



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTI-
LEISHMANIA DE DERIVADOS DAS CLASSES 4-ARIL-3,4-
DIIDROCUMARINAS, PIRAZOLO[3,4-*b*]PIRIDIN-6-ONAS E N,N'-
DIFENIL-BENZAMIDINAS**

CLAUDIO EDUARDO RODRIGUES DOS SANTOS

Sob a orientação da Professora Dr^a.

Aurea Echevarria

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em
Ciências** no Programa de Pós-
Graduação em Química, Área de
Concentração em Síntese Orgânica

Seropédica, RJ Setembro de 2008

547.04

S237s

T

Santos, Cláudio Eduardo Rodrigues dos, 1978-

Síntese, caracterização e atividade Anti-Leishmania de derivados das classes 4-Aril-3,4-Diidrocumarinas, Pirazolo[3,4-b]Piridin-6-ONAS e N,N'-Difenil-Benzamidas / Cláudio Eduardo Rodrigues dos Santos - 2008.

319f. : il.

Orientador: Aurea Echevarria.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Química.

Inclui bibliografia

1. Síntese orgânica - Teses. 2. Amidinas - Uso terapêutico - Teses. 3. Leishmaniose - Quimioterapia - Teses. I. Echevarria, Aurea, 1950-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Química. III. Título.

Bibliotecário: _____ Data: ___/___/_____

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

CLÁUDIO EDUARDO RODRIGUES DOS SANTOS

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Síntese Orgânica.

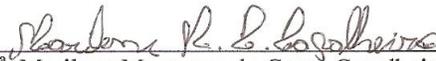
TESE APROVADA EM: 23 / 09 / 2008



Prof.^a. Dr.^a. Aurea Echevarria - Dequim - UFRRJ - Orientadora



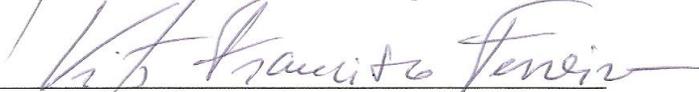
Prof. Dr.^a. Maria da Graça Nascimento - Dequim - UFSC



Dr.^a. Marilene Marcuzzo do Cantô Cavalheiro - FIOCRUZ

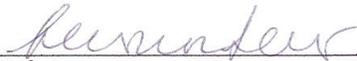


Prof.^a. Dr.^a. Rosane Nora Castro - Dequim - UFRRJ



Prof. Dr. Vitor Francisco Ferreira - IQ- UFF

Prof. Dr. Carlos Maurício R. Sant'Anna - Dequim - UFRRJ



Dr.^a. Leonor Laura Pinto Leon - FIOCRUZ

*“Não são os acontecimentos de nossas vidas que nos causam sofrimento,
mas a maneira como os interpretamos.”*

Filósofo grego Epicteto

*Dedico este
trabalho aos meus pais “in memoriun”,
pessoas que sempre viverão
em meu coração.*

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

À Prof^a. Dr^a. AUREA ECHEVARRIA, pela orientação, compreensão, paciência, amizade e, principalmente, pelas brilhantes sugestões.

À coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química, pela oportunidade concedida.

Ao corpo docente do programa de pós-graduação pela formação acadêmica que permitiu a elaboração deste trabalho.

Aos meus irmãos e irmãs por estarem sempre ao meu lado, em especial à MARIA ZÉLIA.

Aos meus queridos sobrinhos.

Aos funcionários técnico-administrativos.

Aos amigos e companheiros do laboratório: ANA PAULA AMORIN, MYRTEES, ANDRESSA, KÊNIA, CAMILA, EMERSON, RAQUEL e ANDRÉ.

Às amigas do “tibe”: TATIANA e ANDREA ROSI.

Aos colegas de curso: ARI, ILDOMAR, BAUER, REGINA, LUCIANO, JULIO, JANAINA, MARLI, VIRGINIA, MÁRIO SÉRGIO, EDUARDO, RENATA, VINICIUS, JORGE FÁBIO, BRENO, CATARINA e SUZANA pelo agradável convívio.

Aos amigos do alojamento.

Aos meus amigos: BENEDITO, HENRIQUE NORANHA, HENRIQUE TREVISAN, DARIO, ADRIANO, MÁRCIO MELLO e MÁRIO RICARDO.

Ao grupo do Laboratório de Bioquímica de Tripanossamatídeos, do Departamento de Imunologia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), pela realização dos ensaios biológicos, em particular à GÉRZIA, Dr^a MARILENE CANTO e a Dr^a. LEONOR LEON.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, direta ou indiretamente, citados ou não citados.

RESUMO GERAL

RODRIGUES-SANTOS, Cláudio Eduardo. **Síntese, Caracterização e Atividade anti-leishmania de Derivados das Classes 4-Aril-3,4-diidrocurmarinas, Pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas e N,N'-difetil-benzamidas**. 2008. 319. f Tese (Doutorado em Química Orgânica, Síntese Orgânica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

Este trabalho relata a preparação de uma série de 9 compostos da classe 4-aril-3,4-diidrocurmarinas (neoflavononas) e 12 compostos análogos nitrogenados, pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas. Os compostos das duas classes, de modo geral, foram obtidos com rendimentos moderados a muito bons (40-95%), em tempos notáveis (7 a 20 minutos) utilizando irradiação de microondas. Sintetizou-se, também, uma série de 22 compostos da classe N,N'-difetil-benzamidas obtendo-se rendimentos de moderados a bons (50-86%). Dentre os compostos sintetizados, 4 4-aril-3,4-diidrocurmarinas, 9 pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas e 20 N,N'-difetil-benzamidas são inéditos na literatura. Todos os compostos foram devidamente caracterizados por técnicas espectrométricas de rotina como IV, RMN de ^1H , ^{13}C , e CG-EM, e para a confirmação das estruturas das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona foi utilizado, ainda, $^1\text{H}\times^1\text{H}$ NOESY. Através da análise dos valores de entalpias de formação (hamiltoniano PM3), pôde-se constatar que as formas tautoméricas amínicas e imínicas dos derivados N,N'-difetil-benzamidas apresentaram-se em proporções equivalentes, com exceções dos **165i** e **165v**. As 4-aril-3,4-diidrocurmarinas e 18 derivados N,N'-difetil-benzamidas foram avaliadas frente à *Leishmania amazonensis* na forma de promastigotas. As 4-aril-3,4-diidrocurmarinas não tiveram ação anti-leishmania significativa (até 300 μM) ao contrário das N,N'-difetil-benzamidas, destacando-se os derivados **165b** ($\text{CI}_{50}=13,07\mu\text{M}$), **165p** ($\text{CI}_{50}=12,82\mu\text{M}$) e **165i** ($\text{CI}_{50}=16,71\mu\text{M}$) que apresentaram atividade anti-leishmania comparável ao fármaco de controle, a pentamidina ($\text{CI}_{50}=11,26\mu\text{M}$). Além disso, foram realizadas análises de QSAR-2D obtendo-se modelos razoáveis ($r > 0,90$), indicando que substituintes retiradores de elétrons favorecem a atividade anti-leishmania.

Palavras chaves: 4-aril-3,4-diidrocurmarinas, pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona, N,N'-difetil-benzamida, atividade anti-leishmania

ABSTRACT

RODRIGUES-SANTOS, Cláudio Eduardo. Synthesis, Characterization and Antileishmaniasis Activity of Compounds from the Classes 4-Aryl-3,4-dihydrocoumarins, Pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-6-ones and N,N'-diphenyl-benzamide 2008. 319. f Thesis (Doctor Science in Organic Chemistry, Organic Synthesis), Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

This work describes the preparation of a series of 9 compounds from the 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins class (neoflavonoids), and another series of 12 compounds from a similar class, the pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-6-ones. Generally speaking, modest to very good yields (40 -95%) were obtained for both classes, in remarkable time (7 to 20 minutes) using microwave irradiation. A series of 22 compounds from the N,N'-diphenyl-benzamide class had also been synthesized, and the compounds were obtained in good yields (50-86%). Among the synthesized compounds, 4 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins, 8 pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-6-ones and 20 N,N'-diphenyl-benzamide are new in the literature. All compounds were fully characterized by spectroscopic routine analysis of IR, ^1H and ^{13}C NMR and GC-MS. In addition, $^1\text{Hx}^1\text{H}$ NOESY was used in order to confirm the structures of the pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-6-ones. Through the analysis of the formation heat values (hamiltoniano PM3), two tautomeric forms, aminics and iminics, of the N,N'-difenil-benzamida compounds were found in equivalent proportions, with the exception of **165i** and **165v**, which have aminics forms in higher proportion, 57 (70% experimental) and 72%, respectively. Antileishmanial assays were performed with 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins, and other 18 N,N'-diphenyl-benzamides, in collaboration with Laboratório de Bioquímica de Tripanomastomatídeos – FIOCRUZ. Although, 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins did not show significant antileishmanial activity (> 300 M); the N,N'-diphenyl-benzamide compounds **165b** (13,07 μM), **165p** (12,82 μM) and **165i** (16,71 μM), stood out; and they presented antileishmanial activity comparable to the control drug, the pentamidine (11,26 μM). Moreover, QSAR-2D analysis had been performed, in which reasonable models were obtained ($r > 0,90$); indicating that electron withdrawing groups favors the antileishmanial activity.

Key words: 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins, pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-6-ones, N,N'-diphenyl-benzamide, antileishmanial activity

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 01. Fármacos em uso clínico em 1985 e 2005 (CROFT et al., 2005; [ww w.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60_R13](http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60_R13), acessado em 15-12-2007)----- 08

CAPÍTULO II

Tabela 01. Rendimentos dos derivados 100a – h -----	45
Tabela 02. Tempo de reação, concentração dos ácidos de Lewis e rendimentos para obtenção de 101b -----	46
Tabela 03. Tempos de reação e rendimentos obtidos para os compostos 101a-l , sob catálise do $(CF_3SO_3)_3Y$ assistida por irradiação das microondas-----	48
Tabela 04. Rendimentos e tempos de reação para a obtenção dos compostos 106a-m utilizando metodologia tradicional, microondas e ultra-som-----	52
Tabela 05. Referências, tempos gastos para a obtenção de pirizolo[3,4- <i>b</i>]piridin6-onas, coeficientes gerados pela divisão entre os tempos da literatura e os tempos de reação em microondas e ultra-som-----	54
Tabela 06. Valores de absorção (cm^{-1}) nos espectros de IV dos derivados 101a-i	57
Tabela 07. Dados espectroscópicos de RMN de 1H (200 MHz) dos compostos 101a-e (DMSO- d_6)-----	59
Tabela 07'. Dados espectroscópicos de RMN de 1H (200 MHz) dos compostos 101f-i (DMSO- d_6)-----	60
Tabela 08. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) dos compostos 101a-i -----	62
Tabela 9. Principais fragmentos obtidos nos espectros de massas dos compostos 101a-i -----	63
Tabela 10. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) e 1H (200 MHz) dos compostos 103a-c (DMSO- d_6)-----	68
Tabela 11. Valores de absorção (cm^{-1}) dos espectros de IV dos derivados 101a-f	70
Tabela 11'. Valores de absorção (cm^{-1}) dos espectros de IV dos derivados 101g-h -----	71
Tabela 12. Dados espectroscópicos de RMN de 1H (200 MHz) dos compostos 101a-f -----	72
Tabela 12'. Dados espectroscópicos de RMN de 1H (200 MHz) dos compostos 101g-l -----	73
Tabela 13. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) dos compostos 105a-l -----	74
Tabela 14. Correlações entre núcleos de hidrogênios dos compostos 105d, 105e, 105h, 105k e 105l observados através de mapas de contorno de NOESY-----	76
Tabela 15. Principais fragmentos obtidos dos espectros de massas dos compostos 105b, 105d-h e 105j-l -----	77
Tabela 16. Rendimentos e pontos de fusão dos ácidos cinâmicos (100a-h)-----	82
Tabela 17. Rendimentos e pontos de fusão dos ésteres cinâmicos 102a-c -----	83
Tabela 18. Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocumari nas 101a-i -----	85
Tabela 19. Rendimentos e tempo de reação dos intermediários 103a-c -----	86
Tabela 20. Rendimentos e tempos de reação dos compostos 106a-m utilizando metodologias tradicionais, microondas e ultra-som-----	87

CAPÍTULO III

Tabela 01. Rendimentos das amidinas 165a-v -----	117
Tabela 02. Valores de absorção (cm ⁻¹) de IV das anilidas (162a-d)-----	118
Tabela 03. Dados espectroscópicos de RMN de ¹ H (200 MHz) dos compostos 162a-d -----	119
Tabela 04. Valores de absorção de IV (cm ⁻¹) dos compostos 165a-v -----	120
Tabela 05. Dados espectroscópicos de RMN de ¹ H (200 MHz) dos compostos 165a-k -----	122
Tabela 05'. Dados espectroscópicos de RMN de ¹ H (200 MHz) dos compostos 165l-v -----	123
Tabela 06. Dados espectroscópicos de RMN de ¹³ C (50,3 MHz) dos compostos 165a-k -----	124
Tabela 06'. Dados espectroscópicos de RMN de ¹³ C (50,3 MHz) dos compostos 165l-v -----	125
Tabela 07. Principais fragmentos obtidos dos espectros de massas dos derivados 165a-v -----	126
Tabela 08. Entalpia de formação dos tautômeros das amidinas 165a-p, 165r-t e 165v -----	132
Tabela 09. Valores das concentrações inibitórias dos derivados amidínicos contra <i>L. amazonensis</i> (promastigotas)-----	132
Tabela 10. Descritores polares, hidrofóbicos e eletrônicos das amidinas -----	134
Tabela 11. Rendimentos e pontos de fusão das anilidas 102a-c -----	139
Tabela 12. Rendimentos e pontos de fusão das amidinas 165a-v -----	141

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 01. Formas evolutivas de <i>Leishmania</i> : promastigota e amastigota, respectivamente (www.pirx.com/droplet/gallery/leishmania/leishmania1.jpg ; www.ib.amwaw.edu.pl/biologia/DC/L.donovani/small/s , acessado em 10- 01-2008)-----	04
Figura 02. Ciclo de vida do parasito <i>Leishmania</i> (www.dpd.cdc.gov/Leishmania_LifeCycle.gif , acessado em 10-01-2008)-----	05
Figura 03. Distribuição geográfica de leishmaniose cutânea no mundo (REITHINGER, et al., 2007)-----	06
Figura 04. Compostos heterocíclicos que têm atividade leishmancida (CROFT et al., 2005; MELLO et al., 2004; BOIANI et al., 2006; AGARWAL et al., 2005; BERNARDINO et al., 2006; DA SILVA et al., 2002)-----	09
Figura 05. Compostos que apresentam atividade anti-leishmania (TAVARES et al., 2007; LIMA et al., 2004; REGUERA et al., 2006; AHUA et al., 2004; MUZITANO et al., 2006, BORTOLUZZI et al., 2004; TEMPORAL et al., 2002)-----	10
Figura 06. Mecanismo de ação das cisteína proteases (http://chemistry.umeche.maine.edu/CHY431/Peptidase10.html , acessado em 20-01-2008)-----	11
Figura 07. Biossíntese da Tripanotiona (DA SILVA, 2004) -----	12
Figura 08. Mecanismo de ação das DNA-TOPO I (POMMIER, 2006)-----	13

CAPÍTULO II

Figura 01. Analogia entre as classes 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas e pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas-----	21
Figura 02. Exemplos de estruturas de flavonona, 3,4-diidrocurmarina e	

isoflavonóide (ROELENS et al., 2005)-----	22
Figura 03. Equilíbrio ceto-enólico de 3-acil-3,4-di-hidroumarinas (30) (Simeonov et al., 1985)-----	23
Figura 04. Reação entre fenóis e ácidos cinâmicos (TALAPATRA et al., 1986)---	24
Figura 05. Síntese de terpenóides (39 e 40), cromonas (42) e diidroumarinas (45) (YOUN et al., 2004)-----	25
Figura 06. Possíveis intermediários na reação de hidroarilação intermolecular envolvendo ligações triplas proposto por Jia e colaboradores (JIA et al., 2000)---	26
Figura 07. Reação para a obtenção da diidroumarina 50 (JIA et al., 2000)-----	26
Figura 08. Síntese do composto 53 , através das rotas de hidroarilação intramolecular (A) e hidroarilação intermolecular (B) (LI et al., 2005)-----	27
Figura 09. Mecanismo proposto para a hidroarilação das diidroumarinas (LI et al., 2005)-----	28
Figura 10. Reação para obtenção da diidroumarina 56 através de complexos do tipo carbenos de Fisher (BARLUENGA et al., 2006)-----	28
Figura 11. Mecanismo proposto para reação é baseado no ataque da dupla ligação do cetal ao complexo de carbeno de Fisher (BARLUENGA et al., 2006)-----	29
Figura 12. Mecanismo para a obtenção de diidroumarinas (59) utilizando complexos de rutênio proposto por (MATSUDA et al., 2007)-----	30
Figura 13. Rota de obtenção de diidroumarinas (61) utilizando a <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> (HÄSER et al., 2006)-----	31
Figura 14. Exemplos de pirazolopiridinonas (URBAN et al., 2004; QUIROGA et al., 1998; MSHVIDOBADZE et al., 2004; VASILEVSKY et al., 2002; EHELER, 1977; DREES et al., 2005)-----	32
Figura 15. Obtenção do pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-ona 69 (HOEHN, 1977)-----	34
Figura 16. Síntese da pirazolo[4,3- <i>c</i>]piridin-6-ona envolvendo a reação de aminólise (EHELER et al., 1977)-----	34
Figura 17. Esquema de obtenção e proposta de mecanismo por Quiroga et al. (1998)-----	35
Figura 18. Obtenção da pirazolo[3,4- <i>c</i>]piridin-7-ona 81 a partir da piridinona correspondente (URBAN et al., 2004)-----	35
Figura 19. Síntese de pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-ona à partir de 5-aminopirazóis (DREES et al., 2005)-----	36
Figura 20. Síntese de pirazolo[4,3- <i>c</i>]piridin-4-ona (88) a partir de acetilnilpirazol (MSHVIDOBADZE et al., 2004)-----	36
Figura 21. Síntese de pirazolo[4,3- <i>c</i>]piridin-6-ona a partir de N-aminolactama (VASILEVSKY et al., 2002)-----	37
Figura 22. Síntese de pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-ona (97) a partir de 2-metoxi-6-oxo-1, 4,5,6-tetra-hidropiridino-3-carbonitrila (MARTÍNEZ-TEIPEL et al., 2005)-----	37
Figura 23. Espectro eletromagnético (http://educar.sc.usp.br/optica/luz.htm , acessado em 18-02-2008)-----	38
Figura 24. Orientação de dipolos com campo elétrico (a) e sem campo elétrico (b)-----	39
Figura 25. Frequências do som (em Hz) (CRAVOTTO et al., 2006)-----	40
Figura 26. Cavitação acústica (http://www.sonochemistry.info/Research.htm , acessado em 13-02-2008)-----	41
Figura 27. Retroanálise da síntese das 4-aryl-3,4-diidroumarinas-----	44
Figura 28. Síntese dos ácidos cinâmicos substituídos 100a-h -----	44
Figura 28' Mecanismo proposto para a obtenção de ácidos cinâmicos-----	45

Figura 29. 4-Aril-3,4-diidroumarinas sintetizadas 101a-i -----	47
Figura 30. Proposta de mecanismo de hidroarilação intramolecular envolvendo (CF ₃ SO ₃) ₃ Y-----	49
Figura 31. Retroanálise dos heterocíclicos da série pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-ona (106a-n)-----	50
Figura 32. Síntese dos ésteres 102a-c -----	50
Figura 33. Síntese dos intermediários 104a-c -----	51
Figura 34. Síntese dos heterocíclicos 105a-i -----	52
Figura 35. Síntese dos heterocíclicos 105k-m -----	53
Figura 36. Estrutura de ressonância cruzada da <i>p</i> -nitro-fenil-hidrazina-----	54
Figura 37. Proposta do mecanismo a para as pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas-----	55
Figura 38. Proposta de mecanismo b para as pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas-----	56
Figura 39. Estruturas dos compostos 105h e 105h' e algumas possíveis interações entre núcleo através de experimento do NOESY-----	56
Figura 40. Estruturas da 4-aril-3,4-diidroumarina (101a) e de uma flavonona---	60
Figura 41. Proposta de mecanismo de fragmentação para a 4-aril-3,4- diidroumarinas 101a -----	64
Figura 42. Proposta de mecanismo de fragmentação da 4-aril-3,4- diidroumarina 101a -----	65
Figura 43. Propostas de mecanismos de fragmentações das 4-aril-3,4- diidroumarinas 101e 101i -----	66
Figura 44. Fragmentos observados nos espectros de massas dos intermediários 103a-c -----	69
Figura 45. Possíveis estruturas de ressonância do composto 105d -----	71
Figura 46. Estruturas e interações entre núcleos de hidrogênios dos compostos 105h e 105h' -----	75
Figura 47. Propostas de mecanismos de fragmentações para os compostos 105b e 105d -----	78
Figura 48. Propostas de mecanismos de fragmentações dos compostos 105g , 105j e 105f -----	79
Figura 49. Proposta de mecanismo de fragmentação do composto 105k -----	80
 CAPÍTULO III	
Figura 01. Estruturas de ressonância do grupamento amidínico-----	95
Figura 02. Estruturas de compostos amidínicos 106 , 107 e 108 (COTTON et al., 1997; BORTOLUZZI et al., 2004)-----	96
Figura 03. Estruturas de compostos amidínicos 109 e 110 (REMKO et al., 2003)-----	96
Figura 04: Classificação das amidinas em função da substituição dos nitrogênios (SHRINER et al., 1944)-----	96
Figura 05. Estruturas dos compostos 111 e 112 e os δ dos carbonos amidínicos (SANTOS, 1993)-----	97
Figura 06. Estrutura do compostos 113 fazendo ligação de hidrogênio (KRAFT et al., 2002)-----	97
Figura 07. Tautomerismo prototrópico das amidinas (RACZYNSKA et al., 1985)-----	98
Figura 08. Tautomerismo prototrópico do imidazol (RACZYNSKA et al., 1997)-----	99
Figura 09. Exemplos de cicloamidinas com a atribuição dos deslocamentos químicos (JACKMAN e JEN, 1975)-----	100

Figura 10. Compostos amidínicos 120 e 121 que apresentam tautomerismo (YAVARI et al., 2002; KOMBER et al., 2002)-----	101
Figura 11. Exemplos de isomerismo geométrico para amidinas (COLES, 2006)-----	101
Figura 12. Exemplos de isomerismo geométrico para amidinas (AVALOS et al., 1996)-----	102
Figura 13. Exemplos de alguns complexos utilizando como ligantes as amidinas (COLES, 2006)-----	102
Figura 14. Reação de Pinner (YET, 2000)-----	103
Figura 15. Reação de aminas com nitrilas em presença de AlCl ₃ (SZCZEPANKICWIEZ et al., 2000)-----	103
Figura 16. Reação de Garipati (MOSS et al., 1995)-----	104
Figura 17. Obtenção das amidinas a partir do emprego de N-acetilcisteína (YET, 2000)-----	104
Figura 18. Obtenção de amidinas utilizando SmI ₂ (Xu et al., 2002)-----	105
Figura 19. Obtenção de amidinas a partir de ácidos bóricos (KUSTURIN et al., 2002)-----	105
Figura 20. Obtenção de amidinas a partir de ácidos carboxílicos (Yet, 2000)-----	106
Figura 21. Obtenção de amidinas a partir de diaminas (Yet, 2000)-----	106
Figura 22. Obtenção de amidinas a partir de amidas (FATHALLA et al., 2001; FALLALHA e PAZDINA, 2002 e ECHEVARRIA et al., 1996)-----	106
Figura 23. Parâmetros Sterimol dos substituintes (www.Pharmacylumarylan.d.edu/courses/PHA_R531/lect_uresold/qs_ar.html 25-09-2006)-----	108
Figura 24. Gráfico de Craig (CRAIG, 1971 e MARTIN, 1978)-----	109
Figura 25. A associação entre a resposta biológica e os descritores na geração de modelos-----	109
Figura 26. Metodologia aplicada ao modelo QSAR clássico modificado (GAUDIO e ZANDONADE, 2001)-----	110
Figura 27: Retroanálise da síntese das amidinas-----	113
Figura 28. Síntese do ácido piperônico (159a)-----	114
Figura 29. Síntese dos cloretos de acila (160a-d)-----	114
Figura 30. Síntese das anilidas (162a-d)-----	115
Figura 31. Síntese das N-(R ₁ ,R ₂ -fenil)-N'-fenil-R ₃ -benzamidinas (165a-v)-----	116
Figura 32. Indicação dos hidrogênios mais protegidos devido ao efeito mesomérico do grupo metoxila e hidroxila-----	121
Figura 33. Proposta de mecanismos de fragmentações do composto 165h -----	127
Figura 34. Proposta de mecanismos de fragmentações do composto 165n , 165p e 165t -----	128
Figura 35. Análise conformacional do derivado N, N'-diarilbenzamidina a partir do isômero <i>E</i> -----	129
Figura 36. Análise conformacional do derivado N,N'-diarilbenzamidina a partir do isômero <i>Z</i> -----	130
Figura 37. Tautomerismo do derivado 165g -----	
Figura 38. Gráficos de colunas dos valores de CI ₅₀ (µM) dos derivados amidinas e controle positivo-----	133

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	graus Celsius
CCF	cromatografia em camada fina
s	simpleto
d	duplete
dd	duplo duplete
t	triplete
dt	duplo triplete
m	multipleto
sl	simpleto largo
PF	ponto de fusão
H _f	entalpia de formação
ΔH _f	variação de entalpia de formação
g	grama
IV	infravermelho
RMN ¹³ C	ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
CG-EM	cromatográfico em fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas
NOESY	nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy
m/z	razão massa carga
μM	micro molar (1 μM = 10 ⁻⁶ M)
mL	mililitro
min	minuto
<i>J</i>	constante de acoplamento
Hz	hertz
CI ₅₀	concentração que inibe 50% do crescimento
v	vibração de deformação axial
s	simétrico
as	assimétrico
δ	Na espectroscopia de IV: vibração de deformação angular Na espectroscopia de RMN: deslocamento químico
PPA	polyphosphoric acid
ACS	ácidos cinâmicos substituídos
QSAR-2D	quantitative structure-activity relationships- 2 dimensions

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL -----	01
CAPÍTULO I -----	02
RESUMO-----	03
1 INTRODUÇÃO-----	04
1.1 Leishmaniose-----	04
1.2 Impacto Global e Epidemiologia-----	05
1.3 Quimioterapia-----	06
1.3.1 Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose-----	06
1.3.2 Compostos que possuem atividade anti-leishmania-----	08
1.4 Alvos para a Quimioterapia da Leishmaniose-----	10
1.4.1 Cisteína-proteases-----	11
1.4.2 Proteína Quinases-----	11
1.4.3 Tripanotiona redutase-----	12
1.4.4 DNA Topoisomerases-----	13
2 OBJETIVOS GERAIS-----	14
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	15
CAPÍTULO II -----	19
RESUMO-----	20
1 INTRODUÇÃO-----	21
1.1 Estrutura das diidrocomarinas-----	22
1.1.1 Infravermelho-----	22
1.1.2 Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C -----	22
1.1.3 Equilíbrio ceto-enólico de 3-acil-3,4-diidrocomarinas -----	23
1.2 Métodos de síntese utilizados na preparação das diidrocomarinas-----	23
1.2.1 Reação de obtenção de 4-aril-3,4diidrocomarinas utilizando ácido polifosfórico-----	23
1.2.2 Utilização de RuCl_3 e AgOTf na obtenção de 4-aril-3,4-diidrocomarinas----	24
1.2.3 Emprego de $\text{Pd}(\text{AcO})_2$ e TFA na síntese de 4-aril-3,4-diidrocomarinas-----	25
1.2.4 A dúvida no emprego de $\text{Pd}(\text{AcO})_2$ na obtenção de 4-aril-3,4-diidrocomarinas-----	26
1.2.5 Obtenção das diidrocomarinas a partir de complexos carbenos do tipo Fischer-----	28
1.2.6 Obtenção de diidrocomarinas utilizando complexos de rutênio-----	30
1.2.7 Obtenção de diidrocomarinas a partir da atuação da <i>Saccharomyces cerevisiae</i> -----	30
1.3 Estrutura das pirazopiridinonas-----	32
1.3.1 Infravermelho-----	33
1.3.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C -----	33
1.4 Métodos de síntese de pirazolopiridinonas-----	33
1.4.1 Obtenção de pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas a partir de aminopirazóis-----	33
1.4.2 Síntese de pirazolo[4,3- <i>c</i>]piridin-6-onas a partir de reações de aminólise----	34
1.4.3 Síntese de pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-ona utilizando-se ácido de Meldrum e aminopirazóis-----	34

1.4.4 Preparação de pirazolo[3,4- <i>c</i>]piridin-7-ona a partir de derivados de 3-metoxi-piridinona-----	35
1.4.5 Síntese de pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-ona utilizando ácido de Meldrum e aldeídos-----	36
1.4.6 Obtenção de pirazolo[4,3- <i>c</i>]piridin-4-onas a partir de acetilnilpirazóis-----	36
1.4.7 Síntese de pirazolo[4,3- <i>c</i>]piridin-6-ona e pirazolo[3,4- <i>c</i>]piridin-7-ona a partir de N-aminolactama-----	36
1.4.8 Emprego do intermediário 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetra-hidropiridino-3-carbonitrila na síntese de pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas-----	37
1.5 Metodologias sintéticas alternativas-----	38
1.5.1 Utilizando irradiação de microondas-----	38
1.5.1.1 A origem dos efeitos das microondas-----	39
1.5.2 Ultra-som-----	40
1.5.2.1 Fundamentos do ultra-som-----	40
1.5.2.2 Cavitação estável e transiente-----	42
2 OBJETIVOS-----	43
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	44
3.1 Sínteses-----	44
3.1.1 Retroanálise para a obtenção das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (101a-l)-----	44
3.1.2 Síntese dos ácidos cinâmicos substituídos (100a-h)-----	44
3.1.3 Síntese das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas 101a-l -----	46
3.1.4 Mecanismo proposto para a formação das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (101a-l) com base na atuação do (CF ₃ SO ₃) ₃ Y como catalisador-----	48
3.1.5 Retroanálise para a obtenção das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-n)-----	50
3.1.6 Síntese dos ésteres cinâmicos 100a-c -----	50
3.1.7 Síntese dos intermediários 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetra-hidropiridino-3-carbonitrila (103a-c)-----	51
3.1.8 Síntese dos pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-n)-----	51
3.1.9 Mecanismos propostos para a formação das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-n)-----	55
3.2 Caracterização Espectrométrica-----	57
3.2.1 Caracterização das diidrocurmarinas (101a-i)-----	57
3.2.1.1 Análise de infravermelho das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (101a-i)-----	57
3.2.1.2 Análise de RMN de ¹ H das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (101a-i)-----	58
3.2.1.3 Análise de RMN de ¹³ C das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (101a-i)-----	60
3.2.1.4 Análise de espectros de massas das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (101a-i)-----	63
3.2.2 Caracterização Espectroscópica dos intermediários 103a-c -----	66
3.2.2.1 Análise de infravermelho dos intermediários 103a-c -----	66
3.2.2.2 Análise de RMN de ¹ H dos intermediários 103a-c -----	67
3.2.2.3 Análise de RMN de ¹³ C dos intermediários 103a-c -----	67
3.2.2.4 Análise dos espectros de massas dos intermediários 103a-c -----	69
3.2.3 Caracterização das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-l)-----	69
3.2.3.1 Análise de infravermelho das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-l)-----	69
3.2.3.2 Análise de RMN de ¹ H das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-l)-----	71
3.2.3.3 Análise de RMN de ¹³ C das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-l)-----	73
3.2.3.4 Análise dos espectros de NOESY das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105d, 105e, 105h, 105k e 105l)-----	75
3.2.3.5 Análise de Espectros de massas das pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-onas (105a-l)-----	76
3.3 Atividade anti-leishmania das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (101a-i)-----	80

4 MATERIAL E MÉTODOS-----	81
4.1 Equipamentos -----	81
4.2 Material e Vidrarias-----	81
4.3 Metodologias-----	82
4.3.1 Procedimento geral para a síntese dos ACS (100a-h)-----	82
4.3.2 Procedimento geral para a síntese dos ésteres cinâmicos substituídos (102a-c)-----	83
4.3.3 Procedimento geral para a síntese das diidrocurmarinas (101a-i)-----	84
4.3.4 Procedimento geral para a síntese dos intermediários (103a-c)-----	85
4.3.5 Procedimento geral para a síntese dos pirazolo[3,4- <i>b</i>]piridin-6-ona (105a-m)-----	86
5 CONCLUSÕES-----	88
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	89
CAPÍTULO III -----	93
RESUMO-----	94
1. INTRODUÇÃO-----	95
1.1 Compostos amidínicos, características e estrutura-----	95
1.1.1 Estrutura-----	95
1.1.2 Classificação das amidinas-----	96
1.1.3 Propriedades espectroscópicas-----	97
1.1.3.1 Espectroscopia de infravermelho-----	97
1.1.3.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹ H e ¹³ C-----	97
1.1.4.2 Basicidade das amidinas-----	98
1.1.5 Tautomerismo-----	98
1.1.6 Isomerismo geométrico-----	101
1.1.7 Química de coordenação-----	102
1.2 Métodos de síntese das amidinas-----	103
1.2.1 Síntese de amidinas a partir de nitrilas-----	103
1.2.1.1 Reação de Pinner-----	103
1.2.1.2 Reação de aminas com nitrilas em presença de AlCl ₃ -----	103
1.2.1.3 Reação de Garipati-----	104
1.2.1.4 Obtenção de amidinas a partir de nitrilas e cisteína-----	104
1.2.1.5. Condensação de nitrilas a amidinas utilizando SmI ₂ -----	104
1.2.2 Síntese de amidinas a partir de ácidos bóricos, carboxílicos, diaminas e amidas-----	105
1.2.2.1 Síntese a partir de ácidos bóricos-----	105
1.2.2.2 Amidinas a partir de ácidos carboxílicos-----	105
1.2.2.3 Obtenção de amidinas a partir de diaminas-----	106
1.2.2.4 Síntese de amidinas a partir de amidas-----	106
1.3 Relação Quantitativa entre Estrutura e Atividade Biológica (QSAR)-----	107
1.3.1 Alguns descritores físico-químicos clássicos-----	107
1.3.2 Métodos de escolha dos substituintes-----	108
1.3.3 Modelo de QSAR 2D-----	109
2 OBJETIVOS-----	111
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	113
3.1 Síntese-----	113
3.1.1 Retroanálise para a obtenção das amidinas (165a-v)-----	114
3.1.2 Síntese dos ácido carboxílico (159a)-----	114
3.1.3 Síntese dos cloretos de acila (160a-d)-----	114
3.1.4 Síntese das anilidas (162a-d)-----	114

3.1.5 Síntese de amidinas 165a-v -----	116
3.2 Caracterização Espectrométrica-----	117
3.2.1 Caracterização espectrométrica das anilidas (162a-d)-----	117
3.2.1.1 Análise de infravermelho das anilidas (162a-d)-----	117
3.2.1.2 Análise de RMN de ¹ H das anilidas (162a-d)-----	118
3.2.2 Caracterização Espectrométrica das amidinas 165a-v -----	120
3.2.2.1 Análise de infravermelho das amidinas 165a-v -----	120
3.2.2.2 Análise de RMN de ¹ H das amidinas 165a-v -----	121
3.2.2.3 Análise de RMN de ¹³ C das amidinas 165a-v -----	124
3.2.2.4 Análise de Espectros de massas das amidinas 165a-v -----	125
3.3 Modelagem Molecular-----	129
3.3.1 Isomerismo Rotacional em relação a ligação simples C-N-----	129
3.3. Tautomerismos das N-(R ₁ ,R ₂ -fenil)-N'-fenil-R ₃ -benzamidinas (165a-v)---	131
3.4 Atividade leishmanicida e QSAR-----	132
3.4.1 Atividade Leishmanicida das amidinas frente a parasitos da espécie <i>Leishmania amazonensis</i> -----	132
3.4.2 Estudos das relações quantitativas estrutura-atividade por aplicação da análise de Hansh, QSAR 2D-----	133
4 MATERIAL E MÉTODOS-----	137
4.1 Materiais e Equipamentos-----	137
4.1.1 Equipamentos-----	137
4.1.2 Solventes utilizados-----	137
4.1.3 Reagentes-----	137
4.1.3.1 Purificação dos Reagentes-----	137
4.2 Sínteses-----	138
4.2.1 Síntese do ácido piperônico (159a)-----	138
4.2.2 Síntese dos cloretos de acila (160a-d)-----	138
4.2.3 Síntese das anilidas (162a-d)-----	139
4.2.4 Síntese das amidinas 165a-v -----	140
4.3 Modelagem Molecular-----	141
4.4 Cálculos dos Parâmetros Físico-Químicos e Correlações-----	142
4.5 Atividade anti-leishmania-----	142
5 CONCLUSÕES-----	143
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	144

INTRODUÇÃO GERAL

A Leishmaniose é uma infecção parasitária, considerada uma doença negligenciável pela OMS (Organização Mundial da Saúde) que carece de uma atenção especial, principalmente no Brasil que tem seu território quase todo praticamente tomado com a manifestação cutânea e mucotânea, e mais recentemente, a visceral. Os antimoniais, que foram introduzidos no tratamento clínico no início do século passado, ainda são usados na quimioterapia atual. O número de pacientes que contém o parasito resistente aos fármacos utilizados em clínica cresce a cada dia, sendo que os de segunda escolha, fungizona[®], lomidina[®] e paromomicina assim como os de primeira, são extremamente tóxicos (AZEREDO-COUTINHO et al., 2007).

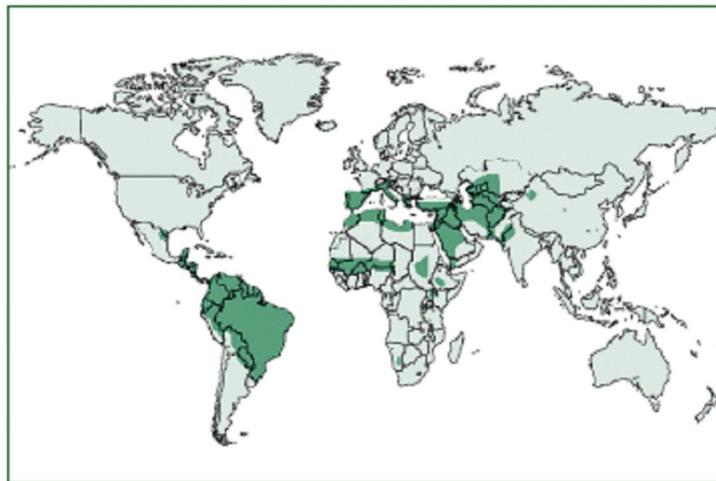
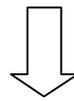
Os fármacos de primeira bem como os de segunda escolha têm um custo alto e necessitam ser administrados por injeções, seja via intravenosa, muscular ou peritoneal em hospitais. (CROFT et al., 2005; www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60_R13, acessado em 15-12-2007).

Recentemente, a miltefosina, um fármaco da classe dos alquilfosfolipídeos, utilizado no tratamento de câncer, apresentou ótimos resultados no combate à leishmaniose visceral. Hoje já é comercializado na Índia e na Colômbia (www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60, acessado em 15-12-2007). Sua administração é oral, ao contrário dos demais fármacos, porém, já se sabe que a miltefosina possui toxicidade gastrointestinal e atividade hemolítica, além de ter alto custo por ciclo de tratamento (MRAVLJAK et al., 2005). Estes fatos deixam claro à necessidade contínua busca por novos agentes quimioterápicos para o combate a leishmaniose.

O presente trabalho foi dividido em 3 partes, a primeira abordando os aspectos gerais da leishmaniose juntamente com seu impacto global, a segunda parte apresenta a síntese, caracterização e a avaliação preliminar de novos compostos candidatos à fármacos para o combate à leishmaniose, tomando como protótipo a classe de origem natural, as 4-aril-3,4-diidrocumarinas, neoflavononas, juntamente com seus análogos nitrogenados, as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas. A terceira parte do trabalho envolve a preparação e caracterização de novos derivados à partir do protótipo N,N'-difeníl-*p*-metoxi-benzamidian (**17**) utilizando-se o gráfico de Craig para a escolha dos grupos substituintes fixando-se o grupo metoxila e derivados que continham o grupo metoxi e metilenodioxí em diferentes posições e anéis aromáticos na estrutura básica do protótipo **17**. Foi realizado também, o estudo teórico do efeito da tautomeria desses compostos. Além disso, os resultados da avaliação da atividade leishmanicida possibilitaram o estudo de QSAR, sendo propostos modelos matemáticos para o entendimento da relação entre a estrutura e a ação biológica.

CAPÍTULO I

ASPECTOS DA LEISHMANIOSE



RESUMO

O primeiro capítulo deste trabalho apresenta aspectos gerais sobre a leishmaniose. A leishmaniose é uma doença considerada negligenciável pela OMS (Organização Mundial da Saúde) que carece de uma atenção especial, principalmente no Brasil que tem seu território quase todo praticamente tomado com a manifestação cutânea, mucotânea, e mais recentemente, a visceral. A cada ano surgem 500.000 casos de leishmaniose visceral (90% no Brasil, Bangladesh, Índia, Nepal e Sudão) com mais de 50.000 mortes. Os antimoniais que foram introduzidos no tratamento clínico no início do século passado, ainda são usados na quimioterapia atual. O número de pacientes que contém o parasito resistente aos fármacos utilizados em clínica cresce a cada dia, sendo que os de segunda escolha, assim como os de primeira, são extremamente tóxicos. A miltefosina, um alquilfosfolipídeo, que chama atenção da comunidade científica por sua administração oral, possui efeitos colaterais graves, além de alto custo. Diante da importância da busca de novos agentes quimioterápicos no combate a leishmaniose, planejou-se alcançar novos potenciais protótipos a partir de ensaios de atividade anti-leishmania em colaboração com o grupo de pesquisadores do Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos da FIOCRUZ, de classes nunca antes testadas, como as 4-aril-3,4-diidroocumarinas (neoflavononas), que são produtos de origem natural, as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas, análogos nitrogenados das neoflavononas e ainda novos compostos da classe N,N'-difênil-benzamidas tomando como partida o protótipo **17**, que apresentou uma boa atividade anti-leishmania com atuação em alvos moleculares específicos.

Palavras chaves: leishmaniose, agentes quimioterápicos, alvos moleculares

1 INTRODUÇÃO

1.1 Leishmaniose

A leishmaniose é um complexo de doenças causadas por aproximadamente 17 espécies de parasito do gênero *Leishmania*. Existem pelo menos seis espécies do gênero *Leishmania* dermatrópica no Brasil que afetam os homens, sendo que todas estão presentes na região amazônica: *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Viannia.) braziliensis*, *Leishmania (V.) guyanensis*, *Leishmania (V.) lainsoni*, *Leishmania (V.) shawi* e *Leishmania (V.) naifti*. Entre elas, a *L. (L.) amazonensis* tem uma importância particular, por ser uma das espécies mais frequentemente encontrada no Brasil (GARCEZ et al., 2002).

Leishmaniose é uma infecção parasitária, transmitida ao homem pela fêmea infectada de um inseto pertencente ao gênero flebótomo. Os parasitos existem sob duas formas: promastigotas flagelados, existentes em fêmeas de flebotomíneos e amastigotas, encontradas em determinados mamíferos como homem, cão, raposa e etc (figura 01). As formas amastigotas vivem e se multiplicam em meio intracelular de macrófagos (CROFT et al., 2003, 2005).

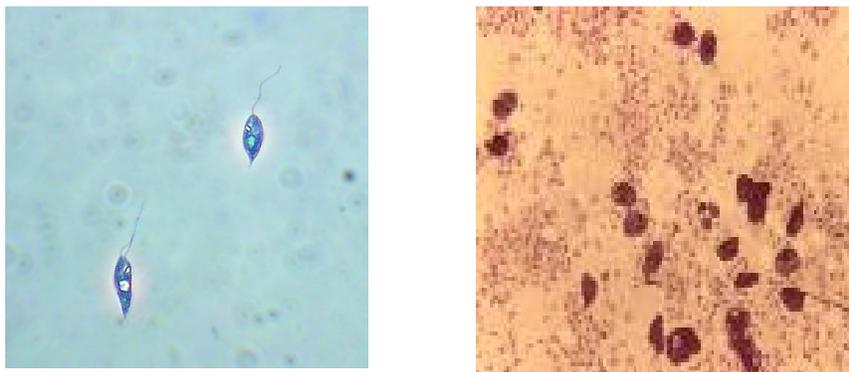


Figura 01. Formas evolutivas de *Leishmania*: promastigota e amastigota, respectivamente (www.pirx.com/droplet/gallery/leishmania/leishmania1.jpg; www.ib.amwaw.edu.pl/biologia/DC/L.donovani/small/s, acessado em 10-01-2008).

A leishmaniose, por muito tempo, era associada à doença ocupacional de trabalhadores florestais, (PETERSON & SHAW, 2003), mas hoje já se sabe que pode ser transmitida em ambientes domésticos como acontece em muitos lugares da América Latina, onde as condições de vida são precárias. No vale do rio Jequitinhonha em Minas Gerais, uma das áreas mais pobres do Brasil, há freqüentes surtos de leishmaniose (GONTIJO et al., 2002).

A fêmea de um flebotomíneo infectada pica o homem, que ao regurgitar insere para dentro da pele o parasito sob a forma de promastigota, este invade ou é fagocitado para dentro da célula, principalmente por macrófagos. Nesse momento, as promastigotas se transformam em amastigotas, e começam a se multiplicarem até o instante que ocorre a lise da célula e os parasitos invadem outras células. Um inseto não contaminado pica o homem infectado e contrai a amastigota, que se transforma em promastigota, dentro do inseto o parasito se reproduz. O inseto pica um outro homem não contaminado dando continuidade ao ciclo (REITHINGER et al., 2007; figura 02).

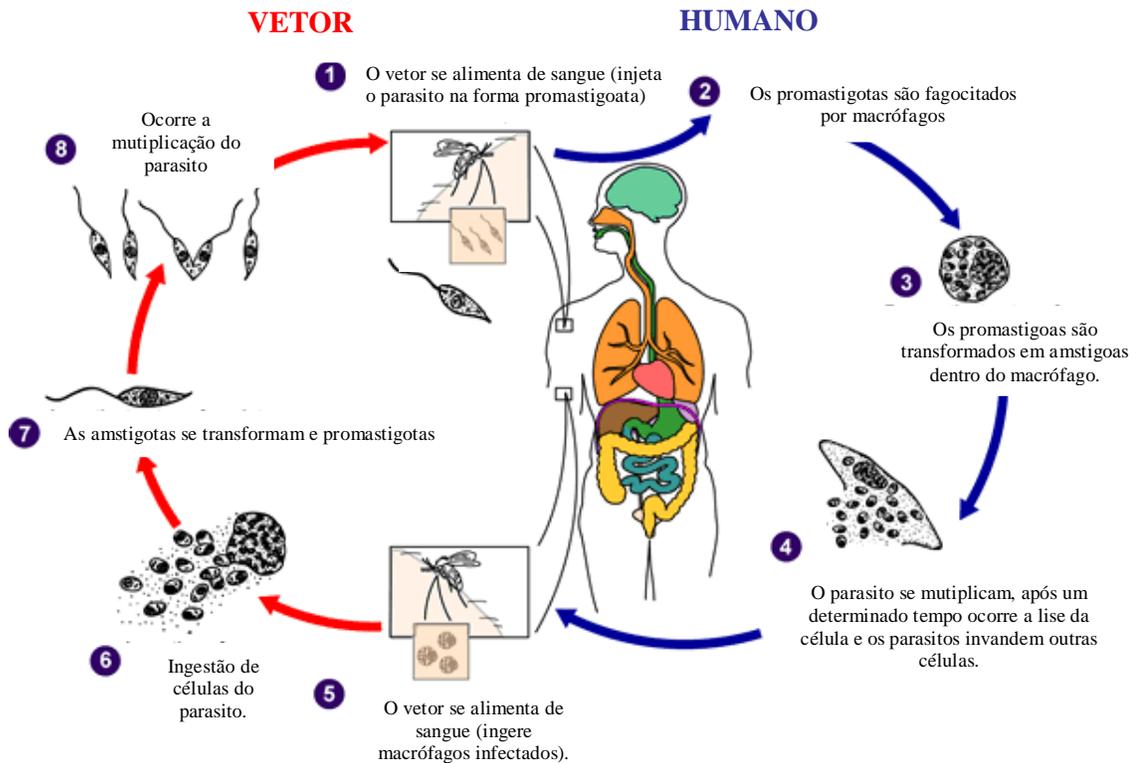


Figura 02. Ciclo de vida do parasito *Leishmania*
 (www.dpd.cdc.gov/.../Leishmania_LifeCycle.gif, acessado em 10-01-2008)

1.2 Impacto Global e Epidemiologia

A leishmaniose pode se manifestar de três formas: cutânea, mucocutânea e visceral, sendo que a última, quando não é tratada, pode ser fatal. Em alguns casos, a leishmaniose visceral pode provocar a cutânea difusa, caracterizada por lesões cutâneas múltiplas e progressivas, nos quais um número maciço de amastigotas se encontra nos macrófagos (REITHINGER, et al., 2007). Infelizmente, em 2007 ocorreu o primeiro caso registrado dessa forma no Estado do Rio de Janeiro na cidade de Parati (AZEREDO-COUTINHO et al., 2007). A leishmaniose é endêmica em 88 países no mundo e 350 milhões de pessoas são infectadas, e estimasse que a cada ano 2 milhões de novos casos ocorram (www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60, acessado em 15-12-2007).

A cada ano surgem 500.000 casos de leishmaniose visceral (90 % distribuídos no Brasil Bangladesh, Índia, Nepal e Sudão) com mais de 50.000 mortes.

Dos casos de leishmaniose cutânea surgem aproximadamente 1.500.000, sendo que 90 % encontram-se no Brasil, Afeganistão, Argélia, Paquistão, Peru, Arábia Saudita e Síria (REITHINGER et al., 2007; figura 03).

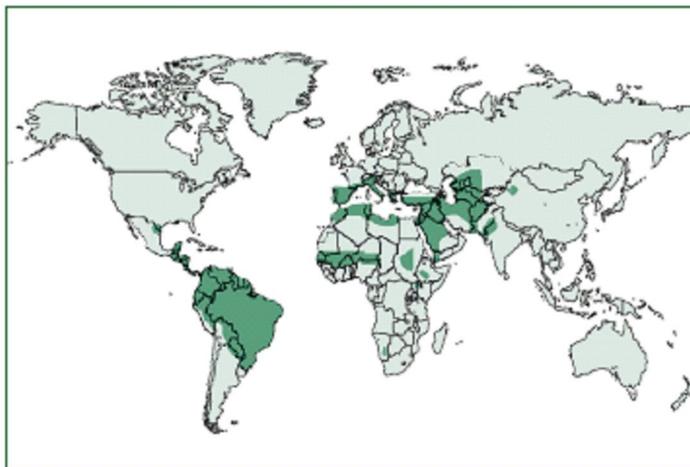
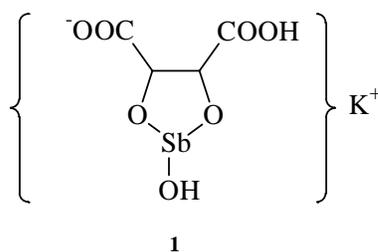


Figura 03. Distribuição geográfica de leishmaniose cutânea no mundo (REITHINGER, et al., 2007).

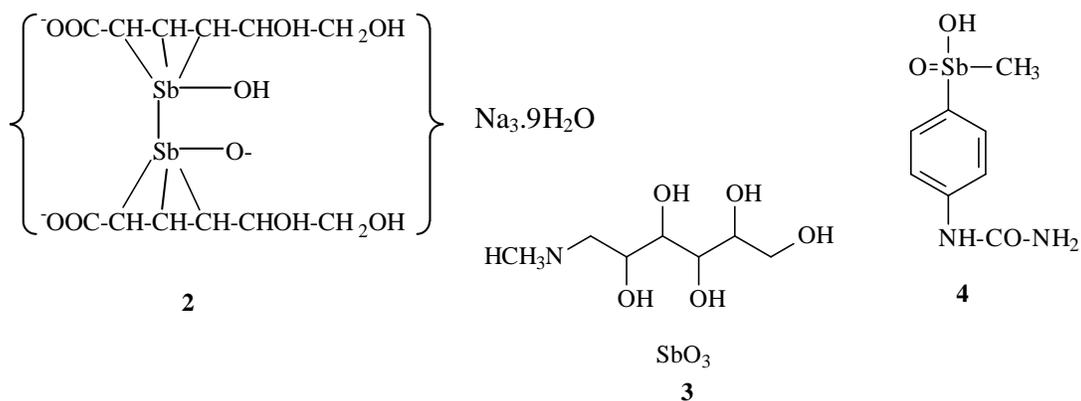
1.3 Quimioterapia

1.3.1 Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose

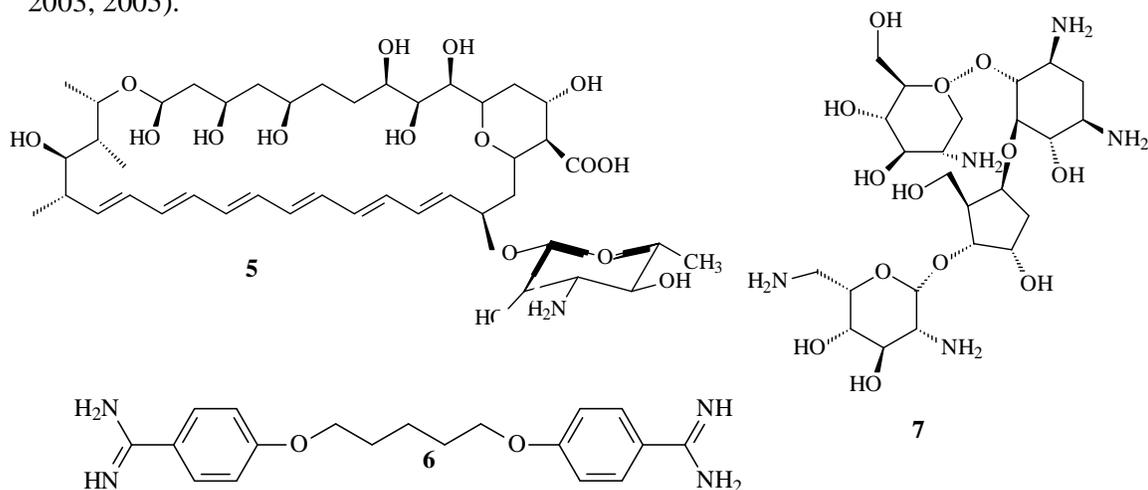
Apesar da busca por vacinas no combate a leishmaniose, a quimioterapia é o que atualmente existe para o tratamento. Os compostos de antimônio, apesar de serem conhecidos desde a antiguidade, séculos antes da era cristã, para diversos fins terapêuticos, somente em 1912 foi que Gaspar de Oliveira Vianna observou que o tártaro emético **1**, era eficaz no combate a leishmaniose (RATH et al., 2003).



Devido aos efeitos colaterais indesejáveis, tóxicos e graves, os antimoniais trivalentes foram substituídos pelos pentavalentes, como Pentostam® (2), Glucantime® (3) e Estibamine® (4). Estes fármacos apresentam alta toxicidade ao homem, e em muitos casos são ineficazes devido à resistência adquirida pelos parasitos a essas substâncias (RATH et al., 2003).

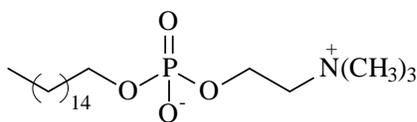


Os fármacos de segunda escolha são a Fungizona® (5), Lomidina® (6, pentamidina) e a paromomicina (7), que também apresentam efeitos colaterais graves, sendo que dentre eles destacam-se a cardiotoxicidade e hepatotoxicidade (CROFT et al., 2003, 2005).



Recentemente, a miltefosina, um fármaco da classe dos alquilfosfolipídeos, utilizado no tratamento de câncer, apresentou ótimos resultados no combate à leishmaniose visceral (www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60_R13-en, acessado em 15-12-2007).

Os resultados foram tão promissores que hoje já é comercializado na Índia e na Colômbia (www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60, acessado em 15-12-2007). Sua administração é oral, ao contrário dos demais fármacos, porém, já se sabe que a miltefosina (8) possui toxicidade gastrointestinal e atividade hemolítica (MRAVLJAK et al., 2005).



8

Os fármacos de primeira, bem como os de segunda escolha, têm um custo alto e necessitam ser administrados por injeções, seja via intravenosa (exceção miltefosina), muscular ou peritoneal em hospitais. O sucesso alcançado na quimioterapia é basicamente nas reformulações dos tratamentos já existentes, como podemos ver na tabela 01, não houve grandes avanços no que diz respeito à descoberta de novos fármacos (CROFT et al., 2005; www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60_R13, acessado em 15-12-2007).

Tabela 01. Fármacos em uso clínico em 1985 e 2005 (CROFT et al., 2005; www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA60/A60_R13, acessado em 15-12-2007).

1985	2005	Custo (US\$)*	Administração
Pentostam [®]	Pentostam [®]	30	Injeção IMP**
Glucantime [®]	Glucantime [®]	120	Injeção IMP**
Lomidina [®]	Lomidina [®]	70	Injeção IMP**
Anfotericina B	Anfotericina B	60	Injeção IMP**
	Paromomicina	10	Injeção IMP**
	Miltefosina	150	Oral

*Custo por ciclo de tratamento; **IMP- Intravenosa, Muscular e Peritoneal.

1.3.2 Compostos que possuem atividade anti-leishmania

A literatura registra diversas substâncias como novos potenciais agentes quimioterápicos para o tratamento da leishmaniose. Dentre eles destacam-se alguns compostos heterocíclicos, como os derivados das classes das aminoquinolinas **9** (TEKWANI et al., 2006), imidazoquinolinas **10** (CROFT et al., 2005), pirazolopiridinas **11** (MELLO et al., 2004), benzoimidazóis **12** (BOIANI et al., 2006), di-hidropirido[2,3-*d*]pirimidinas **13** (AGARWAL et al., 2005), pirazóis **14** (BERNARDINO et al., 2006) e mesoiônicos **15** (SILVA et al., 2002) como mostra a figura 04.

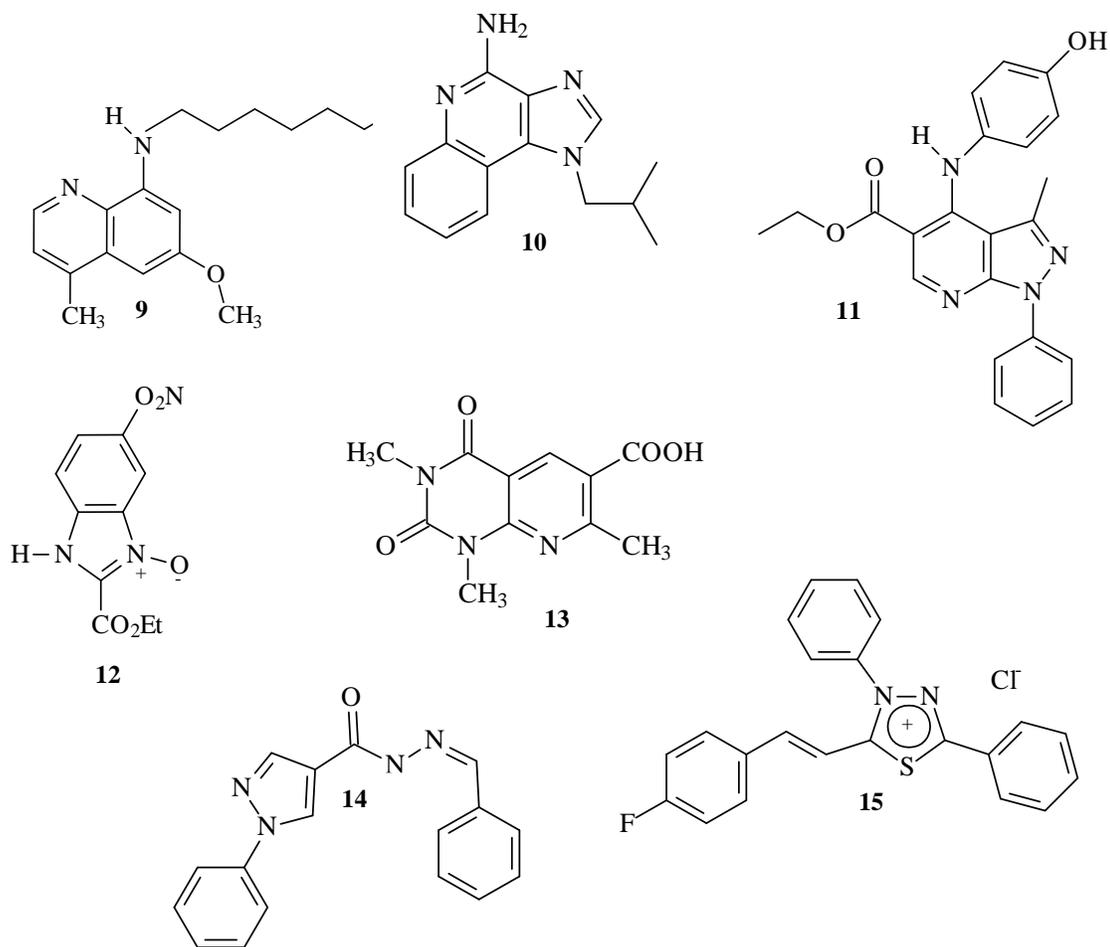


Figura 04. Compostos heterocíclicos que têm atividade leishmancida (CROFT et al., 2005; MELLO et al., 2004; BOIANI et al., 2006; AGARWAL et al., 2005; BERNARDINO et al., 2006; DA SILVA et al., 2002; TEKWANI et al., 2006).

Além dos heterocíclicos, outros compostos vêm se tornando de grande interesse, tais como compostos de coordenação, cisplatina **16** (TAVARES et al., 2007), benzamidas **17** (BORTOLUZZI et al., 2004; TEMPORAL et al., 2002; GENESTRA et al., 2003; CANTO-CAVALHEIRO et al., 1997), e compostos de origem natural como lapachol **18** (LIMA et al., 2004), alcalóides **22** (REGUERA et al., 2006), cumarinas **19** e **21** (AHUA et al., 2004) e flavonóides **20** (MUZITANO et al., 2006) de acordo com a figura 05.

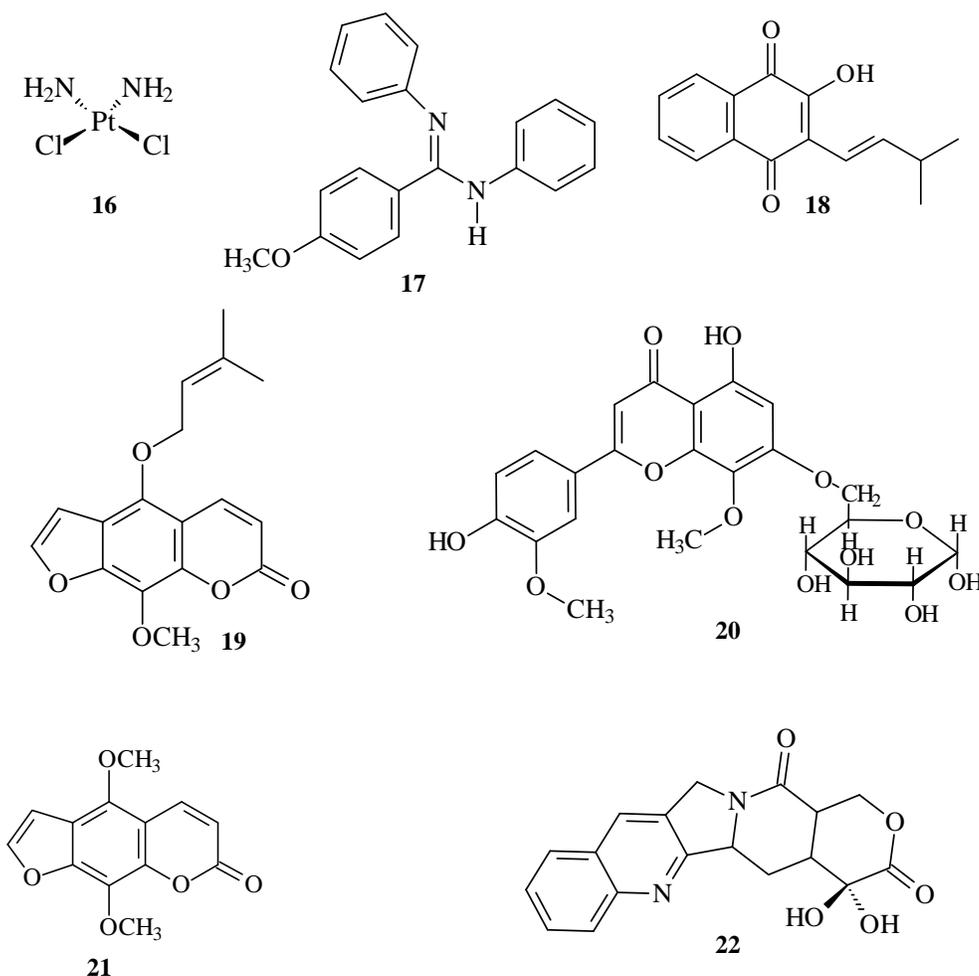


Figura 05. Compostos que apresentam atividade anti-leishmania (TAVARES et al., 2007; LIMA et al., 2004; REGUERA et al., 2006; AHUA et al., 2004; MUZITANO et al., 2006; BORTOLUZZI et al., 2004; TEMPORAL et al., 2002).

1.4 Alvos para a Quimioterapia da Leishmaniose

Os avanços tecnológicos, nas décadas recentes, permitiram estratégias mais promissoras no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos. É desejável que o processo envolva a identificação e caracterização de alvos específicos, vitais para o parasito, sem no entanto, afetar as células ou enzimas no metabolismo de hospedeiros vertebrados. Outro grande desafio é, também, sintetizar compostos que se liguem a esses alvos, impedindo o crescimento do parasito. Atualmente, esses alvos têm sido identificados como componentes celulares, sistema de transporte de membranas e enzimas entre outros (GENESTRA et al., 2003). A seguir serão apresentados alguns dos principais alvos moleculares utilizados no tratamento da leishmaniose.

1.4.1 Cisteína-proteases

As cisteína proteases são enzimas amplamente encontradas em células eucarióticas e procarióticas. Elas são responsáveis por clivarem ligações peptídicas, sendo que inicialmente atuam através de um ataque do grupo tiol (I) no grupamento carbonila do peptídeo (II) (figura 06), liberando uma amina e surgindo um tioéster peptídico (III), que é posteriormente hidrolisado fornecendo um ácido carboxílico (IV) (STEERT et al., 2007).

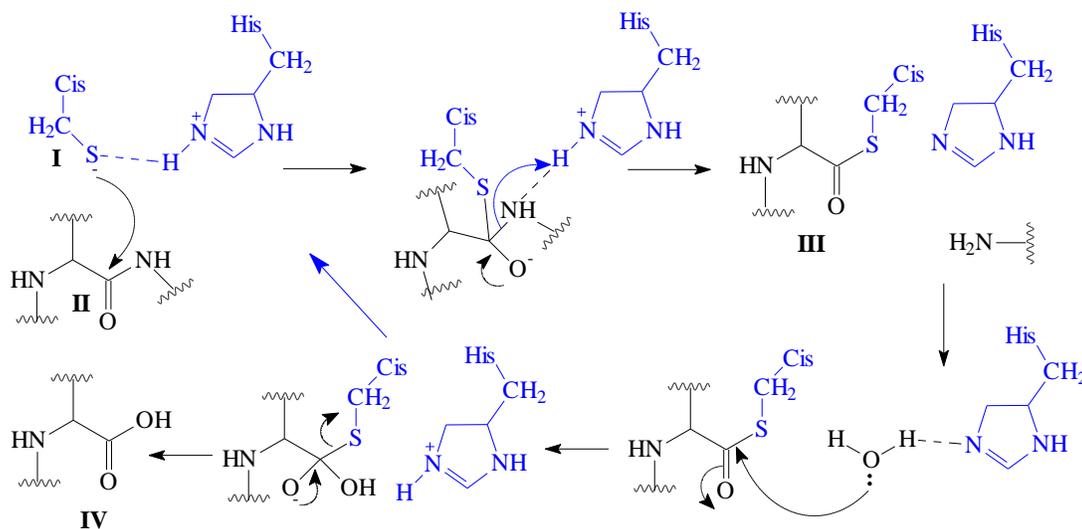


Figura 06. Mecanismo de ação das cisteína proteases

(<http://chemistry.umeche.maine.edu/CHY431/Peptidase10.html> , acessado em 20-01-2008).

Embora exista homologia entre as cisteína proteases de hospedeiros e parasitos, estas enzimas possuem distintas propriedades bioquímicas e estruturais, incluindo pH ótimo de atuação, estabilidade, alterações nas conformações das ligações peptídicas e especificidade de substrato (SAJID et al., 2001).

Estas enzimas são consideradas vitais para protozoários dos gêneros *Plasmideo*, *Tripanossoma* e *Leishmania*, e por isso são considerados como alvos importantes para o tratamento dessas doenças (STEERT et al., 2007).

1.4.2 Proteína Quinases

A importância das enzimas proteína quinases encontra-se em suas participações na sinalização e controle do ciclo celular, onde tem sido detalhada sua estrutura e função em vários eucarióticos. Este fato tem levado à busca por inibidores químicos específicos para controle de várias doenças (GIL et al., 2007), o câncer, doenças cardiovasculares e mal Alzheimer são alguns exemplos de patologias que podem envolver este vasto grupo de enzimas como alvo para a quimioterapia.

Considerando, a importância destas enzimas no complexo ciclo vital da *Leishmania*, e outros protozoários da família Tripanossomatídea, bem como as diferenças estruturais entre as quinases humanas e dos parasitos que são da ordem de 60 % ou mais, justifica-se a potencialidade destas enzimas como alvos moleculares. Foi

identificado que o composto **17** mostrou-se ativo contra a ação de proteinase quinase A (PKA) em *Leishmania amazonensis* (GENESTRA et al., 2001).

1.4.3 Tripanotona redutase

Nos organismos aeróbicos, de ocorrência do processo respiratório, são produzidos a partir do oxigênio, espécies radicalares que são extremamente tóxicas: $\text{HOO}\cdot$, $\text{HO}\cdot$ e H_2O_2 , entre outras. Tais espécies, por serem altamente reativas, reagem prontamente com macromoléculas orgânicas, tais como, ácidos nucleicos, certas enzimas, proteínas e lipídeos de membranas, tornado suas funções normais prejudicadas (DA SILVA, 2004). O ciclo redox da glutathiona redutase (GR) tem um importante papel para eliminar as referidas espécies e preservar as funções fisiológicas normais do organismo. Aliados a este sistema existem ainda duas outras enzimas antioxidantes com o mesmo papel, a superóxido dismutase e a catalase (DA SILVA, 2004).

Os tripanossomas e as leishmanias também tem um sistema de defesa contra espécies radicalares, a tripanotona redutase (TR), análoga a glutathiona redutase em mamíferos. A TR utiliza como substrato o dissulfeto da tripanotona. Nos parasitos a tripanotona tem várias funções, similares às da glutathiona nos mamíferos, como: manutenção do equilíbrio tiol/dissulfeto, defesa contra espécies oxidantes, eliminação de altos níveis de metais pesados e etc (figura 07) (CASTRO-PINTO et al., 2004).

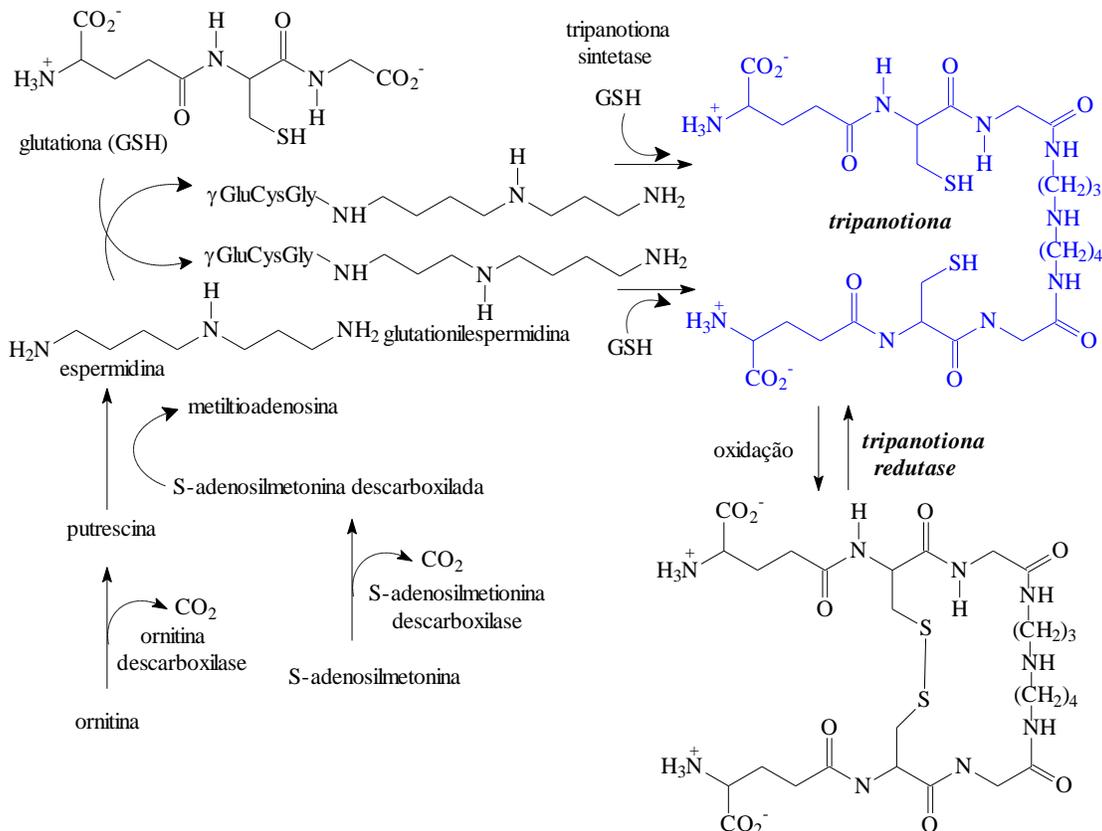


Figura 07. Biossíntese da Tripanotona (DA SILVA, 2004)

Castro-Pinto et al. (2004) demonstraram que o composto **17** é seletivo, atuado na inibição da TR e não na GR do hospedeiro .

1.4.4 DNA Topoisomerases

Outros importantes alvos envolvendo o DNA são as enzimas nucleares DNA topoisomerases (DNA-TOPO) I e II. Estas enzimas possuem papéis cruciais, pois resolvem os problemas topológicos gerados pelos processos de replicação, transcrição, recombinação e reparo do DNA (REDINBO et al., 1998).

A enzima DNA-TOPO I é monomérica e catalisa a relaxação do DNA através da quebra e religação de apenas uma das fitas, figura 08 (ESTEVESS-SOUZA et al., 2006).

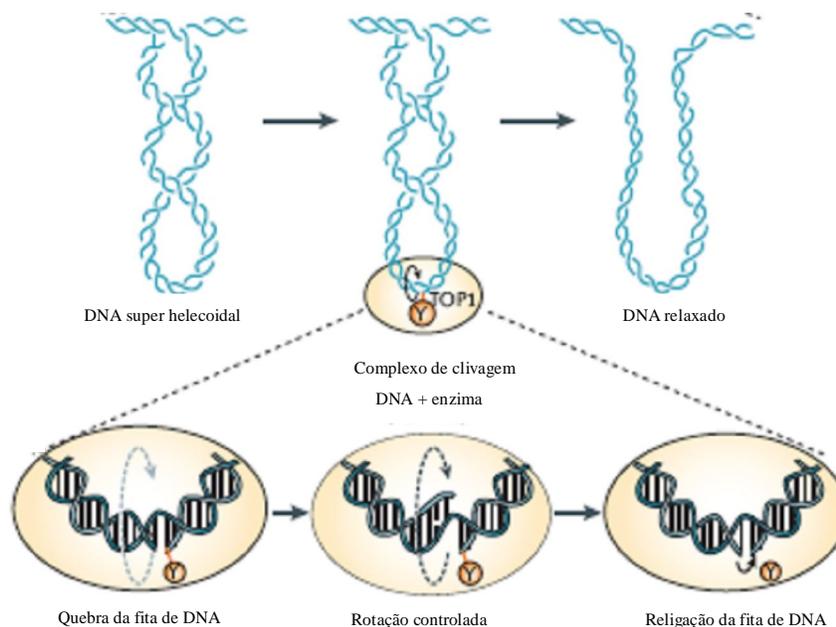
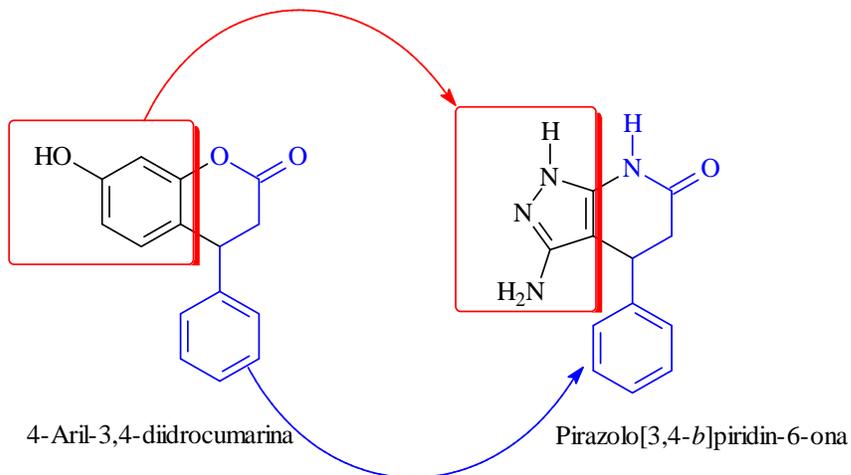


Figura 08. Mecanismo de ação das DNA-TOPO I (POMMIER, 2006).

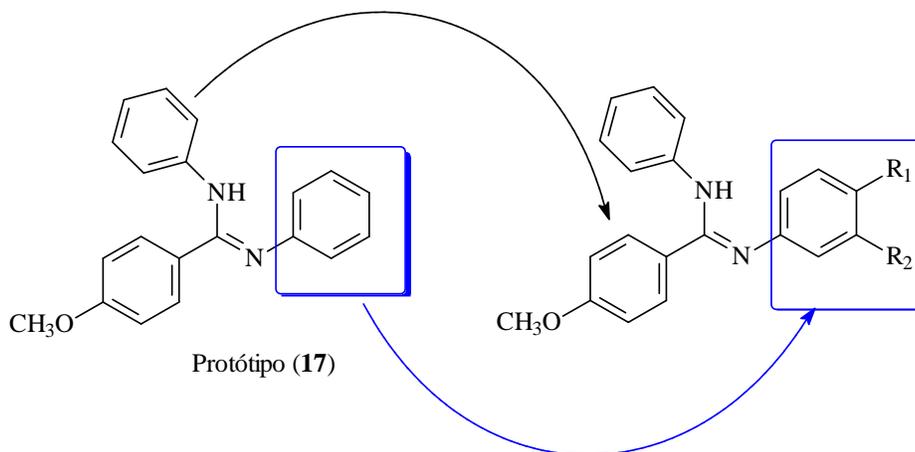
Já a DNA-TOPO II é uma enzima dimérica que relaxa o DNA super-helecoial através da quebra das duas fitas do DNA, necessitando de ATP, (ESTEVESS-SOUZA et al., 2006). Recentemente, foram demonstradas diferenças substanciais na homologia entre as DNA-TOPO humana e da *Leishmania*, dessa forma fornecendo um novo alvo promissor no combate a leishmaniose (CORTAZAR et al., 2007; BALAÑA-FOUCE et al., 2006).

2 OBJETIVOS GERAIS

1. Diante da importância da busca de novos agentes quimioterápicos no combate a leishmaniose, este trabalho tem como objetivo alcançar novos potenciais protótipos de classes nunca antes testadas, como as **4-Aril-3,4-diidroumarinas** (neoflavononas), e as **Pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas**, análogos nitrogenados das neoflavononas.



2. Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade anti-leishmania novos compostos da classe **N,N'-difeníl-benzamidas** tomando como partida o protótipo **17**, devido a seu desempenho promissor frente a leishmania *amazonensis*.



3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, A.; RAMESH; ASHUTOSH; GOYAL, N.; CHAUHAN, P. M. S.; GUPTA, S. Dihydropyrido[2,3-*d*]pyrimidines as a new class of antileishmanial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 6678-6684, 2005.

AHUA, K. M.; IOSET, J. R.; RANSIJN, A.; MAUËL, J.; MAVI, S.; HOSTETTMANN, K. Antileishmanial and antifungal acridone derivatives from the roots of *Thamnosma rhodesica*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 963-968, 2004.

AZEREDO-COUTINHO, R. B. G.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, A.; CUPOLILLO, E.; QUINTELLA, L. P.; MADEIRA, M. F.; PACHECO, R. S.; VALETE-ROSALINO, C. M.; MENDONÇA, S. C. F. First report of diffuse cutaneous leishmaniasis and *Leishmania amazonensis* infection in Rio de Janeiro State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, p. 735-737, 2007.

BALANÑA-FOUCE, R.; REDONDO, C. M.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; DÍAZ-GONZÁLEZ, R.; REGUERA, R. M. Targeting atypical trypanosomatid DNA topoisomerase I. **Drug Discovery Today**, v. 11, n. 15/16, p. 733-740, 2006.

BERNARDINO, A. M. R.; GOMES, A. O.; CHARRET, K. A.; FREITAS, A. C. C.; MACHADO, G. M. C.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; LEON, L. L.; AMARAL, V. R. Synthesis and leishmanicidal activities of 1-(4-X-phenyl)-N'-[(4-Y-phenyl)methylene]-1*H*-pyrazole-4-carbohydrazides. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 80-87, 2006.

BOIANI, M.; BOIANI, L.; DENICOLA, A.; ORTIZ, S. T.; SERNA, E.; BILBAO, N. V.; SANABRIA, L.; YALUFF, G.; NAKAYAMA, H.; ARIAS, A. R.; VEGA, C.; ROLAN, M.; GÓMEZ-BARRIO, A.; CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M. 2*H*-benzimidazole 1,3-dioxide derivatives: A new family of water-soluble anti-trypanosomatid agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 3215-3224, 2006.

BORTOLUZZI, A. J.; ECHEVARRIA, A.; RODRIGUES-SANTOS, C. E. 4-Meoxo-N,N'-diphenylbenzamidine. **Acta Crystallographica Section E**, v. 60, p. o1837-01839, 2004.

CASTRO-PINTO, D. B.; ECHEVARRIA, A.; GENESTRA, M. S.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; LEON, L. L. Trypanothione reductase activity is prominent in metacyclic promastigotes and axenic amastigotes of *Leishmania amazonensis*. Evaluation of its potential as a therapeutic target. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 57-63, 2004.

CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; ECHEVARRIA, A.; ARAUJO, C. A. C.; BRAVO, M. F.; SANTOS, L. H. S.; JANSEN, A. M.; LEON, L. L. The potential effects of new synthetic drugs against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Microbios**, v. 90, n. 51, 1997.

CORTÁZAR, T. M.; COOMBS, G. H.; WALKER, J. *Leishmania panamensis*: comparative inhibition of nuclear DNA topoisomerase II enzymes from promastigotes and human macrophages reveals anti-parasite selectivity of fluoroquinolones, flavonoids and pentamidine. **Experimental Parasitology**, v. 116, p. 475-482, 2007.

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 11, p. 502-509, 2003.

CROFT, S. L.; BARRETT, M. P.; URBINA, J. A. Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 11, p. 508-512, 2005.

ESTEVEZ-SOUZA, A.; PISSINATE, K.; NASCIMENTO, M. G.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Synthesis, cytotoxicity, and DNA-topoisomerase inhibitory activity of new asymmetric ureas and thioureas. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 492-499, 2006.

GARCEZ, L. M.; GOTO, H.; RAMOS, P. K.; BRIGIDO, M. C.; GOMES, P. A. F.; SOUZA, R. A.; DE LUCA, P. M.; MENDONÇA, S. C.; MUNIZ, J. A. P. C.; SHAW, J. *Leishmania (Leishmania) amazonensis* - induced cutaneous leishmaniasis in the primate *Cebus apella*: a model for vaccine trials. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 1755-1764, 2002.

GENESTRA, M.; ECHEVARRIA, A.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; LEON, L. L. Protein kinase A of *Leishmania amazonensis* as a potential target for methoxy-amidine. **Arzneimittel Forschung/Drug Research**, v. 51, n. 2, p. 920-923, 2001.

GENESTRA, M.; ECHEVARRIA, A.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; VIGNÓLIO-ALVES, L.; LEON, L. L. Effect of amidine derivatives on nitric oxide production by *Leishmania amazonensis* promastigotes and axenic amastigotes. **Nitric Oxide**, v. 8, p. 1-6, 2003.

GIL, R. S.; CUNHA, L. C.; PAULA, J. R.; BEZERRA, J. C. B.; AGUIAR, F. A. Leishmaníase: arsenal terapêutico e alvos moleculares. **Vita et Sanitas**, v. 1, n. 1, p. 96-106, 2007.

GONTIJO, C. M. F.; SILVA, E. S.; FUCCIO, M. B.; SOUZA, M. C. A.; PACHECO, R. S.; DIAS, E. S.; ANDRADE FILHO, J. D.; BRAZIL, R. P.; MELO, M. N. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. **Acta Tropica**, v. 81, p. 143-150, 2002.

JAIN, M.; KHAN, S. I.; TEKWANI, B. L.; JACOB, M. R.; SINGH, S.; SINGH, P. P.; JAIN R. Synthesis, antimalarial, antileishmanial, and antimicrobial activities of some 8-quinolinamine analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 13, 4458-4466, 2005.

LIMA, N. M. F.; CORREIA, C. S.; LEON, L. L.; MACHADO, G. M. C.; MADEIRA, M. F.; SANTANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Antileishmanial activity of lapachol analogues. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 7, p. 757-761, 2004.

MELLO, H.; ECHEVARRIA, A.; BERNARDINO, A. M.; CANTO-CAVALHEIRO, M.; LEON, L. L. Antileishmanial pyrazolopyridine derivatives: synthesis and structure-activity relationship analysis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 22, p. 5427-5432, 2004.

MRAVLJAK, J.; ZEISIG, R.; PECAR, S. Synthesis and Biological Evaluation of Spin-Labeled Alkylphospholipid Analogs. **Journal of the Medicinal Chemistry**. v. 48, p. 6393-6399, 2005.

MUZITANO, M. F.; TINOCO, L. W.; GUETTE, C.; KAISER, C. R.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. The antileishmanial activity assessment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2071-2077, 2006.

PETERSON, A. T.; SHAW, J. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. **International Journal for Parasitology**, v. 33, p. 919-931, 2003.

RATH, S.; TRIVELIN, L. A.; IMBRUNITO, T. R.; TOMAZELA, D. M.; JESÚS, M. N.; MARZAL, P. C. Antimoniais empregados no tratamento da Leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 550-555, 2003.

REDINBO, M. R.; STEWART, L.; KUHN, P.; CHAMPOUX, J. J.; HOL, W. G. J. Crystal structures of human topoisomerase I in covalent and noncovalent complexes with DNA. **Science**, v. 279, p. 1504-1513, 1998.

REGUERA, R. M.; REDONDO, C. M.; GUTIERREZ DE PRADO, R.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; BALAÑA-FOUCE, R. DNA topoisomerase I from parasitic protozoa: A potential target for chemotherapy. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1759, p. 117-131, 2006.

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J. C.; LOUZIC, H.; PIANEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet**, v. 7, p. 581-596, 2007.

SAJID, M.; MCKERROW, J. H. Cysteine proteases of parasitic organisms. **Molecular & Biochemical Parasitology**, v. 120, p. 1-21, 2002.

SILVA, E. T. **Planejamento, Síntese e Avaliação Farmacológica de Análogos da Glutationilpermidina, Candidatos a Inibidores Seletivos da Tripanotona Sintetase. Uma Nova Abordagem para o Desenvolvimento de Agentes Leishmanicidas e Tripanomicidas.** 2004. 214f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SILVA, E. F.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; BRAZ, V. R.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; LEON, L. L.; ECHEVARRIA, A. Synthesis, and biological evaluation of new 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine derivatives against *Leishmania amazonensis* promastigotes and amastigotes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 979-984, 2002.

STEERT, K.; EL-SAYED, I.; VEKEN, P. V.; KRISHTAL, A.; ALSENOY, C. V.; WESTROP, G. D.; MOTTRAM, J. C.; COOMBS, G. H.; AUGUSTYNS, K.;

HAEMERS, A. Dipeptidyl α -fluorovinyl Michael acceptors: Synthesis and activity against cysteine proteases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, p. 6563-6566, 2007.

TAVARES, J.; OUAISSI, M.; OUAISSI, A.; CORDEIRO-DA-SILVA, A. Characterization of the anti-*Leishmania* effect induced by cisplatin, an anticancer drug. **Acta Tropica**, v. 103, p. 133-141, 2007.

TEKWANI, B. L.; WALKER, L. A. 8-Aminoquinolines: future role as antiprotozoal drugs. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 19, p. 623-631, 2006.

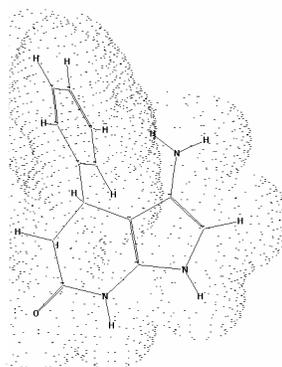
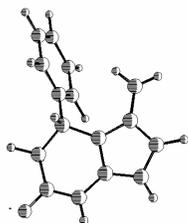
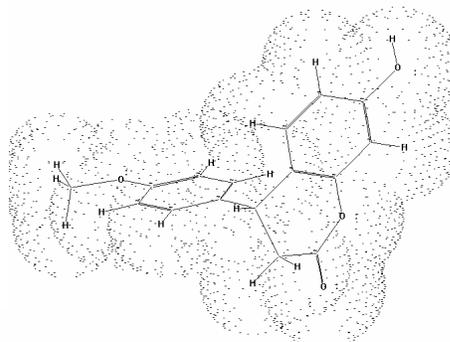
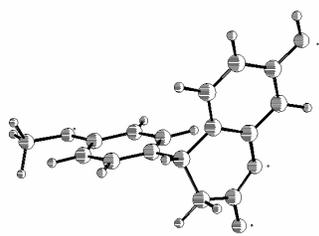
WHO. Control of leishmaniasis. In: WORLD HEALTH ASSEMBLY, 60., 2007, Geneva: World Health Organization, 2007. A60/10.

10www.dndi.org/cms/public_html/images/article/284/DNDiRDStrategyMay2004.pdf01-10-2006)

www.Pharmacyumaryland.edu/courses/PHA_R531/lecturesold/qsar.html 25-09-2006.

CAPÍTULO II

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTI-LEISHMANIA DE DERIVADOS DAS CLASSES 4-ARIL-3,4-DIIDROCUMARINAS E PIRAZOLO[3,4-*b*]PIRIDIN-6-ONAS



RESUMO

A segunda parte do trabalho relata a preparação de uma série de 9 compostos da classe 4-aril-3,4-diidrocurmarinas, neoflavononas, e de 12 compostos da série nitrogenada análoga pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona utilizando-se a metodologia tradicional (refluxo), irradiação de ultra-som e microondas. Entre as metodologias utilizadas destacou-se a irradiação em microondas. Os compostos das duas classes, de modo geral, foram obtidos com rendimentos de modestos a muito bons (40-95%), em tempos notáveis (7 a 20 minutos). Pôde-se observar que a metodologia utilizando-se ultra-som não foi eficaz na obtenção das 4-aril-3,4-diidrocurmarinas e, na obtenção das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas no caso em que foram utilizadas hidrazinas fenil-substituídas. Também foi possível constatar que ~~a~~ todas as metodologias empregadas demonstraram-se ineficazes quando as fenil-hidrazinas continham um ou dois grupos nitro. Dentre os compostos sintetizados, 4 4-aril-3,4-diidrocurmarinas e 8 pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas são inéditas na literatura. Todos os compostos foram devidamente caracterizados por técnicas espectrométricas de rotina como IV, RMN de ¹H, ¹³C, e CG-MS, sendo ainda necessário a utilização de ¹Hx¹H NOESY para confirmação das estruturas das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas. Todas as 4-aril-3,4-diidrocurmarinas foram avaliadas frente à *Leishmania amazonensis* em colaboração com Laboratório de Bioquímica de Tripanomassomatídeos – FIOCRUZ. As 4-aril-3,4-diidrocurmarinas não tiveram ação anti-leishmania significativa (até 300 μM), e as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas encontram-se em processo de avaliação.

Palavras chaves: microondas, ultra-som, 4-aril-3,4-diidrocurmarinas, pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas

1 INTRODUÇÃO

As 4-aril-3,4-diidrocurmarinas, neoflavononas, são produtos de origem natural, e possuem partes similares com flavonóides e isoflavonóides. São utilizados como agentes aromatizantes em uma variedade de alimentos, bebidas, iogurtes e fragrâncias em cosméticos tais como: loções, sabonetes, xampus e etc. Suas propriedades biológicas têm sido pouco investigadas, porém, tem aumentado o estudo dessas propriedades, como por exemplo, a inibição da aldose redutase, anti-herpética, atividade antioxidante, herbicida, fungicida, e recentemente relatada, moderada atividade estrogênica, (ROELENS et al., 2005; QADDER, et al., 2007; ZHANG et al., 2008).

A síntese das diidrocurmarinas foi registrada há mais de duas décadas atrás (TALAPATRA et al., 1986). Atualmente, sua síntese tem recebido mais atenção sendo que, a literatura registra que a maioria das rotas envolvem reações de hidroarilação inter ou intra molecular. O uso de catalisadores como Cr, Ru (III) e Pd(OAc)₂ tem tido destaque na síntese desses compostos. Mesmo com o uso desses catalisadores, o tempo de reação é longo, além disso, há também controvérsias sobre a necessidade dos mesmos (YOUN et al., 2004; JIA et al., 2000; LI et al., 2005).

Outra classe, também ainda pouca estudada é a pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona, que envolve intermediários heterocíclicos importantes na síntese de pirazolopiridinas e triazóis (URBAN, 2004). Esta classe pode ser considerada análoga as 4-aril-3,4-diidrocurmarinas, como podemos ver na figura 01 .

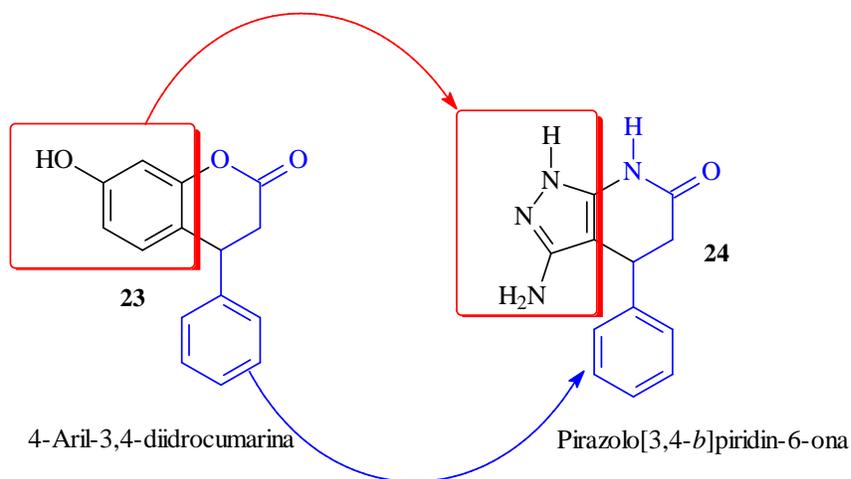


Figura 01. Analogia entre as classes 4-aril-3,4-diidrocurmarinas e pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas.

Quanto às atividades biológicas das pirazolopiridinonas, recentemente tem sido relatado uma série de patentes envolvendo, por exemplo, a inibição da fosfodiesterase tipo IV, útil no tratamento inflamatório, alergias, doenças imunológicas, asma, bronquite, diabetes, esquizofrenia, depressão, perda de cabelo, mal de Alzheimer, inibição da serinas proteases e câncer (URBAN, 2004; PINTO et al., 2002).

A preparação de pirazolopiridinonas seja qual for o sistema de anéis fundidos, tais como: pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona, pirazolo[3,4-*c*]piridin-7-ona, pirazolo[4,3-*c*]piridin-4-ona e tem levado à rendimentos que podem ser considerados desde muito baixos a muito bons (10 - 80%) dependendo da rota sintética estabelecida. Porém, a literatura apresenta, em média, metodologias que levam à obtenção dos produtos desejados em reações com tempos que variam de 5 à 96 horas. Com isso, pode ser

observado que o tempo de reação é de média a longa duração (URBAN, 2004; PINTO et al., 2002; QUIROGA et al., 1998; VASILEVSKY et al., 2002; HOEHN, 1975).

1.1 Estrutura das 4-Aril-3,4-diidrocomarinas

O termo neoflavóides refere-se a um grupo de substâncias com 15 átomos de carbono (C15) encontradas naturalmente com esqueleto C6-C3-C6 (figura 02). As 4-aryl-3,4-diidrocomarinas se enquadram nesta classificação, porém, são chamadas comumente de neoflavononas. Os neoflavonóides possuem semelhanças estruturais a flavonóides e isoflavonóides (27) (DONNELLY et al., 1993; ROELENS et al., 2005).

Ao contrário dos flavonóides, que tem os anéis A e C planares, as 4-aryl-3,4-diidrocomarinas (26) possuem os três anéis em planos diferentes.

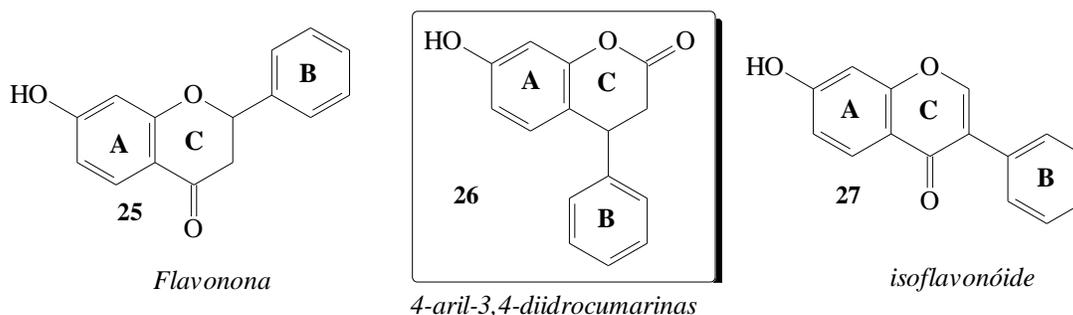


Figura 02. Exemplos de estruturas de flavonona, 3,4-diidrocomarina e isoflavonóide (ROELENS et al., 2005).

A seguir serão apresentados alguns dados espectroscópicos e estruturais características das 4-aryl-3,4-diidrocomarinas.

1.1.1 Infravermelho

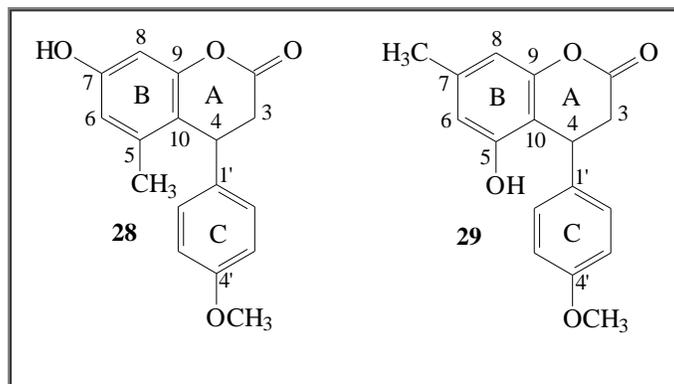
Os espectros de infravermelho de uma substância que contém o grupo funcional lactona, presente nas diidrocomarinas, apresentam como característica marcante a presença de uma banda forte referente ao estiramento da ligação C=O (1725 a 1750 cm^{-1}), assim como outra banda larga forte devido ao estiramento da ligação assimétrica O-C-O (1185 a 1275 cm^{-1}) e simétrica O-C-O (1060 a 1160 cm^{-1}) quando há presença de grupos metoxilas. Geralmente, as bandas de absorção das ligações O-C-O são mais fortes e mais intensas que as C=O (Barbosa et al., 2007).

Considerando as 4-aryl-3,4-diidrocomarinas, a literatura relata que estas apresentam seus estiramentos de ligação C=O por volta de 1760-1779 cm^{-1} , um pouco acima da faixa das lactonas (TALAPATRA et al., 1986; SINGH et al., 2003), já as absorções referentes aos grupos O-C-O permanecem na mesma faixa.

1.1.2 Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C

Os flavonóides e isoflavonóides apresentam carbonos carbonílicos que absorvem na faixa de δ 183-215, enquanto que os correspondentes das 4-aryl-3,4-diidrocomarinas

(lactonas) na faixa de δ 159-178 (SILVERSTEIN et al., 2006). Porém, os carbonos carbonílicos das classes citadas, também podem sofrer efeitos de substituintes e de solventes afetando o deslocamento químico. Bezerra et al. (1999) atribuíram alguns deslocamentos químicos das diidrocumarinas **28** e **29**.



Os deslocamentos químicos dos carbonos aromáticos foram observados na faixa de δ 102,04 - 158,60. O C-8 absorveu em campo alto, em δ 102,04 (**28**) devido encontrar-se entre os dois átomos de oxigênio, e na ausência desses grupos desloca-se para campo mais baixo em δ 112,40 (**29**). Os deslocamentos químicos dos hidrogênios foram observados na faixa de δ 6,40 - 7,04, característicos da região aromática para os anéis B e C (BEZERRA et al., 1999).

1.1.3 Equilíbrio ceto-enólico de 3-acil-3,4-diidrocumarinas

Simeonov et al. (1985) estudaram a interconversão ceto-enólica de alguns derivados de 3-acil-3,4-diidrocumarinas através de RMN, e observaram sinais distintos para ambas as formas tautoméricas. O estudo também possibilitou determinar, através da integração dos hidrogênios metilênicos, a proporção no equilíbrio ceto-enólico de 2:1, em acetona como solvente (figura 03).

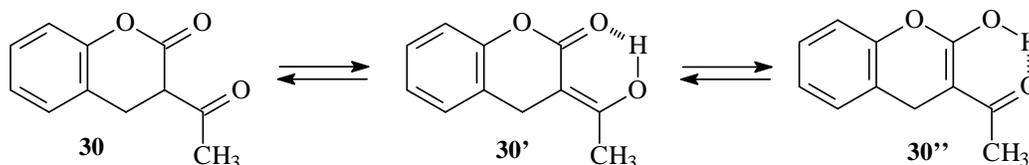


Figura 03. Equilíbrio ceto-enólico de 3-acil-3,4-di-hidrocumarinas (**30**) (Simeonov et al., 1985).

1.2 Métodos de Síntese Utilizados na Preparação das Diidrocumarinas

1.2.1 Reação de obtenção de 4-aryl-3,4-diidrocumarinas utilizando ácido polifosfórico

Há duas décadas, Talapatra et al. (1986) obtiveram resultados curiosos na síntese de 4-aryl-3,4-diidrocumarinas. Ao utilizar floroglucinol (**34**) e ácido cinâmico (**31**), em presença de PPA (ácido polifosfórico), em 1 hora de reação com temperatura variando entre 50-70 °C, obteve-se o composto **32** em 50% de rendimento e o **33** como produto minoritário.

Porém, utilizando condições semelhantes, ou mesmo mais drásticas, para o ácido-*p*-metoxicinâmico (**35**), não foi observada reação. Já utilizando o resorcinol (**36**) e o composto **35** obteve-se o produto **37** (figura 04) (TALAPATRA et al., 1986).

Esses resultados levam a acreditar que, os produtos dessas reações são formados via mecanismos diferentes de acordo com os substituintes presentes no ácido cinâmico, e que, em princípio, grupos doadores de elétrons favorecem a formação das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas.

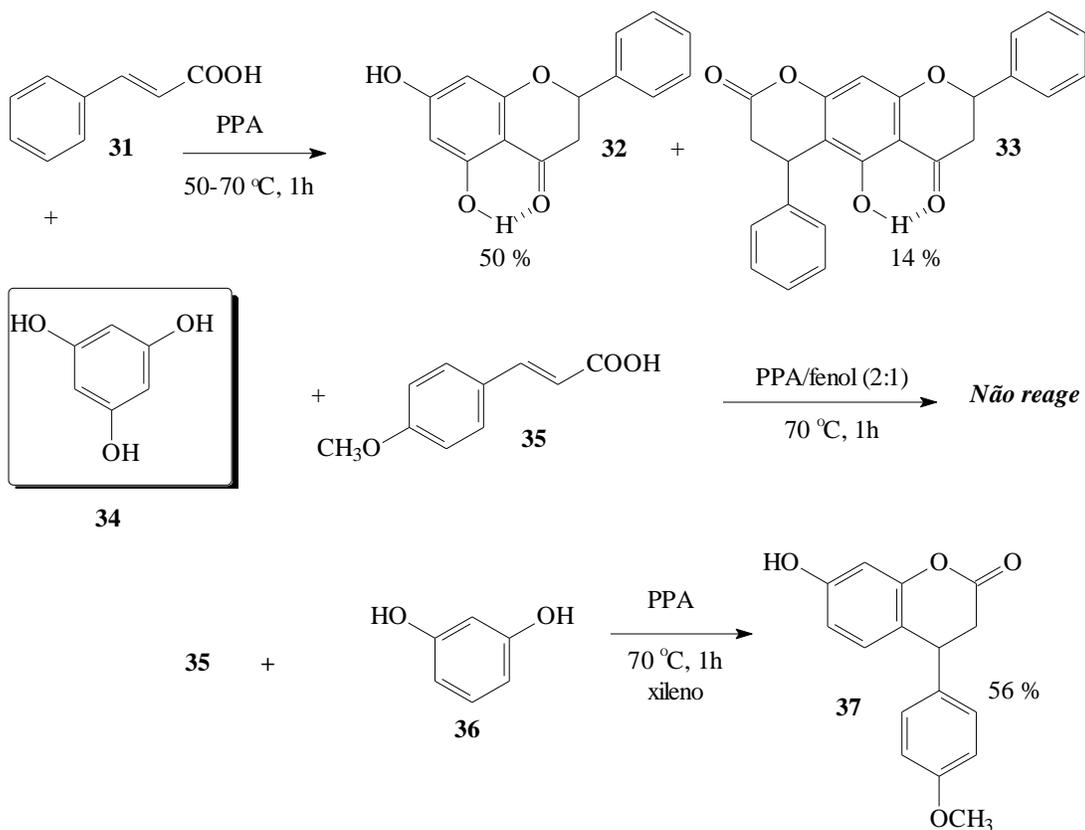


Figura 04. Reação entre fenóis e ácidos cinâmicos (TALAPATRA et al., 1986).

1.2.2 Utilização de RuCl₃ e AgOTf na obtenção de 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas

Recentemente, a síntese das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas tem recebido uma considerável atenção. Youn et al. (2004) demonstraram o uso do RuCl₃/AgOTf, como sendo um catalisador eficiente e suave para as hidroarilações intermoleculares nas reações de ciclizações de alenos e alcinos, levando a cromonas (**42**), terpenóides (**39**) e diidrocurmarinas (**45**) (**figura 05**). A 4-aryl-3,4-diidrocurmarina (**45**) foi obtida em rendimento de 42%.

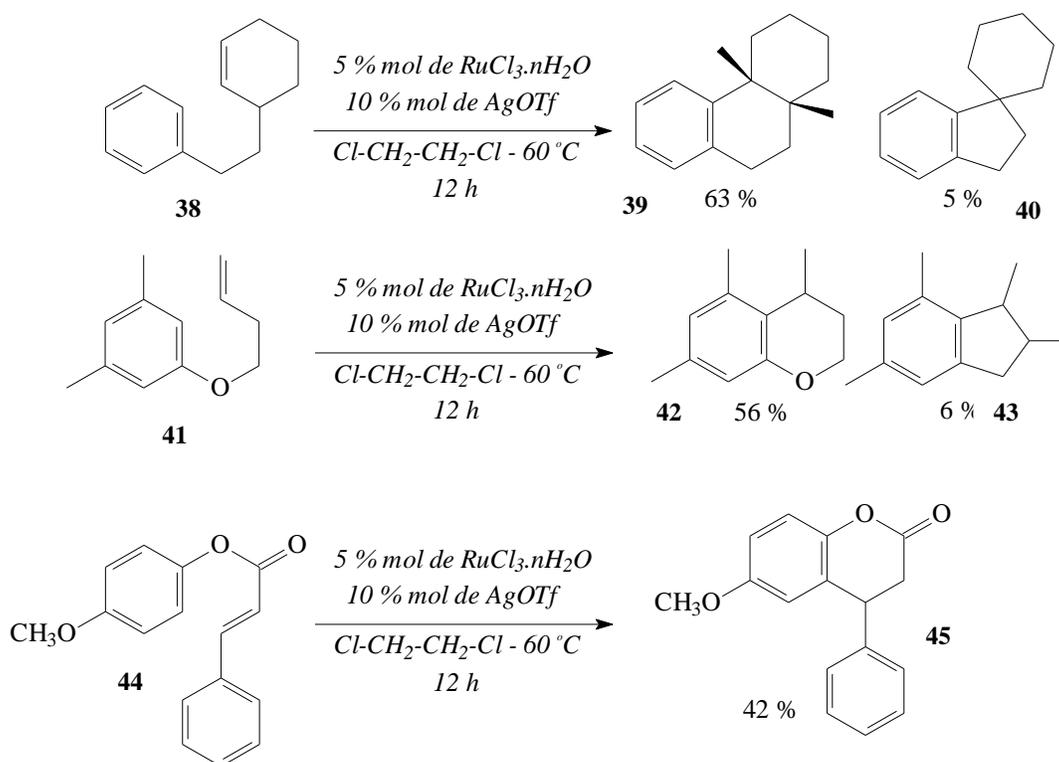


Figura 05. Síntese de terpenóides (**39** e **40**), cromonas (**42**) e 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**45**) (YOUN et al., 2004).

1.2.3 Emprego de $Pd(AcO)_2$ e TFA na síntese de 4-aryl-3,4-diidrocumarinas

Jia et al. (2000) sintetizaram uma série de 4-aryl-3,4-diidrocumarinas e cumarinas usando metalação eletrofílica de ligações C-H de anéis aromáticos, através de compostos de coordenação de Pd (II), resultando em complexos do tipo σ -aryl-Pd.

A figura 06 mostra o mecanismo proposto por Jia et al. (2000) no qual espécies de paládio catiônicas altamente eletrofílicas podem ser formadas *in situ* através de ligações fracas com ânions de trifluoroacetato pela utilização de TFA como solvente. A partir dessas espécies geradas há um aumento da metalação de ligações C-H de aromáticos e ao mesmo tempo possibilitando a ativação da ligação $C\equiv C$ através de complexos de coordenação que gera aceptores de aril nucleofílicos.

Uma razoável explicação, que Jia et al. (2000) sugere para a necessidade do grande excesso de TFA como solvente, foi baseada no fato que a reação necessitaria de espécies altamente catiônicas de Pd (II) para facilitar a formação de estáveis complexos de σ -aryl-Pd como **B**, além disso, a presença de ácidos fortes como TFA facilitaria a hidrólise da de complexos de vinil-metal como o intermediário **C**.

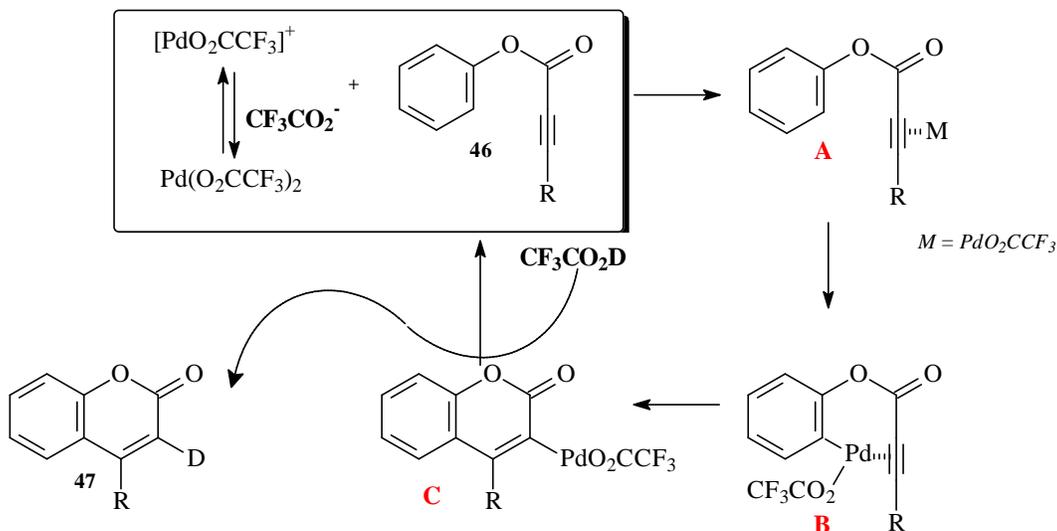


Figura 06. Possíveis intermediários na reação de hidroarilação intermolecular envolvendo ligações triplas proposto por Jia e colaboradores (JIA et al., 2000).

O sistema reacional contendo $Pd(OAc)_2$ 1%, TFA e CH_2Cl_2 foi utilizado em temperatura ambiente, por 10 horas, obtendo-se 96% de rendimento para o composto **50**, conforme a figura 07 (JIA et al., 2000).

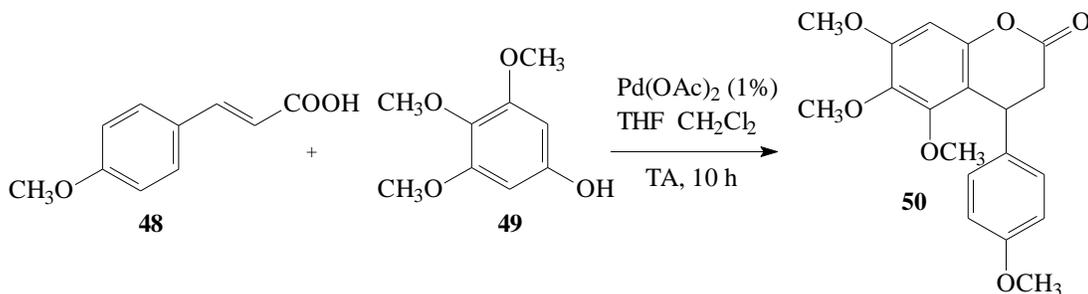


Figura 07. Reação para a obtenção da diidrocoumarina **50** (JIA et al., 2000).

A partir daí, Jia et al. (2000) focalizou seu trabalho na ativação de ligações C-H de aromáticos, utilizando-se $Pd(OAc)_2$, $AgOAc$, $Ni(OAc)_2$, $Ir(Cl)_3$ entre outros catalisadores. Esse assunto gerou para os autores publicações em revistas de alto impacto, como a Science no ano de 2000 (JIA et al., 2000) e a Accounts of Chemical Research em 2001 (JIA et al., 2001).

1.2.4 A dúvida no emprego de $Pd(OAc)_2$ na obtenção de 4-aryl-3,4-dihidrocoumarinas

Alguns anos mais tarde, em 2005, Li et al. obtiveram resultados que se contrapuseram a tese de Jia et al. (2001). Os autores afirmaram que hidroarilações não eram catalisadas por $Pd(OAc)_2$ e sim pelo ácido trifluoroacético.

A utilização do sistema TFA e CH_2Cl_2 com 1 % de $Pd(OAc)_2$ para a formação do composto **50** (figura 07) levou a um rendimento de 96%, consistente com os dados

relatados anteriormente (Jia et al., 2000), porém, a mesma reação com ausência de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, levou a 99%, descartando-se o uso do referido catalisador (LI et al., 2005).

Além disso, Li et al. (2005) destacaram que as reações de hidroarilações intermoleculares são mais fáceis do que as intramoleculares, (figura 08) e que fenóis ricos em grupos doadores de elétrons facilitam as reações de hidroarilações.

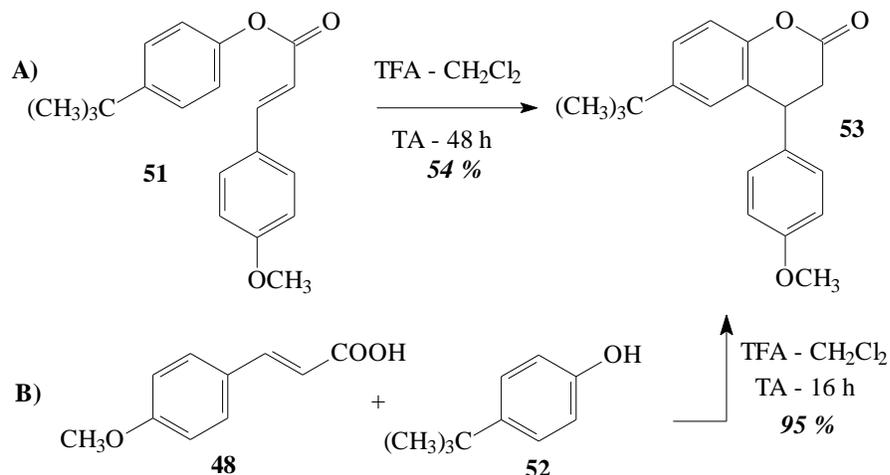


Figura 08. Síntese do composto **53**, através das rotas de hidroarilação intramolecular (A) e hidroarilação intermolecular (B) (LI et al., 2005).

Diante dos resultados, os pesquisadores indicaram um provável mecanismo para essas reações, que seria a ciclização via reação de Fridel-Crafts, onde provavelmente ocorre a protonação da carbonila ativando a olefina, direcionado a um ataque nucleofílico, como indicado na figura 09 (LI et al., 2005).

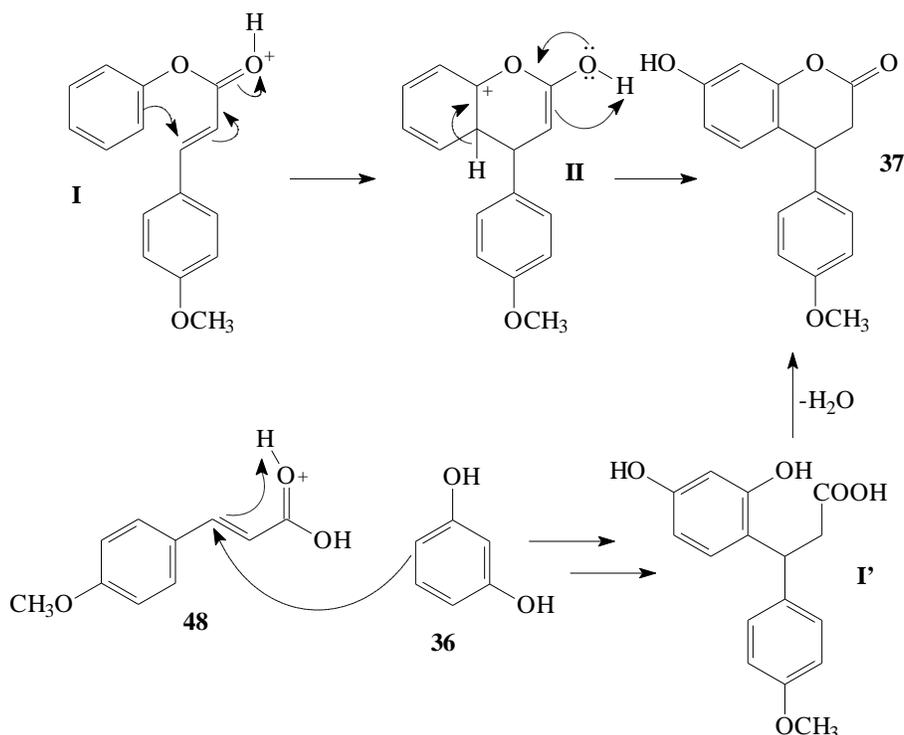
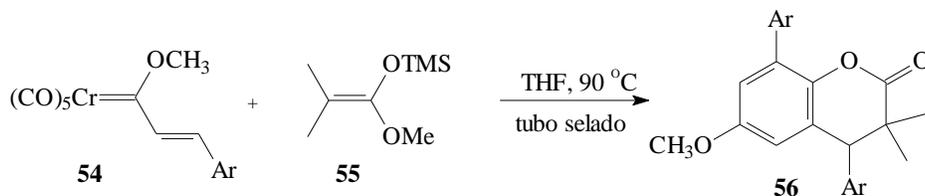


Figura 09. Mecanismo proposto para a hidroarilação das diidrocurmarinas (LI et al., 2005).

1.2.5 Obtenção das diidrocurmarinas a partir de complexos carbenos do tipo Fischer

Recentemente, foi reportado na literatura um método simples e eficiente de obtenção de diidrocurmarinas (**56**) a partir complexos de carbenos de Fischer e cetais de cetonas levando a rendimentos entre 53-71%, como mostrado na figura 10 (BARLUENGA et al., 2006).



Ar = anel aromático substituído

Figura 10. Reação para obtenção da diidrocurmarina **56** através de complexos do tipo carbenos de Fisher (BARLUENGA et al., 2006).

O mecanismo proposto para esta reação foi baseado no ataque da ligação dupla do cetala ao complexo de carbeno de Fischer levando ao intermediário **I** (figura 11), que por sua vez gera o **II**. A partir das interações dos grupos metoxi e o trimetilsilil há liberação de um éter de trimetilsilil. Em seguida um rearrajo 1,3 forneceu o intermediário **III**. Subseqüente ocorreu uma redução e uma eliminação levando ao composto **IV**. Então, o **IV** reagiu com outro complexo de carbeno de Fischer gerando um álcool em uma reação clássica de Dötz, daí em diante ocorreu condensação levando a 4-aryl-3,4-dihidrocurmarina (BARLUENGA et al., 2006).

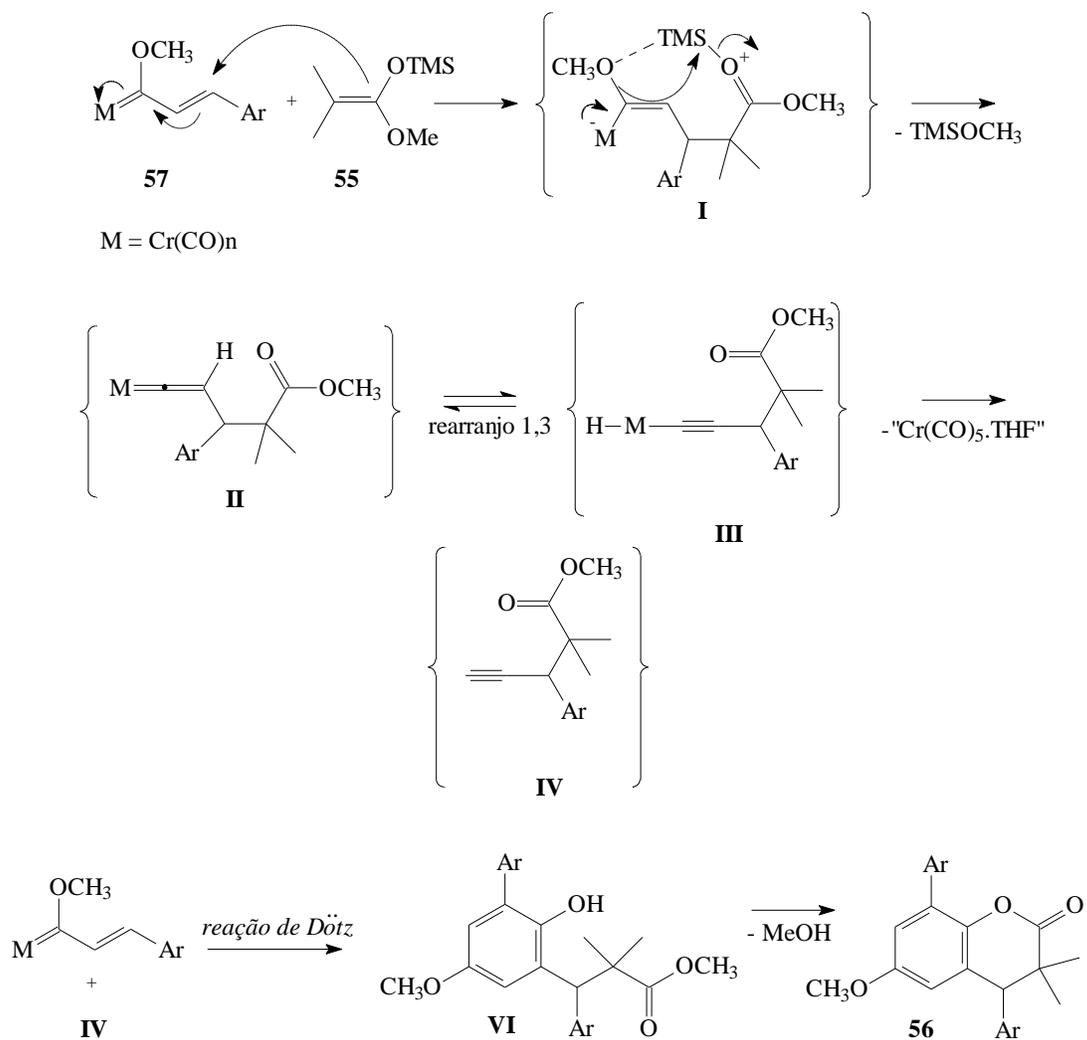


Figura 11. Mecanismo proposto para reação é baseado no ataque da dupla ligação do cetal ao complexo de carbeno de Fisher (BARLUENGA et al., 2006).

1.2.6 Obtenção de diidrocomarinas utilizando complexos de rutênio

Matsuda et al. (2007) identificaram uma rota de síntese interessante utilizando rutênio como catalisador na obtenção de diidrocomarinas assimétricas (**59**). Esta metodologia possibilitou a obtenção de rendimentos por volta de 80 % com um excesso enantiomérico de 96 %.

Um possível mecanismo foi apresentado pelos autores, que sugeriram a geração de um arilalcóxido de rutênio (**I**) (figura 12). A interação do grupo carbonila com o grupamento arilalcóxido de rutênio da própria espécie levaria ao intermediário **II**, que subsequenteiramente sofreria a abertura do anel ciclobutano, etapa enantiomérica determinante, fornecendo o intermediário **III**, que a seguir participa de uma reação de protonólise levando a diidrocomarina (**59**) (MATSUDA et al., 2007).

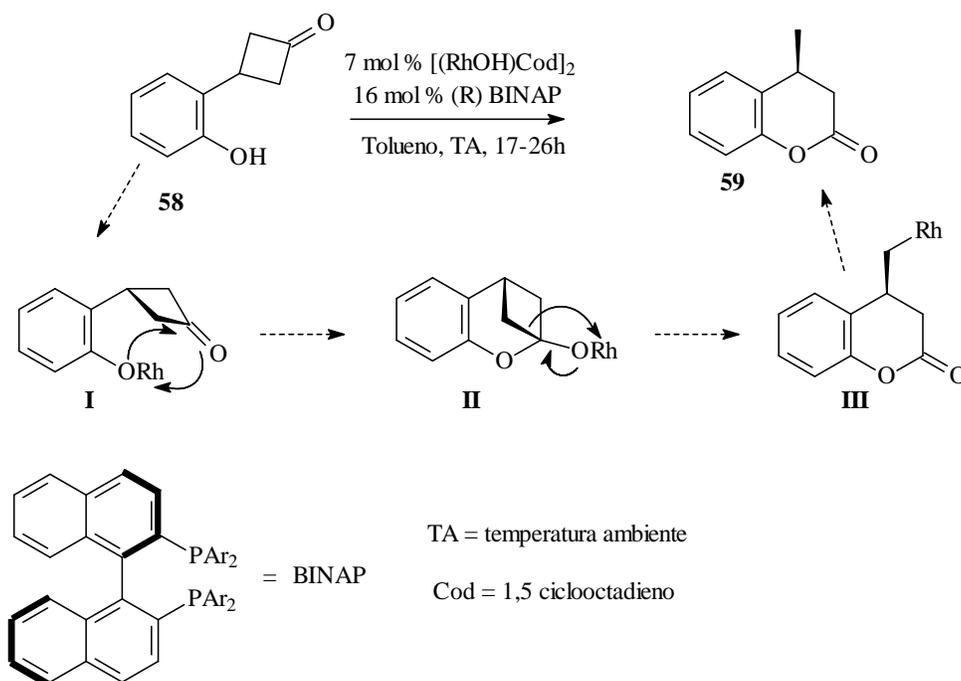


Figura 12. Mecanismo para a obtenção de diidrocomarinas (**59**) utilizando complexos de rutênio proposto por (MATSUDA et al., 2007).

1.2.7 Obtenção de diidrocomarinas a partir da atuação da *Saccharomyces cerevisiae*

A 3,4-diidrocomariana é bastante utilizada como agente aromatizante em uma variedade de alimentos, bebidas, iogurtes e fragrâncias em cosméticos, também como loções, sabonetes e etc. Na indústria um dos principais métodos de obtenção desse composto utiliza a reação de hidrogenação da cumarina (**60**) (HÄSER et al., 2006).

Geralmente, o processo de obtenção das diidrocomarinas é realizado através da redução das cumarinas correspondentes utilizando-se metais pesados como catalisadores. Häser et al. (2006) demonstraram a biotransformação de cumarinas a 3,4-diidrocomarinas utilizando *Saccharomyces cerevisiae*, uma levedura utilizada também na fabricação do pão, cerveja e etanol. Os autores sugeriram que a biotransformação iniciaria pela hidrólise da cumarina (**60**) gerando o ácido o-cumárico (**I**) (figura 13), que a partir daí, a ação de uma oxiredutase levaria à formação do ácido melitótico (**II**).

Além disso, o composto **II** também poderia ser gerado pela hidrólise da 3,4-dihidrocumarina (**61**) já obtida pela ação da mesma oxireductase sobre cumarina. A etapa determinante seria a transformação do composto **II** na 3,4-dihidrocumarina por destilação durante a etapa final de purificação (HÄSER et al., 2006).

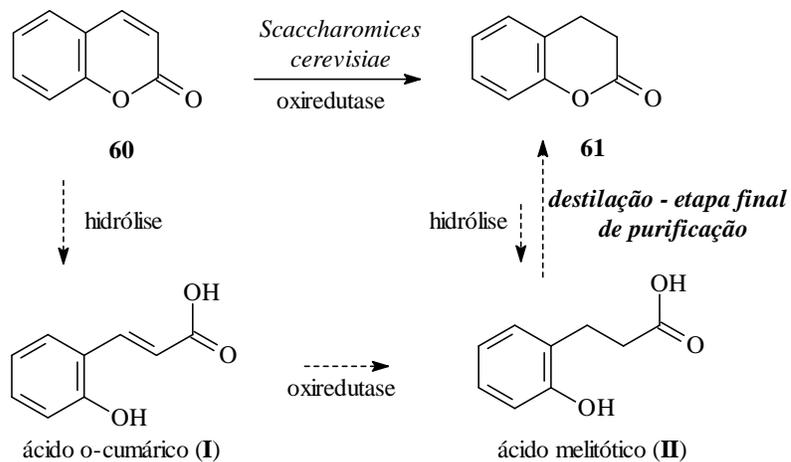


Figura 13. Rota de obtenção de diidrocoumarinas (**61**) utilizando a *Saccharomyces Cerevisiae* (HÄSER et al., 2006).

1.3 Estrutura das pirazopiridinonas

As pirazopiridinonas fazem parte um de conjunto de compostos heterocíclicos que possuem alguns arranjos distintos dos heteroátomos nos anéis, conforme mostrado na figura 14, sendo que as substâncias alvo desta tese são do tipo **65**. (URBAN et al., 2004; QUIROGA et al., 1998; MSHVIDOBADZE et al., 2004; VASILEVSKY et al., 2002; EHELER, 1977; DREES et al., 2005).

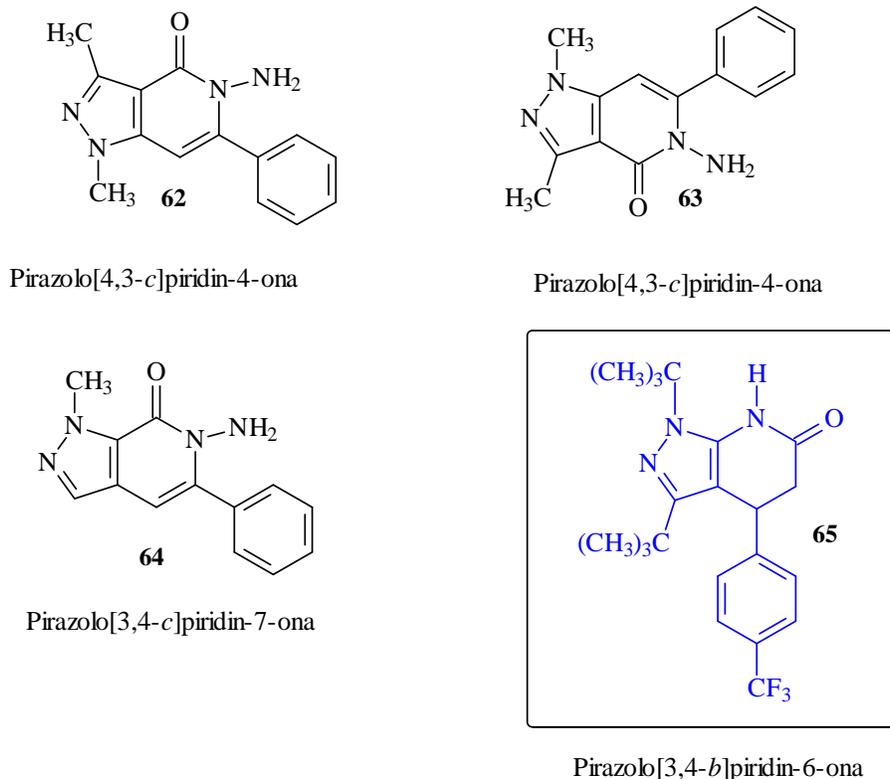


Figura 14. Exemplos de pirazolopiridinonas (URBAN et al., 2004; QUIROGA et al., 1998; MSHVIDOBADZE et al., 2004; VASILEVSKY et al., 2002; EHELER, 1977; DREES et al., 2005).

Existem poucos relatos na literatura sobre a estrutura e os dados de análise espectroscópica para as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas.

Assim, foram selecionadas as estruturas das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas **66a-b**, estudadas por Quiroga et al. (1998) para a apresentação das absorções características nos espectros de infravermelho e RMN de ¹H e ¹³C.

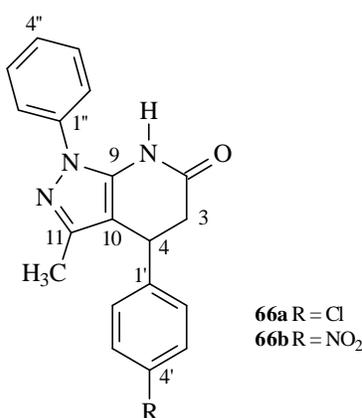
1.3.1 Infravermelho

Devido ao efeito de ressonância envolvendo o par de elétrons não-ligantes do nitrogênio do grupo lactama (grupo funcional que está presente nos compostos pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona), a ligação C=O (na faixa de 1650 a 1670 cm^{-1}) fica enfraquecida em relação a uma C=O de cetona não conjugada (por volta de 1725 cm^{-1}). As bandas de estiramento de ligação N-H de lactamas ocorrem na região de 3540-3140 cm^{-1} , dependendo da natureza dos compostos e de como a amostra foi preparada para a obtenção do espectro (BARBOSA, 2007).

Quiroga *et al.* (1998) encontrou resultados próximos do esperado ao analisar espectros de infravermelho de algumas pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas em pastilhas de KBr. Bandas de absorção por volta de 1670-1690 cm^{-1} e 3145-3370 cm^{-1} , foram relacionadas aos grupos C=O e N-H, respectivamente (QUIROGA *et al.*, 1998).

1.3.2 Ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C

Alguns espectros de ^1H de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona obtidos em dimetil sulfóxido deuterado exibiram hidrogênios aromáticos na faixa de δ 7,20-8,36, dois hidrogênios pertencentes ao C-3 (δ 2,59-2,70 e δ 3,01-3,12), um hidrogênio absorvendo em campo baixo por volta de δ 4,23-4,47 ligado no carbono C-4, e um hidrogênio N-H por volta de δ 10,62-10,87 (QUIROGA *et al.*, 1998).



Os espectros de RMN ^{13}C apresentaram sinais em campo alto em torno de δ 39,70 - 40,2 correspondentes aos carbonos alifáticos C-4 e C-3, já os carbonos das carbonilas absorveram na faixa de δ 169-170,10. Os átomos C-9 absorveram em campo baixo na faixa de δ 145,3-147,50, pois estavam vicinais a dois aos dois átomos de nitrogênios (QUIROGA *et al.*, 1998).

1.4 Métodos de síntese de pirazolopiridinonas

1.4.1 Obtenção de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas a partir de aminopirazóis

A síntese de compostos que pertencem ao sistema pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona já é conhecida há algum tempo e, em geral ocorre à partir de reação de condensação envolvendo aminopirazóis.

Hoehn em 1975 sintetizou esta classe de compostos na reação envolvendo o éster dietil etildienomalônico (**67**) com 5-amino-1-etil-3-metilpirazol (**68**) utilizando como solvente DMF e água. A reação ocorreu sob refluxo durante 94 h e obteve rendimentos de 53%, conforme mostrado na figura 14, para a obtenção do composto **69** (HOEHN, 1975) (figura 15).

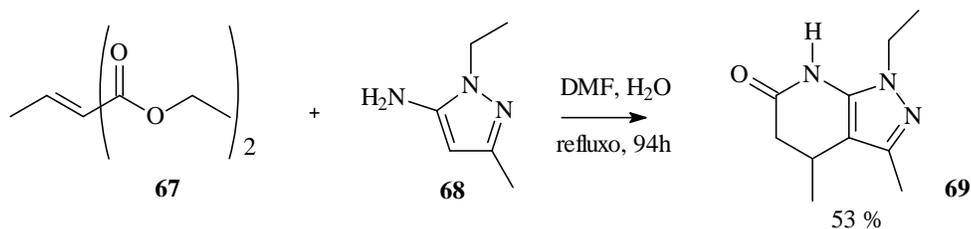


Figura 15. Obtenção do pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona **69** (HOEHN, 1975).

1.4.2 Síntese de pirazolo[4,3-*c*]piridin-6-onas a partir de reações de aminólise

Eheler et al. (1977) preparou pirazolo[4,3-*c*]piridin-6-ona (**73**), a partir do composto pirazólico **70**, que reagiu com uma solução metanólica de amônia fornecendo o **71**. A desidratação da amida com POCl₃ levou a formação do composto **72** e a aminólise do éster e a ciclização levou ao produto (**73**) desejado com baixo rendimento (9%) (figura 16).

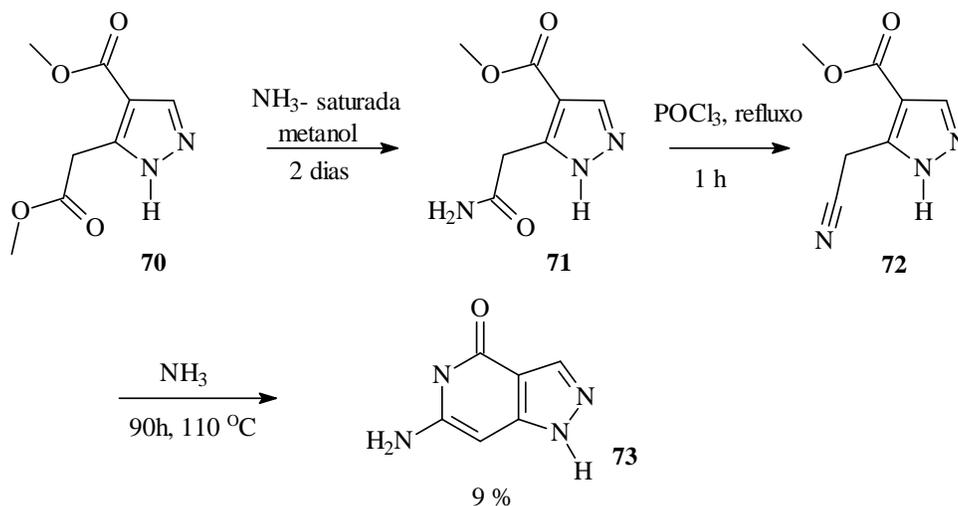


Figura 16. Síntese da pirazolo[4,3-*c*]piridin-6-ona envolvendo a reação de aminólise (EHELER et al., 1977).

1.4.3 Síntese de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona utilizando-se ácido de Meldrum e aminopirazóis

Em 1998 Quiroga et al. reportaram a síntese (figura 17) de alguns derivados da classe das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**78**) através da ciclização de 5-amino-1-aryl-3-metilpirazóis (**74**) e ácido Meldrum (**75**). A reação permaneceu em refluxo por 30

minutos em nitrobenzeno, como solvente, levando à rendimento de 42-72 % (QUIROGA et al., 1998).

