

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Síntese de dezesseis adutos aromáticos de Morita-Baylis-Hillman: Bioavaliação contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania chagasi* e análise da relação estrutura-atividade biológica

Claudio Gabriel Lima Junior

**João Pessoa – PB - Brasil
Julho/2009**

SAPIENTIA ÆDIFICAT

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Síntese de dezesseis adutos aromáticos de Morita-Baylis-Hillman: Bioavaliação contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania chagasi* e análise da relação estrutura-atividade biológica

Claudio Gabriel Lima Junior*

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos

***Bolsista (CAPES)**

João Pessoa – PB – Brasil

Julho/2009

SAPIENTIA EDIFICAT

L732s Lima Junior, Claudio Gabriel.

Síntese de dezesseis adutos aromáticos de Morita-Baylis-Hillman : bioavaliação contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania chagasi* e análise da relação estrutura-atividade biológica / Claudio Gabriel Lima Junior. -- João Pessoa: UFPB, 2009.

.120.f. : il.

Orientador: Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos.

Dissertação (Mestrado) – UFPB, CCEN.

1. Química orgânica. 2. Adutos de Morita-Baylis-Hillman. 3. Leishmanicidas. 4. Relação estrutura atividade - SAR.

UFPB/BC

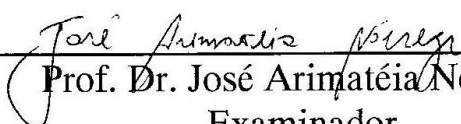
CDU: 547(043)

Síntese de Dezesesseis Adutos Aromáticos de Morita-Baylis-Hillman: Bioavaliação Contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania chagasi* e Análise da Relação Estrutura-Atividade Biológica.

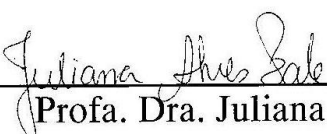
Aprovada pela banca examinadora:



Prof. Dr. Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos
Orientador/Presidente



Prof. Dr. José Arimatéia Nóbrega
Examinador



Profa. Dra. Juliana Alves Vale
Examinadora

“Senhor,faizei-me
instrumento de vossa paz”.
(Oração de São Francisco de Assis)

Dedicatória

À Deus pelo presente da vida a mim concedido.

Aos meus pais, Claudio e Inací pelo imenso amor
e carinho dado a mim durante toda minha caminhada.

A meus irmãos Ubiracy e Iracema.

A minha companheira Kecya pelo apoio,
compreensão e amor

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por me guiar sempre pelos caminhos da paz e do amor.

Ao meu orientador e amigo Dr. Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos pela amizade, oportunidade, seus ensinamentos, contribuições acadêmicas e científicas.

A professora Dr. Márcia Rosa de Oliveira e toda a equipe do Laboratório de Leishmanioses pela grande parceria e colaboração nos estudos relacionados à atividade leishmanicida.

Aos amigos do LASOM pelos momentos de grande alegria e descontração compartilhadas durante a realização deste trabalho: Fábio, Suervy, Natália, Hermesson, Saraghina, Saulo, Ticiano e Edilson.

A Professora Regiane Ugulino, pela acolhida e excelente trabalho desempenhado à frente do programa de Pós-Graduação em Química da UFPB.

Ao técnico Vicente pela realização das análises dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear

A CAPES pela bolsa concedida

RESUMO

Título: Síntese de dezesseis adutos aromáticos de Morita-Baylis-Hillman: Bioavaliação contra *Leishmania amazonensis*, *Leishmania chagasi* e estudo da relação estrutura-atividade biológica.

Autor: Claudio Gabriel Lima Junior

Orientador: Prof. Dr. Mario Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos

Os adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) são compostos polifuncionalizados amplamente utilizados como intermediários na síntese de produtos naturais. Desde 1999, derivados dos AMBH vêm sendo investigados do ponto de vista farmacológico, apresentando variadas bioatividades tais como: antimalarial, antineoplásica, moluscicida, antileishmania e antichagásica. Neste trabalho, descobrimos e descrevemos condições experimentais quimiosseletivas para a preparação de 16 AMBH. Nestas, cada aduto foi preparado na forma pura e nenhum produto co-lateral foi observado. Propostas sobre os mecanismos da reação de Morita-Baylis-Hillman (RMBH), que explicam as quimiosseletividades obtidas são apresentadas. Bioavaliações contra às formas promastigota de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi* foram efetuadas. Todos os adutos demonstraram forte atividade antipromastigota, sendo os compostos **22**, **25**, **26** e **37** os mais ativos em ambas as espécies de *Leishmania* (*L. amazonensis* e *L. chagasi*). Finalmente, apresentamos pela primeira vez, uma análise SAR para os AMBH, uma nova classe de leishmanicidas.

Palavras-chave: Adutos de Morita-Baylis-Hillman. Leishmanicidas. Relação estrutura-atividade (SAR).

ABSTRACT

Title: Synthesis of sixteen aromatics adducts of Morita-Baylis-Hillman: Bioevaluation against *Leishmania amazonensis*, *Leishmania chagasi* and study of structure-activity relationship biologic.

Author: Claudio Gabriel Lima Junior

Adviser: Prof. Dr. Mario Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos

The Morita-Baylis-Hillman adducts (MBHA) are polifuncionalized compounds widely used as intermediates in the synthesis of natural products. Since 1999, MBHA derivatives have been pharmacologically investigated, presenting a several bioactivities such as: antimalarial, antineoplastic, molluscicide, antileishmania and antichagasic. In this work, we discovered and described experimental conditions for the chemoselective preparation of 16 AMBH. Each adduct was prepared in the pure form, and any side products were observed. Proposals about the Morita-Baylis-Hillman reactions (MBHR) mechanisms, which explain the chemoselectivity obtained, are presented. Bioevaluations against the promastigote forms of *Leishmania amazonensis* and *Leishmania chagasi* were made. All prepared MBHA showed strong antipromastigota activity, and the compounds **22**, **25**, **26** and **37** were the most active in both *Leishmania* species (*L. amazonensis* and *L. chagasi*). Finally, we presented of the first time, an SAR analysis to the AMBH as a new class of leishmanicides.

Keywords: Morita-Baylis-Hillman adducts. Leishmanicides. Structure-activity relationship (SAR).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Investimentos do Mercado Farmacêutico Mundial.....	3
Figura 1.2: Flebótomo do gênero <i>Lutzomyai</i> (<i>Lutzomyai longipalpis</i>) fêmea em repasto sanguíneo.	4
Figura 1.3: Lesão causada por LC	5
Figura 1.4: Lesão labial causada por LMC	6
Figura 1.5: Lesão causada por LV	6
Figura 1.6: Formas amastigota do parasita	7
Figura 1.7: Formas promastigota do parasita	7
Figura 1.8: Ciclo de transmissão de parasitos do gênero Leishmania	8
Figura 1.9: Antimoniais empregados no tratamento das leishmanioses.....	9
Figura 1.10: Fórmula estrutural da Anfotericina B	10
Figura 1.11: Fórmula estrutural da pentamidina.....	10
Figura 1.12: Fórmula estrutural da Miltefosine	11
Figura 1.13: Número de casos de Leishmania Tegumentar Americana (LTA) por região brasileira.....	12
Figura 1.14: Número de casos de Leishmania visceral por região brasileira no ano de 2008	13
Figura 1.15: Número de casos de leishmanioses notificados Para o estado da Paraíba no período de 2004 a 2008	14
Figura 1.16: Histograma do número de publicações/ano envolvendo a RMBH	19
Figura 1.17: Estado de transição proposto por Aggarwal para RMBH usando metanol como fonte de prótons.	23
Figura 1.18: Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) em presença de β -naftol.	24

Figura 1.19: Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) usando metanol como solvente.	24
Figura 1.20: Adutos mais ativos frente <i>P. falciparum</i> e <i>P. berghei</i>	25
Figura 1.21: Adutos antimalariais derivados de 2-cloronicotinaldeídos substituídos	26
Figura 1.22: <i>Biomphalaria glabrata</i>	26
Figura 1.23: Adutos de MBH mais ativos frente <i>B. glabrata</i>	27
Figura 1.24: Adutos de MBH mais ativos contra as formas amastigota de <i>L. amazonensis</i>	28
Figura 1.25: Áreas interdisciplinares da Química Medicinal	30
Figura 1.26: Etapas envolvidas no processo de descoberta de um fármaco.	31
Figura 1.27: “Caminhos” para a otimização de protótipos.	32
Figura 3.1. Adutos de Morita-Baylis-Hillman propostos neste trabalho.	39
Figura 3.2: Retro-análise para os AMBH	39
Figura 4.1: Adutos de Morita-Baylis-Hillman inicialmente sintetizados	42
Figura 4.2: Enolato Z e E	46
Figura 4.3: Estados de transições propostos para as etapas lentas das reações de MBH.	47
Figura 4.4: Adutos de Morita-Baylis-Hillman originados da reação entre aldeídos aromáticos e acrilato de metila	50
Figura 4.5: Propostas de interações diferenciadas entre os AMBH com os receptores biológicos. Em vermelho, representamos o sítio ativo de uma dada enzima.	55
Figura 4.6: Caracterização da IHB no aduto 29	56

Figura 4.7: Propostas de interações semelhantes entre os AMBH com os receptores biológicos. Em vermelho, representamos o sítio ativo de uma dada enzima.	56
Figura 4.8: Processo de oxi-redução do grupo nitro	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Principais efeitos colaterais causados pelos fármacos de segunda escolha no tratamento das leishmanioses.	11
Tabela 1.2: Alguns derivados de 1H-pirazola sintetizados e bioavaliados em <i>T. cruzi</i>	34
Tabela 4.1: Resultados da reação de preparação dos adutos usando a mistura terc-butanol / água (6:4) como solvente.	43
Tabela 4.2: Resultados da otimização da preparação de 31	44
Tabela 4.3: Resultados obtidos na preparação dos AMBH a partir dos aldeídos aromáticos e acrilonitrila utilizando o novo protocolo (Entrada 3, Tabela 4.2)	49
Tabela 4.4: Resultados obtidos na síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman derivados do acrilato de metila	51
Tabela 4.5: Atividade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> .	53
Tabela 4.6: Atividade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigotas de <i>L. chagasi</i> .	58

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.1: Reação de Baylis-Hillman R,R1 = H, alquil, aril, heteroaril. GEA = CN, CO ₂ R, COR, outros.	15
Esquema 1.2: Reação descrita por Morita em 1968	16
Esquema 1.3: Reação descrita por Baylis-Hillman em 1972.	17
Esquema 1.4: Síntese do ácido intererriínico a partir de um aduto de Baylis-Hillman	17
Esquema 1.5: Síntese do ácido mikanécico a partir de um aduto de Baylis-Hillman	18
Esquema 1.6: Ciclo catalítico proposto por Hoffman/Hill e Isaacs para a RMBH	21
Esquema 1.7: Proposta mecanística de McQuade.	22
Esquema 4.1: Metodologia inicial para a síntese de 29, 31, 13, 33, 14, 36, 26 e 25	43
Esquema 4.2: Otimização da preparação de 37	52

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 8.1: Espectro de RMN ¹ H de 28 (CDCl ₃ , 200 MHz).	80
Espectro 8.2: Expansão do espectro de RMN ¹ H de 28 na região de 7,94 a 7,39 ppm (CDCl ₃ , 200 MHz).	80
Espectro 8.3: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 28 (CDCl ₃ , 50 MHz)	81
Espectro 8.4: Espectro de RMN ¹ H de 29 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	81
Espectro 8.5: Expansão do Espectro de RMN ¹ H de 29 na região de 6,08 a 5,95 ppm (CDCl ₃ , 200 MHz).....	82
Espectro 8.6: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 29 (CDCl ₃ , 50 MHz)	82
Espectro 8.7: Espectro de RMN ¹ H de 30 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	83
Espectro 8.8: Expansão do espectro de RMN ¹ H de 30 na região de 8,23 a 7,45ppm (CDCl ₃ , 200 MHz)..	83
Espectro 8.9: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 30 (CDCl ₃ , 50 MHz)... ..	84
Espectro 8.10: Espectro de RMN ¹ H de 31 (CDCl ₃ , 200 MHz).	84
Espectro 8.11: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 31 (CDCl ₃ , 50 MHz).	85
Espectro 8.12: Espectro de RMN ¹ H de 23 (CDCl ₃ , 200 MHz)	85
Espectro 8.13: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 23 (CDCl ₃ , 50 MHz)	86
Espectro 8.14: Espectro de RMN ¹ H de 13 (CDCl ₃ , 200 MHz)	86
Espectro 8.15: Expansão do espectro de RMN ¹ H de 13 na região de 6,16 a 6,04 ppm (CDCl ₃ , 200 MHz)	87
Espectro 8.16: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 13 (CDCl ₃ , 50 MHz).	87

Espectro 8.17: Espectro de RMN ¹ H de 32 (CDCl ₃ , 200 MHz)..	88
Espectro 8.18: Expansão do espectro de RMN ¹ H de 32 na região de 8,53 a 7,16 ppm (CDCl ₃ , 200 MHz)...	88
Espectro 8.19: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 32 (CDCl ₃ , 50 MHz) ...	89
Espectro 8.20: Espectro de RMN ¹ H de 33 (CDCl ₃ , 200 MHz).	89
Espectro 8.21: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 33 (CDCl ₃ , 50 MHz).	90
Espectro 8.22: Espectro de RMN ¹ H de 34 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	90
Espectro 8.23: Expansão do espectro de RMN ¹ H de 34 na região de 8,48 a 7,23 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	91
Espectro 8.24: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 34 (CDCl ₃ , 50 MHz)	91
Espectro 8.25: Espectro de RMN ¹ H de 14 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	92
Espectro 8.26: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 14 (CDCl ₃ , 50 MHz)....	92
Espectro 8.27: Espectro de RMN ¹ H de 35 (CDCl ₃ , 200 MHz).	93
Espectro 8.28: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 35 (CDCl ₃ , 50 MHz)	93
Espectro 8.29: Espectro de RMN ¹ H de 36 (CDCl ₃ , 200 MHz)	94
Espectro 8.30: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 36 (CDCl ₃ , 50 MHz)	94
Espectro 8.31: Espectro de RMN ¹ H de 22 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	95
Espectro 8.32: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 22 (CDCl ₃ , 50 MHz)	95

Espectro 8.33: Espectro de RMN ¹ H de 26 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	96
Espectro 8.34: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 26 (CDCl ₃ , 50 MHz)..	96
Espectro 8.35: Expansão do espectro de RMN ¹³ C de 26 na região de 137,81 a 125,21 ppm (CDCl ₃ , 50 MHz)	97
Espectro 8.36: Espectro de RMN ¹ H de 37 (CDCl ₃ , 200 MHz)	97
Espectro 8.37: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 37 (CDCl ₃ , 50 MHz)	98
Espectro 8.38: Espectro de RMN ¹ H de 25 (CDCl ₃ , 200 MHz).....	98
Espectro 8.39: Espectro de RMN ¹³ C - APT de 25 (CDCl ₃ , 50 MHz)	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- A** - valor pré-exponencial ou fator frequência
- AMBH** – adutos de Morita-Baylis-Hillman
- CCDA** – Cromatografia de Camada Delgada analítica
- CI₅₀** – Concentração que inibe 50% do crescimento de uma população
- d** – dubleto
- δ - Deslocamento químico
- DABCO** - 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octano
- dd** - duplo dubleto
- ddd** – duplo duplo dubleto
- ET** – Estado de Trasição
- GEA** – Grupos Elétron-atratores
- Hz** – Hertz
- IHB** – “Intramolecular Hydrogen Bond” (Ligação de Hidrogênio Intramolecular).
- k** - constante da velocidade da reação
- m** – multipletto
- MSF** – “Medicians Saint frontier” (Médicos sem fronteiras)
- OMS** – Organização Mundial de Saúde
- ONG** – Organização não governamental
- P&D** – Pesquisa e Desenvolvimento
- ppm** – partes por milhão
- QSAR** - “Quantitative Structure-Activity Relationship” (Relação Quantitativa Estrutura-Atividade).
- QTAIM** – “Quantum Teory Atoms in Molecules” (Teoria quântica de átomos em moléculas)
- RMBH** – Reação de Morita-Baylis-Hillman
- RMN** – Ressonância Magnética Nuclear
- RRMBH** - Retro-Reação de Morita-Baylis-Hillman

s – Singleto

SAR – “Structure Activity Relationship” (Relação estrutura-atividade)

Sb(III) – Antimônio trivalente

sl – Singleto largo

t - tripleto

TMS – Tetrametilsilano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.	1
1.1 INDÚSTRIA FARMACÊUTICA E AS DOENÇAS NEGLIGENCIADAS .	2
1.2 LEISHMANIOSES.	4
1.2.1 Aspectos gerais	4
1.2.1.1 Ciclo de vida do parasita	6
1.2.2 Quimioterapia para as leishmanioses	9
1.2.3 Leishmanioses no Brasil	12
1.2.3.1 Leishmaniose na Paraíba	14
1.3 REAÇÃO DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN	15
1.3.1 Aspectos gerais.	15
1.3.2 Histórico, desenvolvimento e status atual.	16
1.3.3 Aspectos mecanísticos...	20
1.3.4 Adutos de Morita-Baylis-Hillman e atividade biológica.	25
1.4 A QUÍMICA MEDICINAL.	29
1.4.1 Química Medicinal: a interdisciplinaridade na descoberta de novos fármacos	29
1.4.2 Química Medicinal: planejamento racional de novos fármacos	31
1.4.2.1 Relação estrutura-atividade (SAR)	33
2 OBJETIVOS	36
2.1 OBJETIVO GERAL	37
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	37
3 ESTRATÉGIAS..	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO...	41
4.1 SÍNTESES DOS ADUTOS DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN UTILIZANDO ACRILONITRILA COMO ALQUENO ATIVADO.....	42
4.2 SÍNTESE DOS ADUTOS DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN UTILIZANDO ACRILATO DE METILA COMO ALQUENO ATIVADO	50

4.3 AVALIAÇÃO CONTRA <i>LEISHMANIA AMAZONENSIS</i> <i>LEISHMANIA CHAGASI</i>	52
5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	60
5.1 CONCLUSÕES	61
5.2 PERSPECTIVAS	61
6 PARTE EXPERIMENTAL	62
6.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
6.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA REAÇÃO DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN COM A UTILIZAÇÃO DA MISTURA DE TERC-BUOH/ÁGUA (6:4) COMO SOLVENTE.	64
6.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA REAÇÃO DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN SEM A UTILIZAÇÃO DE SOLVENTE E A TEMPERATURA DE 0°C... ..	64
6.4 PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DE 31 UTILIZANDO ACRILONITRILA COMO SOLVENTE A TEMPERATURA AMBIENTE.	65
6.5 PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DE 31 UTILIZANDO ULTRASOM A TEMPERATURA AMBIENTE	65
6.6 PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DE 31 UTILIZANDO ULTRASOM A TEMPERATURA DE 0°C.....	66
6.7 PROCEDIMENTO PARA PREPARAÇÃO DE 37 UTILIZANDO METANOL COMO SOLVENTE.....	66
6.8 DADOS ESPECTROSCÓPICOS DOS ADUTOS	67
6.8.1 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(2-nitro-fenil)] de metila (28)	67
6.8.2 3-hidroxi-2-metileno (2-nitro-fenil) propanenitrila (29)	67
6.8.3 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(3-nitro-fenil)] de metila (30)	67
6.8.4 3-hidroxi-2-metileno (3-nitro-fenil) propanenitrila (31)	67

6.8.5 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(4-nitro-fenil)] de metila (23)	68
6.8.6 3-hidroxi-2-metileno (4-nitro-fenil) propanenitrila (13)	68
6.8.7 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(2-piridinil)] de metila (32)	68
6.8.8 3-hidroxi-2-metileno (2-piridinil)-propanenitrila (33) ..	68
6.8.9 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(3-piridinil)] de metila (34)	69
6.8.10 3-hidroxi-2-metileno (3-piridinil)-propanenitrila (14)	69
6.8.11 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(4-piridinil)] de metila (35)	69
6.8.12 3-hidroxi-2-metileno (4-piridinil)-propanenitrila (36)	69
6.8.13 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(2-naftil) de metila (22)	70
6.8.14 3-hidroxi-2-metileno (2-naftil)-propanenitrila (26) ...	70
6.8.15 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(4-bromo-fenil)] de metila (37)	70
6.8.16 3-hidroxi-2-metileno (4-bromo-fenil)-propanenitrila (25)	70
REFERÊNCIAS	71
ESPECTROS	79

Capítulo 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Indústria Farmacêutica e as doenças negligenciadas

As indústrias farmacêuticas vêm investindo anualmente bilhões de dólares para pesquisas e desenvolvimento (P&D) de medicamentos para o tratamento de doenças que tragam retorno lucrativo. Doenças cardíacas, câncer e calvície recebem grande atenção por parte das indústrias farmacêuticas devido à grande demanda existente. No entanto, malária, esquistossomose, doença de Chagas e Leishmaniose são doenças marginalizadas pelas grandes indústrias farmoquímicas devido ao não oferecimento de retorno lucrativo às indústrias por parte das pessoas que são acometidas destas enfermidades. Geralmente, o público alvo destas doenças são, em sua maioria, oriundo das classes menos favorecidas da sociedade e de países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, onde as condições de vida são precárias.

Recentemente, a Organização Mundial de Saúde OMS e a ONG Médicos Sem Fronteiras (MSF) classificaram as doenças em globais, negligenciadas e extremamente negligenciadas (CHIN *et al*, 2008). Na Figura 1.1, representamos os investimentos realizados pelo mercado farmacêutico mundial na P&D de medicamentos para o tratamento das doenças globais, negligenciadas e/ou extremamente negligenciadas. Podemos observar que a maior concentração dos investimentos (P&D) do mercado farmacêutico mundial, ilustrado pelo retângulo, está nas chamadas doenças globais (área azul). Doenças tais como câncer, doenças cardiovasculares, doenças mentais e distúrbios neurológicos fazem parte desta classe. Na área verde, podemos observar que uma pequena parcela de investimentos é realizada pelas indústrias farmacêuticas, sendo estas doenças classificadas como negligenciadas. Estas doenças possuem tratamentos ainda ineficazes, acometem milhares

de pessoas ao redor do mundo e são, na maioria das vezes, doenças tropicais infecciosas. Malária, tuberculose e doença de Chagas são exemplos de doenças negligenciadas.

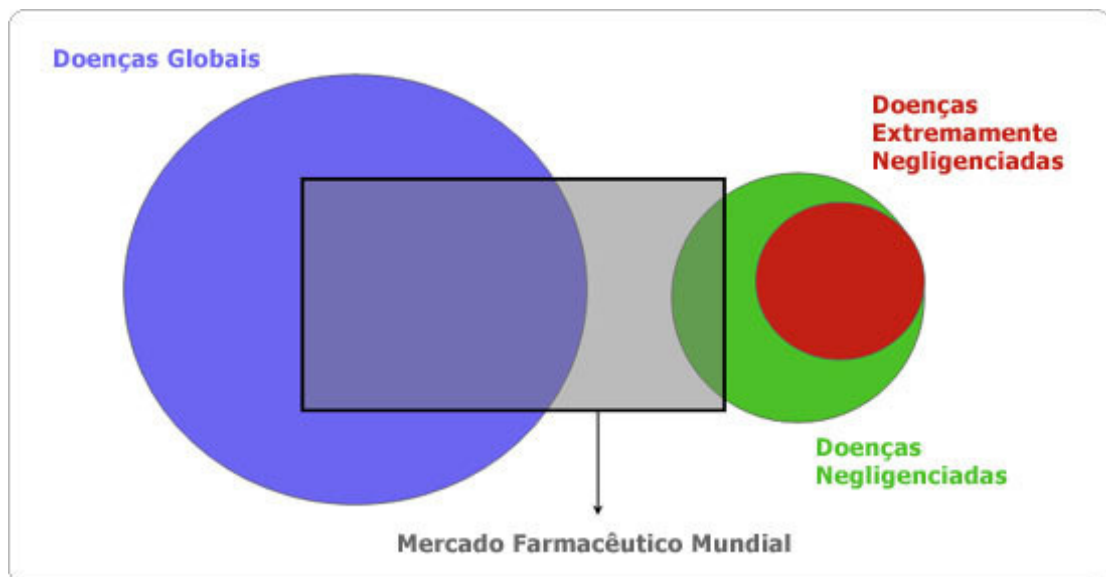


Figura 1.1: Investimentos do Mercado Farmacêutico Mundial (Fonte: http://www.dndi.org.br/Imagens/grafico_doencas_negligenciadas.jpg).

Na área vermelha se encontra as doenças extremamente negligenciadas. Nesta, por sua vez, os pacientes são tão pobres que não possuem poder de compra, desestimulando qualquer investimento por parte das indústrias farmacêuticas. Fazem parte desta classe a leishmaniose, a doença de Chagas e a Filariose Linfática. A área cinza da Figura 1.1 mostra um segmento altamente lucrativo para as indústrias farmacêuticas. Produtos voltados para condições que são diferentes das puramente médicas (como celulite, calvície, rugas, dietas e estresse) recebem grande demanda nos países ricos, fato que estimula investimentos em P&D.

Entre 1975 e 2004, apenas 21 medicamentos foram registrados para doenças tropicais e tuberculose (CHIRAC e TORREELE, 2006). Durante o mesmo período, cerca de 1535 novos medicamentos foram registrados para outras doenças. Isso mostra um descaso total por parte

das indústrias com relação à busca por novos quimioterápicos para o tratamento das doenças negligenciadas e extremamente negligenciadas.

1.2 Leishmanioses

1.2.1 Aspectos gerais

A Leishmaniose é uma doença negligenciada, encontrada em 88 países em desenvolvimento. Esta doença é causada por protozoários do gênero *Leishmania*, estando às espécies *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi* entre as mais difundidas no Brasil. Esta enfermidade é transmitida ao homem (ou outros hospedeiros vertebrados) pela picada do mosquito hematófago fêmea infectado, denominado flebótomineo do gênero *Lutzomyai*, como mostra a Figura 1.2 (WHO, 2009).



Figura 1.2: Flebótomo do gênero *Lutzomyai* (*Lutzomyai longipalpis*) fêmea em repasto sangüíneo (Fonte: <http://leishmania.blogspot.af.br>)

A leishmaniose é, segundo a OMS, uma das seis maiores endemias do mundo (WHO, 2009). Existem 1.5-2 milhões de novos casos e 70.000 mortes por ano. Além disso, 350 milhões estão vivendo em área de

contaminação. Somente malária e esquistossomose possuem números mais alarmantes do que a leishmaniose (DESJEUX, 2004).

A leishmaniose se manifesta principalmente de três formas clínicas: cutânea (LC), mucocutânea (LMC) e visceral (LV), também conhecida como calazar. A LC é caracterizada por lesões ulcerativas em áreas expostas (braços, pernas, entre outras) como mostra a Figura 1.3. A LMC é caracterizada por lesões que destroem parcial ou totalmente a mucosa nasal e oral, como mostrado a Figura 1.4. A LV (Figura 1.5) é caracterizada por febre irregular, perda de peso, hepatoesplenomegalia e anemia, com aproximadamente 100% de taxa de mortalidade em indivíduos não tratados (SOARES-BEZERRA *et al*, 2004). Com mortalidade global estimada em 59.000 óbitos por ano, a LV permanece como importante problema de saúde pública em vários países do mundo (WHO, 2009).



Figura 1.3: Lesão causada por LC (Fonte: BRASIL, 2006a)



Figura 1.4: Lesão labial causada por LMC (Fonte: BRASIL, 2006a)



Figura 1.5: Lesão causada por LV (Fonte: BRASIL, 2006a)

1.2.1.1 Ciclo de vida do Parasita

Os parasitas causadores desta protozoose apresentam-se na forma amastigota (Figura 1.6), quando estão infectando o homem, e na forma promastigota (Figura 1.7), quando estão infectando o inseto vetor (SOARES-BEZERRA *et al*, 2004).

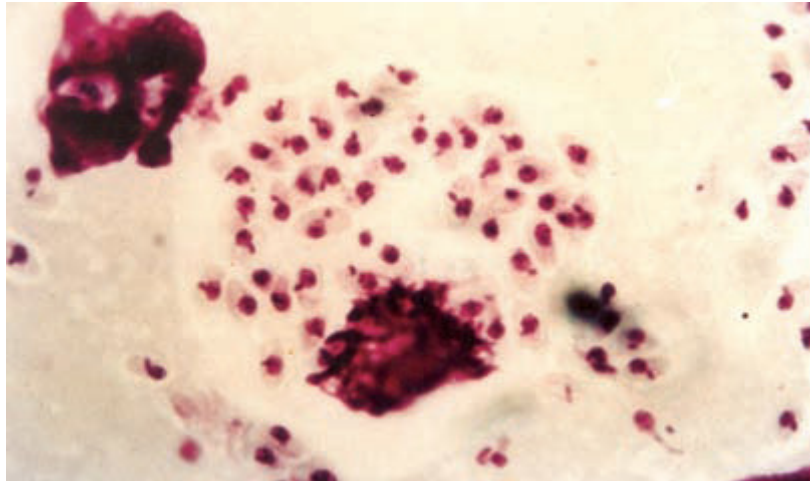


Figura 1.6: Formas amastigota do parasita (Fonte: BRASIL, 2006b)

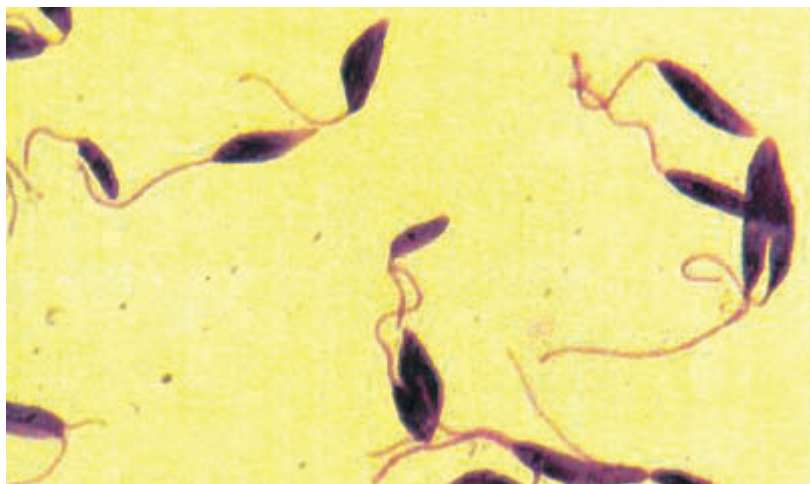


Figura 1.7: Formas promastigota do parasita (Fonte: BRASIL, 2006b)

O ciclo de vida do parasita está mostrado na Figura 1.8 e tem início quando o flebotomíneo-fêmea realiza o repasto sanguíneo no hospedeiro vertebrado, isto é, enquanto ele suga o sangue do hospedeiro, ele transfere promastigotas na pele (Etapa 1). Posteriormente, estas formas são fagocitadas pelos macrófagos (Etapa 2) e quando se encontram dentro do macrófago, se transformam em formas amastigota (Etapa 3). As formas amastigotas se multiplicam dentro do macrófago, o que leva ao

rompimento da célula hospedeira e conseqüentemente a uma liberação de grande quantidade de parasitas, como mostra a etapa 4 (SOARES-BEZERRA *et al*, 2004). O flebótomo realiza o repasto sanguíneo (Etapa 5) e ingere células parasitadas (Etapa 6). Ocorre então conversão das formas amastigotas em promastigotas (Etapa 7). Estas formas promastigotas sofrem divisão binária no intestino do vetor e migram para o probóscide (Etapa 8). Ao contaminar outro hospedeiro, o ciclo é reiniciado.

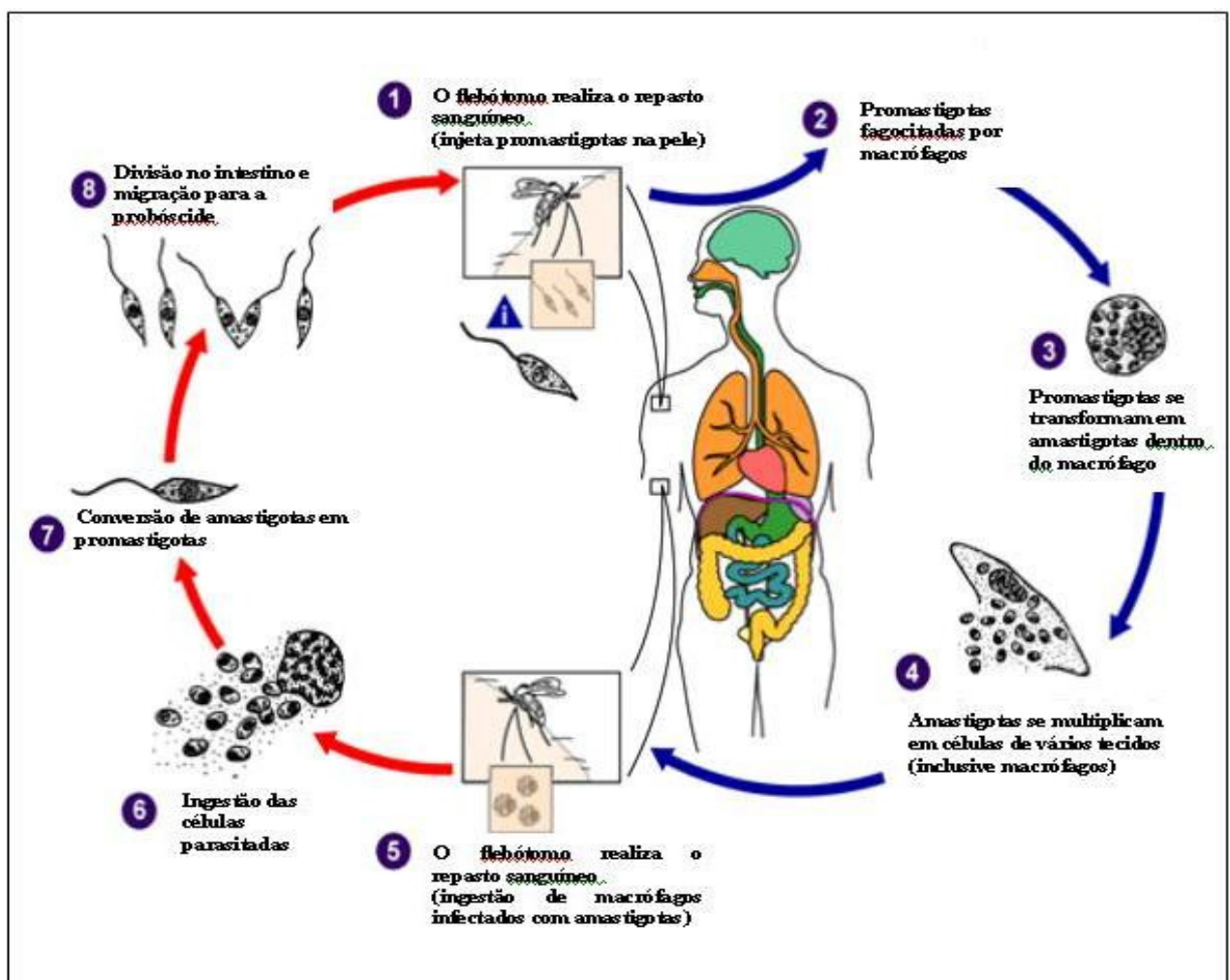


Figura 1.8: Ciclo de transmissão de parasitos do gênero *Leishmania* (Fonte: Adaptado de <http://enfermagem-sae.blogspot.com/2009/03/leishmaniose-tegumentar-americana.html>)

1.2.2 Quimioterapia para as leishmanioses

A quimioterapia empregada para o tratamento das leishmanioses vem apresentando uma série de problemas. Além da resistência do parasita, efeitos colaterais vêm limitando a utilização e eficácia do tratamento.

