

Dissertação de Mestrado

Síntese e Avaliação Biológica de Derivados Cíclicos de Tiopurina e de Derivados de Quinolinas Conjugados com Ácido Cólico Via “Click Chemistry”

Arturene Maria Lino Carmo

Orientador: Prof. Dr. Adilson David da Silva

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elaine Soares Coimbra

Dissertação apresentada ao
Departamento de Química da
Universidade Federal de Juiz de Fora
como parte dos requisitos necessários
à obtenção do título de Mestre em
Química.

Juiz de Fora
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

*"Para realizar grandes conquistas,
devemos não apenas agir, mas também sonhar;
não apenas planejar, mas também acreditar. "*
(Anatole France)

Dedico este trabalho à minha mãe Efigênia e ao meu irmão Elizeu, que me mostraram que tudo era possível e que eu era capaz. Obrigada pela confiança e por nunca medirem esforços para me ajudar a conquistar meus objetivos e também por serem meu porto seguro. Dedico também ao meu noivo João Paulo por sempre me apoiar e me encorajar além de toda a paciência e companheirismo em todos os momentos. E ao meu pai Arthur (saudades), pois sei que está sempre olhando por mim.

Agradecimentos

A Deus por conceder-me a possibilidade do convívio com uma família maravilhosa e por ter me concedido a graça de chegar até aqui.

Ao amigo e orientador Professor Dr. Adilson David da Silva, por toda paciência, pelos ensinamentos, conselhos e confiança que impulsionaram a paixão que sinto pela pesquisa. Obrigada por sempre me ouvir e entender as inúmeras situações que vivi e estar sempre disposto a ajudar. Obrigada também por me ensinar a sempre lutar pelo que quero e por me fazer acreditar em minhas capacidades.

Ao professor Dr. Mauro Vieira de Almeida por toda colaboração e conselhos, também aos professores Dr^a. Ana Paula Soares Fontes, e Dr. Richard Grazul pelas importantes contribuições em minha formação profissional e pessoal e pelos conselhos sempre muito adequados e pertinentes. A todos os professores do Departamento de Química pela formação profissional e pessoal.

As Professoras do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF Dr^a Clarice Abramo, Dr^a Ana Paula Ferreira e em especial a Dr^a Elaine Soares Coimbra pela realização dos testes biológicos e pelos ensinamentos.

Ao professor Dr. Jean - Louis Fourrey do “Institut de Chimie des substances Naturelles”, CNRS-França, por toda ajuda oferecida durante a realização deste trabalho.

As queridas Alice pela sua alegria e amizade e Simone por sempre estar disposta a ajudar resolver os problemas que são vários e por nunca perder o humor e a calma.

Ao Marcos pela amizade e por ter me ajudado em minha iniciação científica com toda paciência. Ao grande amigo quase primo Gustavo, pela amizade, companheirismo e por muito ter me ensinado e ajudado.

Ao Zão pela sua alma pura tornar a vida melhor e pelas suas grandes histórias. Ao Zim pelo seu sorriso e por suas palavras de conforto em todos os momentos. A Julianinha tão querida e sempre muito prestativa. A Roberta nossa mais nova irmanzinha que chegou para nós alegrar e trazer paz e amizade, sempre disposta a ajudar e escutar minhas confidências. A todos vocês tenho muito que agradecer meus Amigos, pois sem vocês tudo seria mais difícil e talvez impossível, todas as minhas conquistas são graças a vocês.

Agradeço a turma da físicoquímica Betinho, Cadu, Douglas, Harley, Luciano, Mariana e Vanessa, sempre gentis e prestativos, muito me ajudaram na realização dos RAMANS e IV. Agradeço também aos amigos do NUPEQ pelos momentos de convívio, amizade e companheirismo. Aos colegas de todos os laboratórios, NEEM, NEQC, NUPES E GFQSI.

A minha querida amiga Maiby e ao Lucas pela torcida e pelas conversas amigas de incentivo. A minha grande amiga Carol e ao Passarinho por me mostrar que amizade sincera existe, obrigada pelas nossas conversas, confidências e momentos de descontração.

Ao meu pai Arthur que sempre me incentivou em meus estudos quando. A minha mãe Esigénia pelos sacrifícios enfrentados e pelo incentivo em todos os momentos difíceis. Ao meu irmão Elizeu por todo

apoio, confiança, pelas nossas conversas que contribuíram para o meu crescimento e por sempre me ajudar e aconselhar como um “Pai”.

Ao meu noivo João Paulo pelo carinho, paciência, companheirismo e pelas grandes doses de ânimo que sempre me confortaram e me deram forças para superar todos os obstáculos.

As minhas irmãs Cacau e Ci, aos meus cunhados Claudinho e Denilson, tia Lourdinha e Lanna pela solidariedade, apoio, confiança e pela torcida. A todos os meus irmãos, parentes e amigos que confiam e torcem por mim.

A Dona Maria e à Dona Manuela pelas orações e palavras de carinho e incentivo.

A UFJF e a CAPES pela concessão da bolsa.

A Universidade Federal de Juiz de Fora, por proporcionar a realização deste trabalho.

Índice

Resumo Geral	9
Abstract	11
Lista de siglas e símbolos	13
Lista de moléculas descritas neste trabalho	15
Publicações durante a realização deste trabalho	17

Capítulo 1

Resumo Capítulo 1	19
1.1. Introdução	20
1.2. Justificativa	28
1.3. Objetivos	29
1.4. Resultados e Discussões	31
1.4.1. Síntese, caracterização e avaliação biológica de novos derivados tricíclicos de 6-mercaptipurina obtidos por alquilação intramolecular	31
Síntese e caracterização do 7,8-diidro-(1,4)tiazino(3,2,4-hi) Purina (1)	31
Síntese e caracterização do 8,9-diidro-(1,4)tiazepino (3,2,4-hi)purina (2)	35
Síntese e caracterização do 6-(3'-cloropropiltio)purina 3	38
Síntese e caracterização dos hidro haletos 7,8-diidro-(1,4)tiazepino (3,2,4-hi)purina (4a-c)	42
Avaliação biológica dos derivados tricíclicos de 6-MP	53
1.4.2. Síntese, caracterização e avaliação biológica do 6-carboximetiltiopurina (6-CMMP, composto 5)	54
Avaliação biológica do 6-CMMP	57
1.5. Conclusões	58

1.6. Parte Experimental	59
1.7. Referências Bibliográficas	66

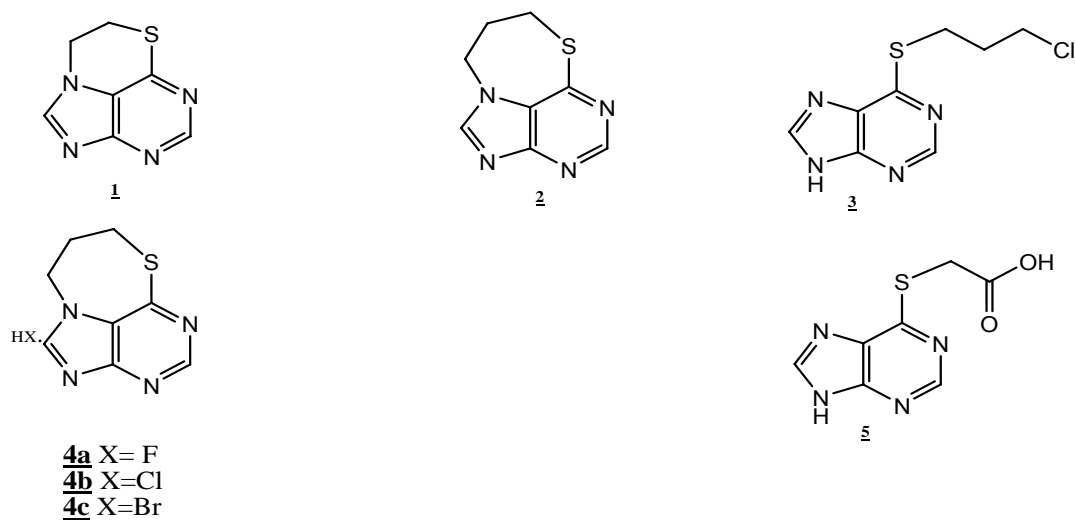
Capítulo 2

Resumo Capítulo 2	49
2.1. Introdução	50
2.2. Justificativas	57
2.3. Objetivos	58
2.4. Resultados e Discussões	59
2.4.1. Síntese e caracterização dos N-(7-cloroquinolin-4-il) diaminoalcano (<u>1-4</u>)	59
2.4.2. Síntese e caracterização dos alcinos terminais derivados de quinolina (<u>5-9</u>)	66
Síntese do 4-amino-7-cloro-N-(prop-2-inil)quinolina (<u>5</u>)	66
Síntese e caracterização dos 4-amino-7-cloro-N-(2-(prop-2-inilamino)alquil)quinolina (<u>6, 7 e 8</u>)	72
2.4.3. Síntese do 3-azido (<i>metil- 3β-azido-,7α,12α-dihidroxi- 5β-colano-24-ato</i>) (<u>11</u>)	78
2.4.4. Procedimento geral para cicloadição	86
2.5. Conclusões	89
2.6. Parte Experimental	90
2.7. Referências Bibliográficas	102

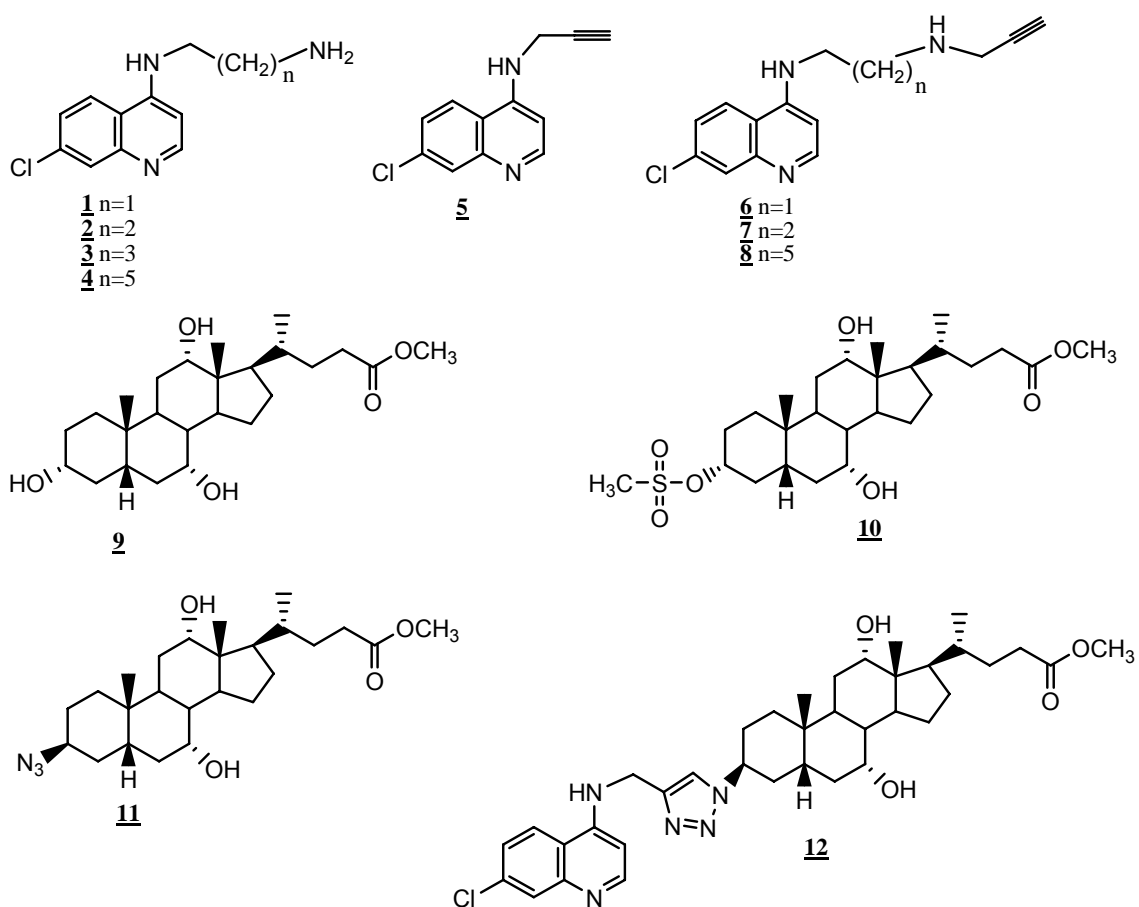
Resumo Geral

A dissertação de mestrado intitulada **Síntese e Avaliação Biológica de Derivados Cíclicos de Tiopurina e de Derivados de Quinolinas Conjugados com Ácido Cólico via “Click Chemistry”** está apresentada em dois capítulos que descrevem a síntese de compostos com potencial atividade antiparasitária.

O primeiro capítulo mostra a síntese de derivados de 6-mercaptopurina (Figura abaixo) visando principalmente a formação de novos derivados tricíclicos de 6-mercaptopurina (6-MP) obtidos por N-7 alquilação intramolecular, bem como a obtenção de S-análogos de 6-MP.



O segundo capítulo mostra a síntese de derivados de 4-aminoquinolinas com alcino terminal, bem como a obtenção do conjugado quinolina/ácido cólico (Figura abaixo), usando “click chemistry”.

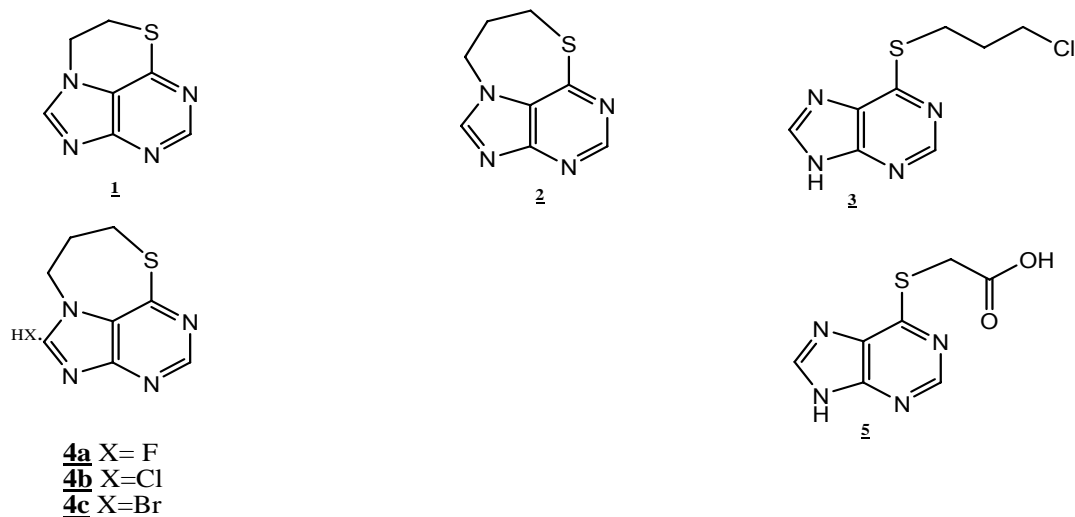


Pretende-se também mostrar neste trabalho os resultados das avaliações biológicas dos compostos sintetizados em parasitos (malária e leishmaniose).

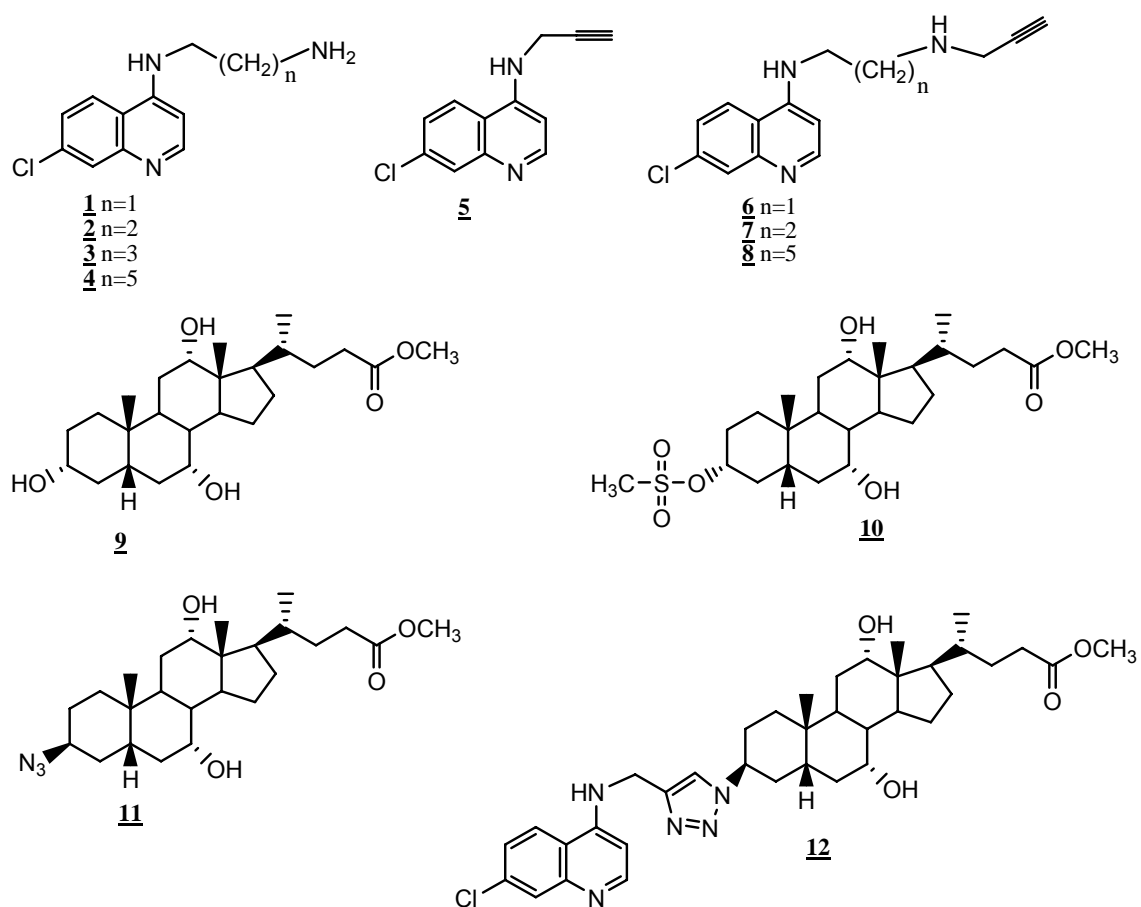
Abstract

This dissertation entitled **Synthesis and Biological Evaluation of Cyclical Derivatives of Thiopurine and Quinolines Derivatives Conjugated with Cholic Acid via “Click Chemistry”** was divided in two chapters that describe the synthesis of compounds with potential anti-parasitic activity.

The first chapter describes the synthesis of 6-mercaptopurine (6-MP) derivatives (Figure below) with the objective obtaining new tricyclic rings via intramolecular *N*-7 alkylation, as well as obtaining similar the analogs of 6-MP.



The second chapter describes the synthesis of 4-aminoquinolines derivatives with a terminal alkyne, as well as cholic acid used to obtain derivatives functionalized with an azide group in the 3 position. These precursors were quinoline/cholic acid conjugates using click chemistry (Figure below).



This work also shows the results of of selected evaluations compounds biological *Plasmodium* and *Leishmania*.

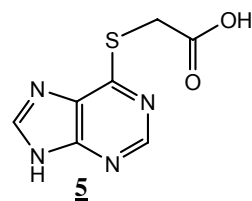
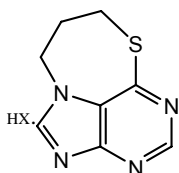
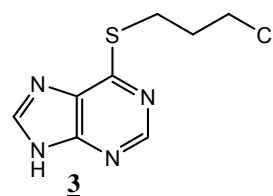
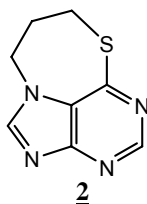
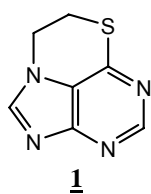
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

AIDS	-Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AcOEt	-Acetato de etila
cm ⁻¹	-Centímetros recíprocos
CCS	-Cromatografia em coluna de sílica
CCDS	-Cromatografia em camada delgada de sílica
CDCl ₃	-Clorofórmio deuterado
6-CMMP	-6-carboximetiltiopurina
COSY	-“Homonuclear Correlation Spectroscopy”
δ	-Deslocamento químico
d	-Duplete
dd	-Dupeto duplo
DEPT	-“Distortionless Enhanced Polarization Transfer”
DMF	-Dimetilformamida
DMSO	-Dimetilsulfóxido
ES	-Eletro Spray
EtOH	-Etanol
FM	-Fórmula molecular
g	-Grama
°C	-Grau Celcius
<i>J</i>	-Constante de acoplamento
HMBC	-Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMRS	-High Resolution Mass Spectroscopy
Hz	-Hertz
IV	-Infravermelho
hs	-Horas
m	-Multiplete
MeOH	-Metanol
MeOD	-Metanol deuterado
mm	-Milímetro

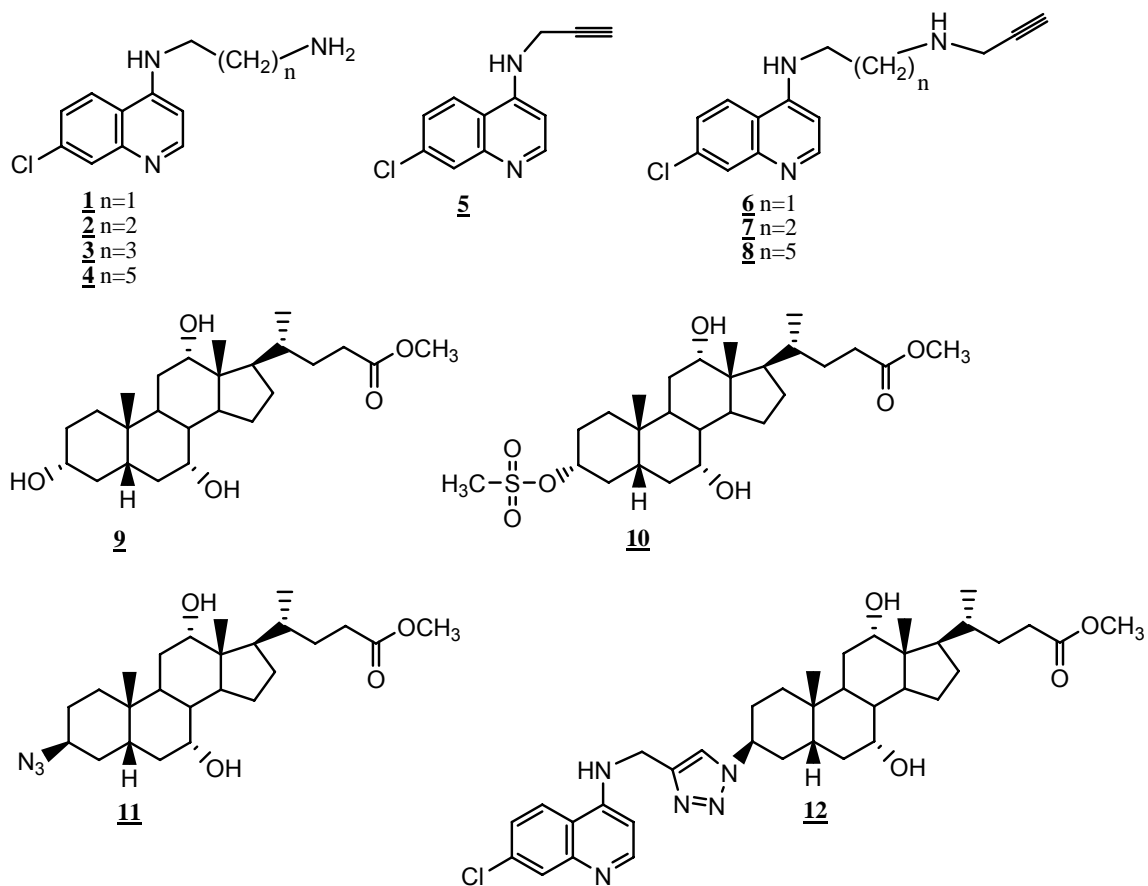
mL	-Mililitro
MM	-Massa molar
Mmol	-milimol
m/z	-Razão massa/carga
6-MP	-6-mercaptopurina
OMS	-Organização Mundial de Saúde
ppm	-Partes por milhão
rf	-Fator de retenção
RMN de ¹ H	-Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ¹³ C	-Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
s	-Simpleto
t	-Tripleto
t.a.	-Temperatura ambiente
UV	-Ultravioleta

Lista de Moléculas Descritas Neste Trabalho

Capítulo 1



Capítulo 2



Publicações Durante a Realização Deste Trabalho

Artigos Publicados em Periódicos

I) Braga, F. G.; Coimbra, E. S.; Matos, M. De O.; Carmo, A. M. L.; Cancio, M. D.; Da Silva, A. D.; Synthesis and Biological Evaluation of Some 6-Substituted Purines. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2007**, 42, 530- 537.

II) Carmo, A. M. L.; Braga, F. G.; De Paula, M. L.; Ferreira, A. P.; Teixeira, H. C.; Da Silva, A. D.; Coimbra, E. S.; Synthesis and Biological Activity of New Tricyclic Purine Derivatives Obtained by Intramolecular N-7 Alkylation. *Letters in Drug Design & Discovery*, **2008**, 5, 122-126.

III) De Paula, M. L.; Braga, F. G.; Coimbra, E. S.; Carmo, A. M. L.; Teixeira, H. C.; Da Silva, A. D.; Souza, M. A.; Ferreira, A. P.; Modulatory Effects of 6-Carboxymethylthiopurine on Activated Murine Macrophages. *Chemical Biology and Drug Design*, **2008**, 71, 563-567.

Artigo em Preparação

I) Coimbra, E. S.; Abramo, C.; Carmo, A. M. L.; De Almeida, A. C. F.; Machado, P.; Da Silva, A. D.; Design and Synthesis of Quinoline/Bile Acid Conjugates Using Click Reaction.

Resumos Publicados em Anais de Congressos

I) Machado, P. A.; Silva, F. M. C.; Carmo, A. M. L.; Da Silva, A. D.; Coimbra, E. S.; Antileishmanial Activity of New Diaminoalkylquinoline Derivatives. In: XXV Annual Meeting on Basic Research in Chagas' Disease/ XXIV Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology, **2008**, p. QT11-172, Águas de Lindóia.

II) Carmo, A. M. L. ; Braga, F. G. ; Coimbra, E. S. ; Da Silva, A. D.; Síntese de Potenciais Agentes Para o Tratamento de Parasitoses. In: 31^a. Reunião Anual

da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia. Resumos da 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, **2008**, p. QO-129.

Capítulo 1

Resumo do Capítulo 1

O capítulo 1 descreve a síntese de derivados tricíclicos de 6-mercaptopurina obtidos por N-7 alquilação intramolecular e a síntese do 6-carboximetiltiopurina (6-CMMP) e do 6-(3'-cloropropiltio)purina visando a obtenção de novas moléculas para estudo biológico em crescimento de parasitoses como a leishmaniose.

A síntese do derivado tricíclico de seis membros **1** deu-se através da reação entre sal sódico de 6-MP e 1,2-dicloetano. Para a obtenção dos derivados tricíclicos de 6-MP de sete membros foi usado a reação de N-7 alquilação sobre o braço lateral da porção cloro alquila do 6-(3'-cloropropiltio)purina (**3**), previamente obtido mediante reação entre sal sódico de 6-MP e 1-bromo-3-cloropropano, para a formação dos compostos **2** e **4a-c**.

A obtenção do 6-carboximetiltiopurina (6-CMMP, composto **5**) foi possível através da reação de alquilação entre 6-MP e ácido cloroacético.

Os compostos sintetizados foram avaliados biologicamente para verificação de suas propriedades terapêuticas.

1.1. Introdução

A leishmaniose é uma doença infecciosa zoonótica que afeta homens e animais. Em 1571, Pedro Pizarro relatou que os povos situados nos vales quentes do Peru eram dizimados por uma doença que desfigurava o nariz, a qual foi posteriormente caracterizada como leishmaniose. A importância desta doença era tamanha, que as deformações provocadas chegaram a ser registradas em peças cerâmicas por artistas da época^{1,2} (Figura 1)



Figura 1. Foto de uma peça arqueológica equatoriana pertencente ao museu de Rietberg em Zurich. Pode ser comparada com a lesão nasal de uma criança.

As leishmanioses são infecções causadas por múltiplas espécies de protozoários do gênero *Leishmania* que, de acordo com a espécie podem produzir manifestações cutâneas, mucocutâneas e viscerais.^{3,4}

A forma cutânea é a forma mais comum e se apresenta com lesões nodulares não-ulcerativas encontradas principalmente na face, braços e

pernas. As lesões podem resultar em deficiência física e cicatrizes permanentes (Figura 2).^{5,6}

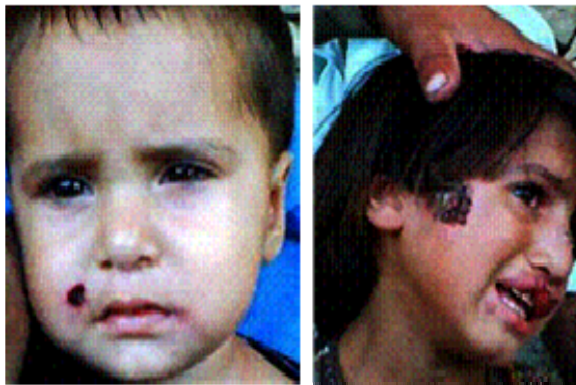


Figura 2. Foto de crianças com leishmaniose cutânea.

A forma mucocutânea ocorre frequentemente como uma doença metastática em meses ou anos e resulta em cicatrizes desfigurantes na face, afetando as membranas mucosas do nariz, boca e garganta¹⁻⁴ (Figura 3).



Figura 3. Foto com portador de leishmaniose mucocutânea.

A leishmaniose visceral, também conhecida como “Febre Negra” ou Kala-Azar é a forma mais grave e pode ser fatal se não tratada. Ocorre predominantemente em crianças e também como infecção oportunista em pacientes imunodeprimidos como aqueles infectados por HIV.^{8,9} As leishmanias danificam os órgãos ricos em macrófagos como baço, fígado e medula óssea. Os sinais clínicos são inespecíficos e incluem anorexia, febre, emagrecimento,

hepatoesplenomegalia, epistaxe, diarreia e tosse. Os achados clínicos incluem anemia, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, leucopenia e trombocitopenia. (Figura 4).^{1,3,5}



Figura 4. Foto de criança de quatro anos com leishmaniose visceral.

Transmissão

A principal forma de transmissão da doença para os hospedeiros vertebrados é feita por meio da inoculação das formas promastigotas infectantes durante a picada do inseto vetor popularmente conhecido como mosquito palha, birigui ou tatuquira. Consistem de várias espécies do gênero *Lutzomya* (Novo Mundo) e *Phlebotomus* (Velho Mundo), que são pequenos mosquitos, com 1 a 3 mm de comprimento (Figura 5). Somente as fêmeas são hematófagas^{1,10} (os machos se alimentam de néctar das plantas). Entretanto, outras possibilidades de transmissão já foram descritas tais como a via cutânea, placentária, venérea e a transfusão de sangue^{11,12}.



Figura 5. Foto do mosquito palha, vetor transmissor da leishmaniose.

As fêmeas dos mosquitos ao picar o animal portador da doença, aspiram macrófagos parasitados ou amastigotas livres no sangue ou tecidos e podem, assim, transmitir a doença ao homem. Os mamíferos portadores de leishmaniose são geralmente preguiça, tamanduá, roedores, raposa, cães e outros. Após a inoculação nos hospedeiros mamíferos, as promastigotas infectantes ligam-se aos macrófagos por meio de diversos receptores celulares, sendo subsequentemente fagocitadas e se localizam em um vacúolo que se funde com lisossomas, denominado vacúolo parasitóforo. Os parasitos sobrevivem à fagocitose e sofrem diversas transformações metabólicas, sendo convertidos em formas amastigotas, que se multiplicam e rompem as células hospedeiras para então infectarem outras células mononucleares e deste modo ocorre o ciclo de transmissão da leishmaniose (Figura 6).^{1,10}

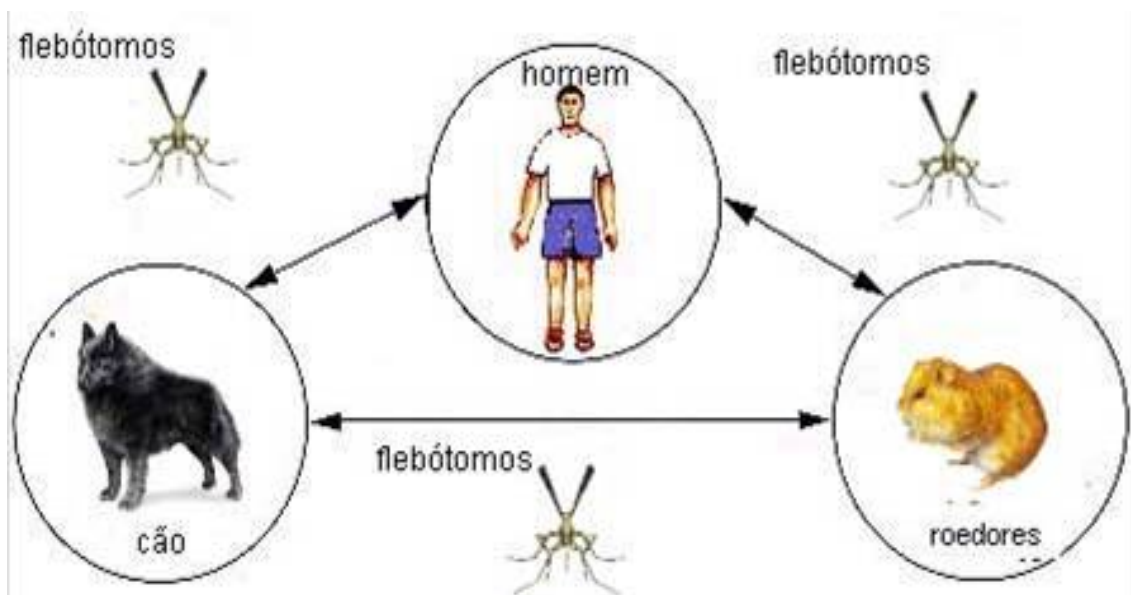


Figura 6. Ciclo de transmissão da leishmaniose.

Resultado da Infecção

O resultado de uma infecção com leishmanias pode tomar dois cursos: Na maioria dos casos o sistema imunológico reage eficazmente pela produção de uma resposta citotóxica que destrói os macrófagos portadores de leishmanias. Nestes casos a infecção é controlada e os sintomas são leves ou inexistentes. No entanto, se o sistema imunológico escolher antes uma resposta com produção de anticorpos, não haverá eficácia na destruição das leishmanias que se escondem no interior dos macrófagos, fora do alcance dos anticorpos. Nestes casos a infecção progride para a leishmaniose visceral, que é letal em muitos casos, ou no caso das espécies menos virulentas para manifestações mucocutâneas mais agressivas e crônicas.¹³

Naturalmente que um indivíduo imunodeprimido não reage com resposta imunitária vigorosa, e estes, especialmente os soro positivos, desenvolvem progressões muito mais perigosas e rápidas com qualquer dos patógenos.^{6,8} Em Portugal, Espanha, Itália e França este grupo tem formado ultimamente uma grande porcentagem dos doentes com formas graves de leishmaniose.^{2,3}

A *Leishmania* se desenvolve no tubo intestinal do hospedeiro invertebrado, na forma promastigota, e essa, uma vez introduzida nos mamíferos através da picada, transforma-se na forma amastigota devido a vários processos metabólicos (Figuras 7 e 8).¹

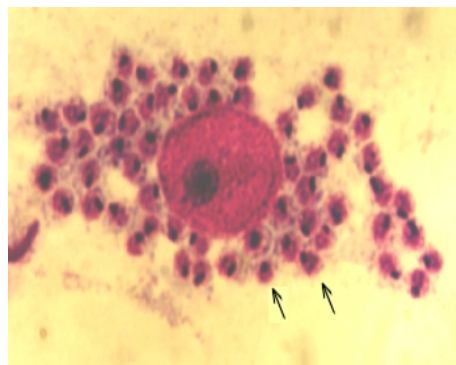


Figura 7. Forma promastigota.

Figura 8. Forma amastigota.

Áreas Endêmicas

A leishmaniose prevalece nos quatro continentes, principalmente em algumas áreas tropicais e subtropicais do mundo se estendendo desde a América Central e do Sul até os países mediterrâneos, África, Ásia central, Índia e China. De acordo com a OMS, a prevalência mundial das leishmanioses é cerca de 14 milhões de pessoas infectadas, e a incidência anual é estimada entre 1,5 a 2 milhões de novos casos em 88 países.¹⁻⁶ Esta doença com lesões desfigurantes, e às vezes fatal, levou a OMS a incluí-la entre as seis doenças mais importantes do mundo e segunda doença de importância pública.^{2,5} No Brasil estão presentes na região norte, nordeste e sudeste, e vem apresentando franca expansão pelo país.^{1,2,3}

Tratamento

Não há vacina contra as leishmanioses, assim como ainda não há para quaisquer doenças parasitárias humanas. Portanto, o controle baseia-se principalmente no combate aos insetos vetores e aos reservatórios, medida dispendiosa e nem sempre praticada em países subdesenvolvidos.^{1,5}

Em média, existem aproximadamente 25 compostos usados em clínica médica com ação antileishmanial, mas poucos são classificados como fármacos que podem ser utilizados pelo homem.⁵

O tratamento de primeira escolha envolve o uso de antimoniais pentavalentes como glucantime (Figura 9), que administrados por via parenteral apresentam elevada toxicidade e são ineficazes em muitos casos.^{1,5}

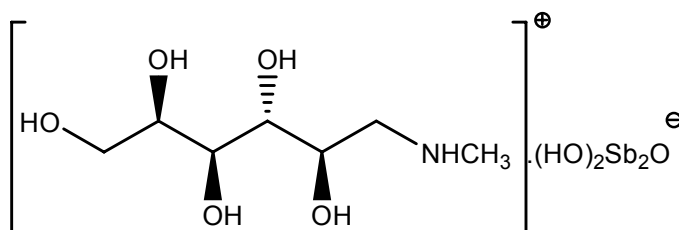
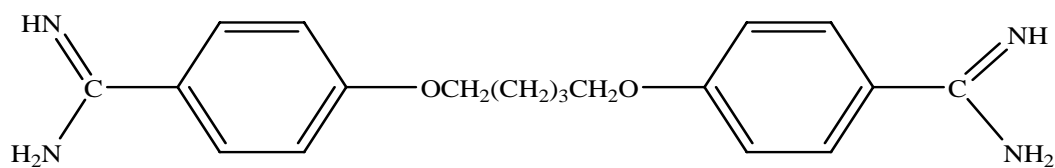
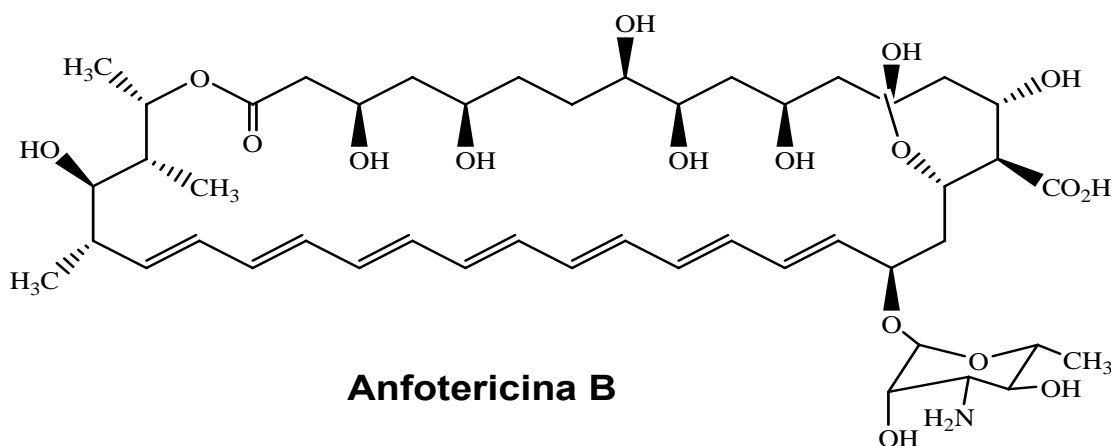


Figura 9. *Estrutura química do glucantime (tratamento de primeira escolha).*

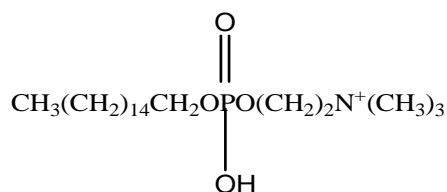
Tem-se como drogas de segunda escolha a anfotericina B e a isoniazida pentamidina, as quais apresentam desvantagens similares. Outras drogas têm sido desenvolvidas, incluindo várias formulações lipídicas e coloidais, e recentemente a droga oral miltefosina (Figura 10). No entanto, apesar de ser mais eficiente e apresentar menos efeitos colaterais, tal medicamento é ineficaz para alguns tipos da doença.^{13,14}



Isotionato de Pentamidina



Anfotericina B



Miltefosina

Figura 10. Estrutura química das drogas de segunda escolha e primeira droga oral miltefosina.

Os antimetabólitos de purinas e pirimidinas têm sido altamente ativos em muitas infecções virais e mostram ser uma ótima alternativa ao combate de doenças parasitárias.¹⁴ O alopurinol (Figura 11) é um análogo da base purínica usado por décadas para o tratamento de várias manifestações de leishmaniose, sendo vantajoso especialmente por sua administração oral e baixa toxicidade, porém existem muitas controvérsias quanto a ação desta

droga no controle da infecção e, além disso, é ineficaz em alguns tipos da doença.^{5, 6, 14}

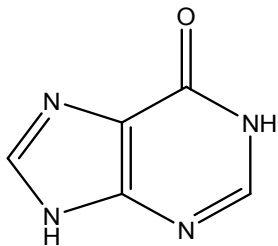


Figura 11. Estrutura química do alopurinol.

Desta forma, faz-se necessário o desenvolvimento de fármacos mais eficazes para o tratamento da doença, pois todas as drogas existentes apresentam algum tipo de limitação, tais como resistência do parasito, toxicidade e alto custo.^{5,12} No entanto, a indústria pouco tem contribuído no desenvolvimento de novos medicamentos antileishmaniose.