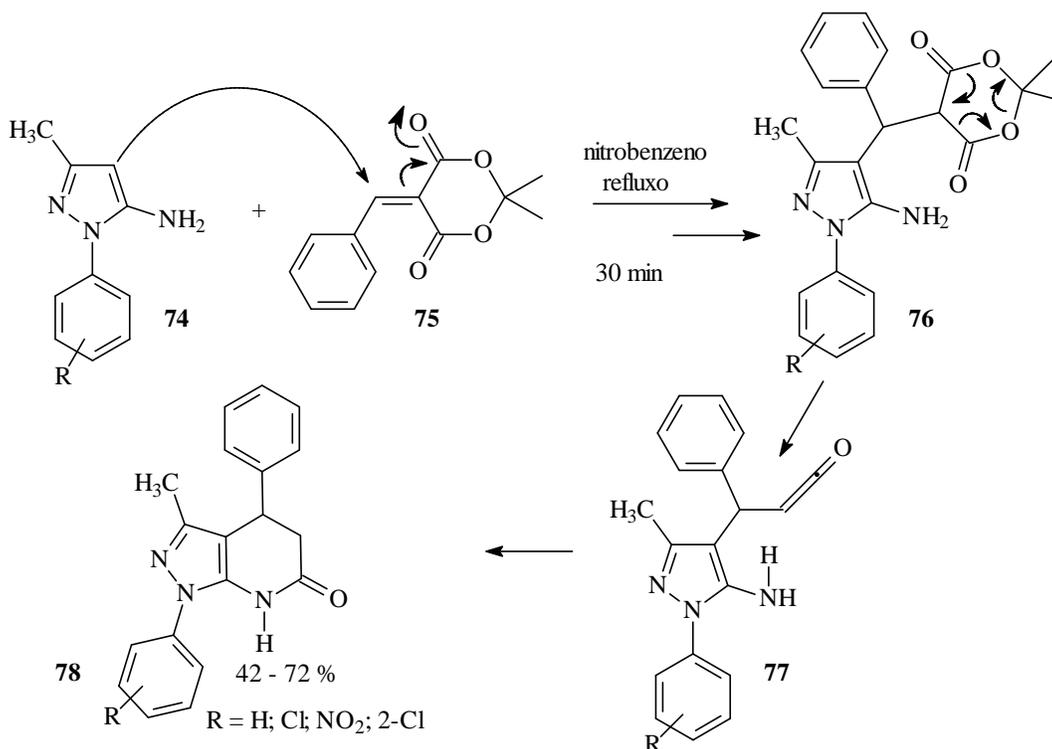


Figura 17. Esquema de obtenção e proposta de mecanismo por Quiroga et al. (1998).

1.4.4 Preparação de pirazolo[3,4-*c*]piridin-7-ona a partir de derivados de 3-metoxi-piridinona

Urban et al. (2004) demonstraram a preparação de pirazolo[3,4-*c*]piridin-7-ona (**81**) a partir do tratamento de 3-metoxi-piridinona (**79**) e cloridrato de ciclopentil hidrazina (**80**). Os reagentes foram dissolvidos em THF e levados ao aquecimento de 75-95 °C por 12 horas obtendo-se 68 % de rendimento conforme a figura 18.

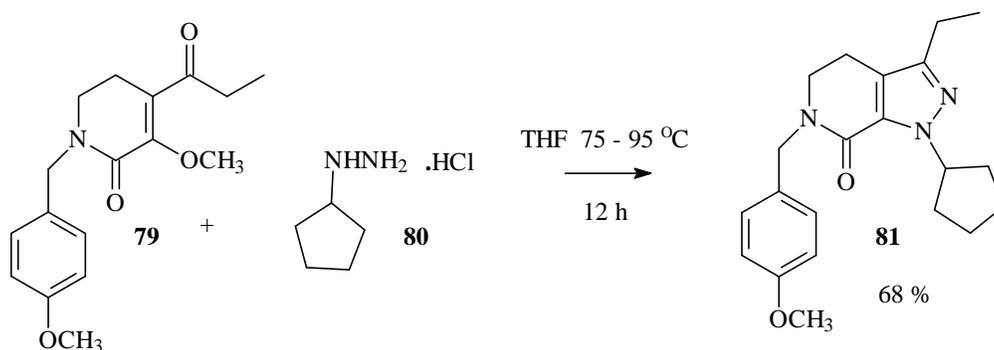


Figura 18. Obtenção da pirazolo[3,4-*c*]piridin-7-ona **81** a partir da piridinona correspondente (URBAN et al., 2004).

1.4.5 Síntese de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona utilizando ácido de Meldrum e aldeídos

Em 2005 Drees et al. desenvolveram uma nova rota sintética para a obtenção da pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (**85**) utilizando a condensação de aminopirazóis (**82**), benzaldeídos devidamente substituídos (**83**) e dimedona (**84**) em refluxo por 6-8 horas. Os rendimentos para as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas obtidos foram na faixa de 30-75 % conforme mostrado na figura 19 (DREES et al., 2005).

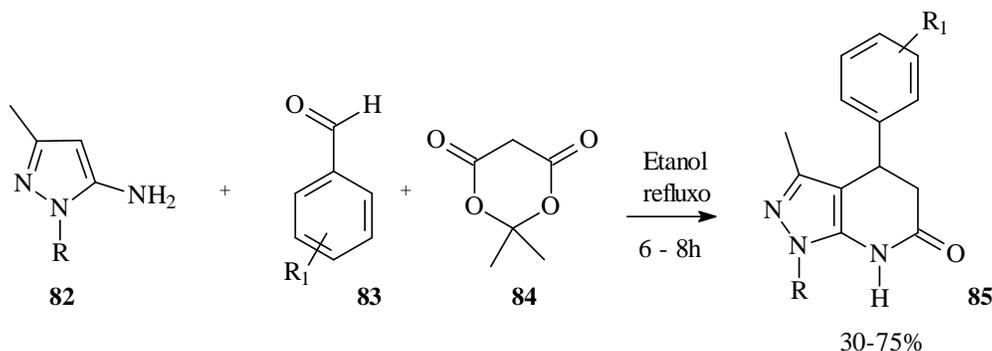


Figura 19. Síntese de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona à partir de 5-aminopirazóis (DREES et al., 2005).

1.4.6 Obtenção de pirazolo[4,3-*c*]piridin-4-onas a partir de acetilnilpirazóis

Mshvidobadze et al. (2004) relataram uma rota sintética interessante para preparar a pirazolo[4,3-*c*]piridin-4-ona (**88**) através da reação de acetilnilpirazol (**87**). O composto **87** foi dissolvido em butanol e levado a refluxo por 12 horas obtendo-se a pirazolo[4,3-*c*]piridin-4-ona (**88**) em rendimentos de 76% (figura 20).

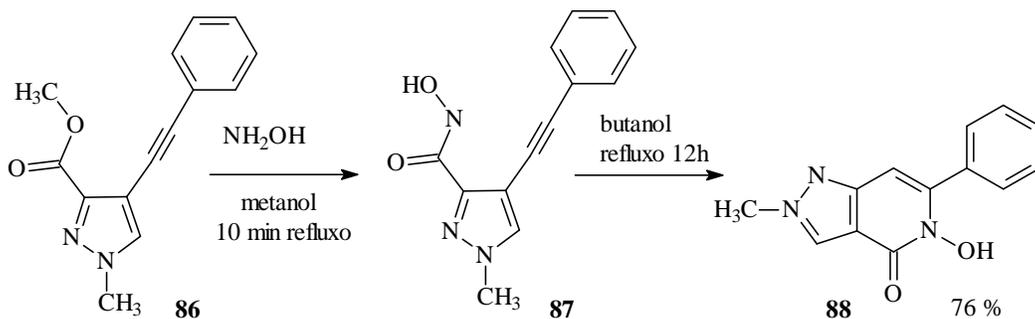
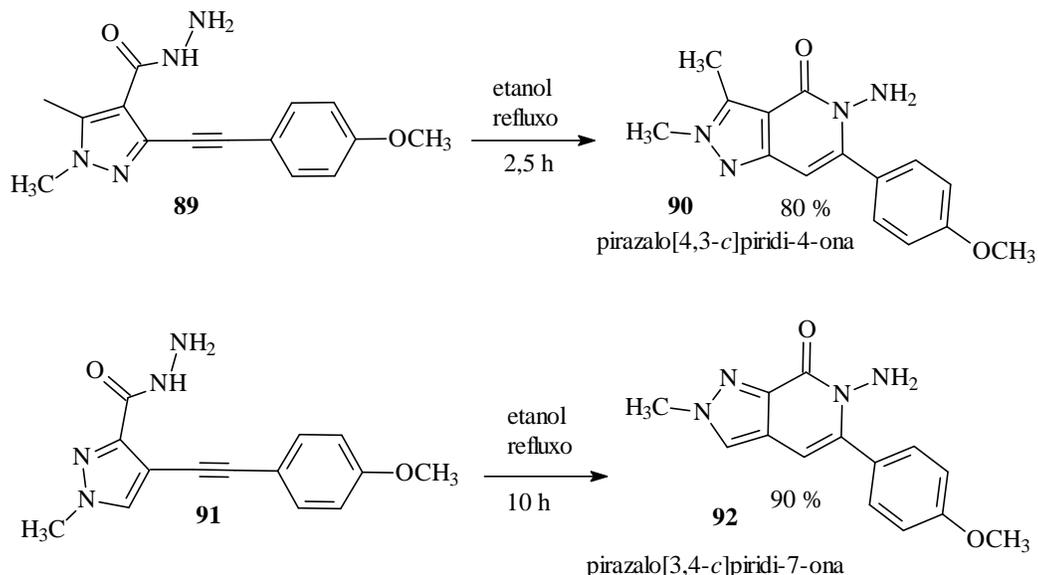


Figura 20. Síntese de pirazolo[4,3-*c*]piridin-4-ona (**88**) a partir de acetilnilpirazol (MSHVIDOBADZE et al., 2004)

1.4.7 Síntese de pirazolo[4,3-*c*]piridin-4-ona e pirazolo[3,4-*c*]piridin-7-ona a partir de N-aminolactama

Vasilevsky et al. (2002) sintetizaram a pirazolo[4,3-*c*]piridin-4-ona (**90**) e pirazolo[3,4-*c*]piridin-7-ona (**92**) a partir da ciclização de hidrazidas (**89** e **91**) em refluxo com etanol em presença de uma base (NaOH). As reações forneceram as N-aminolactamas correspondentes, em 50-90 % de rendimento. Provavelmente, o ataque

do par de elétrons do nitrogênio da amida ao átomo de carbono β da ligação tripla, proporciona a obtenção do sistema pirazolo[3,4-*c*]piridi-7-ona. A figura 21 mostra exemplos de algumas reações envolvidas.



1.4.8 Emprego do intermediário 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetra-hidropiridino-3-carbonitrila na síntese de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas

Recentemente, Martínez-Teipel et al. (2005) reportaram a obtenção de vários compostos heterocíclicos, tais como, pirano[4,3-*b*]piridin-2-ona, imidazo[1,2-*a*]pirimidin-6-ona, pirido[2,3-*d*]pirimidin-7-ona, entre outros, envolvendo o intermediário **95**, sintetizado a partir de ésteres α,β -insaturados (**93**) e malonitrila (**94**) em presença de base (NaOMe). A obtenção de derivados da classe pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (**97**) foi relatada utilizando-se a mesma metodologia com rendimentos na faixa de 37-90% em tempos de reação que variam de 3 a 48 h, de acordo com a figura 22.

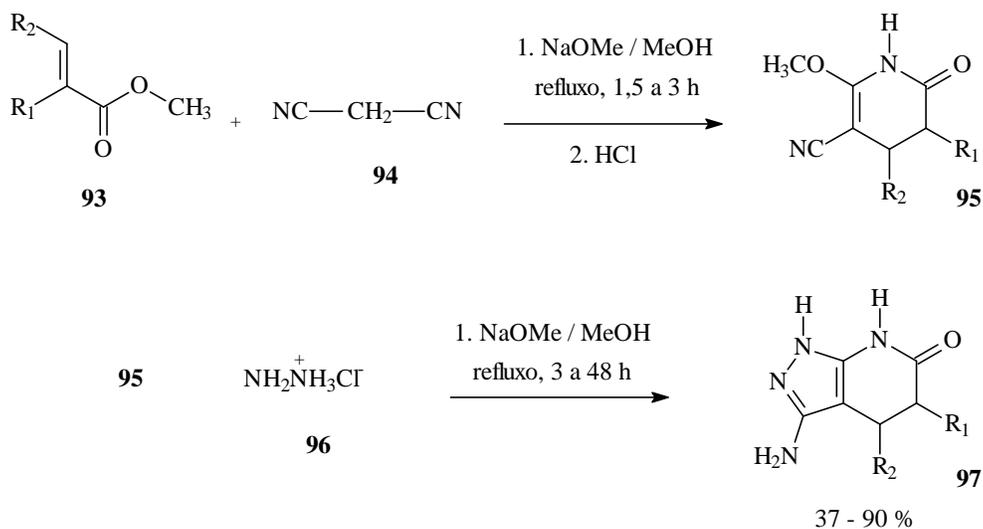


Figura 22. Síntese de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (**97**) a partir de 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetra-hidropiridino-3-carbonitrila (MARTÍNEZ-TEIPEL et al., 2005).

1.5 Metodologias sintéticas alternativas

1.5.1 Utilizando irradiação de microondas

A síntese orgânica assistida por microondas, apresenta um importante recurso moderno e se enquadra dentro dos princípios da “Química Limpa”, visando menor consumo de energia e diminuição dos resíduos tóxicos, paralelamente à menores tempos de reação e maiores rendimentos na obtenção dos produtos desejados (SILVA et al., 2006). Curiosamente, não foi encontrado nada de relevante na literatura sobre sínteses assistidas por microondas na obtenção de 4-*aril*-3,4-diidro-cumarinas e pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas, classes estudadas neste trabalho de tese. No entanto, algumas referências sobre a síntese de cumarinas foram observadas, mas, definitivamente nada sobre a síntese de diidro-cumarinas assistida por microondas, fatos considerados relevantes para a proposta desse trabalho.

Tecnologia de microondas tem sido usada pelos químicos inorgânicos desde 1970, mas só foi implementada na química orgânica por volta de 1980. O desenvolvimento da tecnologia para os químicos orgânicos foi considerado baixo até início da década de 90 em relação à química combinatória e a computacional (figura 23) (LIDSTROM et al., 2001). Na figura 23 encontra-se a representação de um espectro eletromagnético.

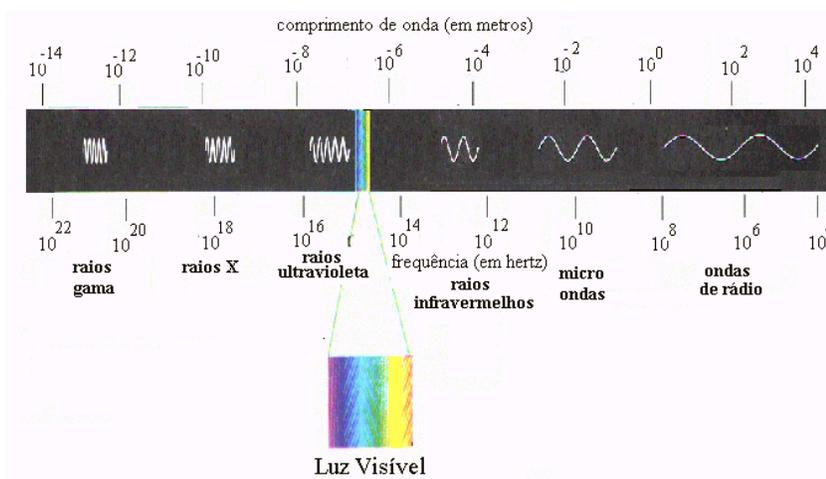


Figura 23. Espectro eletromagnético (<http://educar.sc.usp.br/otica/luz.htm>, acessado em 18-02-2008)

A baixa utilização dessa tecnologia tem sido atribuída à falta de segurança, reprodutibilidade e geralmente pelo baixo nível de compreensão dos princípios do aquecimento dielétrico que fundamenta o uso das microondas. Porém, por meados de 1990 em diante, o número de publicações envolvendo a química orgânica, cresceu muito, onde a principal causa foi à busca por menores tempos de reação e também a não utilização de solventes (PERREUX & LOUPY, 2001).

Atualmente, existem dois tipos de equipamentos de microondas, o forno doméstico, que a população utiliza na cozinha, e o científico adaptado para fins laboratoriais, com preços elevados que impossibilitam seu uso na rotina em laboratório, porém, com controle de temperatura e pressão (LIDSTROM et al., 2001; SILVA et al., 2006).

A falta de controle em fornos de microondas domésticos, quando utilizado em síntese, fornece um número vasto de incidentes, incluído explosões. Uma das formas para evitar este problema tem sido omitir o uso de solvente a partir de reações utilizadas com suporte sólido do tipo sílica, óxido de alumina e etc. A maior parte dos artigos em síntese orgânica utilizam essa técnica. Além disso, reações realizadas sem solvente têm obtido destaque nos dias atuais, por se encaixarem nos preceitos da “química limpa” (LIDSTROM et al., 2001; SILVA et al., 2006).

1.5.1.1 A origem dos efeitos das microondas

A aceleração de reações por exposição às microondas, pode ser compreendida por dois fatores: efeitos térmicos e específicos (efeitos não puramente térmicos), e é a junção dessas contribuições, que são responsáveis pelos efeitos observados (PERREUX & LOUPY, 2001). Efeitos térmicos (aquecimento dielétrico) podem ser resultados da polarização dipolar, por uma seqüência de interações de dipolo-dipolo entre moléculas (figura 24). Essas interações fazem com que haja dissipação de calor, resultante da agitação e fricção intermolecular de moléculas quando há troca de orientações de dipolo. Essa dissipação de energia no centro dos materiais permite uma repartição regular na temperatura quando comparados a aquecimentos clássicos como condução, convecção e radiação (PERREUX & LOUPY, 2001).

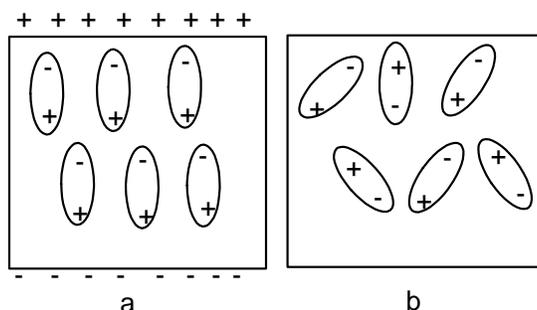


Figura 24. Orientação de dipolos com campo elétrico (a) e sem campo elétrico (b).

Os efeitos específicos do microondas (efeitos não puramente térmicos) podem ser compreendidos, segundo a lei de Arrhenius, equação 01 (Perreux & Loupy 2001).

$$K = A \exp(-\Delta G^\ddagger / RT) \quad \text{Equação 01}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger \quad \text{Equação 02}$$

K = constante de velocidade

‡ = estado de transição

T = temperatura

A = fator de correção (relacionado a colisões)

ΔS = entropia

R = constante

ΔG = energia de gibbs

ΔH = entalpia

Inicialmente, há um aumento do fator pré-exponencial A, que representa a probabilidade de impactos moleculares. A eficiência das colisões pode ser efetivamente influenciada pelas mutuas orientações de moléculas polares envolvidas na reação. Este fator é dependente da frequência vibracional (PERREUX & LOUPY 2001).

O segundo fator é a diminuição da energia de ativação (ΔG^\ddagger), que é certamente o principal efeito, que deve ser compreendido pela magnitude do termo $(-T\Delta S)$, da equação 2, onde este termo aumentaria em reações assistidas por microondas, sendo o estado de transição mais organizado, quando comparado a sistemas clássicos de aquecimento em detrimento da polarização (PERREUX & LOUPY, 2001).

1.5.2 Ultra-som

A popularização do ultra-som na vida e na sociedade está relacionado com seu amplo uso na medicina. Desde a descoberta do ultra-som em 1880 por Curie estudando o efeito piezolétrico, somente em 1927 é que o químico, Alfred Loomis, reconheceu o efeito anômalo de ondas sonoras intensas propagando-se por líquidos; na química, de maneira geral, esta aplicação passou a ser chamada de sonoquímica. Porém, os grandes avanços e aplicações da sonoquímica ocorreram 50 anos depois, na década de 80 (CINTAS et al., 1999).

O ultra-som é usado na indústria para limpeza de materiais, solda de plástico, processos químicos, preparação de emulsões, suspensões, desgaseificação de solventes e em hospitais para análise de imagem (CINTAS et al., 1999).

1.5.2.1 Fundamentos do ultra-som

As ondas ultra-sônicas se encontram na faixa de 20kHz a 100MHz, ultrapassando o limite da audição humana de 16 Hz a 18 kHz (figura 25) (CRAVOTTO et al., 2006).

A região de ultra-som pode ser dividida em duas faixas: a primeira de 20 kHz a 100 kHz onde se encontra a sonoquímica e aplicações de limpeza de materiais, embora frequências mais altas também possam ser utilizadas. A segunda corresponde à faixa do ultra-som para diagnóstico, acima de 2MHz até 10 MHz, com aplicações na medicina e processamento de materiais (CRAVOTTO et al., 2006).

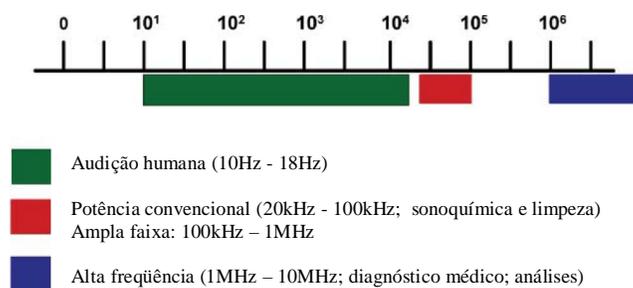


Figura 25. Frequências do som (em Hz) (CRAVOTTO et al., 2006).

Em contraste com a radiação eletromagnética, as ondas acústicas não são capazes de alterar estados moleculares eletrônicos, vibracionais, ou rotacionais. Os resultados dos efeitos químicos surgem através de um fenômeno chamado de cavitação. Uma onda acústica é constituída por ciclos alternados de compressão (pressão positiva) e expansão (pressão negativa) e é transmitida no meio na direção de propagação da própria onda (THOMPSON et al., 1999).

As ondas ultra-sônicas geram pressões acústicas temporais $P(t)$ em um dado ponto num meio elástico que é dada pela equação 3, e tem uma intensidade máxima I_{max} (equação 4). A intensidade obtida dependerá do coeficiente de atenuação do meio e da

distância da fonte de transmissão (d_T), de acordo com a equação 5 (THOMPSON et al., 1999).

$$P(t) = P_A \text{ sen}2\pi ft \quad \text{Equação 03}$$

$$I_{\text{máx}} = P_A^2 / 2\rho c \quad \text{Equação 04}$$

$$I = I_{\text{máx}} \exp(-2\alpha d_T) \quad \text{Equação 05}$$

$P(t)$ = pressões acústicas temporais
 P_A = pressão de amplitude máxima de onda
 α = coeficiente de atenuação do meio
 c = velocidade do som no meio
 ρ = densidade do meio

I = intensidade
 $I_{\text{máx}}$ = intensidade máxima
 d_T = distância da fonte de radiação
 f = frequência da onda
 t = tempo

O processo de expansão pode exceder às forças atrativas das moléculas dos líquidos, e dessa forma quebrar as forças de Van der Waals que mantêm sua coesão. Neste processo, pequenas cavidades ou micro bolhas preenchidas com gás provenientes do ar do meio ou de vapores são formadas (CRAVOTTO et al., 2006; CINTAS et al., 1999). A rápida formação, crescimento e o colapso da implosão dessas micro bolhas causam a liberação de uma grande quantidade de calor e pressão num curto período de tempo e em pontos localizados do líquido (figura 26). Este fenômeno é denominado de cavitação (CRAVOTTO et al., 2006; CINTAS et al., 1999).

Durante o colapso da implosão ocorrem intensos choques entre ondas que geram jatos de líquidos em alta velocidade. Em alguns casos geram emulsões quando o meio é homogêneo, ou são responsáveis por limpeza de materiais, caso o meio seja heterogêneo (PROZOROV et al., 2004; CINTAS et al., 1999).

Cavitação acústica

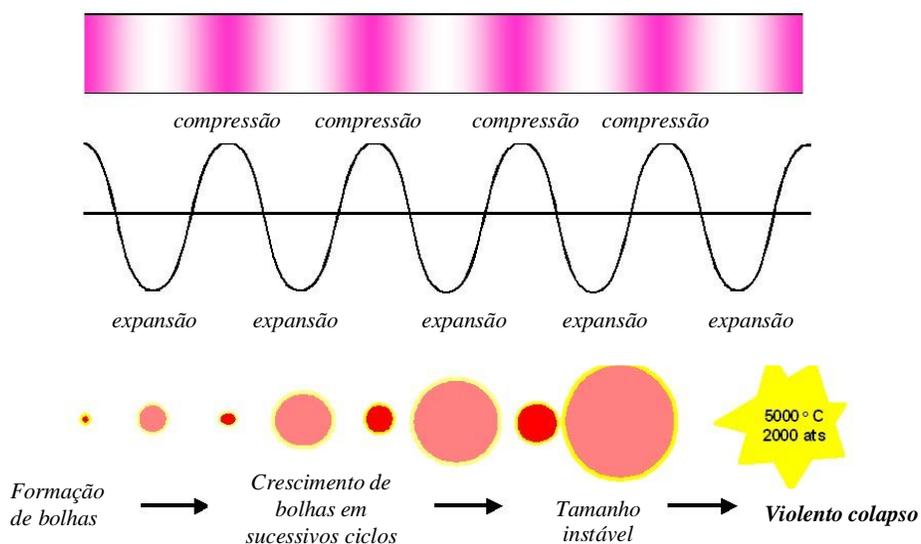


Figura 26. Cavitação acústica (<http://www.sonochemistry.info/Research.htm>, acessado em 13-02-2008)

1.5.2.2 Cavitação estável e transiente

Em geral, os sonoquímicos teóricos distinguem entre dois tipos de cavitação: a estável e a transiente. A cavitação estável acontece quando as micro bolhas contendo principalmente gás (ar), possuem seu tempo de vida mais longo que o ciclo do ultra-som. Convencionalmente, a cavitação transiente é um fenômeno de curta duração, a cavidade é rapidamente formada contendo principalmente vapores do líquido e vigorosos colapsos ocorrem depois de poucos ciclos (CRAVOTTO et al., 2006).

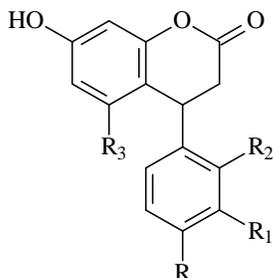
Muitos trabalhos teóricos têm apontado que a cavitação transiente é considerada responsável e a mais eficiente forma de produção de reações químicas. Contudo, em baixas intensidades de ultra-som, ondas estáveis devem ocorrer com maiores números de bolhas, e provavelmente estas devem ser responsáveis pela a maior parte das reações químicas (CRAVOTTO et al., 2006).

Conforme citado anteriormente, a síntese de 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas em algumas rotas, levaram de bons a excelentes rendimentos, e seu mecanismo de formação tem sido palco de interessantes discussões. Porém, de forma geral podemos dizer que os métodos de síntese das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas e pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas envolvem alto tempo reacional. Assim, diante desse fato, resolvemos investigar a possível contribuição do uso da irradiação de microondas e ultra-som como metodologias alternativas com o intuito de reduzir o tempo reacional, e aumentar os rendimentos de obtenção dos compostos, frente às importantes evidências do uso dessas energias descritas na literatura.

2 OBJETIVOS

Os principais objetivos deste trabalho são:

1. Sintetizar utilizando metodologias convencionais e alternativas, como microondas e ultra-som as 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (**101a-i**) e caracterizá-las através de espectroscopia de IV, RMN de ^1H , ^{13}C e CG-MS



101a R = OCH₃, R₁, R₂, R₃ = H

101b R = H, R₁ = OCH₃, R₂, R₃ = H

101c R, R₁ = H, R₂ = OCH₃, R₃ = H

101d R = OH, R₁, R₂, R₃ = H

101e R = OH, R₁ = OCH₃, R₂, R₃ = H

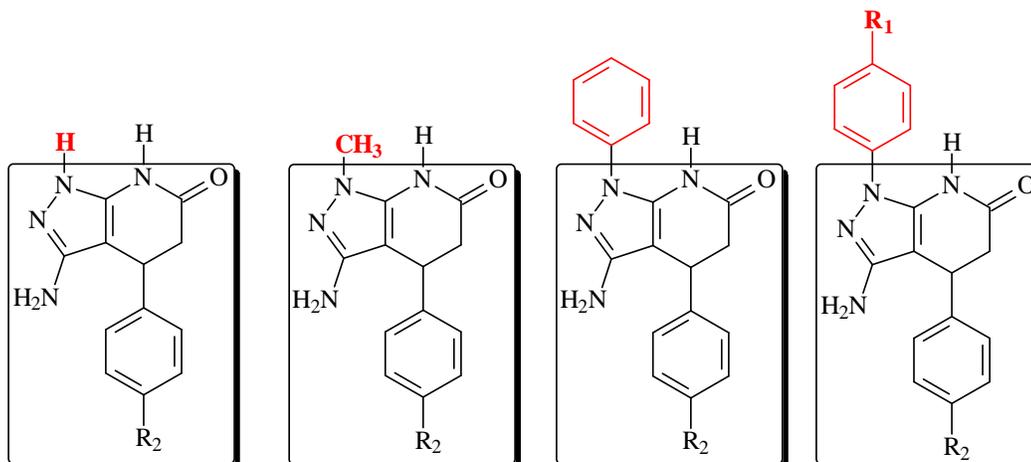
101f R = OCH₃, R₁, R₂ = H, R₃ = OH

101g R = H, R₁ = OCH₃, R₂ = H, R₃ = OH

101h R = OH, R₁, R₂ = H, R₃ = OH

101i R = OH, R₁ = OCH₃, R₂ = H, R₃ = OH

2. Sintetizar e caracterizar pelos os métodos acima citados, acrescentando análise de $^1\text{Hx}^1\text{H}$ NOESY para a confirmação das pirazolo[3,4-b]piridin-6-ona (**105a-l**).



105a R₂ = H

105b R₂ = OCH₃

105c R₂ = NO₂

105d R₂ = H

105e R₂ = OCH₃

105f R₂ = NO₂

105g R₂ = H

105h R₂ = OCH₃

105i R₂ = NO₂

105j R₂ = OCH₃; R₁ = OCH₃

105k R₂ = OCH₃; R₁ = Cl

105l R₂ = OCH₃; R₁ = F

3. Avaliar a ação leishmanicida dos compostos sintetizados frente a *Leishmania amazonensis*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Sínteses

Foram sintetizados 9 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (**101a-l**), sendo que os derivados **101b-c**, **101g** e **101i** é a primeira vez que são descritos na literatura.

3.1.1 Retroanálise para a obtenção das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (**101a-l**)

A rota sintética utilizada para a obtenção das diidrocurmarinas, envolveu reações de condensação de Döebner-Knoevenagel para a síntese dos ácidos cinâmicos substituídos, seguido de condensação que levou a ciclização, segundo a retroanálise indicada na figura 27.

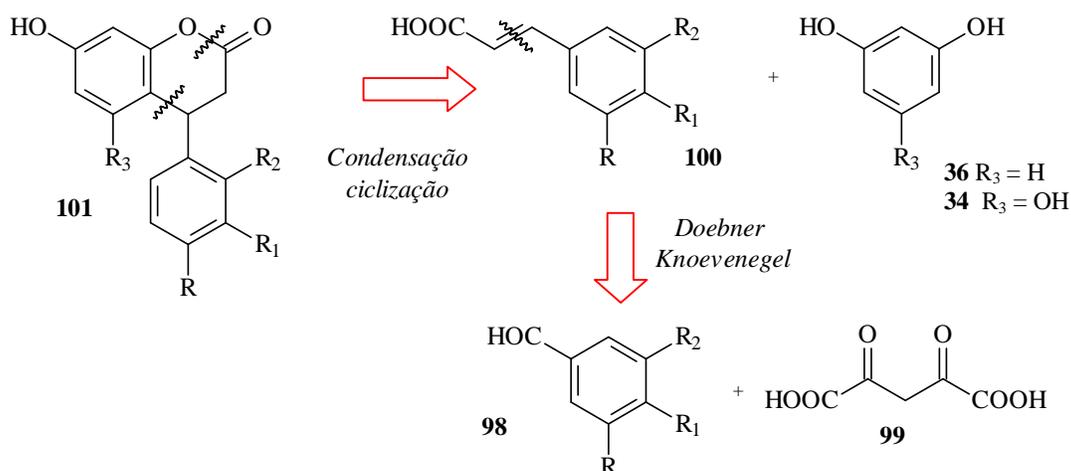


Figura 27. Retroanálise da síntese das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas

3.1.2 Síntese dos ácidos cinâmicos substituídos (**100a-h**)

Inicialmente foram preparados os (**100a-h**) através da condensação de aldeídos devidamente substituídos (**98a-h**) e ácido malônico (**99**) em presença de piridina e piperidina, de acordo com Santos et al. (2001), atuando como catalisador na abstração do hidrogênio α , via formação do enolato de ácido malônico, que posteriormente ataca a carbonila do aldeído, seguido de desidratação e descarboxilação, levando aos ácidos cinâmicos correspondentes (figura 28).

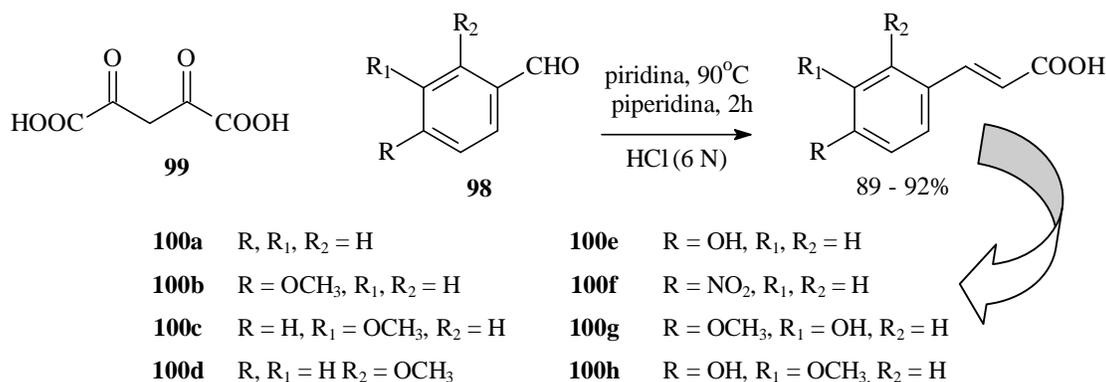


Figura 28. Síntese dos ácidos cinâmicos substituídos **10a-h**.

A reação de obtenção dos ácidos cinâmicos (ACS) (**101a-h**) através da condensação de Döebner-Knoevenagel levou à excelentes rendimentos, variando de 89 - 92% (tabela 01) de acordo com a literatura (SANTOS et al., 2001). Foi observado também, que nas reações realizadas sem a presença de piperidina obteve-se rendimentos similares, este fato indica que a piridina atua de forma eficiente como solvente e catalisador. Posteriormente, os ACS foram recristalizados em metanol. A figura 28' mostra a proposta de mecanismo na formação de ácidos cinâmicos.

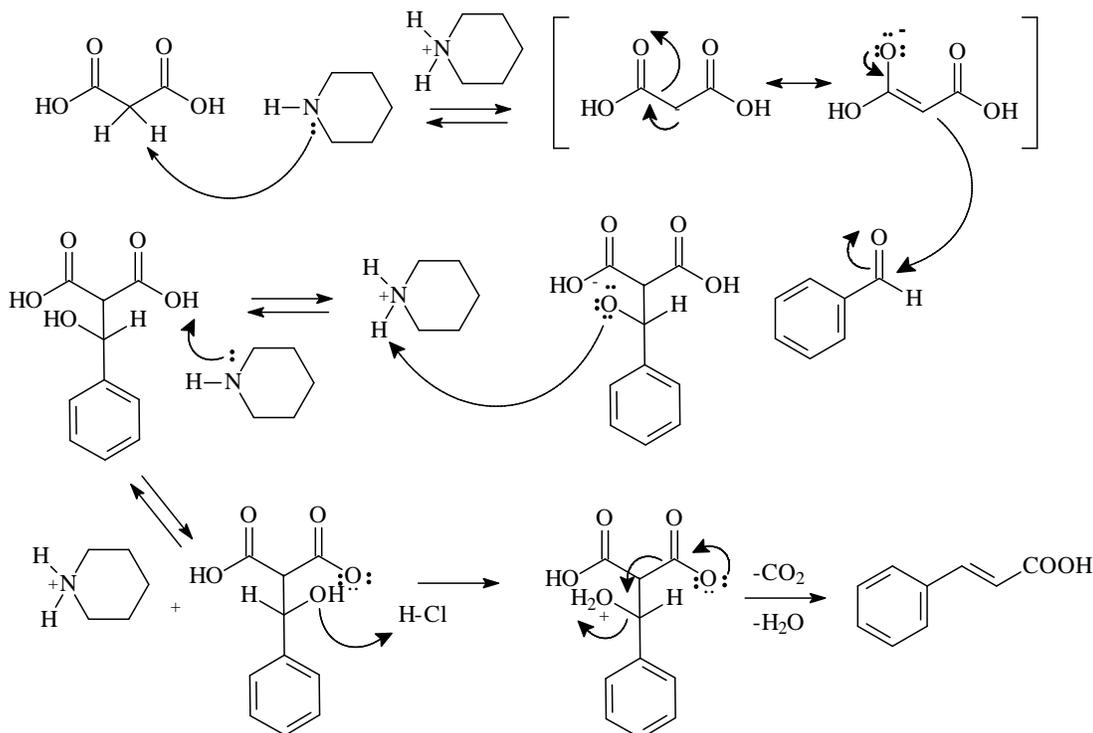


Figura 28'. Mecanismo proposto para a obtenção de ácidos cinâmicos

A pureza dos ACS foi verificada através de cromatografia em camada fina (CCF), eluidos contra os seus respectivos aldeídos (**98**) de partida, utilizando o sistema de eluição de acetato de etila e hexano (3:7).

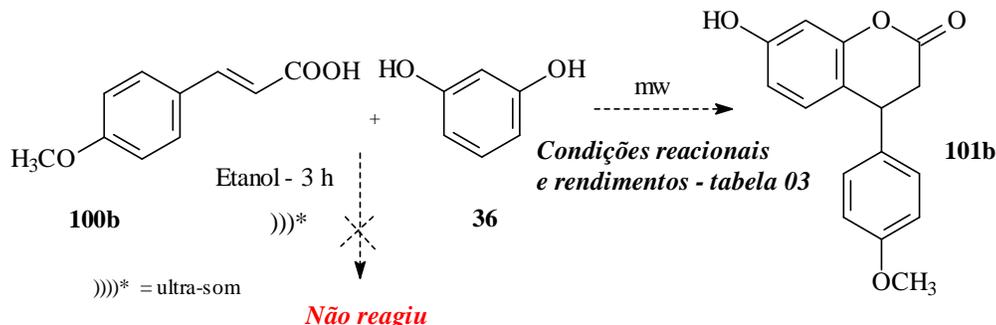
Tabela 01. Rendimentos dos derivados **100a – h**.

Derivado	Rendimento (%)	Derivado	Rendimento (%)
100a	86	100e	92
100b	80	100f	80
100c	90	100g	90
100d	*	100h	80

* composto comercial (Aldrich)

3.1.3 Síntese das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas **101a-l**

A fim de encontrar as melhores condições para a reação de condensação-ciclicização tendo como alvo a obtenção das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas, foram realizadas reações entre o composto **100b** e o resorcinol (**36**) utilizando diferentes catalisadores, concentrações e tempos de reação.



Foram utilizados um ácido de Lewis trivial, o ZnCl_2 , e um sofisticado, $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$, recentemente reportado pelo grupo do professor Elguero (DE LA HOZ et al., 2001) que alcançou bons rendimentos em ciclotrimerizações, levando a triazinas. A tabela 02 mostra os tempos de reação, rendimentos, concentrações e natureza do catalisador.

Esta reação foi realizada em diferentes tempos de exposição à irradiação de microondas, e com concentrações variáveis dos ácidos de Lewis. Além disso, a reação foi avaliada sem a presença de catalisador, constatando-se que a reação não ocorreu por observação de CCF, utilizando o sistema de eluição de acetato de etila e hexano (3:7).

O aumento da concentração do catalisador ZnCl_2 , demonstrou uma redução nos rendimentos (30-25%), já o aumento do tempo de irradiação não levou a qualquer mudança significativa. De fato, o aumento do tempo reacional para mais de 20 minutos, leva ao surgimento de uma resina, de cor preta, possivelmente um produto de polimerização. Estes dados nos indicaram que o ZnCl_2 , não seria um bom catalisador.

Tabela 02. Tempo de reação, concentração dos ácidos de Lewis e rendimentos para obtenção de **101b**.

Catalisador (% mol)	Tempo	Rendimentos (%)
-	10 min	n.o. ^a
ZnCl_2 ^b (40)	5 min	30
ZnCl_2 (60)	5 min	25
ZnCl_2 (40)	10 min	30
$(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$ (20)	5 min	70
$(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$ (40)	5 min	72
$(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$ (20)	7 min	75
$(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$ (20)	40h ^c	70

^anenhum produto observado; ^b ZnCl_2 foi seco em bico de bunsen; ^crefluxo com CHCl_3

A partir daí, focalizou-se a atenção no ácido de Lewis $(CF_3SO_3)_3Y$, inicialmente no tempo de reação de 5 minutos, observou-se um rendimento de 70%, constatando-se um aumento significativo em relação ao $ZnCl_2$. Já o aumento da concentração do catalisador não levou a alteração significativa (72%), porém, um aumento de mais 2 minutos no tempo de exposição à irradiação (total 7 minutos), resultou em uma leve melhora dos resultados obtidos (75%). No caso da reação estender-se para mais de 20 minutos, vários subprodutos foram observados (resina de cor preta, semelhante à obtida com $ZnCl_2$).

Assim, na seqüência das reações realizadas, o tempo de exposição às irradiações de microondas foi de 2 ou 3 minutos, acompanhados por 2 minutos de resfriamento entre as radiações. Esse método foi delineado para evitar o super aquecimento dos reagentes de acordo a literatura (SAGRAGERA et al., 2005), pois os fornos de microondas domésticos não permitem o controle de temperatura.

Tentou-se realizar também, a síntese das diidrocumarinas utilizando-se irradiação de ultra-som. Os reagentes foram solubilizados em etanol e levados ao banho de ultra-som por 3 horas com ou sem $(CF_3SO_3)_3Y$. Nenhuma alteração do meio reacional foi observada por cromatografia em camada fina nas duas condições.

Depois da escolha das melhores condições reacionais, foram sintetizadas 9 4-aryl-3,4-diidrocumarinas, sendo que 4 (**101b-c**, **101g** e **101i**) são inéditas na literatura, como descrito na figura 29.

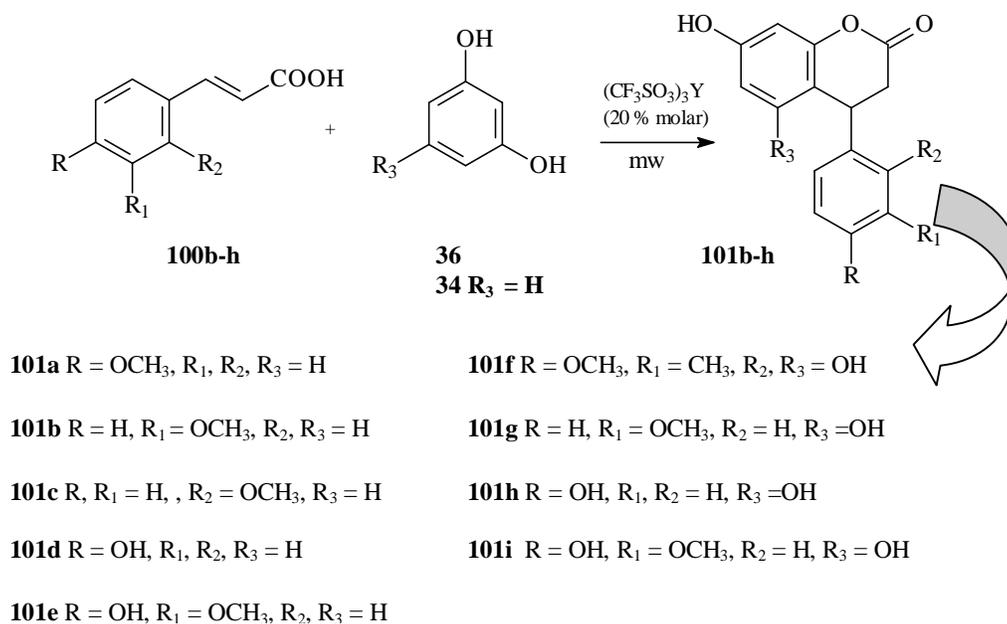


Figura 29. 4-Aril-3,4-diidrocumarinas sintetizadas **101a-i**.

A reação de condensação-ciclização, foi também realizada para a obtenção do **101a**, via metodologia tradicional, utilizando $(CF_3SO_3)_3Y$ (20%) e clorofórmio como solvente, devido a melhor solubilidade do ácido de Lewis. A reação finalizou com 40 horas de refluxo, levando a 70 % de rendimento. O **101d**, foi também obtido nessas condições levando a 68 % em 35 horas de reação. Apesar do longo tempo de reação, o produto foi formado, evidenciado que o $(CF_3SO_3)_3Y$, realmente catalisa as reações de condensação-ciclização.

Ao contrário do que esperávamos, a utilização do floroglucinol (**34**), com mais grupos doadores de elétrons que o resorcinol (**36**), apresentou baixa reatividade, uma

vez que levou 20 minutos para todas as condensações sob irradiação de microondas. Como indicado na tabela 03, os rendimentos alcançados através do uso de $(CF_3SO_3)_3Y$ como catalisador e sob irradiação de microondas foram bons (68-80%), com tempos notáveis (7-20 minutos), quando comparados aos obtidos pela metodologia tradicional (40h), e com os métodos da literatura, 1- 40h, Li et al. (2005).

Tabela 03. Tempos de reação e rendimentos obtidos para os compostos **101a-l**, sob catálise do $(CF_3SO_3)_3Y$ assistida por irradiação das microondas.

Compostos	Rendimento (%)	Tempo (minutos)	Compostos	Rendimento (%)	Tempo (minutos)
101a	75	7	101f	75	20
101b	70	15	101g	70	20
101c	65	15	101h	68	20
101d	67	7	101i	65	20
101e	68	15			

3.1.4 Mecanismo proposto para a formação das diidrocumarinas com base na atuação do $(CF_3SO_3)_3Y$ como catalisador

A figura 30, mostra o mecanismo sugerido com base na atuação catalítica do $(CF_3SO_3)_3Y$. A proposta consiste no ataque dos pares de elétrons do oxigênio da carbonila do ácido cinâmico ao Y do $(CF_3SO_3)_3Y$. Na seqüência ocorre a saída do grupo $CF_3SO_3^-$, tornando o C β mais eletrofílico (**I-I''**).

Posteriormente, ocorre uma adição eletrofílica aromática no resorcinol (**36**), que após a aromatização é formado o intermediário **II**. A seguir, propõe-se uma hidroarilação intramolecular, de acordo com a literatura Jia et al. (2001) e Li (2005), levando ao composto **101a**. Foi verificado que reações envolvendo ácidos cinâmicos com grupos retiradores de elétrons como o bromo, flúor e cloro ou sem substituinte (**100a**) não levaram à formação das 4-airl-3,4-diidrocumarinas correspondentes. Este dado vem a corroborar com a formação da estrutura (**I-I''**) do mecanismo proposto, pois este, como podemos observar na figura 30, é fortemente estabilizado por grupos doadores de elétrons.

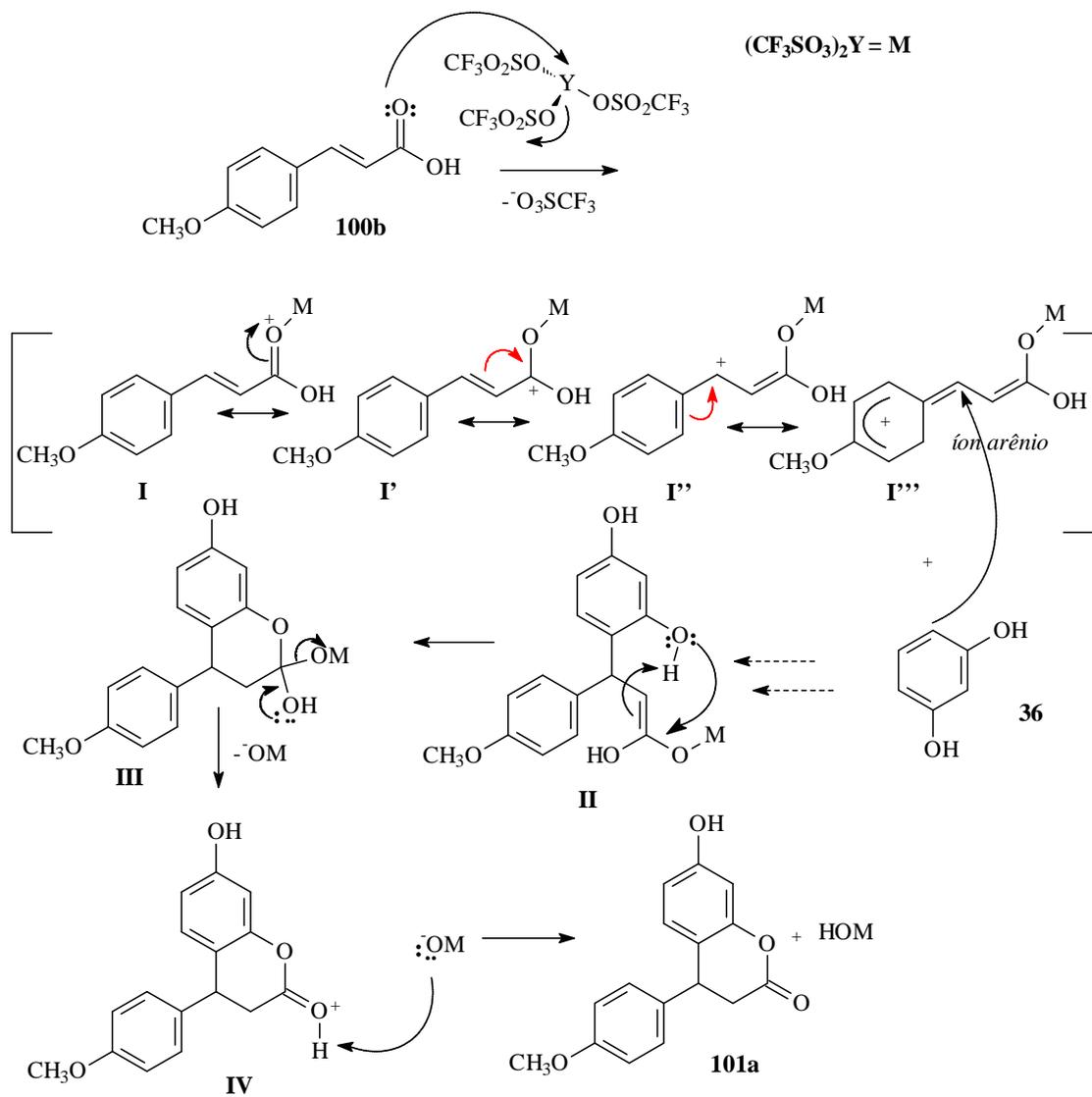


Figura 30. Proposta de mecanismo de hidroarilação intermolecular envolvendo $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$.

Depois de sintetizar a série das 4-aryl-3,4-diidro-cumarinas (**101a-l**), partiu-se para a preparação de 12 análogos heterocíclicos nitrogenados da série pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas **105a-n**, sendo que 9 compostos (**105d-m**) é a primeira vez que são descritos na literatura.

3.1.5 Retroanálise para a obtenção das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-n**)

Neste trabalho de tese, planejou-se a síntese dos heterocíclicos nitrogenados com base na metodologia descrita na literatura (MARTÍNEZ-TEIPEL et al., 2005) como indicado na figura 31.

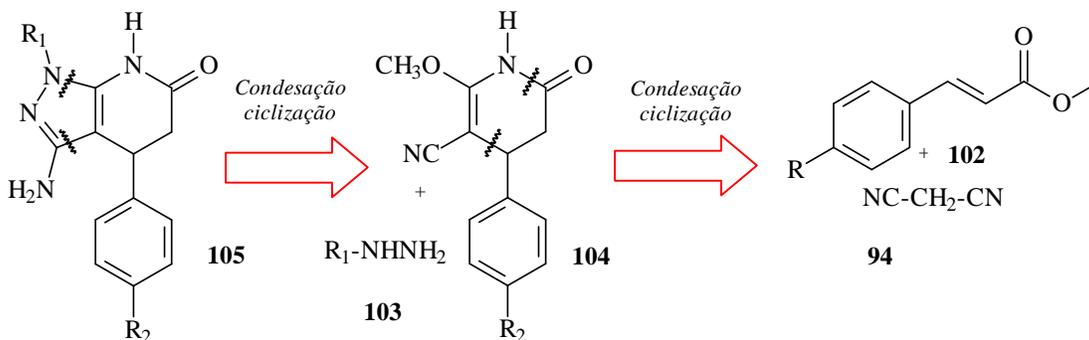


Figura 31. Retroanálise dos heterocíclicos da série pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-ona (**105a-n**).

3.1.6 Síntese dos ésteres cinâmicos **102a-c**

A síntese dos ésteres cinâmicos (**102**), foi realizada com os ACS já preparados anteriormente, metanol e H_2SO_4 em concentração catalítica. As reações foram realizadas com ótimos rendimentos, variando de 90-93% de acordo com a figura 32. A pureza foi verificada por CCF, onde os ésteres foram eluídos com os ACS correspondentes, usando um sistema de eluição de hexano e acetato de etila (6:4).

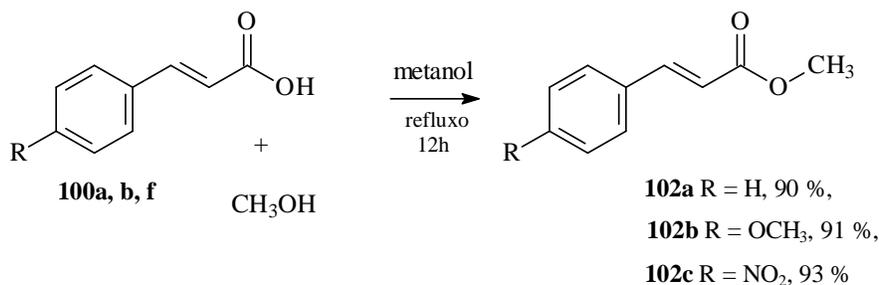


Figura 32. Síntese dos ésteres **102a-c**.

3.1.7 Síntese dos intermediários 2-metoxi-6-oxo-1,4,5,6-tetra-hidropiridino-3-carbonitrila (**103a-c**)

Iniciou-se a síntese dos intermediários (**103a-c**), a partir dos ésteres cinâmicos (**102a-c**) preparados na fase anterior e malononitrila em refluxo com NaOMe (em metanol 3,04 mol/L) (figura 20). Posteriormente, à mistura reacional (em banho de gelo) foi adicionado HCl (6 M) levando ao pH 8-9 (MARTINEZ-TEIPEL *et al*, 2005).

A reação exigiu um controle cuidadoso na adição de HCl, pois, abaixo de pH 8, pode haver decomposição dos produtos, provavelmente devido à perda da função lactama. Comparando-se os dados obtidos e os da literatura (MARTINEZ-TEIPEL *et al.*, 2005), os rendimentos foram mais baixos, 44 %, 25 % e 60 % para os intermediários R = H, R = NO₂ e R = OCH₃, respectivamente (figura 33).

A pureza foi verificada por CCF, sendo que os produtos foram eluídos em paralelo aos reagentes de partida, usando os sistemas de eluentes de hexano: acetato de etila (7:3 e 3:7).

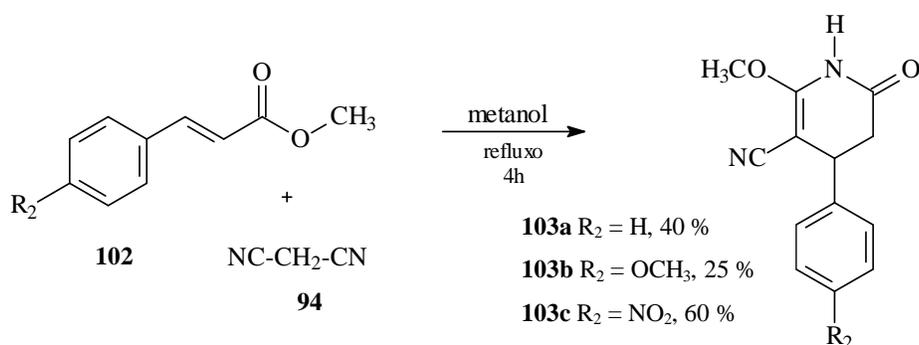


Figura 33. Síntese dos intermediários **104a-c**.

3.1.8 Síntese dos pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-n**)

A síntese dos derivados pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-n**) foi realizada por métodos convencionais e alternativos, utilizando a irradiação de microondas e ultra-som, a partir dos intermediários **103a-c** e hidrazinas devidamente substituídas (**104a-h**).

Inicialmente, foram sintetizadas as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas **105a-i** (figura 34) utilizando refluxo em metanol e hidrazinas (**104a-c**) substituídas levando a rendimentos de moderados a muitos bons, na faixa de 50-85%, entretanto, a utilização de irradiação de microondas doméstico levou a rendimentos moderados, entre 50 a 55%. Já o uso de irradiação ultra-som favoreceu de maneira geral a obtenção das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas rendimentos excelentes, variando entre 70-95%, com exceção dos produtos **105g-i** que não foram formados (tabela 04). Esta observação indicou que a metodologia é sensível à reatividade das hidrazinas.

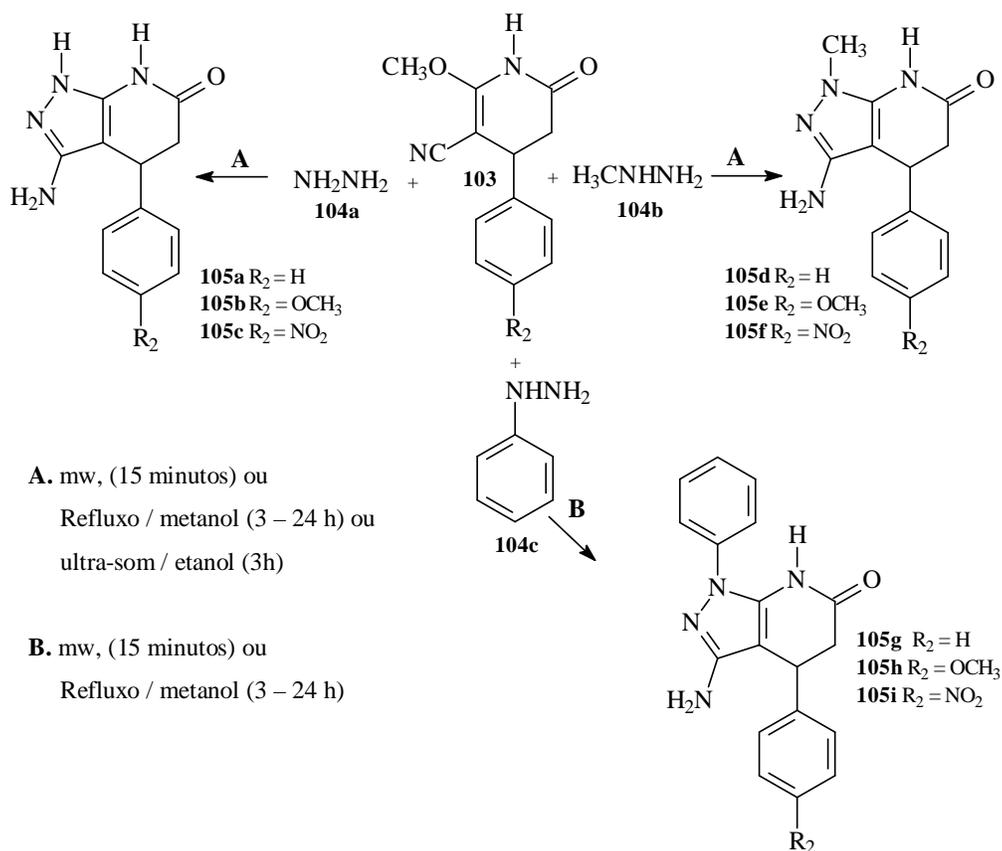


Figura 34. Síntese dos heterocíclicos **105a-i**.

Tabela 04. Rendimentos e tempos de reação para a obtenção dos compostos **106a-m** utilizando metodologia tradicional, microondas e ultra-som.

Compostos	Tradicional (%) / Tempo (min)	Microondas (%) / Tempo (min)	Ultra-som (%) / Tempo (min)
105a	50 / 240	55 / 15	95 / 180
105b	55 / 240	55 / 15	90 / 180
105c	55 / 240	65 / 15	80 / 180
105d	54 / 180	55 / 15	75 / 180
105e	85 / 180	50 / 15	70 / 180
105f	78 / 180	60 / 15	70 / 180
105g	60 / 24h	50 / 15	*
105h	50 / 24h	50 / 15	*
105i	60 / 24h	55 / 15	*
105k	30 / 24h	40 / 15	*
105l	40 / 24 h	60 / 15	*
105m	43 / 24h	55 / 15	*
105n	*	*	*
105o	*	*	*

* Não houve reação

A síntese das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas **105k-m** foi realizada apenas utilizando a metodologia tradicional e sob irradiação de microondas, pois o uso de ultrassom não levou à formação dos produtos. Esta observação indicou, mais uma vez, que essa metodologia é sensível a reatividade das hidrazinas.

A metodologia utilizando refluxo em metanol e cloridatos de hidrazinas devidamente substituídas (**104d-h**), com 87 % de excesso molar de NaOCH₃ (3,04 mol/L) levou a rendimentos baixos na faixa de 30-43%, e moderados, quando submetidos à irradiação de microondas, 40-60% (figura 35). Uma possível explicação para o ocorrido poderia está baseada na ineficácia da desprotonação das hidrazinas na forma de cloridratos.

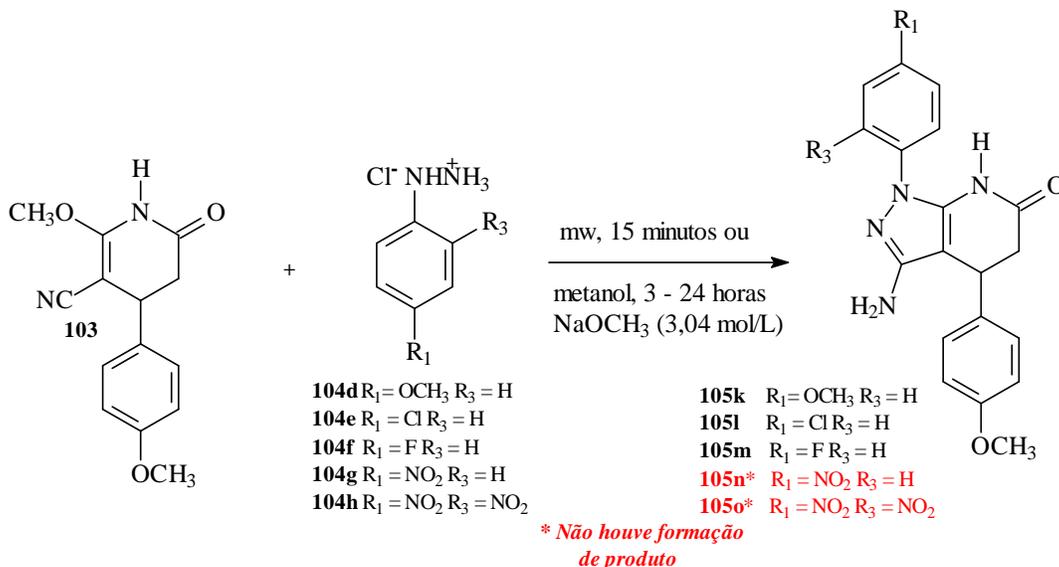


Figura 35. Síntese dos heterocíclicos **105k-m**.

A síntese das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas sob irradiação de microondas doméstico, foi realizada em meio sólido, necessitando da adição de gotas de etanol para homogenizar o meio reacional. Em seguida, a mistura foi submetida à irradiação ao forno de microondas. Através de ensaios realizados anteriormente, o melhor tempo foi de 15 minutos, realizando-se 5 irradiações de 3 minutos seguidos de dois minutos de intervalo como sugerido por Sagera et al. (2005).

Foi verificado na reação entre os compostos **103** e **104b**, que nos primeiro 3 minutos de irradiação, o produto começa a ser formado em pequena proporção (por volta de 10% de rendimento) observado por CG-MS. Irradiações superiores a 20 minutos, não alteram o rendimento da reação. Ao contrário da reação de formação das 4-*aryl*-3,4-dihydrocumarinas, onde ocorre o aparecimento de resina após 20 minutos de irradiação de microondas, para as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas esse fato não foi observado.

Os tempos de reação alcançados foram notáveis, 15 minutos. Esse tempo de reação resultou em 12 vezes menor que o melhor tempo alcançado pela metodologia convencional (refluxo de 3 horas) neste trabalho, assim, como nos relatos de Martínez-Teipel et al. (2005), podendo chegar até 376 vezes menor segundo Hoehn (1975) (tabela 05).

Tabela 05. Referências, tempos gastos para a obtenção de pirizolo[3,4-*b*]piridin-6-onas, coeficientes gerados pela divisão entre os tempos da literatura e os tempos de reação em microondas e ultra-som.

Referência	Tempo (horas)	^a Tempo da Referência: Tempo de microondas	^b Tempo da Referência: Tempo de ultra-som
Hoehn, (1975).	94	376	31
Eheler et al. (1977)	90	360	30
Quiroga et al. (1998)	0,50	2	^c -6
Drees et al. (2005)	6	24	2
Martinez-Teipel et al. (2005)	3	12	1
^d Tempo de irradiação mw, 2008	0,25	1	^c -12
^e Tempo de irradiação))) , 2008	3	12	1

^aTempos gasto da referência dividido pelo tempo de irradiação de microondas e ^bTempos gasto da referência dividido pelo tempo de irradiação do ultra-som. ^c- quantidade de vezes mais lento. ^dmetodologia utilizada: microondas, ^e metodologia utilizada: ultra-som,

A metodologia utilizando irradiação de ultra-som foi desenvolvida de maneira simples, assim como no caso da irradiação de microondas. Os reagentes foram dissolvidos em etanol e submetidos à irradiação em banho de ultra-som por 3 horas. Esse tempo foi estabelecido através do acompanhamento da reação em CCF no sistema de eluição hexano: acetato de etila (7:3).

As reações envolvendo a presença de hidrazinas aromáticas não levaram à formação do produto.

O tempo de irradiação de ultra-som foi semelhante ao melhor tempo utilizado na metodologia tradicional, 6 vezes maior de acordo com os dados de Quiroga et al. (1998) e 31 vezes menor segundo Hoehn (1975).

Todas as metodologias empregadas demonstraram-se ineficazes quando as hidrazinas continham um ou dois grupos nitro ligados ao anel aromático. O grupo nitro presente no anel aromático faz com que o par de elétrons do nitrogênio do grupo hidrazina, esteja em ressonância cruzada com o mesmo, diminuído fortemente sua reatividade frente a eletrófilos (figura 36).

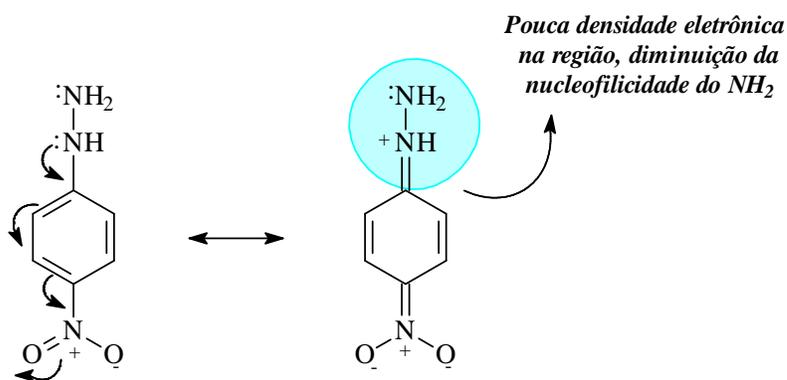


Figura 36. Estrutura de ressonância cruzada da *p*-nitro-fenil-hidrazina

3.1.9 Mecanismos propostos para a formação das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-n**)

Foram sugeridos dois mecanismos para reação de obtenção de pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas. A proposta **a** (figura 37) sugere ataque do nitrogênio-1 da hidrazina (**104c**) à nitrila gerando o intermediário **I**. A seguir, o par de elétrons do nitrogênio-2 ataca o carbono olefínico ligado a metoxila fornecendo o intermediário **II**. Na seqüência, há a liberação do grupo metoxi, que rapidamente capta o hidrogênio ligado ao nitrogênio do anel heterocíclico levando ao composto **105g**.

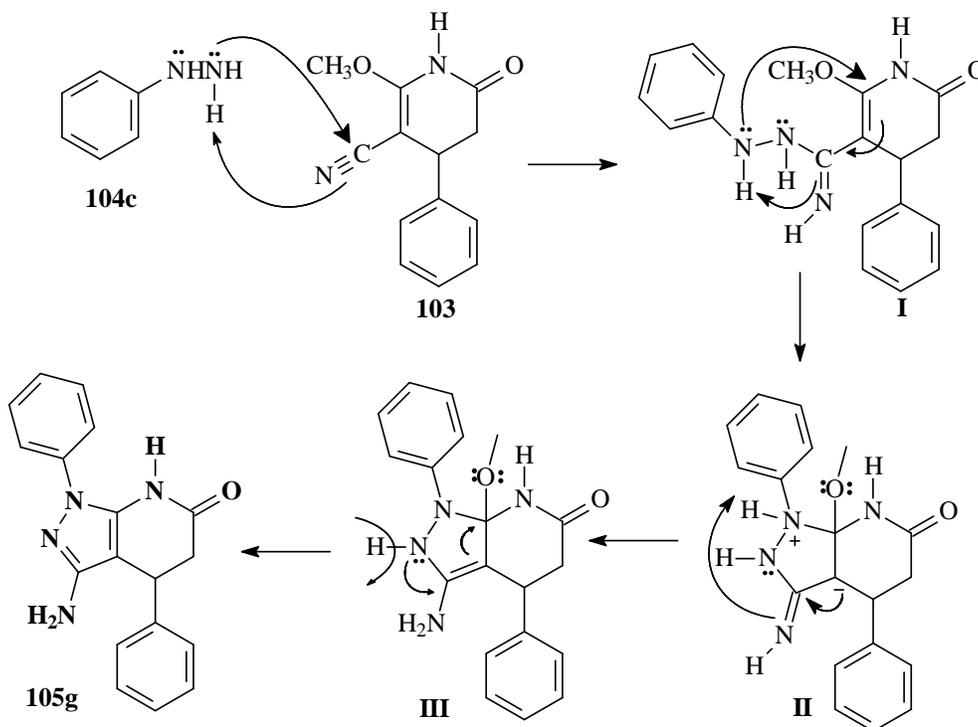


Figura 37. Proposta do mecanismo **a** para as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas

Outro mecanismo proposto utilizou a rota **b**, que consiste em um ataque do par de elétrons da hidrazina ao carbono olefínico ligado a metoxila inicialmente fornecendo o intermediário **I'**, que em seqüência cicliza mediante o ataque do par de elétrons do nitrogênio-2 da hidrazina levando ao intermediário **II'**. O composto **105g'** é então formado mediante a aromatização do anel heterocíclico pelo deslocamento do par de elétrons do nitrogênio da hidrazina e da saída de metanol (figura 38).

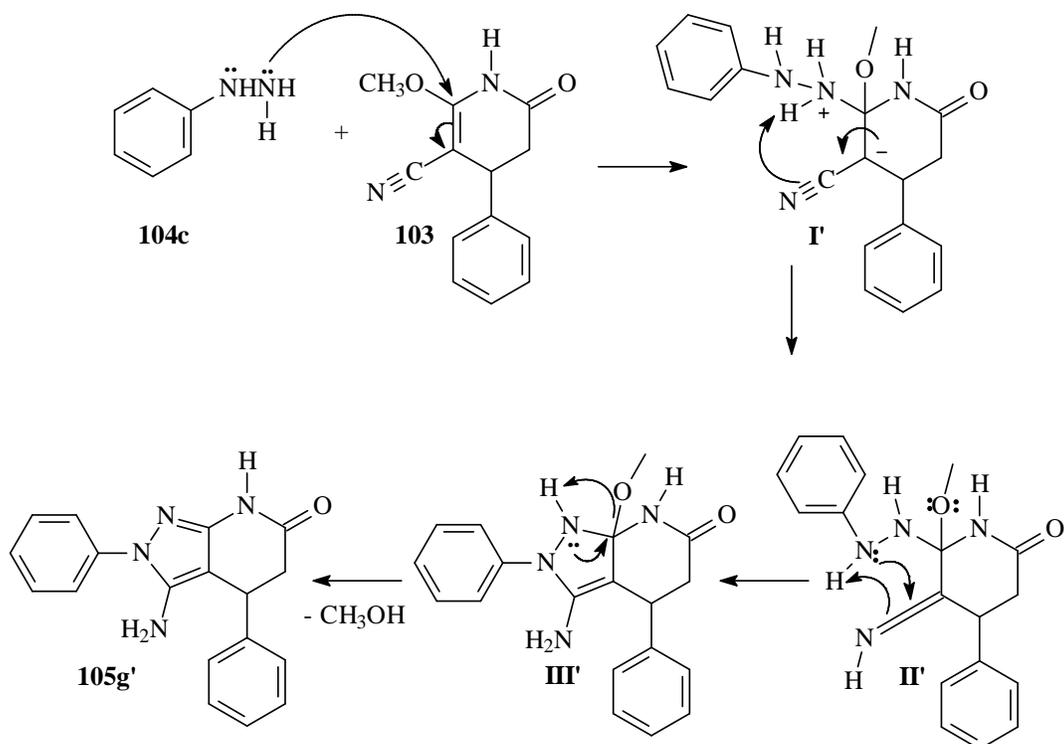


Figura 38. Proposta de mecanismo **b** para as pirazolo[3,4-b]piridinas

Estudos de NOESY demonstraram (figura 39) que ocorre uma interação espacial entre os núcleos dos hidrogênios *orto* aromáticos e os hidrogênios N-H da lactama, levando a sugerir que dentre as propostas apresentadas o mecanismo **a** é o mais provável (mais detalhes serão dados em caracterização espectrométrica).

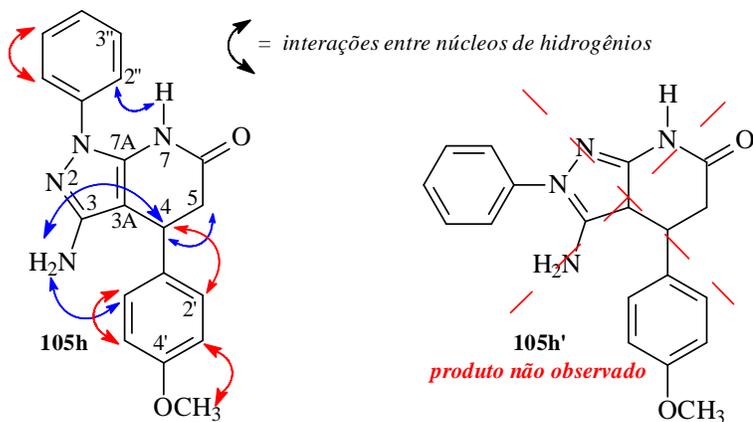


Figura 39. Estruturas dos compostos **105h** e **105h'** e algumas possíveis interações entre núcleo através de experimento do NOESY.

3.2 Caracterização Espectrométrica

3.2.1 Caracterização das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (**101a-i**)

3.2.1.1 Análise de infravermelho das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas (**101a-i**)

Os ácidos cinâmicos e os ésteres correspondentes foram caracterizados por ponto de fusão, comparando-se com a literatura (catálogo Aldrich, 2006; PETERSON et al., 1988; BERNANI et al., 2008), e suas purezas verificadas por CCF. A caracterização das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas foi realizada através da análise dos espectros de infravermelho, RMN de ^1H , ^{13}C e em comparação com dados da literatura quando disponíveis.

Através da análise dos espectros de infravermelho foi possível verificar de forma rápida a formação das 4-aryl-3,4-diidrocurmarinas pelo surgimento da absorção na faixa de 1730 a 1753 cm^{-1} característica da vibração de deformação axial de carbonilas de lactonas similares à literatura (1760 cm^{-1}) (TALAPATRA et al., 1986). Estes valores diferiram da vibração de deformação axial das carbonilas dos ácidos cinâmicos (reagentes de partida) que absorveram por volta de 1690 cm^{-1} (tabela 06).

Tabela 06. Valores de absorção (cm^{-1}) nos espectros de IV dos derivados **101a-i**.

4-Aril-3,4-Diidrocurmarinas									
Deformação	101a	101b	101c	101d	101e	101f	101g	101h	101i
ν O-H	3338	3379	3471	3378	3383	3382	3438	3341	3408
ν_{as} C-H (CH_3)	2964	-	2952	-	-	2981	-	2983	-
ν_{as} C-H (CH_2)	2927	2925	-	-	2923	2934	-	2929	2925
ν_{s} C-H (CH_2)	2838	2853	2837	2820	2846	2839	-	-	2851
ν C=O	1736	1766	1744	1742	1747	1747	1737	1730	1753
ν C=C*	1511	1492	1489	1512	1515	1512	1511	1513	1515
ν C=C*	1451	1460	1461	1457	1467	1463	1467	1461	1467
δ_{s} (CH_3)	1344	1334	-	-	1376	1337	-	1338	1379
ν_{as} O-C-O	1246	1245	1274	1236	1267	1247	1252	1245	1262
ν C-CO-O	1149	1139	1151	1150	1158	1138	1160	1183	1163
ν_{s} O-C-O	1029	1025	1030	1036	1033	1030	1031	1059	1033

ν = vibração de deformação axial, δ = vibração de deformação angular, as = assimétrica, s = simétrica *vibração do esqueleto aromático. **OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 54-58, respectivamente do volume II.**

Além disso, foi possível observar que todas as 4-*aryl*-3,4-diidroocumarinas apresentaram absorções provenientes de vibrações de deformações axiais de hidroxilas por volta de 3338 a 3471 cm^{-1} , e nas faixas de 1489 a 1515 cm^{-1} , 1451 a 1467 cm^{-1} , 1236 a 1274 cm^{-1} e 1029 a 1059 cm^{-1} , referentes às vibrações de deformações axiais das ligações: C=C do esqueleto aromático (as duas primeiras faixas), C-CO-O e O-C-C (as duas últimas), respectivamente.

3.2.1.2 Análise de RMN de ^1H das 4-*aryl*-3,4-diidroocumarinas (**101a-i**)

As atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios das diidroocumarinas foram realizadas em função das constantes de acoplamento (J), efeitos mesoméricos, e em comparação com os compostos já relatados anteriormente na literatura (BEZERRA et al., 1999).

Através dos espectros de RMN de hidrogênio foi possível verificar a aparição de sinais correspondentes aos deslocamentos químicos dos hidrogênios H-3a e H-3b na faixa de δ 2,78 a 3,11 acoplando entre si com um valor de constante de acoplamento de 14 a 16 Hz (2J germinal) e com H-4 em 6 Hz (3J). Os hidrogênios H-4 tiveram seus deslocamentos por volta de δ 4,21 a 4,32 acoplando-se com H-3a e H-3b $J = 6$ Hz, apresentando na maioria das vezes, um duplo duplete ou um tripleto. Estes sinais foram fundamentais na caracterização das diidroocumarinas, pois os ácidos cinâmicos (material de partida) não possuem grupos metínicos (CH) nem metilênicos (CH_2).

A atribuição dos deslocamentos químicos também levou em conta os efeitos mesoméricos oriundos das hidroxilas e metoxilas aos hidrogênios *orto* no anel A. Pôde-se observar que as absorções desses hidrogênios deslocaram-se para campo alto em relação aos hidrogênios aromáticos, principalmente quando tinham duas hidroxilas em posição *orto* (tabela 07 e 07').

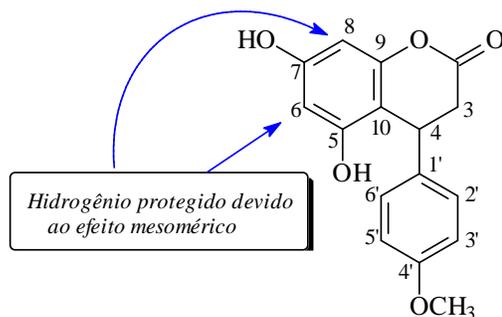


Tabela 07. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H (200 MHz) dos compostos **101a-e** (DMSO- d_6).

δ H (quantidade de hidrogênio, multiplicidade, constante de acoplamento (J))					
H	101a	101b	101c	101d*	101e*
3a	2,94 (1H; dd; 6; 16 Hz)	2,90 (1H; m; 6; 16 Hz)	2,80 (1H; dd; 6; 16 Hz)	2,96 (1H; dd; 6; 12 Hz)	2,90 (1H; dd; 6; 16 Hz)
3b	3,07 (1H; dd; 6; 16 Hz)	3,08 (1H; m; 6; 16 Hz)	3,03 (1H; dd; 6; 16 Hz)	2,96 (1H; dd; 6; 12 Hz)	3,01 (1H; d; 6 Hz)
4	4,30 (1H; t; 6 Hz)	4,29 (1H; d; 6 Hz)	4,43 (1H; t; 6 Hz)	4,21 (1H; d; 6 Hz)	4,23 (1H; t; 6 Hz)
5	6,90 (1H; d; 8 Hz)	7,02 (1H; t; 6; 8 Hz)	6,92 (1H; d; 8 Hz)	6,81 (1H; d; 6 Hz)	6,81 (1H; d; 6 Hz)
6	6,51 (1H; s)	6,49 (1H; s)	6,43 (1H; d; 6 Hz)	6,72 (1H; dd; 2; 8 Hz)	6,42 (1H; d; 8 Hz)
8	6,54 (1H; d; 2 Hz)	6,49 (1H; s)	6,09 (1H; d; 6 Hz)	6,25 (1H; dd; 6; 2Hz)	6,16 (1H; d; 6 Hz)
2'	7,05 (1H; d; 8 Hz)	6,86 (1H; d; 8 Hz)	-	6,95 (1H; d; 8 Hz)	6,52 (1H; s)
3'	6,83 (1H; d; 8 Hz)	-	6,67 (1H; s)	6,53 (1H; d; 8 Hz)	-
4'	-	6,86 (1H; d; 8 Hz)	7,15 (1H; t; 6; 8Hz)	-	-
5'	6,83 (1H; d; 8 Hz)	7,02 (1H; t; 6; 8 Hz)	6,76 (1H; d; 8 Hz)	6,53 (1H; d; 8 Hz)	6,55 (1H; dd; 2; 10 Hz)
6'	7,05 (1H; d; 8 Hz)	7,02 (1H; t; 6; 8 Hz)	6,76 (1H; d; 8 Hz)	6,95 (1H; d; 8 Hz)	6,68 (1H; d; 8 Hz)
OCH ₃	3,71 (3H; s)	3,68 (3H; s)	3,69 (3H; s)	-	3,70 (3H; s)
O-H	9,75	9,74	9,69 – 9,09	-	9,73-9,15-8,93

* Espectros obtidos em metanol- d_4 . OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 01-05, respectivamente do volume II.

Tabela 07'. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H (200 MHz) dos compostos **101f-i** (DMSO- d_6).

δ H (quantidade de hidrogênio, multiplicidade, constante de acoplamento (J))				
H	101f	101g	101h	101i
3a	2,78 (1H; dd; 6; 14 Hz)	2,71 (1H; d; 16 Hz)	2,76 (1H; d; 16 Hz)	2,80 (1H; dd; 8; 16 Hz)
3b	3,14 (1H; dd; 6; 16 Hz)	3,08 (1H; dd; 6; 16 Hz)	3,12 (1H; dd; 6; 16 Hz)	3,11 (1H; dd; 8; 16 Hz)
4	4,37 (1H; d; 6 Hz)	4,31 (1H; dd; 6; 16 Hz)	4,31 (1H; d; 6 Hz)	4,32 (1H; d; 6 Hz)
6	6,01 (1H; s)	5,94 (1H; s)	6,00 (1H; s)	6,00 (1H; s)
8	6,16 (1H; s)	6,09 (1H; s)	6,15 (1H; s)	6,15 (1H; s)
2'	6,97 (1H; d; 8 Hz)	6,76 (1H, d, 8 Hz)	6,84 (1H; d; 8 Hz)	6,74 (1H; s)
3'	6,82 (1H; d; 8 Hz)	-	6,63 (1H; d; 8 Hz)	-
4'	-	6,76 (1H; d; 8 Hz)	-	-
5'	6,82 (1H; d; 8 Hz)	6,90 (1H, d, 8 Hz)	6,63 (1H; d; 8 Hz)	6,29 (1H; d; 8 Hz)
6'	6,97 (1H; d; 8 Hz)	6,90 (1H; d; 8 Hz)	6,84 (1H; d; 8 Hz)	6,61 (1H; d; 8 Hz)
OCH ₃	3,68	3,62	-	3,68
O-H	9,74 – 9,56	9,71-9,52-8,91	9,71 – 9,54 – 9,27	9,74-9,56-8,96, 8,85

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 06-09, respectivamente do volume II.

3.2.1.3 Análise de RMN de ^{13}C das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas (**101a-i**)

A análise dos dados de RMN de ^{13}C foi fundamental para a caracterização das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas. Os espectros apresentaram sinais nas faixas de δ 33,01 a 41,70 e δ 36,89 a 40,96, característicos de carbonos metilênicos (C-3) e metínicos (C-4).

Os deslocamentos químicos das carbonilas variaram na faixa de δ 167,90 a 175,37, não deixando dúvida que se tratavam de carbonilas de lactonas e não de cetonas, como por exemplo a flavonona, (δ 190 a 185), conforme mostrado na figura 40.

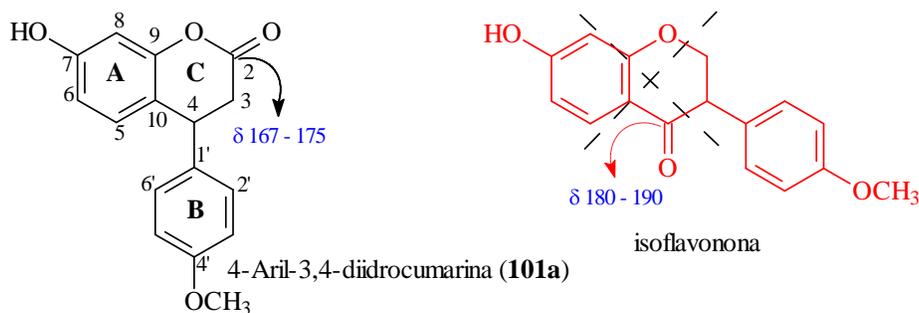


Figura 40. Estruturas da 4-aryl-3,4-diidrocumarina (**101a**) e de uma flavonona.

Os assinalamentos dos deslocamentos químicos dos carbonos, assim como os dos hidrogênios foram realizados em função dos efeitos mesoméricos, considerando os carbonos menos ou mais blindados, e em comparação com os dados da literatura (BEZERRA et al., 1997). Os carbonos C-8 (δ 98,79-111,67) juntamente com os C-6 (δ 94,06-107,68) e C-10 (δ 94,75-112,84) para os compostos **101d**, **101f-i** tiveram seus deslocamentos químicos em campo alto devido aos efeitos mesoméricos oriundos das hidroxilas e do oxigênio O-1.

Os dados da literatura mostram que o carbono C-8 possui deslocamento na faixa de δ 102,04 a 112,40, C-6 δ 110,17 e C-10 δ 109,60 (BEZERRA et al., 1997), estes dados estão razoavelmente de acordo com os observados nos compostos sintetizados neste trabalho. Também foi possível observar que os sinais dos carbonos C-2, C-3 e C-4 dos compostos **101d** e **101e** apresentaram-se em campo mais baixo do que os demais compostos em virtude da troca de solvente de DMSO- d_6 para metanol- d_4 .

A tabela 08 mostra a atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos nos espectros de RMN de ^{13}C para as diidroumarinas (**101a-i**).

Tabela 08. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) dos compostos **101a-i**

$\delta \text{ C}$									
C	101a	101b	101c	101d	101e	101f	101g	101h	101i
2	167,90	167,84	167,84	170,33	175,37	168,08	168,05	168,17	168,05
3	37,95	37,92	35,13	38,57	41,27	33,01	32,98	33,01	36,95
4	36,89	36,89	34,22	40,30	40,96	37,38	37,35	37,50	38,38
5	128,99	128,96	128,66	130,15	129,82	158,80	157,86	156,13	157,53
6	111,70	111,64	111,92	107,68	112,84	94,06	94,12	94,75	103,27
7	157,62	157,56	156,59	157,66	157,99	155,43	158,95	157,83	158,50
8	103,36	103,30	103,27	104,53	103,92	103,52	98,79	103,70	111,67
9	151,98	151,95	152,46	153,71	157,02	153,01	152,98	153,01	151,95
10	116,59	116,56	115,01	112,84	120,39	98,82	94,75	98,79	106,27
1'	133,66	133,66	129,87	130,85	138,73	134,36	134,33	132,60	132,57
2'	128,35	114,16	158,56	129,54	117,02	127,78	107,73	127,72	116,80
3'	114,16	158,22	111,34	116,60	147,47	114,07	155,37	115,37	145,58
4'	-	104,19	129,32	159,02	147,04	157,92	114,10	155,37	147,79
5'	114,16	128,35	120,65	115,81	115,05	114,07	127,72	115,37	115,50
6'	128,35	128,35	127,72	129,54	123,18	127,78	-	127,72	119,41
OCH ₃	55,03	55,03	55,30	-	56,73	55,09	55,09	-	55,63

* Espectros foram obtidos em DMSO-d₆ com exceção dos compostos **101d** e **101e** obtidos em metanol-d₄. **OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 25-33, respectivamente do volume II.**

3.2.1.4 Análise de espectros de massas das 4-aryl-3,4-dihydrocoumarinas (**101a-i**)

Os espectros de massas revelaram o íon molecular de cada 4-aryl-3,4-dihydrocoumarina (**101a-i**), sendo que, os mesmos o apresentaram como pico base. A tabela 09 apresenta as massas e as abundâncias relativas para os principais fragmentos detectados.

As figuras 41, 42 e 43 apresentam as propostas mecanísticas sugeridas para a fragmentação. Pôde-se observar saídas de moléculas neutras como H₂O, CO, CO₂, fenol e metano.

Os rearranjos propostos foram triviais entre os átomos 1-4 (1-3 entre ligações), 1-6 (1-5 entre ligações), MacLafferty e retro Diels-Alder. Verificou-se, também, que os fragmentos m/z 242, 227 e o 197 são estáveis devido a sua alta porcentagem para os compostos mono metoxilados no anel B (**101a-c**). Além disso, constatou-se a presença do fragmento m/z 51 na maioria dos espectros de massas, fragmento típico de compostos que contém anéis aromáticos.

Tabela 09. Principais fragmentos obtidos nos espectros de massas de **101a-i**.

Compostos	m/z (%)							
101a	270 (100)	242 (25)	227 (40)	197 (47)	162 (15)	91 (5)	63 (8)	51 (7)
101b	270 (100)	242 (25)	227 (50)	197 (35)	184 (10)	77 (8)	63 (5)	51 (4)
101c	270 (100)	242 (15)	227 (15)	197 (65)	181 (7)	77 (15)	63 (7)	51 (12)
101d	256 (100)	228 (25)	197 (17)	163 (10)	-	91 (6)	77 (10)	63 (8)
101e	286 (100)	253 (35)	243 (25)	227 (27)	176 (20)	91 (5)	77 (7)	63 (5)
101f	286 (100)	243 (50)	178 (15)	-	-	91 (3)	-	-
101g	272 (100)	257 (10)	229 (95)	179 (65)	-	-	69 (15)	51 (5)
101h	272 (100)	257 (15)	244 (17)	229 (95)	-	-	69 (13)	51 (7)
101i	302 (100)	284 (3)	259 (28)	179 (25)	-	-	69 (10)	51 (7)

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 66-70, respectivamente do volume II.

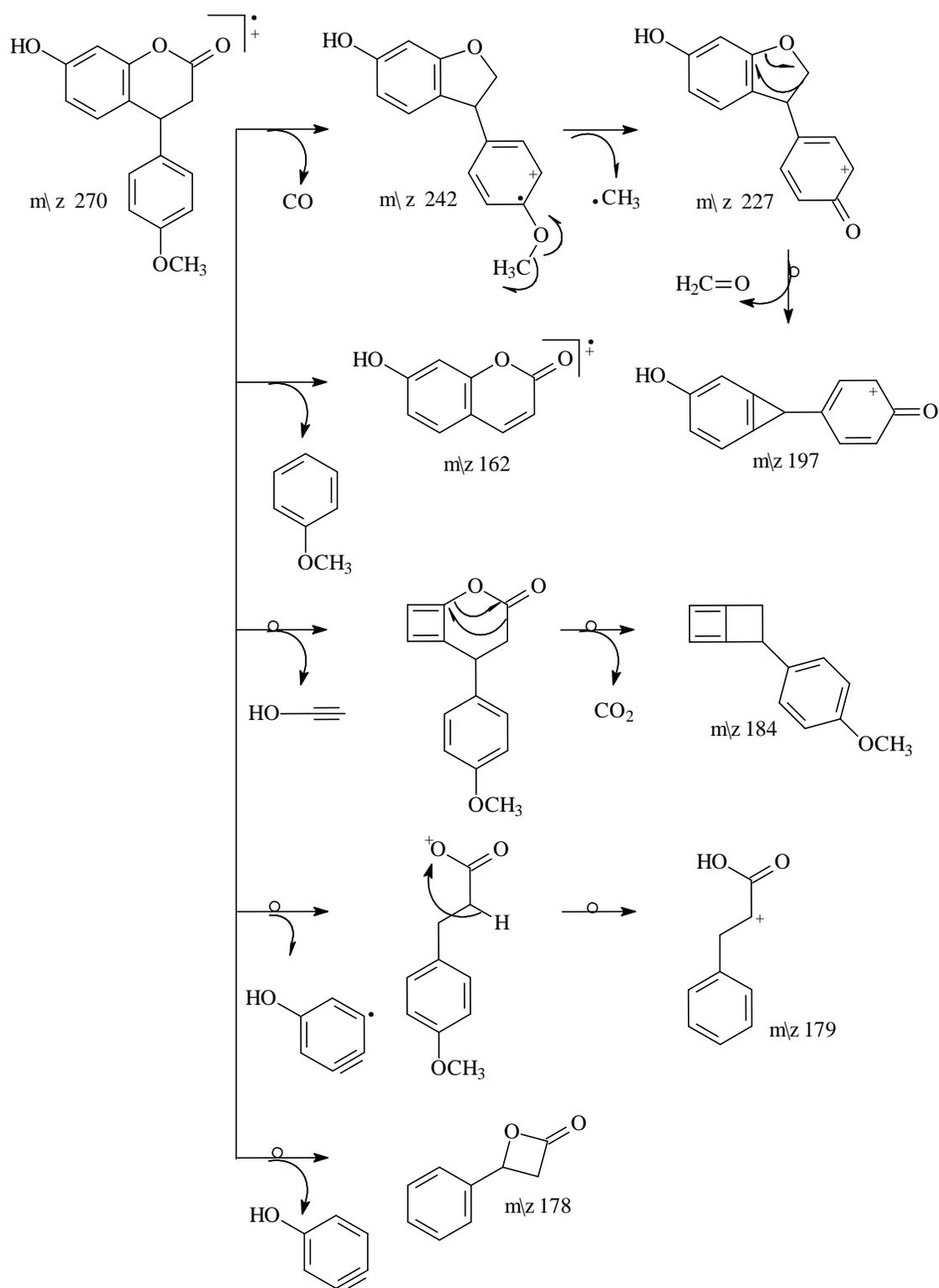


Figura 41. Proposta de mecanismo de fragmentação da 4-*aril*-3,4-diidrocumarina **101a**.

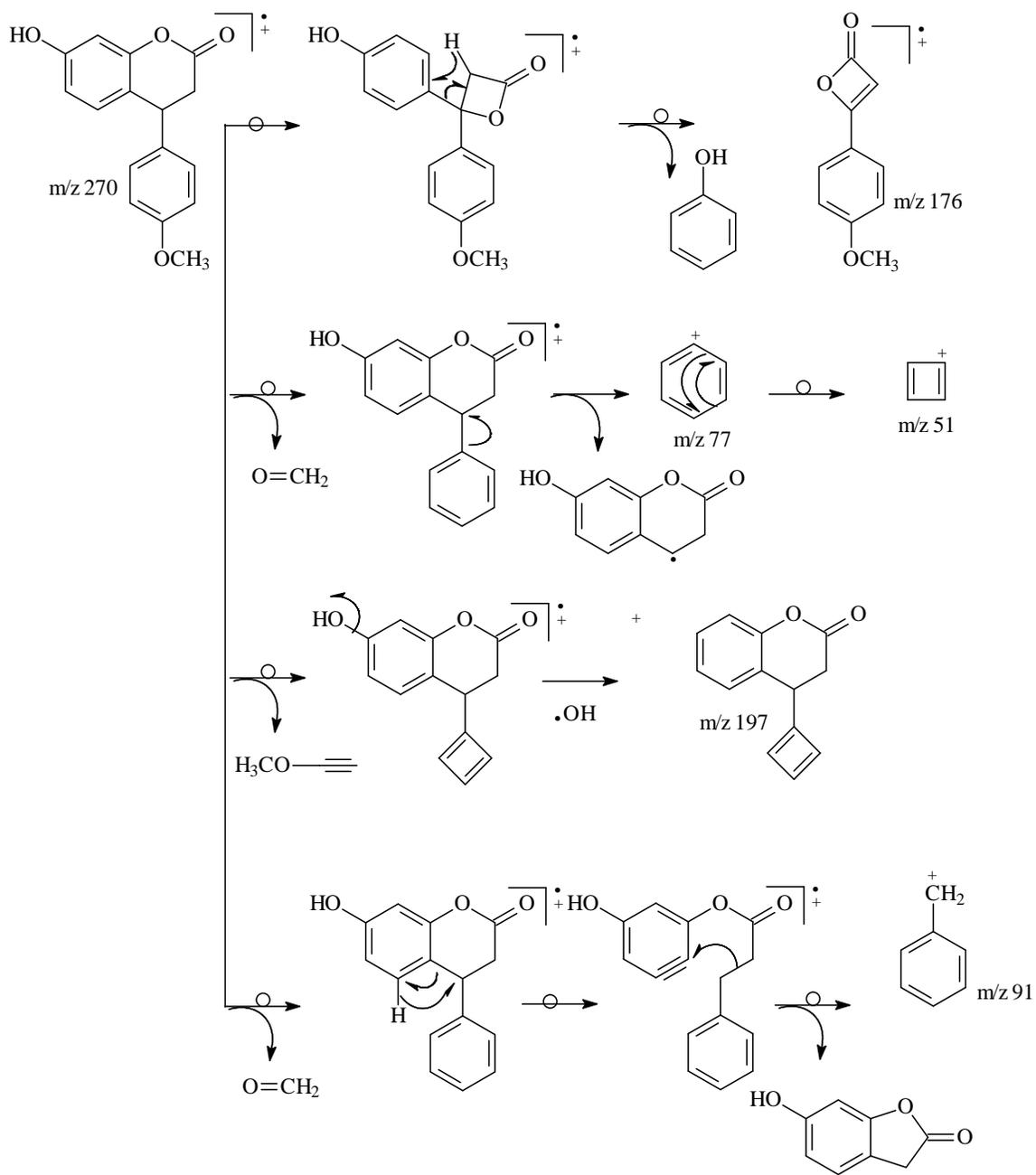


Figura 42. Proposta de mecanismo de fragmentação da 4-aryl-3,4-diidrocumarina **101a**.

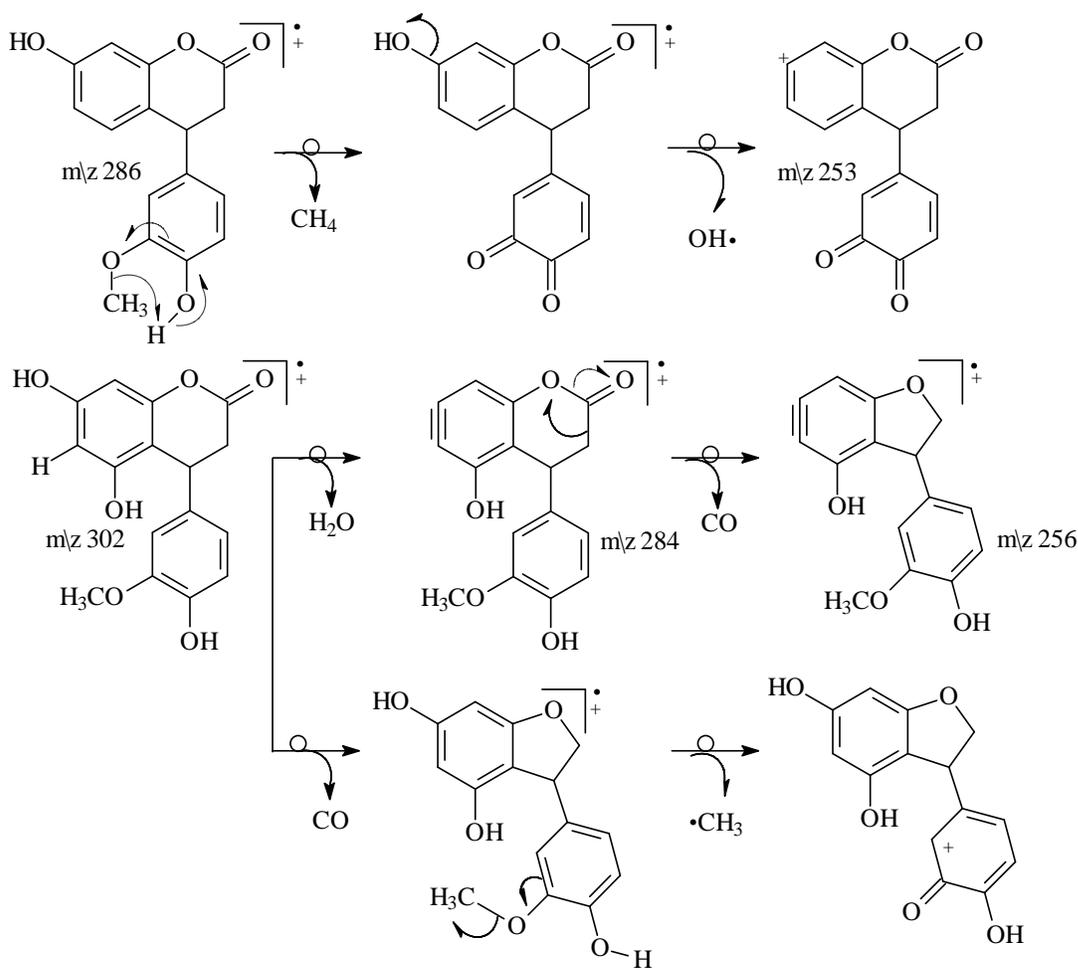


Figura 43. Propostas de mecanismos de fragmentações das 4-aryl-3,4-diidrocumarinas **101e** e **101i**.

3.2.2 Caracterização Espectroscópica dos Intermediários **103a-c**

3.2.2.1 Análise de infravermelho dos intermediários **103a-c**

A análise dos espectros de IV foi extremamente útil, pois os mesmos demonstraram absorções por volta de 2200 cm^{-1} , características de vibrações de deformações axiais do grupamento nitrila. As deformações axiais de outros grupamentos presentes, como por exemplo: N-H na faixa de 3194 a 3208 cm^{-1} , C=O entre 1691 a 1697 cm^{-1} , C=C do esqueleto aromático variando de 1471 a 1523 cm^{-1} e C=C de olefinas por volta de 1626 a 1627 cm^{-1} , também possibilitaram a caracterização dos intermediários **103a-c**.

3.2.2.2 Análise de RMN de ^1H dos intermediários **103a-c**

As atribuições dos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de hidrogênio dos compostos **103a-c** foram realizadas em função das constantes de acoplamentos (J), efeitos mesoméricos, e em comparação com os dados da literatura da mesma forma que para as 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas.

Os hidrogênios H-4 absorveram em campo baixo, na faixa de δ 3,80 a 4,15, pois estão ligados a um grupo fenila e a um carbono quaternário, além disso, acoplam-se com o hidrogênio H-5 (3J) surgindo um triplete ou um duplo duplete (tabela 09).

Os hidrogênios H-5a e os H-5b acoplam-se entre si (2J , germinal) com $J = 12$ a 16 Hz e com o H-4 (3J) com $J = 6$ Hz. O deslocamento químico dos hidrogênios da metoxila ligada ao carbono C-2 apresentaram-se em campo baixo por volta de δ 3,93 a 3,99. A tabela 10, mostra os dados de RMN de ^1H para os compostos **103a-c**.

3.2.2.3 Análise de RMN de ^{13}C dos intermediários **103a-c**

Através dos espectros de RMN de ^{13}C observou-se alguns carbonos mais desblindados, ou seja, em campo baixo, C-2, C-3 e C-6 correspondentes aos carbonos quaternários ligados ao grupo nitrila, a metoxila e ao carbono carbonílico da lactama, respectivamente.

Foi possível também, observar deslocamentos químicos por volta de δ 66, característicos dos carbonos C-3, sendo que estes deslocamentos estão de acordo com os dados de Martinez-Teipel et al. (2005). Assim como na análise dos espectros de RMN de hidrogênio, os carbonos das metoxilas absorveram em campo baixo na faixa de δ 58,84 a 58,91 (tabela 10).

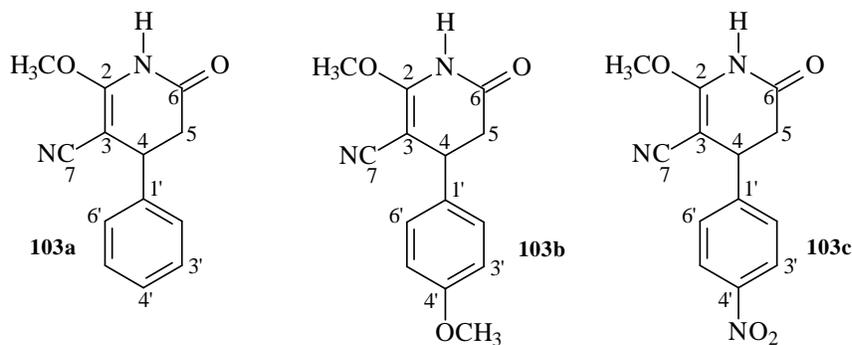


Tabela 10. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) e ^1H (200 MHz) dos compostos **103a-c** (DMSO- d_6).

	103a		103b		103c	
	$\delta\text{ C}$	$\delta\text{ H}$	$\delta\text{ C}$	$\delta\text{ H}$	$\delta\text{ C}$	$\delta\text{ H}$
2	160,68	-	160,55	-	161,17	-
3	67,98	-	68,36	-	66,70	-
4	36,68	3,89 (1H; dd; 6; 12 Hz)*	35,97	3,80 (1H; t; 6 Hz)	36,47	4,15 (1H; t; 6; 14 Hz)
5a	38,38	2,56 (1H; dd; 6; 16 Hz)	38,61	2,49 (1H; dd; 6; 16 Hz)	37,77	2,60 (1H; dd; 6 Hz)
5b	38,38	2,94 (1H; dd; 6; 12 Hz)	38,61	2,87 (1H; dd; 6; 16 Hz)	37,77	3,00 (1H; dd; 6; 16 Hz)
6	169,84	-	169,95	-	169,38	-
7	118,44	-	118,52	-	118,13	-
1'	141,15	-	132,95	-	146,88	-
2'; 6'	126,81	7,23 (2H; dd; 2; 6; 10 Hz)	127,92	7,13 (2H; d; 8 Hz)	128,41	7,56 (2H; d; 8 Hz)
3'; 5'	128,93	7,30 (2H; dd; 2; 6 Hz)	114,24	6,89 (2H; d; 8 Hz)	124,38	8,25 (2H; d; 8 Hz)
4'	127,41	7,37 (2H; dd; 2; 10 Hz)	158,52	-	148,88	-
1-OCH3	58,91	3,95 (3H; s)	58,84	3,93 (3H; s)	58,91	3,99 (3H; s)
4'- OCH3	-	-	55,11	3,71 (3H; S)	-	-
7-N-H	-	10,76	-	-	-	10,91

*quantidade de hidrogênio, multiplicidade, constante de acoplamento em Hz (*J*). OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 34, 10, 35, 11, 36 e 12 respectivamente do volume II.

3.2.2.4 Análise dos espectros de massas dos intermediários **103a-c**

Pôde-se observar que todos os espectros de massas dos intermediários **103a-c** apresentaram como pico base o íon molecular. Além disso, todos demonstraram a perda do fragmento M-31 e M-43 correspondentes à perda da metoxila (OCH_3) e do grupamento ($\text{HN}-\text{C}=\text{O}$), respectivamente (figura 44).

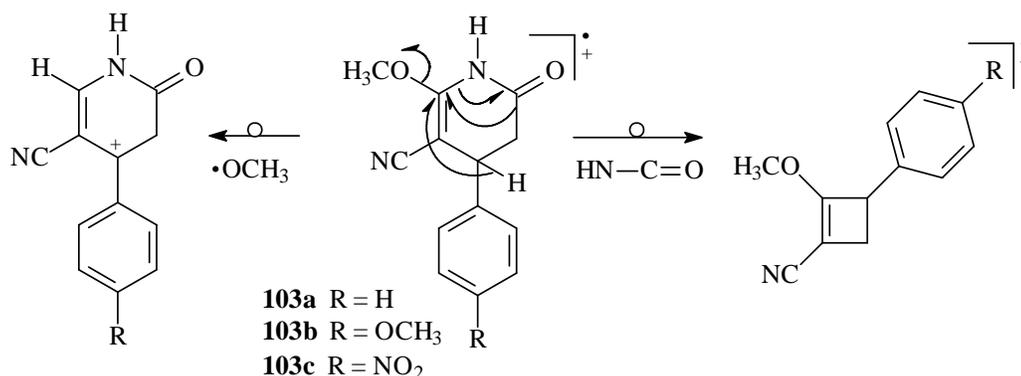


Figura 44. Fragmentos observados nos espectros de massas dos intermediários **103a-c**.

3.2.3 Caracterização das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**)

3.2.3.1 Análise de infravermelho das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**)

A caracterização das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas foi realizada através da análise dos espectros de infravermelho, RMN de ^1H , $^1\text{Hx}^1\text{H}$ COSY e ^{13}C .

Os espectros de IV das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**) assim como na caracterização das 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas, foram de alta relevância, pois a ausência das bandas de absorção por volta de 2200 cm^{-1} , características de grupamento nitrila, indicaram a formação dos produtos. Foram observadas absorções na faixa de 3237 a 3403 cm^{-1} provenientes da vibração de deformação axial da ligação N-H, sendo que apresentaram-se sob suas formas típicas de bandas finas (tabela 11 e 11').

Tabela 11. Valores de absorção (cm^{-1}) dos espectros de IV dos derivados **105a-f**.

Compostos						
Deformações	105a	105b	105c	105d	105e	105f
ν N-H	3345	3357	3403	3347	3237	3365
ν_{as} C-H (CH_3)	-	2971	2983	2971	2977	2971
ν_s C-H (CH_3)	2879	2881	-	-	-	2883
ν_{as} C-H (CH_2)	2927	-	2929	2929	2929	-
ν_s C-H (CH_2)	2838	2840	2840	2827	2838	-
ν C=O	1656	1666	1658	1666	1675	1673
ν C=C*	1614	1612	1631	1612	1612	1604
ν C=C*	1492	1517	1513	1492	1511	1517
ν C=C*	1452	1450	1452	1452	1454	1465
δ_s (CH_3)	-	-	-	1351	1344	1351

ν = vibração de deformação axial, δ = vibração de deformação angular, as = assimétrica, s = simétrica *vibração do esqueleto aromático. **OBS.** Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 60-62, respectivamente do volume II.

Os grupos carbonilas absorveram em 1659 a 1689 cm^{-1} , faixa característica de lactamas e de acordo com a literatura (1687 cm^{-1}) (QUIROGA et al., 1998).

As demais vibrações de deformações a destacar foram absorções nas faixas de 1598 a 1631 cm^{-1} e 1450 a 1454 cm^{-1} , referentes às vibrações de deformações axiais das ligações C=C do esqueleto aromático.

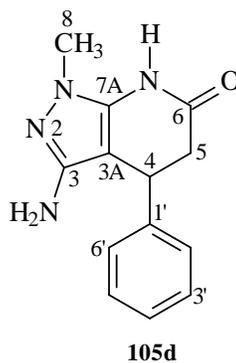


Tabela 11'. Valores de absorção (cm^{-1}) dos espectros de IV dos derivados **105g-h**.

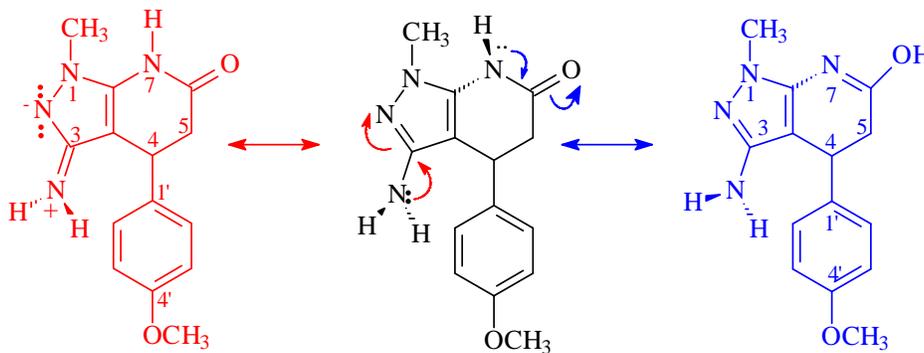
Deformações	Compostos					
	105g	105h	105i	105j	105k	105l
ν N-H	3353	3345	3345	3425	3349	3342
ν_{as} C-H (CH_3)		2958	-	2956	2996	2971
ν_{s} C-H (CH_3)	2881	2879	2879	-	2875	
ν_{as} C-H (CH_2)	2931	2931	2925	2933	2931	2919
ν_{s} C-H (CH_2)		2838	2854	2834	2836	2840
ν C=O	1681	1683	1691	1675	1681	1689
ν C=C*	1602	1600	1598	1608	1630	1614
ν C=C*	1500	1515	1517	1511	1517	1506
ν C=C*	-	-	-	1461	1463	1467
δ_{s} (CH_3)	-	1349	-	1351	1349	1344

ν = vibração de deformação axial, δ = vibração de deformação angular, as = assimétrica, s = simétrica *vibração do esqueleto aromático. **OBS.** Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 63-65, respectivamente do volume II.

3.2.3.2 Análise de RMN de ^1H das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**)

Através dos espectros de RMN de ^1H foi possível verificar a possibilidade da formação das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas através do desaparecimento do deslocamento químico por volta de δ 3,93 a 3,99 oriundo dos hidrogênios da metoxila ligada ao carbono C-2 e o surgimento de hidrogênios ligados ao nitrogênio 3-N na faixa de δ 4,26 a 5,00. As pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**) possuem semelhanças com os intermediários **103a-c** em relação aos hidrogênios H-4, H-5a, H-5b e os H-2' a H-6' (deslocamentos químicos e constantes de acoplamento spin-spin).

Foi possível observar, em alguns casos, o surgimento de sinais duplos em relação aos hidrogênios 3-NH₂, e 7-NH e 6-OH, possivelmente, devido a estruturas de ressonância como mostrado na figura 45.

**Figura 45.** Possíveis estruturas de ressonância do composto **105d**.

A tabela 12 e 12' mostra a atribuição dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas **105a-l**.

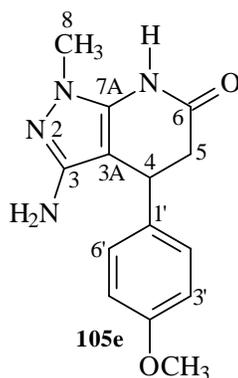


Tabela 12. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H (200 MHz) dos compostos **105a-f**

δ H (quantidade de hidrogênio, multiplicidade, multiplicidade (J))						
H	105a	105b	105c	105d	105e	105f
4	3,47 (1H; dd; 6; 12 Hz)	-	4,25 (1H; d; 6 Hz)	4,05 (1H; dd; 8; 10 Hz)	3,98 (1H; dd; 8 Hz)	4,22 (1H; dd; 8Hz)
5a	2,52 (1H; dd; 4; 12 Hz)	2,56 (1H; d; 6 Hz)	2,74 (1H; dd; 4; 16 Hz)	2,49 (1H; m; 2 Hz)	2,38 (1H; dd; 4; 16 Hz)	2,46 (1H; dd; 2Hz)
5b	2,80 (1H; dd; 6; 12 Hz)	2,76 (1H; dd; 6; 12 Hz)	2,94 (1H; dd; 8; 16 Hz)	2,83 (1H; dd; 8; 18 Hz)	2,78 (1H; dd; 8; 16 Hz)	2,93 (1H; dd; 8; 16 Hz)
8	-	-	-	3,35 (3H; s)	-	3,41 (3H; s)
2'; 6'	7,34 (2H; m; 6; 10 Hz)	7,29 (2H; d; 8 Hz)	7,39 (2H; d; 8 Hz)	7,11 (2H; dd; 4; 6 Hz)	7,02 (2H; d; 8 Hz)	7,36 (2H; d; 8 Hz)
3'; 5'	7,34 (2H; m; 6; 10 Hz)	6,92 (2H; d; 8 Hz)	8,16 (2H; d; 8 Hz)	7,24 (2H; t; 8 Hz)	6,80 (2H; d; 8 Hz)	8,14 (2H; d; 8 Hz)
4'	7,34 (1H; m; 6; 10 Hz)	-	-	7,24 (3H; t; 8 Hz)	-	-
4' - OCH ₃	-	3,73 (3H; s)	-	-	3,67 (3H; s)	-
N-H-1	-	-	10,81	-	-	-
N-H-7	-	-	10,17	10,08	10,02	10,18
N-H-3	4,59; 4,49	4,26, 4,40	5,00	5,07	5,01	5,24

* Os espectros foram obtidos em DMSO-*d*₆. **OBS.** Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 13-18, respectivamente do volume II.

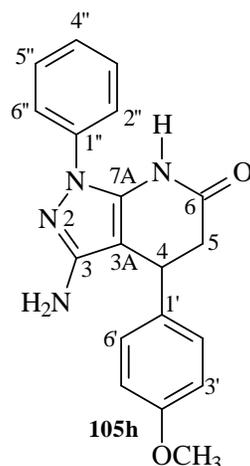


Tabela 12'. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H (200 MHz) dos compostos **105g-l**.

δ H (quantidade de hidrogênio, multiplicidade, mutiplicidade (J))						
H	105g	105h	105i	105j	105k	105l
4	3,60 (1H; td; 8 Hz)	3,55 (1H; td; 8 Hz)	3,87 (1H; td; 8 Hz)	4,19 (1H; dd; 8 Hz)	3,63 (1H; dd; 6 Hz)	3,51 (1H; dd; 6Hz)
5a	2,63 (1H; dd; 6; 18 Hz)	2,55 (1H; d; 18 Hz)	2,69 (1H; dd; 6; 18 Hz)	2,61 (1H; dd; 10; 12 Hz)	2,93 (1H; dd; 16 Hz)	2,58 (1H; dd; 2Hz)
5b	2,87 (1H; dd; 8; 18 Hz)	2,89 (1H; dd; 6; 18 Hz)	2,92 (1H; dd; 6; 18 Hz)	2,85 (1H; dd; 8 Hz)	3,01 (1H; dd; 6; 14 Hz)	2,85 (1H; dd; 4; 18 Hz)
2'; 6'	7,40 (2H; m; 4; 8 Hz)	7,34 (2H; d; 8 Hz)	7,73 (2H; d; 8 Hz)	7,44 (2H; d; 10 Hz)	7,40 (2H; d; 8 Hz)	7,33 (2H; d; 8 Hz)
3'; 5'	7,40 (2H; m; 4; 8 Hz)	6,97 (2H; d; 8 Hz)	8,29 (2H; d; 8 Hz)	7,23 (2H; d; 8 Hz)	7,09 (2H; d; 8 Hz)	6,98 (2H; d; 6 Hz)
4'	7,40 (1H; m; 4; 8 Hz)	-	-	-	-	-
2''; 6''	6,97 (2H; d; 8 Hz)	6,97 (2H; d; 8 Hz)	6,97 (2H; d; 10 Hz)	6,88 (2H; d; 10 Hz)	6,97 (2H; d; 8 Hz)	6,93 (2H; d; 8 Hz)
3''; 5''	7,17 (2H; d; 6 Hz)	7,19 (2H; d; 6 Hz)	7,20 (2H; d; 8 Hz)	6,98 (2H; d; 10 Hz)	7,22 (2H; d; 8 Hz)	7,07 (2H; d; 8 Hz)
4''	6,72 (1H; t; 6; 8 Hz)	6,72 (1H; t; 6 Hz)	6,73 (1H; t; 8 Hz)	-	-	-
4'- OCH ₃	-	3,75 (3H; s)	-	3,82* (3H; s)	3,80 (3H; s)	-
4''- OCH ₃	-	-	-	3,77* (3H; s)	-	-
7-N-H	9,13; 10,32	9,12	9,17; 10,41	9,3	8,59; 9,32	9,08; 10,26
3-N-H	4,68; 4,74	4,61; 4,66	4,80; 4,86	4,48	4,44; 4,50	4,59; 4,65

*valores podem ser trocados entre si; ** Os espectros foram obtidos em DMSO-*d*₆. **OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 19-24, respectivamente do volume II.**

3.2.3.3 Análise de RMN de ^{13}C das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**)

A análise dos espectros de RMN de ^{13}C foi também essencial para a caracterização dos compostos **105a-l**. A ausência dos sinais correspondentes aos carbonos da metoxila na faixa aproximada de δ 58,84 a 58,91, juntamente com o aparecimento da absorção referente ao carbono C-3A, na faixa de δ 83,56 a 115,39, de acordo com a literatura (MARTÍNEZ-TEIPEL et al., 2005; FALCÓ et al., 2005), foram importantes na elucidação das estruturas propostas. Os demais deslocamentos químicos foram similares aos carbonos dos intermediários **103a-c** (tabela 13).

Tabela 13. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) dos compostos **105a-l**

$\delta \text{ C}$												
C	105a	105b	105c	105d	105e	105f	105g	105h	105i	105j	105k	105l
3	144,67	148,74	153,20	146,70	146,55	152,74	145,70	146,24	147,30	145,09	144,63	153,53
3A	83,56	86,11	84,80	86,32	86,47	84,65	111,74	111,79	111,76	114,94	113,16	115,39
4	37,09	37,59	36,71	34,07	33,92	33,98	37,43	38,77	37,95	35,77	36,96	37,28
5	37,37	38,38	39,38	33,01	32,16	32,92	38,07	37,86	36,94	42,27	37,77	37,77
6	168,63	168,60	169,56	170,08	169,81	169,11	168,67	168,87	168,19	170,55	168,78	168,76
7A	140,01	143,86	146,50	144,70	142,88	146,52	144,27	146,24	147,19	140,75	144,55	142,44
8	-	-	-	40,53	40,74	39,83	-	-	-	-	-	-
1'	138,62	131,86	-	143,18	136,48	143,24	139,71	131,69	-	129,36	129,51	131,61
2'; 6'	128,94	128,55	128,47	128,66	127,78	128,05	129,11	129,17	129,14	129,11	128,93	128,58
3'; 5'	127,55	113,78	124,14	126,90	113,86	124,05 123,44	128,88	114,25	124,09	115,21	114,21	114,21
4'	130,64	158,67	145,47	126,56	157,83	146,15	128,56	158,83	145,64	159,22	158,77	158,77
1''	-	-	-	-	-	-	132,26	-	138,18	135,61	-	131,61
2''; 6''	-	-	-	-	-	-	118,82	117,19	118,94	125,94 124,51	121,98	117,09 115,84
3''; 5''	-	-	-	-	-	-	127,82	128,69	128,05	115,38	128,57	112,80 112,65
4''	-	-	-	-	-	-	122,07	118,89	116,77	159,84	131,56	158,19
4'- OCH ₃	-	55,09*	-	-	55,09*	-	-	55,15*	-	56,04*	55,10*	55,10*
4''- OCH ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,81*	-	-

* valores podem ser trocados entre si; **Os espectros foram obtidos em DMSO-d₆. OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 37-48, respectivamente do volume II.

3.2.3.4 Análise dos espectros de NOESY das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105d**, **105e**, **105h**, **105k** e **105l**)

Através dos mapas de contorno dos espectros de NOESY foi possível indicar que as estruturas dos compostos eram do tipo **105h** e não **105h'**. A figura 46 mostra algumas interações de núcleos de hidrogênios comuns (setas de cor vermelha) como: H-2'/H-3', H-2''/H-3'', H-5a/H-5b, H-4/H-5a-b e H-3'/4-OCH₃.

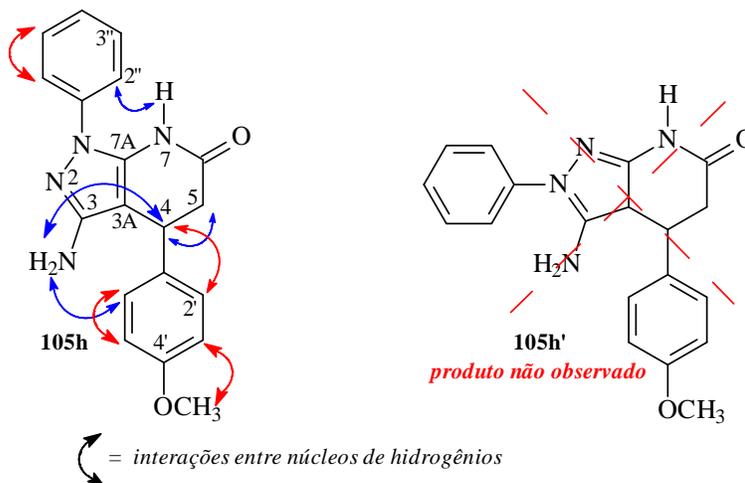


Figura 46. Estruturas e interações entre núcleos de hidrogênios dos compostos **105h** e **105h'**

As interações H-4/3-NH₂, 3-NH₂/H-2' (setas de cor azul) foram importantes para definir a posição do NH₂, já as 7-NH/H-2'' (seta de cor azul), bem como a falta de interações 3-NH₂/H-2'' foram essenciais para a sugestão dessa estrutura, pois estas interações são exclusivas da estrutura proposta como **105h**.

Esse mesmo padrão de interações entre núcleos de hidrogênios a partir dos mapas de contorno de NOESY foi observado para os derivados **105d**, **105e**, **105k** e **105l**. A tabela 14 sumariza as interações observados para esses compostos.

Tabela 14. Correlações entre núcleos de hidrogênios dos compostos **105d**, **105e**, **105h**, **105k** e **105l** observados através de mapas de contorno de NOESY.

Interações de núcleos determinados por NOESY					
H	105a	105b	105c	105d	105e
4	5a; 5b; 3-NH ₂ ; 2'	5a; 5b; 3-NH ₂ ; 2'	5a; 3-NH ₂ ; 2'	5a; 5b; 3-NH ₂ ; 2'	5a; 5b; 3-NH ₂ ; 2'
5a	4; 5b	4; 5b	4; 5b	4; 5b	4; 5b
5b	4; 5a	4; 5a	5a	4; 5a	5a
2'/6'	3'; 4	4; 3'; 3-NH ₂	4; 3'; NH ₂	4; 3'; 3-NH ₂	4; 3'; 3-NH ₂
3'/5'	2'	2'; 4'-OCH ₃	2'; 4'-OCH ₃	2'; 4'-OCH ₃	2'; 4'-OCH ₃
4'	no	-	-	-	-
2''/6''	-	-	7-NH	3''; 7-NH	7-NH
3''/5''	-	-	4''	2''	No
4''	-	-	3''	-	-
4'- OCH ₃	-	-	2'	3'	3'
7-NH	no	no	2''	2''	2''
3-NH ₂	4	4; 2'	4; 2'	4; 2'	4; 2'

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 49-53, respectivamente do volume II.

3.2.3.5 Análise de espectros de massas das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**)

Os espectros de massas para os compostos **105a**, **105c** e **105i** não foram obtidos devido à sua baixa capacidade de serem cromatografados. Os principais fragmentos dos demais compostos (**105b**, **105d-h** e **105j-l**) foram resumidos na tabela 16. As figuras 47 a 37 mostram algumas propostas de fragmentação das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas.

Como pode ser verificado, as perdas tais como M-43, M-28, M-15, M-31, M-77, M-107 e M-16 correspondem a HN-C=O, CO, CH₃, OCH₃, radical fenila, radical *p*-metoxi-fenila e NH₂, respectivamente, sendo comuns para a fragmentação das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105**) (tabela 15).

Foram propostos rearranjos entre átomos 1-4 (1-3 entre ligações), 1-6 (1-5 entre ligações), MacLafferty e retro Diels-Alder como no caso da fragmentação das 4-*aril*-3,4-diidrocinmarinas.

Tabela 15. Principais fragmentos obtidos dos espectros de massas dos compostos **105b**, **105d-h** e **105j-l**.

Compostos	m/z (massa relativa)								
105b	258 (100)	243 (7)	230 (12)	215 (25)	151 (32)	91 (7)	77 (9)	-	-
105d	242 (100)	199 (40)	165 (45)	103 (7)	-	-	77 (7)	65 (5)	51 (5)
105e	272 (100)	256 (7)	165 (40)	103 (3)	-	91 (6)	77 (5)	65 (4)	51 (3)
105f	287 (100)	271 (7)	165 (45)	103 (1)	-	91 (1)	77 (5)	65 (2)	51
105g	304 (100)	276 (7)	261 (15)	227 (60)	184 (4)	-	77 (18)	-	51 (13)
105h	258 (75)	215 (100)	103 (8)	-	-	91 (5)	77 (7)	65 (7)	51 (5)
105j	258 (100)	243 (55)	215 (95)	200 (20)	172 (30)	91 (12)	77 (13)	-	-
105k	368* (2)	337 (5)	243 (100)	200 (57)	161 (30)	91	77	-	-
105l	352 (27)	324 (7)	309 (10)	245 (30)	-	91 (1)*	77 (1)*	-	-

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 73-76, respectivamente do volume II.

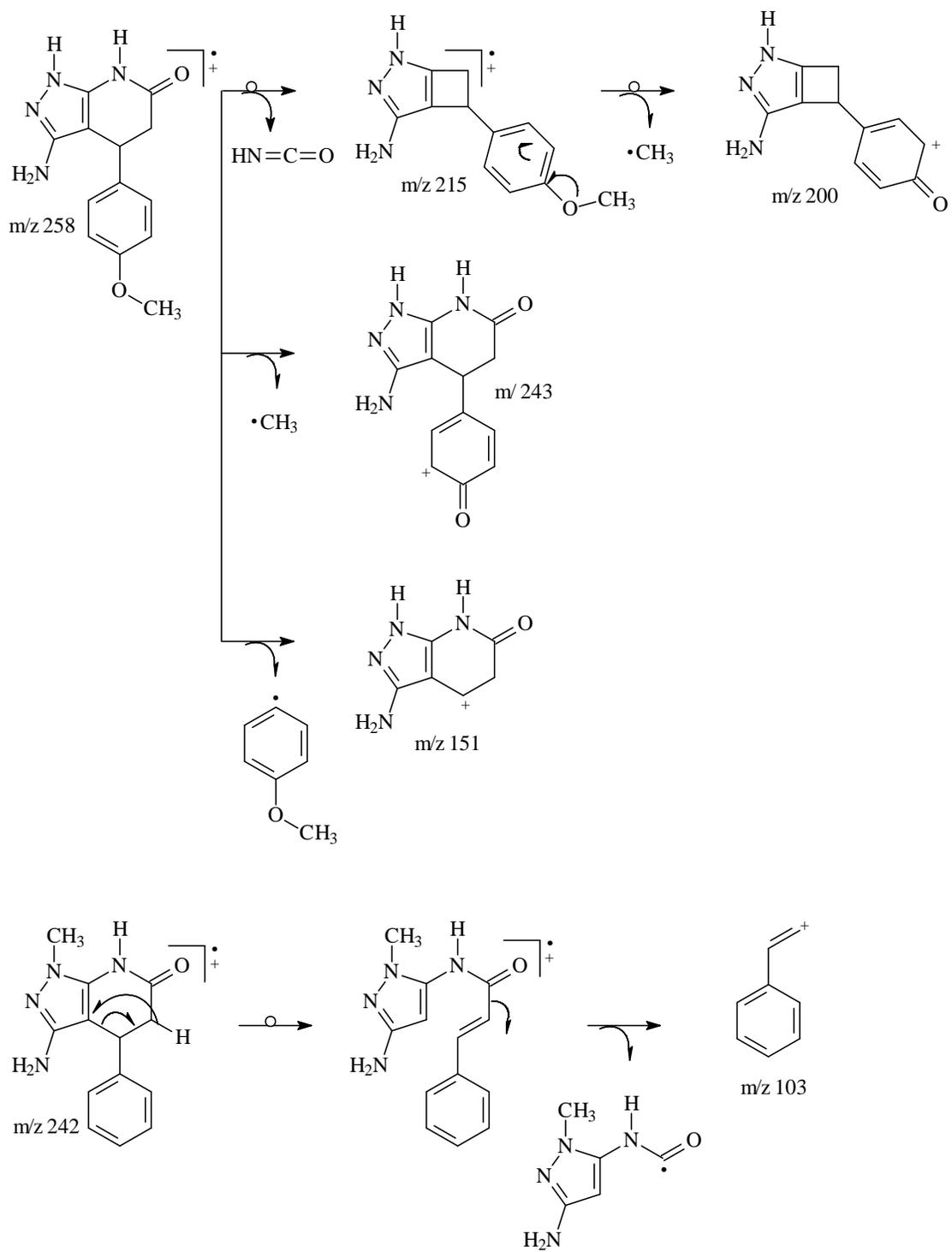


Figura 47. Propostas de mecanismos de fragmentações para os compostos **105b** e **105d**.

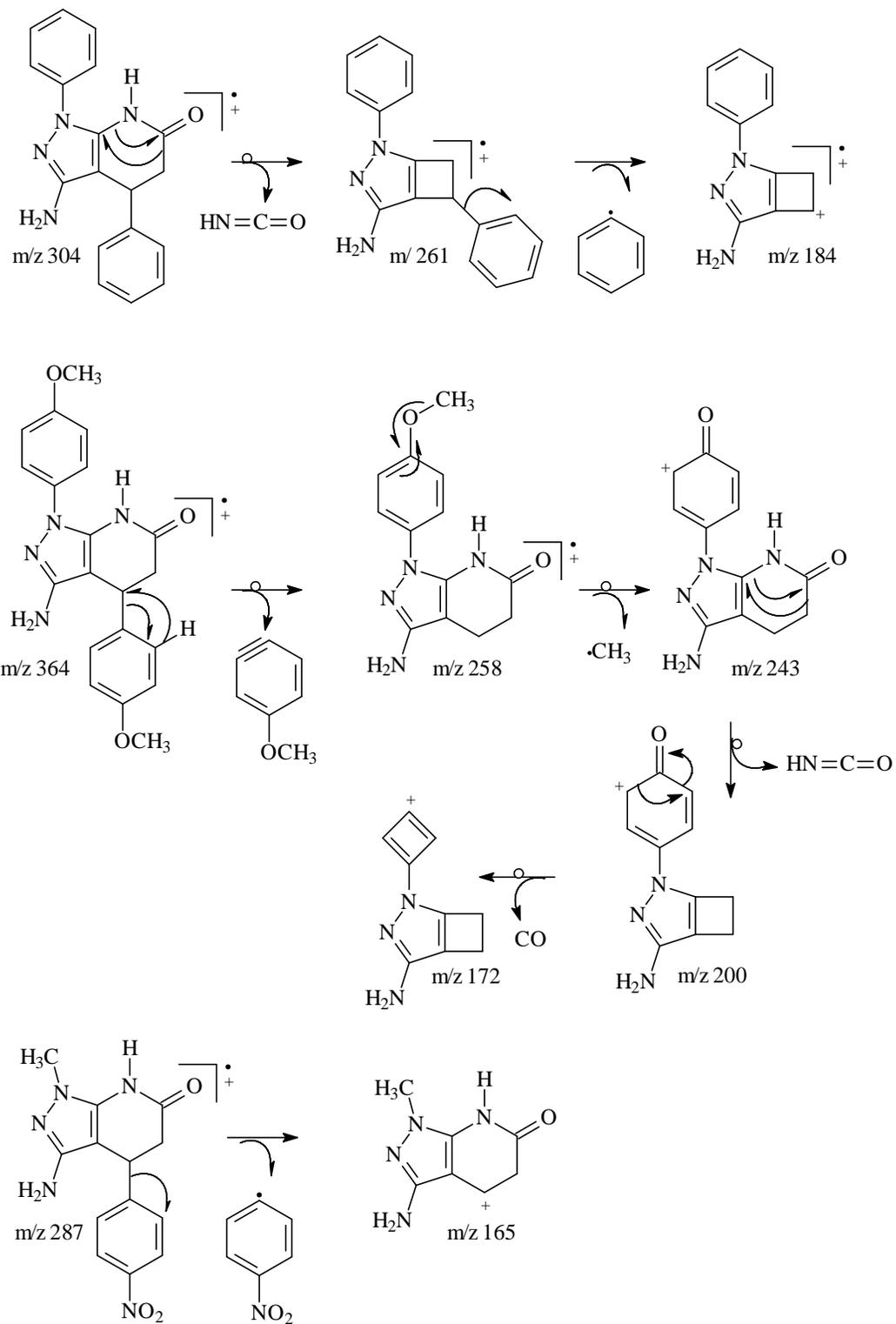


Figura 48. Propostas de mecanismos de fragmentações dos compostos **105g**, **105j** e **105f**.

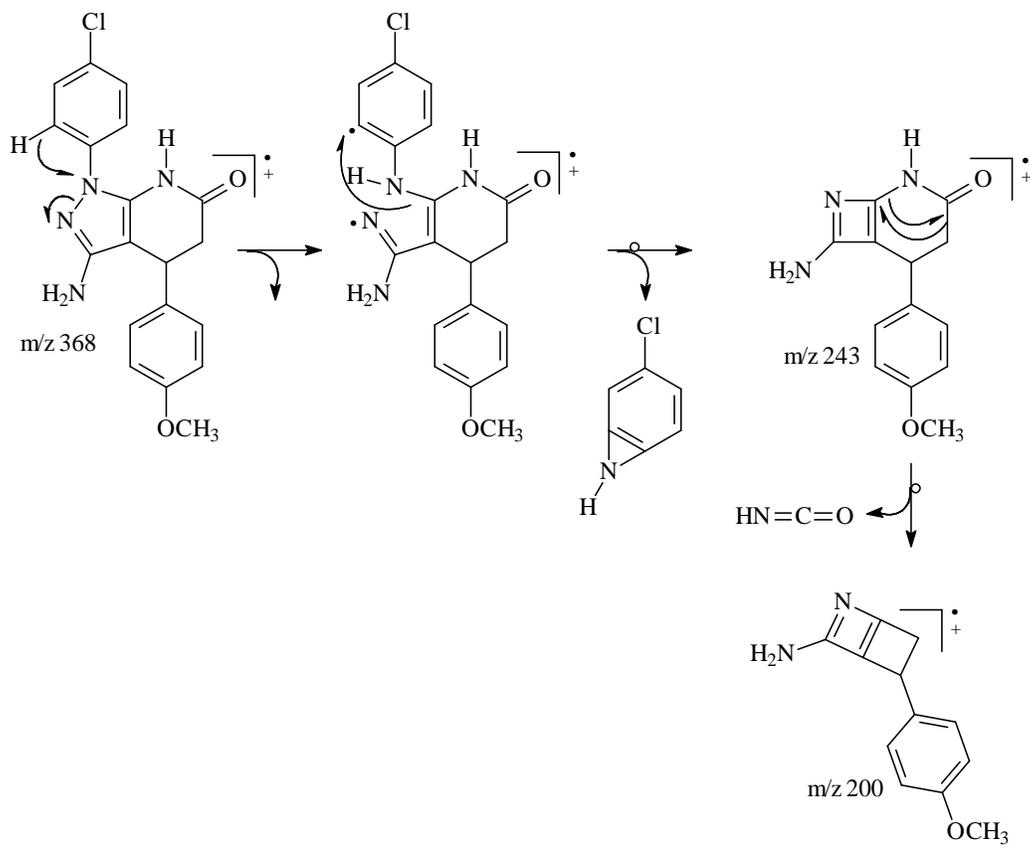


Figura 49. Proposta de mecanismo de fragmentação do composto **105k**

As técnicas espectrométricas utilizadas, permitiu a caracterização das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas e as 4-*aril*-3,4-diidrocurmarinas juntamente com a verificação de sua pureza através de CCF e ponto de fusões. Estes fatores são aspectos fundamentais para a realização de ensaios biológicos posteriores.

