



**Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição
FACFAN**



LUIZ FERNANDO POLIZELLI PEREIRA

**SÍNTESE DE NOVOS ANÁLOGOS ISOXAZÓLICOS CLORADOS DERIVADOS
DAS NEOLIGNANAS VERAGUENSINA, GRANDISINA E MACHILINA G COM
POTENCIAL ATIVIDADE CONTRA LEISHMANIOSES**

CAMPO GRANDE-MS

2023

LUIZ FERNANDO POLIZELLI PEREIRA

**SÍNTESE DE NOVOS ANÁLOGOS ISOXAZÓLICOS CLORADOS DERIVADOS
DAS NEOLIGNANAS VERAGUENSINA, GRANDISINA E MACHILINA G COM
POTENCIAL ATIVIDADE CONTRA LEISHMANIOSES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição - FACFAN, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em ciências farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Adriano César de
Morais Baroni

CAMPO GRANDE-MS

2023

LUIZ FERNANDO POLIZELLI PEREIRA

**SÍNTESE DE NOVOS ANÁLOGOS ISOXAZÓLICOS CLORADOS DERIVADOS
DAS NEOLIGNANAS VERAGUENSINA, GRANDISINA E MACHILINA G COM
POTENCIAL ATIVIDADE CONTRA LEISHMANIOSES**

Trabalho de conclusão de curso aprovado pela Banca Examinadora para obtenção do Grau de bacharel em ciências farmacêuticas, no Curso de Farmácia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, com linha de pesquisa em química farmacêutica e doenças negligenciadas.

Orientador: Prof. Dr. Adriano César de Moraes Baroni

Campo Grande, 12 de maio de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Diego Bento de Carvalho – UFMS – Co-orientador

Prof. Dr. Adriano Cesar de Moraes Baroni – UFMS - Orientador

Dra. Maria Letícia Farias da Silva Ortale – UFMS

MsC. Hellenicy Vitor Rezende – UFMS

Suplentes de banca

MsC. Omar Dias Lacerda – UFMS

MsC. Bruno Ivo Pelizaro – UFMS

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente Aquele que nos deu o dom da vida, pois sem Ele nada seria possível. Agradeço ao meu Pai Marcelo e minha mãe Márcia, por todo o apoio hoje e sempre, pois sem a ajuda deles, talvez eu até terminasse essa etapa, mas com muitas outras adversidades e talvez não da forma como gostaria. Agradeço também ao meu irmão Lucas por ser muito especial na minha vida e uma pessoa que eu tenho fé que se tornará tão grande ou quiçá maior ainda do que imagino. Agradeço aos amigos de laboratório, aos que já passaram e aos que estão passando, que assim como eu conhecem o desgaste e a frustração, muitas vezes encontrada ao se trabalhar com ciência, onde nada é 100% certo e muitas vezes nos deparamos com problemas que parecem não ter saída, mas que sempre existe uma se você souber parar, aceitar que talvez você estava errado e buscar o conhecimento em fontes confiáveis. Agradeço em especial ao meu co-orientador Dr. Diego Bento de Carvalho por todo o apoio, paciência, companheirismo, auxílio e orientação, tanto nas boas quanto nas piores horas. Também ao Mestre e aluno de doutorado Omar Lacerda por todos os momentos de descontração e discussões sobre assuntos relacionados ou não ao laboratório, às integrantes da banca Dra. Maria Leticia Farias da Silva Ortale e mestre Hellenicy Vitor Rezende pelo apoio e por terem aceitado compor a banca. Agradeço também ao professor Dr. Adriano César de Moraes Baroni por ter aberto as portas do seu laboratório e aceito em seu grupo de pesquisa um aluno que nada sabia sobre a química medicinal e que hoje pode arriscar a dizer que sabe coisa ou outra a respeito do assunto pois a química medicinal é deveras ampla e abrange muitos conceitos e conhecimentos de várias áreas. Agradeço aos meus amigos de academia e ao jiu-jitsu por ajudar a moldar meus valores, a frase que eu menos ouvi dentro do tatame é a mais verdadeira: “O Jiu-Jitsu não é uma arte ou uma luta, é um estilo de vida!”, e é um estilo que levarei por toda a minha. Agradeço aos amigos de turma por todos os momentos bons e ruins, todos eles fizeram parte da minha história e ajudaram na minha construção como ser humano. Agradeço também aos meus amigos da vida, pelos momentos de descontração e de conversas sobre assuntos diversos, sempre ampliando meu horizonte de conhecimentos, pois como gosto de dizer, conhecimento nunca é demais. Ademais agradeço a mim mesmo pela

perseverança e pela fé na ciência, e mesmo que no fim eu me prove errado, pelo menos eu tentei.

“O impossível não é um fato: é uma opinião! ”

Mário Sérgio Cortella

RESUMO

RESUMO - As doenças negligenciadas são um conjunto de enfermidades endêmicas em regiões de baixa renda cujos investimentos em tratamento, diagnóstico e controle é ínfimo, visto que a população acometida é menos abastada financeiramente. A leishmaniose é uma zoonose caracterizada por lesões na extensão da pele e mucosas que não regredem sem tratamento. Os tratamentos preconizados são de alto custo e/ou de difícil administração, além de apresentarem inúmeros efeitos tóxicos. Em vista disso se faz necessária a busca por novas alternativas de tratamento dessa enfermidade e uma fonte ótima de estruturas ativas são os produtos naturais. Contudo, as substâncias provenientes das plantas, como as neolignanais, podem causar efeitos indesejáveis, e por isso a melhoria química dessas moléculas é uma ferramenta excelente na busca por fármacos cada vez mais potentes e seletivos. A estratégia de bioisosterismo é uma técnica de melhoria química amplamente utilizada na química medicinal que já se mostrou eficiente na busca por substâncias contra a leishmaniose em pesquisas anteriores. Outra estratégia é a adição de grupos halogênios na estrutura como uma possibilidade de aumentar a ação da molécula contra as formas do protozoário. A síntese principal se baseou na reação de cicloadição de Huisgen ou cicloadição [1+3] dipolar, entre clorooximas e acetilenos terminais, para a formação dos análogos isoxazólicos clorados das neolignanais e de seus respectivos isômeros de posição. A atividade antileishmania foi testada e os dados foram comparados aos da grandisina e a anfotericina B e tabelados. Um estudo de comparação entre parâmetros farmacológicos e estruturais também foi realizado e a conclusão foi de que os parâmetros estruturais tiveram maior relevância na atividade biológica neste caso.

Palavras-chave: Leishmaniose; Neolignanais; Isoxazóis; Cicloadição; Relação Estrutura-Atividade; Desenho de Fármacos.

ABSTRACT

ABSTRACT - Neglected diseases are a set of endemic diseases in low-income regions where investments in treatment, diagnosis and control are negligible, since the affected population is less financially well-off. Leishmaniasis is a zoonosis characterized by extensive lesions on the skin and mucous membranes that do not regress without treatment. The recommended treatments are expensive and/or difficult to administer, in addition to having numerous toxic effects. In view of this, it is necessary to search for new alternatives for the treatment of this disease and a great source of active structures are natural products. However, substances from plants, such as neolignans, can cause undesirable effects, and therefore the chemical improvement of these molecules is an excellent tool in the search for increasingly potent and selective drugs. The bioisosterism strategy is a chemical improvement technique widely used in medicinal chemistry that has already proven efficient in the search for substances against leishmaniasis. Another technique is the addition of halogen groups in the structure as a possibility to increase the action of the molecule against the protozoan forms. The main synthesis was based on the Huisgen cycloaddition reaction or dipolar [1+3] cycloaddition, between chlorooximes and terminal acetylenes, for the formation of chlorinated isoxazole analogues of neolignans and their respective positional isomers. The antileishmanial activity was tested and the data were compared to grandisin and amphotericin B and tabulated. A comparison study between pharmacological and structural parameters was also carried out and the conclusion was that the structural parameters had greater relevance in the biological activity in this case.

Keywords: Leishmaniasis; Neolignans; Isoxazoles; Cycloaddition; Structure-Activity Relationship; Drug Design.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTN	doenças tropicais negligenciadas
LC	leishmaniose cutânea
LV	leishmaniose visceral
LM	leishmaniose mucocutânea
PM	promastigotas metacíclicos
INF- γ	interferon gama
IL	interleucina
LPs	lipofosfossacarídeos
MAC	complexo de ataque a membrana
LFG	lipofosfoglicanos
AMG	amastigota
TSR	triptanotona redutase
RENAME	relação nacional de medicamentos essenciais
LASQUIM	laboratório de síntese e química medicinal
IC ₅₀	concentração inibitória mínima
μ M	micromolar
eq	equivalente
<i>p</i> -TsOH	ácido para-toluenosulfônico
NCS	N-clorosuccinimida
RMN ¹ H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio 1
RMN ¹³ C	ressonância magnética nuclear de carbono 13
DMSO- <i>d</i> ₆	dimetilsulfóxido deuterado
MHz	megahertz
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
CCD	cromatografia em camada delgada
δ	posição do sinal
s	singleto
d	dubleto
dd	duplo dubleto
J	constante de acoplamento

Hz	Hertz
sl	singleto largo
t	triplete
DMF	dimetilformamida
NBS	N-Bromosuccinimida
$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$	dicloreto de paládio II-(bis trifenilfosfina)
THF	tetrahidrofurano
BALB/c	linhagem albina criada em laboratório de camundongos domésticos
U/ml	unidades por mililitro
mg/ml	miligrama por mililitro
$\mu\text{g/ml}$	micrograma por mililitro
DMSO	dimetilsulfóxido
Pd^0	paládio zero
Ppm	partes por milhão
CC_{50}	concentração citotóxica mínima
SI	índice de seletividade
LogP	coeficiente de partição octanol/água
da	daltons
Å	ângstrons

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Doenças negligenciadas	1
1.2 Leishmaniose	1
1.3 Tratamentos atuais	3
1.4 Novas estratégias terapêuticas	4
1.5 As neolignanas.....	4
1.6 Estratégias de modificação	5
1.7 Bioisosterismo.....	5
1.8 Aplicação do método e resultados positivos prévios.....	5
1.9 Presença de halogênios.....	6
2. OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo geral	8
2.2 Objetivos específicos	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS	9
3.1 Síntese dos precursores clorados 4f e 11f.	11
3.2 Síntese das clorooximas 8a-f.	12
3.3 Síntese dos acetilenos terminais 13a-f.	19
3.4 Síntese dos análogos isoxazólicos 14-23.	25
3.5 Parasitos e animais	30
3.6 Animais	30
3.7 Atividade <i>in vitro</i> contra formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 Parte química.....	32
4.1.1 Síntese dos precursores clorados.....	32
4.1.2 Síntese das aldoximas.	33
4.1.3 Síntese das benzonitrilas.	34

4.1.4 Síntese das benzamidoximas.	35
4.1.5 Síntese das clorooximas a partir das amidoximas.	36
4.1.6 Síntese das cloro-oximas a partir das aldoximas.	37
4.1.7 Síntese dos iodetos de arila.	38
4.1.8 Síntese do Bromobenzodioxol.	39
4.1.9 Síntese dos álcoois acetilênicos.	39
4.1.10 Síntese dos acetilenos terminais.....	42
4.1.11 Síntese dos compostos isoxazólicos.....	43
4.2 Parte biológica.....	45
4.2.1 Atividades biológicas obtidas por testes.	45
4.2.2 Correlação entre atividade biológica e parâmetros farmacológicos das moléculas.....	47
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	64
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
7. ANEXOS.....	70

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doenças negligenciadas

As doenças negligenciadas ou doenças tropicais negligenciadas (DTN) são, segundo a OMS, um conjunto de mais de 20 doenças e condições que afetam principalmente regiões de clima tropical, visto que, em sua maioria, necessitam de vetores ou possuem reservatórios animais. Isso faz com que sua prevalência se dê em populações de regiões carentes e a necessidade de ciclos biológicos complexos como vetores e reservatórios tornam seu controle um desafio bem maior. Além disso, estima-se que as consequências dessas doenças, tanto de saúde quanto sociais e econômicas, afetam mais de 1 bilhão de pessoas, o que torna elas um grave problema de saúde pública.¹

1.2 Leishmaniose

A leishmaniose é uma doença infecto-parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida através de fêmeas de mosquitos flebotomíneos conhecidos popularmente no Brasil como mosquito-palha. É uma das principais doenças negligenciadas e uma das que mais afetam populações ao redor do mundo, sendo endêmica em mais de 80 países.¹ A doença se caracteriza por erupções cutâneas e mucocutâneas que não regredem sem tratamento além de lesões nas vísceras e órgãos internos, gerando deformidades dermatológicas ou, muitas vezes, incapacidade física o que influi na produtividade laboral e social do paciente.^{2,3} É dividida em 3 manifestações clínicas: a leishmaniose tegumentar ou cutânea (LC), a leishmaniose visceral (LV), também chamada de kala-azar e leishmaniose mucosa (LM). Sendo a manifestação cutânea a mais comum, com a ocorrência de feridas abertas pelo corpo, em especial no local da picada pelo mosquito, e a forma visceral a mais severa, caracterizada principalmente por hepatoesplenomegalia.^{3,4,5,6,7}

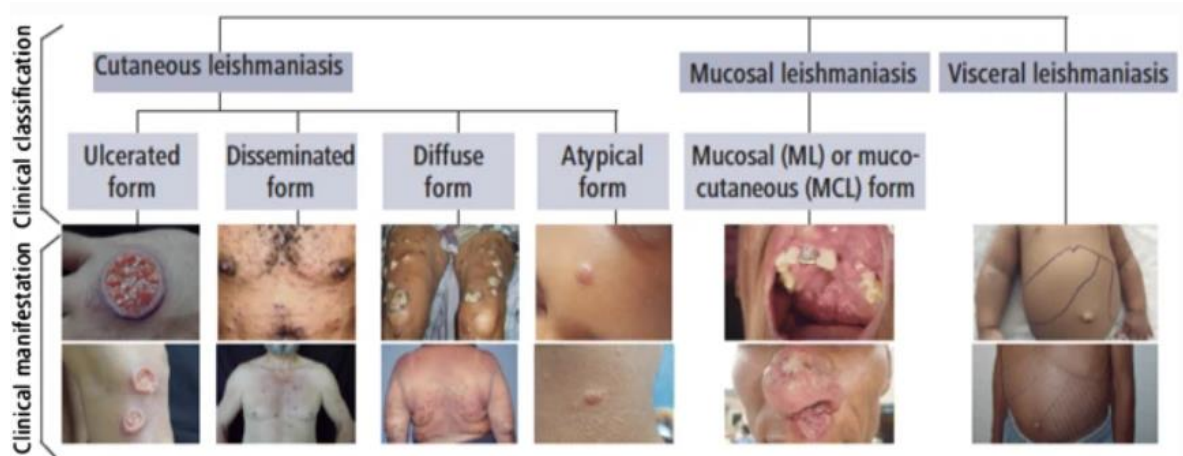


Figura 1: Diferentes manifestações clínicas da leishmaniose. Fonte: WHO, 2018.

Seu ciclo biológico pode possuir como reservatório animais silvestres como preguiças e tamanduás, bem como animais urbanos como cães e outros homens.^{3,4,5,6,7}

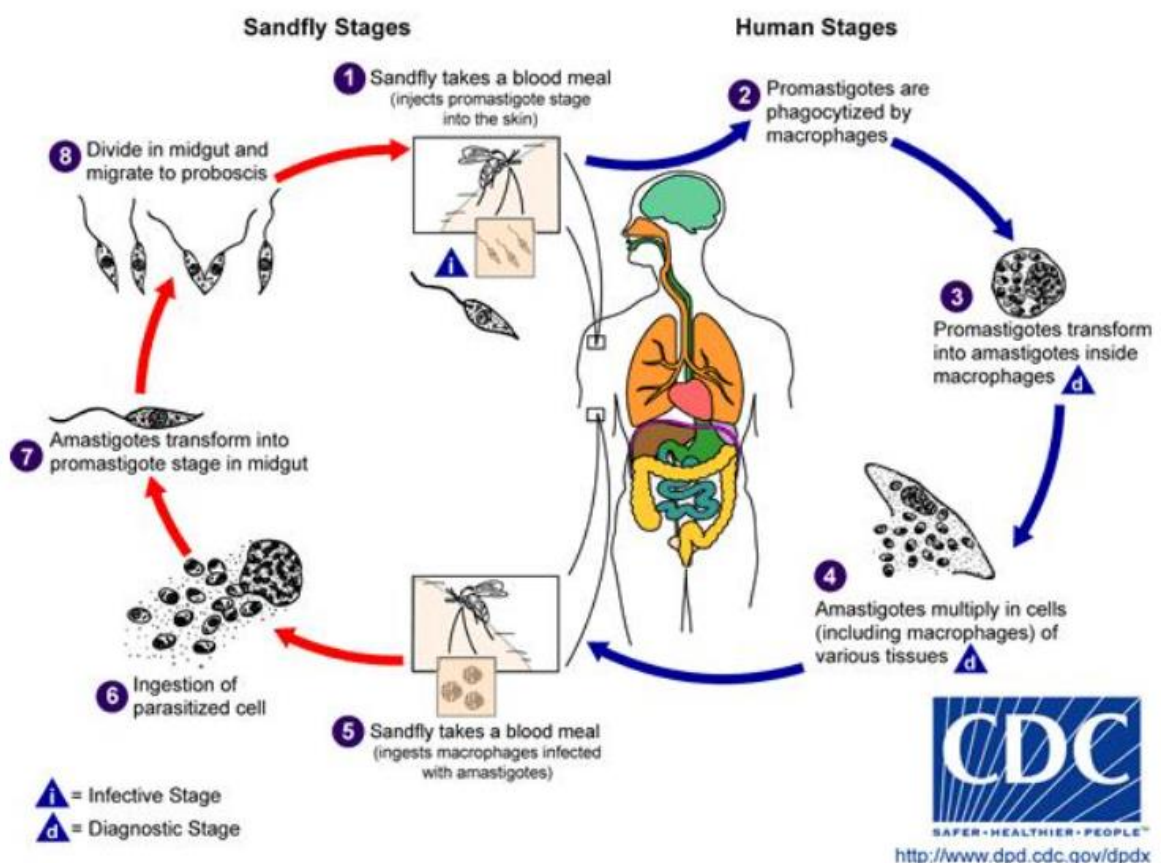


Figura 2: Ciclo biológico da leishmaniose. Fonte: MSD manuals, 2023.

O ciclo se inicia quando uma fêmea de flebotomíneo contaminada pica um humano injetando nele, através de sua probóscide, formas promastigotas metacíclicas (PM) do parasita. Essas formas PM recebem a ajuda de uma substância da saliva do

inseto, o maxidilam, que inibe a apresentação de antígenos da *Leishmania* aos macrófagos e inibe a liberação de citocinas tipo I (IFN- γ , IL-2, IL-12, etc.), que ativariam a resposta imune celular. Essas formas infectantes precisam escapar da ativação do complemento que elas desencadeiam e utilizam de lipofosfossacarídeos (LPs) para inibir a ação do complexo de ataque a membrana (MAC) do sistema complemento. Antes ou após escapar desse mecanismo de defesa as formas circulantes podem entrar em contato com macrófagos e serem fagocitados, nessa fagocitose a glicoproteína gp63, os lipofosfoglicanos (LFG) e alguns carboidratos de superfície interferem na forma como a fagocitose ocorre. Neste caso a célula do parasita consegue inibir o mecanismo de explosão respiratória dos macrófagos sendo o LPG o principal inibidor das enzimas responsáveis por esse mecanismo. Uma vez dentro do vacúolo parasitário dos macrófagos, as células parasitárias rapidamente se convertem para uma forma aflagelada, a forma amastigota (AMG), considerada forma de resistência que resiste a ação dos lisossomas, se multiplicando dentro deste vacúolo por divisão binária. Com quantidades suficientes de células parasitárias no interior do vacúolo a membrana do macrófago se rompe, liberando essas formas AMG no tecido para serem fagocitadas novamente por outro macrófago e assim retomar o ciclo.^{3,4,5,6,7}

1.3 Tratamentos atuais

A terapia medicamentosa preconizada pelo ministério da saúde brasileiro para todas as formas de leishmaniose é baseada no uso de antimoniais pentavalentes como o antimoniato de meglumina aqui no Brasil como primeira escolha. A dose terapêutica desta medicação é calculada sobre quantidade de antimônio livre por quilograma de peso do paciente. O tempo de tratamento é longo, cerca de 20 dias e causa efeitos indesejáveis no organismo de mamíferos como artralgia, mialgia, pancreatite e insuficiência renal aguda. Além dos antimoniais, tem-se como segunda escolha a anfotericina B lipossomal, cujo mecanismo se baseia na ligação ao ergosterol do parasita e aumento da permeabilidade de membrana, e a pentamidina cujo mecanismo está atrelado à inibição da síntese de proteínas importantes ao parasita. Não obstante foi inserida na RENAME de 2020 a miltefosina, medicamento de uso exclusivamente veterinário, para tratamento em humanos com leishmaniose tegumentar como primeira linha de tratamento. Contudo todas essas alternativas

terapêuticas têm problemáticas que impedem sua segurança e seu acesso às populações mais fragilizadas como a necessidade de um ambiente hospitalar para utilização desses medicamentos, com exceção da miltefosina, altos custos com medicações e internações e variados efeitos indesejados como toxicidade renal, hepática, cardíaca e pancreática.^{3,5,6,7,8,9}

1.4 Novas estratégias terapêuticas

Como uma forma de driblar as complicações e efeitos adversos ocasionados pelas terapias disponíveis, algumas estratégias podem ser utilizadas como vetorização de fármacos, e principalmente, a caça por novas alternativas terapêuticas, buscando estruturas, sejam em bancos de dados ou nas substâncias descobertas em produtos naturais, mais seletivas, seguras e eficazes. Neste cenário de busca por novas alternativas terapêuticas, algumas moléculas encontradas no meio natural, proveniente do metabolismo secundário de certas plantas se mostram muito promissoras para serem utilizadas como possíveis alternativas de tratamento, em especial estão as neolignananas, encontradas em várias fontes naturais ao redor do mundo.¹⁰

1.5 As neolignananas

As neolignananas são um tipo de estruturas derivadas do metabolismo secundário de plantas que possuem diversas atividades biológicas descritas na literatura, como atividades antibacteriana, antineoplásica, antifúngica e antiparasitária.^{10,11,12,13,14} As neolignananas tetrahidrofurânicas, em especial, possuem uma alta gama de atividades biológicas descritas com resultados promissores, com destaque para 3 estruturas que possuem atividades contra doenças parasitárias, a veraguensina, a grandisina e a machilina G, possivelmente através da inibição da tripanotiona redutase, uma enzima responsável por combater o estresse oxidativo nos protozoários do gênero *Leishmania* e *Trypanossoma*.¹⁵ Porém mesmo tendo atividade, algumas alterações químicas podem ser feitas a fim de tornar a estrutura mais potente, mais seletiva, mais segura para uso e mais fácil de ser administrada.

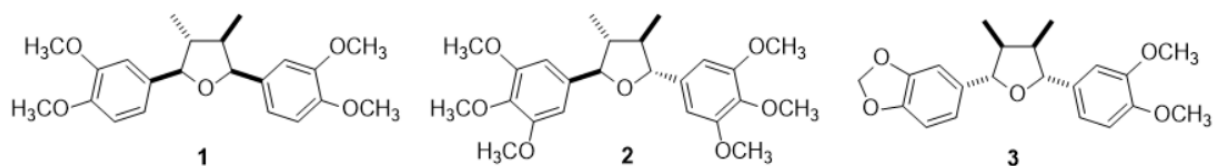


Figura 3: Neolignanas veraguensina (1), Grandisina (2) e Machilina G (3).

Estruturas obtidas pelo software ChemDraw®.

1.6 Estratégias de modificação

Para realizar modificações na estrutura das neolignanas é necessário visualizar algum problema que ela possua em algum ponto, como, por exemplo, uma região mais frágil da molécula, como o anel furano, sensível ao metabolismo de fase I do organismo e cujo produto desse metabolismo gera um composto tóxico para vários tecidos do corpo.¹⁶ Uma estratégia para reverter esse problema da molécula seria substituí-la por um grupo espacialmente parecido mas com uma resistência maior aos processos metabólicos do corpo, em outras palavras, realizar uma troca bioisotérica.

1.7 Bioisosterismo

O bioisosterismo é uma estratégia de modificação molecular amplamente utilizada na química medicinal farmacêutica. A teoria consiste em substituir grupos químicos por outros grupos com algumas características semelhantes. Ele se divide em bioisosterismo clássico e não clássico onde, o clássico consiste em substituir átomos e grupos de mesma valência eletrônica, já a não clássica substitui grupos funcionais por outros grupos que tenham propriedades estruturais equivalentes.¹⁷

1.8 Aplicação do método e resultados positivos prévios

Recentemente foram sintetizados pelo grupo de pesquisa LASQUIM-UFMS, através de reações de cicloadição [1+3] entre clorooximas e acetilenos terminais, também conhecidas como cicloadição de Huisgen, derivados isoxazólicos das neolignanas grandisina, veraguensina e machilina G, e testadas suas atividades anti-leishmania contra as formas promastigotas, circulantes no sangue, e amastigotas, formas de resistência presentes no interior das células.¹⁸

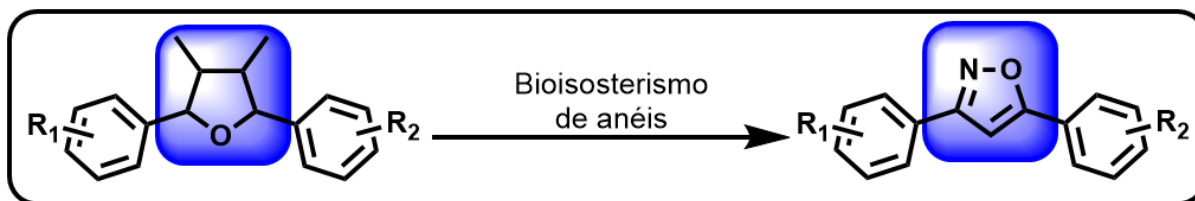


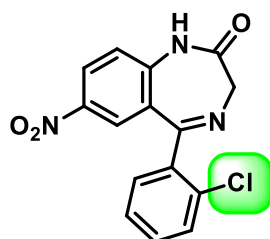
Figura 4: troca bioisostérica do anel central furano das estruturas gerando os derivados isoxazólicos. Figura obtida pelo software ChemDraw®.

Os compostos obtiveram bons resultados com destaque para 3 moléculas que apresentaram concentração inibitória de 50% das células (IC_{50}) $< 1\mu M$ para as formas amastigotas, além de boas atividades contra as formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*, e alto índice de seletividade, característica importante para candidatos à fármacos.^{18, 19}

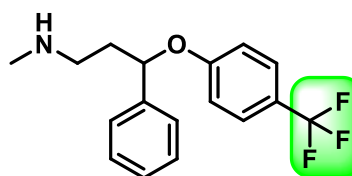
Um análogo monoclorado no anel trimetoxilado foi obtido ao acaso como subproduto da síntese de um dos compostos sintetizados, e teve sua atividade anti-leishmania testada juntamente com os demais, apresentando uma CI_{50} para as formas amastigotas do parasito de $0.3\mu M$, treze vezes mais ativo do que seu semelhante não clorado.

1.9 Presença de halogênios

É de amplo conhecimento que a presença de halogênios em estruturas orgânicas pode aumentar a lipossolubilidade dessas substâncias²⁰. Esse aumento de lipossolubilidade pode significar maior facilidade em atravessar as barreiras biológicas das células do organismo, como evidenciado nos psicoativos clonazepam e fluoxetina.



Clonazepam



Fluoxetina

Figura 5: estruturas químicas dos psicoativos clonazepam e fluoxetina. Figura obtida pelo software ChemDraw®.

Diante do resultado promissor do composto obtido ao acaso em estudo anterior levantou-se a dúvida de que a presença de cloro como um dos substituintes dos anéis aromáticos poderia aumentar a atividade anti-leishmania dos análogos isoxazólicos das neolignanas, gerando compostos mais potentes que necessitam de doses menores para obtenção do efeito terapêutico. Tendo isso em mente, uma série de 5 compostos clorados, baseados naquele que fora obtido ao acaso, e seus 5 respectivos isômeros de posição, totalizando 10 compostos clorados, foram planejados para tentar elucidar a questão da presença de halogênio no anel trimetoxilado interferir positivamente ou não na atividade biológica contra as doenças negligenciadas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar 10 análogos isoxazólicos clorados derivados das neolignanas Veraguensina, Grandisina e Machilina G, e avaliar sua atividade anti-leishmania *in vitro*.

2.2 Objetivos específicos

- Estudar as melhores condições reacionais para a síntese dos materiais de partida;
- Sintetizar os 5 compostos isoxazólicos clorados e seus respectivos isômeros de posição através de reações de cicloadição [1+3]-dipolar;
- Realizar o estudo da relação estrutura-atividade dos compostos propostos com seus isômeros de posição;
- Testar a atividade anti-leishmania *in vitro* dos compostos propostos em parceria com o Laboratório de Parasitologia Humana – UFMS pela aluna de doutorado Msc. Amarith R. das Neves;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A rota sintética utilizada para a síntese dos análogos isoxazólicos propostos é convergente na qual se insere o preparo dos materiais de partida que formarão os *building blocks* para a reação final de síntese dos produtos desejados.

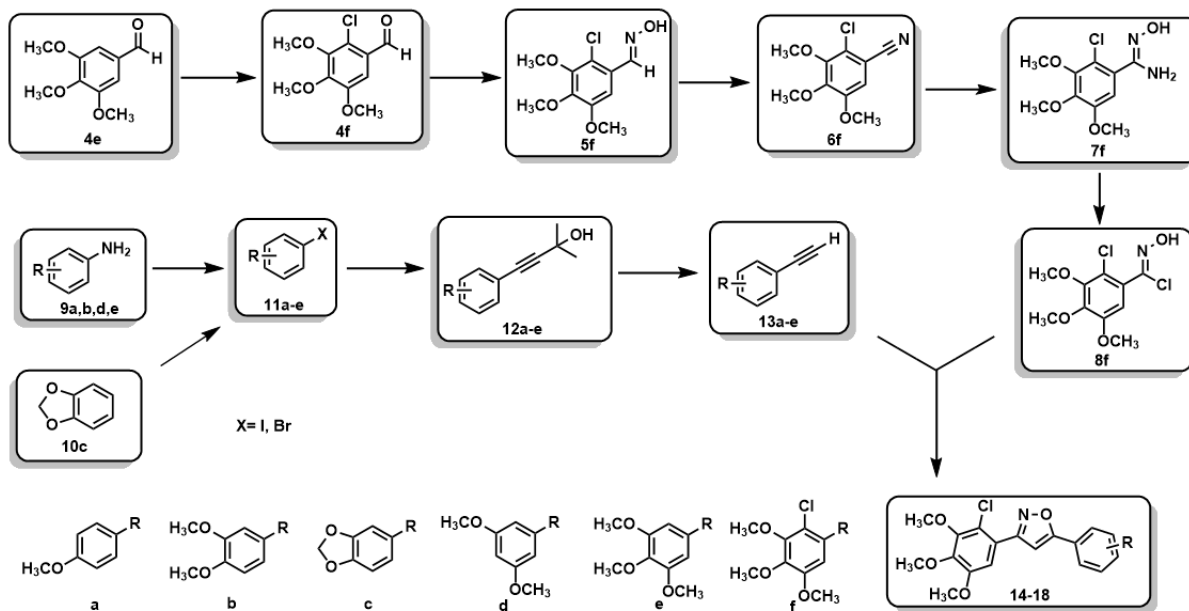


Figura 6: rota sintética dos análogos propostos. Figura obtida pelo software ChemDraw®.

