



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA



Dissertação de Mestrado

SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS CANDIDATOS A
FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS CONTRA *NEOSPORA CANINUM*,
UM IMPORTANTE PARASITA NO SETOR PECUÁRIO

Mestrando: Raul Marques Novais

Orientadora: Dra. Amanda Danuello Pivatto

Co-orientador: Dr. Marcos Pivatto

LINHA DE PESQUISA: Química medicinal, química de produtos naturais e síntese orgânica

Uberlândia, agosto de 2022

RAUL MARQUES NOVAIS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS CANDIDATOS A
FÁRMACOS ANTIPARASITÁRIOS CONTRA *NEOSPORA CANINUM*,
UM IMPORTANTE PARASITA NO SETOR PECUÁRIO**

Dissertação apresentada ao curso de
programa de pós-graduação em química
da Universidade Federal de Uberlândia
como requisito para obtenção do título
de mestre em química.

Orientadora: Dra. Amanda Danuello

Co-Orientador: Prof. Dr. Marcos Pivatto

UBERLÂNDIA

2022

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

N935
2022

Novais, Raul Marques, 1997-
Síntese e avaliação biológica de novos candidatos a
fármacos contra *Neospora caninum* [recurso eletrônico] :
Um importante parasita no setor pecuário / Raul Marques
Novais. - 2022.

Orientadora: Amanda Danuello Pivatto.

Coorientadora: Marcos Pivatto.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.485>

Inclui bibliografia.

1. Química. I. Pivatto, Amanda Danuello ,1981-,
(Orient.). II. Pivatto, Marcos,1979-, (Coorient.). III.
Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em
Química. IV. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química
 Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
 Telefone: (34) 3239-4385 - www.cpgquimica.iq.ufu.br - cpgquimica@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 350, PPGQUI				
Data:	Dezenove de agosto de dois mil e vinte e dois	Hora de início:	09:00	Hora de encerramento:	12:30
Matrícula do Discente:	12012QMI012				
Nome do Discente:	Raul Marques Novais				
Título do Trabalho:	Síntese e avaliação biológica de novos candidatos a fármacos antiparasitários contra <i>Neospora caninum</i> , um importante parasita no setor pecuário				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Medicinal, Química de Produtos Naturais e Síntese Orgânica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	"Planejamento, síntese e avaliação biológica de novos candidatos a fármacos para o tratamento de Chikungunya e Mayaro				

Reuniu-se por meio de webconferência, Plataforma Google Meet, link <https://meet.google.com/wxz-hxpj-eba>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores Celso de Oliveira Rezende Junior, da Universidade Federal de Uberlândia; Flávio da Silva Emery, da Universidade de São Paulo USP/PFCRP e Amanda Danuello Pivatto, orientadora do candidato.

Iniciando os trabalhos a presidenta da mesa, Dra. Amanda Danuello Pivatto, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Documento assinado eletronicamente por **Amanda Danuello Pivatto, Professor(a) do Magistério**



Superior, em 19/08/2022, às 13:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Celso de Oliveira Rezende Júnior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 19/08/2022, às 13:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Flavio da Silva Emery, Usuário Externo**, em 23/08/2022, às 14:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3851228** e o código CRC **A0F9E93D**.

Dedico esta pesquisa a Deus que foi suporte e amparo frente as diferentes adversidades enfrentadas no processo.

Aos meus pais, Renata e Ailton, a minha irmã M^a Eduarda e a minha avó M^a Teresa que foram aqueles que acreditaram na minha capacidade e sempre me inspiraram a continuar

Agradecimentos

A Deus, causa primária de todas as coisas, a inteligência suprema, quem se demonstrou um ponto de equilíbrio e vigor nos momentos de dificuldade, insegurança e medo. Sem Ele, nada seria possível.

Aos meus familiares que sempre acreditaram em meu potencial e que não poucas vezes expressaram sua confiança na minha capacidade.

À minha mãe que enfrentou tanta coisa em sua vida, e que nunca perdeu sua força e sorriso sempre presente com ternura e afeto. Mãe, saiba que você foi inspiração diária.

À minha irmã que de forma meiga e sempre tão envolvente me tornou um ser humano mais maleável e demonstrou com sua leveza que a vida vai além. Sua personalidade e ação reverberam aqui dentro.

Ao meu pai, quem no seu jeito mais tímido e sistemático demonstra seu orgulho e admiração, o primeiro investidor que tive em toda a vida, eu sempre vou me lembrar de seu cuidado.

À minha avó, D. Teresa, sua doçura e preocupação têm uma relevância gigantesca, você como mulher forte me ensinou a permanecer firme mesmo quando as coisas não são como esperávamos.

Aos meus tios, Hamilton e Neilton, minhas tias, Marise e Dayane, e aos meus primos, Felype, Lukas, David e Sarah quem estiveram comigo no último mês destilando cuidado, carinho e muita compreensão. Vocês foram incríveis, sinto por não ter aproveitado tanto quanto gostaria.

Aos meus avós maternos Divino e Pêrpétua, *in memorium*, por sempre investirem tanto em mim com suas palavras e gestos, de tudo fica o aprendizado sempre pontuado, a perseverança.

Aos meus amigos de vida, que tornam a vida mais fácil, que são sempre tão presentes em sua atenção. Em especial a Ana Flávia, Daniel Félix, Filipe Ferreira, Felipe Pires, Maria Fernanda, Josiele Conrado, Camila Pacheco, Lucas Santos e Nicollas Carlos, vocês foram e continuam sendo de suma importância neste processo.

Àqueles que me ensinaram muito de química, mas mais do que isso sobre a beleza da vida, sua leveza e tornaram todo o processo de formação mais bonito e leve. Débora,

Tiara, Marília, Thamires, Weida, Diele, Diandra, Íngrede, Gáveni, Luiz, Gabriel e Diego, vocês são participantes diretos em todo este texto.

Aos meus orientadores Dra. Amanda Danuello e Dr. Marcos Pivatto, pelas contribuições que se estendem a um período superior a cinco anos. Muito do que sou e de quem posso um dia me tornar tem características identitárias muito forte de vocês.

Ao instituto de química juntamente a todos os professores que foram responsáveis pelo conhecimento acumulado.

Ao Mestre Rafael Tristão, que além de um importante amigo, auxiliou na realização dos ensaios de infravermelho, equipamento lotado no laboratório do prof.º Antonio Otávio, a quem também destino os agradecimentos.

A prof.^a Fernanda M^a Santiago e sua aluna Iasmin Cunha do laboratório de imunoparasitologia “Dr. Mario Endsfeldz” do instituto de biologia da UFU pela parceria na realização das atividades biológicas.

À prof.^a Dra Dulce Helena e seu aluno Lucas Henrique pela recepção no instituto de química da UNESP – Araraquara, período de estágio fundamental para o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço ainda ao Dr. Nivaldo Boralle e João Bronzel, técnicos responsáveis pelo RMN e Massas, respectivamente, lotados no IQ-Araraquara, pela disponibilidade por eles demonstrada no auxílio da realização dos experimentos que requeriam tais equipamentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelas bolsas investidas, pelo INCT-BioNat pelo investimento no projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro fundamental para o desenvolvimento dos projetos.

*“Nada de desgosto, nem de desânimo;
se acabas de fracassar, recomeça.”*

Marco Aurélio, (121- 180 d.C.)

RESUMO

Mundialmente as parasitoses são responsáveis por diversos problemas econômicos, sociais e de saúde pública, causando infecções em humanos e em animais representando também um grande problema ao setor veterinário. *Neospora caninum* é um parasita que representa bem o causado ao setor e compartilha muitas semelhanças com o *Toxoplasma gondii* (causador de abortos em seres humanos), é considerado o maior causador de abortos no gado bovino, além de estar associado a casos de bezerros natimortos ou que apresentem algum quadro de má-formação congênita. Atualmente o Brasil é o maior produtor de gado bovino para fins comerciais, e a falta de tratamentos para essa doença tem sido um problema recorrente, o que mostra a necessidade de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de medicamentos eficazes para o tratamento dessa parasitose. Nesse sentido, foram planejados setenta compostos, que foram planejados utilizando estratégias da química medicinal como o bioisosterismo, sendo a nitazoxanida (NTZ) utilizada como modelo, já que apresenta atividade comprovada contra *N. caninum*, e a hibridação molecular que foi fundamentada entre os núcleos do NTZ e do ácido cinâmico (núcleo que apresenta comprovada inibição de proteínas de transporte de formiato e nitrito de *T. gondii*). Os produtos foram obtidos em rendimentos que variaram de 16 a 99%, sendo que muitos deles, foram facilmente purificados por precipitação. Todos os compostos foram caracterizados utilizando as técnicas espectroscópicas (Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear) e espectrométrica (Espectrometria de Massas em Alta Resolução). Foram avaliados 40 compostos, nos ensaios de viabilidade celular e de citotoxicidade contra *N. caninum* (parasita intracelular). Onze compostos (**4**, **19**, **22**, **25**, **28** e **60-64**) causaram baixa toxicidade nas células hospedeiras e foram submetidos ao ensaio que avalia a capacidade de impedir a invasão de *N. caninum* nas células. Destes, dois deles apresentaram um perfil promissor com menos de 50% de invasão. Devido à ausência de tratamentos eficazes contra *N. caninum*, o presente trabalho representa uma contribuição importante no desenvolvimento de novos agentes neosporicidas.

Palavras-chave: Parasitose; neosporicida; bioisosterismo; hibridação molecular;

ABSTRACT

Parasites are responsible for several economic, social and public health problems worldwide, they are not limited to infection in humans, found as well in animals, representing a great problem in the veterinary sector. A parasite which defines these damages and shares many similarities with *Toxoplasma gondii* (responsible by abortions in humans), is *Neospora caninum*, considered the main cause of abortions in cattle, associated with cases of stillborn calves, and/or congenital malformation. Brazil is currently the largest holder of cattle for commercial purposes, the lack of treatments for this disease is a problem with greatest importance, the search for effective drugs for the treatment of this parasitosis is extremely relevant and urgent. In this sense, 70 compounds were planned using strategies in medicinal chemistry such as bioisosterism, with nitazoxanide (NTZ) being used as a model (lead) for isosteric exchanges, since it has proven activity against *N. caninum*, and molecular hybridization between NTZ and cinnamic acid, nucleus responsible for the inhibition of *T. gondii* formate and nitrite transport proteins. The products were obtained in considerable yields (16 to 99%) and many of them were easily purified by precipitation. All compounds were analyzed by spectroscopic (Infrared and Nuclear Magnetic Resonance) and spectrometric (High Resolution Mass Spectrometry) techniques. For biological evaluation, 40 compounds were submitted to the cytotoxicity test, since *N. caninum* is an obligatory intracellular parasite, making it essential to carry out the cell viability test before the anti-parasitic test (invasion), since the maintenance of the cell in the control against the parasite is of total relevance. Eleven compounds (**4**, **19**, **22**, **25**, **28** e **60-64**) showed low toxicity in host cells and were used in assays that evaluate the invasiveness of *N. caninum*, and two of them showed a promising profile with less than 50% invasiveness. Due to the lack of effective treatments against *N. caninum*, the present work represents a great contribution to the development of new neosporicidal agents.

Keywords: Parasitosis; neosporicide; bioisosterism; molecular hybridization;

Lista de Figuras

Figura 1	Proposta de obtenção da purina (1) no período pré-biótico.	25
Figura 2	Esquema geral de parasitas do filo Apicomplexa destacando o complexo apical.	30
Figura 3	Ciclo reprodutivo do <i>Toxoplasma gondii</i> .	32
Figura 4	Semelhança filogenética entre <i>T. gondii</i> e <i>N. caninum</i> .	35
Figura 5	Ciclo reprodutivo do parasita <i>Neospora caninum</i> .	37
Figura 6	Substituições isostéricas de anéis.	40
Figura 7	Potência de NTZ (2) contra <i>N. caninum</i> e pontos estruturais a serem explorados.	41
Figura 8	Mecanismo de redução de MTT em formazana.	44
Figura 9	Perfil geral das amidas planejadas baseadas em NTZ (2) a partir de trocas isostéricas.	47
Figura 10	Moléculas bioinspiradas em NTZ (2) propostos seguindo o isosterismo.	48
Figura 11	Planejamento estrutural das amidas baseadas na estratégia de hibridação molecular.	49
Figura 12	Amidas preparadas pela conjugação de piridinas e derivados de cinamoíla seguindo a hibridação molecular.	49
Figura 13	Substratos piridínicos selecionados (83-86).	50
Figura 14	Proposta de mecanismo para a redução do grupo nitro presente em 85 .	50
Figura 15	Espectro na região do infravermelho para o produto 87 .	51
Figura 16	Espectro de RMN de ¹ H de 87 (600MHz, DMSO).	52
Figura 17	Espectro de RMN de ¹³ C-DEPTq de 87 .	52
Figura 18	Mapa de contorno HSQC do produto 87 .	53
Figura 19	Derivados de ácidos benzóicos escolhidos para a síntese das amidas.	54
Figura 20	Esquema geral para a obtenção das amidas através de reagentes de acoplamento.	55
Figura 21	Proposta de mecanismo para o acoplamento entre 101 e 87 .	57

Figura 22	Espectro na região do infravermelho do composto 5 e descrição numérica da molécula.	58
Figura 23	Espectro de RMN de ^1H de 5 (600MHz, DMSO).	58
Figura 24	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 5 .	59
Figura 25	Mapa de contorno HSQC para a amida 5 .	60
Figura 26	Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de 5 .	61
Figura 27	EM-IES-(+) alta resolução do composto 5 .	62
Figura 28	Estrutura dos cloretos ácidos comerciais adquiridos.	63
Figura 29	Proposta de mecanismo da reação entre 87 e 114 .	64
Figura 30	Comparação entre as amidas 3-6 .	65
Figura 31	Sobreposição dos espectros de hidrogênio das amidas 3-6 .	65
Figura 32	Espectro na região do infravermelho da amida 10 .	66
Figura 33	Espectro de RMN de ^1H de 10 (600MHz, DMSO).	67
Figura 34	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 10 .	68
Figura 35	Mapa de contorno HSQC para a amida 10 .	68
Figura 36	Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de 10 .	70
Figura 37	EM-IES-(+) alta resolução do composto 10 .	70
Figura 38	Espectros de hidrogênio de 10 (azul), 11 (vermelho) e 12 (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.	71
Figura 39	Espectro de RMN de ^1H de 25 (600MHz, DMSO).	72
Figura 40	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 25 .	73
Figura 41	Mapa de contorno HSQC para a amida 25 .	73
Figura 42	Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de 25 .	75
Figura 43	EM-IES-(+) alta resolução do composto 25 .	75
Figura 44	Espectros de hidrogênio de 25 (azul), 26 (vermelho) e 27 (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.	76
Figura 45	Espectro de RMN de ^1H de 40 (600MHz, DMSO).	77
Figura 46	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 40 .	78
Figura 47	Mapa de contorno HSQC para a amida 40 .	79
Figura 48	Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de 40 .	80
Figura 49	EM-IES-(+) alta resolução do composto 40 .	81
Figura 50	Espectros de hidrogênio de 40 (azul), 41 (vermelho) e 42 (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.	82

Figura 51	Espectro de RMN de ^1H de 46 (600MHz, DMSO).	83
Figura 52	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 46 .	83
Figura 53	Mapa de contorno HSQC para a amida 46 .	84
Figura 54	Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de 46 .	86
Figura 55	EM-IES-(+) alta resolução do composto 46 .	86
Figura 56	Espectros de hidrogênio de 40 (azul), 41 (vermelho) e 42 (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.	87
Figura 57	Espectro de RMN de ^1H de 27 (600MHz, DMSO).	88
Figura 58	Modelo de moléculas quirais.	88
Figura 59	Demonstração da rigidez de ligações duplas.	89
Figura 60	Atropoisomerismo de sistemas biarílicos.	89
Figura 61	Atropoisômeros de benzamidas piridínicas.	90
Figura 62	EM-IES-(+) alta resolução do composto 63 .	91
Figura 63	Espectro de RMN de ^1H de 63 (600MHz, DMSO).	92
Figura 64	Expansão do espectro de RMN de ^1H de 63 (600MHz, DMSO).	92
Figura 65	Experimento de TOCSY-1D da amida 63 .	93
Figura 66	Espectro de RMN de ^1H de 60 (600MHz, DMSO).	95
Figura 67	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 60 .	95
Figura 68	Mapa de contorno HSQC para a amida 60 .	96
Figura 69	Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de 60 .	97
Figura 70	EM-IES-(+) alta resolução do composto 60 .	98
Figura 71	Espectros de hidrogênio de 60 e 62 na região dos aromáticos sobrepostos.	99
Figura 72	Perfil geral das moléculas baseadas na hibridação molecular.	100
Figura 73	Espectro na região do infravermelho da amida 75 .	101
Figura 74	Espectro de RMN de ^1H de 75 (600MHz, DMSO).	102
Figura 75	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 75 .	103
Figura 76	Mapa de contorno HSQC para a amida 75 .	104
Figura 77	EM-IES-(+) alta resolução do composto 62 .	105
Figura 78	Estrutura dos compostos avaliados como antiparasitários.	107
Figura 79	Citotoxicidade do DMSO.	109
Figura 80	Citotoxicidade das amidas do primeiro bloco.	110

Figura 81	Amidas contidas no segundo e sexto bloco sintetizadas a partir de 83 .	110
Figura 82	Amidas contidas no terceiro e sexto bloco sintetizadas a partir de 87 .	111
Figura 83	Amidas contidas no quarto e sexto bloco sintetizadas a partir de 84 .	111
Figura 84	Amidas contidas no quinto e sexto bloco sintetizadas a partir de 88 .	112
Figura 85	Perfil de invasão dos parasitas frente ao tratamento com as amidas de baixa toxicidade.	113
Figura 86	Perfil de invasão dos parasitas frente ao tratamento com as amidas sintetizadas a partir de 87 .	114
Figura 87	Redução do grupo nitro presente em 85 e 86 .	121
Figura 88	Metodologias testadas para redução do grupo nitro presente no substrato 85 .	121
Figura 89	Reação para formação do cloreto de acila de 102 .	125
Figura 90	Reação de acoplamento geral entre os substratos 83 e 89 via EDC.	128
Figura 91	Reação de acoplamento geral entre os substratos 83 e 89 via ácido bórico.	129
Figura 92	Esquema geral para a obtenção das amidas aromáticas e alifáticas.	131
Figura 93	Síntese das amidas a partir dos derivados de ácido cinâmico.	147

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Relação entre as DTNs elencadas pela OMS e seus agentes causadores.	27
----------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dados de RMN de 87 (600MHz, DMSO).	53
Tabela 2	Dados de RMN de 5 (600MHz, DMSO).	60
Tabela 3	Dados de RMN de 11 (600MHz, DMSO)	69
Tabela 4	Dados de RMN de 25 (600MHz, DMSO).	75
Tabela 5	Dados de RMN de 40 (600MHz, DMSO).	80
Tabela 6	Dados de RMN de 46 (600MHz, DMSO).	86
Tabela 7	Dados de RMN de 60 (600MHz, DMSO).	98
Tabela 8	Dados de RMN de 75 (600MHz, DMSO).	105
Tabela 9	Porcentagem de DMSO nas diferentes concentrações de amostras.	109
Tabela 10	Equipamentos disponíveis no laboratório.	120
Tabela 11	Condições reacionais para obtenção das amidas via acoplamento por agentes clorinantes.	127
Tabela 12	Condição para obtenção das amidas do primeiro ao sexto bloco.	134
Tabela 13	Dados espectroscópicos das amidas alifáticas 55-74 .	145

APÊNDICE

Espectro 1	Espectro de RMN de ^1H de 88 (600MHz, DMSO).	1
Espectro 2	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 88 .	1
Espectro 3	Mapa de contorno HSQC do produto 88 .	2
Espectro 4	Espectro de RMN de ^1H de 3 (600MHz, DMSO).	2
Espectro 5	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 3 .	3
Espectro 6	Mapa de contorno HSQC do produto 3 .	3
Espectro 7	Mapa de contorno HMBC de 3 .	4
Espectro 8	Espectro de RMN de ^1H de 4 (600MHz, DMSO).	4
Espectro 9	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 4 .	5
Espectro 10	Mapa de contorno HSQC do produto 4 .	5
Espectro 11	Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de 4 .	6
Espectro 12	Espectro de RMN de ^1H de 6 (600MHz, DMSO).	6
Espectro 13	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 6 .	7
Espectro 14	Mapa de contorno HSQC do produto 6 .	7
Espectro 15	Mapa de contorno HMBC de 4 .	8
Espectro 16	Espectro na região do infravermelho da amida 7 .	8
Espectro 17	Espectro de RMN de ^1H de 7 (600MHz, DMSO).	9
Espectro 18	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 7 .	9
Espectro 19	EM-IES-(+) alta resolução do composto 7 .	10
Espectro 20	Espectro na região do infravermelho da amida 13 .	10
Espectro 21	Espectro de RMN de ^1H de 13 (600MHz, DMSO).	11
Espectro 22	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 13 .	11
Espectro 23	EM-IES-(+) alta resolução do composto 13 .	12
Espectro 24	Espectro na região do infravermelho da amida 16 .	12
Espectro 25	Espectro de RMN de ^1H de 16 (600MHz, DMSO).	13
Espectro 26	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 16 .	13
Espectro 27	EM-IES-(+) alta resolução do composto 16 .	14
Espectro 28	Espectro na região do infravermelho da amida 14 .	14
Espectro 29	Espectro de RMN de ^1H de 14 (600MHz, DMSO).	15
Espectro 30	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 14 .	15
Espectro 31	EM-IES-(+) alta resolução do composto 14 .	16

Espectro 32	Espectro na região do infravermelho da amida 17 .	16
Espectro 33	Espectro de RMN de ^1H de 17 (600MHz, DMSO).	17
Espectro 34	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 17 .	17
Espectro 35	EM-IES-(+) alta resolução do composto 17 .	18
Espectro 36	Espectro na região do infravermelho da amida 9 .	18
Espectro 37	Espectro de RMN de ^1H de 9 (600MHz, DMSO).	19
Espectro 38	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 9 .	19
Espectro 39	EM-IES-(+) alta resolução do composto 9 .	20
Espectro 40	Espectro na região do infravermelho da amida 15 .	20
Espectro 41	Espectro de RMN de ^1H de 15 (600MHz, DMSO).	21
Espectro 42	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 15 .	21
Espectro 43	EM-IES-(+) alta resolução do composto 15 .	22
Espectro 44	Espectro na região do infravermelho da amida 18 .	22
Espectro 45	Espectro de RMN de ^1H de 18 (600MHz, DMSO).	23
Espectro 46	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 18 .	23
Espectro 47	EM-IES-(+) alta resolução do composto 18 .	24
Espectro 48	Espectro na região do infravermelho da amida 19 .	24
Espectro 49	Espectro de RMN de ^1H de 19 (600MHz, DMSO).	25
Espectro 50	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 19 .	25
Espectro 51	EM-IES-(+) alta resolução do composto 19 .	26
Espectro 52	Espectro na região do infravermelho da amida 22 .	26
Espectro 53	Espectro de RMN de ^1H de 22 (600MHz, DMSO).	27
Espectro 54	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 22 .	27
Espectro 55	EM-IES-(+) alta resolução do composto 22 .	28
Espectro 56	Espectro na região do infravermelho da amida 28 .	28
Espectro 57	Espectro de RMN de ^1H de 28 (600MHz, DMSO).	29
Espectro 58	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 28 .	29
Espectro 59	EM-IES-(+) alta resolução do composto 28 .	30
Espectro 60	Espectro na região do infravermelho da amida 23 .	30
Espectro 61	Espectro de RMN de ^1H de 23 (600MHz, DMSO).	31
Espectro 62	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 23 .	31
Espectro 63	EM-IES-(+) alta resolução do composto 23 .	32
Espectro 64	Espectro na região do infravermelho da amida 29 .	32

Espectro 65	Espectro de RMN de ^1H de 29 (600MHz, DMSO).	33
Espectro 66	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 29 .	33
Espectro 67	EM-IES-(+) alta resolução do composto 29 .	34
Espectro 68	Espectro na região do infravermelho da amida 21 .	34
Espectro 69	Espectro de RMN de ^1H de 21 (600MHz, DMSO).	35
Espectro 70	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 21 .	35
Espectro 71	EM-IES-(+) alta resolução do composto 21 .	36
Espectro 72	Espectro na região do infravermelho da amida 24 .	36
Espectro 73	Espectro de RMN de ^1H de 24 (600MHz, DMSO).	37
Espectro 74	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 24 .	37
Espectro 75	EM-IES-(+) alta resolução do composto 24 .	38
Espectro 76	Espectro na região do infravermelho da amida 30 .	38
Espectro 77	Espectro de RMN de ^1H de 30 (600MHz, DMSO).	39
Espectro 78	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 30 .	39
Espectro 79	EM-IES-(+) alta resolução do composto 30 .	40
Espectro 80	Espectro na região do infravermelho da amida 31 .	40
Espectro 81	Espectro de RMN de ^1H de 31 (600MHz, DMSO).	41
Espectro 82	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 31 .	41
Espectro 83	EM-IES-(+) alta resolução do composto 31 .	42
Espectro 84	Espectro na região do infravermelho da amida 34 .	42
Espectro 85	Espectro de RMN de ^1H de 34 (600MHz, DMSO).	43
Espectro 86	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 34 .	43
Espectro 87	EM-IES-(+) alta resolução do composto 34 .	44
Espectro 88	Espectro na região do infravermelho da amida 37 .	44
Espectro 89	Espectro de RMN de ^1H de 37 (600MHz, DMSO).	45
Espectro 90	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 37 .	45
Espectro 91	EM-IES-(+) alta resolução do composto 37 .	46
Espectro 92	Espectro na região do infravermelho da amida 35 .	46
Espectro 93	Espectro de RMN de ^1H de 35 (600MHz, DMSO).	47
Espectro 94	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 35 .	47
Espectro 95	EM-IES-(+) alta resolução do composto 35 .	48
Espectro 96	Espectro na região do infravermelho da amida 38 .	48
Espectro 97	Espectro de RMN de ^1H de 38 (600MHz, DMSO).	49

Espectro 98	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 38 .	49
Espectro 99	EM-IES-(+) alta resolução do composto 38 .	50
Espectro 100	Espectro na região do infravermelho da amida 33 .	50
Espectro 101	Espectro de RMN de ^1H de 33 (600MHz, DMSO).	51
Espectro 102	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 33 .	51
Espectro 103	EM-IES-(+) alta resolução do composto 33 .	52
Espectro 104	Espectro na região do infravermelho da amida 36 .	52
Espectro 105	Espectro de RMN de ^1H de 36 (600MHz, DMSO).	53
Espectro 106	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 36 .	53
Espectro 107	EM-IES-(+) alta resolução do composto 36 .	54
Espectro 108	Espectro na região do infravermelho da amida 39 .	54
Espectro 109	Espectro de RMN de ^1H de 39 (600MHz, DMSO).	55
Espectro 110	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 39 .	55
Espectro 111	EM-IES-(+) alta resolução do composto 39 .	56
Espectro 112	Espectro na região do infravermelho da amida 43 .	56
Espectro 113	Espectro de RMN de ^1H de 43 (600MHz, DMSO).	57
Espectro 114	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 43 .	57
Espectro 115	EM-IES-(+) alta resolução do composto 43 .	58
Espectro 116	Espectro na região do infravermelho da amida 49 .	58
Espectro 117	Espectro de RMN de ^1H de 49 (600MHz, DMSO).	59
Espectro 118	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 49 .	59
Espectro 119	EM-IES-(+) alta resolução do composto 49 .	60
Espectro 120	Espectro na região do infravermelho da amida 52 .	60
Espectro 21	Espectro de RMN de ^1H de 52 (600MHz, DMSO).	61
Espectro 122	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 52 .	61
Espectro 123	EM-IES-(+) alta resolução do composto 52 .	62
Espectro 124	Espectro na região do infravermelho da amida 50 .	62
Espectro 125	Espectro de RMN de ^1H de 50 (600MHz, DMSO).	63
Espectro 126	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 50 .	63
Espectro 127	EM-IES-(+) alta resolução do composto 50 .	64
Espectro 128	Espectro na região do infravermelho da amida 53 .	64
Espectro 129	Espectro de RMN de ^1H de 53 (600MHz, DMSO).	65
Espectro 130	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 53 .	65

Espectro 131	EM-IES-(+) alta resolução do composto 53 .	66
Espectro 132	Espectro na região do infravermelho da amida 45 .	66
Espectro 133	Espectro de RMN de ^1H de 45 (600MHz, DMSO).	67
Espectro 134	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 45 .	67
Espectro 135	EM-IES-(+) alta resolução do composto 45 .	68
Espectro 136	Espectro na região do infravermelho da amida 51 .	68
Espectro 137	Espectro de RMN de ^1H de 51 (600MHz, DMSO).	69
Espectro 138	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 51 .	69
Espectro 139	EM-IES-(+) alta resolução do composto 51 .	70
Espectro 140	Espectro na região do infravermelho da amida 54 .	70
Espectro 141	Espectro de RMN de ^1H de 54 (600MHz, DMSO).	71
Espectro 142	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 54 .	71
Espectro 143	EM-IES-(+) alta resolução do composto 54 .	72
Espectro 144	Espectro na região do infravermelho da amida 55 .	72
Espectro 145	Espectro de RMN de ^1H de 55 (600MHz, DMSO).	73
Espectro 146	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 55 .	73
Espectro 147	EM-IES-(+) alta resolução do composto 55 .	74
Espectro 148	Espectro na região do infravermelho da amida 58 .	74
Espectro 149	Espectro de RMN de ^1H de 58 (600MHz, DMSO).	75
Espectro 150	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 58 .	75
Espectro 151	EM-IES-(+) alta resolução do composto 58 .	76
Espectro 152	Espectro na região do infravermelho da amida 59 .	76
Espectro 153	Espectro de RMN de ^1H de 59 (600MHz, DMSO).	77
Espectro 154	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 59 .	77
Espectro 155	EM-IES-(+) alta resolução do composto 59 .	78
Espectro 156	Espectro na região do infravermelho da amida 60 .	78
Espectro 157	Espectro de RMN de ^1H de 60 (600MHz, DMSO).	79
Espectro 158	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 60 .	79
Espectro 159	EM-IES-(+) alta resolução do composto 60 .	80
Espectro 160	Espectro na região do infravermelho da amida 61 .	80
Espectro 161	Espectro de RMN de ^1H de 61 (600MHz, DMSO).	81
Espectro 162	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 61 .	81
Espectro 163	EM-IES-(+) alta resolução do composto 61 .	82

Espectro 164	Espectro na região do infravermelho da amida 63 .	82
Espectro 165	Espectro de RMN de ^1H de 63 (600MHz, DMSO).	83
Espectro 166	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 63 .	83
Espectro 167	EM-IES-(+) alta resolução do composto 63 .	84
Espectro 168	Espectro na região do infravermelho da amida 64 .	84
Espectro 169	Espectro de RMN de ^1H de 64 (600MHz, DMSO).	85
Espectro 170	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 64 .	85
Espectro 171	EM-IES-(+) alta resolução do composto 64 .	86
Espectro 172	Espectro na região do infravermelho da amida 65 .	86
Espectro 173	Espectro de RMN de ^1H de 65 (600MHz, DMSO).	87
Espectro 174	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 65 .	87
Espectro 175	EM-IES-(+) alta resolução do composto 65 .	88
Espectro 176	Espectro na região do infravermelho da amida 66 .	88
Espectro 177	Espectro de RMN de ^1H de 66 (600MHz, DMSO).	89
Espectro 178	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 66 .	89
Espectro 179	EM-IES-(+) alta resolução do composto 66 .	90
Espectro 180	Espectro na região do infravermelho da amida 67 .	90
Espectro 181	Espectro de RMN de ^1H de 67 (600MHz, DMSO).	91
Espectro 182	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 67 .	91
Espectro 183	EM-IES-(+) alta resolução do composto 67 .	92
Espectro 184	Espectro na região do infravermelho da amida 68 .	92
Espectro 185	Espectro de RMN de ^1H de 68 (600MHz, DMSO).	93
Espectro 186	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 68 .	93
Espectro 187	EM-IES-(+) alta resolução do composto 68 .	94
Espectro 188	Espectro na região do infravermelho da amida 69 .	94
Espectro 189	Espectro de RMN de ^1H de 69 (600MHz, DMSO).	95
Espectro 190	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 69 .	95
Espectro 191	EM-IES-(+) alta resolução do composto 69 .	96
Espectro 192	Espectro na região do infravermelho da amida 70 .	96
Espectro 193	Espectro de RMN de ^1H de 70 (600MHz, DMSO).	97
Espectro 194	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 70 .	97
Espectro 195	EM-IES-(+) alta resolução do composto 70 .	98
Espectro 196	Espectro na região do infravermelho da amida 71 .	98

Espectro 197	Espectro de RMN de ^1H de 71 (600MHz, DMSO).	99
Espectro 198	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 71 .	99
Espectro 199	EM-IES-(+) alta resolução do composto 71 .	100
Espectro 200	Espectro na região do infravermelho da amida 72 .	100
Espectro 201	Espectro de RMN de ^1H de 72 (600MHz, DMSO).	101
Espectro 202	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 72 .	101
Espectro 203	EM-IES-(+) alta resolução do composto 72 .	102
Espectro 204	Espectro na região do infravermelho da amida 73 .	103
Espectro 205	Espectro de RMN de ^1H de 73 (600MHz, DMSO).	103
Espectro 206	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 73 .	103
Espectro 207	EM-IES-(+) alta resolução do composto 73 .	104
Espectro 208	Espectro na região do infravermelho da amida 74 .	104
Espectro 209	Espectro de RMN de ^1H de 74 (600MHz, DMSO).	105
Espectro 210	Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 74 .	105
Espectro 211	EM-IES-(+) alta resolução do composto 74 .	106

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABIEC - Associação brasileira das indústrias exportadoras de carne
- CC – Cromatografia em Coluna
- CCD – Cromatografia em Camada Delgada
- CDPK1 - Proteína quinase 1 dependente de cálcio
- d – Duplete
- DTN – doenças tropicais negligenciadas
- EM – Espectrometria de Massas
- EM-IES – Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray*
- EUA – Estados Unidos da América
- FDA – Food and Drug Administration
- FE – Fase Estacionária
- FM – Fase Móvel
- HDAC – Histona desacetilase
- HMBC – *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*
- HMQC – *Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*
- IQ – Instituto de Química
- J – Constante de acoplamento (em Hertz)
- m – Multiplete
- MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
- NFT - Proteínas de transporte de formiato e nitrito
- NTZ – Nitazoxanida
- PIB – Produto interno bruto
- q – Quadruplete
- qu – Quintuplete
- REA – Relação estrutura atividade
- RMN de ^1H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
- RMN de ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
- s – Singlete
- SNC – Sistema nervoso central
- t – Triplete
- δ – deslocamento químico em relação ao TMS (expresso em ppm)

Sumário

1. Introdução	24
1.1. Parasitologia	24
1.2. Toxoplasmose	28
1.3. Parasitismo no setor veterinário	32
1.4. Neosporose	33
1.5. Estratégias em química medicinal para o desenvolvimento de novos neosporicidas	38
1.5.1. Isosterismo	38
1.5.2. Hibridação molecular	41
1.6. Citotoxicidade e atividade dos compostos piridínicos	42
2. Objetivos	46
2.1. Objetivo geral	46
2.2. Objetivos específicos	46
3. Resultados e discussões	47
3.1. Planejamento molecular	47
3.2. Reduções do grupo nitro presente nos substratos piridínicos	49
3.3. Derivatizações do ácido carboxílico	54
3.4. Avaliação da flexibilidade das amidas	94
3.5. Os derivados amídicos fundamentados na estratégia de hibridação molecular	99
3.6. Atividade biológica	106
4. Conclusões	114
5. Materiais e equipamentos	116
5.1. Materiais	116

5.1.1. Solventes	116
5.1.2. Reagentes	116
5.2 Cromatografia	117
5.2.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)	117
5.3. Análises espectroscópicas	118
5.3.1 Espectroscopia por infravermelho (IV)	118
5.3.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	118
5.3.3 Espectroscopia de massas em alta resolução (EM-IES)	118
5.4 Equipamentos utilizados	119
6. Metodologia	120
6.1. Redução do grupo nitro	120
6.1.1. Redução do grupo nitro pelo ferro	121
6.1.2. Redução do grupo nitro pelo paládio	122
6.1.3. Redução do grupo nitro pelo zinco	123
6.1.4. Redução do grupo nitro pelo cloreto de estanho	123
6.2 Formação do cloreto ácido	124
6.2.1 Formação do cloreto ácido através de agentes clorinantes	125
6.3. Amidação direta via reagentes de acoplamento	128
6.3.1 Reação de acoplamento via EDC	128
6.3.2 Reação de acoplamento via ácido bórico	129
6.4. Síntese das amidas a partir da reação entre aminas e cloretos ácidos	131
6.4.1. Cloretos ácidos derivados do ácido benzoico e alifáticos	131
6.4.2. Cloretos ácidos derivados do ácido cinâmico	147
6.5 Avaliação da citotoxicidade	148
6.6 Avaliação da atividade antiparasitária	148
7. Referências	150

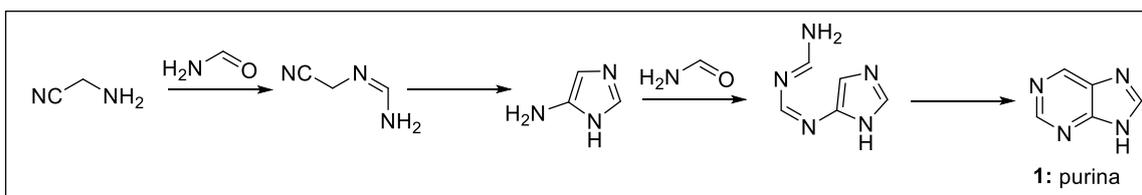
1. Introdução:

1.1. PARASITOLOGIA:

Há cerca de quatro bilhões de anos o planeta Terra, envolvido em intensas atividades vulcânicas, altas temperaturas, radiação ultravioleta, chuvas torrenciais e descargas elétricas, iniciava o processo de síntese de suas primeiras moléculas orgânicas, (REY, 2008). Com uma atmosfera repleta de gases a base de carbono, nitrogênio e vapor de água, as condições salientadas permitiam a síntese dos primeiros compostos orgânicos através de diferentes reações químicas (REY, 2008).

Essas moléculas tendiam a se acumular nos mares que cobriam o planeta e reagiam entre si, através de processos cada vez mais complexos, levando à formação de estruturas moleculares cada vez mais rebuscadas (REY, 2008). A formação desses compostos mais complexos como purinas, pirimidinas, aminoácidos, glicídios e lipídeos a partir de moléculas mais simples, ocorreu através das centenas de milhões de anos em que as condições ambientais facilitavam a síntese dessas classes moleculares (REY, 2008). Por exemplo, estudos sugerem que a purina (**1**) foi sintetizada através da reação entre um aldeído e uma nitrila no período pré-biótico (**Figura 1**) (SLAVOVA; ENCHEV, 2020).

Figura 1: Proposta de obtenção da purina (**1**) no período pré-biótico.



Fonte: (SLAVOVA; ENCHEV, 2020).

Com a síntese dessas classes moleculares, fundamentais para o que viria a se tornar vida no planeta, muitos processos evolutivos começaram a se desenvolver na superfície do globo, dentre eles, a fotossíntese que é fundamental no desenvolvimento das espécies mediante captura energética via processos químicos (FISCHER; HEMP; JOHNSON, 2016; REY, 2008). O surgimento dessa maquinaria de absorção energética via respiração celular, é considerado uma alavanca para a vida na terra, em vista desse processo estar associado com a liberação de oxigênio na atmosfera, o que leva a um consequente aumento desse gás disperso no ambiente, direcionando ao aparecimento da vida aeróbia no planeta (WARD et al., 2019).

O aumento de oxigênio atmosférico levou ao surgimento dos primeiros seres heterotróficos, ou seja, dependentes de fontes externas de energia, característica que contrasta àquela encontrada nos seres que realizam fotossíntese, também chamados de autótrofos, os quais produzem seu próprio alimento através da energia solar (SCHÖNHEIT; BUCKEL; MARTIN, 2016; WARD et al., 2019). Com esse novo aparato surgindo, muitos organismos não conseguiam produzir substratos moleculares fundamentais para sua manutenção, levando esses seres a investirem em outras fontes que suprissem suas necessidades (REY, 2008).

A relação estabelecida por esses organismos a fim de suprir suas carências, sejam nutricionais ou metabólicas, é denominada de simbiose e pode ocorrer de três formas diferentes: o mutualismo, o comensalismo e o parasitismo (LEUNG; POULIN, 2021). O mutualismo é definido como uma interação em que todas as espécies envolvidas se beneficiam, essa relação nem sempre é obrigatória, o peixe-palhaço e a anêmona do mar ilustram bem essa relação, enquanto o peixe recebe abrigo a anêmona se beneficia pela proteção (LEUNG; POULIN, 2021). O comensalismo é definido como uma interação entre dois organismos, o primeiro chamado de anfitrião que não se beneficia nesta relação, enquanto o segundo chamado de comensal é muito beneficiado, seja em termos nutricionais ou de abrigo, um exemplo ocorre entre leões e hienas em que as hienas como comensais se beneficiam dos restos da caça dos leões (LEUNG; POULIN, 2021). Por fim, o parasitismo aparece como uma relação entre dois organismos, em que um deles serve como hospedeiro e o outro, o parasita, se beneficia de seu hospedeiro causando uma série de prejuízos, um exemplo que ilustra essa interação ocorre entre o ser humano e o protozoário *Trypanosoma cruzi* causador da doença de Chagas (LEUNG; POULIN, 2021; REY, 2008).

Dentre essas relações desenvolvidas pelos organismos, o parasitismo desempenha um papel de extrema relevância visto seu histórico, muitas vezes associados a patologias tanto em humanos quanto em animais (HAJARE et al., 2021). A relação entre humanos e parasitas remonta a um passado remoto na história, sendo o conhecimento dessas interações interespecíficas ao longo do tempo uma ferramenta fundamental na compreensão da evolução humana, se valendo inclusive de uma área consideravelmente nova na ciência, a paleoparasitologia (BARNES et al., 2017; COX, 2002). Registros de casos de parasitismo podem ser encontrados na bíblia, como o relato dado por Moisés sobre as “serpentes de fogo” o qual é descrito por parasitologistas como sendo casos de dracunculíase (doença do verme de Guiné), há

ainda outros relatos encontrados no papiro de Ebers (1500 a.C.) e nos trabalhos de Hipócrates (450-370 a.C.), por exemplo (COX, 2002; DAGEN, 2020; HOTEZ et al., 2007).

A dracunculíase se classifica como um parasita do tipo helminto, além dessa classe há os ectoparasitas, como piolhos e carrapatos, e os protozoários, definidos como parasitas unicelulares como por exemplo o *Toxoplasma gondii* e o *Trypanosoma cruzi*. Cabe destacar que essas três classes de parasitas são as mais frequentes em diagnósticos médicos na atualidade (BUTTERS; YEOH; CURTIS, 2019).

Não estando limitado ao campo histórico, o parasitismo continua sendo um desafio para a população mundial, afetando os campos sociais, econômicos e de saúde pública. Uma vez que além da infecção e morte, os parasitas podem causar uma série de comorbidades afetando a qualidade de vida dos infectados (CHÁVEZ-RUVALCABA et al., 2021; HAJARE et al., 2021; HOTEZ et al., 2007; TORGERSON et al., 2015).

Dentre as parasitoses existentes, aquelas denominadas infecções parasitárias intestinais (IPIs) são as que mais causam danos socioeconômicos no planeta. Estima-se que, de 7 bilhões de pessoas no mundo, 3,5 bilhões possuem algum tipo de parasitose intestinal, pelo contato com helmintos ou com protozoários, além disso, anualmente as IPIs são responsáveis por cerca 200 mil mortes (HAJARE et al., 2021).

A ingestão de água e alimentos contaminados com alguma forma do parasita é a principal maneira de contrair uma infecção parasitária intestinal, não em vão, regiões negligenciadas com a população marginalizada são endêmicas para essas infecções. Isso ocorre uma vez que essas pessoas vivem em ambientes insalubres com pouca ou nenhuma medida de sanitização, regiões onde a água muitas vezes não passa pelo tratamento adequado sendo utilizada para consumo e usos domésticos (BARNES et al., 2017; CHÁVEZ-RUVALCABA et al., 2021; OMAROVA et al., 2018; SANTOS et al., 2020).

As infecções parasitárias são problemas muito presente ao redor do mundo, podendo estar associada à infecção dos seres humanos por uma gama de até 70 parasitas diferentes variando entre helmintos, cestodas, nematoides, trematodas e protozoários (HASSANAIN et al., 2013; PANE et al., 2021; TODD, 2014) O contato entre parasitas e seres humanos é sempre muito próximo, algo que pode ser comprovado por um estudo realizado em 2017 na Itália que avaliou a presença de protozoários em saladas vendidas em supermercados prontas para consumo, mostrando que cerca de 4% das saladas comercializadas possuíam algum protozoário (CARADONNA et al., 2017) mesmo com

todos os tratamentos envolvidos na comercialização desses produtos e todas as características sanitárias de um país de primeiro mundo.

Os problemas com parasitas se intensificam em regiões mais pobres e isoladas onde a atenção no sentido de sanitização de água e esgoto é pouca ou nenhuma, esse descaso sanitário quando somado ao clima quente e úmido explica a alta dispersão desses organismos em regiões tropicais, consideradas endêmicas para esse tipo de patologia (MACKEY et al., 2014; SHORT; CAMINADE; THOMAS, 2017). Essa relação se torna evidente quando analisamos os agentes causadores de cada classe de doenças tropicais negligenciadas (DTNs) elencadas pela organização mundial da saúde (OMS): das vinte classes de DTNs doze delas são causadas por parasitas, quatro por bactérias, duas por vírus, uma outra por fungo e a última é relativa à picada de cobras (**Quadro 1**) (DOS SANTOS et al., 2018).

Quadro 1: Relação entre as DTNs elencadas pela OMS e seus agentes causadores. (continua)

Patologia (s)	Agente causador
Úlcera de Buruli	Bactéria
Doença de Chagas	Parasita
Dengue e Chikungunya	Vírus
Dracunculíase	Parasita
Equinococose	Parasita
Infecções por trematódeos	Parasita
Tripanossomíase Africana	Parasita
Leishmaniose	Parasita
Lepre	Bactéria
Filariase linfática	Parasita
Micetoma e outras micoses	Fungo
Oncocercose	Parasita
Raiva	Vírus
Piolhos e outros ectoparasitas	Parasita
Esquistossomose	Parasita
Helmintíases	Parasita
Envenenamento por cobras	Cobras

Fonte: OMS, 2022.

Quadro 1: Relação entre as DTNs elencadas pela OMS e seus agentes causadores.
(conclusão)

Patologia (s)	Agente causador
Teníase e cisticercose	Parasita
Tracoma	Bactéria
Treponematose	Bactéria

Fonte: OMS, 2022.

Outro exemplo que demonstra a dispersividade dos parasitas globalmente, embora seja mais comum em regiões mais pobres e negligenciadas, ocorre nos Estados Unidos (EUA) onde o centro de controle de doenças (CDC) catalogou cinco doenças parasitárias de alto interesse no que tange a saúde pública do país: doença de Chagas, ciclosporíase, cisticercose, toxocaríase, tricomoníase e a toxoplasmose (DEVLEESSCHAUWER et al., 2017; EEI; TONY, 2011).

Devido ao impacto causado pelos parasitas ao redor do mundo, sua relevância no setor socioeconômico, sua alta dispersão na população mundial, sua associação com problemas de saúdes diversos, os surtos recorrentes e ressurgentes em função da resistência que esses organismos têm desenvolvido, cada vez mais há a necessidade de se propor novas estratégias a fim de controlar as infecções parasitárias (RENSLO; MCKERROW, 2006).

1.2. TOXOPLASMOSE

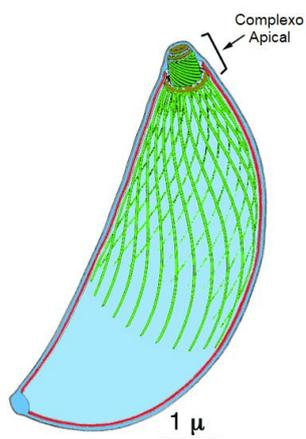
As relações de parasitismo no reino *animalia* podem ser promovidas por artrópodes (ectoparasitas), helmintos ou protozoários e espera-se que esses organismos evoluam a fim de cada vez mais aumentar sua infecção devido a sua dependência de seus hospedeiros (ARONSON; MAGILL, 2019; KERBOEUF et al., 2008). Nesse sentido, muitas relações parasitárias têm aparecido e reaparecido cada vez mais infecciosas, como a toxoplasmose, considerada a doença parasitária com maior dispersão no mundo, sendo encontrada em todos os países do planeta atingindo aproximadamente um terço da população global (CHÁVEZ-RUVALCABA et al., 2021). A toxoplasmose é causada por um protozoário pertencente ao filo apicomplexa, denominado *Toxoplasma gondii*, o qual é um parasita obrigatoriamente intracelular necessitando de hospedeiros para sua sobrevivência (AL-BAJALAN et al., 2017; JONES; PARISE; FIORE, 2014).

Os protozoários parasitários são seres unicelulares de organização eucariótica, ou seja, o material nuclear está separado do citoplasma por uma membrana celular (MATHISON; SAPP, 2021). Com mais de 10.000 organismos elencados nesta classificação, esses parasitas possuem diferentes dimensões e morfologias, além de infectarem diferentes partes do corpo de seu hospedeiro (MATHISON; SAPP, 2021; REY, 2008).

A morfologia e dimensão do *T. gondii* é afetada por ele ser um parasita obrigatoriamente intracelular, uma vez que os processos reprodutivos desses organismos só podem ser desenvolvidos no interior da célula de seus hospedeiros. Para esse influxo, os parasitas requerem uma maquinaria de reconhecimento celular, bem como uma dimensão adequada para sua alocação no interior das células (LEON-SICAIROS et al., 2015).

O *T. gondii*, é considerado um parasita do filo apicomplexa por possuir um complexo apical, que consiste justamente dessa maquinaria essencial no reconhecimento do parasita pelas células. É através dessa estrutura que o parasita secreta os materiais necessários para o seu influxo para o interior das células, sendo responsável tanto pelo processo de influxo, entrada do parasita quanto pelo processo de efluxo, ou seja, sua saída das células (**Figura 2**) (BARGIERI et al., 2014; KATRIS et al., 2014).

Figura 2: Esquema geral de parasitas do filo Apicomplexa destacando o complexo apical.



Adaptado de KATRIS et al., 2014.

Além do complexo apical, os apicomplexa são caracterizados pela sua reprodução que ocorre de forma sexuada e assexuada as quais podem ou não ser no mesmo hospedeiro. Quando o ciclo reprodutivo do parasita ocorre em mais de um

hospedeiro, aquele onde ocorre o ciclo sexuado do parasita é denominado de hospedeiro definitivo, e o hospedeiro intermediário é aquele organismo que sustenta o ciclo reprodutivo assexuado do parasita (TODD G. SMITH; DAVID WALLIKER; LISA C. RANFORD-CARTWRIGHT, 2002).

A alta dispersividade demonstrada pelo *T. gondii* está relacionada ao contato de seres humanos com gatos, hospedeiros definitivos desses parasitas que são expelidos na forma de oocistos não esporulados nas fezes dos felinos e podem entrar em contato com a água e/ou alimentos de seus donos (HUGHES, 1985; SEVERANCE et al., 2016; WOODHALL et al., 2014; ZHOU et al., 2021).

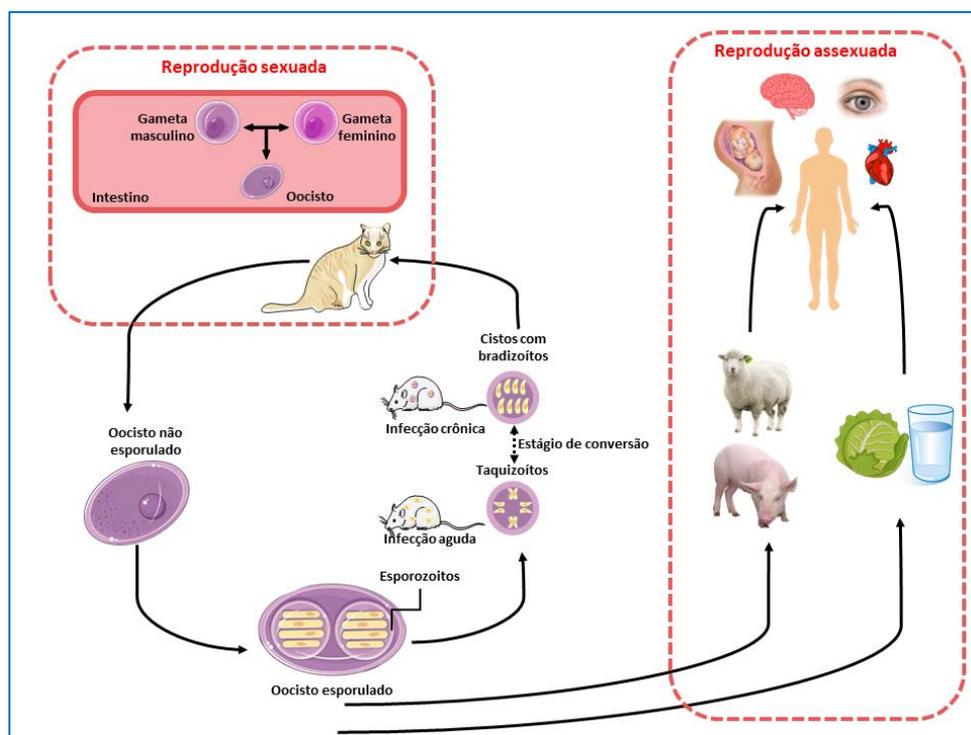
A fim de compreender o caminho que esses parasitas percorrem, desde seu hospedeiro definitivo até os mamíferos como os seres humanos, um estudo sobre seu ciclo reprodutivo se faz necessário. Esse ciclo tem início no intestino dos felinos onde as células parasitárias tomam uma forma reprodutora denominada gametócitos (do grego “células cônjuges”), esses gametas se diferenciam morfológicamente entre masculino, menor e dotado de mobilidade, e o feminino, maior e estático (CRUZ-BUSTOS et al., 2021; REY, 2008). Quando essas células se encontram ocorre a cópula entre elas levando a formação de um ovo, também chamado de zigoto, que logo é envolvido por uma membrana, daí o nome oocisto (do grego “ovo vesiculado”). Então, esse ovo é efluxado das células epiteliais presentes no intestino e é eliminado através das fezes de seu hospedeiro a fim de cumprir seu amadurecimento (CRUZ-BUSTOS et al., 2021; TODD G. SMITH; DAVID WALLIKER; LISA C. RANFORD-CARTWRIGHT, 2002).

Esses oocistos ainda não esporulados se desenvolvem na presença de oxigênio, onde em poucos dias se esporulam formando duas unidades de esporocistos que formam em seu interior quatro unidades de esporozoítos, forma infectante do parasita que pode ter contato com felinos, reiniciando o ciclo, mas esses esporozoítos podem ainda ser ingeridos por outros mamíferos (TONG et al., 2021). Um caso que chama a atenção da classe médica e veterinária ocorre com os ratos, que quando entram em contato com *T. gondii* desenvolvem uma excentricidade fisiológica perdendo o medo instintivo por seus predadores. Dessa forma, com a alteração nos níveis cerebrais desses animais, é possível verificar que se tornarão presas mais fáceis para os gatos e, convenientemente, o parasita novamente entrará em contato com seu hospedeiro definitivo, reiniciando mais uma vez o ciclo de reprodução sexuada (ABDULAI-SAIKU; TONG; VYAS, 2021; TONG et al., 2021).

Em outros mamíferos que não sejam felinos o ciclo do parasita é assexuado, e tem início através dos esporozoítos, forma infectante do parasita, ou seja, dotado de complexo apical (STEINBÜCHEL & DE SOUZA, 2021.). Após ser ingerido através de alimentos e/ou água infectada, esse parasita deve se abrigar no interior das células de seu hospedeiro visando sua sobrevivência. Dentro da célula o *T. gondii* passa por mudanças morfológicas, além de se nutrir e crescer, até o ponto em que esse parasita já tem suscetibilidade para sua divisão nuclear e consequente reprodução assexuada (REY, 2008; TONG et al., 2021).

Nesse momento, os parasitas começam a se multiplicar via divisão celular, processo denominado esquizogonia (do grego “geração por separação”), gerando duas formas morfológicas que se interconvertem entre si mediante a necessidade do parasita, seja para promover uma maior infectividade, taquizoítos, ou para promover a manutenção do parasita cronicamente via criação de cistos contendo os bradizoítos (Figura 3) (KOCHANOWSKY; KOSHY, 2018; SHARMA et al., 2020).

Figura 3: Ciclo reprodutivo do *Toxoplasma gondii*.



Fonte: O autor.

Todas as etapas discutidas para o ciclo reprodutivo de *T. gondii*, estão associadas a diversos sintomas que esses parasitas provocam no organismo de seus hospedeiros, variando de infecções brandas semelhantes à uma gripe comum, até aqueles casos mais

graves que acometem comumente pessoas imunossuprimidas e mulheres grávidas (EEI; TONY, 2020; JONES; PARISE; FIORE, 2014).

Pacientes imunossuprimidos apresentam sintomas mais intensos aumentando o índice de morbidade e mortalidade, enquanto mulheres que são infectadas durante a gravidez podem afetar o feto através de infecção congênita, sendo que quando esse tipo de infecção ocorre no início da gestação pode causar casos de hidrocefalia, abortos espontâneos, fetos natimortos e, em estágios gestacionais mais avançados, pode causar sequelas como problemas de visão, audição, além de problemas que afetam o sistema nervoso central (SNC) (JONES; PARISE; FIORE, 2014; VAZ et al., 2011; WALLON; PEYRON, 2018; WOODHALL et al., 2014).

O parasitismo desempenhado por *T. gondii* sobre os seres humanos é um assunto de extrema relevância, dada a sua alta infectividade e os sintomas associados a essa patologia que causa danos consideráveis (CHÁVEZ-RUVALCABA et al., 2021). No entanto, o parasita causador da toxoplasmose não se limita aos danos sobre os humanos, sendo encontrado como parasita em diversos outros mamíferos, muitos desses de interesse econômico. Por exemplo, no setor veterinário, esse parasita é conhecido por sua característica abortiva em animais como cabras e ovelhas, sendo que cerca de 23% dos abortos no setor de ovinos sejam em função da toxoplasmose (DUBEY, 2009; DUBEY et al., 2020; GUTIÉRREZ-EXPÓSITO et al., 2021).

1.3. PARASITISMO NO SETOR VETERINÁRIO

De forma geral, casos de parasitismo ocorrem ao redor do mundo afetando animais diversos, dentre eles aqueles de interesse econômico como ovinos, suínos, aves, equinos e bovinos levando a perdas na produtividade em todos os setores dependentes dos insumos gerados por esses animais (FITZPATRICK, 2013; TORGERSON, 2013a). Com o aumento da população mundial, cada vez mais é requerido uma maior quantidade de insumos originários de setores animais como laticínios, ovos e carnes e, nesse sentido, a segurança alimentar está diretamente associada à segurança animal frente às diferentes doenças, dentre elas aquelas com origens parasitárias (COLES, 2001).

Doenças parasitárias são de extrema relevância no setor veterinário, uma vez que atividades pecuárias estão intimamente relacionadas à economia de um país

(TORGERSON, 2013b). Os ruminantes são considerados como ativos financeiros, ou *commodities*, devido à clara associação ao ganho de renda através da venda de insumos relacionados à criação, domesticação e/ou abate, de forma que quando esses animais são infectados toda essa cadeia produtiva pode ser afetada pela ação do parasita, a qual promove uma série de sintomas como diarreia, baixa taxa de crescimento, problemas reprodutivos, órgãos afetados podendo levar inclusive à morte das espécies (KALTUNGO; MUSA, 2013; KUMAR et al., 2013; RASHID et al., 2019).

Parasitas classificados como helmintos, nematódeos, ectoparasitas e protozoários ocupam um lugar de grande expressividade no setor veterinário, isso porque são responsáveis por diversos problemas na manutenção dos animais envolvidos nessa cadeia produtiva podendo provocar, inclusive, a morte desses animais (COLES, 2001; FITZPATRICK, 2013).

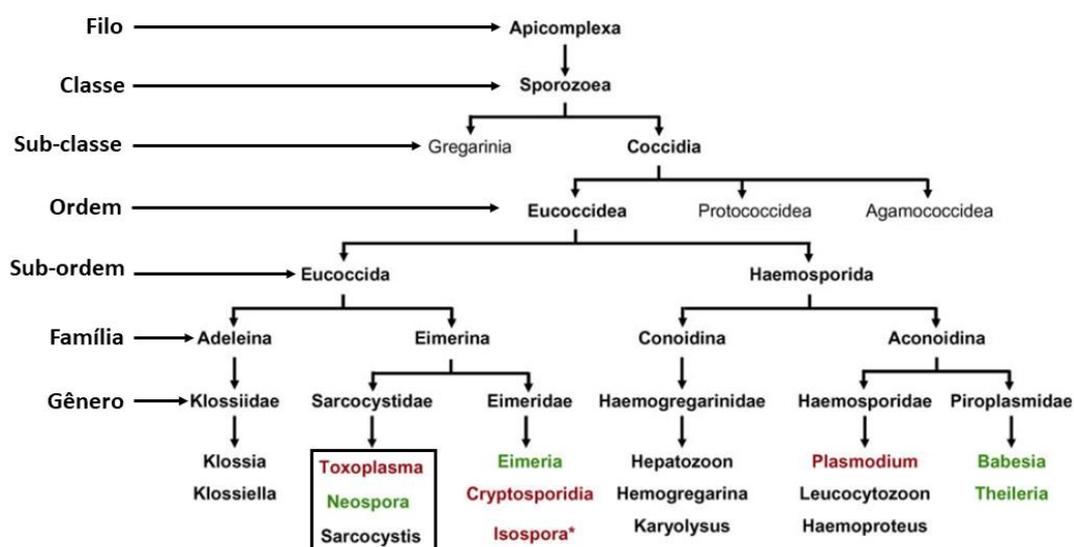
Adicionalmente, as doenças causadas por parasitas têm se mostrado ainda mais prejudiciais, dada à resistência que esses patógenos têm demonstrado frente aos tratamentos disponíveis o que dificulta ainda mais seu controle sobre os animais de importância econômica, elevando as perdas em toda a cadeia produtiva (CAPELA; MOREIRA; LOPES, 2019; COLES, 2001; PRAMANIK et al., 2019).

Morfologicamente semelhante ao *T. gondii*, está o parasita *Neospora caninum*, que permite estabelecer um panorama muito bem delineado para a discussão realizada acima, a qual consta das patologias que afligem o setor veterinário e a consequente ação na cadeia produtiva dada sua dispersividade, sintomas e resistência aos tratamentos disponíveis (AL-BAJALAN et al., 2017; BECK et al., 2009; DE OLIVEIRA KOCH et al., 2019).

1.4. NEOSPOROSE

Como já relatado, a toxoplasmose é uma das causadoras de abortos em rebanhos de ovelhas e cabras, entretanto um outro parasita, que compartilha semelhanças morfológicas e filogenéticas com o *T. gondii*, chama atenção do setor veterinário dada a seriedade das infecções por ele causadas em ruminantes, denominado *Neospora caninum*, que, além de obrigatoriamente intracelular, esse parasita compartilha os mesmos níveis filogenéticos que *T. gondii* evidenciando o grau de homologia relacionado a esses parasitas (**Figura 4**) (AL-BAJALAN et al., 2017; BECK et al., 2009; DE OLIVEIRA KOCH et al., 2019).

Figura 4: Semelhança filogenética entre *T. gondii* e *N. caninum*.



Fonte: (LINDSAY; DUBEY, 2020; OSHIRO et al., 2015)

Devido ao grau de homologia entre esses parasitas em suas primeiras aparições estudadas, as infecções por *Neospora caninum* eram atribuídas ao *T. gondii* dada a semelhança morfológica entre as espécies (LINDSAY; DUBEY, 2020). Com o progresso das pesquisas acerca desse parasita algumas diferenças puderam ser observadas como, por exemplo, os hospedeiros, os felinos para *T. gondii* e os canídeos para *N. caninum*, e hospedeiros intermediários, os humanos para *T. gondii*, e bovinos para *N. caninum* (AL-BAJALAN et al., 2017).

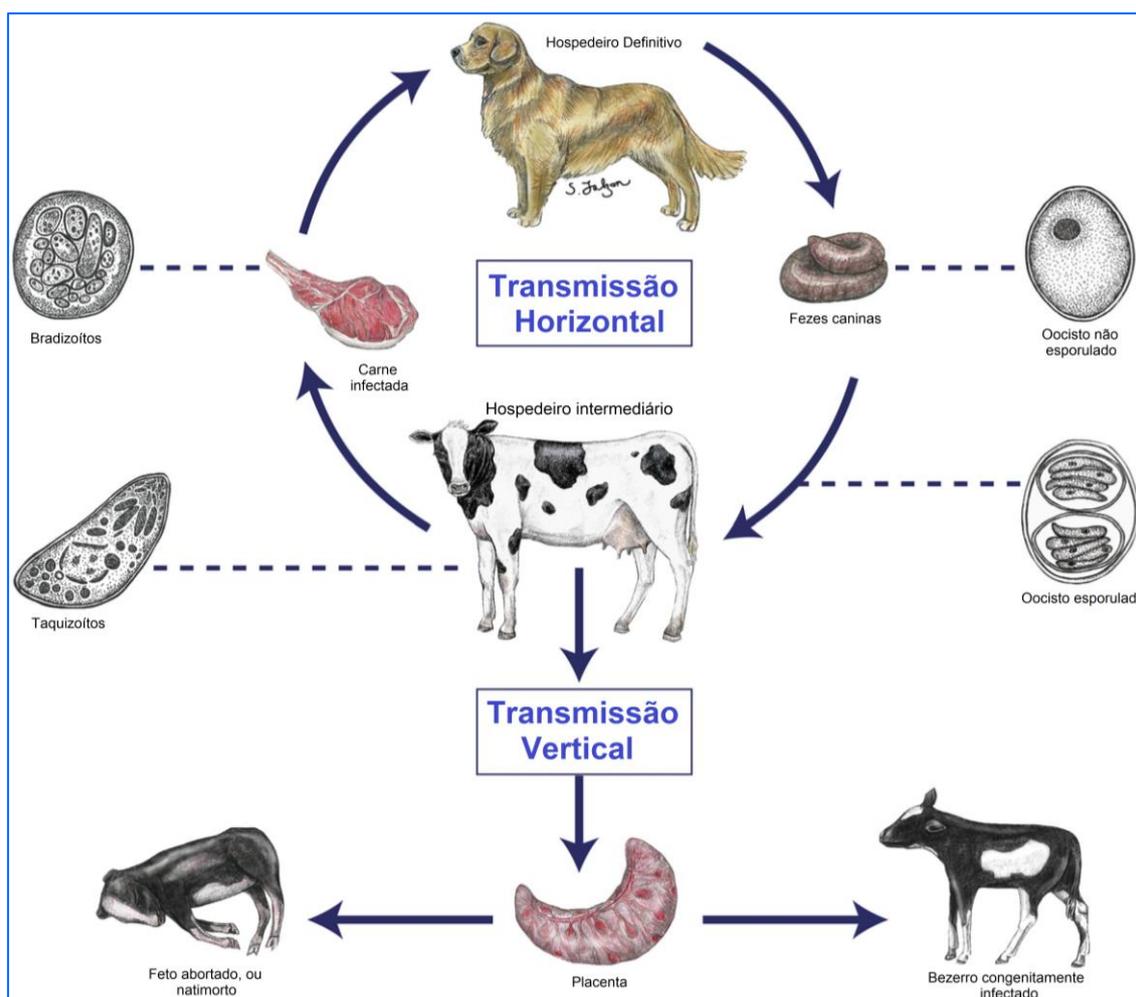
Descoberto em 1984 por Bjerkas et al., o parasita *Neospora caninum* é responsável por danos neurológicos e lesões musculoesqueléticas em cães, sendo que, além de cães domésticos, o parasita é capaz de infectar outros canídeos como coiotes, lobos e dingos (BJERKFIS; MOHN; PRESTHUS, 1984; OSHIRO et al., 2015). Comumente, são esses animais os dispersores do parasita em um ecossistema, por exemplo, se um cão infectado por *N. caninum* defecar próximo às rações do gado, os alimentos ficarão contaminados pelo parasita o qual será ingerido pelo gado em algum momento, levando a uma contaminação desses animais uma vez que se comportam como hospedeiros intermediários (ESPOSITO et al., 2005; LINDSAY; DUBEY, 2020).

Os cães, além de um vetor fundamental na dispersão de *N. caninum*, servem como hospedeiros definitivos para seu desenvolvimento, ou seja, ocorre nos canídeos a reprodução sexuada dos parasitas via cópula de seus gametas masculinos e femininos, sendo nesse processo produzidos oocistos não esporulados que são liberados no

ambiente pelas fezes dos animais (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007; MARUGAN-HERNANDEZ, 2017). Assim como discutido para *T. gondii*, esses oocistos quando na presença de oxigênio rapidamente se esporulam e se desenvolvem para uma forma mais infectante, os esporozoítos, os quais podem infectar plantações, águas, rações e assim entrar em contato com outros hospedeiros, que pode ser o próprio canídeo, reiniciando o ciclo, ou outros mamíferos como os equinos e bovinos (LEFKADITIS et al., 2020; REICHEL et al., 2014).

Os mamíferos infectados por *N. caninum*, exceto os canídeos, são considerados hospedeiros intermediários, onde o parasita se desenvolve de maneira assexuada, ou seja, por divisão celular (REICHEL et al., 2014). A morfologia desse patógeno é estabelecida no organismo de seus hospedeiros sendo que na forma dos taquizoítos ocorre um quadro de infecção aguda, devido a sua alta taxa de replicação e alta dispersão no organismo do animal, (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007; MARUGAN-HERNANDEZ, 2017). Enquanto que, quando esses parasitas se uniformizam em cistos, chamado de bradizoítos, o quadro de infecção passa para um estágio crônico já que esses cistos repletos de parasitas são alocados em diferentes tecidos do organismo do animal (MARUGAN-HERNANDEZ, 2017) (**Figura 5**).

Figura 5: Ciclo reprodutivo do parasita *Neospora caninum*.



Fonte: (MARUGAN-HERNANDEZ, 2017)

A maioria dos hospedeiros intermediários afetados por este parasita são animais de interesse pecuário, termo que remonta à criação de gado, definido como conjunto de animais criados no campo para trabalhos agrícolas, domésticos ou para aplicação industrial, e, por essa definição, encontram-se cavalos, ovelhas, cabras, búfalos e vacas (AMDOUNI et al., 2018). No entanto, mesmo infectando uma série de animais ao redor do planeta, selvagens ou domesticados, a infecção pelo parasita no gado bovino é a mais frequente e com maior dispersão (DEBACHE et al., 2011; ESPOSITO; MÜLLER; HEMPHILL, 2007).

Estima-se que até 90% de alguns rebanhos bovinos estejam infectados por *N. caninum* sendo que essa alta dispersão ocorre em função do contato cotidiano entre esses animais e os cães, que comumente desempenham um papel de pastoreio sobre o gado (LINDSAY; DUBEY, 2020). A alta taxa de infecção promovida por esse parasita

associada à sua habilidade de transmissão vertical, via infecção congênita, ou seja, transmissão placentária, é um problema de alta relevância no cenário mundial, justamente por ser esse tipo de infecção que mais provoca os abortos nos rebanhos em todo o planeta. Somente na Suíça 30% de todos os abortos que ocorrem nos rebanhos bovinos é devido às infecções por *N. caninum* (AMDOUNI et al., 2018).

Os abortos provocados pela neosporose, quando traduzidos em termos econômicos, salientam sua relevância no cenário mundial, só no estado da Califórnia (EUA), os danos associados a *N. caninum* chegam a 35 milhões de dólares por ano, adicionalmente o prejuízo no conjunto Austrália-Nova Zelândia fica em torno de 72 milhões de dólares anualmente (AMDOUNI et al., 2018).

Esses dados econômicos são exaltados quando se observa o mercado pecuário brasileiro. Segundo os dados disponíveis pela associação brasileira das indústrias exportadoras de carne (ABIEC), em 2020 o país era o detentor do maior gado do planeta, cerca de 187,5 milhões de cabeças, representando 13% da população global de bovinos e o maior exportador de insumos oriundos desse setor, representando 10% do produto interno bruto (PIB) do país (ABIEC, 2020).

Dessa forma, fica clara a relevância desta parasitose no setor pecuário em nível nacional e mundial sendo um problema social, econômico e veterinário de grande impacto (ABIEC, 2020; AMDOUNI et al., 2018 (DEBACHE et al., 2011). (DEBACHE et al., 2011). Tal impacto se intensifica, pois, desde a retirada da vacina NeoGuard do mercado vista sua baixa efetividade na resposta contra esta parasitose, os tratamentos se tornaram escassos e pouco eficazes (LINDSAY; DUBEY, 2020).

Nesse sentido, é de grande urgência e relevância o desenvolvimento de novos fármacos com potencial atividade antiparasitária, para o controle e combate da parasitose causada por *N. caninum* sobre o gado bovino. Além disso, é fundamental que os tratamentos sejam potentes, seguros e que não afetem os insumos deste setor como carne e leite (REICHEL et al., 2013).

Baseado na necessidade do setor pecuário, nos problemas socioeconômicos e na falta de tratamentos específicos para essa infecção parasitária, estratégias em química medicinal foram exploradas no presente trabalho a fim de planejar e desenvolver novas moléculas ativas contra esse parasita (DEBACHE et al., 2011; LINDSAY; DUBEY, 2020; REICHEL et al., 2013).

1.5. ESTRATÉGIAS EM QUÍMICA MEDICINAL PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS NEOSPORICIDAS

Com o aparecimento de novas doenças e o aumento da resistência daquelas já existentes, a busca por novos medicamentos é fundamental na manutenção da vida (SAMPATH KUMAR; HERRMANN; TSOGOEVA, 2020). A velocidade com que esses microrganismos aparecem e/ou reaparecem, bem como o desenvolvimento de novos mecanismos que geram resistência frente aos medicamentos antes utilizados, fazem da busca por novos medicamentos algo urgente, colocando a indústria farmacêutica em constante pesquisa (AGNELLO et al., 2019; VIEGAS-JUNIOR et al., 2007).

Quando se fala em desenvolvimento de novos medicamentos é comum atrelar esse processo aos altos custos, ao tempo requerido e às chances de insucesso (ANDRICOPULO; SALUM; ABRAHAM, 2009; WOUTERS et al., 2020; ZHAO; GUO, 2009). No entanto, com o advento da química medicinal e a versatilidade de suas técnicas e estratégias, o desenvolvimento racional de novas entidades químicas terapêuticamente ativas a fim de atender e acompanhar a evolução das patologias vem sendo realizado com alguma eficiência (DECKER, 2017; FRAGA, 2009).

O desenvolvimento das moléculas visando potencial atividade antiparasitária descritas nesse trabalho se fundamenta exatamente no emprego de técnicas e estratégias em química medicinal. Essas estratégias têm por objetivo o aumento da atividade, a diminuição da toxicidade, ou ainda, alterações na arquitetura molecular visando afetar as fases farmacocinética e farmacodinâmica (SAMPATH KUMAR; HERRMANN; TSOGOEVA, 2020). Para alcançar esses objetivos, duas estratégias foram adotadas no decorrer da presente pesquisa, o isosterismo e a hibridação molecular.

1.5.1. ISOSTERISMO

Definido em 1919 por Langmuir, o isosterismo passou por algumas expansões que promoveram aquele conceito puramente eletrônico a um conceito mais amplo com aplicações inclusive no campo de química medicinal (PAPADATOS; BROWN, 2013). O isosterismo antes definido como grupo de átomos com o mesmo arranjo de elétrons, agora é definido como grupos que compartilham o volume, forma molecular e possuem

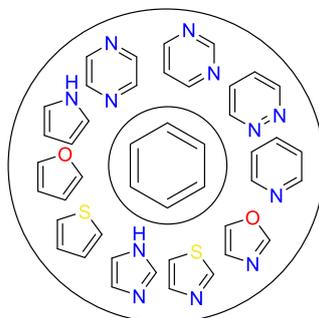
um arranjo eletrônico, dos quais destaca-se a valência, e propriedades físico-químicas semelhantes (BARREIRO; FRAGA, 2015; PATANI; LAVOIE, 1996).

A aplicação desta estratégia em química medicinal aparece como um trunfo na pesquisa por novos medicamentos, uma vez que mediante o conhecimento de uma molécula ativa contra determinado alvo, trocas isostéricas, ou seja, a substituição por átomos, grupos ou núcleos que compartilham essas características estruturais e eletrônicas, pode ser aplicada visando o melhoramento da atividade daquele composto seja pela alteração na fase farmacocinética ou farmacodinâmica (BARREIRO; FRAGA, 2015; CIAPETTI; GIETHLEN, 2008).

O isosterismo também pode ser aplicado na substituição de anéis aromáticos, os quais são fundamentais na síntese de moléculas biologicamente ativas (LIMA; BARREIRO, 2005). Essa importância desempenhada pelos núcleos aromáticos nas atividades biológicas dos compostos está associada com a forma e o volume molecular, bem como à rigidez associada à presença desses anéis (CIAPETTI; GIETHLEN, 2008).

Essa relevância toma forma quando bases de dados de empresas como Pfizer, AstraZeneca e GlaxoSmithKlin (GSK[®]) são verificadas e cerca de 99% de todos seus produtos comercializados contem ao menos um anel aromático em sua estrutura (POLÊTO et al., 2018). Em vista da grande parcela ocupada por essas estruturas, estratégias no desenvolvimento de novos fármacos baseada na substituição de anéis, aparece como uma importante estratégia na síntese de compostos bioativos (LIMA; BARREIRO, 2005). Algumas substituições de anéis aromáticos comuns estão representadas na Figura 6. (LIMA; BARREIRO, 2005)

Figura 6: Substituições isostéricas de anéis.



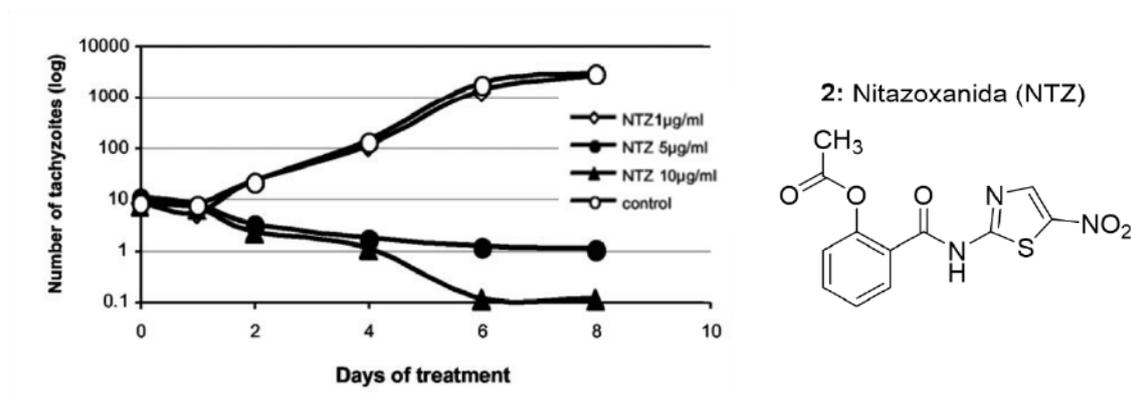
Adaptado de BARREIRO; ALBERTO MANSSOUR FRAGA, 2015.

Com base no que foi exposto, a fim de sintetizar compostos com atividade antiparasitária contra *N. caninum*, foram realizadas diversas pesquisas por moléculas, já

comercializadas, que atuam como antiparasitárias. Durante essas buscas, uma molécula estruturalmente promissora aparece como um possível *lead*, a nitazoxanida (NTZ, **2**, Annita[®]) que é amplamente utilizada como medicamento no tratamento de doenças parasitárias e foi explorada a fim de servir como molde para a síntese de novos compostos a serem investigados contra esse *N. caninum* (ESPOSITO et al., 2005; ESPOSITO; MÜLLER; HEMPHILL, 2007; LIMA; BARREIRO, 2005).

No trabalho realizado por Esposito e colaboradores (2005), a NTZ (**2**) foi avaliada em relação à sua atividade contra *N. caninum*, sendo que foi verificado que esse composto atua inibindo a reprodução dos taquizoítos, morfologia responsável pelo quadro infeccioso da doença. Mediante a inspiração proveniente da estrutura da nitazoxanida, diferentes alterações puderam ser planejadas desde alterações de substituintes até substituição isostérica de anéis (**Figura 7**).

Figura 7: Potência de NTZ (**2**) contra *N. caninum* e pontos estruturais a serem explorados.



Fonte: O autor

O isosterismo aparece como uma importante estratégia no planejamento de novos compostos com potencial atividade terapêutica, nesse sentido essa estratégia foi aplicada no planejamento de novas entidades químicas bioinspiradas, de forma que as alterações estruturais foram propostas com base na literatura.

Dessa forma é possível propor troca a do anel tiazólico pelo anel piridínico, substituição fundamentada na importância desse último no setor farmacêutico, o qual até 2004 estava presente em cerca de 7000 fármacos com atividades biológicas diversas como anti-inflamatória, antibióticos, antidepressivos entre outros (HENRY, 2004). Além das atividades elencadas acima, compostos contendo núcleo piridínico foram avaliados como toxoplásmicidas, sendo verificada a ação desses compostos na inibição

seletiva da proteína quinase 1 dependente de cálcio presente no *T. gondii* (TgCDPK1), proteína responsável por processos relacionados a invasão e evasão do parasita da célula hospedeira, além disso essa biomacromolécula encontra homóloga em *N. caninum* (MOLINA et al., 2021; OJO et al., 2014) fundamentando esta substituição isostérica.

Evidentemente, o isosterismo é uma estratégia de planejamento muito importante no desenvolvimento de novos fármacos, contrastando com outras técnicas importantes que visam a síntese de novos fármacos de forma racional e mais célere, dentro deste contexto aparece a hibridação molecular.

1.5.2 HIBRIDAÇÃO MOLECULAR

A hibridação molecular consiste na junção de dois ou mais grupos farmacofóricos, de forma a criar uma nova entidade química que carrega consigo características importantes das moléculas que a geraram visando a otimização das propriedades farmacológicas (VIEGAS et al, 2007).

A conjugação entre as moléculas é realizada de forma covalente com ou sem um espaçador, levando em consideração que essas moléculas devem ser bioativas ativando ou inibindo um biorreceptor (SAMPATH KUMAR; HERRMANN; TSOGOEVA, 2020). Nem sempre as moléculas são escolhidas para atuar no mesmo biorreceptor, podendo cada uma individualmente atuar em diferentes enzimas e, nesse caso, o híbrido é denominado *multitarget*, (múltiplos alvos), classe que vem recebendo considerável destaque na pesquisa nos últimos anos por evitar interações medicamentosas e facilitar os estudos das fases farmacodinâmica e farmacocinética (BARREIRO; FRAGA, 2015; MORPHY; RANKOVIC, 2005; PEDROSA, et al., 2016).

A partir das pesquisas bibliográficas realizadas dois núcleos se mostraram promissores, o primeiro é o núcleo piridínico, o qual foi apresentado e discutido em função de sua relevância na inibição da proteína quinase 1 dependente de cálcio (CDPK1), responsável pela invasão do parasita no interior das células (MOLINA et al., 2021; OJO et al., 2014).

Além do núcleo piridínico, o ácido cinâmico foi selecionado, para ser integrado na estrutura dos compostos, isso pois essa unidade, denominada cinamoílica, presente em compostos antiparasitários se mostrou essencial para atividade toxoplasmicida, dada a inibição de proteínas de transporte de formiato e nitrito (NFTs). Mesmo com esse nome essas proteínas não são exclusivas para esses ânions, sendo uma classe de extrema

relevância para o efluxo de vários outros ânions como o lactato (ERLER et al., 2018; NERLICH et al., 2021). O lactato foi tomado de exemplo na sentença anterior premeditadamente uma vez que ele é um subproduto relevante no processo de geração de ATP realizado pelo *T. gondii*. Quando inibida a NFT responsável pelo transporte de lactato presente na membrana plasmática do parasita, os níveis desse monocarboxilato tenderão a aumentar no interior do parasita causando alterações no pH do microrganismo bem como desequilíbrios em sua estabilidade osmótica levando a sua morte (ZENG et al., 2021).

Evidenciada toda a relevância que o ácido cinâmico desempenha dada sua atividade toxoplásmica, ele ainda aparece como um trunfo na busca por um núcleo com características aromáticas que apresenta uma cadeia lateral. Seguindo essa direção, baseado em todos os levantamentos descritos o perfil do híbrido que atua em diferentes alvos, denominado *multitarget* (GURBOGA et al., 2021).

Salientada a importância dos núcleos piridínicos e cinamoílicos, houve então a necessidade de unir esses núcleos covalentemente, conforme definição, dessa forma aparece a ligação amidica, a qual está associada a inibição de histona desacetilase (HDAC), importante enzima nos processos de transcrição, replicação e reparação do DNA de parasitas pertencentes ao filo apicomplexa (GARCÍA-SÁNCHEZ et al., 2019).

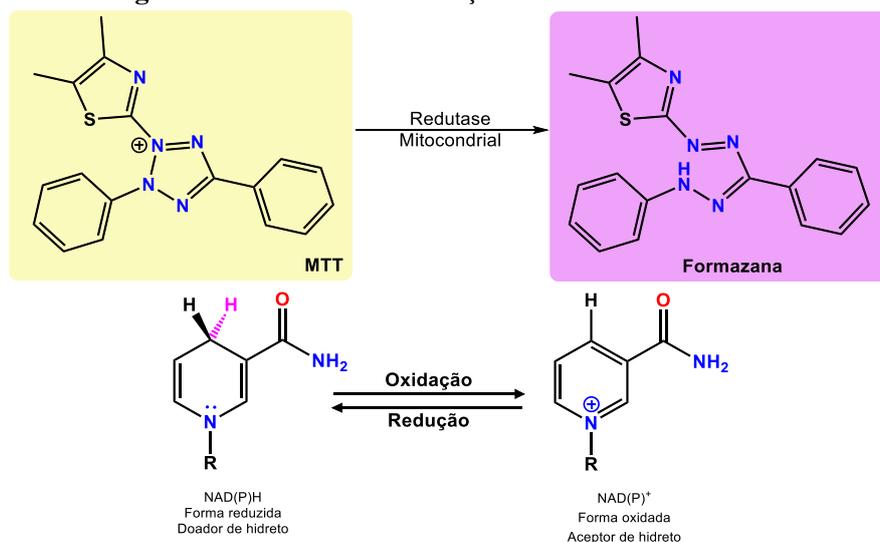
A partir da obtenção das moléculas provenientes das estratégias de isosterismo e hibridação molecular é necessário avaliar a segurança em utilizá-las nas células hospedeiras e então sua atividade contra os parasitas de *Neospora caninum*.

1.6. CITOTOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIOS:

Dentre os métodos indiretos para mensuração da viabilidade celular, os mais utilizados baseiam-se na atividade enzimática como marcador de células viáveis, ou seja, o ensaio requer a incubação das células com um substrato que é convertido em um produto colorido ou fluorescente (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005). Em condições ideais, o produto gerado pela conversão do substrato é proporcional ao número de células viáveis, visto que células mortas não são capazes de realizar tais reações. A medição é realizada usando um leitor de placas, que possui como vantagem a capacidade de fornecer os resultados com um alto rendimento (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005).

O ensaio de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol) baseia-se na conversão do tetrazólio em cristais de formazana, por uma reação de redução do MTT na mitocôndria das células viáveis (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005). Embora o mecanismo celular envolvido nessa conversão ainda não esteja tão bem elucidado, ele provavelmente envolve a coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH), a qual promove a redução do MTT em uma formazana (**Figura 8**) (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005). Antes da leitura, a formazana é solubilizada com reagentes específicos, como o dimetilsulfóxido (DMSO), que desfaz os cristais e estabiliza a cor (de amarelo do MTT para marrom arroxeadado da formazana solubilizado) (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005). Basicamente, a quantidade de cor gerada depende de vários parâmetros, incluindo: a concentração de MTT, o tempo de incubação, o número de células viáveis e sua atividade metabólica, esse ensaio, entretanto, se limita pela natureza citotóxica dos reagentes e a ação mecânica dos cristais sobre a membrana plasmática das células (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005).

Figura 8: Mecanismo de redução de MTT em formazana.



Fonte: O autor.

O ensaio de citotoxicidade é fundamental em pesquisas que lidam com patologias intracelulares obrigatórias, visto que mesmo que alguns compostos demonstrem atividade essa é inútil se este composto for tóxico para as células do organismo. Ao realizar os ensaios de citotoxicidade é estabelecido um limite de concentração em que a célula suporta bem aquele xenobiótico, e é esse limite quem vai estabelecer a concentração máxima dos compostos a serem avaliados.

Com o estabelecimento da concentração máxima segura para as células dos hospedeiros, é importante verificar a potência dessas moléculas contra os parasitas de forma a avaliar sua capacidade em invadir as células e se proliferar. Essas duas etapas de sobrevivência e reprodução do parasita são de extrema relevância na compreensão da atividade das moléculas testadas.

Considerados como *commodities*, o gado bovino englobado no setor pecuário corresponde a uma grande parcela dos ganhos e gastos ao redor do mundo, sendo, portanto, um tema de grande interesse no cálculo do produto interno bruto (PIB) de um país, por exemplo.

O Brasil aparece como o país detentor do maior gado bovino de interesse econômico ao redor do mundo, é de se pensar que prejuízos contra estes animais, em um país cuja atividade pecuária corresponde a uma grande parcela do PIB nacional é de extrema relevância e preocupação.

Assim, com os prejuízos trazidos por *N. caninum*, responsável por grande parte dos abortos e más-formações em bezerros, é fundamental que novas pesquisas se empenhem na descoberta de novos fármacos que possam combater o parasitismo provocado por este patógeno em vista da ação direta que ele desempenha sobre setores fundamentais da sociedade.

2. Objetivos:

2.1.OBJETIVO GERAL

Mediante a indisponibilidade do tratamento do parasitismo desempenhado por *Neospora caninum*, o presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de novas moléculas potencialmente ativas, as quais foram desenvolvidas com base em estratégias em química medicinal.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Planejamento racional de novos compostos que possam atuar como antiparasitários;
- Síntese dos compostos planejados;
- Avaliação da citotoxicidade dos compostos sintetizados;

- Avaliação da atividade antiparasitária contra *N. caninum* dos compostos não citotóxicos;

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES:

3.1. PLANEJAMENTO MOLECULAR:

Com o surgimento e reaparecimento de doenças infecciosas, das quais se destacam aquelas causadas por parasitas, bem como os danos sociais e econômicos que essas patologias representam ao redor do mundo, a pesquisa por estratégias terapêuticas cada vez mais eficientes são de extrema valia no atual cenário (EL-SAYED & KAMEL, 2020; GAILLARD et al., 2021). Nesse sentido, técnicas mais céleres são necessárias a fim de reduzir os danos que doenças como a neosporose causam sobre a economia global com conseqüente ação na sociedade.

Seguindo esta direção, estratégias em química medicinal aparecem a fim de otimizar o processo em relação ao tempo e custo para o desenvolvimento de moléculas que sejam potencialmente ativas, (HUGHES et al., 2011). Uma estratégia interessante é a seleção de uma molécula conhecidamente ativa no alvo terapêutico de interesse e sua utilização como inspiração estrutural para a síntese de novos compostos (HUGHES et al., 2011).

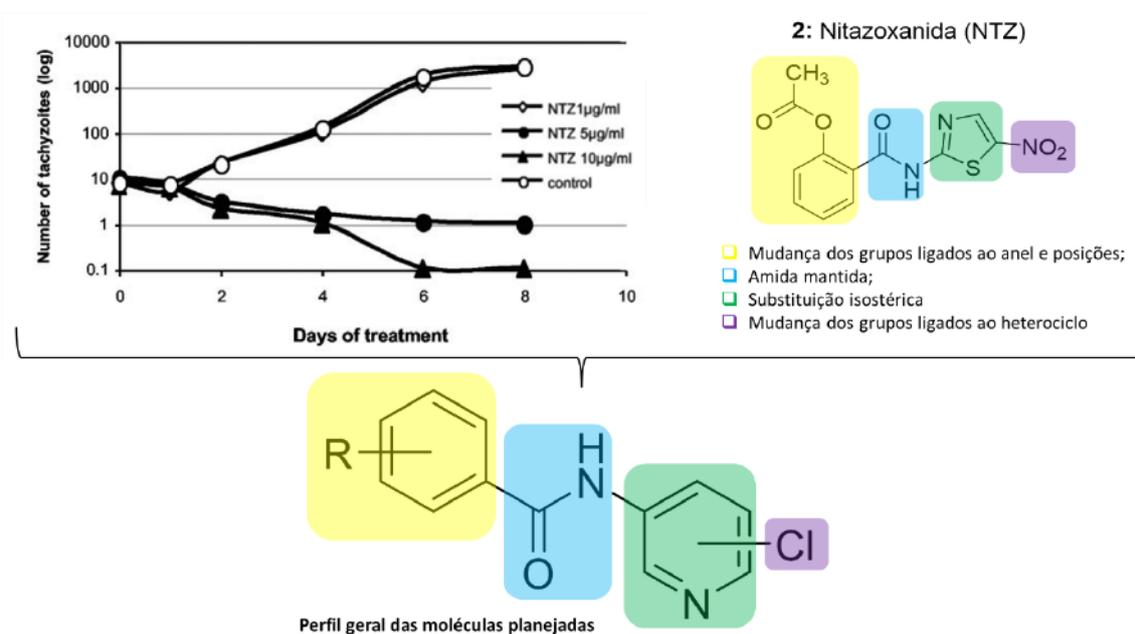
Nesse sentido, para o presente trabalho, foi realizada uma busca por moléculas que estivessem associadas à atividade antiparasitária contra *N. caninum* sendo que a nitazoxanida (NTZ) aparece como um composto líder promissor, o qual pôde ser explorado de forma racional através de mudanças estruturais fundamentado em estratégias como o isosterismo e a hibridação molecular (ESPOSITO et al., 2005).

Através da análise estrutural da nitazoxanida (**2**), foram propostas algumas mudanças como a substituição do anel tiazólico de NTZ por um anel piridínico. A substituição de anéis dada a semelhança isostérica se fundamenta na possível alteração da complementaridade da molécula no biorreceptor mediante as interações intermoleculares existentes. Alterações como essa podem interferir nas fases farmacodinâmica e farmacocinética, podendo causar diferenças significativas nas respostas terapêuticas daquele medicamento (MEANWELL, 2014).

Com a inspiração gerada pela nitazoxanida (**2**) (**Figura 9**), 70 compostos foram planejados e sintetizados a fim de avaliar sua ação antiparasitária. Para realizar a

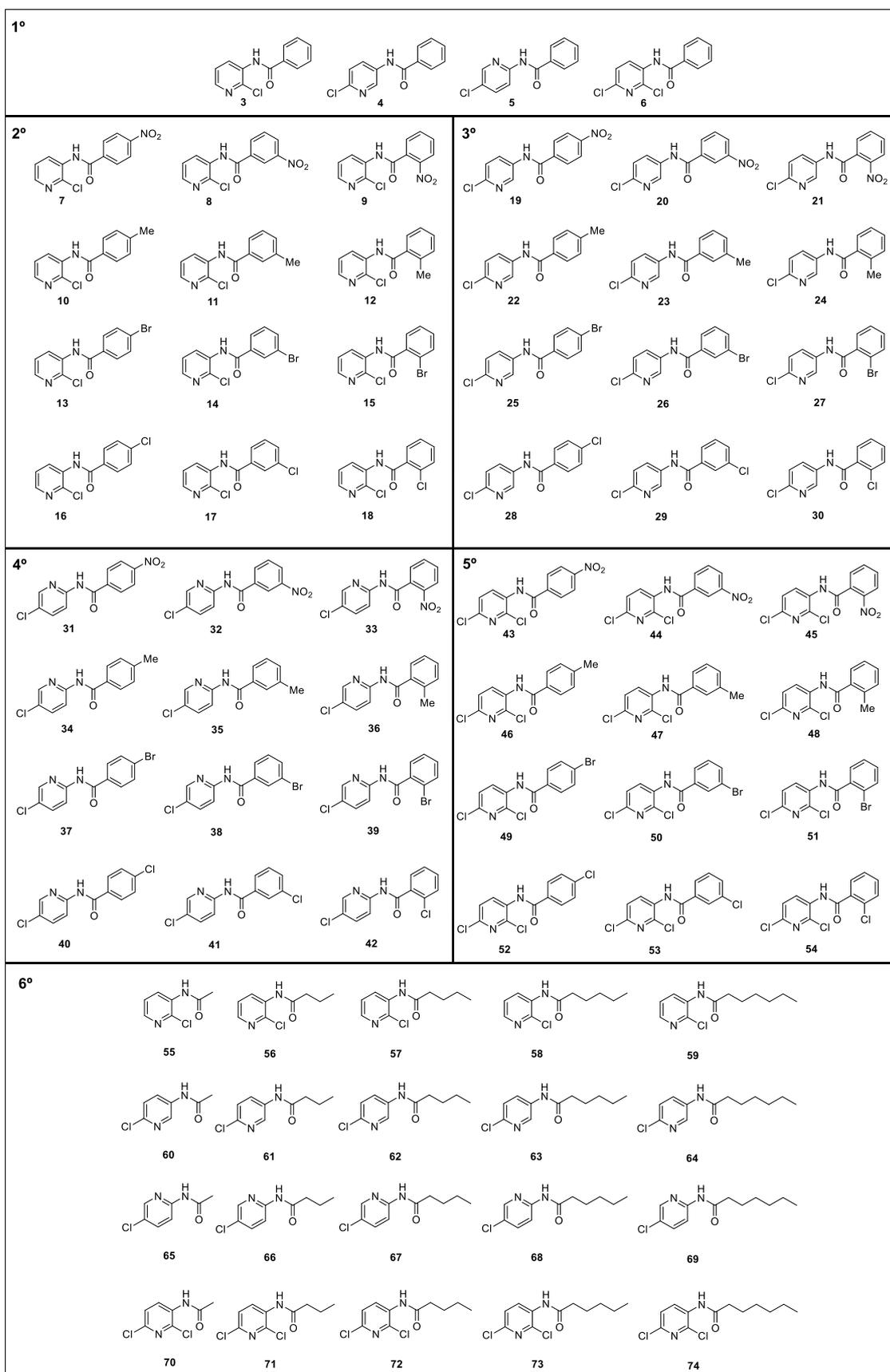
definição de uma relação entre a estrutura e a atividade biológica (REA) desses compostos, foram realizadas trocas nas posições dos substituintes tanto do anel piridínico quanto do anel benzênico e mudança dos substituintes, constando de grupos doadores e retiradores de carga na porção benzênica. Além dessas alterações nos núcleos aromáticos (3-54), foi estabelecida a síntese de moléculas contendo uma porção alifática em sua estrutura, a qual foi planejada com a intenção de se verificar o quanto a flexibilidade desses compostos seria importante para a atividade (**Figura 10**).