3.3 Atividade Anti-leishmania das 4-*Aril*-3,4-diidrocurmarinas (101a-i)

As 4-*aril*-3,4-diidrocurmarinas (**101a-i**) preparadas neste trabalho foram ensaiadas frente a parasitos da espécie *Leishmania amazonensis* na forma evolutiva promastigota. Os ensaios revelaram que estes compostos não apresentaram nenhuma atividade anti-leishmania na concentração de até 300 μM . Este resultado indicou que os compostos sintetizados nesta classe não tem atividade anti-leishmania promissora.

Os compostos pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-l**) foram enviados para o Laboratório de Bioquímica de Tripanomassomatídeos da FIOCRUZ e aguarda-se os resultados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Equipamentos

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro da Bruker, modelo AC 200 (200 MHz para ^1H e 50,3 MHz para ^{13}C).

Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrômetro Nicolet, modelo FTIR-740, em pastilhas de KBr.

Os pontos de fusão foram determinados utilizando um aparelho da marca QUIMIS e não foram corrigidos.

O forno de microondas doméstico utilizado foi da marca Cònsul frequência máxima de 2450 MHz.

O aparelho de ultra-som foi um Ultra Cleaner 700 – marca UNIQUE – frequência de 55 kHz

O espectrômetro de massas utilizado foi da marca Saturn CG-EM coluna de CP-SIL8CB (30m x 25 x 25mm) temperatura 200°C / 10minutos –290 °C / 20minutos.

4.2 Materiais e Vidrarias

- | | | |
|---|--------------------|-------------------------------|
| . Balões de fundo redondo | . Funis de vidro | . Adaptadores |
| . Provetas | . Bastões de vidro | . Pipetas |
| . Becher | . Garras | . Erlenmayer |
| . Condensadores | . Papéis de filtro | . Placa de aquecimento |
| . Pipetas volumétricas | . Capilares | . Capilares de ponto de fusão |
| . Placas de cromatografia em camada fina com indicador de fluorescência | | |

Os reagentes utilizados neste capítulo foram obtidos das empresas Vetec e Aldrich, os reagentes foram:

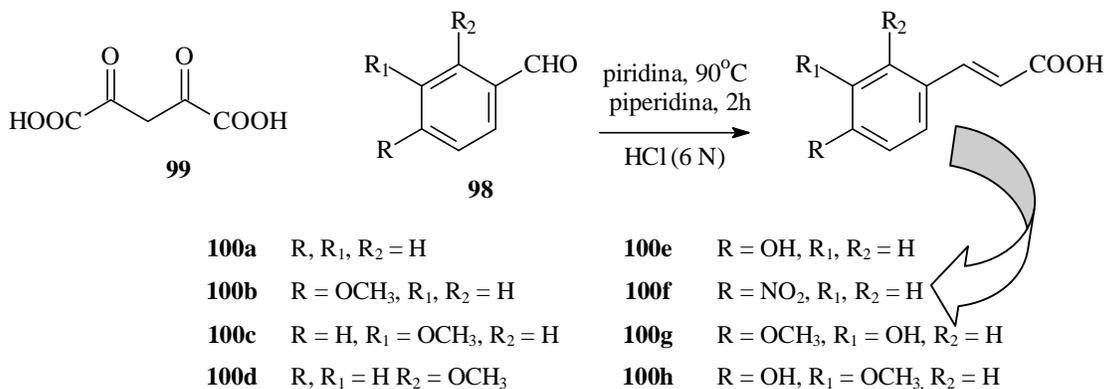
- | | |
|--|---|
| . Hidrazina hidratada 64 % | . Cloridrato de p-F-fenil hidrazina |
| . Metil hidrazina | . Cloridrato de p-Cl-fenil hidrazina |
| . Fenil hidrazina | . Resorcinol |
| . Cloridrato de p-metoxi-fenil hidrazina | . Sódio |
| . Sulfato de sódio | . m-metoxi-benzaldeído |
| . Benzaldeído | . o-metoxi-benzaldeído |
| . p-metoxi-benzaldeído | . p-metoxi-m-hidroxi-benzaldeído |
| . p-nitro- benzaldeído | . p-hidroxi-m-metoxi-benzaldeído |
| . p-hidroxi-benzaldeído | . Piperidina |
| . HCl 36 % p/p | . Cloreto de zinco |
| . NaHCO ₃ | . Triflato de ítrio (CF ₃ SO ₃) ₃ Y |
| . malononitrila | . Resorcinol |
| . Floroglucinol | . Ácido sulfúrico |

Todos os solventes utilizados foram de grau P. A. provenientes da Vetec (destilados) ou do grupo Química. Os solventes utilizados foram:

- . Metanol
- . Clorofórmio
- . Diclorometano
- . Piridina
- . Hexano
- . Acetona
- . Tolueno
- . Etanol
- . Acetato de Etila

4.3 Metodologias

4.3.1 Procedimento geral para a síntese dos ácidos cinâmicos **100a-h**



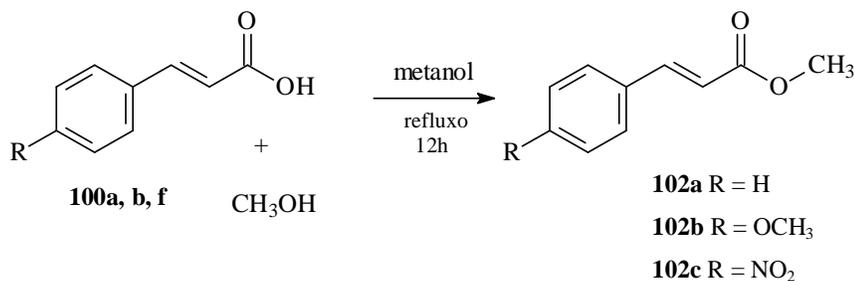
Em um balão de fundo redondo conectado a um condensador de refluxo foram adicionados 50 mmoles de benzaldeído, 100 mmoles de ácido malônico, 20 mL de piridina e 0,4 mL de piperidina. A mistura foi mantida a temperatura de 90 °C durante 2 horas, em seguida, permaneceu por 15 minutos em refluxo e, posteriormente, acidificada com HCl (20 % v/v), com precipitação imediata dos cristais, que foram filtrados, lavados com uma solução de HCl (20% v/v) e depois com H₂O. Os produtos foram recristalizados em metanol. Os rendimentos e os pontos de fusão estão na tabela 16.

Tabela 16. Rendimentos e pontos de fusão dos ácidos cinâmicos (**100a-h**).

Compostos	Rendimentos (%)	Pontos de fusão (°C)	Compostos	Rendimentos (%)	Pontos de fusão (°C)
100a	60	132-134 (133-134) ^a	100e	60	213-216 (214) ^a
100b	70	172-174 (170-173) ^a	100f	65	285-288 (289) ^a
100c	55	115-117 (116-119) ^a	100g	55	231-233 (234) ^a
100d	-	^b	100h	50	170-172 (168-171) ^a

^aAldrich, 2006, ^bproduto obtido da Aldrich

4.3.2 Procedimento geral para a síntese dos ésteres cinâmicos substituídos (**102a-c**)



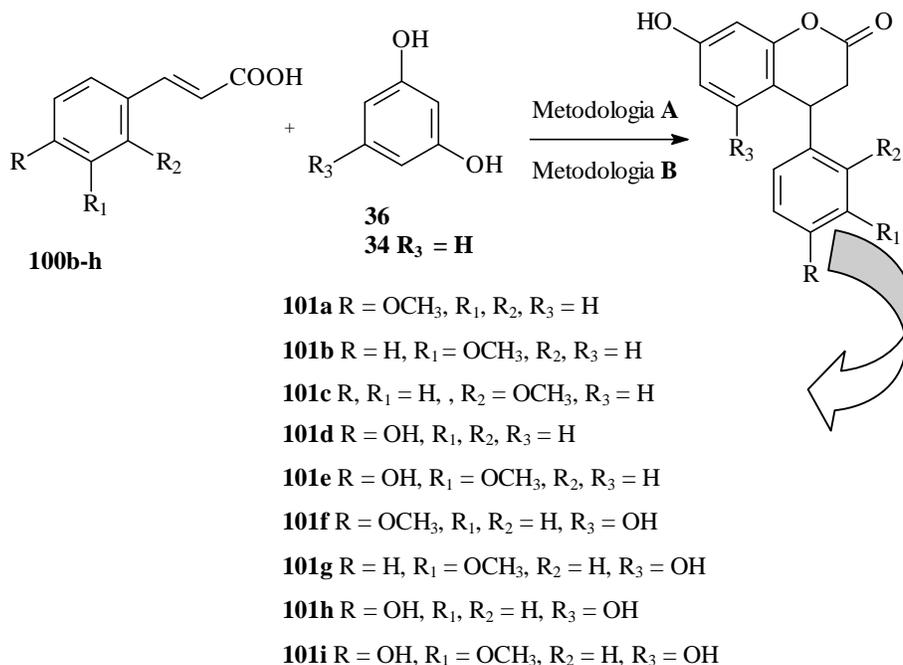
Uma solução de ácido cinâmico (**100a**, **100b**, **100f**) (15 mmol) e gotas de ácido sulfúrico concentrado (0,3 mL), em metanol (50 mL), foi aquecida em refluxo por 12 horas. A reação foi diluída com água (200 mL) e o produto extraído com CHCl₃ (4x50 mL). A fase orgânica foi tratada com uma solução saturada de NaHCO₃ (60 mL), em seguida adicionou-se Na₂SO₄, filtrado, e posteriormente o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. Os rendimentos e os pontos de fusão estão na tabela 17.

Tabela 17. Rendimentos e pontos de fusão dos ésteres cinâmicos **102a-c**

Compostos	Rendimento (%)	Pontos de fusão (°C)
102a	60	34-36 (35-37) ^a
102b	95	89-92 (90-91) ^b
102c	94	130-132 (132-133) ^b

^aPeterson et al. (1988) ^bBernini et al. (2008);

4.3.3 Procedimento geral para a síntese das diidrocumarinas (**101a-i**)



Metodologia A: Irradiação com microondas

Foram preparadas misturas de ácidos cinâmicos substituídos (0,84 mmol), fenóis devidamente substituídos (0,84 mmol) e $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$ (0,17 mmol) em CH_2Cl_2 (3 mL). As misturas foram expostas à temperatura ambiente até a secagem do meio reacional. Em seguida, foram postas no centro do forno de microondas. A mistura foi irradiada por sucessivos períodos de 3 minutos, com intervalos de resfriamento de 2 minutos. A reação foi monitorada por CCF (acetato de etila: hexano, 7:3), o tempo para cada caso está indicado na tabela 19. Depois da irradiação, as misturas reacionais foram solubilizadas em CHCl_3 , tratadas com 20 mL de NaHCO_3 1% (p/v). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 , em seguida foi filtrado e o solvente evaporado sob pressão reduzida.

Metodologia B: Refluxo em CHCl_3

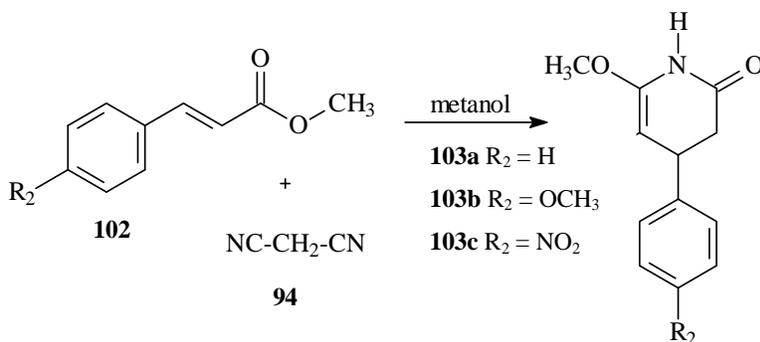
Em balão de fundo redondo conectado a um condensador de refluxo foram adicionados ácidos cinâmicos substituídos (0,84 mmol), fenóis devidamente substituídos (0,84 mmol) e $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Y}$ (0,17 mmol) solubilizados em CHCl_3 . O meio reacional foi mantido em refluxo por 35 e 40 horas para os compostos **101a** e **101d**, respectivamente. O meio reacional foi adicionado 40 mL de uma solução de NaHCO_3 1% (p/v), a fase orgânica foi separada, tratada com Na_2SO_4 , posteriormente foi filtrado e o solvente evaporado sob pressão reduzida (tabela 18).

Tabela 18. Rendimentos, tempo de reação e pontos de fusão das diidrocumarinas **101a-i**.

Compostos	Rendimento (%)	Tempo (minutos)	Pontos de fusão (°C)
101a	75 (70) ^b	7 (2400) ^c	152-153 (150) ^a
101b	70	15	^c
101c	65	15	^c
101d	67 (68) ^b	7 (2100) ^b	144-146 (147) ^d
101e	68	15	208-210 (210) ^d
101f	75	20	255-258 (258) ^e
101g	70	20	110-112
101h	68	20	^c
101i	65	20	145-147

^aTalapatra et al. (1986); ^clíquido viscoso; ^bProdutos obtidos em refluxo de acordo com a metodologia B; ^dSuthunuru et al. (2004); ^eSun et al. (1999).

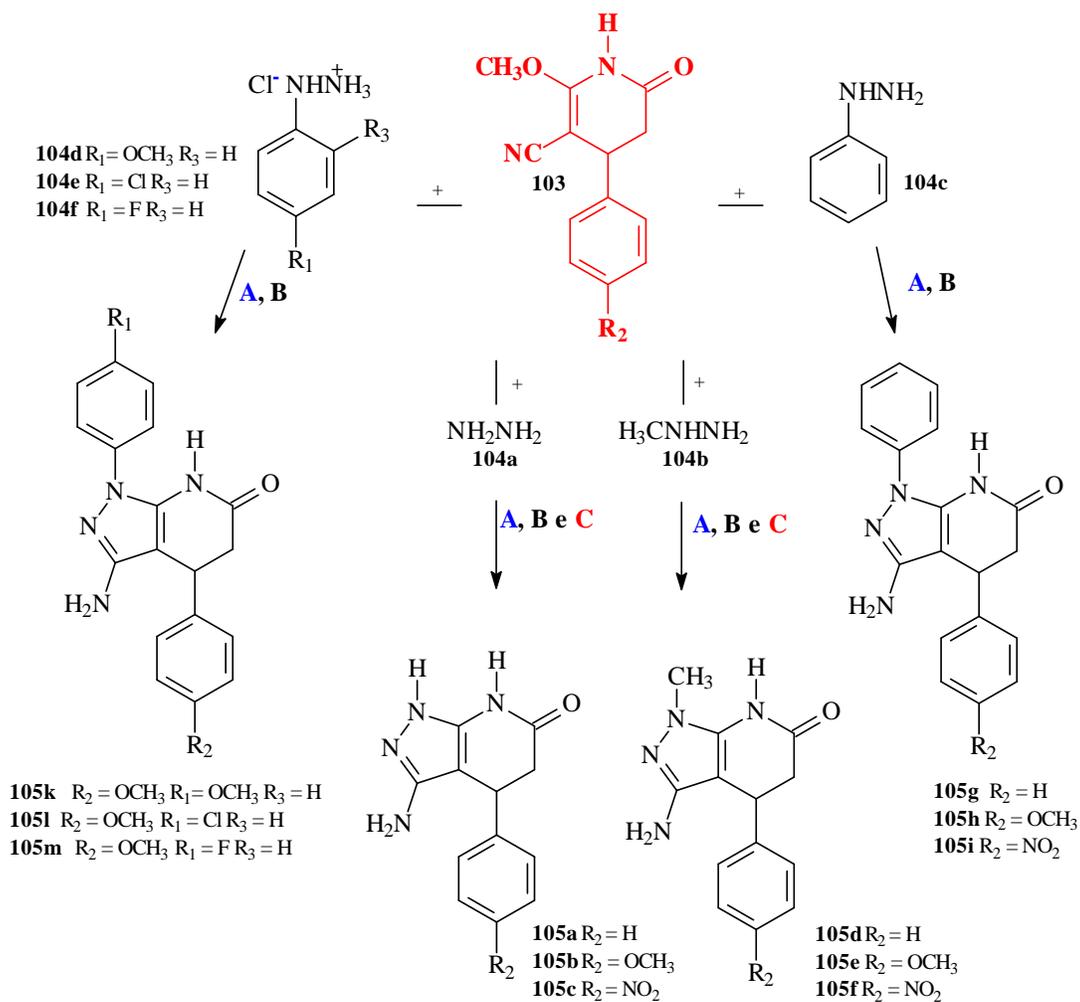
4.3.4 Procedimento geral para a síntese dos intermediários **103a-c**



Uma solução de 170 mmol dos ésteres cinâmicos em 30 mL de metanol foi adicionada gota a gota a uma solução de 170 mmol de sódio em 30 mL de metanol. Depois de poucos minutos, 91 mmol de malononitrila em 30 mL de metanol foram adicionados gota a gota. A mistura reacional permaneceu em refluxo por 4 horas. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, e o resíduo foi dissolvido em H₂O. A solução resultante foi cuidadosamente tratada com HCl (6 M) até pH 8-9, em banho de gelo. O sólido formado foi filtrado e dissolvido em CH₂Cl₂. A fase orgânica foi lavada com H₂O, seca com Na₂SO₄, em seguida foi filtrado e o solvente evaporado a pressão reduzida (tabela 19).

Tabela 19. Rendimentos e tempo de reação dos intermediários **103a-c**.

Compostos	Rendimento (%)	Pontos de fusão (°C)
103a	40	141-142 (143-144) ^a
103b	80 (76) ^a	173-175 (174-176) ^b
103c	60 (65) ^a	213-216 (215) ^b

^aMONT et al., 2004; ^bMARTÍNEZ-TEIPEL et al., 20054.3.5 Procedimento geral para a síntese dos pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-m**)Metodologia **A**: Refluxo em metanol

Em balão de fundo redondo conectado a condensador de refluxo foram adicionados 0,60 mmol dos intermediários (**103a-c**), 1,20 mmol das hidrazinas correspondentes (**104a-f**), e 30 mL de metanol. A mistura permaneceu em refluxo por um tempo determinado, como mostra a tabela 20. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O sólido obtido foi lavado com metanol gelado, posteriormente secos a

temperatura ambiente fornecendo os derivados pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas (**105a-m**) correspondentes.

***OBS.** Para a obtenção dos compostos **105k-m**, uma solução metanólica de CH_3ONa (3,04 mol/L) foi adicionado no meio.

Metodologia B: Irradiação com microondas

Em um becher de 50 mL foram adicionados 0,60 mmol dos intermediários (**103a-c**), 0,60 mmol de hidrazinas correspondentes (**104a-f**), e gotas de etanol para solubilizar a mistura. Posteriormente, esta foi exposta à temperatura ambiente até a secura do meio reacional. Em seguida, foram postos no centro do forno de microondas. A mistura foi irradiada por sucessivos períodos de 3 minutos, com intervalos de resfriamento de 2 minutos. A reação foi monitorada por CCF (acetato de etila: hexano, 7:3), o tempo para cada caso está indicado na tabela 20. Depois da irradiação, as misturas reacionais foram tratadas com H_2O (40 mL), e os produtos extraídos com CH_2Cl_2 (4x15mL). A solução de diclorometano foi seca ao Na_2SO_4 , em seguida foi filtrado, e o solvente evaporado sob pressão reduzida fornecendo os produtos **105a-m**.

Metodologia C: Irradiação com ultra-som

Em um becher de 50 mL foram adicionados 0,60 mmol dos intermediários (**103a-c**), 0,60 mmol de hidrazinas correspondentes (**104a-b**), 30 mL de etanol, e sobre o becher foi adicionado um vidro de relógio. Em seguida, foram postas no centro ultra-som. A mistura foi irradiada por 3 horas interrompidas. Logo após a irradiação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. Foram adicionados 30 mL de água e o produto (**105a-g**) extraído com CH_2Cl_2 (4x15mL). A solução de diclorometano foi seca com Na_2SO_4 , em seguida foi filtrado, e o solvente evaporado sob pressão reduzida fornecendo os produtos **105a-f**.

Tabela 20. Rendimentos e tempos de reação dos compostos **106a-m** utilizando metodologias tradicionais, microondas e ultra-som.

Compostos	Tradicional (%) / Tempo (min)	Microondas (%) / Tempo (min)	Ultra-som (%) / Tempo (min)	Pontos de fusão (°C)
106a	50 / 240	55 / 15	95 / 180	257-259 (261-262) ^b
106b	55 / 240	55 / 15	90 / 180	274-276 (270-272) ^b
106c	55 / 240	65 / 15	80 / 180	> 300 (> 300) ^b
106d	54 / 180	55 / 15	75 / 180	^c
106e	85 / 180	50 / 15	70 / 180	187-189
106f	78 / 180	60 / 15	70 / 180	> 300
106g	60 / 24h	50 / 15	^a	211-212
106h	50 / 24h	50 / 15	^a	208-210
106i	60 / 24h	55 / 15	^a	234-235
106k	30 / 24h	40 / 15	^a	^c
106l	40 / 24 h	60 / 15	^a	226-228
106m	43 / 24h	55 / 15	^a	222-224

^aNão houve reação; ^bMARTINEZ-TEIPEL. (2005); ^clíquido viscoso

5 CONCLUSÕES

- ✓ A metodologia utilizando irradiação de microondas mostrou-se interessante na preparação das 4-*aril*-3,4-diidro-cumarinas, pois obteve-se rendimentos de 65 a 75% em tempos notáveis de 7 a 20 minutos, na presença de $(CF_3SO_3)_3Y$ como catalisador. Já a utilização de irradiação de ultra-som não levou à obtenção dos produtos.
- ✓ Foi possível obter as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas com irradiação de microondas e ultra-som, porém, o último mostrou-se sensível quanto a reatividade das hidrazinas. Os rendimentos obtidos de maneira geral foram bons, variando de 40 a 85% para a metodologia tradicional, 70 a 95 % para a irradiação de ultra-som e 40 a 60 % quando utilizou-se irradiação com microondas, porém, mais uma vez a reação alcançou tempos marcantes de 15 minutos. Todas as metodologias foram ineficazes quando as hidrazinas continham um ou dois grupos nitro.
- ✓ Tanto as 4-*aril*-3,4-diidro-cumarinas quanto as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas foram caracterizadas pelas técnicas espectrométricas de IV, MS, RMN de 1H e ^{13}C , sendo que para a confirmação da estrutura das pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas foi utilizado $^1Hx^1H$ NOESY.
- ✓ As 4-*aril*-3,4-diidro-cumarinas não tiveram ação anti-leishmania significativa ($IC_{50} > 300 \mu M$), e as pirazolo[3,4-*b*]piridin-6-onas, sintetizadas neste trabalho, estão sendo testadas e aguarda-se os resultados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: Ed. UFV, 2007.

BARLUENGA, J.; ANDINA, F.; AZNAR, F. Unprecedented reactivity pattern of chromium fischer carbene complexes. Direct application to one-pot synthesis of 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins on a multigram scale. **Organic Letters**, v. 8, n. 13, p. 2703-2706, 2006.

BERNINI, R.; CACCHI, S.; FABRIZI, G.; FORTE, G.; NIEMBRO, S.; PETRUCCI, F.; PLEIXATS, R.; PRASTARO, A.; SEBASTIÁN, R. M.; SOLER, R.; TRISTANY, M.; VALLRIBERA, A. Phosphine-free perfluoro-tagged *Palladium* nanoparticles supported on fluorinated silica gel: application to the heck reaction. **Organic Letters**, v. 10, n. 4, p. 561-564, 2008.

BEZERRA, M. Z. B.; MACHADO, M. I. L.; MORAIS, S. M.; BRAZ-FILHO, R. Synthesis of neoflavonoids: 4-(4'-methoxyphenyl)-3,4-dihydrocoumarins. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 8, n. 3, p. 229-234, 1997.

BRISTOL - MYERS SQUIBB COMPANY. Donald Pinto; Robert Galemno. **1,4,5,6-tetrahydropyrazolo-[3,4-C]-pyridin-7-ones as factor XA inhibitors**. WO 02/085353 A1, 31 out. 2002.

CINTAS, P.; LUCHE, J. L. The sonochemical approach. **Green Chemistry**, v. 1, n. 3, p. 115-125, 1999.

CRAVOTTO, G.; CINTAS, P. Power ultrasound in organic synthesis: moving cavitation chemistry from academia to innovative and large-scale applications. **Chemical Society Reviews**, v. 35, p. 180-196, 2006.

DE LA HOZ, A.; DAZ-ORTIZ, A.; ELGUERO, J.; MARTNEZ, L. J.; MORENO, A.; SANCHEZ-MIGALLON, A. Solvent-free preparation of tris-pyrazolyl-1,3,5-triazines. **Tetrahedron**, v. 57, p. 4397-4403, 2001.

DONNELLY, D. M. X.; BOLAND, G. Neoflavonoids. In: HARBORNE, J. B. (Ed.). **The flavonoids: Advances in research since 1986**. London: Chapman & Hall, 1993. p. 239-258.

ECHELON BIOSCIENCES INCORPORATED; COMGENEX, RT. Beth E. Drees; Leena Chakravarty; Glenn D. Prestwich; Gyorgy Dorman; Mariann Kavec; Andras Kukacs; Laszlo Urge; Ferenc Darvas; Piotr W. Rzepecki; Colin G. Ferguson. **Compounds having inhibitive activity of phosphatidylinositol 3-kinase and methods of use thereof**. WO 2005/016245 A2, 24 fev. 2005.

EHLER, K. W.; ROBINS, R. K.; MEYER, R. B. 6-aminopyrazolo[4,3-c]pyridin-4(5H)-one, a novel analogue of guanine. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 2, p. 317-318, 1977.

E. R. SQUIBB & SONS, INC. Hans Hoehn. **1,4,5,7-Tetrahydropyrazolo[3,4-b]pyridine-6-ones**. 05/568,754, 16 abr. 1975.

FALCÓ, J. L.; LLOVERAS, M.; BUIRA, I.; TEIXIDÓ, J.; BORRELL, J. I.; MÉNDEZ, E.; TERCENIO, J.; PALOMER, A.; GUGLIETTA, A. Design, synthesis and biological activity of acyl substituted 3-amino-5-methyl-1,4,5,7-tetrahydropyrazolo[3,4-b]pyridin-6-ones as potential hypnotic drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 1179-1187, 2005.

HÄSER, K.; WENK, H. H.; SCHWAB, W. Biocatalytic production of dihydrocoumarin from coumarin by *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 6236-6240, 2006.

JIA, C.; PIAO, D.; KITAMURA, T.; FUJIWARA, Y. New method for preparation of coumarins and quinolinones via Pd-catalyzed intramolecular hydroarylation of C-C triple bond. **Journal of Organic Chemistry**, v. 65, p. 7516-7522, 2000a.

JIA, C.; PIAO, D.; OYAMADA, J.; LU, W.; KITAMURA, T.; FUJIWARA, Y. Efficient activation of aromatic C-H bonds for addition to C-C multiple bonds. **Science**, v. 287, p. 1992-1995, 2000b.

JIA, C.; WENJUN, L.; OYAMADA, J.; KITAMURA, T.; MATSUDA, K.; IRIE, M.; FUJIWARA, Y. Novel Pd(II)- and Pt(II)-catalyzed region- and stereoselective *trans*-hydroarylation of alkynes by simple arenes. **Journal of American Chemical Society**, v. 122, p. 7252-7263, 2000c.

JIA, C.; KITAMURA, T.; FUJIWARA, Y. Catalytic functionalization of arenes and alkanes via C-H bond activation. **Accounts of Chemical Research**, v. 34, p. 633-639, 2001.

LI, K.; FORESEE, L. N.; TUNGE, J. A. Trifluoroacetic acid-mediated hydroarylation: synthesis of dihydrocoumarins and dihydroquinolones. **Journal of Organic Chemistry**, v. 70, p. 2881-2883, 2005.

LIDSTRÖM, P.; TIERNEY, J.; WATHEY, B.; WESTMAN, J. Microwave assisted organic synthesis – a review. **Tetrahedron**, v. 57, p. 9225-9283, 2001.

MARTINES, M. A. U.; DAVOLOS, M. R.; JÚNIOR, M. J. O efeito do ultra-som em reações químicas. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 251-256, 2000.

MARTÍNEZ-TEIPEL, B.; TEIXIDÓ, J.; PASCUAL, R.; MORA, M.; PUJOLÀ, J.; FUJIMOTO, T.; BORRELL, J. I.; MICHELOTTI, E. L. 2-methoxy-6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyridine-3-carbonitriles: Versatile starting materials for the synthesis of libraries with diverse heterocyclic scaffolds. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 7, n. 3, p. 436-448, 2005.

MATSUDA, T.; SHIGENO, M.; MURAKAMI, M. Asymmetric synthesis of 3,4-dihydrocoumarins by rhodium-catalyzed reaction of 3-(2-hydroxyphenyl) cyclobutanones. **Journal of American Chemical Society**, v. 129, p. 12086-12087, 2007.

MONT, N.; FERNÁNDEZ-MEGIDO, L.; TEIXIDÓ, J.; KAPPE, C. O.; BORRELL, J. I. A diversity-oriented, microwave-assisted synthesis of 4-oxo and 4-chloropyrido[2,3-*d*]pyrimidin-7(8*H*)-ones. **QSAR & Combinatorial Science**, v. 23, p. 836-849, 2004.

MSHVIDOBADZE, E. V.; VASILEVSKY, S. F.; ELGUERO, J. A new route to pyrazolo[3,4-*c*] and [4,3-*c*] pyridinones via heterocyclizaion of *vic*-substituted hydroxamic acids of acetylenylpyrazoles. **Tetrahedron**, v. 60, p. 11875-11878, 2004.

PERREUX, L.; LOUPY, A. A tentative reationalization of microwave effects in organic synthesis according to the reaction medium, and mechanistic considerations. **Tetrahedron**, v. 57, p. 9199-9223, 2001.

PETERSON, J. R.; RUSSELL, M. E.; SURJASASMITA, I. B. Synthesis and experimental ionization energies of certain (E)-3-arylpropenoic acids and their methyl esters. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 33, n. 4, p. 534-537, 1988.

PFIZER PRODUCTS INC. Frank John Urban. **Pyrazolopyridinone as intermediate**. EP 1 380 585 B1, 10 nov. 2004.

PROZOROV, T.; PROZOROV, R.; SUSLICK, K. S. High velocity interparticle collisions driven by ultrasound. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, p. 13890-13891, 2004.

QADEER, G.; RAMA, N. H.; FAN, Z. J.; LIU, B.; LIU, X. F. Synthesis, herbicidal, fungicidal and insecticidal evaluation of 3-(Dichlorophenyl)-isocoumarins and (\pm)-3-(Dichlorophenyl)-3,4-dihydroisocoumarins. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 1176-1182, 2007.

QUIROGA, J.; HORMAZA, A.; INSUASTY, B. Reaction of 5-amino-1-aryl-3-methylpyrazoles with benzylidene derivatives of meldrum's acid: synthesis and characterization of pyrazolo[3,4-*b*]pyridinones. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 35, p. 409-412, 1998.

QUIROGA, J.; INSUASTY, B.; HORMAZA, A.; CABILDO, P.; CLARAMUNT, R. M.; ELGUERO, J. Synthesis, molecular structure and tautomerism o f 1(2)*H*-dihydropyrazolo[3,4-*b*]pyridine-6-ones. **Heterocyclic Communications**, v. 5, n. 2, p. 115-122, 1999.

ROELENS, F.; HUVAERE, K.; DHOOGHE, W.; CLEEMPUT, M. V.; COMHAIRE, F.; KEUKELEIRE, D. D. Regioselective synthesis and estrogenicity of (\pm)-8-alkyl-5,7-dihydroxy-4-(4-hydroxyphenyl)-3,4-dihydrocoumarins. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 10, p. 1042-1051, 2005.

SAGREGRA, G. J.; SEOANE, G. W. Microware accelerated solvent-free synthesis of flavanones. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 4, p. 851-856, 2005.

SANTOS, A. C. S.; ECHEVARRIA, A. Eletronic effects on ^{13}C NMR chemical shifts of substituted 1,3,4-thiadiazolium salts. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 39, p. 182-186, 2001.

SILVA, F. C.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V. Adaptação de forno de microondas doméstico para realização de reações de transesterificação sob refluxo e catálise por argilas. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 376-380, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 2006.

SIMEONOV, M. F.; SPASSOV, S. L.; BOJLOVA, A.; IVANOV, C. H. R.; RADEGLIA, R. Conformation and tautomeric equilibria of 3-acyl-3,4-dihydrocoumarins: A ^1H and ^{12}C NMR study. **Journal of Molecular Structure**, v. 127, p. 127-133, 1985.

SINGH, I.; PRASAD, A. K.; SHARMA, A. K.; SAXENA, R. K.; OLSEN, C. E.; CHOLI, A. L.; SAMUELSON, L. A.; KUMAR, J.; WATTERSON, A. C.; PARMA, V. S. Synthetic and novel biocatalytic resolution studies on (\pm)-5/6/7-acetoxy-4-aryl-3,4-dihydrocoumarins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 529-538, 2003.

SUN, X.; SNEDEN, A. T. Neoflavonoids from *Polygonum perfoliatum*. **Planta Medica**, v. 65, p. 671-673, 1999.

SUTHUNURU, R.; BIEHL, E. Facile and regioselective synthesis of 4',7-dihydroxy-4-phenyl-chroman-2-ones. **Arkivoc**, v. 1, p. 138-145, 2004.

TALAPATRA, B.; DEB, T.; TALAPATRA, S. Condensation of phenols & cinnamic acids in presence of polyphosphoric acid: A novel biogenetic-type oxidative self-cyclisation of *p*-methoxycinnamic acid to 7-methoxycoumarin. **Indian Journal of Chemistry**, v. 25B, p. 1122-1125, 1986.

THOMPSON, L. H.; DORAISWAMY, L. K. Sonochemistry: science and engineering. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 38, p. 1215-1249, 1999.

VASILEVSKY, S. F.; MSHVIDOBADZE, E. V.; ELGUERO, J. Study of the heterocyclization of *vic*-substituted hydrazides of acetylenylpyrazolecarboxylic acids into *N*-Amino pyrazolopyridinones. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 39, p. 1229-1233, 2002a.

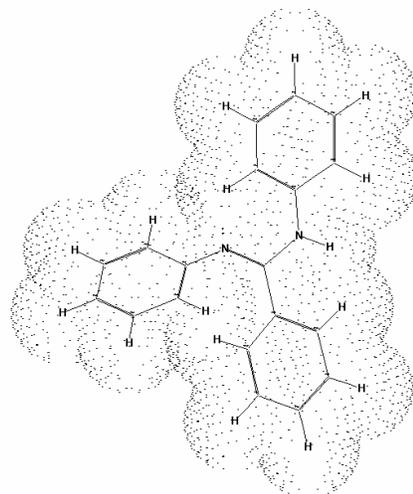
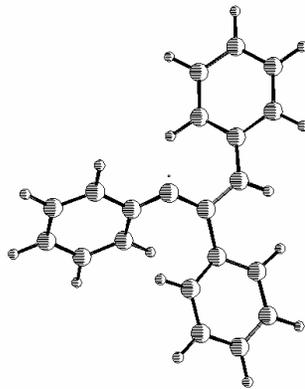
VASILEVSKY, S. F.; MSHVIDOBADZE, E. V.; ELGUERO, J. Heterocyclization of *vic*-substituted hydroxamic acid salts of acetylenyl-pyrazoles: a new procedure for the preparation of Pyrazolo[3,4-*c*]pyridine-7-ones. **Heterocycles**, v. 57, n. 12, p. 2255-2260, 2002b.

YOUN, S. W.; PASTINE, S. J.; SAMES, D. Ru(III)-catalyzed cyclization of arene-alkene substrates via intramolecular electrophilic hydroarylation. **Organic Letters**, v. 6, n. 4, p. 581-584, 2004.

ZHANG, X. F.; XIE, L.; LIU, Y.; XIANG, J. F.; LI, L.; TANG, Y. L. Molecular interaction and energy transfer between human serum albumin and bioactive component aloe dihydrocoumarin. **Journal of Molecular Structure**, v. 16, p. 949-953, 2008.

CAPÍTULO III

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTI-LEISHMANIA E ANÁLISE DE HANSH DE DERIVADOS DA CLASSE AMIDINAS



RESUMO

A terceira parte do trabalho relata o planejamento e síntese de uma série de 22 compostos da classe N,N'-difetil-benzamidas tendo como base o protótipo **17** que apresentou atividade anti-leishmania significativa. Dentre os compostos, 16 foram planejados utilizando-se o diagrama de Craig, e nos demais, foram inseridos grupos metoxila ou do grupo metilendioxo, variando-se a posição nos anéis aromáticos e mantendo-se a estrutura básica do protótipo **17**. As amidas foram obtidas em rendimentos de moderados a bons (50-86%). Dentre os compostos sintetizados, 20 N,N'-difetil-benzamidas são inéditas na literatura. Todos os compostos foram devidamente caracterizados por técnicas espectrométricas de rotina como IV, RMN de ^1H , ^{13}C , e CG-MS. Através da análise dos valores de entalpias de formação (hamiltoniano PM3), pôde-se constatar que as formas tautoméricas amínicas e imínicas dos derivados N,N'-difetil-benzamidas apresentaram em proporções equivalentes, com exceção **165i** e **165v**. 18 N,N'-difetil-benzamidas foram avaliadas frente à *Leishmania amazonensis* em colaboração com Laboratório de Bioquímica de Tripanomassomatóides – FIOCRUZ. As N,N'-difetil-benzamidas apresentaram ação anti-leishmania interessante, destacando-se os derivados **165b** ($\text{CI}_{50}=13,07 \mu\text{M}$), **165p** ($\text{CI}_{50}=12,82 \mu\text{M}$) e **165i** ($\text{CI}_{50}=16,71 \mu\text{M}$) que mostraram uma atividade comparável ao fármaco de controle, a pentamida ($\text{CI}_{50}=11,26 \mu\text{M}$). Além disso, foram realizadas análises de QSAR-2D obtendo-se modelos razoáveis ($r > 0,90$), que indicaram grupos retiradores de elétrons favorecendo a atividade anti-leishmania.

Palavras chaves: atividade anti-leishmania, N,N'-difetil-benzamidas, QSAR-2D

1 INTRODUÇÃO

As amidinas são amplamente empregadas como intermediários na obtenção de compostos acíclicos, e em décadas recentes na síntese de compostos heterocíclicos como: aziridinas, pirróis, tiadiazóis, oxazóis, pirimidinas entre outros (ECHEVARRIA et al., 1996; BORTOLUZZI et al., 2004; TEMPORAL et al., 2002; GENESTRA et al., 2003; CANTO-CAVALHEIRO et al., 1997).

Na química de coordenação, tem crescido o número de trabalhos utilizando amidinas como ligantes, fornecendo diversas estruturas de complexos com diferentes metais (BARKER e KILNER., 1994; COLES., 2006), além disso, recentemente, novas aplicações foram relatadas para estruturas poliméricas bem definidas contendo um grande número de grupamentos amidínicos (KOMBER et al., 2002).

O grupamento amidínico, com diferentes modelos de substituição, apresenta-se, freqüentemente, como uma parte importante nas substâncias com atividade biológica (KOMBER et al., 2002).

As amidinas possuem um amplo espectro de atividades biológicas (KUSTURIN et al., 2002). O grupo funcional amidínico é encontrado em muitas moléculas que podem atuar como: agentes antitrombóticos, anestésicos, antibióticos, anti-helmínticos e diuréticos, (XU et al., 2002). Além disso, como foi dito na introdução do capítulo 1, a pentamidina é utilizada como fármaco de segunda escolha no tratamento de leishmaniose (CROFT et al., 2005).

1.1 Compostos amidínicos, características e estrutura

1.1.1 Estrutura

As amidinas são interessantes isómeros de ácidos carboxílicos e ésteres, combinando uma ligação dupla C=N, como as azometinas, e uma ligação simples C-N, como as amidas, tendo um caráter parcial de ligação dupla (SHRINER et al., 1944). Este caráter se deve ao efeito de ressonância envolvendo os grupamentos C-N e C=N, como indicado na figura 01.



Figura 01: Estruturas de ressonância do grupamento amidínico.

Estudos de cristalografia de raios-X demonstraram que o grupamento amidínico tem uma certa planaridade e um efeito de conjugação eletrônica n- π acentuado, figura 02 (COTTON et al., 1997; BORTOLUZZI et al., 2004). As estruturas de raios-X para as amidinas **106-8** (figura 02) permitiram observar um encurtamento da ligação amínica em relação a amida (C-N, 1,47 Å) e alongamento da ligação imínica em relação a uma imina (C=N, 1,27 Å). Porém, esses efeitos variam em função da substituição dos átomos de nitrogênio, efeitos estéricos e organizações de cristais, como exemplo o composto **108**, onde os mesmos se tornam menos pronunciados (COTTON et al., 1997).

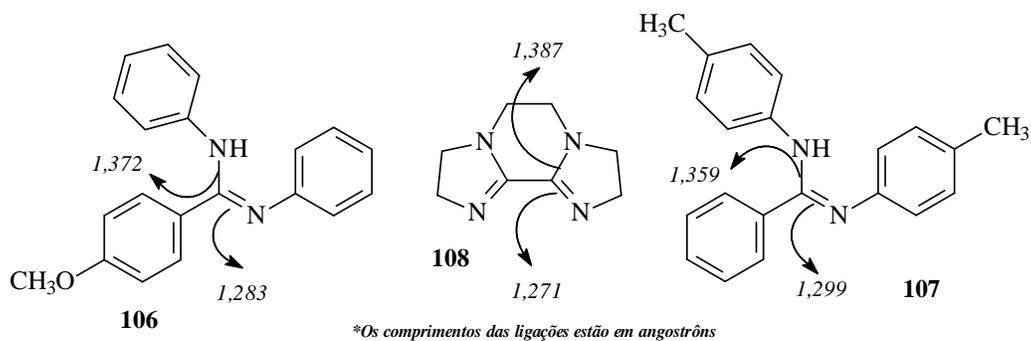


Figura 02. Estruturas de compostos amidínicos **106**, **107** e **108** (COTTON et al., 1997; BORTOLUZZI et al., 2004).

Os parâmetros geométricos obtidos a partir de modelagem molecular, utilizando cálculos *ab initio*, para algumas substâncias contendo o grupamento amidínico (**109** e **110**) tem fornecido boa concordância com os valores de comprimento e ângulos de ligação obtidos experimentalmente (figura 03) (REMKO et al., 2003).

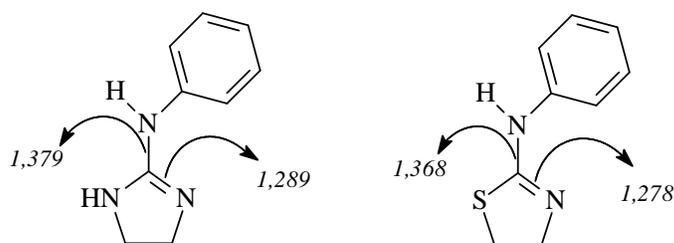


Figura 03. Estruturas de compostos amidínicos **109** e **110** (REMKO et al., 2003).

1.1.2 Classificação das amidinas

Em função da distribuição e do número de substituintes nos átomos de nitrogênio do grupamento amidínico, as amidinas podem ser classificadas em cinco tipos, de acordo com a figura 04 (SHRINER et al., 1944).

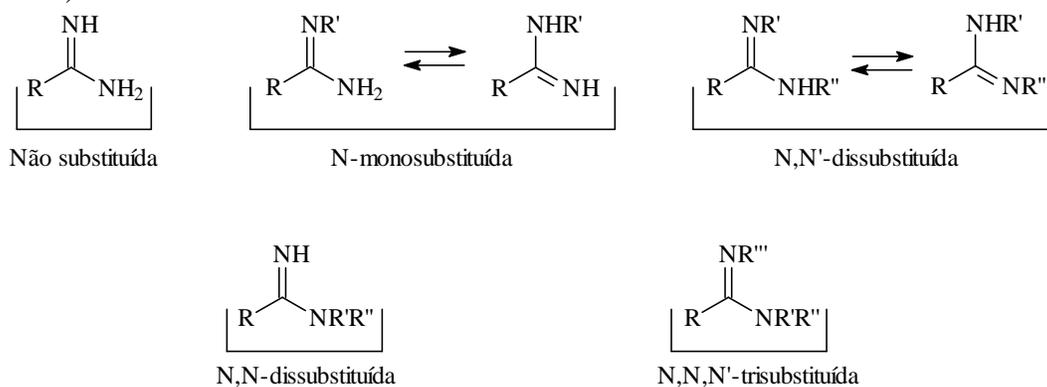


Figura 04: Classificação das amidinas em função da substituição dos nitrogênios (SHRINER et al., 1944).

1.1.3 Propriedades espectroscópicas

1.1.3.1 Espectroscopia de infravermelho

As bandas de absorção de IV características do grupo amidínico são provenientes da deformação axial da ligação de C=N, por volta de 1689-1471 cm^{-1} e C-N em torno de 1400 cm^{-1} (SILVERSTEIN, 2006). Porém, estes valores podem variar em função dos substituintes tanto no carbono amidínico quanto nos dois nitrogênios que podem apresentar efeito indutivo ou de ressonância que levam a redução da ordem da ligação C=N.

1.1.3.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C

Os valores de deslocamentos químicos dos carbonos amidínicos são afetados pelos efeitos de conjugação ou indutivo dos substituintes no carbono ou nos dois nitrogênios. Os exemplos abaixo mostram claramente que substituintes doadores de elétrons blindam o carbono amidínico, conseqüentemente tendo deslocamentos químicos menores (campo alto) e retiradores de elétrons desblindam, apresentando deslocamentos químicos maiores (campo baixo) (SILVERSTEIN, 2006). Além disso, podemos notar que os efeitos são mais efetivos quando os substituintes estão no nitrogênio íminico do que no carbono amidínico comparando-se os deslocamentos químicos de cada série como indicado na figura 05 (SANTOS, 1993).

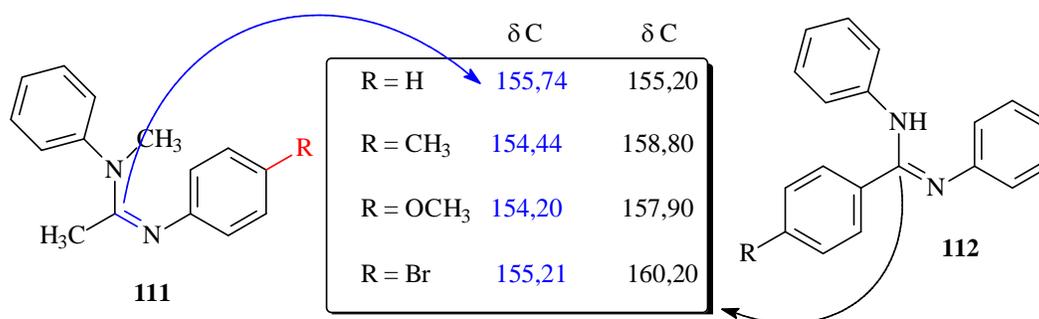


Figura 05. Estruturas dos compostos **111** e **112** e os δ dos carbonos amidínicos (SANTOS, 1993).

Os valores dos deslocamentos químicos de hidrogênio podem ser afetados pelos fatores anteriormente citados, tipo de solvente e formação de complexos, que possam vir a fazer ligações de hidrogênio entre a amidina ou cátion amidínico e o ânion correspondente. O exemplo na figura 06 mostra um sinal de NH em δ 12,9 característico de uma forte ligação de hidrogênio entre o cátion amidínico e o ácido benzóico (KRAFT et al., 2002).

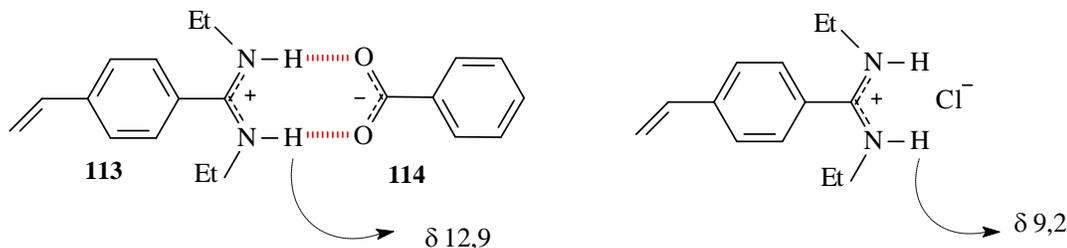
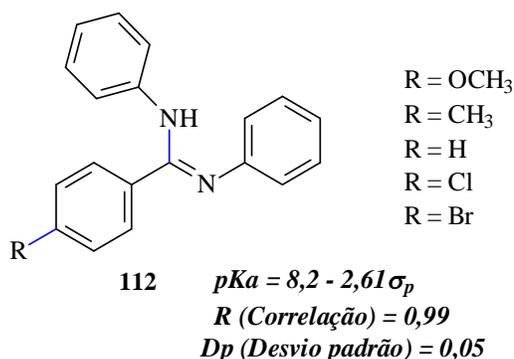


Figura 06. Estrutura dos compostos **113** fazendo ligação de hidrogênio (KRAFT et al., 2002).

1.1.4.2 Basicidade das amidinas

As amidinas são bases fortes, influenciadas pela substituição dos átomos de carbono ou dos nitrogênios. Apesar do grupamento amidínico conter dois nitrogênios, a protonação fornece apenas um cátion (OSZCZAPOWICZ e RACZYNSKA, 1984). Os efeitos dos substituintes na basicidade dessas substâncias, foi bastante estudado por Lorz et al. (1949) utilizando amidinas do tipo N,N-dissubstituídas. Santos (1994) conseguiu observar uma correlação entre os efeitos eletrônicos dos substituintes na posição *para* do anel aromático ligado ao carbono que compõe a função amidínica, σ_p (constante de substituinte de Hammett), e os valores correspondentes dos pKas das benzamidinas **112**.



Os valores obtidos de pKas para as amidinas ao longo do tempo têm fornecido várias informações importantes como os parâmetros termodinâmicos, e o percentual de tautômeros. Estudos detalhados permitiram verificar que os tautômeros imínicos são favorecidos por grupos retiradores de elétrons (RACZYNSKA e OSZCZAPOWICZ, 1985).

1.1.5 Tautomerismo

O tautomerismo prototrópico das amidinas, envolvendo a troca dos hidrogênios entre os átomos de nitrogênio (figura 07), seja em sistemas cíclicos ou acíclicos, tem sido extensivamente estudado. (JACKMAN e JEN, 1975; RACZYNSKA et al., 1985).

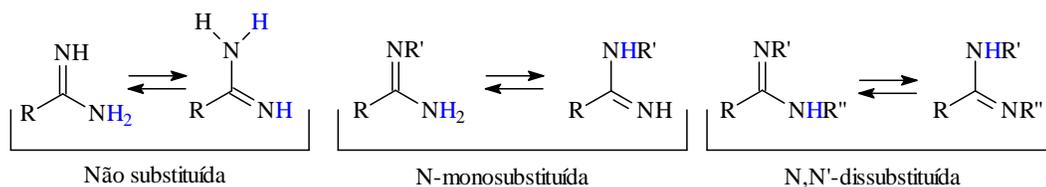


Figura 07. Tautomerismo prototrópico das amidinas (RACZYNSKA et al., 1985).

Embora a constante de equilíbrio tautomérico (pK_T) não seja experimentalmente acessível por medidas diretas de basicidade e acidez, seu valor pode ser estimado (figura 08).

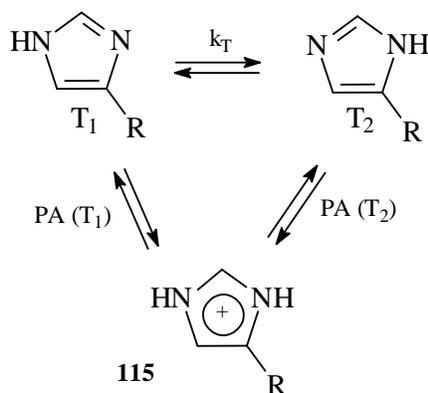


Figura 08. Tautomerismo prototrópico do imidazól (RACZYNSKA et al., 1997).

De maneira geral, a constante de equilíbrio tautomérica resulta na diferença entre os parâmetros de basicidade (equação 01) ou de acidez de cada tautômero T_1 e T_2 . Raczyńska et al., (1997) calculou o pK_T ($-\log K_T$) para uma série de imidazóis (amidina cíclica) a partir do ΔH_f° de cada tautômero (equação 10). O pesquisador considerou o mesmo modelo de afinidade protônica proposto por Dewar et al. (1985) utilizando as equações 02 e 04 no qual este parâmetro pode ser obtido teoricamente a partir dos valores de entalpia de formação (ΔH_f°) para as formas neutras e iônicas de cada tautômero (o método quântico semi-empírico foi o AM1) e o valor experimental de ΔH_f° para o hidroxônio (H_3O^+ ; $\Delta H_f^\circ = 367,2 \text{ Kcal mol}^{-1}$; 298,15 K).

A partir daí, tomando como base a equação 06 e desmembrando os termos $GB(T_1)$ e $GB(T_2)$ da equação 01, obtiveram a equação 07, que ao substituir os termos $\Delta H_f^\circ(T_1)$ e $\Delta H_f^\circ(T_2)$ por suas equivalências das equações 03 e 05, respectivamente, levaria à equação 08. Na equação 08, negligenciando o termo $T\Delta S$ de cada tautômero, alcançaram a equação 09, que ao substituir os termos $PA(T_1)$ e $PA(T_2)$ por suas equivalências das equações 01 e 03 chegaram na equação 10.

$\Delta G^\circ = (GB(T_1) - GB(T_2))$	Equação 01
$AP(T_1) = \Delta H_f^\circ(T_1) + \Delta H_f^\circ(H^+) - \Delta H_f^\circ(\text{cátion})$	Equação 02
$\Delta H_f^\circ(T_1) = AP(T_1) - \Delta H_f^\circ(H^+) + \Delta H_f^\circ(\text{cátion})$	Equação 03
$AP(T_2) = \Delta H_f^\circ(T_2) + \Delta H_f^\circ(H^+) - \Delta H_f^\circ(\text{cátion})$	Equação 04
$\Delta H_f^\circ(T_2) = AP(T_2) - \Delta H_f^\circ(H^+) + \Delta H_f^\circ(\text{cátion})$	Equação 05
$1,3643pK_T = \Delta G^\circ$	Equação 06
$\Delta G^\circ = \Delta H_f^\circ(T_1) - T\Delta S(T_1) - \Delta H_f^\circ(T_2) + T\Delta S(T_2)$	Equação 07
$\Delta G^\circ = (PA(T_1) - PA(T_2)) - [T\Delta S(T_1) - T\Delta S(T_2)]$	Equação 08
$1,3643pK_T = (PA(T_1) - PA(T_2))$	Equação 09
$1,3643pK_T = \Delta H_f^\circ(T_1) - \Delta H_f^\circ(T_2)$	Equação 10
$K_T = [T_1] / [T_2] = x / 1-x$	Equação 11

ΔG° = Diferença da energia de Gibbs no final menos inicial no estado padrão

ΔS = Diferença da energia entrópica final menos a energia entrópica inicial

GB = basicidade da espécie no estado gasoso

AP = afinidade protônica

T = Temperatura

T_1 = Tautômero 1

T_2 = Tautômero 2

x = fração molar de um tautômero

As formas estruturais das cicloamidinas eram expressas na maior parte dos trabalhos em sua forma amínica (**116**). Através da síntese dos análogos da clonidina,

118 e 119, observou-se que o sistema Ar-N=C-N- do composto **119** blindava mais os átomos de carbono da posição *ipso* e *para*, do que o sistema Ar-N-C=N- do composto **118**. Então, a partir desses estudos as estruturas passaram a ser representadas pela pelo tautômero **117** (figura 09) (JACKMAN e JEN, 1975).

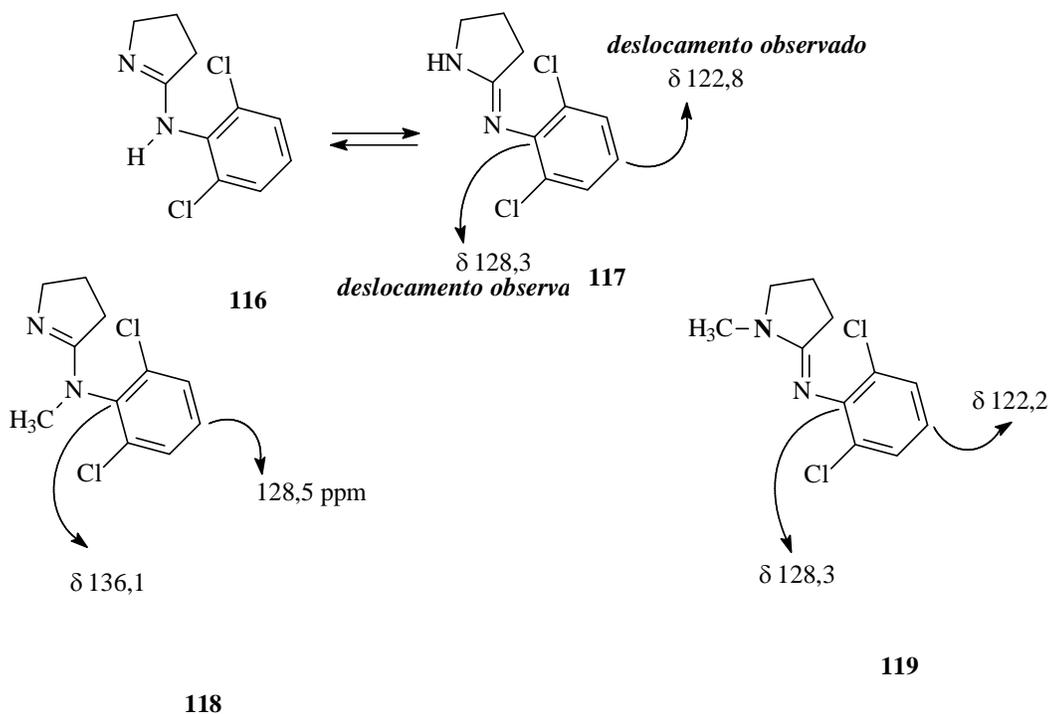


Figura 09. Exemplos de cicloamidinas com a atribuição dos deslocamentos químicos (JACKMAN e JEN, 1975).

A partir da década de 90 em diante, pelo menos para sistemas mais complexos, a espectrometria de IV (KOMBER et al., 1997) tornou-se menos utilizada na caracterização estrutural dos tautômêros amidínicos para dar lugar à RMN ^1H , ^{13}C e ^{15}N , seja em solução ou estado sólido, como foi no caso da ciclo-tris-piridilformamidina (**121**) (KOMBER et al., 2002) e perimidinas (**120**) (YAVARI et al., 2002).

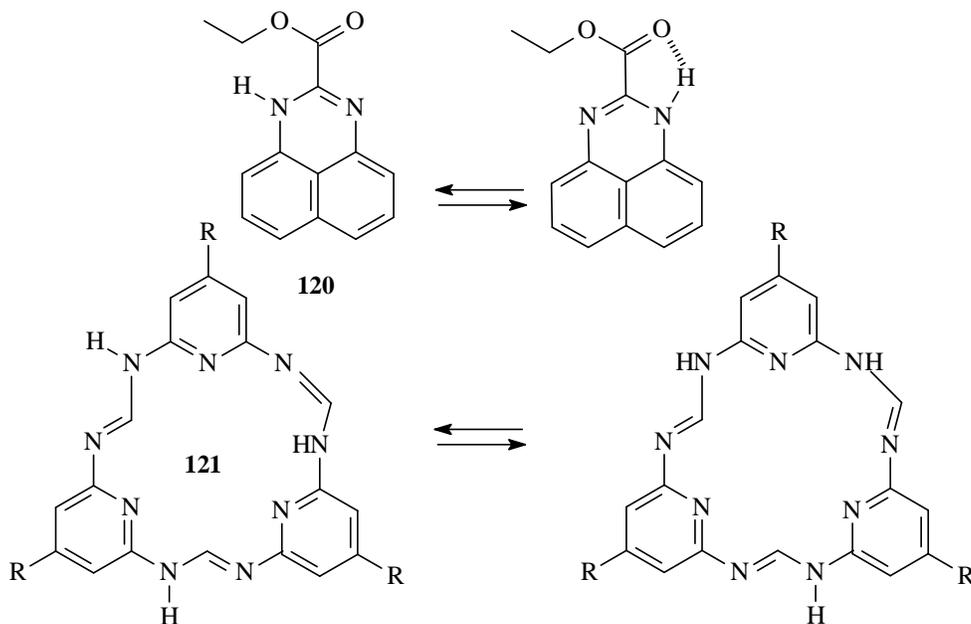


Figura 10. Compostos amidínicos **120** e **121** que apresentam tautomerismo (YAVARI et al., 2002; KOMBER et al., 2002).

1.1.6 Isomerismo geométrico

O processo de isomerização para as olefinas sem a presença de catalisadores requer uma alta energia, pois esta é necessária para romper o empareamento dos orbitais p na ligação π , necessitando de temperaturas que iniciam em 200 °C podendo chegar até mais de 470 °C (CURTIN et al., 1966).

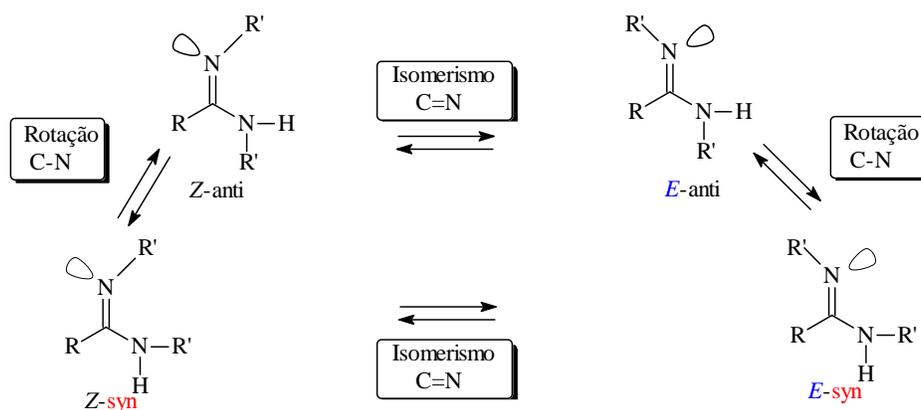


Figura 11. Exemplos de isomerismo geométrico para amidinas (COLES, 2006).

Mas, esse processo de isomerização não ocorre da mesma forma para as iminas, oximas de éteres, haloiminas, e amidinas (JACKMAN e JEAN, 1975), pois o mecanismo de inversão isomérica, podendo ser chamado de “mecanismo de rotação intensa”, envolve a rotação da metade da molécula com a respectiva outra metade, num eixo através da ligação dupla e do átomo de nitrogênio necessitando de pouca energia (CURTIN et al., 1966).

A figura 12 mostra exemplos de amidinas que apresentam isomerismo geométrico. Assim como na análise de tautômeros, a espectrometria de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{15}N vem sendo usada como ótima ferramenta para elucidação de isômeros geométricos (KRAFT et al., 2002), e em particular as técnicas para detectar NOE (AVALOS et al., 1996).

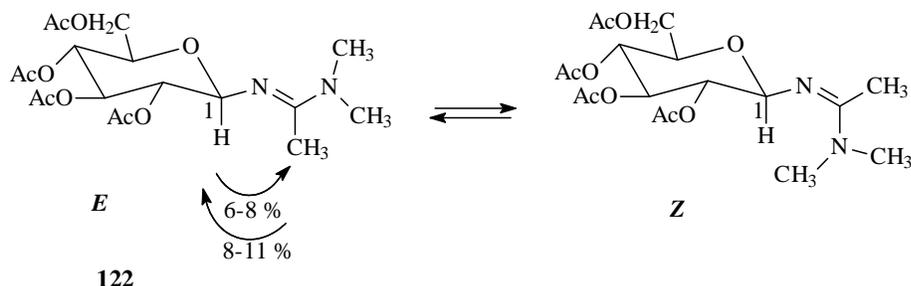


Figura 12. Exemplos de isomerismo geométrico para amidinas (AVALOS et al., 1996).

1.1.7 Química da coordenação

Devido a constante demanda por novos sistemas de ligantes que possam ativar os centros metálicos, existe um esforço contínuo para sintetizar compostos cada vez mais elaborados para o uso neste contexto. As amidinas cada vez mais tem ganhado destaque neste cenário, e diversos complexos com diferentes metais surgem a cada ano, alguns exemplos são mostrados na figura 13 (COLES, 2006)

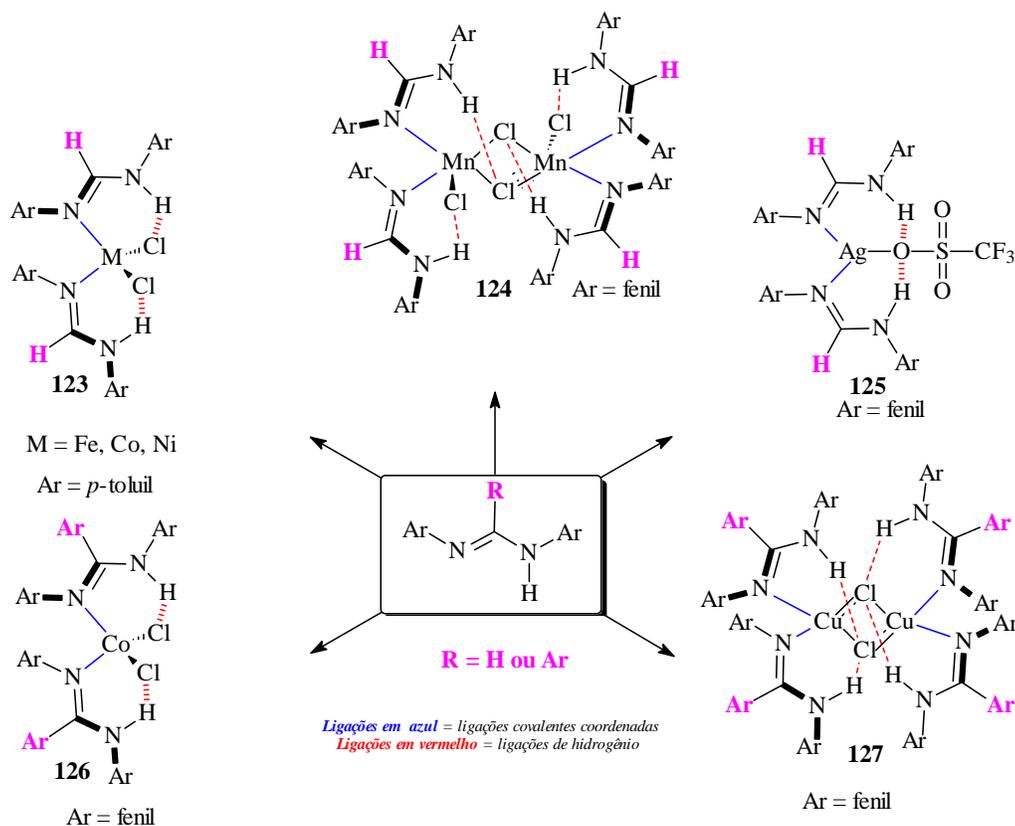


Figura 13. Exemplos de alguns complexos utilizando como ligantes as amidinas (COLES, 2006)

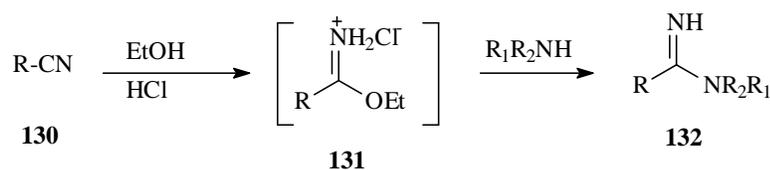
1.2 Métodos de síntese das amidinas

Devido a crescente importância das amidinas, o número de métodos de síntese tem aumentando consideravelmente (YET, 2000), sendo que os principais substratos utilizados são nitrilas e amidas, sendo também usados em alguns casos, ésteres, ácidos carboxílicos e isonitrilas (SANTOS et al., 2006). As estratégias convencionais para a síntese das mesmas serão apresentadas a seguir.

1.2.1 Síntese de amidinas a partir de nitrilas

1.2.1.1 Reação de Pinner

A reação clássica de Pinner, descoberta por Klein Pinner em 1800, é provavelmente o método mais comum de transformação de nitrilas a amidinas (YET, 2000). Nitrilas (**130**) são levadas a intermediários de sais de ésteres imídicos (**131**) sob condições anidras, que reagem com aminas *in situ*, ou depois de isolados, levando às amidinas (**132**) correspondentes, figura 14.



R = alquila, arila; R₁, R₂ = metila

Figura 14. Reação de Pinner (YET, 2000).

1.2.1.2 Reação de aminas com nitrilas em presença de AlCl₃

Nesta metodologia os melhores rendimentos para a preparação de amidinas foram obtidos usando 50% de excesso de anilina (**135**) e cloreto de alumínio em relação à concentração de *o*-aminobenzonitrila (**134**). Os rendimentos dependeram da substituição do anel benzênico das aminas de partida. Substituintes fortemente retiradores de elétrons baixaram o rendimento ou evitaram a formação de amidinas (**136**), devido à conseqüentemente baixa nucleofilicidade de grupo amino (figura 15) (SZCZEPANKIEWICZ et al., 2000).

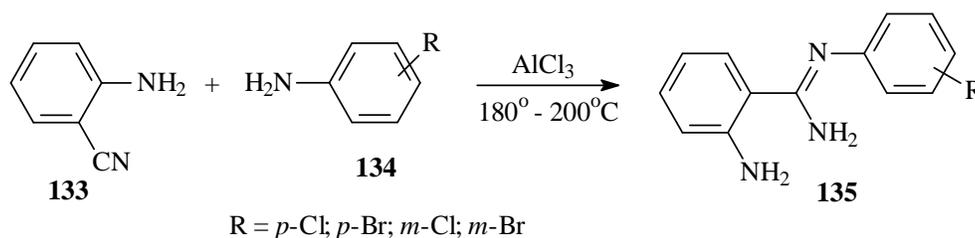


Figura 15. Reação de aminas com nitrilas em presença de AlCl₃ (SZCZEPANKIEWICZ et al., 2000).

1.2.1.3 Reação de Garipati

Garipati registrou que alquil e arilnitrilas eram eficientemente convertidas a amidinas em uma única etapa de reação com amideto de metil-cloro-alumínio, como mostra a figura 16. O reagente de alumínio, originalmente desenvolvido por Weneib (MOSS et al., 1995), foi convencionalmente preparado a partir da adição de NH_4Cl ao triametilalumínio obtido comercialmente. O complexo formado, posteriormente, foi hidrolisado na presença de gel de sílica, mostrando rendimento razoável por volta de 70%.

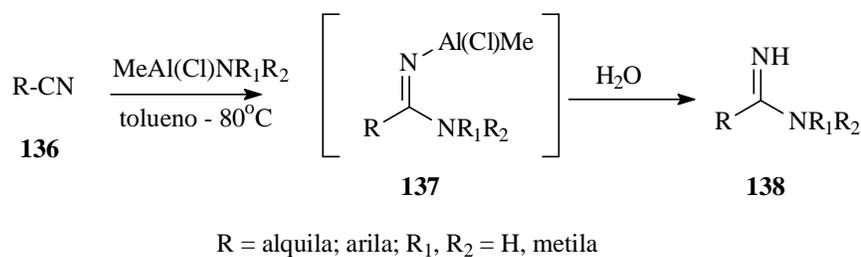


Figura 16. Reação de Garipati (MOSS et al., 1995)

1.2.1.4 Obtenção de amidinas a partir de nitrilas e cisteína

Shafin empregou a N-acetilcisteína (**139**) para transformar nitrilas (**140**) a intermediários tioamidas (**141**), que reagiram com amônia dando os sais correspondentes (**142**), em bons rendimentos (figura 17) (YET, 2000).

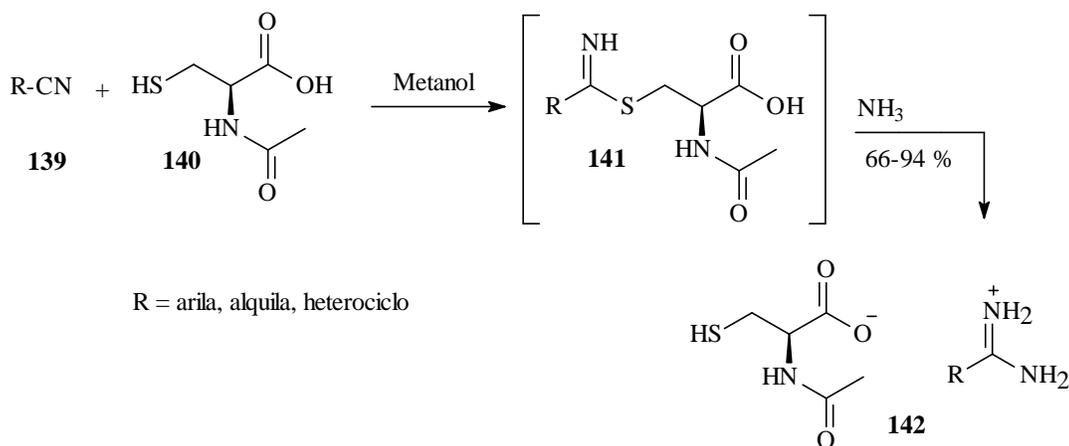


Figura 17. Obtenção das amidinas a partir do emprego de N-acetilcisteína (YET, 2000).

1.2.1.5. Condensação de nitrilas a amidinas utilizando SmI_2

Recentemente tem sido explorada a utilização de SmI_2 como catalisador para a formação de ligação C-N (Xu et al., 2002). Investigações mostraram resultados de bons a moderados na condensação de aminas com nitrilas para preparação de amidinas N,N'-

dissubstituídas. Porém, o excesso de nitrila poderá formar triazinas em presença de SmI_2 levando a uma queda do rendimento (Figura 18).

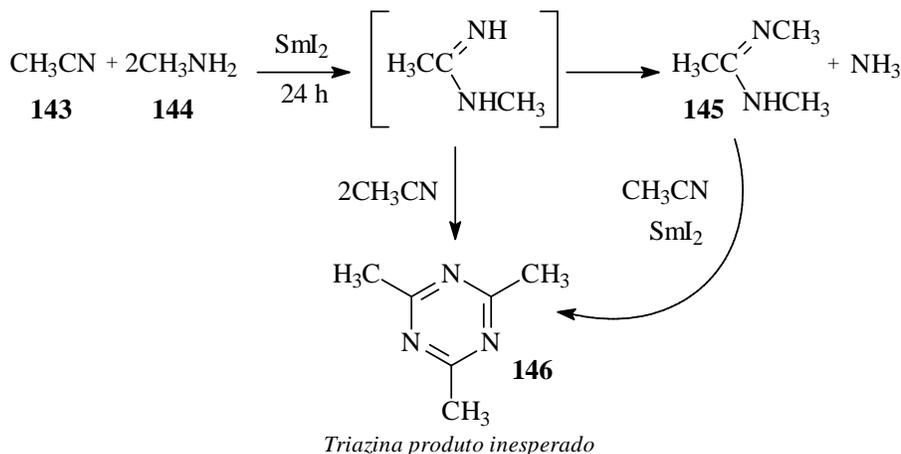


Figura 18. Obtenção de amidinas utilizando SmI_2 (Xu et al., 2002)

1.2.2 Síntese de amidinas a partir de ácidos bóricos, carboxílicos, diaminas e amidas

1.2.2.1 Síntese a partir de ácidos bóricos

Um novo método tem sido empregado na síntese de amidinas utilizando derivados do ácido bórico (**148**) e um reagente de guanilação (**147**), permitindo gerar diversas benzamidinas protegidas (**149**) em presença de funções do tipo: aldeído, cetona e éster. Os rendimentos obtidos com a utilização dessa metodologia estão na faixa de 40-91%, podendo ser facilmente desprotegidas em presença de TFA e CH_2Cl_2 ou dioxano (figura 19) (KUSTURIN et al., 2002).

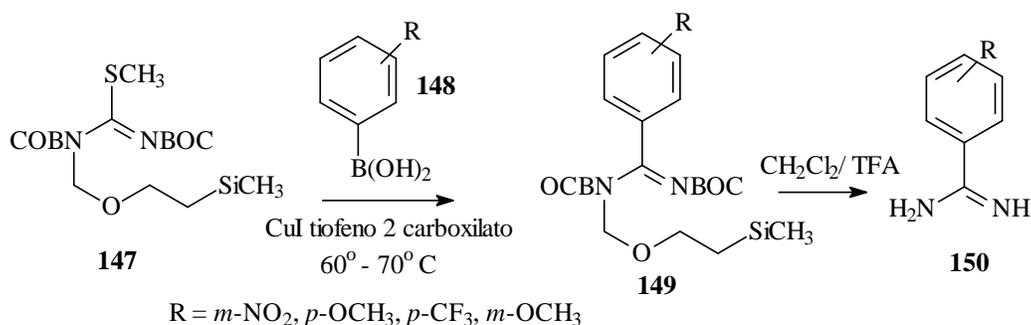


Figura 19. Obtenção de amidinas a partir de ácidos bóricos (KUSTURIN et al., 2002).

1.2.2.2 Amidinas a partir de ácidos carboxílicos

Kalkimoto mostrou a síntese direta de amidinas a partir de ácidos carboxílicos (**151**) e aminas via o intermediário **152**, usando o éster trimetilsilano polifosfórico (PPSE), gerado *in situ*, utilizando pentóxido de fósforo e hexametildisiloxano, como agente de condensação (figura 20) (Yet, 2000).

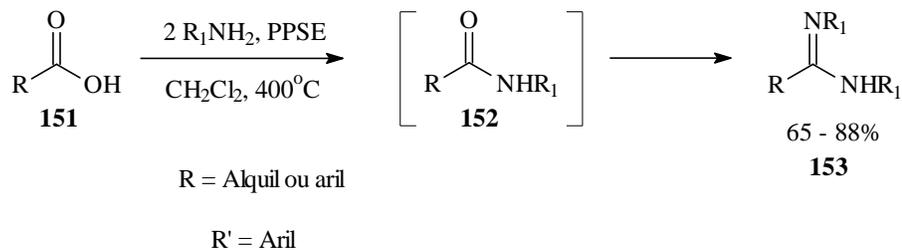


Figura 20. Obtenção de amidinas a partir de ácidos carboxílicos (Yet, 2000).

1.2.2.3 Obtenção de amidinas a partir de diaminas

Amidinas cíclicas opticamente ativas são compostos básicos que podem servir como auxiliares em análise de misturas enantioméricas por RMN. Wyberg sintetizou amidinas cíclicas a partir de diaminas com trimetilortoformiato e ácido fórmico (Yet, 2000).

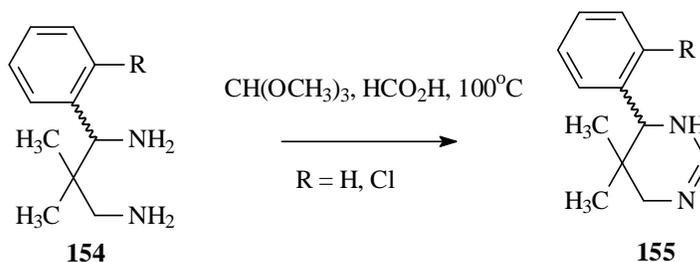


Figura 21. Obtenção de amidinas a partir de diaminas (Yet, 2000).

1.2.2.4 Síntese de amidinas a partir de amidas

A obtenção de amidinas a partir de amidas (**156**) é conhecida desde longa data, (MENDEEL & HILL, 1954), sendo considerada uma boa metodologia de síntese para amidinas di-N,N' e tri-N,N'substituídas. Assim, ainda hoje esse método é utilizado, principalmente através do uso do intermediário, cloreto de imidoíla **157** (FATHALLA et al., 2001; FALLALHA e PAZDINA, 2002; ECHEVARRIA, et al., 1996). O método consiste em gerar um intermediário, cloreto de imidoíla a partir da amida correspondente, que posteriormente reage *in situ* com aminas (figura 22).

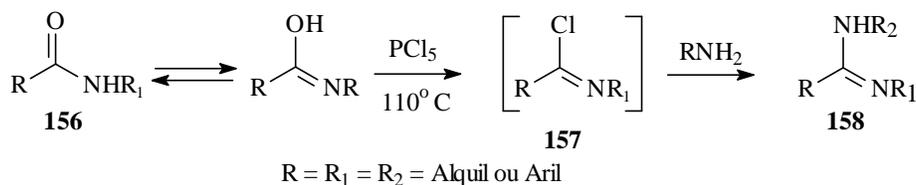


Figura 22. Obtenção de amidinas a partir de amidas (FATHALLA et al., 2001; FALLALHA e PAZDINA, 2002 e ECHEVARRIA et al., 1996)

1.3 Relação Quantitativa Entre Estrutura e Atividade Biológica (QSAR)

A ação terapêutica dos fármacos resulta de interações com sistemas biológicos e é dependente de fatores relacionados com suas estruturas químicas e, conseqüentemente, com suas propriedades físico-químicas. Estes fatores, sejam eles de caráter eletrônico, hidrofóbico, polar ou estérico, influenciam na interação do fármaco com a biofase e a sua distribuição nos compartimentos que compõem o sistema biológico (TAVARES, 2004 e KUBINYI, 1997).

Hansch e Fujita propuseram que a atividade biológica apresentada por uma série de compostos e suas respectivas estruturas químicas pode ser correlacionada segundo a equação 12 e é chamado de modelo Hansh-Fujita (GAUDIO et al., 2001):

$$\log 1/C = a X_{Lipofílico}^2 + b X_{Lipofílico} + c X_{Eletronico} + d X_{Estéreo} + e X_{Polar} + f \quad \text{Equação 12}$$

C = Resposta biológica em concentração molar

X = variáveis que representam as propriedades físico-químicas e estruturais locais

a-f = coeficientes de ajuste

1.3.1 Alguns descritores físico-químicos clássicos

Sem dúvida alguma a constante sigma σ , é um dos descritores eletrônicos mais clássicos que quantifica a influência eletrônica de um dado substituinte ligado ao anel aromático. Sua magnitude quantifica o efeito eletrônico e quanto afeta o centro de reação e é definido pela equação de Hammett (equação 13) (KUBINYI, 1997).

$$\log K_x = \rho \sigma + \log K_0 \quad \text{Equação 13}$$
$$\rho^* \sigma = \log K_x / \log K_0$$

K_x = constante do ácido benzóico substituído

K_0 = constante do ácido benzóico substituído

σ = constante de cada grupo substituinte

* ρ = 1 para a dissociação de ácido benzóico

ρ = coeficiente angular da equação de Hammett (constante da reação)

Outro descritor importante é a lipofilicidade de uma espécie, que pode ser determinada pela razão entre as concentrações que se estabelecem nas condições de equilíbrio de uma substância entre a fase orgânica e a fase aquosa. Pode ser definido pela equação 14 (TAVARES, 2004 e KUBINYI, 1997) .

$$P = C[\text{orgânica}] / C[\text{aquosa}] \quad \text{Equação 14}$$

P = coeficiente de partição

[Orgânica] = concentração da espécie na fase orgânica

[aquosa] = concentração da espécie na fase aquosa

A lipofilicidade de cada substituinte também pode ser expressa pela constante de Hansh, π , que pode ser compreendida como a contribuição lipofílica de cada substituinte ligado também à um anel aromático, sendo definida pela equação 15. A ausência da “constante de reação”, como a equação de Hammett, se deve ao fato que todos os valores de π referem-se ao sistema n-octanol/água (KUBINYI, 1997).

$$\pi = \log P_{RX} - \log P_{RH} \quad \text{Equação 15}$$

π = constante de Hansh
 P = coeficiente de partição da molécula
 RX = composto com o substituinte desejado
 RH = composto sem substituinte

A polarizabilidade de uma espécie é também considerado um fator importante, na relação entre a estrutura e a atividade biológica. O uso da refratividade molar (MR) reflete não só as interações de Van der Waals como também a polarizabilidade, e pode ser definida pela equação 16 (TAVARES, 2004).

$$MR = [(n^2 - 1) / n^2 + 2] \cdot (MM / d) \quad \text{Equação 16}$$

MR = refratividade molar
 n = índice de refração
 MM = massa molecular do composto
 d = densidade do composto

Os parâmetros estéricos bastante empregados nos estudos de QSAR são os parâmetros de STERIMOL de Verloop que envolvem os comprimentos e larguras relacionados ao substituinte (figura 23) (www.Pharmacylumaryland.edu/courses/ PHA R531/lect uresold/qs ar.html 25-09-2006).

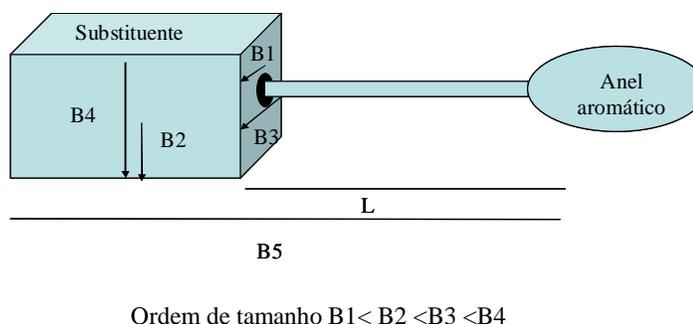


Figura 23. Parâmetros Sterimol dos substituintes (www.Pharmacylumaryland.edu/courses/ PHA R531/lect uresold/qs ar.html 25-09-2006).

1.3.2 Métodos de escolha dos substituintes

Para se estabelecer uma série de compostos para análise de QSAR, é preciso escolher os substituintes de forma adequada. Entre os métodos clássicos destaca-se o Diagrama de Craig. Criado na década de 70, estudando parâmetros dos substituintes observou que não existia nenhuma relação entre a constante de Hansh e a constante de Hammett, em outras palavras estas propriedades eram ortogonais entre si, dessa forma ele estabeleceu um diagrama no qual cada substituinte estaria situado de acordo com estes dois descritores (figura 24) (CRAIG, 1971 e MARTIN, 1978). A escolha dos substituintes, portanto, deverá incluir grupos presentes nos quatro quadrantes do gráfico do Craig.

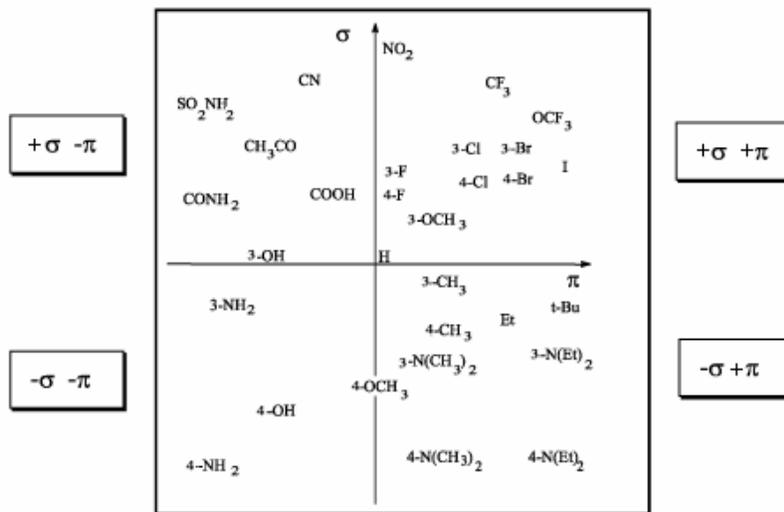


Figura 24. Gráfico de Craig (CRAIG, 1971 e MARTIN, 1978).

1.3.3 Modelo de QSAR 2D

Após o cálculo ou determinação dos parâmetros físico-químicos torna-se necessário estabelecer um modelo (normalmente uma equação matemática) entre atividades biológicas e os descritores conforme indicando no esquema da figura 25 (SILVA, 1999).

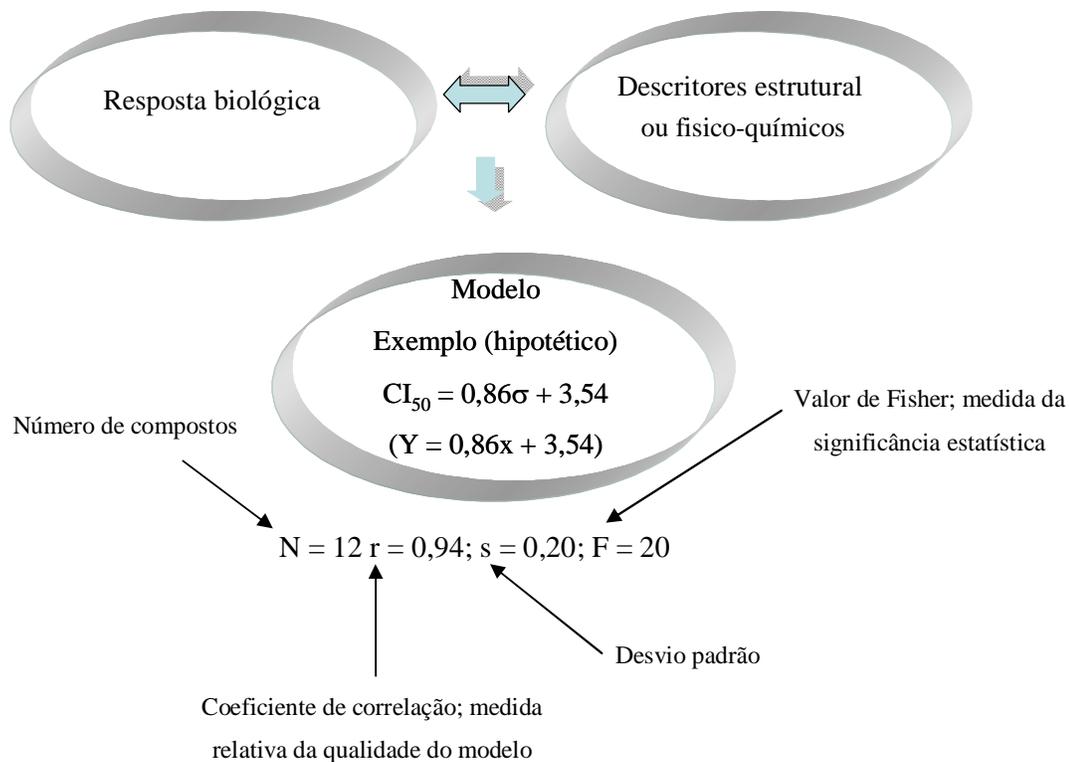


Figura 25. A associação entre a resposta biológica e os descritores na geração de modelos

Após a definição do modelo torna-se necessário analisar os parâmetros estatísticos como por exemplo, N (número de pontos), s (desvio padrão ou erro), R (correlação entre as variáveis $R = -1$ a 1), R^2 (coeficiente de explicação $R^2 = 0$ a 1) e F (significância estatística) que irão indicar a validade estatística do modelo (SILVA, 1999).

A partir daí, poderá ser realizada uma metodologia de aplicação do modelo de QSAR 2D ou QSAR clássico gerado, conforme ilustrado na figura 26 (GAUDIO e ZANDONADE, 2001).

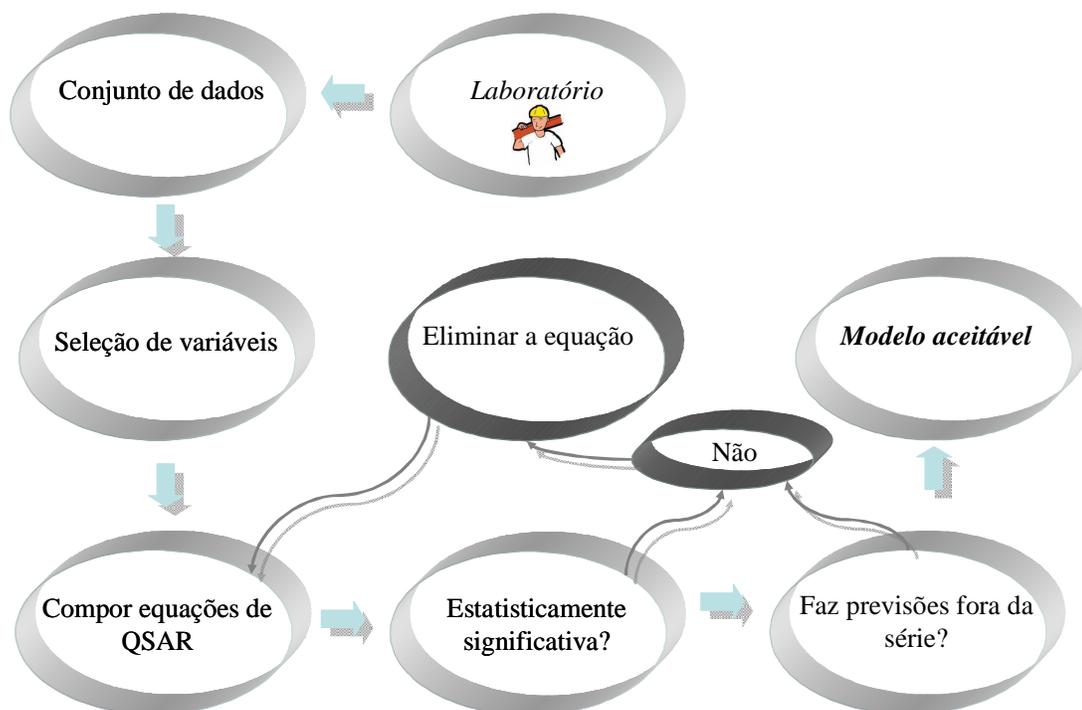
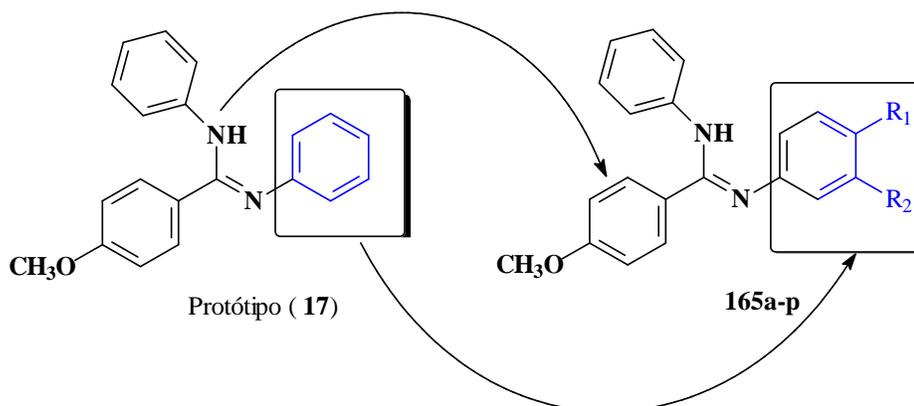


Figura 26. Metodologia aplicada ao modelo QSAR clássico modificado (GAUDIO e ZANDONADE, 2001)

2 OBJETIVOS

1. Sintetizar os derivados da classe N-(R₁,R₂-fenil)-N'-fenil-4-metoxi-benzamidina **165a-p**, sendo a escolha dos substituintes baseada no diagrama de Craig tendo como protótipo o composto **17**:



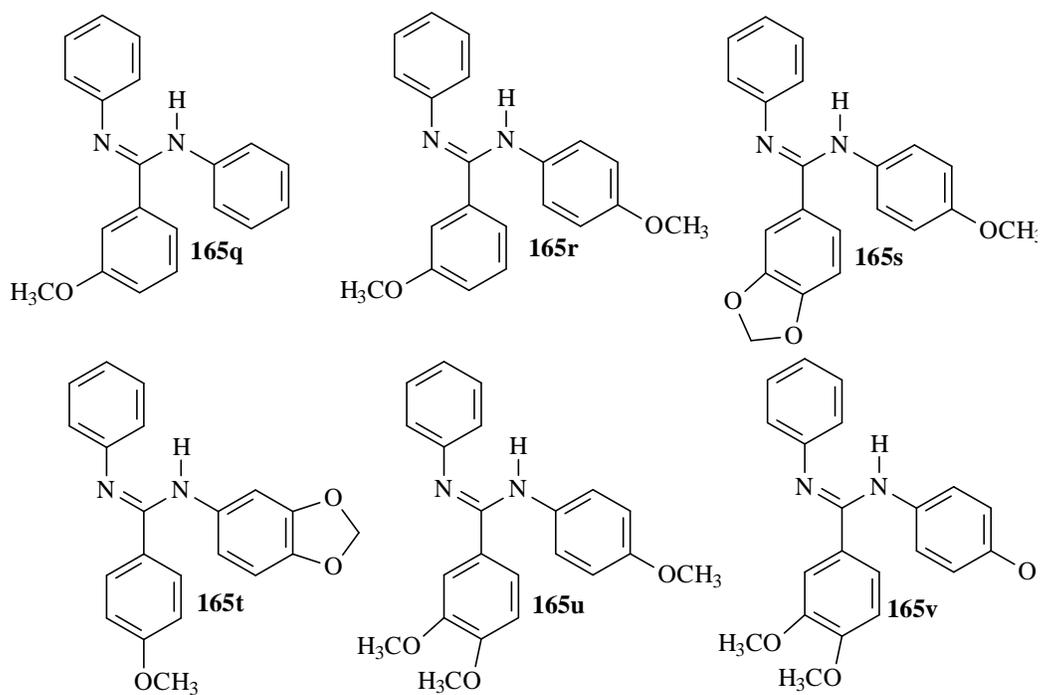
165a	R ₂ = H; R ₁ = Cl	165i	R ₂ = H; R ₁ = NO ₂
165b	R ₁ = H; R ₂ = Cl	165j	R ₁ = H; R ₂ = NO ₂
165c	R ₂ = H; R ₁ = F	165k	R ₂ = H; R ₁ = OH
165d	R ₁ = H; R ₂ = F	165l	R ₁ = H; R ₂ = OH
165e	R ₂ = H; R ₁ = Br	165m	R ₂ = H; R ₁ = CH ₃
165f	R ₁ = H; R ₂ = Br	165n	R ₁ = H; R ₂ = CH ₃
165g	R ₂ = H; R ₁ = OCH ₃	165o	R ₂ = ; R ₁ = SO ₂ NH ₂
165h	R ₁ = H; R ₂ = OCH ₃	165p	R ₁ = Cl; R ₂ = NO ₂

2. Caracterizar por métodos espectroscópicos de IV, RMN de ¹H, ¹³C e CG-MS os compostos **165a-p** sintetizados

3. Avaliar a ação leishmanicida dos derivados sintetizados, no Laboratório de Bioquímica de Tripanomassomatídeos – FIOCRUZ.

4. Encontrar um modelo de QSAR 2D que relacione a atividade biológica e os descritores moleculares calculados e /ou tabelados na literatura para os compostos **165a-p**.

5. Sintetizar os seguintes derivados variando a posição da metoxila nos anéis aromáticos ou do grupo metilenodioxo mantendo a estrutura básica do prótipo **17**:



6. Caracterizar por métodos espectroscópicos de IV, RMN de ^1H , ^{13}C e CG-MS os derivados **165q-v**.

7. Avaliar a ação leishmanicida dos derivados sintetizados (**165q-v**) no Laboratório de Bioquímica de Tripanomastomatídeos - FIOCRUZ

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Síntese

Foram sintetizadas 22 amidinas, sendo que 20 delas pela primeira vez descritas na literatura, e os derivados **165g** e **165v** relatados por Raczyńska (1985) e Mendel (1949), respectivamente. A escolha da natureza dos substituintes para as N-(R₁,R₂-fenil)-N'-fenil-4-metoxi-benzamidinas (**165a-p**) foi baseada no Gráfico de Craig. Quanto às substâncias **165q-v** foram inseridos um ou dois grupos metoxilas ou o grupo, metilenodioxi, em diferentes posições nos anéis aromáticos, haja visto que o grupo metoxila presente nesta classe vem apresentando resultados promissores segundo Rodrigues-Santos (2008).

3.1.1 Retroanálise para a obtenção das amidinas

A retroanálise utilizada envolveu 6 etapas, figura 27.

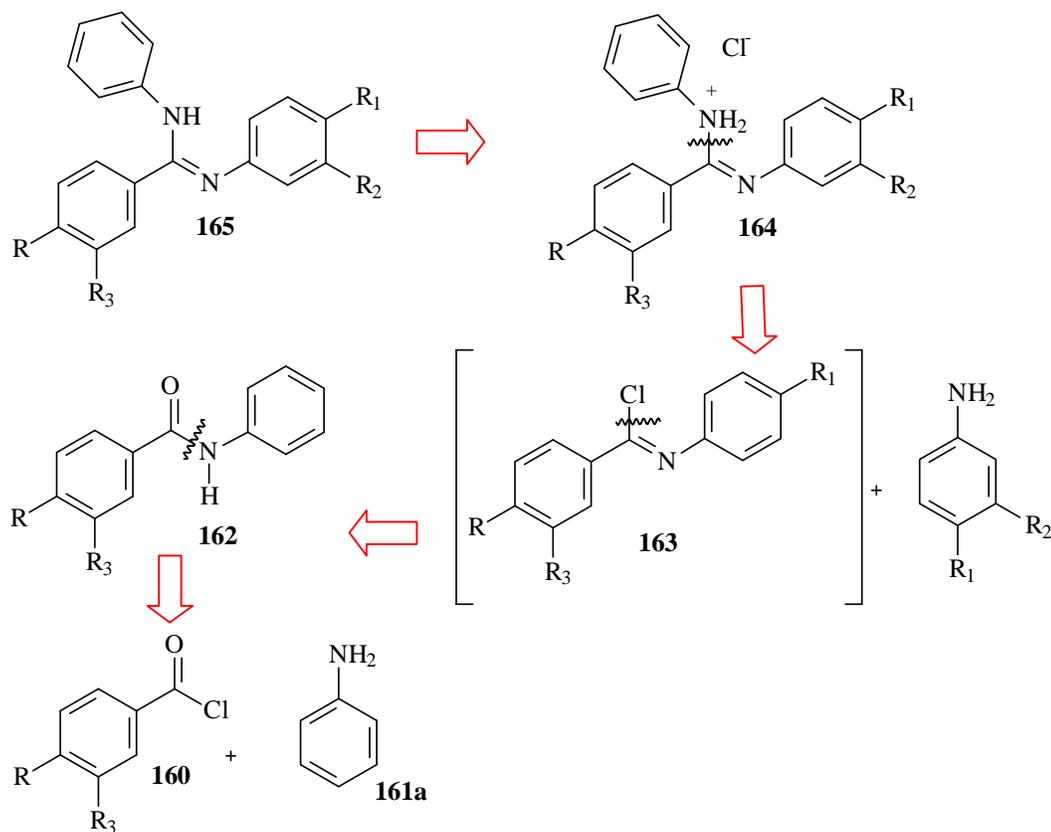


Figura 27: Retroanálise da síntese das amidinas

A seguir serão detalhadas as preparações dos intermediários, anilidas, e das correspondentes amidinas.

3.1.2 Síntese dos ácido piperônico (**159a**)

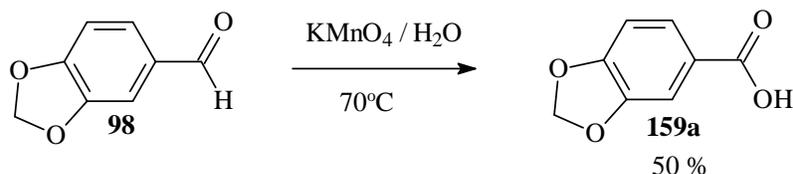


Figura 28. Síntese do ácido piperônico (**159a**)

O ácido piperônico (**159a**) foi sintetizado a partir do piperonal (**98**), utilizando uma solução aquosa de permanganato de potássio atuando como agente oxidante (figura 28). A mistura reacional permaneceu sob agitação por volta de 3 horas a 70°C onde pôde-se observar a mudança de cor de violácea a marrom, oriunda da forma reduzida do permanganato, a reação forneceu um rendimento moderado de 50%. Os demais ácidos carboxílicos, o ácido *p*-anísico, ácido *m*-anísico e o ácido 3-4-dimetoxibenzóico foram obtidos comercialmente da empresa Sigma-Aldrich.

3.1.3 Síntese dos cloretos de acila (**160a-d**)

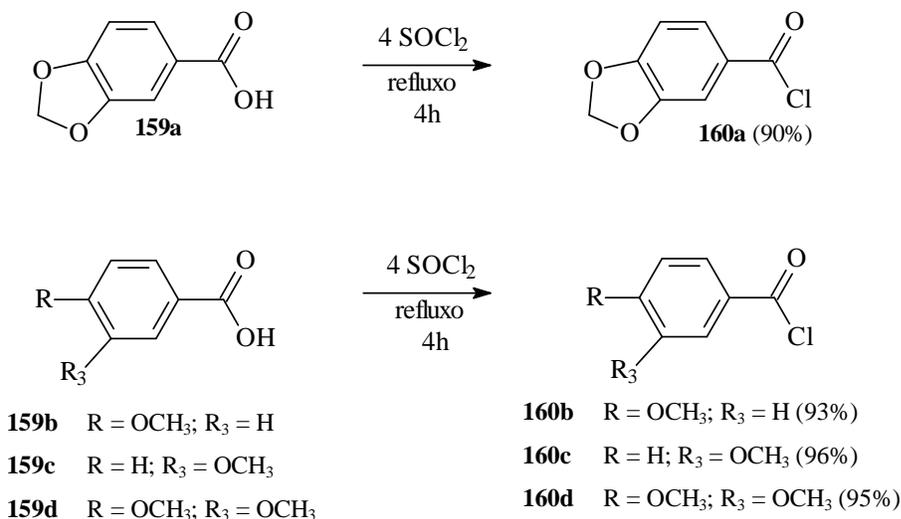


Figura 29. Síntese dos cloretos de acila (**160a-d**)

A mistura de ácidos benzóicos (**159a-d**) juntamente com cloreto de tionila (4 vezes em excesso molar) forneceu os correspondentes cloretos de acila (**160a-d**), após 4 horas de refluxo em rendimentos brutos de 90 a 96 %. Após a extração do excesso de cloreto de tionila através de destilação sob pressão reduzida, foi possível observar o cheiro característico de amêndoas oriundo da formação dos cloretos de acila. Os cloretos de acila foram utilizados imediatamente após sua síntese para a preparação das anilidas (amidas) sem purificação.

3.1.5 Síntese de amidinas **165a-v**

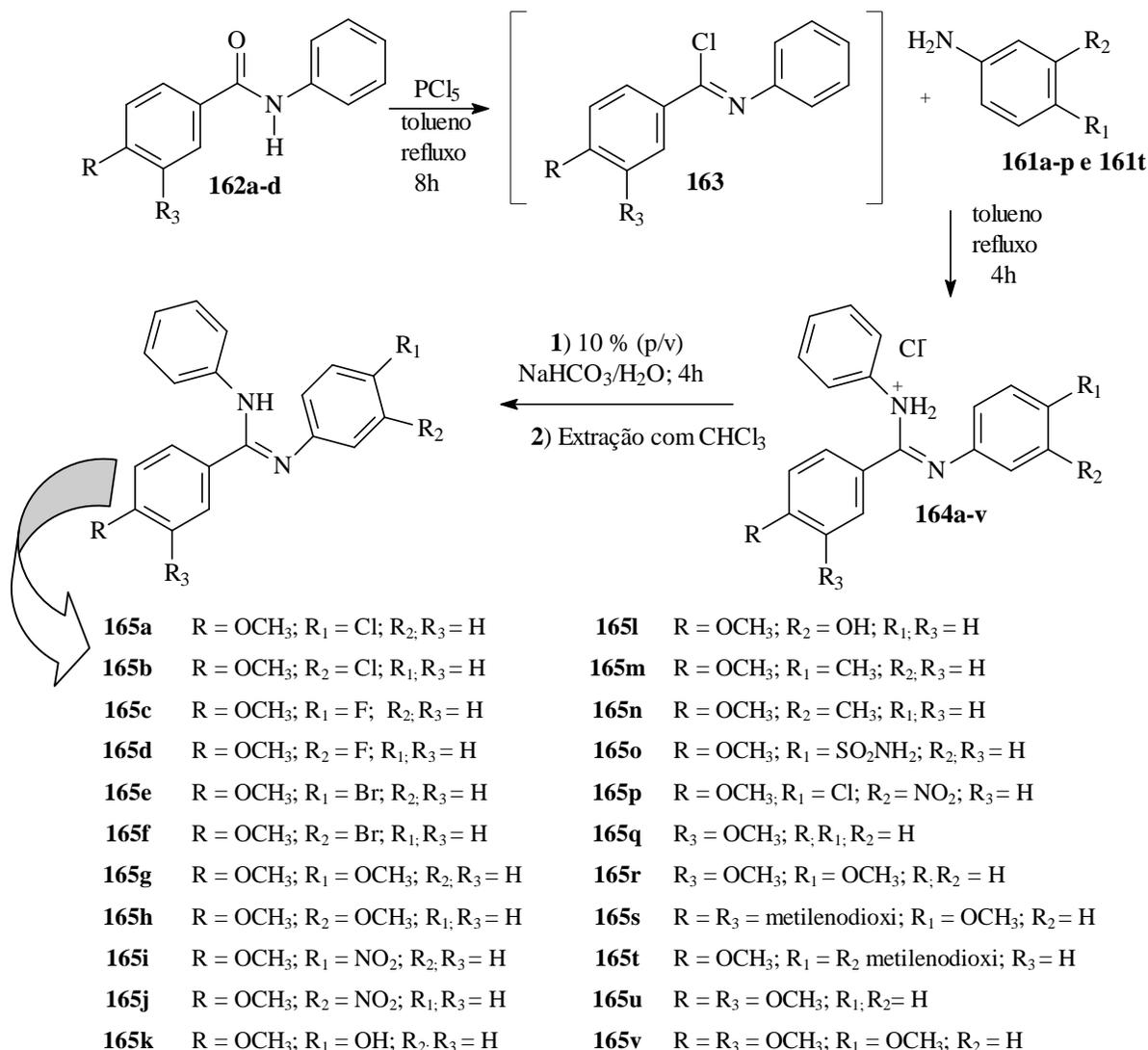


Figura 31: Síntese das amidinas **165a-v**

O método de síntese das amidinas **165a-v** consistiu, inicialmente, na obtenção, *in situ*, dos intermediários cloretos de imidoíla (**163**) que foram gerados a partir das anilida correspondente com leve excesso de PCl₅, utilizando tolueno seco como solvente em refluxo por 8 horas em atmosfera inerte de N₂. Logo após, no meio reacional contendo o cloreto de imidoíla foi adicionado uma solução da anilina (**165a-p** e **165t**) correspondente em tolueno seco, sendo refluxado por mais 4 horas (figura 31).

É interessante destacar que após 40 minutos da adição da anilina sobre a mistura reacional contendo o cloreto de imidoíla pré formado, observou-se o início da precipitação do produto em forma de sal.

A purificação foi realizada através de lavagens sucessivas em acetona, devido à grande insolubilidade desses sais nesse solvente. Assim, as benzamidinas na forma de sais, apresentaram-se como pós amorfos de cor branca.

As correspondentes benzamidas em suas formas neutras foram obtidas pela desprotonação, realizada em presença de uma solução de NaHCO₃ (10% p/v) em agitação por volta de 4 horas, seguida de uma extração por CH₂Cl₂. Após a evaporação do CH₂Cl₂ sob pressão reduzida em um evaporador rotatório, foram obtidas as benzamidas neutras em forma de pó fornecendo bons rendimentos na faixa de 50 a 89 % (tabela 01). Esses rendimentos foram melhores que os obtidos por Mendel (1954) (6 a 70%) e próximos aos de Kilkimoto (YET, 2000) (65 a 88%). Posteriormente foram caracterizadas por técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ¹H, ¹³C e CG-MS.

Tabela 01. Rendimentos das amidinas **165a-v**.

Composto	Rendimento (%)	Composto	Rendimento (%)
165a	55	165l	75
165b	67	165m	60
165c	89	165n	86
165d	85	165o	60
165e	65	165p	50
165f	89	165q	65
165g	65	165r	70
165h	55	165s	80
165i	60	165t	50
165j	76	165u	70
165k	80	165v	60

3.2 Caracterização Espectrométrica

3.2.1 Caracterização espectrométrica das anilidas (**162a-d**)

A caracterização das anilidas foi feita através da análise dos espectros de infravermelho, RMN de ¹H e pontos de fusão.

3.2.1.1 Análise de infravermelho das anilidas (**162a-d**)

Os espectros na região do infravermelho para as anilidas mostraram absorções características dos grupamentos amida na faixa de 1648 a 1655 cm⁻¹, em função do efeito eletrônico exercido pelo grupo metoxila sobre a natureza da ligação amídica. As demais absorções ocorreram de acordo com os valores esperados, tabela 02.

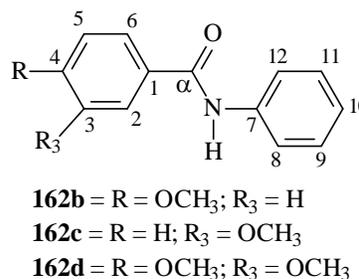
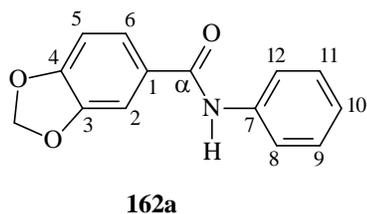


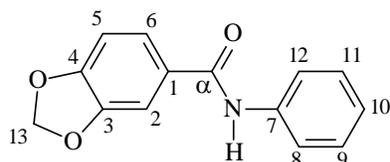
Tabela 02. Valores de absorção (cm⁻¹) de IV das anilidas (**162a-d**).

Deformações	Compostos			
	162a	162b	162c	162d
ν N-H	3336	3336	3317	3270
ν_{as} C-H (CH ₃)	-	2953	2934	2962
ν_{as} C-H (CH ₃)	-	2838	2835	2836
ν C=O	1650	1655	1649	1648
ν C=C*	1596	1599	1593	1596
ν C-N	1533	1527	1517	1538
δ_{s} (CH ₃)	-	1322	1322	1338
ν_{as} O-C-O	1261	1246	1246	1270
ν_{s} O-C-O	1043	1026	1035	1022

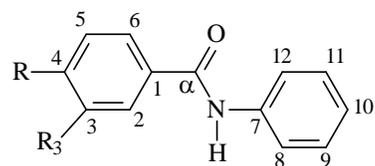
*vibração do esqueleto aromático. **OBS.** Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 125-126, respectivamente do volume II.

3.2.1.2 Análise de RMN de ¹H das anilidas (**162a-d**)

Os espectros de RMN de ¹H permitiram caracterizar os hidrogênios ligados aos carbonos do anel aromático de todas as anilidas, onde pôde ser verificado um maior deslocamento químico para os hidrogênios H-9 e H-11 por estarem em posição meta ao nitrogênio. Para o composto **162b** os deslocamentos químicos dos H-2 e H-6 foram observados em campo baixo devido o efeito causado pela carbonila, as demais atribuições foram realizadas com base nas constantes de acoplamento e valores de integrações dos sinais (tabela 03).



162a



162b = R = OCH₃; R₃ = H

162c = R = H; R₃ = OCH₃

162d = R = OCH₃; R₃ = OCH₃

Tabela 03. Dados espectroscópicos de RMN de ¹H (200 MHz) dos compostos **162a-d**

H	δ H (quantidade de hidrogênio, multiplicidade, constante de acoplamento (J))			
	Compostos			
	162a	162b	162c	162d
2	7,06 (2H; t; 8 Hz)	7,66 (2H; d; 8 Hz)	7,12 (2H; m; 2; 10 Hz)	7,07 (2H; m; 8 Hz)
3	-	6,91 (2H; d; 8 Hz)	-	-
4	-	-	7,12 (2H; m; 2; 10 Hz)	-
5	7,06(2H; t; 8 Hz)	6,91 (2H; d; 8 Hz)	7,49 (3H; m; 6; 4 Hz)	7,07 (2H; m; 8 Hz)
6	7,52 (2H; m; 8 Hz)	7,66 (2H; d; 8 Hz)	7,49 (3H; m; 6; 4 Hz)	7,62 (1H; dd; 8 Hz)
8	7,33 (2H; m; 8, 10 Hz)	7,51 (3H; t; 6 Hz)	7,33 (2H; d; 8 Hz)	7,34 (2H; t; 8 Hz)
9	7,74 (2H; d; 8 Hz)	7,93 (2H; d; 6 Hz)	7,77 (2H; d; 10 Hz)	7,75 (2H; d; 10 Hz)
10	7,52 (2H; m; 8 Hz)	7,51 (3H; t; 6 Hz)	7,49 (3H; m; 6; 4 Hz)	7,53 (1H; d; 2 Hz)
11	7,74 (2H; d; 8 Hz)	7,93 (2H; d; 6 Hz)	7,77 (2H; d; 10 Hz)	7,75 (2H; d; 10 Hz)
12	7,33 (2H; m; 8, 10 Hz)	7,51 (3H; t; 6 Hz)	7,33 (2H; d; 8 Hz)	7,34 (2H; t; 8 Hz)
13	6,12 (2H; s)	-	-	-
N-H	10,04	10,13	10,21	10,07
OCH ₃	-	3,72 (3H; s)	3,83 (3H; s)	3,84 (6H; s)

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 77-80, respectivamente do volume II.

3.2.2 Caracterização espectrométrica das amidinas **165a-v**

3.2.2.1 Análise de infravermelho dos compostos **165a-v**

As análises dos espectros de infravermelho foram bastante informativas, devido ao desaparecimento da banda C=O por volta de 1650 cm^{-1} , oriunda das anilidas e, o aparecimento da banda C=N em torno de 1632 cm^{-1} , característica do grupamento amidínico (tabela 04).

Tabela 04. Valores de absorção de IV (cm^{-1}) dos compostos **165a-v**.

Composto	Deformações								
	v N-H	v _{as} C-H (CH ₃)	v _{as} C-H (CH ₂)	v C=N	v C=C*	v C-N	δ _s (CH ₃)	vas O-C-O	vs O-C-O
165a	3214	2963	2839	1620	1591	1534	1340	1252	1030
165b	3422	-	2841	-	1586	1512	1327	1257	1025
165c	3300	2932	2843	1627	1596	1535	1335	1254	1031
165d	3329	2960	2839	1628	1597	1531	1336	1251	1031
165e	3210	2963	2838	1618	1591	1534	1341	1251	1030
165f	3398	2958	2834	1629	1608	1510	1324	1251	1027
165g	3334	2950	2833	1626	1592	1533	1331	1244	1030
165h	3384	2932	2842	-	1603	-	-	1266	1023
165i	3375	2930	2838	1625	1582	1527	1322	1251	1028
165j	3410	2923	2850	-	1602	1527	1349	1260	1031
165k	3202	2923	2852	1626	1605	1536	1361	1236	1028
165l	3118	2918	-	-	1604	1536	1347	1266	1025
165m	3290	2926	2857	1624	1591	1535	1336	1250	1031
165n	3391	-	2851	-	1603	1547	1334	1263	1024
165o	3199	2913	-	-	1602	1552	1337	1262	1014
165p	3418	2920	2849	-	1603	1537	1336	1265	1026
165q	3349	-	2839	1625	1590	1528	1325	1269	1022
165r	3349	2948	2834	1634	1593	1541	1335	1240	1034
165s	3349	2964	2840	1633	1592	1533	1348	1245	1037
165t	3390	2954	2852	-	1606	1508	1336	1249	1033
165u	3353	2966	2834	1645	1591	1535	1332	1243	1024
165v	3359	2964	2834	1629	1591	1533	1338	1243	1022

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 127-137, respectivamente do volume II.

3.2.2.2 Análise de RMN de ^1H das amidinas **165a-v**

As sugestões de atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios das N,N'-difenil-benzamidinas foram realizadas em função das constantes de acoplamento (J), efeitos mesoméricos e as quantidades de hidrogênio obtidas pelas integrações dos sinais. Porém, vale ressaltar que em função da similaridade das constantes de acoplamentos dos hidrogênios aromáticos, os efeitos mesoméricos foram considerados mais importantes para os assinalamentos (tabela 05 e 05').

Da mesma forma que nas 4-aryl-3,4-dihidrocumarinas (capítulo 2), as atribuição dos deslocamentos químicos também levou em conta os efeitos mesoméricos oriundos das hidroxilas e metoxilas aos hidrogênios *orto*. Pôde-se observar que as absorções desses hidrogênios deslocaram-se para campo alto em relação aos demais hidrogênios aromáticos (figura 32).

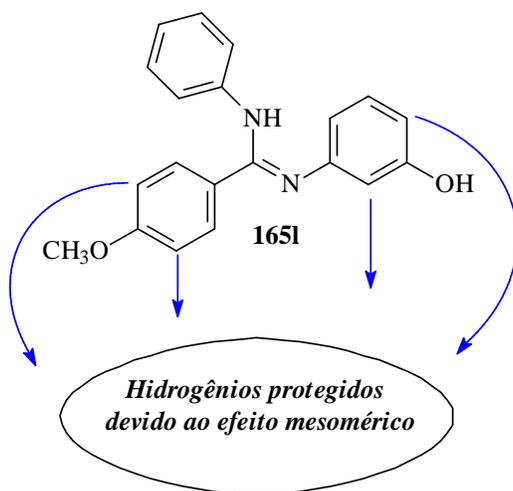


Figura 32. Indicação dos hidrogênios mais protegidos devido ao efeito mesomérico do grupo metoxila e hidroxila.

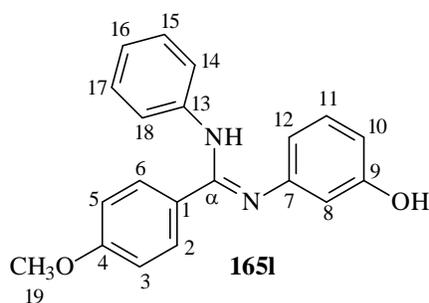


Tabela 05. Dados espectroscópicos de RMN de ¹H (200 MHz) dos compostos **165a-j**

δ H (quantidade de hidrogênio, multiplicidade, constante de acoplamento (<i>J</i>))											
H	165a	165b	165c	165d	165e	165f	165g	165h	165i	165j	165k
2	7,86 (1H; dd; 8 Hz)	7,66 (1H; dd; 6 Hz)	7,80 (2H; m; 8 Hz)	7,87 (1H; m; 6Hz)	7,84 (1H; d; 8 Hz)	7,75 (1H; t; 8 Hz)	7,76 (1H; sl)	7,75 (1H; t; 8 Hz)	7,75 (1H; d; 8 Hz)	7,82 (1H; d; 8 Hz)	7,66 (1H; d; 2 Hz)
3	6,57 (1H; d; 8 Hz)	6,87 (1H; m; 10 Hz)	6,57 (2H; d; 8 Hz)	6,83 (1H; d; 8 Hz)	6,54 (1H; t; 8 Hz)	6,57 (1H; t; 8 Hz)	6,56 (1H; t; 10 Hz)	6,77 (1H; d; 8 Hz)	6,63 (1H; d; 8 Hz)	6,90 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
5	6,57 (1H; d; 8 Hz)	6,87 (1H; m; 10 Hz)	6,57 (2H; d; 8 Hz)	6,83 (1H; d; 8 Hz)	6,54 (1H; t; 8 Hz)	6,57 (1H; t; 8 Hz)	6,56 (1H; t; 10 Hz)	6,77 (1H; d; 8 Hz)	6,73 (1H; d; 8 Hz)	6,90 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
6	7,86 (1H; dd; 8 Hz)	7,66 (1H; m; 6 Hz)	7,80 (2H; m; 8 Hz)	7,87 (1H; m; 6Hz)	7,84 (1H; d; 8 Hz)	7,75 (1H; t; 8 Hz)	7,76 (1H; sl)	7,75 (1H; t; 8 Hz)	7,95 (1H; d; 8 Hz)	7,60 (1H; d; 8 Hz)	7,66 (1H; d; 2 Hz)
8	7,07 (1H; d; 10Hz)	6,82 (1H; m; 4 Hz)	7,07 (2H; d; 10 Hz)	6,39 (1H; d; 8 Hz)	6,88 (1H; d; 8 Hz)	6,76 (1H; d; 10Hz)	6,84 (1H; d; 8 Hz)	6,77 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m; 4 Hz)	6,63 (1H; d; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
9	7,22 (1H; m; 8 Hz)	-	7,22 (4H; d; 8 Hz)	-	7,22 (1H; m; 8 Hz)	-	6,84 (1H; d; 8 Hz)	-	8,19 (1H; d; 8 Hz)	-	6,80 (1H; d; 8 Hz)
10	-	7,24 (1H; m; 6 Hz)	-	6,59 (1H; d; 8 Hz)	-	7,24 (1H; m; 6 Hz)	-	7,28 (1H; m, 10Hz)	-	7,27 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
11	7,22 (1H; m; 8 Hz)	7,24 (1H; m; 6 Hz)	7,22 (4H; d; 8 Hz)	7,54 (1H; d; 8 Hz)	7,43 (1H; d; 8 Hz)	7,24 (1H; m; 6 Hz)	6,84 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m, 10Hz)	8,07 (1H; d; 8 Hz)	7,27 (1H; m; 8 Hz)	6,80 (1H; d; 8 Hz)
12	7,07 (1H; d; 10Hz)	7,03 (1H; m; 6 Hz)	7,07 (2H; d; 10 Hz)	7,25 (1H; dd; 6 Hz)	6,88 (1H; d; 8 Hz)	6,89 (1H; m; 8 Hz)	6,84 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m, 10Hz)	7,28 (1H; m; 4 Hz)	7,03 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
14	6,89 (1H; d; 6Hz)	7,03 (1H; m; 6 Hz)	6,88 (3H; m; 8 Hz)	7,06 (1H; m; 6 Hz)	7,05 (1H; d; 8 Hz)	6,89 (1H; m; 8 Hz)	7,05 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m, 10Hz)	6,90 (1H; d; 8 Hz)	7,03 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
15	7,22 (1H; m; 8 Hz)	7,24 (1H; m; 6 Hz)	7,22 (4H; d; 8 Hz)	7,25 (1H; dd; 6 Hz)	7,22 (1H; m; 8 Hz)	7,24 (1H; m; 6 Hz)	7,20 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m, 10Hz)	7,28 (1H; m; 4 Hz)	7,27 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
16	6,89 (1H; d; 6Hz)	6,87 (1H; m; 10 Hz)	6,88 (3H; m; 8 Hz)	6,83 (1H; d; 8 Hz)	7,22 (1H; m; 8 Hz)	6,76 (1H; d; 10Hz)	6,84 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m, 10Hz)	7,05 (1H; m; 8 Hz)	6,90 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
17	6,89 (1H; d; 6Hz)	7,24 (1H; m; 6 Hz)	7,22 (4H; d; 8 Hz)	7,25 (1H; dd; 6 Hz)	7,22 (1H; m; 8 Hz)	7,24 (1H; m; 6 Hz)	7,20 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m, 10Hz)	7,28 (1H; m; 4 Hz)	7,27 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
18	6,89 (1H; d; 6Hz)	7,03 (1H; m; 6 Hz)	6,88 (3H; m; 8 Hz)	7,06 (1H; m; 6 Hz)	7,05 (1H; d; 8 Hz)	6,89 (1H; m; 8 Hz)	7,05 (1H; d; 8 Hz)	7,28 (1H; m, 10Hz)	6,90 (1H; d; 8 Hz)	7,03 (1H; m; 8 Hz)	7,10 (1H; m; 6 Hz)
19	3,72 (3H; s)	3,72 (3H; s)	3,72 (3H; s)	3,72 (3H; s)	3,73 (3H; s)	3,73 (3H; s)	3,71 (3H; s)	3,78/3,71 (3H; s)	3,73 (3H; s)	3,72 (3H; s)	3,83 (3H; s)
20	3,71 (3H; s)										

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 81-90, respectivamente do volume II.

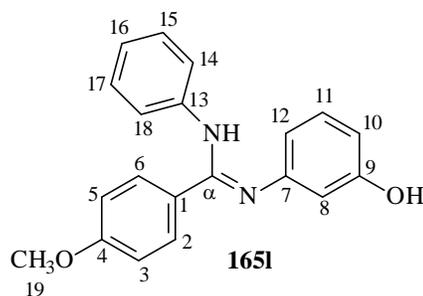


Tabela 05'. Dados espectroscópicos de RMN de ^1H (200 MHz) dos compostos **165l-v**.

δ H (quantidade de hidrogênio, multiplicidade, constante de acoplamento (<i>J</i>))											
	165l	165m	165n	165o	165p*	165q	165r	165s	165t	165u	165v
2	7,34 (1H; dd; 8 Hz)	7,77 (1H; dd; 8 Hz)	7,83 (1H; d; 12 Hz)	7,77 (1H; d; 12 Hz)	8,0 (1H; d; 6 Hz)	6,61 (1H; sl; 8Hz)	6,58 (1H; m; 4Hz)	6,57 (1H; sl)	7,33 (1H; d; 8 Hz)	6,60 (1H; sl)	6,57 (1H; t; 8Hz)
3	6,88 (1H; m; 8 Hz)	6,65 (1H; d; 6 Hz)	6,56 (1H; d; 6 Hz)	6,69 (1H; d; 10 Hz)	6,86 (1H; d; 6 Hz)	-	-	-	6,65 (1H; d; 8 Hz)	-	-
4	-	-	-	-	-	-	6,58 (1H; m; 4Hz)	-	-	-	-
5	6,88 (1H; m; 8 Hz)	6,65 (1H; d; 6 Hz)	6,56 (1H; d; 6 Hz)	6,69 (1H; d; 10 Hz)	6,86 (1H; d; 6 Hz)	7,88 (1H; sl;)	7,77 (1H; d; 6Hz)	6,57 (1H; sl)	6,65 (1H; d; 8 Hz)	6,60 (1H; sl)	6,87 (1H; sl)
6	7,34 (1H; dd; 8 Hz)	7,77 (1H; dd; 8 Hz)	7,63 (1H; d; 10 Hz)	7,77 (1H; d; 12 Hz)	8,0 (1H; d; 6 Hz)	7,88 (1H; sl;)	7,87 (1H; d; 8 Hz)	7,15 (1H; sl)	7,33 (1H; d; 8 Hz)	7,25 (1H; (1H;sl)	7,23 (1H; d; 8 Hz)
8	6,35 (1H; dd; 8 Hz)	6,85 (1H; d; 12 Hz)	6,32 (1H; m; 8 Hz)	7,25 (1H; m; 6 Hz)	6,65 (1H; s)	6,88 (1H; t; 8 Hz)	6,84 (1H; m; 8 Hz)	7,15 (1H; sl)	6,42 (1H; sl)	6,87 (1H; sl)	6,87 (1H; sl)
9	-	7,05 (1H; d; 10 Hz)	-	7,53 (1H; d; 10 Hz)	-	7,21 (1H; dd; 6 Hz)	6,84 (1H; m; 8 Hz)	6,82 (1H; t; 8 Hz)	-	7,07 (1H; sl)	6,57 (1H; t; 8Hz)
10	6,88 (1H; m; 8 Hz)	-	7,09 (1H; m; 8 Hz)	-	-	7,06 (1H; 8 Hz)	-	-	-	6,87 (1H; sl)	-
11	7,17 (1H; t; 8 Hz)	7,05 (1H; d; 10 Hz)	7,22 (1H; m; 8 Hz)	7,53 (1H; d; 10 Hz)	7,39 (1H; m)	7,21 (1H; dd; 6 Hz)	6,84 (1H; m; 8 Hz)	6,82 (1H; t; 8 Hz)	6,78 (1H; d; 10 Hz)	7,07 (1H; sl)	6,57 (1H; t; 8Hz)
12	6,88 (1H; m; 8 Hz)	6,85 (1H; d; 12 Hz)	6,85 (1H; m; 6 Hz)	7,25 (1H; m; 6 Hz)	7,39 (1H; m)	6,88 (1H; t; 8 Hz)	6,84 (1H; m; 8 Hz)	7,15 (1H; sl)	6,99 (1H; t; 6 Hz)	6,87 (1H; sl)	6,87 (1H; sl)
14	7,01 (1H; d; 8 Hz)	6,85 (1H; d; 12 Hz)	6,85 (1H; m; 6 Hz)	6,88 (1H; d; 10 Hz)	7,39 (1H; m)	6,88 (1H; t; 8 Hz)	7,03 (1H; m; 8Hz)	6,82 (1H; t; 8 Hz)	6,99 (1H; t; 6 Hz)	6,87 (1H; sl)	6,87 (1H; sl)
15	7,17 (1H; t; 8 Hz)	7,20 (1H; d; 8 Hz)	7,22 (1H; m; 8 Hz)	7,25 (1H; m; 6 Hz)	7,39 (1H; m)	7,21 (1H; dd; 6 Hz)	7,20 (1H; m; 8 Hz)	7,78 (1H; sl)	7,18 (1H; d; 8 Hz)	7,83 (1H; sl)	7,80 (1H; dd; 8 Hz)
16	6,88 (1H; m; 8 Hz)	6,85 (1H; d; 12 Hz)	6,85 (1H; m; 6 Hz)	7,25 (1H; m; 6 Hz)	7,09 (1H; m)	7,06 (1H; 8 Hz)	6,84 (1H; m; 8 Hz)	6,82 (1H; t; 8 Hz)	6,78 (1H; d; 10 Hz)	6,87 (1H; sl)	7,03 (1H; d; 6 Hz)
17	7,17 (1H; t; 8 Hz)	7,20 (1H; d; 8 Hz)	7,22 (1H; m; 8 Hz)	7,25 (1H; m; 6 Hz)	7,39 (1H; m)	7,21 (1H; dd; 6 Hz)	7,20 (1H; m; 8 Hz)	7,78 (1H; sl)	7,18 (1H; d; 8 Hz)	7,83 (1H; sl)	7,80 (1H; dd; 8 Hz)
18	7,01 (1H; d; 8 Hz)	6,85 (1H; d; 12 Hz)	6,85 (1H; m; 6 Hz)	6,88 (1H; d; 10 Hz)	7,39 (1H; m)	6,88 (1H; t; 8 Hz)	7,03 (1H; m; 8Hz)	6,82 (1H; t; 8 Hz)	6,99 (1H; t; 6 Hz)	6,87 (1H; sl)	6,87 (1H; sl)
19	3,77 (3H; s)	3,71 (3H; s)	3,71 (3H; s)	3,72 (3H; s)	3,75 (3H; s)	3,65 (3H; s)	3,71 (3H; s)	5,99 (2H; s)	3,78 (3H; s)	3,71 (3H; s)	3,72 (3H; s)
20							3,64 (3H; s)	3,37 (3H; s)	5,89 (2H; s)	3,54 (3H; s)	3,63 (3H; s)
21											3,56 (3H; s)

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 91-102, respectivamente do volume II.* Os valores das integrações foram estimados

3.2.2.3 Análise de RMN de ^{13}C das amidinas **165a-v**

Os assinalamentos dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C para as amidinas foram realizados com base nos efeitos mesoméricos. As tabelas 06 e 06' mostram os valores atribuídos para os deslocamentos químicos das N,N'-difeníl-benzamidinas.

O carbono do grupamento amidínico (C_α) tornou-se menos blindado (δ 154,35 – 158,83) quando comparado com o carbono amídico da anilida correspondente por volta de δ 164,59 (RODRIGUES-SANTOS, 2004). Pôde-se observar que para a maioria das amidinas houve a aparição de sinais duplos para alguns carbonos (vide o anexo de RMN de ^{13}C), indicando a presença das duas formas tautoméricas. As tabelas 06 e 06' mostram os deslocamentos químicos de carbono-13 mais abundantes (sinais de maior intensidade).

Tabela 06. Dados espectroscópicos de RMN de ^{13}C (50,3 MHz) dos compostos **165a-k**

C	δC										
	165a	165b	165c	165d	165e	165f	165g	165h	165i	165j	165k
α		158,13	154,83	154,68	154,97	155,12	154,41	-	158,04	156,08	154,62
1	136,91	135,06	141,40	141,27	140,82	141,08	127,24	135,91	-	140,88	-
2	130,58	131,98	130,56	130,89	131,10	130,54	130,57	133,15	130,83	130,79	130,69
3	113,46	114,57	113,40	112,55	113,39	113,46	113,62	115,35	113,70	113,62	115,04
4	159,73	162,19	159,62	159,89	159,77	159,67	159,59	161,72	159,91	160,04	130,69
5	113,46	114,57	113,40	112,55	113,39	113,46	113,62	115,35	113,70	113,62	115,04
6	130,58	131,98	130,56	130,89	131,10	130,54	130,57	133,15	130,83	130,79	130,69
7	149,97	152,14	150,80	153,40	141,22	143,01	-	-	140,66	150,16	-
8	120,91	121,31	123,40	107,85	126,64	119,81	121,23	111,05	122,63	115,48	127,17
9	128,36	128,03	115,06	164,62	130,59	-	113,62	161,72	124,64	147,90	113,46
10	-	-	-	119,65	119,86	-	159,59	114,17	-	120,04	152,37
11	128,36	130,70	114,64	129,81	130,59	130,67	113,62	130,94	124,64	129,56	113,46
12	119,67	-	120,92	126,72	124,41	122,13	121,23	121,93	122,87	116,49	127,17
13	152,11	149,38	147,40	150,55	150,37	150,38	-	138,16	149,96	152,48	-
14	126,65	122,90	122,28	122,29	122,16	121,25	122,23	125,24	122,00	122,49	122,20
15	128,21	129,62	128,35	128,54	128,36	128,30	128,36	130,09	128,49	128,41	128,41
16	122,02	123,81	121,97	115,47	121,33	124,75	122,23	126,88	-	121,40	120,91
17	128,21	129,62	128,35	128,54	128,36	128,30	128,36	130,09	128,49	128,41	128,41
18	123,89	122,90	122,28	122,29	122,05	121,25	122,23	125,24	120,21	122,19	121,23
19	55,19	55,74	55,19	55,30	55,19	55,17	55,15	55,91	55,27	55,24	55,17
20	-	-	-	-	-	-	55,15	55,52	-	-	-

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 103-113, respectivamente do volume II.

Tabela 06'. Dados espectroscópicos de RMN de ¹³C (50,3 MHz) dos compostos 165l-v

C	δC										
	165l	165m	165n	165o	165p	165q	165r	165s	165t	165u	165v
α	154,59	154,35	154,19	-	154,45	154,34	154,40	155,16	-	154,26	154,29
1	-	139,00	137,29	-	131,45	136,01	136,24	-	135,52	-	134,70
2	131,84	130,49	113,32	132,00	130,79	114,50	114,62	107,92	130,66	112,93	110,87
3	114,37	113,32	113,32	114,62	113,71	158,70	158,74	146,70	113,85	147,80	149,16
4	157,65	159,52	159,57	162,24	160,17	114,75	114,62	147,51	160,90	149,29	147,80
5	114,37	113,32	113,32	114,62	113,71	129,18	129,20	109,44	113,85	110,86	112,93
6	131,84	130,49	113,32	132,00	130,79	-	119,26	128,73	130,66	126,79	127,00
7	-	141,58	141,42	-	147,15	-	-	-	138,45	-	-
8	111,16	119,58	116,87	123,90	115,76	119,60	121,20	123,24	104,07	121,87	121,79
9	154,70*	127,07	-	127,66	-	128,34	113,62	113,58	147,84	128,32	113,54
10	113,19	-	122,57	143,55	140,69	121,17	158,74	-	143,67	119,62	163,69
11	130,14	128,76	128,12	127,66	127,62	128,34	113,62	113,58	108,19	128,32	113,54
12	115,13	119,58	119,14	123,90	120,18	119,60	121,20	123,24	114,84	121,87	120,66
13	151,58	151,03	150,72	151,26	151,37	-	-	-	-	-	-
14	122,83	122,15	122,91	122,63	122,67	121,86	122,96	123,24	121,68	121,87	122,20
15	129,51	128,28	128,30	129,54	128,41	128,34	128,35	128,33	128,93	128,32	128,28
16	-	-	121,60	-	125,79	121,17	119,26	-	123,23	121,06	120,66
17	129,51	128,28	128,30	129,54	128,41	128,34	128,35	128,33	128,93	128,32	128,28
18	122,83	122,15	122,21	122,63	122,67	121,86	122,26	123,24	121,68	121,87	122,69
19	55,69	55,14	55,15	55,76	55,27	55,06	55,09	101,25	55,26	55,44	55,43
20	-	-	30,68	-	-	-	-	55,07	101,05	55,24	55,25
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,08

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 114-124, respectivamente do volume II.

3.2.2.4 Análise dos espectros de massas amidinas 165a-v

Foram obtidos os espectros de CG-MS para as amidinas 165a-v, em suas formas salinas, sendo que a maioria apresentaram picos correspondentes ao íon molecular, com exceção dos compostos 165j e 165o.

A tabela 07 mostra os principais picos registrados nos espectros de massas dos derivados sintetizados neste trabalho.

Podemos observar que os fragmentos m/z =210 são estáveis devido as suas altas percentagens registrada nos espectros, juntamente com os m/z 224, m/z 226 e m/z 240. Além disso, como era de esperar, todos apresentaram fragmentos correspondentes a região aromática, ganhando destaque o m/z 77 que foi registrado em todos os espectros.

Tabela 07. Principais fragmentos obtidos dos espectros de massas dos derivados **165a-v**.