Os antimoniais pentavalentes são os fármacos de primeira escolha e a mais de 60 anos vêm sendo usado no tratamento de todas as formas de leishmanioses. Os dois antimoniais pentavalentes (Figura 1.9) mais usados são: antimoniato de metilglucamina (Glucantime[®]) e Gluconato de antimônio (V) de sódio (Pentostan[®]) (PATEL e SHAH, 2008).

Além da via parenteral de administração, outras desvantagens dos antimoniais pentavalentes são os longos períodos de terapia e efeitos colaterais como mialgias, dores abdominais, distúrbios cardiológicos, alterações hepáticas e insuficiência renal (LAWN *et al*, 2006).

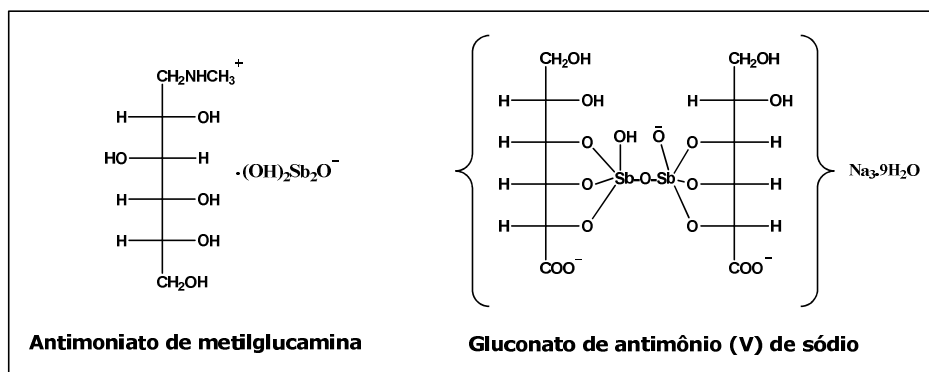


Figura 1.9: Antimoniais empregados no tratamento das leishmanioses

Além dos antimoniais, outras drogas têm sido empregadas no tratamento das diversas formas da leishmaniose, entre as quais se destacam a anfotericina B, pentamidina e miltefosine (RATH *et al*, 2003).

A anfotericina B (Figura 1.10) é a droga de segunda escolha e seu uso é bastante restrito devido aos inúmeros efeitos tóxicos. Devido a esta

limitação, foram desenvolvidas novas formas farmacêuticas com a finalidade de diminuir a sua toxicidade. A anfotericina lipossômica é menos tóxica e pouco absorvida pelo rim, órgão alvo da toxicidade do fármaco (SOARES-BEZERRA *et al*, 2004). Entretanto, seu custo elevado de produção em escala industrial torna seu uso limitado, principalmente nos países subdesenvolvidos (DESJEUX, 1996).

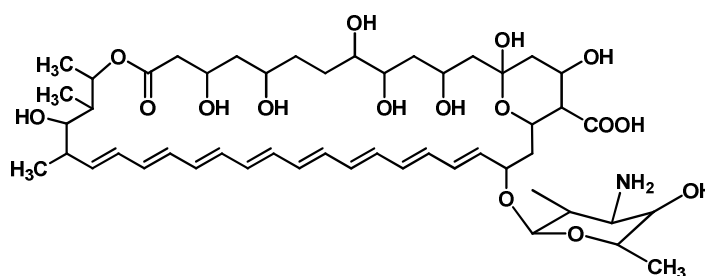


Figura 1.10: Fórmula estrutural da Anfotericina B

A pentamidina (Figura 1.11) é usada como droga de segunda escolha no tratamento da LV. Esta droga vem apresentando toxicidade mais elevada do que os antimoniais pentavalentes no tratamento de LV e relatos de resistência do parasito vem sendo relatados (SUNDAR, 2001).

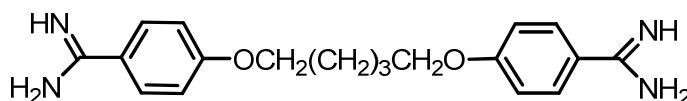


Figura 1.11: Fórmula estrutural da pentamidina

A miltefosine (Figura 1.12), medicamento originalmente desenvolvido como antineoplásico, apresentou resultados satisfatórios no tratamento oral de LV na Índia (SUNDAR *et al*, 2002). Em 2004, foi demonstrada atividade satisfatória contra LC em estudos realizados com pacientes na Colômbia e Guatemala. Apesar destes resultados, estudos demonstraram que a miltefosine foi teratogênico em animais (SOTO *et al*, 2004).

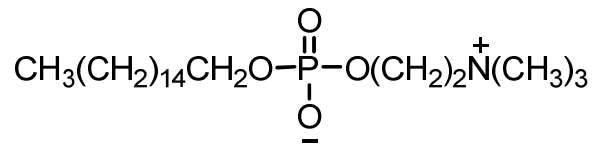


Figura 1.12: Fórmula estrutural da Miltefosine

Na Tabela 1.1, apresentamos os principais efeitos colaterais dos fármacos de segunda escolha empregadas no tratamento das leishmanioses.

Tabela 1.1: Principais efeitos colaterais causados pelos fármacos de segunda escolha no tratamento das leishmanioses.

Drogas	Efeitos colaterais
Pentamidina	Mialgias, náuseas, nefrotoxicidade, hipoglicemia
Anfotericina B	Hipopotassemia, insuficiência renal, anemia, leucopenia, alterações cardíacas
Miltefosine	Náuseas, vômito e diarreia

Devido a estas limitações, a busca por novos fármacos para o tratamento da leishmaniose é de extrema relevância. Fármacos para estas doenças, que apresentem melhores índices terapêuticos, menor toxicidade e menor custo deveriam ser metas das indústrias farmacêuticas e não somente nos centros de pesquisas governamentais.

1.2.3 Leishmanioses no Brasil

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) está entre uma das endemias de maior importância em saúde pública no Brasil, devido sua ampla distribuição pelo território nacional, a ocorrência de formas clínicas graves e pelas dificuldades referentes tanto ao diagnóstico como ao tratamento das mesmas (DORVAL *et al*, 2006). Existem pelo menos sete espécies de *Leishmania* descritas e que estão associadas com a doença humana, sendo que no Brasil *Leishmania braziliensis* e *Leishmania amazonensis* são as espécies mais amplamente distribuídas (GRIMALDI *et al*, 1987).

A LTA está amplamente distribuída, tendo registros de casos em toda a federação. Segundo o Ministério da Saúde (MS), em 2008 foram notificados 19.542 casos, sendo a região Norte a mais afetada como mostra a Figura 1.13. A segunda região brasileira mais afetada pela LTA foi a região Nordeste, onde foram notificados 5.795 casos.

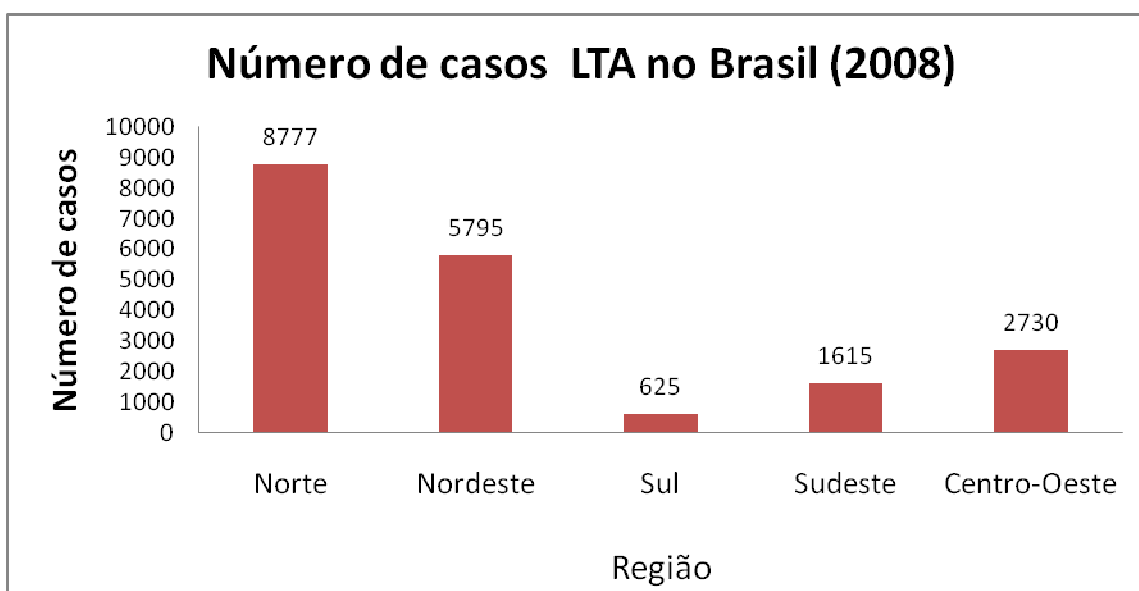


Figura 1.13: Número de casos de Leishmania Tegumentar Americana (LTA) por região brasileira no ano de 2008 (Dados: MS/SVS, 2009a)

A Leishmania Visceral (LV) é endêmica no Brasil. Devido ao rápido processo migratório da população rural para a periferia urbana, modificações ambientais, adaptação do vetor ao Peri domicílio e pela interação e mobilização de reservatórios silvestres e cães infectados com *L. chagasi* para áreas sem transmissão, ocorreu uma urbanização da leishmaniose visceral (MAIA-ELKHOURY *et al*, 2008).

De 1980 a 2005 foram registrados 59.129 casos de LV, sendo 82,5% na região Nordeste. Em 2008, foram notificados 3.303 casos de LV no Brasil, sendo o Nordeste (1.314 casos) a região brasileira mais afetada pela doença, como mostra a Figura 1.14. Podemos observar também o elevado número de casos confirmados na região Norte e Sudeste, com 782 e 684 casos respectivamente.

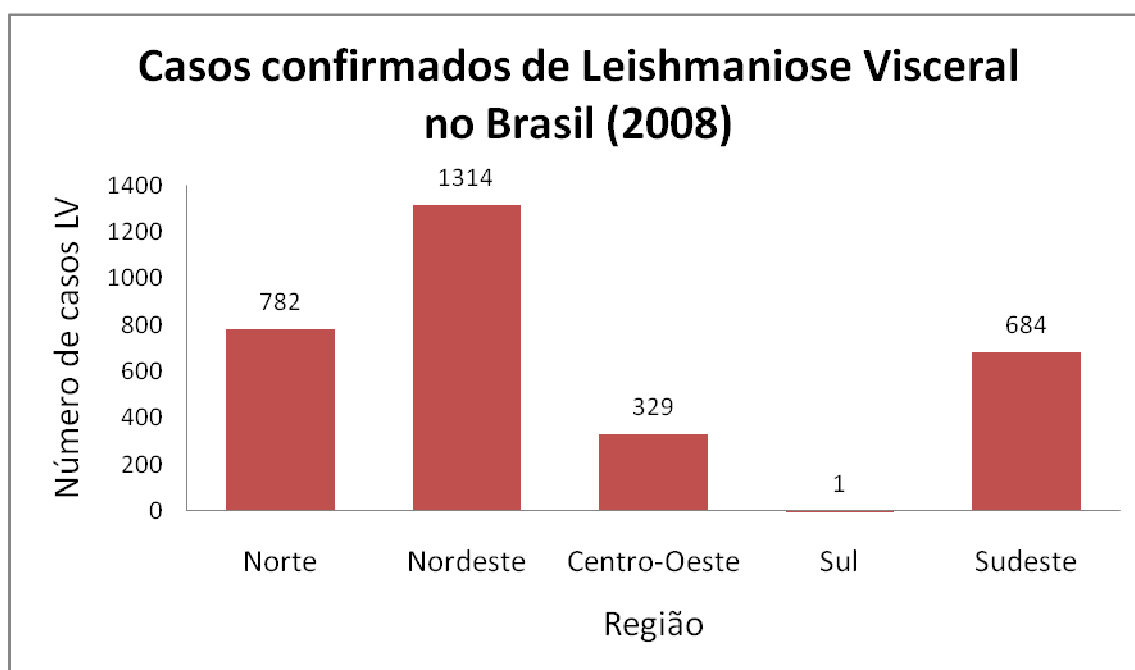


Figura 1.14: Número de casos de Leishmania visceral por região brasileira no ano de 2008 (Dados: MS/SVS, 2009b).

1.2.3.1 Leishmaniose na Paraíba

Segundo a Secretaria de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde, no ano de 2008 foram notificados 45 casos de leishmaniose tegumentar americana no estado da Paraíba. Em comparação com o ano anterior, pode-se observar que houve uma diminuição no número de casos registrados (60 casos). Com relação à leishmaniose visceral, foram identificados 14 casos no ano de 2008. Em comparação com o ano anterior, pode-se observar também uma diminuição no número de casos registrados (23 casos). A Figura 1.15 mostra o número de casos de LV e LTA na Paraíba no período de 2004-2008. Observa-se que ocorreu uma diminuição no perfil dos casos de leishmaniose no estado.

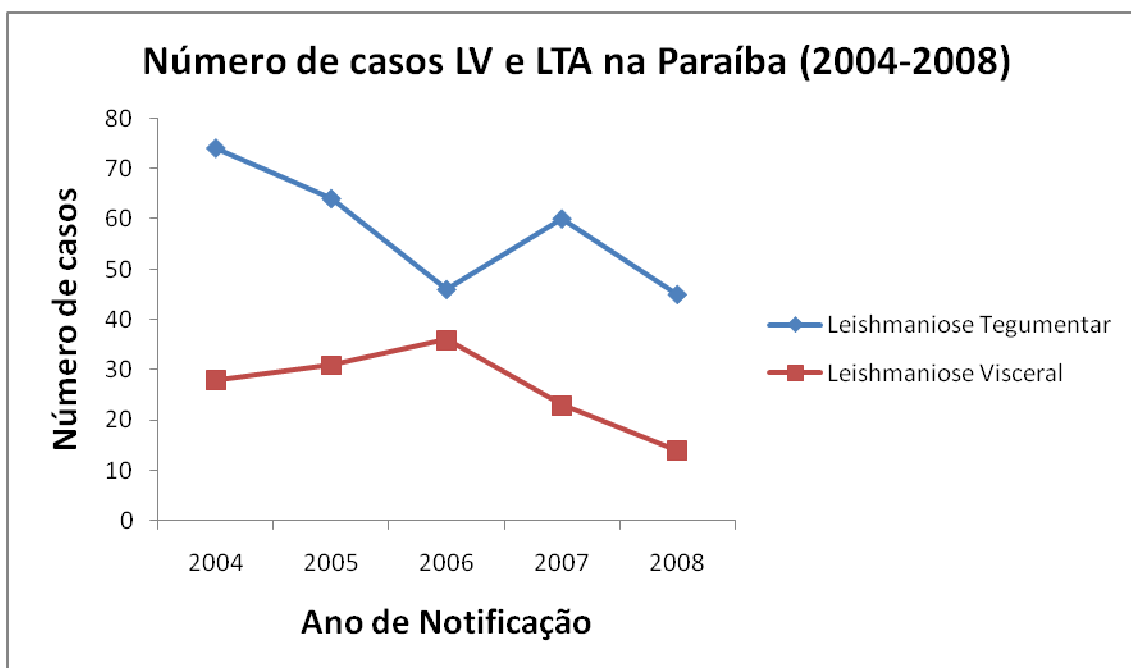


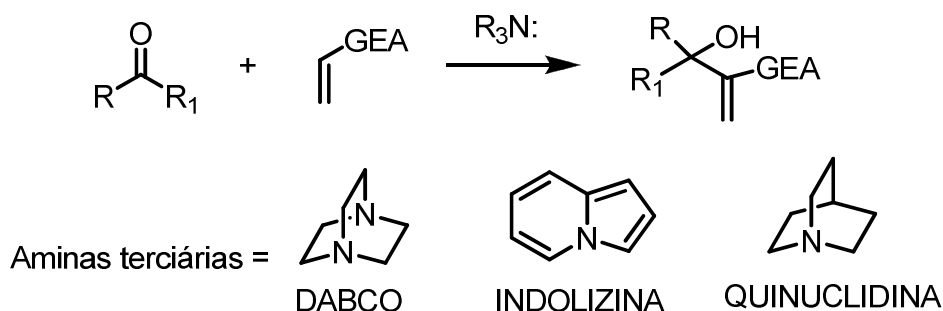
Figura 1.15: Número de casos de leishmanioses notificados para o estado da Paraíba no período de 2004 a 2008 (Dados: MS/SVS, 2009a e 2009b)

1.3 Reação de Morita-Baylis-Hillman

1.3.1 Aspectos gerais

A formação de ligações carbono-carbono é uma das mais fundamentais metodologias em síntese orgânica e, portanto, tem sido e continua a ser uma desafiante e fascinante área da química orgânica sintética (BASAVIAH *et al*, 2007). Dentre as principais reações de ligação C-C podemos citar a reação aldólica, reação de Grignard, reação de Diels-Alder, reação de Witting e a reação de Fiedel Crafts (BASAVIAH *et al*, 2003).

A reação de Morita-Baylis-Hillman é uma metodologia sintética importante na formação de ligação C-C e consiste basicamente no acoplamento entre aldeídos ou cetonas e alcenos ligados a grupos elétrôn-atratores (GEA), em presença de uma amina terciária como catalisador nucleofílico, como por exemplo, o 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octano (DABCO), Indolizina ou Quinuclidina (Esquema 1.1), levando aos correspondentes adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) (BASAVIAH *et al*, 2007).



Esquema 1.1: Reação de Baylis-Hillman $R, R_1 = H$, alquil, aril, heteroaril. GEA = CN, CO_2R , COR, outros.

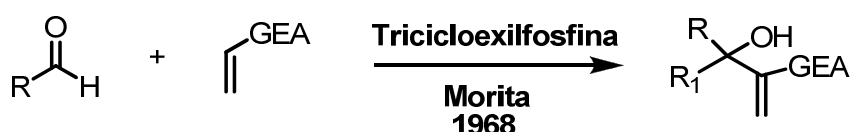
Entre as vantagens desta reação, podemos destacar a completa economia de átomos, já que todos os átomos de reagente são

incorporados no produto; a possibilidade de execução experimental em meio aquoso ou na ausência de solvente e a geração de produtos multifuncionalizados com grande potencial sintético. Estas características estão inseridas no contexto da “química verde” (LENARDÃO *et al*, 2003).

A reação de Baylis-Hillman apresenta como um inconveniente a velocidade de reação, sendo já descritos na literatura a necessidade de até 65 dias de reação. Entretanto, devido a inúmeras vantagens, pesquisas têm sido realizadas focalizando o desenvolvimento de condições experimentais para acelerar esta reação, por exemplo, o uso de catalisadores (De SOUZA *et al*, 2004a), microondas (OCTAVIO *et al*, 2003), meio aquoso (CAI *et al*, 2002), líquidos iônicos (DE SOUZA, 2006) e ultra-som (COELHO *et al*, 2002).

1.3.2 Histórico, desenvolvimento e status atual

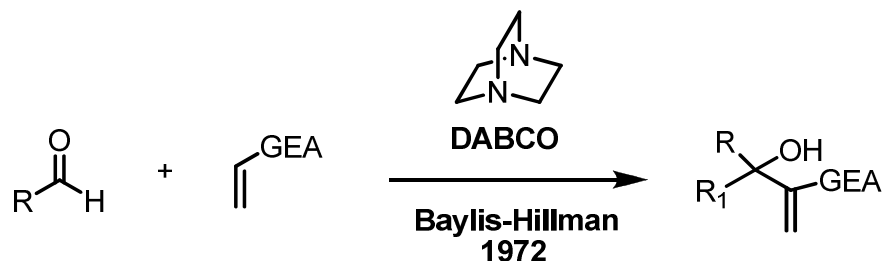
Em 1968, K. Morita publicou uma patente em que divulgava a reação de vários aldeídos com acrilonitrila ou acrilato de metila em presença de tricicloexilfosfina como catalisador (Esquema 1.2). A reação levava a formação de produtos polifuncionalizados com rendimentos que variavam de 70-90%.



Esquema 1.2: Reação descrita por Morita em 1968

Esta reação, contudo, ganhou o nome de Baylis-Hillman devido à patente alemã, onde os autores A. B. Baylis e M. E. D. Hillman (BAYLIS e HILLMAN, 1972) relataram a reação de aldeídos com alcenos ativados incluindo ésteres, amidas e nitrilas, na presença de uma amina terciária

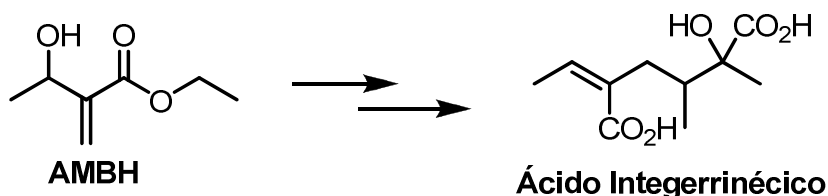
bicíclica DABCO como catalisador. Esta reação também gerava produtos polifuncionalizados (Esquema 1.3).



Esquema 1.3: Reação descrita por Baylis-Hillman em 1972

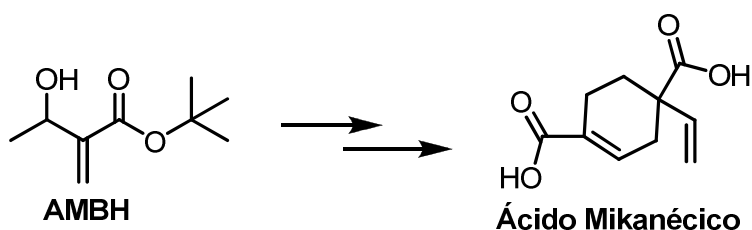
Devido à contribuição deste três pesquisadores na criação e desenvolvimento desta reação, denominamos esta de Reação de Morita-Baylis-Hillman (RMBH). Entretanto, alguns artigos relatam esta reação como reação de Baylis-Hillman, omitindo injustamente a contribuição fundamental de Morita para esta reação.

Apesar do grande potencial sintético, a RMBH esteve relativamente esquecida pelos químicos orgânicos sintéticos durante seus primeiros 14 anos. A reação só despertou maior interesse, quando Drewes e Emslei publicaram pela primeira vez a síntese do ácido integerrinécico, um monoterpreno encontrado em vários alcalóides na natureza, a partir de um aduto de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) (DREWES e EMSLEI, 1982), como mostrado no Esquema 1.4.



Esquema 1.4: Síntese do ácido intererrinécico a partir de um aduto de Morita Baylis-Hillman (AMBH).

Um ano depois, Hoffman e Rabe publicaram a síntese racêmica para outro produto natural. O ácido mikanécico foi sintetizado a partir de um AMBH (1983), como mostrado no Esquema 1.5. Estas duas publicações levaram os químicos a um maior interesse pela investigação e utilização das potencialidades desta nova reação.



Esquema 1.5: Síntese do ácido mikanécico a partir de um AMBH

A primeira revisão sobre a reação foi publicada por Drewes e Roos (1988) e desde então, investigações sobre os diferentes aspectos da reação de Morita-Baylis-Hillman ganharam grande destaque como uma estratégia importante de formação de ligações C-C. A segunda revisão sobre o assunto, escrita por Basavaiah abrangeu cerca de 200 referências (BASAVAI AH, 1996) e no ano seguinte, Ciganek escreveu um capítulo no "Organic Reactions", onde discutiu a reação de Morita-Baylis-Hillman em grande detalhe (CIGANEK, 1997).

Basavaiah e colaboradores (BASAVAI AH *et al*, 2003) publicaram a terceira revisão. Após esta publicação, foi notório o crescimento cada vez maior dos grupos de pesquisas que iniciaram trabalhos sobre diferentes aspectos dessa reação. Isto levou a uma busca pelo aumento das possibilidades de substratos, novos catalisadores, avanços na compreensão do mecanismo e na divulgação de uma variedade de aplicações de derivados sintéticos produzidos a partir desta reação (BATRA e SINGH, 2008).

Basavaiah e colaboradores publicaram outra revisão onde mostrou a reação de Morita-Baylis-Hillman como fonte de atrações, oportunidades e desafios na química sintética. Nesta revisão, o autor deu uma atenção especial para a versão intramolecular e assimétrica da reação, além das investigações mecanísticas mais recentes (BASAVAI AH *et al*, 2007).

A Figura 1.16 mostra a evolução temporal no número de publicações a cerca desta reação.

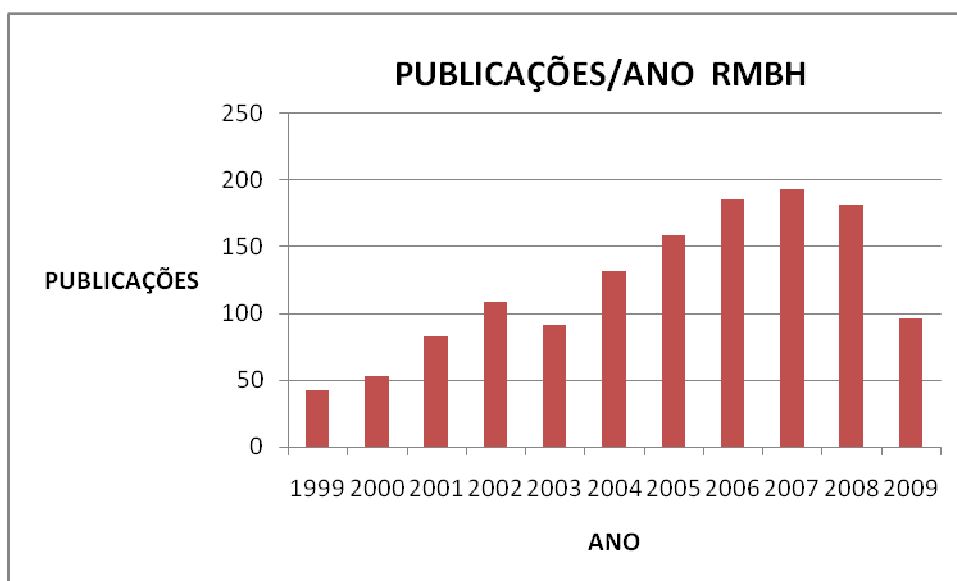


Figura 1.16: Histograma do número de publicações/ano envolvendo a RMBH (baseado em busca informatizada usando o programa SciFinder™ Scholar 2007 usando como palavra chave "Baylis-Hillman").

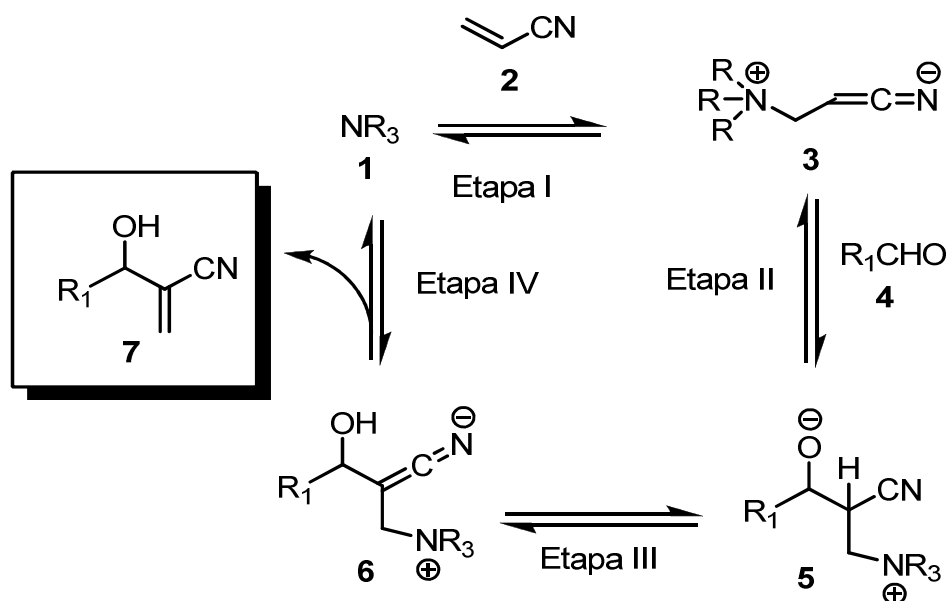
Observa-se que nos últimos dez anos, o número de publicações vem aumentando linearmente, o que demonstra o maior interesse dos químicos orgânicos sintéticos pela RMBH.

1.3.3 Aspectos mecanísticos

O mecanismo da RMBH foi inicialmente estudado na década de 1980 por dados experimentais de cinética química. Aspectos teóricos e experimentais vêm sendo relatados, principalmente nos últimos seis anos.

A primeira proposta mecanística para a RMBH foi realizada por Hoffman e Rabe (1983) e corroborada pelos estudos da dependência da pressão, velocidade e efeito isotópico cinético realizados por Hill e Isaacs. A proposta mecanística envolve três etapas sucessivas: a reação de Michael, aldol e eliminação, como mostra o Esquema 1.6 (HILL e ISAACS, 1990).

Nesta proposta, podemos observar que na etapa I ocorre uma adição de Michael da amina terciária **1** ao alceno ativado **2** levando a formação do intermediário zwitterionico **3**. A adição nucleofílica deste enolato **3** ao aldeído **4** gera o segundo intermediário zwitterionico **5** (Etapa II). A Etapa III envolve uma transferência de próton intramolecular de **5** formando **6**. A Etapa IV consiste na eliminação da amina terciária e formação do aduto de Morita-Baylis-Hillman **7**. Com base nos resultados de efeito isotópico cinético (usando acrilonitrila como nucleófilo da RMBH), a etapa II foi considerada a etapa determinante da velocidade.

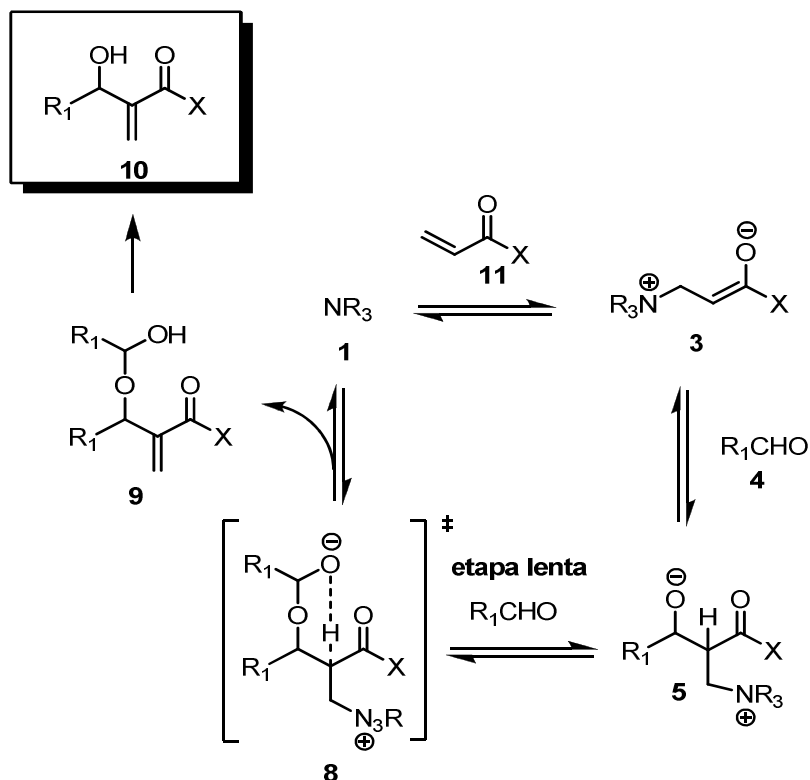


Esquema 1.6: Ciclo catalítico proposto por Hoffman/Hill e Isaacs para a RMBH. A etapa II foi considerada a etapa lenta.

Em 2005, McQuade e colaboradores propuseram um novo mecanismo envolvendo um hemiacetal como intermediário (McQUADE, 2005a). Este mecanismo foi baseado em estudos cinéticos em solventes apróticos, onde se determinou que a etapa determinante da velocidade foi de segunda ordem com relação ao aldeído e primeira ordem em relação ao DABCO e ao acrilato. Estes estudos foram realizados com 4-nitrobenzaldeído, mas, posteriormente, eles publicaram resultados com outros aldeídos aromáticos (McQUADE *et al*, 2005b).

A proposta de mecanística de McQuade envolve inicialmente as mesmas duas etapas propostas por Isaac e Hill. A partir desta etapa, é proposta a inclusão de um segundo equivalente do aldeído **4** gerando um hemiacetal **8** como intermediário (Esquema 1.7). A etapa lenta proposta por McQuade é a etapa de transferência de próton intramolecular que ocorre num estado de transição de seis membros **8**, diferente do proposto

por Hill e Isaac. Posteriormente, ocorre eliminação da amina e formação do produto **9** que é convertido ao aduto de Morita-Baylis-Hillman **10**.



Esquema 1.7: Proposta mecanística de McQuade.

Aggarwal e colaboradores (2007) realizam uma investigação detalhada computacional para o mecanismo da RMBH e suportado pelas observações dos estudos cinéticos e pela proposta de McQuade, propuseram que, na ausência de um solvente prótico, a desprotonação da posição alfa (α) a carbonila é a etapa lenta da reação e ocorre através de um estado de transição cíclico, com a transferência de um próton do alcóxido hemiacetal formado pela adição de um segundo equivalente de aldeído, confirmando assim a proposta mecanística de McQuade.

Ao contrário, na presença de uma fonte de prótons, como por exemplo, o metanol, eles observaram que os valores de energia são mais

baixos nesta etapa, visto que o álcool atua como um transportador de prótons do carbono para o oxigênio, como mostra a Figura 1.17.