1.2. Justificativas

É bem conhecida a ação da 6-mercaptopurina (6-MP) como agente anticancerígeno. Sua ação através da inibição da síntese de ácidos nucleicos justifica sua propriedade anticancerígena, sua atividade imunossupressora, antiparasitária e antiinflamatória.^{15,16,17}

A inibição de parasitas através da síntese de derivados de purinas, como os análogos de 6-MP, tem se mostrado uma estratégia terapêutica racional para o tratamento e prevenção de doenças parasitárias^{6,17,18} (Figura 12), o que motiva o desenvolvimento deste projeto de pesquisa. Desta forma, justifica-se a obtenção de novos derivados tricíclicos de 6-MP, além do 6-carboximetiltiopurina e do 6-(3'-cloropropiltio)purina (Figura 14) para estudos de seus mecanismos celulares pois estes últimos são promissores derivados de 6-MP com atividade em Leishmania.

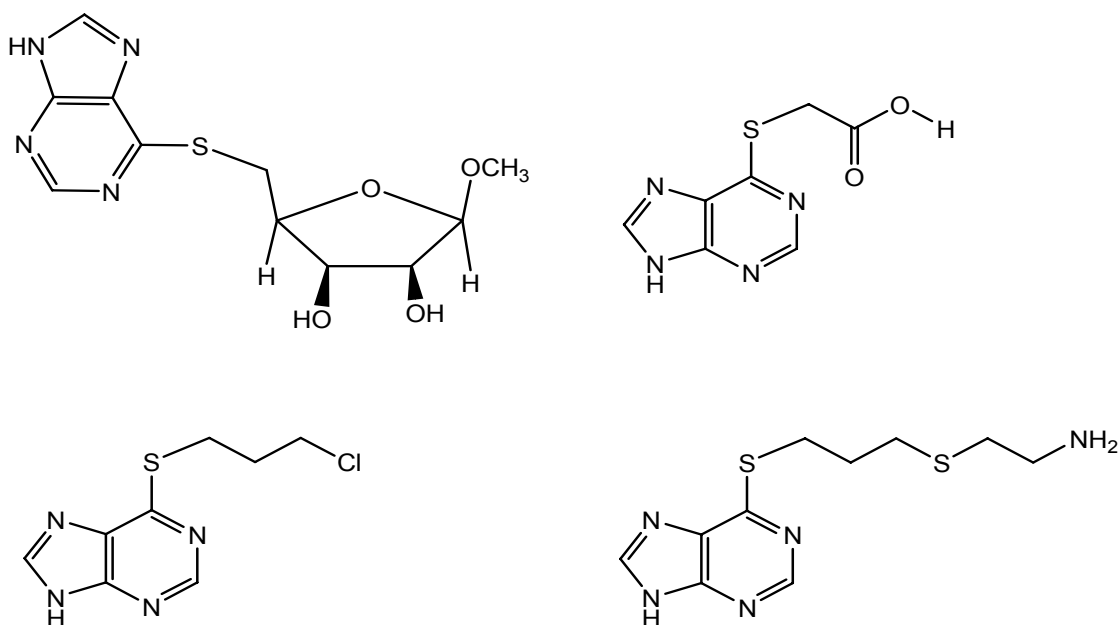


Figura 12. Exemplos de moléculas derivadas de 6-mercaptopurina, com atividade antiparasitária.^{6,18}

1.3. Objetivos

Objetivou-se sintetizar novos derivados da 6-MP, potenciais fármacos para o tratamento da leishmaniose, usando-se a 6-MP como material de partida (Figura 13).

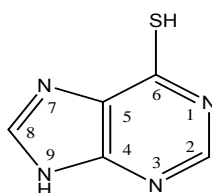


Figura 13. Estrutura da 6-MP.

Planejou-se, portanto, a obtenção de derivados tricíclicos de 6-MP através de substituição nucleofílica intramolecular de purinas na posição 7 (Figura 14) e propôs-se também sintetizar o 6-carboximetiltiopurina, composto **5**, (Figura 15) a partir da reação da 6-MP com ácido cloroacético, pois esta molécula vem apresentando importantes resultados biológicos.^{6,18}

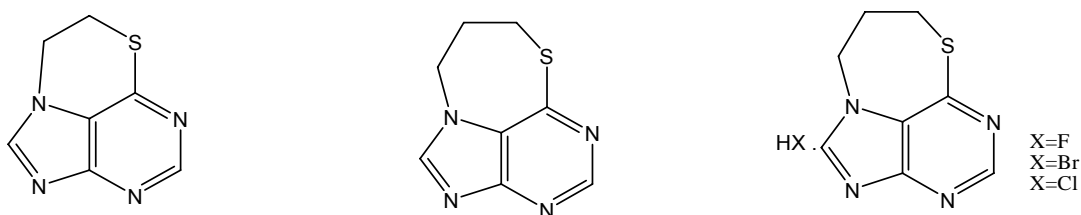


Figura 14. Compostos tricíclicos derivados de 6-MP propostos.

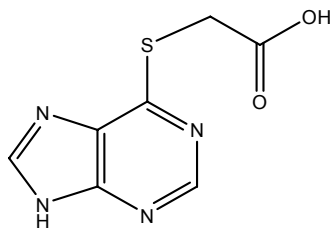


Figura 15. Estrutura do 6-CMMP (composto **5**).

Objetivou-se também realizar a avaliação dos produtos sintetizados em crescimento de leishmania *in vitro*, bem como a investigação dos mecanismos celulares de inibição.^{6,9,18}

1.4. Resultados e Discussões

1.4.1. Síntese, caracterização e avaliação biológica de novos derivados tricíclicos de 6-mercaptopurina obtidos por alquilação de *N*-7 intramolecular

Os compostos tricíclicos de 6 e 7 membros derivados de 6-MP obtidos mediante substituição nucleofílica intramolecular foram sintetizados (Figura 10) e estão descritos a seguir.

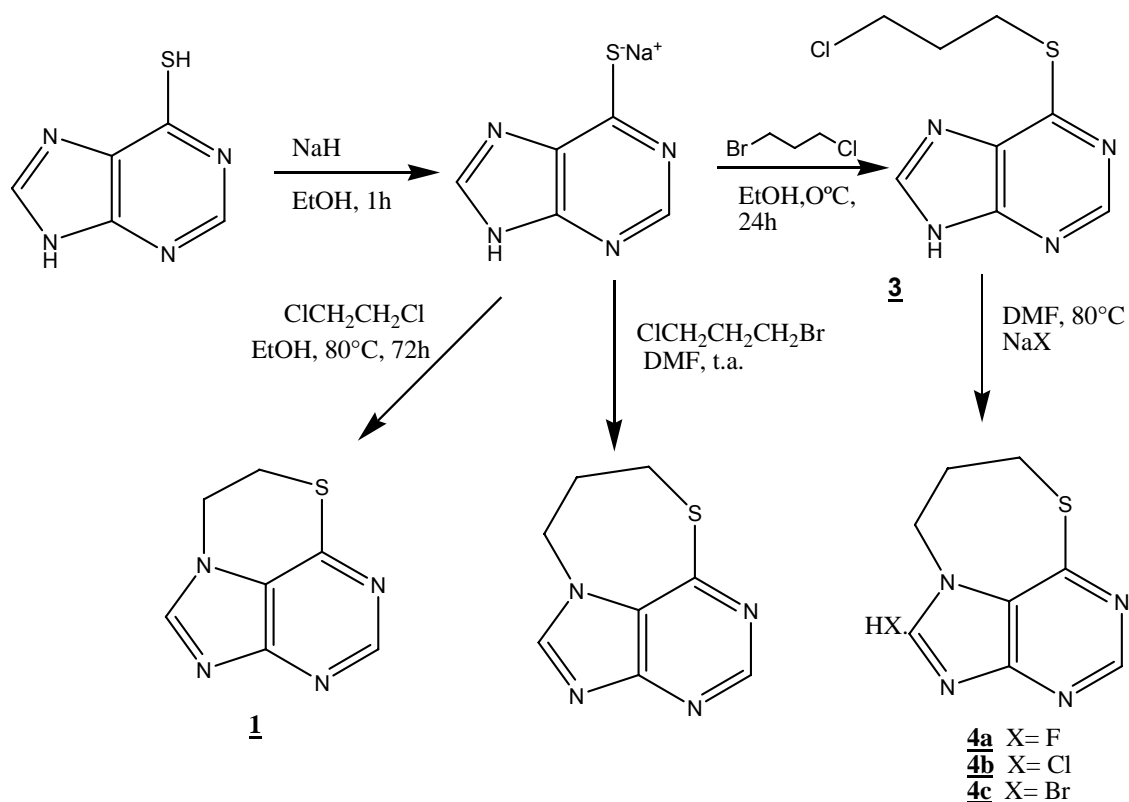


Figura 10. Esquema de síntese dos derivados tricíclicos de 6-MP.

Síntese e caracterização do 7,8-diidro-(1,4)Tiazino(3,2,4-h)purina **1**

Após a preparação do sal sódico de 6-MP pela reação entre 6-mercaptipurina e NaH em EtOH mantida em agitação constante a temperatura ambiente por 1h, transferiu-se a mistura para um balão contendo 1,2-dicloroetano em EtOH. A mistura reagente foi deixada em agitação constante à 80°C por 72 horas. Após evaporação do solvente no rotaevaporador fez-se a purificação através de coluna cromatográfica de sílica (CCS) usando como eluente uma mistura gradiente de MeOH/CH₂Cl₂ resultando na obtenção de um sólido branco que foi caracterizado como o triciclo **1** com rendimento de 70%. O composto **1** foi caracterizado por meio de ponto de fusão e através das técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ¹H e de ¹³C e de massas.

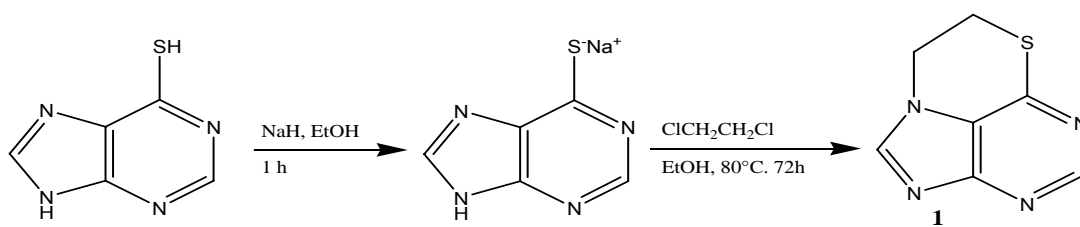


Figura 17. Esquema de reação para obtenção do composto **1**.

No espectro de infravermelho (Figura 18) observou-se a presença das bandas em 3083 cm⁻¹ (estiramento C-H aromático), 2980 cm⁻¹ (estiramento C-H alifático) e 1609 cm⁻¹ (estiramento C=C e C-N).

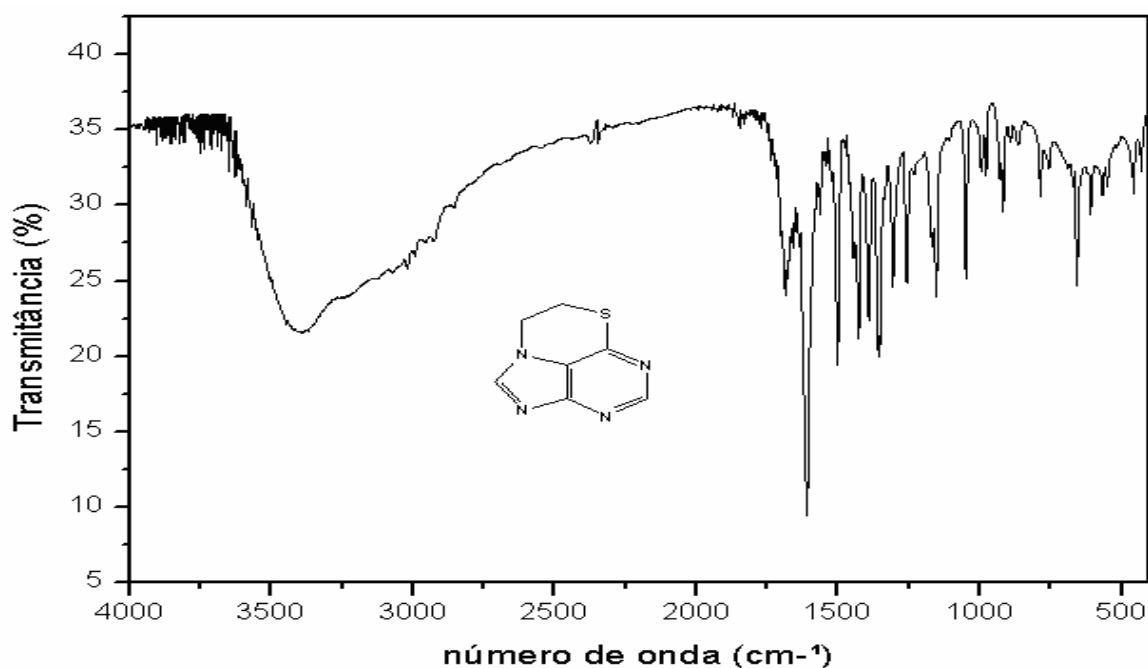


Figura 18. Espectro de IV do composto **1**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 19) notou-se a presença de dois simples em δ 8,86 e 8,38 ppm atribuídos aos hidrogênios H-2 e H-8 da base purínica, respectivamente. Em δ 5,07 e 3,90 ppm foram observados dois tripletos que podem ser atribuídos aos metilenos H-2' e H-1', respectivamente.

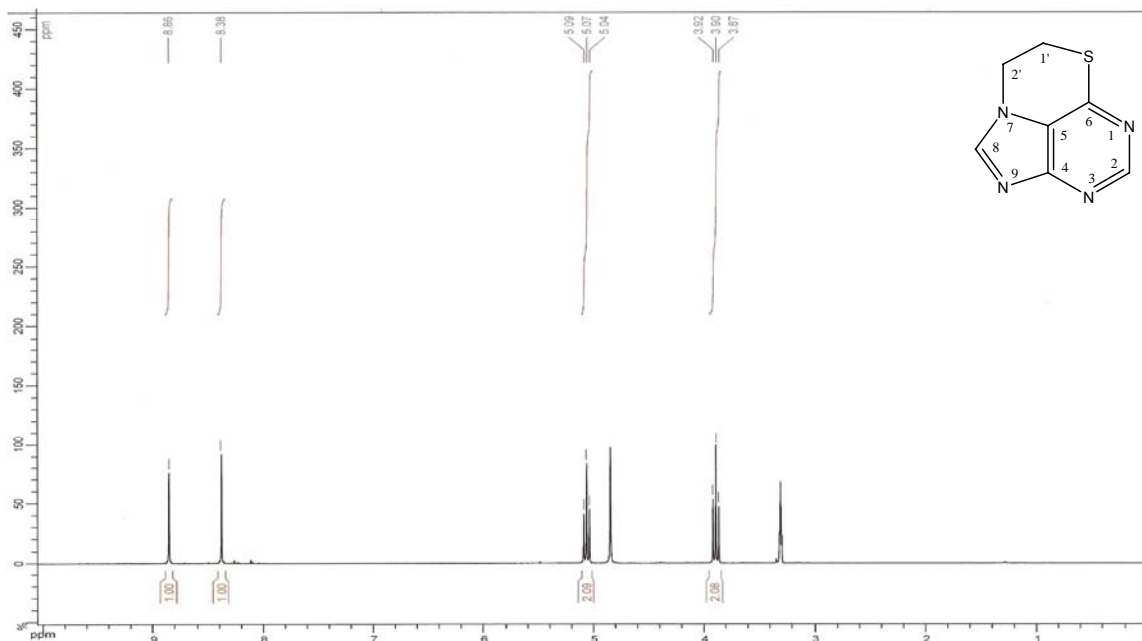


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H do composto **1** (CD_3OD , 300MHz)

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20) observou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos do anel purínico, bem como os dois sinais relacionados aos dois grupos metilênicos C-2' e C-1' em δ 57,2 e 31,9 ppm, respectivamente.

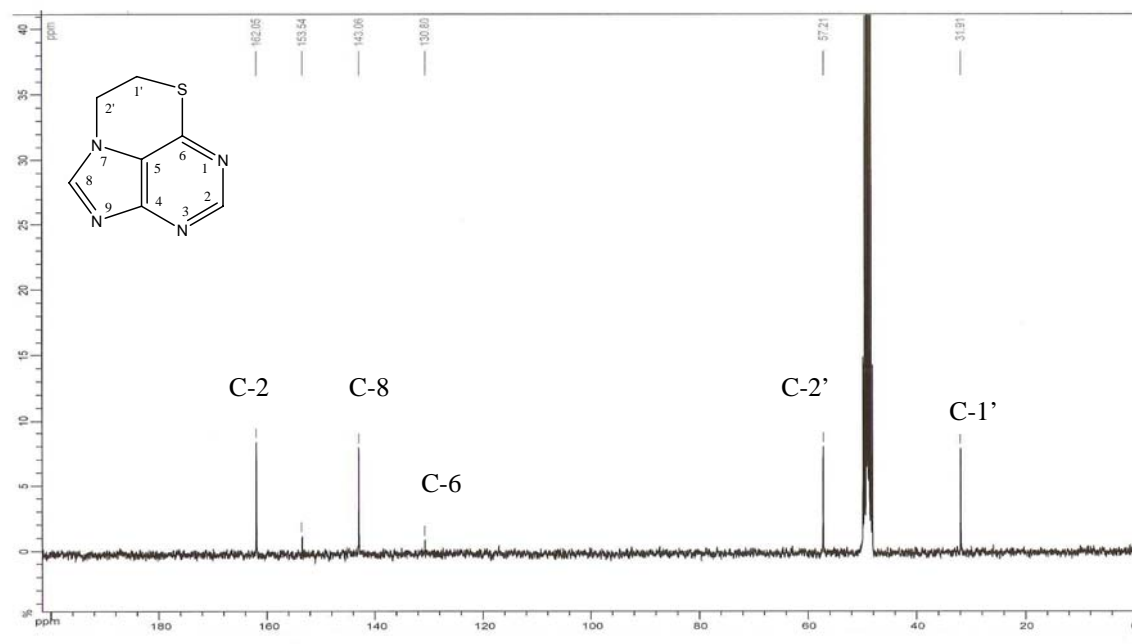


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1 (CD_3OD , 75MHz)

Pelo espectro HMBC (Figura 21) pode-se observar as correlações entre H-8 com C-2'.

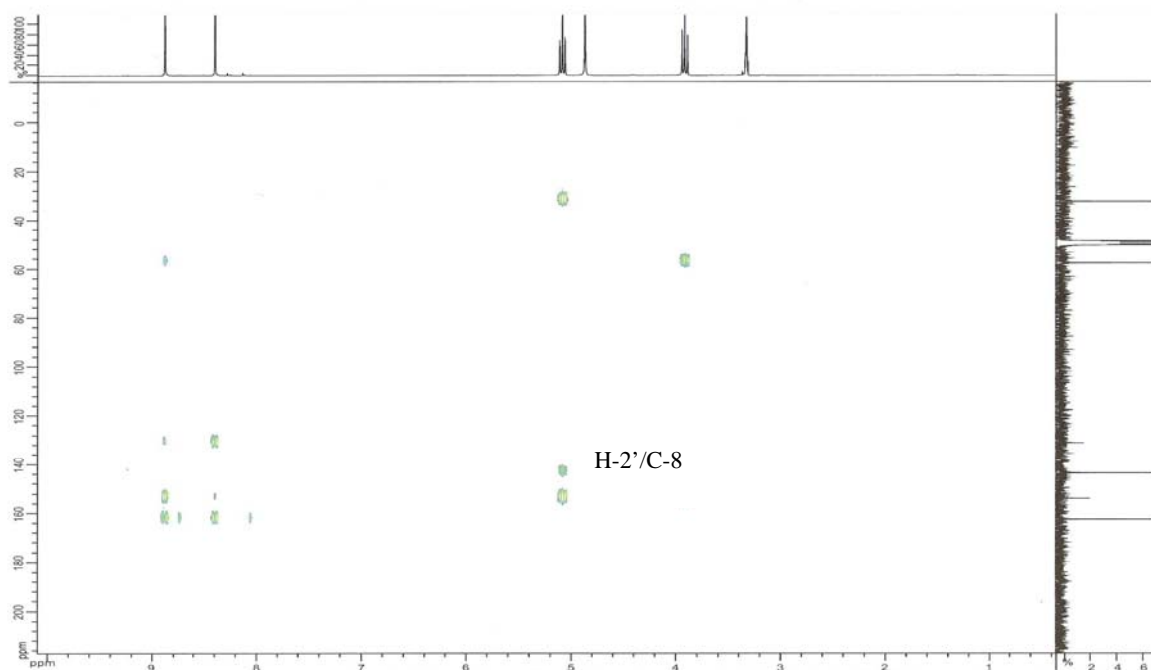


Figura 21. Mapa de contornos HMBC do composto 1.

A determinação de espectrometria de massas HMRS mostrou picos em $[M + H]^+$ igual a 179,0379 m/z (calculado 179,0313 m/z) e $[M + Na]^+$ 201,0209 m/z (calculado 201,0210 m/z) (Figura 22) confirmando a massa molar do composto **1**.

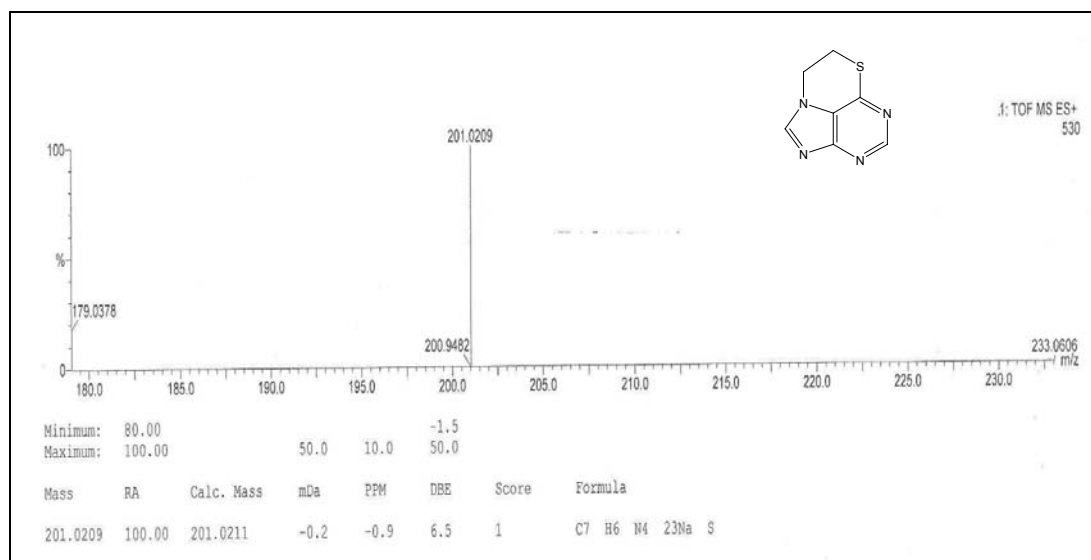


Figura 22. Espectro de massas HMRS do composto **1**.

Síntese e caracterização do 8,9-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-h)purina **2**

Uma solução de sal sódico de 6-mercaptopurina preparada como descrito anteriormente, foi transferida para um balão volumétrico contendo uma solução de 1-bromo-3-cloropropano em DMF. A mistura reagente foi deixada em agitação constante por 48 horas a temperatura ambiente, em seguida o solvente foi eliminado sob pressão reduzida e o sólido obtido foi purificado através de CCS usando uma mistura de MeOH/CH₂Cl₂ em escala gradiente para fornecer o composto **2** (69% de rendimento).

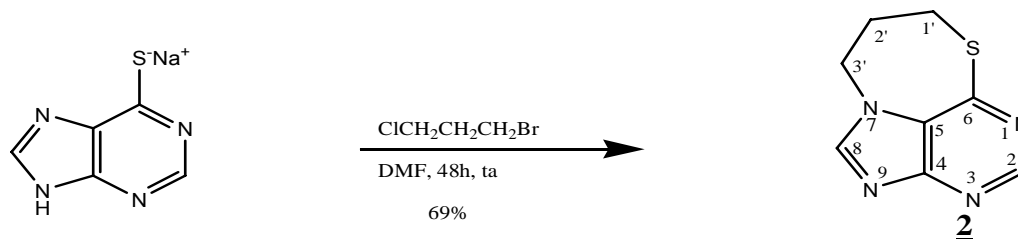


Figura 23. Esquema de reação para obtenção do composto **2**.

O composto **2** foi caracterizado por meio de ponto de fusão e análise de seus espectros de IV, RMN de ¹H e de ¹³C e massas.

No espectro de infravermelho (Figura 24) observou-se a presença das bandas em 3083 cm⁻¹ (estiramento C-H aromático), 2995 cm⁻¹ (estiramento C-H alifático) e 1606 cm⁻¹ (estiramento C=C e C-N).

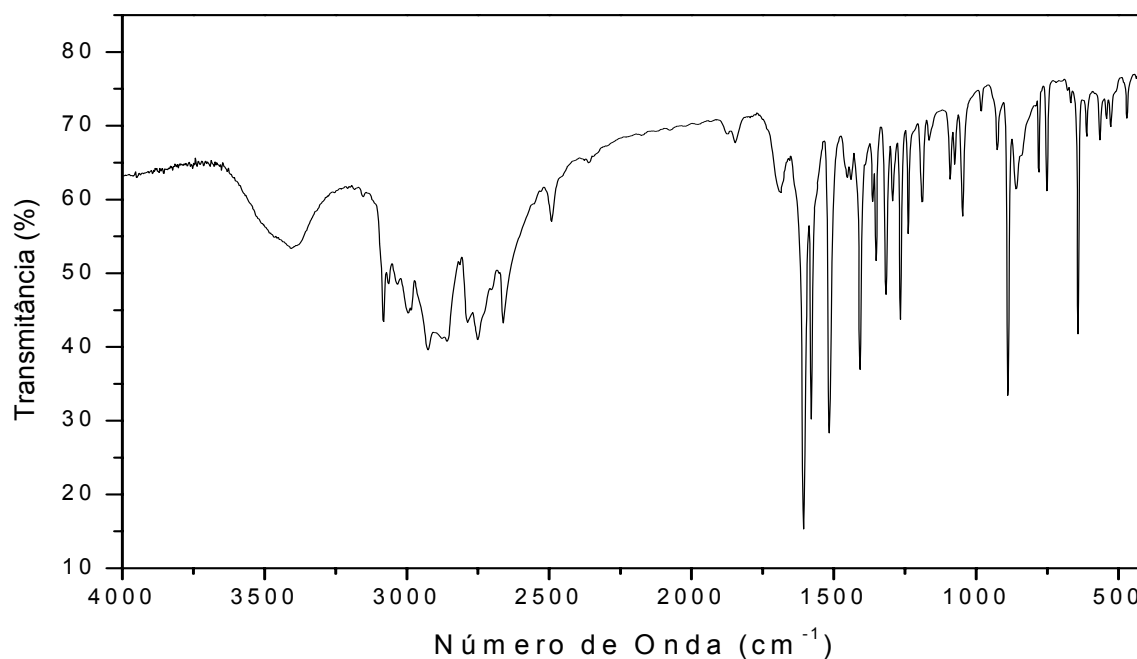


Figura 24. Espectro de IV do composto **2**.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 25) observou-se a presença de dois simpletos em δ 8,29 e 8,11 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios H-2 e H-8 da base purínica, respectivamente. Em δ 4,35; 3,28 são observados tripletos que podem ser atribuídos aos grupos metilênicos H-3' e H-1', respectivamente, tem-se também em δ 2,40 ppm a presença do multipletto que pode ser atribuído ao grupo metilênico da posição H-2'.

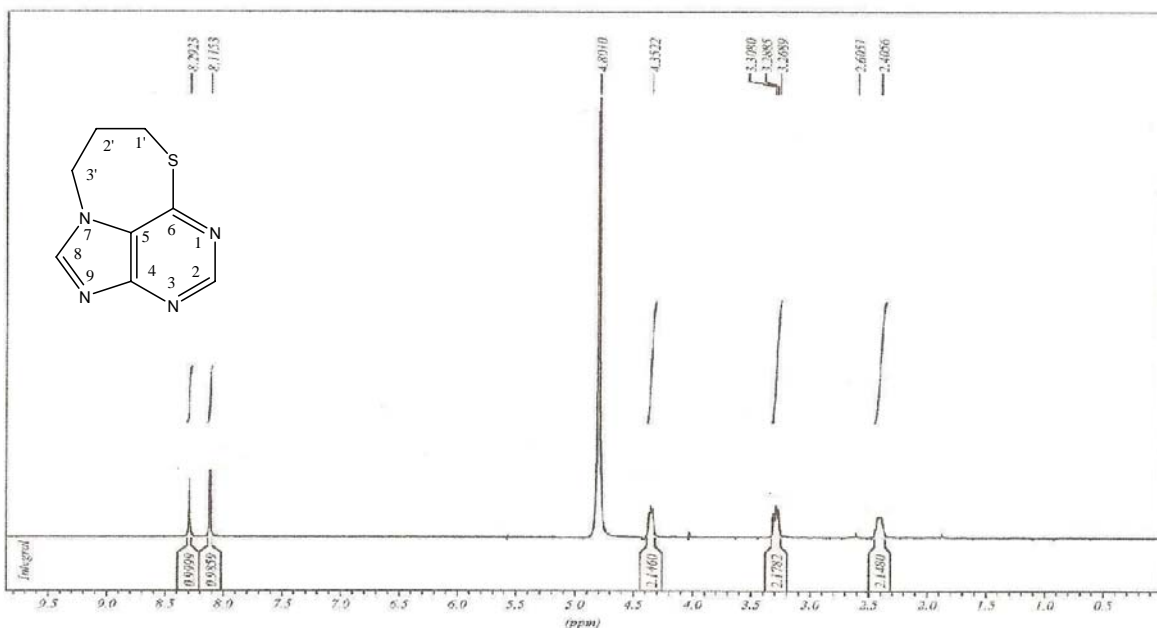


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H do composto **2** (D_2O , 300MHz)

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 26) observou-se a presença de cinco sinais em δ 157,7; 154,3; 147,4; e 144,0 e 128,7 ppm referentes aos carbonos C-2, C-4, C-5, C-8 e C-6 da 6-mercaptopurina, verificou-se também a presença dos três sinais em δ 48,9; 24,4 e 19,5 ppm referentes aos grupos metilenos C-3', C-1' e C-2', respectivamente.

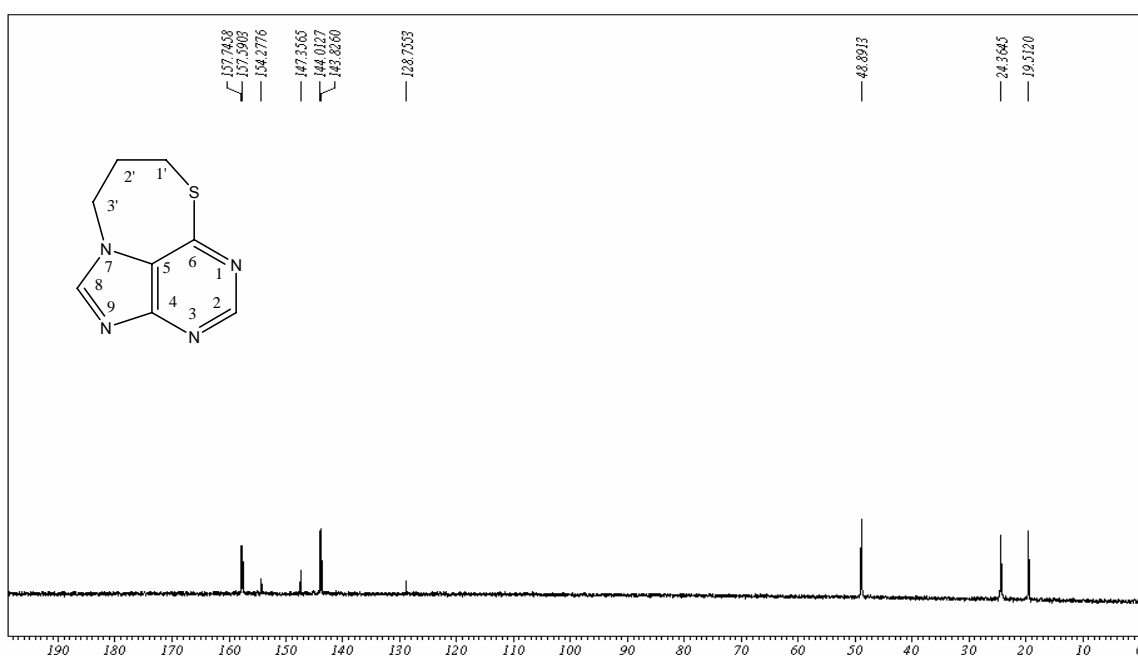


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **2** (D_2O , 75MHz)

O espectro de massas (ES) apresentou picos em $[\text{M} + \text{H}]^+$ igual a 193 m/z e $[\text{M} + \text{Na}]^+$ igual a 215 m/z (Figura 27) que estão de acordo com os valores teóricos, o que confirma a massa molar do composto **2**.

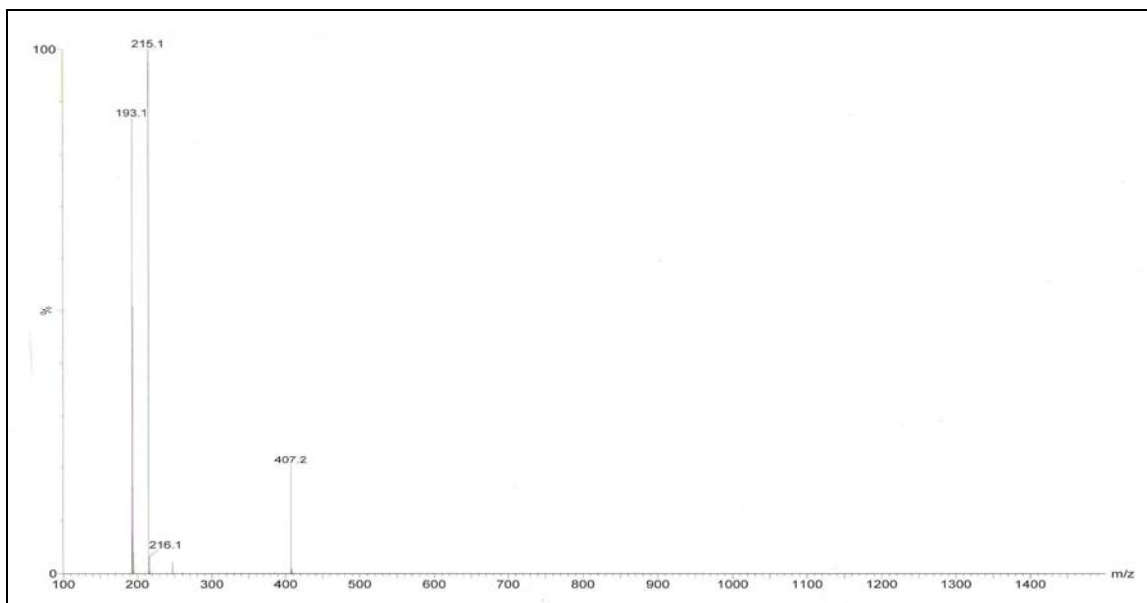


Figura 27. Espectro de massas (ES) do composto **2**.

Síntese e caracterização do 6-(3'-cloropropiltio)purina **3**

O 1-bromo-3-cloropropano foi adicionado à solução de sal sódico de 6-MP (previamente preparada) em EtOH à 0°C. A mistura reagente foi deixada sob agitação constante por 30 minutos a 0°C e a temperatura ambiente por 36 horas adicionais. O solvente foi eliminado em rotaevaporador e o resíduo formado purificado em CCS (Hexano/AcOEt 6:4), obtendo-se 68% de rendimento do composto desejado **3** em forma de óleo (Figura 28).

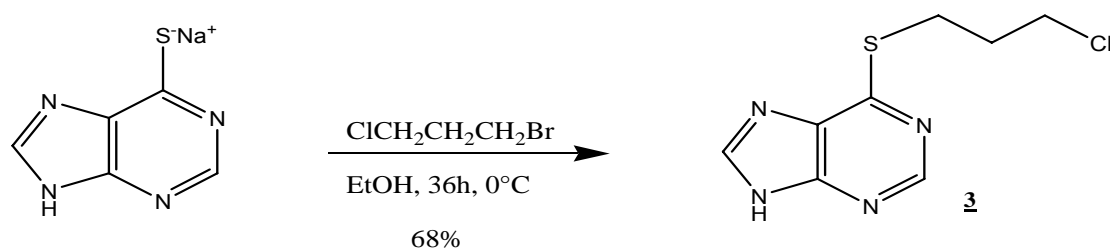


Figura 28. Esquema de reação para obtenção do composto **3**.

fusão e análise de seus espectros de IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e HMRS e estão de acordo com a literatura.⁶

No espectro de infravermelho (Figura 29) observou-se a presença das bandas em 3472 cm^{-1} (estiramento N-H aromático), 3080 cm^{-1} (estiramento C-H aromático), 2975 cm^{-1} (estiramento C-H alifático), 1606 cm^{-1} (estiramento C=C e C-N).

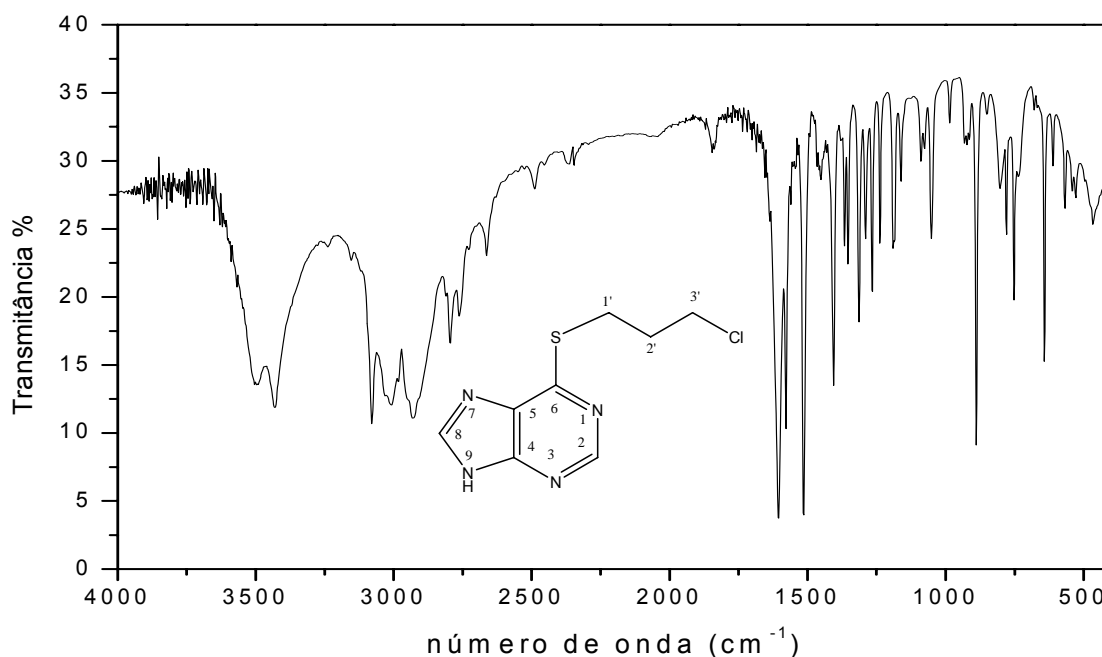


Figura 29. Espectro de IV do composto **3**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 30) observou-se a presença de dois simpletos em δ 8,68 e 8,43 ppm que podem ser atribuídos aos prótons H-2 e H-8 da base purínica, respectivamente. Em δ 3,74, 3,44 e 2,15 ppm são observados os sinais que podem ser atribuídos aos dois hidrogênios de H-3', H-1' e H-2', respectivamente.

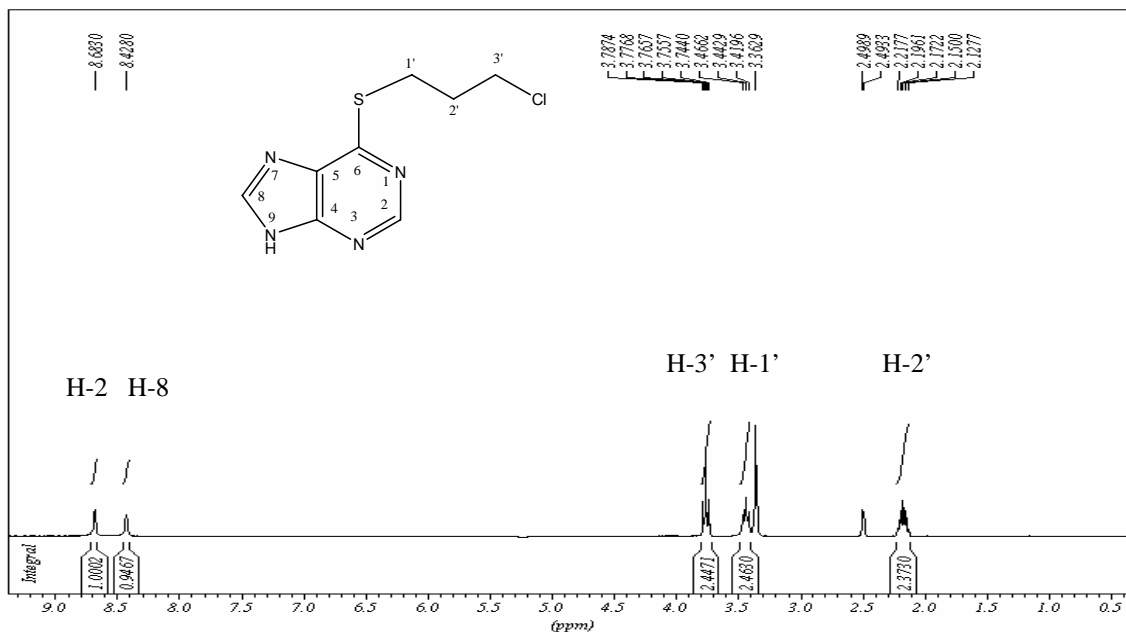


Figura 30. Espectro de RMN de ^1H do composto **3** (D₂O, 300MHz)

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 31) observou-se a presença dos sinais em δ 161 e 144 ppm referentes aos carbonos da 6-mercaptopurina (C-2 e C-8) bem como os três sinais relacionados aos grupos metila em δ 50, 26 e 20 ppm que correspondem aos carbonos C-3', C-1' e C-2', respectivamente.

