



**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 NOVOS ADUTOS DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN:
BIOISOSTERISMO CLÁSSICO NA OTIMIZAÇÃO DE
LEISHMANICIDAS**

FÁBIO PEDROSA LINS SILVA



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

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 NOVOS ADUTOS DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN:
BIOISOSTERISMO CLÁSSICO NA OTIMIZAÇÃO DE
LEISHMANICIDAS**

Fábio Pedrosa Lins Silva*

**Dissertação apresentada ao
Centro de Ciências Exatas e da
Natureza da Universidade
Federal da Paraíba como
requisito para a obtenção do
título de Mestre em Química,
área de concentração em
Química Orgânica.**

Orientador: Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos

***Bolsista (CAPES-REUNI)**

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

S586s *Silva, Fábio Pedrosa Lins.*
Síntese de novos adutos de Morita-Baylis-Hillman:
bioisosterismo clássico na otimização de leishmanicidas /
Fábio Pedrosa Lins Silva.- João Pessoa, 2009.
130f. : il.
Orientador: Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos.
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN.
1. Química Orgânica. 2. Adutos de Morita-Baylis-Hillman.
3. Bioisosterismo clássico. 4. Leishmanicidas.

UFPB/BC

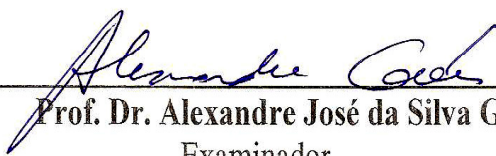
CDU: 547(043)

Síntese de Novos Adutos de Morita-Baylis-Hillman: Bioisosterismo Clássico na Otimização de Leishmanicidas.


Aprovada pela banca examinadora:



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



Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes
Examinador



Prof. Dr. José Rodrigues de Carvalho Filho
Examinador

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida; aos meus pais Rilvandro e Cila pelo esforço, dedicação, amor e compreensão dados em todos os momentos; a minha irmã Sabrina por todo seu apoio e incentivo; a minha companheira Priscilla por todo seu carinho e compreensão; e a todos àqueles que acreditam que a ousadia e o erro são caminhos para as grandes realizações.

AGRADECIMENTOS

Foram muitos, os que me ajudaram a concluir este trabalho, por isso ficam aqui os meus sinceros agradecimentos:

Em primeiro lugar a Deus por me conceder todos os dias o dom da vida e por ter me dado força e sabedoria nos momentos difíceis.

Do fundo do meu coração aos meus pais Rilvandro e Cila pela confiança, força, dedicação, compreensão e amor incondicional que me foi dado durante toda a minha caminhada. Agradeço por eles terem me mostrado os verdadeiros valores da vida e o caminho certo a ser seguido, sem esse apoio tudo teria sido mais difícil.

A minha irmã Sabrina por todo seu incentivo, apoio e carinho durante as nossas valiosas conversas.

A minha companheira Priscilla, por todo seu incentivo nos momentos difíceis, apoio, amor e carinho acima de tudo.

Ao meu orientador e amigo Mário Vasconcellos, pela sua amizade, confiança e credibilidade depositados em minha pessoa. Agradeço a ele por todos os seus ensinamentos e pela sua disposição diante de todas as minhas limitações.

Aos meus grandes amigos de laboratório pelas conversas e pela amizade, que de muitas formas me incentivaram e ajudaram para que fosse possível a concretização deste trabalho: Cláudio, Natália, Sara, Ticiano, Edílson, Suervy, Saulo, Hermesson e Yen.

A professora Márcia Rosa junto com toda sua equipe pela valiosa parceria e colaboração nos estudos relacionados à atividade leishmanicida.

A professora Regiane, pelo excelente trabalho e por toda ajuda e suporte que vem dando aos alunos de pós-graduação.

A professora Juliana pela sua valiosa contribuição e ajuda na concretização deste trabalho.

Aos grandes amigos conquistados durante essa longa jornada acadêmica: Maryelzy, Vagner, Victor Hugo, Renato, Alexsandro, Ronieri, Horacimone, Kelly, Lucas, Sofacles e Cleinaldo.

Ao técnico Vicente pela realização das análises de Ressonância Magnética Nuclear.

A UFPB e a CAPES pela bolsa concedida.

E a todos aqueles que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original.”

(Albert Einstein)

RESUMO

Título: Síntese de novos adutos de Morita-Baylis-Hillman: bioisosterismo clássico na otimização de leishmanicidas.

Este trabalho foi idealizado utilizando o conceito de bioisosterismo clássico, onde grupos isoeletrônicos OH foram substituídos pelo grupo CH₃, visando encontrar uma relação entre a lipossolubilidade dos Adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) e sua atividade biológica. Foram desenvolvidos neste trabalho, metodologias sintéticas para a preparação de 16 AMBH inéditos (**47-62**), em bons a altos rendimentos. Inicialmente foi sintetizado 8 AMBH utilizando o Acrilato de 2-hidroxietila (**45**) como acceptor de Michael, obtendo os adutos **47**(Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila, 71%), **48** (Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila, 50%), **49** (Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila, 62%), **50** (Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila, 94%), **51**(Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila, 83%), **52** (Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila, 80%), **53** (Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila, 67%), **54** (Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil) de 2-hidroxietila, 71%). A segunda etapa de síntese foi a preparação do Acrilato de propila (**46**), a partir do ácido acrílico e do propanol (rendimento de 98%), que posteriormente foi utilizado como acceptor de Micheal na síntese dos AMBH **55**(Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila, 68%), **56** (Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila 73%), **57** (Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila, 97%), **58** (Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila, 70%), **59** (Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila, 80%), **60** (Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila, 66%), **61**(Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila, 64%), **62** (Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila, 60%). Todos estes adutos foram bioavaliados *in vitro* contra o parasita *Leishmania amazonensis*, suas citotoxicidades em macrófagos foram estudadas e seus índices terapêuticos calculados. Diferentemente do esperado, a modificação bioisostérica não apresentou uma relação direta entre a lipossolubilidade (Log P) destes compostos e a sua atividade biológica. Todos os adutos apresentaram forte atividade antipromastigota, sendo os compostos **47**, **55**, **49**, **57**, **53**, **54** e **62** os mais ativos em *L. amazonensis*, todos com IC₅₀ menores que 60µM. Entre eles o AMBH **47** foi o mais ativo e o que apresentou o maior índice terapêutico, sendo este a substância protótipo deste trabalho.

Palavras-chave: Adutos de Morita-Baylis-Hillman. Bioisosterismo Clássico. Leishmanicidas.

ABSTRACT

Title: Synthesis of new adducts of Morita-Baylis-Hillman: bioisosterism classic optimize leishmanicids.

This work was designed using the concept of classical bioisosterism where isoelectronic OH groups were replaced by the CH₃ group, aimed at finding a relationship between the liposolubility of the adducts Morita-Baylis-Hillman (AMBH) and its biological activity. Was developed in this work, synthetic methodologies for the preparation of 16 AMBH unprecedented (**47-62**), getting good and high yields. Initially was synthesized AMBH **8** using the 2-hydroxyethyl Acrylate **45** as Michael acceptor, giving the adducts **47** (2-hydroxyethyl [2-(hydroxy(2-nitrophenyl)methyl)] acrylate, 71%), **48** (2-hydroxyethyl [2-(hydroxy(3-nitrophenyl)methyl)] acrylate, 50%), **49** (2-hydroxyethyl [2-(hydroxy(4-nitrophenyl)methyl)] acrylate, 62%), **50** (2-hydroxyethyl [2-(hydroxy(pyridin-2-yl)methyl)] acrylate, 94%), **51** (2-hydroxyethyl [2-(hydroxy(pyridin-3-yl)methyl)] acrylate, 83%), **52** (2-hydroxyethyl [2-(hydroxy(pyridin-4-yl)methyl)] acrylate, 80%), **53** (2-hydroxyethyl [2-((4-bromophenyl)(hydroxy)methyl)] acrylate, 67%), **54** (2-hydroxyethyl [2-(hydroxy(naphthalen-2-yl)methyl)] acrylate, 71%). The second step of the synthesis was the preparation of Propyl Acrylate (**46**), from acrylic acid and propanol (yield 98%), which was later used as Michael acceptors in the synthesis of AMBH **55** (Propyl [2-(hydroxy(2-nitrophenyl)methyl)] acrylate, 68%), **56** (Propyl [2-(hydroxy(3-nitrophenyl)methyl)] acrylate, 73%), **57** (Propyl [2-(hydroxy(4-nitrophenyl)methyl)] acrylate, 97%), **58** (Propyl [2-(hydroxy(pyridin-2-yl)methyl)]acrylate, 70%), **59** (Propyl [2-(hydroxy(pyridin-3-yl)methyl)acrylate], 80%), **60** (Propyl [2-(hydroxy(pyridin-4-yl)methyl)] acrylate, 66%), **61** (Propyl [2-((4-bromophenyl)(hydroxy)methyl)] acrylate, 64%), **62** (Propyl [2-(hydroxy(naphthalen-2-yl)methyl)] acrylate, 60%). All of these adducts were bioavailable *in vitro* against the parasite *Leishmania amazonensis*, their cytotoxicity in macrophages were studied and their therapeutic indices calculated. Unlike expected, the bioisosteric modification not presented a direct relationship between the liposolubility (Log P) of these compounds and their biological activity. All adducts showed strong activity antipromastigote, being the compounds **47**, **55**, **49**, **57**, **53**, **54** and **62** the most actives in *L. amazonensis*, all with IC₅₀ less than 60µM. Among them the AMBH **47** was the most active and that presented the higher therapeutic index, which is the prototype substance of this work.

Keywords: Morita-Baylis-Hillman adducts. Bioisosterism classic. Leishmanicids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Registro de Novos medicamentos desenvolvidos entre 1975 e 2004.....	3
Figura 1.2 Prioridades de investimento do Mercado Farmacêutico Mundial	4
Figura 1.3 Distribuição Mundial das Leishmanioses.....	6
Figura 1.4 Fêmea de Flebotomíneo (<i>Lutzomyia longipalpis</i>) em repasto sangüíneo.....	7
Figura 1.5 Formas Promastigotas	8
Figura 1.6 Formas amastigotas.....	8
Figura 1.7 Ciclo de transmissão de parasitos do gênero <i>Leishmania</i>	9
Figura 1.8 Leishmaniose Tegumentar Americana – forma cutânea simples	10
Figura 1.9 Leishmaniose Tegumentar Americana – forma cutânea difusa	11
Figura 1.10 Leishmaniose Tegumentar Americana – forma mucocutânea	11
Figura 1.11 Leishmaniose Visceral	12
Figura 1.12 Distribuição da Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil e no Mundo	13
Figura 1.13 Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil.....	14
Figura 1.14 Casos de Leishmaniose Visceral no Brasil.....	16
Figura 1.15 Números de casos de LTA e LV na Paraíba no período de 1990 a 2008 utilizando os dados das Figuras 1.13 e 1.14.....	17
Figura 1.16 Estrutura química do Antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®).....	18
Figura 1.17 Estrutura química do Estibogluconato de sódio (Pentostan®).....	18

Figura 1.18 Tratamento intralesional com antimoniato pentavalente (Sb+5).....	19
Figura 1.19 Estrutura química da Anfotericina B	20
Figura 1.20 Estrutura química do Isetionato de Pentamidina.	21
Figura 1.21 Estrutura química da Miltefosina.	21
Figura 1.22 Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) em presença de β -naftol	29
Figura 1.23 Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) usando metanol como solvente.....	29
Figura 1.24 Adutos mais ativos frente <i>P. falciparum</i>	30
Figura 1.25 Adutos antimalariais derivados de 2-cloronicotinaldeídos substituídos.....	31
Figura 1.26 Adutos de Baylis–Hillman avaliados contra <i>Biomphalaria glabrata</i>	32
Figura 1.27 Adutos de Baylis–Hillman avaliados contra as formas amastigota e promastigota de <i>Leishmania amazonensis</i>	33
Figura 1.28 Adutos de Baylis–Hillman avaliados contra a forma promastigota de <i>Leishmania chagasi</i>	34
Figura 1.29 Propriedades estruturais essenciais ao novo composto-protótipo descoberto	36
Figura 1.30 Isosterismo desenvolvido por Langmuir.....	38
Figura 1.31 Regra do hidreto de Grimm.....	38
Figura 1.32 Isosterismo de Erlenmeyer	39
Figura 1.33 Bioisósteros Clássicos.....	40
Figura 1.34 Bioisósteros Não-Clássicos	40
Figura 1.35 Exemplo de bioisósteros clássicos.	41
Figura 3.1 Esquemática de uma membrana plasmática.	45
Figura 3.2 Adutos de Morita Baylis-Hillman propostos utilizando o Conceito de Bioisosterismo Clássico.	46
Figura 3.3 Retro-análise para os AMBH.	47
Figura 3.4 Aldeídos aromáticos substituídos utilizados neste trabalho	47

Figura 3.5 Aceptores de Michael utilizados neste trabalho.	48
Figura 4.1 Adutos de Morita Baylis-Hillman sintetizados a partir do Acrilato de 2-hidroxietila (45).	50
Figura 4.2 Adutos de Morita Baylis-Hillman sintetizados a partir do Acrilato de propila (46).	56
Figura 4.3 Adutos de Morita-Baylis-Hillman Sintetizados e Bioavaliados neste Trabalho.....	61
Figura 4.4 Processo de oxi-redução do grupo nitro.	63
Figura 4.5 Caracterização da IHB no aduto 64 via QTAIM.....	64
Figura 6.1 Adutos de Morita-Baylis-Hillman caracterizados por RMN1H.	76
Figura 6.2 Esquema da conversão do sal em azul de formazan por enzimas mitocondriais.	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Resultados da reação de preparação dos adutos usando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente	52
Tabela 4.2 Resultados da otimização para obtenção do aduto 53	53
Tabela 4.3 Resultados da reação de preparação dos adutos usando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente	57
Tabela 4.4 Resultados da reação de preparação dos adutos 55, 56, 57, 61 e 62 usando Propanol como solvente a temperatura ambiente	59
Tabela 4.5 Atividade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigota de <i>Leishmania amazonensis</i>	62
Tabela 4.6 Concentração citotóxica dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigota de <i>Leishmania amazonensis</i>	65
Tabela 4.7 Valores de Índice Terapêutico dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigota de <i>Leishmania amazonensis</i>	66

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1.1 Esquema geral da reação de Morita-Baylis-Hillman R,R ₁ = H, alquil, aril, heteroaril. GEA = CO ₂ R,COR, CN, outros.	23
Esquema 1.2 Primeiro Ciclo Catalítico Proposto por Hoffmann/Hill e Isaacs para a Reação de Morita Baylis-Hillman.	25
Esquema 1.3 Proposta mecanística de McQuade, envolvendo uma etapa de próton-transferência, passando por estado um de transição de seis-membros formado com uma segunda molécula de aldeído.....	27
Esquema 1.4 Proposta mecanística de Aggarwal, envolvendo um estado de transição que utiliza um álcool como transportador de prótons.....	28
Esquema 4.1 Metodologia para a preparação dos adutos utilizando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente	51
Esquema 4.2 Metodologia para a preparação do aduto 54 utilizando Etilenoglicol como solvente a temperatura ambiente	53
Esquema 4.3 Metodologia inicial para a preparação do Acrilato de Propila	55
Esquema 4.4 Metodologia para a preparação do Acrilato de Propila (46).	55
Esquema 4.5 Metodologia para a preparação dos adutos utilizando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente	57
Esquema 4.6 Formação do aduto 63 a partir do acrilato de metila formado.	58
Esquema 4.7 Metodologia para a preparação dos adutos 55, 56, 57, 61 e 62, utilizando propanol como solvente à temperatura ambiente	59

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47).	101
Espectro 2 Expansão do Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47) na região de 124,50 a 133,50ppm	101
Espectro 3 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47)	102
Espectro 4 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47) na região de 3,00 a 4,50ppm	102
Espectro 5 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47) na região de 5,50 a 6,50ppm	103
Espectro 6 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47) na região de 7,40 a 8,00ppm	103
Espectro 7 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47) em cm ⁻¹	104
Espectro 8 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48)	104
Espectro 9 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48)	105
Espectro 10 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48) na região de 2,50 a 4,30ppm.	105
Espectro 11 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48) na região de 5,50 a 6,50ppm.	106

Espectro 12 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48) na região de 7,40 a 8,30ppm	106
Espectro 13 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48) em cm ⁻¹	107
Espectro 14 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49)	107
Espectro 15 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49)	108
Espectro 16 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49) na região de 2,50 a 4,30ppm	108
Espectro 17 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49) na região de 5,50 a 6,50ppm	109
Espectro 18 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49) na região de 7,50 a 8,30ppm	109
Espectro 19 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49) em cm ⁻¹	110
Espectro 20 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50)	110
Espectro 21 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50).....	111
Espectro 22 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50) na região de 3,50 a 4,20ppm.	111
Espectro 23 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50) na região de 5,50 a 6,30ppm.	112

Espectro 24 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50) na região de 7,70 a 8,40ppm.	112
Espectro 25 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50) em cm ⁻¹	113
Espectro 26 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51)	113
Espectro 27 Expansão do Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51) na região de 140,0 a 149,0ppm.	114
Espectro 28 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51).....	114
Espectro 29 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51) na região de 3,50 a 4,50ppm.	115
Espectro 30 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51) na região de 5,50 a 6,50ppm.	115
Espectro 31 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51) na região de 7,10 a 8,50ppm.	116
Espectro 32 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila em cm ⁻¹ (51).....	116
Espectro 33 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52).	117
Espectro 34 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52) na região de 1,20 a 1,30ppm.	117
Espectro 35 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52) na região de 3,70 a 4,40ppm.	118

Espectro 36 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52) na região de 5,50 a 6,50ppm.	118
Espectro 37 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52) na região de 7,30 a 8,70ppm.	119
Espectro 38 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52) em cm ⁻¹	119
Espectro 39 Espectro RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53)	120
Espectro 40 Espectro de RMN ¹³ C-DEPT(CDCl ₃ , 125MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53)	120
Espectro 41 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53)	121
Espectro 42 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53) na região de 1,50 a 3,20ppm	121
Espectro 43 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53) na região de 3,50 a 4,50ppm.	122
Espectro 44 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53) na região de 5,50 a 6,50ppm.	122
Espectro 45 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53) na região de 7,20 a 7,60ppm.	123
Espectro 46 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53) em cm ⁻¹	123
Espectro 47 Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54).....	124

Espectro 48 Expansão do Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54) região de 124,50 a 134,0ppm.	124
Espectro 49 Espectro de RMN ¹³ C-DEPT(CDCl ₃ , 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54)	125
Espectro 50 Expansão do Espectro de RMN ¹³ C-DEPT(CDCl ₃ , 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54) região de 124,50 a 129,0ppm.	125
Espectro 51 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54).....	126
Espectro 52 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54) na região de 1,80 a 3,30ppm.	126
Espectro 53 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54) na região de 3,70 a 4,30ppm.	127
Espectro 54 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54) na região de 5,70 a 6,50ppm.	127
Espectro 55 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54) na região de 7,30 a 7,90ppm.	128
Espectro 56 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54) em cm ⁻¹	128
Espectro 57 Espectro de RMN ¹³ C-ATP(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de Propila (46).	129
Espectro 58 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de Propila (46).	129
Espectro 59 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de Propila (46) na região de 0,80 a 2,0ppm.	130
Espectro 60 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de Propila (46) na região de 4,0 a 4,20ppm.	130

Espectro 61 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de Propila (46) na região de 5,50 a 6,50ppm.	131
Espectro 62 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55).....	131
Espectro 63 Expansão do Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55) na região de 124,14 a 135,78ppm	132
Espectro 64 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55).....	132
Espectro 65 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55) na região de 0,50 a 2,0ppm.....	133
Espectro 66 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55) na região de 3,0 a 4,50ppm.....	133
Espectro 67 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55) na região de 5,50 a 6,50ppm.	134
Espectro 68 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55) na região de 7,30 a 8,0ppm.....	134
Espectro 69 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55) em cm ⁻¹	135
Espectro 70 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56).....	135
Espectro 71 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56).....	136
Espectro 72 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56) na região de 0,80 a 1,80ppm.	136

Espectro 73 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56) na região de 2,70 a 4,20ppm.	137
Espectro 74 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56) na região de 5,50 a 6,50ppm.	137
Espectro 75 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56) na região de 7,40 a 8,30ppm.	138
Espectro 76 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56) em cm ⁻¹	138
Espectro 77 Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57)	139
Espectro 78 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57)	139
Espectro 79 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57) na região de 0,80 a 1,80ppm.	140
Espectro 80 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57) na região de 2,50 a 4,50ppm.	140
Espectro 81 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57) na região de 5,500 a 6,50ppm.	141
Espectro 82 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57) na região de 5,50 a 6,50ppm.	141
Espectro 83 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57) em cm ⁻¹	142
Espectro 84 Espectro de RMN ¹³ C-ATP(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58).....	142

Espectro 85 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58).....	143
Espectro 86 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58) na região de 0,50 a 1,70ppm.....	143
Espectro 87 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58) na região de 3,50 a 5,0ppm.....	144
Espectro 88 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58) na região de 5,50 a 6,50ppm.....	144
Espectro 89 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58) na região de 7,0 a 8,60ppm.....	145
Espectro 90 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58) cm ⁻¹	145
Espectro 91 Espectro de RMN ¹³ C-ATP(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59).....	146
Espectro 92 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59).....	146
Espectro 93 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59) na região de 0,50 a 2,0ppm.....	147
Espectro 94 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59) na região de 3,50 a 5,0ppm.....	147
Espectro 95 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59) na região de 3,50 a 6,50ppm.....	148
Espectro 96 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59) na região de 7,0 a 8,50ppm.....	148

Espectro 97 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59) cm^{-1}	149
Espectro 98 Espectro de RMN ¹³ C-ATP (CDCl_3 , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60).....	149
Espectro 99 Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60).....	150
Espectro 100 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60) na região de 0,50 a 2,0ppm.....	150
Espectro 101 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60) na região de 3,50 a 5,0ppm.....	151
Espectro 102 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60) na região de 5,50 a 6,50ppm.....	151
Espectro 103 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60) na região de 7,20 a 8,50ppm.....	152
Espectro 104 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60) cm^{-1}	152
Espectro 105 Espectro de RMN ¹³ C (CDCl_3 , 125 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61).....	153
Espectro 106 Espectro de RMN ¹³ C-DEPT(CDCl_3 , 125 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61).....	153
Espectro 107 Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61).....	154
Espectro 108 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61) na região de 0,80 a 1,70ppm.....	154
Espectro 109 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl_3 , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61) na região de 3,0 a 4,20ppm.....	155

Espectro 110 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61) na região de 5,0 a 6,50ppm.....	155
Espectro 111 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61) na região de 7,20 a 7,60ppm.....	156
Espectro 112 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61) cm ⁻¹	156
Espectro 113 Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62)	157
Espectro 114 Expansão do Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62) na região de 124,50 a 128,50ppm.....	157
Espectro 115 Espectro de RMN ¹³ C-DEPT(CDCl ₃ , 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62)	158
Espectro 116 Expansão do Espectro de RMN ¹³ C-DEPT (CDCl ₃ , 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62) na região de 124,50 a 128,50ppm.....	158
Espectro 117 Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62)	159
Espectro 118 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62) na região de 0,80 a 1,70ppm.....	159
Espectro 119 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62) na região de 3,20 a 4,20ppm.....	160
Espectro 120 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62) na região de 5,50 a 6,50ppm.....	160
Espectro 121 Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62) na região de 7,40 a 8.0ppm.....	161

Espectro 122 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62) em cm^{-1}	161
Espectro 123 Espectro de RMN ¹ H(CDCI ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de metila (63)	162
Espectro 124 Espectro de RMN ¹ H(CDCI ₃ , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de metila (63)	162

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α - Alfa

ADMET - Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade

AMBH - Adutos de Morita-Baylis-Hillman

β - Beta

CC₅₀ - Concentração citotóxica que gera uma redução de 50% da viabilidade celular

CCDA - Cromatografia de Camada delgada Analítica

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

δ - Deslocamento químico

d - Dubleto

DABCO - 1,4 - diazabicyclo [2.2.2]octano

dd - Duplo dubleto

ddd - Duplo duplo dubleto

ESI-MS - Espectrometria de massas com ionização electrospray

FINEP - Financiadora de Estudos e Projetos

GEA - Grupos Elétron-atratores

Hz - Hertz

IC₅₀ - Concentração que inibe 50% do crescimento de uma população

IUPAC - União internacional de química pura e aplicada (do inglês, International Union of Pure and Applied Chemistry)

J - Constante de acoplamento

LDH - Lactato desidrogenase

LHI - Ligação de Hidrogênio Intramolecular

Log P - Coeficiente de partição

LTA - Leishmaniose Tegumentar Americana

LV - Leishmaniose Visceral

LVA - Leishmaniose Visceral Americana

m - múltiplo

MSF - Médicos sem fronteiras

MTT - 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-brometo de tetrazolium
OMS – Organização Mundial de Saúde
P&D – Pesquisa e Desenvolvimento
ppm – partes por milhão
QSAR - Relação Quantitativa Estrutura-Atividade
QTAIM – Teoria quântica de átomos em moléculas
RMBH – Reação de Morita-Baylis-Hillman
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
s – Singleto
SAR - “Structure Activity Relationship” (Relação estrutura-atividade)
Sb⁺⁵ - Antimoniais pentavalentes
SDS - Dodecil sulfato de sódio
sex - sexteto
sl – Singleto largo
SP - Substância protótipo
t - tripleto
TMS – Tetrametilsilano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	2
1.1 A Indústria Farmacêutica e as Doenças Negligenciadas	2
1.2 Leishmanioses.....	5
1.2.1 Leishmanioses: Epidemiologia e Agentes etiológicos.....	5
1.2.2 Ciclo de vida dos Parasitas	7
1.2.3 Formas clínicas das leishmanioses.....	10
1.2.4 Leishmanioses no Brasil	13
1.2.5 Leishmanioses na Paraíba	17
1.2.6 Quimioterapia para as leishmanioses	18
1.3 Reação de Morita-Baylis-Hillman.....	22
1.3.1 Histórico	24
1.3.2 Aspectos Mecanísticos	25
1.3.3 Adutos de Morita-Baylis-Hillman e atividade Biológica.....	30
1.4 A Química Medicinal	34
1.5 Bioisosterismo	37
2 OBJETIVOS	43
2.1 Objetivos gerais	43
2.2 Objetivos específicos.....	43
3 ESTRATÉGIAS	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
4.1 Síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman utilizando o Acrilato de 2-hidroxietila (45)	50

4.2 Síntese do Acrilato de Propila (46) utilizando Ácido Acrílico e Propanol.....	54
4.3 Síntese dos adutos de Morita-Baylis-Hillman utilizando o Acrilato de Propila (46)	56
4.4 Avaliação contra Leishmania amazonensis.....	60
4.4.1 Análise SAR dos Bioisósteros 47-62.....	60
5 CONCLUSÃO	68
6 PARTE EXPERIMENTAL.....	70
6.1 Materiais e Métodos	70
6.2 Procedimento geral para a reação de Morita-Baylis-Hillman utilizando o Acrilato de 2-hidroxietila (45).....	71
6.3 Procedimento para a preparação de 53 e 54 utilizando o Acrilato de 2-hidroxietila (45) e Etilenoglicol como solvente.....	72
6.4 Procedimento para a preparação do Acrilato de Propila (46)	73
6.5 Procedimento geral para a reação de Morita-Baylis-Hillman utilizando o Acrilato Propila (46).....	73
6.6 Procedimento para a preparação de 55, 56, 57, 61 e 62 utilizando o Acrilato de Propila (46) e Propanol como solvente...	74
6.7 Análises espectroscópicas dos Adutos de Morita-Baylis-Hillman	75
6.7.1 Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47)	77
6.7.2 Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48)	77
6.7.3 Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49)	78
6.7.4 Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50)	79

6.7.5 Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51)	80
6.7.6 Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52)	80
6.7.7 Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (53)	81
6.7.8 Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (54)	82
6.7.9 Acrilato de Propila (46)	83
6.7.10 Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55)	83
6.7.11 Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56)	84
6.7.12 Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57)	85
6.7.13 Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58)	86
6.7.14 Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59)	86
6.7.15 Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60)	87
6.7.16 Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61)	88
6.7.17 Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62)	88
6.7.18 Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de metila (63)	89
6.8 Procedimentos de Avaliação da Atividade Biológica	90
6.8.1 Realização dos ensaios <i>in vitro</i> de atividade antileishmania	90
6.8.2 Avaliação da citotóxicidade dos compostos para macrófagos murinos	91
6.8.3 Índice terapêutico <i>in vitro</i>	92
REFERÊNCIAS	94
ESPECTROS.....	101

Capítulo 1:

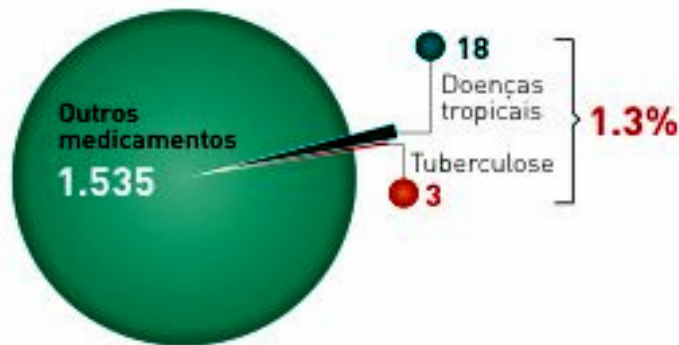
Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 A Indústria Farmacêutica e as Doenças Negligenciadas

Os progressos da ciência não foram igualmente distribuídos ao redor do mundo. Ao mesmo tempo em que medicamentos sofisticados são desenvolvidos para uma grande variedade de doenças, outras têm sido progressivamente marginalizadas pelos programas de pesquisa tanto do setor público quanto do privado. As indústrias farmacêuticas vêm investindo bilhões de dólares na busca de novos analgésicos, antiinflamatórios e inúmeros outros quimioterápicos, objetivando a cura ou o controle de várias doenças, como câncer, doenças cardiovasculares, doenças mentais e distúrbios neurológicos¹. No entanto, doenças endêmicas tropicais como a Malária, a Febre amarela, a Dengue, a Leishmaniose, a Esquistossomose e a Doença de Chagas², que muitas vezes poderiam ser prevenidas, tratadas e curadas, continuam a assolar comunidades pobres nos países em desenvolvimento. Essas doenças não constituem um mercado lucrativo, essencialmente porque o público alvo que está exposto a estes tipos de doenças, são pessoas de classes sociais menos favorecidas e de baixo poder aquisitivo, com isso, pesquisas objetivando o controle e a cura dessas doenças não vêm atraindo a mesma atenção dos grandes laboratórios farmacêuticos. Na Figura 1.1 podemos ver que entre 1975 e 2004 foram desenvolvidos 1.556 novos medicamentos, onde apenas 21 destes foram destinados às doenças tropicais e tuberculose, e 1.535 foram destinados para outros tipos de doenças³.

**Novos medicamentos desenvolvidos
entre 1975 e 2004: 1.556**



*Apenas 21 novos medicamentos, dos 1.556 desenvolvidos
para doenças negligenciadas nos últimos 30 anos*

Figura 1.1 Registro de Novos medicamentos desenvolvidos entre 1975 e 2004 (Disponível em: <www.dndi.org.br/Portugues/doencas_negligenciadas.aspx>. Acessado em: 1 de setembro de 2009).

Este pequeno número de medicamentos desenvolvidos para as doenças negligenciadas, é o resultado tanto das insuficientes políticas públicas voltadas para a pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos medicamentos, quanto da falha de mercado, provocada pelo baixo interesse econômico que esses pacientes representam para a indústria⁴.

Recentemente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) juntamente com a Organização Médicos Sem Fronteiras (MSF) classificaram as doenças em Globais (que ocorrem em todo o mundo), Negligenciadas (mais prevalentes nos países em desenvolvimento) e Extremamente Negligenciadas (exclusivas dos países em desenvolvimento)⁵. Segundo a Organização Mundial da Saúde as doenças negligenciadas podem ser definidas como um conjunto de doenças associadas à situação de pobreza, as precárias condições de vida e as iniquidades em saúde⁶. Pode-se fazer, ainda, uma distinção entre doenças "negligenciadas" e "extremamente negligenciadas", tendo em vista que no caso das doenças "extremamente negligenciadas", os pacientes são tão pobres que praticamente não possuem poder de compra, e nenhuma manipulação das forças de mercado poderá estimular o interesse das empresas farmacêuticas. Se o

mercado tem deixado de atender às pessoas que sofrem de doenças negligenciadas, deixou relegada ainda mais aquelas que sofrem de doenças extremamente negligenciadas¹.

Na Figura 1.2 podemos ver as prioridades dos investimentos do setor farmacêutico, onde **A** representa as Doenças Globais, como câncer, doenças cardiovasculares, doenças mentais e distúrbios neurológicos. Estas doenças constituem a maior concentração de P&D da indústria farmacêutica; **B** representa as Doenças Negligenciadas, como a malária e a tuberculose, nas quais a indústria farmacêutica baseada em pesquisa tem interesse apenas marginal; **C** representa as Doenças Extremamente Negligenciadas, como a doença do sono, a doença de Chagas e a leishmaniose, que afetam exclusivamente as populações dos países em desenvolvimento; **Z** representa a parcela do mercado farmacêutico referente a produtos voltados para condições que são diferentes das puramente médicas, como celulite, calvície, rugas, dietas e estresse, que, no entanto, constituem um segmento de mercado altamente lucrativo nos países ricos¹.

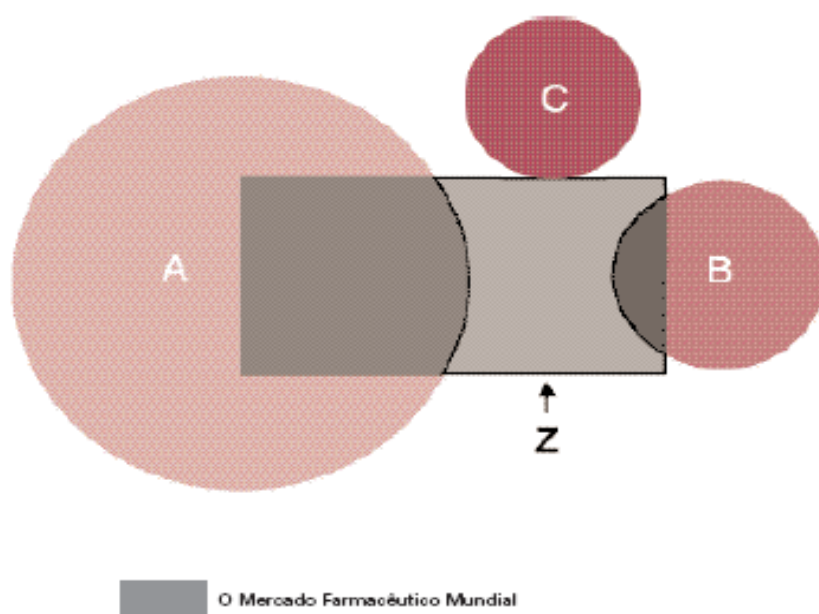


Figura 1.2 Prioridades de investimento do Mercado Farmacêutico Mundial (Disponível em: <www.msf.org>. Acessado em: 27 de agosto de 2009).

De acordo com estudos realizados pela ONG Médicos Sem Fronteira, apenas 5% dos recursos globais destinados a P&D de doenças negligenciadas são oriundos de instituições privadas, onde quase todo o investimento nessa área vem de instituições filantrópicas (54%), e públicas (41%), que não conseguem, na maioria das vezes, dar sustentabilidade a esses investimentos ao longo dos anos. No Brasil, os incentivos governamentais para P&D em doenças negligenciadas são crescentes, aonde boa parte destes investimentos vem do Ministério da Ciência e Tecnologia, por meio de suas duas principais agências de fomento: o CNPq e a FINEP. Em termos de financiamento público, o Brasil está em sexto lugar no ranking dos países que mais investem nesse segmento, e o primeiro, se considerarmos apenas os países em desenvolvimento onde essas doenças são endêmicas⁷.

1.2 Leishmanioses

1.2.1 Leishmanioses: Epidemiologia e Agentes etiológicos

As leishmanioses são doenças infecto-parasitárias causadas por protozoários unicelulares do gênero *Leishmania*, da ordem *Kinetoplastida* e da família *Trypanosomatidae*. São consideradas primariamente como uma zoonose, podendo acometer o homem quando este entra em contato com o ciclo de transmissão do parasito, transformando-se em uma antropozoonose. Atualmente, encontra-se entre as seis endemias consideradas prioritárias no mundo, podendo esta parasitose ser encontrada na Ásia, Europa, África e nas Américas do Sul e Central (Figura 1.3)^{8,9}. A leishmaniose é considerada endêmica em 88 países, dos

quais 72 são países considerados em desenvolvimento¹⁰. Segundo a Organização Mundial da Saúde estima-se que existam 350 milhões de pessoas vivendo em áreas de risco, com cerca de 12 milhões de pessoas infectadas com alguma forma da doença, com um índice de dois milhões de novos casos por ano e 70.000 óbitos¹¹.



Figura 1.3 Distribuição Mundial das Leishmanioses (Disponível em: <<http://www.leishdrug.org/endemic.jpg>>. Acessado em: 11 de setembro de 2009).

Na natureza todas as espécies de *Leishmania* são transmitidas ao homem ou a outros hospedeiros vertebrados durante o repasto sanguíneo de fêmeas hematófagas infectadas. Estes insetos denominados flebotomíneos (Figura 1.4), pertencentes à Ordem Díptera, Família *Psychodidae*, Subfamília *Phlebotominae* e Gênero *Lutzomyia*, são também conhecidos popularmente como mosquito-palha, birigui, asa-dura ou cangalhinha (entre outros, dependendo da região). Estes dípteros, medem de 1 a 3 mm de comprimento, possuem o corpo revestido por pêlos e são de coloração clara (cor de palha). Na fase adulta estão adaptados a diversos ambientes, porém na fase larvária desenvolvem-se em ambientes terrestres úmidos, ricos em matéria orgânica e de baixa incidência luminosa. Ambos os sexos necessitam de carboidratos como

fonte energética, mas apenas as fêmeas se alimentam de sangue para o desenvolvimento de seus ovos¹².



Figura 1.4 Fêmea de Flebotomíneo (*Lutzomyia longipalpis*) em repasto sangüíneo (Disponível em: <<http://gorillasguides.com/wp-content/uploads/leishmaniasis-2panel.jpg>>. Acessado em: 19 de setembro de 2009).

1.2.2 Ciclo de vida dos Parasitas

As leishmanias são parasitas intracelulares que possuem um ciclo de vida digenético, no qual o parasita existe sob duas formas celulares: promastigota (Figura 1.5) e amastigota (Figura 1.6). As promastigotas são alongadas, possuem um flagelo bastante desenvolvido e são encontradas dentro do intestino dos flebotomíneos fêmea (inseto vetor). As amastigotas são esféricas, aflageladas e estão presentes dentro dos fagócitos mononucleares dos hospedeiros vertebrados. Dentre estes podemos citar uma grande variedade de mamíferos, tais como: roedores, edentados, canídeos, marsupiais e primatas, dentro do qual está o homem^{10,13,14}.

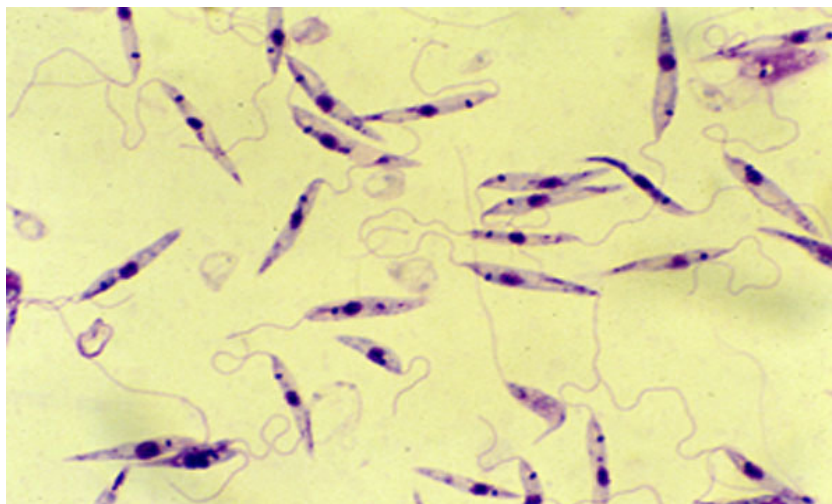


Figura 1.5 Formas Promastigotas (Disponível em: <<http://www.vet.uga.edu/VPP/nsep/Brazil2002/leishmania/images/lipg1.jpg>>. Acessado em: 19 de setembro de 2009).

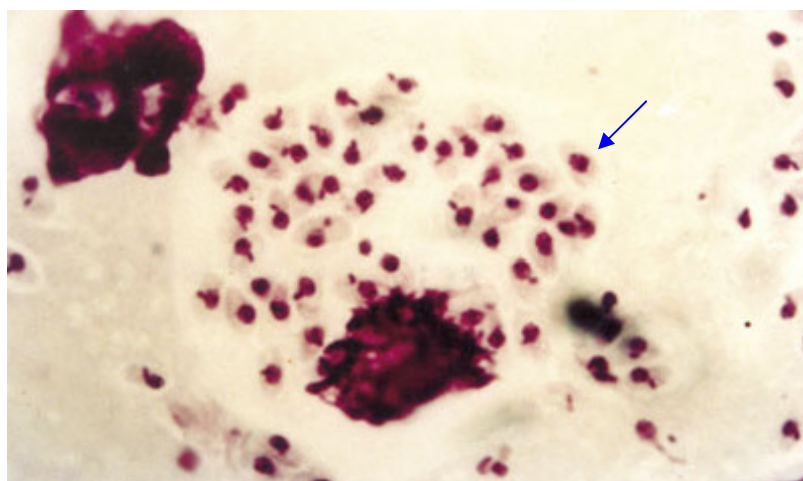


Figura 1.6 Formas amastigotas (Disponível em: <http://www.vet.uga.edu/VPP/nsep/Brazil2002/leishmania/images/lip_g1.jpg>. Acessado em: 19 de setembro de 2009).

O ciclo de vida do parasita (Figura 1.7) tem início quando flebotomíneos fêmeas infectadas ao realizarem o repasto sangüíneo em um hospedeiro vertebrado liberam as formas promastigotas metacíclicas juntamente com a saliva do inseto (Etapa 1). Na epiderme do hospedeiro, estas promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos (Etapa 2), onde no seu interior se diferenciam em amastigotas (Etapa 3). Estas amastigotas se multiplicam intensamente levando ao rompimento dos macrófagos e

liberação destes parasitas, que serão fagocitadas por novos macrófagos, ocorrendo então a disseminação hematogênica para outros tecidos (Etapa 4). A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas, ao realizarem repasto sanguíneo em mamíferos infectados, ingerem macrófagos parasitados por formas amastigotas de *Leishmania* (Etapa 5). No trato digestivo anterior do inseto ocorre o rompimento dos macrófagos liberando essas formas (Etapa 6) que se reproduzem por divisão binária e diferenciam-se rapidamente em formas flageladas, denominadas de promastigotas (Etapa 7). Estas formas migram para a faringe e durante este processo se transformam em promastigotas metacíclicas, que em seguida alcançam a probóscide do inseto vetor (Etapa 8). Ao contaminar outro hospedeiro o ciclo é reiniciado¹⁵.

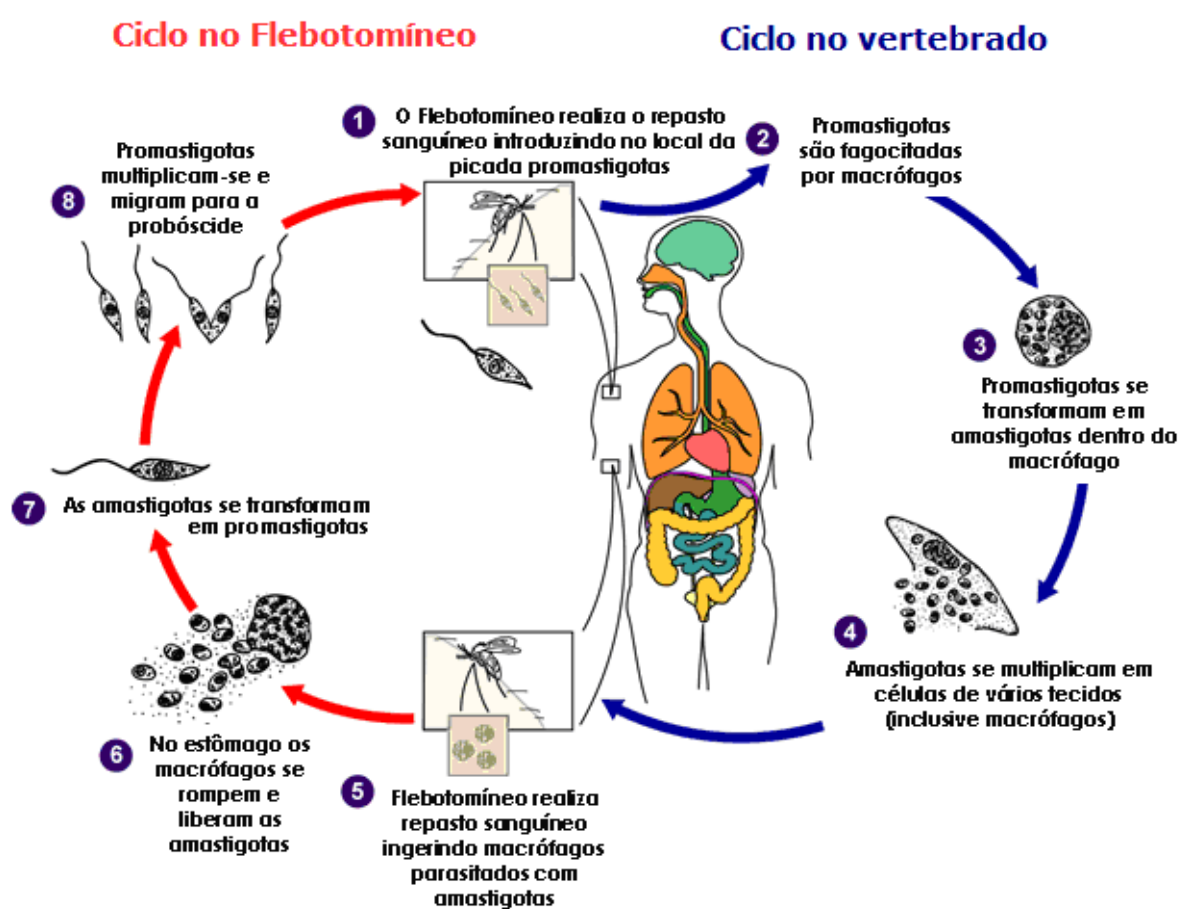


Figura 1.7 Ciclo de transmissão de parasitos do gênero *Leishmania* (Disponível em: <<http://www.medical-look.com/diseasesimages/leishmaniasis.jpg>>. Acessado em: 1 de outubro de 2009).

1.2.3 Formas clínicas das leishmanioses

As leishmanioses possuem um amplo espectro de manifestações clínicas que podem ser divididas em dois grupos: a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e a Leishmaniose Visceral Americana (LVA), também conhecida como calazar. Na Leishmaniose Tegumentar Americana existem as formas cutânea simples, cutânea difusa e a mucocutânea¹⁰.

A forma cutânea simples (Figura 1.8) é tida como uma forma benigna de leishmaniose, e tem o acometimento da pele com lesões indolores, únicas ou múltiplas (segundo o número de picadas do inseto), de bordas elevadas, concentrando-se em partes do corpo como a face, braços e pernas, que tendem a ter cura espontânea ou apresentam uma significativa resposta à terapêutica¹⁶.



Figura 1.8 Leishmaniose Tegumentar Americana – forma cutânea simples (Disponível em: <http://www.stanford.edu/class/humbio153/ImmuneEvasion/images/clip_image005.png>. Acessado em: 1 de outubro de 2009).

A forma cutânea difusa (Figura 1.19) é considerada a forma rara da leishmaniose tegumentar, que se caracteriza pelo maciço comprometimento dérmico, de natureza crônica e com recaídas freqüentes. Esta forma clínica está relacionada com pacientes que apresentam uma deficiência na resposta imunológica quando infectados com os protozoários de *Leishmania*¹⁶.



Figura 1.9 Leishmaniose Tegumentar Americana – forma cutânea difusa (Disponível em: <<http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2036/imagens/fig-09-mat-10.jpg>>. Acessado em: 1 de outubro de 2009).

A forma mucocutânea (Figura 1.10) é caracterizada por lesões que podem levar a destruição total ou parcial das membranas das mucosas do nariz, da boca e cavidades da garganta¹⁶.



Figura 1.10 Leishmaniose Tegumentar Americana – forma mucocutânea (Disponível em: <http://www.stanford.edu/class/humbio153/ImmuneEvasion/images/clip_image005.png>. Acessado em: 1 de outubro de 2009).

A leishmaniose visceral (LV) (Figura 1.11), vulgarmente conhecida como calazar, esplenomegalia tropical ou febre Dundun, caracteriza-se por

uma progressiva alteração do estado geral, com febre, hepatomegalia, esplenomegalia, adenomegalia generalizada, palidez e caquexia, podendo assim ser fatal¹⁷.



Figura 1.11 Leishmaniose Visceral (Disponível em: <http://www.stanford.edu/class/humbio153/ImmuneEvasion/images/clip_image005.png>. Acessado em: 1 de outubro de 2009).

No Brasil, as três principais espécies de *Leishmania* responsáveis pela LTA são: *Leishmania braziliensis*, *Leishmania guyanensis* e a *Leishmania amazonensis*. Estas espécies causam as formas descritas abaixo¹⁶:

- Leishmaniose cutânea: *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. guyanensis*.
- Leishmaniose mucocutânea: *L. braziliensis*.
- Leishmaniose cutânea difusa: *L. amazonensis*

Já para a LV a espécie responsável por ela é a *Leishmania chagasi*¹⁷.

Segundo a Organização Mundial da Saúde 90% dos casos de leishmaniose visceral são registrados em Bangladesh, Brasil, Nepal, Índia e Sudão; 90 % dos casos de leishmaniose mucocutânea ocorrem no Brasil, Bolívia e Peru e 90% dos casos da leishmaniose cutânea ocorrem no Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria ¹⁰.

1.2.4 Leishmanioses no Brasil

No Brasil, o quadro da leishmaniose é preocupante. A incidência de LTA no período de 1990 a 2008 foi de 527.976 casos, onde só em 2008 foram registrados 19.542 casos. Este número de incidências é atribuído, especialmente, a alterações ambientais e comportamentais, incluindo: desmatamento, migração massiva do meio rural para áreas urbanas, urbanização rápida e não planejada. No Brasil (Figura 1.12), a LTA apresenta ampla distribuição por todas as regiões geográficas ¹⁸.

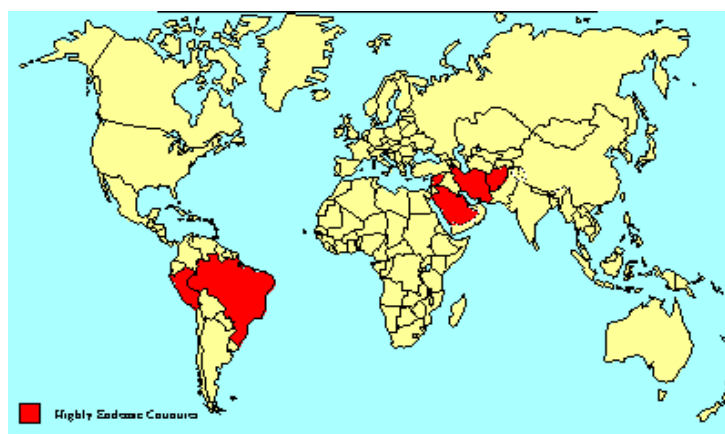


Figura 1.12 Distribuição da Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil e no Mundo (Disponível em: <www.veludo.net/saude/doencas/leishmaniose-parte-ii-distribui-o-mundial-e-no-brasil.html>. Acessado em: 4 de outubro de 2009).

A partir da década de 90, o Ministério da Saúde notificou uma média anual de 32 mil novos casos de LTA. Analisando-se os dados pertinentes em 2008 (Figura 1.13), verificou-se a seguinte situação: a Região Norte notificou aproximadamente 45% dos casos, predominando os estados do Pará e Amazonas; a Região Nordeste, 30% dos casos, principalmente na Bahia e no Maranhão; a Região Centro-Oeste, 14% dos casos, com maior frequência no Mato Grosso; a Região Sudeste, 8% dos casos, predominantemente em Minas Gerais; e a Região Sul, 3%, destacando-se o Paraná¹⁸.

Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008*

Região e UF	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Região Norte	7.318	9.359	9.720	9.739	11.306	13.117	9.987	11.058	6.078	9.129	11.140	8.107	10.207	13.508	13.125	10.679	8.833	9.890	8.777
Rorônia	1346	2118	2220	2822	2249	2499	1738	1.455	1.317	1.737	1.421	1.563	1.812	1.980	2.181	1.668	1.204	971	950
Acre	59	252	403	563	372	365	490	413	280	490	903	717	1.076	1.385	1.532	1.356	1.124	913	995
Amazonas	1733	2590	3424	1982	741	1557	988	2.290	715		1.744	2.153	2.130	3.816	2.212	1.957	1.554	2.219	1.823
Roraima	170	507	492	605	470	251	303	308	244	146	352	454	451	303	160	280	285	340	360
Pará	3269	3196	2236	2543	5748	7064	5042	5.038	2.177	5.051	5.565	2.521	3.741	4.862	5.324	4.345	3.554	4.305	3.616
Amapá	185	394	475	643	895	645	563	902	892	884	592	52	377	555	1162	580	595	667	640
Tocantins	556	302	470	581	831	736	863	642	453	821	563	647	620	607	554	493	517	475	393
Região Nordeste	12.428	12.020	7.140	8.218	14.426	13.887	11.303	11.868	8.455	9.112	13.078	11.149	9.373	7.985	7.863	8.112	6.169	5.925	5.795
Maranhão	3109	3926	2027	2868	6262	4725	3794	4.634	2.355	3.005	4.488	5.658	4.364	3.777	3.072	3.395	2.174	2.335	1.666
Piauí	249	324	161	72	56	40	96	102	96	106	95	164	151	126	117	257	152	108	77
Ceará	3848	2862	1358	1463	1928	4262	2793	2787	1490	1372	3043	2543	2123	1329	2064	1977	1006	935	667
Rio Grande do Norte	20	6	...	13	4	15	42	49	26	13	11	8	5	8	13	10	7	6	7
Paraíba	85	165	342	273	264	196	173	233	113	128	177	50	68	56	74	68	46	60	45
Pernambuco	680	474	378	436	806	891	714	667	643	979	1.149	518	556	558	719	337	413	446	365
Alagoas	28	54	53	71	224	114	81	144	72	156	258	88	80	97	65	57	33	111	96
Serjipe	54	50	24	46	46	52	19	47	34	30	58	93	61	16	7	11	6	4	12
Bahia	4355	4159	2797	2976	4836	3592	3591	3.205	3.626	3.323	3.799	2.027	1.965	2.018	1.732	2.000	2.332	1.920	2.660
Região Sudeste	2.347	3.386	3.854	4.771	3.763	2.605	2.369	2.294	2.945	3.983	2.938	2.112	2.894	3.252	2.540	2.809	2.868	1.898	1.615
Minas Gerais	1338	2134	2504	2547	2040	1574	1504	1.445	1.973	2.701	1.874	1.116	1.610	1.767	1.507	1.802	1.855	1.322	1.149
Espírito Santo	670	728	722	893	490	307	244	404	646	884	548	351	209	234	146	193	241	109	70
Rio de Janeiro	227	319	269	496	396	241	282	302	186	269	250	169	289	226	209	317	283	119	59
São Paulo	112	205	359	835	837	483	339	143	140	129	266	476	786	1.025	678	497	489	348	337
Região Sul	192	139	690	819	1.361	796	617	430	455	460	853	568	943	932	607	541	573	514	625
Paraná	192	139	690	819	1361	794	616	428	453	457	850	553	909	886	579	444	409	438	540
Santa Catarina	0	0	0	0	0	0	1	2	2	3	1	10	14	28	17	84	158	67	79
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	5	20	18	11	13	6	9	6
Região Centro-Oeste	2.468	3.546	3.264	3.907	4.247	5.343	4.721	4.640	2.981	6.384	4.605	4.629	4.839	4.980	4.460	4.388	3.852	3.095	2.730
Mato Grosso do Sul	221	165	304	215	243	568	178	433	256	338	158	372	301	235	192	139	116	99	122
Mato Grosso	2021	3200	2682	3346	3734	4492	4195	3.779	2.283	5.504	3.921	3.816	4.067	4.189	3.752	3.639	3.181	2.715	2.264
Goiás	226	181	277	345	270	281	348	414	440	532	525	411	441	500	458	578	505	246	317
Distrito Federal	0	0	1	1	0	2	0	14	2	10	1	30	30	56	58	32	50	35	27
UF Ignorada	1.033	1.013	887	1.299	1.106	71	105	157	142	156	102	85	0
Brasil	24.753	28.450	24.668	27.454	35.103	35.748	30.030	31.303	21.801	30.367	33.720	26.636	28.361	30.814	28.737	26.685	22.397	21.407	19.542

Figura 1.13 Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil (Fonte: BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas - 1990 a 2008. Brasília, DF, 2009).

No Brasil, a LV clássica acomete pessoas de todas as idades, mas na maior parte das áreas endêmicas, 80% dos casos registrados ocorrem em crianças com menos de 10 anos. No ambiente doméstico, o cão é considerado um importante hospedeiro e fonte de infecção para os vetores, sendo um dos alvos nas estratégias de controle. Estima-se que para cada caso humano de LV, há uma média de pelo menos 200 cães infectados. O primeiro relato de LV no Brasil foi feito em 1934, quando foram encontradas amastigotas de *Leishmania* em cortes histológicos de fígado de pessoas que morreram com suspeita de febre amarela. Somente 20 anos depois é que se registrou o primeiro surto da doença em Sobral, no Ceará. Em meados dos anos 80, constatou-se uma transformação drástica na distribuição geográfica da LV. A doença, antes restrita às áreas rurais do nordeste brasileiro, avançou para outras regiões indenes alcançando inclusive a periferia de grandes centros urbanos. Atualmente, cerca de 90% dos casos de LV das Américas ocorre no Brasil¹⁹. Segundo o Ministério da Saúde, entre 1990 e 2008 foram registrados 56.785 casos de leishmaniose visceral, sendo que aproximadamente 73% destes casos ocorreram na região Nordeste do Brasil, apresentando uma média de 2.310 casos por ano. No ano de 2008 foram registrados 3.303 novos casos de LV, onde a maior incidência dos casos ocorreu nos estados do Maranhão, Ceará e Bahia. A Figura 1.14 mostra o número de casos de LV humana registrados em todo o Brasil de 1990 a 2008²⁰.

Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, segundo UF de residência. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008*

Região e UF	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Região Norte	35	53	99	84	118	117	133	152	112	375	366	299	333	437	543	660	684	743	782
Rorônia'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0
Acre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Amazonas'	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	0	3	0	0	1	1	1	0
Roraima	6	41	62	39	21	49	19	12	8	2	13	4	8	9	15	12	4	2	2
Pará	22	12	31	33	64	20	45	43	46	188	171	140	134	191	372	471	452	320	346
Amapá'	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	1	0	0	0	0	2	1	0
Tocantins	7	0	6	12	33	48	69	97	58	185	182	154	188	237	154	176	225	416	433
Região Nordeste	1.650	1.380	1.657	2.407	3.183	3.519	2.932	2.257	1.688	2.965	4.029	1.673	1.467	1.766	1.954	2.011	1.982	1.533	1.314
Maranhão	91	61	114	575	534	263	144	116	483	724	842	490	555	747	615	555	477	332	439
Piauí	201	86	196	701	778	407	239	205	185	348	404	120	127	252	348	306	242	237	175
Ceará	140	150	159	248	486	490	220	130	158	421	496	231	221	212	296	391	599	499	347
Rio Grande do Norte	74	147	236	132	135	93	71	115	126	276	332	148	68	62	55	48	70	59	69
Paraíba	60	92	81	46	91	127	89	72	22	61	108	94	20	31	28	31	36	23	14
Pernambuco	97	80	60	82	188	273	208	161	110	168	539	228	86	79	85	91	96	72	68
Alagoas	56	32	40	58	71	111	103	87	35	171	285	234	116	49	57	57	49	30	26
Sergipe	82	78	119	98	203	266	210	117	1	102	142	41	30	19	32	42	47	65	29
Bahia	849	654	652	467	697	1.489	1.648	1.254	568	694	881	287	264	315	438	490	366	216	147
Região Sudeste	243	76	96	59	90	171	166	140	89	189	314	240	425	534	782	656	704	633	684
Minas Gerais	226	62	96	58	88	164	166	138	88	160	218	145	298	349	620	484	430	388	431
Espírito Santo	15	13	0	0	0	0	0	1	1	29	4	7	1	4	4	4	1	0	2
Rio de Janeiro	2	1	0	1	2	7	0	1	0	0	4	4	1	2	3	3	9	2	0
São Paulo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88	84	125	179	155	165	264	243	251
Região Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	2	5	3	3	3	1
Paraná'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	3	3	3	2	1
Santa Catarina'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0
Rio Grande do Sul'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Região Centro-Oeste	16	1	18	20	35	78	15	21	88	95	149	123	201	231	289	261	277	289	329
Mato Grosso do Sul	5	1	3	3	27	59	12	18	53	47	82	87	176	190	232	204	209	223	246
Mato Grosso	0	0	0	0	0	0	0	0	13	26	23	18	8	13	20	22	21	31	53
Goiás	11	0	15	17	8	19	3	3	22	22	44	18	17	28	28	26	32	22	26
Distrito Federal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	15	13	4
...	11	2	1	7	6	1	3	193
Brasil	1.944	1.510	1.870	2.570	3.426	3.885	3.246	2.570	1.977	3.624	4.858	2.549	2.450	2.971	3.580	3.597	3.651	3.204	3.303

Figura 1.14 Casos de Leishmaniose Visceral no Brasil (Fonte: BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, segundo UF de residência. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas - 1990 a 2008. Brasília, DF, 2009.).

1.2.5 Leishmanioses na Paraíba

Segundo a Secretaria de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde, no ano de 2008 foram notificados no estado da Paraíba 45 casos de Leishmaniose Tegumentar Americana¹⁸ e 14 casos de Leishmaniose Visceral²⁰ (Figura 1.15). Atualmente o que se pode observar no estado da Paraíba é uma diminuição do perfil no número de casos registrados de LTA e LV no período de 1990 a 2008 (Figura 1.15)^{18,20}, no entanto é importante ressaltar a dificuldade de expressão dos dados tendo em vista a subnotificação, diagnósticos imprecisos e as variações de resposta do hospedeiro.

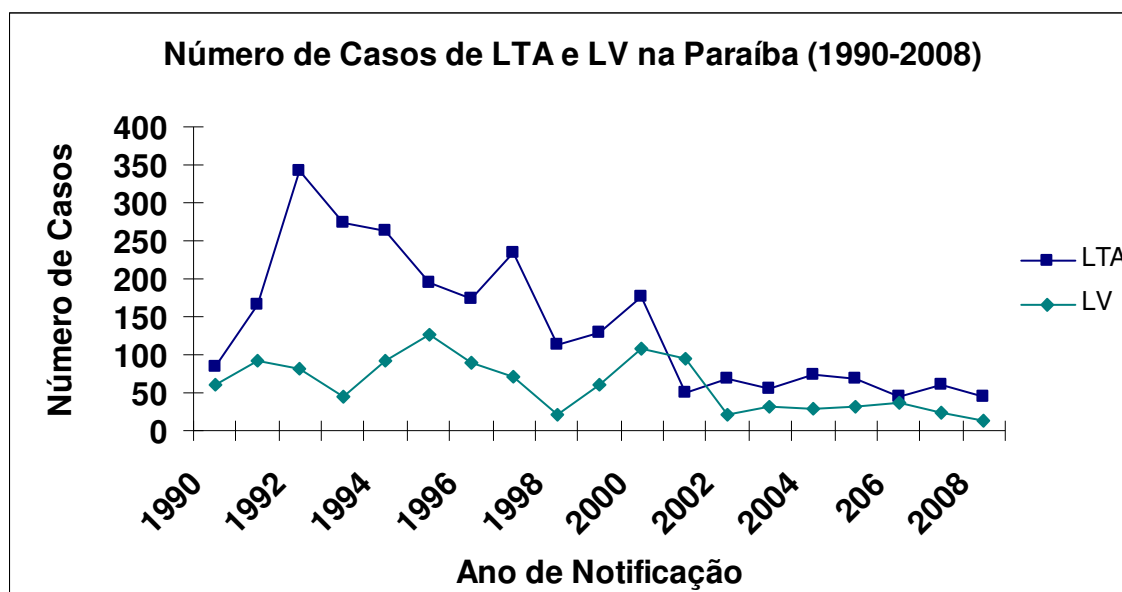


Figura 1.15 Números de casos de LTA e LV na Paraíba no período de 1990 a 2008 utilizando os dados das Figuras 1.13 e 1.14.

1.2.6 Quimioterapia para as leishmanioses

As drogas disponíveis para o tratamento das leishmanioses são em número limitado e apresentam falhas para alcançar a cura dessa parasitose. A principal medida de controle de todas as formas de leishmanioses no homem continua sendo a quimioterapia. Por mais de sessenta anos, o tratamento das leishmanioses vem sendo realizado com antimoniais pentavalentes (Sb^{+5}). O Antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®), mostrado na Figura 1.16, e o Estibogluconato de sódio (Pentostan®), mostrado na Figura 1.17, são os medicamentos de primeira escolha utilizados em todos os países onde as leishmanioses ocorrem. Estas drogas apresentam uma alta toxicidade, custo elevado e difícil administração¹⁰.

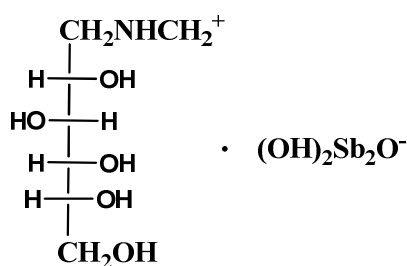


Figura 1.16 Estrutura química do Antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®).

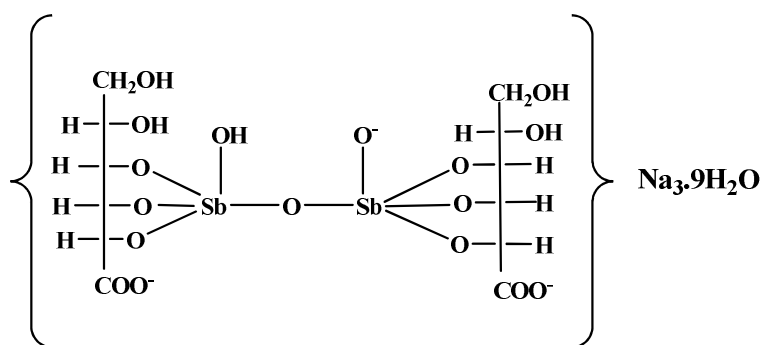


Figura 1.17 Estrutura química do Estibogluconato de sódio (Pentostan®).

O Glucantime® é o fármaco rotineiramente utilizado para todas as formas de leishmanioses no Brasil. Devido a sua baixa absorção oral, esses compostos são administrados por via parenteral (injeção intravenosa ou intramuscular), num período de 20-40 dias, com doses diárias recomendadas entre 10 e 20 mg (Sb^{+5}) Kg^{-1} (Figura 1.18). O tratamento, em alguns casos, pode se estender por mais de quatro meses devido serem cada vez mais freqüentes os casos de resistência aos antimoniais²¹.