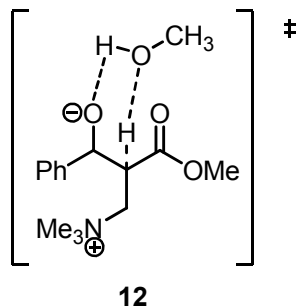


Figura 1.17: Estado de transição proposto por Aggarwal para RMBH usando metanol como fonte de prótons.

Recentemente, Amarante e colaboradores conseguiram realizar a interceptação e caracterização de alguns novos intermediários da RMBH pela técnica de ESI-MS (/MS). Dentro destes novos intermediários, dois intermediários chaves **8** (m/z 433) e **12** (m/z 337) propostos recentemente por McQuade e Aggarwal foram interceptados e caracterizados, como mostra as Figuras 1.18 e 1.19.

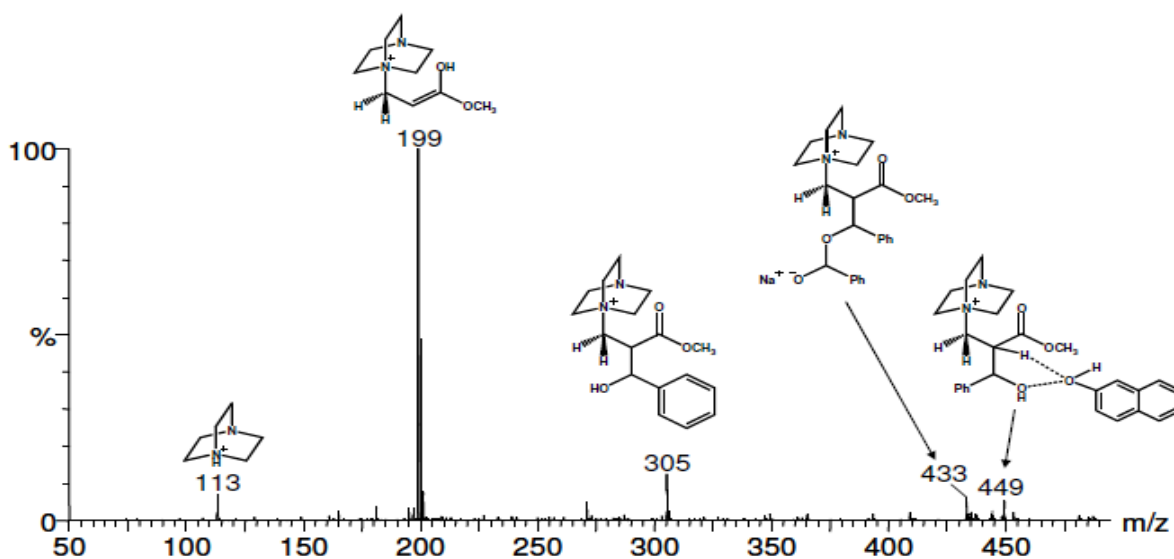


Figura 1.18: Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) em presença de β -naftol. (Fonte: AMARANTE *et al*, 2009).

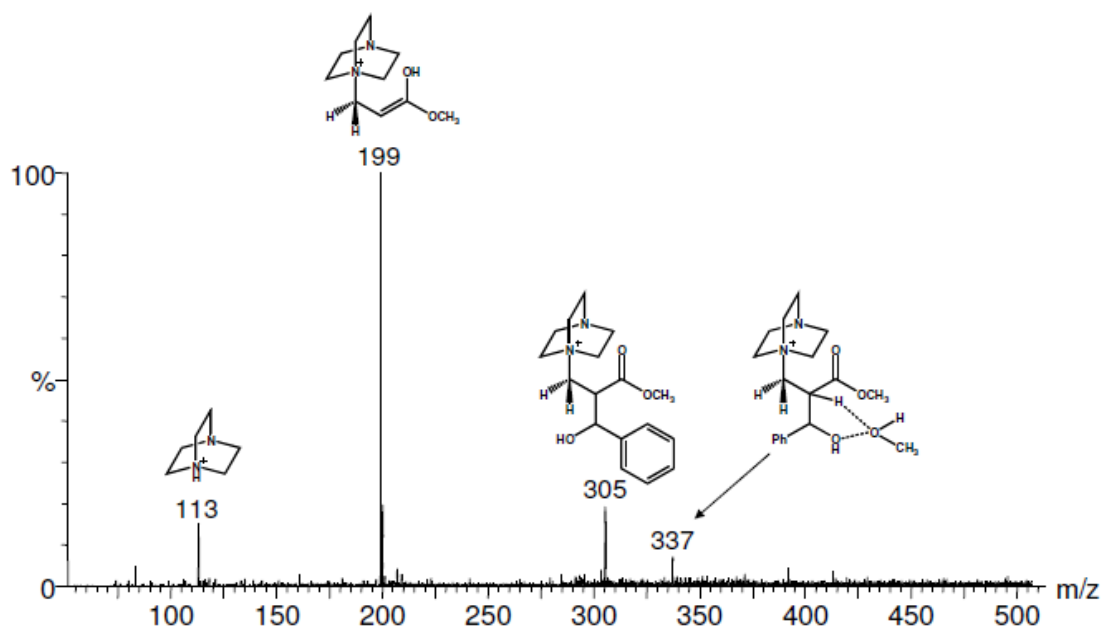


Figura 1.19: Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) usando metanol como solvente. (Fonte: AMARANTE *et al*, 2009).

Estes resultados de ESI-MS apresentados por Amarante e colaboradores são de extrema relevância, pois além de confirmar a natureza dualística da etapa lenta de transferência de próton, podem

ajudar a propor metodologias que acelerem a reação tendo em vista que um dos inconvenientes desta reação é a velocidade lenta.

1.3.4 Adutos de Morita-Baylis-Hillman e atividade biológica

Os adutos de Morita-Baylis-Hillman têm sido muito aplicados como intermediários na síntese de produtos naturais (BASAVIAH *et al*, 2003). As investigações a respeito da bioatividade dos mesmos só foram iniciadas em 1999, quando Kundu e colaboradores (KUNDU *et al*, 1999) realizaram a bioavaliação de alguns adutos contra *P. falciparum*, o principal parasita causador da malária. Todos os adutos avaliados possuíam alguma atividade antimalarial *in vitro*. Dos adutos bioavaliados por Kundu, dois foram bastante ativos. A Figura 1.20 abaixo mostra os adutos mais ativos encontrados no trabalho de Kundu. Os compostos **13** e **14** foram também submetidos à avaliação *in vivo* contra *P. berghei* em camundongos onde ambos os compostos apresentaram atividade na dose de 80 mg/kg.

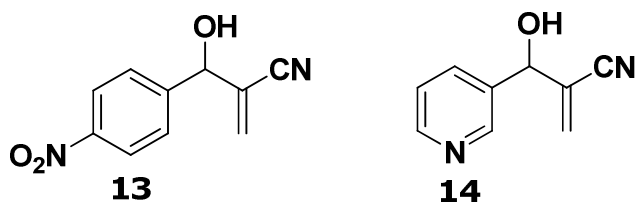


Figura 1.20: Adutos mais ativos frente *P. falciparum* e *P. berghei*

Narender e colaboradores (2005) apresentaram seis adutos com atividade antimalarial. Os adutos foram sintetizados utilizando como matéria-prima, 2-cloronicotinaldeídos substituídos, gerando adutos em excelentes rendimentos (97-98%). Uma análise da relação estrutura-atividade mostrou que o grupo elétron-atrator nitrila e o grupo fenil ligado ao anel nicotínico do aduto **20** foram responsáveis pelo CI_{50} de 2.2 µg/mL

com relação à inibição do crescimento do parasita. Na Figura 1.21, mostramos os adutos de Morita-Baylis-Hillman antimalariais publicados neste trabalho.

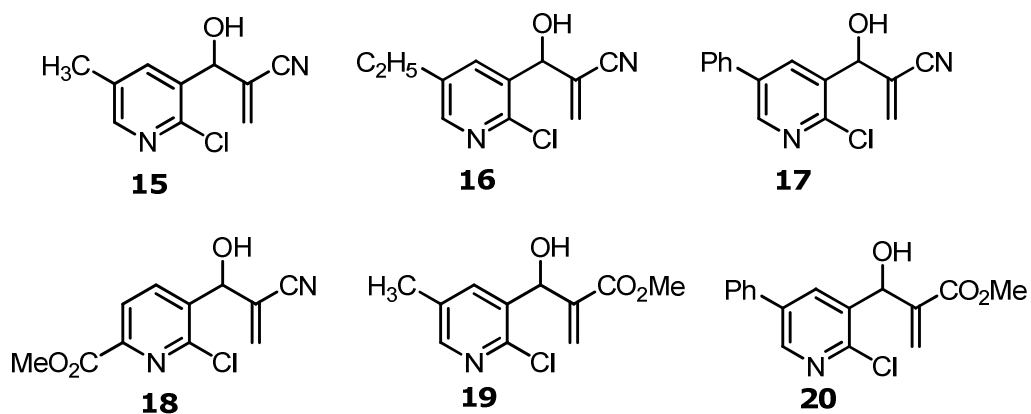


Figura 1.21: Adutos antimalariais derivados de 2-cloronicotinaldeídos substituídos

Vasconcellos e colaboradores apresentaram resultados da avaliação de dez AMBH contra *Biomphalaria glabrata* (VASCONCELLOS *et al*, 2006). Este molusco (ver figura 1.22) é o hospedeiro intermediário da esquistossomose.



Figura 1.22: *Biomphalaria glabrata*

(Fonte: <http://www.dpi.inpe.br/geoschisto/imagem/Glabrata.pdf>)

Os adutos que apresentaram maior atividade moluscicida nas concentrações de 10, 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ estão ilustrados abaixo na Figura 1.23. Os valores de CL_{50} destes adutos foram menores do que 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o CL_{90} menores do que 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

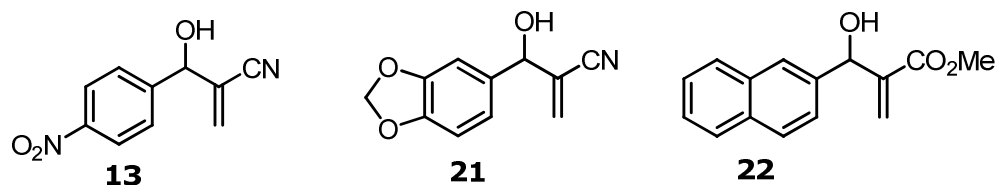


Figura 1.23: Adutos de MBH mais ativos frente *B. glabrata*

Neste mesmo ano, Kohn e colaboradores (2006) descreveram a atividade antineoplásica de alguns adutos e derivados. Neste trabalho, foi observado que os adutos aromáticos foram mais ativos do que os alifáticos. Grupos elétron-retiradores ligados ao anel aromático tornou os adutos mais ativos. Já a presença de grupos elétron-doadores diminuiu a atividade dos mesmos. Algumas transformações estruturais foram realizadas em alguns adutos, tais como hidrogenação catalítica e preparação de O-silil-derivados, transformações estas que não influenciaram na atividade dos compostos.

De Souza e colaboradores (2007) investigaram a atividade *in vitro* de 16 AMBH contra as formas amastigota e promastigota de *Leishmania amazonensis*. A maioria dos adutos apresentados neste trabalho apresentou atividade anti-amastigota maior do que a droga de referência Pentostam[®]. A Figura 1.24 mostra os adutos mais ativos contra a forma amastigota de *L. amazonensis*.

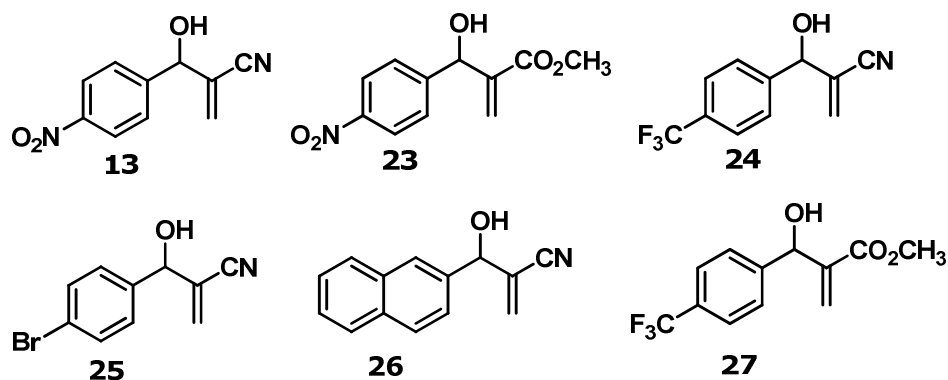


Figura 1.24: Adutos de MBH mais ativos contra as formas amastigota de *L. amazonensis*

Destes seis adutos, merece destaque o aduto **25**. Este composto apresentou, além de um valor de CI_{50} igual a $12.5 \mu M$, baixa citotoxicidade em macrófagos. A medida de liberação da enzima LDH (lactato desidrogenase) foi realizada como ensaio para medição da citotoxicidade desses adutos. O aduto **25** não provocou liberação de LDH, o que mostrou a sua alta seletividade frente ao parasita.

BARBOSA e colaboradores (2009) demonstraram que sete AMBH possuem forte atividade contra a forma promastigota de *L. chagasi*, a principal espécie causadora de *L. visceralis*. Entre estes adutos, o aduto **25** (Figura 1.24, foi o mais ativo ($CI_{50}=25.2\mu M$)).

Todos estes trabalhos demonstram a grande potencialidade dos AMBH como uma nova classe de quimioterápicos. Em particular, as atividades leishmanicidas e antimaláricas, demonstram que esta classe de substâncias pode ser melhor investigada na busca por uma substância protótipo e estabelecimento das suas relações estrutura-atividade.

1.4 A Química Medicinal

1.4.1 Química Medicinal: a interdisciplinaridade na descoberta de novos fármacos.

O reconhecimento da participação de biomacromoléculas como receptores ou alvos para a atividade farmacológica dos fármacos deveu-se, originalmente, à busca de explicações de como as micromoléculas endógenas, por exemplo, a adrenalina, promovia as respostas fisiológicas observadas (BARREIRO, 2009).

Um modelo pioneiro foi proposto por Emil Hermann Fischer em 1885, tornando-se conhecido e notório como modelo chave-fechadura, representando a complementaridade existente entre a fechadura e sua chave, simbolizando, desta forma, a interação da macrobiomolécula natural (biorreceptor) e a micromolécula (fármaco). Este modelo contribuiu de certa forma, para a concepção da teoria dos receptores e fundamentou as bases do que viria a ser, mais tarde, a Química Medicinal (BARREIRO, 2009).

Química Medicinal é uma disciplina de base na química, envolvendo também aspectos de natureza biológica, médica e ciências farmacêuticas. Ela está preocupada com a invenção, descoberta, "design", identificação e preparação dos compostos biologicamente ativos, o estudo do seu metabolismo, a interpretação do modo de ação a nível molecular e a construção das relações estrutura-atividade (WERMUTH *et al*, 1998).

Todo esse processo de busca e descoberta envolve um número elevado de profissionais das mais diversas áreas, o que demonstra a grande interdisciplinaridade envolvida. A Figura 1.25 mostra algumas das principais áreas ligadas a Química Medicinal.

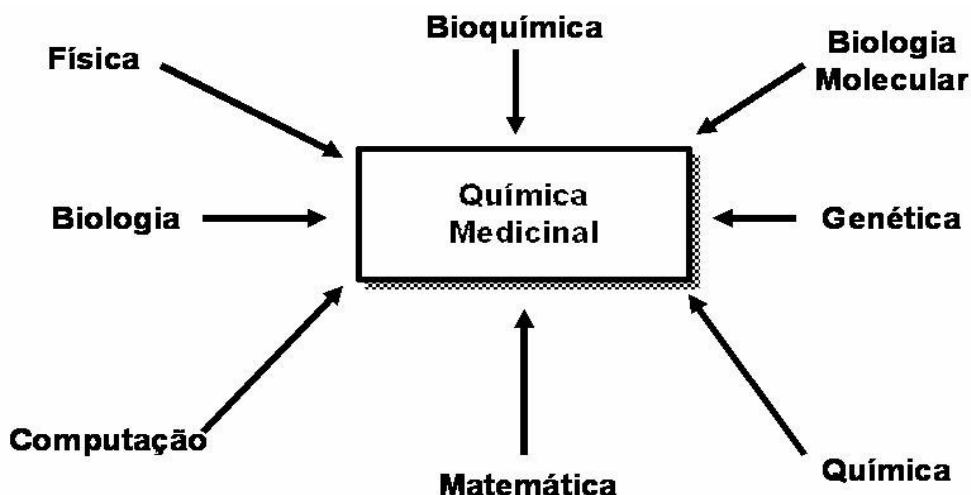


Figura 1.25: Áreas interdisciplinares da Química Medicinal (Fonte: http://www.cdcc.usp.br/ciencia/artigos/art_27/quimicaimagem/foto3.jpg)

A interdisciplinaridade da química medicinal transita entre as subáreas da química e biologia (Figura 1.25). A aproximação destas duas grandes áreas do conhecimento, aparentemente distinta, fez com que houvesse uma maior aproximação dos químicos e farmacologistas, conduzindo à descoberta de novos fármacos, inovações terapêuticas autênticas e com padrões moleculares originais, atuando, em muitos casos, por mecanismos farmacológicos de ação inéditos (BARREIRO, 2009).

Não se pode deixar de ressaltar a grande contribuição da computação no processo de planejamento de novos fármacos. As avaliações “*in silico*” (ou seja, com ajuda de química computacional) e o desenvolvimento de algoritmos matemáticos cada vez mais sofisticados já fazem parte do vocabulário dos químicos medicinais, o que reforça a realidade que é a interdisciplinaridade na química medicinal.

1.4.2 Química Medicinal: planejamento racional de novos fármacos

O planejamento racional de fármacos é um dos pontos que formam a base da Química Medicinal. Nas décadas de 40 e 50, a Química Medicinal desenvolve-se efetivamente com o modelo da aspirina, isto é, a síntese química e os ensaios farmacológicos para avaliar os resultados (YUNES *et al*, 2001). O grande desenvolvimento da bioquímica nos anos 60 tornou possível o conhecimento de alvos moleculares a ser trabalhados na Química Medicinal.

Contudo, o processo de descoberta de fármacos envolve algumas etapas como mostra a Figura 1.26.

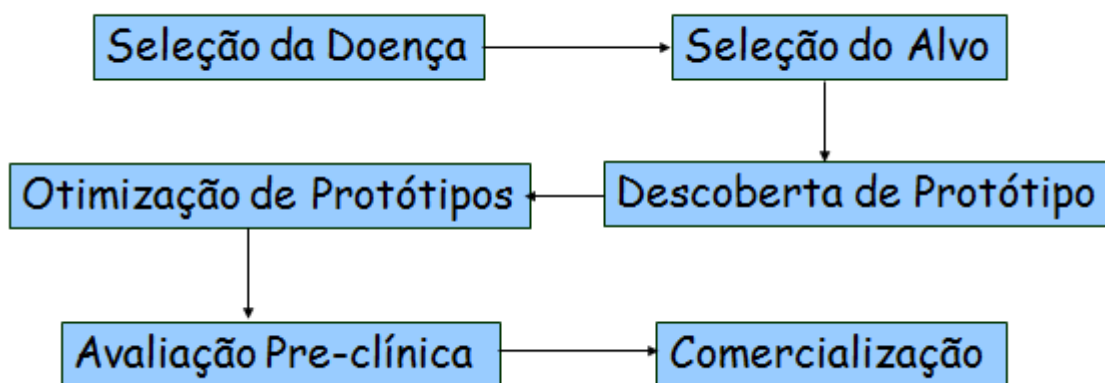


Figura 1.26: Etapas envolvidas no processo de descoberta de um fármaco

A primeira etapa neste planejamento é a escolha da doença. Esta etapa é de grande importância, tendo em vista que esta escolha se deve em grande parte a real necessidade que algumas doenças têm com relação à busca por novos fármacos, devido a alta toxicidade dos medicamentos atualmente disponíveis para o tratamento. Entretanto, como já foi comentado anteriormente, as indústrias geralmente buscam prioridades na pesquisa de novas drogas que gerem lucro.

A etapa de seleção do alvo é outra etapa de grande importância. Com o desenvolvimento da biologia molecular, foi possível determinar novos alvos moleculares. O conhecimento do mecanismo de ação a nível

molecular das patologias faz com que se conheçam os principais alvos de uma doença. Os principais alvos são: enzimas, membranas, receptores e DNA.

A descoberta e otimização de um protótipo vem da escolha dos compostos que possuam todas as potenciais interações protótipo-alvo. Alguns projetos com base nos substratos (antimetabólitos) e modificações estruturais dos inibidores também podem ser realizados. Todas as informações nesta etapa são de fundamental importância no estabelecimento das relações estrutura-atividade (Figura 1.27). A etapa de otimização dos protótipos devem também considerar a viabilidade sintética, tais como facilidade na preparação e baixo custo.

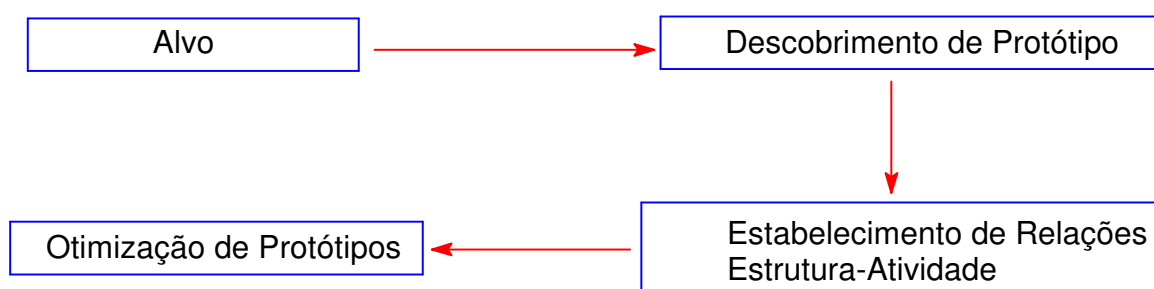


Figura 1.27: “Caminhos” para a otimização de protótipos.

As duas últimas etapas envolvem as avaliações pré-clínicas e a comercialização da droga.

Pode-se observar que o planejamento racional de fármacos envolve várias etapas, desde a escolha da doença até a comercialização da droga. O planejamento dos potenciais protótipos envolve o estudo das relações entre a estrutura e a atividade biológica e demonstra ser uma etapa relevante para o sucesso do processo de descoberta de novos fármacos.

1.4.2.1 Relação estrutura-atividade (SAR)

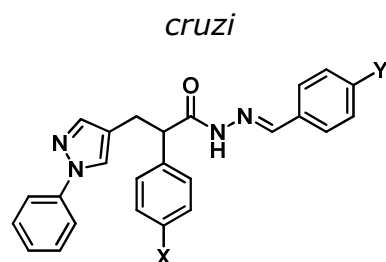
A atividade biológica dos fármacos está intimamente ligada com a sua estrutura química. Isto significa que, compostos com estruturas químicas similares podem ter atividades semelhantes. Desta afirmação surge o conceito de SAR que consiste na relação qualitativa entre a estrutura química e a atividade farmacológica de uma série de compostos (WERMUTH *et al*, 1998).

O estudo de uma classe de compostos previamente sintetizados e avaliados biologicamente podem trazer informações a cerca de que grupos ou partes das moléculas são responsáveis pela atividade biológica (farmacóforos). Estas informações podem ser utilizadas para desenvolver uma nova droga que possua maior atividade, sendo esta selecionada a partir de uma substância cuja estrutura possua melhor atividade farmacológica e com menores efeitos colaterais indesejados (substância protótipo) (THOMAS, 2007).

Um exemplo bem recente e ilustrativo de estudo SAR é o trabalho recente de Vera-Divato e colaboradores (2009) na qual foram sintetizados e bioavaliados contra *T. cruzi* vários derivados do sistema 1H-pirazola contendo a porção carboidrazida. A Tabela 1.2 mostra os valores de CI_{50} para os principais derivados sintetizados neste trabalho.

A análise SAR dos derivados mostrou que os compostos das entradas 11 e 12 foram os mais ativos, com valores de CI_{50} de 0.03 e 0.05 mM respectivamente, sendo, portanto, os compostos protótipos deste estudo. A relação entre a estrutura química e a atividade biológica (SAR) mostrou que grupos fortemente retiradores de elétrons na posição Y melhoraram a atividade, quando comparados com grupos doadores de elétrons (Entrada 10 e 11).

Tabela 1.2: Alguns derivados de 1H-pirazola sintetizados e bioavaliados em *T. cruzi*



ENTRADA	X	Y	CI ₅₀ (mM)
1	H	H	0.19
2	H	F	2.44
3	H	Cl	8.59
4	H	Br	1.50
5	H	OH	0.76
6	H	OCH ₃	1.51
7	H	OCH ₂ CH ₃	0.38
8	H	SCH ₃	0.44
9	H	CN	1.87
10	H	N(CH ₃) ₂	0.20
11	H	NO ₂	0.03
12	F	CN	0.05
13	F	N(CH ₃) ₂	0.89
14	F	OCH ₃	0.34
15	F	H	7.83
16	Br	H	NA ^a
17	Br	N(CH ₃) ₂	0.70
18	OH	N(CH ₃) ₂	1.88
19	OH	H	1.36
20	OCH ₃	OH	1.42
21	OCH ₃	NO ₂	0.98
22	CF ₃	Br	0.62

^a Não demonstrou atividade na concentração de 500µg/mL

Neste trabalho, foi observado também que a influência dos substituintes em X dependia da natureza dos grupos substituintes em Y. Os derivados que possuíam substituintes em Y tais como H, OH, N(CH₃)₂ e NO₂ demonstraram melhores atividades quando X não era substituído (X=H). Já quando Y= CN, OCH₃ e Br, os derivados com substituintes na posição X apresentaram melhores atividades.

O estudo de SAR consiste também na realização de pequenas modificações na estrutura molecular de uma substância protótipo com a finalidade de aumento da potência e do índice terapêutico. Atualmente, os novos fármacos, capazes de atuarem em qualquer alvo terapêutico, são descobertos/inventados por planejamento racional a partir da identificação e otimização de um composto-protótipo (BARREIRO, 2009).

Entre as principais modificações estruturais realizadas, podemos citar a introdução de novos substituintes, aumento do grau de insaturação, introdução ou remoção de anéis do sistema além das estratégias conhecidas como bioisosterismo, simplificação molecular e hibridação (BARREIRO, 2009).

As modificações estruturais realizadas na substância protótipo devem na medida do possível ser realizadas levando em consideração o efeito sobre a solubilidade em água (lipofilicidade), transportes através de membranas, metabolismo e outras propriedades farmacocinéticas dos análogos (THOMAS, 2007).

Nesta etapa de investigação, a modelagem molecular tornou-se destaque na previsão das propriedades relacionadas à farmacocinética. Parâmetros físico-químicos importantes para o estudo das relações estrutura-atividade já são possíveis de serem calculados computacionalmente, fato que coloca a modelagem molecular como ferramenta fundamental na descoberta por novos fármacos.

Capítulo 2

Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como finalidade a síntese, avaliação *in vitro* contra as formas promastigota de *L. amazonensis* e *L. chagasi* e análise da relação estrutura-atividade biológica de 16 adutos aromáticos de Morita-Baylis-Hillman.

2.2 Objetivos específicos

Neste trabalho de dissertação objetivamos especificamente:

- ✓ Sintetizar dezesseis adutos aromáticos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH);
- ✓ Caracterizar os adutos sintetizados por métodos físicos;
- ✓ Bioavaliar *in vitro* dezesseis adutos sintetizados contra as formas promastigota de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*;
- ✓ Análisar a relação estrutura-atividade (SAR) dos adutos de Morita-Baylis-Hillman.

Capítulo 3

Estratégias

3 ESTRATÉGIAS

A estratégia consiste em inicialmente sintetizar os dezesseis adutos mostrados na Figura 3.1.

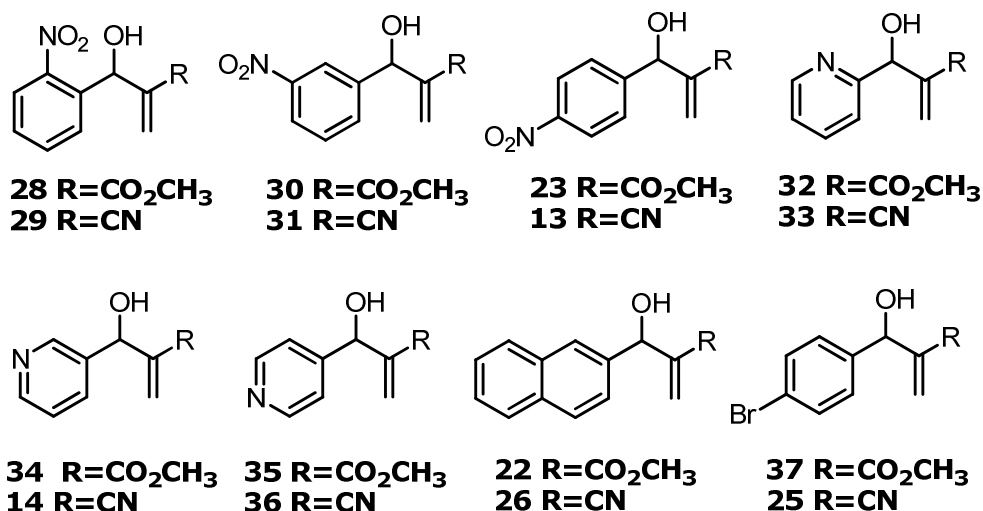


Figura 3.1. Adutos de Morita-Baylis-Hillman propostos neste trabalho.

A Figura 3.2 mostra a análise retro-sintética geral para a dos adutos propostos. A desconexão em vermelho está baseada numa retro-reação de Morita-Baylis-Hillman (RRMBH).

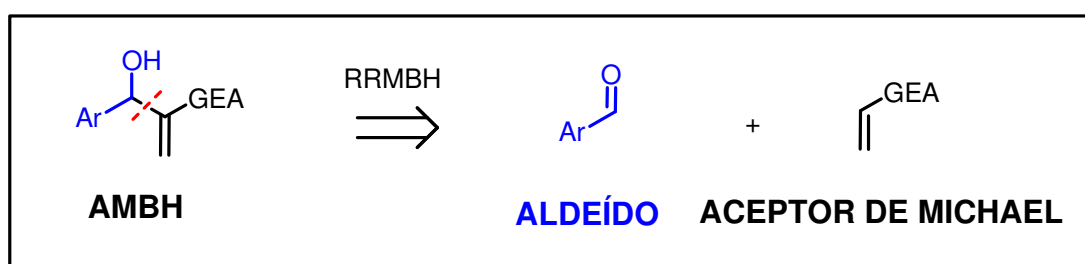


Figura 3.2. Retro-análise para os AMBH.

Serão utilizados como matéria-prima, oito aldeídos aromáticos substituídos e dois diferentes alquenos ativados: acrilonitrila e acrilato de metila. Os adutos propostos neste trabalho estão ilustrados na Figura 3.1.

A Etapa posterior consiste no envio destas moléculas para a avaliação *in vitro* contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi*. Estas bioavaliações serão totalmente realizadas no Laboratório de Leishmanioses, coordenado pela professora Dr^a Márcia Rosa de Oliveira, pesquisadora do Departamento de Biologia Molecular da UFPB (DBM).

Com os resultados da atividade Leishmanicida dos compostos, poderemos então procurar entender melhor a relação entre a estrutura-atividade dos compostos, bem como detectar alguns grupos farmacofóricos presentes.

Capítulo 4
Resultados e
discussão

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sínteses dos adutos de Morita-Baylis-Hillman utilizando acrilonitrila como alqueno ativado.

Iniciamos nosso trabalho objetivando a síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) utilizando acrilonitrila como acceptor de Michael. A Figura 4.1 mostra nossos primeiros alvos sintéticos.

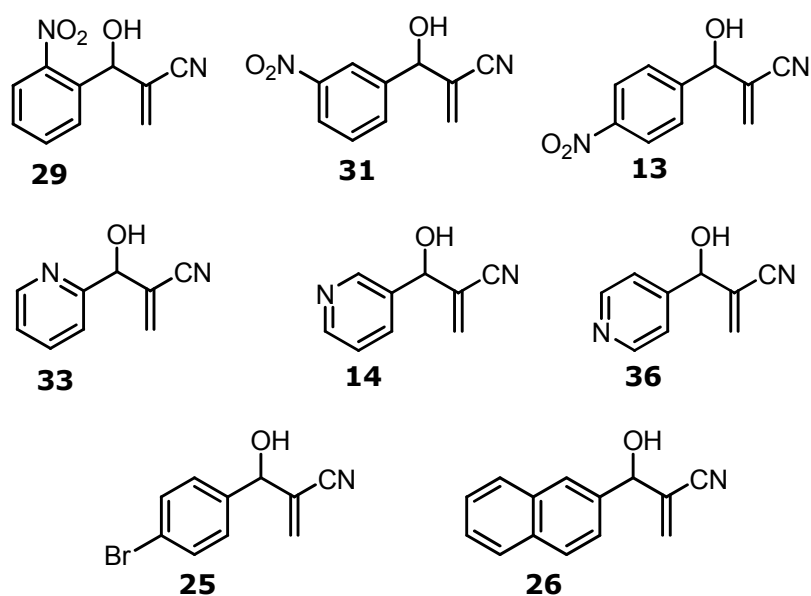
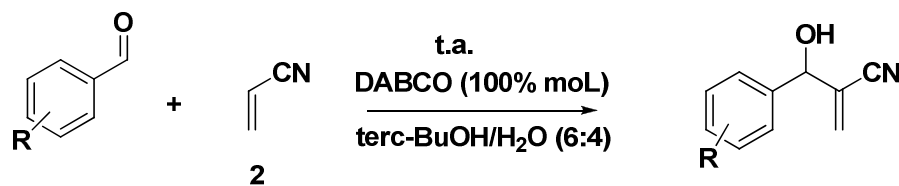


Figura 4.1: Adutos de Morita-Baylis-Hillman inicialmente sintetizados

O Esquema 4.1 abaixo mostra as condições utilizadas na preparação dos adutos mostrados na Figura 4.1. As reações foram realizadas à temperatura ambiente, acelerado por DABCO (100% mol), utilizando a mistura de terc-butanol/água (6:4) como solvente, e os principais resultados estão mostrados na Tabela 4.1.



Esquema 4.1: Metodologia inicial para a síntese de **29**, **31**, **13**, **33**, **14**, **36**, **25** e **26**.

