



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO**  
**ESCOLA DE FARMÁCIA**  
**LABORATÓRIO DE QUÍMICA MEDICINAL E BIOENSAIOS**



**BÁRBARA LUIZA TEIXEIRA TREGAS GASCHLER**

**SÍNTESE DE FENOL AMIDAS PARA ACOPLAMENTO COM DERIVADOS 4-  
HIDROXI-N-BENZILPIPERIDINAS NA OBTENÇÃO DE INIBIDORES  
POTENCIAIS DA CRUZAÍNA**

**OURO PRETO**

**2024**

BÁRBARA LUIZA TEIXEIRA TREGAS GASCHLER

**SÍNTESE DE FENOL AMIDAS PARA ACOPLAMENTO COM DERIVADOS 4-  
HIDROXI-N-BENZILPIPERIDINAS NA OBTENÇÃO DE INIBIDORES  
POTENCIAIS DA CRUZAÍNA**

Trabalho de Conclusão de Curso a ser apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientador: Prof. Dr. Saulo Fehelberg Pinto Braga

**OURO PRETO**

**2024**



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
REITORIA  
ESCOLA DE FARMACIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACIA



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Bárbara Luiza Teixeira Tregas Gaschler**

### **Síntese de fenol amidas para acoplamento com derivados 4-hidroxi-N-benzilpiperidinas na obtenção de inibidores potenciais da cruzaina**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Aprovada em 17 de outubro de 2024

#### Membros da banca

Dr. Saulo Fehelberg Pinto Braga - Orientador (Universidade Federal de Ouro Preto)  
Dra. Adriana Cotta Cardoso Reis (Universidade Federal de Ouro Preto)  
Ma. Rúbia Castro Fernandes Melo Reis (Universidade Federal de Ouro Preto)

Dr. Saulo Fehelberg Pinto Braga, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 05/11/2024



Documento assinado eletronicamente por **Saulo Fehelberg Pinto Braga, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/11/2024, às 10:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0805776** e o código CRC **8EDD53C2**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por me conceder força e sabedoria diante dessa jornada que não foi nada fácil. Agradeço principalmente por enviar pessoas que foram meu suporte durante essa caminhada, estas que citarei aqui.

Agradeço à minha mãe, que suportou um peso incalculável para que eu conseguisse me formar, que diante das dificuldades nunca me negou nada, e não mediu esforços para me ajudar com o que eu precisasse. Nada disso seria possível sem você.

Agradeço aos meus demais familiares, minha vó Nuna, meu vô Tião, minha tia Vivian, meu tio Vinícius, meu primo Lucas e minha irmã Daniela, por todo carinho e ajuda ao longo da vida. Vocês foram essenciais para que eu me tornasse quem sou hoje.

Agradeço separadamente ao meu irmão Leonardo, por toda ajuda, por acolher eu e Thor quando precisamos, por estar ao meu lado durante minha formação, pelos puxões de orelha e por me dar um sobrinho maravilhoso. À minha prima e melhor amiga Victória por estar comigo em toda a minha vida, me apoiando, me ouvindo, me aconselhando, independente da situação e distância. Agradeço também por estar ao meu lado em todos os momentos bons e fazendo com que os ruins não parecessem tão ruins.

Agradeço ao meu sobrinho Danilo e ao meu cachorro Thor, pelo amor mais puro e incondicional e que sem sombras de dúvida foram meus maiores incentivos para continuar com essa luta.

Agradeço a todos da república Engenho, por todo o carinho, pelo acolhimento e homenagem, sendo a minha casa em Ouro Preto, aonde me sentia segura. Minha segunda família. Em especial agradeço ao Papa Capim, Azeite, Tico, Alfândega, Only e Santana, por serem meus psicólogos e por me animarem todas as vezes que me sentia triste e sozinha. Amo cada um de vocês.

Agradeço aos professores e técnicos da escola de farmácia, que tornaram tudo isso possível. Em especial agradeço ao meu orientador Dr. Saulo Braga, por acreditar em mim, pela paciência e pela oportunidade em trabalhar em seu projeto e ser monitora de química farmacêutica (só Deus sabe o quanto eu precisava daquela bolsa). Agradeço também ao professor Dr. Thiago, pois tudo que sei de síntese orgânica eu devo a ele. Agradeço também ao professor Dr. Célio e aos meus amigos do laboratório Rafael e Mariana, pessoas maravilhosas que deixavam o ambiente de trabalho mais leve e divertido, e por nunca me negarem uma ajuda.

Agradeço aos meus amigos de longa data, Bianca, Ingrid, Ana Ester, Calango e Marquim, por tudo vivido, por terem sido a minha fuga dos momentos difíceis, trazendo alegria e inúmeras histórias para contar.

Com toda certeza, eu digo que sem vocês eu não teria conseguido suportar a graduação. Obrigada meu grupinho fechado: Letícia, Igor, Jhonaum e Fabrício, por terem sido meu maior suporte durante a graduação, por todas as vezes em que eu desisti e vocês literalmente pegaram a minha mão e me ajudaram a seguir em frente. No meio da loucura de trabalhos e provas conseguiam tirar de mim um sorriso sincero, que diante das circunstâncias que vivi era quase impossível. À Letícia por abrir as portas da sua casa, para que eu conseguisse concluir o sétimo período. Ao Fabrício, um irmão que a vida me deu, por todos os conselhos, por ter ficado ao meu lado nos momentos mais difíceis, pelo carinho e paciência ao me ouvir reclamar, chorando e desesperada. Obrigada por terem sido a calma em meio ao caos.

Por último e não menos importante obrigada Pedro e Gabriel por terem feito esses últimos dias mais felizes, obrigada por todo o carinho e palavras de incentivo, só Deus sabe o quanto eu precisava de um ombro amigo nessa reta final.

## RESUMO

A doença de Chagas representa um grave problema de saúde pública com mais de 7.000 mortes registradas anualmente e uma estimativa de 6 a 8 milhões de pessoas infectadas pelo *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença, sendo o Brasil o segundo país em número de infectados (1,15 milhão). O atual arsenal terapêutico disponível apresenta limitações físico-químicas além de alta toxicidade, portanto, a busca por fármacos mais efetivos e menos tóxicos para o tratamento da doença de Chagas é de fundamental importância. A cruzaina é a principal cisteína protease do *T. cruzi* e é considerada essencial para a sobrevivência do parasito, sendo um alvo molecular validado na busca de agentes tripanocidas. Dentre os inibidores de cruzaina descobertos destaca-se o MB15, um inibidor não peptídico e não covalente com atividade potente frente à enzima cruzaina, com valor de  $CI_{50}$  de 5  $\mu$ M, e atividade in vitro contra o *T. cruzi* ( $CI_{50}$  32  $\mu$ M). No presente trabalho de conclusão de curso, se propôs a síntese de fenol-amidas, para que estas possam ser utilizadas para as reações de acoplamento com os derivados de 4-hidroxi-*N*-benzilpiperidinas, que estão sendo sintetizados em projeto paralelo, para obtenção de análogos do MB15. Após diversas tentativas de obter os produtos propostos, sendo necessário modificar as técnicas descritas em artigos científicos, padronizou-se as melhores condições para as reações serem realizadas. Neste trabalho foi realizada a proteção da hidroxila fenólica de dois derivados de ácidos carboxílicos, obtidas dez amidas e realizada a desproteção em cinco destas fenol-amidas, as quais 3 foram obtidas puras, podendo ser utilizadas nas reações de acoplamento com os derivados *N*-benzilpiperidinas mesilados, que estão sendo sintetizados em projeto paralelo. Graças à natureza convergente das rotas sintéticas, as 3 fenol-amidas puras obtidas podem dar origem a inúmeros compostos distintos ao serem acopladas com os derivados mencionados.

**Palavras-chave:** Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; cruzaina; fenol-amidas; MB15; química medicinal; síntese orgânica.

## ABSTRACT

Chagas disease represents a serious public health issue, with over 7,000 deaths recorded annually and an estimated 6 to 8 million people infected with *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of the disease, with Brazil being the second country in terms of infections (1.15 million). The current therapeutic arsenal available is far from ideal, and therefore, the search for more effective and less toxic drugs for the treatment of Chagas disease is of paramount importance. Cruzipain is the main cysteine protease of *T. cruzi* and is considered essential for the survival of the parasite, making it a validated molecular target in the search for trypanocidal agents. Among the cruzipain inhibitors discovered, MB15 stands out as a non-peptidic and non-covalent inhibitor with potent activity against the cruzipain enzyme, with an  $IC_{50}$  value of 5  $\mu$ M, and in vitro activity against *T. cruzi* ( $IC_{50}$  32  $\mu$ M). In this undergraduate research project, the synthesis of phenol-amides was proposed, so they could be used in coupling reactions with 4-hydroxy-*N*-benzylpiperidine derivatives, which are being synthesized in a parallel project, to obtain MB15 analogs. After several attempts to obtain the proposed products, and the need to modify techniques described in scientific articles, the best conditions for the reactions were standardized. In this work, the protection of the phenolic hydroxyl group of two carboxylic acid derivatives was carried out, ten amides were obtained, and deprotection was performed on five of these phenol-amides. However, some setbacks and difficulties in accessing reagents prevented the complete synthesis of all the desired derivatives. Nonetheless, the execution of this project was of fundamental importance for standardizing the procedures for obtaining these products and for providing the student with practical experience in organic synthesis and medicinal chemistry.

**Keywords:** Chagas disease; *Trypanosoma cruzi*; cruzipain; phenol-amides; MB15; medicinal chemistry; organic synthesis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de Vida do <i>T.Cruzi</i> .....	19
Figura 2 - Fármacos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas .....	22
Figura 3 - Estrutura tridimensional da Cruzaína .....	24
Figura 4 - Estrutura química das vinilssulfonas (a) e tiosemicarbazonas (b) .....	25
Figura 5 - Hits selecionados após primeira triagem inicial do conjunto MMV400 .....	26
Figura 6 - Rota sintética utilizada para a síntese das substâncias propostas .....	30
Figura 7 - Reação de proteção da hidroxila fenólica do ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico e ácido-3-cloro-4-hidroxibenzoico .....	30
Figura 8 - Ácido 4-(benziloxi)benzóico .....	31
Figura 9 - Ácido 4-(benziloxi)-3-clorobenzóico .....	32
Figura 10 – Condições reacionais para obtenção das amidas protegidas .....	33
Figura 11 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> -isopropilbenzamida.....	35
Figura 12 - 4-(benziloxi)fenil(morfolino)metanona .....	36
Figura 13 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> -(2-metoxietil)benzamida .....	36
Figura 14 - 4-(benziloxi)-3-cloro- <i>N</i> -isopropilbenzamida.....	37
Figura 15 - 4-(benziloxi)-3-cloro- <i>N</i> -(2-metoxietil)benzamida.....	38
Figura 16 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> - <i>N</i> -dietilbenzamida .....	39
Figura 17 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> -dimetilbenzamida .....	40
Figura 18 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> -fenilpirrolidina-metanona.....	41
Figura 19 – Condições reacionais para desproteção da hidroxila fenólica das amidas .....	42
Figura 20 - 4-hidroxi- <i>N</i> -isopropil-benzamida .....	43
Figura 21 - 4-hidroxi- <i>N</i> -(2-hidroxietil)benzamida .....	44
Figura 22 - 3-cloro-4-hidroxi- <i>N</i> -(2-hidroxietil)benzamida .....	45
Figura 23 - Análise retrossintética do MB15. ....	47
Figura 24 - Rota sintética proposta para a obtenção dos análogos do MB15.....	48
Figura 25 - Fenol amidas sintetizadas (3a-3e).....	48
Figura 26 - Dimerização do ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico .....	49
Figura 27 - Possíveis grupos protetores para a hidroxila fenólica.....	51
Figura 28 - Mecanismo da proteção da hidroxila fenólica .....	53
Figura 29 - Mecanismo de transesterificação .....	54
Figura 30 - Ácidos protegidos .....	55
Figura 31 - Equilíbrio químico de formação de amidas a partir de ácido carboxílico .....	56

Figura 32 - Equilíbrio químico de formação de amidas a partir de grupos ativadores de ácido carboxílico.....	57
Figura 33 - Grupos ativadores de ácido carboxílico.....	58
Figura 34 - Ésteres ativados aromáticos .....	59
Figura 35 - Estruturas <i>DCC</i> e <i>EDAC</i> .....	60
Figura 36 - Mecanismo de formação das amidas utilizando <i>EDAC</i> e <i>NHS</i> .....	60
Figura 37 - Síntese das amidas a partir da formação do intermediário reativo éster ativado .....	61
Figura 38 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> -isopropilbenzamida.....	63
Figura 39 - 4-(benziloxi)fenilmorfolinometanona.....	64
Figura 40 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> -(2-metoxietil)benzamida.....	64
Figura 41 - 4-(benziloxi)- <i>N</i> -dietilbenzamida.....	65
Figura 42 - 4-benziloxi- <i>N</i> -piperidinabenzamida .....	66
Figura 43 - Espectro de $^1\text{H}$ da amida 11 .....	67
Figura 44 - Espectro de $^{13}\text{C}$ e DEPT-35 da amida 11.....	68
Figura 45 - 4-benziloxi- <i>N</i> -dimetilbenzamida .....	69
Figura 46 - 4-benziloxi- <i>N</i> -pirrolbenzamida.....	70
Figura 47 - 4-benziloxi- <i>N</i> -tiazolbenzamida.....	71
Figura 48 - Espectro de $^1\text{H}$ da amida 14.....	72
Figura 49 – Espectro de $^{13}\text{C}$ da amida 14 .....	73
Figura 50 - 4-(benziloxi)-3-cloro- <i>N</i> -isopropilbenzamida.....	74
Figura 51 - 4-(benziloxi)-3-cloro- <i>N</i> -(2-metoxietil)benzamida.....	75
Figura 52 - Hidrogenação catalítica e hidrogenólise .....	76
Figura 53 - Mecanismo de hidrogenação catalítica utilizando paládio como catalisador .....	77
Figura 54 - Espectro de $^1\text{H}$ da amida 3a (primeira tentativa) .....	78
Figura 55 - Mecanismo proposto da desproteção com ácido bromídrico.....	79
Figura 56 - 4-hidroxi- <i>N</i> -isopropil-benzamida .....	81
Figura 57 - 4-hidroxi-fenilmorfolino-metanona .....	82
Figura 58 - Espectro de $^1\text{H}$ da amida 16.....	83
Figura 59 - Espectro de $^{13}\text{C}$ e DEPT-35 da amida 16 .....	84
Figura 60 – Subespectro DEPT-35 da amida 16 .....	84
Figura 61 - 4-hidroxi- <i>N</i> -(2-hidroxietil)benzamida .....	85
Figura 62 - 4-hidroxi- <i>N</i> -isopropilbenzamida.....	86
Figura 63 - Espectro de $^1\text{H}$ da 18.....	87

Figura 64 - Espectro de $^{13}\text{C}$ da amida 18.....	88
Figura 65 - 3-cloro-4-hidroxi- <i>N</i> -(2-hidroxietyl)benzamida .....	88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massas dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese das amidas protegidas .....	34
Tabela 2 - Quantitativo dos materiais de partida, produtos e rendimentos obtidos nas reações de síntese das fenol-amidas .....	43
Tabela 3 - Comparação de duas reações para a formação da amida 4, utilizando o material ..	61

## LISTA DE SIGLAS

<b>CAM</b>	Molibdato Cérico de Amônio
<b>CCD</b>	Cromatografia em camada de sílica
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	Clorofórmio deuterado
<b>CDI</b>	Carbonil diimidazol
<b>CI<sub>50</sub></b>	Concentração inibitória 50%
<b>DMSO-d<sub>6</sub></b>	Dimetilsulfóxido deuterado
<b>DC</b>	Doença de Chagas
<b>DCC</b>	<i>N,N</i> -diciclohexilcarbodiimida
<b>DNT</b>	Doenças tropicais negligenciadas
<b>ECG</b>	Eletrocardiograma
<b>EDAC</b>	1-etil-3-(3dimetilaminopropil)carbodiimida
<b>HBr</b>	Ácido bromídrico
<b>HCL</b>	Ácido clorídrico
<b>KOH</b>	Hidróxido de potássio
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Sulfato de sódio anidro
<b>NHS</b>	<i>N</i> -hidroxisuccinimida
<b>Pd</b>	Paládio
<b>TFA</b>	Ácido trifluoracético

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>17</b>
2.1	DOENÇA DE CHAGAS	17
2.1.1	<b>Epidemiologia</b>	<b>17</b>
2.1.2	<i>Trypanosoma cruzi</i>	18
2.1.2.1	Ciclo de Vida	18
2.1.3	<b>Formas de transmissão</b>	<b>20</b>
2.1.4	<b>Fisiopatologia</b>	<b>20</b>
2.1.5	<b>Manifestações clínicas</b>	<b>21</b>
2.1.6	<b>Tratamento</b>	<b>22</b>
2.2	INIBIDORES DA CRUZAÍNA	23
2.2.1	<b>MB15</b>	<b>25</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>28</b>
3.1	OBJETIVOS GERAIS	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>29</b>
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS PROPOSTAS	29
4.1.1	<b>Procedimentos gerais</b>	<b>29</b>
4.1.2	<b>Síntese das substâncias propostas</b>	<b>29</b>
4.1.2.1	Procedimento geral para a reação de proteção da hidroxila fenólica do ácido p-hidroxibenzoico e ácido-3-cloro-4-hidroxibenzoico.	30
4.1.2.1.1	<i>Obtenção do ácido 4-(benziloxi)benzóico (3)</i>	31
4.1.2.1.2	<i>Obtenção do ácido 4-(benziloxi)-3-clorobenzóico (4)</i>	32
4.1.2.2	Procedimento geral para a obtenção das amidas protegidas.	33
4.1.2.2.1	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)-N-isopropilbenzamida (5)</i>	35
4.1.2.2.2	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)fenil(morfolino)metanona (6)</i>	36
4.1.2.2.3	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)-N-(2-metoxietil)benzamida (7)</i>	36
4.1.2.2.4	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)-3-cloro-N-isopropilbenzamida (8)</i>	37
4.1.2.2.5	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)-3-cloro-N-(2-metoxietil)benzamida (9)</i>	38
4.1.2.2.6	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)-N-N-dietilbenzamida (10)</i>	39
4.1.2.2.7	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)-N-dimetilbenzamida (12)</i>	40
4.1.2.2.8	<i>Obtenção da 4-(benziloxi)-N-fenilpirrolidina-metanona (13)</i>	41

4.1.2.3	Procedimento geral para desproteção da hidroxila fenólica das amidas .....	42
4.1.2.3.1	<i>Obtenção da 4-hidroxi-N-isopropil-benzamida. (15)</i> .....	43
4.1.2.3.2	<i>Obtenção da 4-hidroxi-N-(2-hidroxietil)benzamida (17)</i> .....	44
4.1.2.3.3	<i>Obtenção da 3-cloro-4-hidroxi-N-(2-hidroxietil)benzamida (19)</i> .....	45
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>
5.1	PLANEJAMENTO SINTÉTICO DOS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO MB15 .....	46
5.2	GRUPOS PROTETORES PARA ÁLCOOIS.....	49
5.2.1.1	Proteção da hidroxila fenólica.....	52
5.2.1.2	Caracterização química dos ácidos 4-(benziloxi)benzóico (3) e 3-cloro-4-hidroxibenzóico (4).....	55
<b>5.2.2</b>	<b>Síntese das amidas .....</b>	<b>56</b>
5.2.2.1	Grupos ativadores.....	57
5.2.2.1.1	<i>Ésteres ativados</i> .....	59
<b>5.2.3</b>	<b>Síntese das amidas a partir da formação do intermediário reativo éster ativado</b>	<b>61</b>
5.2.3.1	Caracterização química da 4-(benziloxi)- <i>N</i> -isopropilbenzamida (5) .....	63
5.2.3.2	Caracterização química da 4-(benziloxi)fenilmorfolinometanona (6) .....	64
5.2.3.3	Caracterização da 4-(benziloxi)- <i>N</i> -(2-metoxietil)benzamida (7) .....	64
5.2.3.4	Caracterização da 4-(benziloxi)- <i>N</i> -dietilbenzamida (10) .....	65
5.2.3.5	Caracterização 4-benziloxi- <i>N</i> -piperidinabenzamida (11) .....	66
5.2.3.6	Caracterização da 4-benziloxi- <i>N</i> -dimetilbenzamida (12).....	69
5.2.3.7	Caracterização da 4-benziloxi- <i>N</i> -pirrolbenzamida (13) .....	70
5.2.3.8	Caracterização da 4-benziloxi- <i>N</i> -tiazolbenzamida (14) .....	71
5.2.3.9	Caracterização da 4-(benziloxi)-3-cloro- <i>N</i> -isopropilbenzamida (8) .....	74
5.2.3.10	Caracterização da 4-(benziloxi)-3-cloro- <i>N</i> -(2-metoxietil)benzamida (9) .....	75
<b>5.2.4</b>	<b>Síntese das fenol-amidas - etapa de desproteção .....</b>	<b>75</b>
5.2.4.1	Hidrogenação catalítica .....	76
5.2.4.2	Desproteção com ácido bromídrico.....	78
<b>5.2.5</b>	<b>Caracterização da da 4-hidroxi-<i>N</i>-isopropil-benzamida (15)</b> .....	<b>81</b>
5.2.5.1	Caracterização da 4-hidroxi-fenilmorfolino-metanona (16) .....	82
5.2.5.2	Caracterização da 4-hidroxi- <i>N</i> -(2-hidroxietil)benzamida (17).....	85
5.2.5.3	Caracterização da 4-hidroxi- <i>N</i> -isopropilbenzamida (18) .....	86
5.2.5.4	Caracterização da 3-cloro-4-hidroxi- <i>N</i> -(2-hidroxietil)benzamida (19).....	88
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>90</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>91</b>

**APÊNDICE A - ESPECTROS RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE  $^1\text{H}$  E  $^{13}\text{C}$  DAS  
SUBSTÂNCIAS SINTETIZADAS ..... 96**

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas (DC), causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, afeta cerca de 7 milhões de pessoas no mundo, principalmente na América Latina, sendo uma doença tropical negligenciada. Seus sintomas podem ser silenciosos ou similares a outras doenças, mas em sua fase crônica, até 40% dos pacientes podem desenvolver danos cardíacos ou digestivos. Embora o diagnóstico precoce e o tratamento adequado sejam essenciais para prevenir sequelas graves, apenas uma pequena parcela dos infectados recebe esse atendimento, especialmente devido à negligência nas políticas públicas e ao fato de afetar majoritariamente populações pobres (OPAS, 2023)

Originalmente presente em áreas rurais da América Latina, a doença de Chagas também é encontrada em zonas urbanas, além de países na Europa e nos Estados Unidos, como resultado da migração e do êxodo rural. Até o momento, não há vacina disponível, e as pesquisas se concentram na melhoria das ferramentas de diagnóstico, controle vetorial, novas terapias e avaliação de marcadores de resposta ao tratamento. Isso inclui a otimização de doses de medicamentos antiparasitários para diferentes grupos geográficos e faixas etárias, visando a melhoria do manejo da doença (NAÇÕES UNIDAS NO BRASIL, 2019)

As principais vias de transmissão da doença de Chagas, além da transmissão vetorial, incluem: a ingestão de alimentos contaminados com parasitas provenientes de triatomíneos infectados ou de suas fezes; a transmissão vertical, que ocorre quando o parasita é passado de mães infectadas para seus bebês durante a gestação ou no parto; e a transmissão via transfusões de sangue ou transplante de órgãos de doadores infectados para receptores saudáveis. A transmissão também pode ocorrer de forma acidental, através do contato de pele lesionada ou mucosas com material contaminado, seja em laboratório ou durante a manipulação de caça (BRASIL, 2024). O diagnóstico precoce na fase aguda da doença de Chagas é crucial, pois aumenta consideravelmente as chances de recuperação completa do paciente com o tratamento adequado, prevenindo a progressão para a fase crônica.

O único fármaco disponível no mercado brasileiro é o benznidazol, cuja eficácia tem sido comprovada apenas na fase aguda da doença (CUNHA-FILHO, 2012). Além disso, o medicamento apresenta alta toxicidade e inúmeros efeitos colaterais graves que diminuem a adesão farmacoterapêutica do paciente (BONNEY, 2014). Em vista do exposto, a busca por novos fármacos mais efetivos e menos tóxicos para o tratamento da doença de Chagas é de fundamental importância.

Vários estudos mostraram que há uma enzima, a cruzaina, essencial para a sobrevivência do parasito, pois desempenha um papel importante nas fases de infecção do hospedeiro. Nos mamíferos, enzimas homólogas são mais redundantes, têm funções menos essenciais, e estão presentes em concentrações muito maiores em comparação às enzimas equivalentes nos protozoários (ANG *et al.*, 2011), o que a torna um importante alvo a ser explorado na busca de agentes tripanocidas seletivos.

Diversas classes de inibidores são descritas na literatura, muitas de natureza peptídica com porções eletrofílicas. Entre as mais estudadas estão as peptidil-vinilssulfonas e tiossemicarbazonas (ROCHA *et al.*, 2018). No entanto, diversos outros inibidores potenciais da cruzaina foram descobertos na triagem de compostos do *Malaria Box*, uma quimioteca que reúne 400 compostos promissores, e dentre eles destaca-se o composto 15 (MB15) com atividade potente frente à enzima cruzaina, com valor de  $CI_{50}$  de 5  $\mu\text{M}$  e atividade in vitro contra diferentes espécies de *Trypanosoma*, conforme dados de  $CI_{50}$  depositados no banco de dados do PubChem: *T. cruzi*, 32  $\mu\text{M}$ ; *T. brucei* 32  $\mu\text{M}$  e *T. brucei rhodesiense* 16,1  $\mu\text{M}$  (KAISER *et al.*, 2015).

O MB15 representa um padrão estrutural inovador (PEREIRA *et al.*, 2019.). Sua estrutura química apresenta grupos que podem ser modificados, visando otimizar a estrutura e estabelecer uma relação estrutura-atividade para o padrão estrutural, sendo, portanto, um bom ponto de partida para a busca de novos fármacos contra a Doença de Chagas.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa construiu uma biblioteca virtual de 570 derivados do MB15, variando substituintes a partir de materiais disponíveis no laboratório. Após triagem com reagentes da *Sigma Aldrich*, foram selecionados os compostos com maior afinidade pela cruzaina, com base em estudos de *docking* molecular, para posterior síntese. O foco desse trabalho foi a síntese de intermediários fenol-amidas, que serão usadas em reações de acoplamento com derivados de benzilpiperidinas, sintetizados em um projeto paralelo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 DOENÇA DE CHAGAS

#### 2.1.1 Epidemiologia

A doença de Chagas (DC), também conhecida como tripanossomíase americana, integra o grupo de doenças tropicais negligenciadas (DTN) da Organização Mundial da Saúde (OMS) e persiste como um grave problema de saúde pública. Estima-se que no mundo cerca de 7 milhões de pessoas possam estar infectadas pelo protozoário causador da doença – *Trypanosoma cruzi*, principalmente na América Latina, com incidência anual de 30 mil casos novos na região, ocasionando, em média, 14 mil mortes/ano e cerca de 70 milhões de pessoas vivendo em áreas de exposição e correndo o risco de contrair a infecção (BRASIL, 2024).

A doença é silenciosa e os sintomas, quando aparentes, são muito similares ao de outras doenças. No entanto, na fase crônica cerca de 30% a 40% das pessoas terão algum tipo de dano cardíaco ou no sistema digestivo. Ter acesso ao diagnóstico oportuno e ao tratamento é a única forma de evitar as sequelas crônicas da doença. Porém, o tema não tem destaque nas políticas públicas dos países afetados, principalmente porque atinge majoritariamente pessoas vivendo em situação de pobreza. (RAMOS, 2017)

Apesar da alta carga de morbimortalidade, apenas 7% das pessoas com DC são diagnosticadas, e somente 1% recebe tratamento etiológico adequado. Há evidências de que o diagnóstico e o tratamento etiológico adequado resultam em muitos benefícios, incluindo a prevenção da transmissão congênita futura em mães tratadas, cura sorológica em bebês e crianças e redução da progressão para formas clínicas avançadas da doença (megassíndromes) nas pessoas infectadas (BRASIL, 2024).

A enfermidade, antes confinada especialmente a áreas rurais das Américas do Sul e Central, apresenta-se atualmente em áreas urbanas, como consequência do êxodo rural. A doença também pode ser encontrada nos Estados Unidos e alguns países da Europa - pacientes com doença de Chagas foram diagnosticados em 17 dos 50 países da Europa - e de outros continentes, devido à migração internacional e ao maior fluxo de viajantes (BRASIL, 2018).

Até o presente momento não existe vacina contra a doença de Chagas, por esse motivo as prioridades de investigação incluem: melhoria na compreensão da diversidade da doença em diferentes contextos geográficos e em relação ao diferente desempenho de testes diagnósticos, manifestações clínicas, respostas terapêuticas e eficácia das medidas de controle; avaliação de novas ferramentas de controle vetorial; produção e avaliação de ferramentas de triagem e diagnóstico, incluindo testes de diagnóstico rápido e testes confirmatórios; investigação de marcadores de resposta terapêutica, otimizando a dosagem de acordo à idade e às diferentes respostas terapêuticas em diferentes áreas geográficas, e em relação a novos medicamentos antiparasitários e novas combinações de medicamentos (FIOCRUZ, 2024).

### 2.1.2 *Trypanosoma cruzi*

No gênero *Trypanosoma* encontram-se, além de *T. cruzi*, *T. brucei gambiense* e *T. b. rhodesiense*, causadores da doença do sono, ou tripanosomíase africana, em populações humanas de extensas áreas da África. *Trypanosoma rangeli* é eventualmente encontrado nas Américas em infecções assintomáticas no homem e em animais silvestres e domésticos (FERREIRA, 2020).

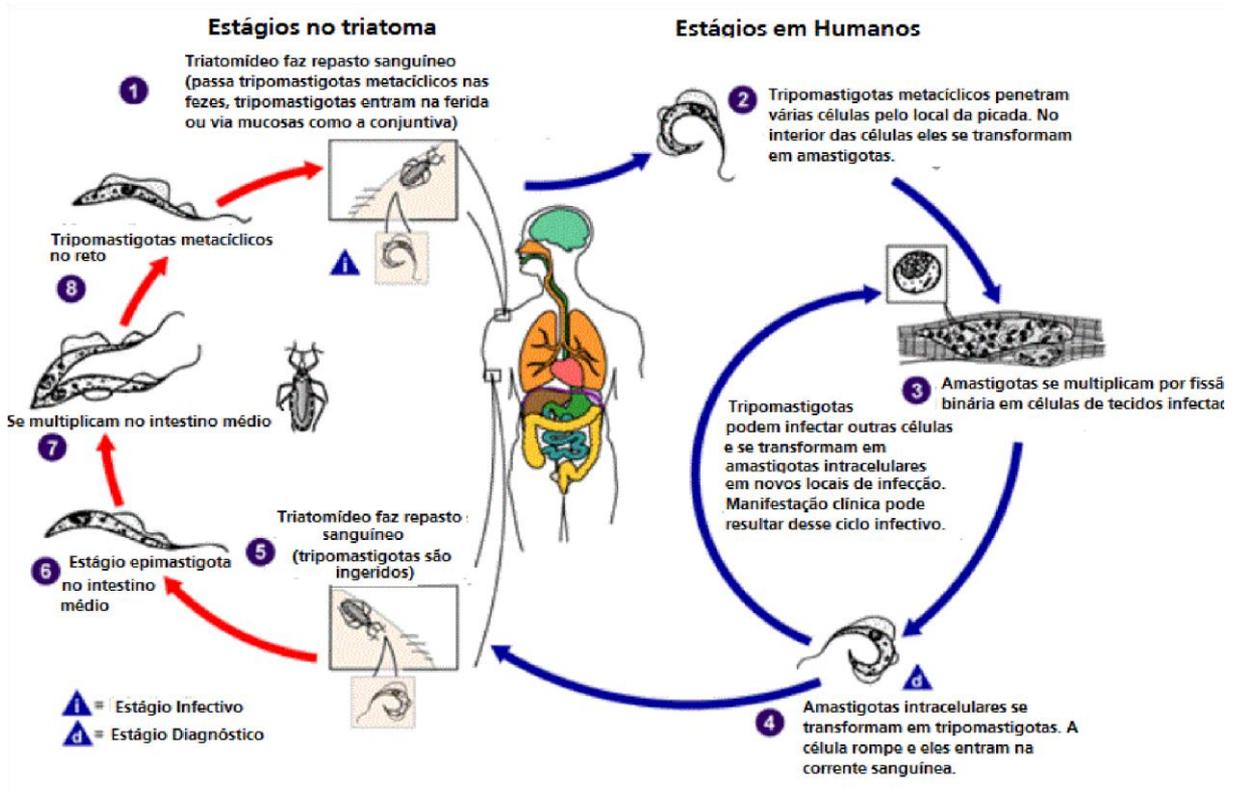
Os principais estágios do parasito encontrados em diferentes porções do tubo digestório do vetor são: os epimastigotas (estágios capazes de dividir-se, mas não de infectar células) e os tripomastigotas metacíclicos (estágios infectantes, mas sem capacidade de dividir-se). Porém, descrevem-se também outros estágios intermediários, de presença transitória, como o esferomastigota (estágio capaz de replicação sem flagelo aparente). No hospedeiro mamífero, predominam os amastigotas (estágios capazes de dividir-se, mas pouco infectantes para células), localizadas no interior de células nucleadas e os tripomastigotas (que não se reproduzem, mas são muito infectantes), localizadas na corrente sanguínea (FERREIRA, 2020).

#### 2.1.2.1 Ciclo de Vida

O *Trypanosoma cruzi* é encontrado em mamíferos e insetos vetores em três tipos de ambientes diferentes que se sobrepõem: silvestre, peridoméstico e doméstico (FERREIRA,

2020). Seu ciclo de vida é heteroxeno, ou seja, só é completado passando por pelo menos dois hospedeiros, neste caso, um mamífero e um inseto - geralmente o *Triatoma infestans*, popularmente conhecido como “barbeiro” (**Figura 1**). Em ambos os hospedeiros, observa-se alternância entre estágios reprodutivos que não são infectantes e estágios infectantes que não se reproduzem.

**Figura 1** - Ciclo de Vida do *T. Cruzi*



Fonte: Divisão de Doenças Parasitárias CDC HUNT, atualizada em 2023.

Os insetos vetores infectam-se quando fazem seu repasto sanguíneo sobre um mamífero infectado com formas tripomastigotas circulantes no sangue (FERREIRA, 2020). Durante a fase no hospedeiro invertebrado, o *T. cruzi* se transforma em epimastigotas e então, no intestino posterior, diferenciam em tripomastigotas metacíclicos (um processo conhecido como metaciclogênese) os quais, eliminados pelas fezes e urina do inseto vetor, são capazes de infectar o hospedeiro vertebrado. Como o parasita não penetra a pele intacta, o hospedeiro é infectado pelo contato das fezes com uma mucosa ou ferimentos na pele deixados pela picada do inseto (AZAMBUJA *et al.*, 2017).

Ao penetrar no hospedeiro vertebrado, os flagelados invadem células do sistema fagocítico mononuclear cutâneo onde, sob a forma amastigota, voltam a multiplicar-se; daí passam para o sangue, como tripomastigotas, e disseminam-se pelo organismo, atacando

músculos e outros tecidos. O ciclo fecha-se quando o paciente é sugado por outro triatomíneo e as formas que estavam presentes no sangue do paciente chegam ao intestino do inseto (REY, 2008).

### **2.1.3 Formas de transmissão**

As principais formas de transmissão da doença de Chagas, além da vetorial, incluem: a ingestão de alimentos contaminados com parasitos provenientes de triatomíneos infectados ou suas excretas; de maneira vertical, a qual ocorre pela passagem de parasitos de mulheres infectadas para seus bebês durante a gravidez ou no momento do parto, ou por meio de transfusões de sangue ou transplante de órgãos de doadores infectados a receptores saudáveis; de forma acidental, através do contato da pele ferida ou de mucosas com material contaminado durante manipulação em laboratório ou na manipulação de caça (BRASIL, 2024).

### **2.1.4 Fisiopatologia**

Quando o indivíduo é infectado por esse parasita, independente do meio de transmissão, ocorre um período de incubação (tempo decorrido entre a exposição ao patógeno e a manifestação de sintomas) que pode variar de indivíduo para indivíduo. Após a infecção, tripomastigotas penetram células fagocíticas-mononuclear e/ou do próprio tegumento, realizando ali seu ciclo focal, diferenciando-se em amastigotas intracelular até que ocorra a lise dessas células. Uma vez liberadas na corrente sanguínea, as formas tripomastigotas, podem parasitar outras células com exceção das hemácias. A doença pode se manifestar de forma aguda e posteriormente crônica ou grave que pode levar o indivíduo a óbito (SALOMÃO, 2017).

Na fase aguda os parasitas se propagam na porta de entrada nos gânglios linfáticos e se disseminam ao longo dos vasos sanguíneos e linfáticos alcançando assim diferentes órgãos do organismo. A presença da forma tripomastigota na corrente sanguínea na forma aguda é elevado, e como resposta do corpo acontece uma reação antígeno-anticorpo nos vasos

periféricos, com isso esses parasitas migram para os tecidos, principalmente para o miocárdio e para os plexos mioentéricos. Além disso, essa doença também pode se proliferar a partir de ninhos de amastigota no tubo digestivo e no sistema nervoso central e periférico. Após a primeira semana em que o parasita está presente no corpo do indivíduo a resposta de hipersensibilidade aos antígenos ocorre de forma tardia e isso favorece a infiltração a nível de miocárdio (SALOMÃO, 2017).

Na fase crônica a parasitemia (presença do parasita na corrente sanguínea) é baixa e intervalada, uma vez que quando o indivíduo é infectado, o *Trypanosoma cruzi*, em sua forma amastigota, se liga a imunoglobulina G (IgG), ou seja, infiltram-se a linfomononucleares de maneira a atingir principalmente o miocárdio e os plexos mioentéricos (PORTO, 2017).

### **2.1.5 Manifestações clínicas**

Os sintomas da doença de Chagas geralmente começam uma a duas semanas depois que os protozoários entram no corpo, podendo surgir um edema avermelhado no local da picada. Se o protozoário entrar pelos tecidos ao redor do olho, a área ao redor do olho pode inchar (chamado sinal de Romana). Essas manifestações locais podem vir acompanhadas ou não de febre (OMS, 2022).

Outras manifestações clínicas da fase aguda incluem: mal-estar, cefaleia, astenia e hiporexia; edema (generalizado ou localizado em face ou membros inferiores), de consistência elástica ou mole, geralmente se apresentando após a segunda semana, não estando relacionado a sinais de porta de entrada; exantemas e chagomas hematógenos, acometendo pele e tecido celular subcutâneo, sem alteração da cor, não aderentes a planos profundos, comumente indolores e com tamanho variável; linfonodos com aumento no volume discreto a moderado; hepatomegalia e/ou esplenomegalia, pequena a moderada; miopericardite; encefalite; anemia, linfócitos com presença linfócitos atípicos, plasmocitose e neutropenia relativa e alterações eletrocardiográficas. No entanto, algumas pessoas não manifestam sintomas, ainda que os protozoários possam ser identificados em seu sangue (CONITEC, 2018).

Durante o segundo estágio da doença, as pessoas não manifestam sintomas da doença de Chagas e os resultados do eletrocardiograma (ECG) e dos exames de imagem do coração e do sistema digestivo são normais. Os protozoários, no entanto, estão presentes no corpo e às

vezes no sangue. Muitas pessoas permanecem neste estágio, sem nenhum sintoma, pelo resto da vida, o que dificulta o diagnóstico (PETRI; MARIE, 2023).

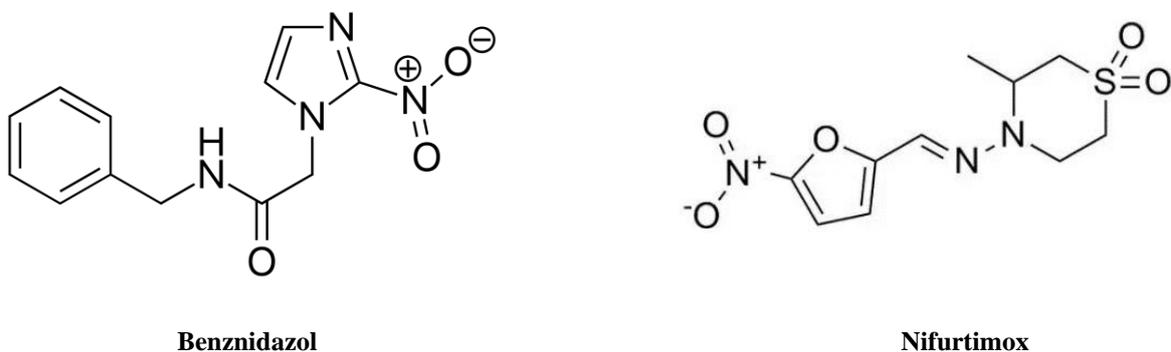
Na forma crônica da doença, os principais órgãos afetados são o coração e os órgãos que compõem o sistema digestivo. O coração pode ficar aumentado e debilitado, assim, as pessoas se cansam facilmente e sentem falta de ar. O sistema de condução elétrica do coração pode ser afetado, causando desmaios, arritmias cardíacas ou parada cardíaca súbita. Os músculos do trato digestivo (como os do esôfago) podem funcionar mal, causando dificuldade para engolir e/ou constipação grave. Se a deglutição for afetada, as pessoas podem inspirar (aspirar) alimentos, líquidos ou saliva, causando pneumonia, ou podem ficar gravemente subnutridas. O intestino grosso (cólon) pode aumentar de tamanho, podendo haver constipação grave (SBI, 2024).

O diagnóstico na fase aguda da doença aumenta significativamente as chances de recuperação total do paciente, com o tratamento adequado, evitando assim que este evolua para a fase crônica da doença (OPAS, 2019).

### 2.1.6 Tratamento

Atualmente, apenas dois medicamentos antiparasitários – benznidazol ou nifurtimox – são eficazes contra a doença de Chagas (**Figura 2**) (FIOCRUZ, 2017).