Figura 9: Perfil geral das amidas planejadas baseadas em NTZ (2) a partir de trocas isostéricas.



Além da substituição do núcleo tiazólico pelo piridínico, é possível verificar que o grupo nitro presente em NTZ (2), é trocado por um haleto, especificamente o cloro. Essa alteração está fundamentada em dois pontos principais, o primeiro consta da conhecida toxicidade exibida por fragmentos nitroaromáticos, frequentemente associado a efeitos adversos como a hepatotoxicidade, adicionalmente, esses fragmentos estão relacionados com a ação mutagênica e carcinogênica das moléculas que o contém (BOELSTERLI et al., 2006; NEPALI; LEE; LIOU, 2019). O segundo ponto para a substituição do nitro pelo cloro, vem do ponto de vista sintético, ou seja, a presença desse haleto em um anel deficiente de elétron, como o anel piridínico, torna possível reações de substituição nucleofílicas aromáticas, as quais podem ser exploradas para variar propriedades físico-químicas e/ou alterar a complementaridade dos derivados no biorreceptor (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012).

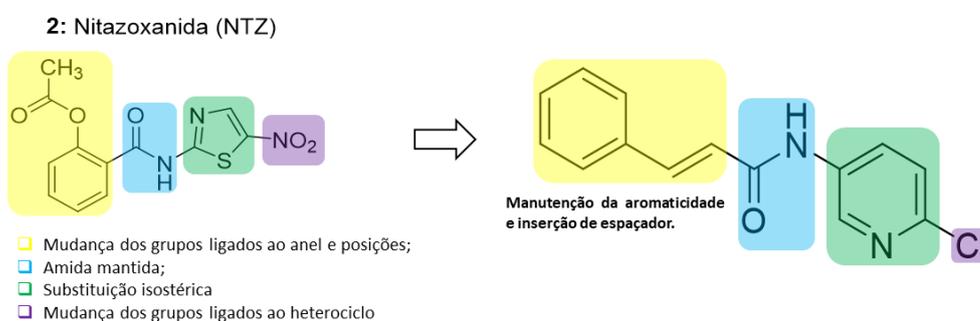
Figura 10: Moléculas bioinspiradas em NTZ (2) propostos seguindo o isosterismo.



Fonte: O autor

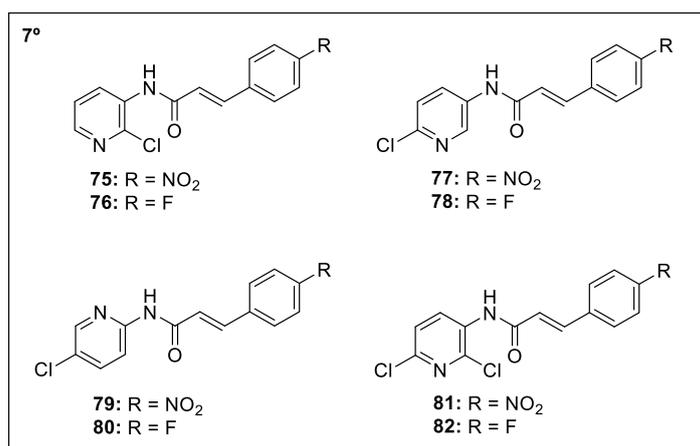
O último bloco de moléculas, consiste em amidas em que as porções aromáticas estão espaçadas de forma que mesmo com o espaçador, a característica aromática da porção fenólica é mantida dada a conjugação com a ligação dupla, além do espaçador essas amidas contam com a porção cinamoílica que se comporta como inibidor da enzima transportadora de lactato, podendo agir como um fármaco *multitarget* (**Figura 11**), ou seja, essa molécula pode inibir diferentes alvos ao mesmo tempo, como a quinase dependente de cálcio pela porção piridínica e a histona desacetilase pela ligação amídica (**Figura 12**).

Figura 11: Planejamento estrutural das amidas baseadas na estratégia de hibridação molecular.



Fonte: O autor

Figura 12: Amidas preparadas pela conjugação de piridinas e derivados de cinamoíla seguindo a hibridação molecular.

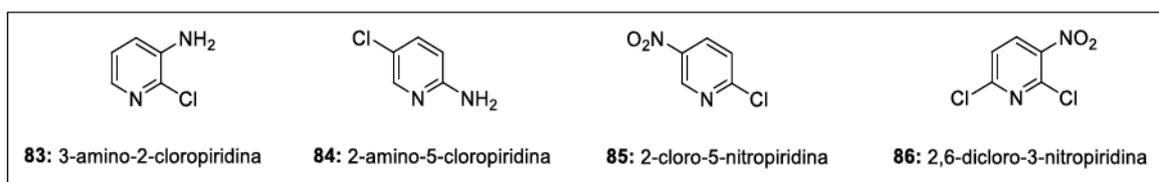


Fonte: O autor

3.2 REDUÇÕES DO GRUPO NITRO PRESENTE NOS SUBSTRATOS PIRIDÍNICOS

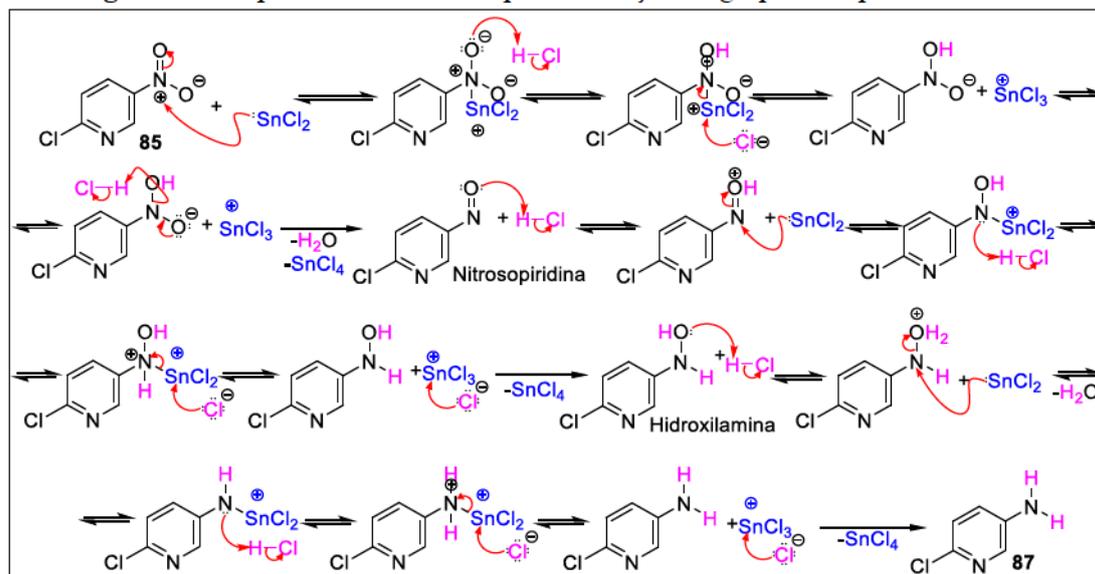
A partir do que foi discutido, acerca da substituição do núcleo tiazolídico pelo núcleo piridínico, foram analisados os reagentes piridínicos que dispúnhamos no laboratório (**83-86**) (**Figura 13**).

Figura 13: Substratos piridínicos selecionados (**83-86**).



Para a obtenção das amidas, uma série de reações foi planejada, dentre elas está a reação de redução dos grupos nitro presente nos substratos **85** e **86**, etapa fundamental no desenvolvimento das moléculas bioinspiradas. Para alcançar esse fim foi empregado o protocolo reacional proposto por Khunnawutmanotham e colaboradores em 2018, onde foi utilizado o cloreto de estanho como agente redutor e meio ácido para a obtenção da amina de interesse (**87** e **88**), o mecanismo envolvido nessa etapa está representado na **Figura 14**.

Figura 14: Proposta de mecanismo para a redução do grupo nitro presente em **85**.

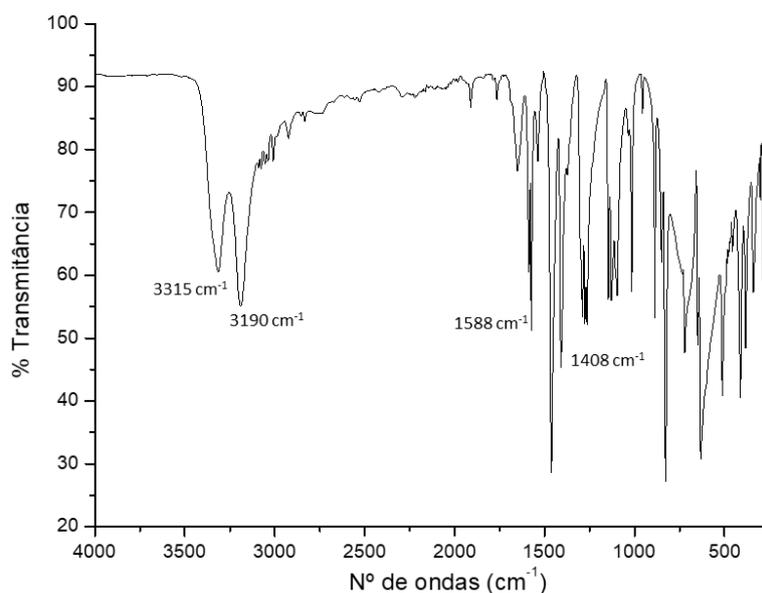


Adaptado de: WANG, 2010 (reação de Béchamp).

A síntese do produto **87** foi confirmada a partir dos dados espectroscópicos de infravermelho e de ressonância magnética nuclear. Assim, o produto **87**, foi obtido

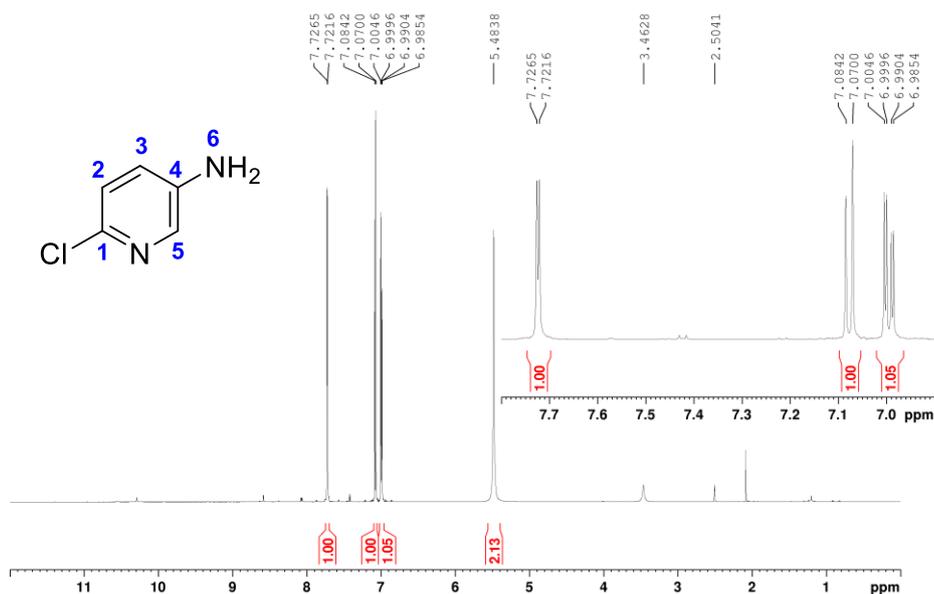
como um sólido amarelo opaco com 84% de rendimento e temperatura de fusão de 82,1 °C, esse produto foi caracterizado por espectroscopia na região do infravermelho, onde pôde se observar bandas características de uma amina primária (**Figura 15**). Na região de 3315 cm^{-1} e 3190 cm^{-1} é possível observar duas bandas características ao estiramento de N—H de aminas primárias, seguido por essa há outra banda característica que aparece em 1588 cm^{-1} associado à deformação angular de N—H.

Figura 15: Espectro na região do infravermelho para o produto **87**.



A fim de corroborar os dados fornecidos pela técnica de espectroscopia no infravermelho, análises de RMN foram realizadas a fim de caracterizar a estrutura dessa molécula. Nesse sentido, o espectro de RMN de ^1H (**Figura 14**) apresentou sinais característicos e indicativos para o produto **87**.

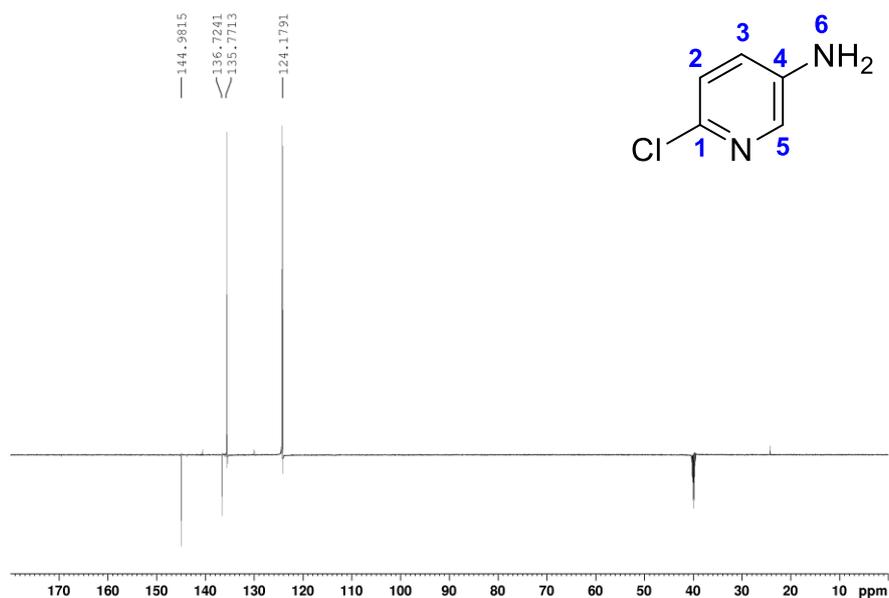
Figura 16: Espectro de RMN de ^1H de **87** (600MHz, DMSO).



A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 16**) apresentou o sinal característico para o hidrogênio da amina **87** em 5,48 ppm (2H), além deste sinal é possível observar três sinais na região dos aromáticos em δ 7,73 (1H, *d*, J_{1-3} 2,95 Hz, H-5), 7,08 (1H, *d*, J_{1-3} 8,51 Hz, H-3) e 6,99 ppm (1H, *dd*, J_{3-2} 3,0; 8,54, H-2).

O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 17**) apresentou quatro sinais de carbono, diferente do esperado, que seriam cinco sinais. Através da técnica de DEPTq é possível distinguir carbonos hidrogenados dos quaternários e/ou não hidrogenados, facilitando a análise dos sinais e sua atribuição. Dessa forma, os carbonos C-1 e C-4 foram atribuídos aos sinais em 144,9 e 136,7 ppm, respectivamente, dada a inversão de fase sofrida pelos carbonos não hidrogenados.

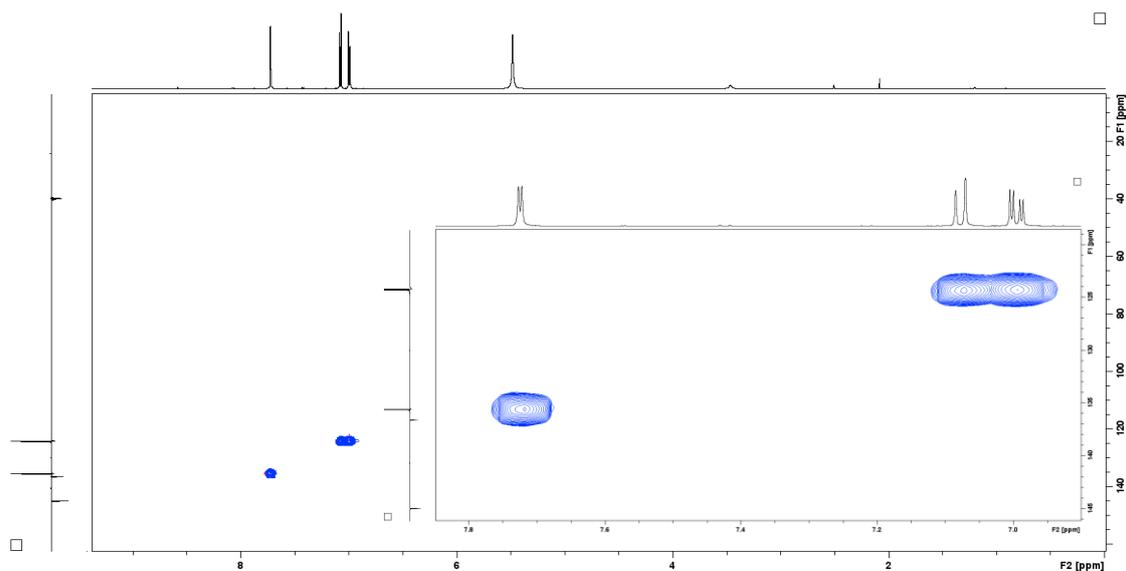
Figura 17: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **87**.



Devido a não ser possível observar os cinco sinais de carbono, análises bidimensionais foram realizadas.

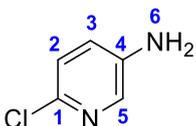
O experimento de correlação direta entre hidrogênio e carbono (HSQC) foi realizado (**Figura 18**) a fim de definir se algum sinal de carbono estava associado a dois sinais de hidrogênios.

Figura 18: Mapa de contorno HSQC do produto **87**.



A partir da análise desse mapa de contorno é possível verificar que o sinal de carbono em δ 124,1 está associado a dois hidrogênios (H-3 e H-2). Assim, mediante a análise dos espectros dispostos acima foi possível caracterizar o produto de redução do substrato **85**, as atribuições via análise de ressonância podem ser verificadas na tabela.

Tabela 1: Dados de RMN de **87** (600MHz, DMSO).

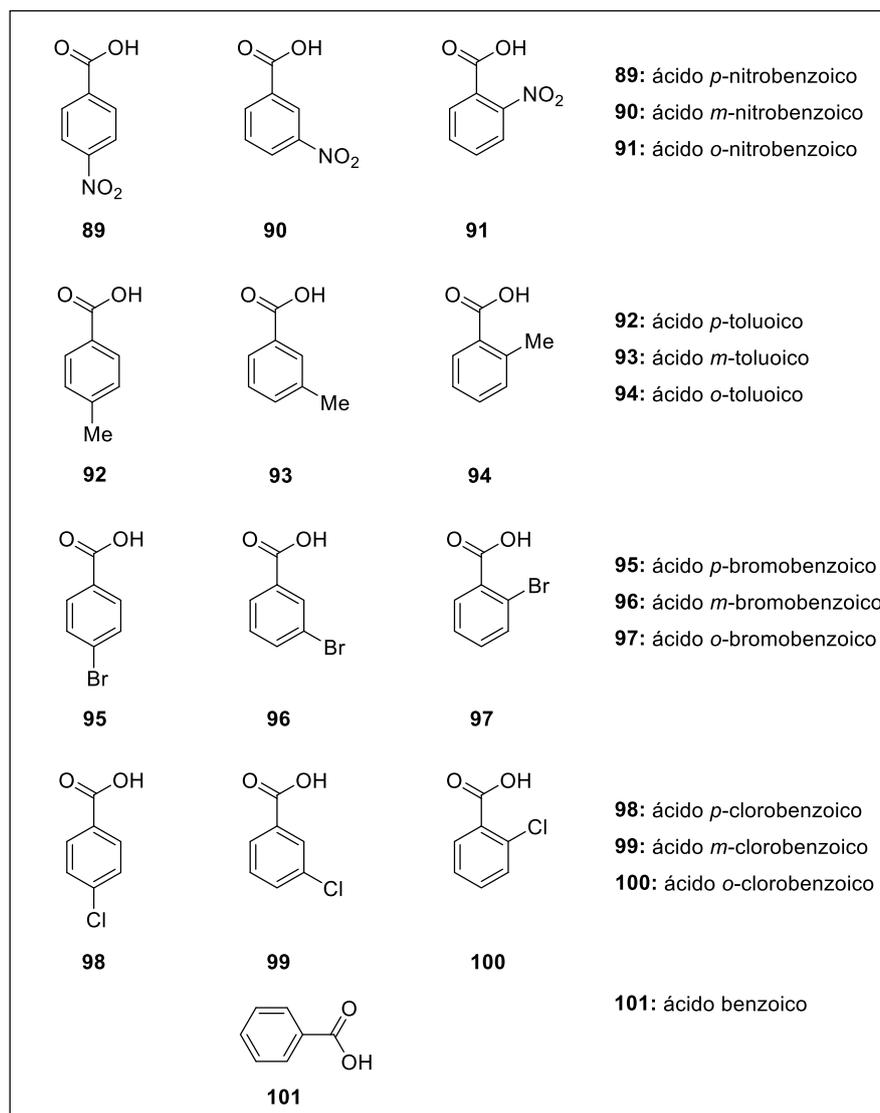


Posição	δ_H , multiplicidade, J (Hz)	δ_C
1	—	144,9
2	6,99, dd, 3,0; 8,54	124,1
3	7,08, d, 8,52	124,1
4	—	136,7
5	7,73, d, 2,95	135,7
6	5,48	-

De forma semelhante, essas análises foram realizadas para o produto de redução do substrato **86** (**88**), foi obtido como um sólido amarelo opaco, com 97% de rendimento e temperatura de fusão de 122,8 °C. A caracterização espectroscópica para **88** foi muito semelhante àquela realizada para **87** e os espectros deste produto podem ser vistos nos anexos (**Espectros 1-3**).

A obtenção dos substratos com o grupo amina é de suma importância devido as suas características nucleofílicas de gerar as amidas de interesse.

Dessa forma, os ácidos carboxílicos (**89-101**, **Figura 19**) a serem acoplados nas aminas obtidas necessitavam de derivatizações para que sua eletrofilicidade fosse aumentada. Assim, metodologias de cloração e acoplamento foram exploradas para a obtenção das amidas com potencial atividade antiparasitária.

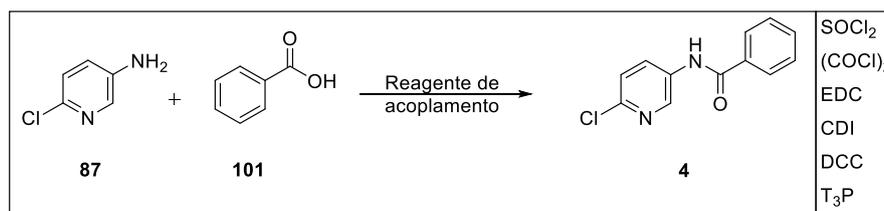
Figura 19: Derivados de ácidos benzoicos escolhidos para a síntese das amidas.

Fonte: O autor.

3.3. DERIVATIZAÇÕES DO ÁCIDO CARBOXÍLICO.

A obtenção de amidas na indústria farmacêutica é muito importante, seja como produto final ou intermediário para obtenção de produtos mais complexos. Em vista da relevância que essa função orgânica desempenha, é de extrema necessidade o emprego de técnicas a fim de obter essa classe de compostos (SABATINI et al., 2019). Nesse sentido, diversas metodologias através de agentes de acoplamento vêm sendo empregadas visando a obtenção de amidas, há, no entanto, que se destacar que esses processos muitas vezes são onerosos e levam a uma grande quantidade de subprodutos (SABATINI et al., 2019) (**Figura 20**).

Figura 20: Esquema geral para a obtenção das amidas através de reagentes de acoplamento.



Adaptado de: SABATINI et al., 2019

Baseado em metodologias clássicas para a obtenção de amidas pelo uso desses reagentes de acoplamento, algumas dessas foram empregadas visando a obtenção das amidas **3-74**. Dessa forma foram realizadas reações com cloreto de tionila, cloreto de oxalila, EDC e ácido bórico.

Como ponto de partida, as reações para obtenção das amidas partiram do emprego do cloreto de tionila como agente clorinante, o qual promove a derivatização do ácido carboxílico, transformando-o em um cloreto ácido. A síntese dessa classe orgânica para a obtenção de amidas é de grande interesse dada à baixa nucleofilicidade das aminas disponíveis (**83**, **84**, **87** e **88**) e a eletrofilicidade demonstrada por cloretos ácidos.

Diversos procedimentos com o cloreto de tionila foram empregados, promovendo alteração na ordem dos reagentes, temperatura, quantidade de SOCl₂, solventes, tempo de reação e, mesmo com todas as alterações empregadas o sucesso na obtenção das amidas por esses métodos não foi alcançado.

Em seguida, o cloreto de oxalila foi empregado a fim de obter o cloreto ácido e posteriormente a amida de interesse, no entanto, mesmo com as alterações realizadas nos parâmetros reacionais, a reação não ocorreu conforme o esperado gerando uma série de subprodutos.

Como terceira alternativa, após pesquisas realizadas de forma a encontrar metodologias que tivessem altos rendimentos e etapas de purificação facilitadas. Seguindo esses critérios, surgiu como estratégia a utilização do EDC, uma carbodiimida que mecanisticamente parecia ser promissora. A utilização do deste agente de acoplamento vem acompanhada da utilização de uma base, por exemplo o DMAP, e é comum o emprego de aditivos como benzotriazóis, por exemplo, o HOBT.

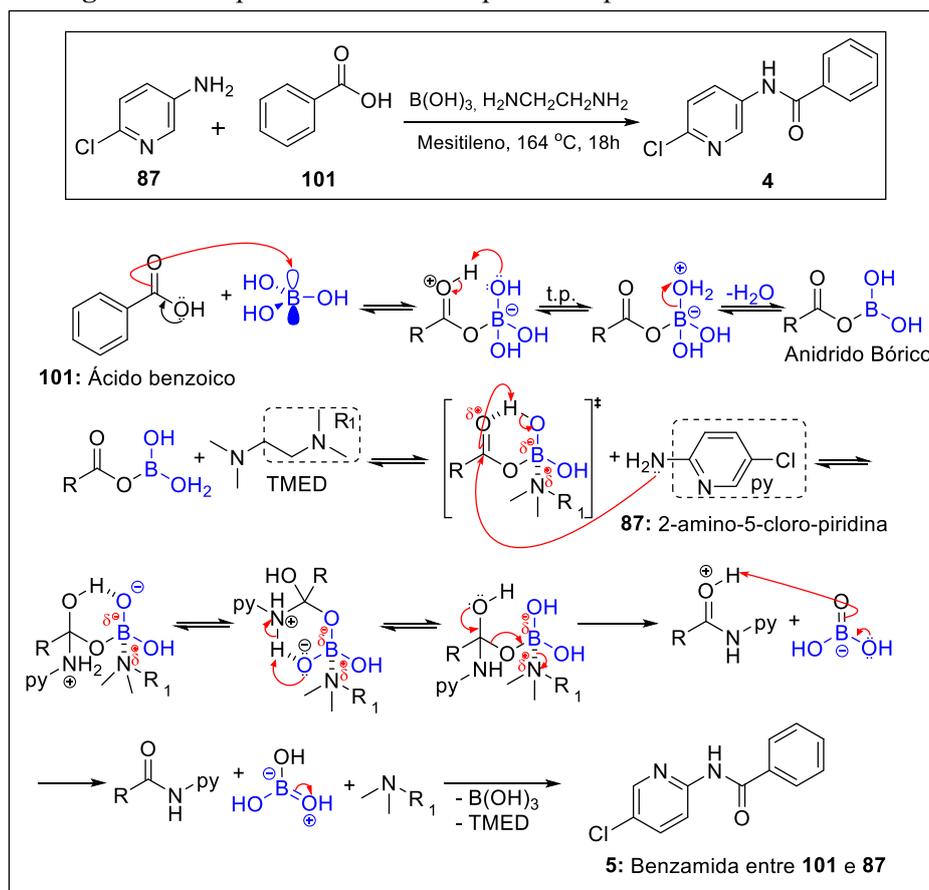
Esses aditivos se tornaram comuns a fim de evitar a racemização quando essa metodologia é empregada na síntese de peptídeos, no entanto além deste ponto, o qual não fundamenta sua utilização para as moléculas contempladas no presente trabalho, o

produto intermediário formado é considerado um éster ativado, de forma que sua reatividade é elevada o que pode favorecer a reação.

A utilização desses aditivos nas metodologias empregadas é fundamentada pela análise das estruturas das aminas disponíveis (**83**, **84**, **87** e **88**), que possuem o grupo amino conjugado ao anel piridínico, conhecido por sua característica retiradora de elétrons (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012), o que provoca o comprometimento do par de elétrons com a ressonância diminuindo sua nucleofilicidade. (DUE-HANSEN et al., 2016; HUMPHREY & CHAMBERLIN, 1997; SOLOMONS; CRAIG, 2012).

Mesmo com todos esses cuidados acerca das características eletrônicas do substrato piridínico, a utilização do EDC como reagente de acoplamento frente ao uso da base e aditivo não foram suficientes para a obtenção das amidas de interesse. Sendo necessária a busca por uma quarta alternativa.

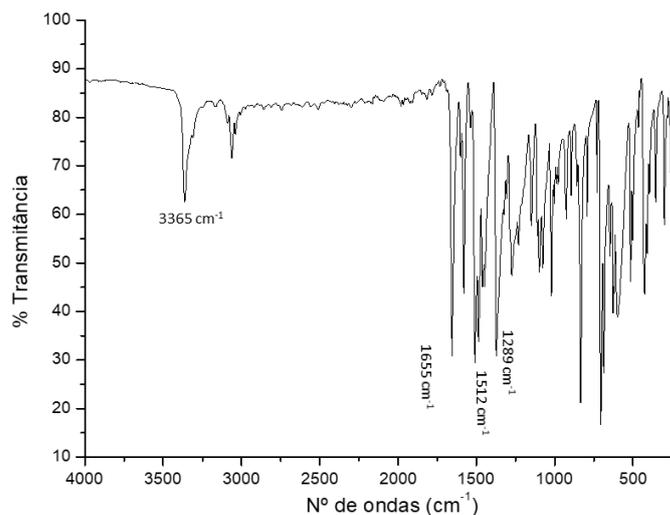
É possível notar que para o modelo utilizado, o qual consistiu da reação entre **87** e **101**, por diferentes metodologias de acoplamento, não foi obtida, a amida de interesse (**4**) sendo necessária a aplicação de outra metodologia para a redução do grupo nitro. Esse procedimento foi realizado por Yun e colaboradores (2016), consistindo no emprego do ácido bórico como reagente de acoplamento na presença de um aditivo diamínico (**Figura 21**).

Figura 21: Proposta de mecanismo para o acoplamento entre **101** e **87**.

Fonte: Adaptado de YUN et al., 2016.

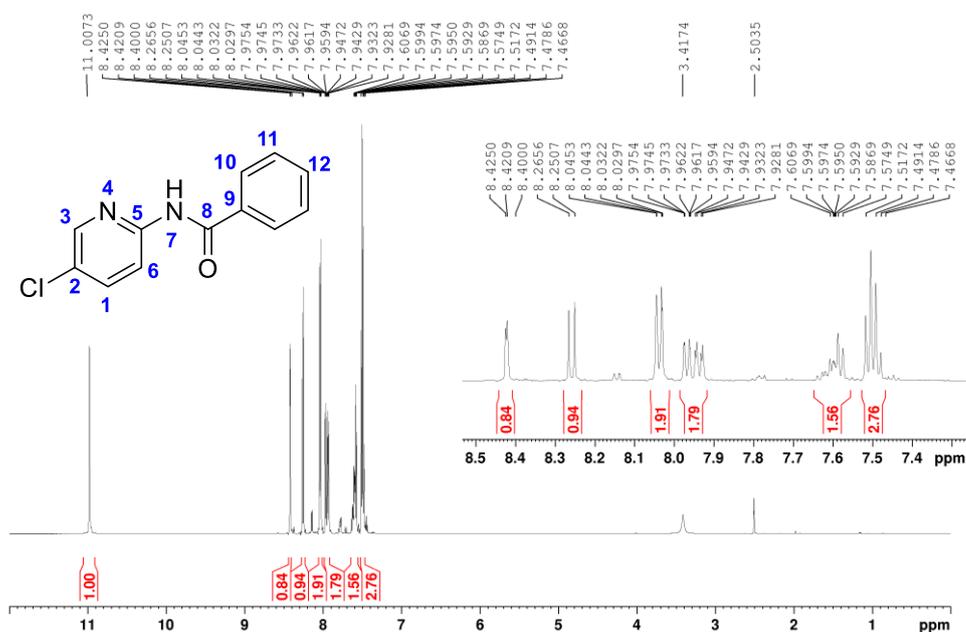
Foram realizadas algumas metodologias com alterações de parâmetros como tempo, temperatura e ordem dos reagentes a fim de se obter o produto desejado (**5**), no entanto verificou-se a necessidade de retirar a água do meio reacional para que o equilíbrio reacional pudesse ser deslocado no sentido da formação do produto. Nesse sentido, a estratégia adotada foi o uso de peneiras moleculares de cavidade de 0,3 nm promovendo o deslocamento do equilíbrio no sentido da formação do anidrido bórico. A utilização dessas peneiras se mostrou eficiente no propósito definido, ou seja, a formação do híbrido amídico (**5**) o qual foi obtido em 21% de rendimento como um sólido ocre, conforme evidenciado pelas bandas observadas no IV, na região de 3365 cm^{-1} é possível observar a banda característica do estiramento de N—H, seguido por essa há outra banda característica que aparece em 1655 cm^{-1} associado ao estiramento de carbonila de amidas (**Figura 22**).

Figura 22: Espectro na região do infravermelho do composto **5** e descrição numérica da molécula.



Pela análise de RMN de ^1H (**Figura 23**) foi possível observar sinais característicos e indicativos para o produto **5**.

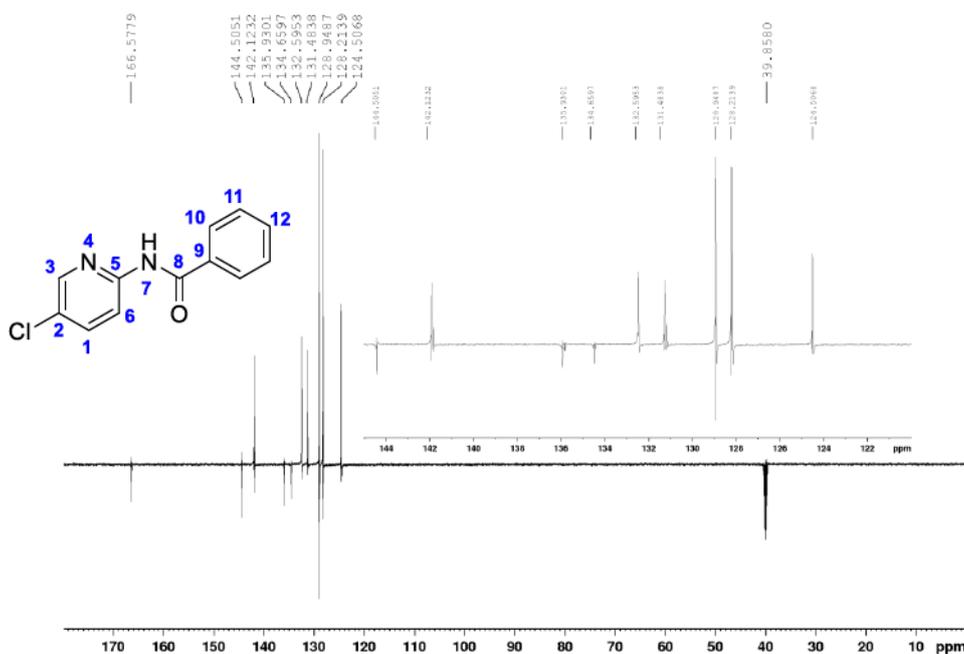
Figura 23: Espectro de RMN de ^1H de **5** (600MHz, DMSO).



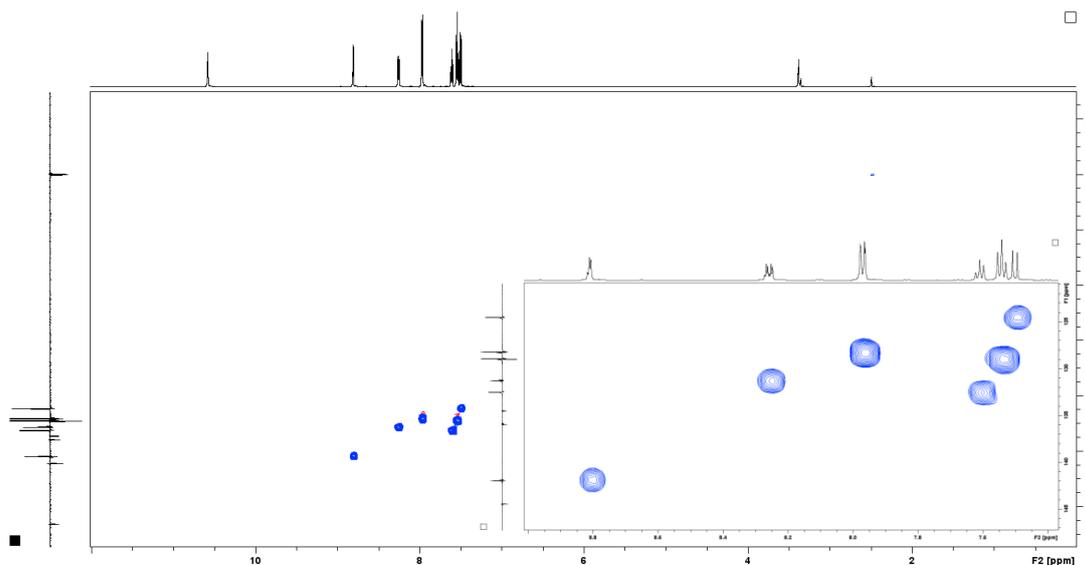
sinal é possível observar ainda cinco sinais na região dos aromáticos em δ 8,42 (1H, *d*, 2,5 Hz, H-3), 8,25 (1H, *d*, *J* 8,9 Hz, H-1), 8,04 (2H, *dd*, *J* 0,7 Hz; *J* 8,9, H-10), 7,97 (2H, *m*, H-12), 7,54 (2H, *m*, H-11) e 7,50 ppm (2H, *m*, H-6).

O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 24**) apresentou dez sinais de carbono, conforme esperado dada a simetria existente entre os carbonos do anel benzênico.

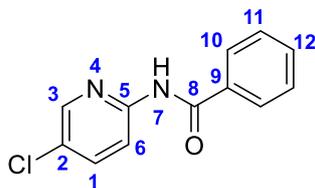
Figura 24: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **5**.



Para atribuir os sinais de alguns carbonos de **5**, houve a necessidade de verificar a correlação direta entre os hidrogênios e carbonos da molécula (HSQC) (**Figura 25**).

Figura 25: Mapa de contorno HSQC para a amida **5**.

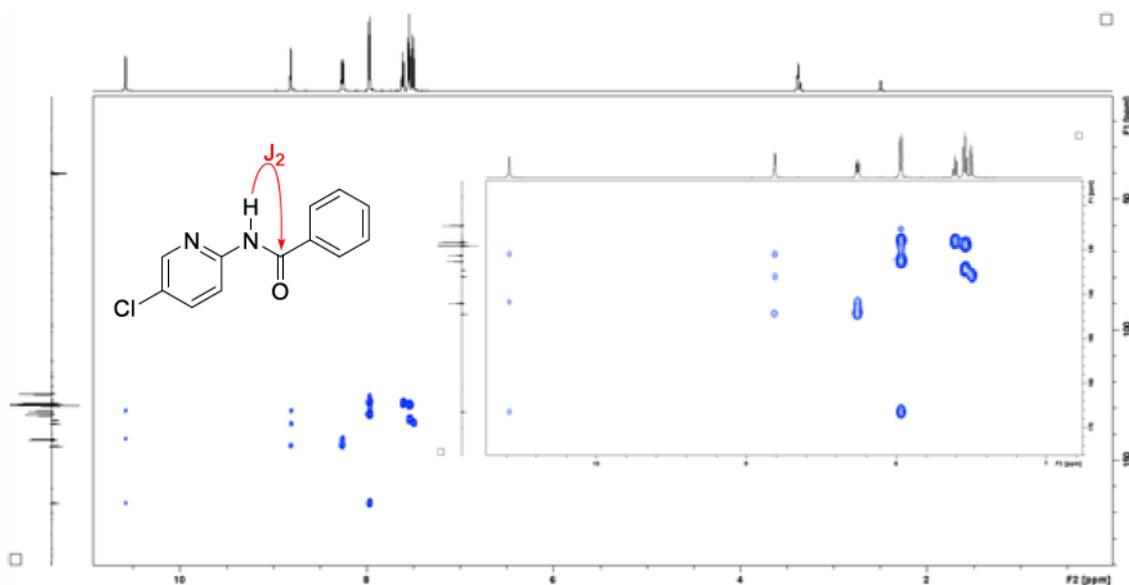
Realizada as atribuições de carbono e de hidrogênio de **5**, uma tabela foi criada a fim de evidenciar os deslocamentos com cada hidrogênio e carbono (**Tabela 2**).

Tabela 2: Dados de RMN de **5** (600MHz, DMSO).

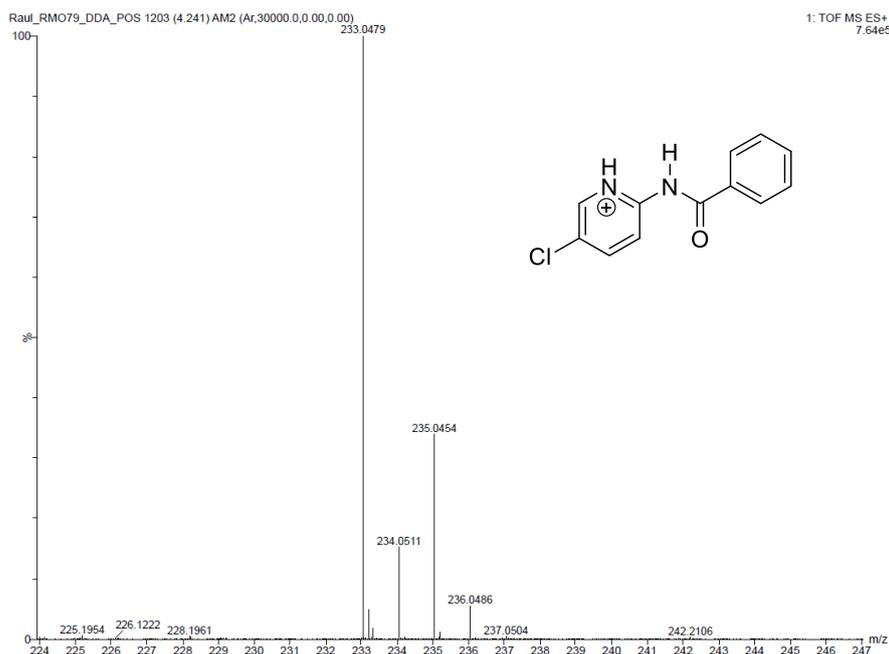
Posição	δ_H ; multiplicidade; J (Hz)	δ_C
1	8,25, <i>d</i> , 8,9	131,2
2	—	144,5
3	8,42, <i>d</i> , 2,5	142,1
4	—	124,5
5	—	135,9
6	7,5, <i>m</i>	141,9
7	—	-
8	—	166,5
9	—	134,6
10	8,04, <i>dd</i> , 0,7; 8,9	128,3
11	7,54, <i>m</i>	129,0
12	7,50, <i>m</i>	132,4

Adicionalmente, o espectro de correlação entre carbono e hidrogênio a longa distância HMBC (**Figura 26**), evidencia a formação da amida ao verificar a correlação entre o hidrogênio amídico (proveniente da amina piridínica) e o carbono carbonílico (proveniente do ácido).

Figura 26: Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de **5**.



Quando submetido à análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}$ de **5**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à nove. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 233,0479, sendo o valor calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}$, 233,0476, denotando um erro de 1,3 ppm (**Figura 27**).

Figura 27: EM-IES-(+) alta resolução do composto 5.

Através deste procedimento, foi possível obter a amida de interesse, contudo, quando o procedimento de acoplamento via utilização de ácido bórico e o aditivo diamínico é observado, é possível notar as problemáticas envolvidas como a elevada toxicidade do solvente utilizado, o mesitileno, bem como a irritação causada por seus vapores, além disso há ainda parâmetros como tempo reacional e a alta temperatura requerida para a obtenção desta amida.

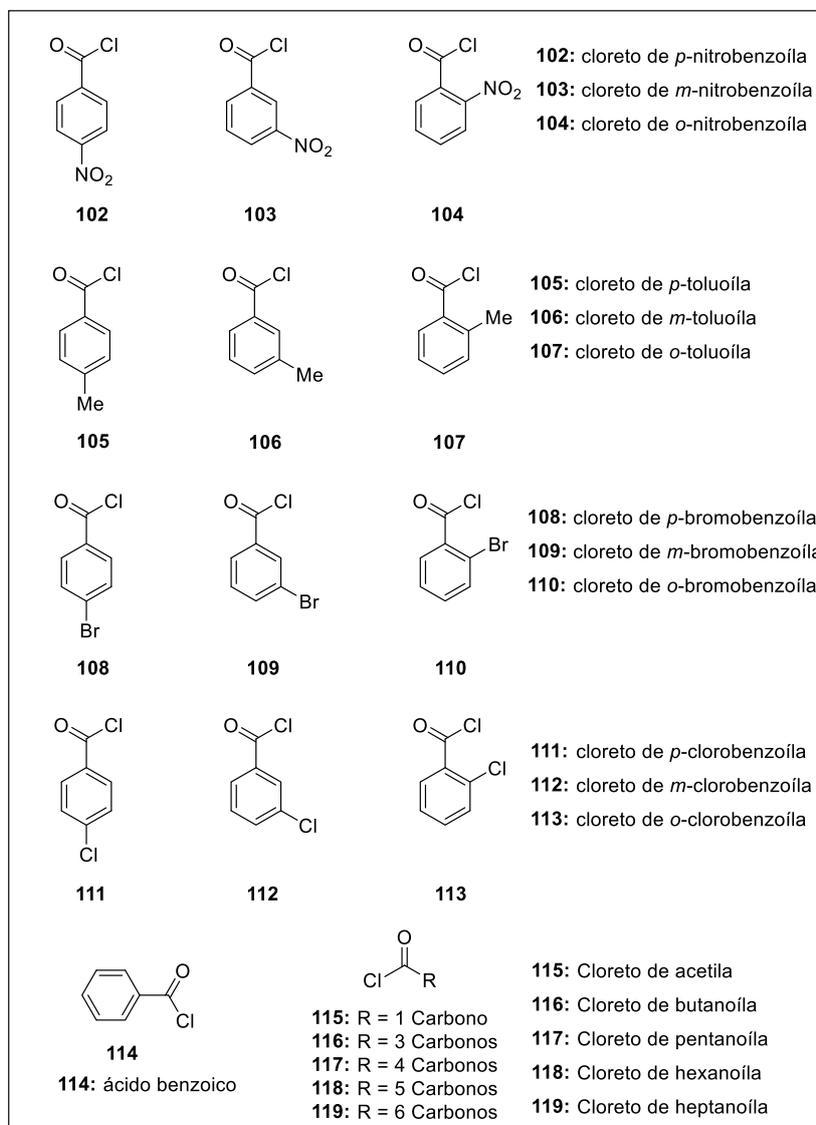
Estas problemáticas seriam suportadas caso os resultados desta síntese estivessem associados a altos rendimentos, o que não é verificado. Nesse sentido, em vista da inviabilidade reacional que havia na síntese dessas amidas via acoplamento por H_3BO_3 , as estratégias foram alteradas, a fim de obter as amidas com rendimentos de, no mínimo, 60%.

As pesquisas em química medicinal visam, por definição, a aplicação dos compostos sintetizadas em uma atividade específica, a fim de entender a relação entre a estrutura e a atividade biológica. No presente trabalho, os produtos seriam testados contra o parasita *N. caninum*, assim a preocupação com a aplicação biológica foi mais expressiva que a aplicação de reações mais complexas.

Estabelecida esta preocupação, os rumos dos trabalhos foram alterados, de forma a manter o perfil estrutural das amidas de interesse e diminuir a complexidade na síntese das amidas, para isso foram adquiridos de forma comercial os cloretos de ácidos

carboxílicos alifáticos e derivados do ácido benzoico com diferentes padrões de substituição (102-119) (Figura 28).

Figura 28: Estrutura dos cloretos ácidos comerciais adquiridos.

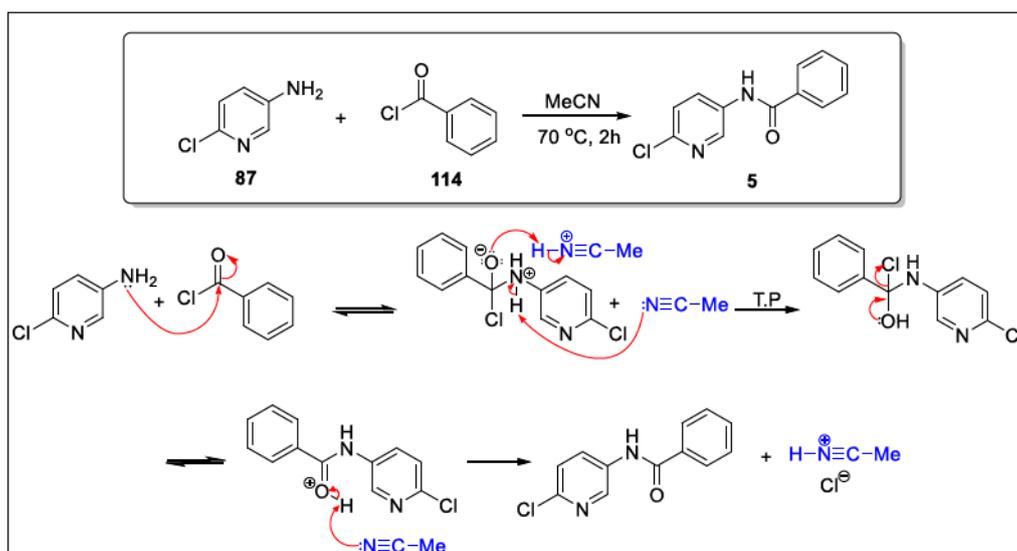


Fonte: O autor.

Através da utilização dos cloretos ácidos, foi possível diminuir consideravelmente o tempo para a reação, bem como promovê-la em condições mais brandas obtendo bons rendimentos, acima de 60%, para todas as amidas. Além dos rendimentos associados e da maior viabilidade reacional disposta pelo uso dos cloretos ácidos, outro fato, que é de extrema relevância no desenvolvimento de fármacos, foi o processo de purificação das amidas obtidas as quais não necessitavam de processos de cromatográficos, sendo obtidas por recristalização.

Essas características elencadas balanceiam o gasto despendido na compra dos cloretos ácidos comerciais, dado os maiores rendimentos, diminuição de etapas, bem como uma maior viabilidade na síntese e na purificação dessas moléculas. A obtenção dessas amidas seguiu um mecanismo clássico, baseado na reação de Pinner, que pode ser demonstrado de forma geral para a reação entre a amina piridínica (**87**) e o cloreto de benzoíla (**111**) (KURT, CZAKO, 2005) (**Figura 29**).

Figura 29: Proposta de mecanismo da reação entre **87** e **114**.

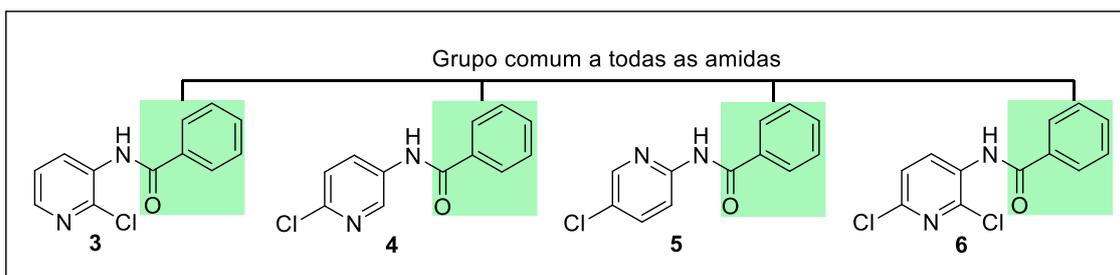


Fonte: Baseado na reação de Pinner, KURT, CZAKO 2005.

Dessa forma, pela reação das quatro aminas piridínicas (**83**, **84**, **87** e **88**) com os dezoito cloretos de ácido (**102-119**) adquiridos, foram obtidas setenta e duas amidas (**3-74**), cuja parte ácida consta de cadeias alifáticas e aromáticas variando os substituintes e suas posições relativas, ou seja, *orto*, *meta* e *para*. A verificação da obtenção dessas amidas se deu através de técnicas espectroscópicas (infravermelho e RMN), espectrométricas (EM-IES) e pela aferição da temperatura de fusão.

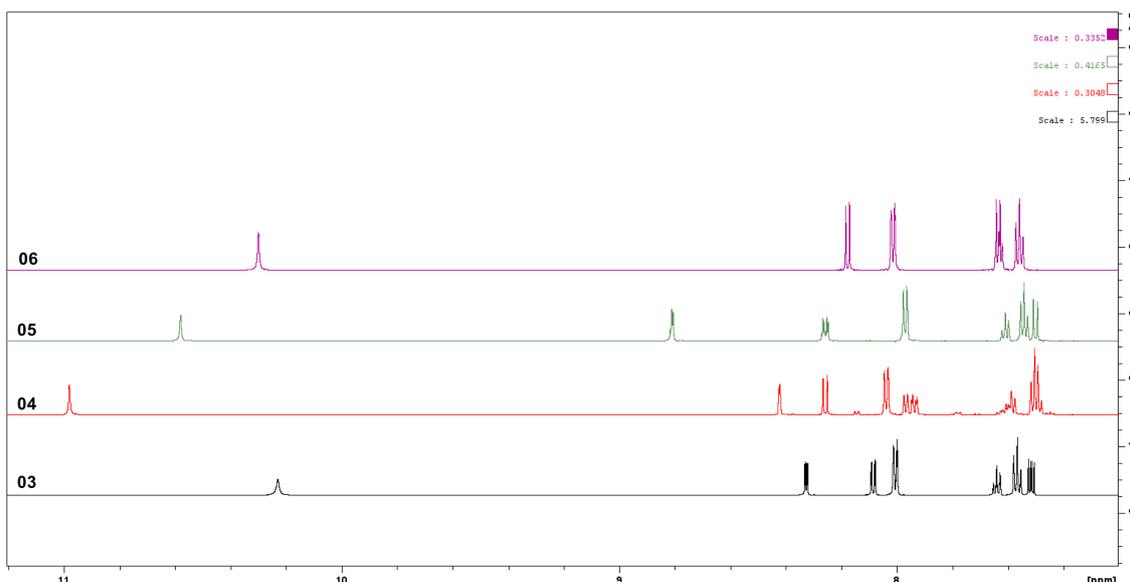
A fim de facilitar a discussão da espectroscopia de RMN, as moléculas serão discutidas por blocos, de forma que para cada substrato piridínico serão escolhidas três amidas aromáticas em que se mantém o substituinte, variando suas posições entre *orto meta* e *para*. A partir das discussões realizadas para cada uma dessas amidas, será possível extrapolar a discussão para os demais substituintes pontuando apenas as mudanças observadas.

Para o primeiro bloco, serão consideradas as amidas formadas entre as aminas piridínicas (**83**, **84**, **87** e **88**) e o cloreto de benzoíla (**114**), derivado do ácido benzoico (**Figura 30**).

Figura 30: Comparação entre as amidas 3-6.

Fonte: o Autor.

Desta forma, baseado na discussão espectroscópica para **5** já realizada anteriormente, os sinais discutidos serão muito próximos aos sinais vistos nos demais substratos (**3**, **4** e **6**). Essa semelhança pode ser verificada quando os espectros de hidrogênios são sobrepostos (**Figura 31**).

Figura 31: Sobreposição dos espectros de hidrogênio das amidas 3-6.

A semelhança entre os espectros é muito clara quando os sinais dos espectros de hidrogênios são analisados, ocorrendo deslocamentos devido a alteração do padrão de substituição em cada amida. Todos os espectros de RMN de ¹H, exceto o de **6**, apresentam seis sinais. Todos os espectros para as amidas **3-6** estão disponíveis nos anexos (**Espectros 4-16**).

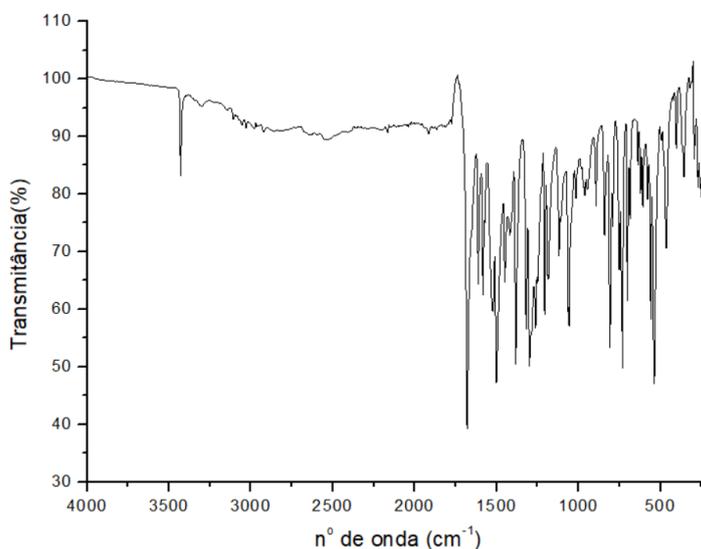
Com a obtenção das amidas **3-6**, foram sintetizadas as amidas mantendo as porções das quatro aminas piridínicas e os derivados do cloreto de benzoíla substituídos com grupos doadores e retiradores nas posições *orto*, *meta* e *para*.

Nesse sentido, o segundo bloco a ser discutido consta das amidas formadas pela reação da amina piridínica **77**, a qual reagiu com derivados de cloretos de benzoíla substituídos com grupos como nitro, metila, bromo e cloro em *orto*, *meta* e *para* (**7-18**). As doze amidas foram obtidas com rendimentos satisfatórios e o processo de purificação foi facilitado devido à precipitação do produto de interesse, a caracterização desses produtos foi realizada por técnicas espectroscópicas (infravermelho e RMN) e espectrométrica (EM-IES).

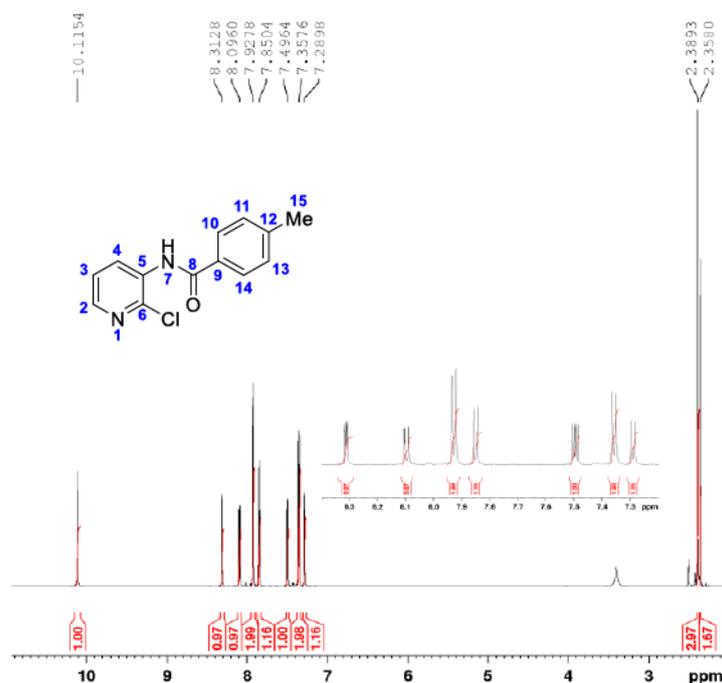
A fim de enriquecer as discussões, os espectros das amidas **10**, **11** e **12** produtos entre a amina piridínica **77** com os cloretos de benzoíla substituídos com o grupo metila em *para* (**102**), *meta* (**103**) e *orto* (**104**) foram avaliados separadamente e serão considerados como base para a análise das demais amidas englobadas neste bloco. As análises dos espectros de infravermelho são muito semelhantes àquela discutida para a amida **5**.

A amida **10** foi obtida com 21% de rendimento como um sólido branco, conforme evidenciado pelas bandas observadas no IR: 3431, 1680, 1504, 1296 cm^{-1} (**Figura 32**).

Figura 32: Espectro na região do infravermelho da amida **10**.

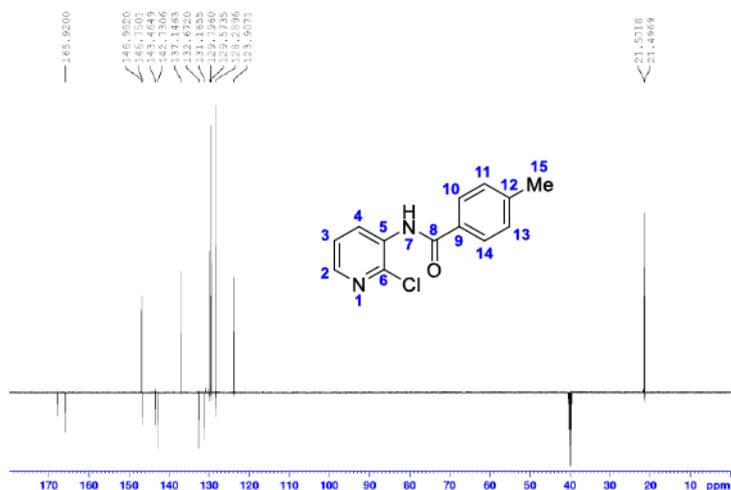


O espectro de RMN de ^1H (**Figura 33**) apresentou sinais característicos e indicativos para o produto **10**.

Figura 33: Espectro de RMN de ^1H de **10** (600MHz, DMSO).

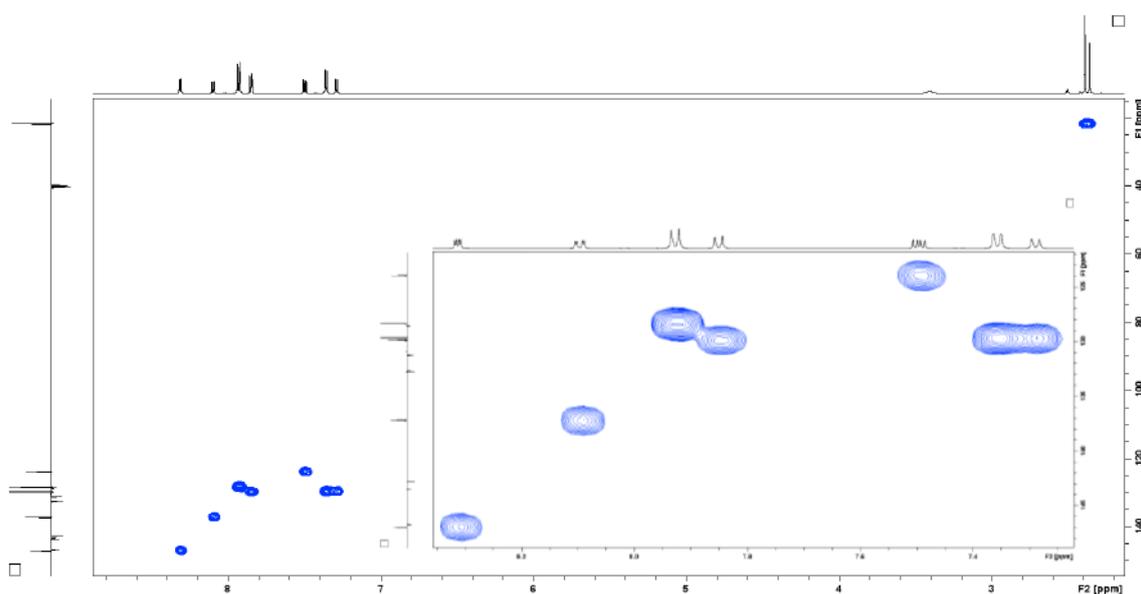
A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 30**) apresentou sinais característicos para o hidrogênio da amida secundária **10** em 10,11 ppm (1H) e para o hidrogênio da metila em 2,38 ppm (3H, s, H-15), além desses sinais é possível observar três sinais relativos aos hidrogênios piridínicos em δ 8,31 (1H, *dd*, J 1,8 Hz; J 4,7, H-2), 8,09 (1H, *dd*, J 1,7 Hz; J 7,9, H-4) e 7,49 (1H, *dd*, J 4,4 Hz; J 12,4, H-3), além do hidrogênio amídico e dos hidrogênios piridínicos, são observados dois sinais relativos aos hidrogênios simétricos do anel em *para* nos deslocamentos δ 7,92 (2H, *d*, J 8,2 Hz; H-10 e H-14), 7,35 (2H, *d*, 7,98 Hz, H-11 e H-13).

O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 34**) apresentou onze sinais de carbono, conforme esperado dada a simetria existente entre os carbonos do anel benzênico.

Figura 34: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **10**.

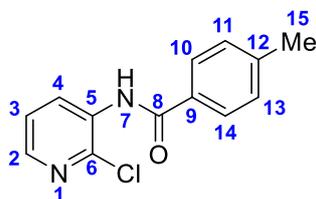
Dentre os sinais de carbono, existem dois de fácil identificação pelo espectro acima apresentado, sendo eles o carbono carbonílico δ 165,92 (C-8) e o carbono da metila δ 21,80 (C-15), os sinais de carbonos não hidrogenados presentes nos anéis aromáticos puderam ser distinguidos em função das diferentes regiões químicas ocupadas. Em relação às diferentes blindagens desses carbonos frente os efeitos dos substituintes, a atribuição foi realizada de forma que os sinais desses carbonos não hidrogenados são vistos em δ 146,75 (C-6), 132,67 (C-5), 131,2 (C-9) e 142,73 (C-12).

Para atribuir os sinais dos carbonos hidrogenados da molécula de **10**, foi realizada a análise do mapa de contorno HSQC (**Figura 35**).

Figura 35: Mapa de contorno HSQC para a amida **10**.

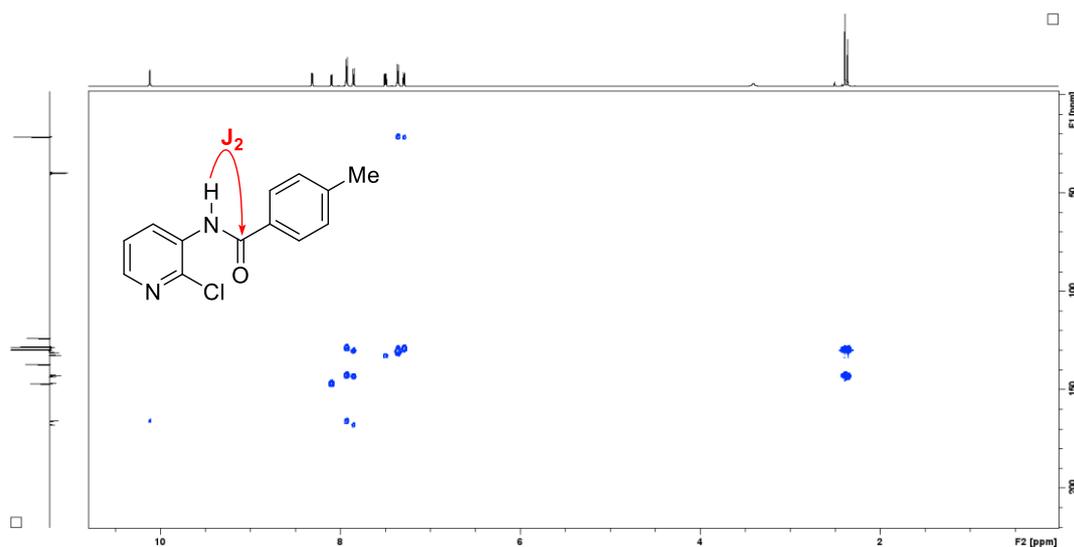
Todas a atribuições realizadas para **10** estão dispostas na **Tabela 3**.

Tabela 3: Dados de RMN de **11** (600MHz, DMSO).

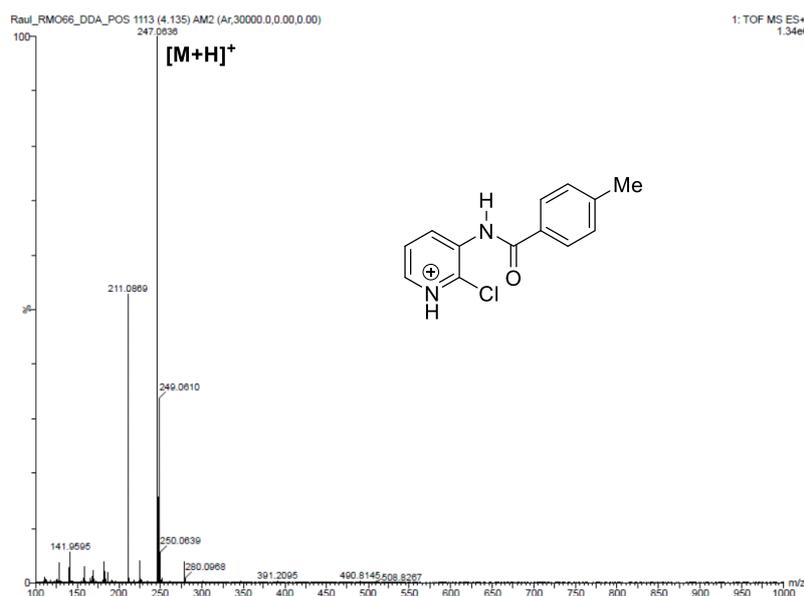


Posição	δ_{H} , multiplicidade, J (Hz)	δ_{C}
1	—	-
2	8,31, dd, 1,8; 4,7	147,93
3	7,49, dd, 4,4; 12,4	123,93
4	8,09, dd, 1,7; 7,9	137,93
5	—	132,67
6	—	146,75
7	10,11, s	-
8	—	165,92
9	—	131,16
10	7,92, d, 8,2	128,23
11	7,35, d 8,0	129,48
12	—	142,73
13	7,35, d 8,0	129,48
14	7,92, d, 8,2	128,23
15	2,38, s	21,49

A fim de certificar que as atribuições foram realizadas corretamente foram avaliadas as correlações no mapa de contorno HMBC. A análise desse mapa permitiu verificar a síntese da amida em vista dos acoplamentos entre o hidrogênio amídico e o carbono carbonílico (**Figura 36**).

Figura 36: Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de **10**.

Quando submetido à análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}$ de **10**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à nove. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 247,0636, sendo o valor calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}$, 247,0633, denotando um erro de 1,21 ppm (**Figura 37**).

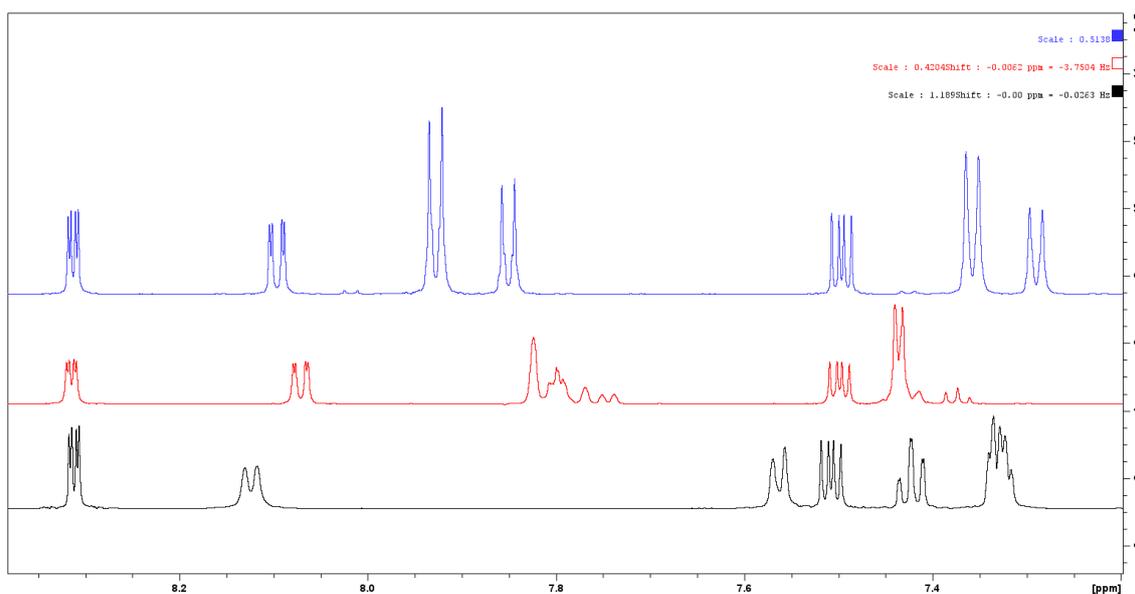
Figura 37: EM-IES-(+) alta resolução do composto **10**.

Dessa forma, pela discussão da amida **10** é possível atribuir os deslocamentos para as demais amidas desse bloco substituídas em *para* (**7**, **13** e **16**) (Anexo – **Espectros 16-27**).

A amida **11** foi obtida com 65,2% de rendimento e amida **12** com 57,3% de rendimento, ambas como sólidos brancos e. Os espectros (IV e RMN) são muito semelhantes aos discutidos para a amida **10**, já que a única alteração foi no padrão de substituição do anel benzênico (de *para* em **10** para *meta* em **11** e *orto* em **12**). Os espectros dos análogos **9**, **14**, **15**, **17** e **18** estão em anexo (**Espectros 28-47**).

A principal diferença espectroscópica entre **10**, **11** e **12** pode ser observada no espectro de RMN de ^1H na região dos aromáticos, devido aos diferentes padrões de substituição (**Figura 38**).

Figura 38: Espectros de hidrogênio de **10** (azul), **11** (vermelho) e **12** (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.



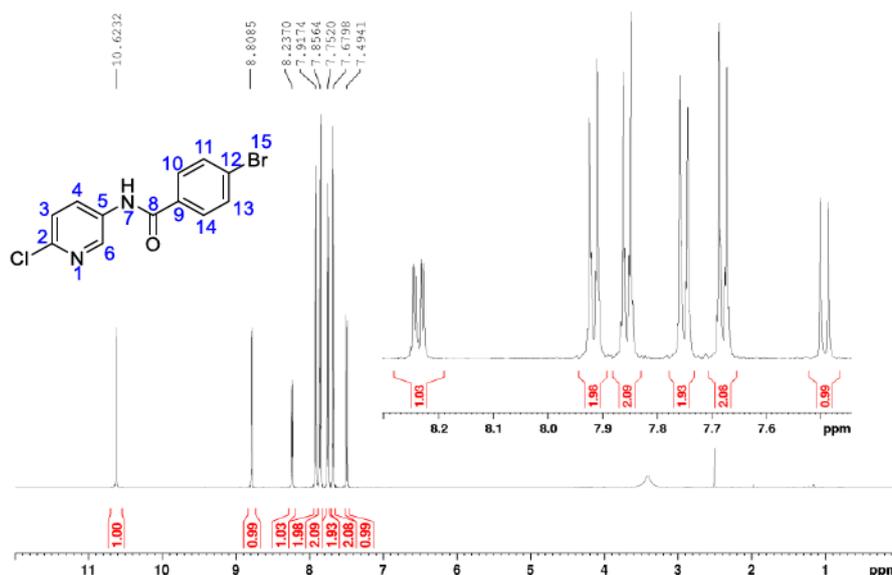
A análise de cada uma das moléculas escolhidas para a discussão mostrou a alta similaridade existente entre os produtos obtidos, mesmo quando variada as posições relativas no anel fenílico. O próximo bloco a ser analisado consta de amidas sintetizadas a partir do substrato **87**.

Dessa forma para verificar a síntese destes produtos, foram avaliados os espectros de RMN destas amidas (**25**, **26** e **27**) produtos entre a amina piridínica **87** com os cloretos de benzoíla substituídos com o grupo bromo em *para* (**108**), *meta* (**109**) e *orto* (**110**) que foram avaliados separadamente e serão considerados como base para a

análise das demais amidas englobadas neste bloco. Os espectros de infravermelho não foram discutidos, pois são muito semelhantes aos já analisados anteriormente.

A amida **25** foi obtida com 93,9% de rendimento como um sólido roxo, seu espectro de RMN de ^1H (**Figura 39**) apresentou sinais característicos e indicativos para o produto **25**.

Figura 39: Espectro de RMN de ^1H de **25** (600MHz, DMSO).

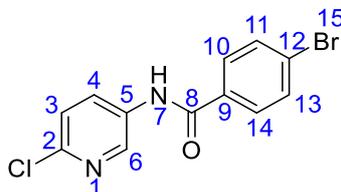


A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 48**) apresentou sinais característicos para o hidrogênio da amida secundária **25** em 10,11 ppm (1H, s, H-7), além deste sinal é possível observar três sinais relativos aos hidrogênios piridínicos em δ 8,80 (1H, *d*, *J* 2,76 Hz, H-6), 8,23 (1H, *dd*, *J* 2,8 Hz; *J* 8,64 Hz H-4) e 7,49 (1H, *d*, *J* 8,64 Hz; H-3), além do hidrogênio amídico e dos hidrogênios piridínicos, são observados dois sinais relativos aos hidrogênios simétricos do anel em *para* nos deslocamentos δ 7,91 (2H, *d*, *J* 6,7 Hz, H-10 e H-14), 7,75 (2H, *d*, *J* 9,1 Hz, H-11 e H-13).

O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 40**) apresentou onze sinais de carbono, conforme esperado dada a simetria existente entre os carbonos do anel benzênico.

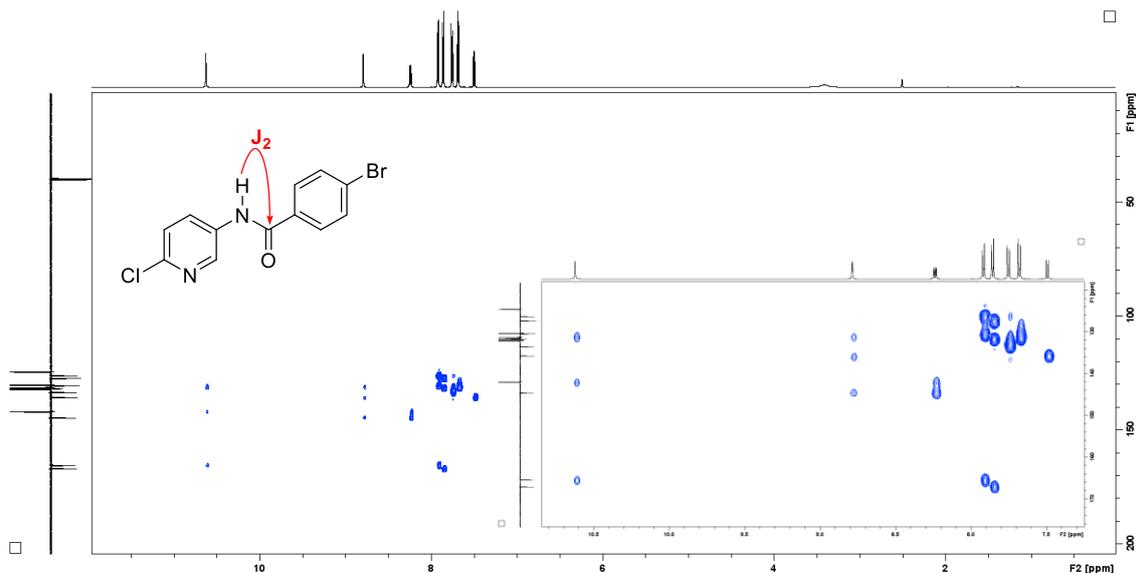
Todas a atribuições realizadas para **25** estão dispostas na **Tabela 4**.

Tabela 4: Dados de RMN de **25** (600MHz, DMSO).

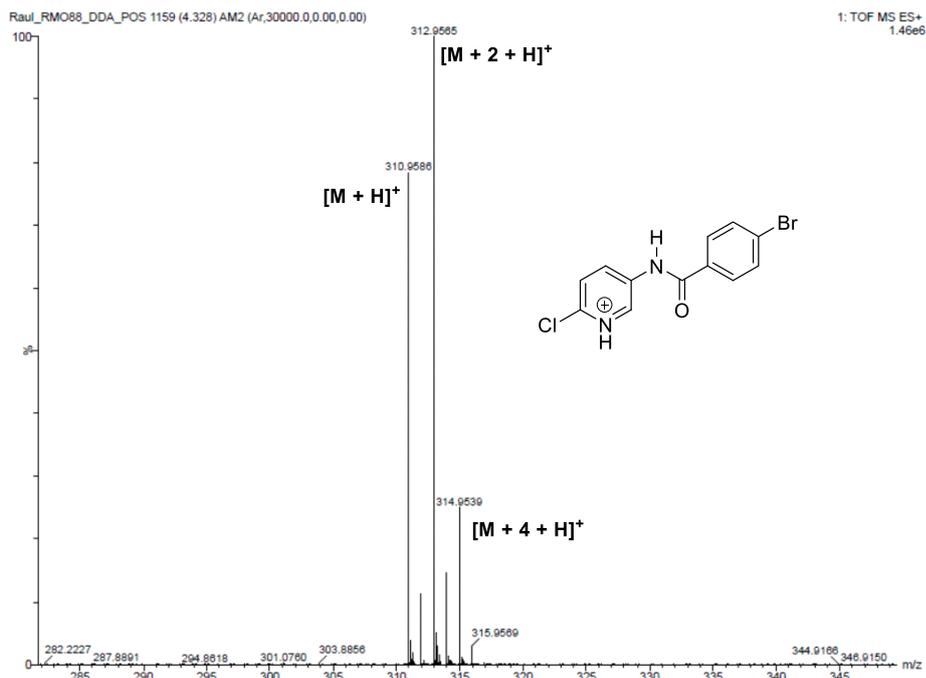


Posição	δ_{H} , multiplicidade, J (Hz)	δ_{C}
1	—	—
2	—	144,61
3	7,49, d 8,6	124,64
4	8,23, dd, 2,8; 8,6	131,33
5	—	135,72
6	8,8, d, 2,7	141,90
7	10,11	-
8	—	165,35
9	—	127,43
10	7,91, d, 6,7	130,35
11	7,75, d, 9,1	131,96
12	—	135,59
13	7,75, d, 9,1	131,96
14	7,91, d, 6,7	130,35

A fim de certificar que as atribuições foram realizadas corretamente foram avaliadas as correlações no mapa de contorno HMBC. A análise desse mapa permitiu verificar a síntese da amida em vista dos acoplamentos entre o hidrogênio amídico e o carbono carbonílico (**Figura 42**).

Figura 42: Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de **25**.

Quando submetido à análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrClN}_2\text{O}$ de **25**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à nove. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 310,9586, em vista da abundância do cloro e do bromo outros dois sinais são vistos, $[\text{M} + 2 + \text{H}]^+$ em 312,9565 e $[\text{M} + 4 + \text{H}]^+$ em 314,9539 sendo o valor calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{BrClN}_2\text{O}$, 310,9581 denotando um erro de 1,6 ppm (**Figura 43**).

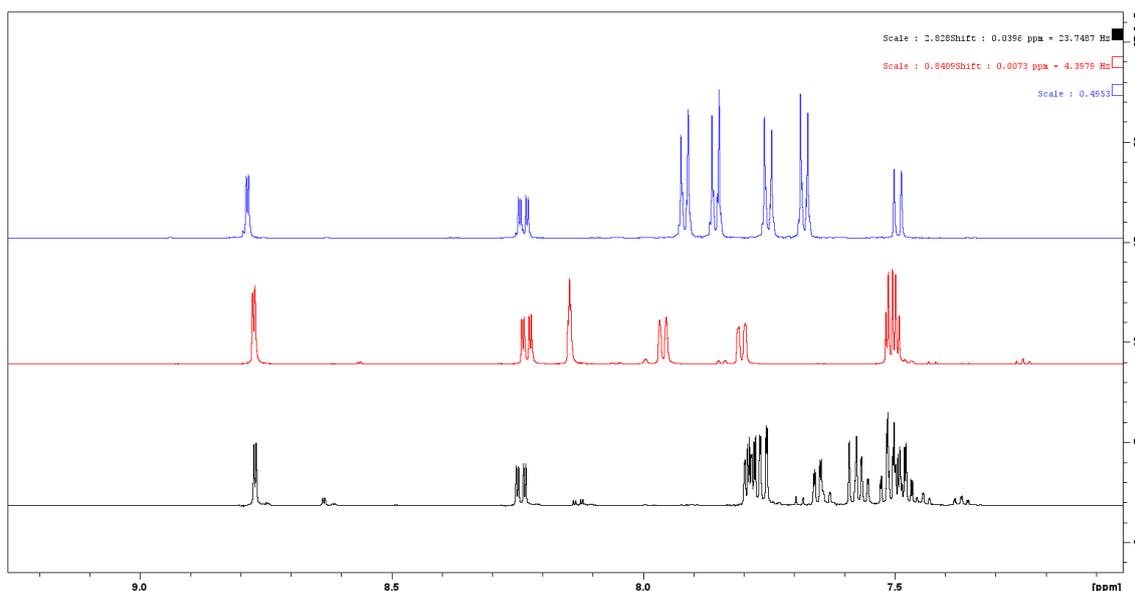
Figura 43: EM-IES-(+) alta resolução do composto **12**.

Dessa forma, pela discussão da amida **25** é possível atribuir os deslocamentos para as demais amidas desse bloco substituídas em *para* (**19**, **22** e **28**) (Anexo – Espectros 48-59).

A amida **26** foi obtida com 84,5% de rendimento e amida **27** com 49,8% de rendimento, ambas como sólidos roxos. Os espectros (IV e RMN) são muito semelhantes aos discutidos para a amida **25**, já que a única alteração foi no padrão de substituição do anel benzênico (de *para* em **25** para *meta* em **26** e *orto* em **27**). Dessa forma, os espectros dos análogos **23**, **29**, **21**, **24**, e **30** podem ser vistos em anexo (Espectros 60-79).

A principal diferença espectroscópica entre **25**, **26** e **27** pode ser observada no espectro de RMN de ^1H na região dos aromáticos, devido aos diferentes padrões de substituição (**Figura 44**).

Figura 44: Espectros de hidrogênio de **25** (azul), **26** (vermelho) e **27** (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.



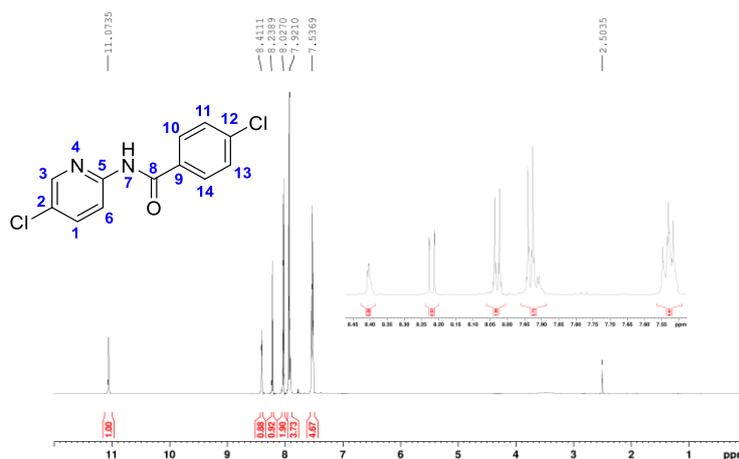
A análise de cada uma das moléculas escolhidas para a discussão mostrou a alta similaridade existente entre os produtos obtidos, mesmo quando variada as posições relativas no anel fenílico. O próximo bloco a ser analisado consta de amidas sintetizadas a partir do substrato **84**.

Dessa forma para verificar a síntese destes produtos, foram avaliados os espectros de RMN destas amidas (**40**, **41** e **42**) produtos entre a amina piridínica **84** com os cloretos de benzoíla substituídos com o grupo cloro em *para* (**111**), *meta* (**112**) e *orto*

(113) que foram avaliados separadamente e serão considerados como base para a análise das demais amidas englobadas neste bloco. Os espectros de infravermelho não foram discutidos, pois são muito semelhantes aos já analisados anteriormente.

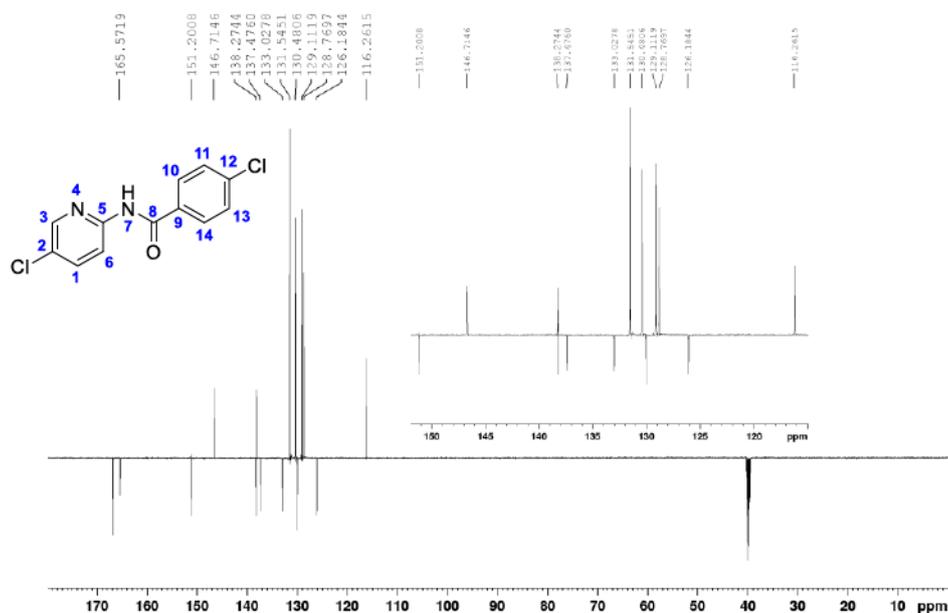
A amida **40** foi obtida com 97,6% de rendimento como um sólido branco, seu espectro de RMN de ^1H (**Figura 45**) apresentou sinais característicos e indicativos para o produto **25**.

Figura 45: Espectro de RMN de ^1H de **40** (600MHz, DMSO).



A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 65**) apresentou sinais característicos para o hidrogênio da amida secundária **25** em 10,11 ppm (1H, s, H-7), além deste sinal é possível observar três sinais relativos aos hidrogênios piridínicos em δ 8,41 (1H, *d*, *J* 2,5 Hz H-3), 8,23 (1H, *d*, *J* 8,9 Hz H-1) e 7,53 (1H, *m*, H-6), além do hidrogênio amídico e dos hidrogênios piridínicos, são observados dois sinais relativos aos hidrogênios simétricos do anel em *para* nos deslocamentos δ 8,02 (2H, *dd*, *J* 0,6 Hz; *J* 8,8 Hz, H-10 e H-14), 7,92 (2H, *d*, *J* 8,6 Hz H-11 e H-13).

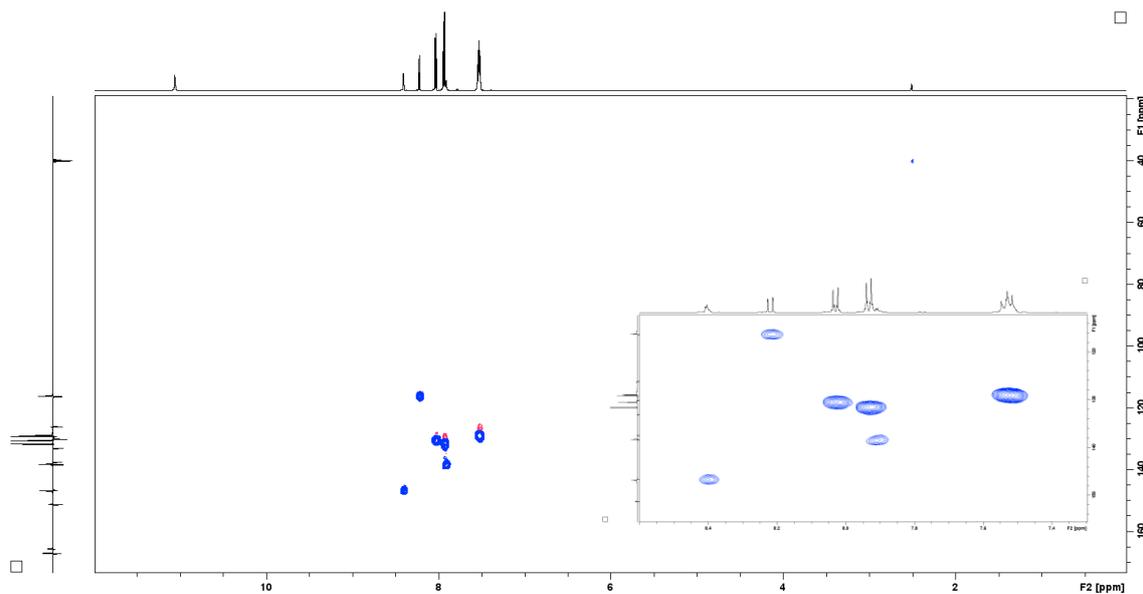
O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 46**) apresentou onze sinais de carbono, conforme esperado dada a simetria existente entre os carbonos do anel benzênico.

Figura 46: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **40**.

Dentre os sinais de carbono, existem dois de fácil identificação pelo espectro acima apresentado, sendo eles o carbono carbonílico δ 165,5 (C-8), os sinais de carbonos não hidrogenados presentes nos anéis aromáticos puderam ser distinguidos em função das diferentes regiões químicas ocupadas. Em relação às diferentes blindagens desses carbonos frente os efeitos dos substituintes, a atribuição foi realizada de forma que os sinais desses carbonos não hidrogenados são vistos em δ 151,2 (C-2), 137,4 (C-5), 126,1 (C-9) e 133,0 (C-12).

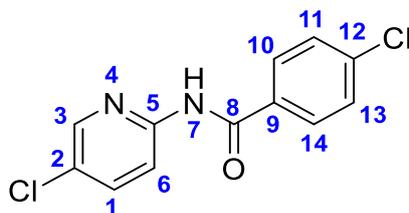
Para atribuir os sinais dos carbonos hidrogenados da molécula de **40**, foi realizada a análise do mapa de contorno HSQC (**Figura 47**).

Figura 47: Mapa de contorno HSQC para a amida **40**.



Todas a atribuições realizadas para **40** estão dispostas na **Tabela 5**.

Tabela 5: Dados de RMN de **40** (600MHz, DMSO).

