guatemalan plants against *Trypanosoma cruzi*. **J. Ethnopharmacol.** V. 62, p. 107-115, 1998.
12. CROFT, S. L. **Pharmacological to Antitrypanosomal Chemotherapy.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz. v. 94, n. 2, p. 215-220, 1999.

13 LITVINOV, V. P.; ROMAN, S. V.; DYACHENKO, V. D. Naphthyridines. Structure, physicochemical properties and general methods of synthesis. **Russian Chemical Reviews**, v. 69, n. 3, p. 201-220, 2000.

14. REISSERT, A. Über di-(γ -amidopropyl)essigsäure(diamino.1.7. heptanmethylsäure.4) und ihr inneres condensationsproduct, das octohydro. 1,8-naphthyridins. **Berichte**, v. 26, p. 2137-2144, 1893.

15. BOBRANSKI, B. und SUCHARDA, E. Über eine synthese des 1,5-naphthyridins. **Berichte**, v. 60, p. 1084, 1927.

16. KOLLER, G. Über das 1,8-naphthiridin. **Berichte**, v. 60, p. 1918-1920, 1927.

17. KATRITZKY, A. R.; REES, C. W. Naphthyridines, pyridoquinolines, anthryridines and similar compounds. **Comprehensive Heterocyclic Chemistry**, 1^a ed. Oxford. Ed. Pergamon Press, v. 2, p. 581-689, 1984.

18. HART, E. P. Naphthyridines. Part. I. The chemistry of 1,5-naphthyridine. **J. Chem. Soc.**, p. 1879-1882, 1954.

19. BHREMER, M. C. **Síntese e Reatividade das cloro 1,6- e 1,5-naftiridinas e o estudo de suas potencialidades**. Tese de Mestrado Interinstitucional em Química-UFSC/FURB. 2002.

20. ALBERT, A. Naphthyridines: ionization constants and spectra of four parent substance, **J. Chem. Soc.**, p. 1790-1793, 1960.

21. LESHER, G Y. and SINGH, B. 5-Phenyl-1,6-naphthyridin-2(1H)-ones and their cardiotonic use. (Sterling Drug), Pat. U.S. US 4,560 (Cl. 514-300; A61K31/44, 24 Dez 1985, Appl. 830, 810, 13 Jul 1984, 10 pp.

22. HIROSE, T. et al. Pyridone-carboxylic acids as antibacterial agents. I. Synthesis and antibacterial activity of 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-1,8-and1,6-naphthyridine-3-carboxylic acids. **Chem. Pharm. Bull.**, v.30, n.7, p. 2399-2409, 1982.

23. DICESARE, P.; BOUZARD, D.; KIEKEL, J. R. Preparation of 6-fluoro-5-substituted-1,4-di-hydro-4-oxonaphthyridine-3-carboxylates as antibacterial agents. (Bristol-Myers Squibb Co.) Eur. Pat. Appl. EP. 387, 802, 19 sep. 1990. JP App.89/33,456, 13 Fev 1989. 30 pp.

24. SABATINI, S. et al. 8-Methyl-7-substituted-1,6-naphthyridine-3-carboxylic acids as new 6-desfluoroquinolone antibacterials. **Heterocycl. Chem.**, v.36, n. 4, p. 953-957, 1999.

25. BACHAND, B. et al. Preparation of [1,8]naphthyridine derivatives having antiviral activity. Source PCT Int. Appl. WO 2000050424 Al. 31 Aug. 2000. 65 pp.