**Figura 2** - Fármacos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas



Fonte: Axios Research, 2023

O benznidazol é o medicamento de primeira escolha no tratamento da Doença de Chagas, especialmente na fase aguda e em crianças. Ele funciona interferindo no DNA do parasita, levando à sua destruição (DNDI, 2021). O nifurtimox é outra opção terapêutica para a

Doença de Chagas, especialmente para pacientes que apresentam intolerância ao benznidazol. Este é um pró-fármaco que é convertido em radicais tóxicos e espécies reativas de oxigênio que danificam o DNA por nitroredutases encontradas nas mitocôndrias de parasitas, mas estão ausentes ou presentes em níveis baixos em humanos (NCBI, 2020).

O único fármaco disponível no mercado brasileiro é o benznidazol, produzido e comercializado atualmente pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (Lafepe), cuja eficácia tem sido relatada na fase aguda da doença, porém o mesmo evento não ocorre com a fase crônica. As diferenças de eficácia deste medicamento na fase aguda e crônica ainda não estão totalmente claras, mas alguns pesquisadores sugerem que podem estar relacionadas às propriedades biofarmacêuticas desfavoráveis do fármaco. A baixa solubilidade em água dessa substância condiciona sua reduzida absorção gastrointestinal e a necessidade de administrar elevadas doses de fármaco para que as respostas terapêuticas desejáveis sejam atingidas (CUNHA-FILHO, 2012).

Além dessas limitações físicoquímicas deste medicamento, o próprio apresenta alta toxicidade e inúmeros efeitos colaterais graves que diminuem a adesão farmacoterapêutica do paciente, incluindo intolerância digestiva, hepatite, neuropatia periférica e erupção cutânea, que foram observados em 30-50% dos indivíduos tratados. O uso desses medicamentos é contra-indicado durante a gravidez e em pacientes com doença renal ou hepática avançada, e pode ser logística ou economicamente proibitivo para outras populações de pacientes porque muitas vezes é necessário um regime de tratamento prolongado de 60 a 90 dias (BONNEY, 2014).

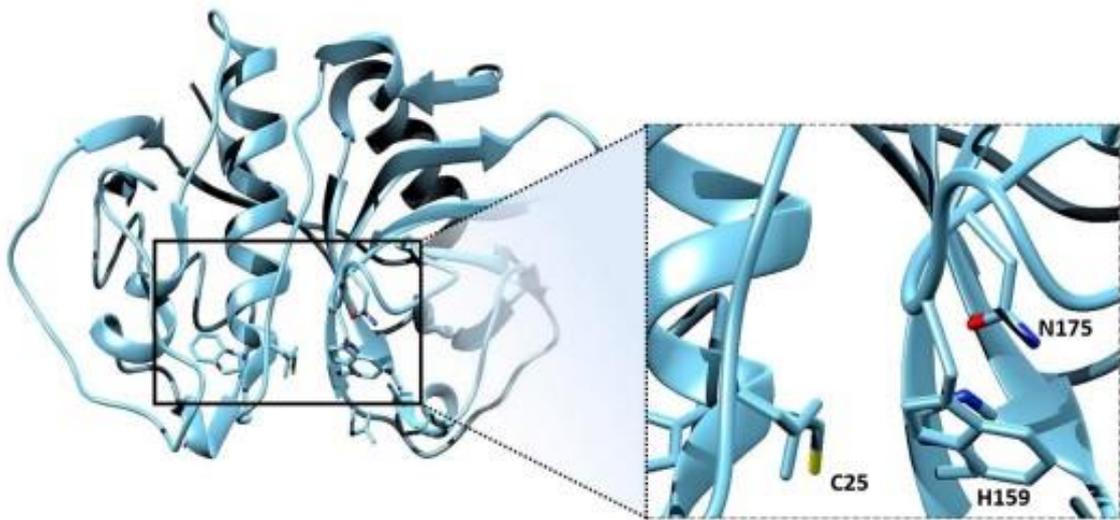
Em vista do exposto, a busca por novos fármacos mais efetivos e menos tóxicos para o tratamento da doença de Chagas é de fundamental importância e, nesse sentido, biomacromoléculas específicas dos parasitas ou com diferenças significativas das correspondentes nos humanos são fundamentais para obtenção de compostos seletivos (ETTARI, 2013).

## 2.2 INIBIDORES DA CRUZAÍNA

Pertencente à classe das proteases tipo catepsinas L, a cruzaína (**Figura 3**) é a principal cisteíno protease do *T. cruzi*, sendo expressa durante todo o ciclo de vida do parasito e envolvida na aquisição de nutrientes, degradação de proteínas do hospedeiro e evasão do sistema imune (CAFFREY *et al.*, 2001; MCKERROW *et al.*, 2009). Diversos estudos demonstraram que a

enzima é essencial para a sobrevivência do parasito e de grande importância nas etapas de infecção do hospedeiro, enquanto nos mamíferos estas enzimas são mais redundantes e desempenham papéis menos cruciais, pois estão presentes em concentrações muito superiores em comparação às enzimas correspondentes nos protozoários. Sendo assim, a cruzaina representa um alvo promissor a ser explorado no desenvolvimento de fármacos tripanocidas. (ANG *et al.*, 2011).

**Figura 3** - Estrutura tridimensional da Cruzaina



Observa-se a tríade catalítica formada pelos resíduos de Cys25, His159 e Asn175  
 Fonte: DIAZ, 2019

Diversas classes de inibidores são descritas na literatura, grande parte de natureza peptídica e possuindo uma porção eletrofílica em sua estrutura. Dentre as classes mais estudadas estão as peptidil-vinilssulfonas e as tiossemicarbazonas (**Figura 4**) (ROCHA *et al.*, 2018). Quanto à inibição, o modo de ligação desejável seria uma interação reversível, tempo independente e competitiva. Quanto à natureza química, inibidores não peptídicos seriam mais interessantes em razão da possível melhora na biodisponibilidade e fatores sintéticos (BRAK *et al.*, 2008).

**Figura 4** - Estrutura química das vinilssulfonas (a) e tiossemicarbazonas (b)

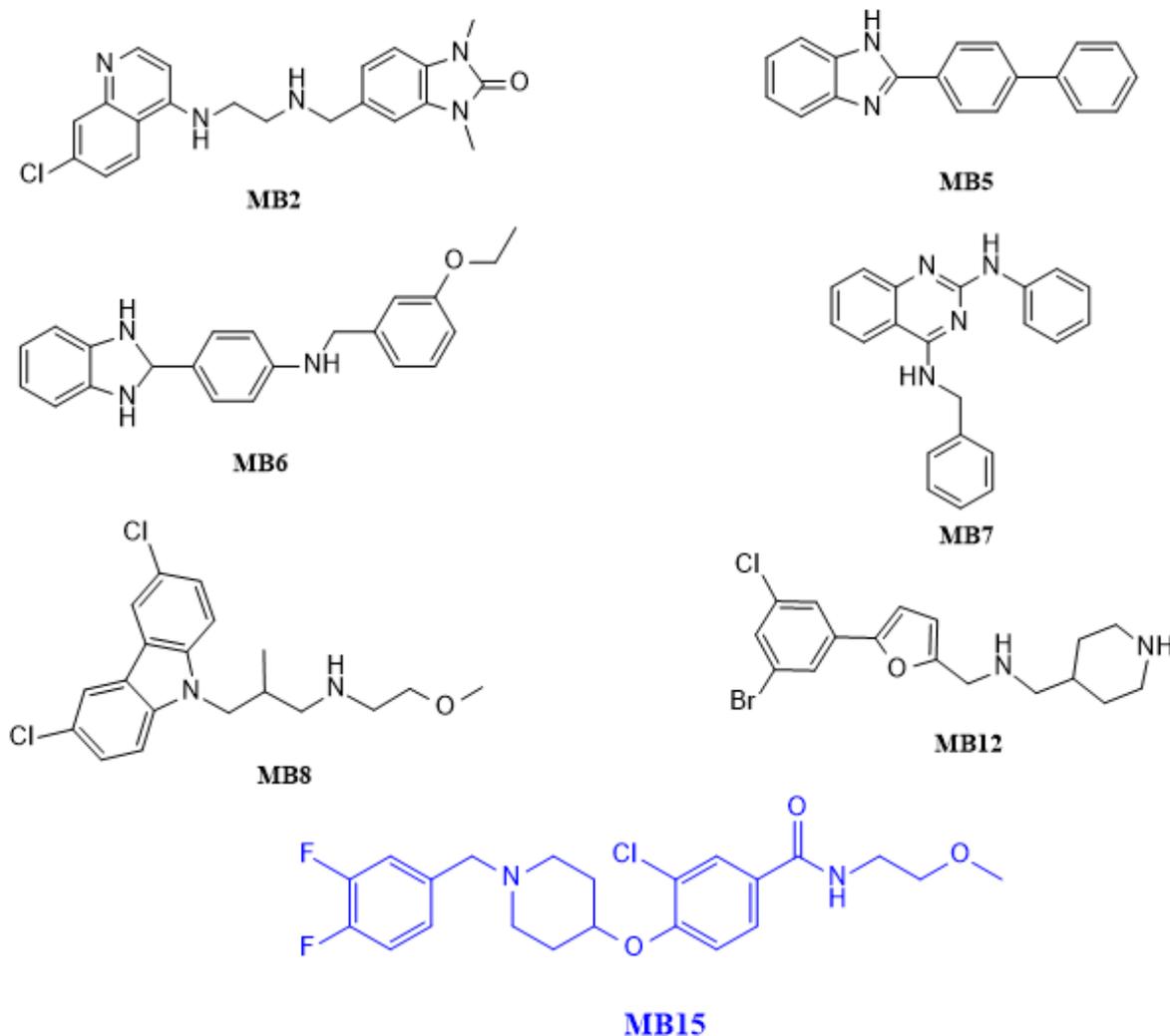
Fonte: BRAGA, 2016

### 2.2.1 MB15

Diversos inibidores de cruzaina foram descobertos na triagem de compostos do *Malaria Box*, uma quimioteca que reúne 400 compostos promissores com propriedades *drug-like* ou *probe-like* - um conceito qualitativo usado no projeto de medicamentos para avaliar o quão "semelhante ao medicamento" uma substância é em relação a fatores como a biodisponibilidade e que demonstraram atividade *in vitro* contra *Plasmodium falciparum* (PEREIRA, 2019; KAISER *et al.*, 2015). Destes, foram selecionados 15 compostos que apresentaram um modo de interação reversível e não covalente com as cisteína proteases, que têm menor probabilidade de afetar *off-target* - outros alvos, priorizando principalmente moléculas ativas contra ambas as proteases tripanossômicas. e que não apresentaram grande dependência temporal, disponibilidade comercial, semelhança com o medicamento, viabilidade sintética para obtenção de derivados e atividades previamente descritas *in vitro* ou *in vivo* contra *T. cruzi* e *T. brucei* (PEREIRA *et al.*, 2019).

Dos 15 compostos selecionados inicialmente, sete apresentaram inibição considerável das enzimas cruzaina e rodesaina (compostos MB2, MB5, MB6, MB7, MB8, MB12 e MB15 - **Figura 5**) e então foram selecionados para estudos posteriores, onde foi avaliado o modo de ligação entre os compostos e os alvos, a seletividade e a similaridade química com demais inibidores descritos na literatura (KAISER *et al.*, 2015).

**Figura 5** - Hits selecionados após primeira triagem inicial do conjunto MMV400



Fonte: autora própria

Nos estudos de similaridade estrutural entre os novos compostos e os inibidores de cruzaina já conhecidos, o composto 15 (MB15) se destacou por sua baixa similaridade química, indicando um padrão estrutural inovador. Ele possui grupos químicos passíveis de modificação, permitindo otimizar a estrutura e estabelecer uma relação estrutura-atividade para o padrão estrutural. Assim, o MB15 é um promissor ponto de partida na busca por inibidores de cruzaina com atividade tripanocida. Além disso, novo composto demonstrou potente atividade contra a enzima cruzaina, com  $CI_{50}$  de 5  $\mu M$ , além de eficácia *in vitro* contra diversas espécies de *Trypanosoma*, como *T. cruzi* (32  $\mu M$ ), *T. brucei* (32  $\mu M$ ) e *T. brucei rhodesiense* (16,1  $\mu M$ ). Adicionalmente, o MB15 apresentou uma  $CI_{50}$  de 9  $\mu M$  contra a rodesaina, uma enzima homóloga presente em *T. brucei*, causador da tripanossomíase humana africana (KAISER *et al.*, 2015)

Recentemente, em nosso grupo de pesquisa, uma biblioteca virtual de derivados do MB15 foi construída pensando-se na rota sintética de sua obtenção e variando os substituintes dos materiais de partida propostos disponíveis em nosso laboratório, obtendo-se assim 570 análogos. Em seguida, foi feita uma triagem com reagentes do catálogo *Sigma Aldrich*, e foram escolhidos aqueles cujo padrão de substituição apresentou maior afinidade pela cruzaína, de acordo com estudos de *docking* molecular (trabalho não publicado), para posterior síntese. Neste trabalho, o foco foi a síntese de fenol-amidas, para que estas fossem utilizadas nas reações de acoplamento com os derivados benzilpiperidinas, que estão sendo sintetizados em projeto paralelo (trabalho não publicado) para obtenção destes análogos promissores.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se neste trabalho de conclusão de curso a obtenção de intermediários chave na obtenção de estruturas análogas ao MB15, visando o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos tripanocidas, mais seletivos e menos tóxicos.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese das fenol-amidas a partir dos reagentes ácido 4-hidroxibenzoico e ácido 3-cloro-4-hidroxibenzoico e aminas variadas;
- Purificar as fenol-amidas para que sejam utilizadas nas reações de acoplamento;
- Acoplar as fenol-amidas obtidas a derivados 4-hidroxi-*N*-benzilpiperidinas mesilados, sintetizados em projeto paralelo;
- Caracterizar as substâncias obtidas por ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS PROPOSTAS

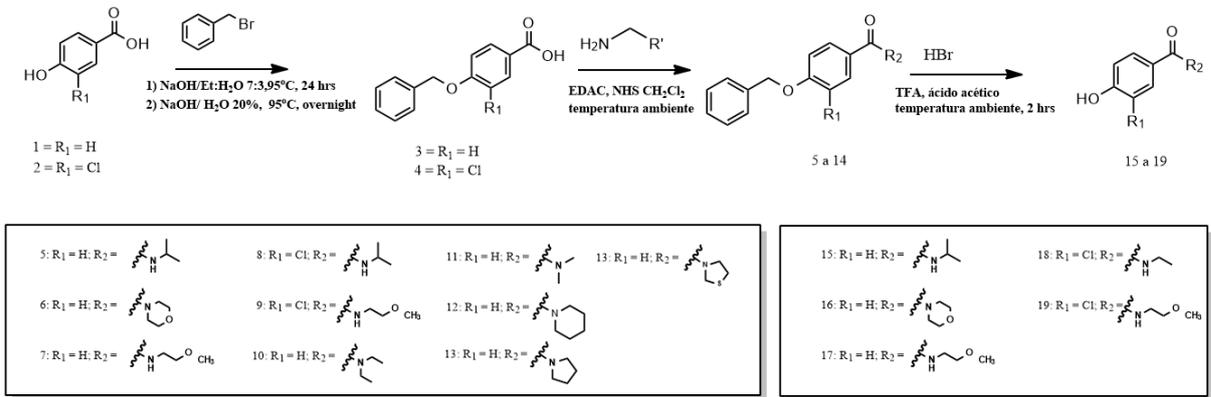
#### 4.1.1 Procedimentos gerais

Para as etapas de purificação por cromatografia em camada de sílica (CCS) utilizou-se sílica gel 60 70~230 Mesh e eluição por gradiente, utilizando hexano:acetato, (de 9:1 até 7:3). As análises cromatográficas em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 G Merck sobre lâmina de vidro, com uma camada de sílica de 0,25 mm de espessura. Como reveladores, utilizou-se vapores de iodo e Molibdato Cérico de Amônio (CAM).

As análises de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização de Moléculas da UFOP/MG, em espectrômetro Bruker AC-400 MHz. Os solventes deuterados utilizados foram clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e dimetilsulfóxido deuterado ( $\text{DMSO-d}_6$ ), contendo como padrão interno o tetrametilsilano (TMS) e os valores dos deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram descritos em ppm relativamente a ele. Os valores de constante de acoplamento ( $J$ ) são descritos em Hz e a multiplicidade dos sinais descritas como simpleto (s), duplete (d), duplete duplo (dd), tripleto (t), multiplete (m), simpleto largo (sl).

#### 4.1.2 Síntese das substâncias propostas

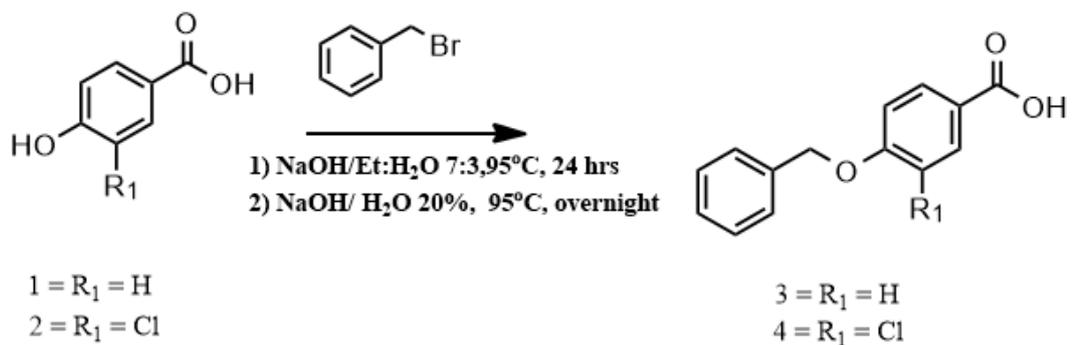
A síntese das fenol-amidas foi planejada conforme rota sintética apresentada na **Figura 6**, variando-se os substituintes em  $\text{R}_1$  e  $\text{R}_2$  nos reagentes de partida, obtidos de fontes comerciais e utilizados sem prévia purificação.

**Figura 6** - Rota sintética utilizada para a síntese das substâncias propostas

Fonte: autoria própria

As reações propostas foram realizadas no Laboratório de Química Medicinal e Bioensaios da UFOP-MG, as quais foram empregadas técnicas clássicas de química orgânica ou adaptações dessas nas etapas de síntese.

#### 4.1.2.1 Procedimento geral para a reação de proteção da hidroxila fenólica do ácido *p*-hidroxibenzóico e ácido-3-cloro-4-hidroxibenzoico.

**Figura 7** - Reação de proteção da hidroxila fenólica do ácido *p*-hidroxibenzóico e ácido-3-cloro-4-hidroxibenzoico

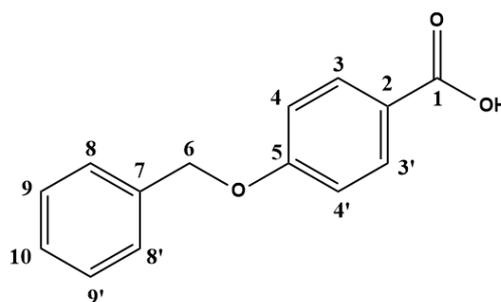
Fonte: autoria própria

Em um balão de fundo redondo adicionou-se dois equivalentes de hidróxido de potássio à solução de um equivalente de ácido 4-hidroxibenzóico ou ácido 4-hidroxi-3-clorobenzoico em uma mistura etanol-água 7:3. Após uma hora de reação foi acrescentado o brometo de benzila (5 equivalentes), mantendo a reação em agitação por aproximadamente 24 horas em

refluxo a 95°C. Na sequência, adicionou-se 3 mL de solução aquosa de KOH a 20% p/v e manteve-se a reação em agitação magnética e refluxo overnight à mesma temperatura. Observou-se o fim da reação por meio de CCD (eluente hexano/acetato 6:4). Então, o balão contendo o produto foi retirado do aquecimento e agitação, e posteriormente foi adicionado ao meio reacional 20 mL de água destilada gelada, seguido de 10 mL de HCl 1 M. O sólido branco precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada, seguido de hexano destilado. Os produtos foram obtidos puros com rendimento de 54% (3) e 65% (4).

#### 4.1.2.1.1 Obtenção do ácido 4-(benziloxi)benzóico (3)

**Figura 8** - Ácido 4-(benziloxi)benzóico



(3)

Fonte: autoria própria

**Massa obtida:** Partindo-se de 200 mg (1,44 mmol) de ácido 4-hidroxibenzoico, obteve-se 220 mg do ácido 4-(benziloxi)benzóico puro (0,964 mmol, 54% de rendimento, sólido branco)

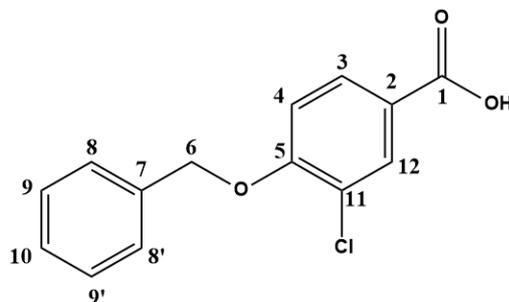
**F.M.:** C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>      **M.M.:** 228,247 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,89 (d; 2H; H-3 e 3', <sup>3</sup>J= 8,4 Hz); 7,47-7,32 (m; 5H; H-8 e 8', H-9 e 9' e H-10); 7,09 (d; 2H; H-4 e 4', <sup>3</sup>J= 8,4 Hz); 5,17 (s; 2H; H-6).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 167,2 (C-1), 161,8 (C-5), 136,6 (C-7), 131,4 (C-3 e C-3'), 128,5 (C-9 e C-9'), 128,1 (C-10), 127,9 (C-8 e C-8'), 123,9 (C-2), 114,6 (C-4 e C-4'), 69,5 (C-6).

#### 4.1.2.1.2 Obtenção do ácido 4-(benziloxi)-3-clorobenzoico (4)

**Figura 9** - Ácido 4-(benziloxi)-3-clorobenzoico



(4)

Fonte: autoria própria

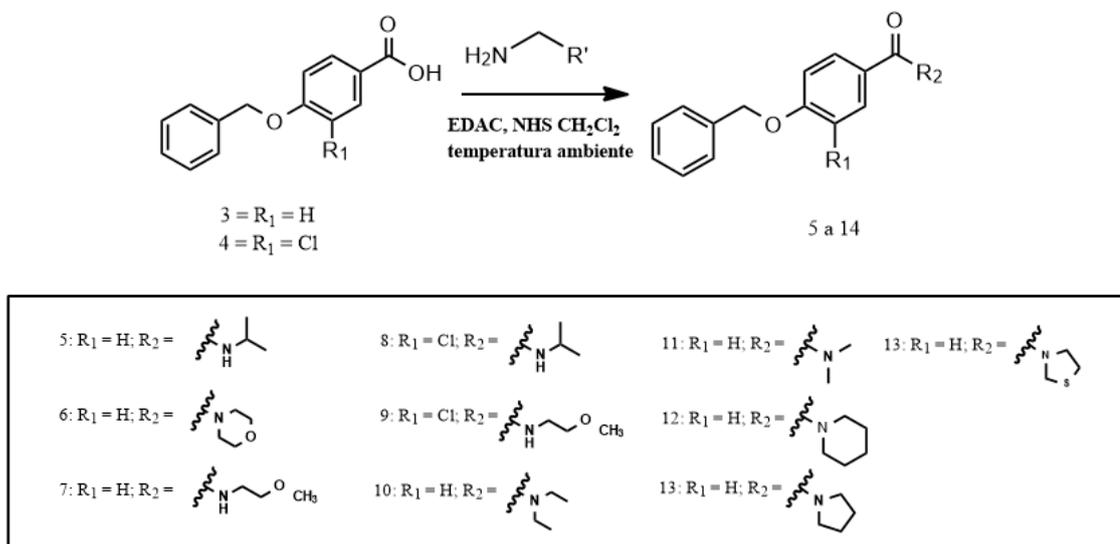
**Massa obtida:** Partindo-se de 100 mg (0,724 mmol) de ácido *p*-hidroxibenzoico, obteve-se 124 mg (0,47 mmol, 65% de rendimento, sólido branco).

**F.M.:** C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>ClO<sub>3</sub>    **M.M.:** 262,68 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; DMSOd<sub>6</sub>; 400 MHz):** 7,93 (d; 1H; H-12, <sup>4</sup>J = 2,3 Hz); 7,88 (dd; 1H; H-3; <sup>3</sup>J = 8,6 Hz e <sup>4</sup>J = 2,3 Hz); 7,49-7,33 (m; 6H; H-4, H-8 e 8', H-9 e 9', H-10); 5,30 (s; 2H; H-6);

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; DMSOd<sub>6</sub>; 100 MHz):** 166,4 (C-1); 157,5 (C-5); 136,5 (C-7); 131,3 (C-12); 130,4 (C-3); 129,0 (C-9 e 9' ou C-8 e 8'); 128,6 (C-10); 128,1 (C-8 e 8' ou C-9 e 9'); 124,6 (C-2); 122,0 (C-11); 114,3 (C-4); 70,8 (C-6).

## 4.1.2.2 Procedimento geral para a obtenção das amidas protegidas.

**Figura 10** – Condições reacionais para obtenção das amidas protegidas

Fonte: autoria própria

Em um balão de fundo redondo foi adicionado à solução de diclorometano contendo 1 equivalente dos ácidos protegidos anteriormente, 1 ou 2, 1,6 equivalente de *EDAC* e 1,6 equivalente de *NHS*. A reação foi mantida sob agitação magnética em temperatura ambiente (~25°C) por 4 horas, para formação do intermediário reativo, o éster ativado. Uma vez formado o produto intermediário, observado pela análise de CCD, com eluição em hexano:acetato (7:3), a mistura reacional foi transferida para um funil de separação e lavada com água destilada 3 vezes. A fase orgânica foi recolhida, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o solvente foi removido no rotavapor. Foi obtido um sólido marrom, que foi utilizado na segunda etapa da reação sem prévia purificação. Para isso, o éster ativado foi solubilizado em 5 mL de diclorometano em um balão de fundo redondo e foi adicionado a estes 2-5 equivalentes de amina correspondente, também solubilizada em 5 mL de diclorometano. A reação foi mantida a temperatura ambiente e com sistema de agitação magnética. Após permanecer *overnight*, observou-se o consumo do material de partida através da CCD com eluição em cuba de hexano/acetato (7:3). Em seguida, o meio reacional foi transferido para um funil de separação e lavado com solução aquosa de HCl 1 M, seguida de solução aquosa de KOH 20% e por fim com água destilada. Recolheu-se a fase orgânica, que foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e o solvente foi removido no rotavapor para obtenção das amidas.

As quantidades de reagentes utilizados e massas dos produtos obtidos, assim como os rendimentos das reações, estão descritos na **Tabela 1**.

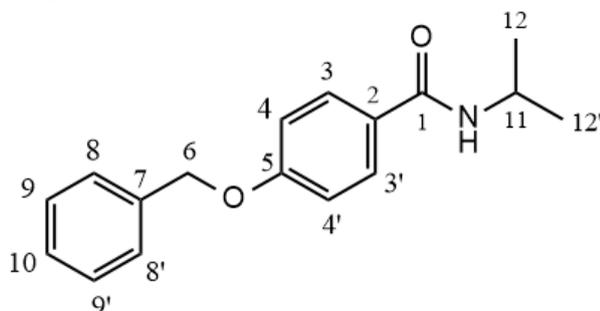
**Tabela 1** - Massas dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese das amidas protegidas

<b>Ácido protegido</b>	<b>Aminas</b>	<b>Massa do produto obtido</b>	<b>Rendimento</b>
<b>3:</b> 175 mg (0,76 mmol) <b>4:</b> 50 mg (0,19 mmol)	<b>Isopropilamina</b> 2 eq (1,53 mmol) 5 eq (0,95 mmol)	<b>5:</b> 70 mg (0,26 mmol) <b>8:</b> 37 mg (0,121 mmol)	<b>5:</b> 16% <b>8:</b> 65%
<b>3:</b> 90 mg (0,39 mmol)	<b>Morfolina</b> 5 eq (1,95 mmol)	<b>6:</b> 52 mg (0,174 mmol)	44%
<b>3:</b> 50 mg (0,22 mmol) <b>4:</b> 90 mg (0,34 mmol)	<b>2-metoxietilamina</b> 5 eq (1,1 mmol) 5 eq (1,7 mmol)	<b>7:</b> 37 mg (0,129 mmol) <b>9:</b> 20 mg (0,07 mmol)	<b>7:</b> 59% <b>9:</b> 18%
<b>3:</b> 100 mg (0,44 mmol)	<b>Dietilamina:</b> 5 eq (2,2 mmol)	<b>10:</b> 76 mg (0,268 mmol)	33,8%
<b>3:</b> 100 mg (0,44 mmol)	<b>Piperidina:</b> 5 eq (2,2 mmol)	<b>11:</b> 56 mg (0,189 mmol)	43%
<b>3:</b> 85 mg (0,37 mmol)	<b>Dimetilamina:</b> 5 eq (1,86 mmol)	<b>12:</b> 23 mg (0,09 mmol)	40%
<b>3:</b> 100 mg (0,44 mmol)	<b>Pirrolidina:</b> 5 eq (2,2 mmol)	<b>13:</b> 40 mg (0,142 mmol)	9%
<b>3:</b> 100 mg (0,44 mmol)	<b>Tiazolidina:</b> 5 eq (2,2 mmol)	<b>14:</b> 65 mg (0,217 mmol)	50%

Fonte: autoria própria

#### 4.1.2.2.1 Obtenção da 4-(benziloxi)-*N*-isopropilbenzamida (5)

Figura 11 - 4-(benziloxi)-*N*-isopropilbenzamida



(5)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 175 mg (0,767 mmol) de ácido 3 e 2 equivalentes de isopropilamina (1,534 mmol) obteve-se 70 mg de um sólido branco. A reação foi repetida várias vezes e acumulou-se 150 mg da amida para então purificá-la por cromatografia em coluna de sílica, com eluição por gradiente, obtendo-se 72 mg do produto puro (rendimento médio de 16%).

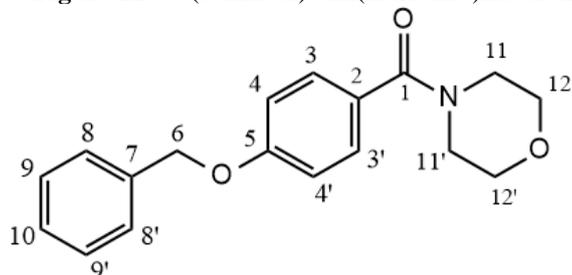
**F.M.:** CH<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>    **M.M.:** 269,344 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,71 (d; 2H; H-3 e H-3', <sup>3</sup>J = 8,7 Hz); 7,43-7,31 (m; 5H; H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 6,98 (d; 2H; H-4 e H-4', <sup>3</sup>J = 8,7 Hz); 5,10 (s; 2H; H-6); 4,31-4,23 (m; 1H; H-11); 1,24 (d; 6H; H-12 e H-12', <sup>3</sup>J = 6,5 Hz)

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 166,2 (C-1); 161,2 (C-5); 136,4 (C-7); 128,7 (C-3 e C-3' ou C-8 e C-8'); 128,6 (C-8 e C-8' ou C-3 e C-3'); 128,2 (C-10); 127,5 (C-9 e C-9'); 114,6 (C-4 e C-4'); 70,1 (C-6); 41,8 (C-11); 22,9 (C-12 e 12').

#### 4.1.2.2.2 Obtenção da 4-(benziloxi)fenil(morfolino)metanona (6).

Figura 12 - 4-(benziloxi)fenil(morfolino)metanona



(6)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 90 mg (0,390 mmol) do ácido 3 e 5 equivalentes de morfolina (1,95 mmol), obteve-se 52 mg de um óleo marrom (rendimento de 44%) impuro. Esta reação foi repetida a fim de se acumular o produto para então ser purificado por cromatografia em coluna de sílica em eluição por gradiente, porém não foi suficiente para isolar o produto puro.

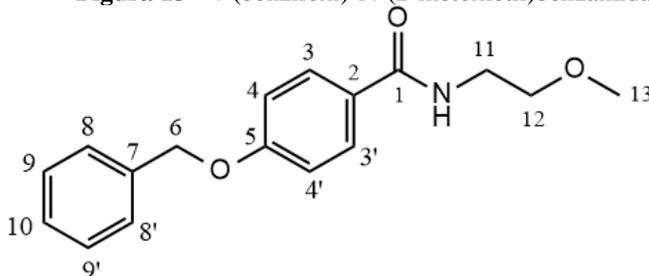
**F.M.:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>    **M.M.:** 297,354 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,36-7,26 (m; 7H; H-3 e H-3', H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 6,92 (d; 2H; H-4 e 4', <sup>3</sup>J = 8,5 Hz); 5,02 (s; 2H; H-6); 3,63-3,57 (m; 8H; H-11 e 11', H-12 e 12').

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 169,4 (C-1); 159,1 (C-5); 135,4 (C-3 e C-3'); 131,1 (C-7), 128,2 (C-9 e C-9'), 127,6 (C-10), 127,1 (C-2); 126,4 (C-8 e C-8'); 113,7 (C-4 e C-4'); 69,0 (C-6); 65,8 (C-11 e C-11'); 42,6 (C-11 e 11').

#### 4.1.2.2.3 Obtenção da 4-(benziloxi)-N-(2-metoxietil)benzamida (7).

Figura 13 - 4-(benziloxi)-N-(2-metoxietil)benzamida



(7)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 50 mg (0,22 mmol) de ácido 3 e 5 equivalentes de 2-metoxietilamina (1,1 mmol), obteve-se 37 mg de um sólido amarelo puro (rendimento de 59%).

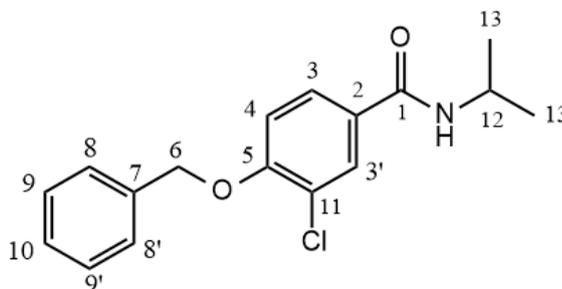
**F.M.:** C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>    **M.M.:** 285,3430 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,75 (dd; 2H; H-3 e H-3', <sup>3</sup>J = 8,9 Hz e <sup>4</sup>J = 2,0 Hz); 7,44 7,32 (m; 5H; H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 6,99 (dd; 2H; H-4 e H-4', <sup>3</sup>J = 8,9 e <sup>4</sup>J = 2,0); 5,11 (s; 2H; H-6); 3,66-3,61 (m; 2H; H-12); 3,57-3,55 (m; 2H; H-11); 3,38 (s; 3H; H-13).

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 167,0 (C-1); 161,3 (C-5); 136,3 (C-2); 128,8 (C-7); 128,7 (C-3 e C-3'); 128,2 (C-9 e C-9'); 127,5 (C-10); 126,9 (C-8 e C-8'); 114,6 (C-4 e C-4'); 71,3 (C-12); 70,1 (C-6); 50,8 (C-13); 38,8 (C-11).

#### 4.1.2.2.4 Obtenção da 4-(benziloxi)-3-cloro-N-isopropilbenzamida (8).

**Figura 14** - 4-(benziloxi)-3-cloro-N-isopropilbenzamida



(8)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Para esta reação, foi lançado 50 mg do ácido 4 (0,19 mmol) e 5 equivalentes de isopropilamina (0,95 mmol), seguindo o procedimento geral, e obteve-se 37 mg de um sólido branco puro (rendimento de 65%).

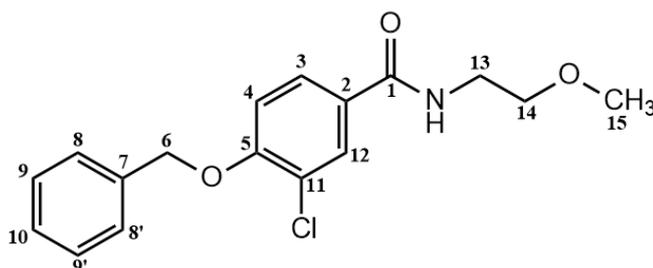
**F.M.:** C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>2</sub>    **M.M.:** 303,786 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 8,21 (d; 1H; NH, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz); 7,96 (d; 1H; H-11, <sup>4</sup>J = 2,2 Hz); 7,82 (dd; 1H; H-3, <sup>3</sup>J = 8,7 Hz; <sup>4</sup>J = 2,2 Hz); 7,49-7,35 (m; 5H; H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 7,31 (d; 1H e H-4, <sup>3</sup>J = 8,7 Hz); 5,28 (s; 2H, H-6); 4,11- 4,03 (m; 1H, H-12); 1,15 (d; 6H, H-13 e 13', <sup>3</sup>J = 6,6 Hz).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz):** 164,0 (C-1), 156,0 (C-5), 136,7 (C-7), 129,3 (C-8 e C-8'), 129,0 (C-10); 128,5 (C-11 ou C-3), 128,2 (C-3 ou C-11), 128,0 (C-9 e C-9'); 121,6 (C-2), 114,0 (C-4); 70,6 (C-6); 41,5 (C-12); 22,8 (C-13 e C-13').

#### 4.1.2.2.5 Obtenção da 4-(benziloxi)-3-cloro-N-(2-metoxietil)benzamida (9)

**Figura 15** - 4-(benziloxi)-3-cloro-N-(2-metoxietil)benzamida (9)



(9)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 50 mg (0,19 mmol) de ácido 4 e 5 equivalentes de 2-metoxietilamina (0,95 mmol), obteve-se 12 mg de um sólido cristalino branco puro (rendimento de 16%).

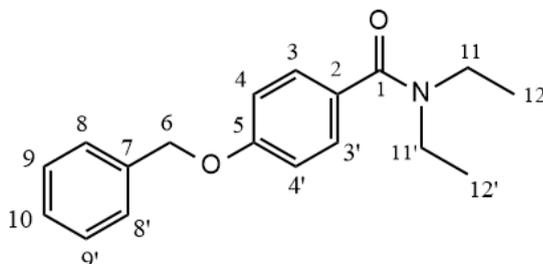
**F.M.:**  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClNO}_3$  **M.M.:** 262,689 g/mol

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz):** 7,84 (d; 1H; H-12,  $^4J = 2,2$  Hz); 7,64 (dd; 1H; H-3,  $^3J = 8,6$  Hz;  $^4J = 2,2$  Hz); 7,44-7,33 (m; 5H; H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 6,98 (d; 1H, H-4,  $^3J = 8,6$  Hz); 5,21 (s; 2H, H-6); 3,65-3,61(m; 2H, H-14); 3,56-3,54 (m; 2H, H-13); 3,39 (s; 3H, H-15)

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz):** 165,8 (C-1), 156,5 (C-5), 135,8 (C-7), 129,2 (C-8 e C-8'), 128,7 (C-10); 128,2 (C-11), 127,7 (C-3), 126,8 (C-9 e 9'); 123,2 (C-2), 113,1 (C-4); 71,1 (C-13); 70,7 (C-6); 58,8 (C-14); 39,7 (C-12).

#### 4.1.2.2.6 Obtenção da 4-(benziloxi)-N,N-dietilbenzamida (10)

**Figura 16** - 4-(benziloxi)-N,N-dietilbenzamida



(10)

Fonte: autoria própria

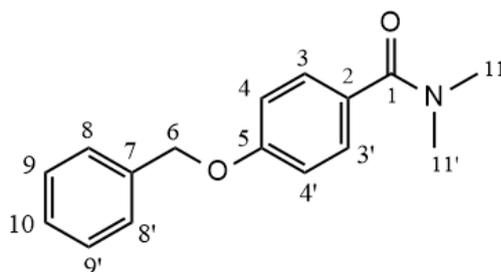
**Procedimento:** Utilizando 100 mg (0,44 mmol) de ácido 3 e 5 equivalentes de dietilamina (2,2 mmol), obteve-se 76 mg de um sólido marrom impuro. Posteriormente, essa reação foi repetida até acumular 177 mg do bruto, cuja purificação foi feita através de uma CCS, com eluição por gradiente, em hexano:acetato. Ao fim da coluna, foi coletado 60 mg do produto (rendimento médio de 33,8%).

**F.M.:** C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>    **M.M.:** 283,36 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,42-7,34 (m; 7H; H-3 e H-3', H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 6,97 (dd; 2H; H-4 e H-4', <sup>3</sup>J = 8,9 Hz e <sup>4</sup>J = 2,1 Hz); 5,09 (s; 2H; H-6); 3,08 (sl; 3H; H-11 e H-11'); 3,03 (sl; 3H; H-11').

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 171,2 (C-1), 159,5 (C-5), 136,6 (C-7); 129,7 (C-2); 128,7 (C-3 e C-3' ou C-8 e C-8'), 128,2 (C-8 e C-8' ou C-3 e C-3'), 128,1 (C-10), 127,5 (C-9 e C-9'); 114,6 (C-4 e C-4'); 70,0 (C-6); 43,4 (C-11 e C-11'); 39,5 (C-12 e C-12').

## 4.1.2.2.7 Obtenção da 4-(benziloxi)-N-dimetilbenzamida (12)

**Figura 17** - 4-(benziloxi)-N-dimetilbenzamida

(11)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 50 mg (0,22 mmol) de ácido 3 e 5 equivalentes de dimetilamina (1,1 mmol), obteve-se 33 mg de um óleo marrom escuro impuro. Posteriormente, essa reação foi repetida até acumular 80 mg do bruto, cuja purificação foi feita através de uma CCS, com eluição por gradiente, em hexano:acetato (idem). Ao fim da coluna, foi coletado 54 mg do produto (rendimento médio de 40%).

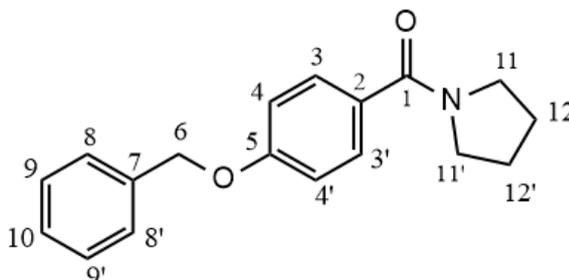
**F.M.:** C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>    **M.M.:** 255,31 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,42-7,34 (m; 7H; H-3 e H-3', H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 6,97 (dd; 2H; H-4 e H-4', <sup>3</sup>J = 8,9 Hz e <sup>4</sup>J = 2,1 Hz); 5,09 (s; 2H; H-6); 3,08 (sl; 3H; H-11 e H-11'); 3,03 (sl; 3H; H-11').

