UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS

Dijovani Batista dos Reis

Síntese, caracterização e avaliação biológica de terpenóides diaminados e seus derivados análogos ao SQ109

Itajubá-MG 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS

Dijovani Batista dos Reis

Síntese, caracterização e avaliação biológica de terpenóides diaminados e seus derivados análogos ao SQ109

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Universidade Federal de Itajubá, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orientador: Prof. Dr. Maurício Frota Saraiva

> Itajubá-MG 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS

Dijovani Batista dos Reis

Síntese, caracterização e avaliação biológica de terpenóides diaminados e seus derivados análogos ao SQ109

Dissertação aprovada por banca examinadora em dezessete de fevereiro de 2017, conferindo ao autor o título de Mestre em Química.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Mauricio Frota Saraiva (Orientador)-UNIFEI Prof. Dr. Mauro Vieira de Almeida (Examinador)-UFJF Prof. Dr. Eder do Couto Tavares (Examinador)- UNIFEI

> Itajubá-MG 2017

Dedico este trabalho aos meus familiares e amigos!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus pelo Dom da vida e da Ciência. Agradeço por estar sempre comigo e ser o meu Refúgio Seguro e Fortaleza nos mais diversos momentos. Agradeço também à Nossa Senhora das Graças, pois eu sei que não estive e não estou sozinho em nenhum instante!

Aos meus queridos e amados pais, João e Maria Helena, por todo amor, incentivo, apoio, orações e presença em minha vida. Vocês são grandes exemplos de AMOR, TRABALHO e HONESTIDADE! Agradeço também por compreenderem as minhas ausências!

Aos meus irmãos: Silvia, Daniel, Daniele e Júlio, agradeço pela amizade, força, compreensão e atenção em todos os momentos. Meu muito obrigado e admiração.

À minha noiva Bárbara Dias. Sua amizade, incentivo, carinho, amor e compreensão foram e são essenciais para mim. Obrigado por estar sempre me apoiando. Te amo!

Aos meus sogros, Francisco e Rosa, pessoas maravilhosas que Deus colocou em minha vida e que, sem dúvida, se tornaram meus pais. Obrigado por todo incentivo e amor.

Ao professor Dr. Mauricio Frota Saraiva pela confiança, orientação, incentivo, competência, amizade, companheirismo e todo conhecimento partilhado. Agradeço ainda por todo empenho em oferecer as melhores condições de trabalho aos seus alunos.

À família LASIMBIO e aos amigos do LSPS e LaQC agradeço pela amizade, companheirismo, conhecimentos e histórias partilhados, pelos bons momentos divididos e pelo incentivo nos momentos difíceis. E, em especial, agradeço aos integrantes do meu grupo de pesquisa que muito contribuíram: César Augusto, Thalita Cristina, Gabriele Soares e Raí Fregonesi.

Aos professores da Universidade Federal de Itajubá e da Universidade Federal de Juiz de Fora que contribuíram muito com minha formação acadêmica, agradeço por todo conhecimento partilhado.

Ao professor Dr. Mauro Vieira de Almeida, à Dr^a. Angelina Almeida e Larissa Albuquerque, da Universidade Federal de Juiz de Fora, que gentilmente realizaram vários experimentos de Ressonância Magnética Nuclear.

Ao Dr. Wiliam Caneschi por todo auxílio, dedicação e empenho no treinamento para realização dos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear.

Ao professor Dr. Marcus Vinícius Nora de Souza, do Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmaguinhos -FIOCRUZ/RJ, pelo empenho na realização dos espectros de massas de alta resolução.

À pesquisadora Me. Maria Cristina da Silva Lourenço, do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - INI-FIOCRUZ/RJ, pela realização dos ensaios antimicobacterianos.

À Professora Dr. Iriane Eger e Adriano Barbosa, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Ponta Grossa-UEPG-PR, pela realização dos testes leishmanicida e citotoxicidade.

Ao professor Dr. Maurílio José Soares e Camila Azeredo, do Instituto Carlos Chagas-FIOCRUZ/PR, pela realização dos testes tripanocida e citotoxicidade.

À Rede Mineira de Química, FAPEMIG, FAPEPE, FINEP e à CAPES pelo apoio financeiro.

"Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes"

Marthin Luther King

RESUMO

Nas últimas décadas, o número crescente de cepas de micro-organismos resistentes aos fármacos disponíveis e utilizados na clínica médica, bem como o anseio por fármacos mais eficazes e menos tóxicos têm impulsionado a comunidade científica a desenvolver novas moléculas bioativas para o tratamento das mais diversas enfermidades. Neste contexto, o presente trabalho descreve a busca por novos potenciais fármacos que possam ser utilizados na clínica médica para o tratamento da Tuberculose, Leishmaniose e Doença de Chagas. Inicialmente, este manuscrito apresenta a síntese de 16 terpenóides diaminados contendo como cadeia lateral do núcleo diamina, os substituintes isoprênicos "cabeça-cauda", com espaçador amino-amino de comprimento variável, dentre os quais, destacam-se os compostos inéditos: N¹-(3-metilbut-2-en-1-il)etano-1,2-diamina (1a), (Z)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1il)propano-1,3-diamina (2c), (E)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)butano-1,4-diamina (3b) e (Z)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)butano-1,4-diamina (3c). A rota sintética utilizada conduziu aos produtos desejados em rendimentos moderados a bons (21-89%) e, estes foram avaliados contra cepas de Mycobacterium tuberculosis H37Rv, Leishmania amazonensis e Trypanosoma cruzi, através de ensaios in vitro. Diferentes resultados biológicos foram observados conforme o comprimento da cadeia terpênica lateral, a isomeria da dupla ligação C=C (para compostos com duas unidades isoprênicas na cadeia lateral) e o espaçador entre os grupos amino. Dentre todos os compostos avaliados, os melhores resultados foram obtidos para os derivados do (E,E)-farnesol. A título de exemplo, destaca-se o composto 2d (IC₅₀ = $2,53 \pm 0,35 \mu$ M) que, ao ser avaliado quanto a sua potencial atividade tripanocida, demonstrou ser cerca de seis vezes mais ativo que o fármaco de referência Benzonidazol ($IC_{50} = 15.0 \mu M$) e os compostos 1d (IC₅₀ = 5,29 \pm 1,23 μ M) e 4d (IC₅₀ <5 μ M) que foram duas vezes mais ativos. Em seguida, este trabalho apresenta os resultados obtidos para duas metodologias utilizadas para a síntese de compostos inéditos análogos ao N¹-(triciclo[3.3.1.1]decan-2-il)-N-((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)etano-1,2-diamina, conhecido como SQ109. Através da primeira metologia obteve-se seis produtos finais: três análogos, derivados do núcleo piperazina (7(a, b e d)), em rendimentos bons, que variaram entre 70 e 90%, e três sais quaternários de amônio (8(a, b e d)) que foram isolados em rendimentos moderados (34-52%), a partir da mistura reacional de síntese dos análogos derivados da propano-1,3-diamina. A segunda metodologia baseou-se na tentativa de realizar uma monoacilação seletiva de algumas diaminas terpênicas, objetivando a amina primária como sítio reacional. Entretanto, as análises por espectroscopia de RMN de 1H e 13C e ESI-HRMS indicaram a formação de outros compostos inéditos, as diamidas terpênicas 9(a, b e d) e 10(a, b e d) que foram obtidas em rendimentos moderados (37-47%).

Palavras-chave: Tuberculose; Leishmaniose; Doença de Chagas; Diaminas; Terpenóides. SQ109.

ABSTRACT

In the last decades, the increasing of the number of resistant micro-organisms strains to the drugs available and used in clinical medicine, as well as the desire for more effective and less toxic drugs have driven the scientific community to develop new bioactive molecules for the treatment of the most several diseases. In this context, the present work describes the search by new potential drugs that can be used in medical clinic for treatment of the Tuberculosis, Leishmaniasis and Chagas Diseases. Initially, this manuscript presents the synthesis of the 16 diaminated terpenoids containing as side chain of the diamine core, the "head-to-tail" isoprenics derivatives, with amino-amino spacer of variable length, among wich, it highlights the novel compounds: N^1 -(3-methylbut-2-en-1-yl)ethane-1,2-diamine (1a), (Z)- N^1 -(3,7dimethylocta-2,6-dien-1-yl)propane-1,3-diamine (2c), $(E)-N^1-(3,7-dimethylocta-2,6-dien-1$ yl)butane-1,4-diamine (**3b**) e (Z)- N^1 -(3,7-dimethyl-octa-2,6-dien-1-yl)butane-1,4-diamine (3c). The used synthetic route drived to desire products in poor to good yields (21-89%) and, these were evaluated against Mycobacterium tuberculosis H37Rv, Leishmania amazonensis and Trypanosoma cruzi, by in vitro assays. Different biological results were observed according terpenic side chain length, the isomery of double bond C=C (by compounds with two isoprenics units in the side chain) and the spacer between amino groups. Among all the evaluated compounds, the best results were obtained for (E,E)-farmesol derivatives. For example, highlight the compound 2d (IC₅₀ = $2.53 \pm 0.35\mu$ M) that, to be evaluated for their potential trypanocidal activity, showed to be about six times more active than the reference drug benznidazole (IC₅₀ = 15.0 μ M) and compounds 1d (IC₅₀ = 5.29 \pm 1.23 μ M) and 4d (IC₅₀ $<5 \,\mu$ M) which were twice more active. Then, these work presents the results obtained for two methodologies used for the synthesis of novel compounds analogous to N^{1} -(tricycle[3.3.1.1]decan-2-yl)-N-((E)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl)ethane-1,2-diamine, known as SQ109. By the first methodology, six final products were obtained: three analogues, derivatives of piperazine core (7(a, b e d)), in good yields ranging from 70 to 90% and three quaternary ammonium salts (8(a, b e d)) which were isolated in moderate yields (34-52%), from the reaction medium of the synthesis of propane-1,3-diamine derivatives. The second methodology was based on the attempt to perform a selective monoacylation of some terpene diamines, aiming at the primary amine as a reaction site. However, the analysis by spectroscopy of the ¹H and ¹³C NMR and ESI-HRMS indicated the formation of other novel compounds, terpene diamides 9(a, b e d) and 10(a, b e d) which were obtained in moderate yields (37-47 %).

Keywords: Tuberculosis; Leishmaniasis; Chagas Disease; Diamines; Terpenoids; SQ109.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (A) Imagem do Mycobacterium tuberculosis obtida por microscopia eletrônica; (B) Robert Koch
Figura 2: Representação das estruturas dos fármacos antituberculose de primeira escolha contra TB ativa.
Figura 3: Representação da estrutura molecular do fármaco INH
Figura 4: Propostas de formação do Acil-NADH isonicotínico, inibidor de InhA38
Figura 5: Representação das estruturas moleculares da nicotinamida e PZA
Figura 6: Representação das estruturas moleculares da rifampicina B e RIF40
Figura 7: Representação da estrutura molecular do EMB41
Figura 8: Representação das estruturas das principais fluoroquinolonas disponíveis no mercado
Figura 9: Estimativa da distribuição global de novos casos de TB (todas as formas) por ano.
Figura 10: Número de pacientes diagnosticados como XDR-TB que iniciaram o tratamento
em 2015
Figura 11: Fêmea do flebotomíneo <i>Lutzomyia longipalpis</i> , engurgitada45
Figura 12: (A) Esfregaço sanguíneo, corado com Giemsa, contendo macrófagos parasitados com amastigotas de <i>Leishmania spp.</i> ; (B) Promastigotas de <i>Leishmania spp.</i> corados com Giemsa
Figura 13: Ciclo biológico da Leishmania spp46
Figura 14: Número de novos casos de Leishmaniose Visceral (LV) relatados em 201348
Figura 15: Número de novos casos de Leishmaniose Cutânea (LC) relatados em 201348
Figura 16: Representação das estruturas dos fármacos Estibogliconato de sódio e Antimonitato de <i>N</i> -metilglicamina. 49
Figura 17: Representação das estruturas dos fármacos de segunda escolha para o tratamento das leishmanioses
Figura 18: (A) Esfregaço sanguíneo contendo Trypanosoma cruzi (Tripomastigota), corado

com Giemsa; (B) Carlos Chagas52
Figura 19: Inseto Triatoma infestans. 53
Figura 20: Ciclo biológico do Trypanosoma cruzi
Figura 21: Número estimado de casos de infecção por <i>T. cruzi</i> (2010-2013)56
Figura 22: Representação das estruturas moleculares do Benzonidazol e Nifurtimox57
Figura 23: Representação das estruturas do SQ109 e SQ60958
Figura 24: Representação das estruturas do (<i>S</i> , <i>S</i>)-Etambutol (A) e SQ109 (B)59
Figura 25: Eficácia de duas combinações de moléculas bioativas no tratamento de camundongos infectados com <i>M. tuberculosis</i> H37Rv60
Figura 26: Representação geral das estruturas dos 16 terpenóides diaminados propostos62
Figura 27: Representação geral das estruturas dos nove novos análogos ao SQ10962
Figura 28: Espectro na região do IV do composto II
Figura 29: Espectro na região do IV do composto VI
Figura 30: Espectro na região do IV do composto 3b70
Figura 31: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3b em CDCl ₃ , 500 MHz71
Figura 32: Seção expandida do espectro de correlação homonuclear COSY do composto 3b em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 33: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 3b em CDCl ₃ , 125 MHz73
Figura 34: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 4b em CDCl ₃ , 500 MHz74
Figura 35: Espectro na região do IV do ácido triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxílico (IX)77
Figura 36: Espectro na região do IV do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (X)77
Figura 37: Modos de estiramentos simétrico e assimétrico dos grupos carbonila de anidridos.
Figura 38: Espectro na região do IV do composto XII
Figura 39: Espectro de RMN de ¹ H do composto XII em CDCl ₃ , 500 MHz82
Figura 40: Sais quaternários de amônio obtidos nas reações de <i>N</i> -alquilação de <i>N</i> -(3-aminopropil) triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida

Figura 41: Espectro de RMN de ¹ H do composto 8a em CDCl ₃ , 500 MHz85
Figura 42: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 8a em CDCl ₃ , 125 MHz86
Figura 43: Espectro na região do IV do composto 7a87
Figura 44: Espectro de RMN de ¹ H do composto 7a em CDCl ₃ , 500 MHz88
Figura 45: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 7a em CDCl ₃ , 125 MHz89
Figura 46: Espectro na região do IV do composto 9b91
Figura 47: Espectro na região do IV do composto 9a92
Figura 48: Seção expandida I do espectro de RMN de ¹ H do composto 9b em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 49: Seção expandida II do espectro de RMN de ¹ H do composto 9b em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 50: Seção expandida do espectro de correlação homonuclear COSY do composto 9b em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 51: Relação estrutura atividade dos terpenóides diaminados contra cepas de M. tuberculosis H37Rv.
Figura 52: Relação estrutura atividade dos terpenóides diaminados contra Leishmania amazonensis
Figura 53: Relação estrutura atividade dos terpenóides diaminados contra <i>Trypanosoma</i> cruzi
Figura 54: Espectro de RMN de ¹ H do composto 1a em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 55: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 1a em CDCl ₃ , 500 MHz 141
Figura 56: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 1a em CDCl ₃ , 125 MHz
Figura 57: Espectro DEPT 135 do composto 1a em CDCl ₃ , 125 MHz142
Figura 58: Espectro na região do IV do composto 1a143
Figura 59: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 1a
Figura 60: Espectro de RMN de ¹ H do composto 1b em CDCl ₃ , 500 MHz144
Figura 61: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 1b em CDCl ₃ , 500 MHz144
Figura 62: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 1b em CDCl ₃ , 125 MHz145

Figura 63: Espectro na região do IV do composto 1b.	145
Figura 64: Espectro de RMN de ¹ H do composto 1c em CDCl ₃ , 500 MHz	146
Figura 65: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 1c em CDCl ₃ , 500 MH	Iz146
Figura 66: Espectro de RMN de ¹³ C para o composto 1c em CDCl ₃ , 125 MHz	147
Figura 67: Espectro na região do IV do composto 1c	147
Figura 68: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 1c	148
Figura 69: Espectro de RMN de ¹ H do composto 1d em CDCl ₃ , 500 MHz	149
Figura 70: Expansão do Espectro de RMN de ¹ H do composto 1d em CDCl ₃ , 500 M	Hz 149
Figura 71: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 1d em CDCl ₃ , 125 MHz	150
Figura 72: Espectro na região do IV do composto 1d.	150
Figura 73: Espectro de RMN de ¹ H do composto 2a em CDCl ₃ , 500 MHz	151
Figura 74: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 2a em CDCl ₃ , 500 MH	Iz 151
Figura 75: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 2a em CDCl ₃ , 125 MHz	152
Figura 76: Espectro na região do IV do composto 2a	152
Figura 77: Espectro de RMN de ¹ H do composto 2b em CDCl ₃ , 300 MHz	153
Figura 78: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 2b em CDCl ₃ , 300 MH	Hz153
Figura 79: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 2b em CDCl ₃ , 75 Hz	154
Figura 80: Espectro na região do IV do composto 2b.	154
Figura 81: Espectro de RMN de ¹ H do composto 2c em CDCl ₃ , 500 MHz	155
Figura 82: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 2c em CDCl ₃ , 500 MH	Iz155
Figura 83: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 2c em CDCl ₃ , 125 MHz	156
Figura 84: Espectro na região do IV do composto 2c.	156
Figura 85: Espectro de RMN de ¹ H do composto 2d em CDCl ₃ , 500 MHz	157
Figura 86: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 2d em CDCl ₃ , 500 MH	Iz157
Figura 87: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 2d em CDCl ₃ , 125 MHz	158
Figura 88: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 2d em CDCl ₃ , 125 M	Hz158

Figura 89: Espectro na região do IV do composto 2d
Figura 90: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3a em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 91: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 3a em CDCl ₃ , 500 MHz 160
Figura 92: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 3a em CDCl ₃ , 125 MHz
Figura 93: Espectro na região do IV do composto 3a161
Figura 94: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3b em CDCl ₃ , 500 MHz162
Figura 95: Expansão do Espectro de RMN de ¹ H do composto 3b em CDCl ₃ , 500 MHz 162
Figura 96: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 3b em CDCl ₃ , 125 MHz163
Figura 97: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 3b em CDCl ₃ , 125 MHz163
Figura 98: Espectro de correlação homonuclear COSY do composto 3b em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 99: Espectro de correlação heteronuclear HSQC do composto 3b em CDCl ₃ , 500 MHz164
Figura 100: Expansão do espectro de correlação heteronuclear HSQC do composto 3b em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 101: Espectro DEPT 135 do composto 3b em CDCl ₃ , 125 MHz165
Figura 102: Espectro na região do IV do composto 3b166
Figura 103: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 3b166
Figura 104: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3c em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 105: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 3c em CDCl ₃ , 500 MHz167
Figura 106: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 3c em CDCl ₃ , 125 MHz
Figura 107: Espectro na região do IV do composto 3c168
Figura 108: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 3c169
Figura 109: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3d em CDCl ₃ , 500 MHz170
Figura 110: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 3d em CDCl ₃ , 500 MHz170
Figura 111: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 3d em CDCl ₃ , 125 MHz171
Figura 112: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 3d em CDCl ₃ , 125 MHz. 171

Figura 113: Espectro na região do IV do composto 3d	2
Figura 114: Espectro de RMN de ¹ H do composto 4a em CDCl ₃ , 500 MHz17	3
Figura 115: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 4a em CDCl ₃ , 500 MHz 17	3
Figura 116: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 4a em CDCl ₃ , 125 MHz	4
Figura 117: Espectro na região do IV do composto 4a17	4
Figura 118: Espectro de RMN de ¹ H do composto 4b em CDCl ₃ , 500 MHz17	5
Figura 119: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 4b em CDCl ₃ , 500 MHz17	5
Figura 120: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 4b em CDCl ₃ , 125 MHz17	6
Figura 121: Espectro na região do IV do composto 4b17	6
Figura 122: Espectro de RMN de ¹ H do composto 4c em CDCl ₃ , 500 MHz	7
Figura 123: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 4c em CDCl ₃ , 500 MHz17	7
Figura 124: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 4c em CDCl ₃ , 125 MHz17	8
Figura 125: Espectro na região do IV do composto 4c17	8
Figura 126: Espectro de RMN de ¹ H do composto 4d em CDCl ₃ , 500 MHz17	9
Figura 127: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 4d em CDCl ₃ , 500 MHz17	9
Figura 128: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 4d e CDCl ₃ , 125 MHz18	0
Figura 129: Espectro na região do IV do composto 4d18	0
Figura 130: Espectro de RMN de ¹ H do composto 7a em CDCl ₃ , 500 MHz	1
Figura 131: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 7a em CDCl ₃ , 500 MHz18	1
Figura 132: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 7a em CDCl ₃ , 125 MHz	2
Figura 133: Espectro na região do IV do composto 7a18	2
Figura 134: Espectro de RMN de ¹ H do composto 7b em CDCl ₃ , 500 MHz18	3
Figura 135: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 7b em CDCl ₃ , 500 MHz18	3
Figura 136: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 7b em CDCl ₃ , 125 MHz18	4
Figura 137: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 7b em CDCl ₃ , 125 MHz. 18	4
Figura 138: Espectro na região do IV do composto 7b18	5

Figura 139: Espectro de RMN de ¹ H do composto 7d em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 140: Expansão I do espectro de RMN de ¹ H do composto 7d em CDCl ₃ , 500 MHz.
Figura 141: Expansão II do espectro de RMN de ¹ H do composto 7d em CDCl ₃ , 500 MHz.
Figura 142: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 7d em CDCl ₃ , 125 MHz187
Figura 143: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 7d em CDCl ₃ , 125 MHz. 188
Figura 144: Espectro na região do IV do composto 7d188
Figura 145: Espectro de RMN de ¹ H do composto 8a em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 146: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 8a em CDCl ₃ , 500 MHz 189
Figura 147: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 8a em CDCl ₃ , 125 MHz
Figura 148: Espectro na região do IV do composto 8a
Figura 149: Espectro de RMN de ¹ H do composto 8b em CDCl ₃ , 500 MHz191
Figura 150: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 8b em CDCl ₃ , 500 MHz. 191
Figura 151: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 8b em CDCl ₃ , 125 MHz
Figura 152: Espectro na região do IV do composto 8b
Figura 153: Espectro de RMN de ¹ H do composto 8d em CDCl ₃ , 500 MHz193
Figura 154: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 8d em CDCl ₃ , 500 MHz193
Figura 155: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 8d em CDCl ₃ , 125 MHz194
Figura 156: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 8d em CDCl ₃ , 125 MHz. 194
Figura 157: Espectro na região do IV do composto 8d195
Figura 158: Espectro de RMN de ¹ H do composto 9a em CDCl ₃ , 500 MHz
Figura 159: Expansão I do espectro de RMN de ¹ H do composto 9a em CDCl ₃ , 500 MHz.196
Figura 160: Expansão II do espectro de RMN de ¹ H do composto 9a em CDCl ₃ , 500MHz.
Figura 161: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 9a em CDCl ₃ . 125 MHz
Figura 162: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 9a em CDCl ₃ , 125 MHz. 198

Figura 163: Espectro na região do IV do composto 9a	
Figura 164: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 9a	199
Figura 165: Espectro de RMN de ¹ H do composto 9b em CDCl ₃ , 500 MHz	200
Figura 166: Expansão I do espectro de RMN de ¹ H do composto 9b em CDCl ₃ , 5	500 MHz.
Figura 167: Expansão II do espectro de RMN de ¹ H do composto 9b em CDCl ₃ , 5	500 MHz.
	201
Figura 168: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 9b em CDCl ₃ , 125 MHz	201
Figura 169: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 9b em CDCl ₃ , 125 l	MHz. 202
Figura 170: Espectro na região do IV do composto 9b	202
Figura 171: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 9b	203
Figura 172: Espectro de RMN de ¹ H do composto 9d em CDCl ₃ , 500 MHz	204
Figura 173: Expansão I do espectro de RMN de ¹ H do composto 9d em CDCl ₃ , 5	500 MHz.
Figura 174: Expansão II do espectro de RMN de ¹ H do composto 9d em CDCl ₃ , 5	500 MHz.
Figura 175: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 9d em CDCl ₃ , 125 MHz	
Figura 176: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 9d em CDCl ₃ , 125 N	MHz. 206
Figura 177: Espectro na região do IV do composto 9d.	206
Figura 178: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 9d	207
Figura 179: Espectro de RMN de ¹ H do composto 10a em CDCl ₃ , 500 MHz	
Figura 180: Expansão I do espectro de RMN de ¹ H do composto 10a em CDCl ₃ , 5	500 MHz.
Figura 181: Expansão II do espectro de RMN de ¹ H do composto 10a em CDCl ₃ , 5	500 MHz.
Figura 182: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 10a em CDCl ₃ . 125 MHz	
Figura 183: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 10a em CDCl ₂	25 MHz

Figura 184: Espectro na região do IV do composto 10a2	10
Figura 185: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 10a2	11
Figura 186: Espectro de RMN de ¹ H do composto 10b em CDCl ₃ , 500 MHZ	12
Figura 187: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto 10b em CDCl ₃ , 500 MH	Iz.
Figura 188: Expansão II do espectro de RMN ¹ H do composto 10b em CDCl ₃ , 500 MHz. 2	12
Figura 189: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 10b em CDCl ₃ , 125 MHz2	13
Figura 190: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 10b, em CDCl ₃ , 125 MH	Ηz.
	14
Figura 191: Espectro na regiao do IV do composto 10b2	14
Figura 192: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 10b2	15
Figura 193: Espectro de RMN de ¹ H do composto 10d em CDCl ₃ , 500 MHz2	16
Figura 194: Expansão I do espectro de RMN de ¹ H do composto 10d em CDCl ₃ , 500 MF	Iz. 16
Figura 195: Expansão II do espectro de RMN de ¹ H do composto 10d em CDCl ₃ , 500 MH	Ιz. 17
Figura 196: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 10d em CDCl ₃ , 125 MHz2	17
Figura 197: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto 10d em CDCl ₃ , 125 MF	Ηz. 18
Figura 198: Espectro na região do IV do composto 10d2	18
Figura 199: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 10d2	19
Figura 200: Espectro de RMN de ¹ H do composto XII em CDCl ₃ , 500 MHz2	20
Figura 201: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto XII em CDCl ₃ , 500 MHz.2	20
Figura 202: Espectro de RMN de ¹³ C do composto XII em CDCl ₃ , 125 MHz2	21
Figura 203: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto XII em CDCl ₃ , 125 MH	łz.
2	21
Figura 204: Espectro na região do IV do composto XII	22
Figura 205: Espectro de RMN de ¹ H do composto XIII em CDCl ₃ , 500 MHz2	23

Figura	206: Expansão do espectro de RMN de ¹ H do composto XIII em $CDCl_3$, 500 MHz
Figura	207: Espectro de RMN de ¹³ C do composto XIII em CDCl ₃ , 125 MHz224
Figura	208: Expansão do espectro de RMN de ¹³ C do composto XIII em CDCl ₃ , 125 MHz
Figura	209: Espectro na região do IV do composto XIII.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Rendimento e aspecto físico dos brometos terpênicos (V-VIII)
Tabela 2: Rendimento e aspecto físico dos terpenoides diaminados 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e
4(a-d)
Tabela 3: Rendimento, aspecto físico e faixa de fusão das diaminas N-aciladas (XI-XIII)80 N-aciladas (XI-XIII)80
Tabela 4: Rendimento, aspecto físico e faixa de fusão dos sais quaternários de amônio
derivados da trietilamina
Tabela 5: Rendimento, aspecto físico e faixa de fusão dos novos análogos ao SQ109
derivados da piperazina
Tabela 6: Rendimento, aspecto físico e faixa de fusão dos derivados 9(a, b e d) e 10(a, b e d)
Tabela 7: Valores de LogP e atividade in vitro contra M. tuberculosis H37Rv para os
compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d)95
Tabela 8: Valores de LogP, atividade in vitro contra L. amazonensis, citotoxicidade em
fibroblastos (3T3) e Índice de Seletividade (IS) para os compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e
4(a-d)
Tabela 9: Valores de LogP, atividade in vitro contra T. cruzi, citotoxicidade em fibroblastos
(3T3) e Índice de Seletividade (IS) para os compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d) 101

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Metodologia para obtenção dos brometos terpênicos
Esquema 2: Mecanismo de síntese dos brometos terpênicos (V-VIII)
Esquema 3: Rota sintética para obtenção dos terpenoides diaminados
Esquema 4: Mecanismo de síntese dos terpenoides diaminados
Esquema 5: Rota sintética proposta para obtenção dos novos análogos ao SQ109: Metodologia I
Esquema 6: Síntese do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (X)
Esquema 7: Proposta mecanística para a síntese do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1- carbonila (X)
Esquema 8: Rota sintética para obtenção das diaminas <i>N</i> -aciladas
Esquema 9: Proposta mecanística de síntese do <i>N</i> -(2-aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1- carboxamida (XI)
Esquema 10: Metodologia para síntese do composto 5b
Esquema 11: Metodologia proposta para síntese dos novos análogos ao SQ109 derivados da propano-1,3-diamina
Esquema 12: Rota sintética para obtenção dos análogos ao SQ109 derivados da piperazina.86
Esquema 13: Rota sintética proposta para obtenção dos novos análogos ao SQ109: Metodologia II

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACP – Acyl Carrier Protein;

AIDS – Acquired Immuno Deficiency Syndrome;

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

ATP – Adenosina trifosfato;

BACTEC – Sistema automatizado desenvolvido para detectar o crescimento de microrganismos;

BSL2 – BioSafety Level 2;

BZ-BenZonidazol;

CC₅₀ – Concentração Citotóxica 50%;

CCDS - Cromatografia em Camada Delgada de Sílica;

cm⁻¹ – Centímetro recíproco;

COSY – COrrelation SpectroscopY;

d – Dupleto;

DCM – DiCloroMetano;

DEPT – Distorcionless Enhancement by Polarizantion Transfer;

DMEM – Meio de cultura DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium);

- DMSO Dimetilsulfóxido;
- DNA DeoxyriboNucleic Acid;

DTN – Doenças Tropicais Negligenciadas;

ELISA – Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay;

EMB – EtaMButol;

emb – Gene que codifica a síntese da enzima arabinosil transferase;

ESI – Electron Spray Ionization;

FCS – Fetal Calf Serum;

FM – Fórmula Molecular;

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz;

GTP – Guanosina Trifosfato;