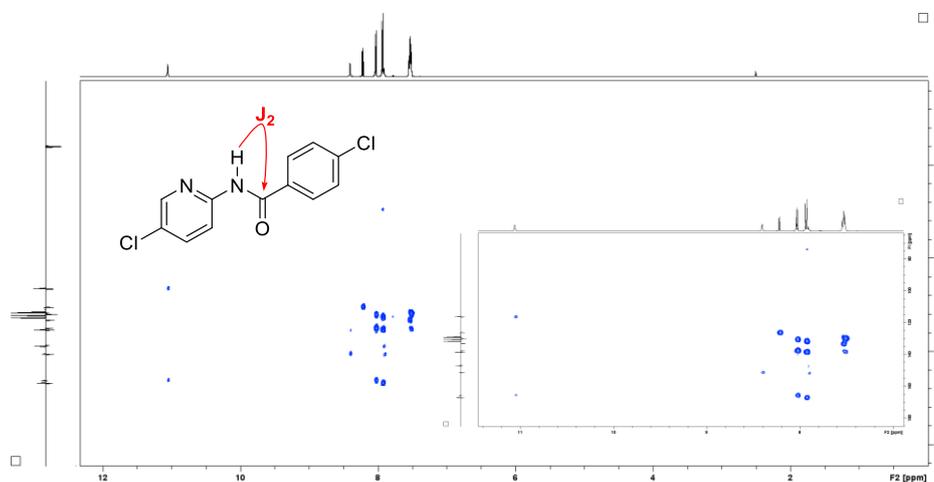


Posição	δ_H , multiplicidade, J (Hz)	δ_C
1	8,23, d, 8,9	116,28
2	—	151,20
3	8,41, d, 2,5	146,61
4	—	-
5	—	137,40
6	7,53, m	128,81
7	10,11, s	-
8	—	165,57
9	—	126,18
10	8,0, dd, 0,6; 8,8	130,43
11	7,92, d, 8,6	131,65
12	—	133,02

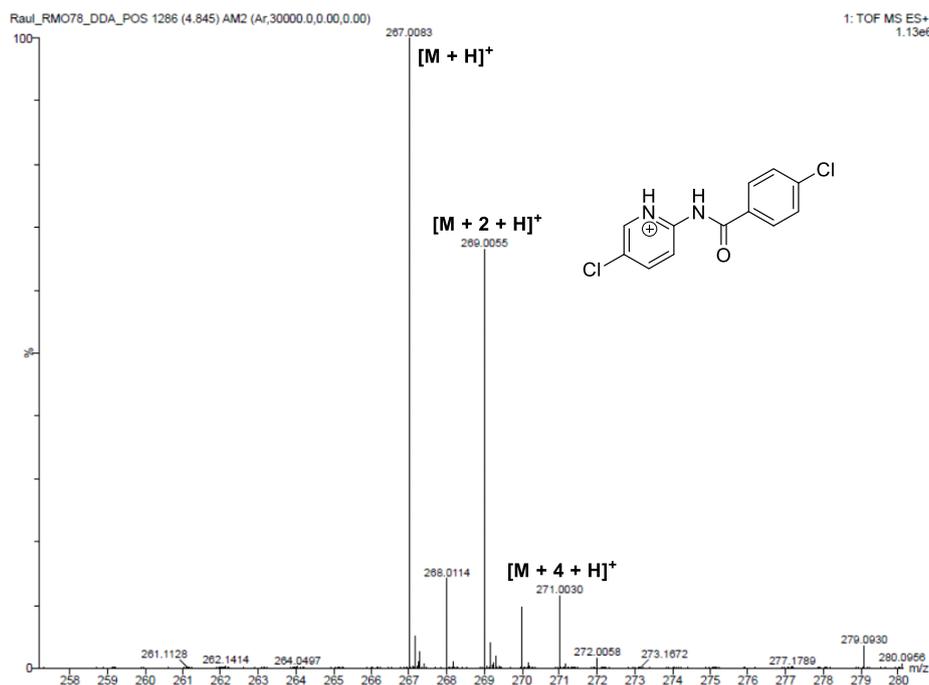
Tabela 10: Dados de RMN de **40** (600MHz, DMSO) continuação.

Posição	δ_H , multiplicidade, J (Hz)	δ_C
13	7,92, d, 8,6	131,65
14	8,0, dd, 0,6; 8,8	130,43

A fim de certificar que as atribuições foram realizadas corretamente foram avaliadas as correlações no mapa de contorno HMBC. A análise desse mapa permitiu verificar a síntese da amida em vista dos acoplamentos entre o hidrogênio amídico e o carbono carbonílico (**Figura 48**).

Figura 48: Mapa de contorno HMBC e correlação entre 1H e ^{13}C de **40**.

Quando submetido à análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $C_{12}H_8Cl_2N_2O$ de **40**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à nove. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 267,0083, em vista da abundância do cloro outros dois sinais são vistos, $[M + 2 + H]^+$ em 269,0055 e $[M + 4 + H]^+$ em 271,0030 sendo o valor calculado para $C_{12}H_8Cl_2N_2O$ m/z 267,0086, denotando um erro de 1,12 ppm (**Figura 49**).

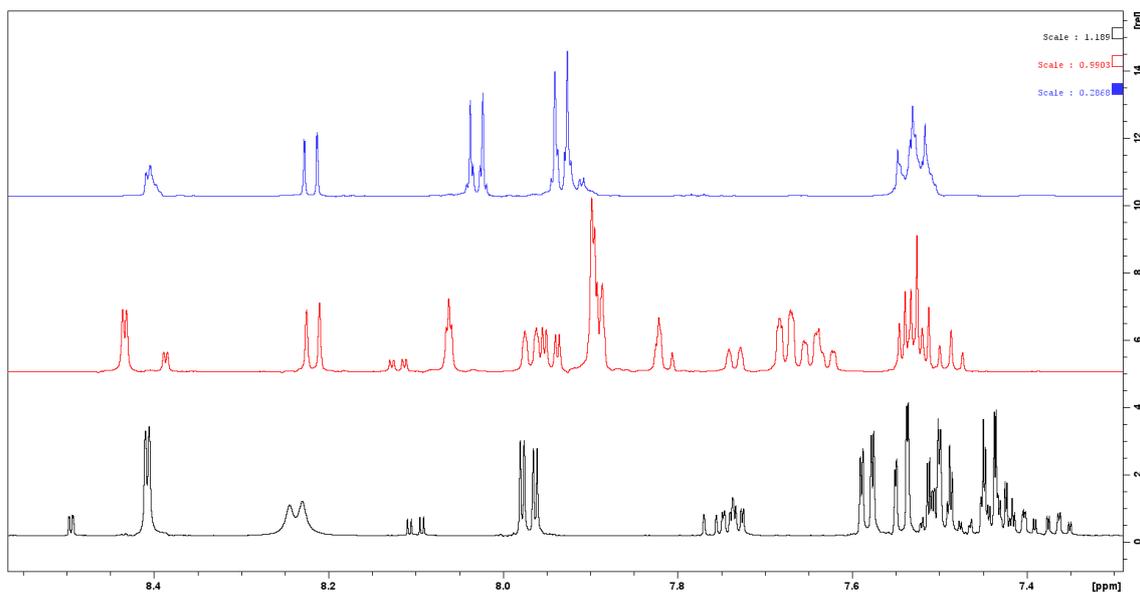
Figura 49: EM-IES-(+) alta resolução do composto **40**.

Dessa forma, pela discussão da amida **40** é possível atribuir os deslocamentos para as demais amidas desse bloco substituídas em *para* (**31**, **34** e **37**) (Anexo – **Espectros 80-91**).

A amida **41** foi obtida com 87,3% de rendimento e amida **42** com 71,9% de rendimento, ambas como sólidos brancos e. Os espectros (IV e RMN) são muito semelhantes aos discutidos para a amida **40**, já que a única alteração foi no padrão de substituição do anel benzênico (de *para* em **40** para *meta* em **41** e *orto* em **42**). Dessa forma, os espectros dos análogos **35**, **38**, **33**, **36** e **39**.

A principal diferença espectroscópica entre **40**, **41** e **42** pode ser observada no espectro de RMN de ¹H na região dos aromáticos, devido aos diferentes padrões de substituição (**Figura 35**).

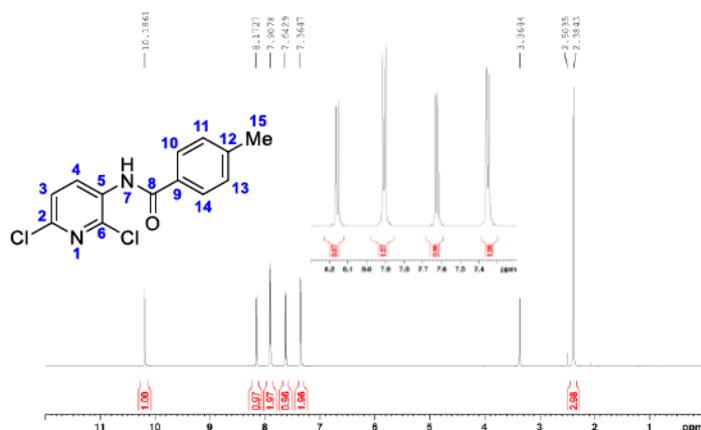
Figura 50: Espectros de hidrogênio de **40** (azul), **41** (vermelho) e **42** (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.



A análise de cada uma das moléculas escolhidas para a discussão mostrou a alta similaridade existente entre os produtos obtidos, mesmo quando variada as posições relativas no anel fenílico. O próximo bloco a ser analisado consta de amidas sintetizadas a partir do substrato **88**.

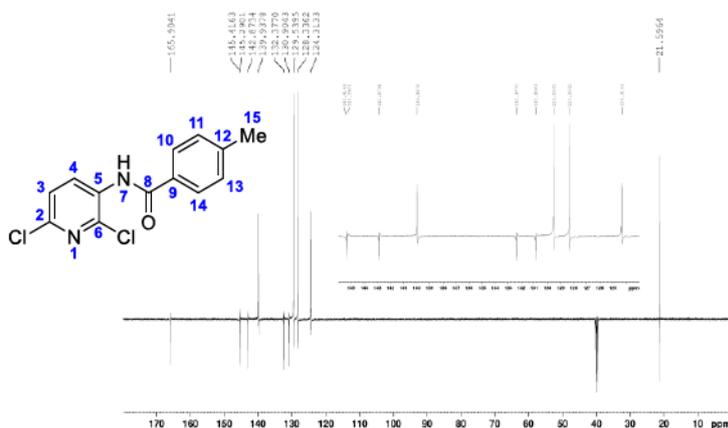
Dessa forma para verificar a síntese destes produtos, foram avaliados os espectros de RMN destas amidas (**46**, **47** e **48**) produtos entre a amina piridínica **88** com os cloretos de benzoíla substituídos com o grupo metila em *para* (**105**), *meta* (**106**) e *orto* (**107**) que foram avaliados separadamente e serão considerados como base para a análise das demais amidas englobadas neste bloco. Os espectros de infravermelho não foram discutidos, pois são muito semelhantes aos já analisados anteriormente.

A amida **46** foi obtida com 65,3% de rendimento como um sólido branco, seu espectro de RMN de ^1H (**Figura 51**) apresentou sinais característicos e indicativos para o produto **46**.

Figura 51: Espectro de RMN de ^1H de **46** (600MHz, DMSO).

A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 84**) apresentou sinais característicos para o hidrogênio da amida secundária **46** em 10,18 ppm (1H, s, H-7) e para o hidrogênio da metila em 2,38 ppm (3H, s, H-15), além desses sinais é possível observar dois sinais relativos aos hidrogênios piridínicos em δ 8,17 (1H, *d*, *J* 8,3 Hz, H-4), 7,64 (1H, *d*, *J* 8,3 Hz, H-3), além do hidrogênio amídico e dos hidrogênios piridínicos, são observados dois sinais relativos aos hidrogênios simétricos do anel em *para* nos deslocamentos δ 7,90 (2H, *d*, *J* 8,3 Hz H-10 e H-14) e 7,36 (2H, *d*, *J* 8,0 Hz, H-11 e H-13).

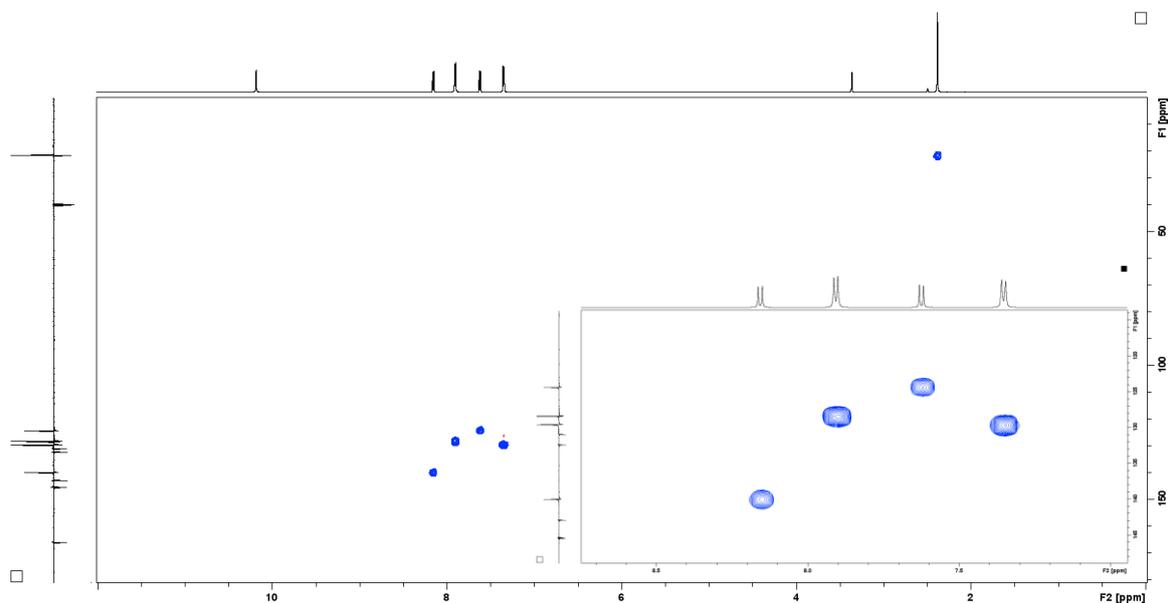
O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 52**) apresentou onze sinais de carbono, conforme esperado dada a simetria existente entre os carbonos do anel benzênico.

Figura 52: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **46**.

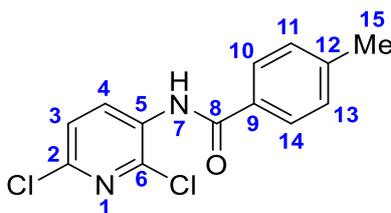
Dentre os sinais de carbono, existem dois de fácil identificação pelo espectro acima apresentado, sendo eles o carbono carbonílico δ 165,9 (C-8) e o carbono da metila δ 21,5 (C-15), os sinais de carbonos não hidrogenados presentes nos anéis aromáticos puderam ser distinguidos em função das diferentes regiões químicas ocupadas. Em relação às diferentes blindagens desses carbonos frente os efeitos dos substituintes, a atribuição foi realizada de forma que os sinais desses carbonos não hidrogenados são vistos em δ 145,4 (C-6), 145,2 (C-2), 142,3 (C-5), 130,9 (C-9) e 132,3 (C-12).

Para atribuir os sinais dos carbonos hidrogenados da molécula de **10**, foi realizada a análise do mapa de contorno HSQC (**Figura 53**).

Figura 53: Mapa de contorno HSQC para a amida **46**.

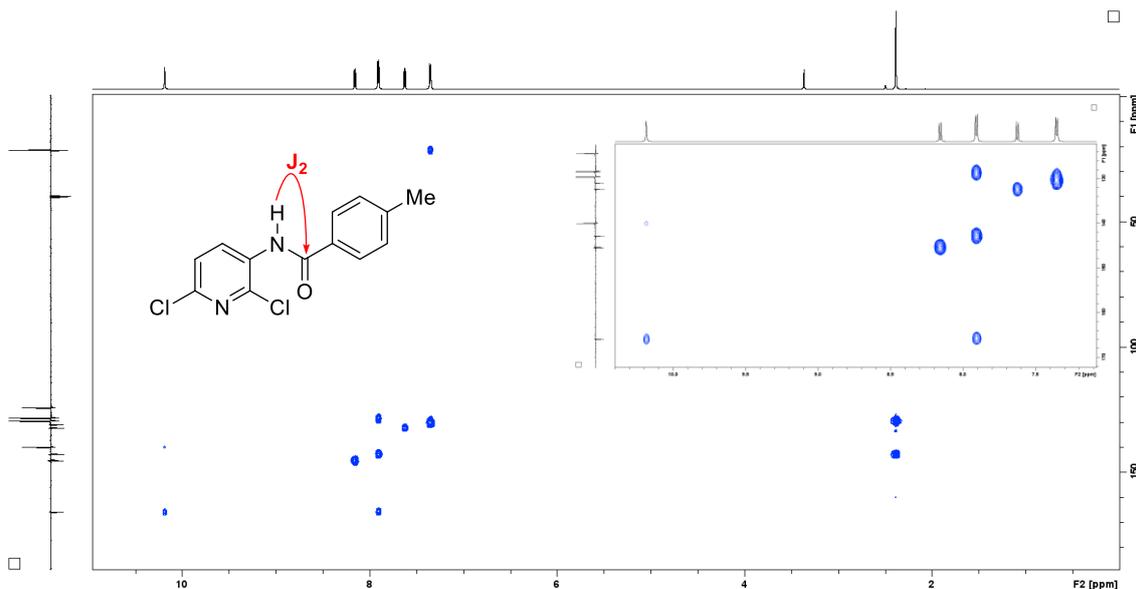


Todas as atribuições realizadas para **46** estão dispostas na **Tabela 6**.

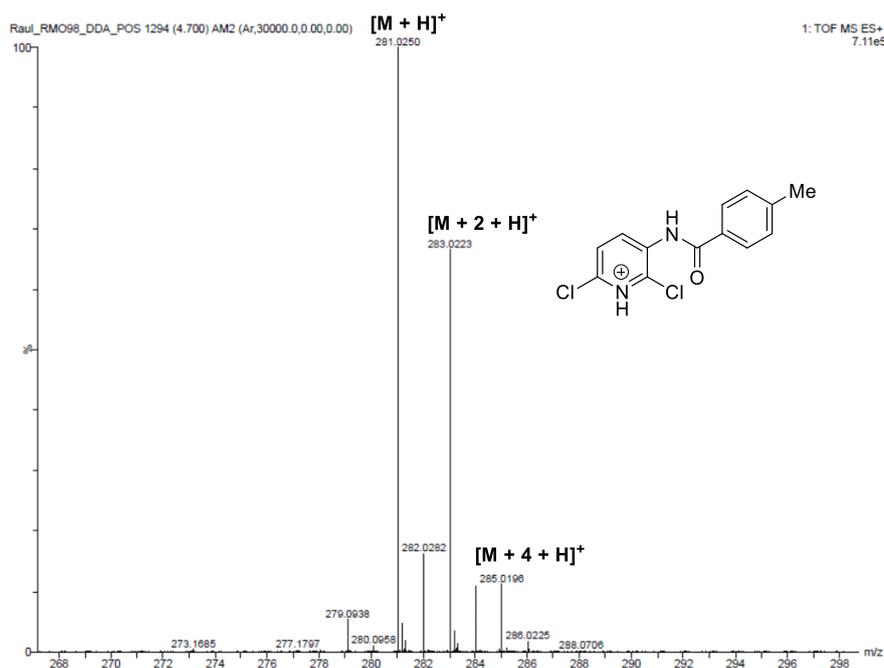
Tabela 6: Dados de RMN de **46** (600MHz, DMSO).

Posição	δ_H , multiplicidade, J (Hz)	δ_C
1	—	—
2	—	145,29
3	7,64, d, 8,3	124,47
4	8,17, d, 8,3	140,00
5	—	142,37
6	—	145,41
7	10,18, s	—
8	—	165,90
9	—	130,90
10	7,90, d, 8,3	128,31
11	7,36, d, 8,0	129,61
12	—	132,37
13	7,36, d, 8,0	129,61
14	7,90, d, 8,3	128,31
15	2,38, s	21,59

A fim de certificar que as atribuições foram realizadas corretamente foram avaliadas as correlações no mapa de contorno HMBC. A análise desse mapa permitiu verificar a síntese da amida em vista dos acoplamentos entre o hidrogênio amídico e o carbono carbonílico (**Figura 54**).

Figura 54: Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de **46**.

Quando submetido à análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$ de **46**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à nove. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 281,0250, em vista da abundância do cloro outros dois sinais são vistos, $[\text{M} + 2 + \text{H}]^+$ em 283,0223 e $[\text{M} + 4 + \text{H}]^+$ em 285,0196 sendo o valor calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$ m/z 281,0243, denotando um erro de 2,4 ppm (**Figura 55**).

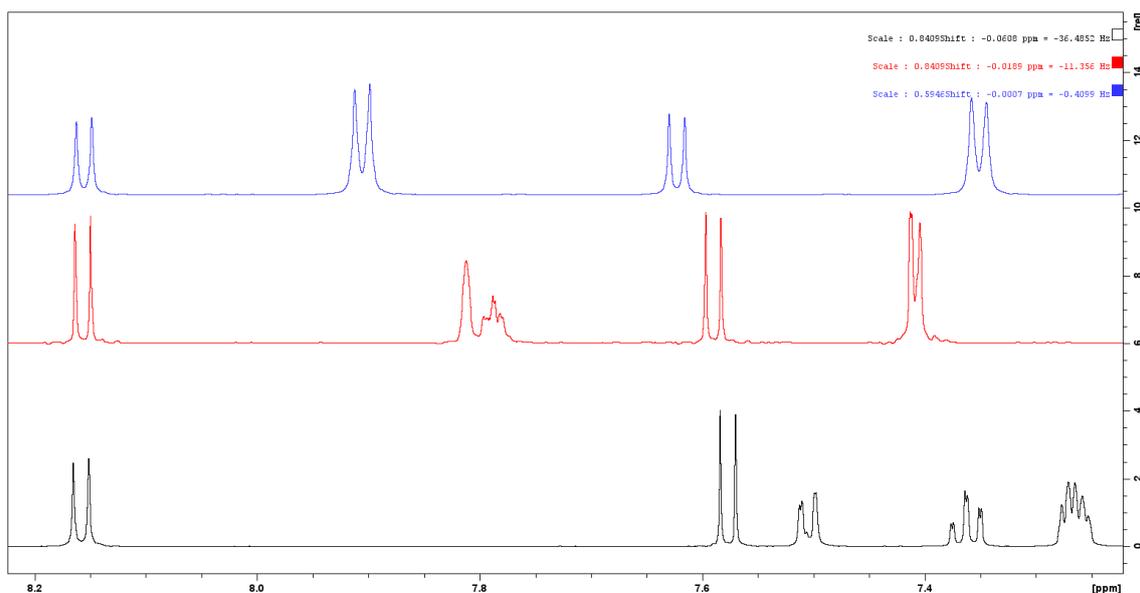
Figura 55: EM-IES-(+) alta resolução do composto **46**.

Dessa forma, pela discussão da amida **25** é possível atribuir os deslocamentos para as demais amidas desse bloco substituídas em *para* (**43**, **49** e **52**) (Anexo – **Espectros 112-121**)

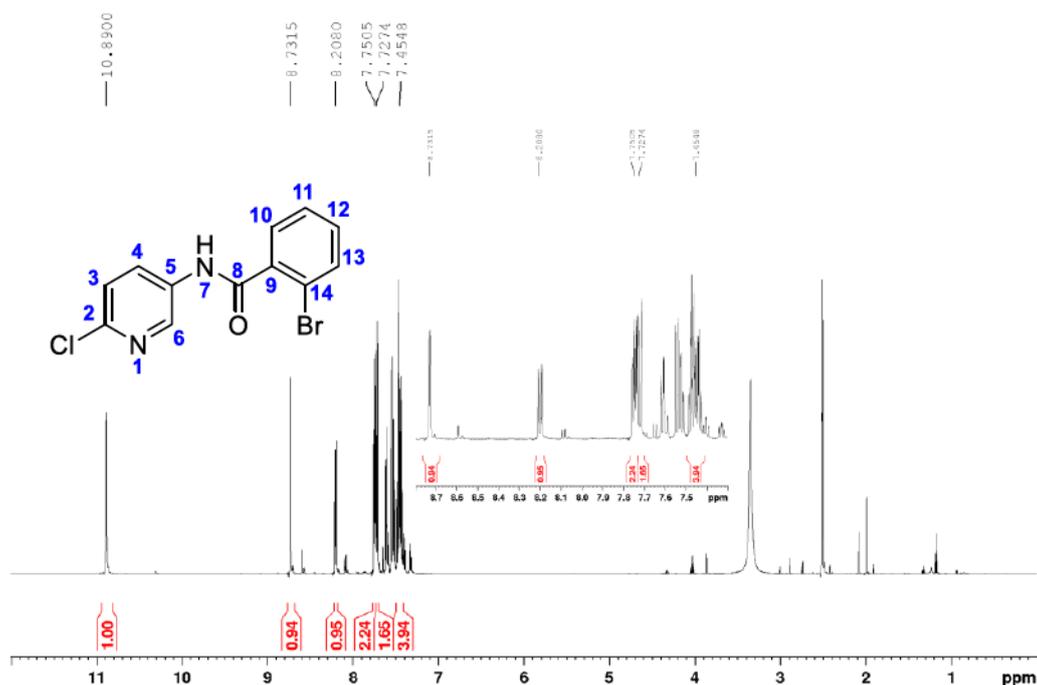
A amida **47** foi obtida com 57,3% de rendimento e amida **48** com 49,8% de rendimento, ambas como sólidos brancos e. Os espectros (IV e RMN) são muito semelhantes aos discutidos para a amida **46**, já que a única alteração foi no padrão de substituição do anel benzênico (de *para* em **46** para *meta* em **47** e *orto* em **48**). Dessa forma, os espectros dos análogos podem ser vistos em anexo (**Espectros 124-143**)

A principal diferença espectroscópica entre **40**, **41** e **42** pode ser observada no espectro de RMN de ^1H na região dos aromáticos, devido aos diferentes padrões de substituição (**Figura 56**).

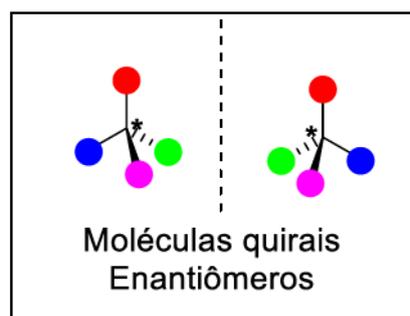
Figura 56: Espectros de hidrogênio de **40** (azul), **41** (vermelho) e **42** (preto) na região dos aromáticos sobrepostos.



A partir da caracterização das amidas escolhidas dentro de cada grupo e a aplicação destas discussões para as correlatas, percebe-se que as amidas aromáticas de interesse foram sintetizadas e obtidas conforme esperado. No entanto, ao se atentar a alguns espectros, algumas questões podem ser levantadas em relação a interferentes e/ou misturas presentes nas amostras discutidas. Esse ponto pode ser evidenciado ao analisar o espectro de hidrogênio de **27** (**Figura 57**), no entanto, existe uma explicação plausível para tais alterações espectrais, o atropoisomerismo não biarílico.

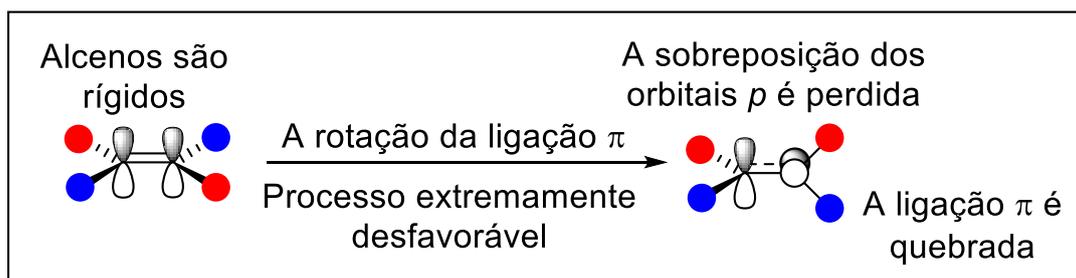
Figura 57: Espectro de RMN de ^1H de **27** (600MHz, DMSO).

A característica quiral de uma molécula é a existência de um elemento de assimetria, mais comumente associado com a presença de carbonos assimétricos, que são aqueles carbonos hibridizados em sp^3 conectados a quatro grupos diferentes (CHABBRA, 2019; GAL, 2017) (**Figura 58**).

Figura 58: Modelo de moléculas quirais.

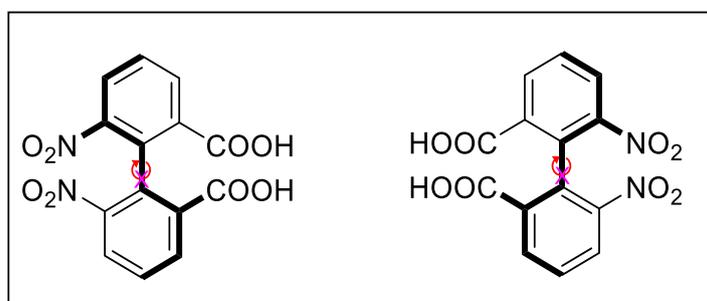
Adaptado de: Solomons; Craig, 2012.

Além da estereoisomeria relacionada ao carbono assimétrico, compostos olefinicos também merecem destaque, já que as ligações duplas aparecem como um eixo de assimetria axial dada a restrição no giro dessas moléculas pelo arranjo orbitalar de carbonos sp^2 (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012) (**Figura 59**).

Figura 59: Demonstração da rigidez de ligações duplas.

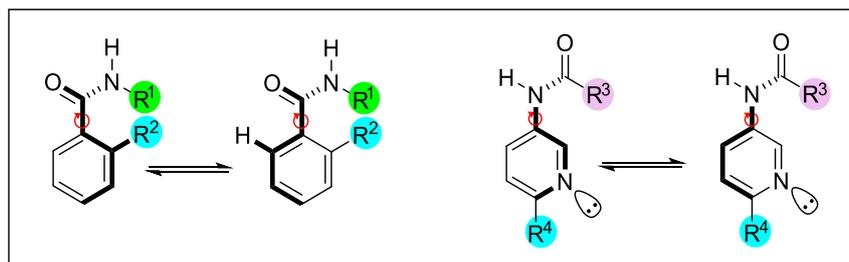
Fonte: Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012.

De forma semelhante, ligações simples podem surgir como eixo de assimetria axial em situações específicas em que a livre rotação desse tipo de ligação é prejudicada por alguma característica estrutural como a repulsão entre os grupos, denominado atropoisomerismo, esta isomeria espacial se tornou de grande interesse no processo sintético dada a capacidade de promover sínteses estereosseletivas (NOYORI, 1990). Esse tipo de isomeria ocorre com sistemas biarílicos dotados de substituintes nas posições *orto*, de forma que os sistemas se arranjam a fim de manter a menor repulsão possível (CLAYDEN, 2004) (**Figura 60**).

Figura 60: Atropoisomerismo de sistemas biarílicos.

Fonte: CHRISTIE; KENNER, 1922.

Embora mais comum a sistemas biarílicos, esse tipo de isomeria ocorre em sistemas não biarílicos como amidas, estirenos, anilidas, imidas, ureias e sulfonas, tomando como exemplo as amidas, verifica-se que a relação atropoisomérica para essas moléculas se dá pela alta barreira torcional gerada pela repulsão dos grupos fenílicos ou piridínicos presentes nas amidas aromáticas englobadas no presente trabalho (BAI, et al., 2015; YAO, et al., 2020) (**Figura 61**).

Figura 61: Atropoisômeros de benzamidas piridínicas.

Fonte: YAO, et al., 2020.

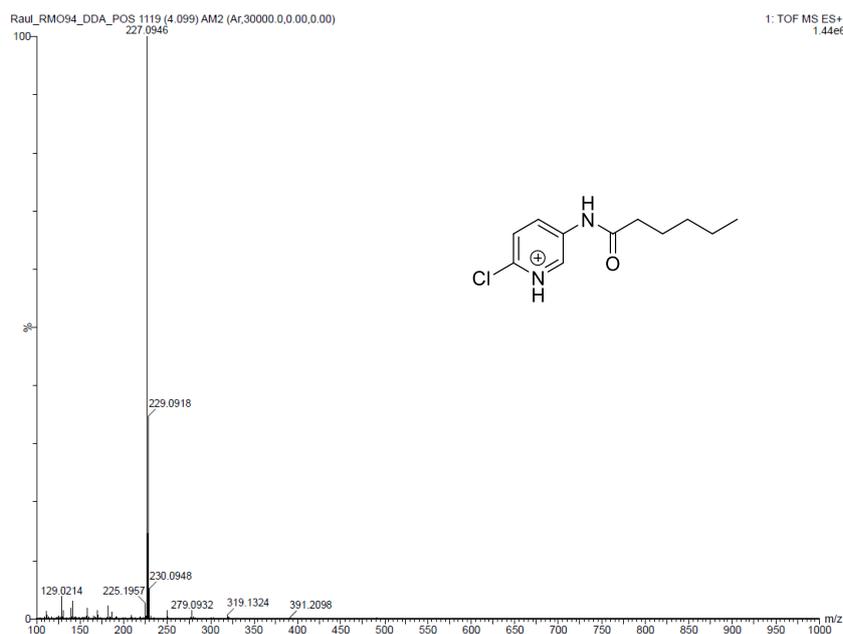
A barreira torcional gerada pela rotação da ligação C-Ar ou N-Pyr é grande o suficiente para ser identificada por técnicas espectroscópicas como RMN, mas baixa o suficiente para que esses compostos consigam se interconverter com alguma celeridade, dificultando sua separação e análise de forma isolada (LAPLANTE et al., 2011). Além da torção existente entre os átomos descritos e os anéis aromáticos há ainda a rotação em torno da ligação sigma entre o nitrogênio amídico e o carbono carbonílico (YAO, et al., 2020).

Dessa forma é possível neste momento inferir que os sinais sobressalentes vistos no RMN podem estar relacionados aos diferentes atropoisômeros não-biarílicos formados para as amidas presentes neste trabalho os quais parecem ocorrer em menor quantidade, e em tempo reduzido dada a resolução dos sinais.

A fim de verificar se esse processo realmente era o causador do aumento na quantidade de sinais, as moléculas do sexto grupo, o qual era composto de amidas alifáticas, aparece como um trunfo para proceder esta análise dada a maior simplicidade estrutural destas moléculas. Nesse sentido, foram analisadas duas amidas alifáticas para verificar o atropoisomerismo dessas moléculas.

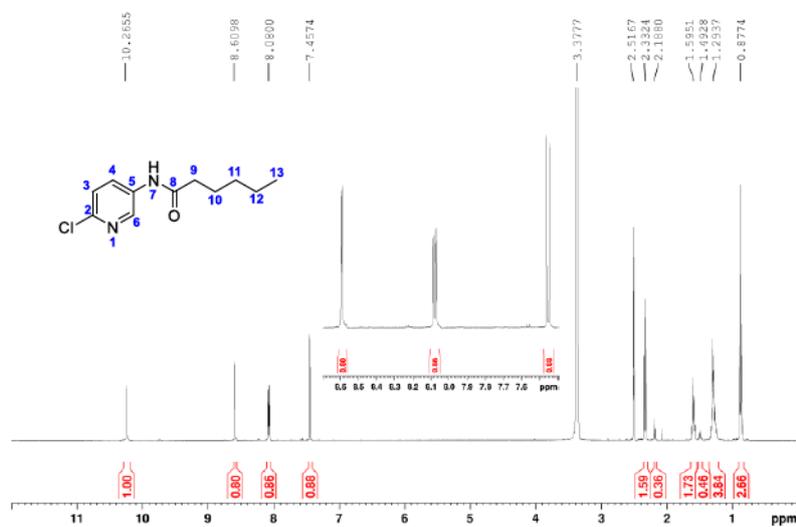
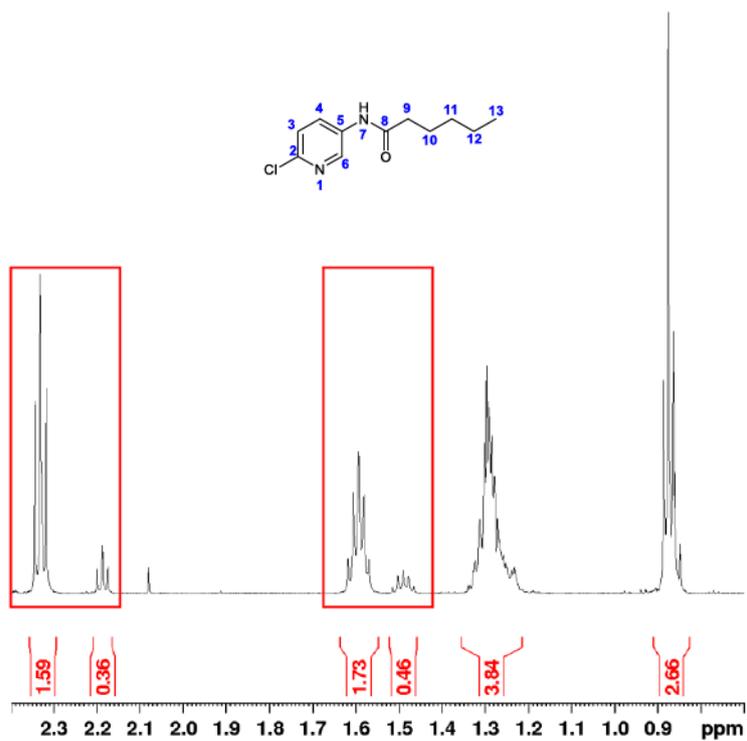
Seguindo esta direção, a amida **63** foi selecionada para análises de RMN a fim de verificar a existência de sinais duplicados, o qual apareceria como um indicativo da isomeria axial não-biarílica desses compostos. Para esse fim, a amida alifática **63** que foi sintetizada e confirmada pela espectrometria de massas de alta resolução, foi submetida a experimentos de ressonância para confirmar essa relação atropoisomérica.

Com a análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $C_{11}H_{15}ClN_2O$ de **63**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à quatro. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 227,0946, sendo o valor calculado para $C_{13}H_{10}Cl_2N_2O$, 227,0873 (**Figura 62**).

Figura 62: EM-IES-(+) alta resolução do composto **63**.

Pela confirmação das massas das amidas alifáticas **63**, o próximo passo consistiu em analisar os espectros de hidrogênios desta amida aplicando experimentos como o TOCSY-1D, o qual verifica uma transferência da magnetização de um spin para o seu vizinho, depois para o seguinte e assim sucessivamente, dependendo do tempo de experimento. A partir deste experimento, foi possível verificar as correlações dos hidrogênios em sistemas de spin isolados, ou seja, em atropoisômeros diferentes neste caso especificamente.

A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 63**) apresentou sinais característicos para o hidrogênio da amida secundária **63** em 10,26 ppm (1H, s, H-7), além desses sinais é possível observar dois sinais relativos aos hidrogênios piridínicos em δ 8,60 (1H, *d*, *J* 8,7 Hz H-6), 8,08 (1H, *dd*, *J* 2,8 Hz; *J* 8,7 Hz; H-4) e 7,45 (1H, *d*, *J* 2,7 Hz; H-3), além do hidrogênio amídico e dos hidrogênios piridínicos, são observados sinais relativos aos hidrogênios da cadeia alifática 2,33 (2H, *t*, *J* 7,5 Hz; H-9), 1,59 (2H, *qu*, *J* 7,3 Hz; H-10), 1,29 (4H, *m*, H-11 e H-12) e 0,87 (3H, *t*, *J* 7,0 Hz; H-13) conforme expansão (**Figura 64**).

Figura 63: Espectro de RMN de ^1H de **63** (600MHz, DMSO).**Figura 64:** Expansão do espectro de RMN de ^1H de **63** (600MHz, DMSO).

nesse sentido é de grande importância aparece no presente trabalho como um achado de grande valor. Evidentemente, há a necessidade de explorar outras técnicas mais eficazes a fim de estabelecer essa relação através de técnicas de cristalografia ou mesmo por correlações em experimentos de ressonância como NOESY.

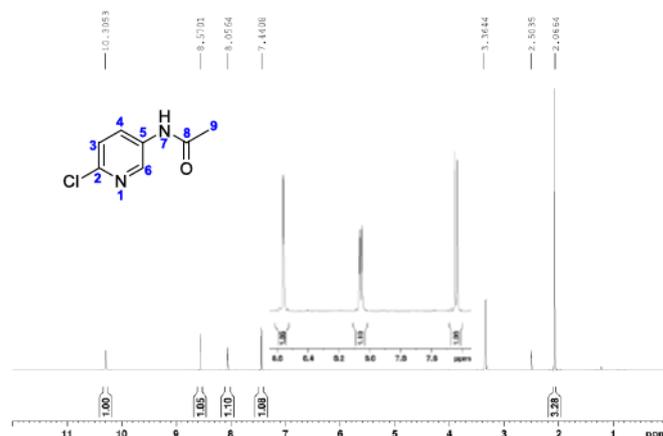
3.4. AVALIAÇÃO DA FLEXIBILIDADE DAS AMIDAS

Ao verificar as amidas sintetizadas e discutidas até o presente momento (pertencentes aos blocos **1-5**), é possível verificar que são amidas com uma grande rigidez estrutural em suas moléculas vista a abundância de carbonos sp^2 . Os anéis aromáticos presentes em suas estruturas podem exercer um papel fundamental no reconhecimento e ancoramento dessas moléculas no sítio ativo em que elas atuam, no entanto, é de extrema relevância verificar se o aumento da flexibilidade pode interferir em algum aspecto farmacológico destas entidades químicas.

Nesse sentido, para avaliar a interferência que uma cadeia mais flexível teria na atividade antiparasitária destas amidas piridínicas, foram sintetizadas amidas através da reação entre os núcleos piridínicos (**83**, **84**, **87**, e **88**) com cloretos de ácidos dotados de uma cadeia lateral alifática (Bloco **7**, amidas **55-74**). Além dos resultados de relação estrutura e atividade que estas moléculas ofereceram, elas ainda forneceram importantes informações, mesmo que preliminares, sobre o comportamento atropoisomérico das amidas.

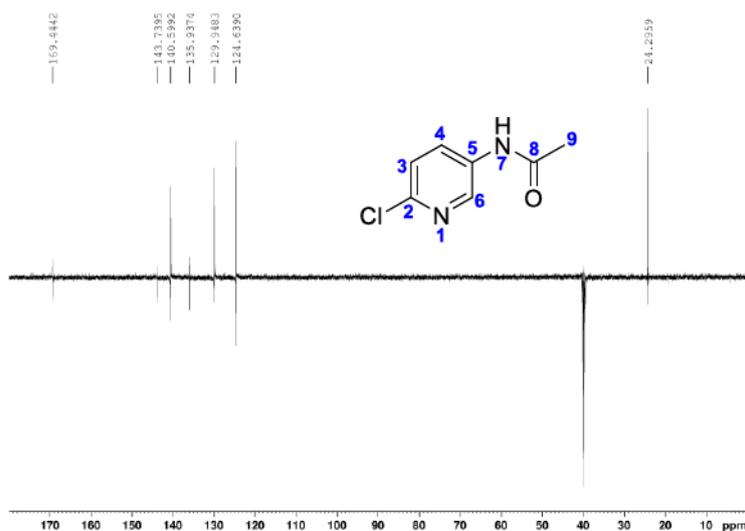
A obtenção destes compostos foi verificada através do emprego de técnicas espectroscópicas como infravermelho, RMN e espectrometria de massas de alta resolução. Visando o enriquecimento da discussão, serão discutidas duas dessas amidas de forma a aplicar as discussões demonstradas para as demais, para esse fim foram selecionadas as amidas **60** e **62**.

A amida **60** foi obtida com 85,1% de rendimento como um sólido roxo, seu espectro de RMN de 1H (**Figura 66**) apresentou sinais característicos e indicativos para o produto **25**.

Figura 66: Espectro de RMN de ^1H de **60** (600MHz, DMSO).

A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 66**) apresentou sinais característicos para o hidrogênio da amida secundária **60** em 10,30 ppm (1H, s, H-7) e para o hidrogênio da metila em 2,06 ppm (3H, s, H-9), além desses sinais é possível observar dois sinais relativos aos hidrogênios piridínicos em δ 8,57 (1H, *d*, J 8,6 Hz H-6), 8,05 (1H, *dd*, J 2,76 Hz; J 8,64 Hz, H-4) e 7,44 (1H, *d*, J 8,6 Hz H-3).

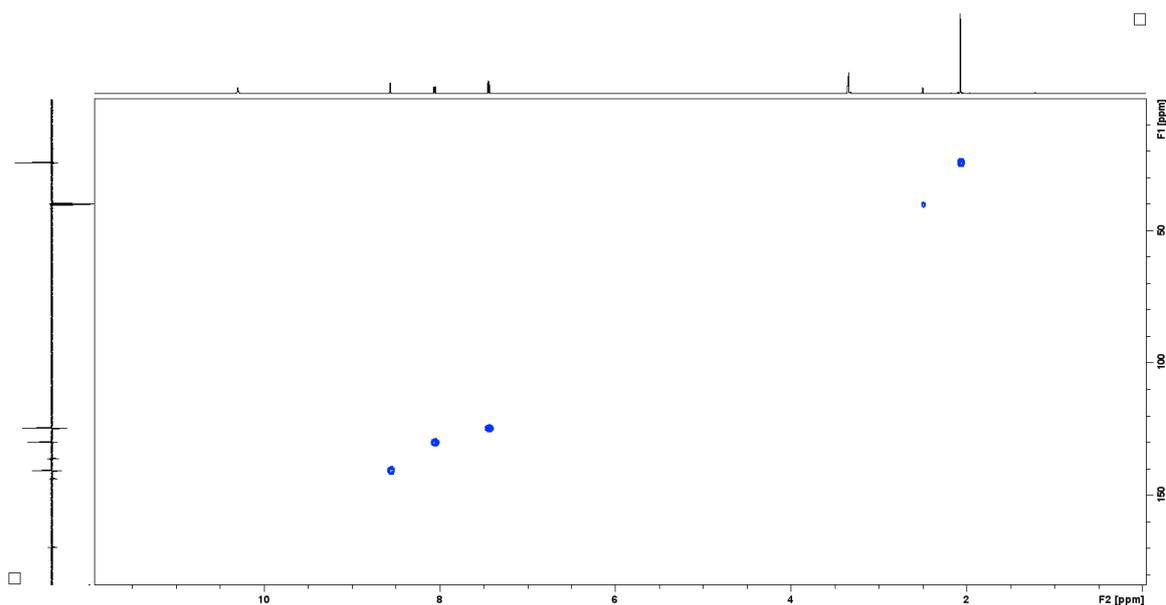
O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 67**) apresentou onze sinais de carbono, conforme esperado dada a simetria existente entre os carbonos do anel benzênico.

Figura 67: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **60**.

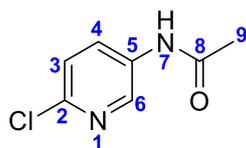
Dentre os sinais de carbono, existem dois de fácil identificação pelo espectro acima apresentado, sendo eles o carbono carbonílico δ 169,44 (C-8) e o carbono da metila δ 24,29 (C-9), os sinais de carbonos não hidrogenados presentes nos anéis aromáticos puderam ser distinguidos em função das diferentes regiões químicas ocupadas. Em relação às diferentes blindagens desses carbonos frente os efeitos dos substituintes, a atribuição foi realizada de forma que os sinais desses carbonos não hidrogenados são vistos em δ 143,73 (C-2) e 135,93 (C-5)

Para atribuir os sinais dos carbonos hidrogenados da molécula de **60**, foi realizada a análise do mapa de contorno HSQC (**Figura 68**).

Figura 68: Mapa de contorno HSQC para a amida **60**.

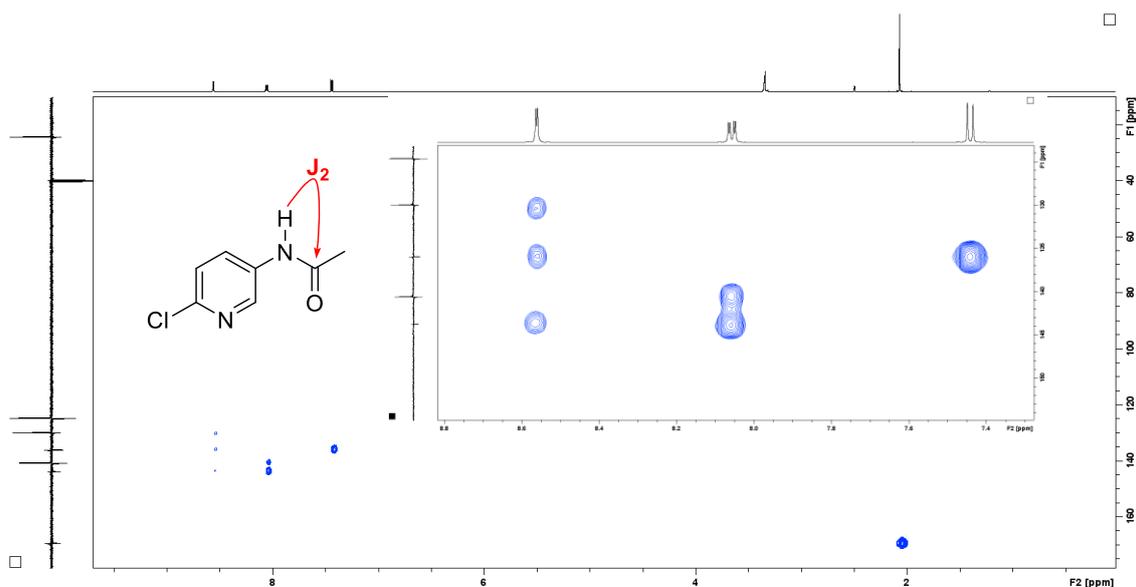


Todas a atribuições realizadas para **60** estão dispostas na **Tabela 7**.

Tabela 7: Dados de RMN de **60** (600MHz, DMSO).

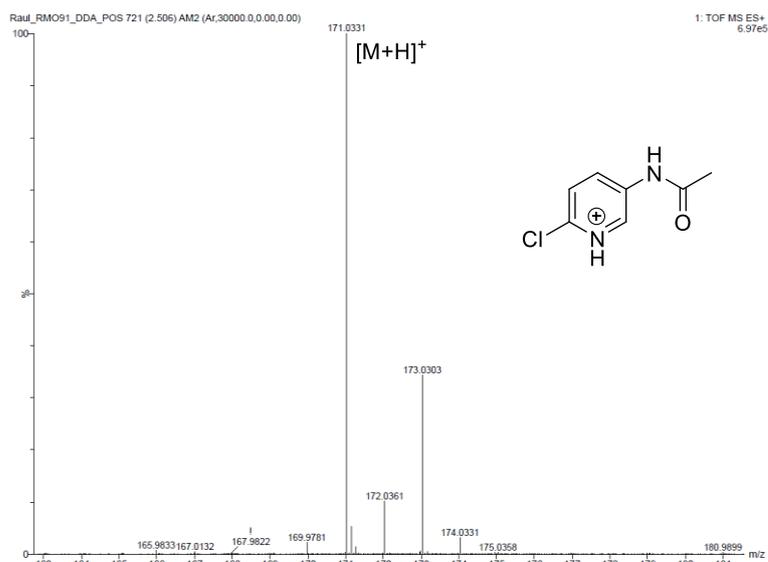
Posição	δ_{H} , multiplicidade, J (Hz)	δ_{C}
1	—	—
2	—	143,73
3	7,44, d, 8,6	124,63
4	8,05, dd, 2,7; 8,6	129,94
5	—	135,93
6	8,57, d, 8,6	140,59
7	10,30, s	—
8	—	169,41
9	2,06, s	22,49

A fim de certificar que as atribuições foram realizadas corretamente foram avaliadas as correlações no mapa de contorno HMBC. A análise desse mapa permitiu verificar a síntese da amida em vista dos acoplamentos entre o hidrogênio amídico e o carbono carbonílico (**Figura 69**).

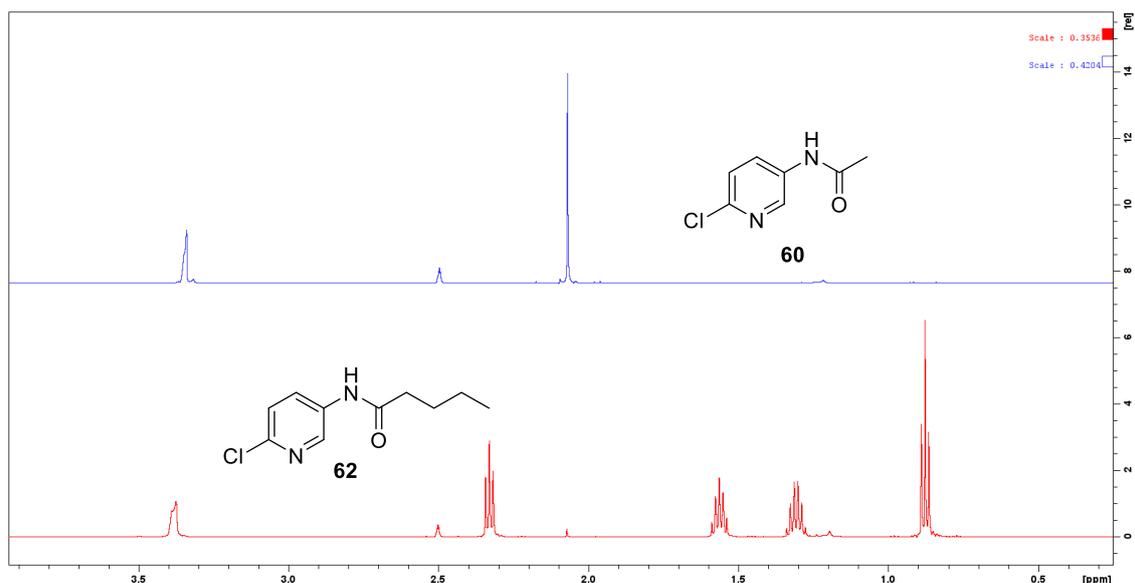
Figura 69: Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de **60**.

Quando submetido à análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $C_7H_7ClN_2O$ de **60**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à cinco. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 171,0331, sendo o valor calculado para $C_7H_7ClN_2O$ m/z 171,0320, denotando um erro de 6,4 ppm (**Figura 70**).

Figura 70: EM-IES-(+) alta resolução do composto **60**.



A análise desta molécula mostrou alta similaridade com os demais produtos alifáticos obtidos, as variações encontradas se fundamentaram na alteração do padrão de substituição dos núcleos piridínicos e na região dos carbonos alifáticos. Como já foram discutidos os padrões de substituição dos substratos piridínicos para as amidas contidas entre o primeiro e sexto bloco, neste momento é interessante salientar as diferenças para a região dos alifáticos, o que pode ser evidenciado pela sobreposição dos espectros de hidrogênio de **60** e **62** (**Figura 71**).

Figura 71: Espectros de hidrogênio de **60** e **62** na região dos aromáticos sobrepostos.

A partir das discussões feitas para as amidas acima, é possível notar o caminho percorrido a fim de definir cada atribuição para estas amidas alifáticas, nesse sentido, as demais amidas pertencentes ao sétimo bloco foram obtidas e analisadas seguindo o mesmo padrão apresentado para sua caracterização (**Espectros 144-211**).

Neste momento, com a confirmação das estruturas via técnicas espectroscópicas e a possibilidade, mesmo que preliminar, de misturas atropoisoméricas, era o momento de verificar a potencial atividade antiparasitária desempenhada por esses compostos. Nesse sentido, de forma inicial dos seis blocos dispostos no presente trabalho, foram selecionadas as amidas piridínicas substituídas com derivados de cloreto de benzoíla substituídos em *para* bem como as amidas alifáticas, para que fossem submetidos aos ensaios de viabilidade celular e posteriormente atividade antiparasitária.

3.5. OS DERIVADOS AMÍDICOS FUNDAMENTADOS NA ESTRATÉGIA DE HIBRIDAÇÃO MOLECULAR

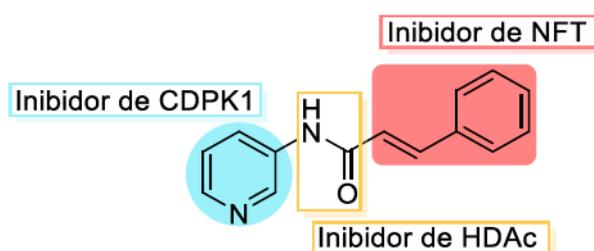
Além das moléculas rígidas e flexíveis discutidas entre o primeiro e o sexto bloco, este trabalho teve como alvo a síntese de moléculas que atuassem em diferentes sítios ativos, inibindo por múltiplos alvos a ação do parasita, em sua ação invasiva ou proliferativa. Essa estratégia de hibridação molecular promove a síntese de moléculas denominadas multitarget, ou seja, moléculas que podem atuar em diferentes alvos de

forma concomitante (BARREIRO; FRAGA, 2015; MORPHY; RANKOVIC, 2005; PEDROSA, et al., 2016).

Baseado na importância e relevância dos núcleos piridínicos e cinamoílicos, eles foram unidos através de uma ligação amídica. Diversas pesquisas avaliaram a potência destes núcleos, de forma isolada, contra os parasitas do filo Apicomplexa, se mostrando fundamentais na inibição de diferentes enzimas importantes na sobrevivência destes parasitas (ERLER et al., 2018; GURBOGA et al., 2021; MOLINA et al., 2021; NERLICH et al., 2021 OJO et al., 2014, ZENG et al., 2021).

Com a relevância que estes três núcleos demonstram de forma isolada, e com base na estratégia de hibridação molecular do tipo multitarget, foram desenvolvidas as moléculas dispostas no sétimo grupo (75-82) o qual conjuga os núcleos piridínicos, inibidor da quinase dependente de cálcio presente em *N. caninum* a qual está relacionada aos processos de invasão do parasita, juntamente com o núcleo cinamoílico que inibe a enzima transportadora de nitrato e formiato, a qual é fundamental na manutenção do equilíbrio osmótico daquele parasita (ERLER et al., 2018; MOLINA et al., 2021; NERLICH et al., 2021 OJO et al., 2014, ZENG et al., 2021). A ligação amídica que une estes núcleos, mimetiza benzamidas, que foram verificadas como inibidoras da histona desacetilase, enzima que atua em processos de multiplicação desses microrganismos (GURBOGA et al., 2021) (Figura 72).

Figura 72: Perfil geral das moléculas baseadas na hibridação molecular.

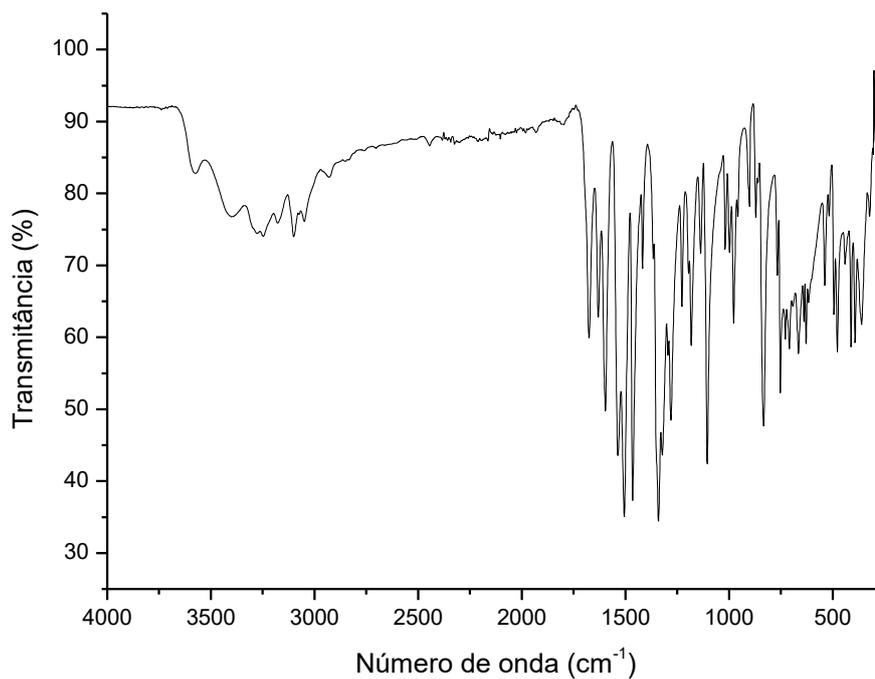


Fonte: O autor.

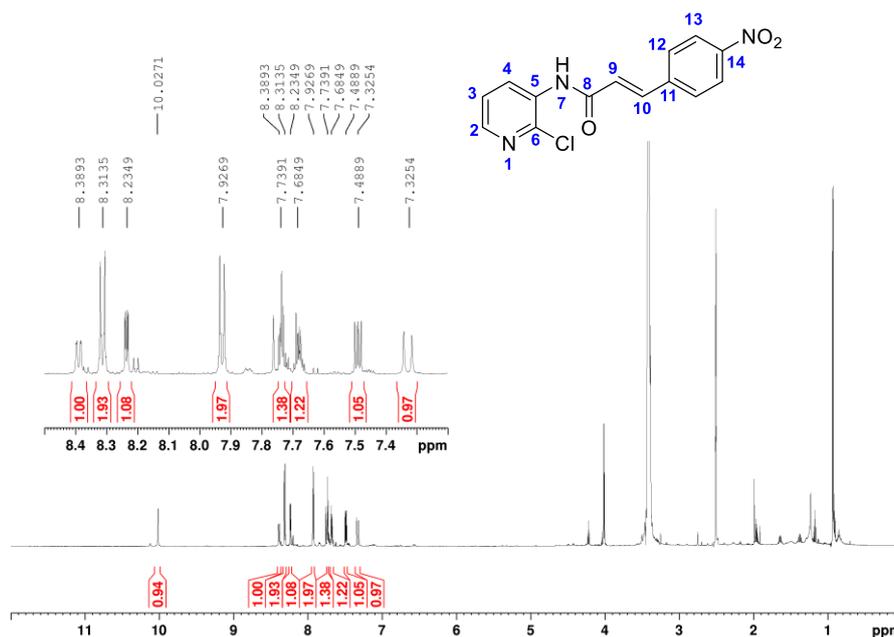
A síntese dessas amidas baseadas na hibridação molecular pôde ser verificada através de técnicas espectroscópicas, as quais serão discutidas para as moléculas 75 e 76, e serão utilizadas como base para as atribuições das demais amidas dispostas neste bloco.

As análises dos espectros de infravermelho são muito semelhantes àquela discutida para a amida **5**. Assim, a amida **75** foi obtida com 76,9% de rendimento como um sólido amarelo, conforme evidenciado pelas bandas observadas no IR: 3278, 1519, 1457, 1212 cm^{-1} (**Figura 73**).

Figura 73: Espectro na região do infravermelho da amida **75**.



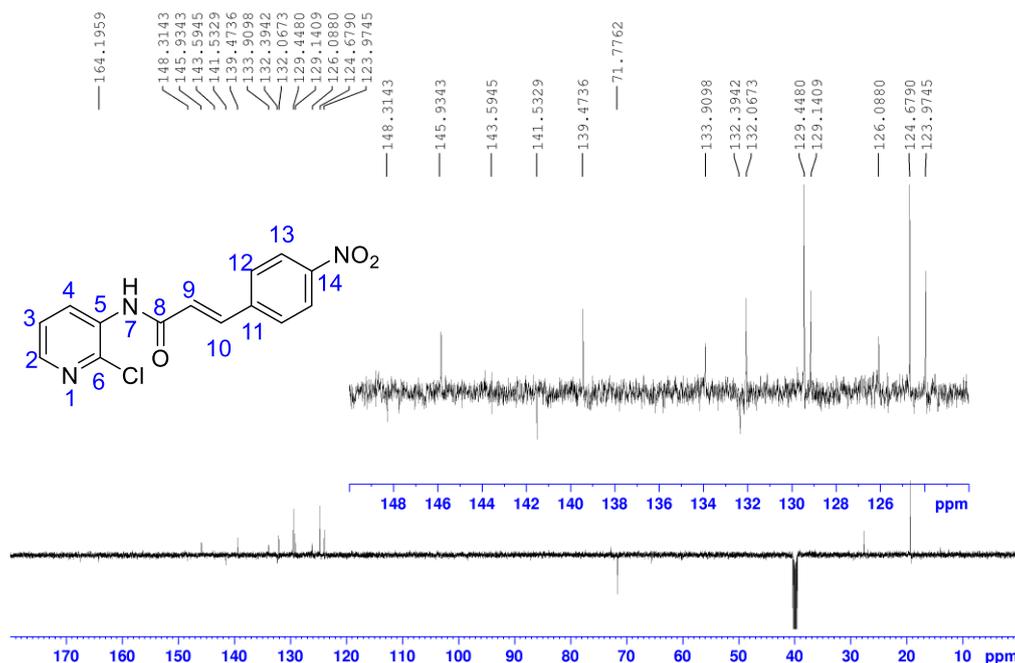
O espectro de RMN de ^1H (**Figura 74**) apresentou sinais característicos e indicativos para o produto **10**.

Figura 74: Espectro de RMN de ^1H de **75** (600MHz, DMSO).

A análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 74**) apresentou sinais característicos para o hidrogênio da amida secundária **77** em 10,02 ppm (1H, H-7) além desse sinal é possível observar três sinais relativos aos hidrogênios piridínicos em δ 8,38 (1H, *dd*, J 1,44 Hz; 8,28, Hz H-2), 8,23 (1H, *dd*, J 1,74 Hz; 8,88 Hz H-4) e 7,48 (1H, *dd*, J 4,9 Hz; 12,7 Hz, H-3).

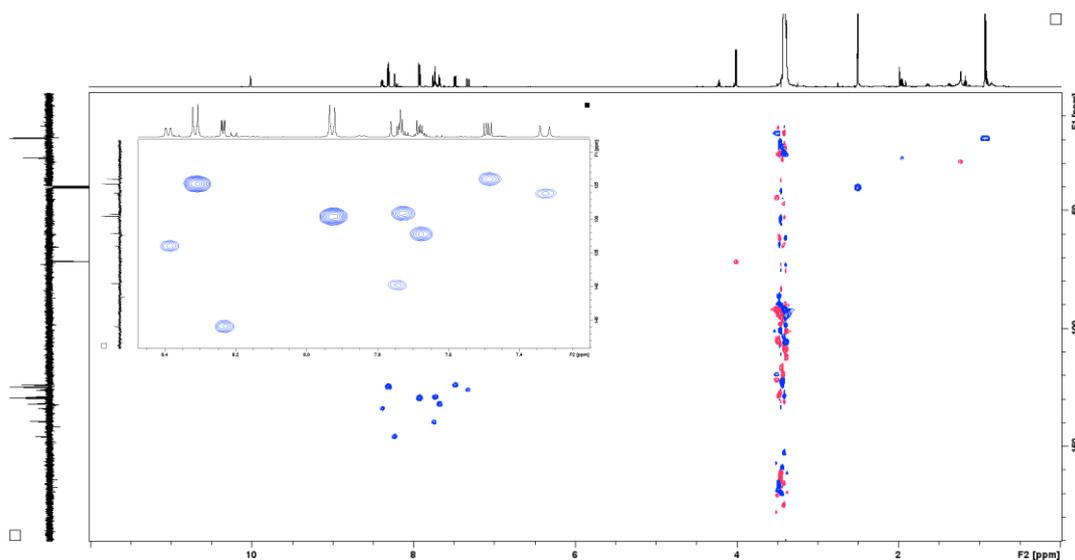
O espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq (**Figura 75**) apresentou onze sinais de carbono, conforme esperado dada a simetria existente entre os carbonos do anel benzênico.

Figura 75: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **75**.

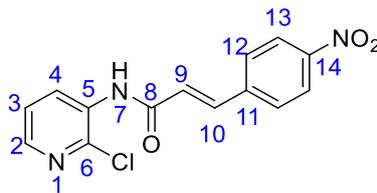


Dentre os sinais de carbono, existem dois de fácil identificação pelo espectro acima apresentado, sendo eles o carbono carbonílico δ 164,19 (C-8), os sinais de carbonos não hidrogenados presentes nos anéis aromáticos puderam ser distinguidos em função das diferentes regiões químicas ocupadas. Em relação às diferentes blindagens desses carbonos frente os efeitos dos substituintes, a atribuição foi realizada de forma que os sinais desses carbonos não hidrogenados são vistos em δ 148,31 (C-6), 143,59 (C-14), 141,53 (C-11), 132,39 (C-5).

Para atribuir os sinais dos carbonos hidrogenados da molécula de **10**, foi realizada a análise do mapa de contorno HSQC (**Figura 76**).

Figura 76: Mapa de contorno HSQC para a amida **75**.

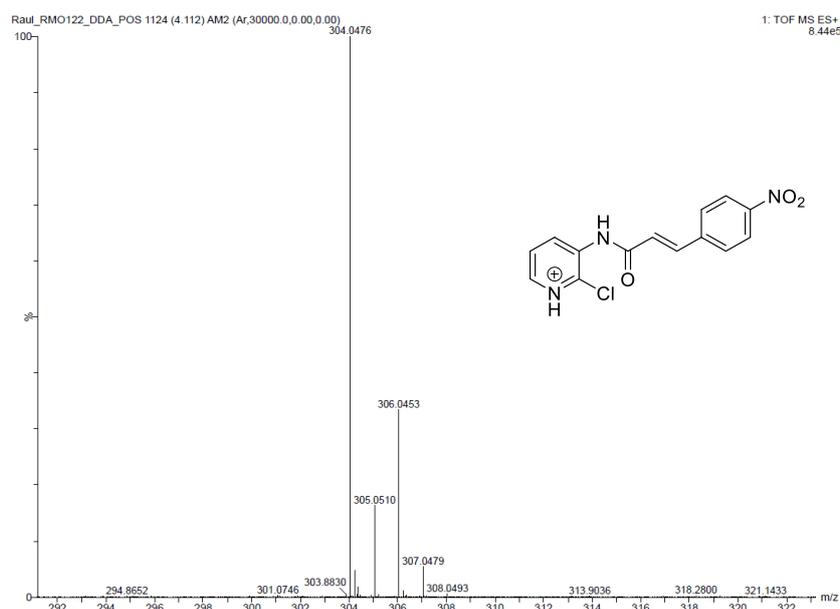
Todas as atribuições realizadas para **75** estão dispostas na **Tabela 8**.

Tabela 8: Dados de RMN de **75** (600MHz, DMSO).

Posição	δ_H , multiplicidade, J (Hz)	δ_C
1	—	—
2	8,38, dd, 1,4; 8,2	133,90
3	7,48, dd, 4,9, 12,7	123,97
4	8,23, dd, 1,74, 8,88	145,93
5	—	132,39
6	—	148,31
7	10,02, s	—
8	—	164,19
9	7,32, d, 15,9	126,08
10	7,73, m	139,47
11	—	141,53
12	7,92, d, 2,9	129,44
13	8,3, d, 2,9	124,67
14	—	143,59

Quando submetido à análise de EM-IES, modo positivo, foi possível confirmar a fórmula molecular $C_{14}H_{10}ClN_3O_3$ de **75**, com índice de deficiência de hidrogênio igual à dez. O sinal referente à molécula protonada foi observado em m/z 304,0476, sendo o valor calculado para $C_{10}H_{13}ClN_2O$ m/z 304,0483, denotando um erro de 2,3 ppm (**Figura 77**).

Figura 77: EM-IES-(+) alta resolução do composto **75**.



A partir da análise dos espectros de RMN foi possível verificar que a síntese destes compostos embasados na estratégia de hibridação molecular, gerou subprodutos. Apesar de gerar subprodutos, as análises mostraram que o produto de interesse foi obtido de forma que etapas de purificação via cromatografia deverão ser empregadas para o estudo destes compostos como potenciais antiparasitários.

A análise destes compostos mediante toda a discussão realizada desde a introdução seria fundamental para a verificação da ação *multitarget* das amidas fundamentadas na estratégia de hibridação molecular, no entanto, mediante o tempo e os desafios sintéticos que o acoplamento entre a amina e os derivados cinamoílicos apresentaram não houve tempo hábil para a purificação destes compostos para que fossem analisados como neosporicidas.

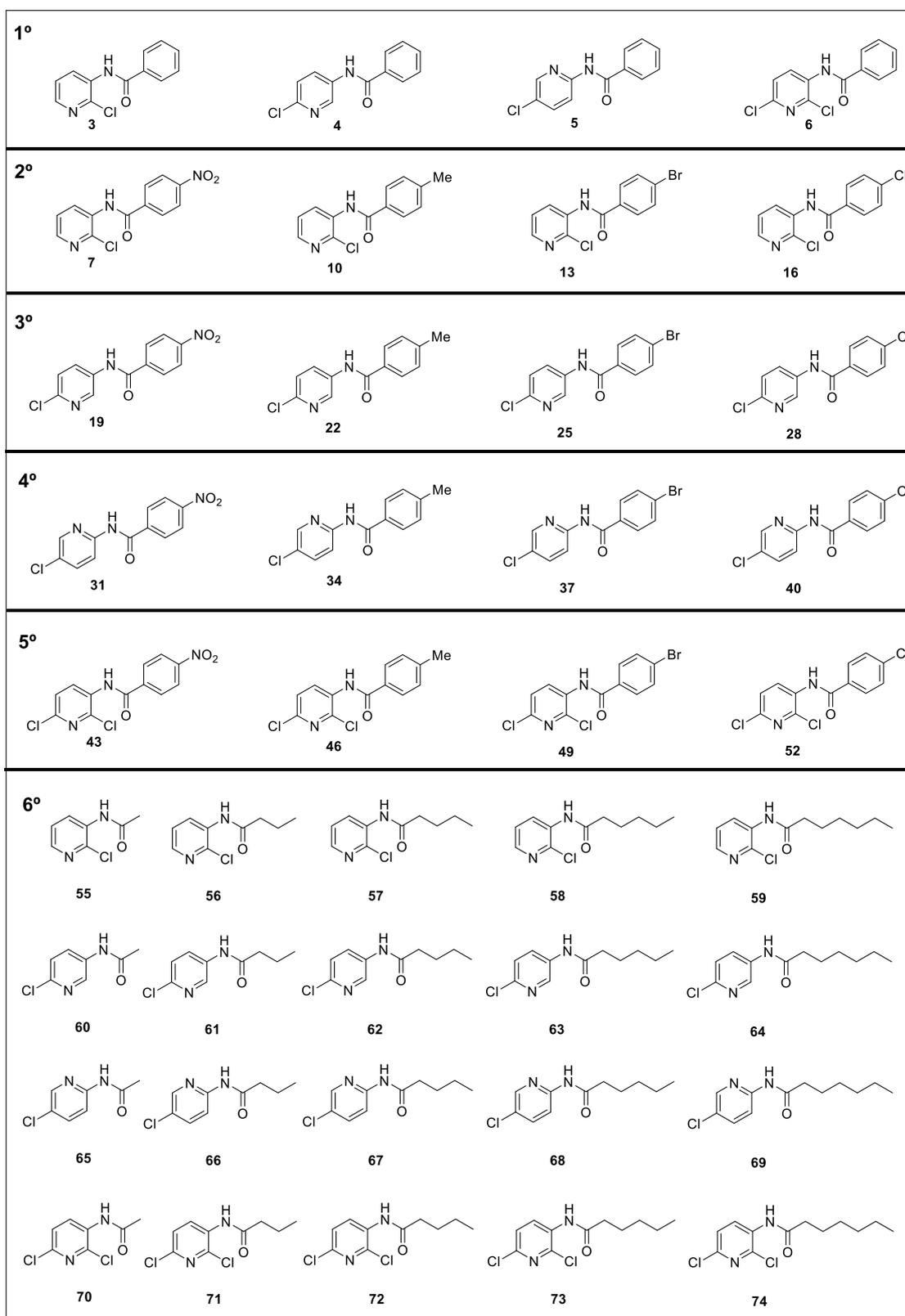
Apesar das dificuldades na obtenção dessas moléculas, havia ainda uma série de outras entidades químicas baseadas no isosterismo molecular que poderiam apresentar atividade antiparasitária contra *N. caninum*. Nesse sentido, dentre as moléculas compreendidas entre o primeiro e o sétimo grupo, aquelas em que o substituinte ocupa a posição *para* foram selecionadas para que fossem avaliadas em seu perfil inibitório da infecção por esse parasita.

3.6.ATIVIDADE BIOLÓGICA:

Com todos os prejuízos associados à infecção parasitaria desempenhada por *N. caninum*, é evidente a necessidade e urgência que o setor pecuário exige no desenvolvimento de opções terapêuticas para o tratamento dessa parasitose. Nesse sentido, o presente trabalho buscou desenvolver moléculas que fossem fundamentadas em estratégias em química medicinal para verificar o potencial antiparasitário delas.

A síntese dessas moléculas buscou estratégias como o isosterismo e a hibridação molecular, conforme já discutido ao longo do texto. As moléculas baseadas no isosterismo foram essenciais para a verificação do caráter neosporicida dessas entidades químicas, as quais foram inspiradas na nitazoxanida (**2**), estes compostos foram sintetizados e organizados em seis blocos dos quais foram selecionadas todas as amidas pertencentes ao primeiro e sexto bloco, bem como as amidas compreendidas entre o segundo e quinto bloco, cujo anel fenílico estivesse substituído em *para* as quais foram submetidas aos ensaios biológicos (**Figura 78**).

Figura 78: Estrutura dos compostos avaliados como antiparasitários.



Fonte: O autor

Com a seleção das moléculas a serem avaliadas como antiparasitárias, os ensaios de citotoxicidade foram realizados, já que *N. caninum* é um parasita intracelular obrigatório, tornando fundamental a realização do ensaio de viabilidade celular antes do ensaio contra o parasita, uma vez que a manutenção da célula frente ao combate contra o parasita é de total relevância.

Os resultados foram obtidos para as quarenta e duas moléculas (**Figura 78**), pelo controle que definimos como positivo de acordo com o trabalho realizado por Esposito e colaboradores em 2005, obtido comercialmente sob o nome Annita[®] (nitazoxanida, **2**) e por último o DMSO, a fim de verificar sua toxicidade contra as células em questão.

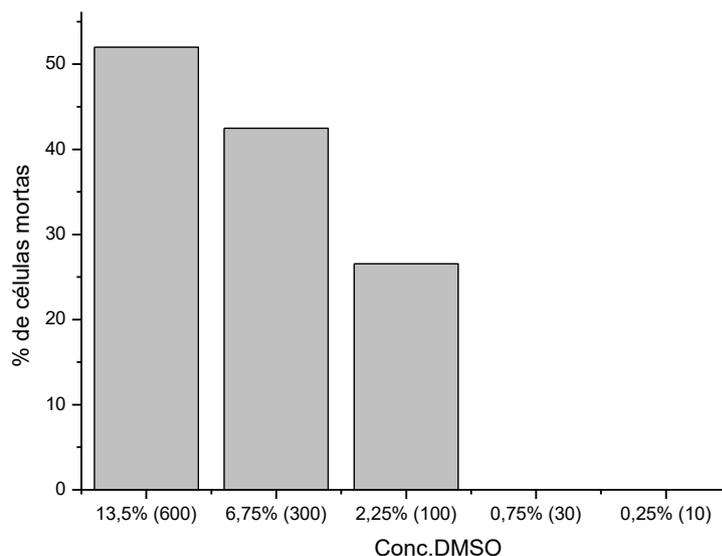
A análise do DMSO foi de suma importância, uma vez que foi o solvente utilizado para dissolução das amostras e era essencial avaliar seu comportamento em relação à manutenção das células nas diferentes concentrações utilizadas (**Tabela 9**).

Tabela 9: Porcentagem de DMSO nas diferentes concentrações de amostras.

Concentração das amostras (µg/mL)	DMSO (%)
600	13,5
300	6,75
100	2,25
30	0,75
10	0,25

Fonte: O autor.

Assim, foi necessário definir uma concentração segura para a utilização de DMSO como solvente para as quarenta e uma moléculas em questão. Dessa forma, foram realizados os testes *in vitro* com as células de fibroblastos NIH/3T3 na presença do DMSO nas diferentes concentrações acima descritas gerando os resultados colocados nos gráficos abaixo (**Figuras 79**).

Figura 79: Citotoxicidade do DMSO.

Fonte: O autor.

Ao observar o gráfico é possível verificar que as concentrações compreendidas entre 100 e 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de dimetilsulfóxido são interferentes relevantes na viabilidade celular, ou seja, os resultados obtidos sobre a viabilidade das células na presença das amidas avaliadas (**Figura 78**) sofreriam alguma distorção em função da toxicidade apresentada pelo solvente utilizado. Logo, a concentração de 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ foi escolhida, uma vez que nesta faixa a ação tóxica do DMSO contra as células foi nula. Os gráficos de citotoxicidade para as amidas avaliadas na concentração estabelecida conforme a discussão acima são mostrados abaixo divididas em blocos (**Figuras 80-84**).

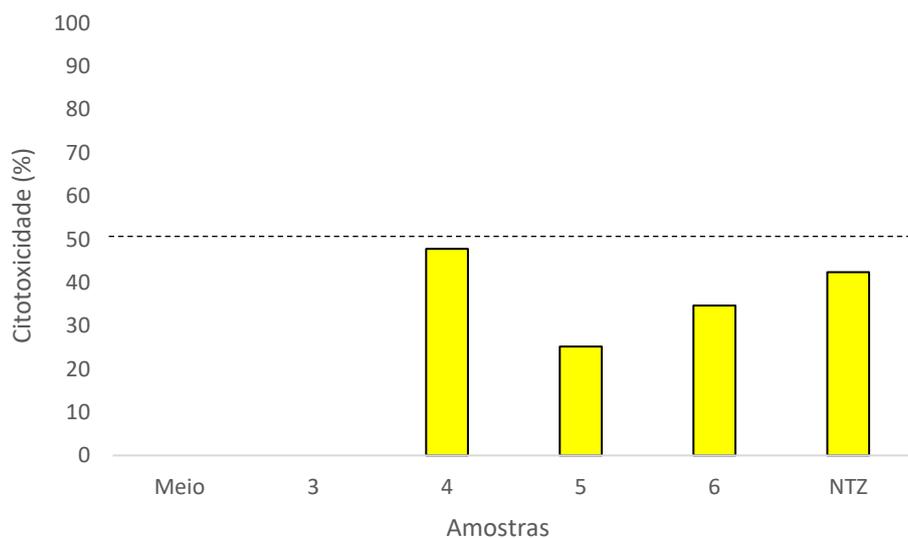
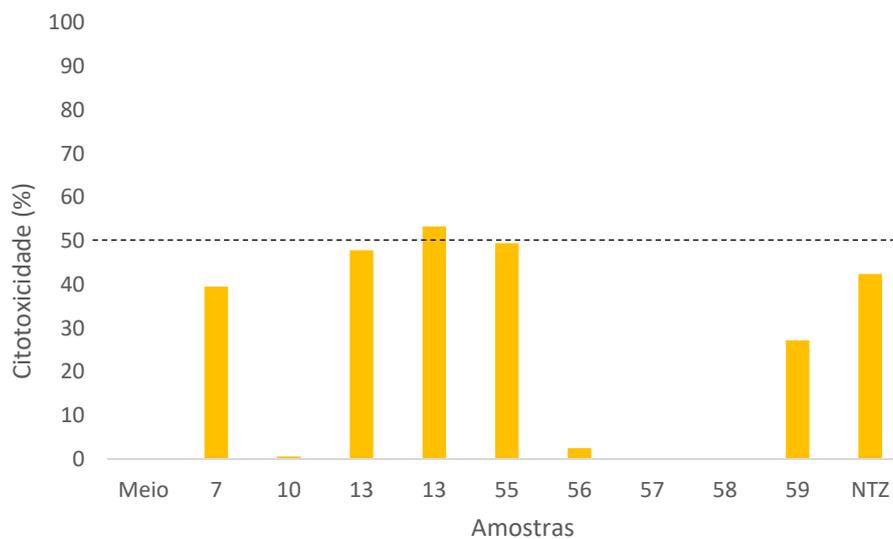
Figura 80: Citotoxicidade em 30 $\mu\text{g/mL}$ das amidas do primeiro bloco.**Figura 81:** Citotoxicidade em 30 $\mu\text{g/mL}$ das amidas contidas no segundo e sexto bloco sintetizadas a partir de **83**.

Figura 82: Citotoxicidade em 30 $\mu\text{g/mL}$ das amidas contidas no terceiro e sexto bloco sintetizadas a partir de **87**.

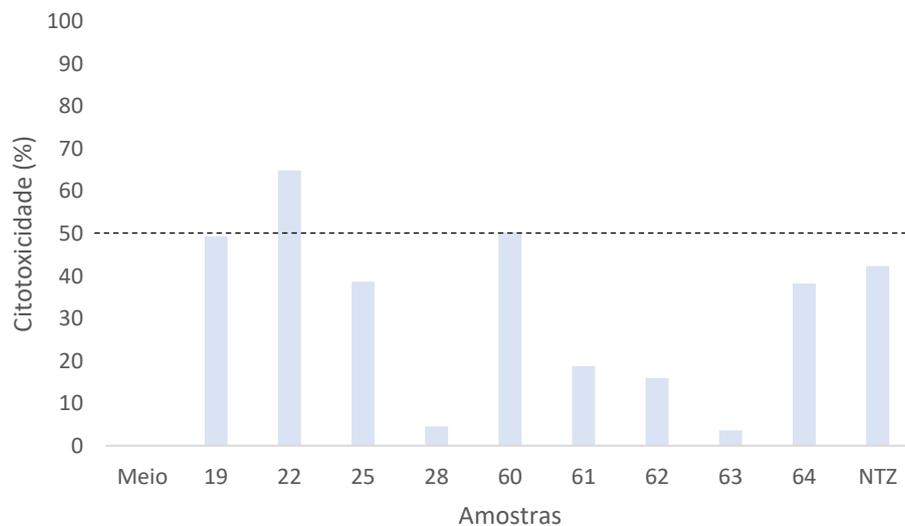


Figura 83: Citotoxicidade em 30 $\mu\text{g/mL}$ das amidas contidas no quarto e sexto bloco sintetizadas a partir de **84**.

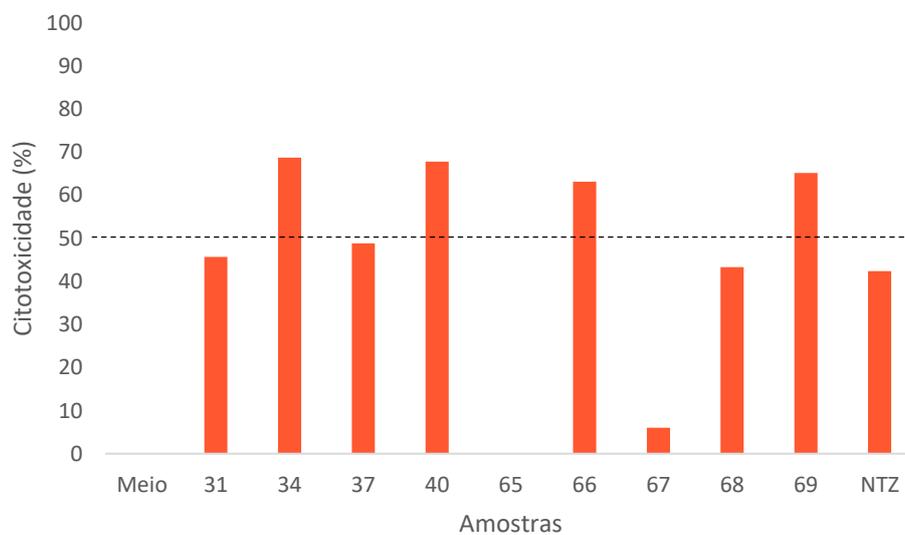
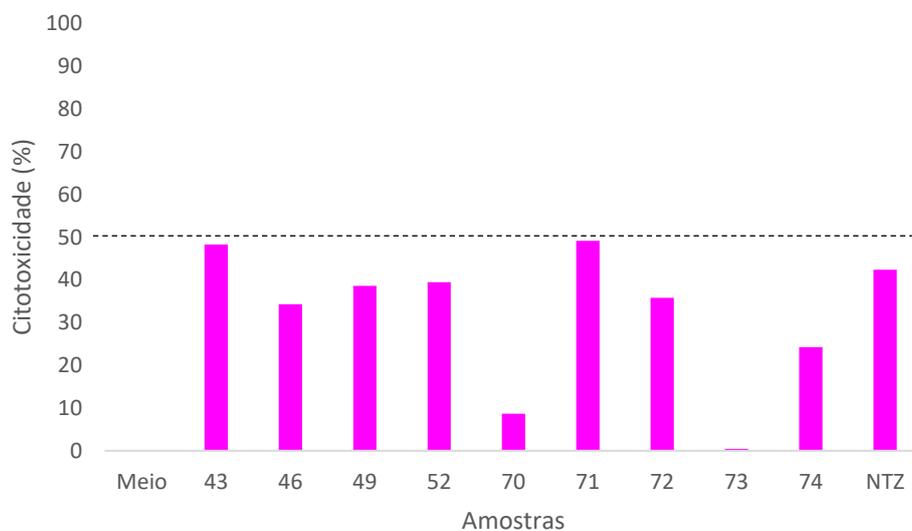


Figura 84: Citotoxicidade em 30 µg/mL das amidas contidas no quinto e sexto bloco sintetizadas a partir de **88**.

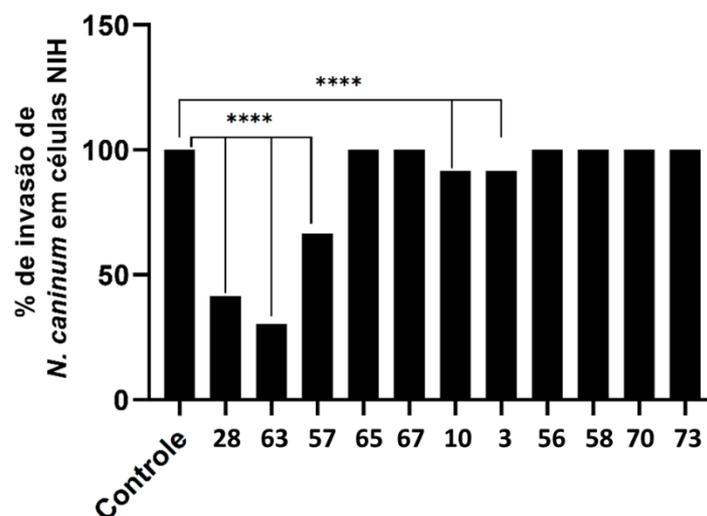


A partir da análise é possível notar diferentes perfis para as amidas analisadas, de forma que são observados perfis de moléculas com baixa e alta toxicidade contra a célula hospedeira e é fundamental que os compostos avaliados como potenciais neosporicidas sejam seguros para célula que comporta este parasita. Nesse sentido, para o prosseguimento das análises foram selecionadas apenas as amostras que apresentaram baixa toxicidade.

A realização desta análise permite verificar que mesmo a molécula que inspirou o presente trabalho, a nitazoxanida (**2**), se demonstrou tóxica na concentração testada, e por este motivo esse composto não foi avaliado na atividade antiparasitária, dada a interferência prejudicial que ele poderia causar sobre a célula hospedeira.

Dessa forma, foram selecionadas as amidas **3, 10, 28, 56, 57, 58, 63, 65, 67, 70 e 73** para que fossem avaliadas contra *N. caninum* frente sua capacidade de invasão, essa escolha se fundamentou em na baixa toxicidade apresentada por estas amidas, as quais foram inferiores a 20%. A avaliação destas entidades terapêuticas foi realizada mantendo a mesma concentração (30 µg/mL) mostrando resultados importantes na ação dessas moléculas como antiparasitários. Esses resultados foram sintetizados no gráfico abaixo (**Figura 129**) direcionando para a capacidade de inibir o influxo desses microrganismos para o interior da célula hospedeira.

Figura 85: Perfil de invasão dos parasitas frente ao tratamento com as amidas de baixa toxicidade.

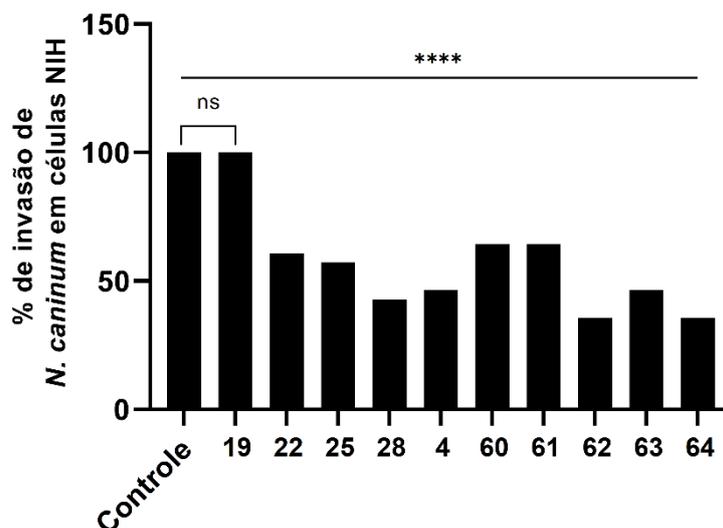


****: $p < 0,0001$

A análise do gráfico disposto acima (**Figura 85**) permite verificar que das onze amidas que apresentaram uma baixa citotoxicidade, apenas duas delas foram potentes contra a invasão promovida por *N. caninum*. Ambas as moléculas que promoveram a inibição do influxo do parasita ao interior da célula foram sintetizadas a partir da amina **87**, chamando a atenção para o possível perfil inibitório das demais amidas sintetizadas a partir dessa amina.

Nesse sentido, foi de grande interesse avaliar o perfil inibitório das amidas pertencentes ao primeiro, terceiro e sexto bloco sintetizadas a partir de **87**. Dessa forma as amidas (**4**, **19**, **22**, **25**, **28** e **60-64**) foram submetidas a análise da atividade biológica, visando extrair informações tais como influência do substituinte do anel fenílico bem como a importância da flexibilidade relatadas pelas amidas do sexto grupo (**Figura 86**).

Figura 86: Perfil de invasão dos parasitas frente ao tratamento com as amidas sintetizadas a partir de 87.



****: $p < 0,0001$

ns: não significativa

A análise do gráfico da inibição da invasão do parasita ao interior da célula disposto acima (**Figura 86**) deixa evidente a potência que essas amidas tiveram quando avaliada a capacidade do parasita em infectar células hospedeiras quando submetidas ao tratamento químico. Além deste importante dado, há ainda verificações estruturais de grande relevância como a atividade demonstrada pelas amidas alifáticas, constando como aquelas em que são encontradas a maior potência contra o influxo do parasita em células. Adicionalmente é verificado que substituintes volumosos ocupando a posição *para* dificultam a ação destes compostos contra *N. caninum*.

4. Conclusões:

A infecção do gado bovino por *N. caninum* tem um caráter de alta relevância considerando os prejuízos que ele pode causar na cadeia produtiva do setor pecuário, proveniente de sua ação abortiva sobre o gado interferindo diretamente no setor de corte e leiteiro.

Visando essa lacuna do setor veterinário, já que não há tratamento efetivo contra esse parasita, no presente trabalho foram planejadas e sintetizadas setenta moléculas, onde estratégias como trocas isostéricas, alterações entre grupos doadores e retiradores ligados ao anel fenílico, bem com alterações na posição de alguns desses substituintes foram empregadas.

De forma geral, os compostos sintetizados mostraram um rendimento satisfatório, além da síntese ser rápida, eficiente e de baixo custo. Somado a esses benefícios sintéticos, há ainda o fato de que a purificação desses compostos, em sua maioria, é simples, consistindo apenas na filtração e lavagem. Tais características apontam para uma viabilidade sintética de alta relevância mediante sua simplicidade, ponto de grande interesse na pesquisa em química medicinal.

A partir da obtenção dessas moléculas, parte delas foi selecionada para que a atividade antiparasitária pudesse ser verificada. Quarenta amidas foram selecionadas para os ensaios biológicos, sendo que, após a avaliação da citotoxicidade, onze compostos se mostraram seguros para a célula hospedeira.

O ensaio contra *N. caninum* frente sua capacidade de invasão foi realizada e, das onze amidas, duas foram promissoras. Com esta análise realizada, o grupo de amidas que compartilhava o mesmo núcleo piridínico foi submetido ao ensaio a fim de verificar a potência de todo aquele bloco de amidas contra *N. caninum*, mediante a troca dos grupos que substituíam o anel fenílico em *para* bem como avaliar a importância de cadeias alifáticas na inibição deste parasita.

A realização deste trabalho, fundamentado em técnicas clássicas em química medicinal, demonstra de forma clara a importância que há no emprego dessas estratégias no desenvolvimento de novos fármacos. Isso pode ser evidenciado pela atividade biológica dessas amidas, bioinspiradas em NTZ (2), se mostraram menos tóxicas que a própria molécula que inspirou o trabalho.

Além da menor toxicidade apresentada por algumas amidas sintetizadas, a avaliação das estruturas desses compostos quando relacionadas com a atividade

biológica desempenhada, salienta os pontos que são fundamentais para que seja observada atividade, podendo ser utilizado como inspiração para a continuidade da pesquisa no tratamento desta parasitologia causada por *N. caninum*.

Todo o caminho percorrido desde o planejamento dessas moléculas e síntese, bem como a escalada desenvolvida no momento de verificar a atividade biológica desses compostos demonstra uma alta racionalidade no processo de desenvolvimento de novas unidades químicas potencialmente neosporicidas.