Para a síntese dos isômeros de posição, os *building blocks* tiveram seus substituintes invertidos, na rota anterior a clorooxima era fixada no substituinte trimetoxi clorado e a porção do acetileno terminal variava o substituinte do anel. Nesse caso inverte-se e o bloco do acetileno agora é fixo no substituinte trimetoxi clorado e a porção da clorooxima que varia seus substituintes, como mostrado na **Figura 7**.

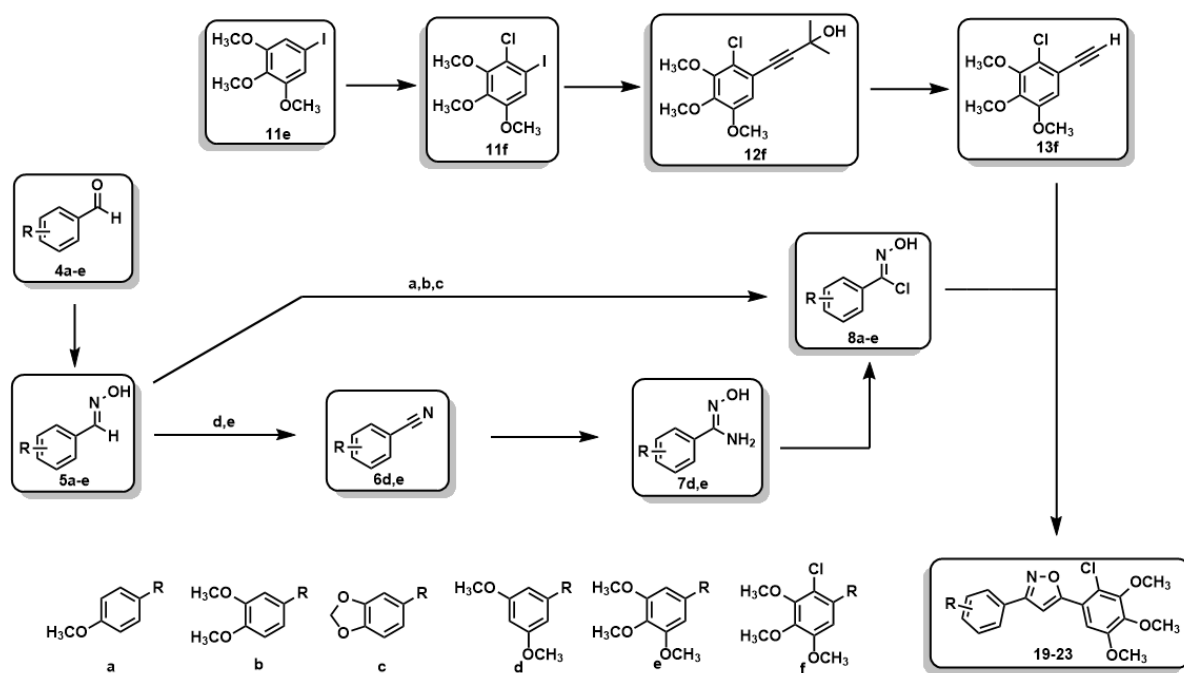


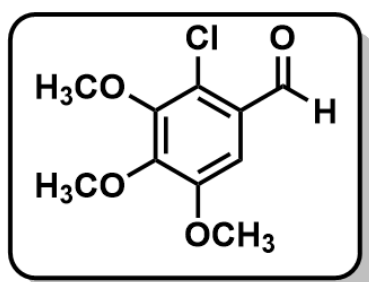
Figura 7: rota sintética dos isômeros de posição dos análogos propostos. Figura obtida pelo software ChemDraw®.

3.1 Síntese dos precursores clorados 4f e 11f.

3.1.1 Síntese do trimetoxibenzaldeído clorado (4f).

A um balão de duas bocas sob sistema fechado com atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foram adicionados o 3,4,5-trimetoxibenzaldeído (1,0 eq) solubilizado em diclorometano, *p*-TsOH (0,124 eq) e sílica (0,5 eq) e a mistura foi resfriada a -5°C. Após atingir o resfriamento foi adicionado o NCS (1,0 eq) porcionado em 4 partes sendo as partes adicionadas à reação pelo menos 10 minutos após a adição anterior. A reação foi filtrada, lavada com acetato de etila, concentrada e purificada por coluna cromatográfica utilizando hexano e acetato de etila como fase móvel.

2-cloro-3,4,5-trimetoxibenzaldeído (4f)



Rendimento: 72%

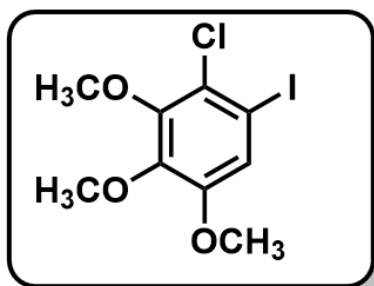
Característica físico-química: sólido branco.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 3,80 (s, 3H); 3,83 (s, 3H); 3,86 (s, 3H); 7,20 (s, 1H); 10,21 (s, 1H). **RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz):** 56,60; 61,43; 61,58; 107,62; 124,23; 127,81; 148,65; 149,83; 152,71; 189,12.

3.1.2 Síntese do iodobenzeno trimetoxi clorado (11f)

A um balão de duas bocas sob sistema fechado com atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foram adicionados o 3,4,5-trimetoxi-1-iodobenzeno (1,0 eq) solubilizado em diclorometano, o ácido *p*-toluenosulfônico (0,124 eq) e sílica (0,5 eq). A mistura foi resfriada a -5°C e após atingir o resfriamento, foi adicionado o NCS (1,0 eq) porcionado em 4 partes sendo as partes adicionadas à reação pelo menos 10 minutos após a adição anterior. A reação foi filtrada, lavada com acetato de etila, concentrada e purificada por coluna cromatográfica. Utilizando hexano e acetato de etila como fase móvel.

2-cloro-1-iodo-3,4,5-trimetoxibenzeno (11f)



Rendimento: 78%

Características físico-químicas: sólido acobreado.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): Em análise.

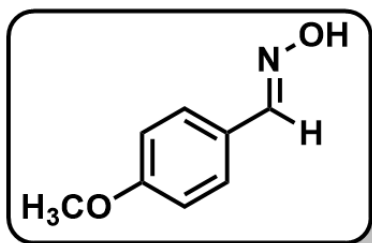
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): Em análise.

3.2 Síntese das clorooximas 8a-f.

3.2.1 Síntese das aldoximas 5a-f.

A um balão de duas bocas sob sistema fechado com atmosfera de nitrogênio e agitação magnética, foram adicionados o aldeído de interesse (1,0 eq), cloridrato de hidroxilamina (1,2 eq) em mistura de etanol/água sob temperatura ambiente. Após 10 minutos de agitação foi acoplado um sistema de gotejamento contendo NaOH (1,2 eq) dissolvido em água destilada, o qual foi gotejado lentamente na reação, que foi mantida sob as condições citadas por um período de 24 horas. Após as 24 horas foi verificado o consumo total do benzaldeído por CCD, a reação foi então extraída com acetato de etila como fase orgânica e solução saturada de cloreto de sódio como fase aquosa. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e rotaevaporada sob pressão reduzida. Não foram necessários outros processos de purificação.

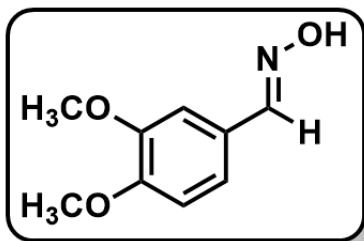
(*E*)-4-metoxibenzaldeído oxima (5a)²¹



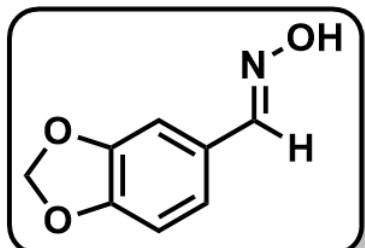
Rendimento: 89%.

Características Físico-químicas: Sólido branco.

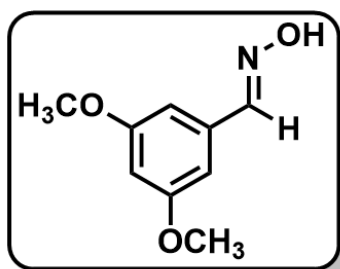
RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,81 (s, 3H); 6,90 (d, J 9,0 Hz, 2H); 7,50 (d, J 9,0 Hz, 2H); 8,08 (s, 1H); 8,32 (sl, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 55,49; 115,05; 124,93; 132,26; 149,93; 163,48.

(E)-3,4-dimetoxibenzaldeído oxima (5b)²²**Rendimento:** 95%**Características físico-químicas:** Sólido branco.

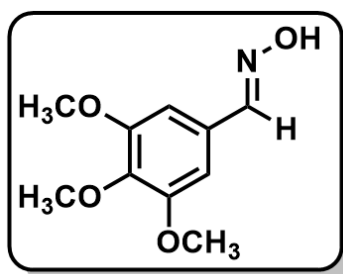
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,88 (s, 6H); 6,81 (dd, *J* 2,1 Hz e *J* 8,4 Hz, 1H); 7,02 (d, *J* 9,0 Hz, 1H); 7,19 (d, *J* 1,8 Hz, 1H); 7,19 (sl, 1H); 8,05 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 56,49; 55,05; 105,08; 115,70; 118,7; 125,4; 148,2; 149,10; 151,93.

(E)-benzo[d][1,3]dioxol-5-carbaldeído oxima (5c)²³**Rendimento:** 95%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 5,98 (s, 2H); 6,78 (d, *J* 9,0 Hz, 1H); 6,94 (dd, *J* 3,0 Hz e *J* 9,0 Hz, 1H); 7,15 (d, *J* 3,0 Hz, 1H); 7,17 (sl, 1H); 8,02 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 102,33; 106,74; 114,33; 119,23; 126,4; 147,34; 147,75; 150,98.

(E)-3,5-dimetoxibenzaldeído oxima (5d)²⁴**Rendimento:** 79%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

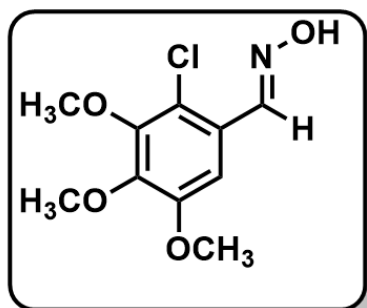
RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz): 11,23(s; 1H); 8,05(s; 1H); 6,75(s; 2H); 6,50(s; 1H); 3,74(s; 6H). **RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz):** δ 55,2; 101,3; 104,3; 135,0; 148,0; 160,6.

(E)-3,4,5-trimetoxibenzaldeído oxima (5e)²⁵

Rendimento: 97%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,88 (s, 3H) δ 3,89 (s, 6H); 6,82 (s, 2H); 7,67 (sl, 1H); 8,06 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,92; 56,17; 106,08; 112,01; 137,50; 148,48; 149,20.

(E)-2-cloro-3,4,5-trimetoxibenzaldeído oxima (5f)

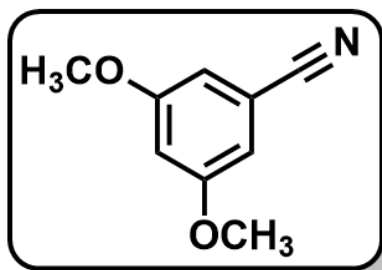
Rendimento: 72%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,84 (s, 3H) δ 3,88 (s, 3H); 3,89 (s, 3H); 7,13 (s, 1H); 8,50 (s, 1H).

3.2.2 Síntese das nitrilas 6d-f.

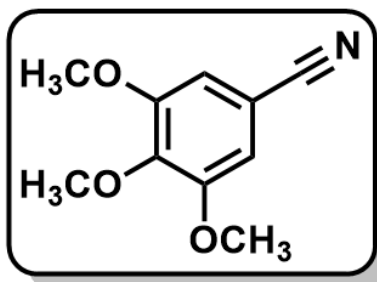
A um balão reacional sob agitação magnética e sistema de refluxo foram adicionados a aldoxima de interesse (1,0 eq) e anidrido acético (0,5 eq). a reação foi mantida sob as condições estipuladas por 12 horas. Após a visualização do consumo completo da aldoxima a reação foi finalizada, extraída com acetato de etila e solução aquosa de cloreto de sódio. Não sendo necessária purificação por coluna.

3,5-dimetoxibenzonitrila (6d)²⁶

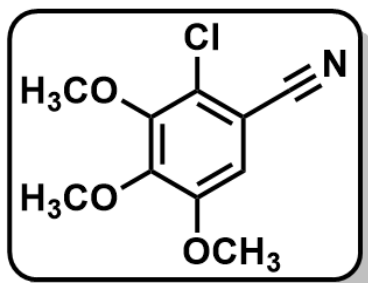
Rendimento: 61%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 3.81 (s, 6H), 6.66 (t, 1H, J = 2.4 Hz), 6.77 (d, 2H, J = 2.4 Hz); **RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz):** δ 55.6, 105.6, 109.8, 113.3, 118.7, 160.9.

3,4,5-trimetoxibenzonitrila (6e)²⁷**Rendimento:** 73%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

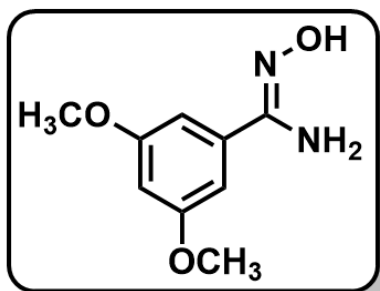
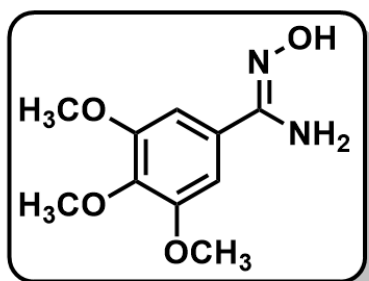
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 6.87 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.88 (s, 6H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz):** δ 153.6, 142.3, 118.9, 109.4, 106.7, 61.0, 56.4.

2-cloro-3,4,5-trimetoxibenzonitrila (6f)**Rendimento:** 98%.**Características físico-químicas:** Sólido amarelado.

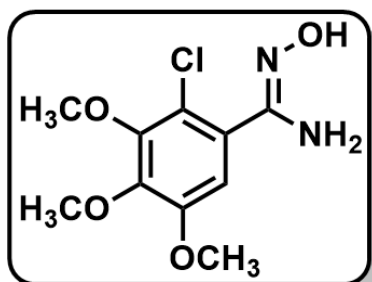
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.85 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 6.91 (s, 1H).

3.2.3 Síntese das amidoximas 7d-f.

A um balão reacional sob agitação magnética e sistema de refluxo foram adicionados a nitrila de interesse (1,0 eq), cloridrato de hidroxilamina (1,4 eq) carbonato de sódio (2,12 eq) em mistura de etanol/água 1:1. A reação foi mantida sob as condições descritas até a visualização por CCD do desaparecimento da nitrila. A mistura foi então extraída com acetato de etila e solução aquosa de NaCl, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada, o solvente rotaevaporado sob pressão reduzida e o produto final purificado por coluna cromatográfica utilizando como fase móvel eluição de hexano/acetato de etila.

(Z)-N'-hidroxi-3,5-dimetoxibenzimidamida (7d)**Rendimento:** 77%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.**RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz):** Em análise.**RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** Em análise.**(Z)-N'-hidroxi-3,4,5-trimetoxibenzimidamida (7e)****Rendimento:** 70%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,83 (s, 3H) δ 3,84 (s, 3H); 3,87 (s, 3H); 4,96 (sl, 2H); 6,81 (s, 2H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 56,22; 56,31; 103,32; 104,80; 127,61; 128,59; 139,63; 153,14; 153,33.

(Z)-2-cloro-N'-hidroxi-3,4,5-trimetoxibenzimidamida (7f)**Rendimento:** 77%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

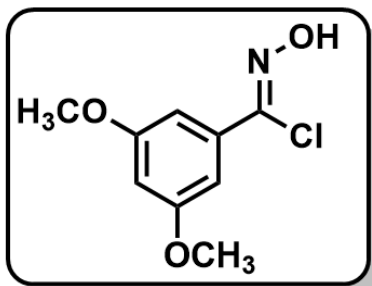
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.74 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 5.72(s, 2H), 6.78 (s, 1H), 9.38 (s, 1H).

3.2.4 Síntese das cloro-oximas via amidoximas 8d-f.

A um balão reacional sob agitação magnética, atmosfera de nitrogênio e banho de gelo foi solubilizada a amidoxima de interesse (1,0 eq) em solução aquosa de HCl (1,0 eq). Em seguida foi acoplado um sistema de gotejamento contendo nitrito de sódio (5,0 eq) previamente solubilizado em água que foi adicionado gota a gota na reação. após o final do gotejamento a mistura foi mantida a 0°C por 1 hora. Ao final desse

período a reação foi neutralizada com bicarbonato de sódio, e o material foi filtrado a vácuo e lavado com água destilada, não sendo necessários outros processos de purificação.

Cloreto de *N*-hidroxi-3,5-dimetoxibenzimidoila (8d)

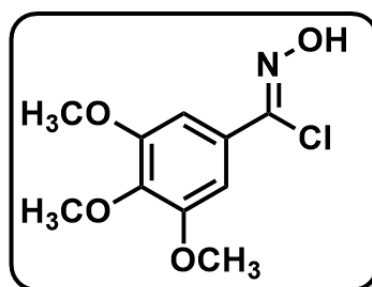


Rendimento: 48%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.81 (s, 6H), 6.66 (t, 1H, J = 2.4 Hz), 6.77 (d, 2H, J = 2.4 Hz); **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55.6, 105.6, 109.8, 113.3, 118.7, 160.9.

Cloreto de *N*-hidroxi-3,4,5-trimetoxibenzimidoila (8e)²⁵

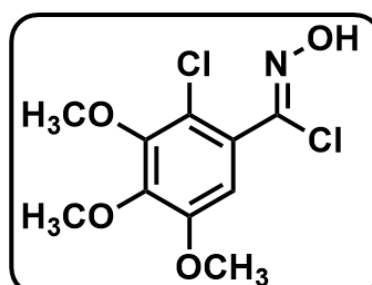


Rendimento: 60%.

Características físico-químicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,88 (s, 3H) δ 3,89 (s, 6H); 7,12 (s, 2H); 8,49 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,45; 55,95; 105,45; 129,28; 138,46; 142,87; 144,59; 153,28.

Cloreto de 2-cloro-*N*-hidroxi-3,4,5-trimetoxibenzimidoila (8f)



Rendimento: 77%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

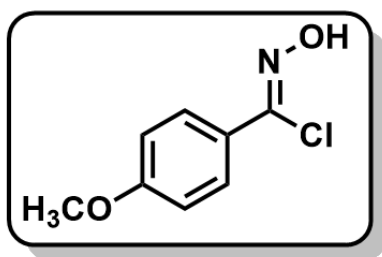
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): Em análise.

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): Em análise.

3.2.5 Síntese das cloro-oximas via aldoximas 8a-c.

Em um balão reacional sob atmosfera inerte de nitrogênio, agitação magnética e banho de gelo a aldoxima de interesse (1,0 eq) foi solubilizada em DMF (3,0 eq) e o sistema foi resfriado até alcançar 0°C. Após atingida a temperatura desejada, foi adicionado o NCS (1,2 eq) previamente solubilizado em DMF de maneira gradual e lenta a fim de não elevar a temperatura do sistema acima de 5°C. Após a completa adição do NCS o sistema foi mantido sob banho de gelo por mais 1 hora. Após esse tempo, a reação foi acompanhada por CCD até o consumo completo da aldoxima de interesse. A reação foi então extraída com acetato de etila e solução saturada de cloreto de sódio, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e o solvente removido por pressão reduzida. O produto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando eluição de hexano/acetato de etila como fase móvel.

Cloreto de *N*-hidroxi-4-metoxibenzimidoila (8a)²⁸

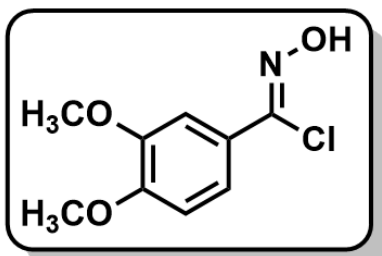


Rendimento: 72%.

Características físico-químicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,82 (s, 3H); 6,90 (d, *J* 9,0 Hz, 2H); 7,75 (d, *J* 9,0 Hz, 2H); 8,23 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,42; 114,23; 124,85; 128,74; 139,91; 161,57.

Cloreto de *N*-hidroxi-3,4-dimetoxibenzimidoila (8b)²⁹



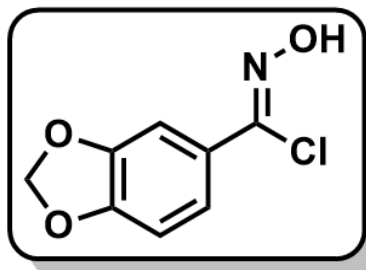
Rendimento: 75%.

Características físico-químicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,86 (s, 6H); 6,85 (d, *J* 9,0 Hz, 1H); 7,34 (d, *J* 1,8 Hz, 1H); 7,42 (dd, *J* 2,1 Hz e *J* 8,4 Hz, 1H); 7,99 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,97; 56,00; 109,44; 110,49; 120,89; 125,00; 139,82; 148,73; 151,26.

Cloreto de *N*-hidroxibenzo[*d*][1,3]dioxol-5-carbimidoila (8c)³⁰

Rendimento: 83%.



Características físico-químicas: Sólido amarelo.

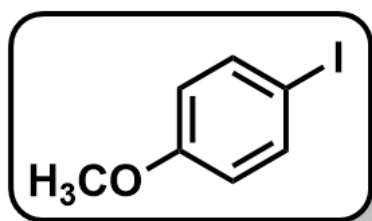
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 6,00 (s, 2H); 6,81 (d, *J* 8,4 Hz, 1H) 7,30 (d, *J* 1,8 Hz 1H); 7,15 (dd, *J* 1,8 Hz e *J* 8,4 Hz, 1H); 7,76 (s, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 101,72; 107,18; 108,06; 122,33; 126,42; 139,62; 147,88; 149,84.

3.3 Síntese dos acetilenos terminais 13a-f.

3.3.1 Síntese dos iodobenzenos 11a,b,d,e.

A um balão reacional sob agitação magnética e banho de gelo foram adicionadas as anilinas de interesse (1,0 eq) em solução de ácido *p*-toluenosulfônico (3,0 eq) em acetonitrila. Após visualizada a formação de um precipitado branco, acoplar um sistema de gotejamento com nitrito de sódio (2,5 eq) e iodeto de potássio (3,12 eq) previamente solubilizados em água e gotejar essa solução na reação. Após o gotejamento, o banho de gelo foi removido e a agitação foi mantida até que a mistura atingisse a temperatura ambiente. Após visualizada a completa conversão da anilina de interesse a mistura foi vertida em solução saturada de bicarbonato de sódio a fim de atingir pH entre 9 e 10. A solução foi então extraída com acetato de etila, lavada com tiosulfato de sódio, seca com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente removido por rotaevaporação.

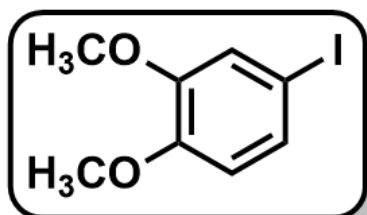
1-iodo-4-metoxibenzeno (11a)³¹



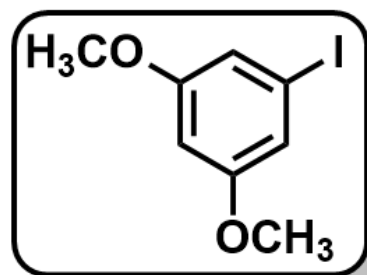
Rendimento: 81%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

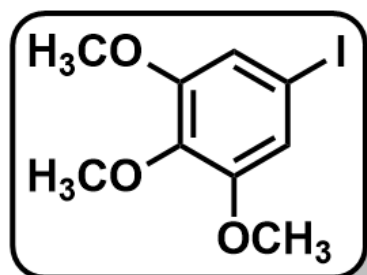
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,76 (s, 3H); 6,66 (d, *J* 9,0 Hz, 2H); 7,54 (d, *J* 9,0 Hz, 2H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,12; 82,68; 116,36; 138,19; 159,46.

4-iodo-1,2-dimetoxibenzeno (11b)³²**Rendimento:** 87%.**Características físico-químicas:** Óleo incolor.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.84 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 6.73 (d, *J* 8.3 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* 1.6 Hz, 1H), 7.03 (dd, *J* 1.6 Hz and *J* 8.3 Hz, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55.97, 112.56, 112.66, 114.80, 123.34, 148.36, 149.78.

1-iodo-3,5-dimetoxibenzeno (11d)³³**Rendimento:** 91%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 6.86 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H), 6.39 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 3.76 (s, 6H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 126 MHz):** δ 161.1, 115.8, 100.7, 94.1, 55.5.

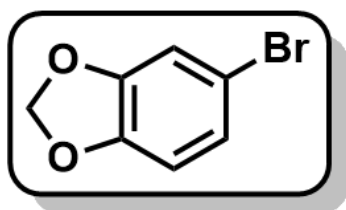
5-iodo-1,2,3-trimetoxibenzeno (11e)³⁴**Rendimento:** 73%**Características físico-químicas:** Sólido amarelo.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ 3.80 (s, 3H), 3.82 (s, 6H), 6.87 (s, 2H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 101 MHz):** δ 56,5; 61,0; 86,2; 115,1; 138,4; 158,1.

3.3.2 Síntese do bromobenzodioxol 11c.

A um balão de duas bocas sob agitação magnética e banho de gelo foram adicionados o benzodioxol (1,0 eq) e diclorometano (3,0 eq). Em seguida foi adicionada uma mistura de *p*-TsOH (0,124 eq) com sílica (0,5 eq) e a reação foi colocada em banho de gelo até a temperatura de 0°C. Uma vez atingida a temperatura desejada foi adicionado o NBS (1,0 eq) em pequenas porções. 15 minutos depois da adição do NBS o banho de gelo foi retirado e a reação foi mantida a temperatura ambiente por mais 3 horas. A reação foi extraída com hexano e solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica (hexano) também foi lavada posteriormente com solução saturada de bicarbonato de sódio, e esta solução saturada de bicarbonato foi lavada posteriormente mais duas vezes com hexano. As fases orgânicas foram unidas e secas com sulfato de magnésio anidro e o solvente rotaevaporado sobre pressão reduzida. O bruto reacional foi purificado por destilação em alto vácuo (3mm/Hg) sendo a fração de 100-110°C a correspondente ao produto puro.

5-bromobenzo[*d*][1,3]dioxol (11c)³⁵



Rendimento: 79%.

Características físico-químicas: óleo incolor.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 5,92 (s, 2H); 6,64 (d, J 8,2 Hz, 1H); 6,91 (dd, J 1,9 Hz e J 8,2 Hz, 1H); 6,92 (d, J 1,9 Hz, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 101,59; 109,54; 112,29; 113,06; 124,30; 147,01; 148,61.

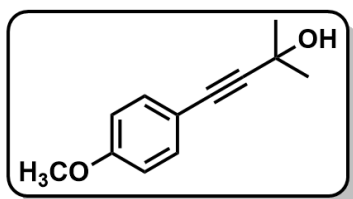
3.3.2 Síntese dos álcoois acetilênicos 12a-f.

A um balão reacional sob agitação magnética, sistema de refluxo e atmosfera de nitrogênio foram adicionados o iodobenzeno de interesse (1,0 eq), o álcool acetilênico (3,68 eq), iodeto de cobre (0,05 eq), trifetilfosfina (0,07 eq), PdCl₂(PPh₃)₂ (0,02 eq) em trietilamina. A mistura foi deixada sob estas condições por 2 horas. Ao final deste tempo a trietilamina foi rotaevaporada, a reação foi extraída com acetato de etila e solução saturada de cloreto de amônio, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente foi rotaevaporado por pressão reduzida. O material

foi purificado por coluna cromatográfica utilizando eluição de hexano/acetato de etila como fase móvel.

4-(4-metoxifenil)-2-metilbut-3-in-2-ol (12a)³⁶

Rendimento: 85%



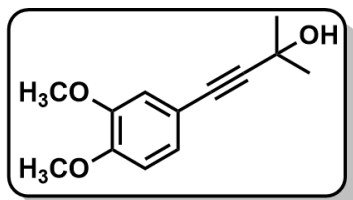
Características físico-químicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,59 (s, 6H); 2,07 (s, 1H); 3,78 (s, 3H); 6,81 (d, J 8,8 Hz, 2H); 7,33 (d, J 8,8 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 31,56; 55,25; 65,65; 81,99; 92,38; 113,86; 114,81; 133,07; 159,53.

4-(3,4-dimetoxifenil)-2-metilbut-3-in-2-ol (12b)³⁷

Rendimento: 75%.



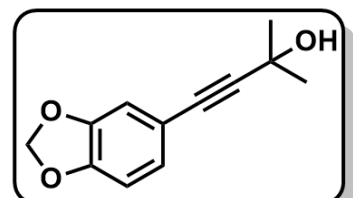
Características físico-químicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,59 (s, 6H); 2,11 (sl, 1H); 3,84 (s, 3H); 3,85 (s, 3H); 6,75 (d, J 8,3 Hz, 1H); 6,89 (d, J 1,8 Hz, 1H); 6,99 (dd, J 1,8 Hz e J 8,2 Hz, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 31,03; 31,55; 55,86; 55,87; 65,65; 82,13; 92,27; 110,92; 114,39; 114,89; 124,87; 148,54; 149,41.

4-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-2-metilbut-3-in-2-ol (12c)³⁸

Rendimento: 76%.



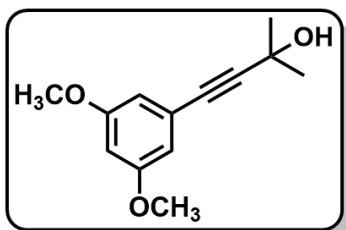
Características físico-químicas: Sólido amarelo.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,57 (s, 6H); 2,21 (sl, 1H); 5,93 (s, 2H); 6,70 (d, J 8,0 Hz, 1H); 6,83 (d, J 1,6 Hz, 1H); 6,90 (dd, J 1,6 Hz e J 8,1 Hz, 1H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 31,50; 61,57; 81,94; 92,14; 101,24; 108,34;

111,64; 115,97; 126,21; 147,32; 147,79.

4-(3,5-dimetoxifenil)-2-metilbut-3-in-2-ol (12d)³⁸



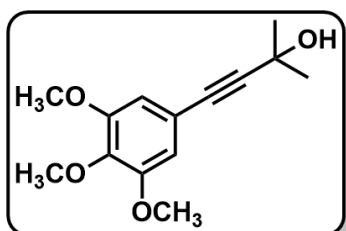
Rendimento: 83%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 1.61 (s, 6H), 2.14 (sl, 1H), 3.77 (s, 6H), 6.43 (t, J 2.3 Hz, 1H), 6.57 (d, J 2.2 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 31.4, 55.4, 65.6, 82.1, 93.3, 101.8, 109.0, 124.0, 160.4.