Tabela 4.1: Resultados da reação de preparação dos adutos usando a mistura *tert*-butanol / água (6:4) como solvente

Entrada	Aduto	Tempo	Rendimento
1	29	5 horas	75% ^a
2	31	2 horas	70% ^b
3	13	1,5 horas	95%
4	33	24 horas	70% ^a
5	14	24 horas	55% ^a
6	36	24 horas	75%
7	25	5 horas	58% ^b
8	26	NR	NR

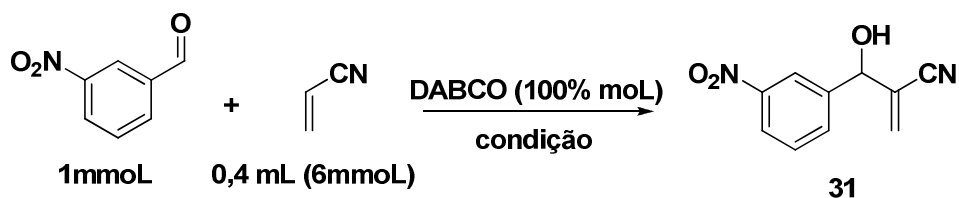
^a Um co-produto foi observado por CCDA. ^b dois co-produtos foram observados por CCDA. ^c Não ocorreu reação

Pode-se observar pela Tabela 4.1 que a condição experimental utilizada não gerou resultados muito satisfatórios, considerando tempo e/ou rendimentos, para a maioria dos adutos inicialmente propostos. No nosso caso, o uso da mistura *tert*-butanol / água (6:4) proporcionou a formação de co-produtos que foram observados por CCDA, porém não isolados nem caracterizados. É Interessante notar que a metodologia foi satisfatória para a preparação de **13** (Entrada 3, Tabela 4.1), como relatada por Souza e colaboradores (DE SOUZA *et al*, 2008). No entanto, na preparação dos demais adutos inicialmente propostos, este sistema de solvente mostrou-se ineficiente em nossas condições.

A formação de co-produtos gerada pela utilização deste protocolo inicial nos dirigiu para uma busca exploratória, para encontrar uma melhor metodologia para a síntese dos mesmos. Sendo assim, continuamos nosso trabalho investigativo usando o 3-nitrobenzaldeído como substrato. O 3-nitrobenzaldeído, além de ser um bom eletrófilo, é um insumo de custo baixo, e a preparação de **31** foi muito problemática usando o solvente mencionado anteriormente, gerando 2 co-produtos visualizados por CCDA.

Nesta etapa de otimização, realizou-se quatro experimentos, onde foi conservada a mesma quantidade estequiométrica dos reagentes, variando-se somente as condições empregadas. Particularmente, buscamos observar o efeito da diminuição da temperatura e da utilização da aceleração por uso de irradiação por ultra-som. A Tabela 4.2 mostra os resultados na tentativa de minimização dos co-produtos na preparação de **31**.

Tabela 4.2: Resultados da otimização da preparação de **31**



Entrada	Condição ^a	Tempo (mim)	Rendimento
1	t.a	20	85 ^c
2	Ultra-som, t.a	70	90 ^b
3	0°C	20	>99
4	Ultra-som, 0°C	40	84 ^b

^a Reações usando acrilonitrila em excesso como solvente. ^b um co-produto foi observado por CCDA. ^c dois co-produtos foram observados por CCDA.

Podemos observar que o uso do ultra-som não aumentou significativamente o rendimento e também não minimizou o tempo de reação (Entrada 2 versus 1 e 4 versus 3, Tabela 4.2). Na verdade, no nosso caso, observamos que o uso do ultra-som retardou o tempo de reação (4 versus 3). Entretanto, quando a reação foi efetuada a 0°C, observamos que o composto **31** foi preparado em rendimentos quantitativos, em 20 minutos (Entrada 3, Tabela 4.2). Nesta condição, também não foi observada a formação de nenhum co-produto. Pode-se notar também que as metodologias mais eficientes (velocidade e rendimento) foram as realizadas a 0°C com ou sem uso de ultra-som.

Vem sendo descrito, que a reação de Morita-Baylis-Hillman é uma reação muito sensível a pequenas variações de estrutura do substrato, catalisadores, e condições de temperatura e pressão, entre outros diversos parâmetros (BASAVIAH *et al*, 2007). Por exemplo, o que se espera para a grande maioria das reações é que o aumento da temperatura reacional conduza a maior velocidade de reação, considerando a equação de Arrhenius (Equação 1). Note que nesta equação, a E_a e T são grandezas inversamente proporcionais.

$$k = A e^{(-E_a/R.T)} \quad \text{ou} \quad k = A e^{(-\Delta G^\ddagger/R.T)} \quad (1)$$

onde: k = constante da velocidade da reação;

A = valor pré-exponencial ou fator frequência;

E_a ou ΔG^\ddagger = energia de ativação

R = constante geral dos gases;

T = temperatura absoluta (K)

Realmente, estudos efetuados pelo nosso grupo de pesquisas (OCTAVIO, 2003), mostraram que o aumento da temperatura de reação de 25°C para 76°C aumentaram significativamente a velocidade da reação entre o 4-nitrobenzaldeído e o acrilato de metila, em ausência de solvente

(tempos de reação; 4 dias a 25°C e 5h a 76°C). Entretanto, diferentemente do esperado, a redução da temperatura de 25°C para -4°C aumentou muito a velocidade da RMBH (tempos de reação; 4 dias a 25°C e 5h e 40 min a -4°C).

Este efeito inesperado foi inicialmente observado por Rafel e Leahy nas reações usando acrilato de metila como aceptor de Michael e 4-nitrobenzaldeído como eletrófilo (RAFEL e LEAHY, 1997). Neste artigo, Rafel explica o fato baseado na formação em diferentes concentrações dos enolatos Z e E (Figura 4.2), que reagem em diferentes velocidades com o aldeído. Estes resultados foram corroborados também pelo nosso grupo de pesquisas (DE SOUZA, 2004b).

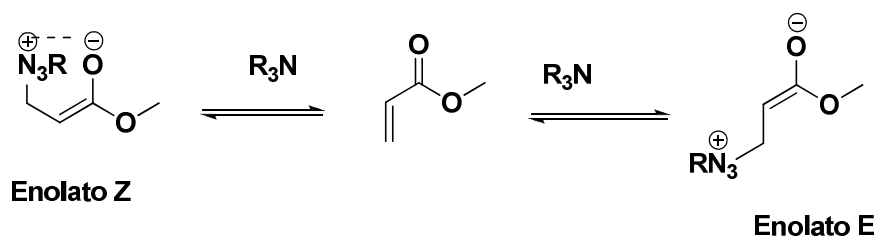


Figura 4.2: Enolato Z e E

Como apresentado na introdução desta dissertação, o mecanismo de reação da RMBH vem sendo alvo de muita controvérsia. Notamos, que nos dois mecanismos aceitos atualmente (McQuade, 2005; Aggarwal, 2007), as etapas lentas passam por um estado de transição altamente organizado (Figura 4.3), o que torna o termo entrópico muito importante. Este parâmetro é chamado de volume de ativação (ASANO e LE NOBLE, 1978). Denomina-se volume de ativação (ΔV^\ddagger) a diferença entre o volume do estado de transição da etapa controladora da reação (V^\ddagger_{ET}) e o somatório dos volumes dos reagentes (V_R), como mostrado a seguir (Equação 2).

Reagente→Estado de transição→produto

$$\Delta V^\ddagger = V^\ddagger_{ET} - V_R \quad (2)$$

O volume de ativação da RMBH é de aproximadamente $-70 \text{ cm}^3/\text{mol}$, uma das mais altas entre as reações conhecidas (HILL e ISAACS, 1986). Este fato pode ser explicado pelo alto nível de organização do estado de transição, quando comparado aos reagentes, em ambos os mecanismos propostos.

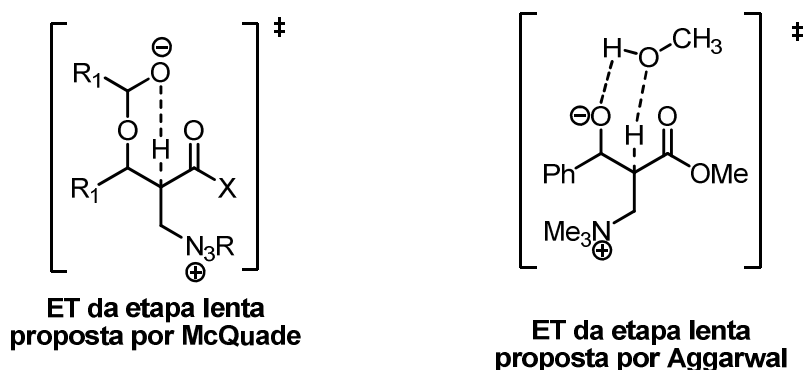


Figura 4.3. Estados de transições propostos para as etapas lentas das reações de MBH.

Por outro lado, as reações que conduzem aos produtos colaterais, como polimerizações e dimerizações, não passam por estados de transições tão organizados como na RMBH (SHI, 2003), e o termo entrópico é menos importante para a formação destes co-produtos.

De acordo com a equação (3);

$$E_a = \Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \cdot \Delta S^\ddagger \quad (3)$$

Podemos observar que a variação de temperatura só influencia o termo entrópico ($T.\Delta S$) e não o termo entálpico. Observando a Equação 4, temos;

$$\Delta S^\ddagger = S^\ddagger - S_R \quad (4)$$

Na reação de RMBH, o volume de ativação é fortemente negativo e conseqüentemente deve ter uma ΔS^\ddagger também fortemente negativa, o que desfavorece muito a velocidade da reação, pelo aumento de ΔG^\ddagger da mesma, de acordo como desenvolvido na Equação 5.

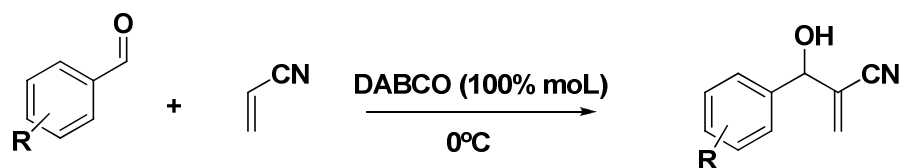
$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T. [-\Delta S^\ddagger] \text{ então } \Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger + [T.\Delta S^\ddagger] \quad (5)$$

Acreditamos que com a diminuição da temperatura de 25°C para 0°C (Tabela 4.2, Entrada 3), a RMBH tornou-se mais seletiva, pois o termo entrópico "atrapalha menos" a sua velocidade que as velocidades reações colaterais.

Após encontrarmos esta eficiente metodologia para a preparação de **31**, aplicamos a mesma na síntese dos demais adutos. A Tabela 4.3 mostra os resultados obtidos na preparação dos adutos ilustrados na Figura 4.1, na qual a acrilonitrila foi usado como acceptor de Michael.

Podemos observar que a reação a temperatura de 0°C se mostrou também muito eficiente na preparação dos demais adutos propostos, corroborando todos os aspectos mecanísticos aventados anteriormente. Assim, todas as reações foram aceleradas, com minimização total de co-produtos e excelentes rendimentos.

Tabela 4.3: Resultados obtidos na preparação dos AMBH a partir dos aldeídos aromáticos e acrilonitrila utilizando o novo protocolo (Entrada 3, Tabela 4.2)



Entrada	Aduto	Tempo (min)	Rendimento
1	29	40	100
2	31	25	100
3	13	15	100
4	33	30	100
5	14	50	100
6	36	10	100
7	25	240	98
8	26	600	98

Reações usando acrilonitrila em excesso como solvente a temperatura de 0°C

Observando as Tabelas 4.1 e 4.3, podemos observar a melhora significativa para a preparação dos AMBH inicialmente propostos. A preparação de **25**, quando realizada utilizando o protocolo que envolvia a mistura *tert*-butanol / água (6:4) como solvente, gerava o aduto em 58% de rendimento em 24 horas de reação. Com a diminuição da temperatura a 0°C e retirada do solvente (*tert*-butanol / água), os co-produtos foram minimizados e a reação passou a ter um tempo reacional de 240 minutos (4 horas) e rendimento de 98% (Entrada 7, Tabela 4.3).

Com esta nova metodologia de síntese, o processo de isolamento dos adutos ficou mais simples. Uma filtração em sílica para retirada do catalisador do meio reacional seguido de evaporação do solvente foi realizada.

4.2 Sínteses dos adutos de Morita-Baylis-Hillman utilizando acrilato de metila como alqueno ativado.

A síntese dos adutos a partir do acrilato de metila foi realizada aplicando a nova metodologia desenvolvida com os adutos anteriores. A figura abaixo mostra os alvos sintéticos.

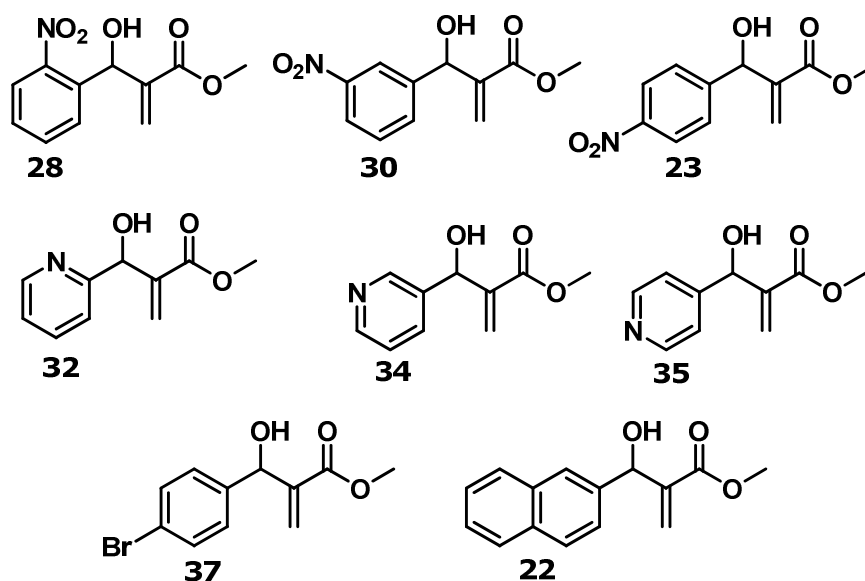
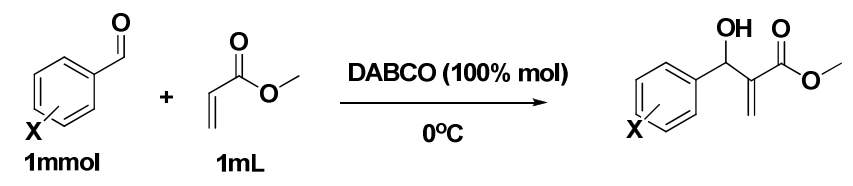


Figura 4.4: Adutos de Morita-Baylis-Hillman originados da reação entre aldeídos aromáticos e acrilato de metila

Observamos que a metodologia utilizando o próprio alqueno ativado como solvente e a temperatura de 0°C foi também satisfatória. A Tabela 4.4 mostra os resultados obtidos de tempo reacional e rendimento na preparação dos adutos. É importante ressaltar que nenhum processo de separação cromatográfica foi necessário para o isolamento do produto, tendo em vista que não há formação de co-produtos. Uma simples filtração em sílica usando como eluente uma mistura de acetato de etila-hexano (2:8) e posterior evaporação do solvente foram suficientes para obtermos o produto em excelentes rendimento

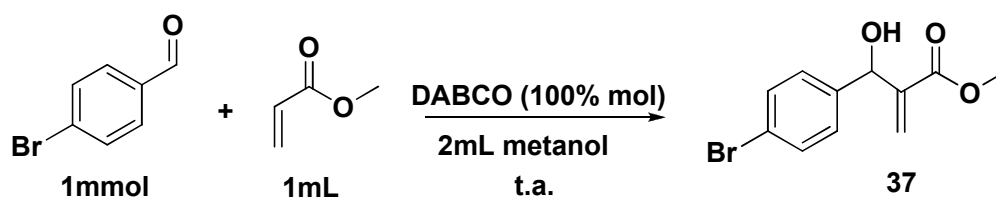
Tabela 4.4: Resultados obtidos na síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman derivados do acrilato de metila



Entrada	Aduto	Tempo	Rendimento
1	28	3h	92%
2	30	1h	98%
3	23	3h	85%
4	32	5h	95%
5	34	2h	98%
6	35	2h	71%
7	37	NR	NR
8	22	16 dias	85%
9	37	72h	84% ^b

NR: Não ocorreu reação. ^b Usando metanol como solvente

Pela Tabela 4.4, pode-se observar que os adutos foram preparados em bons rendimentos (71-98%). No entanto, foi observado que o produto **37** (Entrada 7) não foi formado usando esta metodologia sintética. Com isso, baseado no trabalho de Hoen e colaboradores (HOEN *et al*, 2007), utilizamos metanol como solvente na síntese deste aduto. Embora o tempo reacional tenha sido longo (3 dias), conseguimos obtê-lo em rendimento de 84%, onde nenhum co-produto foi observado por CCDA (Esquema 4.2).



Esquema 4.2: Otimização da preparação de **37**.

Estes últimos resultados podem ser avaliados de acordo com os mecanismos aceitos até a presente data (McQUADE, 2005a; AGGARWAL, 2007). De acordo com McQuade, a reação se processaria mais favoravelmente pelo uso de excesso de aldeído. De acordo com o mecanismo proposto por Aggarwal, este excesso de aldeído não é necessário, se houver presença de solvente prótico, exatamente como o caso desenvolvido neste trabalho (Esquema 4.2).

4.3 Avaliação contra *Leishmania amazonensis* e *Leishmania chagasi*

Os resultados da Tabela 4.5 mostram os valores de CI_{50} dos 16 adutos de Morita-Baylis-Hillman sintetizados neste trabalho frente às formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*.

Podemos observar que todos os adutos possuem excelente atividade contra as formas promastigota de *L. amazonensis*. Os valores de CL_{50} foram muito menores do que a droga de referência, o glucantime®, que apresentou $CI_{50} = 1620.3 \mu\text{g/mL}$ (BARBOSA *et al*, 2009).

Teceremos alguns comentários sobre os dados contidos na Tabela 4.5, usando preferencialmente os valores de CI_{50} em μM . Avaliações em $\mu\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ também podem ser feitas, mas desconsideram a massa molar da droga em questão.

Tabela 4.5: Atividade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigotas de *L. amazonensis*.

ENTRADA	AMBH	CI₅₀(µg/mL)	CI₅₀(µM)
1	28	11.88	50.08
2	29	12.66	62.00
3	30	107.12	451.58
4	31	48.65	238.27
5	23	46.53	196.16
6	13	26.19	128.27
7	32	141.30	731.37
8	33	48.50	302.80
9	34	86.65	448.50
10	14	62.75	391.77
11	35	94.47	488.98
12	36	40.15	250.95
13	22	20.23	83.50
14	26	6.88	32.88
15	37	23.19	85.54
16	25	9.58	40.23

Uma análise inicial da relação estrutura-atividade nos revela que quase todos os adutos que possuem o grupo nitrila, possuem maiores atividades antipromastigota do que os adutos que possuem o grupo carboximetiléster (Figura 4.4). Estes dados nos conduzem a uma proposta

no qual o grupo nitrila ou o carboximetiléster podem ser grupos farmacofóricos nestes adutos. Na literatura, raríssimos são os relatos de propostas da ação biológica de fármacos contra espécies de *Leishmania* e mesmo nestes, nenhuma certeza é apresentada. Em uma exceção recente, o mecanismo de ação de Sb(III) para o tratamento das Leishmanioses foi proposto baseado em estudos cristalográficos (BAIOCCO *et al*, 2009). Desta forma, nesta dissertação, teceremos apenas uma proposta inicial de SAR para nossos AMBH nas espécies estudadas. Comprovações adicionais ainda estão como foco de estudo.

Em cálculos recentes, observou-se que, quando o grupo farmacofórico é o carboximetiléster nos AMBH, existe a formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular (IHB) entre o oxigênio sp^2 do grupo éster com a hidroxila, presentes nos nossos adutos e caracterizados por métodos computacionais usando a teoria QTAIM (ALENCAR FILHO *et al*, 2007), como mostra a Figura 4.5. Esta IHB dificultaria a formação de uma ligação de hidrogênio intermolecular destes compostos com o receptor biológico, tanto na hidroxila como no oxigênio sp^2 , tornando estes compostos menos efetivos como Leishmanicidas.

Por outro lado, quando o grupo farmacofórico é o grupo nitrila, não se caracterizou nenhuma IHB (ALENCAR FILHO *et al*, 2007) e tanto o grupo hidroxila como o grupo nitrila (nitrogênio é doador de elétrons) podem estar mais livres para a melhor interação com o receptor biológico (Figura 4.5), o que poderia inibir com mais eficiência as enzimas fundamentais ao funcionamento do parasita, diminuindo o valor de CI_{50} .

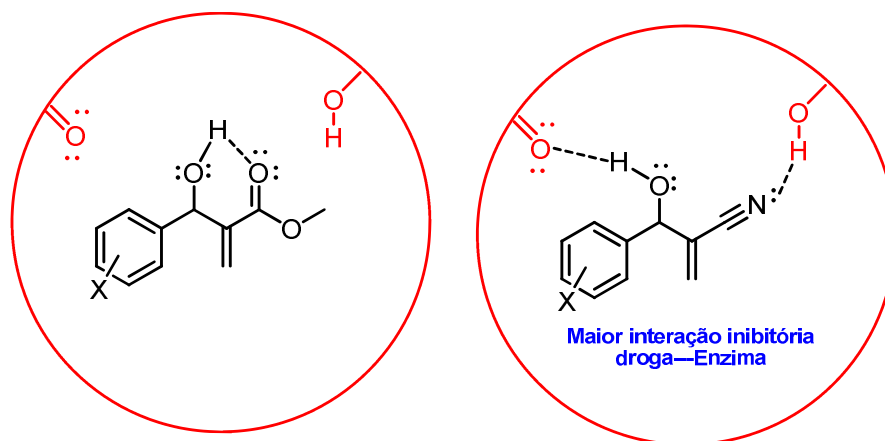


Figura 4.5: Propostas de interações diferenciadas entre os AMBH com os receptores biológicos. Em vermelho, representamos o sítio ativo de uma dada enzima.

Curiosamente, observa-se nas entradas 1 e 2 da Tabela 4.5, que os valores de CI_{50} de **28** e **29** são praticamente iguais. Nota-se, que nestes compostos, a porção aromática apresenta o grupo nitro na posição *orto*. No mesmo estudo teórico descrito anteriormente (ALENCAR FILHO *et al*, 2007), foi caracterizado por QTAIM, a existência e uma IHB entre o oxigênio do grupo nitro e a hidroxila em **29** (Figura 4.6). Acreditamos que a semelhança de CI_{50} que ocorre unicamente para estes casos, pode ser devido a formação de IHB entre a hidroxila e o grupo nitro em **29**, poder “compensar” a formação da IHB da hidroxila com o oxigênio sp^2 em **28**, que tornariam as interações dos compostos **28** e **29**, com o sítio ativo da enzima semelhantes (Figura 4.7). Cabe ressaltar, que todos os estudos conformacionais de Alencar Filho (ALENCAR FILHO *et al*, 2007) foram feitos com implementação de simulação computacional em meio aquoso, semelhante ao que ocorre no interior citoplasmático.

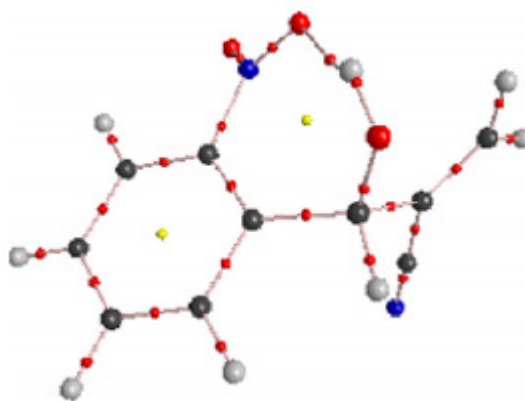


Figura 4.6. Caracterização da IHB no aduto **29** (ALENCAR FILHO *et al*, 2007).

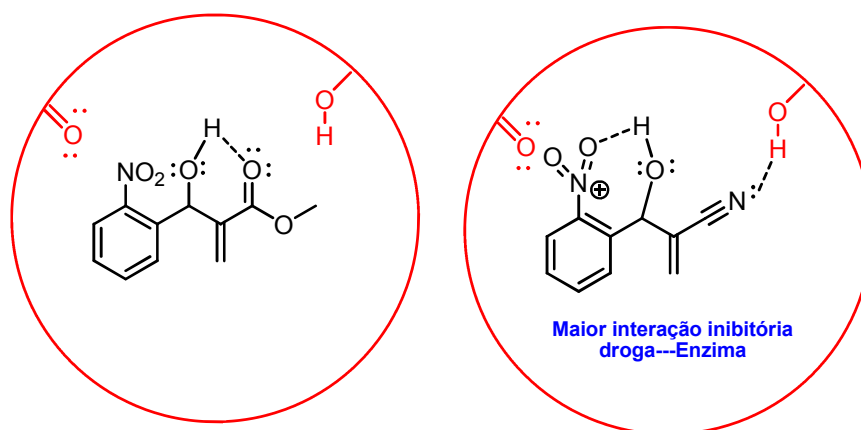


Figura 4.7. Propostas de interações semelhantes entre os AMBH com os receptores biológicos. Em vermelho, representamos o sítio ativo de uma dada enzima.

Continuando nossa proposta SAR, podemos notar que, independentemente da presença ou não dos grupos CO_2CH_3 e CN , o substituinte dos anéis aromáticos também apresentam uma importante contribuição para os valores observados na Tabela 4.5. Os adutos **22**, **25**, **26**, **28**, **29** e **37** foram os AMBH mais ativos, apresentando valores inferiores a $100\mu\text{M}$. Os compostos que possuem o grupo nitro ligado ao anel aromático demonstraram elevadas atividades (Entrada 1-6, Tabela 4.5). Os AMBH que possuem anéis piridínicos foram um pouco menos

ativos do que os adutos com grupos nitro ligados ao anel aromático (análise em μM).

Em uma revisão recente (FÁVERO *et al*, 2009) foi destacada a importância do grupo nitro na bioatividade de compostos com atividade antiparasitária, incluindo algumas espécies de *Leishmania*. Ao estudar os nitrocompostos, observa-se que o mecanismo de ação, em nível molecular, ainda não está totalmente estabelecido, uma vez que pode variar de acordo com diferenças estruturais dos compostos. Rozenski e colaboradores (ROZENSKI *et al*, 1995) conseguiram relacionar a ação antibacteriana com o potencial de redução de alguns nitrocompostos, comprovando que esta bioatividade é decorrente da redução do grupo nitro (Figura 4.8). Esta redução leva ao aumento da concentração intracelular de nitrocompostos, maior quantidade de radicais livres é gerada e, conseqüentemente, maior é o dano causado pelo estresse oxidativo (TOCHER, 1997).

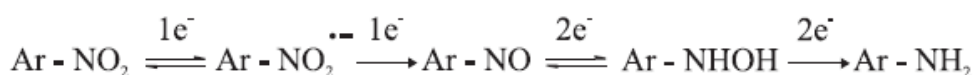


Figura 4.8. Processo de oxi-redução do grupo nitro.

Dentre os compostos que possuem anéis piridínicos, o mais ativo é o aduto **36** que apresenta um CI_{50} de 250,95 μM (Entrada 12, Tabela 4.5). O composto **26** mostrou ser o mais ativo dentre todos os compostos sintetizados, apresentando a CI_{50} de 32,88 μM , que o coloca entre os mais promissores como protótipo na busca de novos análogos anti-*Leishmania* (Entrada 14, Tabela 4.5). O composto **25** também merece destaque, pois apresentou valor de concentração de inibição do parasita muito próxima do composto **26** (Entrada 14 versus 16, Tabela 4.5), sendo outro protótipo na busca por novos leishmanicidas.

Os resultados da atividade antipromastigota dos AMBH sintetizados em *L. chagasi* estão apresentados na Tabela 4.6. Podemos observar inicialmente pelos valores de CI₅₀ que este parasita (*L. chagasi*) é mais resistente aos adutos do que o parasita avaliado anteriormente (*L. amazonensis*).

Tabela 4.6: Atividade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigotas de *L. chagasi*.

ENTRADA	AMBH	CI₅₀(µg/mL)	CI₅₀(µM)
1	28	19.52	82.29
2	29	16.66	81.59
3	30	64.67	262.63
4	31	23.24	113.82
5	23	27.85	117.41
6	13	18.86	92.37
7	32	138.99	724.59
8	33	37.49	234.06
9	34	67.66	350.57
10	14	36.62	228.88
11	35	95.50	494.81
12	36	32.08	200.50
13	22	23.08	95.37
14	26	11.06	52.92
15	37	33.03	122.33
16	25	14.34	60.50

Observa-se que todos os AMBH bioavaliados possuem atividade antipromastigota, sendo os adutos **13**, **22**, **25**, **26**, **28** e **29** os mais ativos, também apresentando valores de CI_{50} inferiores a $100\mu M$. A relação entre a estrutura-atividade (SAR) nos mostra uma tendência semelhante à descrita anteriormente. Os adutos que apresentam o grupo nitrila têm sua atividade superior aos adutos contendo o grupo carboximetiléster (Entrada 1 versus 2, 3 versus 4, Tabela 4.6). Nota-se que os adutos mais ativos contra *L. amazonensis* também são muito ativos contra as formas promastigota de *L. chagasi*. Os compostos **25** e **26** foram os mais ativos dentre os 16 AMBH sintetizados (Entrada 14 versus 16, Tabela 4.6) e são considerados, portanto, como os mais promissores como protótipos.

Capítulo 5

Conclusões e

perspectivas

5.1 Conclusões

- ✓ Foi desenvolvida uma metodologia altamente eficaz para a síntese dos 16 AMBH propostos.
- ✓ Todos os AMBH sintetizados neste trabalho apresentaram atividade leishmanicida, tanto em *L. amazonensis* quanto em *L. chagasi*.
- ✓ Os compostos **25** e **26** foram os que apresentaram as melhores atividades em *L. amazonensis* e *L. chagasi*, sendo nossos compostos protótipos.
- ✓ O grupo nitrila presente em alguns dos adutos sintetizados e o grupo hidroxila demonstrou ser grupos farmacofóricos importantes para a atividade leishmanicida.

5.2 Perspectivas

- ✓ Realizar estudos de Docking Molecular e QSAR
- ✓ Realizar modificações estruturais, bem como a aplicação de técnicas de bioisosterismo clássico na busca por adutos mais ativos e menos tóxicos.

Capítulo 6

Parte experimental

6.1 Materiais e métodos

Os reagentes utilizados neste trabalho foram adquiridos na Sigma Aldrich e usados diretamente, sem prévia purificação. Todos os adutos sintetizados não são inéditos e foram caracterizados por comparação com os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C descritos na literatura. Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram obtidos em um aparelho Varian Mercury Spectra AC 20 (200 MHz para ^1H e 50.3 MHz para ^{13}C) em CDCl_3 com tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. As multiplicidades referentes a cada absorção são expressas da seguinte forma: singlete (s), singlete largo (sl), dubleto (d), multiplete (m), tripleto (t), duplo dubleto (dd) e duplo duplo dubleto (ddd). As multiplicidades dos sinais dos carbonos foram observados pelo uso da técnica de APT (CDCl_3).

Os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e temperatura controlada em evaporador rotatório marca Fisaton.

As separações cromatográficas do tipo "flash" foram realizadas em colunas utilizando gel de sílica Merck de granulação 0,040 – 0,0063 mm. O acompanhamento das separações cromatográficas e dos processos reacionais foi realizado sobre cromatofolhas de alumínio de gel de sílica 60 Kieselgel (E. Merck) irradiadas com ultravioleta a 245 nm.

6.2 Procedimento geral para reação de Morita-Baylis-Hillman com a utilização da mistura de terc-BuOH/água (6:4) como solvente.

Em um balão de 25 mL, foi adicionado 1 mmol dos correspondentes aldeídos, 0,4 mL de acrilonitrila (6 mmol) e 1 mmol de DABCO. Posteriormente, 4 mL de terc-butanol/água (6:4) foi adicionado e a reação ficou sob agitação magnética e a temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCDA. O isolamento foi feito concentrando a mistura reacional à pressão reduzida. Em seguida, adicionou-se 20 mL de acetato de etila ao resíduo. Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação onde esta foi lavada com uma solução de NH₄Cl 10% (3x 10 mL). A fase orgânica foi separada, seca com Na₂SO₄, filtrada e evaporada. O resíduo foi ressuspendido em uma pequena quantidade de acetato de etila:Hexano 20%. Este agora foi aplicado em uma coluna cromatográfica de sílica gel flash (7 g) previamente empacotada com acetato de etila /Hexano 30:70. A obtenção do produto foi efetuada pela evaporação da mistura de solventes em evaporador rotatório.

6.3 Procedimento geral para reação de Morita-Baylis-Hillman sem a utilização de solvente e a temperatura de 0°C.

Em um balão de 25 mL, foi adicionado 1 mmol dos correspondentes aldeídos, 0,4 mL de acrilonitrila (6 mmol) ou 0,6 mL de acrilato de metila (6,6 mmol) e 1 mmol de DABCO. A mistura reacional foi colocada em banho de gelo e sob agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCDA. Após o término da reação, a mistura reacional foi diretamente filtrada em sílica gel, usando acetato de etila-Hexano (2:8) como eluente. O produto foi concentrado a pressão reduzida.

6.4 Procedimento para preparação de 31 utilizando acrilonitrila como solvente a temperatura ambiente.

Em um balão de 25 mL, foi adicionado 1 mmol (151mg) do 3-nitrobenzaldeído, 0,4 mL de acrilonitrila (6 mmol) e 1 mmol de DABCO (112mg). A reação ficou sob agitação magnética e a temperatura ambiente, sendo acompanhada por CCDA. O isolamento foi feito concentrando a mistura reacional à pressão reduzida. Em seguida, adicionou-se 20 mL de acetato de etila ao resíduo. Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação onde foi lavada com NH_4Cl 10% (3x 10 mL). A fase orgânica foi separada, seca com Na_2SO_4 , filtrada e evaporada. O resíduo foi ressuspendido em uma pequena quantidade de acetato de etila /Hexano 20%. Este agora, foi aplicado em uma coluna cromatográfica de sílica gel flash (7 g) previamente empacotada com acetato de etila /Hexano 30:70.

6.5 Procedimento para preparação de 31 utilizando ultra-som a temperatura ambiente.

Em um balão de 25 mL, foi adicionado 1 mmol (151mg) do 3-nitrobenzaldeído, 0,4 mL de acrilonitrila (6 mmol) e 1 mmol de DABCO (112mg). A reação ficou sob agitação magnética, temperatura ambiente e sob irradiação de ultra-som. A reação foi acompanhada por CCDA. O isolamento foi feito concentrando a mistura reacional à pressão reduzida. Em seguida, adicionou-se 20 mL de acetato de etila ao resíduo. Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação onde foi lavada com NH_4Cl 10% (3 x 10 mL). A fase orgânica foi separada, seca com Na_2SO_4 , filtrada e evaporada. O resíduo foi ressuspendido em uma pequena quantidade de acetato de etila /Hexano 20%. Este agora foi aplicado em uma coluna cromatográfica de sílica gel flash (7 g) previamente empacotada com acetato de etila /Hexano 30:70.