5. Materiais e equipamentos:

5.1. MATERIAIS:

5.1.1. SOLVENTES:

- Metanol (MeOH): Synth P.A. ACS.
- Clorofórmio (CHCl₃): Synth P.A. ACS.
- Diclorometano (DCM): Êxodo científica.
- Hidróxido de amônio (NH₄OH): Synth P.A. ACS;
- Acetonirila (MeCN) pureza espectroscópica: Dinâmica;
- Piridina: Vetec;
- Tolueno: Vetec;
- Mesitileno: Aldrich;
- Tetrahidrofurano (THF): J. T. Baker;
- Dimetilformamida (DMF): Synth;
- Éter etílico (Et₂O): Isofar;
- Solventes de grau analítico (P.A.), purificados por destilação fracionada: hexano, acetato de etila (AcOEt) e etanol (EtOH);
- Dimetilsulfóxido-*d*₆: (aldrich);

5.1.2. REAGENTES:

Foram utilizados para o desenvolvimento do projeto substratos piridínicos com diferentes padrões de substituição, cloretos de benzoíla substituídos com diferentes

grupos, cloretos de acila com cadeias alifáticas crescentes, derivados de ácido cinâmico, catalisadores e bases, a fim de facilitar a visualização os reagentes foram dispostos em forma de lista abaixo:

- 2,6-dicloro-3-nitropiridina, 92% (Aldrich, CAS nº 16013-85-7)
- 2-amino-5-cloropiridina 98% (Aldrich, CAS nº 1072-98-6)
- 2-cloro-5-nitropiridina 99% (Aldrich, CAS nº 4548-45-2)
- 3-amino-2-cloropiridina 98% (Aldrich, CAS nº 6298-19-7)
- Ácido acético glacial (HOAc) (Vetec, CAS nº 64-19-7)
- Ácido bórico (Aldrich, CAS nº 10043-35-3)
- Ácido cinâmico 97% (Aldrich, CAS nº 140-10-3)
- Ácido clorídrico (HCl) 37% (Vetec, CAS nº 7647-01-0)
- Brometo de potássio (KBr): (Aldrich, CAS nº 7758-02-3)
- Carbonato de potássio (Neon, CAS nº 584-08-7)
- Carbonato de sódio (Synth, 497-19-8)
- Cloreto de acetila 98% (Aldrich, CAS nº 75-36-5)
- Cloreto de benzoíla 99% (Aldrich, CAS nº 98-88-4)
- Cloreto de butanoíla 98% (Aldrich, CAS nº 141-75-3)
- Cloreto de estanho diidratado 98% (Aldrich, CAS nº 10025-69-1)
- Cloreto de heptanoíla 99% (Aldrich, CAS nº 2528-31-2)
- Cloreto de hexanoíla 97% (Aldrich, CAS nº 142-61-0)
- Cloreto de *o*, *m*, *p*-bromobenzoíla 98% (Aldrich, CAS nº 586-75-4)
- Cloreto de *o*, *m*, *p*-clorobenzoíla 99% (Aldrich, CAS nº 122-01-0)
- Cloreto de pentanoíla 98% (Aldrich, CAS nº 638-29-9)
- Cloreto de *o*, *m*, *p*-nitrobenzoíla 98% (Aldrich, CAS nº 122-04-3)
- Cloreto de *o*, *m*, *p*-toluíla 98% (Aldrich, CAS nº 874-60-2)
- Cloreto de tionila (SOCl₂) 97% (Vetec, CAS nº 7719-09-7)
- Ferro metálico (CAS nº 7439-89-6)
- Hidreto de sódio 60% (Aldrich, CAS nº 7646-69-7)
- Hidróxido de potássio 85% (Quemis, CAS nº 1310-58-3)
- Hidróxido de sódio 97% (Alphatec, CAS nº 1310-73-2)
- Paládio/carbono (Aldrich, CAS nº 7440-05-03)

5.2. CROMATOGRAFIA:

5.2.1. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD):

Os experimentos de cromatografia em camada delgada comparativa (CCD) foram realizados utilizando placas comerciais de sílica gel 60 com indicador de fluorescência (UV₂₅₄) 0,20 mm de espessura (Macherey-Nagel). As placas foram reveladas por inspeção em câmara de UV (254 ou 365 nm)

5.3. ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS:

5.3.1. ESPECTROSCOPIA POR INFRAVERMELHO (IV):

As análises de espectroscopia por infravermelho foram realizadas em 2 equipamentos diferentes. Os espectros vibracionais na região do infravermelho para as amostras líquidas foram obtidos através do espectrofotômetro FT-IRprestige-21 da Shimadzu, na região compreendida entre 400 e 4000 cm⁻¹ pela preparação de pastilhas com KBr. Enquanto para as amostras sólidas, os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos através do espectrofotômetro FT-IR Frontier Single Range – MIR da Perkin Elmer, na região compreendida entre 4000-220 cm⁻¹. As amostras foram analisadas com auxílio do acessório de Refletância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante. Equipamento este pertencente ao Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT) localizado no Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

5.3.2. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN):

As análises por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H, ¹³C e análises de escala ampliada (HSQC, HMBC e TOCSY) das moléculas sintetizadas foram realizadas em espectrômetro Bruker Avance III HD com campo de 14,1 T e criosonda TCI (Triple Channel Inverse) de 5 mm. Todas as amostras foram solubilizadas em dimetilsufóxido deuterado (DMSO-*d*₆, Sigma-Aldrich®). Os experimentos foram realizados a 25 °C, utilizando o solvente residual como padrão interno. Essas análises

foram realizadas no instituto de química da universidade estadual paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) no campus de Araraquara.

5.3.3. ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM ALTA RESOLUÇÃO (EM-IES):

As análises por espectrometria de massas foram realizadas em um espectrômetro de massas UHR-ESI-QTOF MaXis™ Impact (*Ultra-high Resolution Electrospray Ionization – Quadrupole – Time of flight*). As amostras foram injetadas diretamente no espectrômetro, utilizando uma bomba de infusão. Essas análises foram realizadas no instituto de química da universidade estadual paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) no campus de Araraquara. Os espectros de massa foram adquiridos usando o sistema LC-DAD-ESI da Shimadzu HPLC (CBM20A), bomba quaternária LC-20AD, detector SPD-M20A, amostrador automático SIL-20A e compartimento de coluna CTO-20A, acoplado à fonte ESI Bruker Ion Trap (amaZon SL). Os espectros de UV foram adquiridos na faixa de 200- 800 nm. As análises de massas foram realizadas no modo positivo e m/z varrido de 50 - 1000 usando os seguintes parâmetros: tensão da fonte de 4,5 kV, gás de invólucro de 9,00 L / min, nebulizador de 40 psi e temperatura seca (300 °C).

5.4. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS:

O núcleo de pesquisa em compostos bioativos (NPCBio) conta com alguns equipamentos básicos, dispostos em tabela (**Tabela 9**):

Tabela 10: Equipamentos disponíveis no laboratório.

Equipamento	Marca	Modelo
Agitador magnético (2 unidades)	Gehaka	AA-2050
Balança analítica	Shimadzu	AX 200
Bomba de vácuo	Prismatec	131B
Câmara escura para luz ultravioleta (UV 254 e 365 nm)	Solab	SL-204
Chiller (Frigomix B) e controlador (Themomix BM)		
Linha de secagem de amostra a pressão reduzida (bomba)	Edwards	RV5

Tabela 10: Equipamentos disponíveis no laboratório continuação.

Equipamento	Marca	Modelo
Evaporador rotativo (Químis, banho de aquecimento Buchi B-465 bomba de vácuo Buchi V-100)		
Sistema de exaustão (capelas) (2 unidades)		

Nota: Todos os equipamentos são unitários, com exceção daqueles especificados.

Fonte: autor.

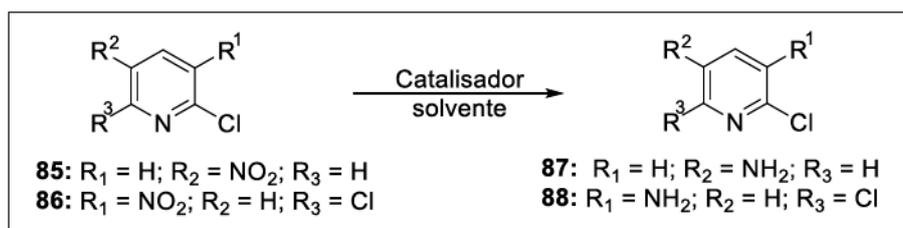
6. Metodologia

A partir do levantamento bibliográfico a nitazoxanida (NTZ) (**2**) foi selecionada e eleita como *lead*, e a partir dela foram propostas diferentes modificações estruturais visando a preparação de uma série de compostos, que juntamente com os resultados dos ensaios biológicos, permitisse através de uma análise criteriosa, correlacionar que características estruturais poderiam estar associadas com o aumento/diminuição da potência desses compostos. Foi priorizada a síntese de compostos que tivessem o grupo funcional amida (benzamida), uma vez que são relatados como importantes inibidores de histonas desacetilases em parasitas do filo Apicomplexa (GARCÍA-SÁNCHEZ et al., 2019).

Nesse sentido, para a síntese das amidas inspiradas em **2**, foram escolhidos quatro núcleos piridínicos que compartilhassem semelhanças isostéricas com o núcleo tiazolídico, que diferenciam pelo padrão de substituição (**83-86**) (**Figura 13**). Analisando as estruturas dos precursores, é possível destacar a presença do grupo amino nos substratos **83** e **84**, essencial para a preparação das amidas nas etapas posteriores. Embora os substratos **85** e **86** não contenham o grupo amino, o grupo nitro pode ser reduzido e em seguida submetido à preparação das amidas.

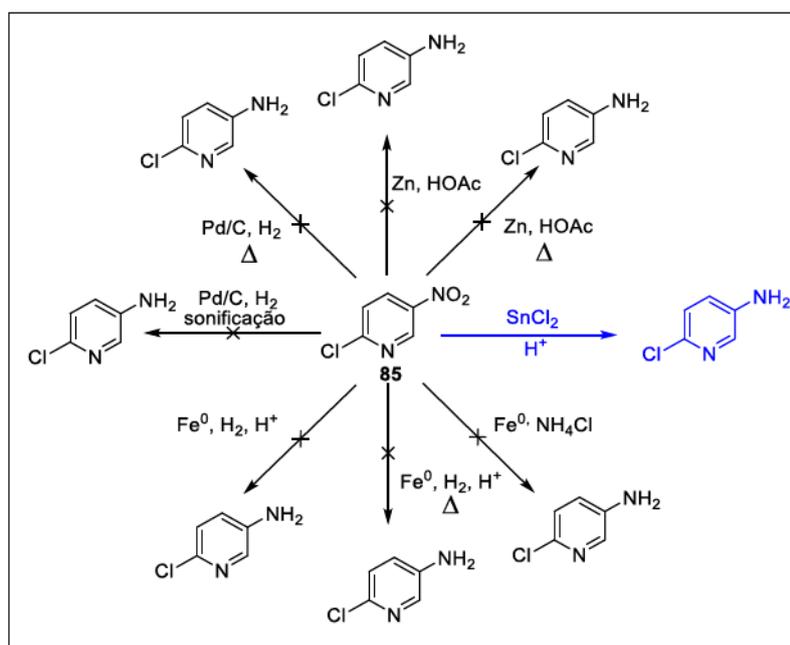
6.1. REDUÇÃO DO GRUPO NITRO

Diferentes metodologias foram empregadas para reduzir o grupo nitro de forma seletiva, sem interferir nos demais grupos presentes no substrato piridínico, como é o caso do cloro, passivo de redução (**Figura 87**).

Figura 87: Redução do grupo nitro presente em **85** e **86**.

Fonte: O autor.

As metodologias de redução do grupo nitro, vastamente descritas na literatura, são baseadas na ação de metais que atuam como doadores de elétrons em meio ácido. nesse sentido, algumas delas foram avaliadas e são apresentadas na sequência (**Figura 88**).

Figura 88: Metodologias testadas para redução do grupo nitro presente no substrato **85**.

Fonte: O autor

Foram avaliadas metodologias (item 1.1) utilizando Fe, Zn e Pd/C, que não foram satisfatórias devido ao baixo rendimento ou pela complexidade da mistura dos produtos gerados. Além dos metais descritos anteriormente também foi avaliado o SnCl₂ (destacado em azul) (Figura 113), que apresentou os melhores resultados.

6.1.1. REDUÇÃO DO GRUPO NITRO PELO Fe

Metodologia 1: Em um balão de 50 mL foram adicionados 20,0 mg de 2-cloro-5-nitropiridina (**79**) (0,13 mmol) e 50,0 mg de ferro metálico (1,92 mmol), que em seguida foram solubilizados por 2,0 mL de etanol (EtOH 96%). Na sequência foram adicionados 2,0 mL de ácido acético glacial (HOAc) (99%) e 0,2 mL de ácido clorídrico (HCl) (37%). A mistura reacional foi mantida em ultrassom por uma 1 h a 25 °C. A reação foi finalizada pela adição de água (50 mL), seguida por filtração simples. O filtrado foi basificado com solução de KOH (10%) até pH 12 e submetido a extração com acetato de etila (AcOEt) (3 × 20 mL). Em seguida, foi adicionado sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) (q.s.p.) à fase orgânica para remover os resquícios de água. A fase orgânica foi filtrada e o solvente destilado em rotaevaporada utilizando banho de aquecimento a 40 °C. A análise por CCD indicou que o produto não foi formado.

Metodologia 2: A reação foi realizada seguindo os mesmos parâmetros descritos na Metodologia 1, no entanto, ao invés de utilizar a sonificação por ultrassom, a reação foi mantida em agitação e sob refluxo por 2 h. A análise por CCD indicou que o produto não foi formado.

Metodologia 3: Foram utilizados 100 mg de 2-cloro-5-nitro-piridina (**79**) (0,63 mmol), 141 mg de ferro metálico (2,52 mmol), 51 mg de cloreto de amônio (0,945 mmol), 8 mL de EtOH e 2 mL de água. Os reagentes sólidos foram adicionados no balão reacional seguidos pela adição do EtOH e água (8:2) e a mistura reacional foi mantida em refluxo por 2 horas sob vigorosa agitação. Ao final, a solução foi destilada em rotaevaporador (40 °C), e o produto já seco foi submetido à CC utilizando sílica como fase estacionária e eluída com MeOH dopado com NH₄OH (0,5%). Foram coletadas 96 frações, sendo que o produto **87** foi obtido com 49% de rendimento.

Metodologia 4: A metodologia 3 foi empregada para a redução de 2,6-dicloro-3-nitropiridina (**80**), partindo de 300 mg de substrato (1,55 mmol), 346 mg de ferro metálico (6,2 mmol), 124,6 mg de cloreto de amônio (2,33 mmol), 8 mL de EtOH e 2 mL de água. Não houve formação do produto.

6.1.2. REDUÇÃO DO GRUPO NITRO PELO Pd

Metodologia 1: Foram utilizados 50 mg de 2-cloro-5-nitro-piridina (**79**) (0,13 mmol), 70 mg de cloreto de amônio (1,3 mmol), 1,5 mg de paládio-carbono (0,013 mmol) e 5 mL de MeOH. Os reagentes sólidos foram adicionados em um balão reacional seguido da adição de MeOH, a reação foi submetida a sonificação por 1 hora. Não houve formação do produto.

Metodologia 2: Realizada seguindo os mesmos parâmetros descritos acima, entretanto para esta metodologia ao invés de se utilizar a sonificação, o meio reacional foi colocado sob refluxo por 2 horas sob vigorosa agitação. Não houve formação do produto.

Metodologia 3: Foram utilizados 50 mg de 2-cloro-5-nitro-piridina (**79**) (0,13 mmol), 1,5 mg de paládio-carbono (0,013 mmol) e 5 mL de MeOH. Os sólidos foram adicionados em um balão reacional seguido da adição de MeOH, a reação foi colocada sob refluxo por 2 horas com vigorosa agitação e contato direto com gás hidrogênio (H₂). Não houve formação do produto.

6.1.3. REDUÇÃO DO GRUPO NITRO PELO Zn

Metodologia 1: Foram utilizados 20 mg de 2-cloro-5-nitro-piridina (**79**) (0,13 mmol), 85 mg de ferro metálico (1,3 mmol), 5 mL de ácido acético glacial (HOAc) e THF como solvente. Os reagentes sólidos foram adicionados em um balão reacional, seguidos pela adição de THF, após a solubilização do substrato piridínico foi adicionado HOAc, a reação foi agitada em 0 °C durante 2 h. Após esse período foi avaliado o perfil da CCD, onde pôde se observar que não houve qualquer mudança.

Metodologia 2: A metodologia 1 foi submetida neste momento a ação da temperatura, de forma que por 2 h a reação foi mantida a 0 °C e, após esse período a reação foi aquecida a 60 °C por 3 h. Não houve formação do produto.

6.1.4. REDUÇÃO DO GRUPO NITRO PELO SnCl₂

Metodologia 1: Foram adicionados 250,0 mg 2-cloro-5-nitro-piridina (**79**) (1,3 mmol), 970,0 mg de cloreto de amônio (4,3 mmol), 0,8 mL de HCl e 2,6 mL de AcOH. O procedimento foi realizado em três etapas, em que a primeira consistiu na dissolução do substrato piridínico em ácido acético glacial, na segunda etapa outra dissolução foi realizada, onde o cloreto de estanho é colocado em contato com o ácido clorídrico e submetido a ligeira sonificação. Por fim, na terceira etapa a solução ácida contendo o substrato piridínico foi colocada em um balão reacional sob agitação e a solução ácida de SnCl₂, obtida na segunda etapa, foi lentamente gotejada nesse balão, que foi mantido sob agitação à 25 °C por 2 horas. A reação foi finalizada com a adição com adição de água gelada (100 mL), onde foi mantida por mais 30 minutos. Em seguida, a solução foi basificada com de solução NaOH (50%) até alcançar pH 12, através da adição de uma solução de. Na sequência, a solução foi submetida à extração líquido-líquido com diclorometano (CH₂Cl₂) (5 × 15 mL), que após coletado teve os resquícios de água removidos por Na₂SO₄ anidro (q.s.p.) e o solvente removido em rotaevaporada (40 °C). O produto da redução foi analisado por CCD, onde foi constatada a presença de uma única substância (**81**), que foi obtido com 84% de rendimento.

Metodologia 2: A metodologia 1, seguindo os mesmos protocolos descritos acima foi realizada com o substrato piridínico 2,6-dicloro-3-nitro-piridina (**86**). O produto de redução (**82**) foi obtido com um rendimento de 97%.

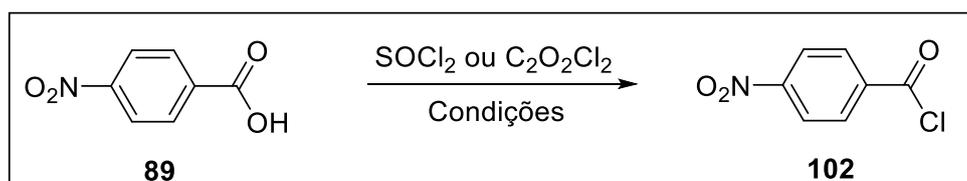
A partir da obtenção das aminas **87** e **88**, foi possível definir as amidas que seriam sintetizadas, mantendo **2** como modelo molecular. Nesse sentido, foi selecionada uma série de derivados de ácidos benzoicos, com diferentes substituintes nas posições *orto*, *meta* e *para*, de natureza doadora e retiradora de elétrons (**Figura 19**).

As aminas têm caráter nucleofílico, podendo reagir com compostos carbonílicos de caráter eletrofílico para formar amidas. Devido aos ácidos carboxílicos, não apresentarem carbonila com caráter eletrofílico, metodologias sintéticas foram propostas para aumentar a eletrofilicidade desses grupos e serão discutidas na sequência.

6.2. FORMAÇÃO DO CLORETO ÁCIDO.

Uma estratégia para aumentar a eletrofilicidade de um ácido carboxílico é transformá-lo em um haleto de acila. Para isso, foram avaliadas diferentes metodologias utilizando os ácidos benzoicos descritos na Figura 19. O ácido *p*-nitrobenzoico (**89**) foi selecionado como exemplo para discussão das metodologias avaliadas (**Figura 89**).

Figura 89: Reação para formação do cloreto de acila de **102**.



Fonte: O autor.

6.2.1. FORMAÇÃO DO CLORETO DE ÁCIDO ATRAVÉS DE AGENTES CLORINANTES

Metodologia geral: Em um balão de 50 mL foram adicionados 150 mg de ácido *p*-nitrobenzoico (**89**) (1,0 mmol) em uma solução contendo 0,17 mL de cloreto de tionila (3,0 mmol) solubilizados em clorofórmio. A essa mistura reacional foi adicionado uma quantidade catalítica de DMF (c.a. 0,2 mL) a reação foi mantida sob refluxo e intensa agitação por 2 h. A reação foi acompanhada por CCD, onde o coletado era exposto ao EtOH antes de sua aplicação. O *workup* da reação foi realizado evaporando os solventes e excesso de agente clorinante via evaporador rotativo. Diferentes metodologias foram fundamentadas na discutida acima a fim de promover a geração do produto desejado, para isso, foram realizadas alterações em parâmetros como quantidade, tempo, solvente, bases e agentes clorinantes (**Tabela 11**).

Tabela 11: Condições reacionais para obtenção das amidas via acoplamento por agentes clorinantes.

Metodologia	Ácido	Quantidade de substrato mg/mmol	Reag. clorinante	Quantidade de R. clorinante mL/mmol	Base	Solvente	Tempo	Temperatura	Produto esperado	Formação do produto
1	83	150/1	SOCl ₂	0,17/3	DMF	CHCl ₃	2h	T _{amb}	96	Não
2	83	150/1	SOCl ₂	0,17/3	DMAP	CHCl ₃	2h	T _{amb}	96	Não
3	83	150/1	SOCl ₂	0,17/3	TEA	CHCl ₃	2h	T _{amb}	96	Não
4	83	150/1	SOCl ₂	0,17/3	DMF	CHCl ₃	2h	65 °C	96	Não
5	83	150/1	SOCl ₂	0,17/3	DMAP	CHCl ₃	2h	65 °C	96	Não
6	83	150/1	SOCl ₂	0,17/3	TEA	CHCl ₃	2h	65 °C	96	Não
7	83	150/1	SOCl ₂	5/69	DMF	-	2h	0-25 °C	96	Não
8	83	150/1	SOCl ₂	5/69	DMAP	-	2h	0-25 °C	96	Não
9	83	150/1	SOCl ₂	5/69	TEA	-	2h	0-25 °C	96	Não
10	83	150/1	SOCl ₂	5/69	DMF	-	2h	0-50 °C	96	Não
11	83	150/1	SOCl ₂	5/69	DMAP	-	2h	0-50 °C	96	Não
12	83	150/1	SOCl ₂	5/69	TEA	-	2h	0-50 °C	96	Não
13	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMF	Tolueno	4h	T _{amb}	96	Não
14	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMAP	Tolueno	4h	T _{amb}	96	Não
15	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	TEA	Tolueno	4h	T _{amb}	96	Não
16	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMF	Tolueno	4h	115 °C	96	Não
17	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMAP	Tolueno	4h	115 °C	96	Não
18	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	TEA	Tolueno	4h	115 °C	96	Não
19	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMF	THF	4h	T _{amb}	96	Não
20	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMAP	THF	4h	T _{amb}	96	Não
21	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	TEA	THF	4h	T _{amb}	96	Não
22	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMF	THF	4h	70 °C	96	Não
23	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	DMAP	THF	4h	70 °C	96	Não
24	83	150/1	SOCl ₂	0,5/6,75	TEA	THF	4h	70 °C	96	Não
25	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMF	CHCl ₃	3h	0-25 °C	96	Não
26	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMAP	CHCl ₃	3h	0-25 °C	96	Não

Tabela 11: Condições reacionais para obtenção das amidas via acoplamento por agentes clorinantes.

Metodologia	Ácido	Quantidade de substrato mg/mmol	Reag. clorinante	Quantidade de R. clorinante mL/mmol	Base	Solvente	Tempo	Temperatura	Produto esperado	Formação do produto
27	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	TEA	CHCl ₃	3h	0-25 °C	96	Não
28	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMF	CHCl ₃	3h	0-65 °C	96	Não
29	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMAP	CHCl ₃	3h	0-65 °C	96	Não
30	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	TEA	CHCl ₃	3h	0-65 °C	96	Não
31	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMF	Tolueno	3h	0-25 °C	96	Não
32	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMAP	Tolueno	3h	0-25 °C	96	Não
33	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	TEA	Tolueno	3h	0-25 °C	96	Não
34	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMF	Tolueno	3h	0-115 °C	96	Não
35	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	DMAP	Tolueno	3h	0-115 °C	96	Não
36	83	150/1	C ₂ O ₂ Cl ₂	0,17/2	TEA	Tolueno	3h	0-115 °C	96	Não

Fonte: O autor.

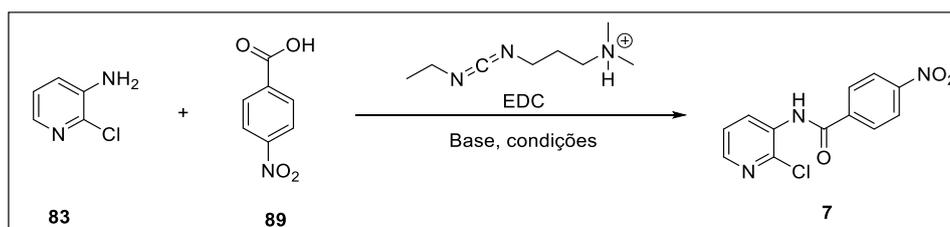
6.3. AMIDAÇÃO DIRETA VIA REAGENTES DE ACOPLAMENTO

Diante dos baixos rendimentos obtidos com as metodologias de amidação utilizando os haletos de acila foram avaliadas outras estratégias de acoplamento direto que são discutidas na sequência.

6.3.1. REAÇÃO DE ACOPLAMENTO VIA EDC

A utilização do *N*-etilcarbodiimida (EDC), é uma estratégia importante na síntese de ésteres e amidas, e nesse sentido, surge uma nova alternativa de síntese *one-pot* para obtenção das amidas, como mostra o esquema geral para a reação entre **77** e **83** (**Figura 90**).

Figura 90: Reação de acoplamento geral entre os substratos **83** e **89** vias EDC.



Fonte: O autor

Metodologia 1: Foram adicionados 100,0 mg de 3-amino-2-cloro-piridina (**83**) (0,78 mmol), 194,0 mg de ácido *p*-nitrobenzoico (**89**) (1,16 mmol), 181,6 mg de EDC (**12**) (1,17 mmol) e 235,9 mg de DMAP (2,34 mmol). Os reagentes sólidos foram adicionados em um balão reacional de 25 mL, seguidos pela adição de 15,0 mL diclorometano (DCM). O balão contendo a mistura reacional foi mantido em refluxo e agitação durante 16 h. Após esse período o produto foi analisado por CCD, onde foi verificado que mesmo com o consumo completo do ácido, o substrato piridínico não foi consumido. A reação foi finalizada com a adição de água gelada (100 mL), na sequência, a solução foi submetida à extração líquido-líquido com diclorometano (CH₂Cl₂) (3 × 15 mL), que após coletado teve os resquícios de água removidos por Na₂SO₄ anidro (q.s.p.), o solvente removido em rotaevaporada (40 °C). Não houve formação do produto esperado.

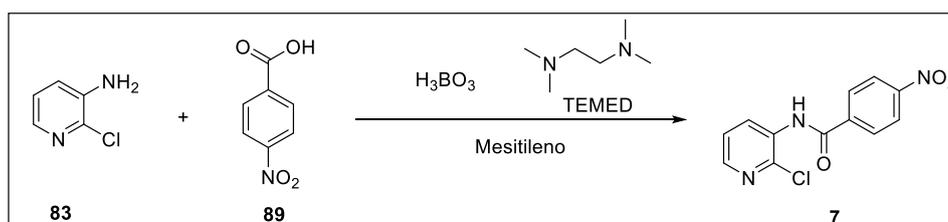
Metodologia 2: Foram adicionados 100,0 mg de 3-amino-2-cloro-piridina (**83**) (0,78 mmol), 194,0 mg de ácido *p*-nitrobenzoico (**89**) (1,16 mmol), 181,6 mg de EDC (**12**) (1,17 mmol) e 235,9 mg de DMAP (2,34 mmol). O procedimento foi realizado em duas frentes, a primeira consistiu na adição de todos os reagentes sólidos com exceção do substrato piridínico em um balão e posterior solubilização com 15 mL de DCM, já a segunda frente foi realizada concomitantemente e versou na solubilização do substrato piridínico em 5 mL de DCM. Com ambas as soluções preparadas a solução da amina piridínica foi gotejada lentamente sobre a solução relativa a primeira frente, após as adições realizadas o balão contendo a mistura reacional foi colocado sob refluxo e agitação por 16h. O procedimento para cessação da reação foi realizado conforme descrito na metodologia 1. Não houve formação do produto esperado.

Metodologia 3: Foram adicionados 100,0 mg de 3-amino-2-cloro-piridina (**83**) (0,78 mmol), 194,0 mg de ácido *p*-nitrobenzoico (**89**) (1,16 mmol), 181,6 mg de EDC (**12**) (1,17 mmol) e 235,9 mg de DMAP (2,34 mmol) e 32,3 mg de HCTU (0,078 mmol). O procedimento realizado é o mesmo realizado em metodologia 2, de forma que para este procedimento foi adicionado HCTU. Não houve formação do produto esperado.

6.3.2. REAÇÃO DE ACOPLAMENTO VIA ÁCIDO BÓRICO

Como alternativa, a reação de acoplamento promovida pelo ácido bórico juntamente com o ativante *N,N,N',N'*- tetrametiletilenodiamina (TMED), foi realizada visando a síntese das amidas isostericamente semelhantes à nitazoxanida (2). Assim, algumas metodologias foram empregadas visando esse fim, de forma geral, essa metodologia pode ser esquematizada para os substratos **83** e **89** (**Figura 91**).

Figura 91: Reação de acoplamento geral entre os substratos **83** e **89** vias ácido bórico.



Fonte: O autor.

Metodologia 1: Em um balão reacional de 50 mL foram adicionados 100,0 mg de 3-amino-2-cloro-piridina (**83**) (0,78 mmol), 194,0 mg de ácido *p*-nitrobenzoico (**89**) (1,16 mmol), 15,0 mg de ácido bórico (0,23 mmol) e 34,5 µL de TMED (**15**) (0,23 mmol). O procedimento consistiu na adição dos reagentes em duas etapas, na primeira em um balão bitubulado foi adicionado o ácido bórico, a amina piridínica e o solvente da reação, o mesitileno. O balão foi acoplado em um condensador de refluxo e a segunda saída foi vedada com um septo, por onde foi conectado um sistema de cânula para entrada de nitrogênio, deixando o ambiente da reação inerte. O ácido (**89**) foi solubilizado em TMED e posteriormente adicionado lentamente ao meio reacional. A reação foi mantida sob atmosfera de nitrogênio agitação, e temperatura de 160 °C por 16 h. A reação foi finalizada com a adição com adição de água gelada (100 mL), na sequência, a solução foi submetida à extração líquido-líquido com diclorometano (CH₂Cl₂) (3 × 15 mL), que após coletado teve os resquícios de água removidos por Na₂SO₄ anidro (q.s.p.), o solvente removido em rotaevaporada (40 °C). Não houve formação do produto esperado.

Metodologia 2: Essa metodologia segue as mesmas condições descritas na Metodologia 1 desse item, porém os reagentes foram adicionados em uma única etapa. Ao final da reação o produto foi analisado por CCD, que indicou que o produto não foi formado.

Metodologia 3: A reação foi realizada seguindo os mesmos parâmetros descritos na Metodologia 1 e 2, no entanto aqui foi utilizado peneiras moleculares 0,3 nm. Formação do produto com 20% de rendimento.

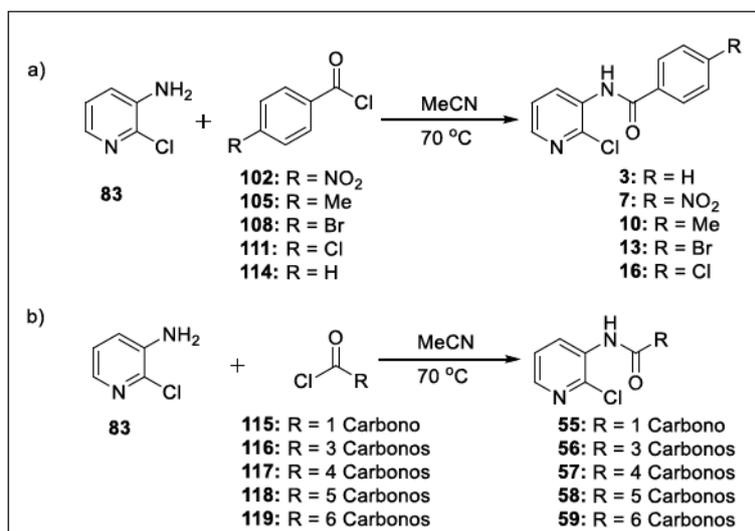
Devido ao insucesso de algumas das reações avaliadas, a falta de alguns reagentes, condições reacionais, de análise e escassez de tempo, optamos pela compra de alguns desses reagentes clorados para a síntese das amidas e posterior avaliação biológica em tempo hábil.

6.4. SÍNTESE DAS AMIDAS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE AMINAS E CLORETOS DE ÁCIDOS.

6.4.1. CLORETOS DE ÁCIDO DERIVADOS DO ÁCIDO BENZOICO E ALIFÁTICOS

A síntese das amidas foi realizada através da reação entre os substratos piridínicos (**83**, **84**, **87** e **88**) com os cloretos de ácidos comerciais (**102-119**) (**Figura 25**). Na Figura 19 estão representadas as reações para a obtenção das amidas a partir dos cloretos de ácidos aromáticos (**Figura 19a**) e alifáticos (**Figura 19-b**), utilizando como substrato o composto **83**.

Figura 91: Esquema geral para a obtenção das amidas aromáticas e alifáticas.



Fonte: O autor.

As condições reacionais apresentadas anteriormente utilizando o substrato **77**, foram empregadas para as demais aminas piridínicas (**84**, **87** e **88**), para obtenção das amidas presentes do primeiro ao sétimo grupo (**Figura 10** e **12**)

Metodologia geral: O procedimento para obtenção dos derivados benzoilados consistiu na adição de 102,0 mg do substrato piridínico (0,8 mmol) em um balão reacional seguido da adição de 10 mL de acetonitrila, solvente da reação, em um balão reacional de 50 mL, com a solubilização do substrato piridínico o cloreto ácido foi adicionado (1,6 mmol) à mistura reacional lentamente. Após realizada todas as adições pertinentes o balão foi acoplado ao condensador e a temperatura do banho elevada até 70 °C, assim

o sistema se manteve sob refluxo e agitação por 2 h. As reações foram finalizadas quando o perfil da CCD indicava o consumo completo da amina, pela adição de água gelada (100 mL) onde pôde ser verificado que alguns produtos precipitavam, enquanto outros não. Os produtos que precipitavam foram filtrados e lavados com solução de bicarbonato de sódio 20%, água destilada e posteriormente secos, já os produtos que não precipitavam foram submetidos à extração líquido-líquido com diclorometano (CH_2Cl_2) (3×15 mL), que após coletado teve os resquícios de água removidos por Na_2SO_4 anidro (q.s.p.), o solvente removido em rotaevaporador (40 °C). Mediante o procedimento descrito acima (**Tabela 12**) as amidas foram obtidas.

Tabela 12: Condição para obtenção das amidas do primeiro ao sexto bloco.

Reação	Substrato piridínico	Quantidade de substrato mg/mmol	Cloreto ácido	Quantidade de cloreto ácido $\mu\text{L}/\text{mmol}$	Produto esperado	Rendimento (%)
1	77	102/0,8	99	296,9 mg/1,6*	7	96,8
2	77	102/0,8	100	296,9 mg/1,6*	8	não obtido
3	77	102/0,8	101	296,9 mg/1,6*	9	79,8
4	77	102/0,8	102	211,6 /1,6	10	76,3
5	77	102/0,8	103	211,6 /1,6	11	65,2
6	77	102/0,8	104	211,6 /1,6	12	57,3
7	77	102/0,8	105	351,14 mg/1,6*	13	97,4
8	77	102/0,8	106	351,14 mg/1,6*	14	89,7
9	77	102/0,8	107	351,14 mg/1,6*	15	75,6
10	77	102/0,8	108	205,1/1,6	16	83,6
11	77	102/0,8	109	205,1/1,6	17	77,8
12	77	102/0,8	110	205,1/1,6	18	68,4
13	77	102/0,8	111	185,9/1,6	3	22,4
14	77	102/0,8	112	114,2/1,6	55	60,2
15	77	102/0,8	113	165,5/1,6	56	98,1
16	77	102/0,8	114	189,9/1,6	57	99,5
17	77	102/0,8	115	223,6/1,6	58	95,2
18	77	102/0,8	116	247,7/1,6	59	95,7
19	81	102/0,8	99	296,9 mg/1,6*	19	56,5
20	81	102/0,8	100	296,9 mg/1,6*	20	não obtido
21	81	102/0,8	101	296,9 mg/1,6*	21	42,4
22	81	102/0,8	102	211,6 /1,6	22	65,2
23	81	102/0,8	103	211,6 /1,6	23	54,2

* Reagentes sólidos

Nota: Os procedimentos de 1-72, foram realizados conforme descritos na metodologia, utilizando acetonitrila como solvente a 70 °C por 2 h.

Tabela 12: Condição para obtenção das amidas do primeiro ao sexto bloco continuação.

Reação	Substrato piridínico	Quantidade de substrato mg/mmol	Cloreto ácido	Quantidade de cloreto ácido $\mu\text{L}/\text{mmol}$	Produto esperado	Rendimento (%)
24	81	102/0,8	104	211,6 /1,6	24	50,2
25	81	102/0,8	105	351,14 mg/1,6*	25	93,9
26	81	102/0,8	106	351,14 mg/1,6*	26	84,5
27	81	102/0,8	107	351,14 mg/1,6*	27	49,8
28	81	102/0,8	108	205,1/1,6	28	95,1
29	81	30/0,23	109	205,1/1,6	29	88,7
30	81	30/0,23	110	205,1/1,6	30	76,4
31	81	30/0,23	111	185,9/1,6	4	60,0
32	81	30/0,23	112	114,2/1,6	60	85,1
33	81	30/0,23	113	165,5/1,6	61	98,7
34	81	30/0,23	114	189,9/1,6	62	95,7
35	81	30/0,23	115	223,6/1,6	63	97,4
36	81	30/0,23	116	247,7/1,6	64	96,1
37	78	30/0,23	99	71,21/0,46	31	99,6
38	78	70/0,43	100	71,21/0,46	32	não obtido
39	78	70/0,43	101	71,21/0,46	33	72,1
40	78	70/0,43	102	159,4 mg/0,86*	34	83,8
41	78	70/0,43	103	159,4 mg/0,86*	35	73,4
42	78	70/0,43	104	159,4 mg/0,86*	36	67,2
43	78	70/0,43	105	113,8/0,86	37	98,5
44	78	70/0,43	106	113,8/0,86	38	90,2
45	78	70/0,43	107	113,8/0,86	39	82,7
46	78	70/0,43	108	188,7 mg/0,86*	40	97,6

* Reagentes sólidos

Nota: Os procedimentos de 1-72, foram realizados conforme descritos na metodologia, utilizando acetonitrila como solvente a 70 °C por 2 h.

Tabela 12: Condição para obtenção das amidas do primeiro ao sexto bloco continuação.

Reação	Substrato piridínico	Quantidade de substrato mg/mmol	Cloreto ácido	Quantidade de cloreto ácido $\mu\text{L}/\text{mmol}$	Produto esperado	Rendimento (%)
47	78	70/0,43	109	188,7 mg/0,86*	41	87,3
48	78	30/0,23	110	188,7 mg/0,86*	42	71,9
49	78	70/0,43	111	110,3/0,86	5	59,5
50	78	70/0,43	112	101/0,86	65	16,3
51	78	70/0,43	113	61,36/0,86	66	23,6
52	78	70/0,43	114	88,96/0,86	67	77,4
53	78	70/0,43	115	102,1/0,86	68	45,3
54	78	70/0,43	116	120,6/0,86	69	42,4
55	82	70/0,43	99	159,4 mg/0,86*	43	69,9
56	82	70/0,43	100	159,4 mg/0,86*	44	não obtido
57	82	70/0,43	101	159,4 mg/0,86*	45	43,1
58	82	70/0,43	102	113,8/0,86	46	65,3
59	82	70/0,43	103	113,8/0,86	47	57,3
60	82	70/0,43	104	113,8/0,86	48	49,8
61	82	70/0,43	105	188,7 mg/0,86*	49	97,9
62	82	70/0,43	106	188,7 mg/0,86*	50	89,7
63	82	70/0,43	107	188,7 mg/0,86*	51	60,1
64	82	70/0,43	108	110,3/0,86	52	98,6
65	82	70/0,43	109	110,3/0,86	53	88,4
66	82	70/0,43	110	110,3/0,86	54	76,4
67	82	70/0,43	111	101/0,86	6	67
68	82	70/0,43	112	61,36/0,86	70	80,6
69	82	70/0,43	113	88,96/0,86	71	99,5

* Reagentes sólidos

Nota: Os procedimentos de 1-72, foram realizados conforme descritos na metodologia, utilizando acetonitrila como solvente a 70 °C por 2 h.

Tabela 12: Condição para obtenção das amidas do primeiro ao sexto bloco continuação.

Reação	Substrato piridínico	Quantidade de substrato mg/mmol	Cloreto ácido	Quantidade de cloreto ácido $\mu\text{L}/\text{mmol}$	Produto esperado	Rendimento (%)
70	82	70/0,43	114	102,1/0,86	72	97,1
71	82	70/0,43	115	120,6/0,86	73	98,5
72	82	70/0,43	116	133,14/0,86	74	95,7

* Reagentes sólidos

Nota: Os procedimentos de 1-72, foram realizados conforme descritos na metodologia, utilizando acetonitrila como solvente a 70 °C por 2 h.

Fonte: O autor.

A partir da metodologia descrita acima e pelas discussões já realizadas as amidas foram obtidas e caracterizadas conforme evidenciado pelos dados espectroscópicos anexados.

Amida 3: Sólido cristalino branco (22,4%), T.F: 99,8 °C, (IR regiões): 3296, 1653, 1515 e 1296 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,23 (*s*, 1H), 8,32 (*t*, 1H), 8,08 (*dd*, 1H), 8,00 (*dd*, 2H), 7,63(*tt*, 1H), 7,56 (*m*, 2H), 7,51 (*m*, 1H). ^{13}C RMN (DMSO) δ 147,13, 137,36, 133,98, 132,60, 129,06, 128,26, 123,96. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 233,0472

Amida 4: Sólido cristalino purpura (60%), T.F: 171,6 °C, (IR regiões): 3362, 1652, 1503 e 1280 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,58 (*s*, 1H), 8,80 (*t*, 1H), 8,25 (*dt*, 1H), 7,97 (*dd*, 2H), 7,61 (*t*, 1H), 7,54 (*m*, 2H), 7,50 (*d*, 1H). ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,57, 144,50, 142,12, 135,93, 134,65, 132,59, 131,48, 128,94, 128,21. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 233,0476

Amida 6: Sólido cristalino branco (67%), T.F: 113,7 °C, (IR regiões): 3317, 1680, 1531, e 1271 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,31 (*s*, 1H), 8,19 (*t*, 1H), 8,02 (*dt*, 1H), 7,64 (*m*, 2H), 7,56 (*m*, 2H). ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,13, 145,55, 145,36, 140,03, 133,74, 132,29, 129,03, 128,34, 124,35. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 267,0096

Amida 7: Sólido cristalino branco (96,8%), T.F: 174,5 °C, (IR regiões): 3395, 1689, 1522 e 1289 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,61, 8,39, 8,34, 8,21, 8,09, 7,52. ^{13}C RMN (DMSO) δ 164,62 149,88, 147,63, 146,86, 139,52, 137,59, 132,02, 129,77, 124,03. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 278,0325. Espectros **16-19**, vide anexo.

Amida 13: Sólido cristalino branco (97,4%), T.F: 156,8 °C, (IR regiões): 3290, 1678, 1515 e 1297 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,33 8,33, 8,08, 7,95, 7,77, 7,50. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,22, 147,25, 149,79, 137,35, 132,14, 131,73, 130,36, 123,93, 123,70. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,9589. Espectros **20-23**, vide anexo.

Amida 16: Sólido cristalino branco (83,6%), T.F: 149,8 °C, (IR regiões): 3295, 1657, 1522 e 1278 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,45 8,33, 8,07, 7,90, 7,63, 7,50. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,11, 147,25, 146,95, 137,49, 132,46, 131,40, 130,22, 129,11, 123,92. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 267,0088. Espectros **24-27**, vide anexo.

Amida 8: Produto não obtido

Amida 14: Sólido cristalino branco (89,7%), T.F: 107,9 °C, (IR regiões): 3441, 1670, 1513, 1280 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,40, 8,32, 8,15, 8,04, 7,97, 7,81, 7,50, 7,46. ^{13}C RMN (DMSO) δ 164,75, 147,43, 146,92, 137,63, 136,03, 135,32, 133,46, 132,17, 131,35, 130,84, 127,35, 123,98. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,9585. Espectros **28-31**, vide anexo.

Amida 17: Sólido cristalino branco (77,8%), T.F: 102,8 °C, (IR regiões): 3421, 1677, 1521, 1278 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,40, 8,33, 8,05, 8,02, 7,94, 7,89, 7,68, 7,51. ^{13}C RMN (DMSO) δ 164,83, 147,43, 146,96, 137,63, 135,92, 133,84, 133,15, 132,40 131,07, 129,27, 126,99, 123,98. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 267,0088. Espectros **32-35**, vide anexo.

Amida 9: Sólido cristalino marrom (79,8%), T.F: 158,6 °C, (IR regiões): 3238, 1515, 1448, 1345 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,61, 8,41, 8,31, 8,20, 7,91, 7,80, 7,73, 7,54. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,60, 151,46, 146,92, 140,41, 134,75, 132,40, 131,92, 129,72, 127,80, 125,05, 124,74, 124,03. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 278,0331. Espectros **36-39**, vide anexo.

Amida 15: Sólido cristalino branco (75,6%), T.F: 123,4 °C, (IR regiões): 3273, 1662, 1515, 1292 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,48, 8,30, 8,16, 7,72, 7,62, 7,50, 7,43. ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,96, 146,391, 145,70, 138,71, 136,26, 133,29, 132,32, 131,90, 129,54, 128,10, 123,89, 119,58. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,9587. Espectros **40-43**, vide anexo.

Amida 18: Sólido cristalino branco (68,4%), T.F: 114,6 °C, (IR regiões): 3282, 1664, 1525, 1280 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,45, 8,32, 8,17, 7,65, 7,59, 7,51, 7,40. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,99, 150,83, 149,59, 147,04, 136,41, 134,68, 132,86, 131,96, 130,22, 129,59, 127,11, 123,93. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 267,0086. Espectros **44-47**, vide anexo.

Amida 19: Sólido cristalino roxo (56,5%), T.F: 223,9 °C, (IR regiões): 3488, 1657, 1520, 1298 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,90, 8,80, 8,39, 8,24, 8,19, 7,55. ^{13}C

RMN (DMSO) δ 164,72, 149,87, 144,93, 142,10, 140,06, 135,55, 131,53, 129,79, 124,09. EM-IES $[M+H]^+$ 278,0326. Espectros **48-51**, vide anexo.

Amida 22: Sólido cristalino roxo (65,2%), T.F: 180,4 °C, (IR regiões): 3335, 1653, 1517, 1289 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,54, 8,85, 8,31, 7,94, 7,56, 7,41, 2,43. ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,41, 144,34, 142,91, 141,96, 136,08, 131,80, 131,30, 128,25, 124,52. EM-IES $[M+H]^+$ 310,9586. Espectros **52-55**, vide anexo.

Amida 28: Sólido cristalino roxo (95,1%), T.F: 190,7 °C, (IR regiões): 3223, 1665, 1514, 1277 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,60, 8,79, 8,24, 7,92, 7,57, 7,46. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,22, 144,62, 141,93, 138,25, 137,41, 135,75, 133,12, 131,55, 124,43. EM-IES $[M+H]^+$ 267,0091. Espectros **56-59**, vide anexo.

Amida 20: O produto não foi obtido

Amida 23: Sólido cristalino rosa (54,2%), T.F: 154,5 °C, (IR regiões): 3342, 1645, 1498, 1289 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,55, 8,81, 8,26, 7,78, 7,50, 7,43. ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,51, 144,38, 141,98, 138,30, 136,04, 134,51, 133,05, 131,23, 128,82, 128,64, 125,40, 125,49, 21,59. EM-IES $[M+H]^+$ 247,0638. Espectros **60-63**, vide anexo.

Amida 29: Sólido cristalino rosa (88,7%), T.F: 161,8 °C, (IR regiões): 3318, 1648, 1510, 1268 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 8,78, 8,25, 8,04, 7,93, 7,69, 7,58, 7,51. ^{13}C RMN (DMSO) δ 164,97, 144,59, 142,07, 136,57, 135,85, 133,71, 132,20, 131,49, 130,98, 128,00, 127,07, 124,60. EM-IES $[M+H]^+$ 267,0087. Espectros **64-67**, vide anexo.

Amida 21: Sólido cristalino rosa salmão (42,4%), T.F: 178,4 °C, (IR regiões): 3273, 1510, 1457, 1345 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 11,07, 8,68, 8,18, 7,90, 7,81, 7,54. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,13, 146,85, 144,82, 141,22, 135,63, 134,76, 132,33, 131,90, 130,67, 129,74, 124,94. EM-IES $[M+H]^+$ 278,0337. Espectros **68-71**, vide anexo.

Amida 24: Sólido cristalino rosa salmão (50,2%), T.F: 105,2 °C, (IR regiões): 3303, 1658, 1515, 1285 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,68, 8,78, 7,51, 7,42, 7,32, 2,40. ^{13}C RMN (DMSO) δ 163,21, 144,34, 141,89, 141,32, 136,64, 136,00, 134,48, 132,66, 131,80, 130,56, 127,83, 124,64. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 247,0629. Espectros **72-75**, vide anexo.

Amida 30: Líquido rosa salmão (76,4%), (IR regiões): 3289, 1670, 1518, 1270 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,90, 8,73, 8,20, 7,64, 7,59, 7,54, 7,48. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,86, 144,67, 141,24, 136,53, 135,65, 132,98, 132,01, 130,38, 129,47, 127,80, 124,82. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 267,0089. Espectros **76-79**, vide anexo.

Amida 31: Sólido cristalino branco (99,6%), T.F: 235,4 °C, (IR regiões): 3254, 1701, 1513, 1293 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 11,32, 8,42, 8,29, 8,19, 8,13, 7,94. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,11, 150,96, 146,82, 139,96, 138,40, 136,84, 131,14, 130,05, 123,81, 116,26. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 278,0336. Espectros **80-83**, vide anexo.

Amida 34: Sólido cristalino branco (83,8%), T.F: 113,2 °C, (IR regiões): 3267, 1674, 1531, 1284 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,87, 8,41, 8,27, 7,97, 7,86, 7,28, 2,35. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,94, 146,76, 138,31, 133,45, 132,13, 131,83, 130,43, 126,40 116,27. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 247,0650. Espectros **84-87**, vide anexo.

Amida 37: Sólido cristalino branco (98,5%), T.F: 185,1 °C, (IR regiões): 3241, 1670, 1519, 1293 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 11,07, 8,42, 8,21, 7,94, 7,86, 7,69. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,94, 146,76, 138,31, 133,45, 132,14, 131,72, 127,33, 126,13, 116,27. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,9586. Espectros **88-91**, vide anexo.

Amida 32: Produto não obtido

Amida 35: Sólido cristalino branco (73,4%), T.F: 99,7 °C, (IR regiões): 3310, 1680, 1519, 1283 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,87, 8,42, 8,22, 7,93, 7,84, 7,80, 7,76, 7,39, 2,37. ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,61, 151,28, 146,76, 138,25, 133,91, 133,15, 131,16, 129,01, 128,73, 126,90, 125,62, 116,21, 21,31. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 247,0632. Espectros **92-95**, vide anexo.

Amida 38: Sólido cristalino branco (90,2%), T.F: 158,4 °C, (IR regiões): 3421, 1675, 1520, 1279 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 11,11, 8,43, 8,19, 8,03, 7,93, 7,81, 7,46. ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,48, 151,13, 146,81, 138,32, 136,03, 133,58, 132,21, 131,38, 128,71, 127,63, 126,34, 116,32. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,9583. Espectros **96-99**, vide anexo.

Amida 33: Sólido cristalino branco (72,1%), T.F 140,2 °C, (IR regiões): 3175, 1519, 1461, 1350 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 11,42, 8,16, 7,96, 7,85, 7,79, 7,75. ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,51, 150,88, 147,03, 138,63, 135,53, 134,73, 133,60, 132,90, 131,82, 130,32, 129,89, 127,73, 115,67. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 278,0332. Espectros **100-103**, vide anexo.

Amida 36: Sólido cristalino branco (67,2%), T.F: 107,9 °C, (IR regiões): 3269, 1671, 1513, 1277 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,96, 8,39, 8,25, 7,94, 7,82, 7,48, 7,42, 2,52. ^{13}C RMN (DMSO) δ 169,27, 151,17, 146,88, 139,43, 138,31, 136,59, 135,98, 131,92, 130,44, 128,06, 126,27, 115,81, 21,79. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 247,0629. Espectros **104-107**, vide anexo.

Amida 39: Sólido cristalino branco (82,7%), T.F: 148,1 °C, (IR regiões): 3267, 1682, 1521, 1288 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 11,22, 8,41, 8,23, 7,97, 7,69, 7,55, 7,48, 7,41. ^{13}C RMN (DMSO) δ 167,21, 150,85, 147,04, 138,94, 133,70, 131,80, 129,73, 128,14, 126,40, 125,29, 119,41, 115,76. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,9585. Espectros **108-111**, vide anexo.

Amida 43: Sólido cristalino branco (69,9%), T.F: 212,2 °C, (IR regiões): 3384, 1691, 1517, 1291 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,69, 8,39, 8,21, 8,17, 7,66. ^{13}C RMN (DMSO) δ 164,98, 150,06, 146,25, 145,61, 140,37, 139,42, 131,80, 130,05, 124,33. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 310,9591. Espectros **112-115**, vide anexo.

Amida 49: Sólido cristalino branco (97,9%), T.F: 176,1 °C, (IR regiões): 3425, 1689, 1521, 1294 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,38, 8,15, 7,94, 7,76, 7,63. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,30, 145,70, 145,41, 140,10, 132,87, 131,77, 130,42, 127,36, 124,41. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 344,9195. Espectros **116-117**, vide anexo.

Amida 52: Sólido cristalino branco (98,6%), T.F: 185,6 °C, (IR regiões): 3420, 1677, 1521, 1294 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,37, 8,15, 8,01, 7,93, 7,61. ^{13}C RMN (DMSO) δ 165,14, 145,69, 145,35, 139,99, 138,27, 137,64, 132,45, 131,55, 130,07, 124,33. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 300,9709. Espectros **118-121**, vide anexo.

Amida 44: Produto não obtido

Amida 50: Sólido cristalino branco (89,7%), T.F: 143,1 °C, (IR regiões): 3303, 1659, 1514, 1275 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,61, 8,19, 8,14, 8,03, 8,00, 7,65, 7,52, 7,39. ^{13}C RMN (DMSO) δ 164,75, 145,89, 145,74, 140,45, 135,93, 135,43, 134,36, 132,21, 131,37, 130,79, 127,57, 122,28. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 344,9201. Espectros **124-127**, vide anexo.

Amida 53: Sólido cristalino branco (88,4%), T.F: 159,2 °C, (IR regiões): 3289, 1671, 1520, 1290 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,47, 8,14, 8,03, 7,95, 7,72, 7,66, 7,60. ^{13}C RMN (DMSO) δ 164,82, 145,89, 145,60, 140,41, 135,74, 133,87, 132,55, 132,07, 131,11, 128,10, 127,11, 124,42. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 300,9702. Espectros **128-131**, vide anexo.

Amida 45: Sólido cristalino branco (43,1%), T.F: 166,0 °C, (IR regiões): 3207, 1519, 1454, 1347 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,72, 8,29, 8,20, 7,91, 7,80, 7,67. ^{13}C RMN (DMSO) δ 163,62, 144,62, 142,98, 141,15, 136,12, 133,69, 132,74, 130,11, 129,67, 127,68, 122,05, 122,48. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 311,9934. Espectros **132-135**, vide anexo.

Amida 51: Sólido cristalino branco (60,1%), T.F: 185,2 °C, (IR regiões): 3301, 1680, 1512, 1281 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,55, 8,25, 7,73, 7,66, 7,61, 7,52, 7,45. ^{13}C RMN (DMSO) δ 167,21, 145,61, 144,34, 138,94, 138,31, 133,38, 132,27, 131,69, 129,73, 128,30, 124,49, 119,57. EM-IES $[\text{M}+\text{H}]^+$ 344,9200. Espectros **136-139**, vide anexo.

Amida 54: Sólido cristalino branco (76,4%), T.F: 178,0 °C, (IR regiões): 3298, 1694, 1517, 1278 cm^{-1} . ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10,57, 8,25, 7,65, 7,58, 7,54, 7,48. ^{13}C RMN (DMSO) δ 166,12, 145,15, 144,13, 139,01, 136,20, 131,95, 131,91, 130,57,

130,23, 129,69, 127,69, 127,40. EM-IES $[M+H]^+$ 300,9691. Espectros **140-443**, vide anexo.

Tabela 13: Dados espectroscópicos das amidas alifáticas **55-74**.

Amida	Asp. físico	R (%)	T.F (°C)	m/z	IR	¹ H δ	¹³ C δ	Espectros
55	Líq. verde claro	60,2	Líquido	171,0326	3344, 1688, 1503, 1297	9,68, 8,19, 7,40, 2,14	169,57, 145,54, 143,39, 134,36, 132,59, 123,70, 23,96	144-147
56	Produto não obtido.							
57	Produto não obtido.							
58	Líq. amarronzado	95,2	Líquido	227,0952	3309, 1706, 1510, 1299	9,57, 8,18, 7,39, 2,17, 1,48, 1,26, 0,84	172,51, 145,49, 134,35, 132,53, 36,18, 34,09, 31,25, 25,21, 24,29, 14,22	148-151
59	Líq. amarronzado	95,7	Líquido	241,11,09	3303, 1710, 1501, 1292	9,59, 8,18, 7,40, 2,18, 1,48, 1,28, 0,85	172,64, 145,68, 143,69, 134,55, 132,56, 34,10, 31,64, 28,83, 25,55, 22,62, 14,29	152-155
60	Produto descrito no texto.							
61	Sól. roxo	98,7	124,9	199,0635	3288, 1684, 1517, 1274	10,25, 8,60, 8,08, 7,44, 2,31, 1,61, 0,90	172,29, 143,86, 140,85, 135,93, 130,05, 124,65, 33,58, 18,89, 14,13	160-163
62	Produto descrito no texto.							
63	Sól. roxo	97,4	53,4	227,0946	3246, 1659, 1513, 1273	10,26, 8,60, 8,08, 7,45, 2,33, 1,59, 1,29, 0,87	172,29, 143,71, 140,69, 136,08, 129,89, 124,49, 36,68, 31,60, 24,93, 22,23, 14,29	164-167
64	Sól. roxo	96,1	-	241,1101	3246, 1677, 1528, 1279	10,26, 8,59, 8,09, 7,44, 2,32, 1,57, 1,25, 0,84	172,45, 143,41, 140,69, 136,24, 130,21, 124,81, 36,84, 31,44, 28,74, 25,40, 24,90, 22,54, 14,60	168-171

Tabela 13: Dados espectroscópicos das amidas alifáticas 55-74 continuação.

Amida	Asp. físico	R (%)	T.F (°C)	m/z	IR	¹ H δ	¹³ C δ	Espectros
64	Sól. roxo	96,1	-	241,1101	3246, 1677, 1528, 1279	10,26, 8,59, 8,09, 7,44, 2,32, 1,57, 1,25, 0,84	172,45, 143,41, 140,69, 136,24, 130,21, 124,81, 36,84, 31,44, 28,74, 25,40, 24,90, 22,54, 14,60	168-171
65	Sól. branco	16,3	166,2	171,0323	3336, 1670, 1526, 1297	10,66, 8,34, 8,11, 7,85, 2,09	169,91, 151,33, 146,56, 138,31, 125,29, 114,96, 24,29	172-175
66	Sól. branco	23,6	114,8	199,0635	3290, 1692, 1522, 1272	10,59, 8,34, 8,14, 7,86, 2,37, 1,60, 0,90	172,77, 151,33, 146,89, 138,15, 125,29, 114,81, 38,43, 19,06, 14,13	176-179
67	Sól. branco	77,4	114,1	213,0800	3270, 1666, 1517, 1301	10,60, 8,31, 8,14, 7,84, 2,38, 1,54, 1,28, 0,85	177,77, 51,33, 146,72, 138,31, 125,29, 115,07, 36,23, 27,49, 22,23, 14,14	180-183
68	Sól. branco	45,3	117,5	227,0946	3263, 1683, 1511, 1304	10,59, 8,33, 8,14, 7,85, 2,37, 1,56, 1,26, 0,84	172,92, 151,33, 146,73, 138,31, 125,29, 114,81, 36,68, 31,44, 25,24, 22,23, 14,45	184-187
69	Sól. branco	42,4	92,1	241,1104	3286, 1692, 1514, 1289	10,60, 8,30, 8,14, 7,82, 2,37, 1,55, 1,22, 0,82	172,77, 151,33, 146,73, 138,31, 125,13, 114,97, 36,84, 31,44, 28,90, 25,41, 22,55, 14,45	188-191
70	Sól. marfim	80,6	101,9	204,9935	3267, 1670, 1525, 1284	8,23, 7,54, 2,13	169,91, 143,86, 137,20, 132,27, 124,33, 23,81	192-195
71	Sól. marfim	99,5	56,6	233,0259	3267, 1675, 1514, 1279	9,70, 8,23, 7,53, 2,41, 1,61, 0,94	172,45, 143,86, 137,35, 132,11, 124,17, 38,11, 19,05, 13,97	196-199

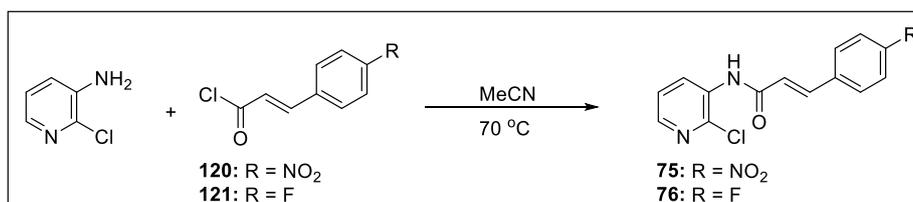
Tabela 13: Dados espectroscópicos das amidas alifáticas **55-74** continuação.

Amida	Asp. físico	R (%)	T.F (°C)	m/z	IR	¹ H δ	¹³ C δ	
72	Sól. marfim	97,1	51,2	247,0400	3280, 1680, 1520, 1289	9,64, 8,11, 7,44, 2,31, 1,46, 0,78	172,45, 143,86, 137,20, 132,27, 124,17, 35,77, 27,48, 22,04, 14,11	200-203
73	Sól. marfim	98,5	50,7	261,0560	3254, 1645, 1530, 1264	9,72, 8,25, 7,55, 2,42, 1,60, 1,29, 0,86	172,61, 143,86, 137,20, 132,27, 124,02, 36,04, 31,44, 25,40, 22,23, 14,13	204-207
74	Sól. marfim	95,7	46,9	275,0721	3259, 1690, 1522, 1275	9,80, 8,23, 7,51, 2,41, 1,57, 1,26, 0,83	172,77, 144,02, 137,04, 123,43, 124,17, 36,04, 31,47, 28,68, 25,39, 22,44, 14,25	208-211

6.4.2. CLORETOS DE ÁCIDO DERIVADOS DO ÁCIDO CINÂMICO

Conforme salientado, na introdução, as características aromáticas dos anéis benzênicos presentes nas estruturas das amidas preparadas foram essenciais para a atividade, em adição a isso, está o fato de que as amidas contendo cadeias alifáticas no lugar do benzeno apresentaram verificada atividade contra a invasão do parasita no interior da célula. Assim, foi proposta a síntese de amidas que além do caráter aromático, houvesse também uma maior flexibilidade vista na molécula. Com esse ponto definido novamente, foi realizada a síntese dessas amidas a partir da reação entre as aminas (**83**, **84**, **87** e **88**) com derivados de ácido cinâmico (**120** e **121**). Essas reações foram realizadas seguindo o mesmo protocolo reacional discutido para as amidas sintetizadas a partir dos cloretos derivados do ácido benzoico, um esquema geral para a formação dessas amidas pode ser mostrado (**Figura 93**).

Figura 93: Síntese das amidas a partir dos derivados de ácido cinâmico.



Fonte: O autor.

Metodologia geral: O procedimento para obtenção dos derivados cinamoílicos consistiu na adição de 102,0 mg do substrato piridínico (0,8 mmol) em um balão reacional seguido da adição de 10 mL de acetonitrila, solvente da reação, em um balão reacional de 50 mL, com a solubilização do substrato piridínico o cloreto ácido foi adicionado (1,6 mmol) à mistura reacional lentamente. Após realizada todas as adições pertinentes o balão foi acoplado ao condensador e a temperatura do banho elevada até 70 °C, assim o sistema se manteve sob refluxo e agitação por 2 h. As reações foram finalizadas quando o perfil da CCD indicava o consumo completo da amina, pela adição de água gelada (100 mL) onde pôde ser verificado que alguns produtos precipitavam, enquanto outros não. Os produtos que precipitavam foram filtrados e lavados com solução de bicarbonato de sódio 20%, água destilada e posteriormente secos, já os produtos que não precipitavam foram submetidos à extração líquido-líquido com diclorometano (CH₂Cl₂) (3 × 15 mL), que após coletado teve os resquícios de água

removidos por Na₂SO₄ anidro (q.s.p.), o solvente removido em rotaevaporador (40 °C). Os produtos foram obtidos e requerem etapas de purificação.

6.5. AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE

Com a obtenção das moléculas, foram selecionadas algumas delas para a realização dos ensaios biológicos, nesse sentido, sendo *N. caninum* um organismo obrigatoriamente intracelular, o mais racional a ser realizado é a avaliação da citotoxicidade das amidas selecionadas contra a célula hospedeira. Nesse sentido o protocolo para avaliar a toxicidade desses compostos foi realizado de forma que as células de fibroblastos NIH/3T3, foram cultivadas em garrafas plásticas de cultura celular de 75cm² em meio RPMI completo (10% de Soro Fetal Bovino, 20mM de HEPES, 100U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina). As células foram mantidas a 37°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade. Subculturas (repiques) foram realizadas de três a cinco dias, quando foi realizada a contagem das células viáveis pela metodologia de exclusão por corante vital azul de tripan (0,4% p/v).

As células foram então incubadas (37°C, 5% de CO₂, 24 horas) em placa de 96 poços, em concentração ajustada para 1x10⁵ células/poço em meio RPMI completo, para aderência aos poços. Após o período de incubação, o meio dos poços foi esgotado e adicionado os compostos testes diluídos em RPMI completo nas concentrações de 600 a 30µg/mL. As culturas de células permaneceram expostas as drogas durante 24 horas (37°C, 5% de CO₂). Após o período de incubação, os poços foram esgotados, e foi adicionada solução MTT (Sigma Aldrich Co, EUA) 50µg/poço. As placas foram incubadas por 1 hora e 30 minutos (37°C, 5% de CO₂). Passado esse período foi adicionado DMSO para solubilizar os cristais de formazana gerados, e as placas foram submetidas à leitura em espectrofotômetro (570nm) (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005).

6.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA

Mediante a avaliação da toxicidade dessas amidas que foram selecionadas, aquelas que apresentaram baixa toxicidade, em uma janela terapêutica segura foram selecionadas para prosseguir com sua avaliação, neste momento como antiparasitários, ou seja, a ação dessas moléculas na sobrevivência de *N. caninum*. Nesse sentido, esses compostos

foram empregados a fim de verificar sua ação sobre esse parasita, esses ensaios foram realizados visando a avaliação da invasão desses microrganismos ao interior da célula, etapa fundamental em sua manutenção e conseqüente sobrevivência. A atividade antiparasitária das amidas foi verificada na infecção *in vitro* por *N. caninum* seguindo os protocolos de Oliveira et al. As células NIH foram cultivadas em lamínulas de vidro redondo de 13 mm em placas de 24 poços (1×10^5 células/poço/200 μ L) por 24h a 37 °C e 5% de CO₂. Os taquizoítos de *Neospora caninum* (cepa RH) foram obtidos de células NIH previamente infectadas, lavadas em meio RPMI e pré-tratadas por 1 h a 37° C e 5% de CO₂ na presença das amidas em uma concentração estabelecida de 30 μ g/mL ou apenas com meio (controle). Em seguida, os parasitas foram lavados e incubados com monocamadas de células NIH em lamelas a uma taxa de infecção de 2:1 (parasita: célula hospedeira) (2×10^5 taquizoítos/poço/200 μ L) por 24h a 37 °C e 5% de CO₂. As células foram lavadas com NaCl 0,9% para remover os parasitas não aderentes, fixadas em formol tamponado a 10% por 2h e coradas com azul de toluidina 1% (Sigma-Aldrich) por 5s. As lamínulas foram montadas em lâminas de vidro e as células foram examinadas ao microscópio de luz com relação ao índice de infecção por *N. caninum* (porcentagem de células infectadas por 100 células examinadas) e replicação intracelular do parasita (número médio de parasitas por célula em 100 células infectadas). Os resultados foram expressos como porcentagens de inibição da infecção e da replicação intracelular do parasita para cada tratamento em relação aos controles.

7. Referências:

Associação brasileira das indústrias exportadoras de carnes (ABIEC). Perfil da pecuária no Brasil. **BEEF REPORT**, 2021.

ABDULAI-SAIKU, S.; TONG, W. H.; VYAS, A. Behavioral Manipulation by *Toxoplasma gondii*: Does Brain Residence Matter? **Trends in Parasitology**. Elsevier Ltd, , 1 maio 2021. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.12.006>

AGNELLO, S. et al. A Structural View on Medicinal Chemistry Strategies against Drug Resistance. **Angewandte Chemie - International Edition**Wiley-VCH Verlag, , 11 mar. 2019. <https://doi.org/10.1002/anie.201802416>

AL-BAJALAN, M. M. M. et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* induce different host cell responses at proteome-wide phosphorylation events; a step forward for uncovering the biological differences between these closely related parasites. **Parasitology Research**, v. 116, n. 10, p. 2707–2719, 1 out. 2017. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-017-5579-7>

AMDOUNI, Y. et al. First molecular detection and phylogenetic analysis of *Neospora caninum* DNA from naturally infected goats in Northwest Tunisia. **Acta Parasitologica**, v. 63, n. 4, p. 709–714, 1 dez. 2018. <https://doi.org/10.1515/ap-2018-0083>

ANDRICOPULO, A. D.; SALUM, L. B.; ABRAHAM, D. J. Structure-Based Drug Design Strategies in Medicinal Chemistry. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. 2009. <https://doi.org/10.2174/156802609789207127>

BAI, X. F. et al. Aromatic amide-derived non-biaryl atropisomers as highly efficient ligands in silver-catalyzed asymmetric cycloaddition reactions. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 17, p. 5255–5259, 20 abr. 2015. <https://doi.org/10.1002/anie.201501100>

BARGIERI, D. et al. Host Cell Invasion by Apicomplexan Parasites: The Junction Conundrum. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 9, 1 set. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004273>

BARNES, A. N. et al. A systematic review of zoonotic enteric parasitic diseases among nomadic and pastoral people. **PLoS ONE**. Public Library of Science, 1 nov. 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188809>

BARREIRO, E. J.; ALBERTO MANSSOUR FRAGA, C. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 2015.

BECK, H. P. et al. Molecular approaches to diversity of populations of apicomplexan parasites. **International Journal for Parasitology**. 15 jan. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.10.001>

- BJERKFIS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift Z Parasitenkd.** 1984. <https://doi.org/10.1007/bf00942230>
- BOELSTERLI, U. A. et al. Bioactivation and hepatotoxicity of nitroaromatic drugs. **Current Drug Metabolism**, n. 7, p. 715 – 727, 2006. <https://doi.org/10.2174/138920006778520606>
- BUTTERS, C.; YEOH, D. K.; CURTIS, N. Parasites in human stool: To ignore or not to ignore? **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 38, n. 6S, p. S47–S51, 1 jun. 2019. <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000002323>
- CAPELA, R.; MOREIRA, R.; LOPES, F. An overview of drug resistance in protozoal diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. **MDPI**, 2 nov. 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20225748>
- CARADONNA, T. et al. Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. **Food Microbiology**, v. 67, p. 67–75, 1 out. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.06.006>
- CHHABRA, N.; ASERI, M. L., PADMANABHAN, D. A review of drug isomerism and its significance. **International Journal of Applied and Basic Medical Research**, v. 3, 2013. <https://doi.org/10.4103/2229-516X.112233>
- CHÁVEZ-RUVALCABA, F. et al. Review Foodborne Parasitic Diseases in the Neotropics-a review. **HELMINTHOLOGIA**, v. 58, p. 119–133, 2021. <https://doi.org/10.2478/helm-2021-0022>
- CIAPETTI, P; GIETHLEN, B. Molecular variations based on isosteric replacement, 2018.
- CLAUDIO VIEGAS-JUNIOR; ELIEZER J. BARREIRO; CARLOS ALBERTO MANSSOUR FRAGA. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 17, p. 1829–1852, 30 jun. 2007. <https://doi.org/10.2174/092986707781058805>
- CLAYDEN, J. Atropisomers and near-atropisomers: achieving stereoselectivity by exploiting the conformational preferences of aromatic amides. **Chemical Communications**, v. 4, n. 2, p. 127–135, 2004. <https://doi.org/10.1039/b307976g>
- CLAYDEN, Jonathan; GREEVES, Nick; WARREN, Stuart. **Organic chemistry**. Oxford university press, 2012.
- COLES, G. C. The future of veterinary parasitologyVeterinary. **Parasitology**. 2001. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00421-6](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00421-6)
- COX, F. E. G. **History of human parasitology**. **Clinical Microbiology Reviews**, out. 2002. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.4.595-612.2002>
- CRUZ-BUSTOS, T. et al. Sexual development in non-human parasitic apicomplexa: Just biology or targets for control? **Animals MDPI**, 1 out. 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11102891>

DAGEN, M. History of malaria and its treatment. **Antimalarial Agents**. Elsevier, 2020. p. 1–48. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101210-9.00001-9>

DE OLIVEIRA KOCH, M. et al. Detection of Neospora caninum and Toxoplasma gondii in semen of naturally infected rams. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, 2019. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.92090>

DEBACHE, K. et al. Experimental treatment of Neospora caninum-infected mice with the arylimidamide DB750 and the thiazolide nitazoxanide. **Experimental Parasitology**, v. 129, n. 2, p. 95–100, out. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.07.010>

Decker, M. **Design of Hybrid Molecules for Drug Development**, 2017.

DEVLEESSCHAUWER, B. et al. Risk ranking of foodborne parasites: State of the art. Food and Waterborne. **Parasitology Elsevier Inc**, 1 set. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2017.11.001>

DOS SANTOS, A. P. DE A. et al. Antiprotozoal action of synthetic cinnamic acid analogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 6, p. 849–853, 1 nov. 2018. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0499-2017>

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in sheep-The last 20 years. **Veterinary Parasitology**, 7 jul. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.02.026>

DUBEY, J. P. et al. Economic and public health importance of Toxoplasma gondii infections in sheep: 2009–2020. **Veterinary Parasitology Elsevier**, 1 out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109195>

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and Neospora caninum. **Clinical Microbiology Reviews**, abr. 2007. <https://doi.org/10.1128/cmr.00031-06>

DUE-HANSEN, M. E. et al. A protocol for amide bond formation with electron deficient amines and sterically hindered substrates. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 14, n. 2, p. 430–433, 2016. <https://doi.org/10.1039/c5ob02129d>

EEL; TONY. **Center for Global Health Division of Parasitic Diseases and Malaria**. 2020. Disponível em: <www.cdc.gov/parasites/>.

EL-SAYED, A.; KAMEL, M. Climatic changes and their role in emergence and re-emergence of diseases. **Environmental Science and Pollution Research Springer**, 1 jun. 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08896-w>

ERLER, H. et al. The intracellular parasite Toxoplasma gondii harbors three druggable FNT-type formate and L-lactate transporters in the plasma membrane. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 45, p. 17622–17630, 2018. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra118.003801>

ESPOSITO, M. et al. In vitro efficacies of nitazoxanide and other thiazolides against Neospora caninum tachyzoites reveal antiparasitic activity independent of the nitro group. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 9, p. 3715–3723, set. 2005. <https://doi.org/10.1128/aac.49.9.3715-3723.2005>

ESPOSITO, M.; MÜLLER, N.; HEMPHILL, A. Structure-activity relationships from in vitro efficacies of the thiazolide series against the intracellular apicomplexan protozoan *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 2, p. 183–190, fev. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.10.009>

FISCHER, W. W.; HEMP, J.; JOHNSON, J. E. Evolution of Oxygenic Photosynthesis. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences Annual Reviews Inc.**, 29 jun. 2016. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-060313-054810>

FITZPATRICK, J. L. Global food security: The impact of veterinary parasites and parasitologists. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 3–4, p. 233–248, 1 ago. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.005>

FRAGA, C. A. M. Drug hybridization strategies: Before or after lead identification. **Expert Opinion on Drug Discovery**, jun. 2009. <https://doi.org/10.1517/17460440902956636>

GAILLARD, N. et al. Inhibiting parasite proliferation using a rationally designed anti-tubulin agent. **EMBO Molecular Medicine**, v. 13, n. 11, 8 nov. 2021. <https://doi.org/10.15252/emmm.202013818>

GARCÍA-SÁNCHEZ, M. et al. Gene Expression Profiling of *Neospora caninum* in Bovine Macrophages Reveals Differences Between Isolates Associated With Key Parasite Functions. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 15 out. 2019. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00354>

GURBOGA, M. et al. Identification of benzamide inhibitors of histone deacetylase 1 from *Babesia* and *Theileria* species via high-throughput virtual screening and molecular dynamics simulations. **Parasitology Research**, v. 120, p. 2175–2187, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07158-z>

GUTIÉRREZ-EXPÓSITO, D. et al. Direct economic losses of *Toxoplasma gondii* abortion outbreaks in two Spanish sheep flocks. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 26, 1 dez. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100623>

HAJARE, S. T. et al. Prevalence of Intestinal Parasite Infections and Their Associated Factors among Food Handlers Working in Selected Catering Establishments from Bule Hora, Ethiopia. **BioMed Research International**, v. 2021, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6669742>

HASSANAIN, N. A. et al. Public health importance of foodborne pathogens. **World Journal of Medical Sciences**, v. 9, n. 4, p. 208–222, 2013. <http://10.5829/idosi.wjms.2013.9.4.8177>

HENRY, G. D. De novo synthesis of substituted pyridines. **Tetrahedron**, 12 jul. 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2004.04.043>

HOTEZ, P. J. Human Parasitology and Parasitic Diseases: Heading Towards 2050. **Advances in Parasitology**. Academic Press, 2018. v. 100p. 29–38. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2018.03.002>

- HUGHES, H. P. A. How important is Toxoplasmosis? Toxoplasmosis-a neglected disease. **Parasitology today**, v. 1, p. 41-44, 1985.
- HUGHES, J. P. et al. Principles of early drug discovery. **British Journal of Pharmacology**, mar. 2011. <https://doi.org/10.1111%2Fj.1476-5381.2010.01127.x>
- HUMPHREY, J. M.; CHAMBERLIN, A. R. Chemical Synthesis of Natural Product Peptides: Coupling Methods for the Incorporation of Noncoded Amino Acids into Peptides. **Chemical reviews**, v. 97, p. 2243-2266, 1997. <https://doi.org/10.1021/cr950005s>
- JONES, J. L.; PARISE, M. E.; FIORE, A. E. Neglected parasitic infections in the United States: Toxoplasmosis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 2014. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0722>
- KALTUNGO, B. Y.; MUSA, I. W. A Review of Some Protozoan Parasites Causing Infertility in Farm Animals. **ISRN Tropical Medicine**, v. 2013, p. 1-6, 4 dez. 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/782609>
- KATRIS, N. J. et al. The Apical Complex Provides a Regulated Gateway for Secretion of Invasion Factors in Toxoplasma. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 4, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004074>
- KERBOEUF, D.; RIOU, M.; GUÉGNARD, F. Flavonoids and Related Compounds in Parasitic Disease Control. **Reviews in Medicinal Chemistry**, 2008. <https://doi.org/10.2174/138955708783498168>
- KHUNNAWUTMANOTHAM, N. et al. Molecules novel 2-Chloro-8-arylthiomethyldipyridodiazepinone derivatives with activity against hiv-1 reverse transcriptase. **Molecules**, 2018. <https://doi.org/10.3390/12020218>
- KOCHANOWSKY, J. A.; KOSHY, A. A. Toxoplasma gondii. **Current Biology Cell Press**, 23 jul. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.035>
- KUMAR, N. et al. Internal parasite management in grazing livestock. **Journal of Parasitic Diseases**, out. 2013. <https://doi.org/10.1007/s12639-012-0215-z>
- LAPLANTE, S. R. et al. Assessing atropisomer axial chirality in drug discovery and development. **Journal of Medicinal Chemistry**, 27 out. 2011. <https://doi.org/10.1021/jm200584g>
- LEFKADITIS, M. et al. Neospora caninum, A potential cause of reproductive failure in dairy cows from Northern Greece. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, 1 jan. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100365>
- LEON-SICAIROS, N. et al. Strategies of intracellular pathogens for obtaining iron from the environment. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.
- LEUNG, T. L. F.; POULIN, R. Parasitism, commensalism, and mutualism: exploring the many shades of symbioses. Disponível em: <<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-03246057>>.

- LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 23-49, 2005. <https://doi.org/10.2174/0929867053363540>
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in Ruminants: An Update. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, 1 mar. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.11.004>
- MACKEY, T. K. et al. Emerging and reemerging neglected tropical diseases: A review of key characteristics, Risk factors, And the policy and innovation environment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, p. 949–979, 1 out. 2014. <https://doi.org/10.1128/cmr.00045-14>
- MARUGAN-HERNANDEZ, V. Neospora caninum and Bovine Neosporosis: Current Vaccine Research. **Journal of Comparative Pathology**, 1 ago. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2017.08.001>
- MATHISON, B. A.; SAPP, S. G. H. An annotated checklist of the eukaryotic parasites of humans, exclusive of fungi and algae. **ZooKeys**, v. 1069, p. 1–313, 2021. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1069.67403>
- MEANWELL, N. A. The influence of bioisosteres in drug design: Tactical applications to address developability problems. **Topics in Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 283–382, 2014. <https://10.1007/978-3-642-55041-6>
- MOLINA, D. A. et al. In vitro evaluation of new 4-thiazolidinones on invasion and growth of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 16, p. 129–139, 1 ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2021.05.004>
- MORPHY, R.; RANKOVIC, Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 21, 20 out. 2005. <https://doi.org/10.1021/jm058225d>
- NEPALI, K.; LEE, H. Y.; LIOU, J. P. Nitro-Group-Containing Drugs. *Journal of Medicinal Chemistry*. **American Chemical Society**, n. 62, p. 2851-2893, 2019. <https://10.1021/acs.jmedchem.8b00147>
- NERLICH, C. et al. Discovery and Development of Inhibitors of the Plasmodial FNT-Type Lactate Transporter as Novel Antimalarials. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 11, p. 1191, 20 nov. 2021. <https://doi.org/10.3390/ph14111191>
- NOYORI, R. BINAP: an efficient chiral element for asymmetric catalysis. **Review: Whitesell, J. K. Chem. Rev**, v. 23, p. 345-350, 1990. <https://doi.org/10.1021/ar00178a005>
- OJO, K. K. et al. Neospora caninum calcium-dependent protein kinase 1 is an effective drug target for neosporosis therapy. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, 28 mar. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092929>
- DE OLIVEIRA, Taísa Carrijo et al. *Toxoplasma gondii*: effects of *Artemisia annua* L. on susceptibility to infection in experimental models in vitro and in vivo. **Experimental**

parasitology, v. 122, n. 3, p. 233-241, 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.04.010>

OMAROVA, A. et al. Protozoan parasites in drinking water: A system approach for improved water, sanitation and hygiene in developing countries. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 12 mar. 2018.
<https://doi.org/10.3390/ijerph15030495>

OSHIRO, L. M. et al. Neospora caninum and toxoplasma gondii serodiagnosis in human immunodeficiency virus carriers. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 5, p. 568–572, 1 set. 2015. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0151-2015>

PANE, S. et al. Clinical parasitology and parasitome maps as old and new tools to improve clinical microbiomics. **Pathogens**, v. 10, n. 12, 1 nov. 2021.
<https://doi.org/10.3390/pathogens10121550>

PAPADATOS, G.; BROWN, N. In silico applications of bioisosterism in contemporary medicinal chemistry practice. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 3, n. 4, p. 339–354, jul. 2013. <https://doi.org/10.1002/wcms.1148>

PEDROSA, M. O. et al., Hybrid compounds as direct multitarget ligands: A review. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 1044-1079, 2017.
<https://doi.org/10.2174/1568026616666160927160620>

POLÊTO, M. D. et al. Aromatic rings commonly used in medicinal chemistry: Force fields comparison and interactions with water toward the design of New Chemical Entities. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. APR, 24 abr. 2018.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00395>

RASHID, M. et al. A systematic review on modelling approaches for economic losses studies caused by parasites and their associated diseases in cattle. **Parasitology**, 1 fev. 2019. <https://doi.org/10.1017/s0031182018001282>

REICHEL, M. P. et al. What is the global economic impact of Neospora caninum in cattle - The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133–142, fev. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.10.022>

REICHEL, M. P. et al. Control options for neospora caninum-Is there anything new or are we going backwards. **Parasitology**, 2014.
<https://doi.org/10.1017/s0031182014000158>

RENSLO, A. R.; MCKERROW, J. H. Drug discovery and development for neglected parasitic diseases. **Nature Chemical Biology**, 2006.
<https://doi.org/10.1038/nchembio837>

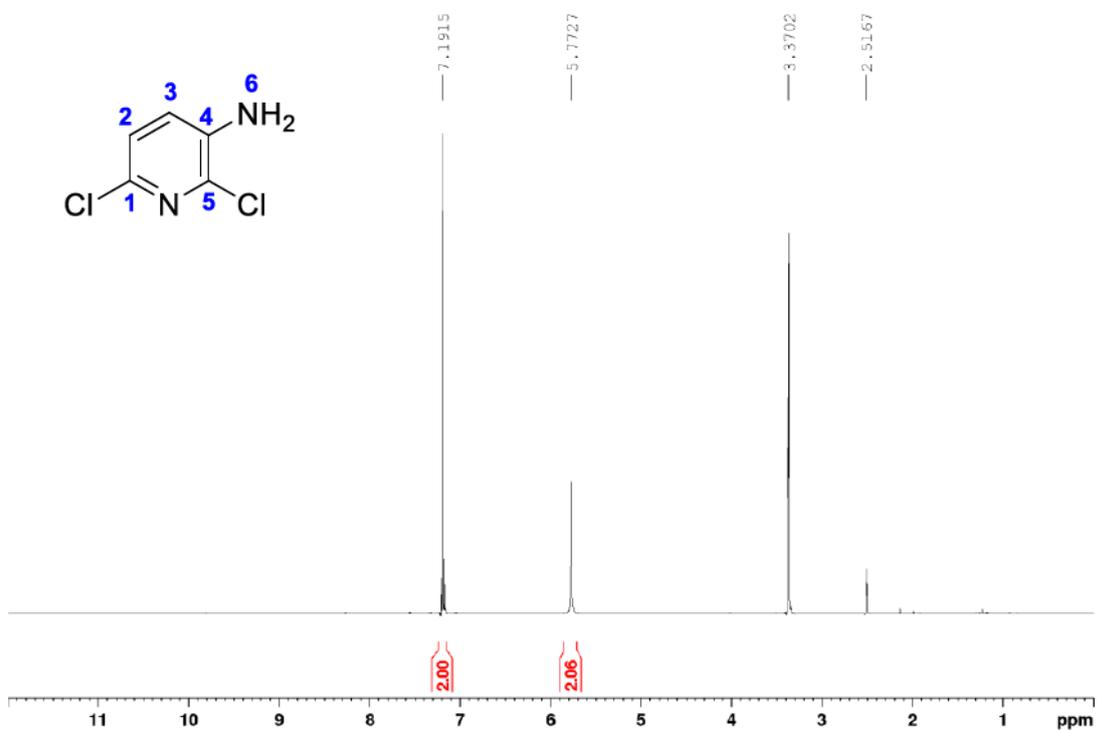
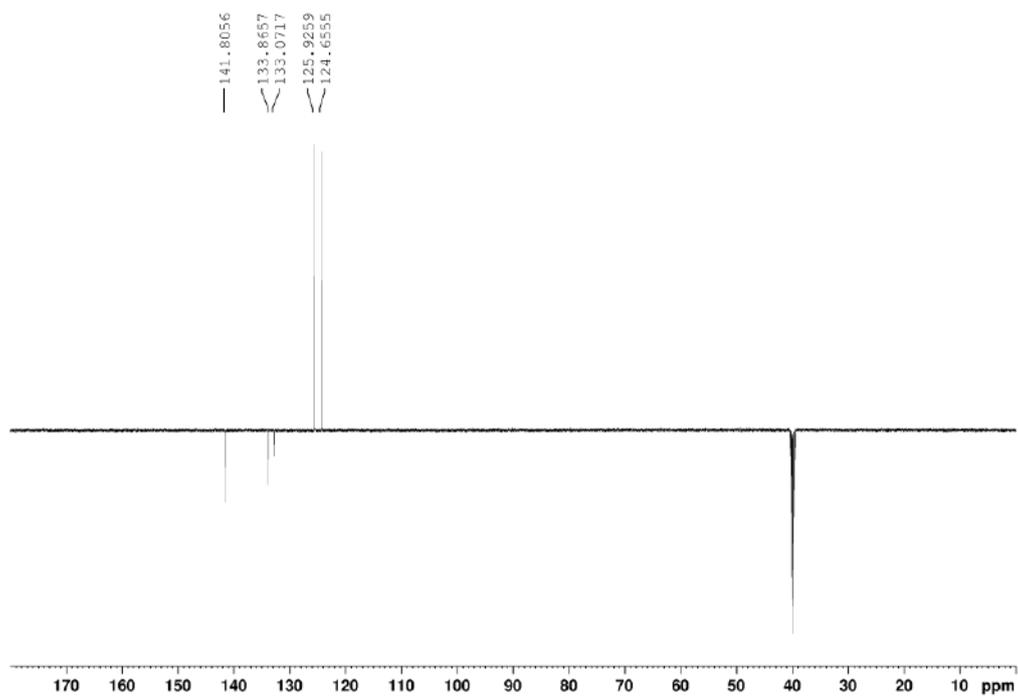
REY, LUÍS. Parasitologia. **Guanabara-Koogan**. 2007.