HIV - Humman Immunodeficiency Vírus;

HRMS – High Resolution Mass Spectrometry;

HSQC – Heteronuclear Sigle Quantum Coherence;

Hz – *Hertz*;

- IC₅₀ Inhibitory Concentration 50%;
- ICC Instituto Carlos Chagas;

INH - Isoniazida;

*Inh*A – Enzima micobacteriana que catalisa a biossíntese e alongamento das cadeias de ácido graxo;

IPEC - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas;

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry;

- IV InfraVermelho;
- IS Índice de Seletividade;
- J Constante de acoplamento;
- KatG Enzima catalase/peroxidase;

Kg – Kilograma;

- LIT Meio de cultura LIT (Liver Infusion Triptose);
- LogP Coeficiente de partição;
- m Multipleto;
- M Concentração molar;
- MABA Microplate Alamar Blue Assay;
- MDR-TB MultiDrug Resistant Tuberculosis;
- MHz *MegaHertz*;
- MIC Minimum Inhibitory Concentration;

min – Minuto (s);

- mL Mililitro;
- MM Massa Molar;
- mmHg Milímetros de mercúrio;
- mmol Milimol;
- m/m Relação massa/massa;
- MTT Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol;
- m/v Relação massa/volume;
- *m/z* Relação massa/carga;
- NA Não Ativo;
- NAD Nicotinamide Adenine Dinucleotide;
- ND Não Determinado;
- NF NiFurtimox;
- nM Nanomolar;
- OMS Organização Mundial de Saúde;
- OPAS Organiação Pan-Americana de Saúde;
- P.A. Para Análise;
- PBS Phosphate Buffered Saline;
- pH Potencial hidrogeniônico;
- pncA Gene codificador da enzima pirazinamidase;
- POA PyranizÓic Acid;
- ppm Partes por milhão;
- PZA Pirazinamida;

PZAase - Enzima pirazinamidase;

- q Quarteto;
- qui Quinteto;

RENAME - Relação Nacional de Medicamentos Essenciais;

- Rf-Rentention Factor;
- RIF Rifampicina;
- RMN Ressonância Magnética Nuclear;
- RMN de ¹H Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio;
- RMN de ¹³C Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13;
- RNA RiboNucleic Acid;
- rpoB Gene codificador da síntese da cadeia β da RNA polimerase;
- s Simpleto;
- sl Simpleto largo;
- SDS Sodium Dodecil Sulfate;
- S_N2 Substituição Nucleofílica Bimolecular;
- SUS Sistema Único de Saúde;
- t Tripleto;
- TA Tripanossomíase Americana;
- t. a. Temperatura ambiente;
- TB Tuberculose;
- TEA TriEtilAmina;
- THF Tetraidrofurano;
- UEPG Universidade Estadual de Ponta Grossa;
- v/v Relação volume/volume;
- XDR-TB EXtensively Drug Resistant TuBerculosis;
- °C Grau Celsius;
- µg Micrograma;
- μM Micromolar;
- μL Microlitro;

υ – Estiramento;

 υ_s – Estiramento simétrico;

 υ_{as} – Estiramento assimétrico;

- δ Deformação angular (para infravermelho);
- δ Deslocamento químico (para Ressonância Magnética Nuclear);
- $[M+H]^+$ Íon molecular protonado;
- $[M+Na]^+ Molécula cationizada.$

LISTA DAS ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS











SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO
1.1 Tuberculose
1.1.1 Tratamento farmacológico
1.1.1.1 Isoniazida (INH)
1.1.1.2 Pirazinamida (PZA)
1.1.1.3 Rifampicina (RIF)40
1.1.1.4 Etambutol (EMB)
1.1.2 Surgimento de cepas de <i>M. tuberculosis</i> resistentes41
1.2 Leishmaniose
1.2.1 Tratamento farmacológico das Leishmanioses49
1.2.1.1 Antimoniais pentavalentes: primeira linha de tratamento
1.2.1.2 Fármacos de segunda escolha50
1.3 Tripanossomíase Americana ou Doença de Chagas52
1.3.1 Tratamento farmacológico
1.4 Desenvolvimento de novos fármacos e o SQ10958
2 OBJETIVOS
2.1 Objetivos gerais62
2.2 Objetivos específicos63
2.2.1 Química
2.2.2 Ensaios biológicos
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO64
3.1 Química
3.1.1 Síntese e caracterização dos brometos terpênicos
3.1.2 Síntese e caracterização dos terpenóides diaminados67
3.1.3 Síntese e caracterização de novos análogos ao SQ109: Metodologia I74
3.1.3.1 Síntese e caracterização do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila75
3.1.3.2 Síntese e caracterização de diaminas N-aciladas78
3.1.3.3 Tentativa de síntese do N -(2-((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il) aminoetil)triciclo
[3.3.1.1]decano-1-carboxamida82
3.1.3.4 Tentativa de síntese dos análogos ao SQ109 derivados do N-(3-aminopropil)triciclo
[3.3.1.1]decano-1-carboxamida83
3.1.3.5 Síntese dos análogos ao SQ109 derivados do N-(piperazinil)triciclo [3.3.1.1]decano-1-

carboxamida
3.1.4 Síntese e caracterização dos análogos ao SQ109: Metodologia II
3.2 Avaliação da atividade biológica dos terpenóides diaminados94
3.2.1 Ensaios in vitro contra Mycobacterium tuberculosis
3.2.2 Ensaios in vitro contra <i>Leishmania amazonensis</i> e índice de seletividade97
3.2.3 Ensaios in vitro contra <i>Trypanosoma cruzi</i> e índice de seletividade100
4 CONCLUSÃO104
5 SEÇÃO EXPERIMENTAL106
5.1 Materiais e Métodos106
5.1.1 Procedimento geral para a síntese dos brometos terpênicos107
5.1.2 Procedimento geral para a síntese dos terpenóides diaminados
5.1.3 Procedimento geral para a síntese do cloreto de triciclo [3.3.1.1]decano-1-carbonila116
5.1.4 Procedimento geral para a síntese das diaminas N-aciladas116
5.1.5 Procedimento utilizado na tentativa de síntese do N-(2-((E)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-
il)aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida118
5.1.6 Tentativa de síntese dos análogos ao SQ109 derivados do N-(3-
aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida118
5.1.7 Procedimento geral para a síntese dos novos análogos ao SQ109 derivados do N-
(piperazinil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida121
5.1.8 Procedimento geral para a síntese das diamidas terpênicas
5.2 Ensaios biológicos
5.2.1 Avaliação da atividade contra Mycobacterium tuberculosis
5.2.2 Avaliação da atividade contra promastigotas de Leishmania amazonensis, citotoxicidade
e índice de seletividade
5.2.3 Avaliação da atividade contra epimastigotas de Trypanosoma cruzi, citotoxicidade e
índice de seletividade131
6 REFERÊNCIAS133
7 ANEXO140

34

1 Introdução

1.1 Tuberculose

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, também conhecida como Bacilo de Koch (**Figura 1 A**), em homenagem ao cientista Robert Koch (**Figura 1 B**) que o identificou pela primeira vez em 1882 [1–3].



Figura 1: (A) Imagem do *Mycobacterium tuberculosis* obtida por microscopia eletrônica; (B) Robert Koch.Fonte: (A) Adaptado de Fleury Medicina e Saúde, 2014 [4]; (B) Alan G. Baxter, 2001 [5].

O *M. tuberculosis* é uma bactéria estritamente aeróbica que infecta e se reproduz principalmente nos pulmões, podendo levar o indivíduo infectado a desenvolver a forma da TB pulmonar ativa, caso o seu sistema imunológico esteja deficiente [6]. Entretanto, o bacilo pode acometer outros órgãos do corpo humano como o fígado, pâncreas, medula óssea, baço e próstata, visto que a progressão da doença está diretamente relacionada à integridade do sistema imunológico do hospedeiro [6–8].

A TB é facilmente transmitida de pessoa a pessoa através do ar. Um doente de TB pulmonar ativa lança ao ar cerca de dois milhões de bacilos através da fala, espirro e principalmente da tosse e estes podem permanecer em suspensão durante horas, podendo infectar inúmeras pessoas [3,6,9].

Esta doença acomete principalmente indivíduos em idade produtiva entre 15 e 59 anos e é considerada uma epidemia global, encontrando-se entre os maiores problemas de saúde pública do mundo, embora seja encontrada principalmente nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento [3,10,11]. Inúmeros fatores contribuíram para isso, sendo os maiores agravantes a desigualdade social, os aglomerados populacionais, os movimentos migratórios, as emergentes cepas de bacilos resistentes aos fármacos disponíveis para o tratamento e o surgimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (do inglês, *Acquired Immuno Deficiency Syndrome*-AIDS), em 1981, que aumentou significativamente a taxa de mortalidade pela TB em muitos países [3,9].

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a TB é a segunda maior causa de morte por doença infecciosa. Conforme os dados epidemiológicos divulgados pela OMS no relatório intitulado por "*Global tuberculosis report 2016*": em 2015 houve a incidência de 10,4 milhões de novos casos e 1,8 milhão de mortes por TB, dos quais somente 0,4 milhão eram HIV-positivos [12].

Para o Brasil os índices também são alarmantes. De acordo com o Ministério da Saúde, o Brasil ocupa o 17° lugar no *ranking* dos 22 países que concentram 80% dos casos de tuberculose no mundo, sendo que a cada ano, há a incidência de aproximadamente 70 mil novos casos e ocorrem 4,6 mil óbitos pela doença [13].

Os doentes de TB pulmonar ativa geralmente apresentam os seguintes sintomas: tosse persistente (na maioria dos casos) com a eliminação de muco e eventualmente sangue, dor na região toráxica, febre, suor noturno e perda de massa corpórea [14].

1.1.1 Tratamento farmacológico

Com o advento da terapia farmacológica para a TB na década de 1950, pela primeira vez na história, a doença tornou-se curável, embora ela ainda continue a ser um dos grandes problemas de saúde pública global, atingindo especialmente os países subdesenvolvidos e em desenvolvimento [3,15].

No Brasil, em 1979, o Ministério da Saúde apresentou o primeiro esquema básico para o tratamento da TB, na qual seria necessário que o indivíduo infectado pelo *M. tuberculosis* utilizasse os fármacos rifampicina (RIF), isoniazida (INH) e pirazinamida (PZA) por um período de dois meses, seguido por uma segunda fase de tratamento com a utilização de medicamentos à base de RIF e INH, por mais quatro meses [14].

No ano de 2009, o Programa Nacional de Controle da Tuberculose revisou o sistema de tratamento da TB no Brasil [14]. Amparado pelos estudos realizados sobre a resistência bacteriana aos medicamentos anti-TB, que revelou o aumento da resistência à INH de 4,4 para 6,0%, decidiu-se introduzir o etambutol (EMB) como quarto fármaco a ser utilizado na

primeira fase de tratamento do esquema básico [14].

Desta forma, e de acordo com as recomendações da OMS, o atual tratamento farmacológico padrão de primeira escolha contra a TB ativa consiste na associação sinérgica de quatro fármacos (**Figura 2**): RIF, INH, PZA e EMB, administrados na forma de comprimidos e em doses combinadas, no intuito de garantir um tratamento eficaz, evitando a emergência de bacilos resistentes [6,14].



Figura 2: Representação das estruturas dos fármacos antituberculose de primeira escolha contra TB ativa.

Assim, atualmente, o esquema básico de tratamento continua sendo dividido em duas fases [14]:

- Fase intensiva: consiste na administração oral de comprimidos contendo os quatro fármacos por um período de 2 meses, no intuito de reduzir a população de bacilos;
- Fase de manutenção: consiste na administração oral de comprimidos contendo os fármacos RIF e INH, por um período de 4 meses para eliminar os microrganismos persistentes.

1.1.1.1 Isoniazida (INH)

A INH é um pró-fármaco muito importante no tratamento da TB ativa e latente, sendo utilizada desde a sua descoberta que ocorreu simultâneamente, no ano de 1952, por três indústrias farmacêuticas: a Hoffman LaRoche, E.R. Squibb & Sons e a Bayer [15–17].

Apesar de seu mecanismo de ação ser relativamente complexo, a sua estrutura molecular (**Figura 3**) é simples, sendo constituída por um heterociclo aromático (piridina), substituído na posição 4 do anel por um grupo hidrazido.


Figura 3: Representação da estrutura molecular do fármaco INH.

A INH é um inibidor da biossíntese da parede celular, possuindo ação bactericida em micobactéricas que se multiplicam rapidamente e ação bacteriostática para bacilos de crescimento lento, sendo que a Concentração Inibitória Mínima (do inglês, *Minimum Inhibitory Concentration*-MIC) para o *M. tuberculosis* varia de 0,02-0,20 µg.mL⁻¹, dependendo da suceptibilidade da cepa [15,18].

Este precursor, através da enzima catalase/peroxidase (*Kat*G) do *M. tuberculosis*, é transformado em seu metabólito ativo (radical ou ânion acil isonicotínico), que se liga covalentemente ao átomo de carbono na posição 4 do anel nicotinamida do cofator Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina (do inglês, *Nicotinamide Adenine Dinucleotide*-NAD), em sua forma oxidada (NAD⁺) ou radicalar (NAD[•]) (**Figura 4**), formando um aduto no sítio ativo da enzima *Inh*A, uma Proteína Acil-Carreadora redutase (do inglês, *Acyl-Carrier Protein*-ACP) responsável pela biossíntese e alongamento das cadeias de ácidos graxos [17,19]. O aduto formado inativa a *Inh*A, interrompendo a síntese de ácidos micólicos, que são componentes essenciais para a estruturação da parede celular da micobactéria [20].



Figura 4: Propostas de formação do Acil-NADH isonicotínico, inibidor de InhA. Fonte: Adaptado de Denise A.R. e colaboradores [20].

O mecanismo mais comum de resistência à INH, apresentado pelos bacilos, consiste na deleção do gene *Kat*G, responsável pela codificação da enzima catalase/peroxidase, e desta forma, não há a conversão do pró-fármaco em seu respectivo metabólito ativo e, consequentemente, a ausência da resposta farmacológica [19].

As reações adversas causadas pelos fármacos anti-TB podem surgir a qualquer momento, durante o tratamento, e podem ser associados a alguns fatores de riscos como a idade do paciente, etilismo, desnutrição, hepatopatias prévias e a coinfecção pelo HIV. Tais reações podem ser classificadas em dois grupos [14]:

- Reações adversas menores: conjunto de reações adversas de média importância clínica em que normalmente não é necessária a interrupção da quimioterapia;
- Reações adversas maiores: são aquelas de grande relevância clínica, sendo necessária a suspensão do tratamento, seguida da reintrodução dos medicamentos (um a um) após a melhora do paciente ou a substituição por esquemas especiais, eliminando-se o fármaco causador da reação.

Para a INH, as reações adversas menores são: náusea, vômito, dor abdominal, prurido ou exantema leve, dor articular e neuropatia periférica [14]. Para estas reações é necessário considerar a utilização de fármacos específicos para tratar os sintomas emergentes e o

Introdução

acompanhamento do paciente por profissionais de saúde [14]. Já as reações adversas maiores são: exantema ou hipersensibilidade moderada a grave, psicose, crise convulsiva, encefalopatia tóxica (ou coma) e hepatotoxicidade [14].

1.1.1.2 Pirazinamida (PZA)

A PZA também é um pró-fármaco muito importante na terapia anti-TB, cujo metabólito ativo apresenta uma potente ação bactericida, denomidada por vários autores como ação esterilizante, sendo que o MIC para o bacilo de Koch varia de 6,25-50,0 μ g.mL⁻¹ em pH = 5,5 [16,21,22]. A notória importância deste fármaco se dá através da sua capacidade, quando associado à RIF, de induzir a morte dos bacilos resistentes durante a fase intensiva de tratamento, encurtando-o de 9 para 6 meses [21].

Descoberta no ano de 1936 e introduzida na terapia anti-TB desde 1952, a PZA (**Figura 5**) é um análogo sintético da nicotinamida (vitamina B3) (**Figura 5**), com estrutura molecular semelhante ao da INH [16]. Estruturalmente, a PZA é constituída por um heterociclo aromático (pirazina), substituído na posição 2 do anel por um grupo amido não substituído.



Figura 5: Representação das estruturas moleculares da nicotinamida e PZA.

A PZA é um pró-fármaco cujo mecanismo de ação não é bem elucidado [21]. Acredita-se que ela se difunda passivamente através da parede celular do *M. tuberculosis*, sendo convertida em ácido piranizóico (do inglês, *PyranizOic Acid*-POA) no citoplasma bacteriano através da enzima pirazinamidase (PZAase) que é codificada pelo gene *pnc*A [21,23,24]. Em seguida há um aumento na concentração do POA no citoplasma do bacilo, devido a ineficiência da bomba de efluxo, ocasionando uma diminuição do pH intracelular e por conseguinte, ocorre a inativação de enzimas, como a ácido graxo sintase I, interferindo de modo negativo na biossíntese do ácido micólico [16,18,23]. A resistência micobacteriana à PZA é associada à prováveis mutações ocorridas no gene *pnc*A do *M. tuberculosis* [25].

Assim como os demais fármacos anti-TB a PZA é responsável por reações adversas

distintas, em menor grau, como náusea, vômito, dor abdominal, dor nas articulações e hiperuricemia com artralgia, além de poder ocasionar hipersensibilidade de intensidade moderada a grave, caracterizada como efeito adverso maior [14].

1.1.1.3 Rifampicina (RIF)

A RIF (**Figura 6**) é um fármaco pertencente a primeira linha de tratamento da TB que foi descoberta em 1966 pela *Research Laboratories, Lepetit S.p.A.*, em Milão na Itália [26]. Desde então, esta substância bioativa vem sendo utilizada, apresentando um MIC para o *M. tuberculosis* de 0,05 a 0,5 μ g.mL⁻¹[15].



Figura 6: Representação das estruturas moleculares da rifampicina B e RIF.

A RIF é um composto semi-sintético passível de ser sintetizada a partir da rifampicina B (**Figura 6**), que é obtida pela fermentação realizada pelo *Streptomyces mediterranei* (ATCC 13685) [27].

Após a administração e absorção, a RIF inicia a sua ação bactericida e inclusive o produto da sua biotransformação hepática, a desacetilrifampicina, também possui ação contra bacilos metabolicamente ativos e contra aqueles cujo metabolismo se encontra reduzido [16,27]. O seu mecanismo de ação baseia-se na sua interação e bloqueio do RNA polimerase da micobactéria, inibindo a síntese do RNA mensageiro e, consequentemente, a síntese de proteínas essenciais à sobrevivência e multiplicação do bacilo [27]. O mecanismo de resitência à RIF baseia-se na mutação do gene *rpo*B do bacilo, que codifica a síntese da cadeia β da RNA polimerase [28]

As principais reações adversas menores são: náusea, vômito, dor abdominal, suor e urina com coloração avermelhada e prurido, e as maiores, o exantema ou hipersensibilidade de intensidade moderada a grave [14].

1.1.1.4 Etambutol (EMB)

O EMB (**Figura 7**) é um aminoálcool derivado da etano-1,2-diamina que foi sintetizado em 1961 pelo laboratório Lederle (*Lederle Laboratories Division of the American Cyanamid Company*) e utilizado no tratamento da tuberculose desde o ano de 1966 [16,29].



Figura 7: Representação da estrutura molecular do EMB.

Sendo uma substância biologicamente ativa que não necessita de uma prévia biotransformação para exercer a sua atividade, o (*S*,*S*)-Etambutol (MIC igual a 1-5 μ g.mL⁻¹) é uma substância utilizada na clínica médica enquanto que o seu isômero (*R*,*R*)-Etambutol apresenta uma severa toxicidade, capaz de causar danos oculares como a cegueira [3,15].

O mecanismo de ação do EMB baseia-se na inibição da enzima arabinosil transferase que é responsável pela biossíntese do arabinogalactano, um polissacarídeo importante na estruturação da parede celular dos bacilos de Koch [16,18]. A resistência bacteriana ao EMB está vinculada a mutações genéticas no gene *emb*B, que codifica o RNA mensageiro envolvido na biossíntese da enzima alvo [30].

Em relação às reações adversas menores do EMB, pode-se destacar a náusea, vômito, dor abdominal, neuropatia periférica e hiperuricemia com artralgia e, a neurite óptica como reação adversa maior [14].

1.1.2 Surgimento de cepas de *M. tuberculosis* resistentes

Embora seja fortemente orientado a utilização racional dos medicamentos, principalmente a dos antimicrobianos, ainda há uma forte resistência por parte dos pacientes em aderir corretamente à farmacoterapia. No caso do tratamento anti-TB, os principais fatores que levam ao uso irracional dos antibacterianos são as pronunciantes reações adversas e o alto número de doses, aliados ao longo tempo de tratamento, a saber, um período mínimo de 6 meses [3].

Devido a esses fatores, muitos pacientes interrompem ou abandonam o tratamento farmacológico e, consequentemente, surgem as cepas de *M. tuberculosis* resistentes aos fármacos comumente utilizados na clínica, originando a Tuberculose Multirresistente (do

inglês, *MultiDrug Resistant Tubersulosis*-MDR-TB) e a Tuberculose Extensivamente Resistente (do inglês, *Extensively Drug Resistant Tuberculosis*-XDR-TB).

A MDR-TB é uma forma específica da TB resistente caracterizada pela infecção por bacilos que adquiriram resistência contra os fármacos anti-TB mais potentes, a INH e a RIF, enquanto que a XDR-TB é uma definição atribuída a doença ocasionada pelas bactérias, que além de não responderem ao tratamento com a INH e a RIF, desenvolveram ainda resitência a fluoroquinolonas (**Figura 8**) e a um dos três fármacos injetáveis de segunda-linha: a capreomicina, amicacina ou canamicina [31].



Figura 8: Representação das estruturas das principais fluoroquinolonas disponíveis no mercado.

O crescente aumento da incidência de cepas resistentes é altamente preocupante e tem se tornado um novo obstáculo para o controle da TB, a nível mundial [32]. De acordo com a OMS, é estimado que cerca de 480.000 pessoas são portadoras da MDR-TB, sendo que 9,5% destes casos são diagnosticados como XDR-TB. As **Figuras 9** e **10** apresentam um mapa com dados referentes ao ano de 2015, ilustrando, respectivamente, a distribuição do número de novos casos de TB (todas as formas), para cada 100 mil habitantes/ano e o número de pacientes diagnosticados como XDR-TB que iniciaram o tratamento no ano de 2015 [12].





Figura 9: Estimativa da distribuição global de novos casos de TB (todas as formas) por ano. Fonte: Adaptado do relatório "*Global tuberculosis report*" da OMS, 2016 [12].



Figura 10: Número de pacientes diagnosticados como XDR-TB que iniciaram o tratamento em 2015. Fonte: Adaptado do relatório "*Global tuberculosis report*" da OMS, 2016 [12].

1.2 Leishmaniose

As Leishmanioses são um grupo de doenças polimórficas, de caráter infecciosa e não contagiosa, causadas por mais de 20 parasitos protozoários unicelulares pertencentes à família *Tripanosomatidae* e gênero *Leishmania spp.*, dos quais destacam-se o complexo *L. donovani* (*L. donovani, L. infantum* e *L. chagasi*), o complexo *L. mexicana (L. mexicana, L. amazonensis* e *L. venezuelensis*) e o subgênero *Viannia (L. (Viannia) braziliensis, L. (Viannia) guyanensis, L. (Viannia) panamensis* e *L. (Viannia) peruviana*), por serem responsáveis pelos maiores números de casos da doença [33–36].

No continente americano são reconhecidas 11 espécies dermotrópicas de *Leishmania* responsáveis por acometer a saúde humana e oito, apenas a saúde animal [9]. Especificamente no Brasil, sete espécies dos parasitos são conhecidas, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*, das quais destacam-se três [9]:

- Leishmania (Leishmania) amazonensis: encontrada no Amazonas, Pará, Rondônia, Tocantins, sudoeste do Maranhão, Bahia, Goiás, Minas Gerais e São Paulo;
- Leishmania (Viannia) guyanensi: aparentemente limitada ao norte da Bacia Amazônica (Amapá, Roraima, Amazonas e Pará), sendo encontradas principalmente em florestas de terra firme, em áreas que não se alagam no período das chuvas e estendendo-se pelas Guianas;
- Leishmania (Viannia) braziliensis: encontrada desde o sul do Pará até o Nordeste, atingindo o centro-sul do país e algumas regiões da Amazônia oriental.

Estes protozoários infectam diversos vertebrados, desde os animais domésticos como os cães, gatos e cavalos até aos animais silvestres, como os roedores [37]. A transmissão do parasito ao homem ocorre através de fêmeas de insetos hematófagos infectadas, de hábitos noturnos, conhecidos como flebotomíneos, que pertencem a dois principais gêneros: o *Phlebotomus* e o *Lutzomya* (**Figura 11**), sendo este último mais conhecido no Brasil como mosquito palha, tatuquira ou birigui [35,37,38].



Figura 11: Fêmea do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, engurgitada. **Fonte:** Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, 2014 [38].

As *Leishmanias spp.* se reproduzem por divisão binária simples e são encontrados em duas morfologias evolutivas principais: promastigota e amastigota. As promastigotas (**Figura 12 B**) são alongadas e flageladas, medindo entre 15 e 20 μ m de comprimento com um flagelo livre de tamanho semelhante, sendo encontradas livres ou aderidas ao trato digestivo dos hospedeiros invertebrados. As amastigotas (**Figura 12 A**), por sua vez, são ovoides e aflageladas, medindo de 2 a 5 μ m de diâmetro e são encontradas, obrigatóriamente, como parasitas intracelulares de macrófagos [35].



Figura 12: (A) Esfregaço sanguíneo, corado com Giemsa, contendo macrófagos parasitados com amastigotas de *Leishmania spp.*; (B) Promastigotas de *Leishmania spp.* corados com Giemsa.
 Fonte: (A) Adaptado de *Centers for Disease Control and Prevention* [39]; (B) Adaptado de Fernanda Marques, FIOCRUZ [40].

O ciclo biológico da *Leishmania spp.* (Figura 13), também conhecido como ciclo de transmissão da leishmaniose, varia de acordo com a espécie do parasito, vetores e hospedeiros

reservatórios, conforme a região geográfica e seus efeitos sobre a distribuição dos mesmos [37]. No entanto, para fins didáticos, pode-se adotar um ciclo biológico geral, o qual inicia-se com o flebotomíneo vetor, ao realizar a hematofagia. Neste momento o inseto ingere o sangue de um indivíduo ou animal parasitado contendo macrófagos infectados com *Leishmania spp*. (na forma amastigota). Em seguida, no intestino deste invertebrado ocorre a lise da membrana dos macrófagos e a liberação das amastigotas, que então assumem a forma de promastigotas prócíclicas e multiplicam-se por divisão binária. De três a quatro dias após a multiplicação os parasitos assumem a forma de promastigotas metacíclicas e migram para a probóscida do inseto e este, ao realizar um novo repasto sanguíneo, em um indivíduo saudável, inocula sua saliva contendo substâncias vasodilatadoras e inflamatórias além de inúmeras promastigotas metacíclicas que serão fagocitadas por células do sistema fagocítico do hospedeiro, fechando-se o ciclo [35].



Figura 13: Ciclo biológico da *Leishmania spp.* **Fonte:** Adaptado de Richard Reithinger, *et al.*, 2007 [41].

As leishmanioses são caraterizadas por diferentes manifestações clínicas, sendo divididas em três principais formas [41–44]:

• Leishmaniose Visceral (LV): também conhecida como Calazar ou "Barrigad'água" é a forma mais grave da doença, podendo levar o indivíduo a óbito em apenas 2 anos, se não tratada. Os principais sinais da doença são a

esplenomegalia, hepatomegalia, a pancitopenia e episódios irregulares de febre. Os agentes etiológicos são os parasitos perencentes as espécies *L. donovani* e *L. infantum*.

- Leishmaniose cutânea: é a manifestação clínica mais comum, sendo caracterizada por lesões ulcerativas localizadas no rosto, braços e pernas, podendo produzir até 200 lesões e deixar cicatrizes profundas. Quando as lesões se tornam crônicas e não se cicatrizam espontaneamente, diz-se que o paciente é portador de leishmaniose cutânea difusa. As principais espécies responsáveis pela doença são as pertencentes ao complexo *L. mexicana* do subgênero *Viannia*.
- Leishmaniose mucocutânea: é a forma mais desfigurante que acomete as mucosas membranas do sistema respiratório superior como os tecidos moles do nariz, boca e garganta. Geralmente, o indivíduo acometido apresenta sintomas nasais persistentes e incomuns como a obstrução e epistaxe, além de sintomas orais ou faríngeos. As principais espécies envolvidas são as do subgênero *Viannia*, especialmente a *L.* (*V.*) *braziliensis*, e a *L.* (*L.*) *amazonensis*.

As leishmanioses, juntamente com a tripanossomíase (ou Doença de Chagas) e outras moléstias, compõem a lista de 17 Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) que estão fortemente associadas à serviços precários de saneamento básico, baixo nível de escolaridade, dificuldades no acesso ao sistema de saúde, dentre outros fatores ligados à pobreza [43]. Diferentemente da TB que é uma doença global, a maioria das DTN constituem uma ameaça endêmica apenas em países tropicais empobrecidos, afetando raramente habitantes de outros países [43]. Este fato é facilmente compreendido, visto que a disseminação dessas doenças está intimamente atrelada aos fatores climáticos e seus efeitos sobre a distribuição de vetores e hospedeiros reservatórios [43].

De acordo com a OMS, as leishmanioses estão presentes em 98 países e em três continentes, sendo responsável por adoecer aproximadamente 1,3 milhão de pessoas e ocasionar cerca de 20 a 30 mil mortes a cada ano [42,45]. Dos casos incidentes, 300 mil corresponde a leishmaniose visceral (**Figura 14**), sendo que 90% dos casos são relatados no Brasil, Bangladesh, Etiópia, Índia, Nepal, Sudão e Sudão do Sul; e 1 milhão corresponde a forma cutânea (**Figura 15**) ou mucocutânea, sendo a primeira encontrada principalmente no Brasil, Afeganistão, Argélia, Colômbia, República Islâmica do Irã, Paquistão, Peru, Arábia Saudita e Tunísia e a segunda no Brasil, Peru e Estado Plurinacional da Bolívia [45].

<u>Introdução</u>



Figura 14: Número de novos casos de Leishmaniose Visceral (LV) relatados em 2013. Fonte: Adaptado da galeria de mapas da OMS, [46].