4-(3,4,5-dimetoxifenil)-2-metilbut-3-in-2-ol (12e)



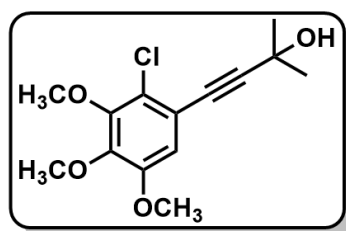
Rendimento: 82%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): Em análise.

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): Em análise.

4-(2-cloro-3,4,5-dimetoxifenil)-2-metilbut-3-in-2-ol (12f)



Rendimento: 79%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 1.61 (s, 6H), 1.88 (sl, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 6.75 (s, 1H).

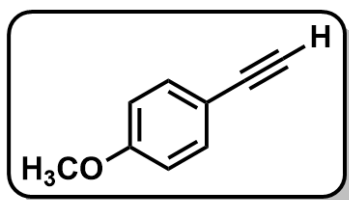
3.3.3 Síntese dos acetilenos terminais 13a-f.

A um balão reacional sob agitação magnética e sistema de refluxo foram adicionados o álcool acetilênico de interesse (1,0 eq), hidróxido de potássio (3,0 eq) e tolueno. O sistema foi mantido sob essas condições por 24 horas. Após esse período o tolueno foi rotaevaporado sob pressão reduzida, a reação foi então extraída com acetato de etila e solução saturada de cloreto de sódio, a fase orgânica foi seca com

sulfato de magnésio, concentrada e o produto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando hexano e acetato de etila como fase móvel.

1-etinil-4-metoxibenzeno (13a)³⁹

Rendimento: 65%.

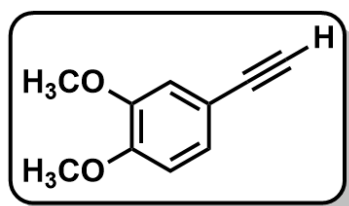


Características físico-químicas: Óleo incolor.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 2,98 (s, 1H); 3,79 (s, 3H); 6,83 (d, *J* 8,9Hz, 2H); 7,41 (d, *J* 8,9 Hz, 2H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,26; 75,74; 83,63; 113,90; 114,12; 133,56; 159,90.

4-etinil-1,2-dimetoxibenzeno (13b)⁴⁰

Rendimento: 85%.

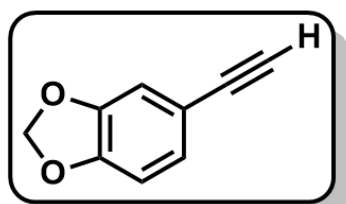


Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 2,95 (s, 1H); 3,82 (s, 3H); 3,83 (s, 3H); 6,74 (d, *J* 8,3 Hz, 1H); 6,93 (d, *J* 1,8 Hz, 1H); 7,05 (dd, *J* 1,8 Hz e *J* 8,2 Hz, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,83; 75,63; 83,72; 110,84; 114,12; 114,61; 125,43; 148,50; 149,79.

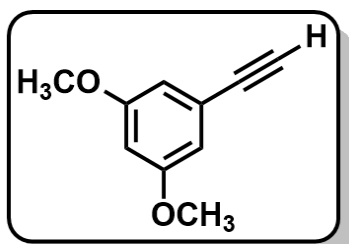
5-etinilbenzo[d][1,3]dioxol (13c)³⁸

Rendimento: 81%.

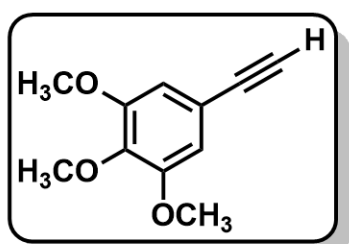


Características físico-químicas: Óleo amarelo.

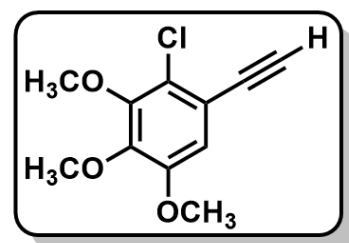
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 2,95 (s, 1H); 5,96 (s, 2H); 6,73 (d, *J* 8,0 Hz, 1H); 6,91 (d, *J* 1,4 Hz, 1H); 7,00 (dd, *J* 1,4 Hz e *J* 7,9 Hz, 1H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 75,50; 83,52; 101,33; 108,40; 112,02; 115,28; 126,87; 147,36; 148,27.

1-etinil-3,5-dimetoxibenzeno (13d)³⁸**Rendimento:** 85%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3.15 (s, 1H), 3.76 (s, 6H), 6.50 (t, J 2.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J 8.0 Hz, 2H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55.4, 76.9, 83.7, 102.3, 110.0, 123.4, 160.6.

5-etinil-1,2,3-trimetoxibenzeno (13e)⁴¹**Rendimento:** 83%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

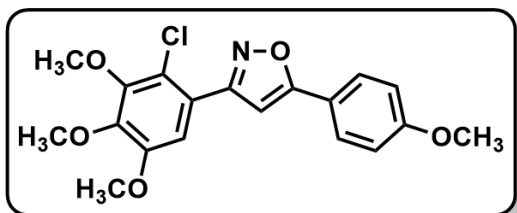
RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 3,01 (s, 1H); 3,83 (s, 3H); 3,87 (s, 6H); 6,71 (s, 2H). **RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** δ 55,99; 60,11; 79,70; 83,71; 109,11; 116,80; 138,64; 152,87.

2-cloro-1-etinil-3,4,5-trimetoxibenzeno (13f)**Rendimento:** 78%.**Características físico-químicas:** Sólido Branco.**RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz):** Em análise.**RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz):** Em análise.**3.4 Síntese dos análogos isoxazólicos 14-23.**

A um balão reacional sob agitação magnética, sob atmosfera inerte de nitrogênio e temperatura ambiente foram adicionados a cloro-oxima de interesse (1,0 eq), o acetileno terminal de interesse (1,1 eq), sulfato de cobre pentahidratado (0,14 eq), ascorbato de sódio (0,36 eq) e bicarbonato de potássio (10 eq) em uma mistura de THF com diclorometano. O sistema foi mantido sob essas condições por 48 horas. Ao final desse período a reação foi extraída com acetato de etila e solução saturada de cloreto de amônio, a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio, concentrada

e o produto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando hexano e acetato de etila como fase móvel.

3-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-5-(4-metoxifenil)-isoxazol (14)

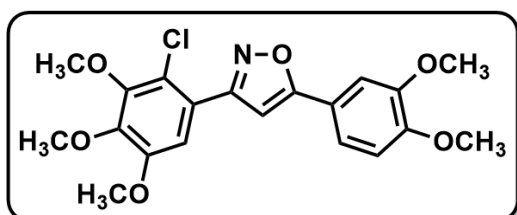


Rendimento: 38%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,84 (s, 3H); 3,88 (s, 3H); 3,97 (s, 6H); 6,85 (s, 1H); 6,97 (d, J 8,81 Hz, 2H); 7,11 (s, 1H); 7,75 (d, J 8,82 Hz, 2H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 55,4; 56,2; 61,3; 99,5; 109,0; 111,6; 114,4; 119,6; 120,2; 123,8; 127,4; 144,5; 150,5; 152,2; 161,1; 161,5; 169,7.

3-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-5-(3,4-dimetoxifenil)-isoxazol (15)



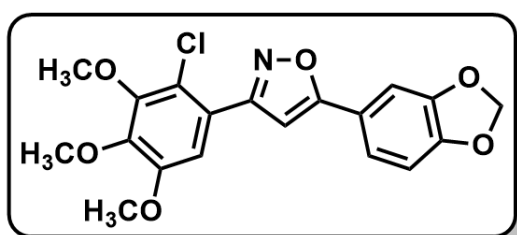
Rendimento: 67%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): Em análise.

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): Em análise.

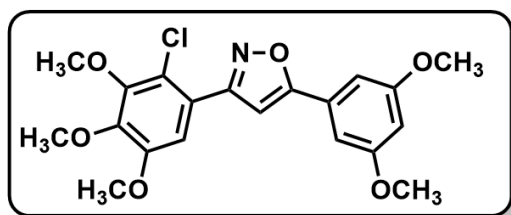
5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazol (16)



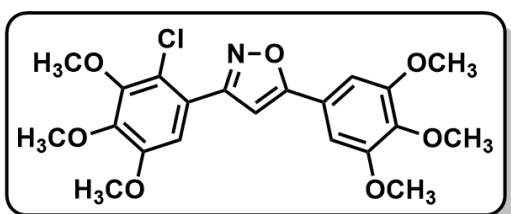
Rendimento: 63%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

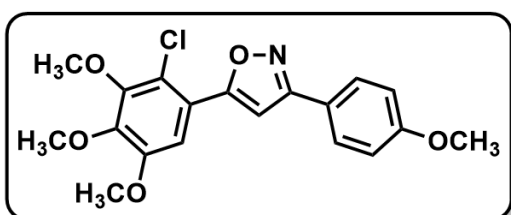
RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,88 (s, 3H); 3,93 (s, 6H); 6,03 (s, 2H); 6,85 (s, 1H); 6,89 (d, J 8,09 Hz, 1H); 7,11 (s, 1H); 7,27 (d, J 1,53 Hz, 1H); 7,35 (dd, J 1,53 Hz e J 8,23 Hz, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** Em análise.

3-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-5-(3,5-dimetoxifenil)-isoxazol (17)**Rendimento:** 34%**Características físico-químicas:** Sólido branco.

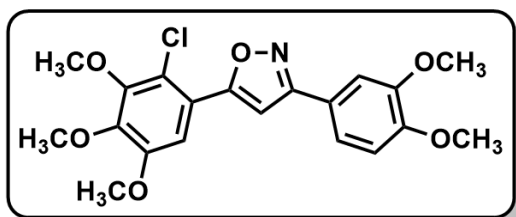
RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,84 (s, 6H); 3,89 (s, 3H); 3,93 (s, 6H); 6,53 (s, 1H); 6,96 (s, 3H); 7,11 (s, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 55,6; 56,3; 61,2; 101,3; 102,5; 103,9; 109,0; 119,6; 123,6; 128,9; 144,6; 150,5; 152,3; 161,2; 161,6; 169,6.

3-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-5-(3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazol (18)**Rendimento:** 26%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

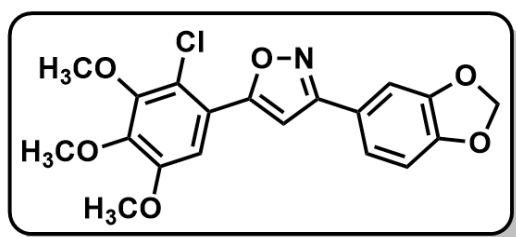
RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,88 (s, 3H); 3,89 (s, 3H); 3,92 (s, 12H); 6,91 (s, 1H); 7,03 (s, 2H); 7,11 (s, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 56,2; 56,3; 61,0; 61,2; 100,6; 103,2; 109,0; 119,5; 122,8; 123,6; 139,9; 144,6; 150,5; 152,3; 153,7; 161,7; 169,5.

5-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-3-(4-metoxifenil)-isoxazol (19)**Rendimento:** 51%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

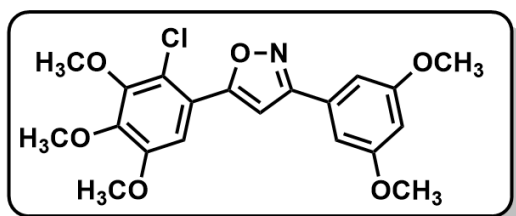
RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,85 (s, 3H); 3,92 (s, 3H); 3,93 (s, 6H); 3,94 (s, 3H); 6,98 (d, J 8,78 Hz, 2H); 7,18 (s, 1H); 7,31 (s, 1H); 7,80 (d, J 8,38 Hz, 2H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 55,4; 56,3; 61,2; 61,2; 101,9; 107,4; 114,3; 118,7; 121,6; 121,7; 128,3; 144,7; 150,6; 152,3; 161,1; 162,7; 166,2.

5-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-3-(3,4-dimetoxifenil)-isoxazol (20)**Rendimento:** 49%**Características físico-químicas:** Sólido branco.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,92 (s, 6H); 3,93 (s, 3H); 3,94 (s, 3H); 3,96 (s, 3H); 6,93 (d, J 8,28 Hz, 1H); 7,18 (s, 1H); 7,30 (s, 1H), 7,37 (dd, J 1,66 Hz e J 8,33 Hz, 1H), 7,45 (d, J 1,59 Hz, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 56,0; 56,0; 56,3; 61,2; 61,2; 102,0; 107,4; 109,4; 111,1; 118,7; 120,0; 121,6; 121,7; 144,7; 149,3; 150,6; 150,7; 152,3; 162,8; 166,3.

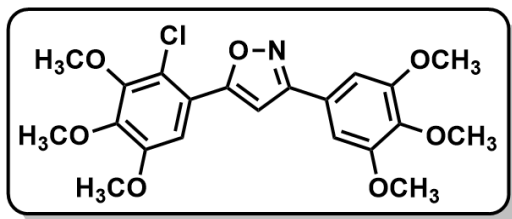
3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazol (21)**Rendimento:** 52%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,92 (s, 3H); 3,93 (s, H); 3,94 (s, 3H); 6,02 (s, 2H); 6,89 (d, J 8,05 Hz, 1H); 7,15 (s, 1H); 7,30 (s, 1H); 7,34 (dd, J 1,45 Hz e J 8,21 Hz, 1H); 7,37 (s, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 56,3; 61,2; 61,3; 100,0; 101,5; 102,0; 107,0; 107,3; 108,6; 121,3; 121,6; 123,0; 144,7; 148,3; 149,2; 150,6; 152,3; 162,7; 166,3.

5-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-3-(3,5-dimetoxifenil)-isoxazol (22)**Rendimento:** 63%.**Características físico-químicas:** Sólido branco.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,84 (s, 6H); 3,92 (s, 3H); 3,93 (s, 3H); 3,94 (s, 3H); 6,54 (t, J 2,16 Hz, 1H); 7,00 (d, J 2,18 Hz, 2H); 7,19 (s, 1H); 7,30 (s, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 55,5; 56,3; 61,2; 61,3; 102,3; 102,3; 104,9; 107,4; 118,8; 121,6; 130,8; 144,8; 150,6; 152,3; 161,2; 163,0; 166,5.

5-(2-cloro-3,4,5-trimetoxifenil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazol (23)



Rendimento: 73%.

Características físico-químicas: Sólido branco.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 3,88 (s, 3H); 3,92 (s, 6H); 3,93 (s, 6H); 3,94 (s, 3H); 7,07 (s, 2H); 7,17 (s, 1H); 7,31 (s, 1H). **RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz):** δ 56,3; 56,4; 61,0; 61,2; 102,1; 104,2; 107,4; 118,7; 121,5; 124,5; 139,8; 144,8; 150,6; 152,4; 153,7; 163,0; 166,5.

3.5 Parasitos e animais

Leishmania (Leishmania) amazonensis (IFLA/BR/1967/PH8) foram rotineiramente isoladas das lesões de camundongos BALB/c e mantidas *in vitro* como formas promastigotas a 26 °C em meio de cultura Schneider (Sigma-Aldrich®) suplementado com 20% de soro fetal bovino (SFB, Sigma-Aldrich®), 10,000 U/ml (Sigma-Aldrich®) penicilina e 10 mg/mL estreptomicina (Sigma-Aldrich®) até o máximo de vinte passagens seriadas de cultura. Parasitos em fase exponencial de crescimento foram utilizados no experimento com formas promastigotas.

3.6 Animais

Camundongos BALB/c fêmeas (4-5 semanas) foram obtidos do Biotério Central (CCBS/UFMS) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Campo Grande, MS, Brasil). Os animais apresentavam boas condições de saúde e livres de patógenos comuns aos roedores. Foram mantidos em mini-isoladores acoplados a rack ventilado (Alesco®), em boas condições de higiene, a 25°C±1°C, com ciclos de 12 horas claro/escuro, sendo alimentados com ração balanceada comercial (Nuvital®) e hidratados com água *ad libitum*. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Experimentação animal da UFMS (Protocolo 1.071/2019).

3.7 Atividade *in vitro* contra formas promastigotas de *L. amazonensis*

Em microplacas de 96 poços, formas promastigotas (2×10^5 parasitos/poço) em fase log de crescimento em meio de cultura Schneider (Sigma-Aldrich®) suplementado com 20% de soro fetal bovino (Sigma-Aldrich®), 10.000 unidades/ml de penicilina e 10 mg/ml de estreptomicina (Sigma-Aldrich®), foram incubadas com diferentes concentrações dos compostos isoxazólicos clorados (0,78-50,0 µg/ml) em quintuplicata. Pentamidina (Sigma-Aldrich®; 12,5-0,19 µg/ml) e anfotericina B (1,0µg/ml- 0,015µg/ml) foram utilizadas como fármaco de referência, e o meio de cultura Schneider com DMSO (Sigma-Aldrich®) como controle negativo. As microplacas foram incubadas a 26 °C em 5% CO₂ por 72 h. A viabilidade celular foi determinada por meio da adição de MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrasódio] (Sigma-Aldrich®; 5 mg/ml). As placas foram incubadas a 37 °C, 5% CO₂ por 4 h e, em seguida, a absorbância estimada em espectrofotômetro (Molecular

Devices, Spectra Max Plus), com densidade óptica medida em comprimento de onda de 570 nm. A atividade das amostras foi expressa através da concentração inibitória de 50% do crescimento (CI_{50}), calculada pelo Programa GraphPad Prisma 8.0 (GraphPad Software®, San Diego, CA, USA) por meio de curva de regressão não linear.¹⁸

3.8 Citotoxicidade *in vitro* com macrófagos peritoneais

Os macrófagos peritoneais foram obtidos de camundongos BALB/c eutanasiados após anestesia inalatória com isoflurano através de deslocamento cervical. Após assepsia do abdômen, foram injetados, na cavidade peritoneal, 10 ml de meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich®) contendo 10.000 unidades/ml de penicilina e 10 mg/ml de estreptomicina (Sigma-Aldrich®). Após massagem da área abdominal, o líquido foi aspirado e transferido para tubos mantidos em gelo. Os macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c (1×10^6 células/ml) em meio de cultura RPMI 1640 (Sigma-Aldrich®) suplementado com 1% de SFB (Sigma-Aldrich®) foram adicionados em microplacas de 96 poços, em quintuplicata, após quantificação em câmara de Neubauer. As microplacas foram incubadas por 24 horas a 36 °C em atmosfera de 5% CO₂ para a aderência, que foi confirmada com o auxílio de microscópio invertido. Após aderidos, os macrófagos foram tratados com os análogos isoxazólicos clorados (250,0µg/ml – 3,9µg/ml) e incubados a 35 °C/5% CO₂ por 48 horas. A viabilidade celular foi analisada pelo método com MTT. A doxorrubicina (Sigma-Aldrich®) foi utilizada como controle de morte nas concentrações de 250,0- 1,56 – µg/ml; DMSO (Sigma-Aldrich®) utilizado como controle negativo; Anfotericina B e pentamidina (Sigma-Aldrich®) foram utilizadas como fármacos de referência (250,0µg/ml – 3,9µg/ml). A concentração inibitória para o crescimento celular de 50% (CC_{50}) foi calculada utilizando curva de dose resposta de regressão sigmoideal no programa GraphPad Prisma 8.0 software (GraphPad Software®, San Diego, CA, USA).¹⁹

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parte química.

Os produtos finais foram obtidos com rendimentos entre 33 e 83%

4.1.1 Síntese dos precursores clorados.

Para a obtenção dos materiais de partida, várias metodologias com vários mecanismos foram pesquisadas. Para sintetizar os precursores clorados foi seguida uma metodologia utilizando NCS para fornecer o cloro reativo, contudo o cloro gerado pelo NCS é carregado positivamente o que o torna mais reativo que o normal, fazendo com que ele fosse atacado por ambas posições *orto* no aldeído trimetoxilado, gerando um substituinte diclorado.¹⁸

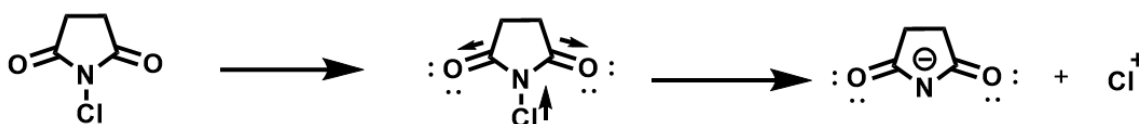


Figura 8: mecanismo de liberação de cátion cloro.

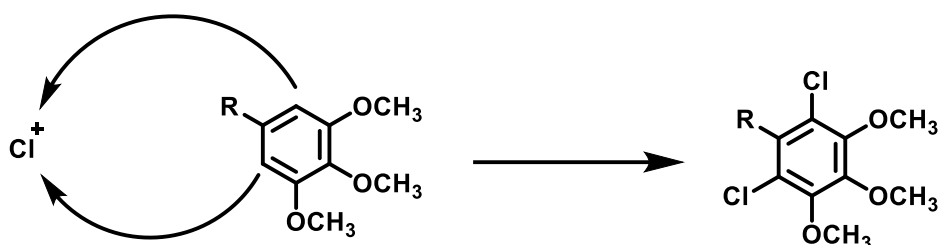


Figura 9: mecanismo de dupla cloração do anel trimetoxilado.

Pelo fato do cloro ser um átomo muito eletronegativo, ele se torna um cátion reativo, por esse motivo ele é facilmente atacado por qualquer concentração de elétrons presente no meio, visto que ele se torna um eletrófilo ávido por carga negativa. Esse problema é solucionado ao realizar a reação com meio equivalente de sílica, pois as hidroxilas ancoradas na sílica fornecem uma certa estabilidade provisória ao cloro, estabilizando o cátion formado, impedindo que ele reaja rapidamente com o mesmo anel trimetoxilado e adicionando o NCS por porções e de forma gradual, isso reduz a concentração de cloro reativo na solução, facilitando para que o cloro reaja com somente uma posição *orto* do mesmo anel.

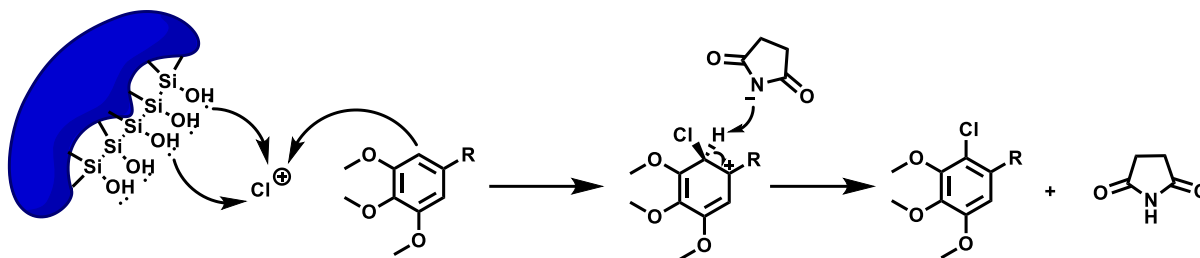


Figura 10: mecanismo de estabilização do cloro reativo pela sílica e formação dos precursores clorados através de substituição eletrofílica aromática.

A formação destes precursores clorados pode ser evidenciada pela variação do sinal do hidrogênio *orto* do anel trimetoxilado tanto no caso do iodobenzeno quanto no benzaldeído, que se encontra mais protegido devido a inserção de um grupo retirador de elétrons por indução na posição *meta* ao hidrogênio, bem como pela integral do sinal em aromático que no não clorado se refere a dois hidrogênios e no precursor clorado, o sinal integra para um hidrogênio apenas.

4.1.2 Síntese das aldoximas.

Para a conversão dos benzaldeídos em aldoximas foi utilizada uma metodologia já bem descrita na literatura e aperfeiçoada pelo grupo de pesquisa LASQUIM-UFMS, onde através de cloridrato de hidroxilamina em meio básico utilizando uma mistura de solventes polares próticos, água e etanol, o par de elétrons do nitrogênio ataca o carbono carbonílico, levemente positivo, gerando um intermediário, com uma carga positiva no nitrogênio e uma negativa no oxigênio ligado diretamente ao carbono carbonílico. Este oxigênio ataca um dos hidrogênios ligados ao nitrogênio, formando um grupo hidroxila e restabelecendo o par de elétrons livres do nitrogênio. O par de elétrons do nitrogênio, presente em um de seus orbitais *p* puros, interage com um outro orbital *p* puro do carbono carbonílico que é liberado com a expulsão do grupo hidroxila na forma de íon hidroxila, formando a ligação dupla carbono-nitrogênio. Em seguida o íon hidroxila formado sequestra o último hidrogênio do nitrogênio restabelecendo sua neutralidade e formando, assim, as aldoximas de interesse.⁴²

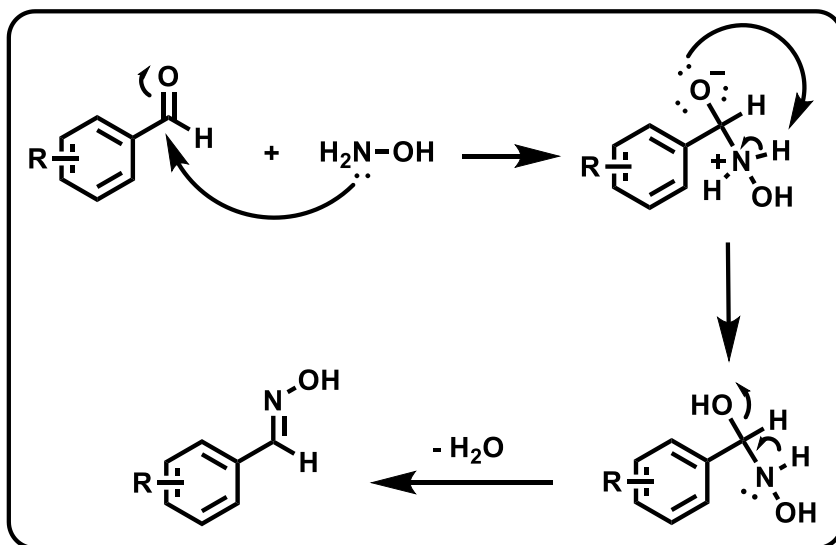


Figura 11: mecanismo de síntese das aldoximas de interesse 5a-f.

A conversão dos aldeídos em aldoximas pode ser evidenciada em RMN ^1H através do surgimento do sinal-chave em 8 ppm referente ao hidrogênio da aldoxima.

4.1.3 Síntese das benzonitrilas.

Neste ponto a rota sofre um pequeno desvio, pois os compostos trimetoxilados, devido ao somatório de efeitos ativantes do anel devido às três metoxilas presentes, força o cloro a atacar o anel aromático, gerando um substituinte clorado ou diclorado, a depender das equivalências de reagentes utilizadas. Diante disso, uma nova rota foi planejada onde houve a necessidade de passar por mais duas etapas para então ser convertida em cloro-oxima. A primeira dessas etapas é a conversão da aldoxima em nitrila via desidratação com anidrido acético onde o par de elétrons da hidroxila ataca um dos carbonos carbonílicos do anidrido, gerando uma lise na ligação carbono-oxigênio central, restando o intermediário formado, que sequestra o hidrogênio da aldoxima deixando um par de elétrons livres para formar a ligação tripla, forçando a expulsão da hidroxila da estrutura e gerando a nitrila do trimetoxi clorado e ácido acético.⁴³

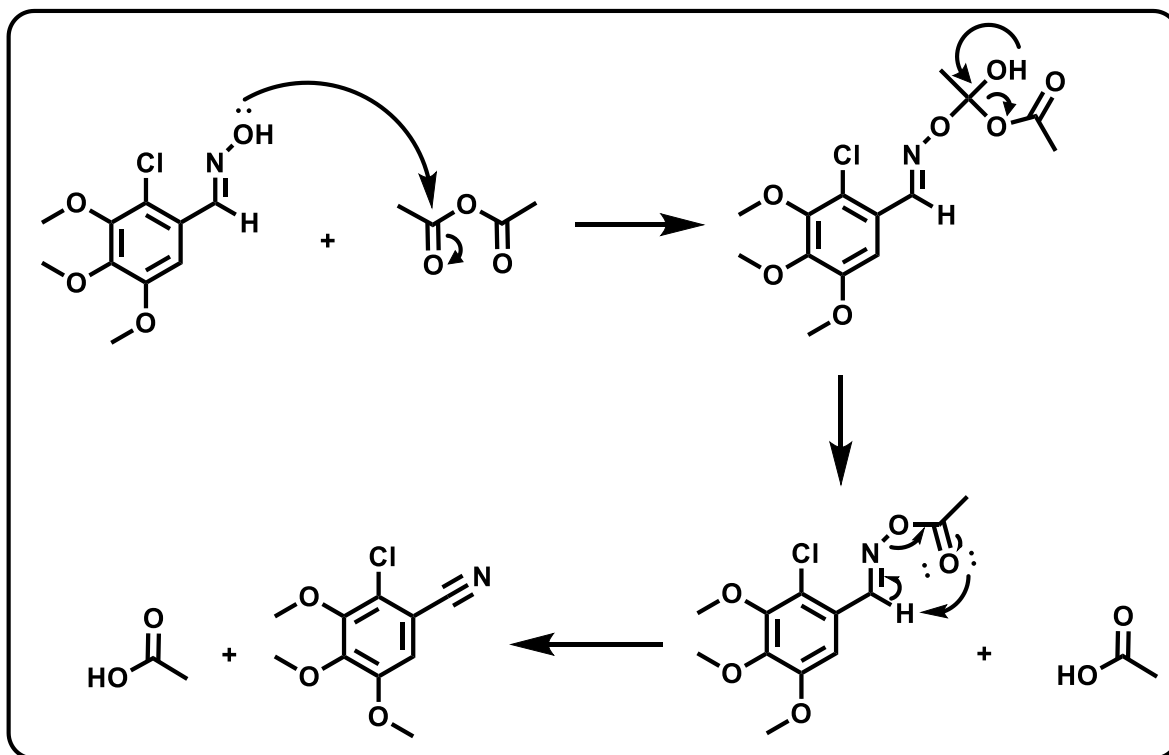


Figura 12: mecanismo da desidratação da aldoxima do trimetoxi clorado em nitrila.

A conversão pode ser evidenciada por RMN ¹H através do desaparecimento do sinal do hidrogênio ligado ao carbono não aromático presente na aldoxima.