Figura 1.18 Tratamento intralesional com antimoniato pentavalente (Sb^{+5}) (Disponível em: <http://www.praticahospitalar.com.br/pratica_%2036/imagens/fig-08-mat-10.jpg>. Acessado em: 04 de outubro de 2009).

A toxicidade apresentada pelos antimoniais pentavalentes é um outro problema encontrado na terapêutica dessa parasitose. Apesar de sua rápida excreção pelos rins, o que evitaria a princípio seu acúmulo no organismo, efeitos colaterais são freqüentes. Estes aparecem principalmente ao final do tratamento e incluem: náuseas, vômitos, diarreia, artralgias, mialgias, anorexia, elevação dos níveis de enzimas hepáticas, anomalias eletrocardiográficas, convulsões, pancreatite química e nefrotoxicidade²². Reclamações de pacientes com sensação de dor no local e no momento da aplicação desses medicamentos também são muito comuns, e contribuem para o abandono do tratamento. No Brasil, o Ministério da Saúde registrou 14 mortes causadas pelo uso de antimoniais

em 2000 e o número aumentou para 17 em 2001²³. Uma outra limitação no emprego dos antimoniais é o crescente surgimento de linhagens do parasita resistentes ao medicamento.

A droga de segunda escolha comumente utilizada no Brasil é a Anfotericina B (Figura 1.19). Este medicamento é efetivo na forma mucosa de leishmaniose, mas muito tóxica e também passível de recidiva. Seu uso é limitado por suas reações adversas, incluindo anafilaxia, trombocitopenia, dor generalizada, convulsões, calafrio, febre, flebite, anemia, anorexia e diminuição da função tubular renal²⁴. As mais novas formulações de Anfotericina B (anfotericina B-lipossomal e anfotericina B-dispersão coloidal) são mais eficazes, pois retêm sua atividade biológica e apresentam uma significativa diminuição na sua toxicidade. Entretanto, estas formulações são muitas caras, tornando o seu uso inacessível em regiões endêmicas²⁵.

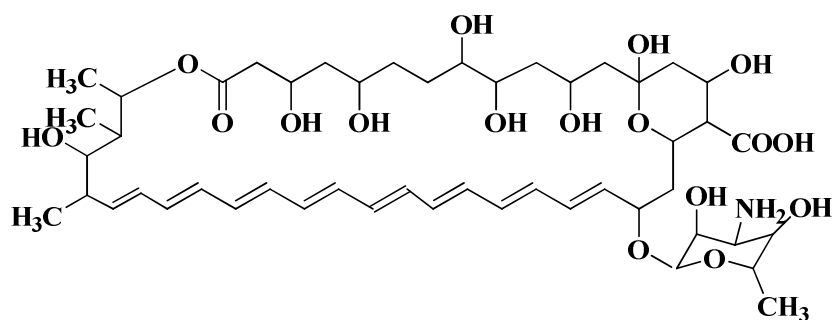


Figura 1.19 Estrutura química da Anfotericina B.

Uma outra droga de segunda escolha para o tratamento das leishmanioses é o Isetionato de Pentamidina (Figura 1.20). Sua eficácia é inferior a dos antimoniais pentavalentes e da Anfotericina B e seus parafefeitos são maiores. Têm sido implicados à pentamidina efeitos colaterais que são divididos em imediatos e tardios. Os efeitos imediatos incluem hipotensão, náuseas, vômitos e síncope. Já são bem conhecidos os efeitos sistêmicos no metabolismo da glicose, tais como hipoglicemia, que chega a 8% dos casos, e o efeito diabetogênico, em fase mais tardia,

atingindo 5% dos pacientes, sendo a alteração renal a mais freqüente, chegando a 23%²⁶.

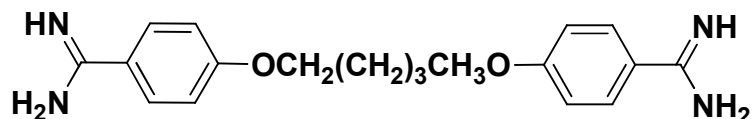


Figura 1.20 Estrutura química do Isetionato de Pentamidina.

A Miltefosina (Figura 1.21) foi à primeira droga de uso oral usada no tratamento da LV. Na LV causada por *L. donovani* na Índia, os resultados foram bastante promissores. Os mecanismos de ação da Miltefosina contra *Leishmania* ainda não são bem entendidos. Sabe-se que esta droga é capaz de bloquear a síntese e alterar a composição da membrana do parasita. Existem poucos efeitos adversos tais como vômito e diarréia. Em relação à LTA, estudos utilizando a Miltefosina no tratamento da forma cutânea da doença, resultaram em boa eficácia contra *L. panamensis*, mas para *L. braziliensis*, não houve eficiência adequada²⁷. São necessários maiores estudos com esta medicação para verificar sua eficiência, em relação às espécies de *Leishmania* existentes no Brasil. Contudo, já está sendo relatada resistência dos parasitas à Miltefosina. Os possíveis mecanismos de resistência incluem redução da droga, uma permeabilidade da membrana diferenciada, rápido metabolismo da droga e efluxo da mesma²⁸.

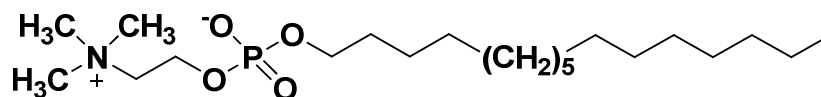


Figura 1.21 Estrutura química da Miltefosina.

Um outro fator limitante na terapêutica da leishmaniose é a grande ocorrência desta doença em zonas rurais do Brasil, o que dificulta a assistência aos pacientes que têm que se deslocar até um centro de saúde

(e muitas vezes, permanecer) para receber o tratamento sob controle médico. Nesse contexto, os casos de interrupção de tratamento se tornam freqüentes, o que tende a aumentar os reservatórios e o aparecimento de resistência.

Tendo em vista todas essas limitações apresentadas pelos medicamentos, associada à crescente ocorrência destas enfermidades, a OMS incentiva o investimento em pesquisas de novas drogas, que apresentem: menor custo de produção, baixa toxicidade, redução dos efeitos colaterais e vias de administração menos dolorosa, estimulando a continuidade do tratamento pelo paciente.

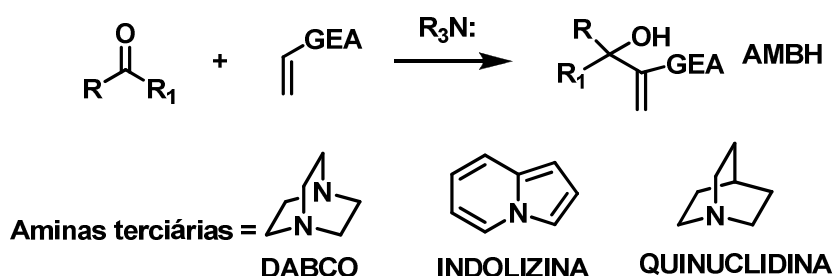
1.3 Reação de Morita-Baylis-Hillman

A formação da ligação entre carbonos está entre uma das metodologias sintéticas mais importantes na química orgânica. O desenvolvimento de métodos eficientes e seletivos para este tipo de transformação vem sendo um desafio para os químicos orgânicos. Dentre as principais reações utilizadas para este tipo de acoplamento estão a reação aldólica, a reação de Grignard, a reação de Diels-Alder, a reação de Wittig e a reação de Fiedel Crafts²⁹.

Dentro deste contexto, a reação de Morita-Baylis-Hillman (RMBH) vem sendo tratada como uma metodologia importante e atraente para a formação de ligação C-C³⁰. Ignorada por muito tempo depois de sua descoberta em 1968 por Morita (reação catalisada por fosfina) e em 1972 por Baylis e Hillman (reação catalisada por amina), esta reação e suas aplicações receberam interesse crescente desde a metade dos anos noventa, e vem sendo aplicada a uma larga variedade de substratos, permitindo a preparação de várias famílias de moléculas. Outra razão para o interesse nesta reação, é o fato de que é possível converter materiais

baratos, sob ação de um catalisador apropriado, em compostos altamente funcionalizados (adutos de Baylis-Hillman), sendo amplamente utilizados como substratos na síntese de produtos naturais e sintéticos³¹.

Esta reação (Esquema 1.1) consiste basicamente no acoplamento entre aldeídos, cetonas ou iminas à alcenos ligados a grupos elétrôn- atratores (GEA), em presença de uma amina terciária como catalisador nucleofílico, sendo o 1,4 - diazabicyclo [2.2.2]octano (DABCO) o mais comum entre os catalisadores, levando aos correspondentes adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH)^{29, 32}.



Esquema 1.1 Esquema geral da reação de Morita-Baylis-Hillman $\text{R}, \text{R}_1 = \text{H}$, alquil, aril, heteroaril. $\text{GEA} = \text{CO}_2\text{R}, \text{COR}, \text{CN}$, outros.

Entre as vantagens desta reação, podemos destacar: a formação direta dos AMBH; a completa economia de átomos, isto é, todos os átomos dos reagentes estão incorporados no produto; a possibilidade de ser feita em meio aquoso ou na ausência de solvente e geração de produtos multifuncionalizados com grande potencial sintético. Este é um tipo de reação classificado como química limpa ou química verde (“green chemistry”)³³.

A reação de Baylis-Hillman apresenta como inconveniente a velocidade de reação, sendo já descritos na literatura a necessidade de até 65 dias de reação^{29,32}. Entretanto, devido às inúmeras vantagens, pesquisas têm sido realizadas focando o desenvolvimento de condições experimentais para acelerar esta reação, por exemplo, o uso de catalisadores³⁴, microondas³⁵, alta pressão, ultra-som³⁶, líquidos iônicos³⁷, entre outras estratégias³².

1.3.1 Histórico

Este tipo de reação foi realizado pela primeira vez em 1968 por Morita e colaboradores, na qual fosfinas terciárias foram utilizadas como catalisadores, gerando produtos polifuncionalizados³¹.

Em 1972, Baylis e Hillman³⁸ realizaram essa mesma reação utilizando alcenos ativados (incluindo ésteres α,β -insaturados, amidas, nitrilas e cetonas) com uma variedade de aldeídos, sob influência catalítica de aminas terciárias cíclicas como, por exemplo, o DABCO, a Indolizina e a Quinuclidina. As aminas têm a vantagem de serem menos tóxicas e apresentarem maior facilidade de remoção quando comparadas as fosfinas.

Esta reação foi então denominada de Reação de Morita-Baylis-Hillman, devido às contribuições dadas por estes três pesquisadores. Entretanto, atualmente ela é conhecida simplesmente como Baylis-Hillman, omitindo injustamente a contribuição dada por Morita²⁹.

Apesar da natureza econômica de átomos desta reação e sua possibilidade de possuir alto potencial sintético, esta reação não recebeu atenção dos químicos orgânicos durante uma década e foi ignorada por muito tempo depois de sua descoberta²⁹.

Em 1982, Drewes e Emslie³⁹ descreveram pela primeira vez a reação do acrilato de etila com o acetaldeído sob influência de DABCO, em que o aduto obtido foi posteriormente empregado na síntese do ácido integerrinécico.

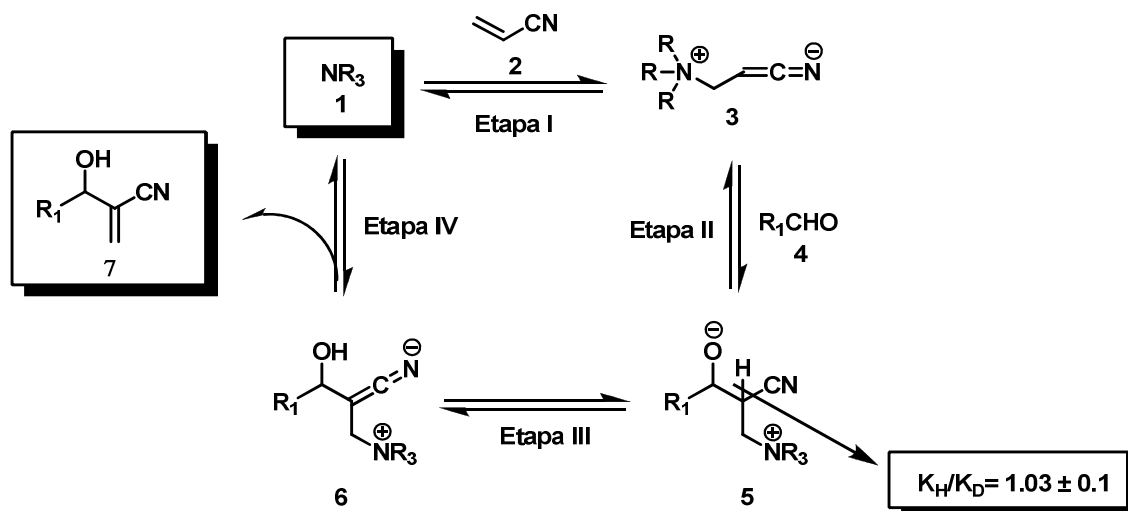
No ano seguinte Hoffmann e Rabe⁴⁰ relataram uma interessante reação entre acrilatos de metila/terc-butila e vários aldeídos sob a influência catalítica de DABCO, fornecendo os correspondentes adutos acrilados, na qual um destes adutos foi elegantemente aplicado na síntese racêmica do ácido mikanécico.

Relatos posteriores feitos por Perlmutter, Basavai, Villieras, Isaacs, Knochel e outros, realmente mudaram o destino dessa reação e a

transformaram em uma ferramenta muito útil e promissora para a construção de ligações carbono-carbono na química sintética²⁹.

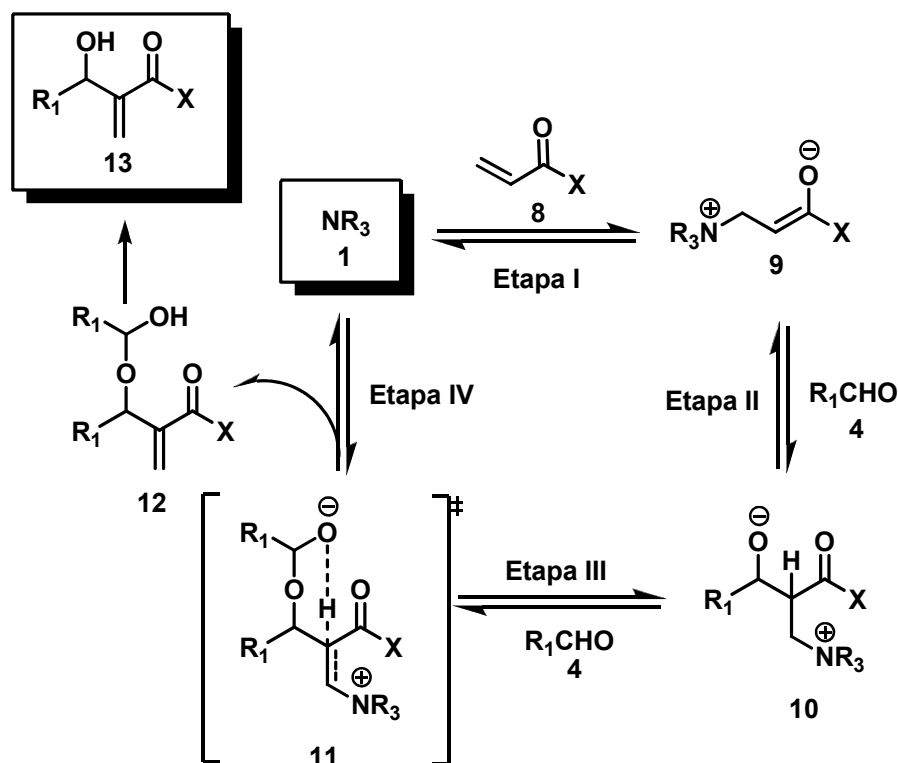
1.3.2 Aspectos Mecanísticos

Hoffmann⁴⁰ em 1983 foi o primeiro a propor um mecanismo para a reação de MBH, pela qual foi refinada de dados cinéticos realizados por Hill e Isaacs⁴¹ (Esquema 1.2). A primeira etapa desta reação envolve uma adição de Michael da amina terciária **1** ao alceno ativado **2** gerando um intermediário zwitterionico **3**. A segunda etapa, consiste de uma adição aldólica de **3** ao aldeído **4** gerando um segundo intermediário zwitterionico **5**. A terceira etapa envolve uma transferência de próton intramolecular de **5** formando **6**. A quarta etapa consiste da eliminação da amina terciária, devolvendo **1** ao ciclo catalítico e gerando o aduto de MBH **7**. Estudos cinéticos realizados por Hill e Isaacs ($k_H/k_D = 1.03 \pm 0.1$, usando acrilonitrila como nucleófilo para a reação de MBH), mostraram que a etapa determinante da reação de Baylis-Hillman corresponde ao ataque nucleofílico do enolato **3** ao aldeído **4** (Etapa II).



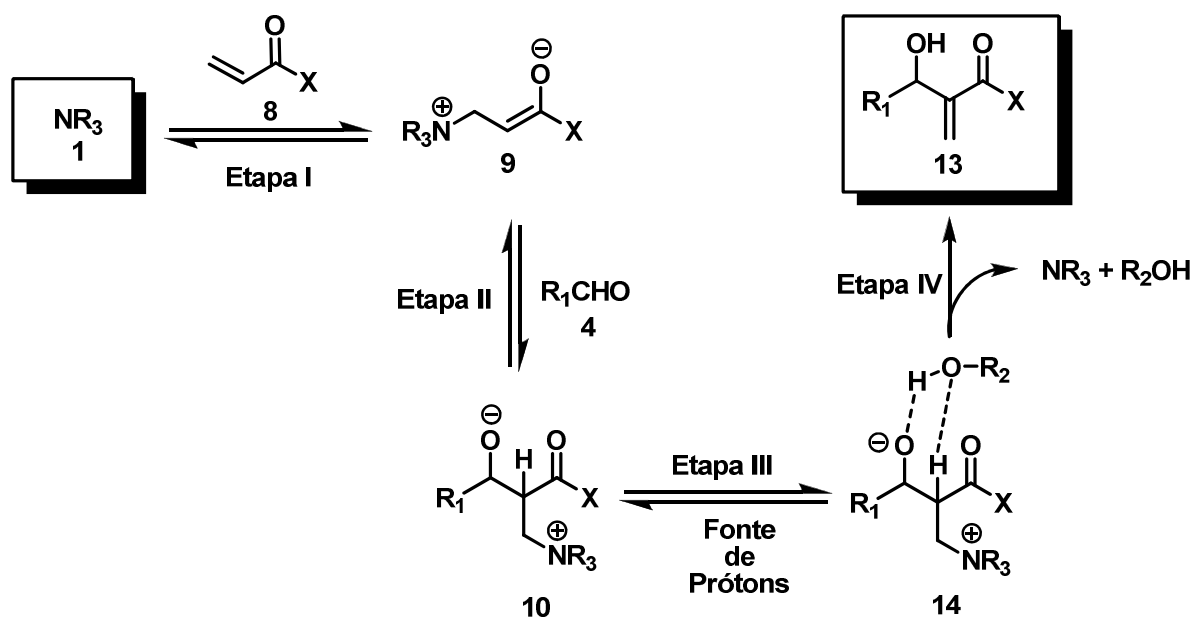
Esquema 1.2 Primeiro Ciclo Catalítico Proposto por Hoffmann/Hill e Isaacs para a Reação de Morita Baylis-Hillman.

Em 2005, McQuade⁴² propôs um novo mecanismo envolvendo um hemiacetal como intermediário, dando enfoque na etapa de próton-transferência. Este mecanismo foi baseado em estudos cinéticos em solventes apróticos, onde a reação de MBH se mostrou de segunda ordem em relação ao aldeído (mostrando um efeito isotópico cinético significativo, $k_H/k_D = 5.2 \pm 0.6$ em DMSO), e de primeira ordem em relação ao DABCO e ao acrilato utilizado. Baseado nestes novos dados, McQuade propôs uma nova visão mecanística passando pela etapa de próton-transferência, suggestionando a etapa IV como determinante da reação (Esquema 1.3). A proposta mecanística de McQuade envolve inicialmente as duas etapas proposta por Hill e Isaacs. A terceira etapa seria a inclusão de um segundo equivalente do aldeído **4** gerando um hemiacetal **11** como intermediário. A etapa determinante da reação (etapa lenta) seria a transferência de próton intramolecular que ocorre num estado de transição de seis membros **11**, diferente daquilo que foi proposto por Hill e Isaacs. Em seguida, ocorre a eliminação da amina e a formação do produto **12**, que posteriormente é convertido no aduto de Morita-Baylis-Hillman **13**.



Esquema 1.3 Proposta mecanística de McQuade, envolvendo uma etapa de próton-transferência, passando por estado um de transição de seis-membros formado com uma segunda molécula de aldeído.

Em 2007, Aggarwal⁴³ também baseado em estudos cinéticos, executou um estudo teórico extenso que apoiou suas próprias observações cinéticas, como também as observações proposta por McQuade sobre a etapa de próton-transferência. Aggarwal sugeriu que a etapa IV poderia proceder por dois caminhos diferentes, sendo eles: (a) na ausência de uma fonte de próton, a troca de próton é ajudada por uma segunda molécula de aldeído, passando pelo intermediário **11**, como propôs McQuade; ou (b) na presença de uma fonte de próton, como um álcool, a troca de próton procede por um intermediário **14**, onde o álcool atua como um transportador de prótons do carbono para o oxigênio como mostra o Esquema 1.4.



Esquema 1.4 Proposta mecanística de Aggarwal, envolvendo um estado de transição que utiliza um álcool como transportador de prótons.

Em 2009, Amarante⁴⁴ investigou o mecanismo de MBH utilizando espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI-MS), e foram capazes de caracterizar intermediários chave da reação de MBH. ESI-MS é uma técnica rápida e de alta sensibilidade que pode permitir aos intermediários de curta duração, a transferência eficaz da solução de reação para a fase gasosa. Esta técnica permitiu instantâneas e coerentes composições iônicas da solução de reação, funcionando assim como um interessante método de caracterização de íons ("pescador de íons") e uma ferramenta importante para a solução de estudos mecanísticos de Química e Bioquímica.

Novos intermediários da RMBH foram interceptados e estruturalmente caracterizados pela técnica ESI-MS(/MS). Intermediários **11** (m/z 433) e **14** (m/z 337), que apóiam as proposições mecanísticas feitos recentemente por McQuade e Aggarwal, foram interceptados e caracterizados, como mostra as Figuras 1.22 e 1.23.

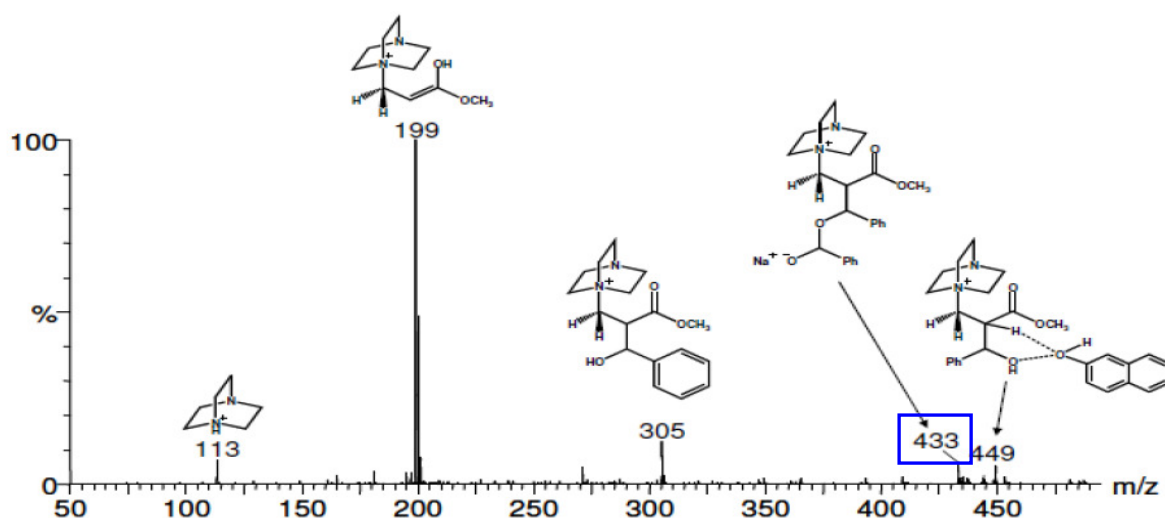


Figura 1.22 Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) em presença de β -naftol. (Fonte: AMARANTE, G. W., MILAGRE, H. M. S., VAZ, B. G., VILACHÃ, B. R. F., EBELIN, M. N., COELHO, F., Dualistic nature of the mechanism of the Morita-Baylis-Hillman reaction probed by electrospray ionization mass spectrometry, *J. Org. Chem.*, 74, 3031, 2009).

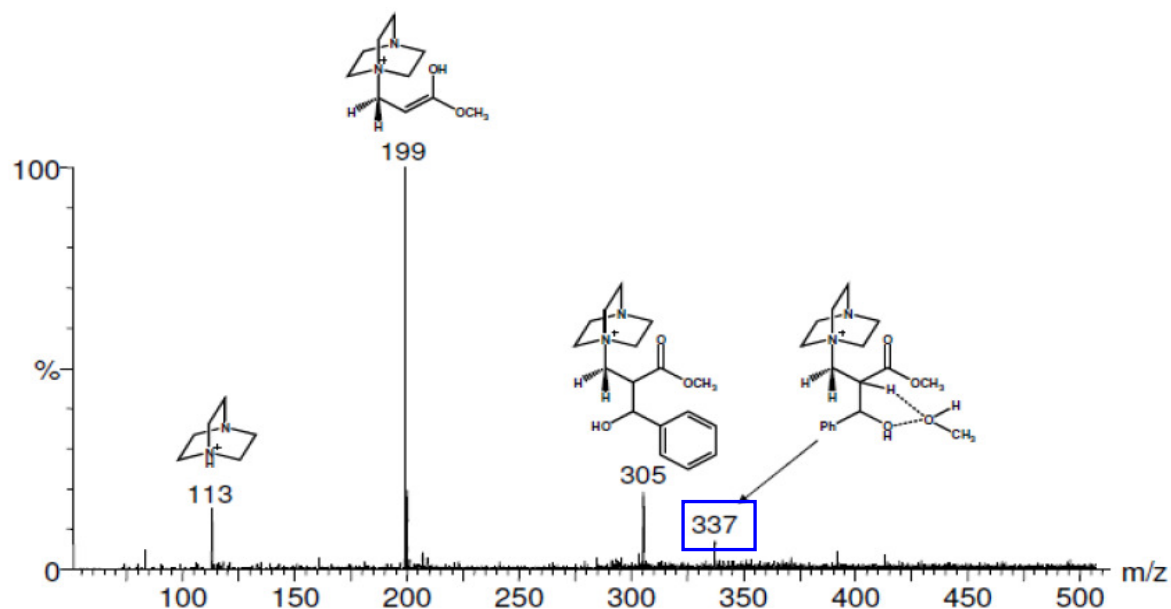


Figura 1.23 Espectro ESI-MS da RMBH entre benzaldeído (3 equiv.) e acrilato de metila (1 equiv.) usando metanol como solvente. (Fonte: AMARANTE, G. W., MILAGRE, H. M. S., VAZ, B. G., VILACHÃ, B. R. F., EBELIN, M. N., COELHO, F., Dualistic nature of the mechanism of the Morita-Baylis-Hillman reaction probed by electrospray ionization mass spectrometry, *J. Org. Chem.*, 74, 3031, 2009).

A “pesca” e caracterização estrutural destes intermediários chave, exemplifica o complexo equilíbrio que acontece durante as RMBH. A interceptação dos intermediários **11** e **14** confirmam a natureza dualística da etapa lenta de próton transferência. Estes resultados podem também ajudar a desenvolver versões gerais assimétricas da RMBH, que poderão considerar todos os principais equilíbrios, e usar um rápido e eficiente transferidor de prótons.

1.3.3 Adutos de Morita-Baylis-Hillman e atividade Biológica

Os AMBH vêm sendo aplicados como precursores em muitas metodologias de síntese orgânica, sendo amplamente utilizados como matéria-prima para a síntese de produtos naturais que apresentam importantes atividades biofarmacodinâmicas²⁹.

Os primeiros relatos a respeito da atividade biológica dos AMBH foram registrados em 1999 por Kundu e colaboradores⁴⁵, que realizaram a bioavaliação de alguns AMBH contra *Plasmodium falciparum*, o principal parasita causador da malária. Dos adutos bioavaliados por Kundu, todos apresentaram atividade antimalarial, sendo os adutos **14** e **15** os mais ativos (Figura 1.24). Até a presente data, os AMBH vinham sendo utilizados somente como matérias de partida para sínteses totais de produtos naturais. Este foi o primeiro relato de um AMBH formado em uma única etapa, que apresentou alguma atividade biofarmacológica.

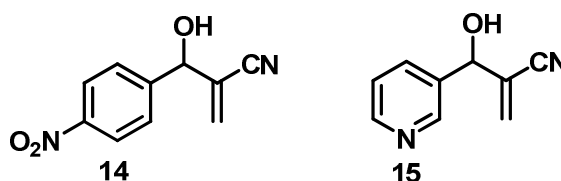


Figura 1.24 Adutos mais ativos frente *P. falciparum*.

Em 2005, Narender e colaboradores⁴⁶ apresentaram seis AMBH com atividade antimalarial (Figura 1.25). Os adutos foram sintetizados utilizando 2-cloronicotinaldeídos substituídos como matéria-prima, obtendo os adutos mostrados abaixo em bons rendimentos (97-98%). As combinações **17**, **18** e **20** exibiram uma atividade relativamente significativa em relação ao crescimento do parasita.

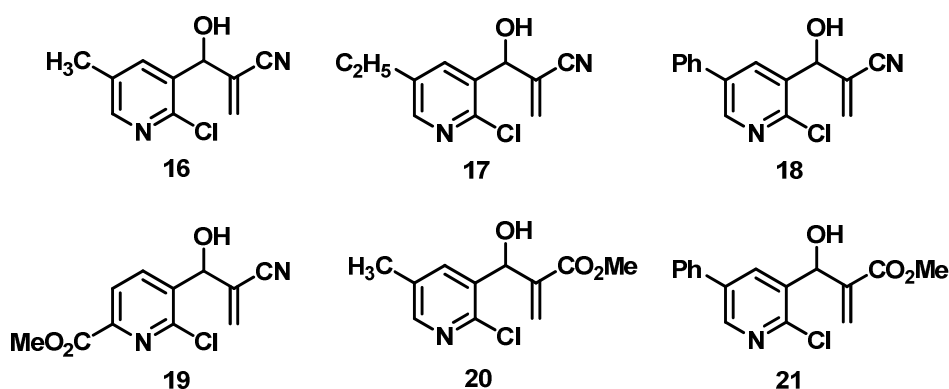


Figura 1.25 Adutos antimalariais derivados de 2-cloronicotinaldeídos substituídos.

Em 2006, Vasconcellos e colaboradores⁴⁷ apresentaram resultados da avaliação de dez AMBH (Figura 1.26) contra *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário da esquistossomose. Os adutos **14**, **22** e **28** apresentaram a mais alta atividade moluscicida para esta série de combinações.

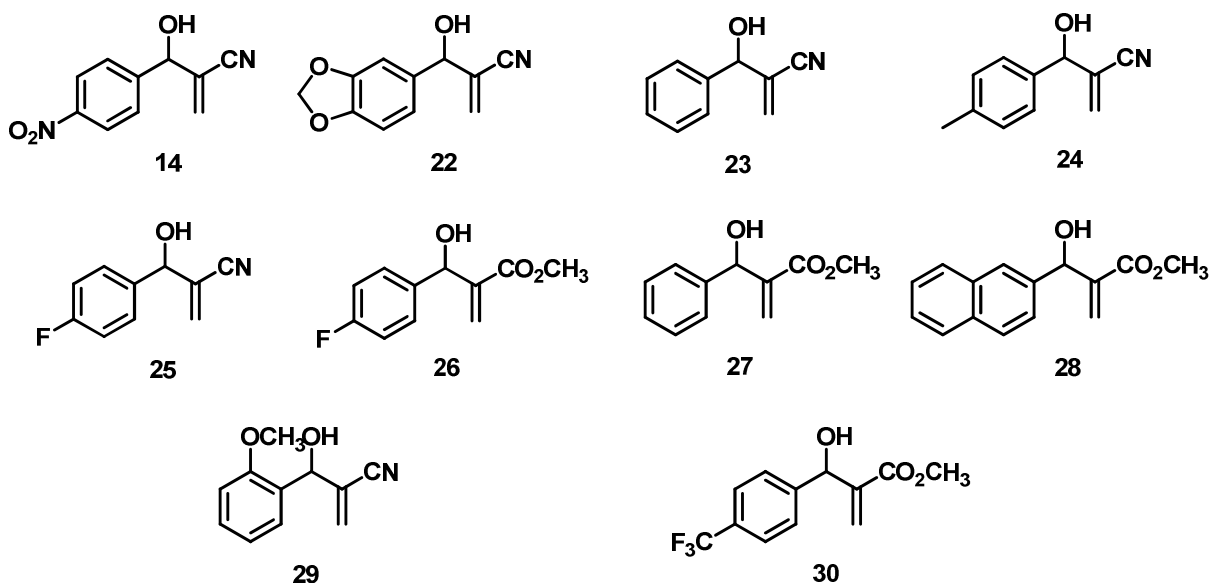


Figura 1.26 Adutos de Baylis-Hillman avaliados contra *Biomphalaria glabrata*.

Neste mesmo ano, Kohn e colaboradores⁴⁸ descreveram a atividade antineoplásica de alguns AMBH. Neste trabalho, foi observado que os adutos aromáticos eram mais bioativos do que os alifáticos. As relações de estrutura-atividade biológica (SAR) indicaram que a máxima atividade antiproliferativa, estava relacionada com a presença de grupos elétron-retiradores no anel aromático. Por outro lado, a presença de grupos elétron-doadores apresentaram uma atividade muito baixa ou foram destituído de atividade citotóxica significativa.

Em 2007, Vasconcellos e colaboradores⁴⁹ descreveram pela primeira vez a atividade antileishmania *in vitro* de 16 AMBH (Figura 1.27) contra as formas amastigota e promastigota de *Leishmania amazonensis*. Estes adutos apresentaram alta atividade leishmanicida e pequena toxicidade quando comparada com a droga de referência Pentostam[®]. Sendo os adutos **14**, **32**, **30**, **34**, **37** e **38** os mais ativos contra a forma amastigota de *L. amazonensis*.

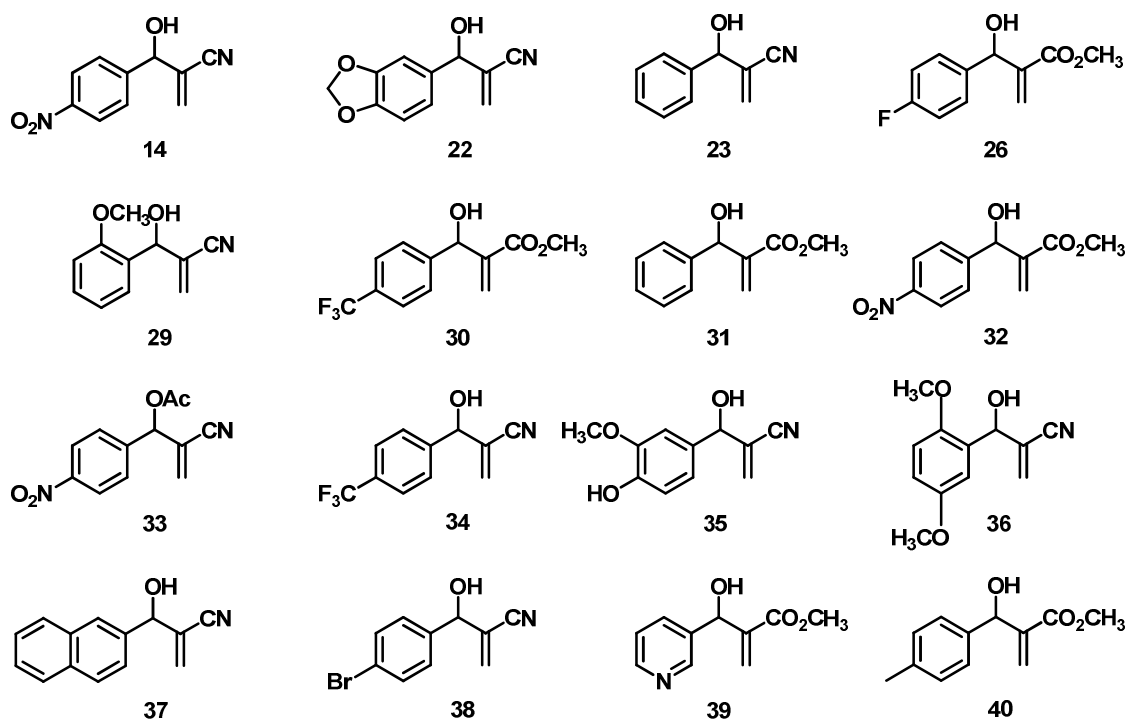


Figura 1.27 Adutos de Baylis–Hillman avaliados contra as formas amastigota e promastigota de *Leishmania amazonensis*.

O composto **38** apresentou alta potencialidade em relação aos demais adutos, apresentando baixo valor de IC_{50} ($IC_{50}=12.5\mu M$) e não apresentando citotoxicidade em macrófagos. Foi realizada a medida de liberação da enzima LDH (lactato desidrogenase) como ensaio para a medição da citotoxicidade destes adutos, e o aduto **38** não apresentou rompimento de células saudáveis, demonstrando sua alta seletividade frente ao parasita.

Em 2009, Vasconcellos e colaboradores⁵⁰ relataram a forte atividade de sete adutos de Baylis-Hillman (Figura 1.28) contra a forma promastigota de *L.chagasi*, a principal espécie causadora de Leishmaniose Visceral no Brasil. Entre estes sete compostos, o aduto **38** se mostrou ser o mais ativo ($IC_{50}=25.2\mu M$).

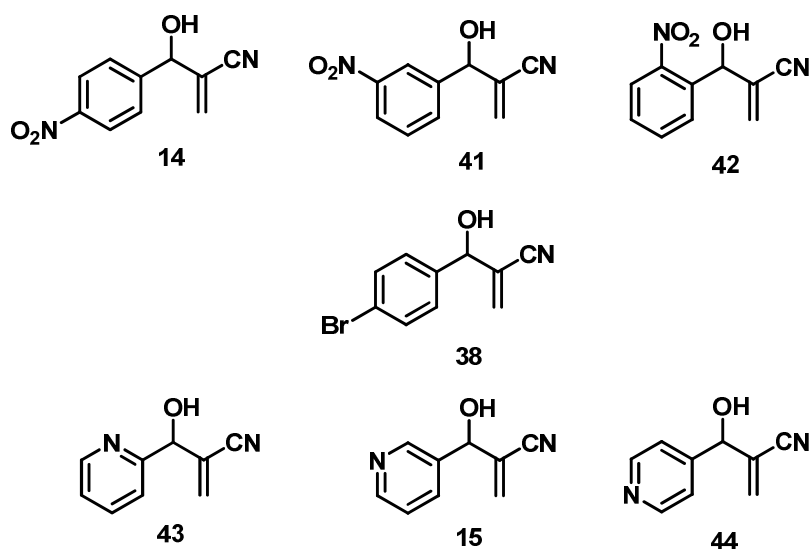


Figura 1.28 Adutos de Baylis–Hillman avaliados contra a forma promastigota de *Leishmania chagasi*.

Todos estes trabalhos vêm indicando potencialidade dos AMBH (diretamente preparados em uma única etapa sintética) como uma nova classe promissora de quimioterápicos.

1.4 A Química Medicinal

A Química Medicinal é tipicamente interdisciplinar e está voltada para racionalizar a ação dos fármacos a nível molecular⁵¹. Segundo a IUPAC, a Química Medicinal é uma disciplina baseada na química, envolvendo aspectos das ciências biológicas, médicas e farmacêuticas, cuja missão é o planejamento, descoberta, invenção, identificação, preparação de compostos biologicamente ativos (protótipos), estudo do metabolismo, interpretação do mecanismo de ação a nível molecular e a construção das relações entre a estrutura química e a atividade farmacológica⁵².

A interdisciplinaridade da Química Medicinal transita entre subáreas da Química e da Biologia. Através da aproximação destas duas grandes áreas do conhecimento, aparentemente distintas e distantes, as condições necessárias e essenciais à interação dos químicos medicinais e dos farmacologistas foram criadas, conduzindo à descoberta de novos fármacos, inovações terapêuticas autênticas e com padrões moleculares originais, atuando em muitos casos, por mecanismos farmacológicos de ação inéditos⁵².

Um projeto de Química Medicinal compreende as etapas de descoberta, otimização e desenvolvimento do protótipo⁵².

Entende-se por descoberta a etapa destinada à eleição do alvo terapêutico, útil para o tratamento de uma determinada fisiopatologia. Nesta etapa, são utilizadas estratégias de modificação molecular clássicas da Química Medicinal como ferramentas para o Design de novas moléculas. Dentre os métodos de obtenção de novos fármacos, a modificação ou variação molecular, utilizando os conceitos de bioisosterismo, homologação, simplificação e hibridação molecular, vem sendo a metodologia mais utilizada. Outra ferramenta que vem se mostrando bastante útil na descoberta de novas moléculas é o emprego de técnicas computacionais como a modelagem molecular e o QSAR⁵².

A etapa de otimização compreende o melhoramento da estrutura do protótipo, através de modificações planejadas com auxílio de técnicas definidas. Estas podem identificar os diferentes níveis de contribuição farmacofórica, fornecer informações sobre a conformação bioativa e antecipar o índice de reconhecimento molecular pelo alvo selecionado. Todas essas informações visam o aumento da potência, seletividade, diminuição da toxicidade, adequação do perfil farmacocinético (**a**bsorção, **d**istribuição, **m**etabolismo, **e**xcreção e **t**oxicidade, ADMET) e estabelecimento da SAR⁵².

Entre todas as propriedades estruturais que se deva conhecer do composto-protótipo, de maneira a poder otimizá-lo a nível molecular, aquelas relacionadas à fase farmacocinética (PK, Figura 1.29) são

relevantes de serem consideradas. O conhecimento do coeficiente de partição (Log P) e do pK_a (Figura 1.29) são propriedades estruturais úteis que estão relacionadas ao padrão de estabilidade e absorção que os compostos em estudo poderão apresentar nos diferentes compartimentos biológicos. A solubilidade (Figura 1.29) e a capacidade de biotransporte (Figura 1.29) através biomembranas celulares são fatores determinantes que poderão influenciar na definição de novas modificações moleculares a serem realizadas nas estruturas dos compostos-protótipo descobertos⁵¹.

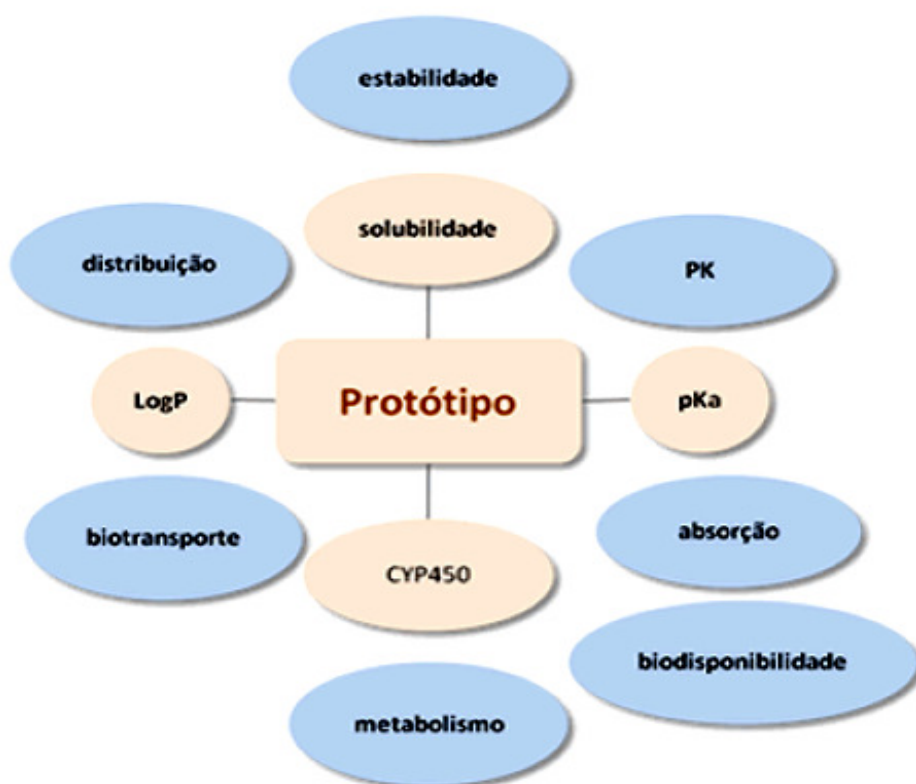


Figura 1.29 Propriedades estruturais essenciais ao novo composto-protótipo descoberto (Fonte: BARREIRO, E. J., A Química Medicinal e o paradigma do composto-protótipo, Revista Virtual de Química, 1 (1), 26-34, 2009).

A etapa de desenvolvimento do protótipo objetiva a otimização de suas propriedades ADMET e farmacêuticas (solubilidade, odor, sabor), de modo a viabilizar seu uso clínico, através da preparação eventual de pró-

fármacos, complexos de inclusão, microemulsões, formulações de liberação lenta, entérica etc.⁵².

A necessidade de novas substâncias terapêuticas mais eficazes, com baixa toxicidade e maior especificidade, tem levado pesquisadores a intensificar os estudos para a descoberta de novos fármacos⁵³.

1.5 Bioisosterismo

O Bioisosterismo é uma estratégia da Química Medicinal utilizada para o planejamento racional de novas drogas, sendo este aplicado a uma substância protótipo (SP), como um processo especial de modificação molecular. A modificação molecular fundamentada no bioisosterismo tem permitido a identificação de novos derivados terapeuticamente úteis. O sucesso desta estratégia no desenvolvimento de novas substâncias, resultou num crescimento significativo em classes terapêuticas distintas, sendo amplamente usado pela indústria farmacêutica na descoberta de novos análogos terapêuticos⁵⁴.

O bioisosterismo resultou da aplicação do princípio do isosterismo, desenvolvido por Langmuir⁵⁵, em moléculas de substâncias bioativas. Em 1919, esse pesquisador estudava o comportamento químico e a reatividade de determinadas substâncias que possuíam átomos ou grupos com o mesmo número de elétrons de valência – portanto, isoeletrônicos (Figura 1.30).

Grupos	Isosteros
1	H ⁻ , He, Li ⁺
2	O ²⁻ , F ⁻ , Ne, Na ⁺ , Mg ²⁺ , Al ³⁺
3	S ²⁻ , Cl ⁻ , Ar, K ⁺ , Ca ²⁺
4	Cu ²⁻ , Zn ²⁺
↓	↓
8	N ₂ , CO, CN ⁻
9	CH ₄ , NH ⁴⁺
10	CO ₂ , N ₂ O, N ³⁻ , CNO ⁻
↓	↓
20	MnO ⁴⁻ , CrO ₄ ²⁻
21	SeO ₄ ²⁻ , AsO ₄ ³⁻

Figura 1.30 Isosterismo desenvolvido por Langmuir (Fonte: PATANI, G. A., LAVOIE, E. J., Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design, Chemical Reviews, 96, 3147-3176, 1996).

O bioisosterismo, em suas primeiras aplicações como estratégia de modificação molecular de substância protótipo, beneficiou-se enormemente da regra do hidreto. Uma regra empírica, formulada por Grimm⁵⁶ em 1925. Essa regra estabelece que a adição de um átomo de hidrogênio com um par de elétrons (hidreto) a um átomo, fornece um pseudo-átomo, o qual apresenta as mesmas propriedades físicas daqueles presentes na coluna imediatamente posterior da Tabela Periódica do átomo inicial (Figura 1.31).

C	N	O	F	Ne	Na
	CH	NH	OH	FH	-
		CH ₂	NH ₂	OH ₂	FH ₂ ⁺
			CH ₃	NH ₃	OH ₃ ⁺
				CH ₄	NH ₄ ⁺

Figura 1.31 Regra do hidreto de Grimm (Fonte: PATANI, G. A., LAVOIE, E. J., Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design, Chemical Reviews, 96, 3147-3176, 1996).

Em 1932, Erlenmeyer⁵⁷ amplia o conceito de isosterismo, definindo isósteros como átomos, íons ou moléculas que apresentam a camada periférica de elétrons idênticas (Figura 1.32). Sua contribuição inclui a

proposição de que elementos da mesma coluna na Tabela Periódica são isósteros entre si.

Número de elétrons periféricos				
4	5	6	7	8
N ⁺	P	S	Cl	ClH
P ⁺	As	Se	Br	BrH
S ⁺	Sb	Te	I	IH
As ⁺		PH	SH	SH ₂
Sb ⁺			PH ₂	PH ₃

Figura 1.32 Isosterismo de Erlenmeyer (Fonte: PATANI, G. A., LAVOIE, E. J., Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design, Chemical Reviews, 96, 3147-3176, 1996).

Em 1951, Friedman⁵⁸ introduziu o termo bioisoterismo para descrever o fenômeno observado entre substâncias estruturalmente relacionadas que apresentavam propriedades biológicas similares ou antagônicas. Para Friedman, o bioisosterismo consistia da troca de um átomo ou subunidades estruturais, por outros átomos, similares em distribuições eletrônicas.

Em 1970, Burger⁵⁹ classificou e subdividiu os bioisósteros em duas grandes categorias:

1. Bioisósteros Clássicos (Figura 1.33)
 - 1.1 Átomos ou grupos monovalentes
 - 1.2 Átomos e grupos divalentes
 - 1.3 Átomos e grupos trivalentes
 - 1.4 Átomos tetraivalentes
 - 1.5 Anéis equivalentes
2. Bioisósteros Não-Clássicos (Figura 1.34)
 - 2.1 Grupos interconvertíveis

O Bioisosterismo Clássico atende de maneira geral as exigências preconizadas pelas definições de Grimm e Erlenmeyer. Já o Bioisosterismo Não-Clássico não atende as regras eletrônicas e estéricas dos bioisósteros clássicos, mas podem produzir atividade biológica similar⁵⁴.

Monovalentes	Divalentes	Trivalentes	Tetravalentes
-OH, -NH ₂ , -CH ₃ , -OR	-CH ₂ -	=CH-	=C=
-F -Cl, -Br, -I, -SH, -PH ₂	-O-	=N-	=Si=
-Si ₃ , -SR	-S-	=P-	=N ⁺ =
	-Se-	=As-	=P ⁺ =
	-Te-	=Sb-	=As ⁺ =
			=Sb ⁺ =

Figura 1.33 Bioisósteros Clássicos (Fonte: BARREIRO, E. J., LIMA, L. M., Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design, Medicinal Chemistry, 12, 23-49, 2005).

-CO-	-COOH	-SO ₂ NH ₂	-H	-CONH-	-COOR
-CO ₂ -	-SO ₃ H	- PO(OH)NH ₂	-F	-NHCO-	-ROCO-
-SO ₂ -	Tetrazola				
-SO ₂ NR-	-SO ₂ NHR		-OH -CH ₂ OH		Catecol
-CON-	-3- hidroxiisoxazola				Benzimidazol
- CH(CN)-	-2- hidroxicromano		-NHCONH ₂		
R-S-R			-NH-CS-NH ₂		
(R-O- R')	=N-				
R- N(CN)-	C(CN)=R'		-NH- C(=CHNO ₂)-NH ₂ -NH-C(=CHCN)- NH ₂		
	-CF ₃				
	-CN				
	-N(CN) ₂				
	-C(CN) ₃				

Figura 1.34 Bioisósteros Não-Clássicos (Fonte: BARREIRO, E. J., LIMA, L. M., Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design, Medicinal Chemistry, 12, 23-49, 2005).

O emprego adequado do bioisosterismo exige que os parâmetros físico-químicos, eletrônicos e químicos envolvidos na substituição bioisostérica planejada estejam cuidadosamente analisados⁵⁴.

Alguns grupamentos bioisostéricos alteram drasticamente as propriedades físico-químicas das substâncias, tanto quanto sua atividade. Isto pode ser facilmente compreendido pela substituição bioisostérica de um grupamento -OH por um -NH₂ (exemplo de bioisosterismo clássico,

de acordo com a regra de Grimm), que altera substancialmente as propriedades ácido - base dos compostos resultantes. Neste exemplo, se considerarmos esta troca bioisostérica em um composto aromático, por exemplo, anilina versus fenol (Figura 1.35), a alteração causada ao nível de pK_a é drástica, evidenciando que o perfil farmacocinético dos bioisósteros será efetivamente distinto⁵⁴.



Figura 1.35 Exemplo de bioisósteros clássicos.

O emprego do bioisosterismo como estratégia de desenvolvimento de novos agentes bioativos permite que se antecipe uma comparável afinidade entre duas substâncias bioisostéricas e, conseqüentemente, um potencial de atividade biológica similar. Entretanto, quando as substituições bioisostéricas são efetuadas em grupamentos funcionais envolvidos na subunidade farmacofórica de uma determinada substância, alterações envolvendo os processos de biotransformação podem ser de tal ordem, que modifiquem substancialmente a farmacocinética relativa dos bioisósteros, não podendo deduzir índices de comparação⁶⁰.

Trabalhos posteriores a Erlenmeyer ampliaram consideravelmente o princípio do isosterismo, permitindo que, atualmente, o bioisosterismo represente uma estratégia útil para a descoberta de novos compostos ativos ou novas séries de compostos protótipos, podendo-se analisar a influência da modificação de um átomo ou de um grupo de átomos por seu bioisótero, sobre a atividade biológica que o fármaco original apresenta⁵³.

Capítulo 2:

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Este trabalho tem como objetivo a síntese, avaliação *in vitro* contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis* e análise da relação estrutura atividade biológica de dezesseis adutos de Morita-Baylis-Hillman inéditos.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar oito AMBH a partir do Acrilato de 2-hidroxieta.
- ✓ Preparar o Acrilato de Propila, a partir do ácido acrílico e do propanol.
- ✓ Sintetizar oito AMBH a partir do Acrilato de Propila.
- ✓ Caracterizar os AMBH pelas técnicas de espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear (^1H e ^{13}C).
- ✓ Bioavaliar *in vitro* os dezesseis AMBH contra a forma promastigota do parasito *Leishmania amazonensis*, fazer o teste de citotoxicidade em macrófagos murinos e obter seus índices terapêuticos.
- ✓ Analisar a relação estrutura-atividade biológica (SAR) dos adutos de Morita-Baylis-Hillman.

Capítulo 3:

Estratégias

3 ESTRATÉGIAS

Este projeto está relacionado diretamente com a influência da lipofilicidade na atividade biológica dos AMBH. A lipofilicidade é definida pelo coeficiente de partição (P) de uma substância entre a fase aquosa e a fase orgânica ($P = C_{org}/C_{H_2O}$). Os fármacos que apresentam maior Log P tendem a ultrapassar a bicamada lipídica (lipofílica) da membrana plasmática (Figura 3.1), aumentando sua biodisponibilidade, podendo influenciar no seu efeito biofarmacológico. Entretanto, a lipossolubilidade não pode ser muito alta, pois o meio intracelular é hidrofílico, e o fármaco necessita ter alguma solubilidade neste meio para atuar farmacologicamente.

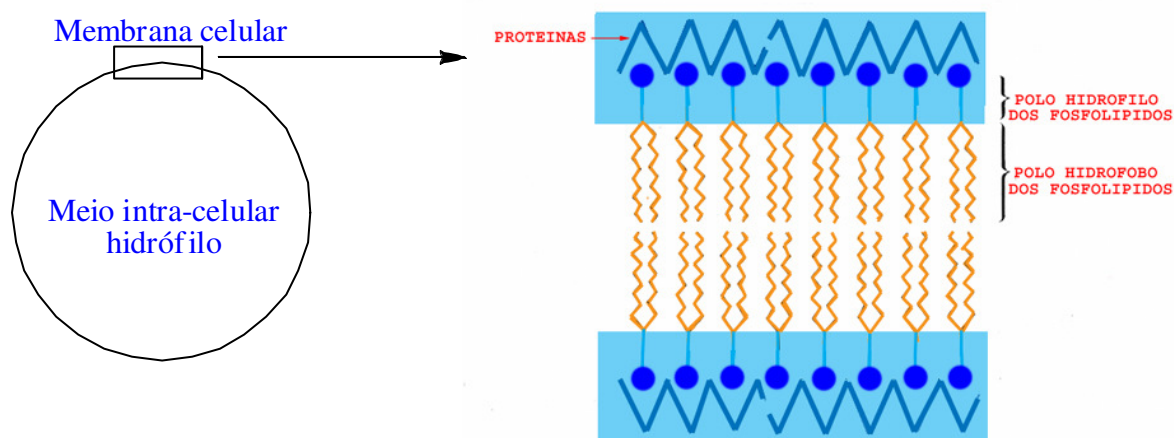


Figura 3.1 Esquematização de uma membrana plasmática.

Este projeto foi idealizado baseado no conceito de **bioisosterismo clássico**, onde grupos isoeletrônicos **OH** foram substituídos pelo grupo **CH₃**, posteriormente, foi proposto a síntese de dezesseis AMBH, que estão mostrados na Figura 3.2.

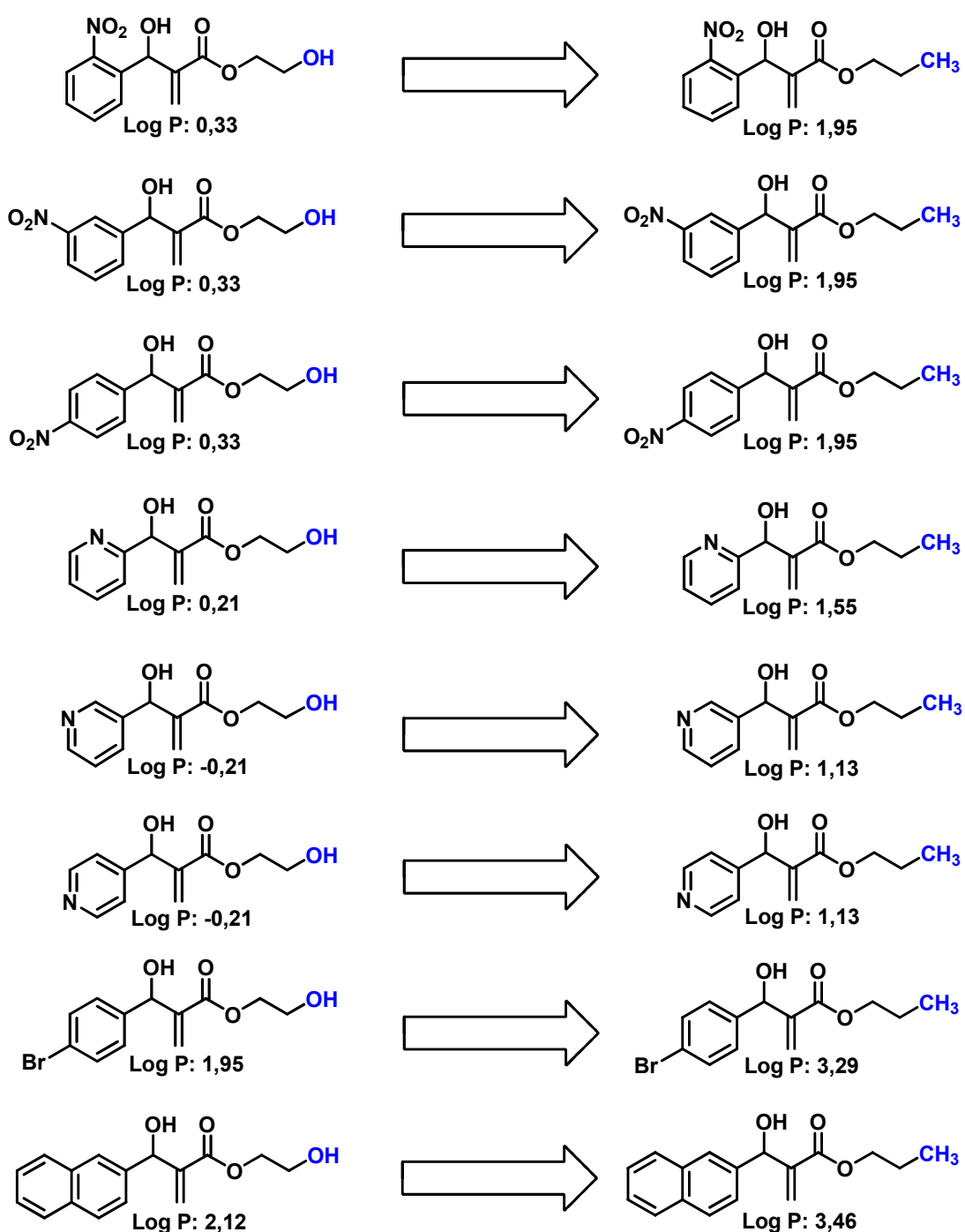


Figura 3.2 Adutos de Morita Baylis-Hillman propostos utilizando o Conceito de Bioisosterismo Clássico.

Acredita-se que a descoberta de uma boa relação entre a lipossolubilidade e a atividade biológica, aumentando a lipofilicidade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman, na busca de indicações sobre o mecanismo da sua ação biofarmacodinâmica, pode nos demonstrar uma

faixa de “lipossolubilidade ótima” para esta classe de compostos, podendo nos dirigir a síntese de novos compostos com lipossolubilidade previstas computacionalmente.

A análise retro-sintética para a preparação destes dezesseis AMBH propostos está baseada na desconexão mostrada na Figura 3.3, via uma Retro-análise de Morita-Baylis-Hillman.

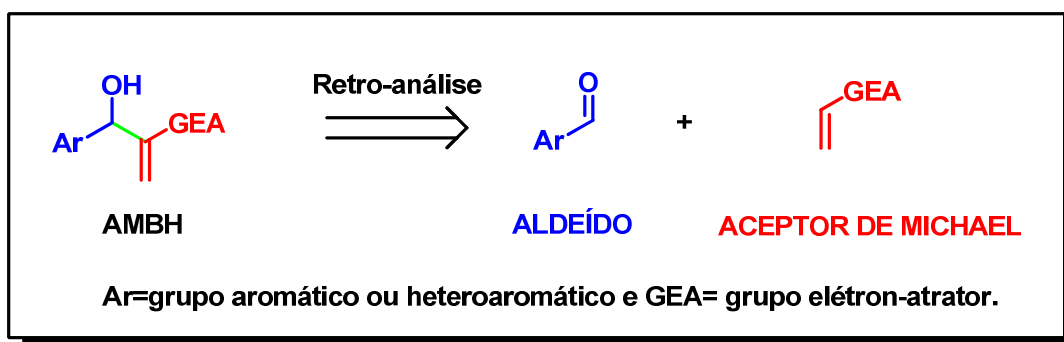


Figura 3.3 Retro-análise para os AMBH.

Serão utilizados oito aldeídos aromáticos substituídos como mostra a Figura 3.4, juntamente com dois alcenos ativados diferentes: o Acrilato de 2-hidroxietila **45** e o Acrilato de Propila **46**, mostrados na Figura 3.5.

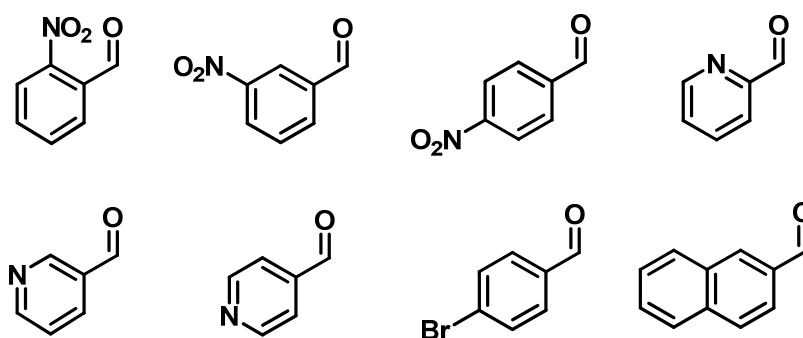


Figura 3.4 Aldeídos aromáticos substituídos utilizados neste trabalho.



Figura 3.5 Aceptores de Michael utilizados neste trabalho.

Em seguida, estas moléculas foram enviadas para a avaliação *in vitro* contra a forma promastigotas de *L. amazonensis*. Estas bioavaliações serão 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

Discussões

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção são apresentados os avanços e as dificuldades encontradas em cada etapa sintética desenvolvida neste trabalho, juntamente com os resultados da avaliação contra a forma *Leishmania amazonensis* dos AMBH.

4.1 Síntese dos adutos de Morita Baylis-Hillman utilizando o Acrilato de 2-hidroxieta (45)

As pesquisas foram iniciadas objetivando a síntese de oito adutos de Morita Baylis-Hillman, como mostra a Figura 4.1.

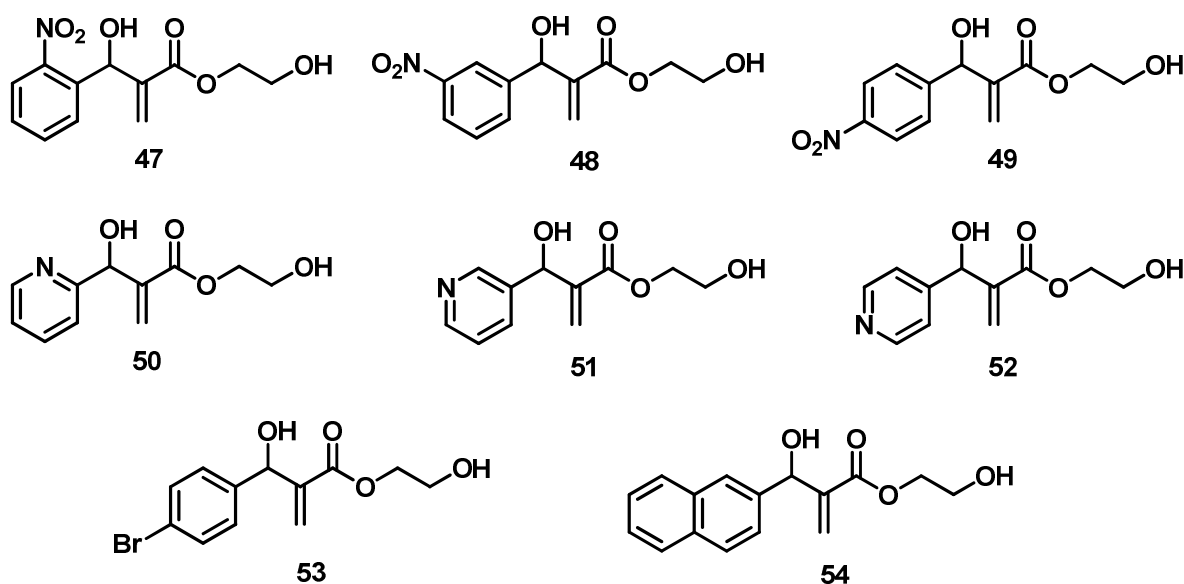
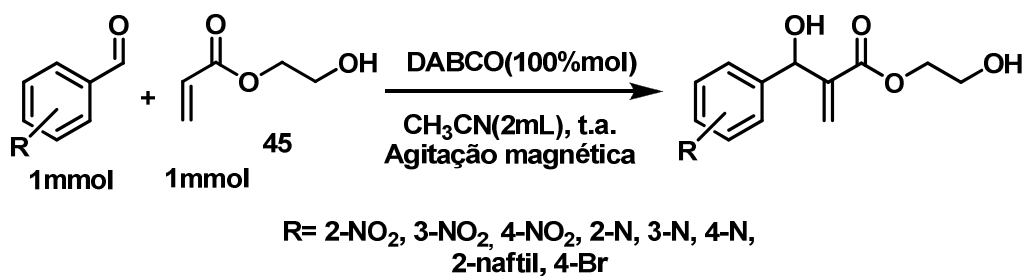


Figura 4.1 Adutos de Morita Baylis-Hillman sintetizados a partir do Acrilato de 2-hidroxieta (45).