Figura 15: Número de novos casos de Leishmaniose Cutânea (LC) relatados em 2013. Fonte: Adaptado da galeria de mapas da OMS, [46].

1.2.1 Tratamento farmacológico das Leishmanioses

1.2.1.1 Antimoniais pentavalentes: primeira linha de tratamento

Como apresentado anteriormente, existem diversas manifestações clínicas da leishmaniose que podem ser causadas por diferentes espécies do protozoário *Leishmania spp.*. Desta forma, além do quadro clínico do paciente e da infra-estrutura de saúde disponível para a equipe médica, a espécie do parasito envolvido é um dos critérios a serem analisados para a prescrição de um regime de tratamento (dose, tempo de tratamento e intervalos de administração do fármaco) eficaz [47].

O arsenal terapêutico para o tratamento da doença é bem limitado. Consequentemente, para todas as formas clínicas da leishmaniose, os pró-fármacos de primeira linha de tratamento são os antimoniais pentavalentes (Sb⁺⁵) que são administrados por via parenteral, numa dose diária calculada em miligramas de Sb⁺⁵/Kg, conforme recomendação da OMS [37,47].

No Brasil, os antimoniais orgânicos trivalentes (Sb⁺³) foram utilizados no tratamento da leishmaniose tegumentar pela primeira vez em 1913, sendo prescrita pelo médico patologista Gaspar de Oliveira Vianna [38]. No entanto, desde a década de 1940, estes compostos foram substituídos pelos antimoniais pentavalentes (Sb⁺⁵), frente a sua maior ação leishmanicida e menor toxicidade [48,49].

Atualmente, existem duas formulações farmacêuticas em uso, que aparentemente não apresentam diferenças quanto a eficácia terapêutica: uma preparada a base de antimoniato de *N*-metilglicamina e a outra, de estibogliconato de sódio (**Figura 16**), que não possui autorização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para ser comercializado no Brasil [37,38,48].



Figura 16: Representação das estruturas dos fármacos Estibogliconato de sódio e Antimonitato de *N*metilglicamina.

Após a administração, o Sb⁺⁵ é absorvido pelas células hospedeiras, atravessam a membrana fagolisossomal e, em seguida, penetram através da membrana das amastigotas teciduais, dando início a sua ação leishmanicida [49]. O mecanismo de ação desses compostos ainda não está bem elucidado, porém acredita-se que o Sb⁺⁵ é convertido em sua forma ativa Sb⁺³, tornando-se então capaz de inibir a atividade glicolítica e a via oxidativa de ácidos graxos, comprometendo, respectivamento, o sistema energético (redução na produção de ATP e GTP) e a estruturação de sua membrana. Os detalhes da metabolização do antimônio e o local exato em que ocorre, também, não são totalmente conhecidos [38,49].

Esses compostos apresentam elevada toxicidade, principalmente devido ao efeito cumulativo do antimônio nos tecidos do organismo como do coração, fígado, rins e baço. Assim, o uso por tempo prolongado é responsável por provocar os efeitos colaterais com maior frequência, tais como a arritmia cardíaca ou outras complicações, mialgia, pancreatite, hepatite, insuficiência renal aguda e outras manifestações de nefrotoxicidade [47].

1.2.1.2 Fármacos de segunda escolha

Nos casos em que o paciente não responde adequadamente ao tratamento com o antimonial pentavalente, faz-se necessário a utilização dos fármacos de segunda escolha, conforme a natureza da infecção. O fármaco mais utilizado na clínica médica é a anfotericina B, mas em alguns casos, o tratamento é realizado com outros fármacos, como a pentamidina e a paromomicina [37,47]. As estruturas dos fármacos citados são representadas na **Figura 17**.





A anfotericina B é um antibiótico poliênico altamente hidrofóbico com ação fungicida, muito conhecido por seu uso no tratamento de micoses sistêmicas [47,50]. No entanto, ela é o fármaco de ação leishmanicida mais potente disponível comercialmente, cujo espectro de

ação engloba as formas promastigotas e amastigotas do protozoário, e é utilizada na segunda linha de tratamento da leishmaniose, em casos de resistência ou intolerância aos antimoniais, e como fármaco de primeira linha, em mulheres gestantes [37,38].

Por apresentar uma cadeia poliênica, a anfotericina B consegue interagir preferencialmente com os esteroides ergosterol e episterol, presentes na membrana plasmática da *Leishmania spp.*, ocasionando a formação de poros hidrofílicos que alteram a permeabilidade da membrana celular, levando o parasito a óbito [37,38,47,51].

Apesar de sua potente ação, a anfotericina B tem o seu uso limitado devido aos seus inúmeros e frequentes efeitos colaterais. Já durante a sua infusão no paciente, por via parenteral, ela é reponsável por cefaleia, febre, calafrios, astenias, dores musculares e articulares, vômitos, hipotensão e, inclusive, determinadas alterações cardiovasculares com risco de parada cardíaca, se a infusão for muito rápida (menos de 1 hora). Outras alterações graves também ocorrem no sistema respiratório, circulatório e renal [38].

Com o intuito de amenizar os efeitos colaterais agudos e crônicos e de melhorar a eficácia terapêutica desse fármaco, foram desenvolvidas diversas formulações lipídicas que apresentam menor toxicidade renal e maior segurança, como os lipossomas de anfotericina B (AmBisome[®]), complexo lipídico de anfotericina B (Abelcet[®]) e a dispersão coloidal (Amphocil[®]). Entretanto, o custo mensal do tratamento eleva-se substancialmente, dificultando o seu uso na maioria dos países endêmicos [47,52,53].

A pentamidina é uma diamidina aromática que vem sendo utilizada principalmente na Europa e na África, como tratamento alternativo desde 1952 [38,47]. Seu mecanismo de ação não é bem estabelecido. Além disso, ela é terapeuticamente menos eficaz que os antimoniais pentavalentes e a anfotericina B convencional e seus efeitos colaterais são maiores, destacando-se a nefrotoxicidade, podendo ocasionar insuficiência renal; hipotensão grave e arritmias; náusea; vômitos; diarreia; leucopenia; anemia; trombocitopenia; hepatite aguda; alterações neurológicas como neuralgia, confusão e alucinações [38,54].

A paromomicina é um antibiótico aminoglicosídico obtido a partir de culturas de *Streptomyces rimosus* var. *Paromomicinus* que vem sendo estudado e utilizado principalmente no tratatamento da leishmaniose cutânea e apresenta-se como um candidato para o tratamento da forma visceral [54–56].

1.3 Tripanossomíase Americana ou Doença de Chagas

A Tripanossomíase Americana (TA) é uma doença infecciosa e não contagiosa de caráter crônico causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (**Figura 18 A**), um parasito pertencente à família *Tripanosomatidae* e gênero *Trypanosoma spp.* [35,57]. Esta moléstia, também é mundialmente conhecida como Doença de Chagas, em homenagem ao médico brasileiro Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas (**Figura 18 B**) que descobriu e descreveu o parasito e a doença no ano de 1909 [35,58].



 Figura 18: (A) Esfregaço sanguíneo contendo *Trypanosoma cruzi* (tripomastigota), corado com Giemsa; (B) Carlos Chagas.
 Fonte: (A) Adaptado de *Centers for Disease Control and Prevention* [59]; (B) Capa da revista: Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [60].

A transmissão dos protozoários causadores da Doença de Chagas ocorre, na grande maioria dos casos, por meio transdérmico através das fezes e/ou urina de insetos triatomíneos infectados, conhecidos popularmente como barbeiros [61,62]. Entretanto, outras formas de infecção são conhecidas, como a ingestão de alimentos contaminados com as fezes do vetor, o transplante de órgãos e a transfusão de sangue contaminados e, até mesmo, a transmissão vertical ou congênita, via placenta [61,62].

Os insetos vetores do *T. cruzi* pertencem a família *Reduviidae* e subfamília *Triatominae* e são de hábitos noturnos. Atualmente, mais de 130 espécies são conhecidas e as principais espécies transmissoras da doença, entre os animais domésticos (hospedeiros reservatórios) e os humanos em áreas endêmicas, pertencem aos gêneros *Triatoma (T. infestans, T. brasiliensis e T. dimidiata), Rhodnius (R. prolixus) e Pantrongylus (P. megistus),*

dentre os quais pode-se destacar o *T. infestans* (**Figura 19**) que é o principal vetor responsável pela transmissão da Doença de Chagas nas regiões endêmicas da América do Sul [9,63–65].



Figura 19: Inseto *Triatoma infestans*. **Fonte:** Atlas iconográfico dos triatomíneos do Brasil [66].

O ciclo de vida do *T. cruzi* (**Figura 20**) é relativamente complexo, apresentando dois estágios de desenvolvimento em vetores hospedeiros (epimastigotas e tripomastigotas), que parecem não ser afetados pela infecção, e dois estágios em hospedeiros vertebrados (amastigotas intracelulares e tripomastigotas sanguícolas) [64,67]. O ciclo efetivamente se inicia quando o triatomíneo infectado, durante ou logo após a hematofagia, deposita fezes e/ou urina contendo o parasito na forma tripomastigota metacíclica. Em seguida, através de lesões na mucosa ou na pele, o parasito penetra no organismo do hospedeiro, infectando diversas células do sistema mononuclear fagocítico. Neste local, ocorre a diferenciação para a forma amastigota (arredondada) que se reproduz rapidamente através da divisão binária [35,68].

Em seguida, ocorre a diferenciação das amastigotas em tripomastigotas sanguícolas (flageladas) que se movimentam instensamente ocasionando a lise celular. Desta forma, os parasitos são liberados no interstício celular e ganham a corrente sanguínea, podendo infectar outros tecidos e órgãos, cumprindo um novo ciclo celular, ou poderão ser eliminados pelo sistema imunológico [35,68].

Se o hospedeiro é novamente o alvo da alimentação de um triatomíneo, o inseto pode ingerir os parasitos que irão cumprir um ciclo extracelular, diferenciando-se em epimastigotas em seu intestino, voltando a se replicar. Em seguida, as epimastigotas diferenciam-se novamente em tripomastigotas metacíclicas, sendo eliminadas pelas fezes e/ou urina do inseto, podendo infectar outros indivíduos, fechando-se o ciclo [68].



Figura 20: Ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi*. **Fonte:** Adaptado de Anis Rassis Júnior e colaboradores, 2010 [64].

Após a infecção pelo *T. cruzi*, ocorrem basicamente duas etapas fundamentais na infecção humana [9,35]:

- Fase aguda: corresponde ao início da infecção na qual encontra-se o parasita circulante na corrente sanguínea em quantidades expressivas, notadas através da análise de um esfregaço de sangue fresco. Também é possível observar, dentre vários sinais clínicos, algumas manifestações locais, quando o *T. cruzi* penetra pela conjuntiva (sinal de Romaña- edema bipalpebral unilateral) ou na pele (chagoma de inoculação). Nesta fase, os sinais e sintomas podem desaparecer espontâneamente, evoluindo para a fase crônica ou agravar-se, levando o paciente a óbito;
- Fase crônica: nesta fase, através de um simples esfregaço sanguíneo, observase raros parasitos circulantes na corrente sanguínea. Além disso, inicialmente o paciente é assintomático e não apresenta sinais de comprometimento cardíaco e/ou digestivo, podendo-se apresentar de quatro formas:
 - Forma indeterminada: numa avaliação clínico-laboratorial observase que os exames parasitológicos e sorológicos são positivos, mas o paciente não apresenta nenhum sinal ou sintoma da doença. Inclusive,

não se observa nenhuma alteração no eletrocardiograma convencional e o coração, esôfago e cólon apresentam-se radiologicamente normais. Esse quadro clínico pode perdurar por toda a vida ou evoluir tardiamente para outras formas da fase crônica;

- 2. Forma cardíaca: ocorre em cerca de 30% dos casos crônicos, sendo a maior responsável pela mortalidade por Doença de Chagas crônica. O paciente apresenta cardiomegalia, acompanhada de insuficiência cardíaca congestiva, devido a diminuição da massa muscular estriada cardíaca, ocasionada pela destruição do tecido cardíaco e substituição por tecido fibroso e fascículos;
- 3. Forma digestiva: cerca de 10% dos pacientes apresentam distúrbios morfológicos e funcionais no aparelho disgestivo que evoluem para o megacólon e/ou megaesôfago, levando a outras complicações como o rompimento desses órgãos e a peritonite (devido ao rompimento do cólon);
- 4. Forma associada ou cardiodigestiva: nesta forma o paciente apresenta sinais e sintomas concomitantes de lesões compatíveis com as formas cardíacas e digestivas.

De acordo com a OMS, a Doença de Chagas acomete cerca de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo, sendo encontrada principalmente em áreas endêmicas de 21 países latinoamericanos, como o Brasil, Argentina, Uruguai, Bolívia, Chile, México, Honduras e Equador (**Figura 21**), levando até 30% dos adultos jovens infectados a desenvolverem problemas cardíacos e até 10% a desenvolverem alterações digestivas, neurológicas ou formas associadas da doença, que acabam exigindo tratamentos específicos em ambiente hospitalar, ocasionando alto custo para os sistemas de saúde, como cirurgias e internações prolongadas [43,58,69]. Porém, nas últimas décadas, a doença também foi detectada nos Estados Unidos, Canadá e em países da Europa e do Pacífico ocidental, devido a mobilidade da população, seja por migração ou viagens [58].



Figura 21: Número estimado de casos de infecção por *T. cruzi* (2010-2013). **Fonte:** adaptado de *Third WHO reported on neglected tropical diseases*, 2015 [45].

1.3.1 Tratamento farmacológico

Os fármacos Benzonidazol (BZ) e Nifurtimox (NF) são dois agentes antiparasitários que foram descobertos há aproximadamente 50 anos atrás, e que ainda são utilizados no tratamento da Doença de Chagas [57,70]. Entretanto, estes quimioterápicos apresentam-se pouco eficazes, possuindo melhores resultados farmacoterapêuticos na fase aguda da doença, com taxas de cura parasitológica de 60 a 80% [35,57,65].

O Benzonidazol ou *N*-benzil-2-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-il)acetamida (**Figura 22**) é uma substância usada como fármaco de primeira escolha no tratamento da TA, sendo administrado na forma de comprimidos, em doses diárias correspondentes a 5 mg/Kg (em adultos), com duração média de tratamento de 60 dias, podendo durar 5 meses ou mais, quando a doença crônica é reativada. Contudo, ele atua somente contra os parasitos de *T. cruzi* na forma de tripomastigota sanguícola, não apresentando nenhuma ação sobre as formas teciduais [35,65,71,72]. O fármaco é relativamente tóxico para pacientes adultos, sendo responsável por diversos efeitos colaterais, dos quais destacam-se a anorexia, vertigem, dermatites urticariformes, cefaleia, sonolência, dores abdominais, hiperexcitabilidade e a polineuropatia, que é mais frequente em pacientes idosos [35].

Por sua vez, o NF ou (R,S)-3-metil-N-[(1E)-(5-nitro-2-furil)metileno]tiomorfolin-4-

amina-1,1-dióxido (**Figura 22**) é um antiprotozoário produzido pela Bayer que age contra o *T. cruzi* na forma de tripomastigota sanguícola e parcialmente contra as amastigotas teciduais, sendo administrado sob a forma de comprimidos na dose de 8 a 12 mg/Kg/dia, por um período de até 90 dias [35,65,71].



Figura 22: Representação das estruturas moleculares do Benzonidazol e Nifurtimox.

Devido a sua alta toxicidade, o NF não possui autorização da ANVISA para ser comercializado no Brasil e, portanto, não está incluso na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), que são disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) [73,74]. Entretanto, nos casos em que o paciente apresenta intolerância ou não responde ao tratamento com o BZ, o NF é adquirido pelo Ministério da Saúde, através de doação da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), com respaldo no § 5º do Artigo 8º da Lei 9.782 de 26 de janeiro de 1999 e disponibilizado ao portador da doença, durante todo o tratamento [74].

O mecanismo de ação destes fármacos ainda não foi completamente elucidado, mas sabe-se que o grupo nitro (NO₂) de ambos compostos são reduzidos a um grupo amino por ação das nitrorredutases e, durante este processo, são gerados vários radicais livres e/ou metabólitos eletrofílicos que são capazes de reagir com os ácidos nucléicos, ocasionando lesões no DNA do protozoário, comprometendo a sua homeostasia [72,75]. Entretando, o efeito tripanocida do BZ não depende apenas dos radicais de oxigênio, tal como o do NF [72]

Diante deste pequeno arsenal terapêutico, aliado a toxicidade sistêmica ocasionada pelo mesmo, diversos pesquisadores, em especial brasileiros, argentinos, chilenos e mais recentemente os venezuelanos, vêm trabalhando incansavelmente no desenvolvimento de novos compostos que possam atuar como agentes tripanocidas [35]. Assim, diversas substâncias vêm sendo testadas em animais e, até mesmo, no homem, mas infelizmente nenhuma conseguiu promover a cura definitiva dos pacientes tratados, suprimindo a infecção pelo *T. cruzi* [35].

1.4 Desenvolvimento de novos fármacos e o SQ109

Diante da notória necessidade de novas substâncias para tratar a Tuberculose (doença global) e as Doenças Tropicais Negligenciadas, em particular as Leishmanioses e a Doença de Chagas, diversos pesquisadores apostam na avaliação biológica de fármacos conhecidos e bem estabelecidos para uma determinada doença, ou até mesmo de compostos candidatos a fármacos, para outras finalidades ou microrganismos. Outros, por sua vez, apostam no *design* e síntese de novos compostos, baseando-se no grupo farmacofórico de substâncias já utilizadas na clínica médica ou na estrutura de compostos que apresentaram alguma atividade biológica, no intuito de identificar um composto análogo, provavelmente mais eficaz e mais seguro [76–80].

Sendo assim, novas moléculas bioativas com diferentes mecanismos de ação já se encontram atualmente em fase de testes clínicos e pré-clínicos. Dentre elas, pode-se destacar dois derivados diaminados, o SQ609 e o SQ109 (**Figura 23**), que se encontram, respectivamente, em estudos pré-clínicos e na fase II de ensaios clínicos para o tratamento da TB [81].

O SQ609 é uma dipiperidina que se mostrou muito eficaz no controle do crescimento micobacteriano intracelular em camundongos infectados com o *M. tuberculosis*, inibindo mais que 90% da carga bacteriana com a concentração de 4μ g/mL, além de manter o efeito terapêutico prolongado por 10 a 15 dias, após a interrupção da terapia [82].



Figura 23: Representação das estruturas do SQ109 e SQ609.

O SQ109 é um potencial candidato a fármaco, baseado no grupo farmacofórico etano-1,2-diamina do (*S*,*S*)-Etambutol (**Figura 24**), selecionado a partir de uma biblioteca contendo 63.238 compostos testados contra cepas de *M. tuberculosis* [77,83–85]. Possuindo uma

unidade adamantila e a cadeia terpênica geranila, o SQ109 apresentou atividade contra cepas padrão do *M. tuberculosis*, bem como contra cepas resistentes aos fármacos INH, RIF e EMB, sugerindo que este novo agente antituberculose possui um novo mecanismo de ação. A literatura ainda relata que o SQ109 apresentou uma taxa de 99% de atividade inibitória contra bactérias intracelulares, destacando ainda mais a sua notável ação antimicobateriana [83].



Figura 24: Representação das estruturas do (S,S)-Etambutol (A) e SQ109 (B).

Considerada uma molécula promissora no combate à tuberculose ativa, o SQ109 passou por extensos estudos pré-clínicos em camundongos, cães e macacos, passando então para o estágio de ensaios clínicos no ano de 2005. Ao concluir os estudos de fase 1 com resultados auspiciosos, em 2007 este composto foi aprovado para estudos clínicos de fase 2 [86].

Vale ressaltar que estudos *in vivo* utilizando camundongos como modelo animal revelaram que a associação do SQ109 com a RIF, INH e PZA foi 32 vezes mais eficaz do que o regime padrão atualmente utilizado, necessitando de um menor tempo para alcançar o mesmo índice de redução da população de *M. tuberculosis* (Figura 25), sugerindo que esta nova associação permite uma cura mais rápida e que, em um futuro próximo, poderá vir a ser utilizado um novo esquema terapêutico [87].







Estes resultados promissores apresentados pelo SQ109 despertaram o interesse de muitos pesquisadores a planejar e sintetizar compostos análogos a sua estrutura e, também a testá-los contra cepas de outros microrganismos patogênicos, causadores de doenças parasitárias de grande relevância clínica e epidemiológica, principalmente em países pouco

desenvolvidos e/ou em desenvolvimento, como o Brasil [80,85,86,88-91].

García-García e seus colaboradores descobriram a potente ação de SQ109 contra cepas de *Leishmania mexicana*. Nos ensaios realizados contra as formas amastigotas intracelulares, em macrófagos infectados, ele demonstrou uma excelente ação leishmanicida com uma Concentração Inibitória de 50% (do inglês, *Inhibitory Concentration* 50% - IC₅₀) igual a 11 \pm 0,9 nM, sem apresentar nenhum efeito observável sobre macrófagos não infectados [91]. Nos ensaios contra as formas promastigotas, o SQ109 apresentou IC₅₀ de ~ 500 nM. Além disso, o composto também apresentou um ótimo índice de seletividade (IS > 500) [91].

Veiga-Santos e colaboradores avaliaram a atividade do SQ109 contra cepas de *Trypanosoma cruzi* em três formas de ciclo de vida, obtendo excelentes resultados, mostrando que ele também possui um grande potencial como um candidato a protótipo de fármaco contra a Doença de Chagas. Neste estudo, verificou-se que o composto é um potente agente tripanocida: nos ensaios realizados contra a forma flagelada tripomastigota, o SQ109 apresentou IC₅₀ = 50 ± 8 nM; para as epimastigotas extracelulares exibiu IC₅₀ = $4,6 \pm 1$ µM e para as formas amastigotas, clinicamente relevantes, apresentou IC₅₀ ~ 0,5 a 1 µM, com um Índice de Seletividade (IS) de 10 a 20 [90].

Neste contexto, considerando os resultados promissores observados em vários estudos

que avaliam a atividade microbicida de compostos diaminados e, também, a urgente necessidade em descobrir novas substâncias bioativas que sejam eficazes no tratamento da tuberculose, leishmaniose e Doença de Chagas e apresentem menores índices de efeitos colaterais, o presente trabalho relata a síntese, caracterização e avaliação biológica de compostos diaminados e seus derivados *N*-acilados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Planejamento, síntese e avaliação da atividade biológia de 16 terpenóides diaminados (Figura 26) derivados da etano-1,2-diamina (1(a-d)); propano-1,3-diamina (2(a-d)); butano-1,4-diamina (3(a-d)) e 1,4-diazaciclo-hexano (4(a-d)). Dentre tais compostos, destacam-se os quatro derivados inéditos: 1a, 2c, 3b e 3c.



Figura 26: Representação geral das estruturas dos 16 terpenoides diaminados propostos.

Planejamento e síntese de nove novas diaminas *N*-aciladamantano-*N*'-alquiladas (Figura 27), análogas ao SQ109, com potencial atividade antimicobacteriana, leishmanicida e tripanocida.



Figura 27: Representação geral das estruturas dos nove novos análogos ao SQ109.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Química

- Síntese dos brometos terpênicos: 1-bromo-3-metilbut-2-eno (V); (*E* e *Z*)-1-bromo-3,7-dimetilocta-2,6-dieno (VI e VII respectivamente) e (2*E*,6*E*)-1-bromo-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trieno (VIII);
- Síntese dos terpenóides diaminados derivados da etano-1,2-diamina (1(a-d)); propano-1,3-diamina (2(a-d)); butano-1,4-diamina (3(a-d)) e do 1,4-diazaciclo-hexano (4(a-d));
- Síntese do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (**X**);
- Síntese de *N*-(2-aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XI**);
- Síntese de *N*-(3-aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XII**);
- Síntese de *N*-(piperazinil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XIII**);
- Síntese de nove novos análogos ao SQ109, derivados da etano-1,2-diamina (5(a, b e d)); propano-1,3-diamina (6(a, b e d)) e do 1,4-diazaciclo-hexano (7(a, b e d)).

2.2.2 Ensaios biológicos

- Avaliação da atividade biológica dos terpenóides diaminados contra cepas de Mycobacterium tuberculosis H37Rv (ATCC 27294), Leishmania amazonensis (MHOM/BR/77/LOT0016) e Trypanosoma cruzi (Dm28c);
- Avaliação da citotoxicidade contra linhagens de células não infectadas: fibroblastos 3T3 (ATCC CRL-2752).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Química

3.1.1 Síntese e caracterização dos brometos terpênicos

Os brometos terpênicos V-VIII foram sintetizados a partir de seus respectivos álcoois (**Esquema 1**), substituindo-se a hidroxila alílica por um átomo de bromo, para que este atue como grupo abandonador na etapa de obtenção dos terpenóides diaminados.



Esquema 1: Metodologia para obtenção dos brometos terpênicos.

A reação de bromação alílica acontece por um mecanismo de Substituição Nucleofílica Bimolecular ($S_N 2$). Na primeira etapa, um par de elétrons do átomo de oxigênio da hidroxila realiza um ataque nucleofílico ao átomo de fósforo do tribrometo de fósforo (PBr₃), ocorrendo a saída de um íon brometo. Em seguida, um par de elétrons do íon brometo gerado realiza um ataque nucleofílico ao carbono alílico aceptor do álcool terpênico, ocasionando a saída do grupo PBr₂OH e fornecendo os compostos **V-VIII** [92]. O mecanismo é descrito no **Esquema 2**.



Esquema 2: Mecanismo de síntese dos brometos terpênicos (V-VIII). **Fonte:** Adaptado de Paula Yurkanis Bruice, 2006 [92].

A síntese dos compostos V-VIII ocorreu através da reação entre os álcoois terpênicos I-IV e o tribrometo de fósforo, utilizando-se como solvente da reação o tetraidrofurano (THF) ou éter etílico (Et₂O). Para a síntese dos compostos VI, VII e VIII a utilização do THF (ponto

de ebulição: 66 °C) foi pertinente. Entretanto, para o preparo do composto V utilizou-se o éter etílico (ponto de ebulição: 34,6 °C) com o intuito de obter melhores rendimentos. Neste caso, o ponto de ebulição do solvente foi um fator relevante, pois os baixos rendimentos da reação foram associados a perda do produto por evaporação durante a etapa de remoção do solvente do meio reacional sob pressão reduzida.

É importante ressaltar que os derivados **V-VIII** não foram purificados por cromatografia em coluna. Estes compostos foram utilizados nas reações de *N*-alquilação logo após a extração líquido-líquido, utilizando-se como fase orgânica a mistura de solventes hexano/éter etílico na proporção 1:1 e, como fase aquosa, uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) a 5%, para neutralizar o ácido fosforoso formado durante a reação. Os brometos terpênicos, não purificados, foram obtidos após extração com rendimentos bons, que se encontram sumarizados na **Tabela 1**.

Brometos terpênicos		
Composto	Rendimento (%)*	Aspecto físico
V	87	Óleo amarelo claro
VI	98	Óleo amarelo claro
VII	99	Óleo amarelo claro
VIII	92	Óleo amarelo claro

 Tabela 1: Rendimento e aspecto físico dos brometos terpênicos (V-VIII).

*Rendimento calculado após a extração, visto que os produtos não foram purificados por cromatografia em coluna.

A caracterização destes compostos foi realizada através da análise dos espectros no infravermelho (IV) e por comparação com os espectros obtidos para os materiais de partida.

Conforme esperado, os espectros no IV dos compostos V-VIII são muito semelhantes. Portanto, a título de exemplo, serão discutidas as atribuições feitas durante a caracterização do composto VI, o (*E*)-1-bromo-3,7-dimetilocta-2,6-dieno e do seu respectivo álcool de partida (II).

Conforme a **Figura 28**, que representa o espectro no IV do (*E*)-3,7-dimetilocta-2,6dien-1-ol (**II**), em 3316 cm⁻¹ observa-se a presença de uma banda atribuída à deformação axial (ou estiramento) da ligação O-H. A banda se apresenta larga, pois as moléculas se encontram na forma associada, realizando ligação de hidrogênio intermolecular. A absorção relativa a ligação C=C tem sua banda de deformação axial em 1669 cm⁻¹. Como os álcoois alílicos pertencem ao grupo dos álcoois primários é correto descrever o estiramento da ligação C-O, como o estiramento da ligação C-C-O, em razão do acoplamento do modo vibracional da ligação C-O e da ligação C-C adjacente [93]. Desta forma, a banda bastante intensa e



relativamente larga observada em 996 cm⁻¹ é atribuída a deformação axial da ligação C-C-O.

Figura 28: Espectro na região do IV do composto II.

No espectro obtido na região do IV para o composto **VI** (**Figura 29**) não é possível observar a banda referente ao estiramento da ligação C-Br, pois o modo vibracional desta ligação resulta em uma banda de absorção na região compreendida entre 650 e 480 cm⁻¹, região esta que se encontra fora do limite de utilidade do cristal de seleneto de zinco utilizado (4000 a 650 cm⁻¹) [93]. Entretanto, a ausência de uma banda na região de 3316 cm⁻¹ indica a transformação do álcool em seu respectivo brometo. Neste espectro, a banda referente a deformação axial da ligação C=C sofreu um ligeiro deslocamento para uma região de menor frequência, sendo observada em 1654 cm⁻¹.



Figura 29: Espectro na região do IV do composto VI.

Além destas bandas esperadas para o composto **VI**, observa-se ainda uma banda fina e intensa em 1199 cm⁻¹ e uma banda fraca em 837 cm⁻¹ atribuídas, respectivamente, ao estiramento simétrico e assimétrico da ligação C-O-C de um possível éter terpênico (subproduto) obtido e/ou THF residual.

3.1.2 Síntese e caracterização dos terpenóides diaminados

Os terpenóides diaminados foram obtidos tratando-se as diaminas etano-1,2-diamina, propano-1,3-diamina, butano-1,4-diamina e 1,4-diazaciclo-hexano com os respectivos brometos terpênicos **V-VIII**, em diclorometano por um período de 24 horas (**Esquema 3**).



Esquema 3: Rota sintética para obtenção dos terpenoides diaminados.

Nesta reação, o par de elétrons não ligante do nitrogênio de um grupo amino realiza um ataque nucleofílico no átomo de carbono 1 do brometo terpênico, formando uma amina secundária protonada com a saída simultânea de um íon brometo (mecanismo S_N2). Na etapa seguinte, ocorre uma reação ácido-base, na qual a própria diamina utilizada em excesso atua como base no meio reacional, abstraindo o próton (H⁺) e fornecendo o terpenóide diaminado na forma de uma base livre [92]. O mecanismo está descrito no **Esquema 4**.