4.1.4 Síntese das benzamidoximas.

Para converter a nitrila em amidoxima, foi utilizado o mesmo fundamento da produção da aldoxima, uma reação de adição nucleofílica onde a hidroxilamina utilizada ataca o carbono alquínico gerando um intermediário com um íon nitrogênio carregado positivamente e outro negativamente. O nitrogênio negativo sequestra um hidrogênio do nitrogênio positivo, restabelecendo sua neutralidade e par de elétrons livres, enquanto que o nitrogênio outrora positivo, agora possui seu par de elétrons novamente. Em sequência, o nitrogênio do cianeto sequestra mais um hidrogênio do nitrogênio da hidroxilamina, o par de elétrons da dupla ligação vai para o nitrogênio sequestrador, para ocupar o orbital p vazio novamente, o par de elétrons do nitrogênio que teve seu hidrogênio sequestrado forma uma ligação π com o orbital p agora desocupado do carbono, e o par de elétrons da ligação nitrogênio-hidrogênio volta ao orbital do nitrogênio para restabelecer seu par de elétrons livres.⁴⁴

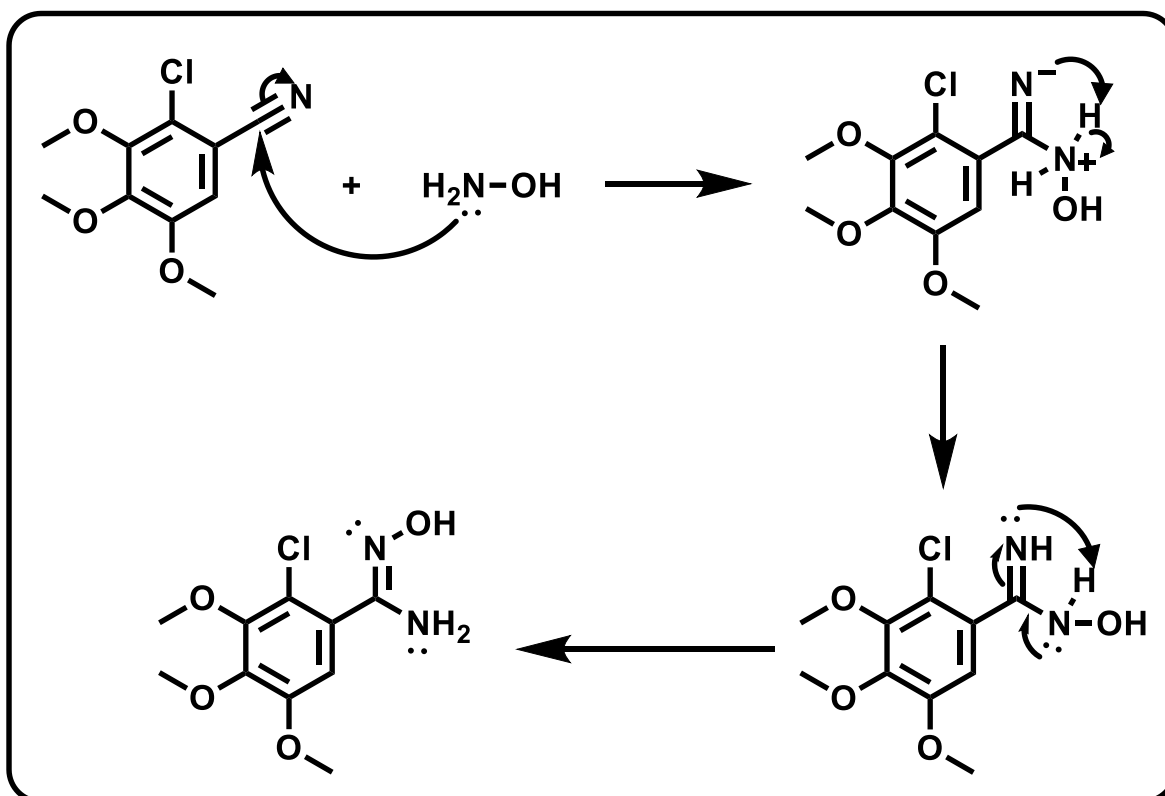


Figura 13: mecanismo de síntese da amidoxima do trimetoxi clorado.

A formação das amidoximas pode ser evidenciada através de RMN ^1H onde é possível visualizar o aparecimento dos hidrogênios da amina.

4.1.5 Síntese das clorooximas a partir das amidoximas.

Para converter a amidoxima em clorooxima foi utilizada uma metodologia que utiliza íon nitrito em meio ácido para gerar ácido nitroso *in situ*, este ácido, por sua vez, captura outro próton do meio formando água e um íon nitrozônio. Esse íon nitrozônio é atacado pelo par elétrons do carbono carbonílico gerando uma nitrosamina. A nitrosamina sofre diversas modificações intramoleculares até formar um sal de diazônio. Este sal é atacado pelo íon cloreto liberado da dissociação do HCl , formando a clorooxima e liberando gás nitrogênio.⁴⁵

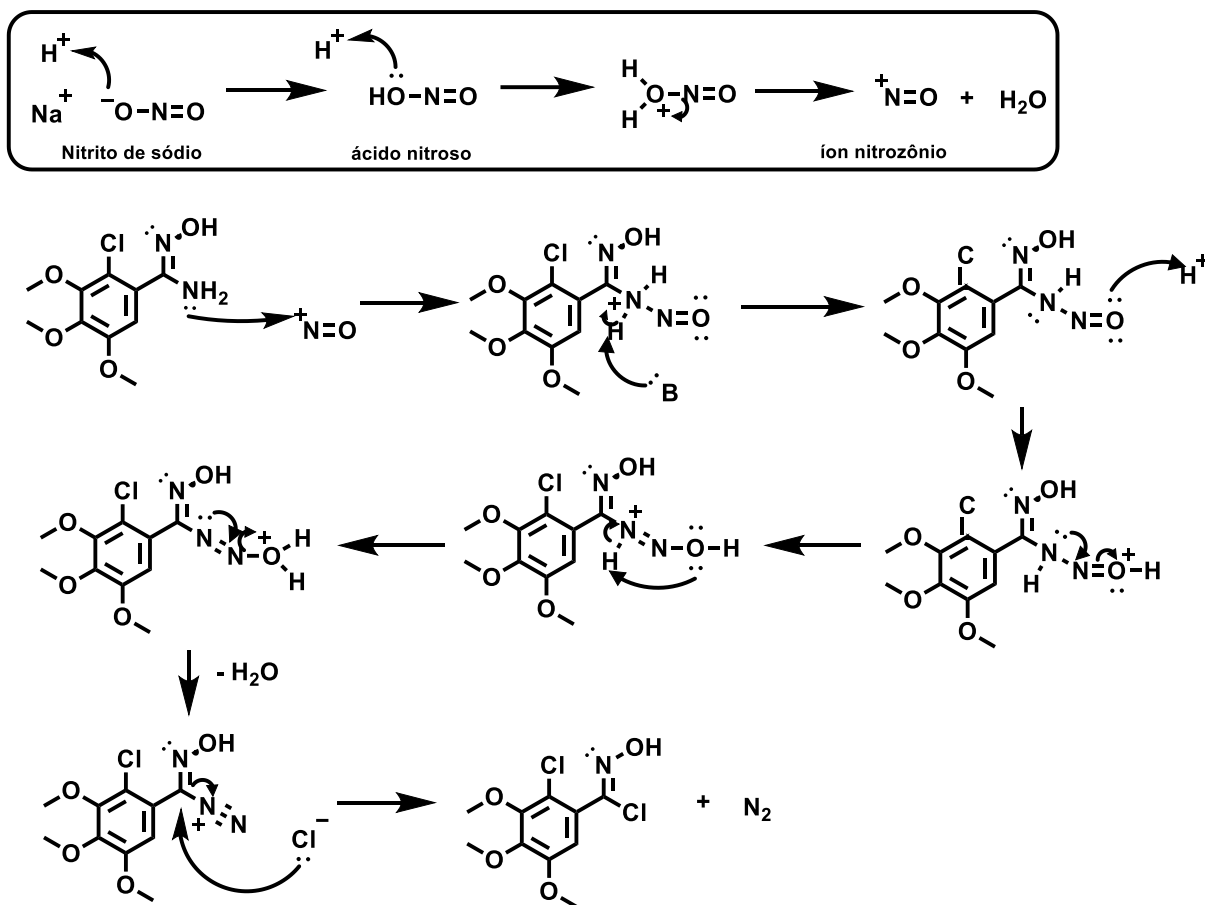


Figura 14: mecanismo de síntese da cloro-oxima do trimetoxi clorado a partir da amidoxima.

A formação da cloro-oxima nessa reação pode ser evidenciada por RMN ^1H através do desaparecimento dos hidrogênios da amina ligada ao carbono carbonílico.

4.1.6 Síntese das cloro-oximas a partir das aldoximas.

Para a conversão das demais aldoximas em cloro-oximas uma metodologia mais direta foi proposta. Utilizando o NCS, o mesmo utilizado na obtenção dos precursores clorados, em DMF sob baixa temperatura a fim de reduzir a reatividade. Onde o cloro positivo é atacado pela região da dupla ligação formando uma ligação com o carbono, porém deixando o nitrogênio carregado positivamente. Nesse momento a succinimida sequestra o hidrogênio, e o par de elétrons da ligação

carbono-hidrogênio restitui a dupla ligação com o nitrogênio, gerando a cloro-oxima de interesse.⁴²

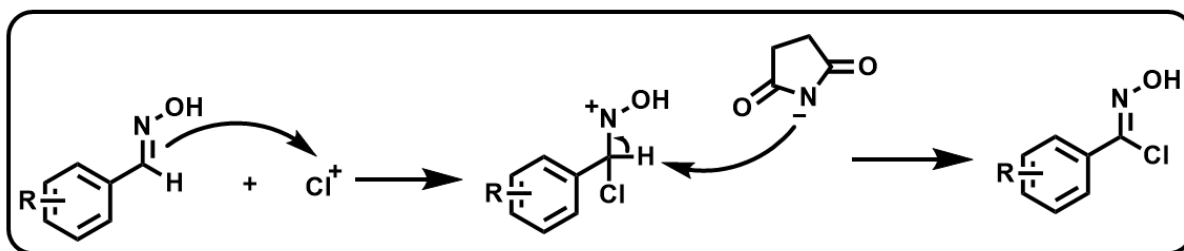


Figura 15: mecanismo de síntese das cloro-oximas via aldoximas.

A conversão das aldoximas em cloro-oximas pode ser evidenciada pelo desaparecimento do sinal do hidrogênio da aldoxima em RMN ^1H .

4.1.7 Síntese dos iodetos de arila.

Para a produção dos haletos de arila foi utilizada uma metodologia de formação do sal de diazônio, análoga à metodologia utilizada para produção das cloro-oximas via amidoximas. Nesse caso, ao invés de utilizar ácido clorídrico, usa-se ácido *p*-tolueno sulfônico, para formar o íon nitrozônio. Após isso o íon reage com a anilina formando a nitrosamina, que sofre sucessivas reações intramoleculares até formar o sal de diazônio, que é estabilizado pela base conjugada do *p*-TsOH. O sal é atacado pelo íon iodeto, que forma o iodeto de arila correspondente e libera gás nitrogênio.⁴⁶

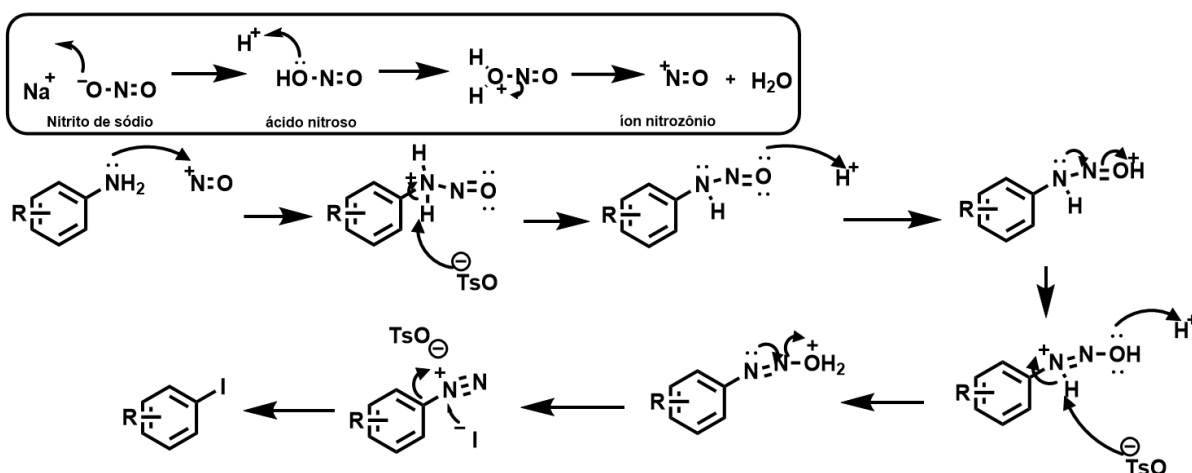


Figura 16: mecanismo de obtenção dos haletos de arila através de anilinas.

A obtenção dos compostos iodados pode ser observada por RMN ^1H através do desaparecimento do sinal dos hidrogênios da amina da anilina.

4.1.8 Síntese do Bromobenzodioxol.

Para a obtenção do bromobenzodioxol, que teve que ser produzido pois o substituinte dioxol tem reatividade insuficiente para ser iodado a partir do benzeno, sendo possível ser iodado a partir da amina, porém esta é muito onerosa, não sendo possível obtê-la para uso no lab. Para alcançar uma regioseletividade de síntese foi utilizado sílica como uma forma de estabilizar a carga positiva do bromo reduzindo sua reatividade, aumentando o rendimento do produto majoritário.⁴⁷

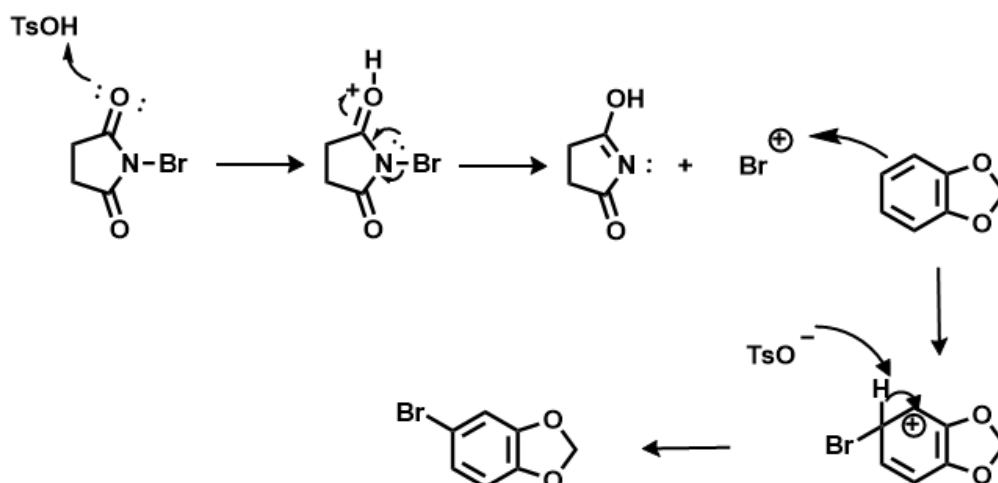


Figura 17: mecanismo de bromação do benzodioxol.

4.1.9 Síntese dos álcoois acetilênicos.

Para a obtenção dos álcoois acetilênicos foi utilizado o procedimento do acoplamento cruzado de sonogashira onde o catalisador dicloreto de paládio II-(bis trifenilfosfina) se adiciona oxidativamente entre a ligação halogênio-anel aromático, esse composto formado reage com um intermediário do acetileno complexado ao cobre, após aquele ter perdido seu hidrogênio acetilênico por um ataque do par de elétrons da trietilamina, através de uma reação de transmetalração, onde o íon cobre

é eliminado e um novo intermediário é gerado com o paládio ligando os dois blocos de construção da estrutura final. Este sofre uma isomerização *trans/cis*, aproximando os elétrons dos orbitais *sp* com os do anel aromático. Em seguida o composto sofre uma eliminação redutiva, eliminando o catalisador de paládio e formando a nova ligação carbono-carbono que dá origem ao álcool acetilênico do anel benzênico com o substituinte de interesse. É bem possível, e já foi relatado em trabalhos anteriores, que para haver a formação do catalisador de Pd⁰, deve haver a formação de um dímero do álcool acetilênico.⁴⁸

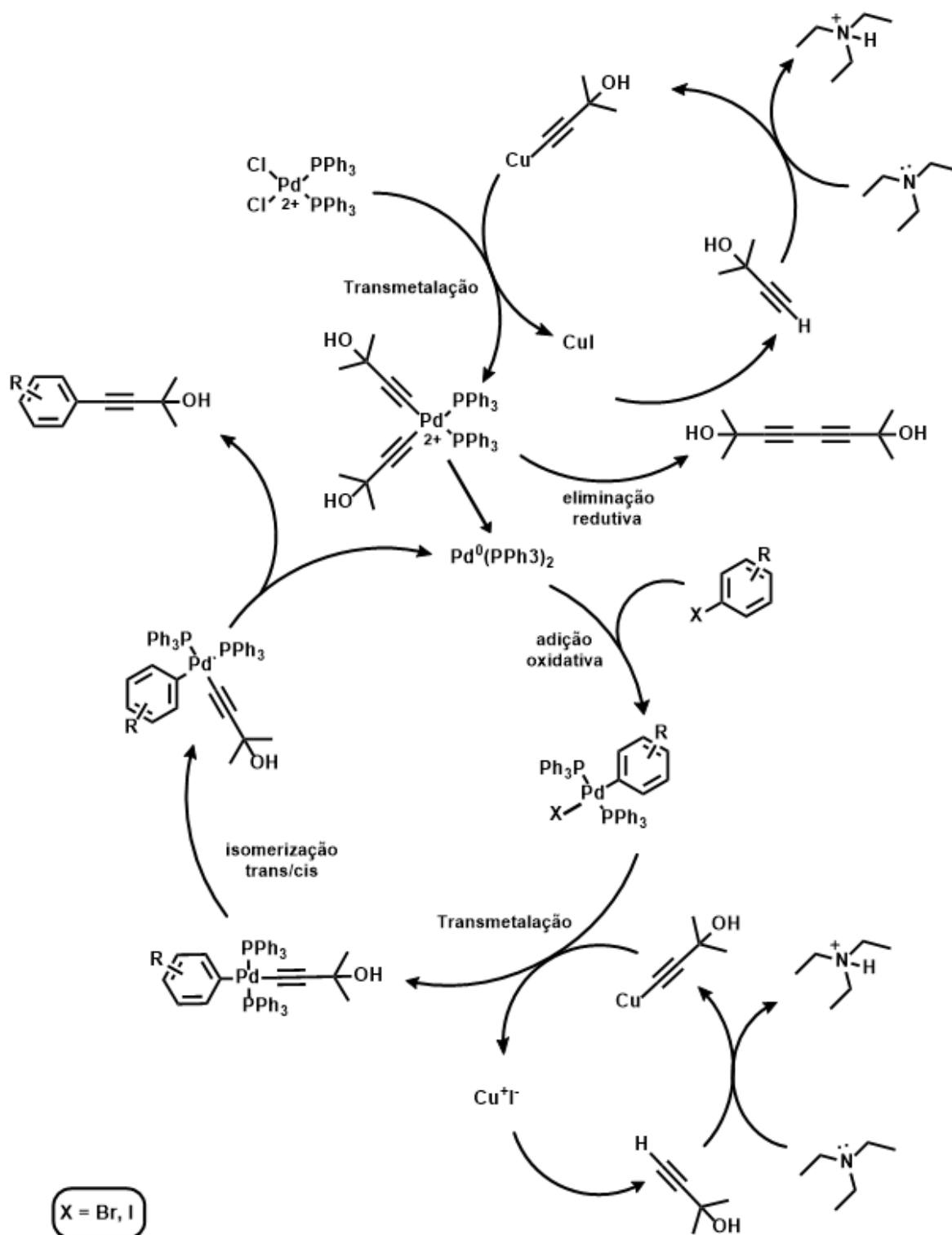


Figura 18: mecanismo da reação do acoplamento cruzado de Sonogashira.

A formação do composto desejado pode ser comprovada por RMN ^1H através do somatório dos sinais dos hidrogênios aromáticos do haleto com o sinal do álcool

presente no álcool acetilênico e o desaparecimento do sinal do hidrogênio acetilênico ao mesmo tempo.

4.1.10 Síntese dos acetilenos terminais.

Para a obtenção dos acetilenos terminais utilizou-se uma metodologia onde, através de um meio fortemente alcalino sob alta temperatura para fornecer energia cinética para a reação, aumentando a quantidade de choques entre as moléculas, aumentando também, dessa forma, a quantidade de choques efetivos que geram a desproteção do álcool acetilênico liberando cetona e formando o acetileto que, sendo fortemente instável, captura um próton do meio para formar o acetileno terminal.⁴⁹

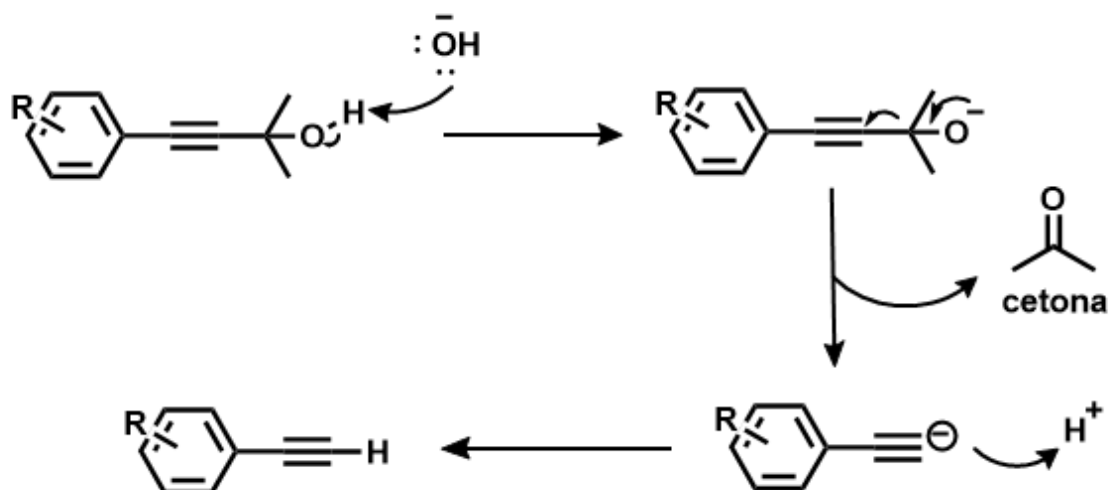


Figura 19: mecanismo de síntese dos acetilenos terminais.

A formação desse composto pode ser evidenciada por RMN 1H através do desaparecimento do sinal do álcool e dos hidrogênios das metilas e surgimento do sinal do hidrogênio acetilênico. Também pode ser visto através do RMN ^{13}C através do desaparecimento dos sinais das metilas e do carbono alcoólico.

4.1.11 Síntese dos compostos isoxazólicos.

Para a obtenção dos análogos isoxazólicos através dos blocos de construção planejados foi utilizada a cicloadição de Huisgen ou cicloadição [1+3]-dipolar onde um dipolarófilo, nesse caso representado pelas clorooximas que, sob as condições da reação formam um íon óxido de nitrila, esse íon se complexa ao cobre ligado a porção terminal do acetileno, esse intermediário passa por uma ciclização onde o par de elétrons do oxigênio ataca o carbono *sp* mais distante do cobre e a ligação tripla se rompe formando duas duplas e um anel hexamérico com o cobre sendo um dos componentes. Logo em seguida o cobre aproxima os orbitais ligados aos carbonos, forçando uma nova ligação carbono-carbono, formando, através dessa contração, um anel pentamérico com o cobre ligado a um dos carbonos da estrutura. Posteriormente esse cobre se desprende deixando o par de elétrons no carbono devido ao efeito de ressonância do anel formado, esse par de elétrons captura um próton do meio, dando origem ao anel isoxazólico e restituindo o catalisador de cobre na reação.¹⁸

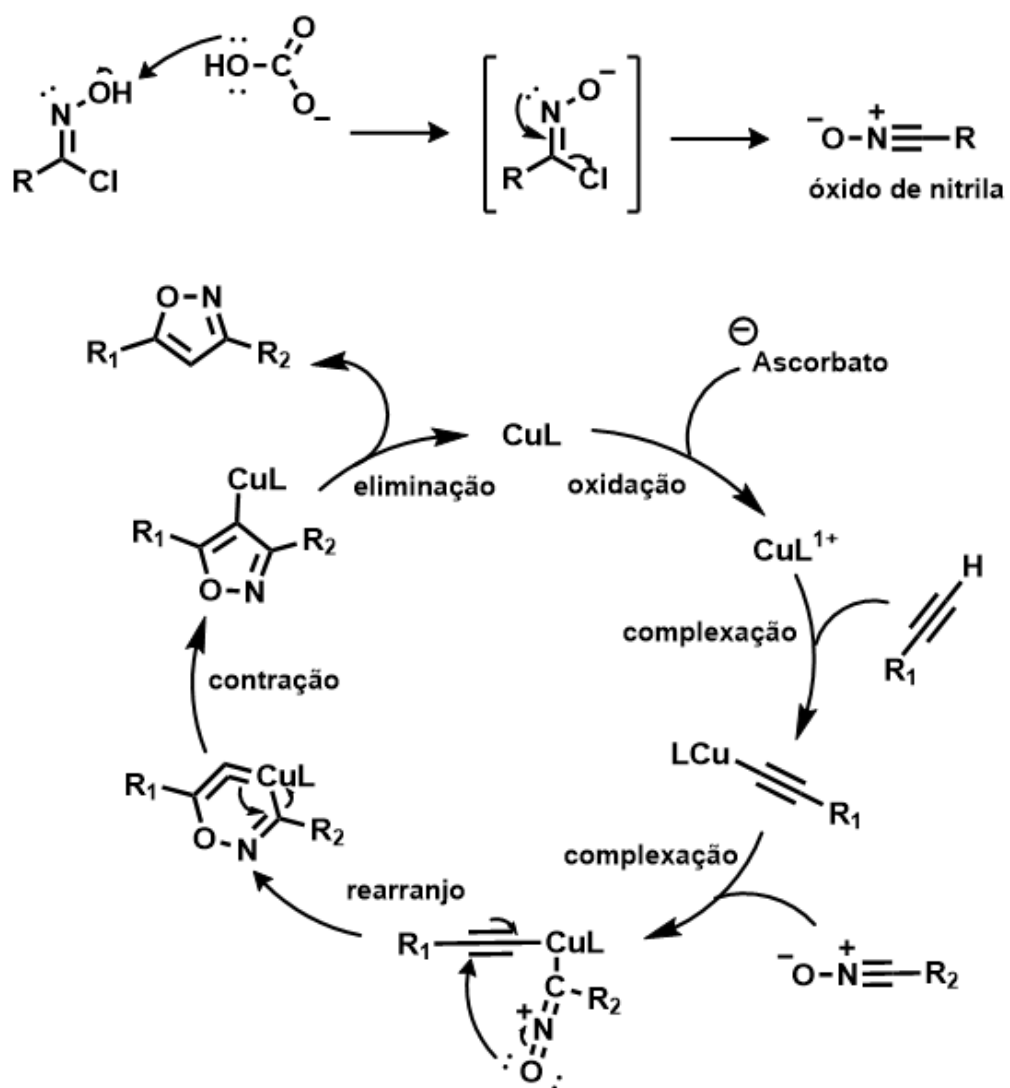


Figura 20: mecanismo de formação do anel isoxazólico.

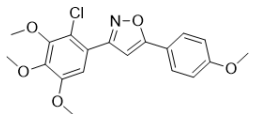
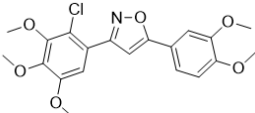
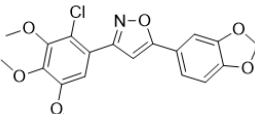
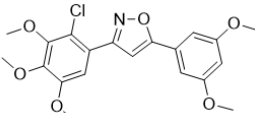
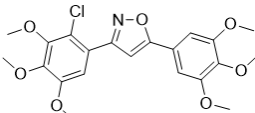
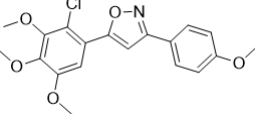
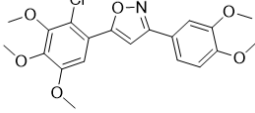
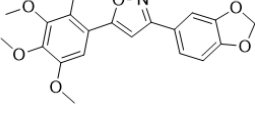
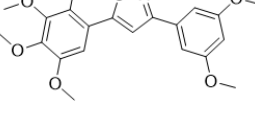
A formação dessas estruturas pode ser evidenciada por RMN ^1H através do surgimento do sinal do hidrogênio do anel isoxazólico, que normalmente cai próximo de 7 ppm, além do desaparecimento do sinal do hidrogênio acetilênico e do sinal da hidroxila da cloro-oxima. Também pode ser evidenciado por RMN ^{13}C através do surgimento dos sinais dos carbonos do anel isoxazólico e desaparecimento dos carbonos acetilênicos.

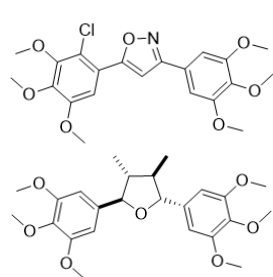
4.2 Parte biológica.

4.2.1 Atividades biológicas obtidas por testes.

As atividades biológicas dos análogos clorados sintetizados, obtidas em parceria com o laboratório de parasitologia da UFMS, estão expressas na tabela a seguir:

Tabela 1. Atividade antileishmania dos análogos isoxazólicos clorados contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais.

Composto	Código	CC ₅₀ ^a	IC ₅₀ ^b	SI ^c
	14	9,6±1,2	9,0±3,5	1,0
	15	26,7±3,8	88,0±6,6	0,3
	16	50,1±1,2	38,1±1,5	1,3
	17	82,6±1,4	31,2±0,7	2,6
	18	7,0±1,5	74,4±4,9	0,1
	19	60,7±3,5	45,8±4,8	1,3
	20	47,2±1,1	91,8±3,7	0,5
	21	33,7±2,6	103,4±3,8	0,3
	22	28,0±2,5	71,5±2,7	0,4



23	2,7±0,8	33,8±1,6	0,07
Grandisina ^d	33,4±1,3	74,5±7,8	0,4
Anfo. B ^e	12,8±0,7	10,4±2,5	1,2
Doxorrubicina ^f	2,4±6,8	Nd	Nd

Atividade antileishmania *in vitro* contra formas promastigotas de *L. amazonensis*, citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c e índice de seletividade (SI) dos análogos isoxazólicos clorados. Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão (DP). Abreviações: CC₅₀= concentração citotóxica para 50% das células; IC₅₀ = concentração inibitória para 50% das células; SI = índice de seletividade; DP= desvio padrão. (a): CC₅₀ em macrófagos murinos peritoneais; (b): IC₅₀ em formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*; (c): SI, IC₅₀ células de mamíferos/ IC₅₀ em formas promastigotas; (d): grandisina sintética; (e): Tratamento com fármacos de referência; (f) controle positivo, doxorrubicina para macrófagos peritoneais. Nd= valores não determinados.

Em comparação com a grandisina, estrutura base para a síntese dos derivados de neolignanas, em apenas 4 casos houve uma melhora significativa no índice de seletividade e na atividade biológica contra as formas do parasito, expressa pela IC₅₀, são estes os compostos **14**, **16**, **17** e **19**. Obtivemos também 5 análogos mais potentes, são eles: **14**, **16**, **17**, **19** e **23**, e 4 menos tóxicos, o **16**, **17**, **19** e **20**. Os compostos **16**, **17** e **19**, são as 3 estruturas mais promissoras da série, seguidas pelas moléculas **14**, **20** e **23**.