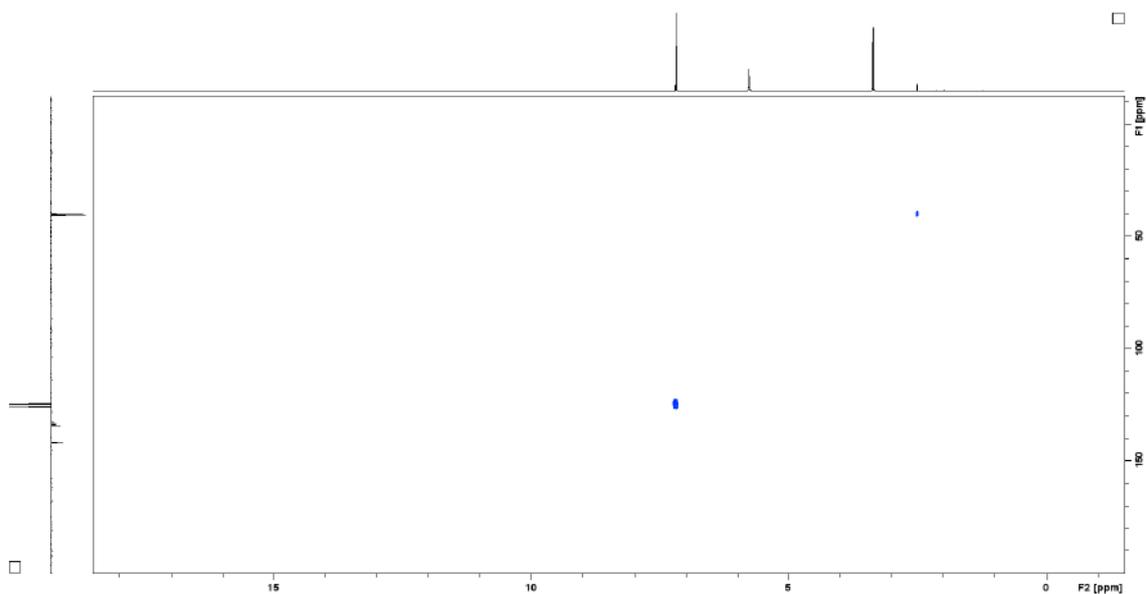
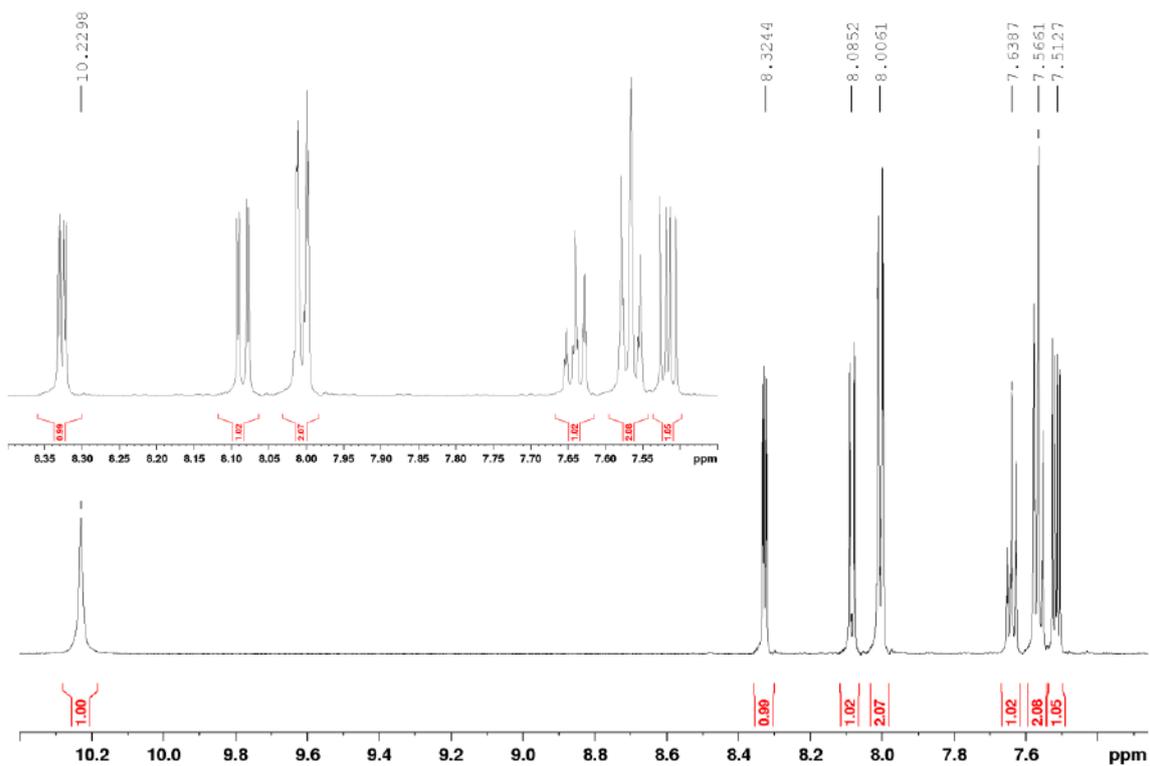
SABATINI, M. T. et al. A green chemistry perspective on catalytic amide bond formation. **Nature Catalysis**, v. 2, n. 1, p. 10–17, 1 jan. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41929-018-0211-5>

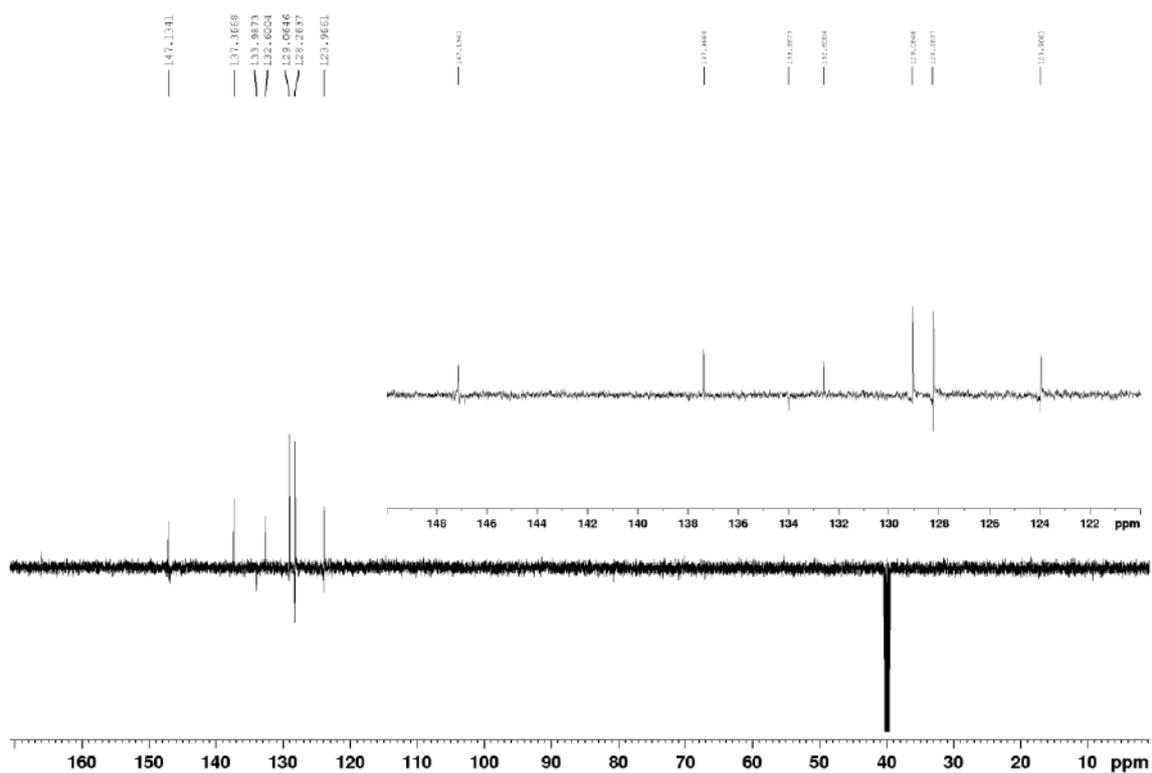
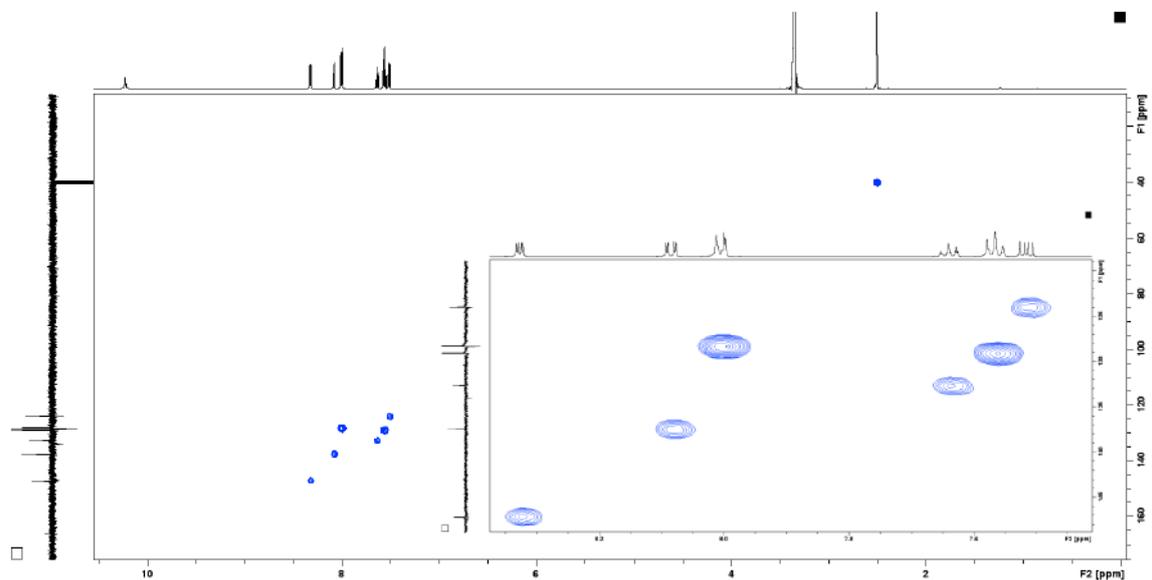
- SAMPATH KUMAR, H. M.; HERRMANN, L.; TSOGOEVA, S. B. Structural hybridization as a facile approach to new drug candidates. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, 1 dez. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127514>
- SANTOS, S. S. et al. Searching for drugs for Chagas disease, leishmaniasis and schistosomiasis: a review. **International Journal of Antimicrobial**, 1 abr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105906>
- SCHÖNHEIT, P.; BUCKEL, W.; MARTIN, W. F. On the origin of heterotrophy. **Trends in Microbiology**, 1 jan. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.10.003>
- SEVERANCE, E. G. et al. Toxoplasma gondii—a gastrointestinal pathogen associated with human brain diseases. **International Review of Neurobiology**., v. 131, p. 143–163, 2016. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.08.008>
- SHARMA, S.; SINGH, V. Exploration of pyrazole based aldo-x bifunctional building blocks for the synthesis of pyrazole annulated molecular architectures. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, 1 nov. 2020. <https://doi.org/10.1002/jhet.4097>
- SHORT, E. E.; CAMINADE, C.; THOMAS, B. N. Climate Change Contribution to the Emergence or Re-Emergence of Parasitic Diseases. **Infectious Diseases: Research and Treatment**, v. 10, 1 jan. 2017. <https://doi.org/10.1177%2F1178633617732296>
- SLAVOVA, S.; ENCHEV, V. Self-catalytic mechanism of prebiotic reactions: From formamide to purine bases. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 120, n. 19, 5 out. 2020. <https://doi.org/10.1002/qua.26362>
- SOLOMONS, T. W. G.; CRAIG, B. F. **Química orgânica**, 10. ed. Rio de Janeiro: LTC, v. 1, Cap. 5, p. 214-215, 2012.
- STEINBÜCHEL, A.; DE SOUZA EDITOR, W. **Microbiology Monographs Series Editor: Lifecycles of Pathogenic Protists in Humans**. Disponível em: <<http://www.springer.com/series/7171>>.
- TODD, E. C. D. Foodborne Diseases: Overview of Biological Hazards and Foodborne Diseases. In: **Encyclopedia of Food Safety**, v. 1, p. 221–242, 2014. <https://doi.org/10.1016%2FB978-0-12-378612-8.00071-8>
- TODD G. SMITH; DAVID WALLIKER; LISA C. RANFORD-CARTWRIGHT. Sexual differentiation and sexdetermination in the Apicomplexa. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 7, p. 315–323, 2002. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00071-8>
- TONG, W. H. et al. Behavioral biology of Toxoplasma gondii infection. **Parasites and Vectors**, 1 dez. 2021. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04528-x>
- TORGERSON, P. R. One world health: Socioeconomic burden and parasitic disease control priorities. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 3–4, p. 223–232, 1 ago. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.004>
- TORGERSON, P. R. et al. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 11 Foodborne Parasitic Diseases, 2010: A Data Synthesis. **PLoS Medicine**, v. 12, n. 12, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001920>

- TORGERSON, P. R.; MASTROIACOVO, P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 91, n. 7, p. 501–508, jul. 2013. <https://doi.org/10.2471/blt.12.111732>
- WANG, Z. Béchamp reduction, *Comprehensive organic name reactions and reagents*, p. 284-287, 2010.
- WARD, L. M. et al. Follow the Oxygen: Comparative Histories of Planetary Oxygenation and Opportunities for Aerobic Life. **Astrobiology**, v. 19, n. 6, p. 811–824, 1 jun. 2019. <https://doi.org/10.1089/ast.2017.1779>
- WOODHALL, D. et al. Neglected Parasitic Infections: What Every Family Physician Needs to Know. **American Family physician**, v. 89, p. 803-811, 2014. Disponível em: <www.aafp.org/afp>.
- WOUTERS, O. J.; MCKEE, M.; LUYTEN, J. Estimated Research and Development Investment Needed to Bring a New Medicine to Market, 2009-2018. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 323, p. 844-853, 2020. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1166>
- YAO, Q. J. et al. Enantioselective Synthesis of Atropisomeric Anilides via Pd(II)-Catalyzed Asymmetric C-H Olefination. **Journal of the American Chemical Society**, v. 142, n. 42, p. 18266–18276, 21 out. 2020. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c09400>
- YUN, F. et al. Boric Acid Catalyzed Direct Amidation between Amino-Azaarenes and Carboxylic Acids. **Synthesis (Germany)**, v. 49, n. 7, p. 1583–1596, 1 abr. 2017. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1588126>
- ZENG, J. M. et al. Identifying the major lactate transporter of *Toxoplasma gondii* tachyzoites. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2021. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86204-3>
- ZHAO, H.; GUO, Z. Medicinal chemistry strategies in follow-on drug discovery. **Drug Discovery Today**, v.9, p. 516-522, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2009.02.008>
- ZHOU, Z. et al. Toxoplasmosis and the Heart. **Current Problems in Cardiology**, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2020.100741>

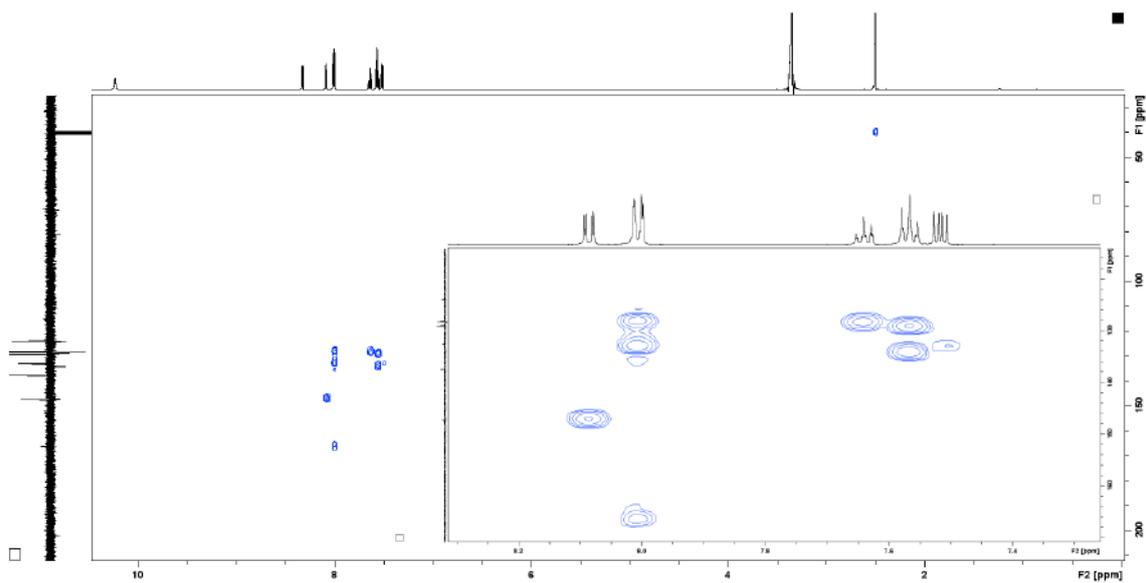
Anexos

Espectro 1: Espectro de RMN de ^1H de **88** (600MHz, DMSO).**Espectro 2:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **88**.

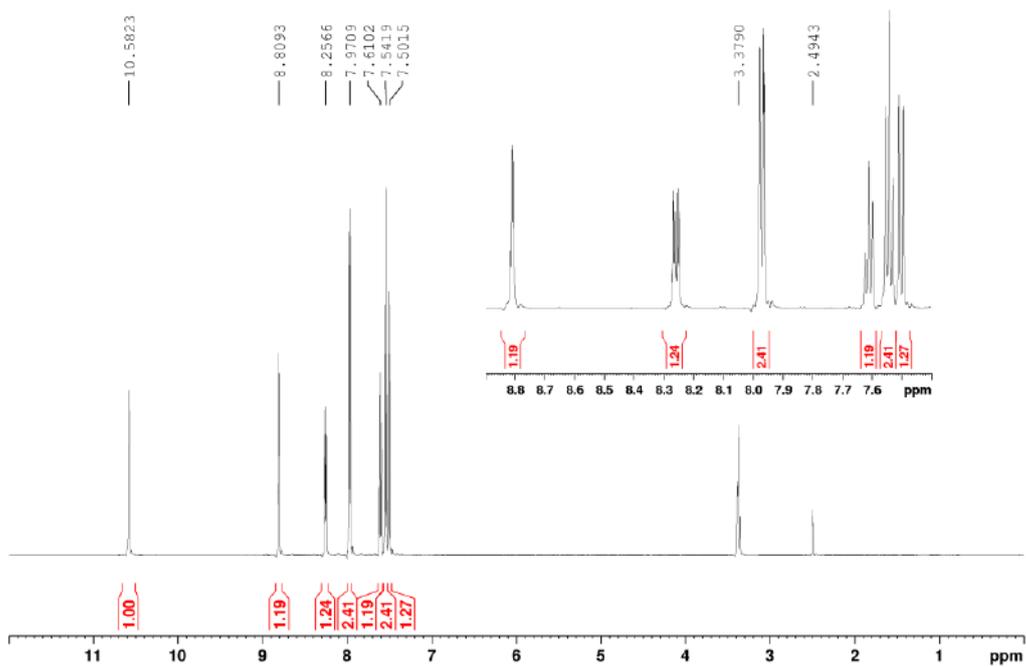
Espectro 3: Mapa de contorno HSQC do produto **88**.**Espectro 4:** Espectro de RMN de ^1H de **3** (600MHz, DMSO).

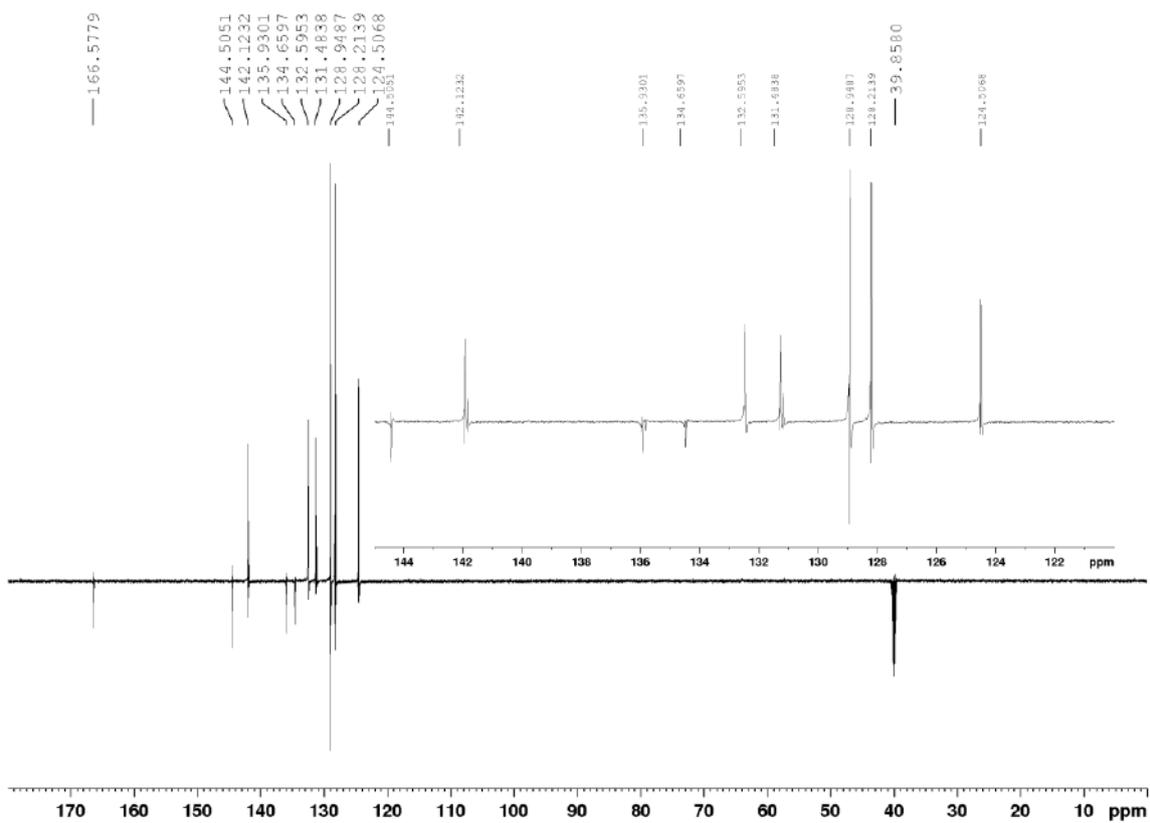
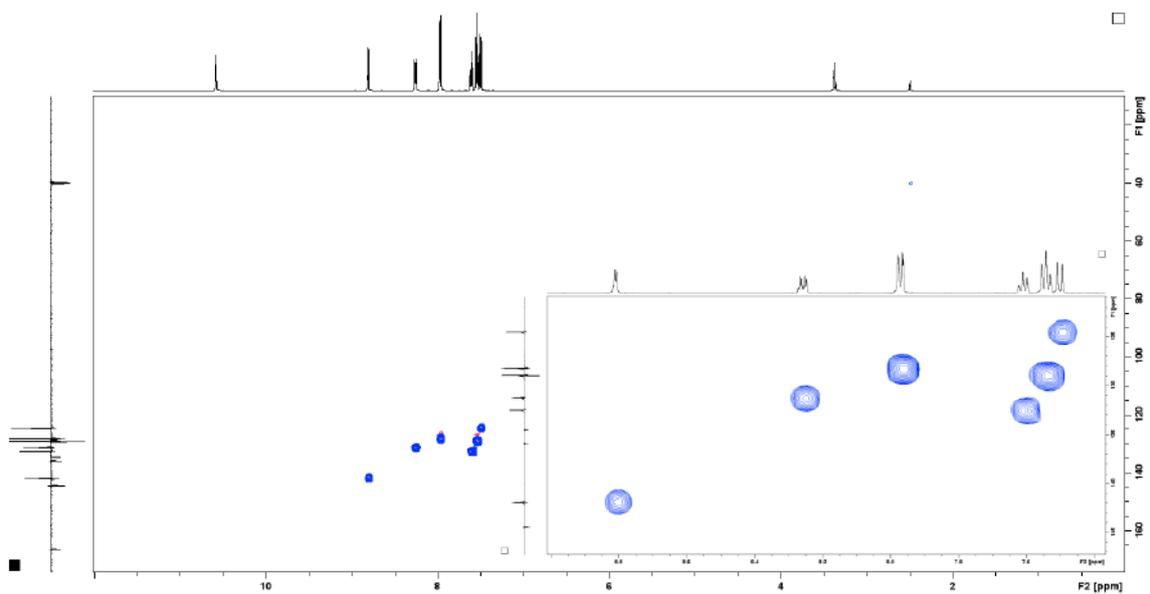
Espectro 5: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 3.**Espectro 6:** Mapa de contorno HSQC do produto 3.

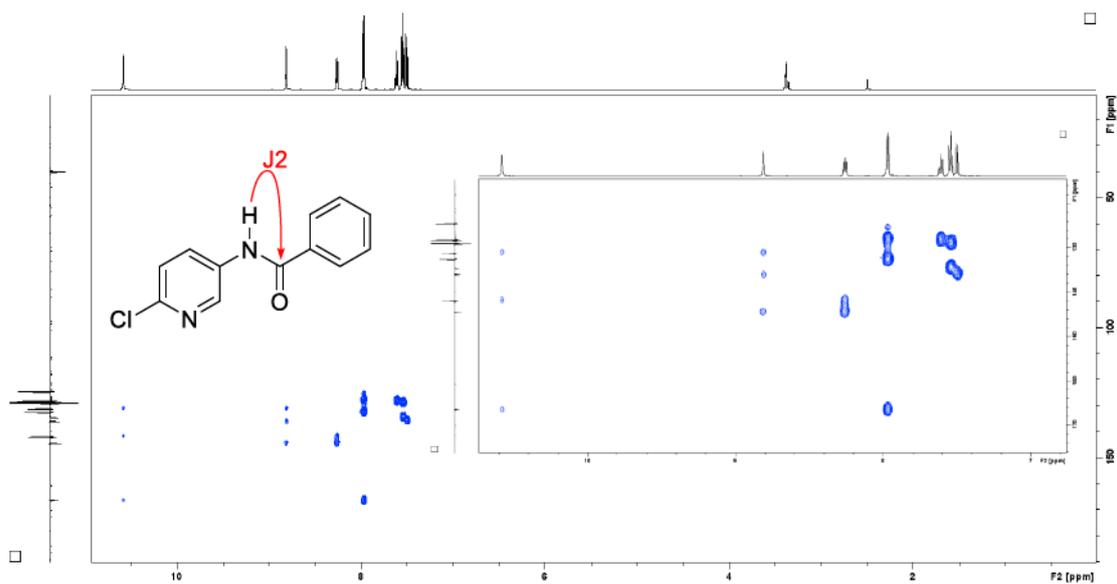
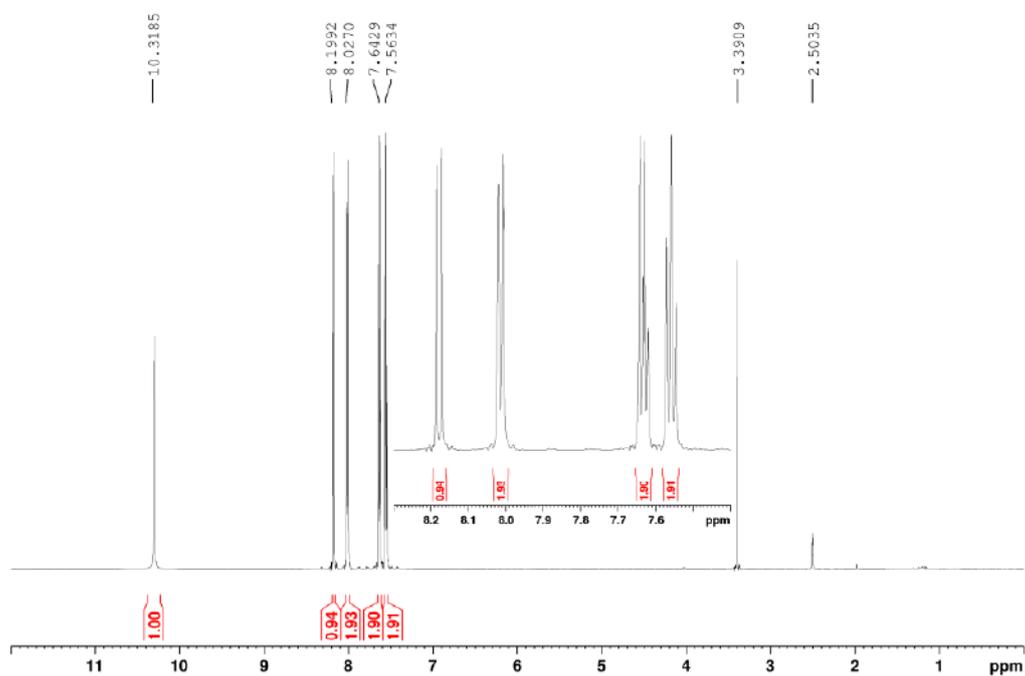
Espectro 7: Mapa de contorno HMBC de **3**.

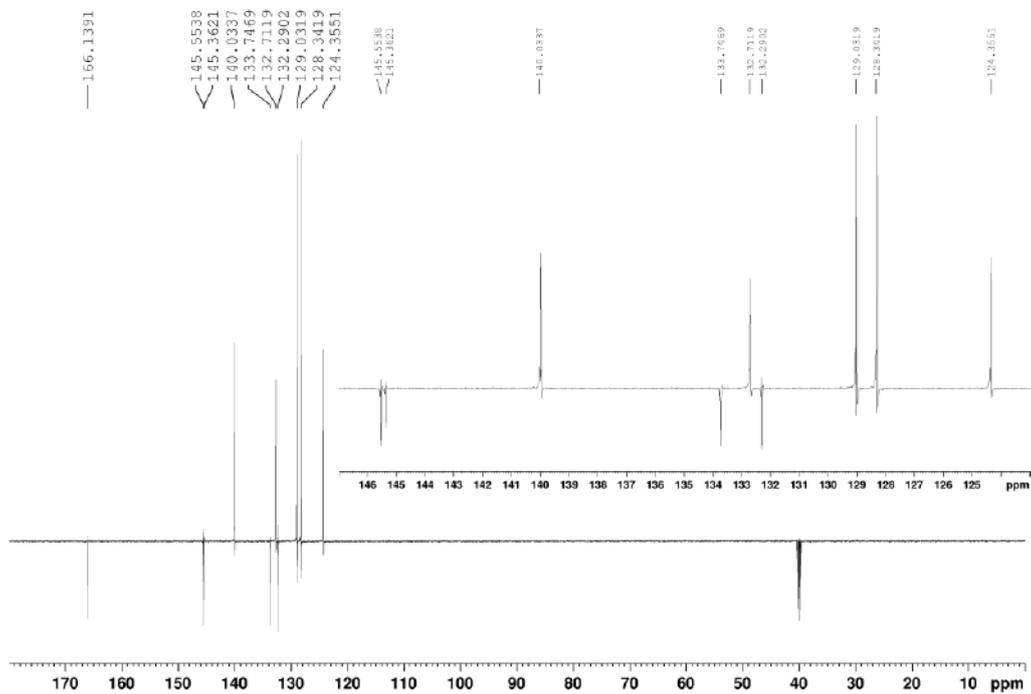
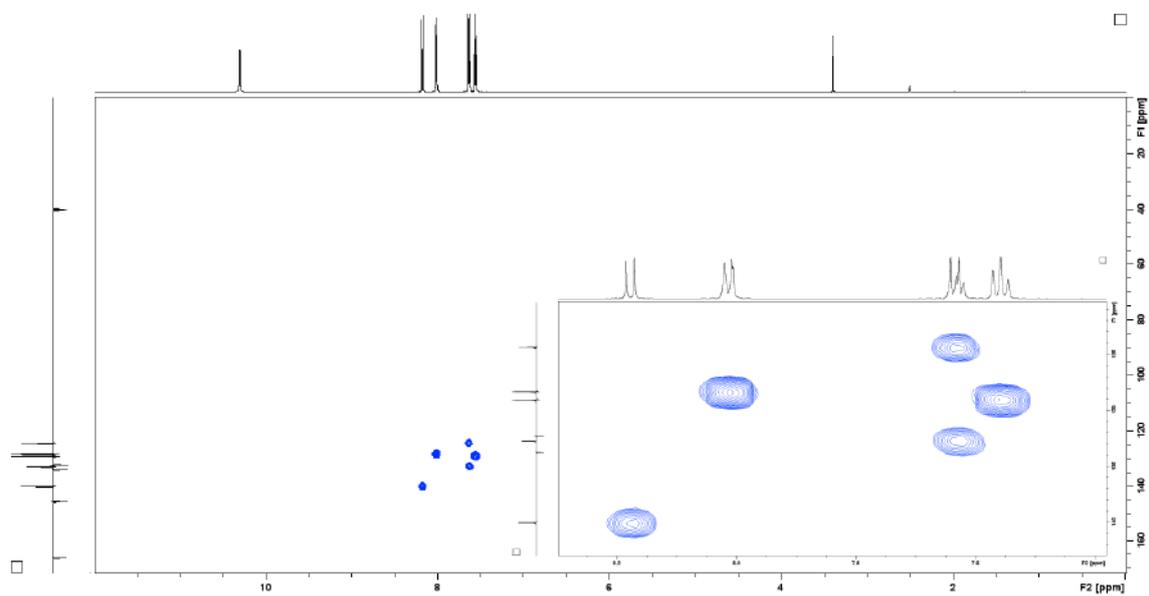


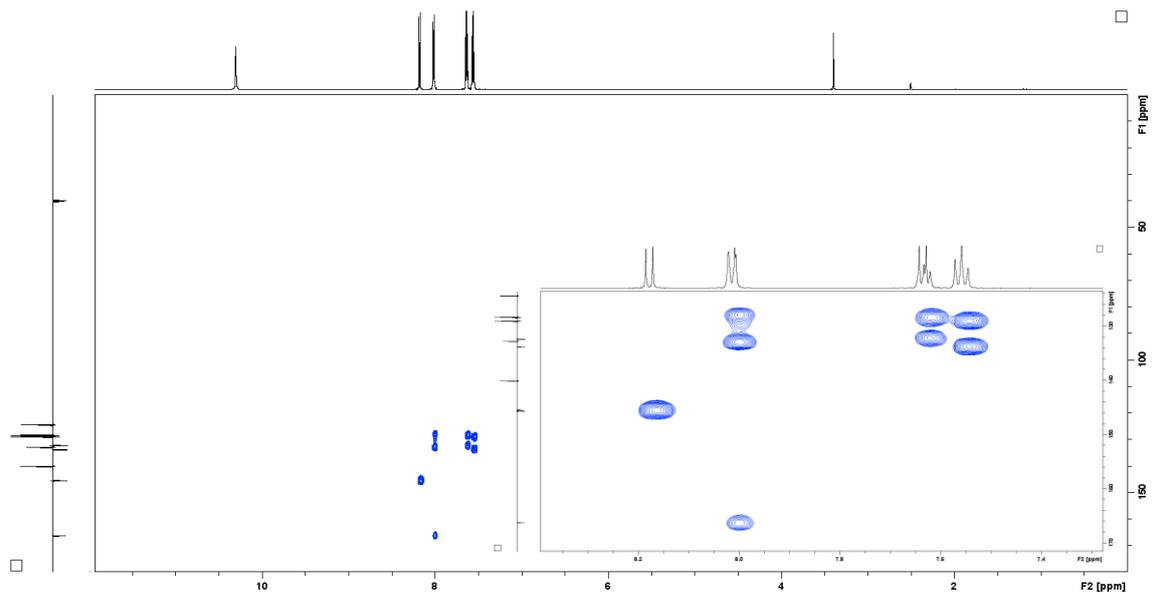
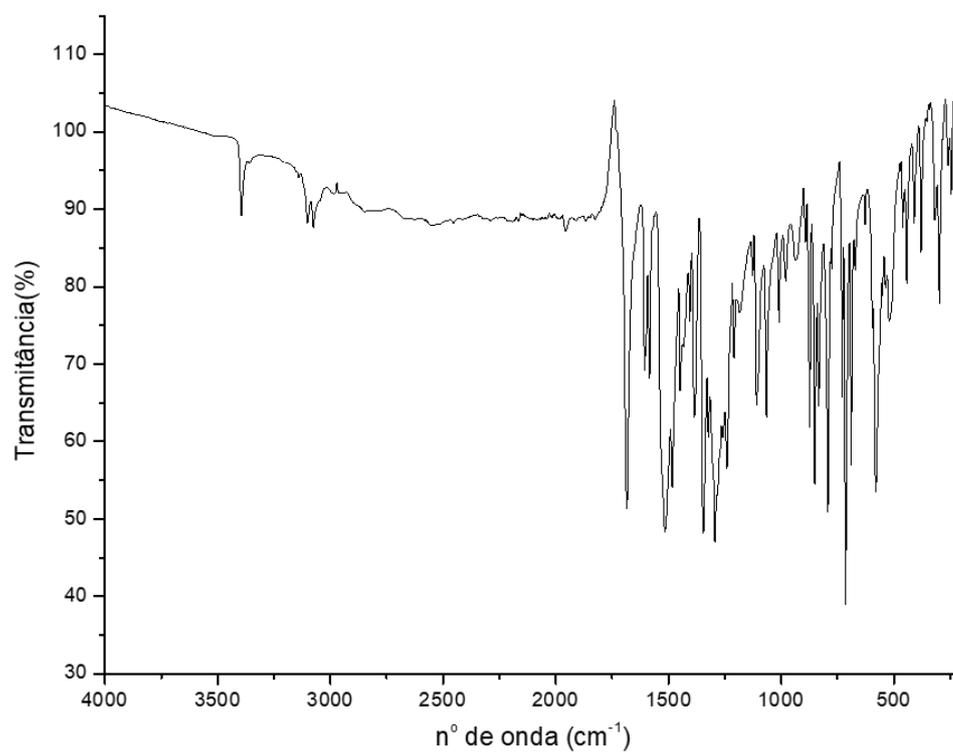
Espectro 8: Espectro de RMN de ^1H de **4** (600MHz, DMSO).

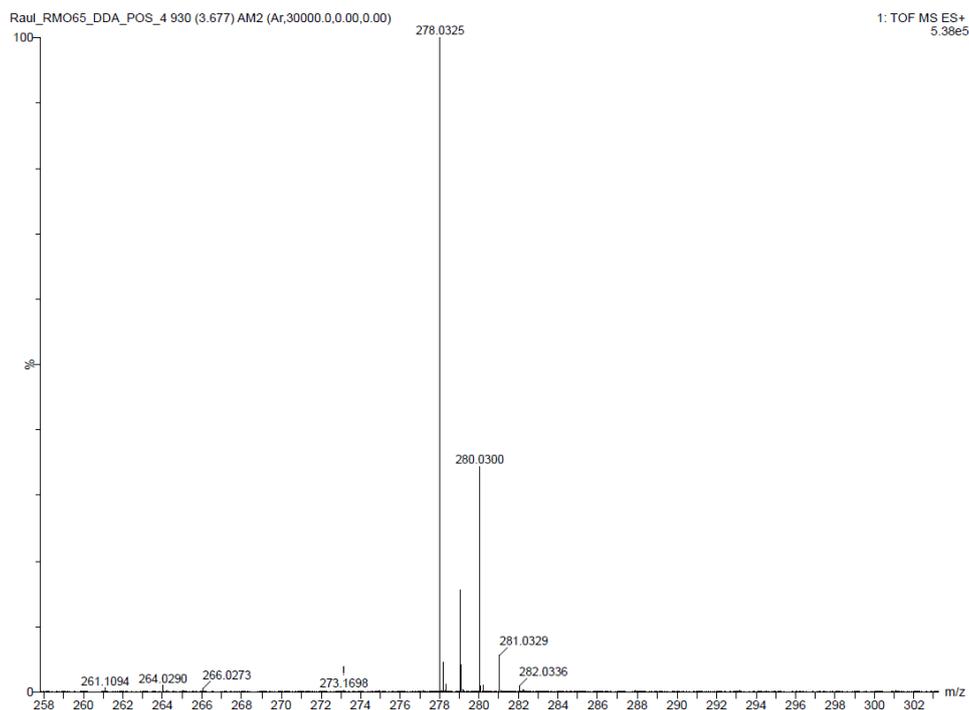
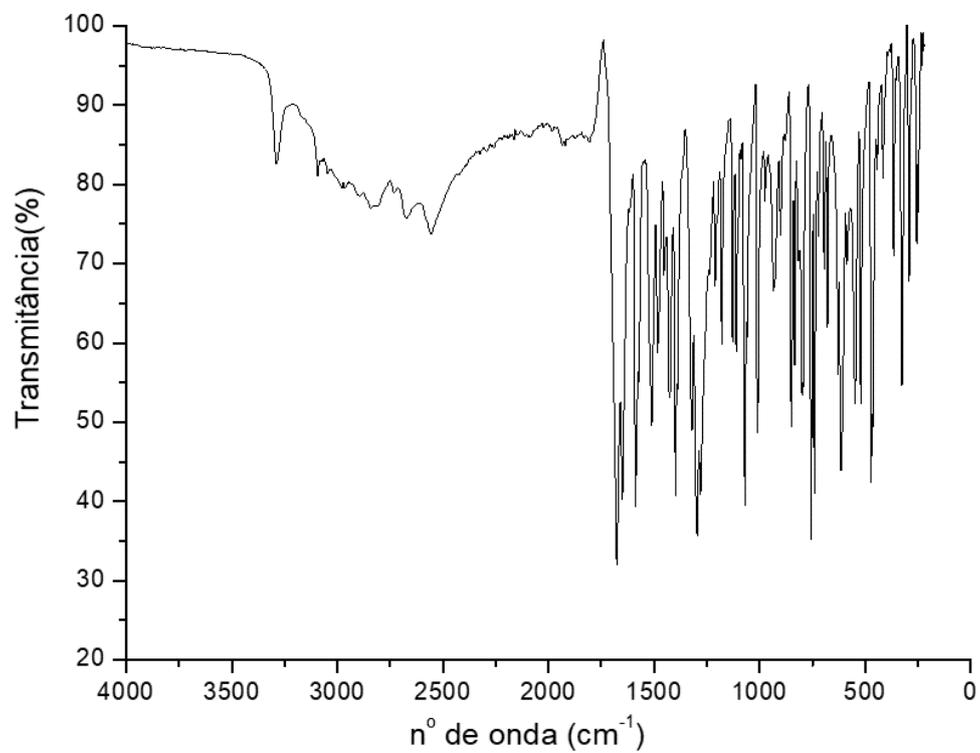


Espectro 9: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **4**.**Espectro 10:** Mapa de contorno HSQC do produto **4**.

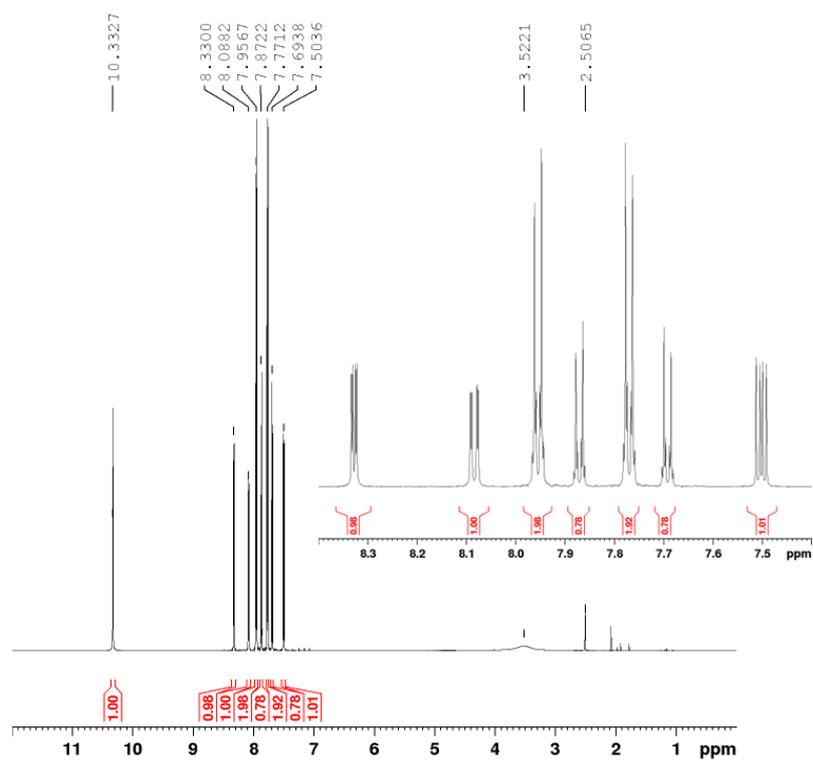
Espectro 11: Mapa de contorno HMBC e correlação entre ^1H e ^{13}C de **4**.**Espectro 12:** Espectro de RMN de ^1H de **6** (600MHz, DMSO).

Espectro 13: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de 6.**Espectro 14:** Mapa de contorno HSQC do produto 6.

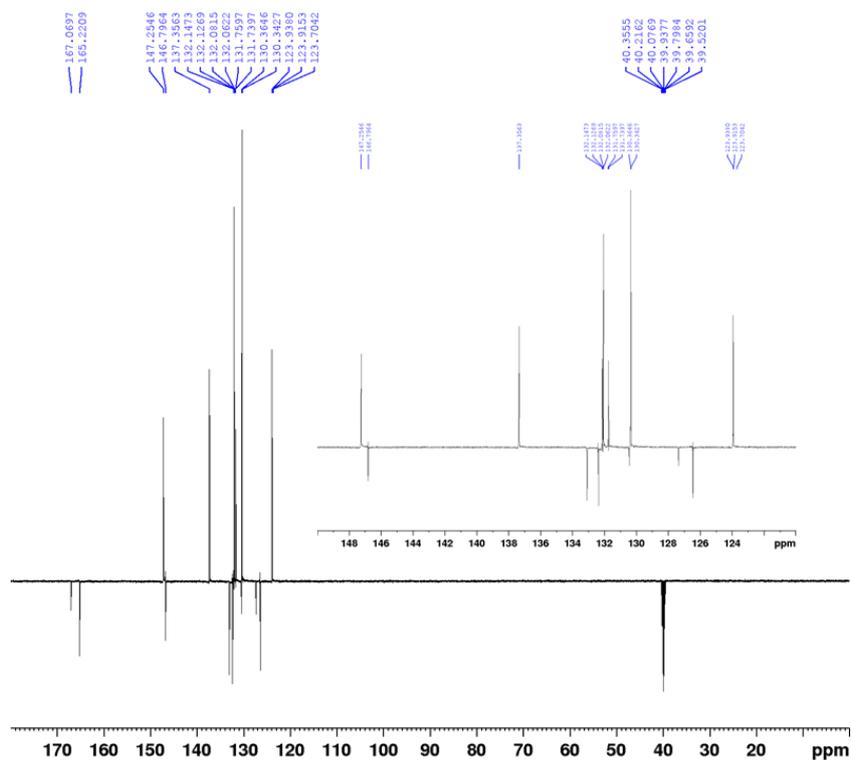
Espectro 15: Mapa de contorno HMBC de 4.**Espectro 16: Espectro na região do infravermelho da amida 7.**

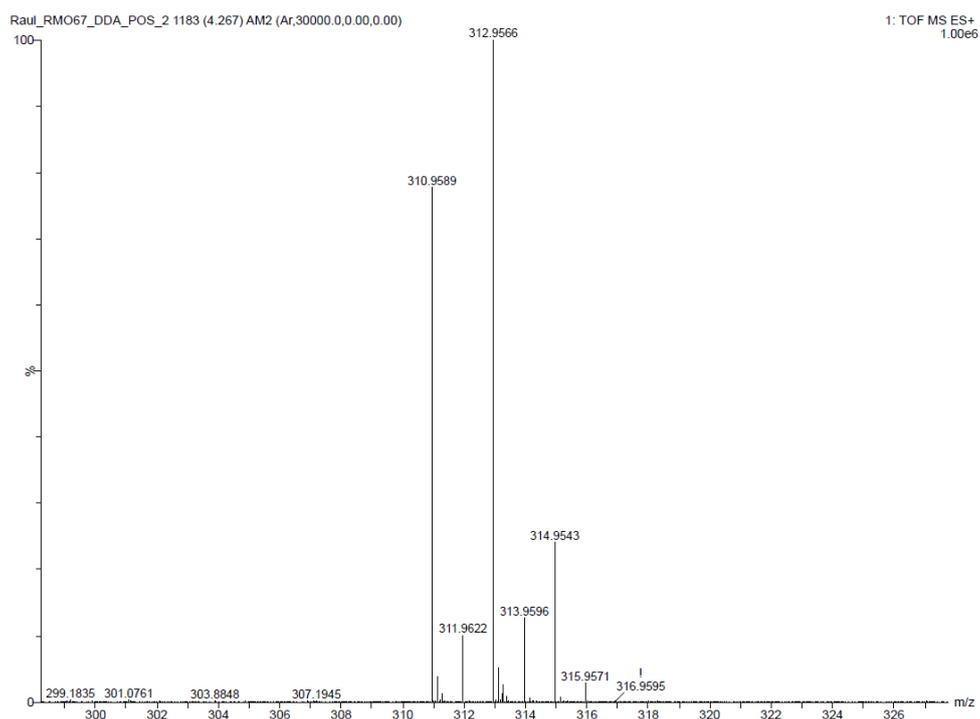
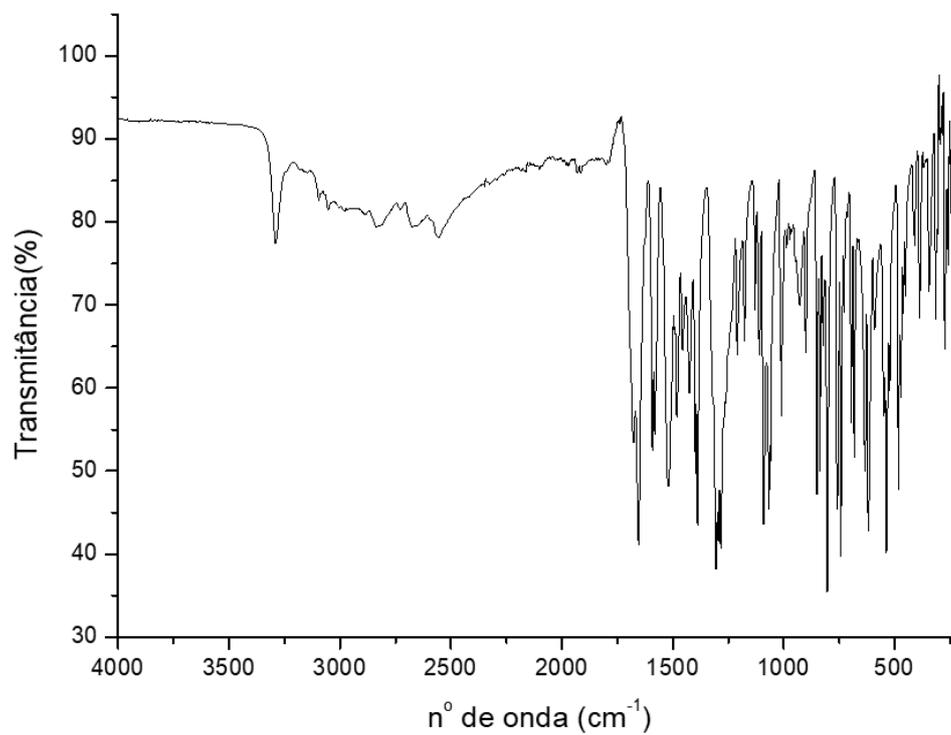
Espectro 19: EM-IES-(+) alta resolução do composto 7.**Espectro 20:** Espectro na região do infravermelho da amida 13.

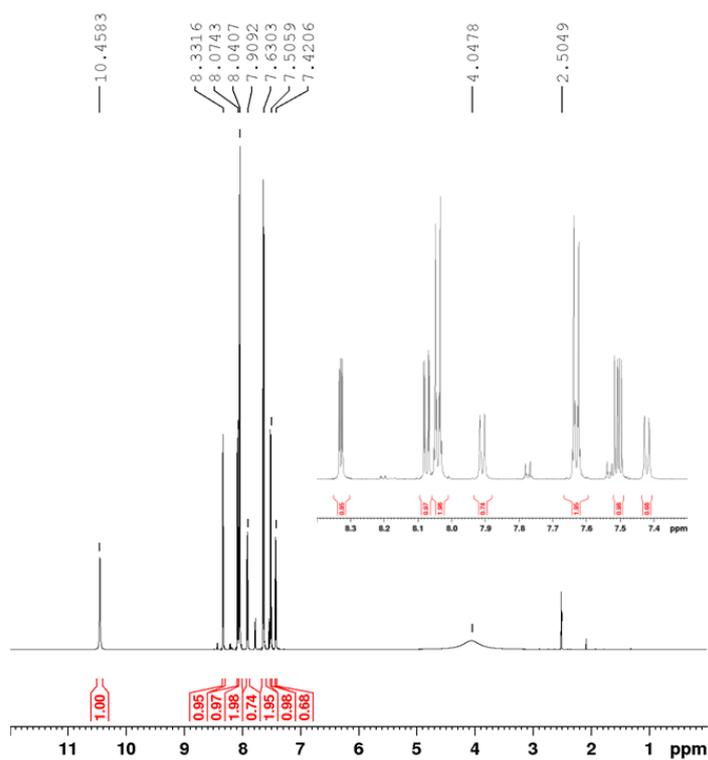
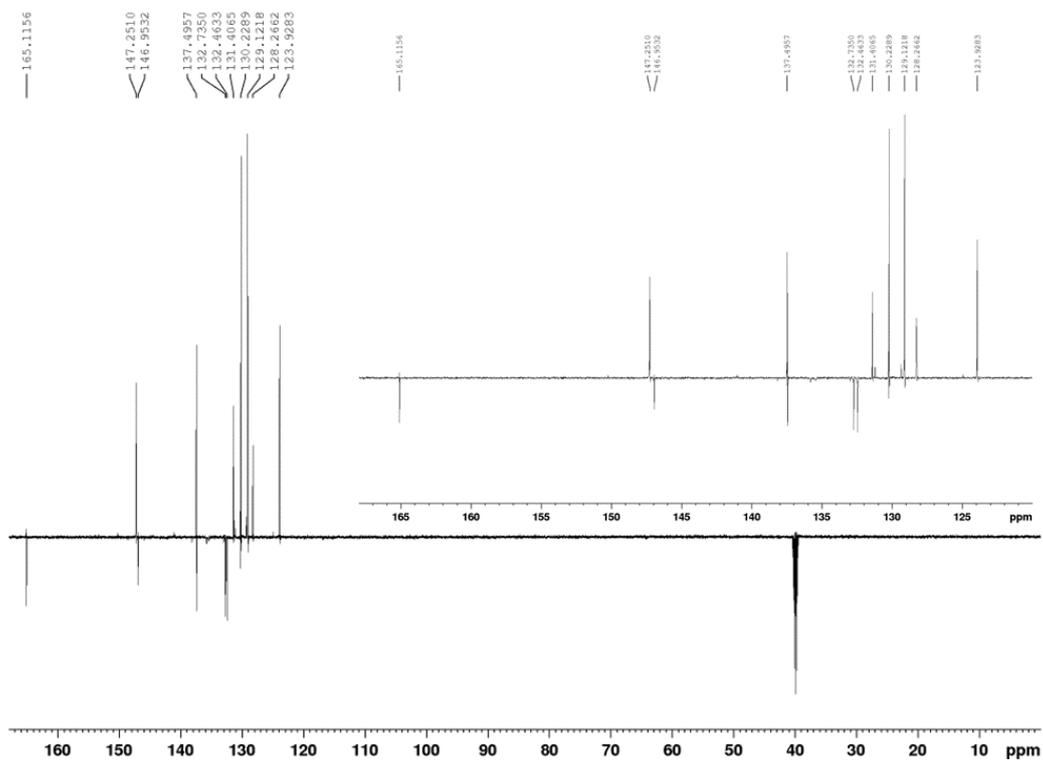
Espectro 21: Espectro de RMN de ^1H de **13** (600MHz, DMSO).

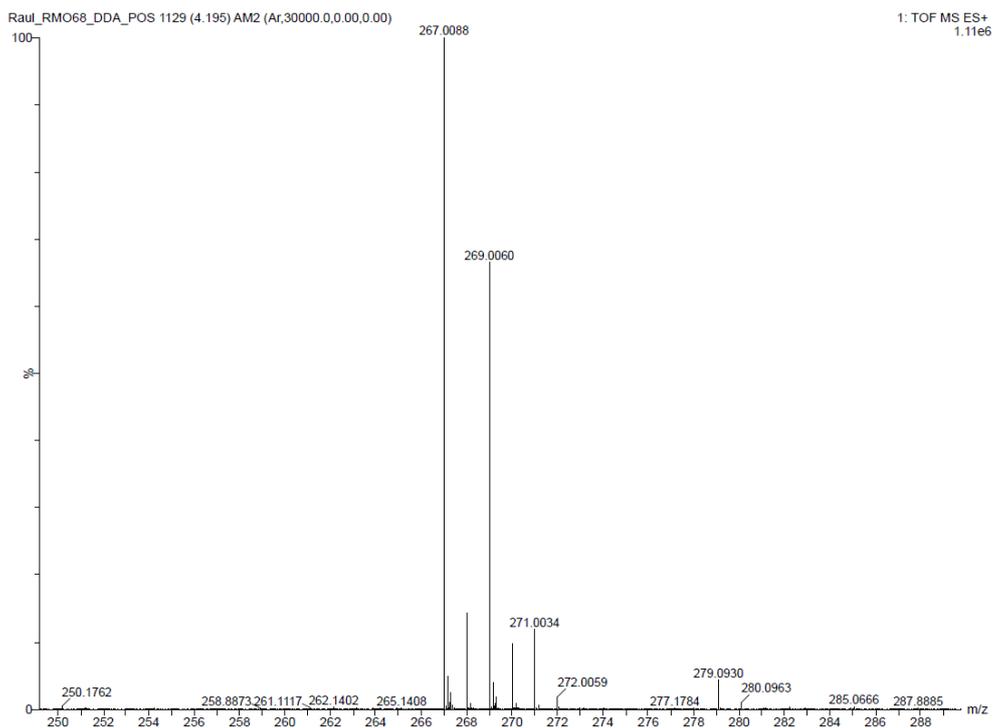
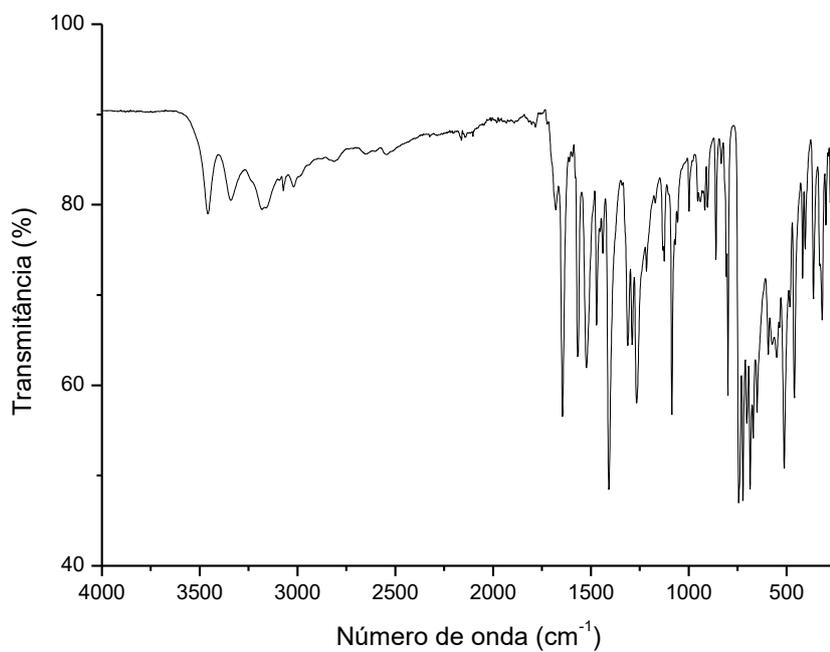


Espectro 22: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **13**.

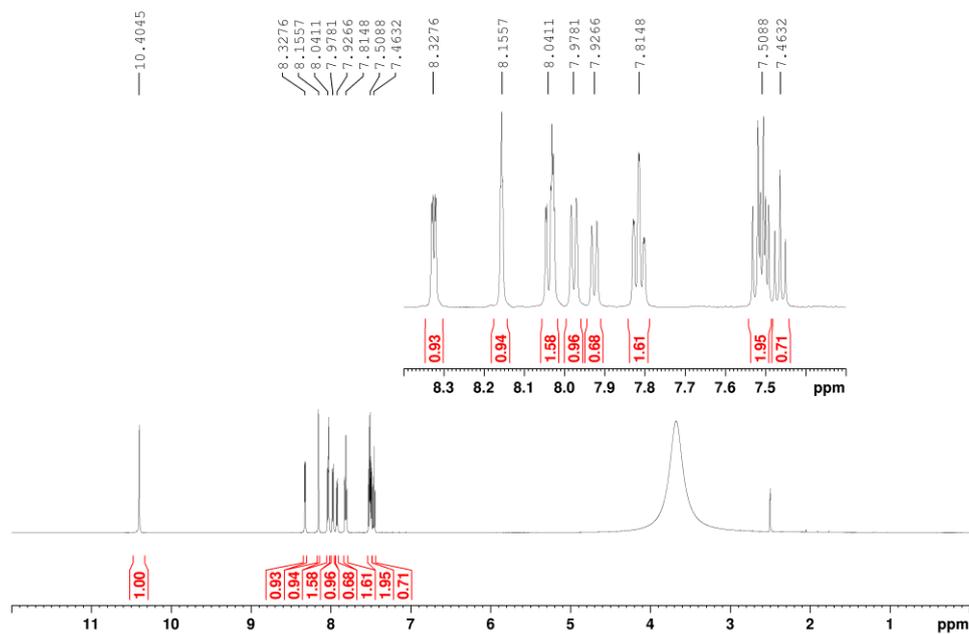


Espectro 23: EM-IES-(+) alta resolução do composto 13.**Espectro 24: Espectro na região do infravermelho da amida 16.**

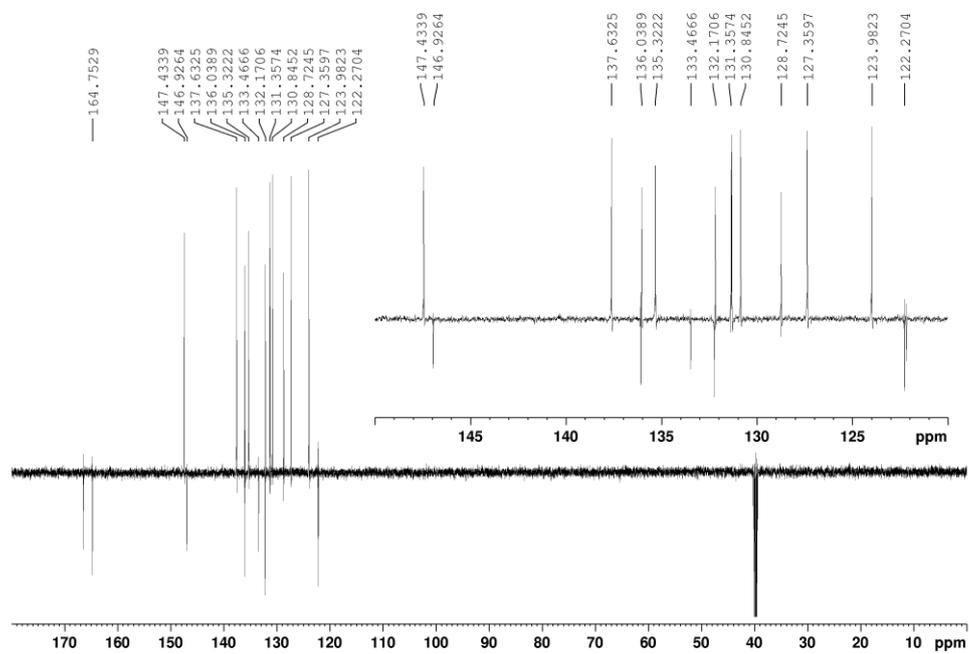
Espectro 25: Espectro de RMN de ^1H de **16** (600MHz, DMSO).**Espectro 26:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **16**.

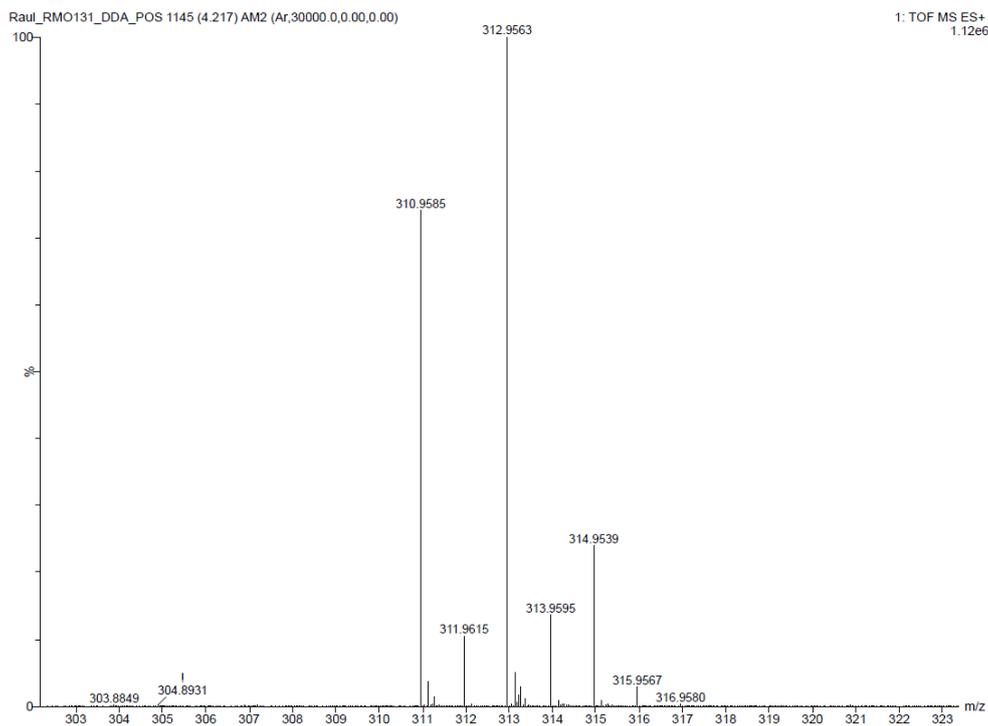
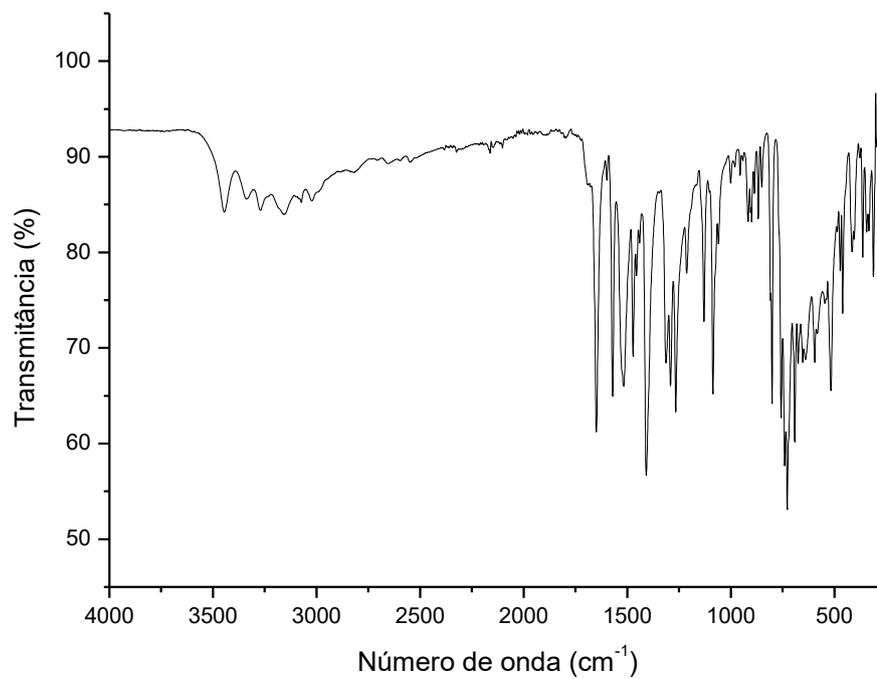
Espectro 27: EM-IES-(+) alta resolução do composto 16.**Espectro 28: Espectro na região do infravermelho da amida 14.**

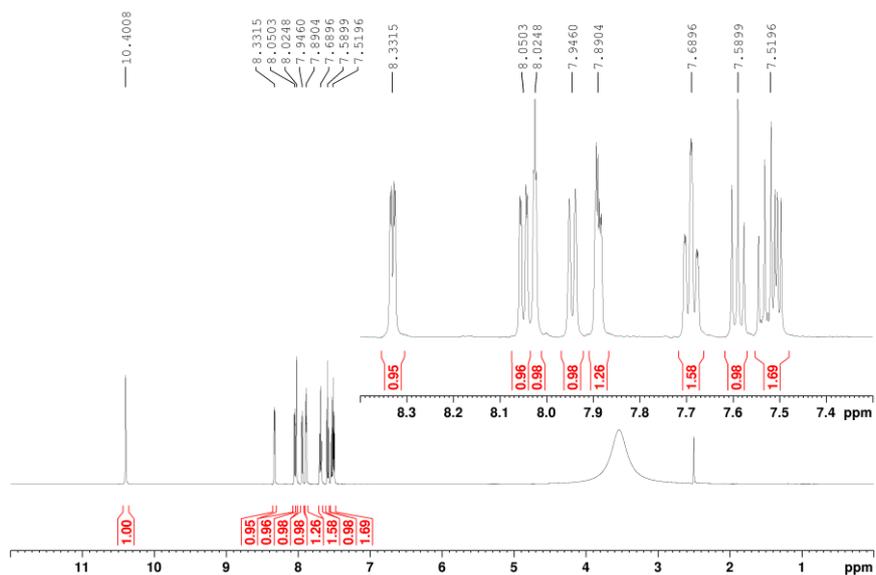
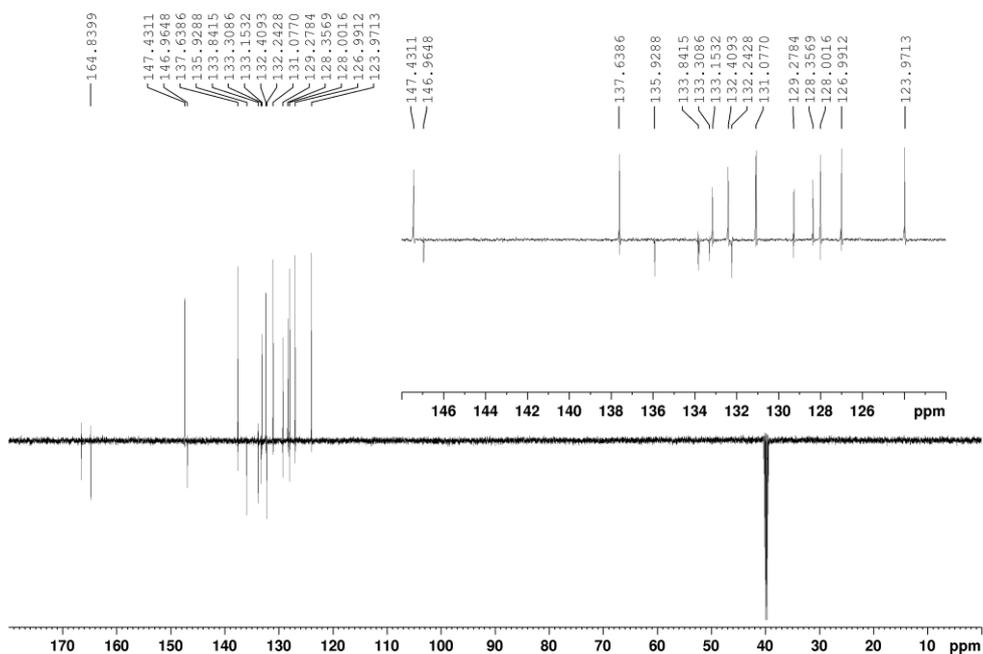
Espectro 29: Espectro de RMN de ^1H de **14** (600MHz, DMSO).

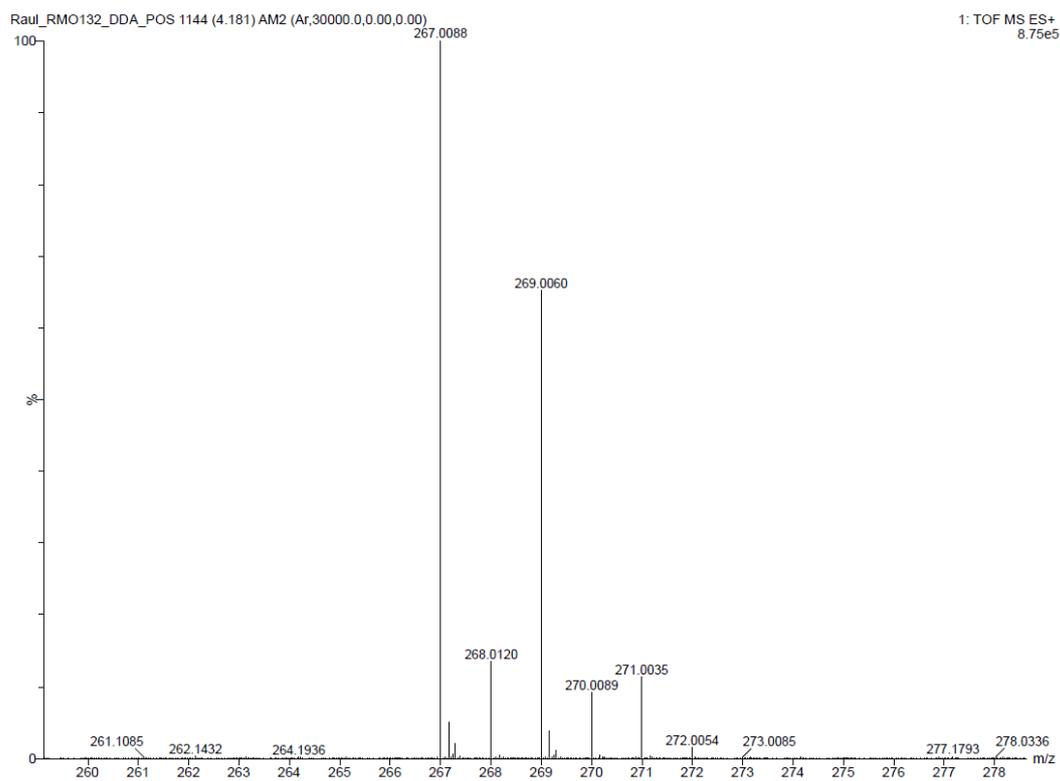
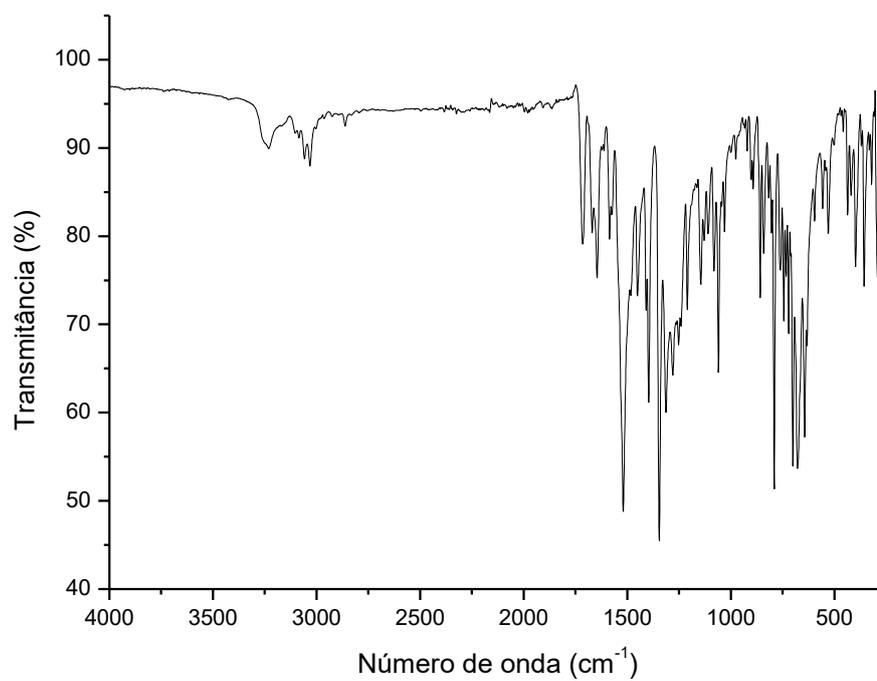


Espectro 30: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **14**.

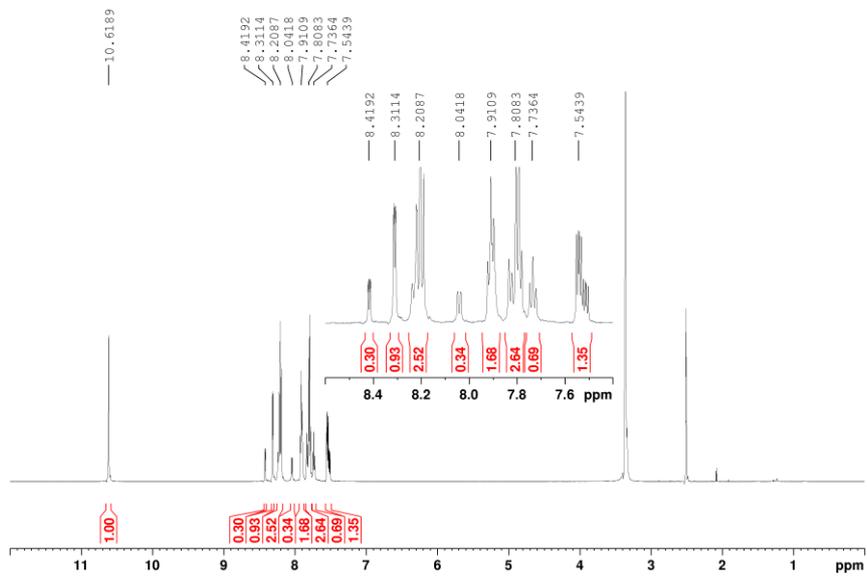


Espectro 31: EM-IES-(+) alta resolução do composto 14.**Espectro 32: Espectro na região do infravermelho da amida 17.**

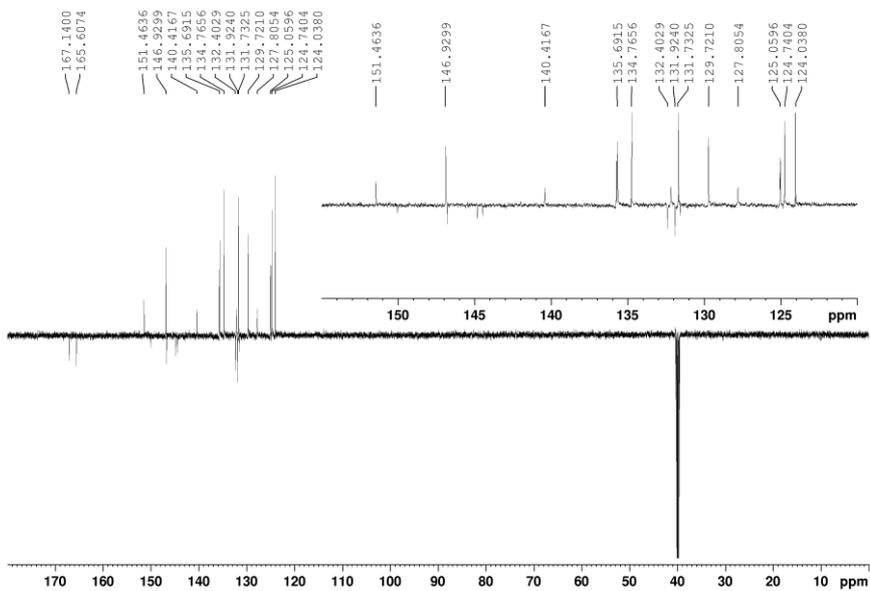
Espectro 33: Espectro de RMN de ^1H de **17** (600MHz, DMSO).**Espectro 34:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **17**.

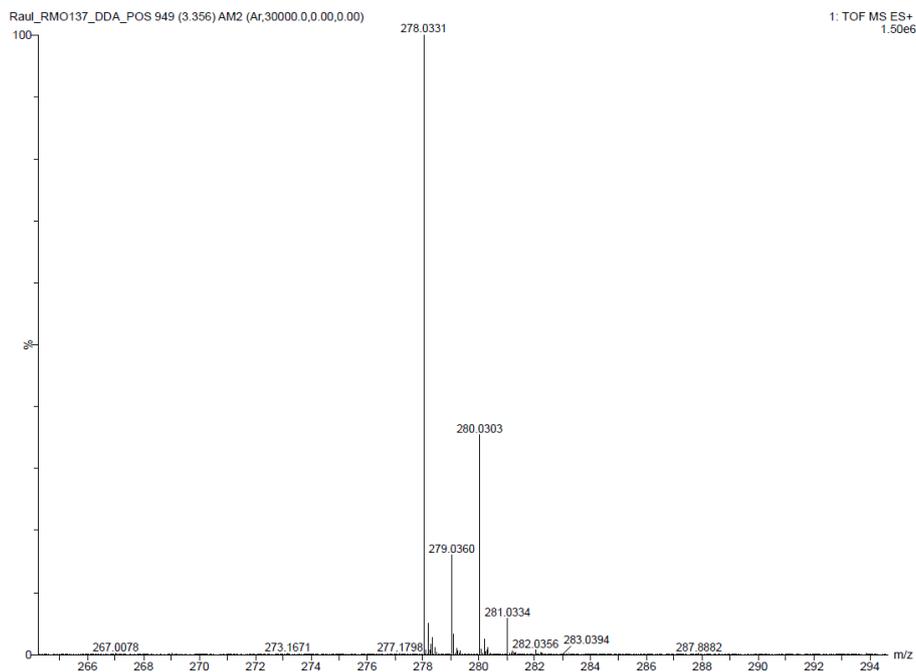
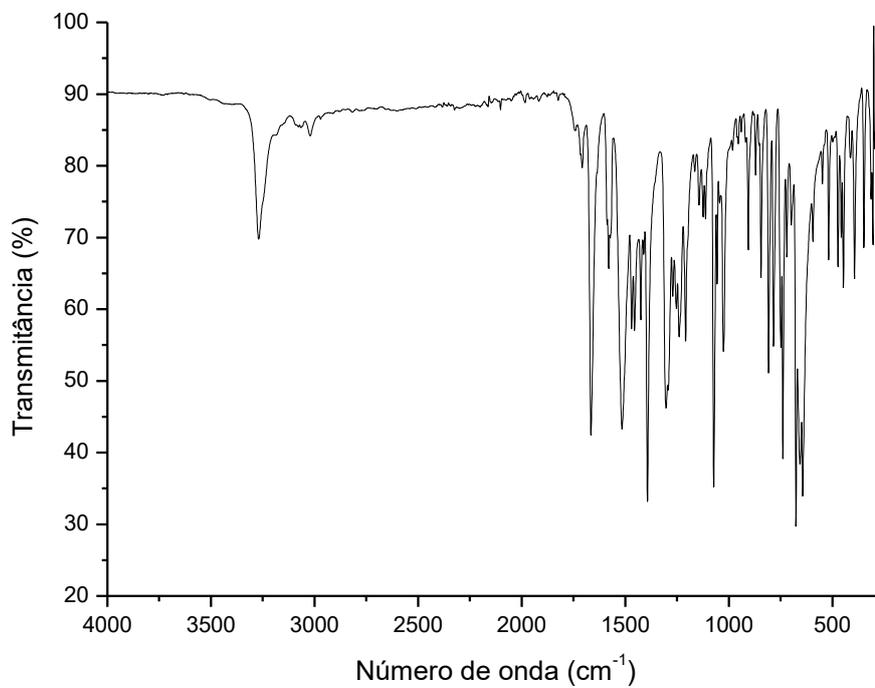
Espectro 35: EM-IES-(+) alta resolução do composto 17.**Espectro 36: Espectro na região do infravermelho da amida 9.**

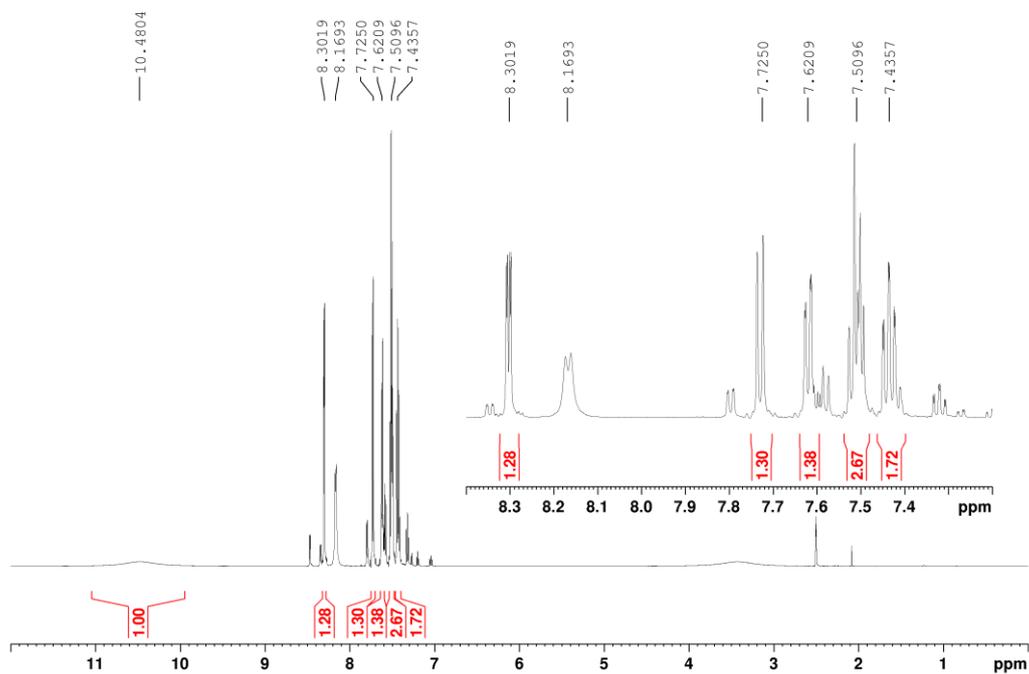
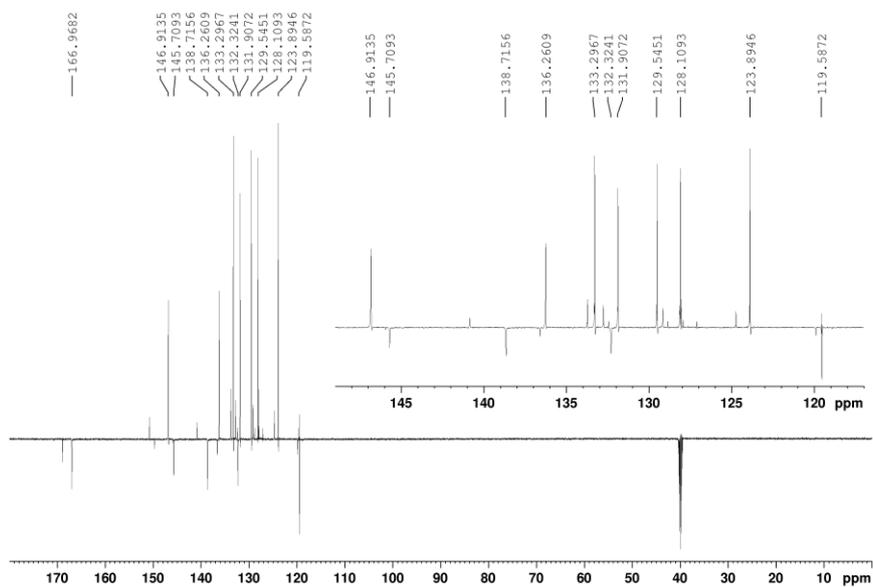
Espectro 37: Espectro de RMN de ^1H de **9** (600MHz, DMSO).

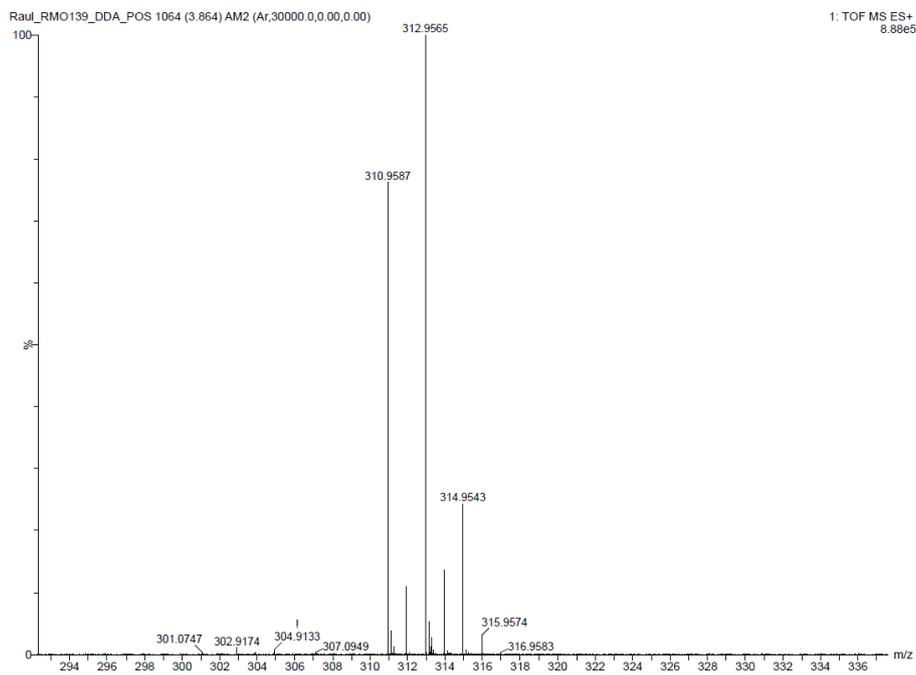
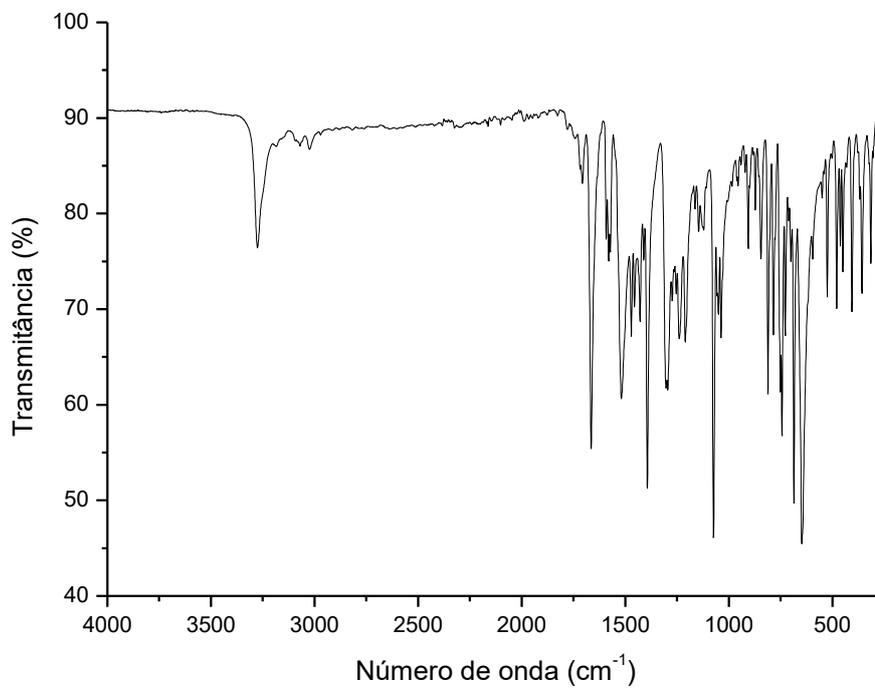


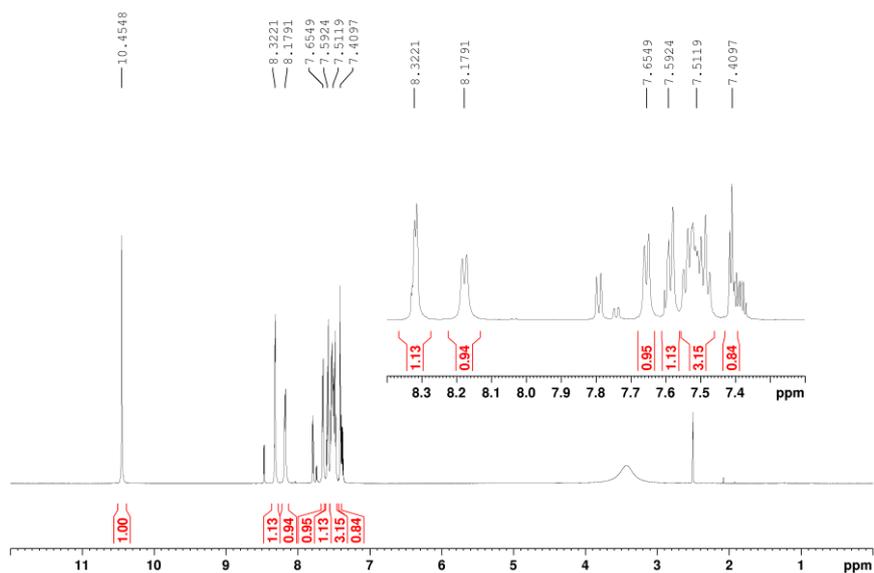
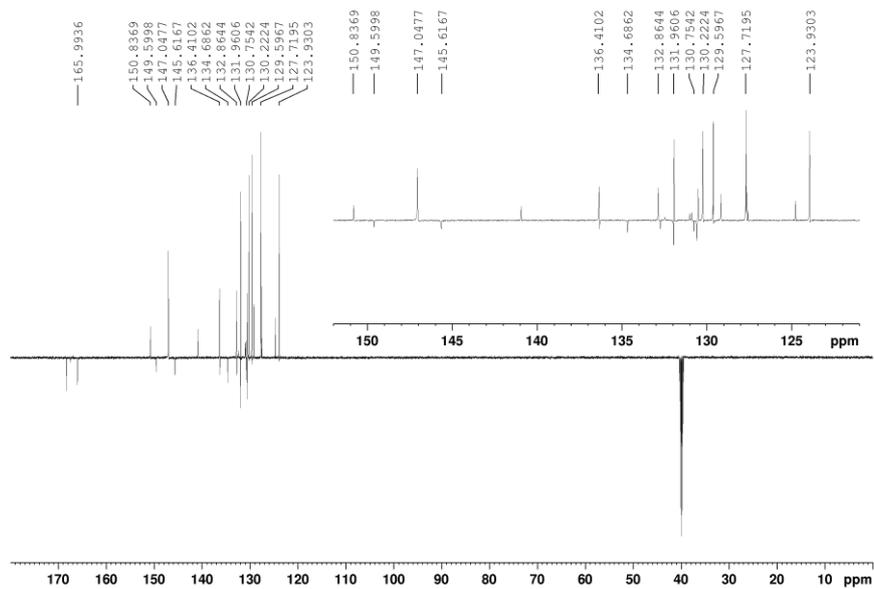
Espectro 38: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **9**.

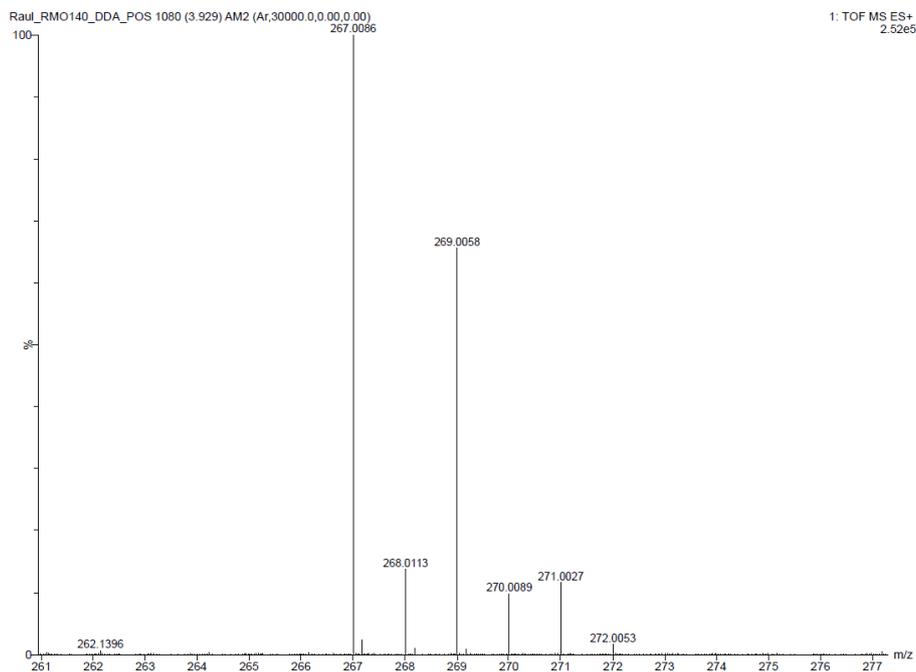
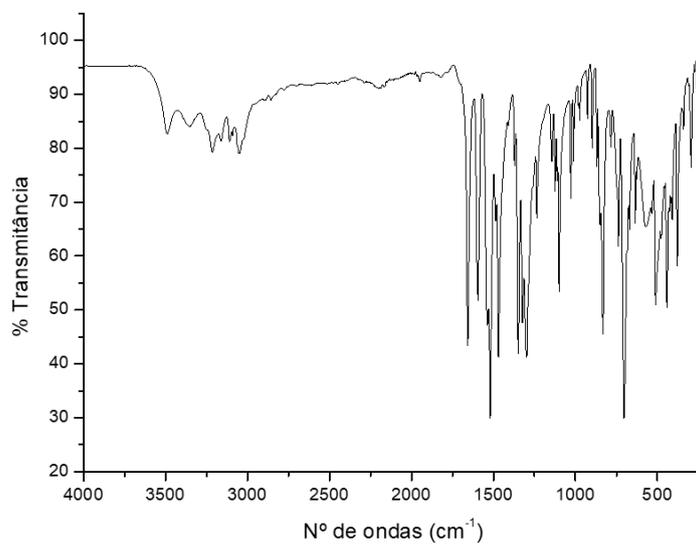


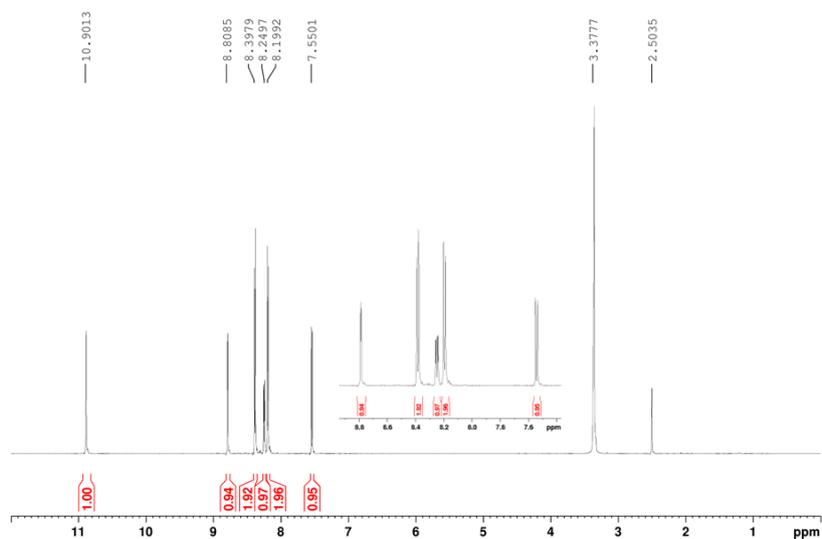
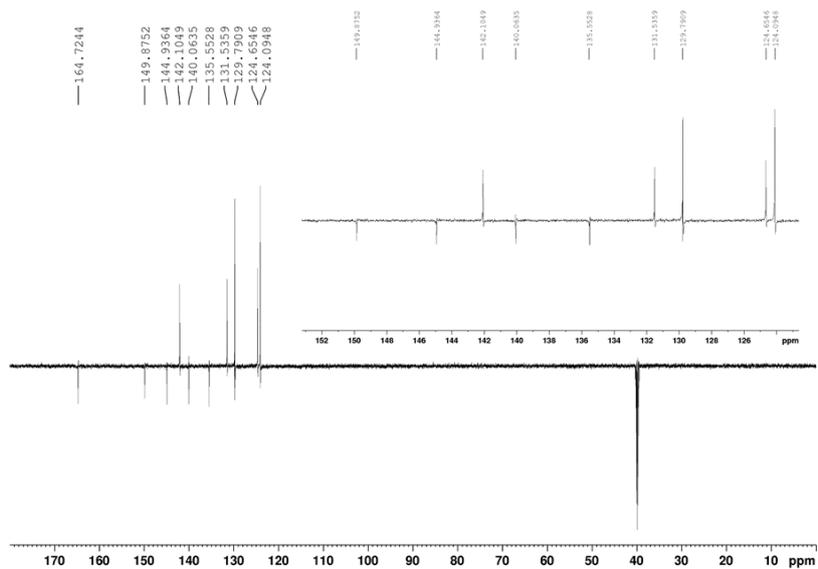
Espectro 39: EM-IES-(+) alta resolução do composto 9.**Espectro 40: Espectro na região do infravermelho da amida 15.**

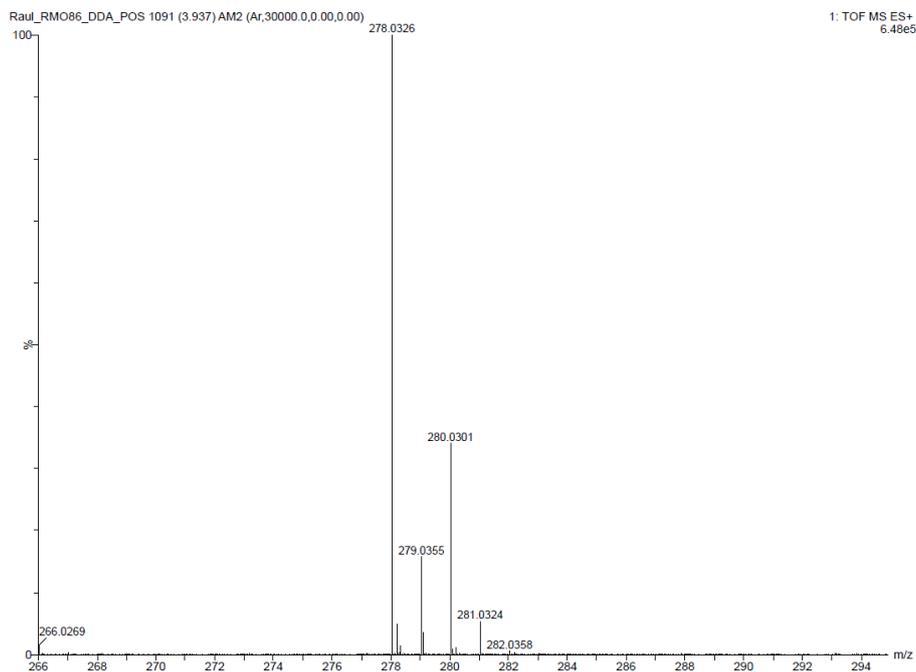
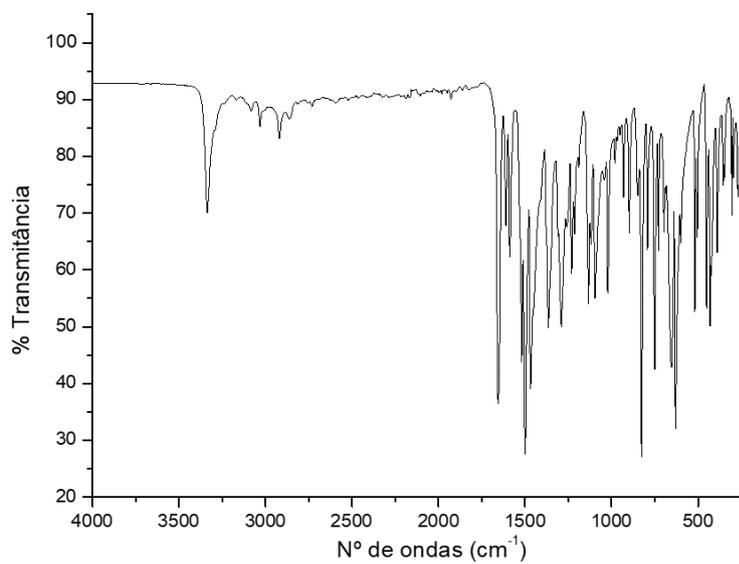
Espectro 41: Espectro de RMN de ^1H de **15** (600MHz, DMSO).**Espectro 42:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **15**.