6.6 Procedimento para preparação de 31 utilizando ultra-som a temperatura de 0°C.

Em um balão de 25 mL, foi adicionado 1 mmol (151mg) do 3-nitrobenzaldeído, 0,4 mL de acrilonitrila (6 mmol) e 1 mmol de DABCO (112mg). A mistura reacional foi colocada em banho de gelo (temperatura de 0°C) no próprio aparelho de ultra-som, sob agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCDA. O isolamento foi feito concentrando a mistura reacional à pressão reduzida. Em seguida, adicionou-se 20 mL de acetato de etila ao resíduo. Transferiu-se a mistura reacional para um funil de separação onde foi lavada com NH₄Cl 10% (3x 10 mL). A fase orgânica foi separada, seca com Na₂SO₄, filtrada e evaporada. O resíduo foi ressuscitado em uma pequena quantidade de acetato de etila /Hexano 20%. Este agora foi aplicado em uma coluna cromatográfica de sílica gel flash (7 g) previamente empacotada com acetato de etila /Hexano 30:70.

6.7 Procedimento para preparação de 37 utilizando metanol como solvente.

Uma mistura de 1 mmol de 4-bromobenzaldeído, 1 mL de acrilato de metila e DABCO (100% mol) em 2 mL de metanol foi agitada a temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por CCDA. Ao término da reação, a mistura reacional foi diluída a 15 ml de Et₂O. A fase orgânica foi lavada com água (2 × 15 mL), solução de NH₄Cl 10%(15 mL), secada com Na₂SO₄, filtrada e concentrada. O produto **37** foi purificado por coluna cromatográfica usando como eluente uma mistura de acetato de etila /Hexano 30:70.

6.8 Dados espectroscópicos dos adutos

6.8.1 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(2-nitro-fenil)] de metila (28)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,70 (s, 3H); 5,70 (s, 1H); 6,17 (s, 1H); 6,33 (s, 1H), 7,44 (ddd, 1H, 7,2/1,6/0,8); 7,62 (ddd, 1H, 7,4/1,2/1,0 Hz); 7,73 (dd, 1H, 7,8/1,6 Hz); 7,92 (dd, 1H, 8,0/1,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 52,19; 67,55; 124,54; 126,46; 128,66; 128,82; 133,45; 136,03; 140,64; 166,37.

6.8.2 3-hidroxi-2-metileno (2-nitro-fenil) propanenitrila (29)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 5,95 (s, 1H); 6,05 (d, 1H, 1Hz); 6,08 (d, 1H, 1.2 Hz); 7,48 (ddd, 1H, 7,6 /1,6/0,6 Hz); 7,68 (ddd, 1H,); 7,80 (dd, 1H, 7,8/1,2 Hz); 7,97 (dd, 1H, 8,0/1,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 68,76; 116,36; 123,91; 124,83; 128,82; 129,46; 132,02; 134,00; 134,06.

6.8.3 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(3-nitro-fenil)] de metila (30)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,45 (s, 1H), 3,70 (sl, 3H); 5,61 (sl, 1H); 5,90 (s, 1H); 6,38 (s, 1H); 7,49 (t, 1H, 8,0 Hz); 7,71 (dd, 1H, 2,0/1,6 Hz); 8,11 (ddd, 1H, 8,0/2,0/1,2 Hz); 8,22 (m, 1H).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 52,18; 72,47; 121,50; 122,73; 127,22; 129,32; 132,66; 140,87; 143,57; 148,23; 166,37.

6.8.4 3-hidroxi-2-metileno (3-nitro-fenil) propanenitrila (31)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,17 (sl, 1H); 5,41 (s, 1H); 6,07 (dd, 1H, 1,0 Hz); 6,17 (dd, 1H, 1,4 Hz); 7,55 (t, 1H, 8,0 Hz); 7,72 (m, 1H); 8,15 (ddd, 1H, 8,0/2,2/1,0 Hz); 8,22 (dd, 4,2/1,8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 73,88; 117,29; 122,31; 124,50; 126,28; 130,79; 132,08; 133,49; 142,24; 149,20.

6.8.5 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(4-nitro-fenil)] de metila (23)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,43 (d, 1H, 5,2 Hz); 3,71 (s, 3H); 5,60 (d, 1H, 5,8 Hz); 5,86 (s, 1H); 6,37 (s, 1H); 7,54 (d, 2H, 8,8 Hz); 8,16 (d, 2H, 8,8 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 52,18; 72,61; 123,56; 127,24; 127,28; 140,85; 147,35; 148,55; 166,33.

6.8.6 3-hidroxi-2-metileno (4-nitro-fenil) propanenitrila (13)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,03 (s, 1H); 5,39 (sl, 1H); 6,05 (dd, 1H, 4,0/1,2 Hz); 6,14 (dd, 1H, 4,0/1,0 Hz); 7,55 (dd, 2H, 8,8/4,0 Hz); 8,19 (dd, 2H, 8,8/4,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 73,13; 116,20; 123,97; 125,23; 127,27; 131,03; 145,93; 147,88.

6.8.7 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(2-piridinil)] de metila (32)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,71 (s, 3H); 5,61 (s, 1H); 5,96 (s, 1H); 6,34 (s, 1H); 7,19 (ddd, 1H, 7,6/5,0/0,06 Hz); 7,40 (d, 1H, 8,0 Hz); 7,66 (ddd, 7,8/7,6/1,6 Hz); 8,51 (m, 1H).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 51,82; 72,01; 121,22; 122,61; 126,83; 136,82; 141,56; 148,16; 159,40; 166,47.

6.8.8 3-hidroxi-2-metileno (2-piridinil)-propanenitrila (33)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 5,00 (sl, 1H); 5,31 (sl, 1H); 6,06 (s, 1H); 6,23 (s, 1H); 7,31 (m, 1H); 7,41 (d, 1H, 7,8 Hz); 7,77 (ddd, 1H, 7,8/7,6/1,6 Hz); 8,57 (m, 1H).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 74,31; 118,15; 122,69; 125,16; 127,07; 132,54; 139,01; 149,80; 157,48.

6.8.9 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(3-piridinil)] de metila (34)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,71 (s, 3H); 5,60 (s, 1H); 6,02 (s, 1H); 6,40 (s, 1H); 7,26 (dd, 1H, 7,8/7,6/4,2 Hz); 7,74 (m, 1H); 7,39 (dd, 1H, 5,0/1,6 Hz); 8,48 (d, 1H, 2,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 51,91; 70,40; 126,10; 124,41; 134,67; 137,57; 141,57; 148,21; 148,43; 166,21.

6.8.10 3-hidroxi-2-metileno (3-piridinil)-propanenitrila (14)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 4,78 (s, 1H); 5,33 (s, 1H); 6,02 (dd, 1H, 1,0 Hz); 6,15 (dd, 1H, 1,4 Hz); 7,31 (dd, 1H, 7,8/5,0 Hz); 7,78 (m, 1H); 8,42 (m, 2H).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 72,39; 117,61; 125,01; 126,86; 131,36; 136,14; 137,09; 148,21; 149,70.

6.8.11 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(4-piridinil)] de metila (35)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,70 (s, 3H); 5,51 (s, 1H); 5,89 (s, 1H); 6,36 (s, 1H); 7,30 (d, 2H, 6,0 Hz); 8,47 (d, 2H, 6,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 52,10; 71,86; 121,50; 127,07; 140,93; 149,32; 151,03; 166,29.

6.8.12 3-hidroxi-2-metileno (4-piridinil)-propanenitrila (36)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 4,80 (sl, 1H); 5,32 (s, 1H); 6,05 (s, 1H); 6,16 (s, 1H); 7,38 (d, 2H, 6,0 Hz); 8,46 (d, 2H, 6,0 Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 72,59; 116,49; 121,63; 125,62; 130,85; 149,34; 149,38.

6.8.13 Propanoato de [Metil-3-hidroxi-2-metileno-(2-naftil)- (22)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,27 (sl, 1H); 3,70 (s, 3H); 5,72 (s, 1H); 5,87 (s, 1H); 6,36 (s, 1H); 7,42-7,49 (m, 3H); 7,79-7,84 (m, 4H).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 51,85; 73,10; 124,37; 125,32; 125,84; 125,94; 126,19; 127,43; 127,90; 127,98; 132,79; 132,99; 138,36; 141,60; 166,59.

6.8.14 3-hidroxi-2-metileno (2-naftil)-propanenitrila (26)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 2,48 (sl, 1H); 5,42 (s, 1H); 6,04 (d, 1H, 1,2 Hz); 6,12 (d, 1H, 1,4 Hz); 7,41-7,54 (m, 3H); 7,83-7,88 (m, 4H).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 75,68; 118,41; 125,21; 127,42; 127,45; 128,00; 128,16; 129,18; 129,62; 130,39; 131,55; 134,54; 134,87; 137,81.

6.8.15 Propanoato de [3-hidroxi-2-metileno-(4-bromo-fenil)] de metila (37)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 3,12 (d, 1H, 5,8 Hz), 3,70 (s, 3H); 5,48 (s, 1H, 5,6 Hz); 5,81 (s, 1H); 6,32 (s, 1H); 7,23 (d, 2H, 8,4 Hz); 7,45 (d, 2H, 8,4Hz).

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 51,74; 72,31; 121,40; 126,14; 127,94; 131,17; 139,91; 141,10; 166,26.

6.8.16 3-hidroxi-2-metileno (4-bromo-fenil)-propanenitrila (25)

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm): 2,06 (sl, 1H); 5,27 (s, 1H), 6.03 (d, 1H, 1,2 Hz); 6,10 (d, 1H, 1,4 Hz). 7,24 (d, 2H, 8,2 Hz); 7,52 (d, 2H, 8,6 Hz)

RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm): 73,46; 116,74; 122,93; 125,81; 128,21; 130,42; 132,03; 138,15.

Referências

REFERÊNCIAS

AGGARWAL, K.V.; ROBIETTE, R.L., HARVEY J.N., Mechanism of the Morita-Baylis-Hillman Reaction: A Computational Investigation, *J. Am. Chem. Soc.*, **129: 15513, 2007**.

AMARANTE, G. W.; MILAGRE, H. M. S.; VAZ, B. G.; VILACHÃ, B. R. F.; EBELIN, M. N.; COELHO, F., Dualistic nature of the mechanism of the Morita-Baylis-Hillman reaction probed by electrospray ionization mass spectrometry, *J. Org. Chem.*, **74: 3031, 2009**.

ASANO, T.; LE NOBLE, W. J., Activation and reaction volumes and solution, *Chem. Rev.*, **78: 407, 1978**.

BAIOCCO, P.; COLOTTI, G.; FRANCESCHINI, S.; ILARI, A., Molecular Basis of Antimony Treatment in Leishmaniasis, *Journal of Medicinal Chemistry*, **52: 2603, 2009**.

BARBOSA, T. P.; JUNIOR, C. G. L.; SILVA, F. P. L.; LOPES, H. M.; FIGUEIREDO, L. R. F.; SOUSA, S. C. O.; BATISTA, G. N.; SILVA, T. G.; SILVA, T. M. S.; OLIVEIRA, M. R.; VASCONCELLOS, M. L. A. A., Improved synthesis of seven aromatic Baylis-Hillman adducts (BHA): Evaluation against *Artemia salina* Leach. and *Leishmania chagasi*, *Eur. J. Med. Chem.*, **44: 1726, 2009**.

BARREIRO, E. J., A Química Medicinal e o paradigma do composto protótipo, *Rev. Virtual Química*, **1: 26, 2009**.

BASAVAIAH, D.; RAO, P. D.; HYMA, R. S., The Baylis-Hillman reaction: a novel carbon-carbon bond forming reaction, *Tetrahedron*, **44: 4653, 1996**.

BASAVAIAH, D.; RAO, J.; SATYANARAYANA, T., Recent advances in Baylis-Hillman reactions and applications, *Chem. Rev.*, **103(3): 811, 2003**.

BASAVAIAH, D.; RAO, K. V.; REDDY, R. J., The Baylis-Hillman reaction: a novel source of attraction, opportunities, and challenges in synthetic chemistry, *Chemical Society Review*, **36: 1581, 2007**.

BATRA, S.; SINGH, V., Advances in the Baylis-Hillman reaction-assited synthesis of cyclic frameworks, *Tetrahedron*, **64: 4511, 2008**.

BAYLIS, A. B.; HILLMAN, M.E.D.; German Patent 2155113, 1972. Chem. Abstr. **77: 34174, 1972**.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Atlas de Leishmaniose Tegumentar Americana Diagnósticos Clínico e Diferencial. Brasília, DF, 2006a.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. 1a ed., 3ª reimpressão. Brasília, DF, 2006b.

CAI, J.; ZHOU, Z.; ZHAO, G.; TANG, C., Dramatic Rate Acceleration of the Baylis-Hillman Reaction in Homogeneous Medium in the Presence of Water., *Org. Lett.*, **4: 4723, 2002**.

CHIN CHUNG, M.; ELIZABETH, I. F.; SANTOS, J. L.; GIAROLLA, J.; RANDO, D. G.; ALMEIDA, A. E.; BOSQUESI, P. L.; MENEGON, R. F.; BLAU, L., Prodrugs for the treatment of neglected diseases, *Molecules*, **13: 616, 2008**.

CHIRAC, P.; TORREELE, E., Global framework on essential health R&D, *Lancet*, **367: 1560, 2006**.

CIGANEK, E. Organic Reactions, Paquette L. A., Ed.; John Wiley & Sons: New York, NY, 1997.

COELHO, F. A. S.; ALMEIDA, W. P.; VERONESE, D. ; MATEUS, C. R. ; LOPES, E. ; SILVEIRA, G. P. C. E. ; ROSSI, R. C.; PAVAM, C. H., Ultrasound in Baylis-Hillman Reactions with Aliphatic and Aromatic Aldehydes: Scope and Limitations, *Tetrahedron*, **58: 7437, 2002**.

DE SOUZA, R.O.M.A, MEIRELES B. A., AGUIAR L.C.S., VASCONCELLOS, M.L.A.A., Hexamethylenetetramine as a Cheap and Convenient Alternative Catalyst in the Baylis-Hillman Reaction: Synthesis of Aromatic Compounds with anti-Malarial Activity, *Synthesis*, **10: 1595, 2004a**.

DE SOUZA, R. O. M. A.; VASCONCELLOS, M. L. A. A., Intrinsic catalytic activity of tertiary amines: a mechanistic proposal to the unexpected temperature effect in Baylis-Hillman reactions, *Catalysis Communications*, **5: 21, 2004b**.

DE SOUZA, R. O. M. A.; FREGADOLLI, PH; AGUIAR, L. C. ; GONÇALVES, KM ; PEREIRA, V. L. P. ; FILHO, LC ; ESTEVES, P. M. ; VASCONCELLOS M L A A ; ANTUNES, O. A. C., Hexamethylenetetramine-Ionic Liquids Combined System to Promote Baylis Hillman Reactions, *Letters in Organic Chemistry*. **3:936, 2006**.

DE SOUZA, R. O. M. A.; PEREIRA, V. L. P.; MUZITANO, M. F.; FALCÃO, C. A. B.; ROSSI-BERGMANN, B.; FILHO, E. B. A.; VASCONCELLOS, M. L. A. A., High selective leishmanicidal activity of 3-hydroxy-2-methylene-3-(4-bromophenyl) propanenitrile and analogous compounds, *Eur. J. Med. Chem.*, **42: 99, 2007**.

DE SOUZA, R. O. M. A.; PEREIRA, V. L. P.; ESTEVES, P. M.; VASCONCELLOS, M. L. A. A., The Morita-Baylis-Hillman reaction in aqueous-organic solvent system, *Tetrahedron Letters*, **49: 5902, 2008**.

DESJEUX, P., Leishmaniasis: Public Health aspects and control, *Clinics in Dermatology*, **14: 417, 1996**.

DESJEUX, P., Leishmaniasis: current situation and new perspectives, *Comp. Immunol. Microbiol. Inf. Dis.*, **27: 305, 2004**.

DORVAL, M. E. M. C.; OSHIRO, E. T.; CUPOLLILO, E.; DE CASTRO, A. C. C.; ALVES, T. P., Ocorrência de leishmania tegumentar americana no estado do Mato Grosso do sul associada à infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **39: 43, 2006**.

DREWES, S. E.; EMSLIE, N. D., Necic acid synthons. Part 1. Total synthesis of integerrinecic acid, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, **9: 2079, 1982**.

DREWES, S. E.; ROOS, G. H. P., Synthetic potential of the tertiary-amine-catalysed reaction of activated vinyl carbanions with aldehydes, *Tetrahedron*, **44: 4653, 1988**.

FÁVERO, R. P.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C., Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos, *Quim. Nova*, **32: 1013, 2009**.

FILHO, E.B. A.; VENTURA, E.; do MONTE, S. A.; OLIVEIRA, B. G.; JUNIOR, C. G. L.; ROCHA, G. B.; VASCONCELLOS, M. L. A. A., Synthesis and conformational study of a new class of highly bioactive compounds, *Chemical Physics Letters*, **499: 336, 2007**.

GRIMALDI JR, G.; TESH, R. B.; McMAHON-PRATT, D., A review of the geographic distribution and epidemiology of leishmaniasis in the world, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **41: 687, 1989**.

HILL, J. S.; ISAACS, N. S., Functionalisation of the α position of acrylate systems by the addition of carbonyl compounds: Highly pressure-dependent reactions, *Tetrahedron Letters*, **27: 5007, 1986**

HILL, J. S.; ISAACS, N. S., Mechanism of α -substitution reactions of acrylic derivatives, *Phys. Org. Chem.* **3: 285, 1990**.

HOEN, R.; TIEMERSMA-WEGMAN, T.; PROCURANTI, B.; LEFORT, L.; DE VRIES, J. G.; MINNAARD, A. J.; FERINGA, B. L., Enantioselective synthesis of β -2-amino acids using rhodium-catalyzed hydrogenation, *Organic & Biomolecular Chemistry*, **5: 267, 2007**.

HOFFMAN, H. M. R.; RABE, J., DABCO-catalyzed couplings of acrylic acid esters with aldehydes. 1. Synthesis of 2-(1-hydroxyalkyl)acrylic acid esters; simple three-step synthesis of mikanecic acid, *Angewandte Chemie*, **95: 795, 1983**.

HOFFMANN, H. M. R. RABE, J., DABCO-catalyzed couplings of acrylic acid esters with aldehydes. 2. New stereocontrolled synthesis of alkenes with trisubstituted double bonds via functionalized acrylic acid esters, *Angewandte Chemie*, **95: 796, 1983**.

KOHN, L. K.; PAVAM, C. H.; VERONESE, D.; COELHO, F.; De CARVALHO, J. E.; ALMEIDA, W. P., Antiproliferative effect of Baylis-Hillman adducts and a new phthalide derivate on human tumor cell lines, *Eur. J. Med. Chem.*, **41: 738, 2006**.

KUNDU, M. K.; SUNDAR, N.; KUMAR, S. K.; BHAT, S. V.; BISWAS, S. V. N., Antimalarial activity of 3-hydroxyalkyl-2-methylene-propionic acid derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9: 731, 1999**.

LAWN, SD; ARMSTRONG, M.; CHILTON, D.; WHITTY, C. J. M., Eletrocardiographic and biochemical adverse effects of sodium stibogluconate during treatment of cutaneous and mucosal leishmaniasis among returned travelers, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*, **100: 264, 2006**.

LENARDÃO, J.E.; FREITAG, R.A.; DABDOUB, M.J.; BATISTA, A.C.F.; SILVEIRA, C.C., "Green Chemistry" – os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa, *Quim. Nova*, **26:123, 2003**.

MAIA-ELKHOURY, A. N. S.; ALVES, W. A.; SOUSA-GOMES, M. L.; DE SENA, J. M.; LUNA, E. A., Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges, *Cad. Saúde pública*, **24: 2941, 2008**.

MCQUADE, D. T.; PRICE, K. E.; BROADWATER, S. J.; JUNG, H. M., Baylis-Hillman mechanism: a new interpretation in aprotic solvents, *Organic Letters*, **7:147, 2005a**.

MCQUADE, D. T.; PRICE, K. E.; BROADWATER, S. J.; WALKER, B. J., A new interpretation of the Baylis-Hillman mechanism, *J. Org. Chem*, **70: 3980, 2005b**.

MORITA, K.; Japan patent 6803364, 1968; Chem. abstr., 69: 58828, **1968**.

NARENDER, P.; SRINIVAS, U.; GANGADASU, B.; BISWAS, S.; RAO, V. J., Anti-malarial activity of Baylis-Hillman adducts from substituted 2-chloronicotinaldehydes, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **15: 5378, 2005**.

OCTAVIO, R.; de SOUZA, M. A.; VASCONCELLOS, M. L. A. A., The use of DMAP as catalyst in the Baylis-Hillman reaction between methyl acrylate and aromatic aldehydes, *Synthetic Communications*, **33: 1383, 2003**.

PATEL, J. A.; SHAH, K. G., Leishmaniasis: a review, *Pharmacologyonline*, **2: 1, 2008**.

RAFEL, S.; LEAHY, J. W., An Unexpected Rate Acceleration-Practical Improvements in the Baylis-Hillman Reaction, *Journal of Organic Chemistry*, **62: 1521, 1997**.

RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; DE JESÚS, M. N.; MARZAL, P. C., Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte, *Química Nova*, **26:550, 2003**.

ROZENSKI, J.; DE RAUNTER, C. J.; VERPLANKEN, H., Quantitative structure-activity relationships for antimicrobial nitroheterocyclic drugs, *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **14: 134, 1995**.

SHI, M.; LI, C. Q.; JIANG, J. K., Reexamination of the traditional Baylis-Hillman reaction, *Tetrahedron*, **59: 1181, 2003**

SOARES-BEZERRA, R. J.; LEON, L.; GENESTRA, M., Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos, *Revista brasileira de Ciências Farmacêuticas*, **40: 139, 2004**.

SOTO, J. *et al.*, Miltefosine for new world cutaneous leishmaniasis, *Clin. Infect. Dis.*, **38: 1266, 2004**.

SUNDAR, S., Drug resistance in Indian visceral leishmaniasis, *Trop. Med. Int. Health*, **6: 849, 2001**.

SUNDAR, S.; JHA, T. K.; THAKUR, C. P.; ENGEL, J.; SINDERMANN, H.; FISCHER, C.; JUNGE, K.; BRYCESON, A.; BERMAN, J., Oral miltefosine for Indian visceral leishmaniasis, *N. Engl. J. Med.*, **347: 1739, 2002**.

THOMAS, G. *Medicinal chemistry an introduction*. 2. ed. England: Wiley, 2007.

TOCHER, J. H., Reductive activation of nitroheterocyclic compounds, *Gen. Pharmac.*, **28: 485, 1997**.

VASCONCELLOS, M. L. A. A; SILVA, T. M. S.; CÂMARA, C. A.; MARTINS, R. M.; LACERDA, K. M.; LOPES, H. M.; PEREIRA, V. L. P., DE SOUZA, R. O. M. A.; CRESPO, L. T. C., Baylis-Hillman adducts with molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata*, *Pest Manage. Sci.* **62: 288, 2006**.

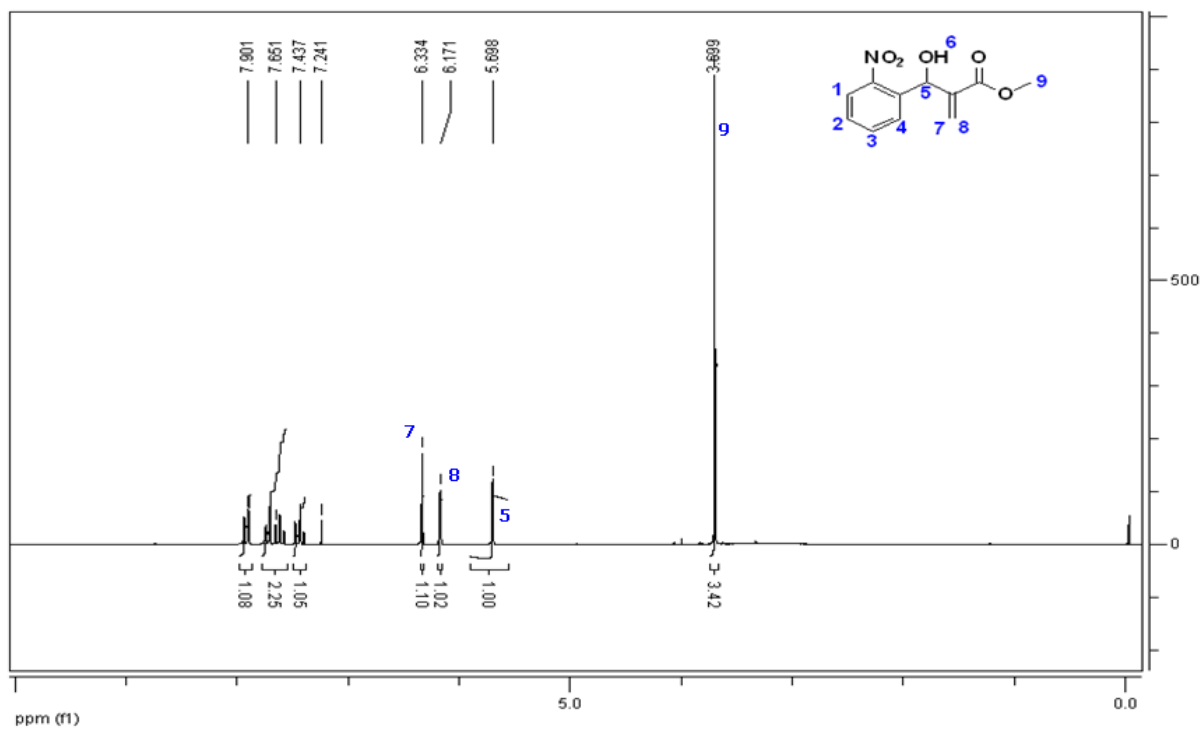
VERA-DIVAIO, M. A. F.; FREITAS, A. C. C.; CASTRO, H. C.; DE ALBUQUERQUE, S.; CABRAL, L. M.; RODRIGUES, C. R.; ALBUQUERQUE, M. G.; MARTINS, R. C. A.; HENRIQUES, M. G. M. O.; DIAS, L. R. S., Synthesis, antichagasic invitro evaluation, cytotoxicity assays, molecular modeling and SAR/QSAR studies of a 2-phenyl-3-(1-phenyl-1H-pyrazol-4-yl)-acrylic acid benzylidene-carbohydrazide series, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17: 295, 2009**.

WERMUTH, C. G.; GANELLIN C. R.; LINDBERG, P.; MITSCHER, L. A., Glossary of terms used in medicinal chemistry, *Pure & Appl. Chem.*,**70: 1129, 1998**.

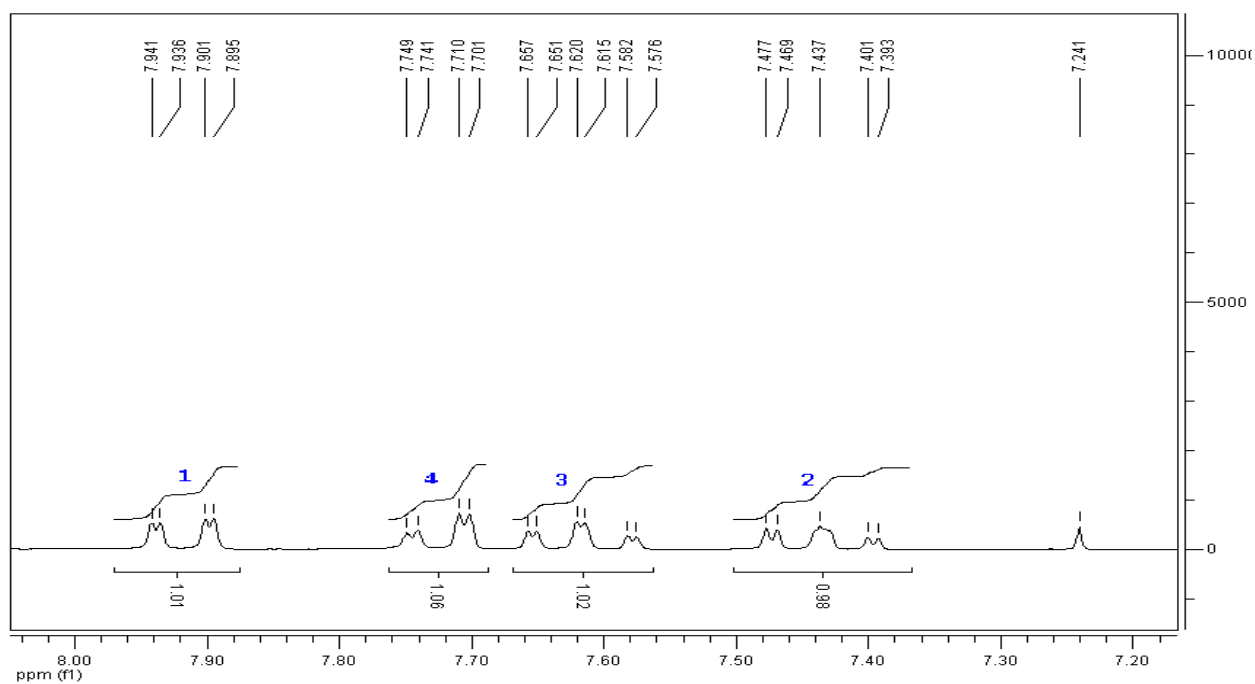
World Health Organization (WHO). The disease and its epidemiology. Disponível em <http://www.who.int/leishmaniasis/disease_epidemiology/en/index.html> acesso em 10 de junho de 2009.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; FILHO, V. C., Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil, *Química Nova*. **24: 147, 2001**.