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 171,5 (C-1); 159,8 (C-5), 136,6 (C-7); 129,7 (C-3 e C-3'); 128,7 (C-8 e C-8'); 128,6 (C-2); 128,1 (C-10); 127,5 (C-9 e C-9'); 114,1 (C-4 e C-4'); 70,0 (C-6); 31,0 (C-11 e C-11').

#### 4.1.2.2.8 Obtenção da 4-(benziloxi)-N-fenilpirrolidina-metanona (13)

Figura 18 - 4-(benziloxi)-N-fenilpirrolidina-metanona



(12)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 100 mg (0,44 mmol) de ácido 3 e 5 equivalentes de pirrolidina (2,2 mmol), obteve-se 40 mg de um sólido marrom claro impuro. Posteriormente, essa reação foi repetida até acumular 50 mg do bruto, cuja purificação foi feita através de uma CCS, com eluição por gradiente, em hexano:acetato. Ao fim da coluna, foi coletado 15 mg do produto (rendimento médio de 9%).

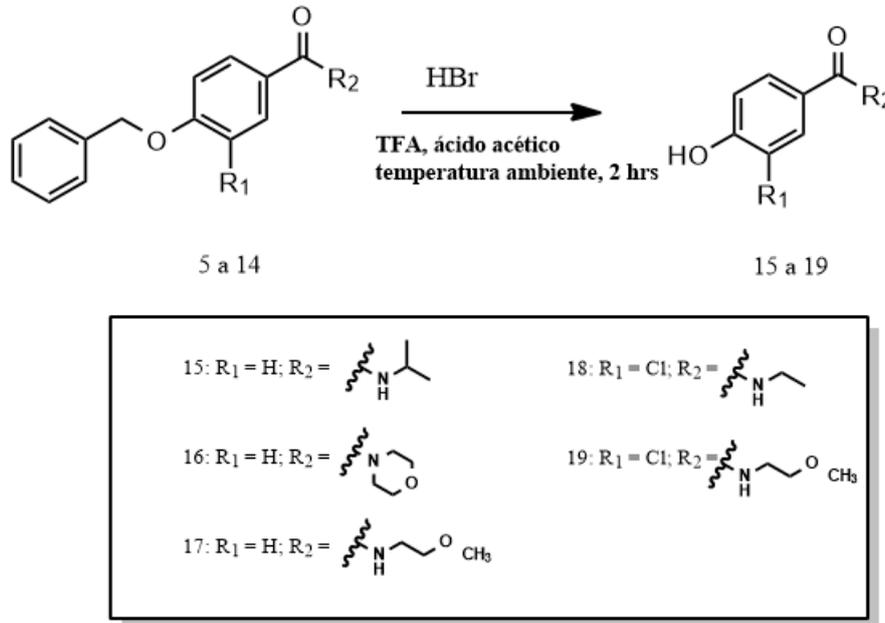
**F.M.:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>    **M.M.:** 281,35 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,51 (dd; 2H; H-3 e H-3', <sup>3</sup>J = 8,0 Hz e <sup>4</sup>J = 2,0 Hz); 7,44-7,26 (m; 5H; H-8 e H-8', H-9 e H-9' e H-10); 6,97 (dd; 2H; H-4 e H-4', <sup>3</sup>J = 8,0 Hz e <sup>4</sup>J = 2,0 Hz); 5,09 (s; 2H; H-6); 3,63 (t; 2H; H-11 ou H-11'; <sup>3</sup>J = 7,0 Hz); 3,48 (t; 2H; H-11' ou H-11; <sup>3</sup>J = 7,0 Hz); 1,97-1,85 (m; 4H; H-12 e 12').

**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 169,4 (C-1); 160 (C-5); 136,6 (C-7); 129,6 (C-2) 129,2 (C-3 e C-3'); 128,7 (C-8 e C-8'); 128,1 (C-10); 127,5 (C-9 e C-9'); 114,1 (C-4 e C-4'); 70,0 (C-6); 49,8 (C-11); 46,4 (C-11'); 26,5 (C-12); 24,4 (C-12').

#### 4.1.2.3 Procedimento geral para desproteção da hidroxila fenólica das amidas

**Figura 19** – Condições reacionais para desproteção da hidroxila fenólica das amidas



Fonte: autoria própria

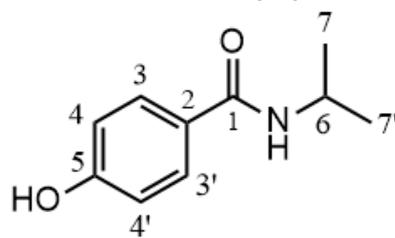
Em um balão de fundo redondo em banho de gelo, a amida protegida de partida foi solubilizada em 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA) e em seguida adicionada uma solução de 5 equivalentes de HBr 48% diluído para aproximadamente 0,5-1 mL de ácido acético glacial. A reação foi mantida sob agitação magnética sem aquecimento por aproximadamente 2 horas. Após a análise de CCD (eluente 6:4 hexano/acetato de etila), utilizando iodo e CAM como reveladores, foi possível observar o fim da reação pelo consumo do material de partida. Em seguida, adicionou-se 10 mL de acetato de etila e transferiu a mistura reacional para um funil de separação. Lavou-se 5 vezes com água destilada, recolheu-se a fase orgânica e extraiu-se uma vez com solução de KOH 20% p/v (pH próximo de 10) e água destilada novamente. Recolheu-se a fase aquosa, acidificando-a com aproximadamente 10 mL de HCl 1 M para então realizar mais uma extração utilizando 10 mL de acetato de etila. Recolheu-se a fase orgânica, secou-se com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o solvente foi removido no rotavapor para fornecer as amidas desprotegidas.

**Tabela 2** - Quantitativo dos materiais de partida, produtos e rendimentos obtidos nas reações de síntese das fenol-amidas

Amidas protegidas	HBr 48% p/v	Ácido acético glacial	Massa do produto obtido	Rendimento
<b>5</b> 30 mg (0,1114 mmol)	77 uL (0,464 mmol)	923 µL (16,17 mmol)	<b>15:</b> 16 mg (0,09 mmol)	81,25%
<b>6</b> 20mg (0,084 mmol)	70 uL (0,420 mmol)	630 µL (11,03 mmol)	<b>16:</b> 14 mg (0,067mmol)	82%
<b>7</b> 35 mg (0,140 mmol)	116 uL (0,700 mmol)	582 µL (10,01 mmol)	<b>17:</b> 20 mg (0,128mmol)	91%
<b>8</b> 50 mg (0,164 mmol)	136 uL (0,823 mmol)	560 µL (9,631mmol)	<b>18:</b> 40 mg (0,187mmol)	114%*
<b>9</b> 40 mg (0,156 mmol)	130 uL (0,782 mmol)	570 µL (9,80 mmol)	<b>19:</b> 25 mg (0,087mmol)	73%

\*Produto obtido impuro de acordo com espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$   
 Fonte: autoria própria

#### 4.1.2.3.1 Obtenção da 4-hidroxi-N-isopropil-benzamida. (15)

**Figura 20** - 4-hidroxi-N-isopropil-benzamida

(15)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 30 mg (0,11 mmol) da amida 1a e 5 equivalentes do ácido bromídrico (0,464 mmol), obteve-se 16 mg do produto na forma de um sólido bege puro (rendimento de 81%).

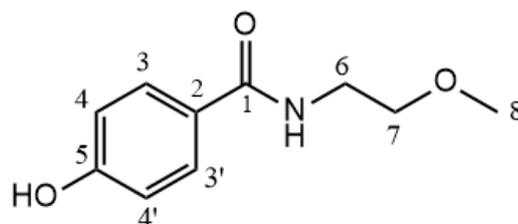
**F.M.:**  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}_2$     **M.M.:** 179,22 g/mol

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz):** 10,01 (s; 1H; OH); 7,95 (d; 1H; NH); 7,71; (d; 2H; H-3 e H-3',  $^3J = 8,9$  Hz); 6,78 (d; 2H; H-4 e H-4',  $^3J = 8,9$  Hz); 4,10-4,02 (m; 1H; H-6); 3,14 (d; 6H; H-7 e H-7').

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz):** 165,5 (C-1), 160,4 (C-5); 129,6 (C-3 e C-3'); 125,9 (C-2); 115,1 (C-4 e C-4'); 41,2 (C-6); 22,9 (C-7 e 7').

#### 4.1.2.3.2 Obtenção da 4-hidroxi-N-(2-hidroxiethyl)benzamida (17)

**Figura 21** - 4-hidroxi-N-(2-hidroxiethyl)benzamida



(17)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 35 mg (0,14 mmol) da amida 1c e 5 equivalentes de HBr (0,7 mmol), obteve-se 20 mg de um óleo preto puro (rendimento de 90%).

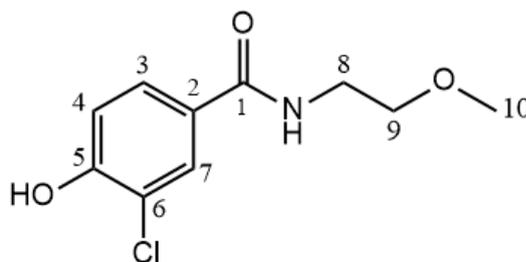
**F.M.:**  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$       **M.M.:** 181,19 g/mol

**RMN de  $^1\text{H}$  ( $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz):** 10,06 (s; 1H; H-10); 8,28 (t; 1H; NH); 7,71 (dd; 2H; H-3 e 3',  $^3J = 8,9$  e  $^4J = 2,1$ ); 6,78 (dd; 2H; H-4 e 4'); 3,25 (s; 3H; H-8).

**RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ ;  $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz):** 166,4 (C-1); 160,5 (C-5); 129,5 (C-3 e C-3'); 125,5 (C-2); 115,2 (C-4 e C-4'); 71,1 (C-6 e C-7); 58,4 (C-8);

#### 4.1.2.3.3 Obtenção da 3-cloro-4-hidroxi-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (19)

**Figura 22** - 3-cloro-4-hidroxi-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida



(19)

Fonte: autoria própria

**Procedimento:** Utilizando 40 mg (0,156 mmol) da amida 2b e 5 equivalentes de HBr 38% p/v (0,782 mmol), obteve-se 25 mg do produto na forma de um cristal bege claro puro (rendimento de 73%)

**F.M.:** C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClNO<sub>3</sub> **M.M.:** 229,63 g/mol

**RMN de <sup>1</sup>H (δ; CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz):** 7,83 (d; 1H; H-6, <sup>4</sup>J= 2,1 Hz); 7,60 (dd; 1H; H-3, <sup>3</sup>J= 8,9 e <sup>4</sup>J= 2,1 Hz); 7,05 (d; 1H; H-4; <sup>3</sup>J= 8,5); 3,65-3,62 (m; 2H; H-7); 3,57-3,55 (t; 2H; H-8, <sup>3</sup>J= 5 Hz); 3,40 (s; 3H; H-9).

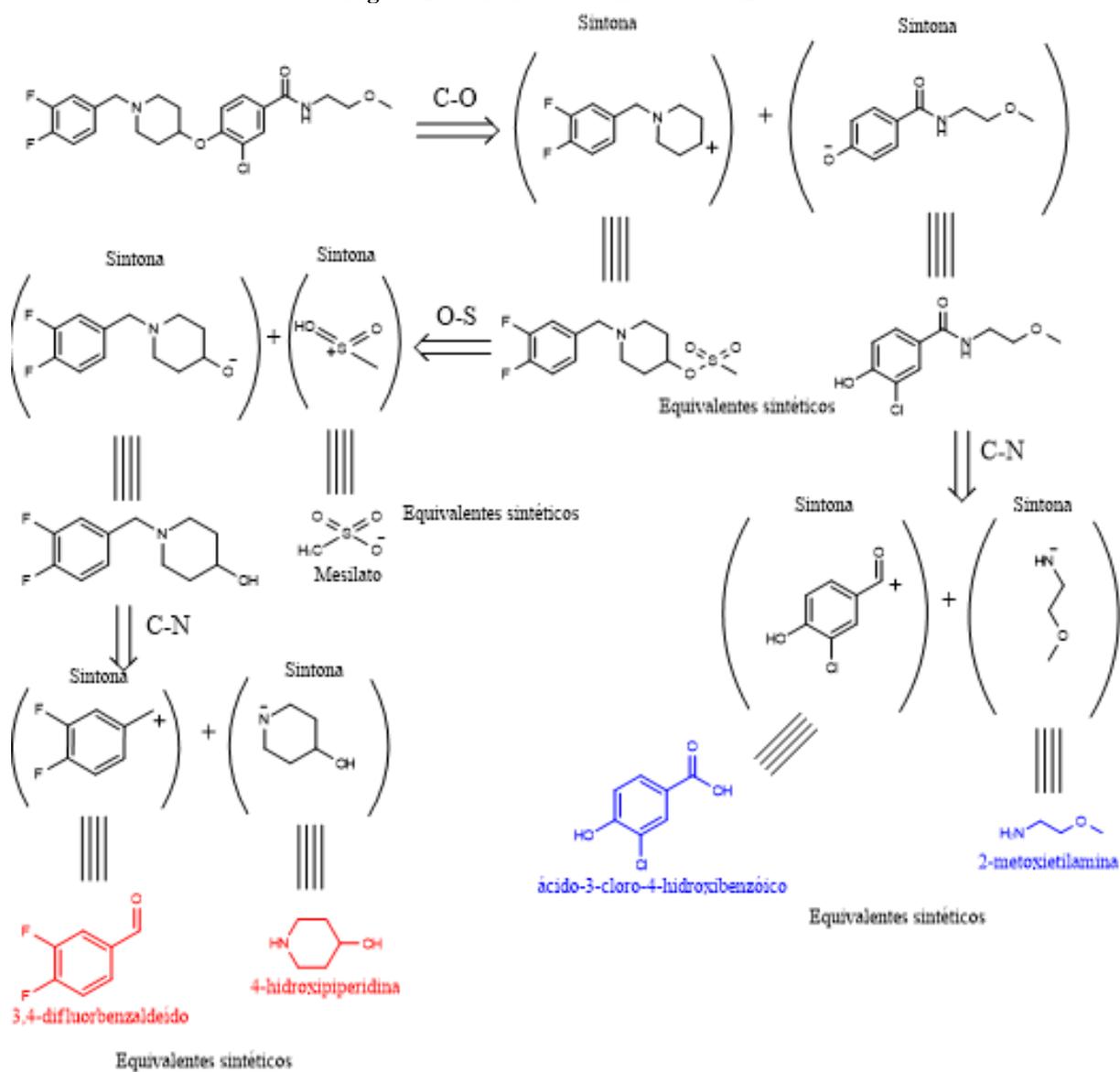
**RMN de <sup>13</sup>C (δ; CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz):** 165,9 (C-1), 154,2 (C-5); 128,6 (C-3 e 3'); 120,2 (C-2); 116,1 (C-4 e 4'); 71,2 (C-8); 58,4 (C-9); 39,8 (C-7).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PLANEJAMENTO SINTÉTICO DOS COMPOSTOS ANÁLOGOS AO MB15

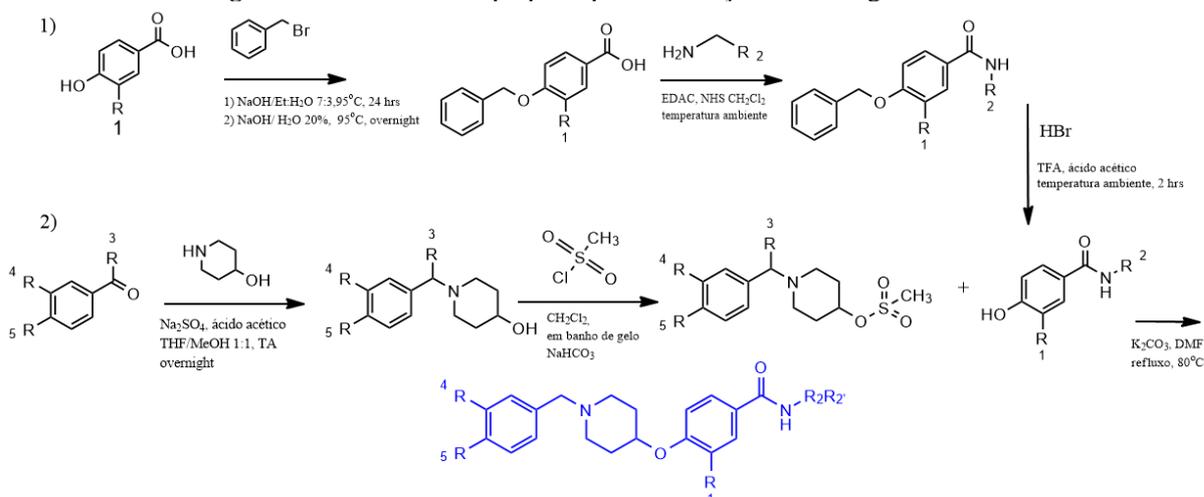
O MB15, cuja atividade potente frente à enzima cruzaina foi descoberta em uma triagem dos compostos da quimioteca do *Malaria Box*, possui baixa similaridade estrutural frente a outros inibidores de cruzaina existentes (PEREIRA, 2019). Assim, nosso grupo de pesquisa criou duas bibliotecas virtuais de derivados do MB15 e realizou a triagem virtual por meio de docking com a enzima cruzaina: uma construída a partir dos reagentes de partida já existentes no laboratório para obtenção sintética desses derivados e outra utilizando o catálogo de reagentes do fornecedor *SigmaAldrich* (trabalho não publicado). A análise retrossintética utilizada para levantamento dos materiais de partida necessários para obtenção desses derivados está ilustrada na **Figura 23** e essas bibliotecas foram construídas por variações desses materiais de partida.

**Figura 23** - Análise retrossintética do MB15.



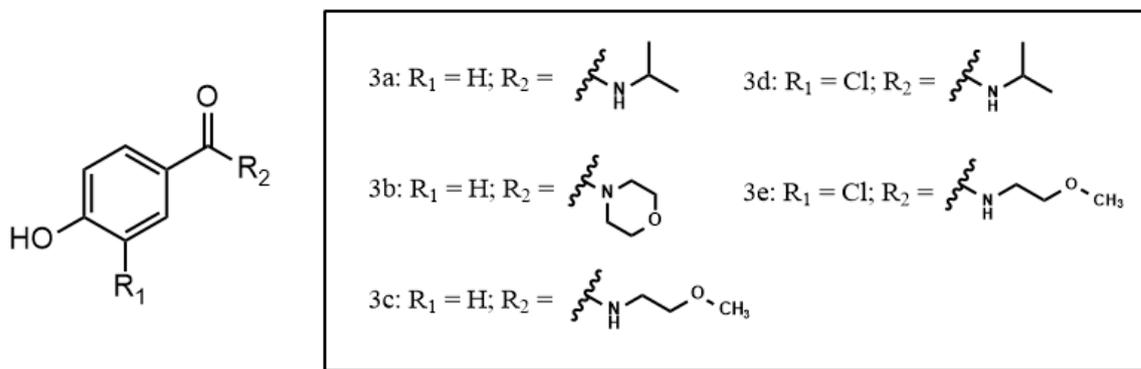
Em destaque, os materiais de partida para obtenção do MB15

Fonte: autoria própria

**Figura 24** - Rota sintética proposta para a obtenção dos análogos do MB15

Fonte: autoria própria

Esse trabalho teve como foco a obtenção do intermediário-chave fenol-amida (**Figura 25 – 3a a 3d**) utilizando ácidos *p*-hidroxibenzóicos e aminas escolhidas de acordo com os resultados dos dois trabalhos de modelagem molecular citados anteriormente.

**Figura 25** - Fenol amidas sintetizadas (**3a-3e**).

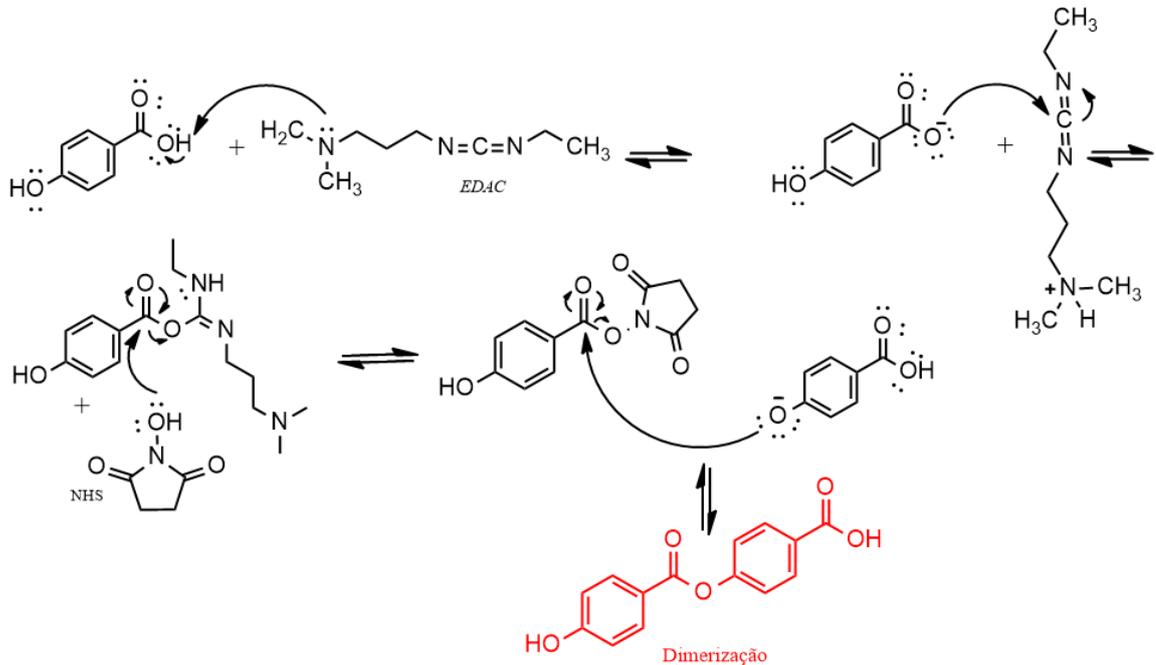
Fonte: autoria própria

Paralelamente, em um trabalho de iniciação científica (atualmente em andamento) foi proposta a síntese do fragmento benzilpiperidina com os padrões de substituição aromática observados nos compostos selecionados pela triagem virtual (destacado em vermelho na **figura 23**). Uma vez que a rota sintética dos derivados do MB15 foi planejada de maneira convergente, a obtenção das benzilpiperidinas pôde ocorrer paralelamente para posterior acoplamento com fenol-amidas propostas neste trabalho, aumentando a eficiência sintética e o número de derivados obtidos (**Figura 24**).

No entanto, a formação direta do intermediário amida é dificultada devido a presença de uma hidroxila fenólica em sua estrutura. Baseado em resultados de trabalhos anteriores desenvolvidos no laboratório (SILVA, 2023), observou-se que a presença dessa hidroxila livre

impede a formação da amida desejada, possivelmente por ela também atuar como um nucleófilo na reação, podendo atacar espécies eletrofílicas do meio, como a carbonila de outro ácido p-hidroxibenzóico ou o éster ativado na próxima etapa. (**Figura 26**).

**Figura 26** - Dimerização do ácido p-hidroxibenzóico



Fonte: autoria própria

## 5.2 GRUPOS PROTETORES PARA ÁLCOOIS

A proposta de proteção da hidroxila fenólica, a partir do ácido p-hidroxibenzóico ou ácido 3-cloro-4-hidroxibenzóico com brometo de benzila em meio básico, se fez necessária devido à dificuldade encontrada em trabalhos anteriores da formação da amida na presença da hidroxila livre, uma vez que esta poderia atuar como nucleófilo nesta etapa, levando a formação de produtos indesejados (trabalho não publicado) (**Figura 26**).

Quando se pretende realizar uma reação química seletivamente em apenas um grupo funcional de uma molécula com múltiplos grupos funcionais, é necessário bloquear temporariamente os outros sítios reativos. Para isso, foram e continuam sendo desenvolvidas várias estruturas, conhecidas como grupos protetores ou grupos de proteção (GREENE, 1999)

Em química, um grupo protetor é um composto químico que é adicionado a uma molécula para modificar temporariamente um grupo funcional, visando garantir quimiosseletividade em uma reação química subsequente. Infelizmente, não existe um grupo protetor perfeito que seja aplicável a qualquer grupo funcional em qualquer situação (SOLOMONS, 2018).

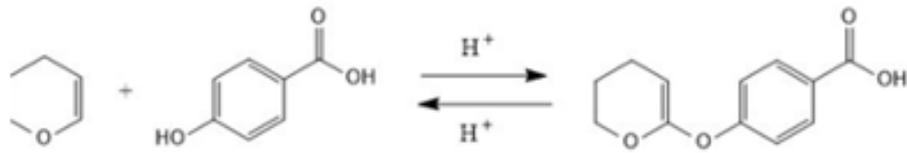
Desse modo, o grupo químico a ser introduzido na molécula deve atender uma série de critérios. Primeiramente, deve ser econômico e facilmente disponível. Além disso, a introdução do grupo químico deve ser simples e eficiente. Deve ser possível caracterizá-lo com facilidade e garantir que ele apresente estabilidade em diversas reações e procedimentos de isolamento. O grupo químico precisa resistir a diferentes métodos de separação e purificação, e sua remoção deve ser feita de maneira seletiva e sob condições bem definidas, não contendo grupos reativos adicionais. Deve-se evitar a adição de funcionalidades extras e reações laterais para manter a simplicidade do processo. Ademais, o produto resultante da desproteção deve ser facilmente separado do produto principal. (KOCIENSKI, 2004)

Dessa maneira, há muitas possibilidades de realizar a proteção de um álcool e fenóis, e entre elas podemos citar os seguintes grupos protetores: acetais, silil éteres, ésteres, anidridos, acetonídeos, éteres alquílicos ou benzílicos (CLAYDEN, 2012) (**Figura 27**).

**Figura 27** - Possíveis grupos protetores para a hidroxila fenólica

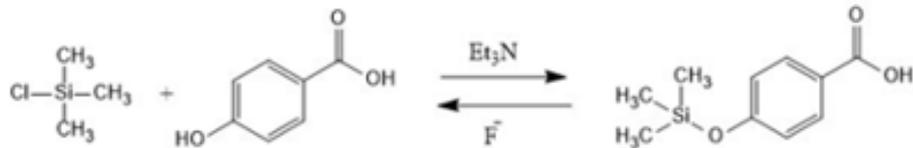
## 1) Acetais

Proteção da hidroxila fenólica com diidropirano



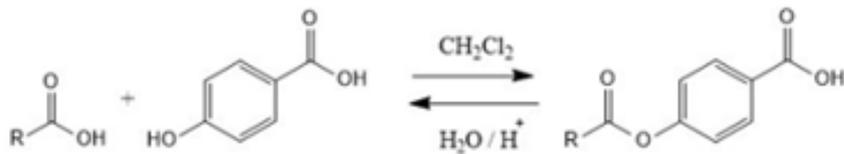
## 2) Silil éteres

Proteção da hidroxila fenólica com tri-álquil silano

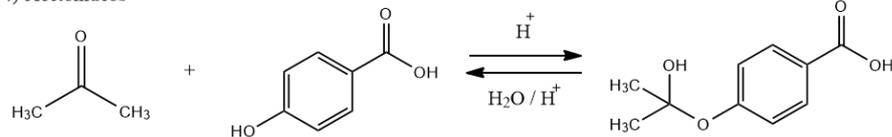


## 3) Esteres

Proteção da hidroxila fenólica com ácido carboxílico/ anidridos

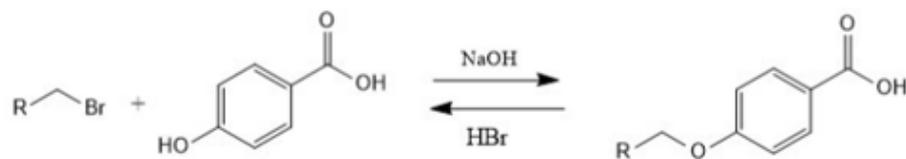


## 4) Acetonídeos



## 5) Éteres

Proteção da hidroxila fenólica com haletos alquílicos/ benzílicos

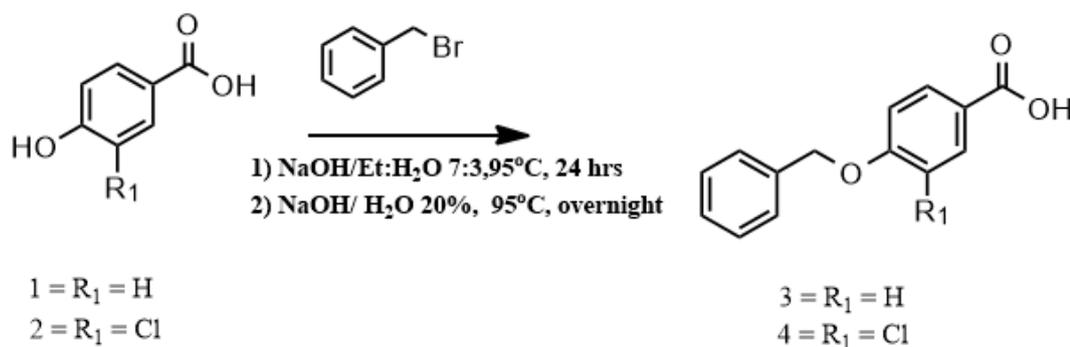


Fonte: autoria própria

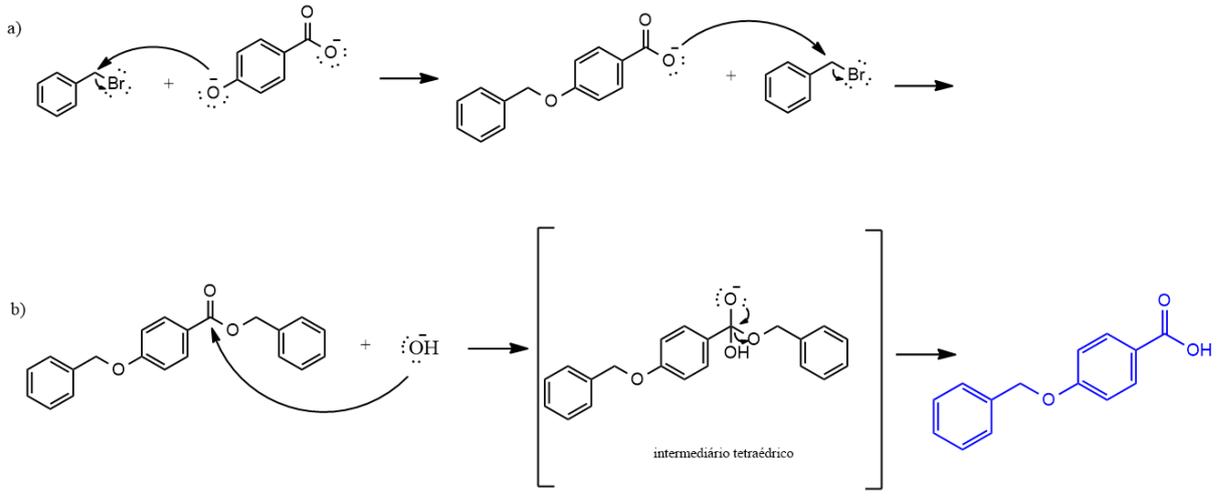
No presente trabalho optou-se por fazer a proteção utilizando um éter benzílico, pela disponibilidade do reagente em nosso laboratório e por ser resistente à segunda etapa da reação, comparado aos ésteres e anidridos, a qual ocorre a hidrólise do éster formado proveniente da reação do carboxilato com o grupo protetor, cuja condição reacional ocasionaria também a hidrólise do grupo protetor, caso tivéssemos optado por fazer a proteção com ésteres, anidridos ou acetonídeos. Comparando o grupo protetor escolhido com os silil éteres, a etapa de

desproteção do éter benzílico é mais simples e segura, já que para desproteger silil éteres é utilizado fluoreto. Em relação aos éteres alquílicos, o éter benzílico é desprotegido com mais facilidade por ser um melhor grupo abandonador, devido à conjugação com o anel aromático, sendo, portanto, mais estável (CLAYDEN, 2012).

### 5.2.1.1 Proteção da hidroxila fenólica



A adição do grupo benzila se dá por meio de uma reação via substituição nucleofílica utilizando excesso de brometo de benzila como eletrófilo adicionado na solução do ácido 4-hidroxibenzoico equivalente em etanol 70% em meio básico. O hidróxido de potássio para desprotonar a hidroxila fenólica para que este efetuasse o ataque nucleofílico mais efetivamente ao carbono eletrofílico ligado ao bromo, que sai como grupo abandonador (**Figura 28 - A**). No entanto, a hidroxila do grupo ácido carboxílico também é desprotonada, tornando-se também um bom nucleófilo, possibilitando o ataque ao brometo de benzila. Então, em uma segunda etapa, foi adicionada uma solução de KOH a 20%, para que o éster formado durante a reação fosse hidrolisado, gerando o respectivo ácido benzilado, usado na etapa seguinte para a formação das amidas (**Figura 28 - B**).

**Figura 28** - Mecanismo da proteção da hidroxila fenólica

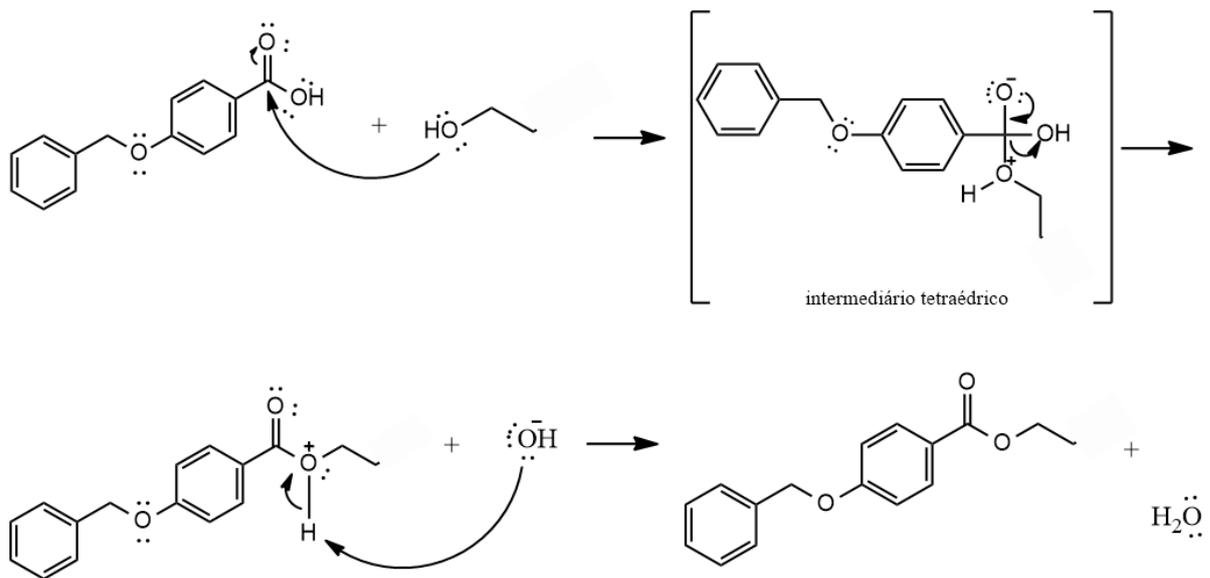
Fonte: autoria própria

No entanto, até chegar na condição reacional ideal, esta foi adaptada ao longo do desenvolvimento do trabalho. As condições reacionais iniciais utilizadas não favoreciam a formação do produto puro com alto rendimento, pois observou-se por CCD que o material de partida não era totalmente consumido e o éster formado como intermediário não era totalmente hidrolisado. Desta forma, a primeira medida a ser tomada para corrigir tal situação foi aumentar a temperatura de 80°C para 90°C, mantendo esta sob agitação magnética, após a adição do brometo de benzila. Adicionalmente, a etapa de hidrólise do intermediário permaneceu por mais 1 dia sob agitação magnética em refluxo a aproximadamente 90°C, após a adição da solução de KOH 20%, pois altas temperaturas favorecem a ocorrência das reações de modo geral, devido a excitabilidade das partículas no meio reacional. Feito isso, foi observado que apenas estas mudanças não alteraram significativamente o rendimento da reação. Logo, decidiu-se aumentar o número de equivalentes de brometo de benzila a serem adicionados e foi possível concluir, através de uma análise de CCD que o material de partida tinha sido totalmente consumido e consequentemente o rendimento foi aumentado, porém o produto ainda estava sendo obtido impuro, pois a etapa de hidrólise estava sendo ineficiente, mesmo ocorrendo em condições mais drásticas de temperatura e catálise básica.

A fim de solucionar este problema e conhecendo o mecanismo da reação, foi proposto a mudança do solvente, uma vez que o etanol, um solvente prótico, poderia estar atrapalhando o ataque do nucleófilo ao brometo de benzila, devido a sua capacidade de solvatar ânions. Em uma das tentativas, a acetona foi utilizada como solvente da reação, mantendo esta a 50 °C em refluxo. O material de partida foi consumido, levando à formação do éster com o grupo protetor. Porém, foi visto que na etapa de hidrólise não havia consumo do éster e consequente regeneração do ácido carboxílico protegido, provavelmente pela necessidade de manter a reação

a uma temperatura mais elevada, já que a temperatura de ebulição da acetona é de apenas 56 °C. Portanto, decidiu-se utilizar o etanol como solvente da reação nessa segunda etapa. No entanto, percebeu-se que na etapa da hidrólise não havia o consumo total do éster formado, gerando então uma mistura do produto com o éster. Com o objetivo de isolar o produto puro, foi feita uma extração em meio básico, para que o carboxilato migrasse para a fase aquosa e o éster permanecesse na fase orgânica separando-os. Contudo, o produto não foi isolado puro, precisando assim ser purificado através de uma CCS, com eluição por gradiente, utilizando como solvente hexano e acetato de etila. O produto foi isolado puro, porém com baixo rendimento. Na tentativa de contornar tal situação, foi pensado que o etanol em meio básico poderia estar atuando como nucleófilo da reação, ocorrendo uma transesterificação, impedindo o ataque da água para que a hidrólise ocorresse, como ilustrado na **Figura 29**. Desta forma, a reação foi feita reduzindo-se a concentração de etanol em 70%, diminuindo a probabilidade de ocorrência da transesterificação e aumentando a probabilidade da hidrólise. Adicionalmente, a elaboração da reação foi realizada por meio da filtração à vácuo, lavando-se com água e hexano, pois caso ainda houvesse os subprodutos apolares, como brometo de benzila, estes seriam solubilizados e carreados para o hexano. Seguindo estas condições reacionais foi obtido o produto puro com 67% de rendimento para ser utilizado como reagente limitante para a formação das amidas. Uma vez padronizada a reação, a formação do ácido 4-(benziloxi)-3-clorobenzóico foi feita a partir das mesmas condições reacionais, dispensando métodos adicionais para purificá-lo.

**Figura 29** - Mecanismo de transesterificação

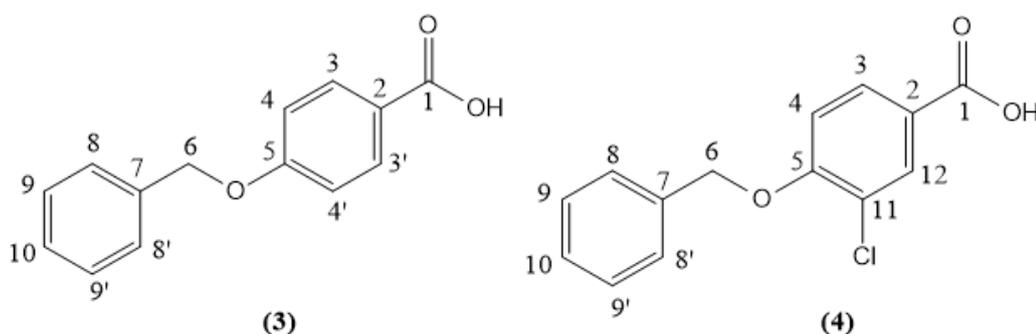


Fonte: autoria própria

### 5.2.1.2 Caracterização química dos ácidos 4-(benziloxi)benzóico (3) e 3-cloro-4-hidroxi-benzóico (4)

A obtenção dos ácidos benzilados (**Figura 30**) foi confirmada pela análise de seus espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e experimento DEPT-135, cujos espectros encontram-se nos Anexos 1.1 e 1.2.

**Figura 30** - Ácidos protegidos



Fonte: autoria própria

Na análise do espectro de hidrogênio do ácido 1 observa-se um duplete em 7,89 ppm, com integral para dois hidrogênios e  $^3J$  de 8,8 Hz, referente ao hidrogênio H-3 e H-3', mais desblindados devido ao efeito dos grupos orientadores ligados ao anel aromático, um multiplete em 7,47-7,07 ppm, com integral para sete hidrogênios referente aos hidrogênios H-4 e H-4', além dos cinco hidrogênios do anel do grupo benziloxi. Os hidrogênios H-4 e H-4' são mais blindados que os hidrogênios citados anteriormente devido aos efeitos orientadores dos grupos ligados ao anel aromático em que eles se encontram: uma carbonila em *meta* e o oxigênio do éter em *orto*. Por fim, o simpleto em 5,17 ppm com integral para 2 hidrogênios se refere aos hidrogênios metilênicos H-6 e 6' do grupo benziloxi, confirmando que houve a proteção da hidroxila fenólica do ácido p-hidroxi-benzóico. Já no espectro de  $^{13}\text{C}$ , vale destacar o sinal em 69,5 ppm referente ao carbono desse metileno, confirmado pela fase inversa no experimento de DEPT-135 e o sinal em 167,2 ppm referente ao carbono carbonílico.

O sinal dos hidrogênios e do carbono metilênico também foram observados nos respectivos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  do ácido (2), também confirmando sua obtenção (5,30 ppm e 70,7 ppm, respectivamente). Devido ao diferente padrão de substituição no anel aromático,

observou-se ainda, no espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , um duplete em 7,93 ppm, com integral para 1 hidrogênio referente ao hidrogênio H-12 com  $^4J$  de 2,0 Hz (acoplamento em *meta* com o hidrogênio H-3), vizinho ao átomo cloro, se apresenta mais desblindado devido ao efeito orientador do grupo carboxílico e ao efeito indutivo retirador de elétrons do cloro. Além deste sinal, é possível ver um duplete duplo em 7,88 ppm, com integral para 1 hidrogênio referente a H-3 com  $^3J$  de 8,6 Hz (acoplamento em *orto* com o hidrogênio 4) e  $^4J$  de 2,0 Hz (acoplamento em *meta* com o hidrogênio 11).