A preparação destes adutos foi feita utilizando o Acrilato de 2-hidroxieta (45) como aceptor de Michael, conforme mostra o Esquema

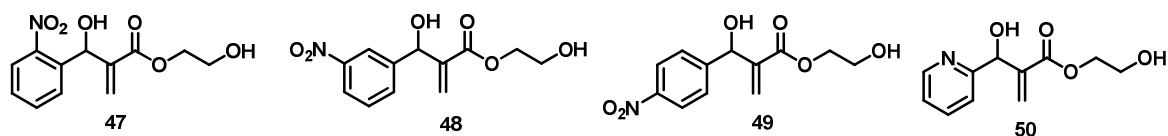
4.1. Esta metodologia faz o uso de 1mmol do respectivo aldeído, junto com 1mmol do Acrilato de 2-hidroxietila (**45**) em 100%mol de DABCO, submetidos às condições de temperatura ambiente e acetonitrila (CH₃CN) como solvente.



Esquema 4.1 Metodologia para a preparação dos adutos utilizando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente.

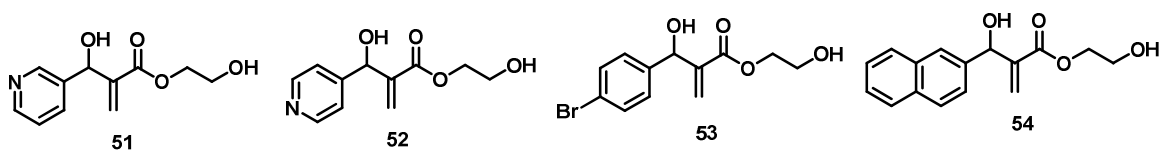
Estas reações foram acompanhadas pela técnica de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) e os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Resultados da reação de preparação dos adutos usando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente.



Entrada	Aduto	Tempo	Rendimento
1	47	24 horas	71%
2	48	24 horas	50%
3	49	18 horas	62%
4	50	28 horas	94%
5	51	29 horas	83%
6	52	18 horas	80%
7	53	15 dias	NR
8	54	25 dias	NR

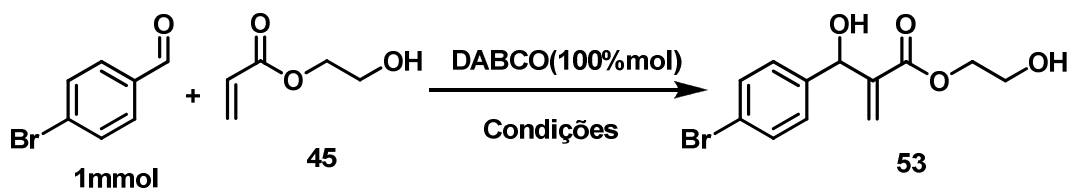
NR = não ocorreu reação



Pode-se ver na Tabela 4.1, que a metodologia experimental utilizada para a preparação dos adutos **47-52** foi satisfatória, apresentando tempo e rendimento consideráveis. No entanto, esta metodologia não foi efetiva para o preparo dos adutos **53** e **54** (Entradas 7 e 8, da Tabela 4.1), pois após vários dias de reação não houve formação de produto, com isso buscou-se otimizar uma metodologia que tornasse viável a síntese destes dois adutos (**53** e **54**).

Sendo assim, iniciou-se um trabalho de otimização utilizando o 4-bromobenzaldeído como substrato, conservando as quantidades estequiométricas do aldeído e do DABCO, variando apenas as condições de reação, e em alguns casos a quantidade do Acrilato. Foram realizados sete diferentes tipos de experimentos, onde os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 Resultados da otimização para obtenção do aduto **53**.

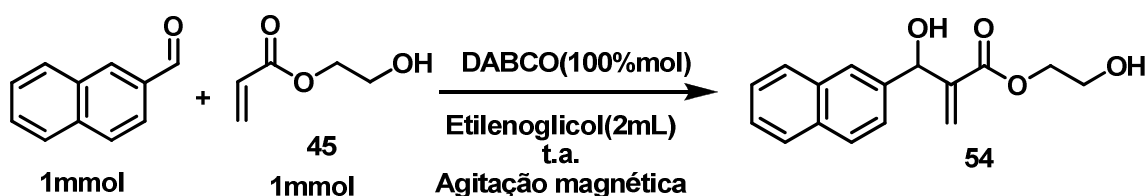


Entrada	Condições	Tempo	Rendimento
1	0°C, 2mmols do acrilato	8 dias	NR
2	t.a., 2mmols do acrilato	6 dias	NR
3	60°C, CH ₃ CN (2mL), 1mmol do acrilato	34 dias	NR
4	Microondas, 100°C, CH ₃ CN (2mL), 1mmol do acrilato	2 horas	NR
5	Terc-Butanol/H ₂ O 6:4 (2mL), t.a., 1mmol do acrilato	10 dias	NR
6	Isopropanol (2mL), t.a., 1mmol do acrilato	10 dias	NR
7	Etilenoglicol (2mL), t.a., 1mmol do acrilato	6 dias	67%

NR = não ocorreu reação

A Tabela 4.2 mostra que dos sete experimentos realizados apenas um foi efetivo para a obtenção de **53**, apresentando um rendimento de 67% em 6 dias de reação (Entrada 7, Tabela 4.2).

A partir destes resultados, preparou-se o aduto **54** utilizando a metodologia descrita na Entrada 7 da Tabela 4.2, conforme mostra o Esquema 4.2.



Esquema 4.2 Metodologia para a preparação do aduto **54** utilizando Etilenoglicol como solvente a temperatura ambiente.

O aduto **54** foi preparado utilizando etilenoglicol como solvente em agitação magnética a temperatura ambiente, o tempo de reação para este aduto foi de 24 horas com um rendimento de 71%.

Estes últimos resultados podem ser avaliados de acordo com os mecanismos aceitos até a presente data. De acordo com McQuade⁴², a reação se processaria mais favoravelmente pelo uso de excesso de aldeído. De acordo com o mecanismo proposto por Aggarwal⁴³, este excesso de aldeído não é necessário, se houver presença de solvente prótico, exatamente como o caso desenvolvido neste trabalho para os adutos **53** e **54**.

A parte da caracterização espectroscópica destes Adutos de Morita-Baylis-Hillman (**47-54**) estão descritos no capítulo 6: Parte Experimental.

4.2 Síntese do Acrilato de Propila (46) utilizando Ácido Acrílico e Propanol

A segunda etapa de síntese deste trabalho envolveu uma reação de esterificação para a preparação do Acrilato de propila (**46**), que posteriormente foi utilizado como aceptor de Michael na síntese de mais oito AMBH. Foi proposto inicialmente a síntese deste Acrilato de acordo com a descrição do Esquema 4.3. Neste, utilizou-se o ácido acrílico, propanol, HCl concentrado como catalisador, pentano como solvente, em refluxo a 60°C (com a ajuda de um aparelho de Dean-Stark para a retirada de água) e uma pequena quantidade de 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT), como anti-polimerizante.

4.3 Síntese dos adutos de Morita Baylis-Hillman utilizando o Acrilato de Propila (46)

A última etapa de síntese deste trabalho foi a preparação de mais oito adutos de Morita Baylis-Hillman, utilizando o Acrilato de propila (46) (sintetizado anteriormente) como acceptor de Michael. A Figura 4.2 mostra estes oito novos alvos sintéticos.

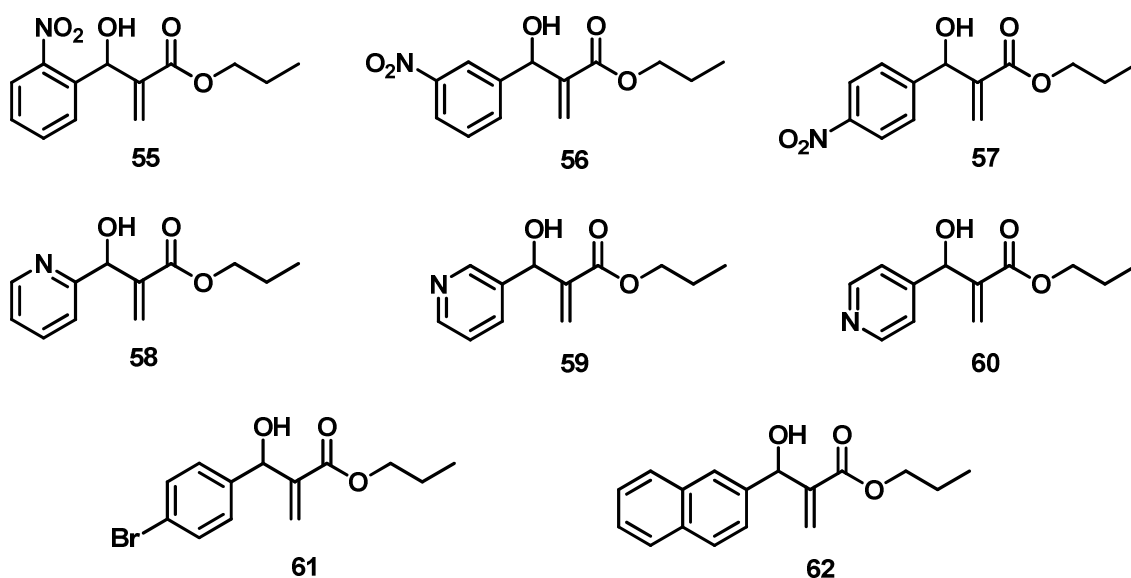
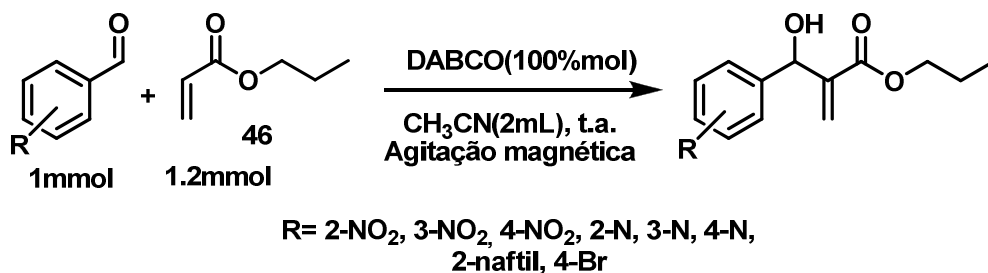


Figura 4.2 Adutos de Morita Baylis-Hillman sintetizados a partir do Acrilato de propila (46).

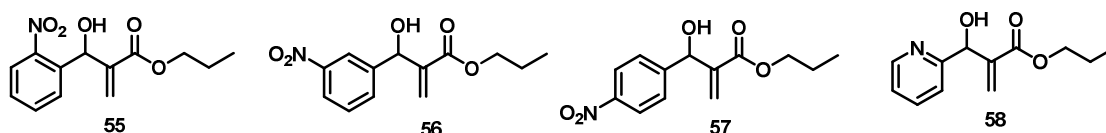
A síntese destes adutos foi preparada conforme mostra o Esquema 4.3, utilizando 1mmol do respectivo aldeído, 1.2mmol do Acrilato de propila (46) em 100%mol de DABCO, submetidos às condições de temperatura ambiente e acetonitrila (CH_3CN) como solvente.



Esquema 4.5 Metodologia para a preparação dos adutos utilizando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente.

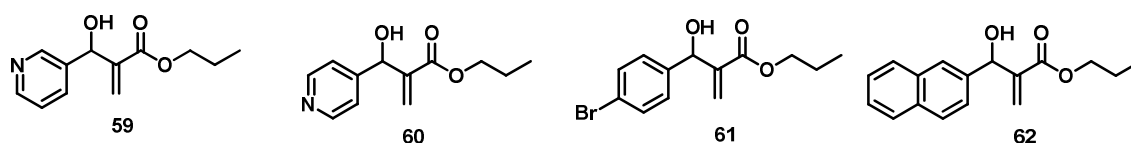
Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 Resultados da reação de preparação dos adutos usando acetonitrila como solvente a temperatura ambiente.



Entrada	Aduto	Tempo	Rendimento
1	55	14 dias	27%
2	56	25 dias	25%
3	57	27 dias	22%
4	58	4 dias	70%
5	59	7 dias	80%
6	60	8 dias	66%
7	61	20 dias	NR
8	62	15 dias	NR

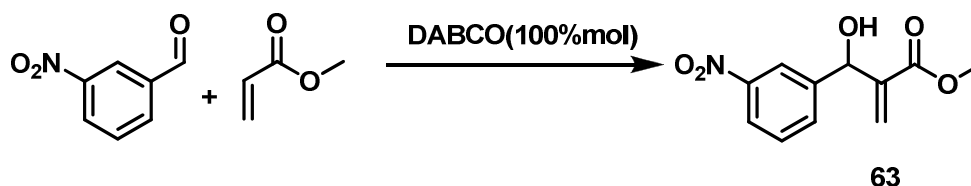
NR = não ocorreu reação



Pode-se ver na Tabela 4.3, que a metodologia experimental utilizada só apresentou resultados significativos para a preparação dos adutos **58**, **59** e **60**, com tempo e rendimento consideráveis. Este método não se mostrou efetivo para a preparação dos demais adutos, pois após vários

dias de reação houve pouca formação de produto para os adutos **55**, **56** e **57**, e não formação de produto para os adutos **61** e **62**. Com isso, buscou-se aperfeiçoar uma metodologia que tornasse viável a síntese dos adutos **55**, **56**, **57** (devido estes apresentarem um baixo rendimento e vários dias de reação), **61** e **62** (já que estes não apresentaram formação de produto).

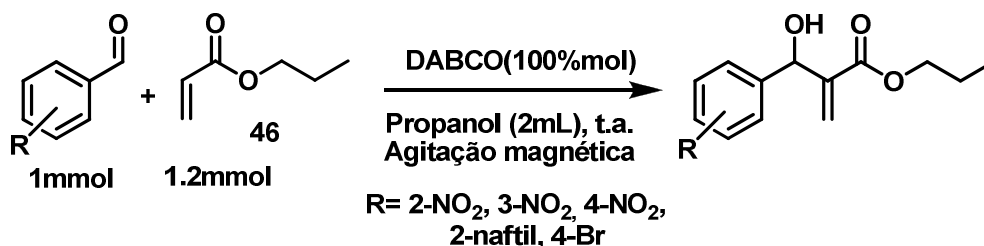
Propôs-se inicialmente a utilização de metanol como solvente prótico para a preparação do aduto **56**, tendo em mente a proposta mecanística estabelecida por Aggarwal⁴³, mas percebeu-se que este não funcionava apenas como carreador de prótons como propôs Aggarwall. Neste caso, ocorreu metanólise no acrilato de propila, gerando Acrilato de metila que ao reagir com o 3-nitrobenzaldeído formava o aduto **63**, mostrado no Esquema 4.4.



Esquema 4.6 Formação do aduto **63** a partir do acrilato de metila formado.

Este fato foi confirmado por espectro de RMN de ¹³C e ¹H (ver Espectro 123 e 124, página 162). Logo, a partir destes resultados e ainda tendo em mente a proposta de Aggarwal⁴³ resolveu-se utilizar o propanol como solvente prótico, pois mesmo se houvesse o ataque deste álcool a carbonila do acrilato de propila, o Acrilato gerado ainda seria o Acrilato de propila.

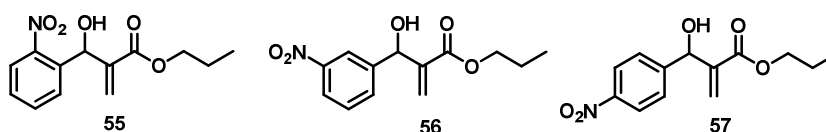
A partir daí, aplicou-se a metodologia mostrada no Esquema 4.5, na qual o propanol foi utilizado como solvente prótico a temperatura ambiente.



Esquema 4.7 Metodologia para a preparação dos adutos **55**, **56**, **57**, **61** e **62**, utilizando propanol como solvente à temperatura ambiente.

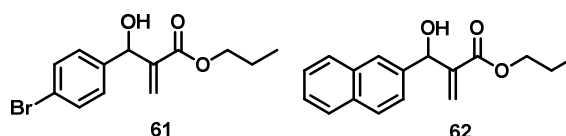
Os resultados obtidos a partir desta nova metodologia estão descritos na Tabela 4.4, onde se pode ver que este método foi satisfatório para a obtenção dos adutos **55**, **56**, **57**, **61** e **62**.

Tabela 4.4 Resultados da reação de preparação dos adutos **55**, **56**, **57**, **61** e **62** usando Propanol como solvente a temperatura ambiente.



Entrada	Aduto	Tempo	Rendimento
1	55	3 dias	68%
2	56	2 dias	73%
3	57	3 dias	97%
4	61	8 dias	64%
5	62	6 dias	60%

NR = não ocorreu reação



Estes últimos resultados foram satisfatórios, apresentando tempo e rendimento consideráveis, quando comparados aos resultados anteriores utilizando CH₃CN como solvente. No caso da preparação dos adutos **55**, **56** e **57**, baixos rendimentos e longo tempo de reação foram observados.

A utilização de acetonitrila como solvente não conduziu a formação dos produtos **61** e **62**.

As partes de caracterização espectroscópica destes adutos estão descritos no capítulo 6: Parte Experimental.

4.4 Avaliação contra *Leishmania amazonensis*

Os resultados dos valores de IC₅₀ dos 16 AMBH sintetizados neste trabalho (Figura 4.3), frente às formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, estão mostrados na Tabela 4.5.

Pode-se observar que todos os adutos possuem excelente atividade contra as formas promastigota de *L. amazonensis*. Serão feito alguns comentários sobre os dados contidos na Tabela 4.5, tentando relacionar com as estruturas químicas mostradas na Figura 4.3 (SAR), usando preferencialmente os valores de IC₅₀ em μM . Avaliações em $\mu\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ também podem ser feitas, mas desconsideram a massa molar da droga em questão.

4.4.1 Análise SAR dos Bioisósteros 47-62

Como comentando, tentar encontrar uma relação entre a lipossolubilidade dos compostos inéditos **47-62** com atividades leishmanicidas é a estratégia para prevermos “lipossolubilidades ótimas”.

Entretanto, observando os valores obtidos na Tabela 4.5, notamos que não existe uma relação direta entre lipossolubilidade dos AMBH **47-62** sintetizados neste trabalho e a atividade biológica. Note que quando se aumenta a lipofilicidade destes adutos (trocando o grupo OH da porção

éster por um CH₃) não é possível estabelecer uma relação da influência do Log P na atividade biológica (IC₅₀) dos adutos. Por exemplo, os pares bioisostéricos **49** e **57**, **50** e **58**, **51** e **59**, **52** e **60**, seguem a tendência de que com o aumento da lipossolubilidade destes AMBH há um aumento da atividade biológica. Por outro lado, os compostos **47** e **55**, **48** e **56**, **53** e **61**, **54** e **62**, seguem uma tendência inversa. Isto pode indicar que a cadeia lateral da porção éster não são farmacóforos nestes adutos. Mesmo assim, algumas observações são pertinentes, ao se observar a Tabela 4.5 e a Figura 4.3.

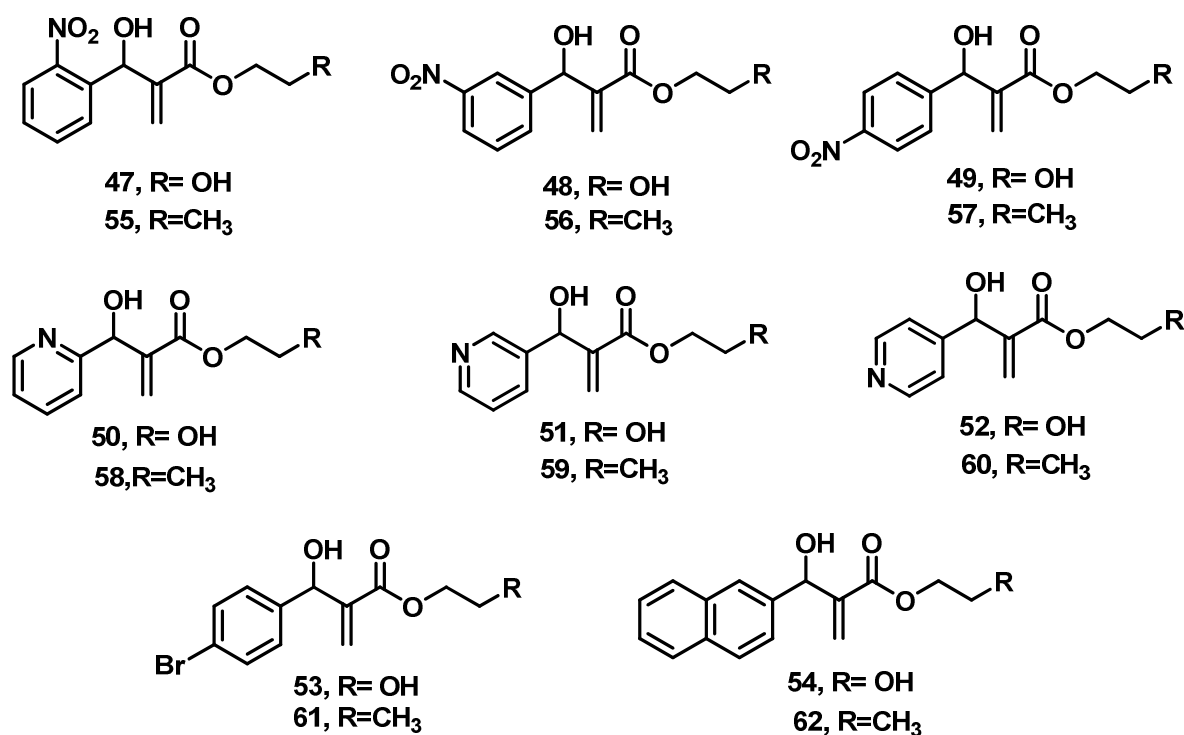


Figura 4.3 Adutos de Morita-Baylis-Hillman Sintetizados e Bioavaliados neste Trabalho.

Tabela 4.5 Atividade dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigota de *Leishmania amazonensis*.

Entrada	Adutos	IC ₅₀ (µg/mL)	IC ₅₀ (µM)
1	47	5,48	20,52
2	55	7,52	28,38
3	48	17,24	64,57
4	56	19,14	72,23
5	49	14,16	53,03
6	57	13,79	52,04
7	50	59,39	266,32
8	58	42,89	194,07
9	51	72,20	323,77
10	59	46,59	210,81
11	52	85,11	381,65
12	60	32,84	148,60
13	53	17,02	56,73
14	61	22,26	74,70
15	54	14,29	52,54
16	62	15,52	54,48

Observa-se que todos os AMBH bioavaliados possuem atividade antipromastigota, sendo os adutos **47, 55, 49, 57, 53, 54 e 62** os mais ativos, apresentando valores de IC₅₀ menores que 60µM.

Em geral, os adutos contendo o grupo nitro na porção aromática (Entrada 1-6, Tabela 4.5) mostraram ser mais ativos que os análogos onde o anel aromático é o anel piridina (Entrada 7-12, Tabela 4.5).

Em uma revisão recente de Fávero e colaboradores⁶¹ destacam 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. Em 1995, Rozenski e colaboradores⁶² 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 4.4). 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 oxidativo⁶³.



Figura 4.4 Processo de oxi-redução do grupo nitro.

Entre os compostos nitrados (Entradas 1-6, Tabela 4.5) destaca-se a alta bioatividade do AMBH **47** e **55**, onde o grupo nitro encontra-se na posição orto do anel aromático. Em concordância com estes resultados, foi observado, em resultados recentes de bioavaliação de AMBH em *L. amazonensis* e *L. chagasi* (resultados em fase de publicação) que todos os compostos que apresentam a porção orto-nitro como anel aromático são os mais ativos entre os nitrados.

Em estudo teórico efetuado pelo nosso grupo de pesquisas⁶⁴ no ano de 2007, foi caracterizado por QTAIM, a existência de uma Ligação de Hidrogênio Intramolecular (LHI) entre o oxigênio do grupo nitro e a hidroxila em **64** (Figura 4.5). Acredita-se que esta modificação conformacional particular, causada pelo grupo orto-nitro nos AMBH, possam influenciar o seu potencial redox. Estudos nesta direção estão atualmente em curso no nosso laboratório.

Cabe ressaltar, que todos os estudos conformacionais de Alencar Filho⁶⁴ foram feitos com implementação de simulação computacional em meio aquoso, semelhante ao que ocorre no interior citoplasmático.

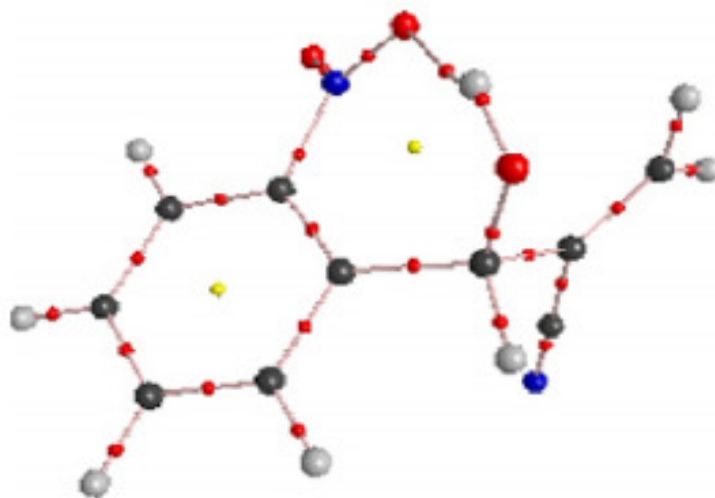


Figura 4.5 Caracterização da IHB no aduto **64** via QTAIM.

Outro ponto a destacar é a alta atividade dos compostos **53**, **54** e **62**. Estes compostos apresentam na porção aromática o grupo 4-Bromofenil e Naftil. Compostos análogos a estes também mostraram alta bioatividade em resultados obtidos pelo nosso grupo^{49, 50}, o que indica que estas porções aromáticas são posições farmacofóricas⁵².

A citotoxicidade em macrófagos dos AMBH também foi estudada, e os resultados obtidos estão descritos na Tabela 4.6. Nota-se que não existe uma relação direta entre lipossolubilidade dos AMBH **47-62** sintetizados neste trabalho e a citotoxicidade em macrófagos murinos. Pode-se destacar que os grupos nitrados (Entrada 1-6, Tabela 4.6) que são mais ativos em *Leishmania amazonensis* são também os mais citotóxicos para macrófagos. Novamente, há um destaque especial para os compostos **47** e **55**, cuja relação entre a citotoxicidade em macrófagos e a bioatividade em *L. amazonensis* são as mais altas entre todos os compostos estudados neste trabalho, representado pelo valor do índice terapêutico como mostrado na Tabela 4.7 (Entradas 1 e 2).

O índice terapêutico foi calculado pela razão CC_{50}/IC_{50} , que avalia se o composto é mais tóxico para os parasitas ou para os macrófagos murinos. Quanto mais próximo de 1 for este índice, reflete uma tendência

a igualdade entre a ação antileishmania com a ação citotóxica para macrófagos. Entretanto, a medida que este valor aumenta, significa que a atividade leishmania esta sendo maior que a ação tóxica para macrófago. Compostos que apresentam índice terapêutico maiores do que 5 são composto que podem ser utilizados como promissores compostos biológicos, o composto **47** foi o único aduto que apresentou índice terapêutico acima de 5. Desta forma temos o AMBH **47** como à substância mais promissora para futuros estudos *in vivo*, objetivando a obtenção de uma nova droga.

Tabela 4.6 Concentração citotóxica dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigota de *Leishmania amazonensis*.

Entrada	Adutos	CC₅₀ (µg/mL)	CC₅₀ (µM)
1	47	29,81	111,64
2	55	35,77	134,98
3	48	18,42	68,99
4	56	30,15	113,77
5	49	12,53	46,93
6	57	32,20	121,50
7	50	166,92	748,52
8	58	158,10	715,38
9	51	93,25	418,16
10	59	84,76	383,53
11	52	102,21	458,34
12	60	60,17	272,26
13	53	47,26	157,53
14	61	37,28	125,10
15	54	32,10	118,01
16	62	40,35	149,44

Tabela 4.7 Valores de Índice Terapêutico dos adutos de Morita-Baylis-Hillman contra as formas promastigota de *Leishmania amazonensis*.

Entrada	Adutos	Índice Terapêutico (CC₅₀/IC₅₀)
1	47	5,43
2	55	4,75
3	48	1,06
4	56	1,57
5	49	0,88
6	57	2,33
7	50	2,81
8	58	3,68
9	51	1,29
10	59	1,81
11	52	1,20
12	60	1,83
13	53	2,77
14	61	1,67
15	54	2,24
16	62	2,59

Capítulo 5:

Conclusão

5 CONCLUSÃO

- ✓ Neste trabalho foram desenvolvidas metodologias sintéticas em uma etapa de síntese, em bons a altos rendimentos e em condições ecologicamente corretas para 16 AMBH inéditos na literatura (**47-62**).
- ✓ Todos estes adutos foram bioavaliados *in vitro* contra o parasita *L. amazonensis*, suas citotoxicidades contra macrófagos foram estudadas e seus índices terapêuticos calculados.
- ✓ Todos os AMBH sintetizados neste trabalho apresentaram atividade leishmanicida em *L. amazonensis*.
- ✓ Diferentemente do esperado, a modificação bioisostérica da porção $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ dá porção éster, que modifica significativamente a lipossolubilidade destes compostos, não apresentou uma relação direta com os valores de IC_{50} avaliados.
- ✓ Os compostos nitrados **47, 55, 48, 56, 59** e **57**, foram mais ativos que os compostos análogos **50, 58, 51, 59, 52** e **60**, onde o anel aromático é o grupo piridina.
- ✓ O AMBH **47** foi o mais ativo e o que apresentou o maior índice terapêutico sendo esta a substância protótipo deste trabalho.

Capítulo 6:

Parte Experimental

6 PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiais e Métodos

Neste trabalho foram utilizados aldeídos adquiridos da Acros, solventes adquiridos da Tedia e da Vetec e o Acrilato de 2-hidroxietila (**45**) adquirido da Aldrich, onde todos continham excelente grau de pureza e foram utilizados sem prévia purificação.

A formação dos produtos foi acompanhada pela técnica de cromatografia de camada delgada analítica (CCDA), onde foi utilizado cromatofolhas de alumínio da marca Macherey-Nagel, suportadas em Gel de Sílica 60 (fase estacionária), contendo indicador de fluorescência a 254nm, e uma mistura de Acetato de Etila / Hexano como fase móvel, sendo irradiadas em câmara de ultravioleta. A purificação dos produtos foi feita utilizando a técnica de cromatografia em coluna do tipo flash, utilizando gel de sílica (fase estacionária) da marca Acros, apresentando uma granulometria de 0.035 - 0.070mm, e uma mistura de Acetato de Etila / Hexano, como fase móvel.

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

Todos os AMBH sintetizados são inéditos e foram caracterizados mediante análise espectroscópica de RMN ^{13}C , RMN ^1H e Infravermelho. Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram obtidos por dois tipos de aparelho, onde os AMBH **47, 48, 49, 50, 51, 52, 55, 56, 57, 58, 59, 60**, juntamente com o Acrilato de Propila (**46**) foram caracterizados pelo aparelho Varian Mercury Spectra AC 20 (200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C) em Clorofórmio deuterado (CDCl_3) com tetrametilsilano (TMS) como padrão interno, e os AMBH **53, 54, 61, 62** foram caracterizados pelo aparelho Varian Inova (500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C) em CDCl_3 , também utilizando o TMS como padrão interno.

Os desdobramentos químicos referentes a cada acoplamento dos hidrogênios foram expressos da seguinte forma: singlete (s), singlete largo (sl), dubleto (d), tripleto (t), sexteto (sex), duplo dubleto (dd), duplo duplo dubleto (ddd) e multiplete (m). Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As multiplicidades dos sinais dos carbonos foram observados pelo uso da técnica de APT para o ressonância de 50MHz, onde são colocados em fase "para cima" carbonos quaternários e metilenos e em fase "para baixo" carbonos de metino e metila, já para o ressonância de 125MHz fez uso da técnica de DEPT, onde ele é formado por um "espectro principal", que é um espectro de ^{13}C normal, seguido de um segundo espectro, em que os picos dos carbonos CH_3 e CH estão para cima e os picos de CH_2 estão para baixo.

Os espectros de Infravermelho foram registrados no espectrômetro ABB BOMEM MB Seris B102 com resolução de 4cm^{-1} verredura/Escans.

6.2 Procedimento geral para a reação de Morita-Baylis-Hillman utilizando o Acrilato de 2-hidroxietila (45)

Em um balão de 25mL, foi adicionado 1mmol do Arilaldeído, 1mmol (112mg) de DABCO e 1mmol (116mg) do Acrilato de 2-hidroxietila (**45**). Em seguida, 2mL de Acetonitrila foi adicionado ao meio reacional, que por sua vez foi mantido à temperatura ambiente e sob agitação magnética. A formação do produto foi acompanhada pela técnica de CCDA, utilizando como eluente Acetato de Etila/Hexano (7:3). O isolamento foi feito concentrando a mistura reacional à pressão reduzida, para a retirada da acetonitrila. Em seguida, a mistura reacional concentrada foi transferida para uma coluna cromatográfica contendo 10g de sílica gel flash previamente empacotada, utilizando inicialmente um eluente de Acetato de Etila/Hexano (3:7), seguido do aumento gradativo da polaridade da

fase móvel para 5:5, 7:3 e 9:1 de Acetato de Etila/Hexano. As frações foram reunidas, e a obtenção do produto foi efetuada pela evaporação dos solventes em evaporador rotatório.

6.3 Procedimento para a preparação de 53 e 54 utilizando o Acrilato de 2-hidroxietila (45) e Etilenoglicol como solvente

Em um balão de 25mL, foi adicionado 1mmol do Arilaldeído, 1mmol (112mg) de DABCO e 1mmol (116mg) do Acrilato de 2-hidroxietila (**45**). Em seguida, 2mL de Etilenoglicol foi adicionado ao meio reacional, este por sua vez foi mantido à temperatura ambiente e sob agitação magnética. A formação do produto foi acompanhada pela técnica de CCDA, utilizando como eluente acetato de etila/Hexano (7:3). O isolamento desta reação foi feito transferindo o meio reacional para um funil de separação, adicionando-se em seguida 20mL de diclorometano. A fase orgânica foi lavada com 20mL de uma solução de NH₄Cl 10%, para a retirada do etilenoglicol. A fase orgânica foi separada da fase aquosa, seca em Na₂SO₄, filtrada e concentrada à pressão reduzida. Em seguida, a mistura reacional concentrada foi transferida para uma coluna cromatográfica contendo 10g de sílica gel flash previamente empacotada, utilizando inicialmente um eluente de acetato de etila/Hexano (3:7), seguido do aumento gradativo da polaridade da fase móvel para 5:5, 7:3 e 9:1 de Acetato de Etila/Hexano. As frações foram reunidas, e a obtenção do produto foi efetuada pela evaporação dos solventes em evaporador rotatório.

6.4 Procedimento para a preparação do Acrilato de Propila (46)

Em um balão de 50mL, foi adicionado 1mmol (72mg) de ácido acrílico, 3mmols (60mg) de propanol e 10%mol (19mg) de ácido p-toluenossulfônico. Esta reação foi mantida sob agitação magnética e aquecimento a 60°C. Após um dia de reação, resfriou-se a mistura reacional, e posteriormente iniciou-se o seu isolamento. O isolamento desta reação foi feito transferindo o meio reacional para um funil de separação com a ajuda de 15mL de diclorometano, em seguida a fase orgânica foi lavada com uma solução gelada de NaOH 10% (2 x 8mL) e posteriormente com uma solução saturada e gelada de NaCl (1 x 8mL). A fase orgânica foi separada da fase aquosa, seca em Na₂SO₄ e filtrada. O produto foi destilado a uma temperatura em torno de 70°C, utilizando um micro-destilador para a retirada apenas do diclorometano, e em seguida o produto foi encaminhado para análise espectroscópica.

6.5 Procedimento geral para a reação de Morita-Baylis-Hillman utilizando o Acrilato Propila (46)

Em um balão de 25mL, foi adicionado 1mmol do Arilaldeído, juntamente com 1mmol (112mg) de DABCO e 1.2mmol (136mg) do Acrilato de Propila (**46**). Em seguida, 2mL de acetonitrila foi adicionado ao meio reacional. Este, por sua vez, foi mantido à temperatura ambiente e sob agitação magnética. A formação do produto foi acompanhada pela técnica de CCDA, utilizando como eluente acetato de etila/Hexano (7:3). O isolamento foi feito concentrando a mistura reacional à pressão reduzida, para a retirada da acetonitrila. Em seguida, a mistura reacional concentrada foi transferida para uma coluna cromatográfica contendo 10g

de sílica gel flash previamente empacotada, utilizando inicialmente um eluente de acetato de etila/Hexano (3:7), seguido do aumento gradativo da polaridade da fase móvel para 5:5, 7:3 e 9:1 de Acetato de Etila/Hexano. As frações foram reunidas, e a obtenção do produto foi efetuada pela evaporação dos solventes em evaporador rotatório.

6.6 Procedimento para a preparação de 55, 56, 57, 61 e 62 utilizando o Acrilato de Propila (46) e Propanol como solvente

Em um balão de 25mL, foi adicionado 1mmol do Ariedeído, juntamente com 1mmol (112mg) de DABCO e 1.2mmol (136mg) do Acrilato de Propila (**46**). Em seguida, 2mL de Propanol foi adicionado ao meio reacional. Este, por sua vez, foi mantido à temperatura ambiente e sob agitação magnética. A formação do produto foi acompanhada pela técnica CCDA, utilizando como eluente acetato de etila/Hexano (7:3). O isolamento foi feito concentrando a mistura reacional à pressão reduzida, para a retirada do Propanol. Em seguida, a mistura reacional concentrada foi transferida para uma coluna cromatográfica contendo 10g de sílica gel flash previamente empacotada, utilizando inicialmente um eluente de acetato de etila/Hexano (3:7), seguido do aumento gradativo da polaridade da fase móvel para 5:5, 7:3 e 9:1 de Acetato de Etila/Hexano. As frações foram reunidas, e a obtenção do produto foi efetuada pela evaporação dos solventes em evaporador rotatório.

6.7 Análises espectroscópicas dos Adutos de Morita-Baylis-Hillman

Os espectros de RMN¹³C dos adutos de Morita-Baylis-Hillman seguem basicamente o mesmo padrão, apresentando algumas modificações quando comparada às porções dos Acrilatos e os substituintes do anel aromático. Podemos destacar nos espectros de ¹³C o aparecimento da formação da ligação carbono-carbono, referente à junção do aldeído ao acrilato (C₆ para os compostos que apresentam a porção Acrilato de 2-hidroxieta (45) e C₇ para os compostos que apresentam a porção do Acrilato de Propila (46)), outro ponto interessante seria também o aparecimento da carbonila de éster em torno de 166ppm.

Os espectros de RMN¹H dos adutos de Morita-Baylis-Hillman (Figura 6.1, página 76), também apresentam basicamente o mesmo padrão, com raras alterações. Os compostos formados pela porção do Acrilato de 2-hidroxieta (45), apresentam mais protegidos dois tripletos referentes aos hidrogênios metilênicos e dois singletos largos referentes às duas hidroxilas presentes na molécula. Os compostos formados pela porção do Acrilato de Propila (46), apresentam mais protegidos um triplete e um sexteto, referente aos hidrogênios metilênicos, um outro triplete referente aos hidrogênios da metila, e um singleto largo referente ao hidrogênio da hidroxila.

Uma característica importante, presente em todos os adutos, são os deslocamentos químicos dos hidrogênios vinílicos H₄ e H₅, aparecendo como um singleto, presente em todos os adutos, demonstrando que estes prótons não são magneticamente equivalentes. O sinal do hidrogênio carbinólico H₇ aparece em todos os espectros, sendo encontrado na forma de um simples singleto em quase todos os espectros, com exceção dos adutos 61 e 62 que foram feitos em RMN de 500MHz, sendo possível pegar o acoplamento do hidrogênio carbinólico com o hidrogênio do grupo hidroxila, que se desdobraram em um dubleto.

O aparecimento do sinal do hidrogênio carbinólico, junto com o aparecimento do sinal dos hidrogênios vinílicos confirmam o acoplamento dos aldeídos aromáticos aos seus respectivos acrilatos. Em regiões menos protegidas (7 a 8 ppm) encontram-se os hidrogênios ligados ao anel aromático, apresentando particularidades referentes aos diferentes substituintes.

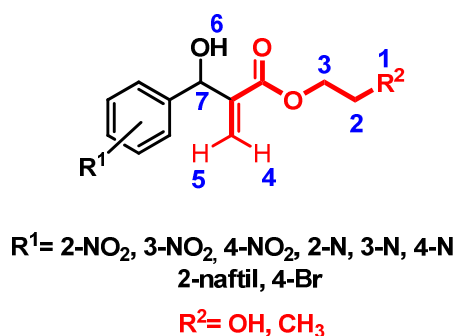
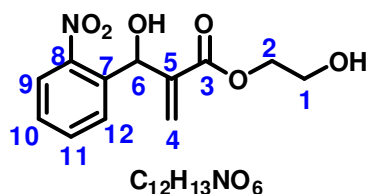


Figura 6.1 Adutos de Morita-Baylis-Hillman caracterizados por RMN¹H.

Os espectros de IV dos adutos de Morita-Baylis-Hillman mostraram a ocorrência de bandas largas na região de 3600-3100cm⁻¹ referente ao estiramento de ligações OH. Os espectros de IV também mostraram a presença de um estiramento forte em torno de 1710-1720cm⁻¹, referente ao estiramento da ligação C=O de éster α,β-conjugado. Abaixo estão mostrados todos os resultados das análises espectroscópicas de todos os adutos sintetizados neste trabalho.

6.7.1 Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (47)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

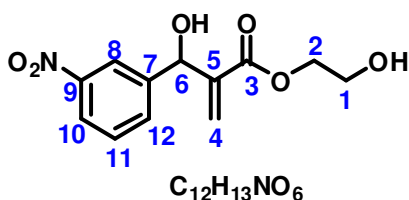
60.645(C₁); 66.533(C₂); 67.109(C₆); 124.582(C₉); 126.922(C₄);
128.637(C₁₂); 128.850(C₁₀); 133.586(C₁₁); 136.490(C₇); 141.375(C₅);
147.818(C₈); 166.116(C₃).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

3.476(sl, 2H); 3.785(t, 2H, J=4.6Hz); 4.253(t, 2H, J=4.6Hz); 5.570(s, 1H);
6.239(s, 1H); 6.341(s, 1H); 7.447(ddd, 1H, J=8.2/7.3/1.4Hz);
7.640(ddd, 1H, J=7.6/7.4/1.2Hz); 7.789(d, 1H, J=7.8Hz); 7.944(dd, 1H, J= 8.0/1.2Hz).

IV (cm⁻¹): 3390(O-H); 1714(C=O de Ester α,β -conjugado); 1525 e 1350 (Deformação axial assimétrica e simétrica de NO₂).

6.7.2 Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (48)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

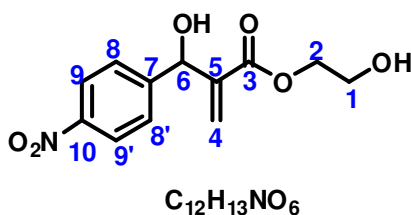
60.585(C₁); 66.426(C₂); 71.937(C₆); 121.555(C₁₀); 122.719(C₈);
127.727(C₄); 129.355(C₁₁); 132.783(C₁₂); 141.301(C₅); 143.607(C₇);
148.168(C₉); 165.972(C₃).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

2.786(sl, 1H); 3.778(t, 2H, J= 4.8Hz); 4.094(sl, 1H); 4.224(t, 2H,
3.0Hz); 5.654(s, 1H); 5.866(s, 1H); 6.422(s, 1H); 7.495(t, 1H,J=8.0Hz);
7.703(d, 1H, 7.8HZ); 8.104(ddd,1H,J=8.2/2.0/1.0); 8.223(sl, 1H).

IV (cm⁻¹): 3355 e 3326 (O-H); 1708(C=O de Ester α,β-conjugado); 1529
e 1350 (Deformação axial assimétrica e simétrica de NO₂).

6.7.3 Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (49)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

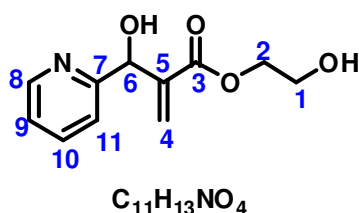
60.751(C₁); 66.506(C₂); 72. 397(C₆); 123.611(C_{9 e 9'}); 127.327(C_{8 e 8'});
127.825(C₄); 141.085(C₅); 147.387(C₁₀); 148.527(C₇); 165.987(C₃).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

2.761(s, 2H); 3.814(t, 2H, J=4.6Hz); 4.259(t, 2H, J=4.4Hz); 5.657(s, 1H); 5.860(s, 1H); 6.440(s, 1H); 7.567(d, 2H, J=8.6Hz); 8.193(d, 2H, J=8.8Hz).

IV (cm⁻¹): 3529 e 3371 (O-H); 1699(C=O de Ester α,β-conjugado); 1519 e 1350 (Deformação axial assimétrica e simétrica de NO₂).

6.7.4 Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (50)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

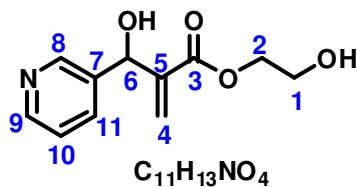
59.990(C₁); 66.150(C₂); 72.077(C₆); 121.025(C₉); 122.542(C₁₁); 126.855(C₄); 137.030(C₁₀); 141.714(C₅); 147.714(C₈); 159.806(C₇); 165.663(C₃).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

3.620(t, 2H, J= 4.4Hz); 4.093(m, 2H); 5.570(s, 1H); 5.846(s, 1H); 6.285(s, 1H); 7.108(m, 1H); 7.353(d, 1H, J=8Hz); 7.604(ddd, 1H, J= 7.8/7.7/1.6Hz); 8.342(d, 1H, J=5Hz).

IV (cm⁻¹): 3344 (O-H); 1716(C=O de Ester α,β-conjugado).

6.7.5 Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (51)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

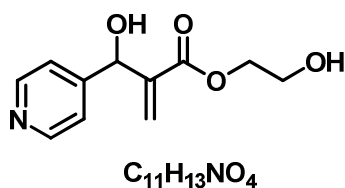
59.973(C₁); 66.198(C₂); 69.804(C₆); 123.360(C₁₀); 126.284(C₄);
134.778(C₁₁); 137.685(C₇); 141.640(C₅); 147.754(C₉); 147.907(C₈);
165.579(C₃).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

3.657(t, 2H, J=4.8Hz); 4.100(t, 2H, J=4.8Hz); 4.374 (sl, 2H); 5.522 (s,
1H); 5.873 (s, 1H); 6.310 (s, 1H); 7.181(m, 1H); 7.647(m, 1H); 8.272
(m, 1H); 8.385(sl, 1H).

IV (cm⁻¹): 3336 (O-H); 1714(C=O de Ester α,β -conjugado).

6.7.6 Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (52)



RMN¹³C:

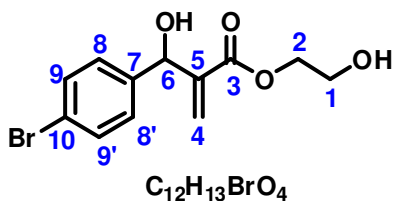
Não foi possível a caracterização deste composto por ¹³C devido a molécula ser muito polar e não dissolver bem nos solventes utilizados, o pequeno tempo de máquina também pode ter sido um fator determinante na não aquisição deste espectro. Tentou-se fazer esta análise em diferentes solventes (CDCl₃ e em DMSO) utilizando dois aparelhos de RMN diferentes. Porém, conseguimos caracterizar esta molécula apenas por RMN ¹H e IV, sendo estas análises muito precisas.

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

1.271(s, 1H); 3.763 (sl, 1H); 3.852 (t, 2H, J=5Hz); 4.302 (t, 2H, J=5Hz); 5.559 (s, 1H); 5.893 (s,1H); 6.464 (s,1H); 7.346 (d, 2H, J=6.5Hz); 8.611 (d, 2H, J=6.0Hz).

IV (cm⁻¹): 3309 (O-H); 1724(C=O de Ester α,β-conjugado).

6.7.7 Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxieta (53)



RMN¹³C-DEPT (CDCl₃, 125 MHz, δ ppm):

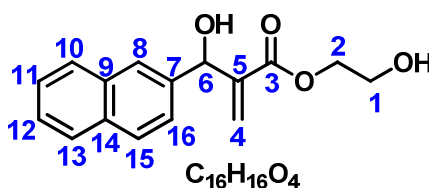
61.218(C₁); 66.714(C₂); 72.958(C₆); 122.110(C₁₀); 127.205(C₄); 128.519(C_{8 e 8'}); 131.846(C_{9 e 9'}); 140.492(C₅); 141.765(C₇); 166432(C₃).

RMN¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm):

1.789(sl, 1H); 3.041(sl, 1H); 3.824(t, 2H, J=4.5Hz); 4.278(t, 2H, J=4.5Hz); 5.553(s, 1H); 5.871(s, 1H); 6.416(s, 1H); 7.282(d, 2H, J=8.5Hz); 7.475(d, 2H, J=8.5Hz).

IV (cm⁻¹): 3390 (O-H); 1712(C=O de Ester α,β-conjugado).

6.7.8 Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil) de 2-hidroxietila (54)



RMN¹³C (CDCl₃, 125 MHz, δ ppm):

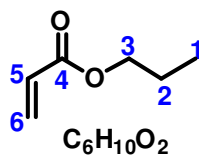
60.978(C₁); 66.459(C₂); 73.295(C₆); 124.543(C₁₂); 125.560(C₁₁); 126.210(C₈); 126.336(C₁₅); 126.980(C₄); 127.722(C₁₀); 128.101(C₁₃); 128.343(C₁₆); 133.065(C₁₄); 133.251(C₉); 138.625(C₇); 141.915(C₅); 166.405(C₃).

RMN¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm):

1.900(sl, 1H); 3.203(sl, 1H); 3.824(t, 2H, J= 4.5Hz); 4.260(t, 2H, J=4.5Hz); 5.782(s, 1H); 5.936(s, 1H); 6.466(s, 1H); 7.506(m, 3H); 7.866(m, 4H).

IV (cm⁻¹): 3394 (O-H); 1712(C=O de Ester α,β-conjugado).

6.7.9 Acrilato de Propila (46)



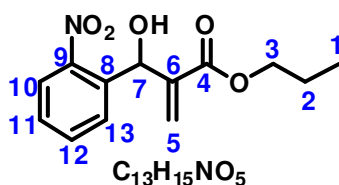
RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

10.392(C₁); 21.959(C₂); 66.116(C₃); 128.590(C₆); 130.482(C₅);
166.364(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

0.958(t, 4H, J=7.4Hz); 1.691(sex, 3H); 4.112(t, 2H, J=6.6Hz); 5.811(dd,
1H, J=10,4/1.8Hz); 6.117(dd, 1H, J=17.4/10.4Hz); 6.403(dd, 1H, J=
17.4/1.8Hz).

6.7.10 Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (55)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

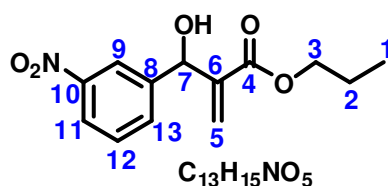
9.835(C₁); 21.348(C₂); 66.293(C₃); 67.227(C₇); 124.143(C₁₀);
125.880(C₅); 128.249(C₁₃); 128.432(C₁₁); 133.056(C₁₂); 135.782(C₈);
140.378(C₆); 147.906(C₉); 165.550(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

0.846 (t, 3H, J=7.2Hz); 1.590 (sex, 2H); 3.146(sl, 1H); 4.051(t, 2H, J=6.6Hz); 5.734(s, 1H); 6.164 (s, 1H); 6.371 (s, 1H); 7.447 (ddd, 1H, J=7.6/ 7.2/ 1.6Hz); 7.626 (ddd, 1H, J=7.6/7.2/1.2Hz); 7.725(dd, 1H, J=7.8/1.6Hz); 7.932(dd, 1H, J=8.0/1.2Hz).

IV (cm⁻¹): 3452 (O-H); 1712(C=O de Ester α,β-conjugado); 1527 e 1352 (Deformação axial assimétrica e simétrica de NO₂).

6.7.11 Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (56)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

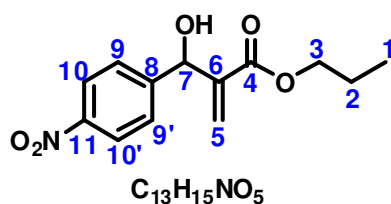
9.887(C₁); 21.371(C₂); 66.397(C₃); 72.162(C₇); 121.123(C₁₁);
122.284(C₉); 126.553(C₅); 128.900(C₁₂); 132.253(C₁₃); 140.729(C₆);
143.298(C₈); 147.816(C₁₀); 165.552(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

0.889(t, 2H, J=7.4Hz); 1.637(sex, 2H); 2.892(sl, 1H); 4.071(t, 2H, J=6.8Hz); 5.617(s, 1H); 5.897(s, 1H); 6.403(s, 1H); 7.509(t, 1H, J=8.0Hz); 7.732(d,1H, J=7.8Hz); 8.125(ddd, 1H, J=8.2/2.2/1.0Hz); 8.243(sl, 1H).

IV (cm⁻¹): 3473 (O-H); 1710(C=O de Ester α,β -conjugado); 1531 e 1350 (Deformação axial assimétrica e simétrica de NO₂).

6.7.12 Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (57)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

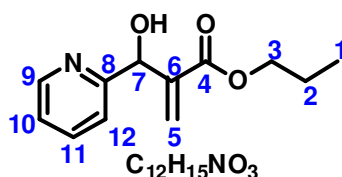
9.896(C₁); 21.381(C₂); 66.420(C₃); 72.330(C₇); 123.162(C₁₀ e 10'); 126.605(C₅); 126.892((C₉ e 9'); 140.711(C₆); 146.953(C₁₁); 148.296(C₈); 165.574(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

0.896(t, 3H, J=7.2Hz); 1.639(sex, 2H); 2.852(sl, 1H); 4.075(t, 2H, J=6.8Hz); 5.615(s, 1H); 5.858(s, 1H); 6.391(s, 1H); 7.563(d, 2H, J=8.4Hz); 8.188(d, 2H, J=8.8Hz).

IV (cm⁻¹): 3481 (O-H); 1712(C=O de Ester α,β -conjugado); 1523 e 1350 (Deformação axial assimétrica e simétrica de NO₂).

6.7.13 Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (58)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

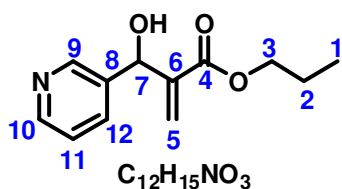
10.295(C₁); 21.761(C₂); 66.335(C₃); 72.166(C₇); 121.166(C₁₀);
122.565(C₁₂); 126.728(C₅); 136.945(C₁₁); 141.762(C₆); 148.077(C₉);
159.487(C₈); 166.081(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

0.842(t, 3H, J=7.4Hz); 1.575(sex, 2H); 4.030(t, 2H, J=6.6 Hz); 5.581(s,
1H); 5.926(s, 1H); 6.335(s, 1H); 7.165(t, 1H, J= 6.2Hz); 7.379(d, 1H,
J=7.8Hz); 7.640(ddd, 1H, J=7.6/ 7.6/ 1.4Hz); 8.491(d, 1H, J=4.8Hz).

IV (cm⁻¹): 3151 (O-H); 1712(C=O de Ester α,β -conjugado).

6.7.14 Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (59)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

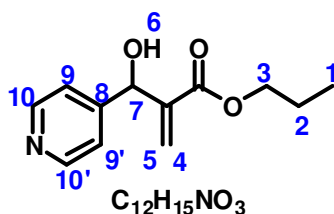
9.976(C₁); 21.451(C₂); 66.263(C₃); 70.405(C₇); 123.106(C₁₁);
125.718(C₅); 134.304(C₁₂); 137.218(C₈); 141.372(C₆); 147.933(C₁₀);
148.205(C₉); 165.579(C₄);

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

0.837(t, 3H, J=7.4Hz); 1.581(sex, 2H); 4.014(t, 2H, J=6.8Hz); 4.543(sl,
1H); 5.553(s, 1H); 5.932(s, 1H); 6.360(s, 1H); 7.222(dd, 1H, J=
7.8/4.8Hz); 7.691(d, 1H, J=8.2Hz); 8.372(d, 1H, J=4.6Hz); 8.458(sl,
1H).

IV (cm⁻¹): 3191 (O-H); 1714(C=O de Ester α,β-conjugado).

6.7.15 Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (60)



RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz, δ ppm):

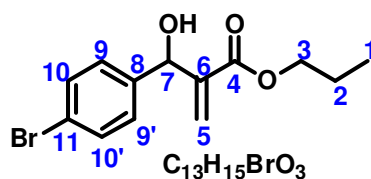
11.741(C₁); 23.217(C₂); 68.087(C₃); 73.088(C₇); 123.115(C₉ e 9');
128.072(C₅); 142.842(C₆); 150.565(C₁₀ e 10'); 153.038(C₈); 167.313(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 200 MHz, δ ppm):

0.841(t, 3H, J=7.4Hz); 1.583(sex, 2H); 4.019(t, 2H, J=6.6Hz); 4.731(sl,
1H); 5.505(s, 1H); 5.909(s, 1H); 6.348(s, 1H); 7.294(d, 2H, J=6Hz);
8.403(d, 2H, J=5.6Hz).

IV (cm⁻¹): 3.124 (O-H); 1708 (C=O de Ester α,β -conjugado).

6.7.16 Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (61)



RMN¹³C-DEPT (CDCl₃, 125 MHz, δ ppm):

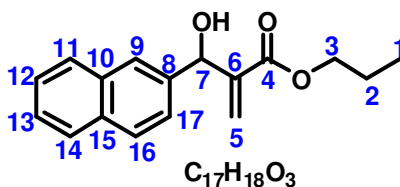
10.583(C₁); 22.101(C₂); 66.891(C₃); 73.117(C₇); 121.951(C₁₁);
126.430(C₅); 128.538(C₉ e 9'); 131.744(C₁₀ e 10'); 140.652(C₆);
142.008(C₈); 166.480(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm):

0.924(t, 3H, J= 7.5); 1.661(sex, 2H); 3.158(d, 1H, J=6Hz); 4.097(t, 2H,
J= 7.0); 5.520(d, 1H, J=5.5Hz); 5.826(s, 1H); 6.361(s, 1H); 7.273(d, 2H,
J= 8.5Hz); 7.484(d, 2H, J= 8.5Hz).

IV (cm⁻¹): 3446 (O-H); 1712(C=O de Ester α,β -conjugado).

6.7.17 Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (62)



RMN¹³C-DEPT (CDCl₃, 125 MHz, δ ppm):

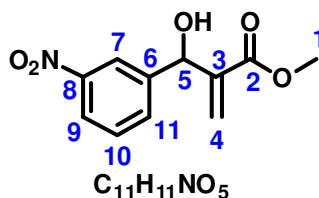
10.585(C₁); 22.103(C₂); 66.811(C₃); 73.698(C₇); 124.844(C₁₃);
125.753(C₁₂); 126.255(C₉); 126.374(C_{5 e 16}); 127.883(C₁₁); 128.334(C₁₄);
128.408(C₁₇); 133.258(C₁₅); 133.481(C₁₀); 138.931(C₈); 142.366(C₆);
166.689(C₄).

RMN¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm):

0.904(t, 3H, J=7.5Hz); 1.648(sex, 2H); 3.226(d, 1H, J= 5.5Hz); 4.091(t,
2H, J= 7.0Hz); 5.753(d, 1H, J=5.5Hz); 5.879(s, 1H); 6.404(s, 1H);
7.492(m, 3H); 7.856(m, 4H).

IV (cm⁻¹): 3446 (O-H); 1714(C=O de Ester α,β-conjugado).

6.7.18 Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de metila (63)



RMN¹³C-DEPT (CDCl₃, 125 MHz, δ ppm):

53.645(C₁); 73.997(C₅); 122.956(C₉); 124.194(C₇); 128.703(C₄);
130.781(C₁₀); 134.096(C₁₁); 142.314(C₃); 145.011(C₆); 149.715(C₈);
167.792(C₁₇).

RMN¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm):

2.890 (sl, 1H); 3.713 (s, 3H); 5.605 (s, 1H); 5.889 (s, 1H); 6.384 (s,
1H); 7.839 (aromático, 4H).

6.8 Procedimentos de Avaliação da Atividade Biológica

Cabe destacar que toda a parte biológica mostrada neste trabalho faz parte da monografia para a formação em Ciências Biológicas, da estudante Priscilla Anne Castro de Assis, do Laboratório de Leishmanioses, sob a Orientação da Professora Márcia Rosa de Oliveira.

6.8.1 Realização dos ensaios *in vitro* de atividade antileishmania

A avaliação comparativa da atividade antileishmania dos dezesseis adutos, foi realizada em placas de 96 poços. Para avaliação da atividade antileishmania utilizou-se *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), foram utilizadas formas celulares que estavam em fase logarítmica de crescimento (1×10^6 células/mL). Os parasitos foram inoculados em meio Schneider completo contendo diferentes concentrações dos adutos derivados da reação de Baylis-Hilman e incubados a 25°C por 72 horas. Após incubação, inoculou-se 10µL de 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenilbrometo de tetrazolium (MTT) na concentração de 5mg/mL e, passado quatro horas, acrescentou-se 50µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) na concentração de 10mM. O MTT é um método rápido, sensível e barato que analisa a viabilidade e o estado metabólico da célula, baseado na conversão do sal em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas (Figura 6.2)⁶⁵. Após vinte quatro horas, fez-se a leitura das placas na Leitora de microplacas por absorbância utilizando o comprimento de onda de 545nm. A determinação da concentração que inibe 50% do crescimento dos parasitas (IC₅₀) foi determinada utilizando o Programa SPSS 8.0 para Windows.

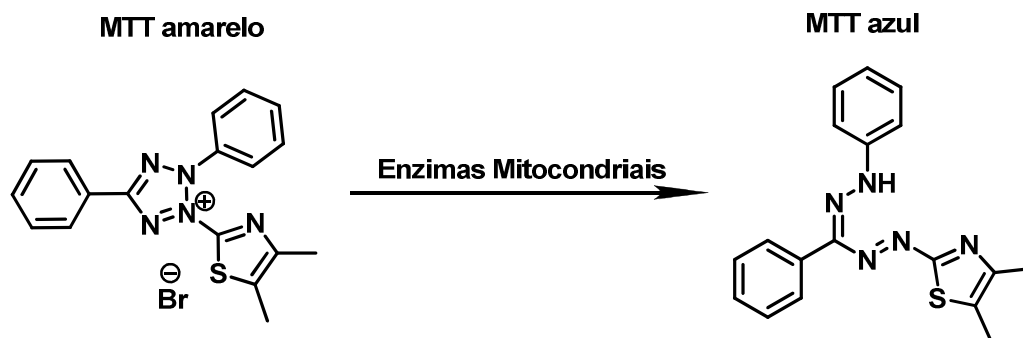


Figura 6.2 Esquema da conversão do sal em azul de formazan por enzimas mitocondriais.

6.8.2 Avaliação da citotóxicidade dos compostos para macrófagos murinos

Para os ensaios de citotóxicidade em macrófagos, fez-se necessário a injeção prévia de 1mL de tioglicolato por via intraperitoneal. Todos os animais experimentais foram fornecidos pelo Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) da Universidade Federal da Paraíba. Os camundongos elicitados foram mantidos por cinco dias no biotério do LTF, com ingestão de alimentos e água *ad libitum*. Após esse período, tais animais foram transportados para o Laboratório de Leishmanioses /DBM/UFPB e procedeu-se o sacrifício dos animais para obtenção das células peritoneais.

Os animais foram banhados em álcool 70% e em seguida, realizou-se a coleta das células da cavidade peritoneal de cada camundongo através da injeção de 10mL de PBS completo (PBS com 3 % de Soro Bovino Fetal) com posterior recuperação desta solução e transferência para tubos Falcon. O passo seguinte foi à centrifugação do material coletado a 5000 rpm por um período de 5 minutos. O sobrenadante foi então descartado, e o *pellet* resuspenso em 1mL de meio RPMI

suplementado com 10 % de Soro Bovino Fetal e 1% de antibiótico (RPMI completo).

Alíquotas da suspensão de células foram utilizadas para a quantificação na presença do corante Azul de Tripán a concentração final de 0,4%. O corante Azul de Tripán permite a discriminação entre células vivas e mortas, de modo que as células viáveis são impermeáveis ao mesmo, não se corando, enquanto as células mortas são permeáveis ao corante, corando-se em azul. A quantificação foi realizada em câmara hemocitométrica de Neubauer, e o número de células na suspensão foi ajustado para 4×10^6 células/mL.

Em seguida, foram incubadas $4,0 \times 10^6$ células em 100µL de meio RPMI Completo em placas de 96 poços, na ausência e na presença de diferentes concentrações dos 16 AMBH. Após 24 horas de incubação em estufa a 5 % de CO₂, inoculou-se 10µL de 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-brometo de tetrazolium (MTT) na concentração de 5mg/mL e, passado quatro horas, acrescentou-se 50µl de SDS na concentração de 10mM. Após 24horas fez-se a leitura das placas na Leitora de microplacas por absorbância utilizando o comprimento de onda de 545nm. Foi calculada a concentração que gerou uma redução de 50 % da viabilidade celular [CC₅₀] utilizando o programa SPSS versão 8.0 para Windows.

6.8.3 Índice terapêutico in vitro

O índice terapêutico foi calculado pela razão CC₅₀/IC₅₀, que avalia se o composto é mais tóxico para os parasitas ou para os macrófagos murinos.

Referências

REFERÊNCIAS

1. **Desequilíbrio Fatal: A Crise em Pesquisa e Desenvolvimento de Drogas para Doenças Negligenciadas**, setembro de 2001. Disponível em: <www.msf.org>. Acessado em: 27 de agosto de 2009.
2. CAMARGO, E. P. Doenças tropicais, **Estudos Avançados**, 22 (64), 95-110, 2008.
3. MORAN, M., GUZMAN, J., ROPARS, A.L., JAMESON, N., Neglected Disease Research and Development: How Much Are We Really Spending?, **Plos Medicine**, 6 (2), 2009. Disponível em: <[http://www.dndi.org.br/Portugues/doencas negligenciadas.aspx](http://www.dndi.org.br/Portugues/doencas_negligenciadas.aspx)>. Acessado em: 4 de agosto de 2009.
4. CHIRAC, P., TORREELE, E., **Novos medicamentos desenvolvidos entre 1975 e 2004**, maio de 2006. Disponível em: <[www.dndi.org.br/Portugues/doencas negligenciadas.aspx](http://www.dndi.org.br/Portugues/doencas_negligenciadas.aspx)>. Acessado em: 1 de setembro de 2009.
5. MOREL, C. M., Inovação em saúde e doenças, **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 22(8),1522-1523, 2006.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretário de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças Negligenciadas**, Brasília, DF, 2008.
7. PONTES, F., Doenças negligenciadas ainda matam 1 milhão por ano no mundo, **Inovação em pauta**, 20, 69- 73, 2009.
8. BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília, DF, 2003.
9. World Health Organization (WHO), **The disease and its epidemiology**. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/diseaseepidemiology/en/index.html>>. Acesso em 14 de agosto de 2009.
10. RATH, S., TRIVELIN, L. A., IMBRUNITO, T. R., TOMAZELA, D. M., JESUS, M. N., MARZAL, P. C., Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, 26, 550-553, 2003.
11. DESJEUX, P., Public health aspects and control, **Cli. Dermatol**, 14, 417-423, 1996.