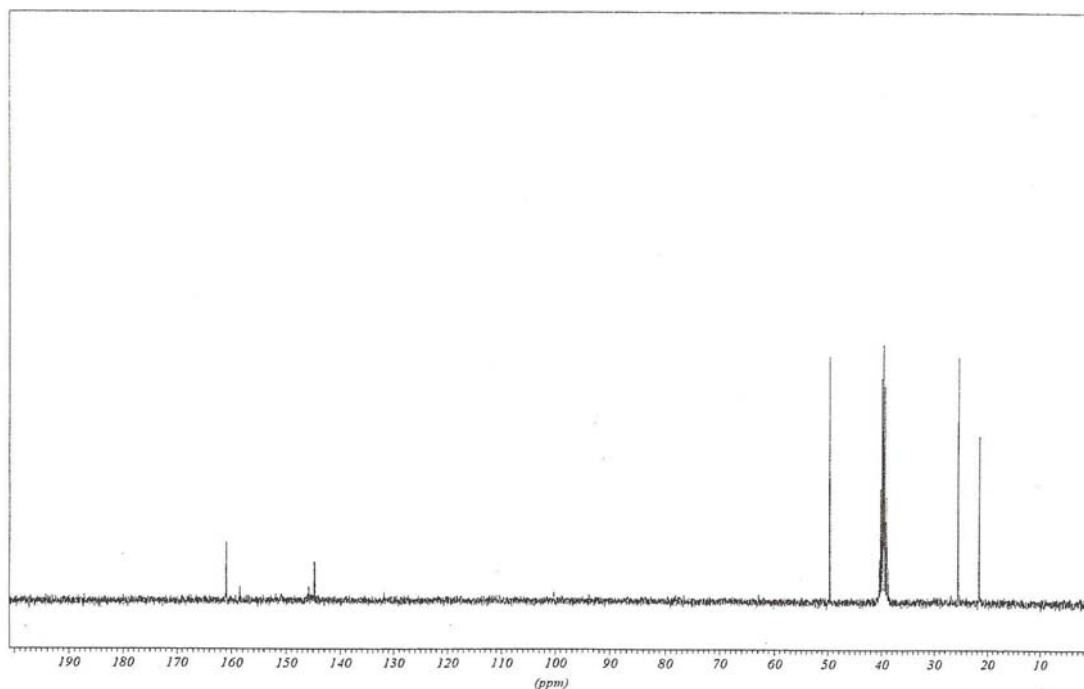


Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **3** (D_2O , 75MHz)

O espectro de massas (ES) apresentou pico em $[\text{M} + \text{H}]^+$ igual a 229,0 m/z (Figura 32) que está de acordo com o valor calculado, confirmando desta forma a massa molar do composto **3**.

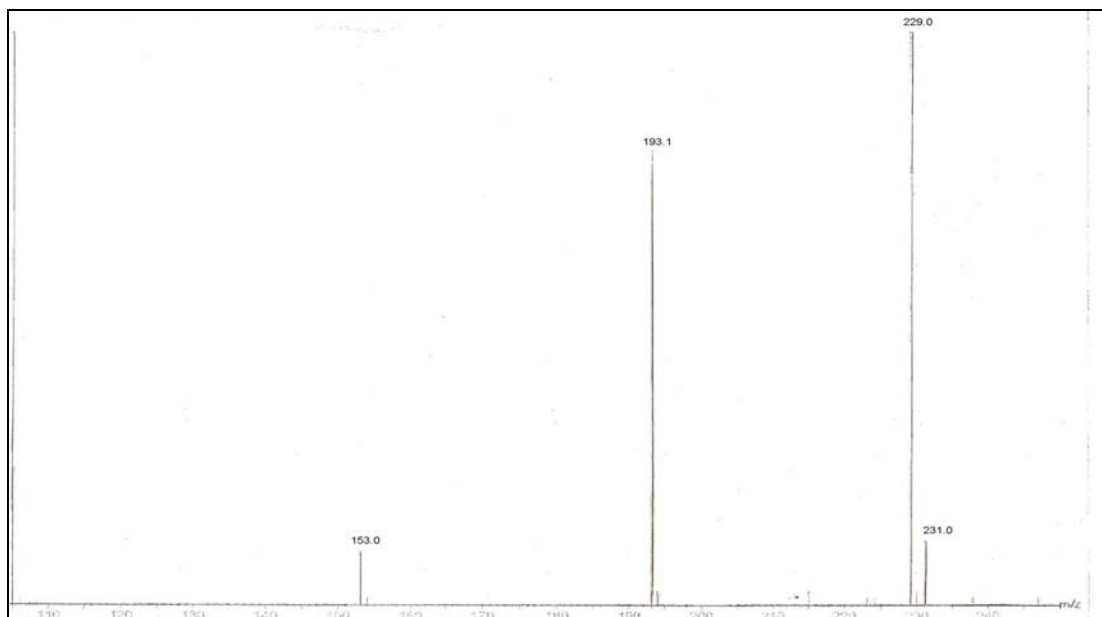


Figura 32. Espectro de massa (ES) do composto **3**.

Síntese e caracterização dos Hidro haletos 7,8-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-hi)purina 4a-c

Os compostos **4a**, **4b** e **4c** foram obtidos por tratamento do composto **3** com fluoreto de sódio, cloreto de sódio e brometo de sódio, respectivamente, em DMF, sob agitação constante por 72 horas à 80 °C. Após o solvente ser eliminado prosseguiu-se com purificação por CCS usando uma mistura em escala gradiente de MeOH/CH₂Cl₂ obtendo-se desta forma os compostos **4a**, **4b** e **4c** com rendimentos de 86%, 90% e 84%, respectivamente (Figuras 33, 41e 45).

Os compostos foram caracterizados por meio de ponto de fusão e através das técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ¹H, RMN de ¹³C e massas.

Caracterização do Hidrofluoreto 7,8-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-hi)purina **4a**:

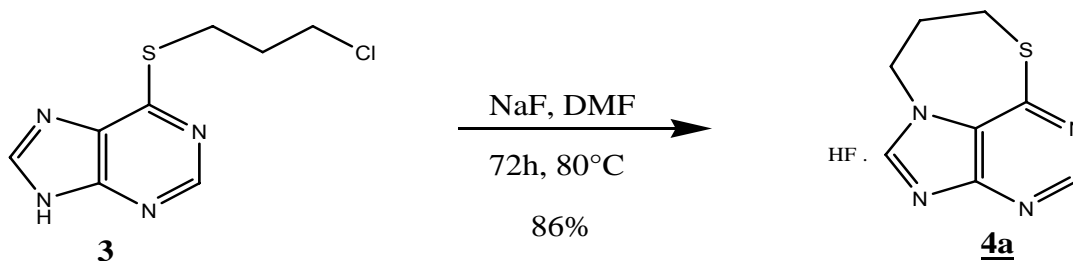


Figura 33. Esquema de reação para obtenção do composto **4a**.

No espectro de infravermelho (Figura 34) observou-se a presença das bandas em 3497 cm^{-1} 3415 cm^{-1} correspondente ao estiramento N-H de amina aromática que pode ter ocorrido por ligação de hidrogênio, 3080 cm^{-1} (estiramento C-H aromático), 2931 cm^{-1} (estiramento C-H alifático) e 1605 cm^{-1} (estiramento C=C e C-N).

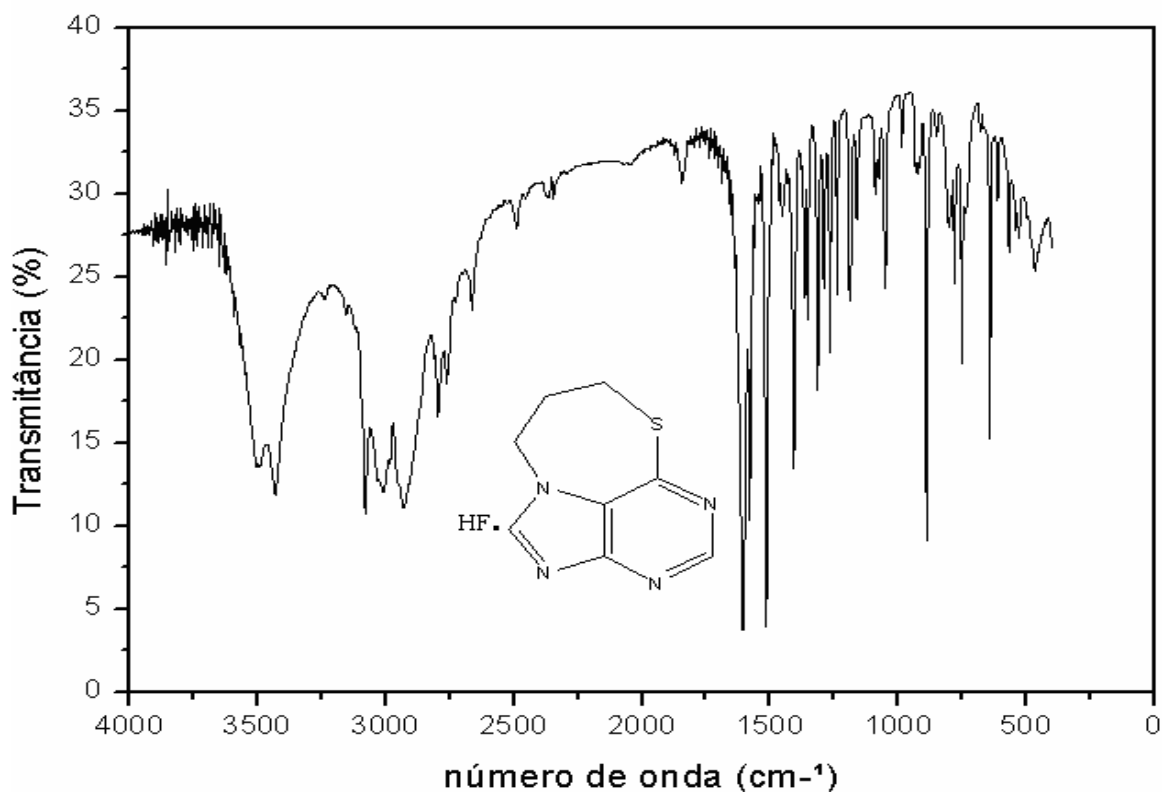


Figura 34. Espectro de IV do composto **4a**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 35) observou-se a presença de dois simples em δ 8,29 e 8,11 ppm que podem ser atribuídos aos prótons H-2 e H-8 da base purínica, respectivamente. Em δ 4,50 e 3,37 ppm foram observados dois tripletos referentes aos dois hidrogênios dos grupos metilênicos de H-3' e H-1', respectivamente, e em δ 2,45 ppm observou-se um multipletto que pode se atribuído aos dois hidrogênios de H-2'.

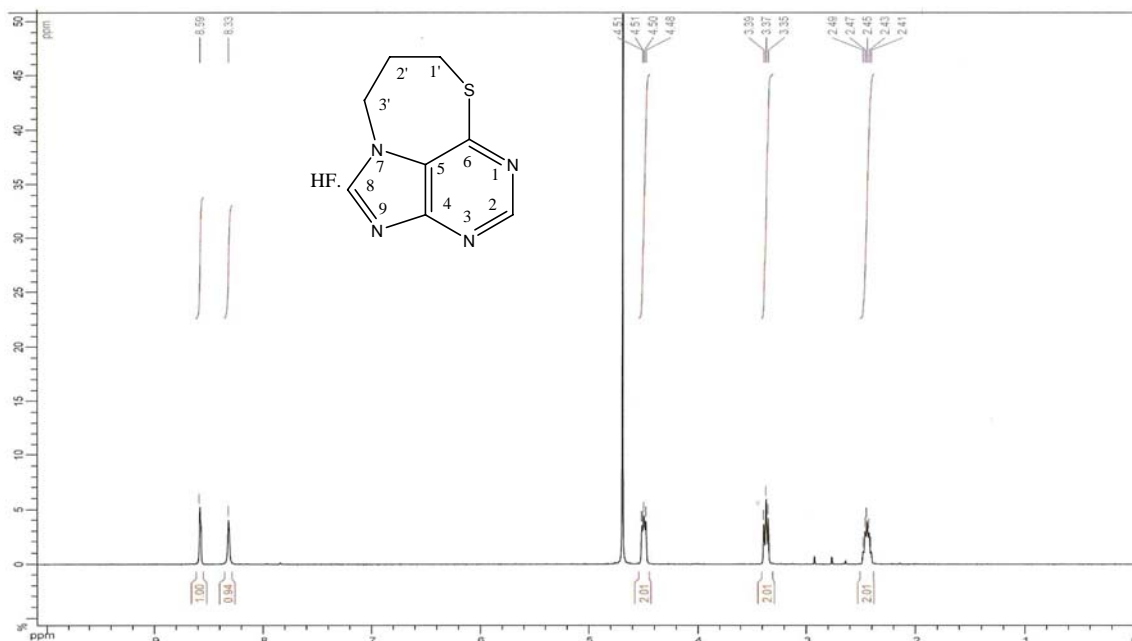


Figura 35. Espectro de RMN de ^1H do composto **4a** (D_2O , 300MHz)

No mapa de contornos COSY (Figura 36), que é uma técnica de RMN de correlação em 2D, é possível verificar as correlações entre os hidrogênios metilênicos H-3', em δ 4,35 ppm e H-2', em δ 2,48 ppm, além da correlação entre os hidrogênios metilênicos de H-2' com H-1', em δ 3,29 ppm.

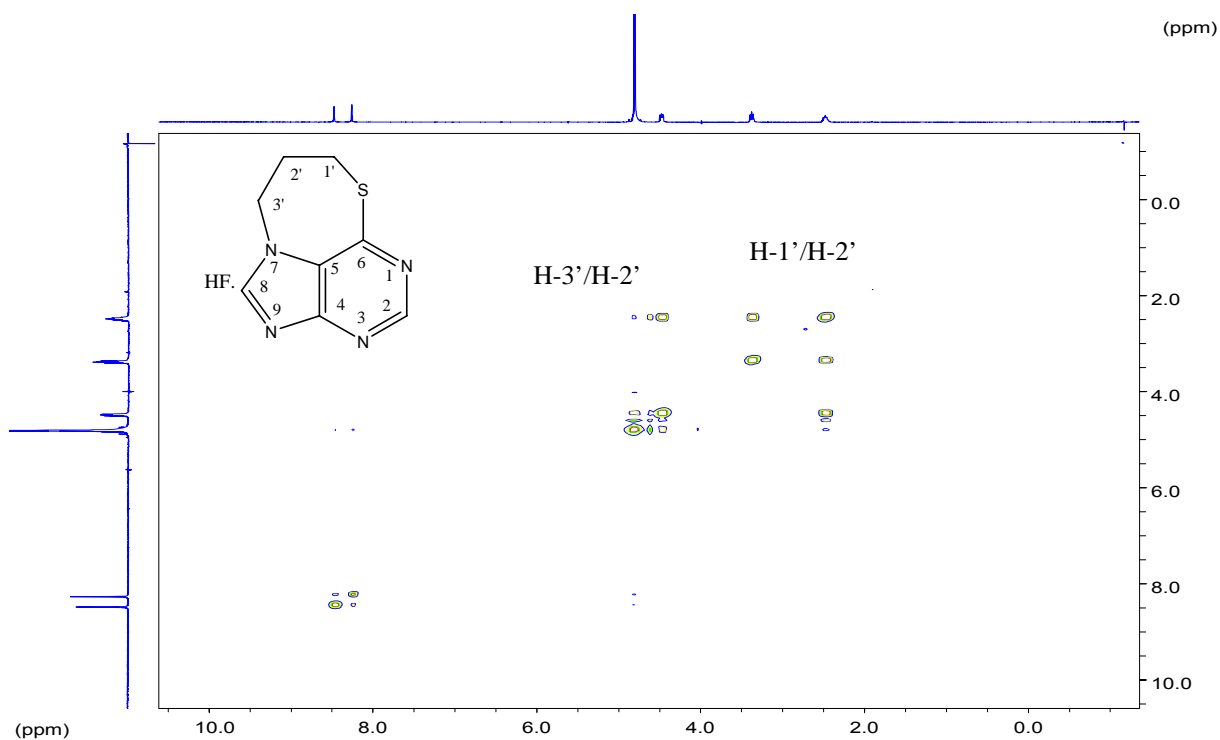


Figura 36. Mapa de contornos COSY referente ao composto **4a**.

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 37) observou-se a presença dos sinais em δ 158,3; 153,8; 153,6; 150,5 e 129,5 ppm referentes aos carbonos da porção 6-MP, C-6, C-4, C-2, C-8 e C-5, respectivamente, bem como os três sinais relacionados aos grupos metilênicos C-3', C-1' e C-2' em δ 50,7; 26,1 e 20,7 ppm, respectivamente.

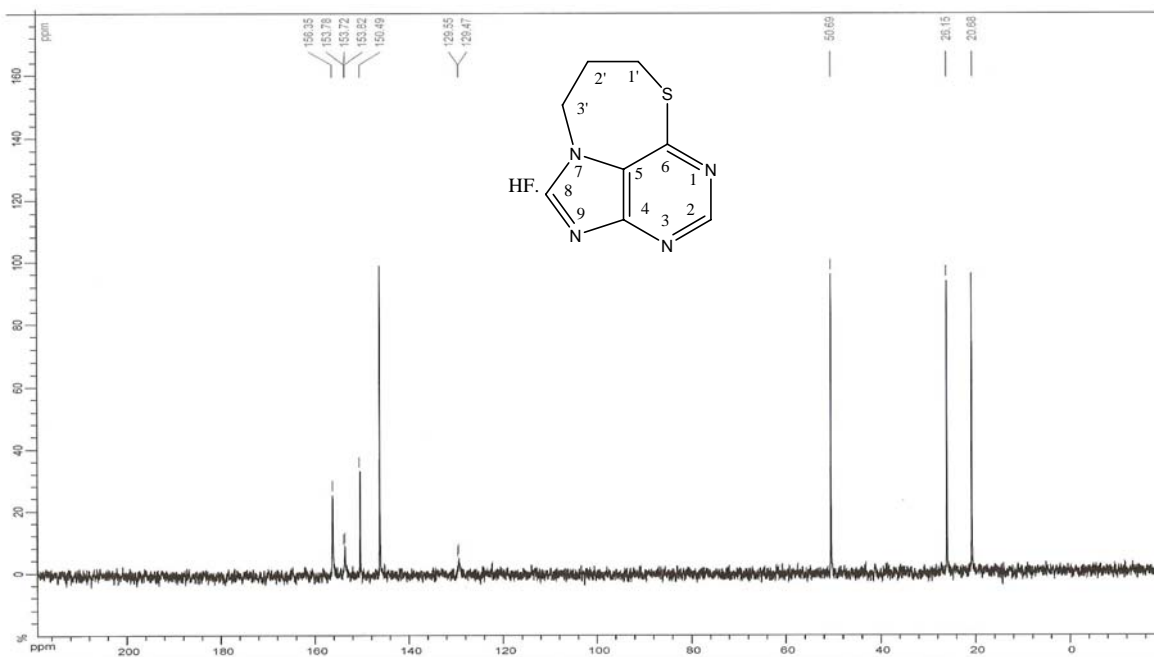


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **4a** (D_2O , 75MHz)

No espectro DEPT 135°C (Figura 38), observou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos hidrogenados, sendo que os sinais do carbono metilênico C-1', C-3' e C-2' em fase inversa aos carbonos C-2 e C-8 do anel purínico.

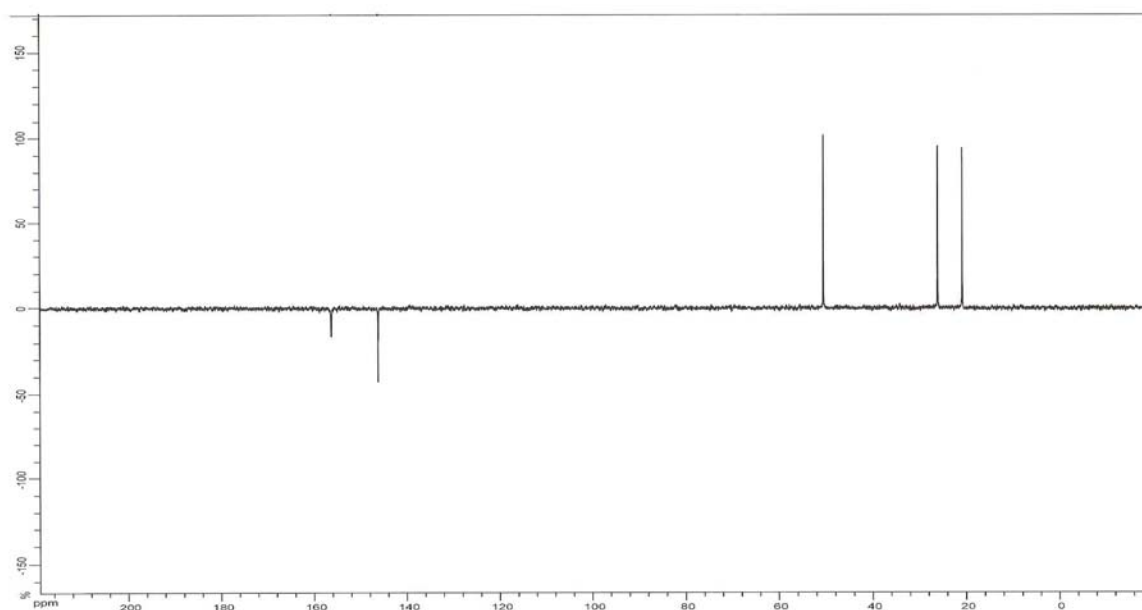


Figura 38. Espectro DEPT 135°C de ^{13}C do composto **4a**

Pelo espectro HMBC (Figura 39), que ocorre com detecção de hidrogênio utilizando os acoplamentos de duas ou mais correlações, pode-se observar principalmente as correlações entre H-3'/C-8 e H-3'/C-5 confirmado a ciclização da molécula.

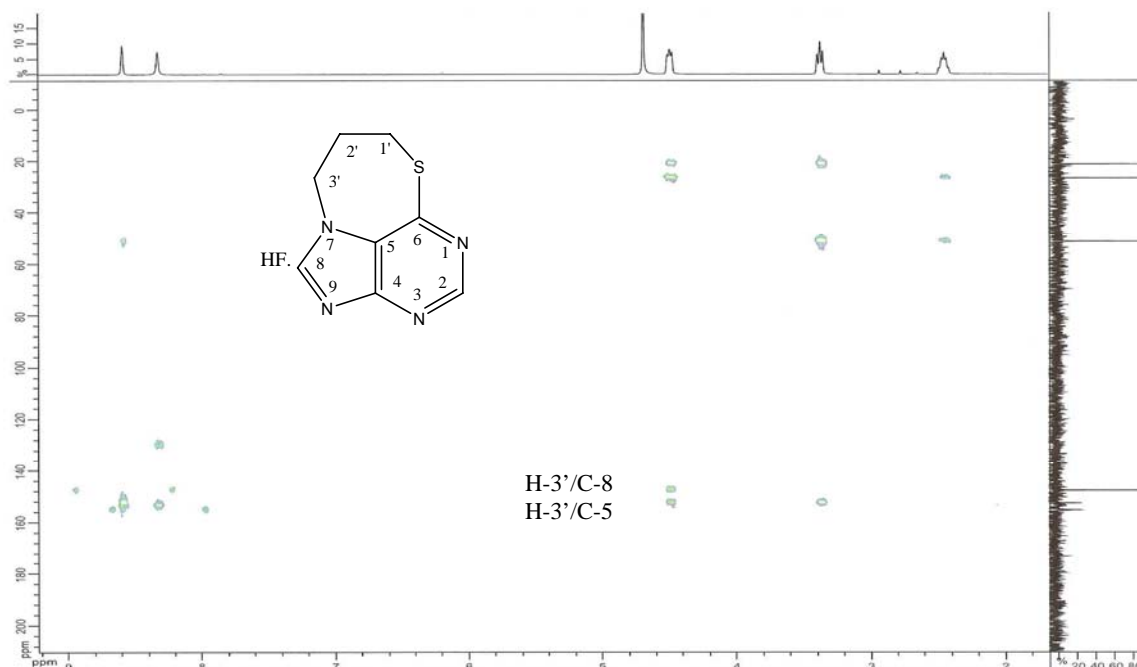


Figura 39. Mapa de correlações HMBC do composto **4a**.

Através do espectro de RMN de ^{19}F (Figura 40) constatou-se a presença de dois sinais em δ -131,3 e em -122,4 ppm confirmando a presença do flúor na molécula referente ao composto **4a**.

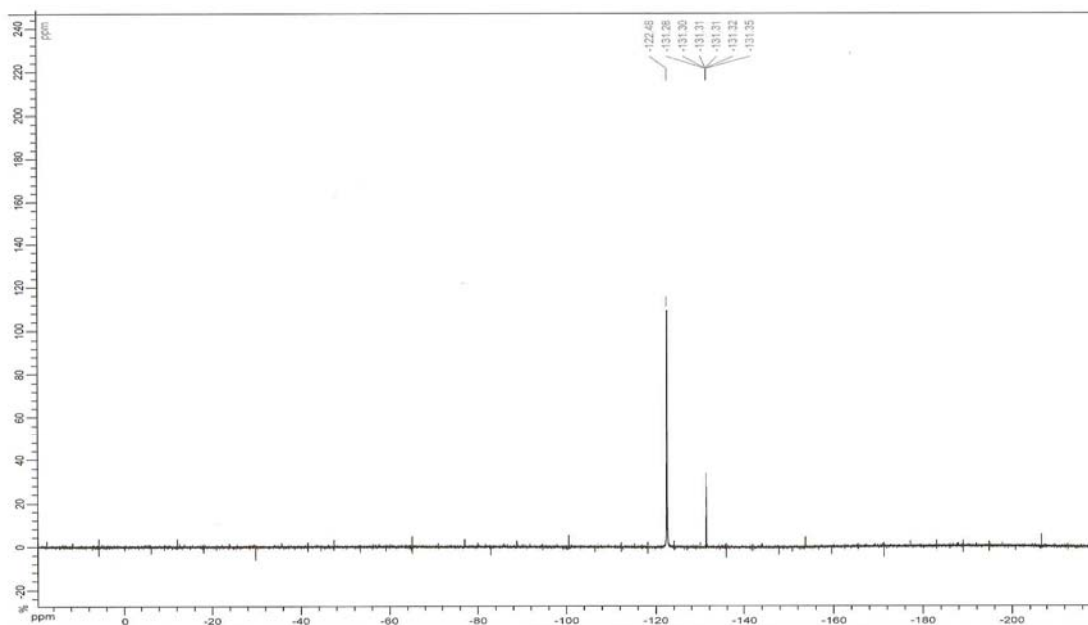


Figura 40. Espectro de RMN de ^{19}F do composto **4a**

Caracterização do Hidrocloreto 7,8-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-hi)purina **4b**:

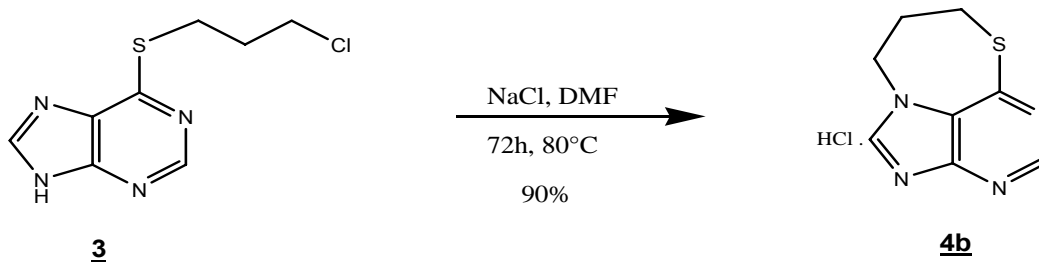


Figura 41. Esquema de reação para obtenção do composto **4b**.

O composto foi caracterizado por meio de ponto de fusão, IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C .

No espectro de infravermelho (Figura 42) observou-se a presença das bandas em 3415 cm^{-1} correspondente ao estiramento N-H de amina aromática que pode ter ocorrido por ligação de hidrogênio, 3082 cm^{-1} , estiramento C-H aromático, 2926 cm^{-1} , estiramento C-H alifático, e 1606 cm^{-1} , estiramento C=C e C-N.

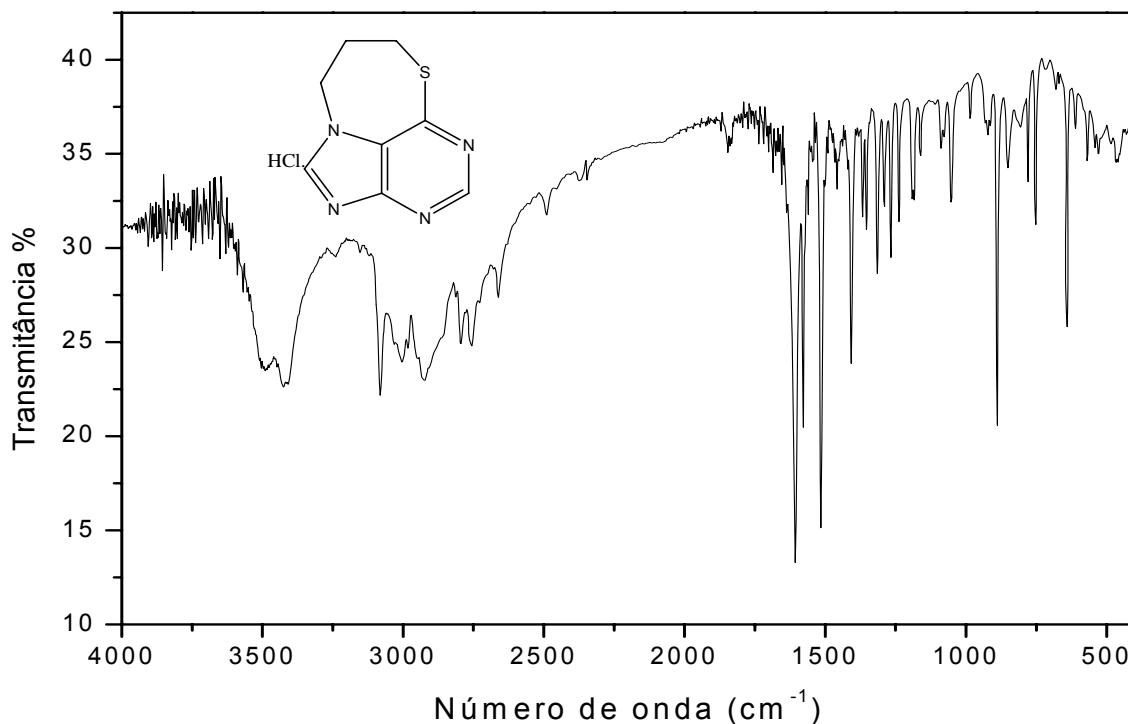


Figura 42. Espectro de IV do composto **4b**.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 43) observou-se a presença de dois simples em δ 8,90 e 8,63 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios H-2 e H-8 da base purínica, respectivamente. Em δ 4,68 e 3,52 ppm foram observados dois tripletos referentes aos dois hidrogênios dos grupos metilênicos em H-3' e H-1' respectivamente e em δ 2,56 ppm observou-se um multipeto que pode ser atribuído aos dois hidrogênios de H-2'.

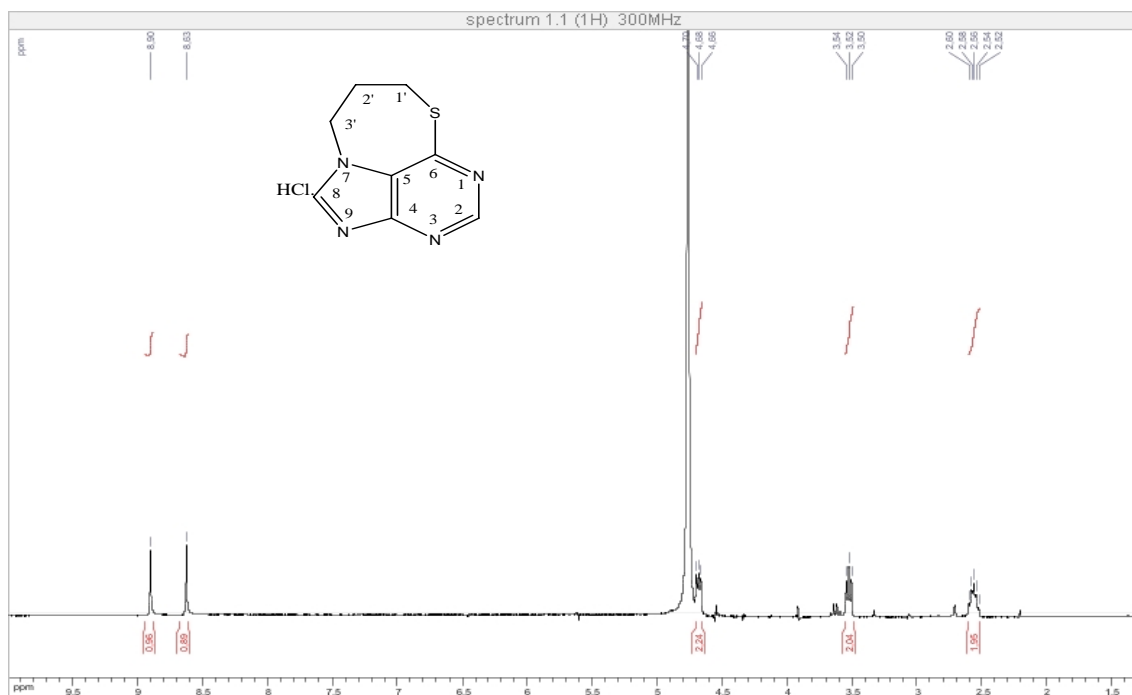


Figura 43. Espectro de RMN de ^1H do composto **4b** (D_2O , 300MHz)

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 44) observou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos da porção 6-MP, bem como os três sinais relacionados aos grupos metilênicos em δ 48,6; 23,8 e 17,7 ppm (C-1', C-3' e C-2' respectivamente).

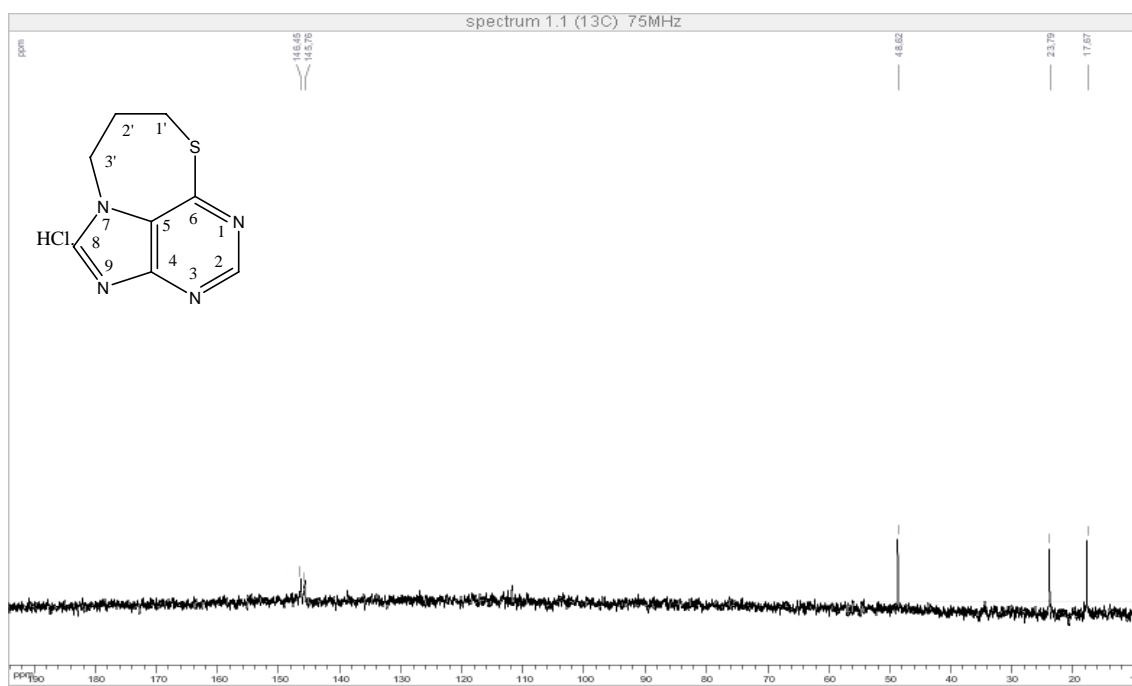


Figura 44. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **4b** (D_2O , 75MHz)

Caracterização do composto Hidrobrometo 7,8-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-hi)purina **4c**

O composto foi caracterizado por meio de ponto de fusão, IV, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C .

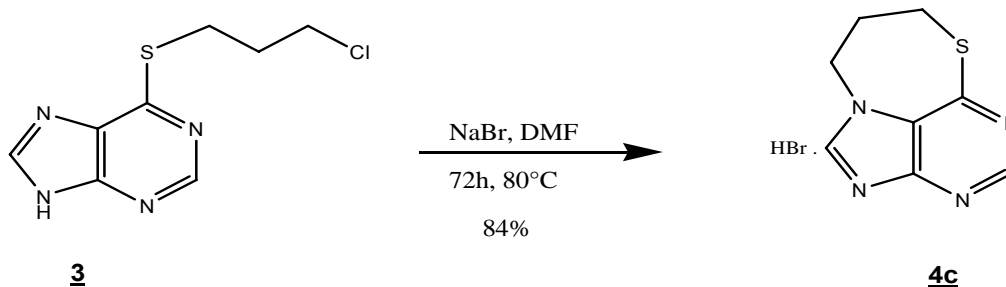


Figura 45. Esquema de síntese do composto **4c**.

Através do espectro de infravermelho (Figura 46) observou-se a presença das bandas em 3417 cm^{-1} 3415 cm^{-1} correspondente ao estiramento N-H de amina aromática que pode ter ocorrido por ligação de hidrogênio, 3078 cm^{-1} (estiramento C-H aromático), 2925 cm^{-1} (estiramento C-H alifático) e 1616 cm^{-1} (estiramento C=C e C-N).

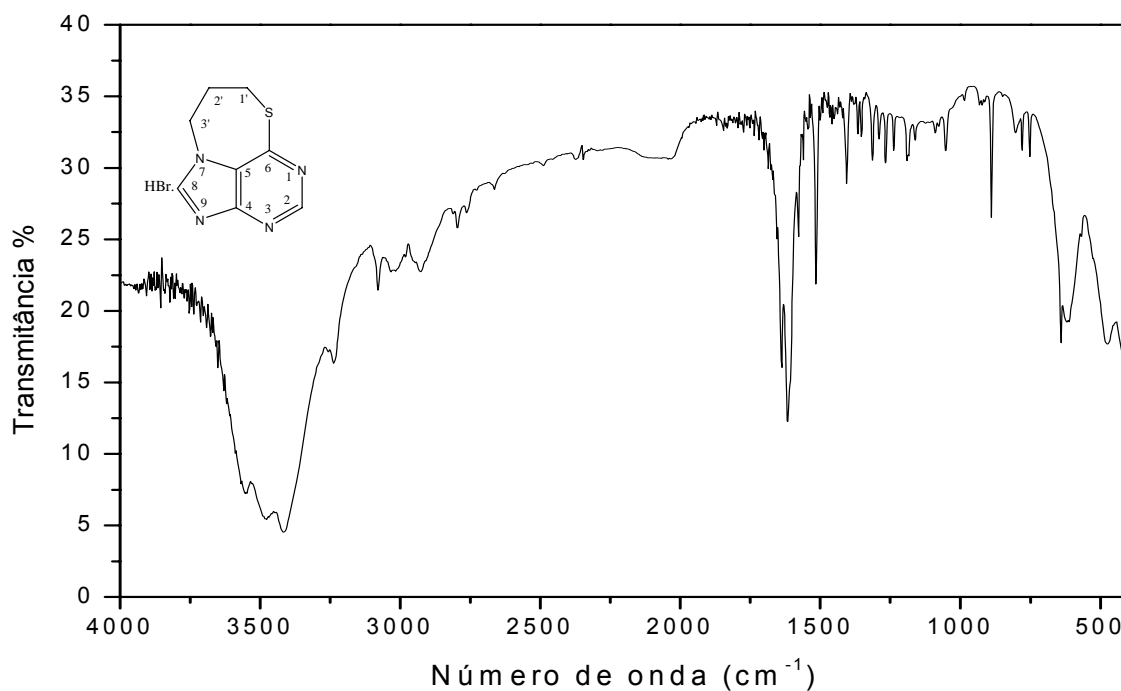


Figura 46. Espectro de IV do composto **4c**.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 47) observou-se a presença de dois simples em δ 8,98 e 8,70 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios H-2 e H-8 da base purínica, respectivamente. Em δ 4,76 e 3,60 ppm foram observados dois tripletos referentes aos dois hidrogênios dos grupos metilênicos em H-3' e H-1' respectivamente e em δ 2,64 ppm observa-se um multipeto que pode se atribuir aos dois hidrogênios de H-2'.