Compostos	m/z (%)					
165a	337 (100)	301 (2)	210 (92)	92 (3)	77 (6)	51 (5)
165b	337 (100)	301 (2)	210 (85)	91 (1)	77 (5)	51 (3)
165c	320 (20)	305 (5)	210 (85)	91 (1)	77 (20)	51 (9)
165d	320 (20)	304 (1)	210 (68)	91 (2)	77 (20)	51 (8)
165e	381 (50)	350 (1)	210 (100)	91 (5)	77 (15)	51 (5)
165f	-	289 (15)	210 (100)	-	77 (1)	-
165g	332 (47)	226 (100)	210 (25)	91 (1)	77 (21)	51 (11)
165h	332 (20)	317 (1)	210 (80)	91 (3)	77 (27)	51 (10)
165i	347 (10)	300 (1)	210 (30)	91 (1)	77 (6)	51 (6)
165j	303 (30)	-	210 (100)	91 (1)	77 (20)	51 (10)
165k	318 (30)	226 (100)	210 (100)	91 (2)	77 (26)	51 (20)
165l	318 (20)	226 (100)	210 (90)	91 (3)	77 (18)	51 (10)
165m	316 (20)	224 (100)	210 (85)	91 (5)	77 (20)	51 (6)
165n	316 (25)	224 (100)	210 (80)	91 (12)	77 (15)	51 (8)
165o	-	301 (13)	210 (100)	91 (1)	77 (18)	51 (10)
165p	381 (15)	289 (100)	210 (37)	91 (1)	77 (13)	51 (6)
165q	303 (100)	287 (1)	210 (55)	-	77 (5)	51 (3)
165r	332 (63)	240 (100)	210 (97)	91 (1)	77 (28)	51 (15)
165s	346 (55)	254 (93)	224 (100)	91 (1)	77 (22)	51 (13)
165t	346 (70)	254 (100)	210 (80)	91 (1)	77 (20)	51 (13)
165u	333 (97)	300 (1)	240 (100)	-	77 (5)	51 (4)
165v	362 (20)	270 (96)	240 (22)	91 (1)	77 (3)	51 (3)

OBS. Os dados desta tabela foram retirados dos anexos 138-148, respectivamente do volume II.

As figuras 33 e 34 mostram as propostas de fragmentações dos compostos **165h**, **165n**, **165p** e **165t**

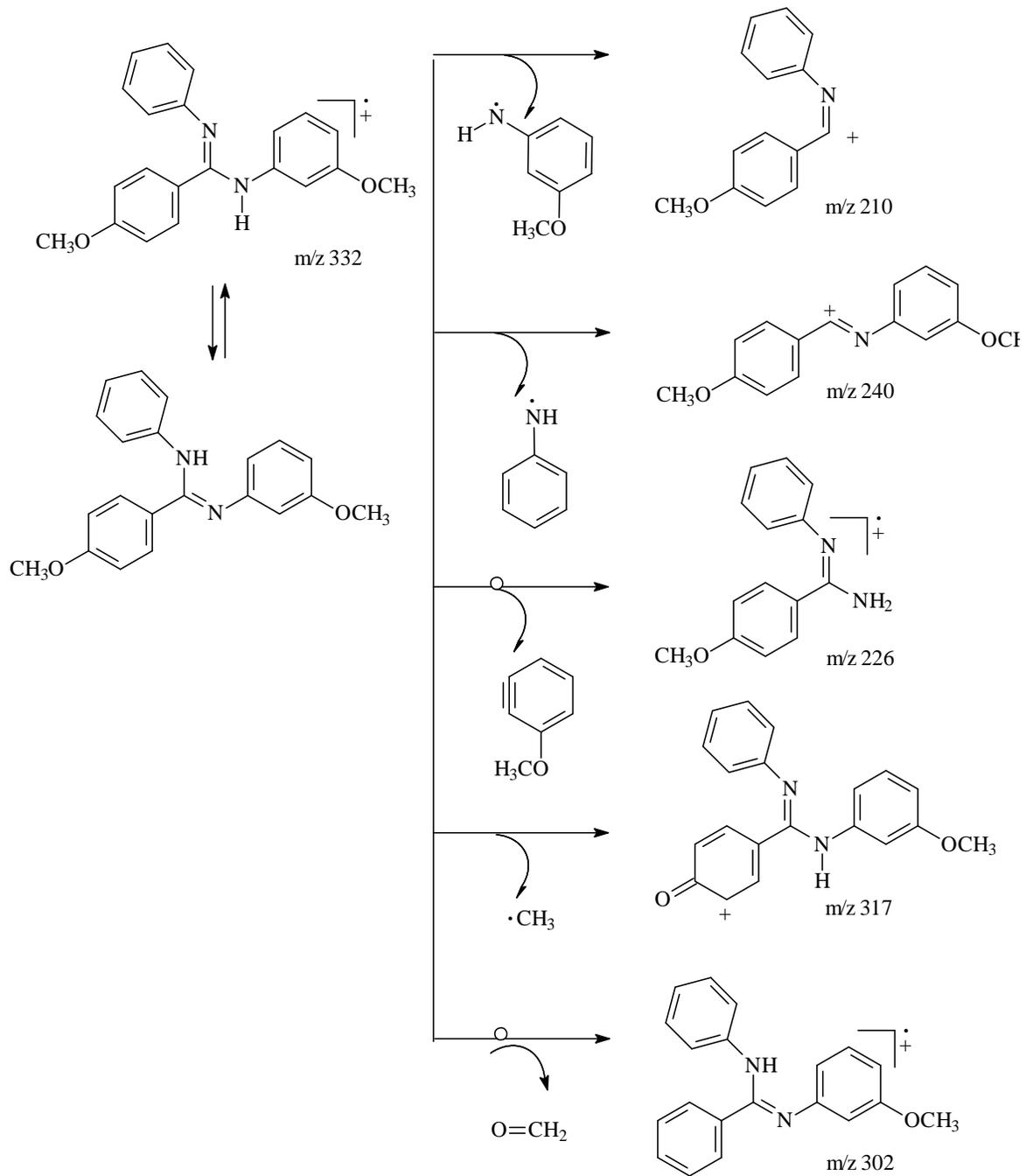


Figura 33. Proposta de mecanismo de fragmentação do composto **165h**.

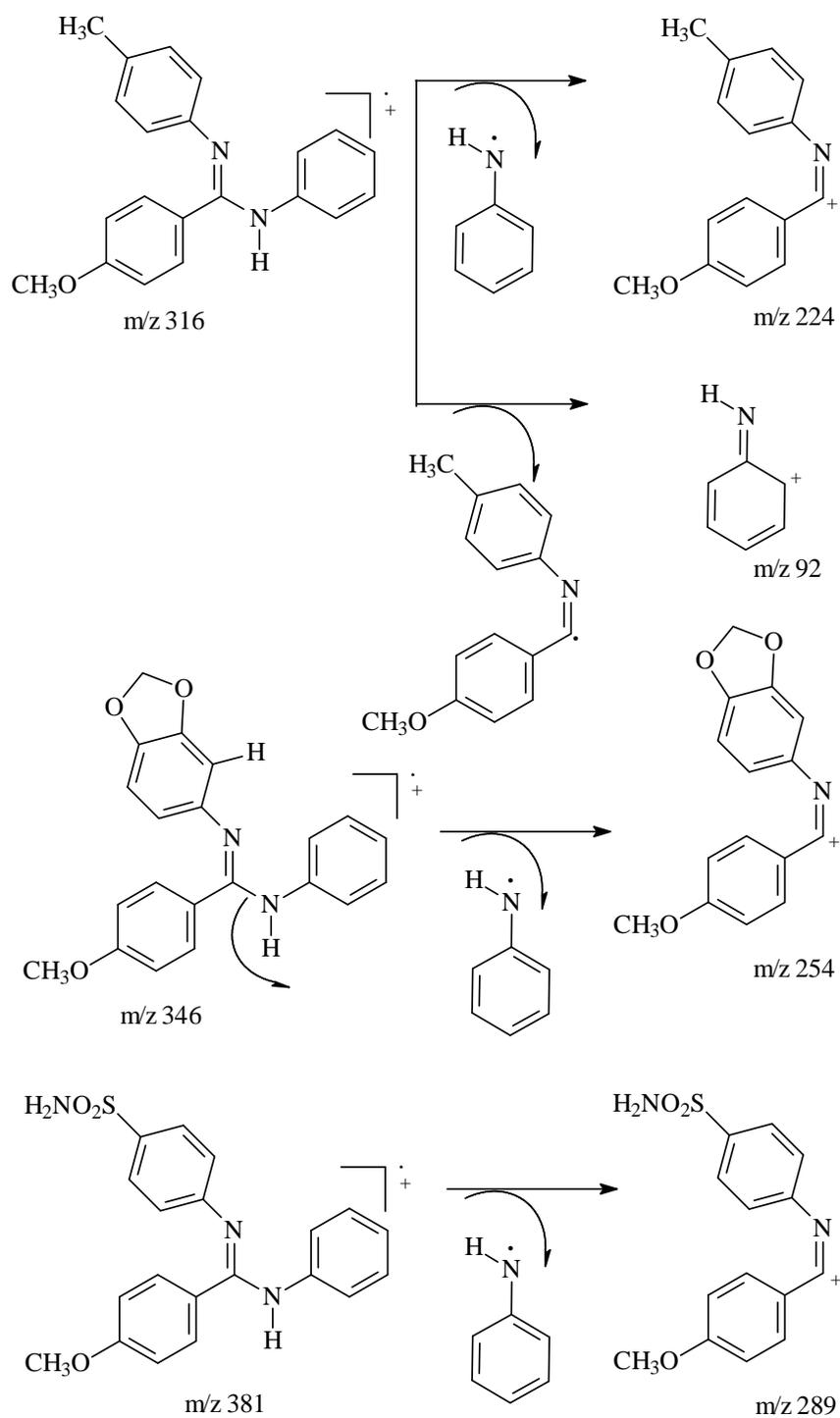


Figura 34. Propostas de mecanismos de fragmentações dos compostos **165n**, **165p** e **165t**

As técnicas espectrométricas utilizadas, permitiram a caracterização das amidinas juntamente com a verificação de sua pureza através de CCF e ponto de fusões. Aspectos fundamentais para a realização de ensaios biológicos posteriores.

3.3 Modelagem Molecular

Foi realizado um estudo de modelagem molecular utilizando o método semi-empírico com o operador hamiltoniano PM3. As amidinas (**165a-p**, **165r-t** e **165v**), tanto a forma amínica e imínica, foram desenhados no programa Pc Model (programa de mecânica molecular) e gravados como arquivos de extensão .mop, sendo em seguida transportados para a janela do programa Mopac versão 6,0/ Windows 95 para serem efetuados os cálculos semi-empíricos.

O intuito desse trabalho foi a obtenção dos valores de entalpia de formação de cada tautômero e a verificação da abundância relativa dos mesmos utilizando as equações 10 e 11 (tópico: 1.1.5 Tautomerismo). Inicialmente, foi verificado se haveria diferenças significativas referentes às energias de entalpia quanto ao isomerismo conformacional e geométrico, para este fim, foi utilizado como modelo a N,N'-difetilbenzamidina sem qualquer substituinte.

3.3.1 Isomerismo rotacional em relação a ligação simples C-N

Inicialmente, foi realizado um estudo conformacional da ligação simples C-N na N,N'-difetilbenzamidina. A ligação C-N na amidinas apresenta apreciável caráter de dupla ligação, devido a este fato sua rotação seria restrita, porém, a energia de ativação para esta rotação é abaixo de 23 kcal/mol (dato experimental) fazendo com que diversos rotâmeros sejam observados (PATAI, 1975).

As maiores diferenças entre as energias de entalpia de formação obtidas para os rotâmeros foram próximas de ~3 kcal/mol. Estes dados foram obtidos quando realizou-se giros de 60° no ângulo diedro Φ (H-N-C=N) a partir do isômero geométrico *E*, de acordo com o gráfico da figura 35.

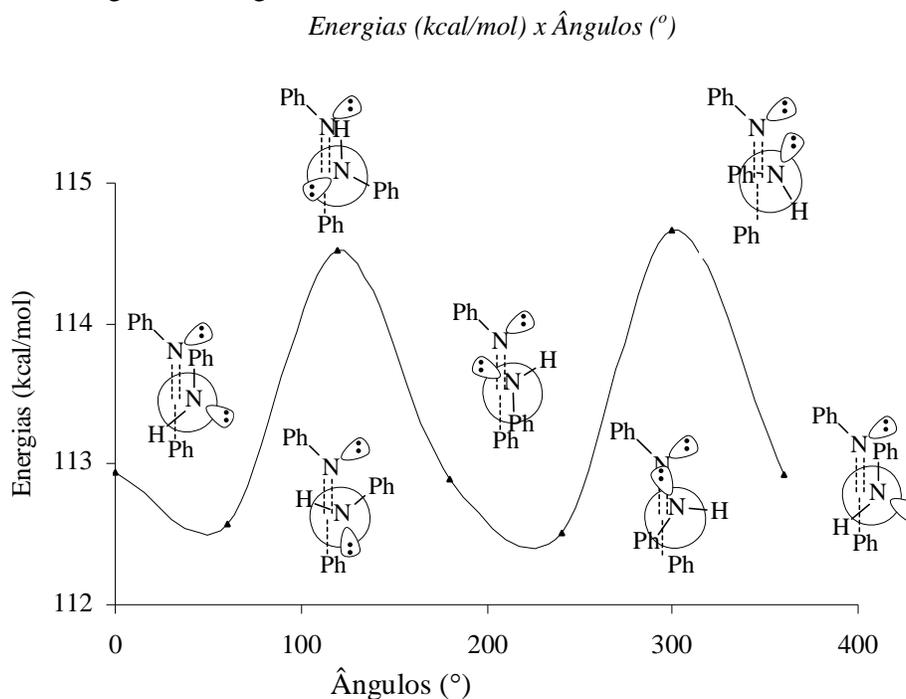


Figura 35. Análise conformacional do derivado N,N'-difetilbenzamidina a partir do isômero *E*.

De forma similar ao tratamento para o isômero *E*, foi obtido um gráfico de análise conformacional para o isômero geométrico *Z* fazendo-se giros de 60° no ângulo diedro Φ (H-N-C=N).

Pôde-se observar de acordo com a figura 36, que no primeiro rotâmero e o último (o mesmo rotâmero de partida), ocorrem com alta energia devido ao efeito estérico por parte dos dois anéis aromáticos que estão no mesmo plano, levando à conformação instável, porém, as demais conformações são de energias similares ao isômero *E* (variação em torno 3 kcal/mol).

Quanto a estrutura em 3D do sistema *N,N'*-diarilbenzamidina uma característica marcante em relação aos dois isômeros (*E* e *Z*), é referente aos anéis aromáticos que se encontram torcidos fora do plano do grupamento amidínico. Estes dados estão de acordo com a estrutura cristalográfica para o derivado *N-p*-metoxi-fenil,*N'*-fenilbenzamidina (BORTOLUZZI et al, 2004).

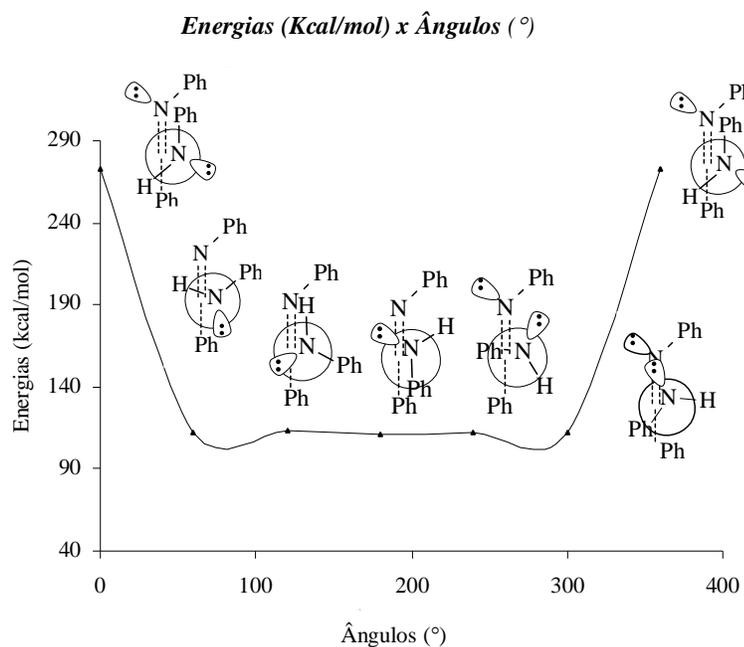


Figura 36. Análise conformacional do derivado *N,N'*-diarilbenzamidina a partir do isômero *Z*

3.3. Tautomerismos das amidinas

No conjunto de compostos sintetizados neste trabalho, a maioria, com exceção dos derivados **165q** e **165u** apresentam formas tautoméricas distintas, como por exemplo o composto **165g** (figura 37).

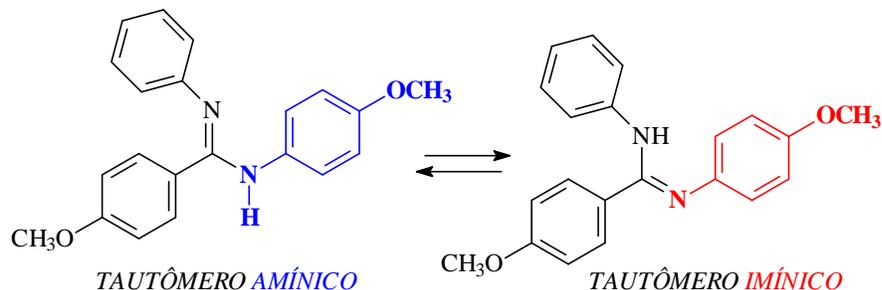


Figura 37. Tautomerismo do derivado **165g**.

A tabela 08 mostra as percentagens a partir dos cálculos teóricos das entalpias de formação e dos resultados experimentais obtidos através das integrações dos sinais duplos de hidrogênio ligado ao nitrogênio ou por estimativa dos mesmos. Os valores dos percentuais encontrados através dos cálculos teóricos foram próximos dos obtidos experimentalmente, demonstrando que a metodologia utilizada na modelagem molecular foi razoavelmente consistente.

Ambos os valores para a maioria dos compostos mostraram que os tautômeros encontram-se em proporções equivalentes, não indicando influência do efeito eletrônico através da presença ou ausência de grupos doadores ou retiradores de elétrons ligados ao anel aromático. Os compostos **165i** e **165o** foram às exceções, pois ambos demonstraram que o tautômero imínico encontram-se em 30% de abundância (dado experimental). O resultado teórico obtido para o composto **165i** também revelou menor de abundância do tautômero íminico, 43%, porém, os dados obtidos neste trabalho, contradizem os relatos de RACZYNSKA e OSZCZAPOWICZ, (1985), pois afirmaram que grupos retiradores de elétrons favorecem as formas imínicas.

Tabela 08. Entalpia de formação e percentuais teóricos e experimentais dos tautômeros das amidinas **165a-p**, **165r-t** e **165v**.

Derivados	ΔH Tautomero		$\Delta\Delta H$ (kcal/mol)	% Tautomero	
	Imínico (kcal/mol)	Amínico (kcal/mol)		Imínico	Amínico
165a	53,5262040	53,5154790	0,010725	49 (50)*	51 (50)*
165b	53,5633990	53,4911780	0,072221	47 (50)*	53 (50)*
165c	16,7888420	16,8276340	-0,038792	52	48
165d	16,6941040	16,6506450	0,043459	48 (46)*	52 (54)*
165e	67,8799270	67,8927000	-0,012773	49 (48)*	51 (52)*
165f	67,8923350	67,8089340	0,083401	46 (50)*	54 (50)*
165g	22,4933790	22,5680960	-0,074717	54	46
165h	22,2465880	22,1787630	0,067825	47	53
165i	50,1198910	50,2860050	-0,166114	43 (30)*	57 (70)*
165j	51,7423370	51,8994300	-0,157093	50 (54)*	50 (46)*
165k	15,4087270	15,5050070	-0,09628	54	46
165l	15,0979250	14,9980750	0,09985	46 (50)*	54 (50)*
165m	50,8970600	50,9050690	-0,008009	51 (50)*	49 (50)*
165n	50,8917600	50,9140590	-0,022299	51 (55)*	49 (45)*
165o	-5,2402350	-5,2343200	0,005915	49 (30)*	51 (70)*
165p	46,228915	47,169140	-0,940225	83	17
165r	22,5320180	22,458254	0,073764	46 (44)*	54 (56)*
165s	-1,5718480	-1,5044420	-0,067406	54	46
165t	-2,0212020	-1,8180400	0,384080	60 (50)*	34 (50)*
165v	-13,04562	-13,656819	0,611199	26	74

* Valores obtidos a partir das integrações dos sinais duplos de hidrogênio ligado ao nitrogênio ou por estimação dos mesmos.

3.4 Atividade Leishmanicida e QSAR

3.4.1 Atividade leishmanicida das amidinas frente a parasitos da espécie *Leishmania amazonensis*

As amidinas preparadas neste trabalho foram ensaiadas frente a parasitos da espécie *Leishmania amazonensis* na forma evolutiva promastigota. Os ensaios foram realizados com as amidinas na forma neutra. Os resultados obtidos podem ser visualizados na tabela 09.

Tabela 09. Valores das concentrações inibitórias CI_{50} (μM) dos derivados amidínicos contra *L. amazonensis* (promastigotas)

Derivado	CI_{50} (ug/ml)	CI_{50} (μM)	Derivado	CI_{50} (ug/ml)	CI_{50} (μM)
165a	26,9 \pm 8,2	79,94 \pm 24,36	165l	143,2 \pm 5,1	450,03 \pm 16,02
165b	4,4 \pm 0,0	13,07 \pm 0,0	165m	84,1 \pm 9,4	266,13 \pm 29,74
165c	8,8 \pm 0,0	27,5 \pm 0,0	165n	84,2 \pm 14,3	266,40 \pm 45,24
165d	13,5 \pm 0,0	42,18 \pm 0,0	165o	23,6 \pm 1,9	61,78 \pm 4,97
165e	8,4 \pm 0,0	21,98 \pm 0,0	165p	4,9 \pm 0,0	12,82 \pm 0,0
165g	214 \pm 3,2	644 \pm 9,2	165q	111,2 \pm 6,3	367,5 \pm 20,82
165h	16,2 \pm 1,7	48,79 \pm 5,11	165r	126,3 \pm 1,0	380,01 \pm 3,0
165i	5,8 \pm 0,9	16,71 \pm 2,59	165s	13,5 \pm 1,0	39,01 \pm 2,88
165j	136,9 \pm 11,0	394,52 \pm 31,69	Pentamidina*	6,6 \pm 1,6	11,26 \pm 2,72
165k	104,4 \pm 14,5	327,07 \pm 45,42			

*Controle positivo

Os resultados obtidos podem ser considerados razoáveis de maneira geral quando comparados ao fármaco de controle positivo, (figura 38), ganhando destaque os compostos **165b**, **165i** e **165p** que desempenharam atividades leishmanicidas similares a pentamidina. Esses resultados mostraram-se interessantes, levando em conta que a pentamidina é 100% citotóxica e o protótipo (**17**) utilizado não apresentou citotoxicidade em células de macrófagos. Ao observar os resultados da atividade leishmanicida obtidos, considerando a dispersão dos grupos substituintes no gráfico de Craig (figura 24 na introdução do capítulo 3), pode-se dizer que a atividade biológica melhora quando estão presentes grupos retiradores de elétrons no anel aromático ligado ao nitrogênio e, é pouco influenciada quanto a variação da lipoficidade do substituinte (constante de Hansh, π).

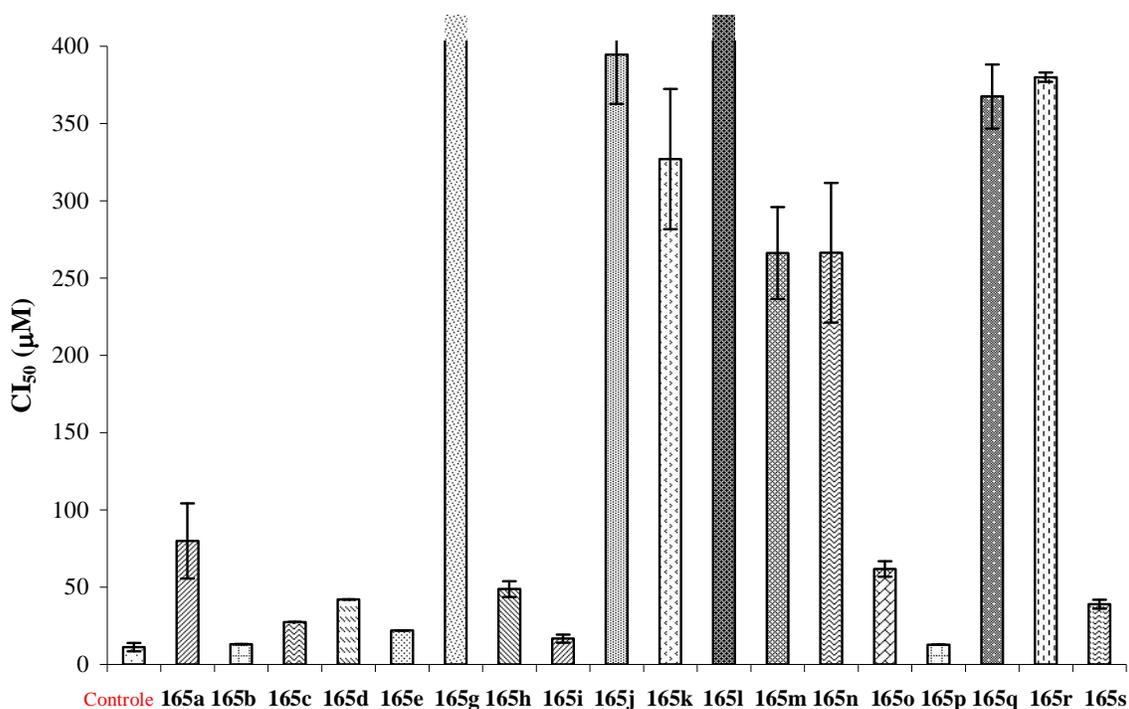


Figura 38. Gráficos de colunas dos valores de CI₅₀ (µM) das amidinas e o controle positivo

3.4.2 Estudos das relações quantitativas estrutura-atividade por Aplicação da análise de Hansh, QSAR 2D

Os resultados da atividade leishmanicida dos derivados amídicnicos **165a-165p** (exceção do derivado **165c**, ainda não ensaiado), compostos planejados de acordo com gráfico de Craig, foram correlacionados com os descritores físico-químicos calculados como logP, HOMO, LUMO, volume molecular, polarizabilidade e refratividade molar. O programa utilizado para calcular os descritores foi o ACD/ChemSketch Freeware (versão gratuita); as constantes de sigma foram obtidas da publicação de Martin (1978) e as energias de HOMO e LUMO foram retiradas das matrizes a partir dos cálculos semi-empíricos realizados neste trabalho de tese. Os descritores físico-químicos estão sumarizados na tabela 10.

Tabela 10. Descritores polares, hidrofóbicos e eletrônicos das amidinas

Compostos	Refratividade* Molar	Polarizabilidade* Å ³ /molécula	Volume)* (cm ³ /mol)	Constante Sigma (σ)	Log P*	HOMO (eV)	LUMO (eV)
165a	98,98 ± 0,5	39,24 ± 0,5	293,3 ± 7,0	0,23	6,27 ± 0,54	8,79258	0,23007
165b	98,98 ± 0,5	39,24 ± 0,5	293,3 ± 7,0	0,37	6,31 ± 0,54	8,85748	0,19386
165c	94,25 ± 0,5	37,36 ± 0,5	286,9 ± 7,0	0,06	5,73 ± 0,58	8,85985	0,24639
165d	94,25 ± 0,5	37,36 ± 0,5	286,9 ± 7,0	0,34	5,77 ± 0,58	8,90255	0,22267
165e	101,94 ± 0,5	40,41 ± 0,5	296,5 ± 7,0	0,23	6,45 ± 0,58	8,87162	0,22929
165g	100,19 ± 0,5	39,72 ± 0,5	305,7 ± 7,0	-0,27	5,23 ± 0,54	8,59706	0,14730
165h	100,19 ± 0,5	39,72 ± 0,5	305,7 ± 7,0	0,12	5,54 ± 0,54	8,73561	0,11911
165i	100,04 ± 0,5	39,66 ± 0,5	289,3 ± 7,0	0,78	5,74 ± 0,55	9,31627	1,02342
165j	100,04 ± 0,5	39,66 ± 0,5	289,3 ± 7,0	0,71	5,67 ± 0,55	9,17577	1,05852
165k	95,23 ± 0,5	37,75 ± 0,5	281,2 ± 7,0	-0,37	4,54 ± 0,53	8,86209	0,16544
165l	95,23 ± 0,5	37,75 ± 0,5	281,2 ± 7,0	0,12	4,93 ± 0,53	8,76305	0,12712
165m	98,80 ± 0,5	39,17 ± 0,5	299,2 ± 7,0	-0,17	5,74 ± 0,53	8,68065	0,14874
165n	98,80 ± 0,5	39,17 ± 0,5	299,2 ± 7,0	-0,07	5,74 ± 0,53	8,70968	0,14577
165o	106,05 ± 0,5	42,04 ± 0,5	301,0 ± 0,5	0,57	4,09 ± 0,55	9,10529	0,72956
165p	104,05 ± 0,5	41,48 ± 0,5	298,6 ± 7,0	0,78	6,45 ± 0,56	9,20674	1,09731

* Os descritores foram calculados a partir do programa ACD/ChemSketch Freeware.

A análise de Hansch, QSAR-2D, foi realizada por aplicação do Bilin Program, versão 1998, desenvolvido e disponibilizado pelo Prof. Dr. Kubinyi (<http://home.tonlinel.de/home/kubinyi>). A resposta biológica (log da concentração em µM que inibe 50% do crescimento dos parasitos) foi correlacionada com um ou dois dos descritores citados na tabela 10, com exceção dos compostos **165c** e **165j** que não se enquadraram nos modelos propostos.

Desta forma, foram obtidas várias correlações entre a atividade leishmanicida, considerada a variável dependente, e os descritores, considerados variáveis independentes. As correlações foram representadas por equações com parâmetros estatísticos que têm por finalidade avaliar o ajuste do modelo obtido aos dados experimentais.

Inicialmente, por aplicação do modelo linear foram observadas correlações significativas ($r > 0.75$) apenas para as correlações envolvendo os parâmetros físico-químicos σ e $\log P$, segundo a equações 12. e 13.

Equação 12:

$$\log CI_{50} = -1,375 (\pm 0,61)\sigma + 2,175 (\pm 0,25)$$

$$(n = 13; r = 0,830; s = 0,355; F = 24,342)$$

Equação 13:

$$\log CI_{50} = -1,206 (\pm 0,55)\sigma - 0,287 (\pm 0,27)\log P + 3,750 (\pm 1,52)$$
$$n = 13; r = 0,893; s = 0,300; F = 19,780$$

Pôde-se observar que o modelo linear apresentou maior coeficiente de correlação ($r = 0,893$) quando foram considerados a constante sigma (σ) e $\log P$ dos compostos (equação 13). A equação 13 revelou que a atividade leishmanicida é favorecida por grupos retiradores de elétrons e por compostos mais lipofílicos ($\log P$). Além disso, o efeito eletrônico apresentou-se com maior influência em relação ao hidrofóbico.

Em seguida foi aplicado o modelo parabólico correlacionado a atividade leishmanicida e os demais descritores.

Os modelos estabelecidos ($r > 0,75$) foram representados pelas equações 14 e 15. A equação 14, parabólica em relação a $\log P$, demonstrou um bom modelo, pois o coeficiente de correlação foi superior a 0,90. O modelo indicou que a atividade leishmanicida é favorecida por grupos retiradores de elétrons e com compostos com lipofilicidade média, alcançando um índice lipofílico ótimo com $\log P$ 4,63.

Equação 14:

$$\log IC_{50} = -0,211 (\pm 0,40)\log P^2 + 1,952 (\pm 4,30)\log P - 1,055 (\pm 0,62)\sigma - 2,104 (\pm 11,30)$$
$$(n = 13; r = 0,910; s = 0,294; F = 14,171; \log P \text{ ótimo} = 4,63)$$

Equação 15:

$$\log IC_{50} = + 0,445 (\pm 1,76) \cdot \sigma^2 - 1,575 (\pm 1,02)\sigma + 2,141 (\pm 0,29)$$
$$(n = 13; r = 0,836; s = 0,367; F = 11,577; \sigma \text{ ótimo} = 1,77)$$

O modelo representado pela equação 15 ($r = 0,836$) foi similar à equação 12 ($r = 0,830$) em termos de parâmetros estatísticos e inferior a equação a 13 ($r = 0,893$) e 14 ($r = 0,910$). Da mesma forma que os demais modelos, a equação 12 indicou que a atividade leishmanicida é favorecida por grupos retiradores de elétrons.

Posteriormente, foi aplicado o modelo bilinear nas correlações das atividades leishmanicidas com os descritores da tabela 10, obtendo-se os melhores resultados ($r > 0,75$) representados pelas equações 16 e 17. O modelo representado pela equação 16, que relaciona $\log P$ e as constantes sigma ($r = 0,910$) foi equivalente à equação 14 (0,910) em termos estatísticos, e indicou, assim, como os outros, que atividade leishmanicida é favorecida por grupos com lipofilicidade média chegando a $\log P$ ótimo de 4,74 e com grupos retiradores de elétrons. A equação 17 representa um modelo aceitável com menor uma menor coeficiente de correlação 0,775.

Equação 16:

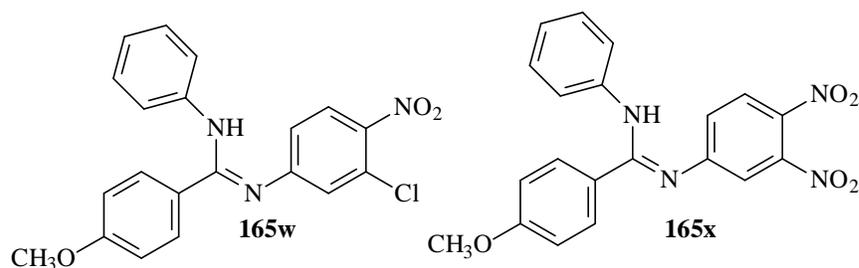
$$\log IC_{50} = + 0,672 (\pm 1,85)\log P - 1,322 (\pm 2,53)\log(\beta \cdot P + 1) - 1,020 (\pm 0,68)\sigma - 0,330$$
$$(\pm 7,92)$$
$$(n = 13; r = 0,910; s = 0,308; F = 9,737; \log \beta: -4,735; \log P \text{ ótimo} = 4,74)$$

Equação 17:

$$\log IC_{50} = + 5531 (\pm 4906)\log P - 5532 (\pm 4907)\log(\beta P + 1) - 5582 (\pm 4955)$$
$$(n = 13; r = 775; s = 0,445; F = 4,526; \log \beta = -1,010; \log P \text{ ótimo} = 4,72)$$

Dentre os modelos propostos neste trabalho, ganharam destaque os representados pelas equações 13 (modelo linear), 14 (parabólico) e 16 (bilinear) que tiveram seus coeficientes de correlação maiores que 0,89. Os modelos propostos indicaram a maior atividade leishmanicida para as amidinas com grupos retiradores de elétrons, sendo os parâmetros físico-químicos que melhor expressaram a correlação com a resposta biológica a constante σ e logP, ou seja, o parâmetro eletrônico e o hidrofóbico.

Como perspectivas de trabalho futuros, foram propostos com base nos modelos apontados anteriormente os compostos **165w** e o **165x**, de acordo com a equação 14 os compostos teriam os valores de CI_{50} de 6,21 μ M e 9,88 μ M, abaixo que o fármaco de controle.



5 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais e Equipamentos

4.1.1 Equipamentos

Os equipamentos, assim como as vidrarias, foram os mesmos relatados na parte experimental do capítulo 2, com exceção do computador móvel AMD Sempron 3400+; 1,80 GHz; 960 MB de RAM, que foi utilizado para realizar os cálculos de modelagem molecular.

4.1.2 Solventes utilizados

Os solventes utilizados foram os mesmos utilizados no capítulo 2 assim como as suas procedências. Com exceção do tolueno que foi purificado por destilação fracionada à pressão normal a 110 °C (MORITA & ASSUMPÇÃO, 1972).

4.1.3 Reagentes

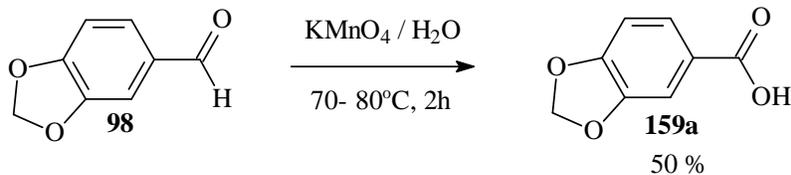
- . NaOH (Vetec)
- . *p*-Metoxi-anilina (Aldrich)
- . *m*-Cloro-anilina (Aldrich)
- . *m*-Fluor-anilina (Aldrich)
- . *m*-Metil-anilina (Aldrich)
- . *p*-Hidroxi-anilina (Aldrich)
- . *p*-Bromo-anilina (Aldrich)
- . *p*-Nitro-anilina (Aldrich)
- . *p*-Cloro-*m*-nitro-anilina (Aldrich)
- . Piperonal cedido gentilmente pela Profa. Dra. Rosane Nora Castro
- . Ácido *p*-anísico-benzóico (Aldrich)
- . Ácido 3,4-dimetoxi-benzóico (Aldrich)
- . Cloreto de tionila (Fluka)
- . NaHCO₃ (Vetec)
- . Anilina (Aldrich)
- . *p*-Cloro-anilina (Aldrich)
- . *p*-Fluor-anilina (Aldrich)
- . *p*-Metil-anilina (Aldrich)
- . *p*-Sulfonil-anilina (Aldrich)
- . *m*-Hidroxi-anilina (Aldrich)
- . *m*-Bromo-anilina (Aldrich)
- . *m*-Nitro-anilina (Aldrich)
- . 3,4-Metiledioxi-anilina (Aldrich)
- . Ácido *m*-anísico-benzóico
- . Cloreto de benzoíla (Merck)
- . PCl₅ (Merck)

4.1.3.1 Purificação dos Reagentes

Anilina foi submetida a refluxo com Zn em pó por 2 horas, e posteriormente destilada a pressão normal, em 184 °C (VOGEL, 1986).

4.2 Sínteses

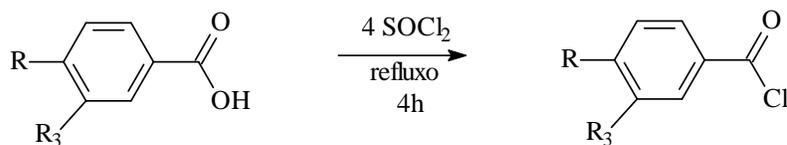
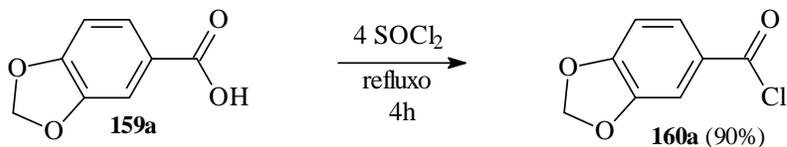
4.2.1 Síntese do ácido piperônico 159a



Adicionaram-se 10,95g (0,073 mol) do aldeído piperonal em 200 mL de água sob agitação magnética a uma temperatura de 70-80 °C por cerca de 2 horas. A esta solução, mantida sob agitação, adicionaram-se 16g (0,10 mol) de permanganato de potássio em 300 mL de água sob agitação e aquecimento até o final da redução do agente oxidante.

Posteriormente, acrescentou-se uma solução de hidróxido de sódio 10% até pH alcalino. O filtrado foi acidificado com HCl e assim, obteve-se, por filtração um sólido branco. O produto apresentou ponto de fusão 228-230°C (229-231°C Aldrich) e o rendimento da reação foi de 50%.

4.2.2 Síntese dos cloretos de acila 160a-d



159b R = OCH₃; R₃ = H

159c R = H; R₃ = OCH₃

159d R = OCH₃; R₃ = OCH₃

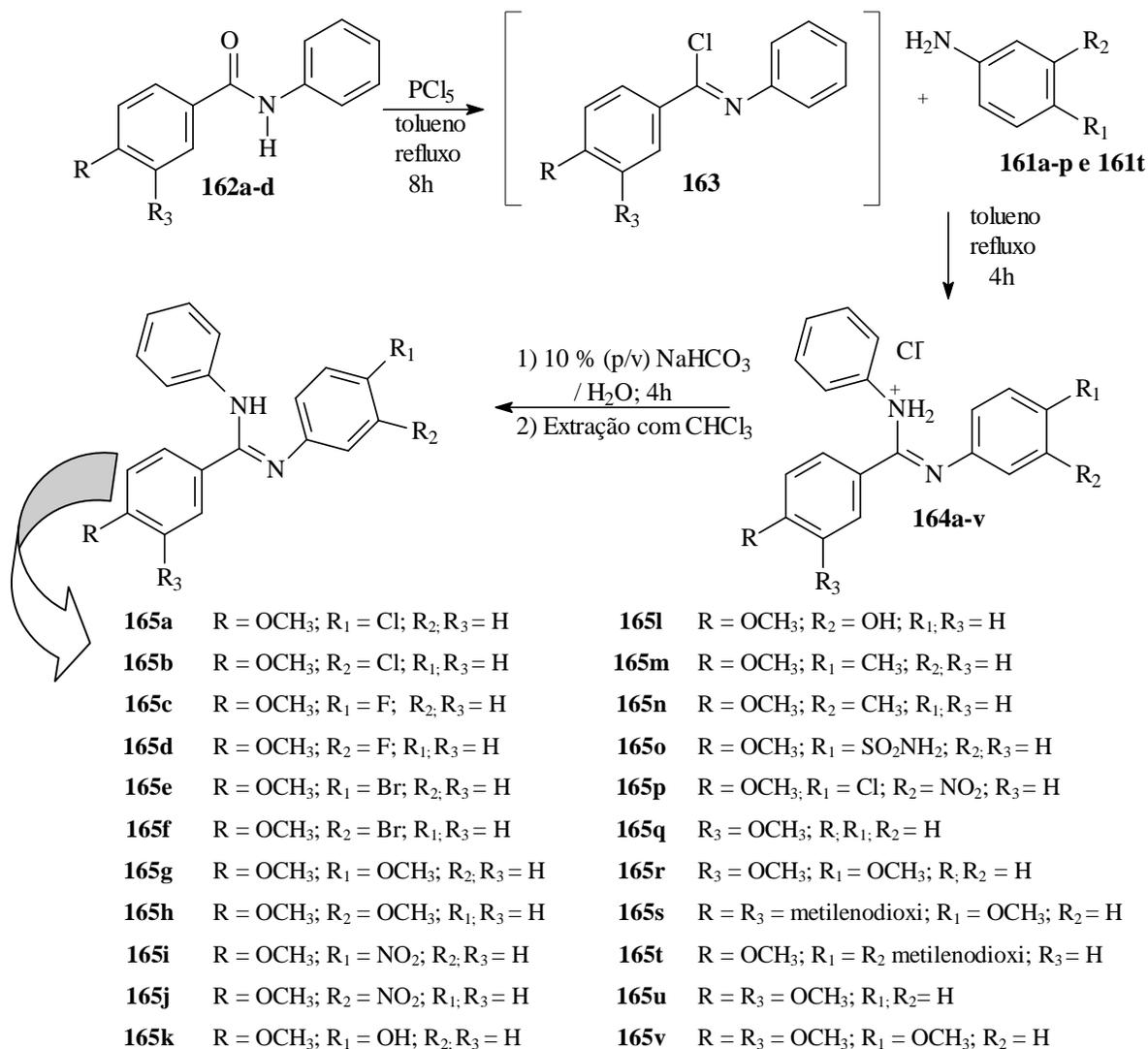
160b R = OCH₃; R₃ = H (93%)

160c R = H; R₃ = OCH₃ (96%)

160d R = OCH₃; R₃ = OCH₃ (95%)

Misturou-se 0,07 mol do ácido benzóico adequadamente substituído com 0,12 mol de cloreto de tionila redestilado, sob refluxo com agitação magnética, em banho de óleo por 4 horas (VOGEL, 1956). Verificou-se através de cromatografia em camada fina o término da reação, eluindo-se em hexano/acetato em uma proporção de 6:4. A solução foi submetida à destilação para retirada do excesso de cloreto de tionila, originando o cheiro característico de cloreto de ácido. Os rendimentos obtidos estão indicados acima.

4.2.4 Síntese das amidinas **165a-v**



Uma mistura de benzanilida (0,5g, 2,25 mmol) e pentacloreto de fósforo (0,5g, 2,4 mmol) em tolueno seco foi refluxada por aproximadamente 8 horas sob atmosfera inerte, fornecendo um óleo bruto de coloração castanha (FATHALLA e PAZDERA, 2002). Este óleo foi adicionado aos poucos a uma solução contendo anilina, devidamente substituída, em tolueno sob refluxo em atmosfera inerte onde permaneceram por 6 horas sob agitação magnética. Logo após, foi obtido um precipitado, sendo filtrado à vácuo.

A purificação do produto foi feita através de lavagens sucessivas com acetona, sendo assim obtido o derivado purificado. Em seguida, o sólido foi submetido a agitação magnética em meio de NaHCO₃ (10% p/v) por volta de 4 horas, com exceção

do produto **88** que permaneceu por aproximadamente 24 horas, sendo posteriormente extraído com CHCl_3 . Os rendimentos obtidos encontram-se na tabela 12.

Tabela 12. Rendimentos e pontos de fusão das N-(R₁,R₂-fenil)-N'-fenil-R,R₃-benzamidina (**165a-v**)

Compostos	Rendimentos (%)	Ponto de Fusão (°C)	Compostos	Rendimentos (%)	Ponto de Fusão (°C)
165a	55	168-170	165l	75	190-192
165b	67	215-218	165m	60	140-142
165c	89	149-150	165n	86	234-236
165d	85	95-97	165o	60	159-161
165e	65	175-178	165p	50	128-130
165f	89	*	165q	65	210-213
165g	65	45-48	165r	70	127-128
165h	55	*	165s	80	146-148
165i	60	150-153	165t	50	*
165j	76	*	165u	70	170-172
165k	80	160-162	165v	60	128-129

* Líquido viscoso

4.3 Modelagem molecular

Os cálculos de modelagem molecular foram usados para a determinação das entalpias de formação dos tautomêros das amidinas **165a-p**, **165r-t** e **165v**, entalpias dos confôrmeros da N,N'-difênil-benzamidina, bem como para a obtenção dos descritores físico-químicos: energias de HOMO LUMO.

Este trabalho foi realizado em um micro computador pessoal móvel AMD Sempron 3400+; 1,80 GHz; 960 MB de RAM. Os cálculos foram realizados utilizando o programa Mopac 6,0 (STEWART, 1989)

As moléculas foram desenhadas no programa Pc Model (programa de mecânica molecular) e gravados como arquivos de extensão .mop, sendo em seguida transportados para a janela do programa Mopac versão 6,0 para serem efetuados os cálculos. O método empregado foi o semi-empírico, utilizado o hamiltoniano PM3. As palavras chaves foram:

PM3, operador hamiltoniano

POINT = n, define o número de pontos em um caminho de reação.

STEP = n, define o incremento do caminho de uma reação

BONDS, permite a impressão das matrizes das ordens das ligações entre todos os pares de átomos

VECTORS, permite a impressão dos coeficientes dos orbitais

PRECISE, os critérios de otimização da geometria são tornados mais estritos por um fator de 100

GEO-OK, não leva em conta as distâncias interatômicas

Após as estruturas terem sido otimizadas pelo programa MOPAC, houve a criação de arquivos de saída MNO e ARC, de onde foram retirados os dados. Os valores de ΔH_f foram fornecidos pelo arquivo MNO.

4.4 Cálculos dos parâmetros físico-químicos e correlações

Os parâmetros físico-químicos refratividade, polarizabilidade, volume molecular e log P foram calculados utilizando o programa ACD/ChemSketch Freeware (versão gratuita) disponibilizada pelo site <http://www.acdlabs.com/>.

A análise multivariada foi realizada por aplicação do Bilin Program, versão 1998, desenvolvido e disponibilizado pelo Prof. Dr. Hugo Kubinyi (<http://home.tonline.de/home/kubinyi>).

4.5 Atividade anti-leishmania

Os ensaios para a avaliação da atividade anti-leishmania foram realizados no Laboratório de Bioquímica de Tripanossomatídeos, Departamento de Imunologia do Instituto de Oswaldo Cruz. Segue uma breve descrição da metodologia utilizada (MELLO et al., 2004).

Os derivados amidínicos foram testados frente a *Leishmania amazonensis* na forma evolutiva promastigotas (cepa MHOM/BR/77/LTB0016), em cultura de meio Sheneider suplementado com 10 % (v/v) de soro fetal bovino. As culturas foram incubadas a 25 °C, por 24 horas. Posteriormente, os parasitas vivos foram contados em câmara de Neubauer ajustada a uma concentração de 4×10^6 mL.

Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços com volumes de 180 μ L. Os compostos foram adicionados a cultura parasitária em concentrações na faixa de 160mg/ μ L a 5 μ g/mL solubilizados em DMSO. Todos os derivados foram ensaiados em triplicata.

A concentração que inibe em 50% do crescimento dos parasitos foi calculada através da equação da reta obtida por regressão linear dos valores de log da concentração da substância versus o percentual de parasitos vivos em cada faixa de concentração.

5 CONCLUSÕES

- ✓ O método de síntese utilizado para obtenção das 22 amidinas mostrou-se satisfatório, fornecendo produtos com alto grau de pureza e com rendimentos que variaram de 50 a 89%.
- ✓ As análises dos espectros obtidos por experimentos de IV, MS, RMN de ^1H e ^{13}C permitiram a caracterização de todos os compostos.
- ✓ Os resultados das atividades anti-leishmania das amidinas mostraram-se promissores, sendo que dentre os compostos avaliados, destacam-se os derivados **165b**, **165i** e **165p** que apresentaram valores de CI_{50} (μM) similares a pentamidina (controle positivo).
- ✓ A análise de Hansh mostrou-se interessante, pois foi possível obter modelos com coeficientes de correlação superiores a 0,89. Os modelos indicaram maior atividade leishmanicida para as amidinas com grupos retiradores de elétrons, sendo os parâmetros físico-químicos que melhor se correlacionaram com a resposta biológica foram a constante σ e $\log P$, ou seja, os parâmetros eletrônico e o hidrofóbico.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVALOS, M.; BABIANO, R.; CINTAS, P.; DURÁN, C. J.; JIMÉNEZ, J. L.; PALACIOS, J. C. NMR studies and semiempirical calculations on the structure of glycoamidines. **Tetrahedron**, v. 52, n. 27, p. 9263-9274, 1996.
- BAKER, J.; KILNER, M. The coordination chemistry of the amidine ligand. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 133, p. 219-300, 1994.
- BORTOLUZZI, A. J.; ECHEVARRIA, A.; RODRIGUES-SANTOS, C. E. 4-Mehoxy-N,N'-diphenylbenzamidine. **Acta Crystallographica Section E**. v. 60, p. o1837-01839, 2004.
- COLES, M. P. Application of neutral amidines and guanidines in coordination chemistry. **Dalton Transactions**. v. 1, p. 985-1001, 2006.
- COTTON, F. A.; HAEFNER, S. C.; MATONIC, J. H.; WANG, X.; MURILLO, C. A. Structural studies of formamidine compounds: from neutral to anionic and cationic species. **Polyhedron**, v. 16, n. 3, p. 541-550, 1997.
- CRAIG, P. N. Interdependence between Physical Parameters and Selection of Substituent Groups for Correlation Studies. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 14. p. 680-684, 1971.
- CROFT, S. L.; BARRETT, M. P.; URBINA, J. A. Chemotherapy of trypanosomiasis and leishmaniasis. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 11, p. 508-512, 2005.
- CURTIN, D. Y.; GRUBBS, E. J.; McCARTY, C. G. Uncatalyzed *syn-anti* isomerization of imines, oxime ethers, and haloimines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 88, n. 12, p. 2775-2786, 1966.
- ECHEVARRIA, A.; SANTOS, L. H.; MILLER, J.; MAHMOOD, N. Synthesis, characterization, and anti-HIV activity of some 2-*p*-X-phenyl-1,3-N,N'-diphenylamidines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 6, n. 16, p. 1901-1904, 1996.
- FATHALLA, W. M.; ČAJAN, M.; MAREK, J.; PAZDERA, P. One-pot quinazolin-4-ylidenethiourea synthesis via *N*-(2-Cyanophenyl)benzimidoyl isothiocyanate. **Molecules**, v. 6, p. 574-587, 2001.
- FATHALLA, W. M.; PAZDERA, P. Synthesis of heterocyclic skeletons by the reaction of *N*¹-(2-Cyanophenyl)-benzimidoyl chloride with thioamides. **Molecules**, v. 7, p. 96-103, 2002.
- GAUDIO, A. C.; ZANDONADE, E. Proposição, Validação e Análise dos Modelos que Correlacionam Estrutura Química e Atividade Biológica. **Química Nova**. v. 24, p. 658-671, 2001.

GENESTRA, M.; ECHEVARRIA, A.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; VIGNÓLIO-ALVES, L.; LEON, L. L. Effect of amidine derivatives on nitric oxide production by *Leishmania amazonensis* promastigotes and axenic amastigotes. **Nitric Oxide**, v. 8, p. 1-6, 2003.

GERTLER, S. I.; HALLER, H. L. N-Substituted Piperonylamides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 64 p. 1741-1742, 1942.

HEY, D. H.; LONG, R. A. J. Internuclear cyclization. XV. The catalytic decomposition of diazonium chlorides prepared from o-substituted 2-amino-N-methylbenzanilides. **Journal of the Chemical**, v.1, p. 4110-4113, 1959.

JACKMAN, L. M.; JEN, T. ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance studies on the tautomerism, geometrical isomerism, and conformation of some cyclic amidines, guanidines, and related systems. **Journal of the American Chemical Society**, v. 97, n. 10, p. 2811-2818, 1975.

KOMBER, H.; KLINGER, C.; BÖHME, F. ^1H , ^{13}C and ^{15}N nuclear magnetic resonance studies of polyamidines prepared from di(4,4'-aminophenyl) methane and different triethyl orthoesters - polymers with a prototropic tautomerism. **Polymer**, v. 38, n. 11, p. 2603-2608, 1997.

KOMBER, H.; LIMBACH, H. H.; BÖHME, F.; KUNERT, C. NMR studies of the tautomerism of cyclo-tris(4-R-2,6-pyridylformamidine) in solution and in the solid state. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, p. 11955-11963, 2002.

KRAFT, A.; PETERS, L.; POWELL, H. R. Hydrogen-bonding between benzoic acid and an N,N'-diethyl-substituted benzamidine. **Tetrahedron**, v. 58, p. 3499-3505, 2002.

KUBINYI, H. QSAR and 3D QSAR in drug design part 1: methodology. **Research Focus** v.2, p. 457-467, 1997.

KUBINYI, H. QSAR and 3D QSAR in drug design part 2: Applications and problems. **Research Focus**. v. 2, p. 538-546, 1997.

KUSTURIN, C. L.; LIEBESKIND, L. S.; NEUMANN, W. L. A new catalytic cross-coupling approach for the synthesis of protected aryl and heteroaryl amidines. **Organic Letters**, v. 4, n. 6, p. 983-985, 2002.

LORZ, E.; BALTZLY, R. N,N-Disubstituted amidines. II. Benzamidines. The effect of substitution on basicity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 71, p. 3992-3994, 1949.

MANDEL, H. G.; HILL, A. J. The conversion of formamides into formamidines. **Journal of the American Chemical Society**, v. 76, p. 3978-3982, 1954.

MARTIN, C. Y. **Quantitative drug design A Critical Introduction**. Chicago: Dekker, 1978.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. Manual de soluções de reagentes e solventes. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 1972.

MOSS, R. A.; MA, W.; MERRER, D. C.; XUE, S. Conversion of 'obstinate' nitriles to amidines by garigipati's reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 36, n. 48, p. 8761-8764, 1995.

OSZCZAPOWICZ, J.; RACZYŃSKA, E. Amidines. Part 13. Influence of substitution at imino nitrogen atom on pK_a values of N^1N^1 -dimethylacetamidines. **Journal of Chemical Society Perkin Trans. II**, p. 1643-1646, 1984.

PATAI, S. **The chemistry of amidines and imidates**. Editora: John Wiley & Sons, 1975.

RACZYŃSKA, E. D. Application of semiempirical method (AM1) to the study of tautomeric equilibria in the gas phase for simple compounds containing the amidine group: 4(5)-substituted imidazoles. **Analytica Chimica Acta**, v. 348, p. 431-441, 1997.

RACZYŃSKA, E.; OSZCZAPOWICZ, J. Amidines - XVIII. Tautomeric equilibria and pK_a values of N,N' -disubstituted amidines, substituent effects. **Tetrahedron**, v. 41, n. 22, p. 5175-5179, 1985.

RACZYŃSKA, E. D.; OSZCZAPOWICZ, J.; WALCZAK, M. Amidines. Part 15. Influence of substitution at imino and amino nitrogen atoms on pK_a values of N^1 -Methyl- N^1N^2 -diarylacetamidines. **Journal of Chemical Society Perkin Translation**, v. II, p. 1087-1090, 1985.

REMKO, M.; VAN DUIJNEN, P. Th.; SWART, M. Theoretical study on molecular structure, tautomerism, and geometrical isomerism of *N*-methyl- and *N*-phenyl-substituted cyclic imidazolines, oxazolines, and thiazolines. **Structural Chemistry**, v. 14, n. 3, p. 271-278, 2003.

RODRIGUES-SANTOS, C. E.; ECHEVARRIA, A.; MACHADO, G. C.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; LEON, L. L. **Atividade Leishmanicida de N,N' -diarilbenzamidinas *p*-metoxiladas**. Águas de Lindóia – SP: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008. CD-ROM.

RODRIGUES-SANTOS, C. E. Síntese e Caracterização Estrutural de N,N' -Diarilbenzamidinas com atividade leishmanicida. 2004. 136 f. Tese (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

SANTOS, L. H. S. **N,N' -difetilbenzamidinas: síntese, correlações de Hammet e atividade biológica**. 1993. 110 f. Tese (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

SANTOS, S. S.; BERNARDINO, A. M. R.; SOUZA, M. C. Principais métodos de síntese de amidinas. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1301-1306, 2006.

SHRINER, R. L.; NEUMANN, F. W. The Chemistry of the amidines. **Chemical Review**, v. 35, p. 351-415, 1944.

- SILVA, E. M. **Matemática e estatística aplicada**. São Paulo: Atlas, 1999.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 2006.
- SINTOV, N. J.; RODIA, J. S.; TURSICH, J. A.; DAVIS, H. L.; WEBSTER, G. L. Methoxysubstituted benzamidines as local anesthetics. **Journal of the American Chemical Society**, v. 71, p. 3990-3992, 1949.
- STEWART, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical. Methods II. Applications. **Journal of Computational Chemistry**, v. 10, p. 221-264, 1989.
- SZCZEPANKIEWICZ, W.; SUWIŃSKI, J.; BUJOK, R. Synthesis of 4-arylaminoquinazolines and 2-aryl-4-arylaminoquinazolines from 2-aminobenzonitrile, anilines and formic acid or benzaldehydes. **Tetrahedron**, v. 56, p. 9343-9349, 2000.
- TAVARES, C. L. QSAR: A Abordagem de Hansh. **Química Nova**. v. 27, p. 631-639, 2004.
- VOGEL, A. L. **Text-book of practical chemistry**. 3. ed. New York: John Wiley & Sons, 1956.
- VOGEL, A. L. **Química Orgânica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico S.A., 1986.
- XU, F.; SUN, J.; SHEN, Q. Samarium diiodide promoted synthesis of *N,N'*-disubstituted amidines. **Tetrahedron Letters**, v. 43, p. 1867-1869, 2002.
- YAVARI, I.; ADIB, M.; JAHANI-MOGHADDAM, F.; BIJANZADEH, H. R. Vinylphosphonium salt mediated simple synthesis of 7-oxo-7*H*-pyrido[1,2,3-*cd*]perimidine derivatives. Dynamic NMR spectroscopic study of prototropic tautomerism in ethyl 1*H*-perimidine-2-carboxylate. **Tetrahedron**, v. 58, p. 6901-6906, 2002.
- YET, L. A survey of amidine synthesis. **Technical Reports**, v. 4, n. 3, p. 1-13, 2000.

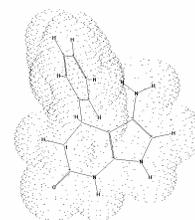
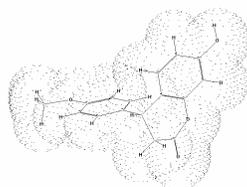
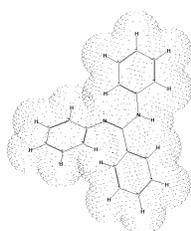
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTI-
LEISHMANIA DE DERIVADOS DAS CLASSES 4-ARIL-3,4-
DIIDROCUMARINAS, PIRAZOLO[3,4-*b*]PIRIDIN-6-ONAS E
N,N'-DIFENIL-BENZAMIDINAS

VOLUME II



CLÁUDIO EDUARDO RODRIGUES DOS SANTOS

2008

ÍNDICES DE ANEXOS

CAPÍTULO II -----	1
Anexo 01. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101a -----	2
Anexo 02. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101b -----	3
Anexo 03. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101c -----	4
Anexo 04. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101d -----	5
Anexo 05. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101e -----	6
Anexo 06. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101f -----	7
Anexo 07. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101g -----	8
Anexo 08. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101h -----	9
Anexo 09. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 101i -----	10
Anexo 10. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 103a -----	11
Anexo 11. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 103b -----	12
Anexo 12. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 103c -----	13
Anexo 13. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105a -----	14
Anexo 14. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105b -----	15
Anexo 15. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105c -----	16
Anexo 16. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105d -----	17
Anexo 17. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105e -----	18
Anexo 18. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105f -----	19
Anexo 19. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105g -----	20
Anexo 20. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105h -----	21
Anexo 21. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105i -----	22
Anexo 22. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105j -----	23
Anexo 23. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105k -----	24
Anexo 24. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 105l -----	25
Anexo 25. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 101a -----	26
Anexo 26. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 101b -----	27
Anexo 27. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 101c -----	28
Anexo 28. Espectro de ^{13}C (Metanol- d_4 , 50,3 MHz) do composto 101d -----	29
Anexo 29. Espectro de ^{13}C (Metanol- d_4 , 50,3 MHz) do composto 101e -----	30
Anexo 30. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 101f -----	31
Anexo 31. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 101g -----	32
Anexo 32. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 101h -----	33
Anexo 33. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 101i -----	34
Anexo 34. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 103a -----	35
Anexo 35. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 103b -----	36
Anexo 36. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 103c -----	37
Anexo 37. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105a -----	38
Anexo 38. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105b -----	39
Anexo 39. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105c -----	40
Anexo 40. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105d -----	41
Anexo 41. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105e -----	42
Anexo 42. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105f -----	43
Anexo 43. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105g -----	44
Anexo 44. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105h -----	45
Anexo 45. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105i -----	46
Anexo 46. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105j -----	47

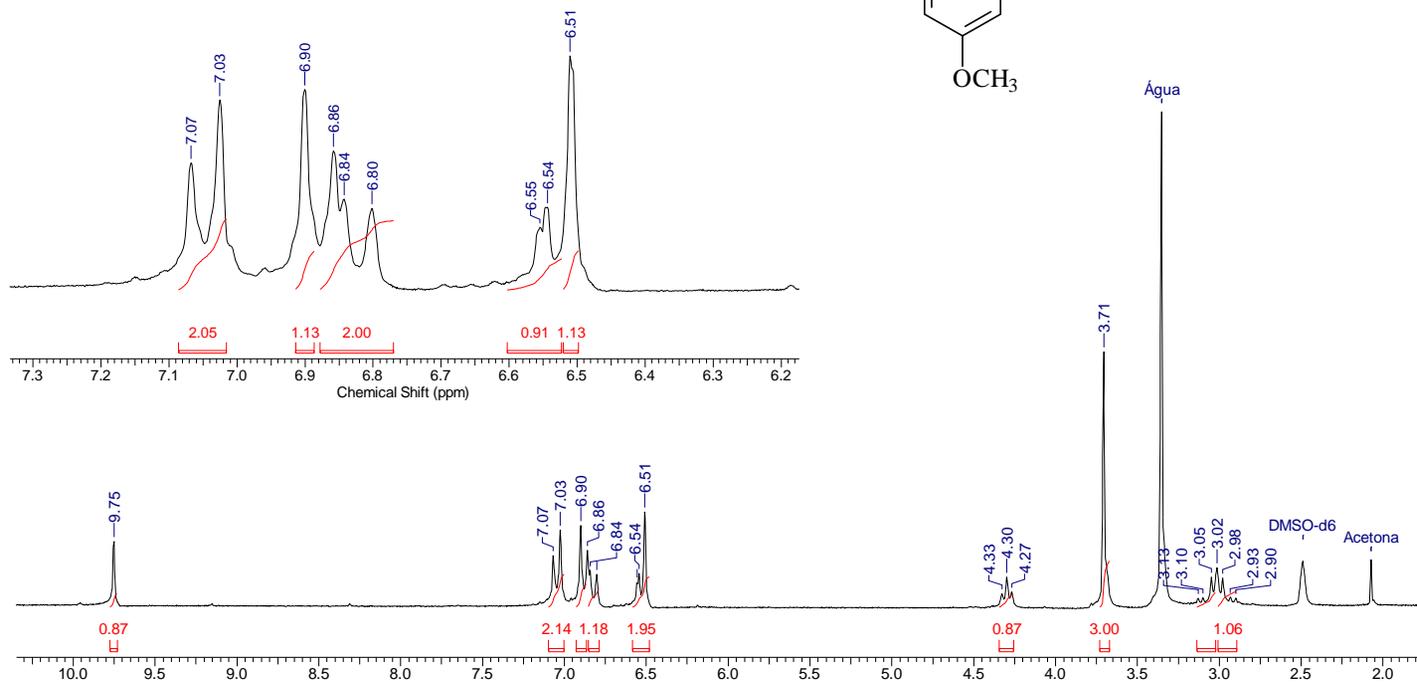
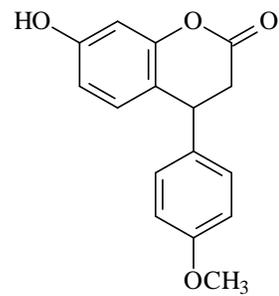
Anexo 47. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105k -----	48
Anexo 48. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 105l -----	49
Anexo 49. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO- d_6) do composto 105d -----	50
Anexo 50. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO- d_6) do composto 105e -----	51
Anexo 51. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO- d_6) do composto 105h -----	52
Anexo 52. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO- d_6) do composto 105k -----	53
Anexo 53. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO- d_6) do composto 105l -----	54
Anexo 54. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 101a e 101b -----	55
Anexo 55. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 101c e 101d -----	56
Anexo 56. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 101e e 101f -----	57
Anexo 57. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 101g e 101h -----	58
Anexo 58. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 101i e 103a -----	59
Anexo 59. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 103b e 103c -----	60
Anexo 60. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 105a e 105b -----	61
Anexo 61. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 105c e 105d -----	62
Anexo 62. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 105e e 105f -----	63
Anexo 63. Espectro de IV (em KBr) dos compostos 105g e 105h -----	64
Anexo 64. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 105i e 105j -----	65
Anexo 65. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 105k e 105l -----	66
Anexo 66. Espectros de massas dos compostos 101a e 101b -----	67
Anexo 67. Espectros de massas dos compostos 101c e 101d -----	68
Anexo 68. Espectros de massas dos compostos 101e e 101f -----	69
Anexo 69. Espectros de massas dos compostos 101g e 101h -----	70
Anexo 70. Espectros de massas dos compostos 101i e 103a -----	71
Anexo 71. Espectros de massa dos compostos 103b e 103c -----	72
Anexo 72. Espectros de massa dos compostos 105b e 105d -----	73
Anexo 73. Espectros de massa dos compostos 105e e 105f -----	74
Anexo 74. Espectros de massas dos compostos 105g e 105h -----	75
Anexo 75. Espectros de massas dos compostos 105j e 105k -----	76
Anexo 76. Espectro de massas do composto 105l -----	77
CAPÍTULO III -----	78
Anexo 77. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 162a -----	79
Anexo 78. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 162b -----	80
Anexo 79. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165c -----	81
Anexo 80. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 162d -----	82
Anexo 81. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165a -----	83
Anexo 82. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165b -----	84
Anexo 83. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165c -----	85
Anexo 84. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165d -----	86
Anexo 85. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165e -----	87
Anexo 86. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165f -----	88
Anexo 87. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165g -----	89
Anexo 88. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165h -----	90
Anexo 89. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165i -----	91
Anexo 90. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165j -----	92

Anexo 91. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165k -----	93
Anexo 92. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165l -----	94
Anexo 93. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165m -----	95
Anexo 94. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165n -----	96
Anexo 95. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165o -----	97
Anexo 96. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165p -----	98
Anexo 97. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165q -----	99
Anexo 98. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165r -----	100
Anexo 99. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165s -----	101
Anexo 100. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165t -----	102
Anexo 101. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165u -----	103
Anexo 102. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto 165v -----	104
Anexo 103. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165a -----	105
Anexo 104. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165b -----	106
Anexo 105. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165c -----	107
Anexo 106. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165d -----	108
Anexo 107. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165e -----	109
Anexo 108. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165f -----	110
Anexo 109. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165g -----	111
Anexo 110. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165h -----	112
Anexo 111. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165i -----	113
Anexo 112. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165j -----	114
Anexo 113. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165k -----	115
Anexo 114. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165l -----	116
Anexo 115. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165m -----	117
Anexo 116. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165n -----	118
Anexo 117. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165o -----	119
Anexo 118. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165p -----	120
Anexo 119. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165q -----	121
Anexo 120. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165r -----	122
Anexo 121. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165s -----	123
Anexo 122. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165t -----	124
Anexo 123. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165u -----	125
Anexo 124. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto 165v -----	126
Anexo 125. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 162a e 162b -----	127
Anexo 126. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 162c e 162d -----	128
Anexo 127. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165a e 165b -----	129
Anexo 128. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165c e 165d -----	130
Anexo 129. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165e e 165f -----	131
Anexo 130. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165g e 165h -----	132
Anexo 131. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165i e 165j -----	133
Anexo 132. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165k e 165l -----	134
Anexo 133. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165m e 165n -----	135
Anexo 134. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165o e 165p -----	136
Anexo 135. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165q e 165r -----	137
Anexo 136. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165s e 165t -----	138
Anexo 137. Espectros de IV (em KBr) dos compostos 165u e 165v -----	139
Anexo 138. Espectros de massas dos compostos 165a e 165b -----	140
Anexo 139. Espectros de massas dos compostos 165c e 165d -----	141
Anexo 140. Espectros de massas dos compostos 165e e 165f -----	142

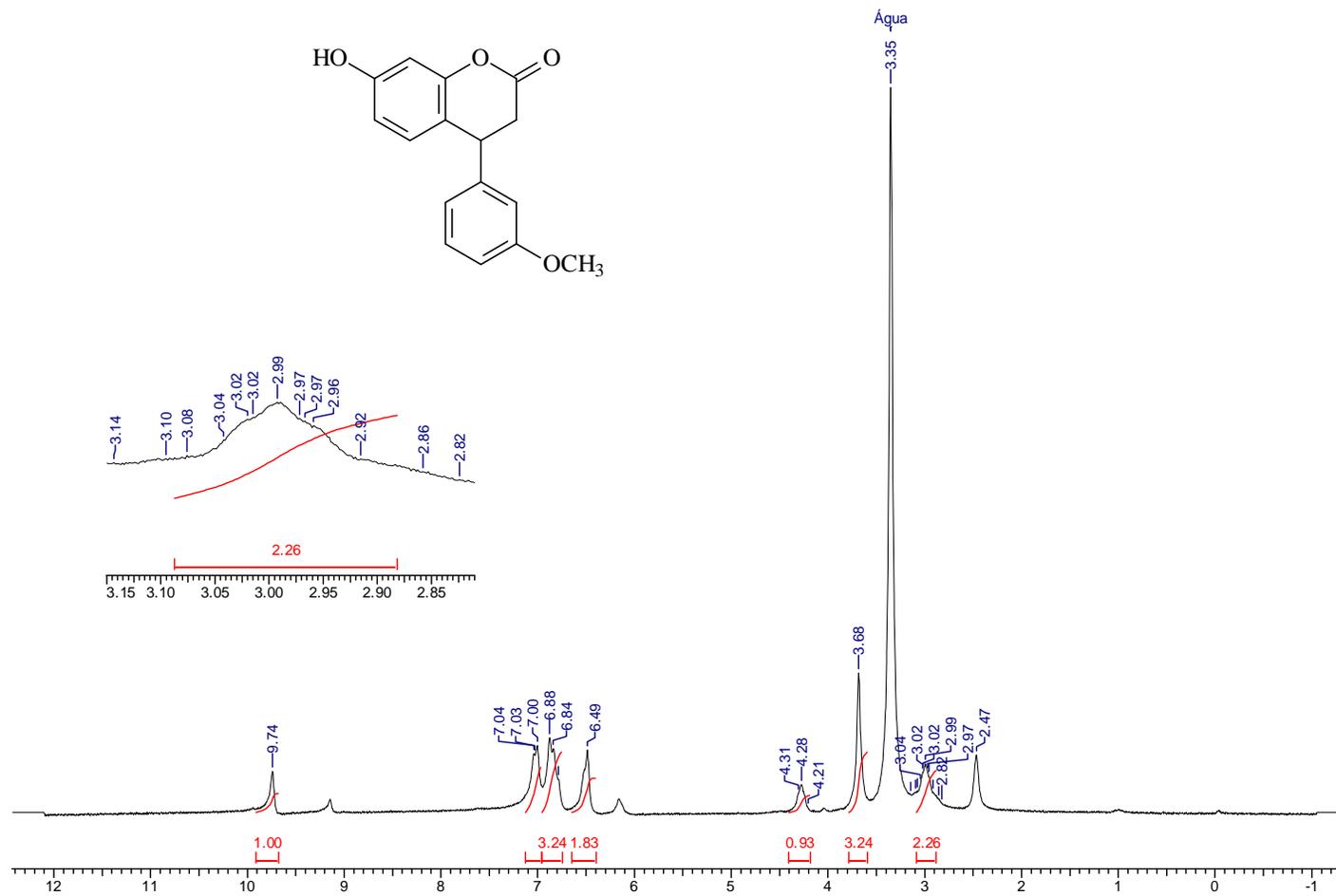
Anexo 141. Espectros de massas dos compostos 165g e 165h -----	143
Anexo 142. Espectros de massas dos compostos 165i e 165j -----	144
Anexo 143. Espectros de massas dos compostos 165k e 165l -----	145
Anexo 144. Espectros de massas dos compostos 165m e 165n -----	146
Anexo 145. Espectros de massas dos compostos 165o e 165p -----	147
Anexo 146. Espectros de massas dos compostos 165q e 165r -----	148
Anexo 147. Espectros de massas dos compostos 165s e 165t -----	149
Anexo 148. Espectros de massas dos compostos 165u e 165v -----	150

CAPÍTULO II - ANEXOS

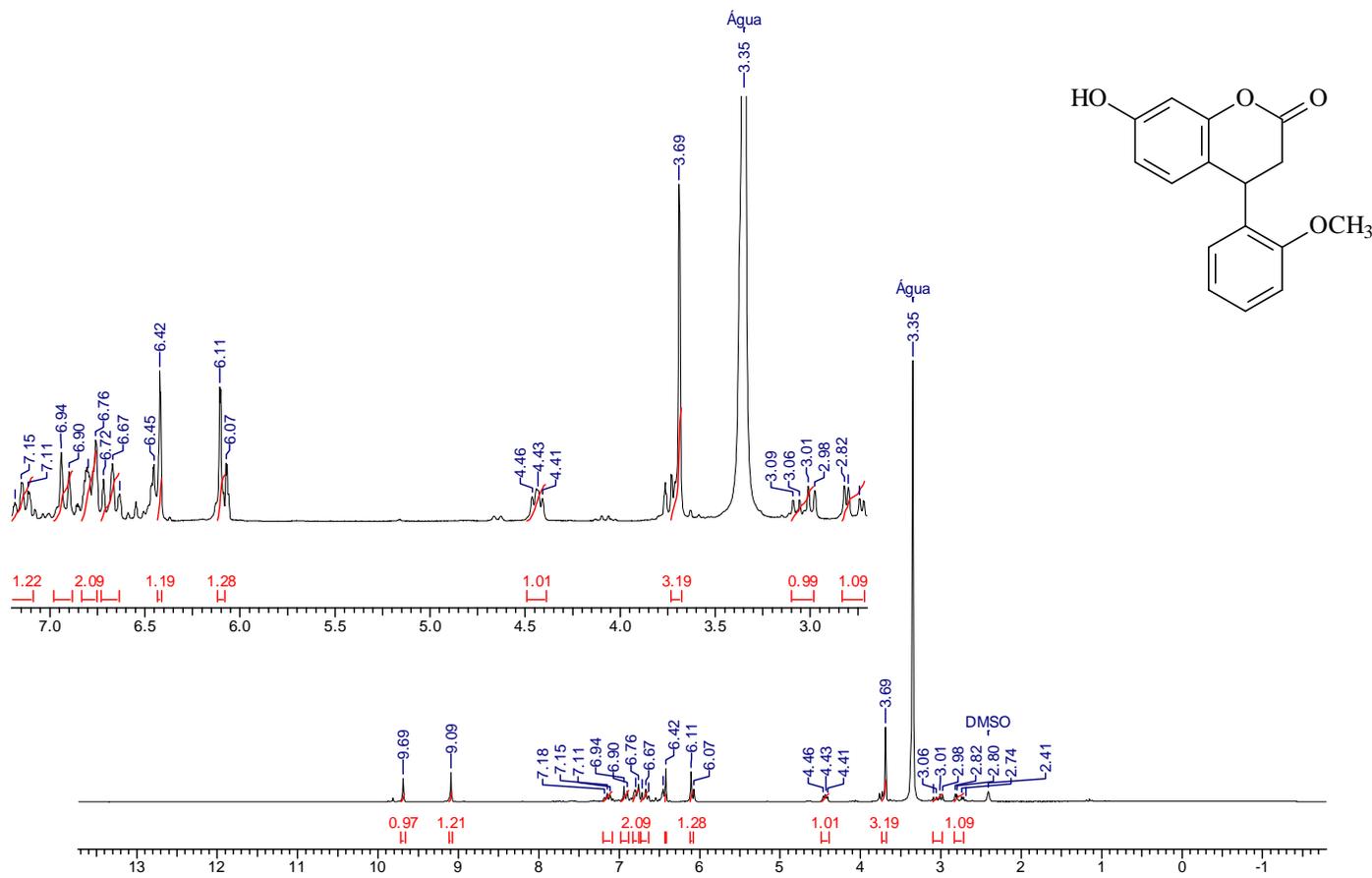
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLAR (RMN) DE ^1H E ^{13}C
ESPECTROSCOPIA DE CORRELAÇÃO ESPACIAL ENTRE NÚCLEOS DE
HIDROGÊNIOS ($^1\text{H}\times^1\text{H}$)
INFRAVERMELHO (IV)
ESPECTROSCOPIA DE MASSAS (MS)



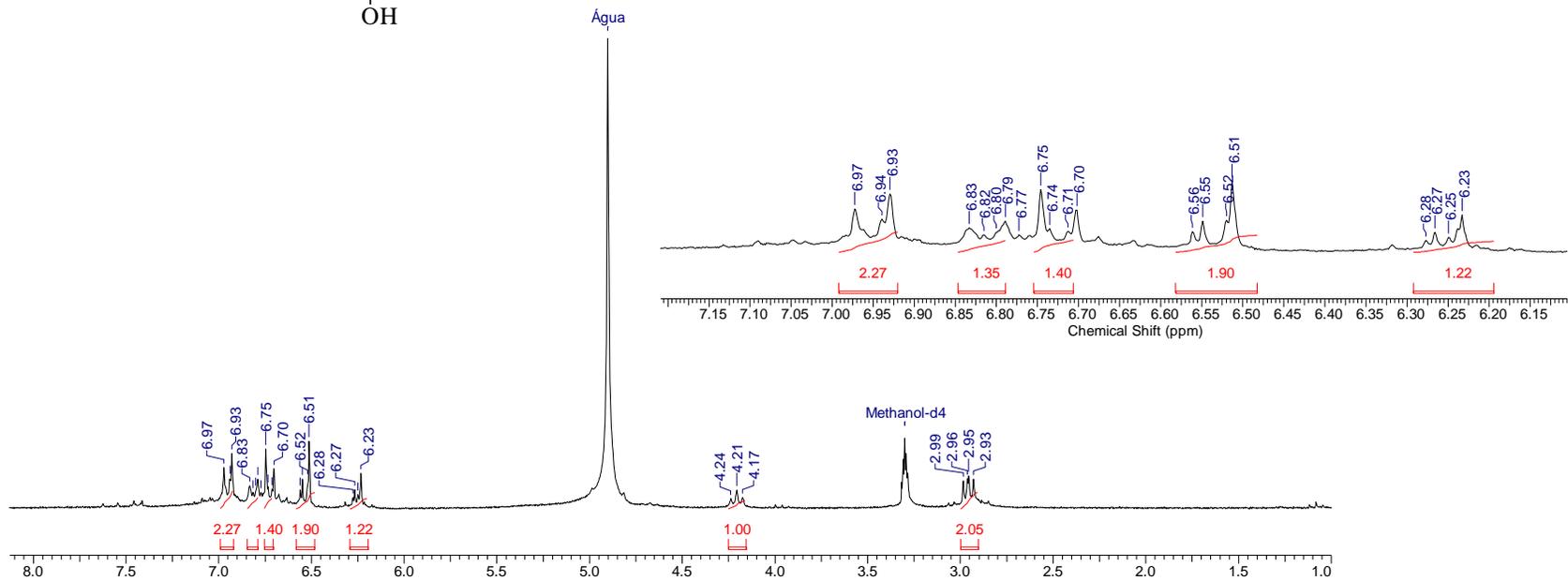
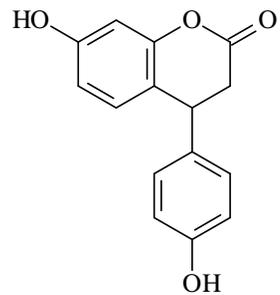
Anexo 01. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **101a**.



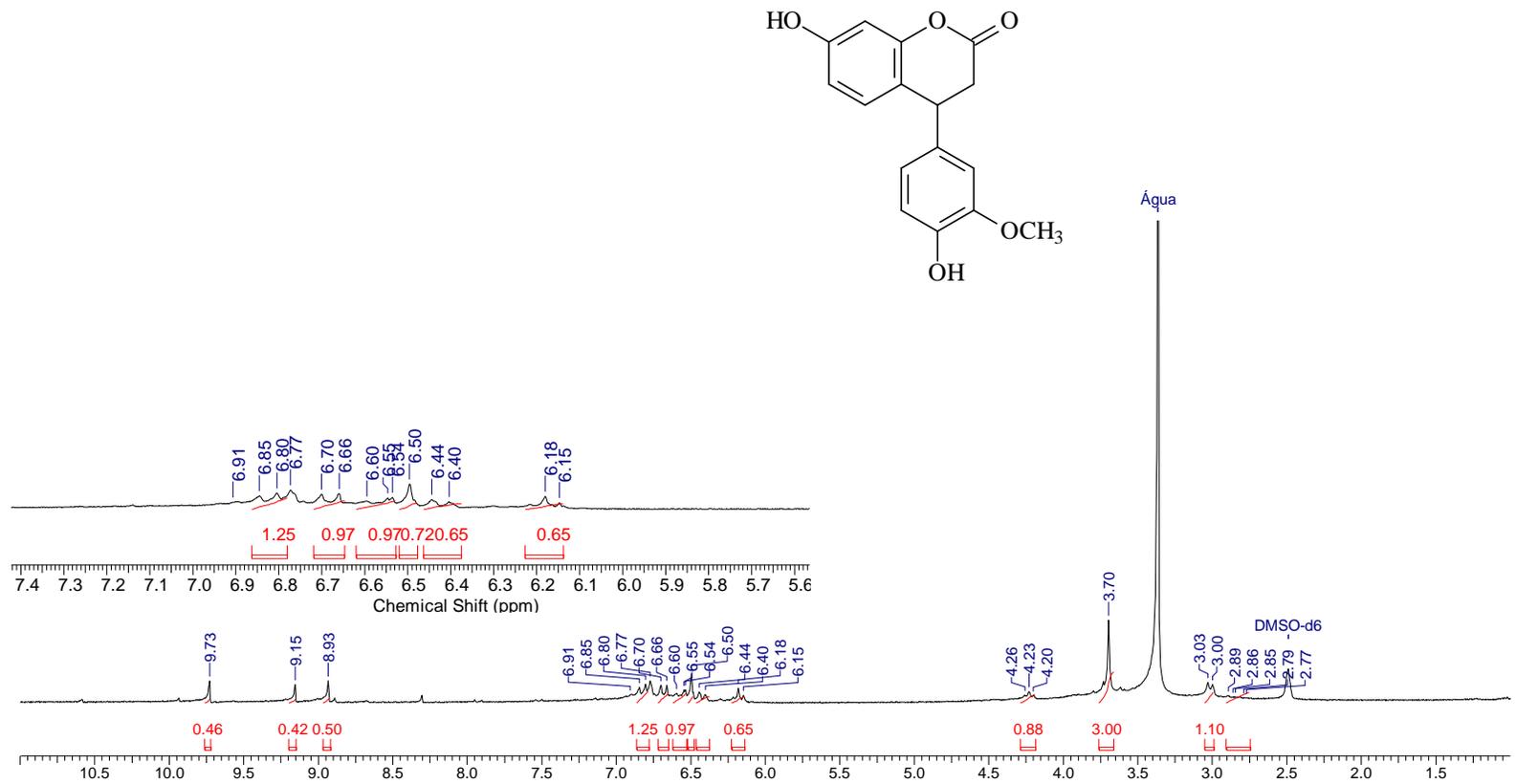
Anexo 02. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **101b**.



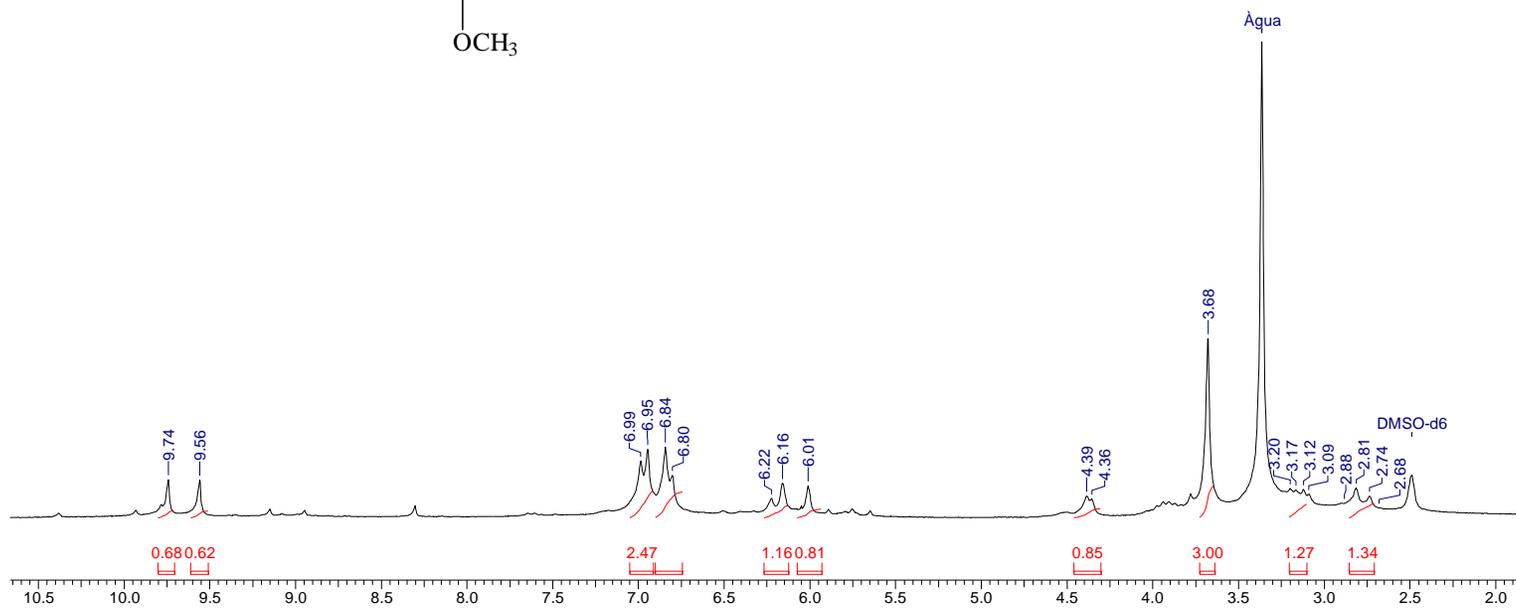
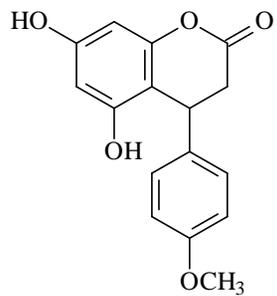
Anexo 03. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **101c**.



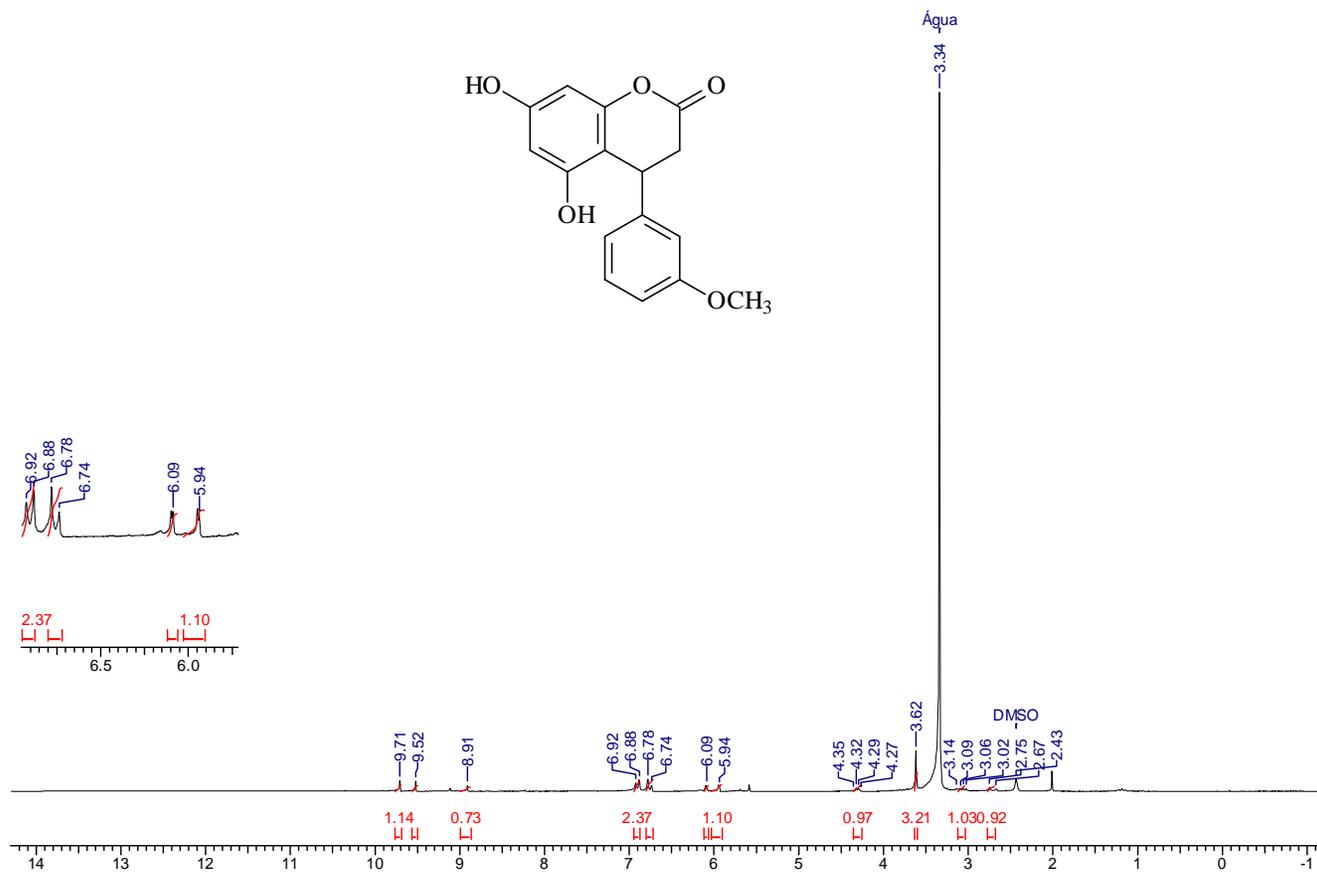
Anexo 04. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **101d**.



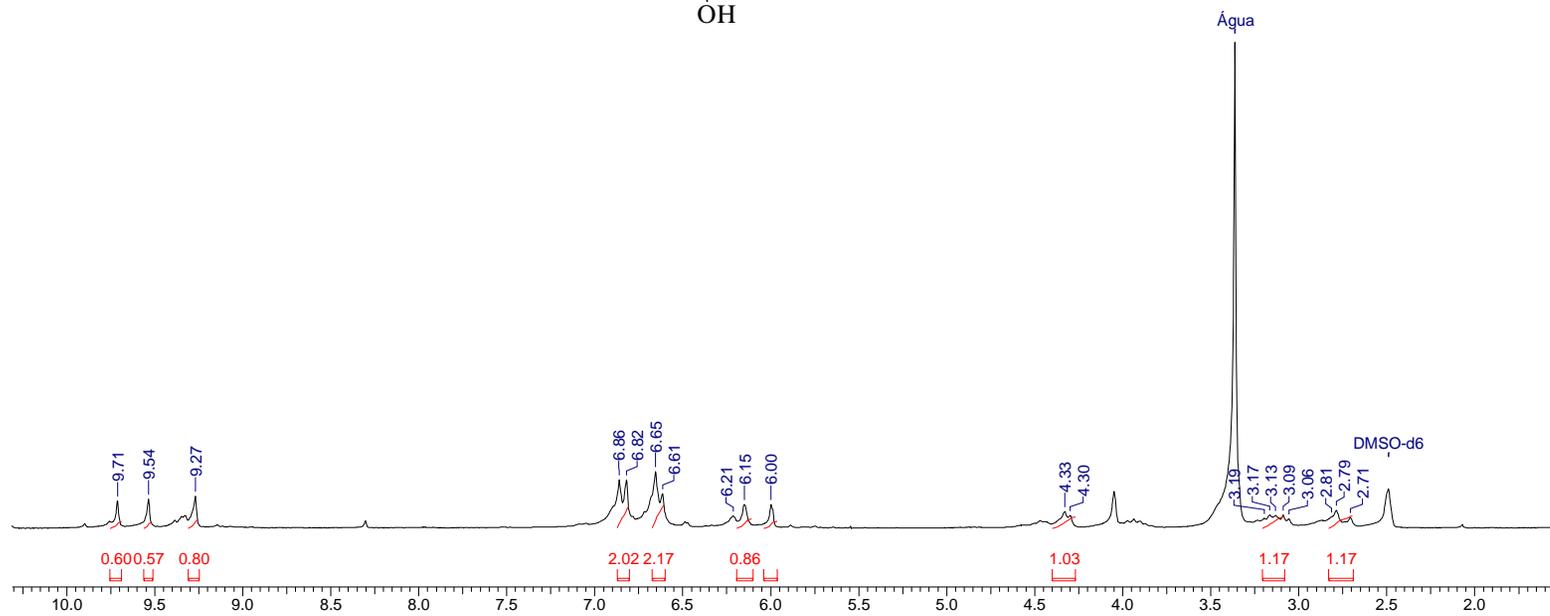
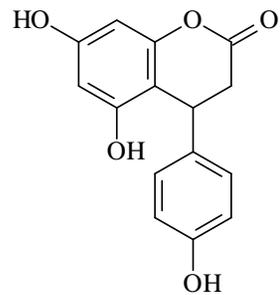
Anexo 05. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **101e**.



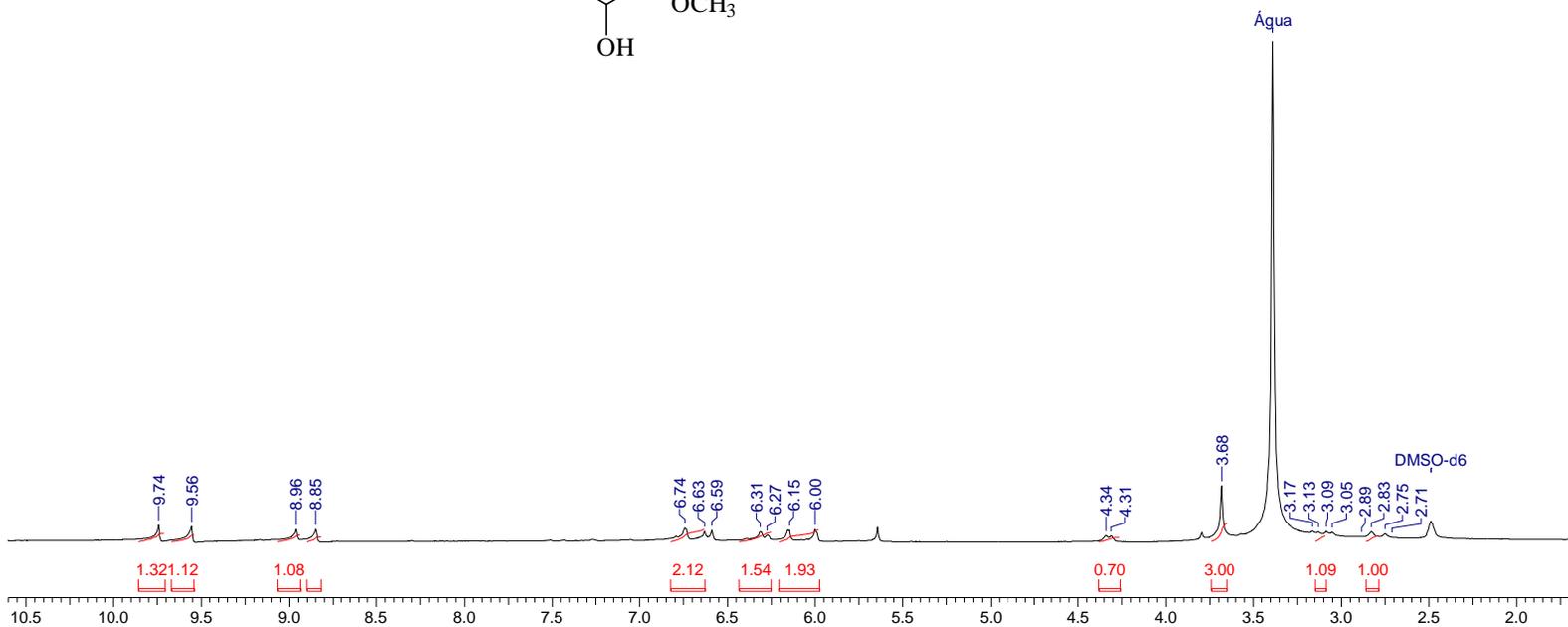
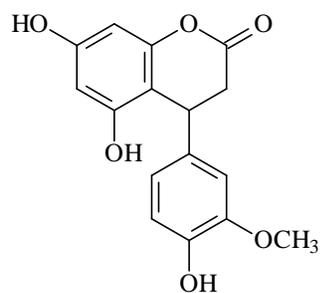
Anexo 06. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **101f**.



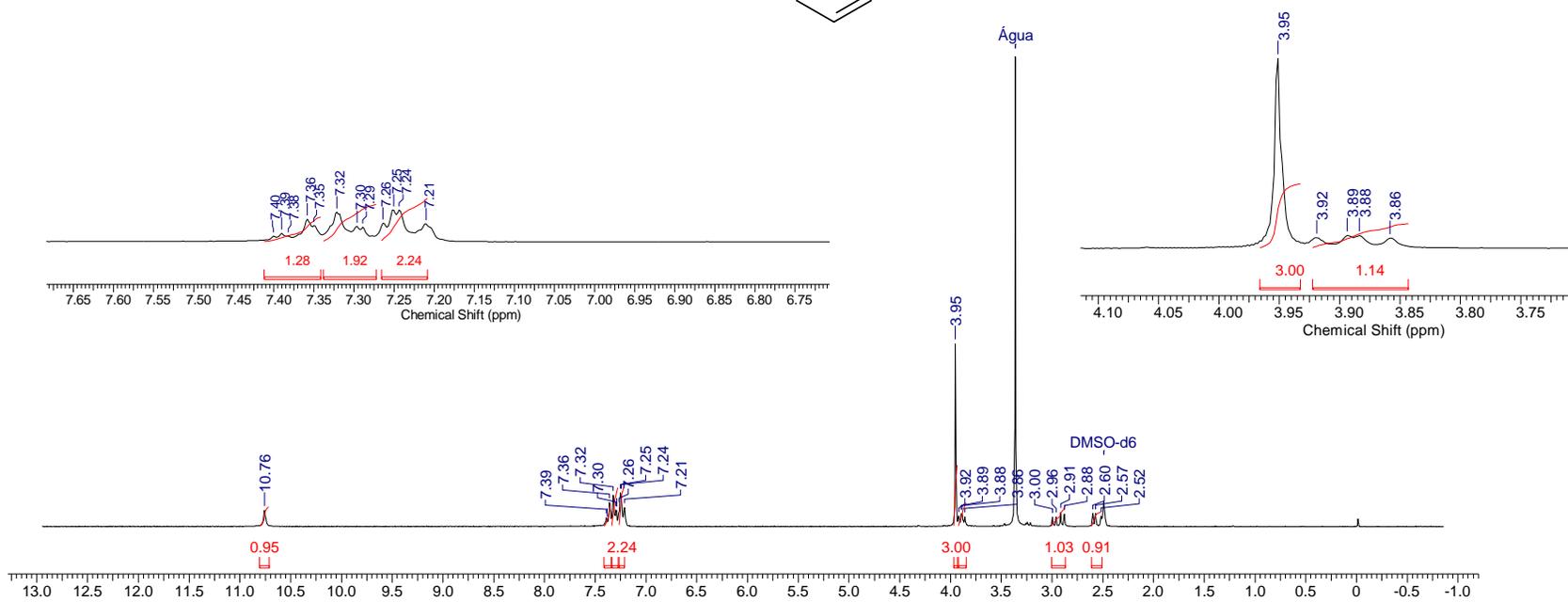
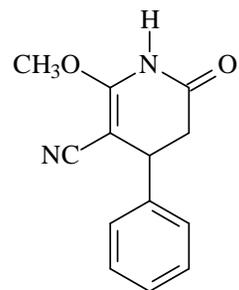
Anexo 07. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **101g**.



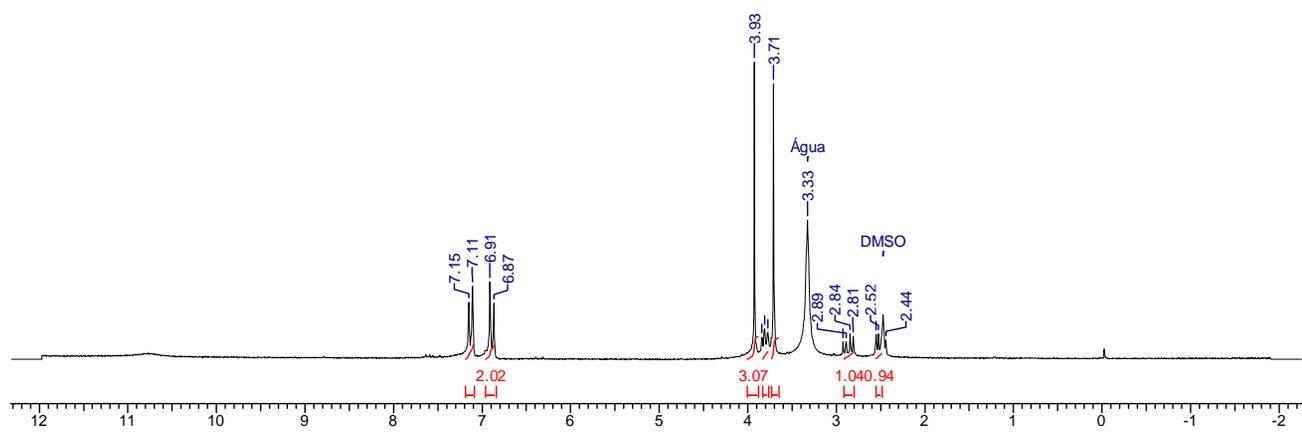
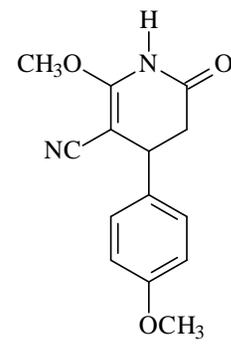
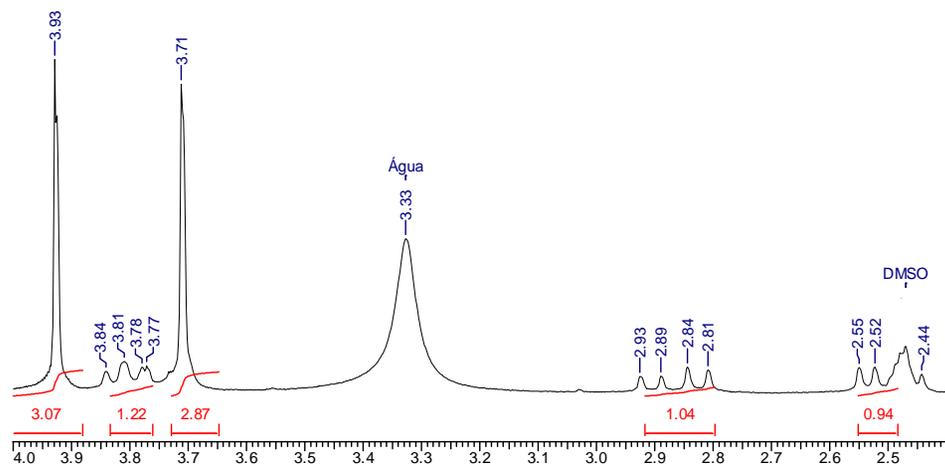
Anexo 08. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **101h**.



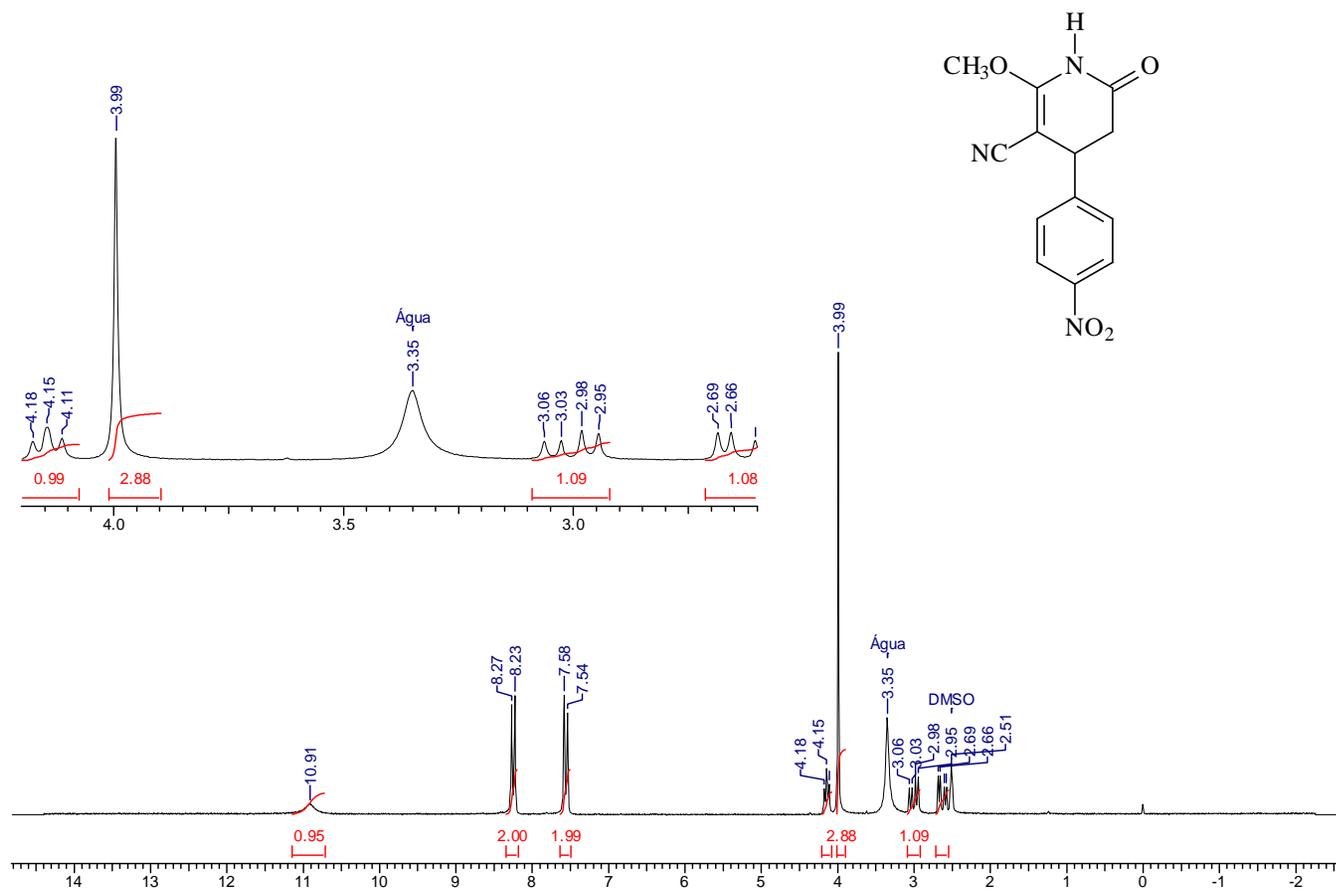
Anexo 09. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **101i**.



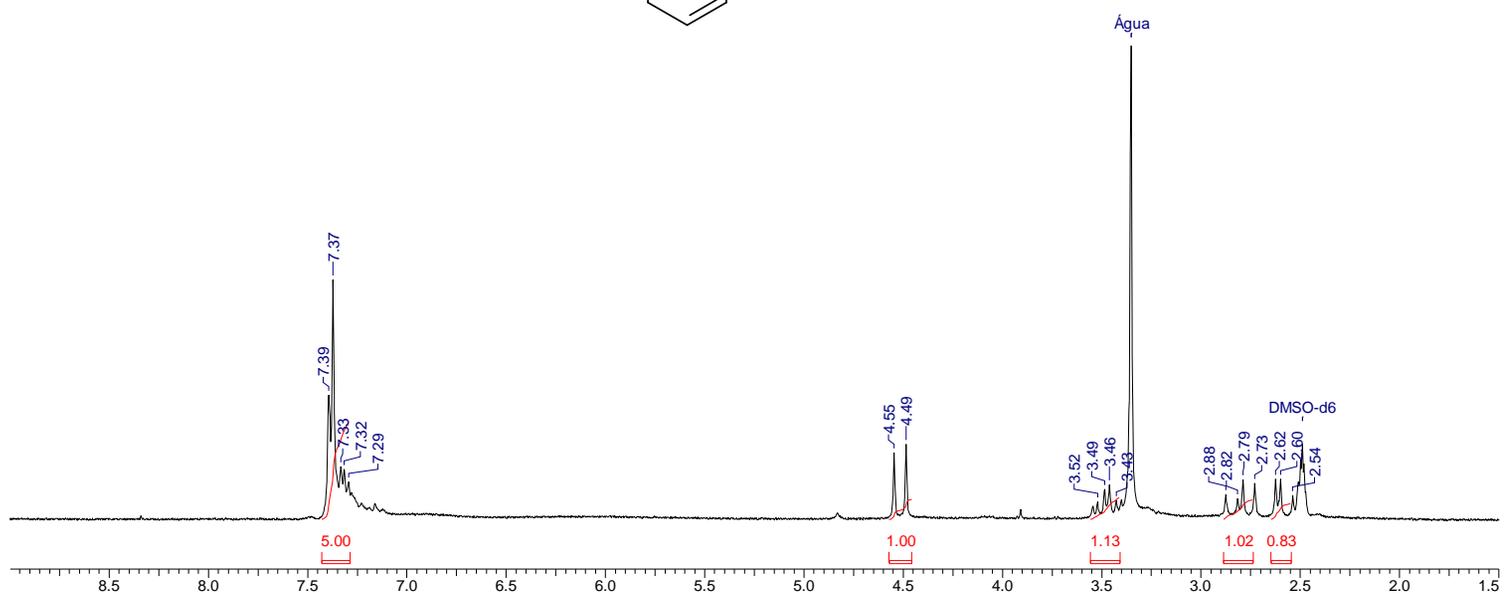
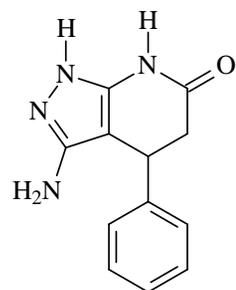
Anexo 10. Espectro de ¹H (DMSO-d₆ 200 MHz) do composto **103a**.



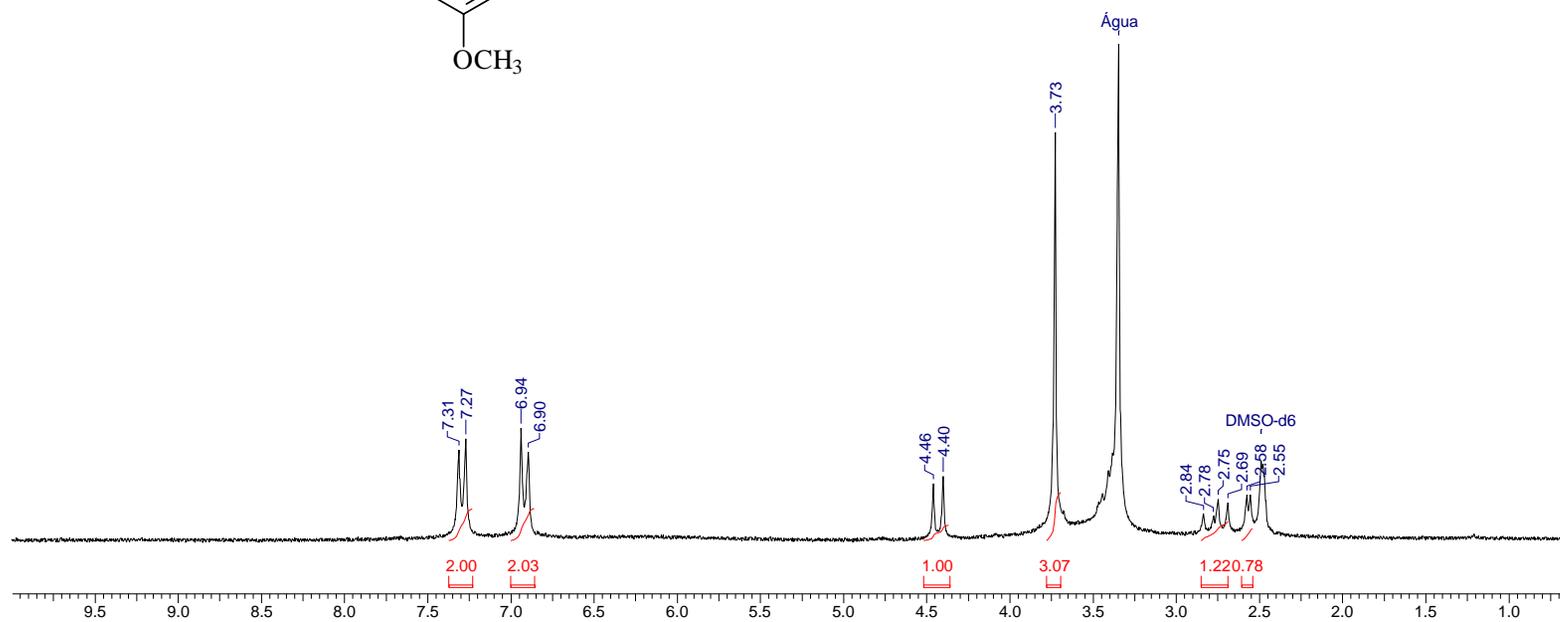
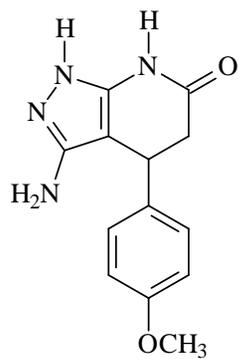
Anexo 11. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 200 MHz) do composto **103b**.



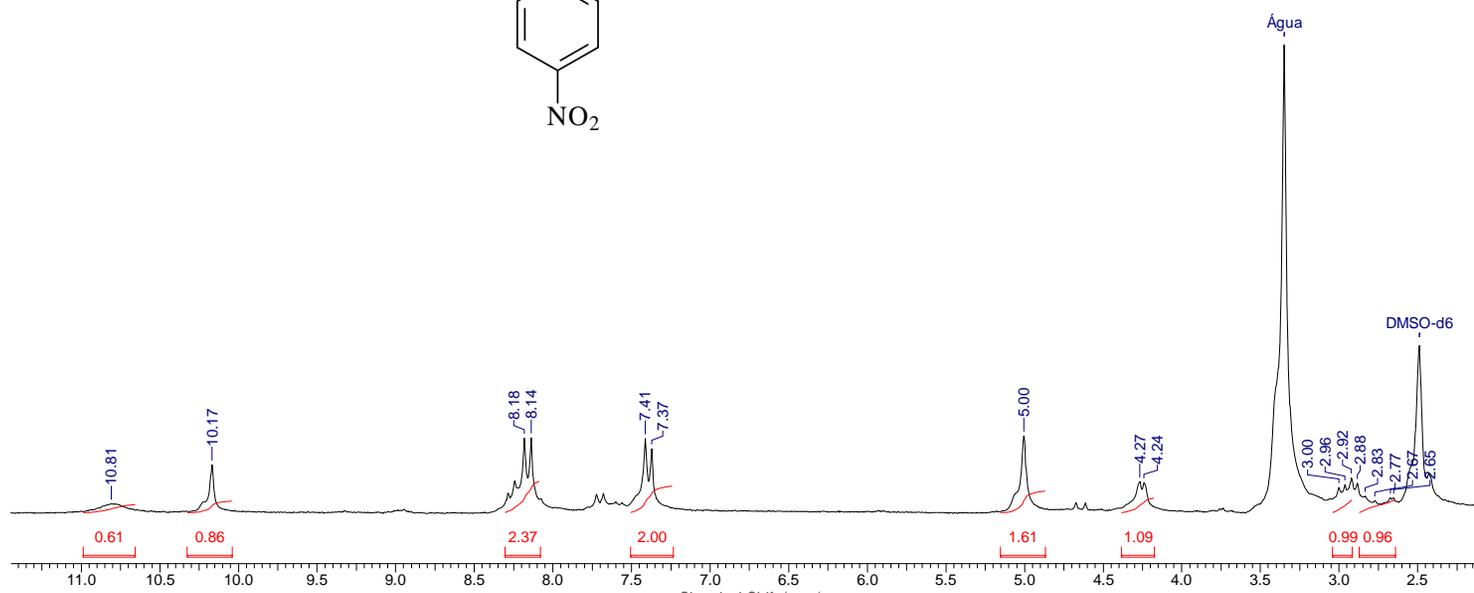
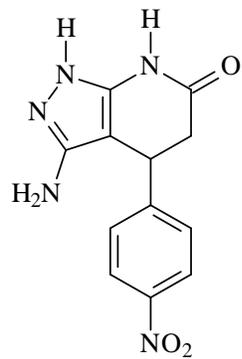
Anexo 12. Espectro de ¹H (DMSO-d₆ 200 MHz) do composto **103c**.



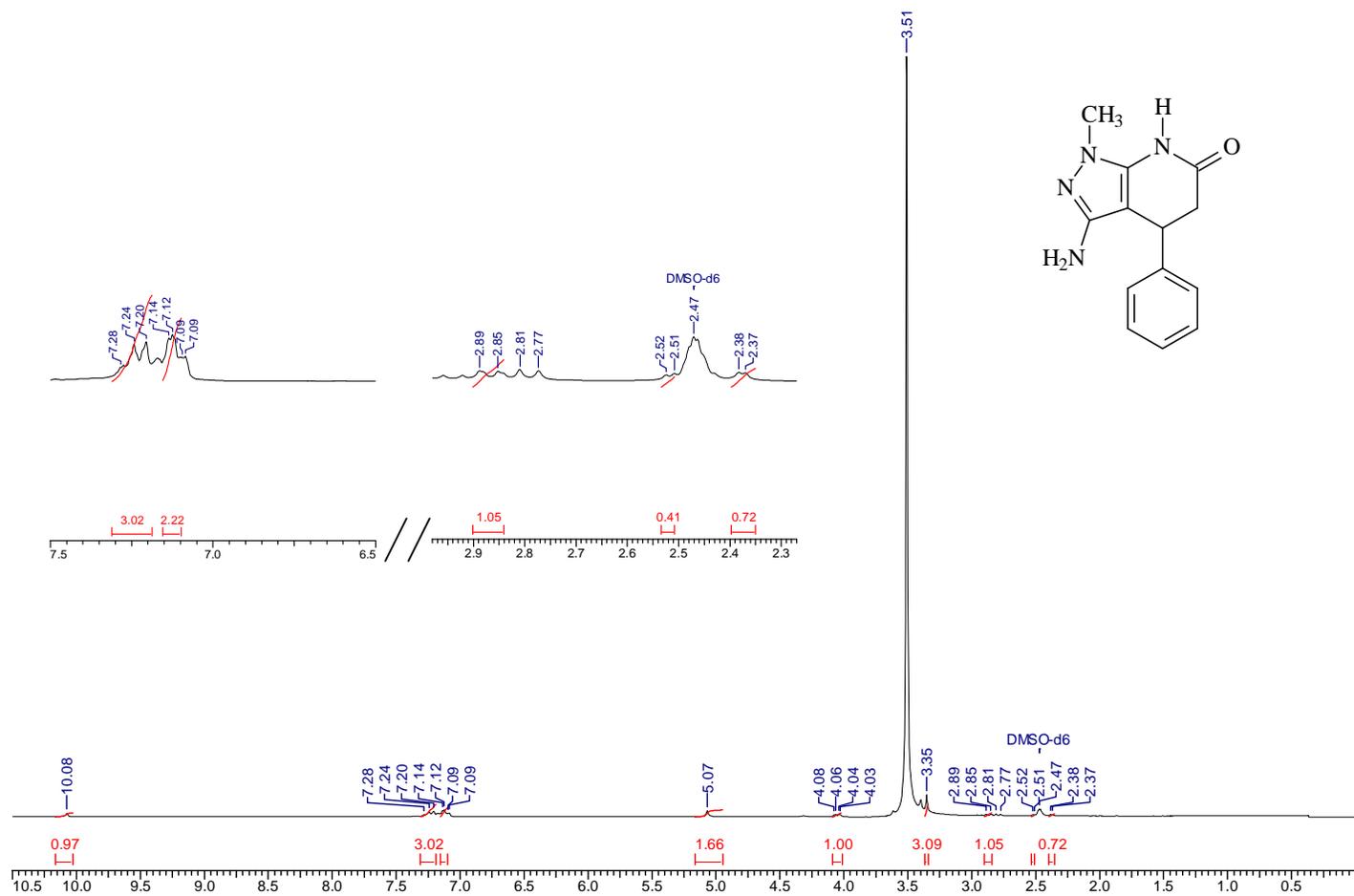
Anexo 13. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105a**.



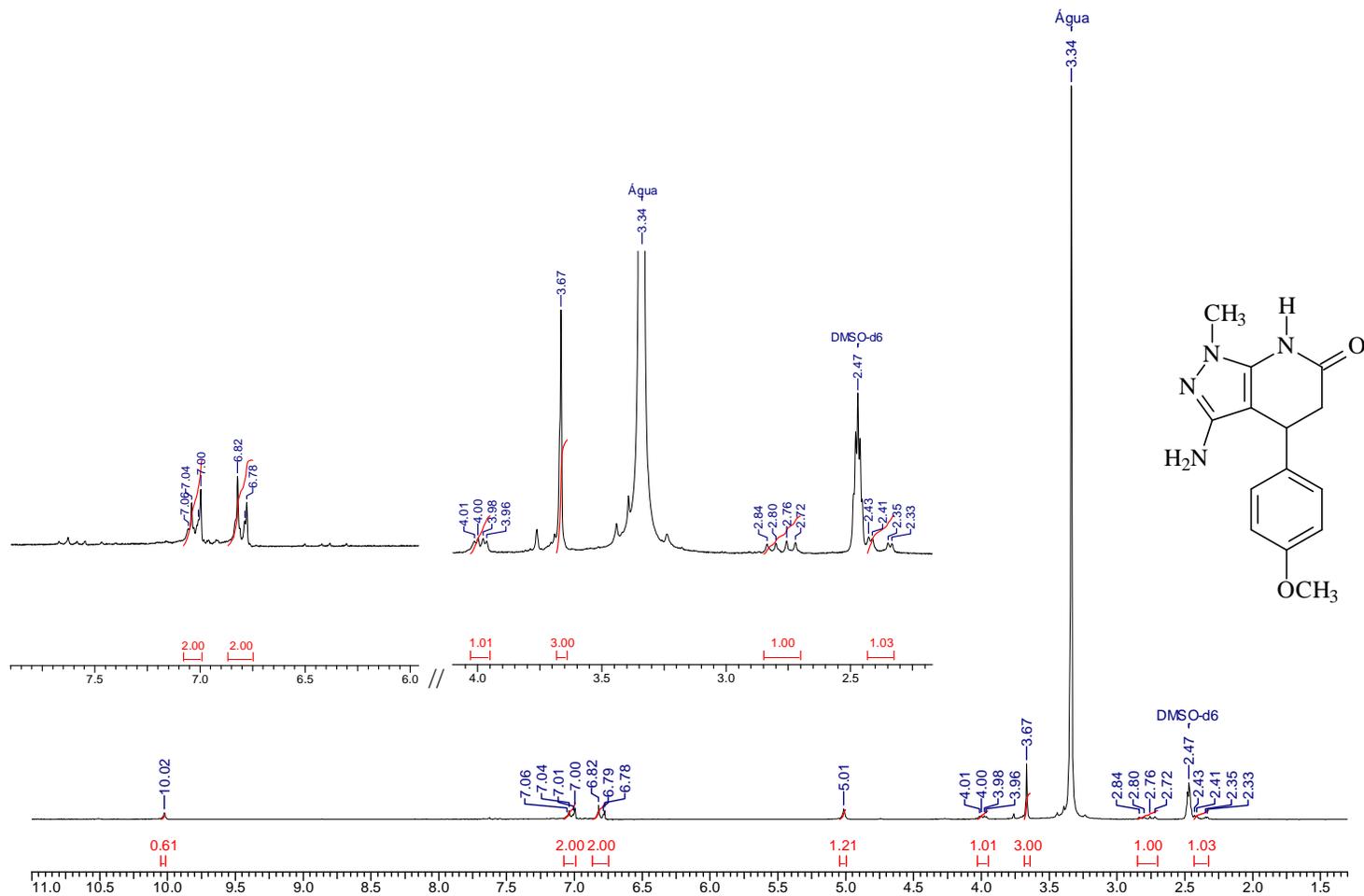
Anexo 14. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105b**.



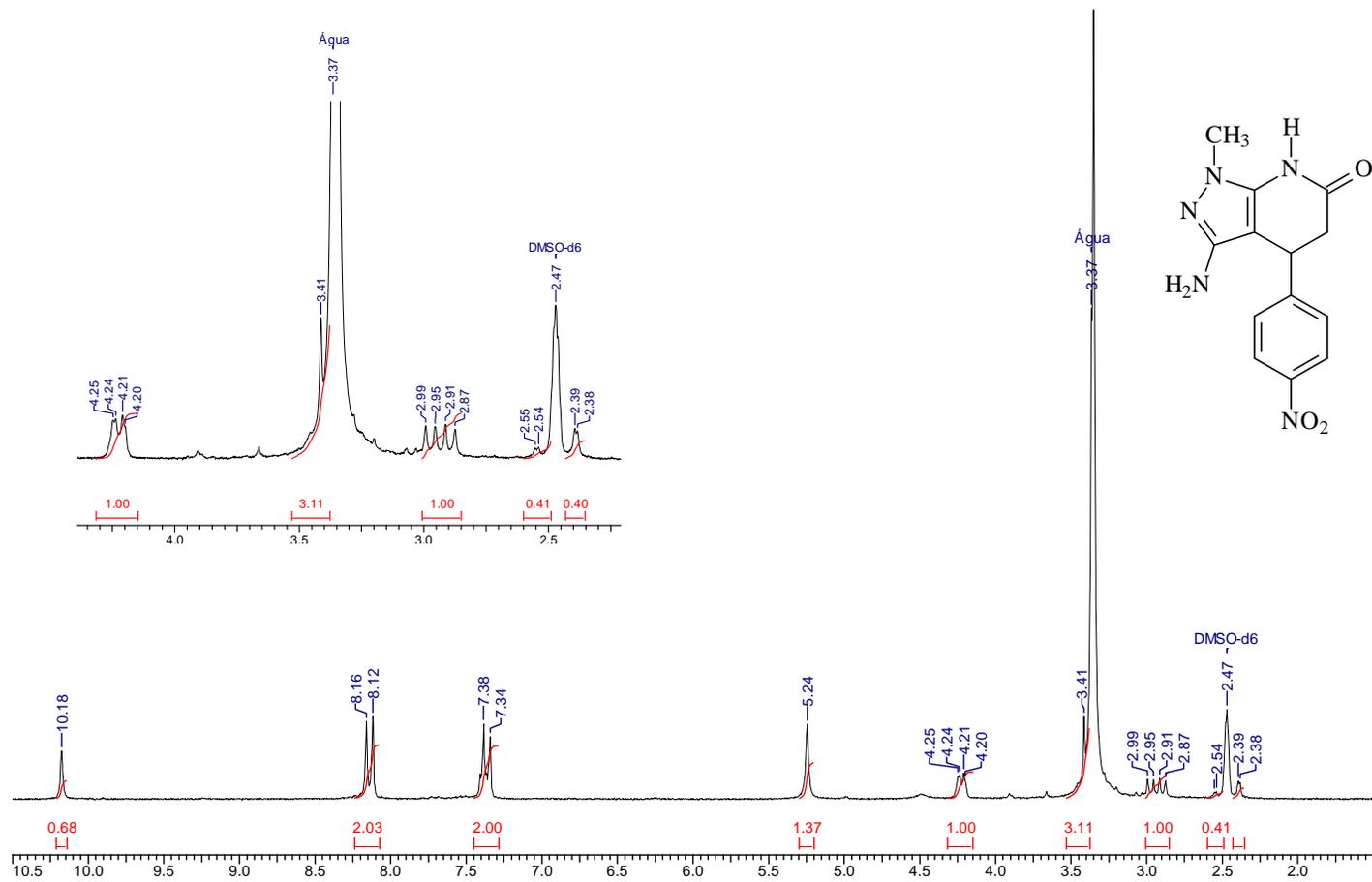
Anexo 15. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **105c**.



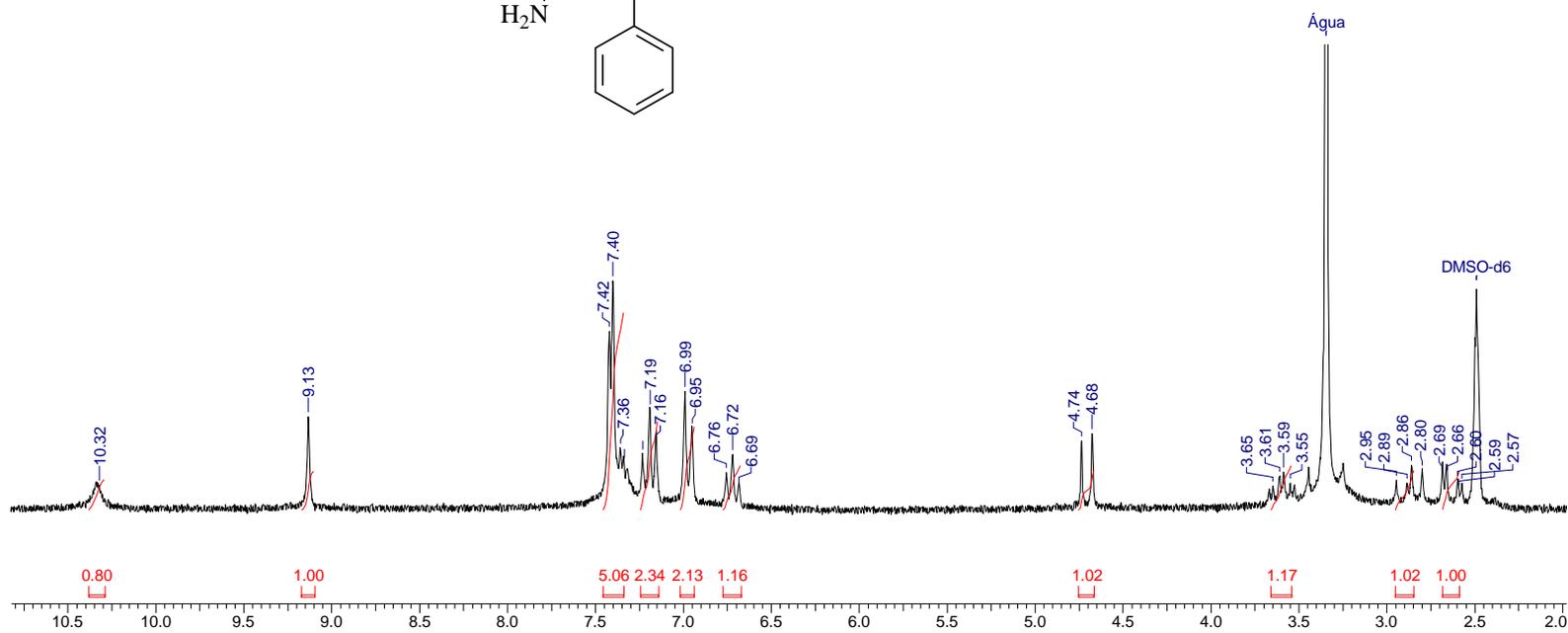
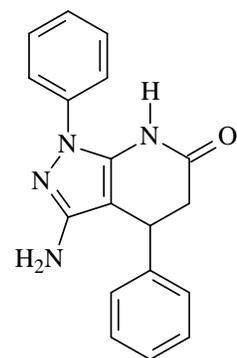
Anexo 16. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105d**.



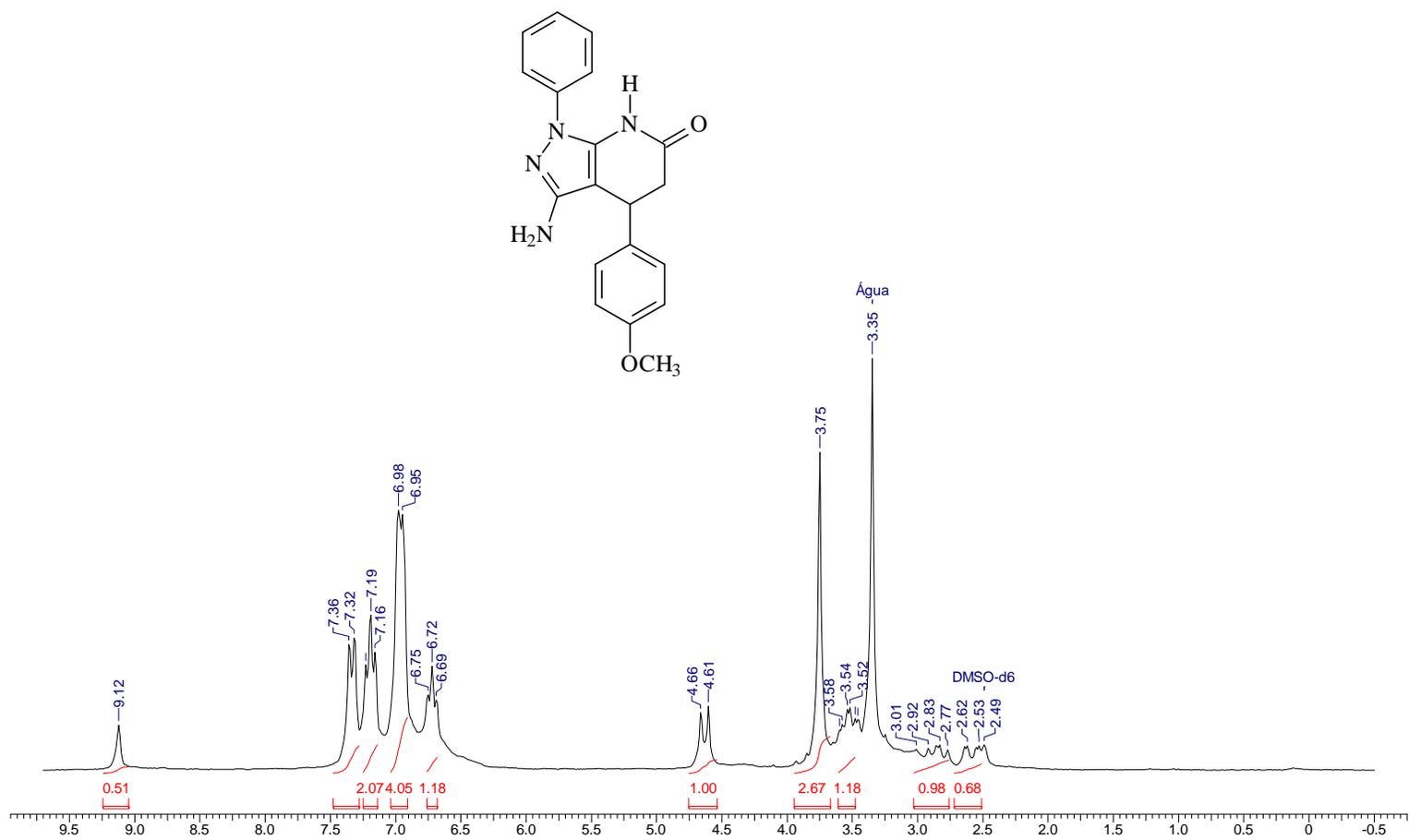
Anexo 17. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **105e**.



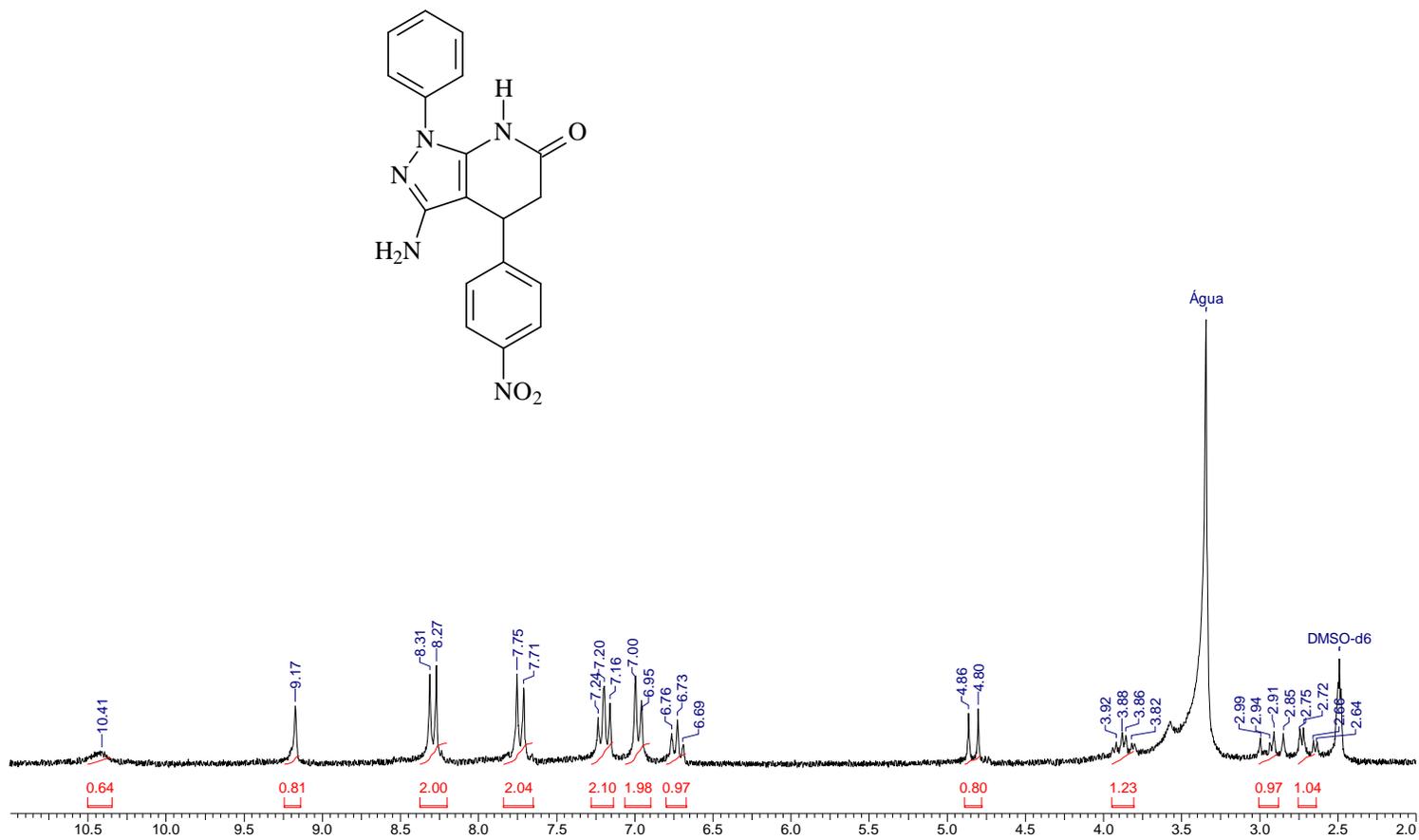
Anexo 18. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **105f**.