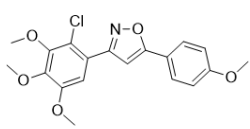
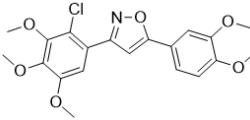
4.2.2 Correlação entre atividade biológica e parâmetros farmacológicos das moléculas.

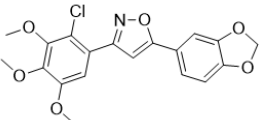
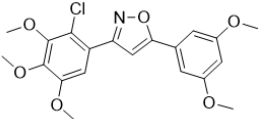
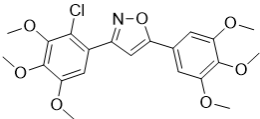
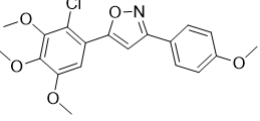
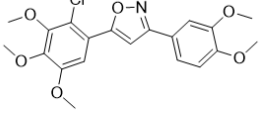
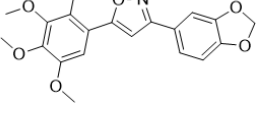
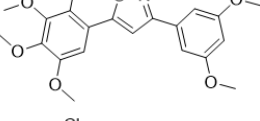
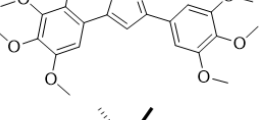
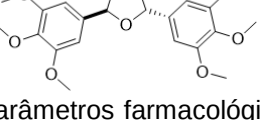
Os parâmetros farmacológicos são uma série de características das estruturas químicas que podem ser usadas para prever se tal estrutura tem propensão a se tornar um fármaco ou não. Esses parâmetros dizem respeito tanto a cinética da estrutura no sistema biológico humano, considerando fatores que auxiliem nas fases farmacocinéticas de administração, distribuição metabolismo e excreção, bem como na fase farmacodinâmica, dando noções sobre a relação estrutura/sítio-alvo e seu encaixe através de interações intermoleculares. Esses parâmetros foram inicialmente propostos por Lipinski e posteriormente ampliados Veber, contudo ainda são conhecidos como a regra dos 5 de Lipinski pois todos os limites para os parâmetros embutidos são múltiplos de 5, são eles: LogP menor ou igual a 5, peso molecular inferior a 500 da, número de aceptores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 10, número de doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5, número de ligações rotacionáveis menor ou igual a 10 e área de superfície polar menor ou igual a 140Å.^{50,51}

Através da análise destes parâmetros para as estruturas sintetizadas neste trabalho podemos traçar um perfil de alterações que podem ter gerado uma melhora ou uma piora na atividade das estruturas planejadas e assim, direcionar trabalhos futuros para estruturas cada vez mais promissoras.

Na tabela a seguir estão relacionadas as estruturas sintetizadas, juntamente com a grandisina e seus respectivos parâmetros de Lipinski obtidos através de modelagem computacional utilizando o programa Molinspiration®.

Tabela 2. Parâmetros farmacológicos da grandisina e dos análogos sintetizados.

	Código	LogP ^a	MW ^b	nON ^c	nOHNH ^d	ASP ^e	Nrotb ^f
	14	4,50	375,81	6	0	62,97	6
	15	4,09	405,83	7	0	72,20	7

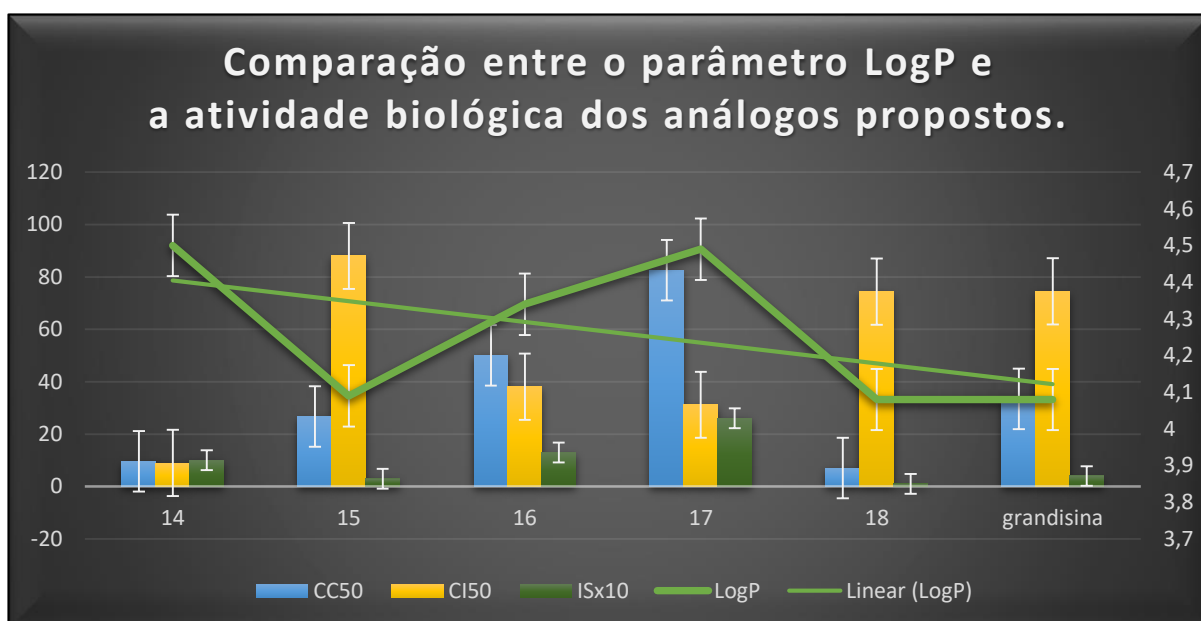
	16	4,34	389,79	7	0	72,20	5
	17	4,49	405,83	7	0	72,20	7
	18	4,08	435,86	8	0	81,44	8
	19	4,50	375,81	6	0	62,97	6
	20	4,09	405,83	7	0	72,20	7
	21	4,34	389,79	7	0	72,20	5
	22	4,49	405,83	7	0	72,20	7
	23	4,08	435,86	8	0	81,44	8
	grandisina	4,08	432,51	7	0	64,64	8

Parâmetros farmacológicos das estruturas sintetizadas e da Grandisina. Todos os parâmetros foram calculados utilizando o software molinspiration®. Lista de abreviações: (a) coeficiente de partição octanol/água; (b) peso molecular; (c) número de aceptores de ligações de hidrogênio; (d) número de receptores de ligações de hidrogênio; (e) área de superfície polar; (f) número de ligações rotacionáveis.

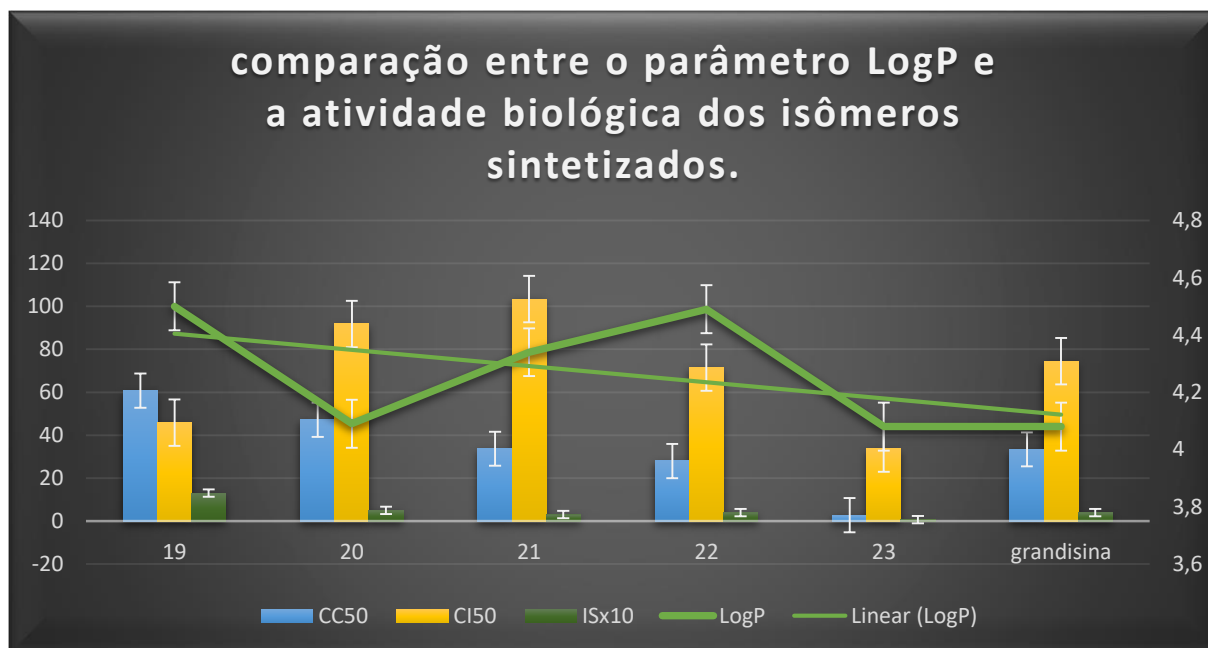
Para facilitar a visualização das relações entre parâmetros e atividades, foram analisados parâmetro a parâmetro comparando com os números das atividades biológicas, primeiro dos análogos propostos e posteriormente dos isômeros sintetizados, para assim obter uma melhor noção de qual parâmetro de Lipinski mais interfere na atividade biológica dos compostos analisados.

Inicialmente foram comparados os números da atividade com o coeficiente de partição octanol/água ou LogP, que diz respeito a lipofilicidade ou hidrofiliicidade da

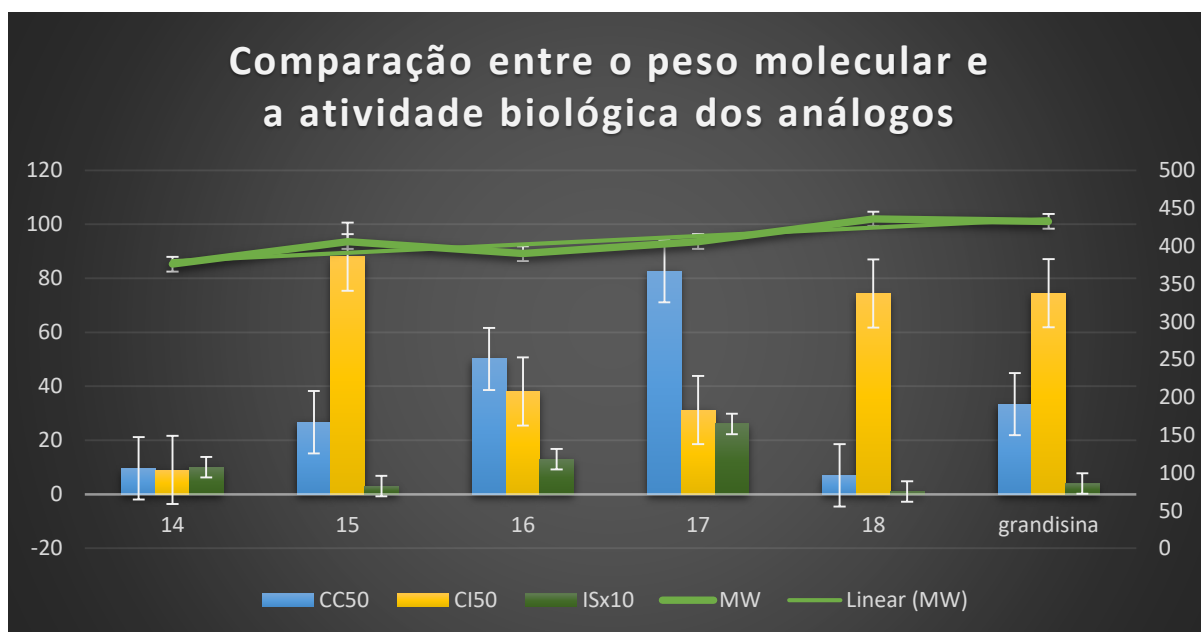
estrutura, influenciando na sua capacidade em transpor barreiras biológicas como membranas celulares e sua preferência por determinados sistemas enzimáticos, mais lipofílicos ou hidrofílicos. Fazendo uma análise gráfica dos parâmetros obtidos foi possível observar que quanto maior o LogP, em comparação com a grandisina, menor era a IC₅₀, ou seja, conforme a lipofilicidade aumentava, a potência da estrutura também aumentava, isso pode ser verificado em todos os 5 análogos. O que nos leva a pensar que o LogP pode ter um papel importante na atividade biológica dos análogos propostos.



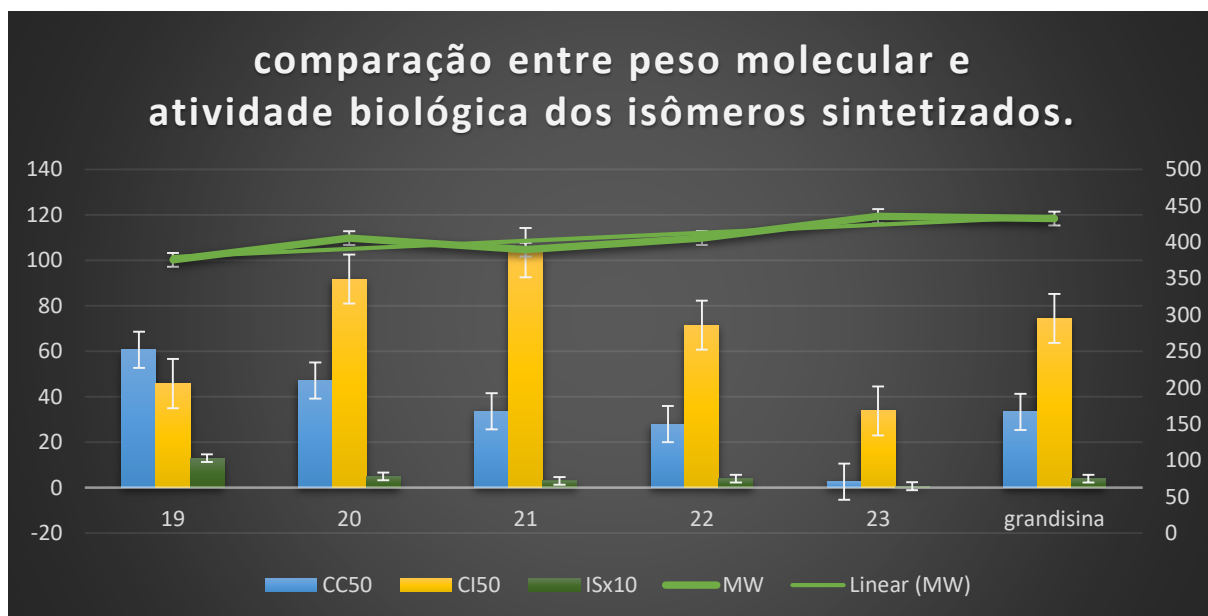
Já nos isômeros de posição a mesma relação não é visualizada uma vez que no caso do composto **21** houve aumento na CI₅₀, ou seja, o composto foi menos potente que a grandisina, e no composto **22** não houve melhoria significativa na potência do composto. Além disso apenas o composto **19** obteve uma melhoria, tanto na potência quanto na seletividade, o que nos leva a crer que o LogP não é determinante para aumento da atividade biológica no caso dos isômeros.



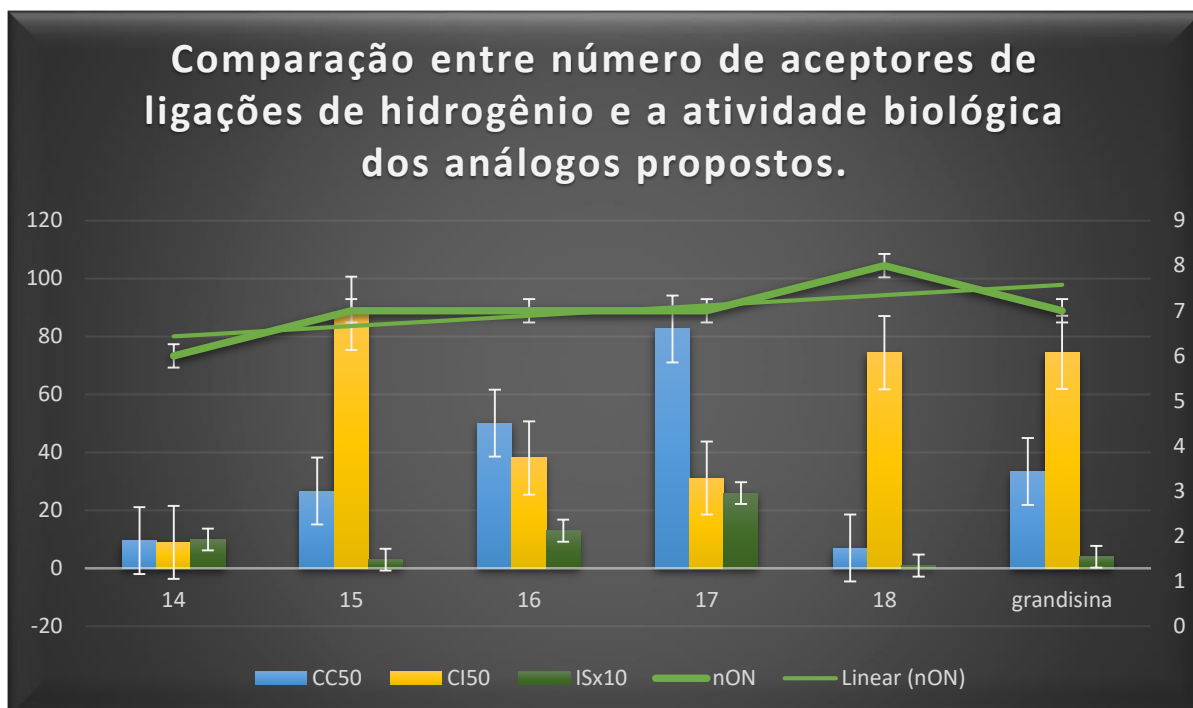
Para o peso molecular foi seguida a mesma lógica, os compostos **15** e **17** possuem valores iguais de massa, contudo suas atividades biológicas são completamente discrepantes, apesar de ambos possuírem duas metoxilas em um dos anéis aromáticos, no composto **15** as metoxilas ocupam as posições 3 e 4 enquanto que no **17** elas ocupam as posições 3 e 5. Uma possível explicação para essa variação na atividade biológica de compostos com parâmetros próximos é de que as metoxilas nas posições 3 e 5 favoreçam estericamente o encaixe da estrutura no sítio de ação.¹⁷



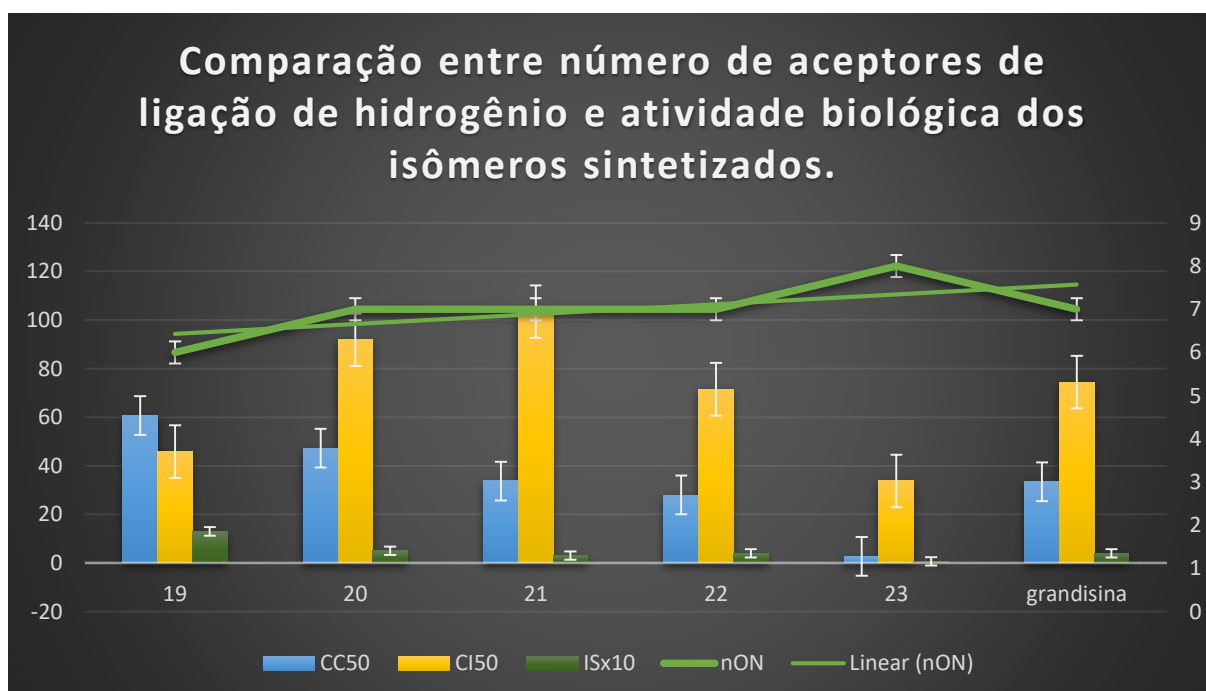
Para os isômeros de posição foi observada a mesma ausência de correlação uma vez que os pesos moleculares são idênticos, mas não há relação aparente entre peso molecular e atividade biológica, provavelmente pelo fato de o peso molecular ser uma característica muito ampla da molécula e eficaz na relação com atividade biológica para casos específicos.⁵⁰



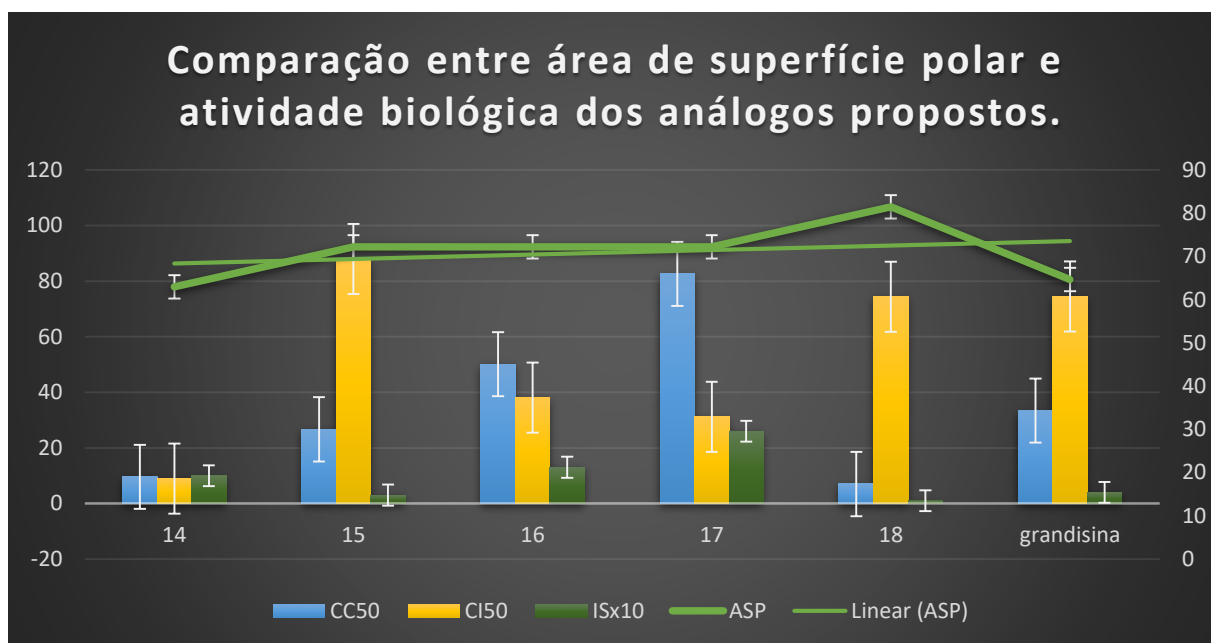
No caso da quantidade de aceptores de ligações de hidrogênio também não é possível ver uma correlação entre a quantidade de aceptores de ligações de hidrogênio e a atividade biológica pois compostos com a mesma quantidade de aceptores da grandisina tiveram atividades aumentadas e outro composto teve atividade reduzida, logo, não há correlação entre clara entre quantidade de aceptores de ligações de hidrogênio e a atividade biológica.



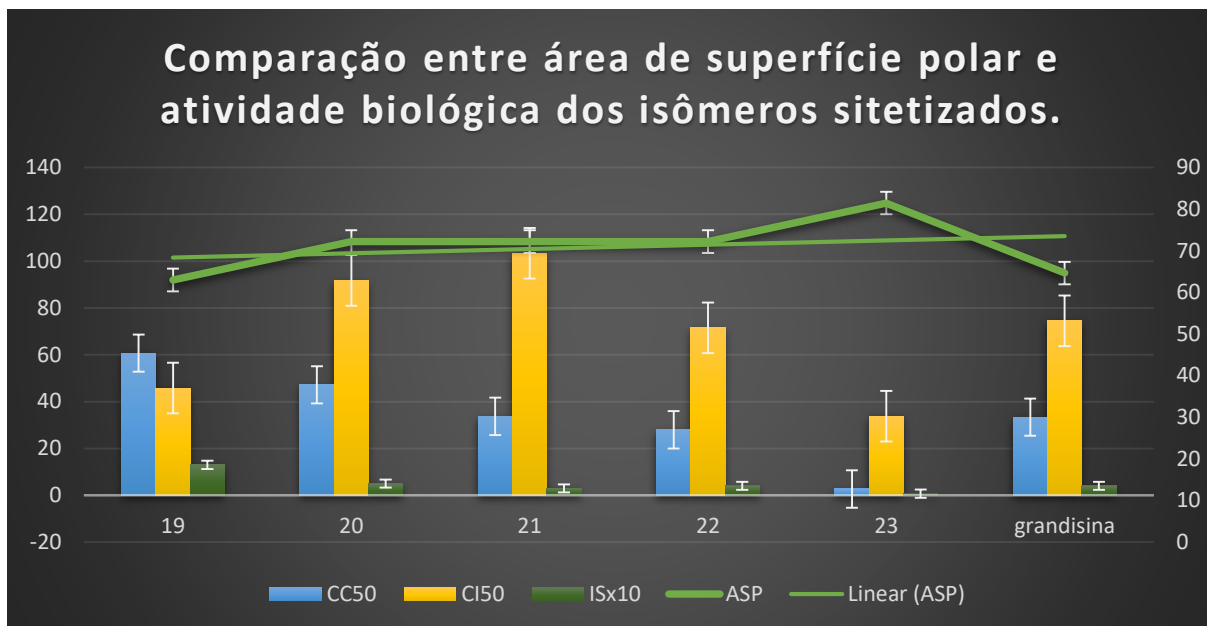
No caso dos isômeros também não foi possível observar nenhuma correlação entre a quantidade de aceptores de ligações de hidrogênio e a atividade biológica dos isômeros propostos pois compostos com a mesma quantidade de aceptores possuem atividades maiores e menores comparadas a atividade da grandisina.



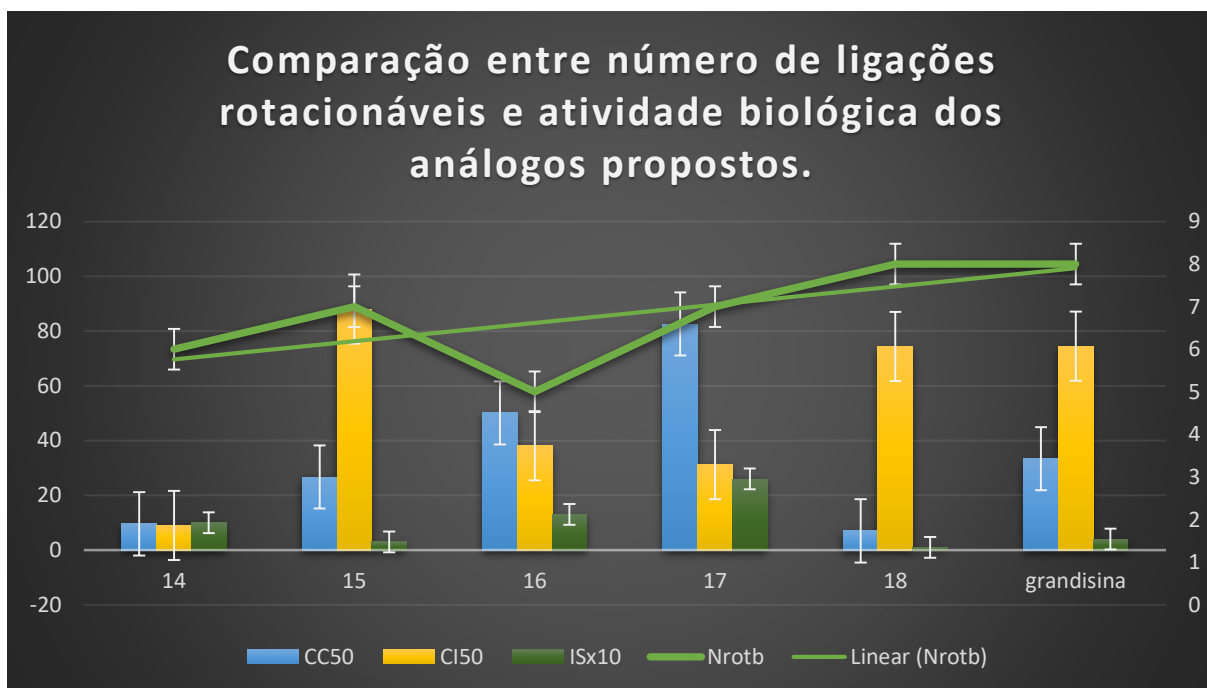
Na questão da área de superfície polar que indica a facilidade de encaixe da estrutura em sistemas enzimáticos ou em receptores específicos, também não foi possível ver uma correlação com a atividade biológica, uma vez que estruturas com áreas de superfície polar muito parecidas tiveram atividades biológicas totalmente discrepantes. Uma explicação para isso pode ser devido a estrutura molecular diferente dos compostos que, mesmo culminando em valores de área de superfície iguais, a estrutura diferente pode ter influenciado o encaixe da molécula no sítio-alvo.