Esquema 4: Mecanismo de síntese dos terpenoides diaminados. **Fonte:** Adaptado de Paula Yurkanis Bruice, 2006 [92].

Todos os compostos sintetizados foram previamente purificados por extração líquidolíquido para remover o excesso da diamina e de seu respectivo bromidrato da mistura reacional. Em seguida, o óleo residual foi purificado por cromatografia em coluna *flash* utilizando-se como eluente a mistura de solventes: diclorometano, metanol e hidróxido de amônio, em proporções adequadas para cada um dos compostos.

Os terpenóides diaminados foram obtidos com rendimentos moderados a bons, conforme descritos na **Tabela 2**. A não obtenção de melhores rendimentos se deve à dificuldade encontrada durante a purificação destes compostos e à formação de derivados N,N'-dialquilados.

Terpenóides diaminados		
Compostos	Rendimento (%)	Aspecto físico
1a	89	Óleo amarelo
1b	56	Óleo amarelo
1c	63	Óleo amarelo
1d	31	Óleo amarelo
2a	22	Óleo amarelo
2b	54	Óleo amarelo
2c	37	Óleo amarelo
2d	21	Óleo amarelo
3 a	40	Óleo amarelo
3b	31	Óleo amarelo
3c	38	Óleo amarelo
3d	30	Óleo amarelo
4a	51	Óleo amarelo
4b	82	Óleo amarelo
4c	46	Óleo amarelo
4d	40	Óleo amarelo

Tabela 2: Rendimento e aspecto físico dos terpenóides diaminados 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d)

Após a purificação, as estruturas dos terpenóides diaminados foram evidenciadas através da análise dos espectros no IV, RMN de ¹H e RMN de ¹³C. Os espectros de massas de

alta resolução foram obtidos apenas para os compostos inédidos **1a**, **2c**, **3b e 3c**, através da técnica de ionização por eletrospray (do inglês, *ElectroSpray Ionization - High Resolution Mass Spectrometry*-ESI-HRMS).

Para a análise dos espectros no IV dos compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d) buscou-se identificar as bandas que pudessem evidenciar o bom êxito de cada uma das reações. Desta forma, identificou-se as bandas referentes aos modos vibracionais das ligações N-H, C=C e C-N. Os espectros no IV foram semelhantes para todos os compostos, sendo as bandas de absorção observadas em regiões muito próximas.

Nos espectros obtidos através da espectroscopia na região do IV para os compostos derivados das diaminas acíclicas 1(a-d), 2(a-d) e 3(a-d) observa-se duas bandas em aproximadamente 3351 e 3281 cm⁻¹, que correspondem, respectivamente, ao estiramento assimétrico e simétrico das ligações N-H de aminas primárias, evidenciando assim a *N*-monoalquilação. Observa-se ainda que estas bandas se sobrepõem, formando quase que uma única e larga banda de absorção. Isso se deve a formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares [93].

Em alguns espectros pode-se notar uma banda larga de menor intensidade aparecendo como um ombro próximo a 3200 cm⁻¹ atribuída à harmônica da banda de deformação angular (dobramento) de NH₂ (que ocorre em aproximadamente 1572 cm⁻¹), intensificada pela ressonância de Fermi [93]. A banda atribuída ao estiramento da ligação C=C foi observada em aproximadamente 1666 cm⁻¹, e a banda em aproximadamente 1107 cm⁻¹ foi atribuída ao estiramento da ligação C=N. Na **Figura 30**, pode ser visualizado o espectro na região do infravermelho do composto **3b**.



Figura 30: Espectro na região do IV do composto 3b.

Na seção experimental (tópico 5) é apresentado os valores de deslocamentos químicos em partes por milhão (ppm) para os núcleos ¹H e ¹³C, observados durante a caracterização de cada composto.

A título de exemplo, a seguir serão apresentados e discutidos os espectros de RMN ¹H, COSY e RMN ¹³C para o composto (*E*)- N^1 -(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)butano-1,4-diamina (**3b**) e RMN de ¹H para o composto (*E*)- N^1 -(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)piperazina (**4b**). Vale ressaltar que a numeração apresentada para atribuição dos sinais não corresponde às regras da IUPAC, e foi escolhida por uma questão didática para facilitar a identificação dos átomos.

Através do espectro de RMN de ¹H (**Figura 31**) foi possível identificar a presença da cadeia terpênica (*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienila na estrutura do composto **3b** evidenciada pelos sinais característicos deste grupamento: três simpletos entre δ 1,55-1,63 atribuídos aos hidrogênios metílicos H₁, H₂ e H₇; um tripleto centrado em δ 1,96 atribuído aos hidrogênios metilênicos alílicos H₆ que acoplam com os H₅ com uma constante *J* = 7,0 Hz; um quarteto centrado em δ 2,04 atribuído aos hidrogênios H₅ que acomplam com H₆ com constante *J* = 7,0 Hz; um dupleto centrado em δ 3,18 atribuído aos hidrogênios H₁₀ que se acomplam com o hidrogênio vicinal H₉ com uma constante *J* = 6,0 Hz; um tripleto centrado em δ 5,04 atribuído ao hidrogênio vinílico H₄, com constante de acoplamento *J* = 7,0 Hz, e um tripleto centrado em δ 5,21 atribuído ao hidrogênio vinílico H₉ que se acopla com os hidrogênios alílicos H₁₀, com uma constante *J* = 6,0 Hz.

O núcleo diamino derivado da butano-1,4-diamina é evidenciado pelos seguintes sinais: um multipleto entre δ 1,44-1,50 atribuído aos 4 hidrogênios metilênicos H₁₃ e H₁₄; um tripleto em δ 2,57 atribuído aos dois hidrogênios H₁₂ (CH₂-NH) que se acoplam com os dois hidrogênios vicinais H₁₃ com uma constante J = 6,0 Hz e um tripleto centrado em δ 2,66 atribuído aos hidrogênios H₁₅ (CH₂-NH₂) que se acomplam com os hidrogênios vicinais H₁₄, também com uma constante de J = 6,0 Hz.



No espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹H-¹H (**Figura 32**), conhecido usualmente pelo seu acrônimo COSY (do inglês: *COrrelation SpectroscopY*) [94] foi possível identificar as seguintes correlações: H₁ ou H₂/H₄, H₄/H₅, H₇/H₉, H₇/H₁₀, H₉/H₁₀, H₁₂/H₁₃ e H₁₄/H₁₅.



Figura 32: Seção expandida do espectro de correlação homonuclear COSY do composto 3b em CDCl₃, 500 MHz.

A atribuição dos sinais de RMN de ¹³C obtido para o composto **3b** em CDCl₃ na frequência de 125 MHz (**Figura 33**) foi realizada com o auxílio da técnica bidimensional HSQC (do inglês: *Heteronuclear Single-Quantum Correlation*) (**Figuras 99** e **100** do Anexo) que correlaciona os núcleos de ¹³C com os hidrogênios ¹H a eles diretamente ligados, ou seja, acoplamento de uma ligação (¹ J_{CH}).

A presença do *N*-substituinte (*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienila é evidenciado, principalmente, pelos sinais atribuídos aos carbonos vínilicos C₃ (δ 137,9), C₄ (δ 124,3), C₈ (δ 131,7) e C₉ (δ 122,9), enquanto que o núcleo diamina pode ser evidenciado pelo sinal do carbono ligado ao grupo NH₂ terminal C₁₅, cujo deslocamento químico (δ) é igual a 42,3 ppm e, também, pelos sinais associados aos carbonos ligados ao grupo NH: C₁₀ (δ 47,4) e C₁₂ (δ 49,5).


Os espectros de RMN de ¹H para as diaminas terpênicas derivadas do 1,4-diazaciclohexano (piperazina) também apresentam muitas semelhanças. Desta forma, a título de exemplo, apenas o espectro obtido para o composto (*E*)- N^1 -(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1il)piperazina (**4b**) será apresentado e discutido a seguir.

Analisando o espectro de RMN de ¹H do composto **4b** (**Figura 34**) observa-se três singletos na faixa de δ 1,54-1,62 atribuídos aos hidrogênios metílicos pertencentes aos três grupos metilas H₁, H₂ e H₇; um dupleto centrado em δ 2,91 atribuído aos hidrogênios alílicos H₁₀ que se acoplam com o hidrogênio vinílico H₉ com uma constante *J* = 6,5 Hz, um tripleto centrado em δ 5,03 atribuído ao hidrogênio vinílico H₄ que se acopla com os hidrogênios alílicos H₅, com uma constante *J* = 7,0 Hz e um tripleto centrado em δ 5,20 atribuído ao hidrogênio H₉ que se acopla com os hidrogênios H₁₀, também com uma constante *J* = 6,5 Hz. Todos este sinais evidenciam a presença da cadeia terpênica (*E*)-*N*¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-ila na estrutura da molécula do composto **4b**.

O núcleo diamino derivado da piperazina é evidenciado pela presença dos seguintes sinais: um simpleto largo em δ 2,39 referente aos hidrogênios quimicamente equivalentes H₁₃ e H₁₃, um multipleto entre δ 2,86-2,88 atribuído aos hidrogênios H₁₂ e H₁₂, e um simpleto em δ 2,58 atribuído ao hidrogênio H₁₄ diretamente ligado ao átomo de nitrogênio.



3.1.3 Síntese e caracterização de novos análogos ao SQ109: Metodologia I

Para a obtenção dos novos análogos ao SQ109 planejou-se, inicialmente, transformar o ácido triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxílico (**IX**) em cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (**X**), substituindo-se a hidroxila acílica por um átomo de cloro para que este atue como grupo de saída na etapa reacional subsequente.

Posteriormente, o cloreto de acila \mathbf{X} seria tratado com as diaminas etano-1,2-diamina, propano-1,3-diamina ou piperazina, obtendo-se respectivamente os compostos \mathbf{XI} , \mathbf{XII} e \mathbf{XIII} . Estas diaminas *N*-aciladas, por sua vez, apresentam dois grupos funcionais com reatividades bem distintas: uma amida *N*-substituída e uma amina primária. O primeiro, é um grupo não reativo como nucleófilo devido a estabilidade conferida pelo efeito mesomérico e o segundo, atua como um bom nucleófilo numa reação de substituição nucleofílica.

Assim, numa terceira etapa, as diaminas *N*-aciladas seriam tratadas com os brometos **V**, **VI** e **VIII**, permitindo a obtenção de nove novos análogos ao SQ109. Esta primeira rota sintética proposta é resumidamente apresentada no **Esquema 5**.



Esquema 5: Rota sintética proposta para obtenção dos novos análogos ao SQ109: Metodologia I.

3.1.3.1 Síntese e caracterização do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1carbonila

O ácido triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxílico **IX** foi tratado com dois mol equivalentes de cloreto de tionila (SOCl₂) sob refluxo e agitação constante, por um período de duas horas (**Esquema 6**) [95]. Esta reação não foi acompanhada por CCDS devido a alta reatividade do cloreto de acila. Após o período de duas horas de reação, o excesso do cloreto de tionila, utilizado como solvente da reação, foi removido sob pressão reduzida. O composto obtido, um sólido branco cristalino, permaneceu sob vácuo por um período de oito horas para sua completa secagem. O cloreto de acila (**X**), sem prévia purificação, foi obtido com rendimento bruto de 96% e o sucesso da síntese foi confirmado através da análise do espectro do composto obtido na região do IV.



Esquema 6: Síntese do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (X).

Esta síntese envolve reações de adição nucleofílica e eliminação. Na primeira etapa, o par de elétrons do oxigênio do ácido carboxílico realiza um ataque nucleofílico ao átomo de

enxofre do cloreto de tionila, conduzindo a saída de um íon cloreto e a formação do clorossulfito de acila protonado. Este, por sua vez, é um bom grupo de saída e é facilmente eliminado após o ataque nucleofílico do íon cloreto ao carbono carbonílico, fornecendo o cloreto de acila, dióxido de enxofre e cloreto de hidrogênio [92]. O mecanismo encontra-se descrito no **Esquema 7**.



Esquema 7: Mecanismo de síntese do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (X). Fonte: Adaptado de Paula Yurkanis Bruice, 2006 [92].

A **Figura 35** refere-se ao espectro no IV do material de partida, o ácido triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxílico (**IX**). Neste espectro, pode-se observar bandas características de compostos que possuem o grupo funcional ácido carboxílico: na região compreendida entre 2500 a 3300 cm⁻¹ há uma banda larga e de intensidade fraca atribuída ao estiramento da ligação O-H, que se encontra sobreposta com as bandas referentes aos estiramentos simétricos e assimétricos das ligações C-H. Tais características são observadas visto que o grupo carboxila se apresenta na forma associada, realizando ligações de hidrogênio [93]. Observa-se, também, uma banda intensa em 1687 cm⁻¹, atribuída ao estiramento da ligação C=O do ácido carboxílico; em 1282 cm⁻¹ uma banda atribuída ao estiramento da ligação C-O e em 950 cm⁻¹ uma banda alargada de absorção média referente a deformação angular fora do plano da ligação O-H---O, observado devido a fortes associações por ligação de hidrogênio [93].



Figura 35: Espectro na região do IV do ácido triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxílico (IX).

No espectro obtido na região do IV para o cloreto de acila **X** (**Figura 36**), observa-se que a banda atribuída ao estiramento da ligação C=O deslocou-se para uma região de maior frequência, de 1687 (no ácido) para 1785 cm⁻¹ (no cloreto de acila). Tal fato pode ser atribuído à presença do átomo de cloro. Embora o átomo de cloro possua três pares de elétrons não compartilhados, ele é um péssimo doador de elétrons por ressonância, pois além da ligação C-Cl ser muito longa, qualquer um dos três orbitais 3*p* que contêm o par de elétrons não ligantes do cloro não se sobrepõe efetivamente ao orbital π do grupo carbonila e desta forma não há a deslocalização do par de elétrons [96]. Sendo assim, o efeito indutivo retirador de elétrons do cloro torna-se pronunciado, fazendo com que a ligação C=O se fortaleça, resultando em um aumento na frequência de absorção dessa ligação de 1687 cm⁻¹ (no ácido) para 1785 cm⁻¹ (no cloreto de acila) [93].



Figura 36: Espectro na região do IV do cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (X).

No espectro do cloreto de acila (**Figura 36**) ainda é possível observar, muito sutilmente, a presença de bandas que evidenciam a presença de ácido carboxílico residual: uma banda fraca e aguda em 3549 cm⁻¹, característica de um grupo OH acílico que se encontra na forma livre ou não associada e, uma banda em 1694 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C=O [93]. Vale ressaltar que o ácido carboxílico presente na amostra analisada pode ser proveniente da reação entre o seu respectivo cloreto de acila e vapores de água presentes no ar, que pode ter ocorrido durante o procedimento de estocagem do produto ou até mesmo no momento de realizar a análise no espectrofotômetro. Observa-se, também, uma banda de intensidade fraca em 1823 cm⁻¹ e outra, em 1747 cm⁻¹ atribuídas, respectivamente, ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo carbonila de um anidrido (**Figura 37**), formado através da reação entre o ácido carboxílico e o cloreto de acila.



Figura 37: Modos de estiramentos simétrico e assimétrico dos grupos carbonila de anidridos. Fonte: Adaptado de Barbosa, L.C.A, 2008 [93].

3.1.3.2 Síntese e caracterização de diaminas N-aciladas

Para obtenção dos intermediários *N*-(2-aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XI**), *N*-(3-aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XII**) e o *N*-(piperazinil) triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XIII**) o cloreto de triciclo[3.3.1.1]decano-1-carbonila (**X**) foi solubilizado em diclorometano anidro e gotejado lentamente, por 2 horas, sobre uma solução em excesso de suas respectivas diaminas, preparadas com o mesmo solvente. Durante toda a adição do cloreto de acila, a temperatura manteve-se entre -18 e -12 °C e, em seguida, a reação foi mantida *overnight* a temperatura ambiente (**Esquema 8**).



Esquema 8: Rota sintética para obtenção das diaminas *N*-aciladas.

A reação de *N*-acilação se passa por um mecanismo de substituição nucleofílica acílica que ocorre em duas etapas distintas. No primeiro estágio, o par de elétrons não compartilhado do átomo de nitrogênio da amina realiza um ataque nucleofílico ao átomo de carbono carbonílico, ocasionando o rompimento heterolítico da ligação π C=O, gerando a carga formal -1 no átomo de oxigênio. Este mecanismo descrito refere-se a uma adição nucleofílica ao grupo carbonila que resulta em um intermediário tetraédrico. Na segunda etapa, a ligação π C=O é restabelecida, promovendo a eliminação do íon cloreto e restaurando o grupo carbonila [92]. O mecanismo de síntese do composto **XI** é descrito no **Esquema 9**.



Esquema 9: Proposta mecanística de síntese do *N*-(2-aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XI**). **Fonte:** Adaptado de Paula Yurkanis Bruice, 2006 [92].

Após 24 horas de reação, a mistura reacional foi submetida a uma extração líquidolíquido para retirar o excesso das diaminas utilizadas e os subprodutos hidrossolúveis. Este procedimento foi acompanhado por CCDS, para garantir a remoção total das diaminas.

Em todos os casos, ao final da extração, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente removido sob pressão reduzida. Devido a presença de subprodutos, inúmeras tentativas de recristalização dos produtos **XI** e **XII** foram realizadas em diversos solventes como metanol, etanol e isopropanol, mas não se obteve sucesso. De igual forma, diversas tentativas de purificação do composto **XI** por cromatografia em coluna foram realizadas. Entretanto, também não se obteve sucesso.

Os compostos XII e XIII foram purificados por cromatografia em coluna *flash* (Eluente: diclorometano/metanol/hidróxido de amônio e diclorometano/metanol, respectivamente) sendo obtidos em rendimentos moderados, visto que a não obtenção de melhores resultados se deve, principalmente, à formação de produtos N,N'-diacilados. O rendimento, aspecto físico e a faixa de fusão das diaminas N-aciladas encontram-se sumarizados na **Tabela 3**.

Tabela 3: Rendimento, aspecto físico e faixa de fusão das diaminas N-aciladas (XI-XIII)

Diaminas <i>N</i> -aciladas			
Composto Rendimento (%)		Aspecto físico/Faixa de fusão (°C)	
XI 81*		Sólido branco/Não determinado	
XII 35		Sólido branco/96-99	
XIII	66	Sólido castanho claro/89-92	

*Rendimento bruto calculado após a extração, visto que o produto não foi purificado por cromatografia em coluna.

As estruturas dos compostos intermediários **XII** e **XIII** foram evidenciadas através da análise de seus espectros na região do IV, de RMN de ¹H e RMN de ¹³C. A título de exemplo, serão apresentados e discutidos os espectros no IV e de RMN de ¹H para o composto **XII**.

No espectro no IV do *N*-(3-aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XII**) (**Figura 38**) observa-se duas bandas em aproximadamente 3344 e 3286 cm⁻¹, que correspondem, respectivamente, ao estiramento assimétrico e simétrico das ligações N-H do grupo amino primário, evidenciando assim a *N*-monoacilação. Nota-se ainda uma banda intensa na região de 1626 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C=O da carbonila presente no grupo amida, uma banda forte em 1527 cm⁻¹ atribuída à deformação angular da ligação N-H do grupo NH₂, uma banda em 1282 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C-N do grupo amida e uma banda em 1046 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C-N do grupo amino.



Figura 38: Espectro na região do IV do composto XII.

Analisando o espectro de RMN de ¹H do intermediário **XII** (**Figura 39**) observa-se um quinteto em δ 1,58 atribuído aos hidrogênios metilênicos H₃ que se acomplam com os hidrogênios vicinais H₂ e H₄ com uma constante *J* = 6,0 Hz; um multipleto entre δ 1,64-1,71 um simpleto em δ 1,80 e um simpleto em δ 1,99 atribuídos aos hidrogênios pertencentes ao triciclo adamantila e aos hidrogênios do grupo amino. Além destes sinais, observa-se ainda um tripleto centrado em δ 2,75 atribuído aos hidrogênios metilênicos H₂ que se acoplam com os hidrogênios vicinais H₃ com uma constante *J* = 6,0 Hz; um quarteto centrado em δ 3,31 atribuído ao hidrogênio metilênico H₄ que se acoplam com os hidrogênios vicinais H₃ e H₅ (*J* = 6,0 Hz) e em δ 6,51 observa-se um simpleto largo atribuído ao hidrogênio ligado ao átomo de nitrogênio do grupo amido.



3.1.3.3 Tentativa de síntese do *N*-(2-((*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il) aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida

Conforme citado no item **3.1.3.2** desta dissertação, diversas tentativas de purificação do composto intermediário **XI** por recristalização e por cromatografia em coluna foram realizadas, porém não se obteve sucesso. Desta forma, decidiu-se dar continuidade ao trabalho, utilizando-se o intermediário impuro.

Esta tentativa de síntese do composto **5b** baseou-se na tentativa de substituição do átomo de bromo do (*E*)-1-bromo-3,7-dimetilocta-2,6-dieno (**VI**) pela amina do *N*-(2-aminoetil)triciclo[3.3.1.1] decano-1-carboxamida (**XI**), através de um mecanismo S_N2 . A reação em diclorometano permaneceu à temperatura ambiente por 56 horas, sendo acompanhada com dificuldade por CCDS, devido a presença de vários subprodutos. Em seguida, a mistura reacional foi aquecida e manteve-se sob refluxo por mais 15 horas (**Esquema 10**).



Esquema 10: Metodologia para síntese do composto 5b.

Após um período total de 71 horas, realizou-se uma extração líquido-líquido e a fase orgânica obtida foi seca sobre sulfato se sódio anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Diversos eluentes foram testados para avaliar o perfil de separação dos produtos, mas não se obteve sucesso.

3.1.3.4 Tentativa de síntese dos análogos ao SQ109 derivados do N-(3aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida

A partir do composto **XII** purificado por cromatografia em coluna *flash*, planejou-se reagir este intermediário com os respectivos brometos terpênicos (**V**, **VI** e **VIII**), na presença da trietilamina, no intuito de obter os análogos ao SQ109, derivados da propano-1,3-diamina (**Esquema 11**). Desta forma, as reações foram conduzidas em diclorometano a temperatura ambiente, por um período de 24 horas, sendo os reagentes monitorados por CCDS e o pH avaliado periodicamente e corrigido, quando necessário, no intuito de mantê-lo próximo a pH = 7.



Esquema 11: Metodologia proposta para síntese dos novos análogos ao SQ109 derivados da propano-1,3diamina

Ao monitorar a reação por CCDS, observou-se a formação de um produto que se revelava em vapores de iodo ou com uma solução etanólica de ninidrina 0,5% (m/v), seguida de aquecimento. Após 24 horas de reação, observou-se que o composto de partida (**XII**) não havia sido completamente consumido, mesmo com a adição de um pequeno excesso de brometo terpênico. Sendo assim, decidiu-se finalizar a reação e purificar o produto.

A mistura reacional foi então submetida a duas lavagens com solução aquosa de NaHCO₃, seguida de duas lavagens com água destilada. Diferentemente do produto derivado do brometo **VIII**, os compostos derivados dos brometos **V** e **VI** apresentaram maior afinidade pela fase aquosa. Desta forma, foi necessário saturar a fase aquosa com NaCl P.A. e realizar uma nova extração para forçar o produto a transferir-se para a fase orgânica. Após a extração, a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente removido sob pressão reduzida e o óleo residual purificado por cromatografia em coluna *flash*, utilizando-se como eluente a

mistura dos solventes diclorometano e metanol em proporções adequadas.

Após a caracterização por RMN de ¹H e RMN de ¹³C, verificou-se que o produto majoritário, isolado durante a purificação por cromatografia, não correspondia aos produtos desejados **6(a, b e d)**. Destas reações, foram então isolados os sais quaternários de amônio derivados da trietilamina (**Figura 40**) em rendimentos moderados, conforme apresentado na **Tabela 4**. A não obtenção de melhores rendimentos se deve a proporção não equimolar dos reagentes (Trietilamina e brometo terpênico) e também à competição entre a trietilamina e o composto **XII** pelo eletrófilo.



Figura 40: Sais quaternários de amônio obtidos nas reações de *N*-alquilação de *N*-(3-aminopropil) triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida.

S	ais quaternários de amônio derivados da trietilamina
Tabela 4: Rendimento), aspecto físico e faixa de fusão dos sais quaternários de amônio derivados da trietilami

· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·			
Composto	Rendimento (%)	Aspecto físico/Faixa de fusão (°C)	
8a	52	Semissólido marrom claro	
8b	47	Sólido marrom claro/86-88	
8d	34	Semissólido marrom claro	

A título de exemplo, serão apresentados e discutidos os espectros de RMN de ¹H e RMN de ¹³C para o composto **8a**. No espectro de RMN de ¹H, apresentado na **Figura 41**, é possível identificar a presença da cadeia terpênica derivada do brometo de 3-metilbut-2-eno na estrutura do composto **8a** ao destacar os seguintes sinais: dois simpletos entre δ 1,75 e 1,78 atribuídos aos hidrogênios metílicos H₁ e H₂; um dupleto centrado em δ 3,92 atribuído aos hidrogênios metilênicos H₅ que se acoplam com o hidrogênio vinílico vicinal H₄ com uma constante *J* = 7,0 Hz e um tripleto centrado em δ 5,17 atribuído ao hidrogênio vinílico H₄ que se acopla com o hidrogênios H₅, também com uma constante *J* = 7,0 Hz.

A presença da estrutura proveniente da trietilamina é evidenciada pelo tripleto

centrado em δ 1,31 atribuído aos hidrogênios pertencentes aos três grupos metílicos equivalentes H₇, que se acomplam com os hidrogênios metilênicos vicinais H₆ com um a constante J = 6,5 Hz, e também pelo sinal em δ 3,36 atribuído aos hidrogênios H₆, que se desdobra em um quarteto devido ao acomplamento com os três hidrogênios da metila H₇ (J = 6,5 Hz).



No espectro de RMN de ¹³C (**Figura 42**) observa-se um sinal em δ 8,3 atribuído aos três átomos de carbono metílicos equivalentes C₇ e um sinal em δ 53,0 atribuído aos três átomos de carbono metilênicos equivalentes C₆. Ambos sinais evidenciam a presença dos três grupos etilas, provenientes da trietilamina, presentes na estrutura do composto **8a**. A cadeia terpênica, também presente na estrutura do composto em discussão, é evidenciada pelos dois sinais entre δ 19,3 e 26,6 que se referem aos carbonos metílicos C₁ e C₂; pelo sinal em δ 56,1 atribuído ao carbono metilênico alílico C₅ e também pelos sinais em δ 110,2 e 147,4 atribuídos aos carbonos vinílicos C₃ e C₄.



3.1.3.5 Síntese dos análogos ao SQ109 derivados do N-(piperazinil)triciclo [3.3.1.1]decano-1-carboxamida

A síntese dos análogos ao SQ109 derivados do núcleo piperazina aconteceu através da reação entre o intermediário *N*-(piperazinil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XIII**) e os respectivos brometos terpênicos (**V**, **VI** e **VIII**), na presença de trietilamina e em diclorometano, sendo acompanhada por um período de 24 horas (**Esquema 12**).



Esquema 12: Rota sintética para obtenção dos análogos ao SQ109 derivados da piperazina.

Embora as análises dos resultados obtidos sugerem que a trietilamina não seja uma base adequada para ser utilizada nestas reações, visto a sua competição como nucleófilo e a alta reatividade dos brometos alílicos, os compostos 7(a, b e d) foram obtidos em bons rendimentos após a purificação por cromatografia em coluna *flash*, utilizando-se como eluente

a mistura de solventes: diclorometano e metanol. Na **Tabela 5**, encontra-se sumarizado o rendimento e aspecto físico dos novos análogos ao SQ109 derivados da piperazina.

Análogos ao SQ109 derivados do núcleo piperazina			
Composto	Rendimento (%)	Aspecto físico/Faixa de fusão (°C)	
7a	90	Sólido marrom claro/69-70	
7b 70 0		Óleo amarelo	
7d	86	Óleo amarelo	

 Tabela 5: Rendimento, aspecto físico e faixa de fusão dos novos análogos ao SQ109 derivados da piperazina

As estruturas dos novos análogos **7(a, b e d)** foram evidenciadas através das análises dos espectros obtidos na região do IV e também pelos espectros de RMN de ¹H e RMN de ¹³C. Como esperado, os espectros obtidos no IV para os análogos derivados da piperazina são muito semelhantes, sendo as bandas de absorção observadas em regiões muito próximas. Desta forma, será apresentado e discutido apenas o espectro obtido para o composto *N*-(3metilbut-2-en-il)piperazinil-*N'*-triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**7a**).

Ao analisar o espectro em questão, como mostra a **Figura 43**, dentre outras bandas, observa-se uma banda fraca em 1663 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C=C presente no substituinte terpênico, uma banda forte em 1627 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C=O. Na região de 1407 e 1448 cm⁻¹ observa-se duas bandas de intensidade média atribuídas à deformação angular simétrica do grupo geminal dimetila presente na cadeia terpênica; em 1226 cm⁻¹ observa-se uma banda intensa atribuída ao estiramento da ligação C-N do grupo amido e em 1024 cm⁻¹, uma banda atribuída ao estiramento da ligação C-N do grupo amino.



Figura 43: Espectro na região do IV do composto 7a.

No espectro de RMN de ¹H (**Figura 44**) é possível identificar a presença do substituinte 3-metilbut-2-enila na estrutura do análogo **7a** ao destacar os sinais característicos deste grupamento: um simpleto em δ 1,60 atribuído aos hidrogênios metílicos H₁ ou H₂, um simpleto entre δ 1,67-1,69 próximo a um sinal atribuído ao adamantoide. Além destes, observa-se um dupleto centrado em δ 2,91 atribuído aos hidrogênios metilênicos H₅ que se acomplam com o hidrogênio vinílico vicinal H₄, com constante *J* = 7,0 Hz e um tripleto centrado em δ 5,20 atribuído ao hidrogênio H₄ que se acopla com os hidrogênios H₅ com uma constante de *J* = 7,0 Hz.