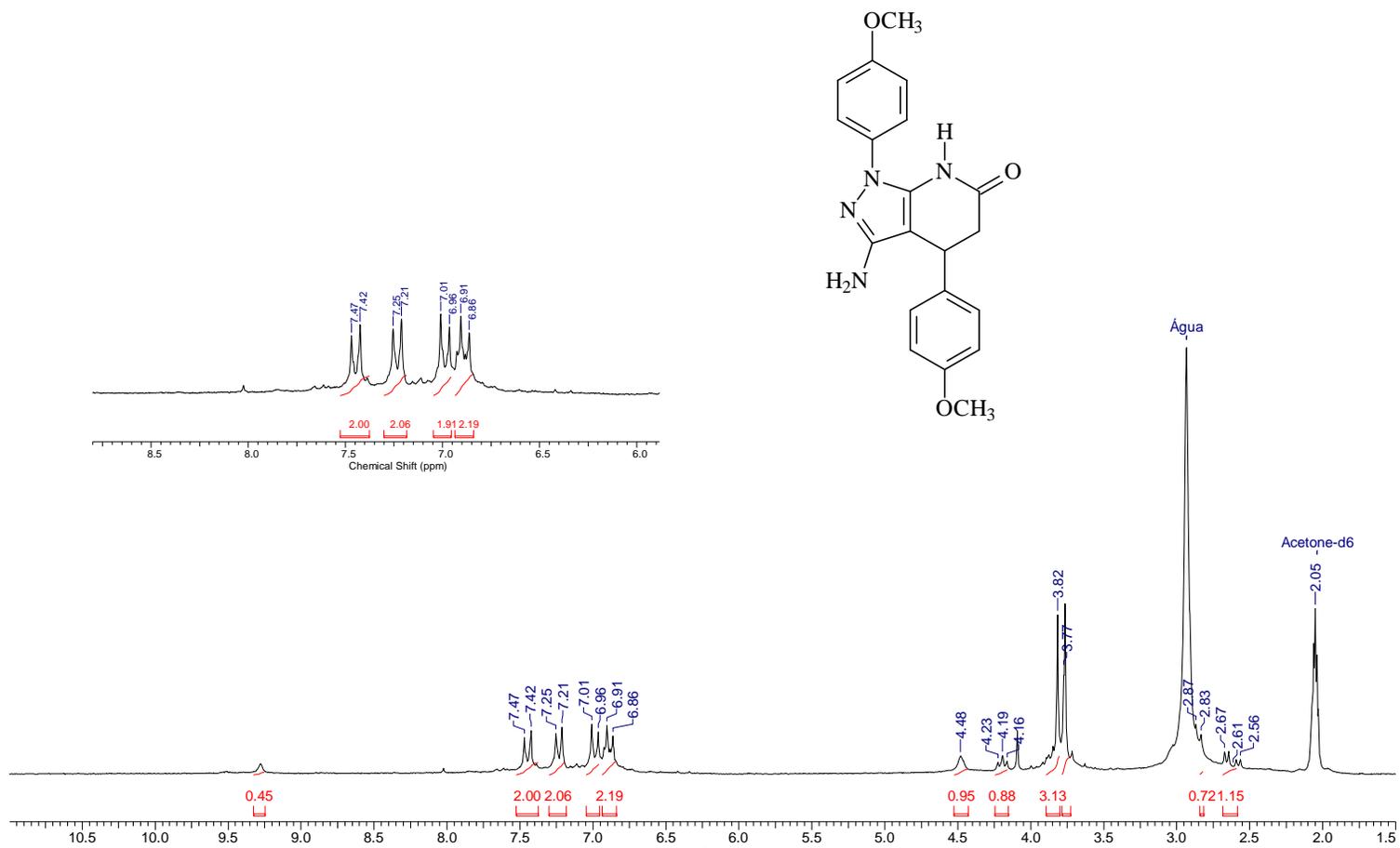
Anexo 19. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105g**.



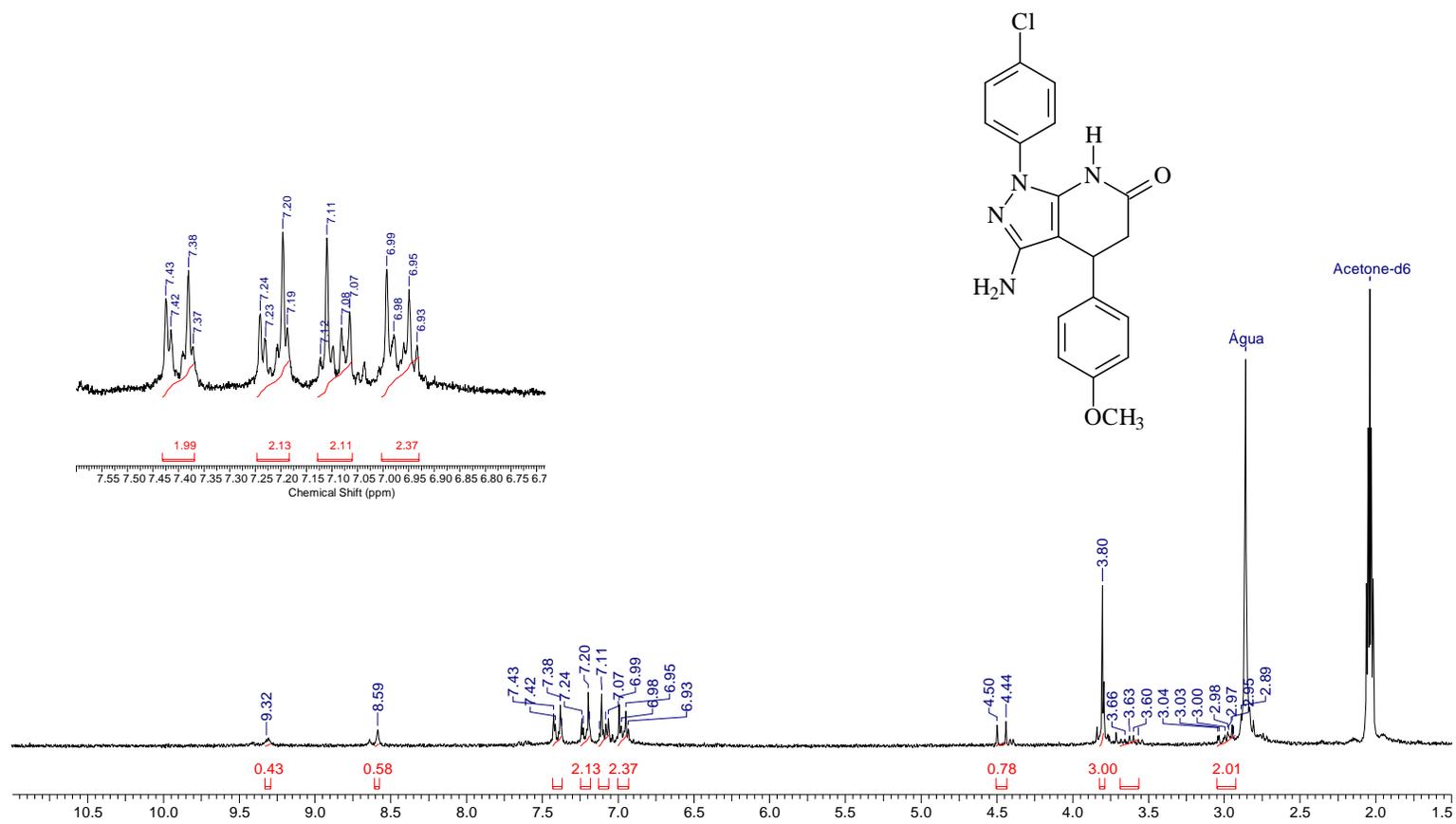
Anexo 20. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105h**.



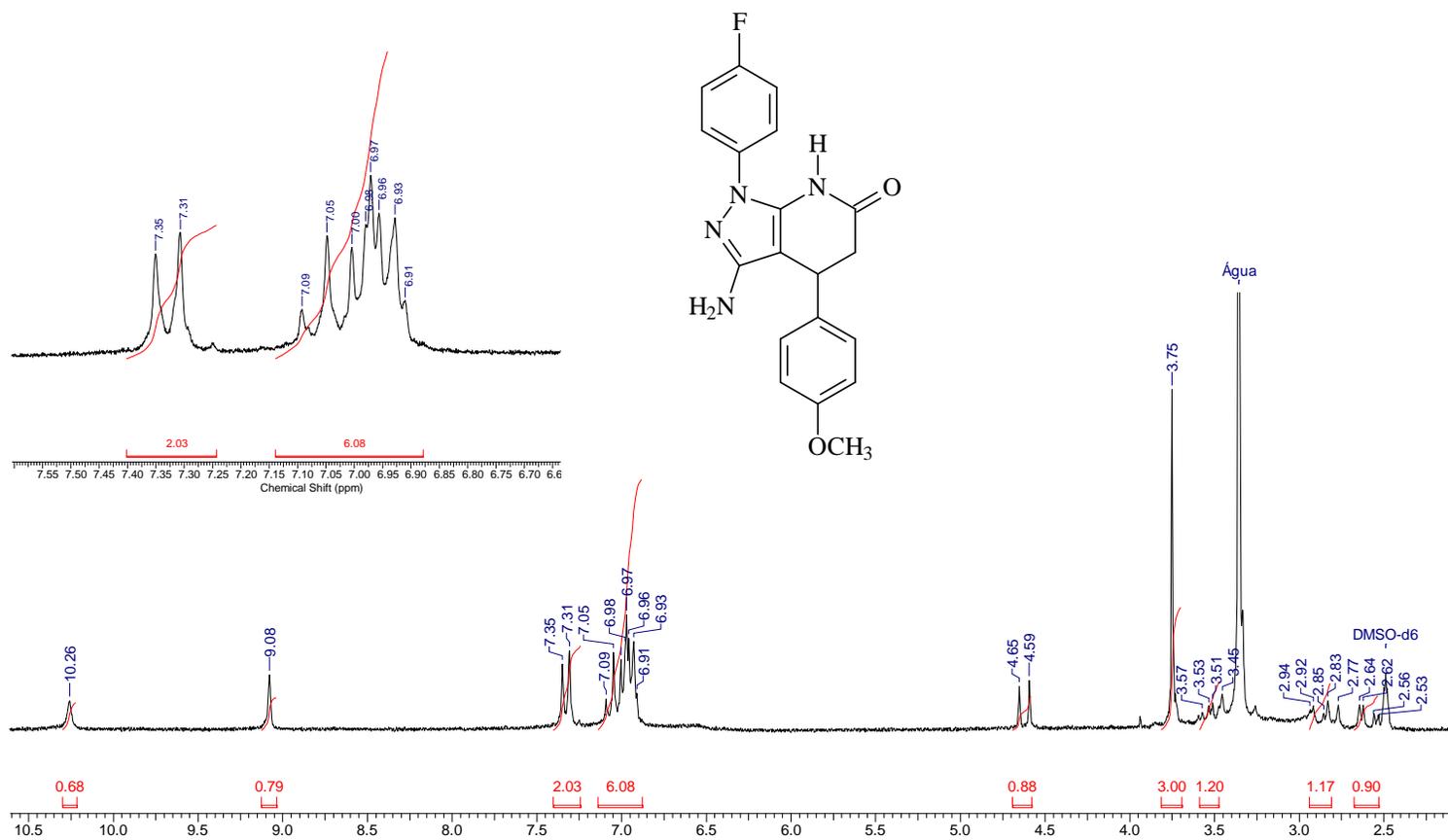
Anexo 21. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105i**.



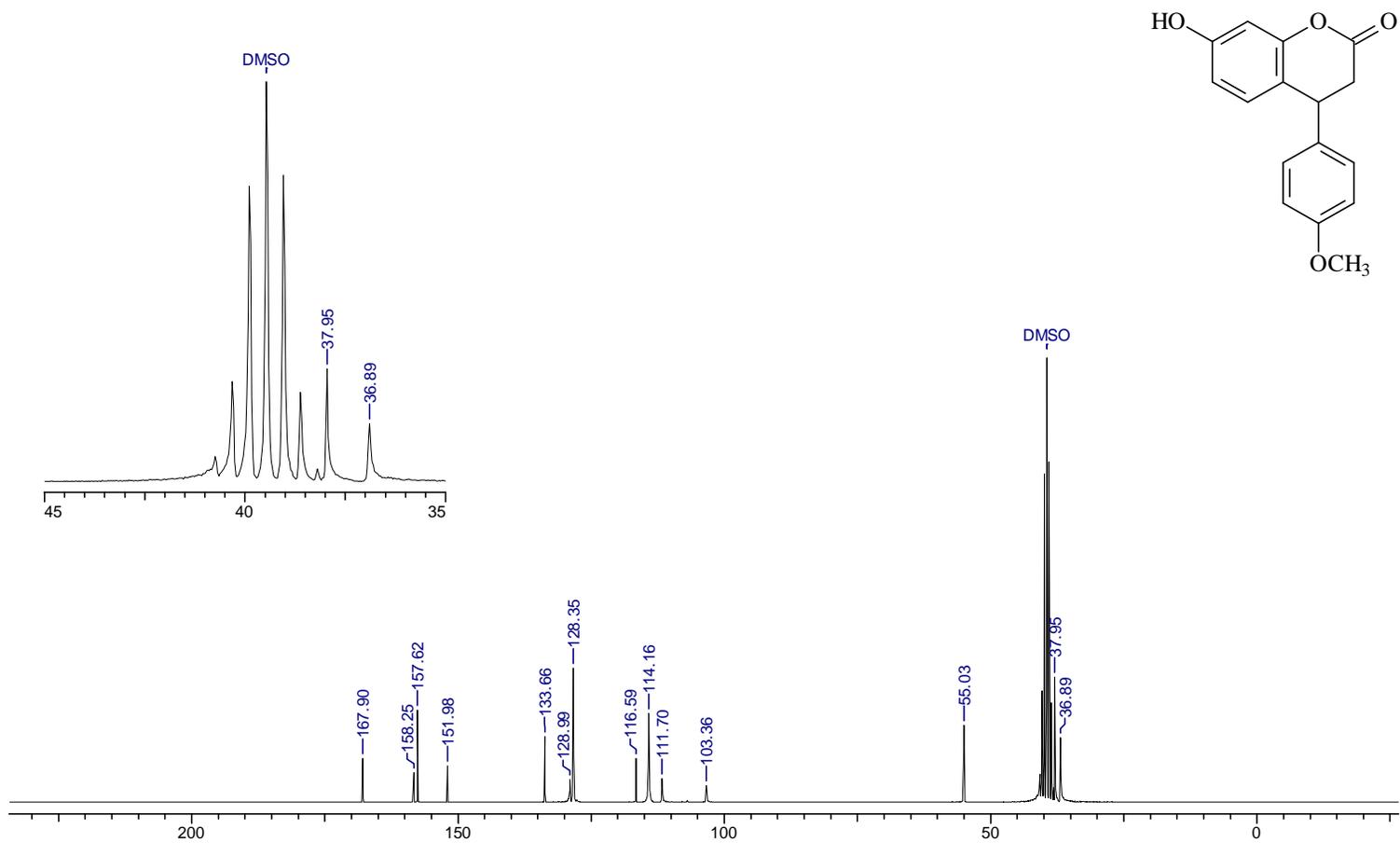
Anexo 22. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105j**.



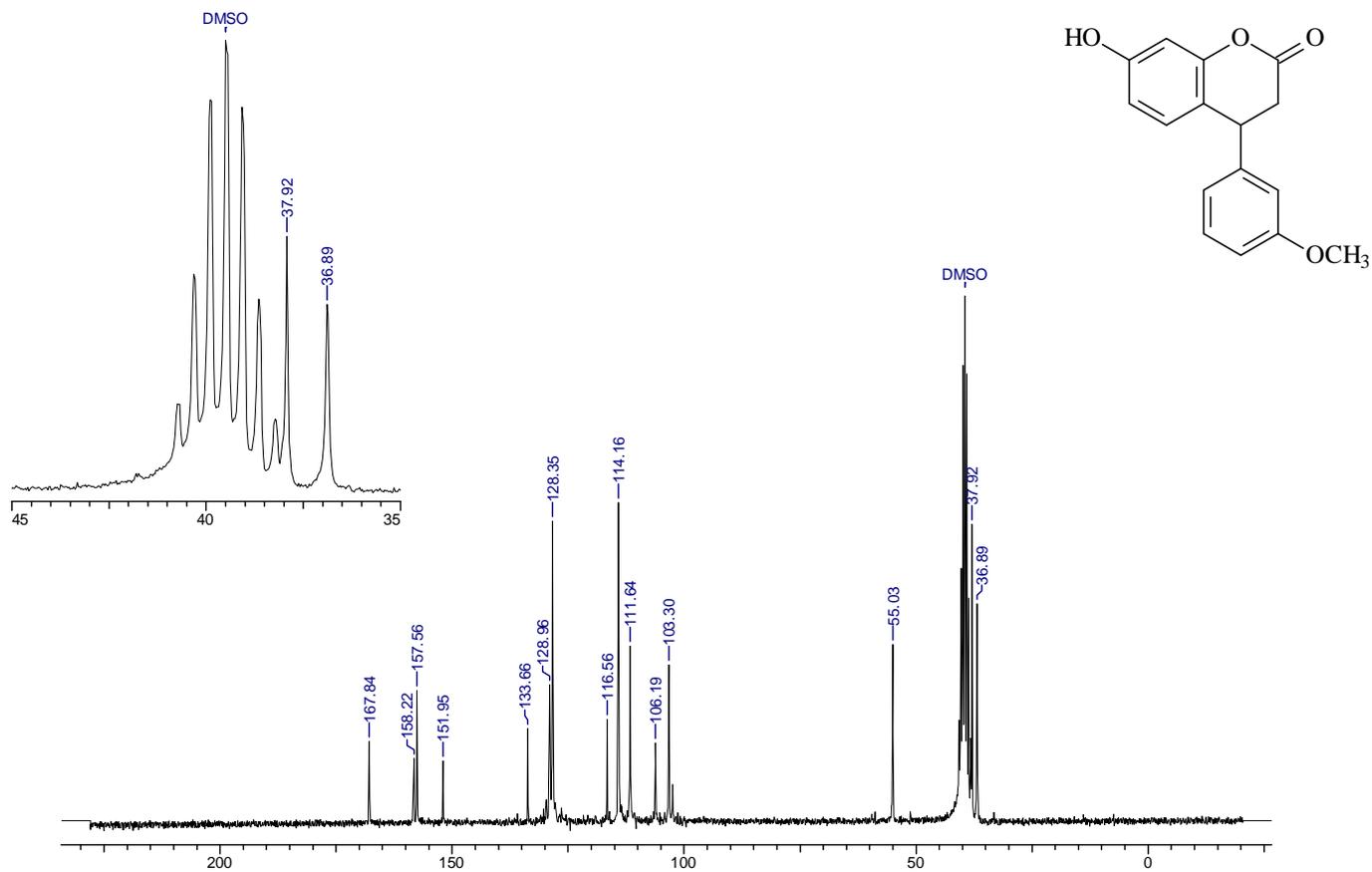
Anexo 23. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **105k**.



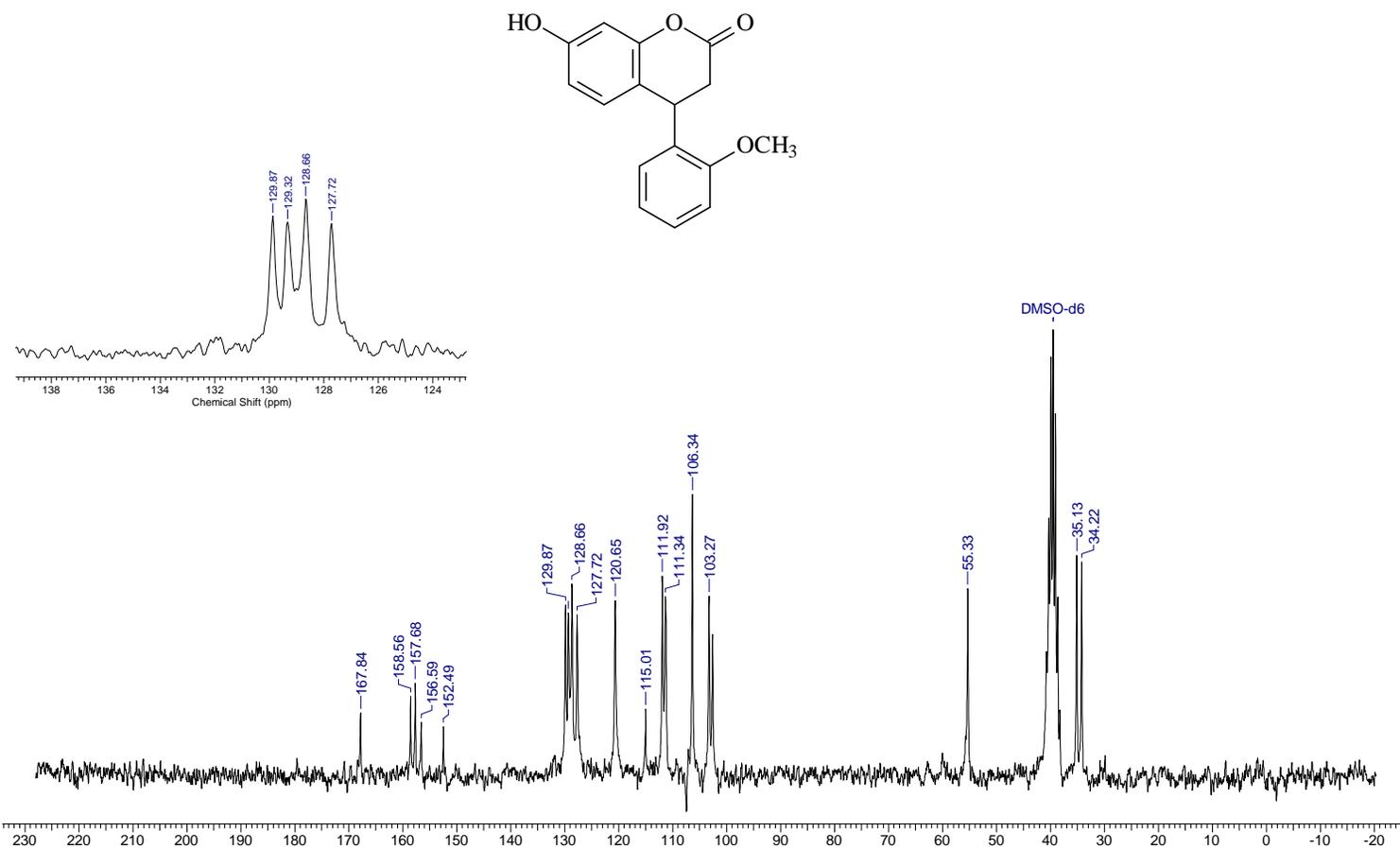
Anexo 24. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **1051**.



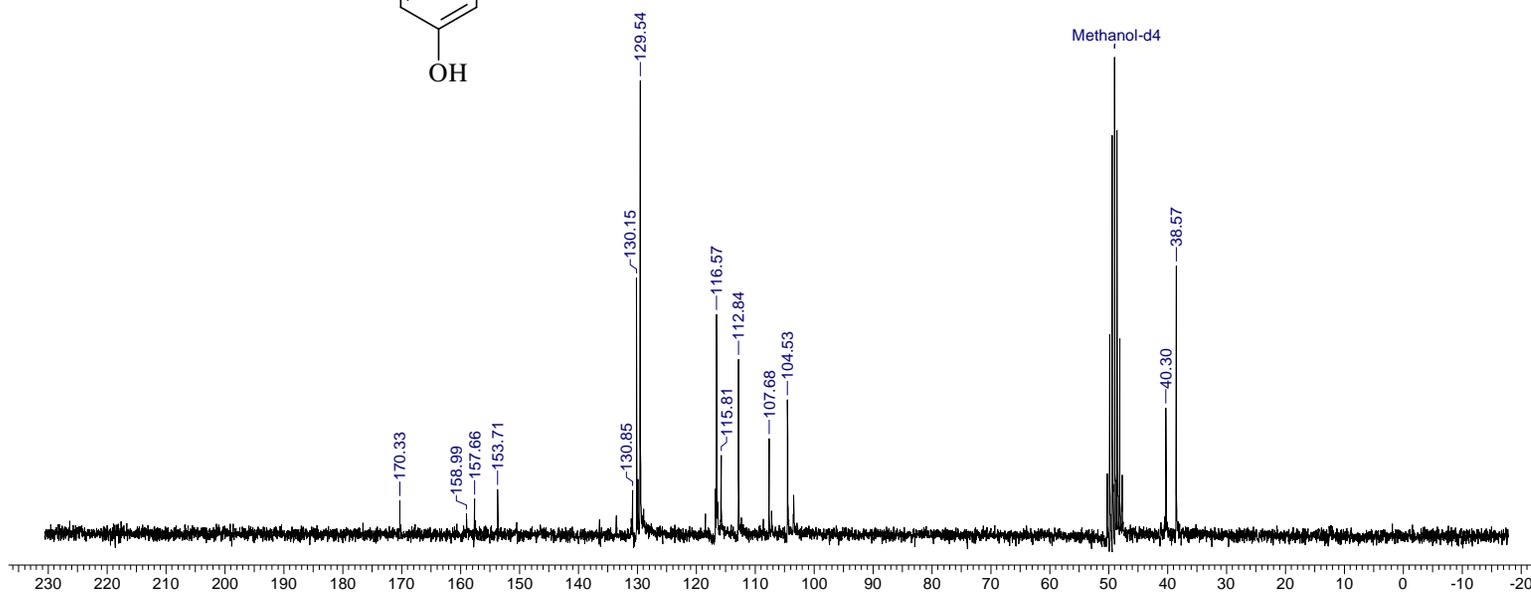
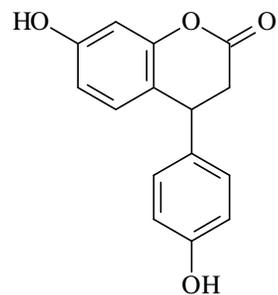
Anexo 25. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **101a**.



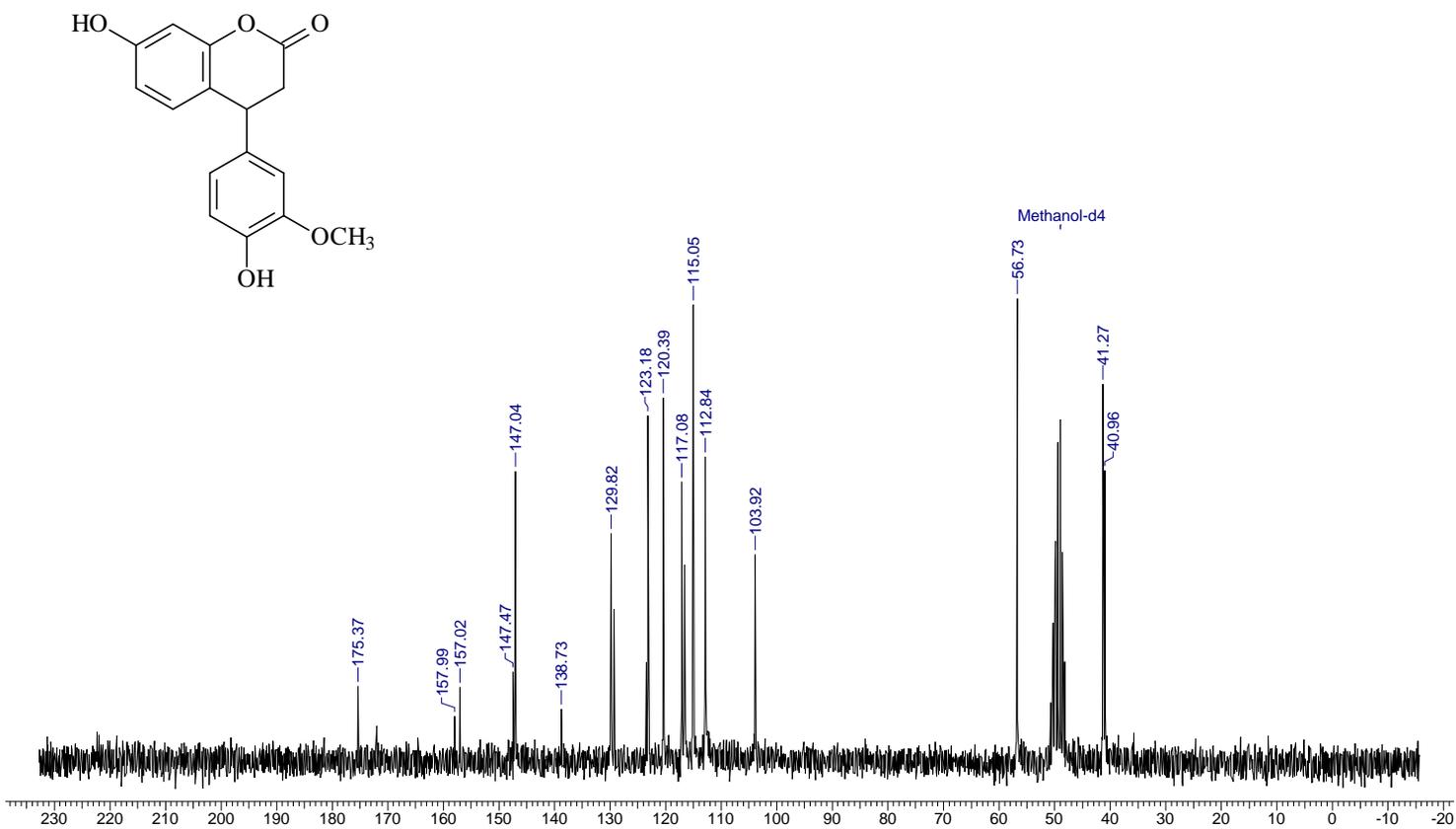
Anexo 26. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **102b**.



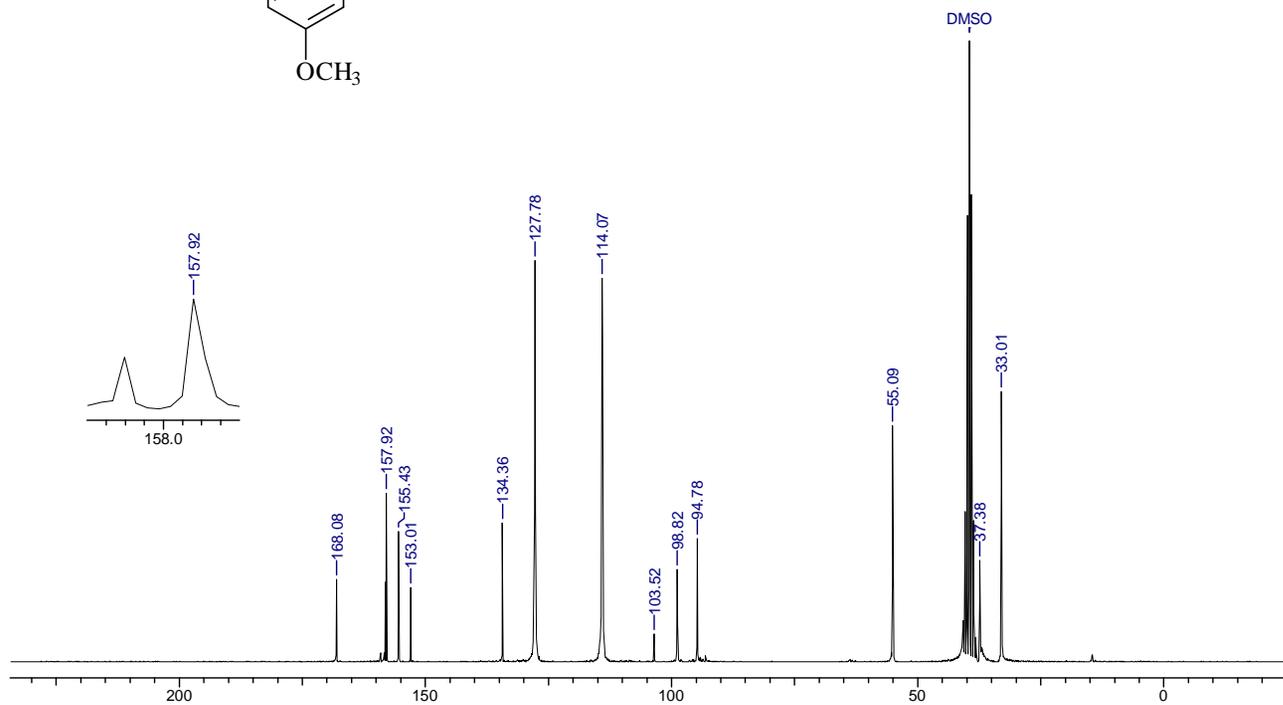
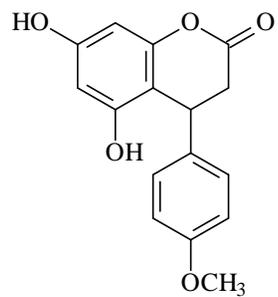
Anexo 27. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **101c**.



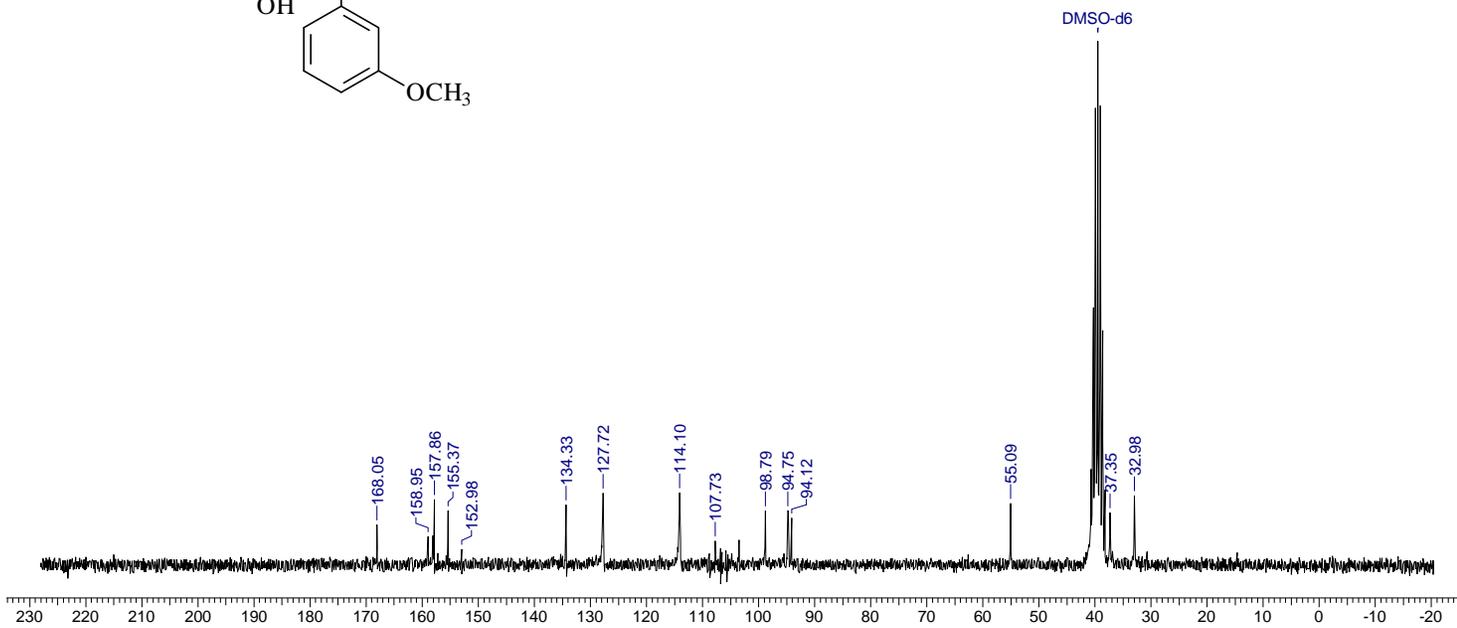
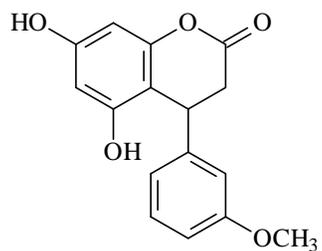
Anexo 28. Espectro de ^{13}C (Methanol- d_4 , 50,3 MHz) do composto **101d**.



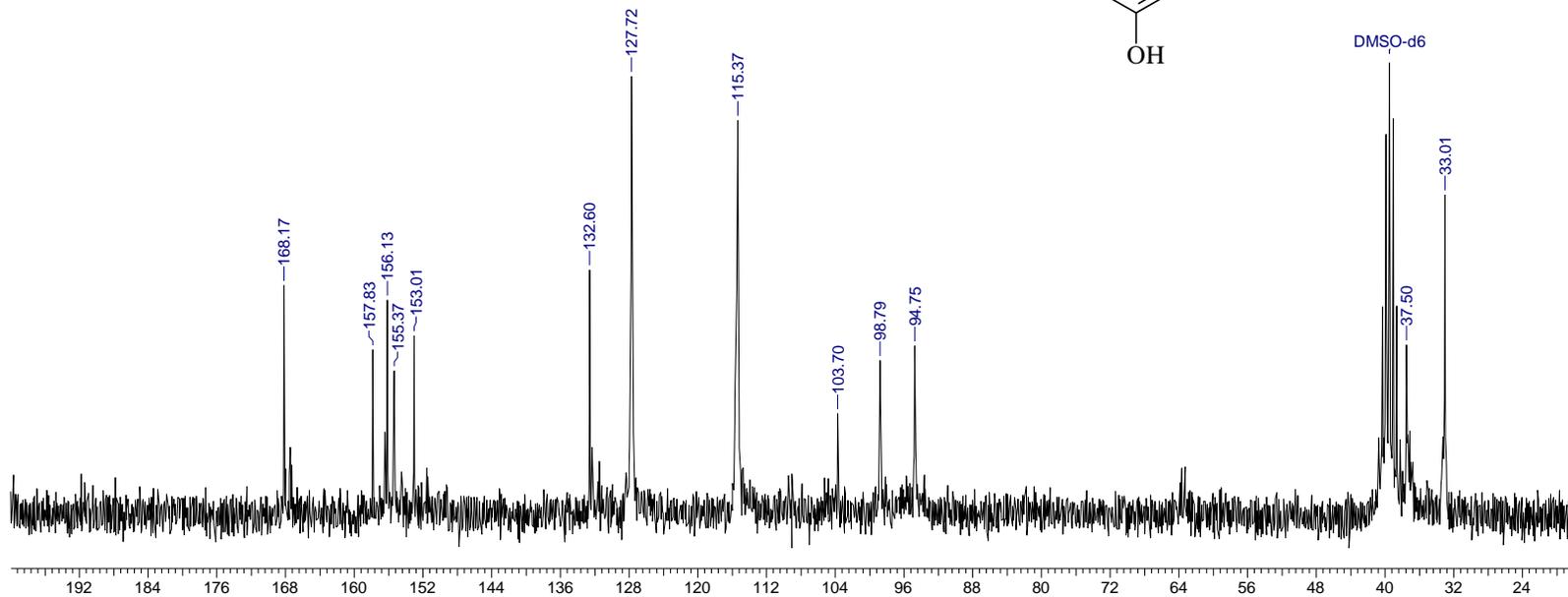
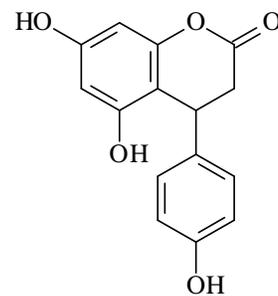
Anexo 29. Espectro de ^{13}C (Metanol- d_4 , 50,3 MHz) do composto **101e**.



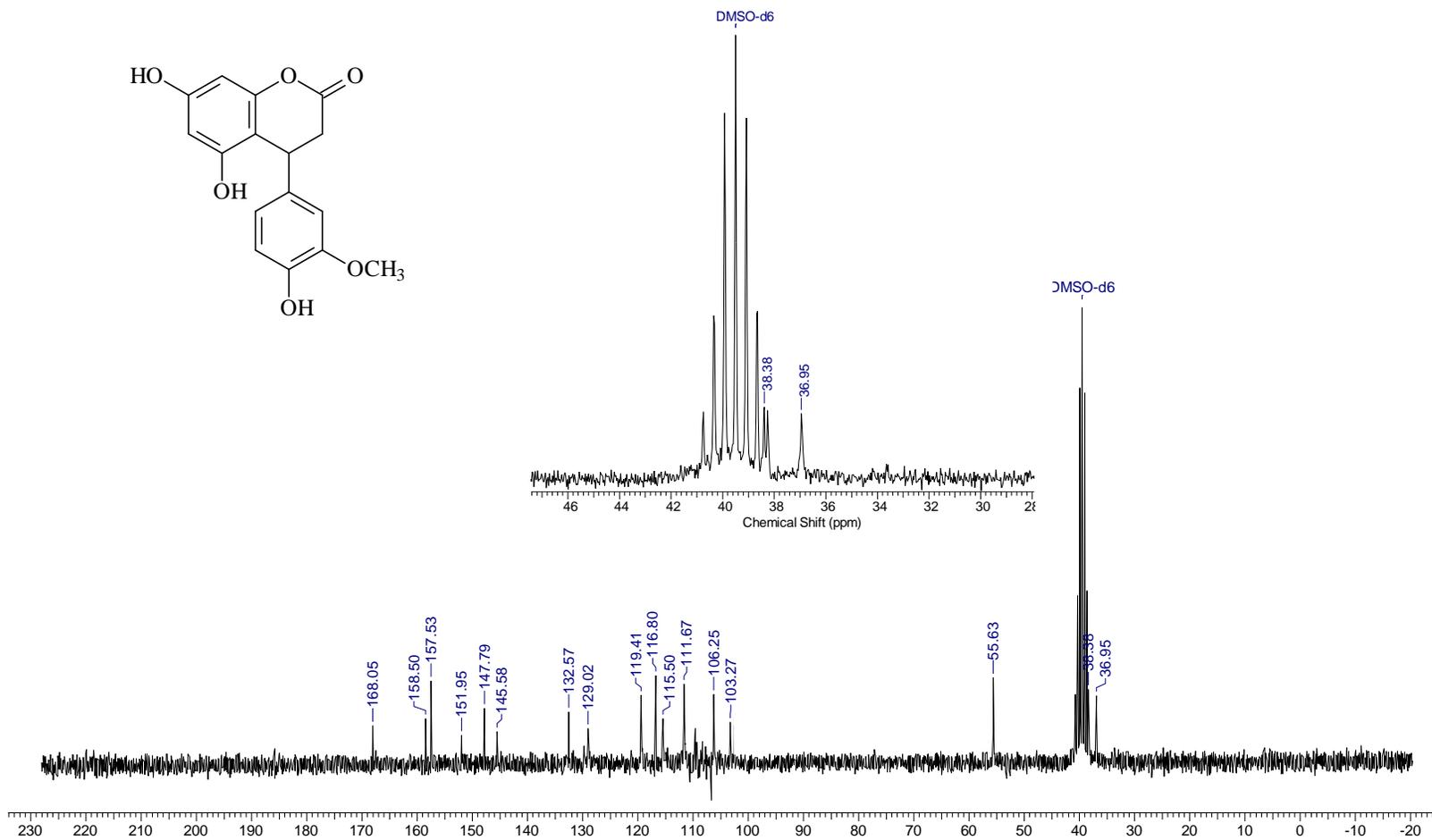
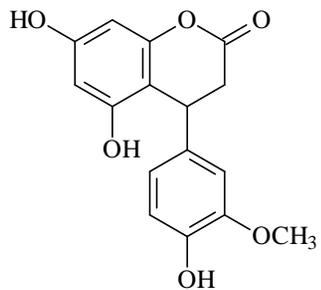
Anexo 30. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **101f**.



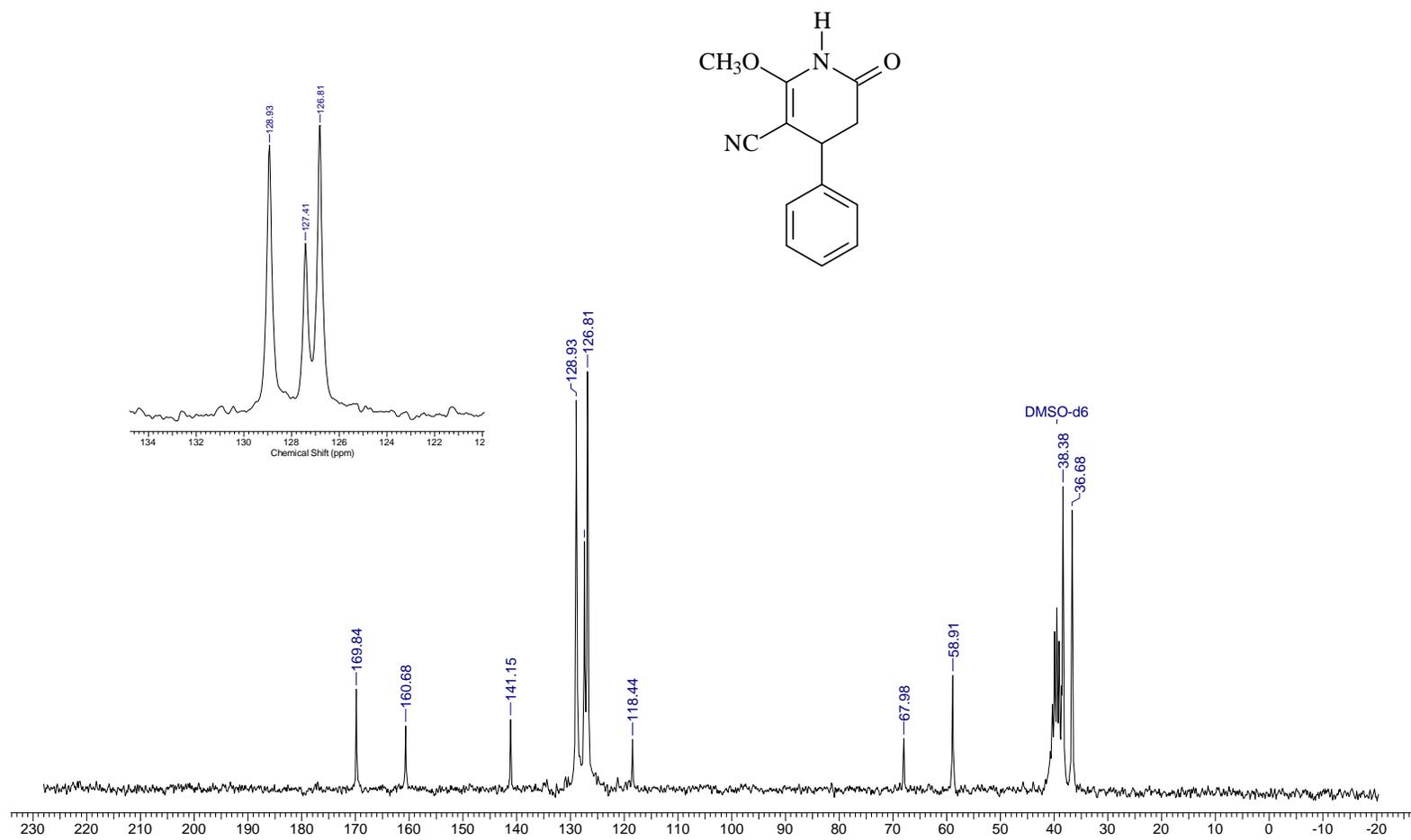
Anexo 31. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **101g**.



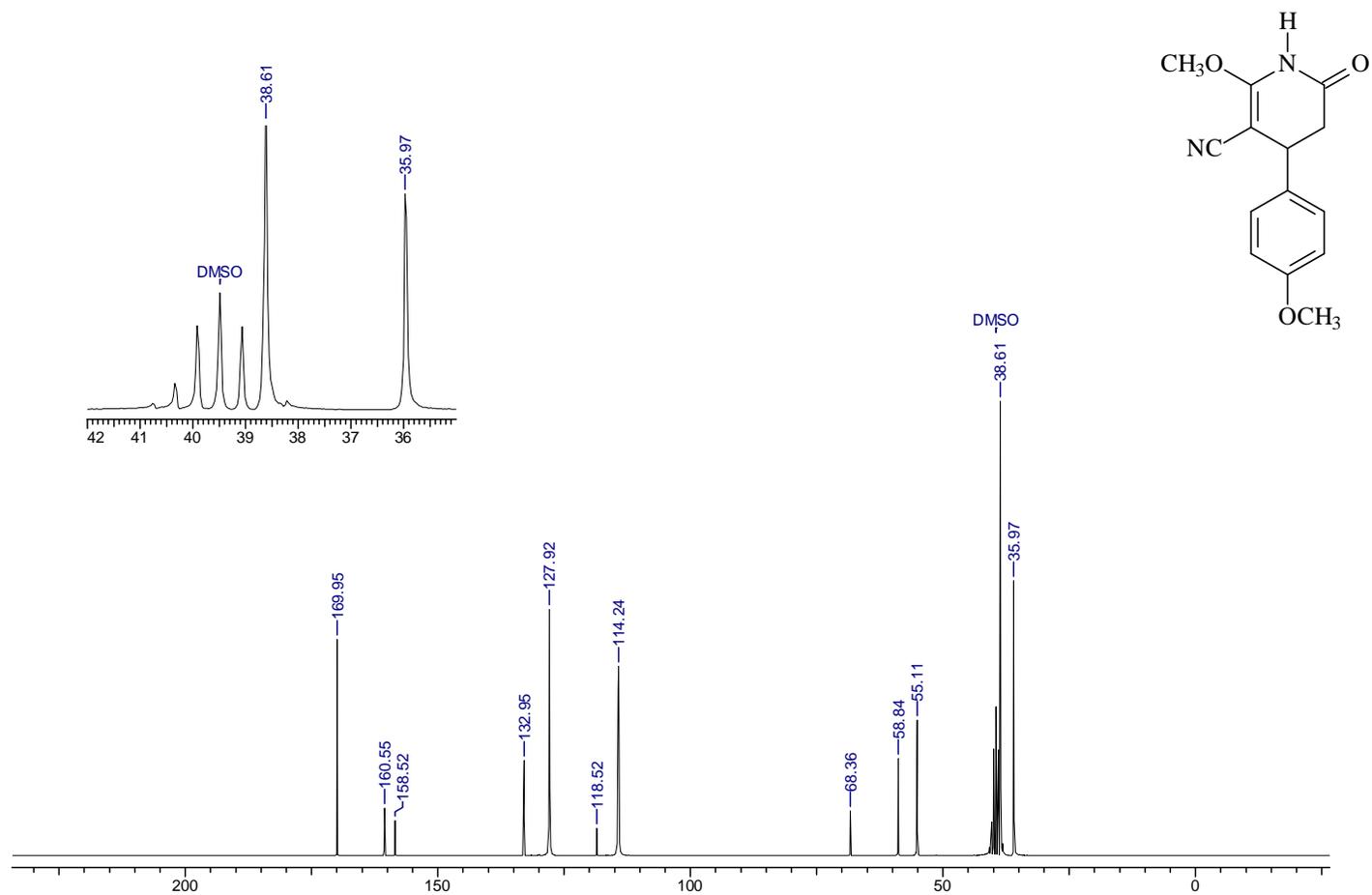
Anexo 32. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **101h**.



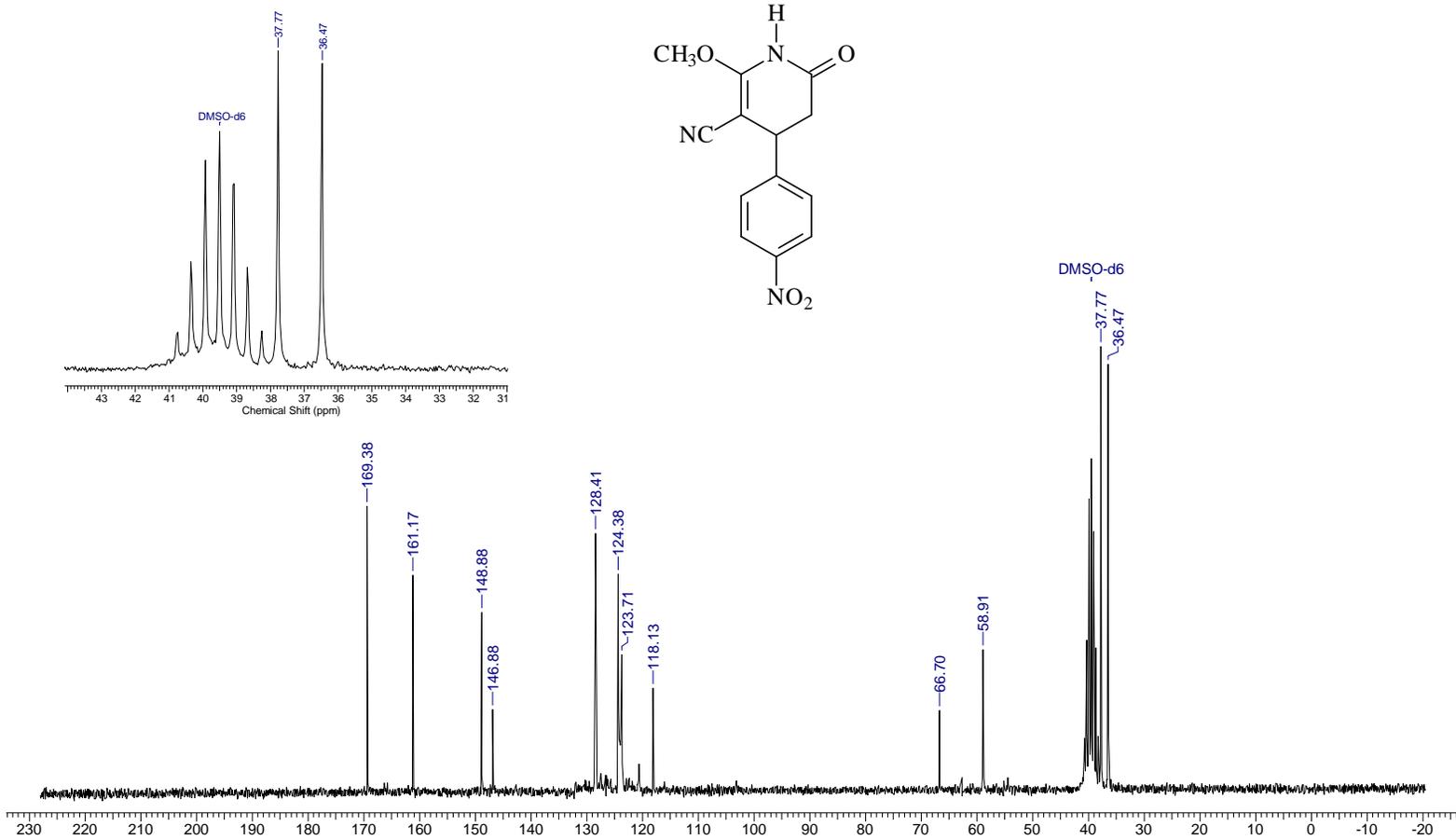
Anexo 33. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **101i**.



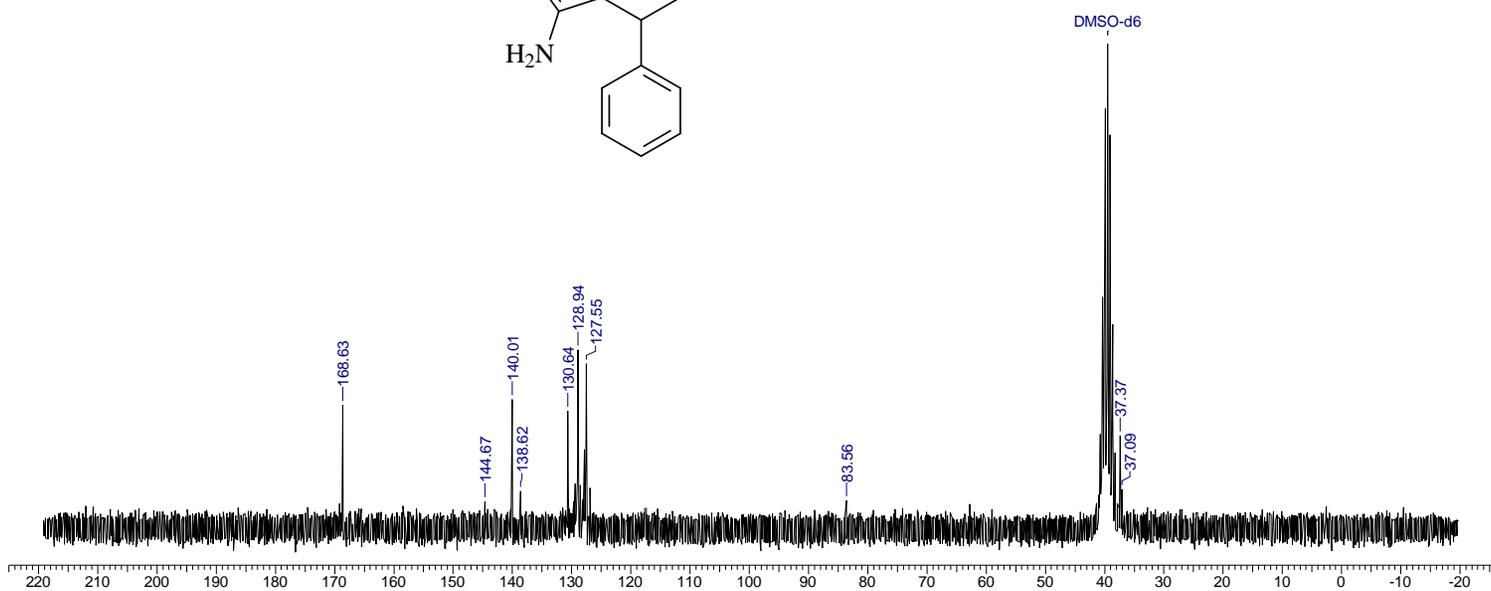
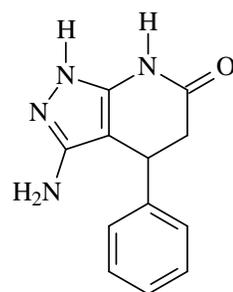
Anexo 34. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 50,3 MHz) do composto **103a**.



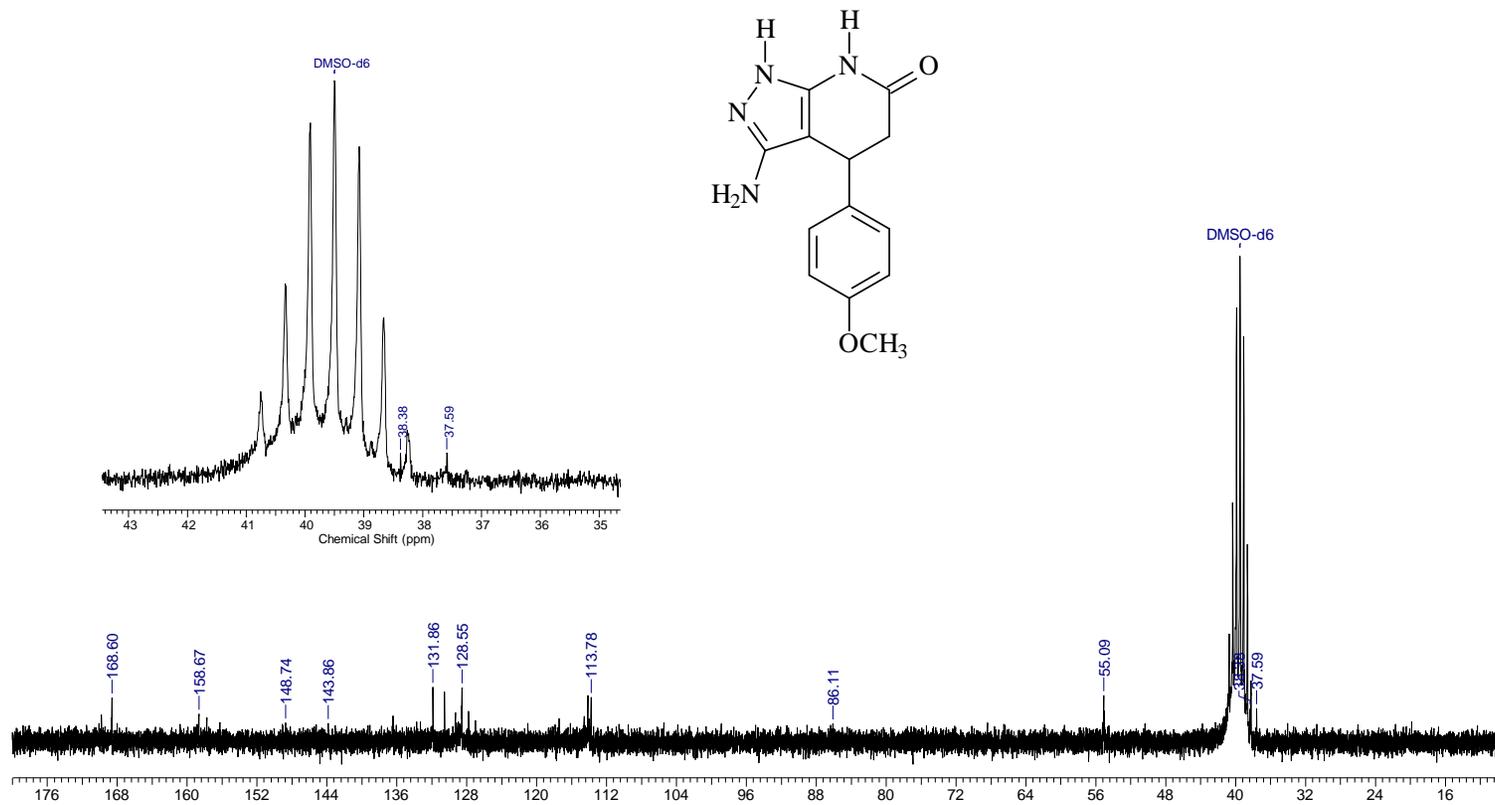
Anexo 35. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **103b**.



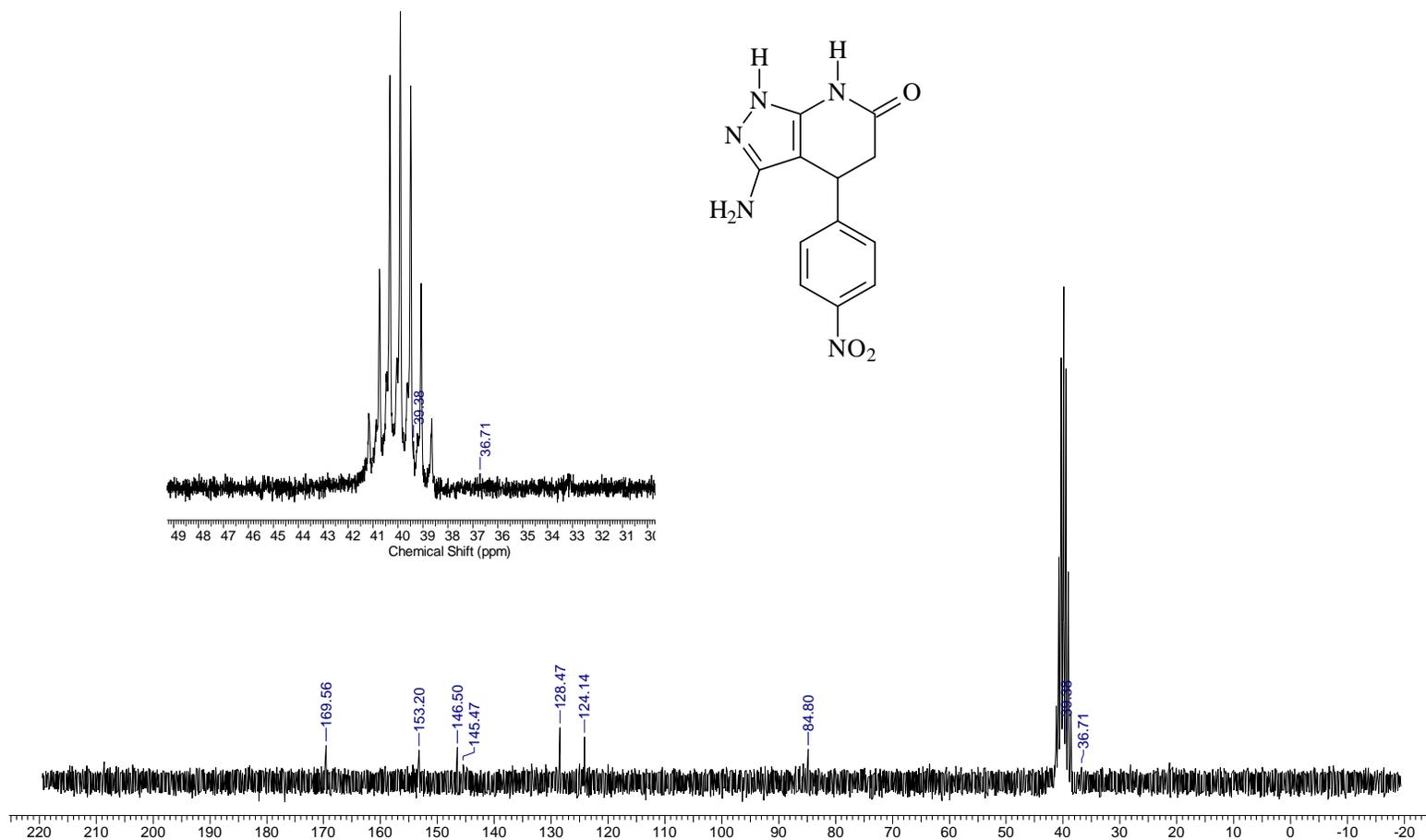
Anexo 37. Espectro de ^{13}C (DMSO-d₆ 50,3 MHz) do composto **103c**.



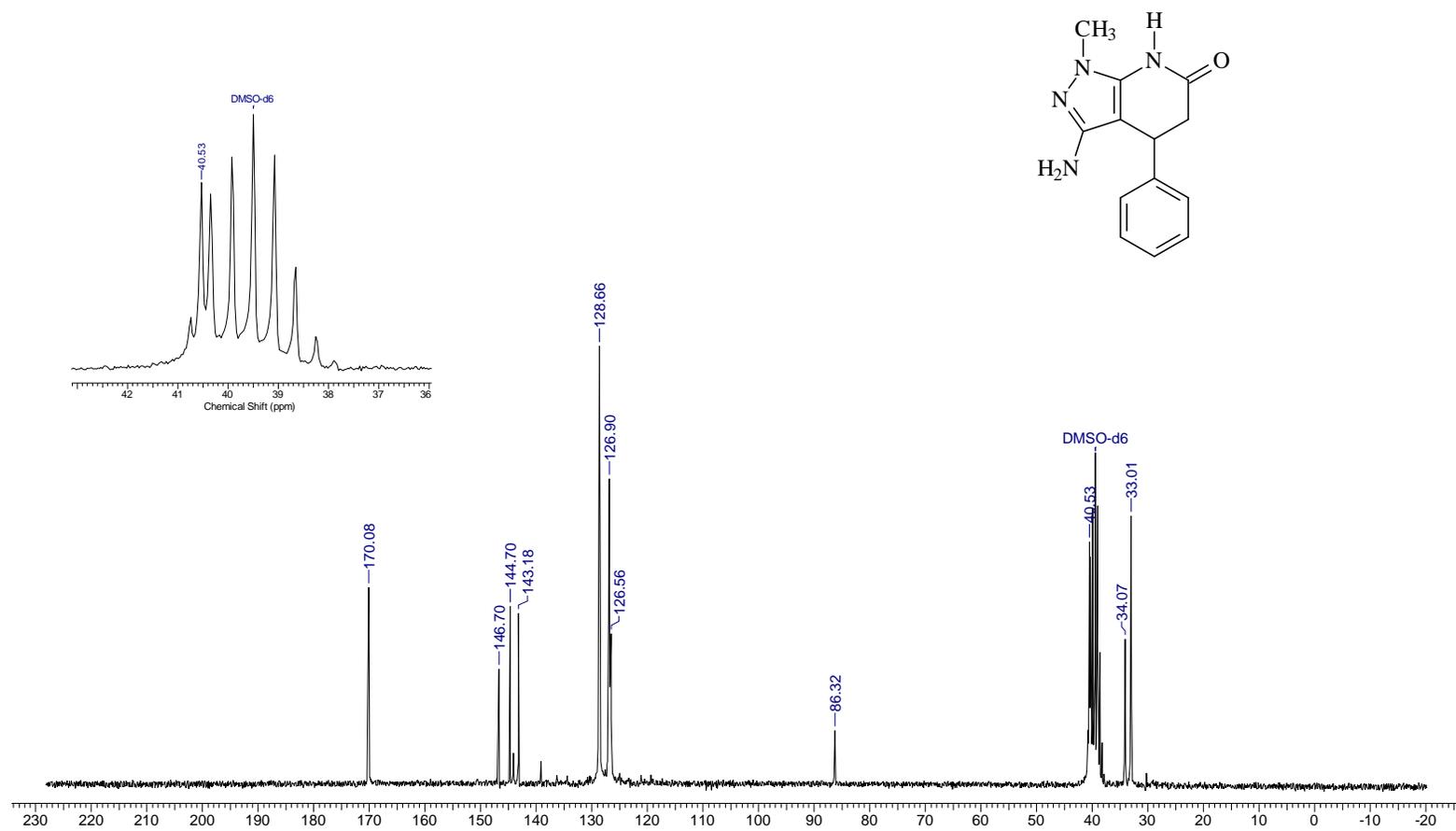
Anexo 37. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto 105a.



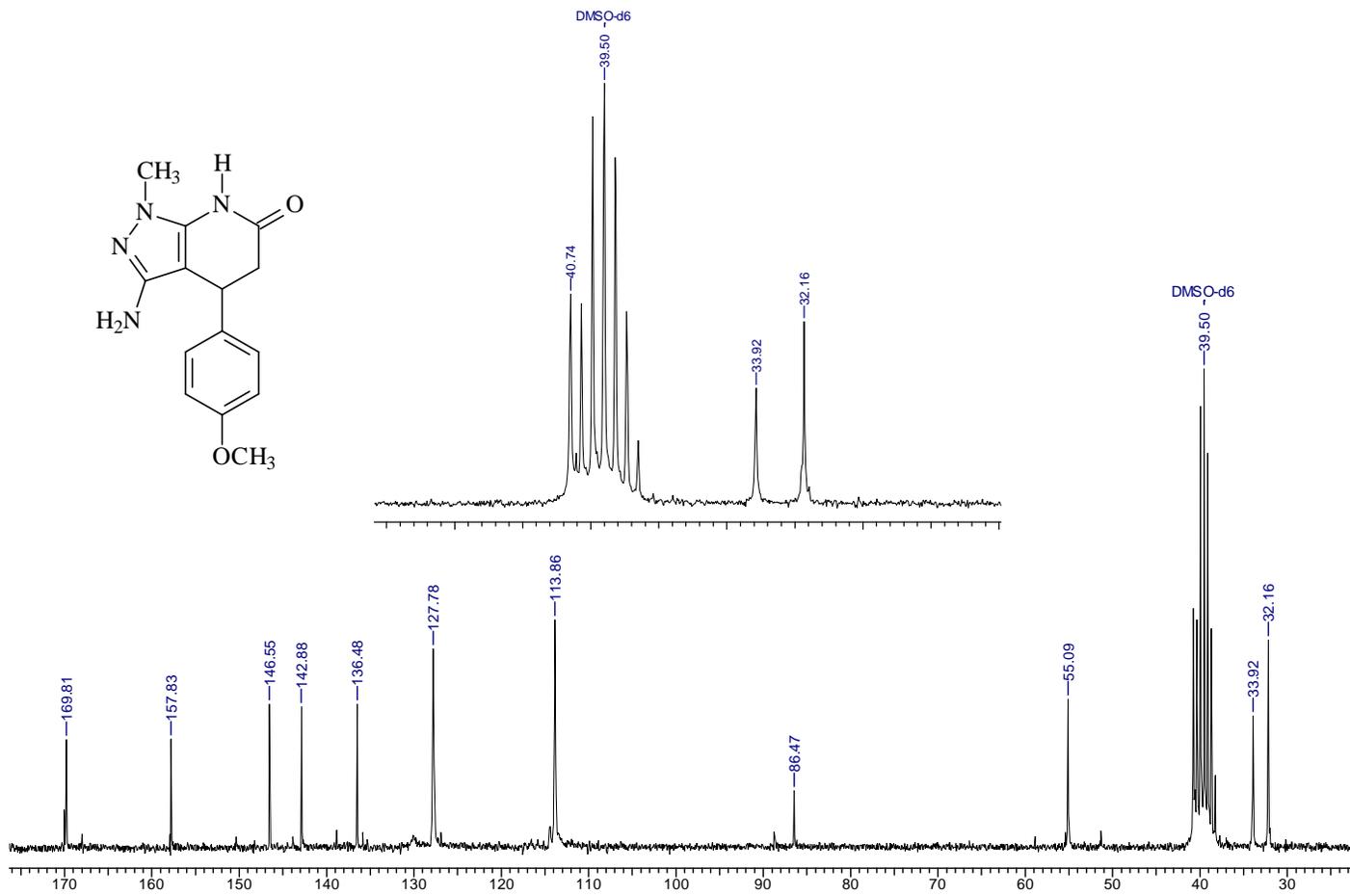
Anexo 38. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **105b**.



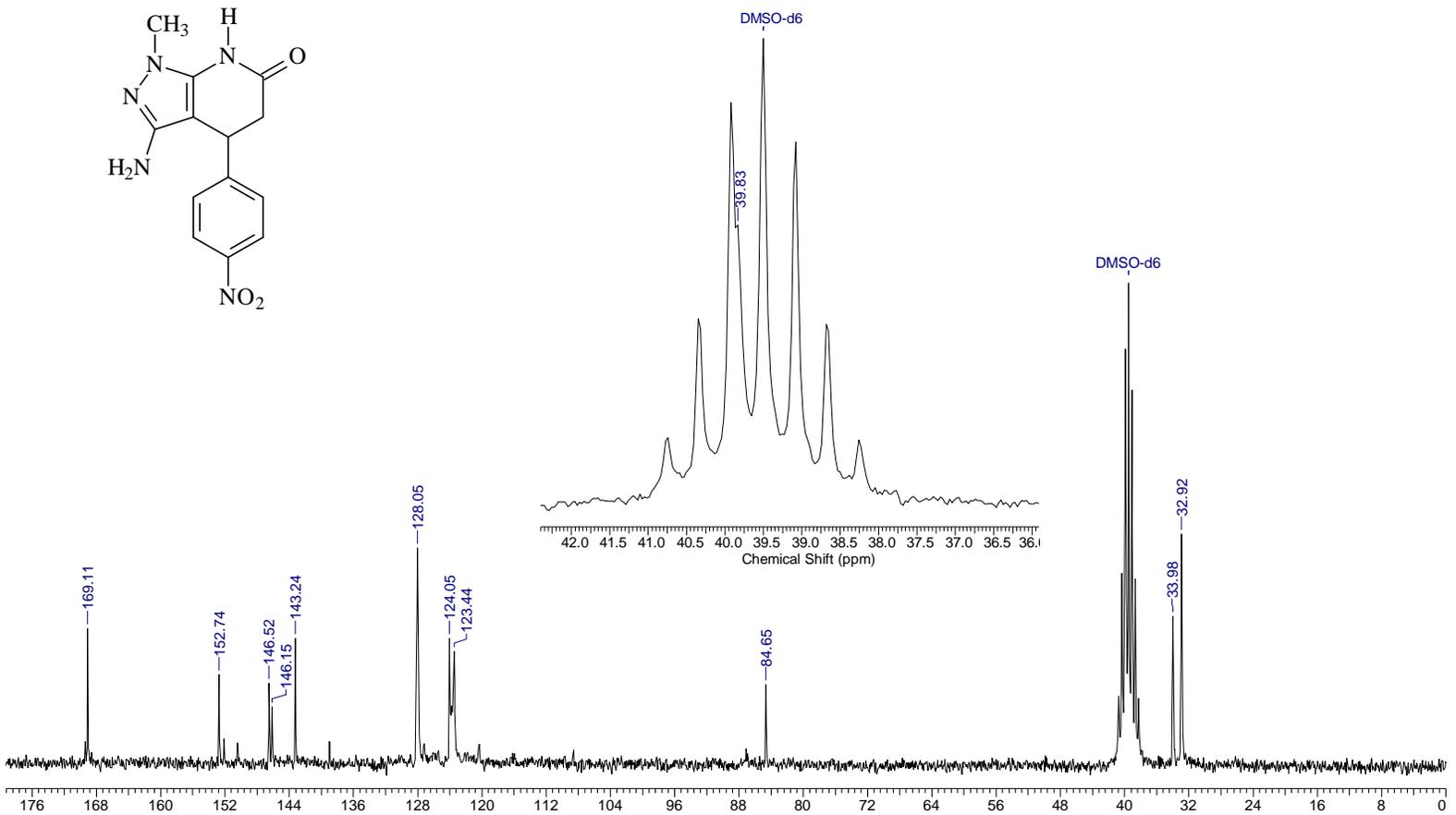
Anexo 39. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **105c**.



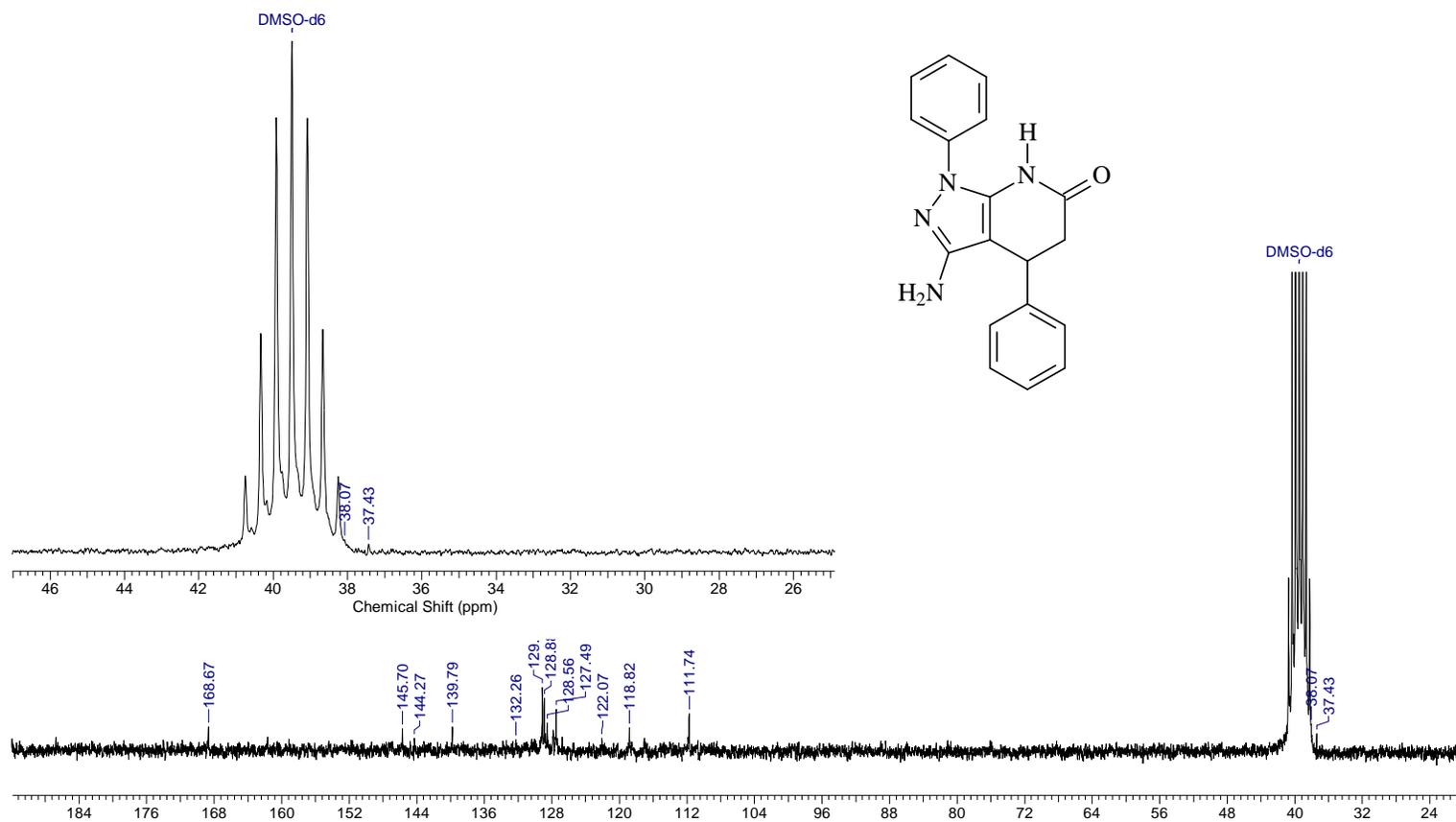
Anexo 40. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **105d**.



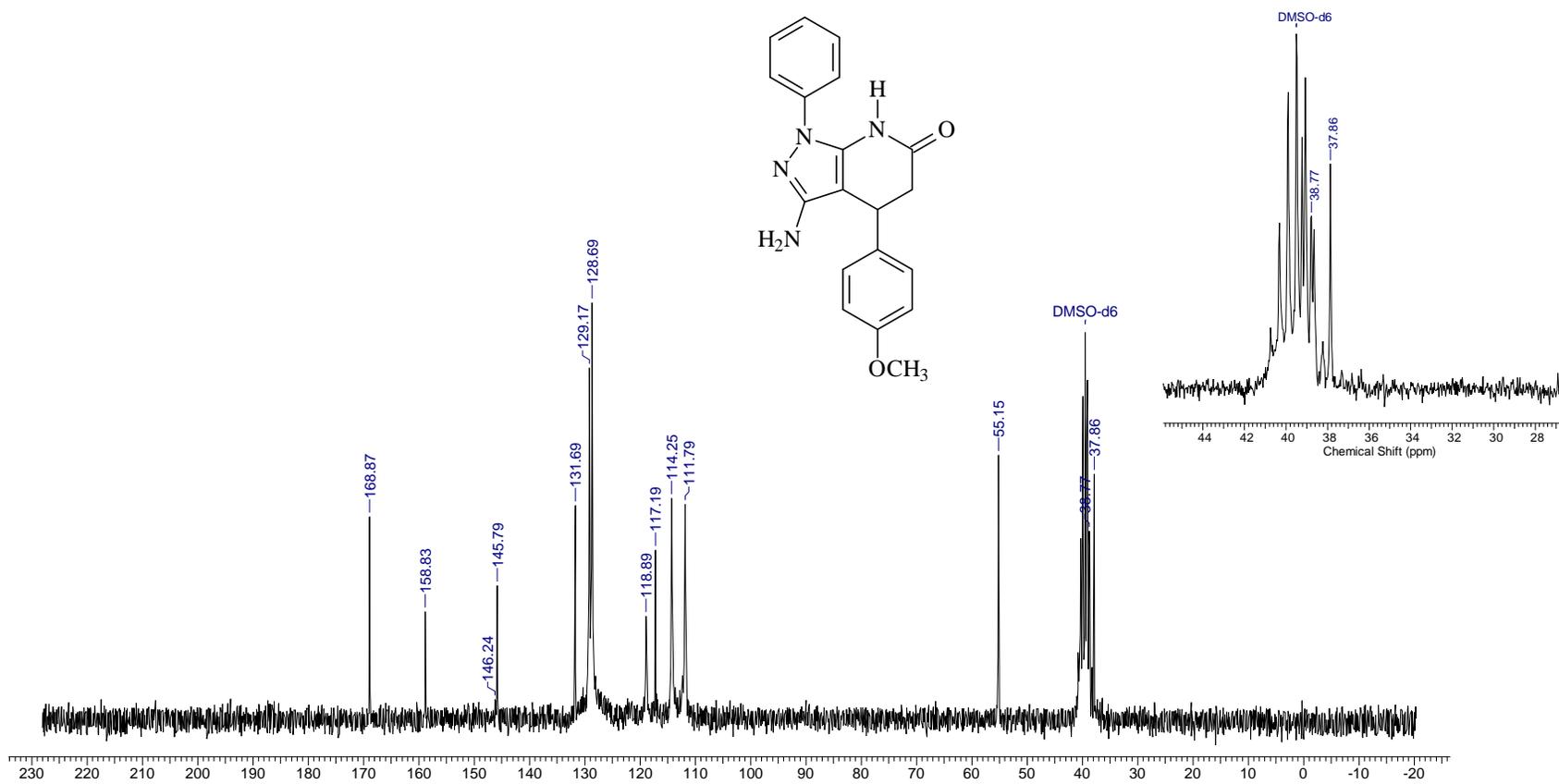
Anexo 41. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **105e**.



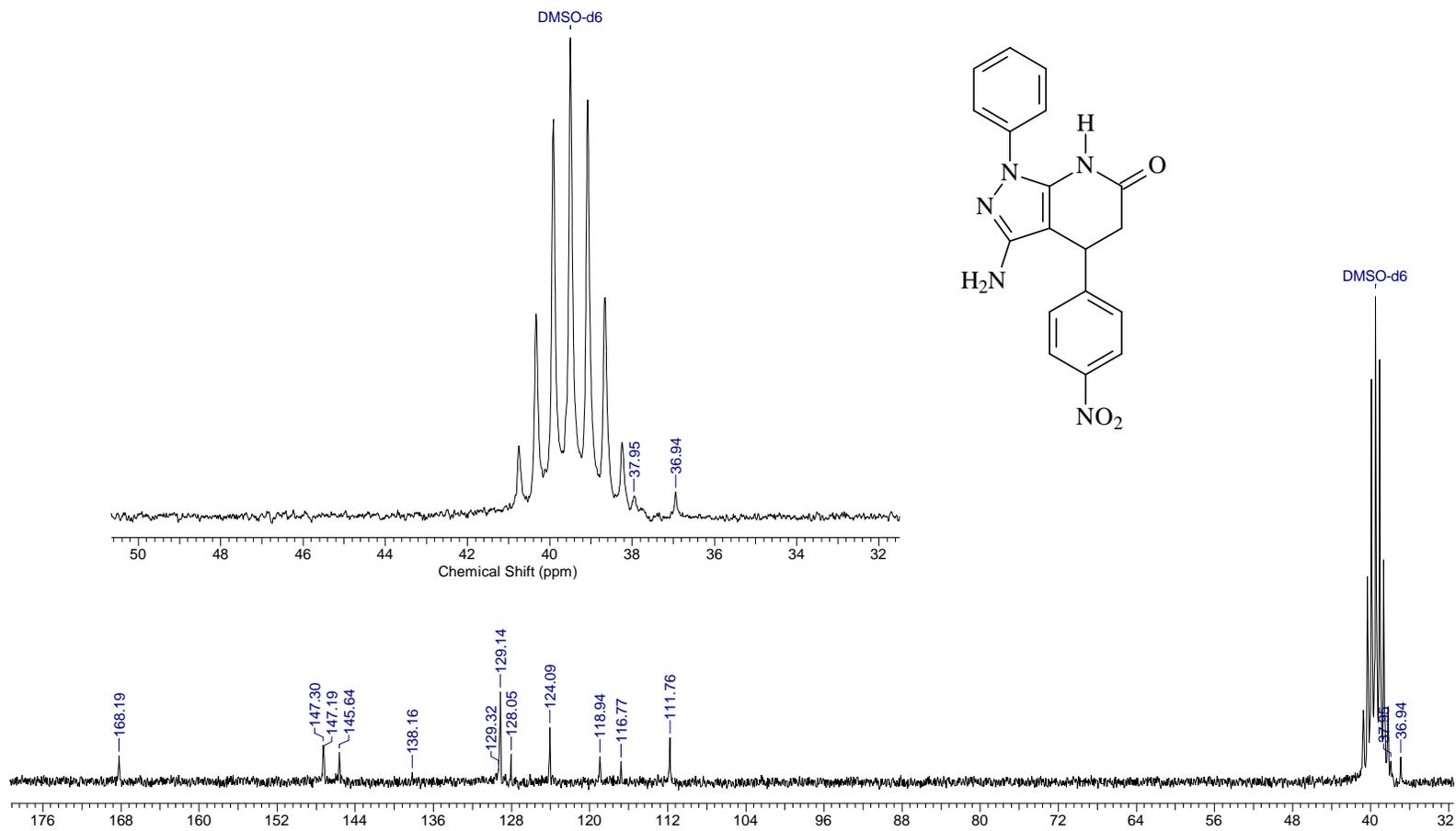
Anexo 42. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **105f**.



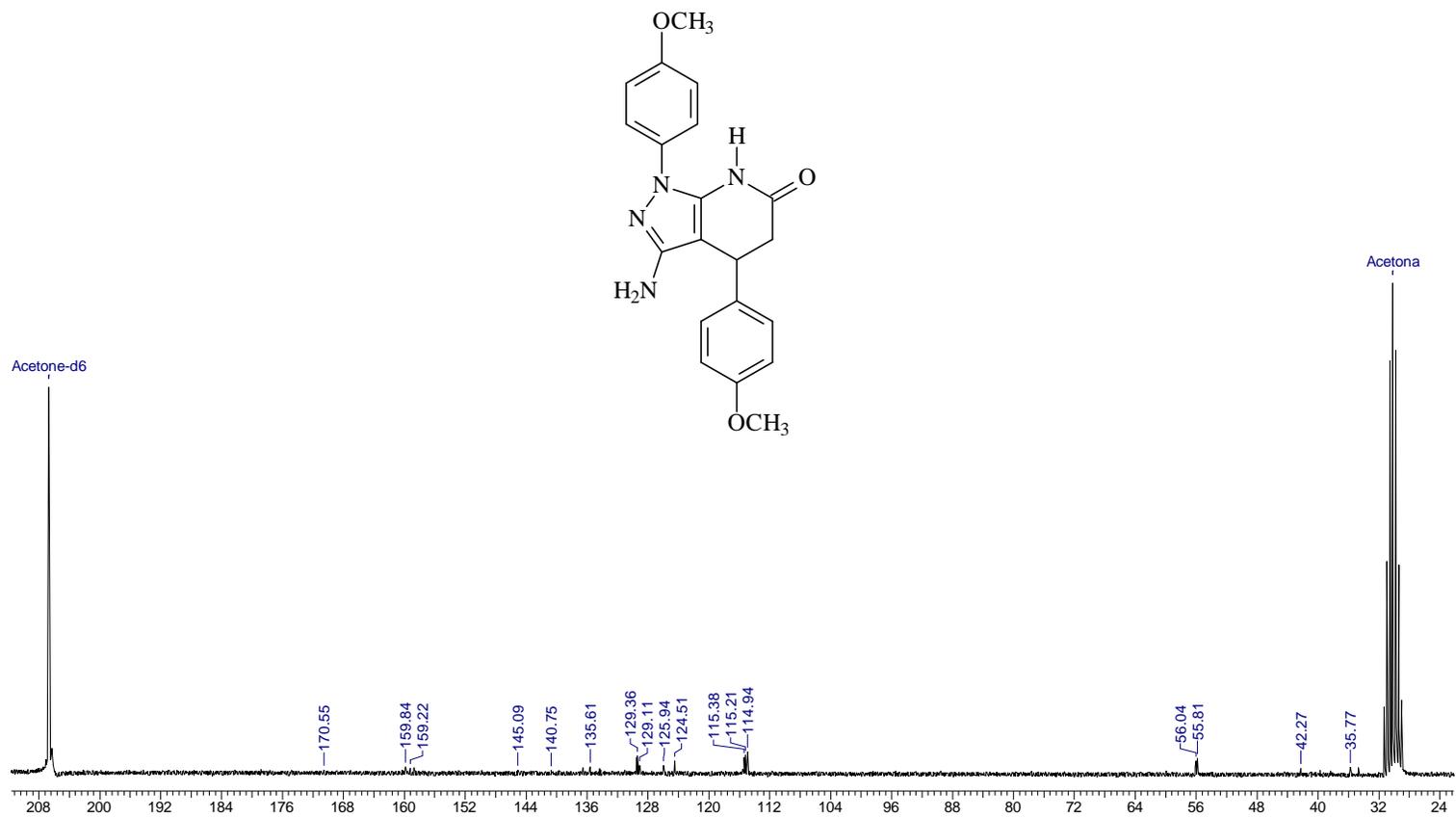
Anexo 43. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **105g**.



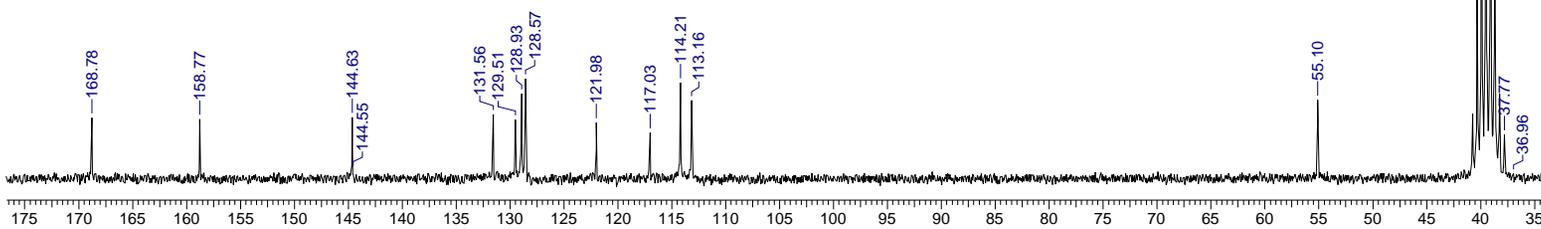
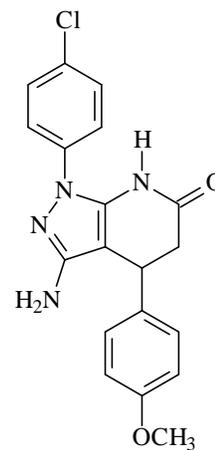
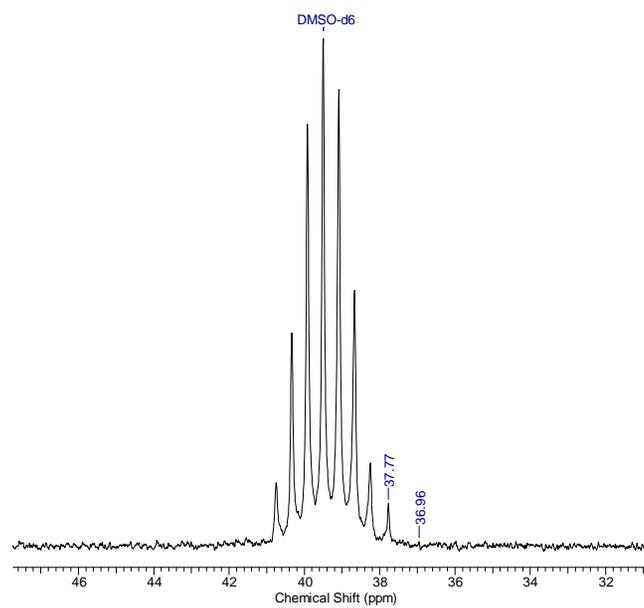
Anexo 44. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **105h**.



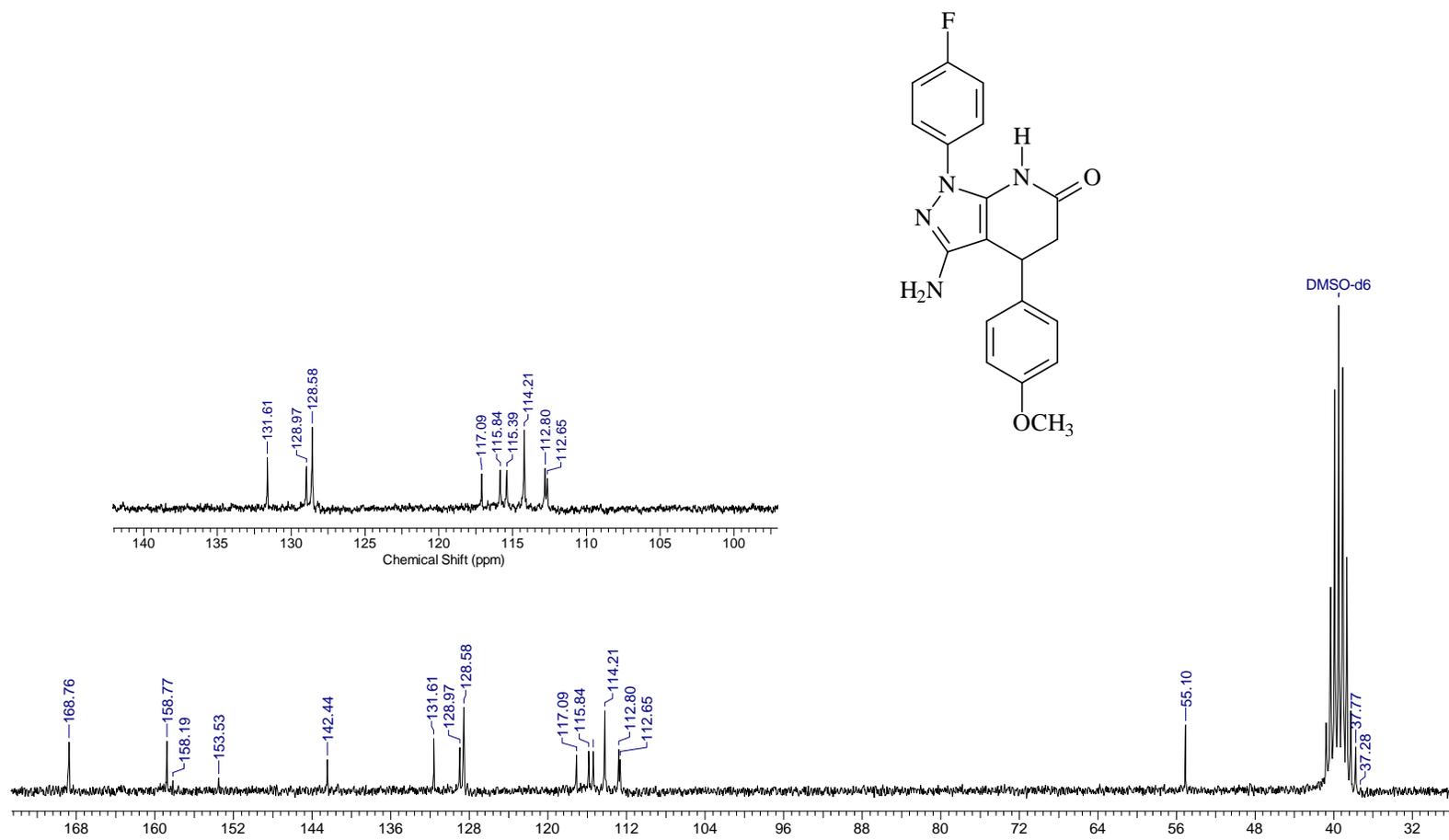
Anexo 45. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **105i**.



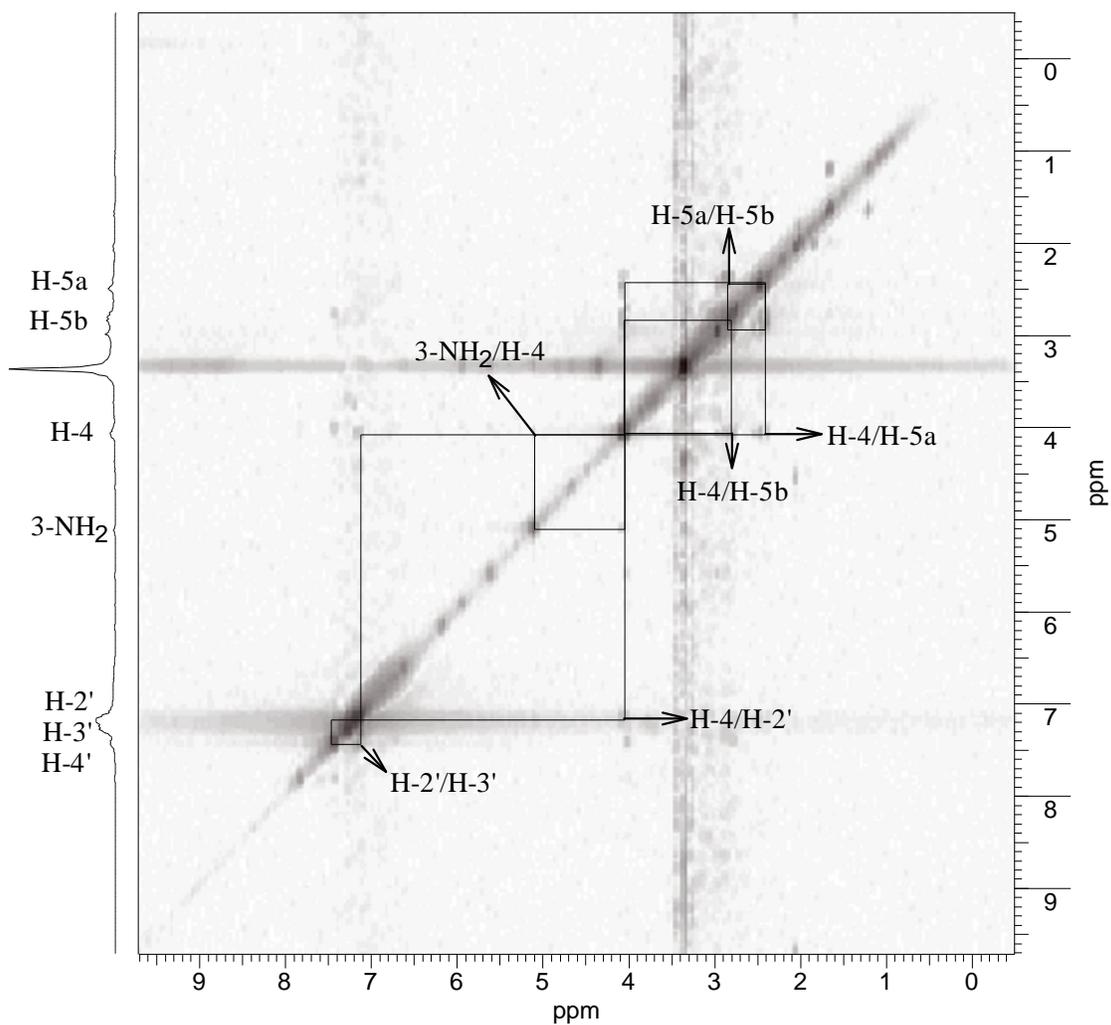
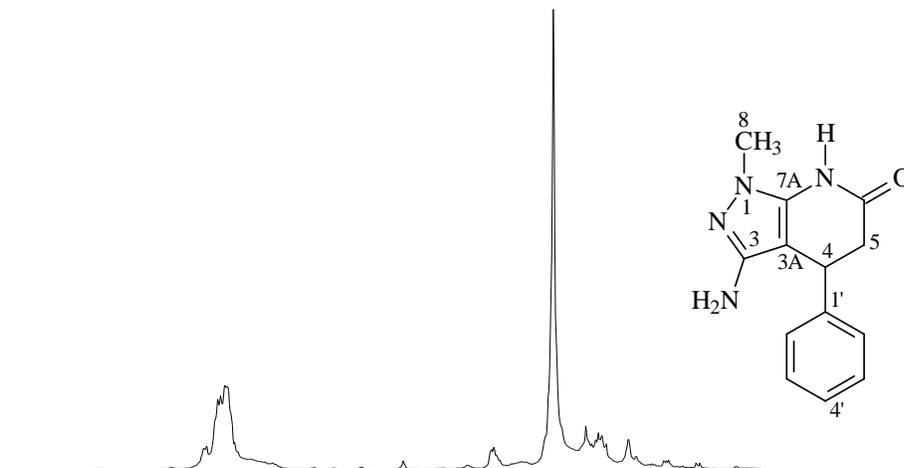
Anexo 46. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **105j**.



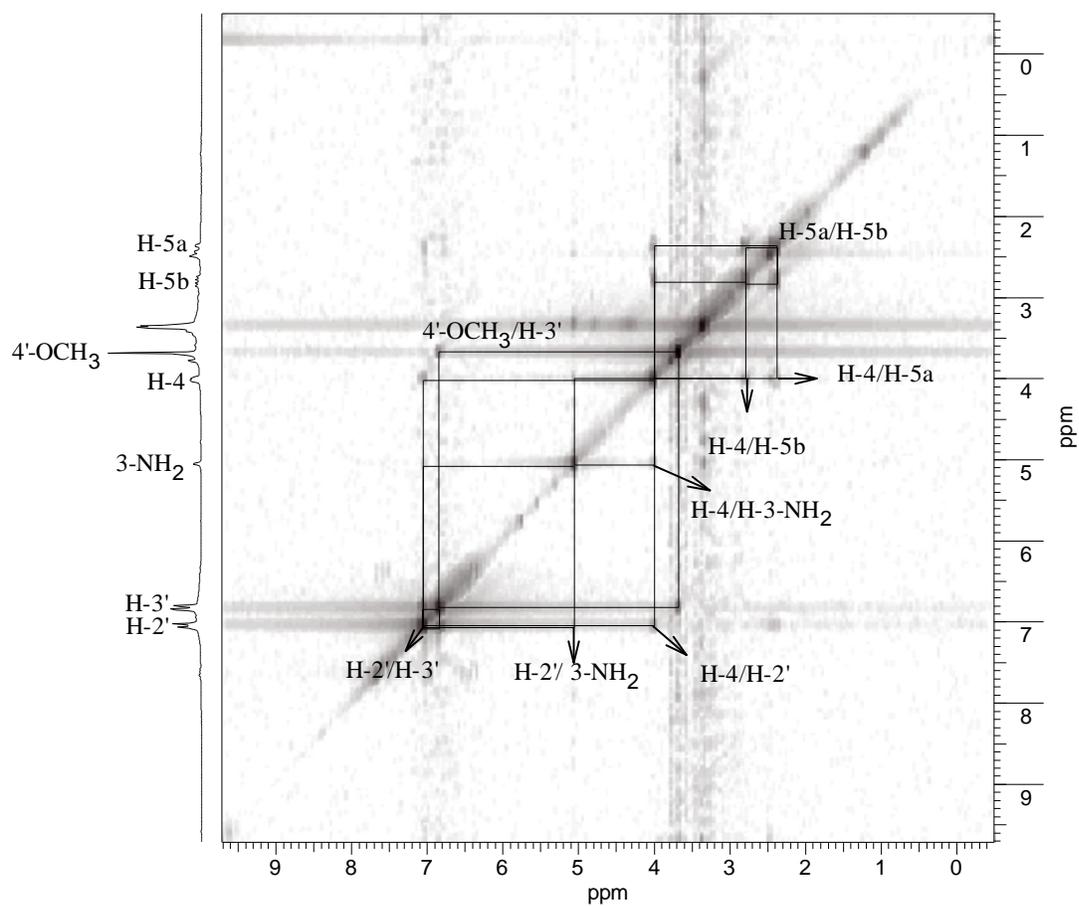
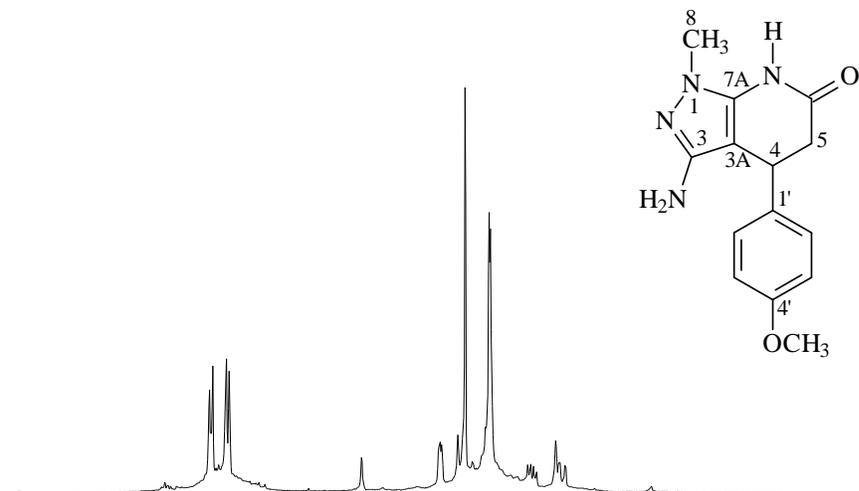
Anexo 47. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **105k**.



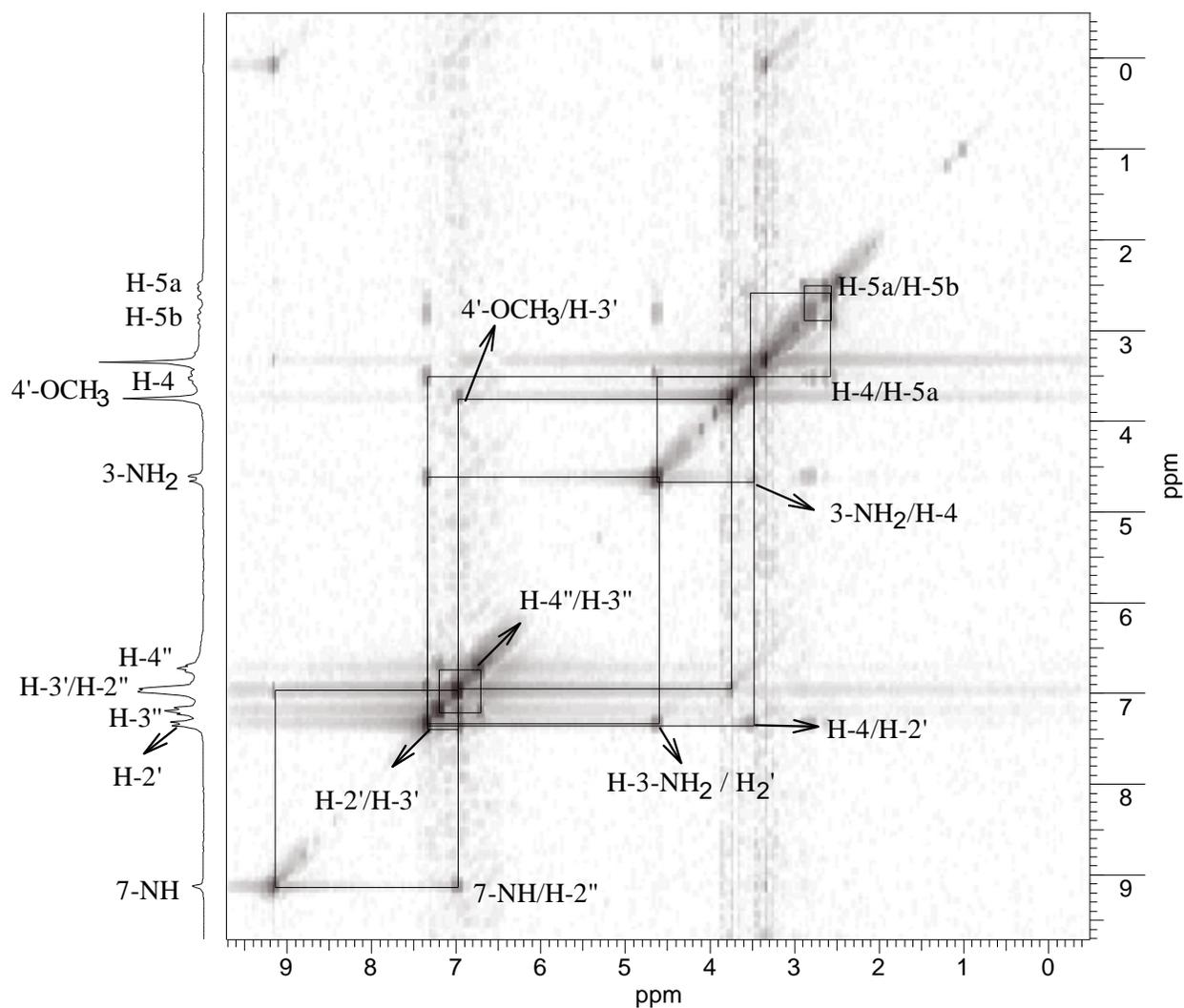
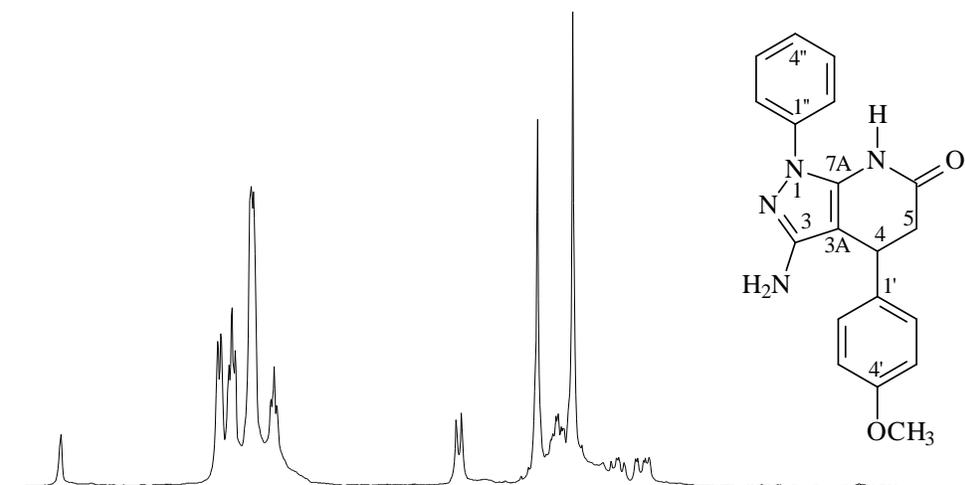
Anexo 48. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **1051**.



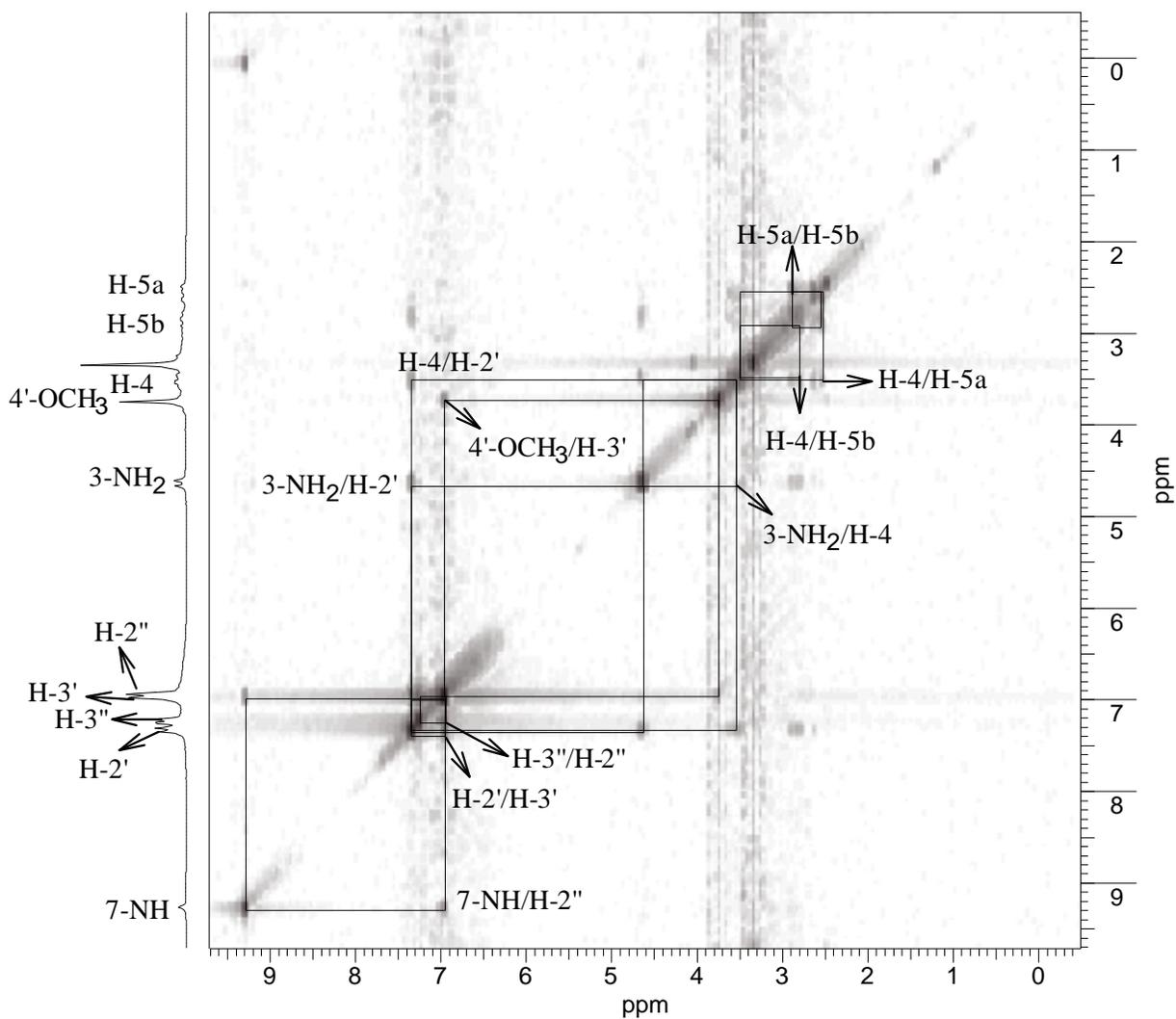
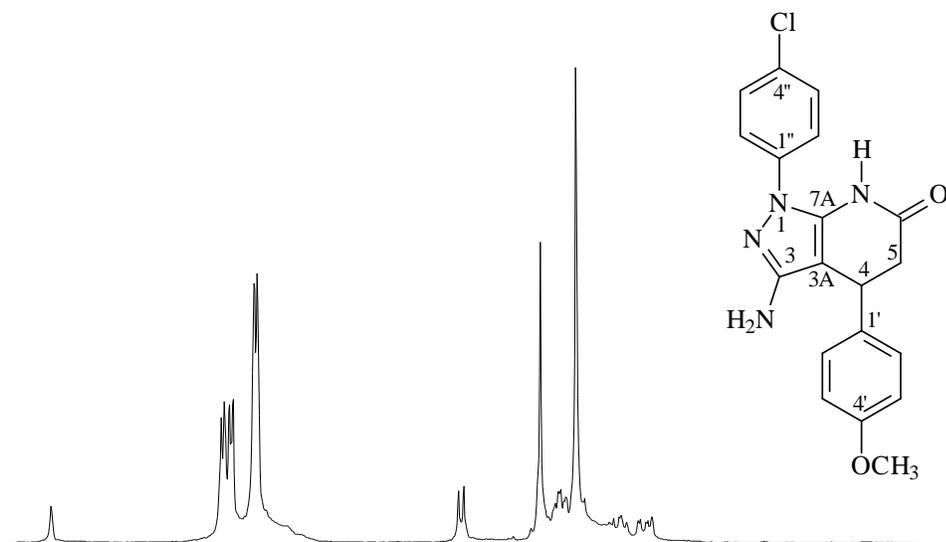
Anexo 49. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO-d₆) do composto **105d**.



Anexo 50. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO-d₆) do composto **105e**.



Anexo 51. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO-d₆) do composto **105h**.

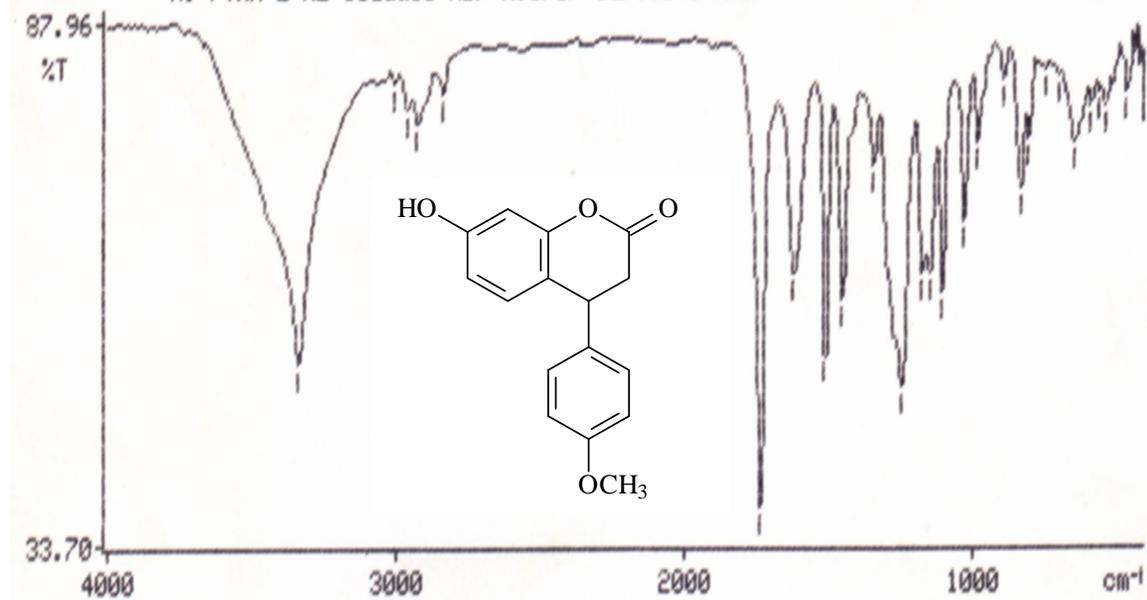


Anexo 52. Mapa de contornos de NOESY (200 MHz, DMSO-d₆) do composto **105k**.

3338.1,3007.1,2964.3,2927.0,2838.3,1736.6,1619.8,1511.6,1451.1,1344.3=
1246.5,1176.3,1149.4,1105.6,1029.9,984.3,893.2,833.1,807.4,748.0,701.9=
642.6,589.6,562.4,537.1,467.4=

X: FVM - ME Claudio KBr N:8717 Carlos UFRRJ

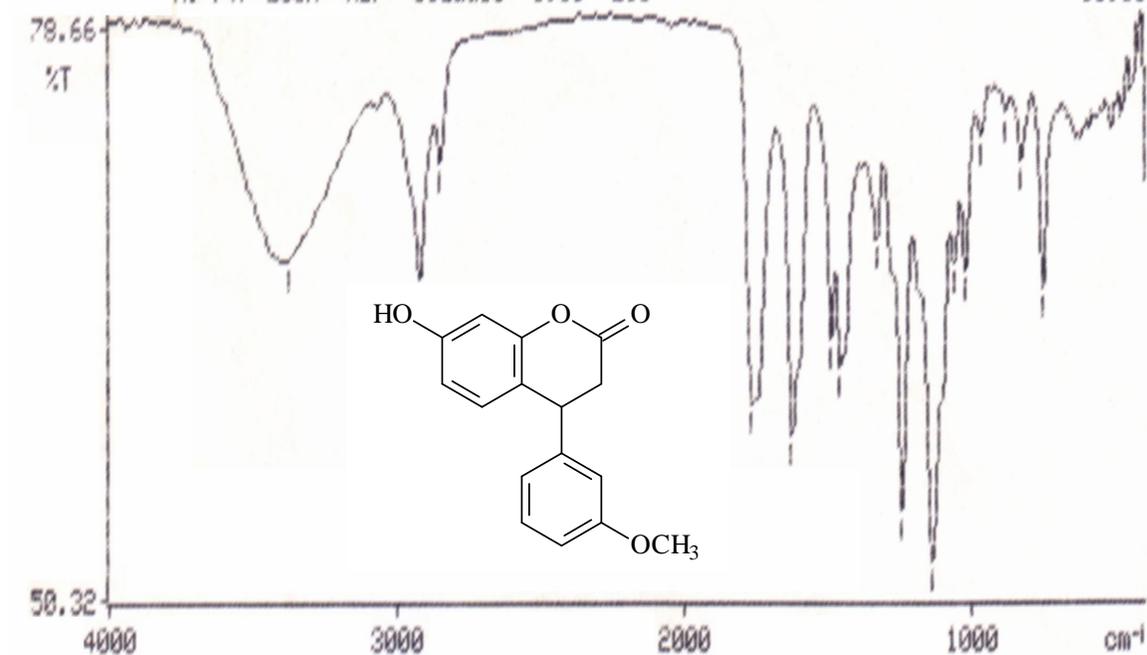
15:29



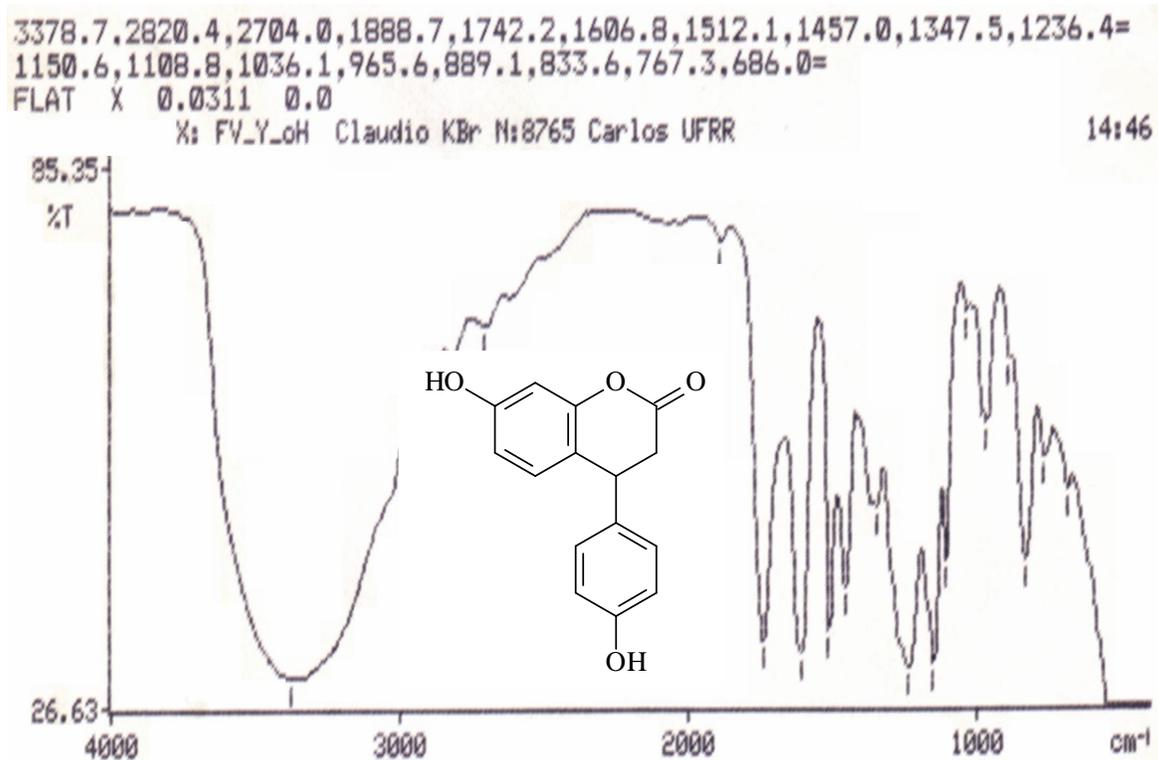
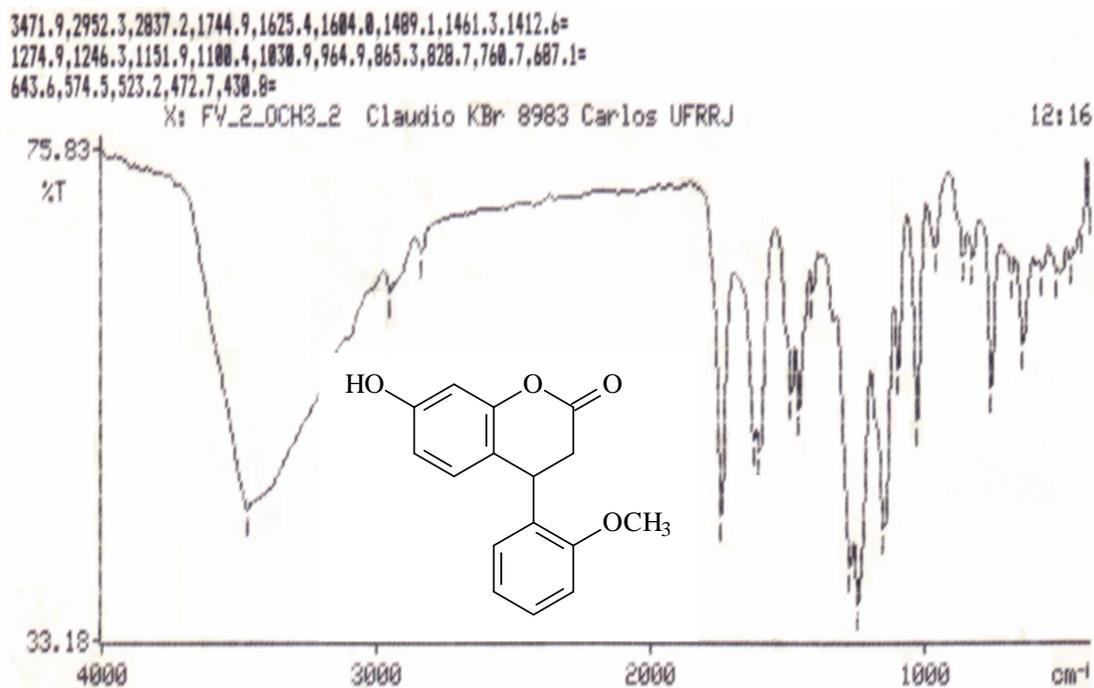
3379.6,2925.0,2853.0,1766.3,1627.9,1492.4,1460.9,1334.4,1245.7=
1139.4,1064.3,1025.6,968.5,883.6,830.0,754.9,424.9=

X: FVF-20CH KBr Claudio 8988 Eli

10:38



Anexo 54. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **101a-b**, respectivamente.

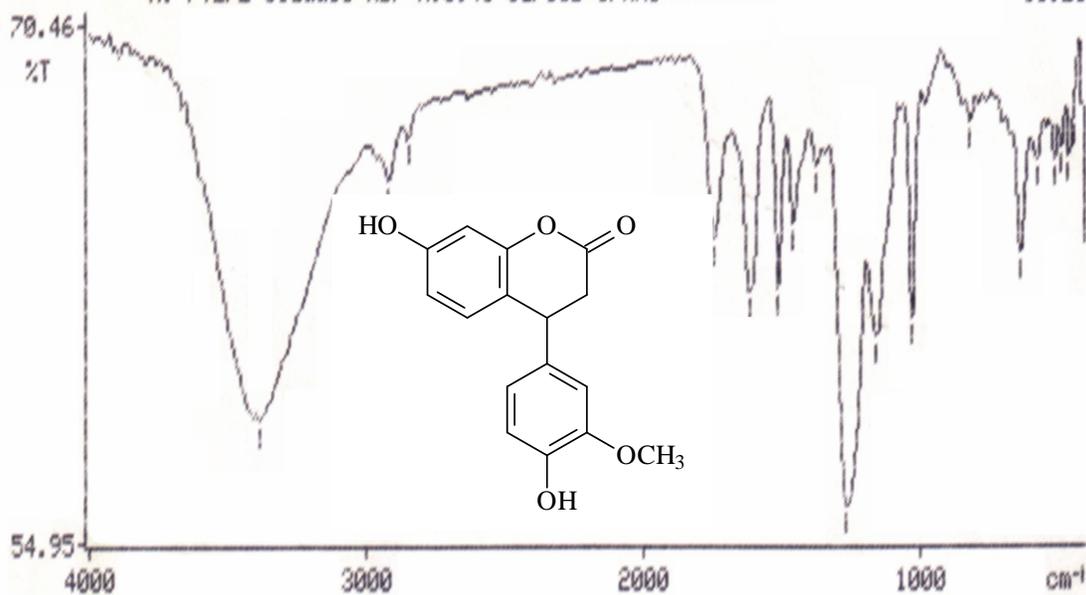


Anexo 55. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **101c-d**, respectivamente

3383.1,2923.2,2846.1,1747.4,1618.2,1515.2,1461.1,1376.9,1267.6=
1158.5,1033.3,822.0,640.6,579.2,517.8,493.7,466.3,446.1=

X: FV_FE Claudio KBr N:8940 Carlos UFRRJ

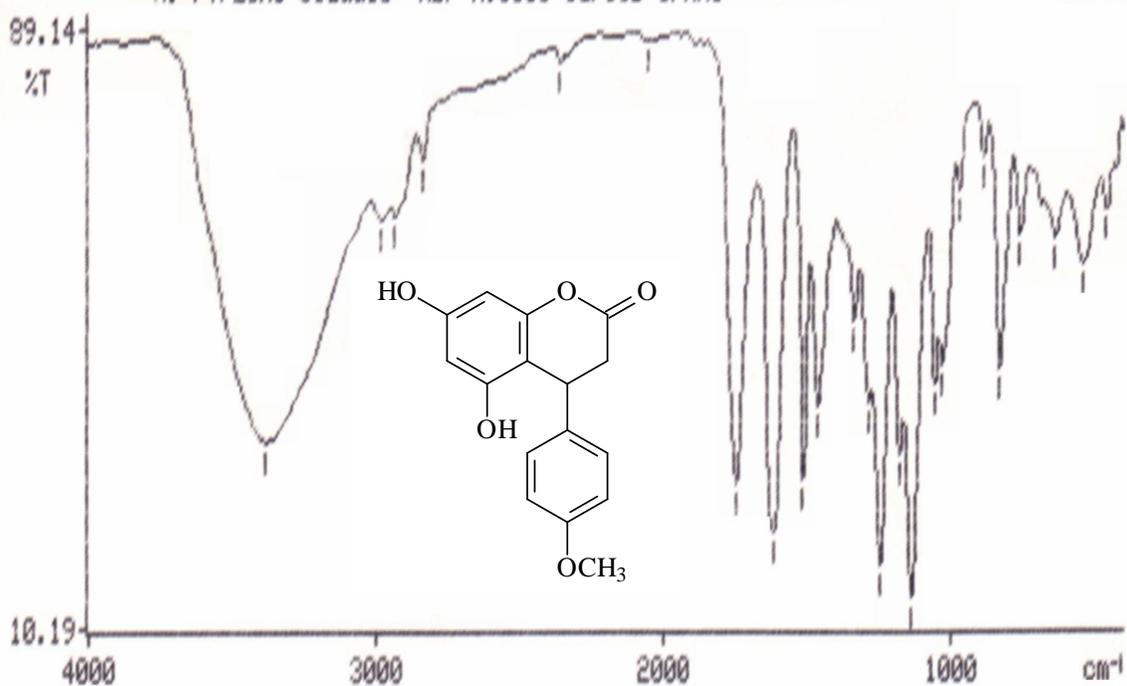
11:25



3382.3,2981.1,2934.9,2839.7,2358.6,2056.6,1747.8,1614.6,1512.6=
1463.6,1337.0,1285.4,1247.3,1179.6,1138.9,1057.1,1030.3,971.0,886.9=
830.9,759.3,637.0,539.7,458.0=

X: FVF_OH3 Claudio KBr N:8868 Carlos UFRRJ

09:51

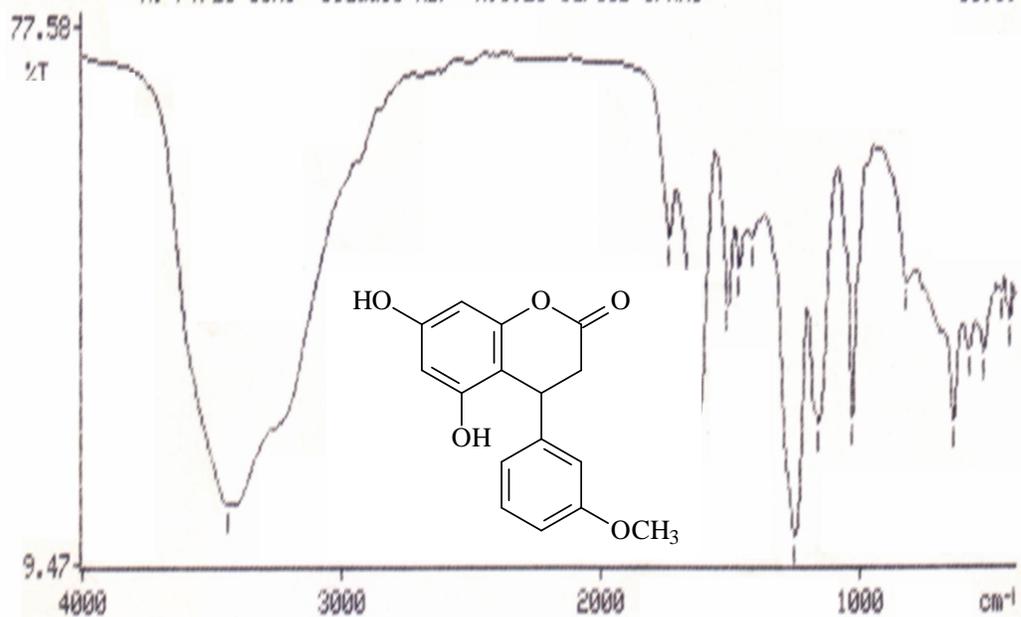


Anexo 56. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **101e-f**, respectivamente.