12. FORATTINI, O. P., **Entomologia Médica**, 4. ed., São Paulo: Edgard Blücher, 1973. 300 p.
13. ALMEIDA, M. C., VILHENA, V., BARRAL, A., NETO, M. B., Leishmanial infection: analysis of its first steps. **Review Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 98, 861-870, 2003.
14. MURRAY, H. W., LU, C. M., BROOKS, E. B., FICHTL, R. E., DE VECCHIO, J. L., HEIENZEL, F. P., Modulation of T-cell costimulation as immuno-therapy or immunochemotherapy in experimental visceral leishmaniasis, **Infection Immunology**, 71, 6453-6462, 2003.
15. World Health Organization/Special Programme for Research and training in Tropical Diseases – TDR, **Life cycle of *Leishmaniai***, 2007. Disponível em: <www.who.int/tdr/diseases/leish/lifecycle.htm>. Acessado em: 02 de setembro de 2009.
16. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Atlas de Leishmaniose Tegumentar Americana Diagnósticos Clínico e Diferencial**. Brasília, DF, 2006.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília, DF, 2006.
18. BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas - 1990 a 2008**. Brasília, DF, 2009.
19. GONTIJO, C. M. F., MELO, M. N., Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas, **Revista Brasileira de Epidemiologia**, 7(3), 338-349, 2004.
20. BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, segundo UF de residência. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas - 1990 a 2008**. Brasília, DF, 2009.
21. RODRIGUES, M. L. O., COSTA, R. S., SOUZA, C. S., FOSS, N. T., ROSELINO, A. M. F., Nephrotoxicity attributed to meglumine antimoniate (Glucantime) in the treatment of generalized cutaneous leishmaniasis, **Review Instituto de Medicina tropical**, 41, 33-37, 1999.
22. MARSDEN, P. D., Pentavalent antimonials: old drug for new diseases, **Review Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 18, 187-198, 1985.

23. BRASIL. FAPEMIG. **Minas Faz Ciências**, 9, 12-13, Belo Horizonte, 2002.
24. SAMPAIO, R. N., MARSDEN, P. D., Treatment of the mucosal form of leishmaniasis without response to glucantime, with liposomal amphotericin B, **Review Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 30(2), 125-8, 1997.
25. MISHAN, P. S., ULRICH, N., EPHORS, M., ZILBERSTEIN, D., Novel intracellular SbV reducing activating correlates with antimony susceptibility in *Leishmania donovani*, **Journal Biol. Chem**, 276, 3971-3976, 2001.
26. PAULA, C. D., SAMPAIO, J. H., SAMPAIO, R. N., A comparative study between the efficacy of pentamidine isothionate given in three doses for one week and N-methyl-glucamine in a dose of 20mg SbV/day for 20 days to treat cutaneous leishmaniasis. **Review Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36(3), 365-71, 2003.
27. CROFT, S. L., NEAL, R. A., PENDERGAST, W., CHAN, J. H., The activity of alkyl phosphorylcholines and related derivatives against *Leishmania donovani* in vitro, **Comp. Biochem. Physiol**, C68C, 95-98, 1987.
28. PEREZ, J. V., GAMARRO, F., OUELLETTE, M., CASTANYS, S., *Leishmania donovani* resistance to miltefosine involves a defective inward translocation of the drug. **Antimicrob. Agents Chemother**, 47, 2397-2403, 2003.
29. BASAVAIAH, D., RAO, K. V., REDDY, R. J., The Baylis-Hillman reaction: a novel source of attraction, opportunities, and challenges in synthetic chemistry, **Review Chemical Society**, 36, 1581, 2007.
30. MA, G. N., JIANG, J. J., SHI, M., WEIB, Y., Recent extensions of the Morita-Baylis-Hillman reaction, **Chem. Commun.**, DOI: 10.1039/b909405a, 5496-5514, 2009.
31. DECLERCK, V., MARTINEZ, J., LAMATY, F., Aza-Baylis-Hillman Reaction, **Chemical Reviews**, 109 (1), 1-48, 2009.
32. BASAVAIAH, D., RAO, J., SATYANARAYANA, T., Recent advances in Baylis-Hillman reactions and applications, **Chemical Society Reviews**, 103(3), 811, 2003.
33. 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, **Química Nova**, 26, 123, 2003.

34. 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, 2004.
35. 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.
36. 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.
37. DE SOUZA, R. O. M. A., FREGADOLLI, P. H., AGUIAR, L. C., GONÇALVES, K. M., PEREIRA, V. L. P., FILHO, L. C., ESTEVES, P. M., VASCONCELLOS, M. L. A. A., ANTUNES, O. A. C., Hexamethylenetetramine-Ionic Liquids Combined System to Promote Baylis Hillman Reactions, **Organic Chemistry**, 3, 936, 2006.
38. BAYLIS, A. B., HILLMAN, M. E. D., **Chemical Abstr.**, 77, 34174q, 1972.
39. 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.
40. 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.
41. HILL, J. S., ISAACS, N. S., Mechanism of α -substitution reactions of acrylic derivatives, **Phys. Org. Chem**, 3, 285, 1990.
42. a) 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. b) MCQUADE, D. T., PRICE, K. E., BROADWATER, S. J., WALKER, B. J., A new interpretation of the Baylis Hillman mechanism, **Journal Organic Chemistry**, 70, 3980, 2005b.
43. 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.
44. 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.

45. 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, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 9, 731, 1999.

46. NARENDER, P., SRINIVAS, U., GANGADASU, B., BISWAS, S., RAO, V. J., Anti-malarial activity of Baylis-Hillman adducts from substituted 2-chloronicotinaldehydes, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 15, 5378, 2005.

47. 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.

48. 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, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 41, 738, 2006.

49. 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, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 42, 99, 2007.

50. 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*, **European Journal of Medicinal Chemistry**, 44, 1726, 2009.

51. BARREIRO, E. J., A Química Medicinal e o paradigma do composto-protótipo, **Revista Virtual de Química**, 1 (1), 26-34, 2009.

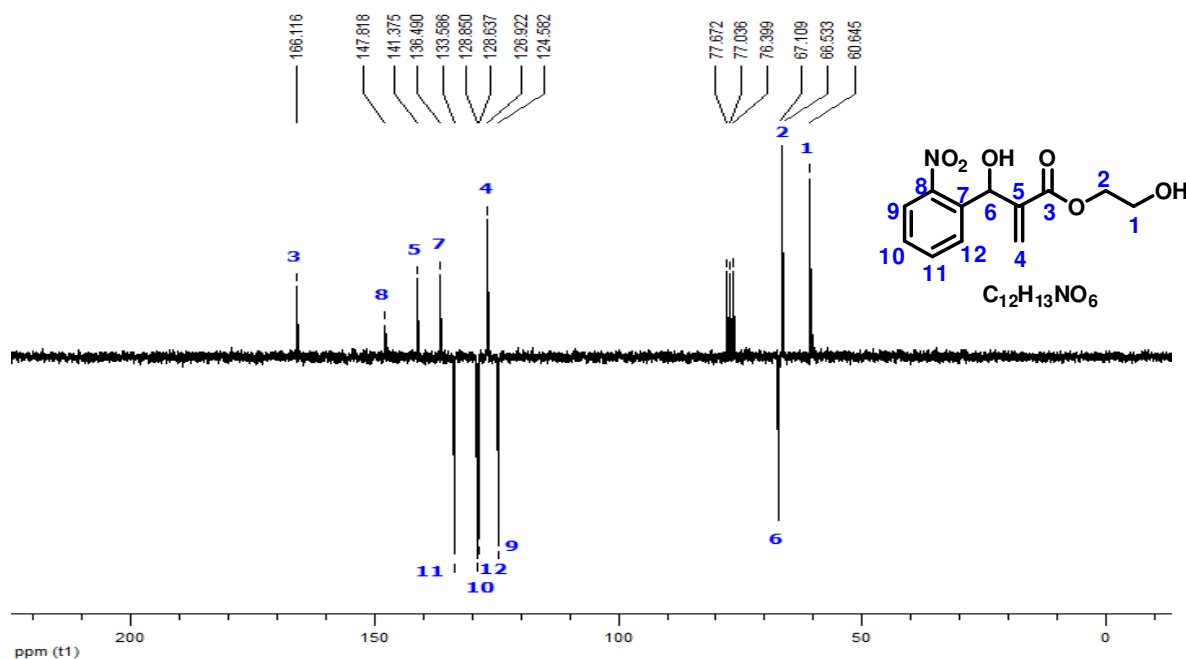
52. LIMA, L. M., Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira, **Química Nova**, 30 (6), 1456-1468, 2007.

53. GÓES, A. J. S., DE LIMA, W. T., NAGY, H. J., ALVES, A. J., DE FARIA, A. R., LIMA, J. G., MAIA, M. B. S., SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA DE DERIVADOS *N*-TRIPTOFIL-5-BENZILIDENO-2,4-TIAZOLIDINADIONA E *N*-TRIPTOFIL-5-BENZILIDENO-RODANINA, **Química Nova**, 27 (6), 905-910, 2004.

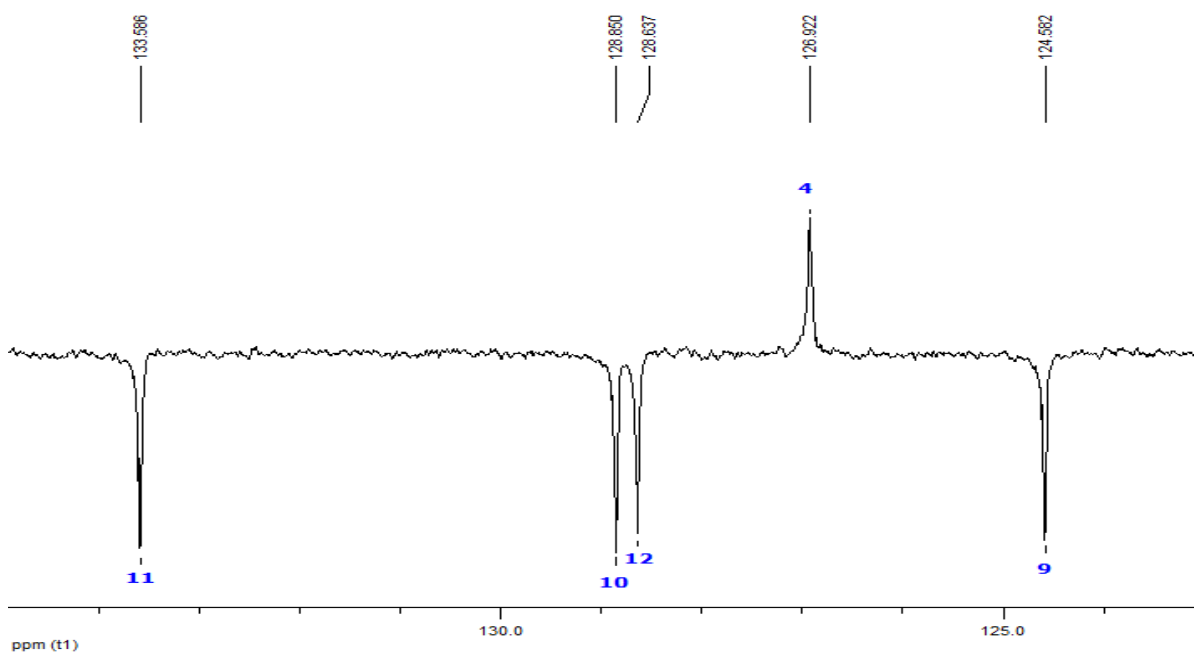
54. BARREIRO, E. J., LIMA, L. M., Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design, **Medicinal Chemistry**, 12, 23-49, 2005.
55. LANGMUIR, I., Isomorphism, Isosterism and Covalence, **J. Am. Chem. Soc.**, 41, 1543-1559, 1919.
56. GRIMM, H. G., Structure and Size of the Non-metallic Hydrides, **Z. Electrochem**, 31, 474-480, 1925.
57. ERLLENMEYER, H., LEO, M., On Pseudoatoms, **Helv. Chim. Acta**, 15, 1171-1186, 1932.
58. FRIEDMAN, H. L., Influence of Isosteric Replacements upon Biological Activity, **NASNRS**, 206, 295-358, 1951.
59. BURGER, A., **Medicinal Chemistry**, 3 ed., New York: Wiley-Interscience, 1970, 64-80.
60. PATANI, G. A., LAVOIE, E. J., Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design, **Chemical Reviews**, 96, 3147-3176, 1996.
61. FÁVERO, R. P., SERRANO, S. H. P., TAVARES, L. C., Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos, **Química Nova**, 32, 1013, 2009.
62. ROZENSKI, J., DE RAUNTER, C. J., VERPLANKEN, H., Quantitative structure-activity relationships for antimicrobial nitroheterocyclic drugs, **Quant. Struct.-Act. Relat.**, 14, 134, 1995.
63. TOCHER, J. H., Reductive activation of nitroheterocyclic compounds, **Gen. Pharmac.**, 28, 485, 1997.
64. 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.
65. MOSMANN, T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, **Journal of immunological methods**, 65, 55-63, 1983.

Espectros

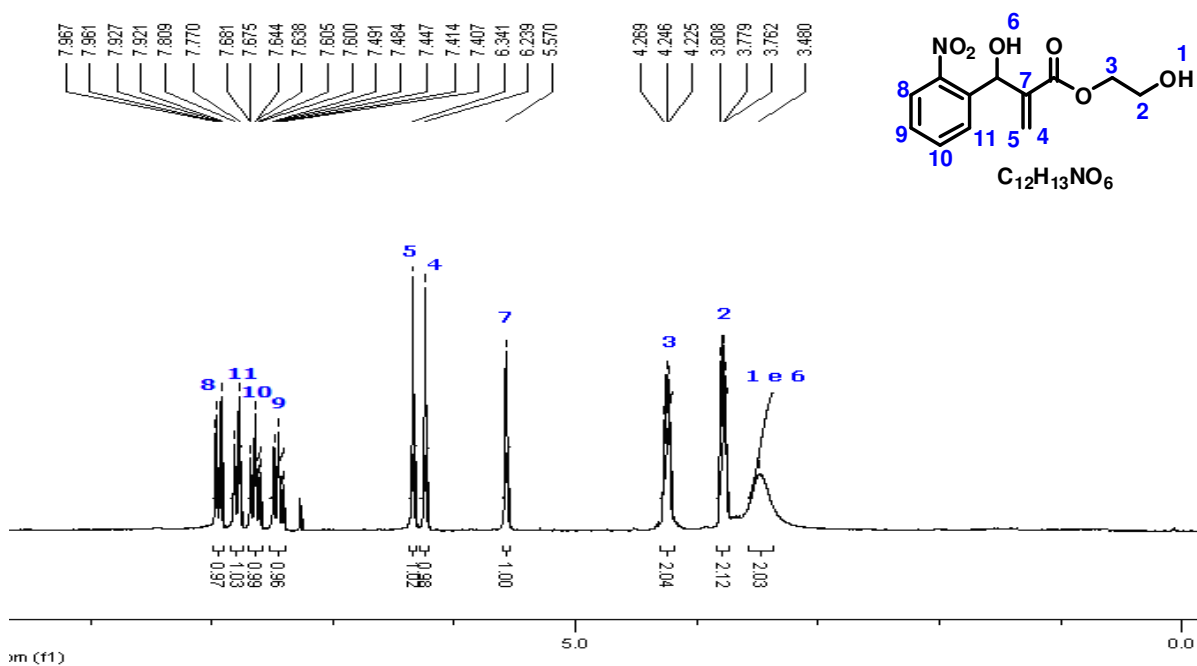
ESPECTROS



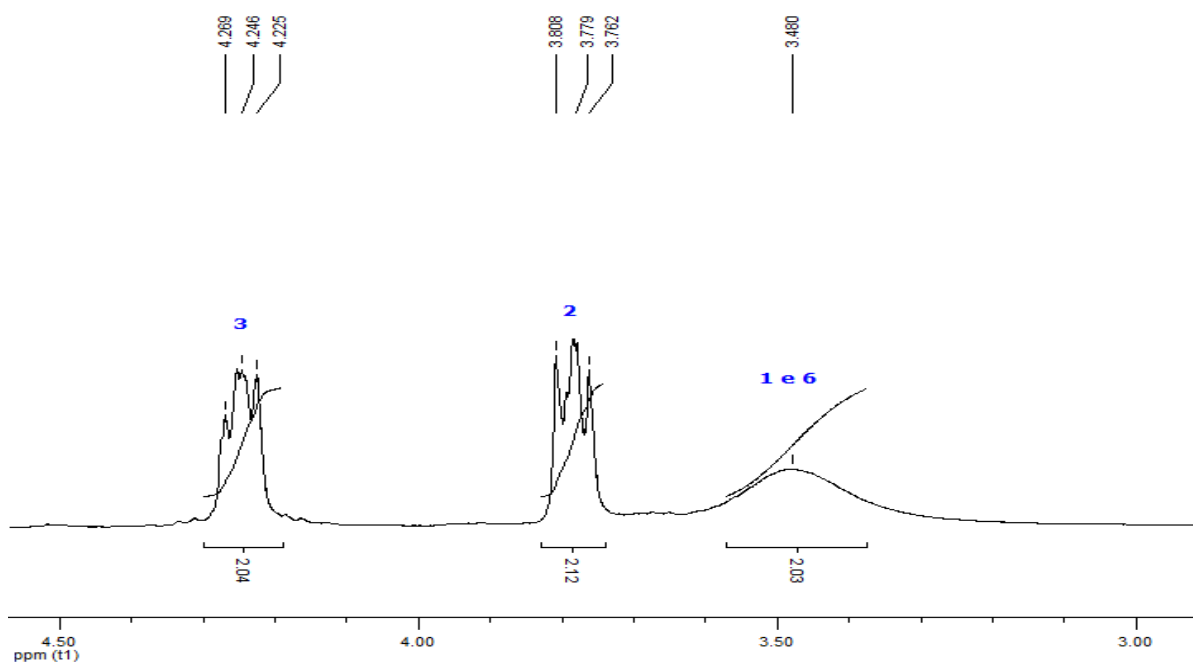
Espectro 1 Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**47**).



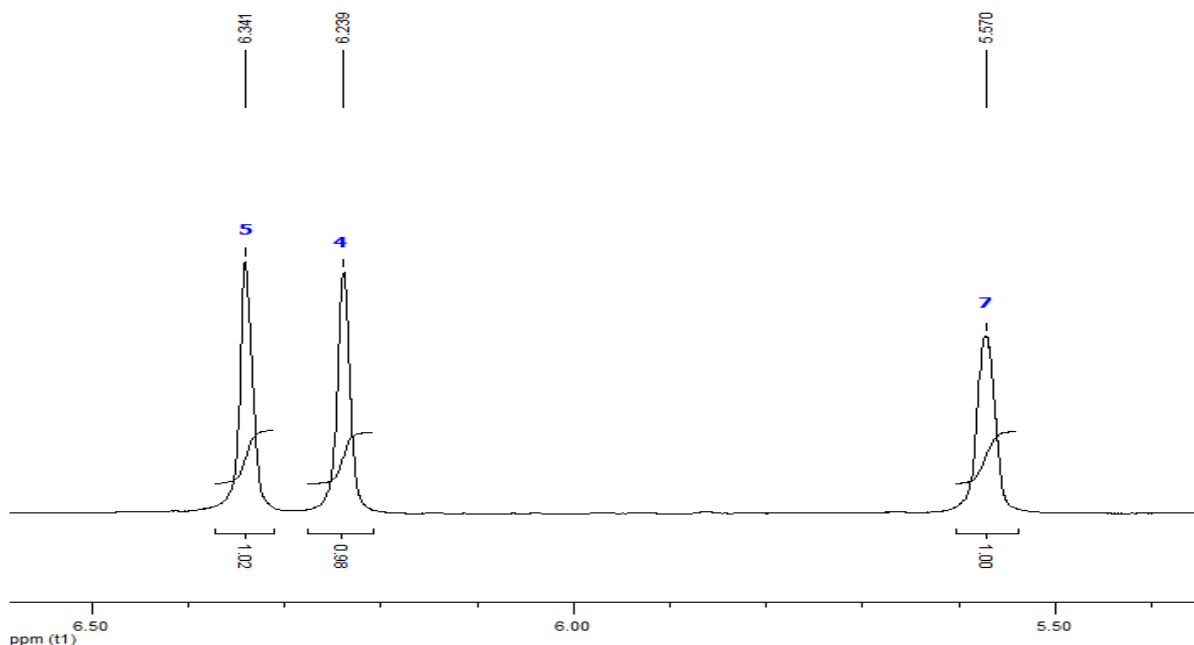
Espectro 2 Expansão do Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**47**) na região de 124,50 a 133,50ppm.



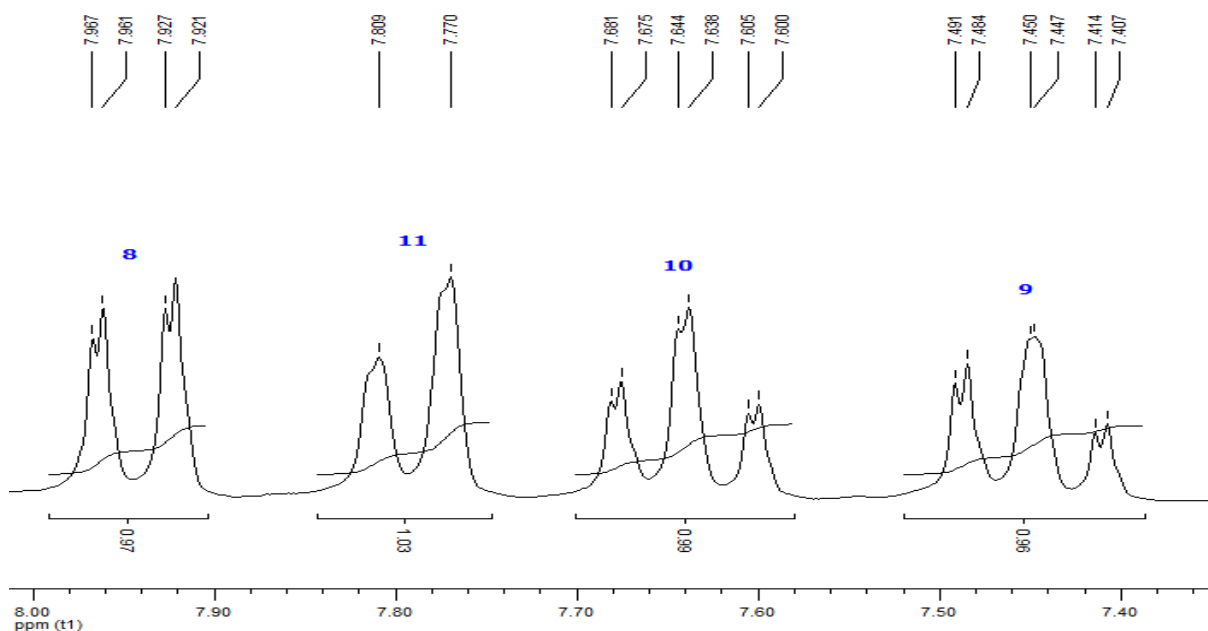
Espectro 3 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**47**).



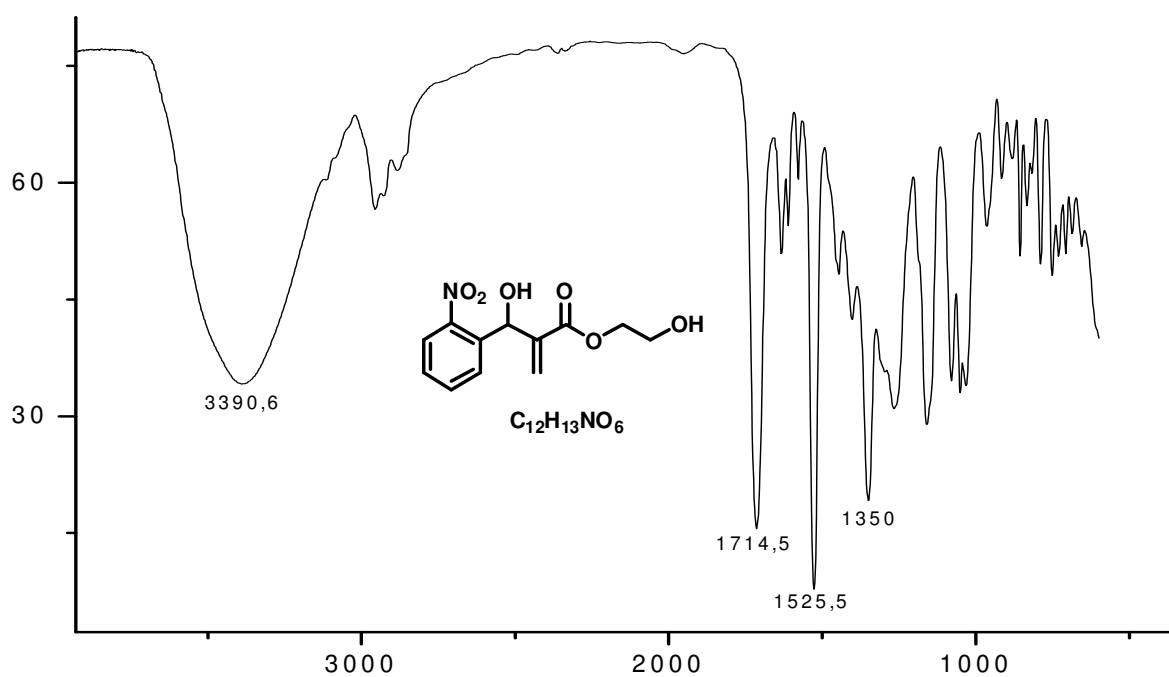
Espectro 4 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**47**) na região de 3,00 a 4,50ppm.



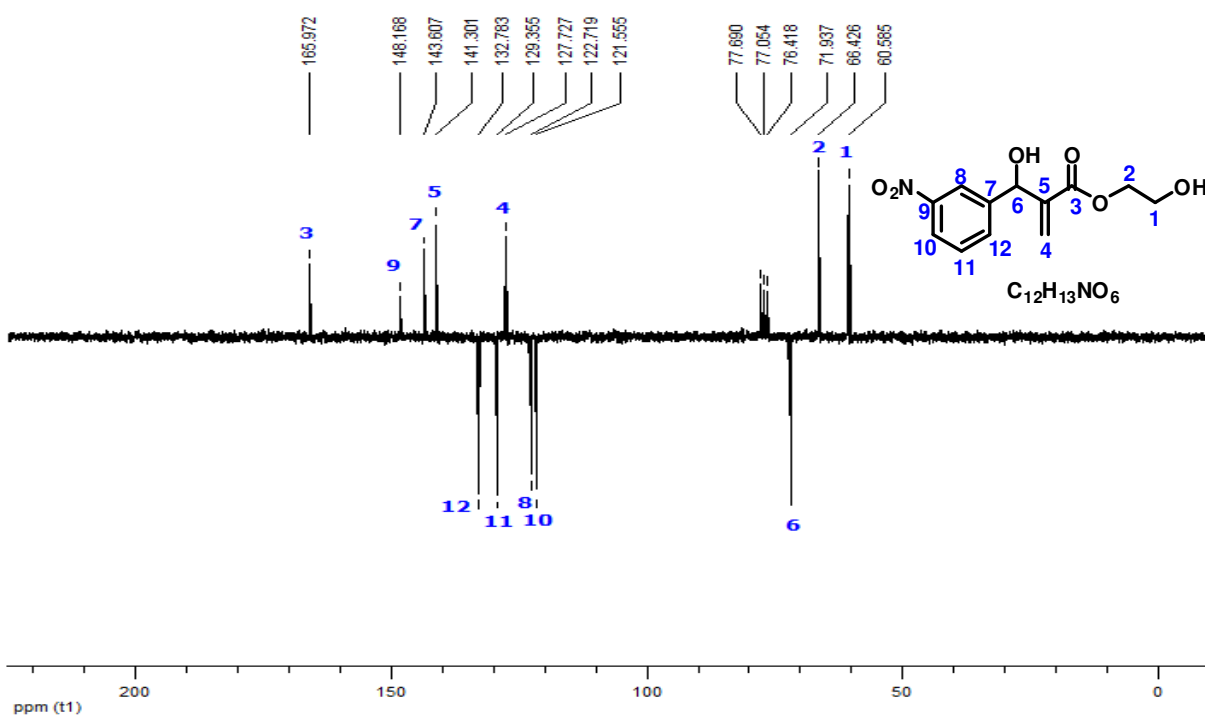
Espectro 5 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxi-etila (**47**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



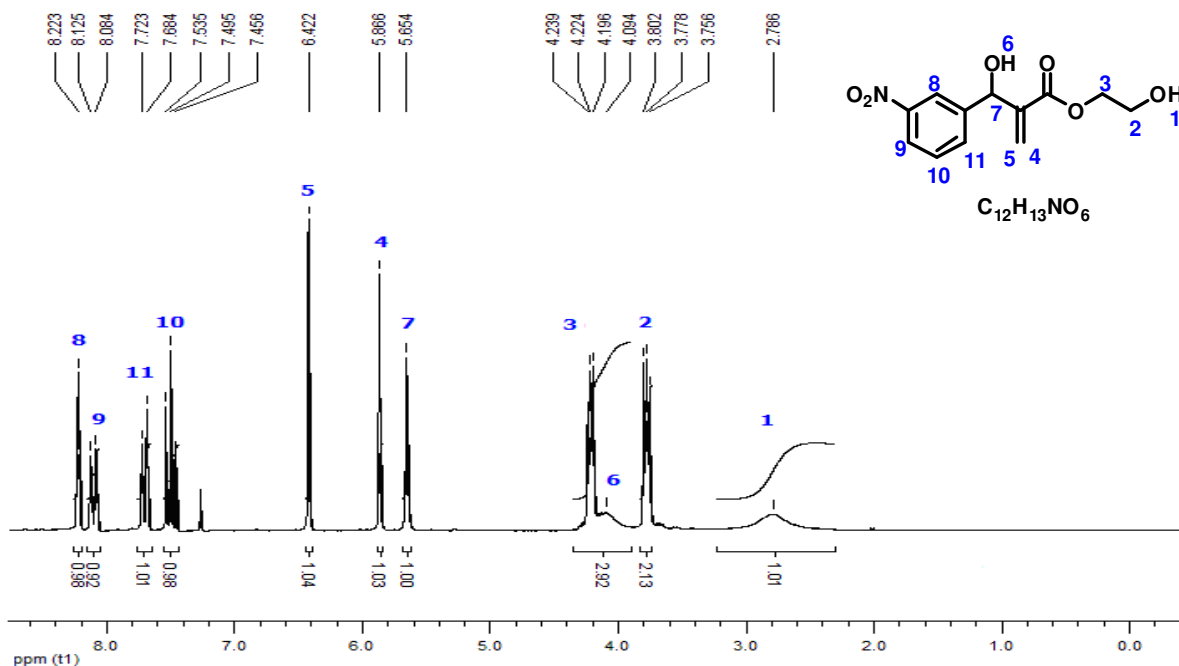
Espectro 6 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxi-etila (**47**) na região de 7,40 a 8,00ppm.



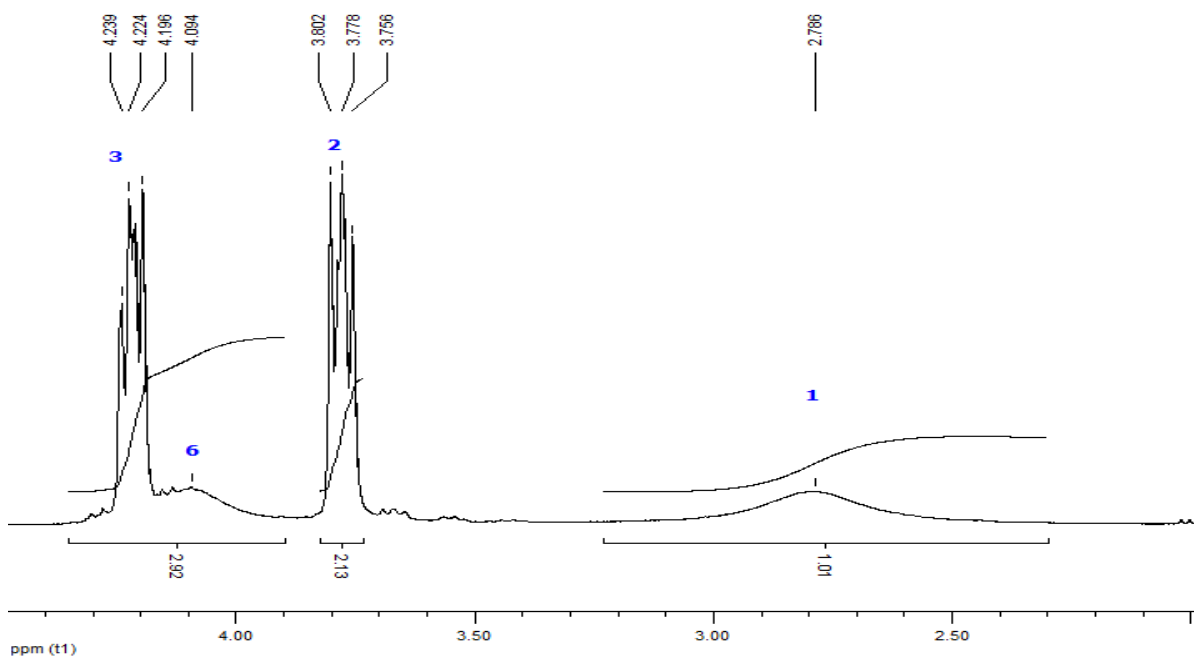
Espectro 7 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(2-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**47**) em cm^{-1} .



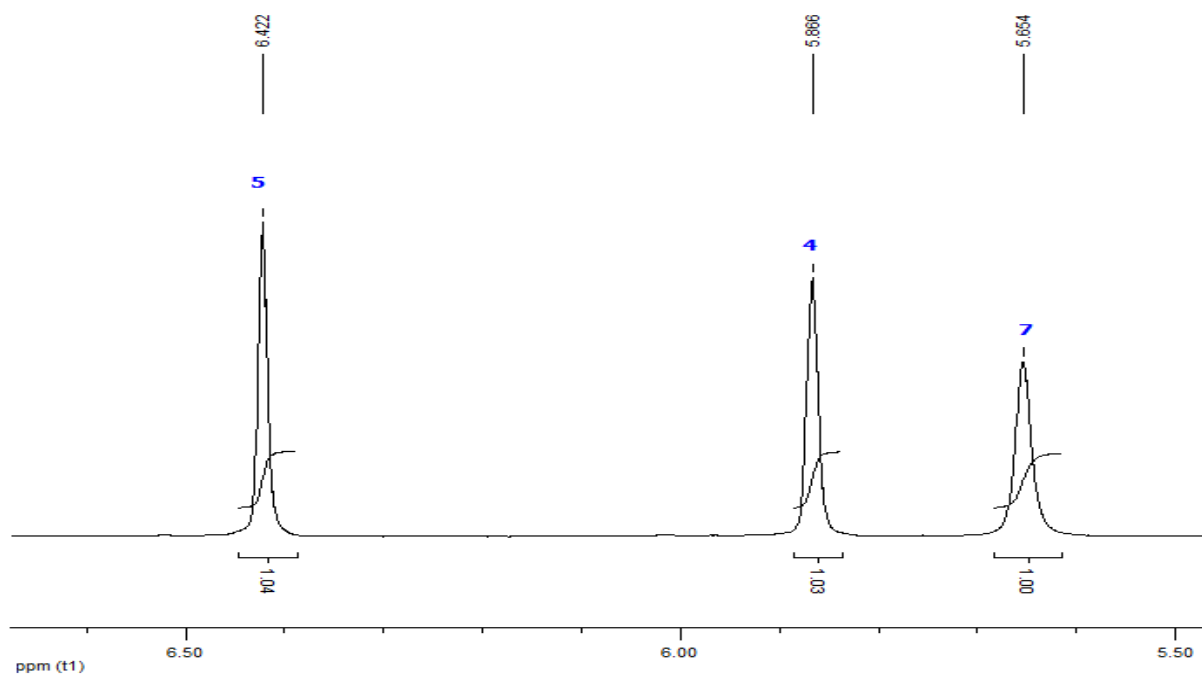
Espectro 8 Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl_3 , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**48**).



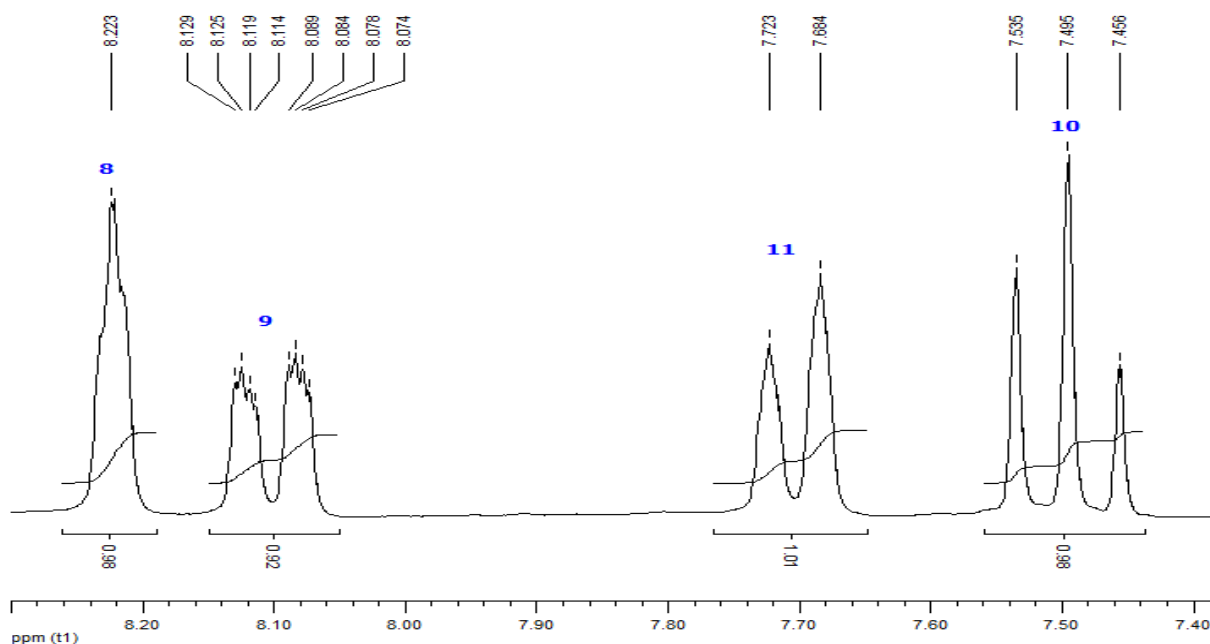
Espectro 9 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**48**).



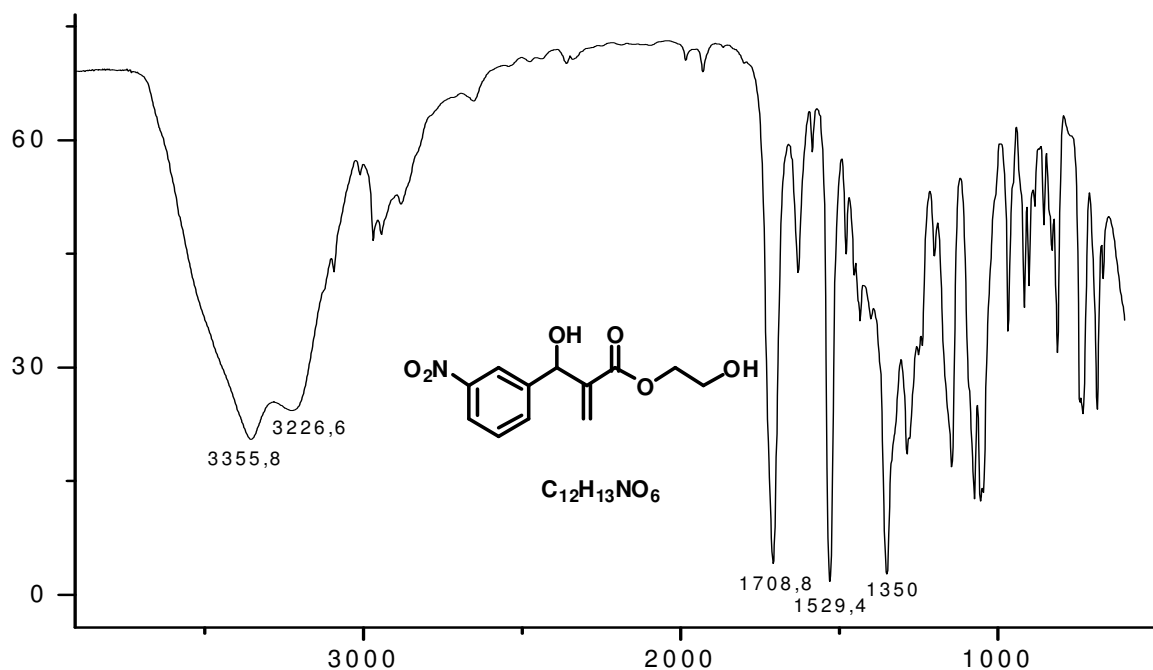
Espectro 10 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**48**) na região de 2,50 a 4,30ppm.



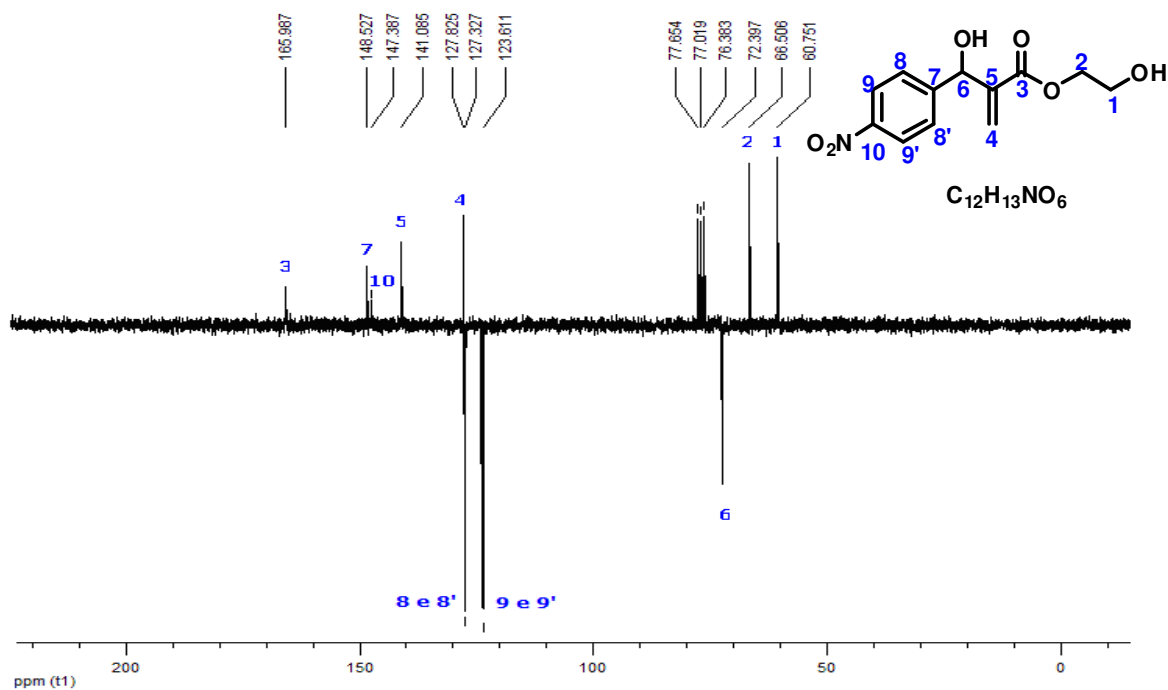
Espectro 11 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**48**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



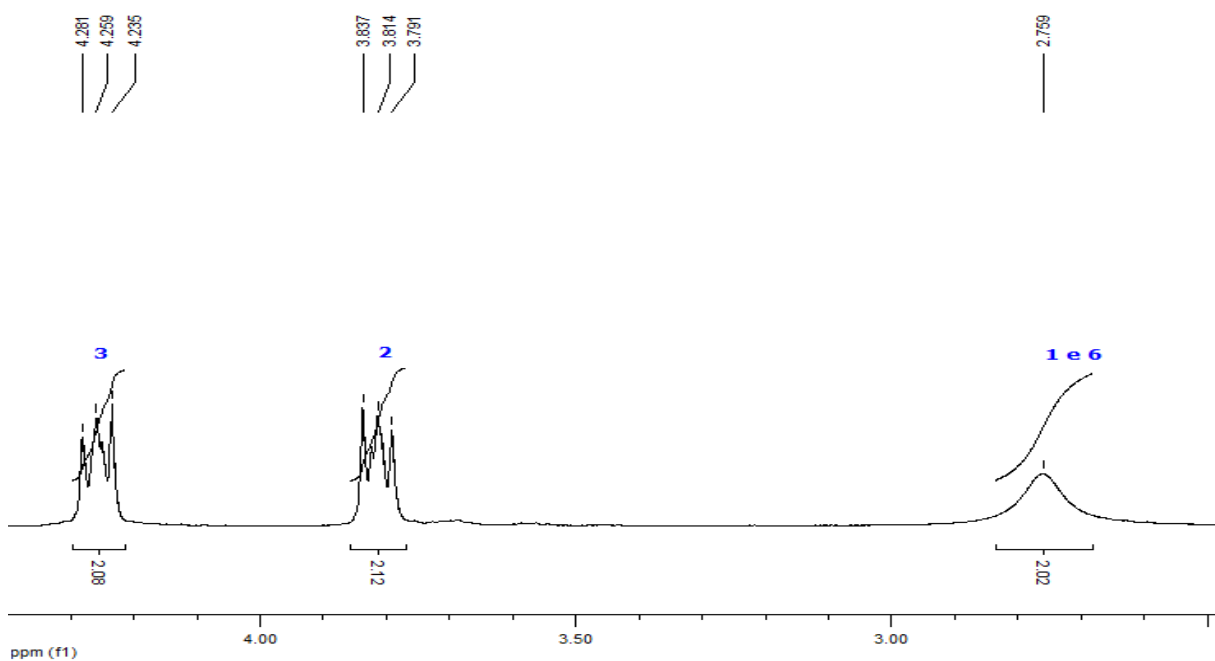
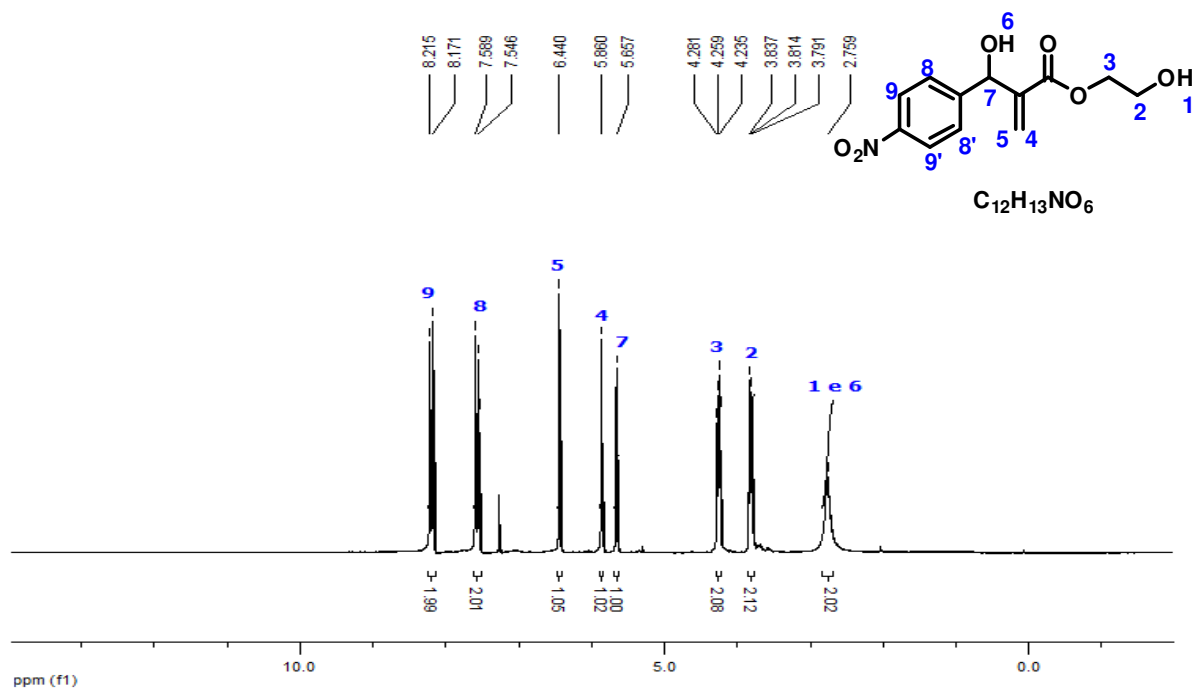
Espectro 12 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**48**) na região de 7,40 a 8,30ppm.

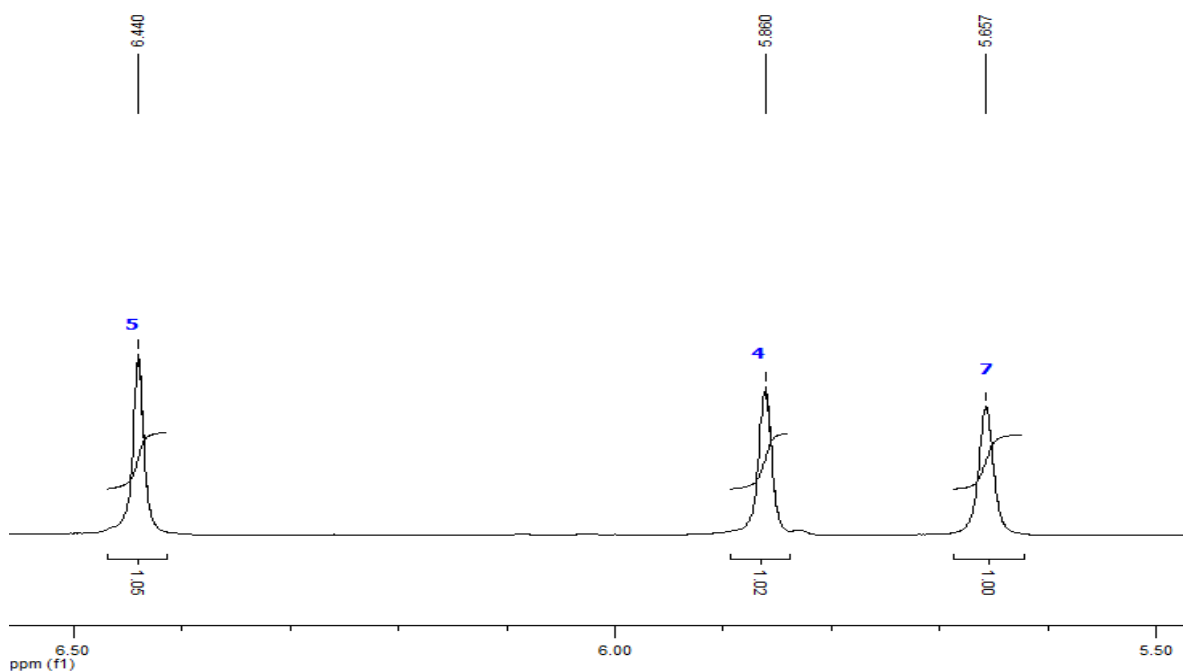


Espectro 13 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**48**) em cm^{-1} .

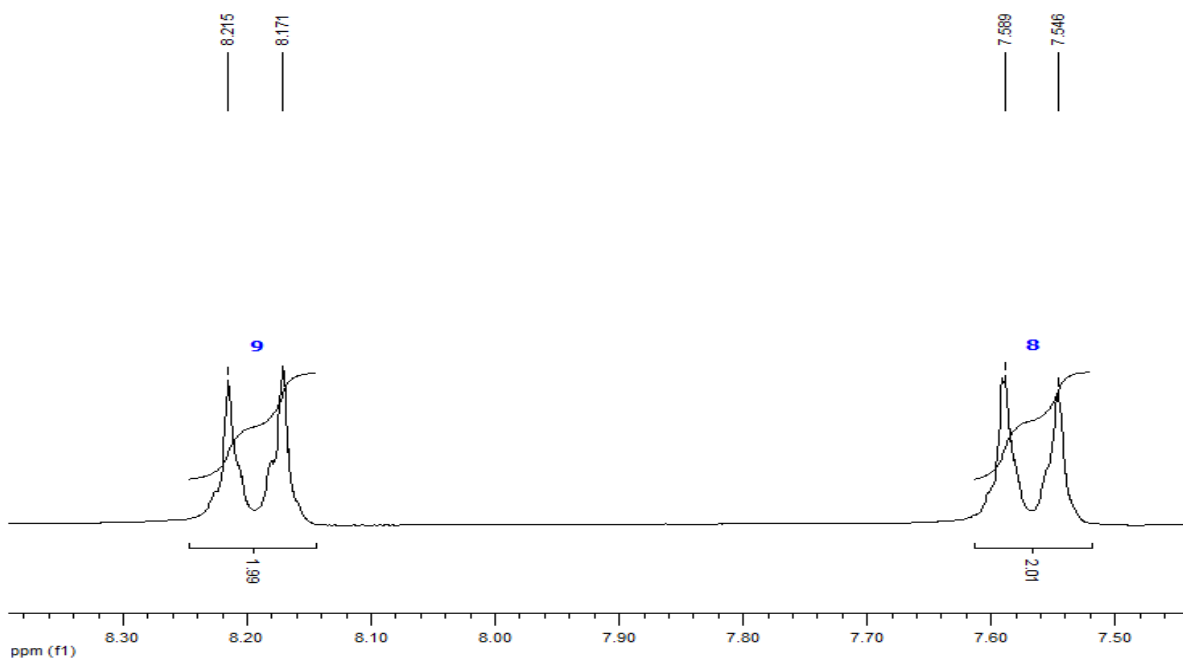


Espectro 14 Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**49**).

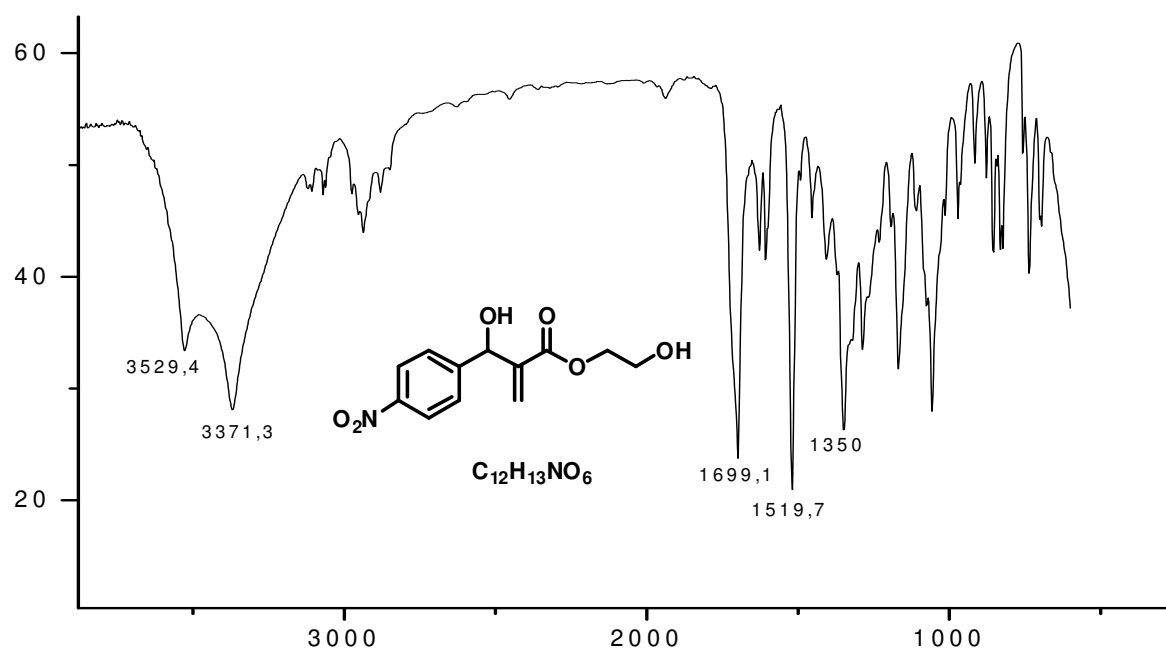




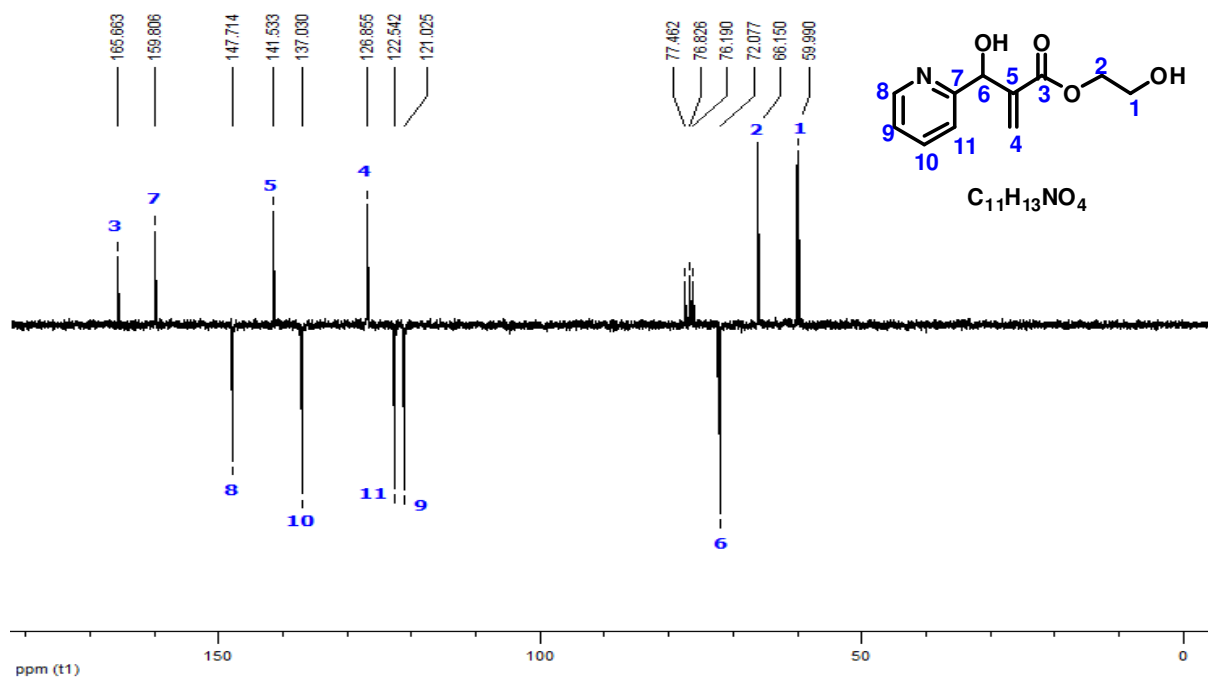
Espectro 17 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxieta (49) na região de 5,50 a 6,50ppm.



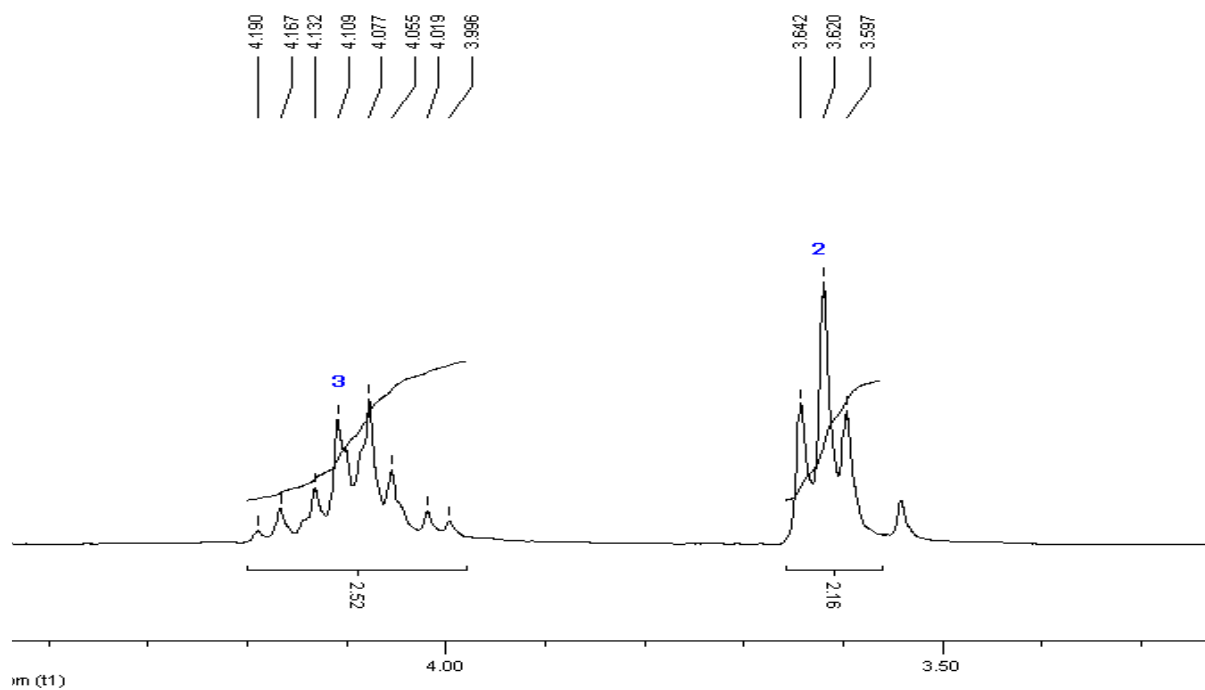
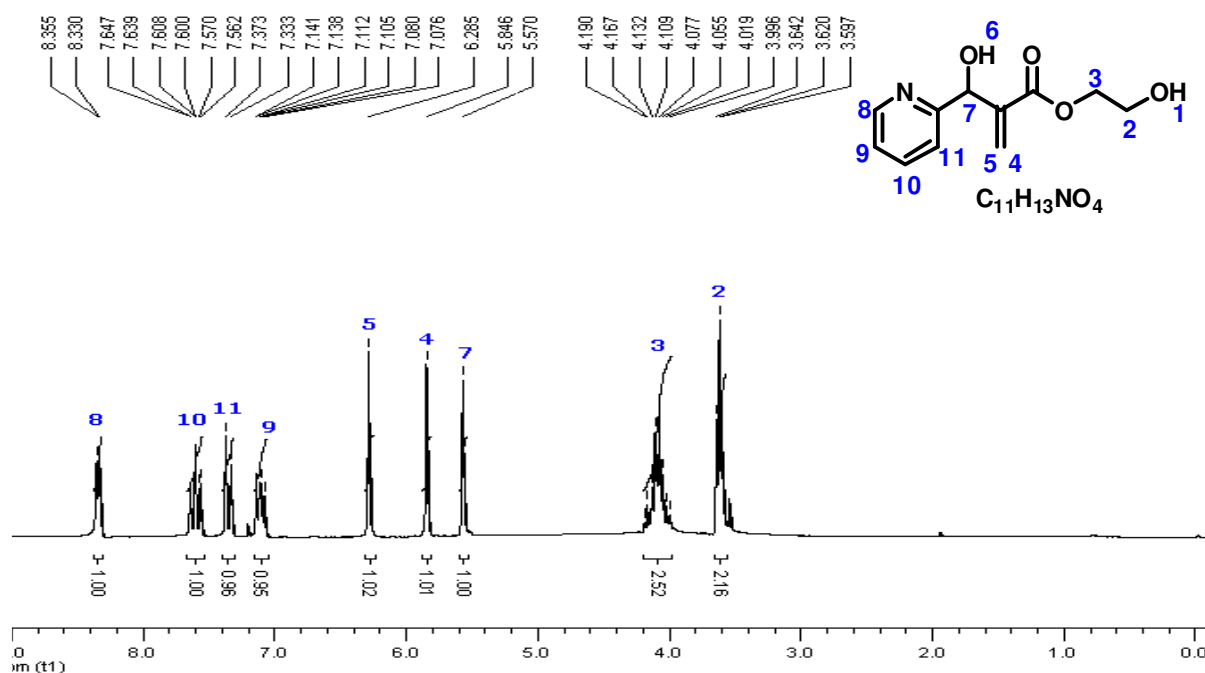
Espectro 18 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxieta (49) na região de 7,50 a 8,30ppm.

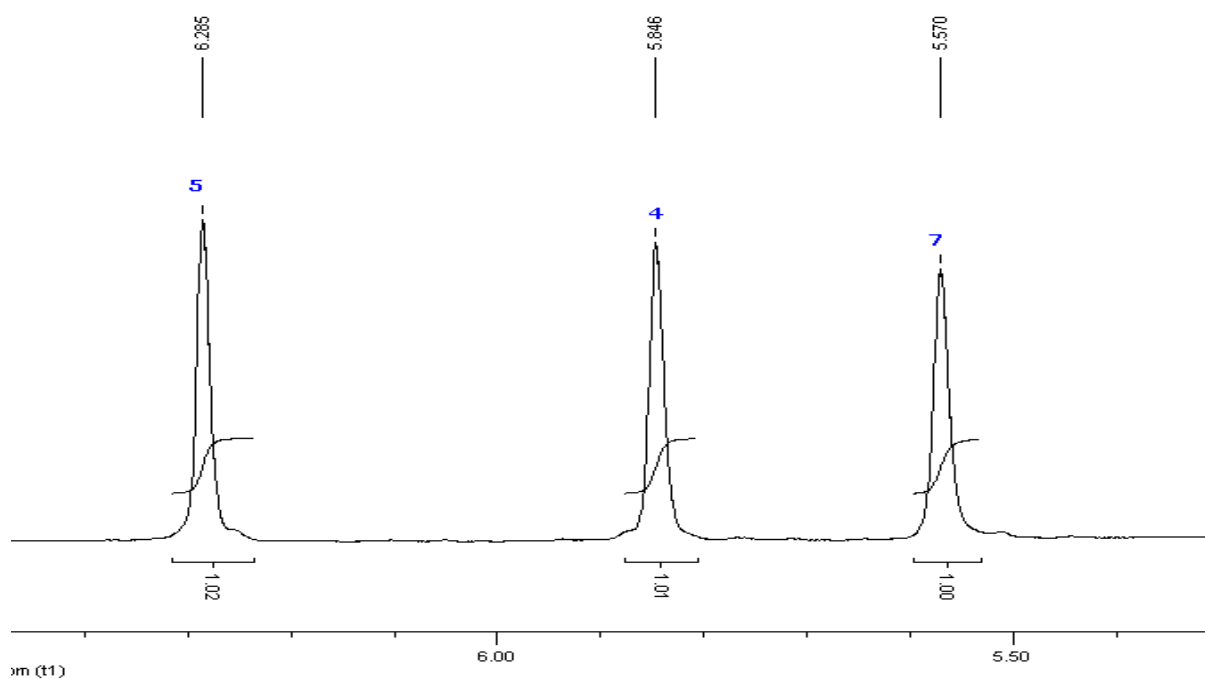


Espectro 19 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(4-nitrofenil)metil)] de 2-hidroxietila (**49**) em cm^{-1} .