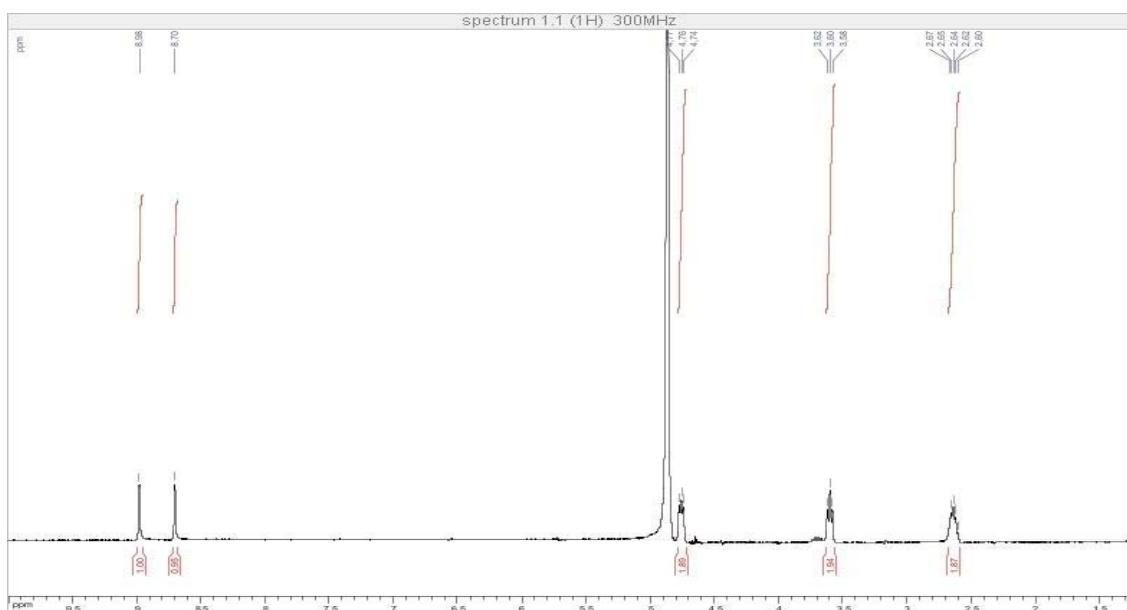


Figura 47. Espectro de RMN de ^1H do composto **4c** (D_2O , 300MHz)

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 48) observou-se a presença dos sinais em δ 146,8 e 145,3 ppm referentes aos carbonos da porção 6-MP, C-2 e C-8, respectivamente, bem como os três sinais relacionados aos grupos metilênicos C-1', C-3' e C-2' em δ 48,9; 24,0 e 17,8 ppm, respectivamente.

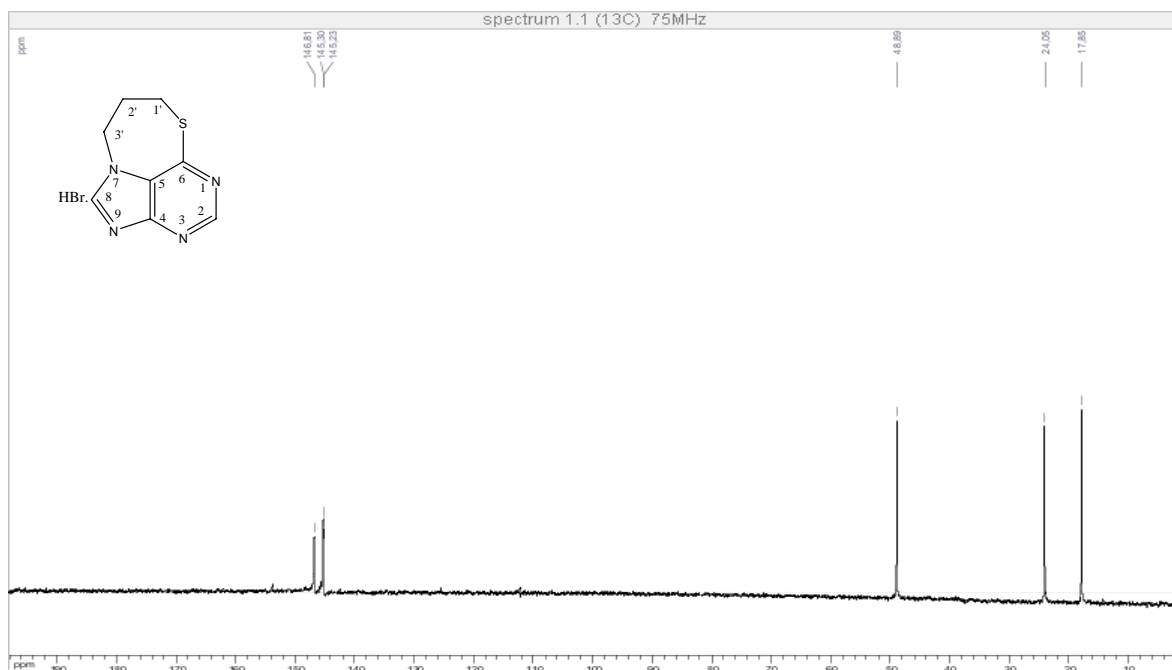


Figura 48. Espectro de RMN de ¹³C do composto **4c** (D₂O, 75MHz)

Avaliação Biológica dos Derivados Tricíclicos de 6-MP

Avaliou-se a toxicidade dos derivados sintetizados de 6-mercaptopurina em células KB e Vero normal. Todos os compostos testados apresentaram baixa toxicidade em células KB e Vero quando comparados com a droga de referência Taxotere (Tabela 1).

Os compostos também foram testados em formas promastigota de *Leishmania amazonensis* e *L. chagasi* para verificar suas atividades antileishmania. Dentre os compostos testados apenas o composto **4a** apresentou atividade contra ambas as espécies de *Leishmania* com IC₅₀ de 28 μM, tanto para as formas promastigota de *L. amazonensis* quanto para *L. chagasi* (Tabela 1).

Tabela 1. Dados de citotoxicidade e atividade antileishmanial dos compostos **1**, **2** e **4a-c**

Compostos	Citotoxicidade (% de inibição a 10 μM)*		Atividade antileishmanial IC50 (μM) (promastigota)**	
	Células KB	Vero	L. amazonensis	L. chagasi
4a	17	11	28	28
4b	24	21	>227	>227
4c	8	13	>227	>227
1	31	10	>227	>227
2	4	7	>227	>227

Droga controle *Taxotere: 1×10^{-3} μM ; **Anfotericina B= 0,9 μM (*L. amazonensis*); 1,9 μM (*L. chagasi*)

1.4.2. Síntese, Caracterização e Avaliação Biológica do 6-Carboximetiltiopurina (6-CMMP)

Síntese e Caracterização do 6-CMMP

Após formação do sal sódico de 6-MP como descrito anteriormente prosseguiu-se com adição de ácido cloroacético em DMF. A mistura reagente foi deixada em agitação constante sob temperatura ambiente por 72 horas. O solvente foi retirado através do rotaevaporador e o sólido formado foi cristalizado em acetona levando assim à obtenção do composto **5** (6-CMMP) em forma de cristal com 60% de rendimento.

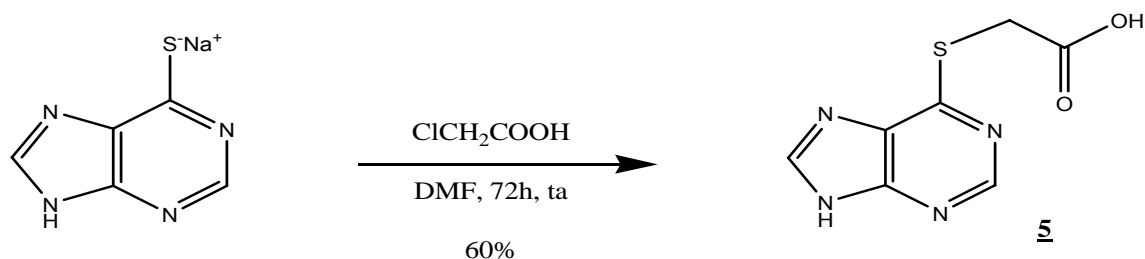


Figura 49. Esquema de reação para obtenção do composto **5**.

O composto **5** foi caracterizado por ponto de fusão e análise de seus espectros de infravermelho, RMN de ^1H , RMN de ^{13}C e massas. Todos os resultados obtidos estão de acordo com a literatura.⁶

Quando submetido à espectroscopia vibracional de infravermelho (Figura 50) observou-se o aparecimento de uma banda intensa referente à deformação axial O-H (3334 cm^{-1}) além do deslocamento da banda referente à deformação axial C=O do ácido em 1629 cm^{-1} .

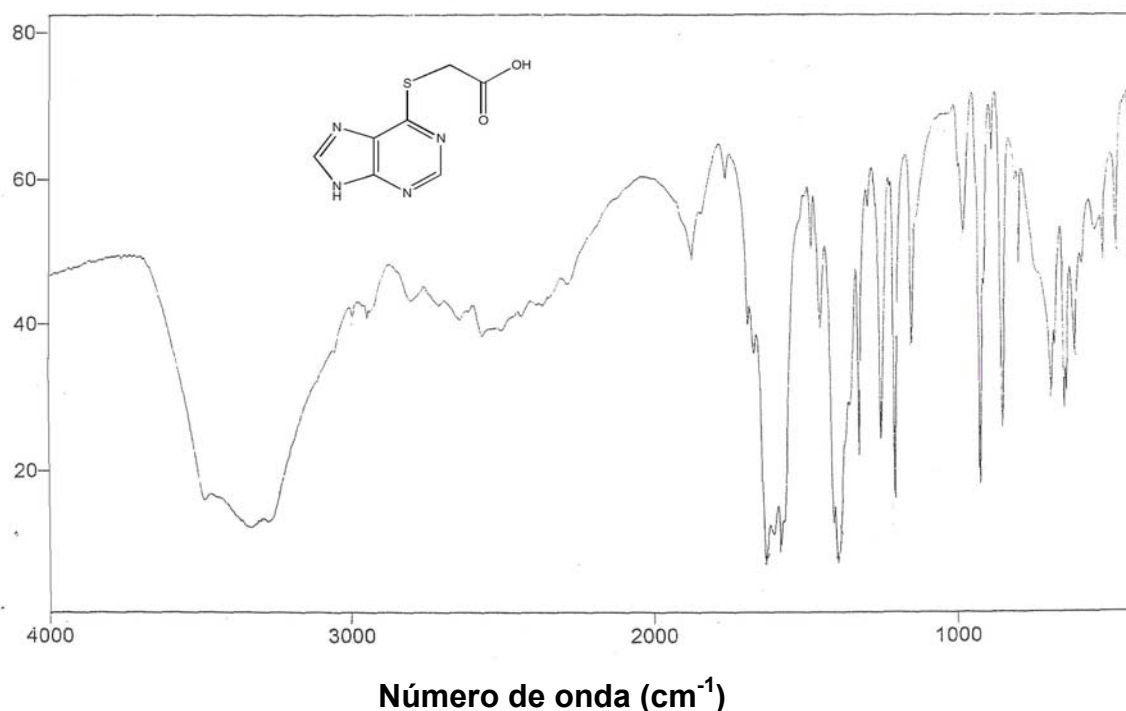


Figura 50. Espectro de IV do composto **5**.

Através do RMN de ^1H (Figura 51) observou-se além dos sinais dos dois hidrogênios da purina foi possível também ver o sinal do grupo metileno em δ 3,98 ppm.

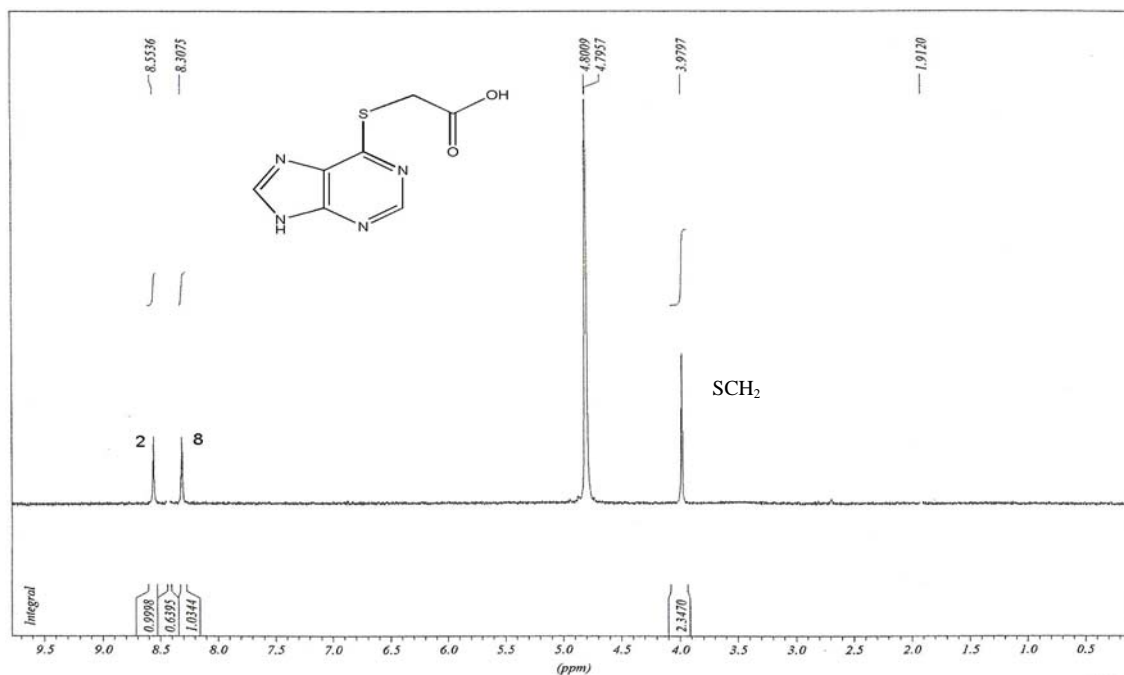


Figura 52: Espectro de RMN de ^1H do composto 5 (D_2O , 300MHz)

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 53) observou-se a presença dos sinais em δ 154 e 147 ppm referentes aos carbonos da porção 6-MP, C-2 e C-8 respectivamente, bem como um sinal relacionado ao grupo metilênico em δ 37 ppm.

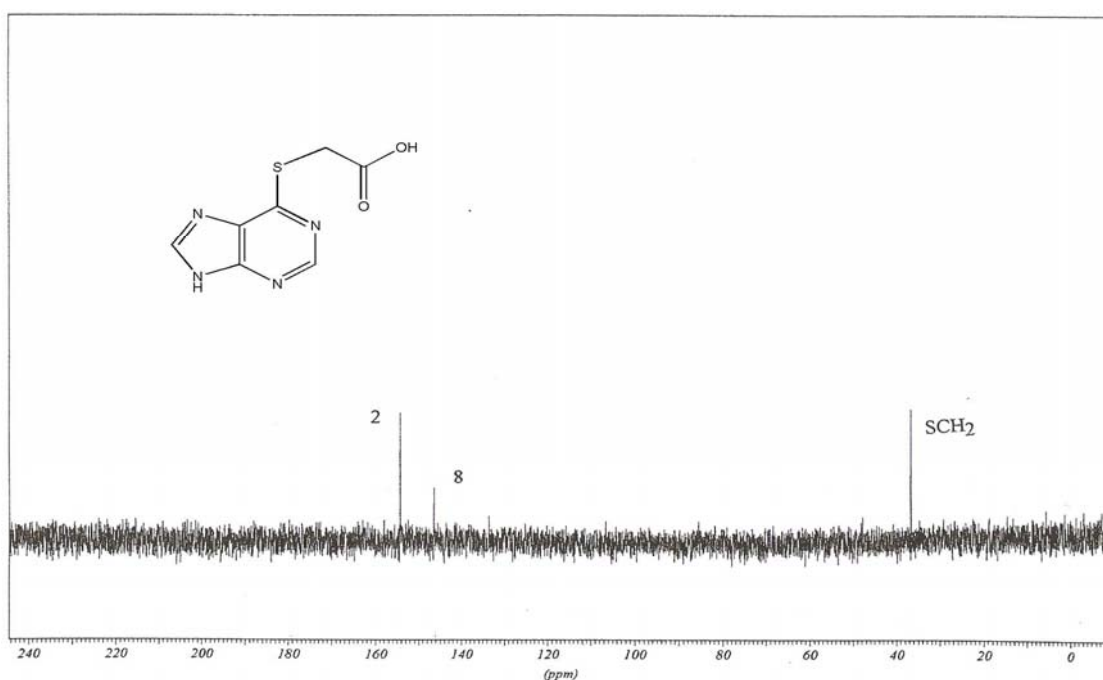


Figura 53. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5 (D_2O , 75MHz)

O espectro de massas (ES) apresentou pico em $[M - 1]$ igual a 209 m/z (Figura 54) que está de acordo com o valor calculado, confirmando desta forma a massa molar do composto **5**.

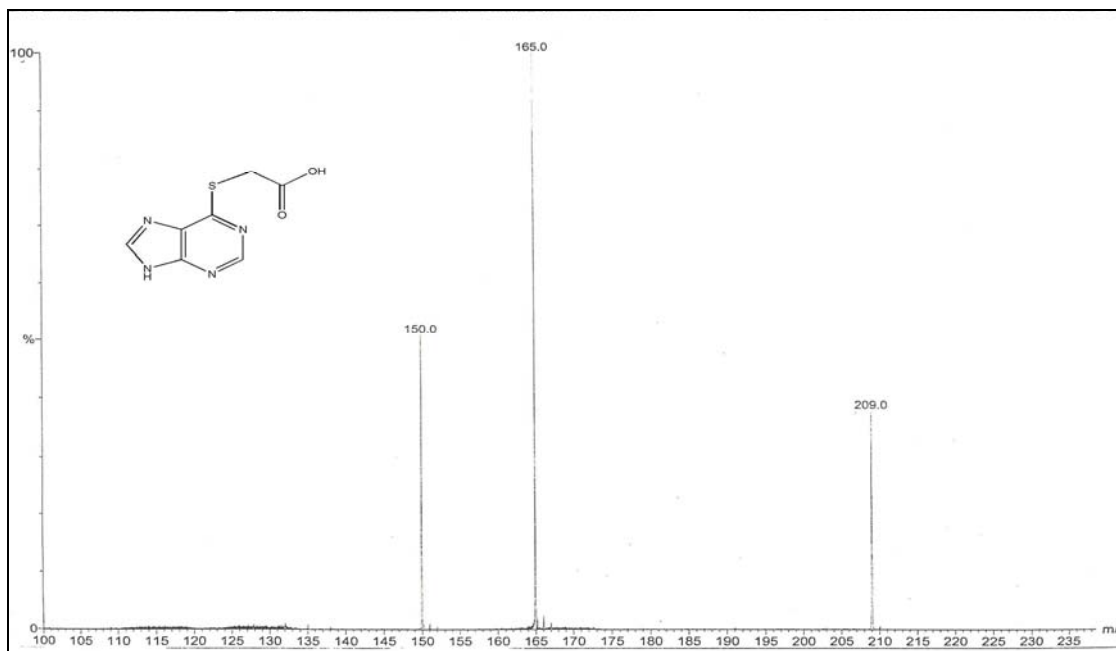


Figura 54. Espectro de massa (ES) do composto **5**.

Avaliação Biológica do 6-CMMP

Dando continuidade ao estudo da avaliação biológica da 6-CMMP que é uma droga com atividade em leishmania,⁶ realizou-se a avaliação da atividade antiinflamatória do 6-CMMP feita através do controle na produção de NO numa linha de macrófagos. Em todas as culturas tratadas com 6-CMMP a produção de NO pelos macrófagos diminuiu em comparação com o controle. Neste estudo, o potencial do 6-CMMP como uma droga anti-inflamatória apresentou resultados promissores¹³. Estes testes foram realizados no Instituto de Ciências Biológicas da UFJF.

1.5. Conclusões

Neste trabalho foram obtidos seis compostos inéditos **1**, **2**, **4a-b**. A obtenção destes derivados tricíclicos abre a possibilidade de uma gama de novos análogos tricíclicos com variação do anel formado, bem como de novos derivados de 6-MP.

Todos os compostos foram caracterizados através de infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C e os compostos **1**, **2**, **3**, **4a**, **4b** e **4c** também foram caracterizados por Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HMRS). A técnica de RMN de ^{19}F do composto **4a** constatou a presença do flúor na molécula.

Os compostos **3** e **5** foram obtidos com o objetivo de realizar estudos dos mecanismos celulares de inibição de leishmania. O composto 7,8-di hidro-(1,4)tiazepino(3,2,4-h)purina (**4a**) apresentou atividade biológica na inibição da produção de óxido nítrico e também contra as formas promastigota de *L. amazonensis* e *L. chagasi*.

1.6. Parte Experimental

Métodos Gerais

As medidas das faixas de fusão apresentadas neste trabalho foram obtidas em aparelho digital MQAPF-Microquímica no Departamento de Química, ICE, UFJF.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram registrados em espectrômetro BOMEM-FTIR MB-102, no Departamento de Química, ICE, UFJF.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (300MHz) de hidrogênio, carbono 13, mapas de contorno COSY, foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE, no Departamento de Química, ICE, UFJF.

Os espectros de massas foram obtidos com um “LCT Micromass spectrometer”, no Institut de Chimie de Substances Naturelles de Gif Sur Yvette/ França.

Para a cromatografia em coluna de sílica utilizou-se sílica-gel 60G 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTIM) MERCK.

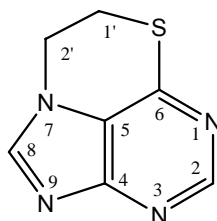
Para a cromatografia em camada fina de sílica utilizou-se sílica-gel 60G MERCK, em lâminas de vidro.

Nos procedimentos de purificação, por extração ou coluna cromatográfica, foram utilizados solventes P.A. VETEC.

Como reveladores para cromatografia em camada delgada foram utilizados solução etanólica de ácido sulfúrico a 20% v/v e lâmpada ultravioleta.

1.6.1. Síntese e caracterização do 7,8-diidro-(1,4)tiazino(3,2,4-hi)purina 1

Em um balão de 50mL foram transferidos 1,0 g (6,57 mmol) de 6-MP em presença de 0,31 g (12,92 mmol) de NaH em EtOH (6 mL) para a formação do sal sódico de 6-mercaptapurina, após 1h adicionaram-se 2,0 mL (21,00 mmol) de 1,2-dicloroetano e deixou-se em agitação constante a 80°C por 72 horas quando foi constatado por CCDS o consumo do material de partida, com formação de um composto de maior polaridade. Após eliminação do solvente no rotaevaporador fez-se a purificação do resíduo através de coluna cromatográfica de sílica (CCS) usando como eluente uma mistura gradiente de MeOH/CH₂Cl₂ 1:9 resultando na obtenção de 0,82 g (4,60 mmol) do composto 1 com rendimento de 70%.



FM= C₇H₆N₄S

MM= 178,21 g/mol

Característica física= sólido branco

Ponto de fusão: 190°C

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂ 1:1) Revelador= U.V.

IV (KBr) (cm⁻¹): 3083 (estiramento C-H aromático), 2980 (estiramento C-H alifático), 1609 (estiramento C=C e C-N).

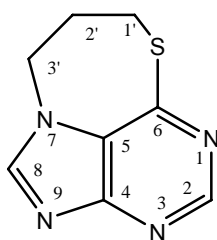
RMN ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 8,86 (1H, s, H-2); 8,38 (1H, s, H-8); 5,07 (2H, t, J_{2'-1'}= 6,0, H-2'); 3,90 (2H, t, H-1').

RMN ¹³C (75 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 162,1 (C-2); 153,5 (C-8); 143,1 (C-4); 130,8 (C-6); 57,2 (C-2'); 31,9 (C-1').

ESI-MS (TOF), m/z: calculado [M+H]⁺ 179,0313 m/z; experimental [M+H]⁺ 179,0379 m/z; [M+Na]⁺ calculado 201,0210 m/z, experimental 201,0209 m/z.

1.6.2. Síntese e caracterização do 8,9-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-hi)purina 2

Uma solução de sal sódico de 6-MP (0,115 g, 0,66mmol), preparada como mostrado anteriormente, foi transferida para um balão contendo uma solução de 0,35 mL (3,30 mmol) de 1-bromo-3-cloropropano em DMF (5mL). A mistura reagente foi mantida sob agitação constante por 48h à temperatura ambiente quando foi constatado por CCDS (MeOH/CH₂Cl₂, 5:5) o consumo do material de partida, com formação de um composto de maior polaridade (Rf= 0,4) Após eliminação do solvente no rotaevaporador fez-se purificação do resíduo através de coluna cromatográfica de sílica (CCS) usando como eluente uma mistura gradiente de MeOH/CH₂Cl₂ 1:9 resultando na obtenção de 0,89 g (4,63 mmol) do composto 2 com rendimento de 70%.



FM= C₈H₈N₄S

MM= 192,24 g/mol

Característica física= sólido branco

Ponto de Fusão: 215°C

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂ 1:1) Revelador= U.V.

IV (KBr) (cm⁻¹): 3083 (estiramento C-H aromático), 2995 (estiramento C-H alifático), 1606 (estiramento C=C e C-N).

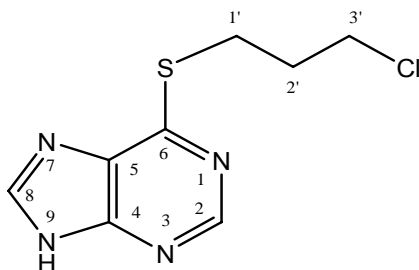
RMN ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 8,29 (1H, s, H-2); 8,11 (1H, s, H-8); 4,35 (2H, t, J_{3'-2'}= 7,9 Hz, H-3'); 3,28 (2H, t, J_{1'-2'}= 6,0 Hz, H-1'); 2,40 (2H, m, H-2').

RMN ¹³C (75 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 157,7 (C-2); 154,3 (C-4); 147,4 (C-5); 14,0 (C-8); 128,7 (C-6); 49,0 (C-3'); 24,4 (C-1'); 19,5 (C-2').

ESI-MS (TOF), m/z: um pico referente à: calculado [M+H]⁺ 193,05 m/z; experimental [M+H]⁺ 193,1 m/z; [M+Na]⁺ calculado 215,05 m/z, experimental 215,1 m/z.

1.6.3. Síntese e caracterização do 6-(3'-cloropropiltio)purina 3

O 1-bromo-3-cloropropano (3,3 mL; 33,00 mmol) dissolvido em EtOH foi adicionado lentamente à 0°C a uma solução de sal sódico de 6-MP, gerada pela reação de 6-MP (1,0 g, 6,57 mmol) com NaH (0,31 g, 12,92 mmol) em EtOH (20mL) à t.a. por 1h. A mistura reagente foi deixada em agitação a 0°C por 48 horas. Através de CCDS, verificou-se a formação de um produto mais apolar. Após remoção do solvente em rotaevaporador sob pressão reduzida prosseguiu-se com purificação através de CCS usando uma mistura em escala gradiente de polaridade de Hex/AcOEt (6:4). Foram obtidos 1,0 g (4,37 mmol) do composto desejado (rendimento de 67%).



FM= C₈H₉ClN₄S

MM= 228,7 g/mol

Característica física= sólido branco

Ponto de Fusão: 200°C

Rf= 0,6 (AcOEt/Hexano 7:3) Revelador= U.V.

IV (KBr) (cm⁻¹): 3472 (estiramento de amina aromática), 3080 (estiramento C-H aromático), 2975 (estiramento C-H alifático), 1606 (estiramento C=C e C-N), 570 (estiramento C-Cl).

RMN ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 8,68 (1H, s, H-2 purina); 8,42 (1H, H-8 purina); 3,74 (2H, t, J_{2',3'}= 6Hz, H-3'); 3,44 (2H, t, J_{1',2'}= 7Hz, H-1'), 2,15 (2H, t, H-2').

RMN ¹³C (75 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 161,0 (C-2); 144,0 (C-8); 146,9 (C-6); 50,0 (C-3'), 26,0 (C-1'), 20,0 (C-2').

ESI-MS (TOF), m/z: calculado [M+H]⁺ 229,0 m/z; experimental [M+H]⁺ 229,0 m/z.

Caracterização do composto Hidrocloreto 7,8-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-hi)purina (4b):

FM= C₈H₉CIN₄S

MM= 228,75 g/mol

Característica física= sólido branco

Ponto de Fusão: 285°C

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂, 1:1) Revelador= U.V.

IV (KBr) (cm⁻¹): 3415 (estiramento de N-H de amina), 3082 (estiramento C-H aromático), 2926 (estiramento C-H alifático), 1606 (estiramento C=C e C-N).

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 8,90 (1H, s, H-2); 8,63 (1H, s, H-8); 4,68 (2H, t, J_{3'2}= 6,0 Hz, H-3'); 3,52 (2H, t, J_{1'2}= 6,0 Hz, H-1'); 2,56 (2H, m, H-2').

RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O) δ (ppm): 146,4 (C-2); 145,8 (C-8); 48,6 (C-3'). 23,8 (C-1'), 17,7 (C-2').

Caracterização do composto Hidrohaletos 7,8-diidro-(1,4)Tiazepino (3,2,4-hi)purina (4c):

FM= C₈H₉BrN₄S

MM= 273,25 g/mol

Característica física= sólido branco

Ponto de Fusão: 296°C

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂, 1:1) Revelador= U.V.

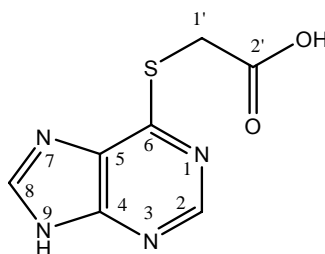
IV (KBr) (cm⁻¹): 3417 (estiramento de N-H de amina), 3078 (estiramento C-H aromático), 2925 (estiramento C-H alifático), 1616 (estiramento C=C e C-N).

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 8,98 (1H, s, H-2); 8,70 (1H, s, H-8); 4,76 (2H, t, J_{3'2}= 6,0 Hz, H-3'); 3,60 (2H, t, J_{1'2}= 6,0 Hz, H-1'); 2,64 (2H, m, H-2').

RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O) δ (ppm): 146,8 (C-2); 145,3 (C-8); 48,9 (C-3'). 24,0 (C-1'), 17,8 (C-2').

1.6.5. Síntese do 6-Carboximetiltiopurina (6-CMMP)

Em um balão de 50 mL, após prévia formação de 0,34 g (1,95 mmol) do sal sódico de 6-MP como descrito anteriormente prosseguiu-se com a adição de 0,19 g (2,0 mmol) de ácido cloroacético em DMF. A mistura reagente foi mantida em agitação constante a temperatura ambiente por 72 horas. Através de CCDS, verificou-se a formação de um produto mais apolar. O solvente foi retirado através do rotaevaporador e o sólido formado foi cristalizado em acetona levando assim à obtenção de 0,37 g (1,76 mmol) do composto **5** (6-CMMP) com 90% de rendimento.



FM= C₇H₆N₄O₂S

MM= 210,21 g/mol

Característica física= cristal

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂) Revelador= U.V.

Ponto de Fusão: 286°C

IV (KBr) (cm⁻¹): 3334 (estiramento de O-H), 3096 (estiramento C-H aromático), 2980 (estiramento C-H alifático), 1629 (estiramento C=O), 1437 (estiramento C=C, C-N e C-O).

RMN de ¹H (300 MHz, D₂O) δ (ppm), J (Hz): 8,55 (1H, s, H-2); 8,31 (1H, s, H-8); 3,98 (2H, s, CH₂COOH).

RMN de ¹³C (75 MHz, D₂O) δ (ppm): 154 (C-2); 146 (C-8); 37(CH₂COOH).

ESI-MS (TOF), m/z: 209 [M-1]; 165 [M-45]; 150 [M-65].

1.7. Referências Bibliográficas

- (1) Rath, S.; Trivelin, L.; Imbrunito, T. R.; Tomazela, D. M.; Jesus, M. N.; Marzal, P. C.; *Quím. Nova*, **2003**, 26(4), 550-555.
- (2) Altamiro-Enciso, A. J.; Marzochi, M. C. A.; Moreira, J. S.; Schubach, A. O.; Marzochi, K. B. F.; *História, Ciências, Saúde_ Manguinhos*, RJ, Sobre a Origem e Dispersão das Leishmanioses, **2003**, 10, 853-882.
- (3) www.vet.uga.edu/vpp/brazil/leishmania (acessado em 15/11/08)
- (4) www.saude.saude.gov.br/saude/saudeleishmania (acessado em 24/09/08)
- (5) Singh, S.; Sivakumar, R.; *J. Inf. Chemot.*, **2004**, 10, 307-315.
- (6) Braga, F. G.; Coimbra, E. S.; Matos, M. De O.; Carmo, A. M. L.; Cândia, M. D.; Da Silva, A. D.; *Eur. J. Med. Chem.*, **2007**, 42, 530-537.
- (7) Sanyal, R.; Chang K. P.; Bray, R. S.; *Leish.*, Elsevier, **1985**, 443-467.
- (8) Sundar, S.; Rai, M.; *Curr. Infect. Dis.*, **2002**, 15, 593-598.
- (9) Paredes, R.; Muñoz, J.; Diaz, I.; Domingo, P.; Gurgui, M.; Clotet, B.; *J. Post. Med.*, **2003**, 49, 39-49.
- (10) Berman, J. D.; *Ver. Infect. Dis.*, **1988**, 10, 560.
- (11) Singh, S.; Chaudhary, V. P.; Wali, J. P.; *Transfusion*, **1996**, 36, 848-849.
- (12) Junior, G. G.; Tesh, R. B.; *Clin. Microb.*, **1993**, 6, 230-250.
- (13) www.medicinaealimentação.com (acessado em 18/10/08)

(14) Landfear, S. M.; Ullman, B.; Carter, N. S.; Sanchez, M. A.; *Eucariot. Cell*, **2004**, 3, 245-254.

(15) Calne, R. Y.; *Transpl. Bull*, **1961**, 28, 65-81.

(16) Johnston, T. P.; Holum, L. B.; Montgomery, J. A.; Synth. of Potential. Anticancer Ag., XVI; **1958**, 30, 6265-6271.

(17) Carmo, A. M. L.; Braga, F.G.; De Paula, M. L.; Ferreira, A. P.; Teixeira, H. C.; Da Silva, A. D.; Coimbra, E. S., *Let. Drug Des. Disc.*, **2008**, 5, 122-126.

(18) De Paula, M. L.; Braga, F. G.; Coimbra, E. S.; Carmo, A. M. L.; Teixeira, H. C.; Da Silva, A. D.; Souza, M. A.; Ferreira, A. P.; *Chem. Biol. Drug. Des.*; **2008**, 71, 563-567.

Capítulo 2

Resumo do Capítulo 2

Este capítulo descreve as sínteses de derivados 4-aminoquinolínicos usando 4,7-dicloroquinolina (4,7-DC) e as diaminas etilenodiamina (**1**), propanodiamina (**2**), butanodiamina (**3**) e hexanodiamina (**4**).

Os derivados 4-aminoquinolínicos são em seguida submetidos a reação com brometo de propargila para obtenção de derivados possuindo grupos alcinos terminais (compostos **6**, **7** e **8**).

Descreve-se também a síntese do composto **5** decorrente do acoplamento entre 4,7-DC e propargilamina. Compostos antimaláricos que sejam melhores transportados pelo organismo com menor toxicidade são de grande interesse, por isso realizou-se a conjugação entre o derivado quinolínico **5** e ácido cólico mediante reação do tipo “click chemistry”.

Os resultados dos testes biológicos dos compostos sintetizados estão sendo realizados.

2.1. Introdução

A malária é a principal parasitose de áreas tropicais e subtropicais o que implica que cerca de 40% da população mundial vive em áreas de risco. O maior foco de transmissão é a África Sub-Sahariana onde ocorrem 90% dos casos no mundo. Sendo endêmica em 53 países na África (incluindo oito países ao sul), em 21 países nas Américas, quatro países na Europa e 14 na região leste do Mediterrâneo, e sudeste Asiático. É também uma das mais frequentes causas de morte em crianças nessas áreas.¹⁻⁴

A transmissão se deve pela picada das fêmeas do mosquito *Anopheles*, que se contaminam com o plasmódio causador da doença ao picar os portadores, tornando-se assim o principal vetor de transmissão desta para outras pessoas.⁵



Figura 1. Foto do mosquito *Anopheles*, vetor transmissor da malária.

Trata-se de uma doença infecciosa aguda ou crônica causada por protozoários parasitas do gênero *Plasmodium*. São quatro espécies de *Plasmodium* que afetam os seres humanos: *Plasmodium falciparum*,

Plasmodium vivax, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium ovale*. Destes, o *Plasmodium falciparum* é o mais nocivo, responsável por cerca de 500 milhões de casos anualmente com um número de mortes entre 1,5 a 2 milhões.^{1,4,6}

Na corrente sanguínea, os plasmódios chegam ao fígado, onde se multiplicam e ao romper a célula hepática têm acesso ao sangue onde atacam os eritrócitos, causando anemia intensa e, em alguns casos, a morte.^{7,8}

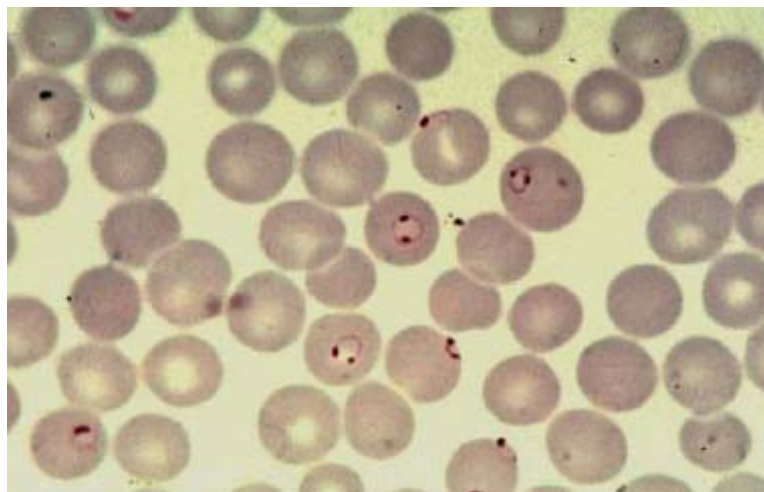


Figura 2. Eritrócitos parasitados com *P. falciparum*.

Como os plasmódios ficam presentes na circulação sanguínea durante a infecção, a transmissão da malária também pode ocorrer de forma induzida a partir de transfusões de sangue, de transplantes de órgãos, da utilização compartilhada de seringas por usuários de drogas endovenosas ou da gestante para o filho.⁷

Progressão e Sintomas

Manifestações clínicas da doença caracterizam-se inicialmente por sintomas como dores de cabeça, fadiga, febre, calafrios, prostração e anemia que coincidem com a destruição maciça de hemácias e com a descarga de substâncias imunogênicas tóxicas na corrente sanguínea ao fim de cada ciclo reprodutivo do parasita. Estas crises são seguidas de tremores e febre de 41°C, terminando em vermelhidão da pele e suores abundantes.⁸

Os casos mais severos da doença incluem delírio, acidoses metabólicas, malária cerebral e falência múltipla dos órgãos podendo seguir por coma e morte.²

Tratamento

Os medicamentos antimaláricos são usados principalmente para controlar a doença e também podem ser usados para preveni-la no caso de alguns grupos de alto risco, tais como mulheres grávidas, portadores de anemia das células falciformes e os visitantes em regiões endêmicas que não possuem nenhuma imunidade natural. Os serviços de saúde precisam considerar os riscos e os benefícios oferecidos pelos medicamentos, assim como o custo e a facilidade com que são obtidos e receitados.⁹

No século XVII observou-se que o extrato de uma planta originária dos Andes, a *Cinchona* (Figura 3), era usado por nativos para o tratamento da malária, e logo o seu uso se espalhou pela Europa.



Figura 3. *Cinchona*.

Porém, só em 1820 que seus princípios ativos foram isolados, a Quinidina e principalmente a Quinina (Figura 4). No entanto, a maioria dos parasitas já são resistentes à suas ações.

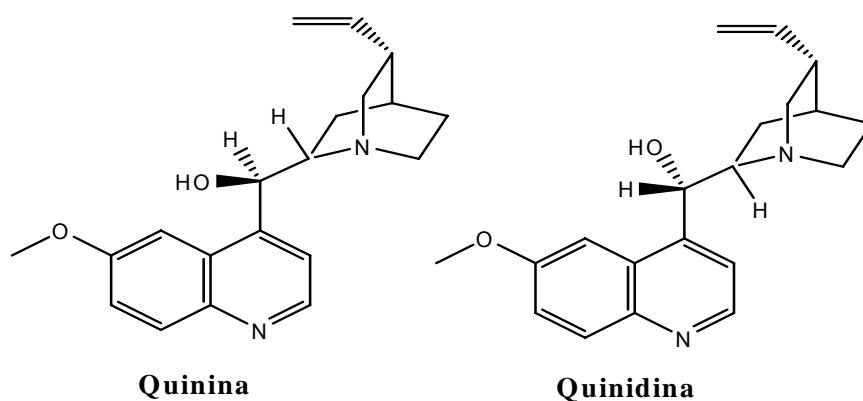


Figura 4. Estrutura dos compostos antimaláricos isolados da Cinchona.

A quinina ou seu isômero quinidina, foi suplantada por drogas sintéticas mais eficientes, como compostos derivados de quinolina, pamaquina, mepacrina e cloroquina (Figura 4), principalmente este último. Estes foram por muito tempo bem aceitos para o tratamento da malária.

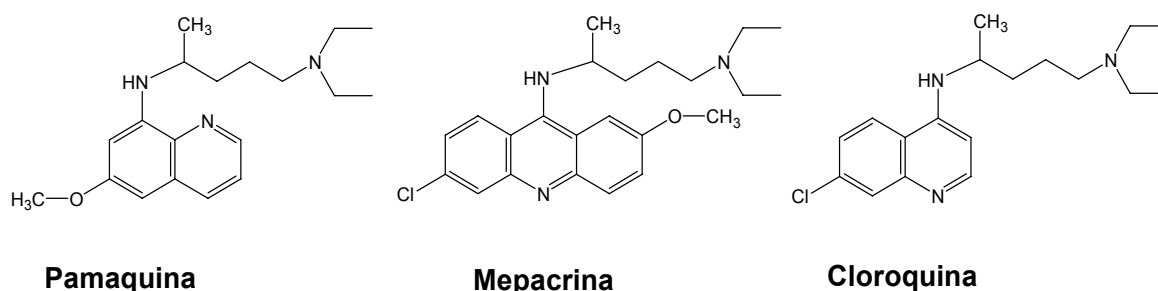


Figura 5. Estruturas de alguns agentes antimaláricos.

Devido ao surgimento de plasmódios resistentes às drogas existentes, principalmente os da espécie *P. falciparum*, agravou-se o estado da malária e atualmente é a doença infecciosa mais disseminada do mundo, tornando-se necessário o desenvolvimento de fármacos mais eficazes para o tratamento da mesma.^{1,4,10}

Estratégia Terapêutica

Recentes abordagens mostram que para superar a resistência dos plasmódios aos medicamentos usados, a combinação de terapias vem sendo

uma alternativa atrativa.^{11,12} Por exemplo pode-se destacar a combinação entre derivados quinolínicos e o astemizol (Figura 6), ambos com ação antiparasitária. O composto obtido através de tal combinação vem apresentando resultados mais interessantes em comparação com a cloroquina.¹¹

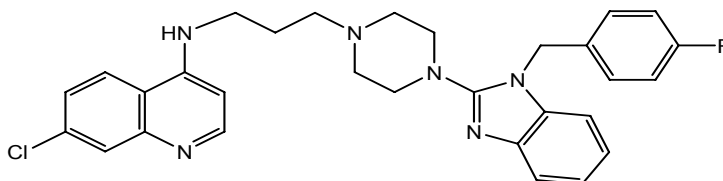


Figura 6. Estrutura química do conjugado astemizol/derivado quinolínico.