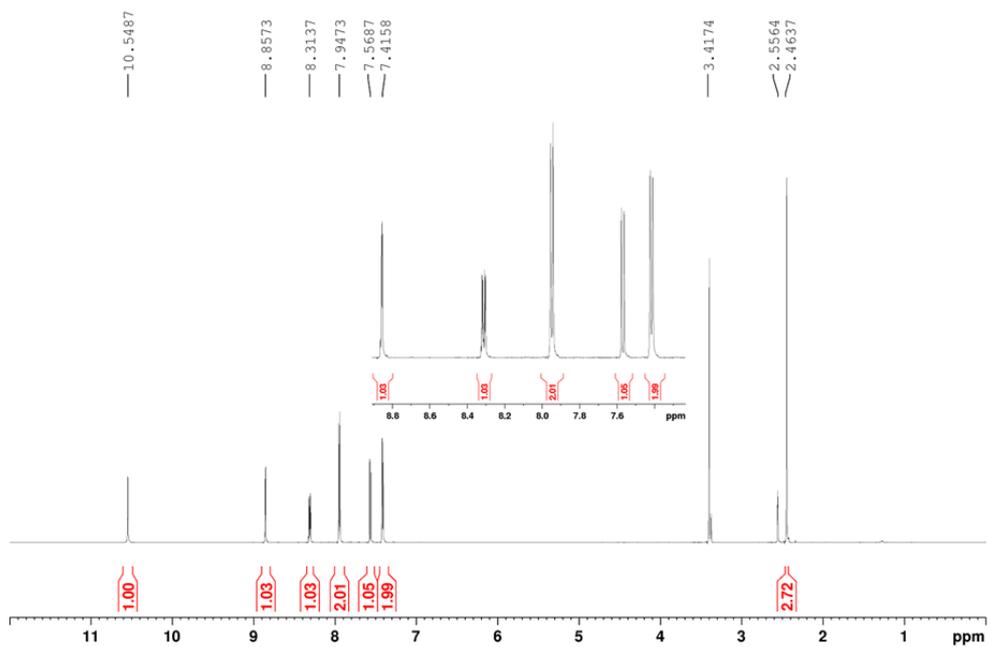
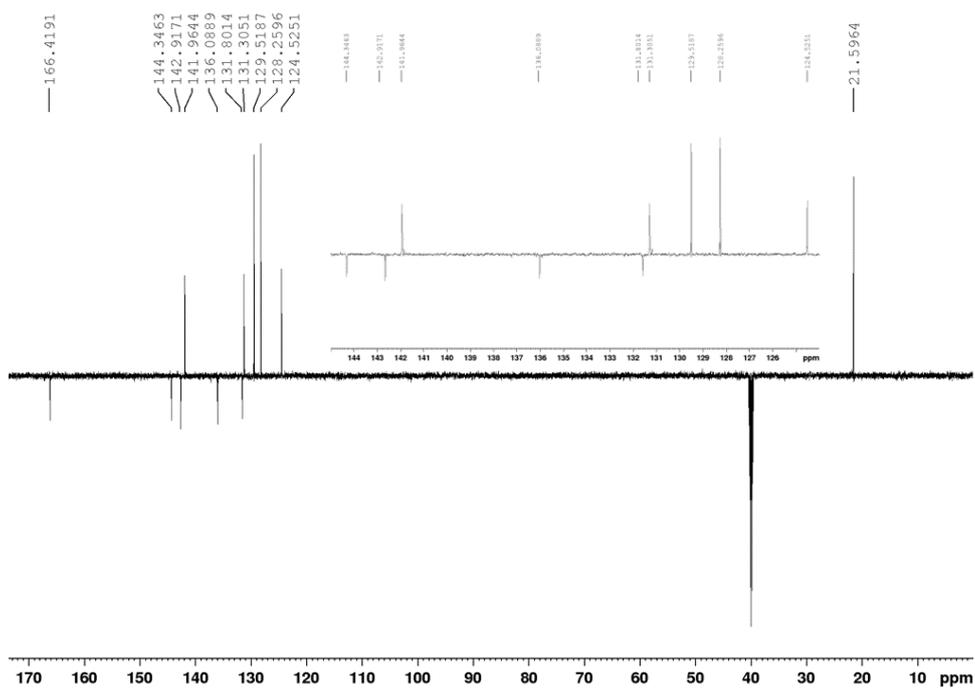
Espectro 43: EM-IES-(+) alta resolução do composto 15.**Espectro 44: Espectro na região do infravermelho da amida 18.**

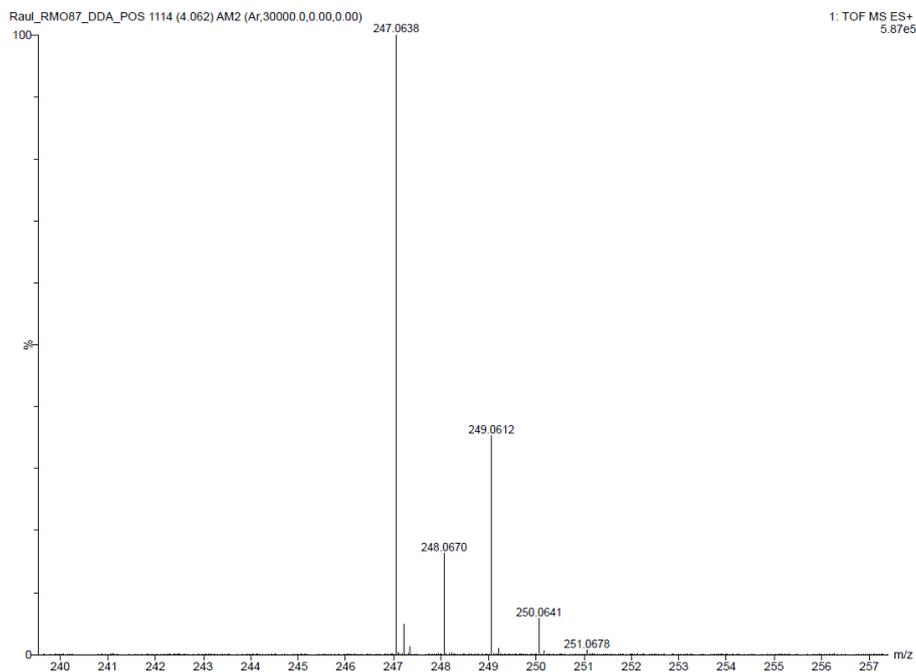
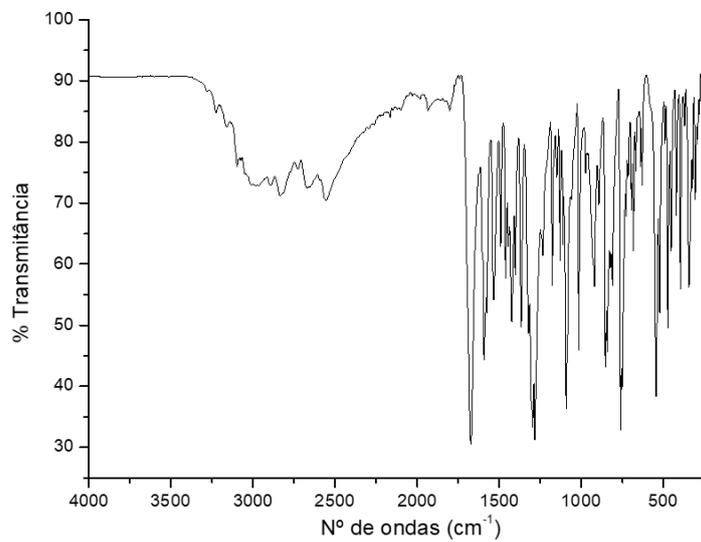
Espectro 45: Espectro de RMN de ^1H de **18** (600MHz, DMSO).**Espectro 46:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **18**.

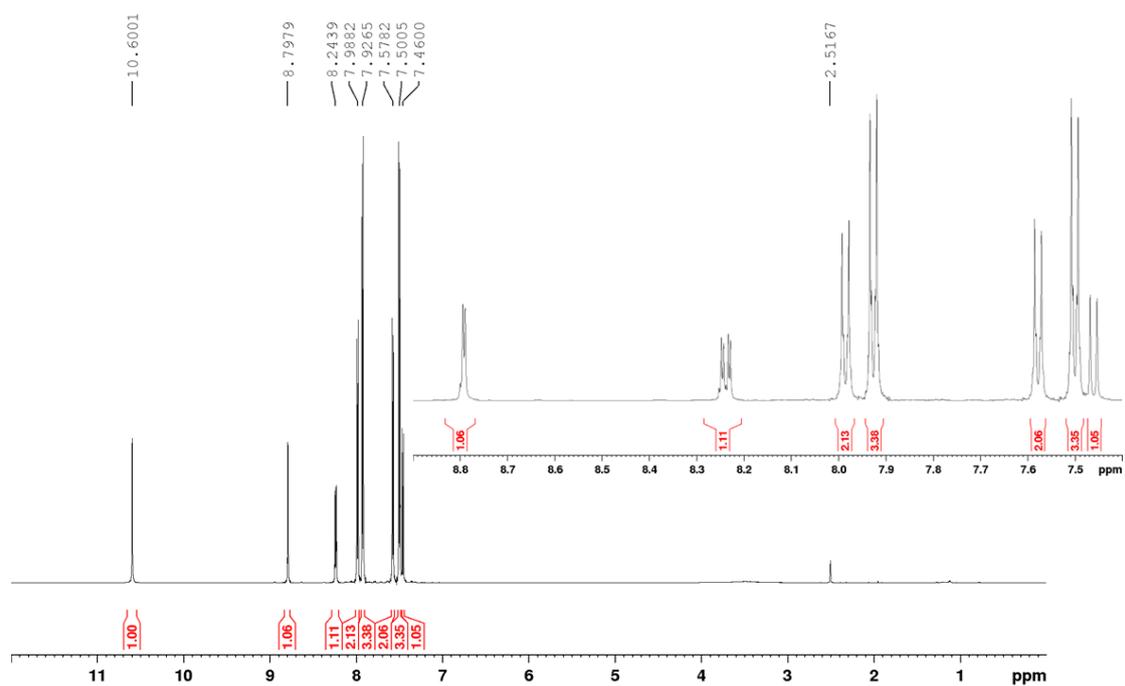
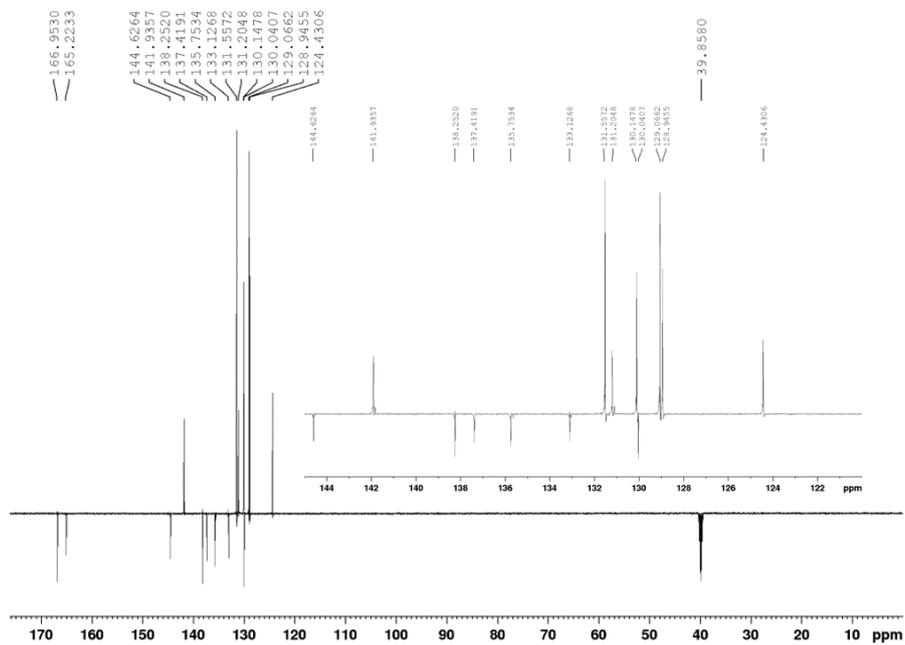
Espectro 47: EM-IES-(+) alta resolução do composto 18.**Espectro 48: Espectro na região do infravermelho da amida 19.**

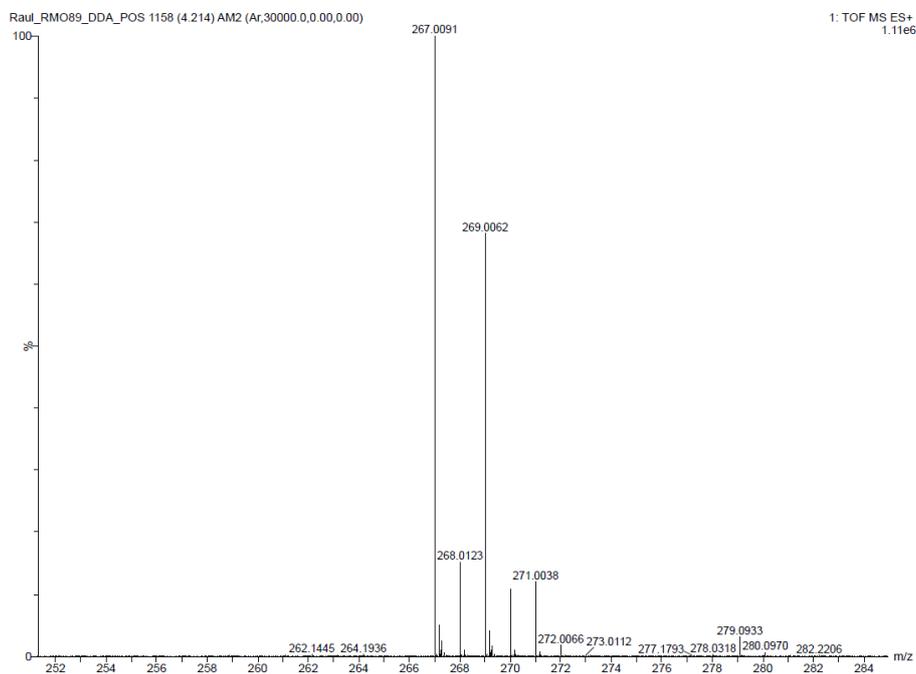
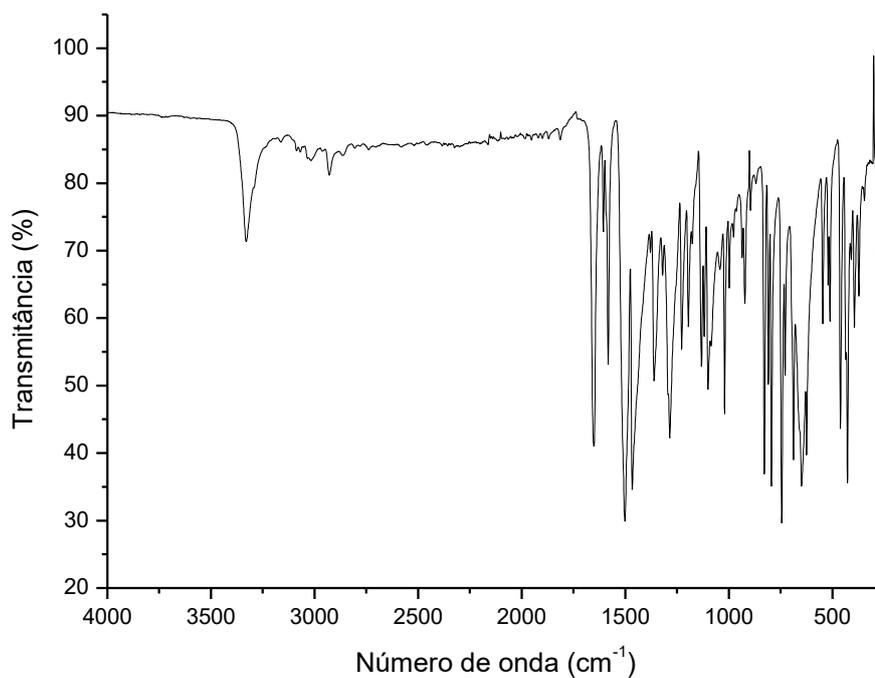
Espectro 49: Espectro de RMN de ^1H de **19** (600MHz, DMSO).**Espectro 50:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **19**.

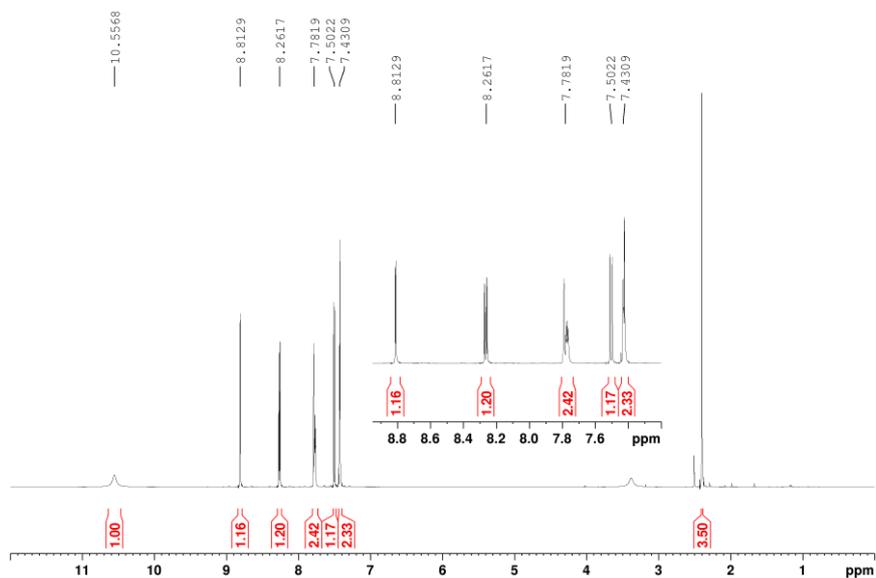
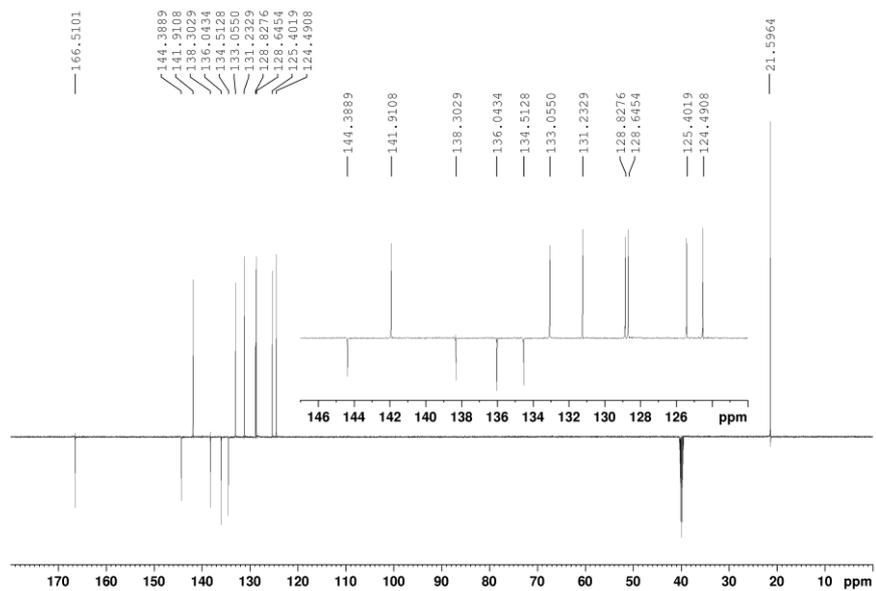
Espectro 51: EM-IES-(+) alta resolução do composto 19.**Espectro 52: Espectro na região do infravermelho da amida 22.**

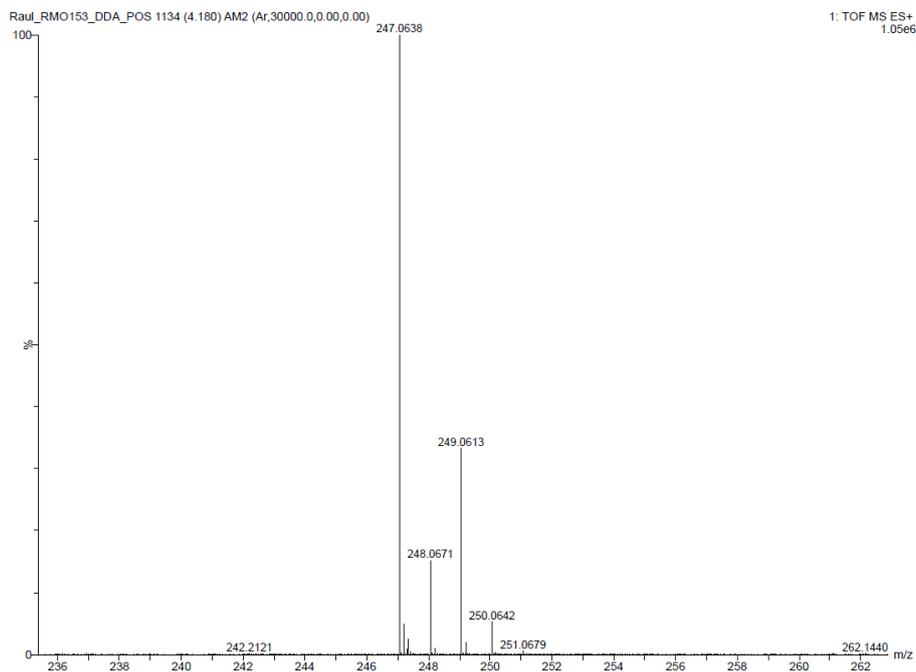
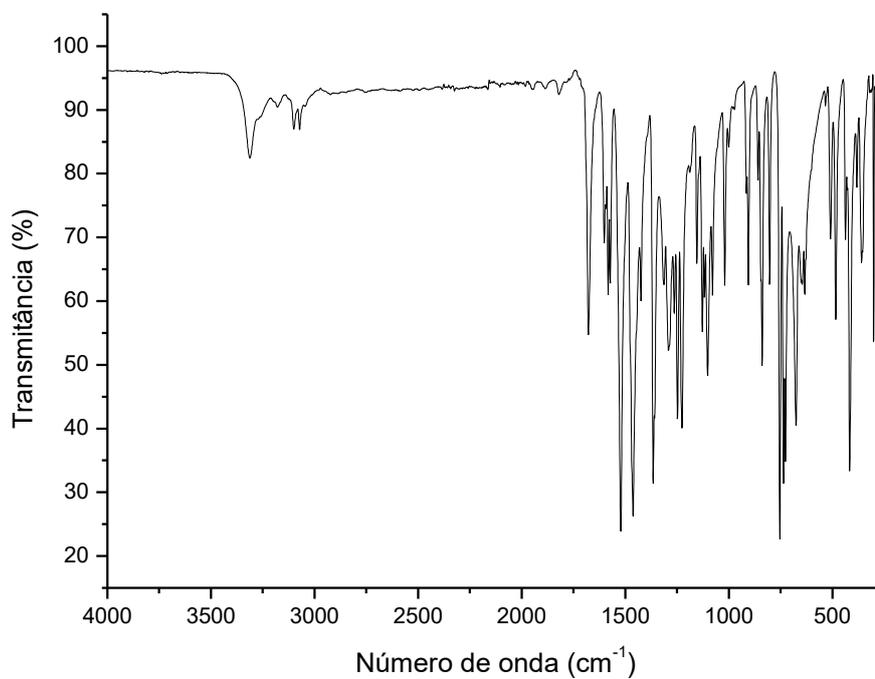
Espectro 53: Espectro de RMN de ^1H de **22** (600MHz, DMSO).**Espectro 54:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **22**.

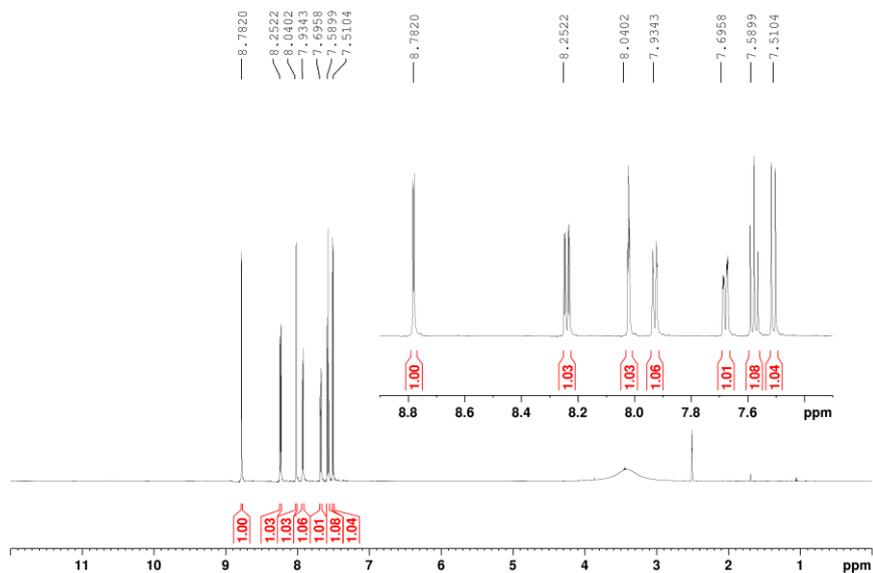
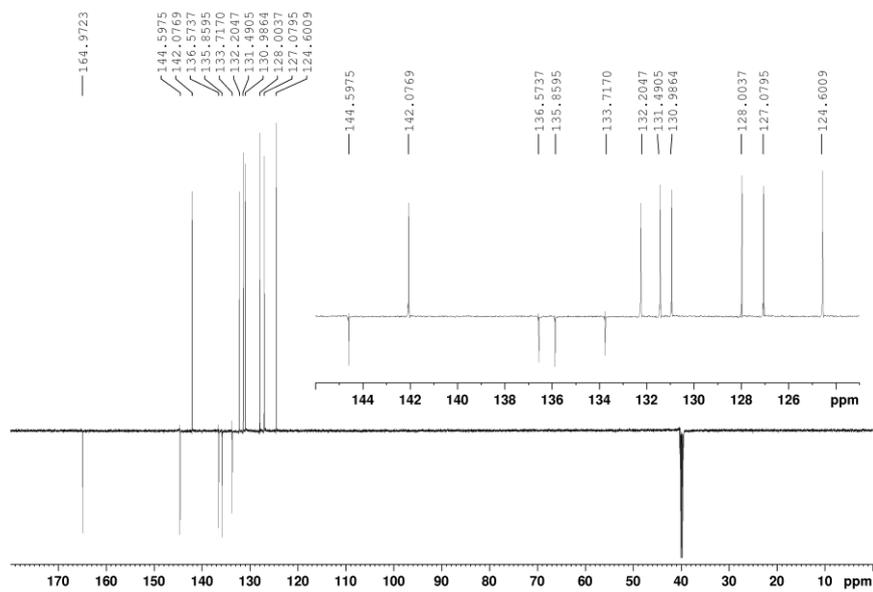
Espectro 55: EM-IES-(+) alta resolução do composto 22.**Espectro 56: Espectro na região do infravermelho da amida 28.**

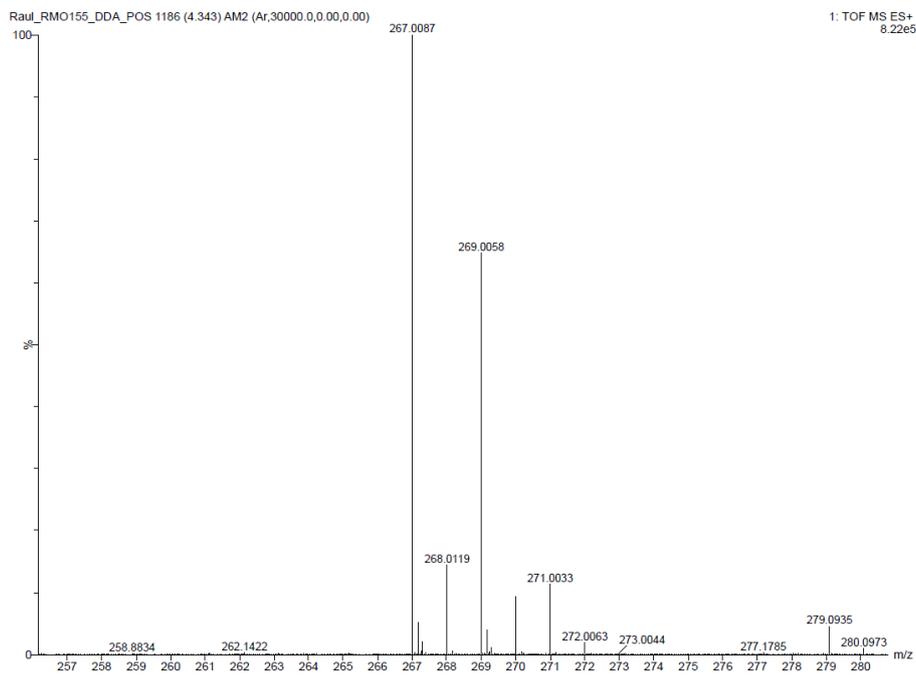
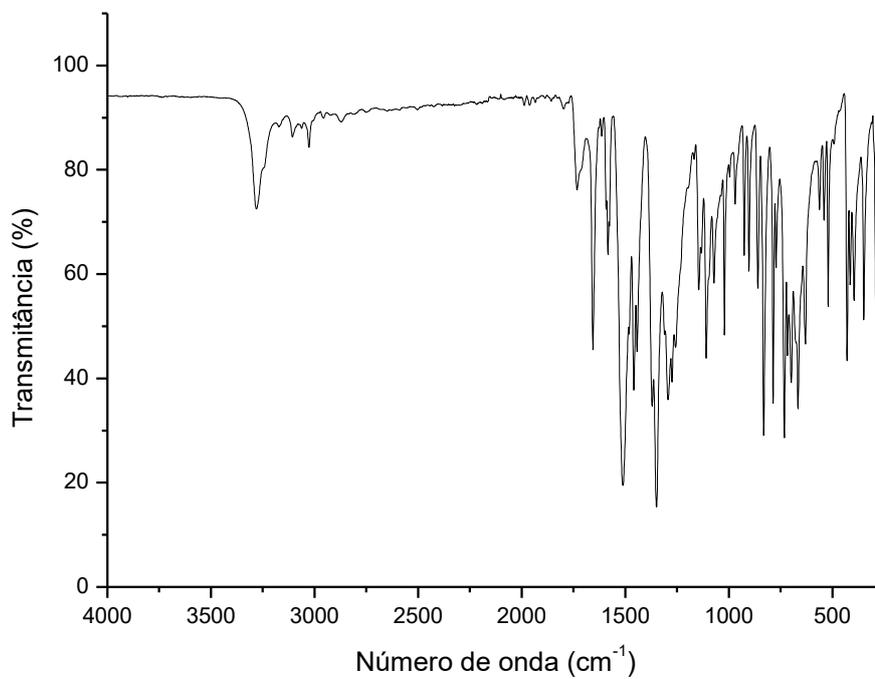
Espectro 57: Espectro de RMN de ^1H de **28** (600MHz, DMSO).**Espectro 58:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **28**.

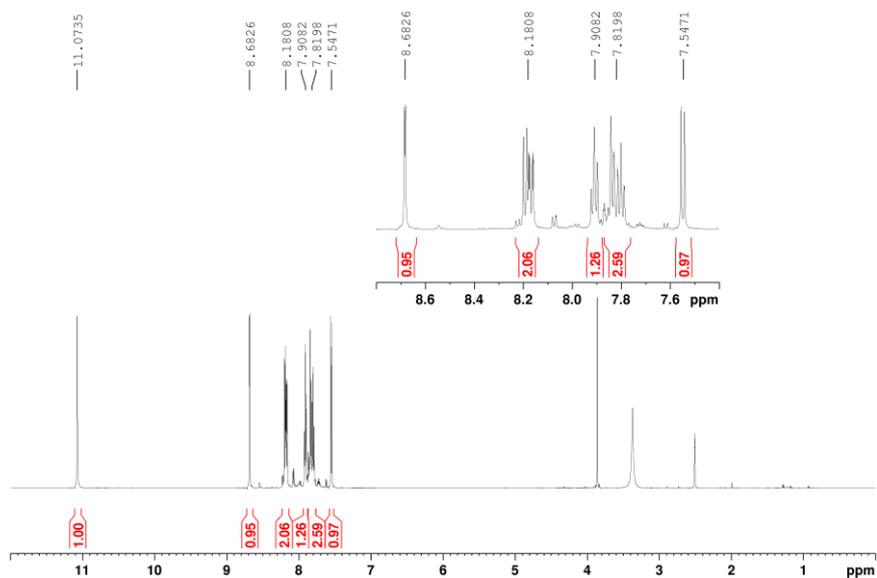
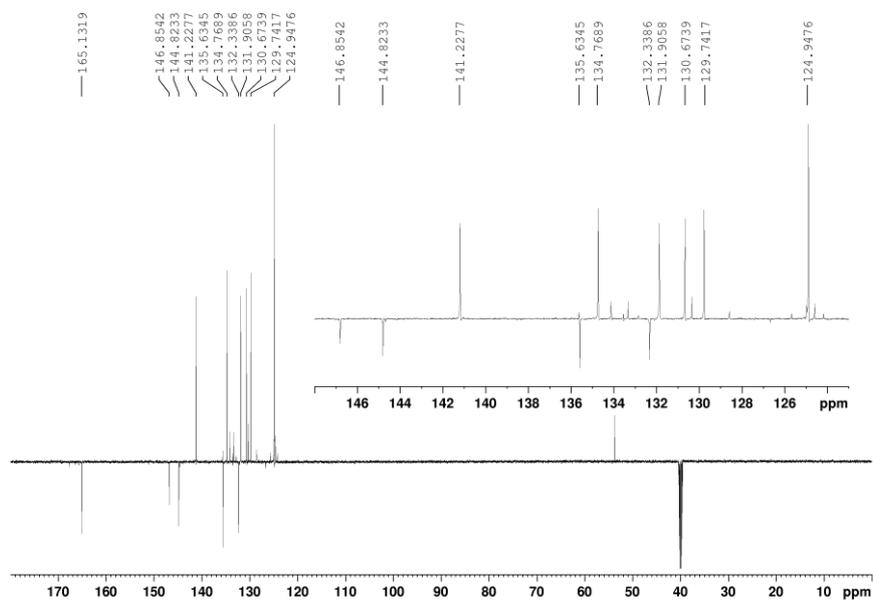
Espectro 59: EM-IES-(+) alta resolução do composto 28.**Espectro 60: Espectro na região do infravermelho da amida 23.**

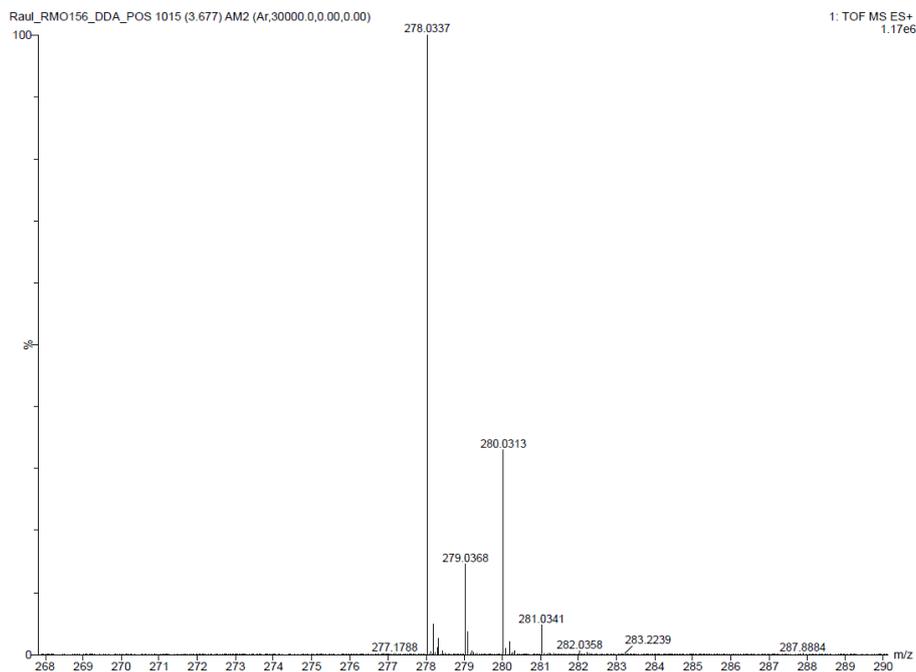
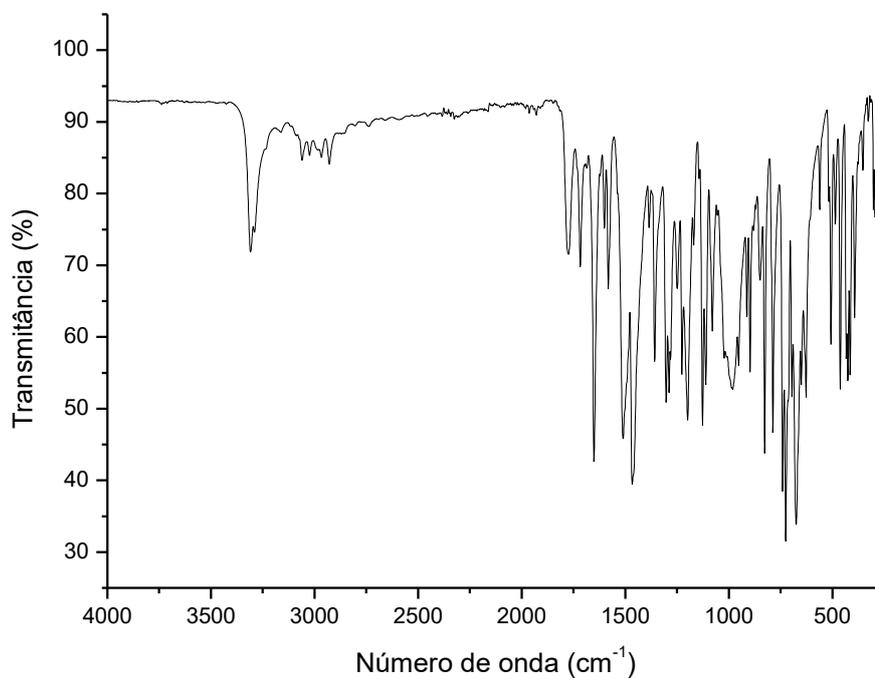
Espectro 61: Espectro de RMN de ^1H de **23** (600MHz, DMSO).**Espectro 62:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **23**.

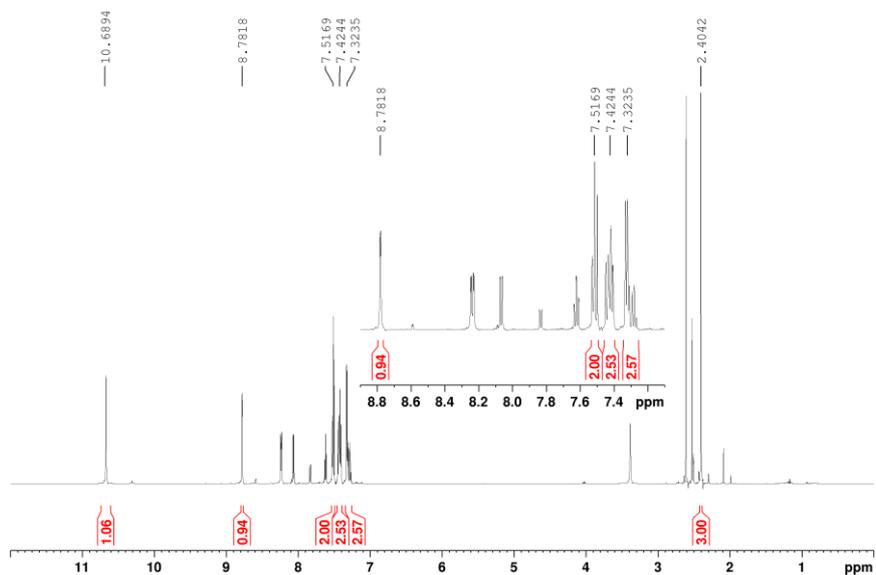
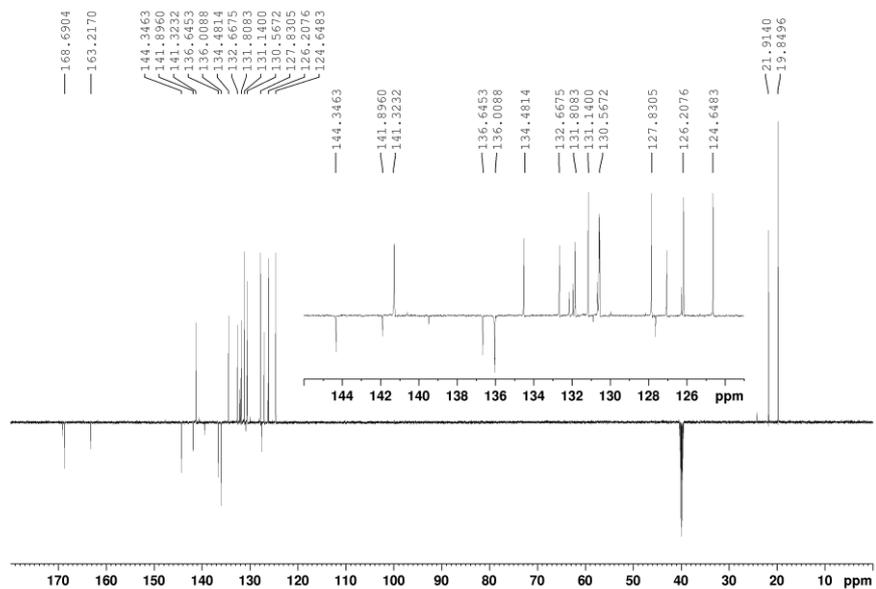
Espectro 63: EM-IES-(+) alta resolução do composto **23**.**Espectro 64:** Espectro na região do infravermelho da amida **29**.

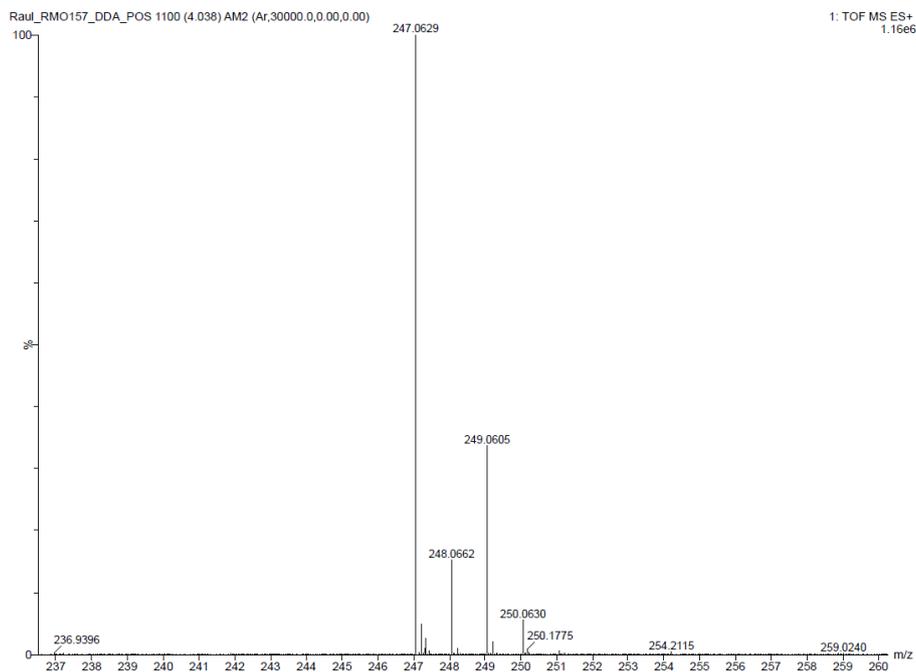
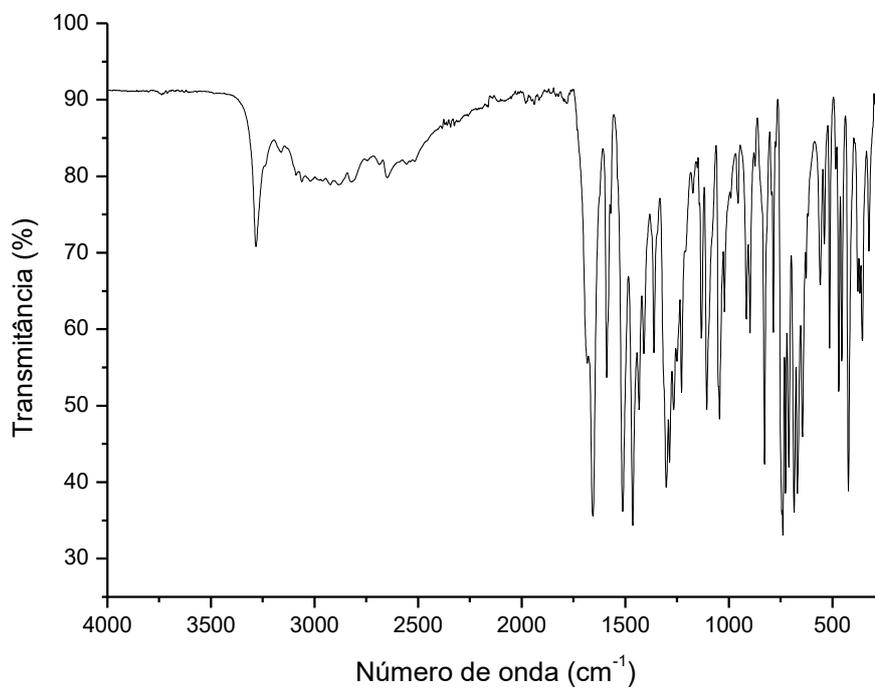
Espectro 65: Espectro de RMN de ^1H de **29** (600MHz, DMSO).**Espectro 66:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **29**.

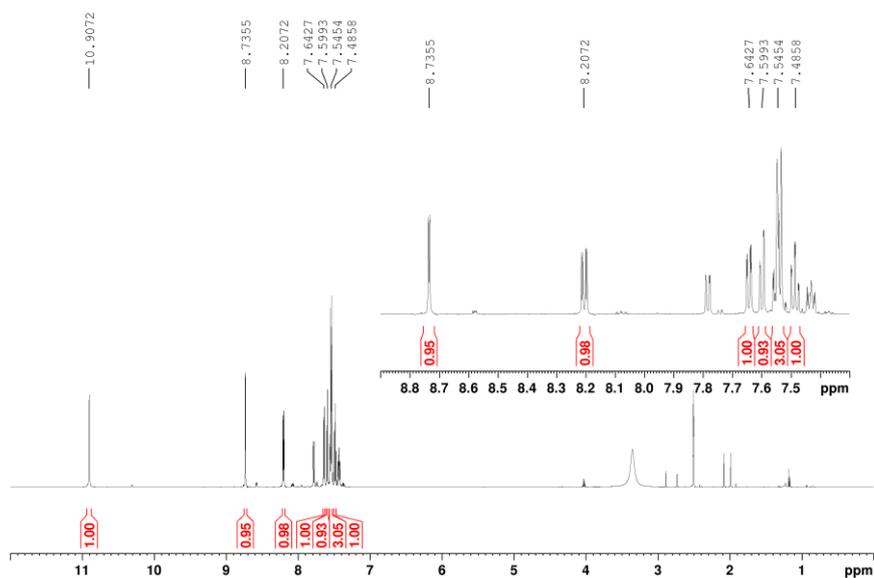
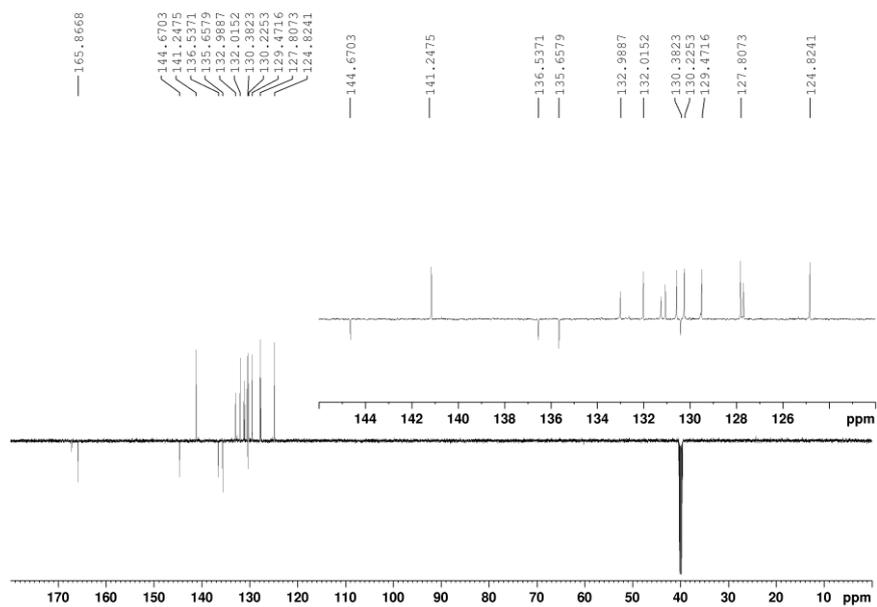
Espectro 67: EM-IES-(+) alta resolução do composto **29**.**Espectro 68:** Espectro na região do infravermelho da amida **21**.

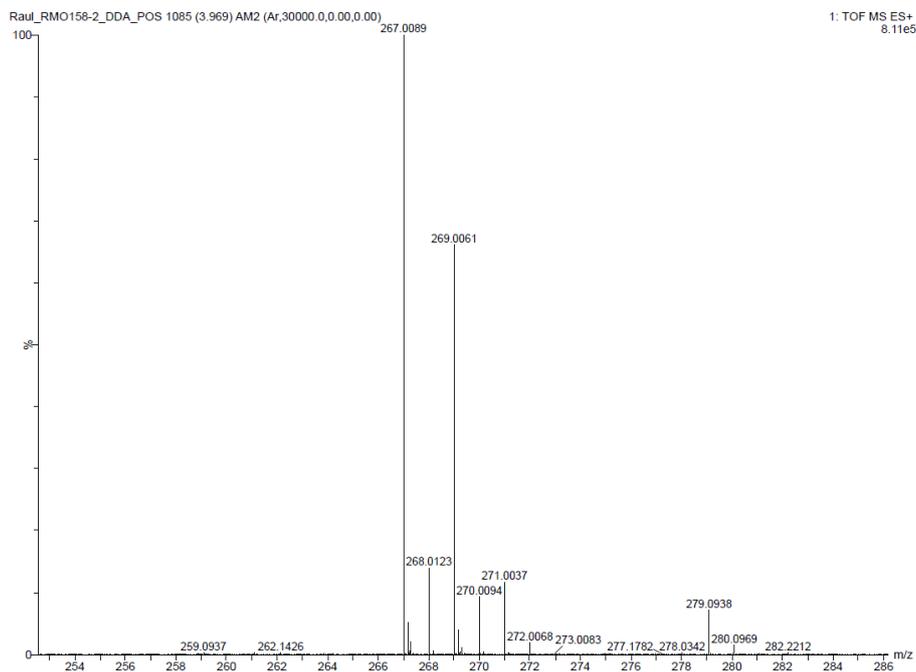
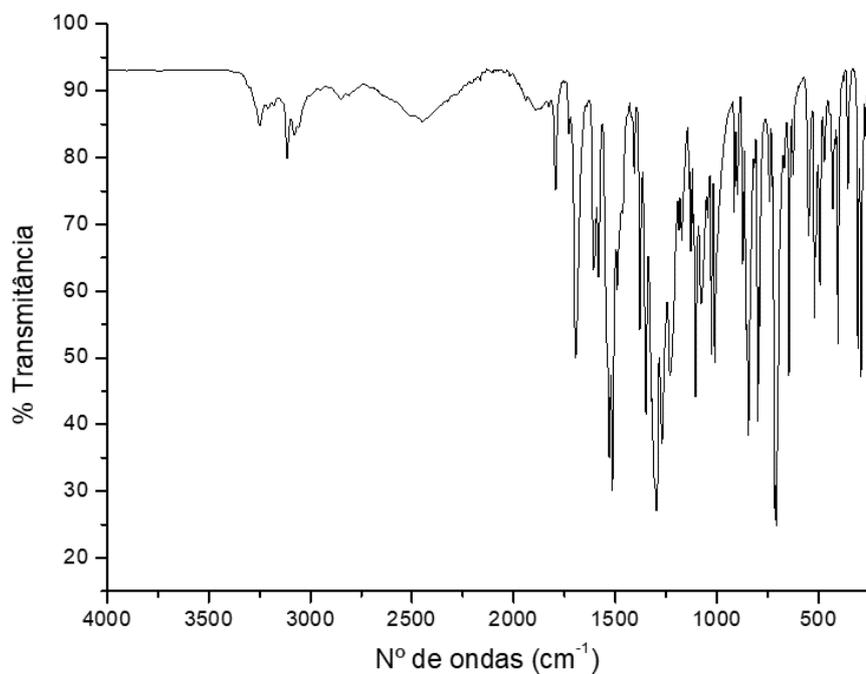
Espectro 69: Espectro de RMN de ^1H de **21** (600MHz, DMSO).**Espectro 70:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **21**.

Espectro 71: EM-IES-(+) alta resolução do composto 21.**Espectro 72: Espectro na região do infravermelho da amida 24.**

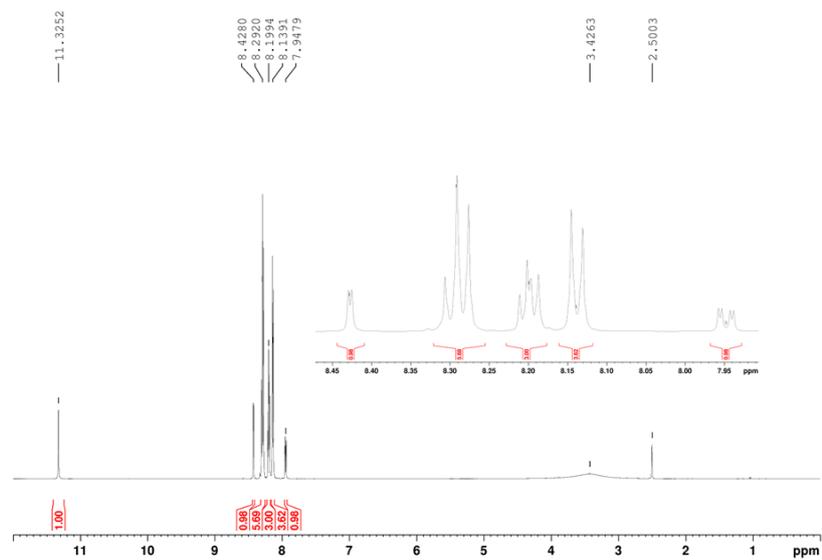
Espectro 73: Espectro de RMN de ^1H de **24** (600MHz, DMSO).**Espectro 74:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **24**.

Espectro 75: EM-IES-(+) alta resolução do composto 24.**Espectro 76: Espectro na região do infravermelho da amida 30.**

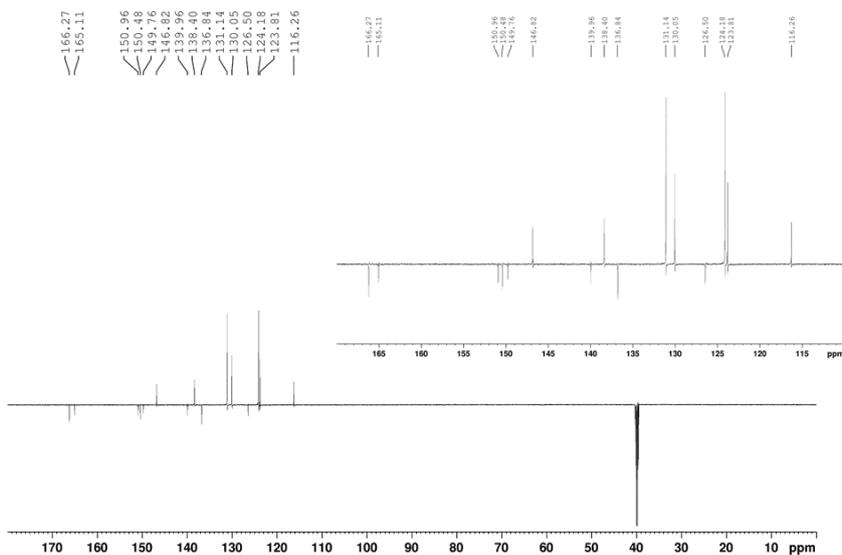
Espectro 77: Espectro de RMN de ^1H de **30** (600MHz, DMSO).**Espectro 78:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **30**.

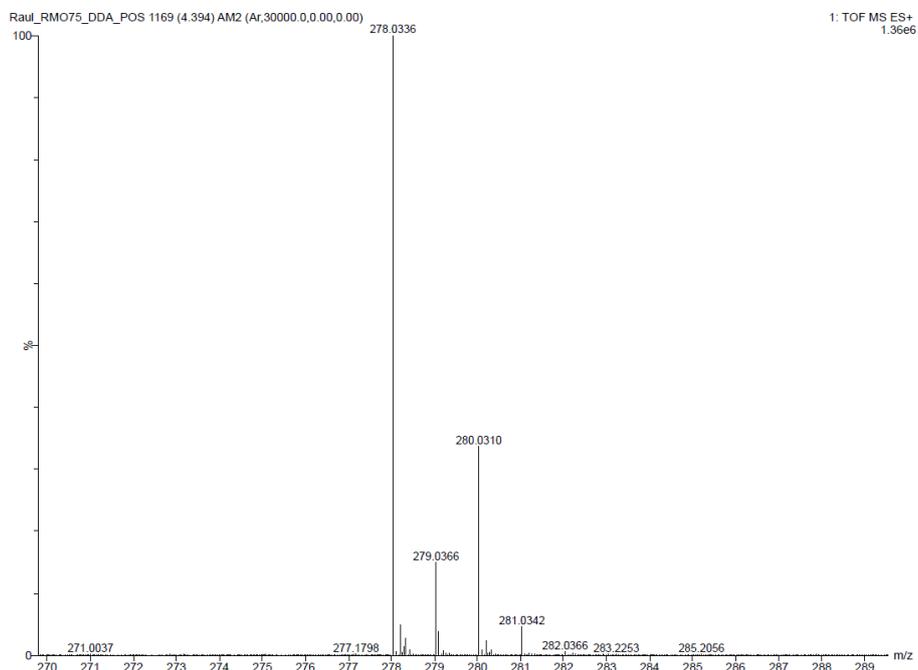
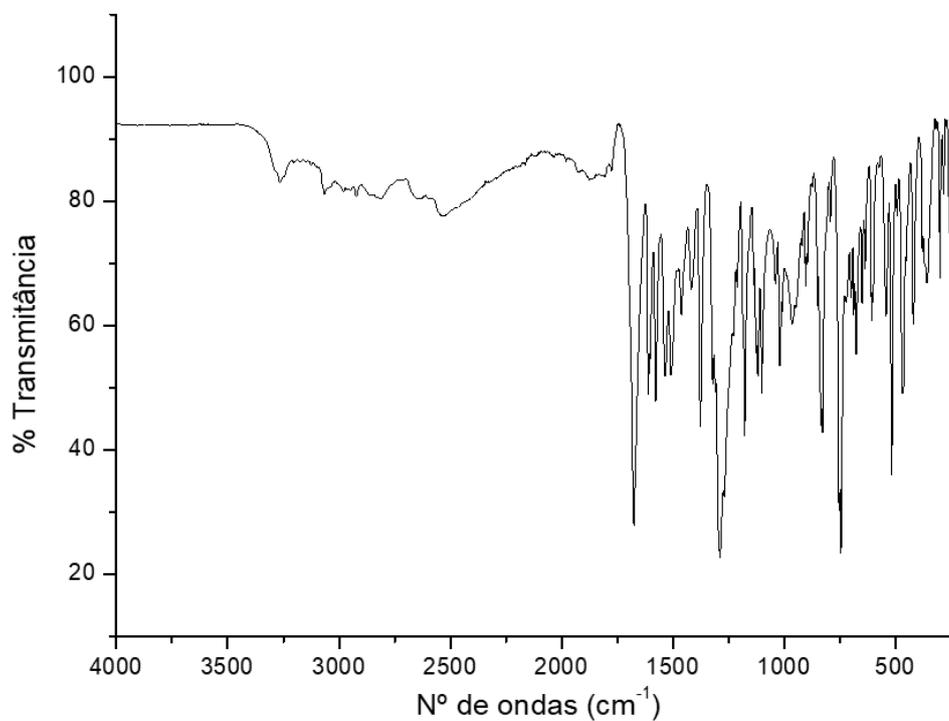
Espectro 79: EM-IES-(+) alta resolução do composto 30.**Espectro 80: Espectro na região do infravermelho da amida 31.**

Espectro 81: Espectro de RMN de ^1H de **31** (600MHz, DMSO).

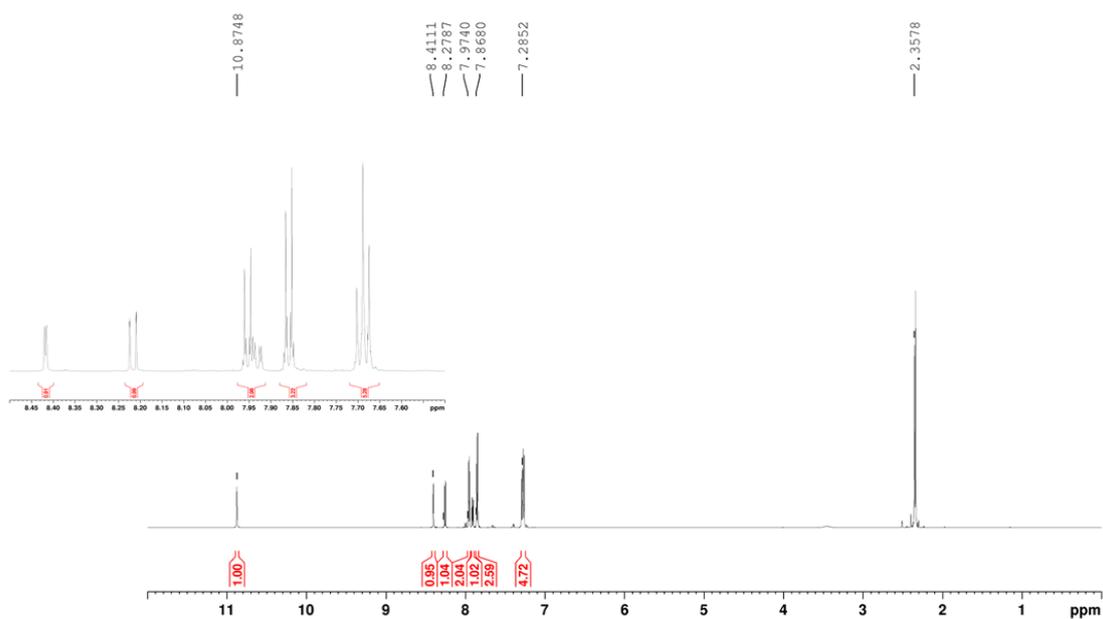


Espectro 82: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **31**.

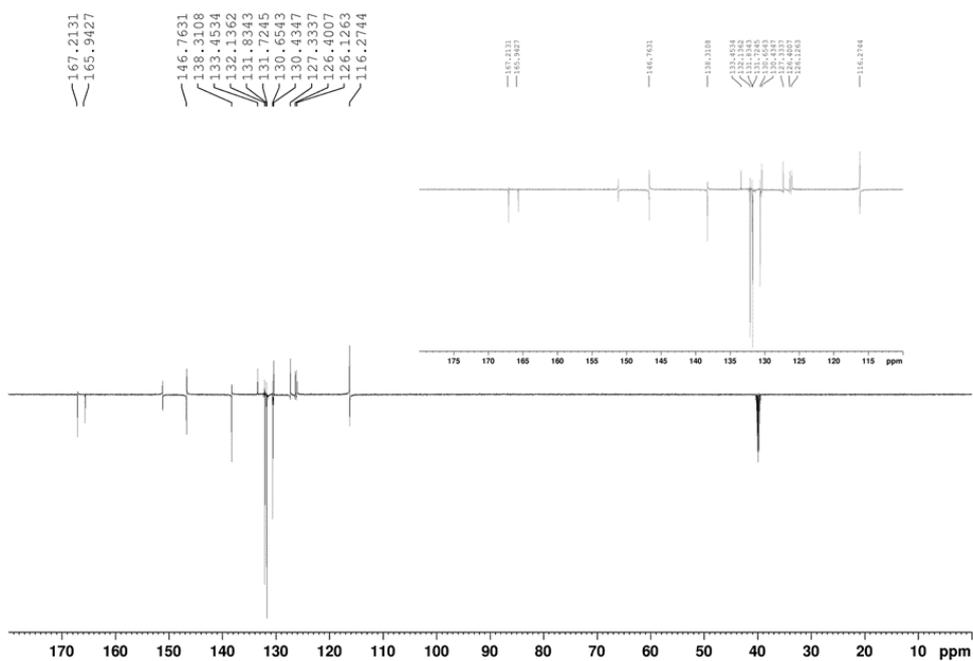


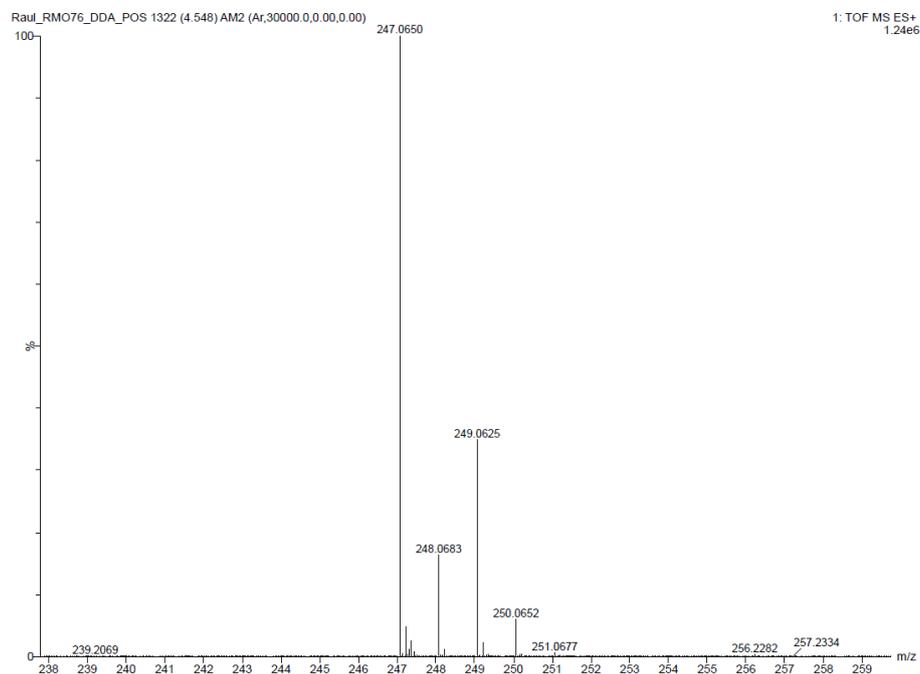
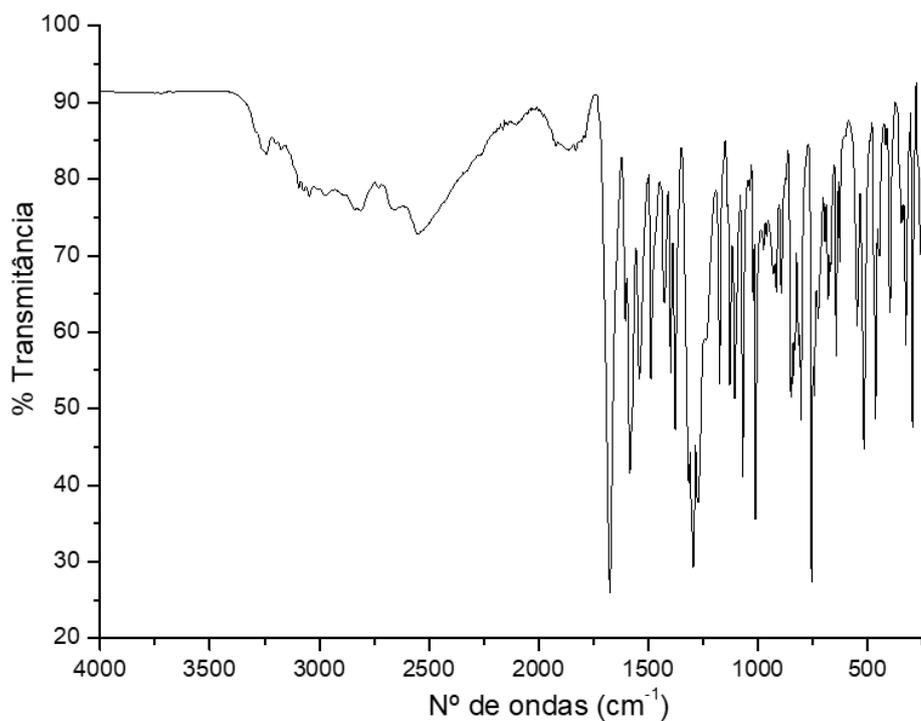
Espectro 83: EM-IES-(+) alta resolução do composto 31.**Espectro 84: Espectro na região do infravermelho da amida 34.**

Espectro 85: Espectro de RMN de ^1H de **34** (600MHz, DMSO).

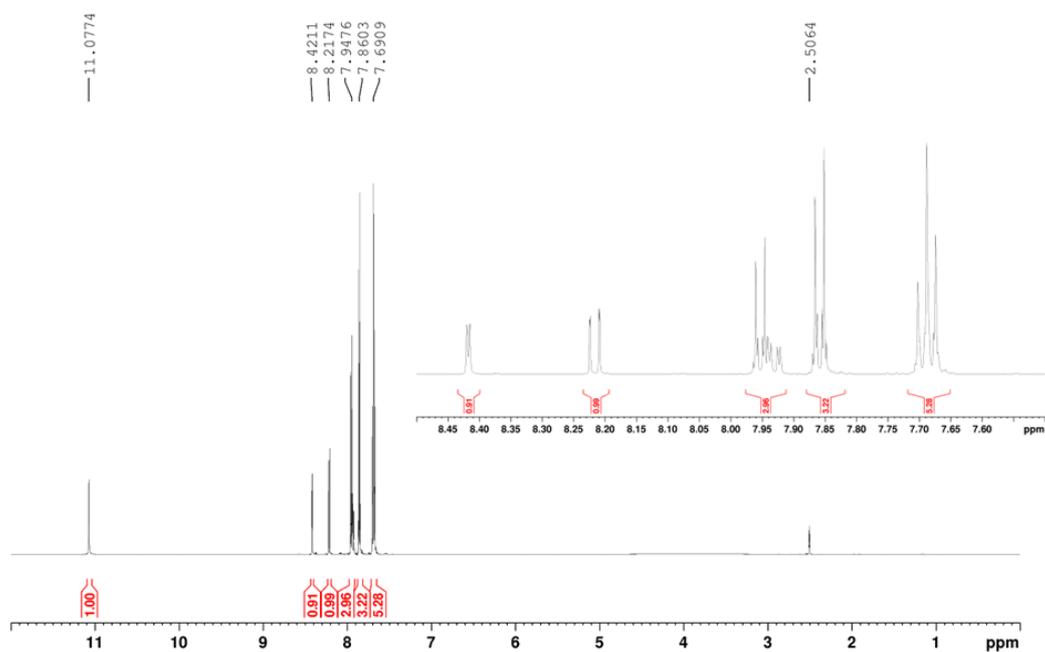


Espectro 86: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **34**.

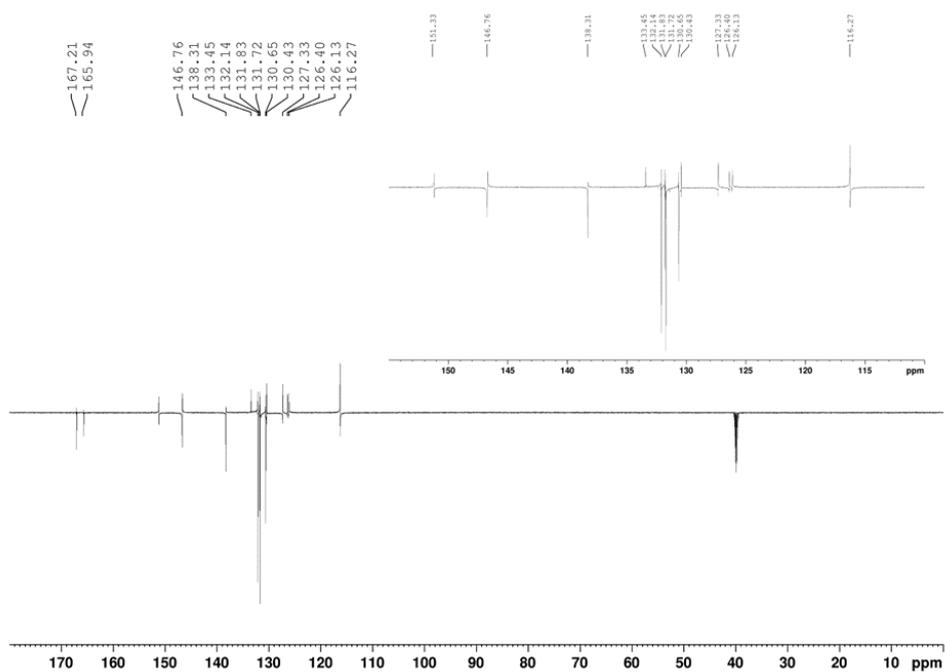


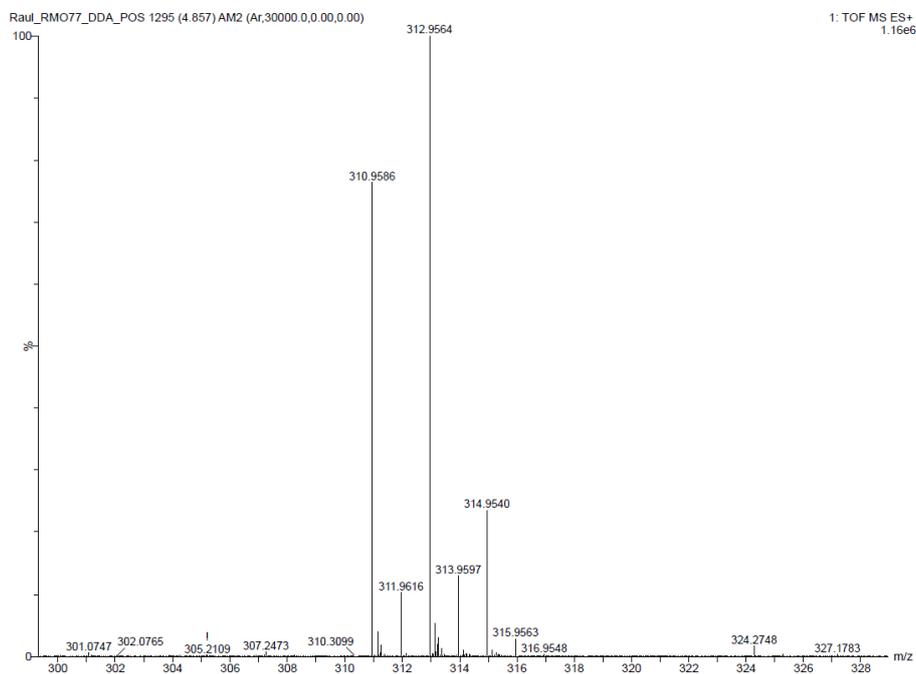
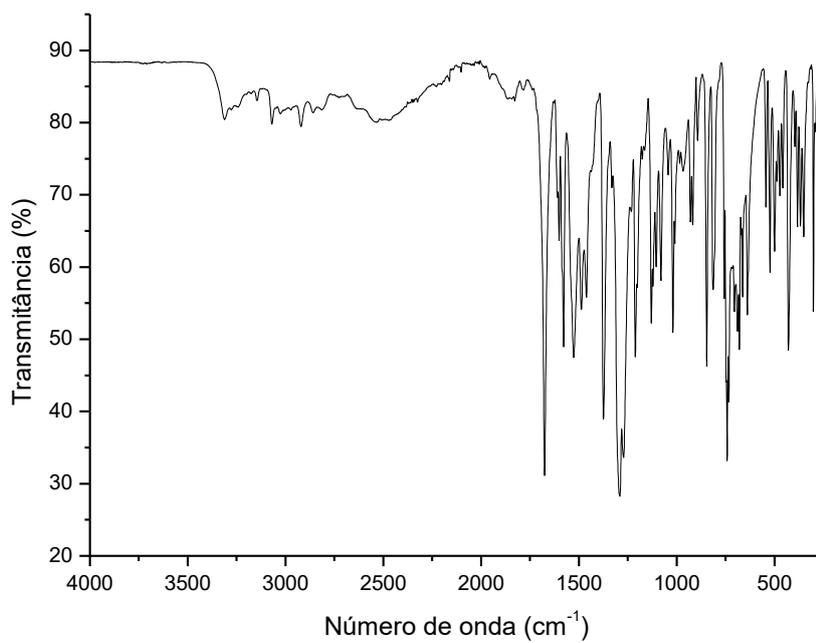
Espectro 87: EM-IES-(+) alta resolução do composto 34.**Espectro 88: Espectro na região do infravermelho da amida 37.**

Espectro 89: Espectro de RMN de ^1H de **37** (600MHz, DMSO).

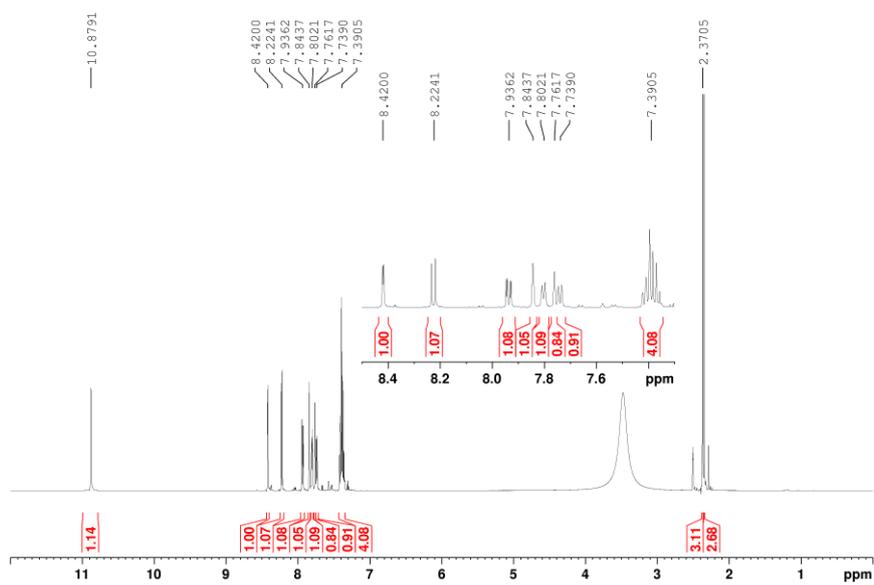


Espectro 90: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **37**.

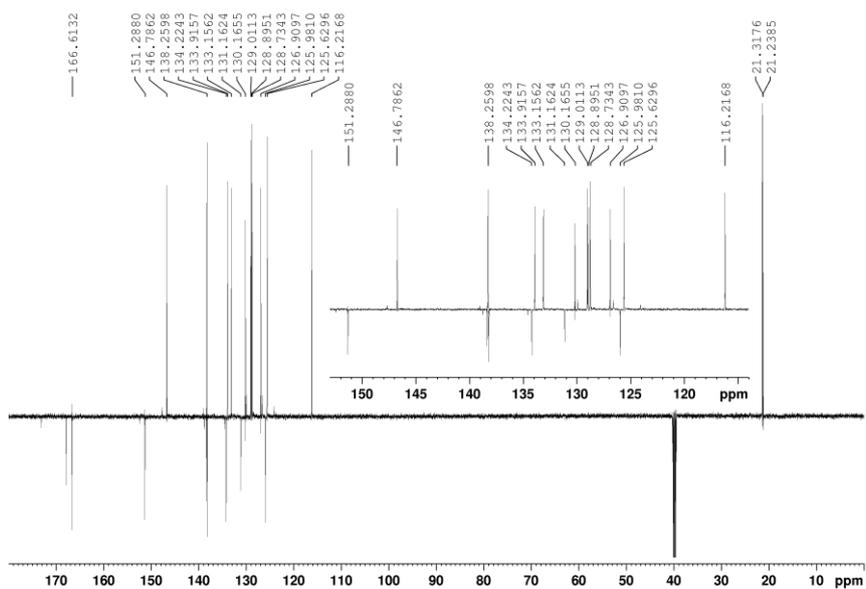


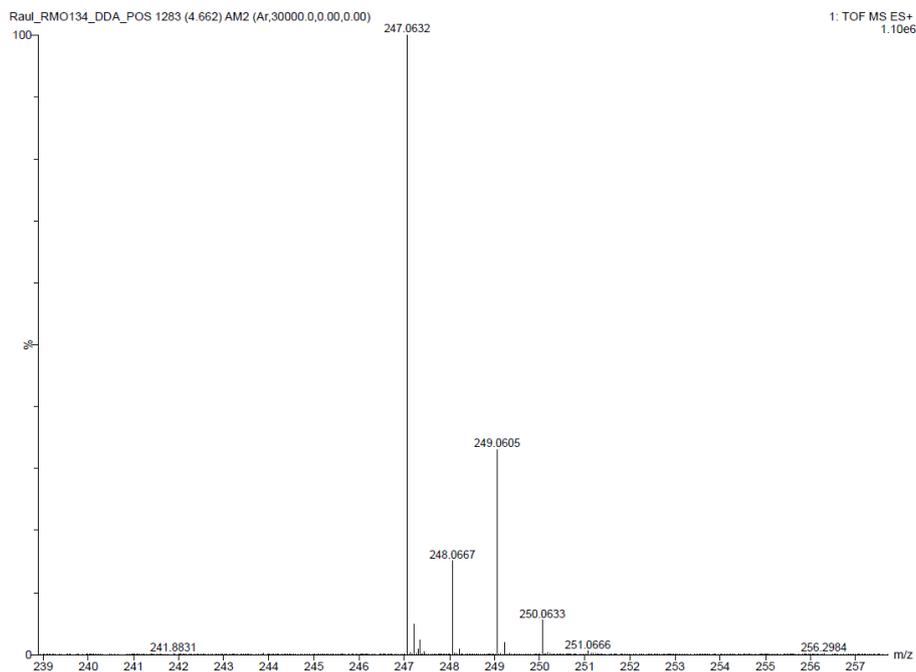
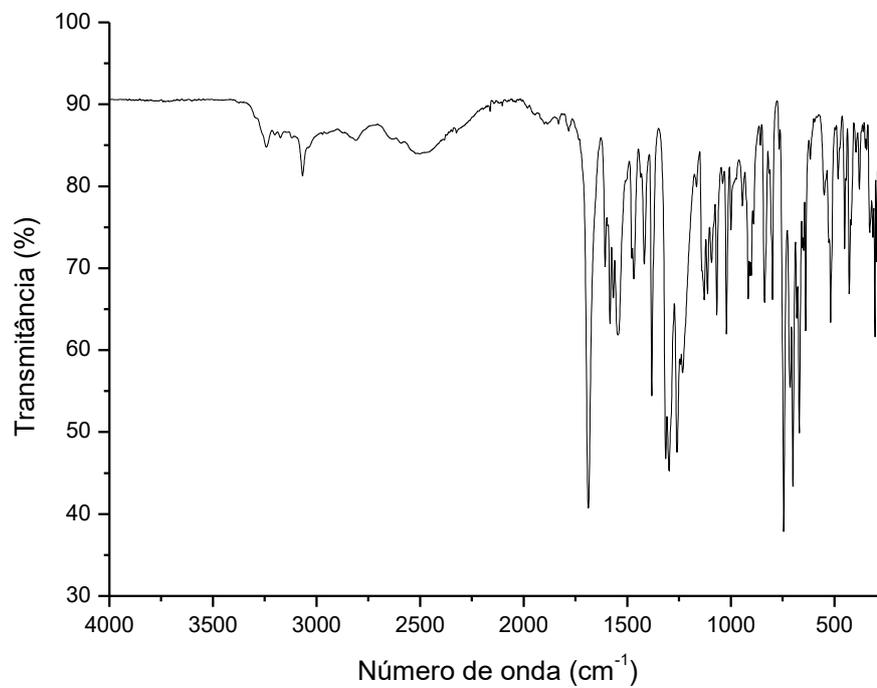
Espectro 91: EM-IES-(+) alta resolução do composto 37.**Espectro 92: Espectro na região do infravermelho da amida 35.**

Espectro 93: Espectro de RMN de ^1H de **35** (600MHz, DMSO).

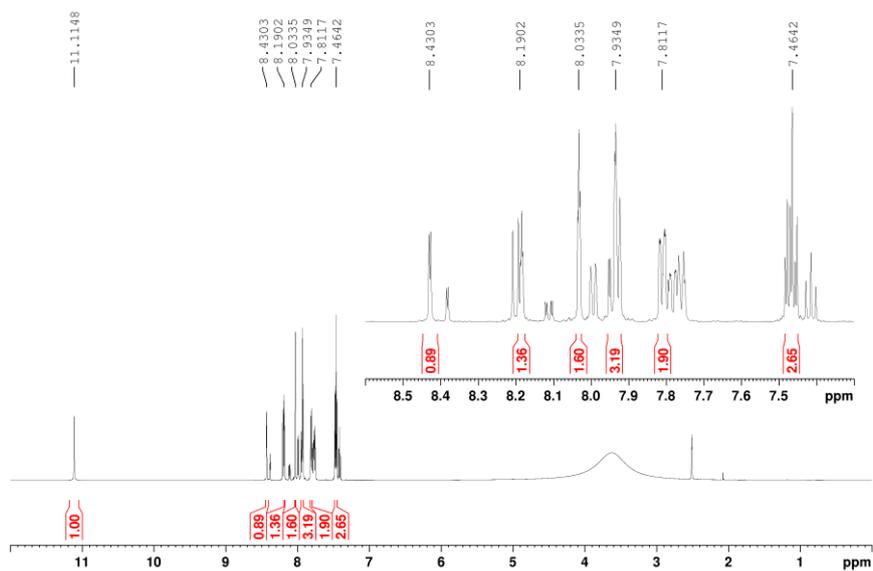


Espectro 94: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **35**.

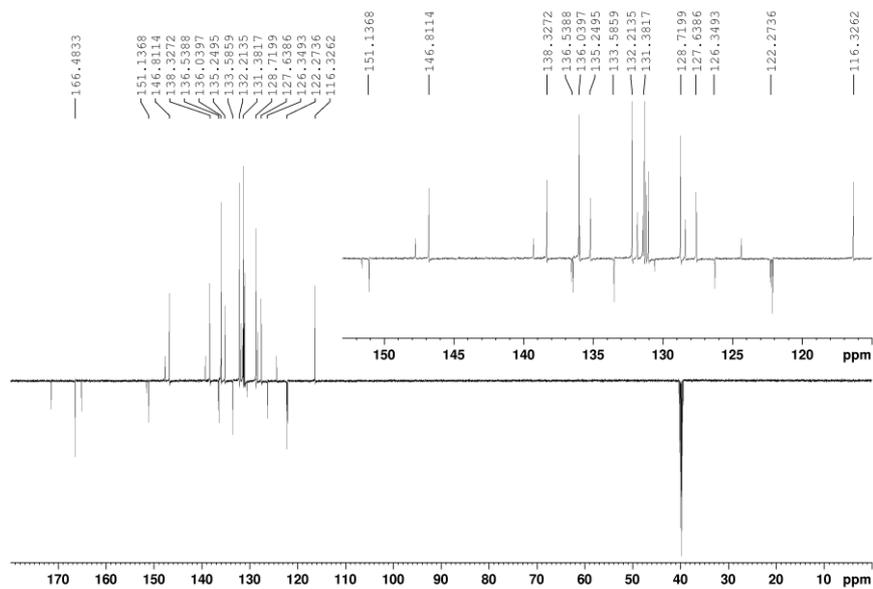


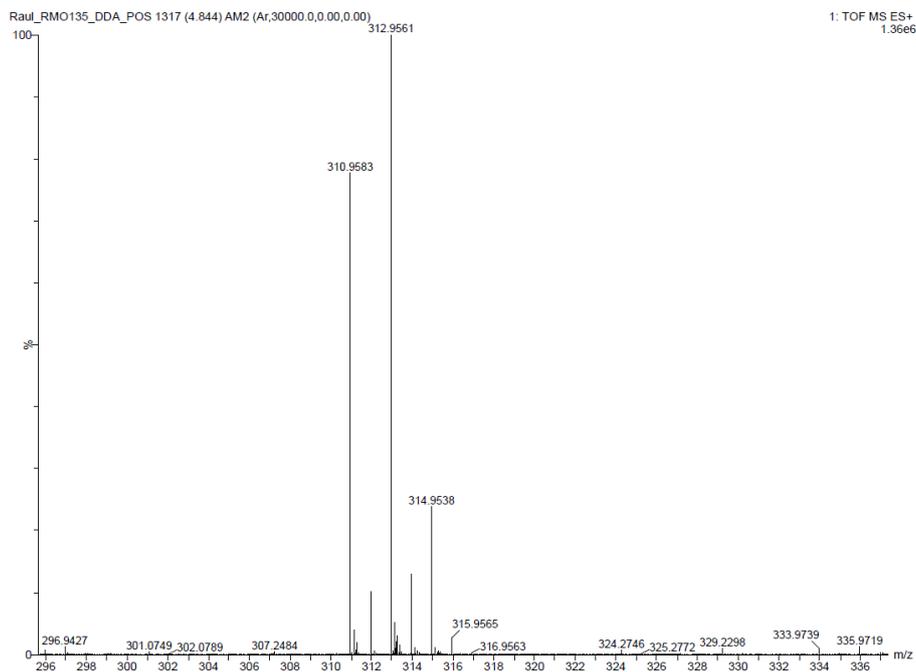
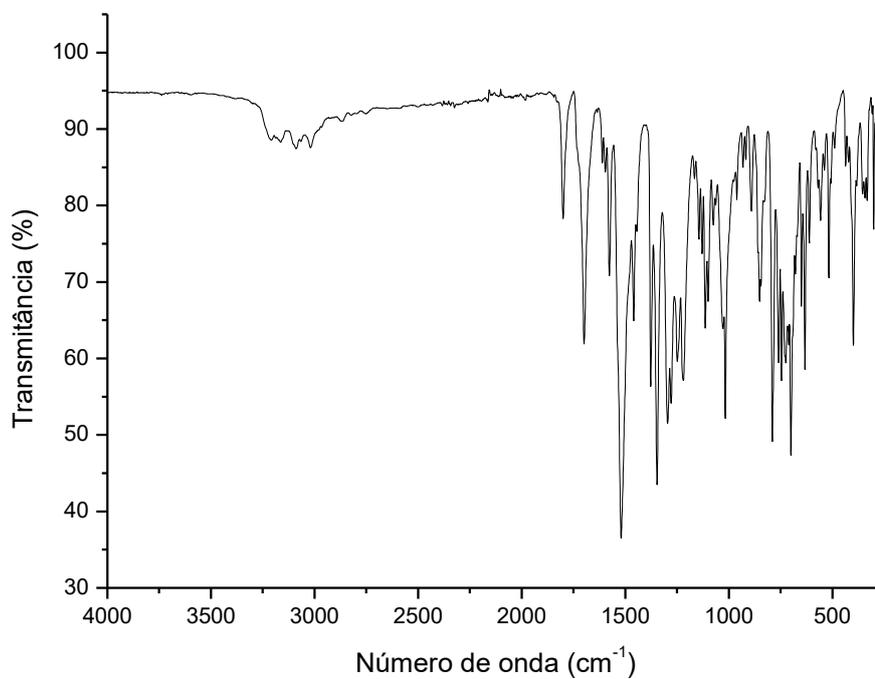
Espectro 95: EM-IES-(+) alta resolução do composto 35.**Espectro 96: Espectro na região do infravermelho da amida 38.**

Espectro 97: Espectro de RMN de ^1H de **38** (600MHz, DMSO).

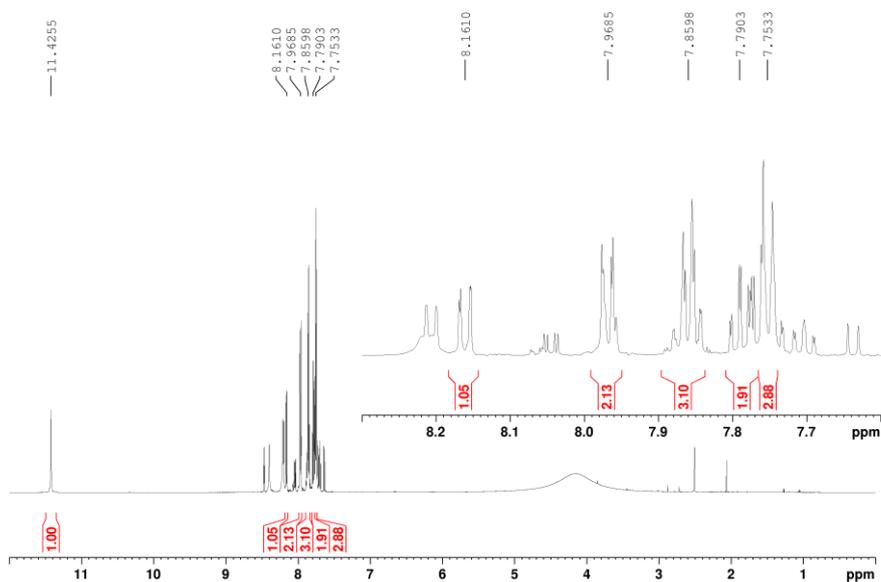


Espectro 98: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **38**.