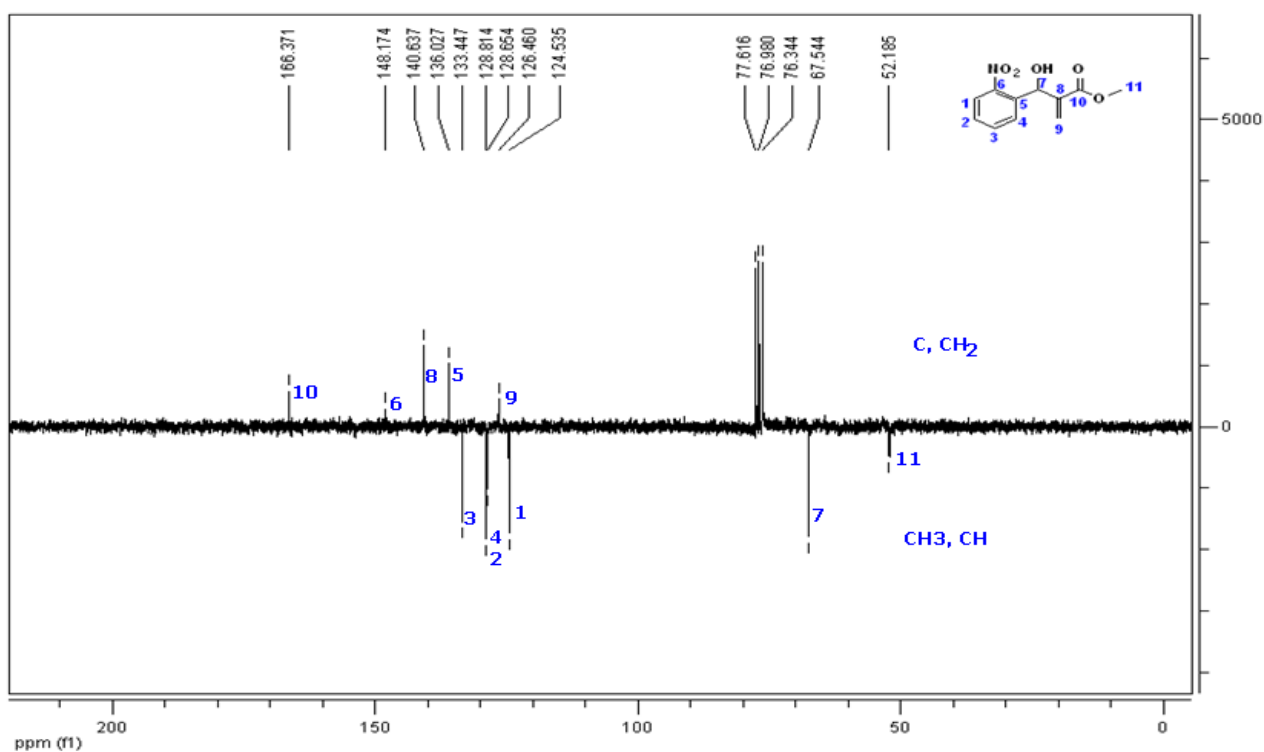
Espectros



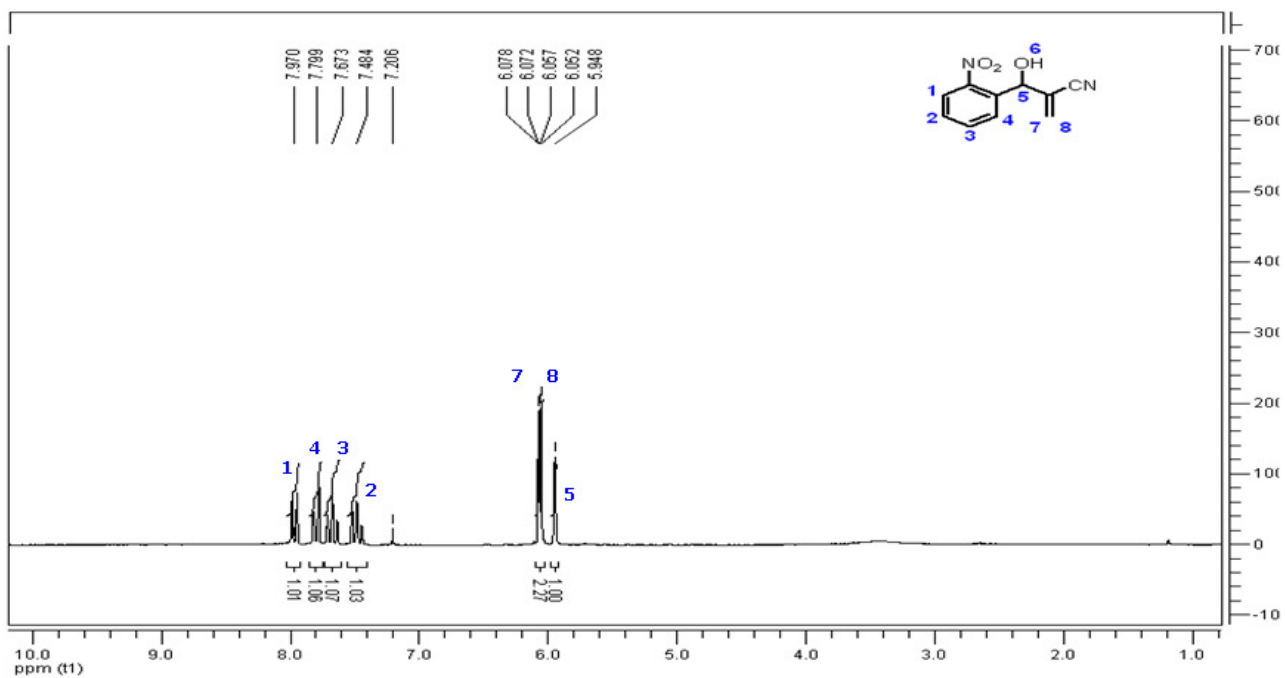
Espectro 8.1: Espectro de RMN¹H de **28** (CDCl₃, 200 MHz)



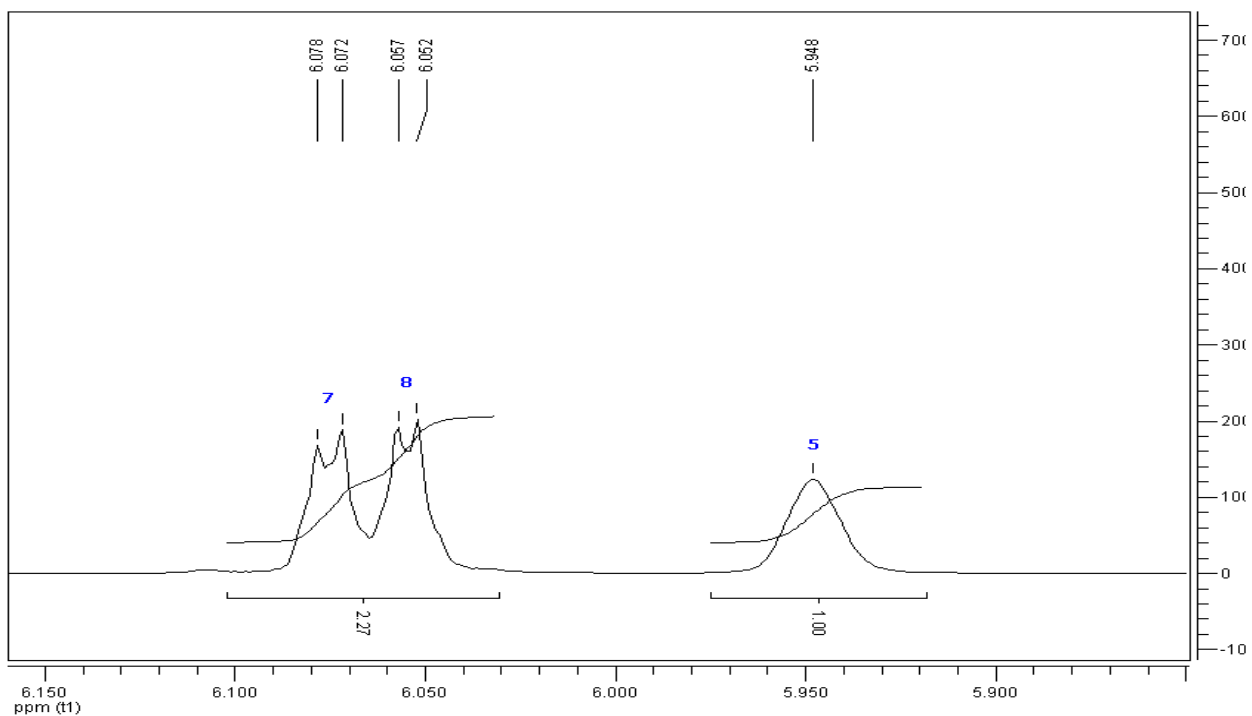
Espectro 8.2: Expansão do espectro de RMN¹H de **28** na região de 7,94 a 7,39 ppm (CDCl₃, 200 MHz)



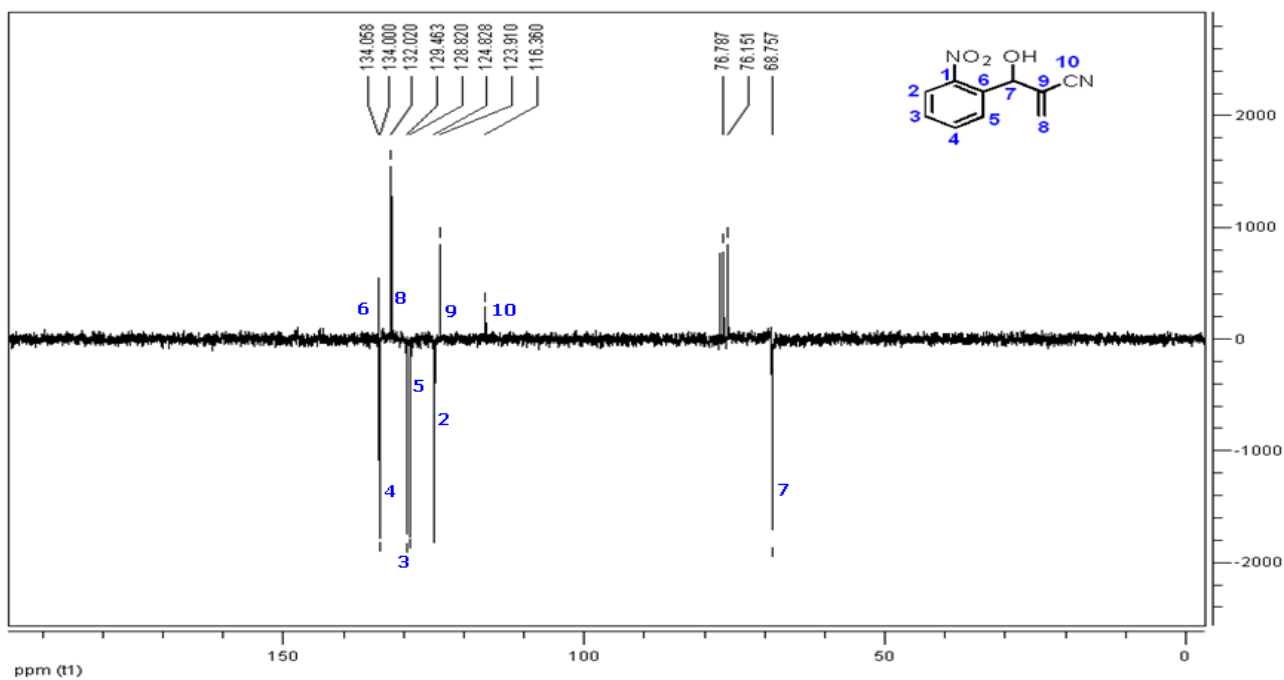
Espectro 8.3: Espectro de RMN¹³C - APT de **28** (CDCl₃, 50 MHz)



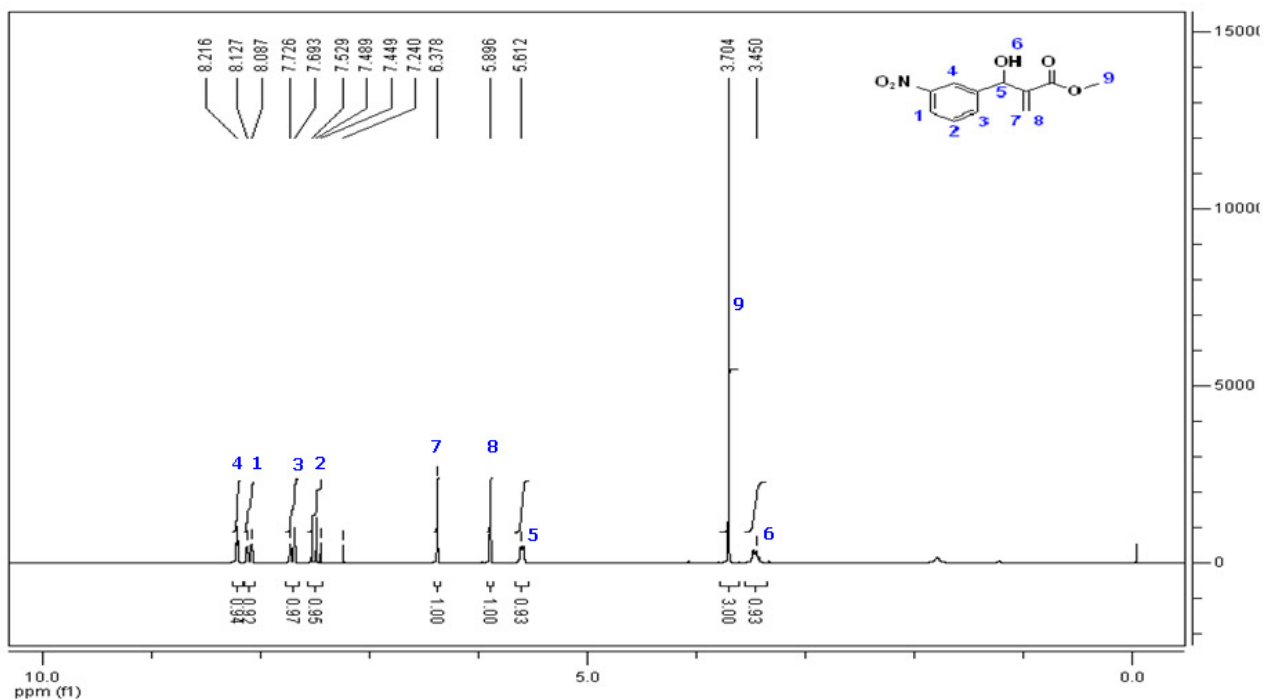
Espectro 8.4: Espectro de RMN¹H de **29** (CDCl₃, 200 MHz)



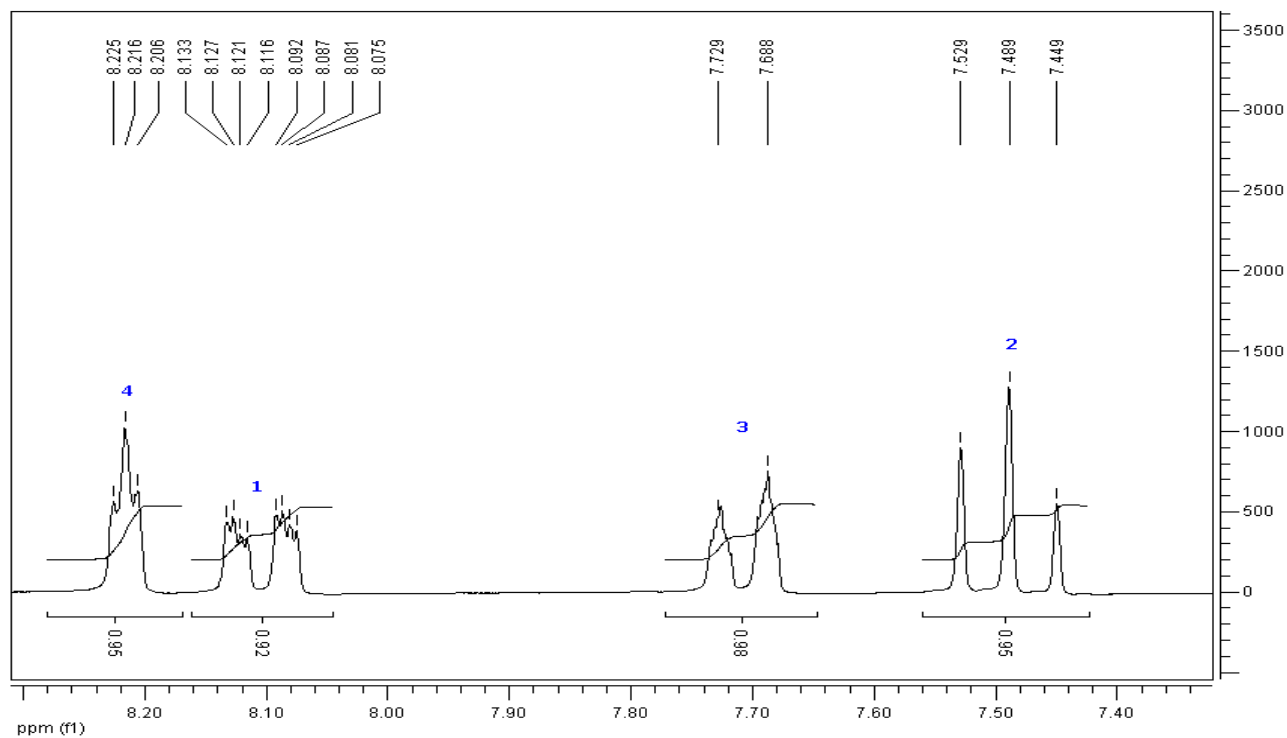
Espectro 8.5: Expansão do Espectro de RMN¹H de **29** na região de 6,08 a 5,95 ppm (CDCl₃, 200 MHz)



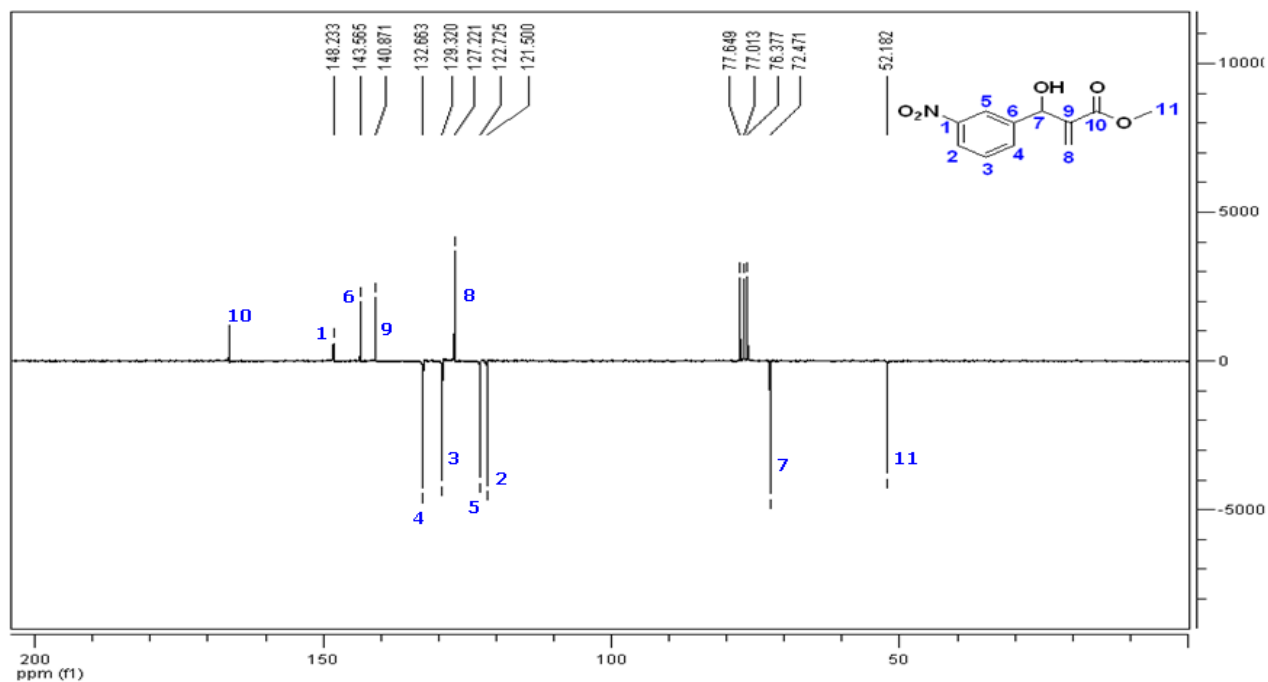
Espectro 8.6: Espectro de RMN¹³C - APT de **29** (CDCl₃, 50 MHz).



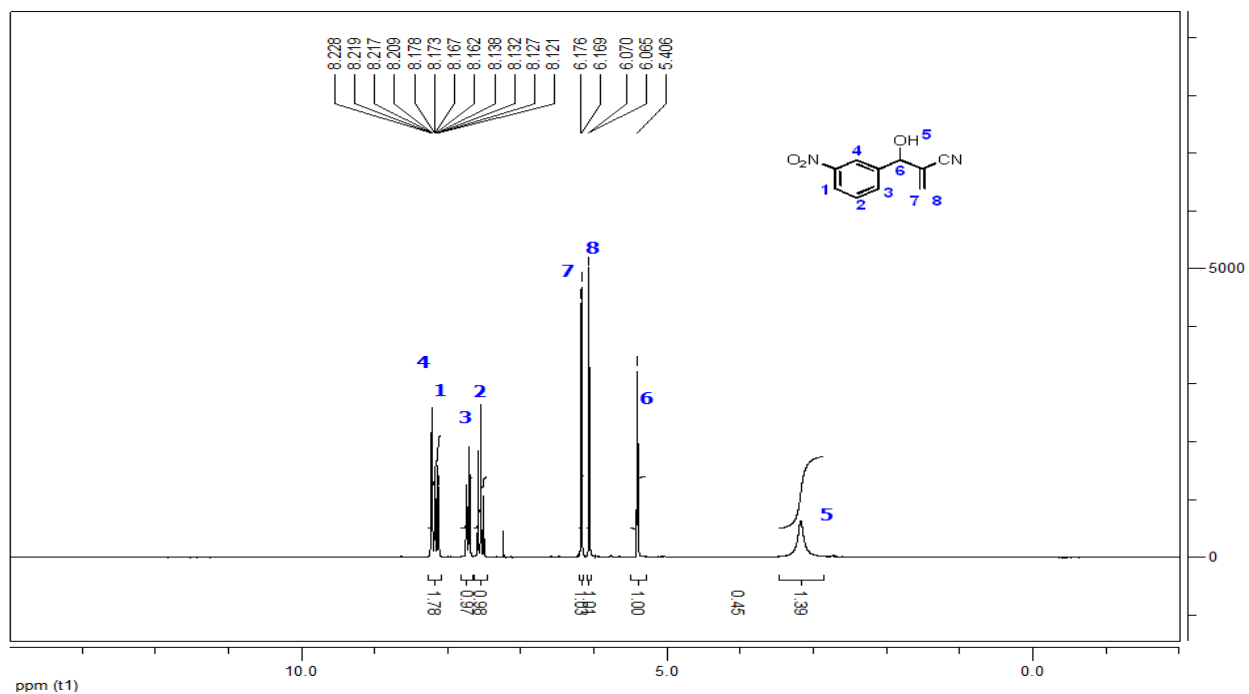
Espectro 8.7: Espectro de RMN¹H de **30** (CDCl₃, 200 MHz)



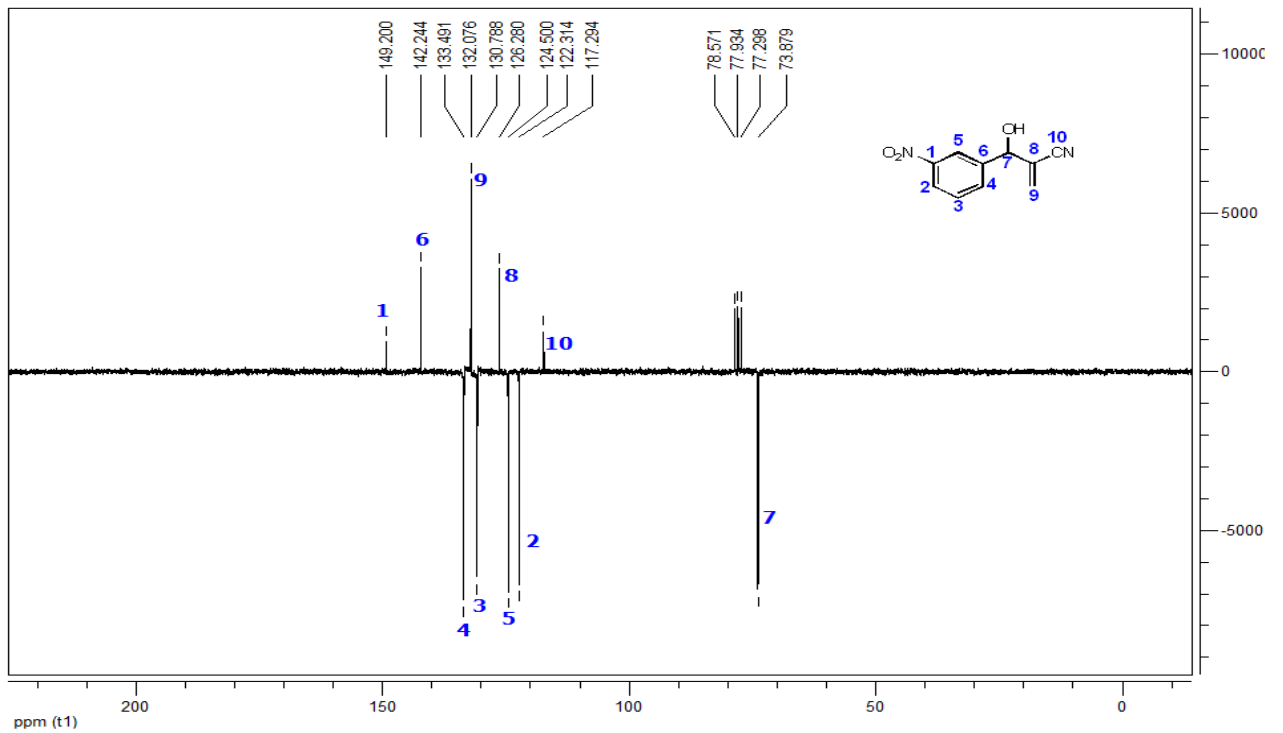
Espectro 8.8: Expansão do espectro de RMN¹H de **30** na região de 8,23 a 7,45ppm (CDCl₃, 200 MHz)



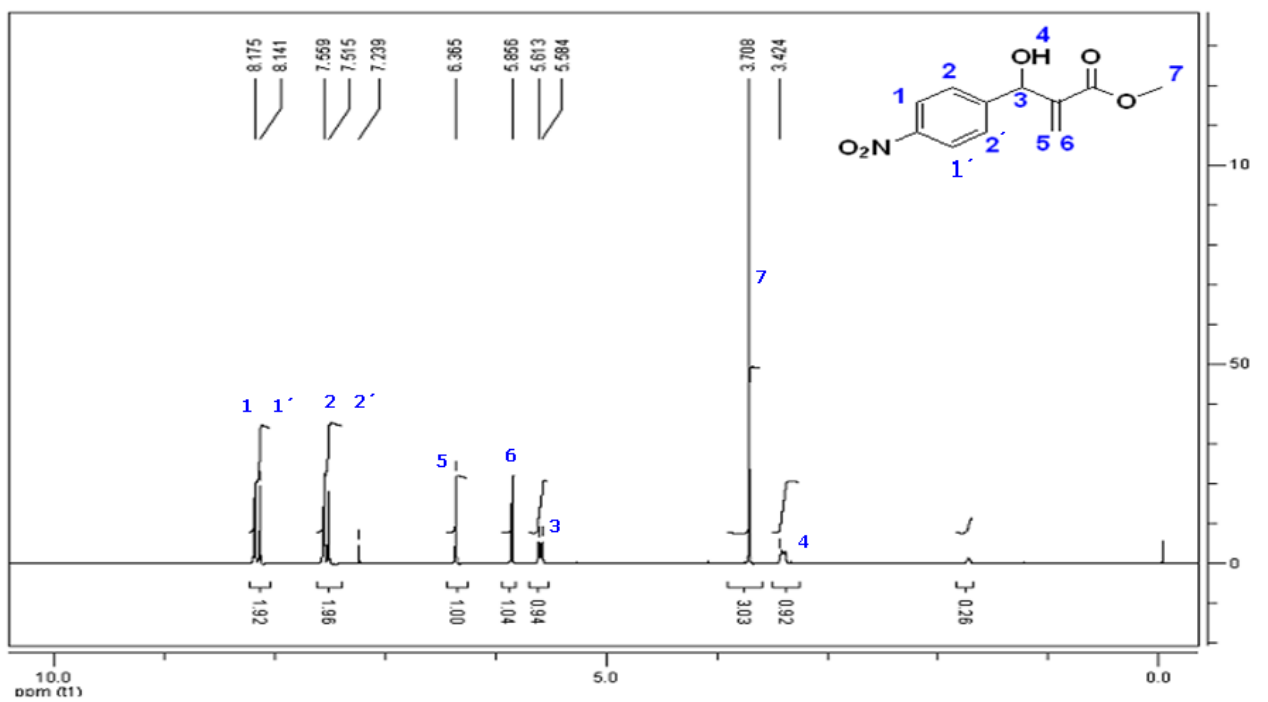
Espectro 8.9: Espectro de RMN¹³C - APT de **30** (CDCl₃, 50 MHz)



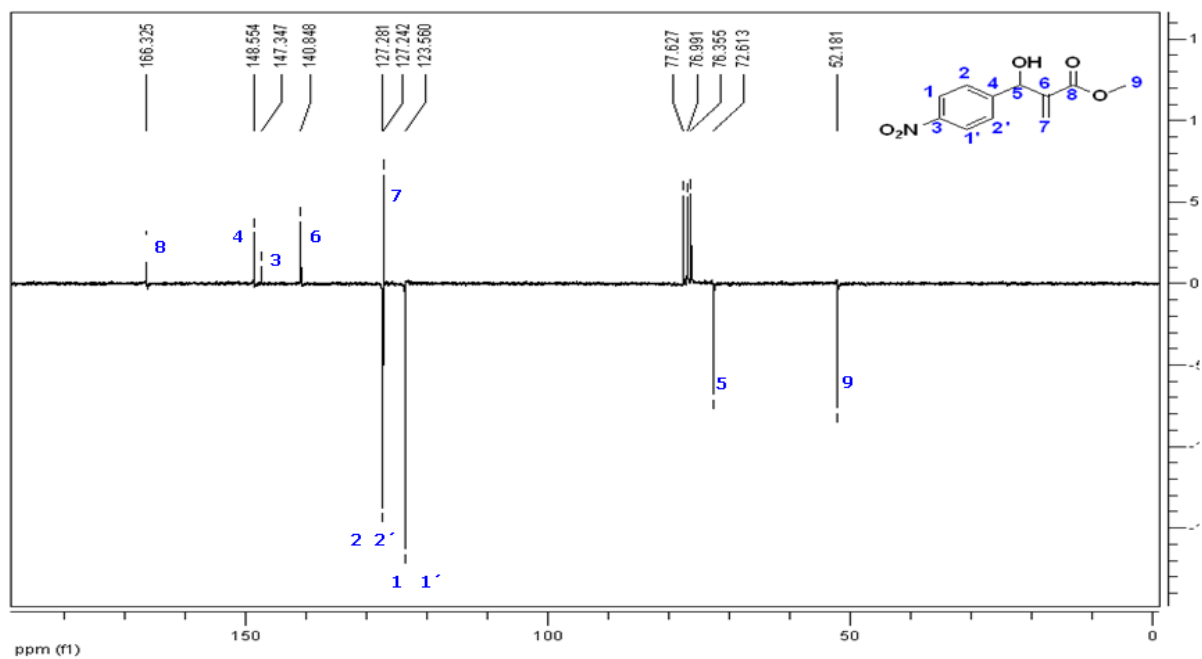
Espectro 8.10: Espectro de RMN¹H de **31** (CDCl₃, 200 MHz)



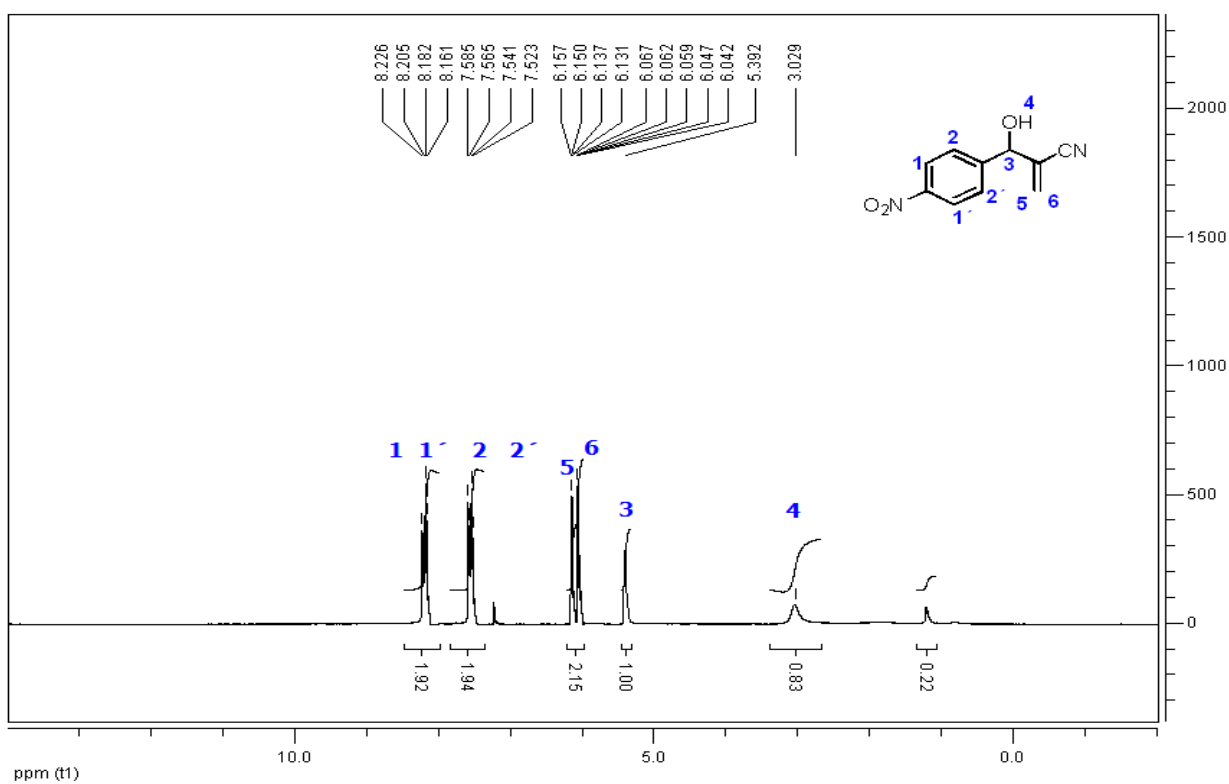
Espectro 8.11: Espectro de RMN¹³C - APT de **31** (CDCl₃, 50 MHz)



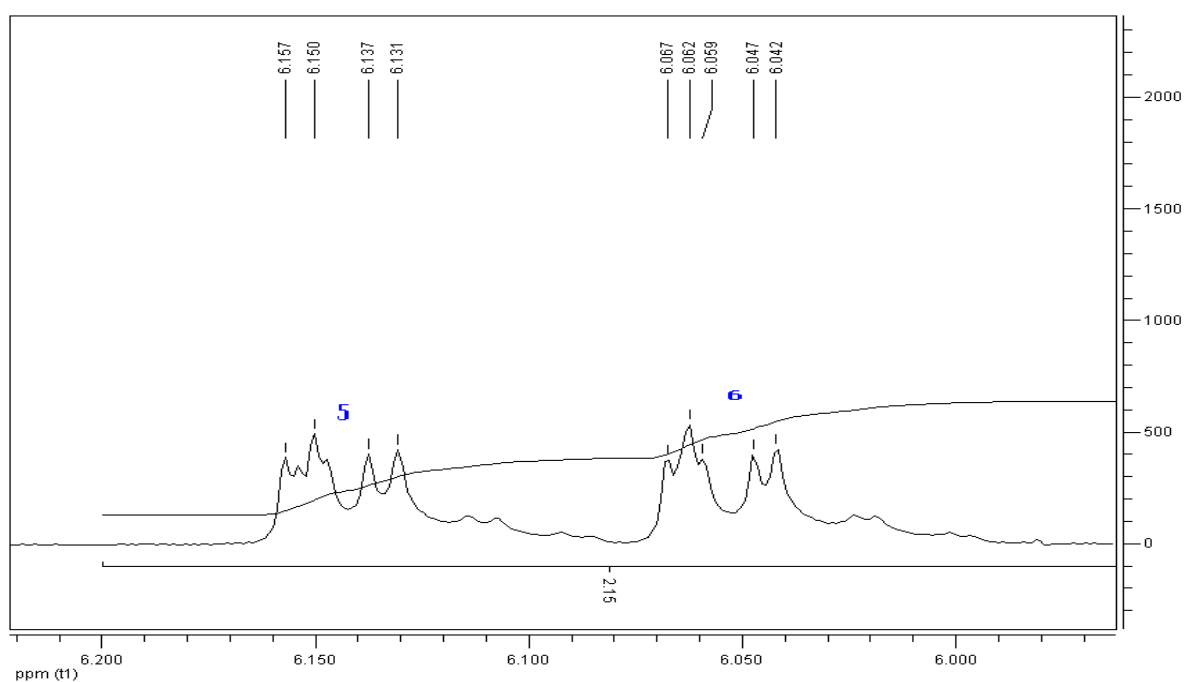
Espectro 8.12: Espectro de RMN¹H de **23** (CDCl₃, 200 MHz)



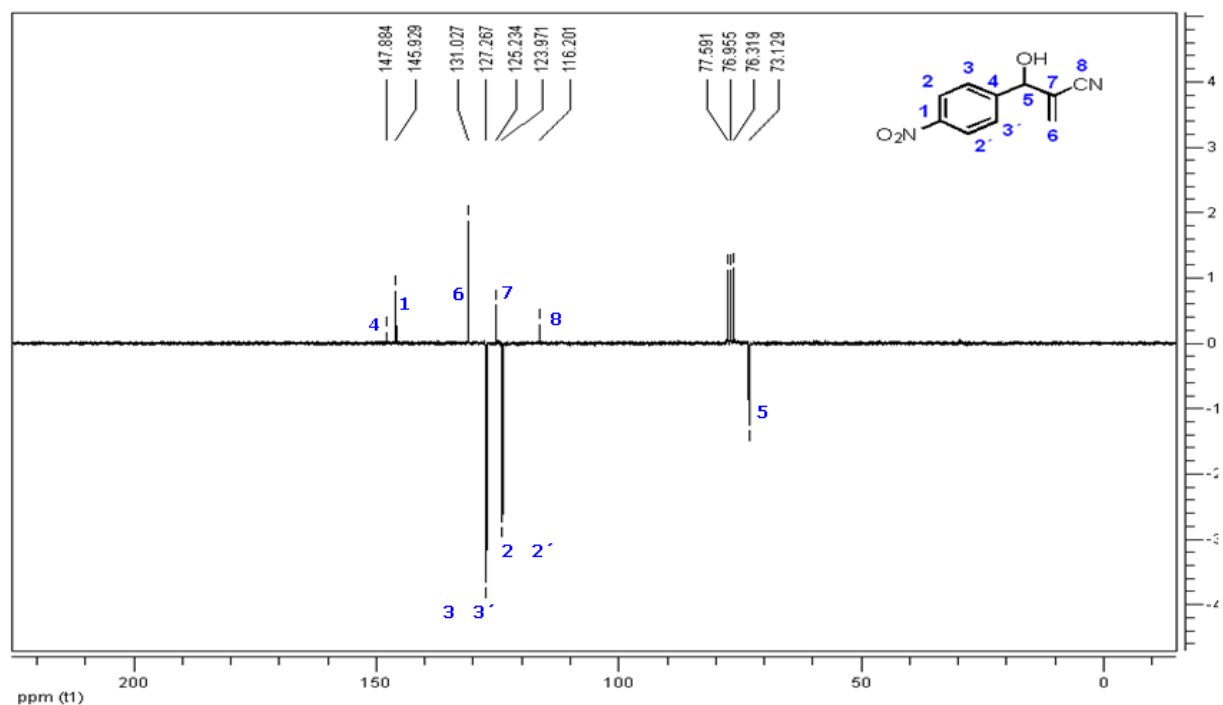
Espectro 8.13: Espectro de RMN¹³C - APT de **23** (CDCl₃, 50 MHz)