Há também estudos feitos com a combinação entre derivados quinolínicos (antiparasitário) e o 2,3-dioxoindol (Figura 7) que apresenta propriedades antifúngica, antibacteriana, anti-HIV e antimicrobiana. Estes compostos baseados na estratégia multi-terapêutica vem apresentando importantes resultados contra plasmódios.¹²

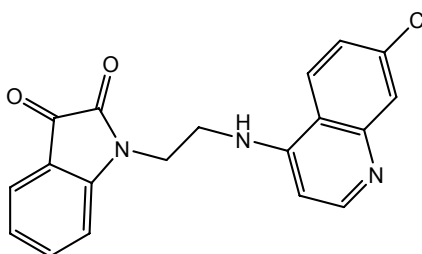


Figura 7. Estrutura química do conjugado 2,3-dioxoindol/ derivado quinolínico.

Importância dos compostos

É necessário também destacar a importância dos compostos heterocíclicos no que se refere ao uso em medicamentos. Dentre os sistemas heterocíclicos mais estudados encontram-se os triazóis, que têm despertado muito interesse pelo fato de possuírem um vasto campo de aplicações, que vão desde seu uso como explosivos, até como agroquímicos e fármacos. Muitos

destes derivados triazólicos são fármacos mundialmente consumidos que apresentam atividades farmacológicas diversificadas, tais como antiviral (ribavirina) e antifúngica (fluconazol)¹³ (Figura 8).

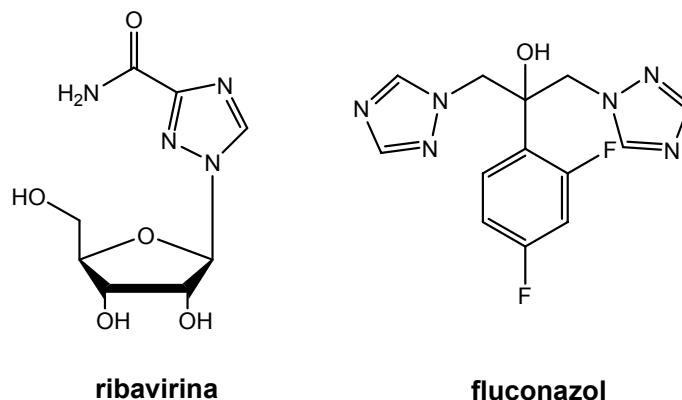


Figura 8. Exemplos de derivados triazólicos farmacologicamente ativos.

O interesse em derivados 1,2,3-triazólicos pela área farmacológica deve-se ao fato destes compostos serem bioisómeros dos anéis heterocíclicos imidazólicos encontrados em substâncias com atividades farmacológicas diversas, como antifúngica, antidepressiva, antiviral, antitumoral e anti-hipertensiva.¹³

Estudos visando a síntese de novos derivados 1,2,3-triazólicos estão em evolução, bem como a avaliação das potenciais aplicações farmacológicas dos novos compostos desta classe. Os 1,2,3-triazóis são de grande importância, por sua atividade biológica diversificada, destacando-se como potenciais fármacos de alta eficácia contra doenças de impacto social crescente, como AIDS, câncer e mal de Alzheimer e Parkinson.¹³

Cabe ainda destacar a atividade inibitória de esteróides ligados a 1,2,3-triazóis (Figura 9) em cultura de células humanas de câncer de próstata.

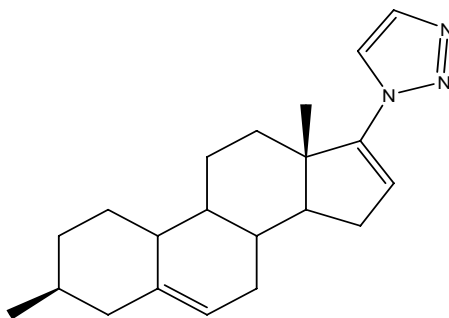


Figura 9. Estrutura de 1,2,3-triazol esteroidal usado para câncer de próstata.

Sabe-se que alguns derivados esteroidais apresentam importantes atividades antibacteriana, anti-cancerígena, anti-HIV, anti-parasitária, etc. Esteróides como colesterol, lanosterol, ácidos cólico e desoxicólico (Figura 10) vêm atuando como importantes carreadores e transportadores de fármacos, como anfotericina-B e fluconazol, resultando na diminuição da toxicidade e aumento da eficácia terapêutica.¹⁴⁻¹⁷

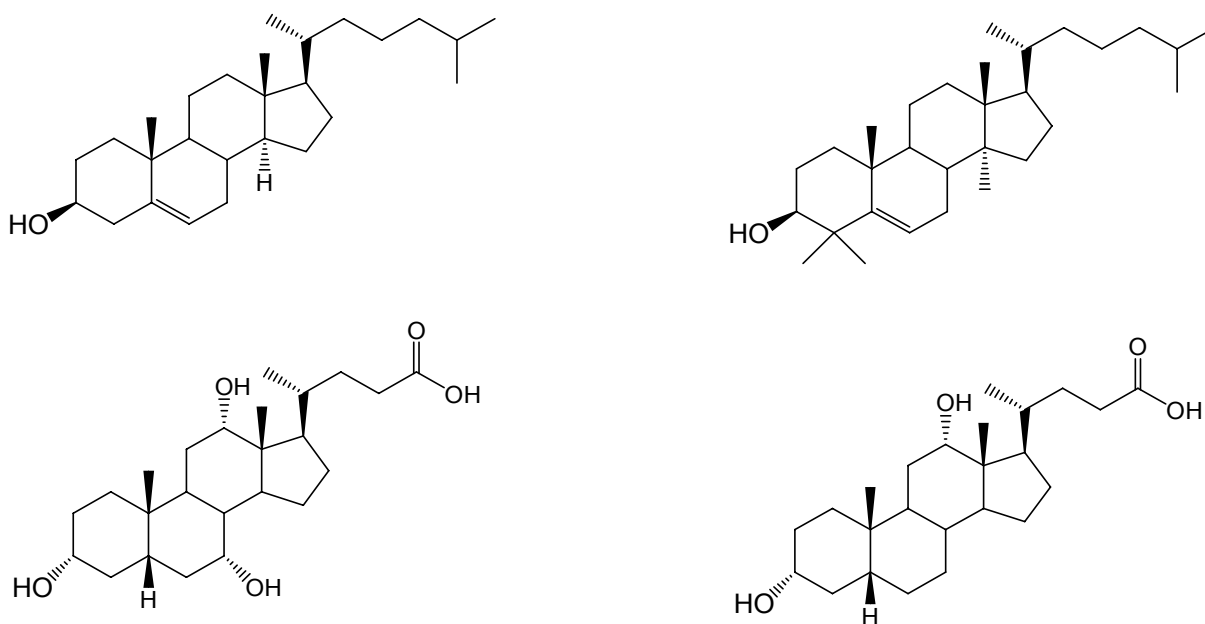


Figura 10. Estruturas químicas de alguns esteróides.

2.2. Justificativas

Baseando-se na grande importância dos derivados quinolínicos para o tratamento de doenças parasitárias como a malária^{3,4,6} e levando-se em consideração o surgimento de plasmódios resistentes às drogas atuais, propõe-se a síntese de novos derivados quinolínicos com o intuito de criar novos fármacos mais potentes em que não haja resistência pelo parasito.

Além disso, levando-se em consideração a importância dos derivados 1,2,3-triazólicos e dos derivados esteroidais, propôs-se neste trabalho, a combinação de terapias entre derivados quinolínicos, triazólicos e esteroidais como o ácido cólico. Para tal, propõe-se a síntese de derivados de quinolina com o ácido cólico unidos por 1,2,3-triazol através de uma reação do tipo “click chemistry.”^{19,20,21} Este tipo de reação foi introduzido por K. Barry Sharpless em 2001 e tem sido de grande aceitação.^{20,21} A reação envolve uma cicloadição 1,3-dipolar entre grupos alcinos e azidas terminais formando 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos (Figura 11).^{16,17,18}

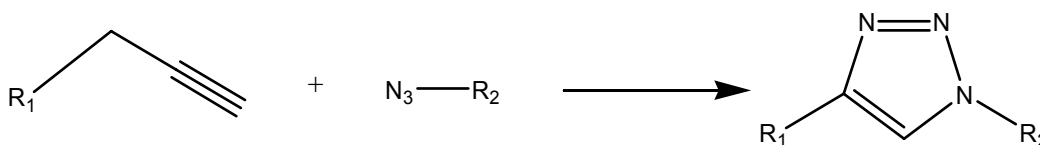


Figura 11. Esquema de obtenção do 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído.

A “click chemistry” é um tipo de reação que apresenta várias vantagens como fácil purificação, apresentar rendimentos altos, gerar subprodutos

inofensivos, condições de reação simples, é estereoespecífica, proporciona economia de átomos e gera compostos estáveis.

A síntese de um novo fármaco que seja melhor transportado pelo organismo e que tenha toxicidade reduzida é de grande interesse, e a combinação de terapias através da conjugação de compostos de importância biológica tem se mostrado uma boa estratégia para o desenvolvimento de novos fármacos, justificando assim o presente trabalho.

2.3. Objetivos

Primeiramente propôs-se obter derivados de quinolina a partir da 4,7-dicloroquinolina acoplados com aminas e diaminas e avaliar suas propriedades terapêuticas no tratamento de parasitoses como malária e leishmaniose (Figura 12).

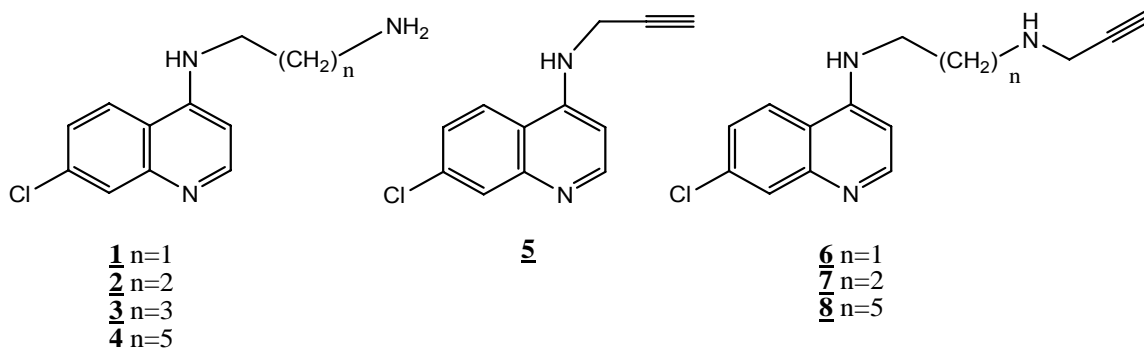


Figura 12. Derivados quinolínicos.

Posteriormente propôs-se obter um derivado de quinolina acoplado com ácido cólico (composto **12**) visando uma reação de cicloadição do tipo “click chemistry” (Figura 13).

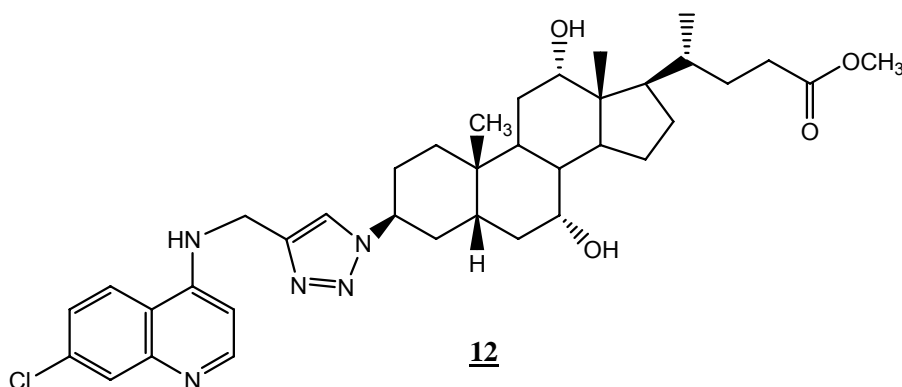


Figura 13. Conjugado 4-aminoquinolina/derivado de ácido cólico.

2.4. Resultados e Discussões

2.4.1. Síntese e caracterização dos *N*-(7-cloroquinolin-4-il)-diaminoalcano (1-4)

Uma mistura de 4,7-dicloroquinolina com o diaminoalcano correspondente (etanodiamina, propanodiamina, butanodiamina e hexanodiamina) foi deixada em aquecimento à 80°C por 1 hora em agitação e, posteriormente, elevou-se a temperatura para 110°C por 3 horas até que se completasse a reação.

Em seguida, após a mistura reagente esfriar, adicionou-se diclorometano. A fase orgânica foi lavada sucessivas vezes com solução aquosa de NaOH (5%) e finalmente com uma solução aquosa de NaCl. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida e os compostos foram obtidos com rendimentos em torno de 80%. Todos foram caracterizados através de ponto de fusão, IV, RMN de ¹H e RMN de ¹³C. Os dados obtidos estão de acordo com a literatura.^{3, 4, 16}

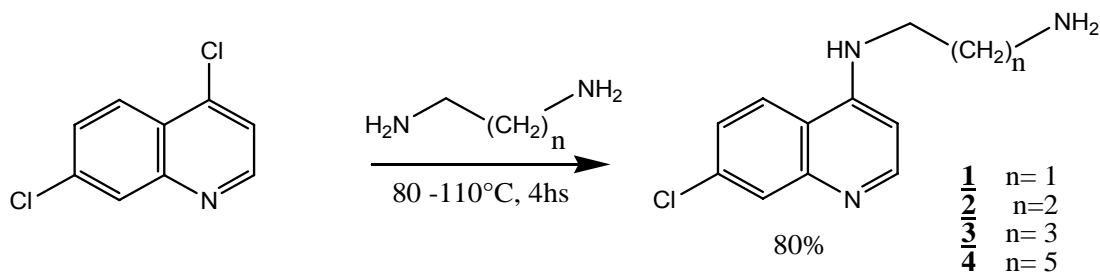


Figura 14. Esquema de reação do *N*-(7-cloroquinolin-4-il) diaminoalcano 1-4.

Caracterização do *N*-(7-cloroquinolin-4-il)-etanodiamina (1)

Ponto de Fusão: 141°C

No espectro de infravermelho (Figura 15) observou-se a presença das bandas em 3356 e 3251 cm⁻¹ características de estiramento de N-H de amina, em 3053 e 2931 cm⁻¹ tem-se os estiramentos característicos de C-H aromático e alifático, respectivamente, e em 1583 cm⁻¹ há uma banda intensa que pode ser atribuída aos estiramentos das contribuições C-C e C-N.

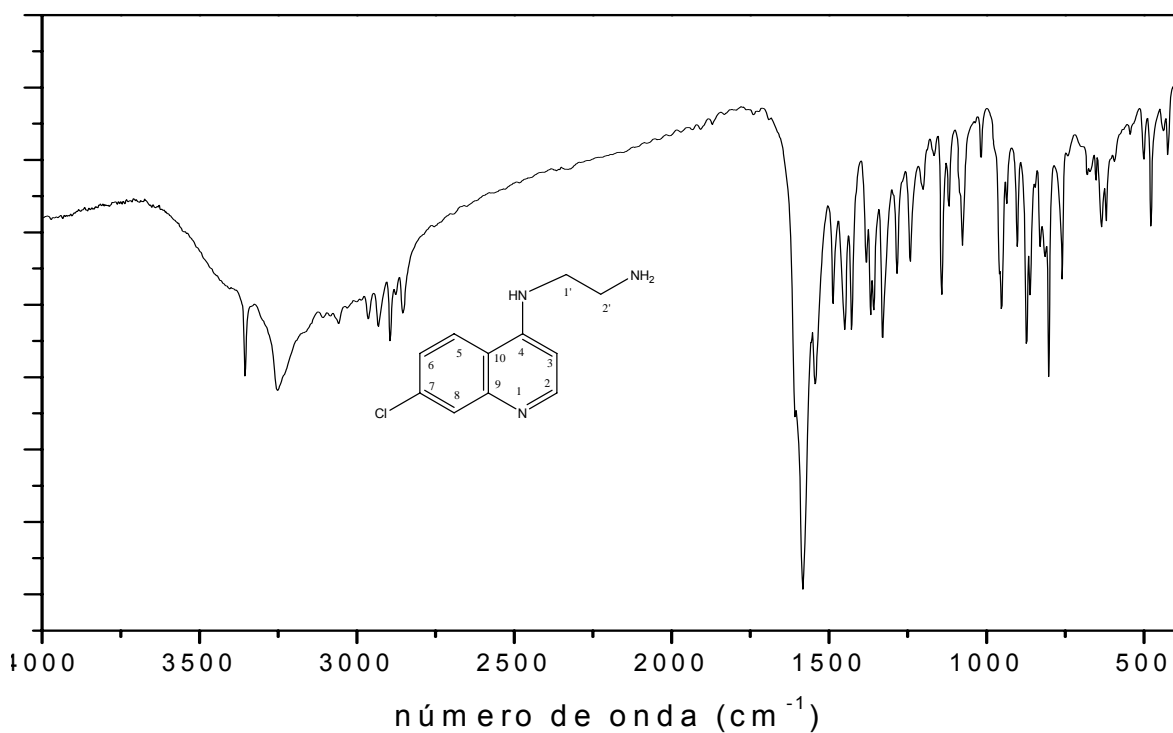


Figura 15. Espectro de IV do composto 1.

No espectro de RMN de ¹H (Figura 16) notou-se, além dos cinco sinais referentes aos hidrogênios da porção aromática da molécula, a presença de dois tripletos em 3,43 e 2,97 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios metilênicos H-1' e H-2', respectivamente.

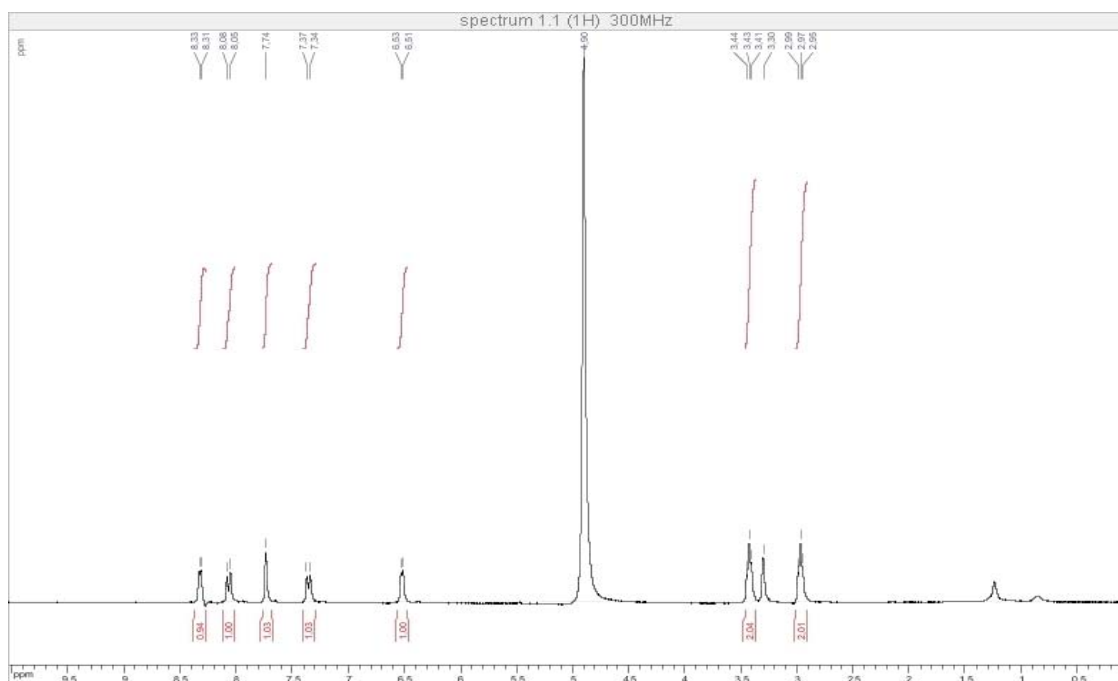


Figura 16. Espectro de RMN de ¹H do composto 1 (CD₃OD, 300MHz)

Por intermédio do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 17) observou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos do anel quinolínico, bem como os dois sinais relacionados aos dois grupos metilênicos em δ 46,1 e 40,8 ppm que correspondem a C-1' e C-2', respectivamente.

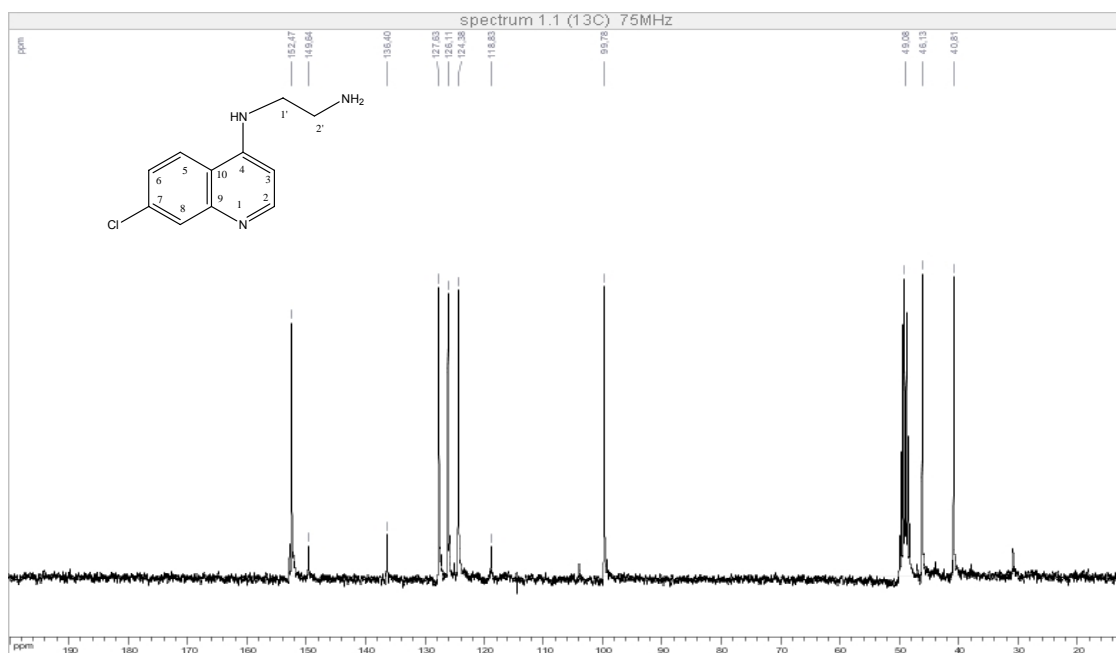


Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **1** (CD_3OD , 75MHz) .

Caracterização do *N*-(7-cloroquinolin-4-il)-propanodiamina (**2**)

Ponto de fusão: 97°C

Pelo espectro de infravermelho (Figura 18) observou-se a presença das bandas em 3352 cm^{-1} (estiramento de amina alifática), 3072 cm^{-1} (estiramento C-H aromático), 2933 cm^{-1} (estiramento C-H alifático) e 1583 cm^{-1} (estiramento C=C e C-N).

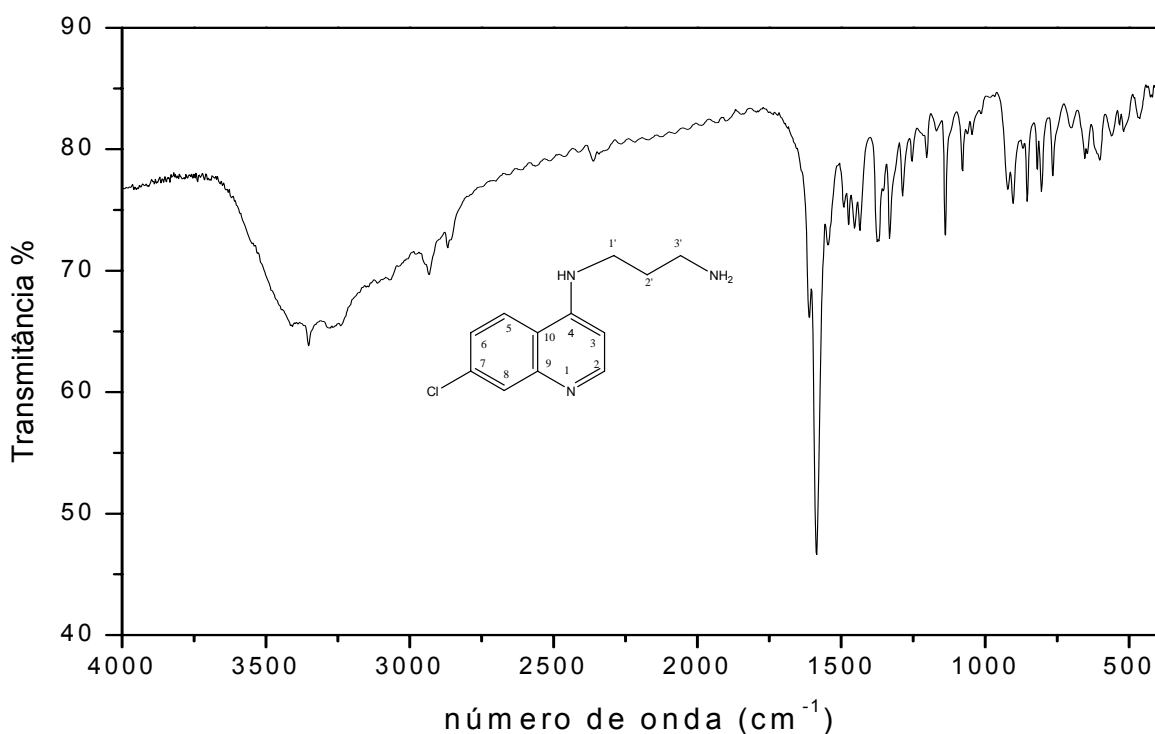


Figura 18. Espectro de IV do composto **2**

De acordo com o espectro de RMN de ¹H (Figura 19) observou-se a presença dos sinais referentes aos hidrogênios do anel quinolínico, bem como os hidrogênios metilênicos da porção alifática da molécula em δ 3,06, 2,68 e em 1,72 ppm que correspondem a H-1', H-3' e H-2', respectivamente.

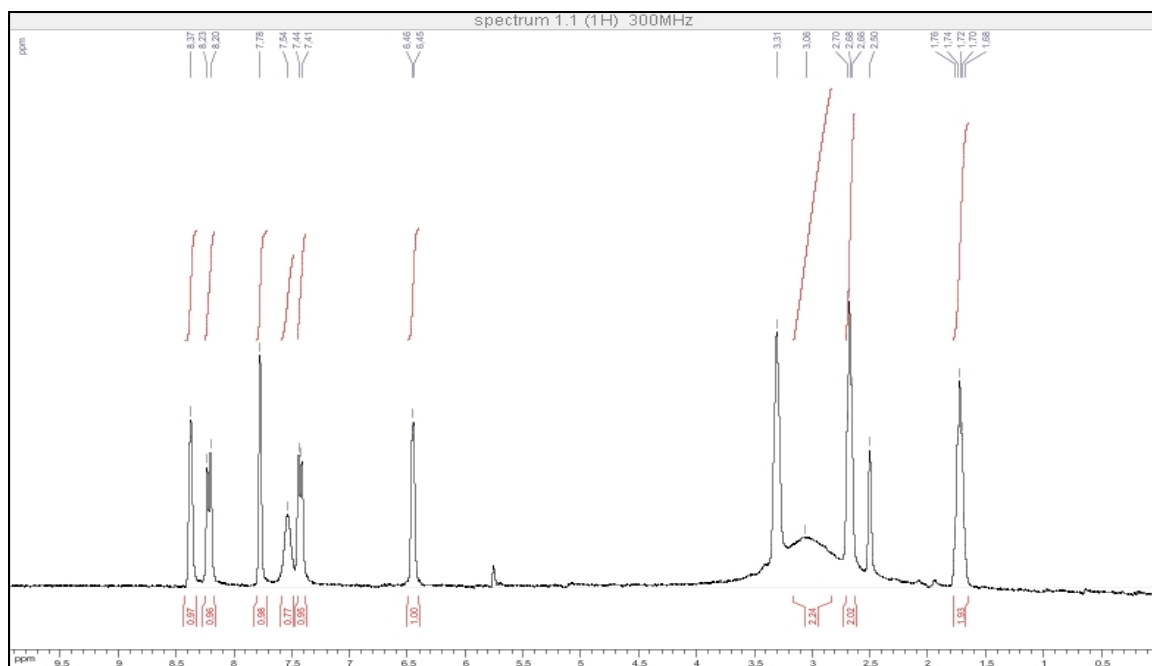


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H do composto **2** (DMSO, 300MHz).

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 20) observou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos do anel quinolínico, bem como os três sinais relacionados aos grupos metilênicos em δ 40,6; 39,5 e 31,2 ppm correspondentes a C-1' e C-3' e C-2', respectivamente.

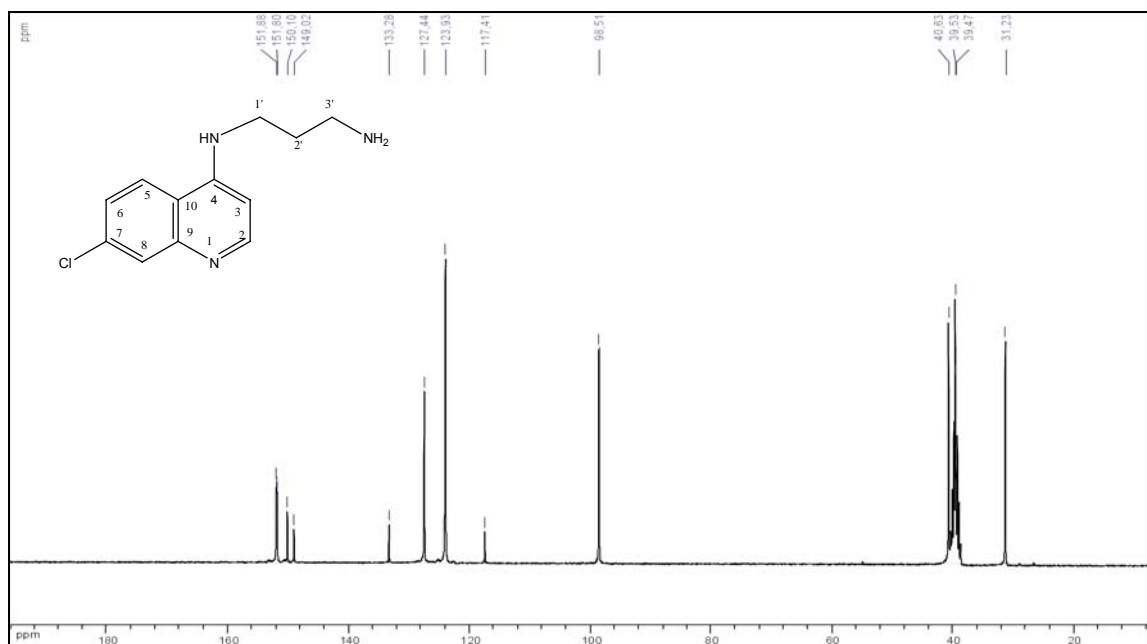


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2 (DMSO, 300MHz)

Caracterização do Composto *N*-(7-cloroquinolin-4-il)-butanodiamina (3)

Ponto de fusão: 123°C

No espectro de infravermelho (Figura 21) observou-se a presença das bandas em 3305 cm^{-1} (estiramento de amina), 3053 cm^{-1} (estiramento C-H aromático), 2929 cm^{-1} (estiramento C-H alifático) 1581 cm^{-1} (estiramento C=C e C-N).

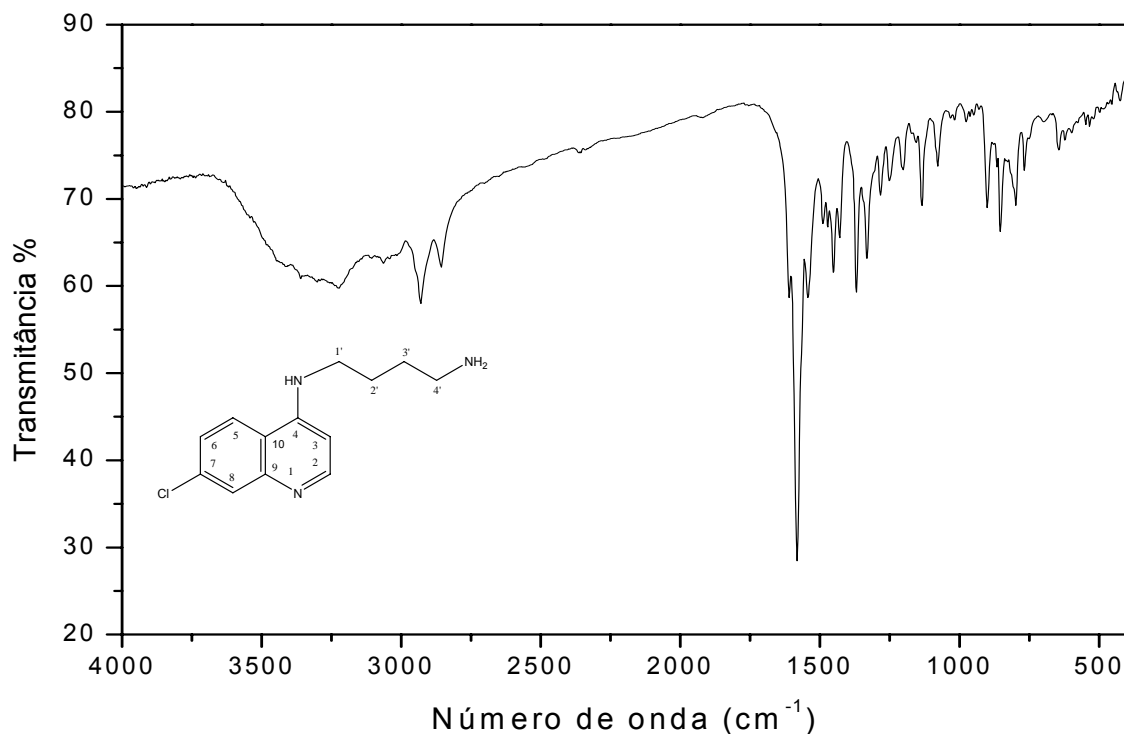


Figura 21. Espectro de IV do composto 3.

O espectro de RMN de ^1H do composto 3 (Figura 22) mostrou a presença dos sinais referentes aos hidrogênios do anel quinolínico além dos quatro sinais característicos dos hidrogênios metilênicos da porção alifática da molécula em δ 2,85; em 2,64; em 1,71 e em δ 1,53 ppm que correspondem a H-1', H-4', H-3' e H-2', respectivamente.

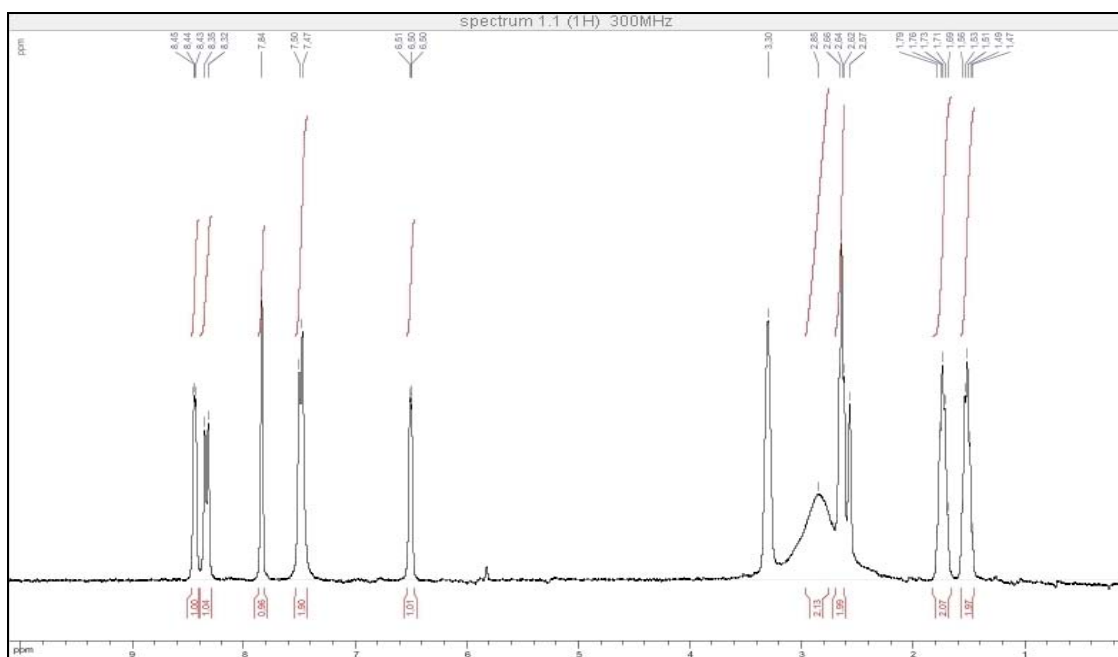


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H do composto 3 (DMSO, 300MHz).

Por intermédio do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 23) observaram-se, além da presença dos sinais referentes aos carbonos do anel quinolínico, os quatro sinais relacionados aos grupos metilênicos em δ 42,4; 41,4; 30,7 e 26,3 ppm que correspondem a C-1', C-4' C-3' e C-2' respectivamente.

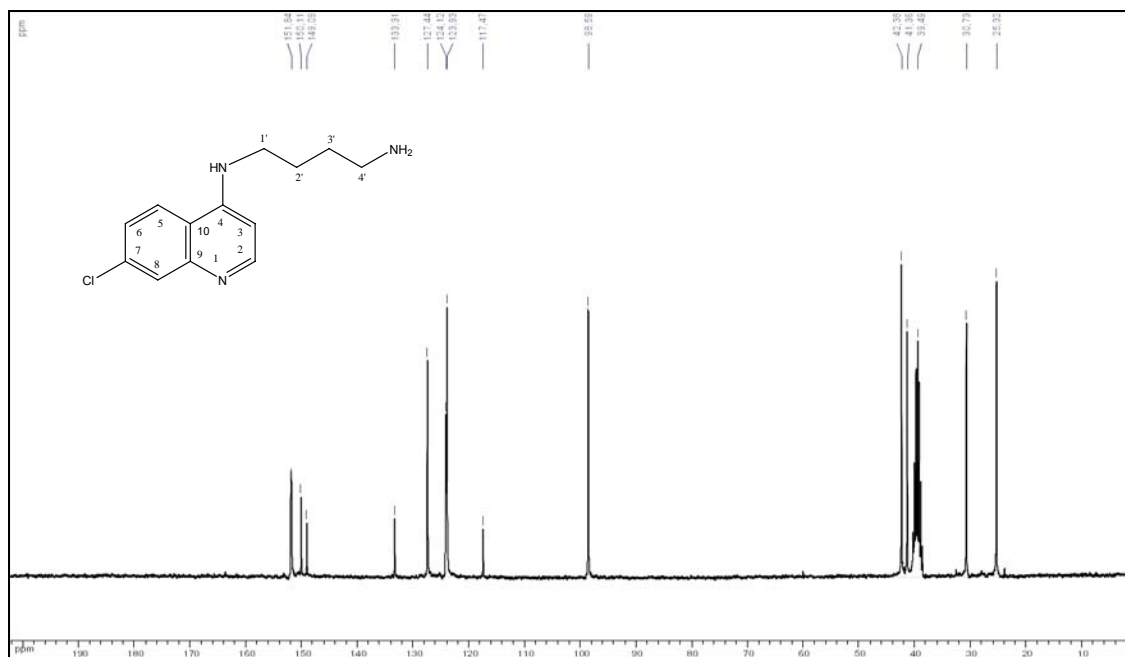


Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **3** (DMSO, 75MHz).

Caracterização do *N*-(7-cloroquinolin-4-il)-hexanodiamina (**4**)

Ponto de fusão: 136°C

No espectro de infravermelho (Figura 24) observou-se a presença das bandas em 3305 cm^{-1} (estiramento de amina), 3080 cm^{-1} (estiramento C-H aromático), 2933 cm^{-1} (estiramento C-H alifático) e 1579 cm^{-1} (estiramento C=C e C-N).

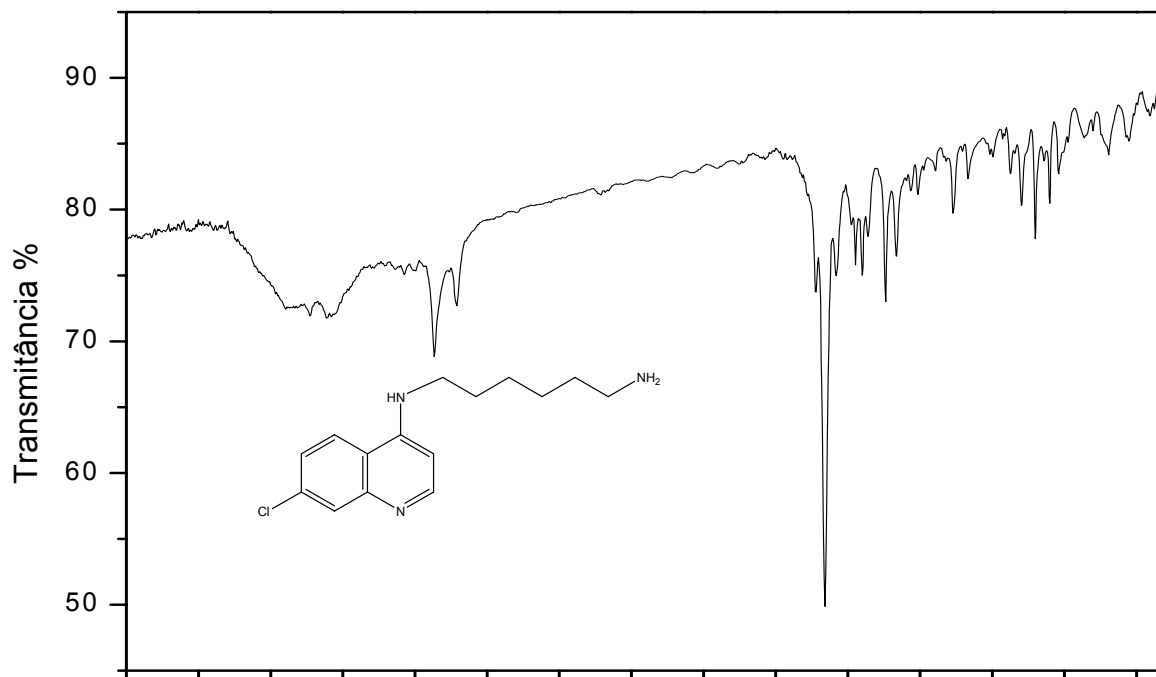


Figura 24. Espectro de IV do composto 4.