A estrutura cíclica derivada da piperazina, também presente no composto **7a**, é evidenciada pelo tripleto centrado em δ 2,38 atribuído aos dois grupos de hidrogênios metilênicos equivalentes H₆ e H₆, que se acoplam com os hidrogênios H₇ e H₇, respectivamente, com uma constante de acoplamento J = 4,5 Hz, e também, pelo simpleto largo em δ 3,66 atribuído aos dois grupos de hidrogênios metilênicos equivalentes H₇ e H₇. Para finalizar, a presença do triciclo adamantila na estrutura do análogo em discussão é evidenciada pela presença dos sinais observados entre δ 1,67-1,99.



No espectro de RMN de ¹³C (**Figura 45**) a presença do *N*-substituinte, derivado do brometo terpênico **V**, na estrutura do composto **7a**, é evidenciada pelos sinais atribuídos aos carbonos metílicos C₁ e C₂ que são observados em δ 18,2 e 26,1 aos carbonos vinílicos C₃ (δ 136,2) e C₄ (δ 120,4) e ao carbono metilênico C₅ em δ 56,1. Os carbonos metilênicos presentes no ciclo derivado da piperazina são observados em δ 45,4 e 53,5. A presença da

unidade carboxiadamantoide é evidenciada pelos sinais atribuídos aos carbonos do adamantoide que são observados entre δ 28,7 e 41,8 e pelo sinal atribuído ao carbono carbonílico em δ 175,8.



Figura 45: Espectro de RMN de ¹³C do composto 7a em CDCl₃, 125 MHz.

3.1.4 Síntese e caracterização dos análogos ao SQ109: Metodologia II

Esta parte do trabalho visou avaliar a possibilidade de sintetizar os análogos ao SQ109 através da monoacilação seletiva dos terpenóides diaminados 1(a, b e d) e 2(a, b e d) objetivando a amina primária como sítio reacional, visto o menor impedimento estéreo, se comparado com a amina secundária presente em sua estrutura. Essa rota foi planejada baseando-se no trabalho de *Oluseye k. Onajole* que apresenta a síntese do SQ109 e análogos a partir da reação entre (*E*)-*N*¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)etano-1,2-diamina (**1b**) e a 2-adamantanona, via aminação redutiva na presença de NaBH₄ [88].

Entretanto, as análises dos dados de espectrometria de massas de alta resolução (ESI-HRMS) e de ressonância magnética nuclear não foram condizentes com as estruturas esperadas (**Esquema 13**), indicando a obtenção de terpenóides inéditos *N*,*N*'-diacilados.



Esquema 13: Rota sintética proposta para obtenção dos novos análogos ao SQ109: Metodologia II.

De acordo com a metodologia proposta, os terpenóides diaminados 1(a, b e d) e 2(a, b e d) foram solubilizados em diclorometano anidro e, em seguida, foram tratados com o cloreto de acila X na presença de trietilamina à temperatura -18°C.

Ao término da reação, a mistura reacional foi submetida a extração líquido-líquido, sendo a fase orgânica seca com Na₂SO₄ e o solvente removido sob pressão reduzida. Em seguida, o óleo residual foi purificado por cromatografia em coluna *flash*, utilizando-se como eluente a mistura dos solventes heptano e acetato de etila. As diamidas terpênicas 9(a, b e d) e 10(a, b e d) foram obtidos em moderados rendimentos (**Tabela 6**).

Terpenóides N,N'-diacilidados			
Composto	Rendimento (%)	Aspecto físico/Faixa de fusão (°C)	
9a	46	Sólido branco/160-163	
9b	40	Óleo incolor e muito viscoso	
9d	38	Sólido branco/81-83	
10a	37	Óleo amarelo claro e muito viscoso	
10b	47	Óleo incolor e muito viscoso	
10d	37	Óleo amarelo claro e muito viscoso	

Tabela 6: Rendimento, aspecto físico e faixa de fusão dos derivados 9(a, b e d) e 10(a, b e d)

As estruturas dos compostos obtidos foram evidenciadas através da análise de seus espectros no IV, RMN de ¹H, RMN de ¹³C e por espectrometria de massas de alta resolução (ESI-HRMS). Nos espectros obtidos no IV para os compostos **9(a, b e d) e 10(a, b e d)** observou-se as bandas referentes aos modos vibracionais das ligações N-H, C=O e C-N,

pertencentes ao grupo amido. A banda de estiramento da ligação C=C presente na cadeia lateral terpênica não foi observada nos espectros, possivelmente devido a sobreposição pela banda atribuída ao estiramento da ligação C=O do grupo amido.

Os espectros no IV dos compostos derivados dos terpenóides diaminados **1b** e **1c** são muito semelhantes, e o mesmo é observado para os compostos obtidos a partir de **2b** e **2c**, sendo que em ambos os espectros as bandas de absorção podem ser observadas em regiões muito próximas para todos os derivados acima apresentados. Diferentemente, o espectro obtido na região do IV para o derivado **9a** apresenta algumas peculiaridades, como será discutido a seguir.

A análise dos espectros no IV dos compostos **9b**, **9d**, **10b** e **10d** permitiu estabelecer as seguintes atribuições às bandas observadas: em aproximadamente 3356 cm⁻¹ uma banda fraca atribuída ao estiramento da ligação N-H; em 1642 cm⁻¹ uma banda de intensidade média atribuída ao estiramento C=O da amida *N*-substituída; em 1605 cm⁻¹ uma banda intensa atribuída ao estiramento C=O da amida *N*,*N*'-dissubstituída; em 1517 cm⁻¹ uma banda forte atribuída à deformação angular da ligação N-H e em 1262 cm⁻¹ uma banda atribuída ao estiramento da ligação C-N da amida *N*-substituída. A título de exemplo, o espectro obtido para o composto **9b** é apresentado pela **Figura 46**.



Figura 46: Espectro na região do IV do composto 9b.

O espectro no IV obtido para o composto sólido **9a** (**Figura 47**) apresentou um perfil diferente daqueles obtidos para os demais compostos. A banda atribuída ao estiramento da ligação N-H do grupo amida sofreu um deslocamento para uma região de menor frequência, sendo encontrada na região de 3315 cm⁻¹, as bandas referentes ao estiramento da ligação C=O da amida *N*-substituída e da amida *N*,*N*'-dissubstituída se encontram sobrepostas na região de 1625 cm⁻¹, enquanto que as bandas de deformação angular da ligação N-H e estiramento da ligação C-N de amida *N*-substituída sofreram um deslocamento para uma região de maior frequência, sendo encontradas, respectivamente, na região de 1547 e 1275 cm⁻¹.



Figura 47: Espectro na região do IV do composto 9a.

Conforme esperado, os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C para as séries 9(a, b e d) e 10(a, b e d) também são muito semelhantes. Desta forma, como exemplo, serão apresentados e discutidos os espectros obtidos para o composto *N*-(2-[3.3.1.1]decano-1-carboxamida)etil)-*N*-((*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)triciclo[3.3.1.1]-decano-1-carboxamida (**9b**). Os demais espectros estão em anexo e os valores de deslocamentos químicos em ppm para os núcleos ¹H e ¹³C, observados durante a caracterização de cada composto, estão descritos na seção experimental (tópico **5**).

No espectro de RMN de ¹H (**Figuras 48** e **49**) é possível identificar a presença da cadeia terpênica (*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienila na estrutura do composto **9b** ao assinalar os sinais característicos deste grupo: três simpletos entre δ 1,57-1,64 referentes aos hidrogênios metílicos H₁, H₂ e H₇; um multipleto entre δ 2,04-2,10 que corresponde aos hidrogênios metilênicos alílicos H₅ e H₆; um dupleto centrado em δ 4,12 atribuído aos hidrogênios H₁₀, que se acoplam com o hidrogênio vicinal H₉ com uma constante de *J* = 6,5 Hz; um multipleto entre δ 5,00-5,03 atribuído aos hidrogênios vinílicos H₄ e H₉.

O grupo diamido derivado da etano-1,2-diamina é evidenciado pelos seguintes sinais: um multipleto entre δ 3,31-3,34 atribuídos aos hidrogênios metilênicos H₁₂; um multipleto entre δ 3,44-3,46 atribuído aos hidrogênios metilênicos H₁₁ e um simpleto largo em δ 6,86 atribuído ao hidrogênio do grupo amido *N*-substituído, que inclusive é o próton mais desblindado devido aos efeitos de ressonância e de eletronegatividade que retiram a densidade eletrônica do próton ácido. Os sinais atribuídos aos hidrogênios pertencentes aos dois adamantoides são observados entre δ 1,66 e 2,04.



Figura 48: Seção expandida I do espectro de RMN de 1H do composto 9b em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 49: Seção expandida II do espectro de RMN de ¹H do composto 9b em CDCl₃, 500 MHz.

No espectro de RMN bidimensional de correlação homonuclear ¹H-¹H (**Figura 50**), foi possível identificar os seguintes acoplamentos: H_1 ou H_2/H_4 , H_4/H_5 , H_7/H_9 , H_7/H_{10} , H_9/H_{10} e H_{12}/H_{13} .



MHz.

A análise do espectro de RMN de ¹³C do composto **9b** (**Figuras 166** e **167** do **ANEXO**) permite evidenciar a presença da cadeia terpênica (*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dienila, principalmente, pelos sinais referentes aos carbonos vinílicos C₃ (δ 140,4), C₄ (δ 123,9), C₈ (δ 132,1) e C₉ (δ 120,8), enquanto que a presença de dois grupos amido pode ser evidenciada pelos sinais característicos para carbonos carbonílicos presentes neste grupo funcional: C₁₄, cujo deslocamento químico é igual a 178,8 ppm e C₁₄, 178,9 ppm.

3.2 Avaliação da atividade biológica dos terpenóides diaminados

3.2.1 Ensaios in vitro contra Mycobacterium tuberculosis

Os testes para avaliação da atividade antimicobacteriana *in vitro* dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)** foram realizados no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas-INI, na Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (FIOCRUZ-RJ), em um laboratório com nível de biossegurança 2 (do inglês, *BioSafety Level 2* - BSL2). Este nível de contenção é aceito pela OMS, conforme descrito em seu manual *"Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual"* [97].

Os ensaios foram realizados através do método de microdiluição em ágar para avaliar a atividade biológica em termos de MIC em micromolar (μ M), que foi definida como a menor concentração do composto capaz de inibir visivelmente o crescimento de um organismo após o período de incubação [98]. A título de acrescentar informações ao estudo da atividade antimicobacteriana, o LogP dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)** e da rifampicina (fármaco padrão) foram obtidos usando serviços *online* gratuitos do *MolSoft Software*. Os valores de LogP e MIC em μ M dos compostos desta série e da rifampicina (fármaco padrão) encontram-se sumariados na **Tabela 7**.

Atividade contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv			
Composto	LogP *	MIC (µM)	
1 a	-0,04	NA	
1b	1,96	NA	
1c	1,96	NA	
1d	3,95	95,0	
2a	0,45	NA	
2b	2,44	NA	
2c	2,44	NA	
2d	4,43	90,0	
3 a	0,93	NA	
3b	2,92	450,0	
3c	2,92	NA	
3d	4,92	171,0	
4 a	1,00	NA	
4b	2,99	NA	
4c	2,99	NA	
4d	4,99	86,0	
Rifampicina	3,19	1,21	

 Tabela 7: Valores de LogP e atividade *in vitro* contra *M. tuberculosis* H37Rv para os compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d)

*Valores de LogP foram calculados através dos seviços *on line* gratuitos do Molsoft Software. NA: Não ativo.

De acordo com a **Tabela 7**, apenas os compostos **1d**, **2d**, **3b**, **3d** e **4d** apresentaram atividade anti-TB. O composto **3b** (MIC: 450 μ M) isômero *E* do composto **3c** (inativo), mostrou-se ativo contra cepas de *M. tuberculosis* H37Rv, sugerindo que a estereoisomeria da dupla ligação possui um papel importante na atividade anti-TB.

Os compostos 1d, 2d, 3d e 4d possuem o mesmo substituinte, o (2E,6E)-3,7,11-

trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il ((E,E)-farnesila), em um dos átomos de nitrogênio do núcleo diamino, e apresentaram valores distintos de MIC. Estes resultados demonstram, portanto, que o número de átomos de carbono na cadeia carbônica espaçadora existente entre os grupos amino influencia na atividade antimicobacteriana destes compostos.

O composto **1d** (LogP: 3,95) tem o grupo farmacofórico etano-1,2-diamina, tal como o fármaco anti-TB de primeira-linha etambutol, e mostrou um valor de MIC igual a 95 μ M. O composto **2d** (LogP: 4,43) é mais lipofílico do que o composto **1d**, devido a presença de três átomos de carbono entre os átomos *N*,*N*', e apresentou-se mais ativo contra cepas H37Rv, com um valor de MIC de 90 μ M. Em contraste, o composto **3d**, derivado do grupo butano-1,4-diamina, é mais lipofílico do que os compostos **1d** e **2d**, com valor de LogP igual 4,92. Entretanto, mostrou uma menor atividade contra a cepa H37Rv, com o valor de MIC de 171 μ M.

A substituição da diamina acíclica pela diamina cíclica 1,4-diazaciclo-hexano (piperazina) contribuiu para aumentar a atividade contra o *M. tuberculosis* H37Rv, uma vez que esta modificação estrutural levou a um aumento global da lipofilia da molécula, como observado no composto **4d**, sem alterar significativamente a distância entre os grupos amino, considerando o grupo farmacofórico etano-1,2-diamina.

Para os três sistemas diamino, etano-1,2-diamina, propano-1,3-diamina e piperazina, contendo 04 diferentes terpenóides cada um, somente os derivados que possuem o substituinte (E,E)-farnesila apresentaram atividade. Para a série da butano-1,4-diamina, o derivado geranila (**3b**) também foi ativo, embora a sua atividade tenha sido menor do que a do seu análogo, N-(E,E)-farnesila (**3d**). Este fato pode estar simplesmente associado à maior lipofilicidade destes compostos, (LogP \geq 3,95). Entretanto, somente com estes resultados não é possível afirmar que quanto maior a lipofilia do composto, maior é a sua atividade anti-TB, visto que pequenas modificações estruturais são capazes de alterar propriedades físico-químicas, bem como fatores estéreos e conformacionais, alterando assim o grau de afinidade e especificidade da ligação entre a molécula bioativa e o seu biorreceptor.

O estudo da estrutura-atividade das diaminas terpênicas contra a cepa de *M*. *tuberculosis* H37Rv é resumido na **Figura 51**.



Figura 51: Relação estrutura atividade dos terpenóides diaminados contra cepas de M. tuberculosis H37Rv.

3.2.2 Ensaios *in vitro* contra *Leishmania amazonensis* e índice de seletividade

Os ensaios *in vitro* para avaliar a atividade leishmanicida dos compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d) foram realizados no Departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Paraná (UEPG-PR), utilizando-se cepas de *Leishmania amazonensis* na forma de promastigotas.

Após 48 horas de incubação em meio de cultura específico, o efeito leishmanicida foi avaliado através da observação microscópica seguida pelo método colorimétrico rápido MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol)). Por interpolação linear, os resultados foram descritos em termos de IC₅₀. O LogP dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)** e da anfotericina B (fármaco padrão) foram obtidos usando os serviços *online* gratuitos do *Molsoft Software*. Todos os resultados são sumariados na **Tabela 8**.

Indice de Seletividade (IS) para os compostos I(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d)				
Atividade contra promastigotas de Leishmania amazonensis				
Composto	LogP *	Parasito IC ₅₀ (µM)	Fibroblastos CC ₅₀ (µM)	IS**
<u>1a</u>	-0,04	NA	ND	ND
1b	1,96	$26,7 \pm 1,51$	$108,74 \pm 5,45$	4,07
1c	1,96	$21,51 \pm 2,81$	83,18 ± 5,16	3,87
1d	3,95	$16,83 \pm 2,35$	<12,5	<0,74
2a	0,45	NA	ND	ND
2b	2,44	$35,95 \pm 3,44$	$79,38 \pm 16,70$	2,21
2c	2,44	$35,81 \pm 0,61$	$38,78 \pm 10,11$	1,08
2d	4,43	$4,\!91 \pm 0,\!77$	<12,5	<2,55
3 a	0,93	NA	ND	ND
3b	2,92	72,66 ± 12,61	$52,71 \pm 9,02$	0,73
3c	2,92	$95,53 \pm 3,53$	$72,94 \pm 19,86$	0,76
3d	4,92	$15,01 \pm 0,98$	<12,5	<0,83
4a	1,00	NA	ND	ND
4b	2,99	NA	ND	ND
4c	2,99	NA	ND	ND
4d	4,99	$12,99 \pm 0,70$	<12,5	<0,96
Anfotericina B	-2,43	0,1	>10	>100

Tabela 8: Valores de LogP, atividade *in vitro* contra *L. amazonensis*, citotoxicidade em fibroblastos (3T3) eÍndice de Seletividade (IS) para os compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d)

*Valores de LogP foram calculados através dos seviços on line gratuitos do Molsoft Software.

**IS: Cálculo através da razão CC₅₀/IC₅₀; NA: Não ativo e ND: Não determinado.

Conforme a **Tabela 8**, os compostos **1a**, **2a**, **3a** e **4a** não exibiram nenhuma atividade contra promastigotas de *Leishmania amazonensis*, sugerindo que o grupo prenila não contribui para a atividade leishmanicida destes compostos. Este fato pode estar associado com a baixa lipofilia destas moléculas (LogP $\leq 1,0$) que podem resultar numa menor interação com a membrana lipofílica do parasito ou dificultar a penetração do composto através da mesma.

Os compostos **1c** e **2c**, derivados do grupo nerila, foram mais ativos que seus correspondentes estereoisômeros *E* e *Z*, compostos **1b** e **2b**, derivados do grupo geranila, sugerindo que a conformação "*Z*" da dupla ligação (C=C) é importante para atividade leishmanicida. Entretanto, o resultado obtido para o composto **3c** (IC₅₀: 95,53 ± 3,53 μ M; derivado do grupo nerila) aparentemente contradiz esta afirmação, provando ser menos ativo que seu estereoisômero **3b** (IC₅₀: 72,66 ± 12,61 μ M; derivado do grupo geranila). Além disso, é importante notar que os compostos derivados dos grupos nerila e geranila são mais ativos quando eles possuem apenas dois átomos de carbono entre os grupos amino, e o aumento

desta cadeia carbônica resulta no decréscimo da atividade destes compostos. Os compostos **4b** e **4c** também são estereoisômeros e possuem o heterociclo 1,4-diazociclo-hexano como núcleo diamino. Estes compostos, por sua vez, não exibiram nenhuma atividade contra o parasito.

Os derivados do grupo (*E*,*E*)-farnesila (**1d**, **2d**, **3d** e **4d**) são os compostos mais lipofílicos desta série, com valores de LogP entre 3,95 e 4,99. Após serem avaliados contra formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, verificou-se que tais diaminas mostraram melhor atividade antiproliferativa, com valores de IC₅₀ entre 4,91 ± 0,77 e 16,83 ± 2,35 μ M, sugerindo que a lipofilia pode desempenhar um papel importante na atividade desta classe de compostos. É imporante enfatizar que o composto **2d** (IC₅₀: 4,91 ± 0,77), possuindo três átomos de carbono entre os átomos *N*,*N*' foi o que se destacou, com a melhor atividade leishmanicida da série. Os resultados também permitem afirmar que a redução no comprimento da cadeia carbônica espaçadora ou mesmo a substituição do núcleo diamina acíclica por 1,4-diazaciclo-hexano contribui para a diminuição da atividade contra o parasito.

A citotoxicidade *in vitro* também foi determinada para os compostos ativos contra *Leishmania amazonensis*, utilizando-se a metodologia MTT para avaliar a viabilidade de células (fibroblastos) não infectadas, após o contato com os referidos compostos, sendo os resultados expressos como a concentração capaz de inviabilizar 50% das células (CC_{50}) [99]. Através destes dados, determinou-se o Índide de Seletividade (IS) dos compostos por meio da razão CC_{50}/IC_{50} . Todos os dados estão descritos na **Tabela 8**.

Em geral, os resultados prévios mostram que os compostos são pouco seletivos. Em outras palavras, pode-se dizer que eles são capazes de inibir a proliferação dos parasitos, além de serem tóxicos para os fibroblastos. O composto **1b**, por exemplo, apresenta-se como o composto mais seletivo da classe com valor de IS igual a 4,07, enquanto que o composto **3b** (IS: 0,73) mostrou-se ser o menos seletivo.

A estereoisomeria da dupla ligação C=C, mais uma vez, mostrou-se importante no estudo da ação biológica desta classe de moléculas. Avaliando-se os resultados, nota-se que os compostos mais ativos contra a *Leishmania amazonensis*, tem o menor IS que seus respectivos estereoisômeros. A título de exemplo, o composto **1c** (IC₅₀: $21,51 \pm 2,81 \mu$ M; IS: 3,87), é mais ativo que o estereoisômero **1b** (IC₅₀: $26,7 \pm 1,51 \mu$ M; IS: 4,07). No entanto, o primeiro tem o menor IS.

Os resultados mais interessantes foram obtidos para os compostos derivados do grupo (E,E)-farnesila. Para tais compostos, observou-se que quanto maior a ação leishmanicida, maior a seletividade. O estudo da relação estrutura atividade, baseado nos compostos que

contêm uma cadeia terpênica com 10 átomos de carbono como *N*-substituinte, é resumido na **Figura 52**.



Figura 52: Relação estrutura atividade dos terpenóides diaminados contra Leishmania amazonensis.

3.2.3 Ensaios in vitro contra Trypanosoma cruzi e índice de seletividade

Os ensaios *in vitro* para avaliar a atividade tripanocida dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)** foram realizados no laboratório de biologia celular do Instituto Carlos Chagas (ICC) da Fundação Oswaldo Cruz, no Paraná (FIOCRUZ-PR), utilizando-se cepas de *Trypanosoma cruzi* na forma de epimastigotas, coletadas no meio da fase de crescimento (três dias de idade).

Após 24 horas de incubação, o efeito tripanocida foi avaliado pelo método colorimétrico MTT: a densidade óptica lida a 550 nm em um leitor ELISA e os dados de absorbância foram usados para calcular o IC₅₀ por regressão não-linear utilizando o *software GraphPad Prism*. O LogP dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)** e do Benzonidazol (fármaco padrão) foram obtidos usando os serviços *online* gratuitos do *Molsoft Software*. Todos os resultados estão descritos na **Tabela 9**.

Atividade contra epimastigotas de <i>Trvpanosoma cruzi</i>				
Composto	LogP *	Parasito IC ₅₀ (µM)	Fibroblastos CC ₅₀ (µM)	IS**
1 a	-0,04	NA	ND	ND
1b	1,96	9,40 ±0,50	$108,74 \pm 5,45$	11,57
1c	1,96	6,30 ±1,73	$83,\!18\pm 5,\!16$	13,20
1d	3,95	5,29 ±1,23	<12,5	<2,27
2a	0,45	NA	ND	ND
2b	2,44	$22,14 \pm 0,93$	$79,38 \pm 16,70$	3,59
2c	2,44	$21,89 \pm 1,43$	$38,78 \pm 10,11$	1,77
2d	4,43	$2{,}53\pm0{,}35$	<12,5	<4,94
3a	0,93	NA	ND	ND
3b	2,92	$43,\!69 \pm 1,\!47$	$52,71 \pm 9,02$	1,21
3c	2,92	$65,78 \pm 2,12$	$72,94 \pm 19,86$	1,11
3d	4,92	$12,72 \pm 1,37$	<12,5	<0,98
4a	1,00	NA	ND	ND
4b	2,99	NA	ND	ND
4c	2,99	NA	ND	ND
4d	4,99	< 5	<12,5	<2,5
Benzonidazol	0,69	15,0	2720,0	181,3

Tabela 9: Valores de LogP, atividade *in vitro* contra *T. cruzi*, citotoxicidade em fibroblastos (3T3) e Índice deSeletividade (IS) para os compostos 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d)

*Valores de LogP foram calculados através dos seviços *on line* gratuitos do *Molsoft Software*.

**IS: Cálculo através da razão CC50/IC50; NA: Não ativo e ND: Não determinado.

Ao analisar os resultados dos testes de atividade tripanocida dos terpenóides diaminados, verifica-se uma certa correlação com os dados encontrados nos ensaios leishmanicidas. Isto pode ser atribuído à proximidade filogenética entre os parasitos, uma vez que a *L. amazonensis* e o *T. cruzi* pertencem a família *Tripanosomatidae* [33].

Todos os compostos derivados do grupo prenila (**1a**, **2a**, **3a** e **4a**), foram inativos contra epimastigotas de *T. cruzi*. Dentre a série de compostos derivados do grupo geranila (**1b**, **2b**, **3b** e **4b**), destaca-se o composto **1b** com IC₅₀ = 9,40 \pm 0,50 μ M, demonstrando ser mais ativo que o fármaco de referência Benzonidazol (IC₅₀ = 15,0 μ M), além de ser o composto que apresentou a maior concentração citotóxica (CC₅₀ = 108,74 \pm 5,45 μ M) para a linhagem de fibroblastos, dentre todos os terpenóides avaliados. Para esta série, observa-se ainda que ao aumentar o espaçador amino-amino, diminui-se a atividade tripanocida e, a substituição da diamina acíclica por uma cíclica resulta na inatividade destes derivados.

Para a série de compostos derivados do grupo nerila (1c, 2c, 3c e 4c) destaca-se o

composto **1c** com $IC_{50} = 6,30 \pm 1,73 \mu M$, demonstrando ser duas vezes mais ativo que o Benzonidazol, além de ser o terpenóide sintetizado com maior índice de seletividade (IS = 13,20). É importante ressaltar que, assim como os derivados contendo o grupo geranila, o tamanho do espaçador entre os grupos amino influencia diretamente na atividade destes compostos e a substituição das diaminas acíclicas por uma piperazina também resulta na inatividade dos mesmos.

Outro ponto de vista interessante a ser notado é a atividade do composto *versus* a isomeria da dupla ligação C=C: os compostos **1c** e **2c** apresentaram maior atividade do que seus correspondentes estereoisômeros **1b** e **2b**, sugerindo que a conformação "*Z*" da dupla ligação C=C também é importante para atividade tripanocida dos terpenóides que contêm 10 átomos de carbono na cadeia isoprênica. Entretanto, a atividade dos compostos derivados da butano-1,4-diamina é favorecida pela conformação "*E*".

Os derivados do grupo (*E*,*E*)-farnesila (1d, 2d, 3d e 4d) são os compostos mais lipofílicos (LogP entre 3,95 e 4,99) e ativos desta série de terpenóides. Destre eles, podemos destacar o composto 2d que se mostrou seis vezes mais ativo que o Benzonidazol e os compostos 1d e 4d que demonstraram ser cerca de duas vezes mais ativo que o fármaco de referência. O estudo da relação estrutura atividade, baseado nos compostos que contêm uma cadeia terpênica com 10 átomos de carbono como *N*-substituinte, é resumido na Figura 53.



Figura 53: Relação estrutura atividade dos terpenóides diaminados contra Trypanosoma cruzi.

Ensaios de citotoxicidade *in vitro* também foram realizados para os compostos ativos contra *T. cruzi* através da metodologia MTT, a fim de avaliar a viabilidade de fibroblastos não infectados, após o contato com os referidos terpenóides. Os resultados destes testes foram expressos como a concentração capaz de inviabilizar 50% das células (CC₅₀) e utilizados para

determinar o Índice de Seletividade (IS) dos compostos por meio da razão CC_{50}/IC_{50} [99]. Todos os dados estão descritos na **Tabela 9**.

Em geral, os resultados foram satisfatórios. Embora os derivados do (*E*,*E*)-farnesila tenham demonstrado ser pouco seletivos, 75% destes compostos apresentaram maiores efeitos tripanocida, com IC₅₀ \leq 5,29 ±1,23 µM, superando a atividade do fármaco Benzonidazol. Os derivados **1b** e **1c** (diastereoisômeros), derivados da etano-1,2-diamina se destacaram como compostos promissores com IC₅₀ igual a 9,40 ± 0,50 µM e 6,30 ± 1,73 µM, respectivamente. Além disso, demonstraram ser os terpenóides diaminados com maiores índices de seletividade da série (IS = 11,57 e 13,20, respectivamente).

Vale ressaltar que a estereoisomeria da dupla ligação C=C, mais uma vez, mostrou-se relevante nos estudos de relação estrutura atividade desta classe de moléculas: para os compostos ativos **1b** e **1c**, por exemplo, o diastereoisômero de conformação "*Z*" apresentou maior atividade e seletividade do que o seu correspondente isômero "*E*".

4 CONCLUSÃO

Esta dissertação descreveu, primeiramente, a síntese e caracterização de 16 terpenóides diaminados, dos quais destacam-se os compostos inéditos **1a**, **2c**, **3b** e **3c**. A rota sintética utilizada permitiu a obtenção dos produtos desejados em rendimentos moderados a bons (21-89%), sendo que a não obtenção de melhores rendimentos podem ser atribuída principalmente, a formação de derivados N,N'-dialquilados e pela dificuldade encontrada durante a purificação por cromatografia em coluna.

A atividade biológica desses terpenóides foi avaliada contra *Mycobacterium tuberculosis*, *Leishmania amazonensis*, *Trypanosoma cruzi* e linhagens de fibroblastos não infectados, para a determinação da concentração citotóxica (CC_{50}). Para o *Mycobacterium tuberculosis*, os derivados do (*E*,*E*)-farnesol (LogP = 3,95-4,99), foram os que apresentaram maior atividade, reforçando o princípio da importância da lipofilia no desenvolvimento de novos candidatos à fármacos anti-TB, aspecto este que possivelmente está relacionado à penetração do composto através da membrana lipofílica da micobactéria, que é rica em ácidos graxos de alta massa molar.

Semelhantemente, ao avaliar a atividade leishmanicida e tripanocida destes terpenoides, nota-se que os compostos mais ativos foram aqueles que apresentaram maior lipofilia. Para ambos protozoários, na maioria dos casos, ao considerar o mesmo *N*-substituinte nota-se que ao aumentar o espaçador amino-amino, diminui-se a atividade do derivado. Outra observação importante é a relação existente entre a isomeria da dupla ligação C=C e a atividade biológica: para os derivados diaminados que contêm 10 átomos de carbono na cadeia lateral, a estereoisomeria parece desempenhar um papel importante na atividade desses compostos.