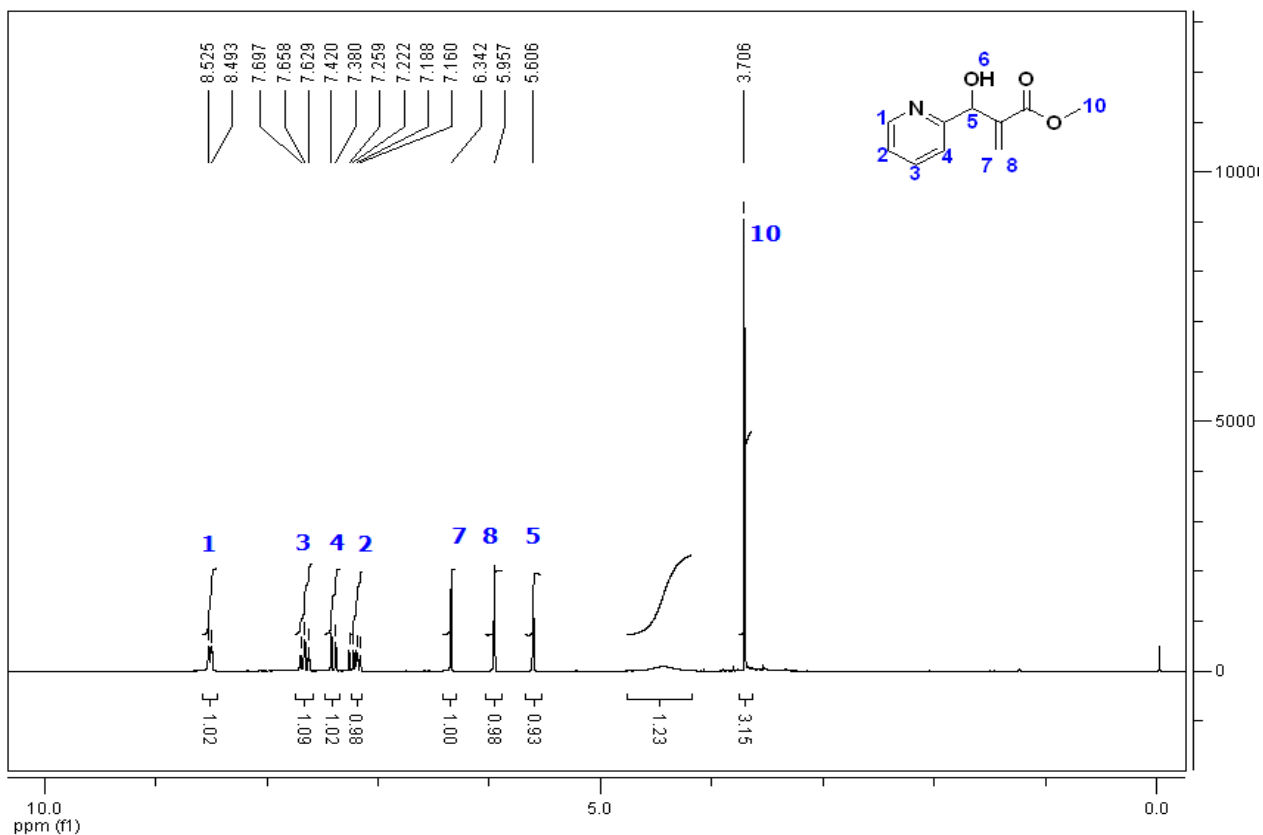
Espectro 8.14: Espectro de RMN¹H de **13** (CDCl₃, 200 MHz)



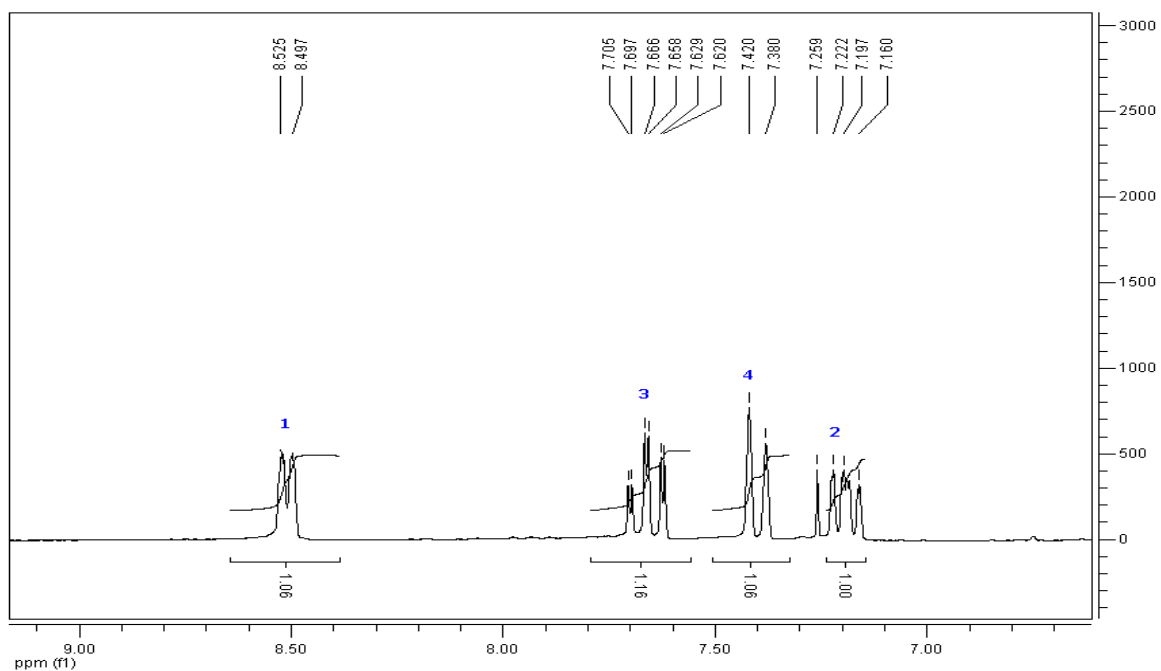
Espectro 8.15: Expansão do espectro de RMN¹H de **13** na região de 6,16 a 6,04 ppm (CDCl₃, 200 MHz)



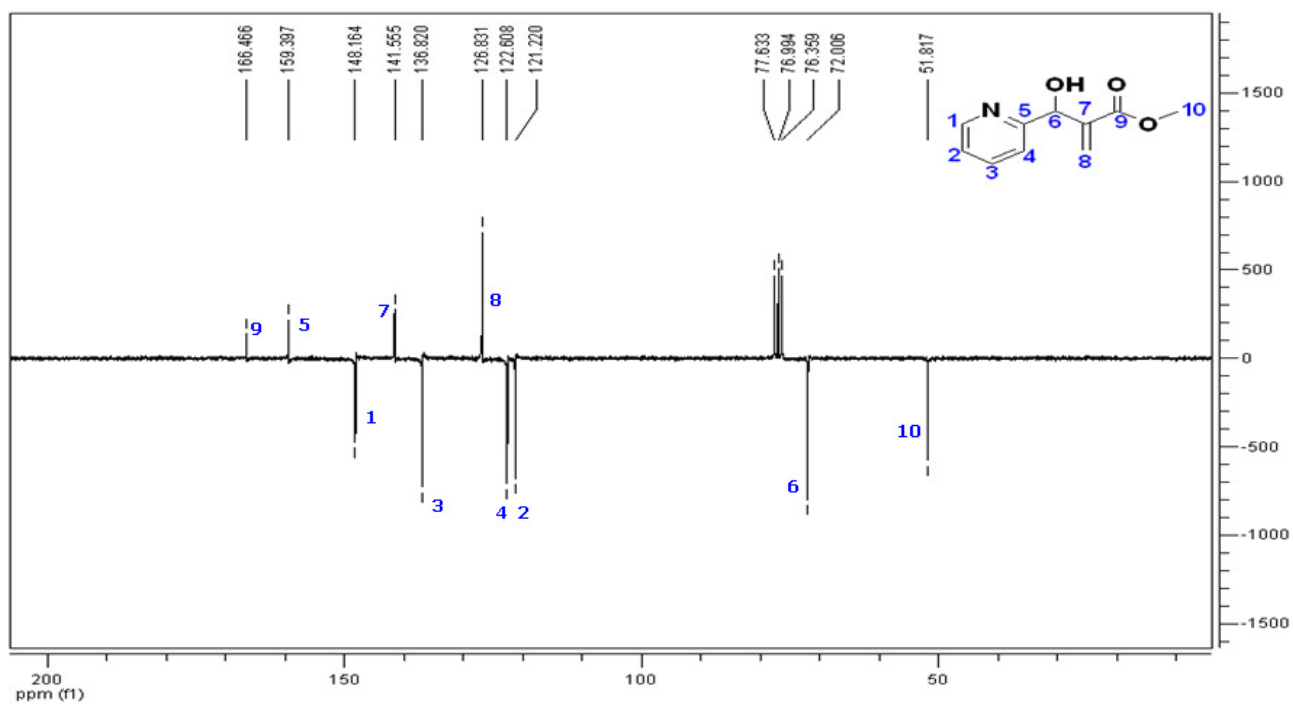
Espectro 8.16: Espectro de RMN¹³C – APT de **13** (CDCl₃, 50 MHz)



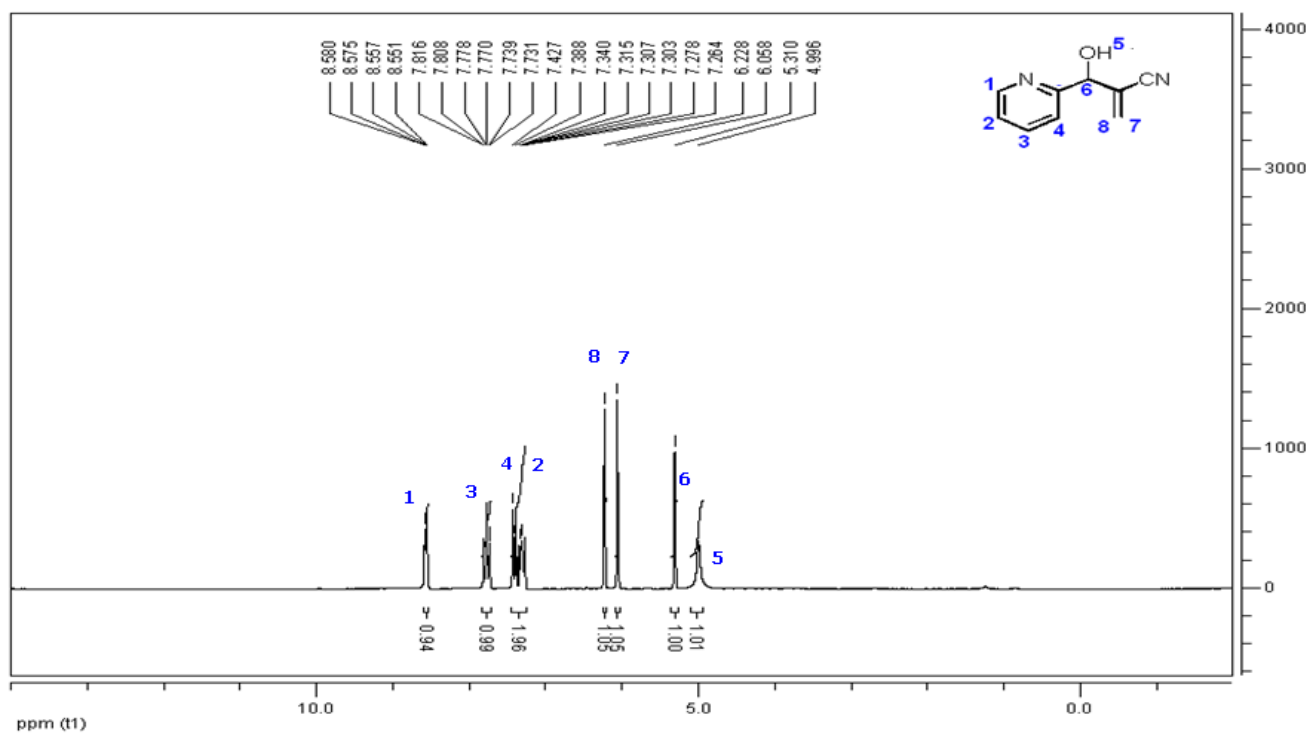
Espectro 8.17: Espectro de RMN¹H de **32** (CDCl₃, 200 MHz)



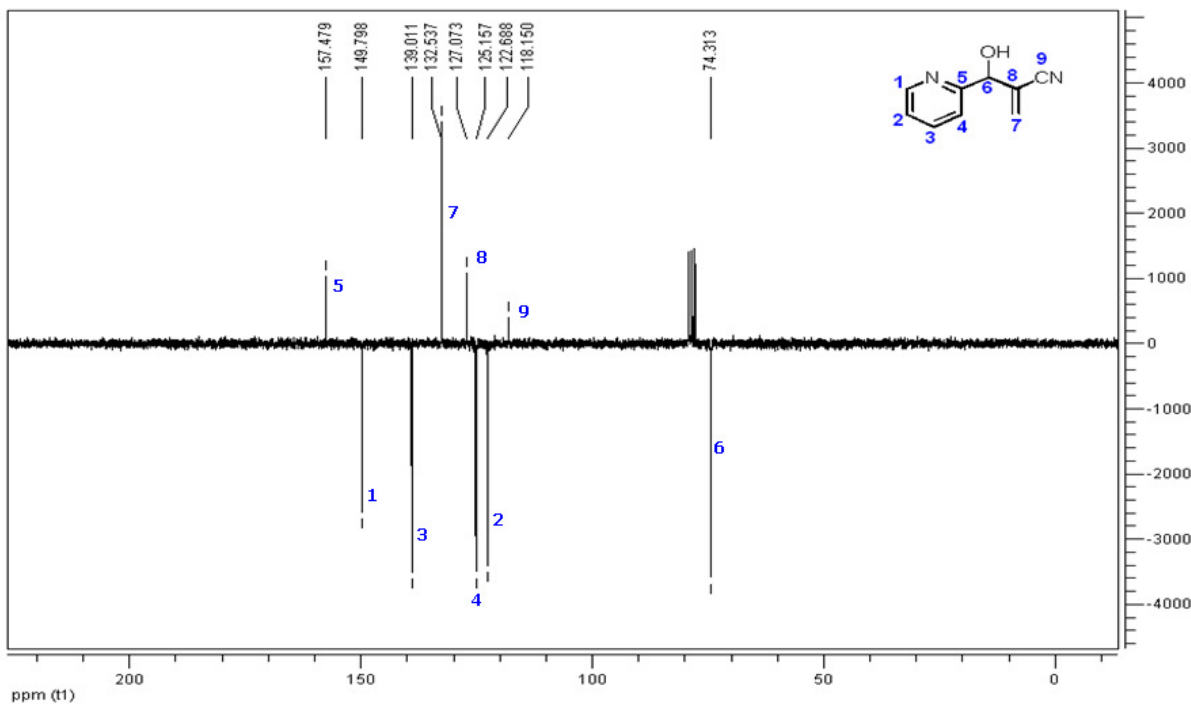
Espectro 8.18: Expansão do espectro de RMN¹H de **32** na região de 8,53 a 7,16 ppm (CDCl₃, 200 MHz)



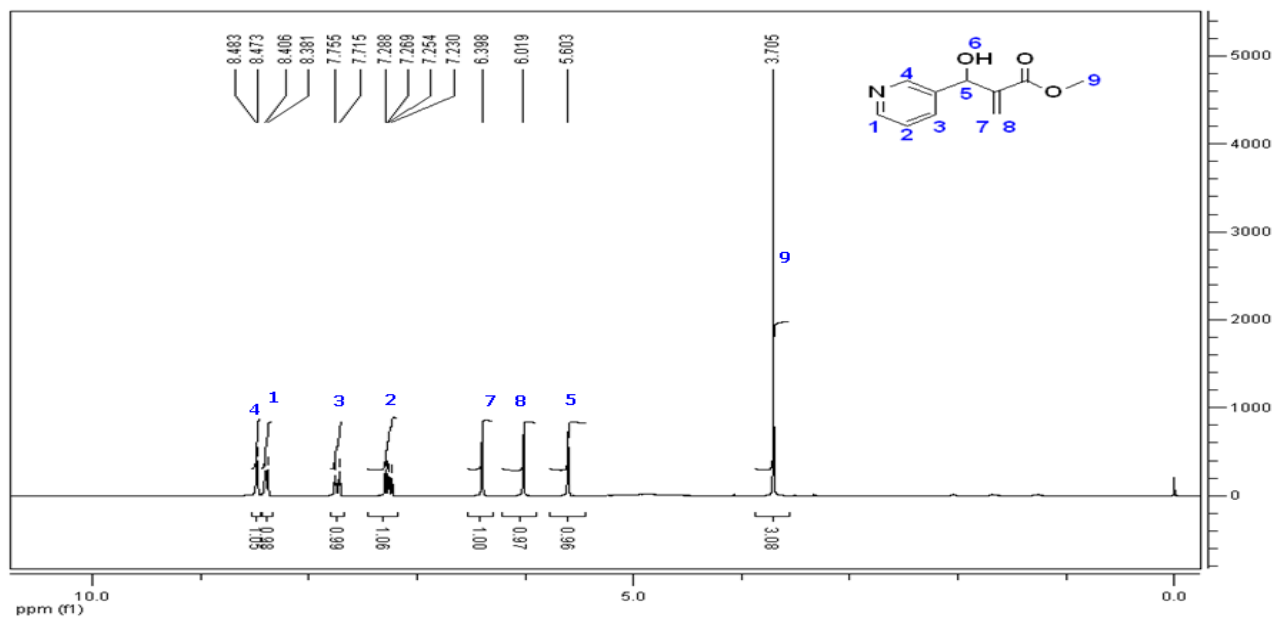
Espectro 8.19: Espectro de RMN¹³C - APT de **32** (CDCl₃, 50 MHz)



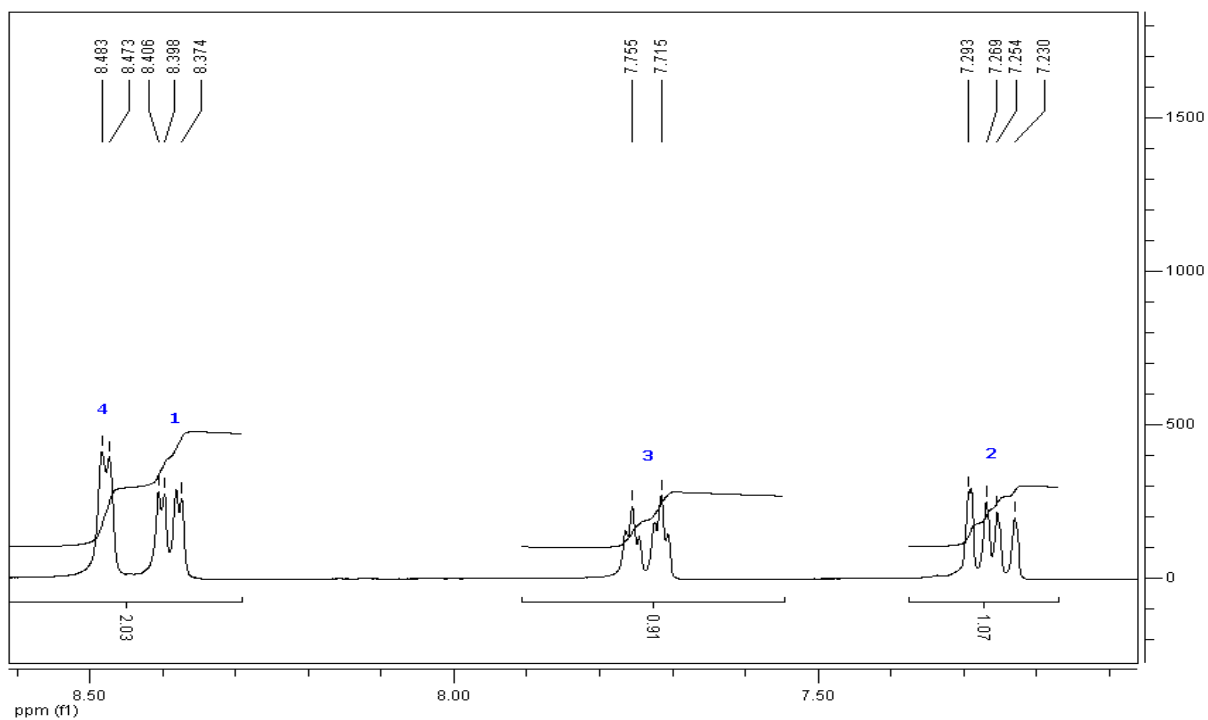
Espectro 8.20: Espectro de RMN¹H de **33** (CDCl₃, 200 MHz)



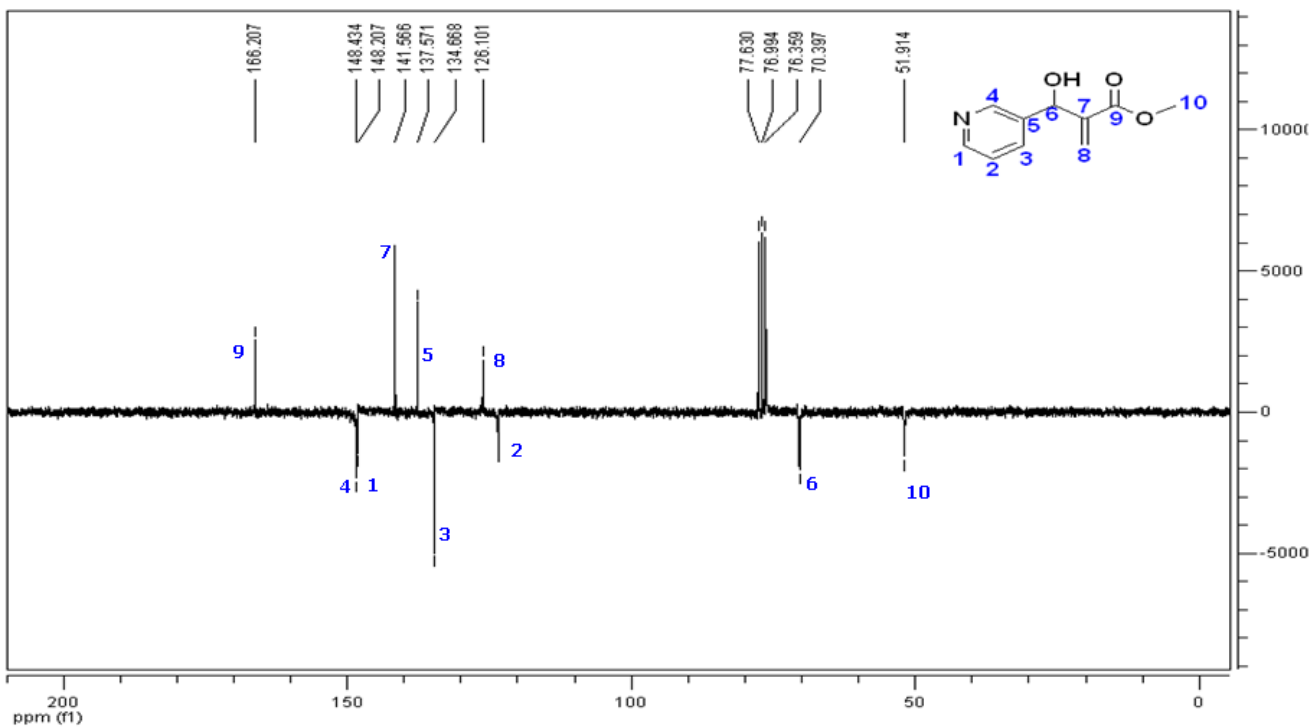
Espectro 8.21: Espectro de RMN¹³C-APT de **33** (CDCl₃, 50 MHz)



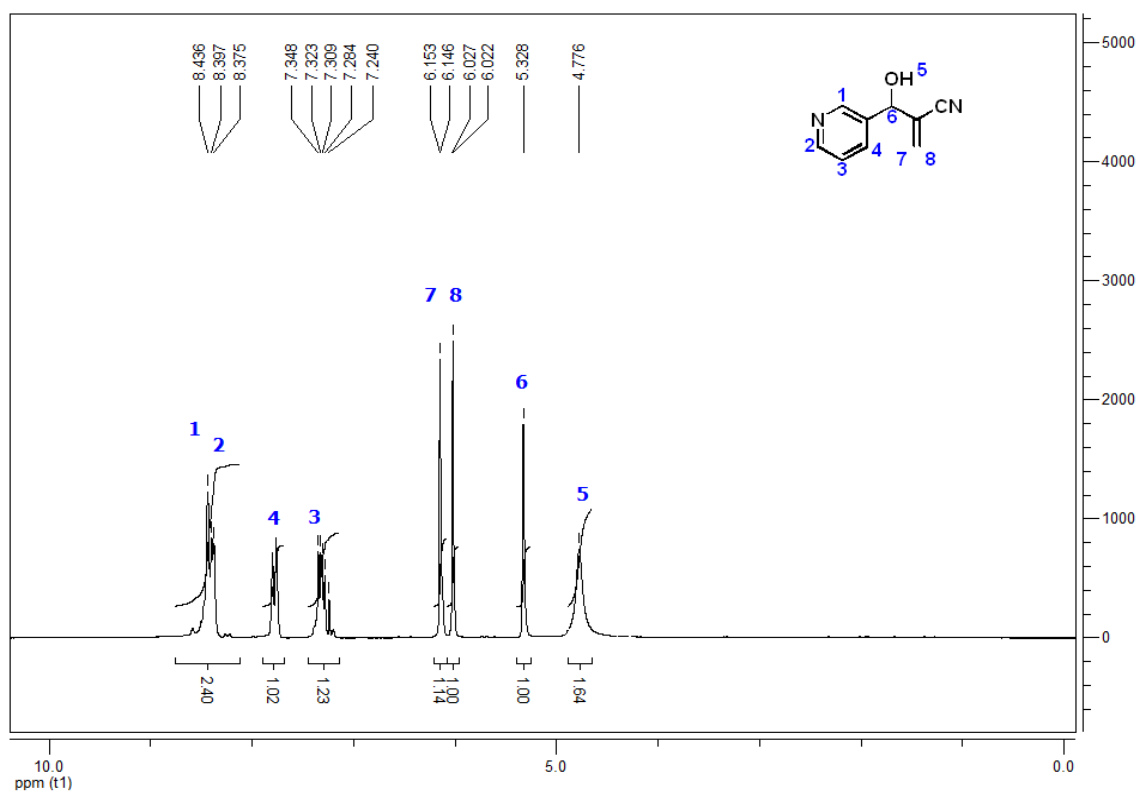
Espectro 8.22: Espectro de RMN¹H de **34** (CDCl₃, 200 MHz)



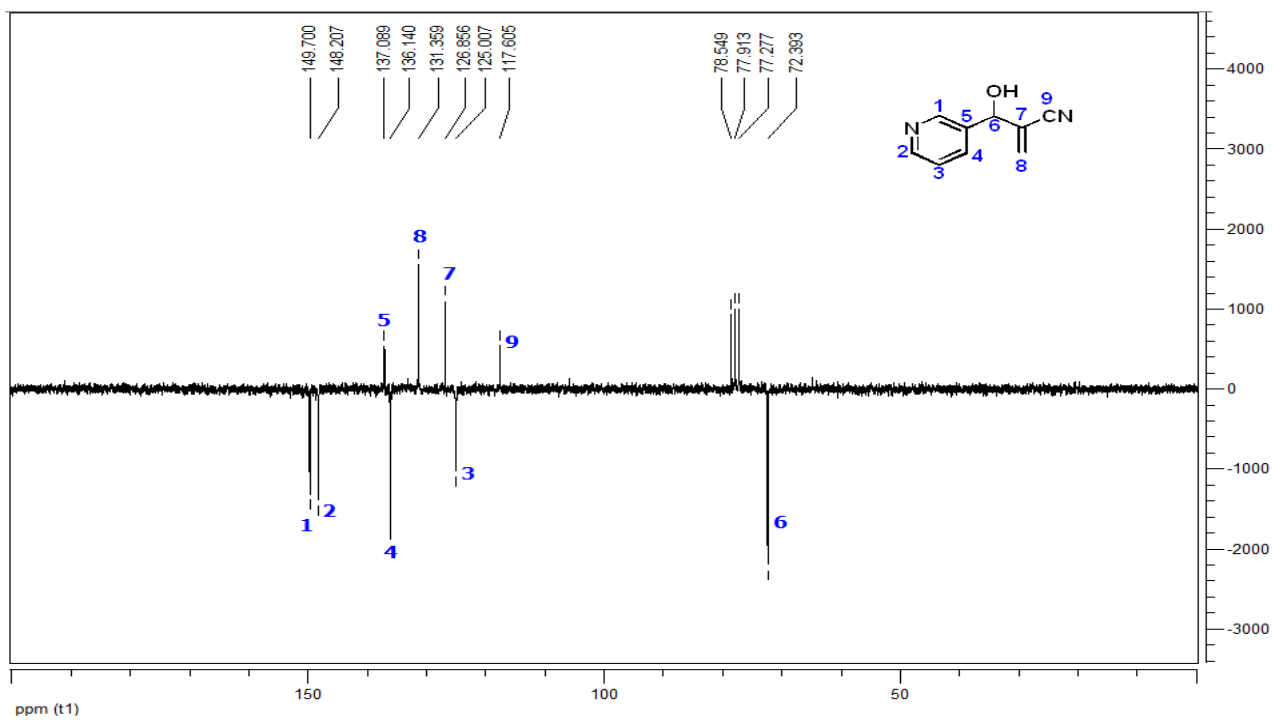
Espectro 8.23: Expansão do espectro de RMN¹H de **34** na região de 8,48 a 7,23 (CDCl₃, 200 MHz)



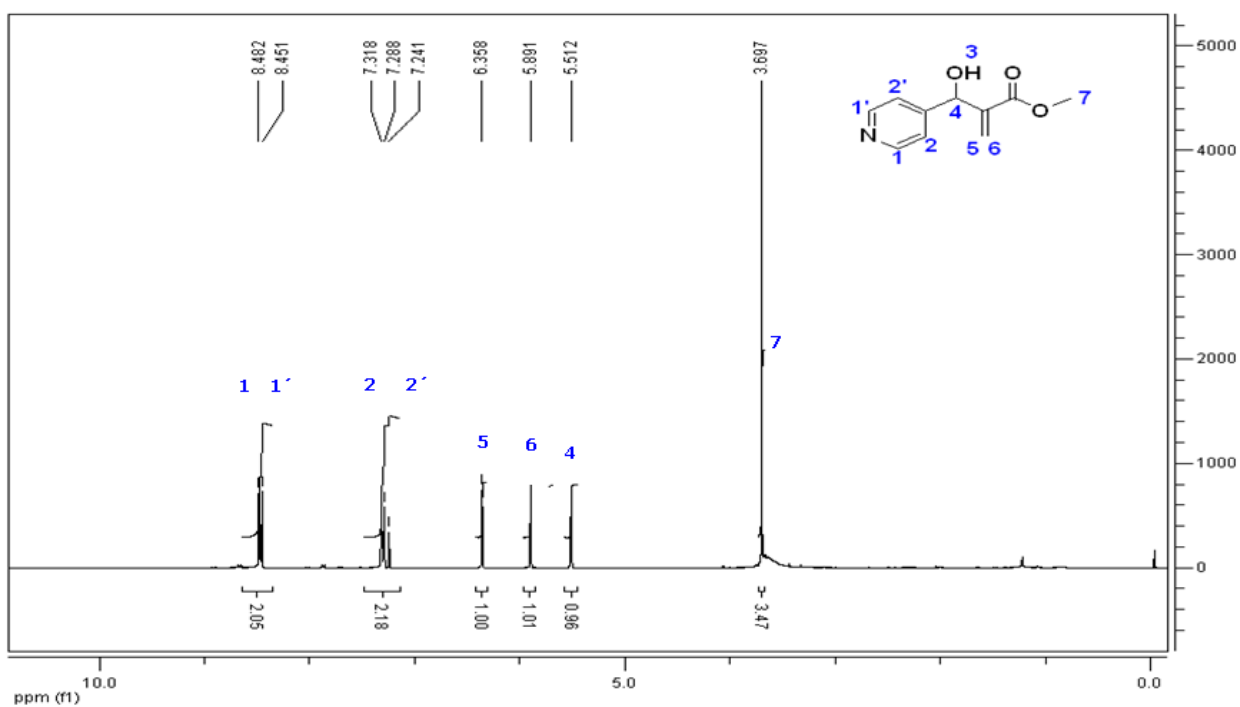
Espectro 8.24: Espectro de RMN¹³C-APT de **34** (CDCl₃, 50 MHz)



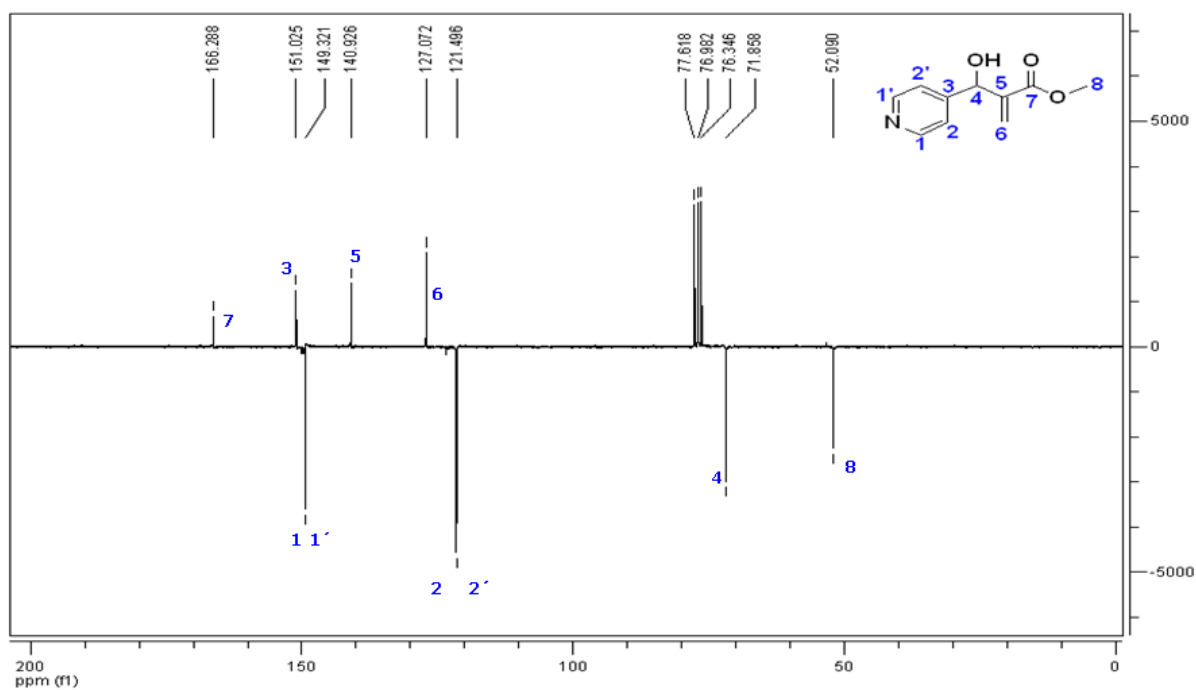
Espectro 8.25: Espectro de RMN¹H de **14** (CDCl₃, 200 MHz).