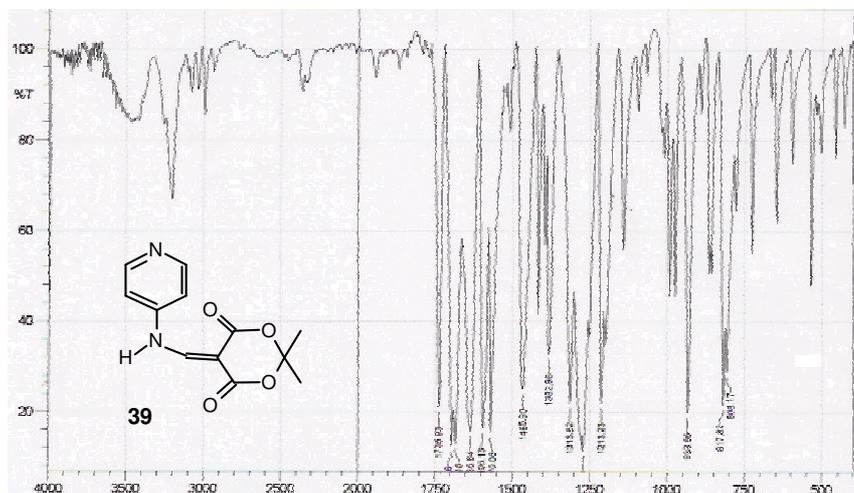
26. FERRARINI, P. L. et al. Stereoselective synthesis and beta-blocking activity of substituted (E)- and (Z)-4(1H)-[1-(3-alkylamino-2-hydroxypropyl)oximino]-2,3-dihydro-1,8-naphthyridine. Potential antihypertensive agents. Part VI. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 32, n. 12, p. 955-963, 1997.
27. FERRARINI, P. L. et al. Synthesis of 1,8-naphthyridine derivatives: potential antihypertensive agents – Part VII. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 33, n. 5, p. 383-397, 1998.
28. ADAMS, J. T. et al. Synthesis of antimalarials. VI. Synthesis of certain 1,5- and 1,8-naphthyridine derivatives. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 68, p. 1317-1319, 1946.
29. COLLINS, D. J. et al. Preparation of naphthyridine derivatives as herbicides. (Imperial Chemical Industries PLC, UK). PCT Int. Appl. WO 9207468 A1 14 May 1992, 75 pp.
30. BRD P. 3 601 688; **Chem. Abstr.**, V. 107, 217628, 1987.
31. BARLIN, G. B. et al. Potential antimalarials. XV. Di-Mannich bases of 2-(7'-chloroquinolin-4'-yl-amino)phenol and 2-[7'-bromo (and trifluoromethyl)-1',5'-naphthyridin-4'-yl-amino]phenol. **Aust. J. Chem.**, v. 45, n. 10, p. 1651-1662, 1992.
32. McCAUSTLAND, D. J.; CHENG, C. C. 1,5-naphthyridines. Synthesis of 7-chloro-4-(4-diethylamino-1-methylbutylamino)-2-methoxy-1,5-naphthyridine and related compounds (1). **J. Heterocycl. Chem.**, v. 7, n. 3, p. 467-473, 1970.
33. NIGEL, E, A. The Design of 8,8-Dimethyl (1,6)naphthyridines as Potential Anticonvulsant Agents. **Biorg. & Med. Chem. Let.**, v. 13, p. 1627-1629, 2003.
34. IVANOV, I.C. STOYANOV, E. V.; DENKOVA, P. S.; DIMITRIOV, V. S. **Liebigs Ann. Chem.** 1777, 1997.
35. US P. 5 391 544, 1992.
36. BRD P. 3 327 650; **Chem. Abstr.**, 21O 167 P, 1985.
37. MISHIO, S. et al. Pyridonecarboxylic acids as antibacterial agents. V. Synthesis of 1-vinyl-1,4-dihydro-4-oxo-1,8- and 1,6-naphthyridine-3-carboxylic acids. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 33, n. 10, p. 4402-4408, 1985.
38. Jpn. P. 62-30 780; **Ref. Zh. Khim.** 2O 83P, 1988.