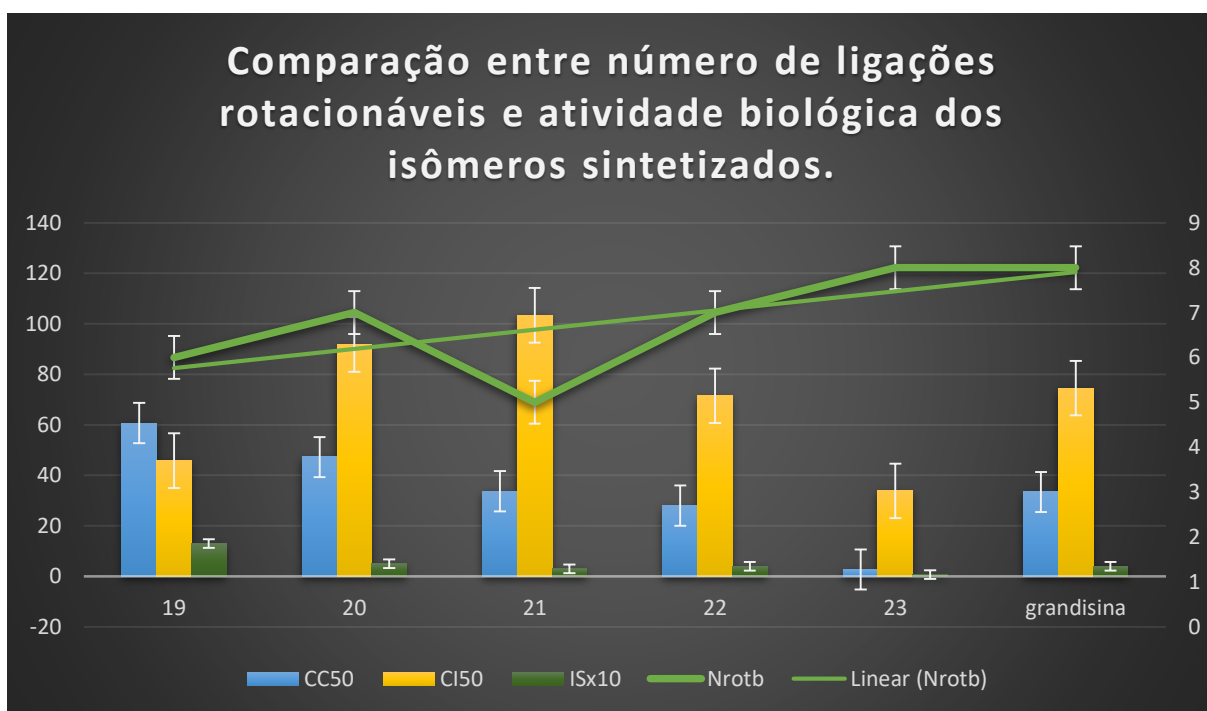
Quanto aos isômeros também não houve padrão de comparação significativo entre área de superfície polar e atividade biológica. Uma vez que o composto com a maior área de superfície apresentou melhoria na atividade e o composto com a menor área também apresentou melhoria na atividade.



Comparando o número de ligações rotacionáveis com a atividade biológica dos análogos propostos, foi possível verificar que a queda no número de ligações melhorou a atividade biológica com exceção de um composto, o composto **15**, que teve uma piora na potência e na seletividade, contudo, seu isômero de posição, o composto **17**, teve uma melhora considerável em todos os parâmetros analisados de atividade. Uma possível explicação para isso é de que apesar de possuírem parâmetros de Lipinski muito próximos, as estruturas são diferentes e é essa diferença estrutural que tem um peso maior no momento da interação da estrutura da molécula sintetizada com o alvo terapêutico.¹⁷



No caso dos isômeros de posição não houve relação clara entre a quantidade de ligações rotacionáveis e a atividade biológica dos isômeros, isso evidencia que o número de ligações rotacionáveis não é um parâmetro determinante para a interação entre os isômeros e os sítios-alvo.



Após a verificação das comparações feitas, conseguimos concluir que os parâmetros de Lipinski, apesar de nos darem bons indícios de qual estrutura seria

promissora como candidata a fármaco, eles não refletem a total realidade das interações das moléculas com os sítios de ligação, uma vez que outros fatores como capacidade de solvatação, interações com receptores específicos e a própria topologia da estrutura molecular do composto planejado podem influenciar muito mais na atividade biológica do que os parâmetros como LogP ou número de doadores de ligação de hidrogênio. Além disso como os análogos propostos são relativamente parecidos entre si estruturalmente, seus parâmetros de Lipinski também seguiram a mesma relação, indicando que estruturas parecidas possuem, muitas vezes, características parecidas de lipofilicidade e solubilidade, porém atividades biológicas bem distintas. Isso nos indica que as variações nas atividades biológicas dos compostos estão mais atreladas a parâmetros estruturais e conformacionais do que aos parâmetros farmacológicos considerados até então, uma evidência disso é o preenchimento espacial diferente de dois compostos o **15** e o **17**, que pelas regras de Lipinski deveriam ter atividades idênticas, porém possuem, dados biológicos extremamente discrepantes entre si.

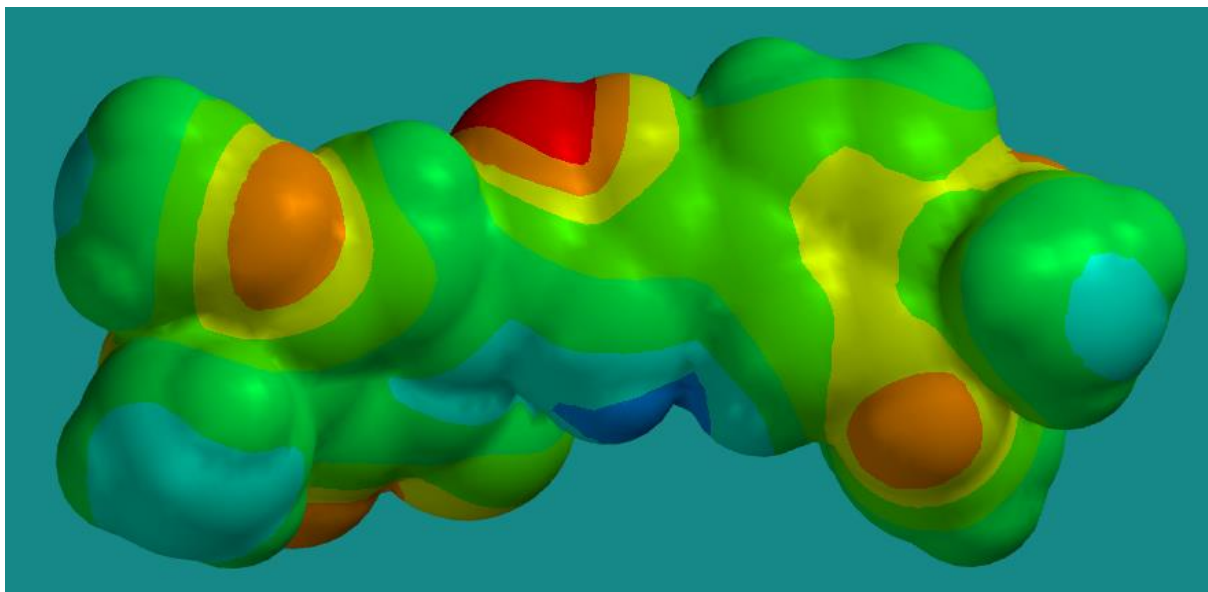


Figura 21: imagem do mapa de potencial eletrostático do composto **15**. Obtido pelo programa Spartan®.

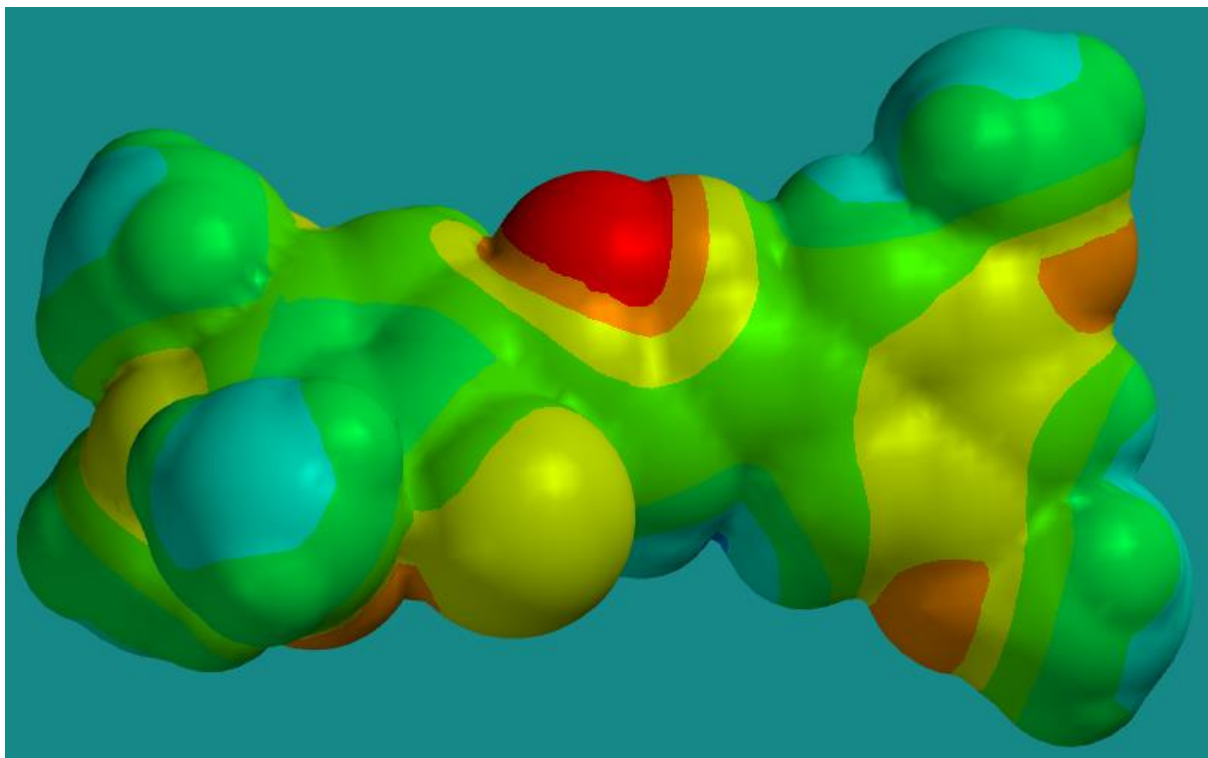
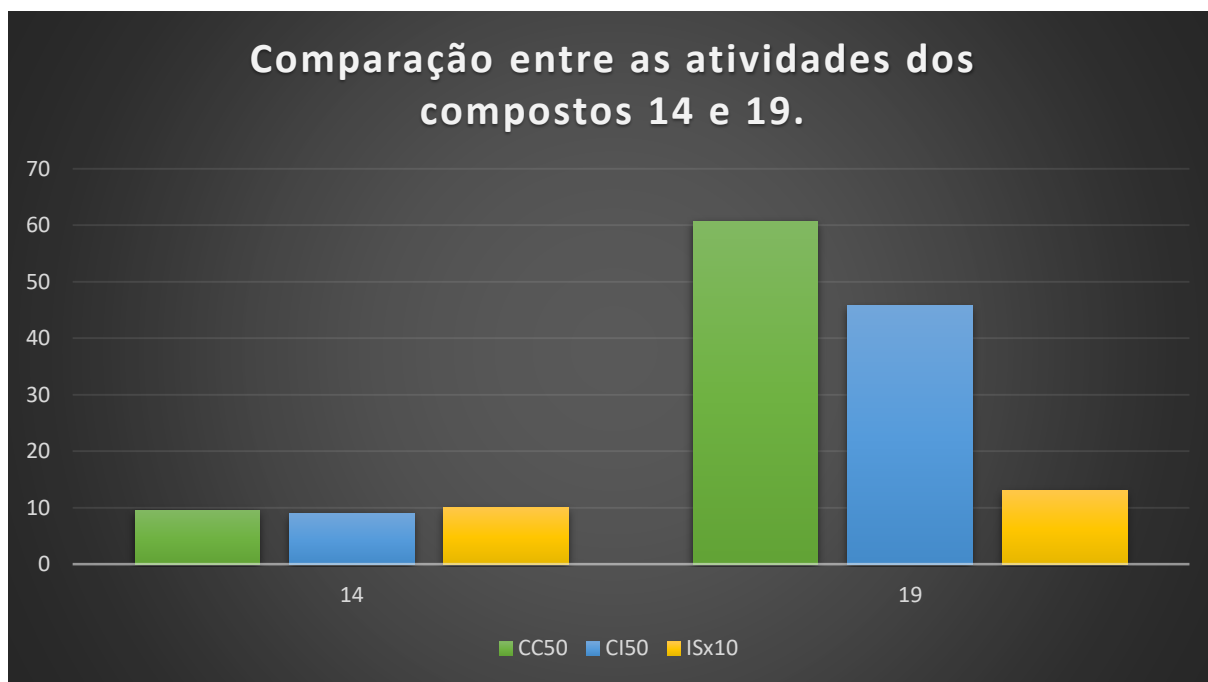


Figura 22: imagem do mapa de potencial eletrostático do composto **17**. Obtido através do programa Spartan®.

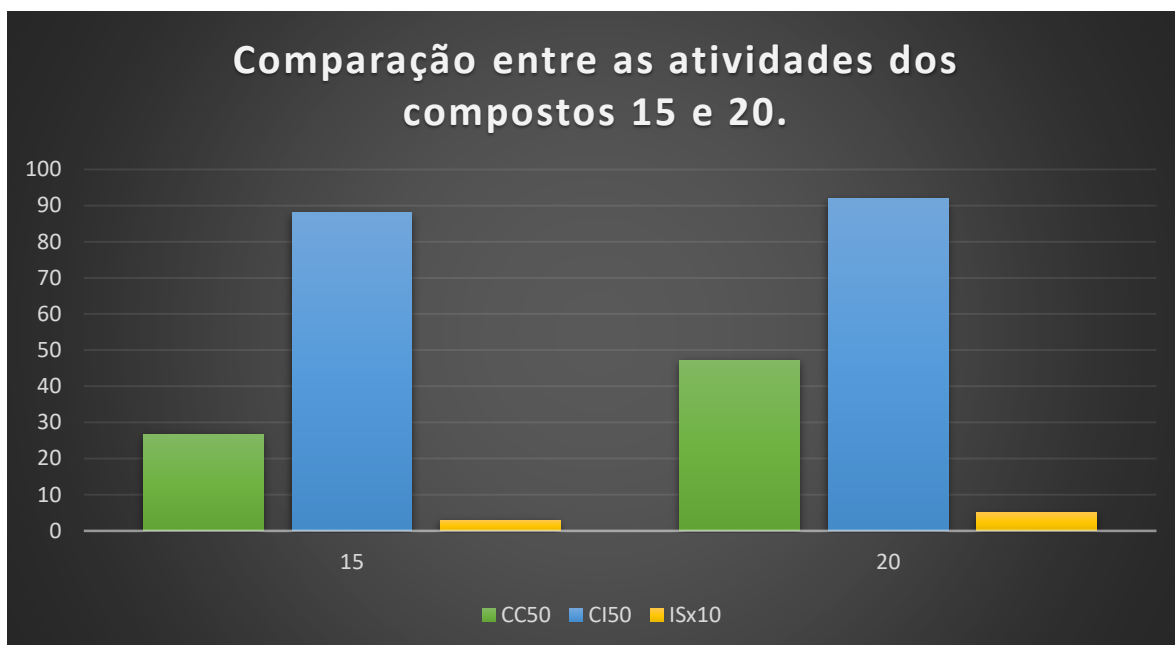
Através da análise destas duas imagens podemos ver como o preenchimento espacial das nuvens eletrônicas no anel dimetoxilado destes 2 compostos é bem diferente, e esta diferença que pode ser a responsável pelas atividades biológicas discrepantes, pois enquanto o composto **15**, sendo uma estrutura planar, possui uma metoxila que pode estar quase que totalmente perpendicular com o plano da molécula, o composto **17**, com suas metoxilas nas posições 3 e 5, não possui esse impedimento, sendo este fator um possível determinante para a interação eficaz das moléculas com os sítio de ação.

Analisando por um outro ângulo, foram comparados por pares cada um dos análogos propostos e seus respectivos isômeros, em função da atividade biológica, uma vez que os parâmetros de Lipinski são idênticos entre os análogos e seus isômeros, para verificar se a alteração na posição dos heteroátomos no anel central ofereceu alguma mudança significativa no comportamento das estruturas com relação a atividade biológica. A iniciar pelo composto *para*-metoxilado **14** e seu isômero, o composto **19**. Foi verificado que no caso do composto **14** cujo cloro se encontra adjacente ao nitrogênio do anel isoxazólico central, a atividade contra a célula

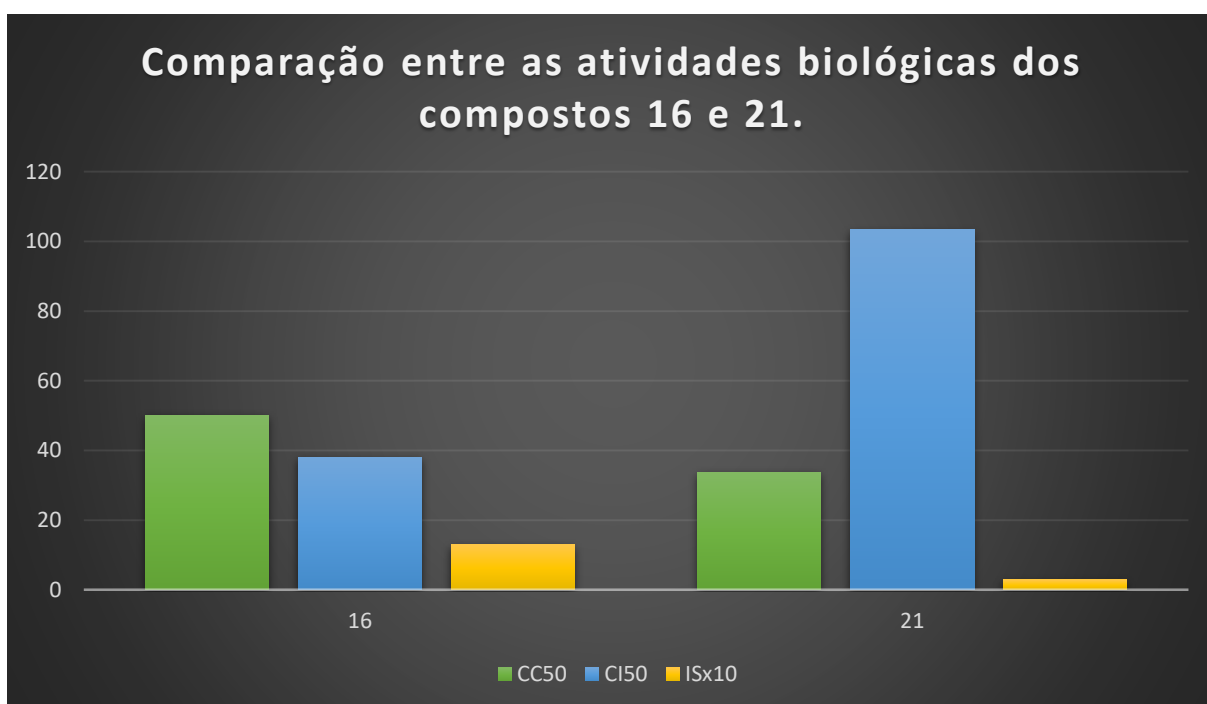
parasitária e contra a célula sadia foram maiores do que do seu isômero, o composto **19**, o qual apresentou uma atividade menor atividade, porém uma maior seletividade para as células parasitárias em relação as sadias se comparado ao composto **14**. Isso nos leva a crer que a posição dos heteroátomos no anel central modifica a conformação da molécula final, induzindo as estruturas analisadas a terem encaixes diferentes.



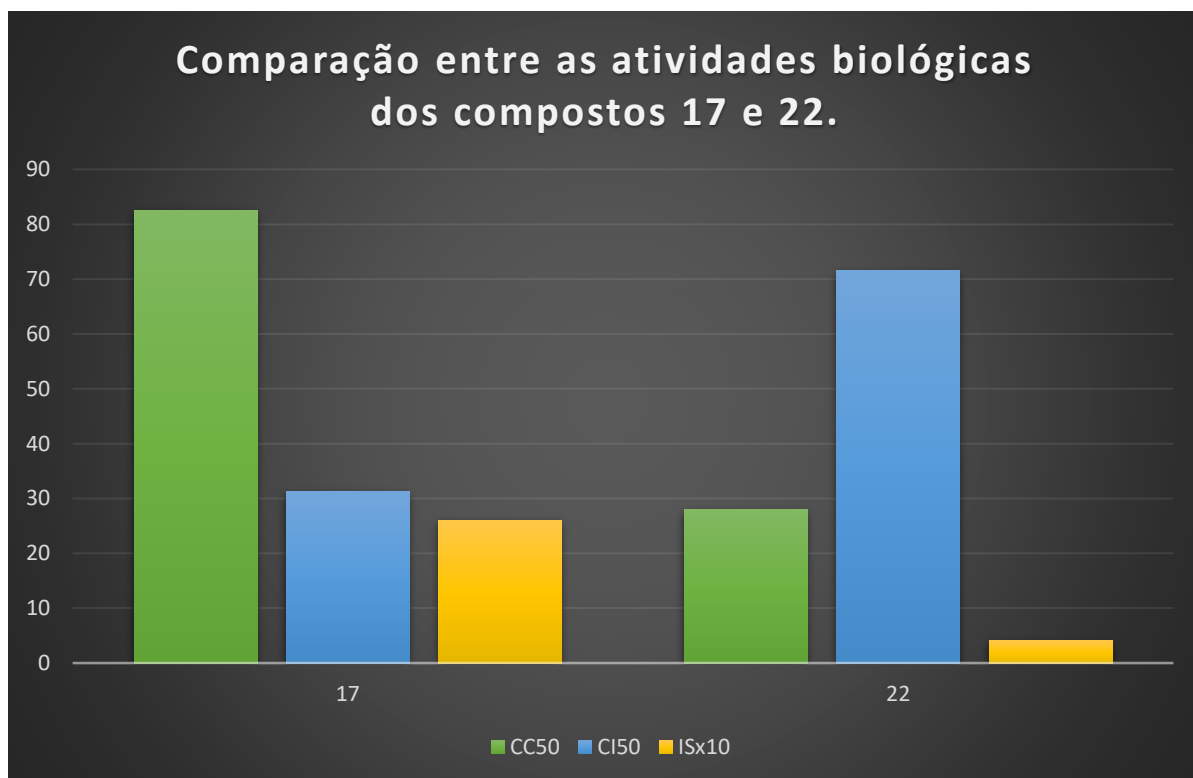
Quanto aos compostos *orto,para*-dimetoxilados **15** e **20**, o isômero 20 foi menos ativo para as células sadias e parasitárias do que o análogo **15**, seguindo o mesmo padrão dos compostos *para*-metoxilados **14** e **19**. Isso nos dá mais um indício de que a posição dos heteroátomos do anel central interfere na conformação final das moléculas sintetizadas, interferindo na sua interação com o domínio de ligação.



Com relação aos compostos **16** e **21**, contendo o substituinte benzodioxol, o análogo **16** foi mais ativo para as células parasitárias, do que seu isômero **21**, contudo o isômero foi mais ativo para as células saudáveis, ou seja, mais tóxico do que o composto **16**, isso é mais uma indicação da influência da posição dos heteroátomos do anel central na conformação final das estruturas e de como essa conformação influencia no encaixe do composto frente ao sítio de ligação.



No caso dos compostos **17** e **22**, contendo o substituinte 3,5-dimetoxilado, o análogo foi melhor em todos os aspectos, mais ativo contra as células do parasita, menos tóxico para as células saudáveis, logo, mais seletivo para as células do parasita. Dando mais uma evidência de que o encaixe é o fator mais determinante na atividade biológica no caso desta série de compostos.



Nos mapas eletrostáticos as cores mais fortes, como vermelho, laranja e amarelo, respectivamente, representam uma maior densidade de elétrons, enquanto que cores mais frias como azul, azul esverdeado e verde, representam uma menor densidade de elétrons. Logo podemos ver que no composto **22** cujo oxigênio do heterociclo central se encontra próximo do cloro, devido a uma menor densidade eletrônica nessa situação e, portanto, menor repulsão eletrostática entre as eletrosferas dos átomos, a conformação do anel clorado se dá de forma que o cloro fique próximo do oxigênio do isoxazol, o mesmo não ocorre no análogo, uma vez que o nitrogênio possui uma nuvem mais densa de elétrons, devido à localização da carga dos contribuintes de ressonância da molécula, ele repele com maior intensidade o cloro, afastando suas eletrosferas e alterando a conformação dos anéis, graças a ligação rotacionável que une ambos anéis.

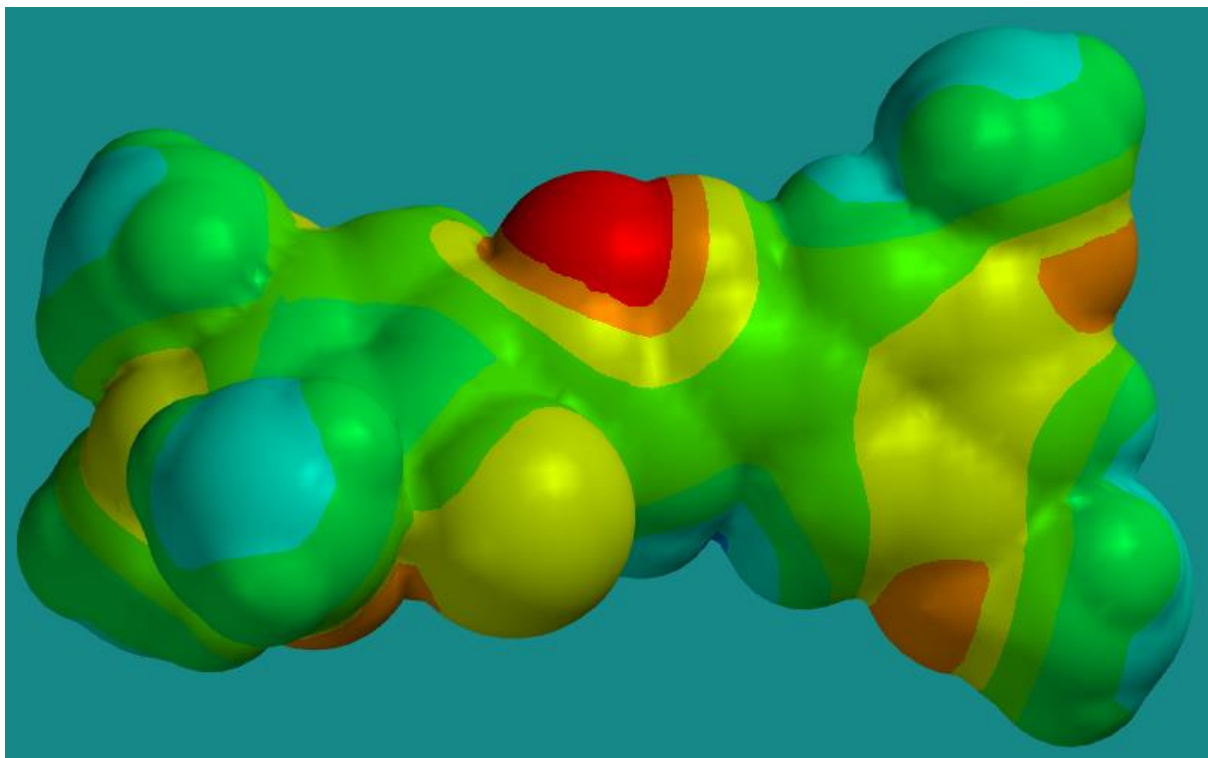


Figura 22: modelo do mapa de potencial eletrostático do composto **17**. Obtido através do programa Spartan®. A esfera amarela na porção central à frente representa o núcleo de cloro.

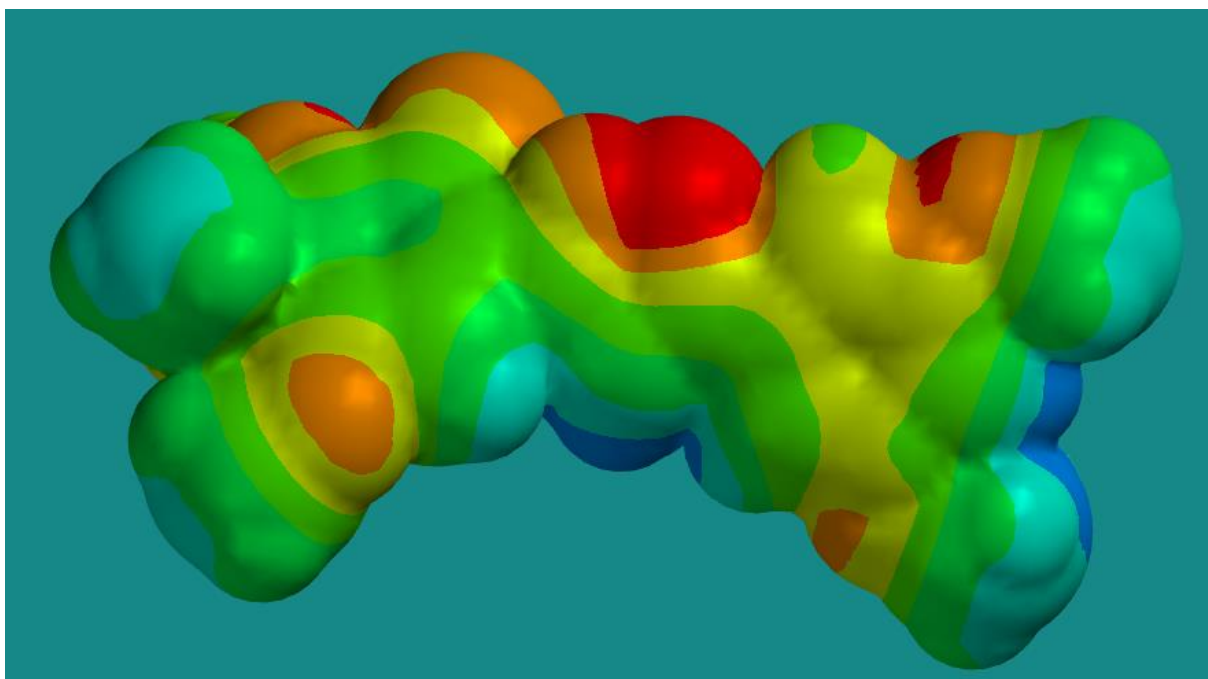
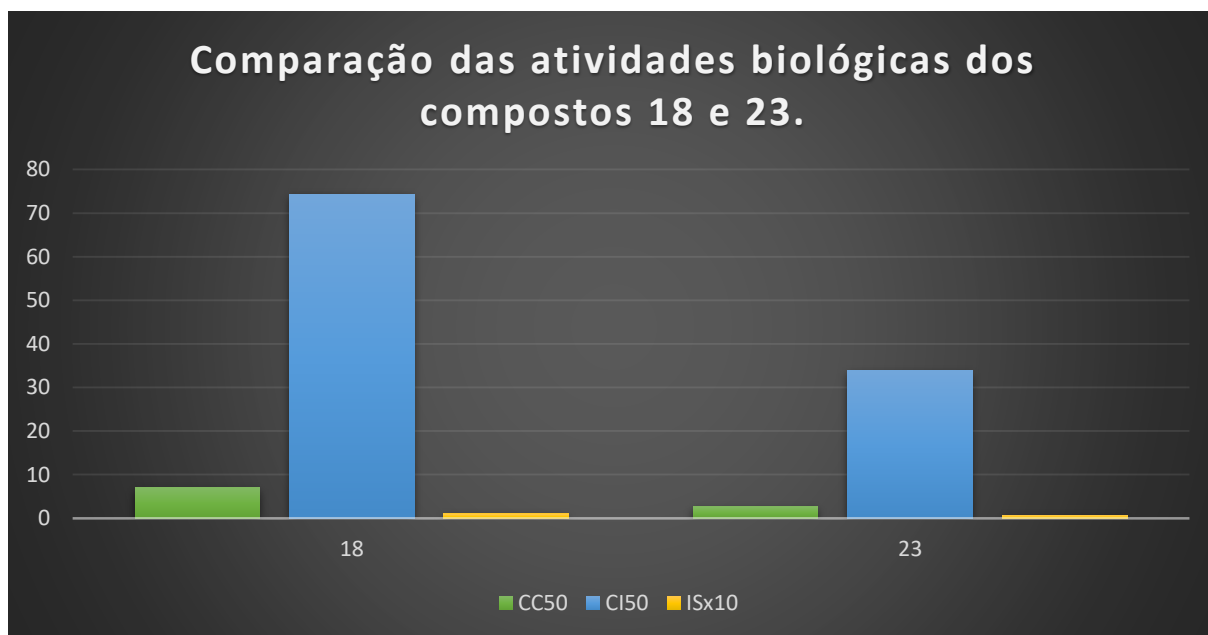


Figura 23: modelo do mapa eletrostático do composto **22**. Obtido através do programa Spartan®. A esfera alaranjada na porção central ao fundo da estrutura representa o núcleo de cloro.