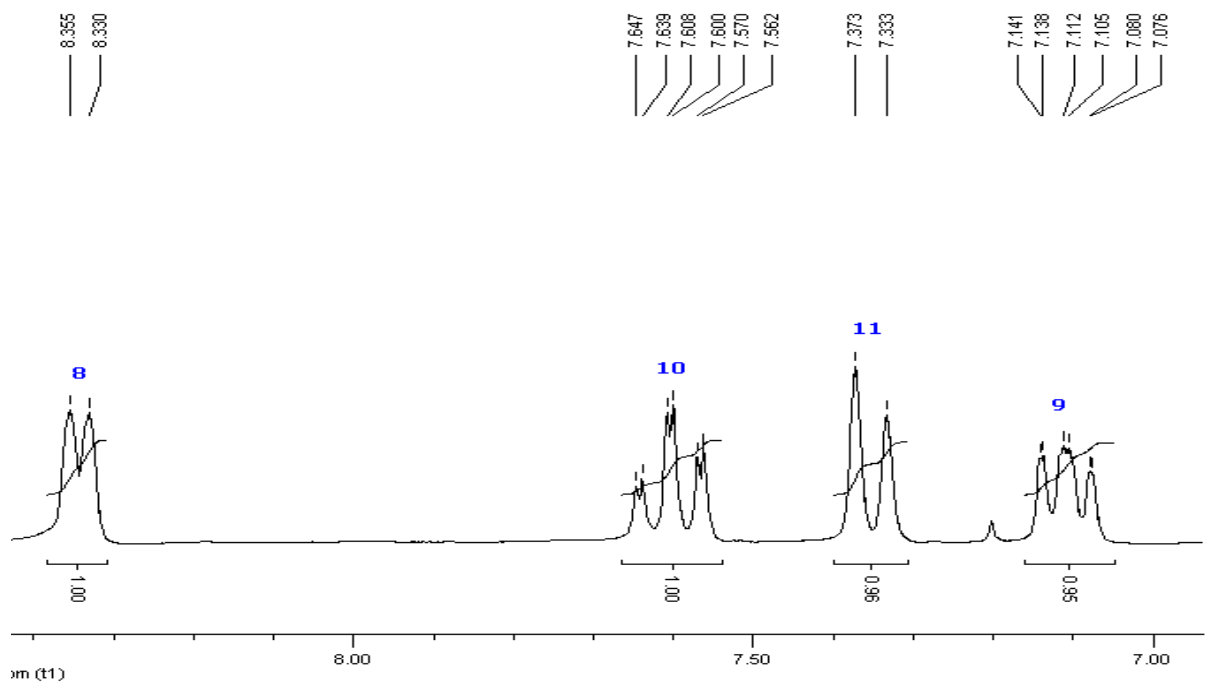


Espectro 20 Espectro de RMN^{13}C -APT(CDCl_3 , 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (**50**).

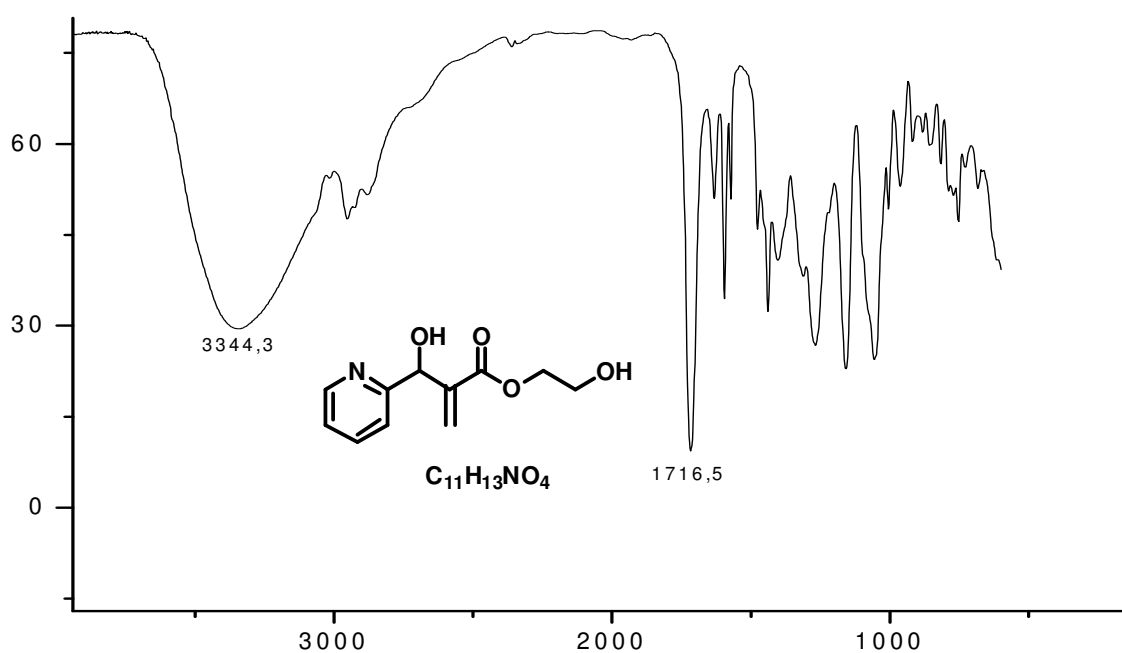




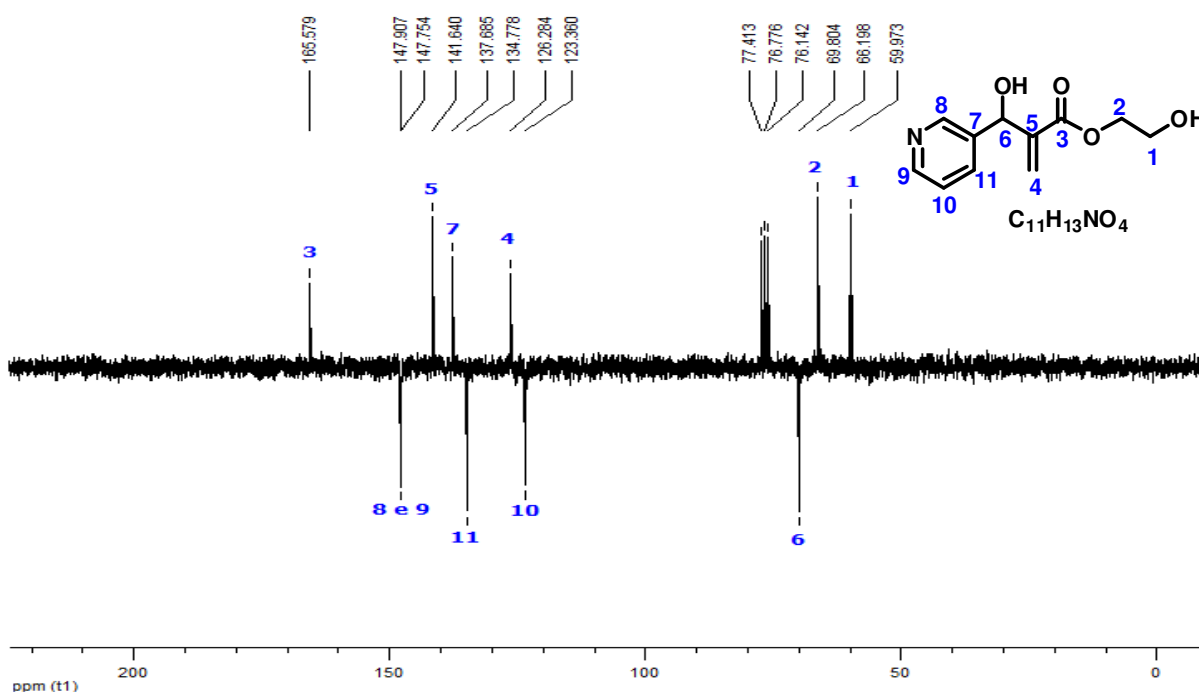
Espectro 23 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxi-etila (**50**) na região de 5,50 a 6,30ppm.



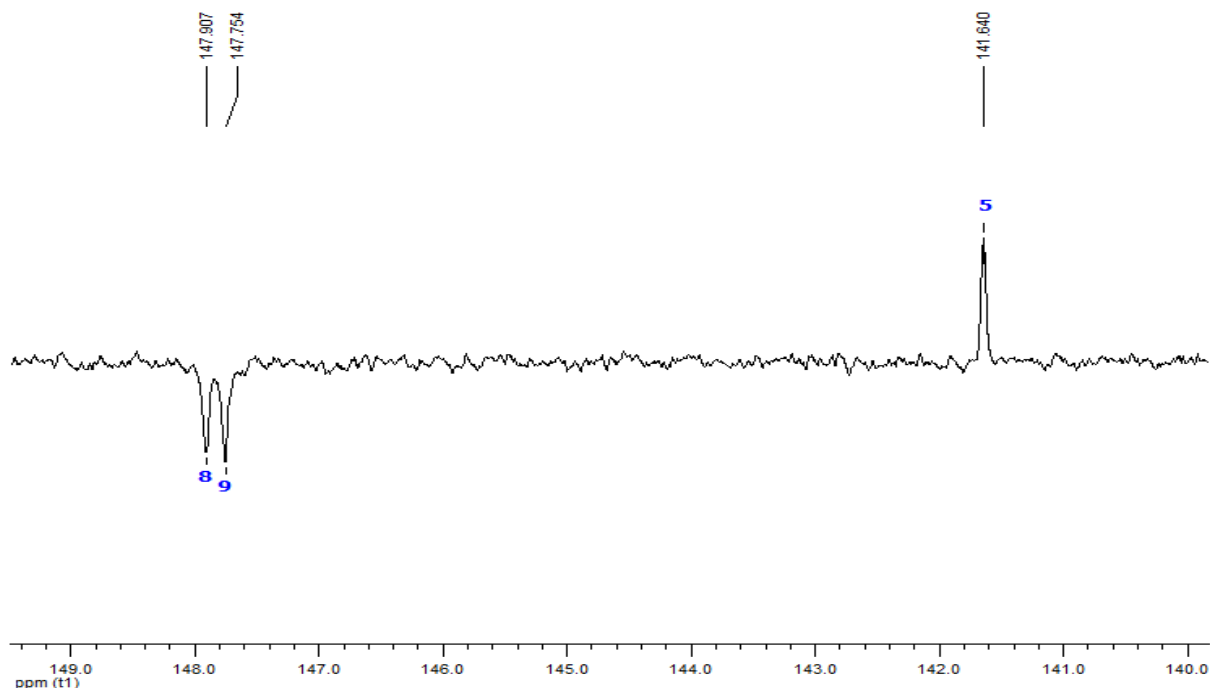
Espectro 24 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxi-etila (**50**) na região de 7,70 a 8,40ppm.



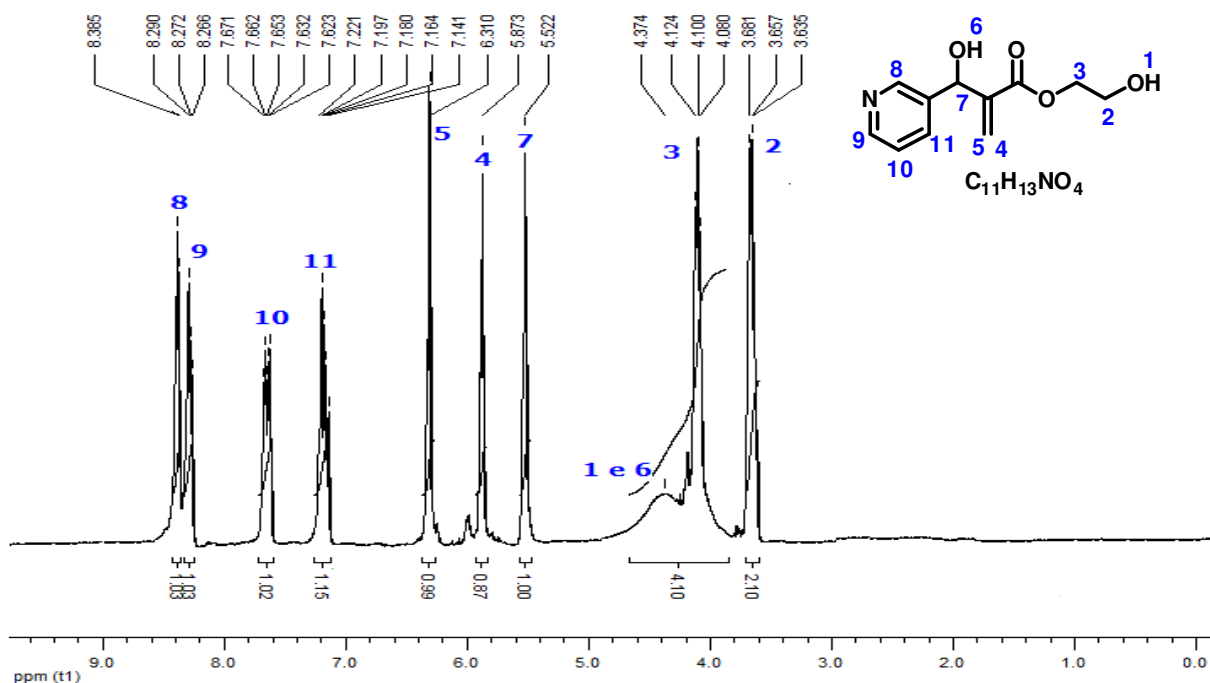
Espectro 25 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (**50**) em cm^{-1} .



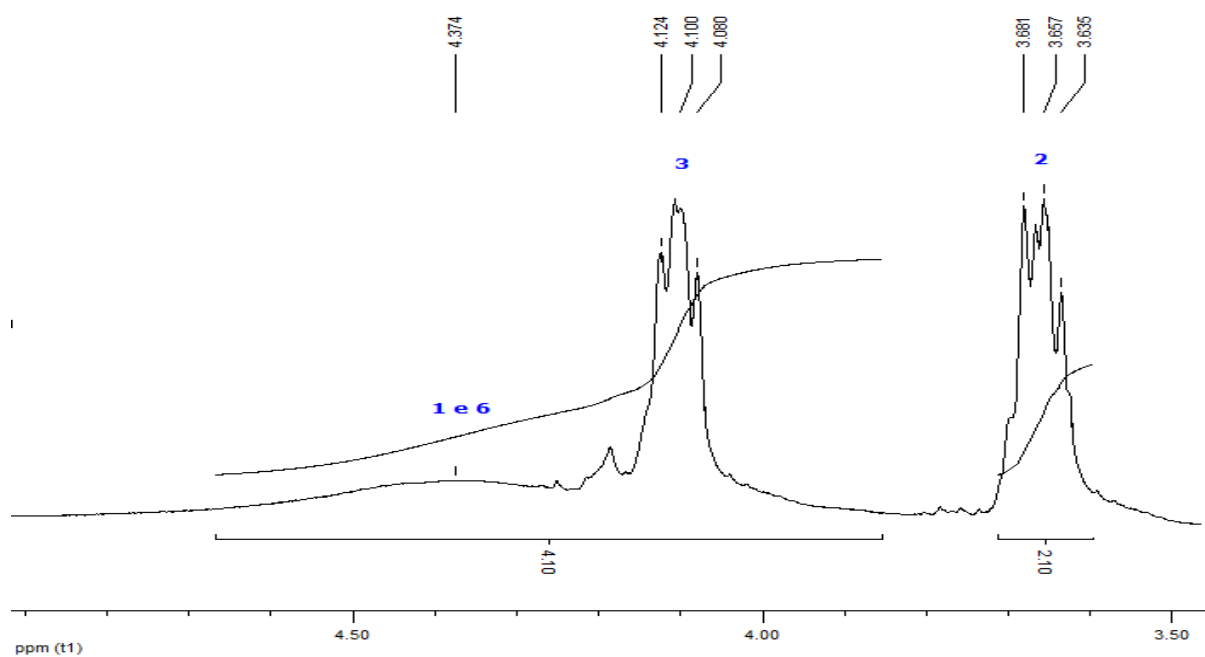
Espectro 26 Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (**51**).



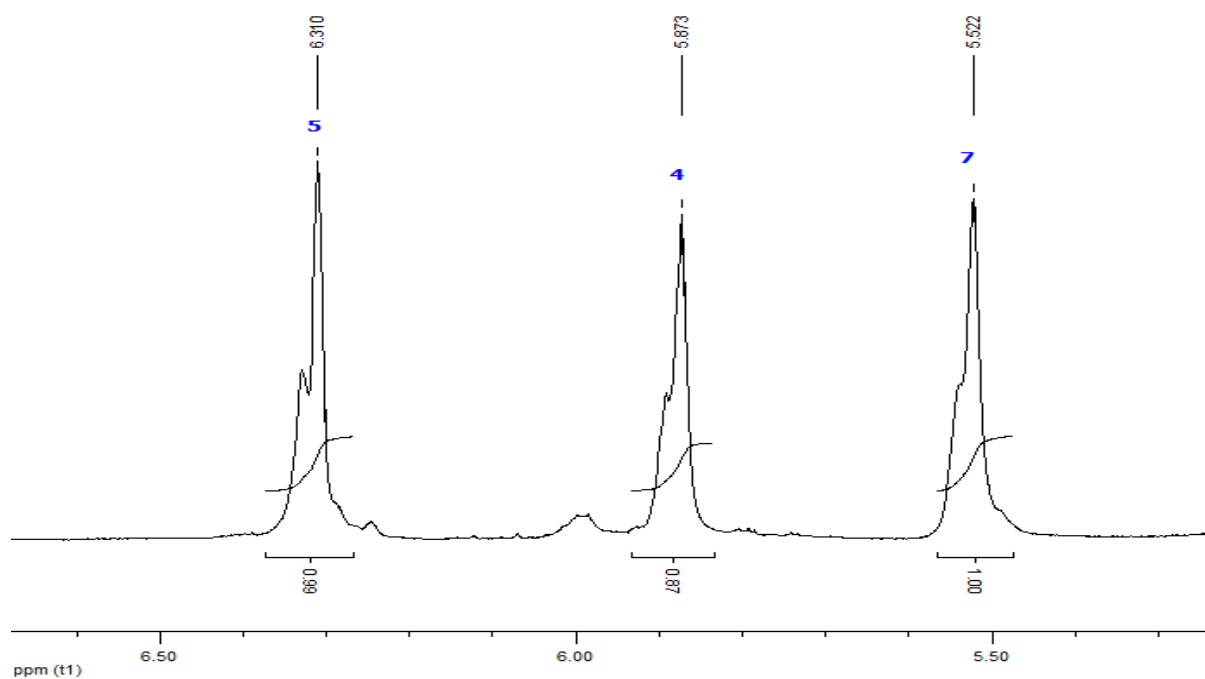
Espectro 27 Expansão do Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (**51**) na região de 140,0 a 149,0ppm.



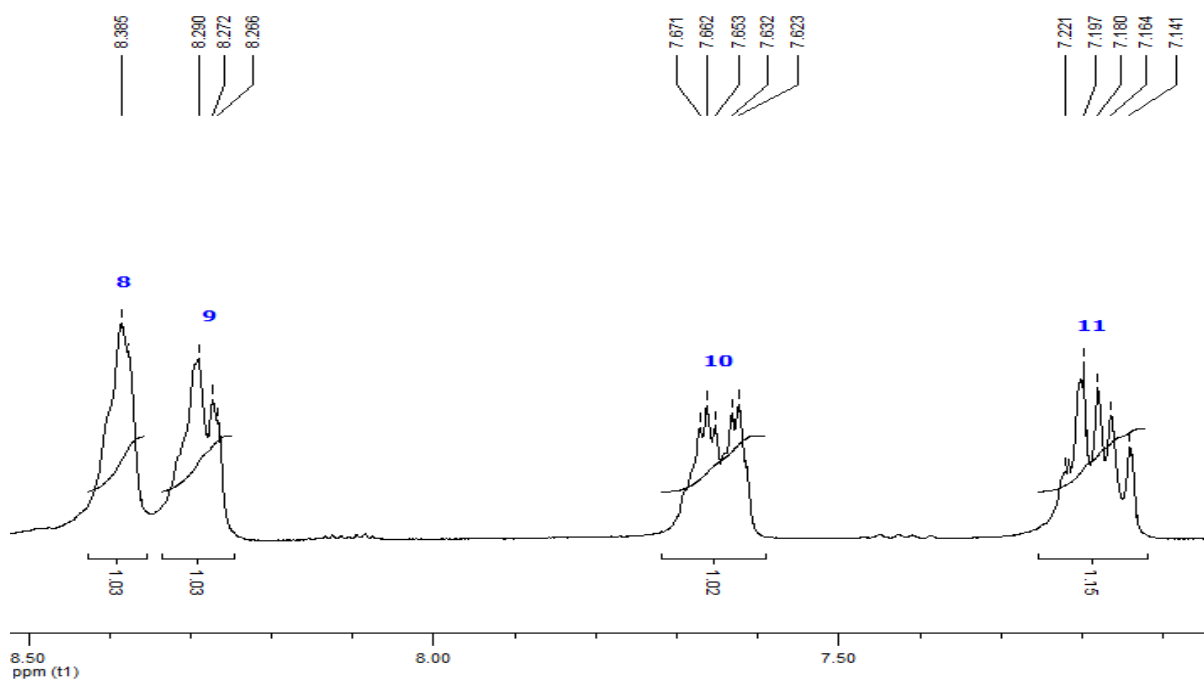
Espectro 28 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (**51**).



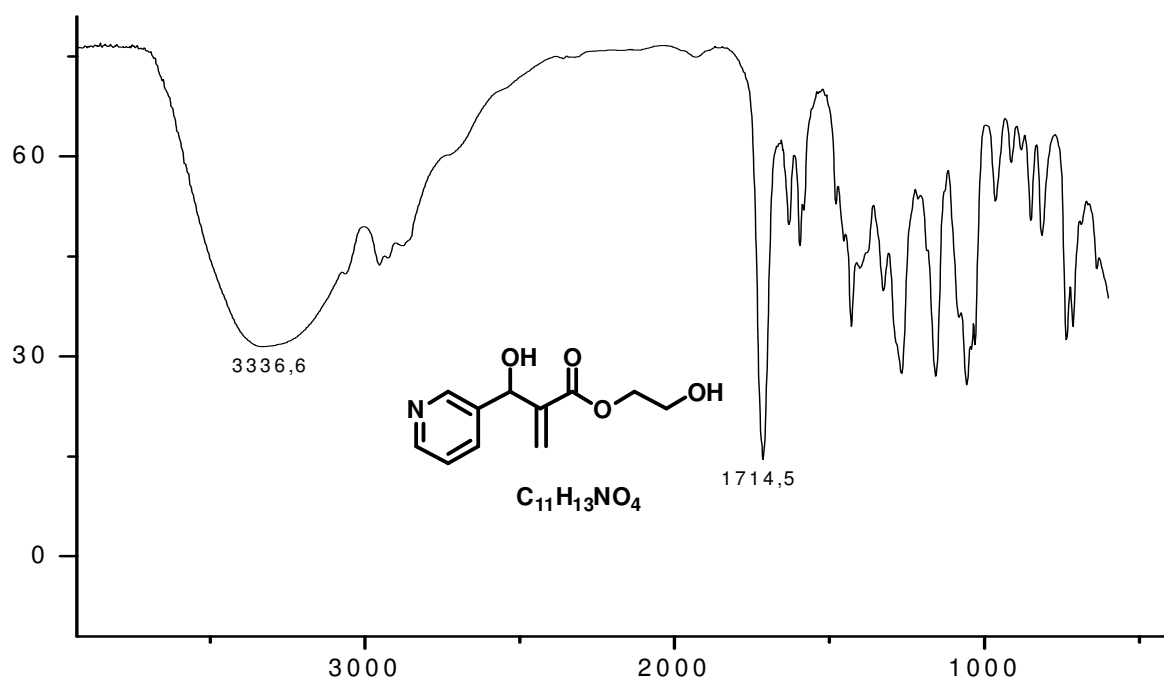
Espectro 29 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (**51**) na região de 3,50 a 4,50ppm.



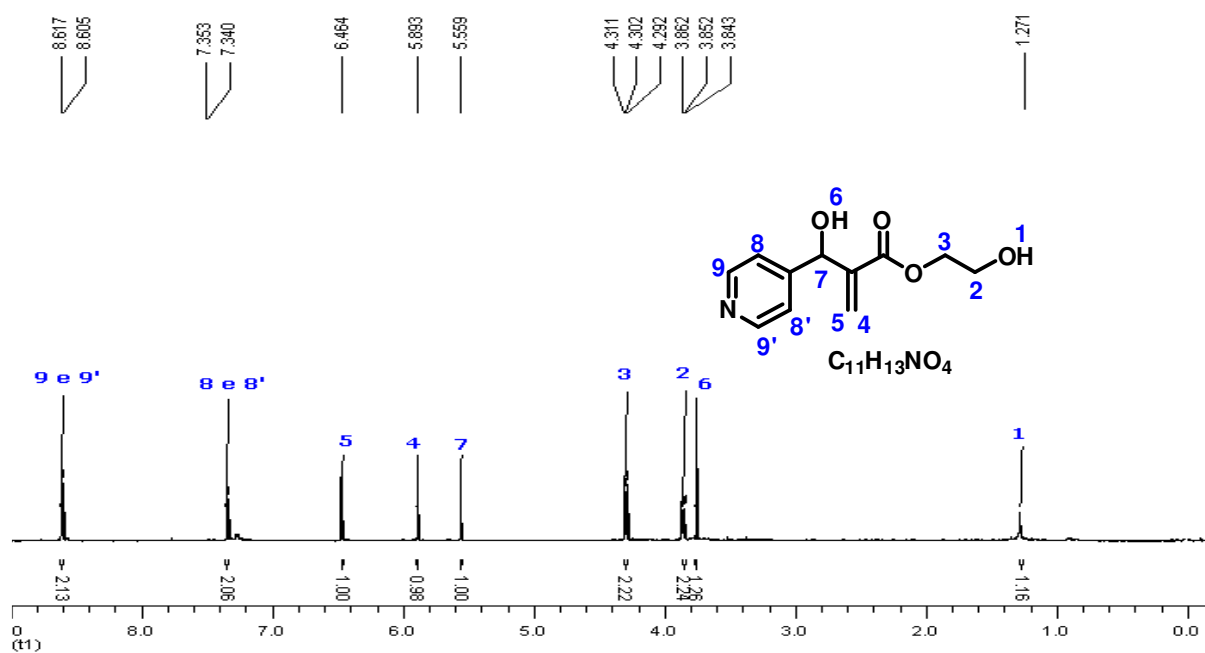
Espectro 30 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (**51**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



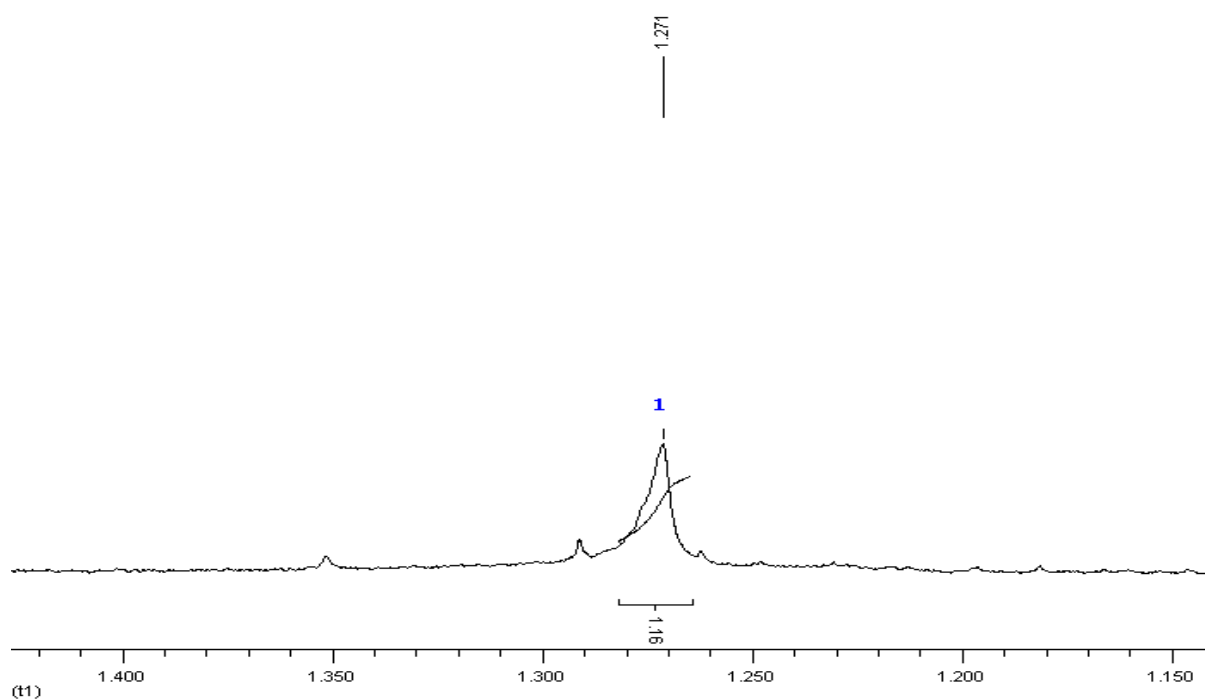
Espectro 31 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila (**51**) na região de 7,10 a 8,50ppm.



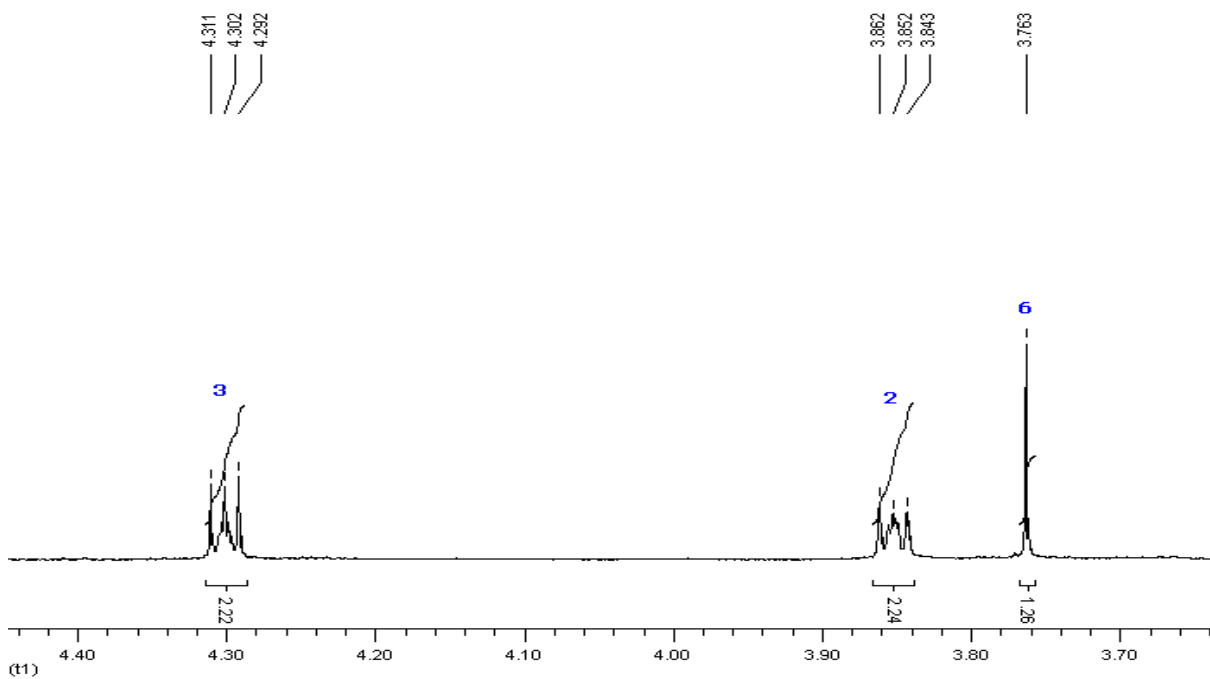
Espectro 32 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-3-il)metil)] de 2-hidroxietila em cm⁻¹ (**51**).



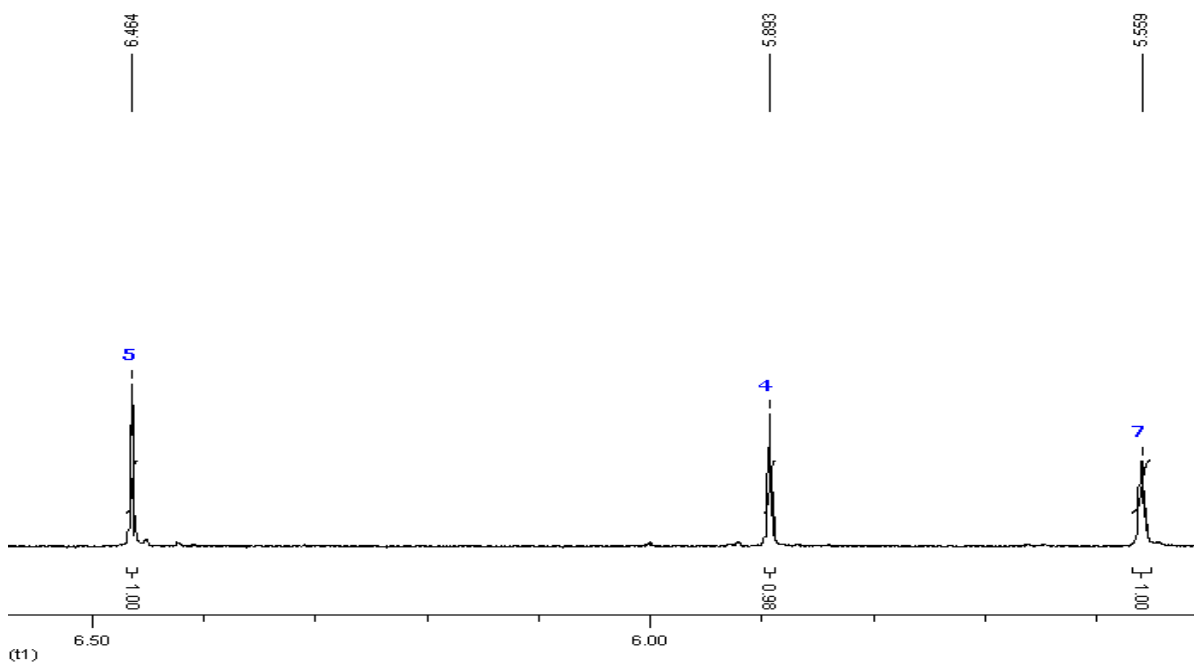
Espectro 33 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxieta (52).



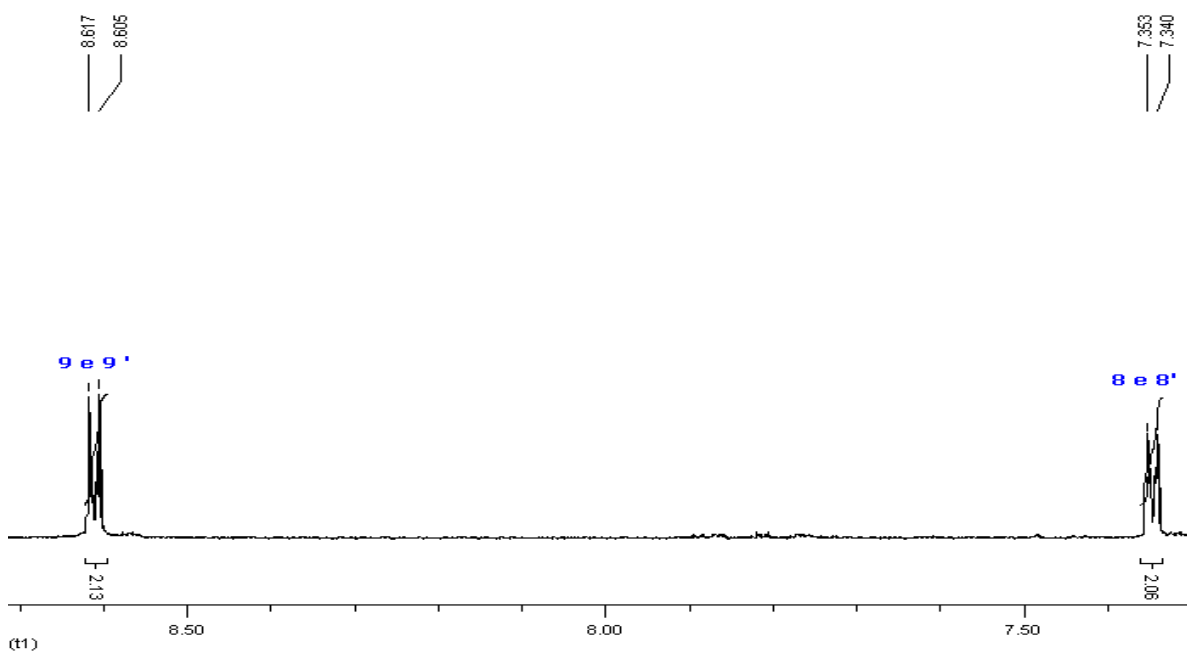
Espectro 34 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxieta (52) na região de 1,20 a 1,30ppm.



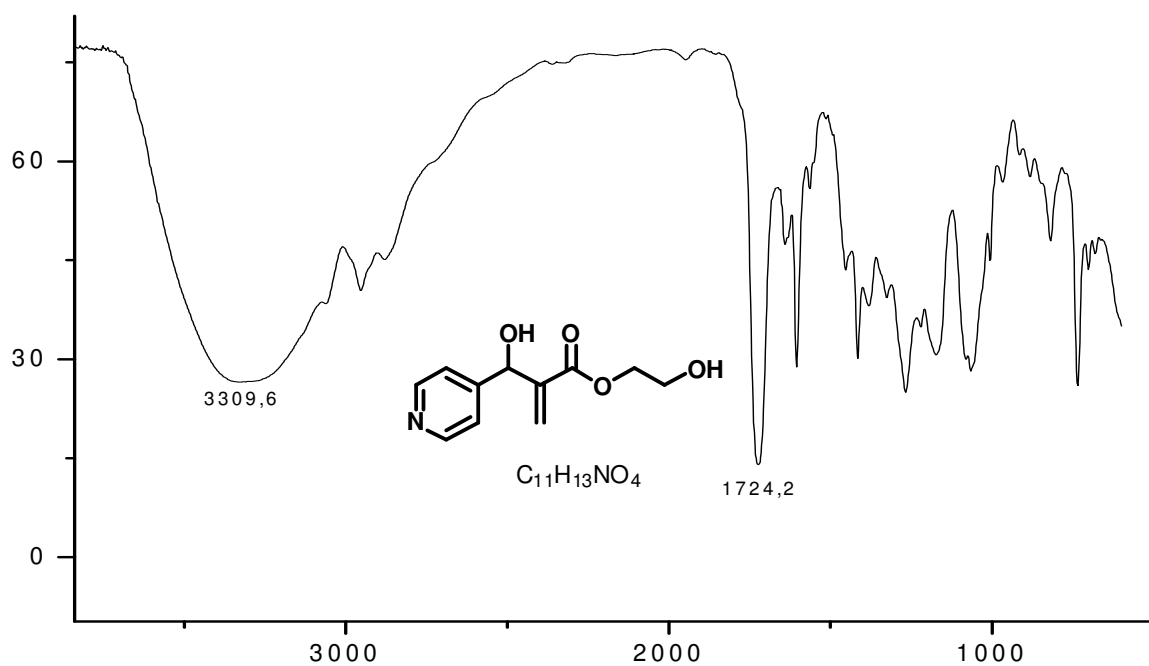
Espectro 35 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxieta (52) na região de 3,70 a 4,40ppm.



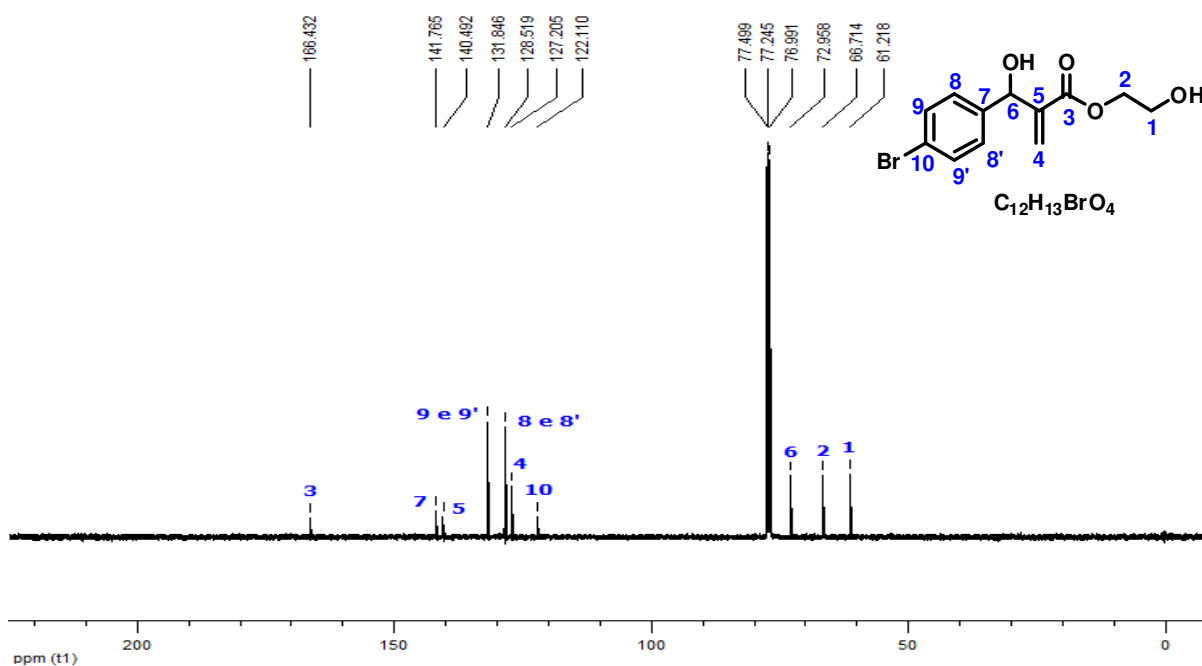
Espectro 36 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxieta (52) na região de 5,50 a 6,50ppm.



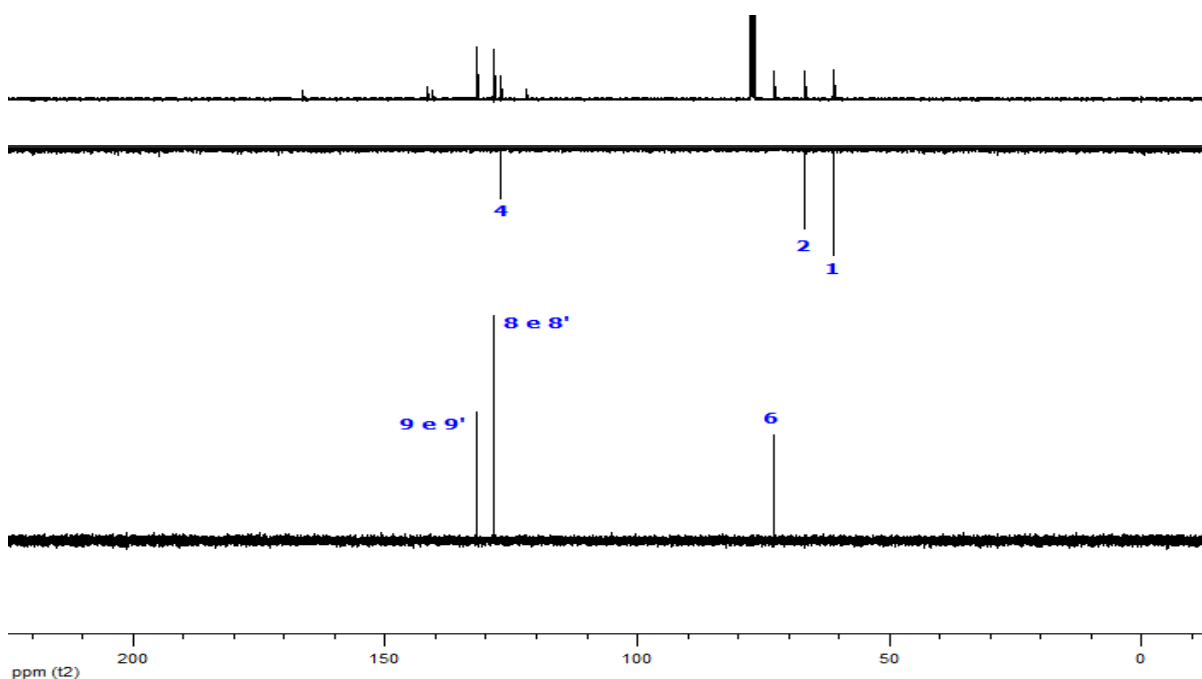
Espectro 37 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (**52**) na região de 7,30 a 8,70ppm.



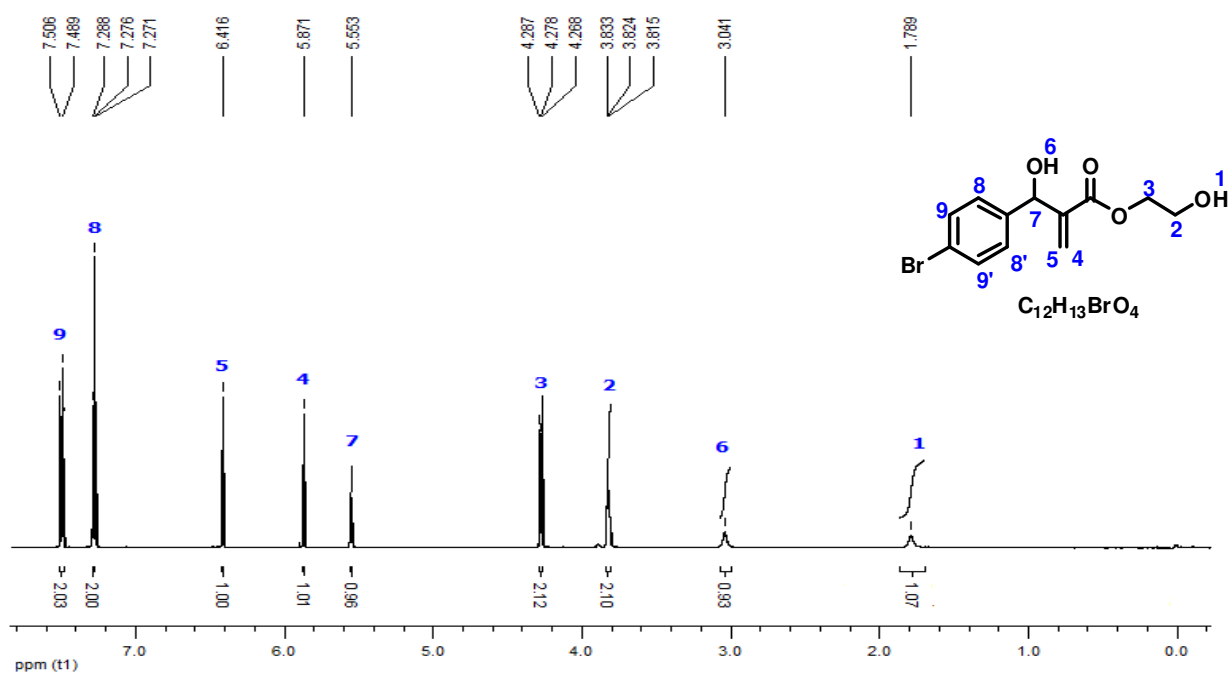
Espectro 38 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(piridin-4-il)metil)] de 2-hidroxietila (**52**) em cm⁻¹.



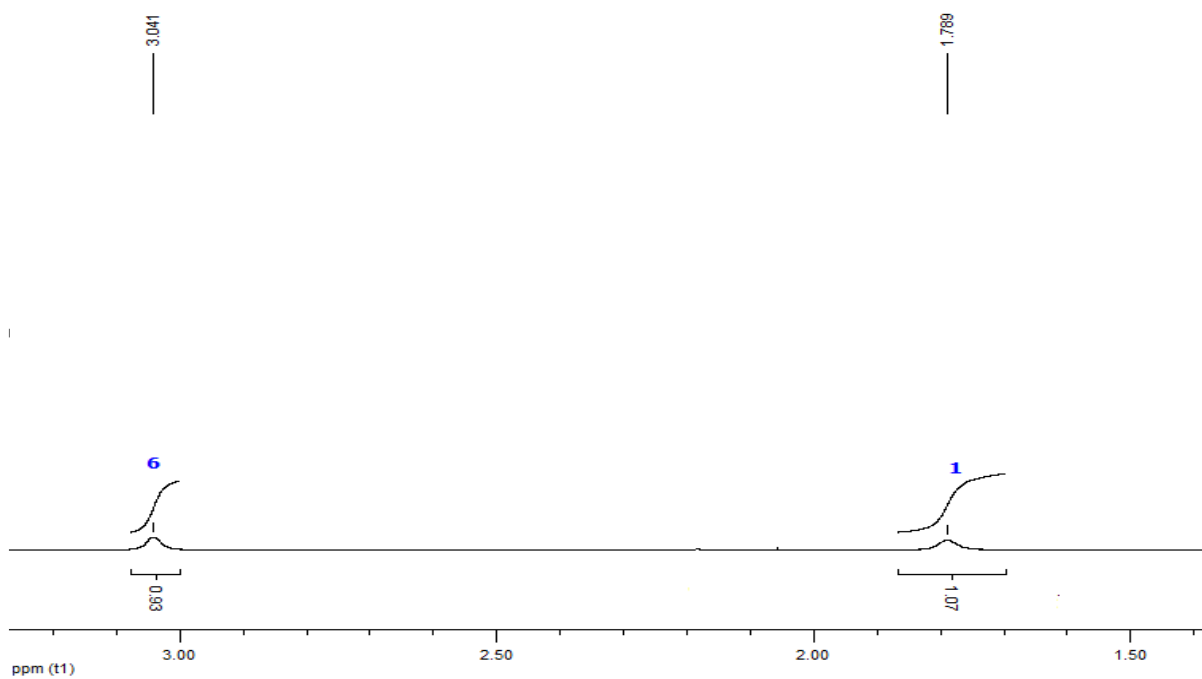
Espectro 39 Espectro RMN¹³C (CDCl₃, 125MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (**53**).



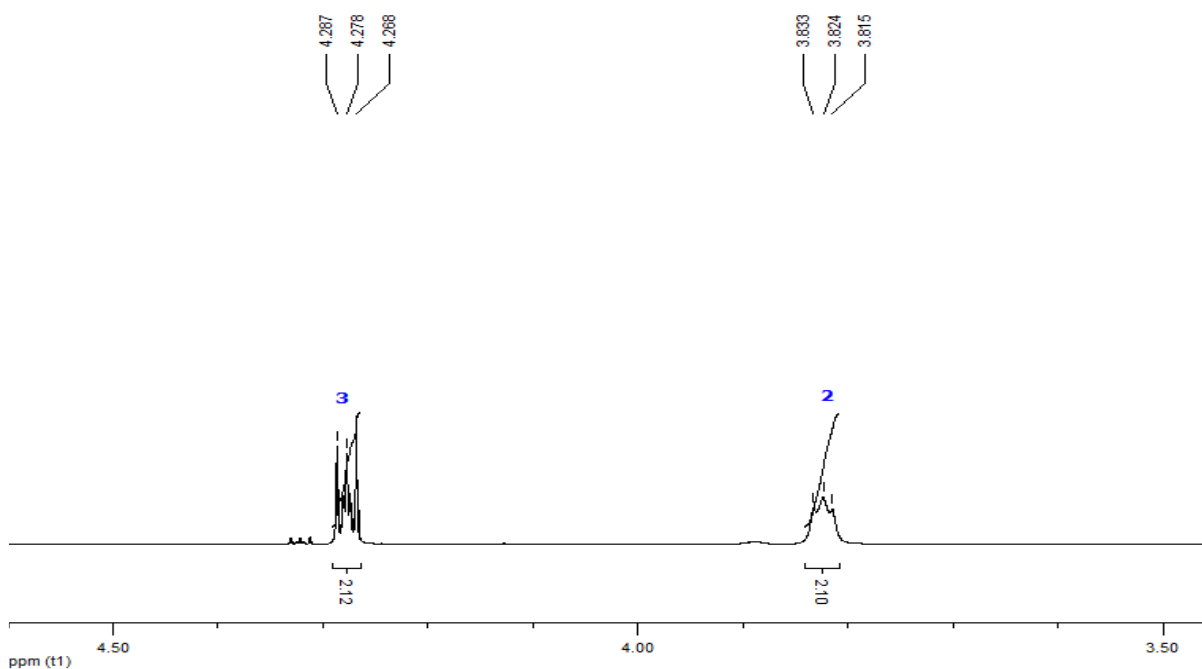
Espectro 40 Espectro de RMN¹³C-DEPT(CDCl₃, 125MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (**53**).



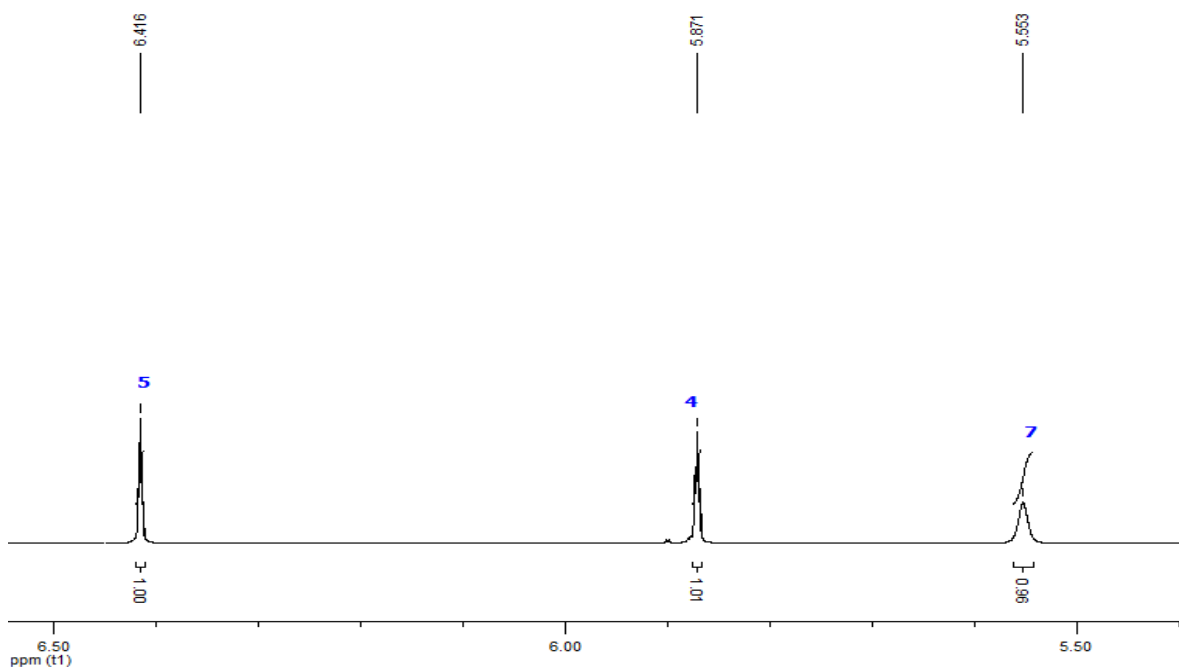
Espectro 41 Espectro de $RMN^1H(CDCl_3, 500\text{ MHz})$ do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxi etila (**53**).



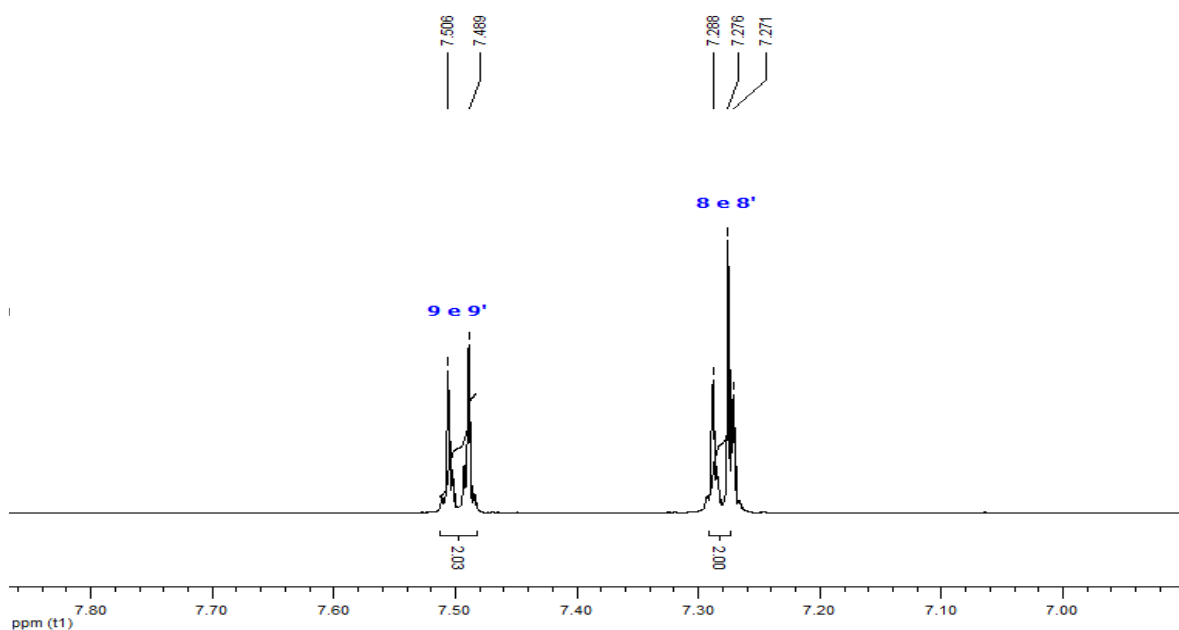
Espectro 42 Expansão do Espectro de $RMN^1H(CDCl_3, 500\text{ MHz})$ do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxi etila (**53**) na região de 1,50 a 3,20ppm



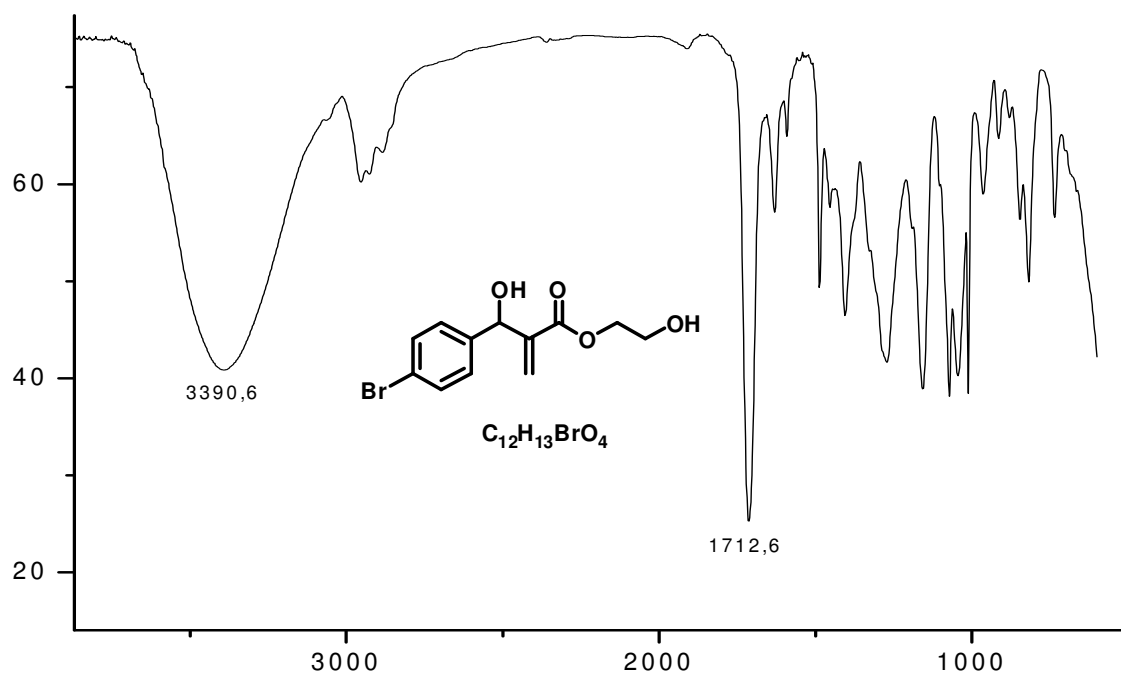
Espectro 43 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxieta (53) na região de 3,50 a 4,50ppm.



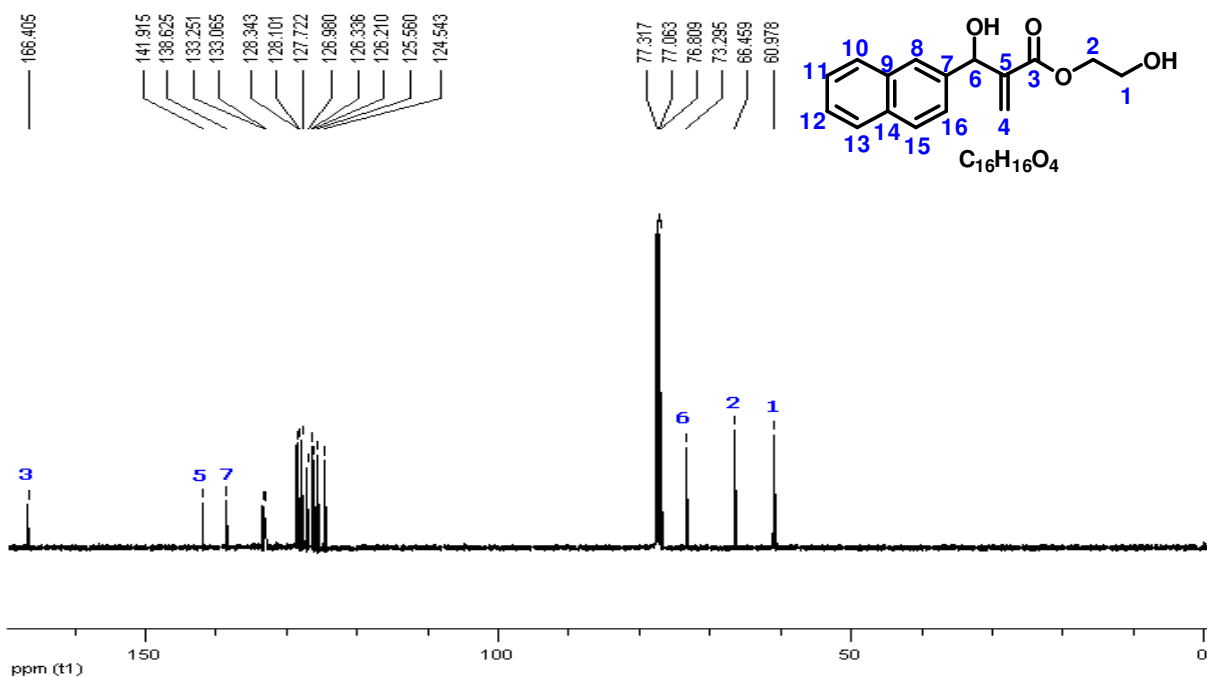
Espectro 44 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxieta (53) na região de 5,50 a 6,50ppm.



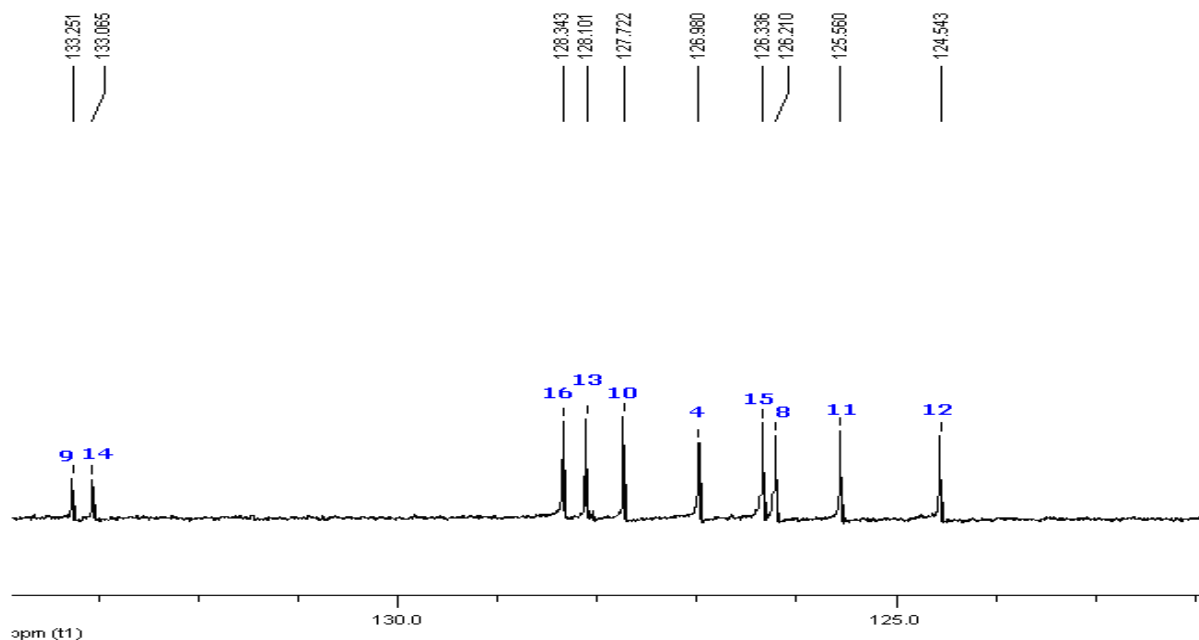
Espectro 45 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (**53**) na região de 7,20 a 7,60ppm.