3438.0,1737.5,1630.9,1511.6,1467.7,1416.0,1252.3,1160.1,1031.8,820.0,640.1,580.1,
,523.1,456.4,424.3=

X: FVF_3 OCH3 Claudio KBr N:8923 Carlos UFRRJ

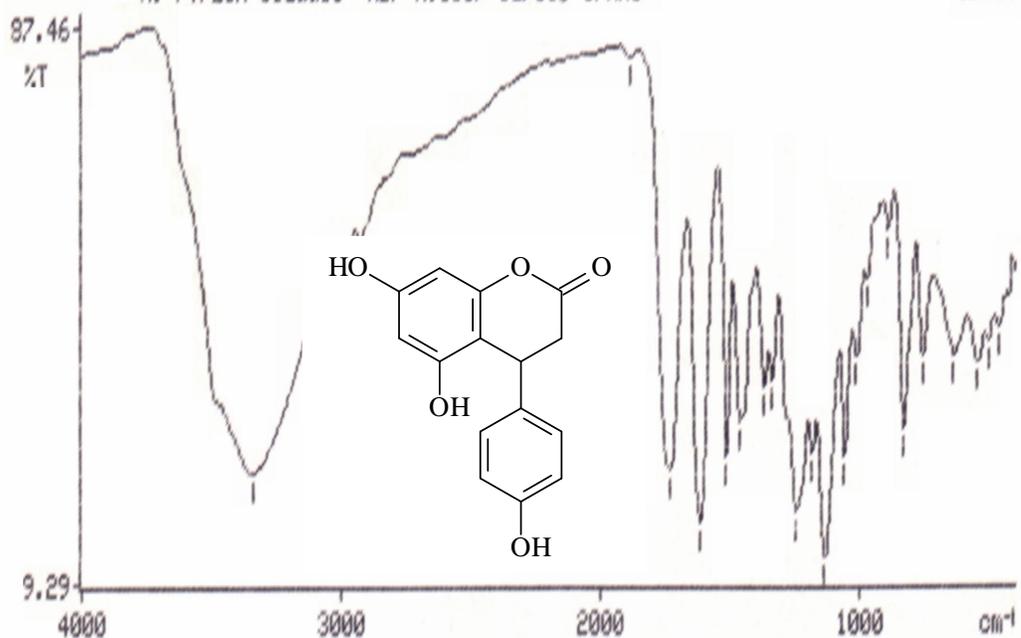
10:09



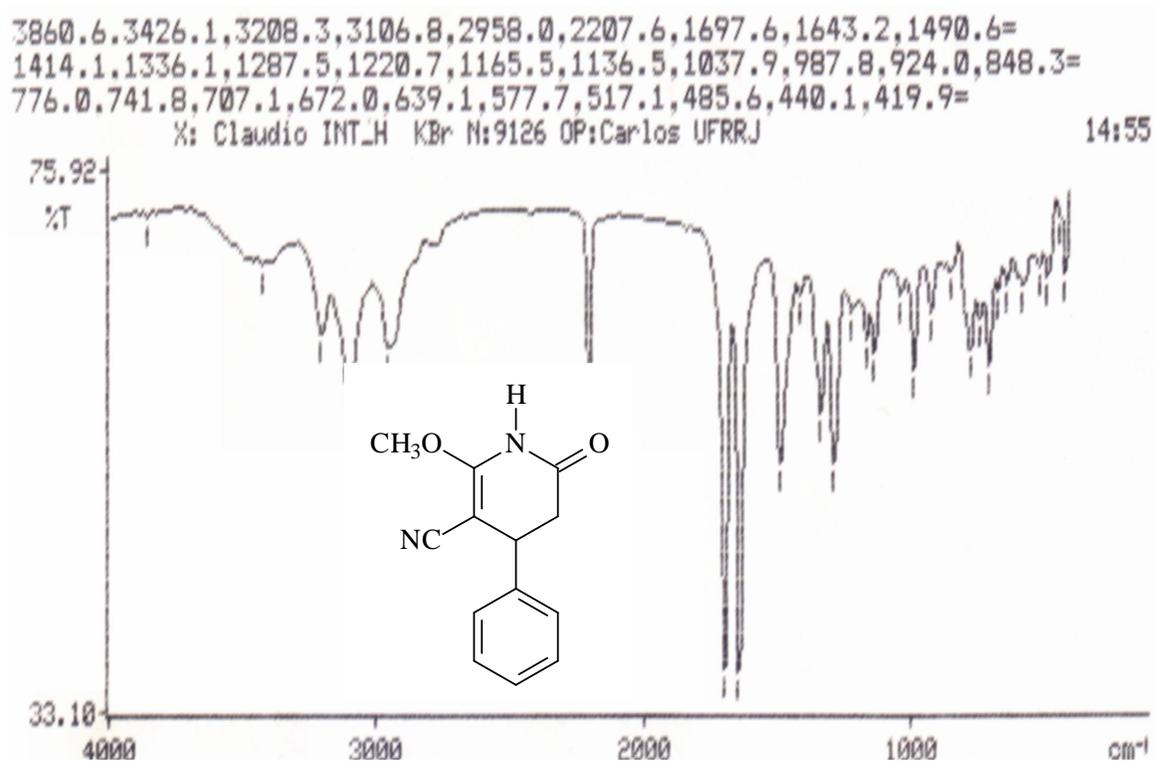
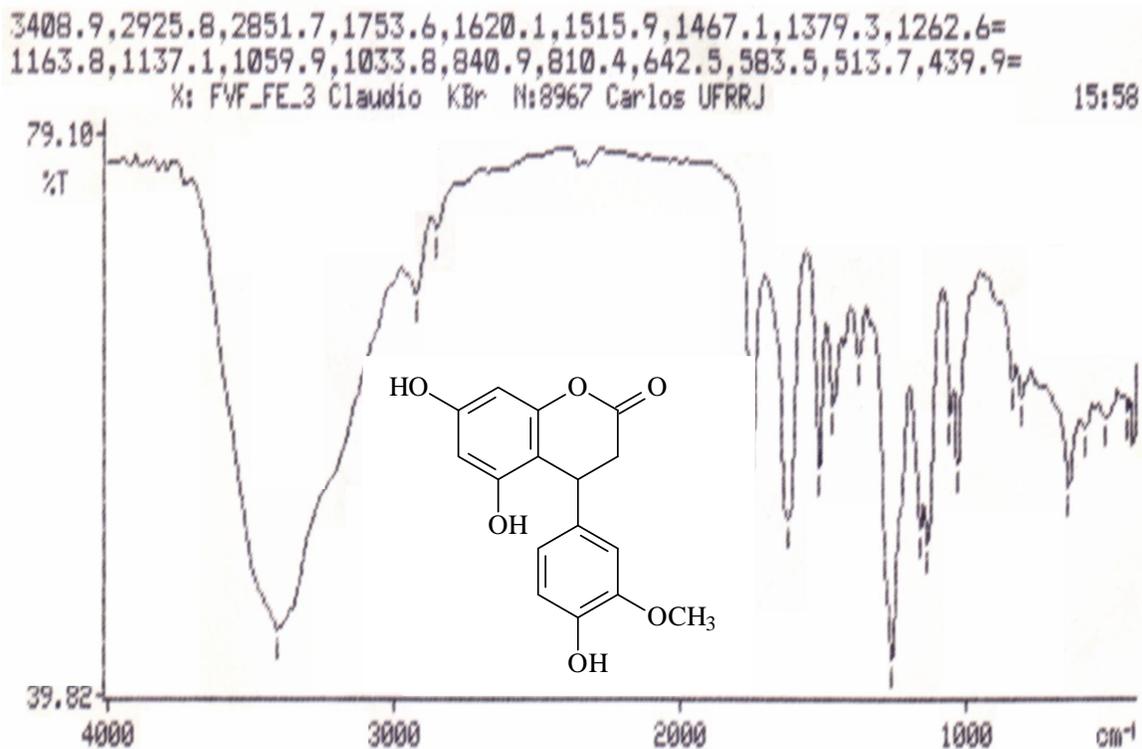
3341.8,2983.2,2929.5,1884.6,1730.1,1614.6,1513.4,1461.8,1369.2,1338.1=
1245.4,1183.4,1134.7,1059.3,1011.7,972.1,889.9,831.6,757.4,635.2,546.8,503.0,461.
.0=

X: FVF_OH Claudio KBr N:8867 Carlos UFRRJ

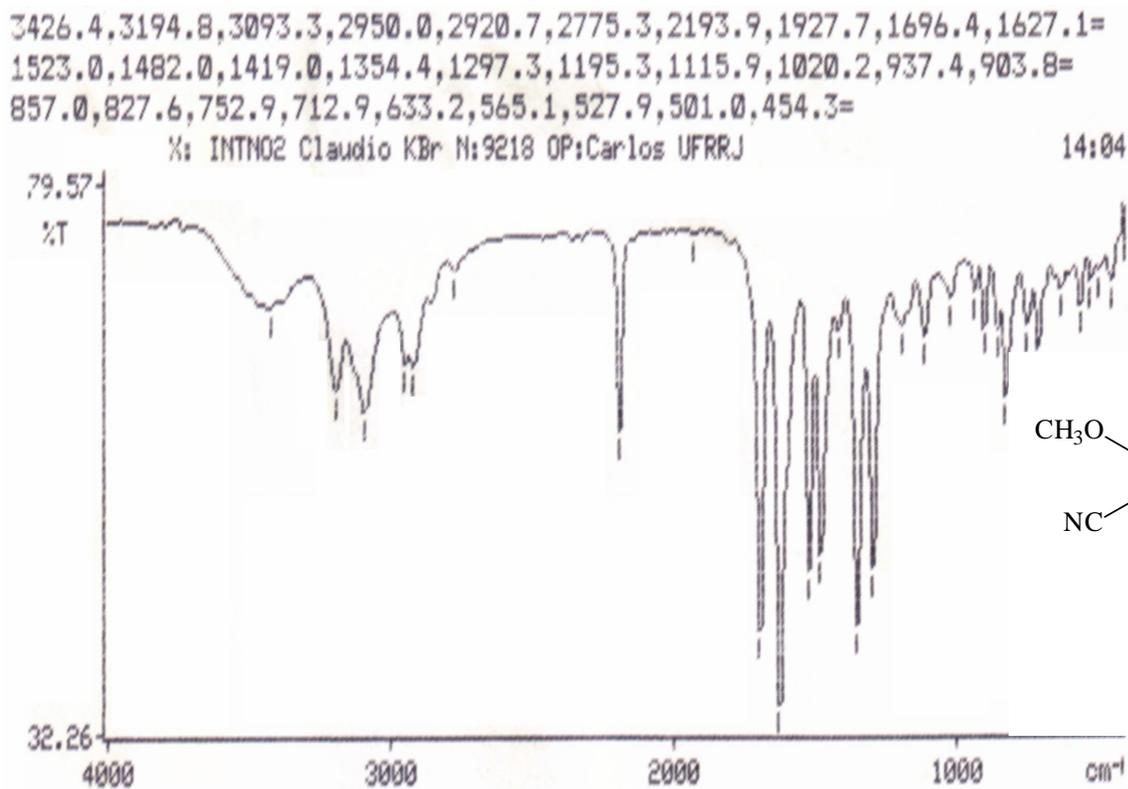
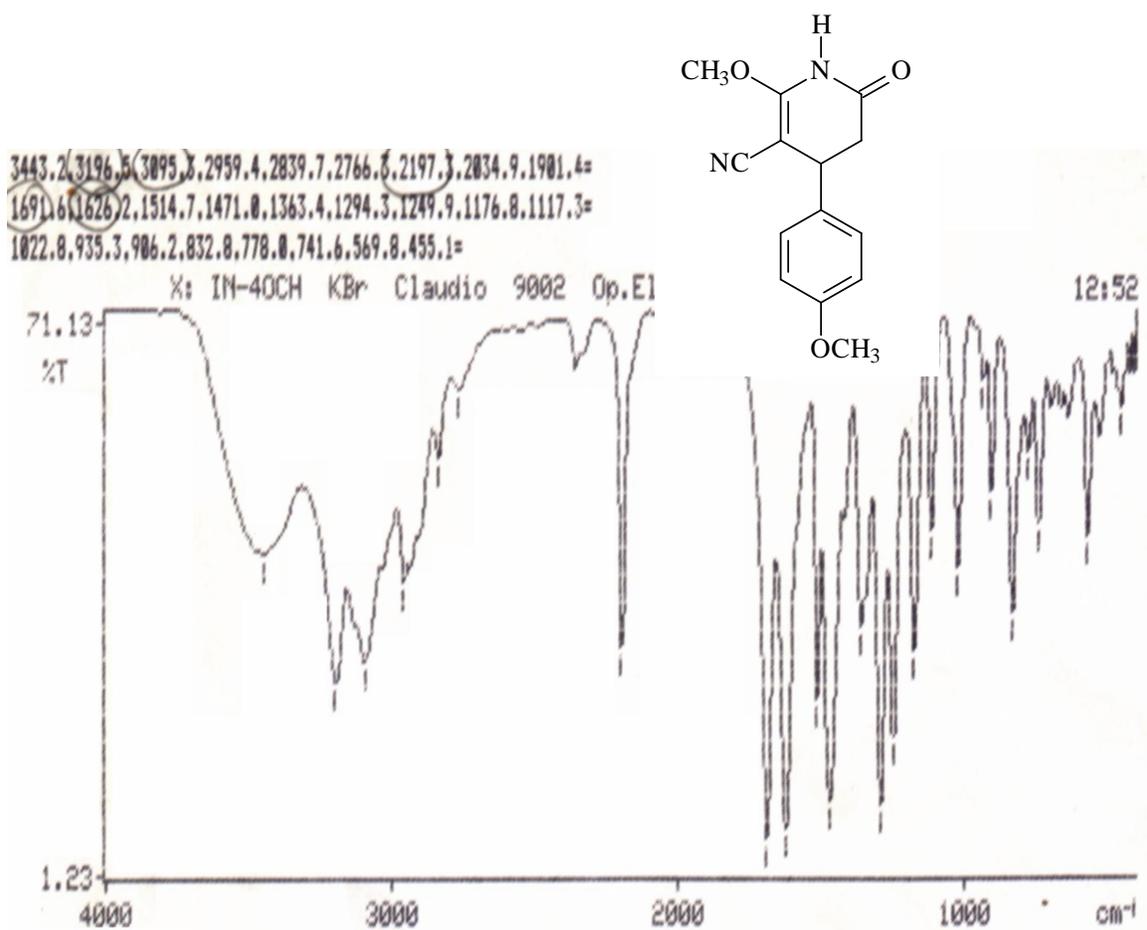
09:36



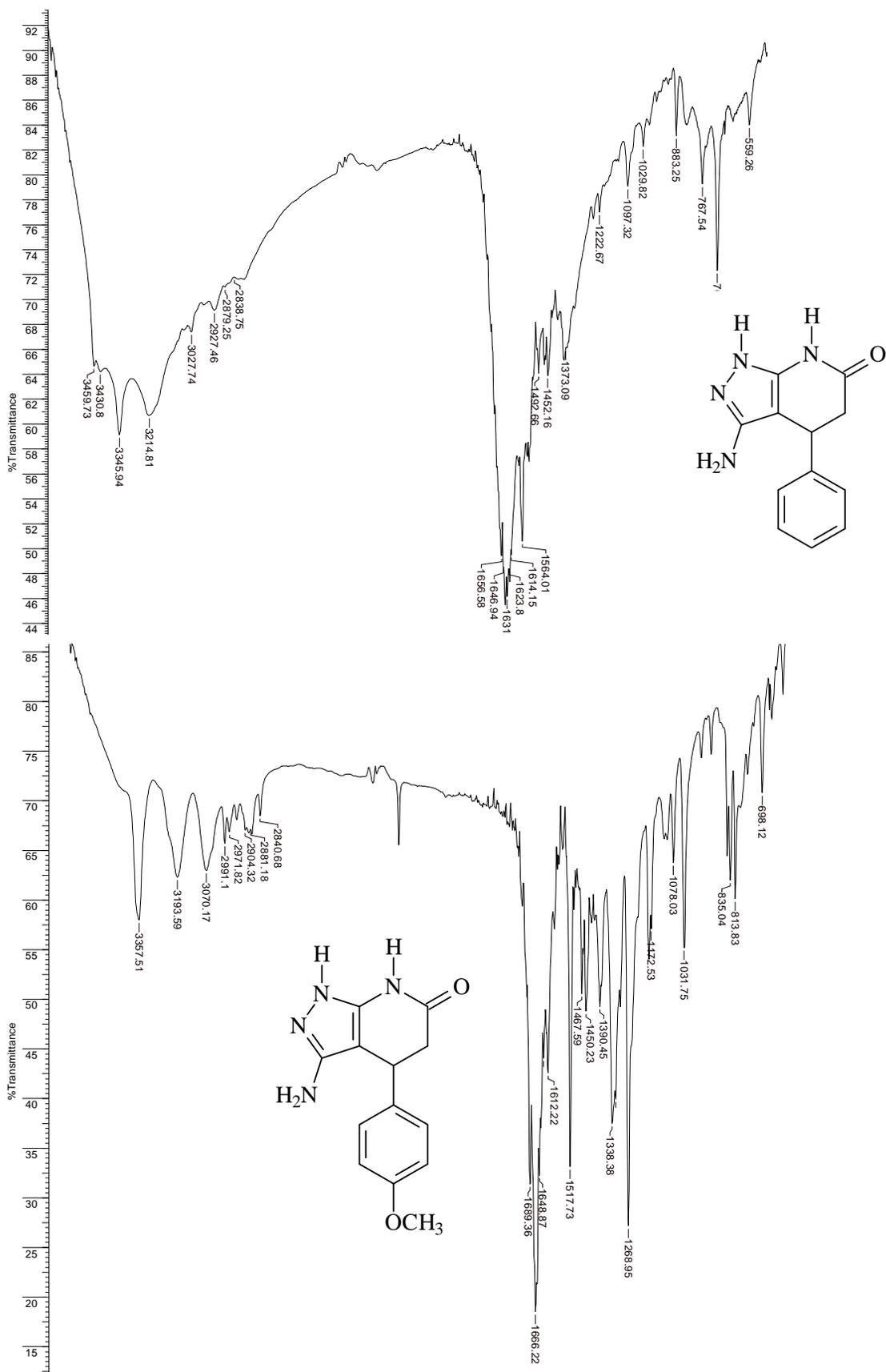
Anexo 57. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **101g-h**, respectivamente



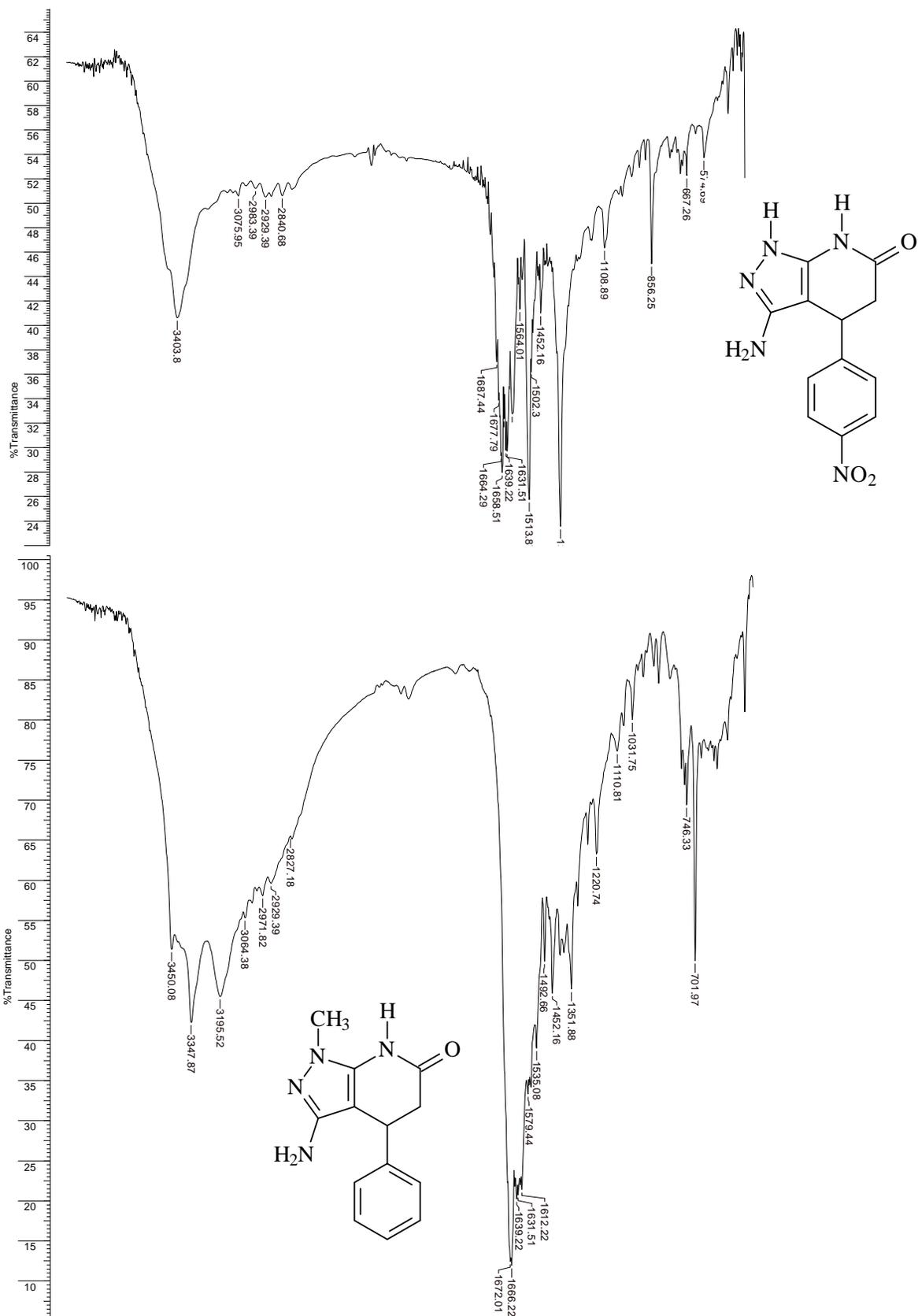
Anexo 58. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **101i** e **103a**, respectivamente.



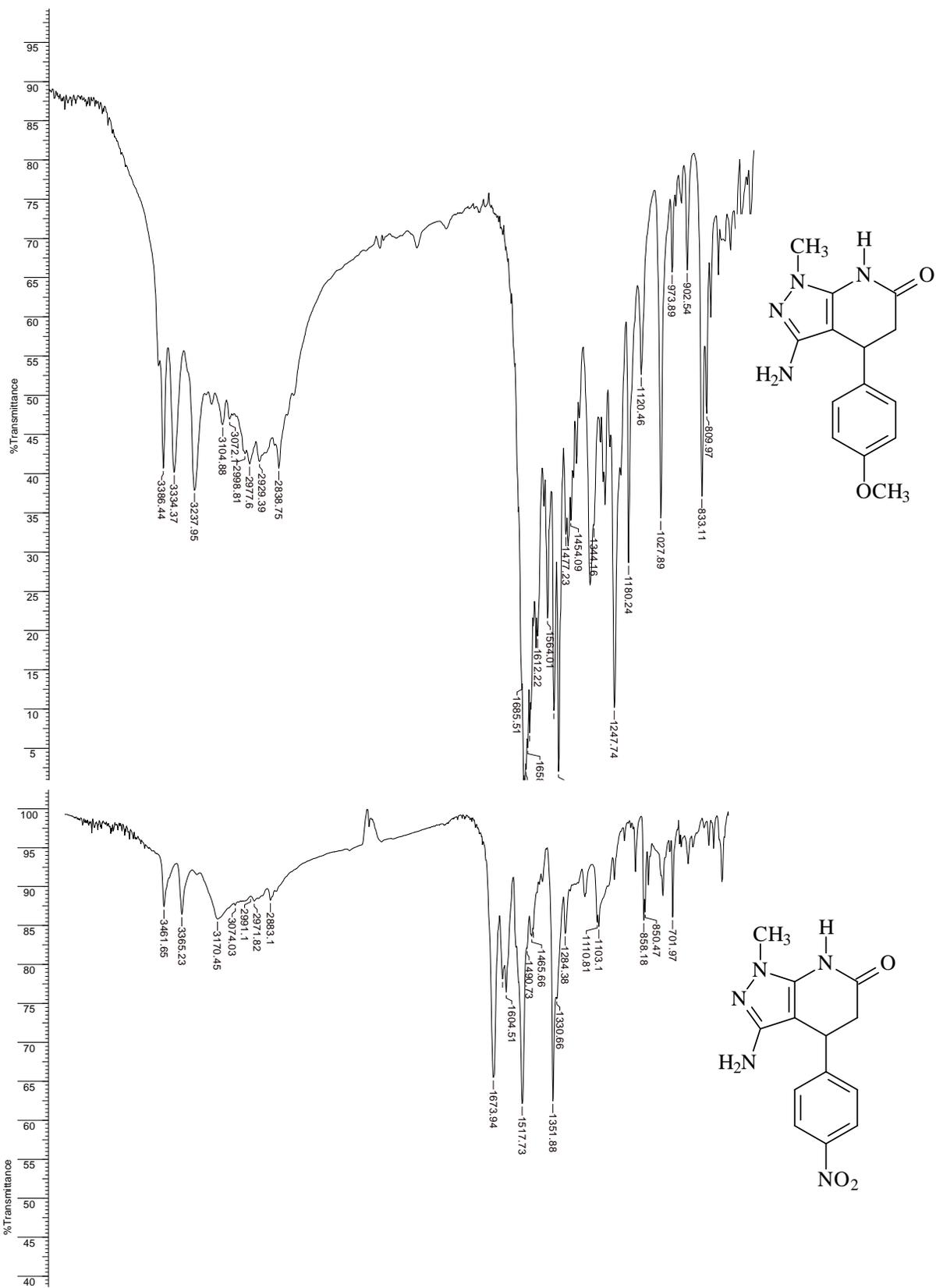
Anexo 59. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **103b-c**, respectivamente.



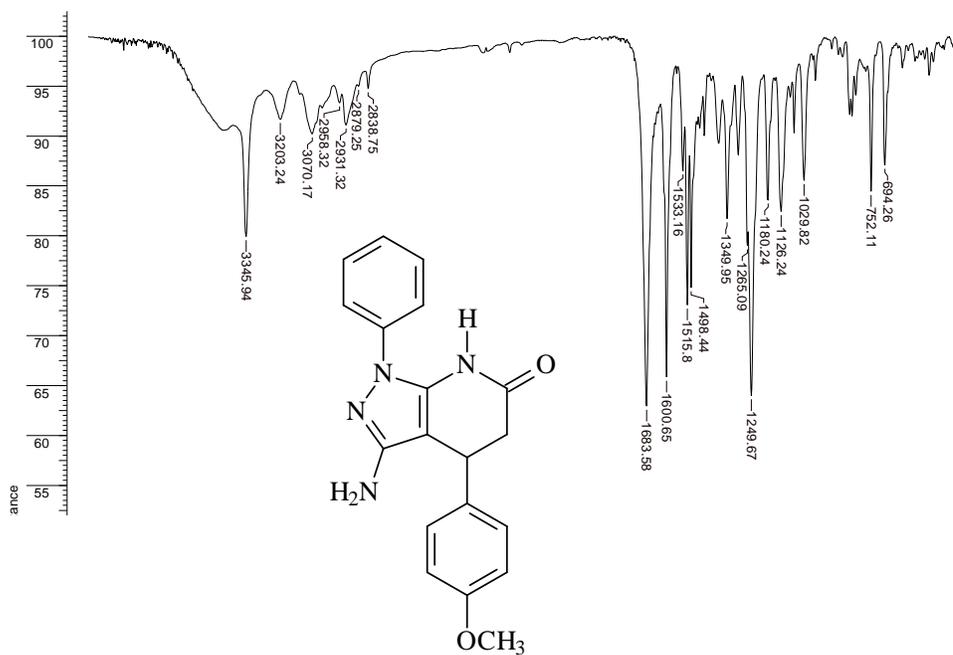
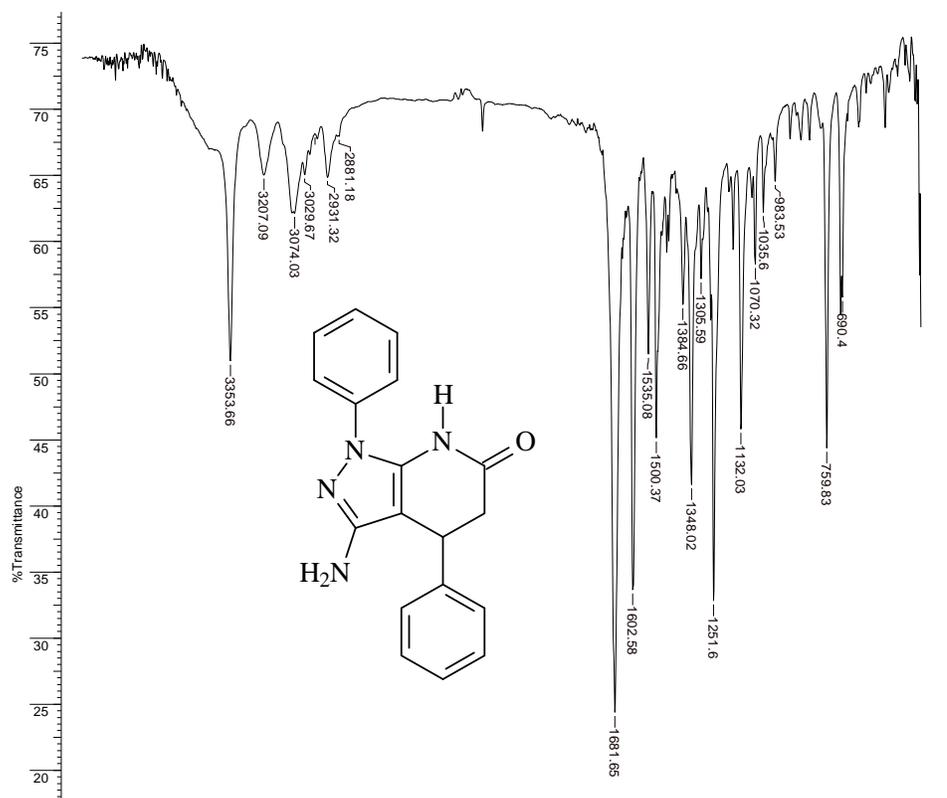
Anexo 60. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **105a-b**, respectivamente.



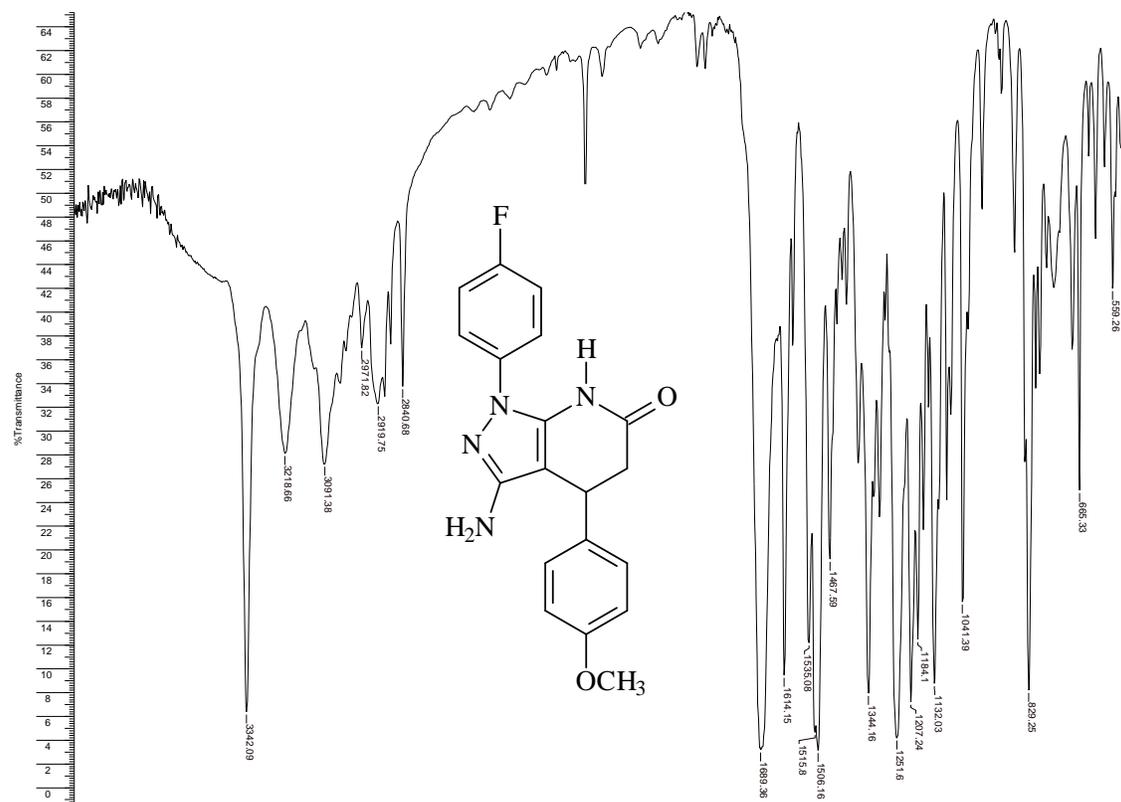
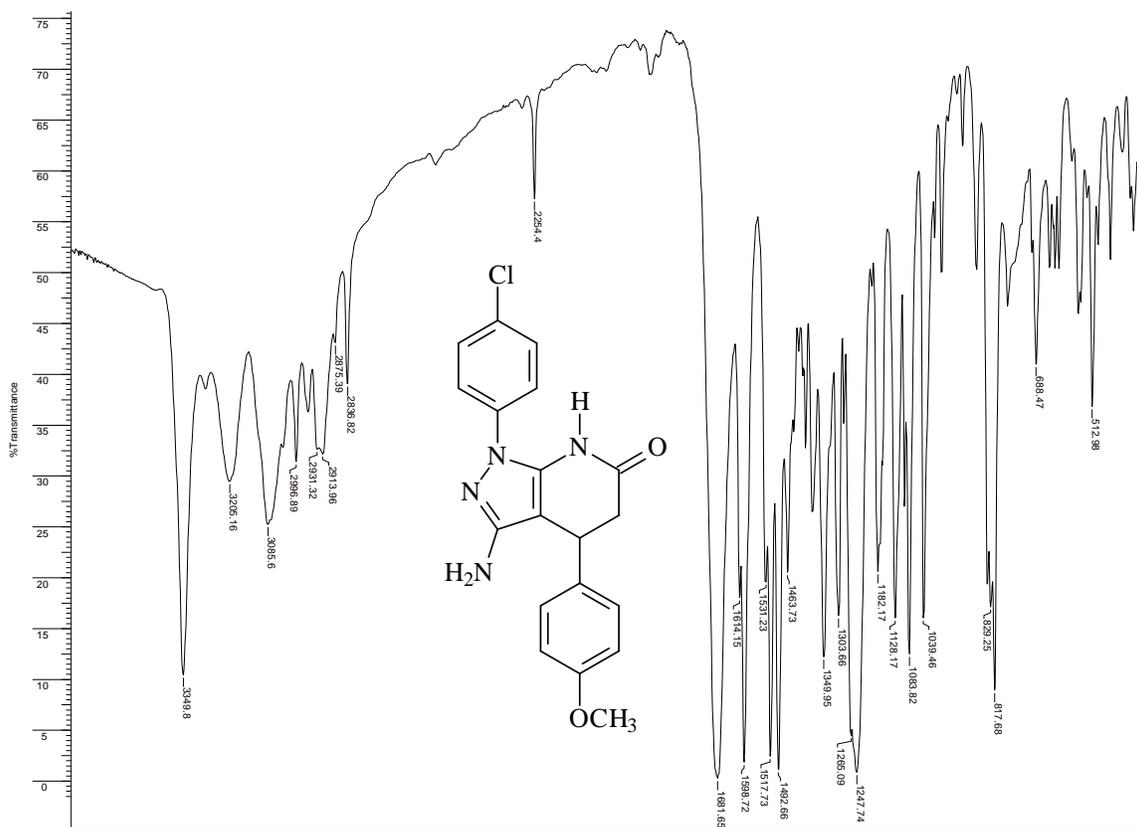
Anexo 61. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **105c-d**, respectivamente.



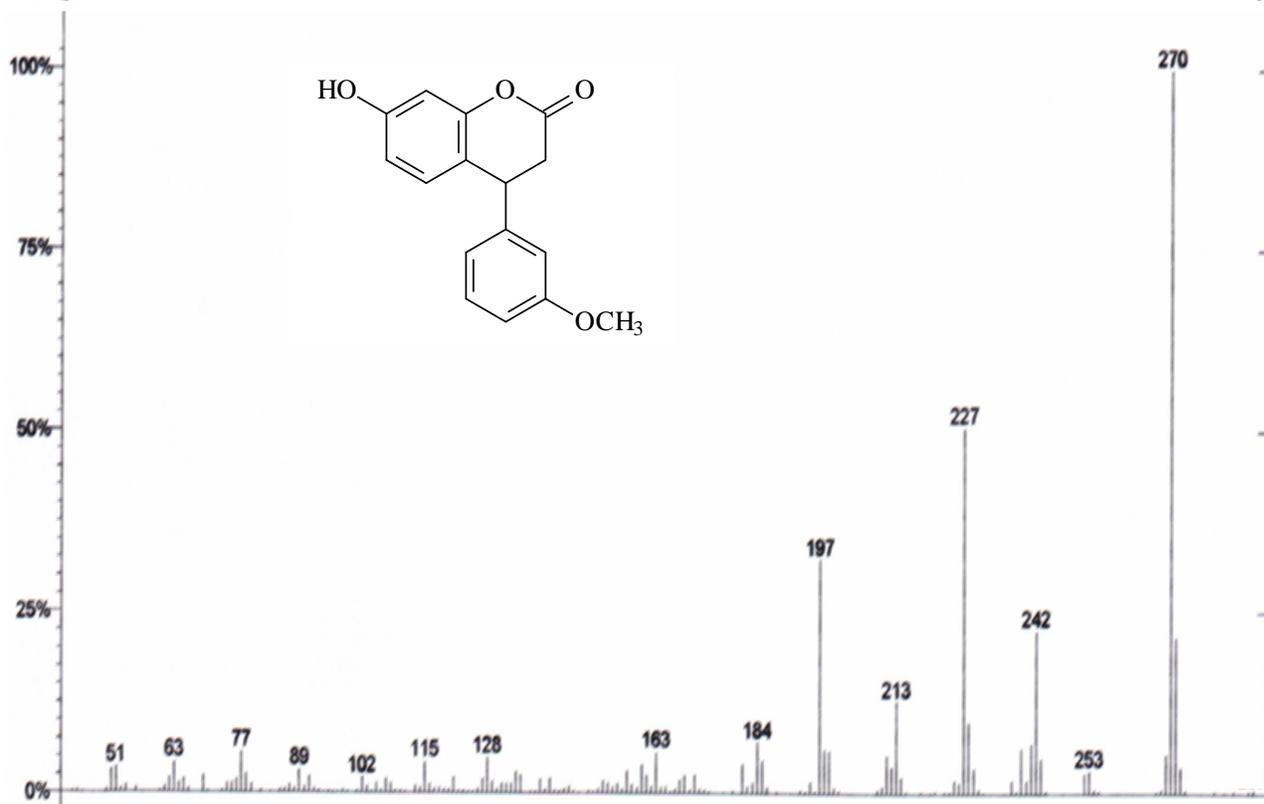
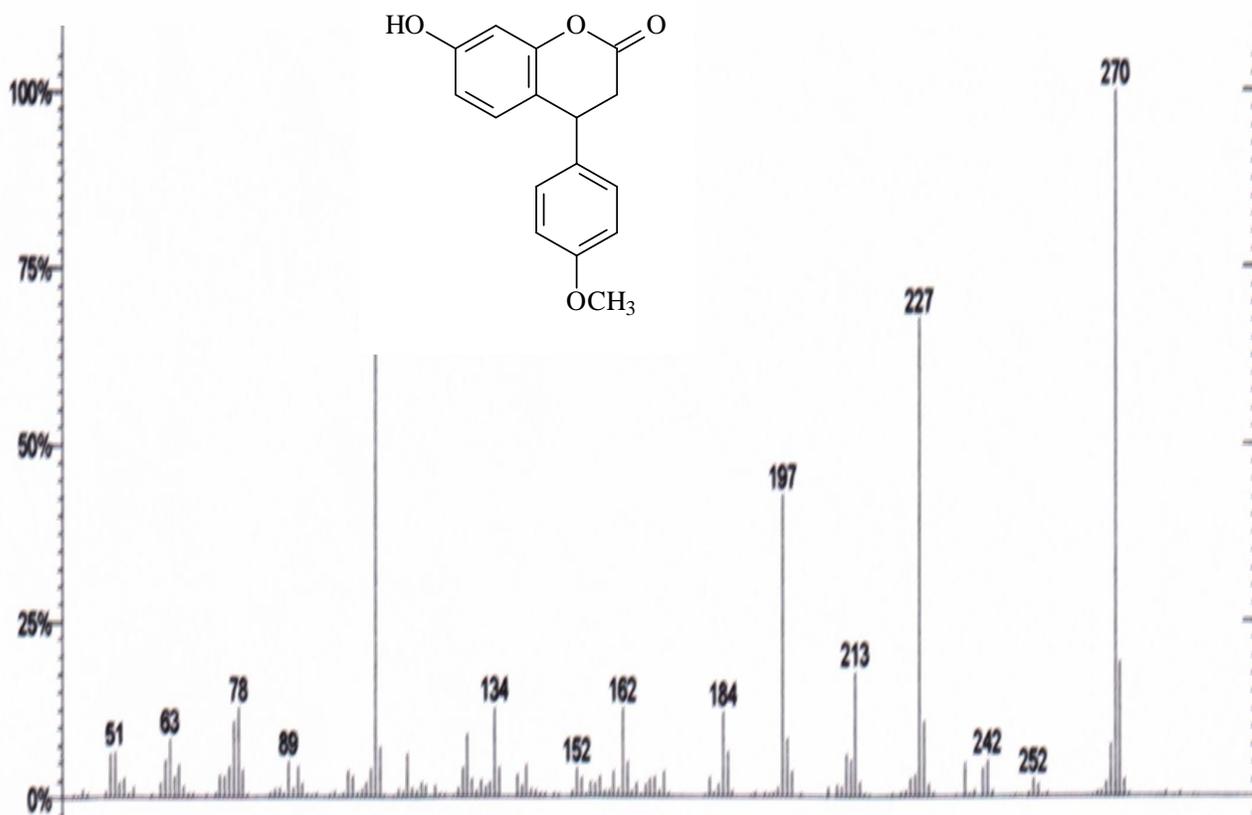
Anexo 62. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **105e-f**, respectivamente.



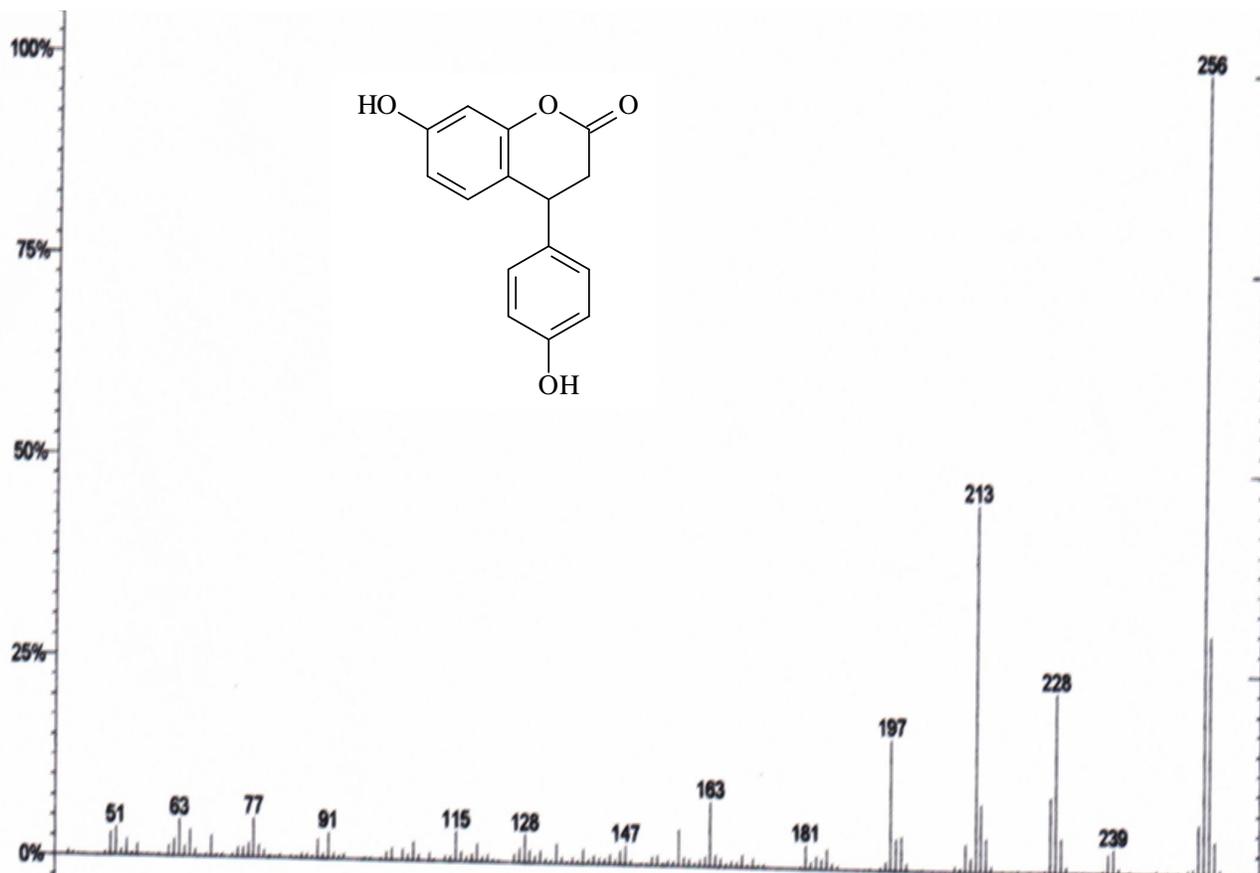
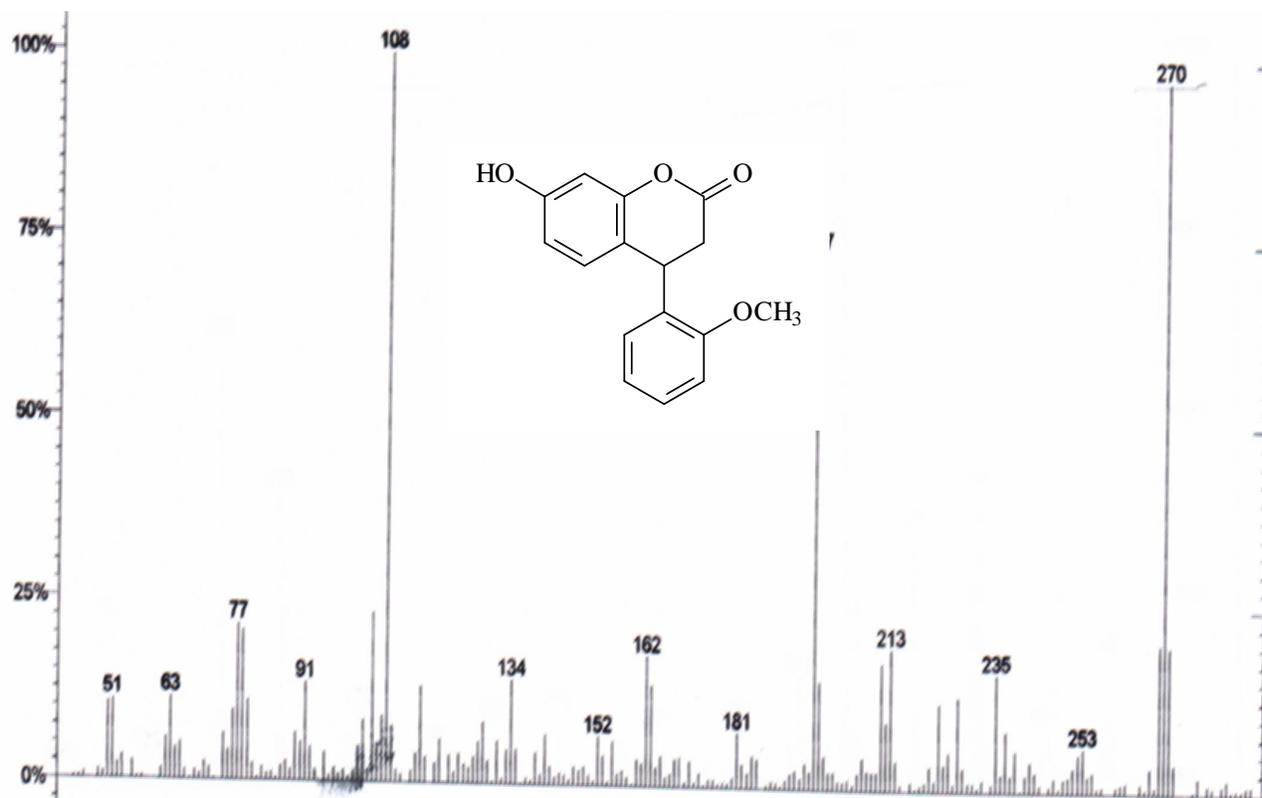
Anexo 63. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **105g-h**, respectivamente.



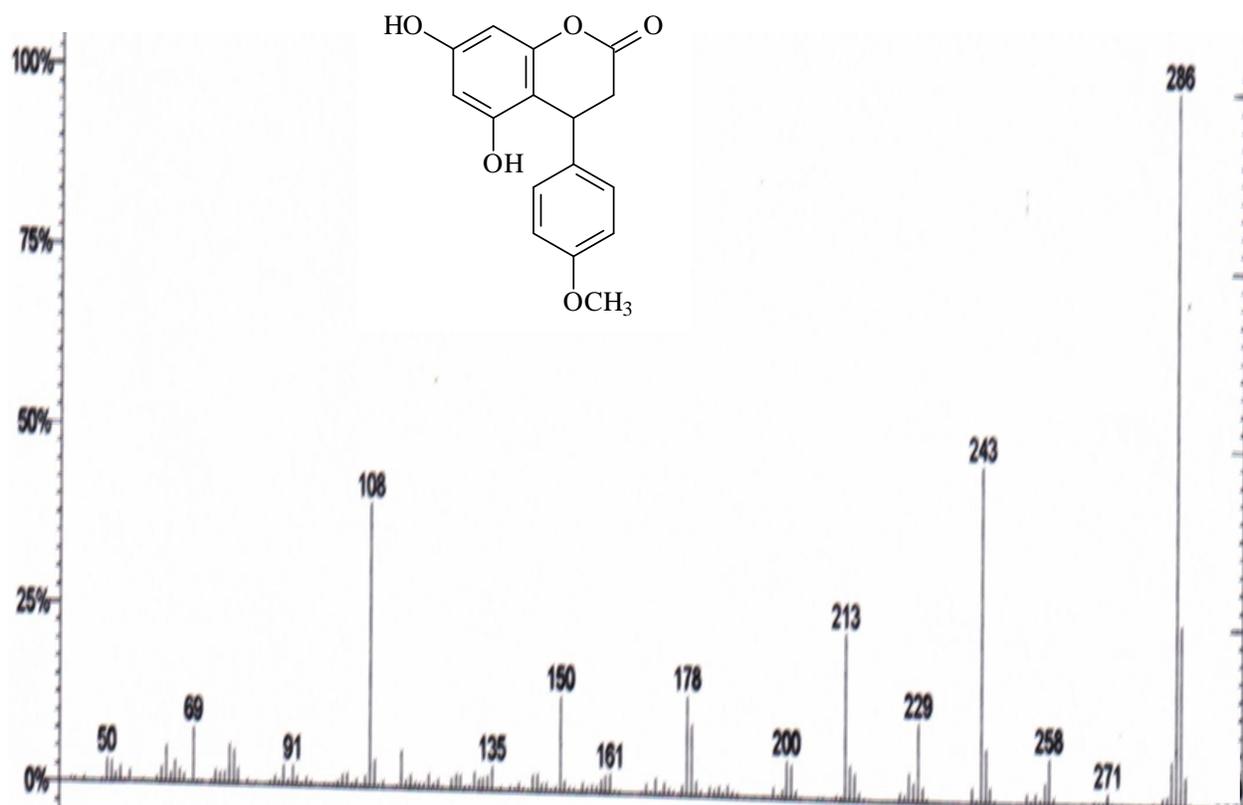
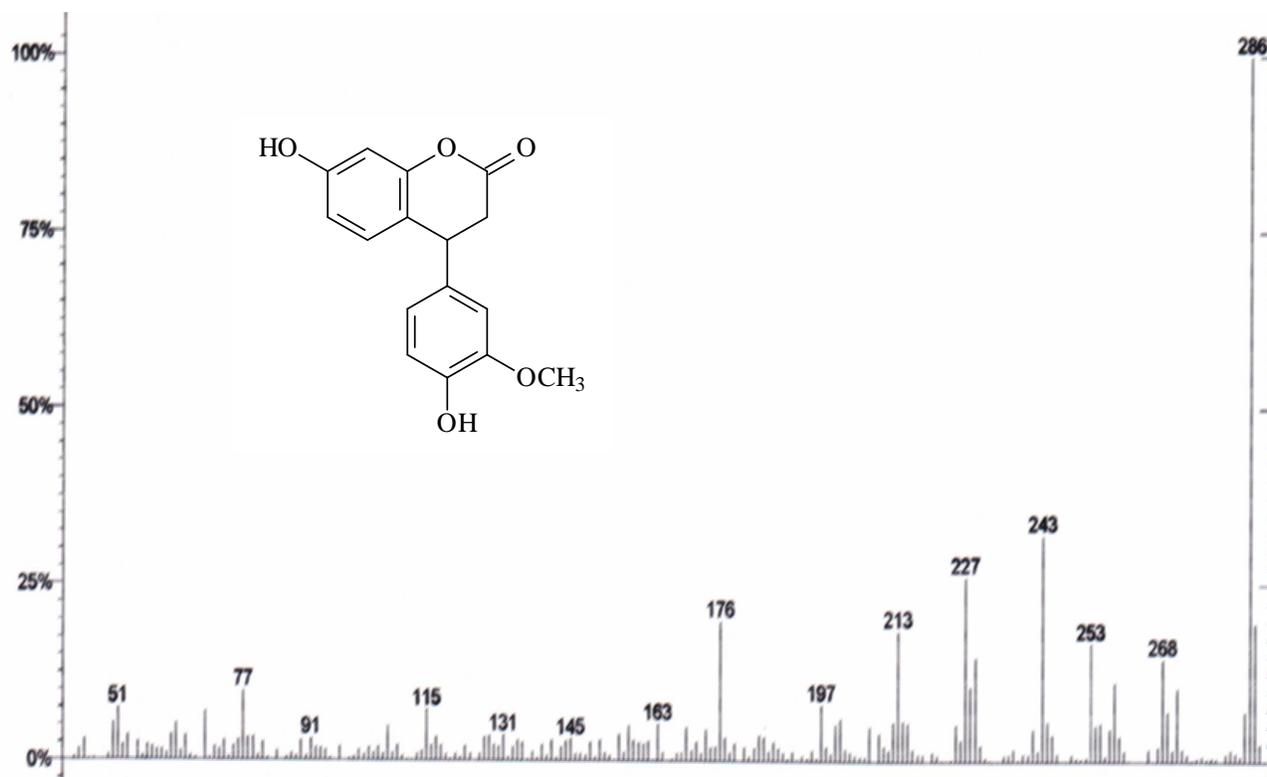
Anexo 65. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **105k-1**, respectivamente



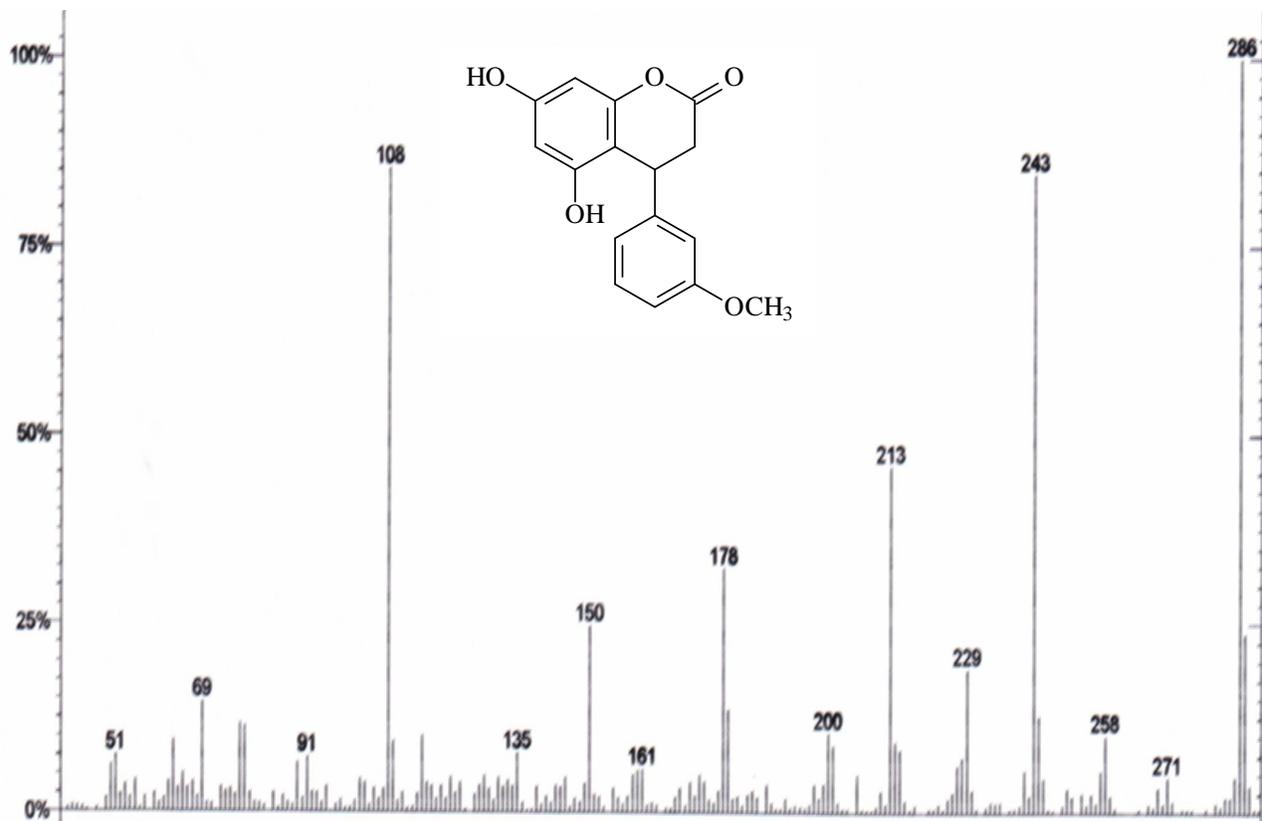
Anexo 66. Espectros de massas dos compostos **101a-b**, respectivamente.



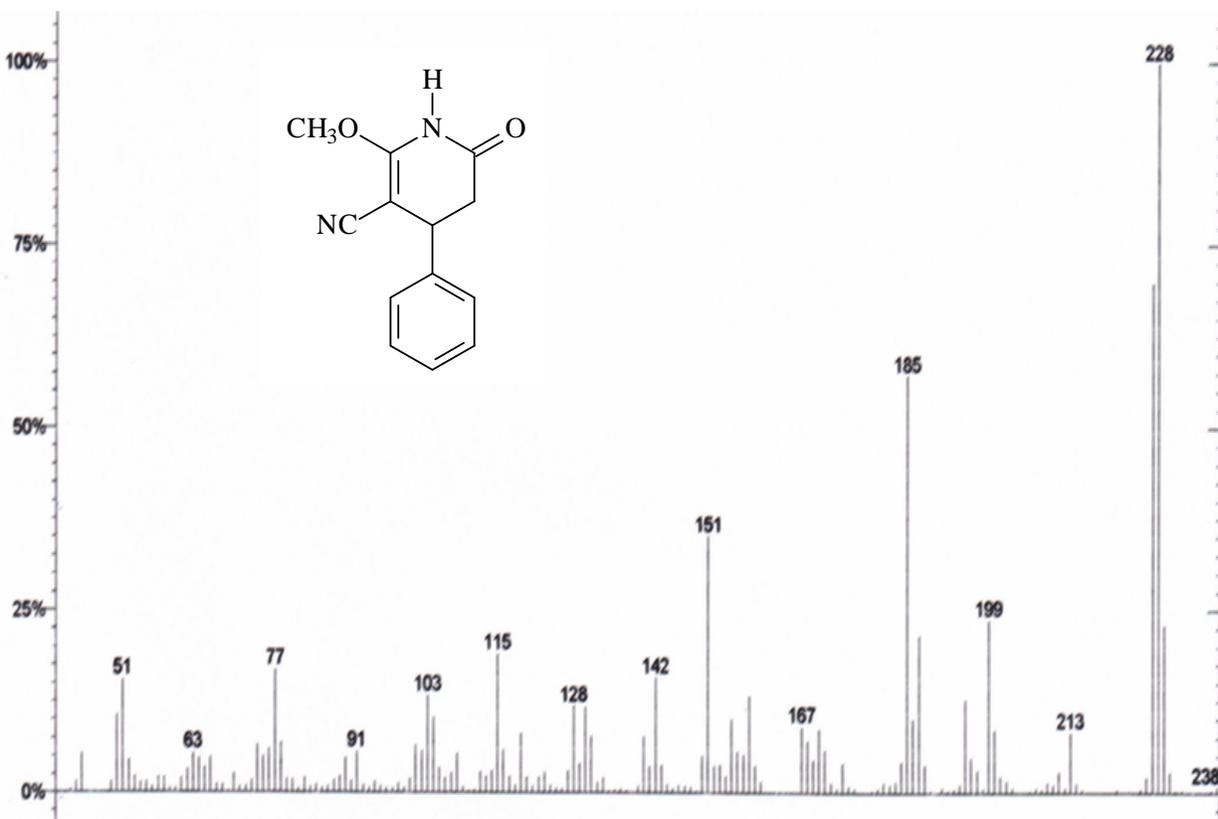
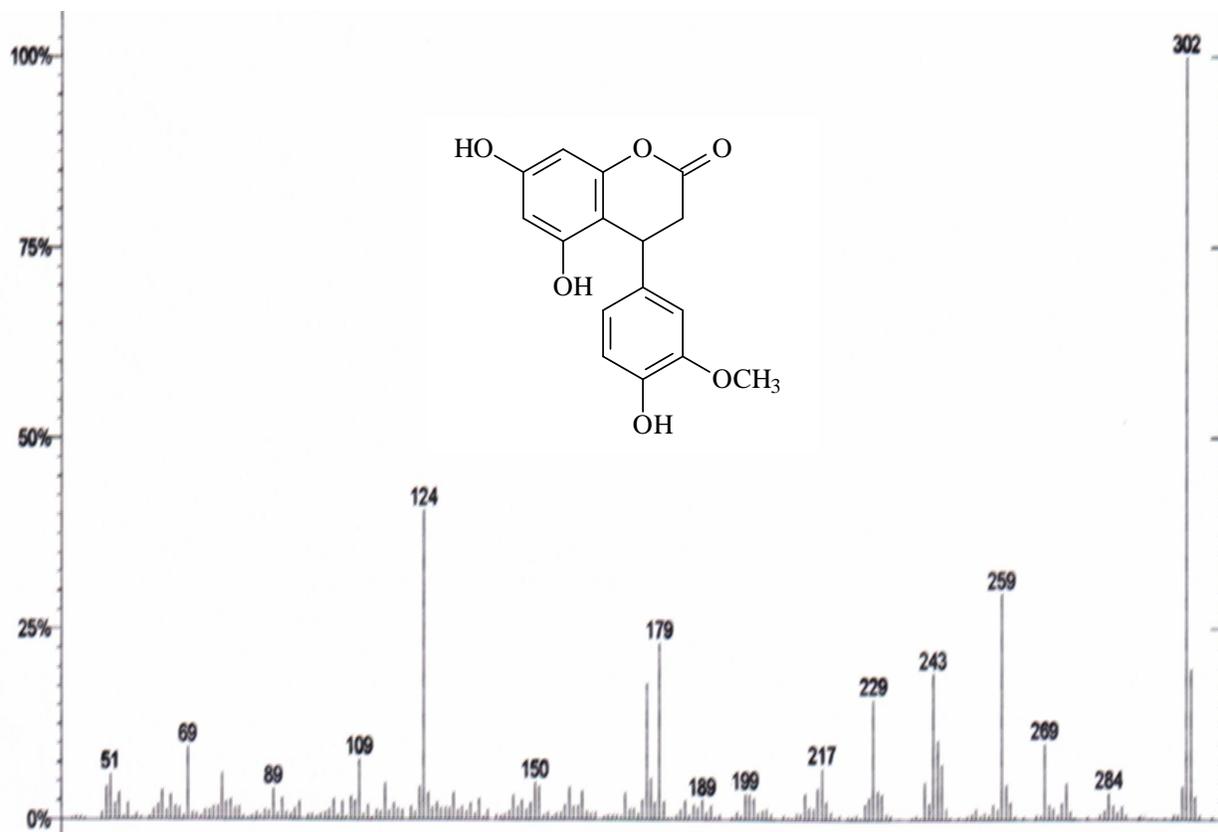
Anexo 67. Espectros de massas dos compostos **101c-d**, respectivamente.



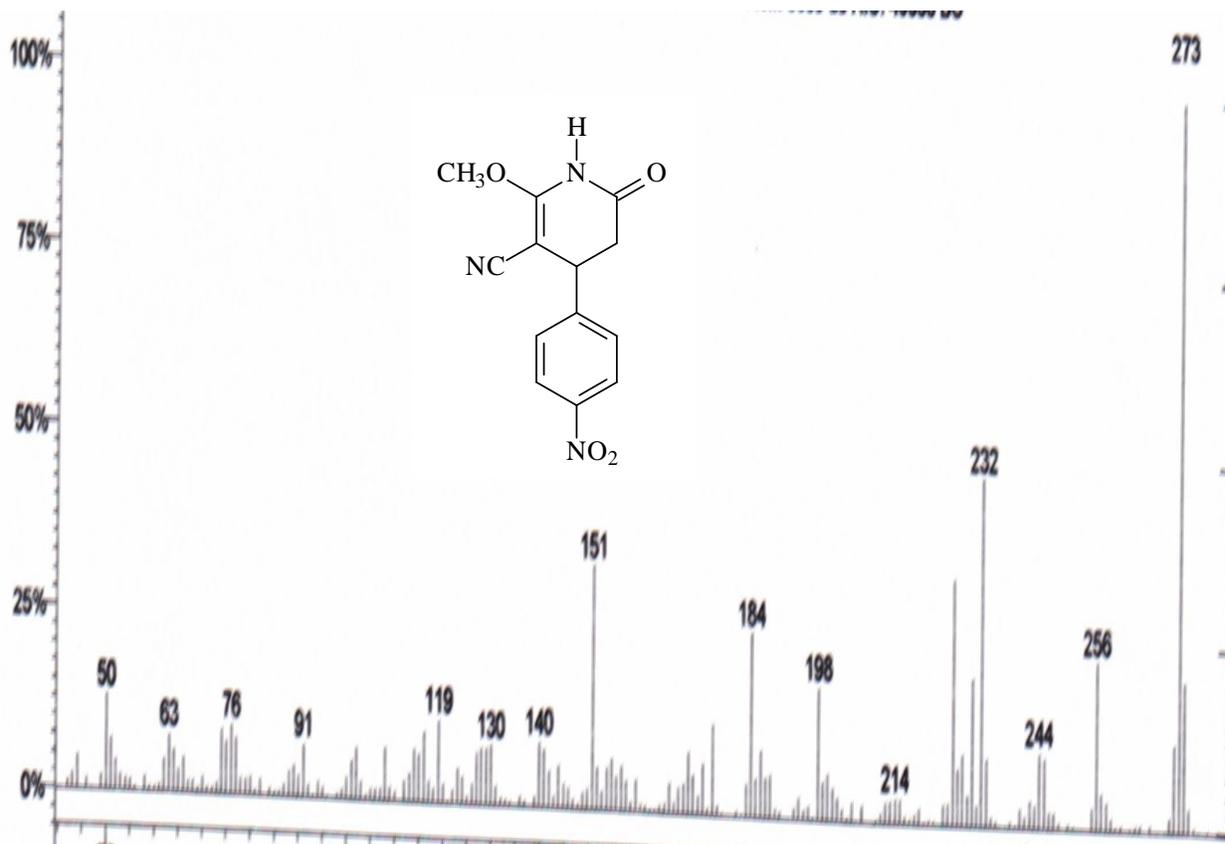
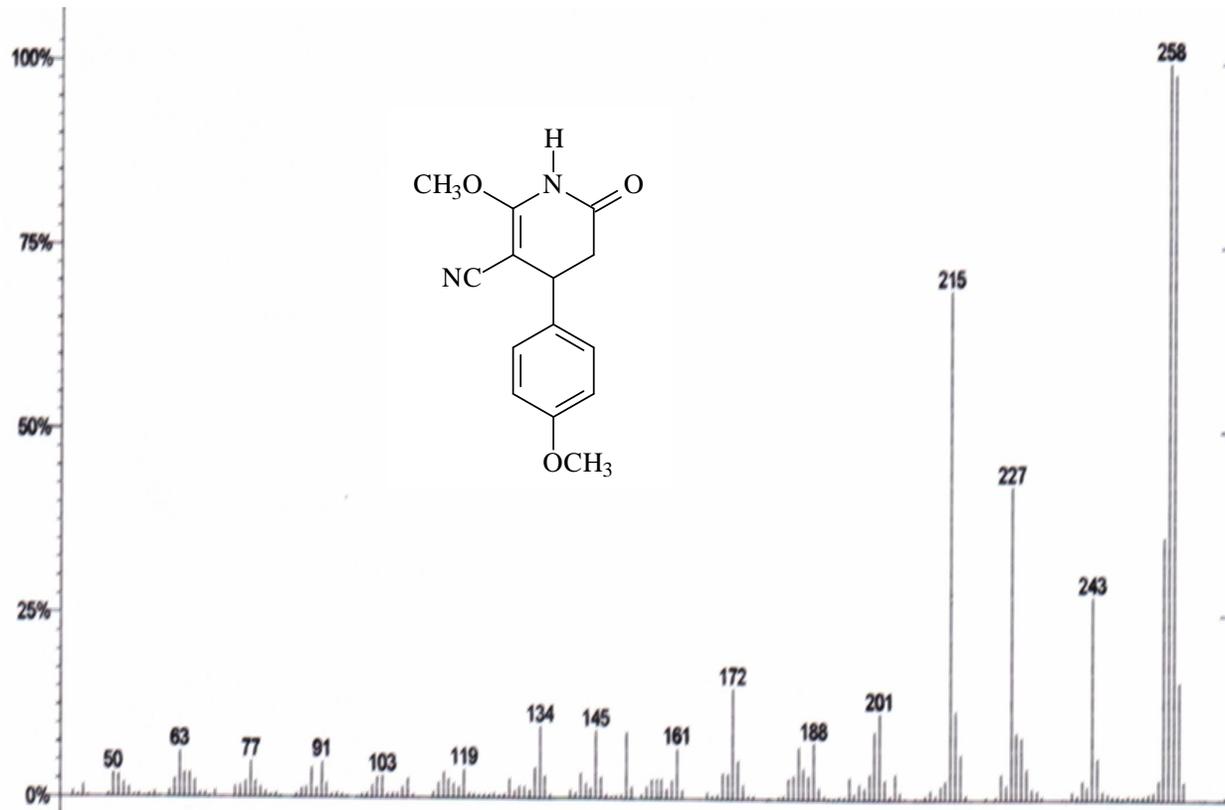
Anexo 68. Espectros de massas dos compostos **101e-f**, respectivamente.



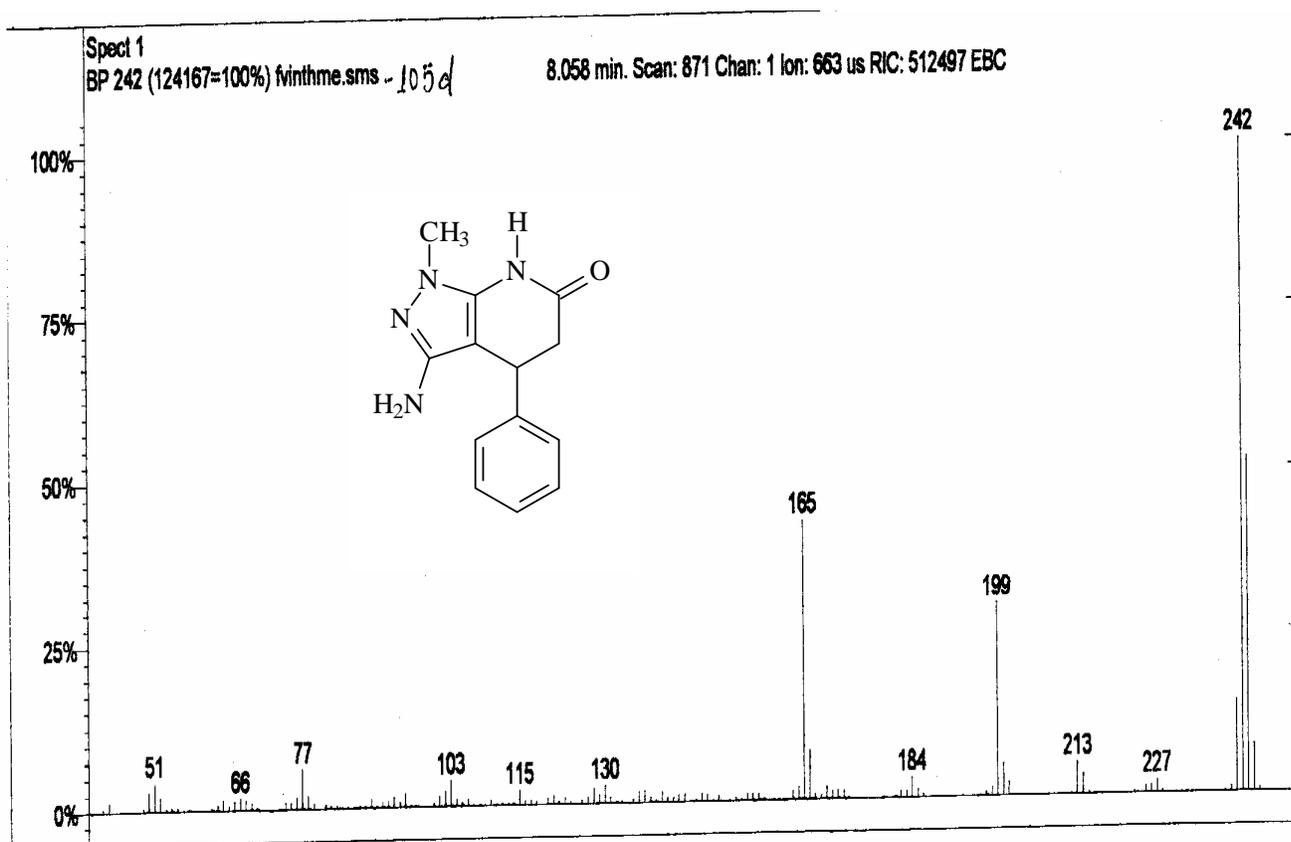
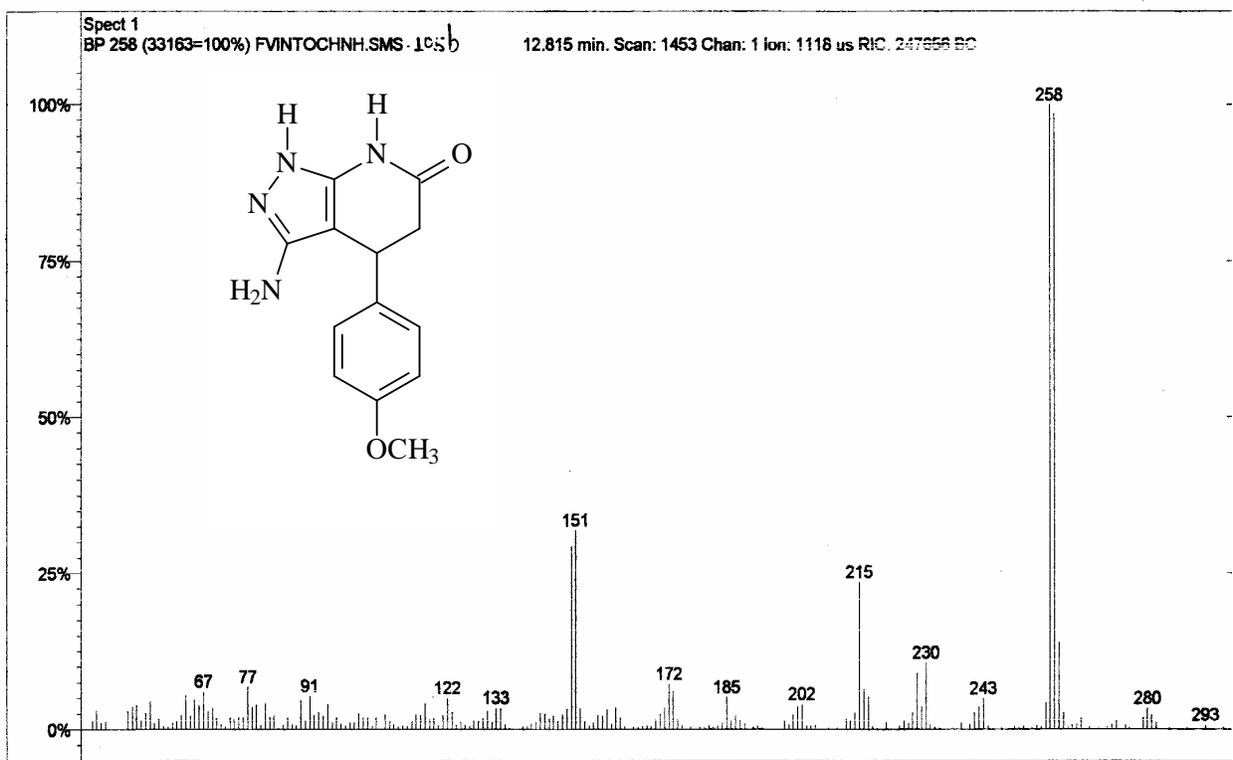
Anexo 69. Espectros de massas dos compostos **101g-h**, respectivamente.



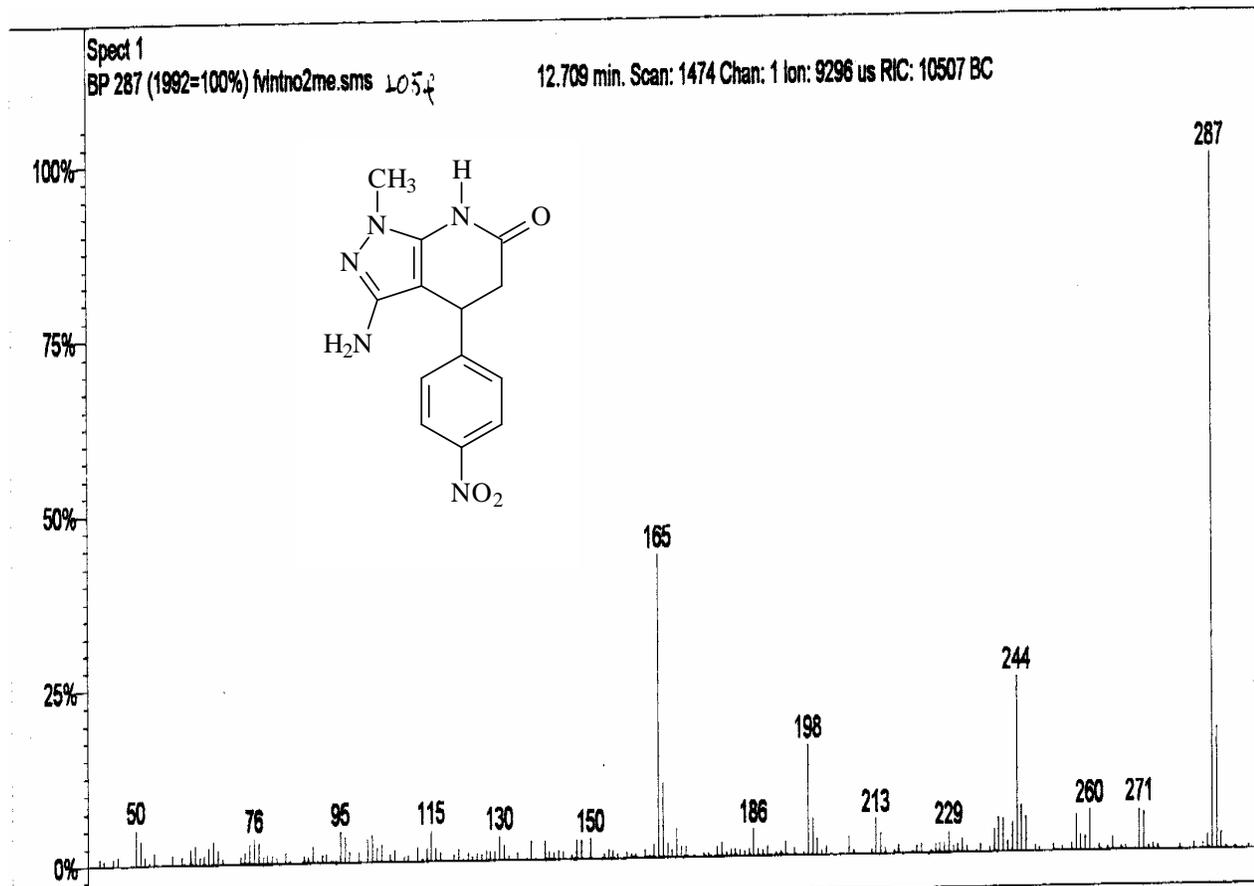
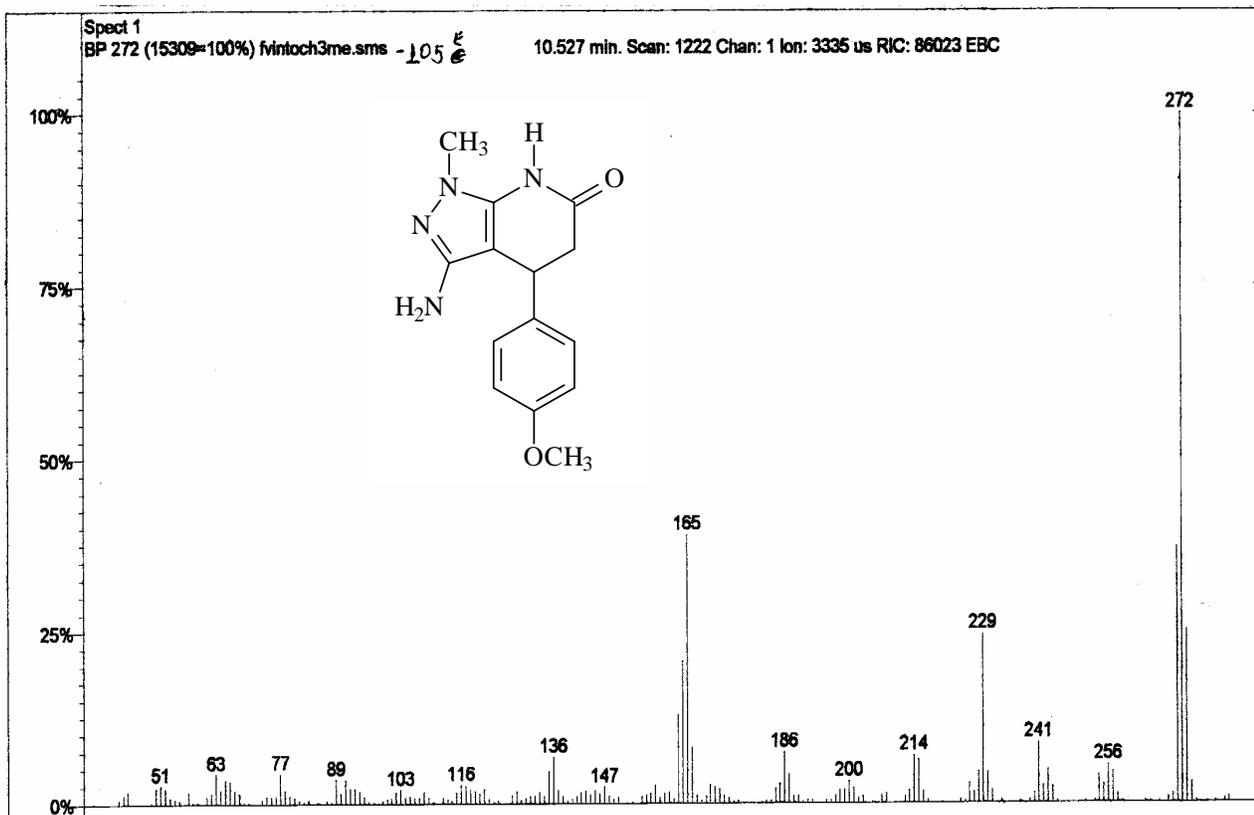
Anexo 70. Espectros de massas dos compostos **101i** e **103a**, respectivamente.



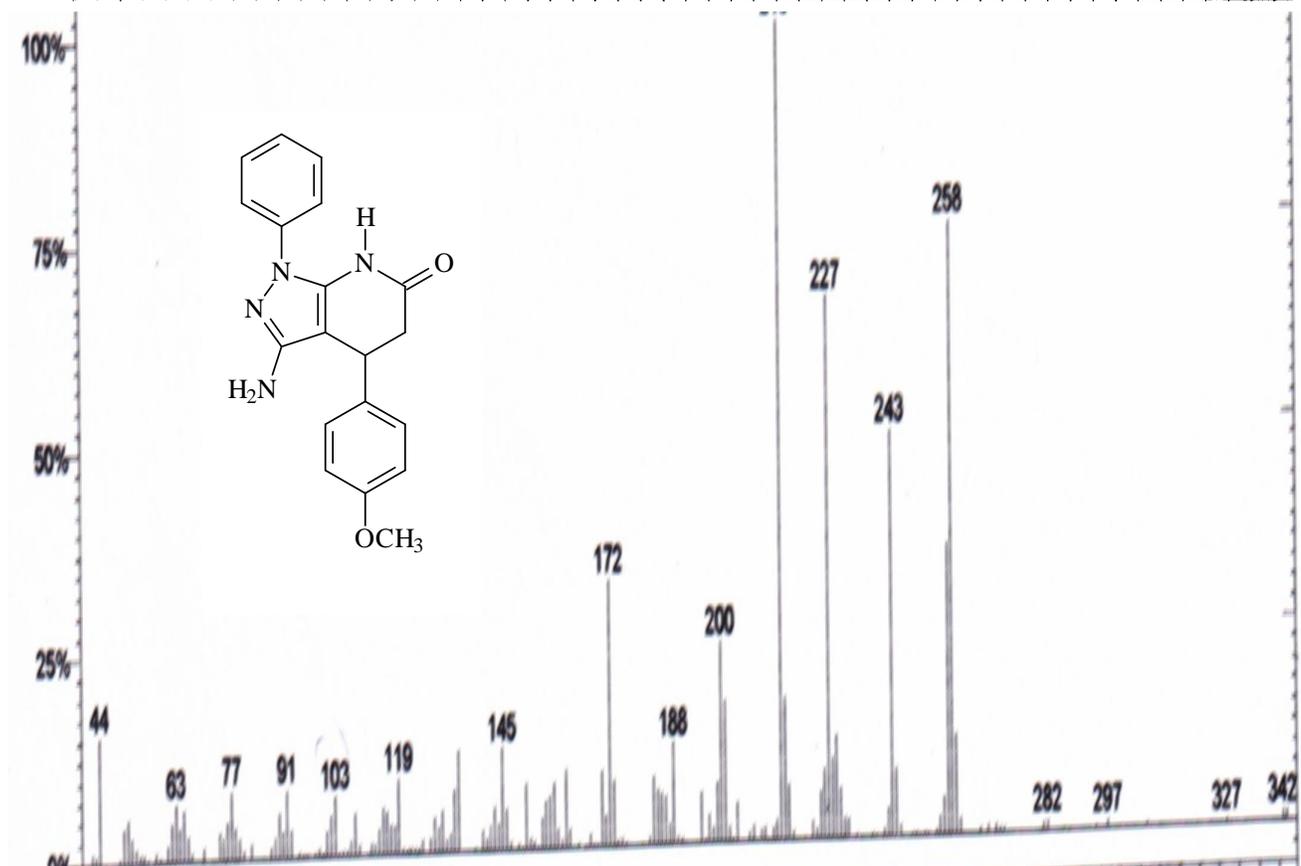
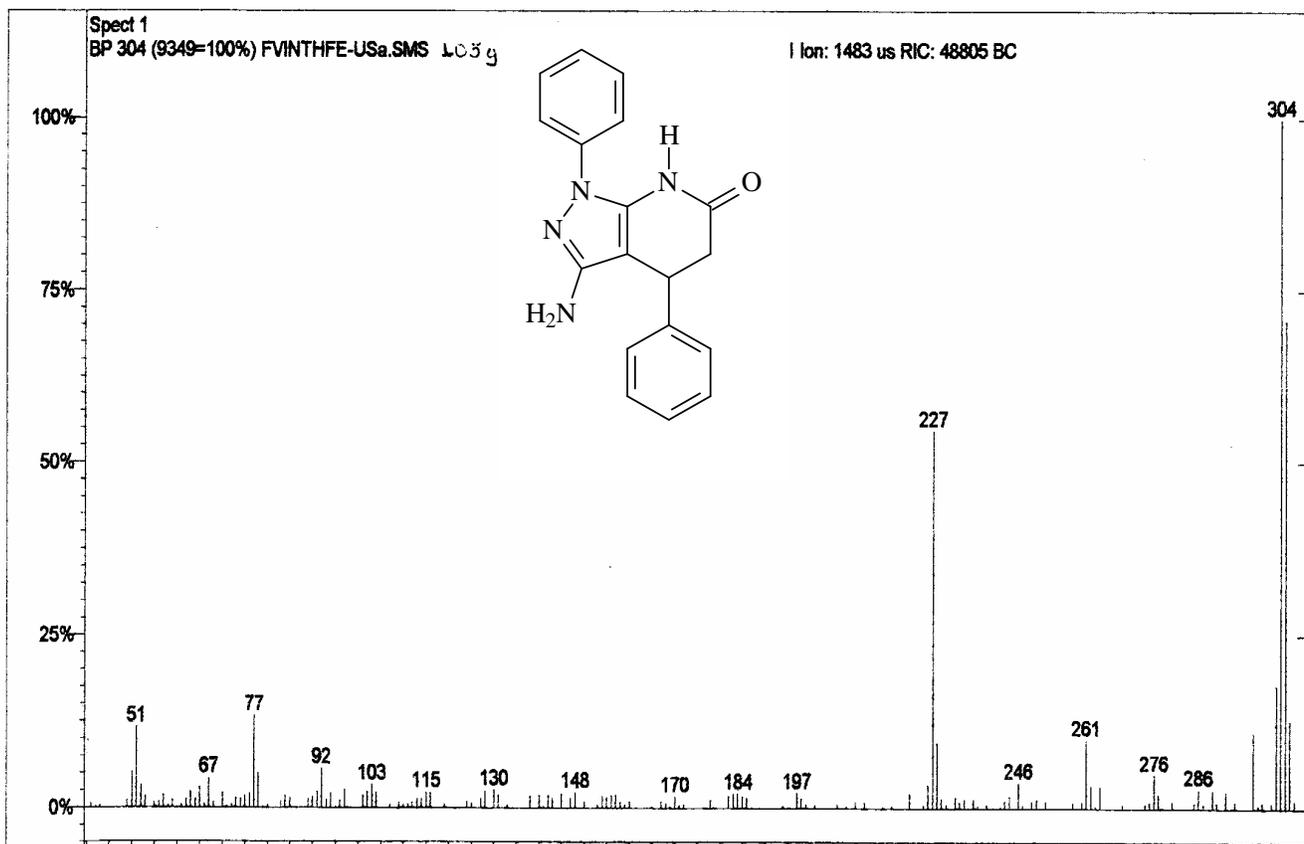
Anexo 71. Espectros de massas dos compostos **103b-c**, respectivamente.



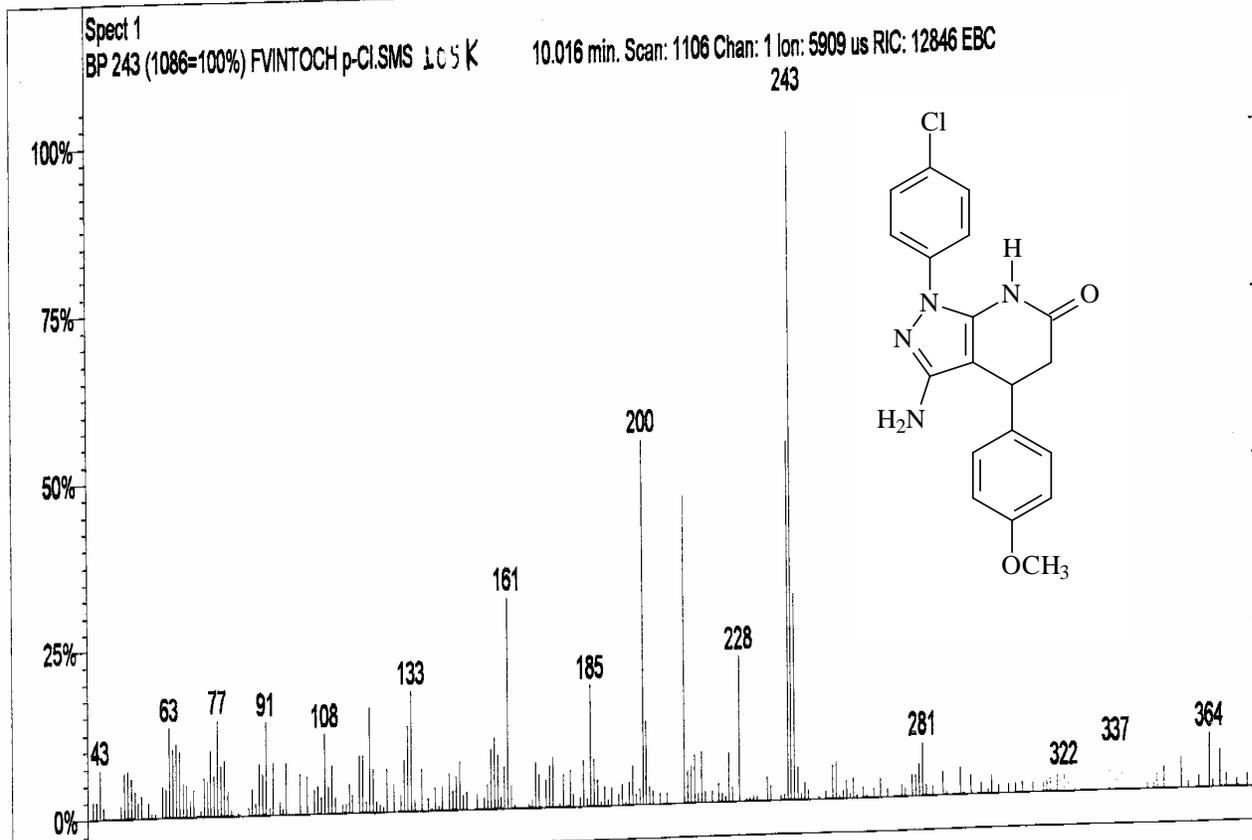
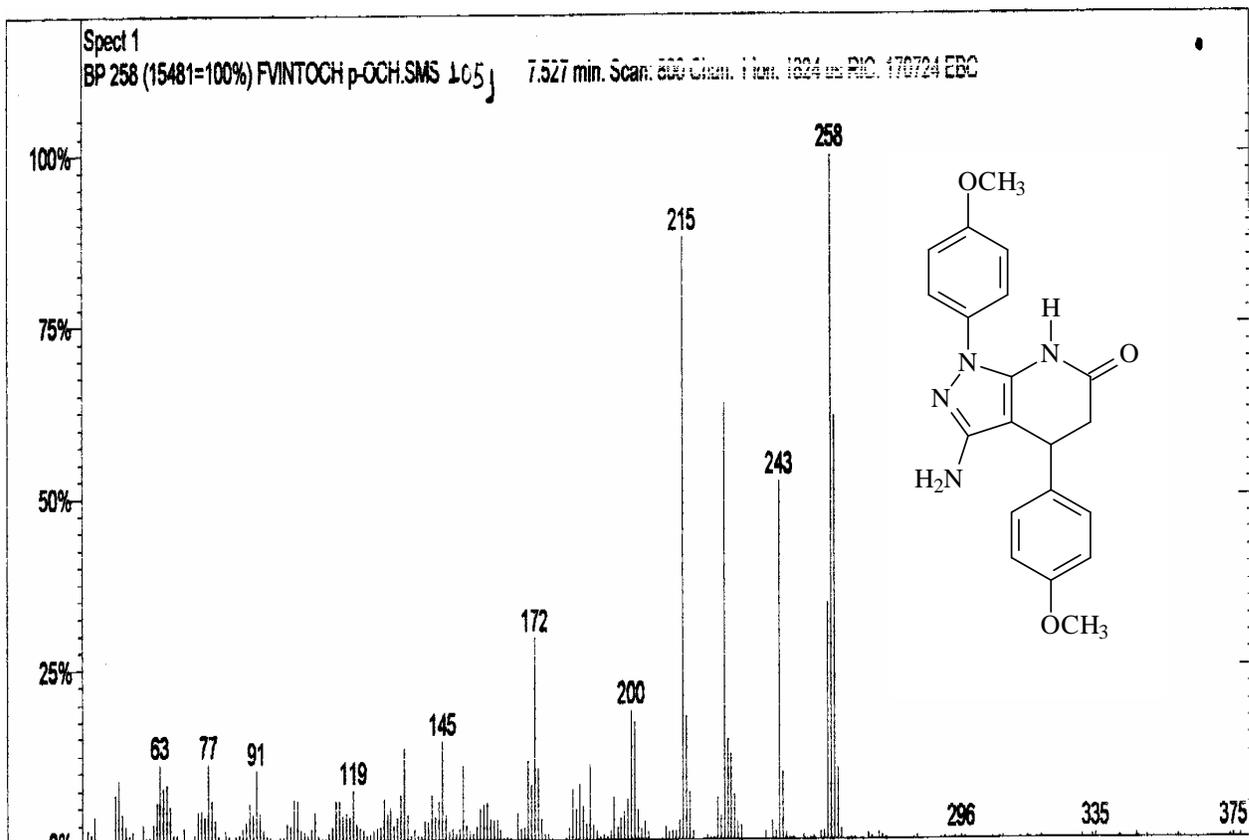
Anexo 72. Espectros de massas dos compostos **105b** e **105d**, respectivamente.



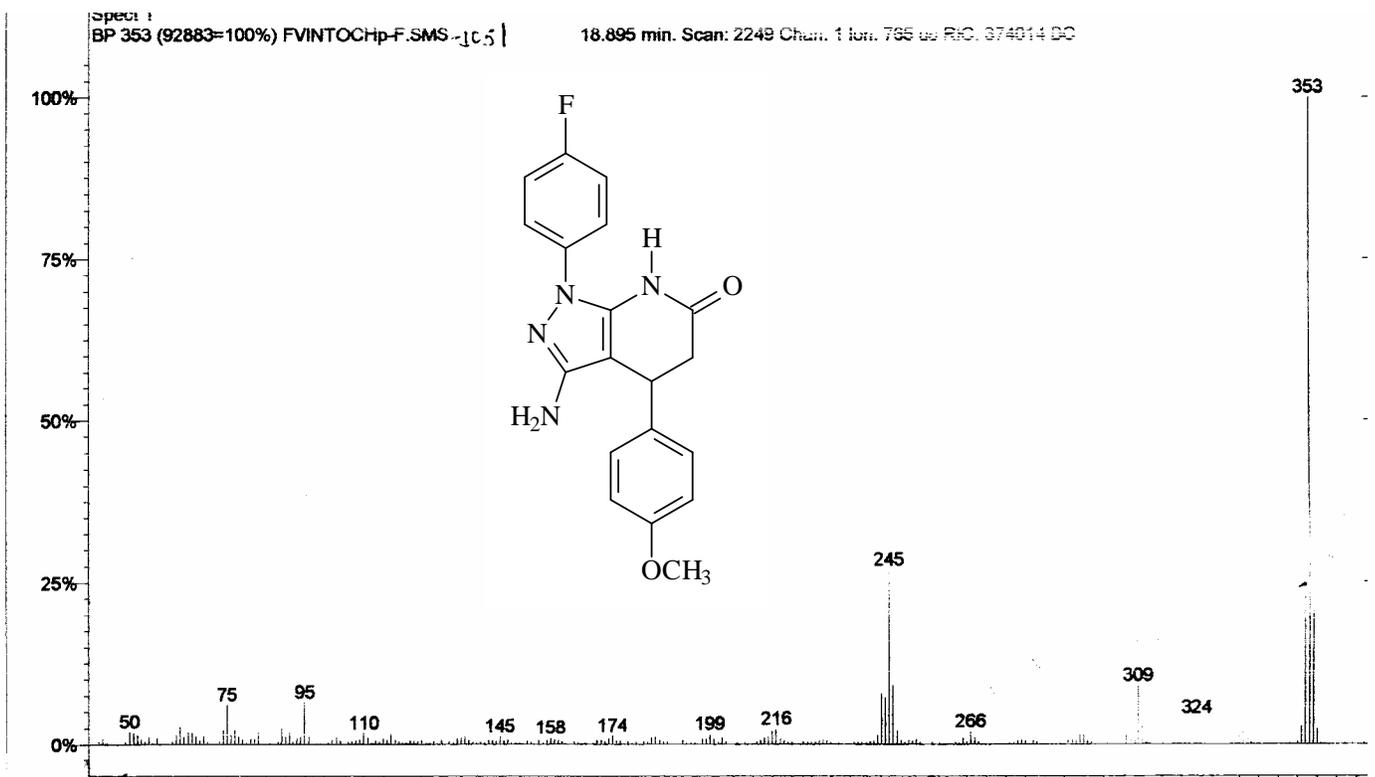
Anexo 73. Espectros de massas dos compostos **105e-f**, respectivamente.



Anexo 74. Espectros de massas dos compostos **105g-h**, respectivamente.



Anexo 75. Espectros de massas dos compostos **105j-k**, respectivamente.



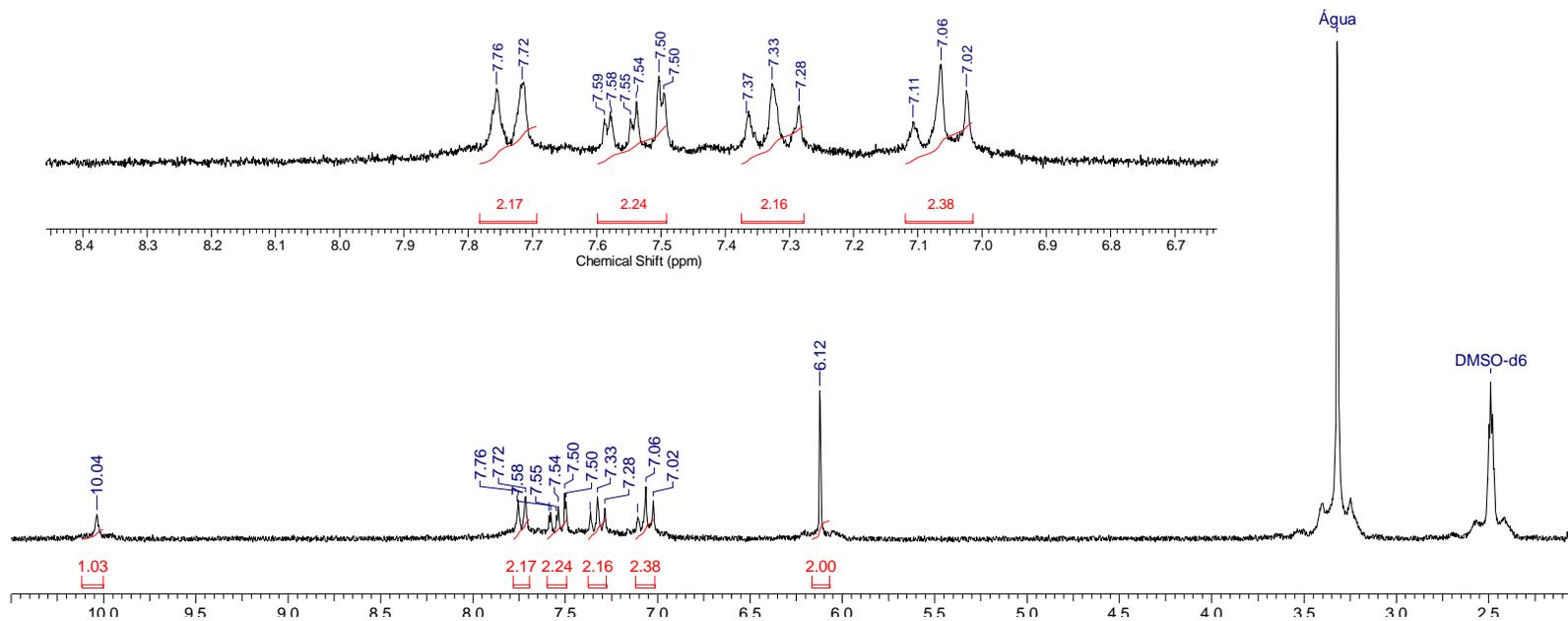
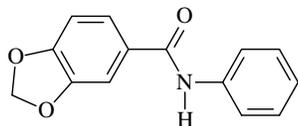
Anexo 76. Espectro de massas do composto **1051**.

CAPÍTULO III - ANEXOS

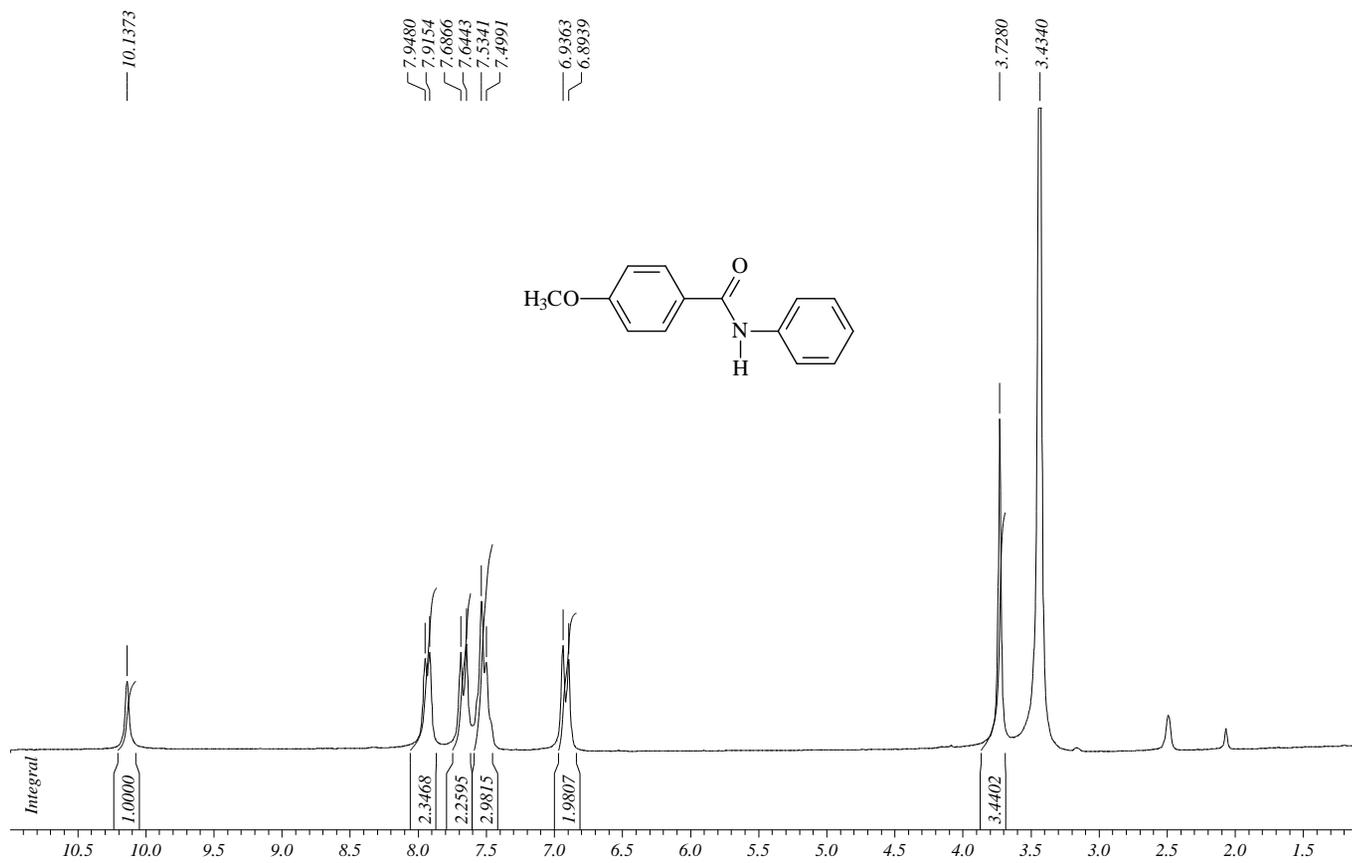
RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN) DE ^1H E ^{13}C

INFRAVERMELHO (IV)

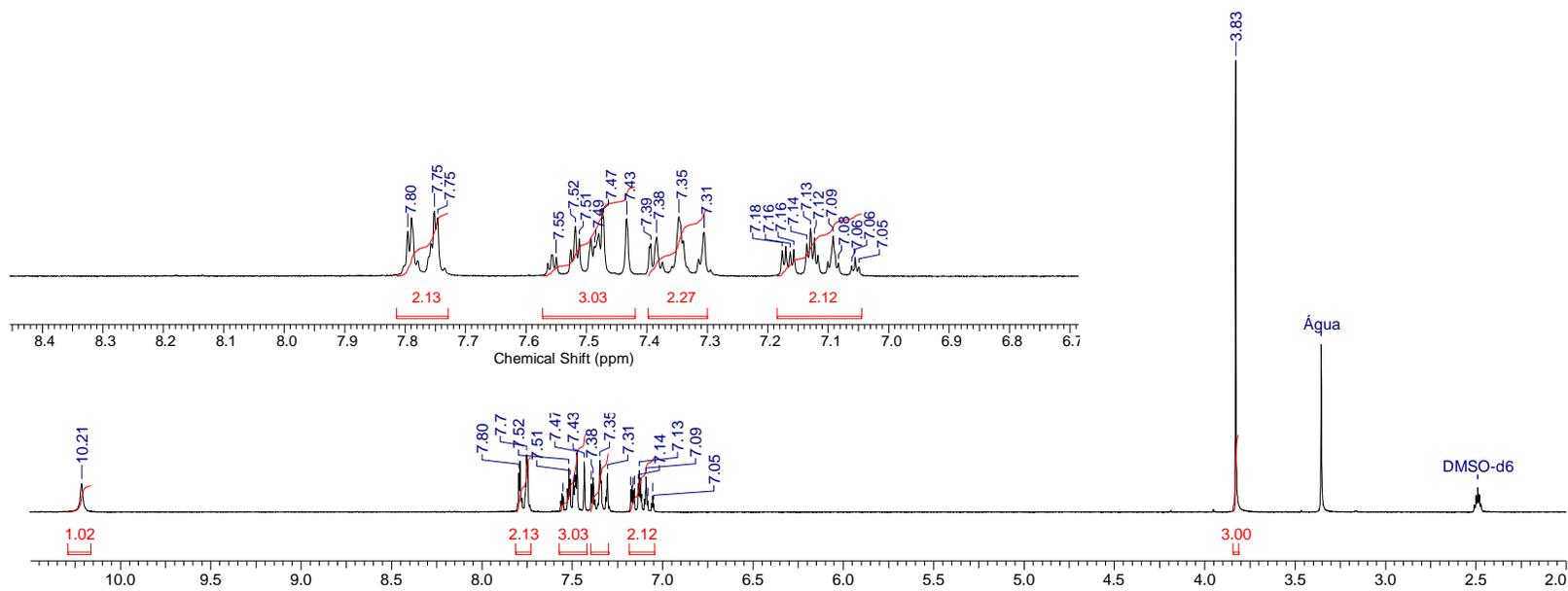
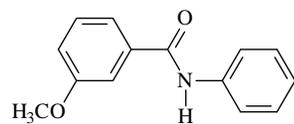
ESPECTROSCOPIA DE MASSAS (MS)



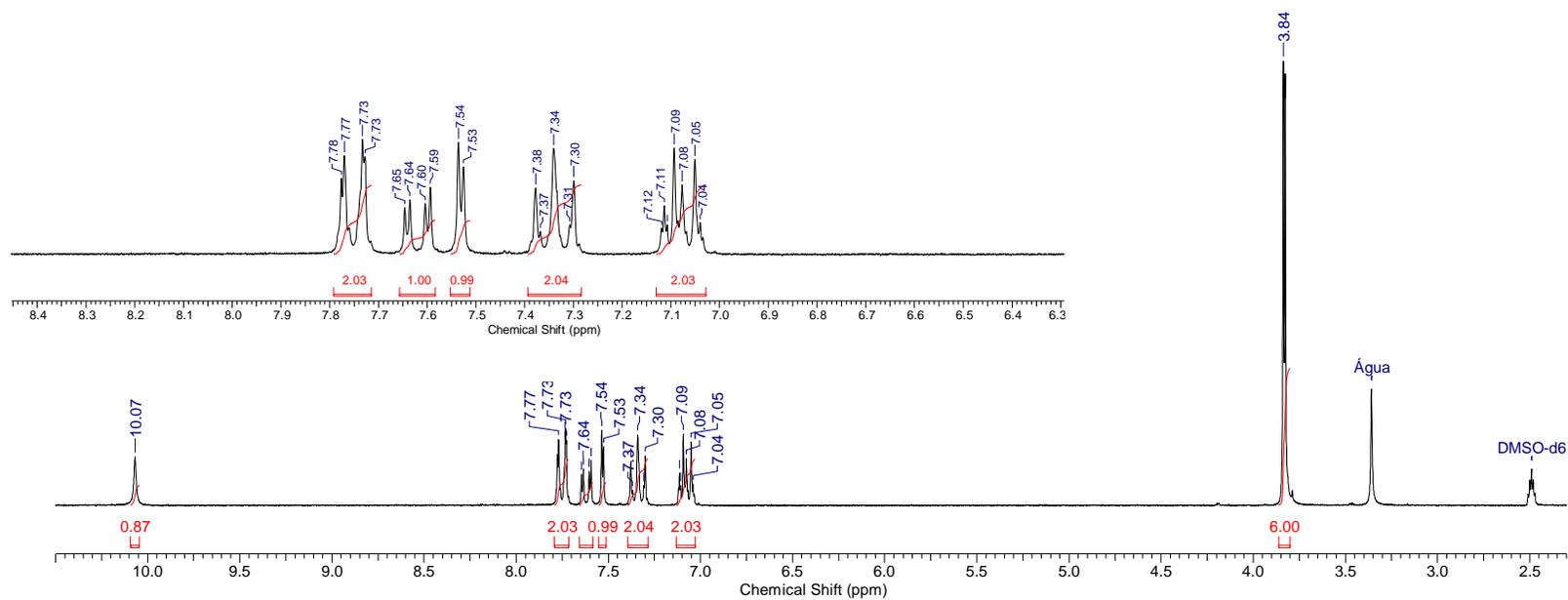
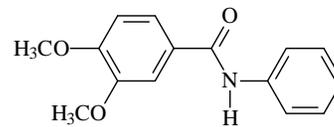
Anexo 77. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **162a**



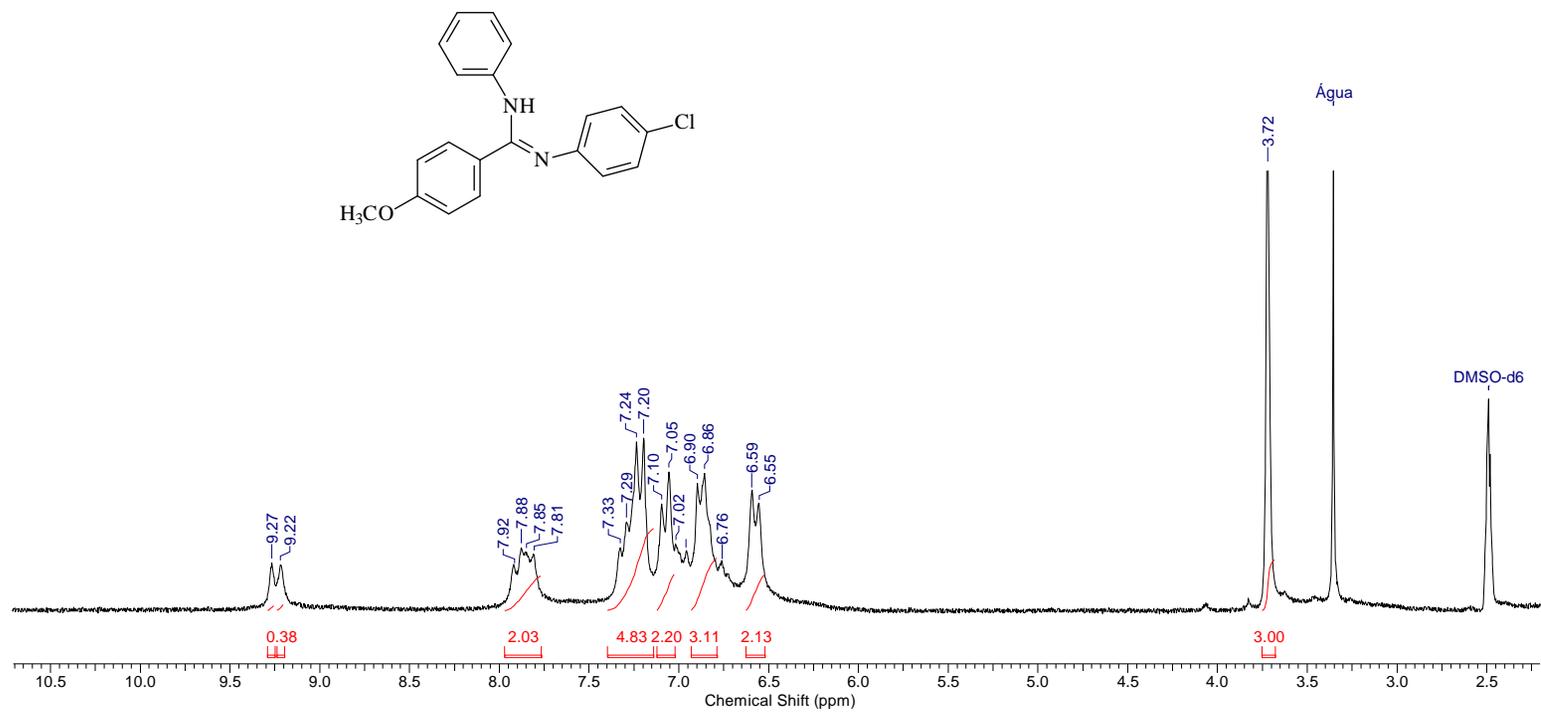
Anexo 78. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **162b**



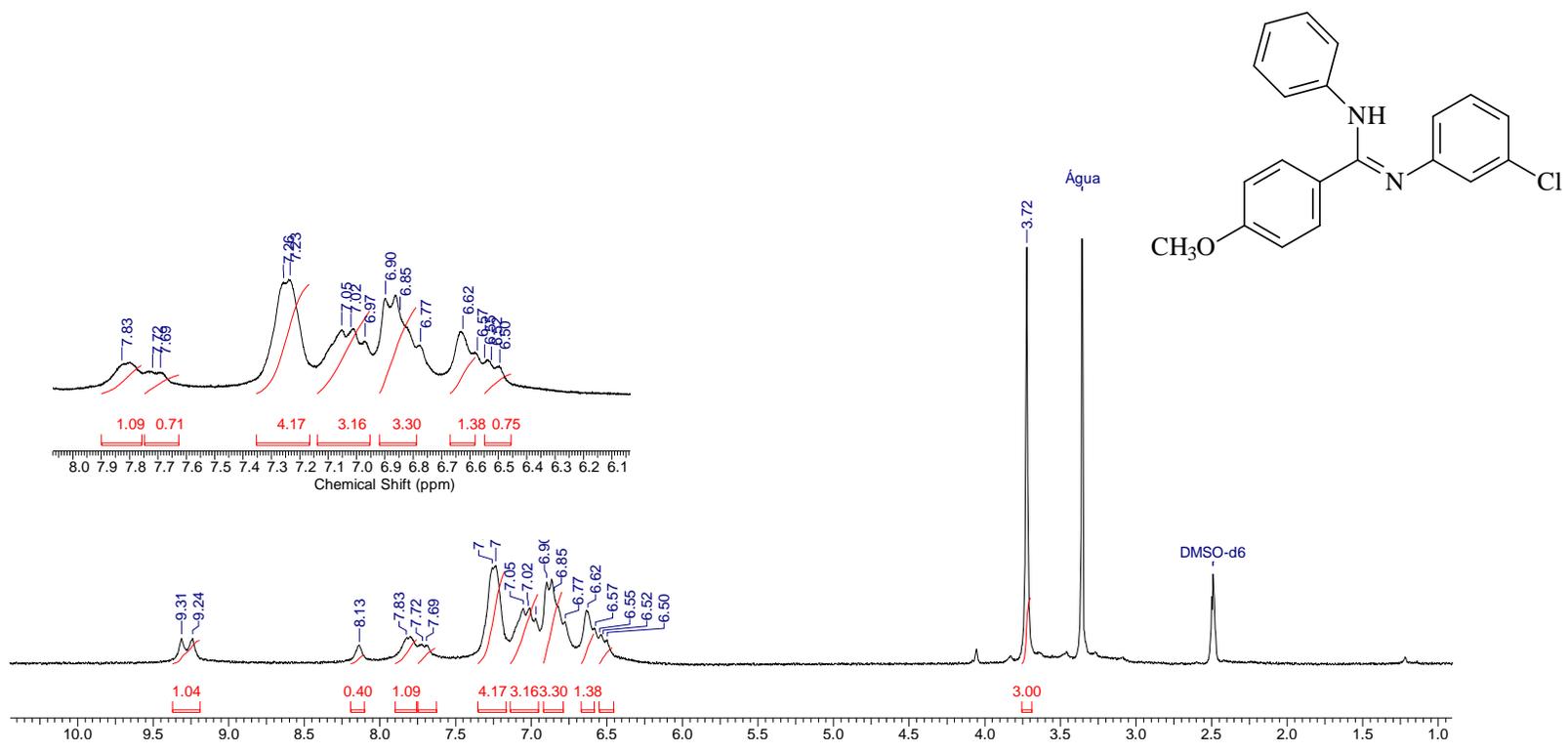
Anexo 79. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **165c**



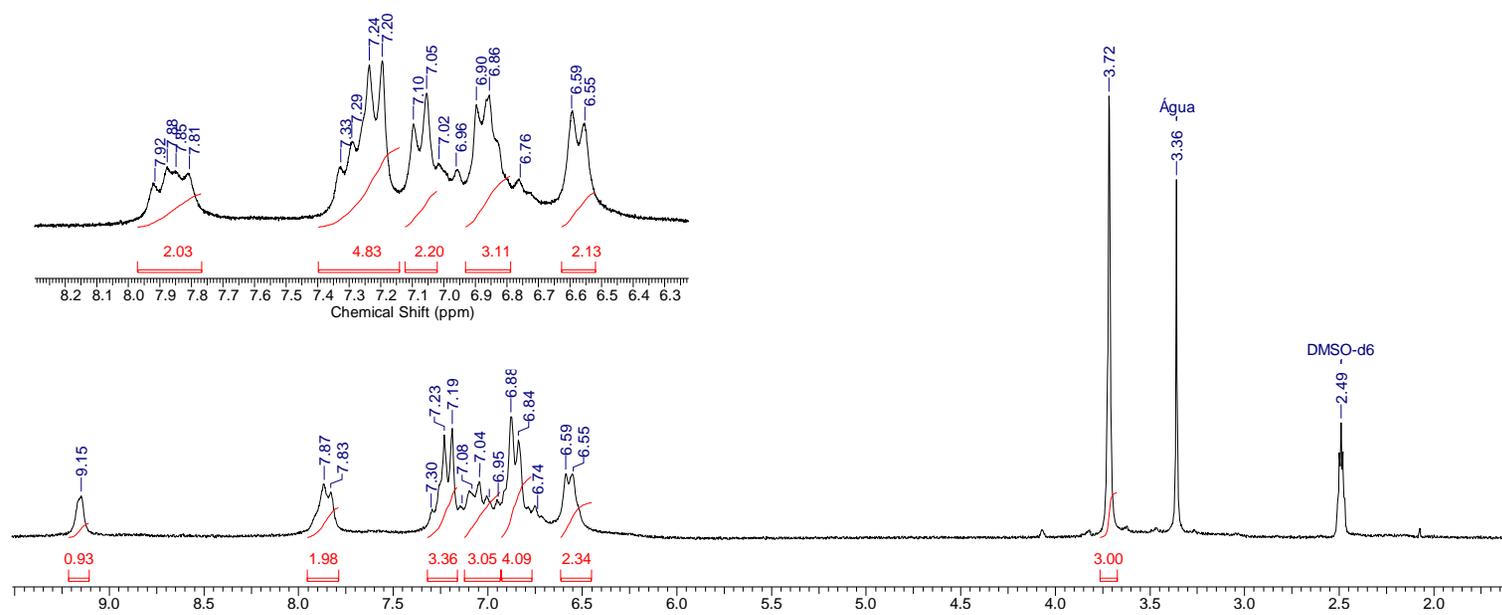
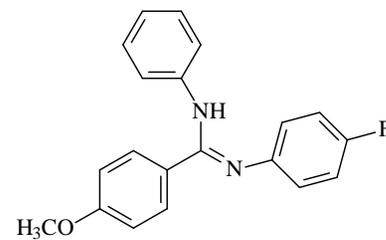
Anexo 80. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **162d**



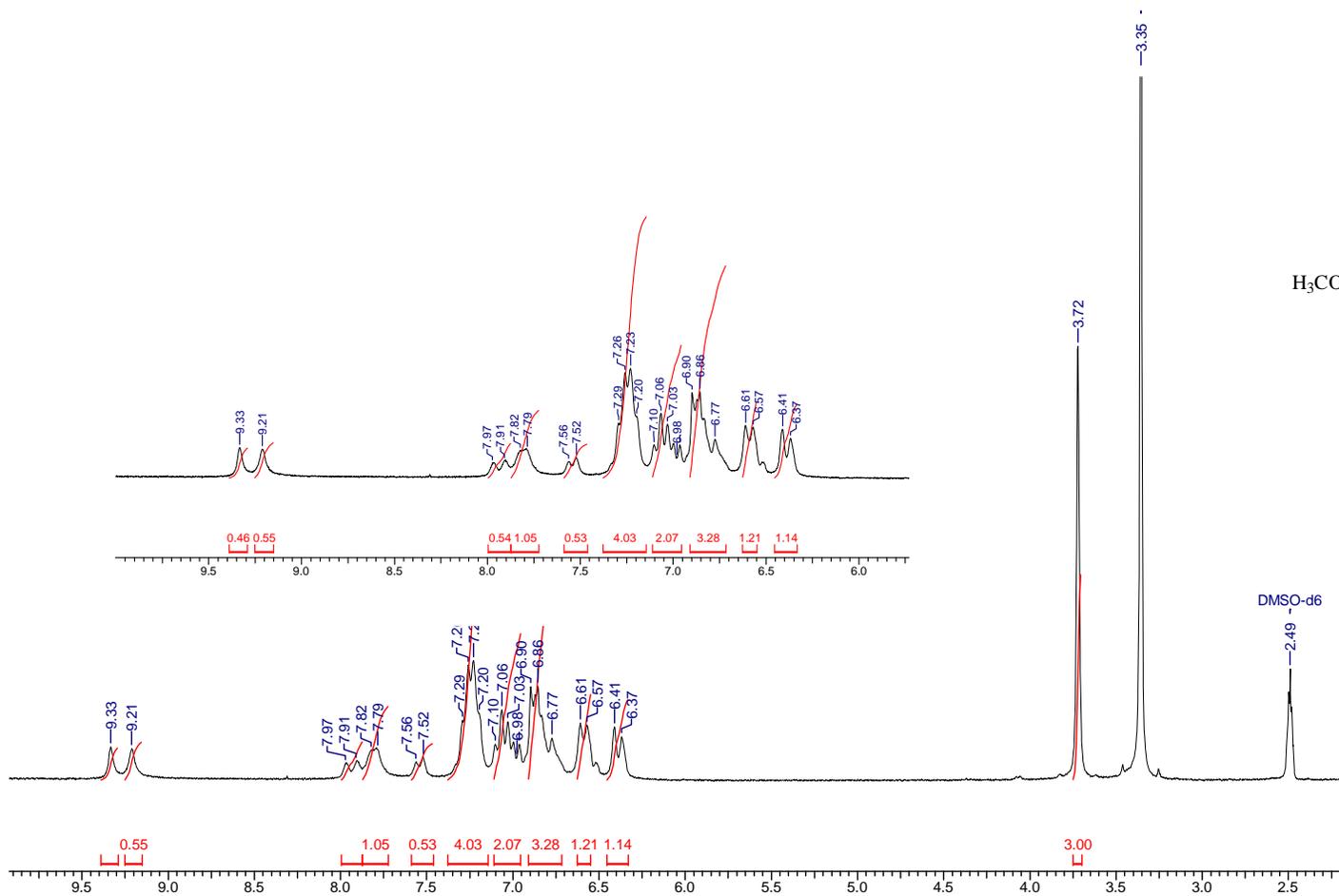
Anexo 81. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165a**



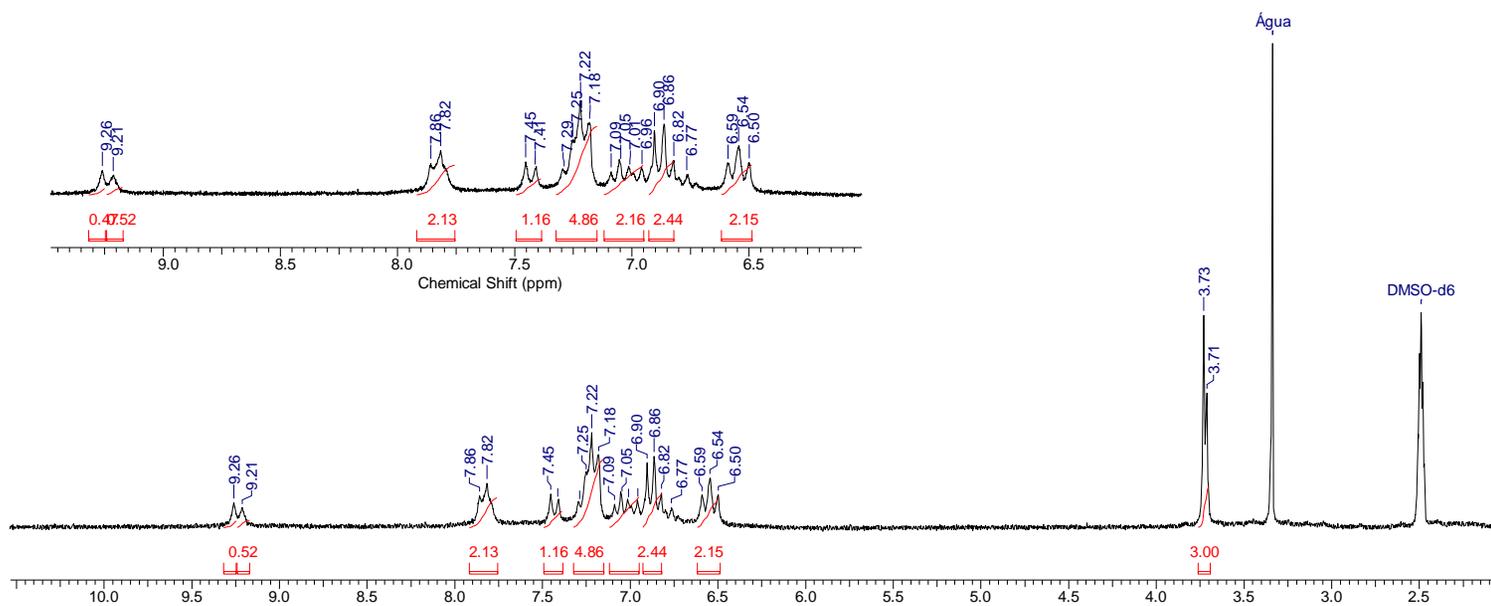
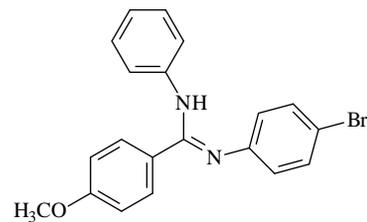
Anexo 82. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165b**



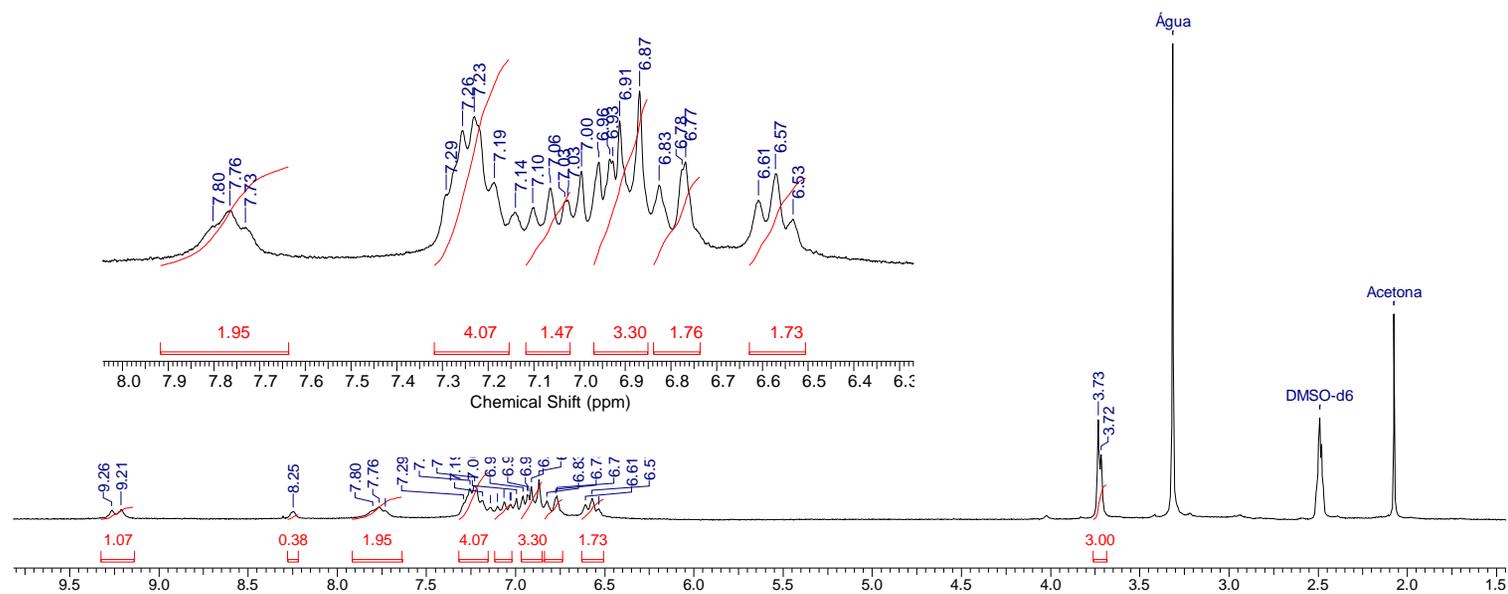
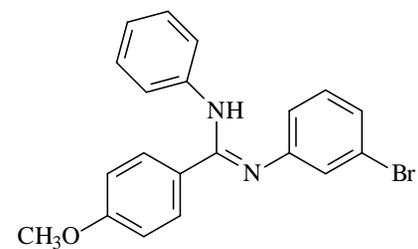
Anexo 83. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165c**



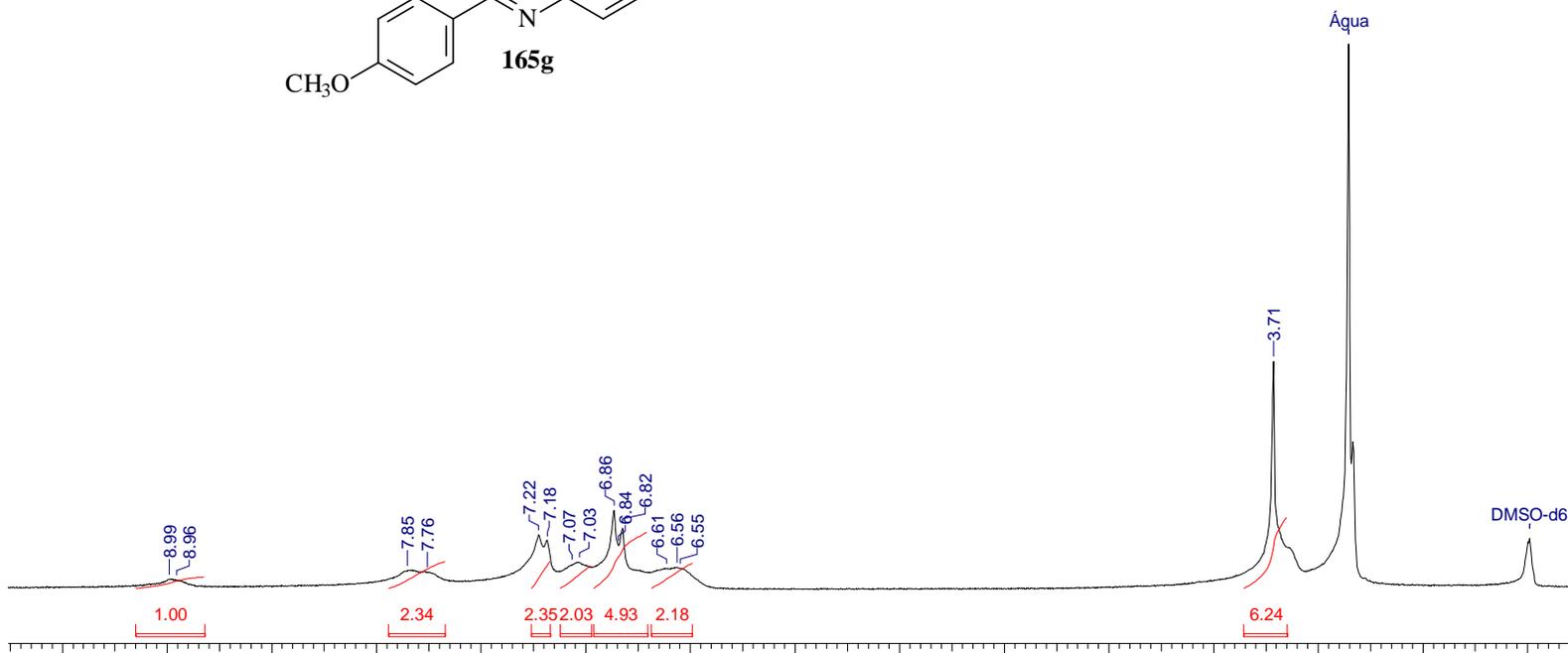
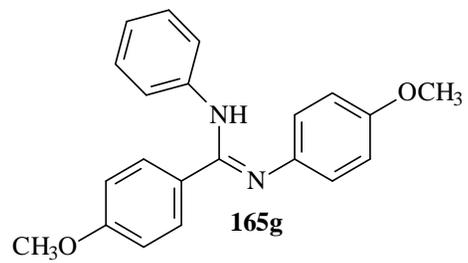
Anexo 84. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165d**



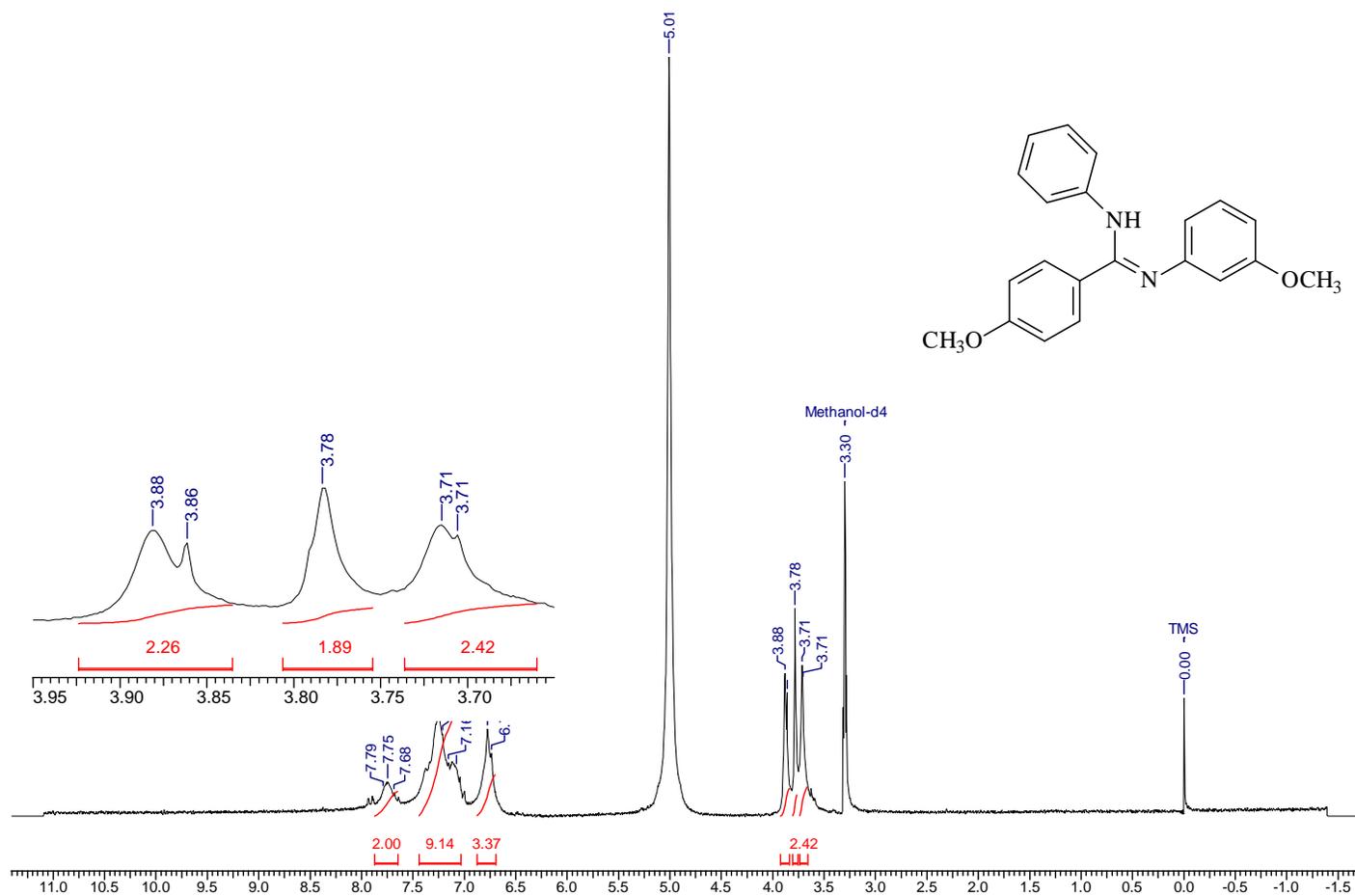
Anexo 85. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **165e**