39. US P. 4 690 924, 1986.
40. Jpn. P. 63-48 277; **Ref. Zh. Khim.** 15O 88P, 1989.
41. US P. 4 866 176; **Ref. Zh. Khim.** 17O, 69P, 1990.
42. Br P. 2 299 582; **Ref. Zh. Khim.** 12O, 64P, 1997.
43. PARONIKYAN, E. G.; SIRAKANIAN, S. N.; et al. **Khim.-Farm. Zh.** 30 (6) 13, 1996.
44. Eur. P. 321 191; **Chem. Abstr.** 112,77 161, 1990.
45. HAMADA, Y., TAKEUCHI I. Syntheses of Nitrogen-containing compounds. XVIII. Syntheses of naphthyridines by improved one-step process, **Chem. Pharm. Bull.**, v. 19, n. 9, p. 1857-1862, 1972.
46. McNAB, H. and MONAHAN, L. C. 3-Hydroxypyrroles and 1H-pyrrol-3-(2H)-ones. Part. 2. Scope and Limitations of the synthesis of pyrrol-3-ones by pyrolysis of aminomethylene Meldrum's acid derivatives. **J. Chem. Soc. Perkin Trans. I**, v. 1, p. 863-868, 1988.
47. DAVIDSON, D.; BERNHARD, S. A. The structure of Meldrum's supposed β -lactonic acid. **J. Chem. Soc.**, v. 70, p. 3426-3428, 1948.
48. CHEIKH, A. B. Synthesis of α -cyano carbonyl compounds by flash vacuum thermolysis of (alkylamino) methylene derivatives of Meldrum's acid. Evidence for facile 1,3-shifts of alkylamino and alkylthio group in imidoylketene intermediates. **J. Chem. Soc.**, v. 56, p. 970-975, 1991.
49. CASSIS, R. et al. Synthesis of 4(1H)-quinolones by thermolysis of arylaminomethylene Meldrum's acid derivatives. **Synth. Commun.**, v. 15, n. 2, p. 125-133, 1985.
50. PIZZOLATTI, M. G.; KOGA A. H.; GRISARD, E. C.; STEINDEL, M. Trypanocidal activity of extracts from brazilian atlantic rain forest plants species. **Phytomedicine**, 9, 422-426, 2002.
51. MUELAS-SERANO, S; NOGAL-RUIZ, J. J; GÓMEZ-BARRIO, A. Setting of a colorimetric method to determine the viability of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. **Parasitol. Res.**, 86, 999-1002, 2000.

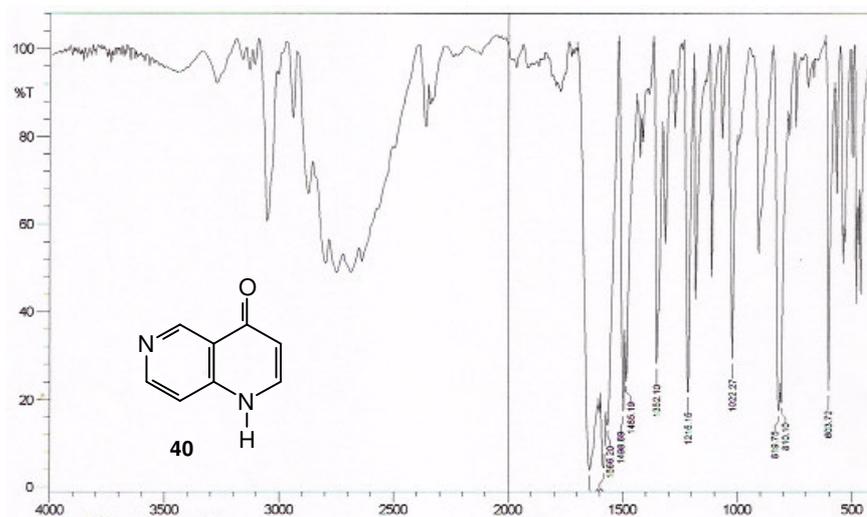
52. LOOSDRECHT, A. A.; NENNEL, E.; OSSENKOPPELE, G. J.; BEELEN, R. H. J.; LANGESNHUIJSEN, M. M. A. C. Cell mediated cytotoxicity against V937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. A methodological study. **J. Immunol. Methods**, 141, 15-22, 1991.