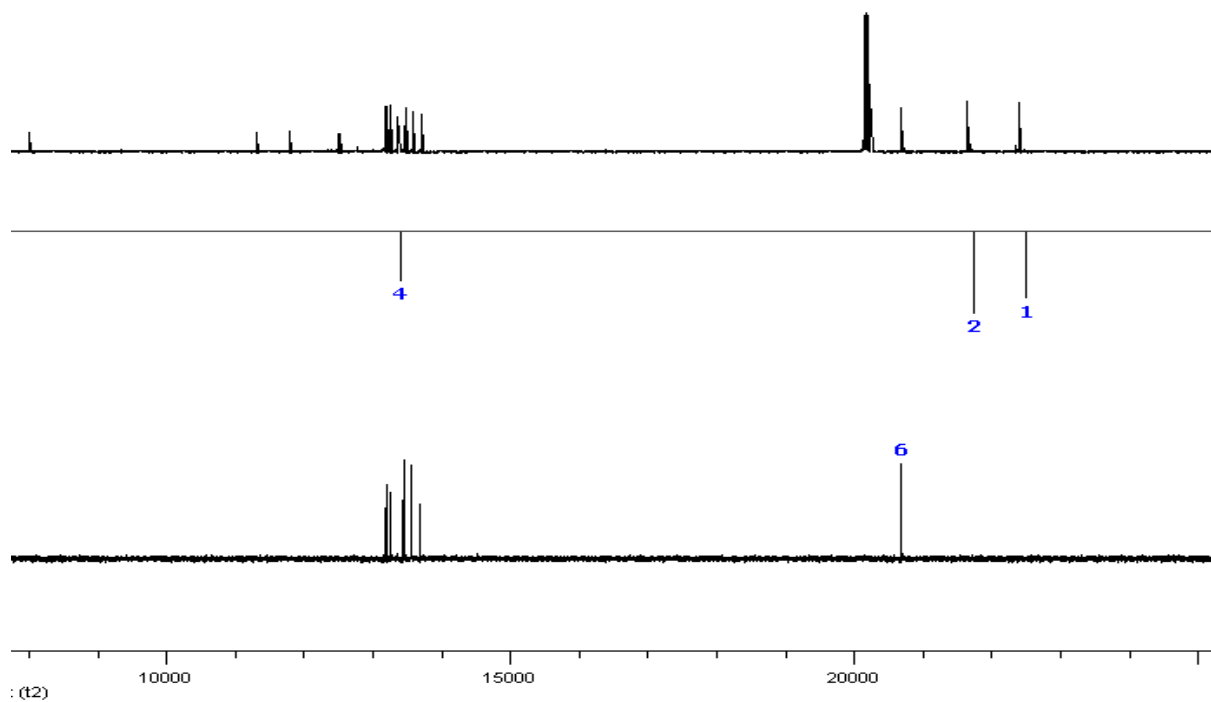
Espectro 46 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de 2-hidroxietila (**53**) em cm⁻¹.



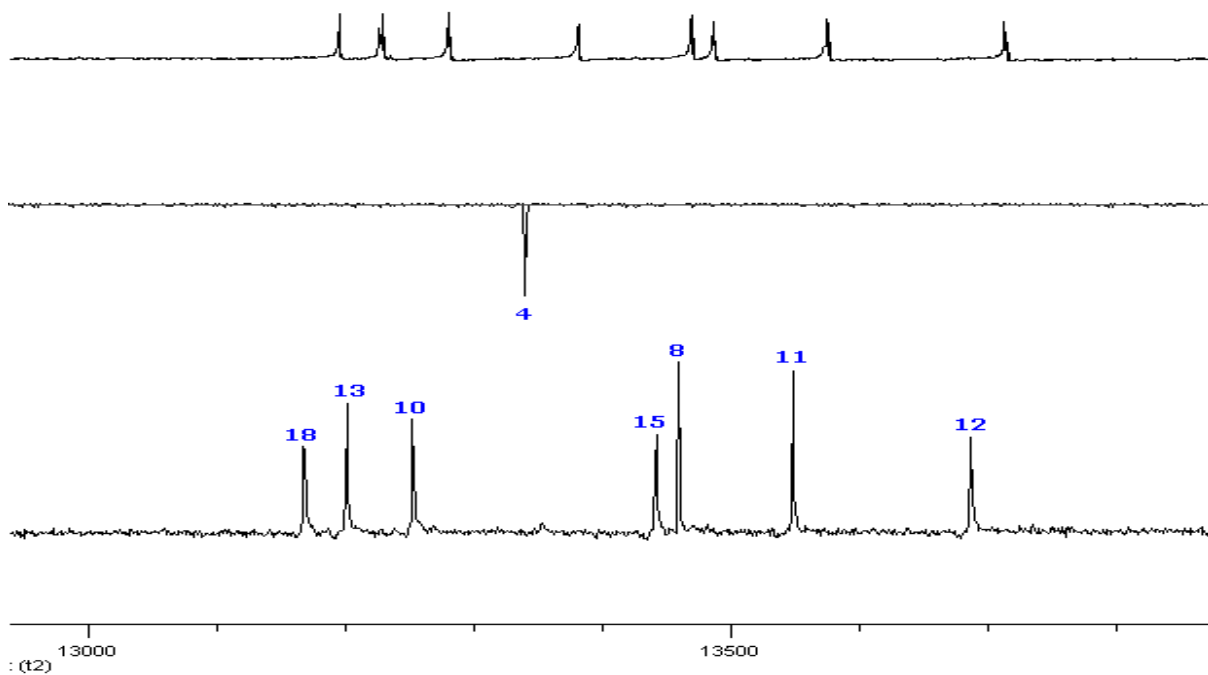
Espectro 47 Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxieta (54).



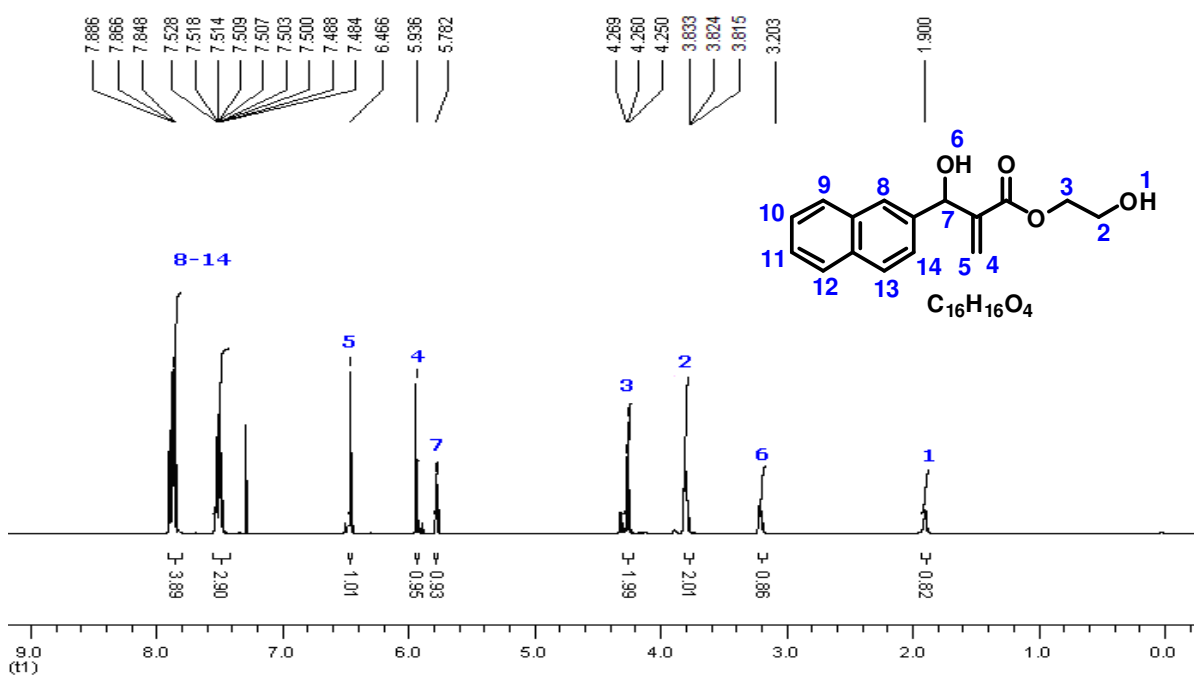
Espectro 48 Expansão do Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxieta (54) região de 124,50 a 134,0ppm.



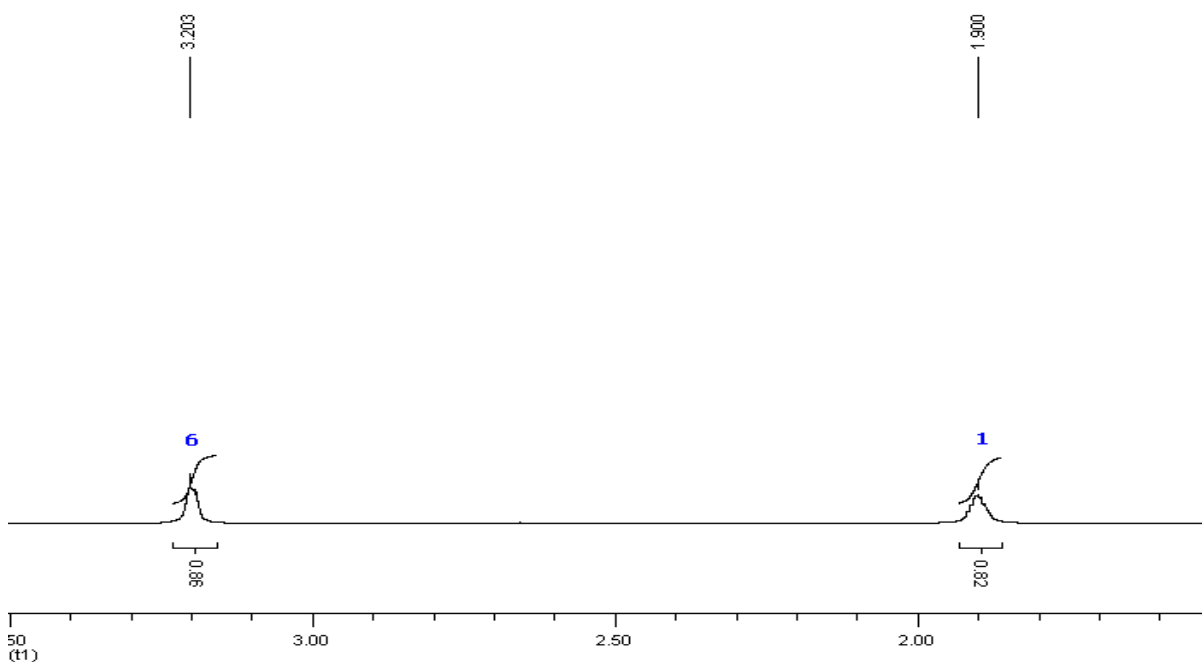
Espectro 49 Espectro de RMN¹³C-DEPT(CDCl₃, 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxieta (54).



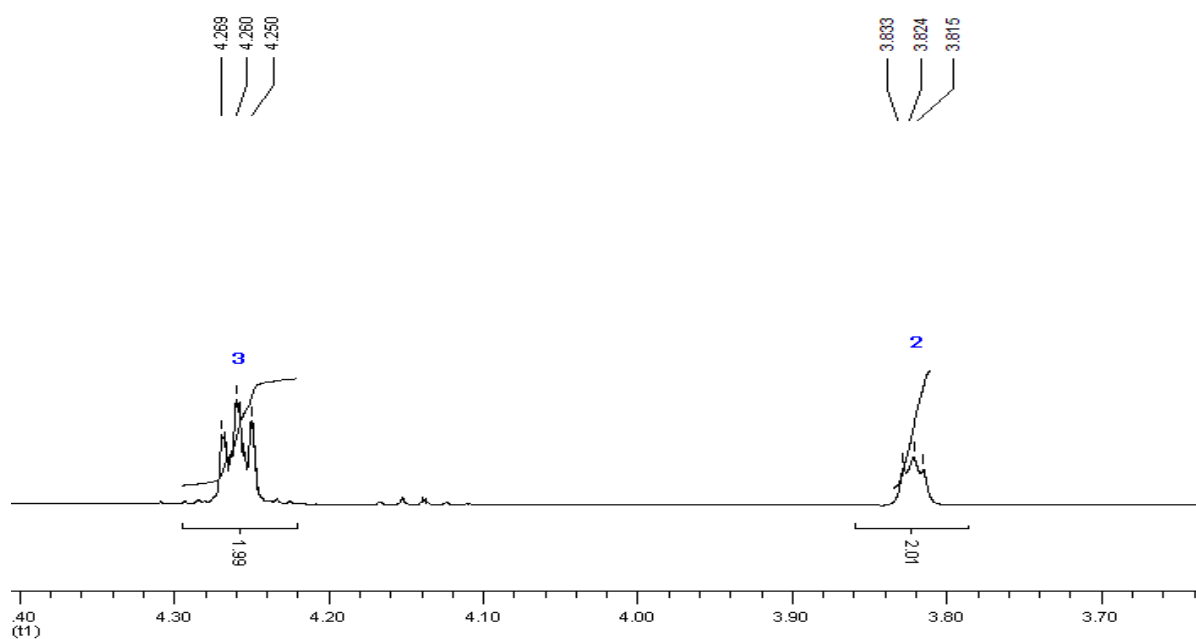
Espectro 50 Expansão do Espectro de RMN¹³C-DEPT(CDCl₃, 125MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxieta (54) região de 124,50 a 129,0ppm.



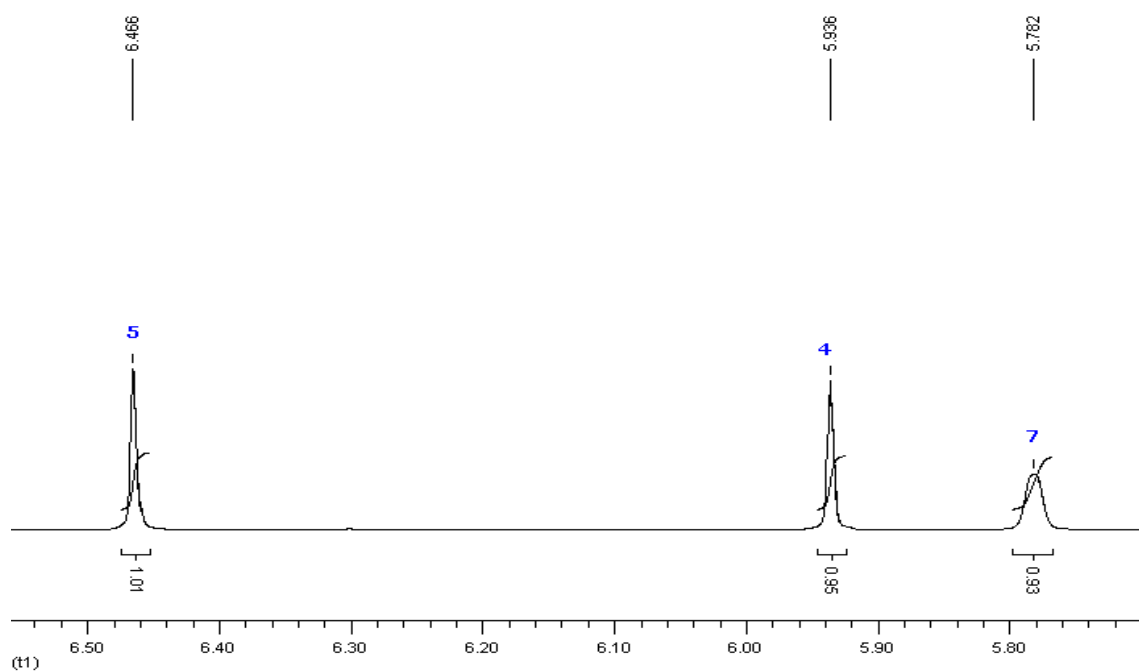
Espectro 51 Espectro de $RMN^1H(CDCl_3, 500 \text{ MHz})$ do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (**54**).



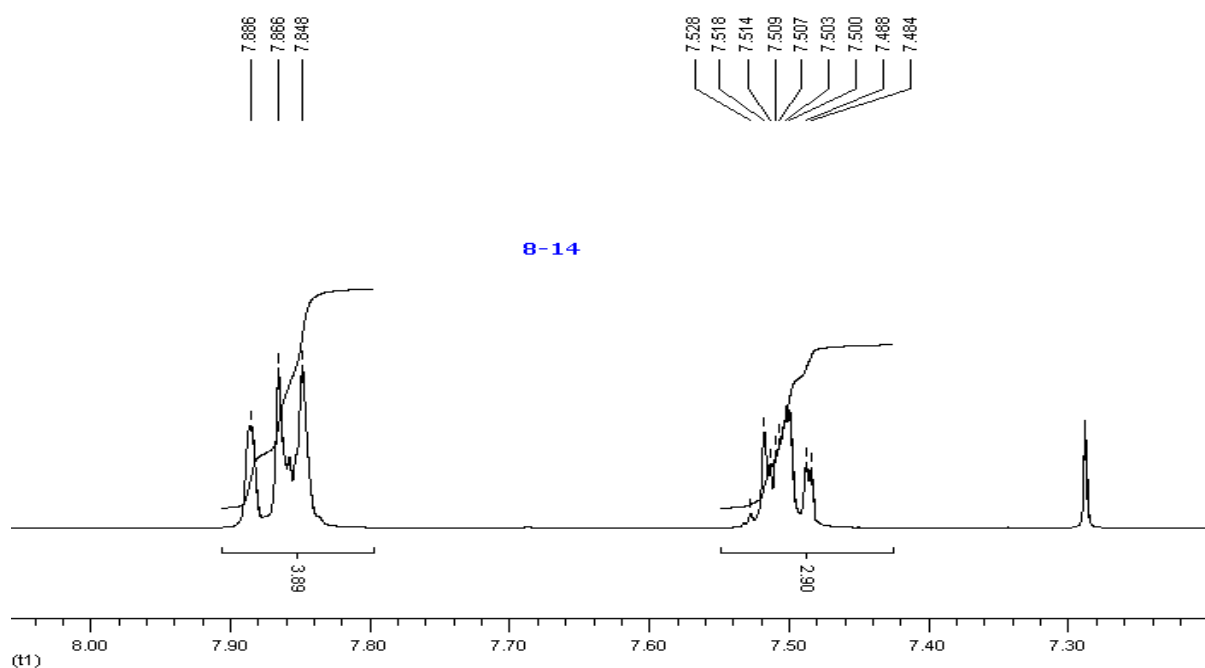
Espectro 52 Expansão do Espectro de $RMN^1H(CDCl_3, 500 \text{ MHz})$ do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (**54**) na região de 1,80 a 3,30ppm.



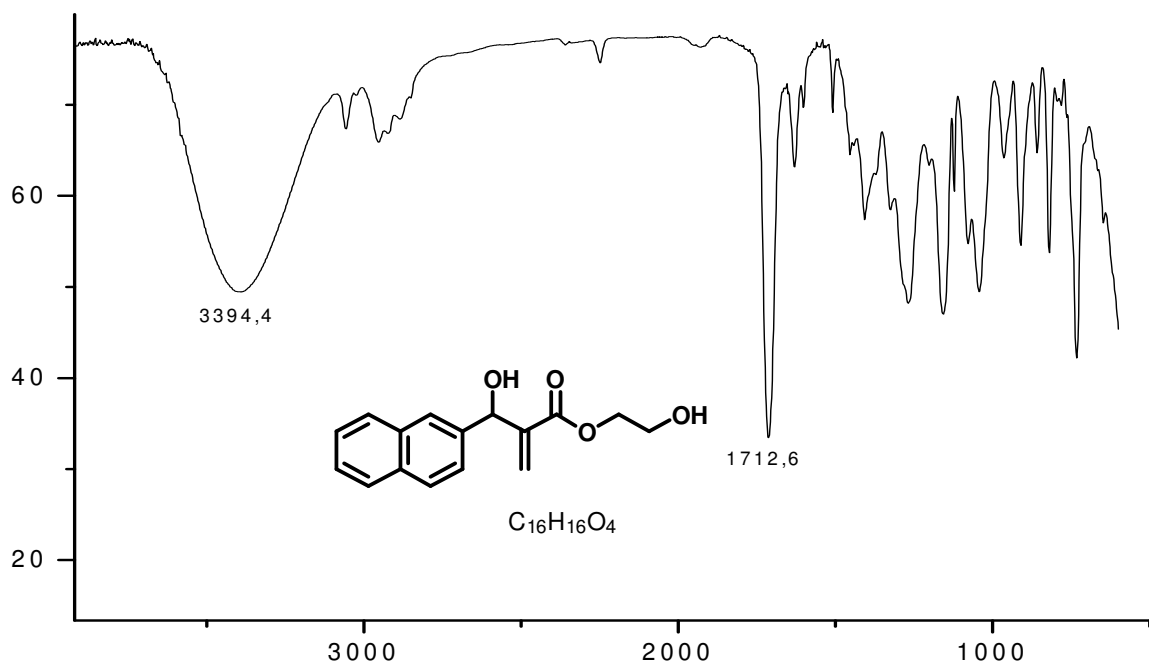
Espectro 53 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxi etila (**54**) na região de 3,70 a 4,30ppm.



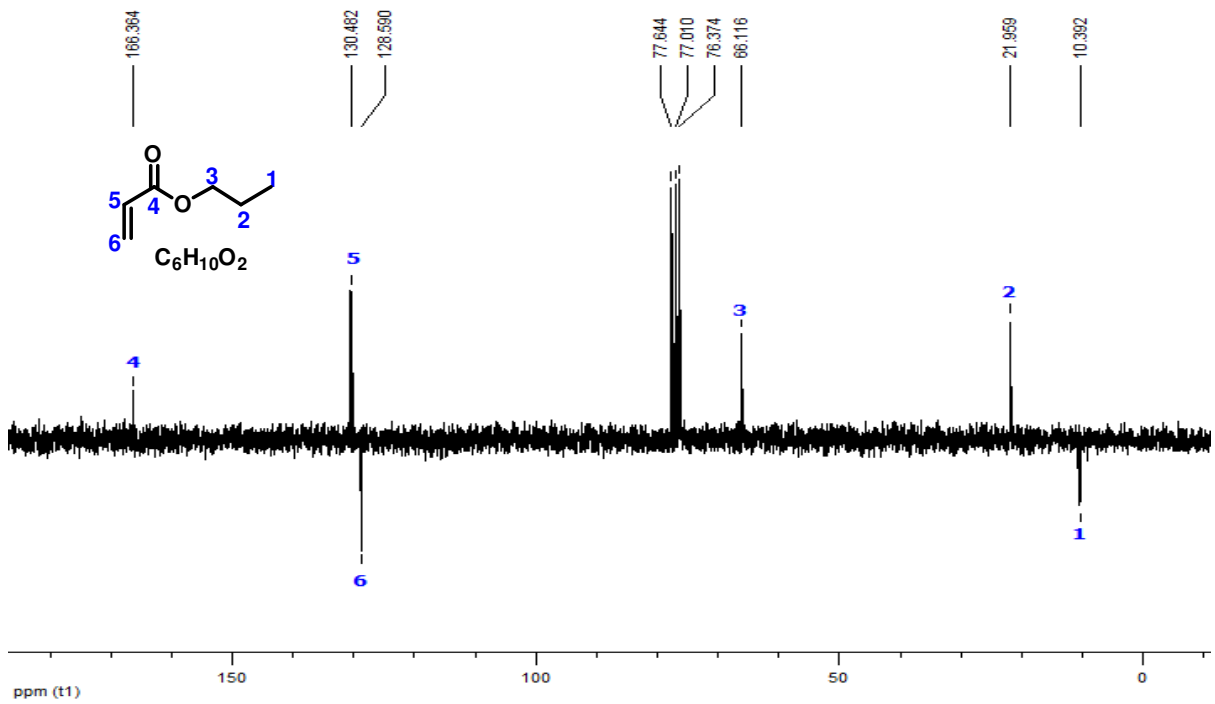
Espectro 54 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxi etila (**54**) na região de 5,70 a 6,50ppm.



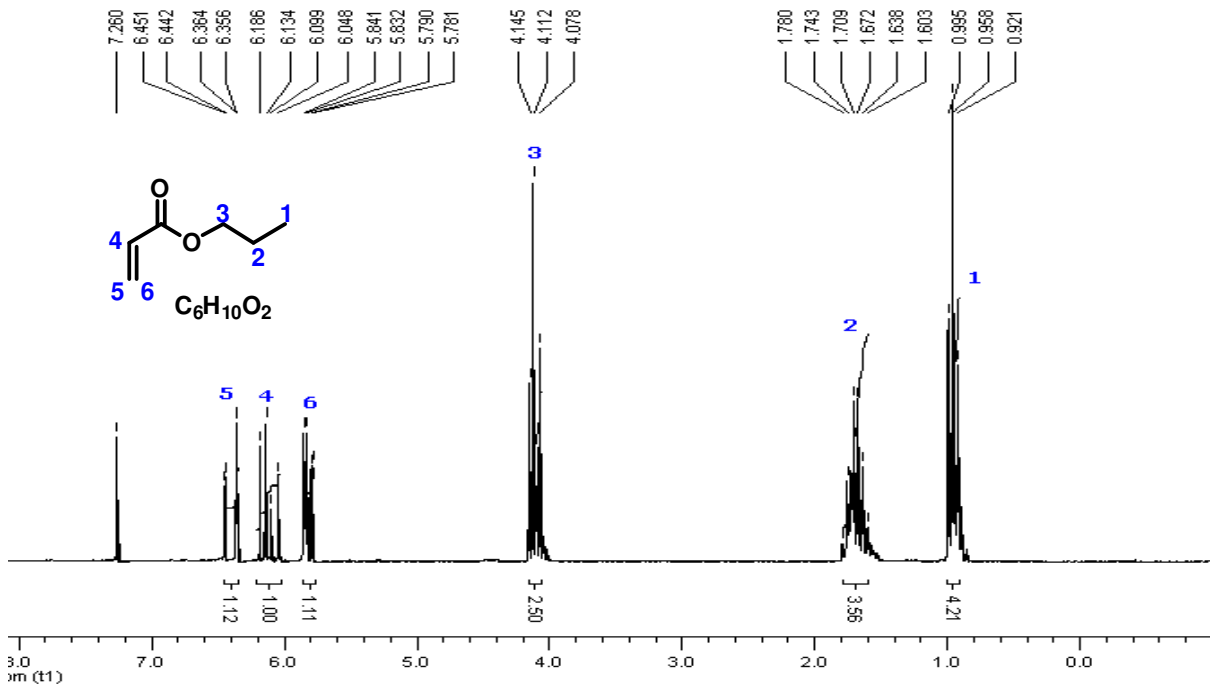
Espectro 55 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (**54**) na região de 7,30 a 7,90ppm.



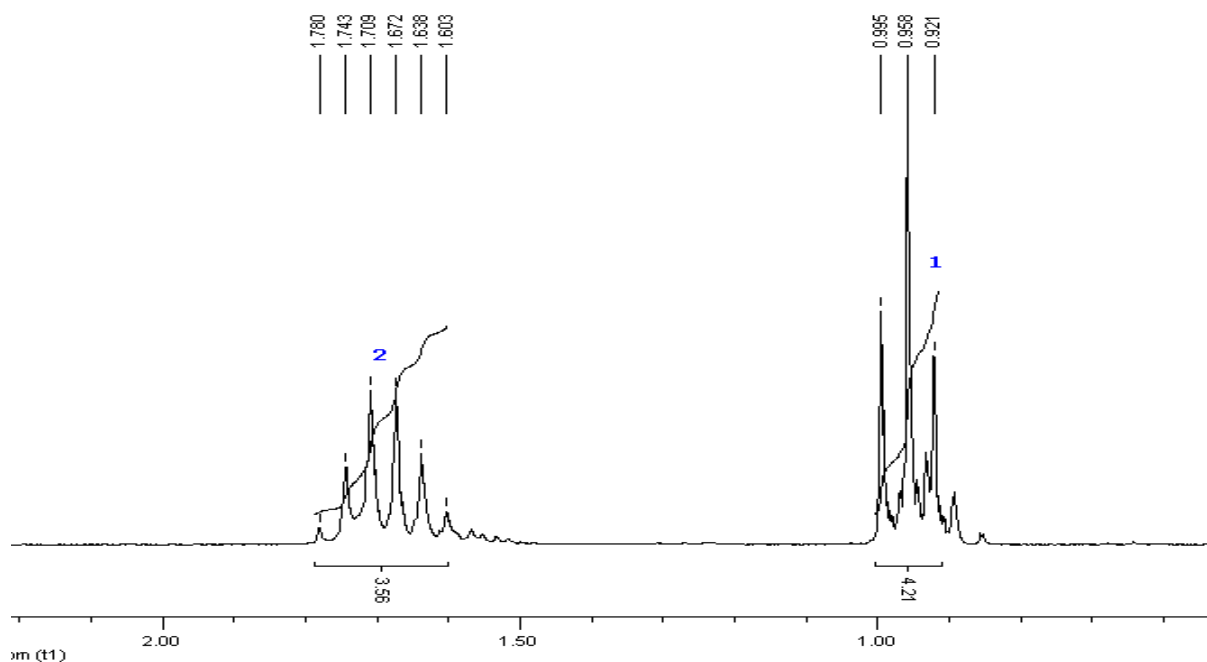
Espectro 56 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de 2-hidroxietila (**54**) em cm⁻¹.



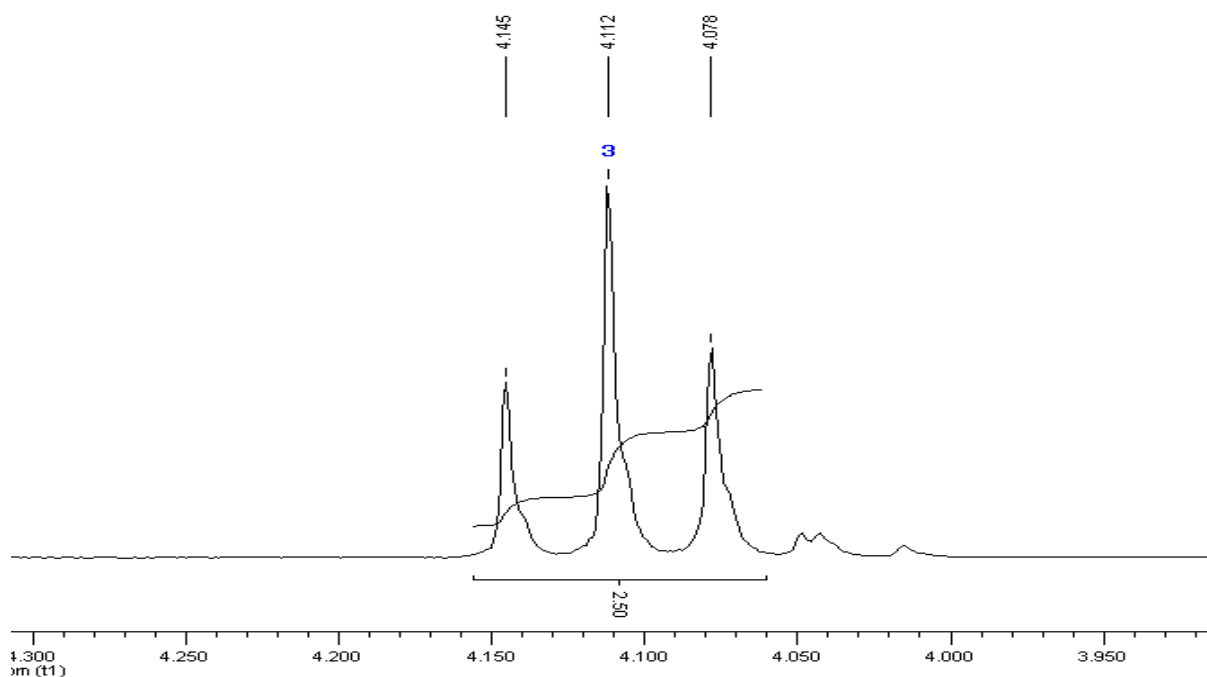
Espectro 57 Espectro de $RMN^{13}C$ -ATP($CDCl_3$, 50 MHz) do Acrilato de Propila (**46**).



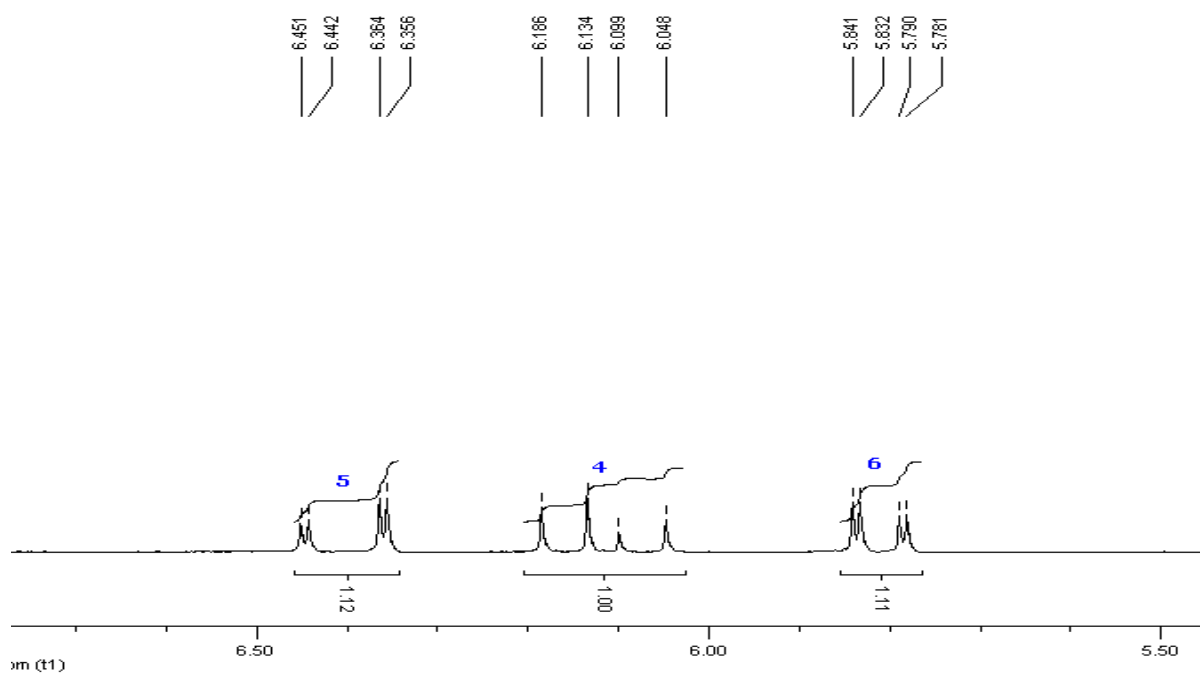
Espectro 58 Espectro de RMN^1H ($CDCl_3$, 50 MHz) do Acrilato de Propila (**46**).



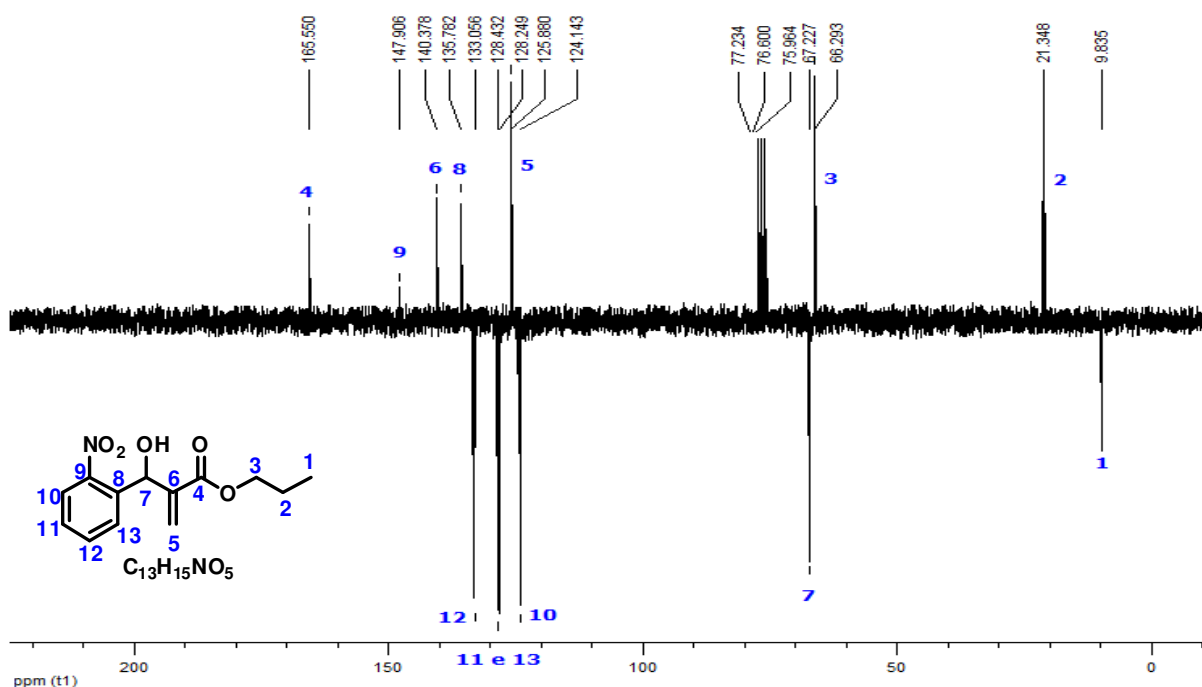
Espectro 59 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de Propila (**46**) na região de 0,80 a 2,0ppm.



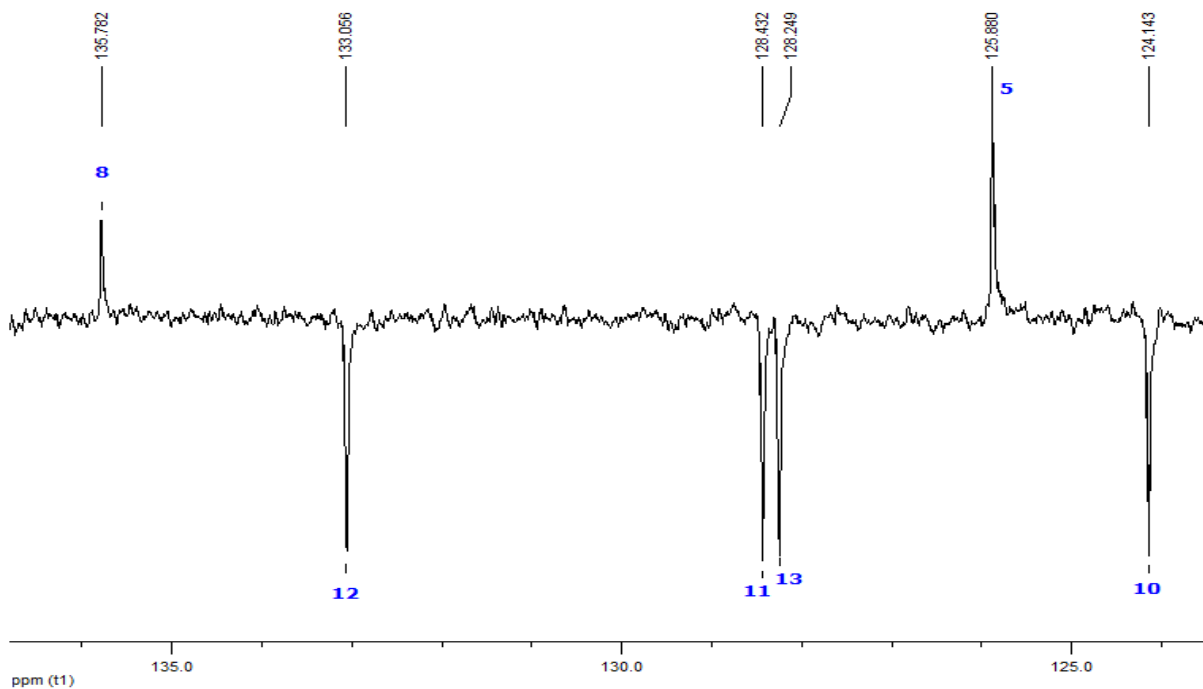
Espectro 60 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de Propila (**46**) na região de 4,0 a 4,20ppm.



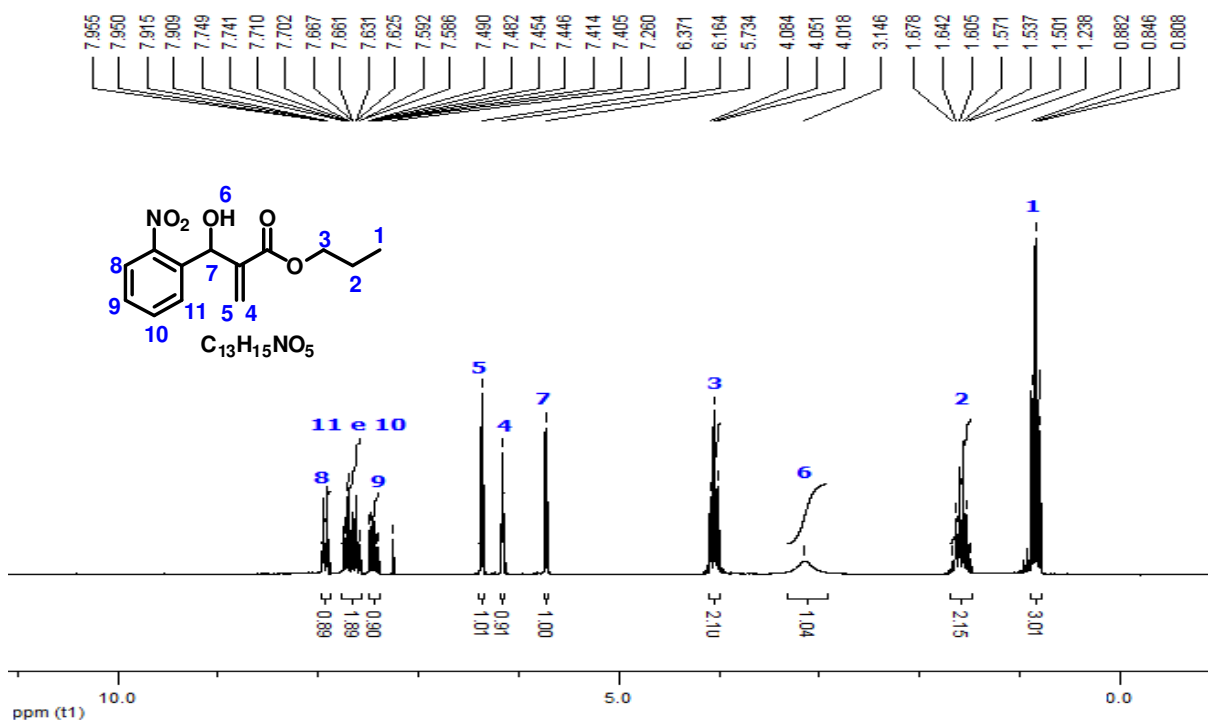
Espectro 61 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de Propila (**46**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



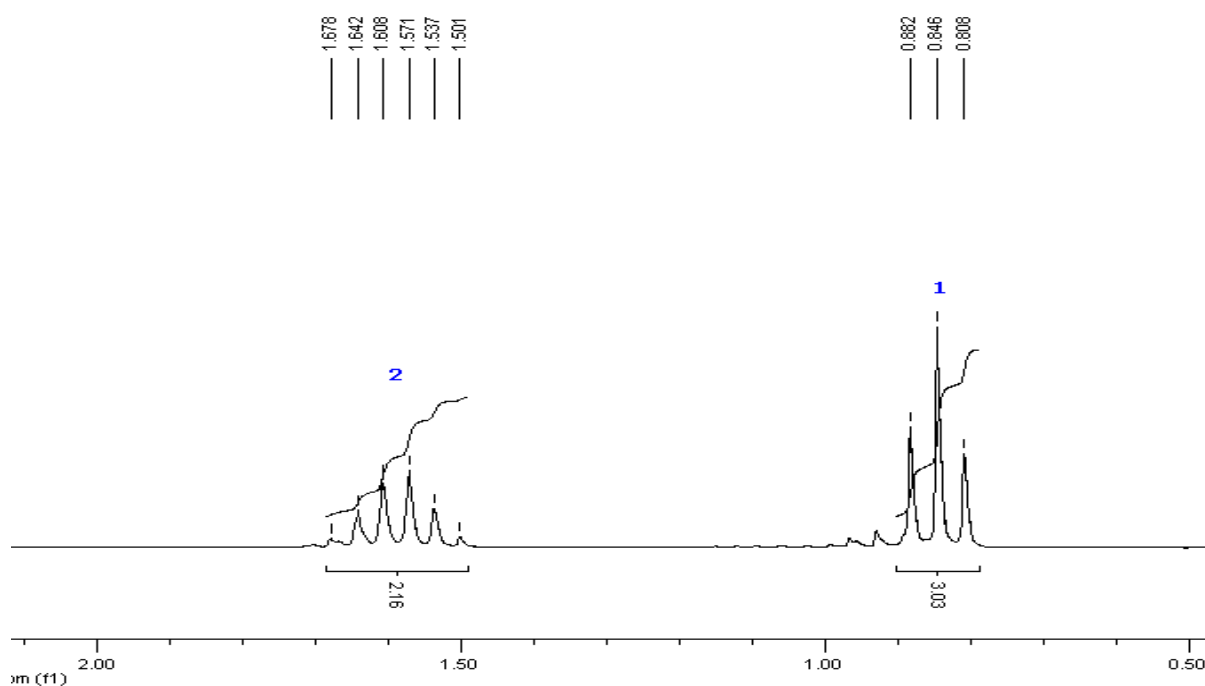
Espectro 62 Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (**55**).



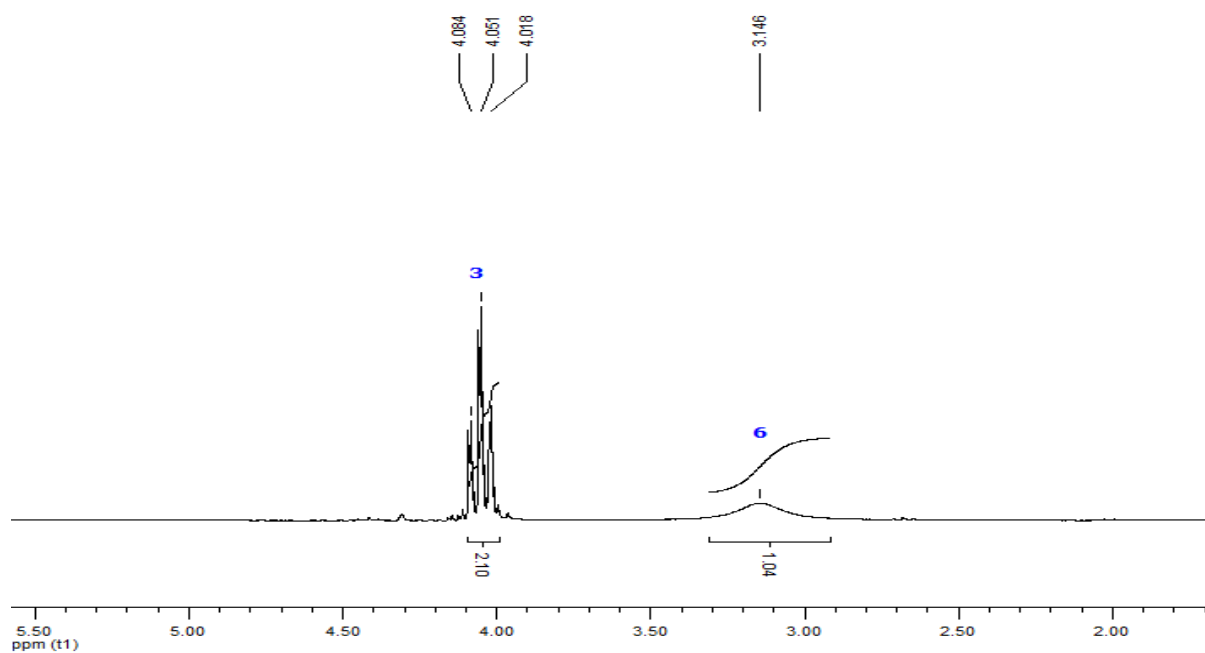
Espectro 63 Expansão do Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (**55**) na região de 124,14 a 135,78ppm.



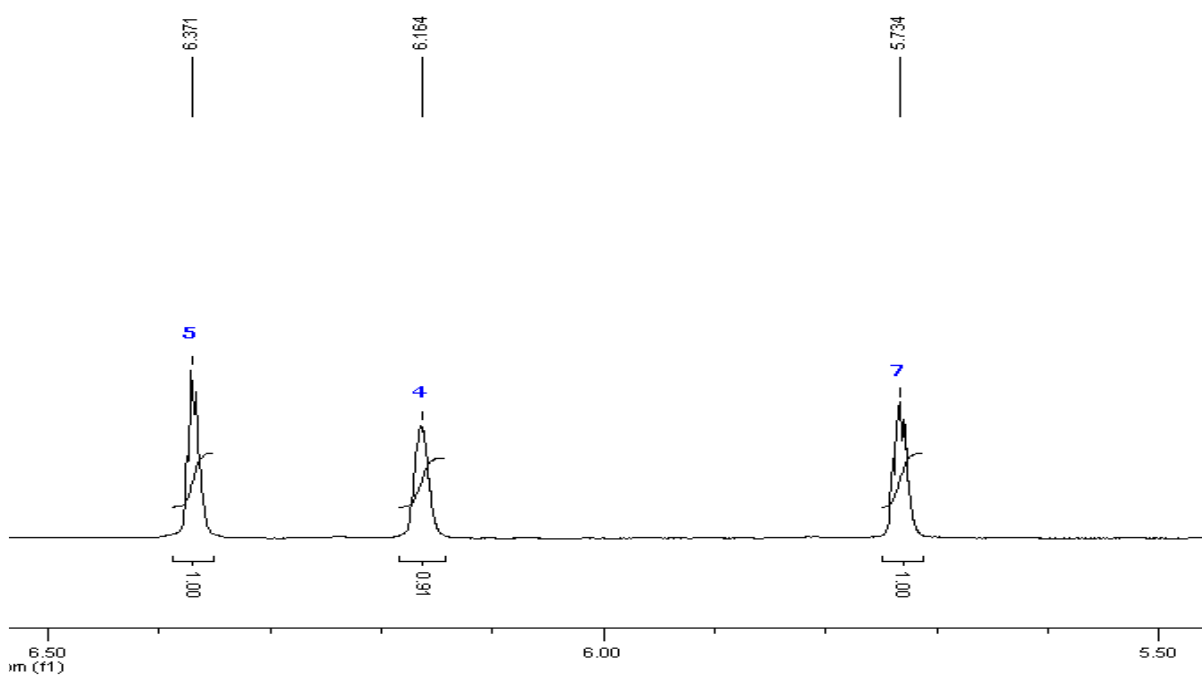
Espectro 64 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (**55**).



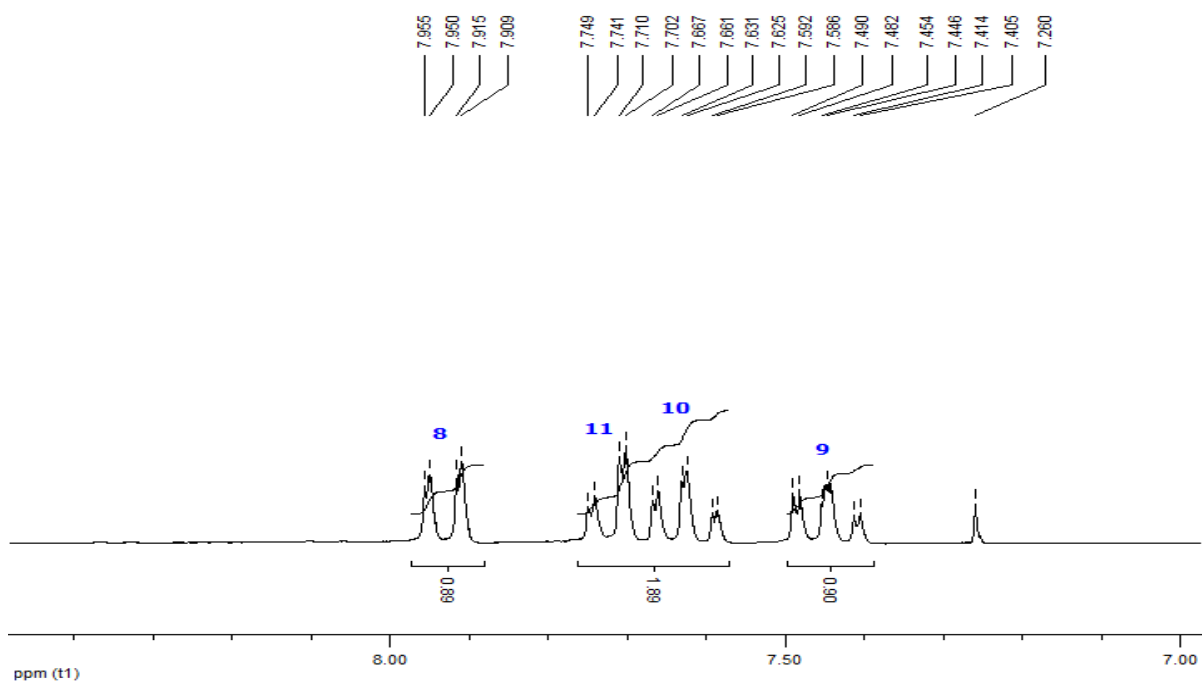
Espectro 65 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (**55**) na região de 0,50 a 2,0ppm.



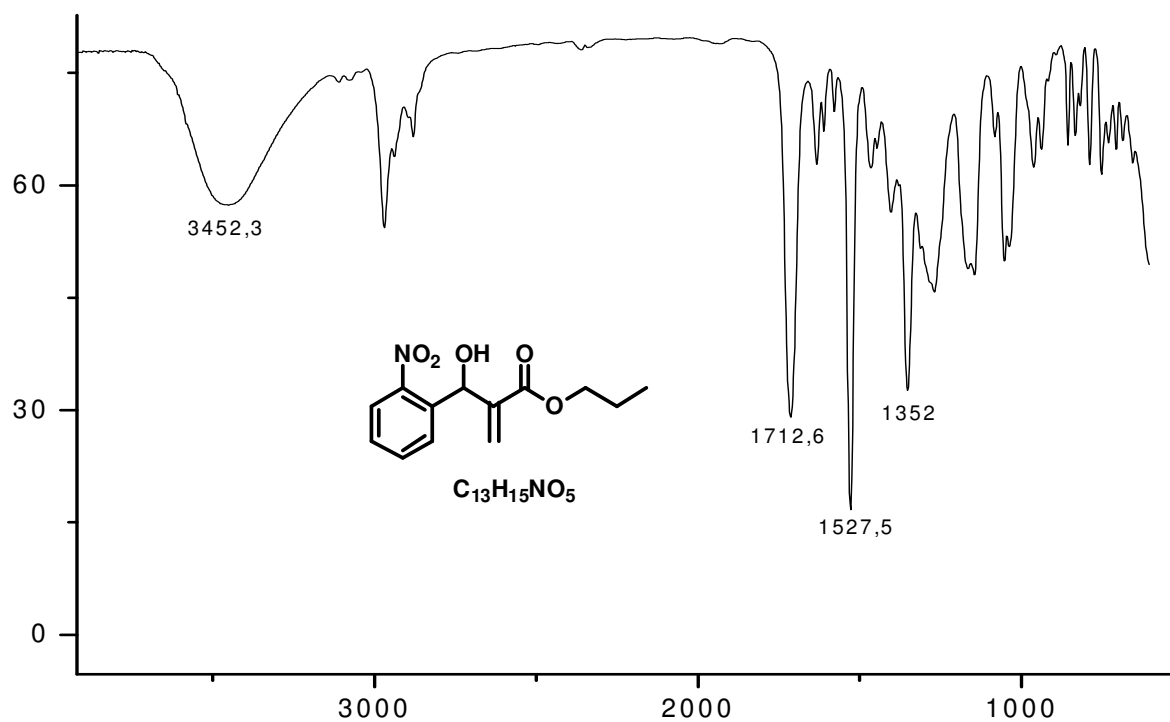
Espectro 66 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (**55**) na região de 3,0 a 4,50ppm.



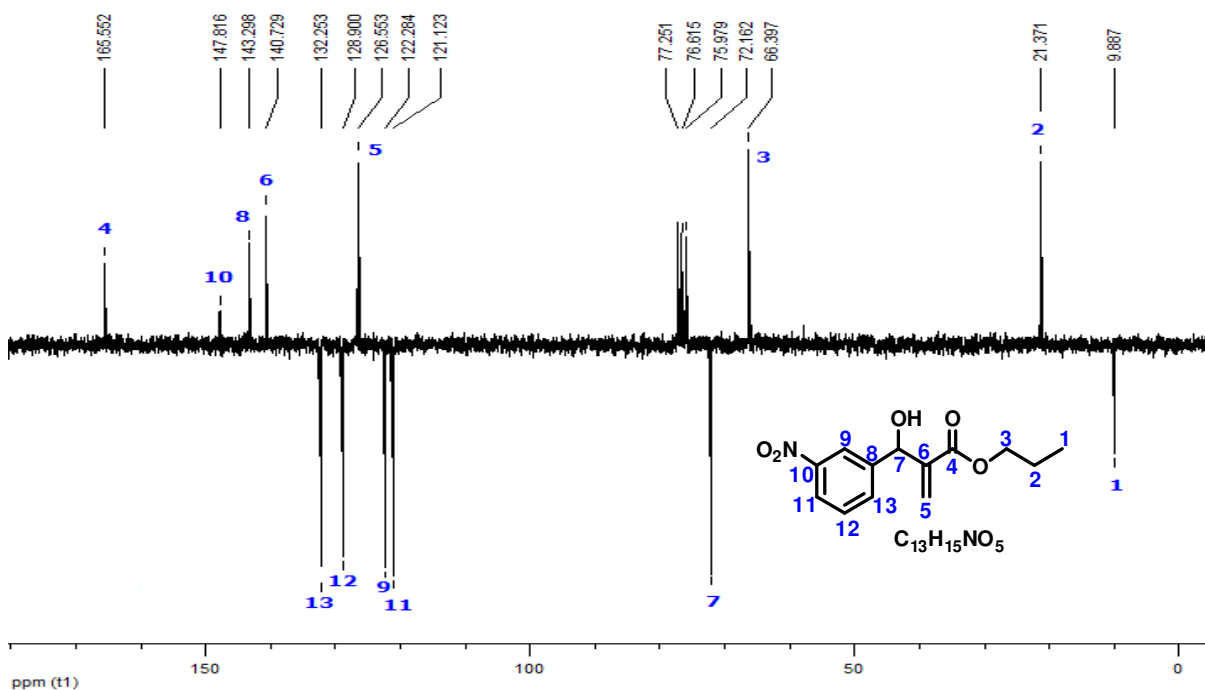
Espectro 67 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (**55**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



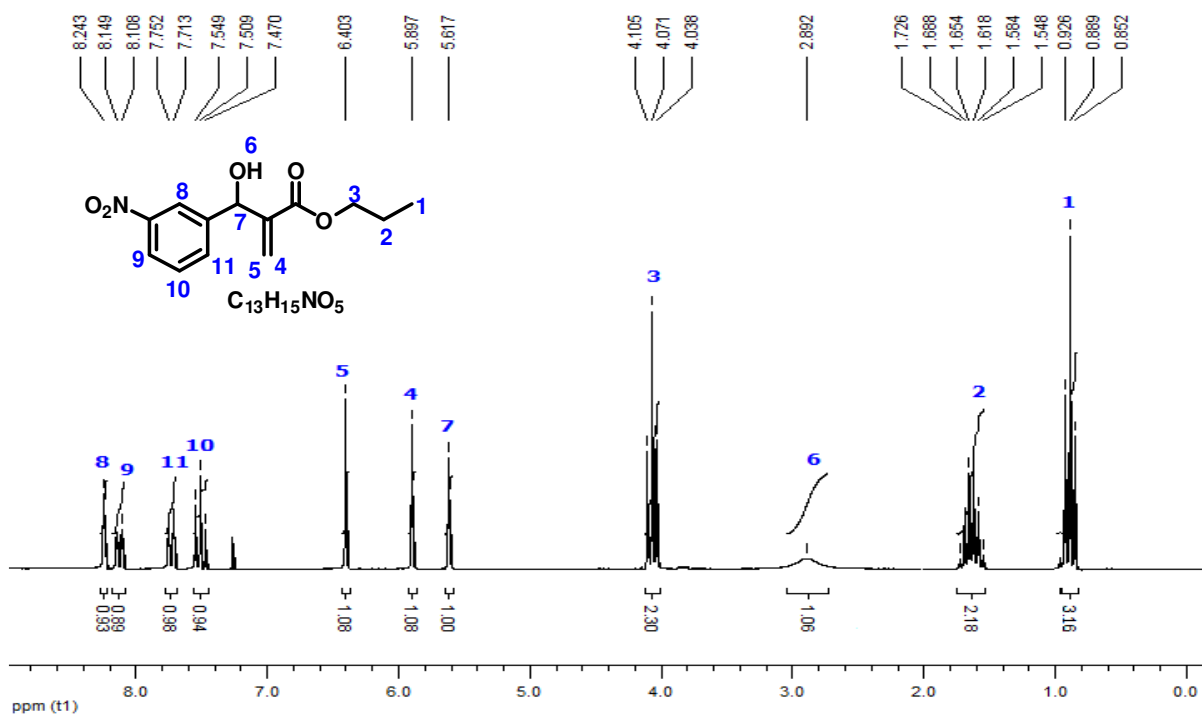
Espectro 68 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)metil)] de propila (**55**) na região de 7,30 a 8,0ppm.



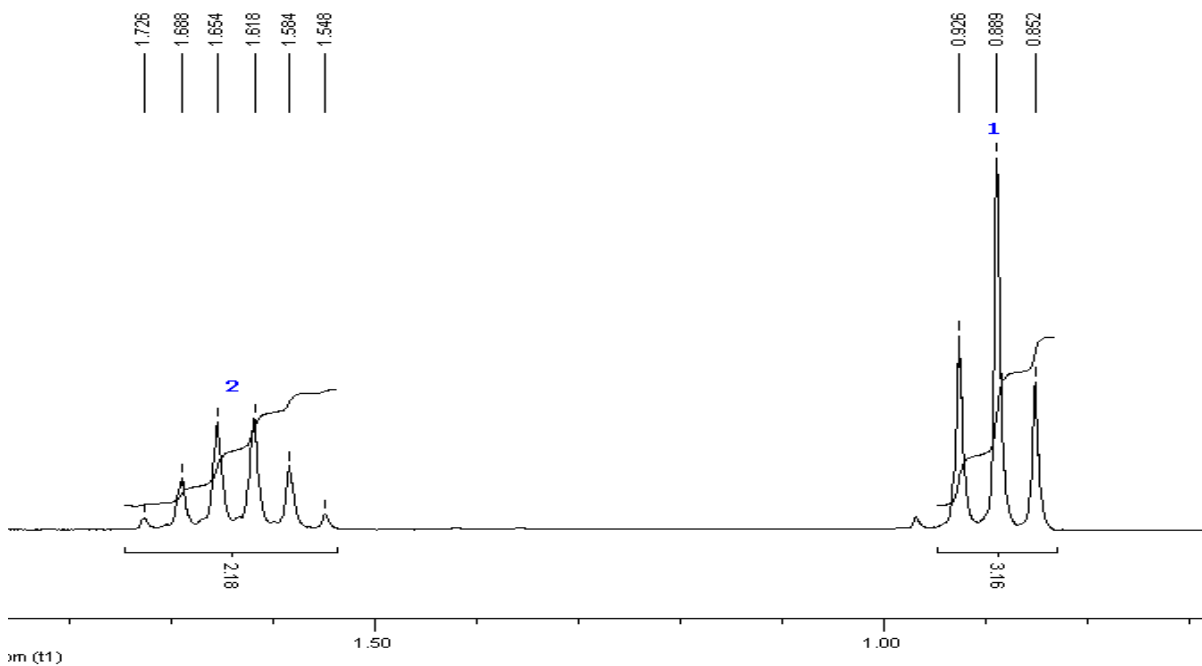
Espectro 69 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(2-nitrofenil)etil)] de propila (**55**) em cm⁻¹.



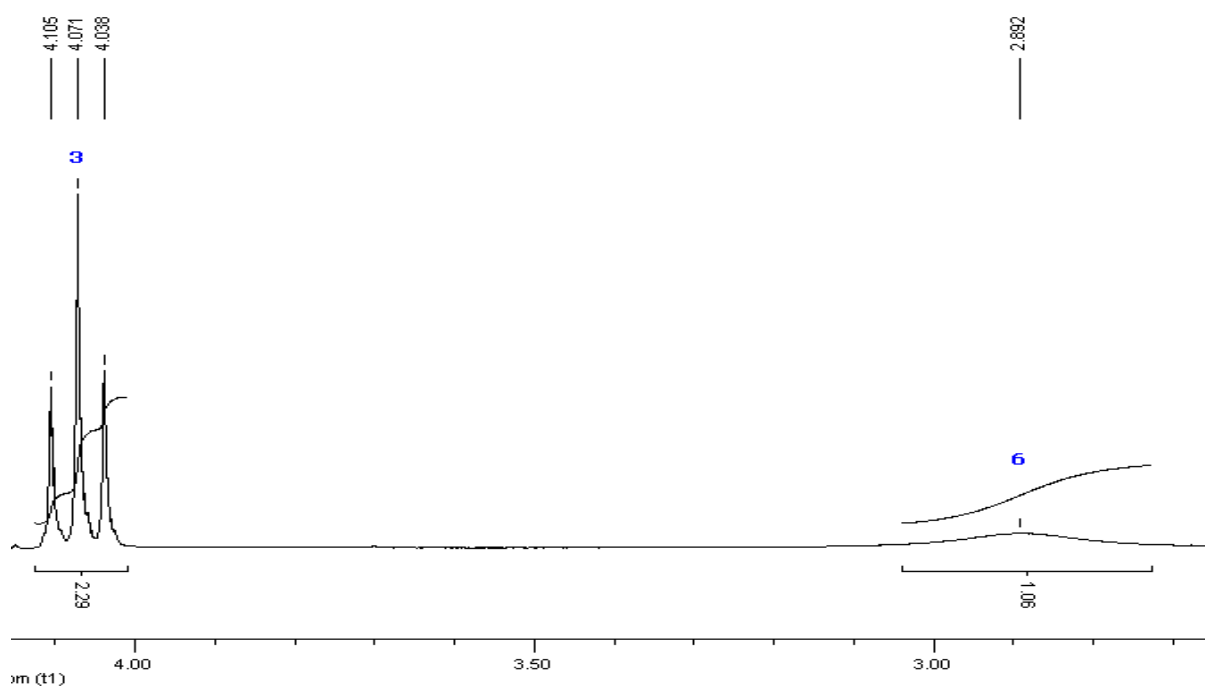
Espectro 70 Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)etil)] de propila (**56**).



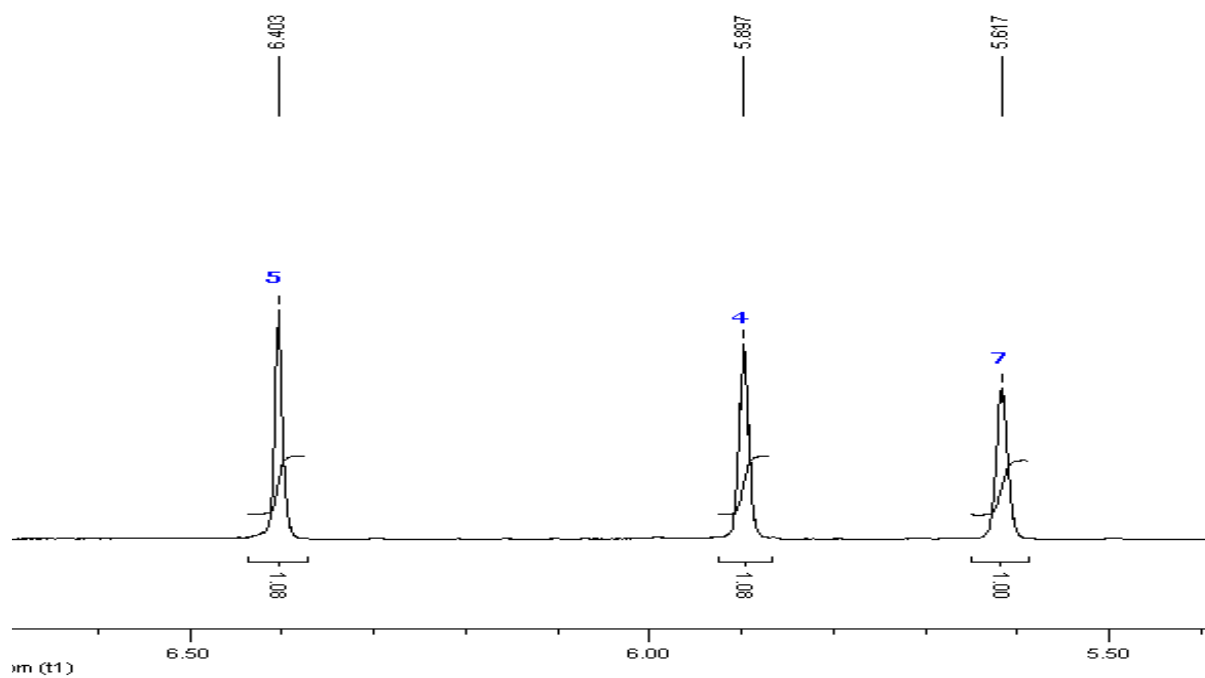
Espectro 71 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (**56**).