No espectro de RMN de ^1H (Figura 25) observou-se a presença dos cinco sinais atribuídos aos hidrogênios do anel quinolínico, bem como em δ 3,25 ppm um multipeto característico dos hidrogênios metilênicos H-1' e H-6'. Em δ 1,65 observou-se o multipeto referente aos hidrogênios do grupo metilênico H-5' e em δ 1,33 ppm tem-se a presença do multipeto que pode ser atribuído aos seis hidrogênios metilênicos H-2', H-3' e H-4'.

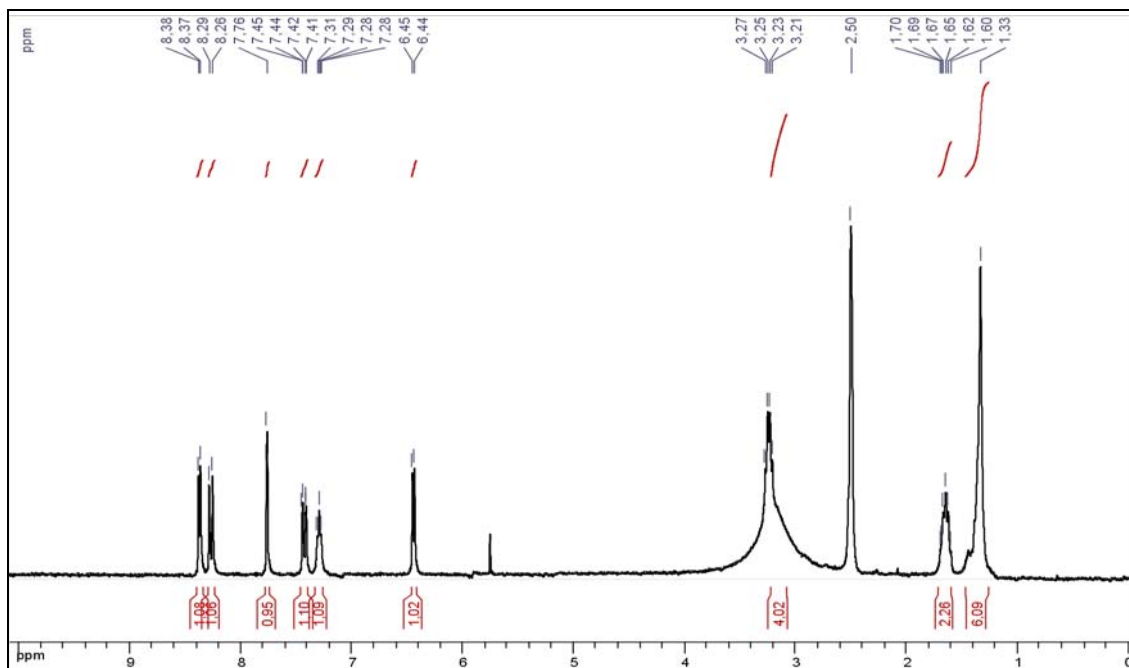


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H do composto **4** (DMSO, 300MHz).

Através do espectro de RMN de ^{13}C (Figura 26) observou-se a presença sinais em δ referentes aos carbonos do anel quinolínico bem como os seis sinais relacionados aos grupos metilênicos em δ 41,8; 41,1; 32,8; 27,3; 26,1 e 25,7 ppm relacionados a C-1', C-6', C-5', C-2', C-3' e C-4', respectivamente.

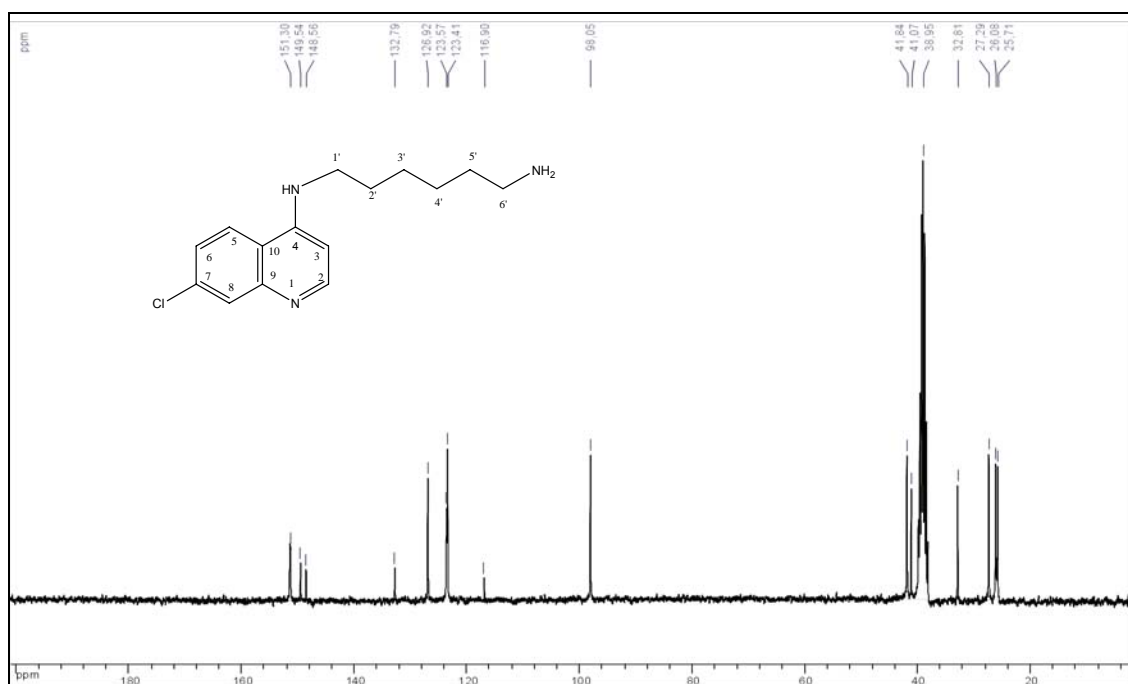


Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **4** (DMSO, 75MHz).

2.4.2. Síntese e caracterização dos alcinos terminais derivados de quinolina (5-9)

Síntese do 4-amino-7-cloro-N-(prop-2-ínil)quinolina **5**

A obtenção do composto **5** deu-se através da reação entre 4,7-dicloroquinolina e propargilamina em DMF (Figura 27). A mistura reagente foi deixada em agitação constante à temperatura ambiente por 48 horas. Após evaporação do solvente no rotaevaporador o produto foi purificado através de CCS usando como eluente um gradiente de polaridade de CH₂Cl₂/MeOH, resultando na obtenção do composto **5** com 70 % de rendimento.

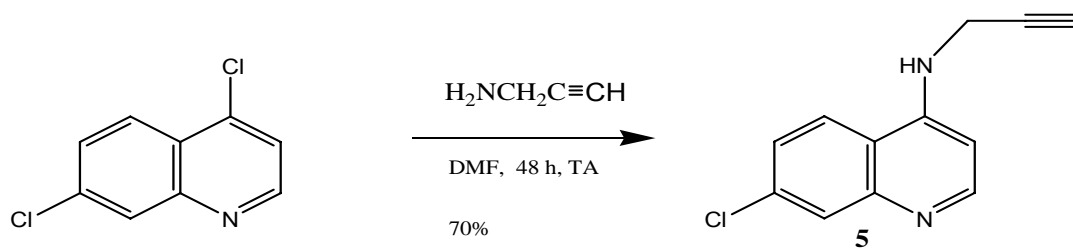


Figura 27. Esquema de síntese do composto **5**.

Ponto de fusão: 230°C

Pelo espectro Raman (Figura 28) foi possível observar, uma banda em 2105 cm⁻¹ (estiramento C≡C).

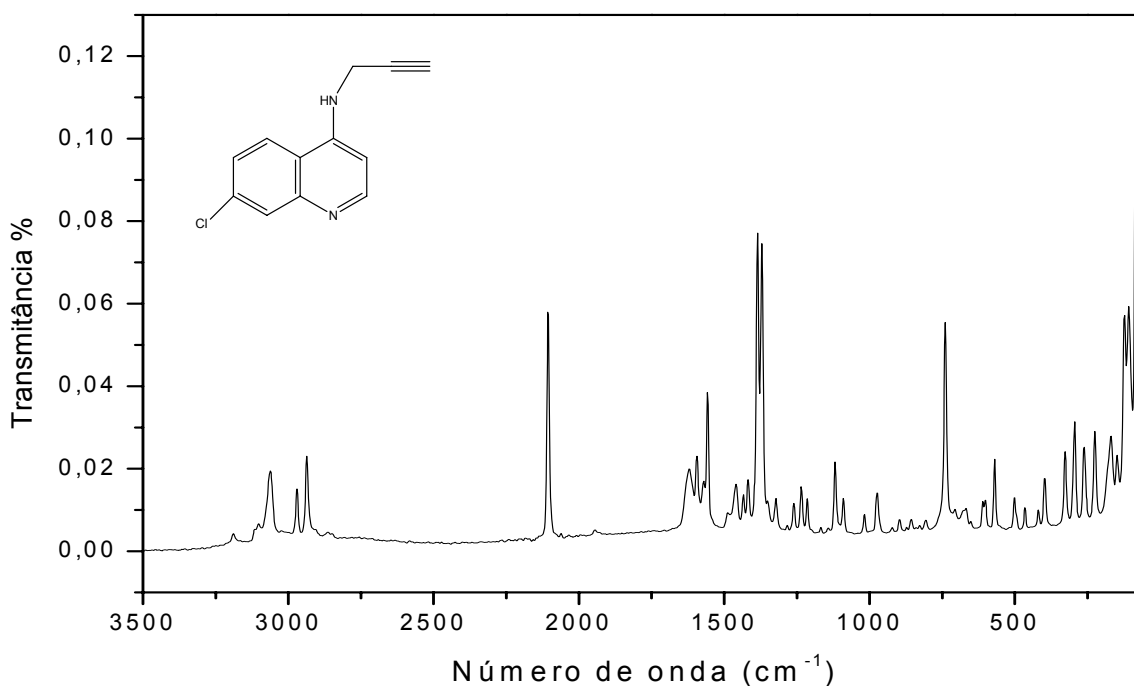


Figura 28. Espectro RAMAN do composto **5**.

Por intermédio do espectro de RMN de ^1H observou-se, além dos sinais referentes aos hidrogênios do anel quinolínico, em δ 4,41 ppm um simpleto que pode ser atribuído aos dois hidrogênios metilênicos de H-1' e outro simpleto em δ 2,50 ppm referente ao hidrogênio do alcino evidenciando a obtenção do composto **6** (Figura 29).

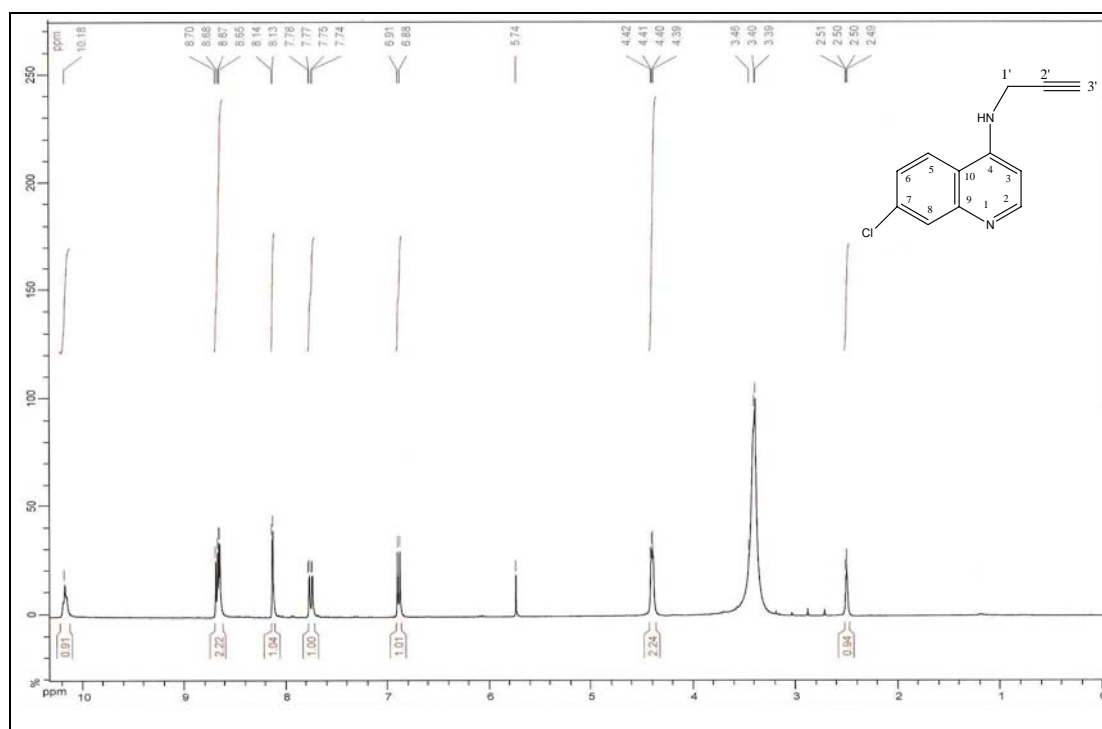


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H do composto **5** (DMSO, 300MHz).

No mapa de contornos COSY (Figura 30) foi possível correlacionar os hidrogênios metilênicos H-1' (em δ 4,41 ppm) com o hidrogênio de N-H (em δ 10,18 ppm), além da correlação entre os hidrogênios do anel quinolínico de H-3 (em δ 6,91 ppm) com H-2 (em δ 8,68 ppm) e de H-6 (em δ 7,78 ppm) com H-5 (em δ 8,67 ppm).

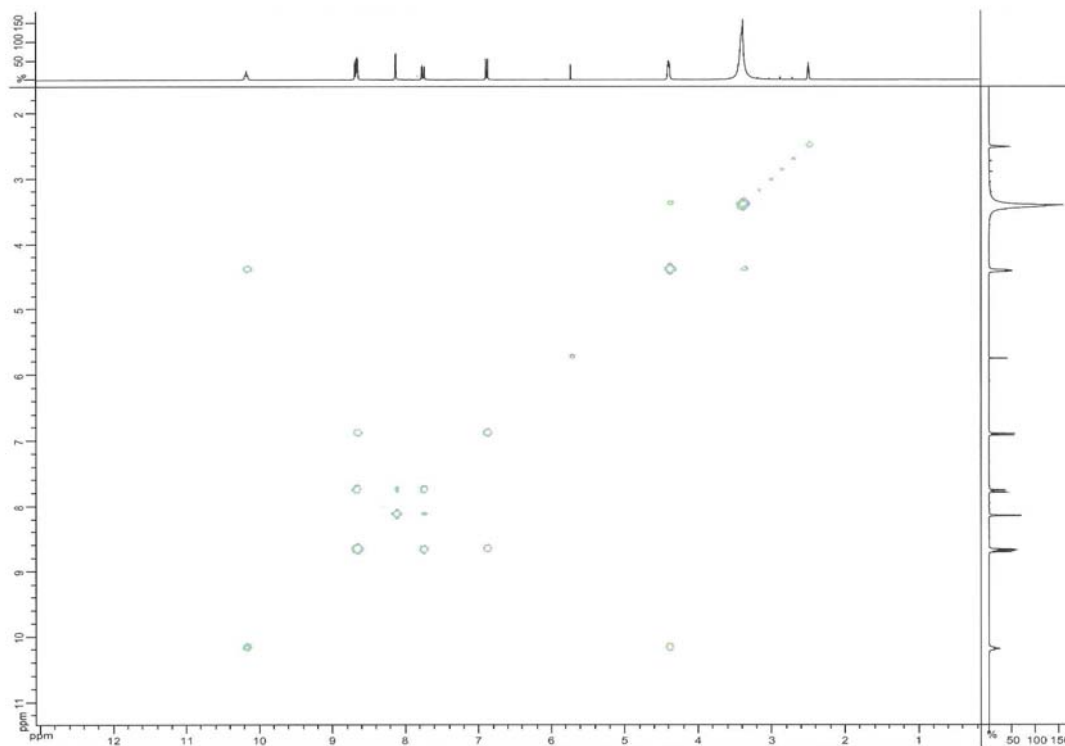


Figura 30. Mapa de contornos COSY do composto **5** (DMSO, 300MHz)

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **5** destacam-se os sinais referentes aos carbonos das posições C-2', C-3' e C-1' em δ 78,8; 75,7 e 32,6 ppm respectivamente além dos outros sinais característicos da molécula (Figura 31).

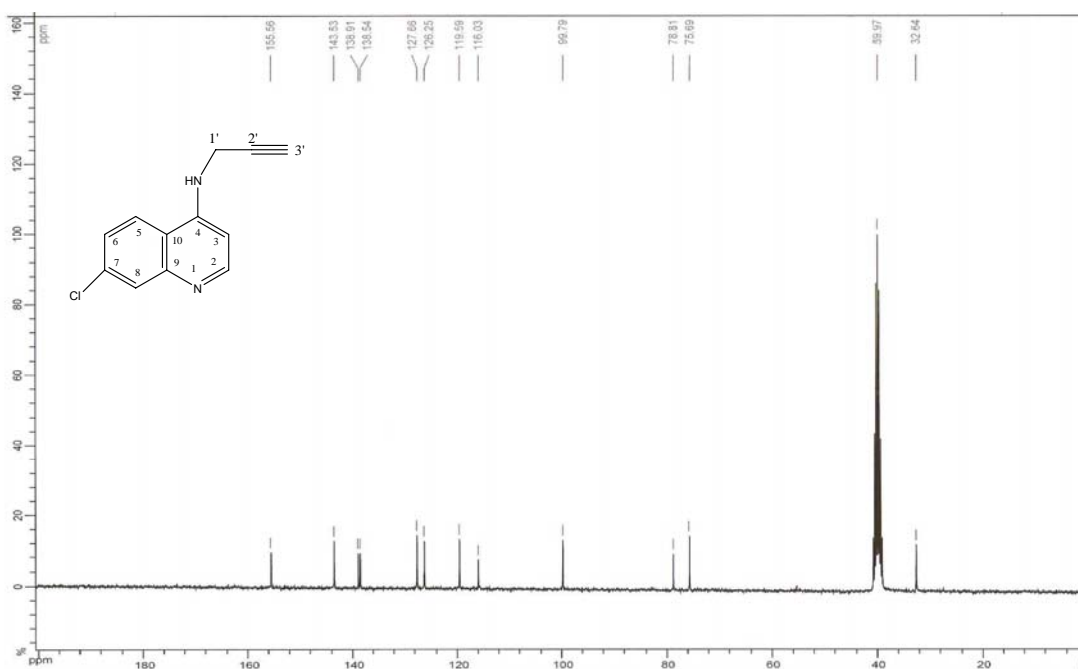


Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **5** (DMSO, 75MHz)

No espectro DEPT 135 (Figura 32), pode-se observar a presença do sinal do carbono metilênico C-1' em δ 32,14 ppm, e os carbonos C-2, C-6, C-8, C-5, C-3 e o carbono metínico encontram-se em fase inversa.

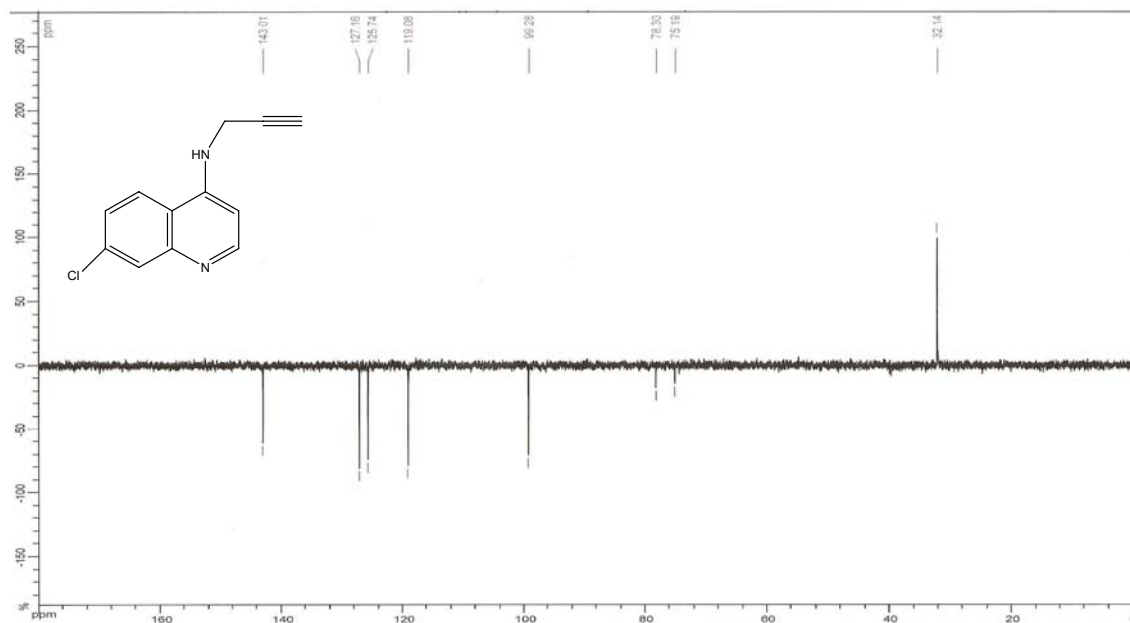


Figura 32. Espectro DEPT 135°C de ^{13}C do composto 5 (DMSO, 75MHz)

O espectro de massas (ES) apresentou pico em $[\text{M} + \text{H}]^+$ igual a 217,0 m/z (Figura 33) que está de acordo com o valor calculado, confirmando desta forma a massa molar do composto 5.

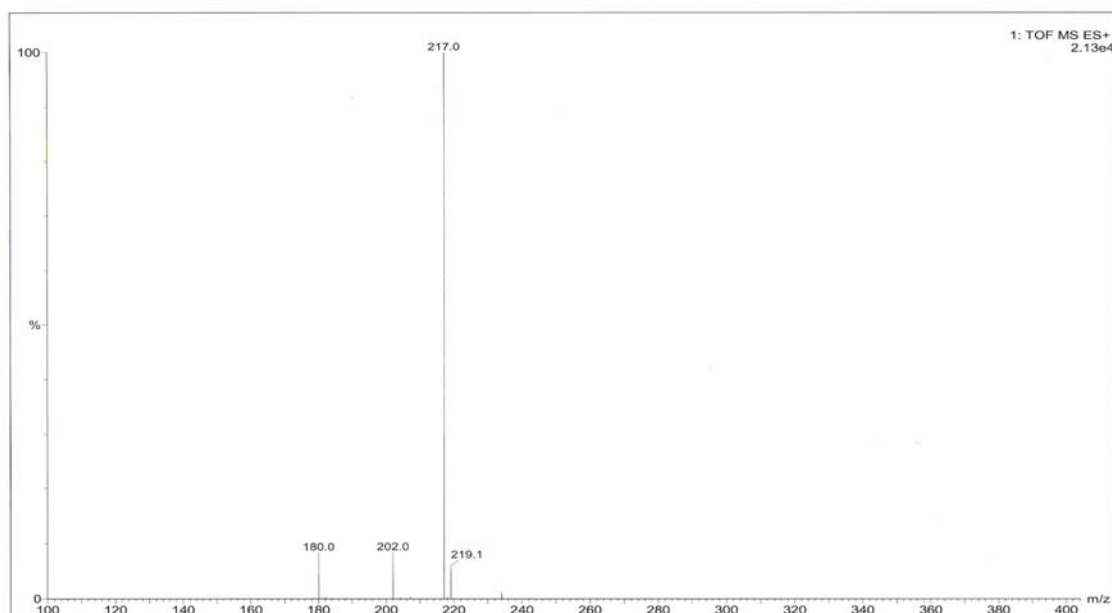


Figura 33. Espectro de massas ES do composto 5.

Síntese e caracterização dos 4-amino-7-cloro-*N*-(2-(prop-2-inilamino)alquil)quinolina (**6**, **7** e **8**)

Em uma solução contendo a aminoquinolina correspondente (**1** a **4**) em etanol adicionaram-se carbonato de potássio e brometo de propargila à 0°C (Figura 34). Manteve-se a mistura reagente sob agitação constante à temperatura ambiente por 48 horas. Em seguida realizou-se extração em CH₂Cl₂/H₂O obtendo-se um óleo após a destilação da fase orgânica. O óleo foi purificado usando CCS com uma mistura gradiente de CH₂Cl₂/MeOH.

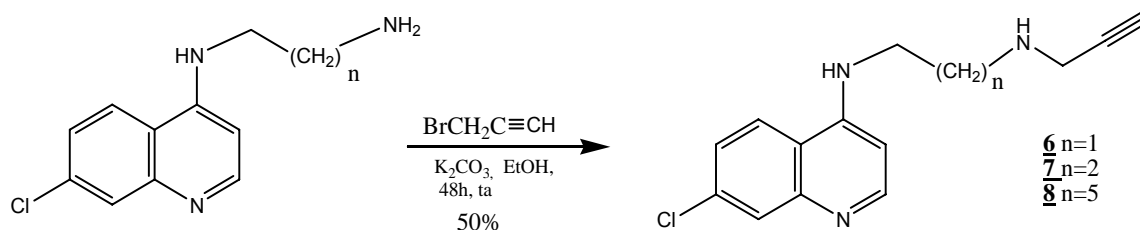


Figura 34. Esquema geral de reação dos compostos **6** a **8**.

Obtiveram-se produtos com rendimentos em torno de 50%. Todos os compostos foram caracterizados por meio das técnicas espectroscópicas de RAMAN, RMN de ¹H e RMN de ¹³C.

Caracterização do Composto 4-amino-7-cloro-*N*-(2-(prop-2-inilamino)etil)quinolina (**6**)

Pelo espectro Raman foi possível observar, além das outras bandas características da molécula, uma banda em 2105 cm⁻¹ correspondente ao estiramento C≡C que foi confirmada pela presença de uma banda em 3308 cm⁻¹ atribuída ao estiramento C-H de alcino (Figura 35).

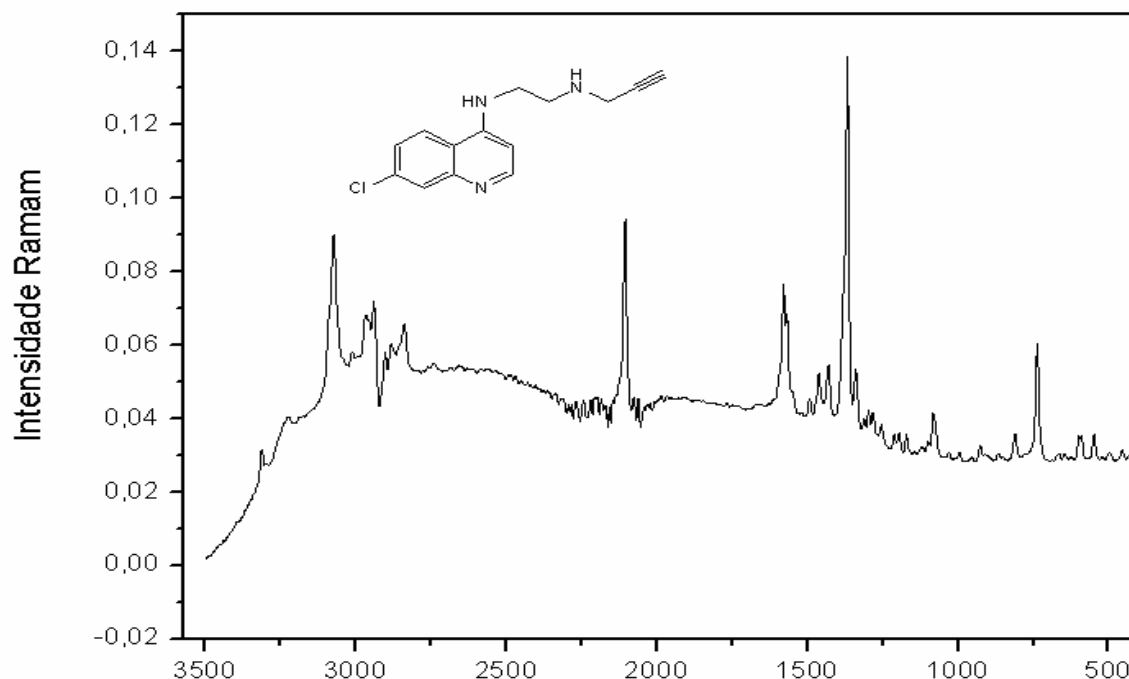


Figura 35. Espectro Raman do composto **6**.

De acordo com o espectro de RMN de ^1H observou-se em δ 3,49 ppm um multiplete que pode ser atribuído aos quatro hidrogênios metilênicos de H-1' e H-3' além do multiplete em 3,02 que pode ser atribuído aos hidrogênios de H-2' e um simpleto em δ 2,64 ppm referente ao hidrogênio H-5' evidenciando a obtenção do composto **6** (Figura 36).

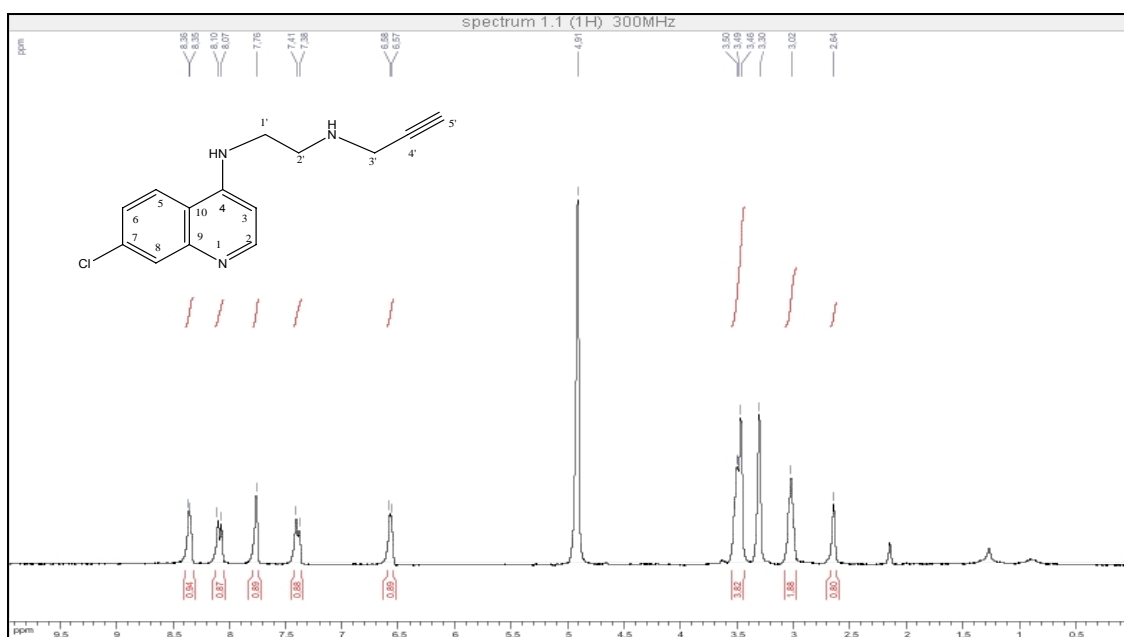


Figura 36. Espectro de RMN de ^1H do composto **6** (CD_3OD , 300MHz).

A análise do espectro de RMN de ^{13}C mostra além dos sinais do anel quinolínico os sinais referentes aos carbonos C-4', C-5' e C-3' em δ 82,0; 73,5; e 30,9 ppm, respectivamente, (Figura 37).

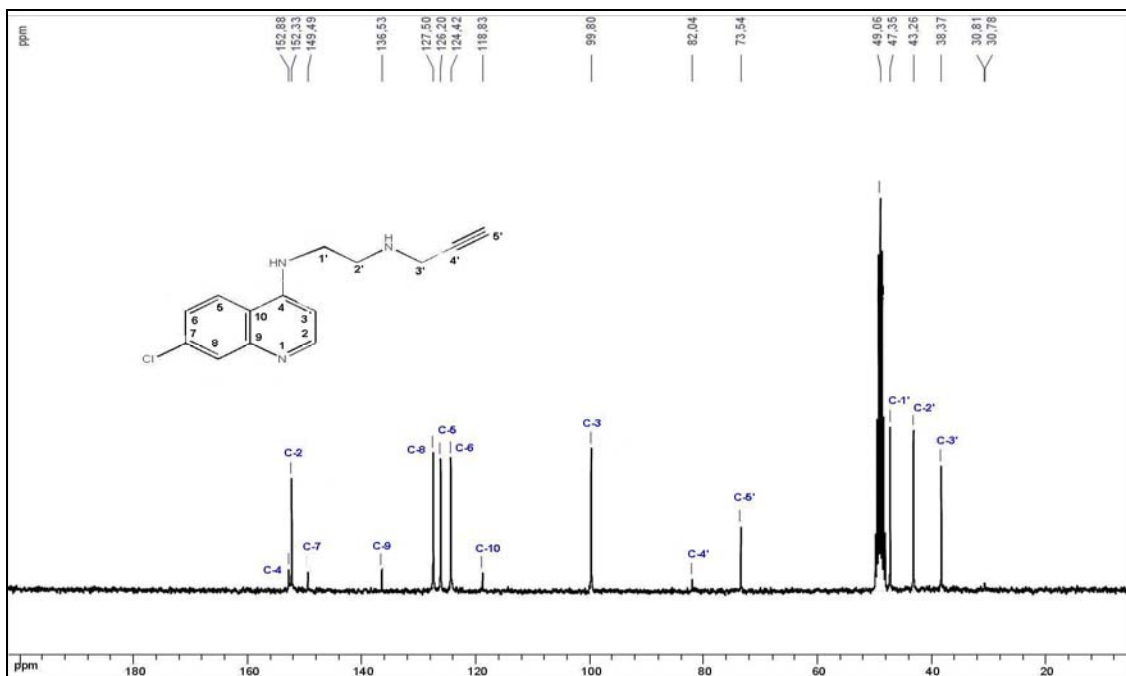


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 6 (CD_3OD , 75MHz).

Caracterização do 4-amino-7-cloro-*N*-(2-(prop-2-inoilamino) propil) quinolina (7)

Pelo espectro Raman foi possível observar, além das outras bandas características da molécula semelhantes ao seu precursor, uma banda em 2105 cm^{-1} que corresponde ao estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$ (Figura 38).

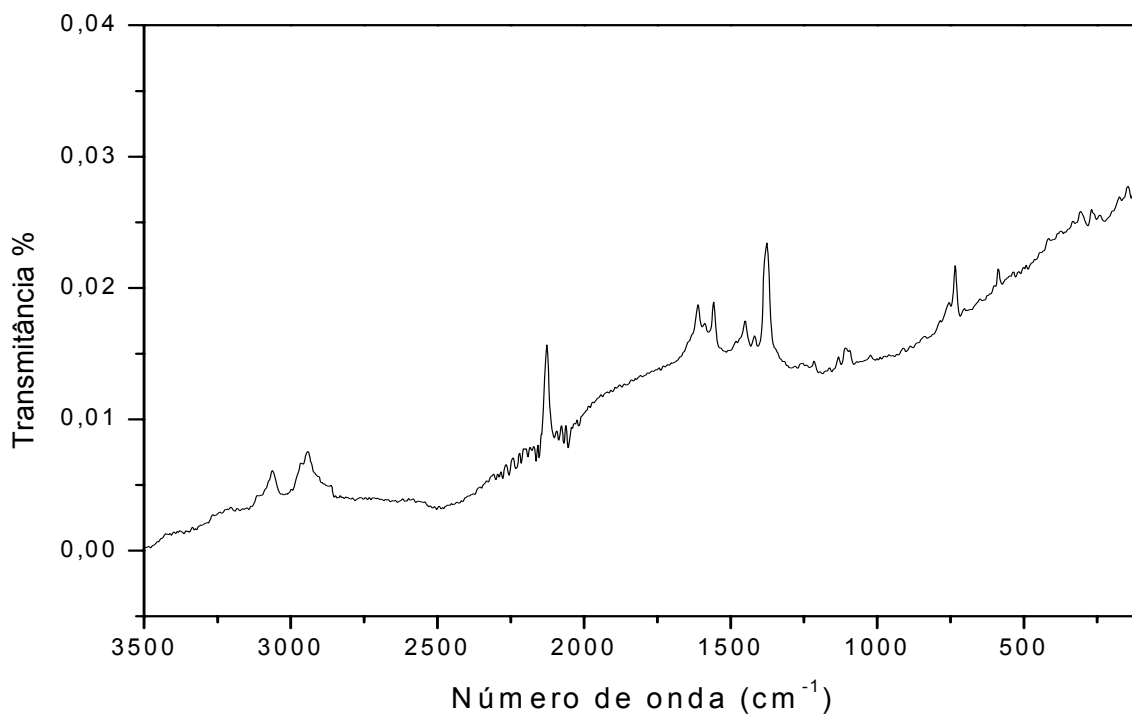


Figura 38. Espectro Raman do composto 7.

A análise do espectro de RMN de ¹H de 7 mostrou, além dos sinais característicos de seu precursor, um simpleto em δ 3,07 ppm que pode ser atribuído ao hidrogênio H-6', além de outro simpleto em δ 2,44 ppm referente aos dois hidrogênios metilênicos de H-4' evidenciando a obtenção do composto 7 (Figura 39).

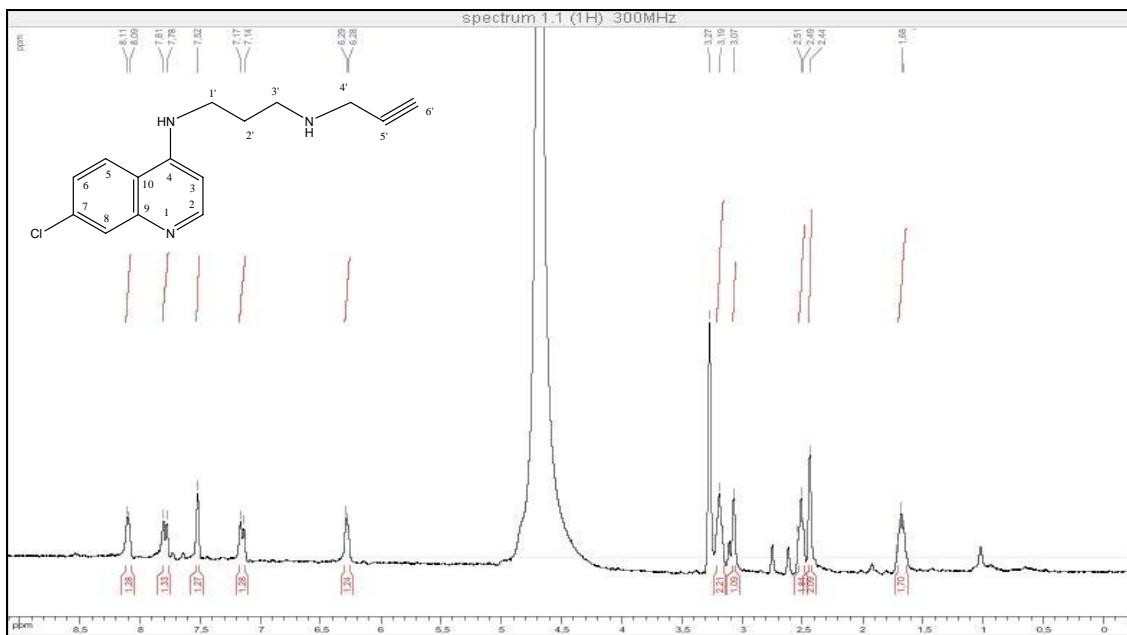


Figura 39. Espectro de RMN de ¹H do composto **7** (CD₃OD, 300MHz).

De acordo com o espectro de RMN de ¹³C destacam-se os sinais referentes aos carbonos das posições C-5', C-6' e C-4' em δ 79,2; 75,1; e 42,9 ppm respectivamente além dos outros sinais característicos da molécula (Figura 40).

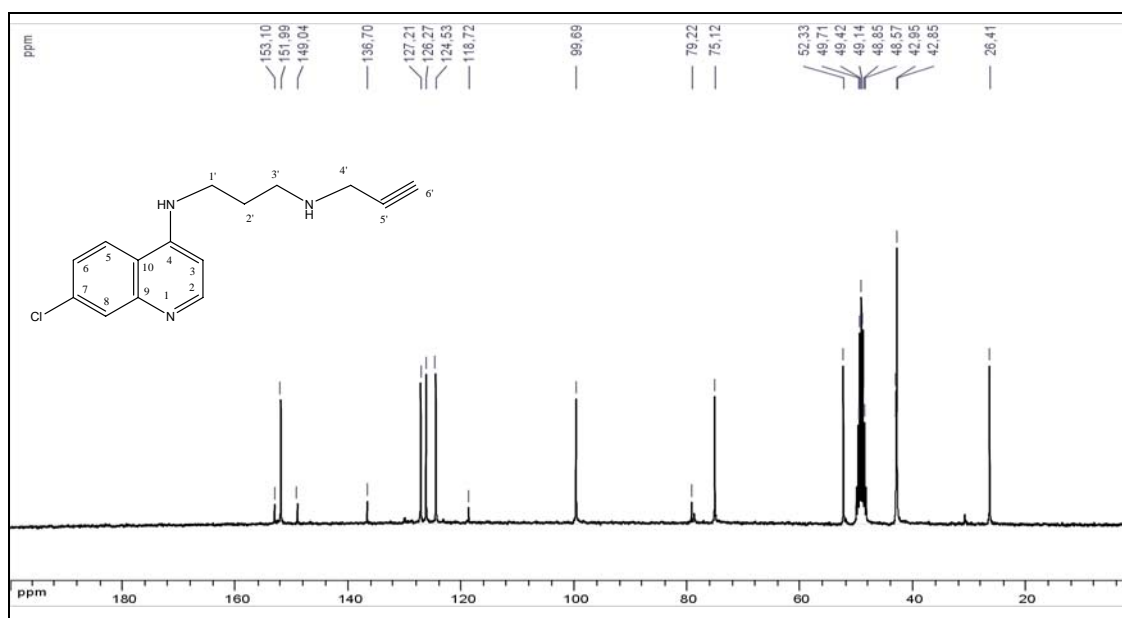


Figura 40. Espectro de RMN de ¹³C do composto **7** (CD₃OD, 75MHz).