Este trabalho apresentou, também, duas metodologias aplicadas a síntese de derivados inéditos dos terpenóides diaminados, análogos ao SQ109. A primeira metodologia conduziu a formação de duas diaminas *N*-aciladas (**XII** e **XIII**) intermediárias em rendimentos moderados (35 e 66%, respectivamente); três novos análogos ao SQ109 (**7(a, b e d)**), derivados do núcleo piperazina, em bons rendimentos (70-90%) e três sais quaternários de amônio (**8(a, b e d)**), derivados da trietilamina, que foram isolados em rendimentos moderados (34-52%) a partir da mistura reacional de síntese dos análogos derivados da propano-1,3-diamina. Além disso, a reação entre o cloreto de acila **X** e a etano-1,2-diamina,

conduziu a formação de uma mistura de compostos que não foi possível purificar por cromatografia em coluna e por recristalização.

A segunda rota sintética baseou-se na tentativa de realizar uma monoacilação seletiva das diaminas terpênicas, objetivando a amina primária como sítio reacional. Entretanto, as análises por espectroscopia de RMN de ¹H e ¹³C e também por espectrometria de massas de alta resolução (HRMS-ESI) indicaram a formação de outros compostos inéditos, as diamidas terpênicas **9(a, b e d) e 10(a, b e d)** que foram obtidas em rendimentos moderados, na faixa de 37 a 47%.

5 SEÇÃO EXPERIMENTAL

5.1 Materiais e Métodos

Todos os produtos químicos utilizados eram de grau reagentes e foram utilizados sem tratamento prévio. O monitoramento das reações foi realizado através da Cromatografia em Camada Delgada de Sílica (CCDS), utilizando-se cromatofolhas de sílica-gel 60 F₂₅₄ em suporte de alumínio, adquiridos da Sigma-Aldrich.

Os brometos alílicos (compostos V-VIII) não foram purificados por cromatografia em coluna *flash*, sendo utilizados logo após a extração líquido-líquido. O cloreto de acila (X) também não foi purificado, sendo utilizado após a remoção do cloreto de tionila e dos subprodutos gasosos (SO₂ e HCl) sob pressão reduzida.

Todos os demais compostos foram purificados por cromatografia em coluna *flash*, utilizando sílica-gel Sigma-Aldrich 60 (230-400 *mesh*) e, como reveladores foram utilizados: vapores de iodo e solução etanólica de ninidrina 0,5 % m/v, seguida de aquecimento.

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro da marca PERKIN-ELMER, modelo Spectrum 100, por reflectância atenuada, com cristal de seleneto de zinco. Foram realizadas 16 varreduras com resolução de 4 cm⁻¹ a temperatura ambiente, sendo o intervalo de absorção de 4000 a 650 cm⁻¹. Apenas as bandas significativas foram registradas e os valores para as absorções foram expressos em número de onda, utilizando-se o centímetro recíproco (cm⁻¹) como unidade.

Os espectros de RMN ¹H (300 ou 500 MHz) e RMN ¹³C (75 ou 125 MHz) foram registrados a 25°C em um aparelho Bruker Avance ACX300 (300 MHz para hidrogênio e 75 MHz para carbono) ou Bruker Avance HD III (500 MHz para hidrogênio e 125 MHz para carbono), no Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora-UFJF. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) tendo como referência o pico do solvente residual e as constantes de acoplamento (*J*) foram referidas em Hertz. As abreviaturas adotadas para o padrão de desdobramento são: s = simpleto; sl = simpleto largo; d = dupleto; t = tripleto, q = quarteto, qui = quinteto e m = multipleto.

Os espectros de massa de alta resolução (ESI-HRMS) foram obtidos para os compostos inéditos, exceto para os compostos **7(a, b e d)**. O aparelho utilizado foi o espectrômetro Bruker MicroTOF e a técnica escolhida foi a ionização por eletrospray (ESI).

A faixa de fusão dos produtos sólidos obtidos foi determinada em um aparelho FISATOM, modelo 431D.

Os valores de LogP foram calculados utilizando-se serviços *online* gratuitos do *Software MolSoft*.

5.1.1 Procedimento geral para a síntese dos brometos terpênicos

No preparo dos brometos terpênicos foram utilizados os seguintes álcoois terpênicos: 3-metilbut-2-en-1-ol (I); ($E \in Z$)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-ol (II e III, respectivamente) e (2E, 6E) -3,7,11- trimetildodeca-2,6,10-trien-1-ol (IV).

Em um balão de 50 mL, o álcool terpênico (10,0 mmol) foi solubilizado em 10 mL de éter etílico (**I**) ou de tetraidrofurano (**II-IV**) e uma solução de tribrometo de fósforo (3,3 mmol), também em éter etílico ou tetraidrofurano (5 mL), foi adicionada lentamente durante 10 minutos. A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 40 minutos e a temperatura de -18 °C (gelo triturado e cloreto de sódio na proporção 3:1 m/m), sendo acompanhada por CCDS (eluente: heptano/acetato de etila: 9:1; revelador: vapores de iodo) [100].

Após o término da reação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o óleo residual foi solubilizado em éter etílico/hexano (20 mL; 1:1 v/v) e submetida a uma lavagem com solução aquosa de bicarbonato de sódio 5% (1x10 mL), água destilada (1x10 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (1x10mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e o solvente removido sob pressão reduzida.

Os compostos V-VIII não foram purificados por cromatografia em coluna.

5.1.2 Procedimento geral para a síntese dos terpenóides diaminados

Os compostos V-VIII (0,5 mmol) foram solubilizados em diclorometano (5 mL) e adicionados lentamente, por duas horas, sobre a solução das respectivas diaminas (5,0 mmol): etano-1,2-diamina; propano-1,3-diamina; butano-1,4-diamina ou 1,4-diazaciclo-hexano, em diclorometano (8 mL) a -18 °C. O controle da temperatura foi realizado apenas durante a adição do brometo terpênico. Após o término, a temperatura do meio reacional foi elevando-se até a temperatura ambiente. A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 24 horas [79]. Esta reação não foi acompanhada por CCDS.

Em seguida, a mistura reacional foi submetida à extração sequencialmente com água destilada (3x5 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (1x5 mL) para remover o excesso de diamina e seus respectivos cloridratos. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente evaporado sob pressão reduzida. O óleo residual obtido foi purificado por

cromatografia em coluna *flash* (eluente: $CH_2Cl_2:CH_3OH:NH_4OH$ (80:18:2)), fornecendo os terpenóides diaminados **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)**.



N¹-(3-metilbut-2-en-1-il) etano-1,2-diamina (1a)

Rendimento: 89%; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₇H₁₆N₂; **MM:** 128,13 g/mol; **LogP:** -0,04.

IV (ATR, cm⁻¹): 3352 (υ_{as}, N-H); 3287 (υ_s, N-H); 1671 (υ, C=C); 1572 (δ, NH₂); 1103 (υ, C-N); 1123 (υ, C-N).

RMN de ⁴H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,58 (s, 3H, CH₃); 1,65 (s, 3H, CH₃); 1,71 (sl, 3H, NH e NH₂); 2,60 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 2,74 (t, 2H, CH₂, *J* = 6 Hz); 3,15 (d, 2H, CH₂, *J* = 7 Hz); 5,18 (t, 1H, CH, *J* = 6,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 18,0 (CH₃); 25,9 (CH₃); 41,9 (CH₂); 47,3 (CH₂); 52,2 (CH₂); 123,1 (CH); 134,4 (C).

ESI-HRMS m/z calculado para C₇H₁₇N₂ [M+H]⁺ 129,1386; encontrado 129,1388.



(E)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)etano-1,2-diamina (1b)

Rendimento: 58%; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₁₂H₂₄N₂; **MM:** 196,19 g/mol; **LogP:** 1,96.

IV (ATR, cm⁻¹): 3357 (υ_{as}, N-H); 3291 (υ_s, N-H); 1666 (υ, C=C); 1583 (δ, NH₂); 1108 (υ, C-N).

RMN de 'H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,54 (sl, 3H, NH e NH₂); 1,56 (s, 3H, CH₃); 1,60 (s, 3H, CH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,97 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 2,03-2,07 (m, 2H, CH₂); 2,63 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 2,77 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 3,19 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 5,05 (t, 1H, CH, *J* = 6,0 Hz); 5,22 (t, 1H, CH, *J* = 6,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,5 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,7 (CH₂); 39,8 (CH₂); 42,0 (CH₂); 47,3 (CH₂); 52,3 (CH₂); 122,9 (CH); 124,3 (CH); 131,7 (C); 137,9 (C).


(Z)- N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)etano-1,2-diamina (1c)

Rendimento: 63%; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₁₂H₂₄N₂; **MM:** 196,19 g/mol; **LogP:** 1,96.

IV (ATR, cm⁻¹): 3357 (υ_{as}, N-H); 3281 (υ_s, N-H); 1663 (υ_s C=C); 1568 (δ, NH₂); 1107 (υ_s C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,55 (s, 3H, CH₃); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,67 (s, 3H, CH₃); 2,00 (m, 4H, 2xCH₂); 2,17 (sl, 3H, NH e NH₂); 2,63 (t, 2H, CH₂ J = 6,0 Hz); 2,77 (t, 2H, CH₂, J = 6,0 Hz); 3,17 (d, 2H, CH₂, J = 7,0 Hz); 5,05 (m, 1H, CH); 5,22 (t, 1H, CH, J = 6,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 17,8 (CH₃); 23,6 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,7 (CH₂); 32,3 (CH₂); 41,7 (CH₂); 46,9 (CH₂); 51,9 (CH₂); 123,6 (CH); 124,1 (CH); 132,0 (C); 138,3 (C).



*N*¹-((2*E*,6*E*)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il)etano-1,2-diamina (1d)

Rendimento: 31%; Aspecto físico: óleo amarelo; FM: C₁₇H₃₂N₂; MM: 264,26 g/mol; LogP: 3,95.

IV (ATR, cm⁻¹): 3356 (υ_{as}, N-H); 3286 (υ_s, N-H); 1666 (υ, C=C); 1567 (δ, NH₂); 1108 (υ, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,57 (s, 6H, 2xCH₃); 1,62 (s, 3H, CH₃); 1,65 (s, 3H, CH₃); 1,68 (sl, 3H, NH e NH₂); 1,94-2,08 (m, 8H, 4xCH₂); 2,65 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,0Hz); 2,79 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 3,21 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 5,04-5,09 (m, 2H, 2xCH); 5,24 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,2 (CH₃); 16,5 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,6 (CH₂); 26,9 (CH₂); 39,8 (CH₂); 39,9 (CH₂); 41,9 (CH₂); 47,2 (CH₂); 52,1 (CH₂); 122,7 (CH); 124,2 (CH); 124,5 (CH); 131,5 (C); 135,4 (C); 138,3 (C).



N¹-(3-metilbut-2-en-1-il)propano-1,3-diamina (2a)

Rendimento: 22 %; Aspecto físico: óleo amarelo; FM: C₈H₁₈N₂; MM: 142,15 g/mol;

LogP: 0,45.

IV (ATR, cm⁻¹): 3356 (υ_{as}, N-H); 3286 (υ_s, N-H); 1666 (υ, C=C); 1566 (δ, NH₂); 1095 (υ, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,59 (m, 5H, CH₂ and CH₃); 1,66 (s, 3H, CH₃); 2,33 (sl, 3H, NH e NH₂); 2,62 (t, 2H, CH₂, J = 7,0 Hz); 2,72 (t, 2H, CH₂, J = 7,0 Hz); 3,15 (d, 2H, CH₂, J = 6,5 Hz); 5,17-5,20 (m, 1H, CH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 18,1 (CH₃); 25,9 (CH₃); 33,6 (CH₂); 40,6 (CH₂); 47,4 (2xCH₂); 122,9 (CH); 134,5 (C).



(E)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)propano-1,3-diamina (2b)

Rendimento: 54 %; Aspecto físico: óleo amarelo; FM: $C_{13}H_{26}N_2$; MM: 210,21 g/mol; LogP: 2,44.

IV (ATR, cm⁻¹): 3356 (υ_{as}, N-H); 3284 (υ_s, N-H); 1666 (υ, C=C); 1567 (δ, NH₂); 1106 (υ, C-N).

RMN de 'H (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,57 (s, 3H, CH₃); 1,61 (s, 3H, CH₃); 1,65-1,71 (m, 5H, CH₂ e CH₃); 1,95-2,06 (m, 7H, 2xCH₂, NH e NH₂); 2,63-2,66 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,9 Hz); 2,73-2,78 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,9 Hz); 3,19-3,22 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,9 Hz); 5,04-5,08 (m, 1H, CH); 5,20-5,24 (m, 1H, CH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 16,5 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,7 (CH₂); 33,7 (CH₂); 39,8 (CH₂); 40,8 (CH₂); 47,4 (CH₂); 47,6 (CH₂); 122,7 (CH); 124,3 (CH); 131,8 (C); 138,3 (C).



(Z)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)propano-1,3-diamina (2c)

Rendimento: 37 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₁₃H₂₆N₂; **MM:** 210,21 g/mol; **LogP:** 2,44.

IV (ATR, cm⁻¹): 3351 (υ_{as}, N-H); 3281 (υ_s, N-H); 1666,29 (υ, C=C); 1567,36 (δ, NH₂); 1106,68 (υ, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,56 (s, 3H, CH₃); 1,62 (m, 2H, CH₂); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,68 (s, 3H, CH₃); 2,02 (s, 4H, 2xCH₂); 2,16 (sl, 3H, NH e NH₂); 2,62-2,65 (m, 2H, CH₂); 2,73-2,76 (m, 2H, CH₂); 3,16 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 5,05 (sl, 1H, CH); 5,23 (sl, 1H, CH). **RMN de ¹³C** (CDCl₃, 125 MHz): δ 17,8 (CH₃); 23,6 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,8 (CH₂); 32,3 (CH₂); 33,6 (CH₂); 40,7 (CH₂); 47,2 (CH₂); 47,6 (CH₂); 123,6 (CH); 124,1 (CH); 132,1 (C); 138,3 (C).

ESI-HRMS m/z calculado para C₁₃H₂₇N₂. [M+H]⁺ 211,2169, encontrado 211,2166.



N¹-((2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il)propano-1,3-diamina (2d)

Rendimento: 35 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₁₈H₃₄N₂; **MM:** 278,27 g/mol; **LogP:** 4,43.

IV (ATR, cm⁻¹): 3372 (v_{as}, N-H); 3270 (v_s, N-H); 1663 (v_s C=C); 1107 (v_s C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,56 (s, 6H, 2xCH₃); 1,61 (s, 3H, CH₃); 1,64-1,66 (m, 5H, CH₂ e CH₃); 1,92-2,10 (m, 11H, 4xCH₂, NH e NH₂); 2,66 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,9 Hz); 2,76 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,9 Hz); 3,21 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,9 Hz); 5,04-5,08 (m, 2H, 2xCH); 5,23 (t, 1H, CH, *J* = 6,9 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,2 (CH₃); 16,5 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,6 (CH₂); 26,9 (CH₂); 33,4 (CH₂); 39,8 (CH₂); 39,9 (CH₂); 40,8 (CH₂); 47,3 (CH₂); 47,6 (CH₂); 122,4 (CH); 124,1 (CH); 124,5 (CH); 131,5 (C); 135,4 (C); 138,5 (C).



N¹-(3-metilbut-2-en-1-il) butano-1,4-diamina (3a)

Rendimento: 40 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₉H₂₀N₂; **MM:** 156,16 g/mol; **LogP:** 0,93.

IV (ATR, cm⁻¹): 3356 (υ_{as}, N-H); 3270 (υ_s, N-H); 1668 (υ, C=C); 1585 (δ, NH₂); 1097 (υ, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,44-1,49 (m, 4H, 2xCH₂); 1,60 (sl, 6H, CH₃, NH e NH₂); 1,67 (s, 3H, CH₃); 2,57 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 2,66 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 3,16 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 5,21 (t, 1H, CH, *J* = 6,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 18,1 (CH₃); 25,9 (CH₃); 27,7 (CH₂); 31,8 (CH₂); 42,3 (CH₂); 47,4 (CH₂); 49,5 (CH₂); 123,1 (CH); 134,4 (C).



(E)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)butano-1,4-diamina (3b)

Rendimento: 31 %; Aspecto físico: óleo amarelo; FM: C₁₄H₂₈N₂; MM: 224,23 g/mol; LogP: 2,92.

IV (ATR, cm⁻¹): 3351 (υ_{as}, N-H); 3281 (υ_s, N-H); 1666 (υ, C=C); 1572 (δ, NH₂); 1107 (υ, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,44-1,50 (m, 4H, 2xCH₂); 1,55 (s, 3H, CH₃); 1,59 (s, 3H, CH₃); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,95-1,98 (m, 2H, CH₂); 2,02-2,05 (m, 2H, CH₂); 2,57 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 2,66 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 3,18 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 5,04 (t, 1H, CH, *J* = 6,0 Hz); 5,21 (t, 1H, CH, *J* = 6,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,5 (CH₃); 17,8 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,7 (CH₂); 27,7 (CH₂); 31,8 (CH₂); 39,8 (CH₂); 42,3 (CH₂); 47,4 (CH₂); 49,5 (CH₂); 122,9 (CH); 124,3 (CH); 131,7 (C); 137,7 (C).

ESI-HRMS *m/z* calculado para C₁₄H₂₉N₂. [M+H]⁺ 225,2325, encontrado 225,2333.



(Z)-N¹-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)butano-1,4-diamina (3c)

Rendimento: 38 %; Aspecto físico: óleo amarelo; FM: C₁₄H₂₈N₂; MM: 224,23 g/mol; LogP: 2,92.

IV (ATR, cm⁻¹): 3367 (υ_{as}, N-H); 3284 (υ_s, N-H); 1663 (υ, C=C); 1567 (δ, NH₂); 1107 (υ, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,44-1,48 (m, 4H, 2xCH₂); 1,56 (s, 3H, CH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,67 (s, 3H, CH₃); 1,82 (sl, 3H, NH e NH₂); 2,01 (m, 4H, 2xCH₂); 2,57 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 2,66 (t, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 3,15 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 5,05 (t, 1H, CH, *J* = 6,5 Hz); 5,22 (t, 1H, CH, *J* = 6,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 17,8 (CH₃); 23,6 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,8 (CH₂); 27,7 (CH₂); 31,7 (CH₂); 32,3 (CH₂); 42,2 (CH₂); 47,1 (CH₂); 49,5 (CH₂); 123,8 (CH); 124,2 (CH); 132,0 (C); 138,1 (C).

ESI-HRMS m/z calculado para C₁₄H₂₉N₂. [M+H]⁺ 225,2325; encontrado 225,2328.



*N*¹-((*2E*,6*E*)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il)butano-1,4-diamina (3d)

Rendimento: 30 %; Aspecto físico: óleo amarelo; FM: C₁₉H₃₆N₂; MM: 292,29 g/mol; LogP: 4,92.

IV (ATR, cm⁻¹): 3356 (υ_{as}, N-H); 3281 (υ_s, N-H); 1663 (υ_s C=C); 1565 (δ, NH₂); 1108 (υ_s C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,47-1,51 (m, 4H, 2x CH₂); 1,55 (s, 6H, 2xCH₃); 1,60 (s, 3H, CH₃); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,92 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 1,96-2,07 (m, 6H, 3xCH₂); 2,60 (t, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 2,69 (sl, 5H, CH₂, NH e NH₂); 3,21 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 5,05 (m, 2H, 2xCH); 5,22 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,2 (CH₃); 16,5 (CH₃); 17,8 (CH₃); 25,9 (CH₂); 26,6 (CH₃); 26,9 (CH₂); 27,4 (CH₂); 31,2 (CH₂); 39,8 (CH₂); 39,9 (CH₂); 41,9 (CH₂); 46,9 (CH₂); 49,0 (CH₂); 121,9 (CH); 124,1 (CH); 124,5 (CH); 131,5 (C); 135,4 (C); 138,8 (C).



N^{*i*}-(3-metilbut-2-en-1-il)piperazina (4a)

Rendimento: 51 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₉H₁₈N₂; **MM:** 154,15 g/mol; **LogP:** 1,00.

IV (ATR, cm⁻¹): 3274 (v, N-H); 1675 (v, C=C); 1112 (v, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,56 (s, 3H, CH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 2,35 (s, 4H, 2xCH₂); 2,63 (s, 1H, NH); 2,83 (t, 4H, 2xCH₂, *J* = 4,0 Hz); 2,85 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 5,16 (t, 1H, CH, *J* = 6,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 18,1 (CH₃); 26,0 (CH₃); 46,0 (2xCH₂); 54,2 (2xCH₂); 56,7 (CH₂); 120,8 (CH); 135,5 (C).



N^{*z*}-(*E*)-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)piperazina (4b)

Rendimento: 82 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₁₄H₂₆N₂; **MM:** 222,21 g/mol; **LogP:** 2,99.

IV (ATR, cm⁻¹): 3265 (v, N-H); 1666 (v, C=C); 1112 (v, C-N).

RMN de ¹H: (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,54 (s, 3H, CH₃); 1,58 (s, 3H, CH₃); 1,62 (s, 3H, CH₃); 1,98 (t, 2H, CH₂, J = 7,0 Hz); 2,02-2,07 (m, 2H, CH₂); 2,39 (sl, 4H, 2xCH₂); 2,58 (sl, 1H, NH); 2,87 (t, 4H, 2xCH₂, J = 3,5 Hz); 2,91 (d, 2H, CH₂, J = 7,0 Hz); 5,03 (t, 1H, CH, J = 7,0); 5,20 (t, 1H, CH, J = 7,0).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,6 (CH₃); 17,8 (CH₃); 25,8 (CH₃); 26,6 (CH₂); 39,9 (CH₂); 46,1 (2xCH₂); 54,3 (2xCH₂); 56,7 (CH₂); 120,8 (CH); 124,3 (CH); 131,7 (C); 139,1 (C).



N¹-(Z)-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)piperazina (4c)

Rendimento: 46 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₁₄H₂₆N₂; **MM:** 222,21 g/mol; **LogP:** 2,99.

IV (ATR, cm⁻¹): 3265 (v, N-H); 1666 (v, C=C); 1029 (v, C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,56 (s, 3H, CH₃); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,68 (s, 3H, CH₃); 2,00-2,01 (m, 4H, 2xCH₂); 2,41 (sl, 4H, 2xCH₂); 2,88 (m, 6H, 3xCH₂); 3,08 (s, 1H, NH); 5,04-5,06 (m, 1H, CH); 5,19 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 17,8 (CH₃); 23,7 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,7 (CH₂); 32,3 (CH₂); 44,9 (2xCH₂); 54,0 (2xCH₂); 56,5 (CH₂); 121,5 (CH); 124,1 (CH); 131,9 (C); 139,4 (C).



N^z-((2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il)piperazina (4d)

Rendimento: 40 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₁₉H₃₄N₂; **MM:** 290,27 g/mol; **LogP:** 4,99.

IV (ATR, cm⁻¹): 3397 (υ , N-H); 1666 (υ , C = C); 1110 (υ , C-N).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,54 (s, 3H, CH₃); 1,55 (s, 3H, CH₃); 1,59 (s, 3H, CH₃); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,90-1,93 (m, 2H, CH₂); 1,98-2,07 (m, 6H, 3xCH₂); 2,43 (sl, 4H, 2xCH₂); 2,89-2,93 (m, 6H, 3xCH₂); 3,31 (sl, 1H, NH); 5,04-5,06 (m, 2H, 2xCH); 5,21 (t, 1H, CH, *J* = 6,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,2 (CH₃); 16,2 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,5 (CH₂); 26,9 (CH₂); 39,9 (CH₂); 39,9 (CH₂); 45,9 (2xCH₂); 53,9 (2xCH₂); 56,6 (CH₂); 120,6 (CH); 124,1 (CH); 124,5 (CH); 131,5 (C); 135,4 (C); 139,4 (C).

5.1.3 Procedimento geral para a síntese do cloreto de triciclo [3.3.1.1]decano-1-carbonila

Esta reação foi baseada no trabalho desenvolvido por Kobayashi e colaboradores [95]. Em um balão de 25 mL, equipado com condensador de refluxo, colocou-se 5,55 mmol do ácido triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxílico (**IX**) e 11,1 mmol de cloreto de tionila (SOCl₂).

A mistura foi mantida sob agitação e refluxo à temperatura de 80 °C por um período de 2 horas. Ao final, o excesso do solvente foi removido sob pressão reduzida à temperatura de 80°C em banho de glicerina. O sólido formado permaceu secando, sob pressão reduzida, por um período de aproximadamente oito horas. Esta reação não foi acompanhada por CCDS e o sucesso da reação foi evidenciado apenas pela espectroscopia vibracional na região do IV. Este intermediário não foi purificado.

5.1.4 Procedimento geral para a síntese das diaminas N-aciladas

O cloreto de acila **X** (2,3 mmol) foi solubilizado em diclorometano anidro (5 mL) e adicionado lentamente, por duas horas, sobre a solução das respectivas diaminas (23,0 mmol): etano-1,2-diamina, propano-1,3-diamina ou piperazina, em diclorometano anidro (8 mL) a -18 °C. Durante a adição, realizou-se o controle da temperatura, que se manteve entre -18 e -12 °C. Em seguida, a temperatura do meio reacional foi elevando-se gradualmente até atingir a temperatura ambiente, permanecendo assim por mais 22 horas [101]. Esta reação não foi acompanhada por CCDS.

Em seguida, a mistura reacional foi submetida à extração líquido-líquido sequencialmente com água destilada (3x8 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (1x10 mL) para remover o excesso de diamina e o seu respectivo sal formado durante a reação. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente removido sob pressão reduzida.

Vale ressaltar que embora a reação não tenha sido acompanhada por CCDS, ao final da extração as fases orgânica e aquosa foram avaliadas por esta técnica, utilizando como eluente a mistura de solventes: diclorometano/metanol. Como revelador, utilizou-se a solução etanólica de ninidrina 0,5 % seguida de aquecimento.

Algumas tentativas de purificação do composto **XI**, por cromatografia em coluna *flash*, foram realizadas, mas não se obteve sucesso. Entretanto, os compostos **XII** e **XIII** foram purificados por esta técnica, utilizando-se como eluente a mistura de solventes: CH₂Cl₂:CH₃OH:NH₄OH (80:19:1) e CH₂Cl₂:CH₃OH (92:8), respectivamente.



N-(3-aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (XII)

Rendimento: 35%; Aspecto físico: sólido branco; FF: 96-99°C; FM: C14H24N2O;

MM: 236,19 g/mol.

IV (ATR, cm⁻¹): 3344 (v, N-H); 3286 (v, N-H); 1626 (v, C=O); 1282 (v, C-N, amida); 1046 (v, C-N, amina).

RMN de 'H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,58 (qui, 2H, CH₂, J = 6,0 Hz); 1,64-1,71 (m, 8H, 3xCH₂adamantoide- e NH₂); 1,80 (s, 6H, 3xCH₂ adamantoide); 1,99 (s, 3H, CH adamantoide); 2,75 (t, 2H, CH₂, J = 6,0 Hz); 3,31 (q, 2H, CH₂, J = 6,0 Hz); 6,51 (sl, 1H, NH amida).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 28,4 (adamantoide); 32,3 (CH₂); 36,7 (adamantoide); 38,0 (CH₂); 39,5 (adamantoide); 40,3 (CH₂); 40,7 (adamantoide); 178,4 (C=O).



N-(piperazinil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (XIII)

Rendimento: 66%; Aspecto físico: sólido castanho claro; FF: 89-92 °C; FM: C₁₅H₂₄N₂O; MM: 248,19 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 3402 (v, N-H); 3295 (v, N-H); 1601 (v, C=O); 1258 (v, C-N, amida); 1226 (v, C-N, amida); 1023 (v, C-N, amina).

RMN de 'H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,67 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide); 1,94 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide); 1,99 (3H, 3xCH, adamantoide); 2,43 (sl, 1H, NH); 2,87 (t, 4H, 2xCH₂, *J* = 4,5 Hz); 3,69 (t, 4H, 2xCH₂, *J* = 4,5 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 28,6 (adamantoide); 36,8 (adamantoide); 39,2 (adamantoide); 41,8 (CH₂); 45,9 (CH₂); 46,1 (CH₂); 46,1 (2xCH₂), 176,0 (C=O).

5.1.5 Procedimento utilizado na tentativa de síntese do N-(2-((E)-3,7dimetilocta-2,6-dien-1-il)aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida

Em um balão de 50 mL preparou-se uma solução em diclorometano (10 mL), contendo 1,0 mmol de *N*-(2-aminoetil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (**XI**) (sólido impuro) e 1,0 mmol de trietilamina (TEA). A esta solução, sob agitação e à temperatura ambiente, adicionou-se lentamente 1,2 mmol de (*E*)-1-bromo-3,7-dimetilocta-2,6-dieno (**VI**) solubilizado em 5 mL de diclorometano.

A reação foi acompanhada com dificuldade por CCDS, devido a presença de muitos subprodutos com R_f 's bem próximos. O pH da mistura reacional também foi avaliado periodicamente, adicionando-se TEA, quando necessário, para manter o pH próximo de 7,0.

Após 56 horas de reação, a mistura reacional foi aquecida permanecendo sob refluxo por mais 15 horas. Embora todo o material de partida não tenha sido completamente consumido, decidiu-se finalizar a reação. A solução obtida foi submetida a uma extração líquido-líquido utilizando água destilada (3x5 mL) e solução salina saturada (1x5 mL), sequencialmente. Em seguida, a fase orgânica foi seca sobre o sulfato de sódio anidro e o solvente foi removido sob pressão reduzida.

Diversos eluentes foram testados para avaliar o perfil de separação dos produtos, no intuito de encontrar um eluente adequado para purificar o produto por cromatografia em coluna, mas não se obteve sucesso. Algumas misturas de solventes testadas são citadas a seguir: acetato de etila/metanol 9,5:0,5 (10 mL) com 6 gotas de hidróxido de amônio; acetato de etila/metanol 9,5:0,5; acetato de etila com 6 gotas de hidróxido de amônio; acetato de etila 100%; acetato de etila/heptano 8:2 com 6 gotas de hidróxido de amônio; acetato de etila/heptano 8:2; acetato de etila/heptano 7:3 com 6 gotas de hidróxido de amônio; acetato de etila/heptano 7:3, diclorometano/acetonitrila 9:1; diclorometano/acetonitrila 7:3, dentre outros.

5.1.6 Tentativa de síntese dos análogos ao SQ109 derivados do N-(3aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida

Os compostos **V**, **VI** e **VIII** (0,22 mmol) foram solubilizados em diclorometano (1 mL) e adicionados lentamente, por 15 minutos, sobre uma solução contendo 0,17 mmol de *N*-(3-aminopropil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida e 0,17 mmol de trietilamina. A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 24 horas, a temperatura ambiente, sendo os

reagentes monitorados por CCDS (eluente: diclorometano/metanol; reveladores: vapores de iodo e solução etanólica de ninidrina 0,5%, seguida de aquecimento) e o pH avaliado periodicamente e corrigido, quando necessário.