### 5.2.2 Síntese das amidas

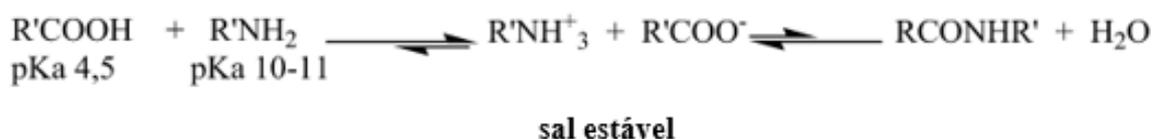
A formação de ligações amida ou éster entre um ácido e, respectivamente, uma amina ou um álcool são formalmente condensações. As esterificações usuais são uma reação de equilíbrio, ao passo que, ao misturar uma amina com um ácido carboxílico, ocorre primeiro uma reação ácido-base para formar um sal estável. Por outras palavras, a formação da ligação amida tem de lutar contra a termodinâmica adversa, tal como o equilíbrio mostrado na **Figura 31**, que normalmente está mais deslocado para o lado dos reagentes do que dos produtos. (MONTALLBETTI, 2005).

**Figura 31** - Equilíbrio químico de formação de amidas a partir de ácido carboxílico

a) **Ácido carboxílico e álcool para a formação de ésteres:**



b) **Ácido carboxílico e amina para a formação de amidas:**

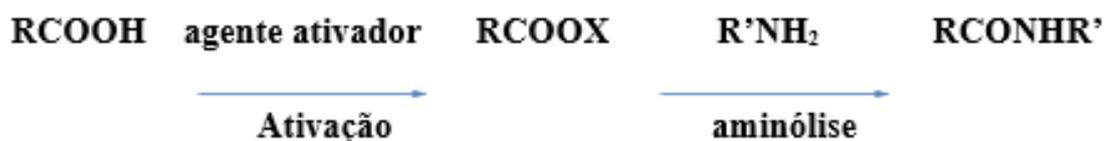


Fonte: MONTALLBETTI, F., 2005

A condensação direta do sal pode ser alcançada em alta temperatura (160–180 °C), o que geralmente é bastante incompatível com a presença de outras funcionalidades, e, portanto,

a ativação do ácido carboxílico, transformando-o em um bom grupo abandonador ao mesmo tempo em que elimina seu caráter ácido é uma estratégia comumente utilizada para permitir o ataque pelo grupo amina (CAREY, 2007) (**Figura 32**).

**Figura 32** - Equilíbrio químico de formação de amidas a partir de grupos ativadores de ácido carboxílico



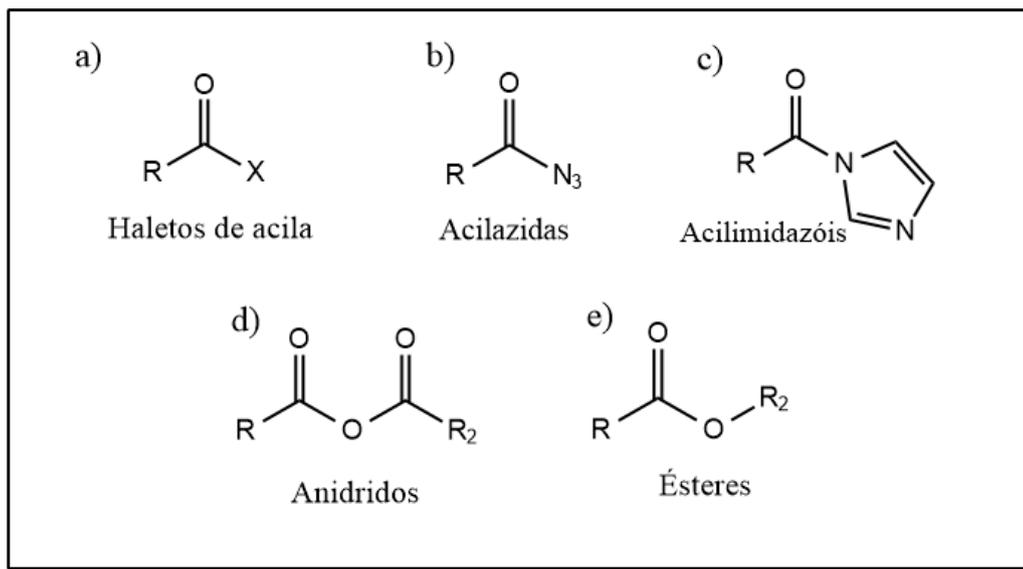
Fonte: MONTALLBETTI, 2005

Uma vez que o grupo amida é um grupo funcional amplamente encontrado em molécula sintéticas, uma infinidade de métodos e estratégias foram desenvolvidos e estes estão agora disponíveis para o químico sintético, medicinal ou combinatório (OLIVEIRA, 2018).

#### 5.2.2.1 Grupos ativadores

Os componentes carboxi podem ser ativados com haletos de acila, acilazidas, acilimidazóis, anidridos, ésteres, etc, ao inserir grupos que retiram densidade eletrônica, deixando o carbono carbonílico mais eletrofílico e que são bons grupos abandonadores (**Figura 33**) (VALEUR, 2009).

**Figura 33** - Grupos ativadores de ácido carboxílico



Fonte: autoria própria

O método de ativação via haletos de acila envolve duas etapas: a conversão do ácido em haleto de acila usando reagentes como cloreto de tionila, seguida pelo acoplamento com a amina correspondente. Apesar de ser um método fácil, ele gera subprodutos indesejáveis, como HCl, e tem limitações no acoplamento de peptídeos devido ao risco de hidrólise e racemização, utilizando cloretos de acila. Alternativas como fluoretos de acila, brometos de acila e acil azidas são mais eficientes, mas também apresentam riscos, como racemização e reações secundárias indesejadas. Devido a resultados insatisfatórios em trabalhos anteriores (trabalho não publicado), o uso de cloretos de acila foi descartado como metodologia neste trabalho.

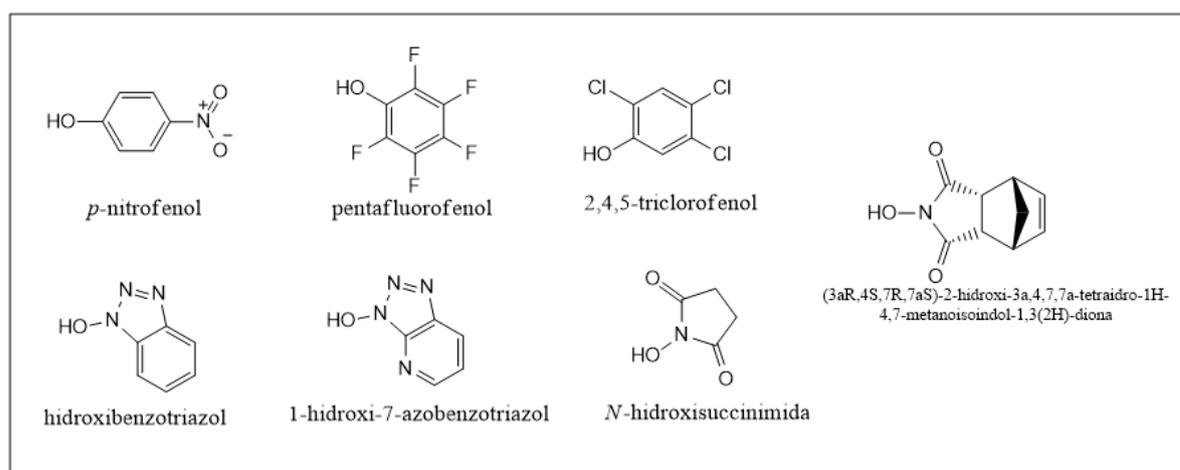
A ativação por acilimidazóis utilizando *Carbonil diimidazol (CDI)* e por anidridos também é amplamente utilizada. Contudo, existem algumas limitações no uso desses reagentes. Por exemplo, a variedade de anidridos comercialmente disponíveis é limitada, o que frequentemente exige a preparação prévia do anidrido desejado, adicionando uma etapa extra ao processo de síntese. Os acilimidazóis permitem a formação de amidas em um único recipiente- reação *one pot*- o que dificulta o processo de purificação, além da possibilidade de sofrer um rearranjo para produzir o isocianato correspondente (SMITH, 2013).

Ao analisar todas as possibilidades de ativação do ácido carboxílico, avaliando as vantagens e desvantagens, disponibilidade dos reagentes em nosso laboratório e facilidade de purificação, decidiu-se realizar a etapa de ativação utilizando ésteres ativados.

### 5.2.2.1.1 Ésteres ativados

Os ésteres ativados, como os ésteres aromáticos, são geralmente mais fáceis de hidrolisar do que os ésteres alquílicos pois são melhores grupos abandonadores por apresentarem conjugação e serem estabilizados por ressonância, além da eletrofilicidade do centro carbonil aumentada por apresentarem em sua estrutura átomos eletronegativos que retiram densidade eletrônica por efeito indutivo retirador. Os ésteres aromáticos (**Figura 34**) reagem ainda com uma ampla gama de nucleófilos, de forma limpa com aminas sob condições suaves, sem a necessidade do uso de altas temperaturas, com racemização geralmente reduzida da espécie ativada, por se tratar de um ciclo (MONTALLBETTI, 2005).

**Figura 34** - Ésteres ativados aromáticos



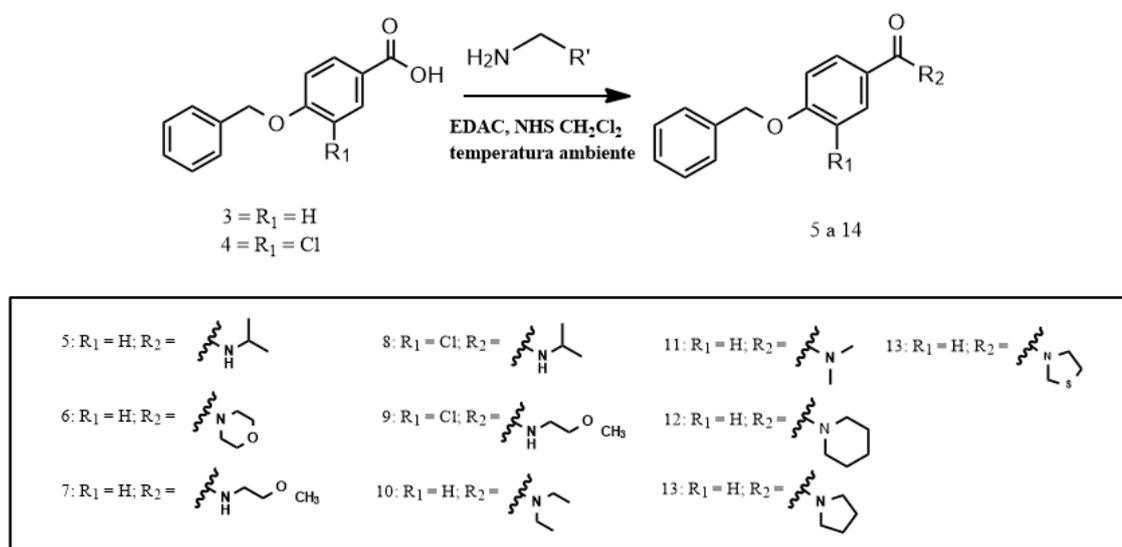
Fonte: MONTALLBETTI, F., 2005

Ésteres ativados são geralmente obtidos usando métodos padrão de formação de ésteres, como *N,N*-diciclohexilcarbodiimida (*DCC*), porém este procedimento foi descartado por apresentar difícil purificação, diferentemente da técnica escolhida utilizando cloridrato de 1-etil-3-(3dimetilaminopropil)carbodiimida (*EDAC*), cuja purificação pode ser feita em um extração simples em meio levemente ácido, pois este reagente apresenta nitrogênio básico (**Figura 35**) que pode ser protonado, sendo eliminado então na fase aquosa (MONTALLBETTI, 2005).



### 5.2.3 Síntese das amidas a partir da formação do intermediário reativo éster ativado

Figura 37 - Síntese das amidas a partir da formação do intermediário reativo éster ativado



Fonte: autoria própria

Inicialmente, foram utilizados os ácidos benzilados **3** e **4** sem prévia purificação, provenientes das reações realizadas antes da padronização da etapa de proteção. Neste trabalho, optou-se pela elaboração da etapa de formação do éster ativado antes da adição da amina, visto que a reação *one-pot* não apresentou melhoras significativas no rendimento e levou a formação de muitos subprodutos, dificultando a purificação da amida.

Contudo, utilizando esses intermediários impuros, antes da padronização desta reação, obteve-se um rendimento muito baixo para as amidas **5** e **6** (18,6-22,6%), além de serem obtidas com impurezas, necessitando purificação adicional. Nesse sentido, através de uma comparação entre a utilização do ácido benzilado impuro das reações iniciais e puro, da reação padronizada pelo método descrito em 4.1.2.1., como exemplificado em um ensaio com amida **6**, proveniente da morfolina (**Tabela 3**), foi observado que o grau de pureza dos ácidos protegidos de partida era essencial para obtenção dos produtos com o melhor rendimento possível. Assim, uma vez purificados através de uma cromatografia em coluna de sílica em eluição por gradiente, os ácidos carboxílicos protegidos foram utilizados na conversão nos ésteres ativados correspondentes, na presença de *EDAC* e *NHS*, e em seguida convertidos nas amidas.

**Tabela 3** - Comparação de duas reações para a formação da amida **4**, utilizando o material

Reagente limitante	Amina	Massa do produto	Rendimento
--------------------	-------	------------------	------------

Ácido 1	morfolina		
bruto 170 mg (0,745 mmol)	324 mg (3,7mmol)	50 mg (0,168 mmol)	<b>22,6%</b>
puro 90 mg (0,390 mmol)	170 mg (1,95mmol)	52 mg (0,174 mmol)	<b>44%</b>

Fonte: autoria própria

A partir das análises de RMN e CCD foi notado que as amidas **5** e **6** eram formadas a partir destas condições, com rendimentos melhores, porém impuras, sendo necessário a utilização de métodos de purificação destas substâncias. Foi feita então uma cromatografia em coluna de sílica, por eluição em gradiente, com hexano:acetato. No entanto, o espectro da amida derivada da morfolina apresenta-se com impurezas, pois não foram utilizados solventes destilados para realizar a purificação.

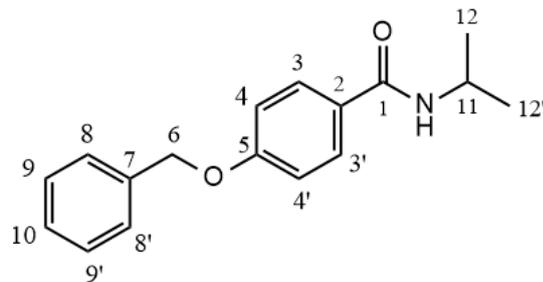
Com objetivo de evitar a necessidade de utilizar métodos adicionais de purificação dos produtos formados, como a CCS, algumas mudanças na elaboração da reação, que consistia em uma extração lavando-se a mistura reacional com água destilada, foram realizadas. Ao transferir a reação para o funil de separação, a fase orgânica foi extraída uma vez com solução de HCl 1 M, para que a amina em excesso fosse protonada para então ser removida na fase aquosa. A segunda extração foi feita com solução de KOH com intuito de ionizar, através de uma reação ácido-base, possíveis resquícios do material de partida da formação do éster ativado, uma vez que este possui o grupo funcional ácido carboxílico, sendo removido na fase aquosa. Adicionalmente, a solução alcalina poderia hidrolisar qualquer éster ativado não consumido de volta ao respectivo ácido carboxílico. Por fim, a fase orgânica foi adicionalmente lavada com água destilada, recolhida e seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, e solvente foi removido no rotavapor. Assim foram obtidas as amidas **7**, **8** e **9** puras. No entanto, as amidas **10**, **11**, **12**, **13** e **14**, quando elaboradas seguindo o método citado, continuavam contaminadas com subprodutos, sendo preciso a purificação por CCS em eluição por gradiente utilizando hexano:acetato.

A confirmação da obtenção das amidas se deu através das análises dos seus respectivos espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e experimento DEPT-135, cujos espectros estão em Anexos 2.1 a 2.8. No entanto, os solventes comerciais utilizados sem prévia purificação, sobretudo como eluente da CCS, acabaram contaminando os produtos com impurezas, e conseqüentemente alguns sinais além dos esperados para as amidas, foram observados nos espectros de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C,

principalmente na região abaixo de 3 ppm, nos espectros de  $^1\text{H}$ , característica de impurezas alifáticas.

### 5.2.3.1 Caracterização química da 4-(benziloxi)-*N*-isopropilbenzamida (5)

**Figura 38** - 4-(benziloxi)-*N*-isopropilbenzamida



(5)

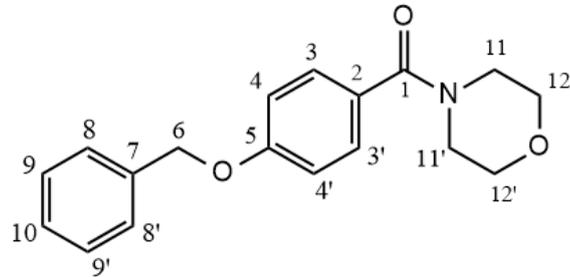
Fonte: autoria própria

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da amida 1a é possível observar os sinais dos hidrogênios referentes ao ácido 4-(benziloxi)benzóico utilizado na sua síntese e, adicionalmente, é possível observar um multiplete em 4,31-4,23 ppm com integral para um hidrogênio, referente a H-11, hidrogênios ligados carbono ligado ao nitrogênio da amida, além de um duplete em 1,24 ppm com integral para seis hidrogênios, referente aos hidrogênios dos grupos metila, com  $^3J$  de 6,5 Hz proveniente da isopropilamina, comprovando o sucesso da formação da respectiva amida. Vale destacar que a multiplicidade esperada de H-11 seria de um hepteto duplo, no entanto a constante de acoplamento com o NH da amida fez seu sinal se assemelhar a um octeto.

No espectro de  $^{13}\text{C}$  foi atribuído ao C-11 o sinal em 41,8 ppm, mais desblindado que C-12 e C-12' (22,9 ppm), devido a vizinhança com o átomo de nitrogênio. Ambos os sinais provenientes da isopropilamina foram confirmados pela análise do DEPT, em fase positiva.

### 5.2.3.2 Caracterização química da 4-(benziloxi)fenilmorfolinometanona (6)

**Figura 39** - 4-(benziloxi)fenilmorfolinometanona



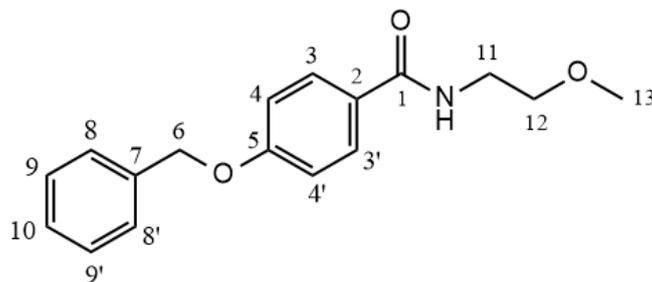
(6)

Fonte: autoria própria

No espectro de  $^1\text{H}$  da amida 1b, observou-se um multiplete em 3,63-3,57 ppm, compatível com o deslocamento químico dos hidrogênios do anel de morfolina, com integral 9,7, quando o esperado seria para oito hidrogênios, demonstrando que a molécula foi sintetizada, porém não está pura. No espectro de  $^{13}\text{C}$ , destaca-se o carbono da amida em 169,4 ppm, o carbono 6 em 69,0 ppm referente ao carbono benzílico e os carbonos 12 e 12', vizinhos ao oxigênio, em 65,8 ppm. Os sinais correspondentes aos carbonos 11 e 11' foram registrados em 42,4 ppm, confirmado pelo DEPT pela fase inversa, assim como C-12. Nota-se que o C-11 e C-11' possuem um tempo de relaxação superior aos demais sinais, sendo registrados com baixa intensidade.

### 5.2.3.3 Caracterização da 4-(benziloxi)-*N*-(2-metoxietil)benzamida (7)

**Figura 40** - 4-(benziloxi)-*N*-(2-metoxietil)benzamida



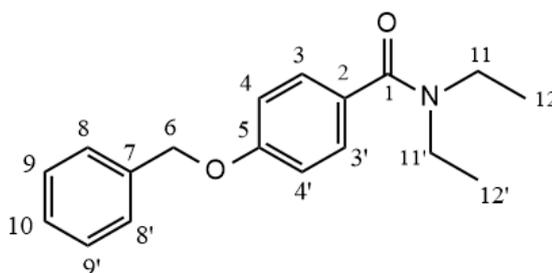
(7)

Fonte: autoria própria

A obtenção da amida 9 é confirmada pela presença de um multipletto em 3,66-3,61 ppm e em 3,56-3,54 ppm, atribuídos aos sinais dos hidrogênios H-12 e H-11, respectivamente. Por último podemos notar um simpleto com integral para 3 hidrogênios referentes aos hidrogênios do grupo metila proveniente da 2-metoxietilamina. No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , há um sinal, além daqueles derivados do ácido p-hidroxibenzoico, em 71,2 ppm, correspondente ao carbono 12, sendo ele mais desblindado que o C-11 e o C-13, devido à distância de duas ligações com o nitrogênio e uma com o oxigênio. Em 50,8 ppm aparece o sinal do carbono 13, por este estar ligado diretamente ao oxigênio, aparece mais desblindado que C-11, cujo sinal aparece em 39,6 ppm, pois o oxigênio tem maior eletronegatividade que o nitrogênio, desblindando o carbono vizinho mais efetivamente. No DEPT observa-se os sinais mencionados dos carbonos C-6, C-11 e C-12 em fase invertida, confirmando se tratar de carbonos metilênicos, enquanto o sinal de C-13 aparece em fase normal, por ser um carbono metílico.

#### 5.2.3.4 Caracterização da 4-(benziloxi)-*N*-dietilbenzamida (10)

**Figura 41** - 4-(benziloxi)-*N*-dietilbenzamida



(10)

Fonte: autoria própria

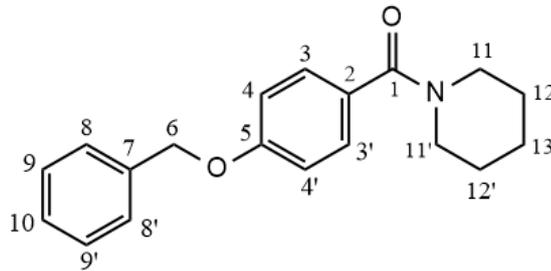
Em 3,49-3,32 ppm encontramos um multipletto com integral para 4 hidrogênios, sendo estes os ligados aos carbonos C-11 e C-11', confirmados pela fase negativa do DEPT. Em 1,25-1,18 ppm observou-se um multipletto com integral para 6 hidrogênios, referente àqueles ligados aos carbonos C-12 e C-12'. Os demais sinais referentes ao ácido p-hidroxibenzoico protegido também foram observados.

No entanto, na análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , apesar do sinal da carbonila aparecer em 171,2, os sinais dos carbonos provenientes da amina não são observados com clareza devido à baixa relaxação dos mesmos, sendo registrados e atribuídos da seguinte maneira: 43,4 ppm

(C-11 e C-11') e 39,5 ppm (C-12 e C-12'). No DEPT, nenhum destes carbonos foram observados, possivelmente pelo uso de um tempo de aquisição menor.

#### 5.2.3.5 Caracterização 4-benziloxi-*N*-piperidinabenzamida (11)

**Figura 42** - 4-benziloxi-*N*-piperidinabenzamida

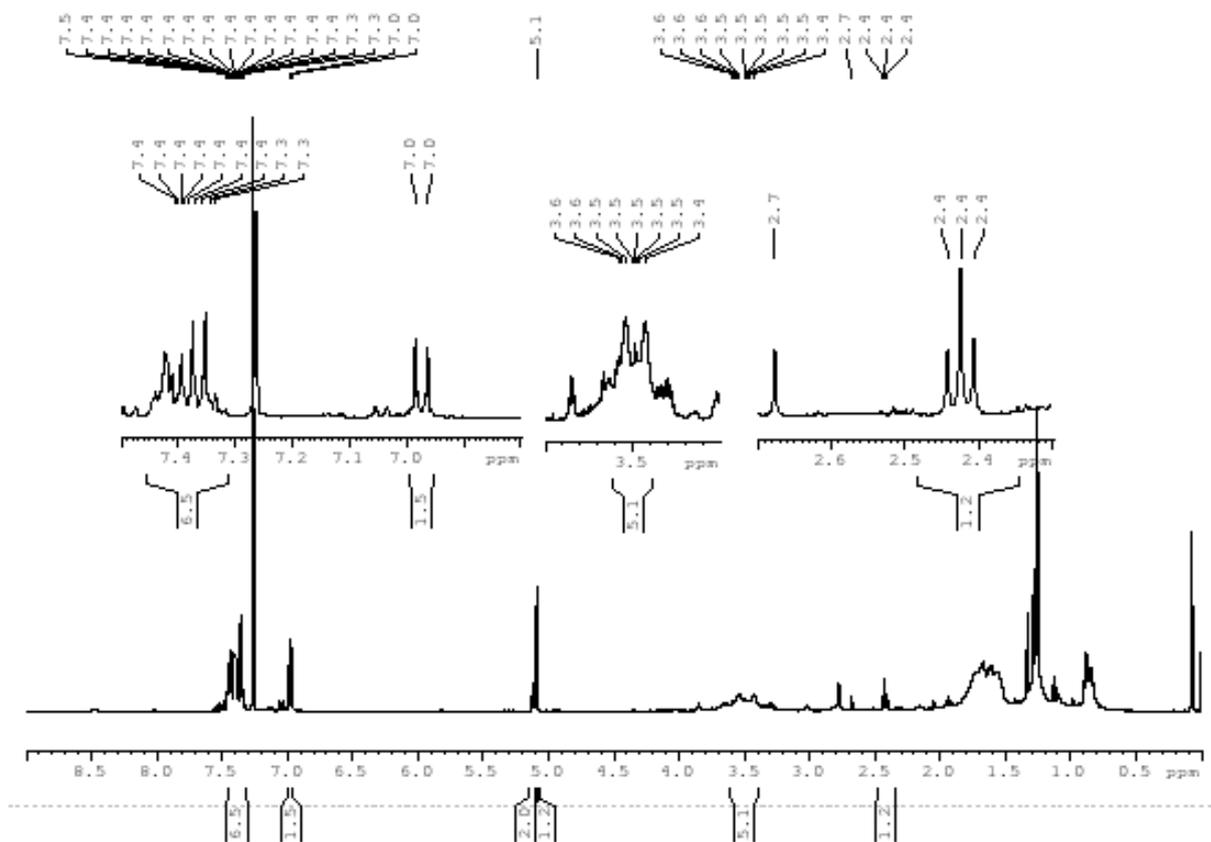


(11)

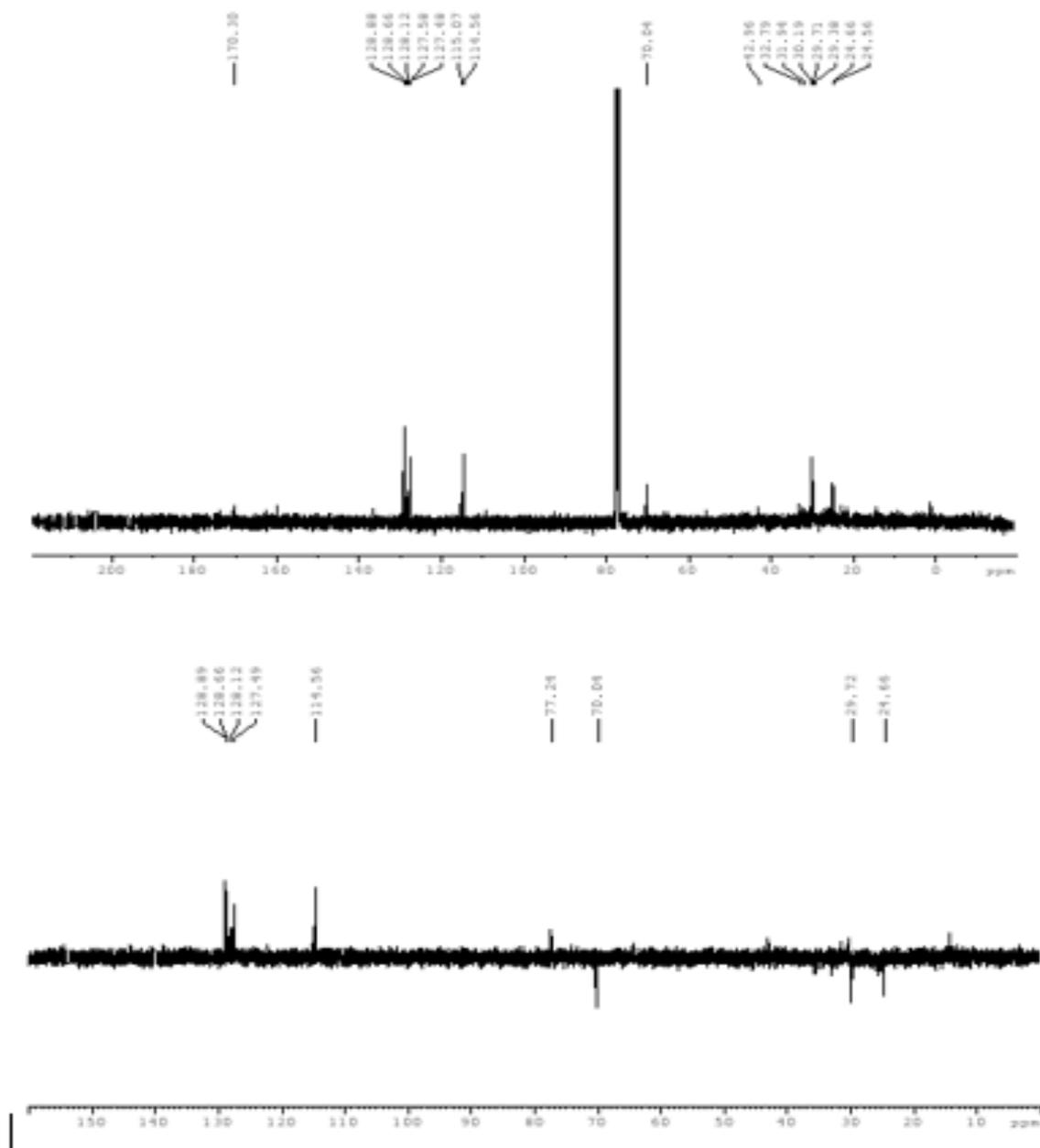
Fonte: autoria própria

Já na obtenção de 1e, observou-se que o método de purificação não foi eficiente, visto os sinais registrados relacionadas a impurezas nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No entanto, é suposto que o produto tenha sido formado por apresentar alguns sinais característicos da molécula, como o multiplete referente aos hidrogênios aromáticos, (3,8,9 e 10) em 7,4 -7,3 ppm, um duplete em 7,0 ppm, com integral para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios mais blindados ligados a C-4 e em 5,1 ppm, o simpleto dos hidrogênios ligados ao carbono benzílico. Os sinais dos hidrogênios do grupo substituinte provenientes da piperidina não são observados claramente devido à contaminação do produto. No entanto, no espectro de carbono, há um sinal em 170,0 ppm, cujo a atribuição é dada ao carbono carbonílico da amida. (**Figura 43 e 44**)

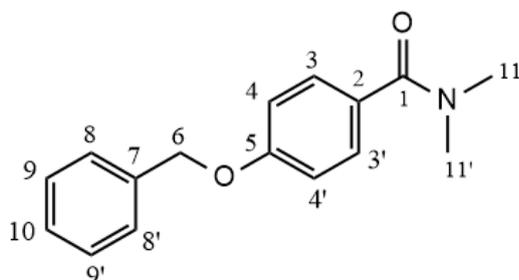
Figura 43 - Espectro de  $^1\text{H}$  da amida 11



Fonte: autoria própria

**Figura 44** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-35 da amida 11

Fonte: autoria própria

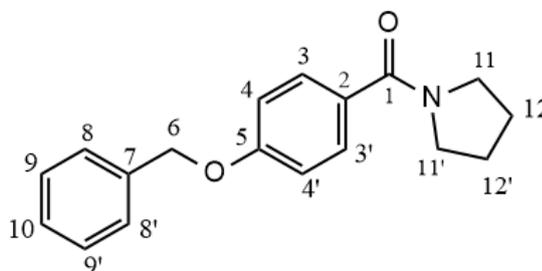
5.2.3.6 Caracterização da 4-benziloxi-*N*-dimetilbenzamida (12)**Figura 45** - 4-benziloxi-*N*-dimetilbenzamida

(12)

Fonte: autoria própria

No espectro de  $^1\text{H}$  há um duplete aparente em 3,05 ppm, relativo aos hidrogênios das metilas oriundas da dimetilamina, com integral para 6 hidrogênios. Isso ocorre pois os hidrogênios ligados ao carbono 11 e carbono 11' apresentam diferenças devido a orientação espacial destas, sendo aqueles ligados ao carbono 11 ligeiramente mais desblindados que aqueles ligados ao carbono 11', pois se apresenta mais próximo ao oxigênio da carbonila, que retira densidade eletrônica do grupo metila por efeito indutivo retirador de elétrons. Além disso, o grupo amida é rígido, impedindo a rotação das ligações do substituinte, neste caso, os grupos metilas, fazendo com que os carbonos 11 e 11' sejam magneticamente diferentes.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , a obtenção da amida é confirmada pela presença dos sinais em 171,5 ppm – carbono carbonílico da amida – e em 31 ppm, os carbonos metílicos 11 e 11', provenientes da dimetilamina, confirmados pelo DEPT, aparecendo estes em fase positivas, por estar ligado a três hidrogênios.

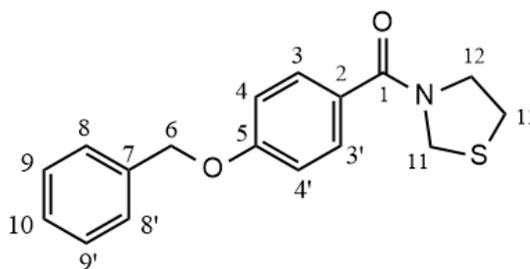
5.2.3.7 Caracterização da 4-benziloxi-*N*-pirrolbenzamida (13)Figura 46 - 4-benziloxi-*N*-pirrolbenzamida

(13)

Fonte: autoria própria

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da amida 1g observa-se em 3,63 ppm um tripleto com integral para dois hidrogênios referente aos hidrogênios H-11, que acoplam com a H-12. Estes hidrogênios são mais desblindados que o H-11', observado em 3,48 ppm também na forma de um tripleto, devido à sua disposição no espaço, estando mais próximo do oxigênio da carbonila, átomo eletronegativo que retira densidade eletrônica do átomo de hidrogênio mais próximo, deixando o núcleo “desprotegido” contra o campo magnético externo, deslocando seu respectivo sinal para o campo superior do espectro, diferentemente do que acontece com o H-12, cuja posição espacial é mais distante do oxigênio-posição fixa devido ao anel que não rotaciona- tendo então seu núcleo mais protegido contra o campo magnético. Mais blindados, observamos na faixa de 1,97-1,85 observa-se dois multipletos com integral somada para 4 hidrogênios, atribuídos aos hidrogênios H-12 e H-12'.

No espectro de  $^{13}\text{C}$  destaca-se o sinal do carbono da amida em 169,4 ppm, o sinal do carbono benzílico do grupo protetor em 70,0 ppm e os sinais dos carbonos do substituinte, sendo estes 11 e 11', 12 e 12', respectivamente em 49,8 e 46,4 ppm. No experimento de DEPT, esses sinais aparecem em fase invertida, confirmando sua natureza metilênica.

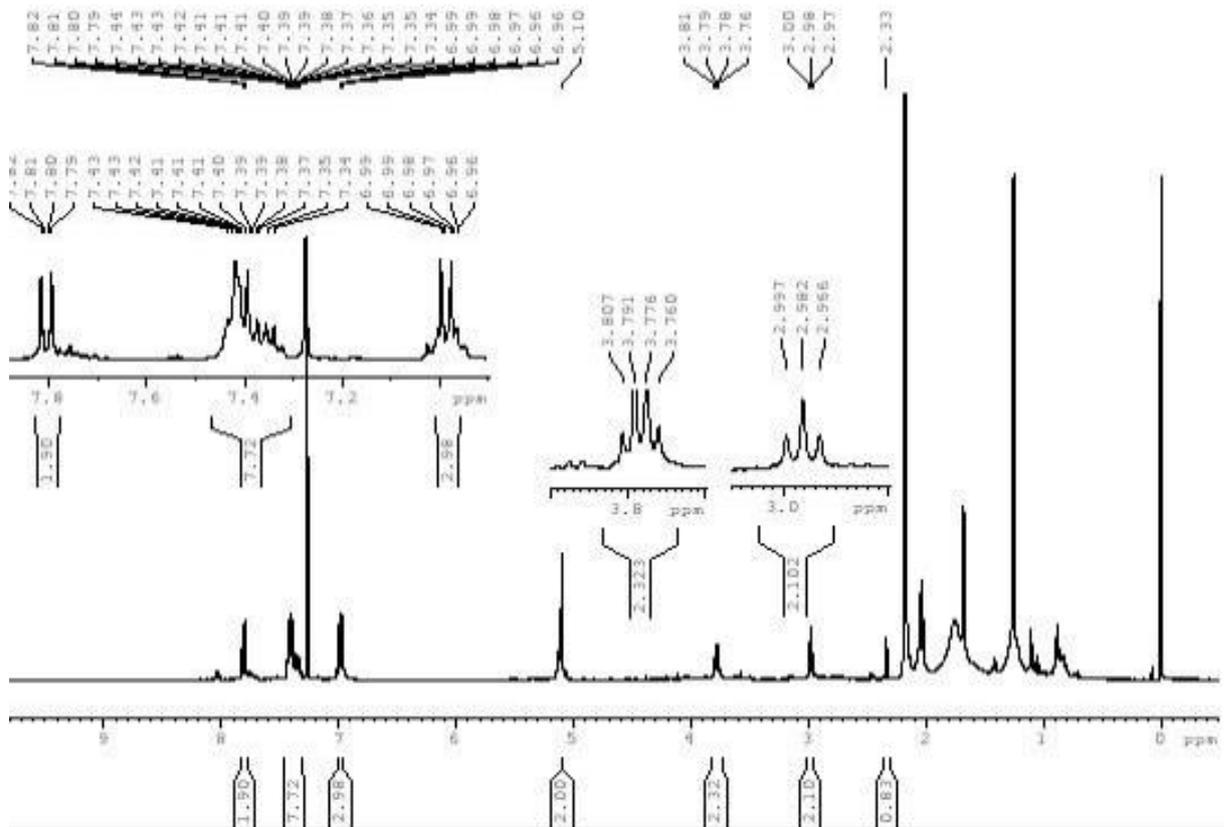
5.2.3.8 Caracterização da 4-benziloxi-*N*-tiazolbenzamida (14)Figura 47 - 4-benziloxi-*N*-tiazolbenzamida

(14)

Fonte: autoria própria

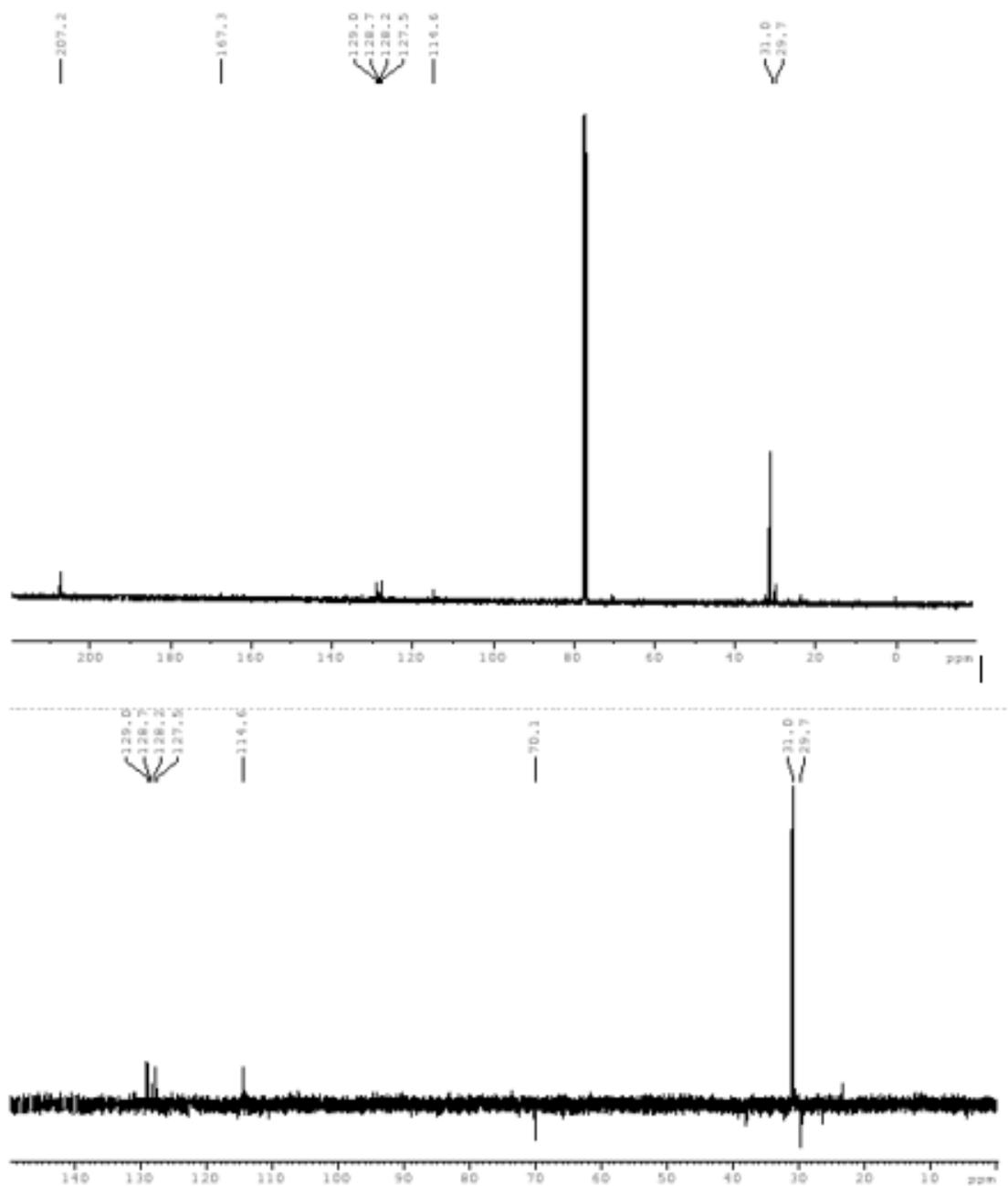
Ainda que obtido impuro é possível inferir que a amida citada tenha sido formada devido a presença de sinais compatíveis registrados nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Em comparação com a molécula descrita anteriormente, ao substituir o átomo de carbono 12' por um átomo de enxofre, observamos agora diferentes deslocamentos químicos nos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos hidrogênios e carbonos do anel tiazolidínico, uma vez que estes sofrem efeitos de desblindagem pelo átomo de enxofre – cada carbono do substituinte é desblindado em intensidade diferentes, devido a distância entre eles e o enxofre, pois o anel não possui mais simetria. Sendo assim, no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  nota-se um multipletto compreendido entre 3,80-3,76 ppm, com integral para 2H, referentes àqueles ligados ao carbono 11 que acoplam com os dois hidrogênios ligado ao carbono 13. Já em 2,98 ppm podemos claramente identificar um triplete, com integral para 2H relativo ao acoplamento daqueles ligados ao carbono 13 com os hidrogênios do carbono 11. O sinal pertencente aos hidrogênios do carbono 12 não é identificado, provavelmente sobreposto por sinais de hidrogênio de impurezas da reação ou água do solvente deuterado (HOD) (**Figura 48**).