Para os compostos mais próximos da estrutura da grandisina, os compostos trimetoxilados **18** e **23**, o análogo foi menos ativo tanto para as células saudáveis quanto para as parasitárias, ao contrário do que vinha sendo observado até o momento. Contudo ambos foram mais ativos para as células saudáveis do que para as células do parasita.



Uma possível explicação para isso é a alteração da topologia das estruturas mediada pela repulsão entre as eletrosferas do cloro e dos heteroátomos do anel central, uma vez que o nitrogênio, devido à localização das cargas dos contribuintes de ressonância, possui uma densidade eletrônica maior, ele força o cloro a assumir uma posição mais próxima do hidrogênio do anel isoxazólico, alterando assim a conformação estável da estrutura, o que varia a intensidade da interação com o sítio-alvo, que por sua vez muda a atividade do composto.⁴⁹

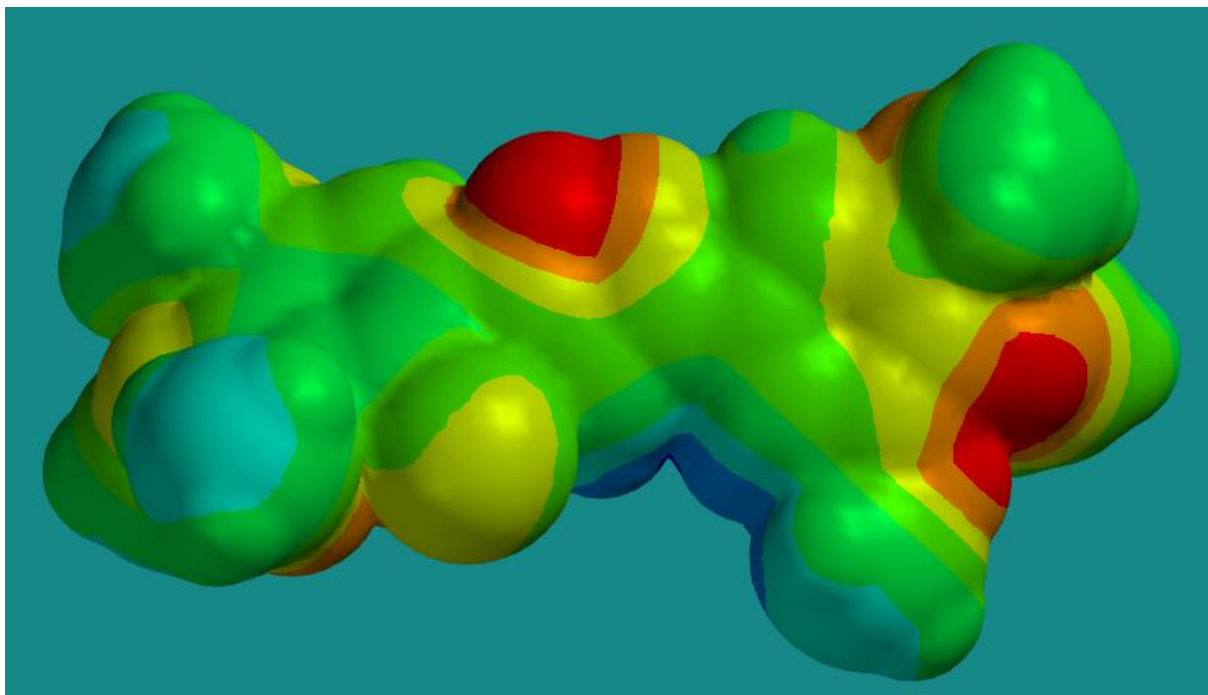


Figura 24: mapa de densidade eletrônica do composto **18**. Obtido através do programa Spartan®.

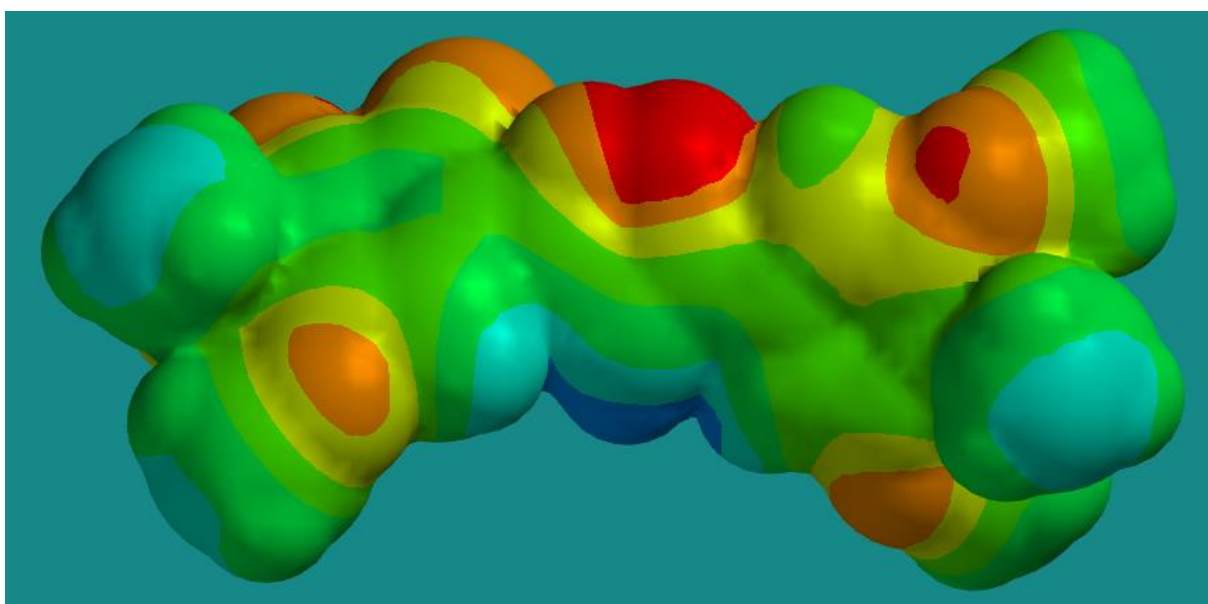


Figura 25: mapa de densidade eletrônica do composto **23**. Obtido através do programa Spartan®.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.

Todos os materiais de partida para os blocos de construção das estruturas finais foram obtidos em rendimentos excelentes, até mesmo os que eram inéditos na literatura. Todos os análogos propostos, bem como seus isômeros de posição, todos inéditos na literatura, também foram sintetizados com sucesso em rendimentos consideráveis. Todos os compostos inéditos foram elucidados por Ressonância Magnética Nuclear de ^1H . Os compostos finais foram testados contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonenses* tendo sido obtidos os compostos **14**, **16**, **17**, **19** e **23**, sendo estes mais potentes contra as células promastigotas em comparação à estrutura da grandisina. Os compostos **16**, **17**, **19** e **20**, apresentaram menor toxicidade às células de macrófagos peritoneais em comparação com a grandisina. Os compostos **14**, **16**, **17** e **19** foram os que apresentaram melhora significativa nos índices de seletividade em comparação com a grandisina, com destaque para o composto **17**, que foi 6,5 vezes mais seletivo para as células do protozoário do que a grandisina, sendo considerado o melhor da série. Foi feita uma análise utilizando os parâmetros de Lipinski, as estruturas químicas dos análogos e seus isômeros e os dados obtidos de atividade biológica e logramos constatar que os parâmetros de Lipinski não refletem a real proporção de interação entre o fármaco e o domínio de ligação nos testes *in vitro*, sendo estes mais dependentes da interação direta do fármaco com o sítio-alvo, logo, fatores estruturais, topológicos e de maleabilidade estrutural são mais importantes e refletem melhor o real comportamento dos compostos nestes tipos de testes. Além disso pode ser constatado que a posição dos heteroátomos no anel isoxazólico dos análogos de neolignanas interfere sim na atividade biológica uma vez que influencia na conformação estrutural e na maleabilidade conformacional das estruturas finais. Por fim, como perspectiva de continuação para este trabalho pretende-se ampliar esta série, adicionando 2 cloros, ao invés de apenas 1, para avaliar se existe alguma alteração no padrão de atividade biológica em relação à série monoclorada. Além disso, em dados ainda não publicados foi observado um efeito protetor contra a doença de Alzheimer em um análogo triazólico da grandisina possivelmente via sinalização canabinóide. Utilizando o programa computacional swisstargetprediction, pode-se concluir que os análogos isoxazólicos clorados da grandisina possuem afinidade pelo sistema de sinalização canabinóide, além disso, utilizando o programa swissADME podemos observar que a

maioria deles possui facilidade em atravessar a barreira hematoencefálica, logo uma perspectiva para este trabalho é de testar esse efeito neuroprotetor contra a doença de Alzheimer dos análogos clorados da grandisina e verificar correlação entre as alterações estruturais e a variação nos efeitos protetores.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ **WHO**. Neglected Tropical Diseases. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1.
- ² Valverde, Ricardo. Doenças negligenciadas. Ministério da saúde, **FIOCRUZ**, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas#:~:text=As%20doen%C3%A7as%20negligenciadas%20s%C3%A3o%20aquelas,medicamentos%20e%20em%20seu%20controle>. Acessado em 31 de janeiro de 2023.
- ³ Proposta de elaboração de protocolo clínico e diretrizes terapêuticas de leishmaniose tegumentar. Brasília, **CONITEC**, Julho de 2016. Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Protocolos/Escopo_PCDT_LeishmanioseVisceral_Enquete.pdf. Acessado em 31 de janeiro de 2023.
- ⁴ BRASIL. Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar. **Ministério da Saúde**, Brasília, 2017. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf. Acessado em 31 de janeiro de 2023.
- ⁵ Organização Pan-Americana da Saúde: Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas. Washington: **Organização Pan-Americana da Saúde**; 2019. Disponível em: www.paho.org/leishmaniasis. Acessado em 31 de janeiro de 2023.
- ⁶ Neves, David Pereira. Parasitologia humana / David Pereira Neves. 13. ed. São Paulo: **Editora Atheneu**, 2016.
- ⁷ BRASIL. Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral. **Ministério da saúde**, Brasília, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/leishmaniose_visceral.pdf. Acessado em 31 de janeiro de 2023.
- ⁸ Miltefosina para o tratamento da Leishmaniose Tegumentar. Relatório de recomendação nº 385 de outubro de 2018. Brasília, **CONITEC**. Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2018/Relatorio_Miltefosina_LeishmanioseTegumentar.pdf. Acesso em 31 de janeiro de 2023.
- ⁹ BRASIL. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: Rename 2020. **Ministério da Saúde**, Brasília, 2020. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_medicamentos_rename_2020.pdf. Acessado em 31 de janeiro de 2023.

- ¹⁰ Farmacognosia: do produto natural ao medicamento [recurso eletrônico] / Organizadores, Cláudia Maria Oliveira Simões... [et al.]. – Porto Alegre: **Artmed**, **2017**.
- ¹¹ SILVA FILHO, A. A. et al. In vitro antileishmanial and antimalarial activities of tetrahydrofuran lignans isolated from *Nectandra megapotamica* (Lauraceae). **Phytotherapy Research**, v. 22 p. 1307-1310, 2008.
- ¹² Singh, N., Mishra, B. B., Bajpai, S., Singh, R. K., & Tiwari, V. K. (2014). Natural product based leads to fight against leishmaniasis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 22(1), 18–45. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2013.11.048>
- ¹³ Oliveira, R. B. de, Vaz, A. B., Alves, R. O., Liarte, D. B., Donnici, C. L., Romanha, A. J., & Zani, C. L. (2006). Arylfurans as potential *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase inhibitors. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, 101(2), 169–173. doi:10.1590/s0074-02762006000200009
- ¹⁴ Fuertes MA, Nguewa PA, Castilla J, Alonso C, Pérez JM. Anticancer compounds as leishmanicidal drugs: challenges in chemotherapy and future perspectives. **Curr Med Chem**. 2008;15(5):433-9. doi: 10.2174/092986708783503221. PMID: 18288998.
- ¹⁵ Hartmann, Ana Paula, Marcelo Rodrigues De Carvalho, Lilian Sibelle Campos Bernardes, Milena Hoehr De Moraes, Eduardo Borges De Melo, Carla Duque Lopes, Mario Steindel, João Santana Da Silva, and Ivone Carvalho. "Synthesis and 2D-QSAR Studies of Neolignan-based Diaryl-tetrahydrofuran and -furan Analogues with Remarkable Activity against *Trypanosoma Cruzi* and Assessment of the Trypanothione Reductase Activity." **European Journal of Medicinal Chemistry**, 140 (2017): 187-99.
- ¹⁶ Dalvie, Deepak K, Amit S Kalgutkar, S. Cyrus Khojasteh-Bakht, R. Scott Obach, and John P O'Donnell. "Biotransformation Reactions of Five-Membered Aromatic Heterocyclic Rings." **Chemical Research in Toxicology** 15.3 (2002): 269-99.

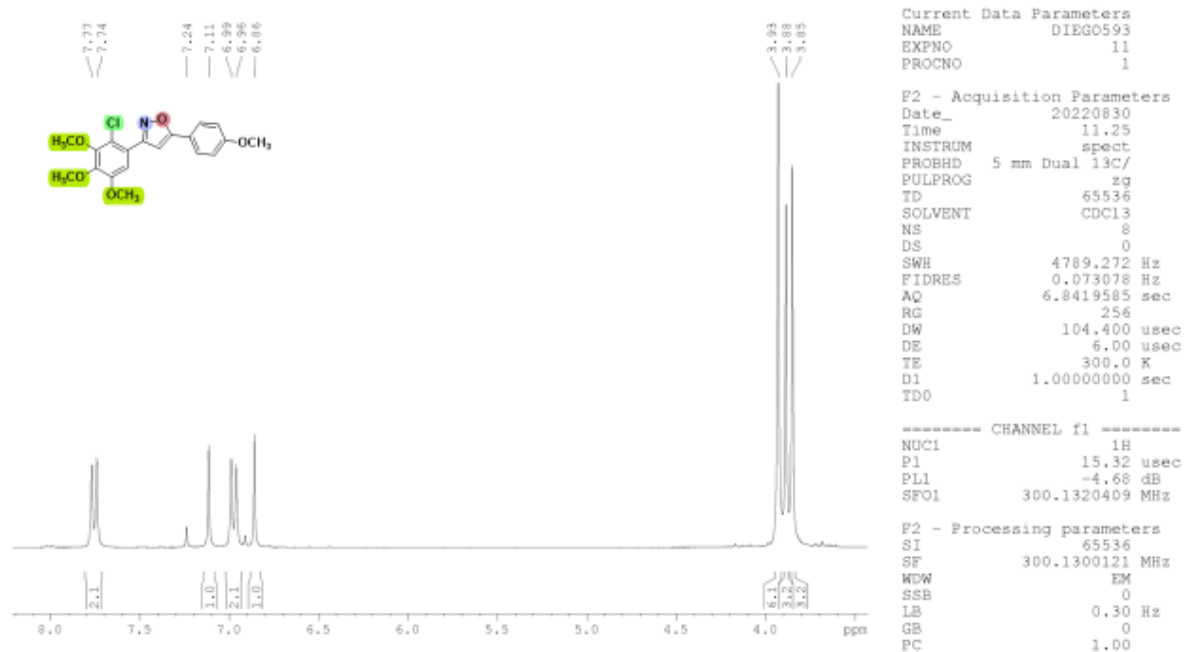
- ¹⁷ Química medicinal : as bases moleculares da ação dos fármacos / Eliezer J. Barreiro, Carlos Alberto Manssour Fraga. – 3. ed. – Porto Alegre : **Artmed**, 2015.
- ¹⁸ TREFZGER, O. S. et al. Design, synthesis and antitrypanosomatid activities of 3, 5-diaryl-isoxazole analogues based on neolignans veraguensin, grandisin and machilin G. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 93, n. 3, p. 313-324, 2019.
- ¹⁹ NEVES, A. R. D. et al. Effect of isoxazole derivatives of tetrahydrofuran neolignans on intracellular amastigotes of Leishmania (Leishmania) amazonensis: A structure–activity relationship comparative study with triazole-neolignan-based compounds. **Chemical biology & drug design**, v. 94, n. 6, p. 2004-2012, 2019.
- ²⁰ Lu, Yunxiang, Ting Shi, Yong Wang, Huaiyu Yang, Xiuhua Yan, Xiaoming Luo, Hualiang Jiang, and Weiliang Zhu. "Halogen Bonding□A Novel Interaction for Rational Drug Design?" **Journal of Medicinal Chemistry** 52.9 (2009): 2854-862.
- ²¹ Nunno, L. D.; Vitale, P.; Scilimati, A.; Simone, L.; Capitelli, F. **Tetrahedron**, 2007, 63,12388-12395.
- ²² Wang, E.C.; Huang, K.S.; Shiang,K.; Chen, H.M.; Wu, C. C.; Lin, G.J. **Journal of the Chinese Chemical Society**. 2004, 51, 619-627.
- ²³ Ramón, R.S.; Bosson, J.; González, S.D.; Marion, N.; Nolan, S.P. **J.Org. Chem.** 2010, 75, 1197-1202.
- ²⁴ Goyard, D., Kónya, B., Chajistamatiou, A. S., Chrysina, E. D., Leroy, J., Balzarín, S., ... Vidal, S. (2016). *Glucose-derived spiro-isoxazolines are anti-hyperglycemic agents against type 2 diabetes through glycogen phosphorylase inhibition*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 108, 444–454.
- ²⁵ Kumar, V.; Kaushik, M.P. **Tetrahedron Letters**. 2006, 47, 1457-1460.
- ²⁶ Uchida, K., & Togo, H. (2019). *Transformation of aromatic bromides into aromatic nitriles with n-BuLi, pivalonitrile, and iodine under metal cyanide-free conditions*. **Tetrahedron**, 130550.
- ²⁷ Luo, Y., Wen, Q., Wu, Z., Jin, J., Lu, P., & Wang, Y. (2013). *Copper-mediated cyanation of aryl boronic acids using benzyl cyanide*. **Tetrahedron**, 69(39), 8400–8404.

- ²⁸ Sanders, B.C.; Friscourt, F.; Ledin, P.A.; Mbua, N.E.; Arumugam, S.; Guo, J.; Boltje, T.J.; Popik, V.V.; Boons, G.J. **J. Am. Chem. Soc.** 2011, 133, 949-957.
- ²⁹ Kovács, D., Kádar, Z., Mótyán, G.; Schneider, G.; Wolfling, J.; Zupkó, I. **Steroids**. 2012, 77, 1075-1085.
- ³⁰ Ye, Y.; Zheng, Y.; Xu, G.Y.; Liu, L.Z. **Heteroatom Chem.** 2003, 14, 254-257.
- ³¹ Cannon, K. A.; Geuther, M. E.; Kelly, C. K.; Lin, S.; MacArthur, A. H. R. **Organometallics**. 2011, 30, 4067-4073.
- ³² Yusubov, M. S.; Yusubova, R. Y.; Nemykin, V. N.; Maskae, A. V.; Geraskina, M. R.; Kirschning, A.; Zhdankin, V. V. **Eur. J. Org. Chem.**, 2012, 5935-5942.
- ³³ Li, L., Liu, W., Zeng, H., Mu, X., Cosa, G., Mi, Z., & Li, C.-J. (2015). *Photo-induced Metal-Catalyst-Free Aromatic Finkelstein Reaction*. **Journal of the American Chemical Society**, 137(26), 8328–8331.
- ³⁴ N. L. Sloan, S. K. Luthra, G. McRobbie, S. L. Pimlott, A. Sutherland, **Chem. Commun.**, 2017, 53, 11008- 11011.
- ³⁵ Pan, J.; Wang, X.; Zhang, Y.; Buchwald, S. L. **Organic Letters**. 2011, 13, 4974-4976.
- ³⁶ Hundertmark, T.; Littke, A. F.; Buchwald, S. L.; Fu, G. C. **Organic Letters**. 2000, 2, 1729-1731.
- ³⁷ Klyatskaya, S. V.; Tretyakov, E. V.; Vasilevsky, S. F. **Russian Chemical Bulletin**. 2001, 50, 868-873.
- ³⁸ Trefzger, OS, Barbosa, NV, Scapolatempo, RL, et al. Design, synthesis, antileishmanial, and antifungal biological evaluation of novel 3,5-disubstituted isoxazole compounds based on 5-nitrofuran scaffolds. **Arch Pharm Chem Life Sci**. 2020; 353:1900241.
- ³⁹ Chang, H. K.; Liao, Y. C.; Liu, R. S. **J. Org. Chem.** 2007, 72, 8139-8141.
- ⁴⁰ Fang, Z.; Song, Y.; Sarkar, T.; Hamel, E.; Fogler, W. E.; Agoston, G. E.; Fanwick, P. E.; Cushman, M. **J. Org. Chem.** 2008, 73, 4241-4244.
- ⁴¹ Odlo, K.; Hentzen, J.; Fournier dit Chabert, J.; Ducki, S.; Gani, O. A. B. S. M.; Sylte, I.; Skrede, M.; Flørenes, V. A.; Hansen, T. V. **Bioorg. Med. Chem.** 2008, 16, 4829.

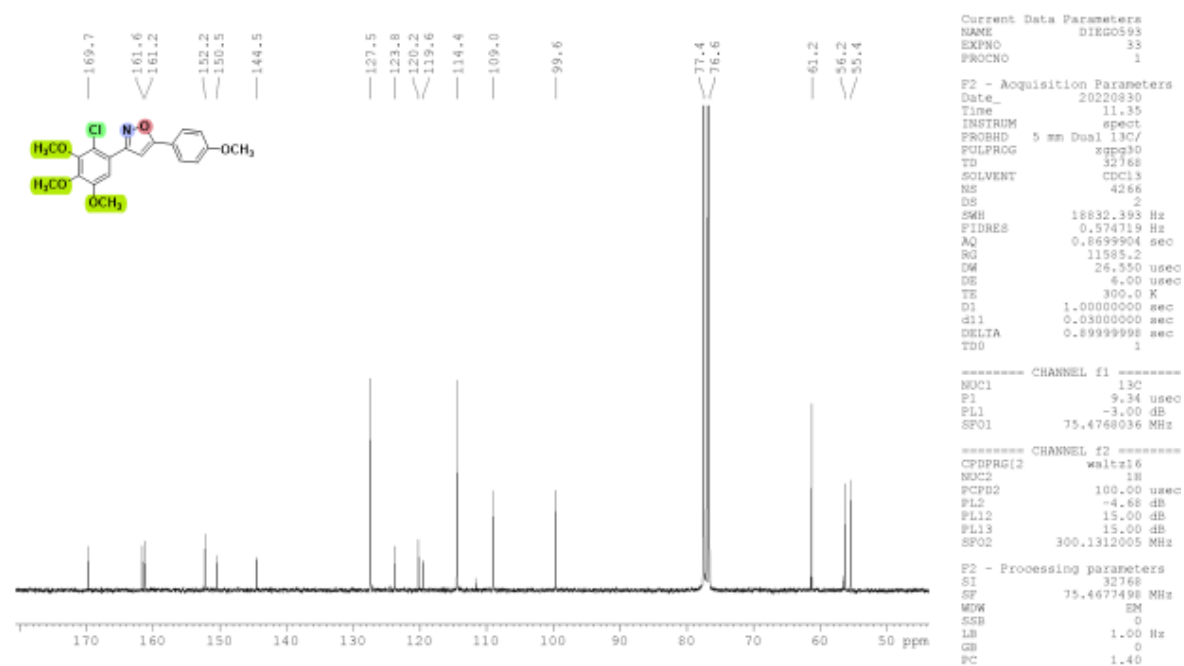
- ⁴² Vieira, A. A., Bryk, F. R., Conte, G., Bortoluzzi, A. J., & Gallardo, H. (2009). *1,3-Dipolar cycloaddition reaction applied to synthesis of new unsymmetric liquid crystal compounds-based isoxazole*. **Tetrahedron Letters**, 50(8), 905–908.
- ⁴³ Hijji, Y.; Rajan, R.; Tabbā, H.; Abu-Yousef, I.; Mansour, S.; Yahia, H. Microwave assisted one pot conversion of aromatic aldehydes to nitriles. **Eur. J. Chem.** 2018, 9(3), 269-274.
- ⁴⁴ Kumar, D., Patel, G., Chavers, A. K., Chang, K.-H., & Shah, K. (2011). *Synthesis of novel 1,2,4-oxadiazoles and analogues as potential anticancer agents*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 46(7), 3085–3092.
- ⁴⁵ Lee, D.-H., Lee, J.-Y., Jeong, J., Kim, M., Lee, K., Jang, E., ... Hwang, J. (2017). *Synthesis and Molecular Modeling Studies of N'-Hydroxyindazolecarboximidamides as Novel Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 (IDO1) Inhibitors*. **Molecules**, 22(11), 1936.
- ⁴⁶ Trusova, M.; Krasnokutskaya, E.; Postnikov, P.; Choi, Y.; Chi, Ki-Whan; Filimonov, V. (2011). *A Green Procedure for the Diazotization-Iodination of Aromatic Amines under Aqueous, Strong-Acid-Free Conditions*. **Synthesis**, 2011(13), 2154–2158.
- ⁴⁷ Konishi, H.; Aritomi, K.; Okano, T.; Kiji, J. A Mild Selective Monobromination Reagent System for Alkoxybenzenes; N-Bromosuccinimide–Silica Gel. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, 1989 62:2, 591-593.
- ⁴⁸ Fairlamb, I. J. S., Lee, A. F., Loe-Mie, F. E. M., Niemelä, E. H., O'Brien, C. T., & Whitwood, A. C. (2005). *Halogenated-2-pyrones in Sonogashira cross-coupling: limitations, optimisation and consequences for GC analysis of Pd-mediated reactions*. **Tetrahedron**, 61(41), 9827–9838.
- ⁴⁹ Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P.; *Organic Chemistry*, **Oxford**: New York, 2007.
- ⁵⁰ Lipinski, Christopher A, Franco Lombardo, Beryl W Dominy, and Paul J Feeney. "Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings." **Advanced Drug Delivery Reviews** 46.1 (2001): 3-26.
- ⁵¹ Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). *Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates*. **Journal of Medicinal Chemistry**, 45(12), 2615–2623.