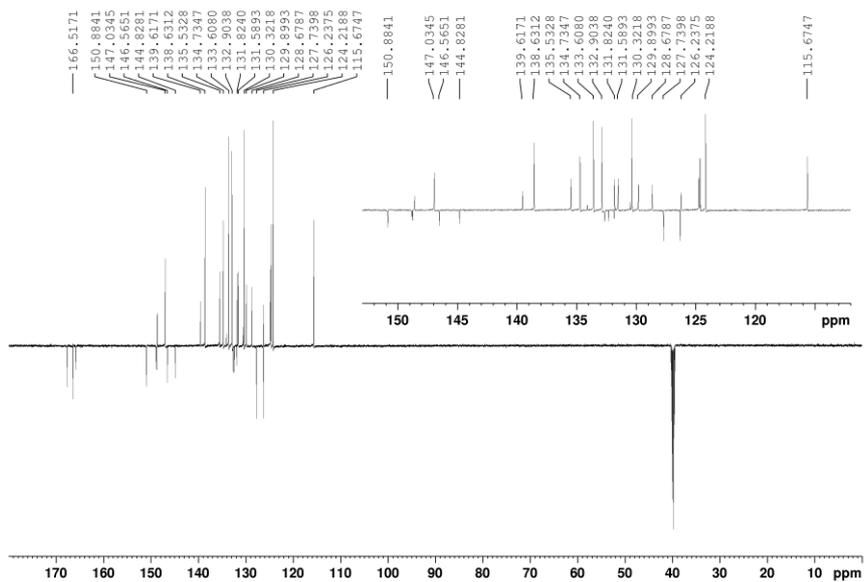


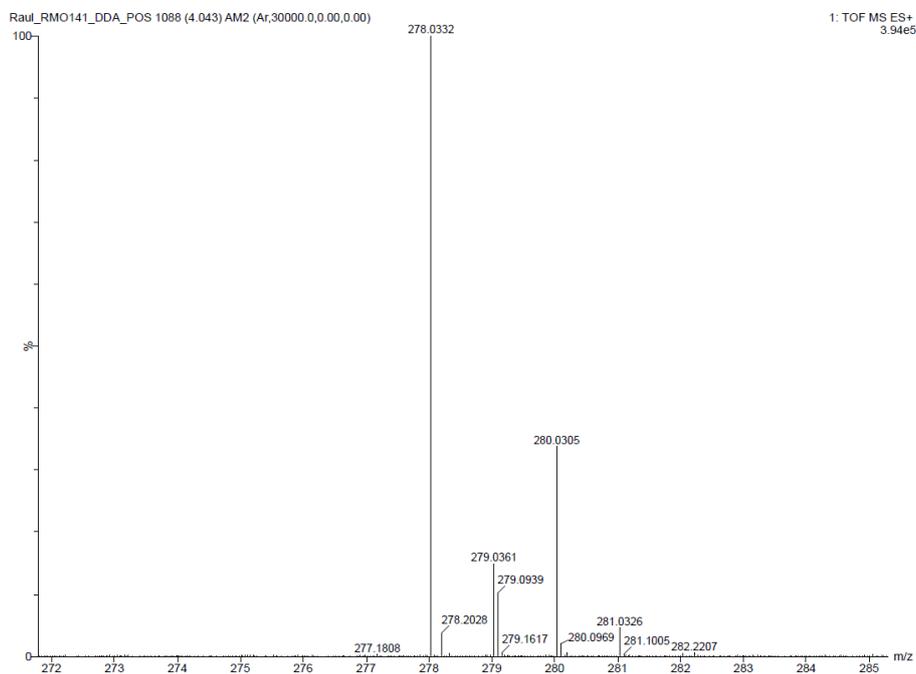
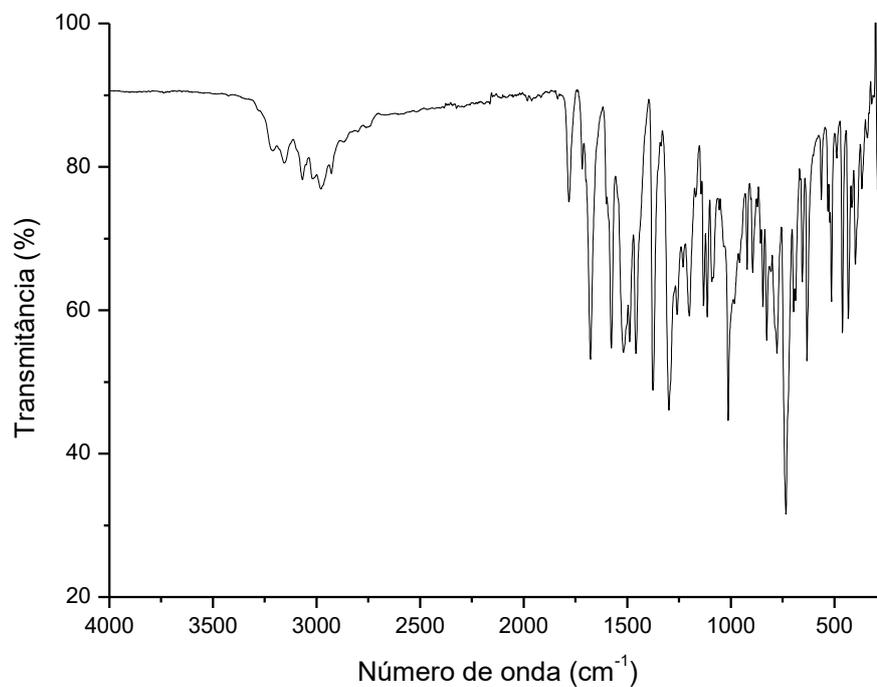
Espectro 99: EM-IES-(+) alta resolução do composto 38.**Espectro 100: Espectro na região do infravermelho da amida 33.**

Espectro 101: Espectro de RMN de ^1H de **33** (600MHz, DMSO).

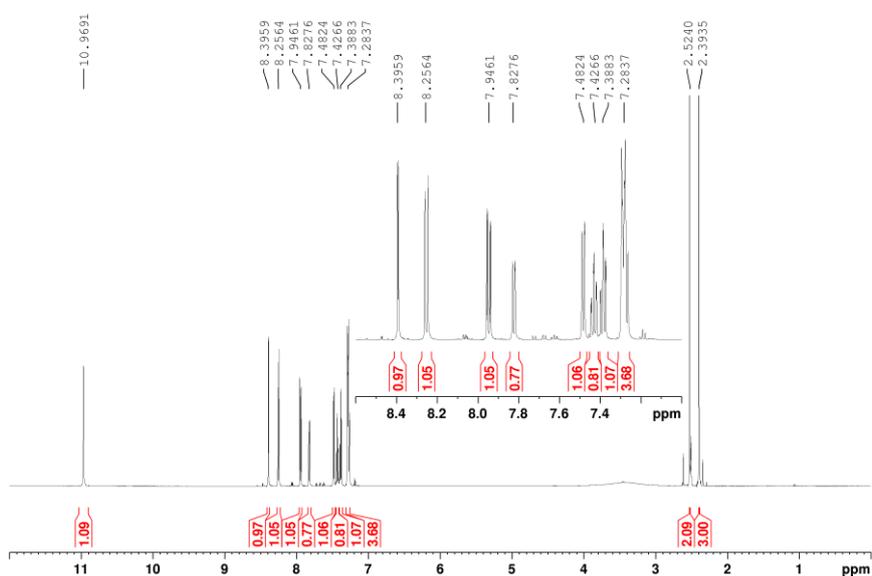


Espectro 102: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **33**.

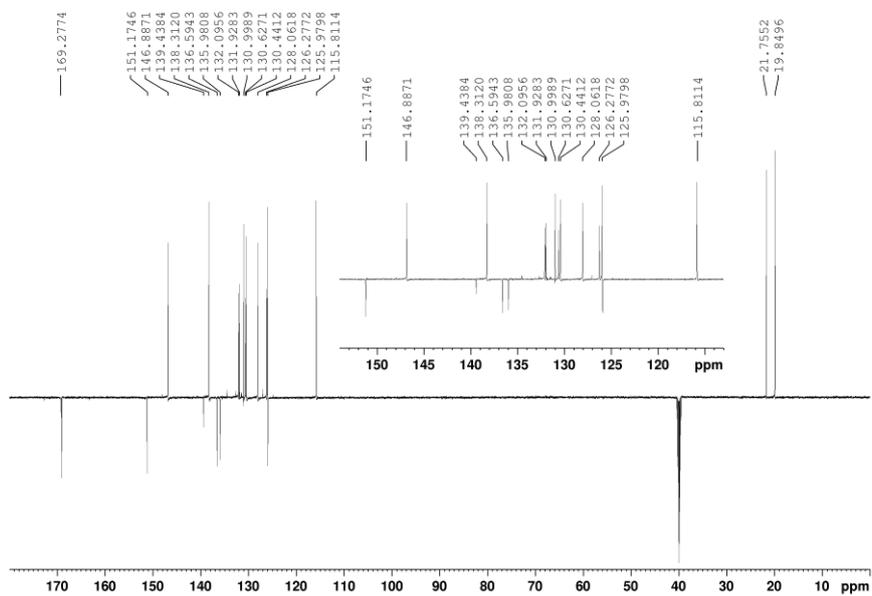


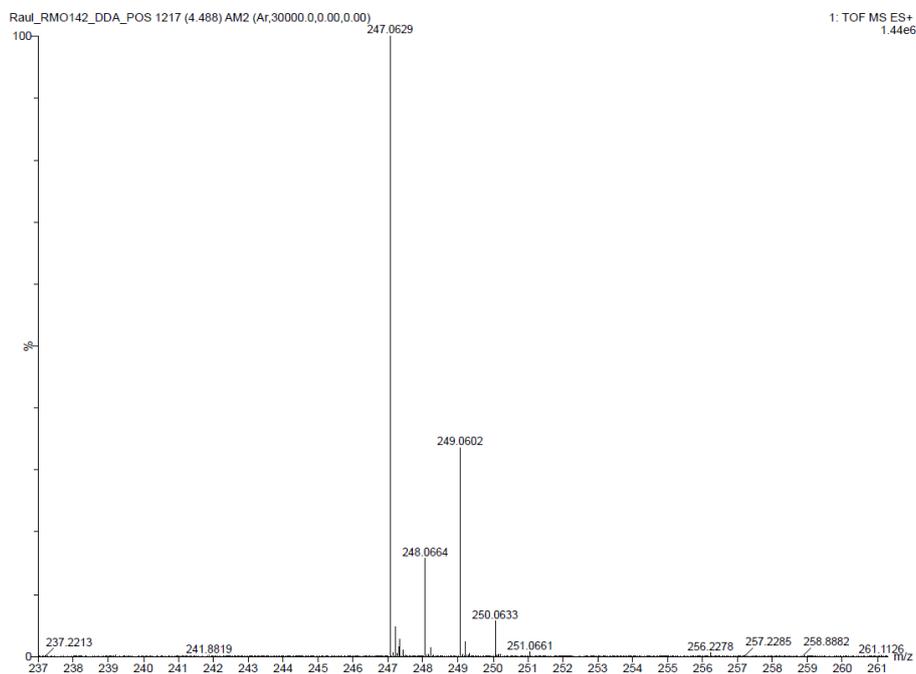
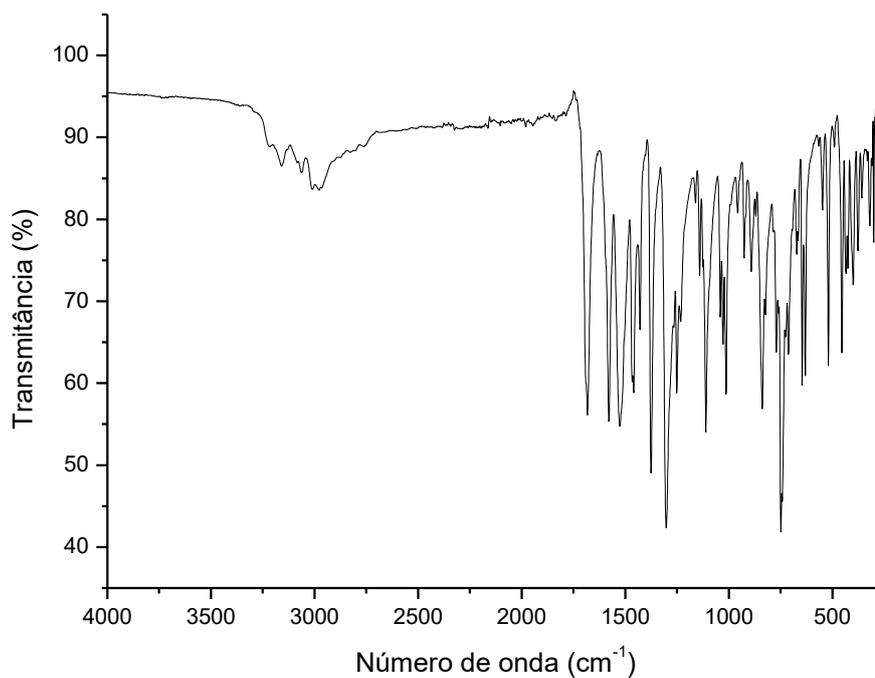
Espectro 103: EM-IES-(+) alta resolução do composto 33.**Espectro 104: Espectro na região do infravermelho da amida 36.**

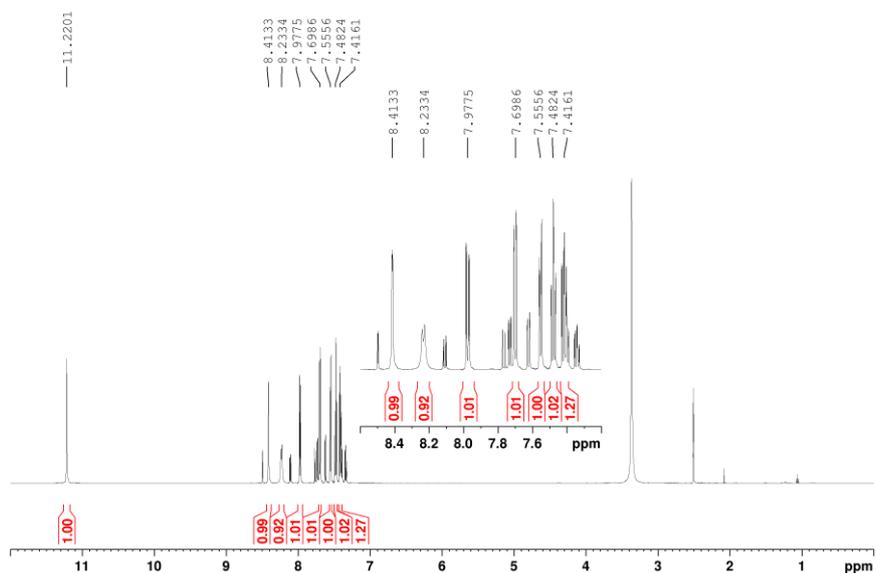
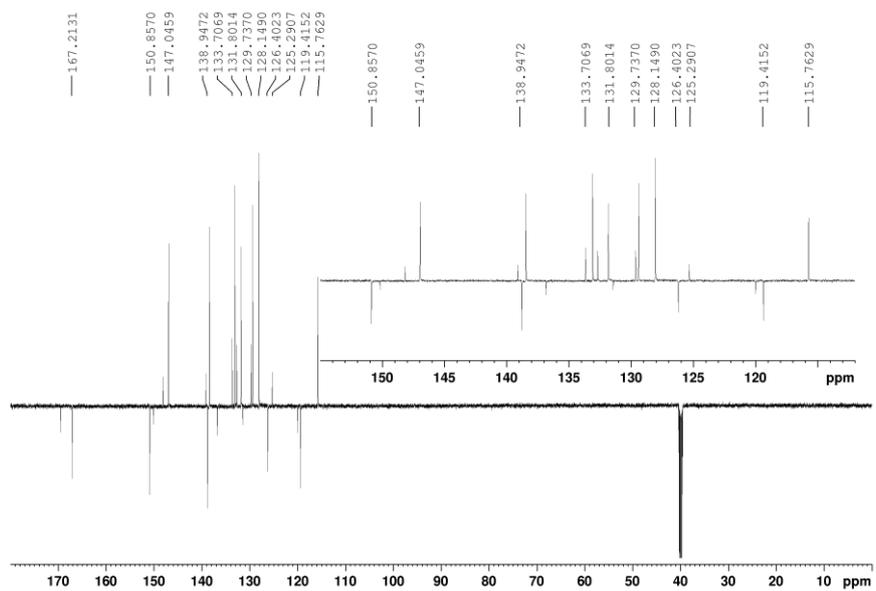
Espectro 105: Espectro de RMN de ^1H de **36** (600MHz, DMSO).

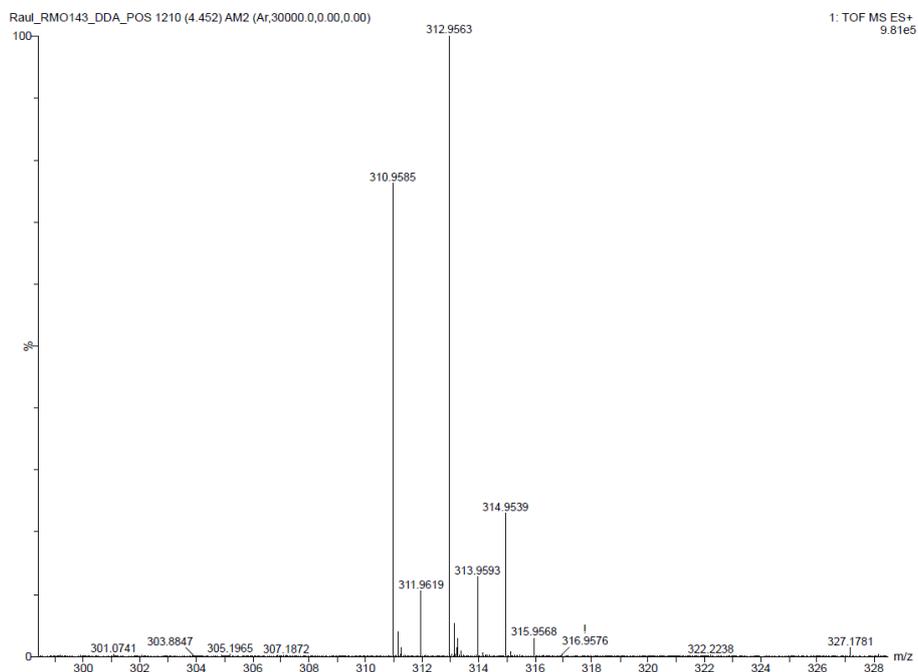
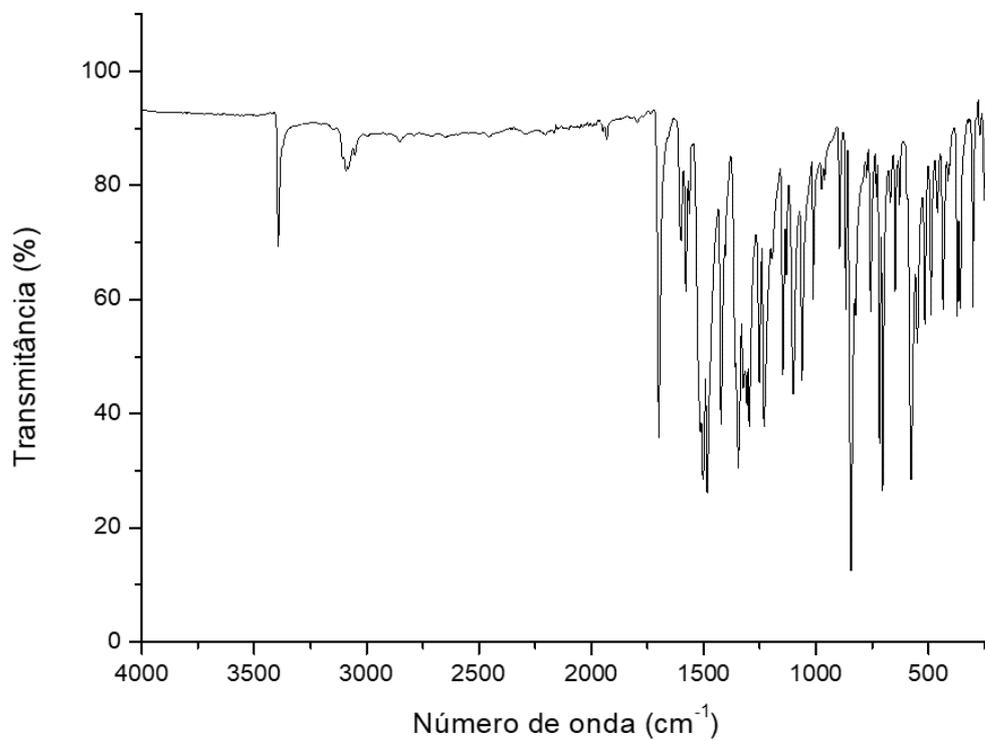


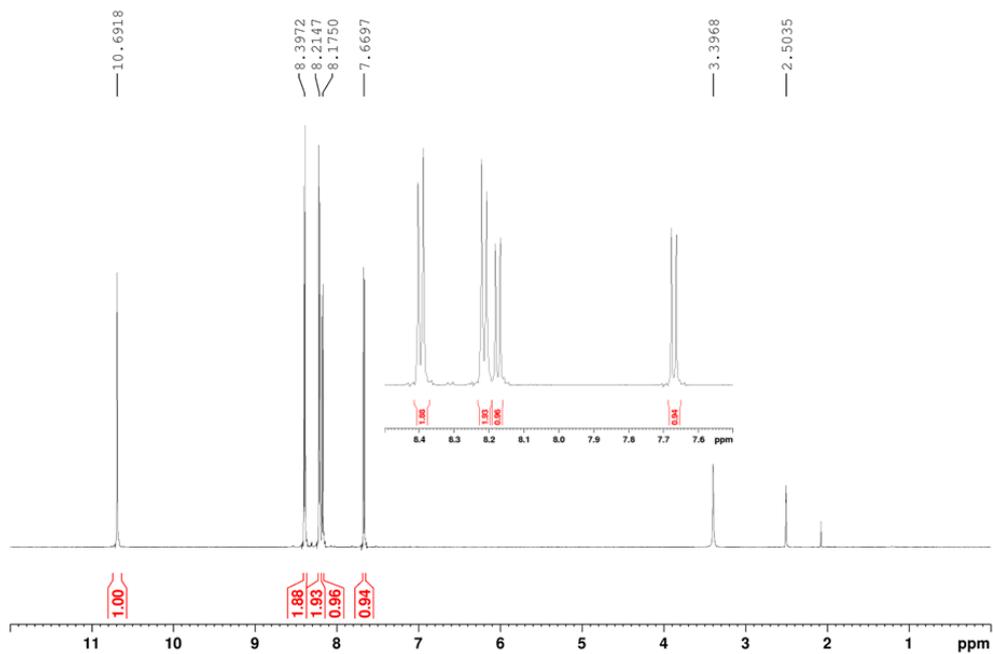
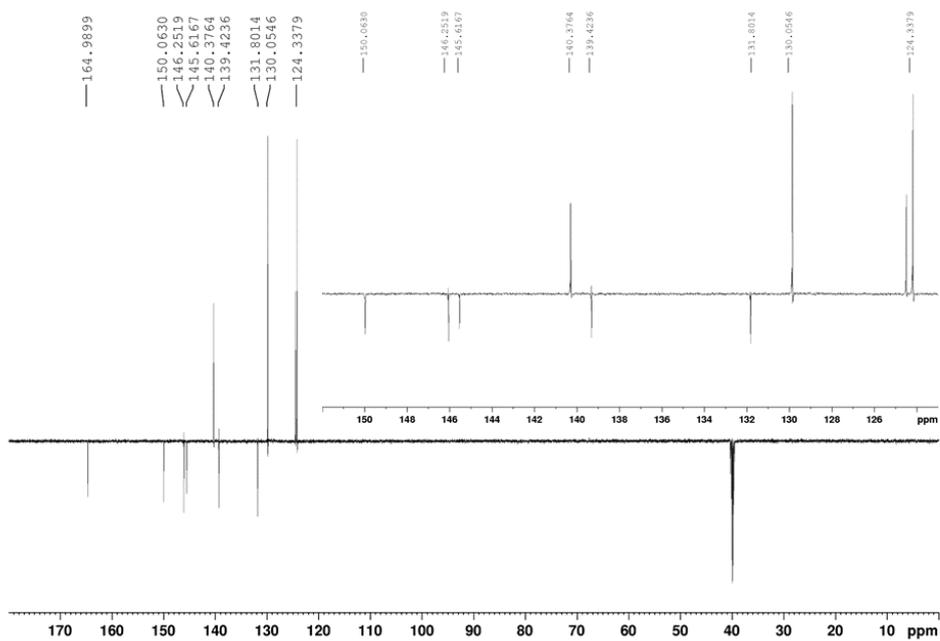
Espectro 106: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **36**.

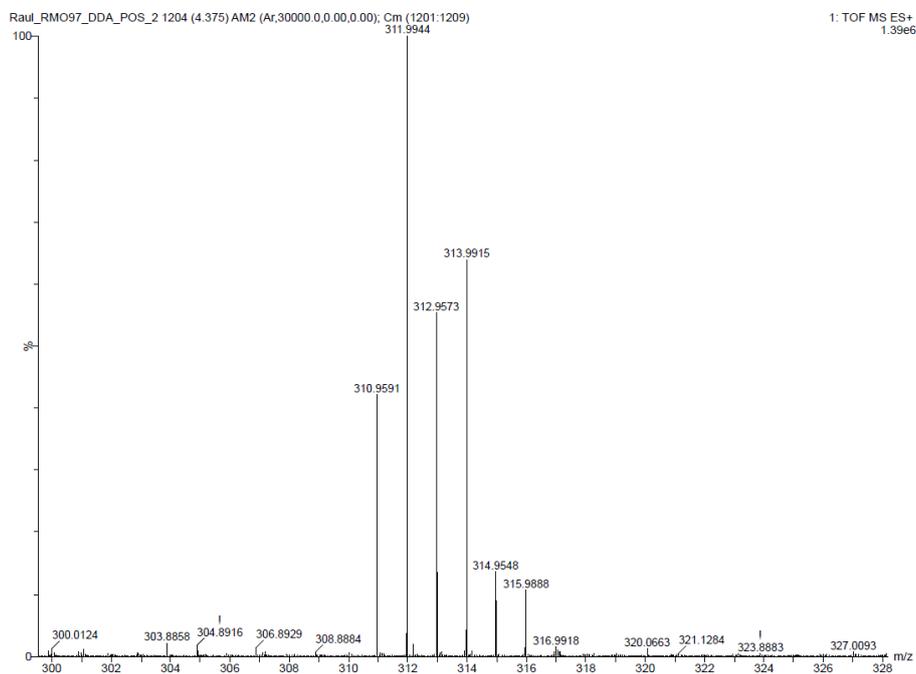
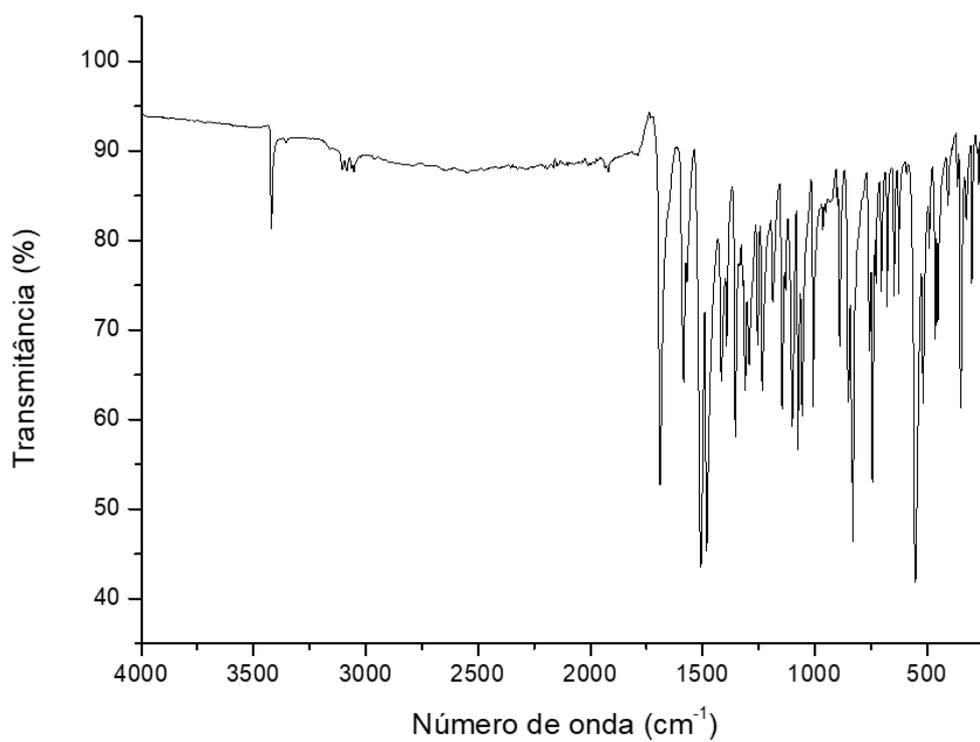


Espectro 107: EM-IES-(+) alta resolução do composto 36.**Espectro 108: Espectro na região do infravermelho da amida 39.**

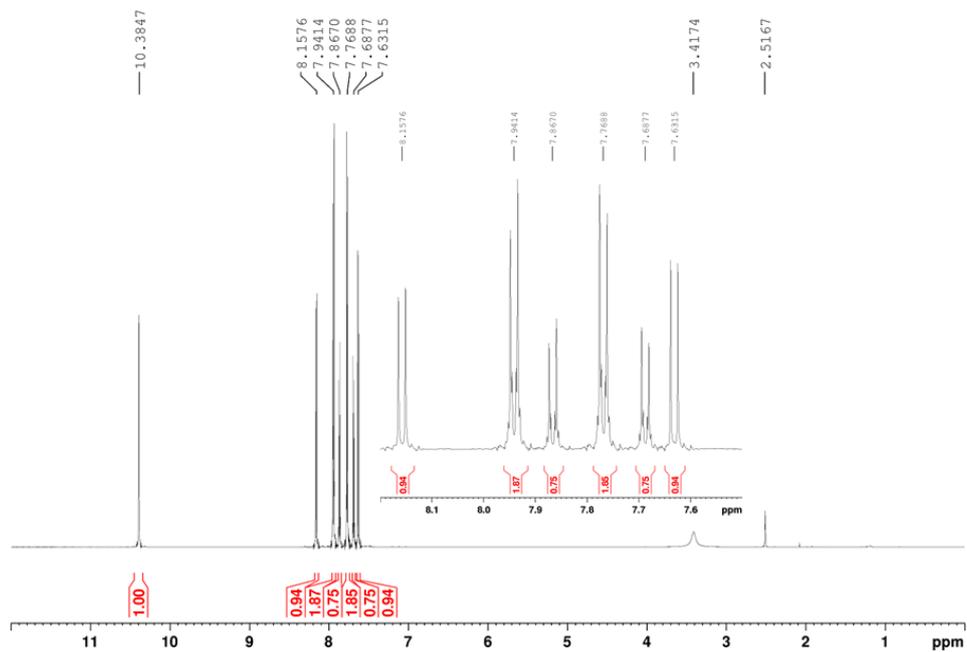
Espectro 109: Espectro de RMN de ^1H de **39** (600MHz, DMSO).**Espectro 110:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **39**.

Espectro 111: EM-IES-(+) alta resolução do composto 39.**Espectro 112: Espectro na região do infravermelho da amida 43.**

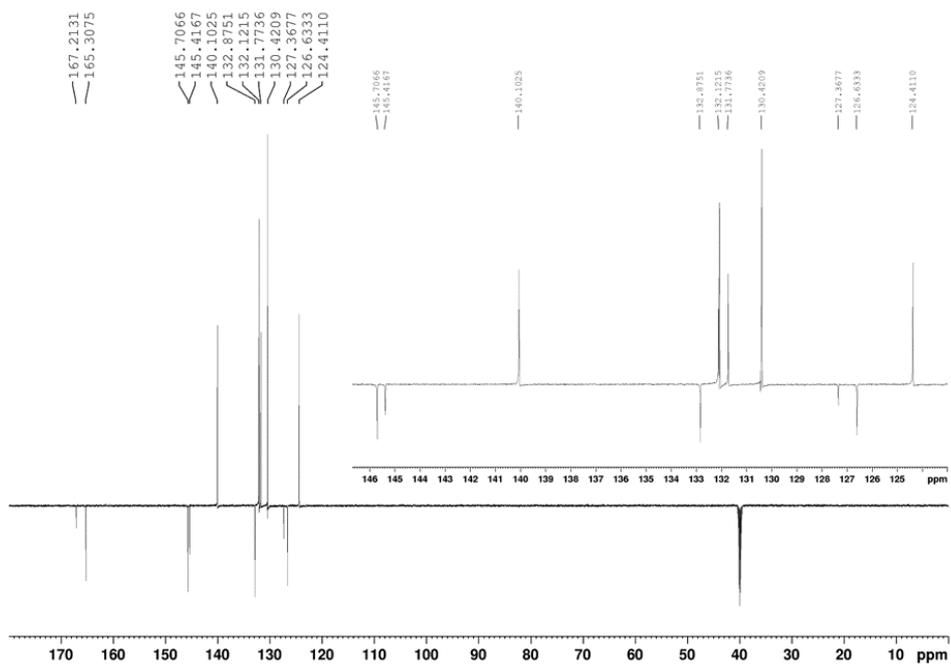
Espectro 113: Espectro de RMN de ^1H de **43** (600MHz, DMSO).**Espectro 114:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **43**.

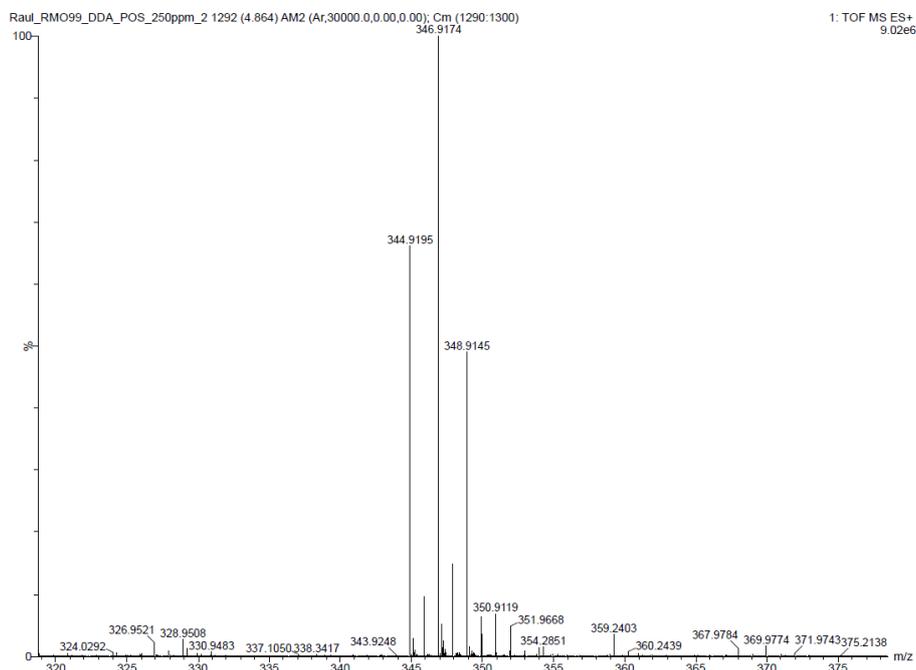
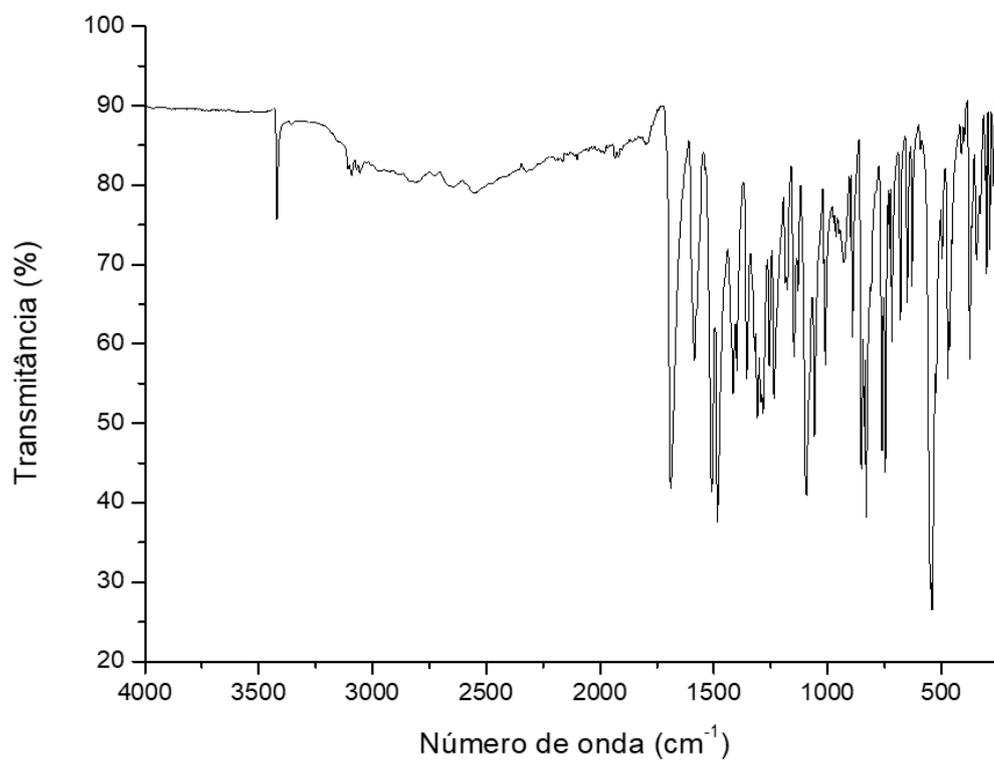
Espectro 115: EM-IES-(+) alta resolução do composto 43.**Espectro 116: Espectro na região do infravermelho da amida 49.**

Espectro 117: Espectro de RMN de ^1H de **49** (600MHz, DMSO).

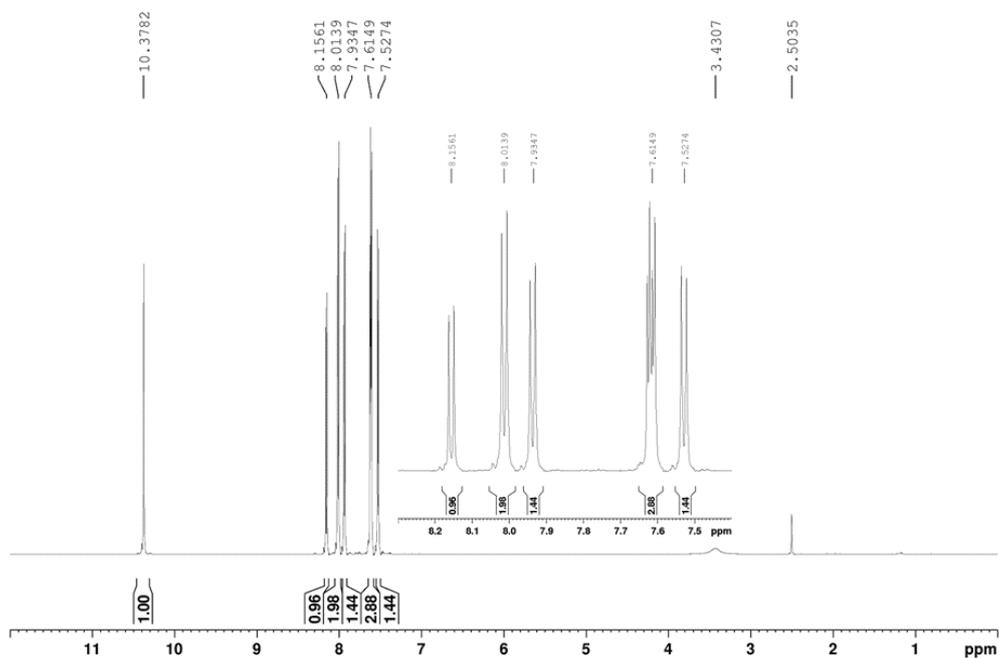


Espectro 118: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **49**.

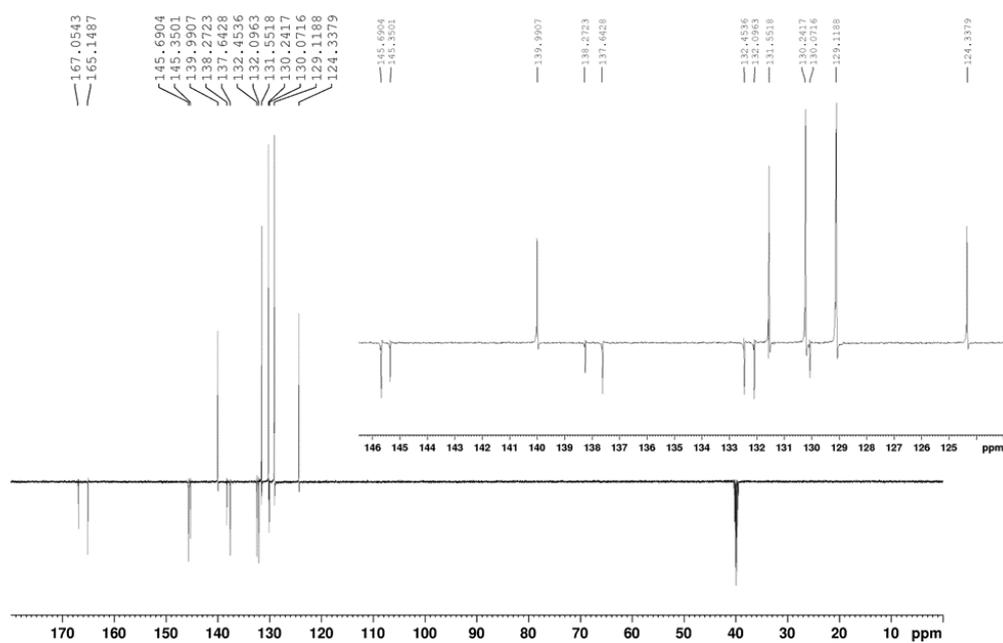


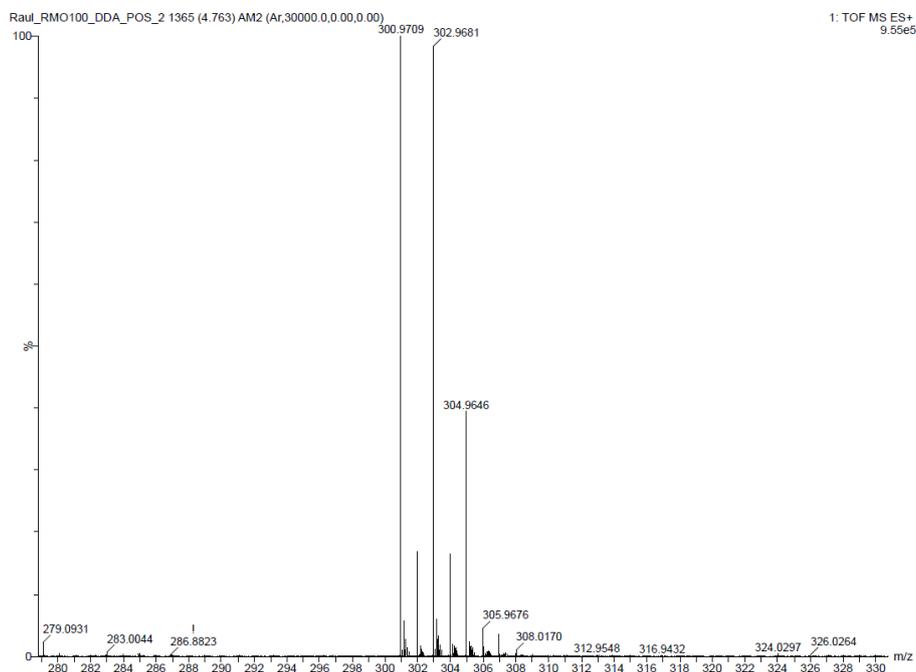
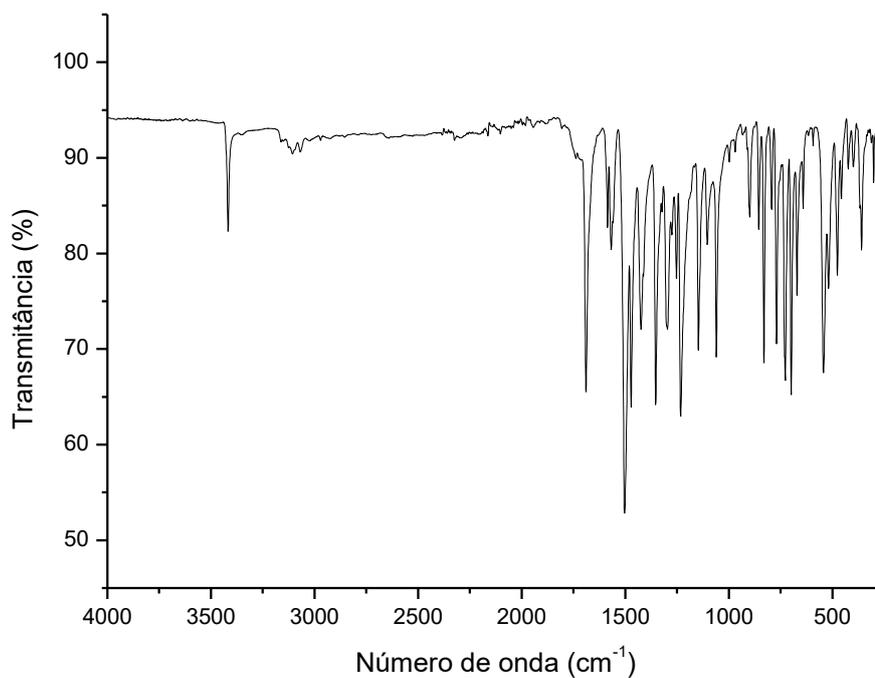
Espectro 119: EM-IES-(+) alta resolução do composto 49.**Espectro 120: Espectro na região do infravermelho da amida 52.**

Espectro 121: Espectro de RMN de ^1H de **52** (600MHz, DMSO).

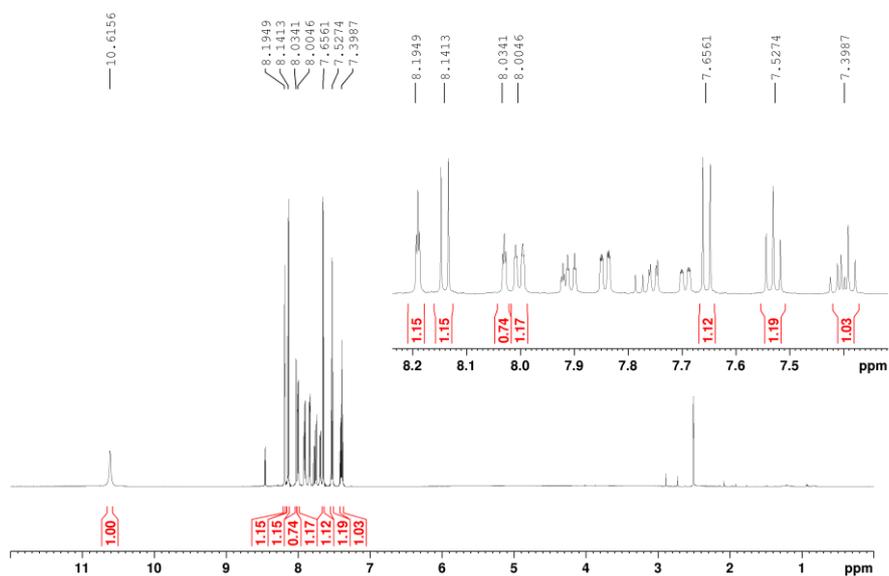


Espectro 122: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **52**.

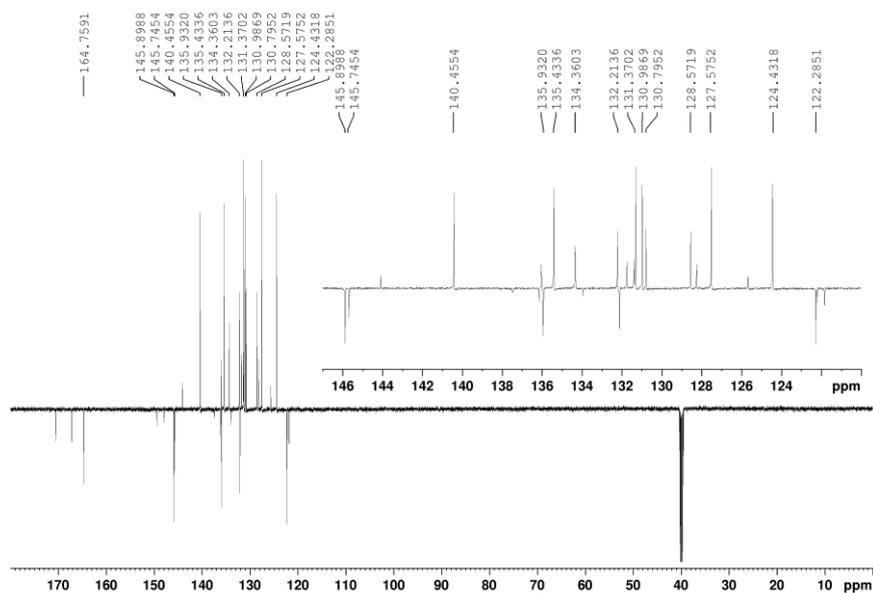


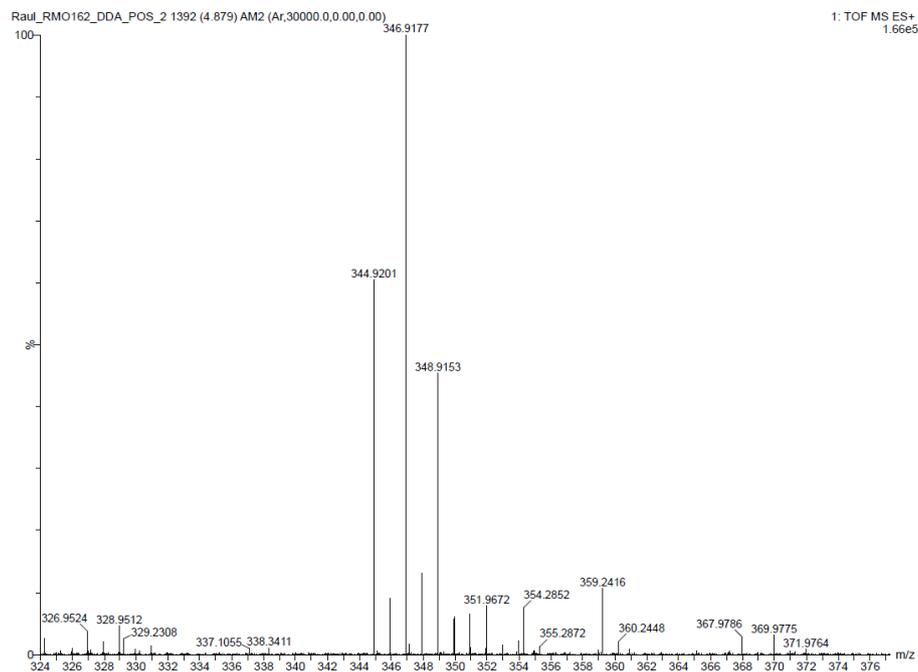
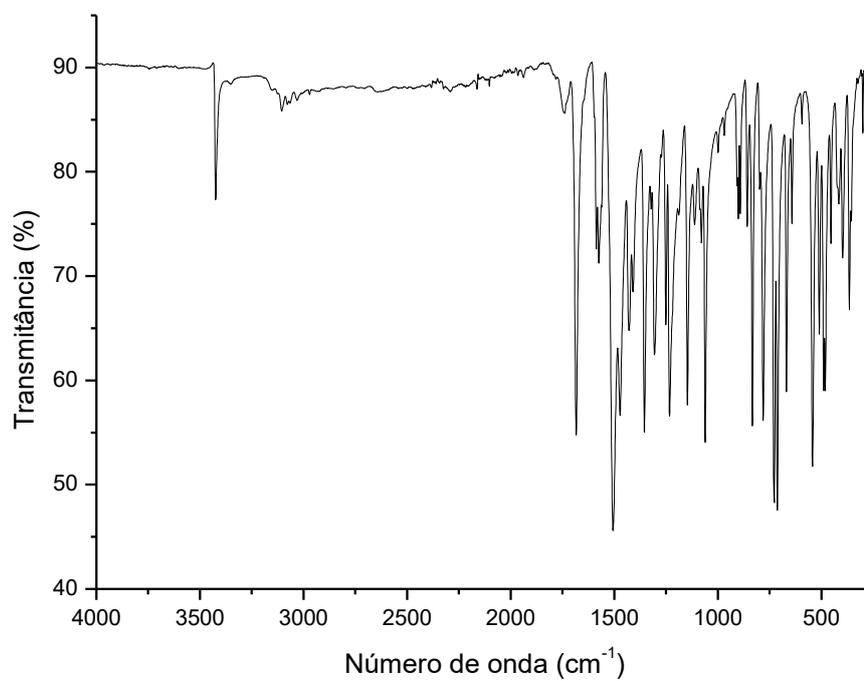
Espectro 123: EM-IES-(+) alta resolução do composto 52.**Espectro 124: Espectro na região do infravermelho da amida 50.**

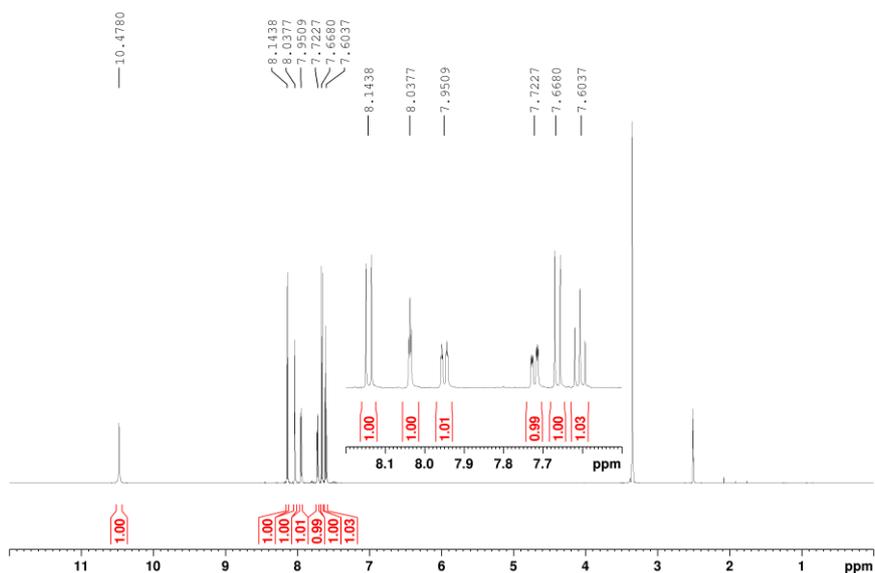
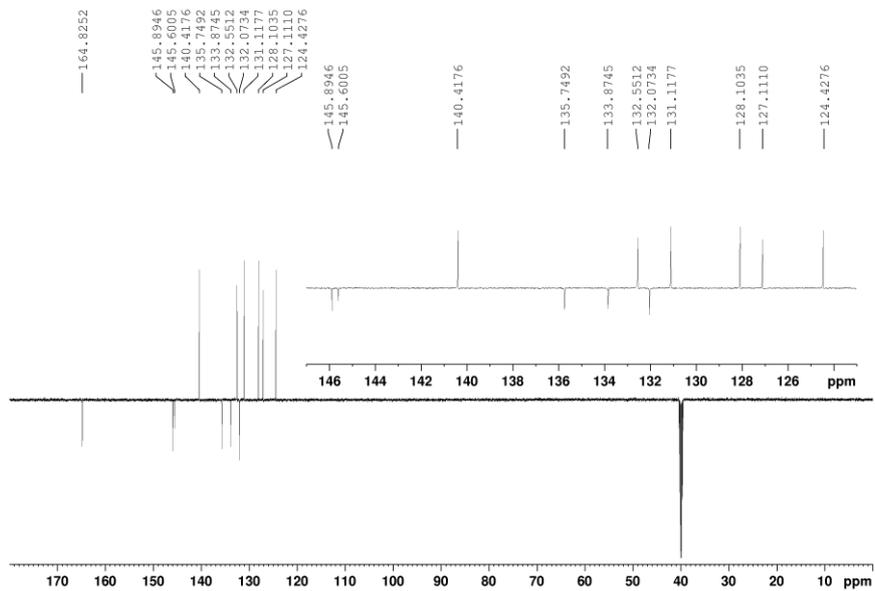
Espectro 125: Espectro de RMN de ^1H de **50** (600MHz, DMSO).

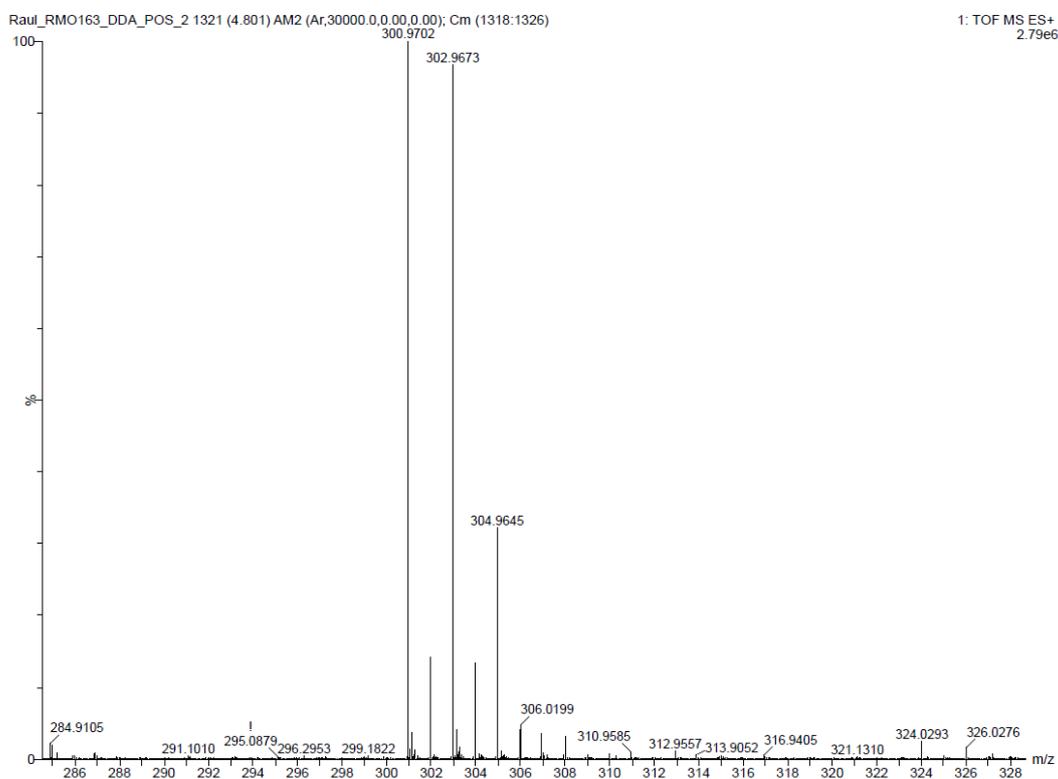
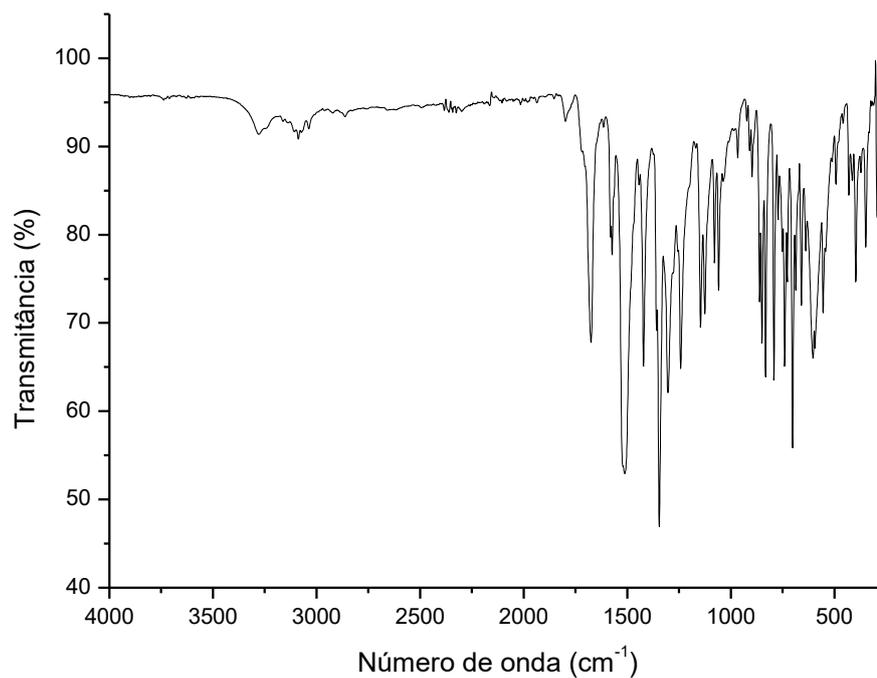


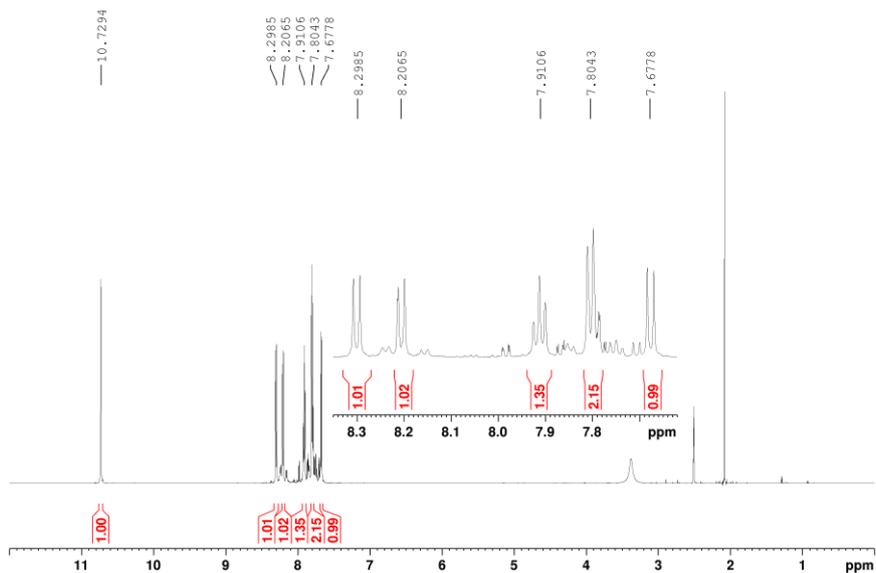
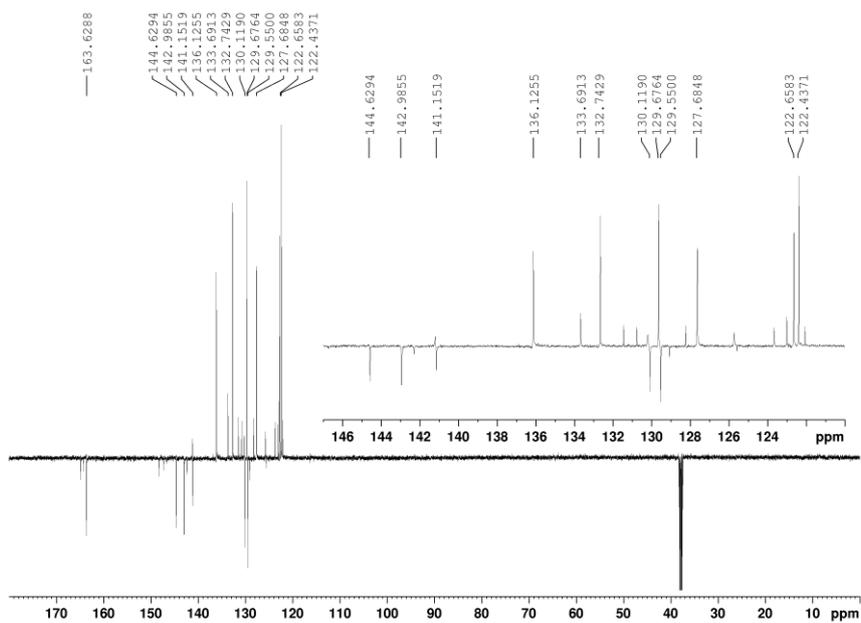
Espectro 126: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **50**.

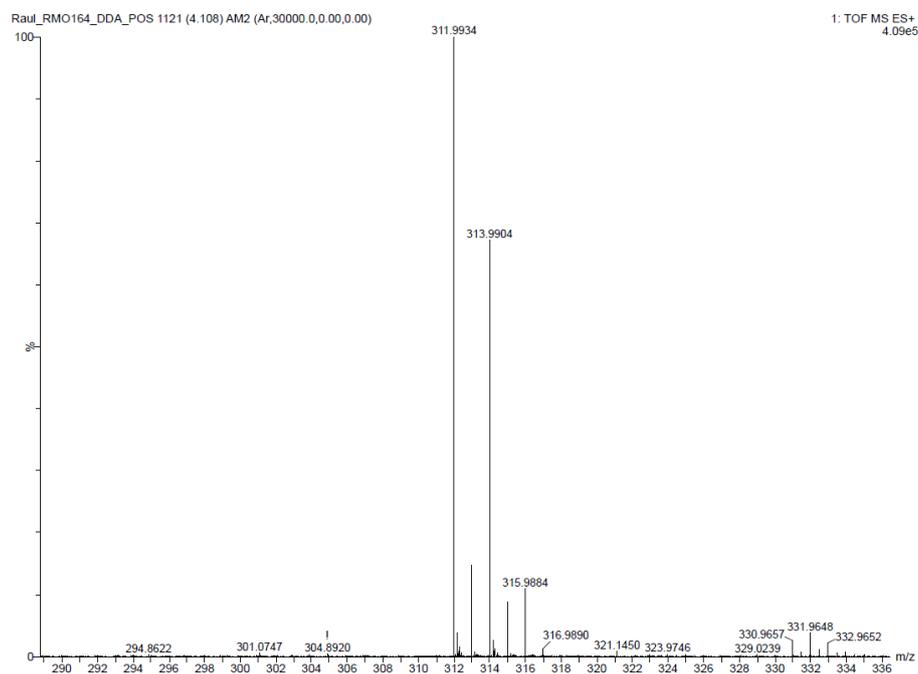
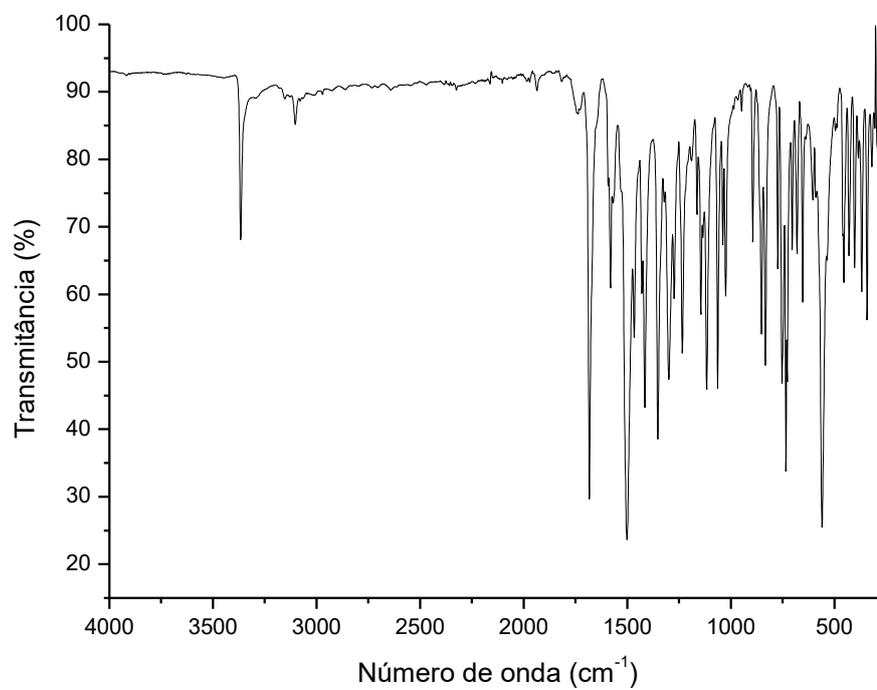


Espectro 127: EM-IES-(+) alta resolução do composto 50.**Espectro 128: Espectro na região do infravermelho da amida 53.**

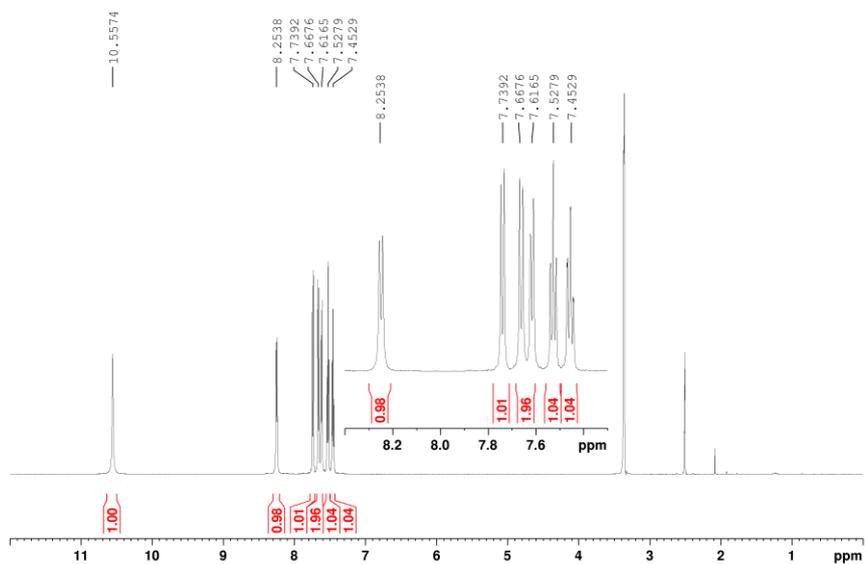
Espectro 129: Espectro de RMN de ^1H de **53** (600MHz, DMSO).**Espectro 130:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **53**.

Espectro 131: EM-IES-(+) alta resolução do composto 53.**Espectro 132: Espectro na região do infravermelho da amida 45.**

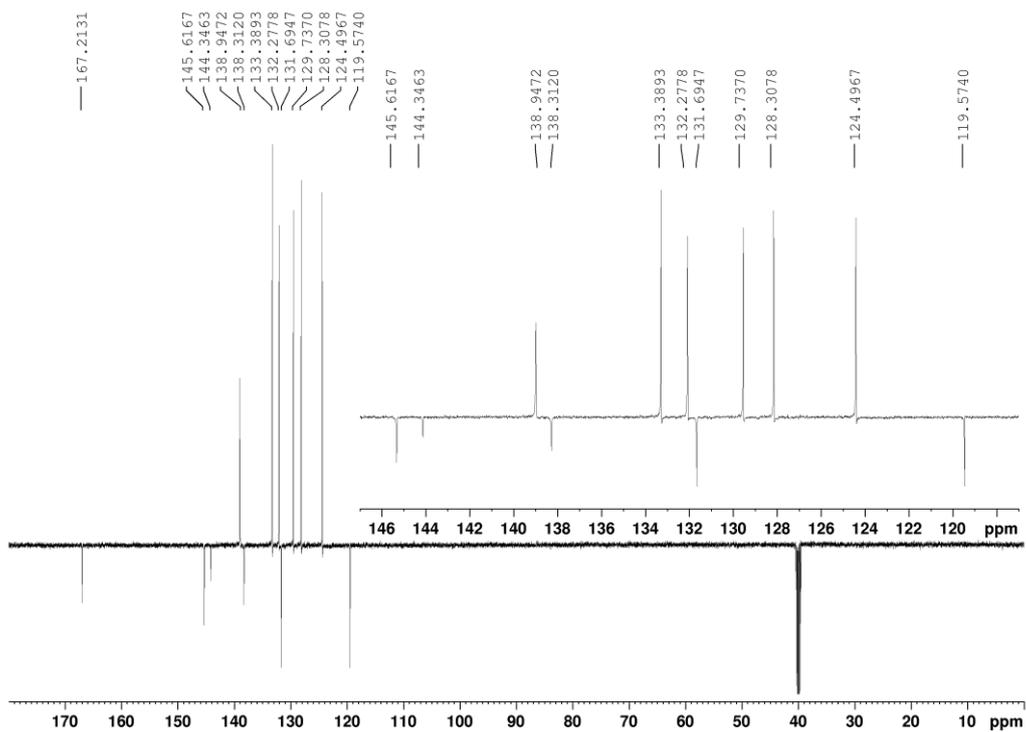
Espectro 133: Espectro de RMN de ^1H de **45** (600MHz, DMSO).**Espectro 134:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **45**.

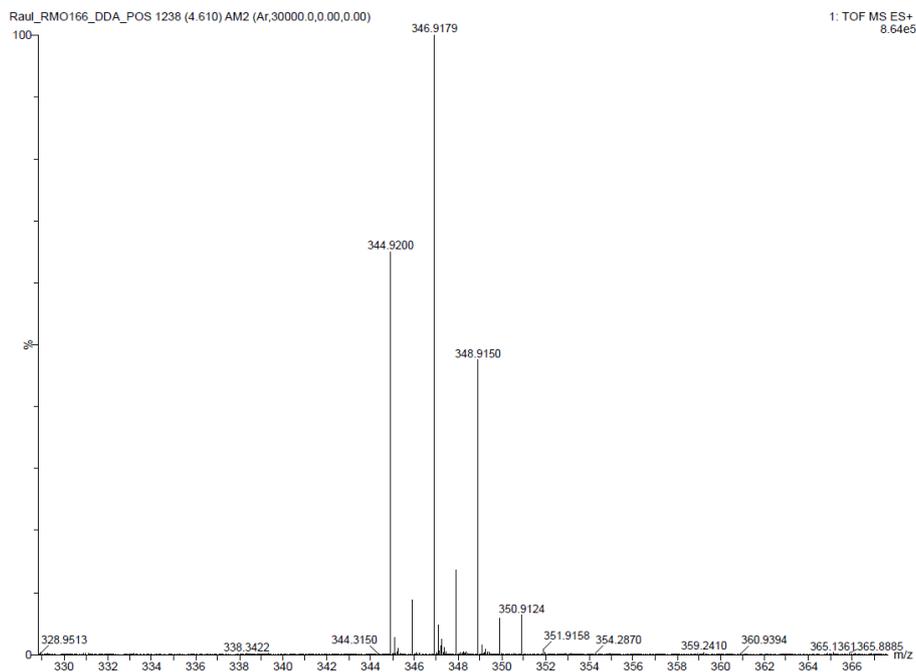
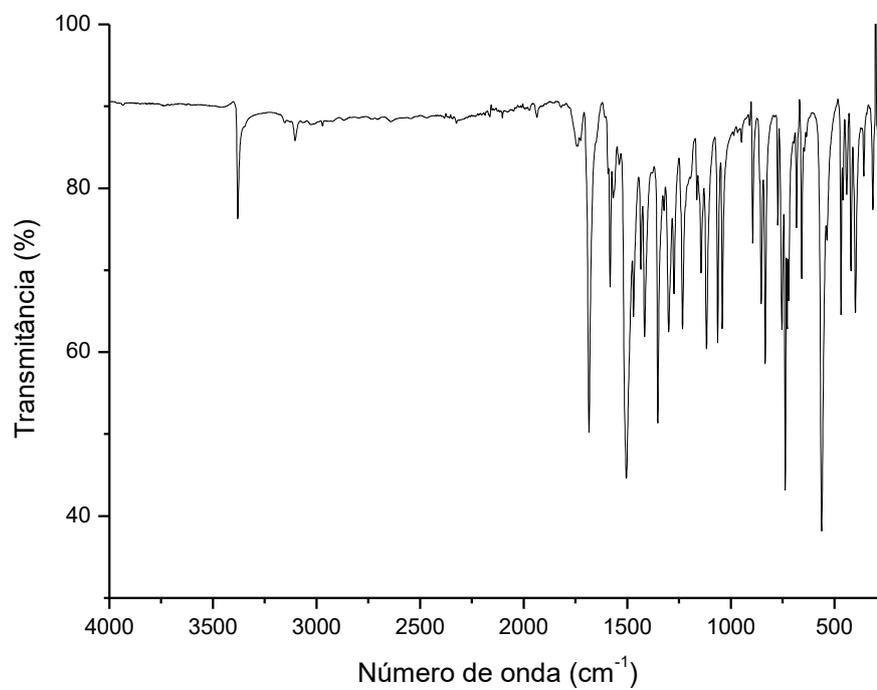
Espectro 135: EM-IES-(+) alta resolução do composto 45.**Espectro 136: Espectro na região do infravermelho da amida 51.**

Espectro 137: Espectro de RMN de ^1H de **51** (600MHz, DMSO).

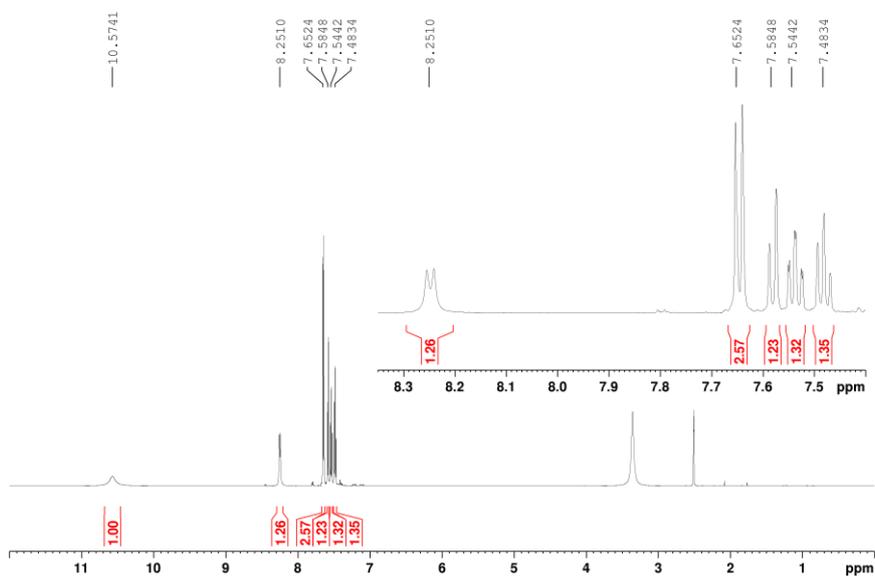


Espectro 138: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **51**.

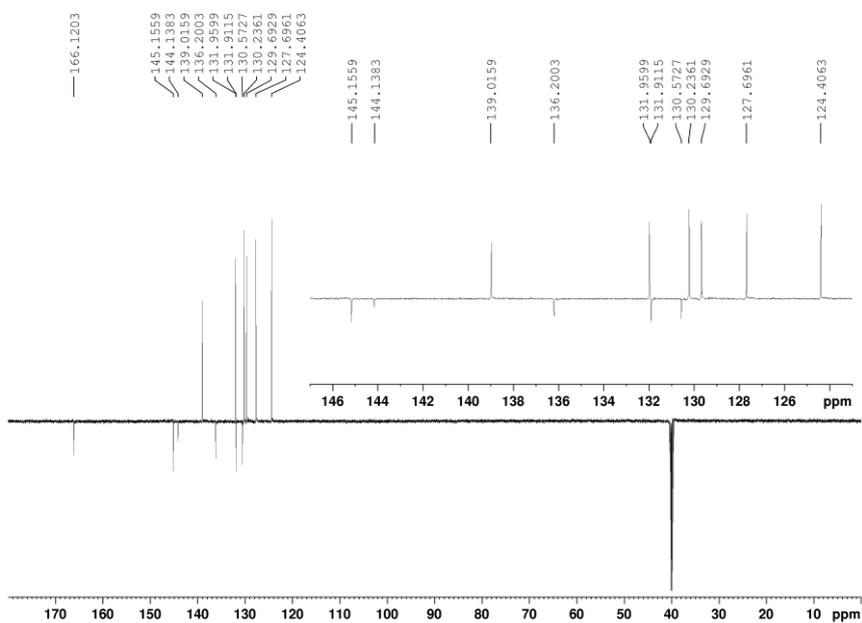


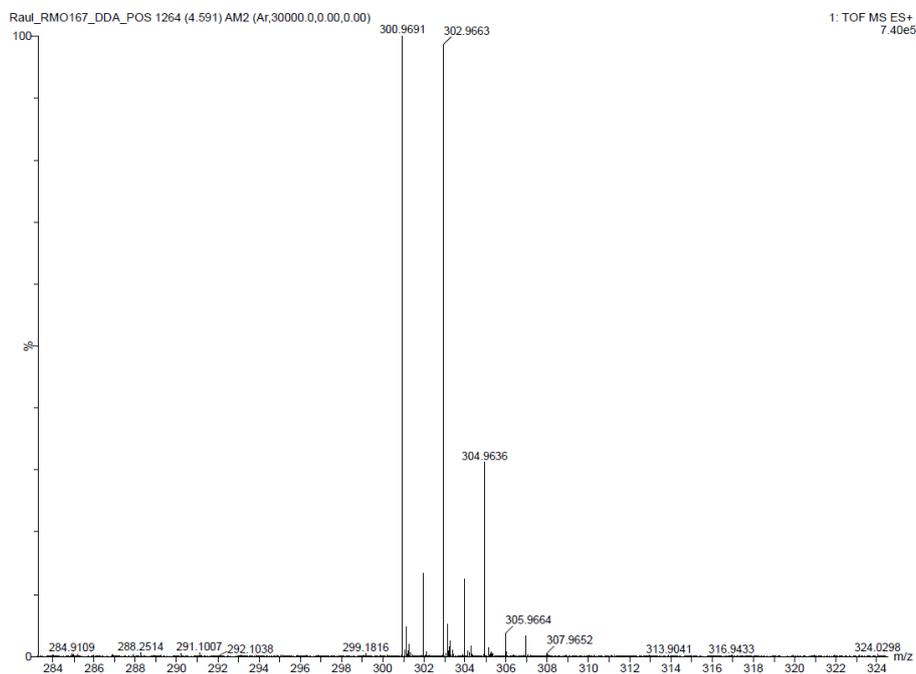
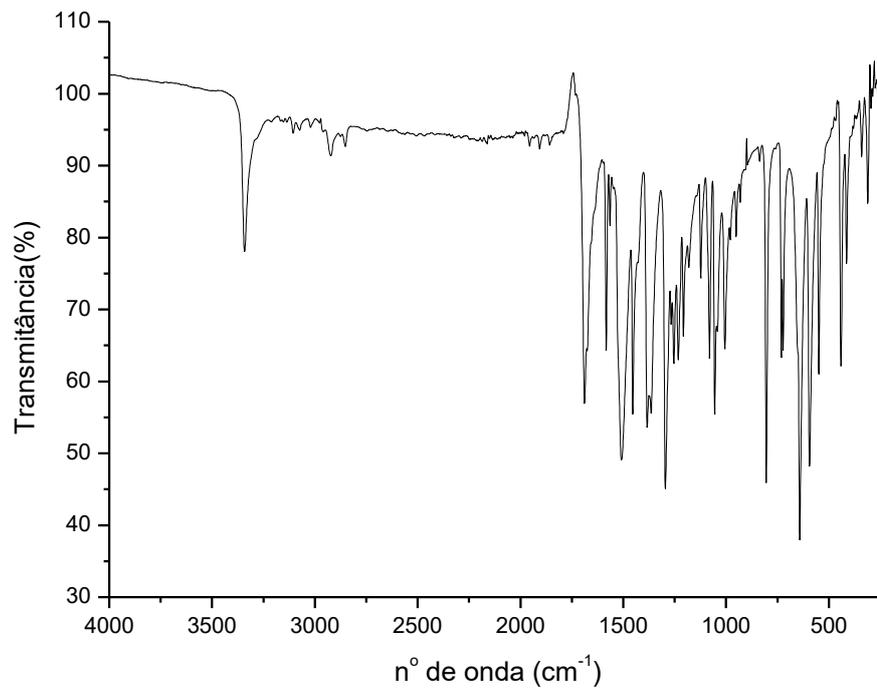
Espectro 139: EM-IES-(+) alta resolução do composto 51.**Espectro 140: Espectro na região do infravermelho da amida 54.**

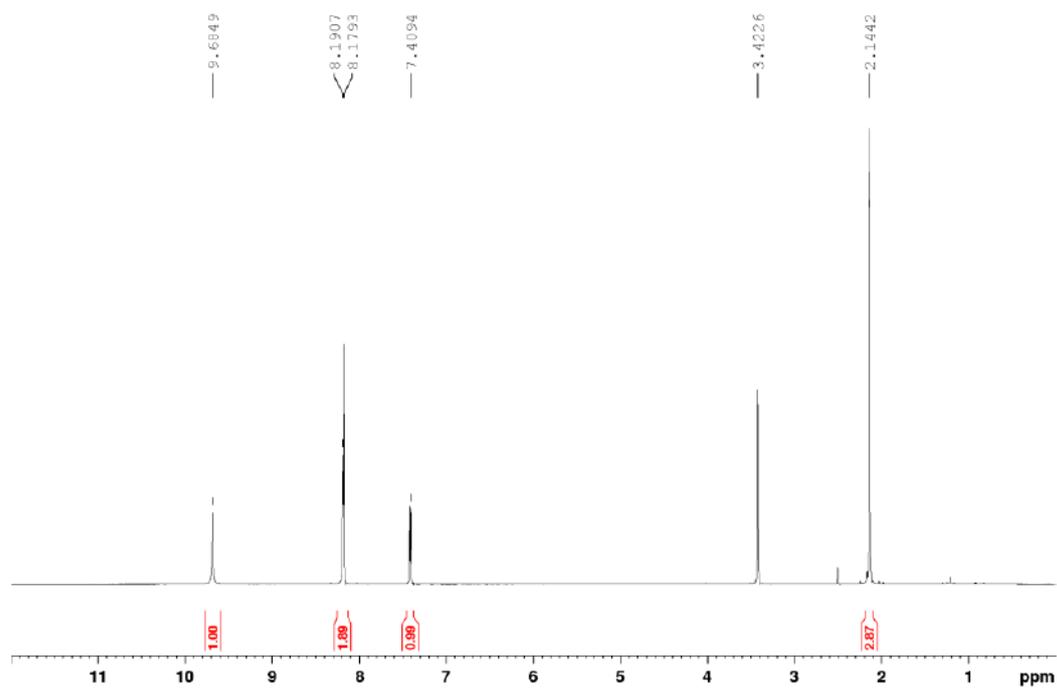
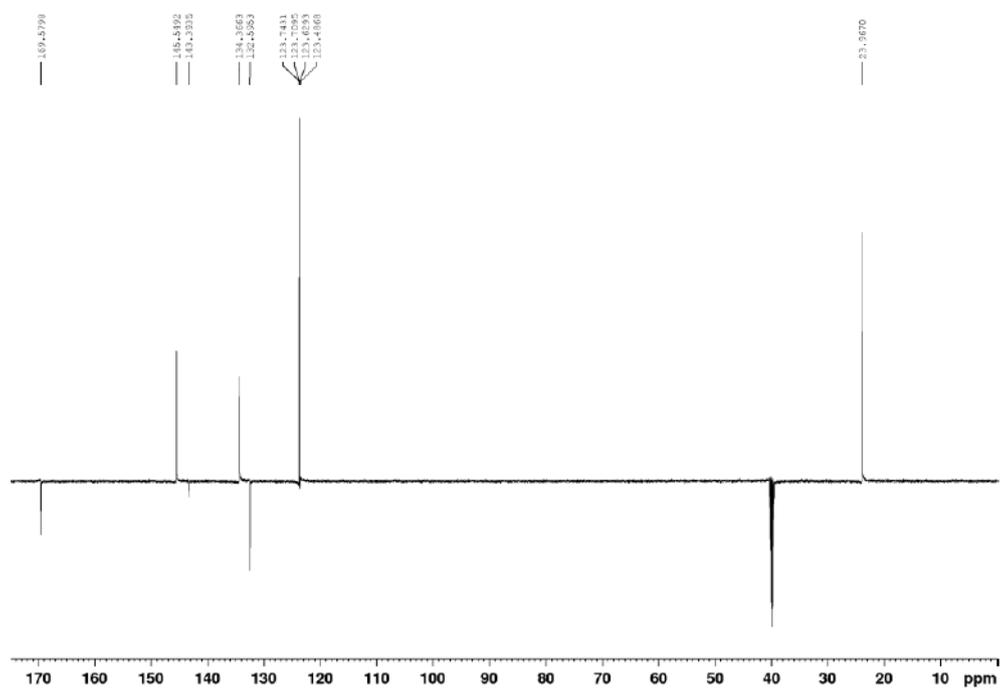
Espectro 141: Espectro de RMN de ^1H de **54** (600MHz, DMSO).

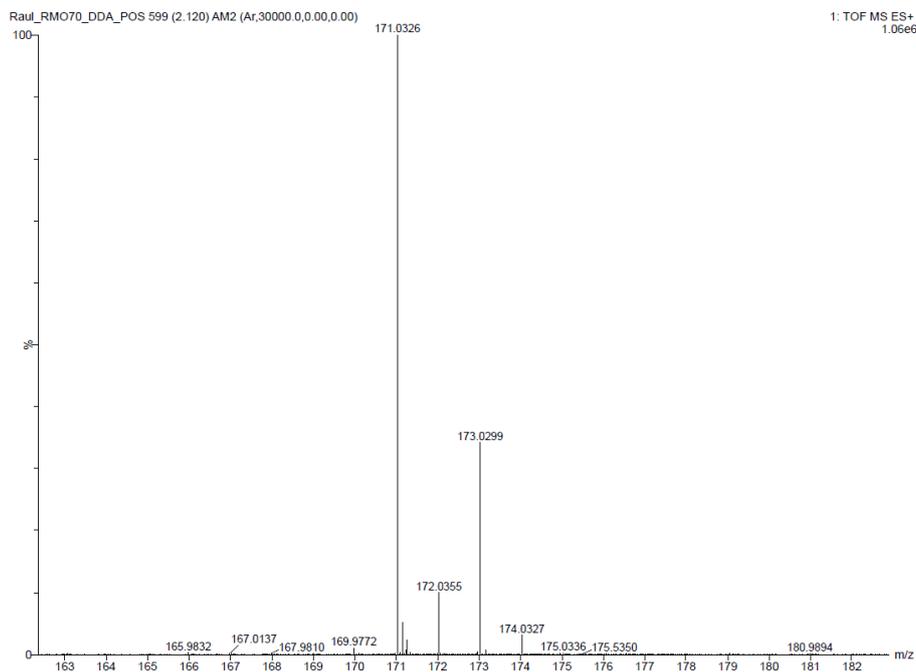
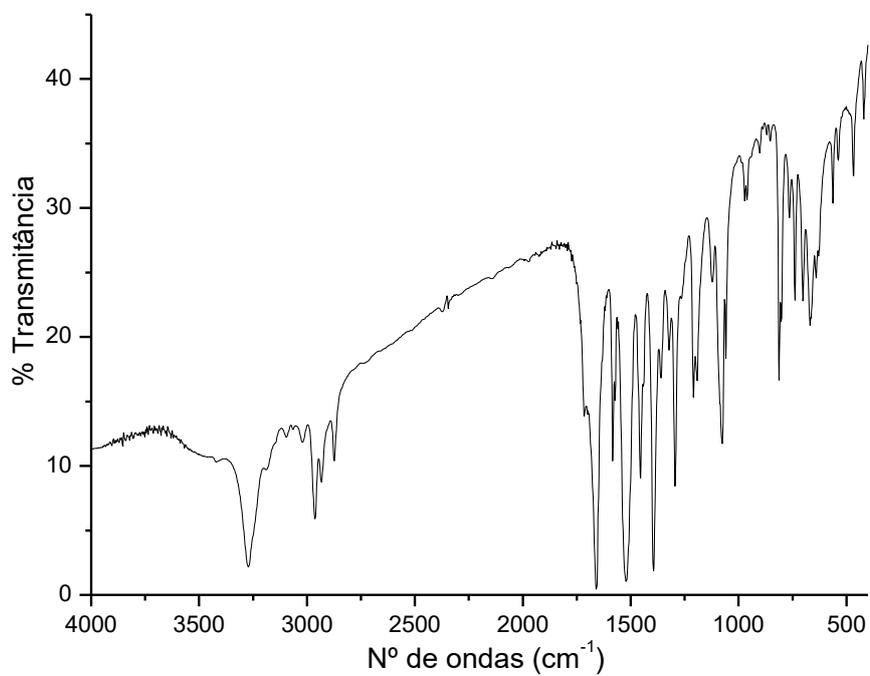


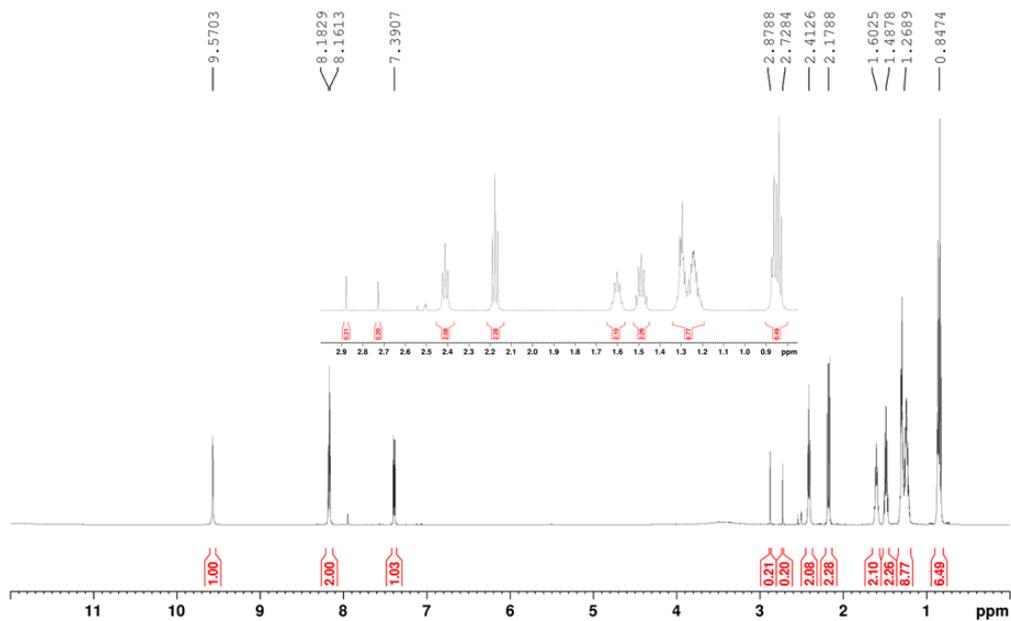
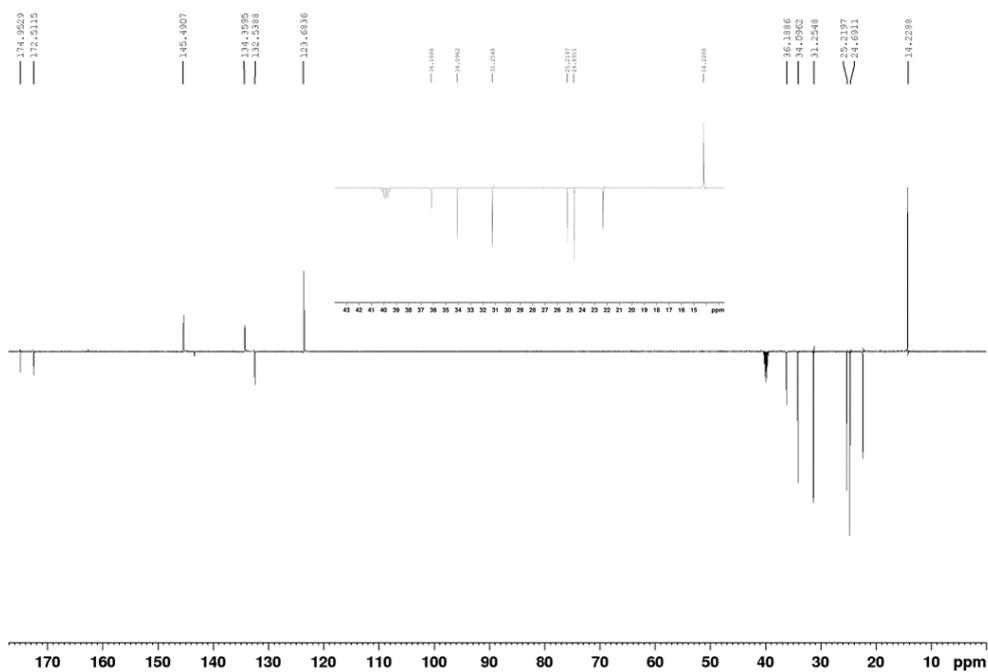
Espectro 142: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **54**.