**Figura 48** - Espectro de  $^1\text{H}$  da amida 14



Fonte: autoria própria

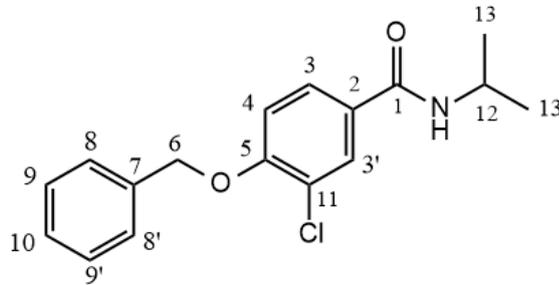
Já no espectro de carbono, vale destacar o sinal em 31 ppm, que inicialmente foi atribuído para os carbonos 11 e 12, pela intensidade do sinal, porém no DEPT estes sinais não aparecem em fase invertida (**Figura 49**). Um sinal registrado em 31,0 ppm, sugere então se tratar de contaminação com acetona, usada na secagem dos tubos utilizados para o RMN. Àquele alusente ao carbono 13 não foi identificado, assim como alguns outros sinais, no entanto, vale ressaltar o sinal em 70,1 que aparece somente no DEPT em fase invertida, cuja atribuição foi dada ao carbono C-6 do grupo protetor. Isso ocorreu possivelmente devido a pouca quantidade enviada para a realização da ressonância magnética nuclear e a impureza do produto, sujeiras advindas dos solventes utilizados. Não foram feitos outros métodos de caracterização desta substância, devido à falta de disponibilidade e tempo. Logo, somente no espectro de hidrogênio (**Figura 48**) é possível identificar os sinais característicos desta molécula. Dito isso, é necessário ser realizada a purificação do produto para que estes sinais sejam melhor observados em um novo experimento de RMN.

Figura 49 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  da amida 14

Fonte: autoria própria

### 5.2.3.9 Caracterização da 4-(benziloxi)-3-cloro-*N*-isopropilbenzamida (8)

**Figura 50** - 4-(benziloxi)-3-cloro-*N*-isopropilbenzamida

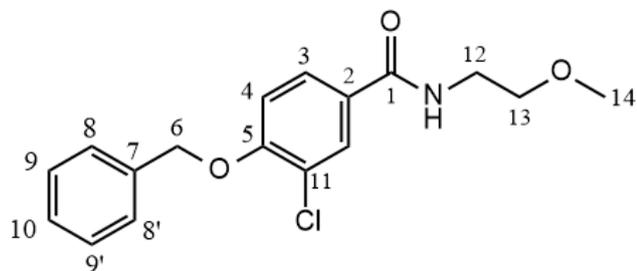


(8)

Fonte: autoria própria

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da 4-(benziloxi)-3-cloro-*N*-isopropilbenzamida foram observados sinais referentes aos hidrogênios do ácido 4-(benziloxi)-3-cloro-benzóico utilizado na sua síntese e, adicionalmente, um multipeto em 4,11-4,03 ppm com integral para 1 hidrogênio, referente a H-13, e um duplete em 1,15 ppm, com integral para 6 hidrogênios, referente aos hidrogênios H-14 e H-14' ( $^3J = 6,6$  Hz).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , além dos sinais já discutidos presentes no material de partida, há um sinal referente ao C-13 em 41,5 ppm, ligado diretamente ao átomo de nitrogênio, mais desblindados que os carbonos 14 e 14', cujo sinal aparece em 22,8 ppm, confirmados como metínico e metílicos, respectivamente, pelo experimento DEPT.

5.2.3.10 Caracterização da 4-(benziloxi)-3-cloro-*N*-(2-metoxietil)benzamida (9)**Figura 51** - 4-(benziloxi)-3-cloro-*N*-(2-metoxietil)benzamida

(2b)

Fonte: autoria própria

No espectro de RMN  $^1\text{H}$ , além dos sinais referentes ao ácido 4-(benziloxi)-3-cloro-benzóico, podemos identificar a presença dos hidrogênios provenientes da metoxietilamina, assim como na amida 2b: um multipeto em 3,65-3,61 ppm, com integral para dois hidrogênios, referente ao sinal de H-13, , um multipeto em 3,56-3,54 ppm com integral para dois hidrogênios, referentes a H-14, e, por fim, em 3,39 ppm há um simpleto com integral para 3 hidrogênios, correspondente aos hidrogênios da metila.

No espectro de  $^{13}\text{C}$ , além dos sinais já discutidos presentes no material de partida, o sucesso da reação é confirmado pelos sinais em 71,1 ppm, corresponde ao C-14, em 58,8 ppm o sinal do C-14 e em 39,7 ppm o sinal do C-13. O experimento DEPT, confirma a natureza metilênica dos carbonos em 71,1 ppm e 39,7 ppm, em fase invertida, e metílica de C-14, em fase normal.

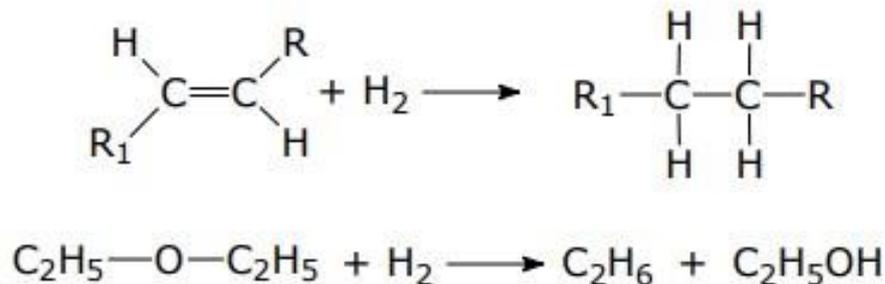
**5.2.4 Síntese das fenol-amidas - etapa de desproteção**

Após a formação das amidas, o grupo protetor benziloxi é removido para então formar as fenol-amidas desprotegidas, com a hidroxila livre. Assim, posteriormente podem ser utilizadas como nucleófilos nas reações de acoplamento com os derivados *N*-benzilpiperidinas para a obtenção de análogos do MB15. Esta reação de desproteção pode ser realizada de diversas formas (SMITH, 2013), porém no presente trabalho foram testadas duas condições reacionais distintas: a hidrogenação catalítica e a desproteção em meio ácido.

### 5.2.4.1 Hidrogenação catalítica

O processo unitário hidrogenação refere-se à adição de hidrogênio molecular ( $H_2$ ) na presença de catalisador em um composto orgânico. Hidrogênio é adicionado a ligações duplas ou triplas em hidrocarbonetos a fim de reduzir ou saturar compostos orgânicos. Se moléculas orgânicas sofrem clivagem de ligações carbono-carbono ou carbono-heteroátomo por hidrogênio, a reação é também chamada de hidrogenólise (**Figura 52**) (SOLOMOS, 2018).

**Figura 52** - Hidrogenação catalítica e hidrogenólise

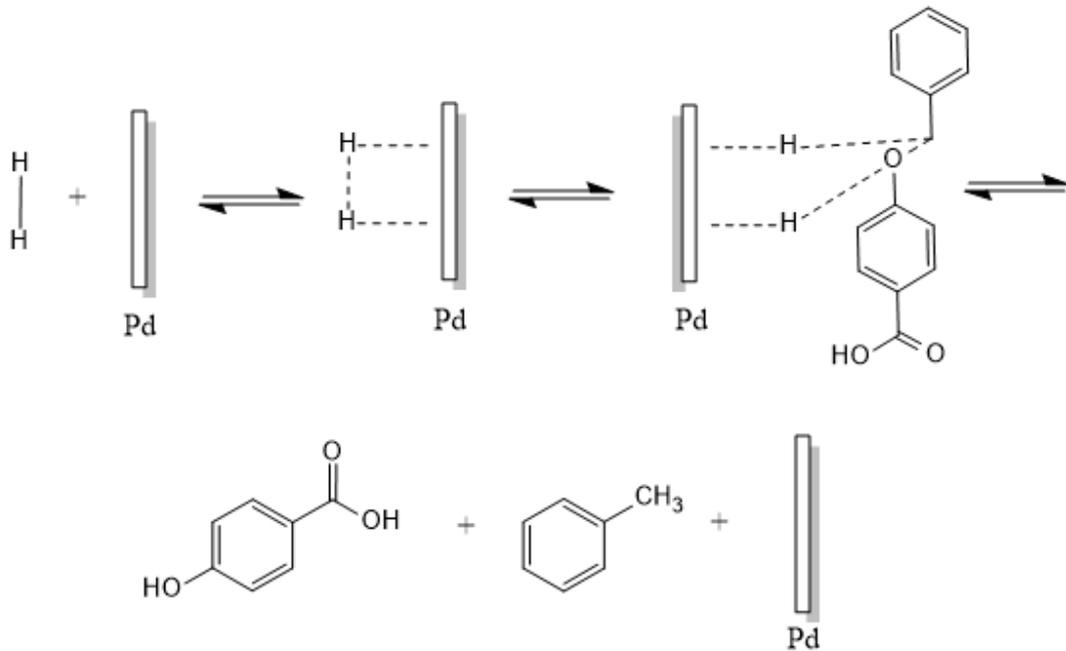


Fonte: (SOLOMOS, 2018)

As hidrogenações são reações exotérmicas e o equilíbrio apresenta-se na maioria das vezes do lado do produto hidrogenado. A velocidade e seletividade da reação é influenciada por vários fatores, incluindo catalisador, solvente, pureza do substrato e condições de reação, como: temperatura, agitação e pressão, sendo esta última determinante (SOLOMOS, 2018).

O catalisador heterogêneo de hidrogenação normalmente contém platina, paládio, níquel ou ródio finamente divididos, depositados sobre uma superfície de carbono finamente dividido (carvão). O gás hidrogênio, introduzido na atmosfera do recipiente de reação, é adsorvido no metal por meio de uma reação química na qual os elétrons desemparelhados na superfície do metal se emparelham com os elétrons do hidrogênio e ligam o hidrogênio à superfície. A colisão da molécula com a superfície contendo o hidrogênio adsorvido também provoca a adsorção da substância a sofrer a redução. Posteriormente, ocorre uma transferência em etapas dos átomos de hidrogênio, geralmente adicionados do mesmo lado da molécula, chamado de adição *sin* (CLAYDEN, 2013). O mecanismo da reação está apresentado na **figura 53**.

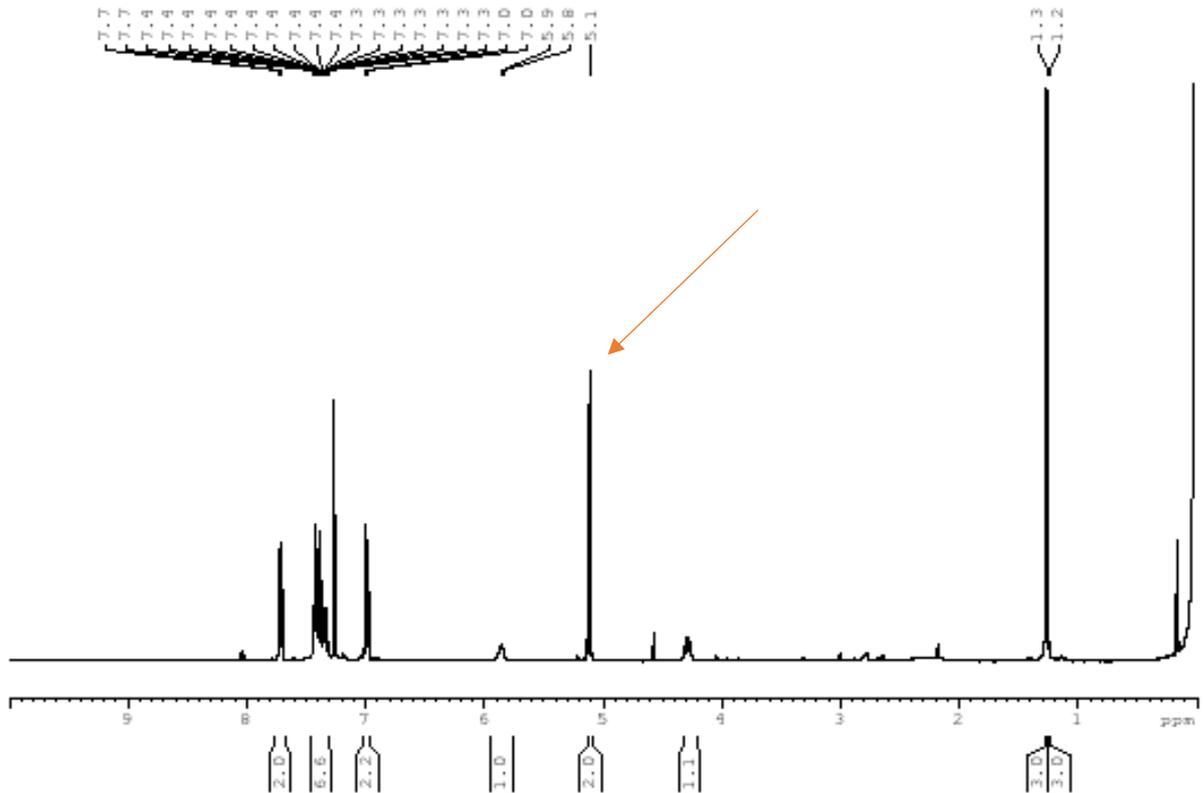
**Figura 53** - Mecanismo de hidrogenação catalítica utilizando paládio como catalisador



Fonte: autoria própria

Para realizar a remoção do grupo protetor, através de hidrogenólise, foram utilizadas 45 mg da 4-(benziloxi)-*N*-isopropilbenzamida, previamente purificada, solubilizada em 5 mL de etanol e adicionou-se 10% de Pd/C. A reação foi mantida em agitação magnética sob atmosfera de H<sub>2</sub> overnight, com o auxílio de uma bexiga de gás acoplada a uma seringa inserida no septo reacional. No dia seguinte, após observar uma nova mancha na CCD, a mistura reacional foi filtrada em uma coluna cromatográfica contendo celite, e posteriormente foi feita a análise de RMN da substância e foi observado que a desproteção não havia ocorrido, pois foi observado que o sinal referente ao hidrogênio e carbono benzílico do grupo protetor ainda estava presente, como discutido (**Figura 54**) (CHESTERMAN *et al.*, 2008).

**Figura 54** - Espectro de  $^1\text{H}$  da amida 3a (primeira tentativa)



Em destaque o sinal referente aos hidrogênios ligados ao carbono benzílico do grupo protetor.

Fonte: autoria própria

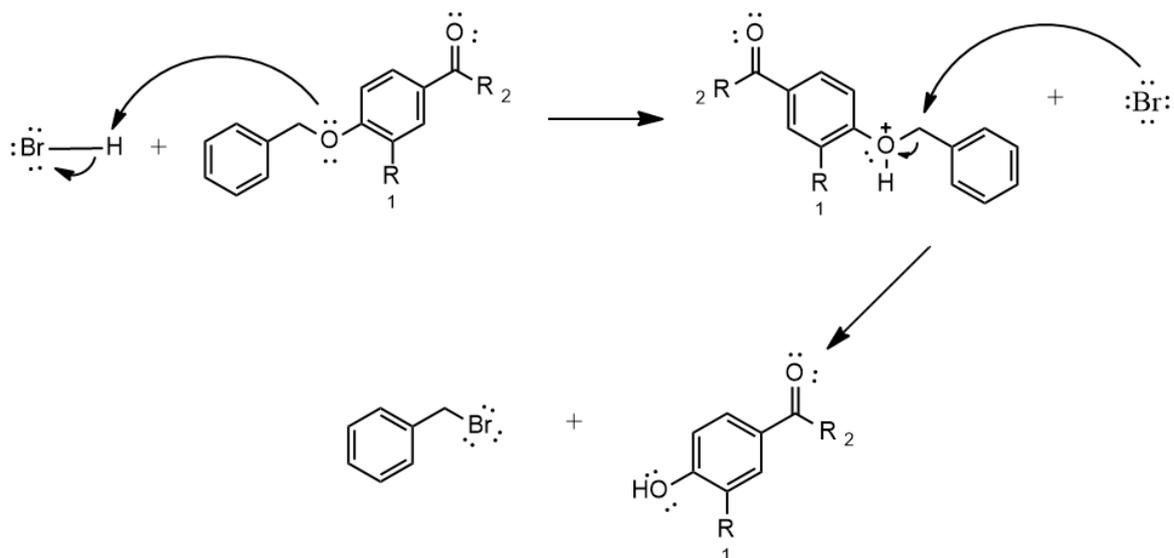
Especula-se que o insucesso da reação seja devido as condições reacionais utilizadas, onde a pressão de  $\text{H}_2$  pode não ter sido suficiente, uma vez que o sistema de atmosfera de hidrogênio feito ter sido falho devido à dificuldade de acesso a este gás, impossibilitando a manutenção deste sistema ao decorrer da reação ou até mesmo de sua utilização em pressões mais elevadas. Ademais, a mancha observada na análise de CCD, por não se tratar da respectiva amida protegida, foi atribuída a contaminação dos demais reagentes, atrapalhando também esta etapa de síntese. Sendo assim, visando buscar outras condições reacionais para a desproteção da hidroxila fenólica, optou-se por outra técnica de desproteção.

#### 5.2.4.2 Desproteção com ácido bromídrico

A remoção do grupo benziloxi na presença de ácido bromídrico converte as benzilamidas nas respectivas fenol-amidas almeçadas através do mecanismo demonstrado na **figura 55** (CLAYDEN *et al.*, 2012).

O oxigênio ligado ao carbono benzílico é protonado na presença de ácido bromídrico, deixando o carbono benzílico mais eletrofílico que sofre em seguida o ataque nucleofílico do bromo, e concomitantemente a ligação carbono e oxigênio se rompe, formando a fenol-amida e o brometo de benzila (GREENE, 2012).

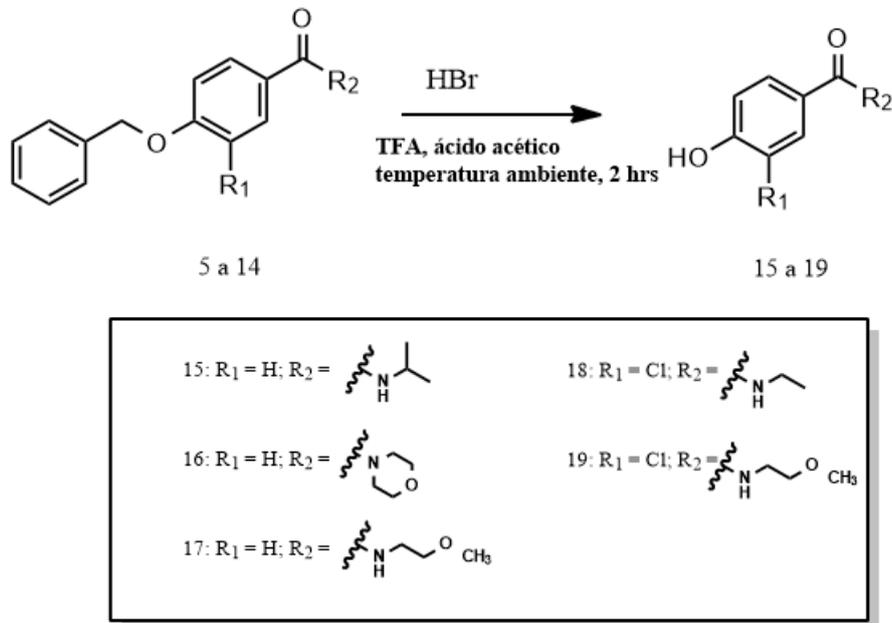
**Figura 55** - Mecanismo proposto da desproteção com ácido bromídrico



Fonte: autoria própria

### 5.2.4.3 Condições reacionais para a etapa de desproteção utilizando ácido bromídrico

Figura 56 - Desproteção da hidroxila fenólica



Fonte: autoria própria

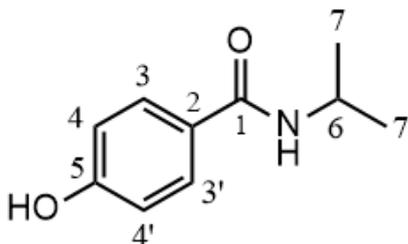
Esta etapa foi feita inicialmente solubilizando a amida benzilada em ácido trifluoroacético (TFA) em banho de gelo, seguida da adição de uma mistura de HBr em ácido acético glacial. Ao observar o consumo do material de partida através de uma CCD foi realizada a elaboração. A princípio, a extração foi feita utilizando somente a água destilada, mas ao fim deste processo notou-se através de uma CCD, que o produto se apresentava impuro. Desse modo, o método foi modificado e dividido em três etapas. Preliminarmente, após transferir o meio reacional para um funil de separação, este foi extraído com água destilada três vezes, a fim de remover os ácidos solúveis em água presentes, os quais foram recolhidos e descartados. Em segundo lugar, foi acrescido a fase orgânica uma solução de KOH, cujo objetivo era desprotonar o fenol das fenol-amidas e carregá-las para a fase aquosa, que foi recolhida, acidificada, protonando o fenolato, voltando a sua forma molecular, e transferida para outro funil de separação. Por fim, a última extração foi feita com acetato de etila, a fase orgânica contendo o fenol foi recolhida, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e o solvente foi removido no rotavapor. Todas as reações feitas seguindo este procedimento tiveram bons rendimentos (HUNSINGER *et al.*, 2012)

Através da análise de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foi possível constatar a obtenção do produto desprotegido pela ausência dos sinais referente aos hidrogênios benzílicos em aproximadamente 5 ppm no espectro de <sup>1</sup>H e seu respectivo carbono no espectro de <sup>13</sup>C em 70

ppm, além da ausência dos sinais dos hidrogênios e carbonos aromáticos do grupo protetor. A caracterização detalhada de cada compostos é relatada a seguir.

### 5.2.5 Caracterização da da 4-hidroxi-*N*-isopropil-benzamida (15)

**Figura 57** - 4-hidroxi-*N*-isopropil-benzamida



(15)

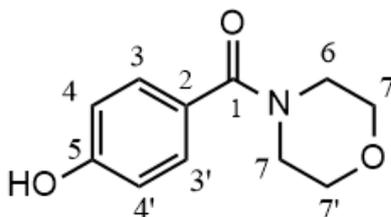
Fonte: autoria própria

Na caracterização desta molécula por ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H, em comparação com o derivado protegido, nota-se a ausência dos sinais aromáticos do grupo protetor, assim como o simpleto com integral para dois hidrogênios em 5,1 ppm, correspondente aos hidrogênios do carbono benzílico. Em contrapartida, aparece um simpleto largo em 10,1 ppm referente ao hidrogênio da hidroxila, com integral para um hidrogênio. O sinal dos hidrogênios aromáticos agora são melhor observados, sendo um duplete com integral para dois hidrogênios em 7,71 ppm (<sup>3</sup>J = 8,92 Hz e <sup>4</sup>J = 2 Hz) dos hidrogênios H-3 e H-3', mais desblindados em relação ao H-4 e H-4', por consequência dos efeitos eletrônicos dos grupos substituintes do anel: uma hidroxila, que orienta a posição *orto* e *para*, por efeito de ressonância, tornando essas posições mais “ricas em elétrons”. Somado a isto há o efeito do grupo amida, retirando densidade eletrônica do anel também por ressonância, favorecendo a posição *meta* à ela, na qual encontra-se os carbonos 4 e 4', mais blindados, cujo sinal aparece também como duplete, com integral para dois hidrogênios em 6,78 ppm (<sup>3</sup>J = 8,92 e <sup>4</sup>J = 2,1). Quanto aos sinais provenientes da isopropilamina, estes são mantidos, sendo um multiplete em 4,10-4,02 ppm, com integral para 1 hidrogênio ligado ao carbono 6 e um duplete em 3,14 alusivo aos seis hidrogênios H-7 e H-7', comprovando que não houve a hidrólise da amida em ambiente drasticamente ácido.

No espectro de  $^{13}\text{C}$ , vale destacar a ausência do sinal em 70 ppm, proveniente do carbono benzílico do grupo protetor. Os sinais de aromáticos são agora quatro, sendo dois hidrogenados, correspondentes a C-3 e C-4. O carbono da carbonila da amida encontra-se em 165,5 ppm. Os demais sinais, do substituinte, advindos da amina utilizada na síntese também são observados em deslocamento químico semelhante ao da amida protegida.

#### 5.2.5.1 Caracterização da 4-hidroxi-fenilmorfolino-metanona (16)

**Figura 58** - 4-hidroxi-fenilmorfolino-metanona

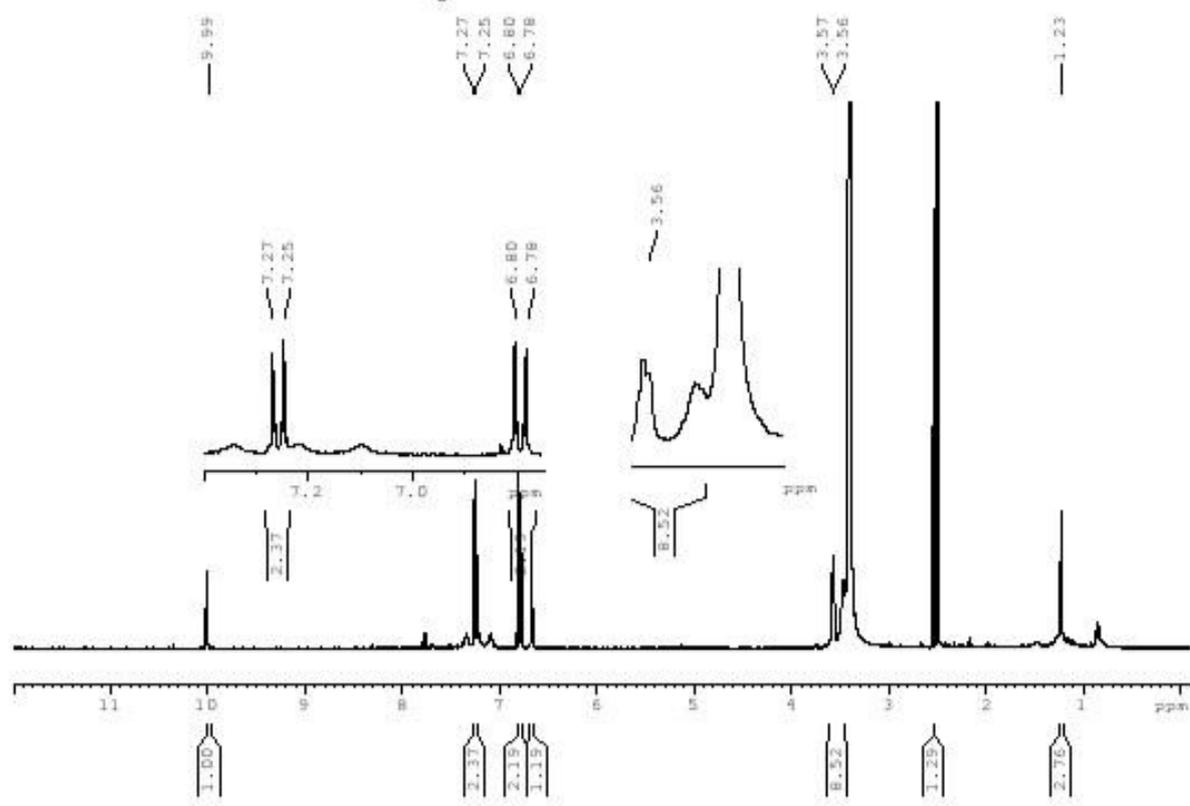


(16)

Fonte: autoria própria

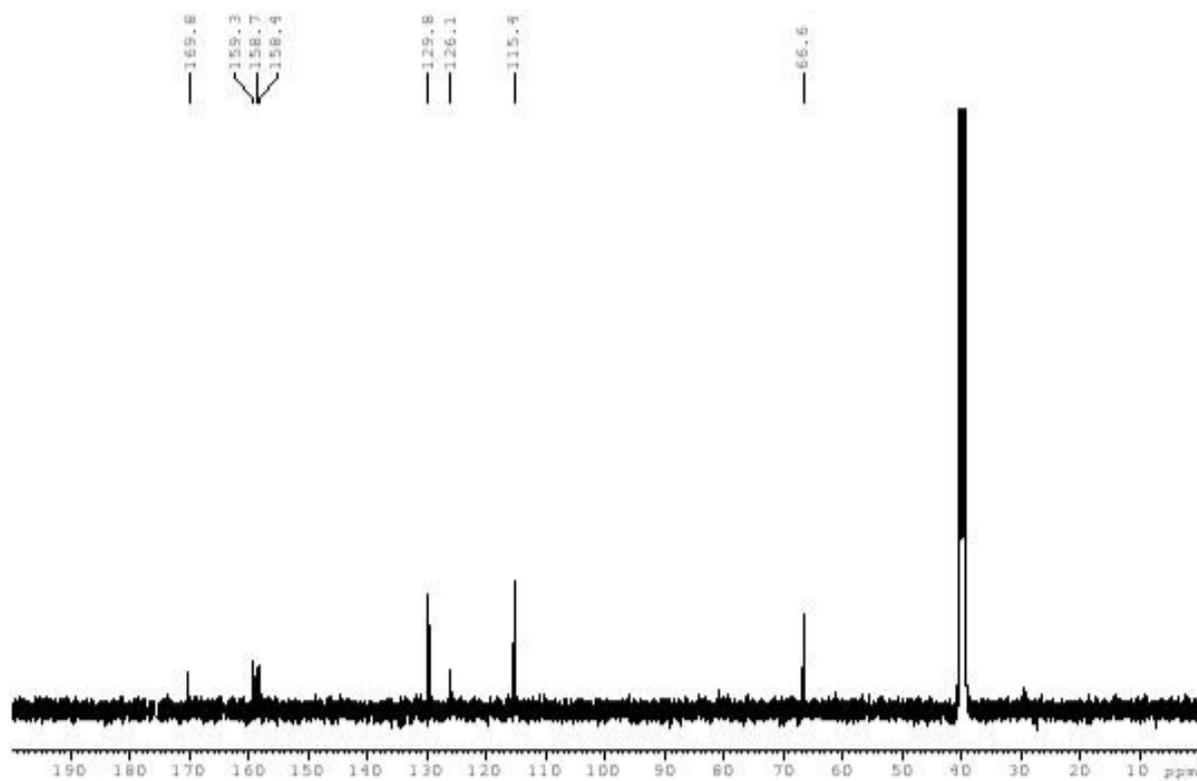
Assim como a molécula anterior, no espectro de  $^1\text{H}$  observa-se um simpleto largo com integral para 1 hidrogênio em 9,99 ppm concernente ao hidrogênio da hidroxila; um duplete com integral para dois hidrogênios em 7,26 ppm dos hidrogênios ligados aos carbonos 3 e 3' ( $^3J = 8,92$  Hz e  $^4J = 2$  Hz); outro duplete em 6,79 ppm com integral para dois hidrogênios, aos quais estão ligados aos carbonos 4 e 4' ( $^3J = 8,92$  e  $^4J = 2,1$ ), mais blindados; e por fim, os sinais referentes ao substituinte anel morfolina aparecem como multiplete compreendido em 3,57-3,14 ppm. Porém, ao integrar este sinal, há uma discrepância entre o número de hidrogênios que tem com o que deveria ter, provavelmente por haver impurezas na amostra. No entanto, ao observar espectro do material de partida (amida protegida) com o espectro do produto formado (amida desprotegida), vê-se que ambos possuem os mesmos sinais, exceto pelos sinais referentes ao grupo benzila em 5 ppm referente ao carbono benzílico do grupo protetor, aos hidrogênios aromáticos, além do sinal em 10 ppm referente ao hidrogênio da hidroxila, confirmando a desproteção (**Figura 58**).

**Figura 59** - Espectro de  $^1\text{H}$  da amida 16

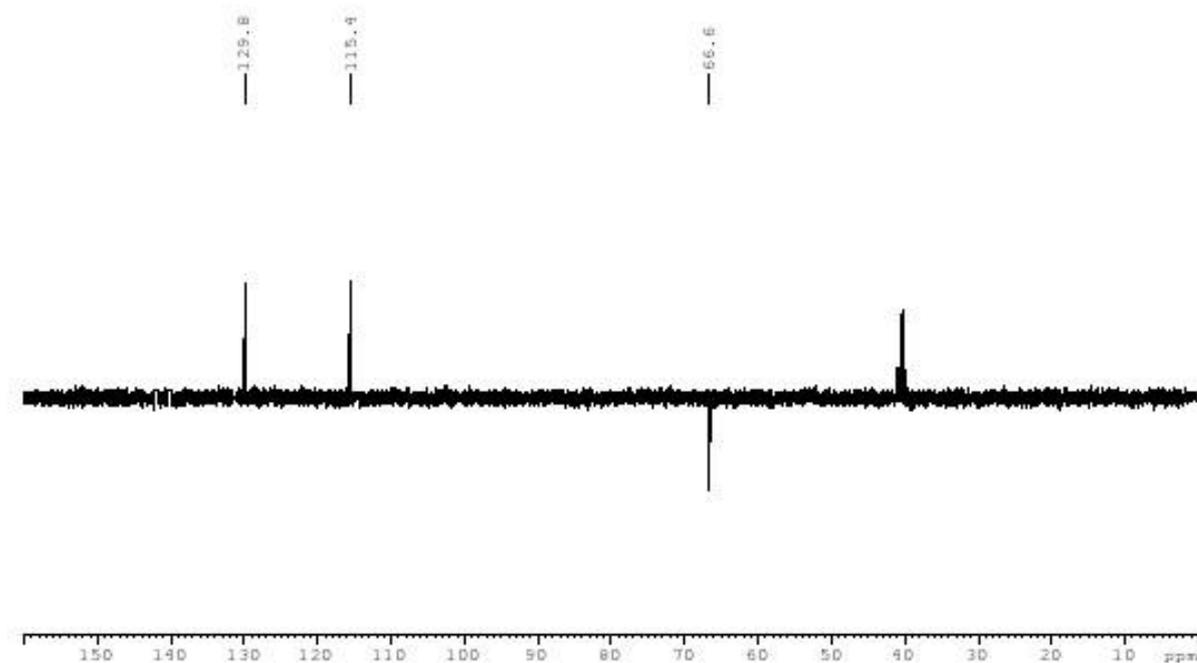


Fonte: autoria própria

No espectro de  $^{13}\text{C}$ , pode-se identificar em 169,8 ppm o sinal do carbono carbonílico da amida e em 66,6 ppm o sinal dos carbonos 7 e 7'. Os carbonos 6 e 6' não foram observados, contudo no experimento do DEPT os carbonos 7 e 7' aparecem em fase invertida (**Figura 59 e 60**).

**Figura 60** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  e DEPT-35 da amida 16

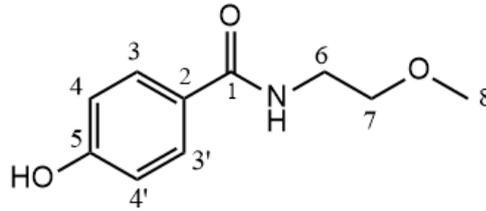
Fonte: autoria própria

**Figura 61** – Subespectro DEPT-35 da amida 16

Fonte: autoria própria

### 5.2.5.2 Caracterização da 4-hidroxi-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida (17)

**Figura 62** - 4-hidroxi-*N*-(2-hidroxi-etil)benzamida

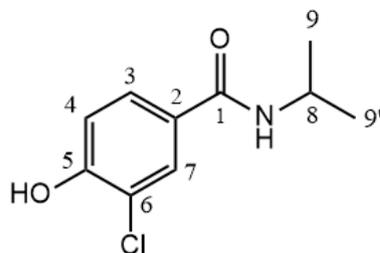


(17)

Fonte: autoria própria

No espectro de  $^1\text{H}$ , os sinais da parte da molécula derivada do ácido-*p*-hidroxibenzóico aparecem como já descrito e, adicionalmente à estes, é possível observar apenas o sinal em 8,28 ppm correspondente ao hidrogênio da amida secundária, no entanto os demais sinais provenientes da 2-metoxi-etilamina, não são vistos claramente, sendo estes, especificamente dos dois tripletos correspondentes ao acoplamento dos hidrogênios ligados ao carbono 6 e 7, provavelmente pela presença de água no  $\text{DMSO-d}_6$ , solvente deuterado utilizado, cujos sinais aparecem no mesmo deslocamento químico. O simpleto referente aos hidrogênios ligados ao carbono 8 aparecem, porém com integral além do esperado, em 3,25 ppm devido aos interferentes não identificados.

Ao analisar o espectro de  $^{13}\text{C}$  é possível observar a presença dos sinais referentes aos carbonos 7 e 8, em 71,1 ppm e 58,4 ppm respectivamente. O sinal em 31,2 ppm, antes atribuído ao carbono 6, refere-se à contaminação com acetona, solvente utilizado para lavar os tubos de RMN. Sendo assim, o carbono 6 não foi observado. O carbono carbonílico da amida não aparece, mas ao analisar o espectro de  $^1\text{H}$  nota-se o sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio, como já mencionado, comprovando a formação da fenol-amida descrita.