7. ANEXOS

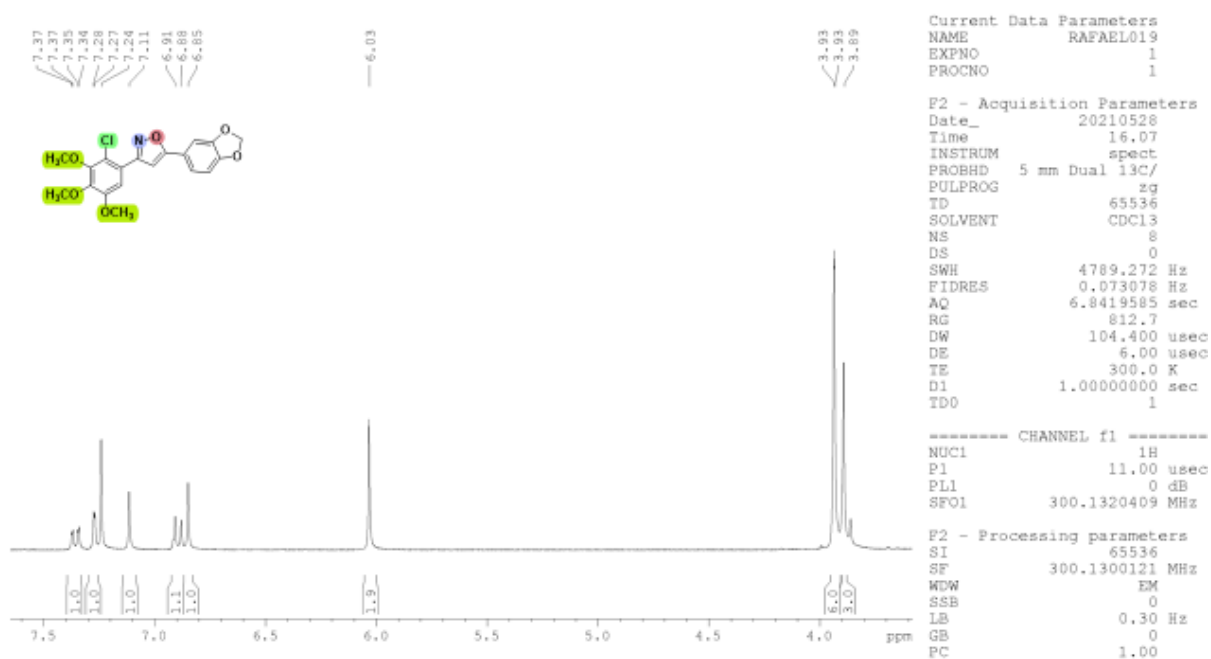
Anexo 1 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 14



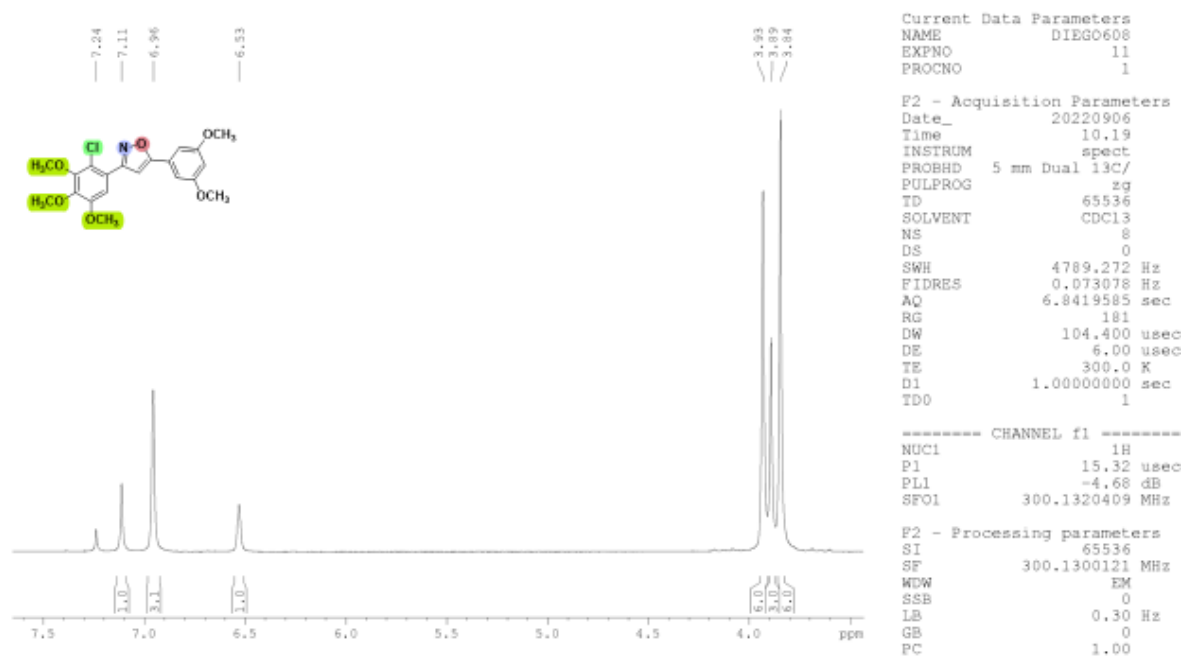
Anexo 2 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 14



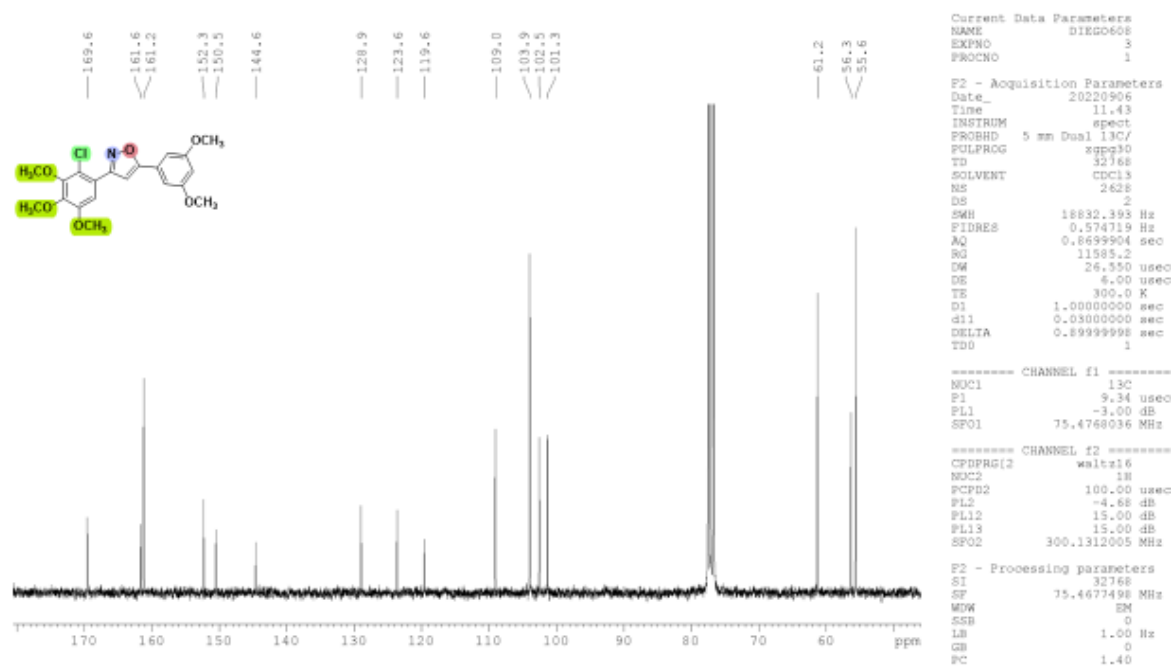
Anexo 3 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 16



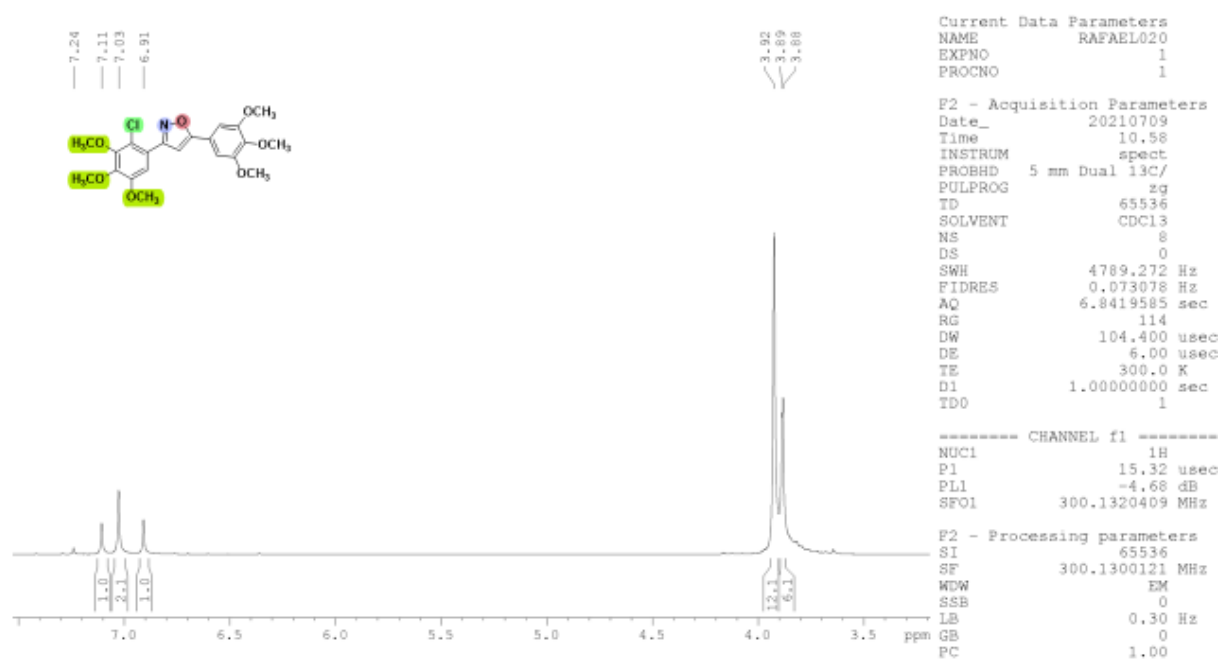
Anexo 4 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 17



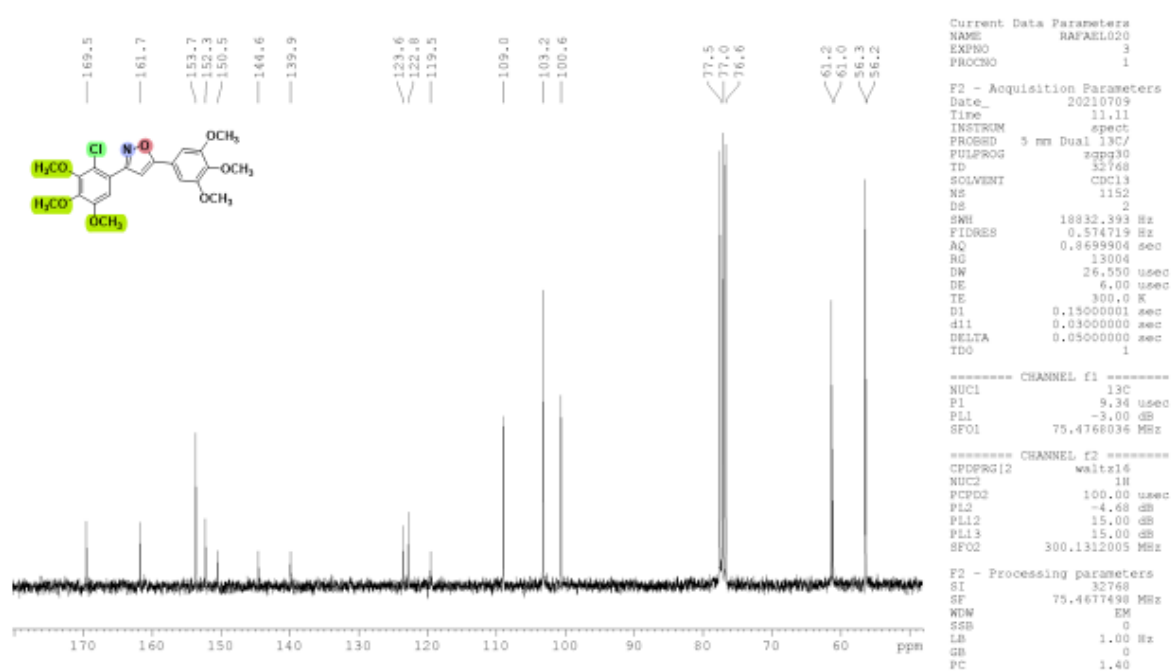
Anexo 5 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 17



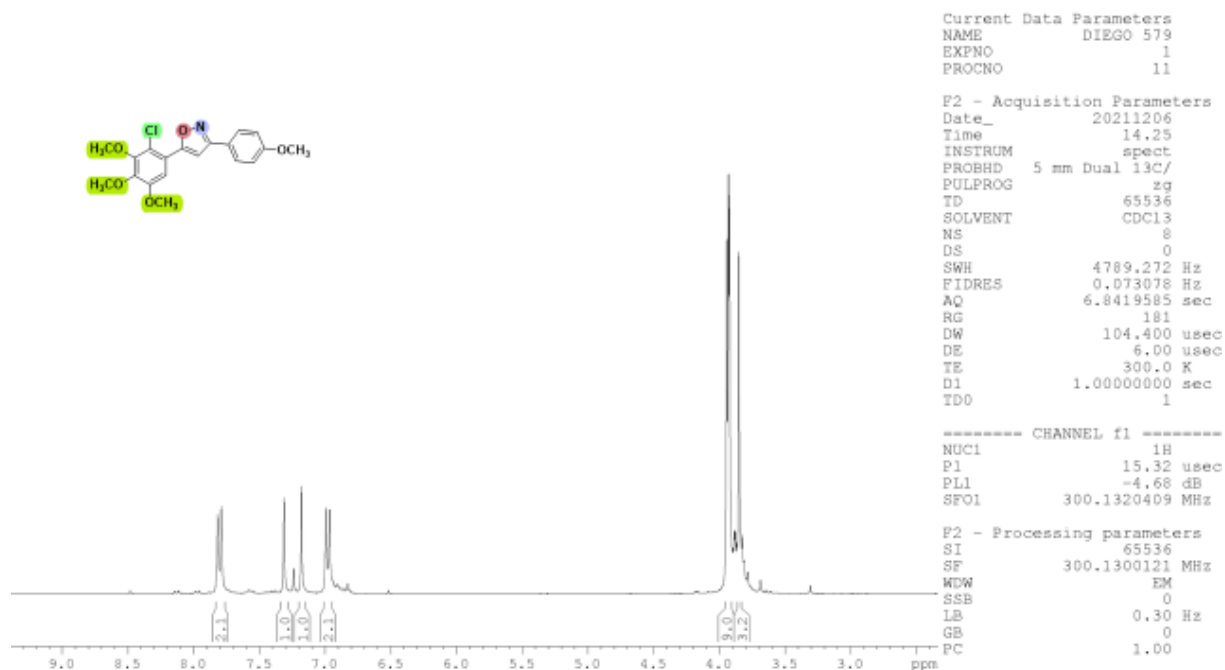
Anexo 6 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 18



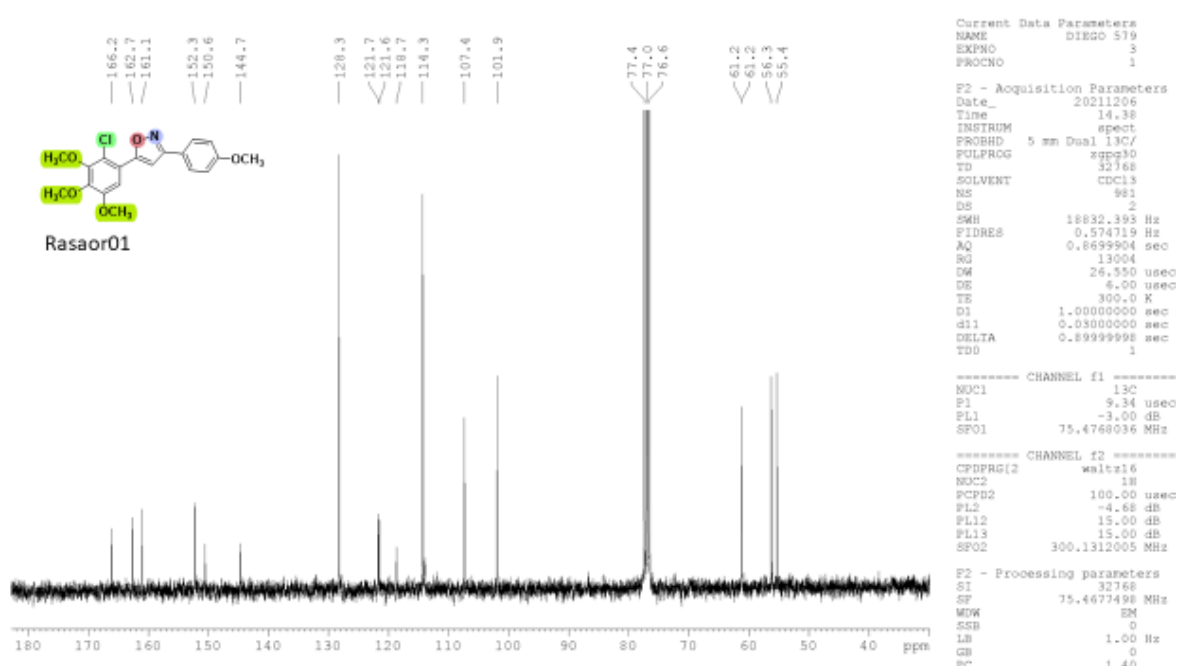
Anexo 7 – Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) do composto 18



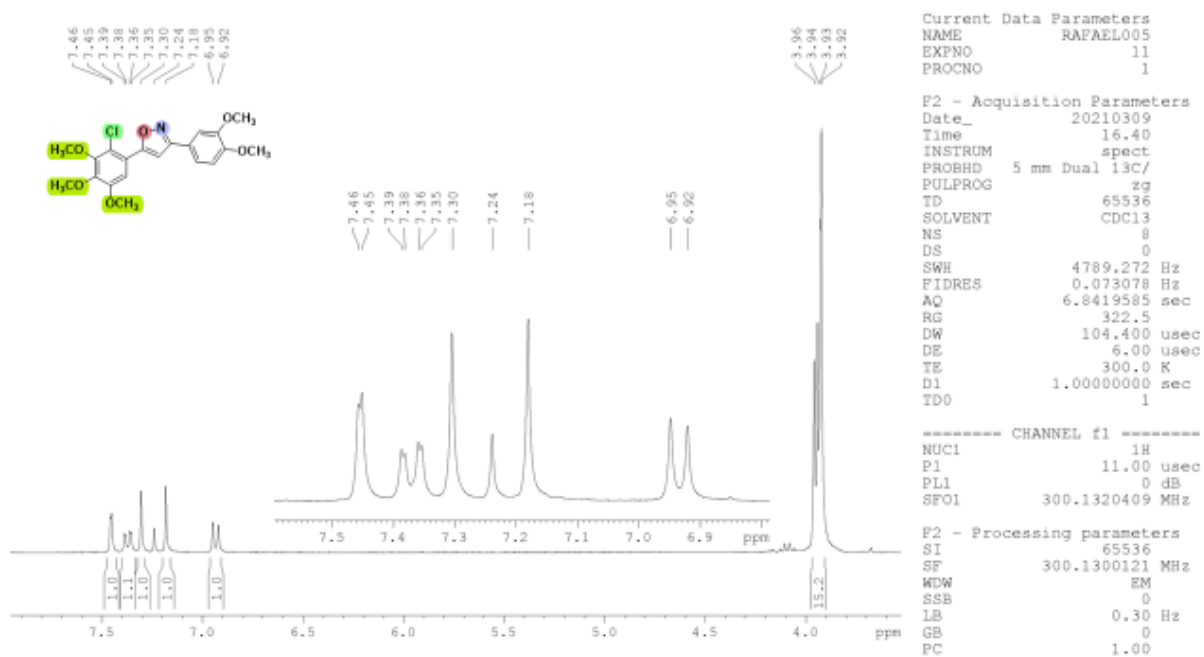
Anexo 8 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto 19



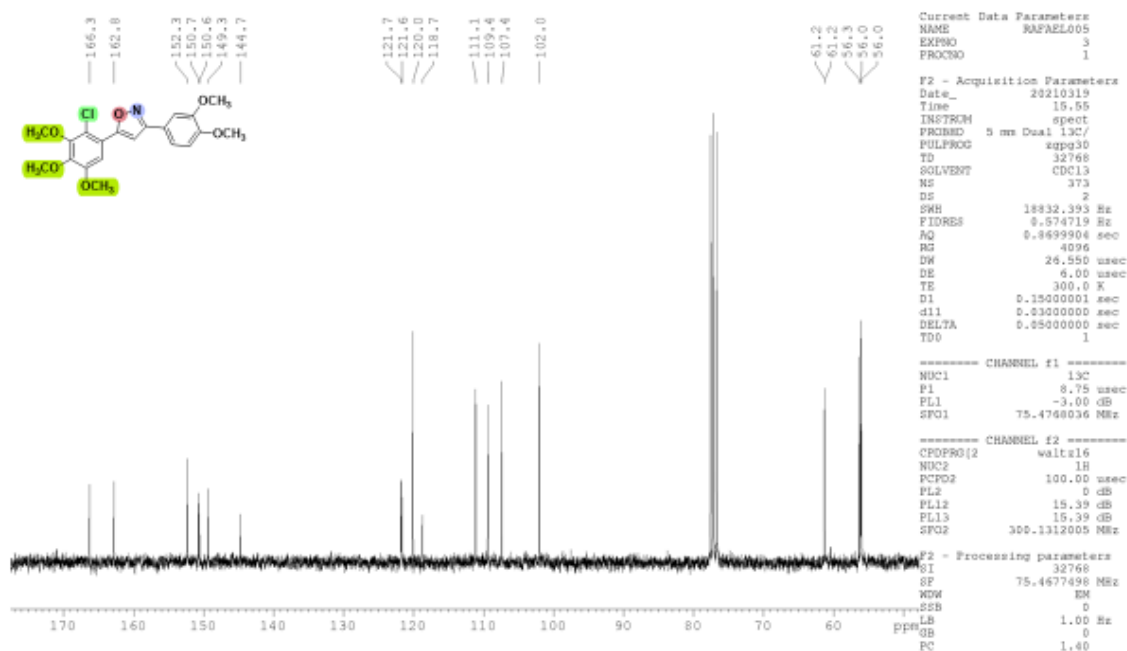
Anexo 9 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 19



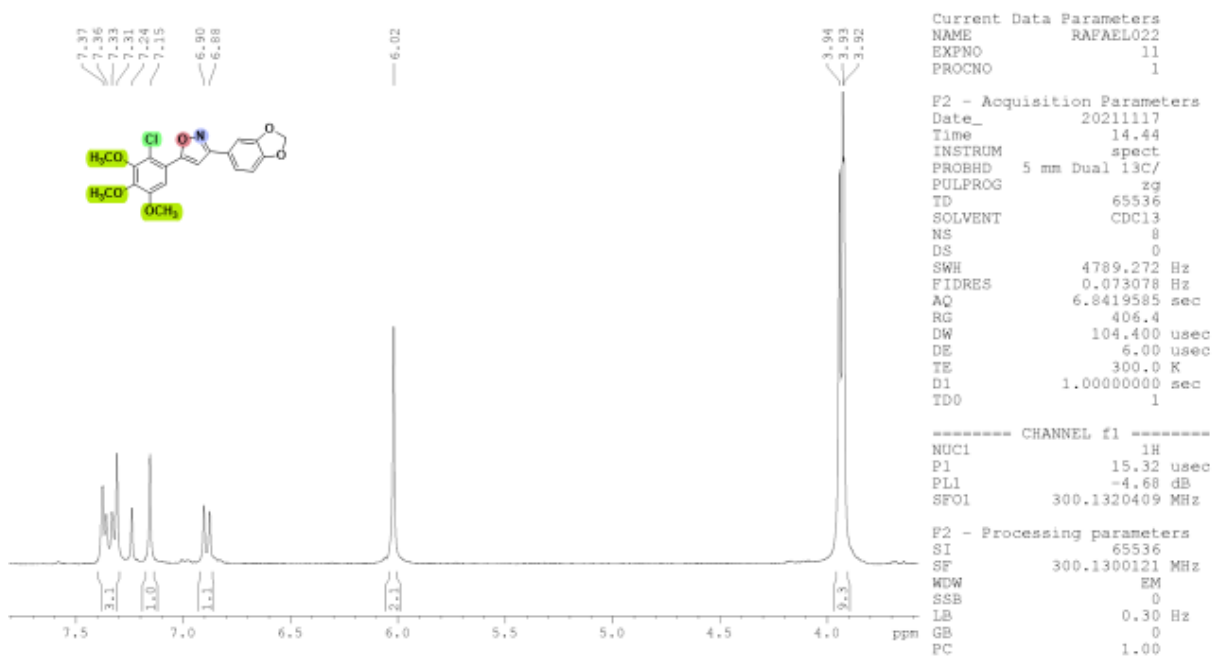
Anexo 10 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 20



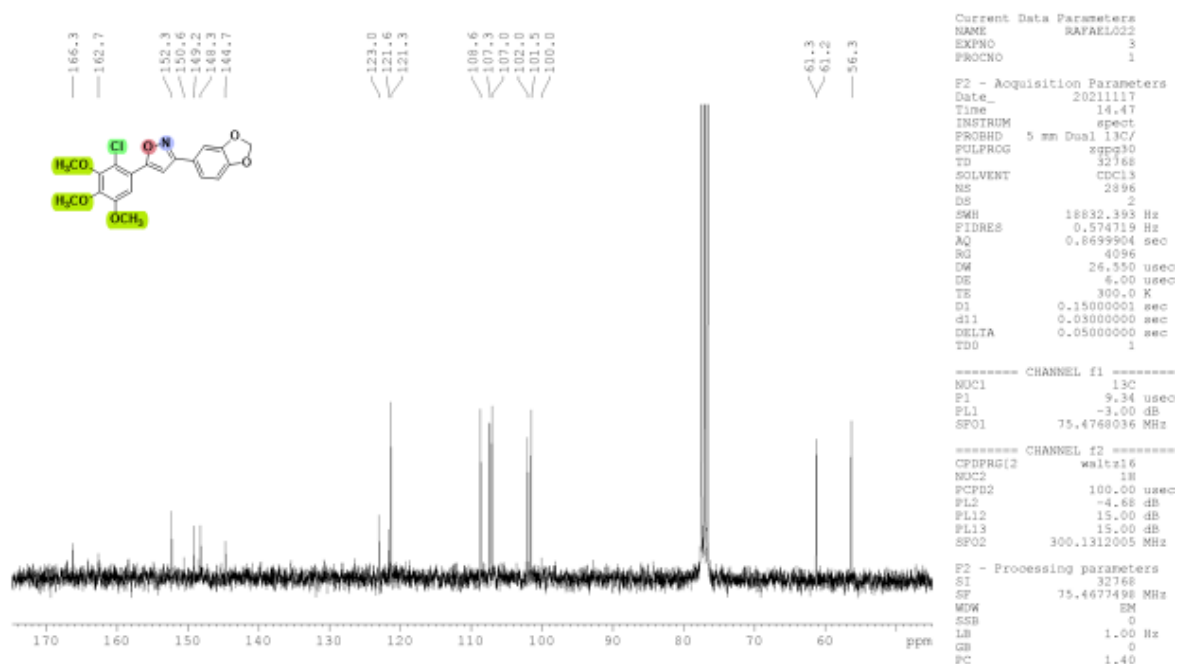
Anexo 11 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 20



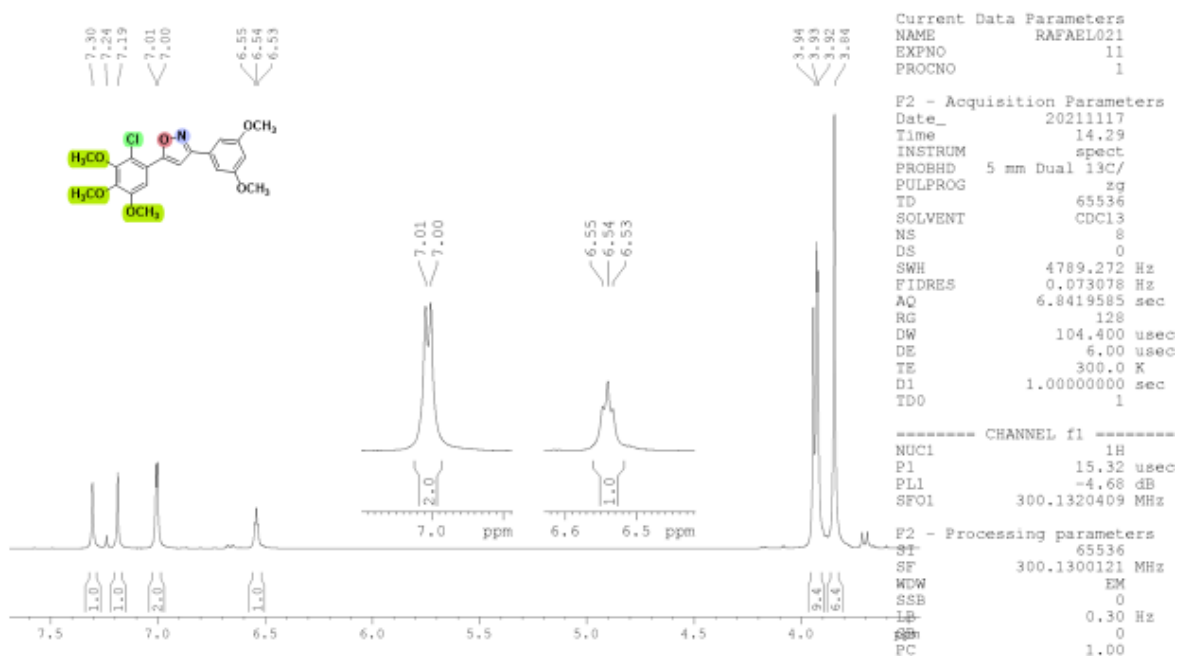
Anexo 12 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 21



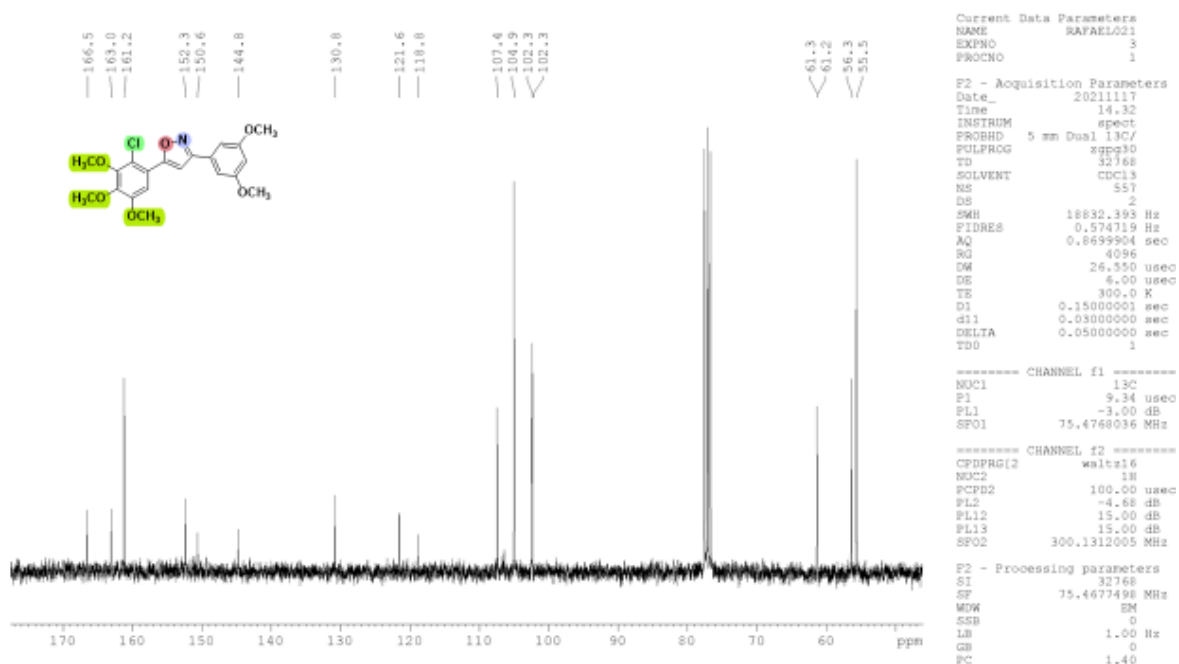
Anexo 13 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 21



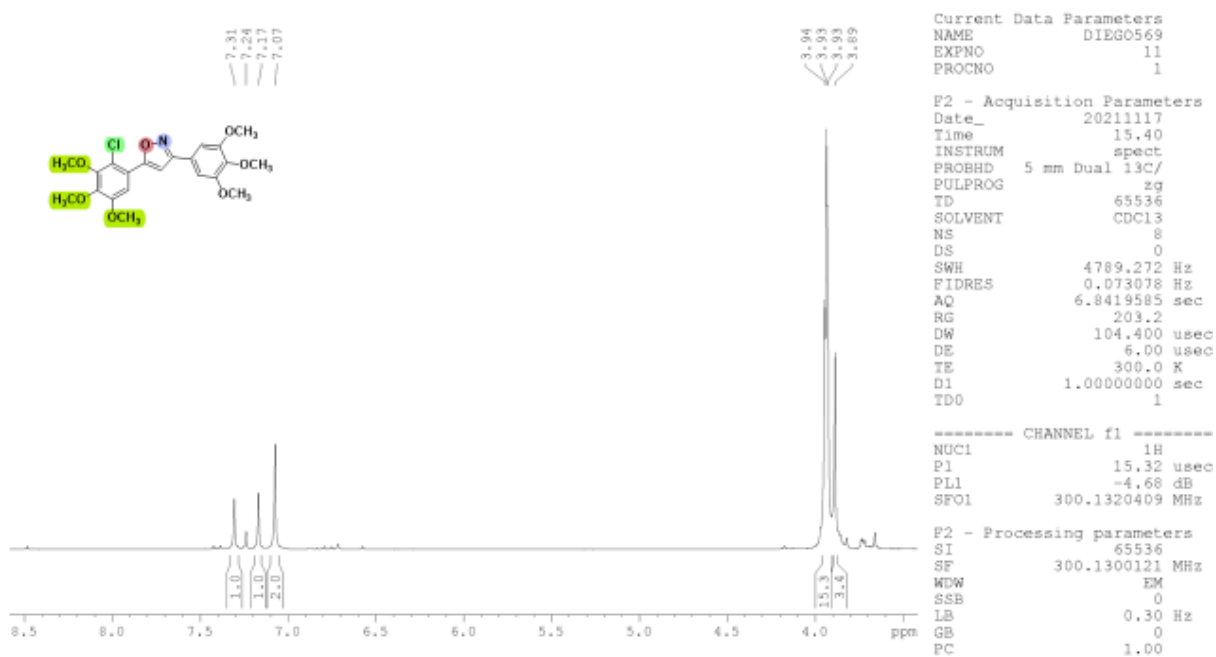
Anexo 14 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 22



Anexo 15 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 22



Anexo 16 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) do composto 23



Anexo 17 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 23