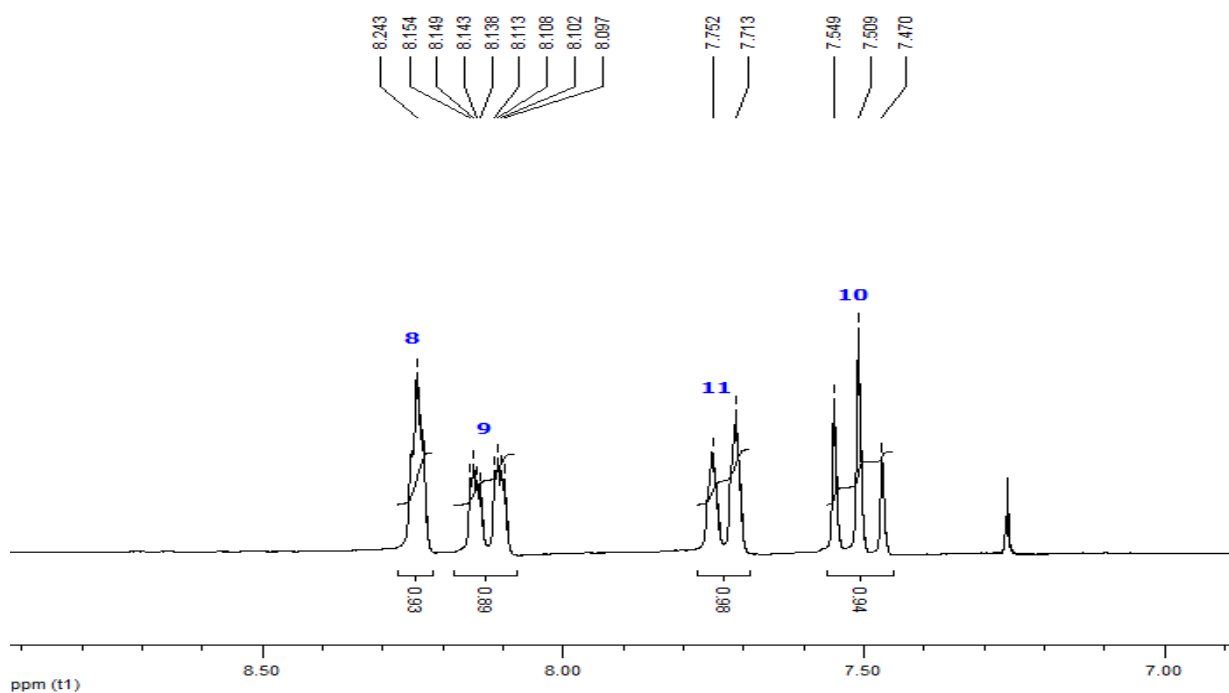
Espectro 72 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (**56**) na região de 0,80 a 1,80ppm.



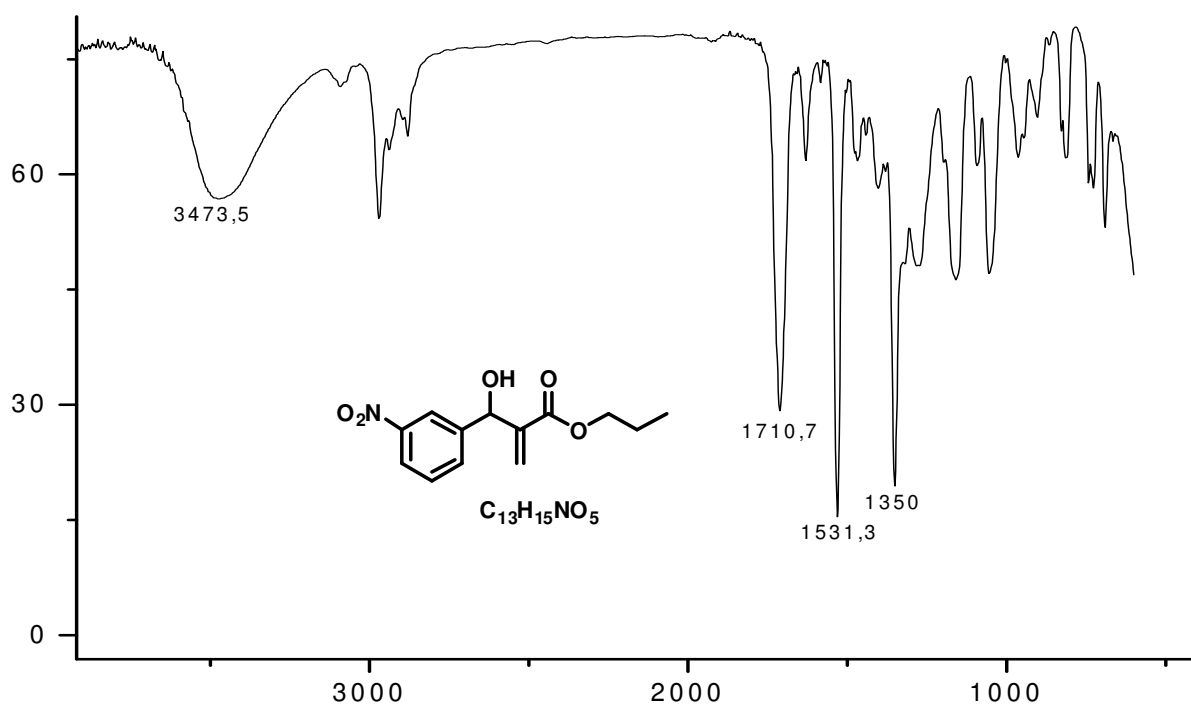
Espectro 73 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (**56**) na região de 2,70 a 4,20ppm.



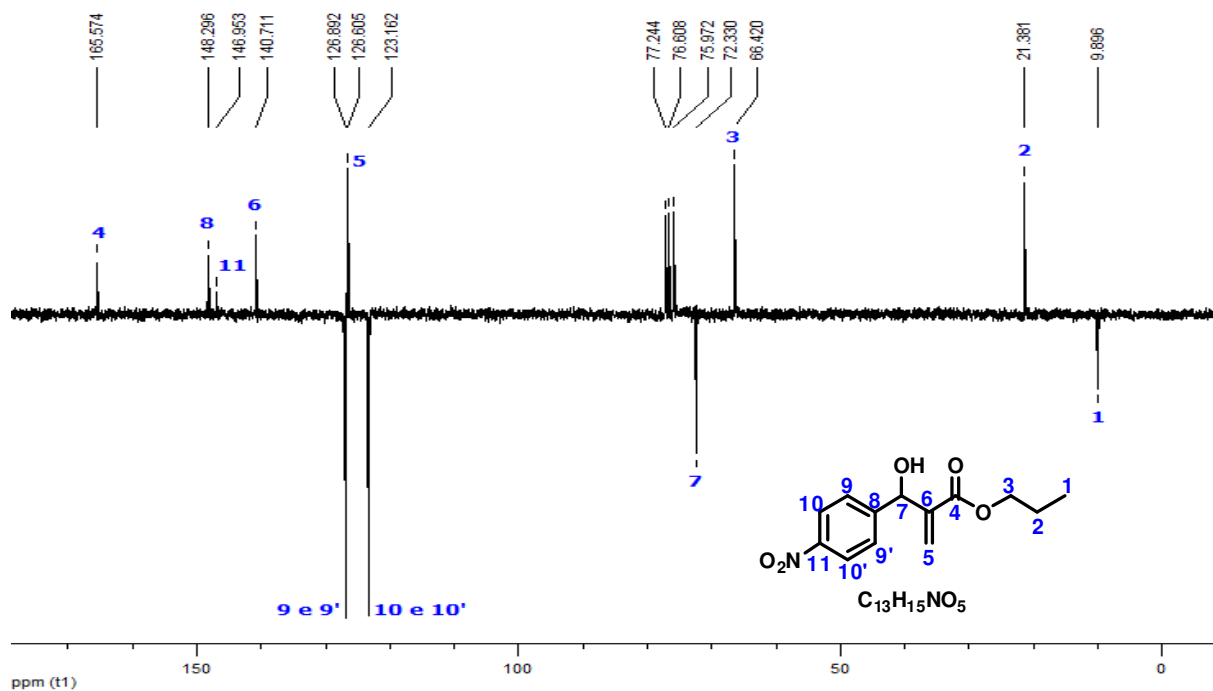
Espectro 74 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (**56**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



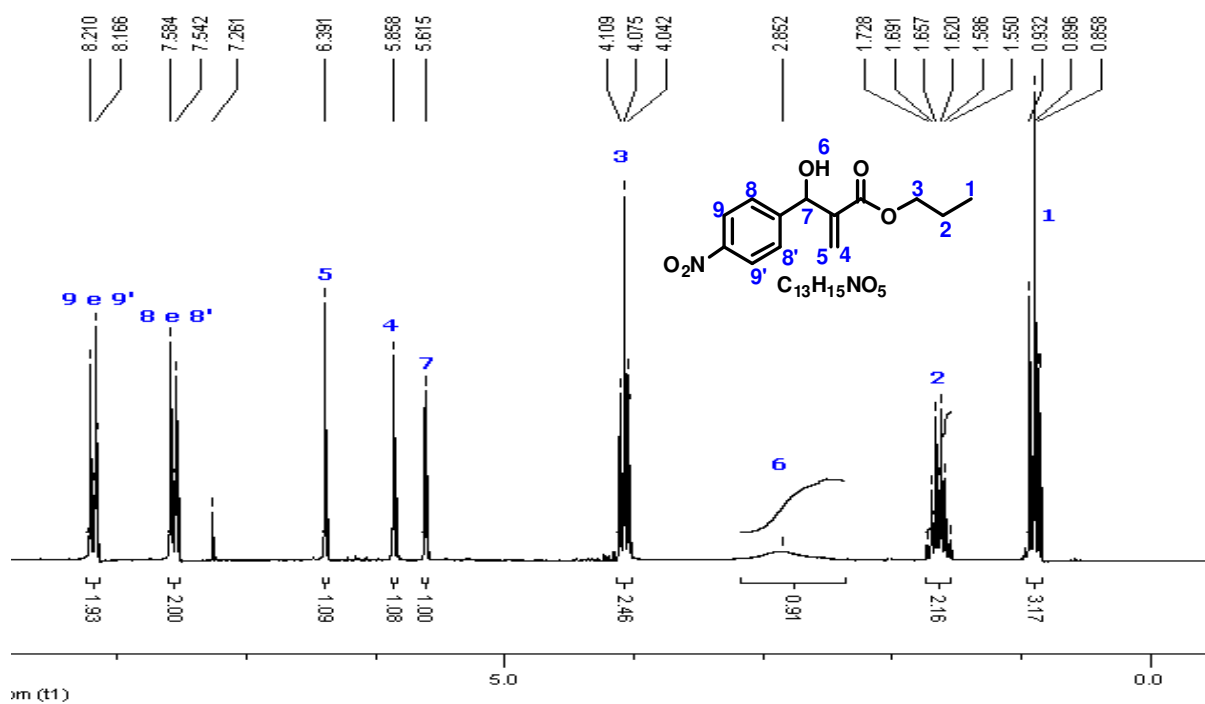
Espectro 75 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (**56**) na região de 7,40 a 8,30ppm.



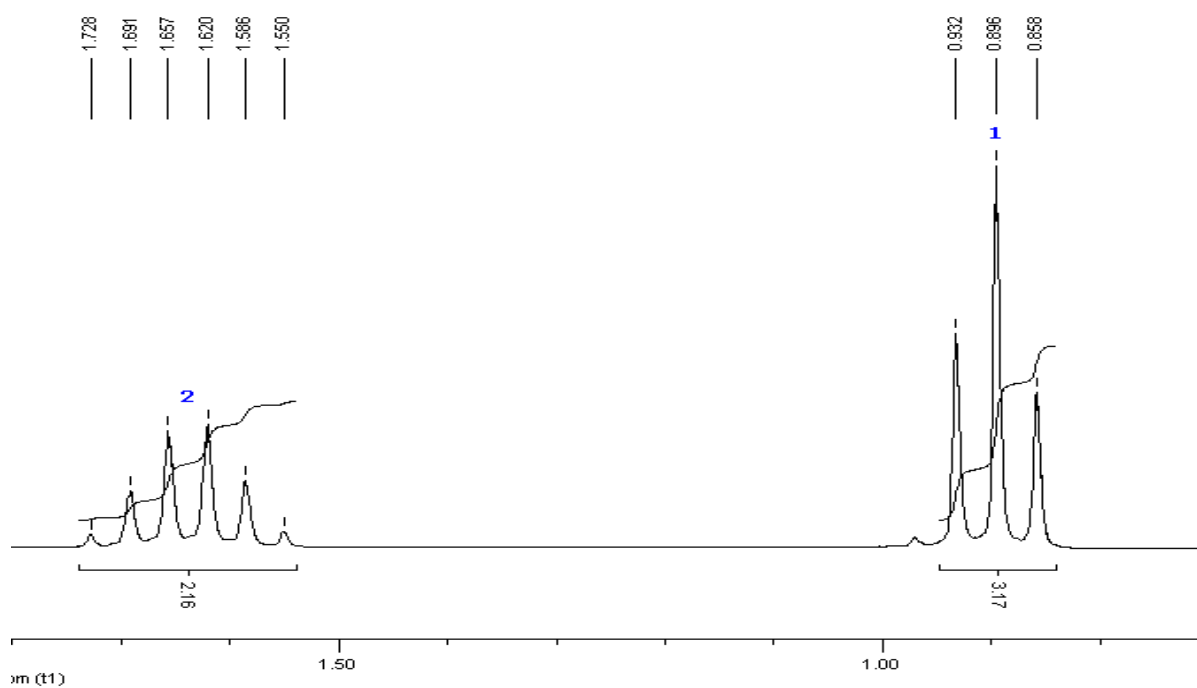
Espectro 76 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(3-nitrofenil)metil)] de propila (**56**) em cm⁻¹.



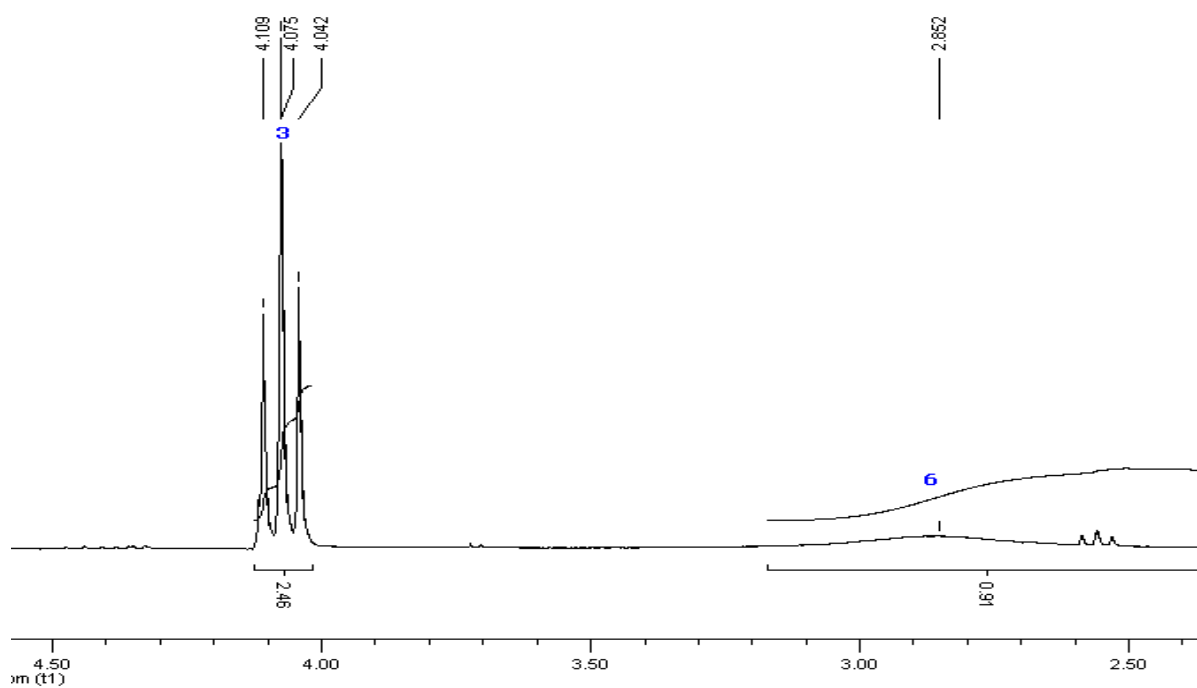
Espectro 77 Espectro de RMN¹³C-APT(CDCl₃, 50MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (**57**).



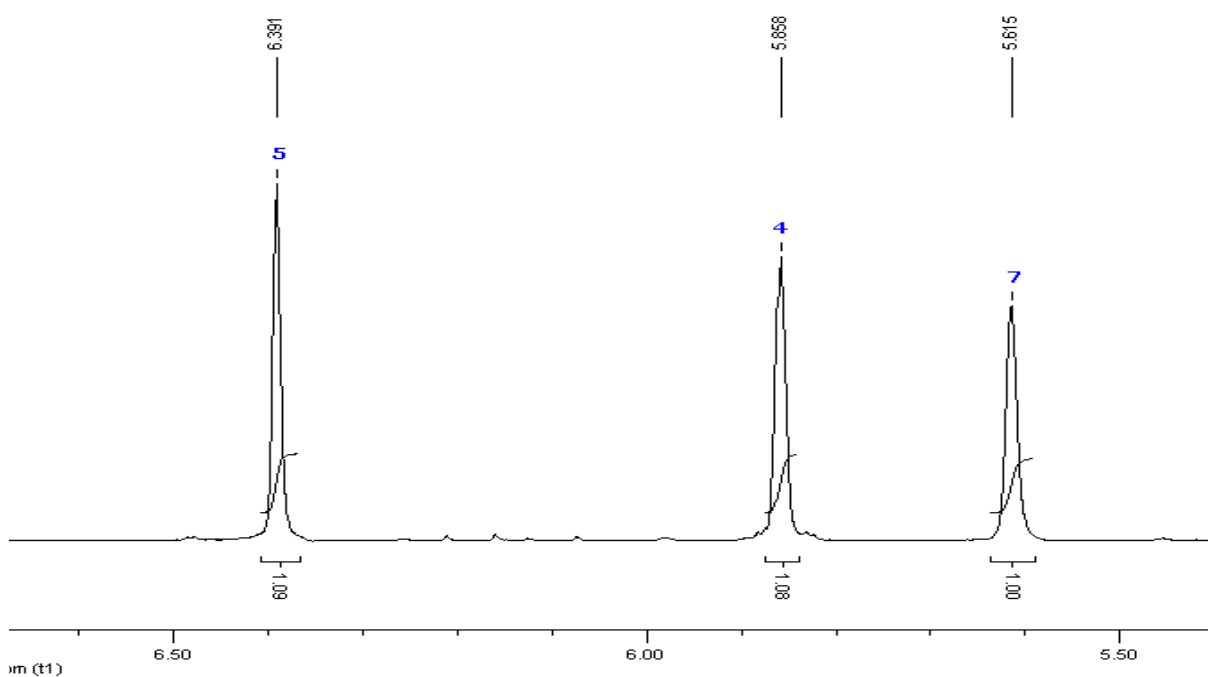
Espectro 78 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (**57**).



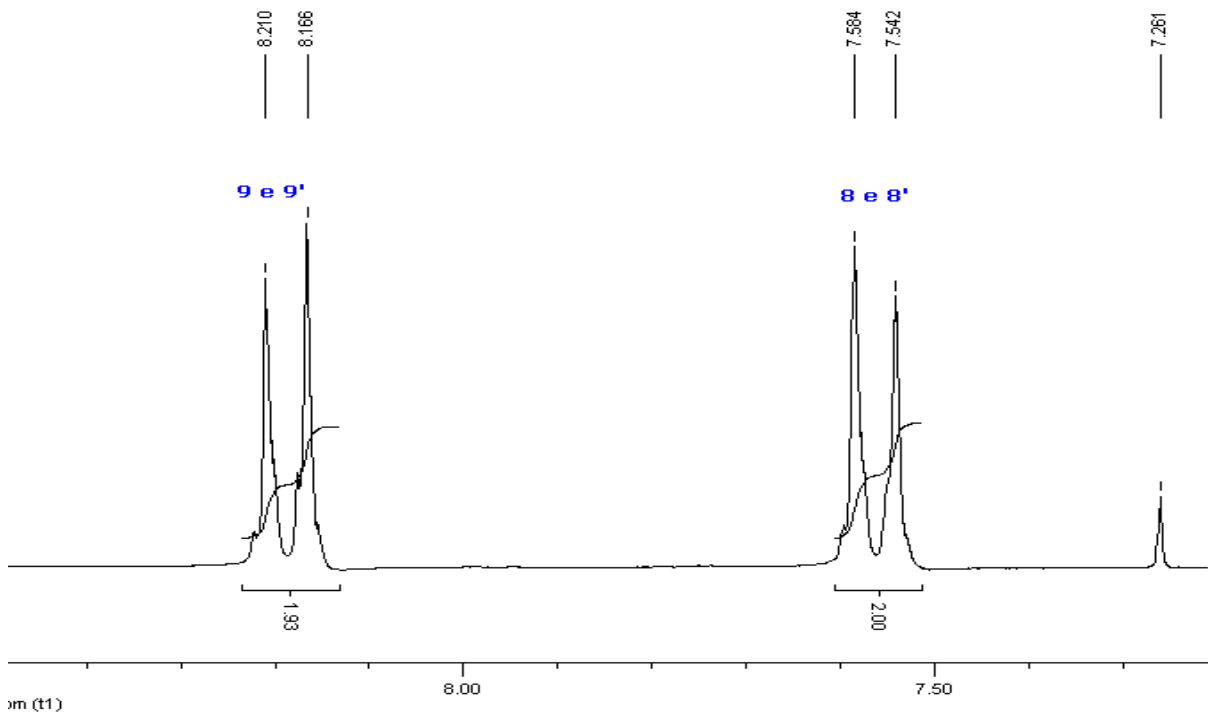
Espectro 79 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (**57**) na região de 0,80 a 1,80ppm.



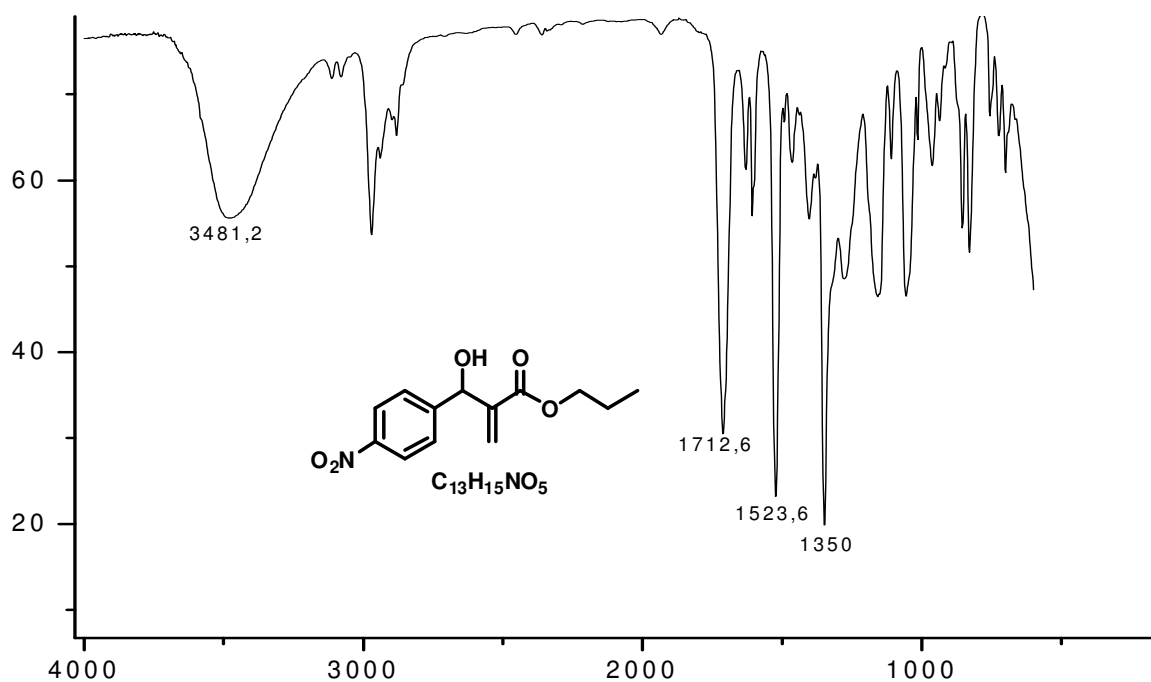
Espectro 80 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (**57**) na região de 2,50 a 4,50ppm.



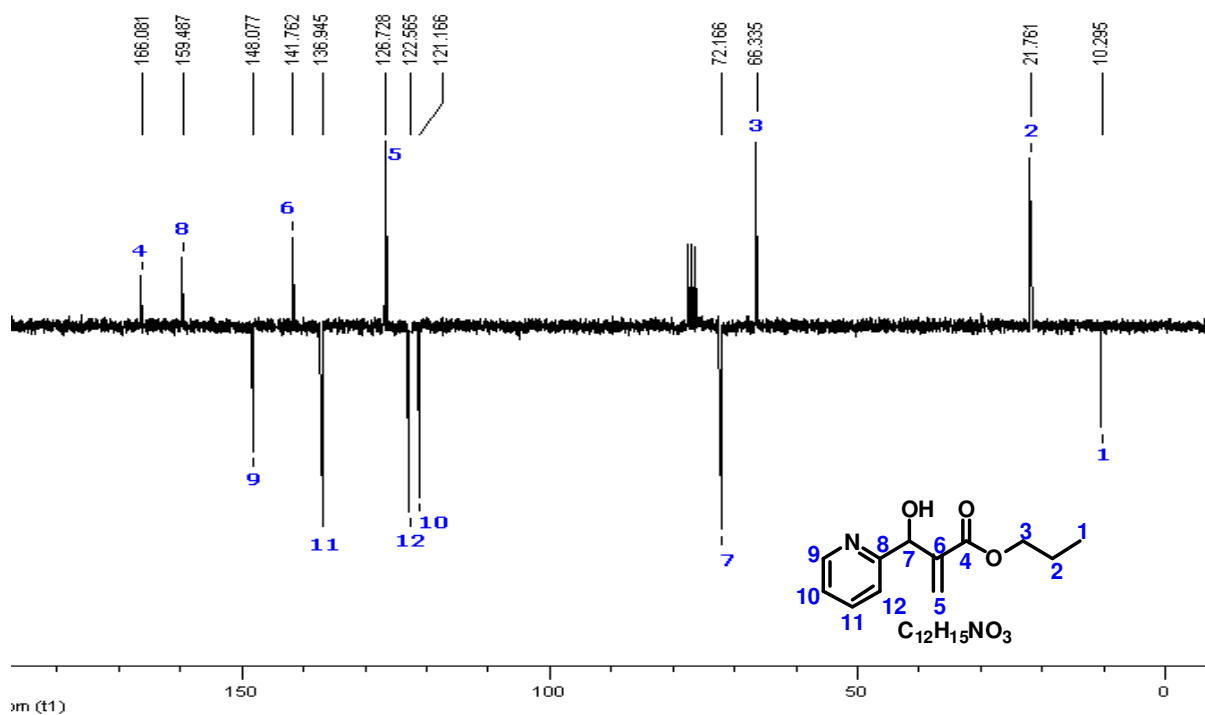
Espectro 81 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (**57**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



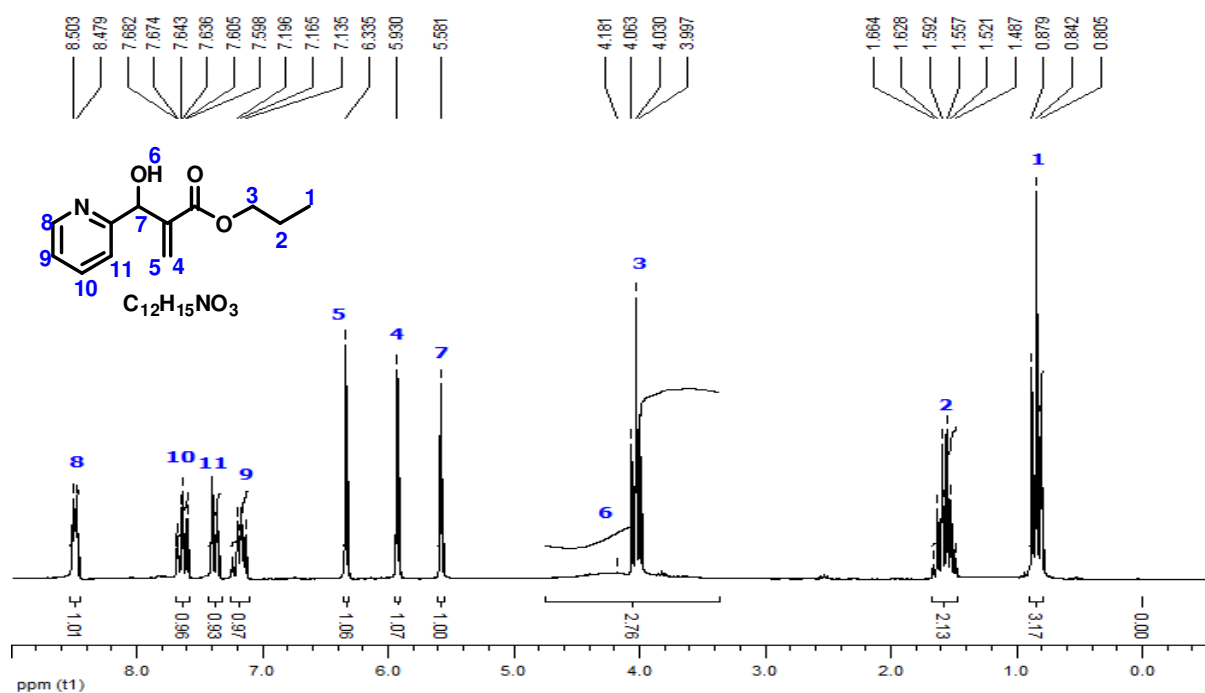
Espectro 82 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (**57**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



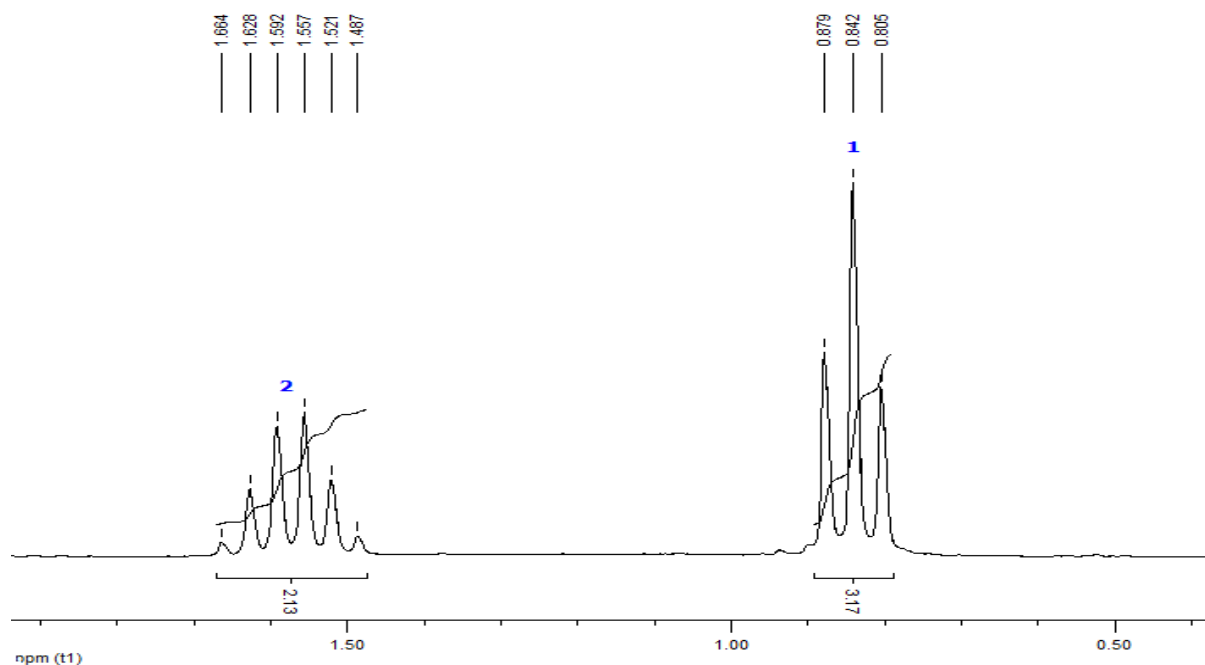
Espectro 83 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(4-nitrofenil)metil)] de propila (**57**) em cm^{-1} .



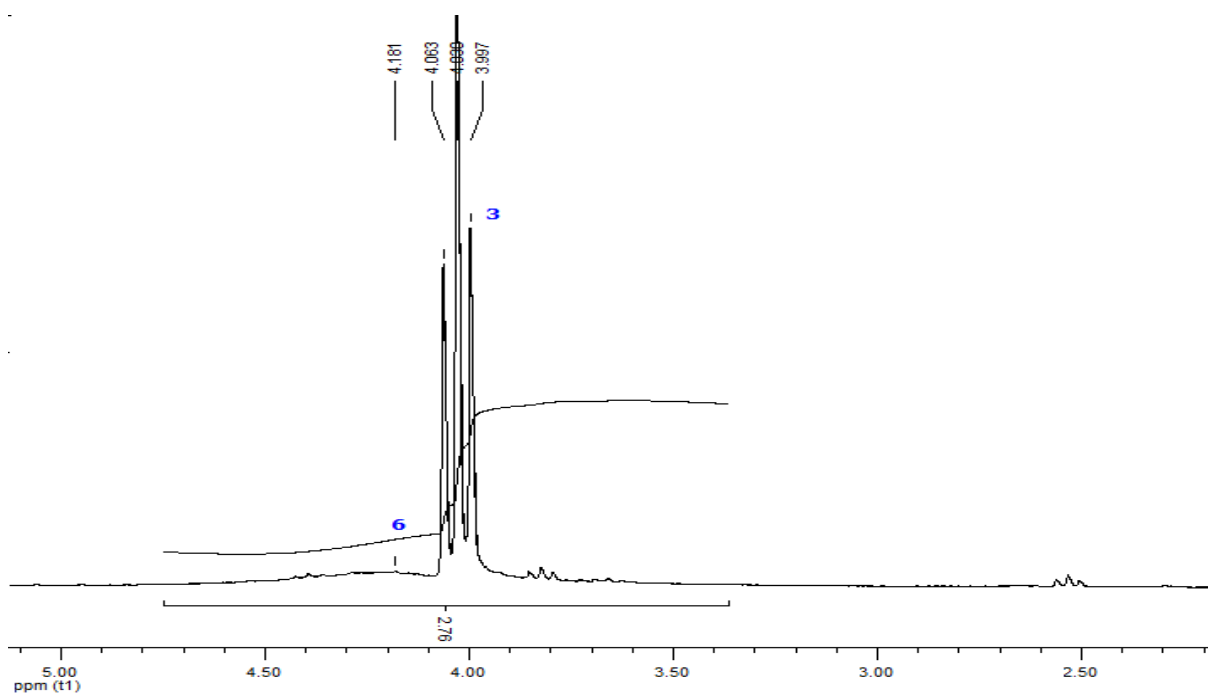
Espectro 84 Espectro de RMN¹³C-ATP(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (**58**).



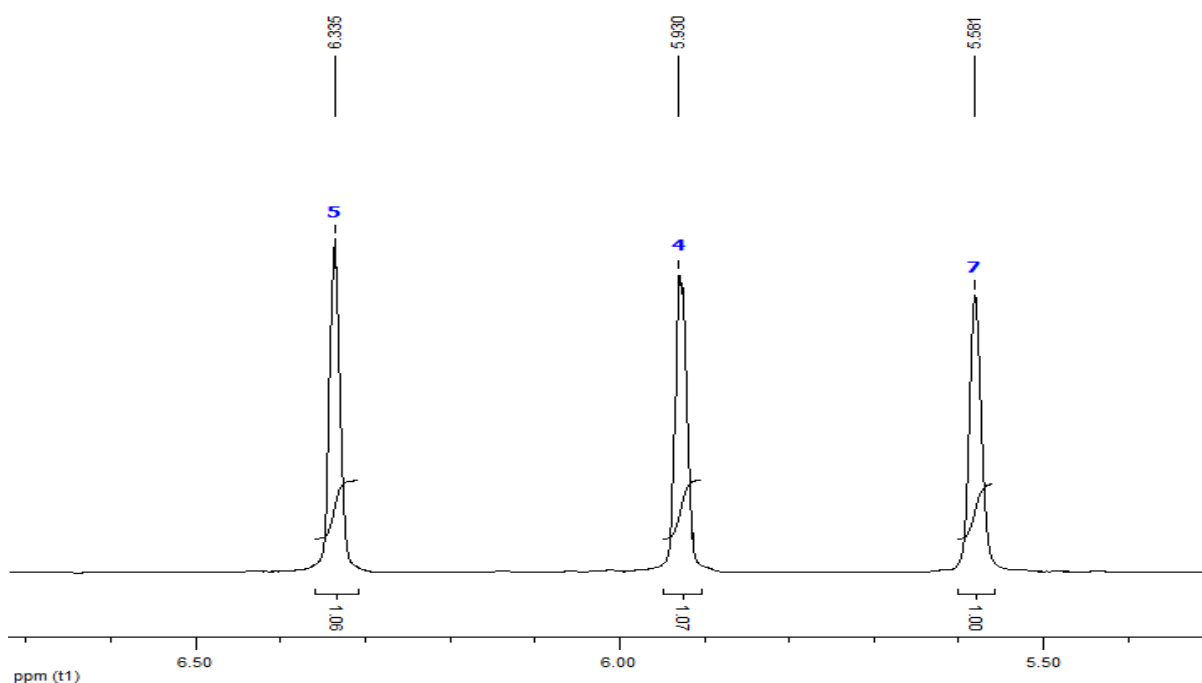
Espectro 85 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (**58**).



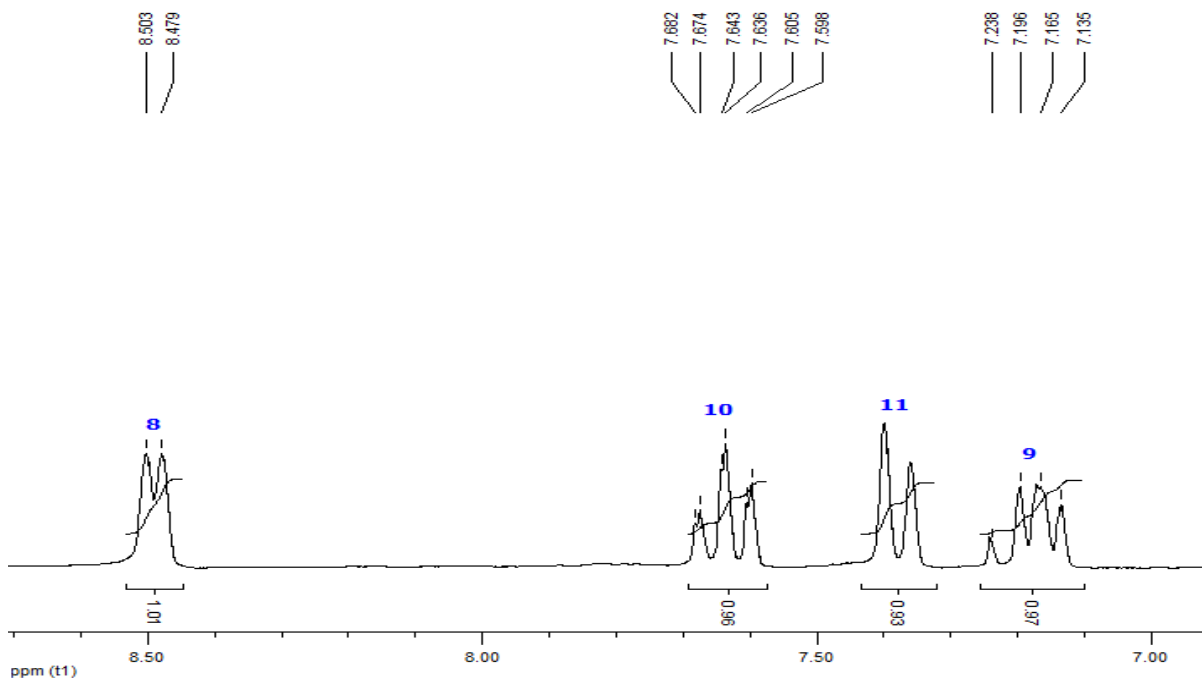
Espectro 86 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (**58**) na região de 0,50 a 1,70ppm.



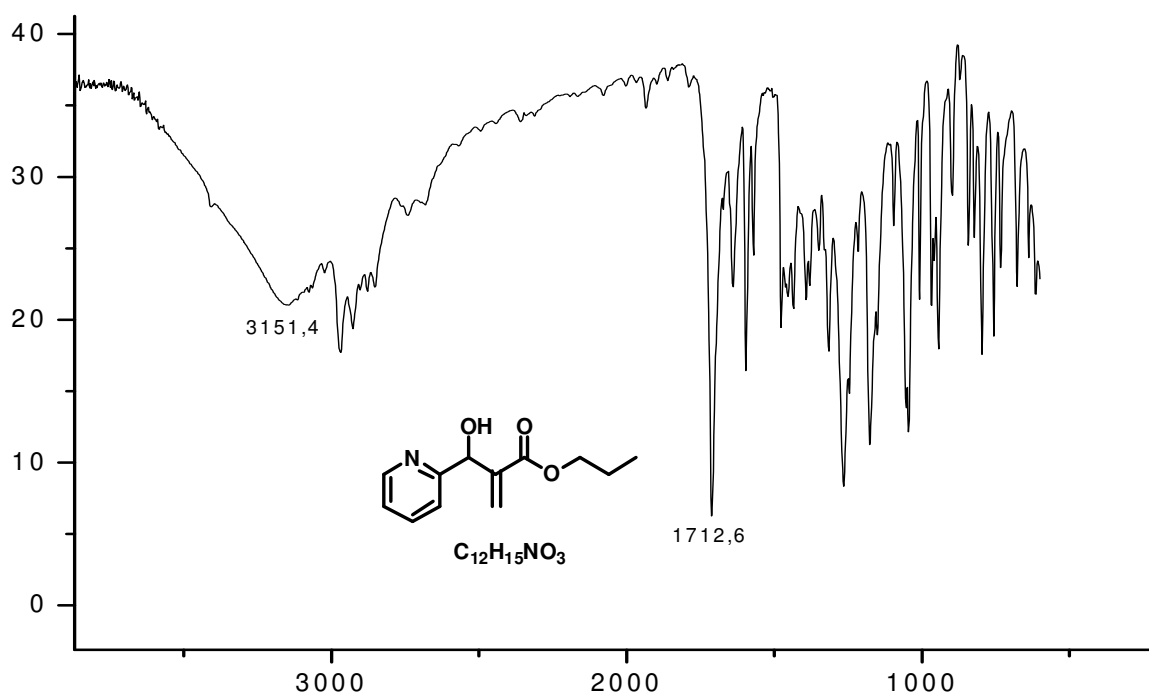
Espectro 87 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (**58**) na região de 3,50 a 5,0ppm.



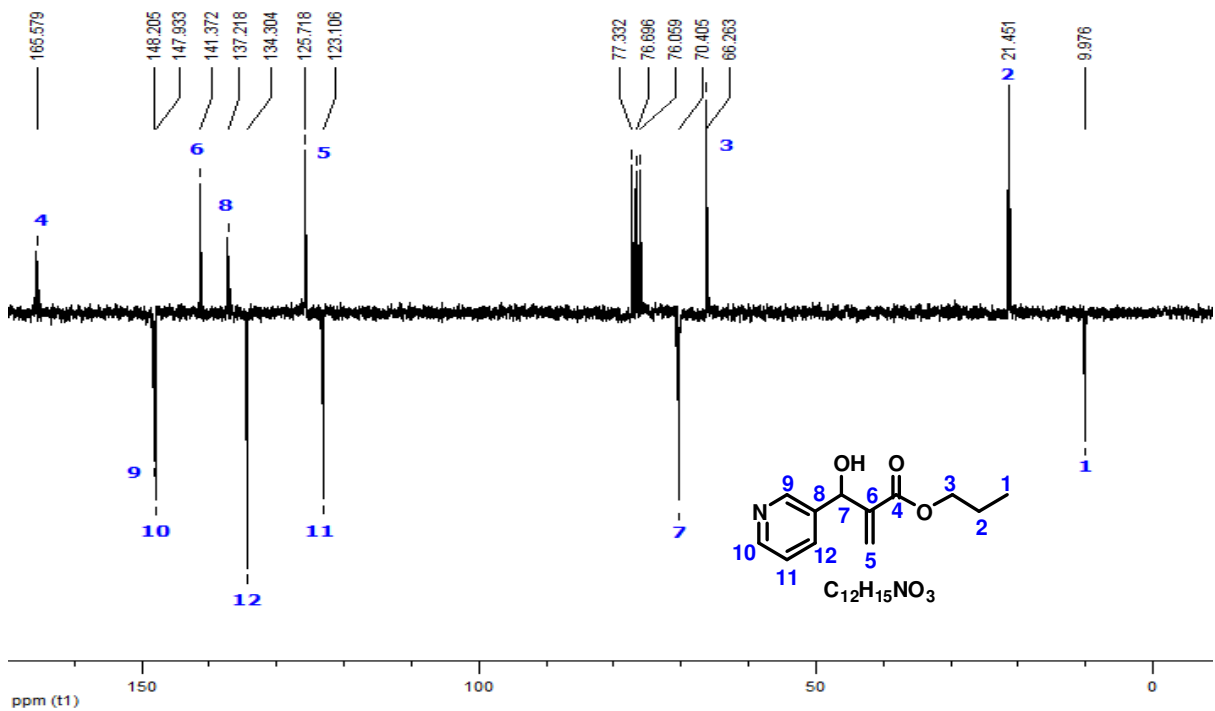
Espectro 88 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (**58**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



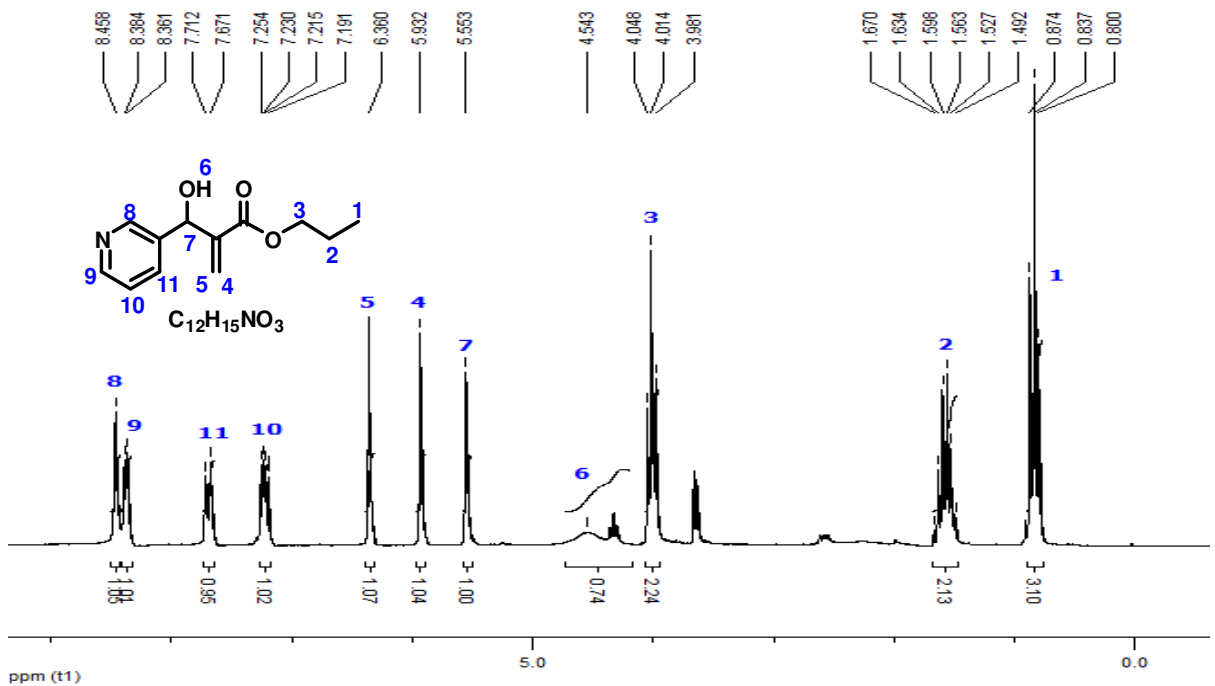
Espectro 89 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (**58**) na região de 7,0 a 8,60ppm



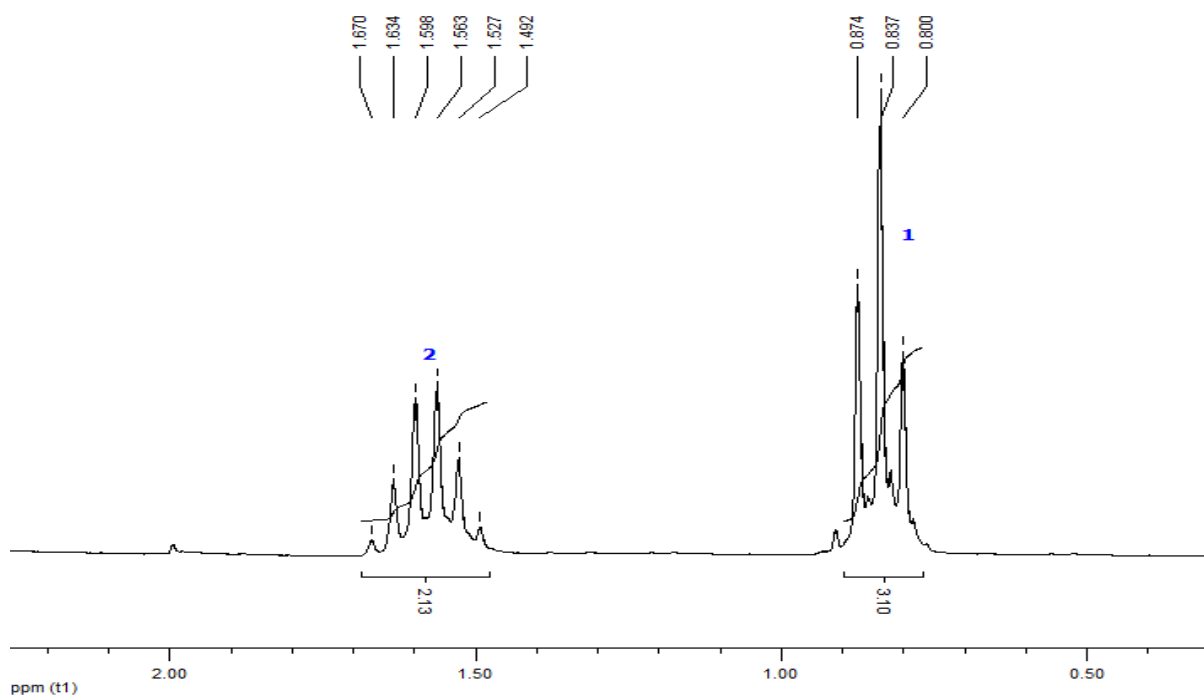
Espectro 90 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-2-il)metil)] de propila (**58**) cm⁻¹.



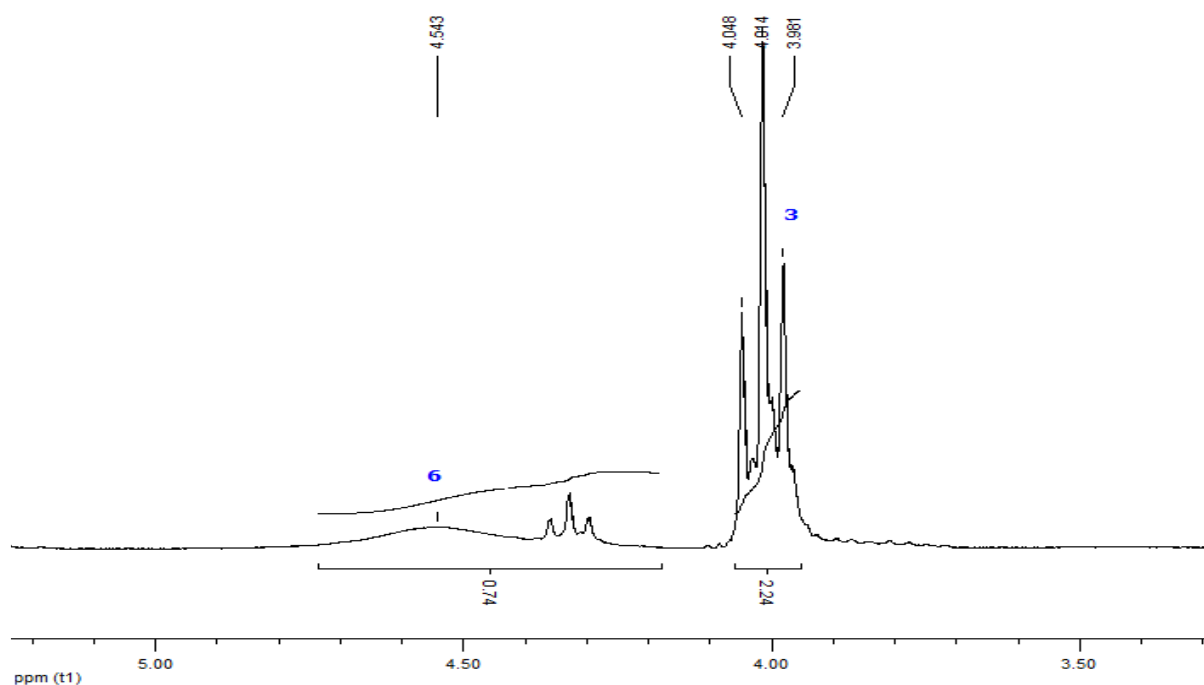
Espectro 91 Espectro de RMN¹³C-ATP(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-piridin-3-il)metil] de propila (**59**).



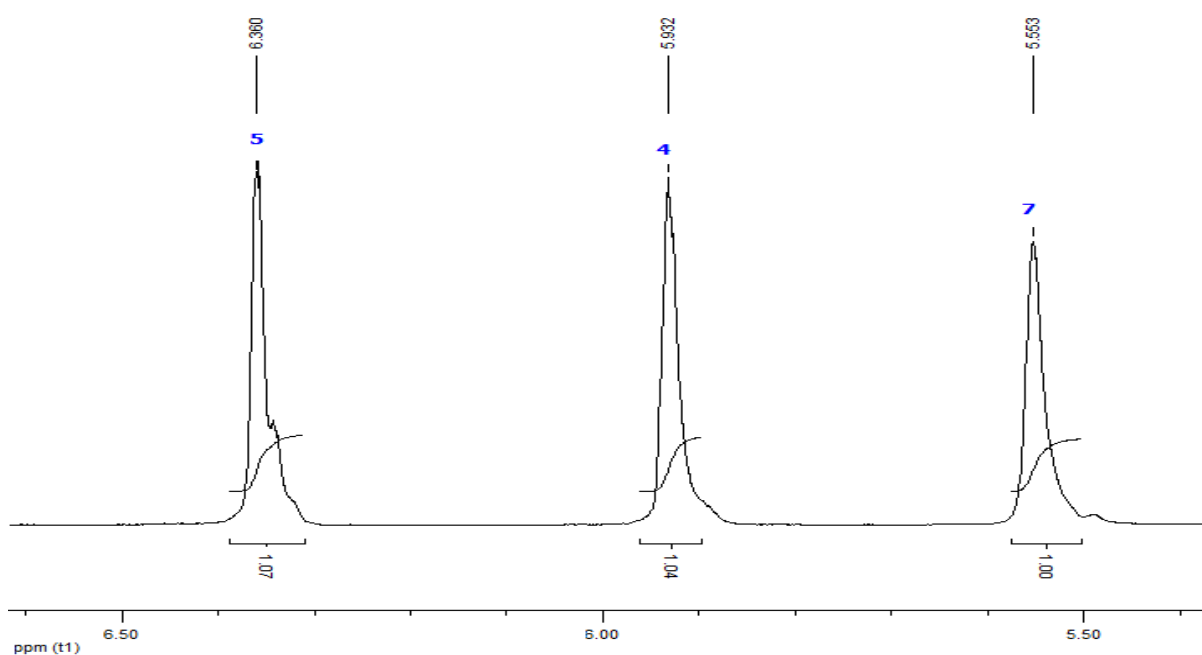
Espectro 92 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-piridin-3-il)metil] de propila (**59**).



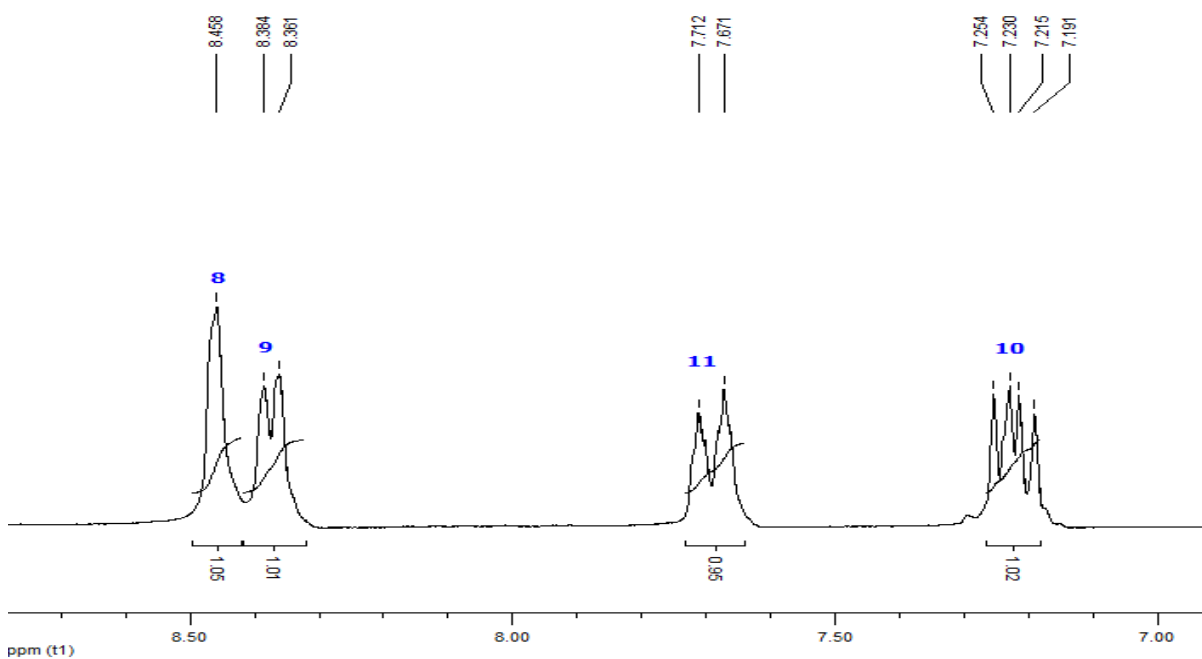
Espectro 93 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (**59**) na região de 0,50 a 2,0ppm.



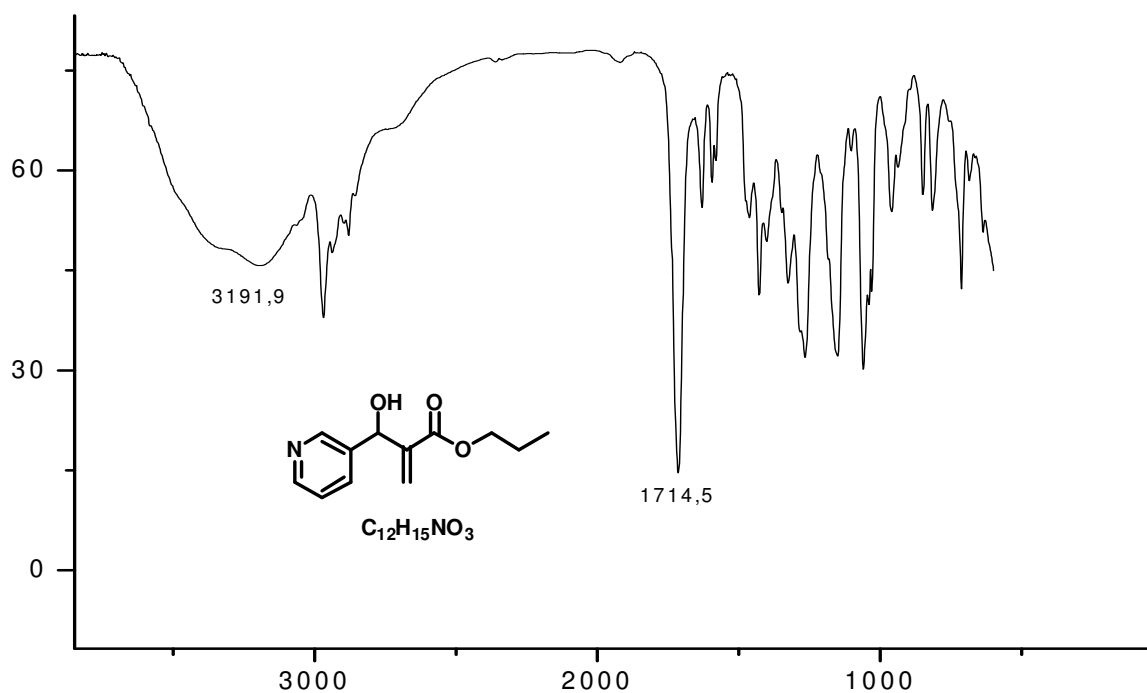
Espectro 94 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (**59**) na região de 3,50 a 5,0ppm.



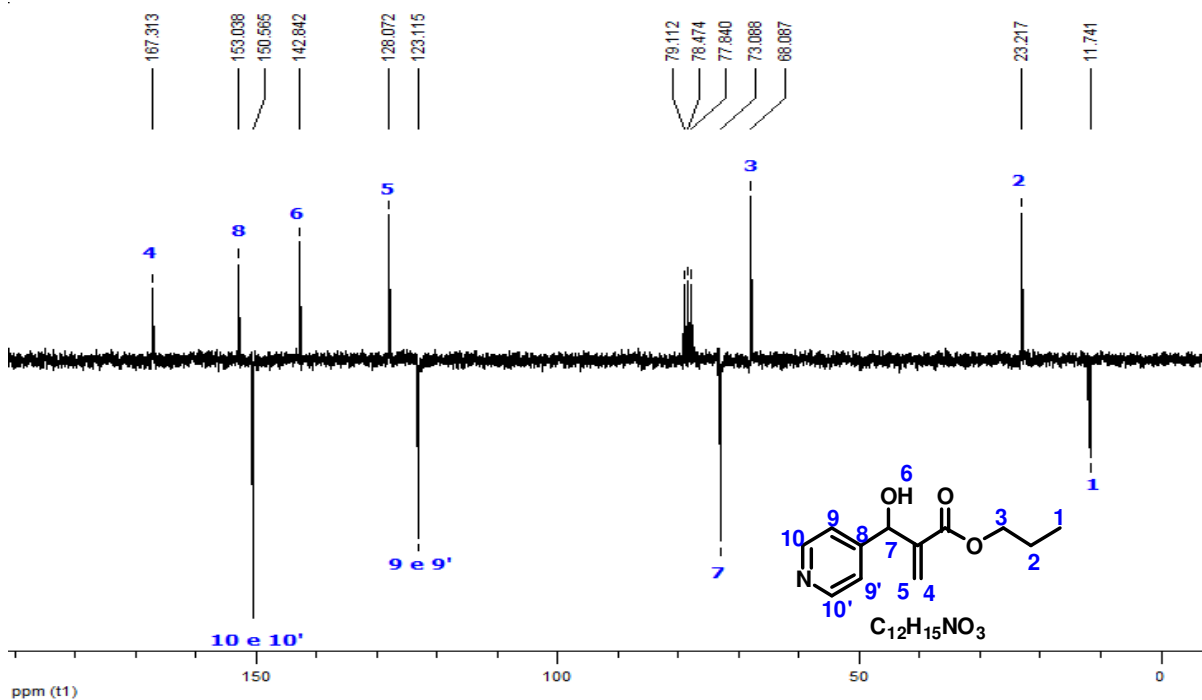
Espectro 95 Expansão do Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (**59**) na região de 3,50 a 6,50ppm.



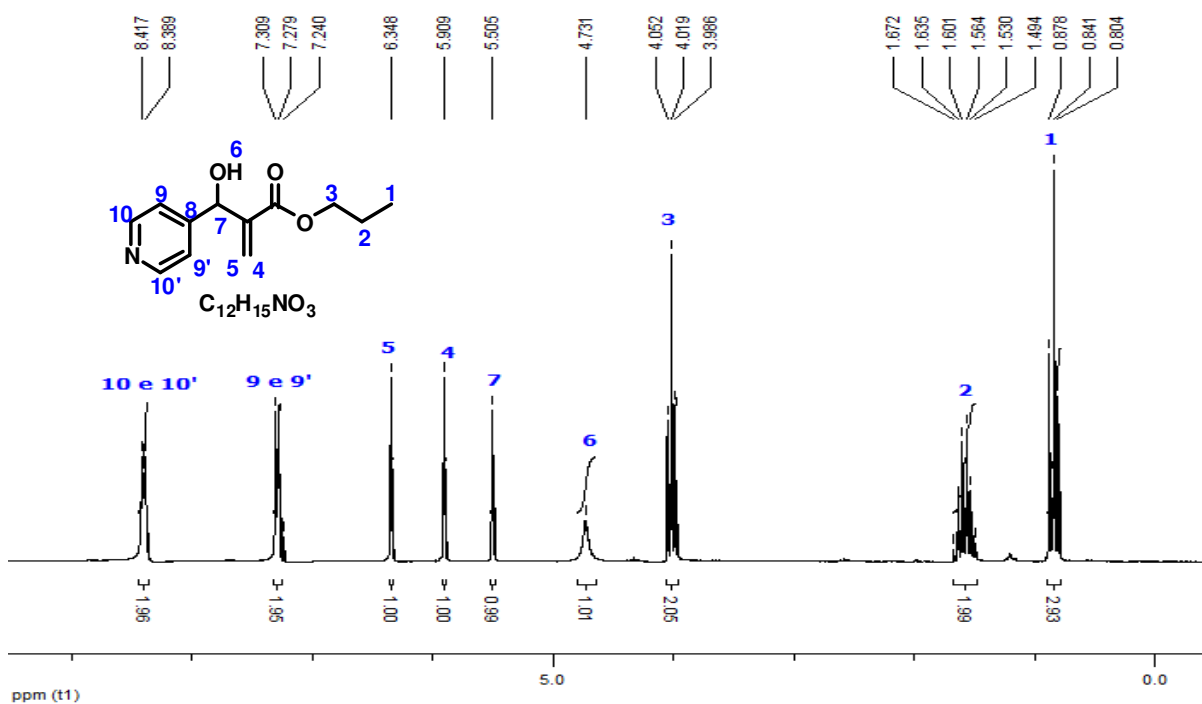
Espectro 96 Expansão do Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (**59**) na região de 7,0 a 8,50ppm.