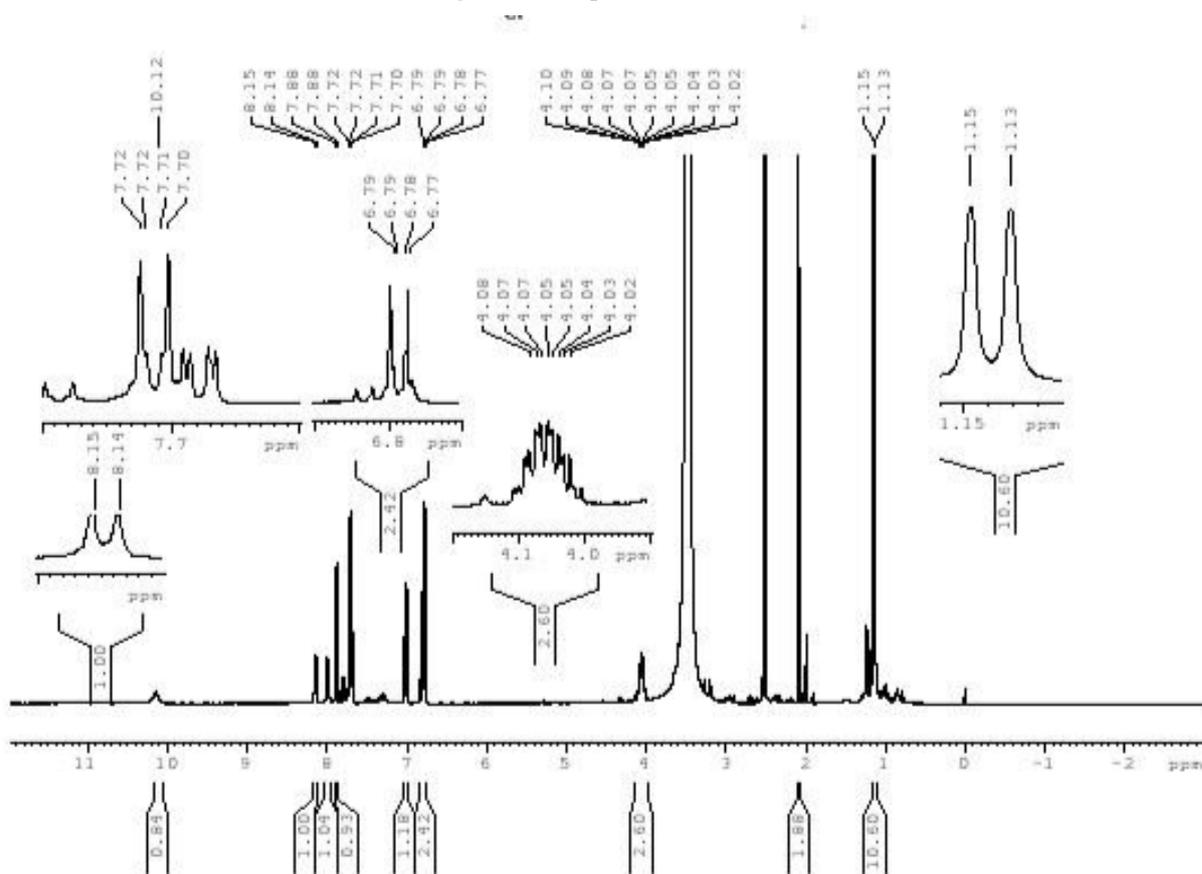
5.2.5.3 Caracterização da 4-hidroxi-*N*-isopropilbenzamida (18)**Figura 63** - 4-hidroxi-*N*-isopropilbenzamida

(18)

Fonte: autoria própria

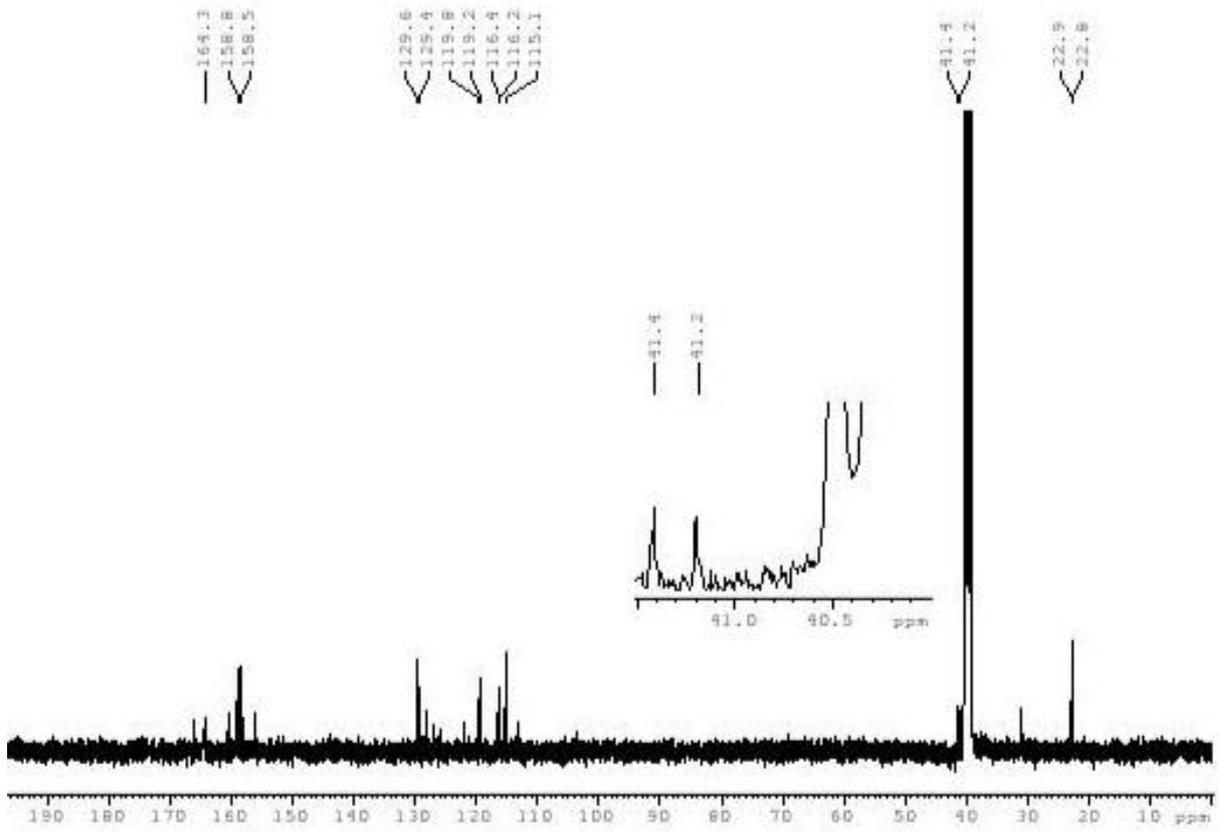
Este produto foi obtido impuro, mas através da análise de seus espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  é possível inferir que o produto tenha sido formado, sendo necessário métodos de purificação adicional. Especula-se que a substância tenha sido formada devido à presença de alguns sinais característicos desta molécula observados. Em 10,12 ppm, no espectro de  $^1\text{H}$ , aparece um simpleto com integral para um hidrogênio que diz respeito ao hidrogênio da hidroxila. Mais à direita do espectro, encontra-se um duplete, em 8,14 ppm, com integral para um hidrogênio, referente ao acoplamento do hidrogênio ligado ao carbono 6 – mais desblindado, devido à orientação que hidroxila e a amida exerce sob o anel aromático, deixando as posições onde se encontra o carbono 3 e 6. Além disso, a posição 6 aparece no espectro mais desblindada que a posição 3 apesar da vizinhança com um orientador *orto* e *para* o que pode ser explicado pelo fato do átomo de cloro ser eletronegativo e retirar densidade eletrônica por efeito indutivo retirador de elétrons - com aquele ligado ao carbono 3, em *meta* ( $^4J = 2\text{ Hz}$ ). Este último tem como sinal um duplo duplete em 7,71 ppm, com integral para um hidrogênio, ao qual acopla em *orto* com o hidrogênio do carbono 4 e em *meta* com o 6 ( $^3J = 8,92$  e  $^4J = 2,1$ ). Mais blindado que os demais hidrogênios do anel aromático, em 6,78 ppm, nota-se um duplete com integral para um hidrogênio, referente ao carbono 4. É visto compreendido entre 4,08-4,02 ppm, um multiplete correspondente ao hidrogênio ligado ao carbono 7, vizinho a duas metilas. Por fim, em 1,14 ppm há um duplete, com integral para 6 hidrogênios, referente aos hidrogênios dos grupos metila provenientes da isopropilamina (**Figura 63**).

Figura 64 - Espectro de  $^1\text{H}$  da 18



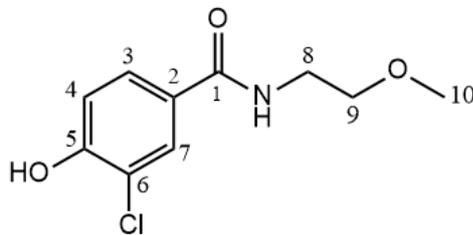
Fonte: autoria própria

No espectro de  $^{13}\text{C}$  vale destacar o sinal do carbono da carbonila da amida em 164,3 ppm (C-1) e os carbonos do substituinte provenientes da amina utilizada na síntese em 41,4 ppm (C-7); 22,9 ppm (C-8); 22,8 ppm (C-8'). Confirmando o sucesso da reação, não é observado em 70 ppm o sinal referente ao carbono benzílico do grupo protetor (**Figura 64**).

**Figura 65** - Espectro de  $^{13}\text{C}$  da amida 18

Fonte: autoria própria

#### 5.2.5.4 Caracterização da 3-cloro-4-hidroxi-*N*-(2-hidroxietil)benzamida (19)

**Figura 66** - 3-cloro-4-hidroxi-*N*-(2-hidroxietil)benzamida

(19)

Fonte: autoria própria

Ao se analisar o espectro de  $^1\text{H}$ , não é possível observar os sinais do hidrogênio da hidroxila, no entanto, os demais sinais, semelhantes a molécula anterior aparecem, sendo estes: um duplete em 7,83 ppm referente aos hidrogênios ligados ao carbono 6 ( $^4J = 2$  Hz); um duplo

duplete em 7,60 ppm correspondendo àqueles ligados ao carbono 3 (dd;1H; H-3,  $^3J= 8,92$  e  $^4J= 2,1$ ) e em 7,05 ppm um duplete, sinal dos hidrogênios mais blindados, aos quais estão ligados ao carbono 4. Em relação aos sinais dos hidrogênios oriundos da 2-metoxietilamina, em 3,65-3,62 ppm há um multiplete, com integral para dois hidrogênios, os dois ligados ao carbono 7, mais desblindados por estar diretamente ligado ao oxigênio e a uma distância de duas ligações do nitrogênio, átomos eletronegativos que retiram densidade eletrônica. Mais blindado, inverso à situação anterior, há o sinal dos hidrogênios ligado ao carbono 6, um multiplete com integral para dois hidrogênios, e por último um simpleto em 3,40 ppm, com integral para três hidrogênios referentes aos hidrogênios do grupo metila.

No espectro de  $^{13}\text{C}$  os sinais dos carbonos aromáticos já descritos aparecem e os sinais do substituinte também são observados. Em 71,2 ppm vê-se o sinal alusivo ao carbono 8, e ao contrário do espectro de  $^1\text{H}$ , aparece mais desblindado, em 58,4 ppm o sinal do carbono 9, que no dept aparece em fase normal e mais à direita, em 39,8 ppm, o sinal do carbono 7, cujo sinal no DEPT aparece invertido, comprovando ser um carbono metilênico.

Através dos métodos de análise orgânica das substâncias mencionadas, foi possível confirmar o sucesso das reações, resultando na obtenção de 11 amidas protegidas e 5 amidas desprotegidas, e destas, 3 apresentam-se puras, conforme os métodos padronizados citados. No entanto, algumas fenol-amidas apresentaram impurezas, conforme evidenciado pelos espectros de RMN, não sendo realizada nenhuma purificação adicional, em função do tempo e falta momentânea de alguns recursos. Dessa forma, torna-se necessário realizar a purificação dessas substâncias por meio de Cromatografia em Coluna de sílica (CCS), para que possam ser acopladas posteriormente com os derivados benzilpiperidinas que estão sendo sintetizados em um projeto paralelo.

Apesar do número reduzido de fenol-amidas obtidas, essas possuem o potencial de originar uma variedade de compostos, devido às várias possibilidades de acoplamento com os derivados benzilpiperidinas. Por exemplo, o acoplamento de cinco fenol-amidas com dois derivados pode gerar dez compostos distintos, e esse número aumenta conforme mais derivados são introduzidos. Isso reflete a convergência planejada entre as rotas sintéticas.

## 6 CONCLUSÃO

Neste trabalho de conclusão de curso, foram realizados com sucesso experimentos para a síntese de intermediários-chave, especificamente fenol-amidas, visando a obtenção de análogos do MB15, um composto com atividade promissora contra a cruzafina. No total, nove amidas foram sintetizadas a partir de diferentes ácidos e aminas, e, após as reações de desproteção, foram obtidas três fenol-amidas puras. O projeto foi fundamental para padronizar as reações, abrindo caminho para a produção de mais intermediários-chave no futuro.

Além disso, a natureza combinatória das reações de acoplamento sugere que, mesmo com a quantidade inicial limitada de fenol-amidas, há um grande potencial para gerar uma ampla variedade de compostos e análogos do MB15, que futuramente poderão ser testados em ensaios *in vivo* e *in vitro* contra a o *T. cruzi*. O trabalho realizado não apenas fortalece a base para estudos subsequentes, mas também traz esperança na luta contra essa doença, promovendo inovações no desenvolvimento de terapias mais eficazes.

## REFERÊNCIAS

ANG, K. K. H. *et al.* Mining a Cathepsin Inhibitor Library for New Antiparasitic Drug Leads. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 5, p. e1023, 3 maio 2011.

**Axios Research**. Disponível em: <<https://www.axios-research.com/>>. Acesso em: 3 out. 2023.

BERMUDEZ, J. *et al.* Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. **Acta Tropica**, v. 156, p. 1–16, abr. 2016.

BONNEY, K. M. Chagas disease in the 21st Century: a public health success or an emerging threat? **Parasite**, v. 21, p. 11, 2014.

BRAGA, S. F. P. *et al.* Synthesis and biological evaluation of potential inhibitors of the cysteine proteases cruzain and rhodesain designed by molecular simplification. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 6, p. 1889–1900, mar. 2017.

BRAK, K. *et al.* Identification of a New Class of Nonpeptidic Inhibitors of Cruzain. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 20, p. 6404–6410, 25 abr. 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde, 2024. **Doença de Chagas**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas>>. Acesso em 20 de abril de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde, 2000. **Doenças Infeciosas e Parasitárias Doenças Infeciosas e Parasitárias**, 2ª Edição Revisada e Ampliada. Disponível em: <[https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/GBDIP001\\_total.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/GBDIP001_total.pdf)>. Acesso em 20 de abril de 2023.

BRASIL, **Ministério da Saúde**. Portaria nº 57, de 30 de outubro de 2018. Disponível em: <[https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/pcdt/arquivos/2018/pcdt\\_doenca\\_de\\_chagas.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/pcdt/arquivos/2018/pcdt_doenca_de_chagas.pdf)>. Acesso em: 15 de abril de 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 55, n. 8, 16 abr. 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-08.pdf>>. Acesso em 20 de abril de 2023.

CAFFREY, C. R. *et al.* Active site mapping, biochemical properties and subcellular localization of rhodesain, the major cysteine protease of *Trypanosoma brucei* rhodesiense. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 118, n. 1, p. 61–73, 1 nov. 2001.

**Chagas, doença invisível, população negligenciada.** Médicos Sem Fronteiras. Disponível em: <<https://www.msf.org.br/noticias/chagas-doenca-invisivel-populacao-negligenciada/>>. Acesso em 10 de abril de 2023.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**, Oxford University Press, 2001.

CLARKE, E. *et al.* Design and synthesis of a potent, highly selective, orally bioavailable, retinoic acid receptor alpha agonist. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 4, p. 798–814, 9 dez. 2017.

CONNERS, E. E. *et al.* A global systematic review of Chagas disease prevalence among migrants. **Acta Tropica**, v. 156, p. 68–78, abr. 2016.

DNDi. **DNDi Chagas Disease Fact-sheet**. 2018. Disponível em: <[https://www.dndi.org/wp-content/uploads/2017/08/Factsheet\\_2016\\_Chagas.pdf](https://www.dndi.org/wp-content/uploads/2017/08/Factsheet_2016_Chagas.pdf)>. Acesso em: 08 nov. 2022.

DNDi. **Plataforma Pesquisa Clínica Doença Chagas: Informativo 11**. Disponível em: <https://dndi.org/wp-content/uploads/2021/10/PlataformaPesquisaClinicaDoencaChagas-Informativo11-PT-2021.pdf>. Acesso em: 02 set 2024.

ETTARI, R. *et al.* Inhibition of Rhodesain as a Novel Therapeutic Modality for Human African Trypanosomiasis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5637–5658, 7 maio 2013.

FIOCRUZ. **Ciclo Evolutivo – Portal da Doença de Chagas**. Disponível em: <<https://chagas.fiocruz.br/parasita/ciclo-evolutivo/>>. Acesso em 10 de abril de 2023.

FIOSCRUZ. **Tratamento da Doença de Chagas**. Disponível em: <https://chagas.fiocruz.br/pessoas-afetadas/tratamento-2/>. Acesso em: 02 set 2024.

GREENE, T. W.; WUTS, P. G. M. **Greene's Protective Groups in Organic Synthesis**. 4th ed John Wiley & Sons, 2006.

HUNSINGER, J.; HUNSINGER, K.; BENSIMON, C. Efficient Removal of Ethers Using Hydrobromic Acid. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(6), 263–266. DOI: 10.1021/ja3030512.

KAISER, M. *et al.* Repurposing of the Open Access Malaria Box for Kinetoplastid Diseases Identifies Novel Active Scaffolds against Trypanosomatids. *Journal of Biomolecular Screening*, v. 20, n. 5, p. 634–645, 17 fev. 2015.

MANUAIS MSD. **Considerações gerais sobre infecções parasitárias.** Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt/casa/infecções/infecções-parasitárias-considerações-gerais/considerações-gerais-sobre-infecções-parasitárias>>. Acesso em 03 nov. 2022.

MANUAIS MSD. **Doença do sono africana.** Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt/casa/infecções/infecções-parasitárias-protozoários-extraintestinais/doença-do-sono-africana>>. Acesso em 03 nov. 2022.

MAXIMIANO, F. P. *et al.* Caracterização físico-química do fármaco antichagásico benznidazol. *Química Nova*, v. 33, n. 8, p. 1714–1719, 2010.

MCKERROW, J. *et al.* Two approaches to discovering and developing new drugs for Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, n. suppl 1, p. 263–269, jul. 2009.

MONTALBETTI, C. A. G. N.; FALQUE, V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron*, v. 61, n. 46, p. 10827–10852, nov. 2005.

MONTGOMERY, S. P. *et al.* Neglected Parasitic Infections in the United States: Chagas Disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 90, n. 5, p. 814–818, 7 maio 2014.

OLIVEIRA, A. J. M. S. **Amidas derivadas do ácido vanílico: reações de acoplamento e bioatividade.** Dissertação de Mestrado - Universidade Federal Da Paraíba. João Pessoa, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/13651/1/Arquivototal.pdf>>. Acesso em 03 nov. 2022.

PASCHOALETTE, T.; DENISE BARGUIL NEPOMUCENO. **Doenças infecciosas e parasitárias no contexto brasileiro – Volume 4.** [s.l.] Amplla Editora, 2023.

PEREIRA, N. *et al.* Discovery and characterization of trypanocidal cysteine protease inhibitors from the “malaria box”. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 179, p. 765–778, 1 out. 2019.

PORTO, Celmo Celeno; PORTO, Arnaldo Lemos. **Exame clínico: Porto & Porto**. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2017.

RISHTON, G. M. Nonleadlikeness and leadlikeness in biochemical screening. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 2, p. 86–96, jan. 2003.

ROCHA, D. A. *et al.* Synthesis and structure-activity relationship studies of cruzain and rhodesain inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 1426–1459, 5 set. 2018.

SALOMÃO, Reinaldo. **Infectologia: Bases Clínicas e Tratamento**. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023. *E-book*. p.Capa. ISBN 9788527739849. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788527739849/>. Acesso em: 07 out. 2023.

SMITH, M. B. **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. 7th ed. Wiley, 2013.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNOLOGIA. **Aspectos recentes da Doença de Chagas e da patogenia e alvos terapêuticos da cardiopatia chagásica crônica**. Disponível em: <https://sbi.org.br/sblogi/aspectos-recentes-da-doenca-de-chagas-e-da-patogenia-e-alvos-terapeuticos-da-cardiopatia-chagasica-cronica/>. Acesso em: 02 set 2024.

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C. B.; SNYDER, S. A. **Organic Chemistry**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2016.

WHO. **Chagas disease (American trypanosomiasis) - fact sheet**. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/documents/chagas-disease-fact-sheet-\(portuguese-pdf\).pdf?sfvrsn=64375240\\_4](https://www.who.int/docs/default-source/documents/chagas-disease-fact-sheet-(portuguese-pdf).pdf?sfvrsn=64375240_4). Acesso em: 02 set 2024.

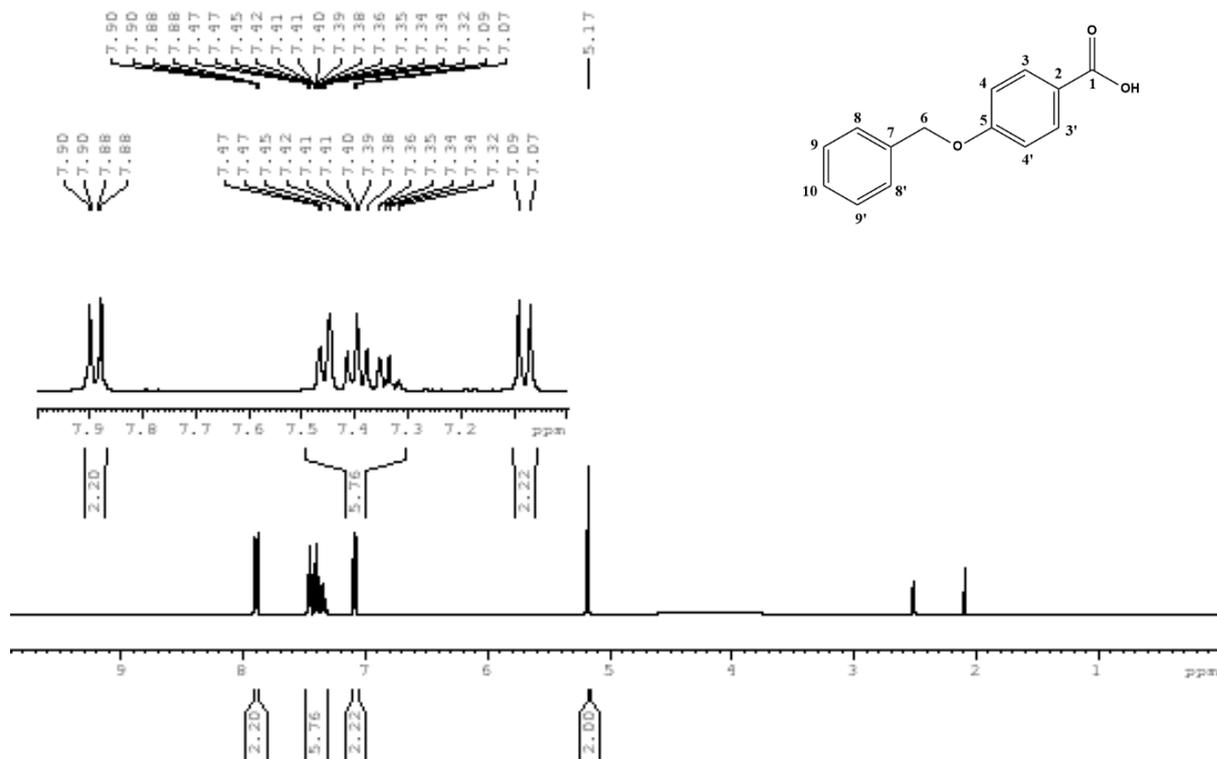
WHO. **World Health Organization Weekly epidemiological record**, n. 90, p. 33-40, 2015a.

WHO, Third WHO report on neglected tropical diseases. HOLMES, P. Geneva: World Health Organization: 191 p. 2015b.

WOODHEAD, A. J. *et al.* **Discovery of (2,4-Dihydroxy-5-isopropylphenyl)-[5-(4-methylpiperazin-1-ylmethyl)-1,3-dihydroisoindol-2-yl]methanone (AT13387), a Novel Inhibitor of the Molecular Chaperone Hsp90 by Fragment Based Drug Design.** v. 53, n. 16, p. 5956–5969, 28 jul. 2010.

## APÊNDICE A - ESPECTROS RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}$ DAS SUBSTÂNCIAS SINTETIZADAS

Figura A.1 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 3 ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



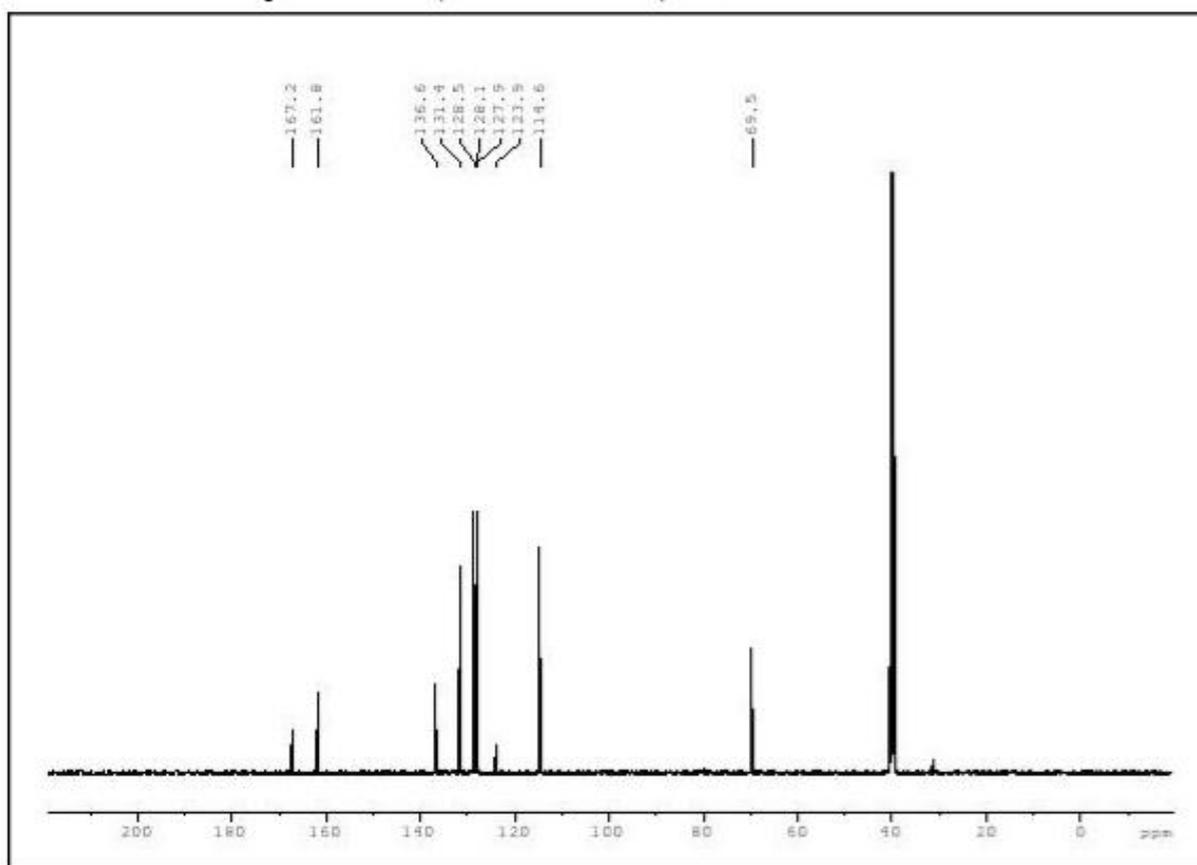
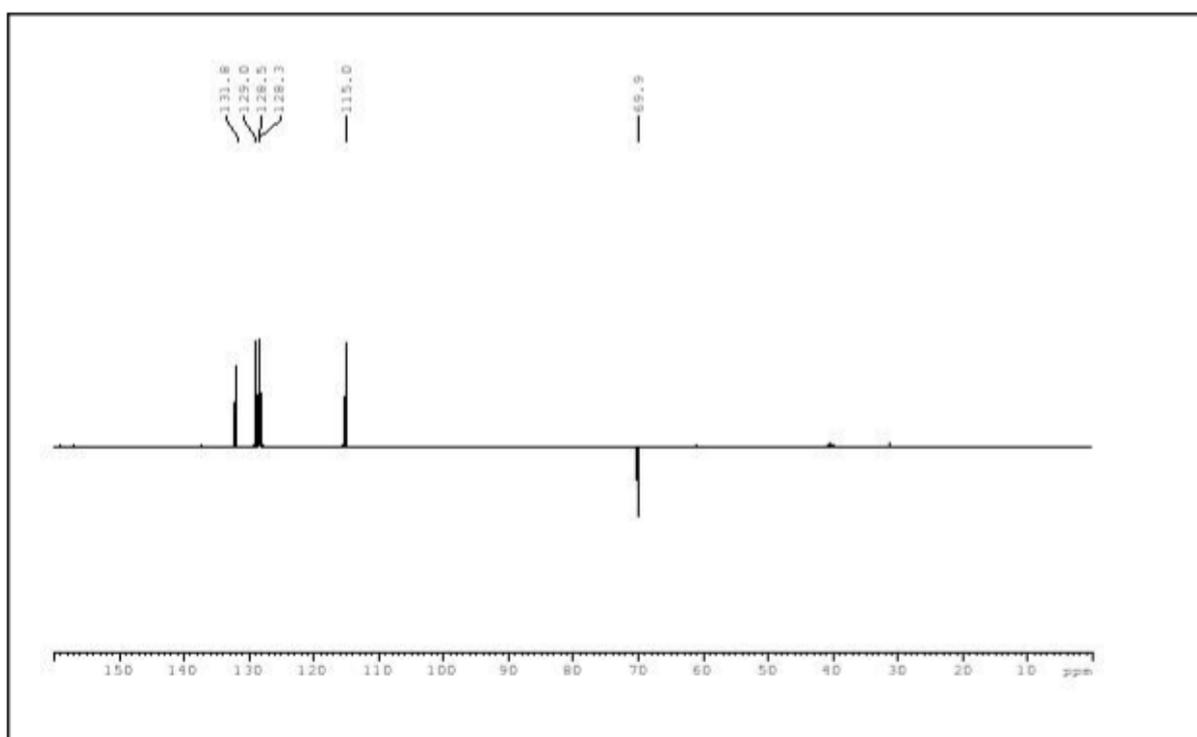
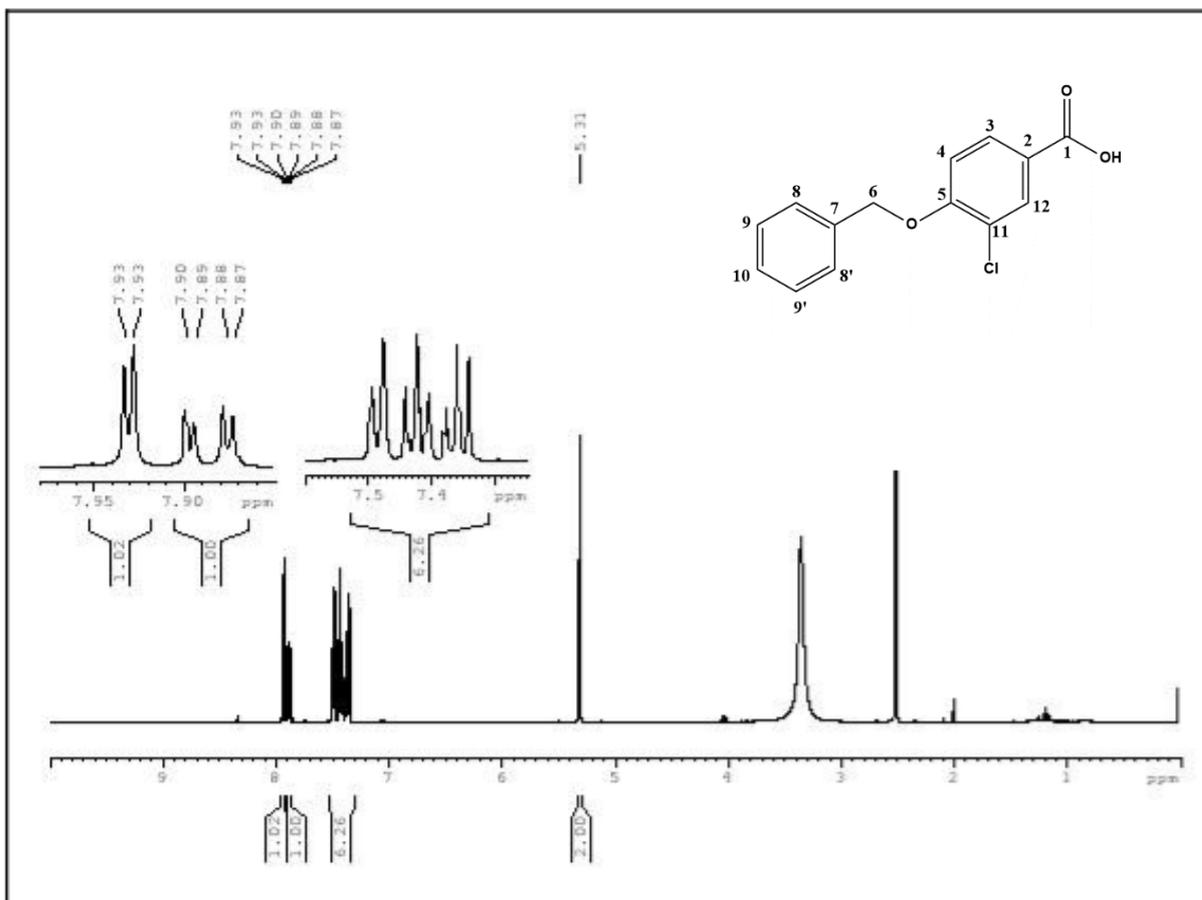
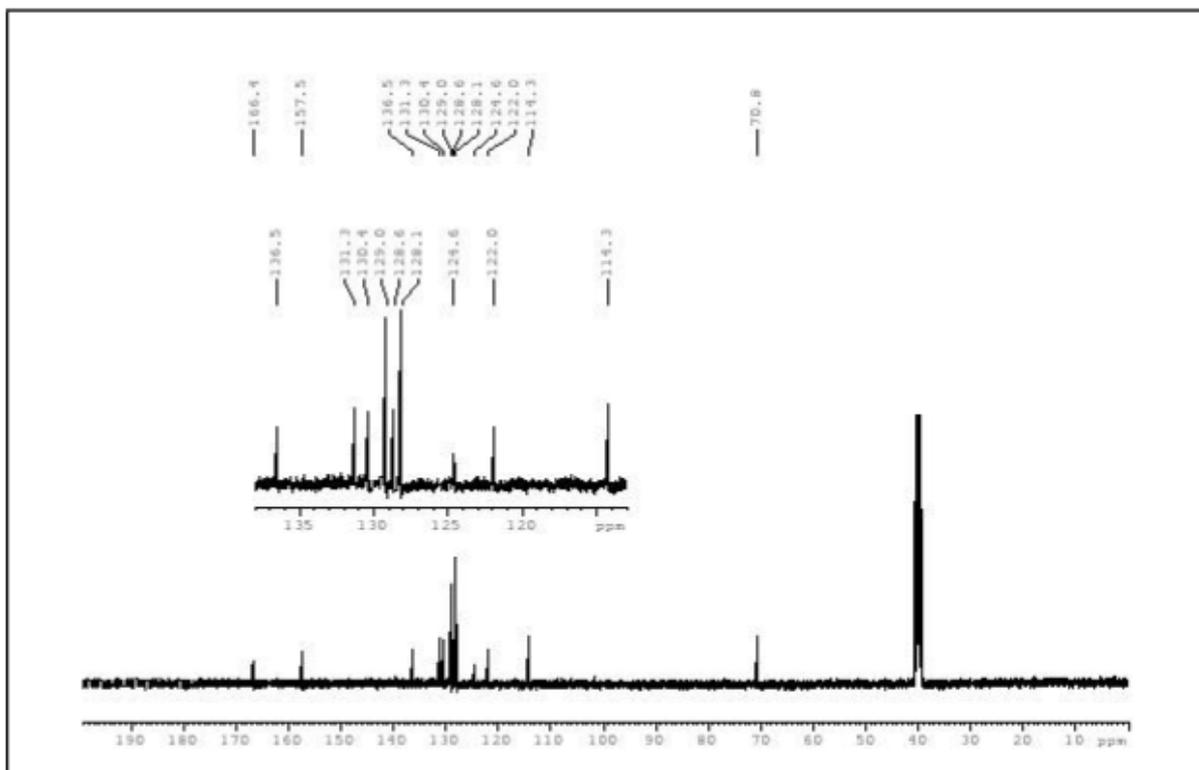
1.2. Espectro de  $^{13}\text{C}$  de 3 ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)1.3 Subespectro de DEPT-135 de 3 ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)

Figura A.2 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 4 (DMSO $_d$ 6, 400 MHz).2.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  (DMSO $_d$ 6, 100 MHz).2.3 Subespectro de DEPT-135 (DMSO $_d$ 6, 100 MHz)