Em seguida, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação, adicionando-se mais 10 mL de diclorometano. Esta solução foi submetida a extrações, utilizando-se sequencialmente uma solução de NaHCO₃ 5% (2x 6 mL) e água destilada (2x6 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente removido sob pressão reduzida.

O óleo residual obtido foi purificado por cromatografia em coluna *flash*, sendo isolados os sais quaternários de amônio 8(a, b e d).



Brometo de N,N,N-trietil-N-(3-metilbut-2-enil)-amônio (8a)

Rendimento: 57 %; Aspecto físico: semissólido marrom claro; FM: C₁₁H₂₄BrN;

MM: 249,11 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 1672 (υ, C=C); 1028 (υ, C-N); 800 (γ, C=C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,32 (t, 9H, 3xCH₃, *J* = 6,5 Hz); 1,75 (s, 3H, CH₃); 1,78 (s, 3H, CH₃); 1,36 (q, 6H, 3xCH₂, *J* = 6,5 Hz); 3,92 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0); 5,17 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 8,3 (3xCH₃); 19,3 (CH₃); 26,6 (CH₃); 53,0 (3xCH₂); 56,1 (CH₂); 110,2 (CH); 147,4 (C).



Brometo de *N*,*N*,*N*-trietil-*N*-(3,7-dimetilocta-2,6-dienil)-amônio (8b)

Rendimento: 47 %; Aspecto físico: sólido marrom claro; FF: 86-88 °C; FM: C₁₆H₃₂BrN; MM: 317,17 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 1668 (v, C=C); 1030 (v, C-N); 814 (y, C=C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,36 (t, 9H, 3xCH₃, *J* = 7,0 Hz); 1,55 (s, 3H, CH₃); 1,62 (s, 3H, CH₃); 1,78 (s, 3H, CH₃); 2,11 (s, 4H, 2xCH₂); 3,36 (q, 6H, 3xCH₂, *J* = 7,0 Hz); 3,96 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 4,96 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz); 5,14 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 8,3 (3xCH₃); 17,5 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,1 (CH₂); 40,2 (CH₂); 53,1 (3xCH₂); 56,0 (CH₂); 110,1 (CH); 123,3 (CH); 132,7 (C); 150,9 (C).



Brometo de N,N,N-trietil-N-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trienil)-amônio (8d)

Rendimento: 34 %; **Aspecto físico:** semissólido marrom claro; **FM:** C₂₁H₄₀BrN; **MM:** 385,23 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 1666 (υ, C=C); 1023 (υ, C-N); 811 (γ, C=**C-H**).

RMN de ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,32 (t, 9H, 3xCH₃, *J* = 7,0 Hz); 1,52 (s, 6H, 2xCH₃); 1,59 (s, 3H, CH₃); 1,76 (s, 3H, CH₃); 1,86-1,88 (m, 2H, CH₂); 1,96 (q, 2H, CH₂, *J* = 6,5 Hz); 2,07 (s, 4H, 2xCH₂); 3,36 (m, 6H, 3xCH₂,); 3,95 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 4,95-5,00 (m, 2H, 2xCH); 5,12 (t, 1H, CH, *J* = 6,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 8,4 (3xCH₃); 16,2 (CH₃); 17,7 (CH₃); 17,8 (CH₃); 25,8 (CH₃); 26,2 (CH₂); 26,8 (CH₂); 39,8 (CH₂); 40,2 (CH₂); 53,1 (3xCH₂); 56,1 (CH₂); 109,9 (CH); 123,0 (CH); 124, 1 (CH); 131,6 (C); 136,3 (C), 150,9 (C).

5.1.7 Procedimento geral para a síntese dos novos análogos ao SQ109 derivados do *N*-(piperazinil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida

Os compostos V, VI e VIII (0,78 mmol) foram solubilizados em diclorometano (1 mL) e adicionados lentamente, por 15 minutos, sobre uma solução contendo 0,6 mmol de *N*-(piperazinil)triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida e 0,6 mmol de TEA, em diclorometano (3 mL), a temperatura ambiente. A mistura reacional foi mantida sob agitação durante 24 horas, sendo os reagentes acompanhados por CCDS (eluente: diclorometano/metanol; reveladores: vapores de iodo e solução etanólica de ninidrina 0,5%, seguida de aquecimento) e o pH monitorado, acrescentando-se TEA quando necessário para manter o pH = 7,0.

Em seguida, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação, acrescentando-se 20 mL de diclorometano. Esta solução foi então submetida a uma extração líquido-líquido utilizando-se sequencialmente solução aquosa de NaHCO₃ (5% (m/v), 3x10 mL) e água destilada (1x10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, o solvente evaporado sob pressão reduzida e o óleo residual obtido, purificado por cromatografia em coluna *flash* (eluente: CH₂Cl:CH₃OH (95:5), fornecendo os compostos **7(a, b e d)**.



N¹-((3-metilbut-2-en-1-il)piperazinil-N-triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (7a)

Rendimento: 90%; Aspecto físico: sólido marrom claro; FF: 69-70 °C; FM: C₂₀H₃₂N₂O; MM: 316,25 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 1663 (υ, C=C); 1627 (υ, C=O), 1226 (υ, C-N, amida); 1024 (υ, C-N, amina). **RMN de ¹H** (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,60 (s, 3H, CH₃); 1,67 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide); 1,69 (s, 3H, CH₃); 1,95 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide), 1,99 (s, 3H, 3xCH, adamantoide); 2,38 (t, 4H, 2xCH₂, *J* = 4,5 Hz); 2,91 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 3,66 (s, 4H, 2xCH₂); 5,20 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 18,2 (CH₃); 26,1 (CH₃); 28,7-39,2 (adamantoide); 41,8 (CH₂); 45,4 (CH₂); 53,5 (2xCH₂); 56,1 (CH₂); 120,4 (CH); 136,2 (C); 175,8 (C=O).



Nⁱ-((*E*)-(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)piperazinil-*N*-triciclo[3.3.1.1]decano-1carboxamida (7b)

Rendimento: 70%; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₂₅H₄₀N₂O; **MM:** 384,31 g/mol; **IV** (ATR, cm⁻¹): 1663 (υ , C=C); 1626 (υ , C=O), 1225 (υ , C-N, amida); 1024 (υ , C-N, amina). **RMN de 'H** (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,56 (s, 3H, CH₃); 1,59 (s, 3H, CH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,68 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide); 1,96 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide), 1,99-2,01 (m, 5H, 3xCH, adamantoide; CH₂); 2,04-2,09 (m, 2H, CH₂); 2,38 (t, 4H, 2xCH₂, *J* = 4,5 Hz); 2,93 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 3,67 (s, 4H, 2xCH₂); 5,04 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz); 5,21 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,6 (CH₃); 17,8 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,6 (CH₂); 28,7-39,3 (adamantoide); 39,9 (CH₂); 41,8 (CH₂); 45,5 (CH₂); 53,5 (2xCH₂); 56,1 (CH₂); 120,4 (CH); 124,2 (CH); 131,8 (C); 139,7 (C); 175,8 (C=O).



N¹-((2*E*,6*E*)-(3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il)piperazinil-*N*-triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (7d)

Rendimento: 86%; **Aspecto físico:** óleo amarelo; **FM:** C₃₀H₄₈N₂O; **MM:** 452,38 g/mol; **IV** (ATR, cm⁻¹): 1663 (υ , C=C); 1627 (υ , C=O), 1226 (υ , C-N, amida); 1024 (υ , C-N, amina). **RMN de 'H** (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,55 (s, 6H, 2xCH₃); 1,59 (s, 3H, CH₃); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,68 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide); 1,91-1,94 (m, 2H, CH₂); 1,95 (s, 6H, 3xCH₂, adamantoide) 1,99-2,02 (m, 7H, 3xCH, adamantoide; 2xCH₂); 2,04-2,08 (m, 2H, CH₂); 2,38 (t, 4H, 2xCH₂, *J* = 4,5 Hz); 2,93 (d, 2H, CH₂, *J* = 7,0 Hz); 3,66 (s, 4H, 2xCH₂); 5,04-5,06 (m, 2H, 2xCH);

5,21 (t, 1H, CH, *J* = 7,0 Hz).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,2 (CH₃); 16,6 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,5 (CH₂); 26,9 (CH₂); 28,7-39,2 (adamantoide); 39,8 (CH₂); 39,9 (CH₂); 41,8 (CH₂); 45,4 (CH₂); 53,5 (2xCH₂); 56,1 (CH₂); 120,3 (CH); 123,9 (CH); 124,4 (CH); 131,5 (C); 135,4 (C); 139,6 (C); 175,8 (C=O).

5.1.8 Procedimento geral para a síntese das diamidas terpênicas

O cloreto de acila **X** (1,0 mmol) foi solubilizado em diclorometano anidro (5 mL) e adicionado lentamente, por uma hora, sobre uma solução contendo 1,0 mmol de TEA e 1,0 mmol dos respectivos terpenóides diaminados: N^1 -(3-metilbut-2-en-1-il)etano-1,2-diamina, $(E)-N^1$ -(3,7-dimetillocta-2,6-dien-1-il)etano-1,2-diamina, N^1 -[(2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il]etano-1,2-diamina, $(E)-N^1$ -(3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il)propano-1,3-diamina ou N^1 -[(2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-il]propano-1,3-diamina, previamente dissolvidos em diclorometano anidro (8 mL) a -18 °C [100].

A temperatura foi controlada, durante toda a adição do cloreto de acila, e manteve-se entre -18 e -16 °C. A reação foi monitorada por CCDS (eluente: heptano/acetato de etila 7:3, reveladores: vapores de iodo e solução etanólica de ninidrina, seguida de aquecimento) o pH da mistura reacional foi monitorado e corrigido com TEA, quando necessário, para valores próximos a pH = 7,0.

Em seguida, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação, adicionando-se mais 10 mL de diclorometano. Esta solução foi submetida a lavagem, utilizando-se sequencialmente uma solução de NaHCO₃ 5% (1x 8 mL), água destilada (2x8 mL) e solução aquosa saturada de NaCl (1x8 mL). A fase orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ anidro e o solvente removido sob pressão reduzida.

As diamidas terpênicas **9(a, b e d) e 10(a, b e d)** foram purificadas por cromatografia em coluna *flash* (eluente: heptano/acetato de etila 6:4, revelador: vapores de iodo).



N-(2-(triciclo[3.3.1.1]-decano-1-carboxamida)etil)-N-(3-metilbut-2-en-1il)triciclo[3.3.1.1] decano-1-carboxamida (9a).

Rendimento: 46 %; Aspecto físico: sólido branco; Faixa de fusão: 160-163 °C;

FM: C₂₉H₄₄N₂O₂; **MM:** 452,68 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 3315 (υ, N-H); 1625 (υ, C=O); 1547 (δ, N-H); 1227 (υ, C-N).

RMN de 'H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,65 (s, 3H, CH₃); 1,67-1,70 (m, 9H, adamantoide); 1,73 (s, 3H, CH₃); 1,79 (d, 6H, 3xCH₂, J = 2,5 Hz, adamantoide); 1,96 (d, 6H, 3xCH₂, J = 2,0 Hz, adamantoide); 2,0-2,03 (m, 9H, adamantoide); 3,31-3,34 (m, 2H, CH₂); 3,44 (t, 2H, CH₂, J = 5,5 Hz); 4,11 (d, 2H, CH₂, J = 6,0 Hz); 5,03 (t, 1H, CH, J = 6,0 Hz); 6,87 (sl, 1H, NH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 18,3 (CH₃); 26,0 (CH₃); 28,4 (adamantoide); 28,7 (adamantoide); 36,8 (adamantoide); 39,4 (adamantoide); 39,5 (adamantoide); 39,7 (CH₂); 40,7 (adamantoide); 42,2 (adamantoide); 44,8 (CH₂); 45,9 (CH₂); 120,8 (CH); 137,1 (C); 178,8 (C=O); 178,9 (C=O).

ESI-HRMS: m/z calculado para C₂₉H₄₄N₂O₂ [M+H]⁺ 453,3476; encontrado [M+H]⁺ 453,3496; m/z calculado para C₂₉H₄₄N₂O₂ [M+Na]⁺ 475,3295; encontrado [M+Na]⁺ 475,3315.



N-(2-(triciclo[3.3.1.1]-decano-1-carboxamida)etil)-*N*-((*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-il) triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (9b)

Rendimento: 40 %; Aspecto físico: óleo incolor muito viscoso; FM: C₃₄H₅₂N₂O₂;

MM: 520,40 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 3356 (υ , N-H); 1642 (υ , C=O); 1605 (υ , C=O); 1517 (δ , N-H); 1226 (υ , C-N). **RMN de 'H** (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,57 (s, 3H, CH₃); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,66-1,7 (m, 9H, adamantoide); 1,79 (d, 6H, 3xCH₂, J = 3,0 Hz, adamantoide); 1,96 (d, 6H, 3xCH₂, J = 3,0 Hz, adamantoide); 1,96 (d, 6H, 3xCH₂, J = 3,0 Hz, adamantoide); 1,98-2,04 (m, 9H, adamantoide); 2,06-2,10 (m, 4H, 2xCH₂); 3,31-3,34 (m, 2H, CH₂); 3,43-3,46 (m, 2H, CH₂); 4,12 (d, 2H, CH₂, J = 6,5 Hz); 5,00-5,03 (m, 2H, 2xCH); 6,86 (sl, 1H, NH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,6 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,4 (CH₂); 28,4 (adamantoide); 28,7 (adamantoide); 36,8 (adamantoide); 39,4 (adamantoide); 39,5 (adamantoide); 39,6 (CH₂); 39,7 (CH₂); 40,6 (adamantoide); 42,2 (adamantoide); 44,6 (CH₂); 45,8 (CH₂); 120,9 (CH); 123,9 (CH); 132,1 (C); 140,4 (C); 178,8 (C=O); 178,9 (C=O).

ESI-HRMS: m/z calculado para $C_{34}H_{52}N_2O_2$ [M+H]⁺ 521,4102; encontrado [M+H]⁺ 521,4115; m/z calculado para $C_{29}H_{44}N_2O_2$ [M+Na]⁺ 543,3921; encontrado [M+Na]⁺ 543,3932.



N-(2-(triciclo[3.3.1.1]-decano-1-carboxamida)etil)-*N*-((2*E*,6*E*)-3,7,11-trimetildodeca-2,6-10-trien-1-il)triciclo[3.3.1.1]decano-1carboxamida (9d)

Rendimento: 38 %; Aspecto físico: sólido branco; FF: 81-83°C; FM: C₃₉H₆₀N₂O₂;

MM: 588,47 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 3350 (υ, N-H); 1696 (υ, C=C); 1650 (υ, C=O); 1602 (υ, C=O);1517 (δ, N-H); 1227 (υ, C-N).

RMN de 'H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,57 (s, 6H, 2xCH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,65 (s, 3H, CH₃); 1,66-1,73 (m, 9H, adamantoide); 1,80 (d, 6H, 3xCH₂, *J* = 3,0 Hz, adamantoide); 1,89-1,95 (m, 4H, 2xCH₂); 1,96 (d, 6H, 3xCH₂, *J* = 2,5 Hz, adamantoide); 1,99-2,05 (m, 9H, adamantoide); 2,05-2,09 (m, 4H, 2xCH₂); 3,31-3,34 (m, 2H, CH₂); 3,43-3,45 (m, 2H, CH₂); 4,12 (d, 2H, CH₂, *J* = 6,0 Hz); 5,01-5,07 (m, 3H, 3xCH); 6,88 (sl, 1H, NH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,3 (CH₃); 16,7 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,4 (CH₂); 26,9 (CH₂); 28,4 (adamantoide); 28,7 (adamantoide); 36,8 (adamantoide); 39,4 (adamantoide); 39,5 (adamantoide); 39,5 (adamantoide); 39,8 (CH₂); 39,9 (CH₂); 40,6 (adamantoide); 42,2 (adamantoide); 44,6 (CH₂); 45,7 (CH₂); 120,7 (CH); 123,7 (CH); 124,4 (CH); 131,6 (C); 135,8 (C); 140,6 (C); 178,8 (C=O); 178,9 (C=O).

ESI-HRMS: m/z calculado para C₃₉H₆₀N₂O₂ [M+Na]⁺ 611,4547; encontrado [M+Na]⁺ 611,4541.



N-(3-(triciclo[3.3.1.1]-decano-1-carboxamida)propril)-*N*-(3-metilbut-2-en-1-il) triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (10a)

Rendimento: 37 %; **Aspecto físico:** óleo amarelo claro muito viscoso; **FM:** C₃₀H₄₆N₂O₂; **MM:** 466,36 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 3358 (υ, N-H); 1665 (υ, C=O); 1641 (υ, C=O); 1606 (υ, C=O), 1519 (δ, N-H); 1227 (υ, C-N).

RMN de 'H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,59 (qui, 2H, CH₂); 1,65 (s, 3H, CH₃); 1,69-1,72 (9H, 1xCH₃ e hidrogênios do adamantoide); 1,86 (s, 6H, adamantoide); 1,98 (s, 6H, adamantoide); 2,02 (s, 9H, adamantoide); 3,10 (q, 2H, CH₂, *J* = 5,5 Hz); 3,29 (t, 2H, CH₂, *J* = 5,5 Hz); 4,08 (d, 2H, CH₂, *J* = 5,5 Hz); 5,02 (t, 1H, CH, *J* = 5,5 Hz); 6,78 (1H, NH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 18,3 (CH₃); 26,0 (CH₃); 27,3 (adamantoide); 28,4 (adamantoide); 28,8 (adamantoide); 35,7 (CH₂); 36,8 (adamantoide); 39,4 (adamantoide); 39,5 (adamantoide); 40,8 (adamantoide); 42,2 (adamantoide); 42,8 (CH₂); 45,5 (CH₂); 121,3 (CH); 136,4 (C); 177,5 (C=O); 178,5 (C=O).

ESI-HRMS: m/z calculado para $C_{30}H_{46}N_2O_2$ [M+H]⁺ 467,3632; encontrado [M+H]⁺ 467,3646; m/z calculado para $C_{29}H_{44}N_2O_2$ [M+Na]⁺ 489,3451; encontrado [M+Na]⁺ 489,3465.



N-(3-(triciclo[3.3.1.1]-decano-1-carboxamida)propril)-*N*-(*E*)-3,7-dimetilocta-2,6-dien-1il) triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (10b)

Rendimento: 47 %; Aspecto físico: óleo incolor muito viscoso; FM: C35H54N2O2;

MM: 534,42 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 3356 (υ, N-H); 1651 (υ, C=O); 1641 (υ, C=O); 1608 (υ, C=O), 1519 (δ, N-H); 1225 (υ, C-N).

RMN de 'H (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,57 (s, 3H, CH₃); 1,59-1,61 (m, 2H, CH₂); 1,63 (s, 3H, CH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,68-1,71 (m, 9H, adamantoide); 1,85 (d, 6H, 3xCH₂, J = 3,5 Hz, adamantoide); 1,98 (d, 6H, 3xCH₂, J = 2,5 Hz, adamantoide); 2,00-2,04 (m, 9H, adamantoide); 2,05-2,08 (m, 4H, 2xCH₂); 3,09 (q, 2H, CH₂, J = 6,11 Hz); 3,30 (t, 2H, CH₂, J = 6,5 Hz); 4,09 (d, 2H, CH₂, J = 6,1 Hz); 4,99-5,03 (m, 2H, 2xCH); 6,82 (1H, NH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,6 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,4 (CH₂); 27,3 (adamantoide); 28,4 (adamantoide); 28,7 (adamantoide); 35,7 (CH₂); 36,8 (adamantoide); 39,4 (adamantoide); 39,5 (adamantoide); 39,7 (CH₂); 40,8 (adamantoide); 42,3 (adamantoide); 42,8 (CH₂); 45,5 (CH₂); 121,2 (CH); 123,9 (CH); 132,1 (C); 139,7 (C); 177,6 (C=O); 178,5 (C=O).

ESI-HRMS: m/z calculado para C₃₅H₅₄N₂O₂ [M+H]⁺ 535,4258; encontrado [M+H]⁺ 535,4267; m/z calculado para C₂₉H₄₄N₂O₂ [M+Na]⁺ 557,4078; encontrado [M+Na]⁺ 557,4085.



N-(3-(triciclo[3.3.1.1]-decano-1-carboxamida)propril)-*N*-((2*E*,6*E*)-3,7,11-trimetildodeca-2,6-10-trien-1-il) triciclo[3.3.1.1]decano-1-carboxamida (10d)

Rendimento: 37 %; Aspecto físico: óleo levemente amarelado e muito viscoso;

FM: C₄₀H₆₂N₂O₂; MM: 602,48 g/mol;

IV (ATR, cm⁻¹): 3357 (υ , N-H); 1641 (υ , C=O); 1608 (υ , C=O); 1519 (δ , N-H); 1226 (υ , C-N). **RMN de 'H** (CDCl₃, 500 MHz): δ 1,57 (s, 3H, CH₃); 1,64 (s, 3H, CH₃); 1,65 (s, 3H, CH₃); 1,68-1,71 (m, 9H, adamantoide); 1,86 (d, 6H, 3xCH₂; *J* = 2,5 Hz, adamantoide); 1,92-1,97 (m, 4H, 2xCH₂); 1,98 (d, 6H, 3xCH₂, *J* = 2,5 Hz, adamantoide); 2,00-2,04 (m, 11H, 4xCH₂ e hidrogênios do adamantoide); 2,06-2,10 (m, 4H, 2xCH₂); 3,09 (q, 2H, CH₂, *J* = 5,9 Hz); 3,30 (t, 2H, CH₂, *J* = 5,9 Hz); 4,09 (d, 2H, CH₂, *J* = 5,7 Hz); 5,01-5,06 (m, 3H, 3xCH); 6,82 (1H, NH).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 16,3 (CH₃); 16,7 (CH₃); 17,9 (CH₃); 25,9 (CH₃); 26,4 (CH₂); 26,9 (CH₂); 27,3 (adamantoide); 28,5 (adamantoide); 28,8 (adamantoide); 35,7 (CH₂); 36,8 (adamantoide); 39,4 (adamantoide); 39,5 (adamantoide); 39,7 (CH₂); 39,9 (CH₂); 40,8 (adamantoide); 42,3 (adamantoide); 42,7 (CH₂); 45,5 (CH₂); 121,1 (CH); 123,7 (CH); 124,4 (CH); 131,6 (C); 135,8 (C); 139,8 (C); 177,5 (C=O); 178,4 (C=O).

ESI-HRMS: m/z calculado para C₄₀H₆₂N₂O₂ [M+H]⁺ 603,4884; encontrado [M+H]⁺ 603,4864; m/z calculado para C₂₉H₄₄N₂O₂ [M+Na]⁺ 625,4704; encontrado [M+Na]⁺ 625,4683.

5.2 Ensaios biológicos

5.2.1 Avaliação da atividade contra Mycobacterium tuberculosis

Os compostos sintetizados 1(a-d), 2(a-d), 3(a-d) e 4(a-d) foram avaliados contra *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 utilizando-se o ensaio de microdiluição em ágar seguindo a técnica MABA [102]. Esta metodologia não é tóxica e utiliza reagentes termicamente estáveis, mostrando boa correlação com os métodos radiométricos proporcionais e BACTEC [103,104].

Em placas de 96 poços estéreis (Falcon, 3072: Becton Dickinson, Lincoln Park, NJ)

foram adicionados 200 μ L de água deionizada esterilizada a todos os poços do perímetro exterior para minimizar a evaporação do meio de cultura contido nos poços de teste durante a incubação. As placas de 96 poços receberam 100 μ L de caldo *Middlebrook* 7H9 (*Difco Laboratories, Detroit*, MI, EUA) e uma diluição em série dos compostos foi realizada diretamente na placa. As concentrações finais dos compostos testados **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)** foram 3,12 a 100,0 μ g.mL⁻¹.

As Placas foram cobertas e seladas com parafilme e incubadas a 37 °C durante cinco dias. Após este tempo, 25 µL de uma mistura 1:1 do reagente Azul de Alamar (*Accumed International, Westlake Ohio*) e 10% de *Tween 80* foram adicionados à placa, incubando-se por mais 24 horas. A cor azul no poço foi interpretada como ausência de crescimento bacteriano e a cor rosa foi pontuada como ocorrência do crescimento.

O MIC foi então definido como a menor concentração do composto capaz de inibir visivelmente o crescimento bacteriano, o que impediu uma mudança de cor do reagente utilizado, de azul para rosa. A rifampicina (1,0 μ g/mL) foi usada como o fármaco de referência.

5.2.2 Avaliação da atividade contra promastigotas de *Leishmania amazonensis*, citotoxicidade e índice de seletividade

As promastigotas de *Leishmania amazonensis* (MHOM/BR/77/LOT0016) foram inoculadas em meio *Schneider* (pH 7,4) suplementado com 5% de soro fetal bovino (*Fetal Calf Serum*-FCS) e 2% de urina humana e incubadas a 26 °C. Após três dias de cultura, as promastigotas foram colhidas e $5x10^6$ parasitos/mL foram incubados a 26 °C em meio de cultura contendo diferentes concentrações dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)** (2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 80,0 e 100,0 µM) em placas de 96 poços.

Como controles, foram utilizados parasitos não tratados incubados em meios de cultura na presença de 1% de dimetilsufóxido (DMSO) e 0,1 µM de anfotericina B (fármaco de referência). Após 48 horas, o efeito tóxico foi avaliado por observação microscópica seguido pelo método colorimétrico MTT como descrito por Silva e colaboradores [105].

As análises foram executadas em quadruplicatas na mesma microplaca e os experimentos foram repetidos pelo menos uma vez. A metade da Concentração Inibitória (do inglês *Inhibitory Concentration*-IC₅₀) foi calculada por interpolação linear.

Concomitantemente aos ensaios de atividade leishmanicida, foram realizados os ensaios em células de fibroblasto da linhagem 3T3 (ATCC CRL-2752) para avaliar a

citotoxicidade *in vitro* dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)**. Para tal finalidade, $2x10^4$ células de fibroblastos foram inoculados em cada um dos 96 poços da placa e incubadas, a 37 °C, com diferentes concetrações dos terpenóides sintetizados (12,5; 25; 50; 100; 200 e 300 µM) em meio DMEM suplementado com 10 % de FCS e 5% de gás carbônico (CO₂) durante 48 horas.

A viabilidade celular foi determinada pelo método colorimétrico MTT [99]. As experiências foram também realizadas em quadruplicatas e repetidas uma vez. Os valores da metade da Concentração Citotóxica (CC_{50}) foram calculadas por interpolação linear e o Índice de Seletividade (IS) foi determinado através da razão CC_{50} / IC₅₀.

5.2.3 Avaliação da atividade contra epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*, citotoxicidade e índice de seletividade

As epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* (Dm28c) foram incubadas a temperatura de 28 °C em meio LIT suplementado com 10% de FCS. Para a avaliação da atividade tripanocida dos compostos **1(a-d)**, **2(a-d)**, **3(a-d)** e **4(a-d)**, as epimastigotas foram coletadas no meio da fase de crescimento (3 dias de idade).

Em cada um dos 96 poços da placa de incubação foram adicionados 1,8 x 10^6 parasitos. Em seguida, 20 µL de uma solução contendo os compostos (concentração final: 100 a 3,75 µM para os terpenóides diaminados; 50 a 6,125 µM para o benzonidazol) foram adicionados em cada poço. Em células de controle, os parasitos foram incubados em 20 µL do meio de cultura com 1% de DMSO.

As placas foram incubadas por 24 horas a 28 °C e, em seguida, 50 μ L de uma solução contendo MTT (10 mg/mL em PBS) foram adicionados em cada um dos poços (concentração final: 2 mg/mL por poço). As placas foram envolvidas em folhas de alumínio, incubadas por 3 horas a 37 °C e posteriormente, centrifugadas por 10 minutos. O sobrenadante foi removido por inversão abrupta da placa. Após este procedimento, 20 μ L de SDS 10% em solução de ácido clorídrico 0,01 M foram adicionados e os parasitos foram ressuspendidos por suaves toques na placa.

Em seguida, as placas foram novamente incubadas a 37 °C por 1 hora e depois, 80 μL de DMSO puro foram adicionados em todos os poços para solubilizar os cristais de formazan. A densidade óptica foi lida a 550 nm em um leitor ELISA (modelo Elx800, Biotek, Winooski, VT, EUA). Os dados de absorbância foram usados para calcular o IC₅₀/24 horas por regressão não-linear utilizando o *software GraphPad Prism*.

Para os ensaios de citotoxicidade foram utilizadas células Vero não infectadas. As monocamadas de células foram lavadas com PBS pH 7,2, destacadas por tratamento com uma solução aquosa contendo 0,25% de tripsina e 0,1% de EDTA por 5 minutos a 37 °C. Em seguida, foram novamente lavadas com meio RPMI (pH 7,4) suplementado com 2,5% de FCS, centrifugadas por 10 minutos a 4 °C e ressuspendidas no mesmo meio.

A viabilidade celular foi avaliada utilizando-se a coloração *Trypan Blue*. Em seguida, $2x10^4$ células foram inoculadas em cada um dos 96 poços da placa, nos quais continham os terpenóides diaminados ou o benzonidazol em diferentes concentrações (1,0000-7,8125 μ M). Depois de 24 horas de incubação, a integridade das monocamadas de células foi observada em microscópio invertido e 50 μ L de uma solução de MTT em PBS (2 mg/mL) foi adicionado.

Após mais 4 horas de incubação, a absorbância foi lida em 550 nm com leitor de microplaca Elx800. Os valores de absorbância foram usados para calcular a CC_{50} por regressão não-linear usando o mesmo *software*. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas e o IS foi calculado através da razão CC_{50}/IC_{50} .