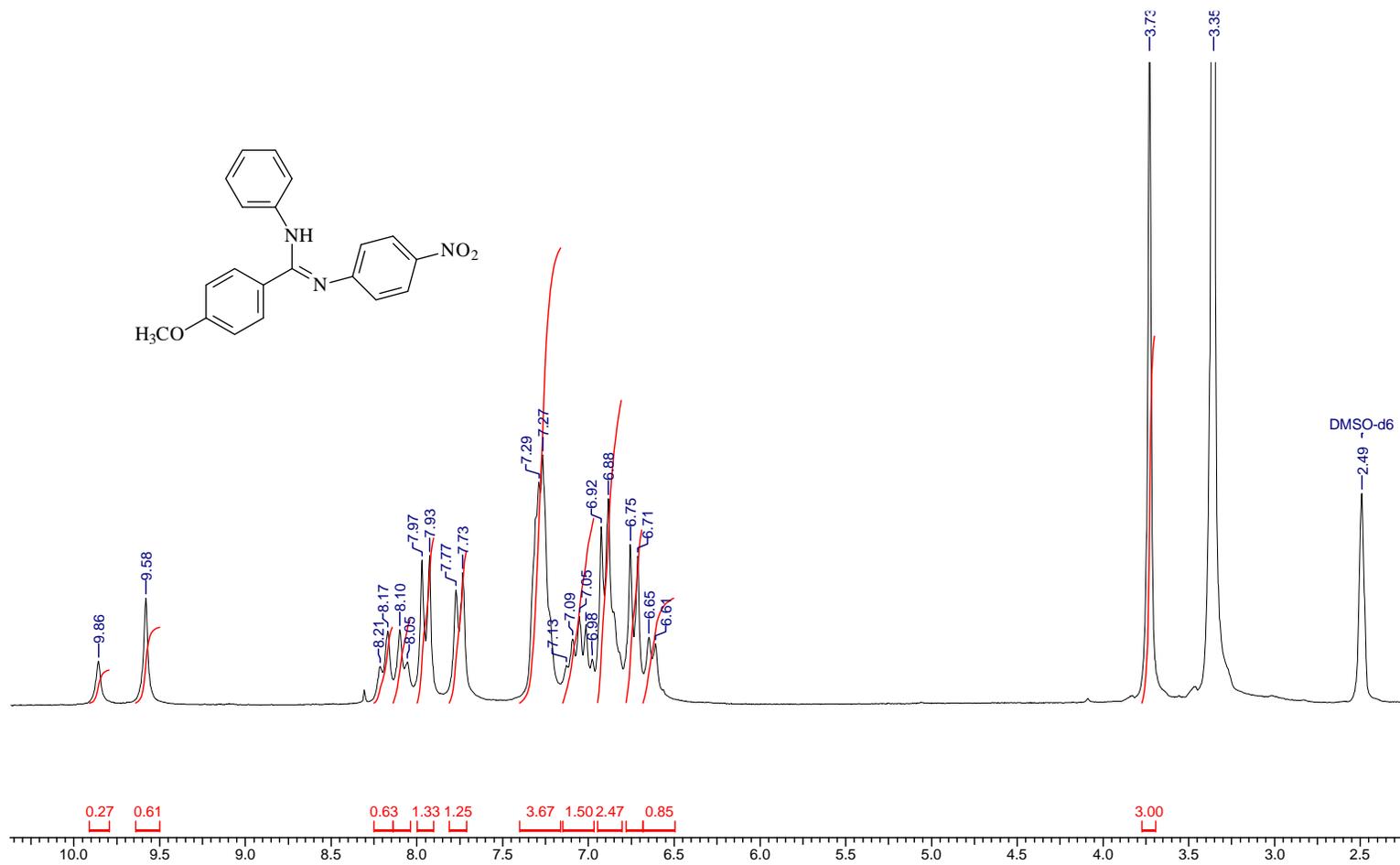
Anexo 86. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165f**



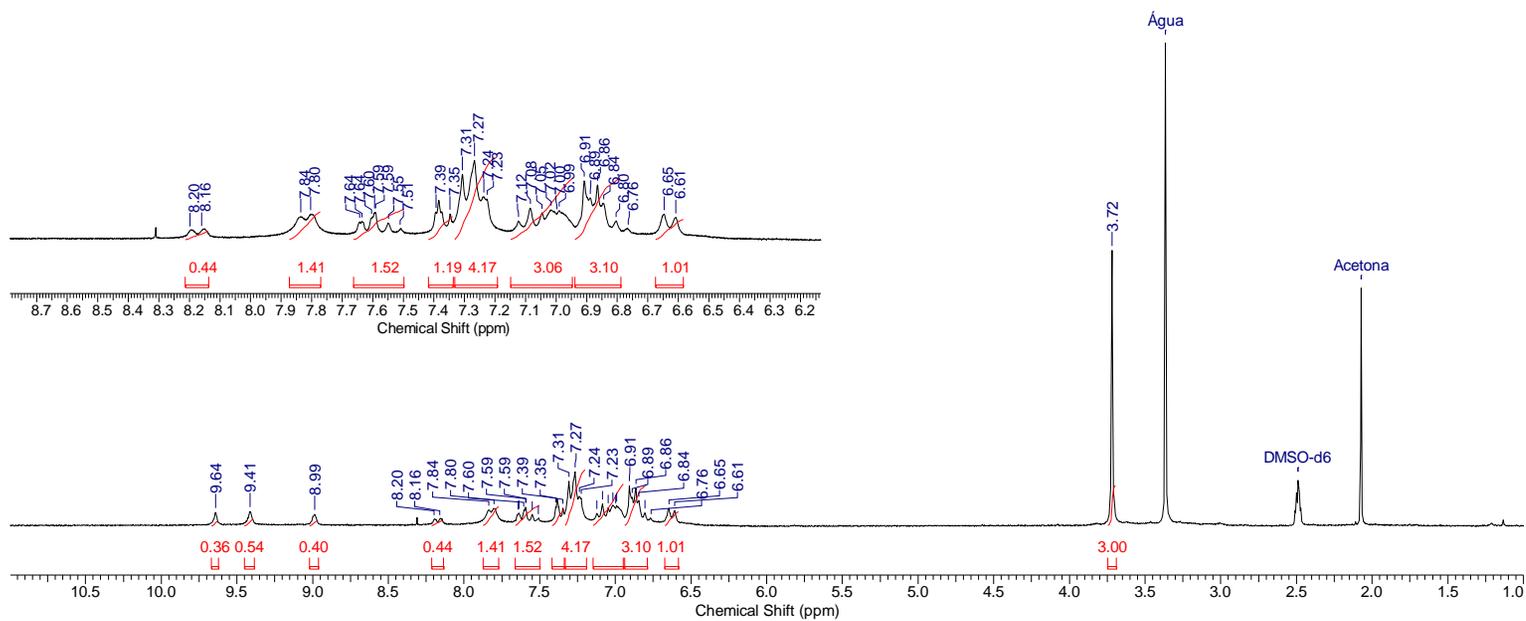
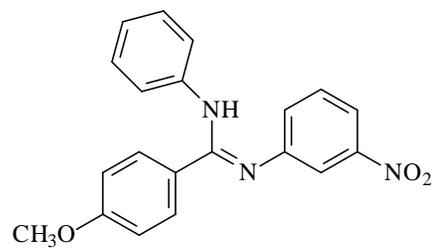
Anexo 87. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **165g**



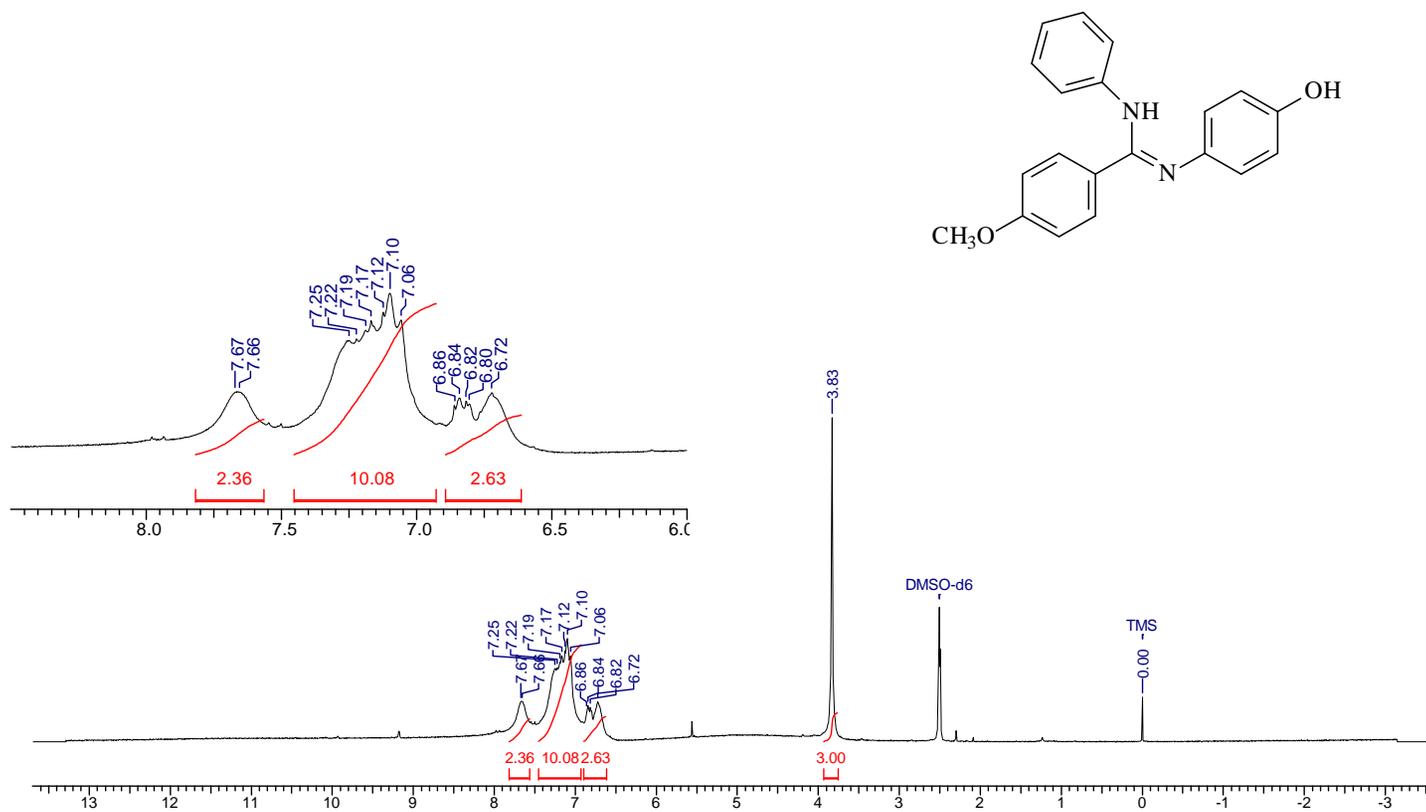
Anexo 88. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **165h**



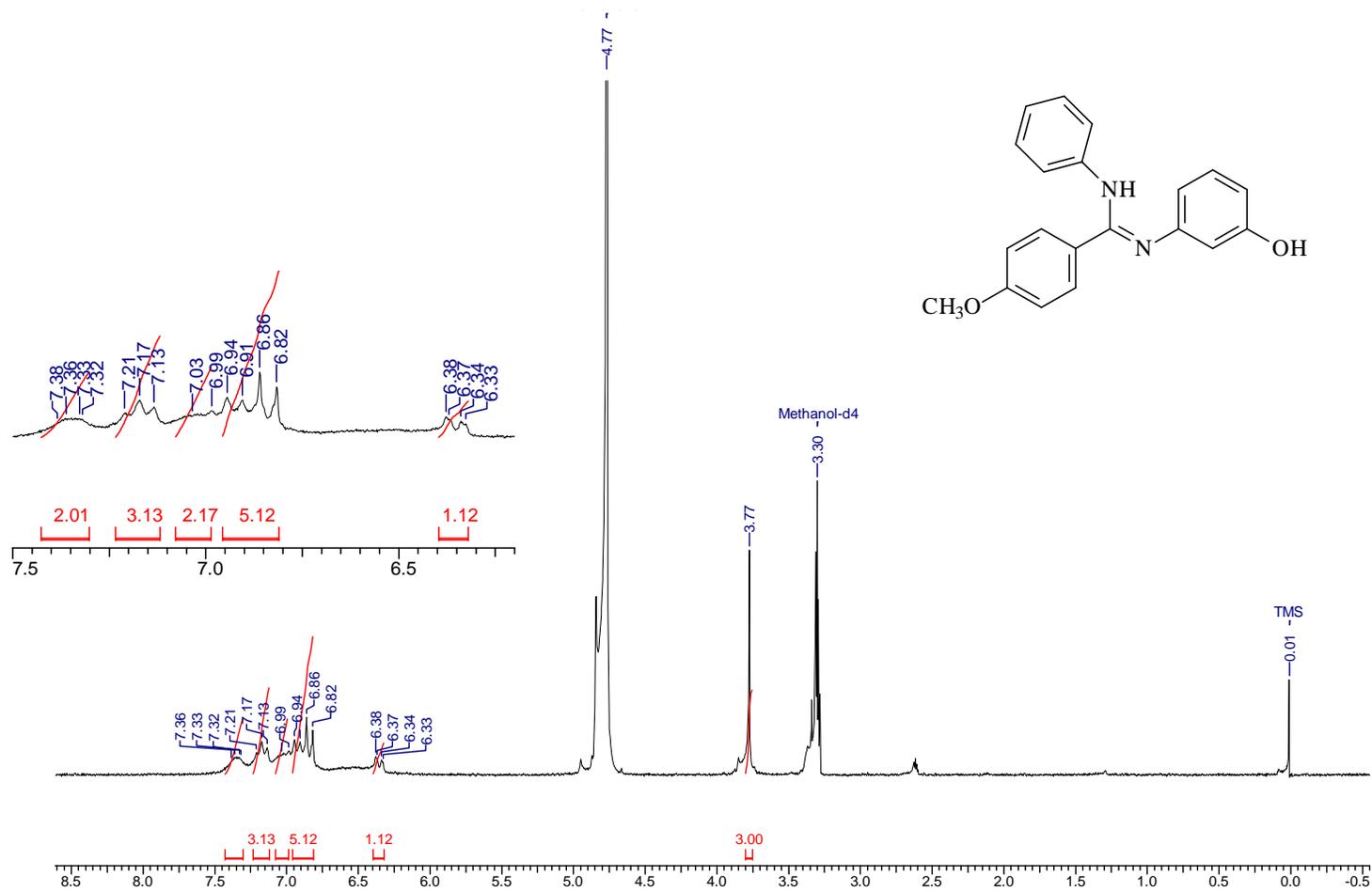
Anexo 89. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165i**



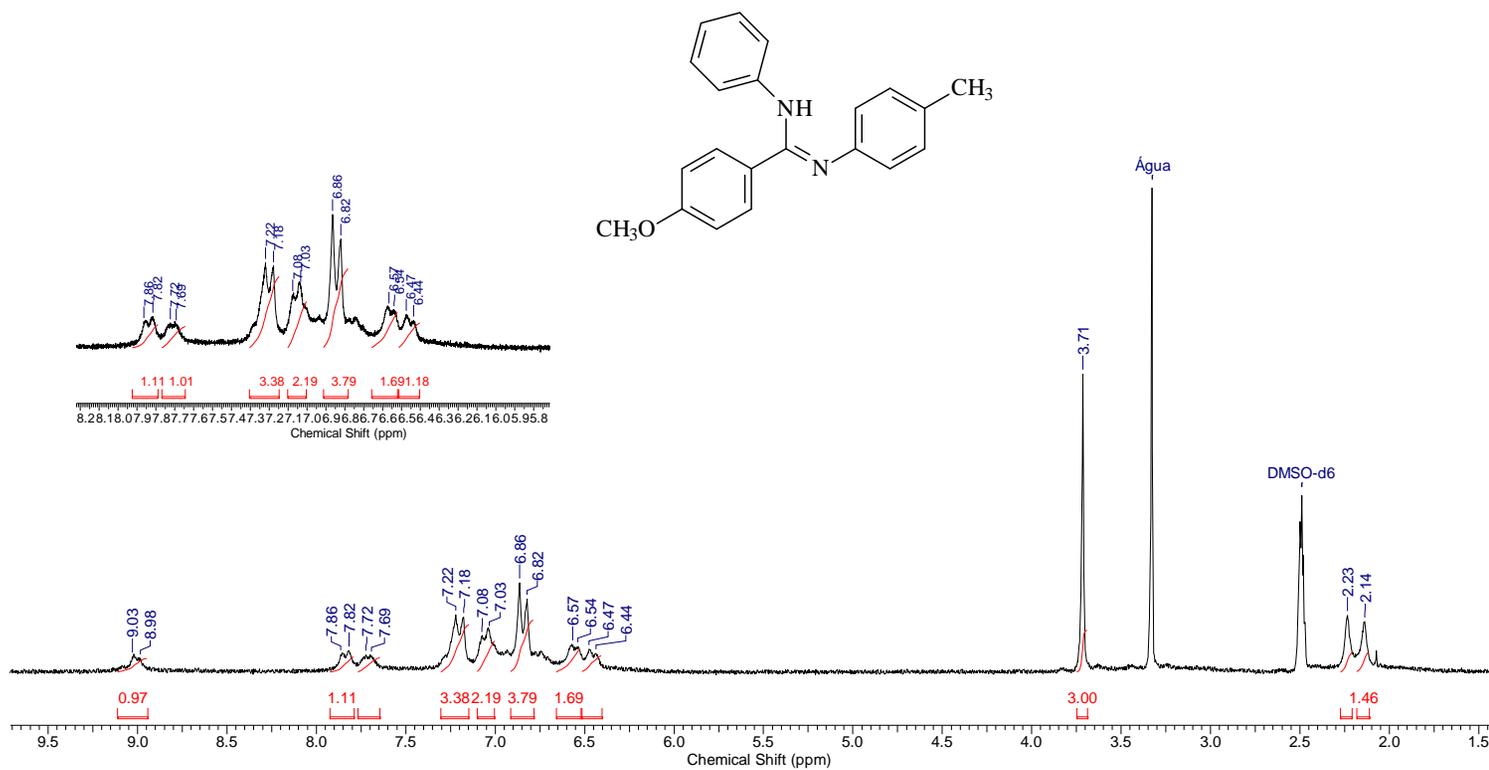
Anexo 90. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **165j**



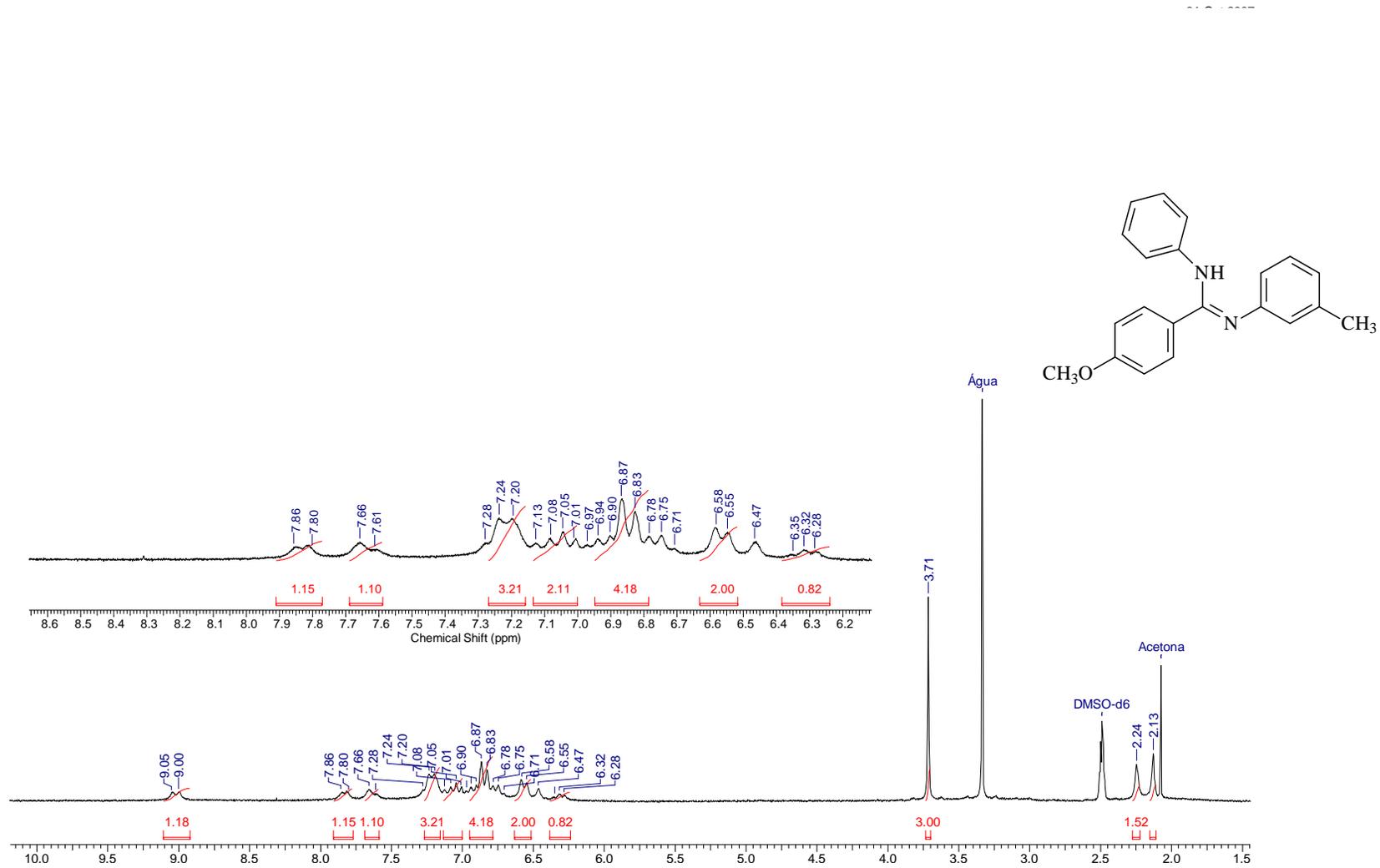
Anexo 91. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **165k**



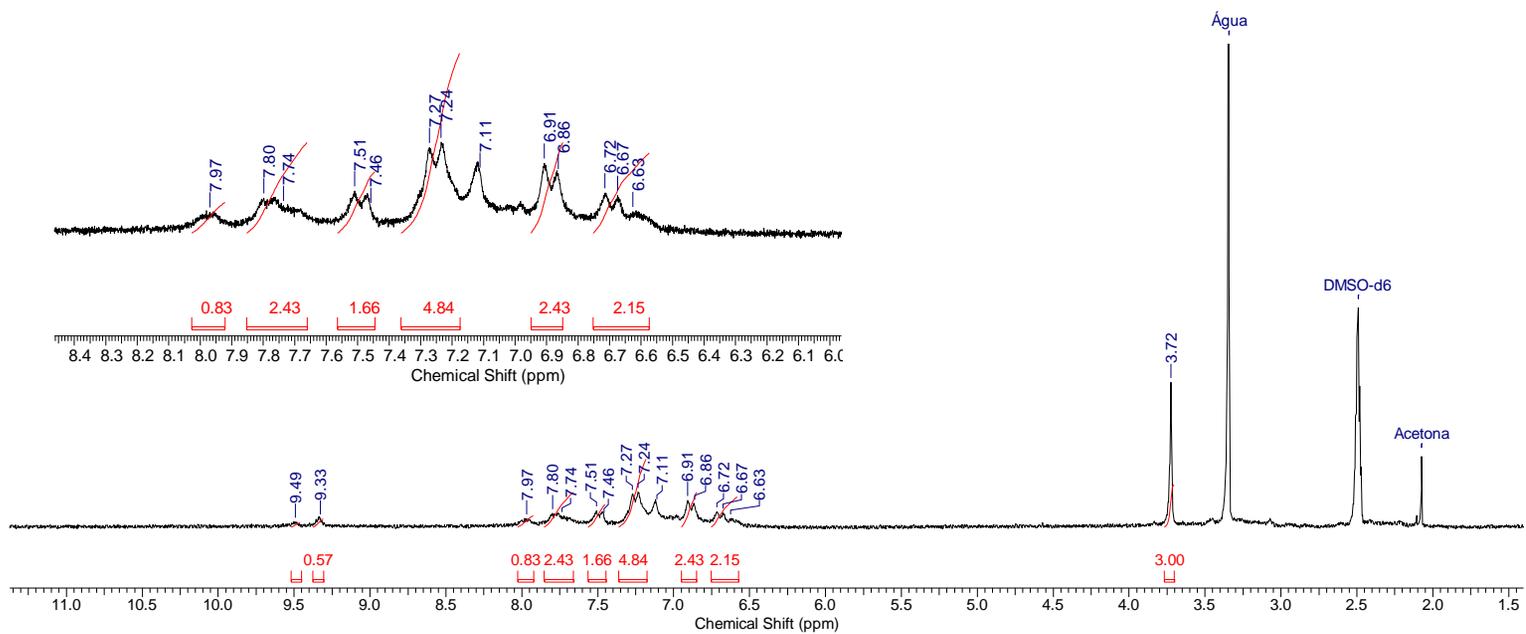
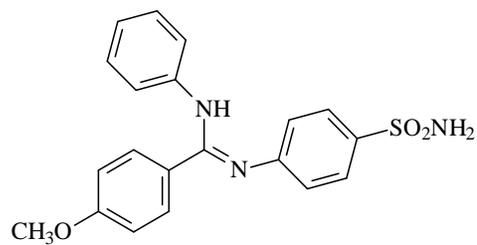
Anexo 92. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **1651**



Anexo 93. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165m**



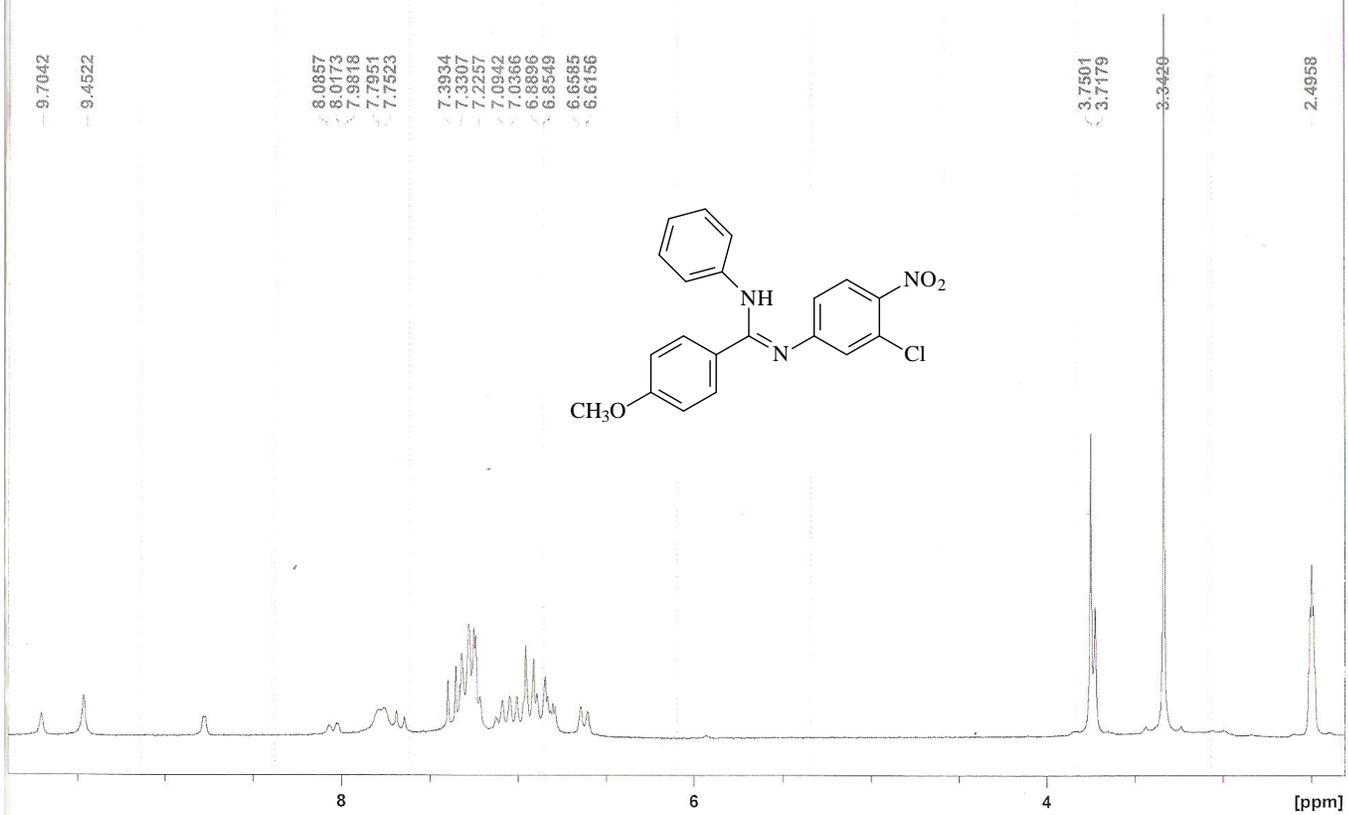
Anexo 94. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165n**



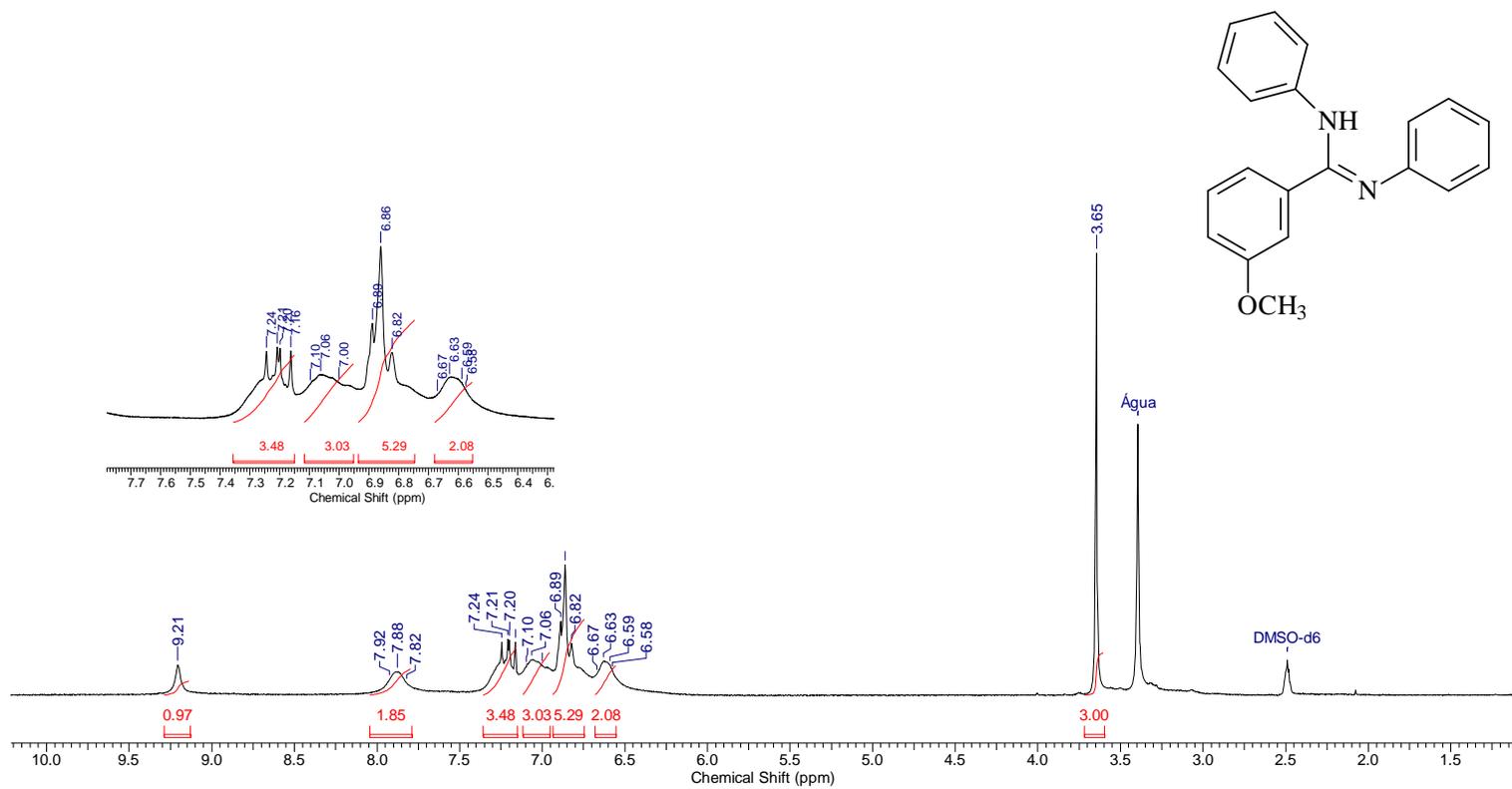
Anexo 95. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **101o**

claudio 77 1 D: aurea

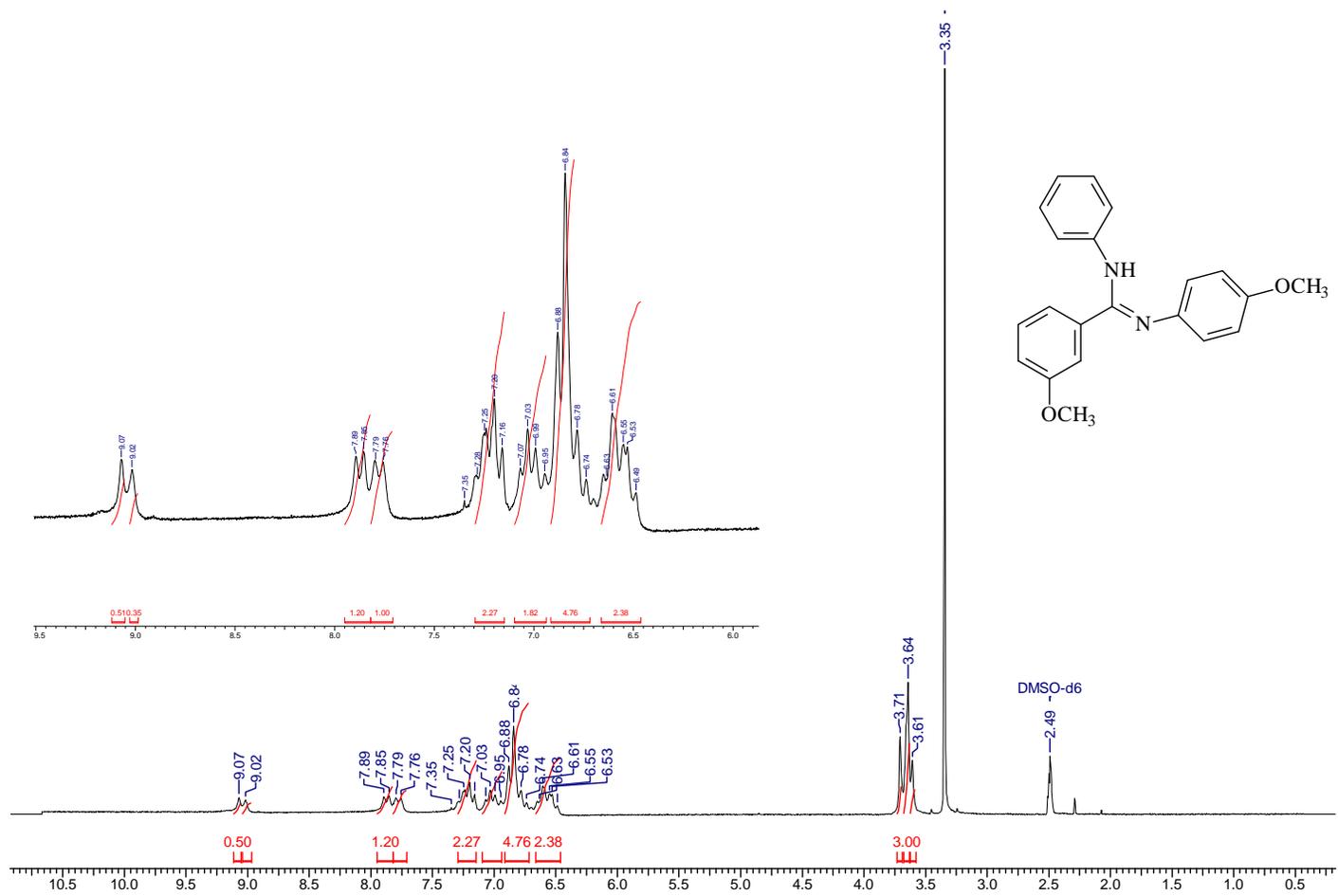
CE103C1NO



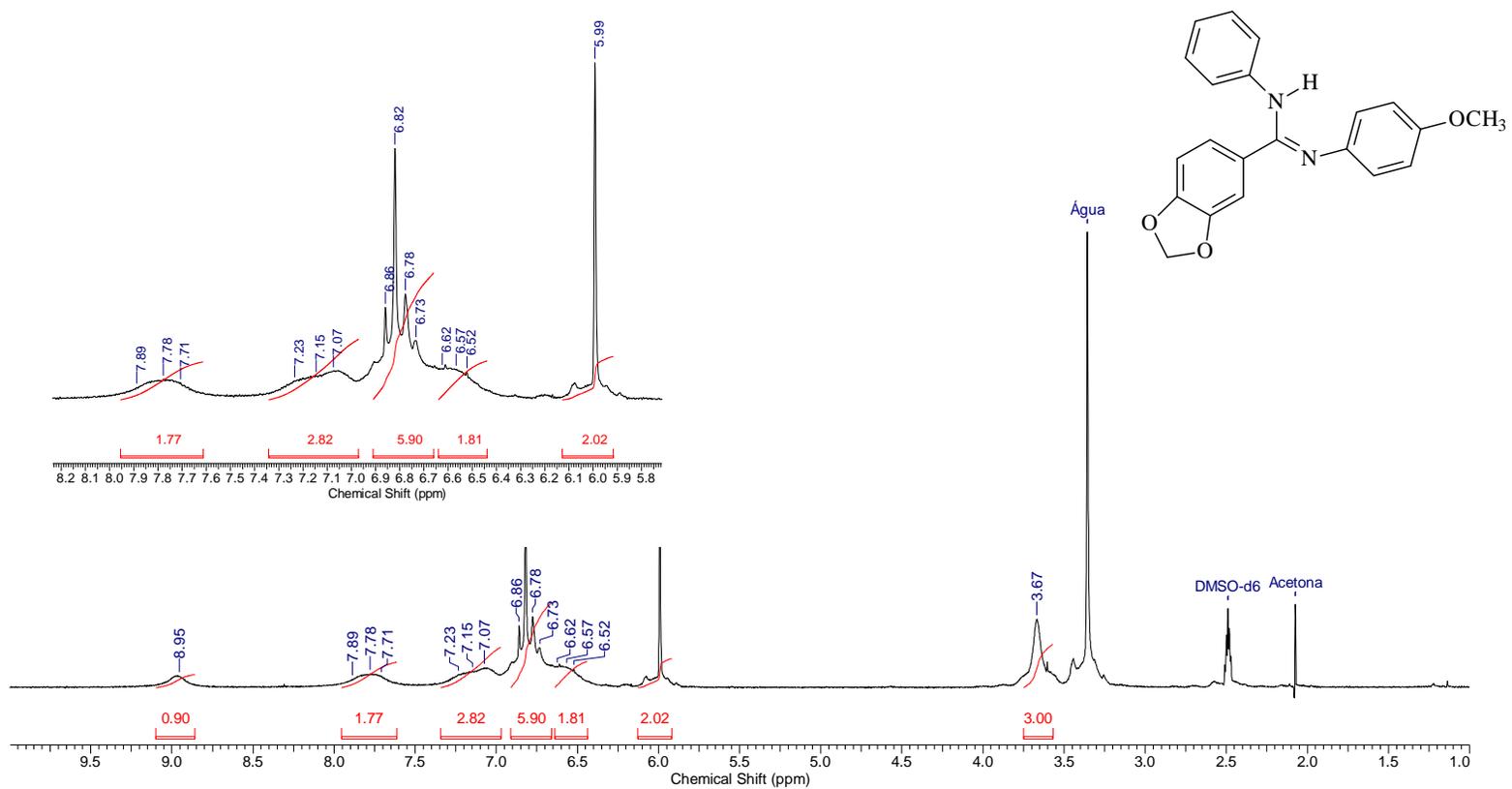
Anexo 96. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **101p**



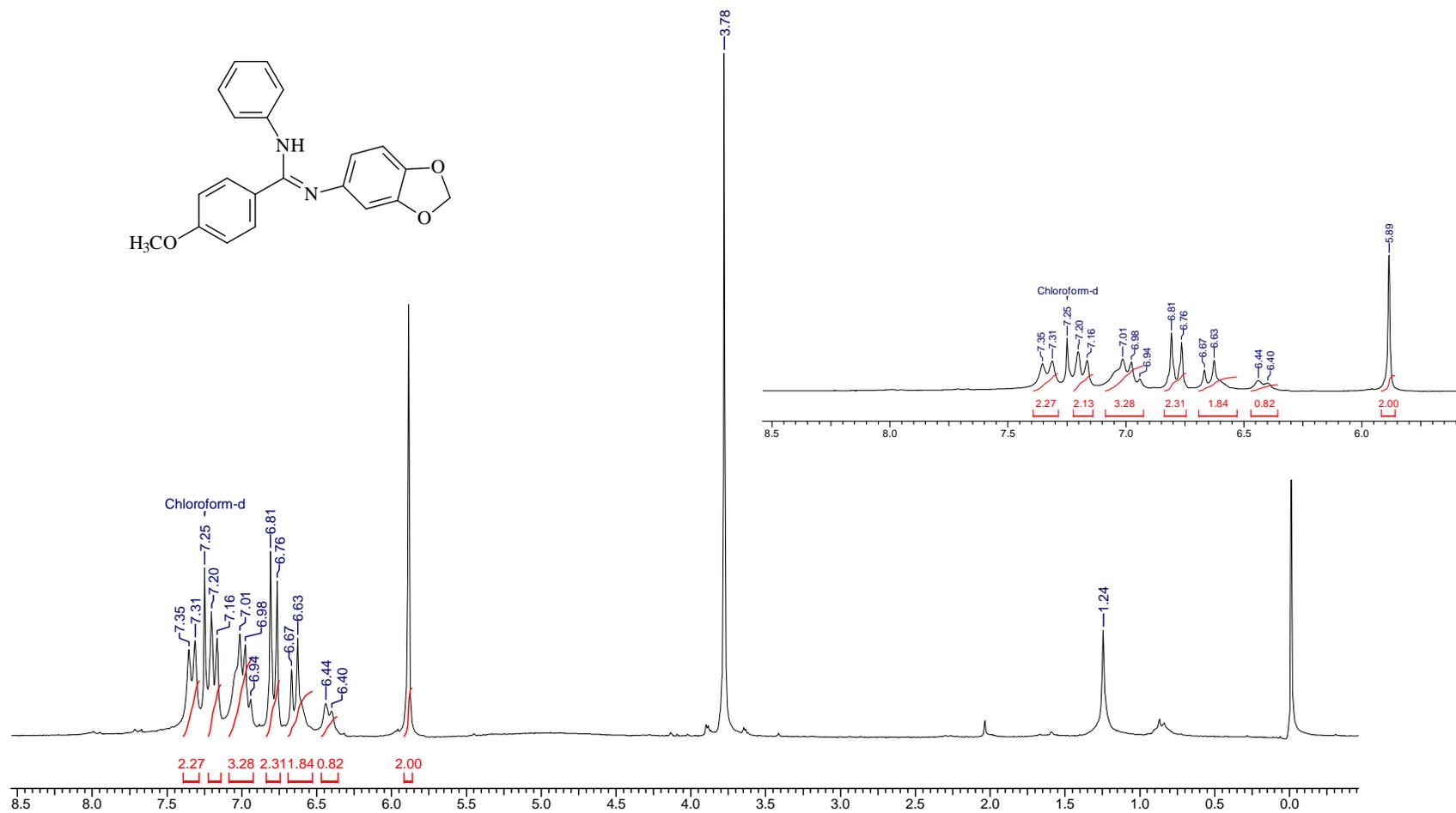
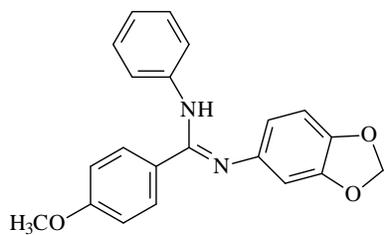
Anexo 97. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **165q**



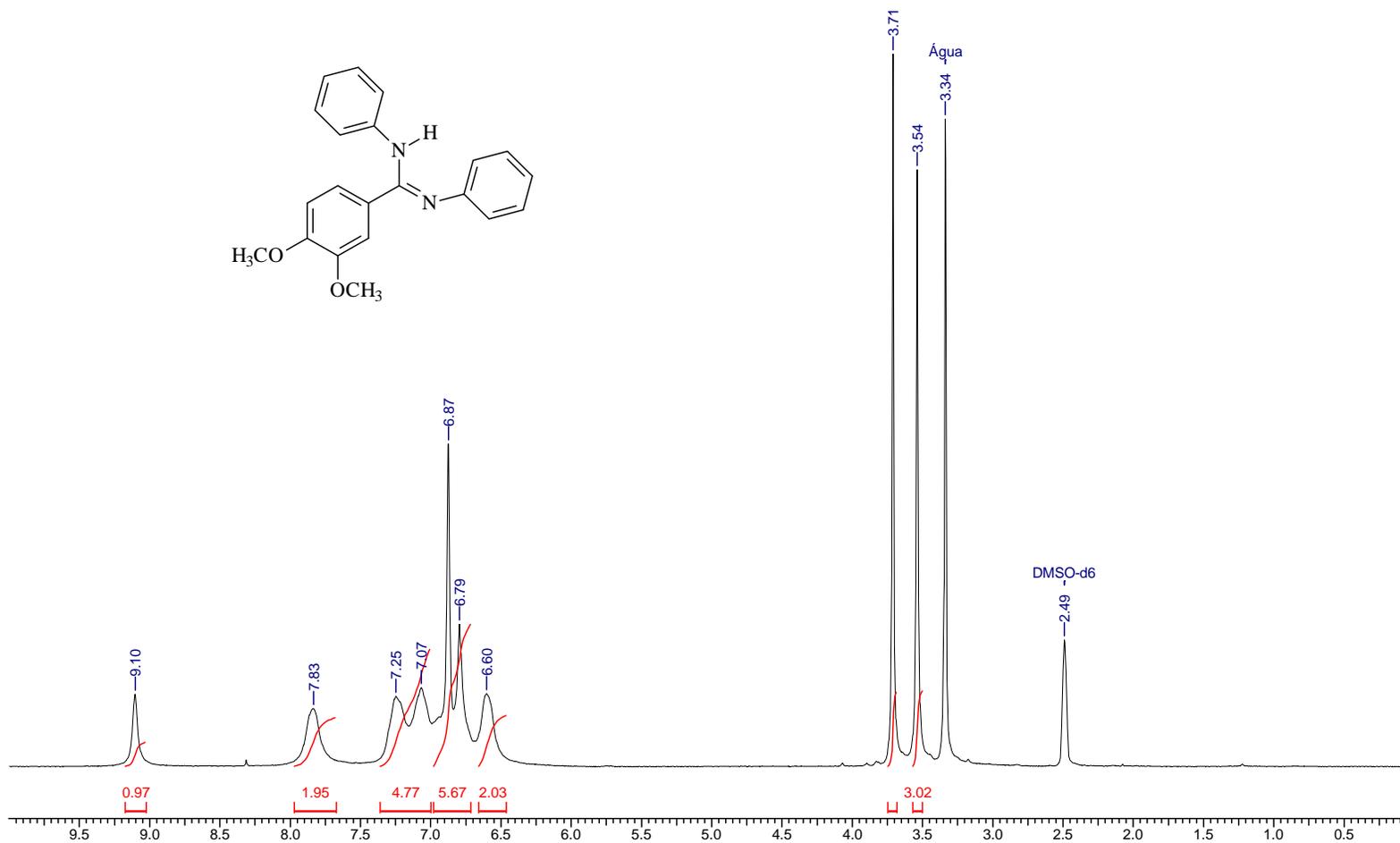
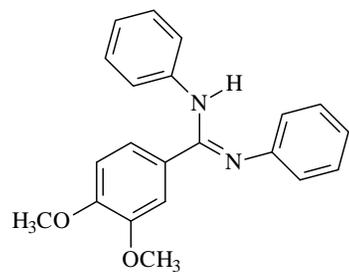
Anexo 98. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **165r**



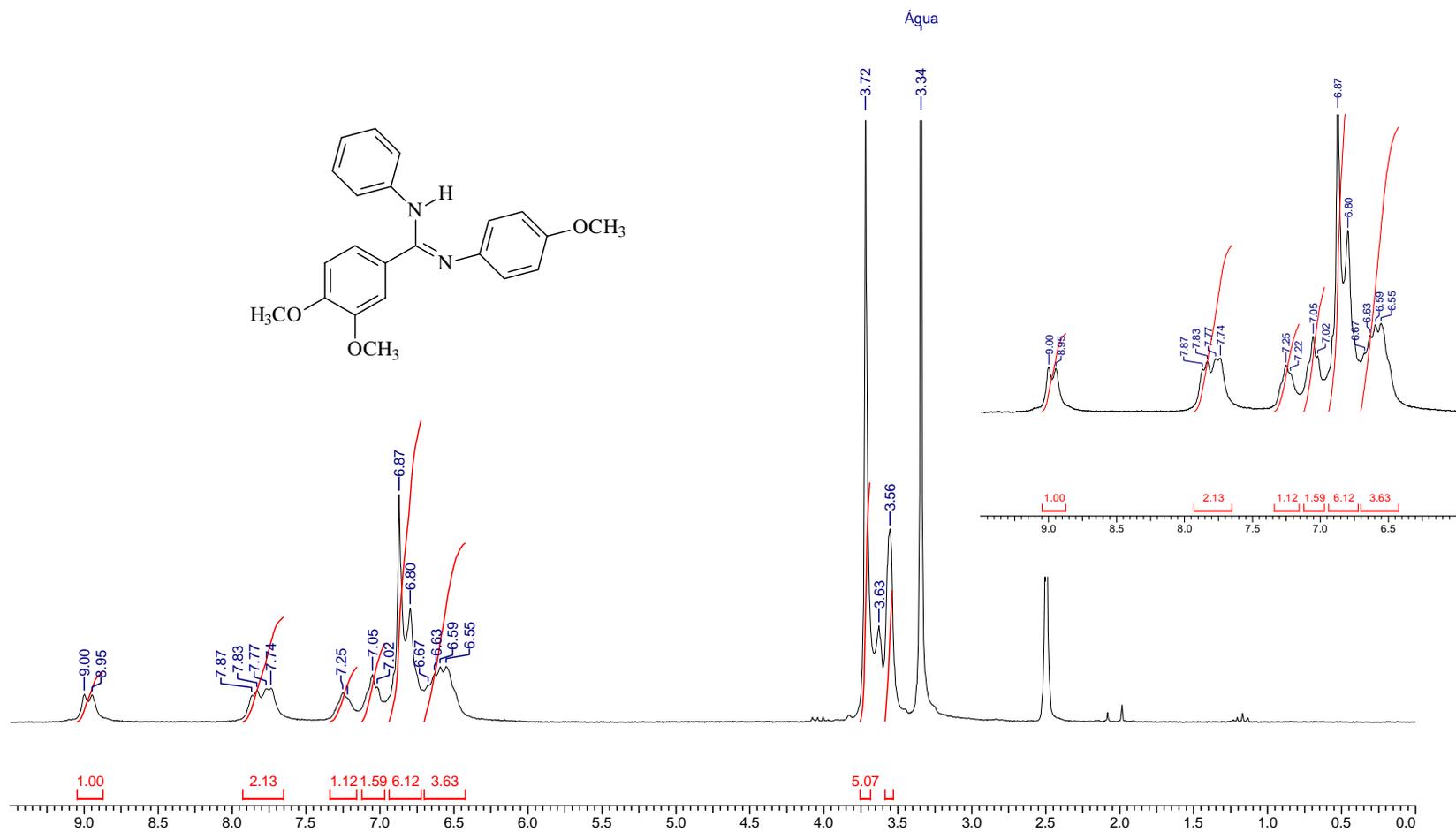
Anexo 99. Espectro de ^1H (DMSO-d_6 , 200 MHz) do composto **165s**



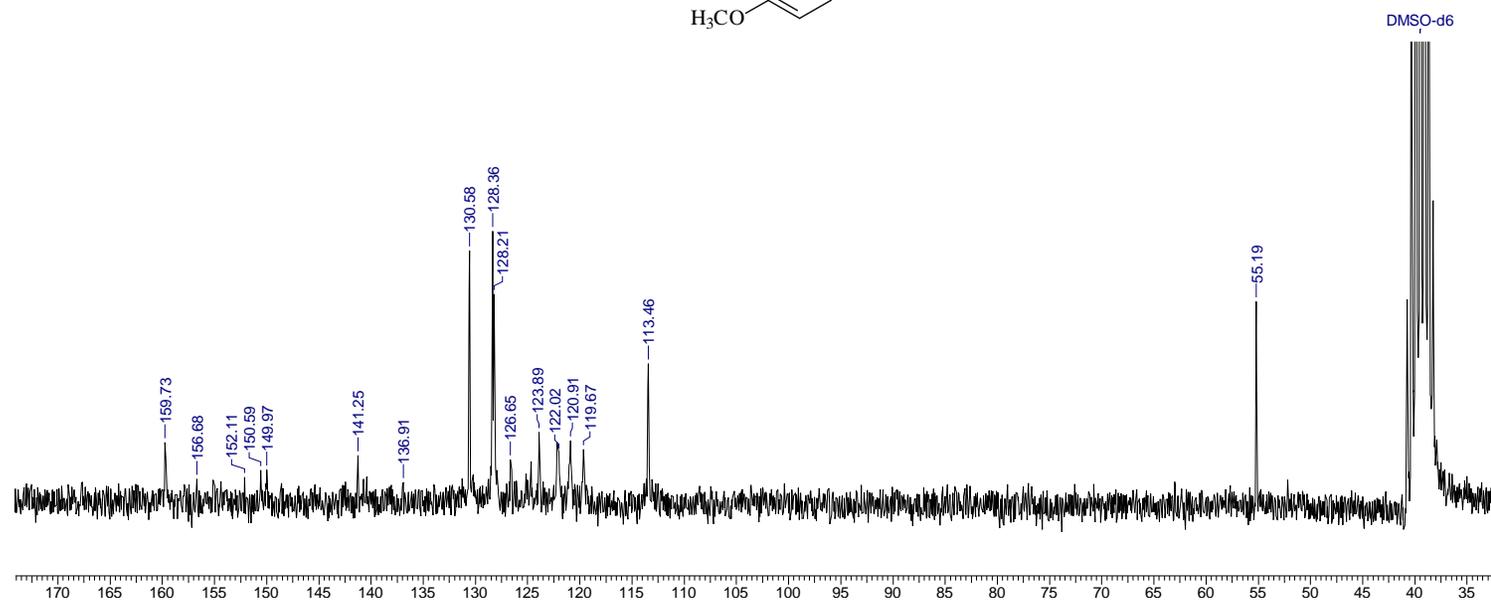
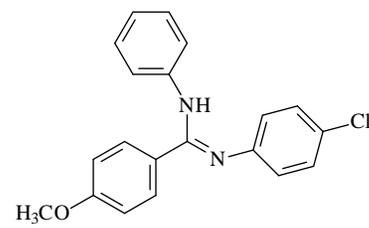
Anexo 100. Espectro de ^1H (DMSO- d_6 , 200 MHz) do composto **165t**



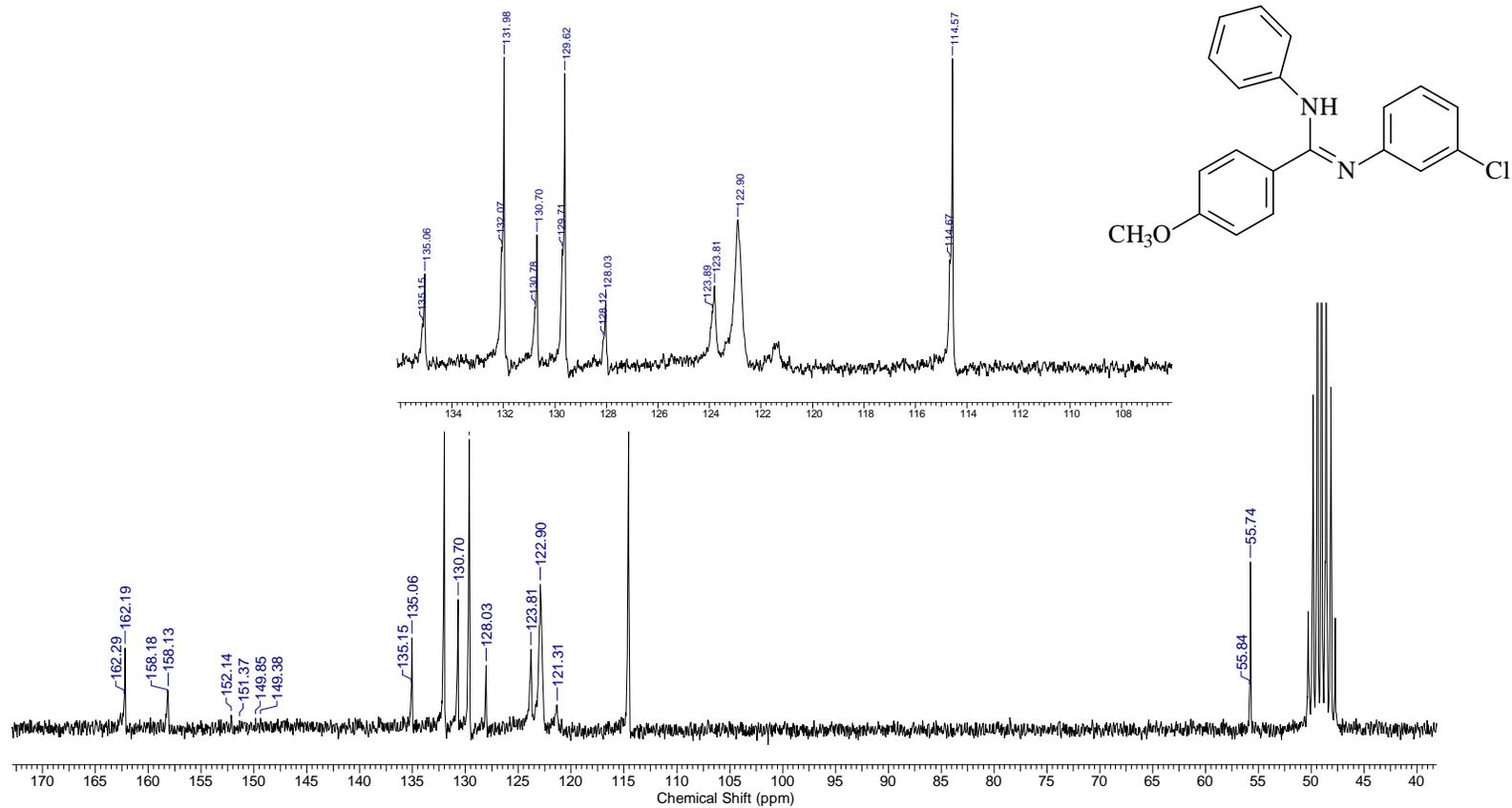
Anexo 101. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto 165u



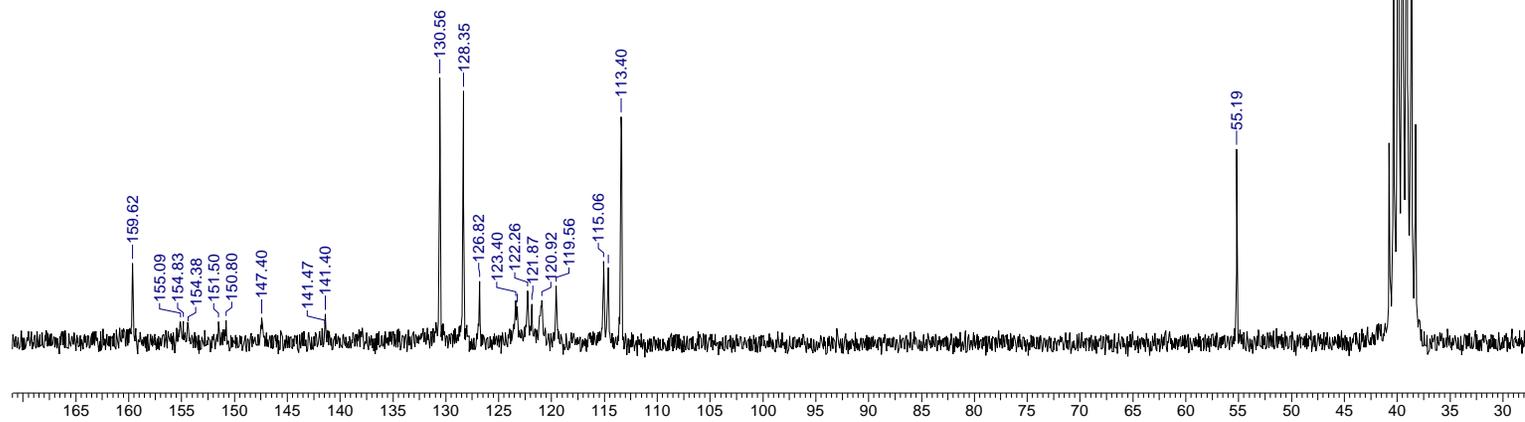
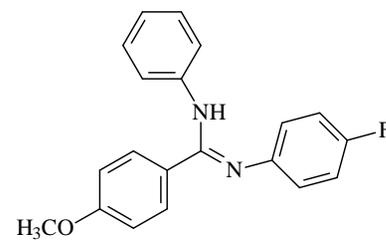
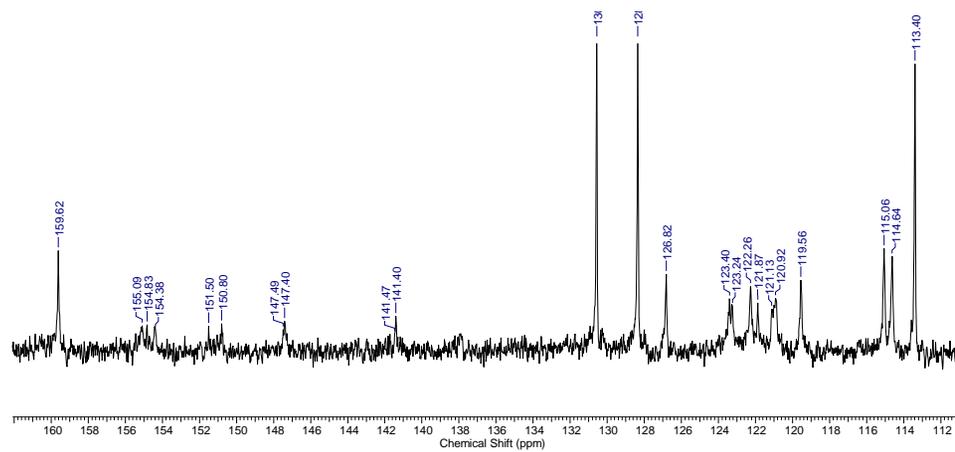
Anexo 102. Espectro de ¹H (DMSO-d₆, 200 MHz) do composto **165v**



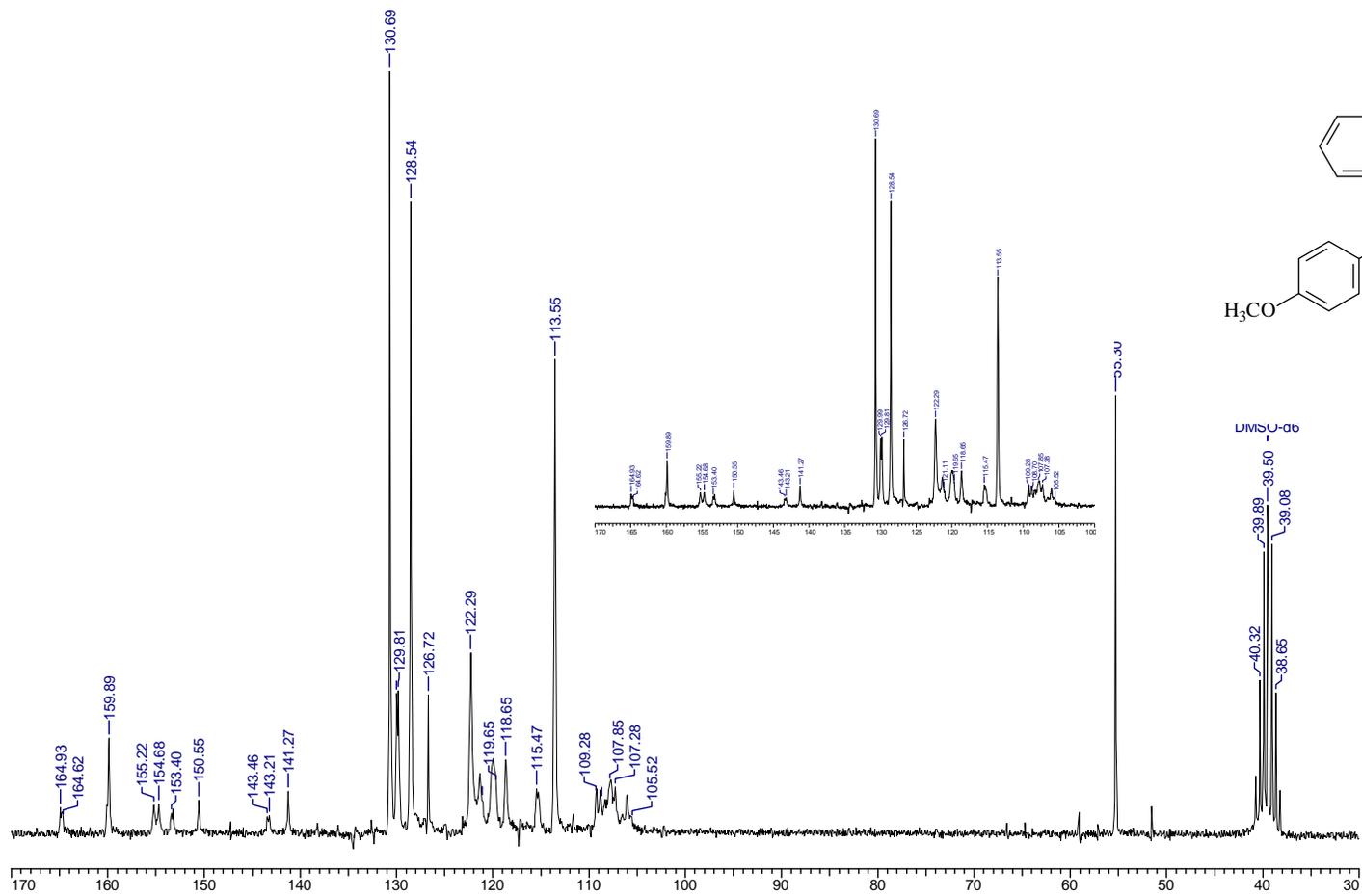
Anexo 103. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **165a**

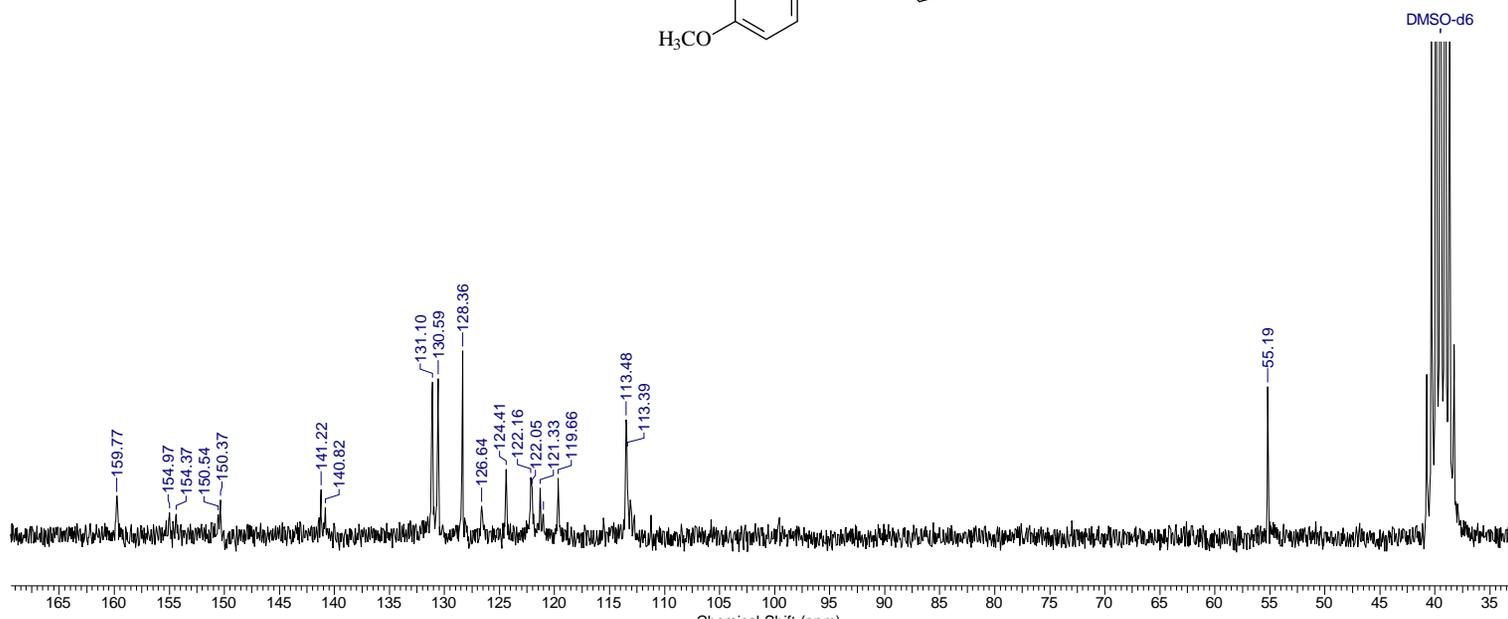
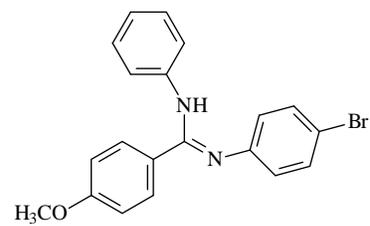


Anexo 104. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto **165b**

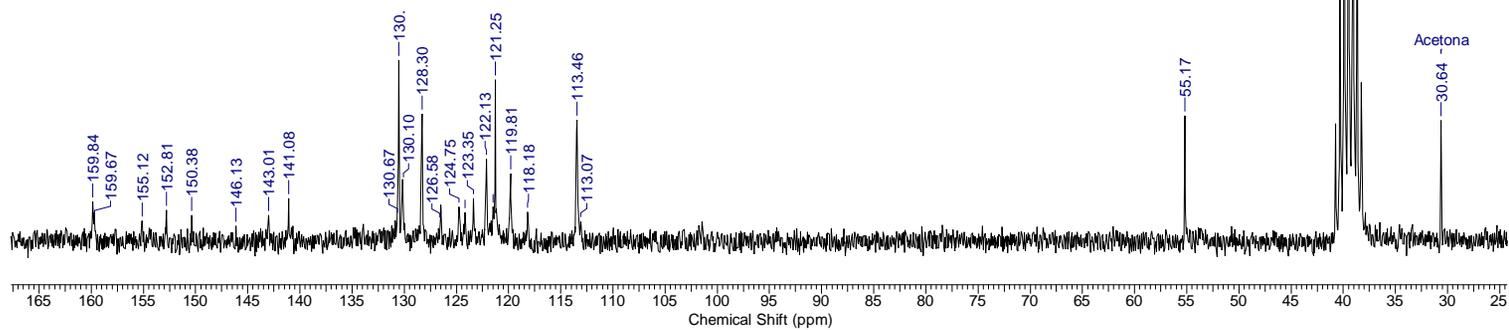
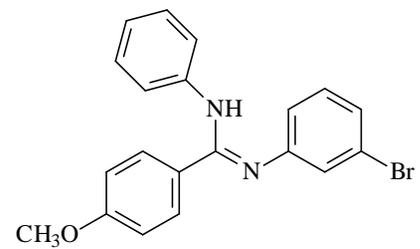
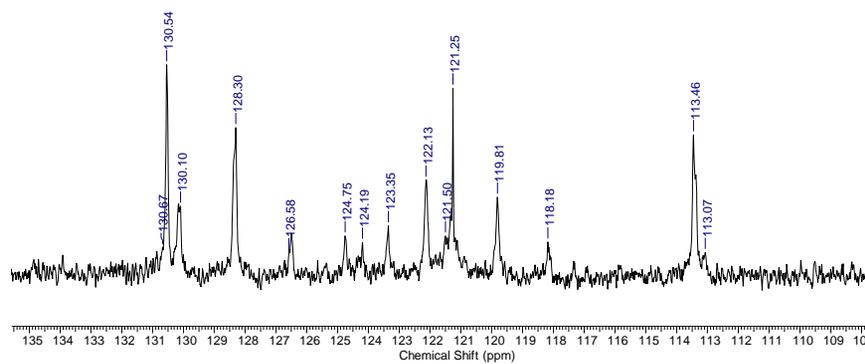


Anexo 105. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165c**

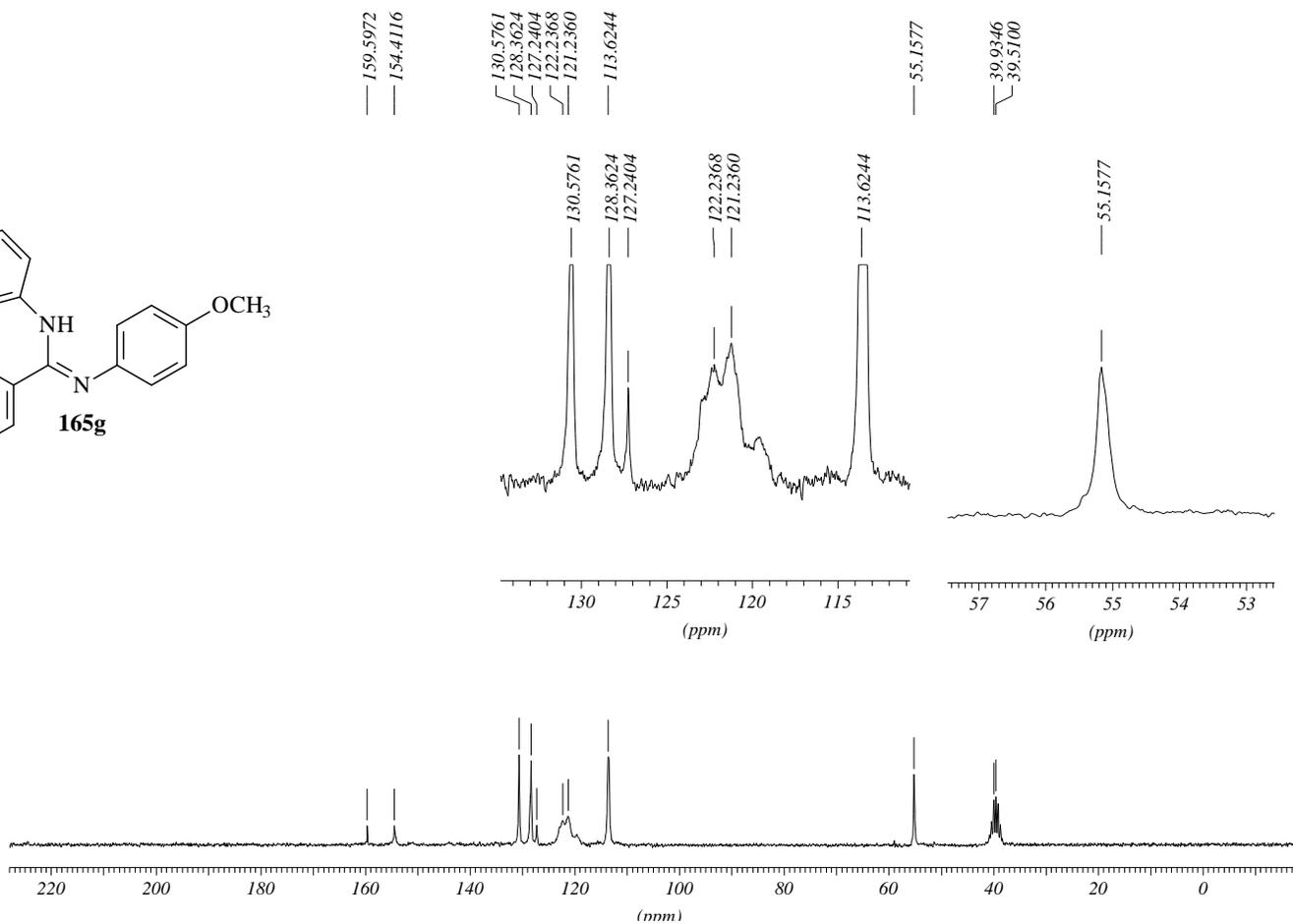
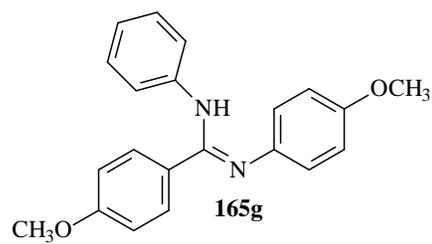




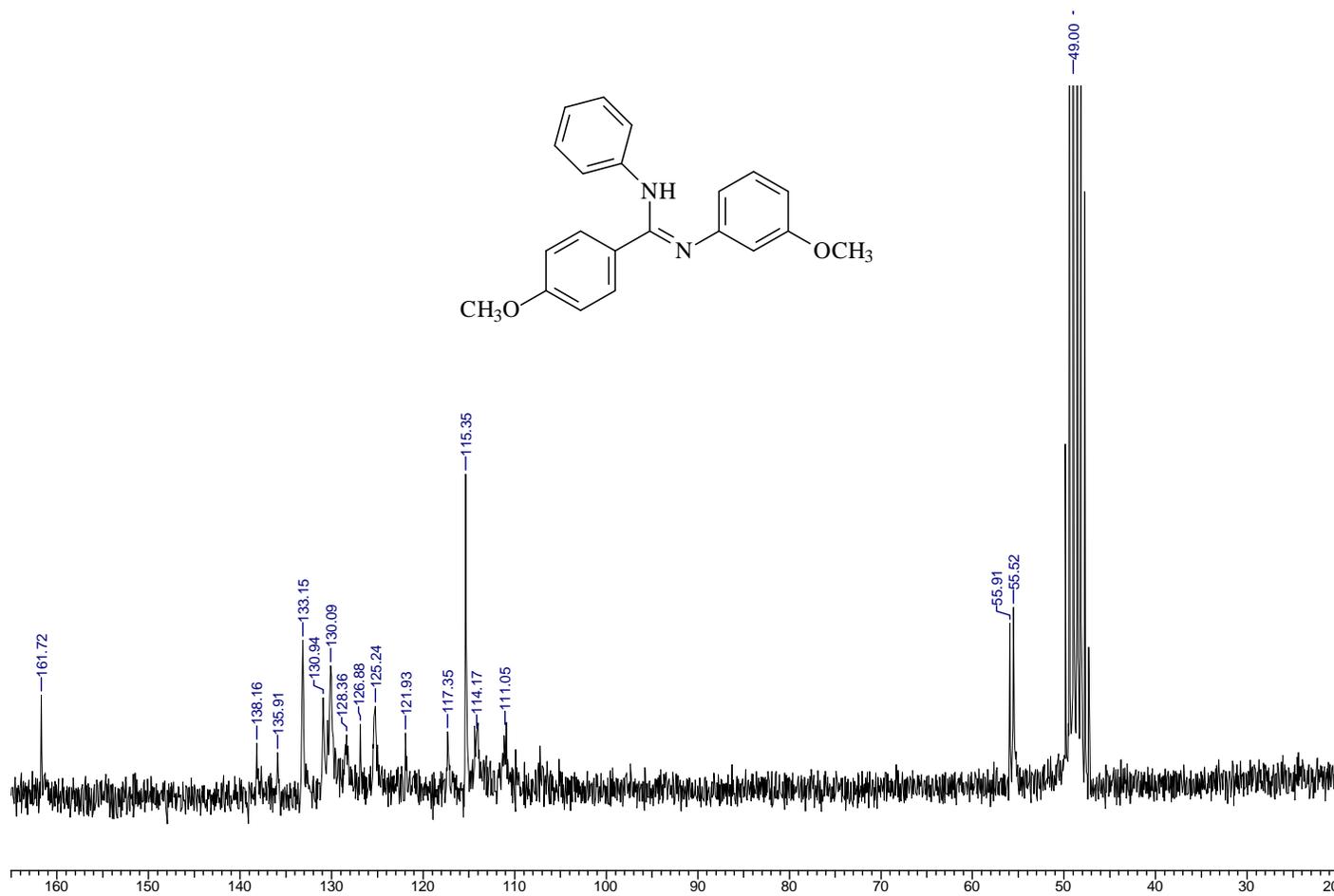
Anexo 107. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto 165e



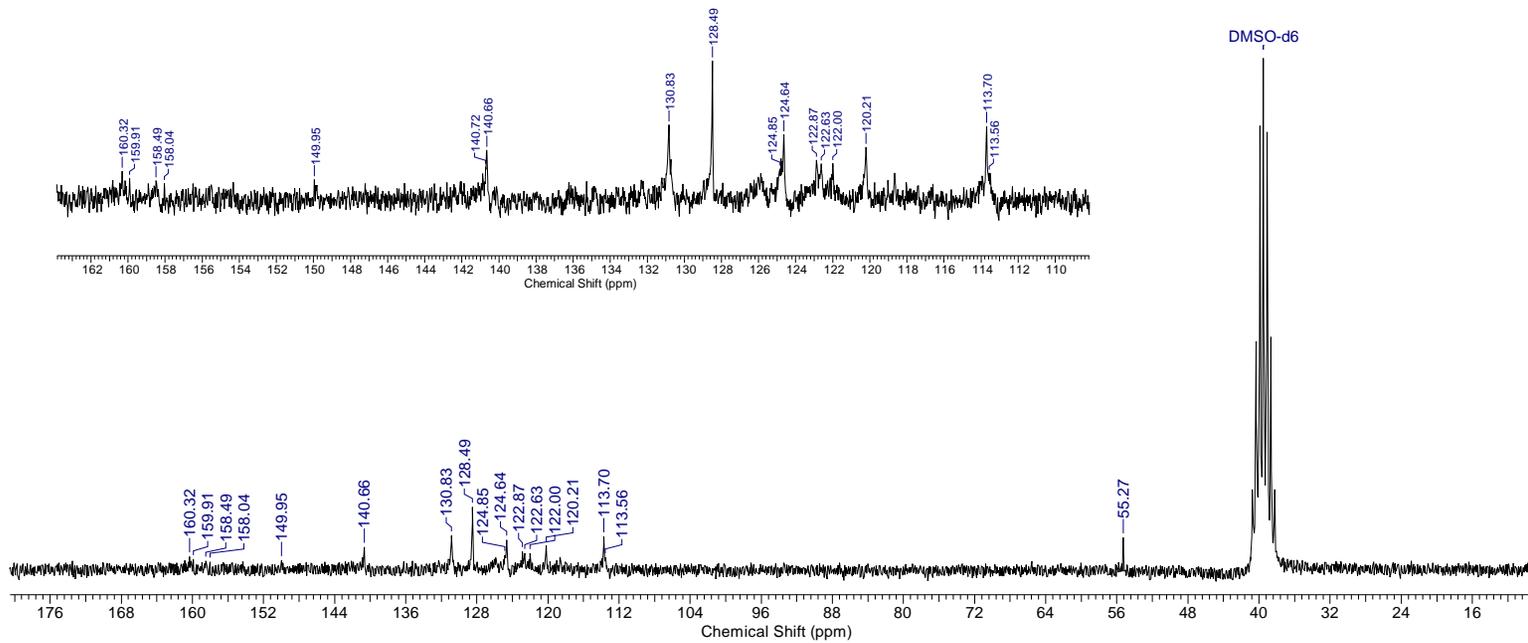
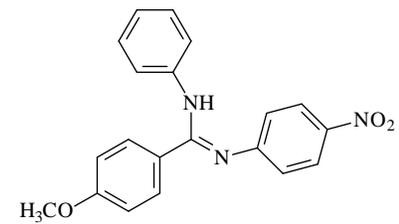
Anexo 108. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165f**



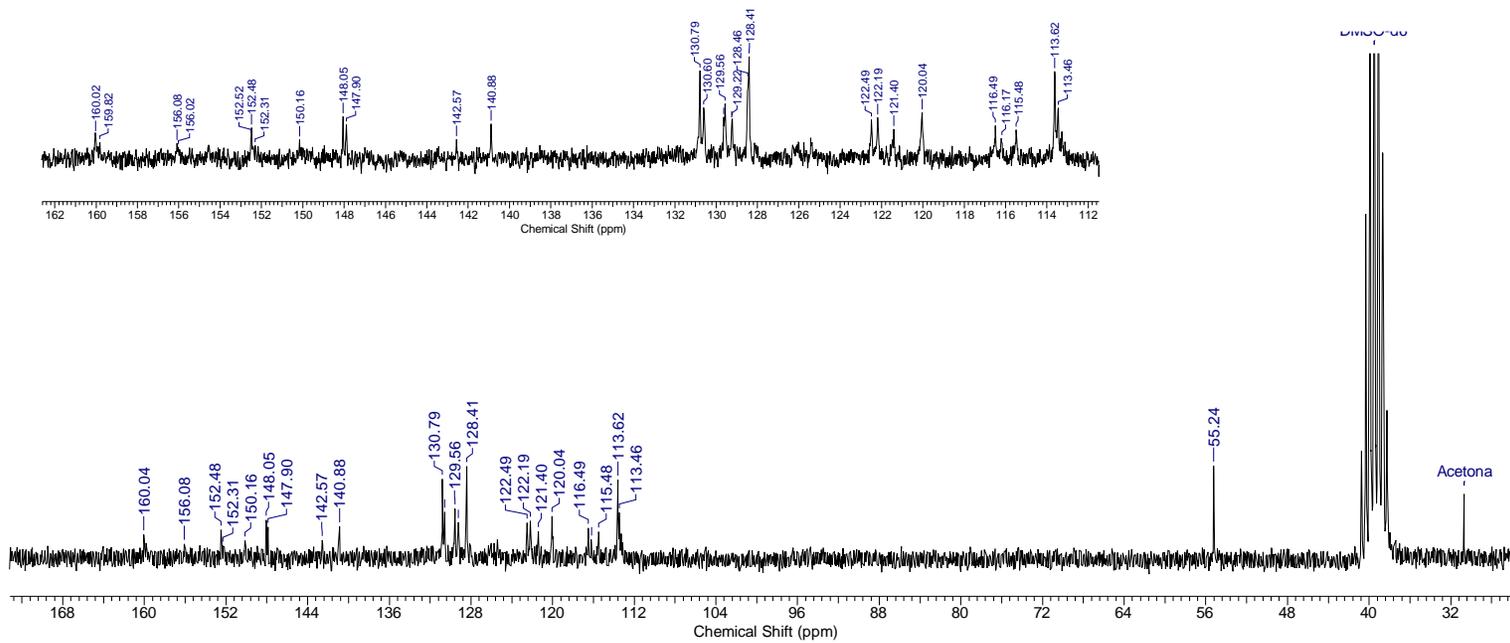
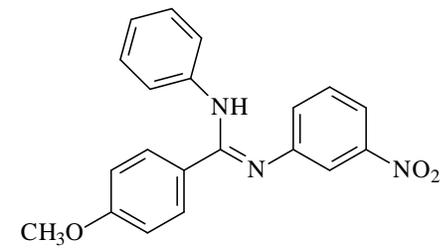
Anexo 109. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **165g**



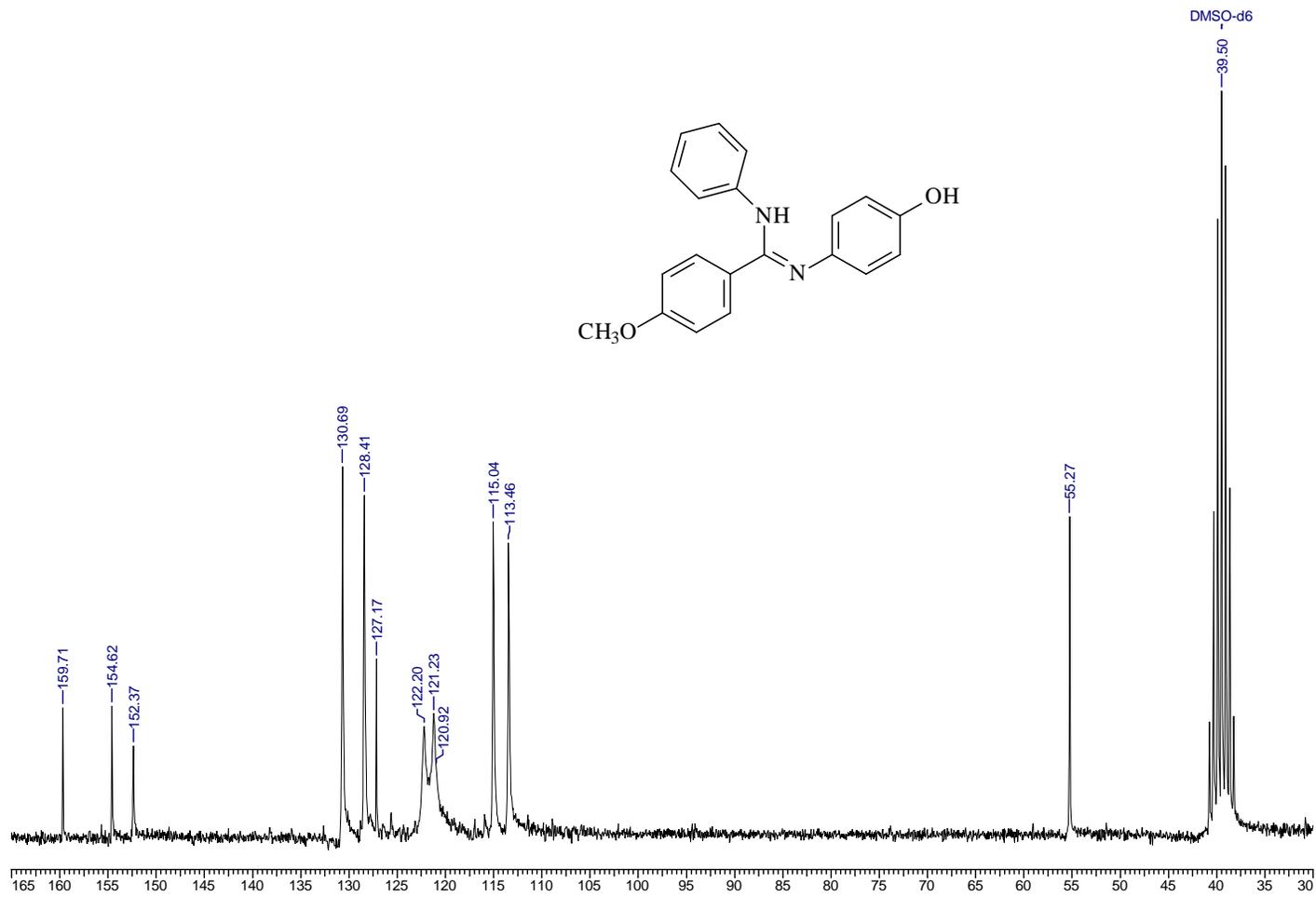
Anexo 110. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **165h**



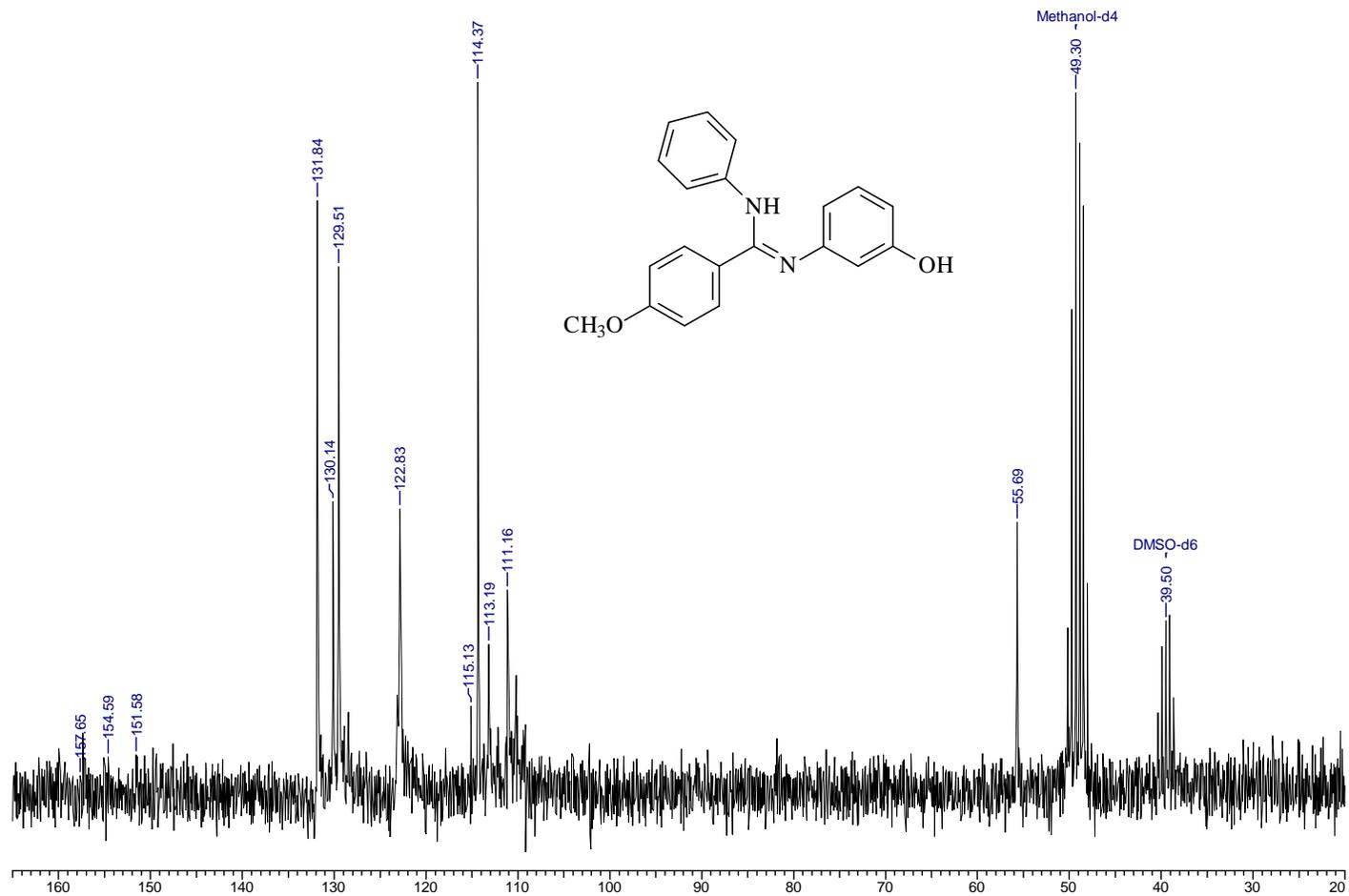
Anexo 111. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165i**



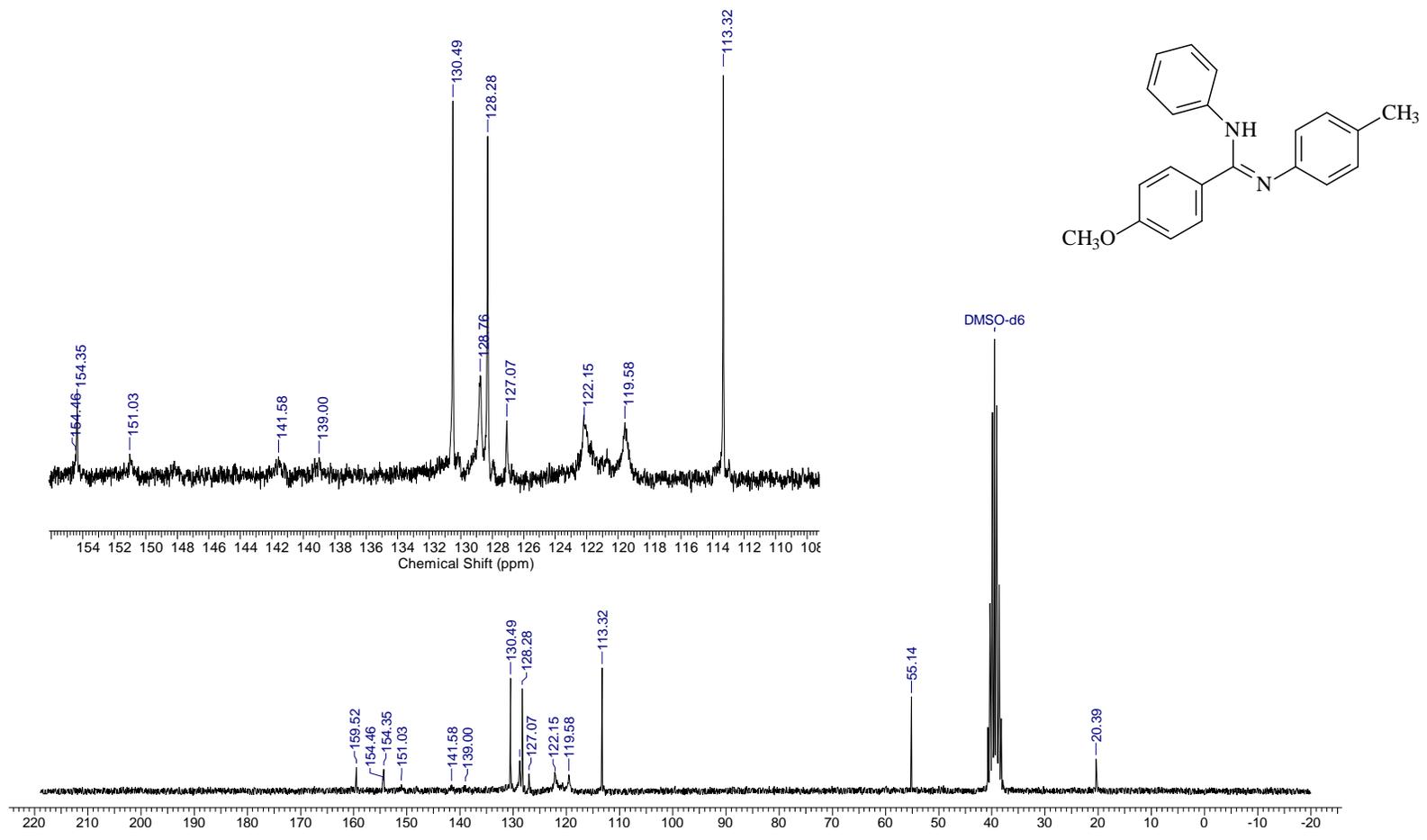
Anexo 112. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto 165j



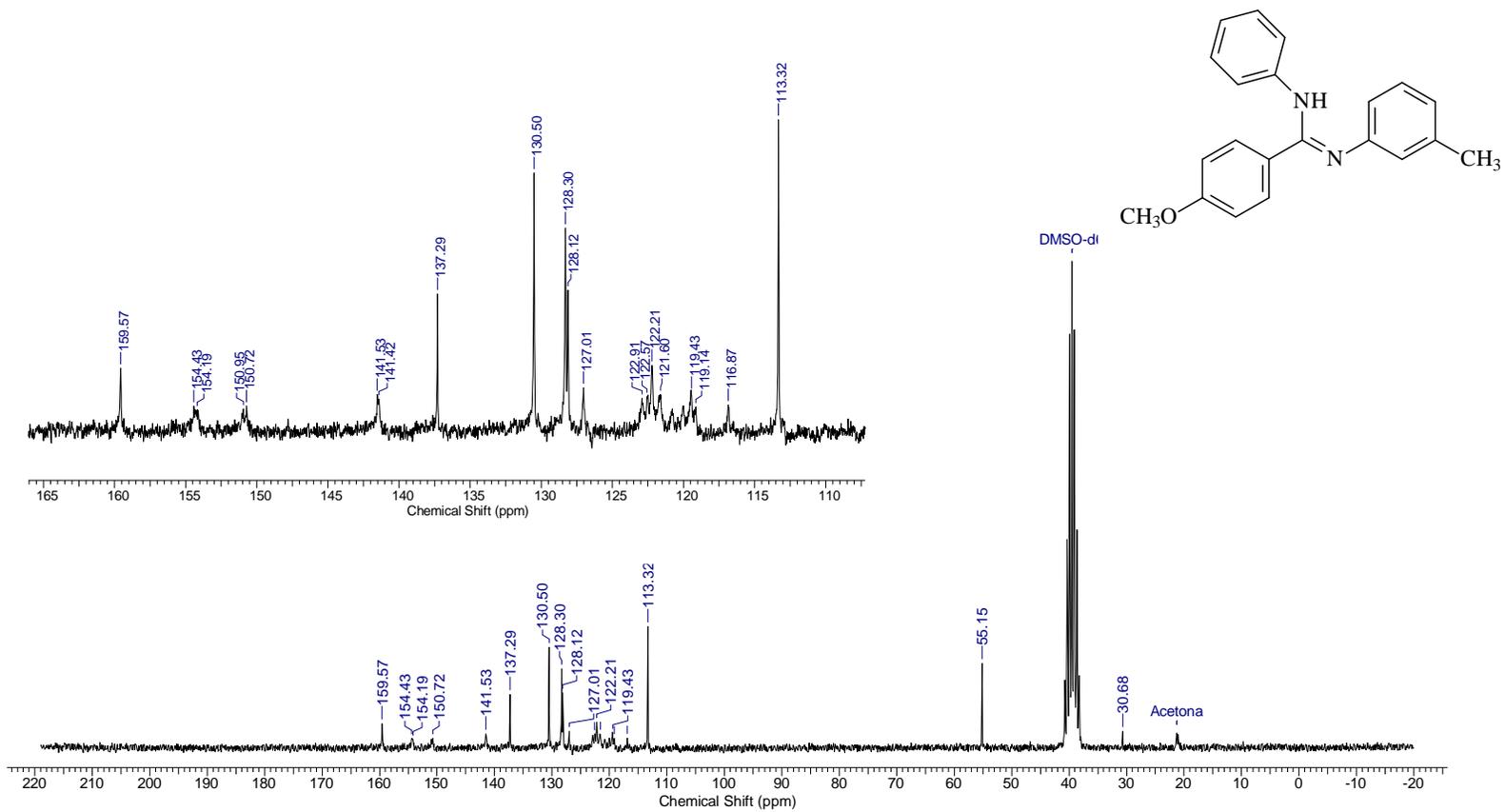
Anexo 113. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **165k**



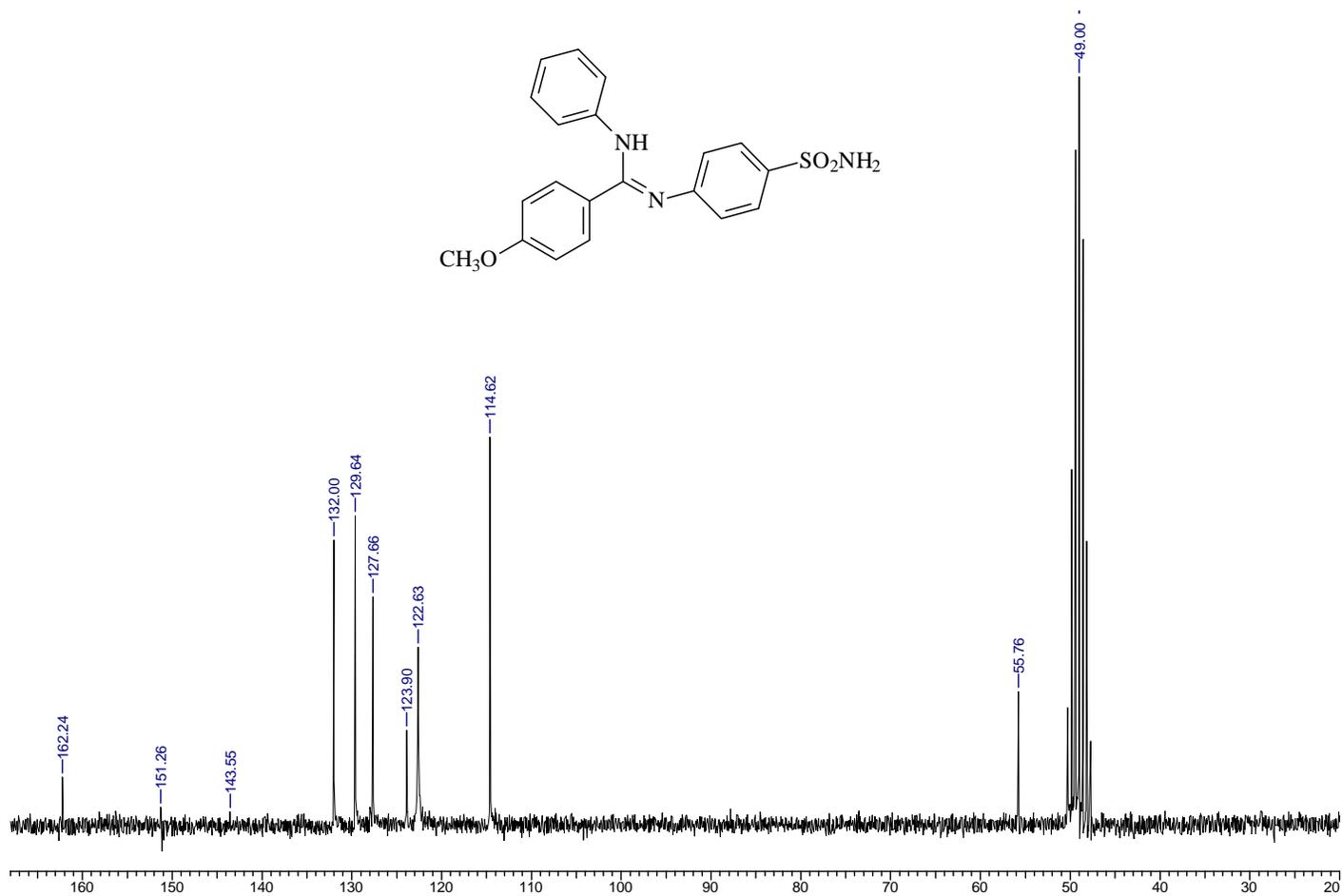
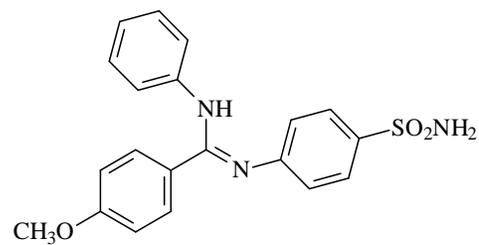
Anexo 114. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **165I**



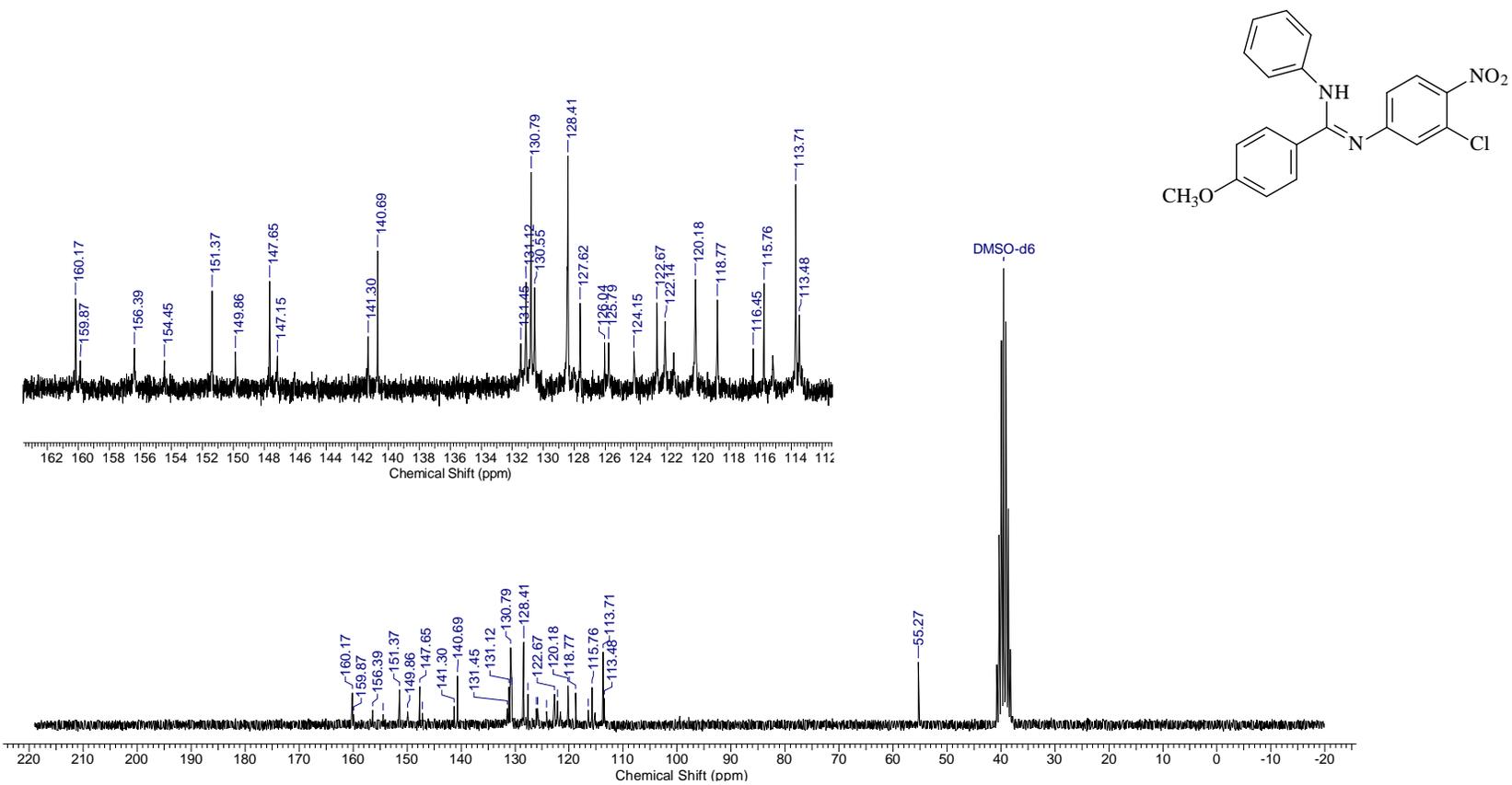
Anexo 115. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165m**



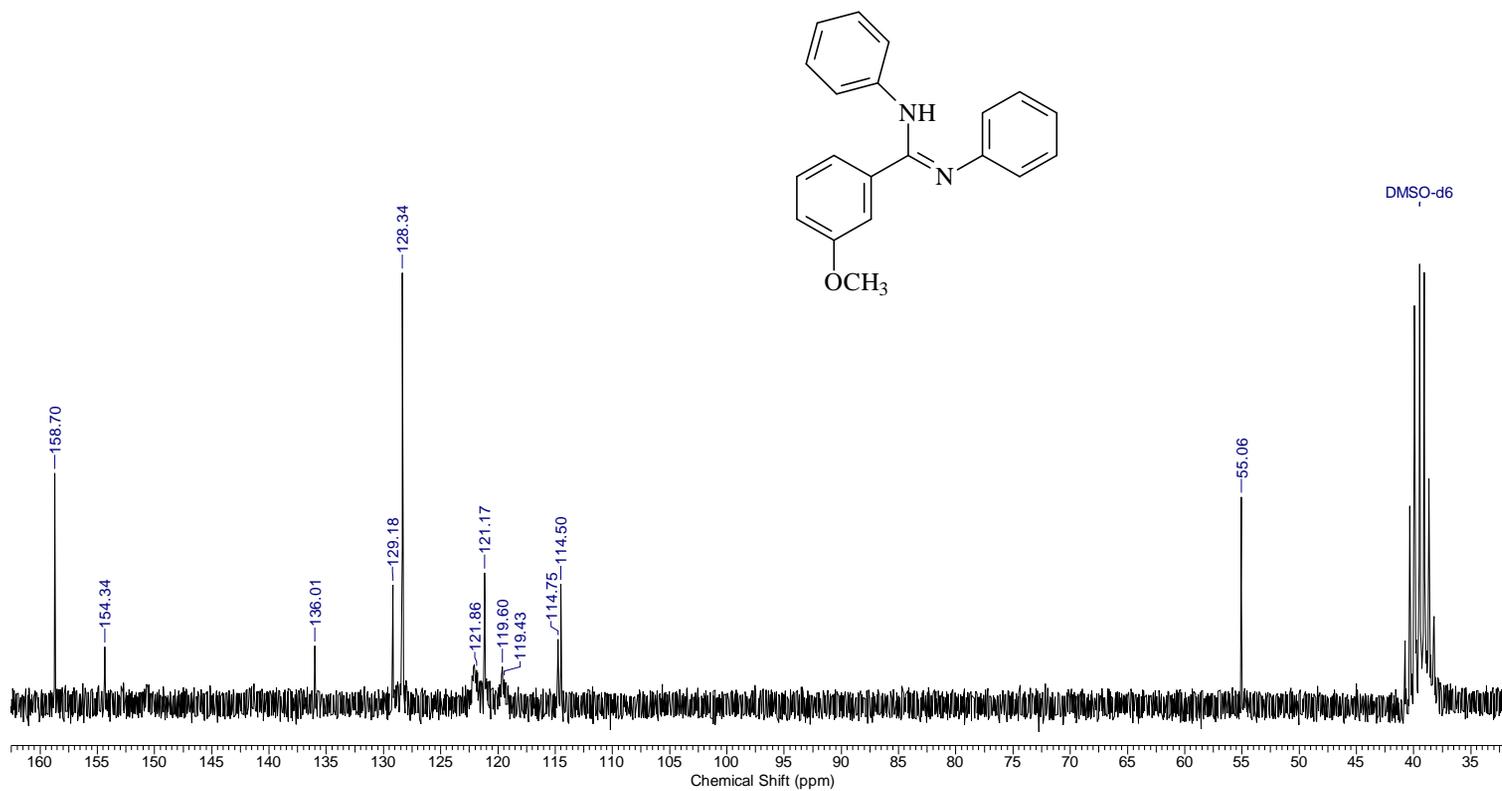
Anexo 116. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165n**



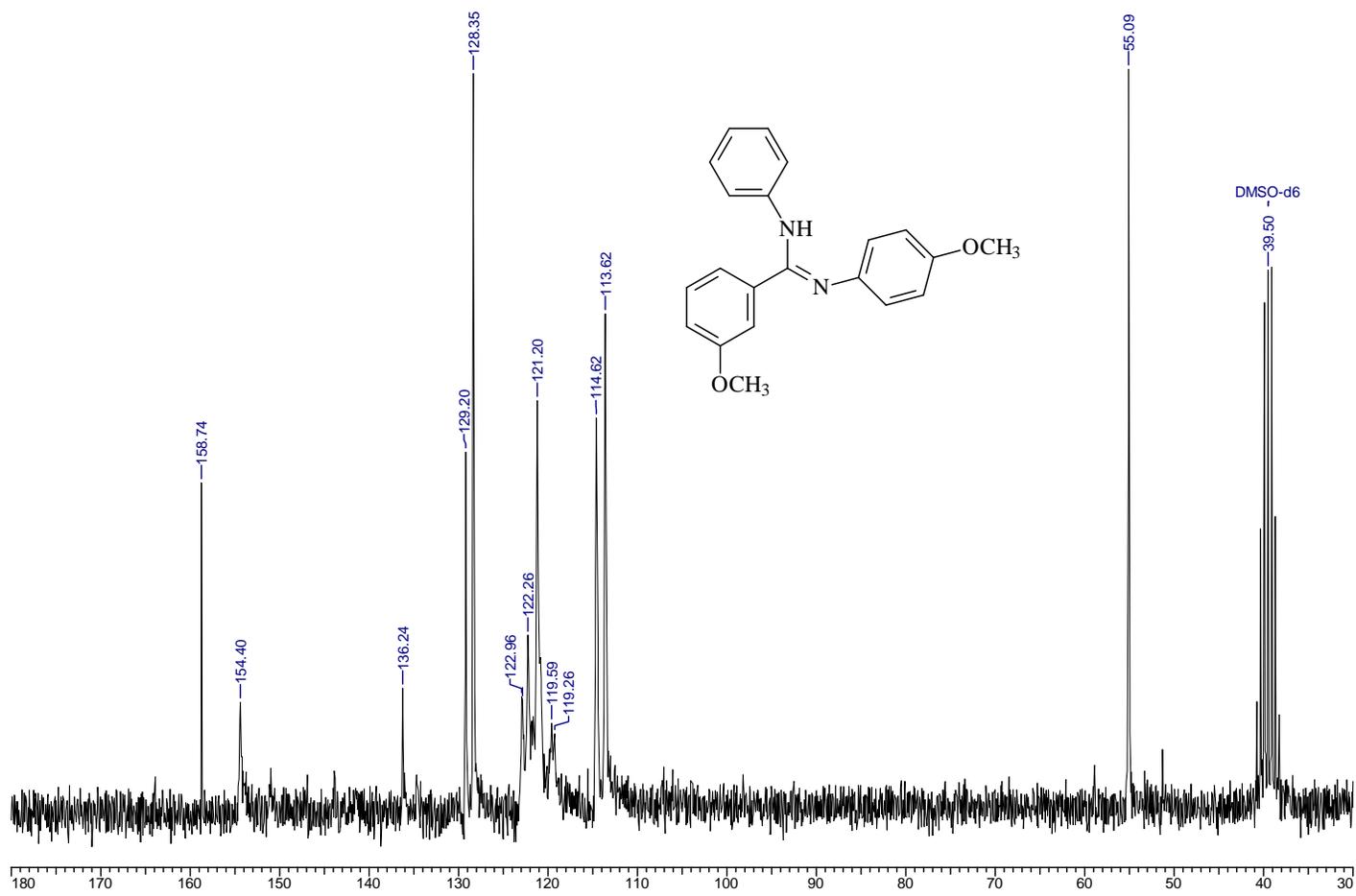
Anexo 117. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165o**



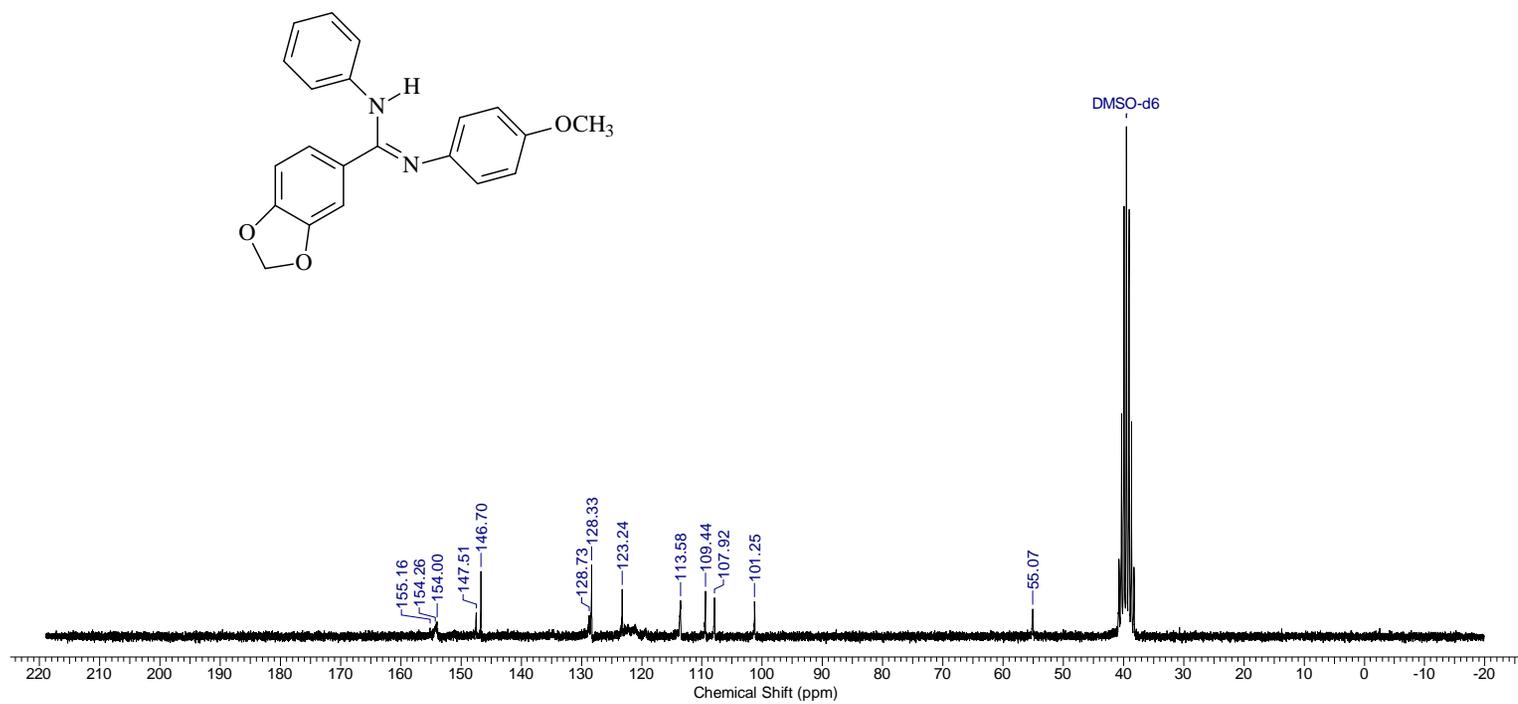
Anexo 118. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165p**



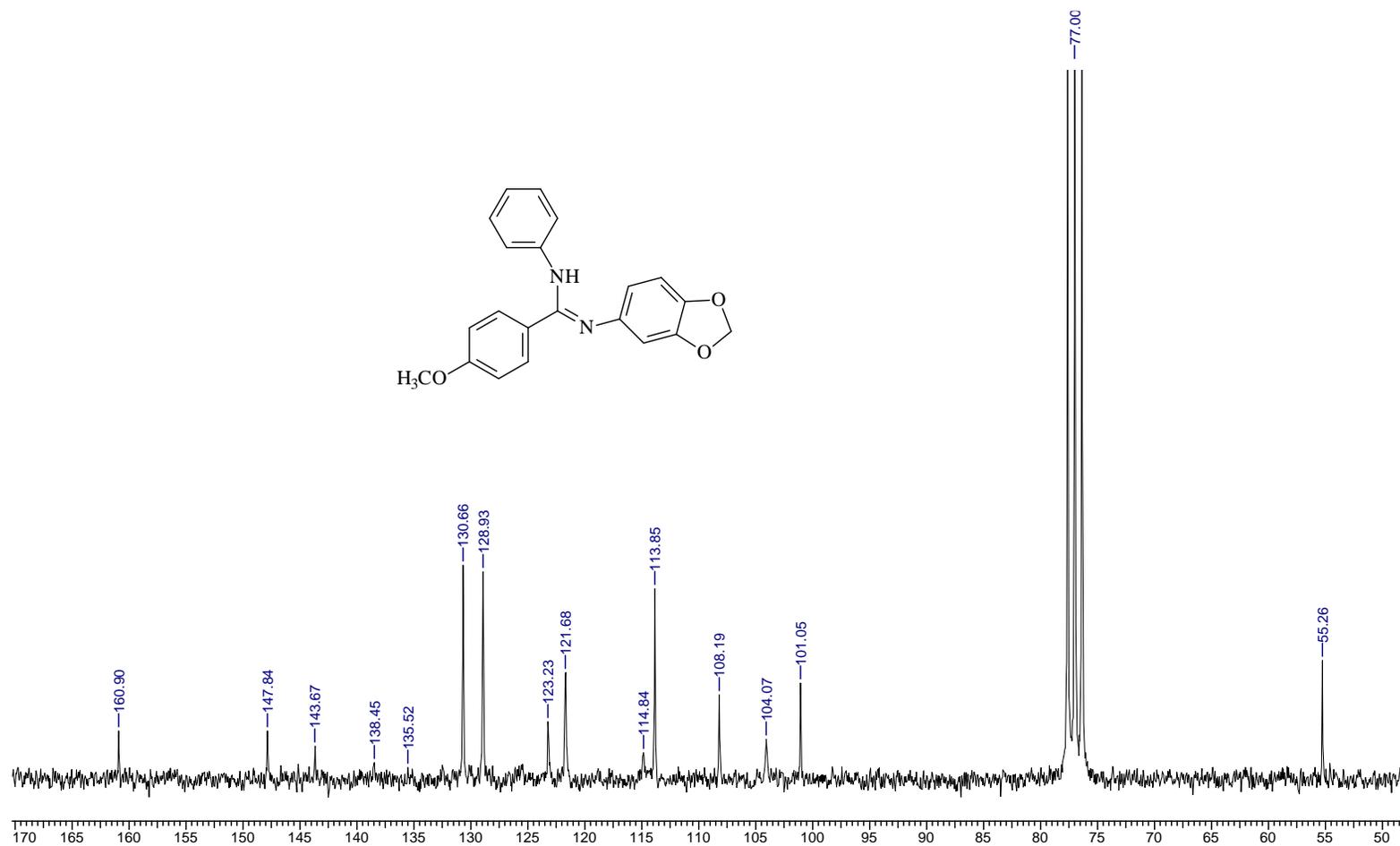
Anexo 119. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **165q**



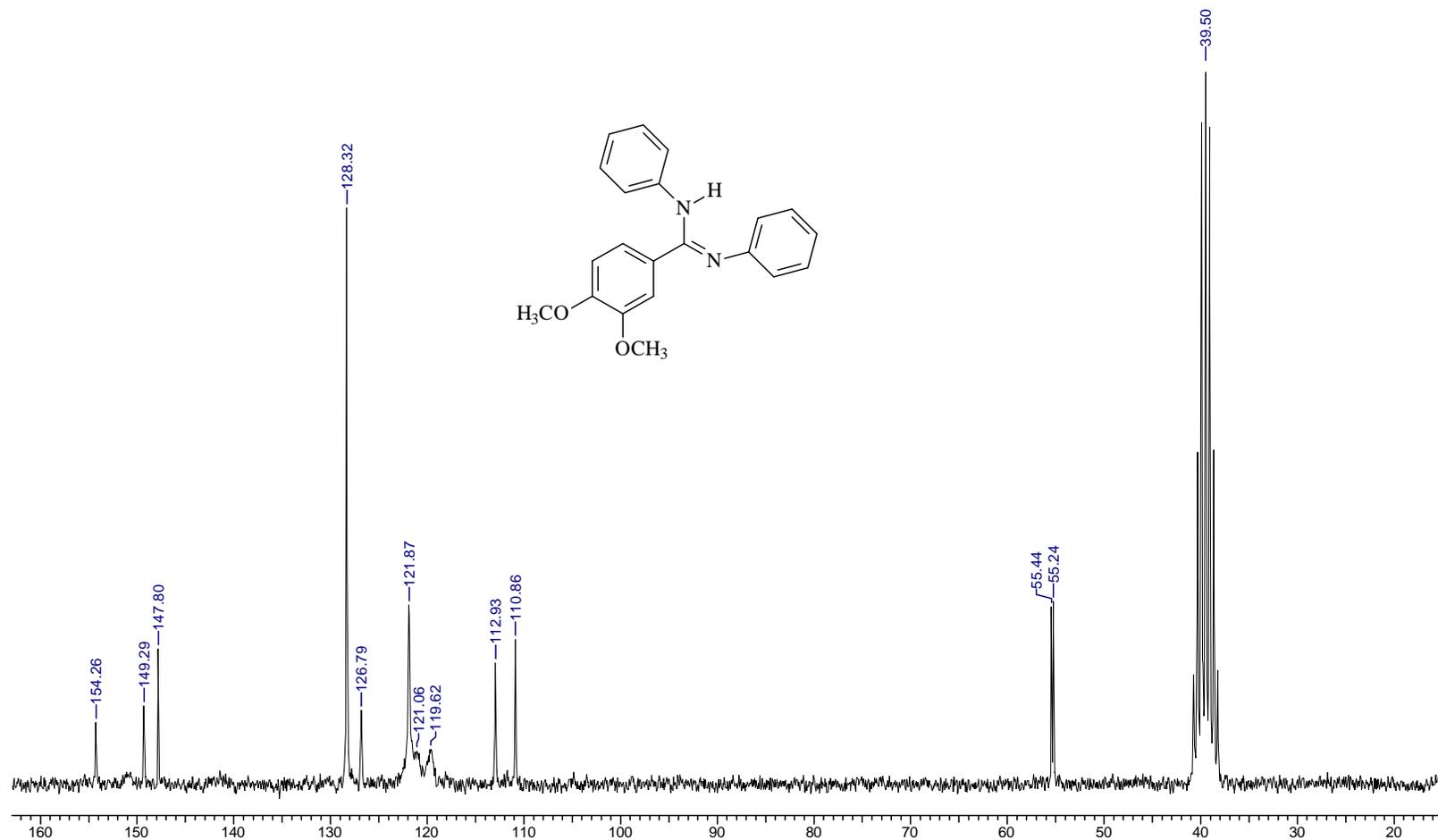
Anexo 120. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **165r**



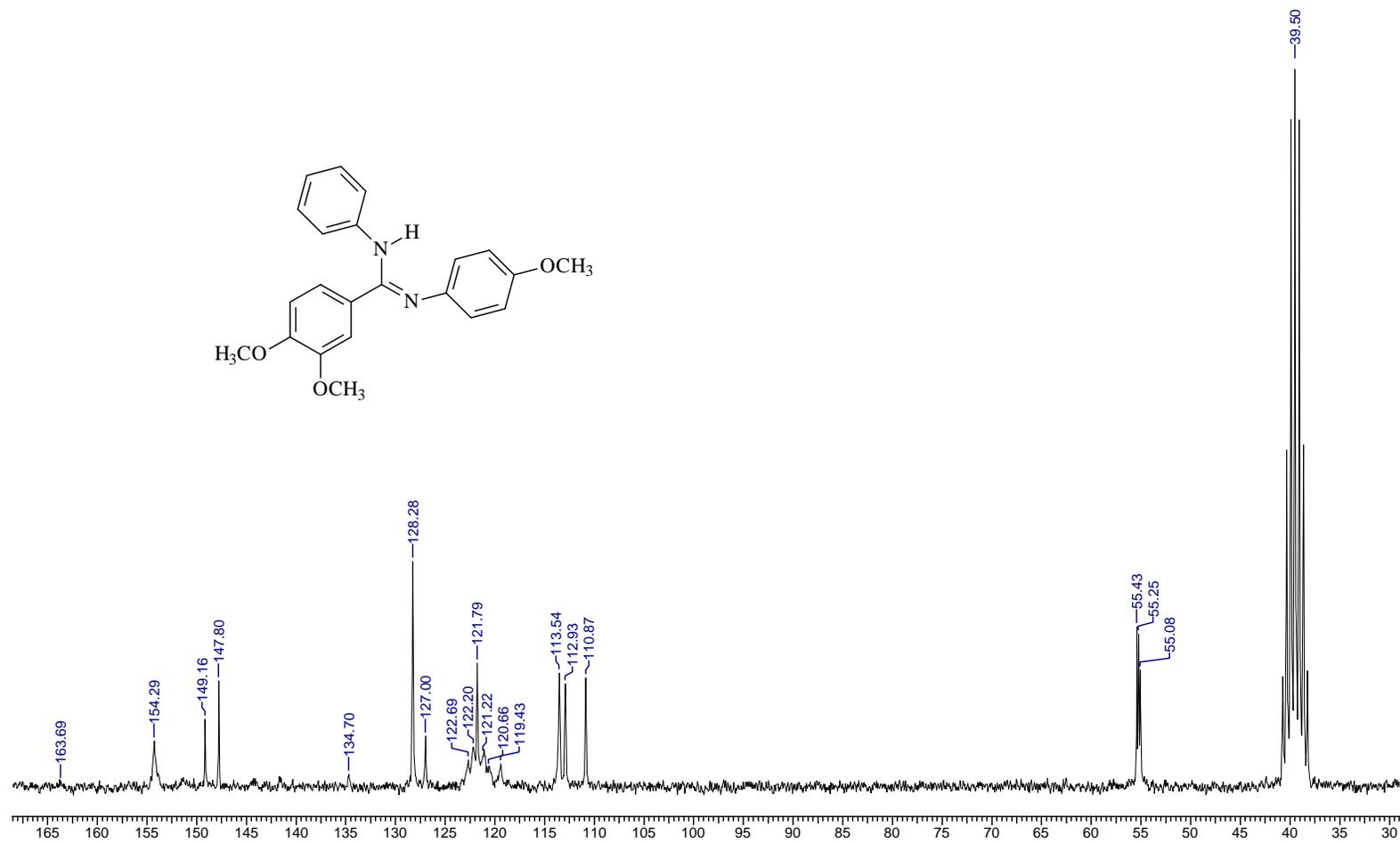
Anexo 121. Espectro de ¹³C (DMSO-d₆, 50,3 MHz) do composto 165s



Anexo 122. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165t**



Anexo 123. Espectro de ^{13}C (DMSO-d_6 , 50,3 MHz) do composto **165u**

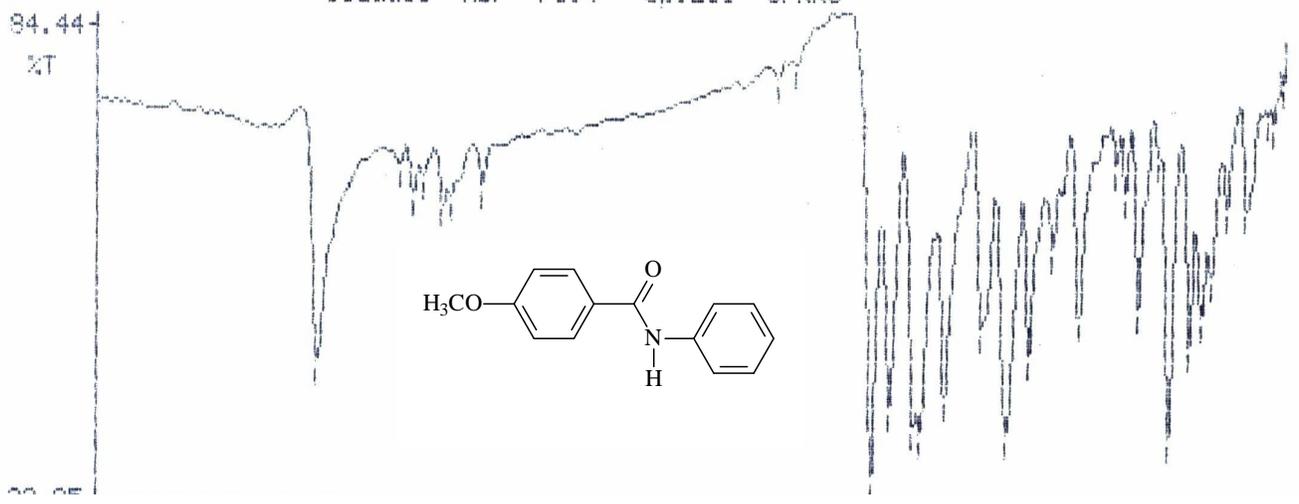


Anexo 124. Espectro de ^{13}C (DMSO- d_6 , 50,3 MHz) do composto **165v**

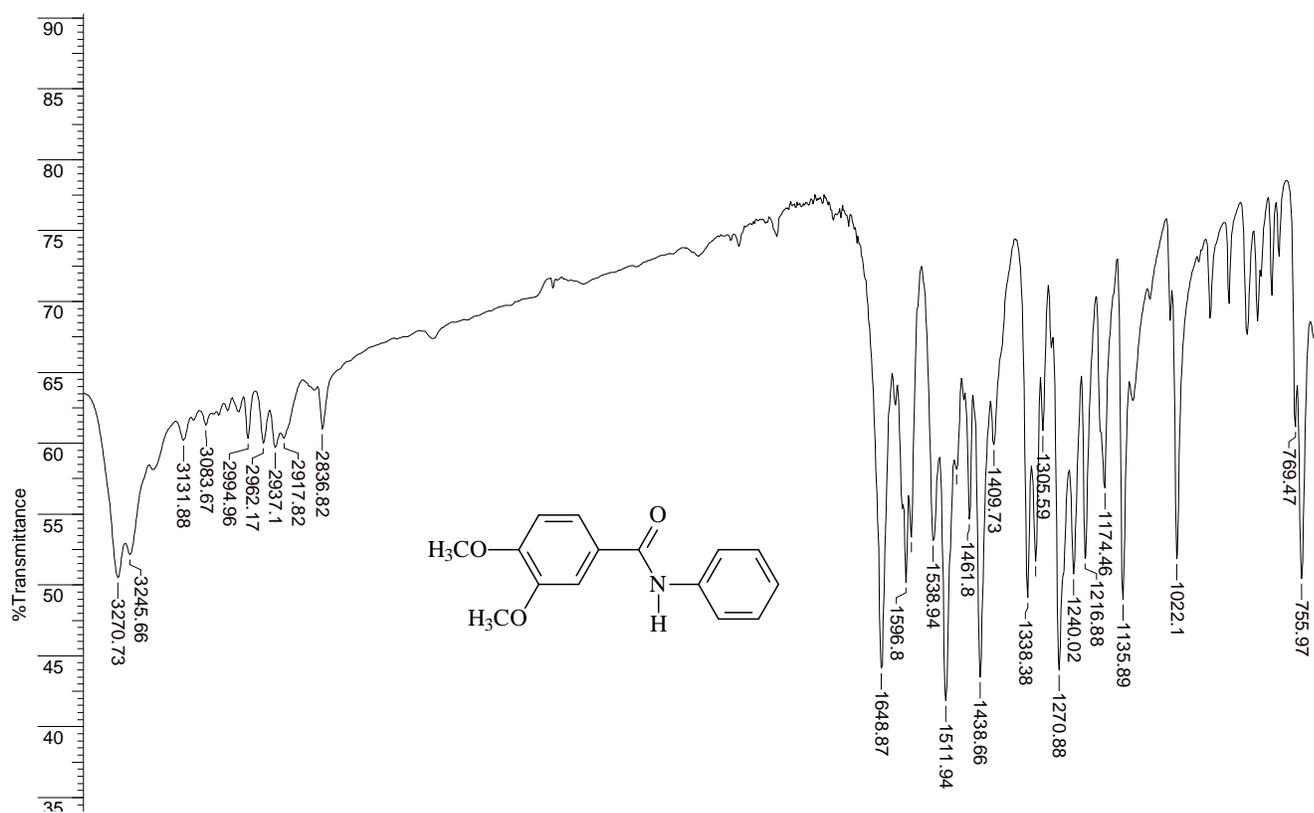
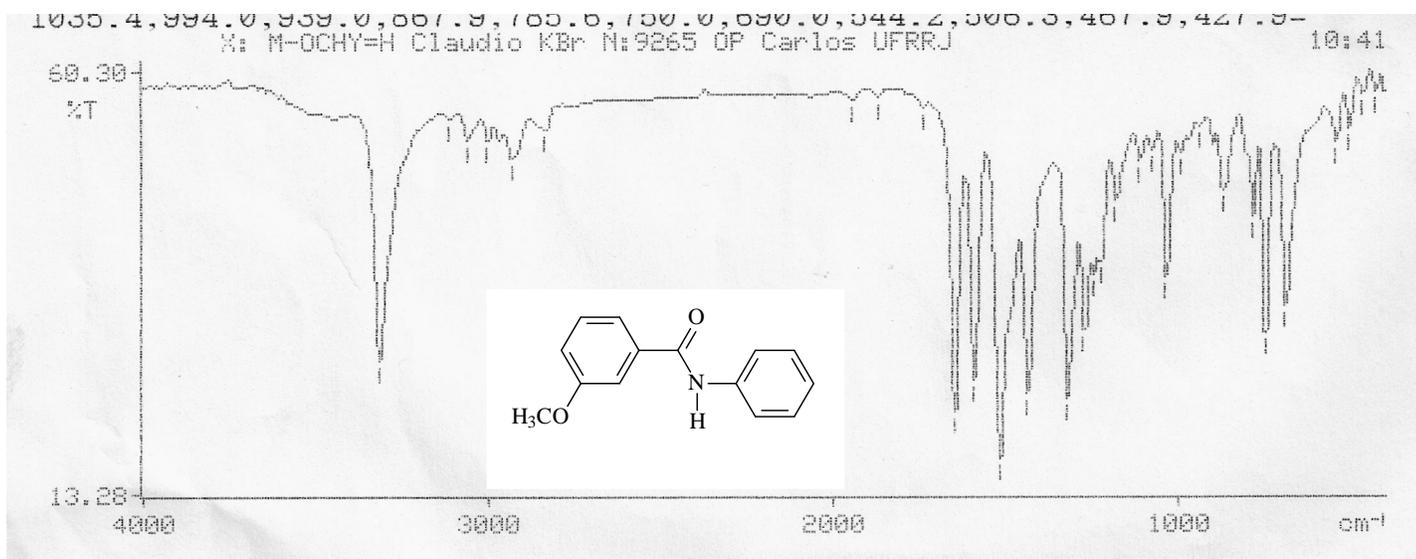


3336.7,3088.5,3049.1,3017.8,2957.8,2933.1,2838.0,1939.6,1882.3=
 1655.2,1599.3,1527.5,1506.5,1434.5,1322.6,1246.0,1179.4,1106.2=
 1026.8,913.7,886.5,846.7,786.6,753.6,690.7,655.2=
 625.6,578.6,519.5,455.4,439.5,409.1=

Claudio KBr 7194 Op.Eli UFRRJ



Anexo 125. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **162a-b**, respectivamente.

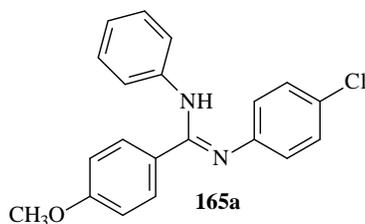
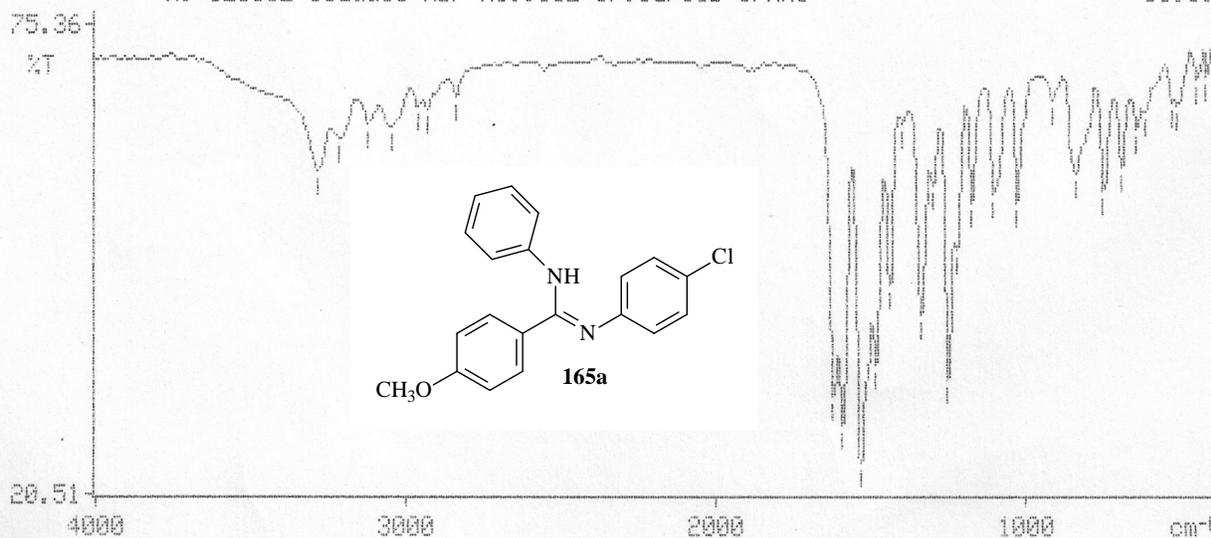


Anexo 126. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165c-d**, respectivamente.