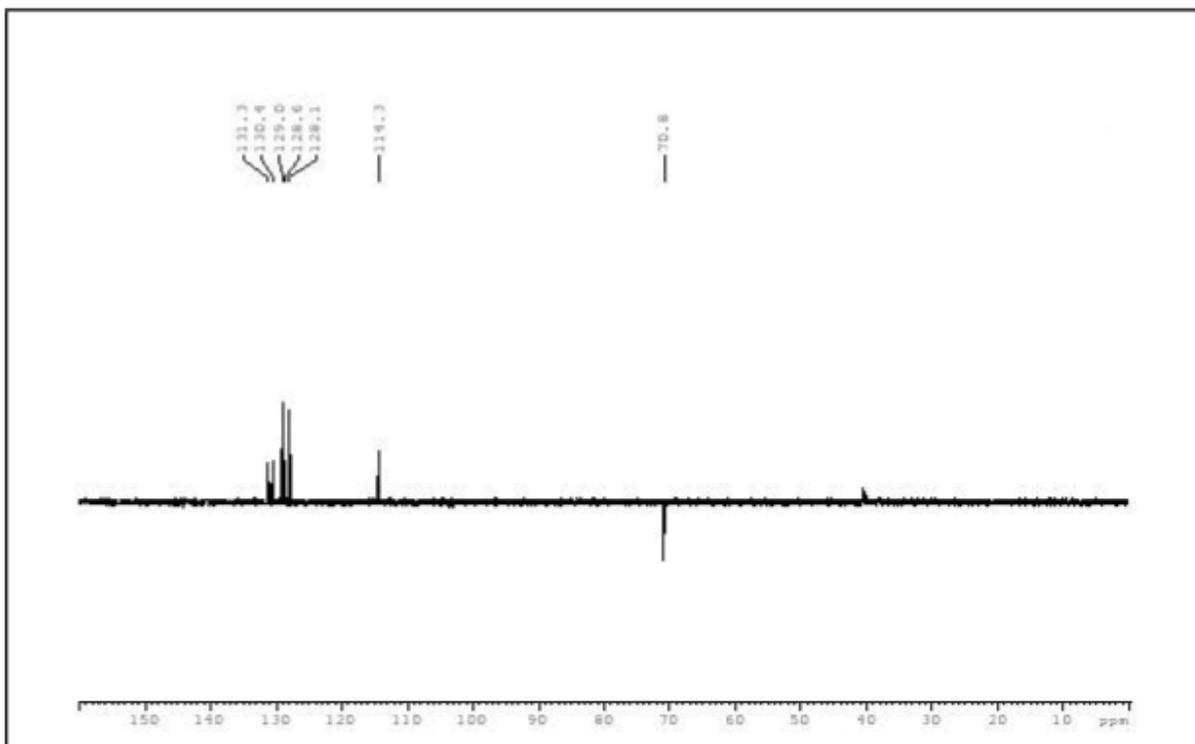
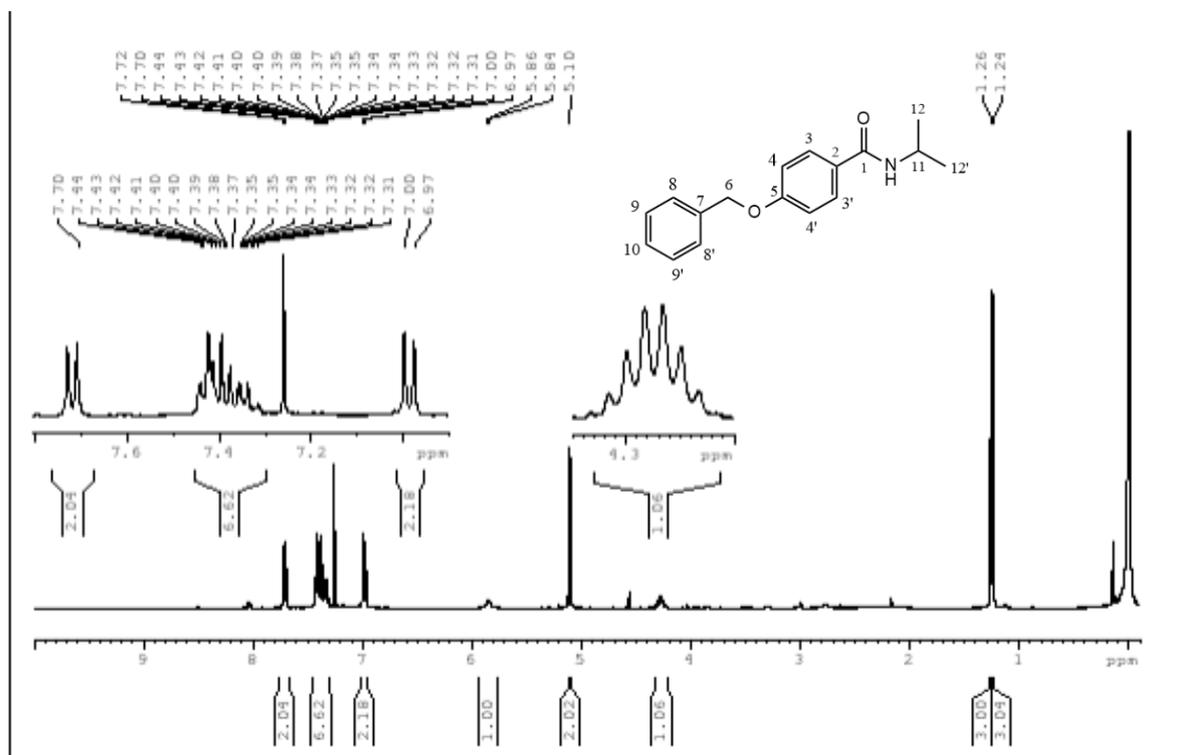
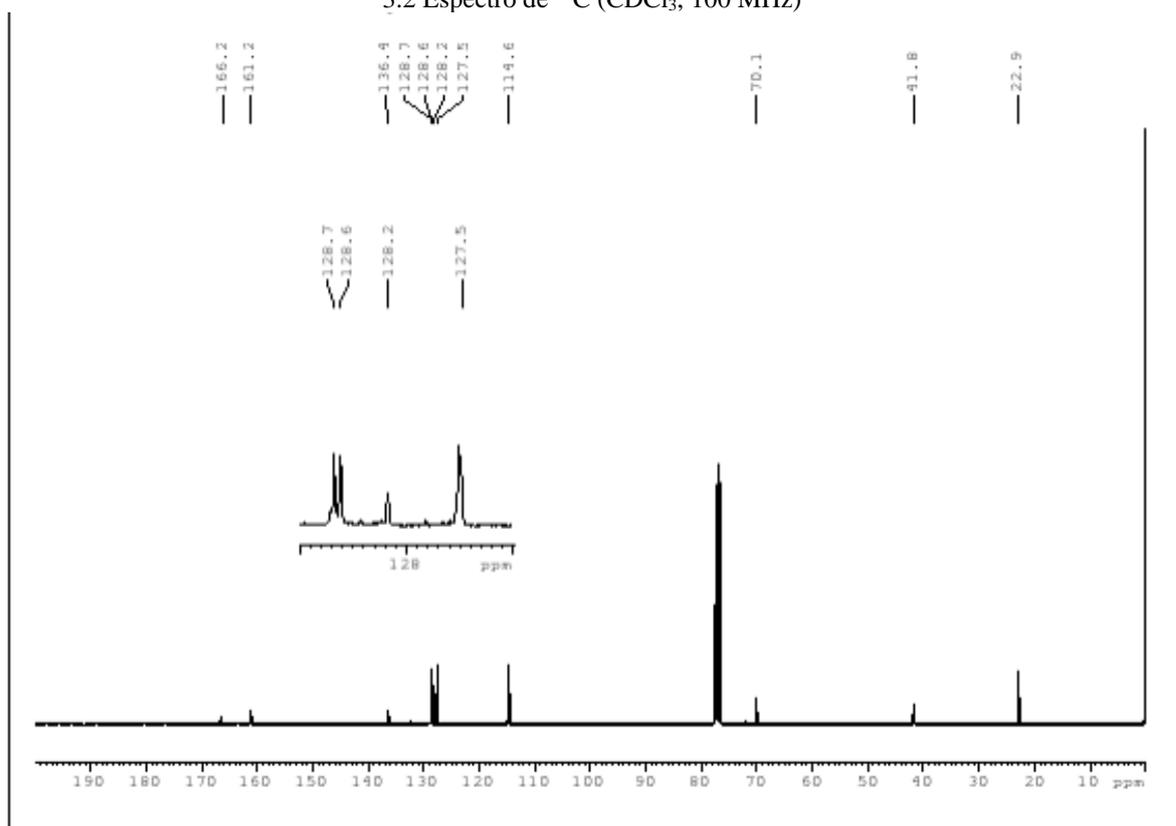
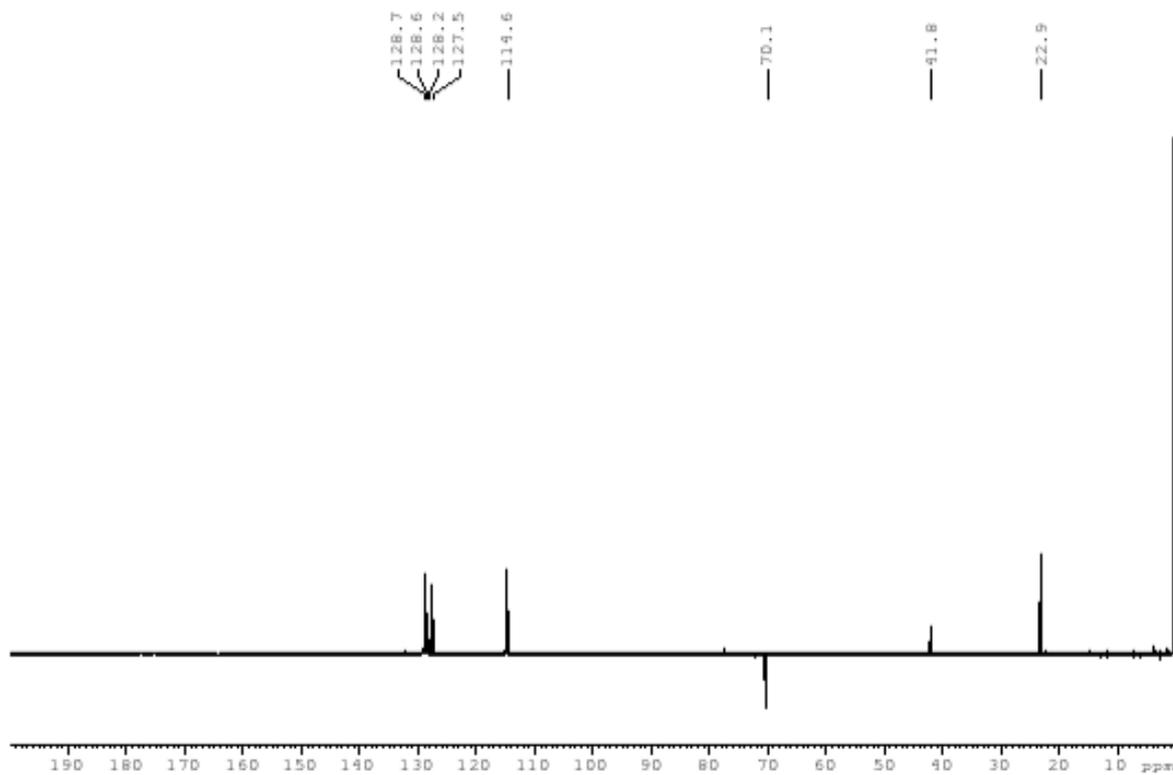
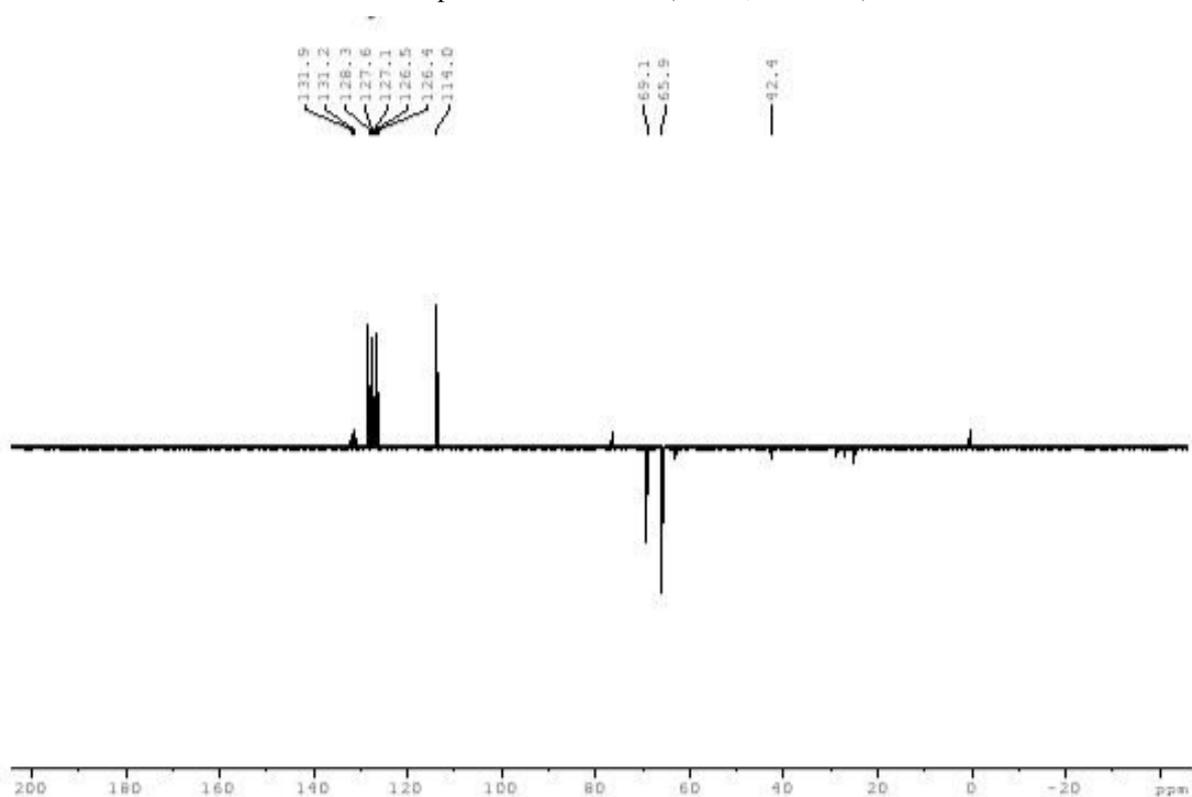
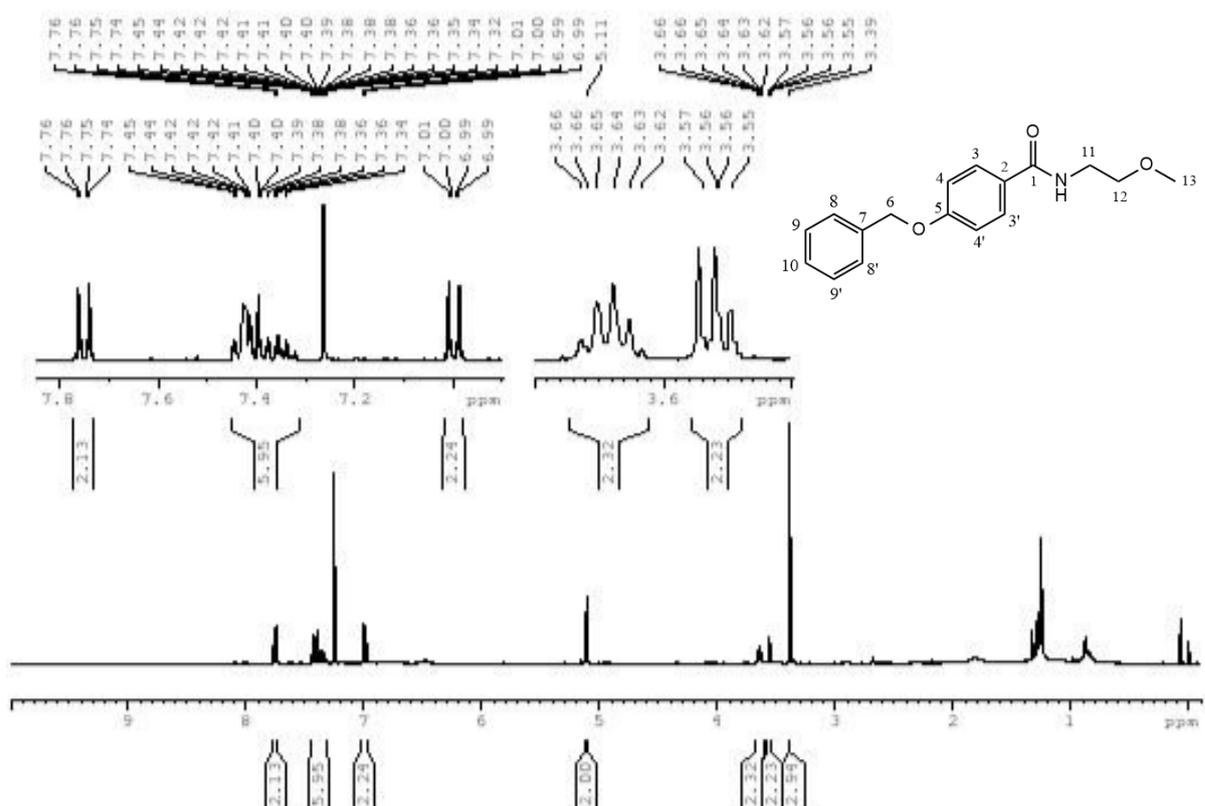


Figura A.3 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 5 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).



3.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)3.3 Subespectro de DEPT-135 ( $\text{DMSO-d}_6$ , 100 MHz)



4.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)Figura A.5 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 7 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)

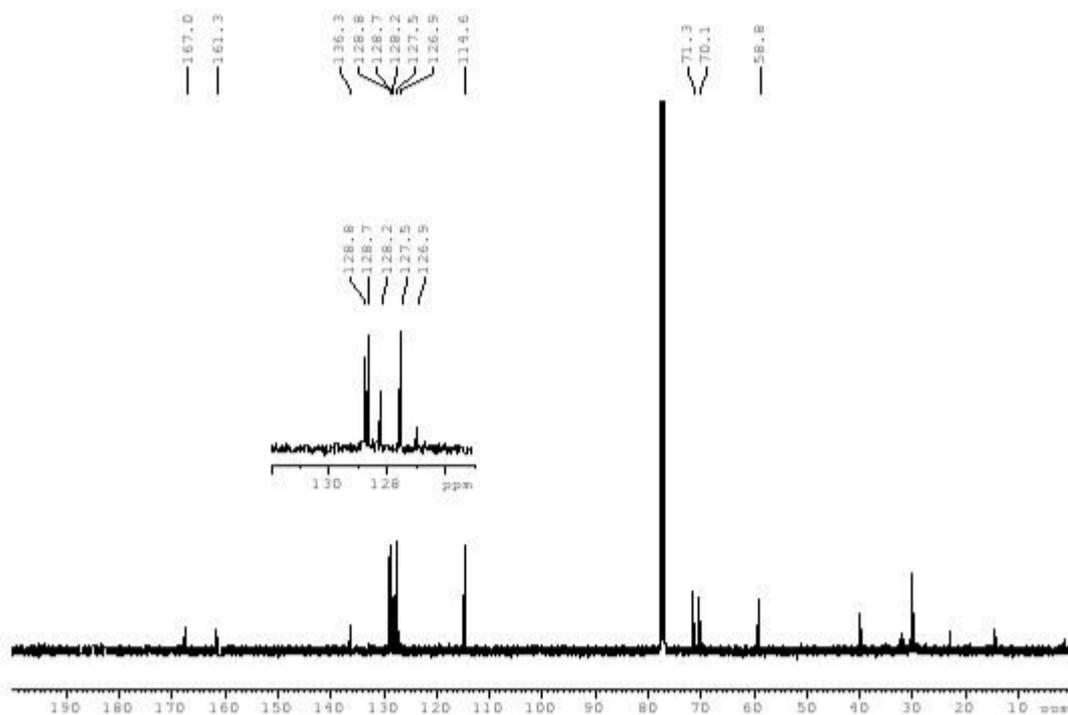
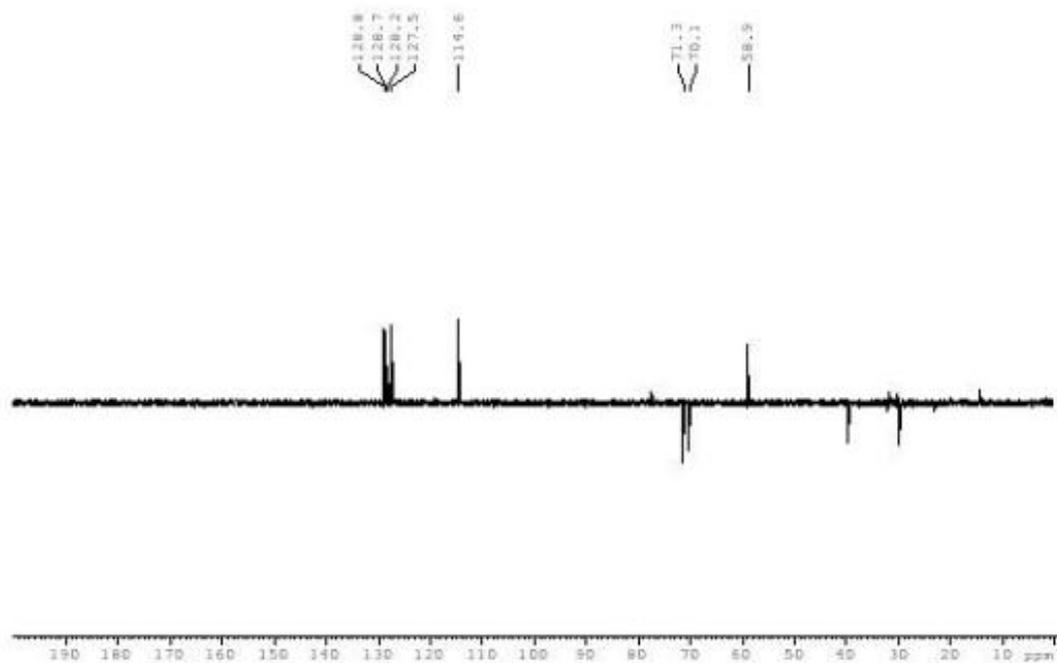
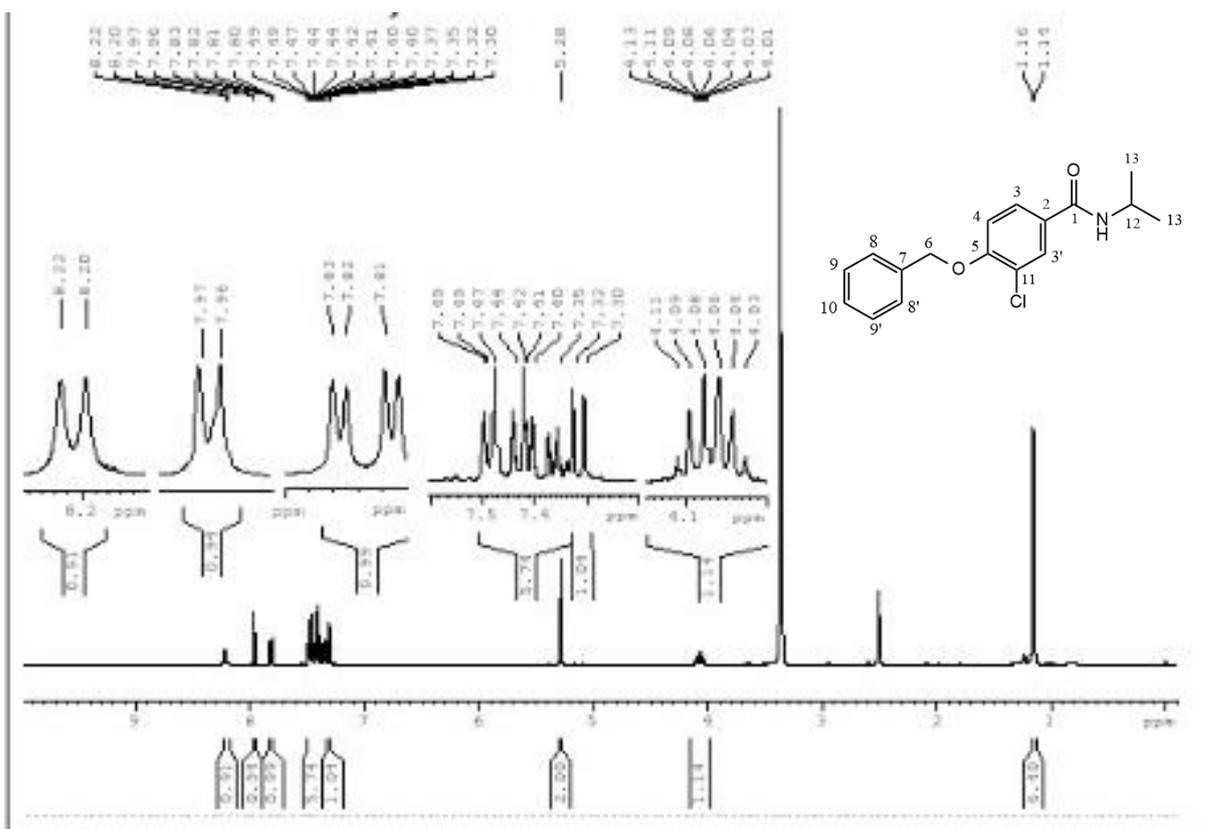
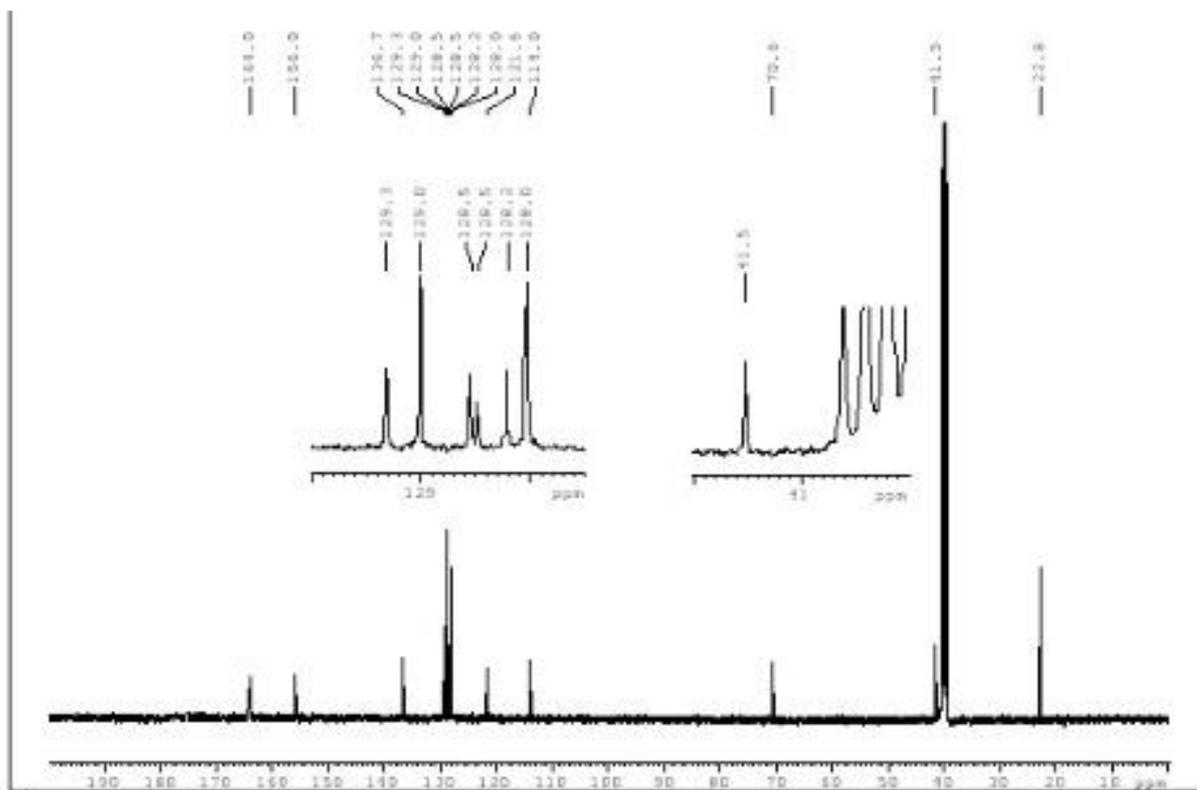
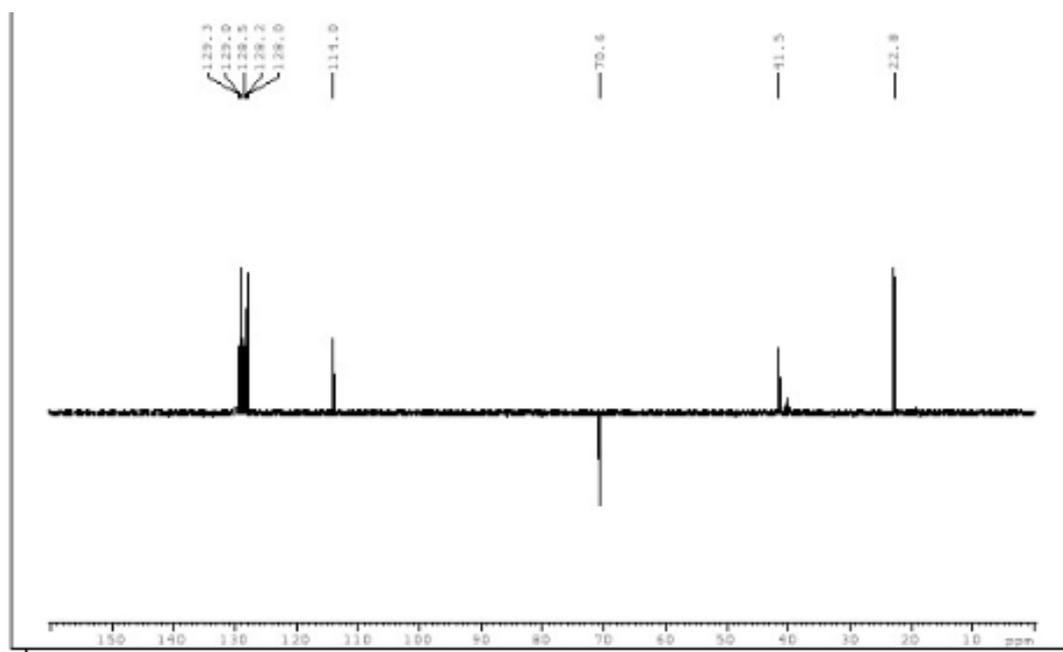
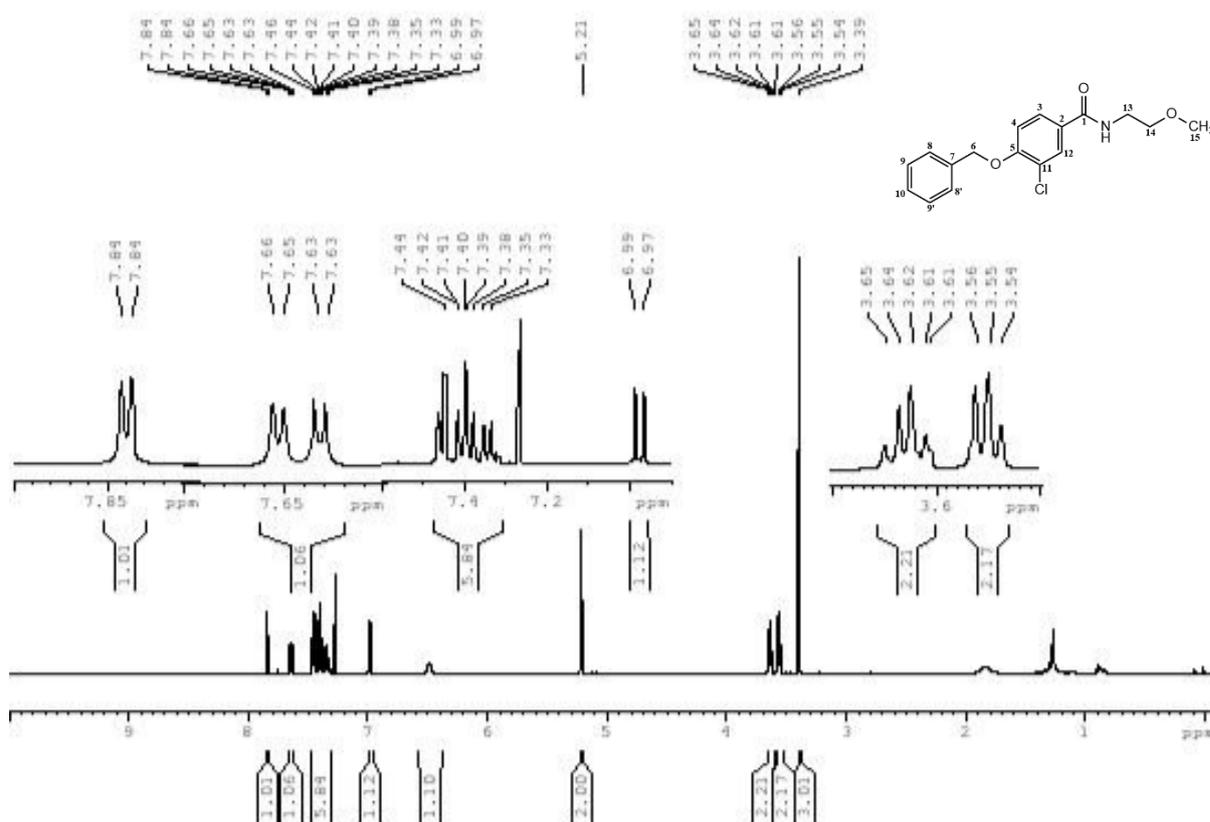
5.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)5.3 Subespectro de DEPT-135 ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)

Figura A.6 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 8 (DMSO<sub>6</sub>, 400 MHz).6.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  (DMSO<sub>6</sub>, 100 MHz)

6.3 Subespectro de DEPT-135 (DMSO<sub>6</sub>, 100 MHz)Figura A.7 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 9 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

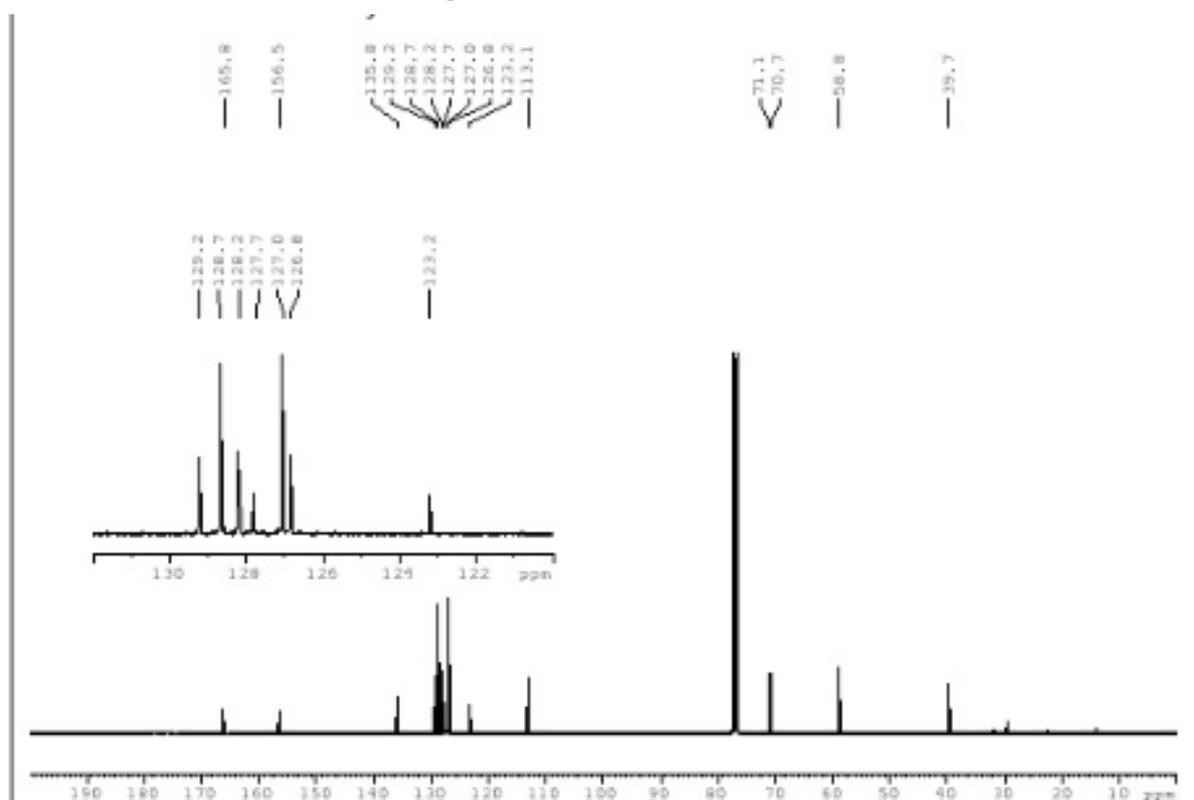
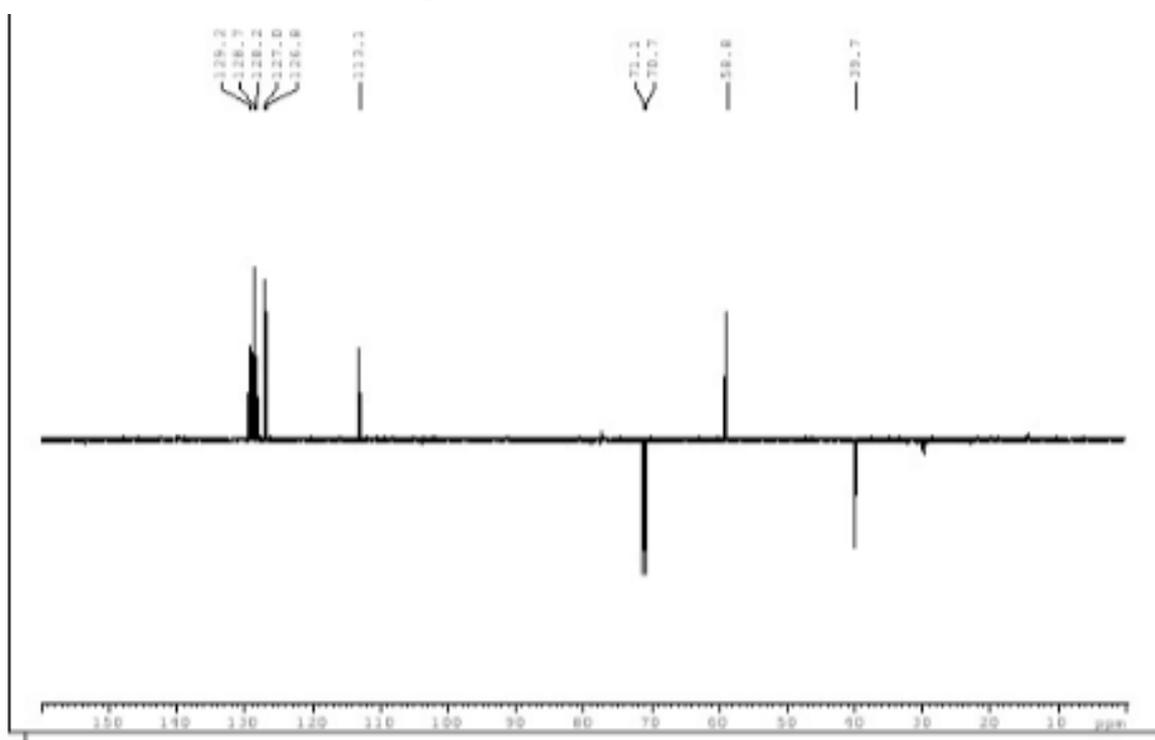
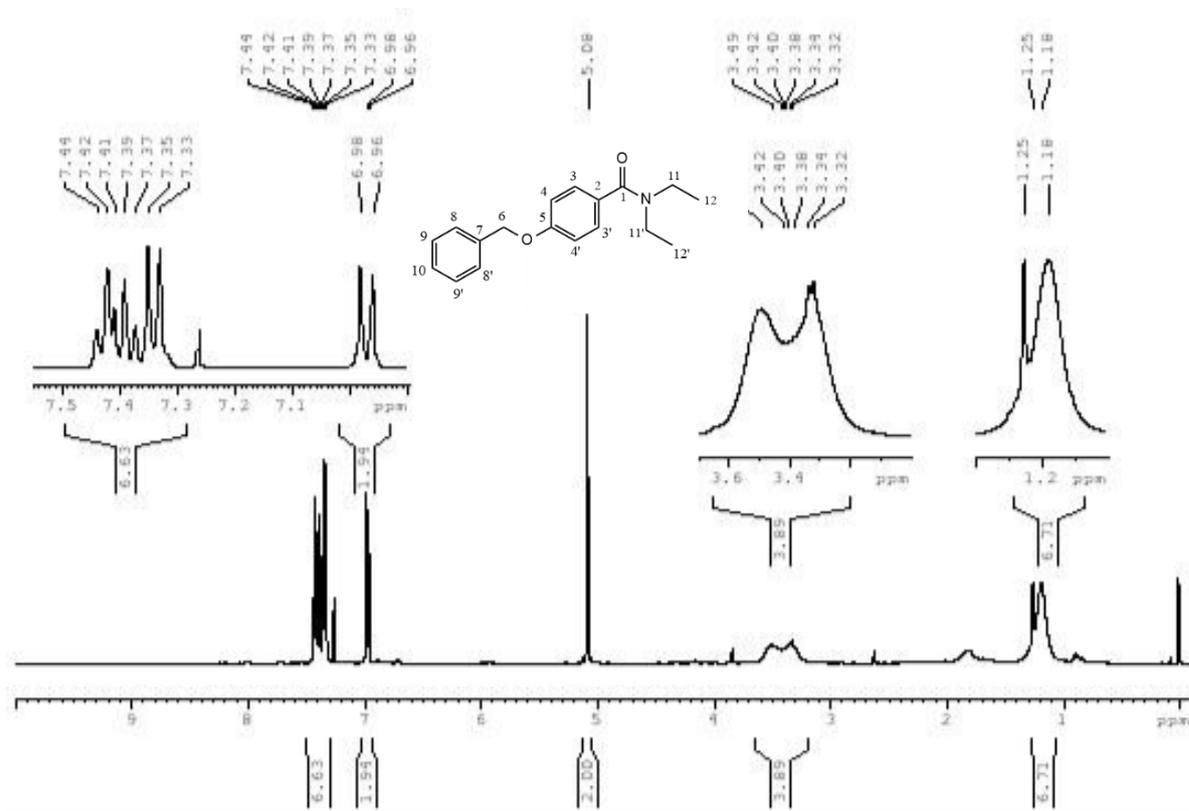
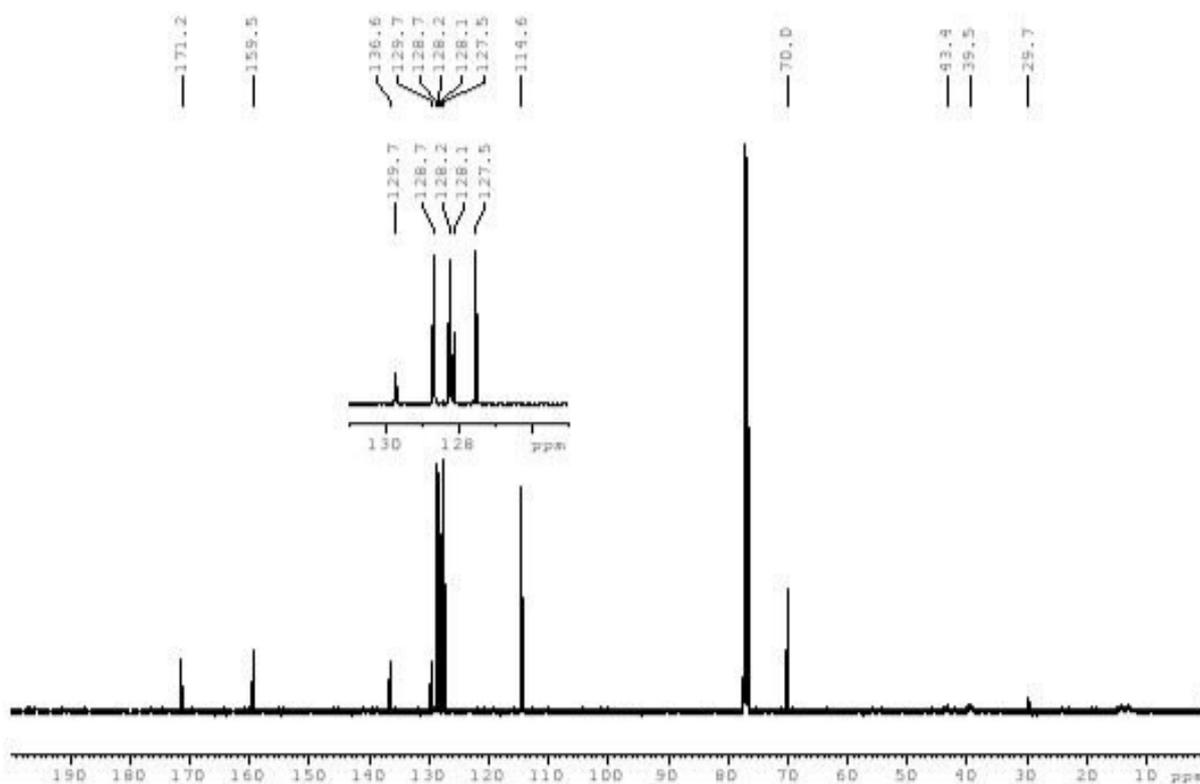
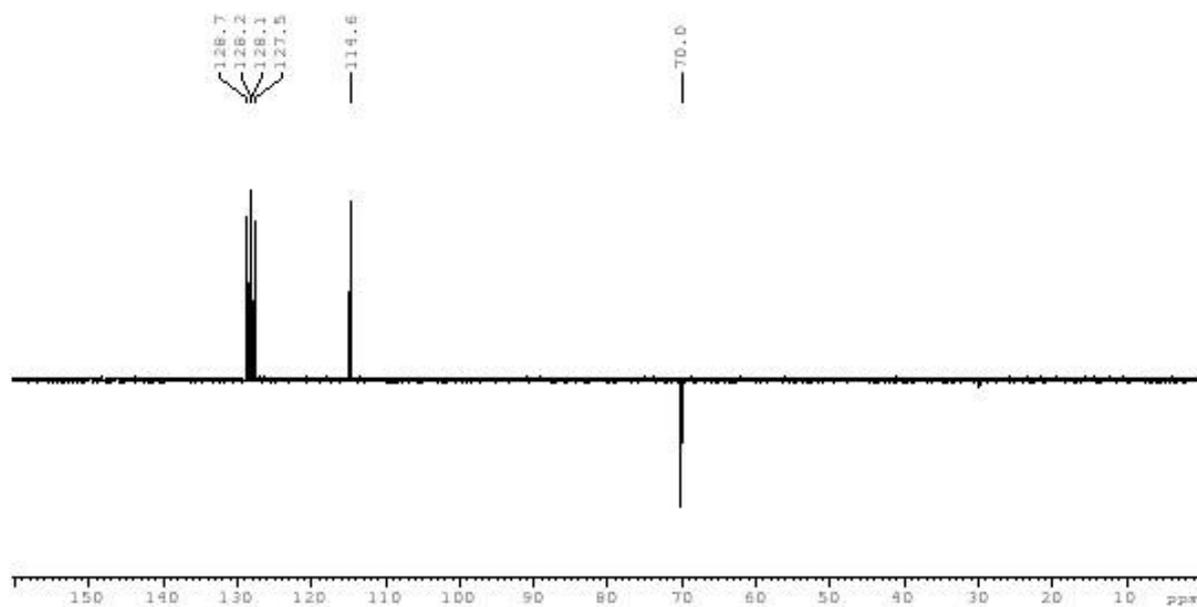
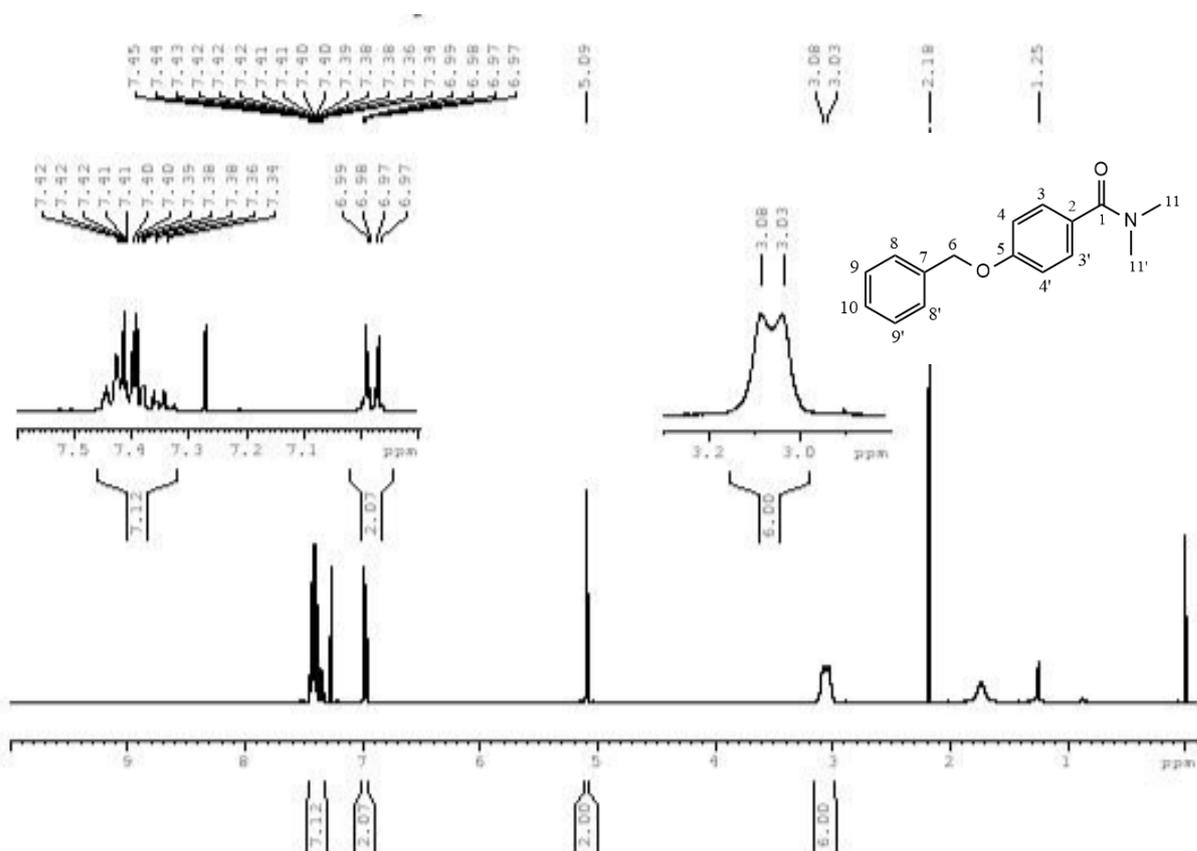
7.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  9 ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)7.3 Subespectro de DEPT-135 ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)