6 Referências

- A. Borraccino, E. Migliore, P. Piccioni, I. Baussano, A. Carosso, M. Bugiani, Yield of tuberculosis contact investigation in a low-incidence country, J. Infect. 68 (2014) 448– 454. doi:10.1016/j.jinf.2013.12.005.
- [2] A. Shehzad, G. Rehman, M. Ul-Islam, W.A. Khattak, Y.S. Lee, Challenges in the development of drugs for the treatment of tuberculosis., Brazilian Soc. Infect. Dis. 17 (2013) 74–81. doi:10.1016/j.bjid.2012.10.009.
- [3] M.V.N. De Souza, T.R.A. Vasconcelos, Fármacos no combate à tuberculose: Passado, presente e futuro, Quim. Nova. 28 (2005) 678–682. doi:10.1590/S0100-40422005000400022.
- [4] A.C.S. Chuery, B.G. da Silva, F.A. Nobre, M.J. Mimica, Revista Médica, 2014. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.
- [5] A.G. Baxter, Louis Pasteur's beer of revenge, Nat. Rev. Immunol. 1 (2001) 229–232.
- [6] E. Sansinenea, A. Ortiz, Antitubercular natural terpenoids: recent developments and syntheses, Curr. Org. Synth. 11 (2014) 1–47.
- [7] R.G. Ducati, A. Ruffino-Netto, L.A. Basso, D.S. Santos, The resumption of consumption - A review on tuberculosis, Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 101 (2006) 697– 714. doi:10.1590/S0074-02762006000700001.
- [8] V.M.D. Santos, M.A.D. Reis, M.A.B. Resende, J.A.M.D. Santos, A.I. Bernardini, L.B.D. Souza, Tuberculose miliar - relato de caso, Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 31 (1998) 315–318. doi:10.1590/S0037-86821998000300009.
- [9] Ministério da Saúde, Guia de Vigilância Epidemiológica: Série A. Normas e Manuais técnicos, 7º Edição, Brasília, DF., 2009. doi:10.1590/S1806-37132004000700003.
- [10] Ministério da Saúde, Controle da Tuberulose: Uma Proposta De Integração Ensino-Serviço, 5^a Edição, Rio de Janeiro, 2002.
- [11] WHO, Global tuberculosis report 2014, Switzerland, 2014.
- [12] WHO, Global tuberculosis report 2016, Switzerland, 2016.
- [13] P. da S. Brasil, Tuberculose, (2015). http://portalsaude.saude.gov.br/index.php?option =com_content&view=article&id=11045&Itemid=674 (accessed August 31, 2015).
- [14] M. da S. Brasil, Tratamento diretamente observado (TDO) da tuberculose na atenção básica: Protocolo de enfermagem, 1^a edição, Brasília, 2011.
- [15] Y. Zhang, The magic bullets and tuberculosis drug targets, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 45 (2005) 529–564. doi:10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.100120.
- [16] M.A. Arbex, M.D.C.L. Varella, H.R. De Siqueira, F.A.F. De Mello, Drogas antituberculose: interações medicamentosas, efeitos adversos e utilização em situações especiais - parte 2: fármacos de segunda linha, J. Bras. Pneumol. 36 (2010) 641–656. doi:10.1590/S1806-37132010000500017.
- [17] C.H. Andrade, K.F.M. Pasqualoto, M.H. Zaim, E.I. Ferreira, Abordagem racional no planejamento de novos tuberculostáticos: inibidores da *InhA*, enoil-ACP redutase do *M. tuberculosis*, Rev. Bras. Ciências Farm. 44 (2008) 167–179. doi:10.1590/S1516-93322008000200002.

- [18] G. Alliance, T.B.D. Development, B. Street, N. York, Handbook of anti-tuberculosis agents, Tuberculosis. 88 (2008) 85–170. doi:10.1016/S1472-9792(08)70002-7.
- [19] Y. Zhang, B. Heym, B. Allen, D. Young, S. Cole, The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistence of *Mycobacterium tuberculosis*, Nature. 358 (1992) 591–593.
- [20] D.A. Rozwarski, G.A. Grant, D.H.R. Barton, W.R.J. Jr, J.C. Sacchettini, Modification of the NADH of the Isoniazid Target (InhA) from *Mycobacterium tuberculosis*, Science (80-.). 279 (1998) 98–102.
- [21] Y. Zhang, D. Mitchison, The curious characteristics of pyrazinamide: A review, Int. J. Tuberc. Lung Dis. 7 (2003) 6–21.
- [22] Y. Zhang, W. Shi, W. Zhang, D. Mitchison, Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance, Microbiol Spectr. 4 (2014) 1–12. doi:10.1097/MPG.0b013e3181a15ae8. Screening.
- [23] S. Ahmad, E. Mokaddas, Recent advances in the diagnosis and treatment of multidrugresistant tuberculosis, Respir. Med. 103 (2009) 1777–1790. doi:10.1016/j.rmed.2009. 07.010.
- [24] P. Coll, Fármacos con actividad frente a *Mycobacterium tuberculosis*, Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. 21 (2003) 299–308. doi:10.1016/j.eimc.2009.06.010.
- [25] S.J. Cheng, L. Thibert, T. Sanchez, L. Heifets, Y. Zhang, *pncA* mutations as a major mechanism of pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Spread of a monoresistant strain in Quebec, Canada, Antimicrob. Agents Chemother. 44 (2000) 528–532. doi:10.1128/AAC.44.3.528-532.2000.
- [26] N. Maggi, C. Pasqualucci, R. Ballotta, P. Sensi, Rifampicin: a new orally active rifamycin, Chemotherapy. 11 (1966) 285–292. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.
- [27] M.V.N. Souza, Rifampicina, um importante fármaco no combate à tuberculose, Rev. Bras. Farmácia. 86 (2005) 92–94.
- [28] A. Telenti, P. Imboden, F. Marchesi, L. Matter, K. Schopfer, T. Bodmer, et al., Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*, Lancet. 341 (1993) 647–651. doi:10.1016/0140-6736(93)90417-F.
- [29] J.P. Thomas, C.O. Baughn, R.G. Wilkinson, R.G. Shepherd, A new synthetic compound with antituberculous activity in mice: ethambutol (Dextro-2, 2'-(Ethylenediimino)-di-1-Butanol), J. Amer Chem. Soc. 83 (1961) 891–893.
- [30] A.M. Starks, A. Gumusboga, B.B. Plikaytis, T.M. Shinnick, J.E. Posey, Mutations at embB codon 306 are an important molecular indicator of ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis*, Antimicrob. Agents Chemother. 53 (2009) 1061–1066. doi:10.1128/AAC.01357-08.
- [31] R. Prakash, D. Kumar, V.K. Gupta, S. Jain, D.S. Chauhan, P.K. Tiwari, et al., Status of multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) among the Sahariya tribe of North Central India, J. Infect. Public Health. 9 (2015) 289–297. doi:10.1016/j.jiph.2015.10.008.
- [32] T. Mori, MDR-TB-Its characteristics and control in Asia-Pacific rim symposium in USJCMSP 10th international conference on emerging infectious diseases in the Pacific rim, Tuberculosis. 87 (2007). doi:10.1016/j.tube.2007.05.007.
- [33] A.G.B. Simpson, J.R. Stevens, J. Lukes, The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates, Trends Parasitol. 22 (2006) 168–174. doi:10.1016/j.pt.2006.02.006.

- [34] WHO, Fact Sheet N°375 Leishmaniasis. (2016). http://www.who.int/mediacentre/ factsheets/fs375/en/ (accessed January 25, 2017).
- [35] D.P. Neves, A.L. Melo, P.M. Linardi, R.W.A. Vitor, Parasitologia Humana, 11th ed., São Paulo, 2011. doi:10.1086/521246.
- [36] C. for D.C. and Prevention, Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern-DPDX, Internet. (2015) 7–9. https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/ (accessed January 24, 2017).
- [37] M. da Saúde, Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana, 2^a, Brasília, DF., 2007.
- [38] Ministério da Saúde, Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral, 1^a, Brasília, DF., 2014. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_ controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf.
- [39] C. for D.C. and Prevention, Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern_Leishmaniasis, Internet. (2013) 7–9. https://www.cdc.gov/dpdx/ leishmaniasis/gallery.html#amasti2 (accessed January 24, 2017).
- [40] F. Marques, Descoberta abre caminho rumo a um genérico contra as leishmanioses, (2008) 12–13. https://agencia.fiocruz.br/descoberta-abre-caminho-rumo-a-umgenérico-contra-as-leishmanioses (accessed January 24, 2017).
- [41] R. Reithinger, J. Dujardin, H. Louzir, Cutaneous leishmaniasis, Lancet Infect. Dis. 7 (2007) 581–596. doi:10.1111/j.1600-0560.2011.01844.x.
- [42] WHO, Media centre Leishmaniasis, Leishmaniasis Fact Sheet N°375. (2015) 1–5. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/ (accessed June 16, 2016).
- [43] WHO, First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases, World Heal. Organ. (2010) 1–184. doi:10.1177/1757913912449575.
- [44] Centers for Disease Control and Prevention, Parasites_Leishmaniasis, (2016). https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/health_professionals/index.html (accessed January 24, 2017).
- [45] WHO, Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: Third WHO report on neglected tropical diseases 2015, 2015.
- [46] WHO, Global Health Observatory Map Gallery, (2015). http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx (accessed January 24, 2017).
- [47] S.L. Croft, V. Yardley, Chemotherapy of leishmaniasis., Curr. Pharm. Des. 8 (2002) 319–342. doi:10.2174/1381612023396258.
- [48] E.D. Moore, D.N. Lockwood, Treatment of visceral leishmaniasis, J. Glob. Infect. Dis. 2 (2010) 151–158. doi:10.4103/0974-777X.62883.
- [49] M. Ouellette, J. Drummelsmith, B. Papadopoulou, Leishmaniasis: Drugs in the clinic, resistance and new developments, Drug Resist. Updat. 7 (2004) 257–266. doi:10.1016/j.drup.2004.07.002.
- [50] A. Machado-Silva, P.P.G. Guimarães, C.A.P. Tavares, R.D. Sinisterra, New perspectives for leishmaniasis chemotherapy over current anti-leishmanial drugs: a patent landscape., Expert Opin. Ther. Pat. 25 (2014) 1–14.

doi:10.1517/13543776.2014.993969.

- [51] L.J. Goad, G.G. Holz, D.H. Beach, Sterols of *Leishmania species*, implications for biosynthesis, Mol. Biochem. Parasitol. 10 (1984) 161–170. doi:10.1016/0166-6851(84)90004-5.
- [52] C. Lima Dora, L. Canes Souza, Novas Formas Comerciais De Anfotericina B, Rev. Ciências Médicas. 14 (2005) 187–197.
- [53] B.J. Goldlist, An update on pharmacotherapy for dementia, Expert Opin. Pharmacother. 16 (2014) 1–16. doi:10.1517/14656566.2015.973850.
- [54] E. Palumbo, Current treatment for cutaneous leishmaniasis: a review, Am. J. Ther. 16 (2009) 178–182. doi:10.1097/MJT.0b013e3181822e90.
- [55] A.M. Dos Santos, E.F. Noronha, L.A.M. Ferreira, C.O. Carranza-Tamayo, E. Cupolillo, G.A.S. Romero, Efeito de uma formulação o hidrofílica de paromomicina tópica na leishmaniose cutânea em pacientes com contra-indicações de tratamento com antimonial pentavalente, Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 41 (2008) 444–448. doi:10.1590/S0037-86822008000500002.
- [56] Ministerio de salud del brasil, Consulta de Expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis Visceral en Las Américas, 2005.
- [57] L.H. Malik, G.D. Singh, E.A. Amsterdam, The epidemiology, clinical manifestations, and management of chagas heart disease, Clin. Cardiol. 38 (2015) 565–569. doi:10.1002/clc.22421.
- [58] WHO, Fact Sheet n°340: Chagas disease (American trypanosomiasis), (2016). http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/ (accessed January 25, 2017).
- [59] Centers for Disease Control and Prevention, Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern: American Trypanosomiasis, (2013). https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisAmerican/gallery.html (accessed January 25, 2017).
- [60] Carlos Chagas, J. Bras. Patol. E Med. Lab. 38 (2002) 251.
- [61] C.D.J. Schofield, A Cost-Benefit analysis of Chagas Disease control, Mem. Inst, Osvaldo Cruz. 86 (1991) 285–295. doi:S0074-02761991000300002 [pii].
- [62] A.F. Henao-Martínez, K. Colborn, G. Parra-Henao, Overcoming research barriers in Chagas disease designing effective implementation science, Parasitol. Res. 116 (2017) 35–44. doi:10.1007/s00436-016-5291-z.
- [63] WHO, Control of Chagas Disease: Second report of the WHO Expert Committee, Geneva, 2002.
- [64] A. Rassi, A. Rassi, J.A. Marin-Neto, Chagas disease, Lancet. 375 (2010) 1388–1402. doi:10.1016/S0140-6736(10)60061-X.
- [65] J. Bermudez, C. Davies, A. Simonazzi, J.P. Real, S. Palma, Current Drug Therapy and Pharmaceutical Challenges for Chagas Disease, Acta Trop. 156 (2016) 1–16. doi:10.1016/j.actatropica.2015.12.017.
- [66] J. Jurberg, J.M.S. Rodrigues, F.F.F. Moreira, C. Dale, I.R.S. Cordeiro, V.D. Lamas Jr, et al., Atlas Iconográfico dos Triatomíneos do Brasil (Vetores da Doença de Chagas), Instiruto Oswaldo Cruz. (2014) 58.
- [67] C.M. Batista, L.C.S. Medeiros, I. Eger, M.J. Soares, MAb CZP-315.D9: An

antirecombinant cruzipain monoclonal antibody that specifically labels the reservosomes of trypanosoma cruzi epimastigotes, Biomed Res. Int. 2014 (2014) 9. doi:10.1155/2014/714749.

- [68] FIOCRUZ, Ciclo de vida do Trypanosoma cruzi, (n.d.). http://www.invivo.fiocruz.br/chagas/doen-ciclo-trypanosoma.html (accessed January 25, 2017).
- [69] WHO, Chagas Disease (American tripanosomiasis): What is Chagas Disease?, (2017). http://www.who.int/chagas/disease/en/ (accessed January 25, 2017).
- [70] R.L. Tarleton, Chagas Disease: A Solvable Problem, Ignored, Trends Mol. Med. 22 (2016) 835–838. doi:10.1016/j.molmed.2016.07.008.
- [71] P. Aluízio, Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease, Lancet Infect. Dis. 1 (2001) 92–100. http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference& D=emed5&NEWS=N&AN=11871482.
- [72] J.D. Maya, B.K. Cassels, P. Iturriaga-Vásquez, J. Ferreira, M. Faúndez, N. Galanti, et al., Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host, Comp. Biochem. Physiol. 146 (2007) 601–620. doi:10.1016/j.cbpa.2006.03.004.
- [73] H. Dias, Molécula inibe crescimento de parasita da Doença de Chagas, Agência USP Notícias. (2014). https://www.usp.br/agen/?p=179334 (accessed January 26, 2017).
- [74] B. Comissão Nacional de Incorporação de Tencologias no SUS, ESCOPO: Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Doença de Chagas, (2016) 23.
- [75] M.A. Rajão, C. Furtado, C.L. Alves, D.G. Passos-silva, M.B. de Moura, B.L. Schamber-reis, et al., Unveiling Benznidazole's Mechanism of action throught overezpression of DNA repair proteins in *Trypanosoma cruzi*, Environ. Mol. Mutagen. 55 (2014) 309–321. doi:10.1002/em.
- [76] D. Andrianina Ralambomanana, D. Razafimahefa-Ramilison, A.C. Rakotohova, J. Maugein, L. Pélinski, Synthesis and antitubercular activity of ferrocenyl diaminoalcohols and diamines, Bioorganic Med. Chem. 16 (2008) 9546–9553. doi:10.1016/j.bmc.2008.09.030.
- [77] O.K. Onajole, Y. Coovadia, H.G. Kruger, G.E.M. Maguire, M. Pillay, T. Govender, Novel polycyclic "cage"-1,2-diamines as potential anti-tuberculosis agents, Eur. J. Med. Chem. 54 (2012) 1–9. doi:10.1016/j.ejmech.2012.03.041.
- [78] F.M. Vergara, M. Henriques, A.L. Candea, J.L. Wardell, M. V De Souza, Antitubercular activity of alpha,omega-diaminoalkanes, H2N(CH2)nNH2, Bioorg Med Chem Lett. 19 (2009) 4937–4938. doi:10.1016/j.bmcl.2009.07.086.
- [79] O.K. Onajole, K. Govender, P. Govender, P.D. van Helden, H.G. Kruger, G.E.M. Maguire, et al., Pentacyclo-undecane derived cyclic tetra-amines: Synthesis and evaluation as potent anti-tuberculosis agents, Eur. J. Med. Chem. 44 (2009) 4297– 4305. doi:10.1016/j.ejmech.2009.07.015.
- [80] Q. Meng, H. Luo, Y. Chen, T. Wang, Q. Yao, Synthesis of novel [1,2]-diamines with antituberculosis activity., Bioorg. Med. Chem. Lett. 19 (2009) 5372–5. doi:10.1016/j.bmcl.2009.07.126.
- [81] J.C. Sundaramurthi, L.E. Hanna, S. Selvaraju, S. Brindha, J. Joel Gnanadoss, S. Vincent, et al., TBDRUGS- Database of drugs for tuberculosis, Tuberculosis. 100

(2016) 69-71. doi:10.1016/j.tube.2016.06.006.

- [82] E. Bogatcheva, C. Hanrahan, B. Nikonenko, G. De Los Santos, V. Reddy, P. Chen, et al., Identification of SQ609 as a lead compound from a library of dipiperidines, Bioorganic Med. Chem. Lett. 21 (2011) 5353–5357. doi:10.1016/j.bmcl.2011.07.015.
- [83] M. Protopopova, C. Hanrahan, B. Nikonenko, R. Samala, P. Chen, J. Gearhart, et al., Identification of a new antitubercular drug candidate, SQ109, from a combinatorial library of 1,2-ethylenediamines, Jour. Antimicrob. Chemother. 56 (2005) 968–974. doi:10.1093/jac/dki319.
- [84] A.C. Pinto, F.S.C. Branco, N. Boechat, A Química Medicinal de Novas Moléculas em Fase Clínica para o Tratamento da Tuberculose, Rev. Virt. Quím. 4 (2012) 287–328.
- [85] O.K. Onajole, X. V. Belewa, Y. Coovadia, T. Govender, H.G. Kruger, G.E.M. Maguire, et al., SQ109 analogues as potential antimicrobial candidates, Med. Chem. Res. 20 (2011) 1394–1401. doi:10.1007/s00044-010-9490-3.
- [86] Sequella, SQ109 for the Treatment of Tuberculosis, (2013) 8–9. http://www.sequella.com/docs/SQ109 TB Product Summary.pdf (accessed August 28, 2015).
- [87] B. V. Nikonenko, M. Protopopova, R. Samala, L. Einck, C.A. Nacy, Drug therapy of experimental tuberculosis (TB): Improved outcome by combining SQ109, a new diamine antibiotic, with existing TB drugs, Antimicrob. Agents Chemother. 51 (2007) 1563–1565. doi:10.1128/AAC.01326-06.
- [88] O.K. Onajole, P. Govender, P.D. V. Helden, H.G. Kruger, G.E.M. Maguire, I. Wiid, et al., Synthesis and evaluation of SQ109 analogues as potential anti-tuberculosis candidates, Eur. J. Med. Chem. 45 (2010) 2075–2079. doi:10.1016/j.ejmech.2010.01.046.
- [89] Q. Meng, H. Luo, Y. Liu, W. Li, W. Zhang, Q. Yao, Synthesis and evaluation of carbamate prodrugs of SQ109 as antituberculosis agents., Bioorg. Med. Chem. Lett. 19 (2009) 2808–10. doi:10.1016/j.bmcl.2009.03.091.
- [90] P. Veiga-Santos, K. Li, L. Lameira, T.M.U. De Carvalho, G. Huang, M. Galizzi, et al., SQ109, a new drug lead for chagas disease, Antimicrob. Agents Chemother. 59 (2015) 1950–1961. doi:10.1128/AAC.03972-14.
- [91] V. García-García, E. Oldfield, G. Benaim, Inhibition of Leishmania mexicana growth by the tuberculosis drug SQ109, Antimicrob. Agents Chemother. 60 (2016) 6386– 6389. doi:10.1128/AAC.00945-16.
- [92] P.Y. Bruice, Organic Chemistry, 4th ed., PearsonqPrentice Hall, São Paulo, 2006.
- [93] L.C. de A. Barbosa, Espectroscopia no infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2008.
- [94] D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kriz, J.R. Vyvyan, Introdução à Espectroscopia, 4^a Edição, Cengage Learning, São Paulo-SP, 2010.
- [95] S. Kobayashi, H. Kataoka, T. Ishizone, Synthesis of Well-Defined Poly(ethylene- alt -1-vinyladamantane) via Living Anionic Polymerization of 2-(1-Adamantyl)-1,3butadiene, Followed by Hydrogenation, Macromolecules. 42 (2009) 5017–5026. doi:10.1021/ma900742h.
- [96] F.A. Carey, Química orgânica, 7 edição, Porto Alegre, 2011.

- [97] WHO, Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual, Italy, 2012.
- [98] J.M. Andrews, Determination of minimum inhibitory concentrations, J. Antimicrob. Chemother. 48 (2001) 5–16. doi:10.1093/jac/48.suppl_1.5.
- [99] A.M. Sieuwerts, J.G.M. Klijn, H.A. Peters, J.A. Foekens, The MTT Tetrazolium Salt Assay Scrutinized: How to Use this Assay Reliably to Measure Metabolic Activity of Cell Cultures in vitro for the Assessment of Growth Characteristics, IC₅₀-Values and Cell Survival, Clin. Chem. Lab. Med. 33 (1995) 813–824. doi:10.1515/cclm. 1995.33.11.813.
- [100] O.K. Onajole, P. Govender, P.D. van Helden, H.G. Kruger, G.E.M. Maguire, I. Wiid, et al., Synthesis and evaluation of SQ109 analogues as potential anti-tuberculosis candidates., Eur. J. Med. Chem. 45 (2010) 2075–2079. doi:10.1016/j.ejmech.2010. 01.046.
- [101] I. Beseda, L. Czollner, P.S. Shah, R. Khunt, R. Gaware, P. Kosma, et al., Synthesis of glycyrrhetinic acid derivatives for the treatment of metabolic diseases, Bioorganic Med. Chem. 18 (2010) 433–454. doi:10.1016/j.bmc.2009.10.036.
- [102] S.G. Franzblau, R.S. Witzig, J.C. Mclaughlin, P. Torres, G. Madico, A. Hernandez, et al., Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate Alamar Blue assay, J. Clin. Microbiol. 36 (1998) 362–366.
- [103] J.D. Vanitha, C.N. Paramasivan, Evaluation of microplate Alamar blue assay for drug susceptibility testing of *Mycobacterium avium* complex isolates, Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 49 (2004) 179–182. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2004.04.003.
- [104] R.S. Reis, I. Neves, S.L.S. Lourenço, L.S. Fonseca, M.C.S. Lourenço, Comparison of Flow Cytometric and Alamar Blue Tests with the Proportional Method for Testing Susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to Rifampin and Isoniazid, J. Clin. Microbiol. 42 (2004) 2247–2248. doi:10.1128/JCM.42.5.2247-2248.2004.
- [105] L.E. da Silva, A.C. Joussef, L.K. Pacheco, D.G. da Silva, M. Steindel, R.A. Rebelo, Synthesis and in vitro evaluation of leishmanicidal and trypanocidal activities of *N*quinolin-8-yl-arylsulfonamides, Bioorganic Med. Chem. 15 (2007) 7553–7560. doi:10.1016/j.bmc.2007.09.007.

7 ANEXO

Caracterização do composto 1a.



Figura 54: Espectro de RMN de ¹H do composto 1a em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 55: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 1a em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 56: Espectro de RMN de ¹³C do composto 1a em CDCl₃, 125 MHz.





Figura 58: Espectro na região do IV do composto 1a.



Figura 59: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 1a.

Caracterização do composto 1b.



Figura 61: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 1b em CDCl₃, 500 MHz.




Figura 63: Espectro na região do IV do composto 1b.

Caracterização do composto 1c.

% ppm

5

4,5

4



3,5 Figura 65: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 1c em CDCl₃, 500 MHz.

3

2,5

2

1,5





Figura 67: Espectro na região do IV do composto 1c.



Figura 68: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 1c.

Caracterização do composto 1d.





Figura 70: Expansão do Espectro de RMN de ¹H do composto 1d em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 72: Espectro na região do IV do composto 1d.

Caracterização do composto 2a.









Figura 76: Espectro na região do IV do composto 2a.

Caracterização do composto 2b.





Figura 78: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 2b em CDCl₃, 300 MHz.



Figura 79: Espectro de RMN de ¹³C do composto 2b em CDCl₃, 75 Hz.



Figura 80: Espectro na região do IV do composto 2b.

Caracterização do composto 2c.



Figura 81: Espectro de RMN de ¹H do composto 2c em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 82: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 2c em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 84: Espectro na região do IV do composto 2c.

Caracterização do composto 2d.



Figura 86: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 2d em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 87: Espectro de RMN de ¹³C do composto 2d em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 88: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto 2d em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 89: Espectro na região do IV do composto 2d.

Caracterização do composto 3a.



Figura 90: Espectro de RMN de ¹H do composto 3a em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 91: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 3a em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 92: Espectro de RMN de ¹³C do composto 3a em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 93: Espectro na região do IV do composto 3a.

Caracterização do composto 3b.



Figura 95: Expansão do Espectro de RMN de ¹H do composto 3b em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 96: Espectro de RMN de ¹³C do composto 3b em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 97: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto 3b em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 98: Espectro de correlação homonuclear COSY do composto 3b em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 99: Espectro de correlação heteronuclear HSQC do composto 3b em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 100: Expansão do espectro de correlação heteronuclear HSQC do composto 3b em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 102: Espectro na região do IV do composto 3b.



Figura 103: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 3b.

Caracterização do composto 3c.



Figura 104: Espectro de RMN de ¹H do composto 3c em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 105: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 3c em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 107: Espectro na região do IV do composto 3c.



Figura 108: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 3c.

Caracterização do composto 3d.



Figura 109: Espectro de RMN de ¹H do composto 3d em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 110: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 3d em CDCl₃, 500 MHz.







Figura 112: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto 3d em CDCl₃, 125 MHz.



Caracterização do composto 4a.







Figura 116: Espectro de RMN de ¹³C do composto 4a em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 117: Espectro na região do IV do composto 4a.

Caracterização do composto 4b.











Figura 121: Espectro na região do IV do composto 4b.

Caracterização do composto 4c.



Figura 122: Espectro de RMN de ¹H do composto 4c em CDCl₃, 500 MHz.







Figura 125: Espectro na região do IV do composto 4c.

Caracterização do composto 4d.





Figura 127: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 4d em CDCl₃, 500 MHz.







Figura 129: Espectro na região do IV do composto 4d.
Caracterização do composto 7a.



Figura 131: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 7a em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 133: Espectro na região do IV do composto 7a.

Caracterização do composto 7b.



Figura 134: Espectro de RMN de ¹H do composto 7b em CDCl₃, 500 MHz.











Figura 138: Espectro na região do IV do composto **7b**.

Caracterização do composto 7d.



Figura 139: Espectro de RMN de ¹H do composto 7d em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 140: Expansão I do espectro de RMN de ¹H do composto 7d em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 141: Expansão II do espectro de RMN de ¹H do composto 7d em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 142: Espectro de RMN de ¹³C do composto 7d em CDCl₃, 125 MHz.





Figura 144: Espectro na região do IV do composto 7d.

Carcterização do composto 8a.





Figura 146: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 8a em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 148: Espectro na região do IV do composto 8a.

Caracterização do composto 8b.





Figura 150: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 8b em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 152: Espectro na região do IV do composto 8b.

Caracterização do composto 8d.



Figura 153: Espectro de RMN de ¹H do composto 8d em CDCl₃, 500 MHz.









Figura 156: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto 8d em CDCl₃, 125 MHz.



Caracterização do composto 9a.



Figura 158: Espectro de RMN de ¹H do composto 9a em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 159: Expansão I do espectro de RMN de ¹H do composto 9a em CDCl₃, 500 MHz.







Figura 161: Espectro de RMN de ¹³C do composto 9a em CDCl₃, 125 MHz.





Figura 163: Espectro na região do IV do composto 9a.



Figura 164: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 9a.

Caracterização do composto 9b.











Figura 167: Expansão II do espectro de RMN de ¹H do composto 9b em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 169: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto 9b em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 170: Espectro na região do IV do composto 9b.



Figura 171: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 9b.

Caracterização do composto 9d.



Figura 172: Espectro de RMN de ¹H do composto 9d em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 173: Expansão I do espectro de RMN de ¹H do composto 9d em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 175: Espectro de RMN de ¹³C do composto 9d em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 176: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto 9d em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 177: Espectro na região do IV do composto 9d.



Figura 178: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 9d.

Caracterização do composto 10a.





Figura 180: Expansão I do espectro de RMN de ¹H do composto 10a em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 181: Expansão II do espectro de RMN de ¹H do composto 10a em CDCl₃, 500 MHz.







Figura 184: Espectro na região do IV do composto 10a.



Figura 185: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 10a.

Caracterização do composto 10b.



Figura 186: Espectro de RMN de ¹H do composto 10b em CDCl₃, 500 MHZ.



Figura 187: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto 10b em CDCl₃, 500 MHz.







Figura 189: Espectro de RMN de ¹³C do composto 10b em CDCl₃, 125 MHz.





Figura 191: Espectro na região do IV do composto 10b.



Figura 192: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 10b.

Caracterização do composto 10d.



Figura 193: Espectro de RMN de ¹H do composto 10d em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 194: Expansão I do espectro de RMN de 1H do composto 10d em CDCl₃, 500 MHz.


Figura 195: Expansão II do espectro de RMN de ¹H do composto 10d em CDCl₃, 500 MHz.





Figura 197: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto 10d em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 198: Espectro na região do IV do composto 10d.



Figura 199: Espectro de massas de alta resolução (ESI-HRMS) do composto 10d.



Caracterização do composto intermediário XII.

Figura 200: Espectro de RMN de ¹H do composto XII em CDCl₃, 500 MHz.



Figura 201: Expansão do espectro de RMN de ¹H do composto XII em CDCl₃, 500 MHz.







Figura 203: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto XII em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 204: Espectro na região do IV do composto XII.



Caracterização do composto intermediário XIII.







Figura 207: Espectro de RMN de ¹³C do composto XIII em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 208: Expansão do espectro de RMN de ¹³C do composto XIII em CDCl₃, 125 MHz.



Figura 209: Espectro na região do IV do composto XIII.