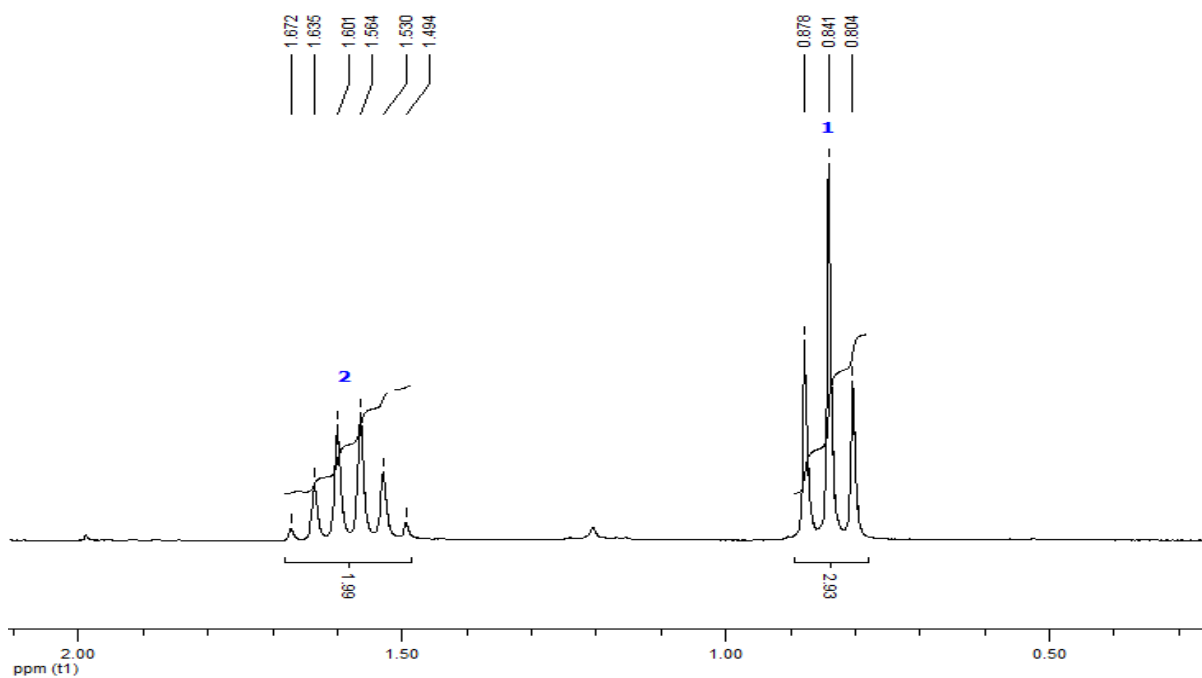
Espectro 97 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-3-il)metil)] de propila (**59**) cm^{-1} .



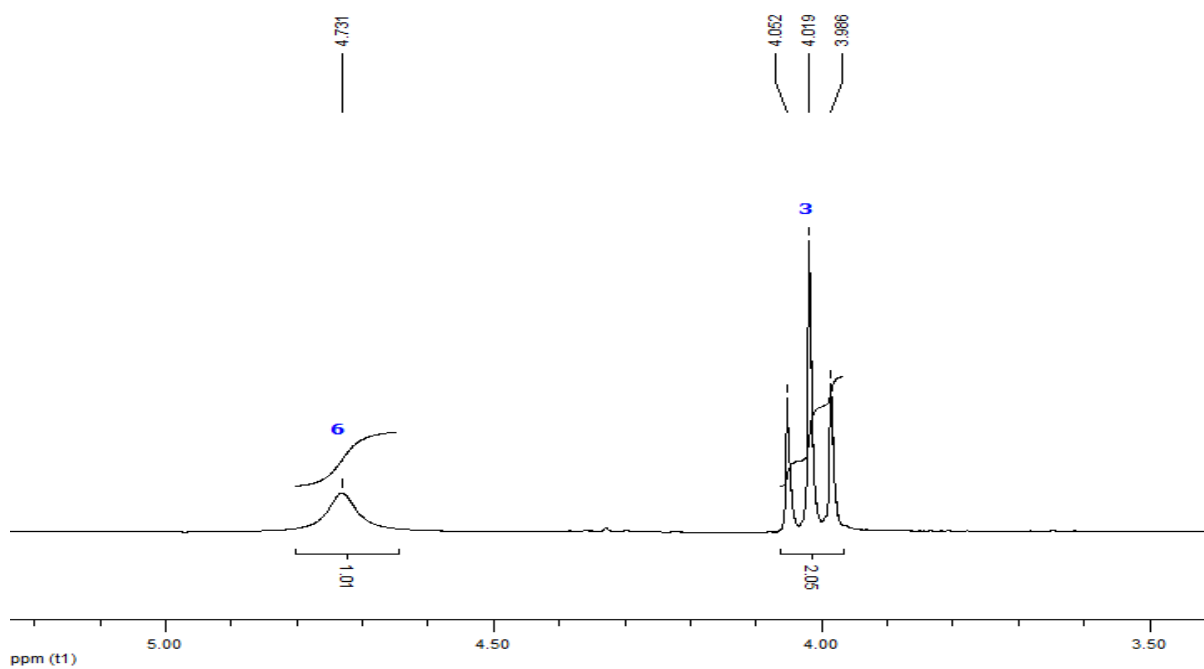
Espectro 98 Espectro de RMN¹³C-ATP (CDCl₃, 50 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (**60**).



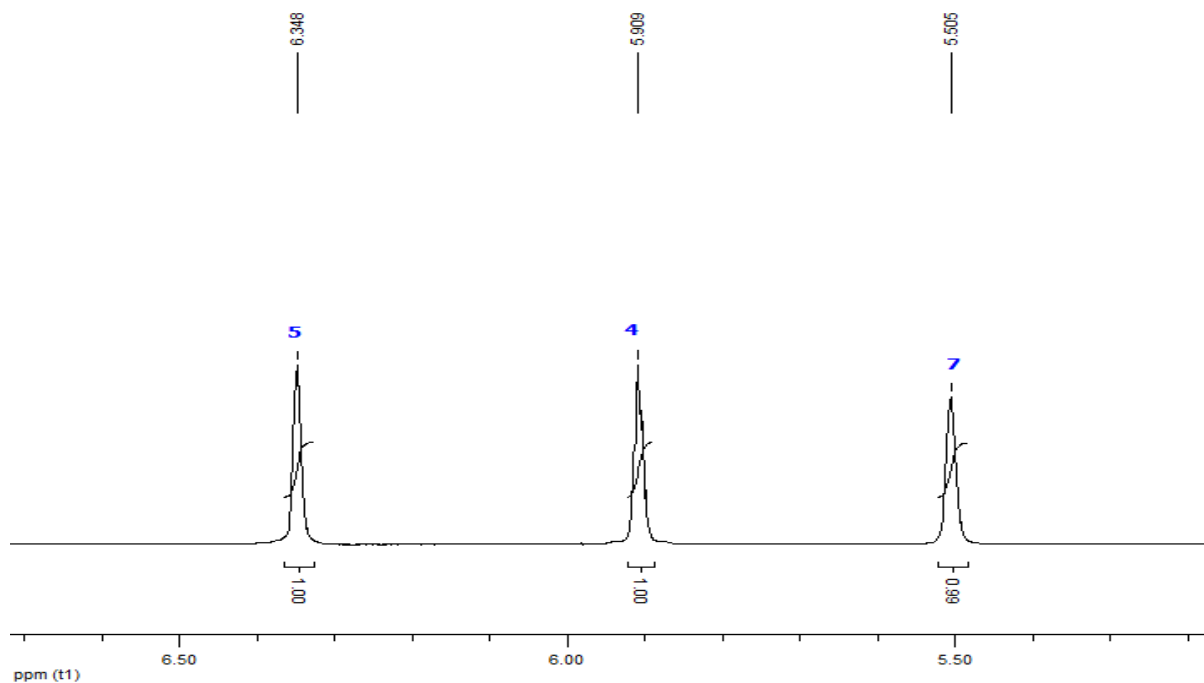
Espectro 99 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-piridin-4-il)metil] de propila (**60**).



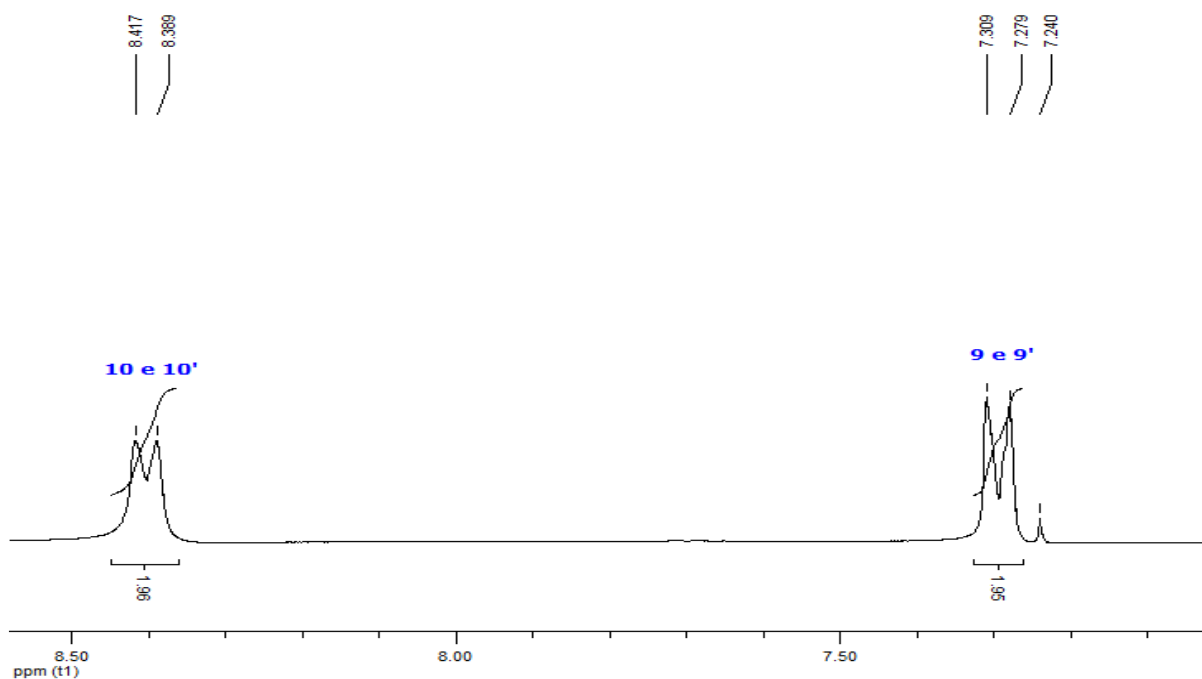
Espectro 100 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (**60**) na região de 0,50 a 2,0ppm.



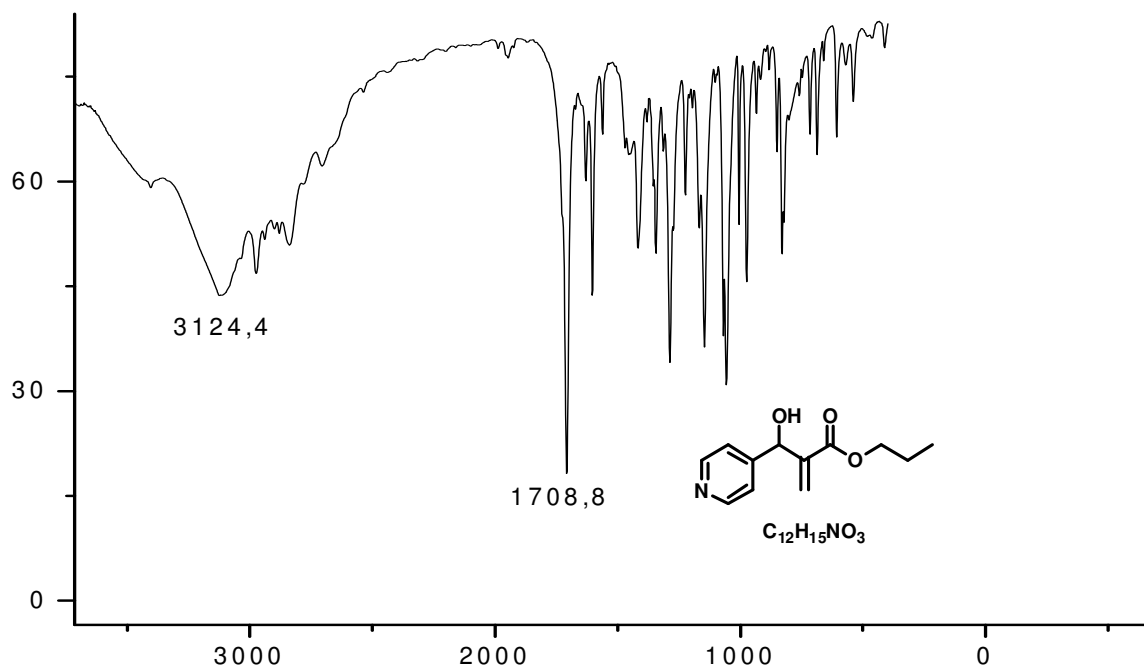
Espectro 101 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (**60**) na região de 3,50 a 5,0ppm.



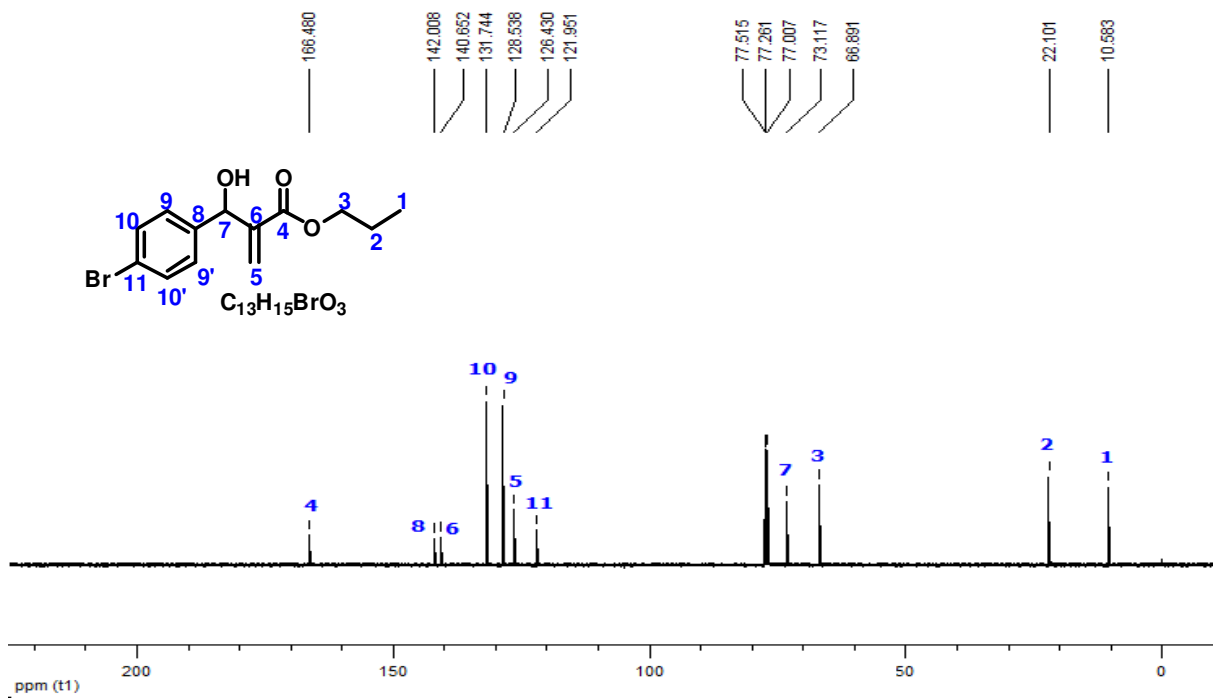
Espectro 102 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (**60**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



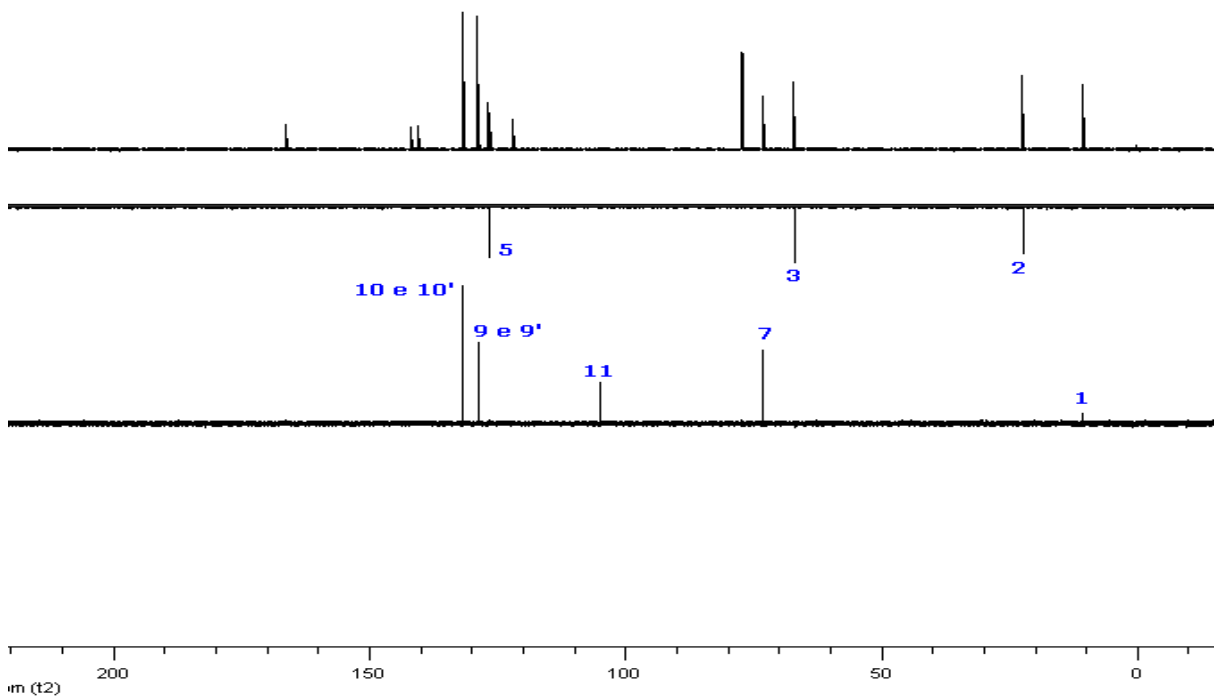
Espectro 103 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (**60**) na região de 7,20 a 8,50ppm.



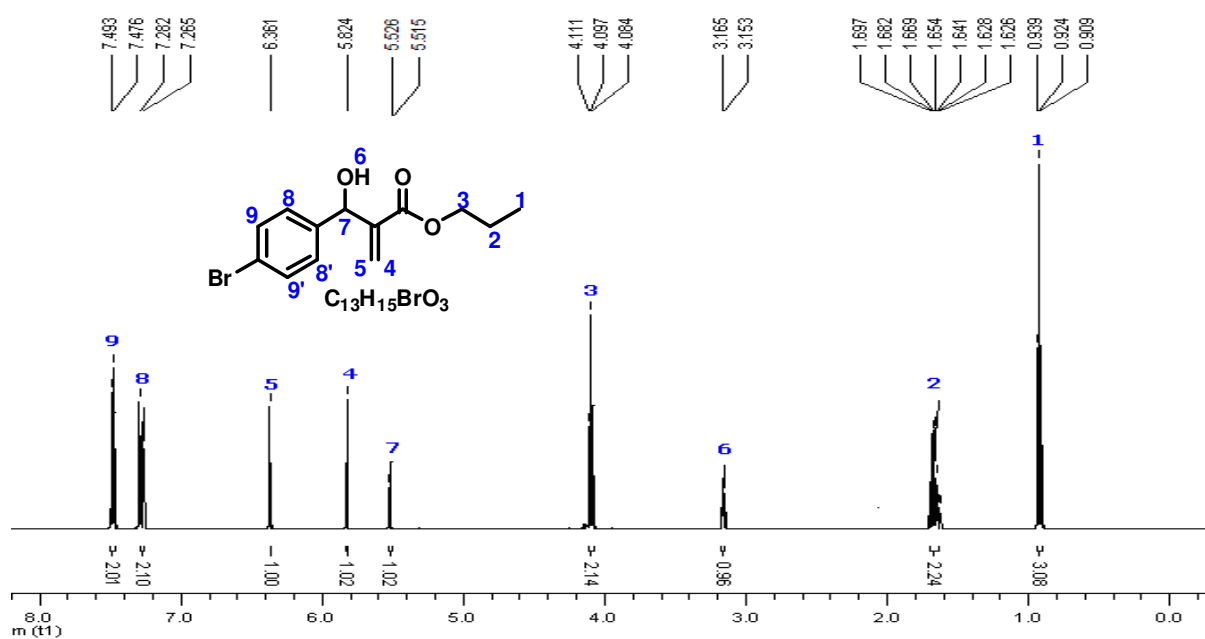
Espectro 104 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi-(piridin-4-il)metil)] de propila (**60**) cm⁻¹.



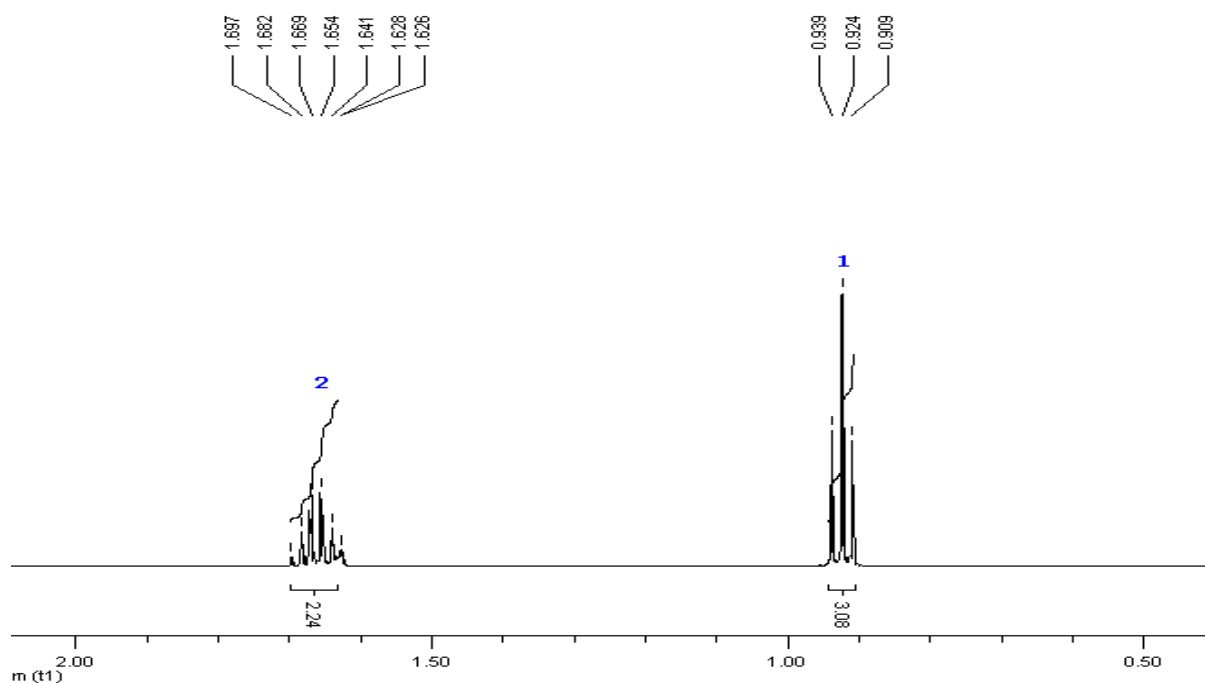
Espectro 105 Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 125 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**).



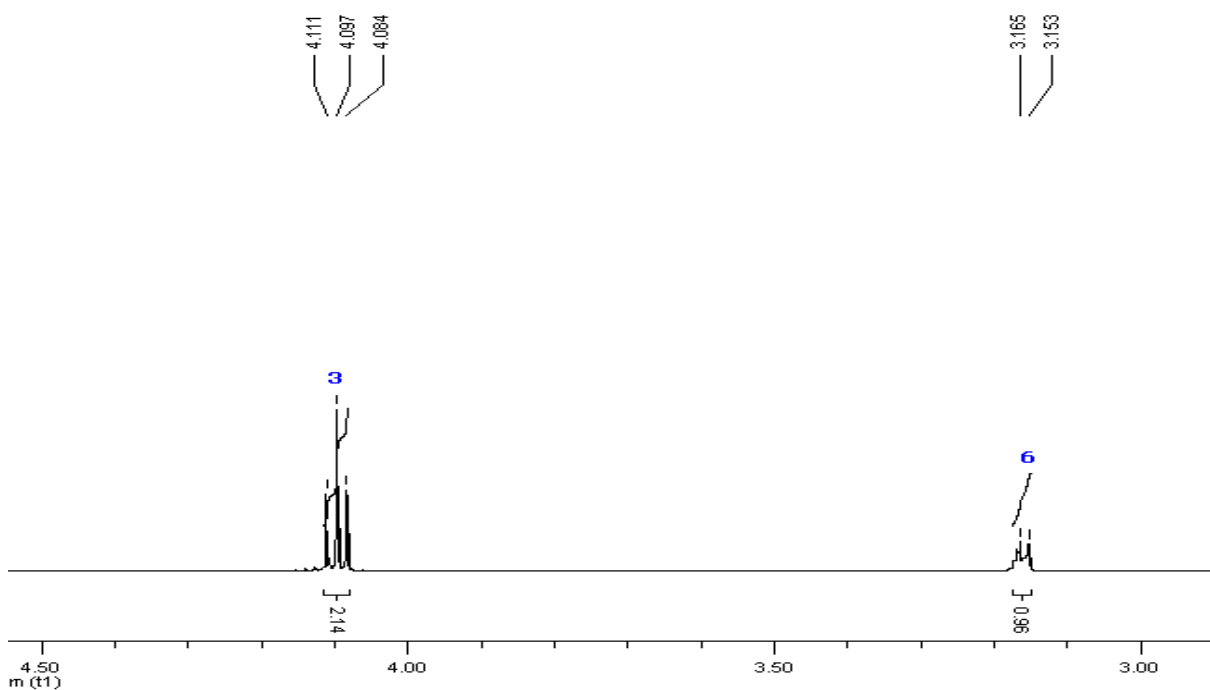
Espectro 106 Espectro de RMN¹³C-DEPT(CDCl₃, 125 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**).



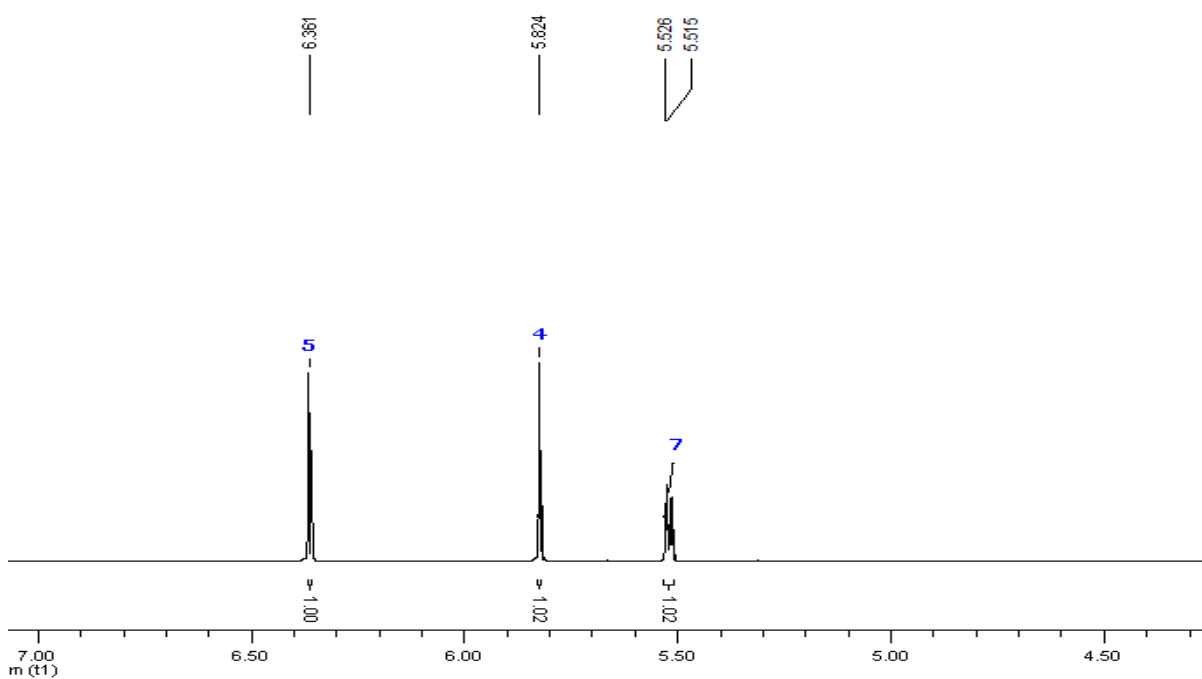
Espectro 107 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**).



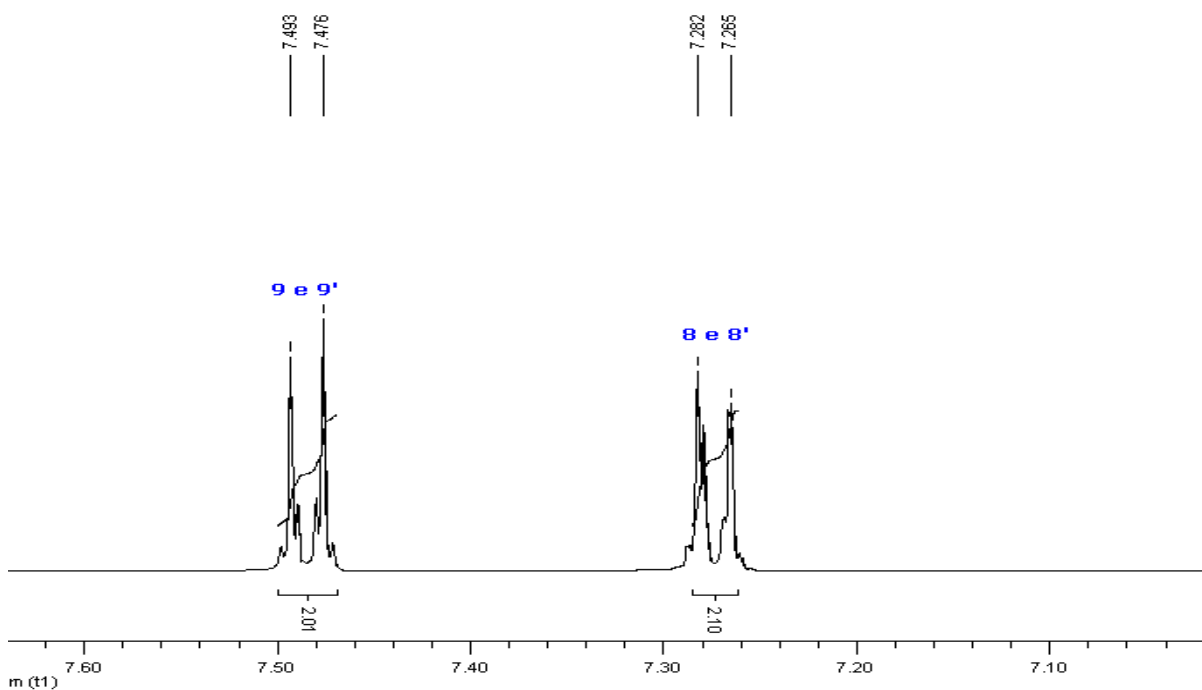
Espectro 108 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**) na região de 0,80 a 1,70ppm.



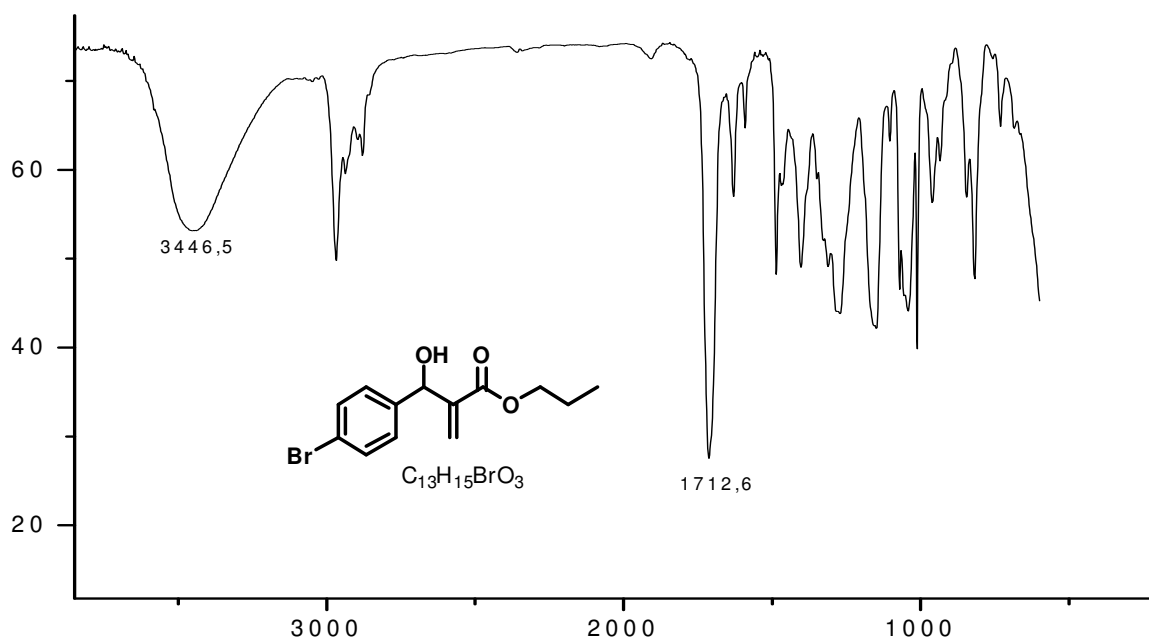
Espectro 109 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**) na região de 3,0 a 4,20ppm.



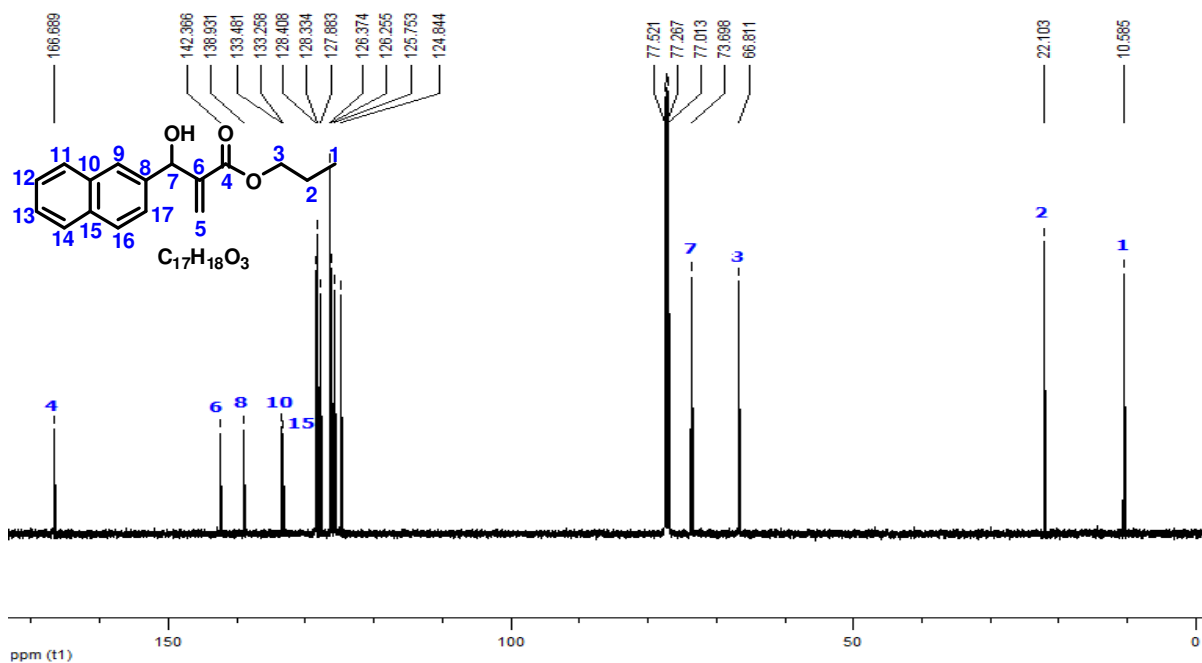
Espectro 110 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**) na região de 5,0 a 6,50ppm.



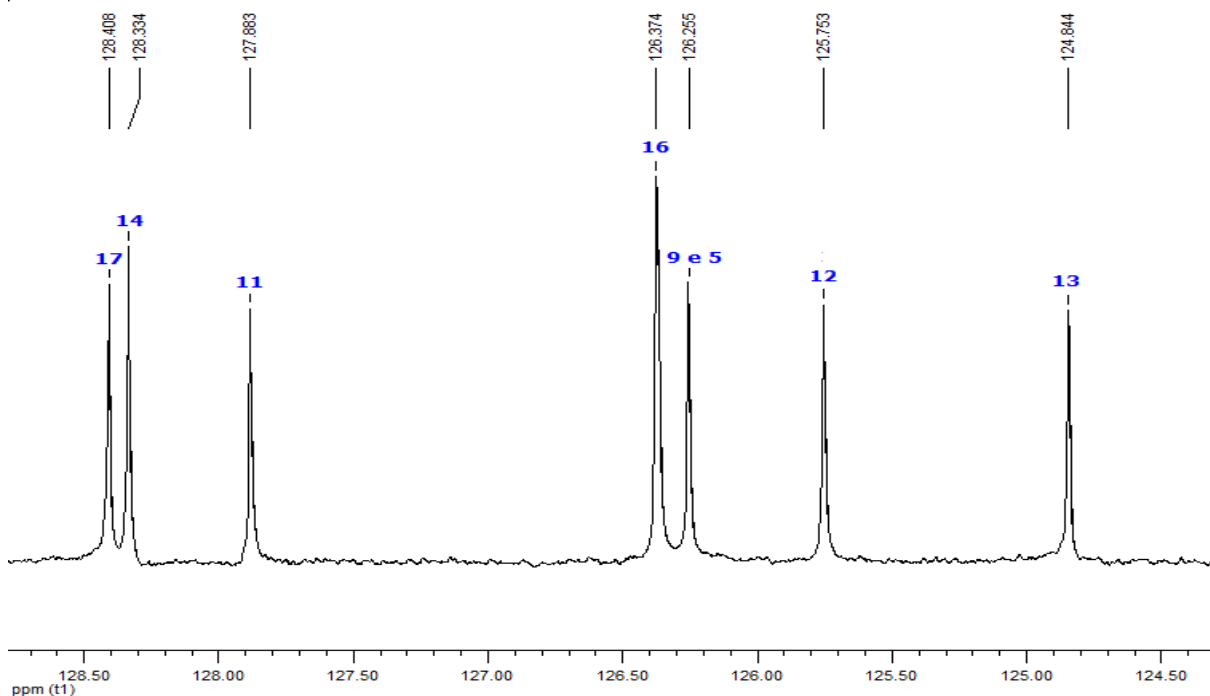
Espectro 111 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**) na região de 7,20 a 7,60ppm.



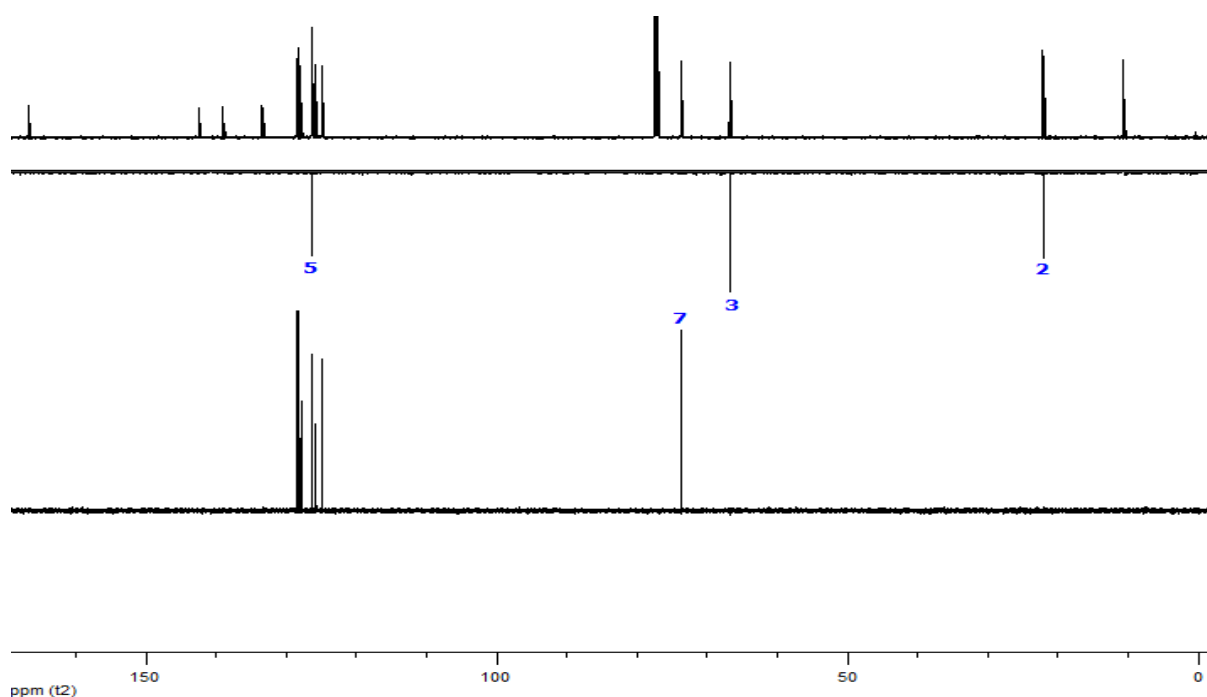
Espectro 112 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-((4-bromofenil)(hidroxi)metil)] de propila (**61**) cm⁻¹.



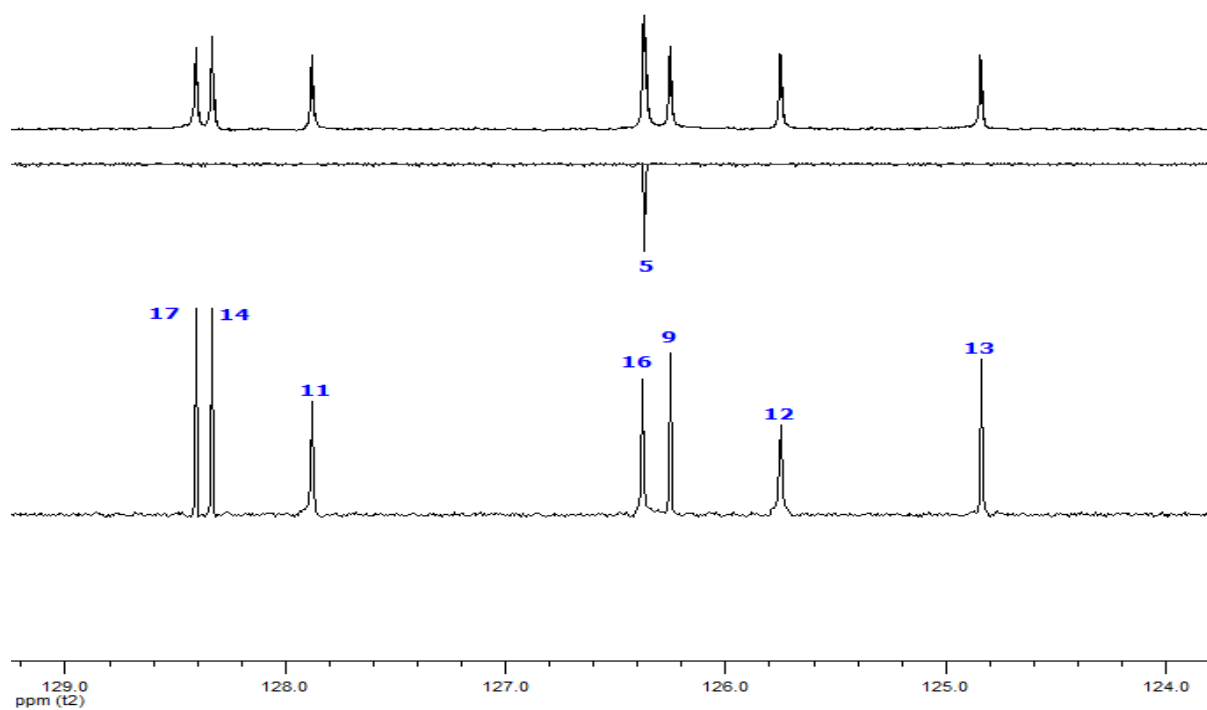
Espectro 113 Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**).



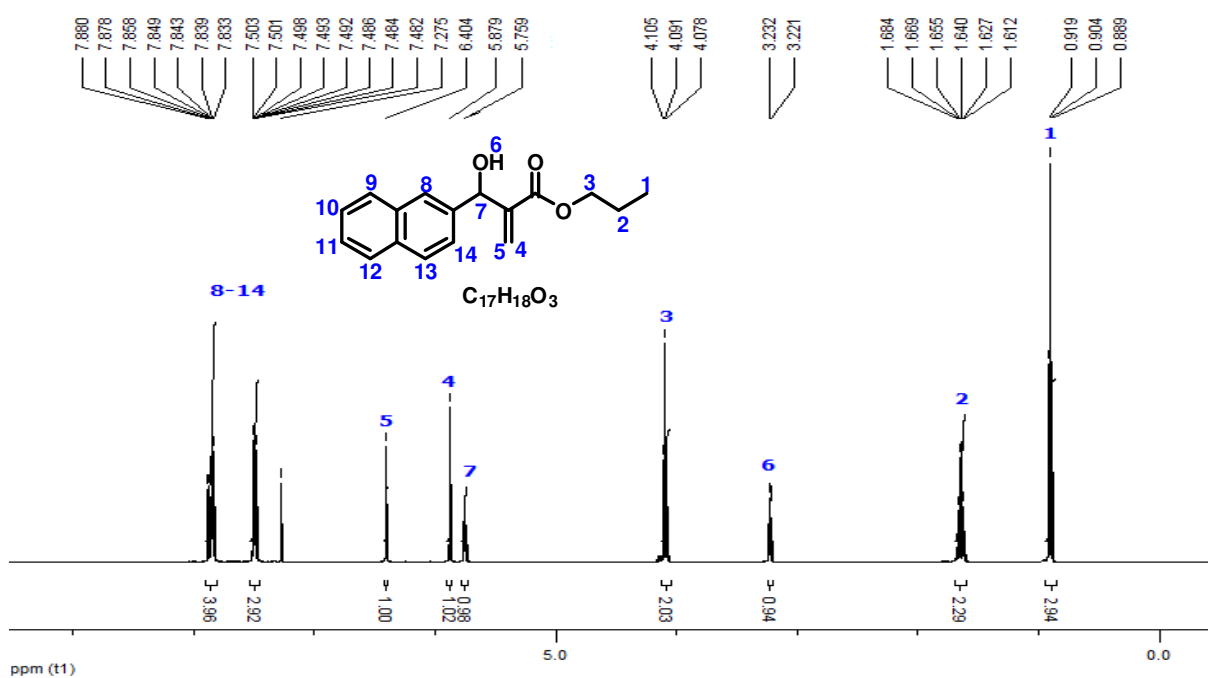
Espectro 114 Expansão do Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**) na região de 124,50 a 128,50ppm.



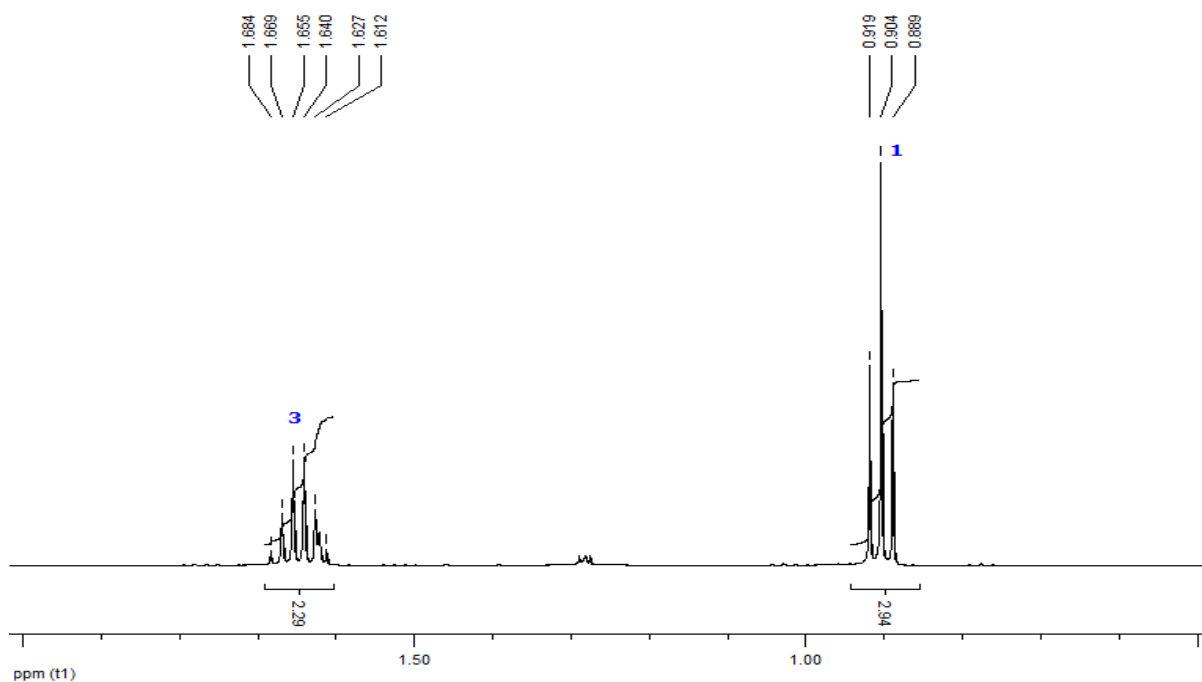
Espectro 115 Espectro de RMN¹³C-DEPT(CDCl₃, 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**).



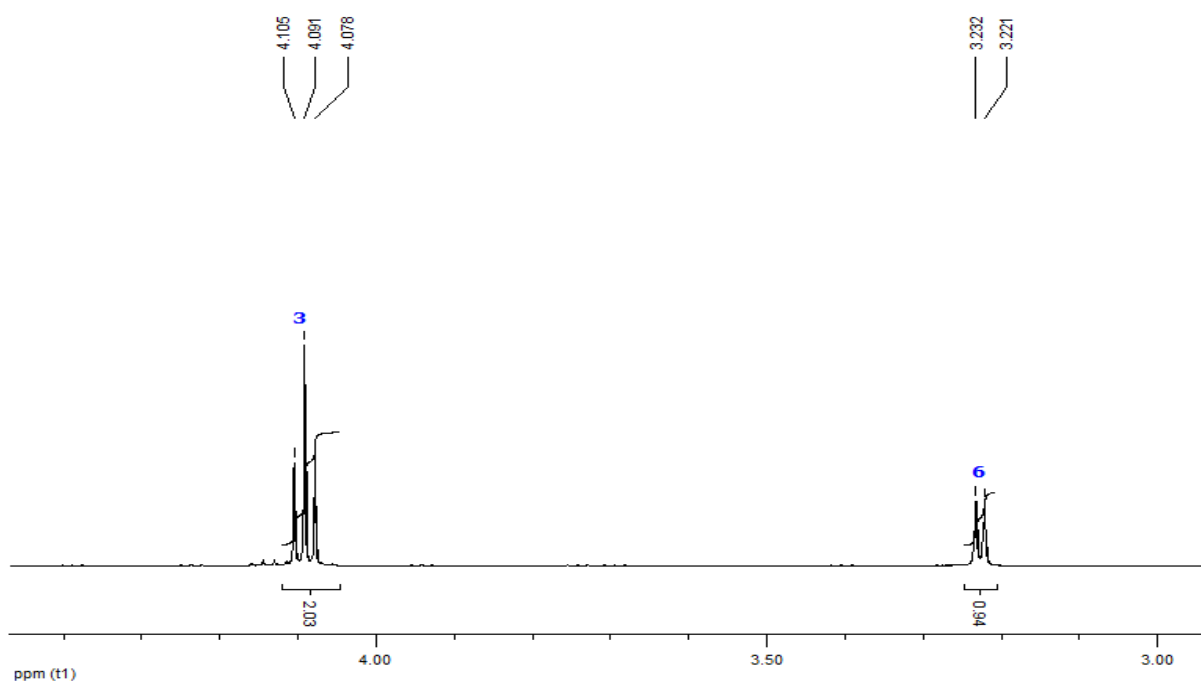
Espectro 116 Expansão do Espectro de RMN¹³C-DEPT(CDCl₃, 125 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**) na região de 124,50 a 128,50ppm.



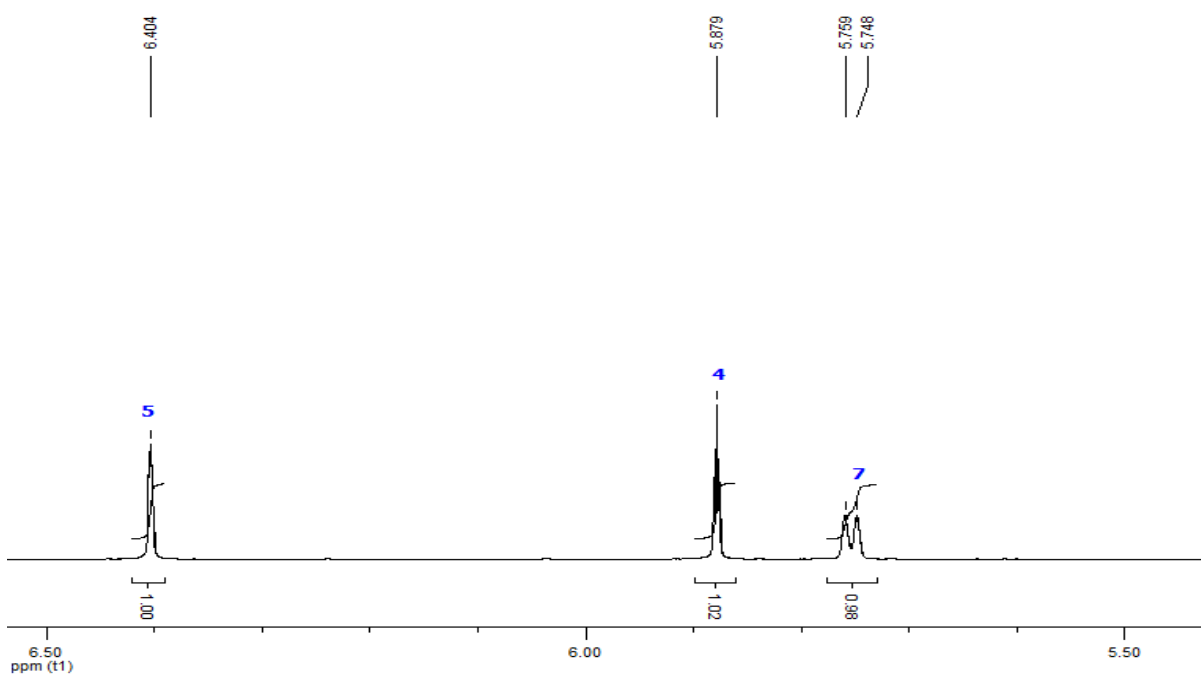
Espectro 117 Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**).



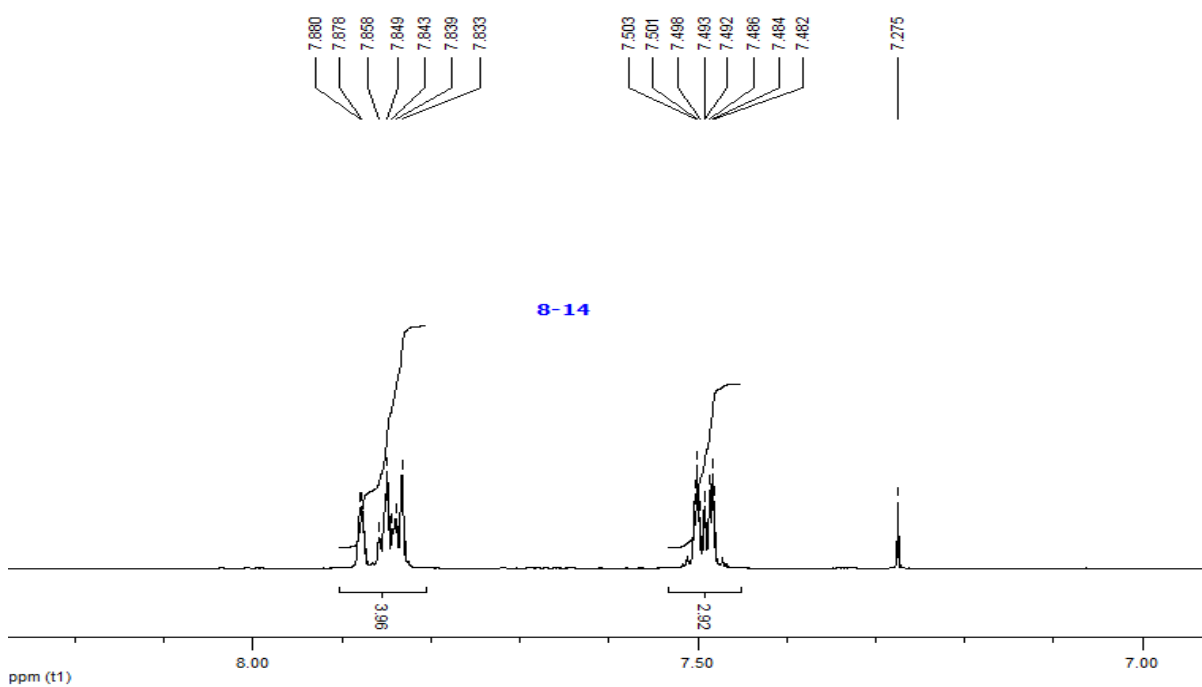
Espectro 118 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**) na região de 0,80 a 1,70ppm.



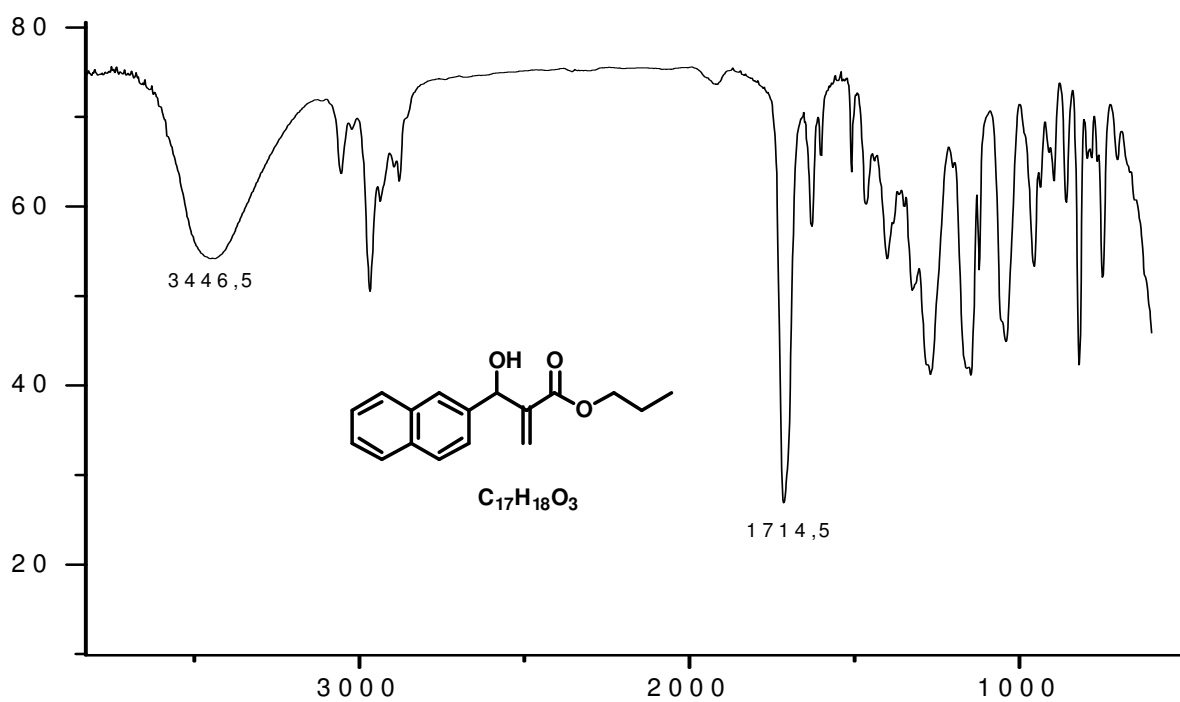
Espectro 119 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**) na região de 3,20 a 4,20ppm.



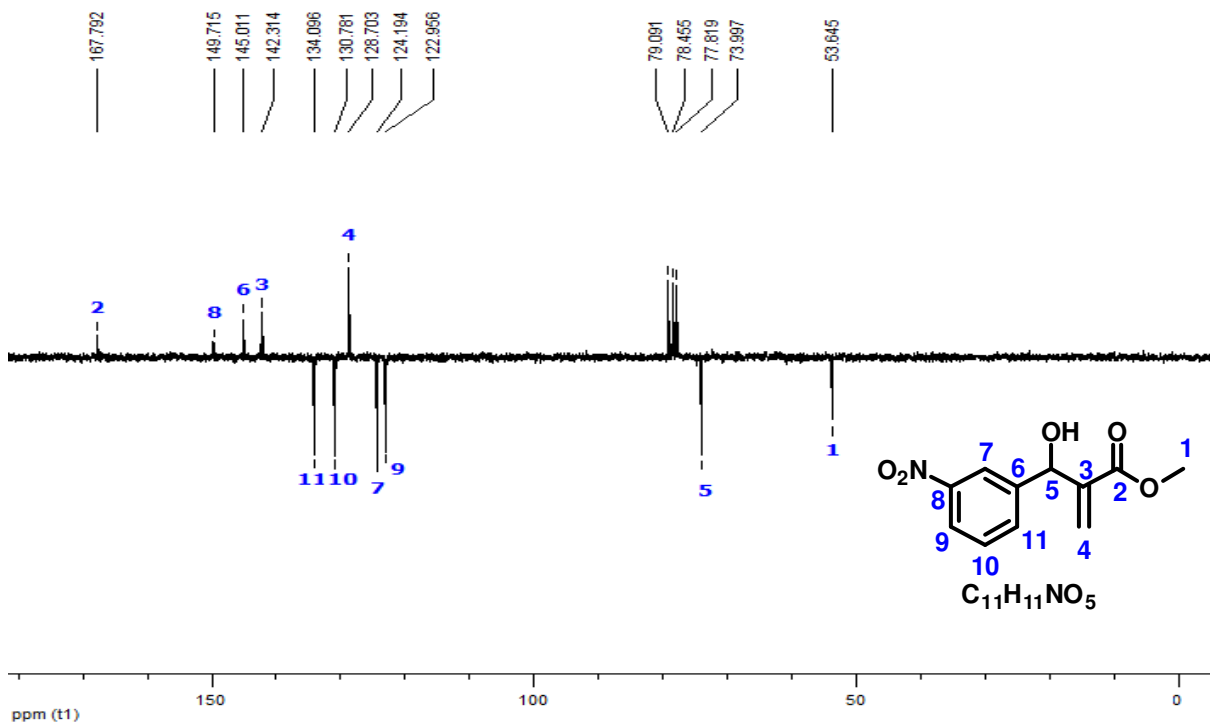
Espectro 120 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**) na região de 5,50 a 6,50ppm.



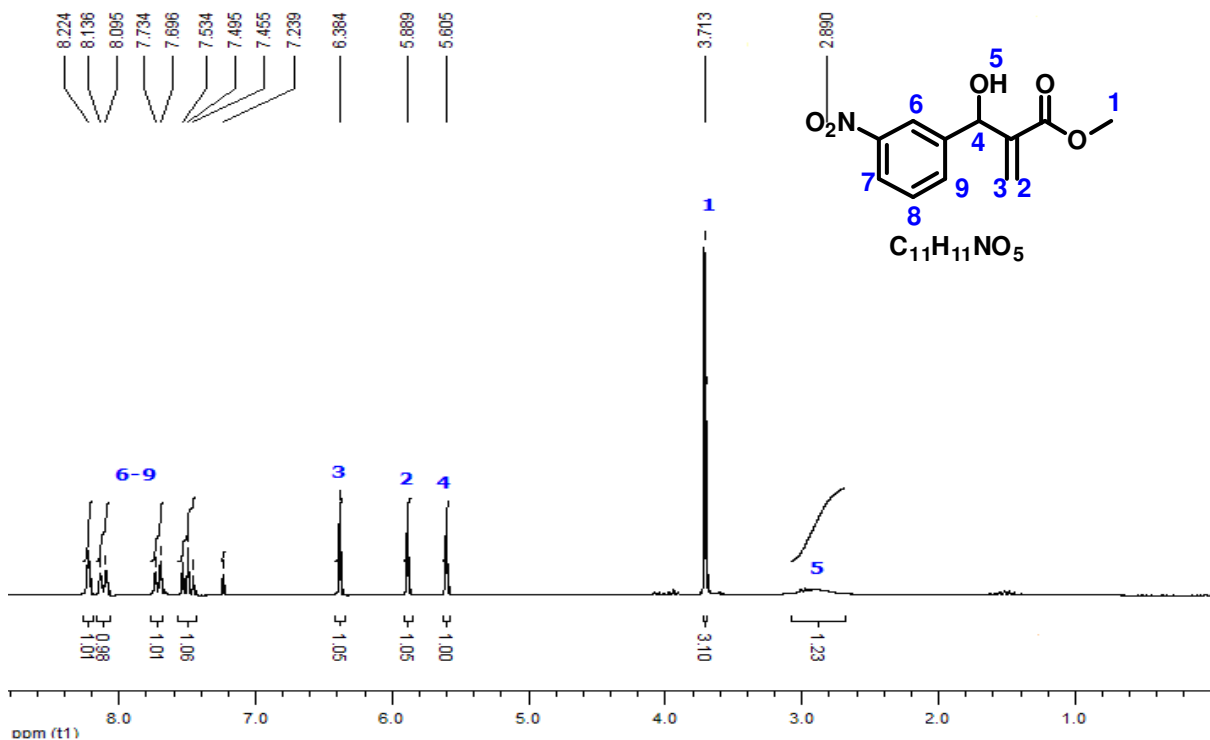
Espectro 121 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 500 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**) na região de 7,40 a 8,0ppm.



Espectro 122 Espectro de Infravermelho do Acrilato de [2-(hidroxi(naftalen-2-il)metil)] de propila (**62**) em cm⁻¹.



Espectro 123 Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de metila (**63**).



Espectro 124 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) do Acrilato de [2-(hidroxi(3-nitrofenil)metil)] de metila (**63**).

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](#)