Figura A.8 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 10 ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).8.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  10 ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)

8.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)Figura A.9 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 12 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).9.2 Espectro de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)

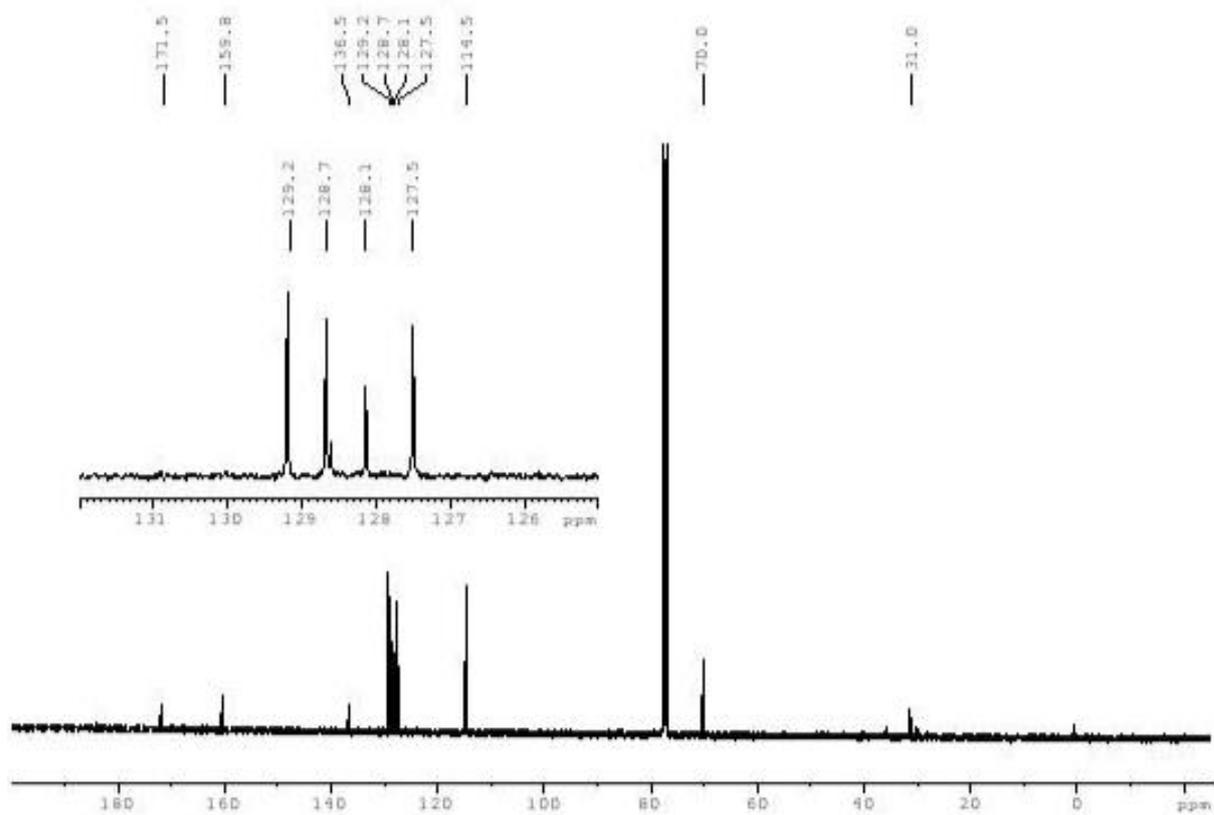
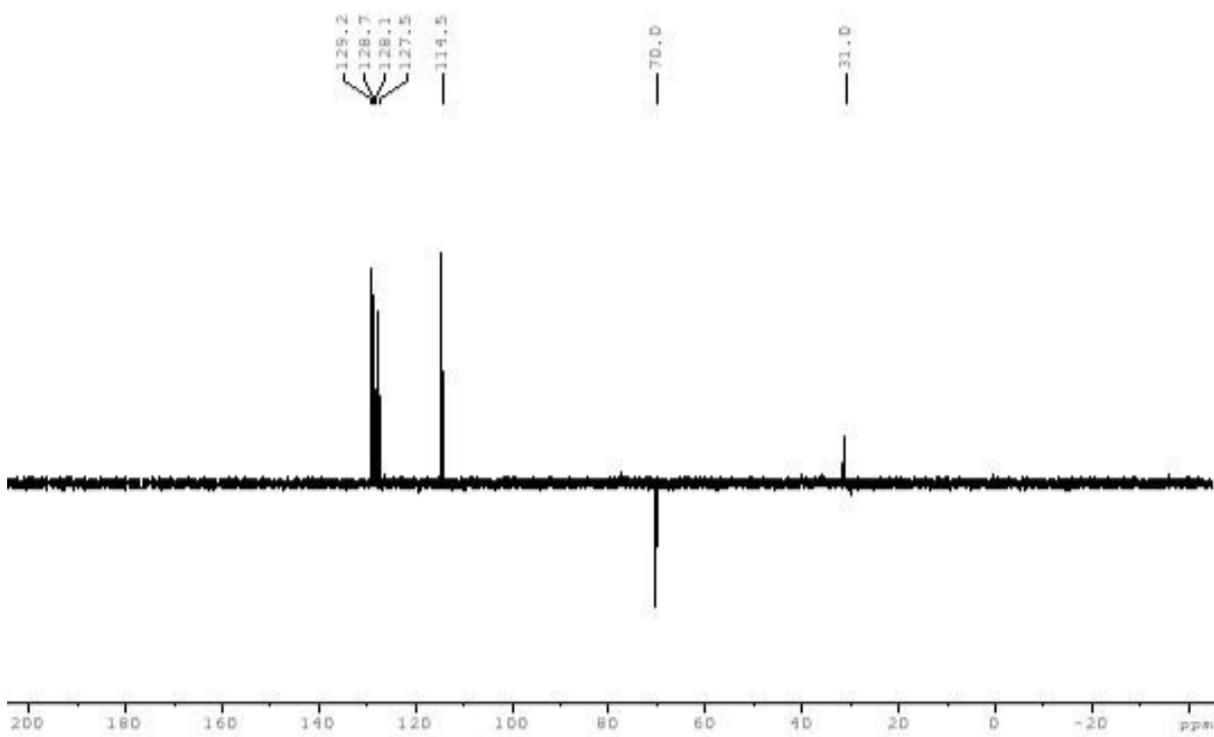
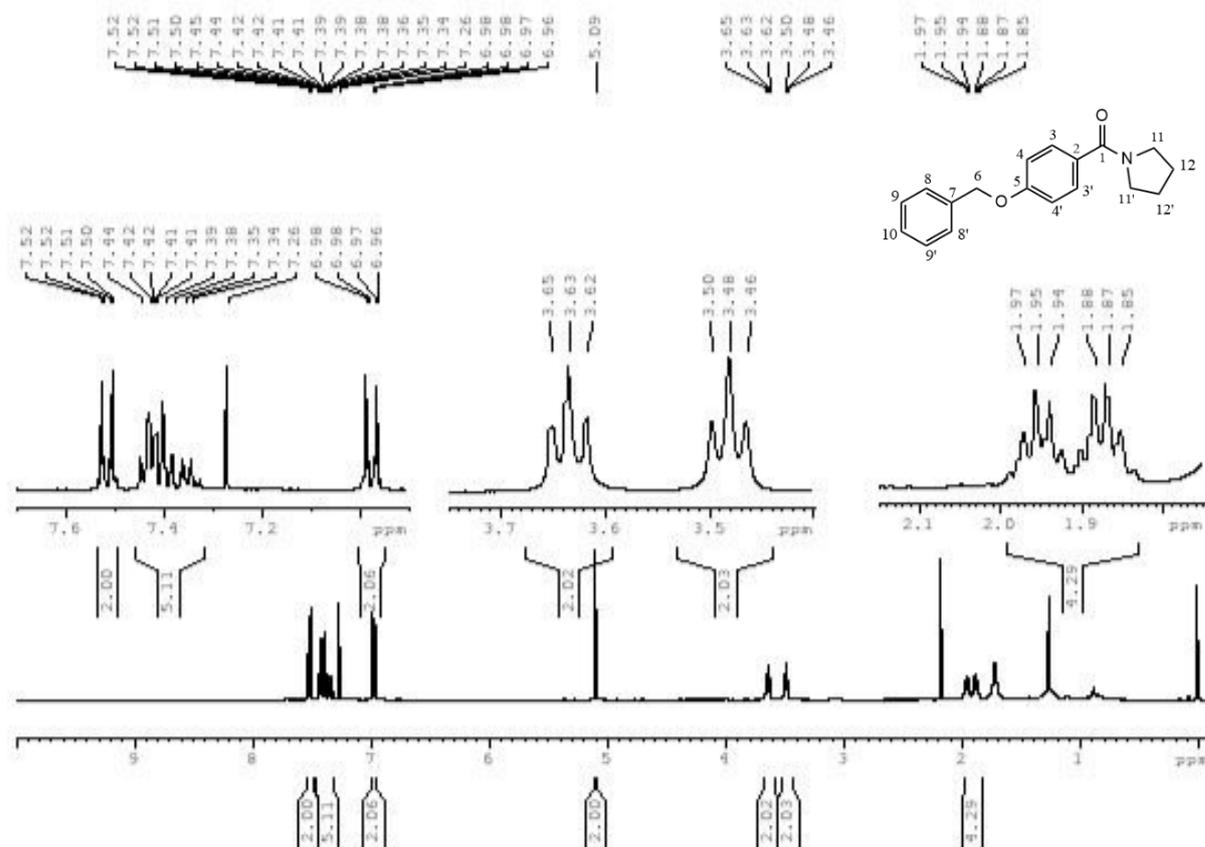
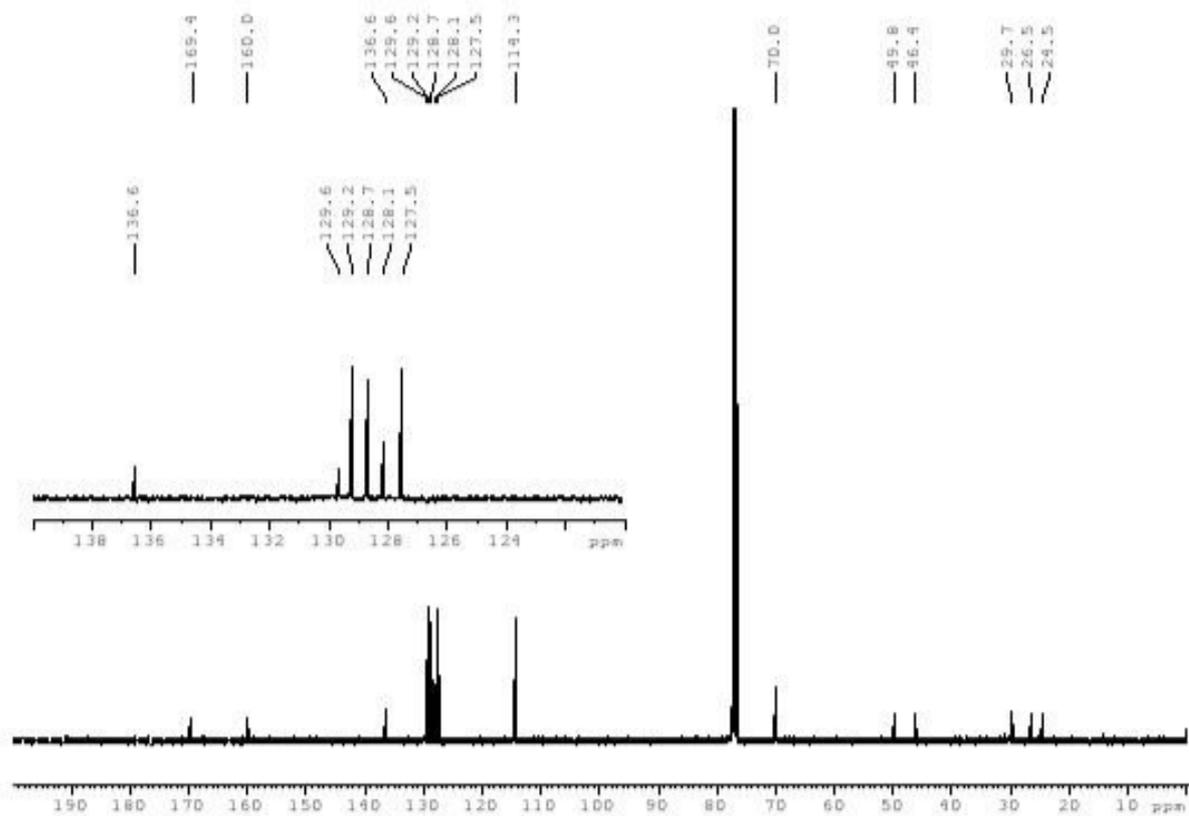
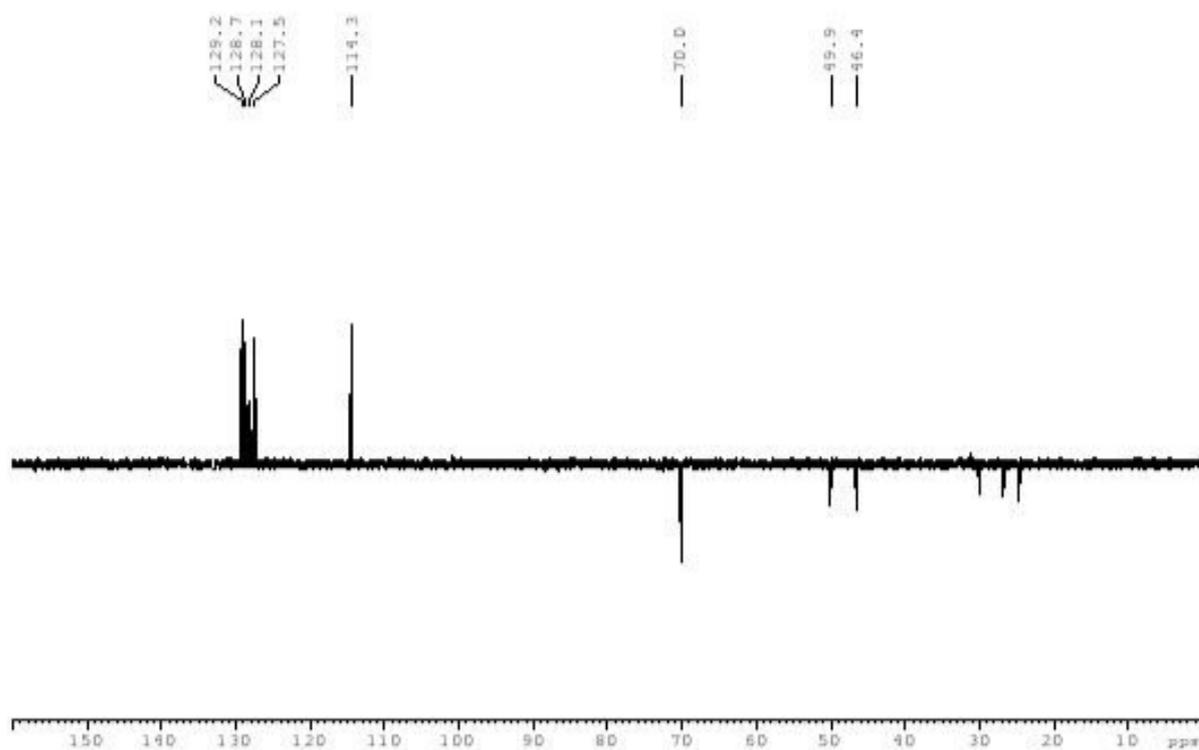
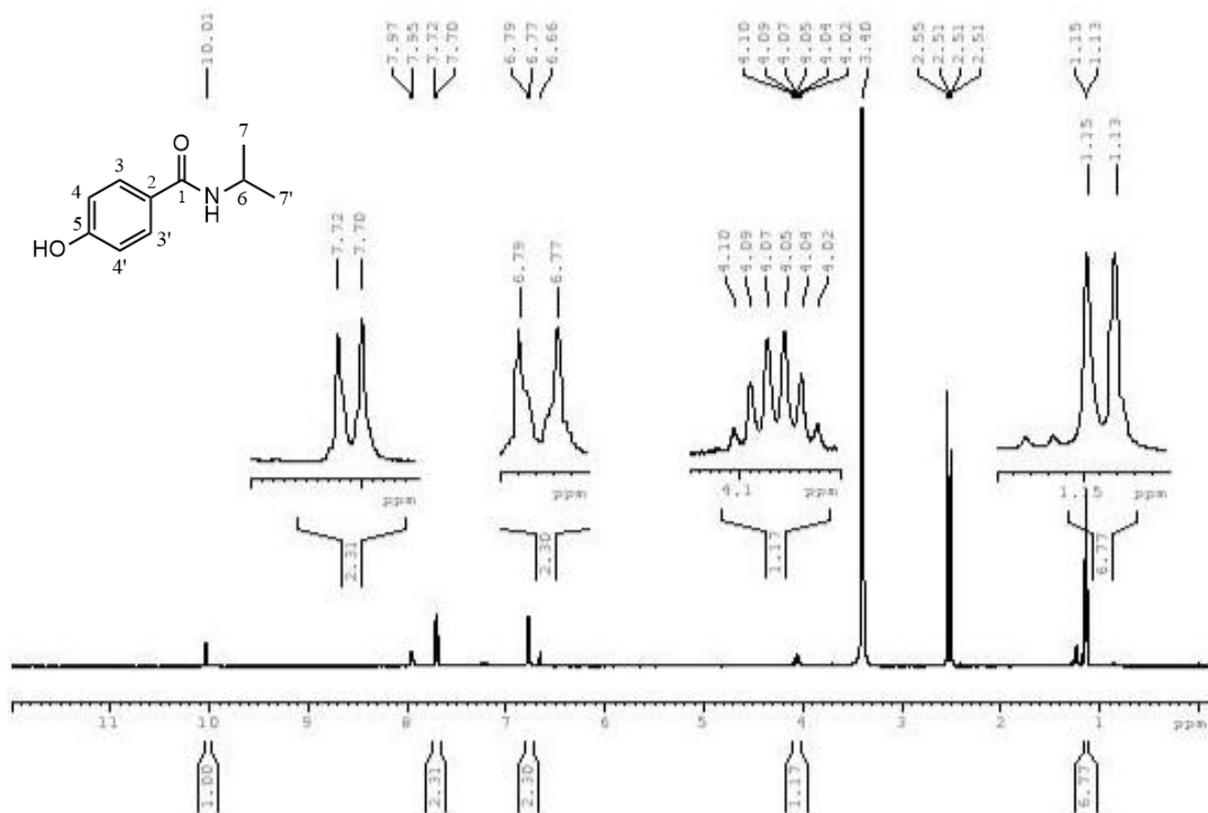
9.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)

Figura A.10 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 13 (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).10.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)

10.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)Figura A.11 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 15 (DMSO<sub>6</sub>, 400 MHz).

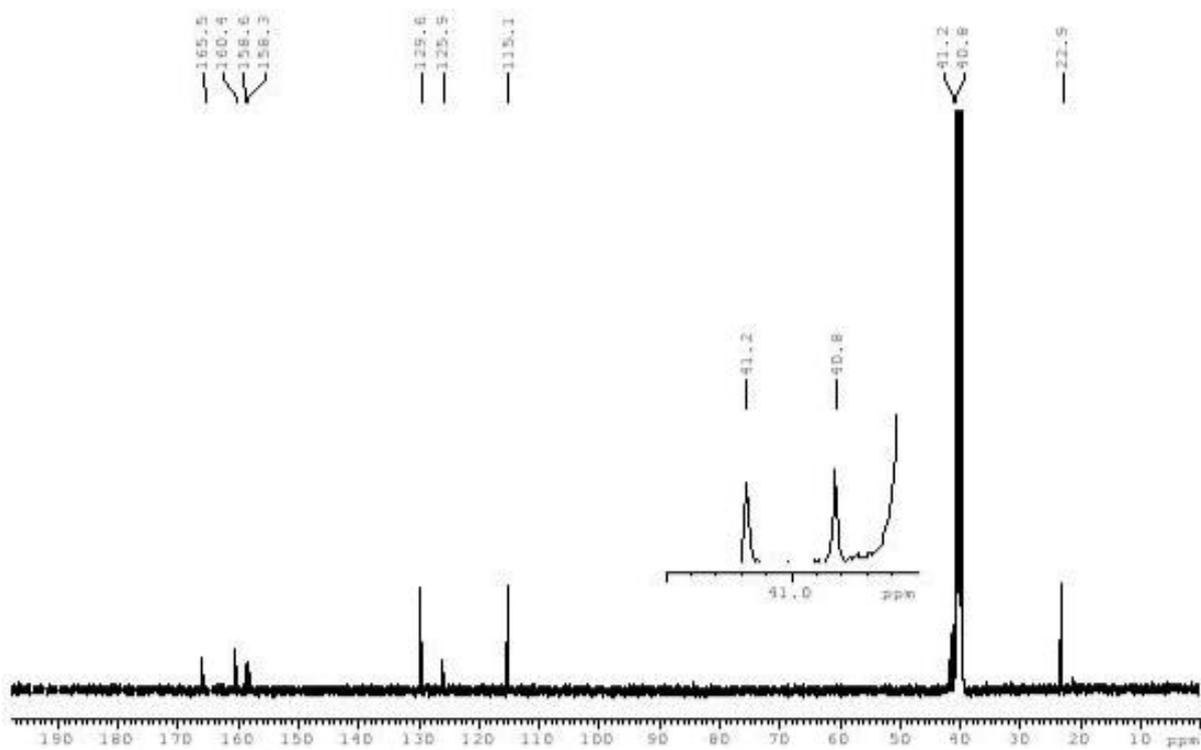
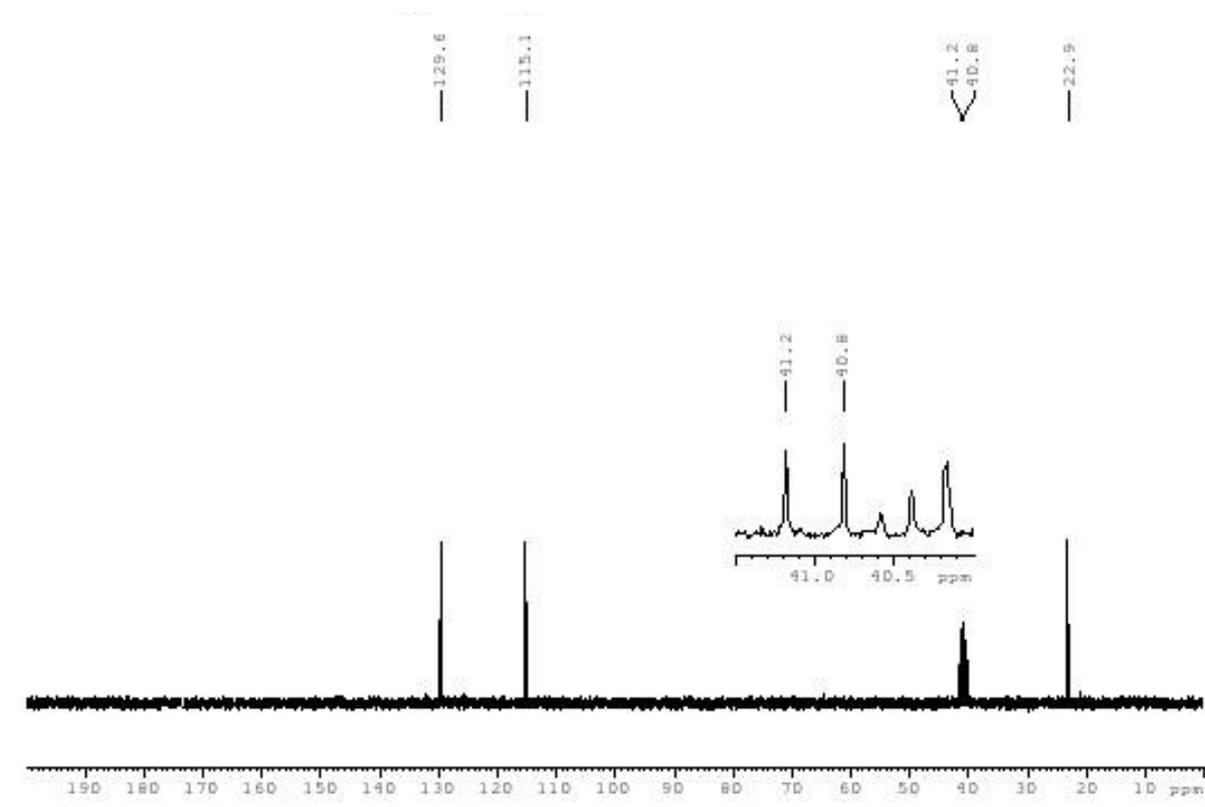
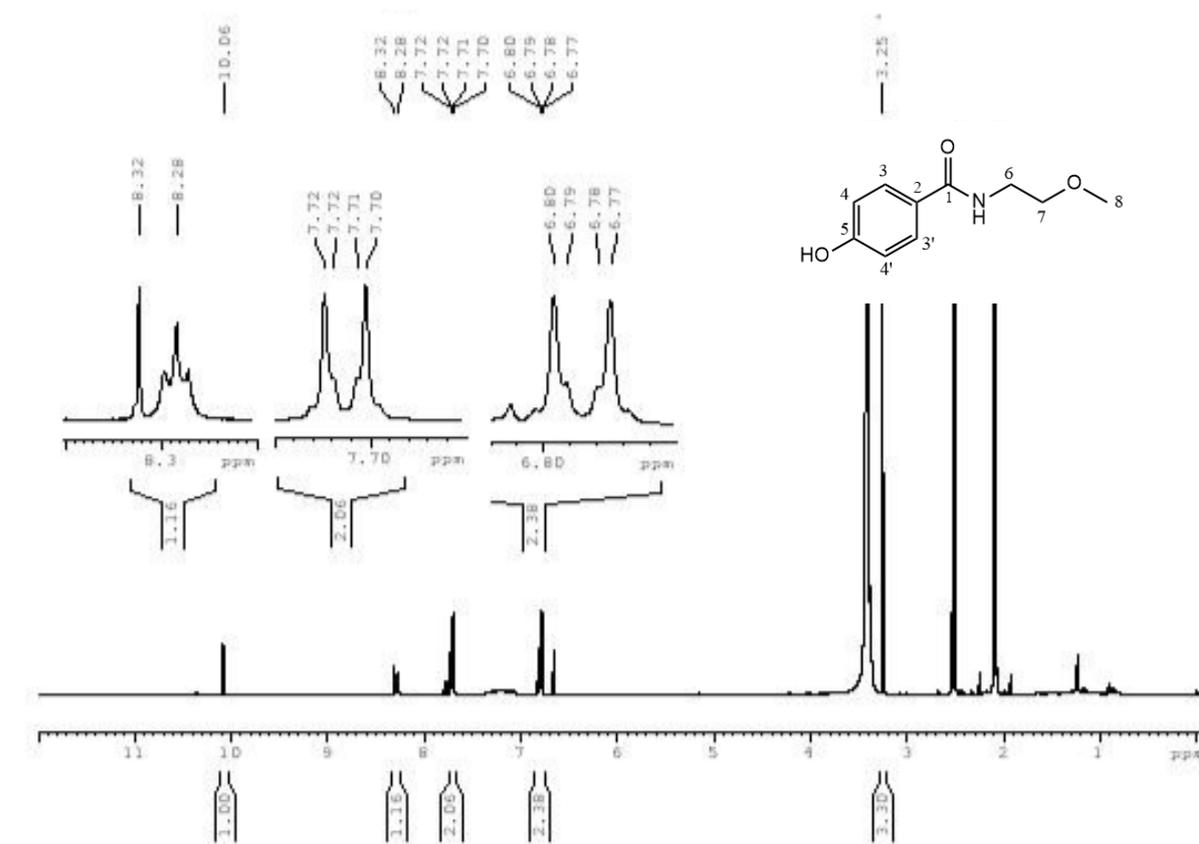
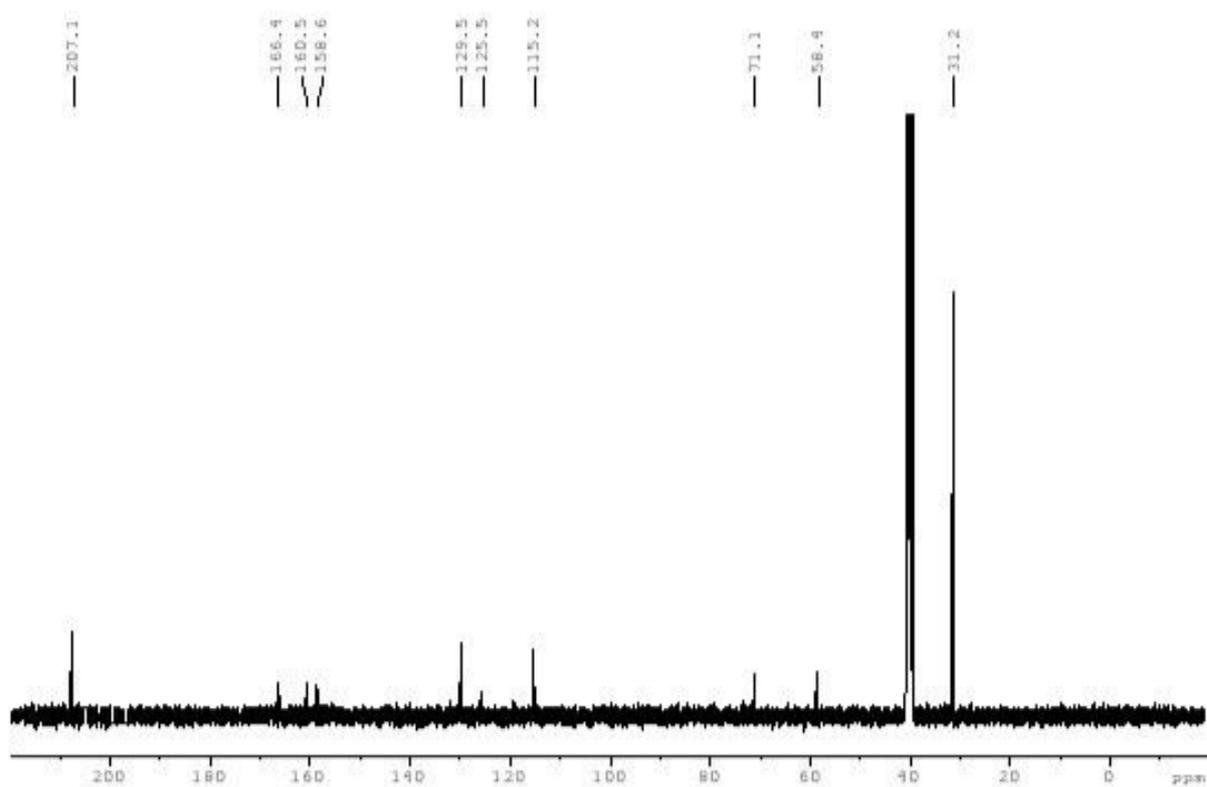
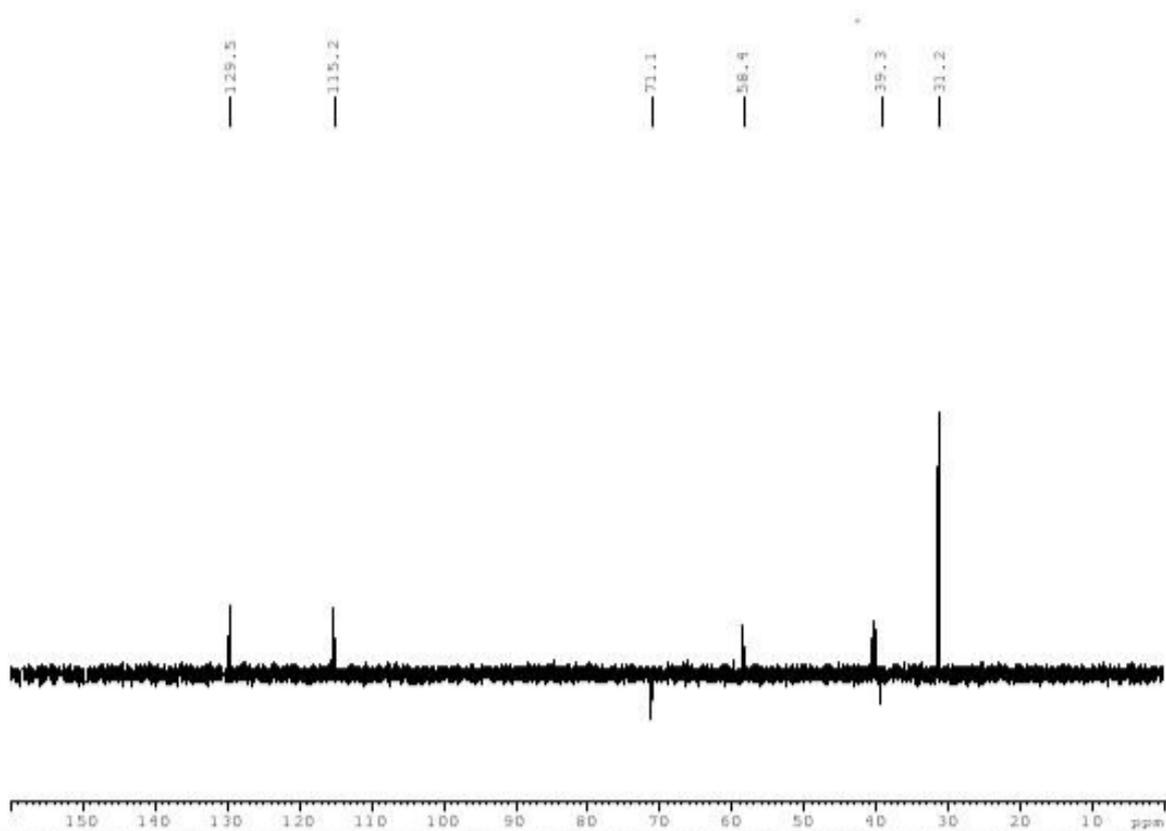
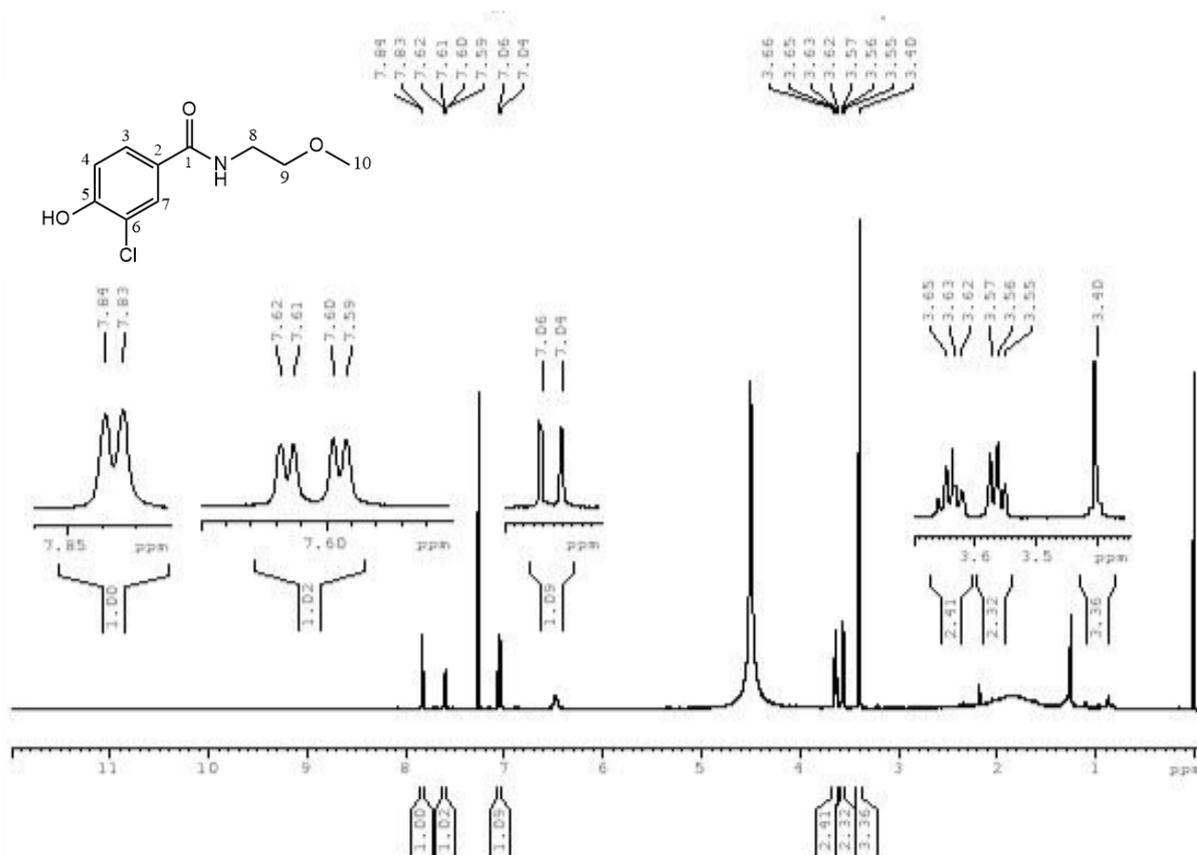
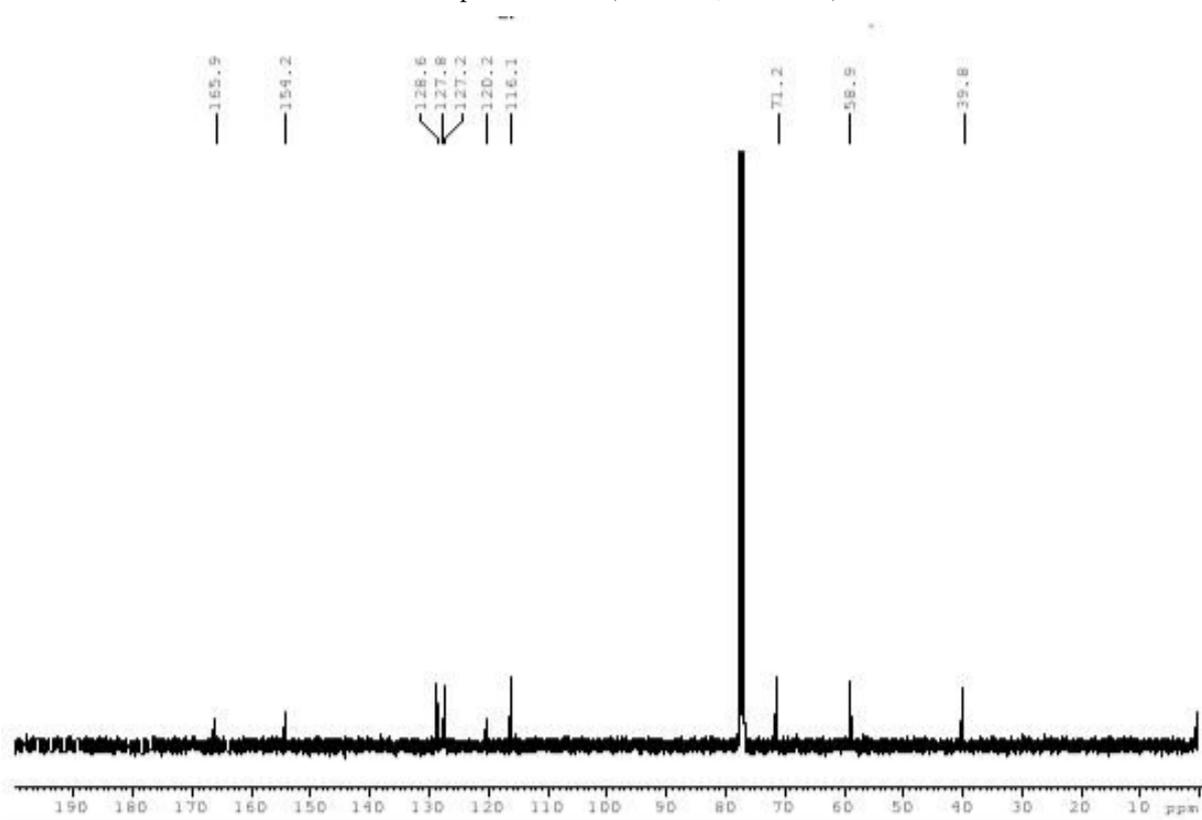
11.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  (DMSO $_d$ 6, 100 MHz)11.3 Subespectro de DEPT-135 (DMSO $_d$ 6, 100 MHz)

Figura A.12 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de 17 (DMSO $_6$ , 400 MHz).12.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  (DMSO $_6$ , 100 MHz)

12.3 Subespectro de DEPT-135 (DMSO<sub>6</sub>, 100 MHz)Figura A.13 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de 19 (DMSO<sub>6</sub>, 400 MHz).

13.2 Espectro de  $^{13}\text{C}$  (DMSO $_d$ , 100 MHz)13.3 Subespectro de DEPT-135 (DMSO $_d$ , 100 MHz)