53. SIEUWERTS, A. M.; KLIJN, J. G. M.; PETERS, H. A.; FOEKENS, J. A. The MTT tetrazolium salt assay scrutinized: how to use this assay reliably to measure metabolic activity of cell culture *in vitro* for the assessment of growth characteristics, IC_{50} - values and cell survival. **Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.**, 33, 813-823, 1995.

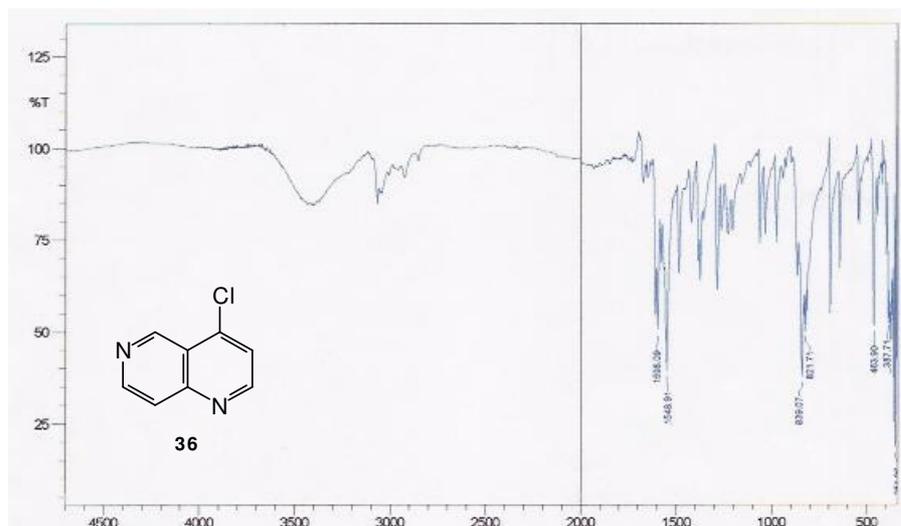
APÊNDICE



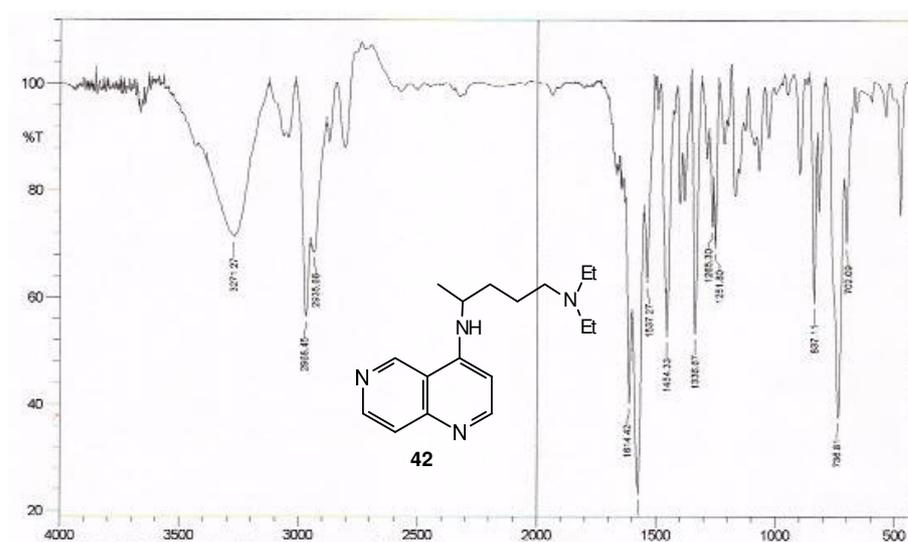
Espectro 1 - Infravermelho do composto 2,2-dimetil-5-(4-piridilamino)metileno-1,3-dioxano-4,6-diona **39** em KBr.



Espectro 2 - Infravermelho do composto 1,6-naftiridina-4-(1H)-ona **40** em KBr.



Espectro 3 - Infravermelho do composto 4-cloro-1,6-naftiridina **36** em KBr.



Espectro 4 - Infravermelho do composto 4-(4'-dietilamino-1'-metilbutilamino)-1,6-naftiridina **42** em CH₂Cl₂.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)