Caracterização do 4-amino-7-cloro-*N*-(2-(prop-2-inilamino) hexil)quinolina (**8**)

Pelo espectro Raman foi possível observar, além das outras bandas características da molécula semelhantes ao seu precursor, uma banda em 2105 cm^{-1} que corresponde ao estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$ (Figura 41).

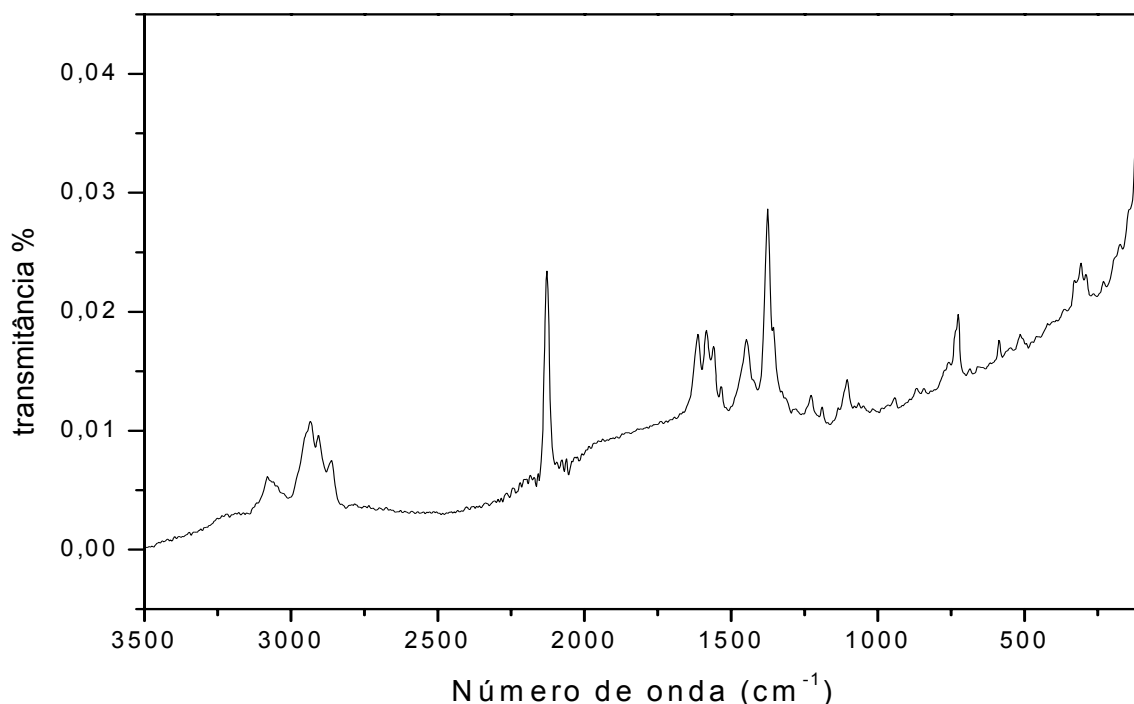


Figura 41. Espectro Raman do composto **9**.

Pelo espectro de RMN de ^1H observou-se em δ 3,40 ppm um simpleto que pode ser atribuído aos hidrogênios metilênicos de H-7' além do simpleto em δ 3,37 ppm referente ao hidrogênio H-9' evidenciando a obtenção do composto **8** (Figura 42).

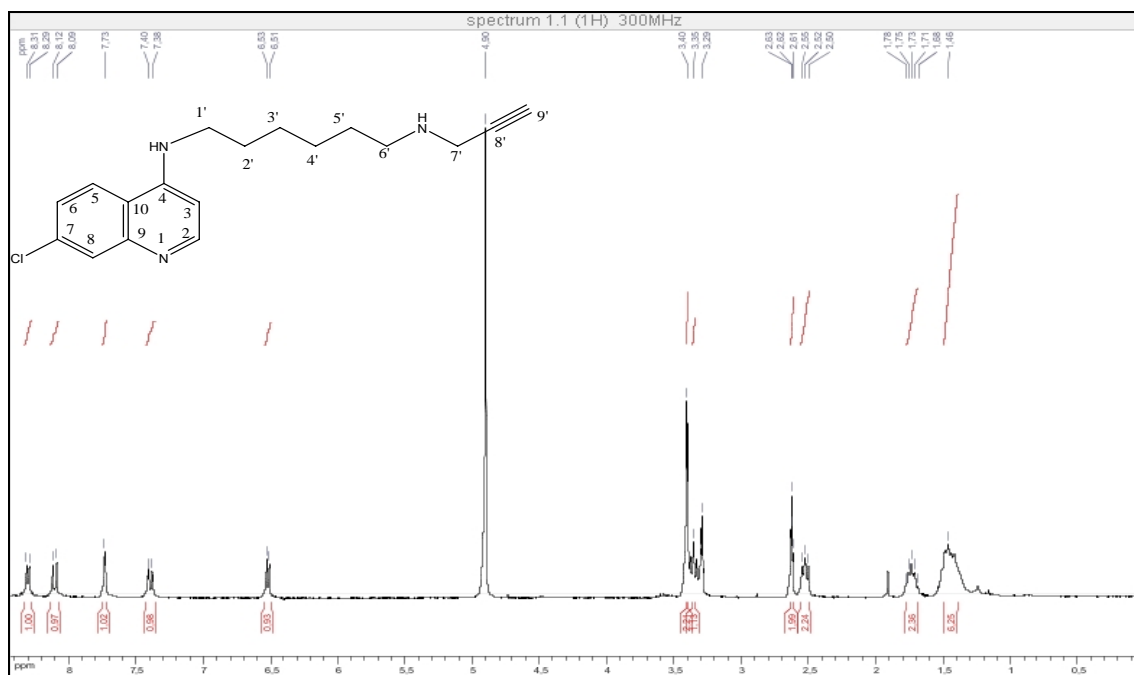


Figura 42. Espectro de RMN de ¹H do composto **8** (CD₃OD, 300MHz).

Através do espectro de RMN de ¹³C podem-se destacar os sinais referentes aos carbonos das posições C-8', C-9' e C-7' em δ 79,3; 75,1; e 42,9 ppm respectivamente além dos outros sinais característicos da molécula (Figura 43).

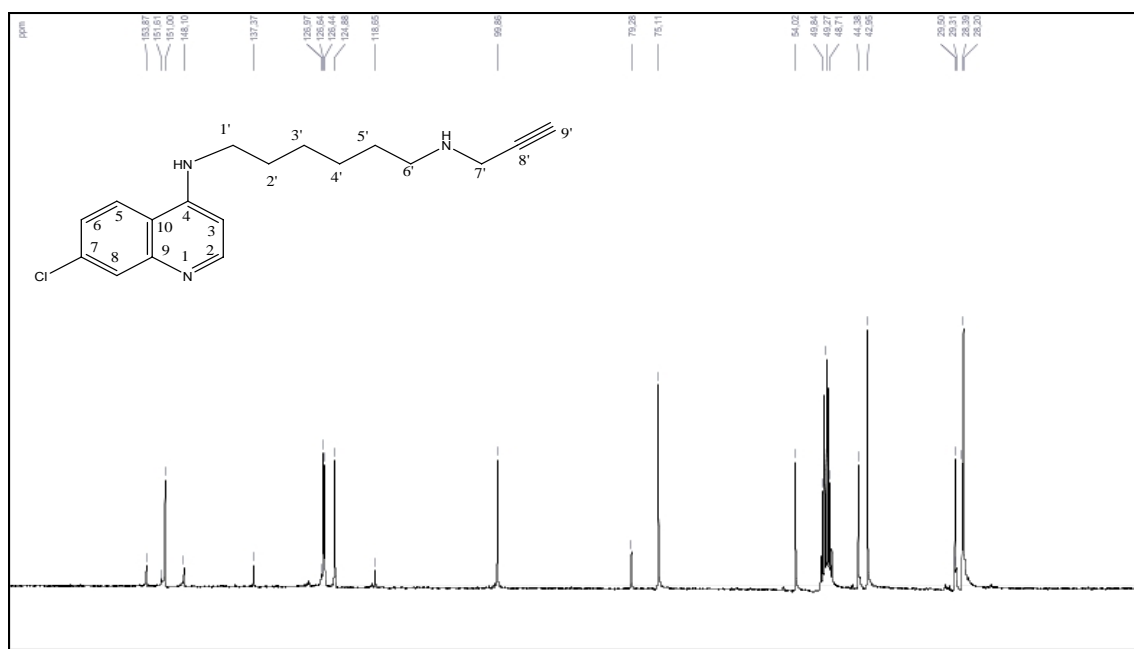


Figura 43. Espectro de RMN de ¹³C do composto **8** (CD₃OD, 75MHz).

2.4.3. Síntese do 3-azido (*metil- 3 β -azido-,7 α ,12 α -di hidroxil- 5 β -colano-24-ato*) **11**

A obtenção dos derivados triazólicos via “click chemistry” envolve uma reação entre um derivado com alcino terminal, representado neste trabalho pelo alcino **5**, e um derivado azido, neste caso o ácido cólico com um grupo azido na posição 3, sintetizado conforme descrito abaixo.

Para a obtenção de um derivado azido do ácido cólico iniciou-se pelo tratamento do ácido cólico com metanol e ácido clorídrico a temperatura ambiente por 24 h levando ao éster **9** com rendimento quantitativo.

Seguiu-se por mesilação da hidroxila sobre a posição 3 adicionando trietilamina sobre uma solução de **9** em CH₂Cl₂ à 0°C. Cloreto de metanossulfonila em CH₂Cl₂ foi adicionado lentamente durante 10 min. Prosseguiu-se com extração usando CH₂Cl₂ e H₂O, a fase orgânica foi lavada com NaHCO₃, água e sal. O solvente foi eliminado sobre pressão reduzida e o composto obtido foi purificado por coluna cromatográfica usando uma mistura em escala gradiente de polaridade de hexano/AcOEt para se obter o produto puro **10** com 70% de rendimento.

Para uma solução de **10** em DMF foi adicionado azida sódica. A mistura reagente foi mantida sob agitação constante à 120°C por 36 horas. Após remoção do solvente em rotaevaporador sob pressão reduzida realizou-se extração líquido/líquido usando AcOEt/H₂O. A fase orgânica foi removida no rotaevaporador e o resíduo obtido foi purificado por CCS usando como eluente uma mistura gradiente de polaridade de hexano/AcOEt para obtenção do composto puro **11** com 70% de rendimento (Figura 44).

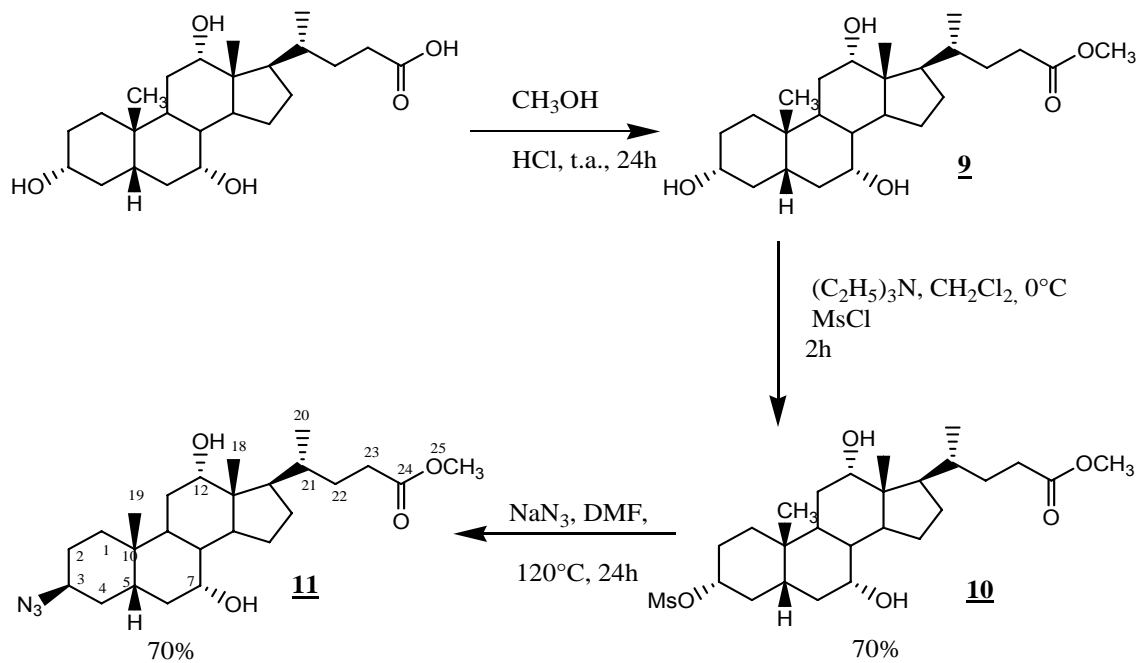


Figura 44. Rota sintética para obtenção do metil- 3 β -azido-7 α ,12 α -dihidroxi- 5 β -colano-24-ato **11**.

As caracterizações dos compostos **9**, **10** e **11** foram feitas através de ponto de fusão, IV, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C e estão de acordo com a literatura.^{13, 17}

Caracterização do Metil 3 α ,7 α ,12 α -triidroxi-5 β -colano-24-ato (9)

No espectro de infravermelho do composto 10, verificou-se a presença das bandas em 3384 cm⁻¹, 2931 cm⁻¹ e 1739 cm⁻¹ referentes aos estiramentos O-H, C-H alicíclico e C=O de ésteres, respectivamente.

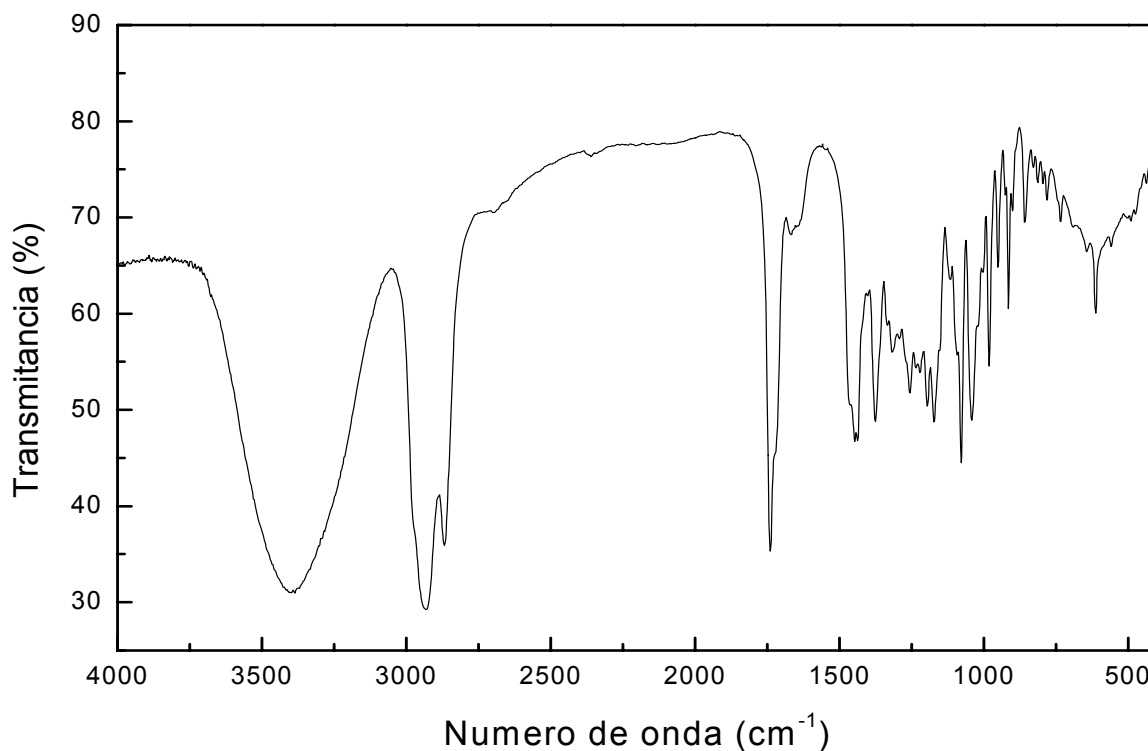


Figura 45. Espectro de IV do composto 9.

Por intermédio do espectro de RMN de ¹H do composto 9 (Figura 46) observou-se a presença dos multipletos em δ 3,94 e 3,79 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios H-12 e H-3 bem como o simpleto em δ 3,58 ppm referente aos três hidrogênios de H-25 além dos sinais característicos do ácido cólico.

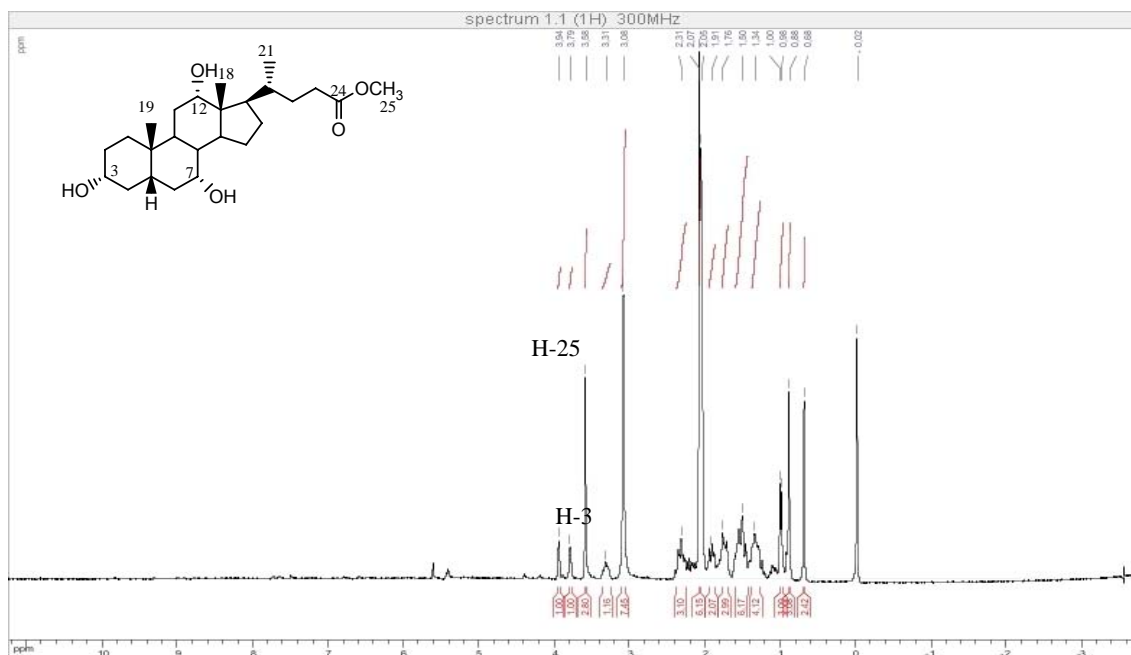


Figura 46. Espectro de RMN de ^1H do composto **9** (CDCl_3 , 300MHz)

Por meio do espectro de RMN de ^{13}C do composto **9** (Figura 47) observou-se a presença dos carbonos das posições C-24, C-12, C-7 e C-3 em δ 174,7; 72,9; 72,1 e 68,2 ppm, respectivamente além dos sinais característicos do ácido cólico.

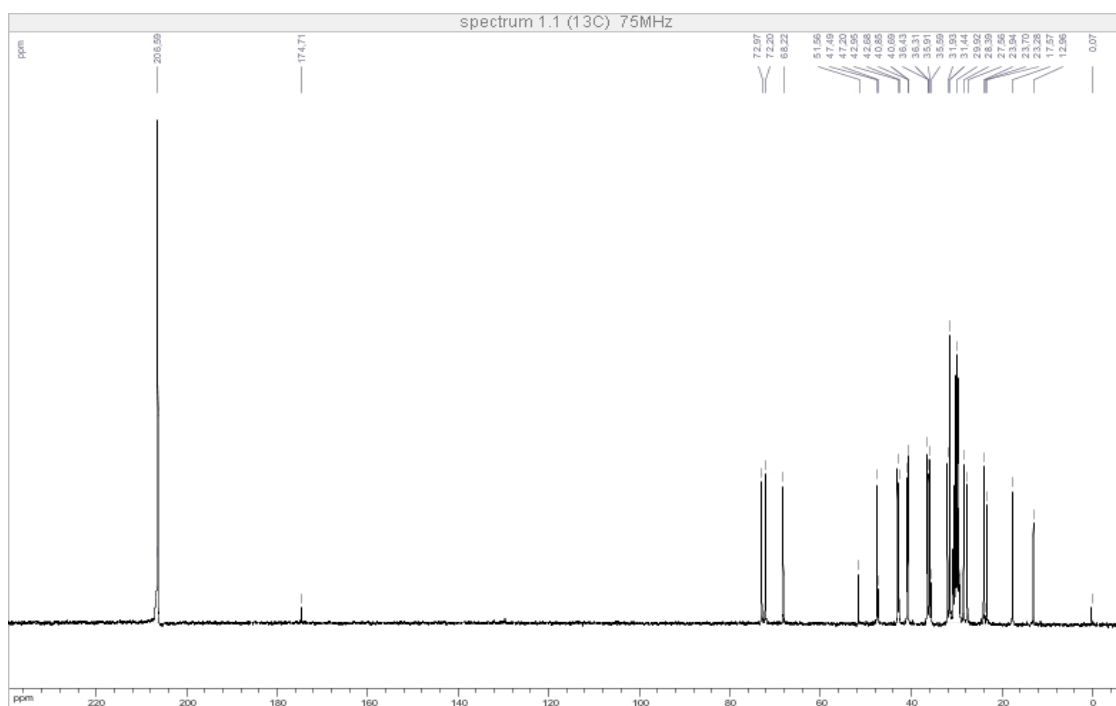


Figura 47. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **9** (acetona deuterada, 75MHz)

Caracterização do Metil-3 α -mesiloxi-7 α -12 α -diidroxí- 5 β -colanoato (**10**)

No espectro de IV do composto **10** (Figura 48) destaca-se a presença de bandas em 1348 e 1172 cm^{-1} características de estiramentos SO_2 , bem como a presença de bandas em 916-738 cm^{-1} características de estiramentos referentes a várias deformações axiais do sistema S-O-C.

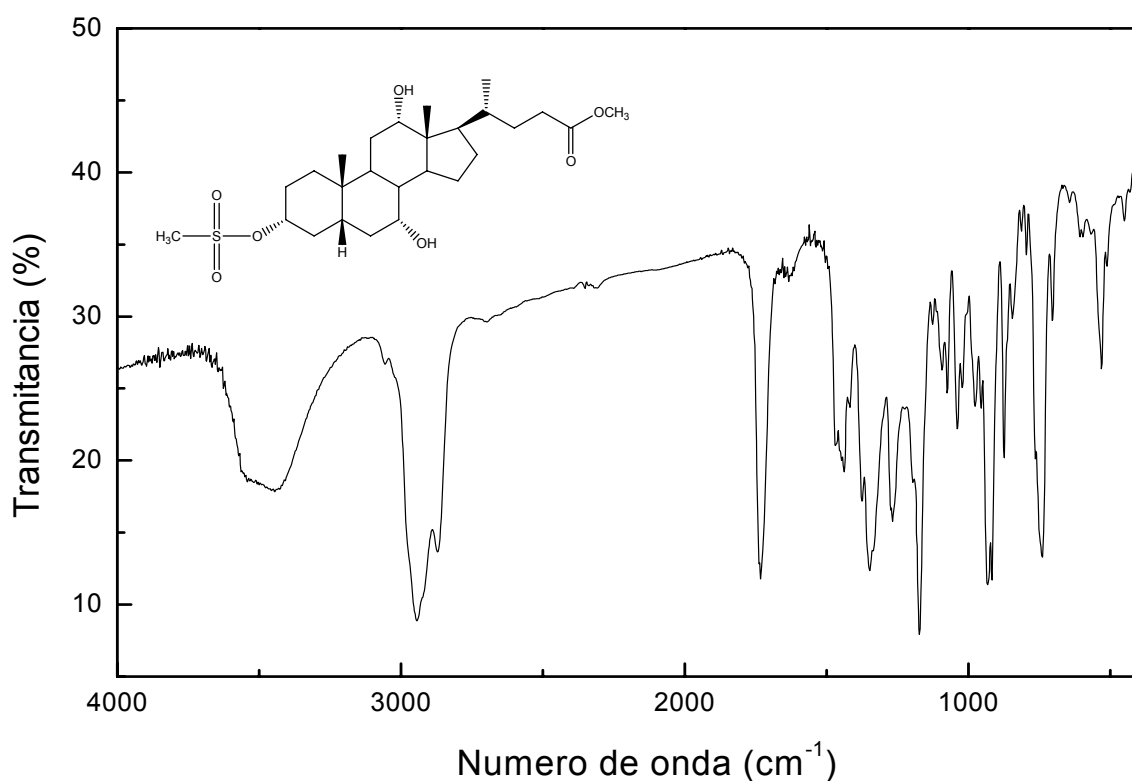


Figura 48. Espectro de IV do composto **10**.

Por meio do espectro de RMN de ^1H do composto **10** (Figura 49) destacam-se os multipletos em δ 4,50 ppm, referente ao hidrogênio de H-3, e em δ 4,11 e 3,99 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios H-12 e H-7 bem como o simpleto referentes aos três hidrogênios de H-25 em δ 3,67 ppm e de H-26 em δ 2,99 ppm, além dos outros sinais característicos do restante do ácido cólico.

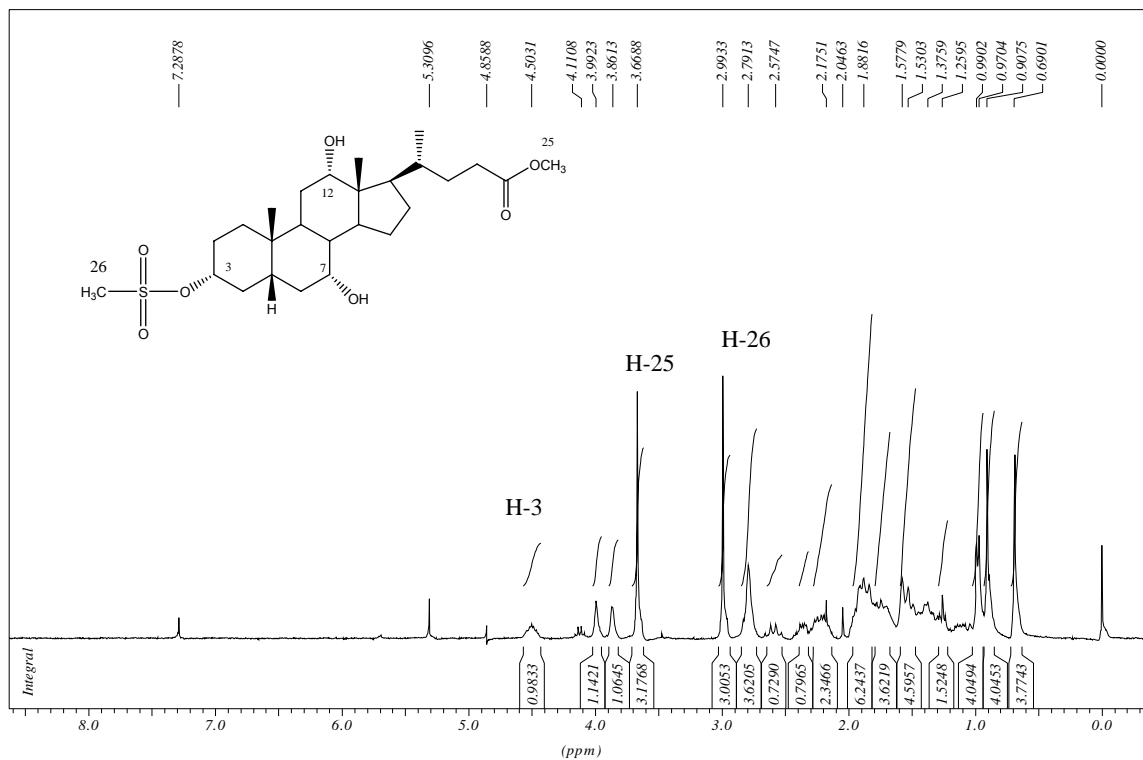


Figura 49. Espectro de RMN de ¹H do composto **10** (CDCl₃, 300MHz).

No espectro de RMN de ¹³C (Figura 50) observa-se a presença do sinais referentes aos carbonos das posições C-24, C-12, C-7 e C-3 em δ 175,2; 83,1; 72,8 e 72,1 ppm respectivamente.

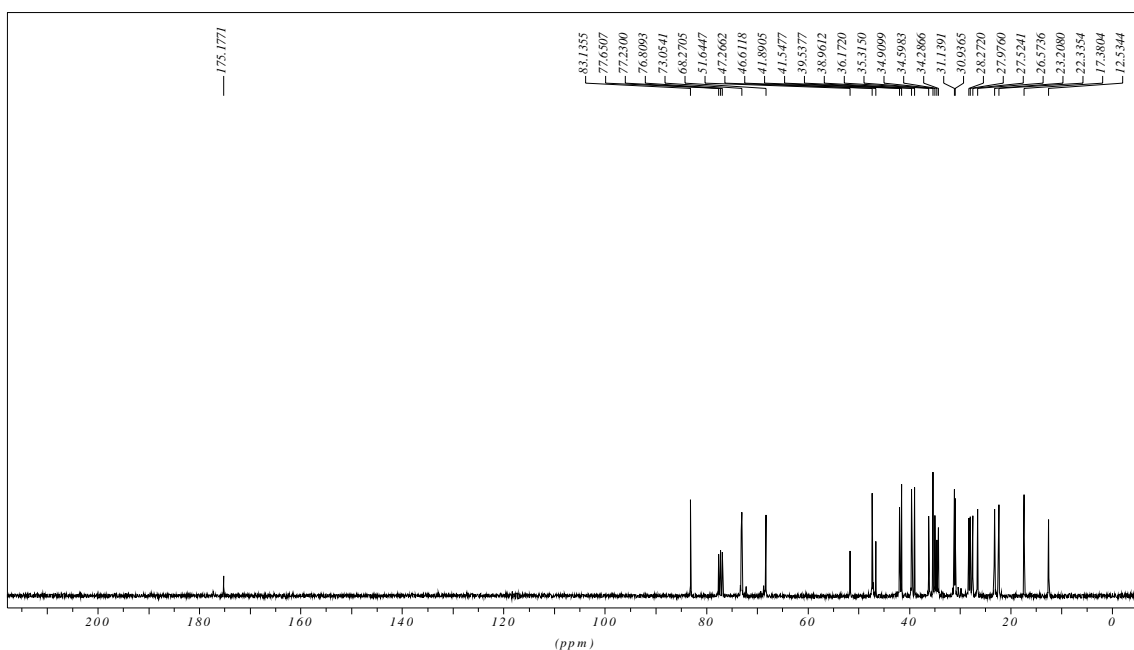


Figura 50. Espectro de RMN de ¹³C do composto **10** (CDCl₃, 75MHz).

Caracterização do 3-azido (*metil- 3 β -azido-,7 α ,12 α -dihidroxi-5 β -colano-24-ato*) (**11**)

No espectro de IV do composto **11** a diferença marcante com os espectros dos produtos das etapas anteriores foi a presença da banda em 2098 cm^{-1} referente ao estiramento referente ao grupo azido N_3 .

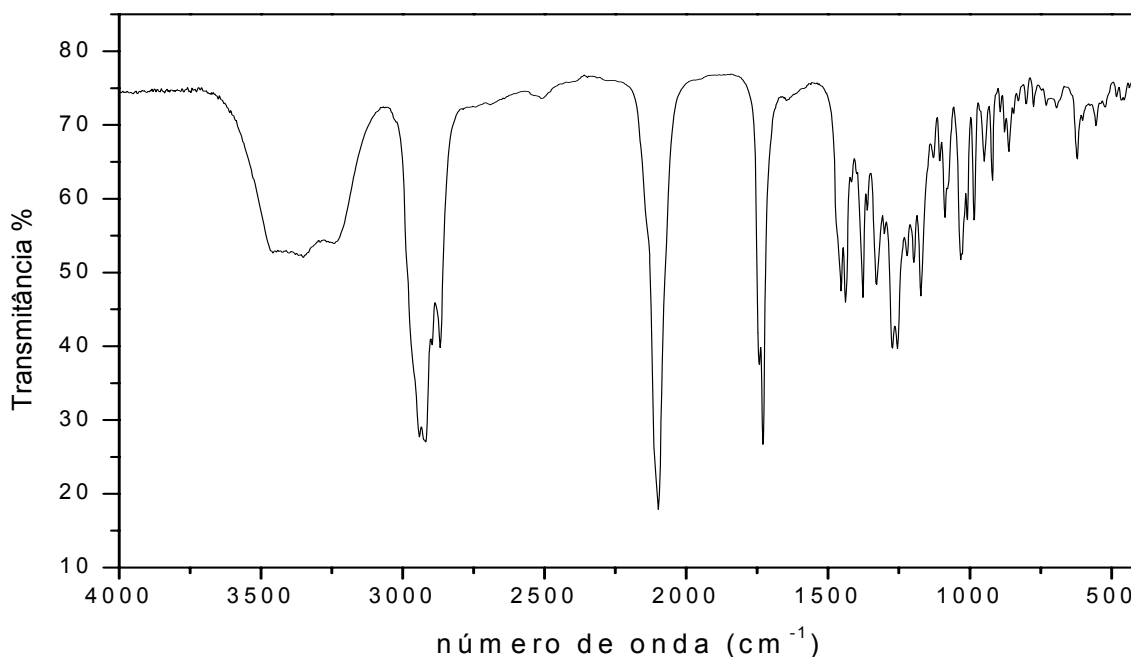


Figura 51. Espectro de IV do composto **11**.

Por meio do espectro de RMN de ^1H do composto **11** (Figura 52) observaram-se os multipletos em δ 3,93 ppm, referente ao hidrogênio de H-12, e entre δ 3,85 e 3,81 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-7 bem como o simpleto referente aos três hidrogênios de H-25 em δ 3,61 ppm além dos outros sinais característicos do ácido cólico.

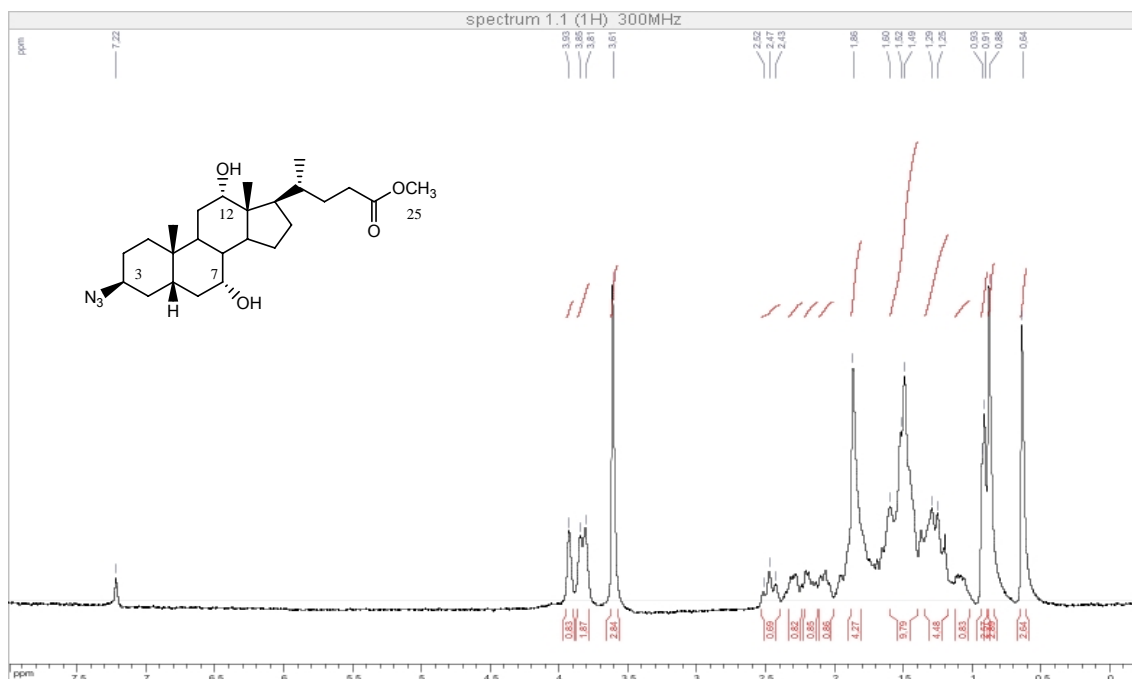


Figura 52. Espectro de RMN de ^1H do composto **11** (CDCl_3 , 300MHz).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 53) observou-se a presença dos sinais referentes aos carbonos das posições C-24, C-12, C-7 e C-3 em δ 174,5; 72,8; 68,1 e 59,7 ppm, respectivamente, evidenciando que houve um deslocamento de C-3 para mais próximo do TMS devido a substituição da hidroxila pelo grupo azido deixando tal carbono mais blindado.

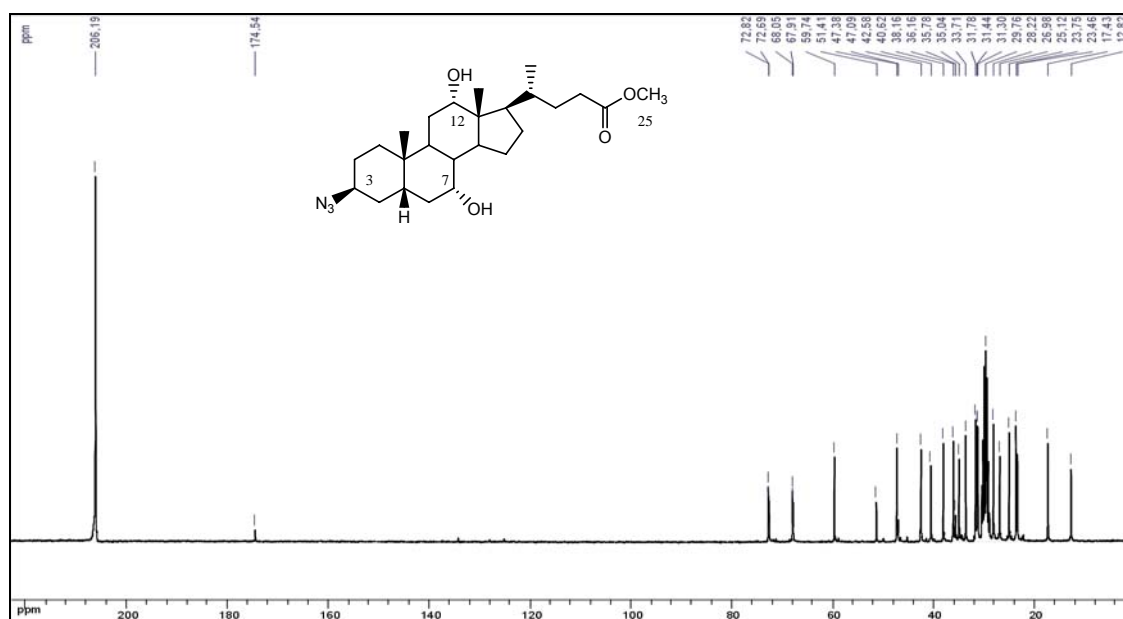
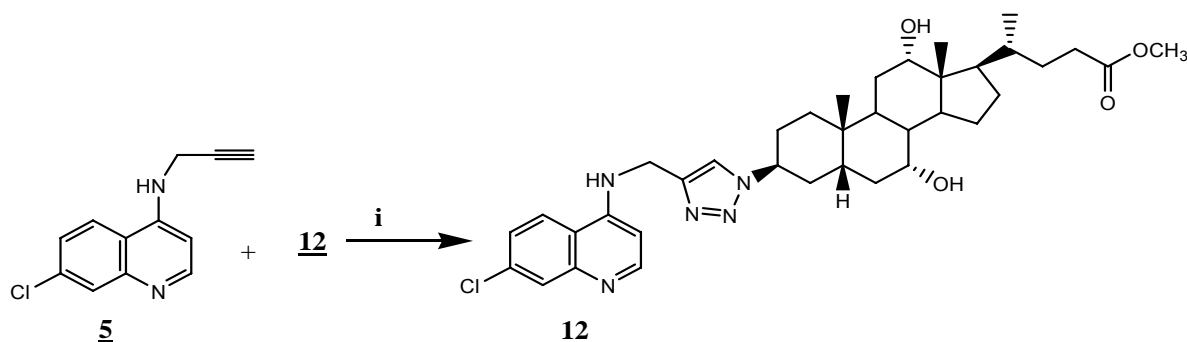


Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **11** (acetona deuterada, 75MHz).

2.4.4. Procedimento Geral Para a Cicloadição

Na obtenção do derivado triazólico **12** via “click chemistry” usou o alcino terminal **5** e o azido **11**.

O alcino terminal **5** e o derivado azido **11** foram dissolvidos em DMSO/H₂O, à esta solução CuSO₄.5H₂O e ascorbato de sódio são adicionados. A mistura reagente foi deixada em agitação constante sob temperatura ambiente por 96 horas. O precipitado formado foi filtrado e purificado através de CCS usando como eluente uma mistura gradiente de MeOH/CH₂Cl₂ para obtenção do composto **12** referente ao conjugado aminoquinolina/ácido cólico com rendimento de 70% (Figura 55). O composto **12** foi caracterizado através das técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H e de ¹³C e HMRS.



i. Reagentes e condições: CuSO₄. 5H₂O, ascorbato de sódio, DMSO/H₂O, t.a., 96 h, 60%

Figura 55. Esquema de síntese do conjugado aminoquinolina/ácido cólico unidos por 1,2,3-triazol-1,4-dissubstituído **12**.

Caracterização do Composto **12**

Ponto de fusão: 128°C

No espectro de IV do composto **12** nota-se a presença da banda em 3338 cm⁻¹ atribuída ao estiramento de amina aromática, a presença da banda em 2933 cm⁻¹ referente ao estiramento C-H alifático e também destaca-se a presença da banda em 1581cm⁻¹ relacionada ao estiramento das ligações C=C e C-N.