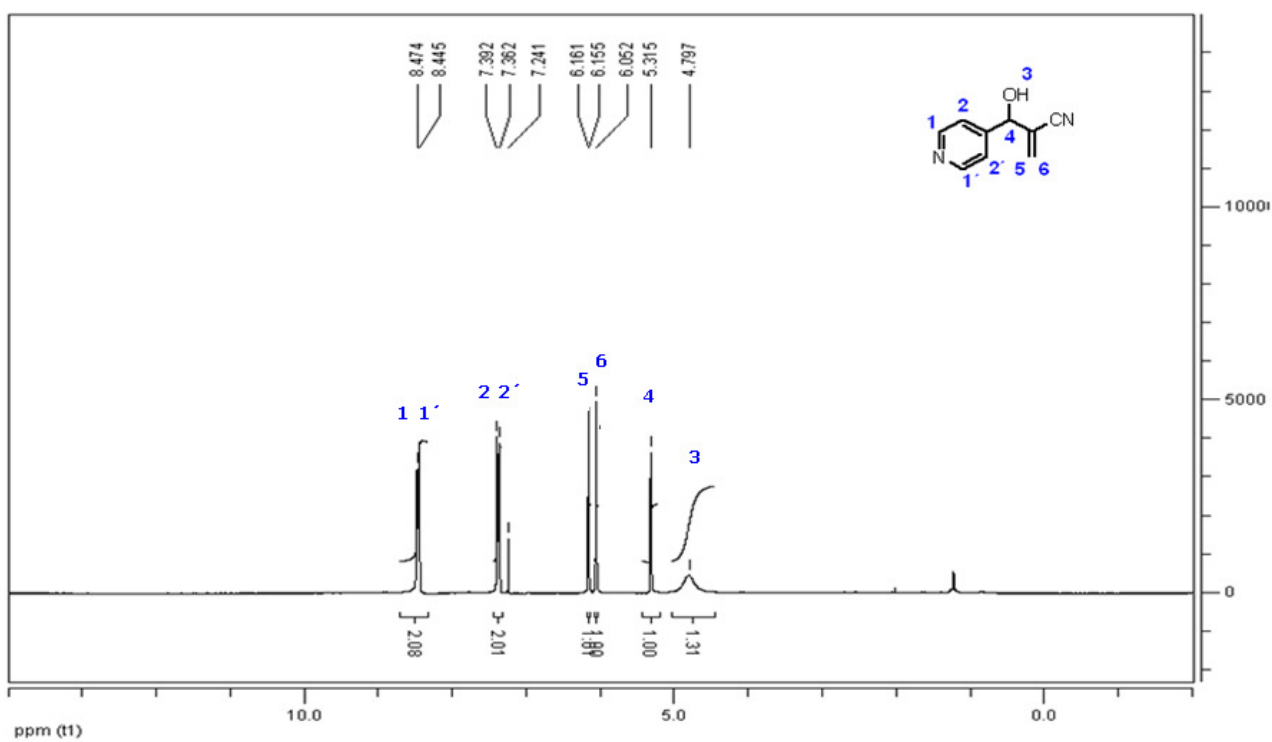
Espectro 8.26: Espectro de RMN¹³C - APT de **14** (CDCl₃, 50 MHz).



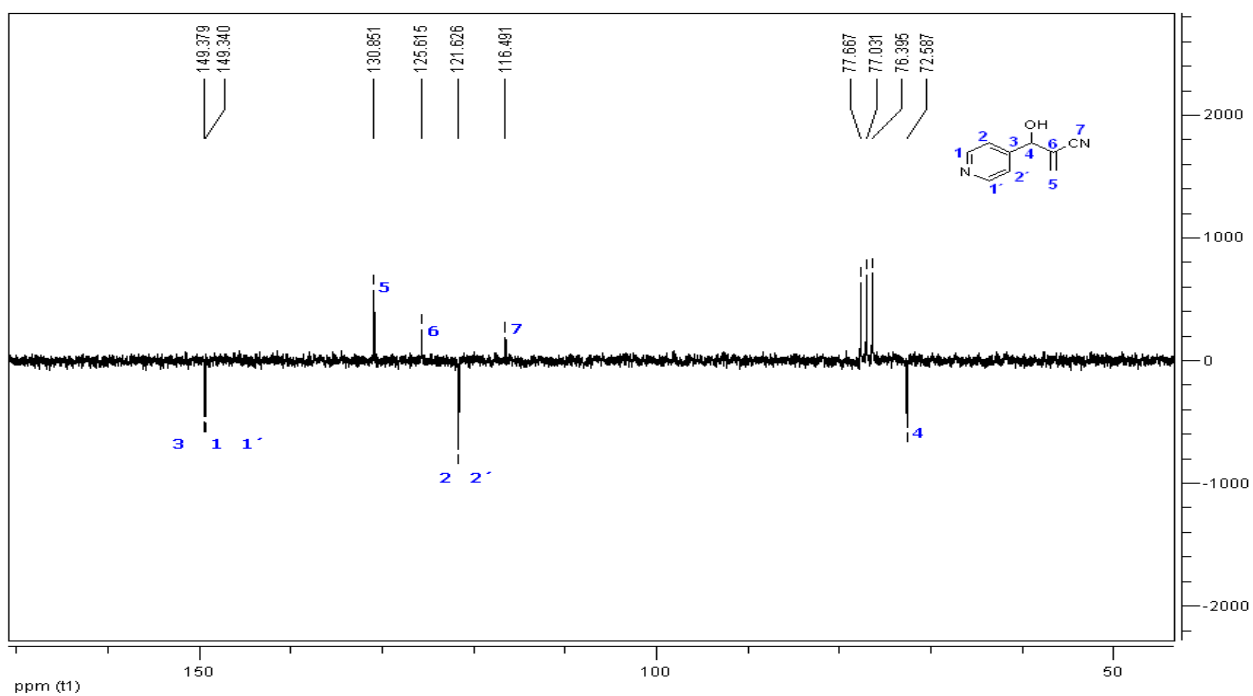
Espectro 8.27: Espectro de RMN¹H de **35** (CDCl₃, 200 MHz)



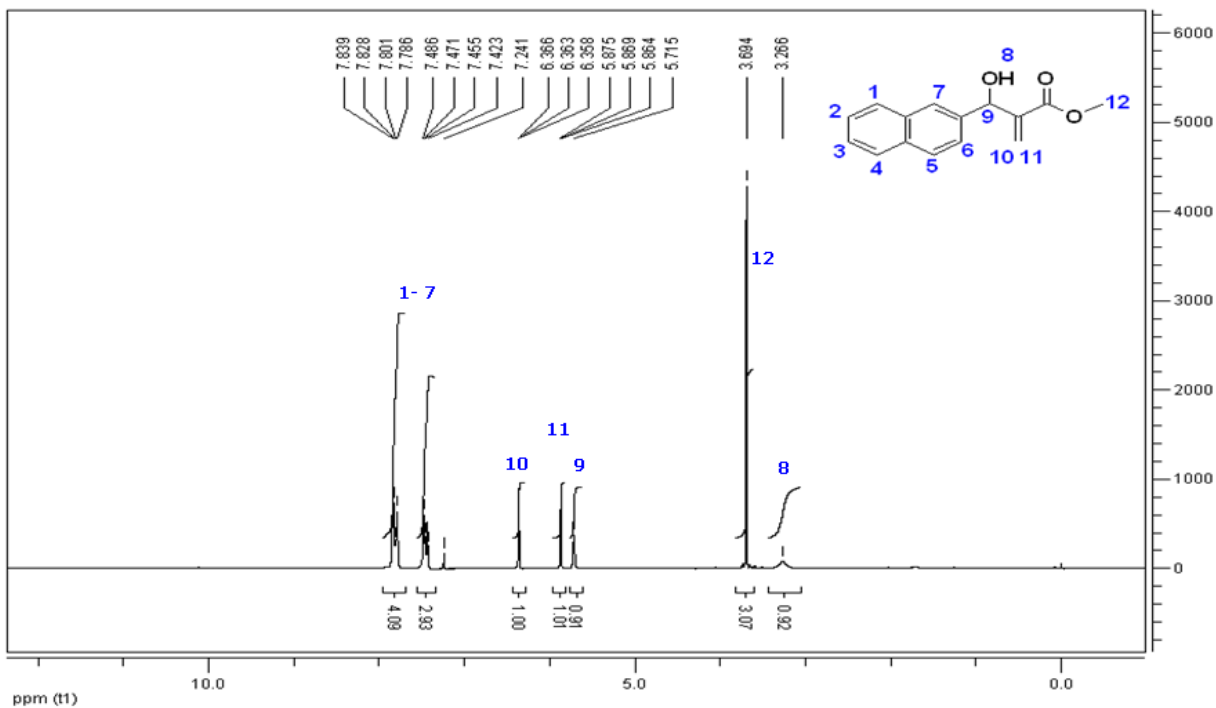
Espectro 8.28: Espectro de RMN¹³C- APT de **35** (CDCl₃, 50 MHz)



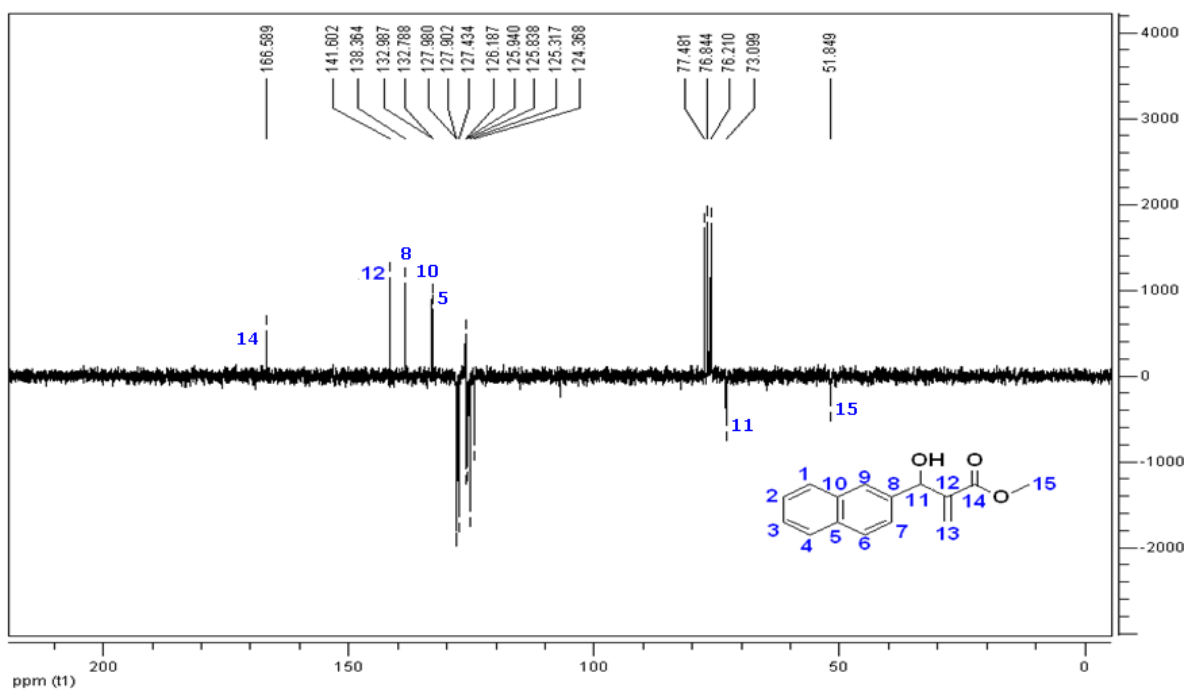
Espectro 8.29: Espectro de RMN¹H de **36** (CDCl₃, 200 MHz)



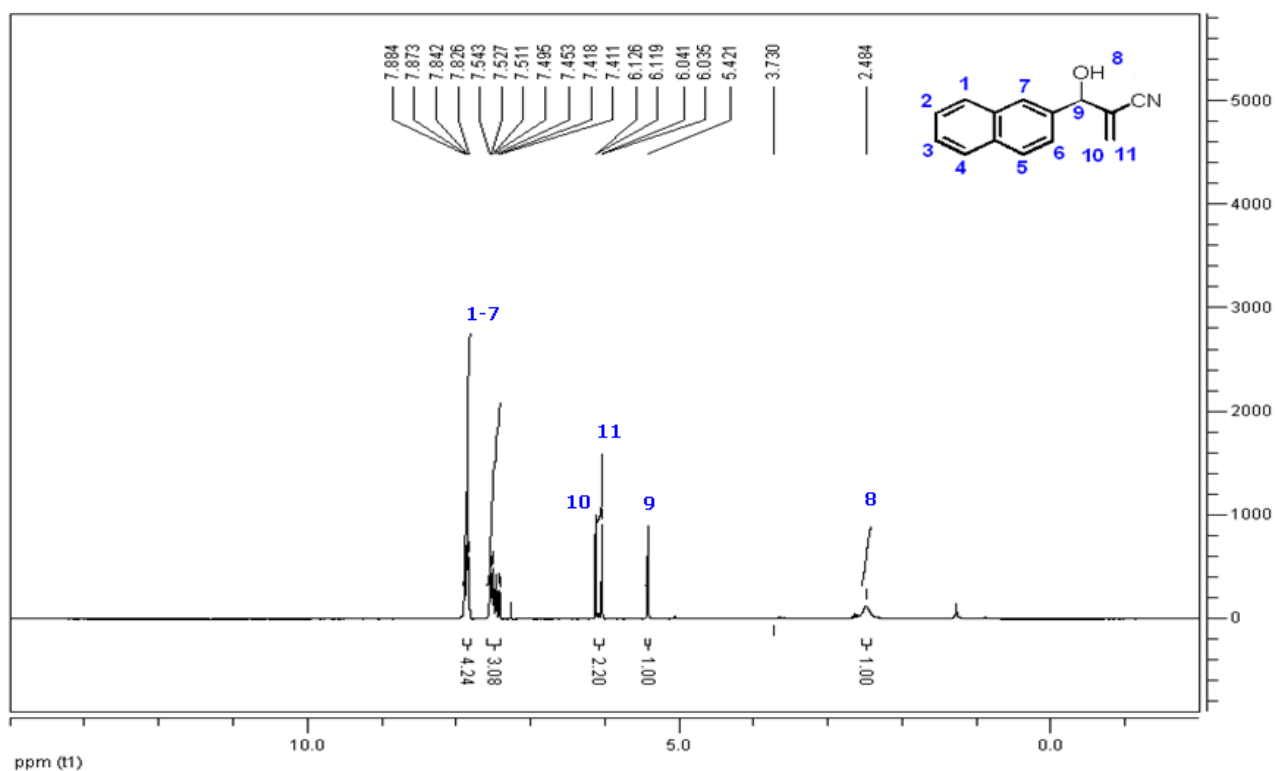
Espectro 8.30: Espectro de RMN¹³C- APT de **36** (CDCl₃, 50 MHz)



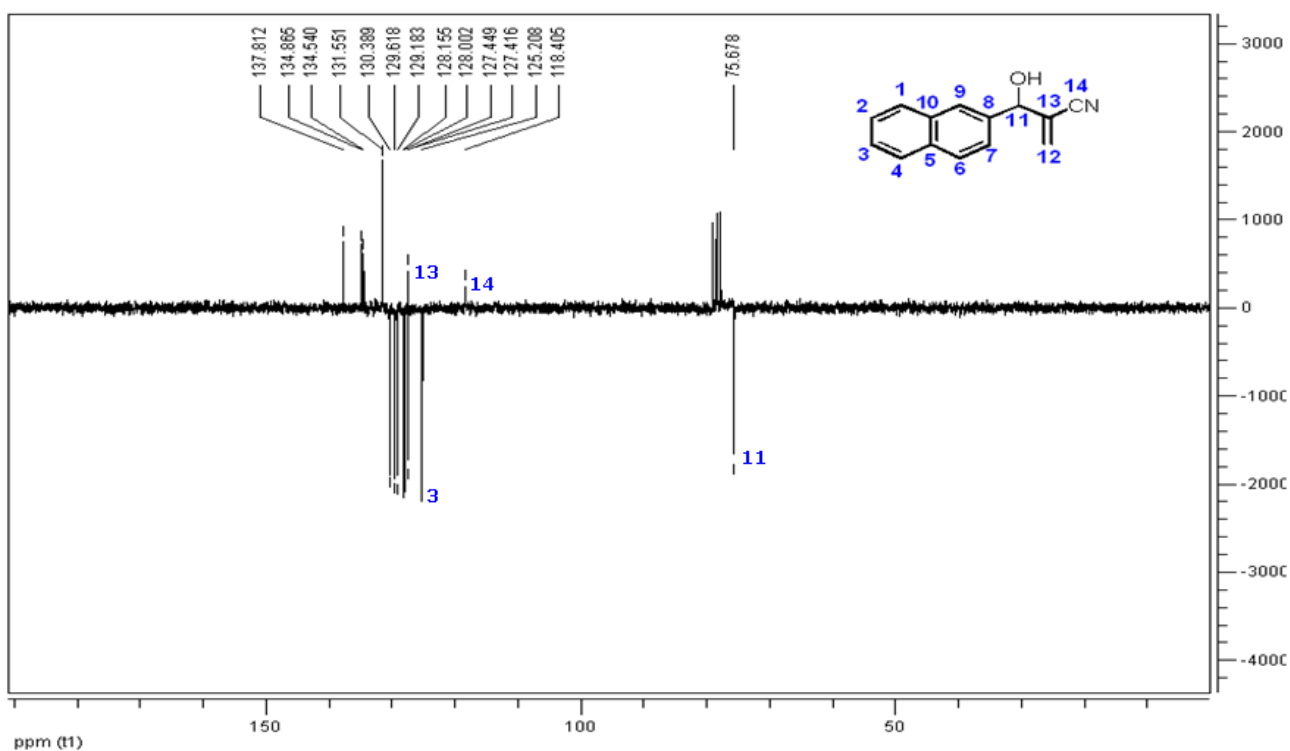
Espectro 8.31: Espectro de RMN¹H de **22** (CDCl₃, 200 MHz)



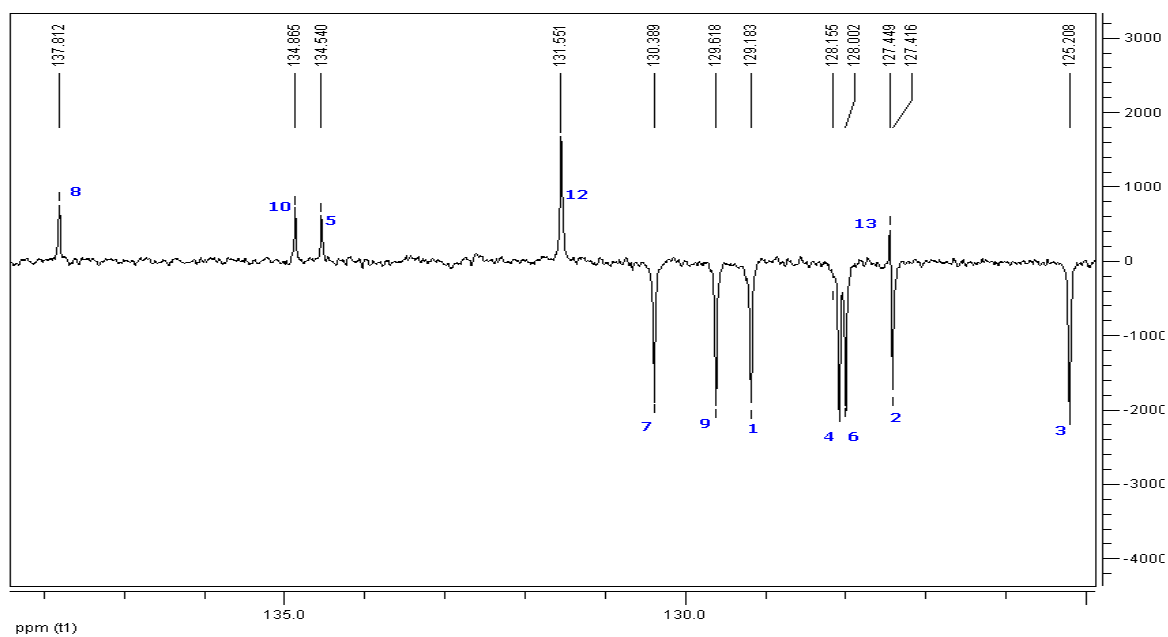
Espectro 8.32: Espectro de RMN¹³C- APT de **22** (CDCl₃, 50 MHz)



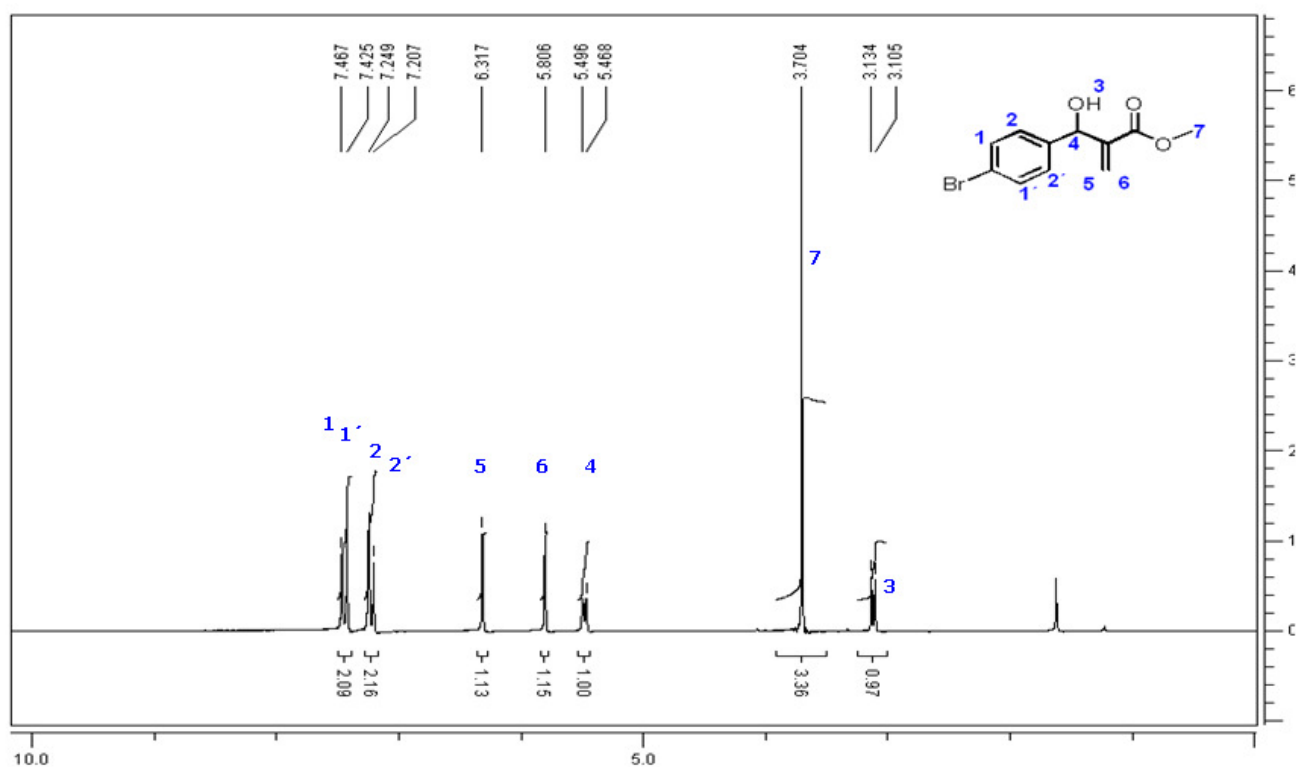
Espectro 8.33: Espectro de RMN¹H de **26** (CDCl₃, 200 MHz)



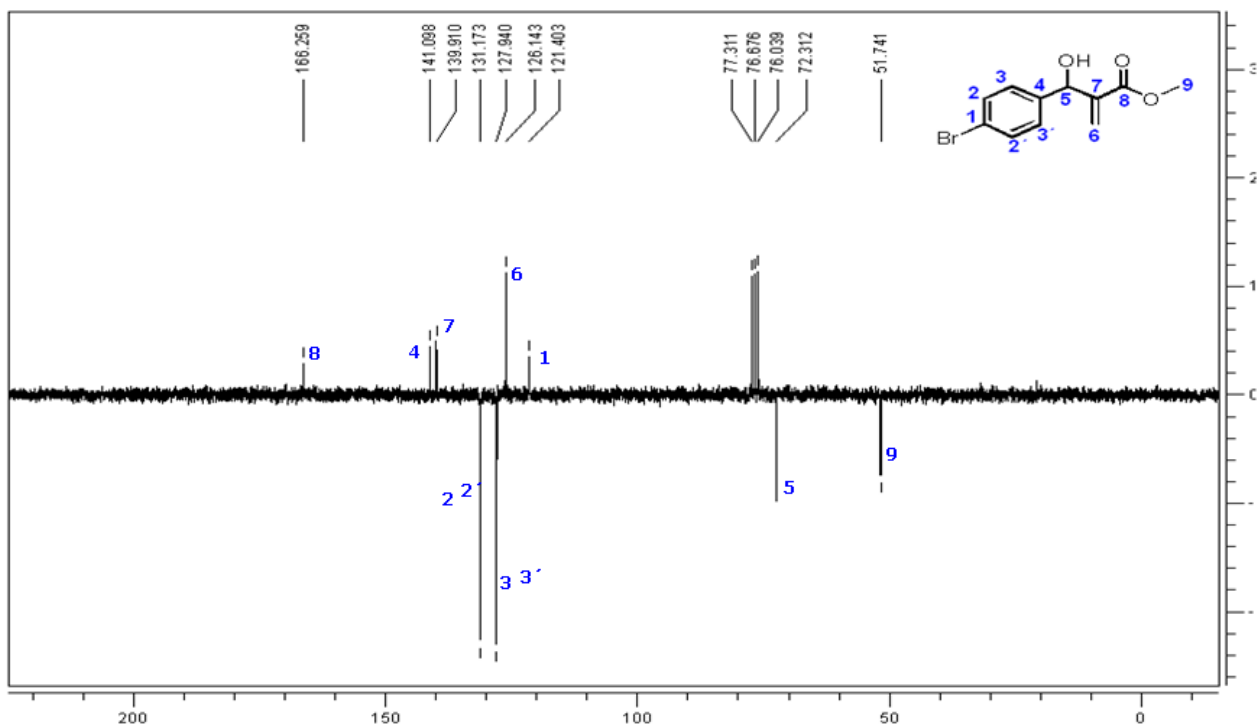
Espectro 8.34: Espectro de RMN¹³C- APT de **26** (CDCl₃, 50 MHz)



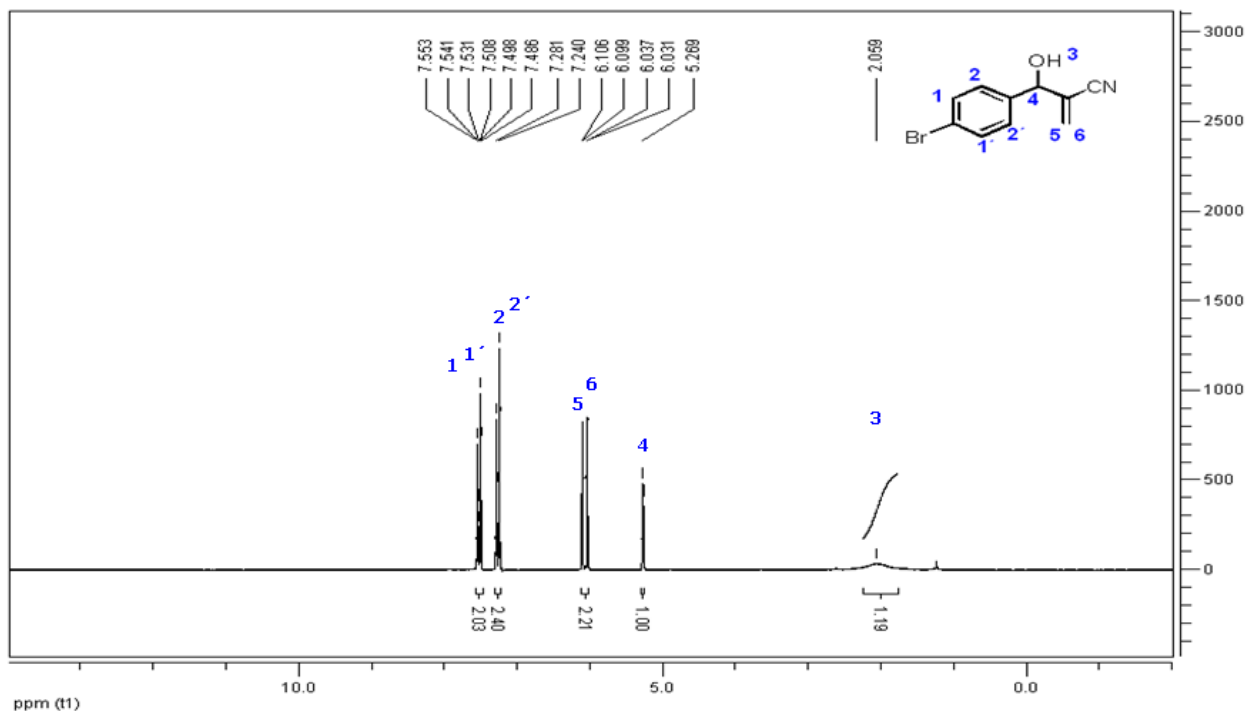
Espectro 8.35: Expansão do espectro de RMN¹³C-APT de **26** na região de 137,81 a 125,21 ppm (CDCl₃, 50 MHz)



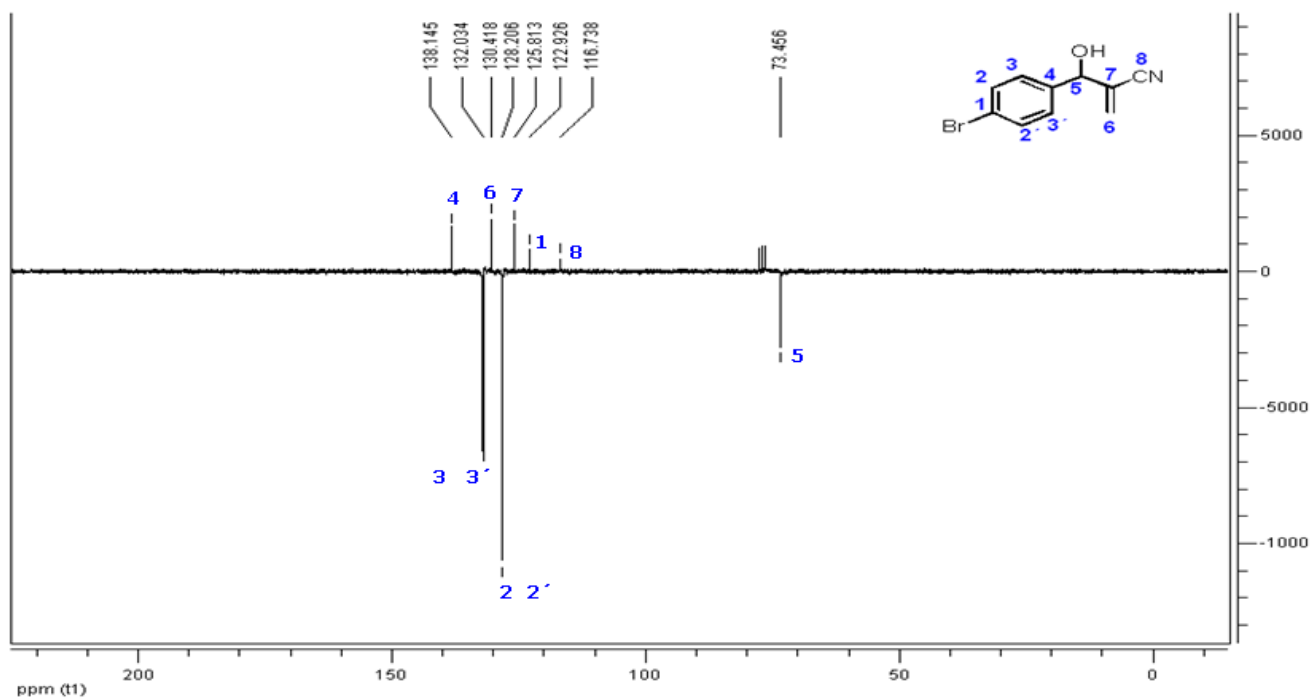
Espectro 8.36: Espectro de RMN¹H de **37** (CDCl₃, 200 MHz)



Espectro 8.37: Espectro de RMN¹³C-APT de **37** (CDCl₃, 50 MHz)



Espectro 8.38: Espectro de RMN¹H de **25** (CDCl₃, 200 MHz).



Espectro 8.39: Espectro de RMN¹³C- APT de **25** (CDCl₃, 50 MHz)

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](#)