3283.1, 3214.3, 3123.2, 3048.6, 2963.8, 2933.6, 2839.9, 1620.8, 1591.5, 1534.5, 1485.4=
1441.7, 1399.7, 1340.6, 1303.1, 1252.6, 1225.7, 1177.3, 1106.0, 1030.5, 919.1=
841.0, 750.7, 694.4, 645.0, 619.1, 532.9, 513.0, 453.4, 421.2=

X: CE10CL Claudio KBr NO:9312 OP:Carlos UFRRJ

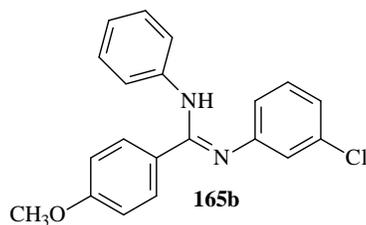
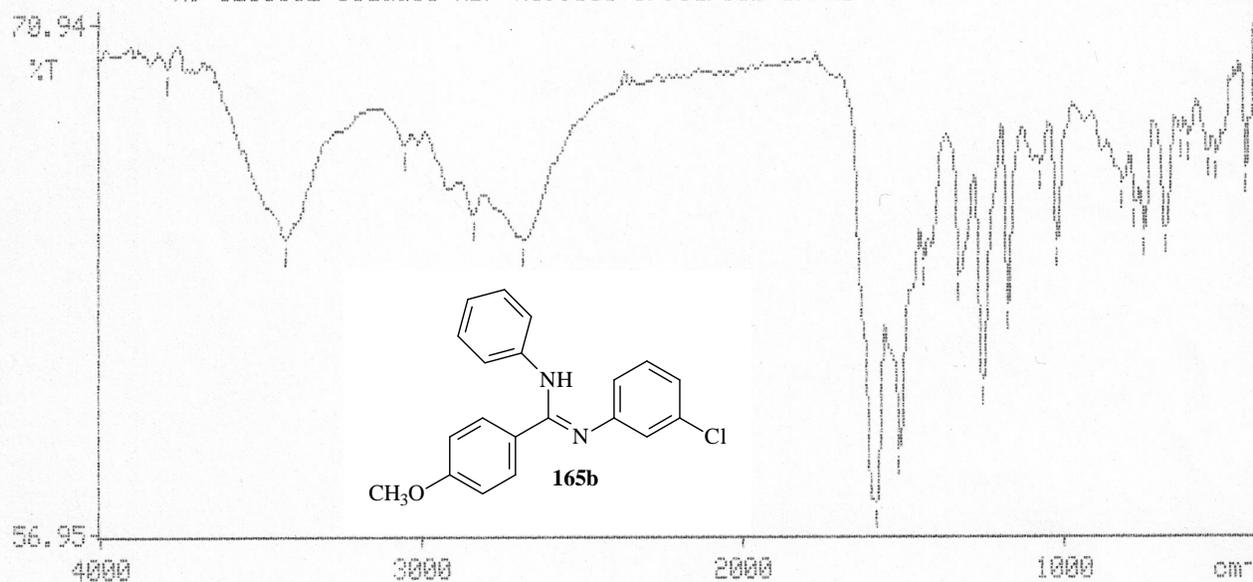
11:59



3795.4, 3422.3, 3057.0, 2841.3, 2684.0, 1586.7, 1512.7, 1439.4, 1327.4, 1257.3=
1178.6, 1074.7, 1025.3, 821.8, 781.3, 752.7, 688.3, 640.9, 614.6, 557.2, 529.2, 439.6=

X: CE103CL Claudio KBr NO:9308 OP:Carlos UFRRJ

11:16

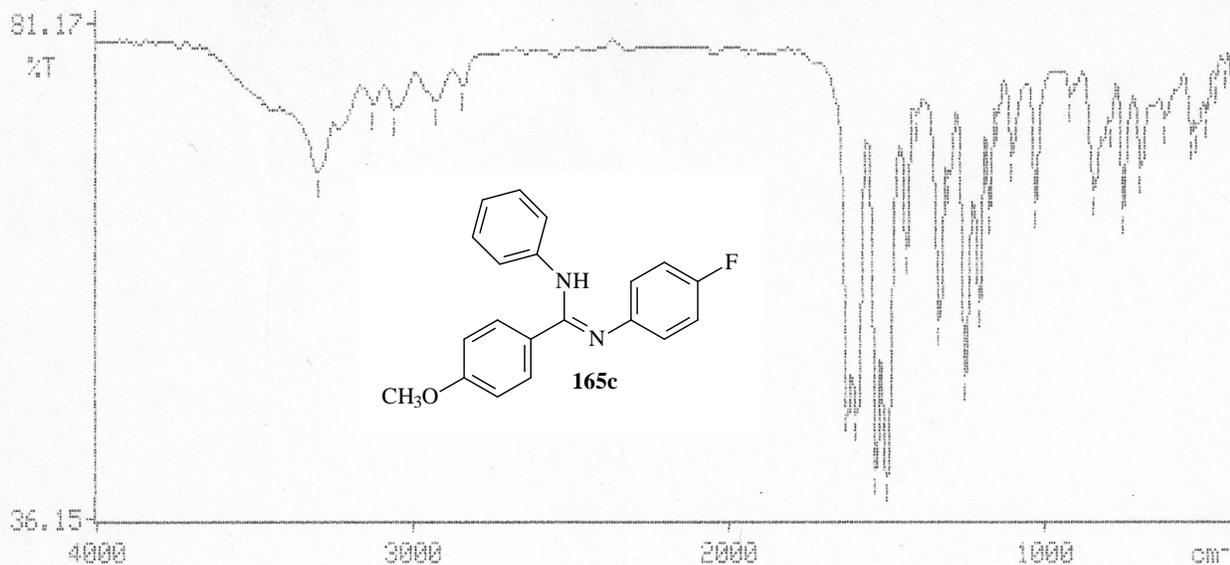


Anexo 127. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165a-b**, respectivamente.

3300.9,3127.2,3061.9,2932.2,2843.9,1627.0,1596.6,1535.9,1502.1,1441.2=
1405.7,1335.9,1304.2,1254.3,1210.6,1179.0,1153.1,1107.0,1031.8,921.0=
844.9,794.6,754.8,697.4,620.4,540.0,520.7,491.3,462.9,432.8=

X: CE10F Claudio KBr NO:9313 OP:Carlos UFRRJ

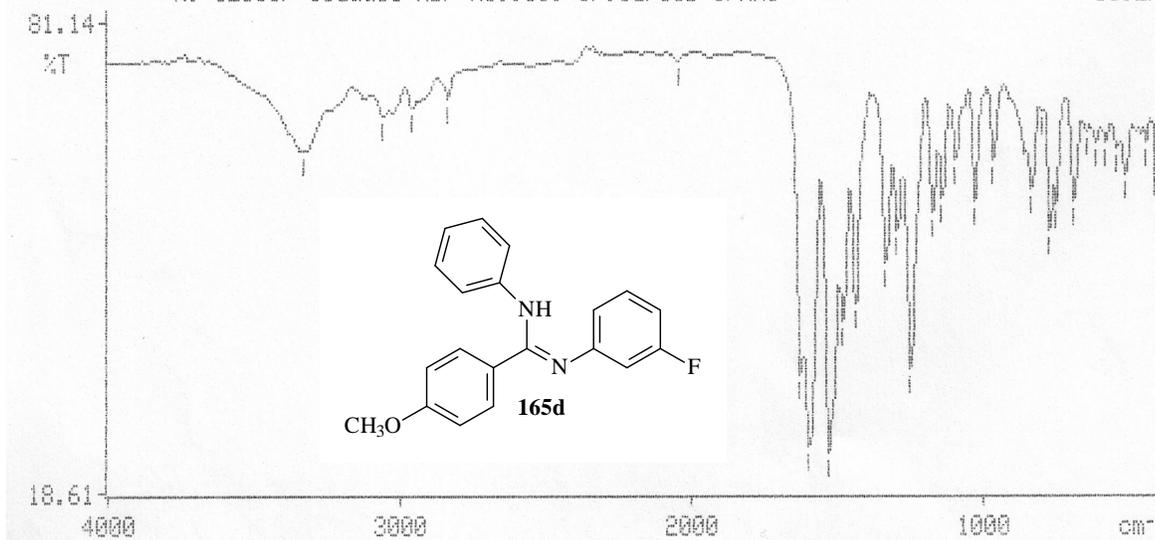
15:13



3329.6,3058.4,2960.5,2839.0,2049.1,1628.6,1597.5,1531.6,1483.0,1441.7,1336.6=
1296.9,1251.1,1176.8,1142.7,1096.8,1031.3,968.1,836.2,802.8,774.7=
754.7,692.6,648.5,617.6,585.0,542.7,514.9,446.9=

X: CE103F Claudio KBr NO:9309 OP:Carlos UFRRJ

11:27

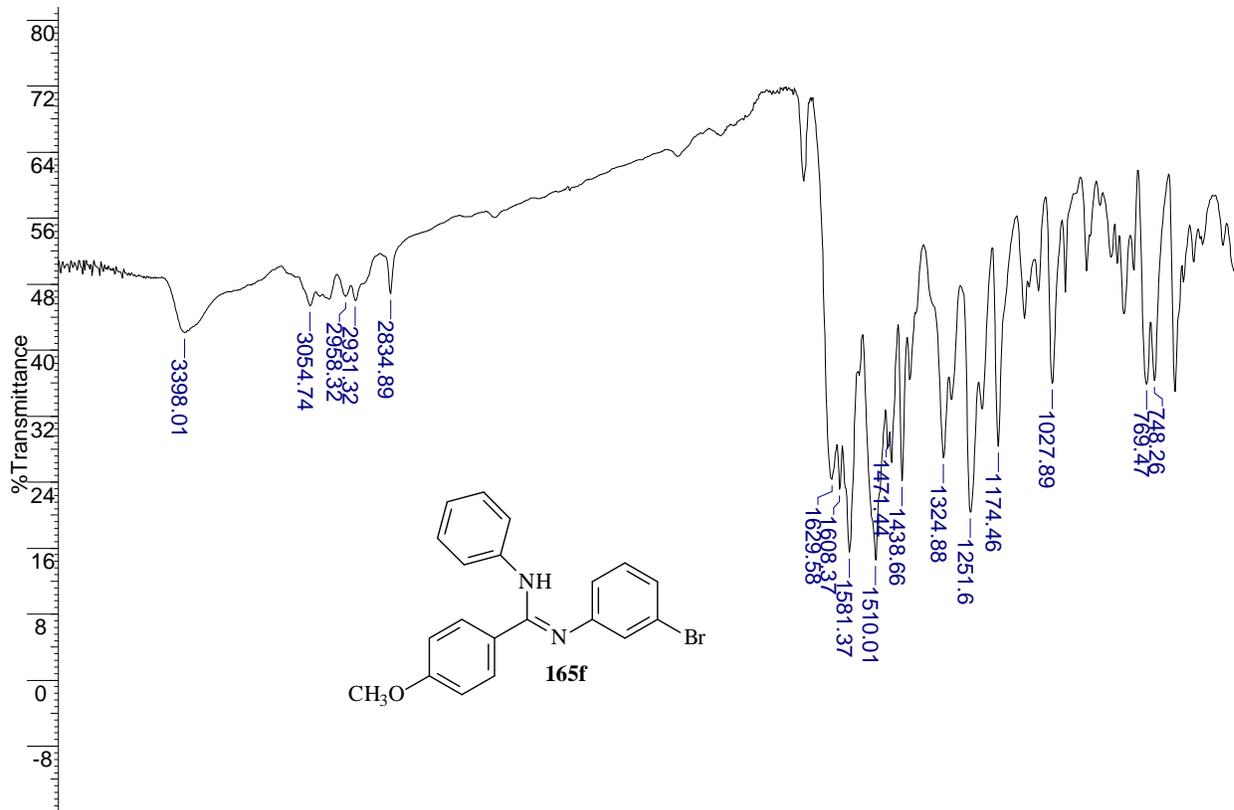
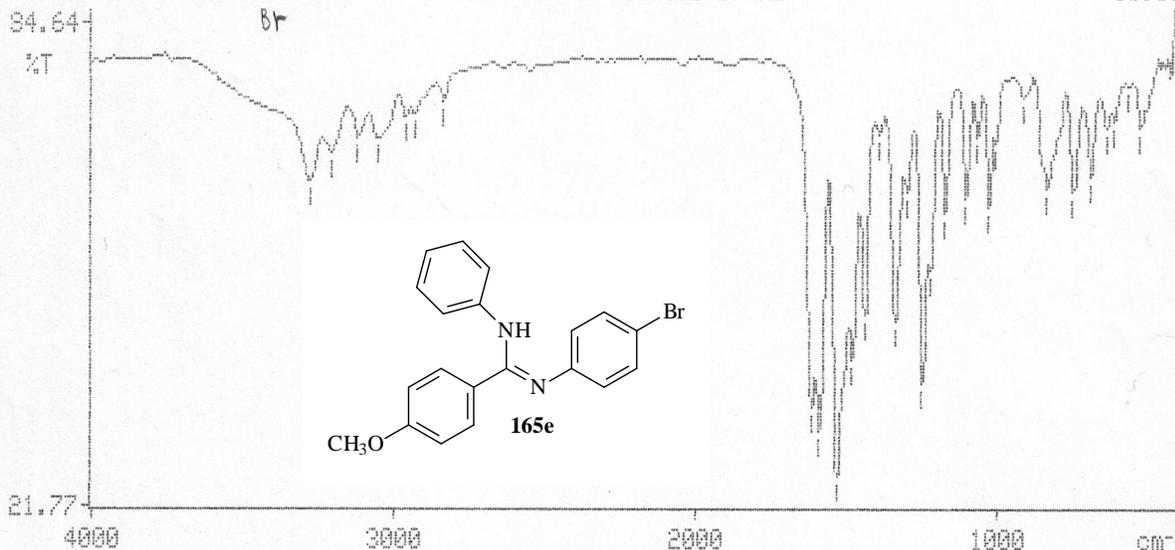


Anexo 128. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165c-d**, respectivamente.

3279.3, 3210.6, 3121.3, 3055.0, 2963.8, 2932.4, 2838.3, 1618.4, 1591.4, 1534.6, 1482.2=
 1441.9, 1393.4, 1341.7, 1302.3, 1251.2, 1225.1, 1176.7, 1107.6, 1068.4, 1030.0=
 1006.9, 917.1, 837.0, 750.5, 693.9, 641.2, 616.6, 569.6, 527.3=

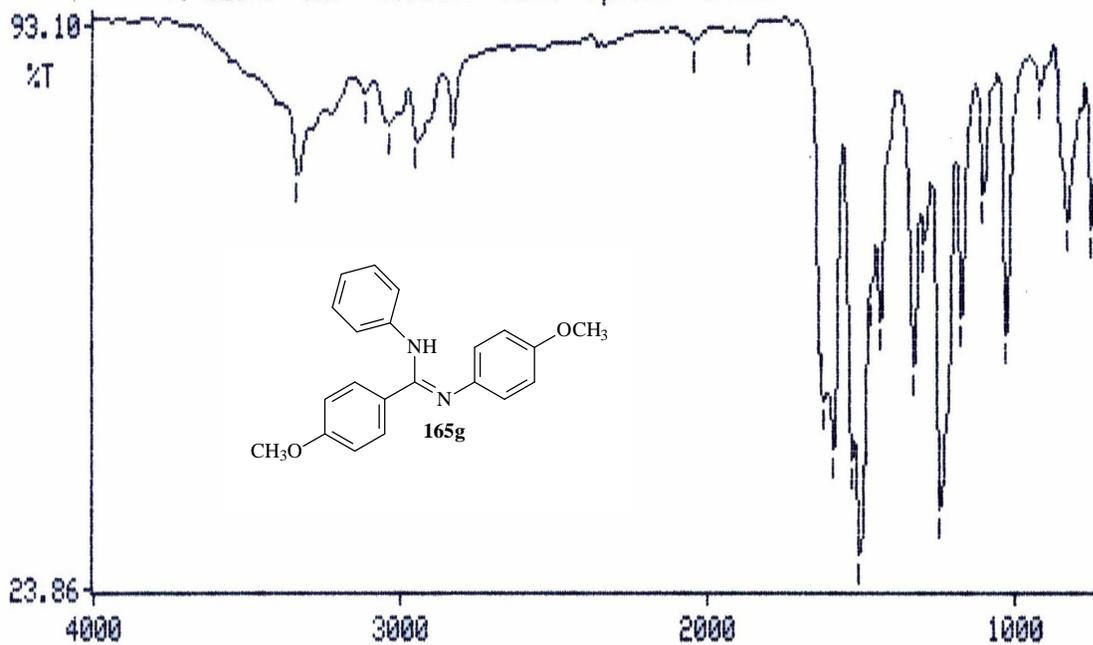
Nome: CE10BY Claudio KBr NO: 9311 OP: Carlos UFRRJ

11:50

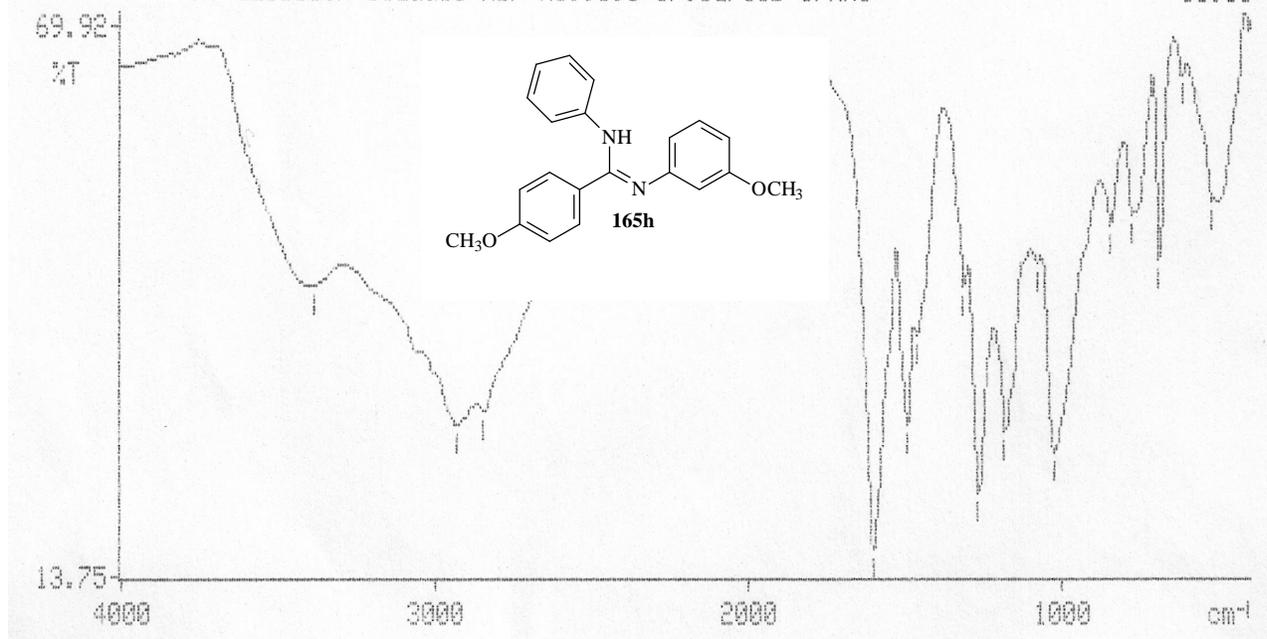


Anexo 129. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165e-f**, respectivamente.

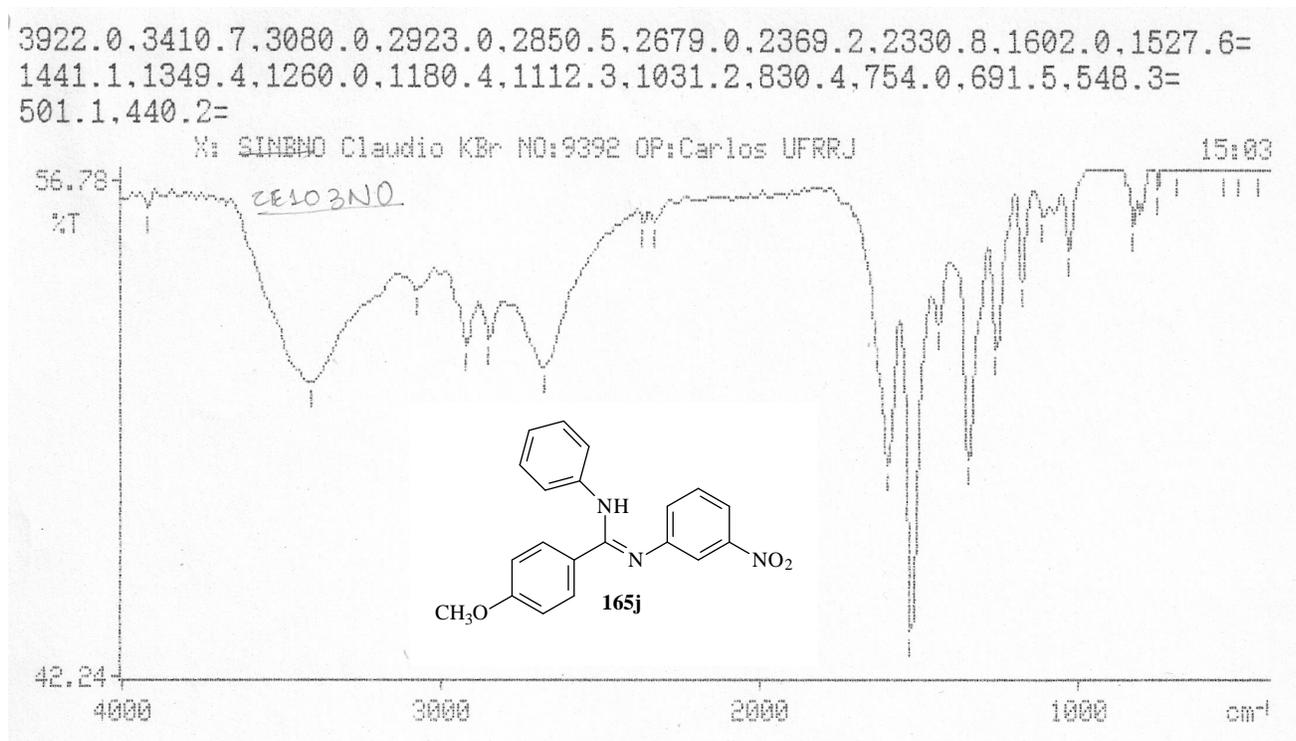
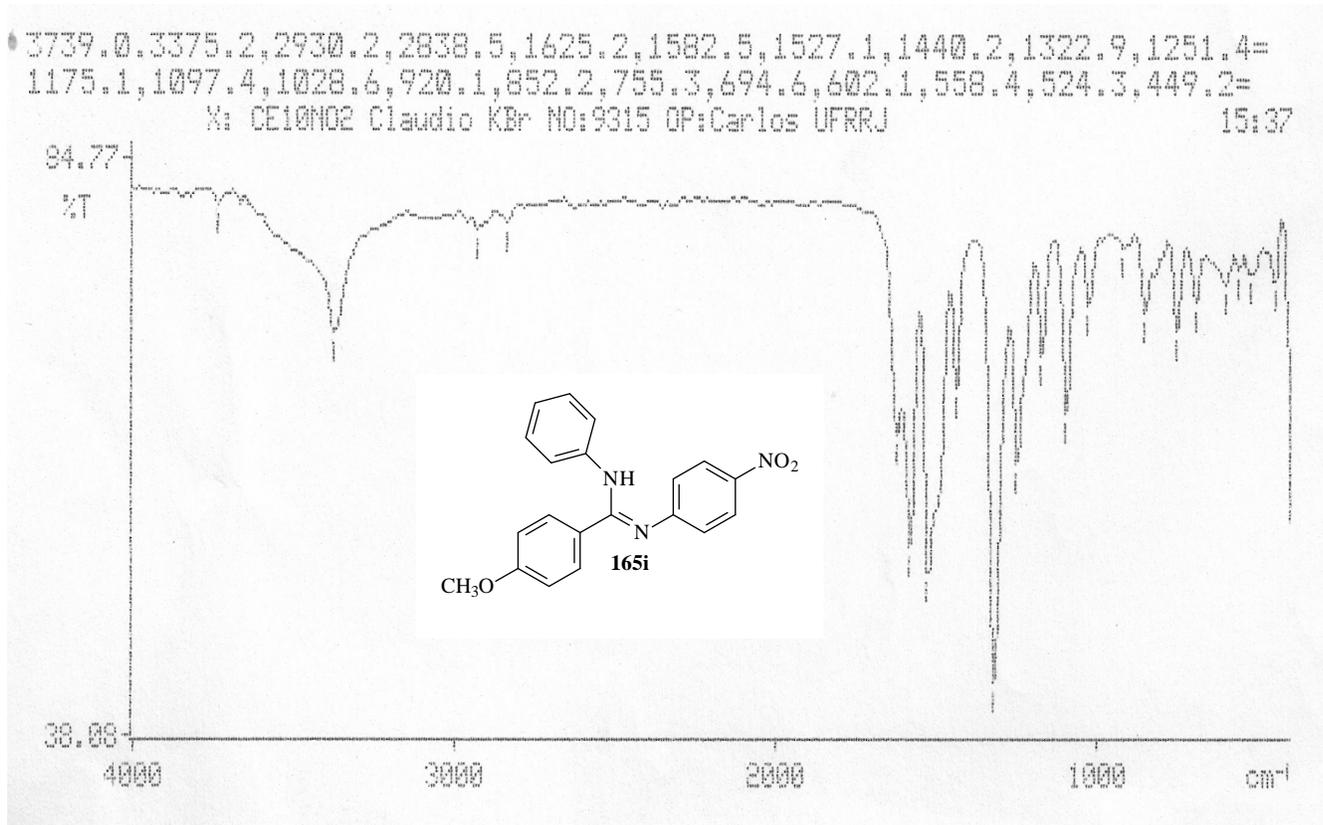
3334.7,3117.6,3037.5,2950.3,2833.5,2045.4,1871.5,1626.5=
 1592.2,1533.3,1505.7,1466.1,1439.7,1331.5,1297.5,1244.6=
 1176.7,1104.7,1030.3,922.1,832.8,754.1,694.6,618.2,524.9=
 Y: CE101 KBr Claudio 7858 Op.ELI UFRRJ



3384.7,2932.0,2842.8,1603.4,1494.4,1462.0,1313.6,1266.1,1181.2=
 1079.8,1023.0,845.6,777.9,690.5,618.5,523.7=
 X: CE1030CH Claudio KBr NO:9395 OP:Carlos UFRRJ



Anexo 130. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165g-h**, respectivamente.

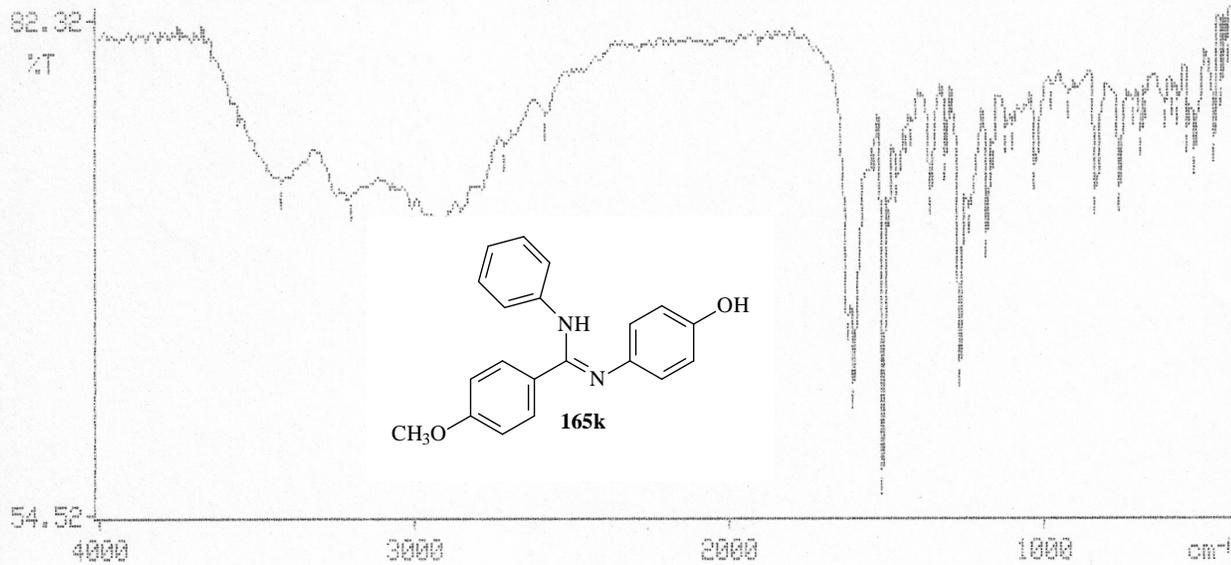


Anexo 131. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165i-j**, respectivamente.

3423.7, 3202.9, 3009.2, 2923.7, 2852.8, 2713.9, 2583.7, 1626.8, 1605.4, 1536.3=
1513.8, 1496.0, 1466.2, 1435.6, 1419.6, 1361.8, 1313.1, 1271.3, 1236.1, 1182.4=
1164.8, 1120.2, 1101.4, 1028.1, 977.5, 921.1, 835.6, 762.6, 716.9, 694.3=
678.2, 617.4, 593.6, 574.8, 544.9, 523.8, 462.8=
439.3, 418.9=

X: CE100HSA Claudio KBr NO:9400 OP:Carlos UFRRJ

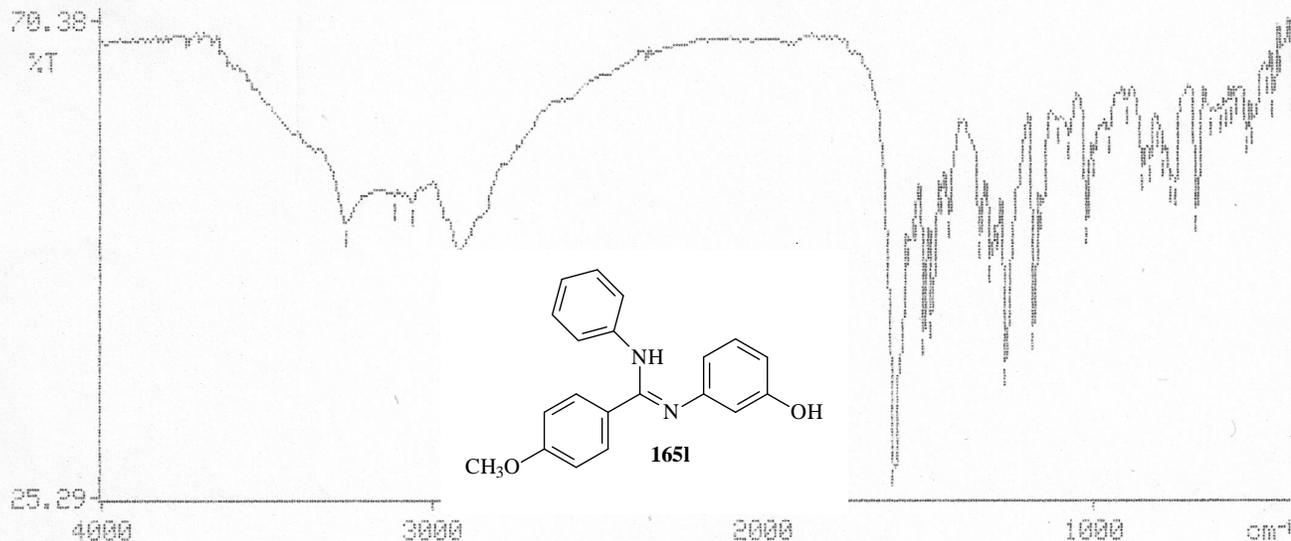
16:05



3265.4, 3118.0, 3064.9, 2918.4, 1604.0, 1558.0, 1536.4, 1515.3, 1490.0=
1462.5, 1439.7, 1347.4, 1312.5, 1296.0, 1266.8, 1184.1, 1157.9, 1111.4, 1079.1=
1025.2, 1002.1, 957.1, 903.4, 853.5, 832.7, 809.8, 791.7, 771.7, 756.5=
690.4, 647.5, 618.0, 602.3, 585.6, 566.1, 541.0, 521.5, 478.6, 458.6, 436.4=

X: CE1030H Claudio KBr NO:9398 OP:Carlos UFRRJ

17:20

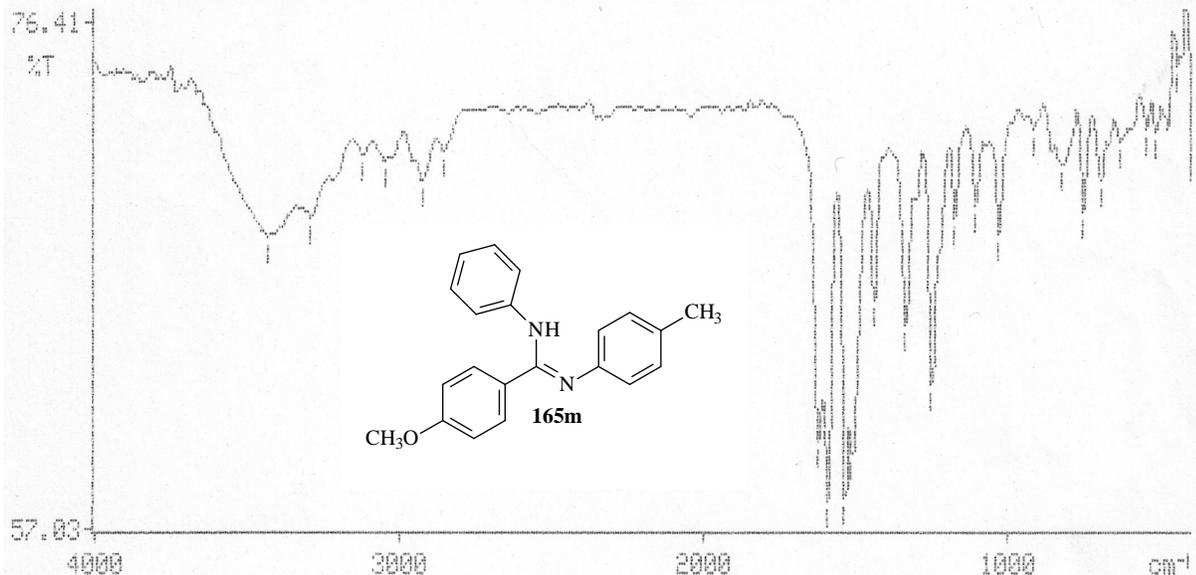


Anexo 132. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165k-l**, respectivamente.

3432.2, 3290.6, 3122.7, 3049.4, 2926.8, 2857.1, 1624.5, 1591.4, 1535.3, 1511.8, 1441.4, 1336.5, 1250.9, 1176.5, 1108.1, 1031.1, 916.8, 819.9, 753.8, 695.6, 631.7, 545.1, 515.1, 446.1=

X: CE10CH Claudio KBr NO:9314 OP:Carlos UFRRJ

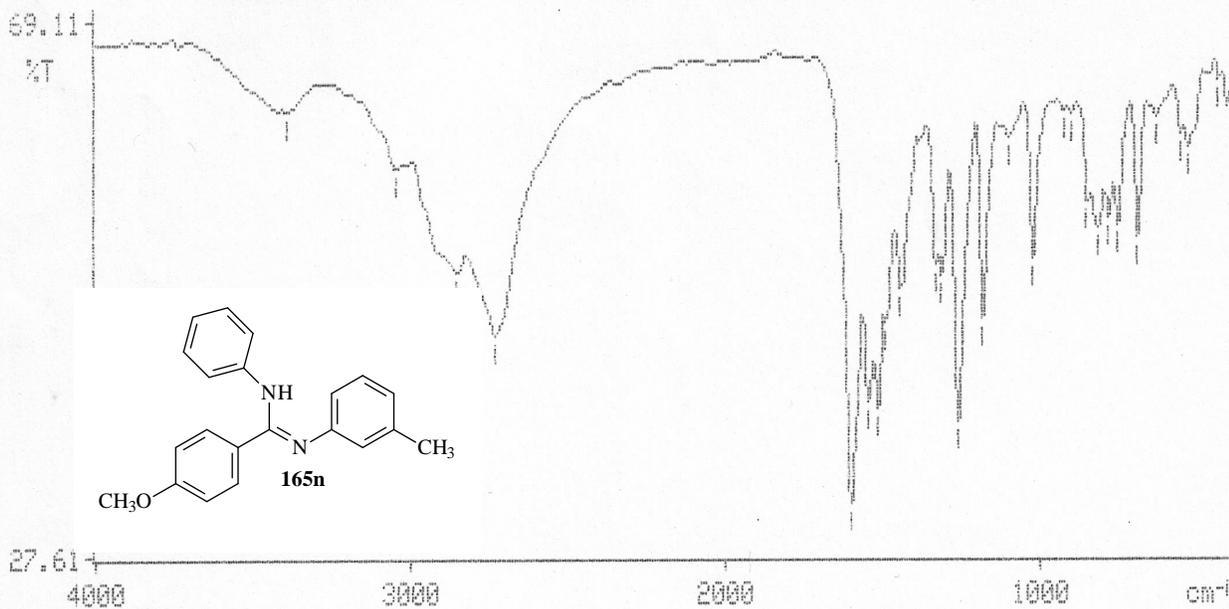
15:25



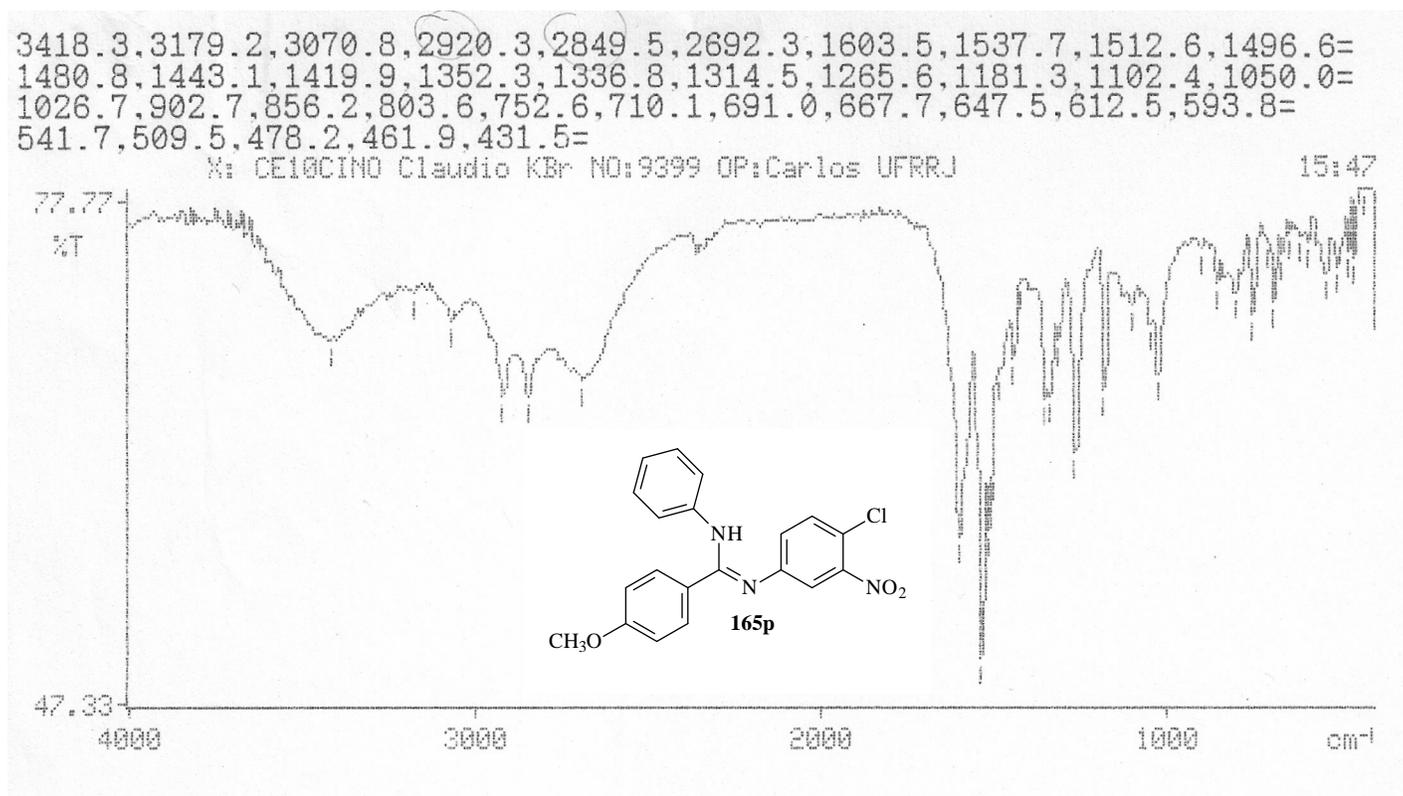
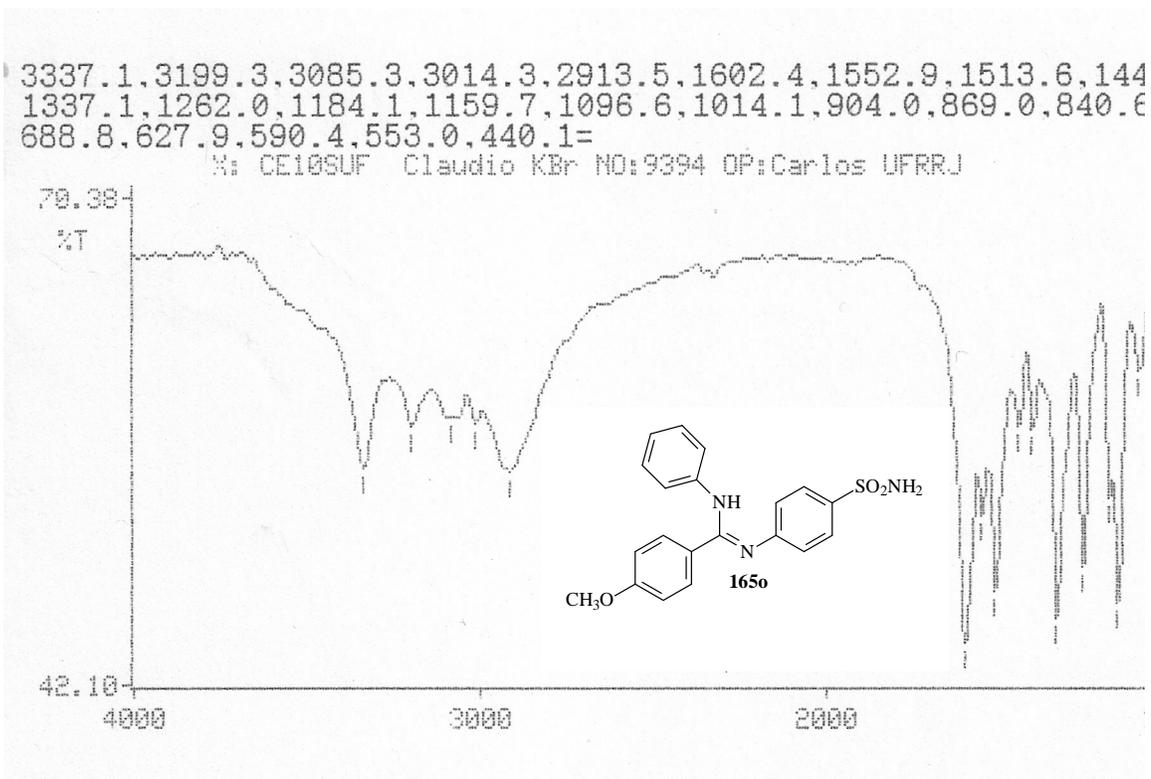
3391.1, 3048.4, 2851.3, 2732.1, 1603.4, 1547.1, 1515.1, 1490.1, 1442.6, 1334.0, 1312.9, 1263.5, 1184.8, 1100.8, 1024.5, 926.2, 901.2, 850.3, 815.4, 783.7, 755.0, 691.6, 632.2, 556.1, 532.9, 436.2=

X: CE103CH Claudio KBr NO:9307 OP:Carlos UFRRJ

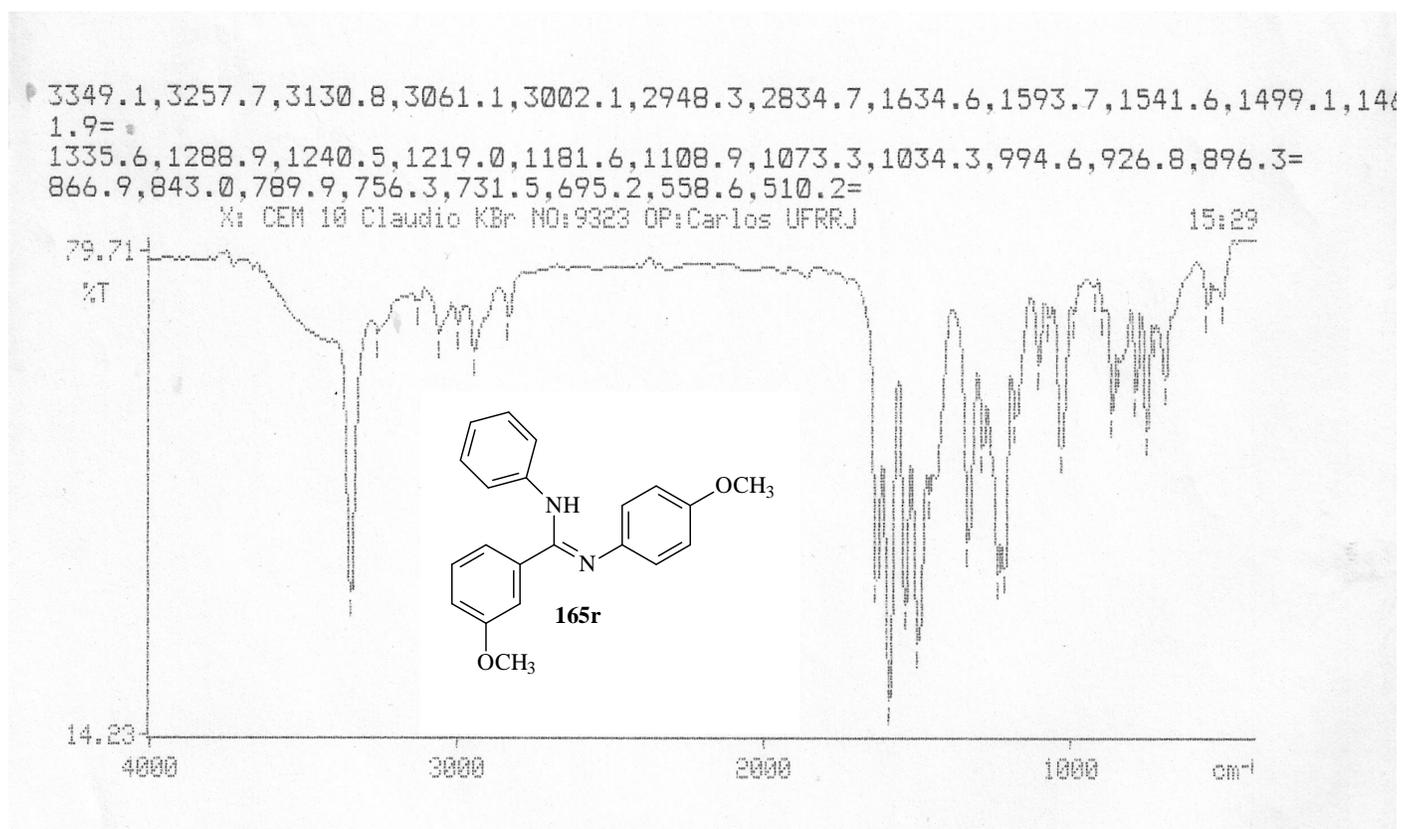
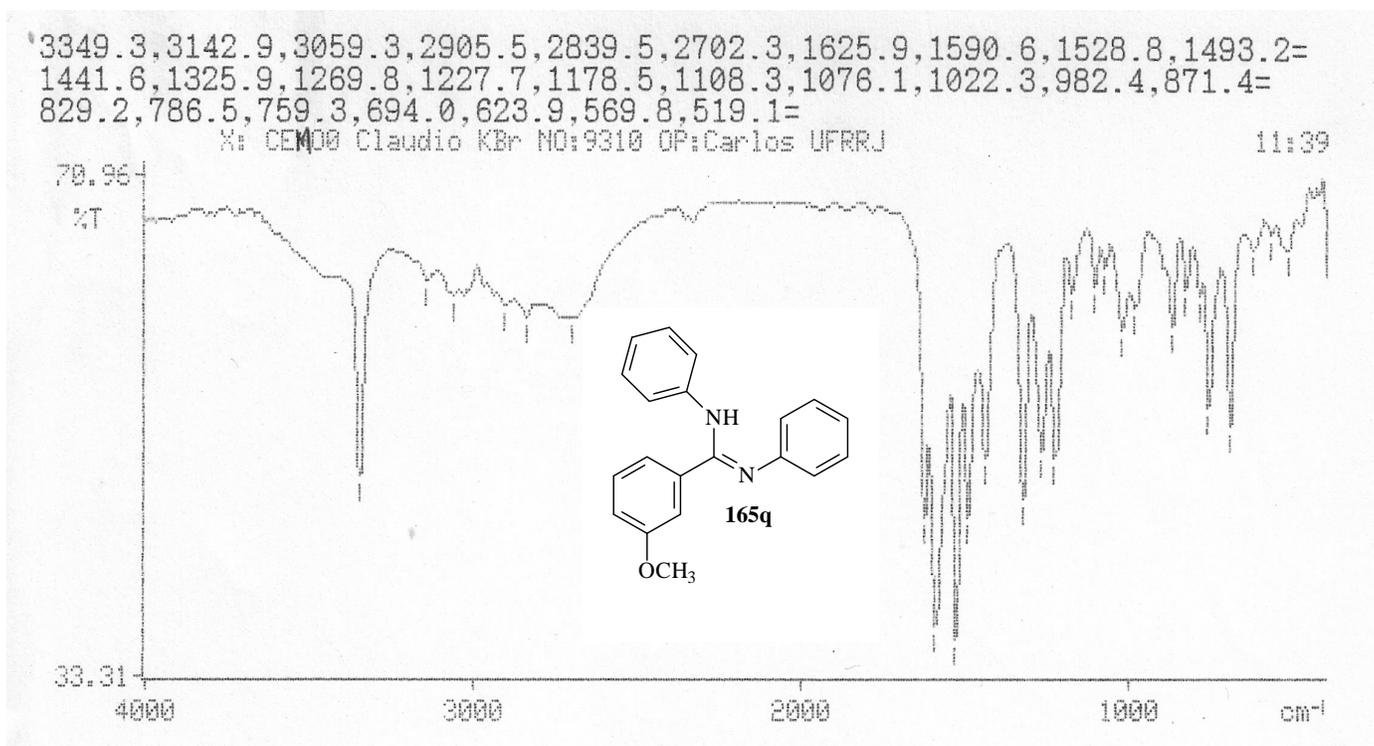
11:05



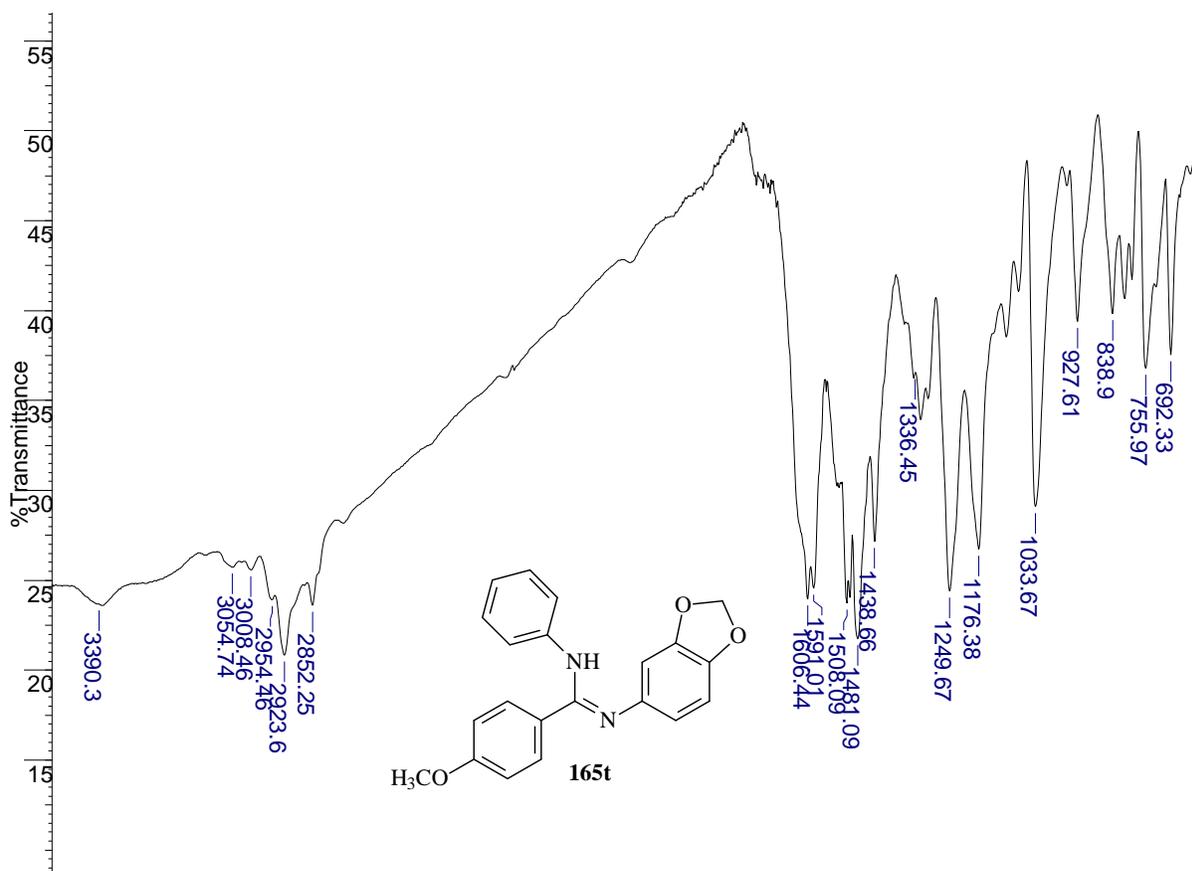
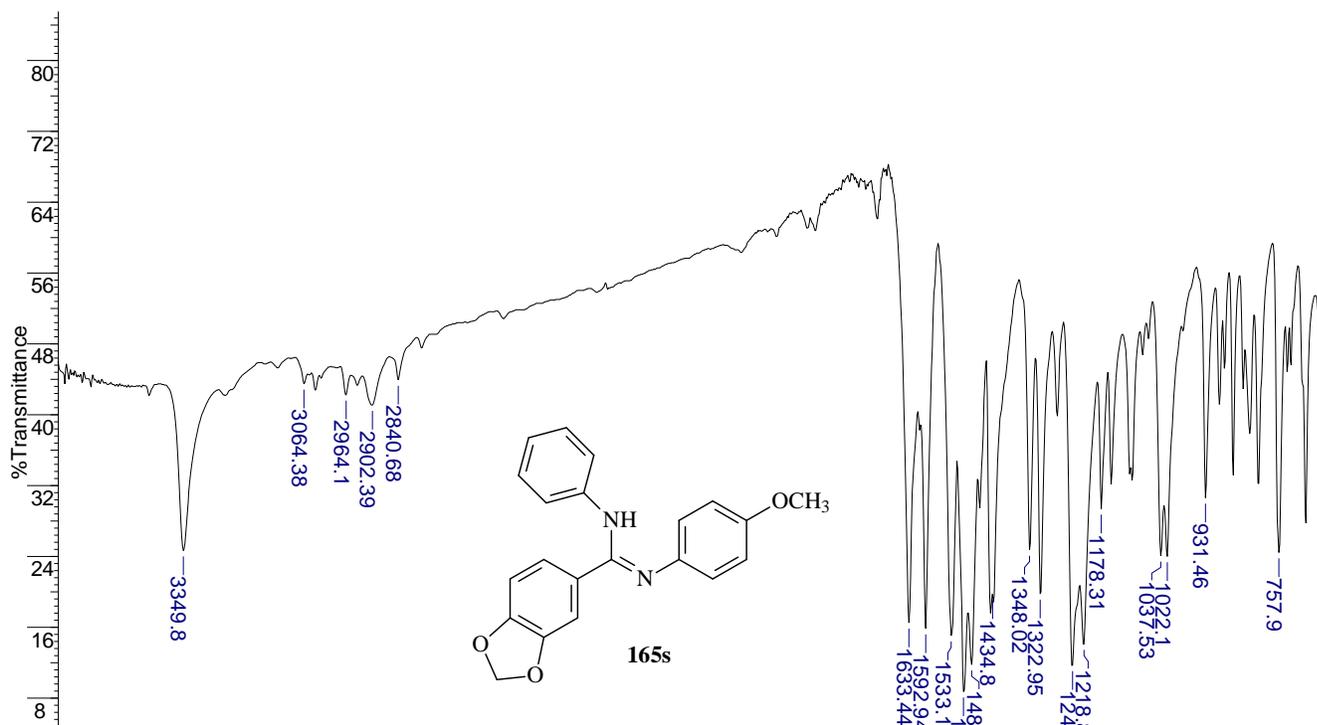
Anexo 133. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165m-n**, respectivamente.



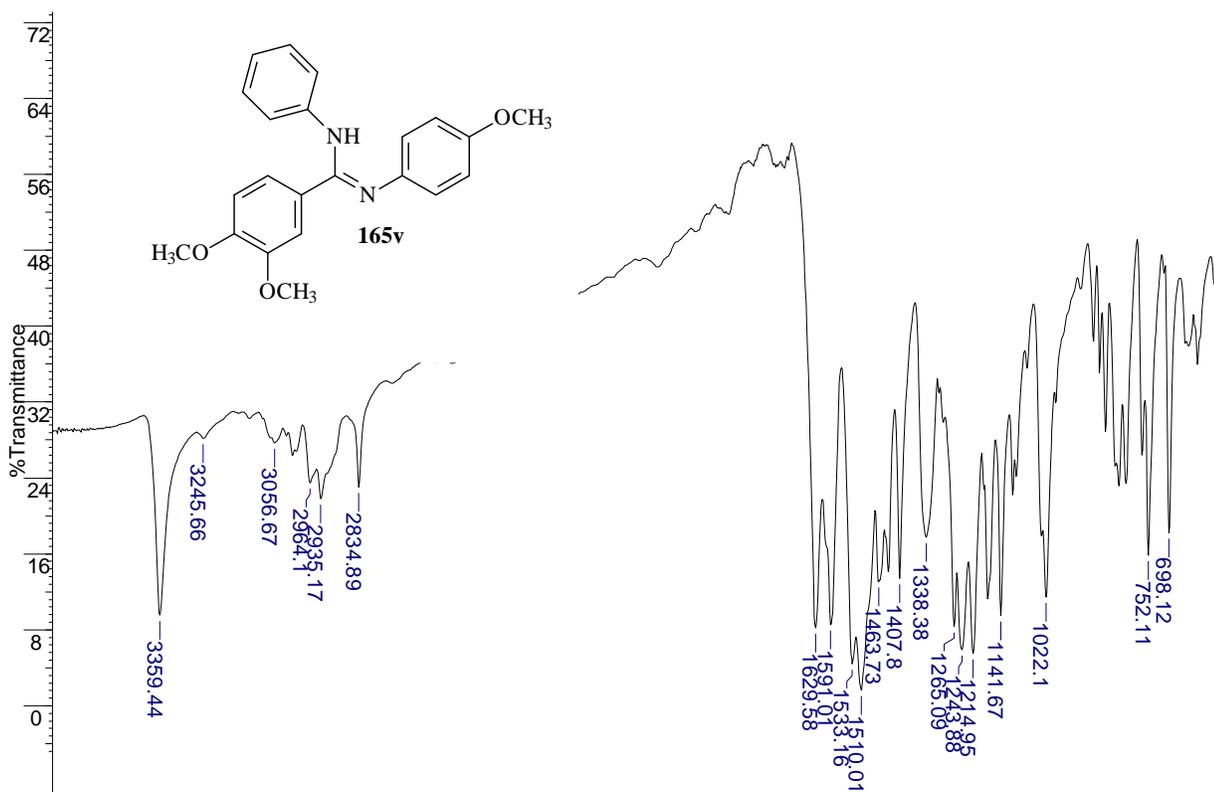
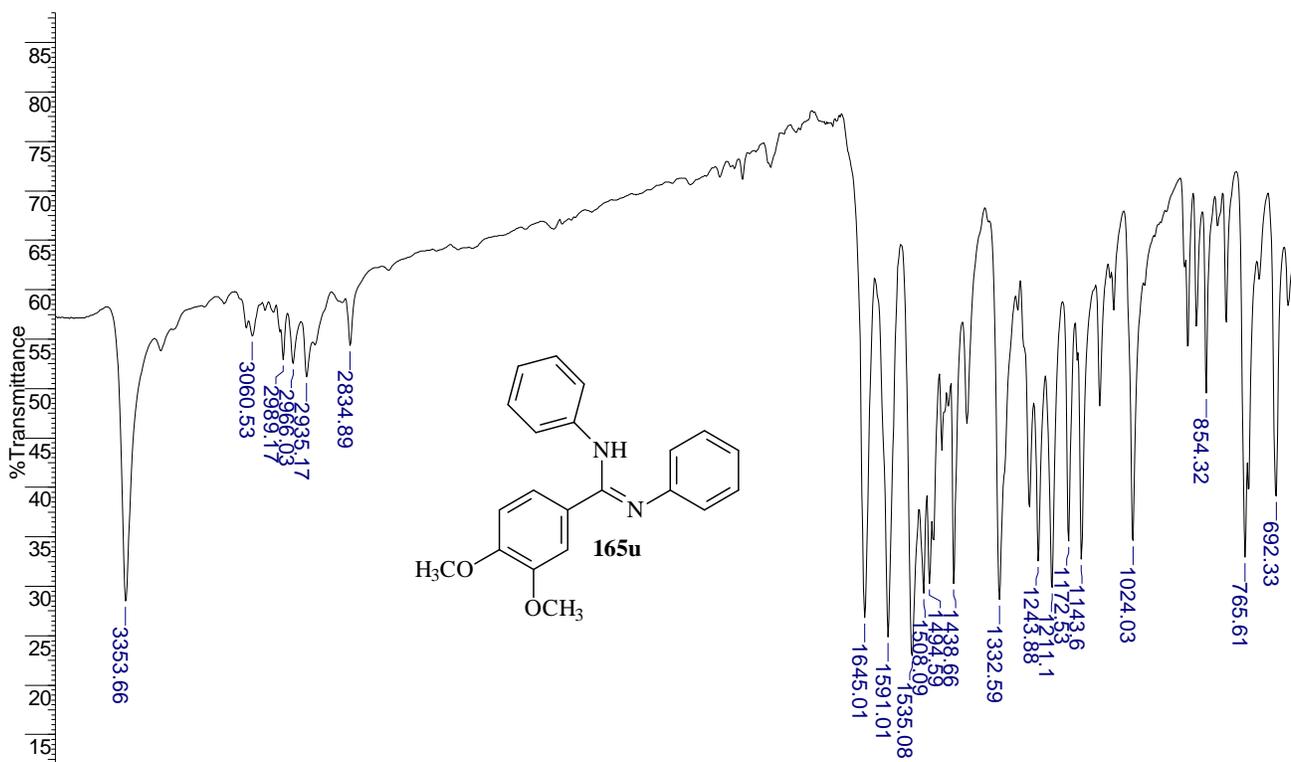
Anexo 134. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165o-p**, respectivamente.



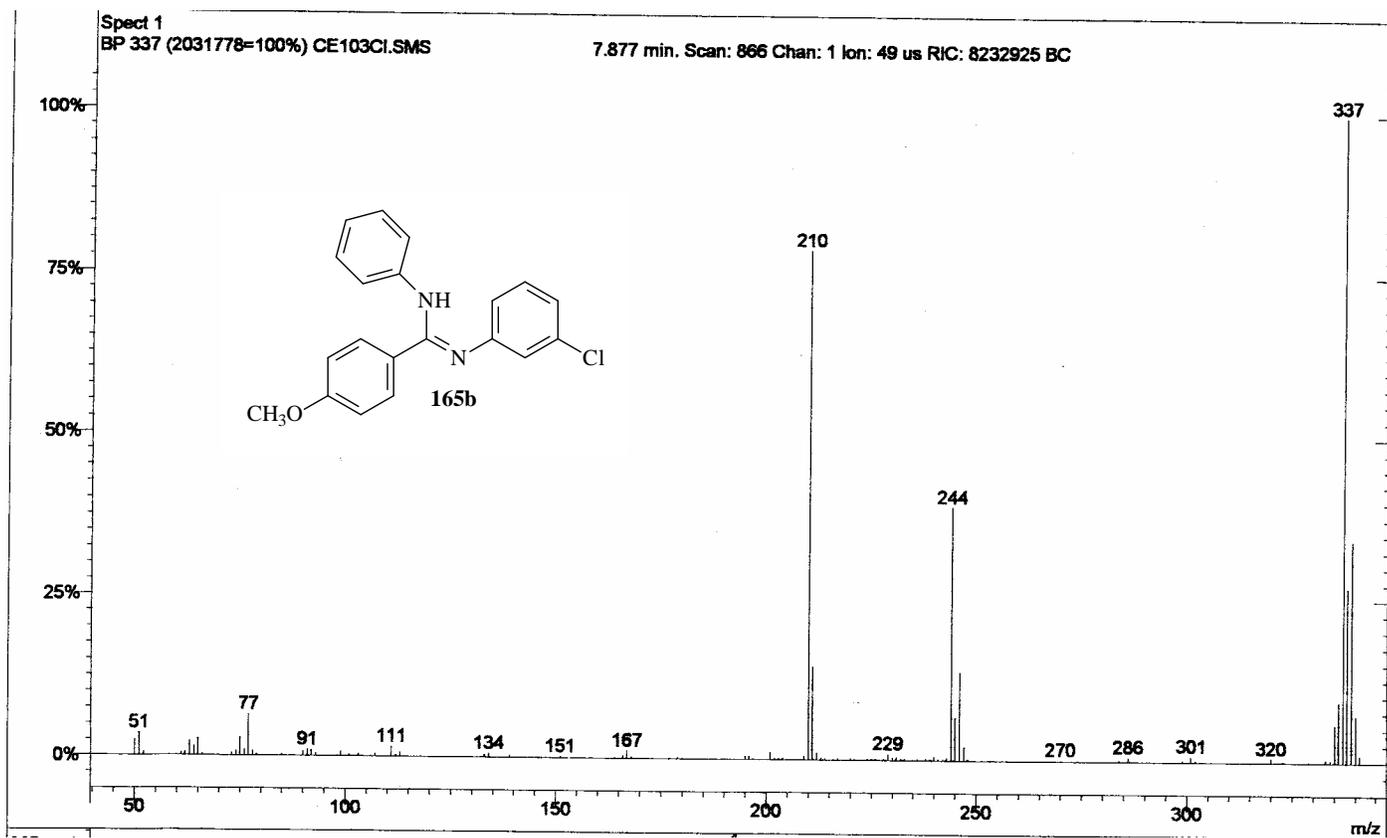
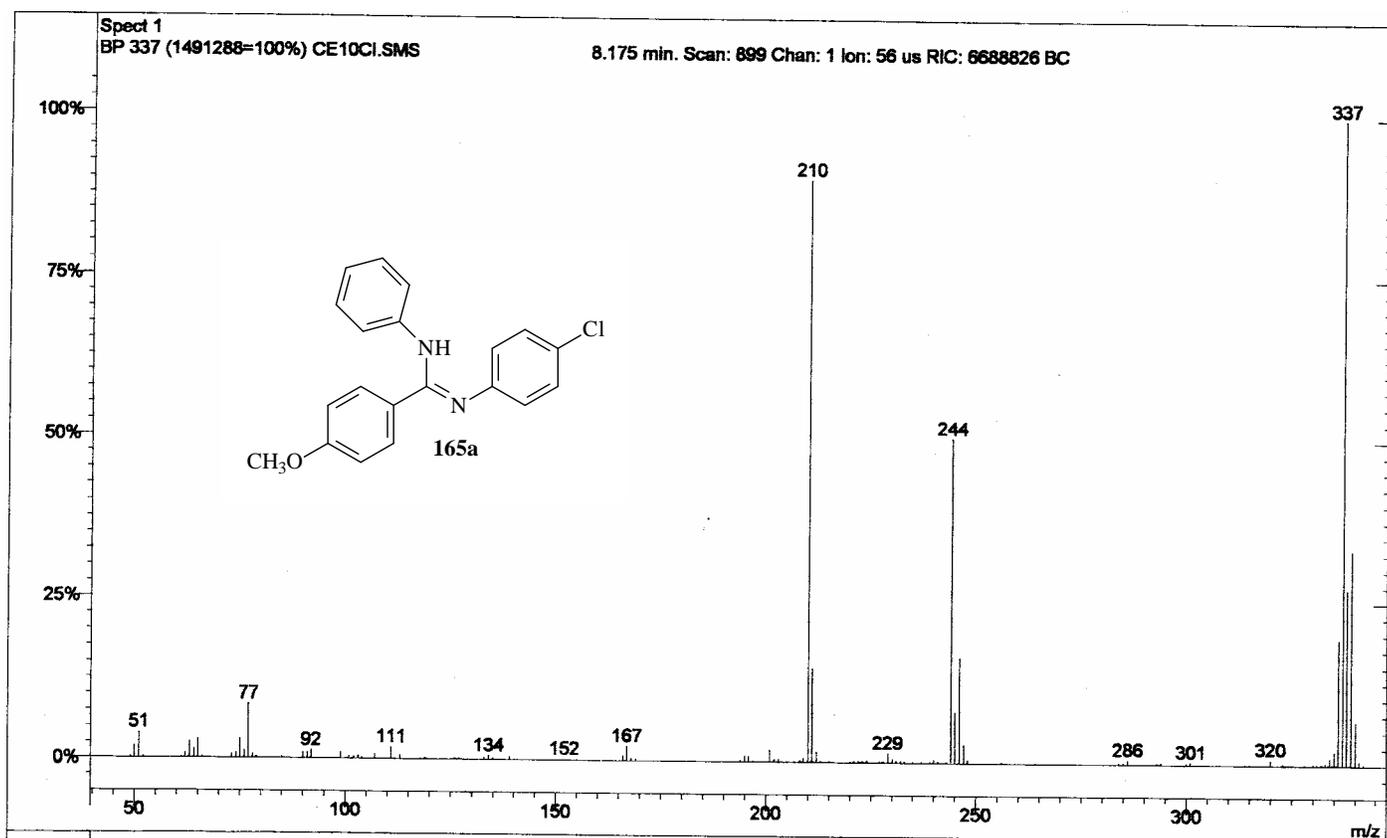
Anexo 135. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165q-r**, respectivamente.



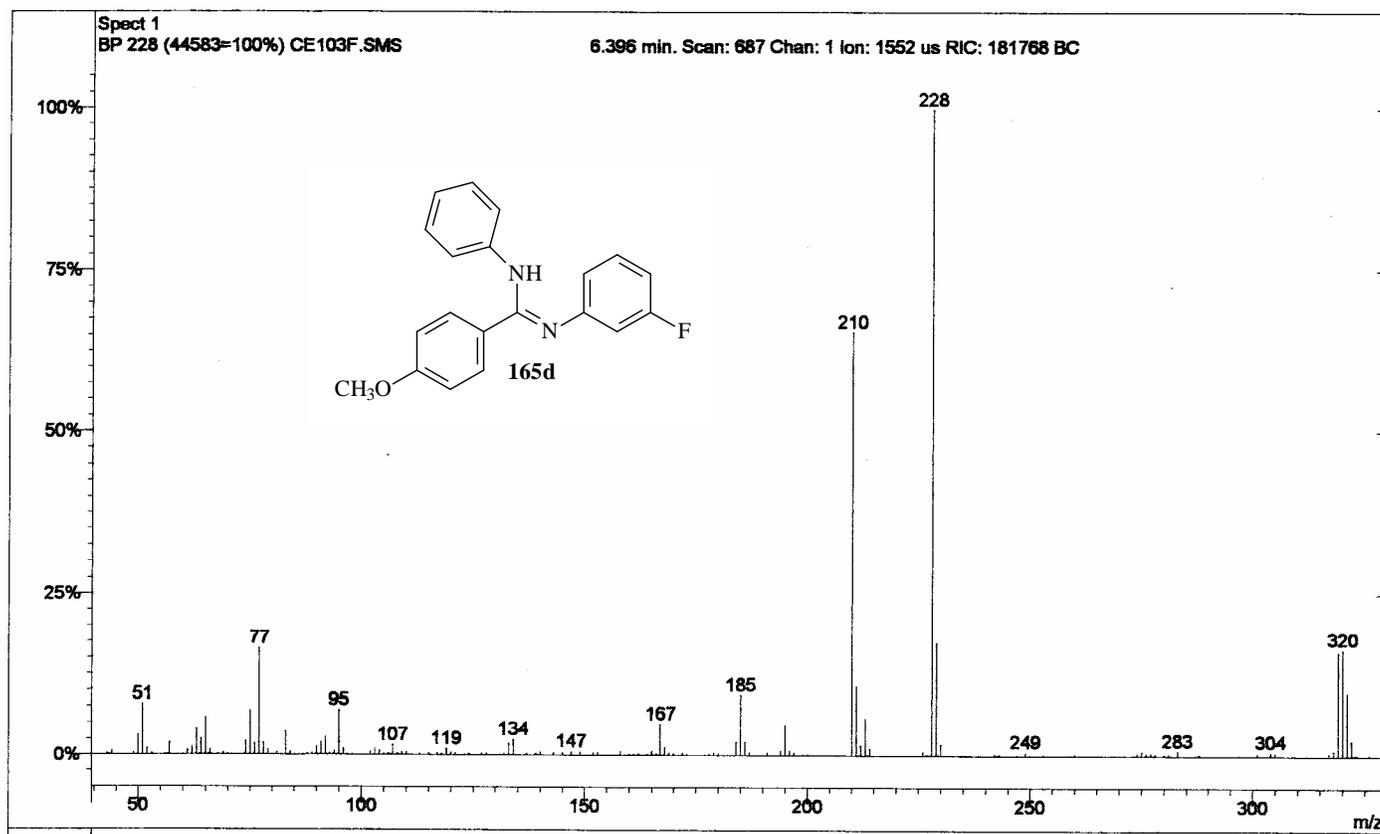
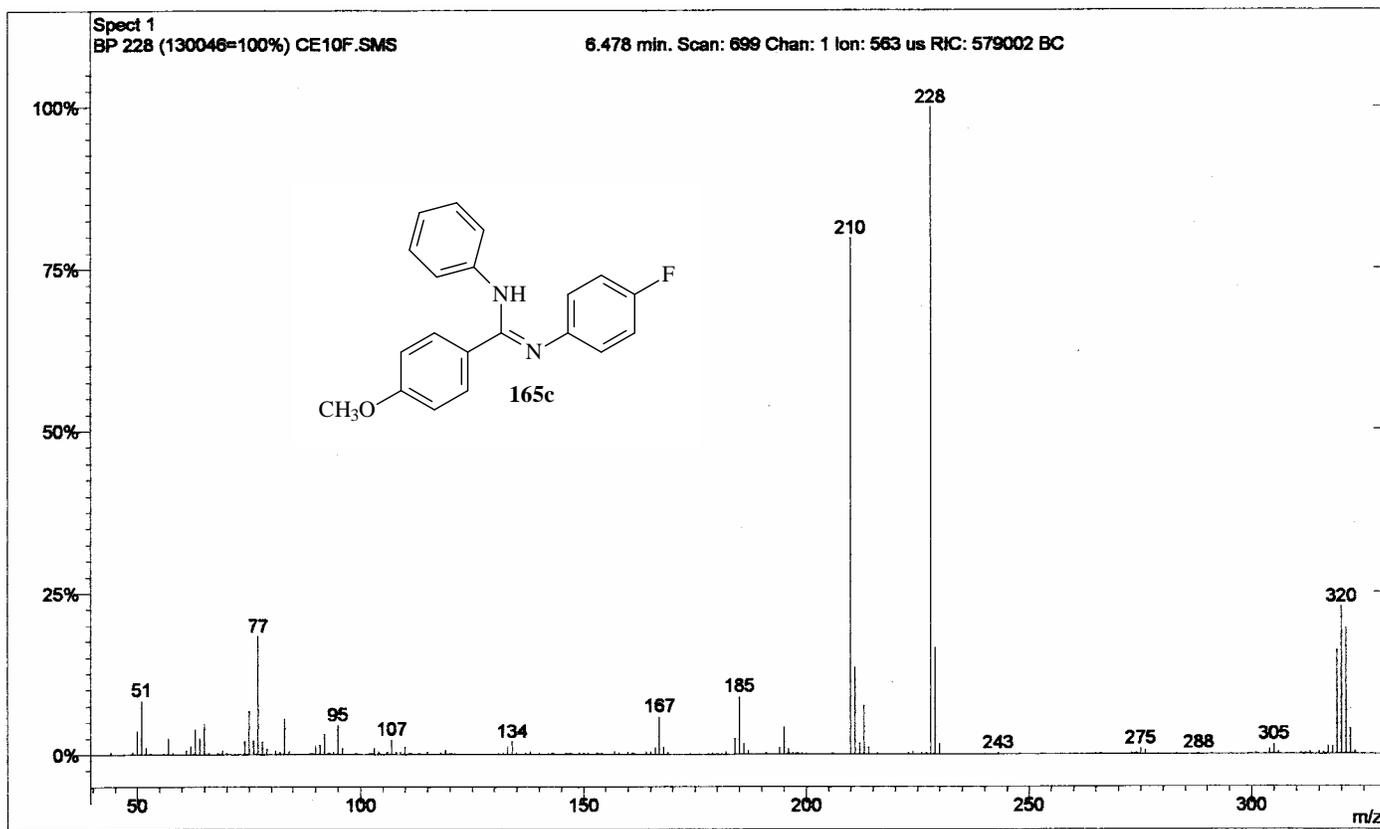
Anexo 136. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165s-t**, respectivamente.



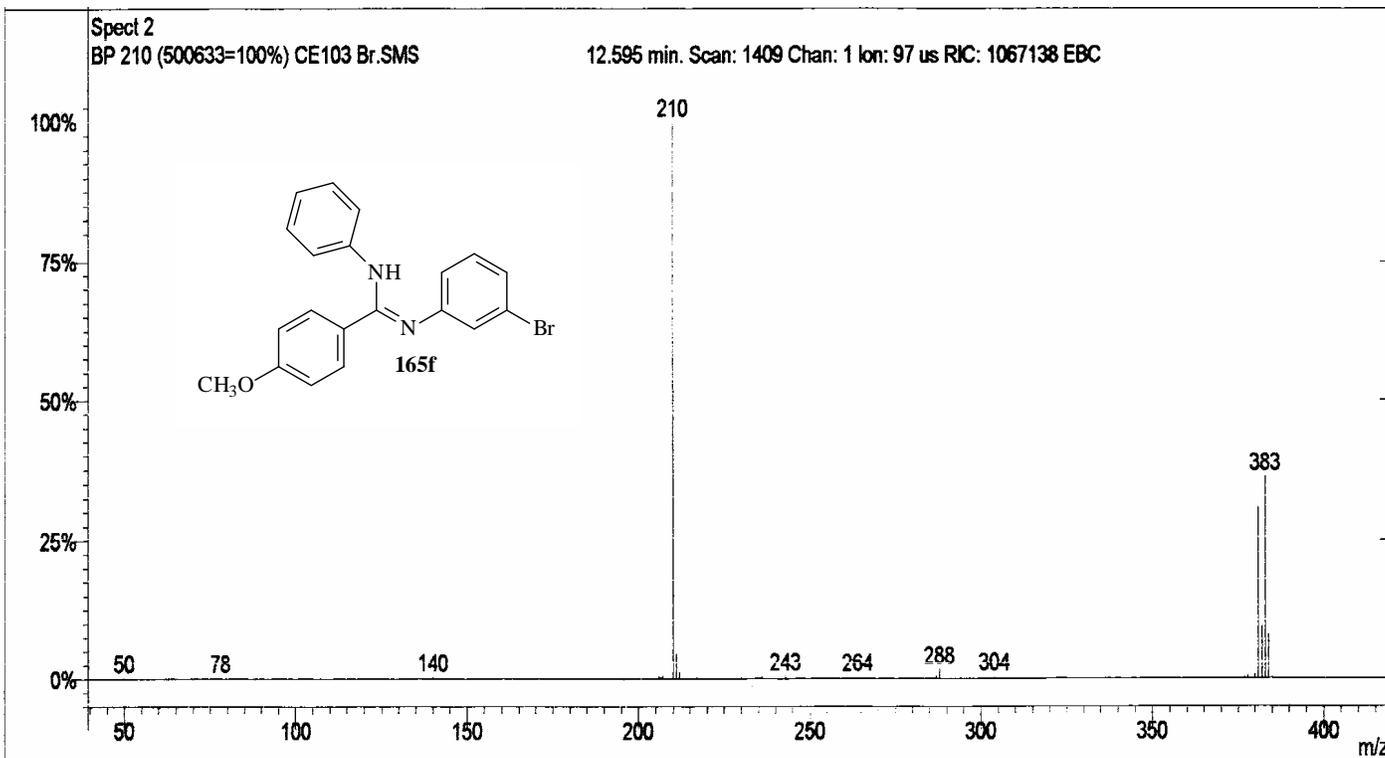
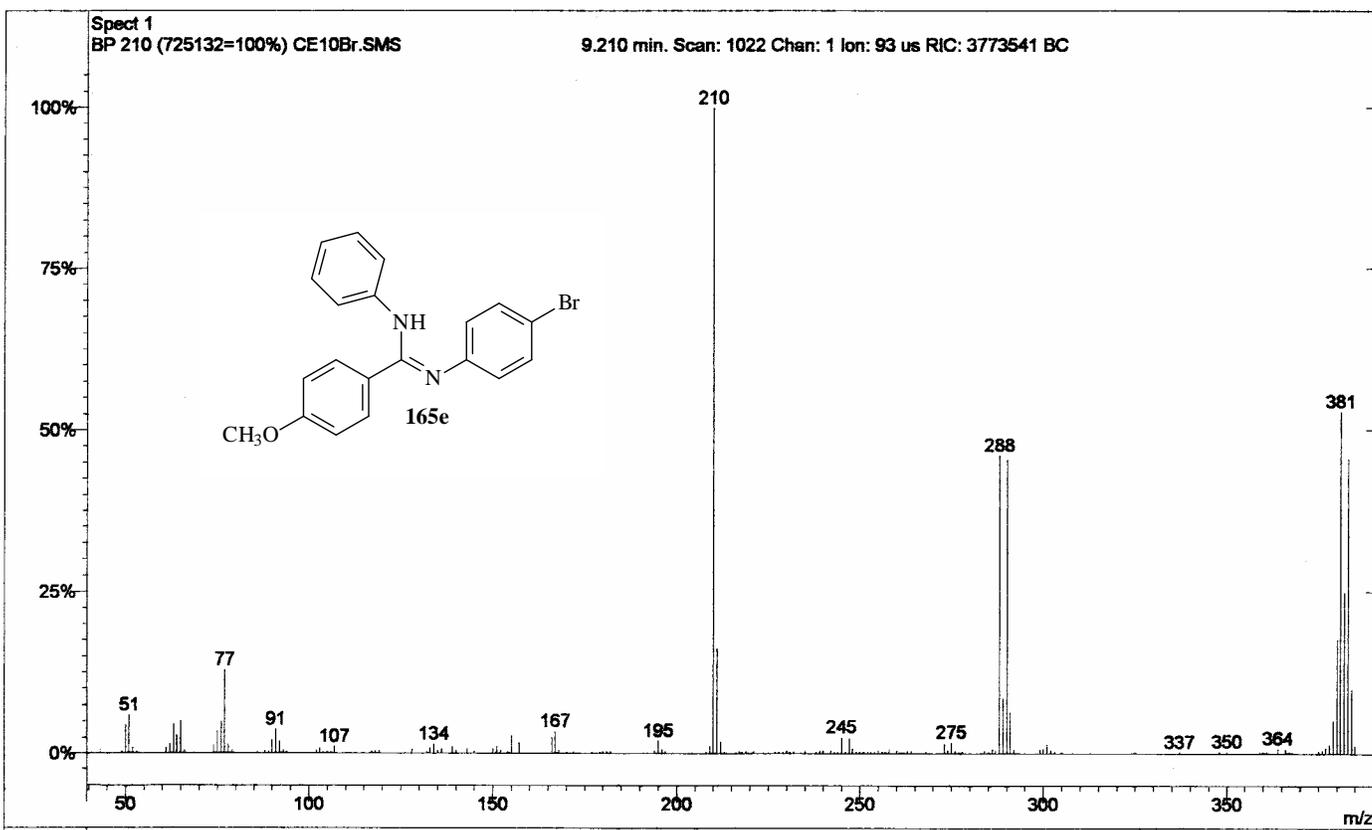
Anexo 137. Espectros de IV (em KBr) dos compostos **165u-v**, respectivamente.



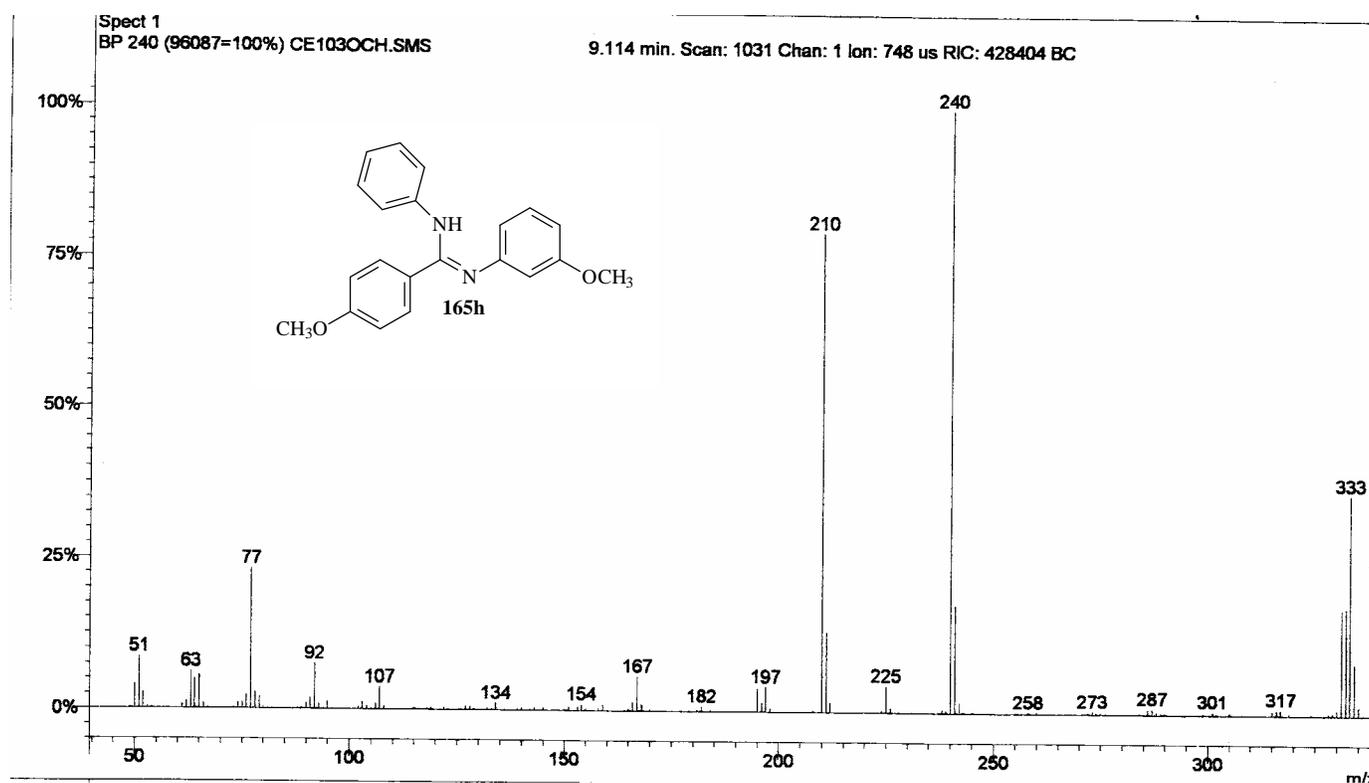
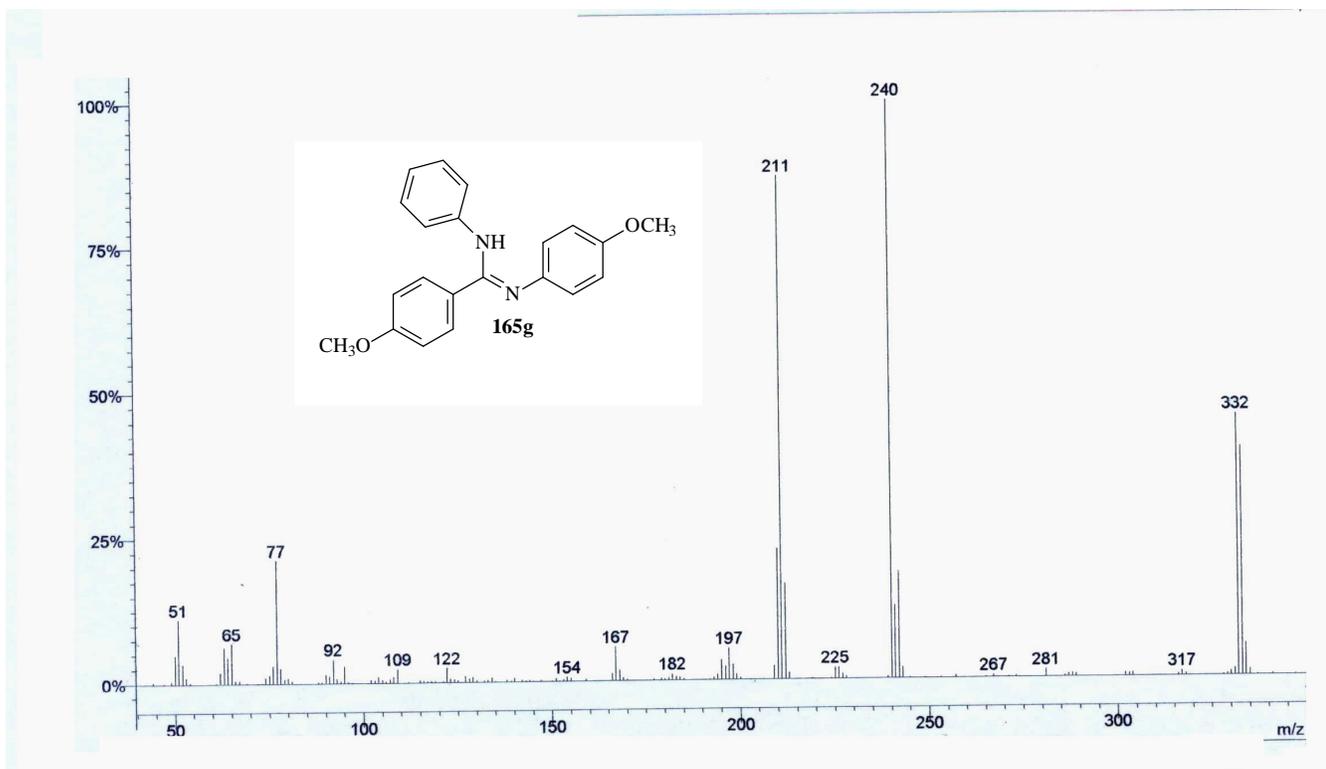
Anexo 138. Espectros de massas dos compostos **165a-b**, respectivamente.



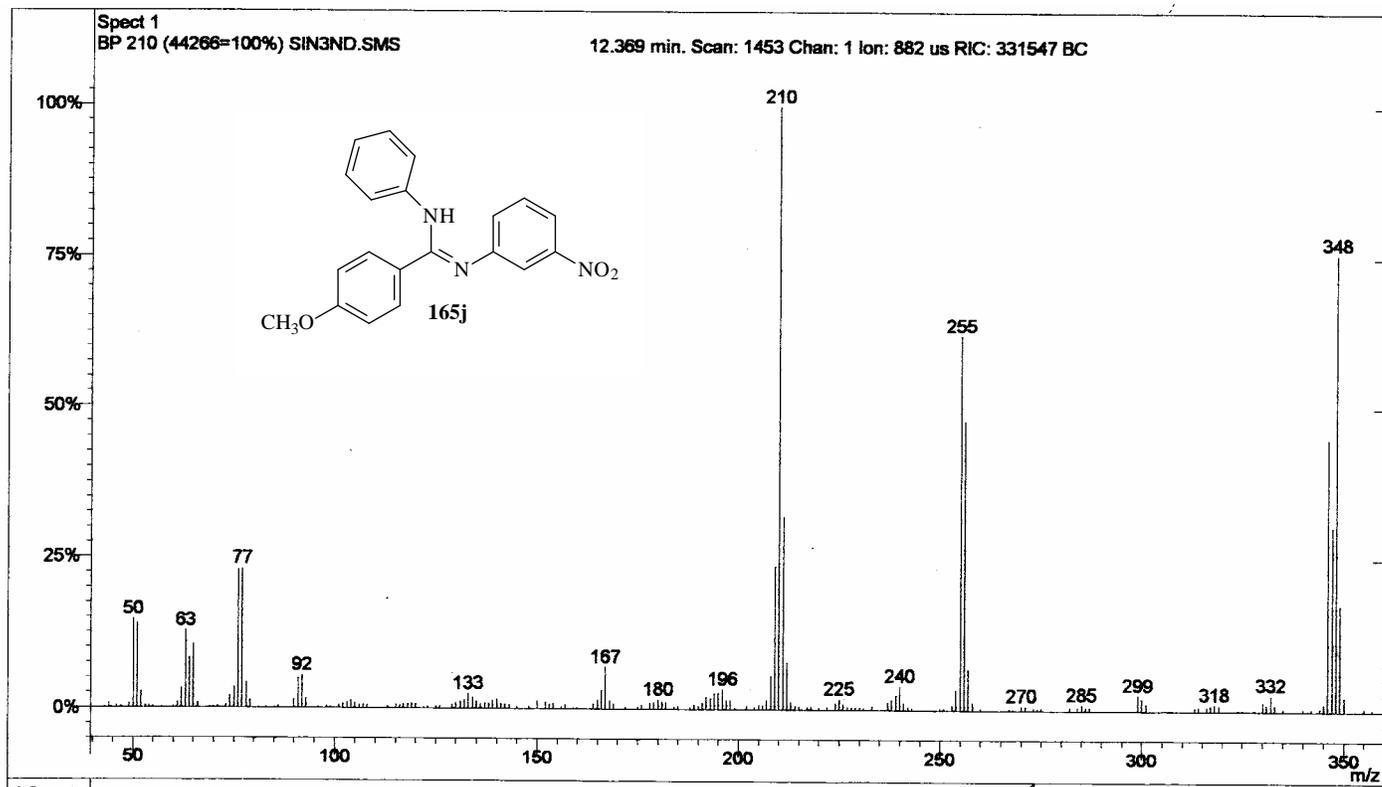
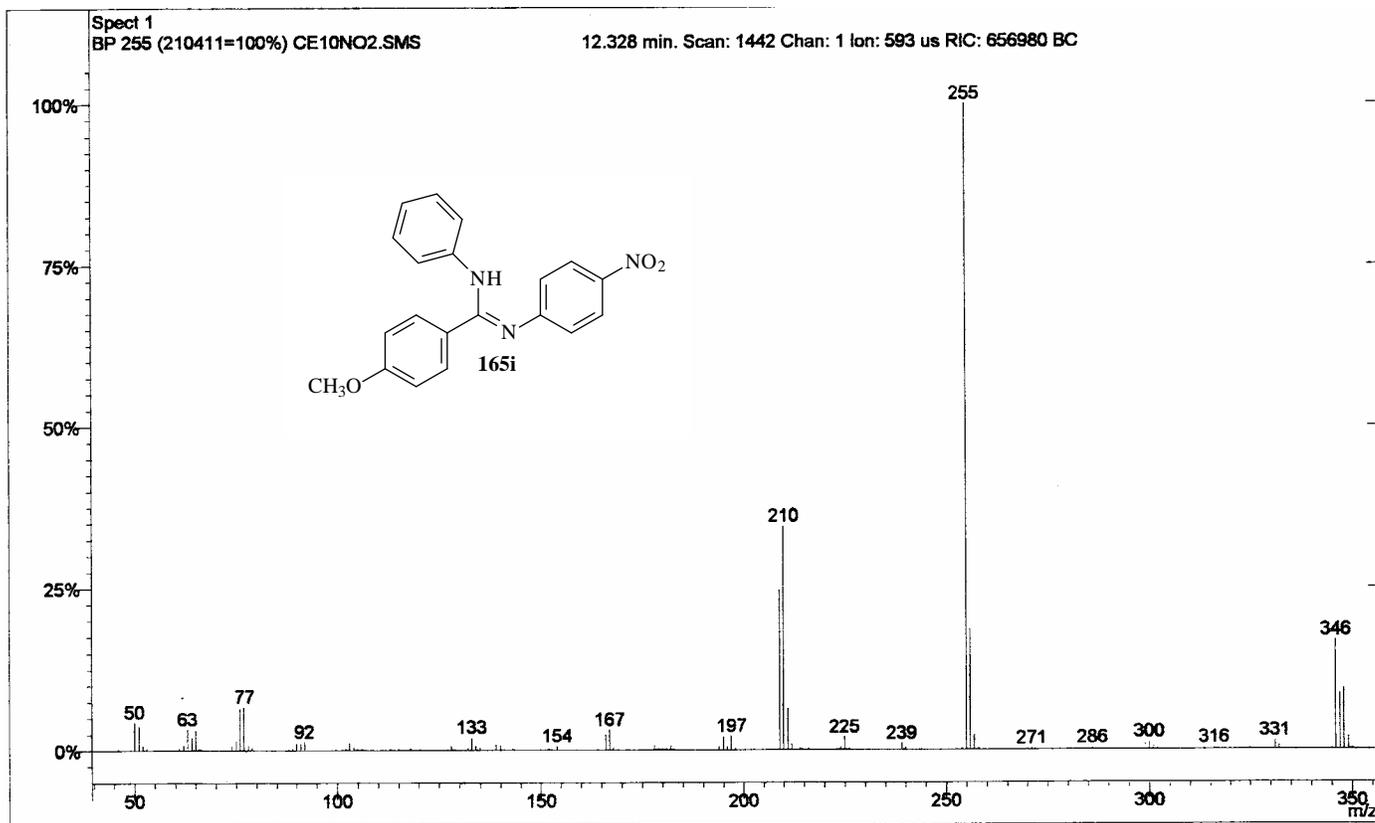
Anexo 139. Espectros de massas dos compostos **165c-d**, respectivamente.



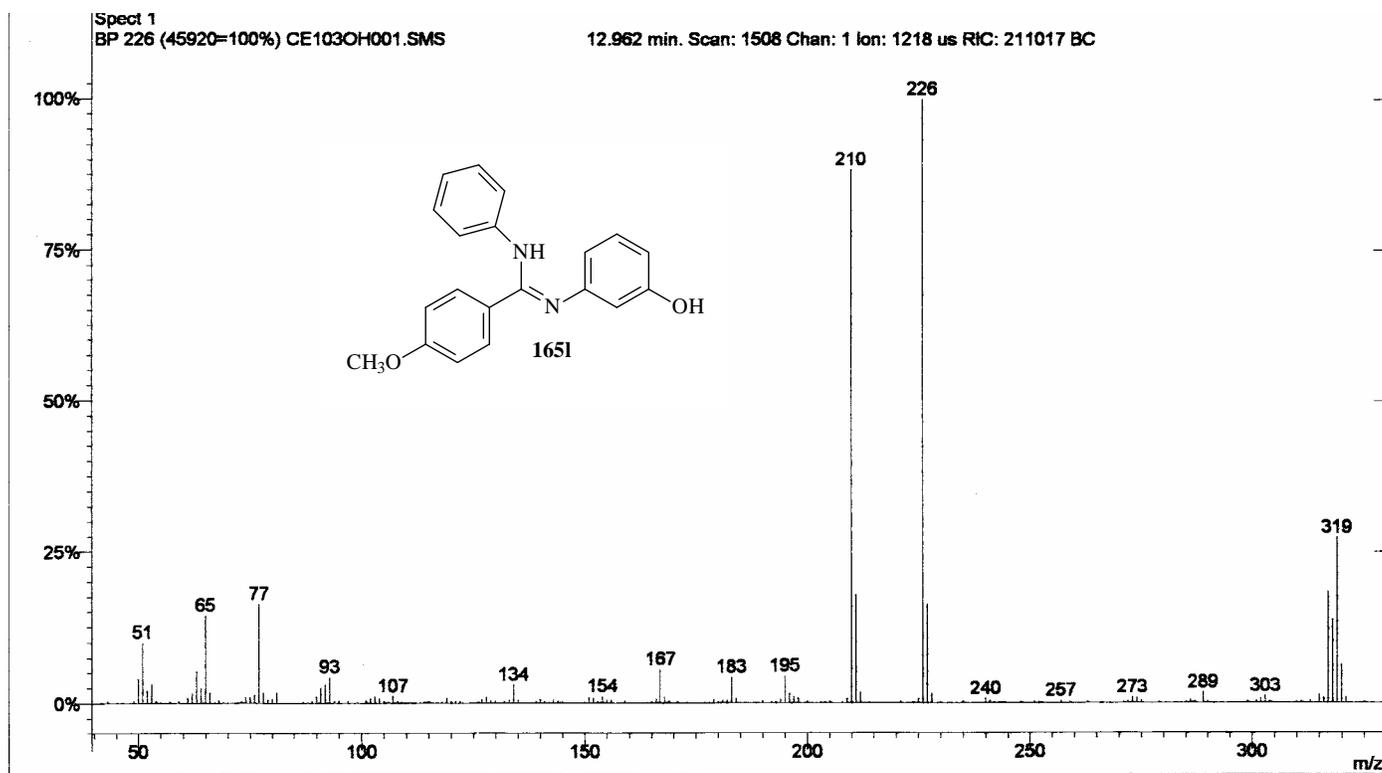
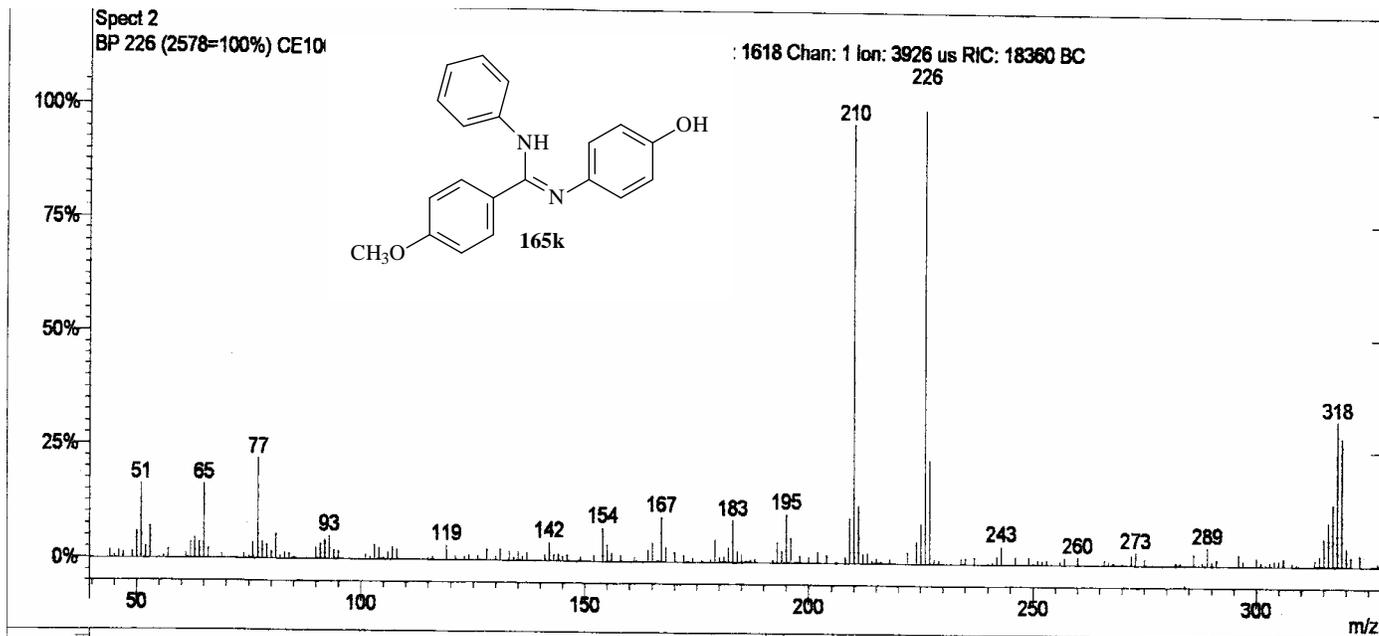
Anexo 140. Espectros de massas dos compostos **165e-f**, respectivamente.



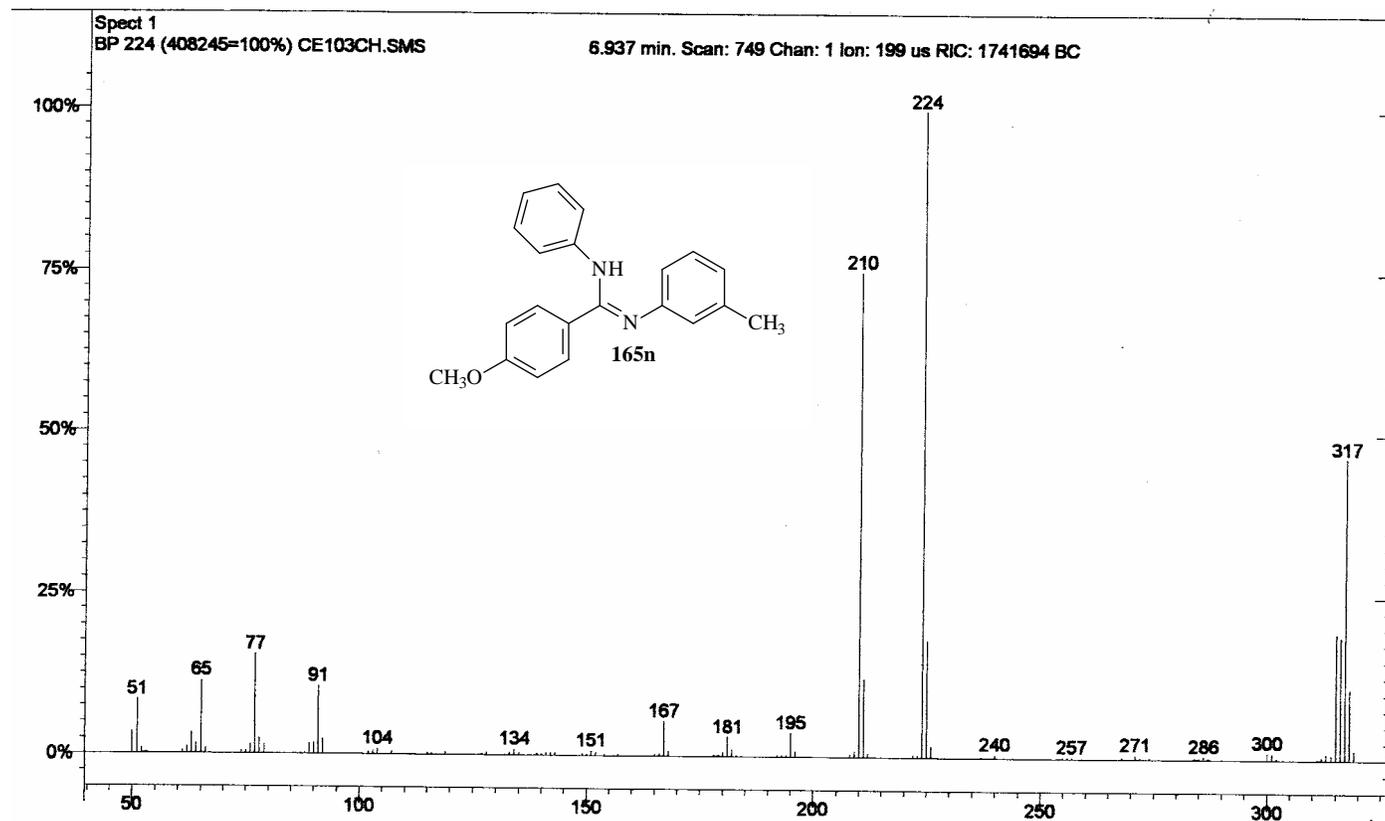
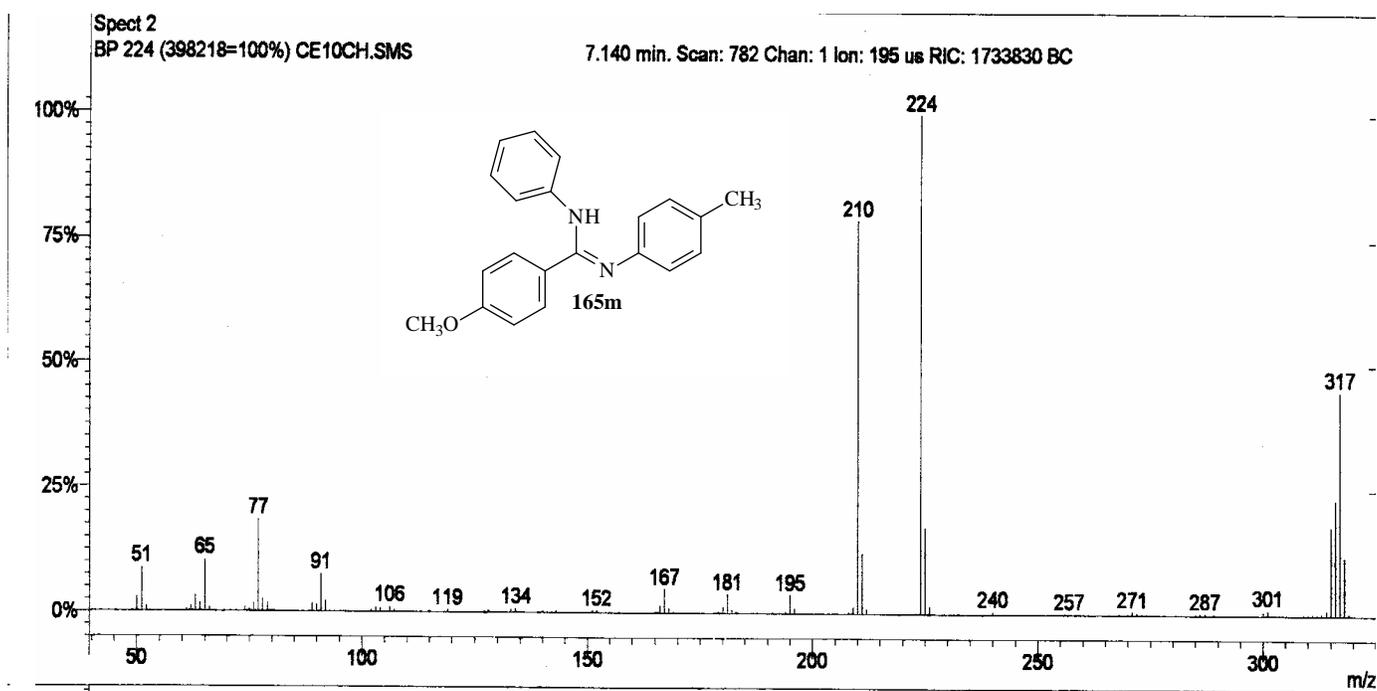
Anexo 141. Espectros de massas dos compostos **165g-h**, respectivamente.



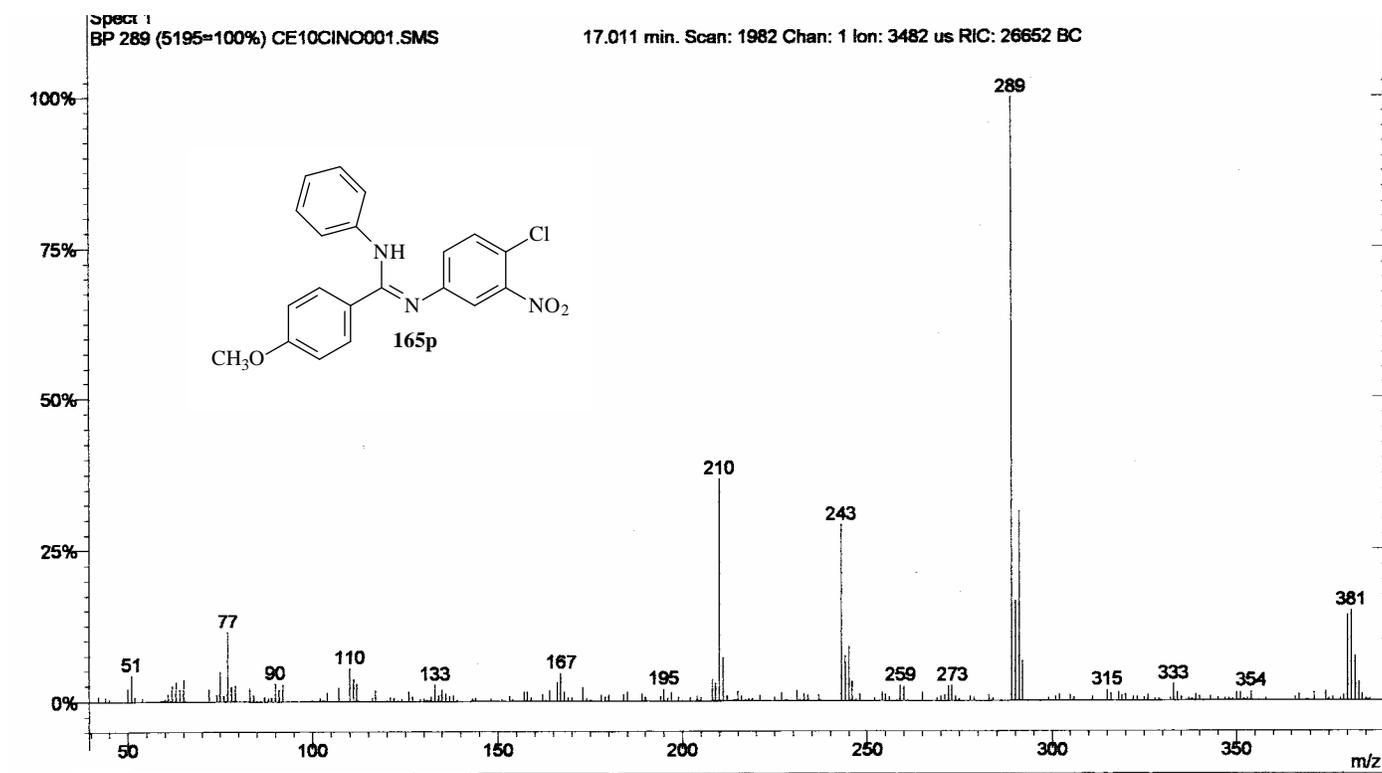
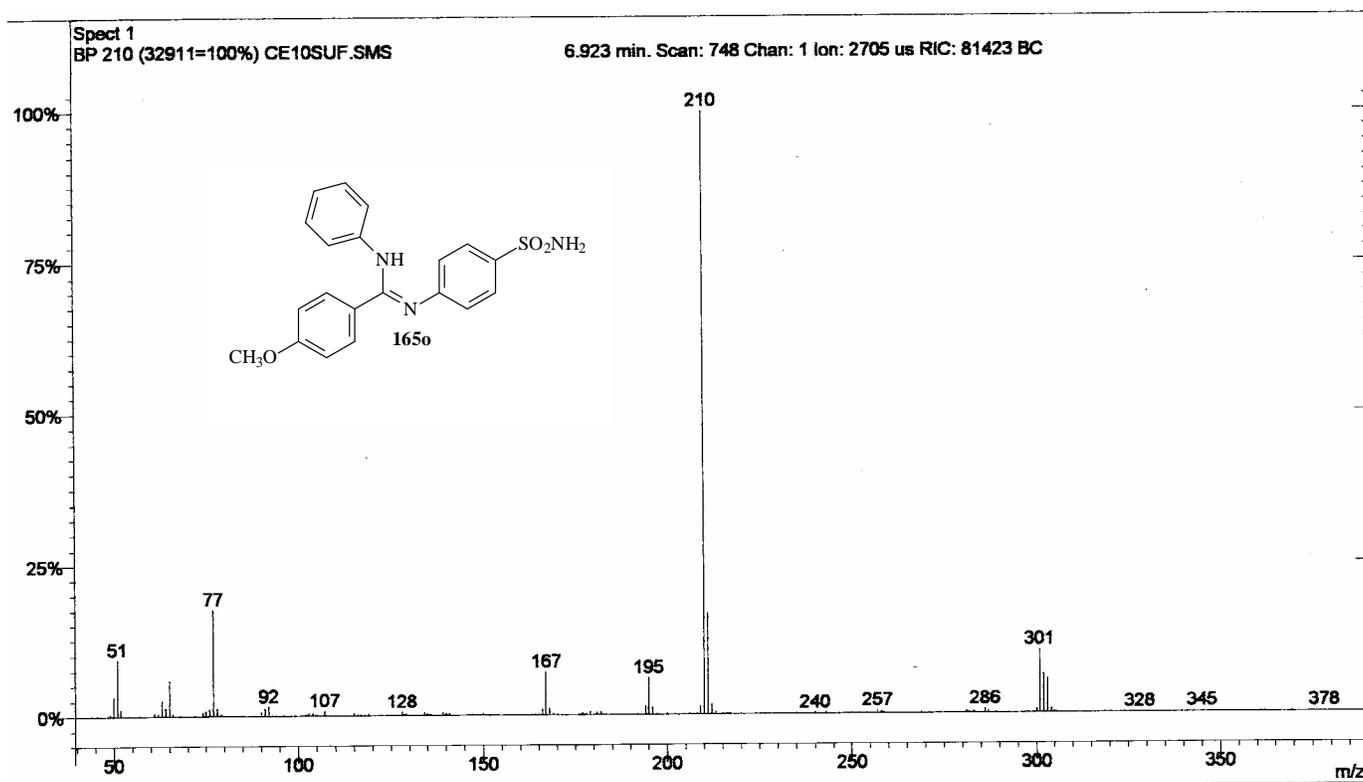
Anexo 142. Espectros de massas dos compostos **165i-j**, respectivamente.



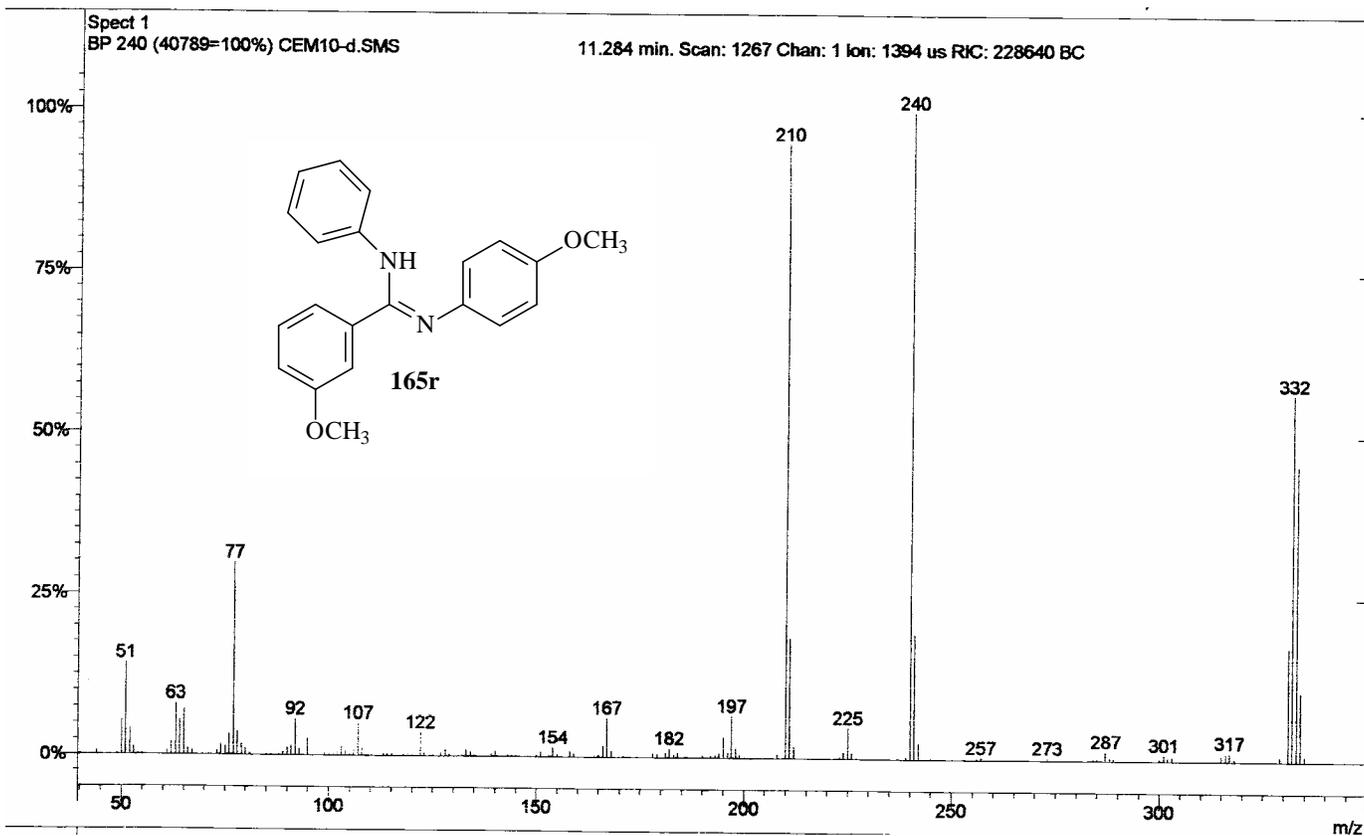
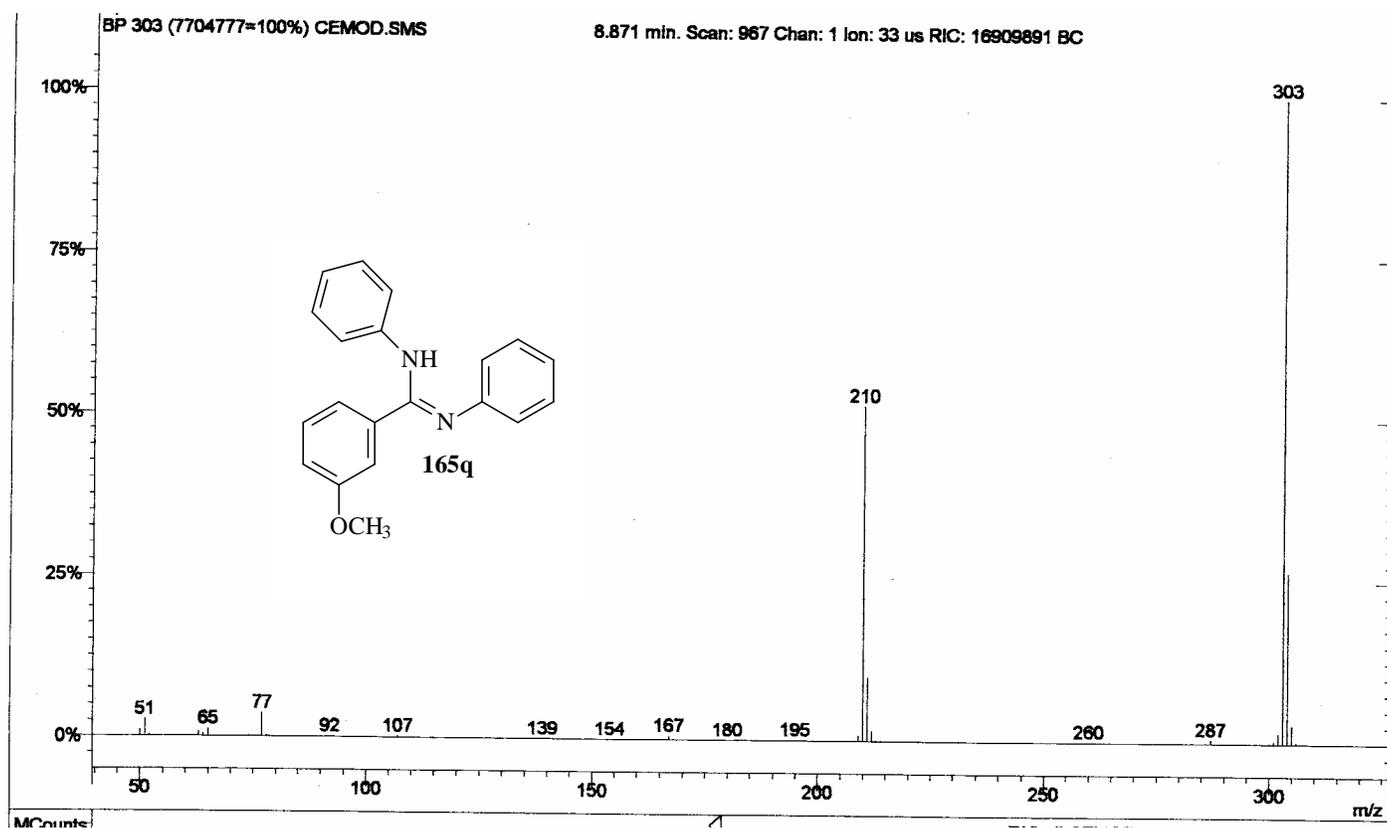
Anexo 143. Espectros de massas dos compostos **165k-l**, respectivamente.



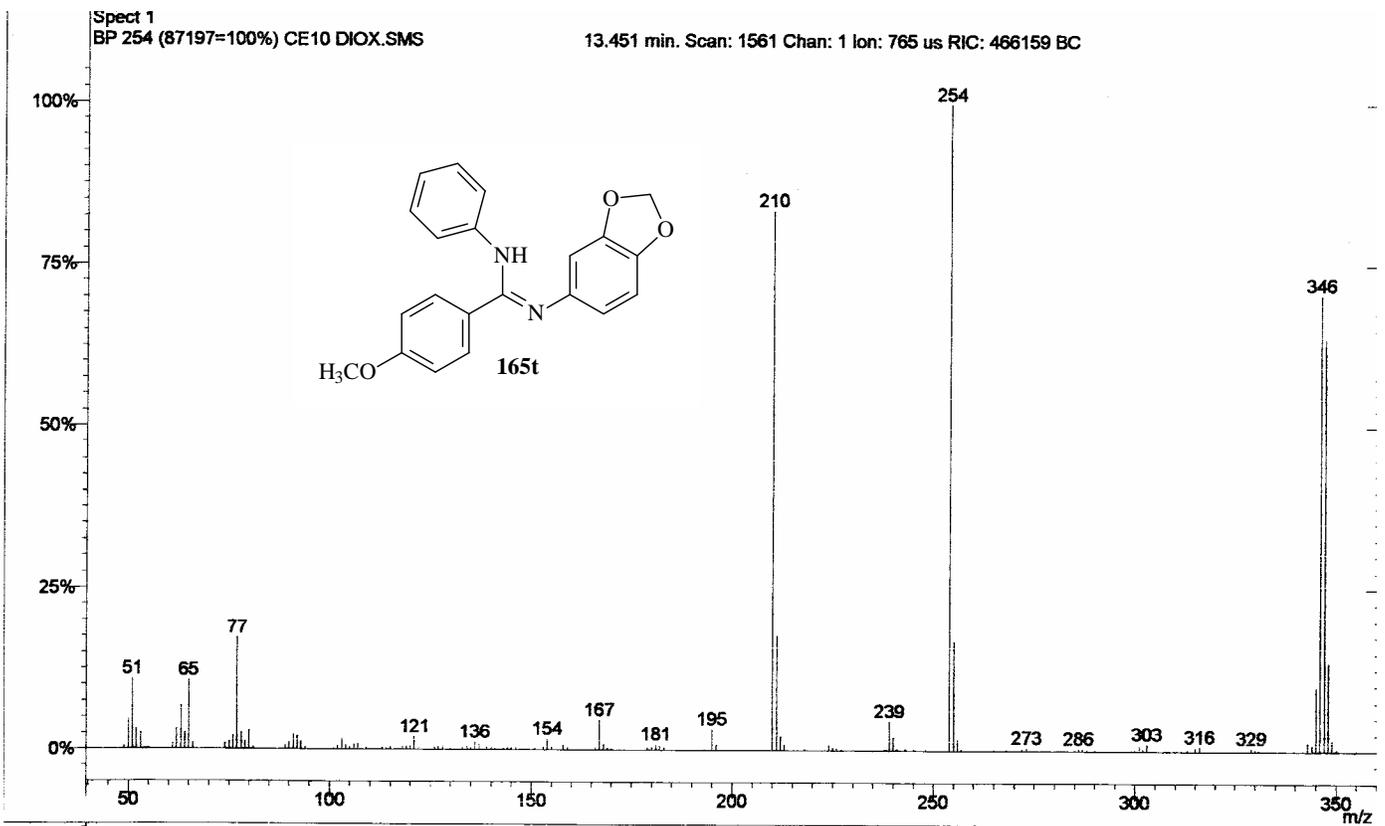
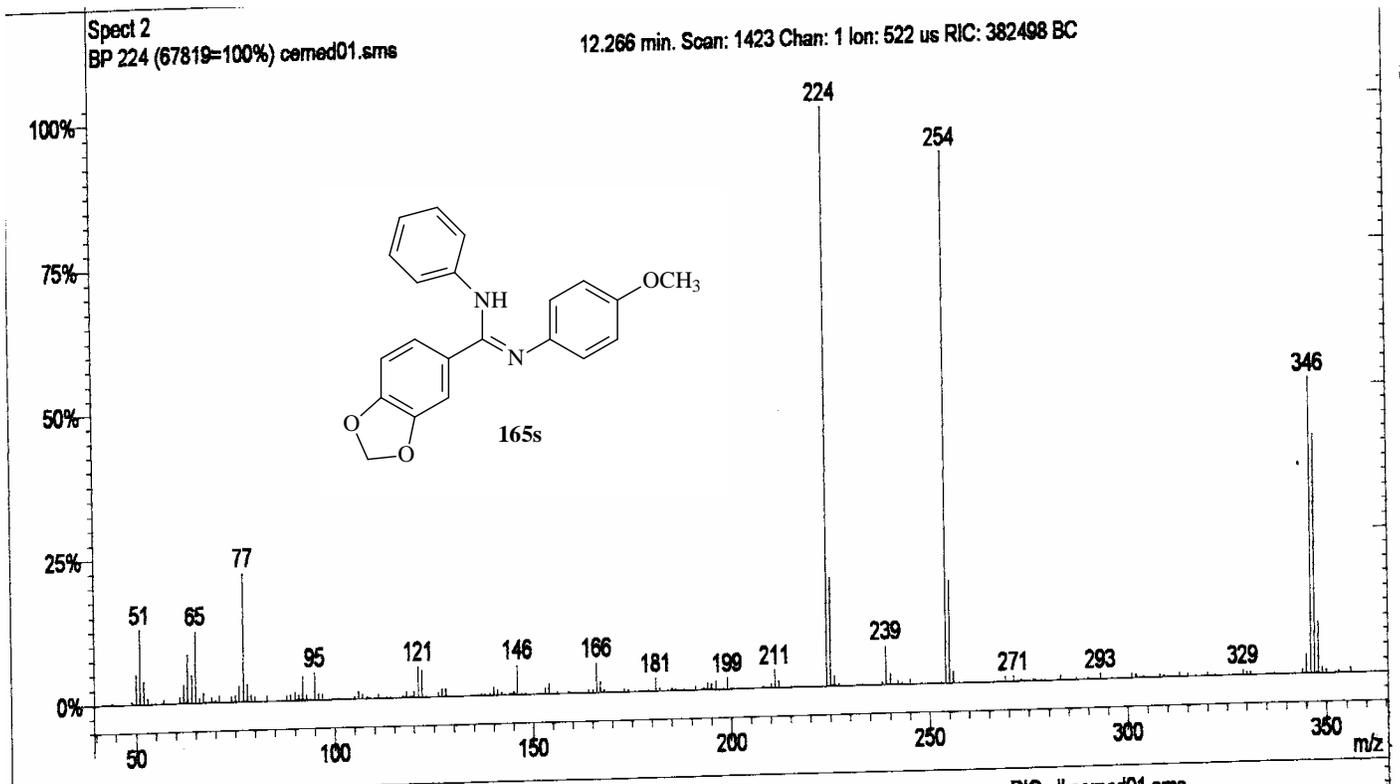
Anexo 144. Espectros de massas dos compostos **165m-n**, respectivamente.



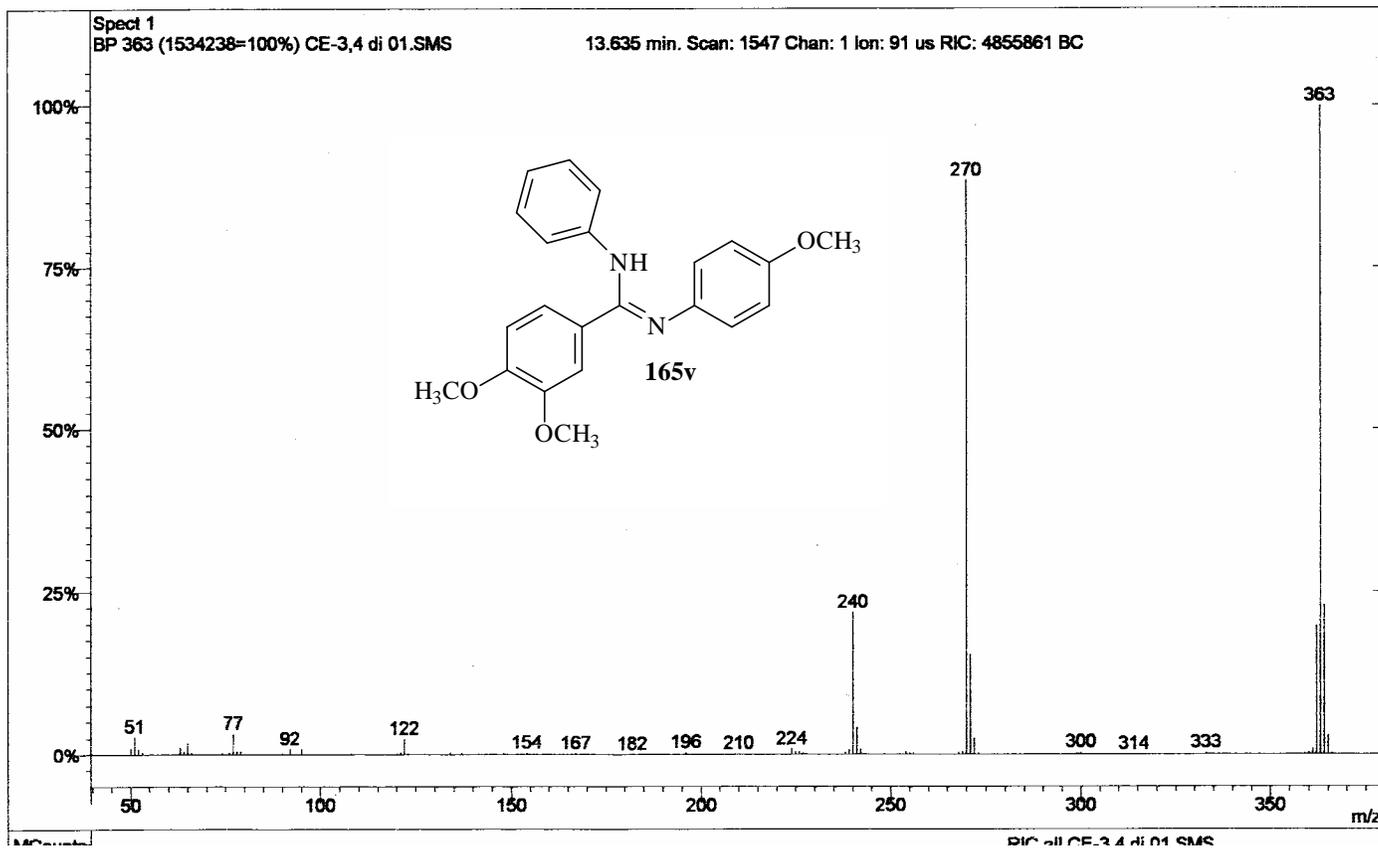
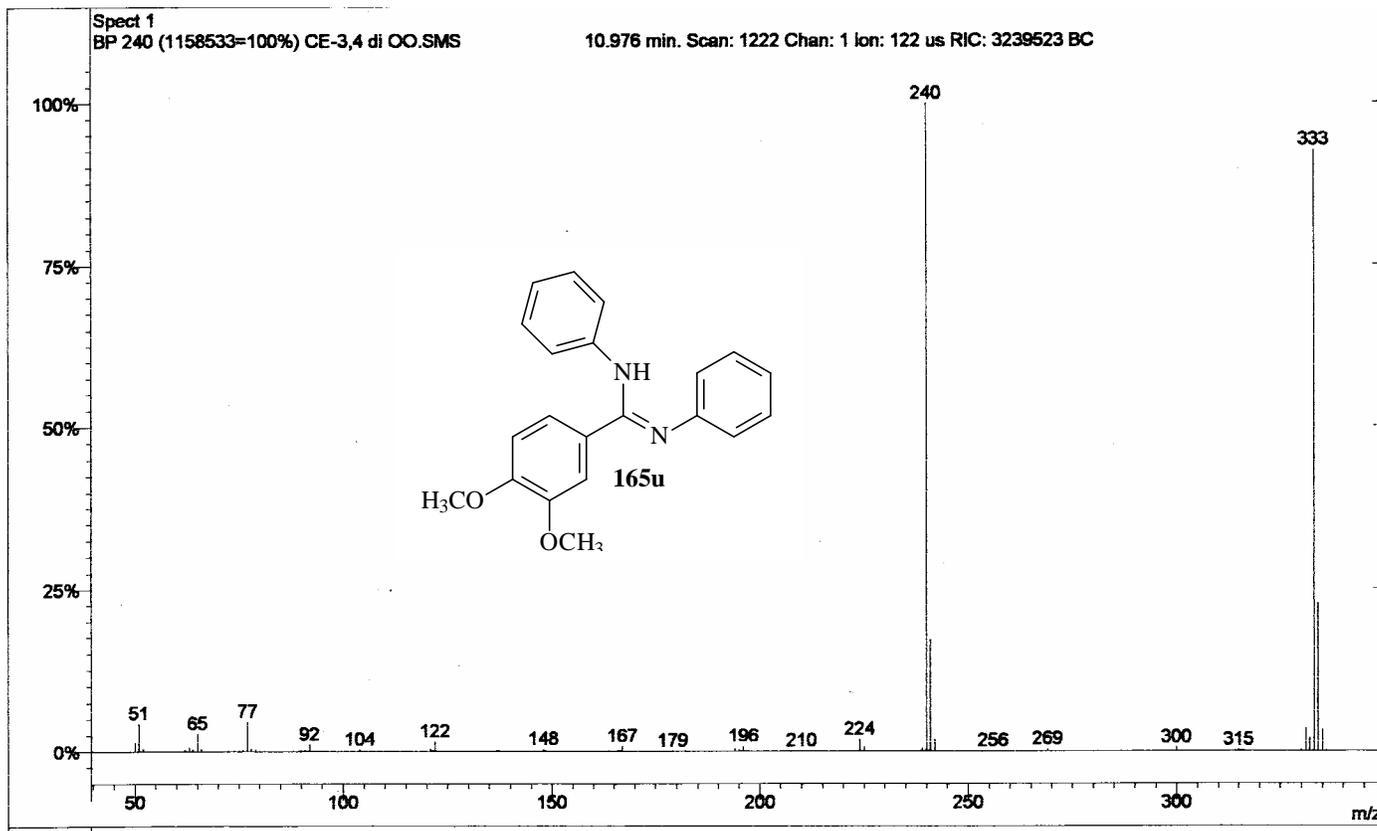
Anexo 145. Espectros de massas dos compostos **165o-p**, respectivamente.



Anexo 146. Espectros de massas dos compostos **165q-r**, respectivamente.



Anexo 147. Espectros de massas dos compostos **165s-t**, respectivamente.



Anexo 148. Espectros de massas dos compostos **165u-v**, respectivamente.