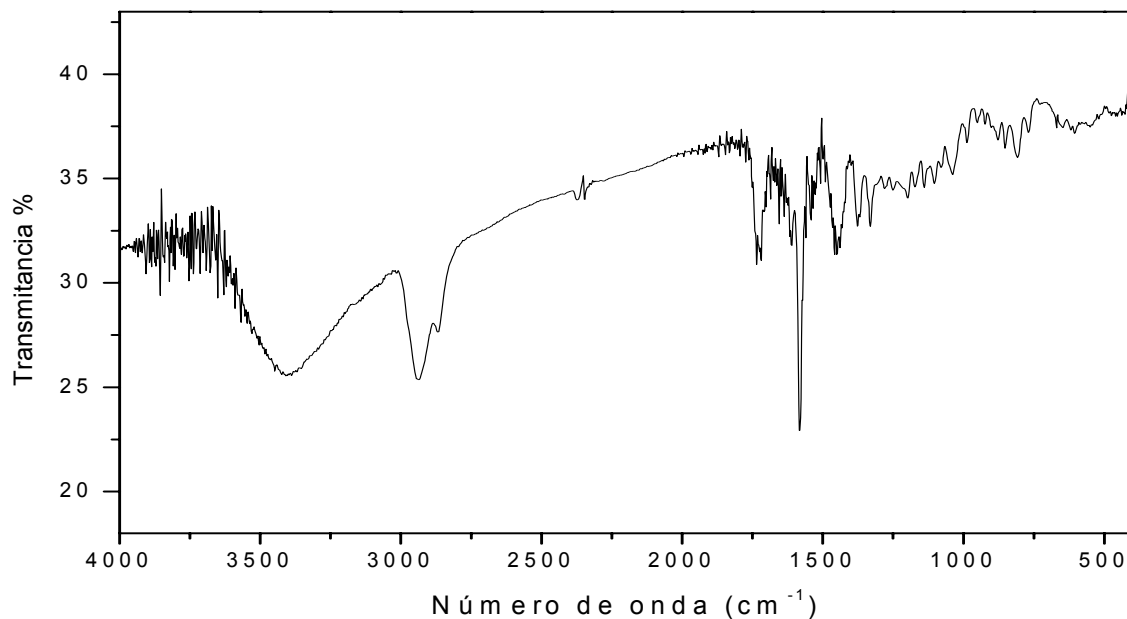


Figura 56. Espectro de IV do composto **12**.

Por meio espectro de RMN de ^1H do composto **12** foi possível observar, além dos sinais referentes ao anel quinolinico, o hidrogênio do 1,2,3-triazol em δ 8,02 ppm, bem como o simpleto do grupo metilênico H-1'' vizinho ao triazol em δ 4,68 ppm e os sinais referentes aos grupos metilênicos da porção ácido cólico (Figura 57).

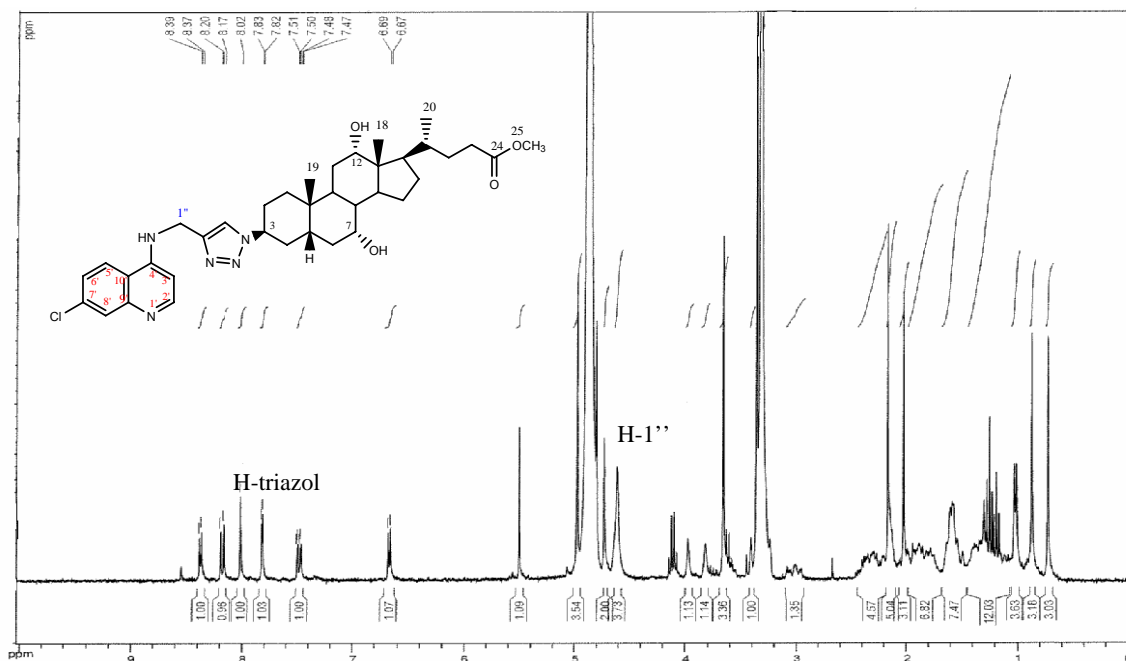


Figura 57. Espectro de RMN de ^1H do composto **12** (CD_3OD , 300MHz).

De acordo com análise do espectro de RMN de ^{13}C foram observados os sinais referentes aos carbonos do anel quinolínic e dos dois carbonos do triazol bem como sinais referentes aos carbonos metilênicos da porção ácido cólico (Figura 58).

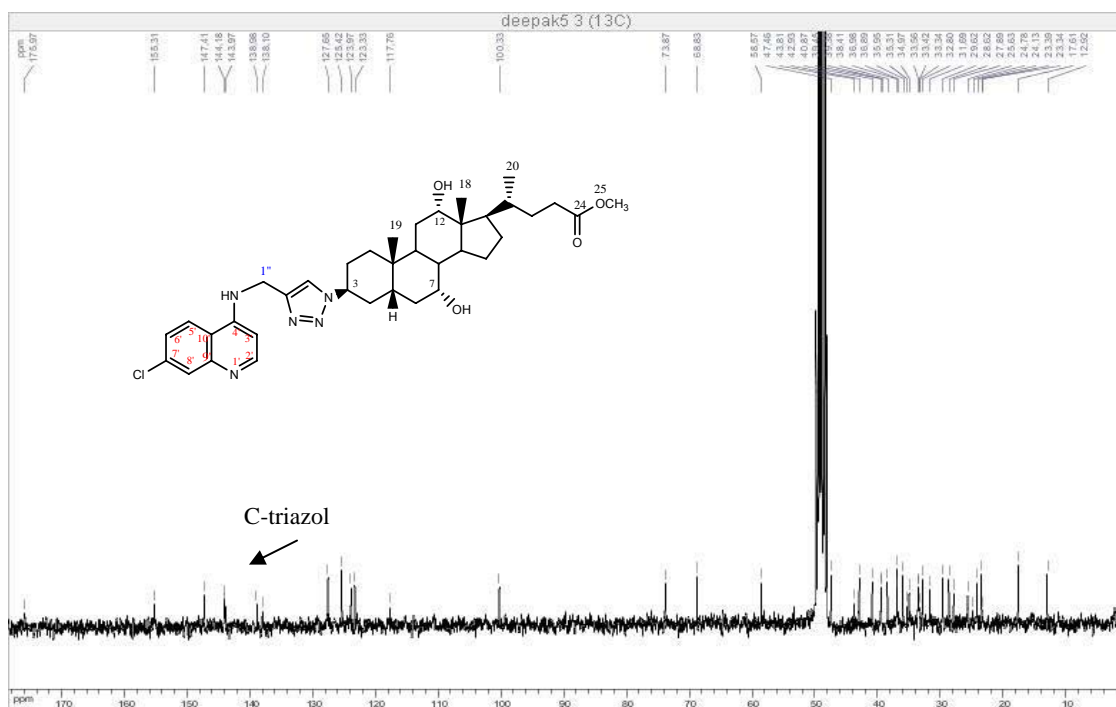


Figura 58. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **12** (CD_3OD , 75MHz)

Pelo espectro de massas HMRS observou-se o pico correspondente à massa $[\text{M}+\text{H}]^+$ 664,3825 m/z (Figura 59) que está de acordo com o valor calculado, confirmando desta forma a massa molar do composto **12**.

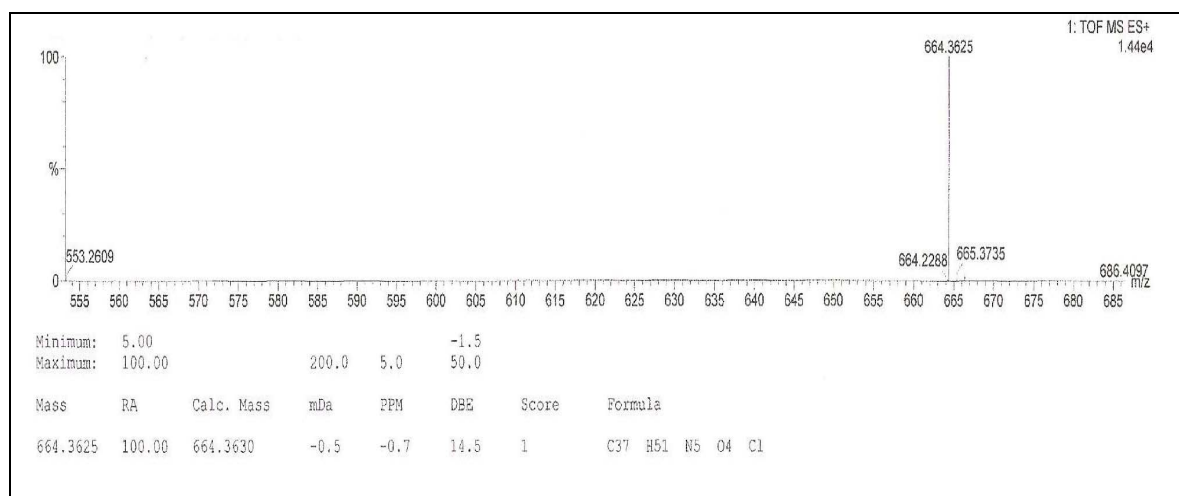


Figura 59. Espectro de massas (HMRS) do composto **12**.

2.5. Conclusões

Foram obtidos quatro derivados quinolínicos aminados com extensão de cadeia possuindo um alcino terminal (compostos **5**, **6**, **7** e **8**). Foi preparado também um derivado azido de ácido cólico (composto **11**) e, finalmente, obteve-se um derivado de quinolina conjugado com ácido cólico através da reação do tipo “click chemistry”. Os compostos sintetizados foram caracterizados através de ponto de fusão, Raman ou IV, RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . Os compostos **5** e **12** foram também caracterizados por espectrometria de massas.

Os compostos sintetizados foram testados em crescimento de leishmania “in vitro” e em *plasmodium berghei* “in vivo”. Todos apresentaram interessantes resultados biológicos e um estudo da relação estrutura atividade está sendo feito.

Os estudos realizados para conjugação de derivados quinolínicos com ácido cólico usando a “click chemistry” com consequente obtenção de novos derivados triazólicos podem ser estendidos para outros derivados quinolínicos e outros esteróides.

2.6. Parte Experimental

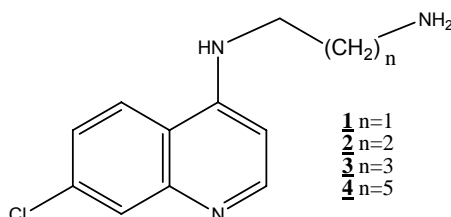
Os espectros obtidos pelo método de espalhamento Raman foram registrados em RAMAN Brucker modelo FRS com Ft, linha de excitação 1064nm, no Departamento de Química, ICE, UFJF.

Métodos Gerais (Vide página 41)

2.6.1. Síntese dos *N*-(7-cloroquinolin-4-il)-diaminoalcano (1-4)

Uma mistura de 4,7-dicloroquinolina (2,0g, 10,1 mmol) com 50 mmol do diaminoalcano correspondente (etanodiamina, propanodiamina, butanodiamina ou hexanodiamina) foi deixada sob aquecimento à 80°C por 1 hora em agitação e, posteriormente, elevou-se a temperatura para 110°C por 3 horas até que se completasse a reação.

Em seguida, após verificado por CCDS, adicionou-se CH₂Cl₂ assim que a mistura reagente atingiu a temperatura ambiente. A fase orgânica foi lavada sucessivas vezes com solução aquosa de NaOH (5%) e finalmente com água e sal. Através de CCDS, verificou-se a formação de um produto mais polar. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida e os compostos foram obtidos com rendimentos em torno de 80%.



As caracterizações estão de acordo com a literatura.^{3, 4,16}

Caracterização do *N*-(7-cloroquinolin-4-il)etano-1,2-diamina (1)

FM= C₁₁H₁₂ClN₃

MM= 221,69 g/mol

Característica física= sólido amarelo

Ponto de fusão: 141°C

Rf= 0,2 (MeOH/CH₂Cl₂) Revelador= U.V.

IV (KBr) (cm⁻¹): 3356 e 3251 (estiramento de N-H de amina), 3053 (estiramento C-H aromático), 2931 (estiramento C-H alifático), 1583 (estiramento C=C e C-N).

RMN de ¹H (300 MHz, MeOD) δ (ppm), J (Hz): 8,33 (1H, d, J_{2,3}=6Hz, H-2); 8,08 (1H, dd, J_{6,5}=? H-6); 7,74 (1H, s, H-8); 7,37 (1H, d, J_{5,6}=9Hz, H-5); 6,53 (1H, d, J_{3,2}=6Hz, H-3); 3,43 (2H, m, H-1'); 2,97 (2H, m, H-2').

RMN de ¹³C (75 MHz, MeOD) δ (ppm): 152,5 (C-2); 149,8 (C-4); 138,4 (C-9); 127,6 (C-7); 126,1 (C-8); 124,4 (C-6); 118, 8 (C-5); 104,3 (C-10); 99,78 (C-3). 46,1(C-1'), 40,8 (C-2').

Caracterização do *N*-(7-cloroquinolin-4-il)propano-1,3-diamina (2)

FM= C₁₂H₁₄ClN₃

MM= 235,09 g/mol

Característica física= sólido amarelo

Ponto de fusão: 97°C

Rf= 0,2 (MeOH/CH₂Cl₂) Revelador= U.V.

IV (KBr) (cm⁻¹): 3352 (estiramento de N-H de amina), 3053 (estiramento C-H aromático), 2933 (estiramento C-H alifático), 1585 (estiramento C=C e C-N).

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ (ppm), J (Hz): 8,37 (1H, d, $J_{2,3}=6\text{Hz}$, H-2); 8,23 (1H, dd, $J_{6,5}=?$ H-6); 7,78 (1H, s, H-8); 7,54 (2H, m, NH); 7,44 (1H, d, $J_{5,6}=9\text{Hz}$, H-5); 6,46 (1H, d, $J_{3,2}=6\text{Hz}$, H-3); 3,06 (2H, m, H-1'); 2,68 (2H, m, H-3'); 1,72 (2H, m, H-2').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ (ppm): 151,8 (C-2); 150,0 (C-4); 148,8 (C-9); 130,2 (C-7); 127,4 (C-8); 128,6 (C-6); 117,8 (C-5); 99,78 (C-3), 40,6 (C-1'), 39,5 (C-3'), 31,2 (C-2').

Caracterização do *N*-(7-cloroquinolin-4-il)butano-1,4-diamina (3)

FM= $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{ClN}_3$

MM= 249,74 g/mol

Característica física= sólido amarelo

Ponto de fusão: 123°C

Rf= 0,2 (MeOH/ CH_2Cl_2) Revelador= U.V.

IV (KBr) (cm^{-1}): 3228 (estiramento de N-H de amina), 3053 (estiramento C-H aromático), 2929 (estiramento C-H alifático), 1581 (estiramento C=C e C-N).

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ (ppm), J (Hz): 8,44 (1H, d, $J_{2,3}=3\text{Hz}$, H-2); 8,36 (1H, dd, $J_{6,5}=12\text{ Hz}$, H-6); 7,64 (1H, s, H-8); 7,50 (2H, m, H-5, NH); 6,50 (1H, d, $J_{3,2}=3\text{Hz}$, H-3); 2,85 (2H, m, H-1'); 2,64 (2H, m, H-4'); 1,71 (2H, m, H-2'); 1,53 (2H, m, H-3').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ (ppm): 151,9 (C-2); 150,1 (C-4); 149,1 (C-9); 133,1 (C-7); 127,4 (C-8); 124,1 (C-6); 117,5 (C-5); 99,6 (C-3), 42,4 (C-1'), 41,3 (C-4'), 30,7 (C-3'), 26,3 (C-2').

Caracterização do *N*-(7-cloroquinolin-4-il)hexano-1,6-diamina (4)

FM= $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{ClN}_3$

MM= 277,79 g/mol

Característica física= sólido amarelo

Ponto de fusão: 136°C

Rf= 0,2 (MeOH/ CH_2Cl_2) Revelador= lâmpada U.V.

IV (KBr) (cm^{-1}): 3305 (estiramento de N-H de amina), 3080 (estiramento C-H aromático), 2933 (estiramento C-H alifático), 1579 (estiramento C=C e C-N).

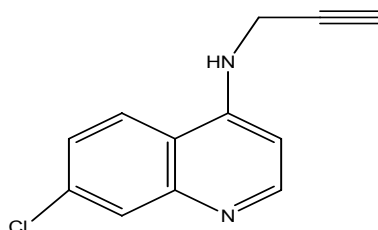
RMN de ^1H (300 MHz, DMSO) δ (ppm), J (Hz): 8,37 (1H, d, $J_{2,3}=6\text{Hz}$, H-2); 8,29 (1H, dd, $J_{6,5}=9\text{ Hz}$, H-6); 7,76(1H, s, H-8); 7,44 (1H, m, NH); 7,31(1H, d, $J_{5,6}= 6\text{ Hz}$, H-5,); 6,45 (1H, d, $J_{3,2}=3\text{Hz}$, H-3); 3,25 (4H, m, H-1', H-6'); 1,65 (2H, m, H-5'); 1,33 (6H, m, H-2', H-3', H-4').

RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO) δ (ppm): 151,3 (C-2); 149,5 (C-4); 149,6 (C-9); 132,7 (C-7); 126,9 (C-8); 123,6 (C-6); 116,9 (C-5); 98,0 (C-3), 41,8 (C-1'), 41,1 (C-6'), 32,8 (C-5'), 27,3 (C-2); 26,1 (C-3'); 25,7 (C-4').

2.6.2. Síntese dos alcinos terminais derivados de quinolina (5-9)

Síntese do 4-amino-7-cloro-*N*-(prop-2-inil)quinolina (5)

Em um balão de 50 mL foram transferidos 2,0g (10,1mmol) de 4,7-dicloroquinolina em DMF, em seguida, adicionou-se 0,67g (12,2mmol) de propargilamina. A mistura reagente permaneceu em agitação a temperatura ambiente por 48 horas. Através de CCDS, verificou-se a formação de um produto mais polar. Após eliminação do solvente pelo rotaevaporador o resíduo foi submetido à purificação por CCS utilizando uma mistura de metanol e diclorometano em escala gradiente (4:6). Assim, obtiveram-se 1,53g (7,1mmol) de 5 (rendimento 70%).



FM= $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClN}_2$

MM= 216,67 g/mol

Característica física= sólido branco

Ponto de fusão: 230°C

Rf= 0,2 (MeOH/CH₂Cl₂) Revelador= U.V.

RAMAN (cm⁻¹): 3228 (estiramento de N-H de amina), 3059 (estiramento C-H aromático), 2934 (estiramento C-H alifático), 2105 (estiramento C≡C); 1555 e 1338 (estiramento C=C e C-N).

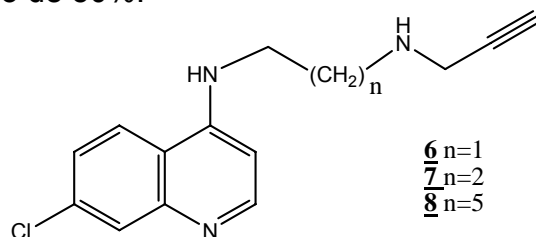
RMN de ¹H (300 MHz, DMSO) δ (ppm), J (Hz): 10,18 (1H, m, NH); 8,68 (2H, m, H-2, H-5); 8,14 (1H, s, H-8); 7,78 (1H, dd, J_{5,6}= 9Hz, H-6); 6,91 (1H, d, J_{2,3}= 9Hz, H-3); 4,41 (2H, m, CH₂NH); 2,50 (1H, s, H-3’).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 155,5 (C-4); 143,5 (C-2); 138,9 (C-9); 138,5 (C-7); 127,6 (C-8); 126,5 (C-6); 119,6 (C-5); 116,0 (C-10), 99,8 (C-3), 78,8 (C-2’), 75,7 (C-3’), 32,6 (C-1’).

ESI-MS (TOF), m/z: teórico [M+H]⁺ 217,0 m/z; experimental [M+H]⁺ 217,0 m/z.

Síntese e caracterização do 4-amino-7-cloro-N-[2-(prop-2-inilamino)alquil] quinolina (6-8)

Em um balão de 50 mL adicionou-se a aminoquinolina correspondente (**1**, **2** e **4**) em etanol, prosseguiu-se com adição de carbonato de potássio e brometo de propargila à 0°C. Manteve-se a mistura reagente sob agitação constante à temperatura ambiente por 48 horas. Através de CCDS, verificou-se a formação de um produto mais apolar. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida. Adicionou-se 10mL de CH₂Cl₂ e realizou-se extração líquido/líquido em CH₂Cl₂/H₂O. Após destilação da fase orgânica realizou-se purificação através de CCS usando uma mistura em escala gradiente de polaridade de CH₂Cl₂/MeOH (0,3:9,7). Os compostos **6-8** foram obtidos com rendimentos em torno de 50%.



Caracterização 4-amino-7-cloro-N-(2-(prop-2-inilamino)etil)quinolina

(6):

FM= C₁₄H₁₄ClN₃

MM= 259,73 g/mol

Característica física= óleo

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂ 2:8) Revelador= lâmpada U.V.

Raman (cm⁻¹): 3310 (estiramento de C-H alcino), 3060 (estiramento C-H aromático), 2942 C-H (estiramento C-H alifático), 2111 (estiramento CC alcino), 1580 e 1368 (estiramento C=C e C-N)

RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm), J (Hz): 8,36 (1H, d, J_{2,3}=3Hz, H-2); 8,10 (1H, dd, J_{6,5}=9 Hz, H-6); 7,76 (1H, s, H-8); 7,41 (1H, d, J_{5,6}= 9 Hz, H-5); 6,58 (1H, d, J_{3,2}= 3 Hz, H-3); 3,5 (4H, m, H-1' e H-3'); 3,02 (2H, m, H-2'); 2,64 (1H, s, H-5').

RMN de ¹³C (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 152,8 (C-4); 152,3 (C-2); 149,5 (C-9); 136,5 (C-7); 127,5 (C-8); 126,2 (C-6); 124,4 (C-5); 99,8 (C-3), 82,0 (C-4'), 73,5 (C-5'), 47,3 (C-1'), 43,3 (C-2'), 30,9 (C-3').

Caracterização do 4-amino-7-cloro-N-(2-(prop-2inilamino)propil)quinolina (7)

FM= C₁₅H₁₆ClN₃

MM= 273,76 g/mol

Característica física= óleo

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂ 2:8) Revelador= lâmpada U.V.

Raman (cm⁻¹): 3069 (estiramento C-H aromático), 2942 (estiramento C-H alifático), 2124 (estiramento CC alcino), 1619 e 1374 (estiramento C=C e C-N).

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO) δ (ppm), J (Hz): 8,11 (1H, d, J_{2,3}=3Hz, H-2); 7,81 (1H, dd, J_{6,5}=9 Hz, H-6); 7,52 (1H, s, H-8); 7,17 (1H, d, J_{5,6}= 9 Hz, H-5); 6,29 (1H, d, J_{3,2}= 6 Hz, H-3); 3,19 (2H, m, H-1'); 3,07 (1H, s, H-6'); 2,51 (2H, m, H-3'), 2,44 (2H, s, H-4'), 1,68 (2 H, m, H-2').

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) δ (ppm): 153,1 (C-4); 152,0 (C-2); 149,0 (C-9); 136,7 (C-7); 127,2 (C-8); 126,3 (C-6); 124,5 (C-5), 118,7 (C-10), 99,7 (C-3), 79,2 (C-5'), 75,1 (C-6'), 52,3 (C-3'), 42,9 (C-4'), 42,8 (C-1'), 26,41 (C-2').

Caracterização do 4-amino-7-cloro-N-(2-(prop-2-inilamino)hexil)quinolina (8)

FM= C₁₈H₂₂ClN₃

MM= 273,76 g/mol

Característica física= óleo

Rf= 0,4 (MeOH/CH₂Cl₂ 2:8) Revelador= lâmpada U.V.

Raman (cm⁻¹): 3079 (estiramento C-H aromático), 2932 (estiramento C-H alifático), 2130 (estiramento CC alcino), 1631 e 1374 (estiramento C=C e C-N).

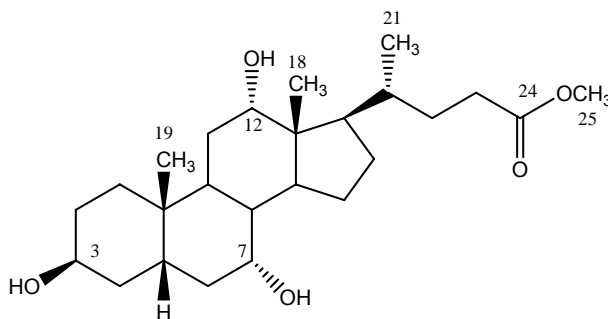
RMN de ¹H (300 MHz, DMSO) δ (ppm), J (Hz): 8,31 (1H, d, J_{2,3}=6,4Hz, H-2); 8,12 (1H, J_{5,6}=8,4Hz, H-5); 7,73 (1H, s, H-8); 7,40 (1H, dd, J_{6,5}= 8,3 Hz, H-5); 6,53 (1H, d, J_{3,2}= 6,1 Hz, H-3); 3,40 (2H, s, H-7’); 3,35 (1H, s, H-9’); 2,62 (2H, m, H-1’), 2,52 (2H, m, H-6’), 1,73(2 H, m, H-2’), 1,46 (6H, m, H-3’, H-4’ e H-5’).

RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO) δ (ppm): 153,9 (C-4); 151,0 (C-2); 148,1 (C-9); 137,4 (C-7); 126,9 (C-8); 126,6 (C-6); 124,8 (C-5); 118,6 (C-10), 99,9 (C-3), 79,3 (C-8’), 75,1 (C-9’), 54,0 (C-6’), 44,4 (C-1’), 42,9 (C-7’), 29,5 (C-2’), 29,3 (C5’), 28,4 (C-3’), 28,2 (C-4’).

2.6.3. Obtenção do Azido Terminal Derivado de Ácido Cólico

Síntese do Metil-3β,7α,12α-triidroxi-5β-colano-24-ato (**9**)

Em um balão de fundo redondo (100 mL) mantiveram-se 3,1g de ácido cólico em metanol e adicionaram-se, lentamente, 20 gotas de ácido clorídrico sob agitação constante à temperatura ambiente por 24 horas, levando ao composto **10** com rendimento quantitativo. Através de CCDS (Rf=0,3 Hexano/AcOEt, 1:1), verificou-se a formação de um produto apolar. Prosseguiu-se com neutralização do meio usando NaOH 1N. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi cristalizado em acetato de etila. O compostos **10** foi obtido com rendimento quantitativo (3,2 g).



As caracterizações estão de acordo com a literatura.^{13,17}

FM= C₂₅H₄₂O₅

MM= 422,6 g/mol

Característica física= sólido branco

Ponto de fusão: 158°C

R_f = 0,3 (Hex/AcOEt 1:1) Revelador = 20% solução etanólica de H₂SO₄

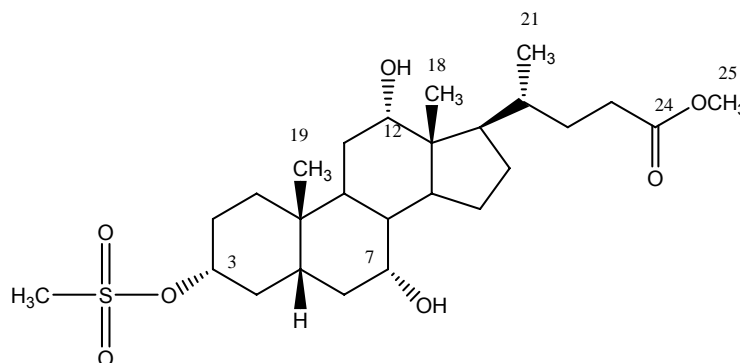
IV (KBr) (cm⁻¹): 3384 (estiramento de O-H), 2931 (estiramento C-H alifático), 1739 (estiramento C=O de ésteres).

RMN de ¹H (300 MHz, acetona deuterada) δ (ppm), J (Hz): 3,94 (1H, m, H-12), 3,79 (1H, m, H-3), 3,58 (3H, s, H-25), 3,31 (1H, m, H-7), 0,98 (3H, s, H-21), 0,88 (3H, s, H-18), 0,68 (3H, s, H-19).

RMN de ¹³C (75 MHz, acetona deuterada) δ (ppm): 174,7 (C-24), 72,8 (C-12), 72,1 (C-7), 68,2 (C-3), 51,5 (C-13), 47,4 (C-25), 47,1 (C-2), 42,9 (C-14), 42,6 (C-14), 40,8 (C-8), 40,6 (C-9), 36,4 (C-1), 36,3 (C-10, C-4 e C-6), 29,6 (C-11), 29,5 (C-10), 23,9 (C-15), 23,2 (C-21), 17,5 (C-19), 12,9 (C-18).

Síntese do 3α,24-dimesiloxi-7α,12α-diidroxi-5β-colano (**10**)

Em um balão de 100 mL contendo 2g do composto **10** (4,92 mmol) em diclorometano (20 mL) adicionaram-se 6,4 mL de trietilamina (49,2 mmol) à 0°C. Em seguida, 0,5 mL de cloreto de metanossulfonila (4,92 mmol) foi adicionado lentamente à mistura reagente. A solução reagente foi deixada em agitação por 2 horas a 0°C. Através de CCDS (R_f=0,8 Hexano/AcOEt, 1:1), verificou-se a formação de um produto apolar. O solvente orgânico foi lavado com água e sal. O solvente orgânico foi removido sob pressão reduzida e o resíduo obtido foi purificado por CCS usando uma mistura em escala gradiente de polaridade de Hex/AcOEt (8:2). Foram obtidos 1,9 g do composto desejado (rendimento de 80%).



As caracterizações estão de acordo com a literatura.^{13,17}

FM = C₂₆H₄₄O₇S

MM = 500,69 g/mol

Característica física= óleo translúcido

Rf= 0,8 (Hex/AcOEt 1:1) Revelador= 20% solução etanólica de H₂SO₄

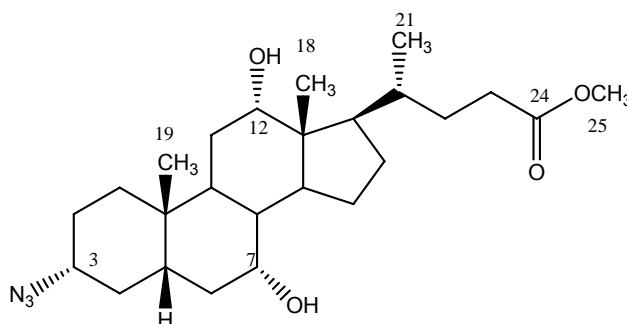
IV (KBr) (cm⁻¹): 3444 (estiramento de O-H), 2945 (estiramento C-H alifático), 1732 (estiramento C=O de ésteres), 1348 e 1172 (estiramento SO₂), 916-738 (estiramentos S-O-C).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 4,50 (1H, m, H-3), 4,11 (1H, m, H-12), 3,99 (1H, m, H-7), 3,67 (3H, s, H-25), 2,99 (3H, s, H-26), 0,97 (3H, s, H-21), 0,90 (3H, s, H-18), 0,69 (3H, s, H-19).

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 175,2 (C-24), 72,3 (C-12), 83,1 (C-7), 76,8 (C-3), 73,0 (C-13), 22,3 (C-21), 17,4 (C-19), 12,6 (C-18).

Síntese do 3-azido (metil- 3β-azido-,7α,12α-dihidroxi- 5β-colano-24-ato) (11)

Em um balão de 100 mL, adicionou-se numa solução de 11 em DMF azida sódica. A mistura reagente foi mantida sob agitação constante à 120°C por 36 horas. Através de CCDS (Rf=0,8 Hexano/AcOEt, 1:1), verificou-se a formação de um produto polar. Após remoção do solvente em rotaevaporador sob pressão reduzida prosseguiu-se com a purificação através de CCS usando uma mistura em escala gradiente de polaridade de Hex/AcOEt (7:3). Foram obtidos 1,9 g do composto desejado (rendimento de 80%).



As caracterizações estão de acordo com a literatura.^{13,17}

FM= C₂₅H₄₁N₃O₄

MM= 447,61 g/mol

Característica física= cristal branco

Ponto de fusão: 175°C

Rf= 0,8 (Hex/AcOEt 1:1) Revelador= 20% solução etanólica de H₂SO₄

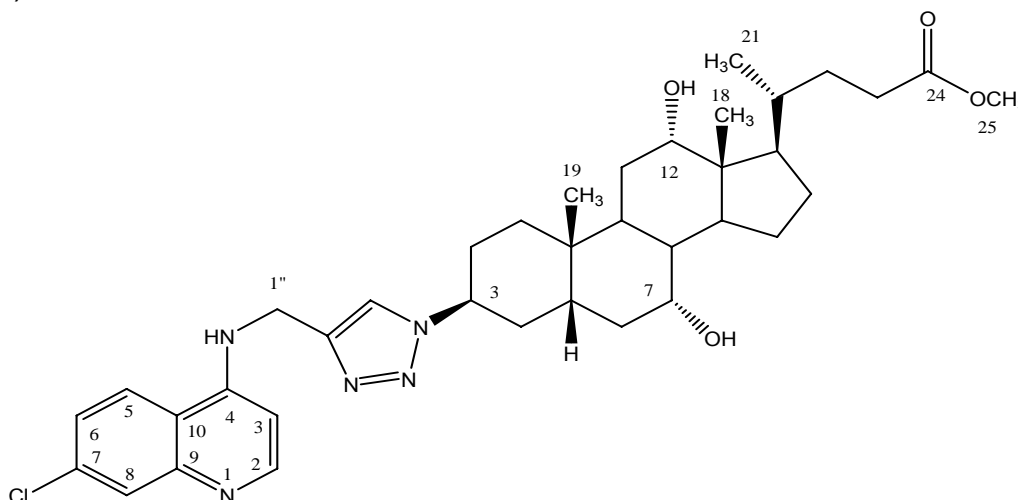
IV (KBr) (cm⁻¹): 3550 (estiramento de O-H), 2920 tem-se C-H (estiramento C-H alifático), 2098 (estiramento N₃), 1730 (estiramento C=O de ésteres).

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm), J (Hz): 3,93 (1H, m, H-12), 3,85 (2H, m, H-3 e H-7), 3,61 (3H, s, H-25), 0,93 (3H,s, H-21), 0,91 (3H, s, H-18), 0,64 (3H, s, H-19).

RMN de ¹³C (75 MHz, acetona deuterada) δ (ppm): 174,5 (C-24), 72,8 (C-12), 68,1 (C-7), 59,7 (C-3), 59,7 (C-13), 47,4 (C-25), 47,1 (C-2), 42,9 (C-14), 42,6 (C-14), 40,8 (C-8), 40,6 (C-9), 35,4 (C-1), 33,7 (C-10, C-4 e C-6), 28,2 (C-11), 26,9 (C-10), 23,7 (C-15), 23,5 (C-21), 17,4 (C-19), 12,8 (C-18).

2.6.4. Síntese do conjugado aminoquinolina/ácido cólico: (R)-metil-4-((3S, 5S, 7R, 10S,12S, 13R, 17R)-3-(4-((7-cloroquinolin-4-ilamino)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-hexadecaidro-7,12-diidroxio,10,13-dimetil-1H-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanoato (12)

Em um balão de 25 mL, 0,170g (0,78mmol) do alcino (composto 5) e 0,381g (0,85mmol) do azido (composto 12) foram dissolvidos em DMSO/H₂O 1:1 (8mL). Para esta solução, 0,010g (0,04mmol) de CuSO₄.5H₂O e 0,062g (0,31mmol) de ascorbato de sódio foram adicionados. A mistura reagente foi deixada em agitação constante sob temperatura ambiente por 72 horas. O precipitado formado foi filtrado e através de CCDS (Rf=0,3 MeOH/CH₂Cl₂, 2:8), verificou-se a formação de um produto polar. Prosseguiu-se com a purificação através de CCS usando uma mistura em escala gradiente de polaridade de MeOH/CH₂Cl₂ (1:1). Foram obtidos 0,217g do composto 12 (rendimento de 50%).



FM= C₃₇H₅₀N₅O₄

MM= 664,28 g/mol

Característica física= cristal amarelado

Ponto de fusão: 128°C

Rf= 0,3 (MeOH/CH₂Cl₂ 2:8) Revelador= lâmpada UV

IV (KBr) (cm⁻¹): 3338 (estiramento de amina aromática), 2933 tem-se C-H (estiramento C-H alifático), 1581 (estiramento C=C e C-N).

RMN de ¹H (300 MHz, acetona deuterada) δ (ppm), J (Hz): 8,38 (1H, d, J_{2,3}= 4Hz, H-2); 8,18 (1H, d, J_{5,6}=6 Hz, H-5); 8,02 (1H, s, H-triazol); 7,84 (1H, s, H-8); 7,50 (1H, d, J_{6,5}= 6 Hz, J=2Hz, H-6); 6,69 (1H, d, J_{3,2}= 4 Hz, H-3); 4,68 (2H, s, H-1''); 3,98 (1H, s, H-12), 3,75 (1H, s, H-7), 3,60 (3H, s, H-25), 1,02 (3H,d, J= 6Hz, H-20), 0,92 (3H, s, H-18), 0,68 (3H, s, H-19).

RMN de ¹³C (75 MHz, acetona deuterada) δ (ppm): 155,3 (C-4'); 147,4 (C-2'); 144,2 (C-triazol); 138,9 (C-9'); 138,1 (C-7'); 127,6 (C-8'); 125,4 (C-6'); 123,9 (C-triazol); 123,3 (C-5'); 117,8 (C-10'), 100,3 (C-3'), 73,9 (C-12), 68,8 (C-7), 58,6 (C-3), 51,4 (C-13), 47,4 (C-25), 47,1 (C-2), 42,9 (C-14), 42,6 (C-14), 40,8 (C-8), 40,6 (C-9), 35,4 (C-1), 33,7 (C-10, C-4 e C-6), 28,2 (C-11), 26,9 (C-10), 23,7 (C-15), 23,3 (C-21), 17,6 (C-19), 12,9 (C-18).

ESI-MS (TOF), m/z: teórico [M+H]⁺ 664,3 m/z; experimental [M+H]⁺ 664,3 m/z

2.7. Referências Bibliográficas

- (1) Rosenthal, P. J.; *J. Exp. Bio.*, **2003**, 206, 3735-3744.
- (2) Fidock, D. A.; Rosenthal, P. J.; Croft, S. L.; Brun, R.; Nwaka, S.; *Nat. Rev.*, **2004**, 3, 509-520.
- (3) Solomon, V. R.; Puri, S. K. ; Srivastava, K. ; Katti, S. B.; *Bioorg. Méd. Chem.*, **2005**, 13, 2157-2165.
- (4) Solomon, V. R.; Haq, W.; Srivastava, K. ; Puri, K.; Katti, S. B.; *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 394-398.
- (5) Ferraz, R. J. V.; Quimioterapia da malária: síntese de pró fármacos da primaquina, Faculdade de ciências, Universidade do Porto, **2002**. (Seminário)
- (6) Chiyanzu, I.; Clarkson, C.; Smith, P. J.; Lehman, J.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Chibale, K.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 3249-3261.
- (7) www.cives.ufri.br/informação/malaria Acessado em 15/10/2007
- (8) www.sucen.sp.gov.br/doencas/malaria Acessado em 12/12/2007
- (9) <http://tilz.tearfund.org/> Acessado em 05/01/2008
- (10) Madrid, P. B.; Wilson, N. T.; DeRisi, J. L.; Guy, K. R.; *J. Comb. Chem.*, **2004**, 6, 437-442.
- (11) Musonda, C. C.; Whitlock, G. A.; Witty, M. J.; Brun; R.; Kaiser, M.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19, 481-484.
- (12) Chiyanzu, I.; Clarkson, C.; Smith, P. J.; Lehman, J.; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Chibale K.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 3249-3261.

(13) Melo, J. O. F.; Donnici, C. L.; Augusti, R.; Ferreira, V. F.; De Souza, C. B. V.; Ferreira, M. L. G.; Cunha, A. C.; *Quim. Nova*, **2006**, 3, 569-579

(14) Fantin, G.; Ferrarini, S.; Médici, A.; Pedrini, P.; Poli, S.; *Tetrahedron*, 1997, 54, 1937-1942.

(15) Fillipin, F. B.; Souza, L. C. ; *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, **2006**, 42

(16) Pore, V. S.; Aher, N. G.; Kumar, M.; Shukla, P. K.; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 11178-11186.

(17) Burnett, J. C.; Opsenica, d.; Sriraghavan, K.; Panchal, R. G.; Ruthel, G.; hermone, A. R.; Nguyen, T. L.; Kenny, T. A.; Lane, D. J.; McGrath, C. F.; Schmidt, J. J.; Vennerstrom, G. R.; Solaja, B. A.; Bavari, S.; *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 2127-2136.

(18) www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest ,acessado em 10/11/2007

(19) Musonda, C. C; Gut, J.; Rosenthal, P. J.; Yardley, V.; de Souza, R. C. C.; Chibale, K.; *Bio. Med. Chem.*, **2006**, 14, 5605-5615.

(20) Aher, N. G.; Pore, V. S.; *Org. Chem. Synt. Div.*, **2005**, 2155-2158.

(21) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharples, K. B.; *Angew. Chem. Int.*; **2001**, 40, 2004-2021.

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](#)