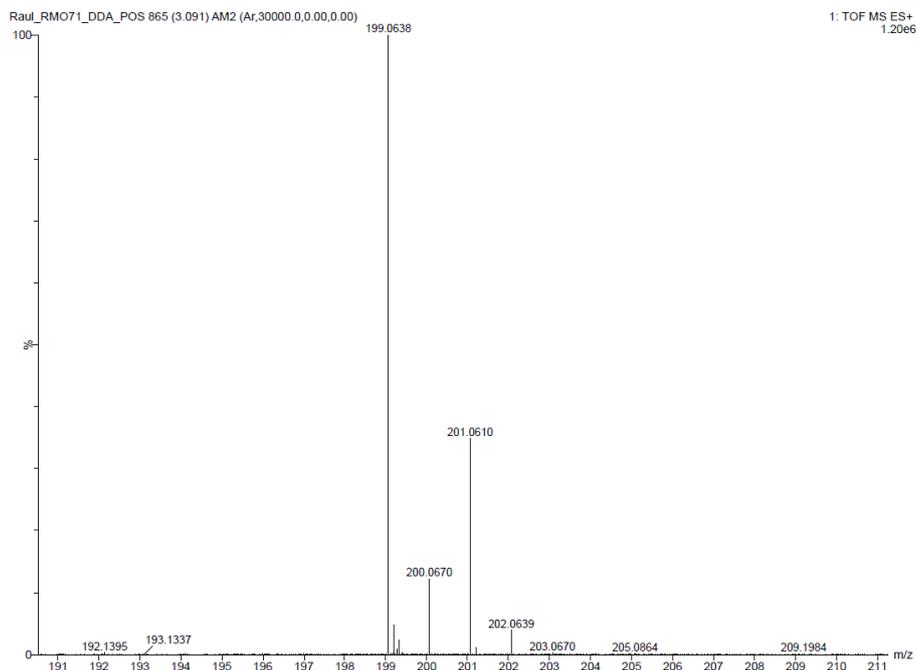
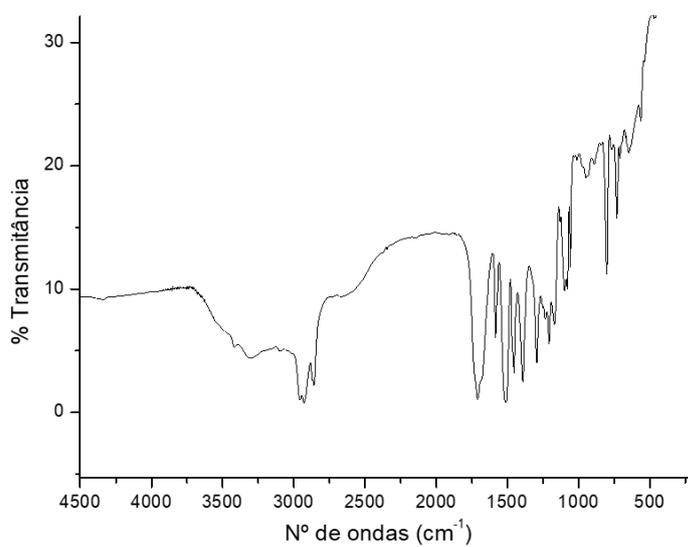


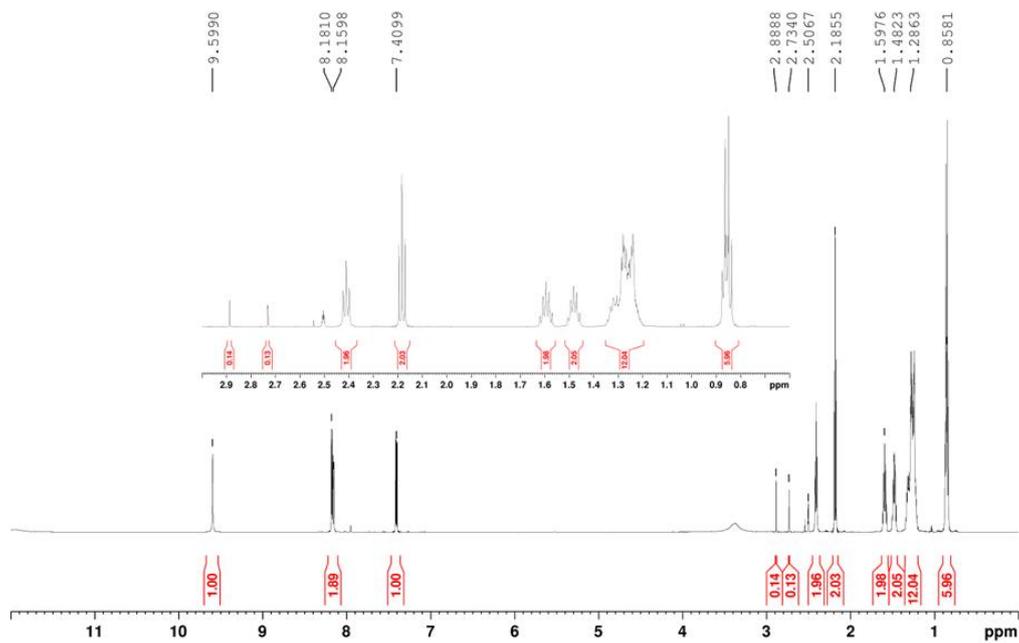
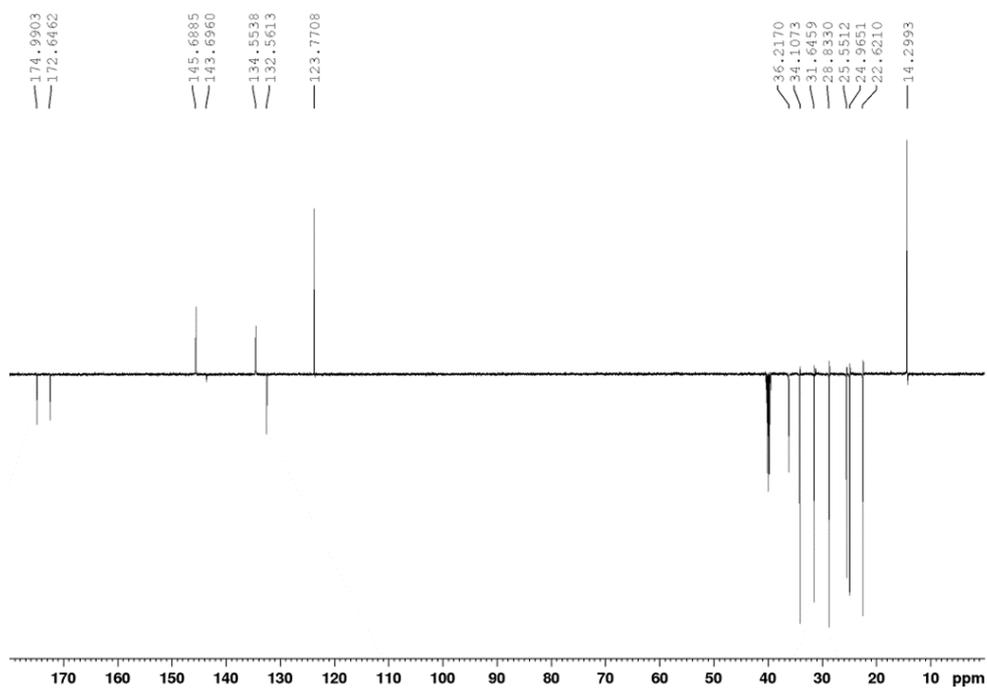
Espectro 143: EM-IES-(+) alta resolução do composto 54.**Espectro 144: Espectro na região do infravermelho da amida 55.**

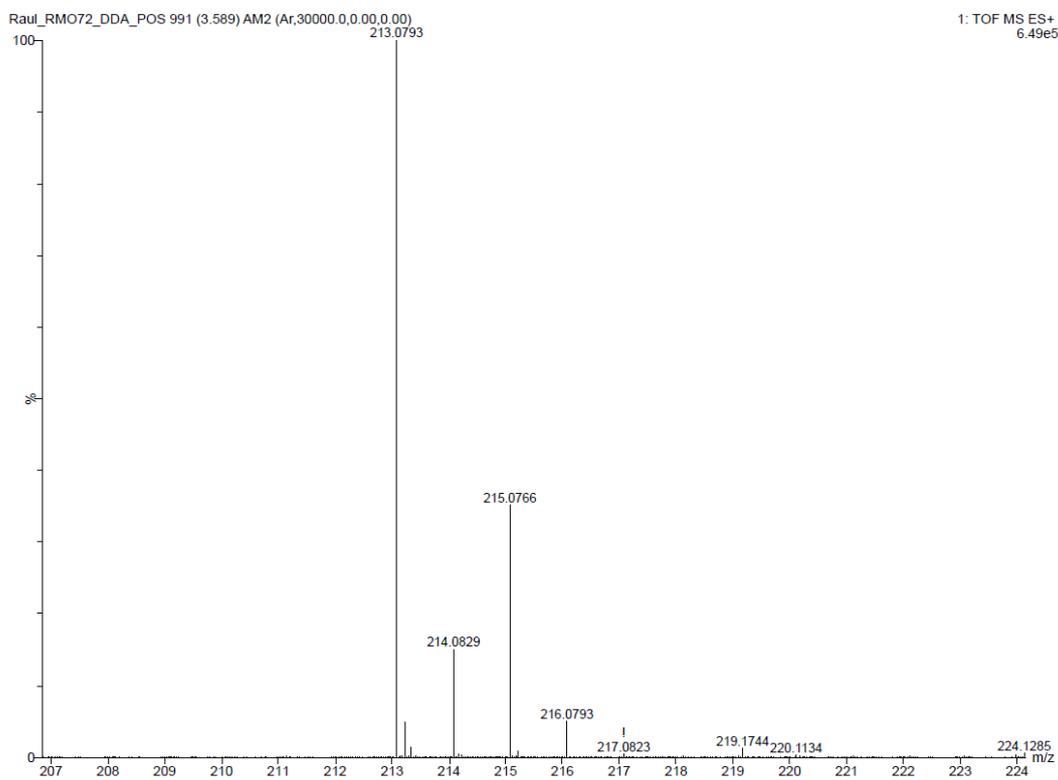
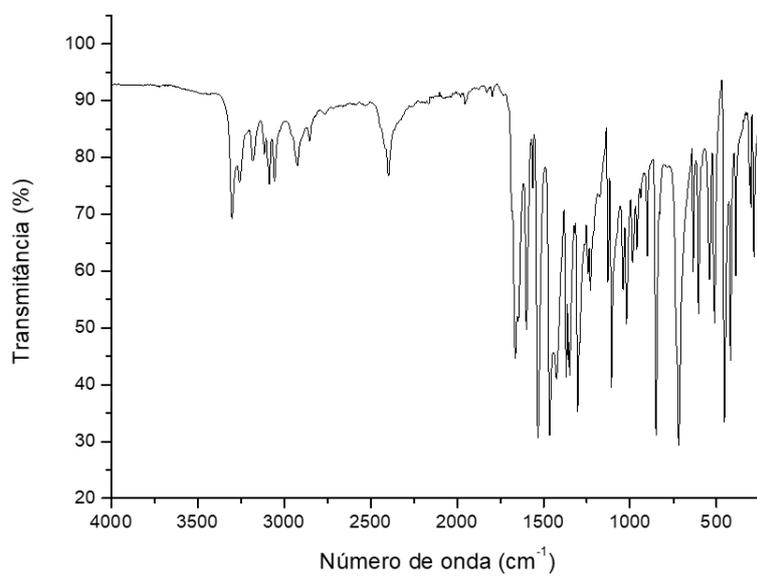
Espectro 145: Espectro de RMN de ^1H de **55** (600MHz, DMSO).**Espectro 146:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **55**.

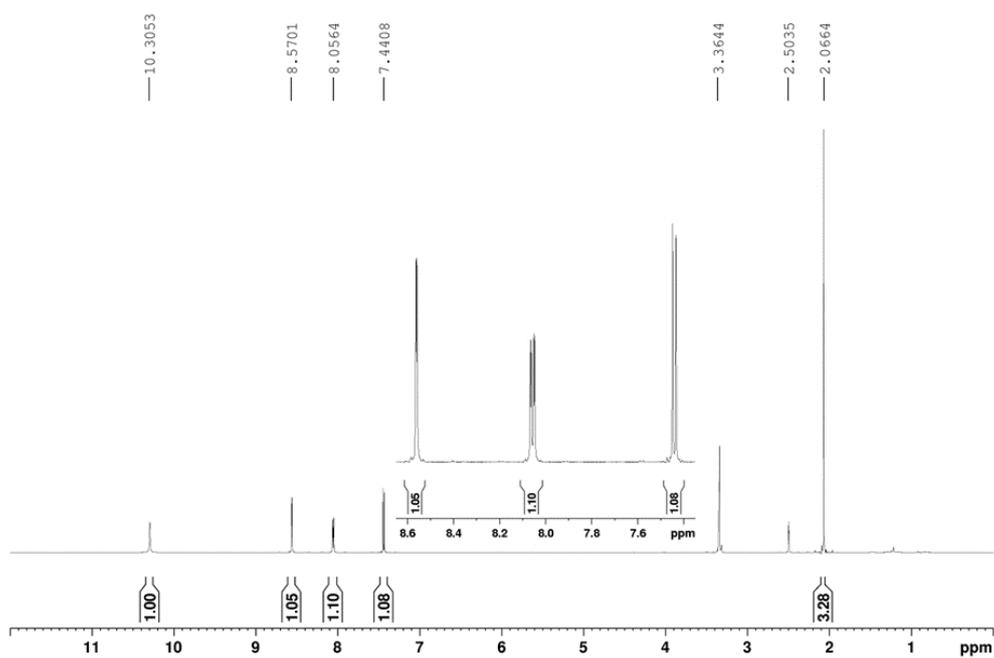
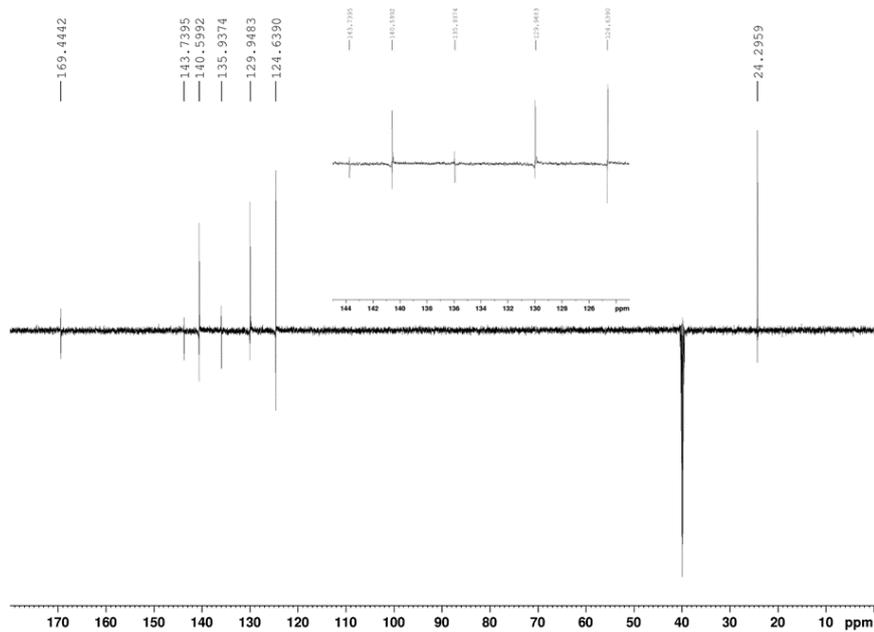
Espectro 147: EM-IES-(+) alta resolução do composto 55.**Espectro 148: Espectro na região do infravermelho da amida 58.**

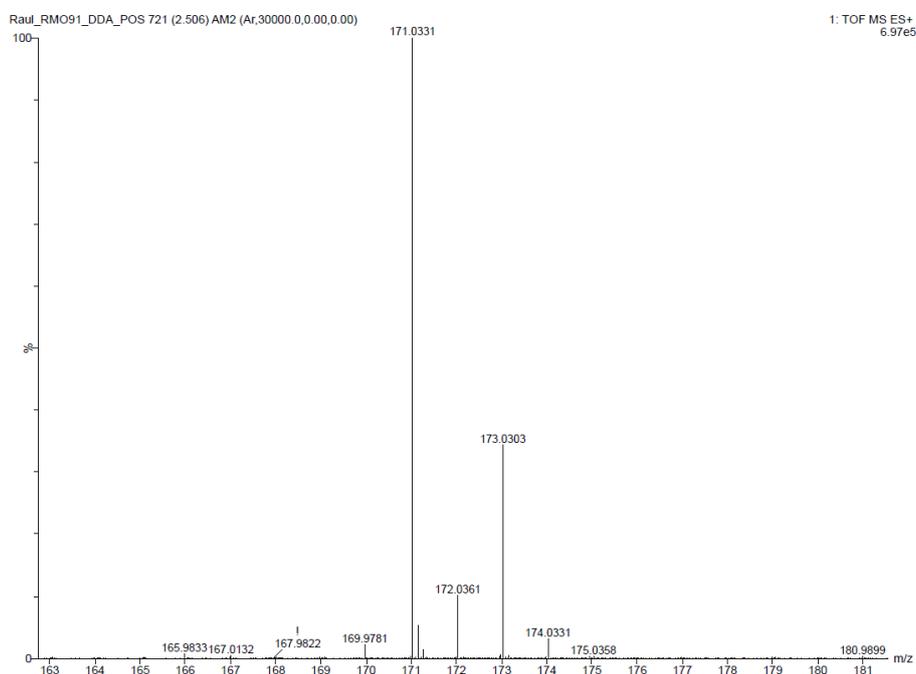
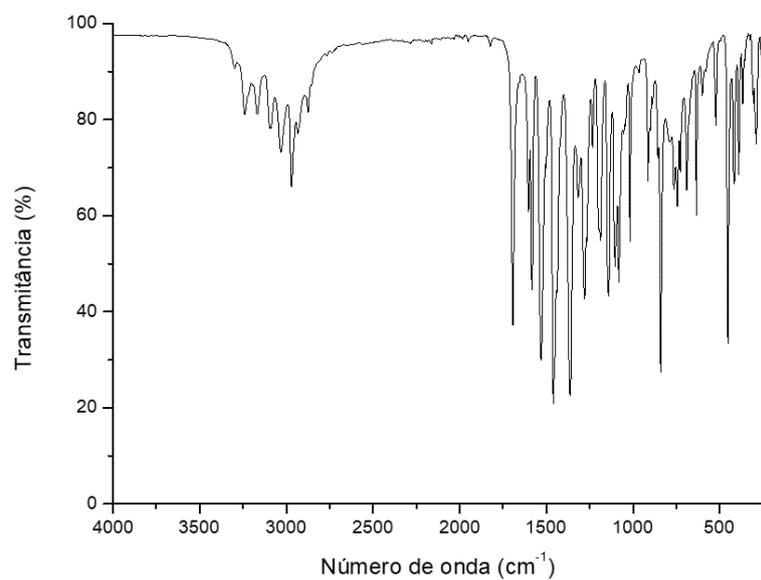
Espectro 149: Espectro de RMN de ^1H de **58** (600MHz, DMSO).**Espectro 150:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **58**.

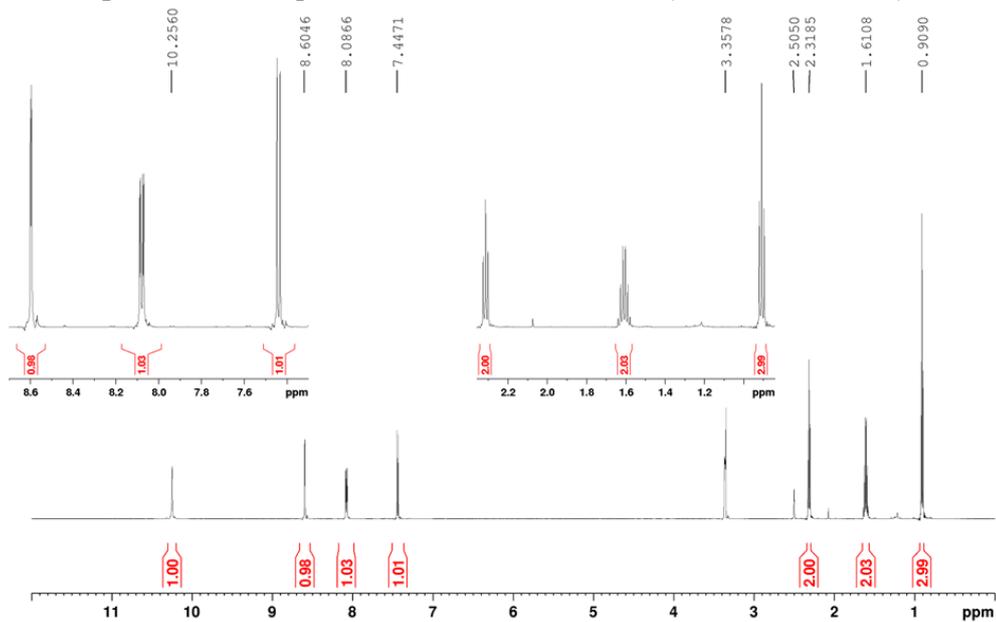
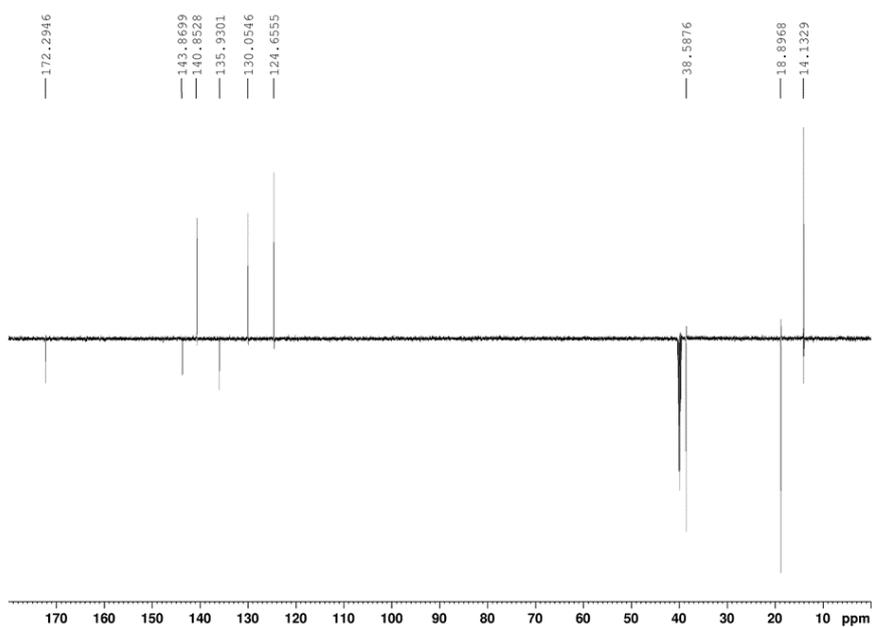
Espectro 151: EM-IES-(+) alta resolução do composto 58.**Espectro 152: Espectro na região do infravermelho da amida 59.**

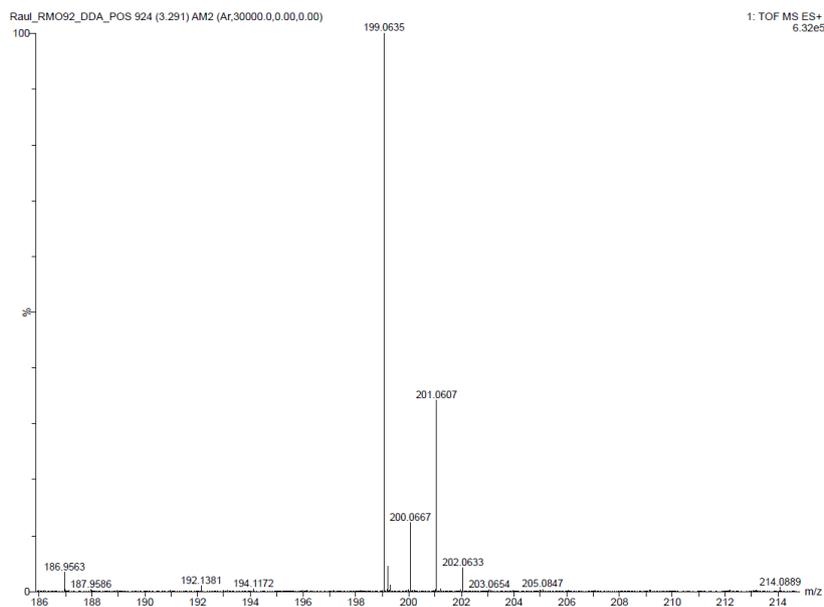
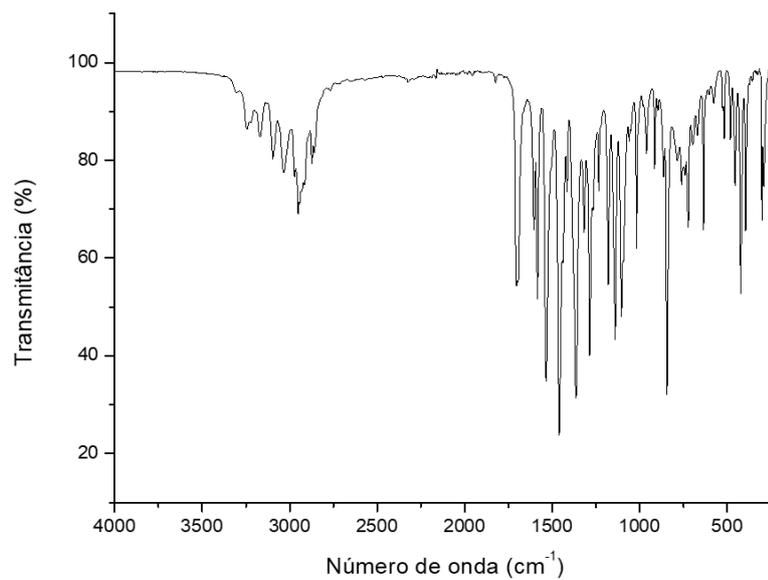
Espectro 153: Espectro de RMN de ^1H de **59** (600MHz, DMSO).**Espectro 154:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **59**.

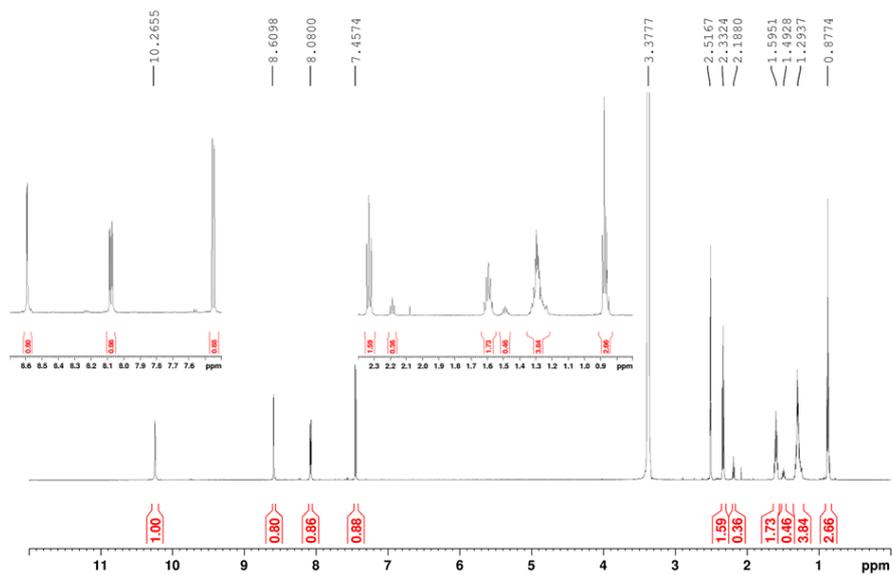
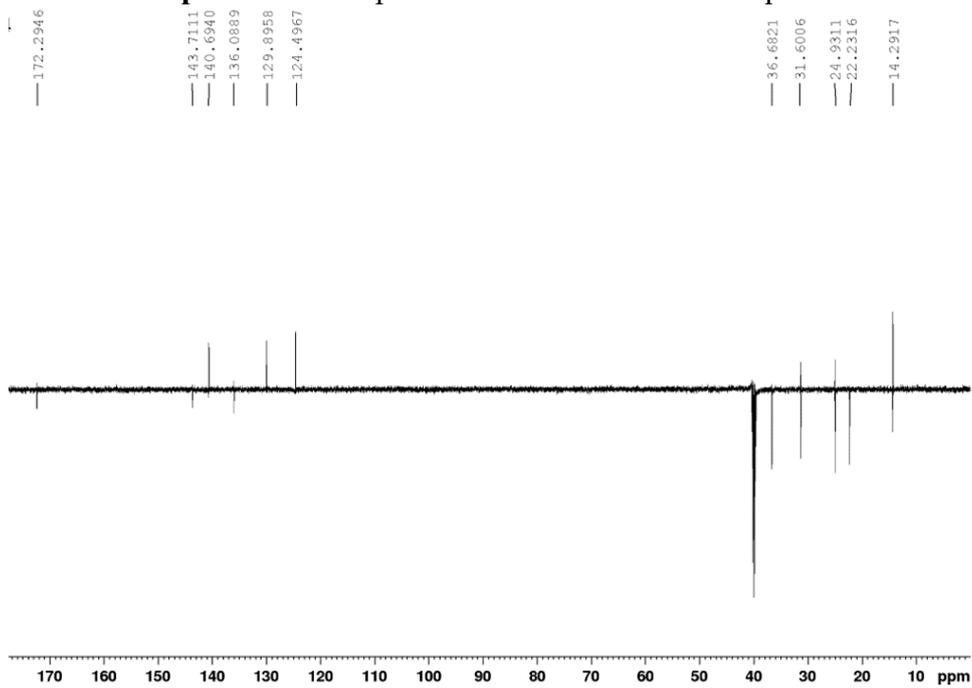
Espectro 155: EM-IES-(+) alta resolução do composto 59.**Espectro 156: Espectro na região do infravermelho da amida 60.**

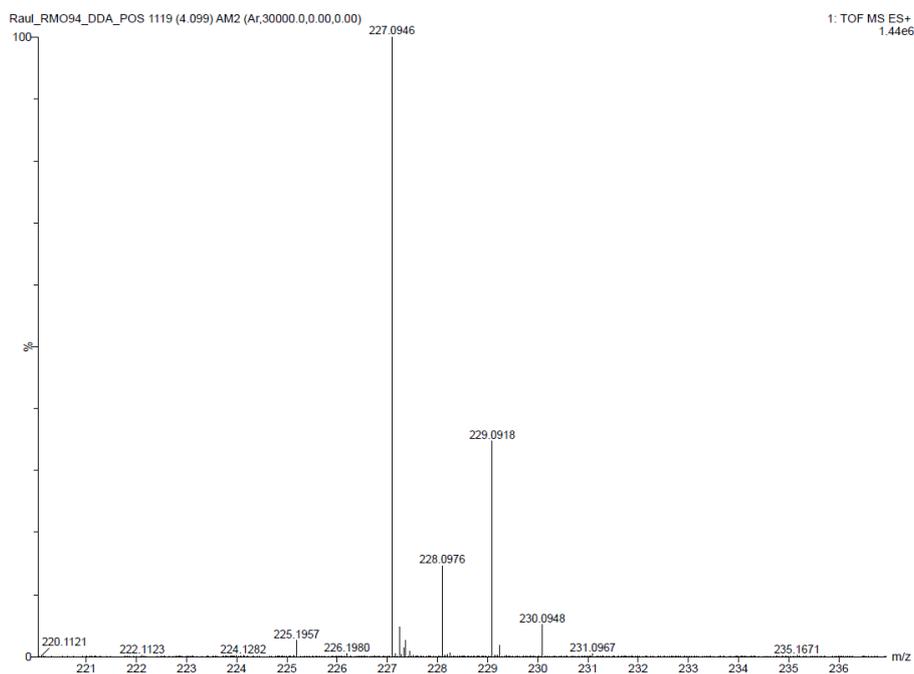
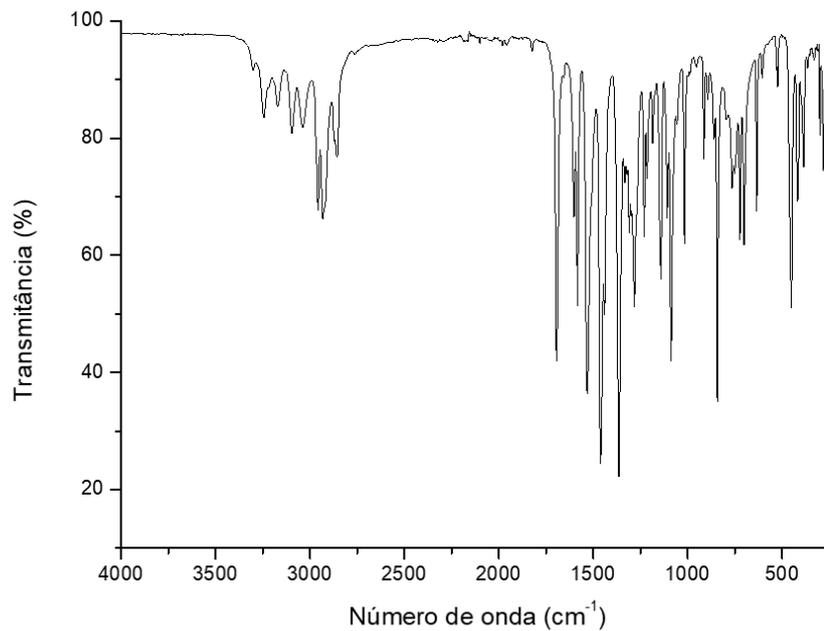
Espectro 157: Espectro de RMN de ^1H de **60** (600MHz, DMSO).**Espectro 158:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **60**.

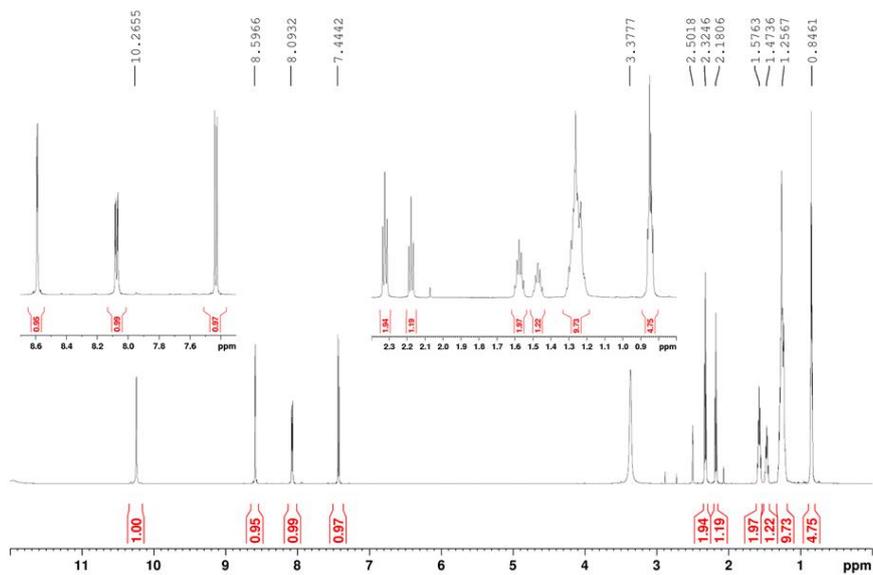
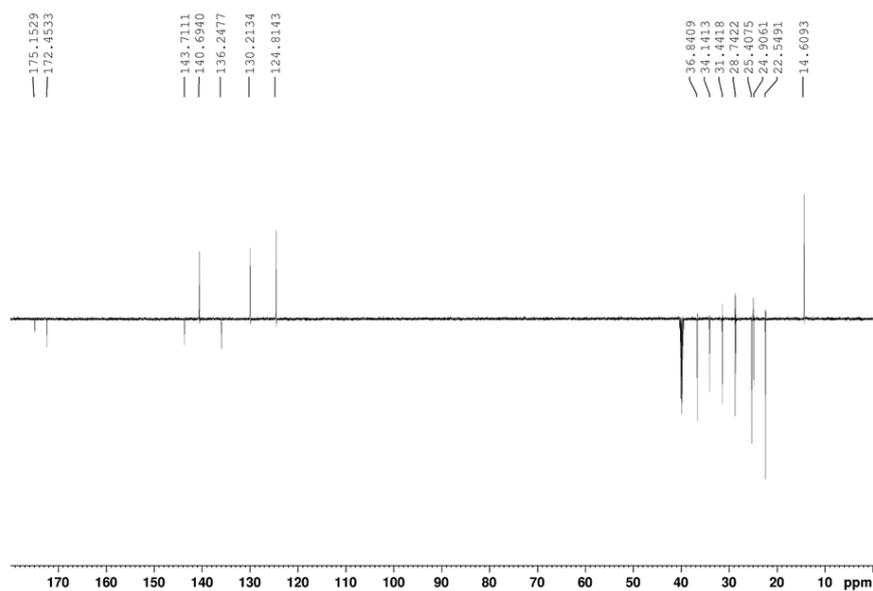
Espectro 159: EM-IES-(+) alta resolução do composto 60.**Espectro 160: Espectro na região do infravermelho da amida 61.**

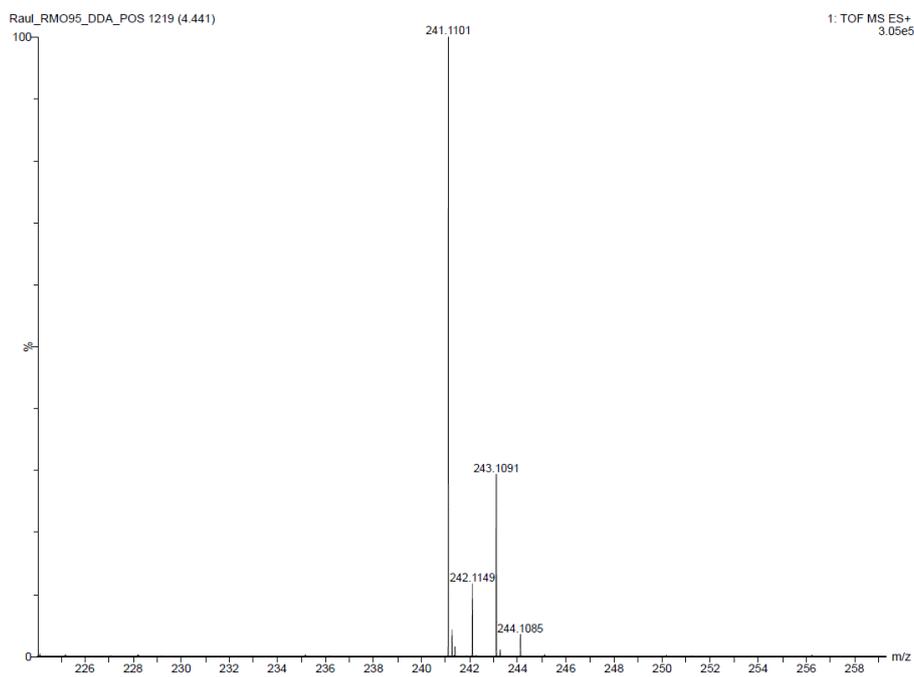
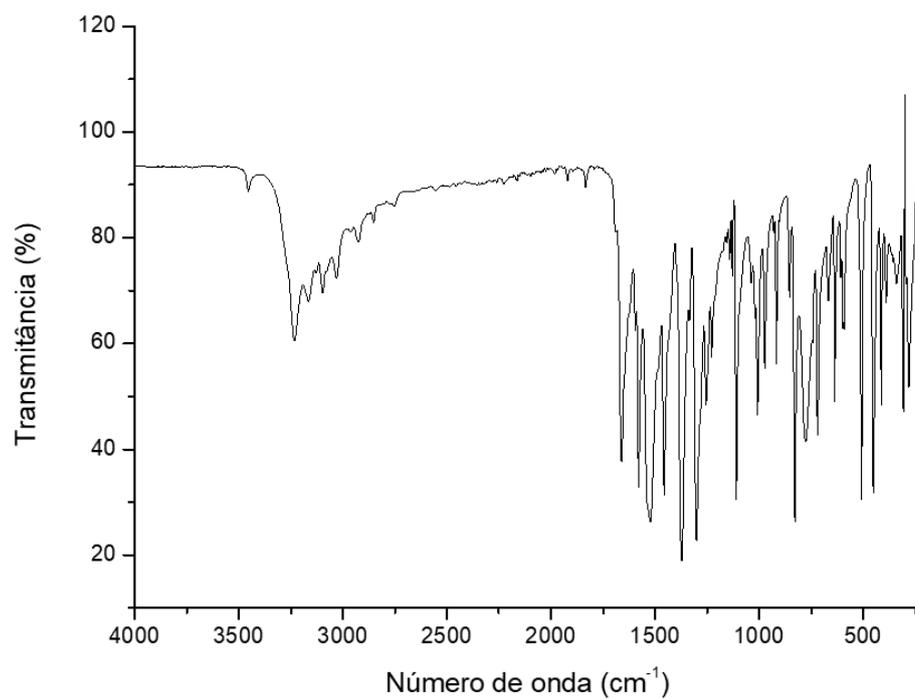
Espectro 161: Espectro de RMN de ^1H de **61** (600MHz, DMSO).**Espectro 162:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **61**.

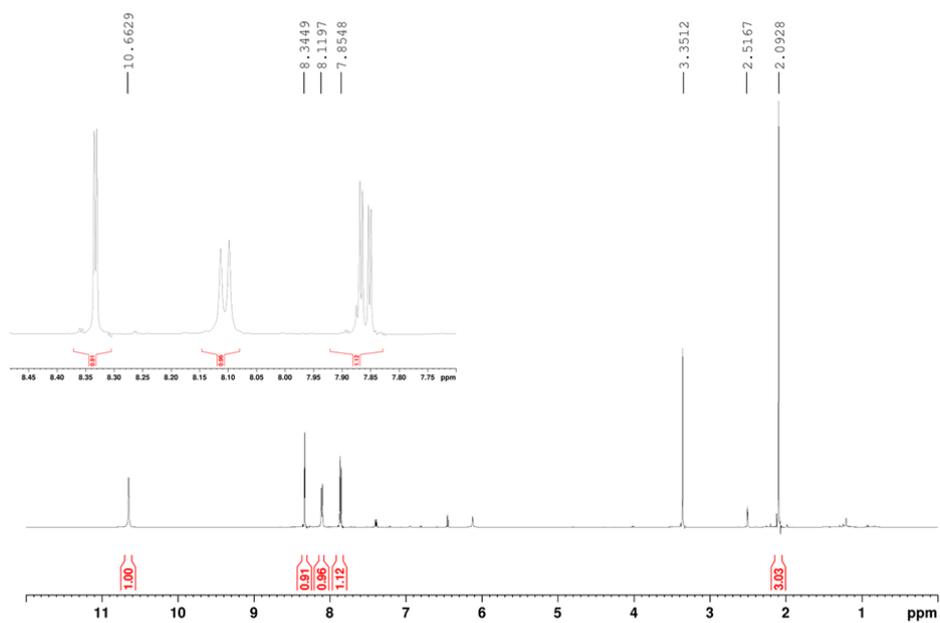
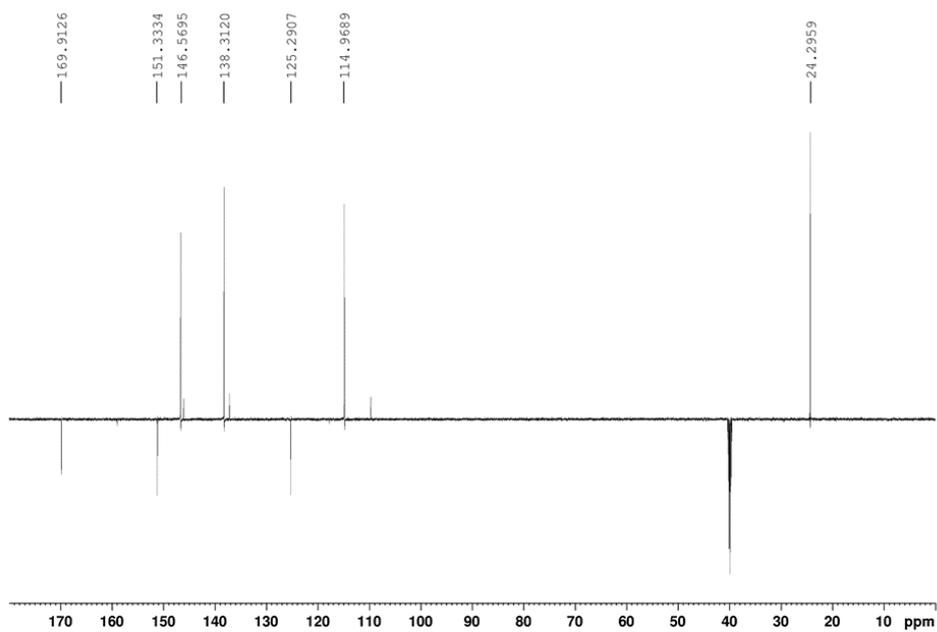
Espectro 163: EM-IES-(+) alta resolução do composto 61.**Espectro 164: Espectro na região do infravermelho da amida 63.**

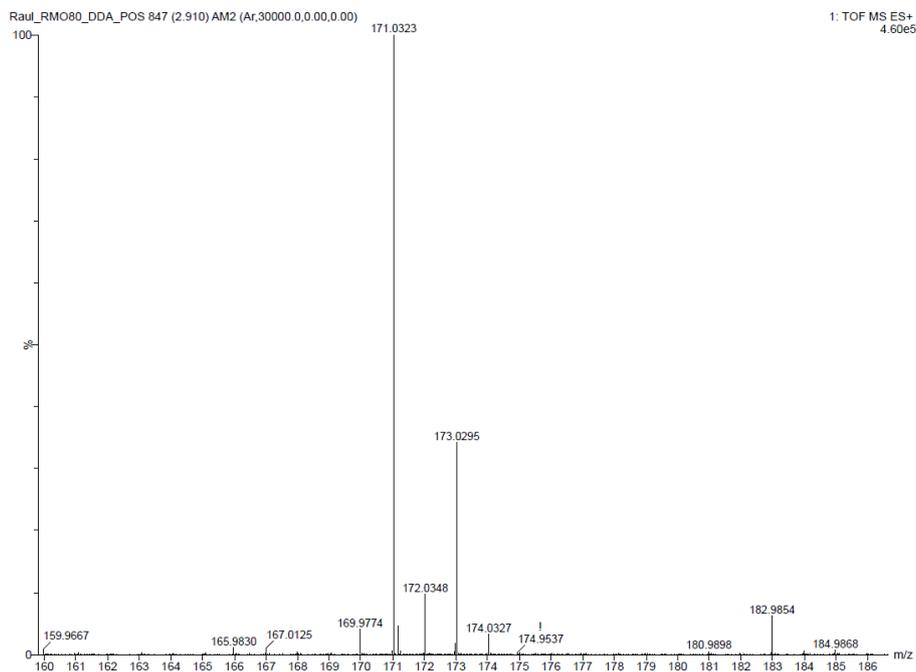
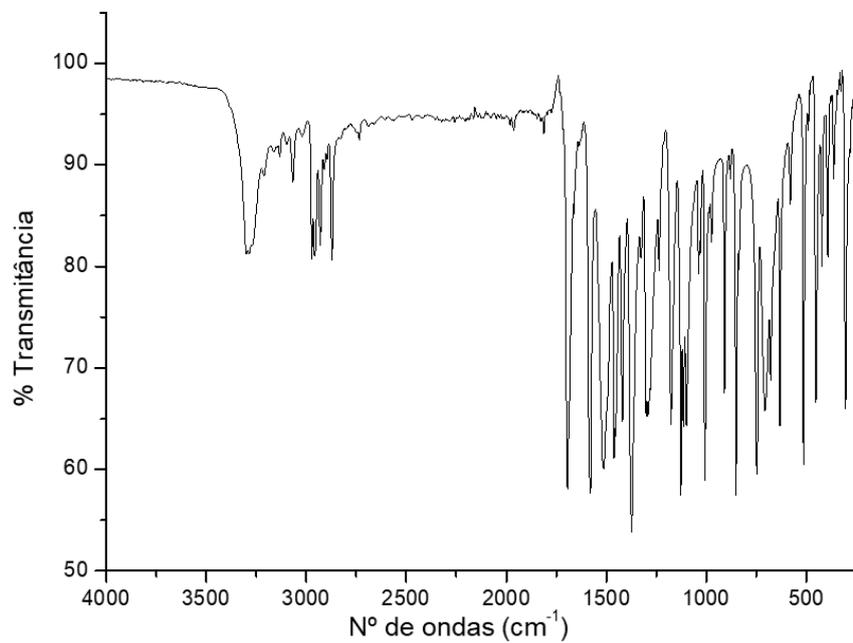
Espectro 165: Espectro de RMN de ^1H de **63** (600MHz, DMSO).**Espectro 166:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **63**.

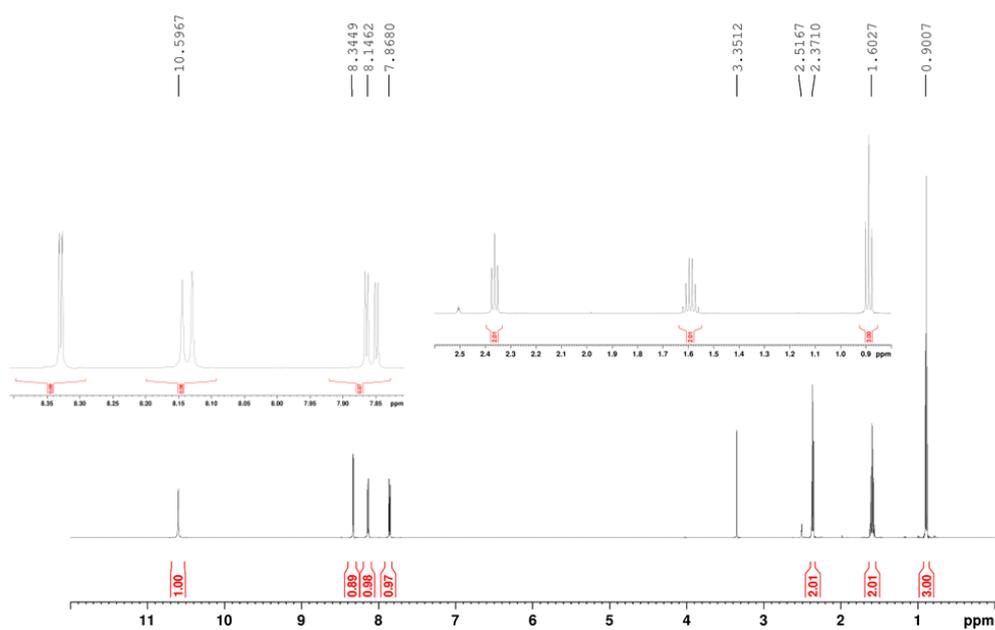
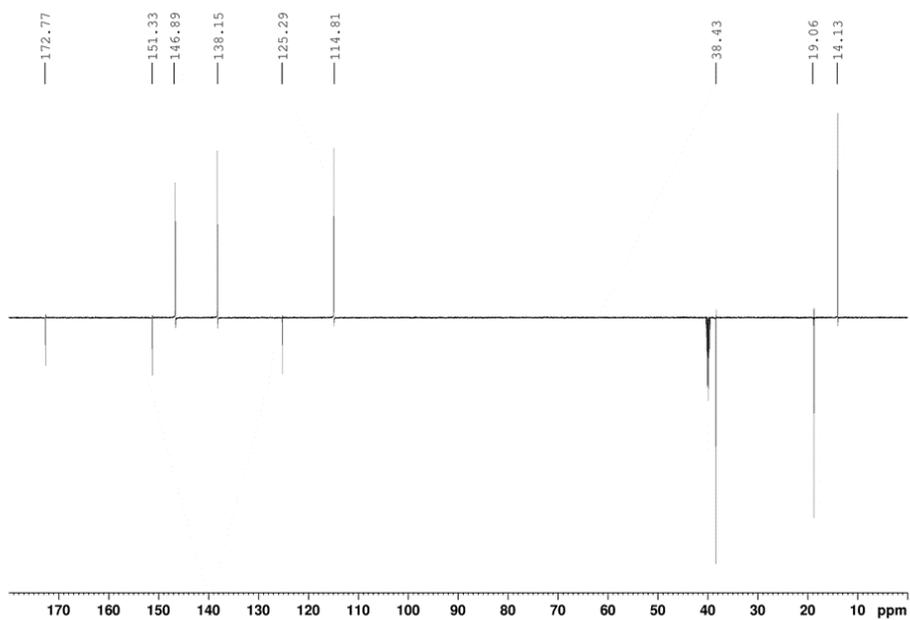
Espectro 167: EM-IES-(+) alta resolução do composto 63.**Espectro 168: Espectro na região do infravermelho da amida 64.**

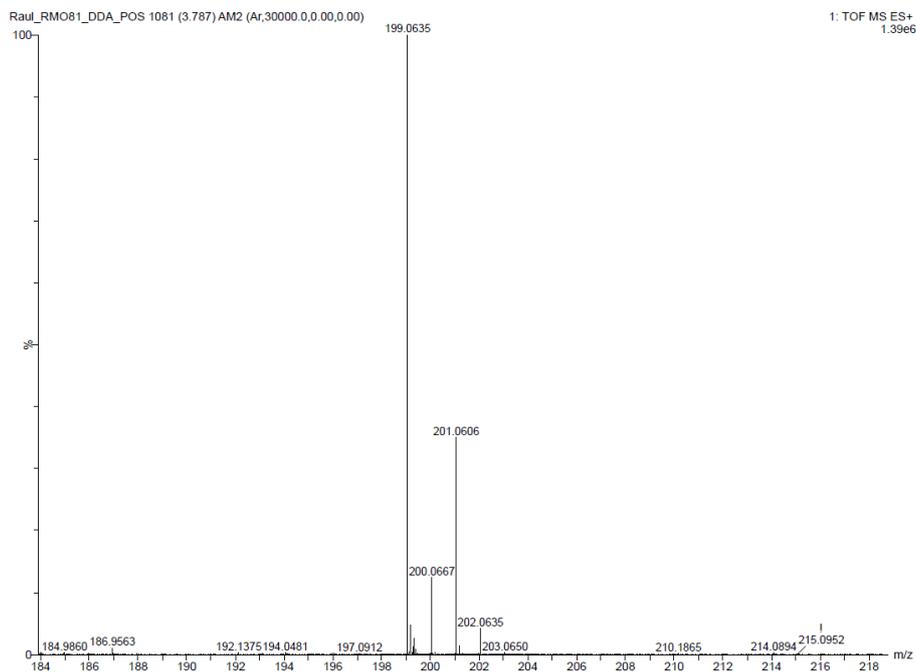
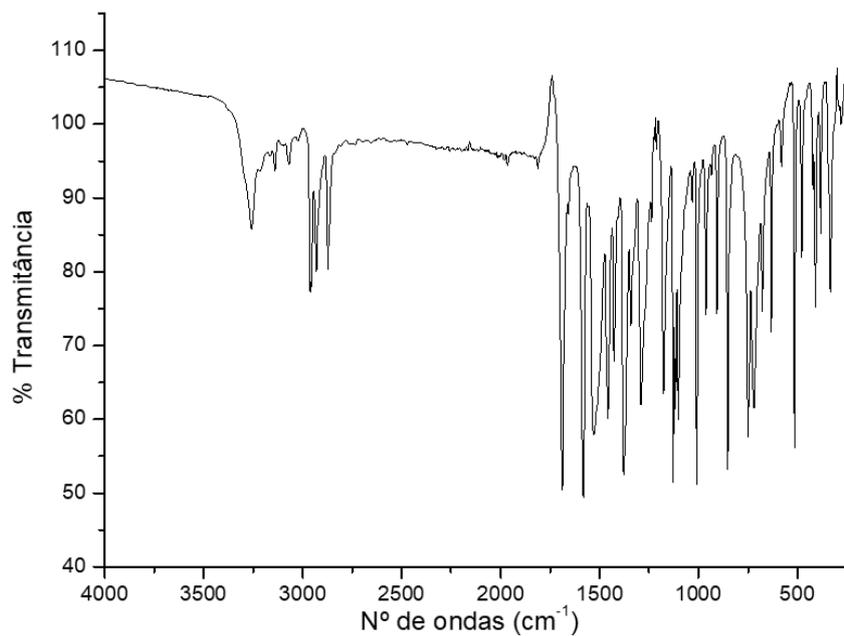
Espectro 169: Espectro de RMN de ^1H de **64** (600MHz, DMSO).**Espectro 170:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **64**.

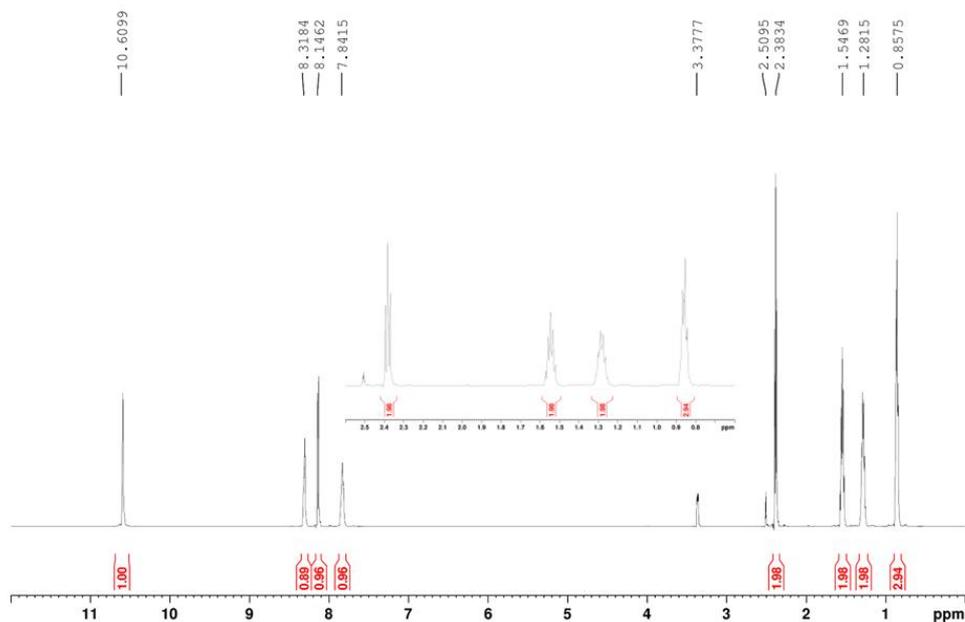
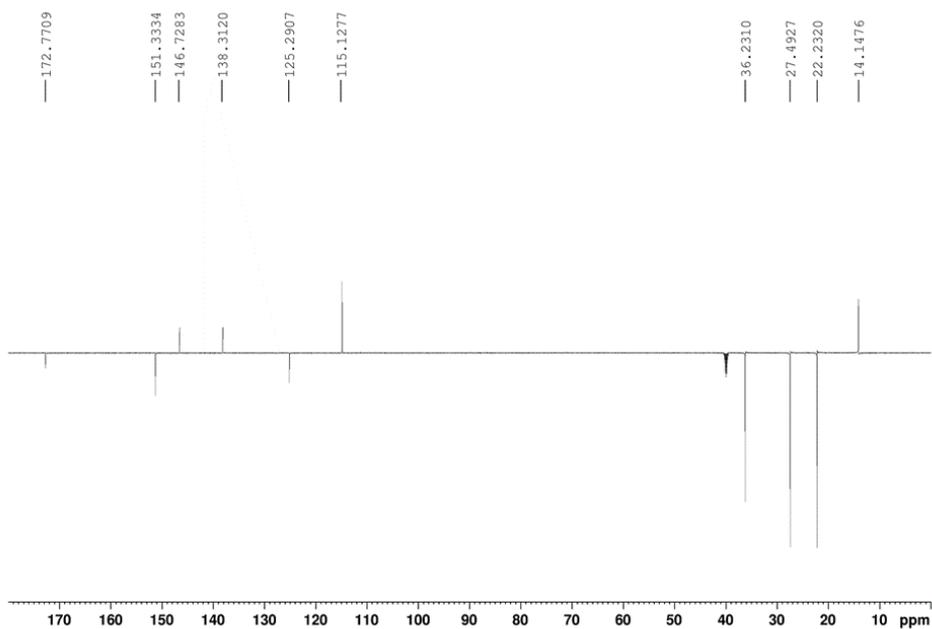
Espectro 171: EM-IES-(+) alta resolução do composto **64**.**Espectro 172:** Espectro na região do infravermelho da amida **65**.

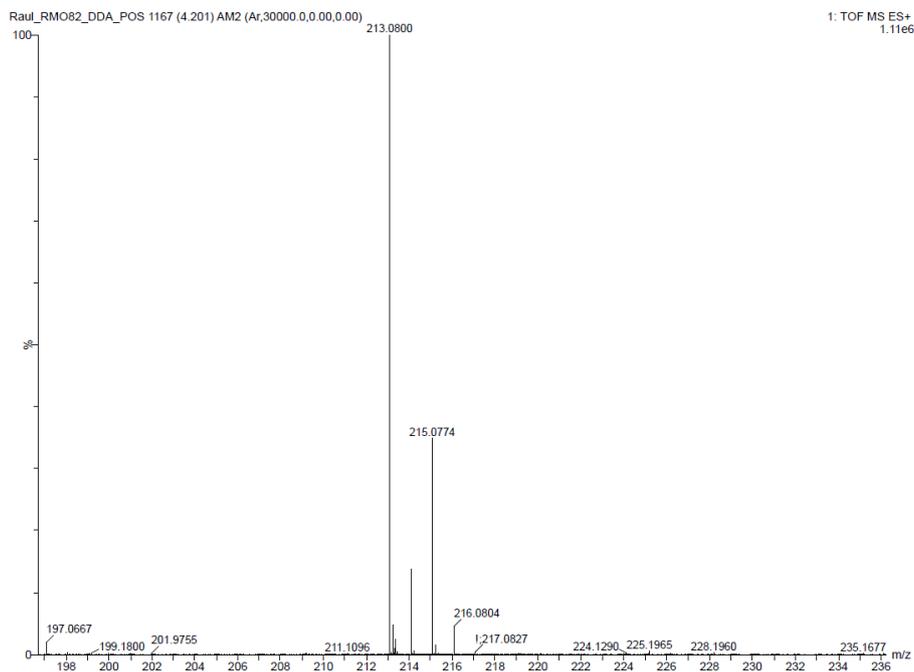
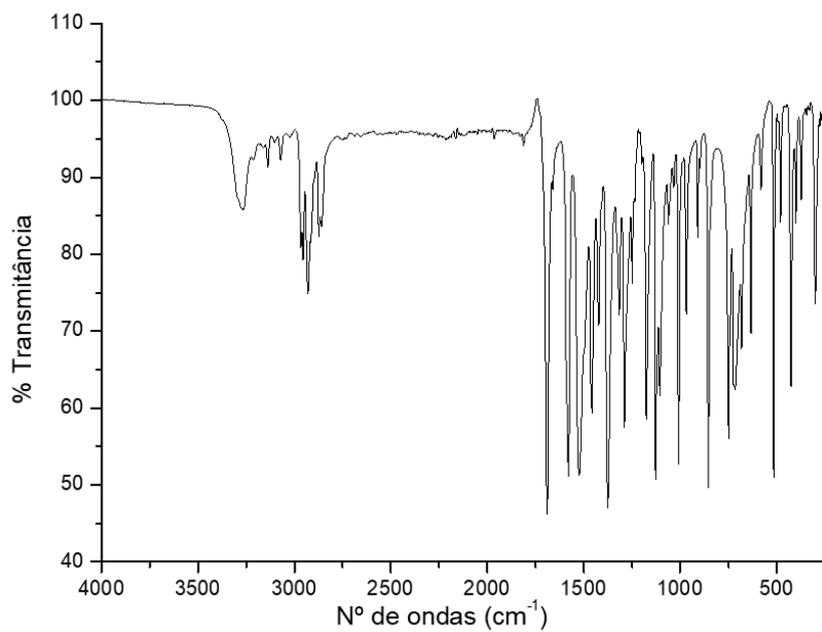
Espectro 173: Espectro de RMN de ^1H de **65** (600MHz, DMSO).**Espectro 174:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **65**.

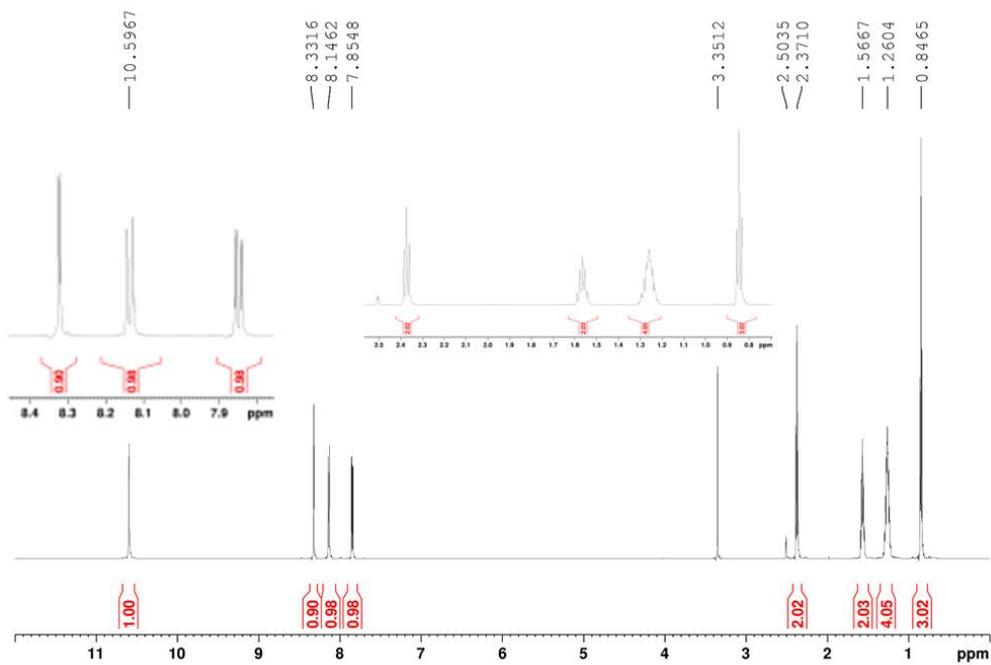
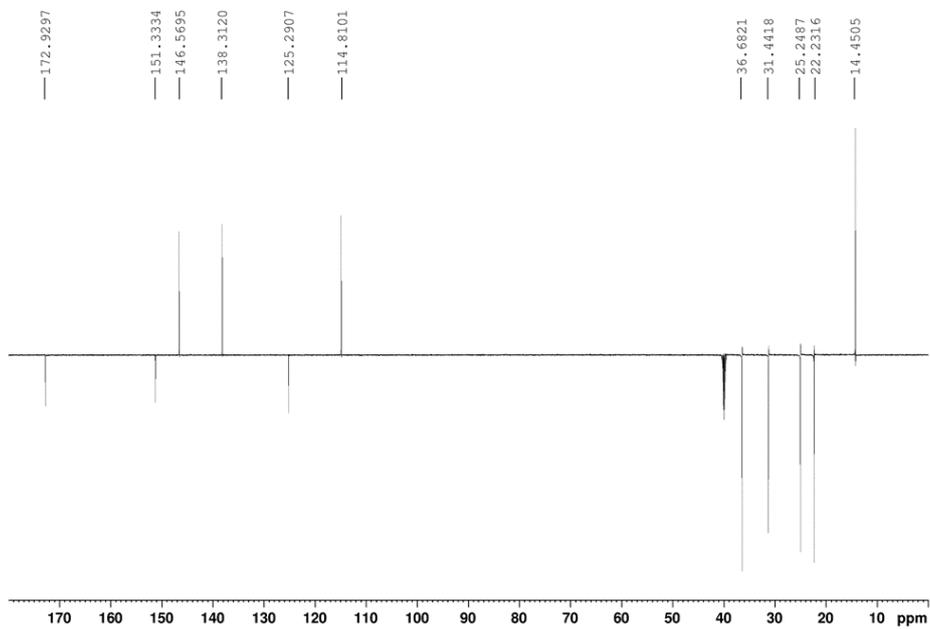
Espectro 175: EM-IES-(+) alta resolução do composto 65.**Espectro 176: Espectro na região do infravermelho da amida 66.**

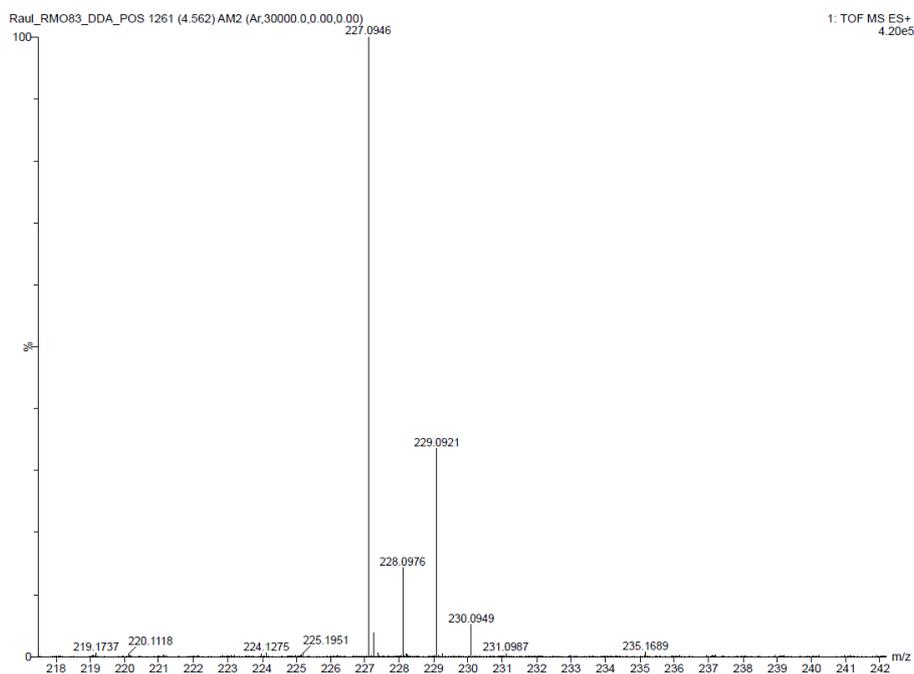
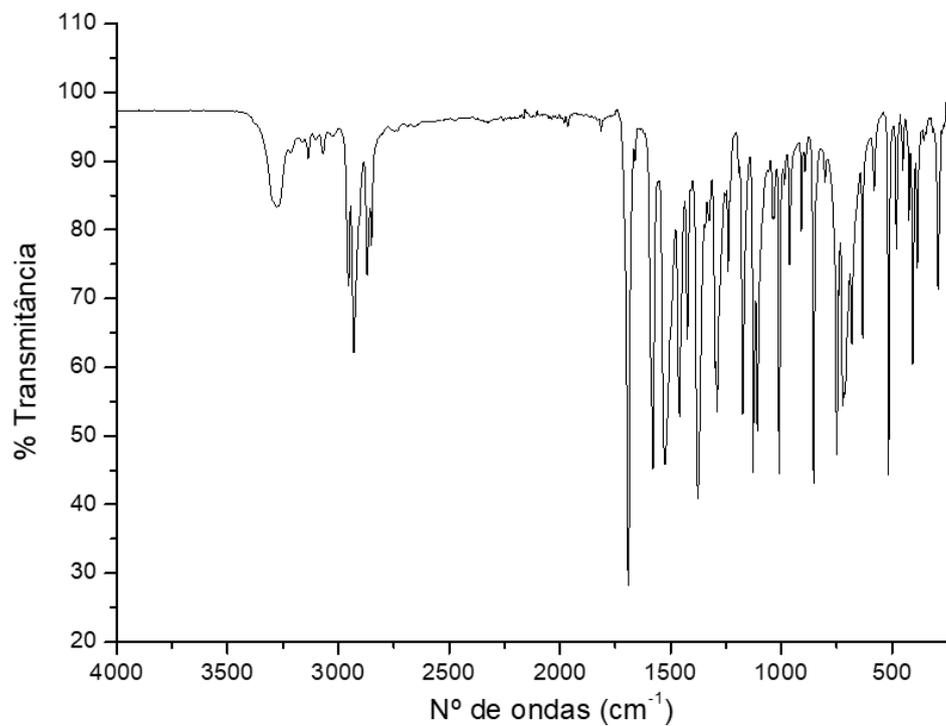
Espectro 177: Espectro de RMN de ^1H de **66** (600MHz, DMSO).**Espectro 178:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **66**.

Espectro 179: EM-IES-(+) alta resolução do composto 66.**Espectro 180: Espectro na região do infravermelho da amida 67.**

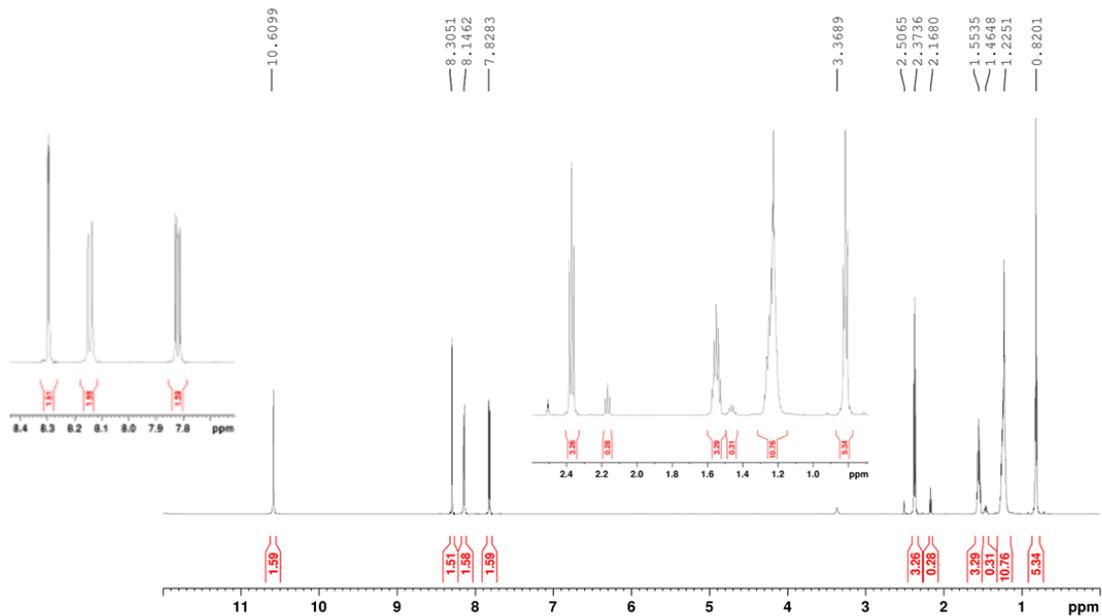
Espectro 181: Espectro de RMN de ^1H de **67** (600MHz, DMSO).**Espectro 182:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **67**.

Espectro 183: EM-IES-(+) alta resolução do composto **67**.**Espectro 184:** Espectro na região do infravermelho da amida **68**.

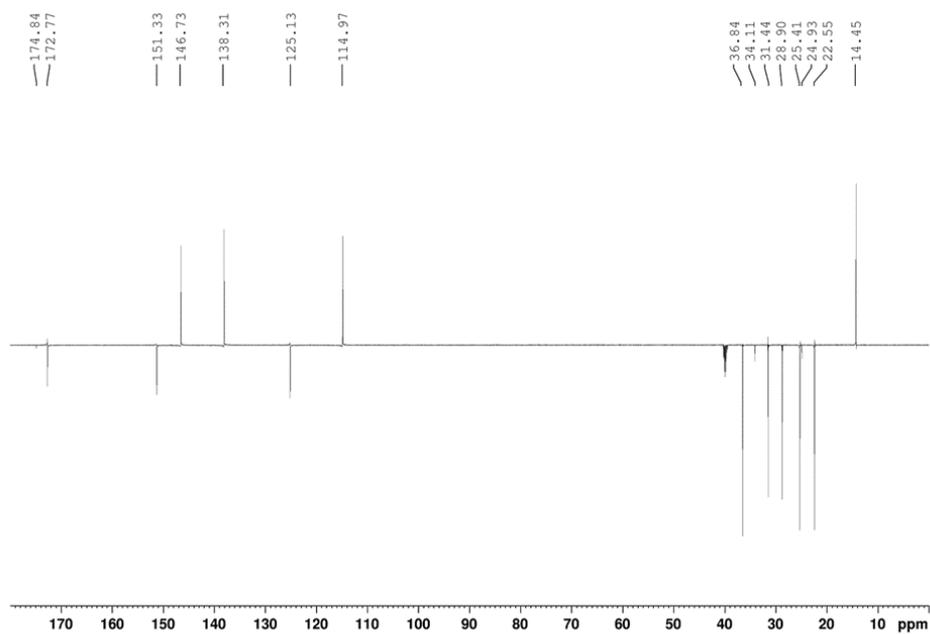
Espectro 185: Espectro de RMN de ^1H de **68** (600MHz, DMSO).**Espectro 186:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **68**.

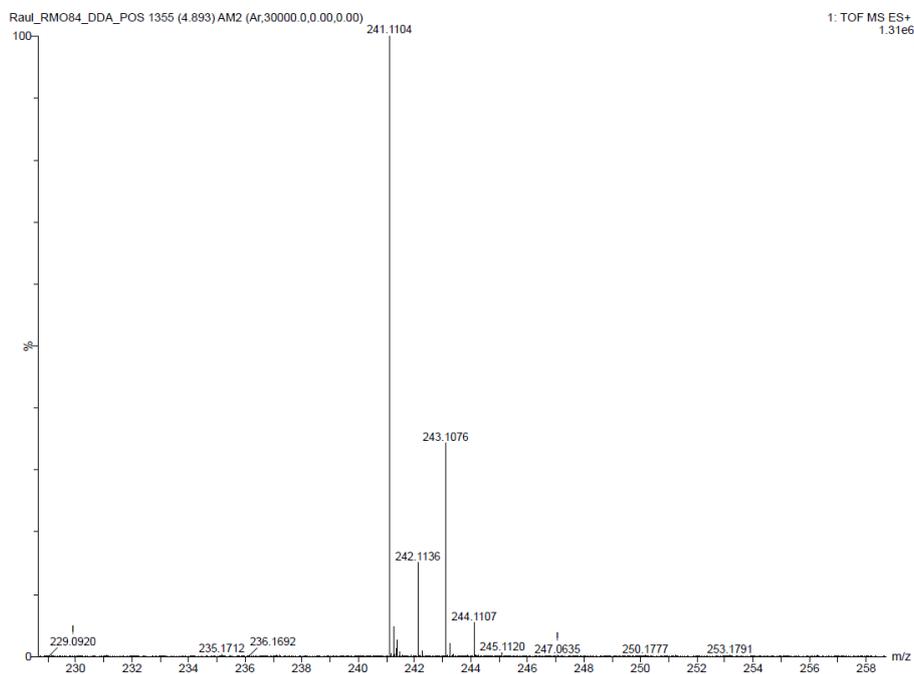
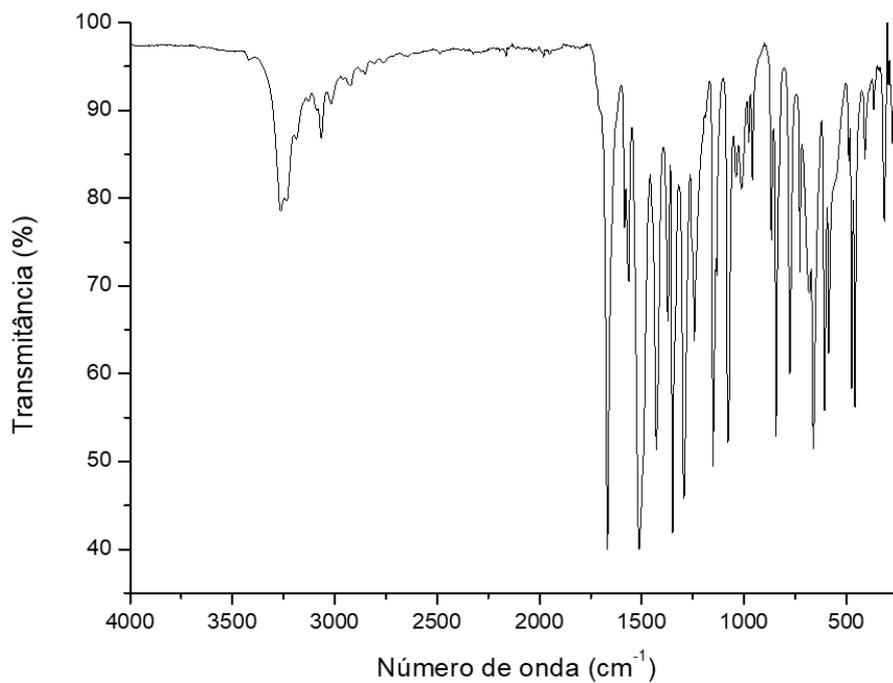
Espectro 187: EM-IES-(+) alta resolução do composto 68.**Espectro 188: Espectro na região do infravermelho da amida 69.**

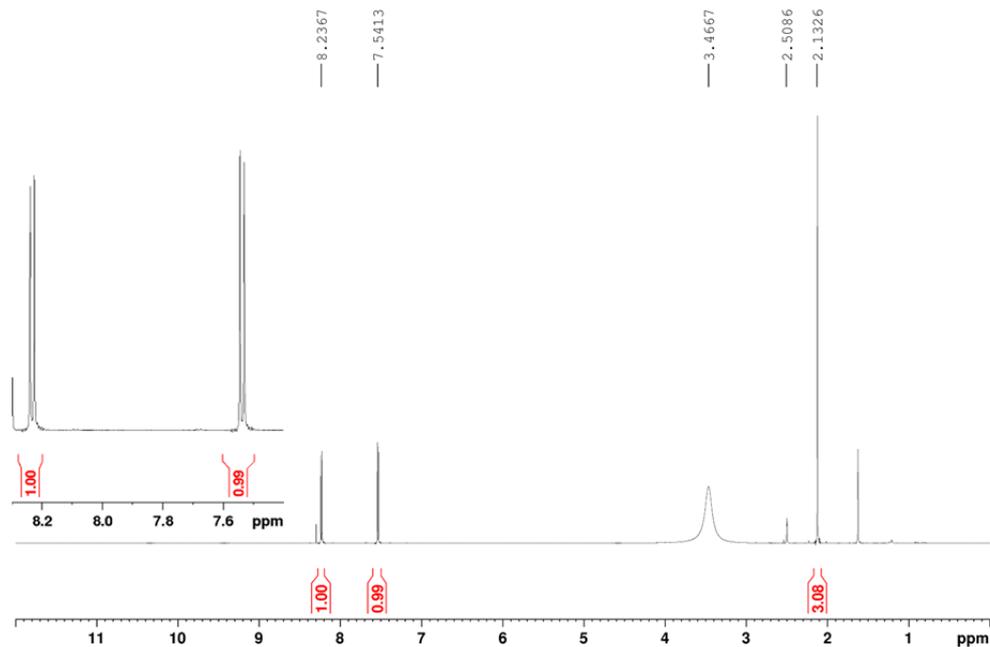
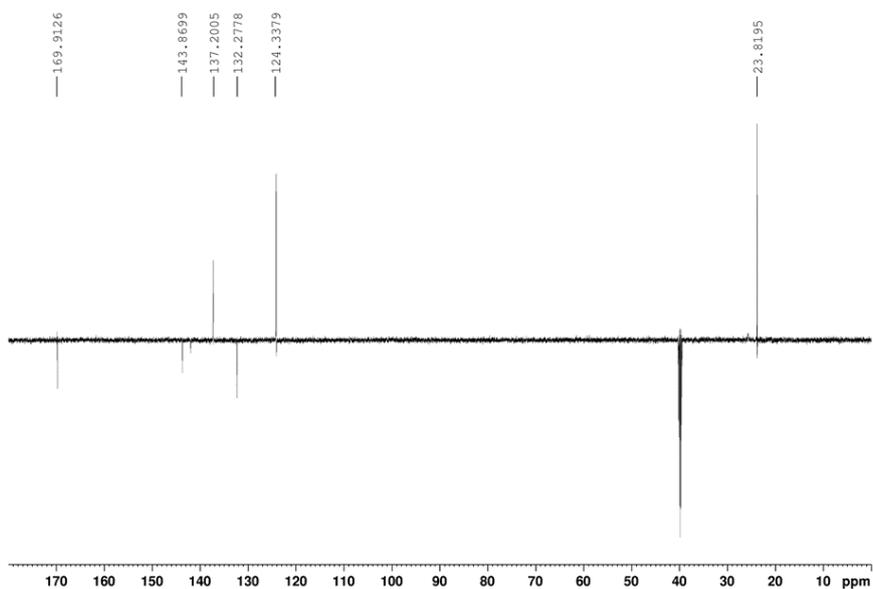
Espectro 189: Espectro de RMN de ^1H de **69** (600MHz, DMSO).

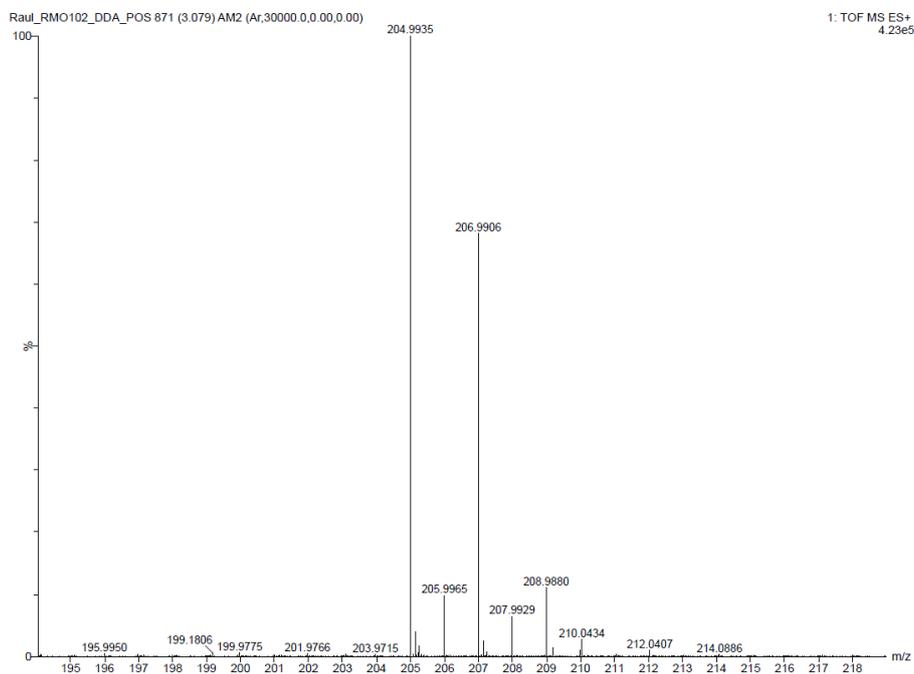
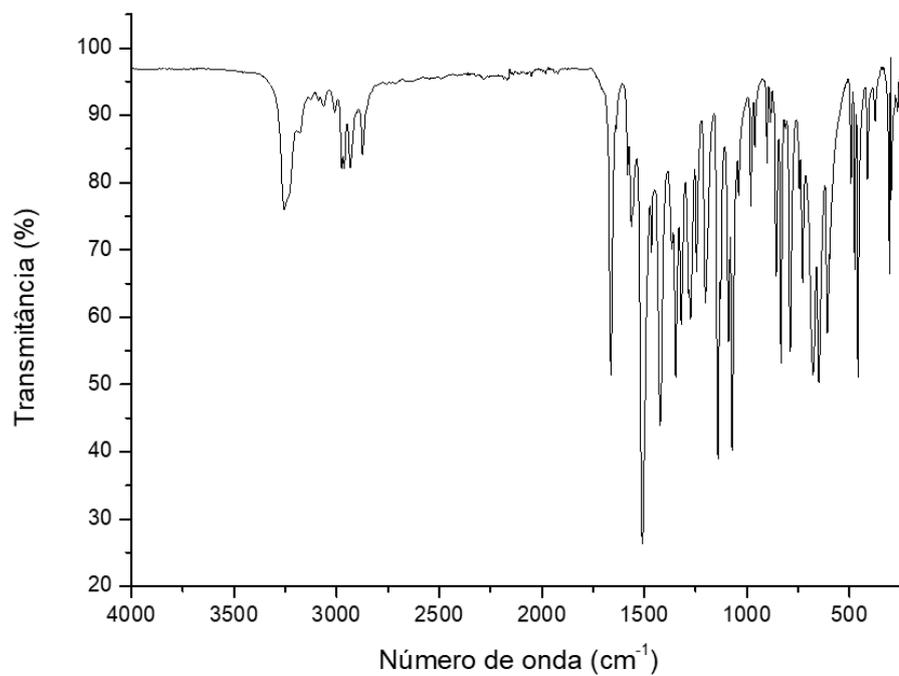


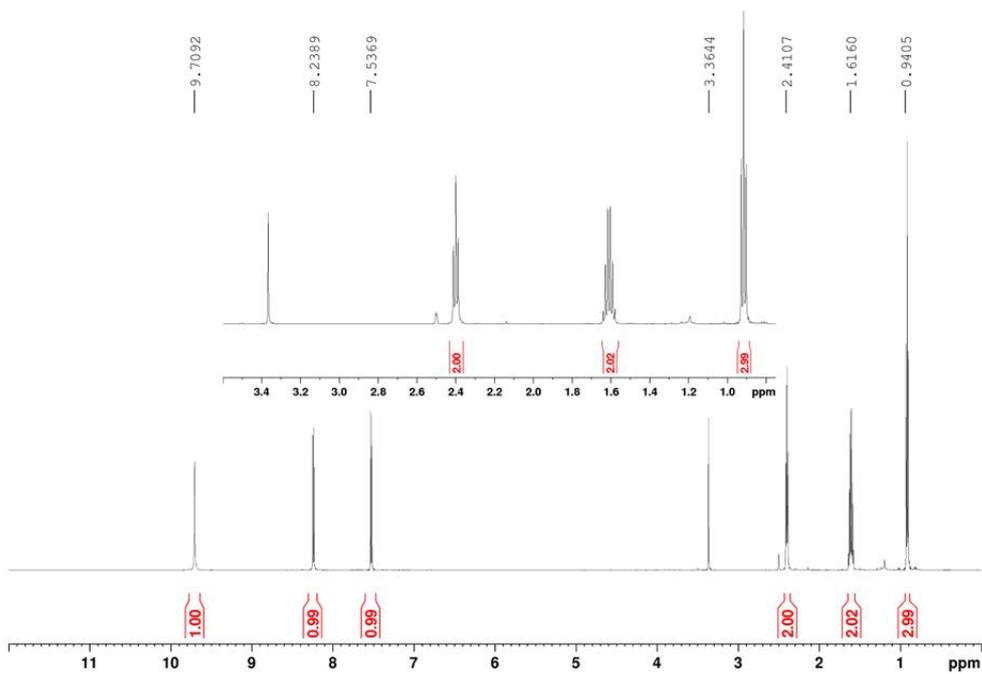
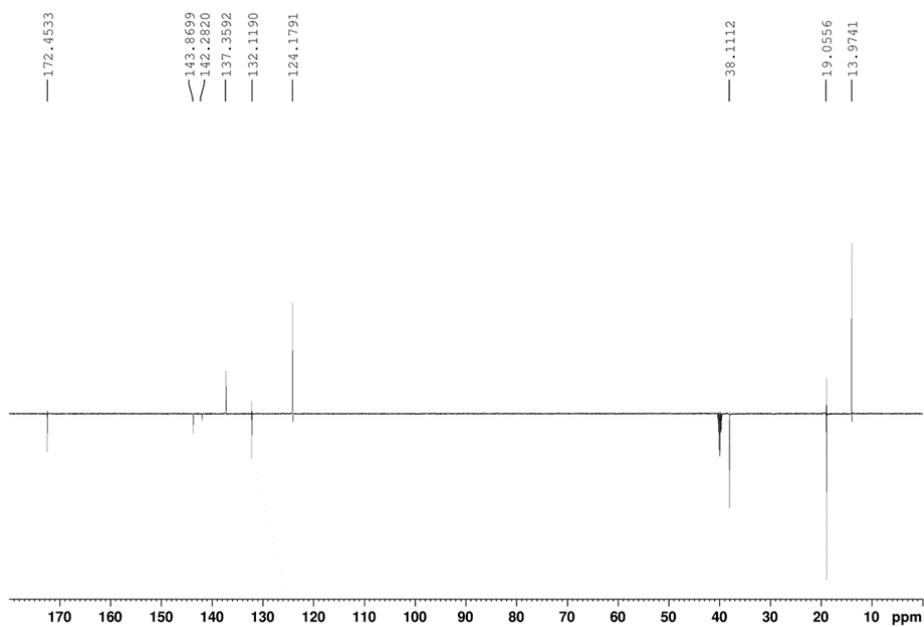
Espectro 190: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **69**.

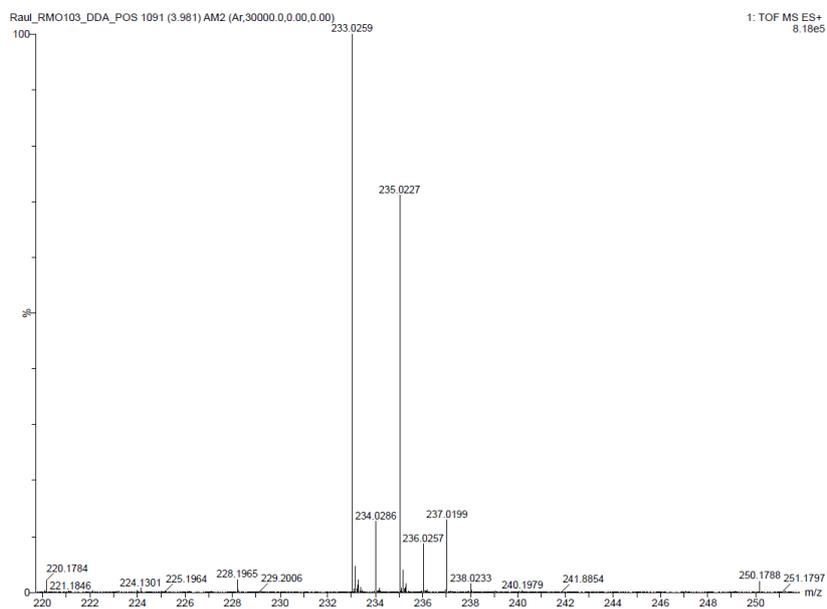
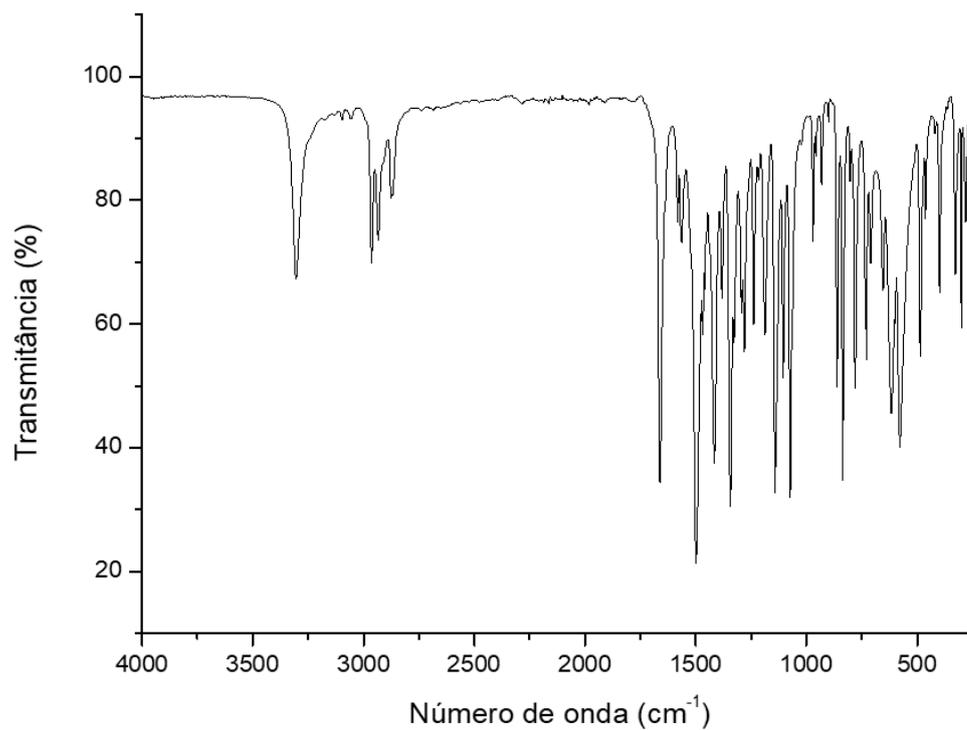


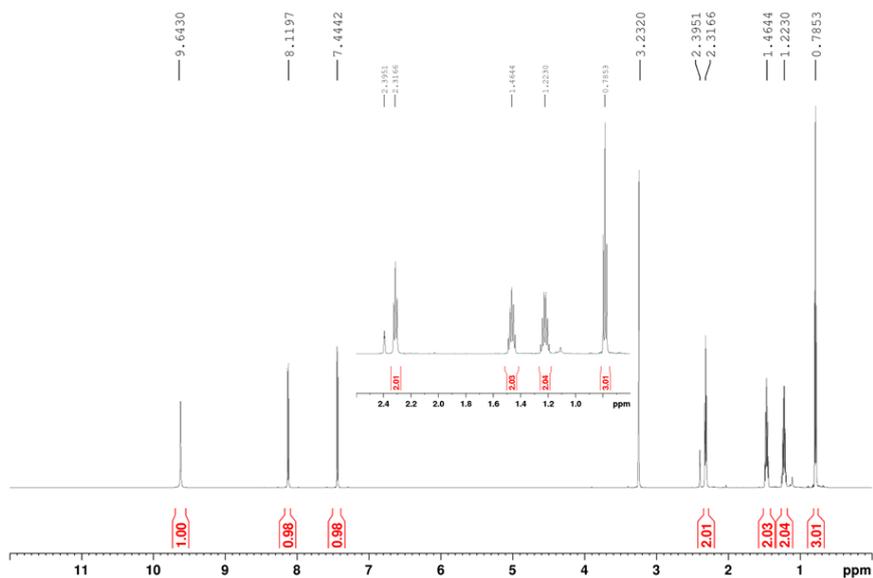
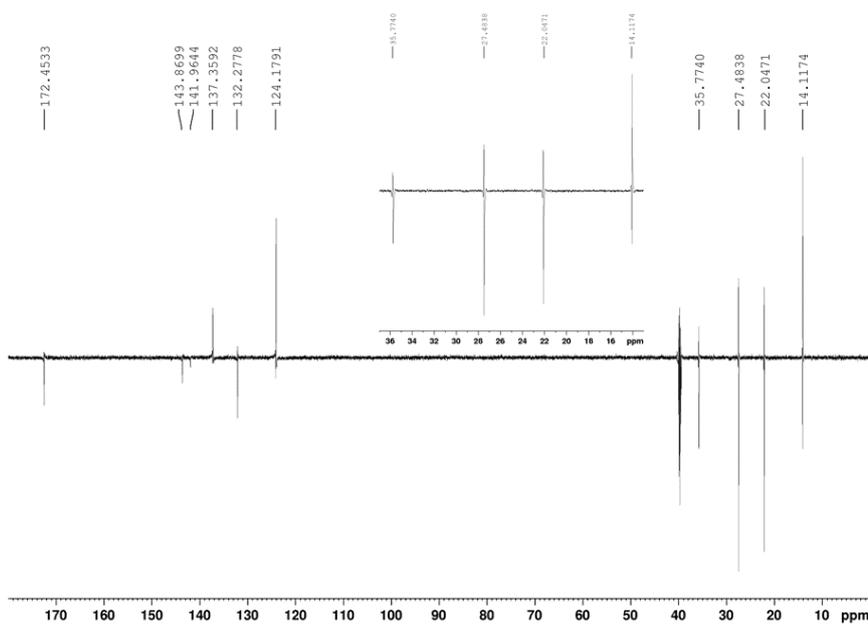
Espectro 191: EM-IES-(+) alta resolução do composto 69.**Espectro 192: Espectro na região do infravermelho da amida 70.**

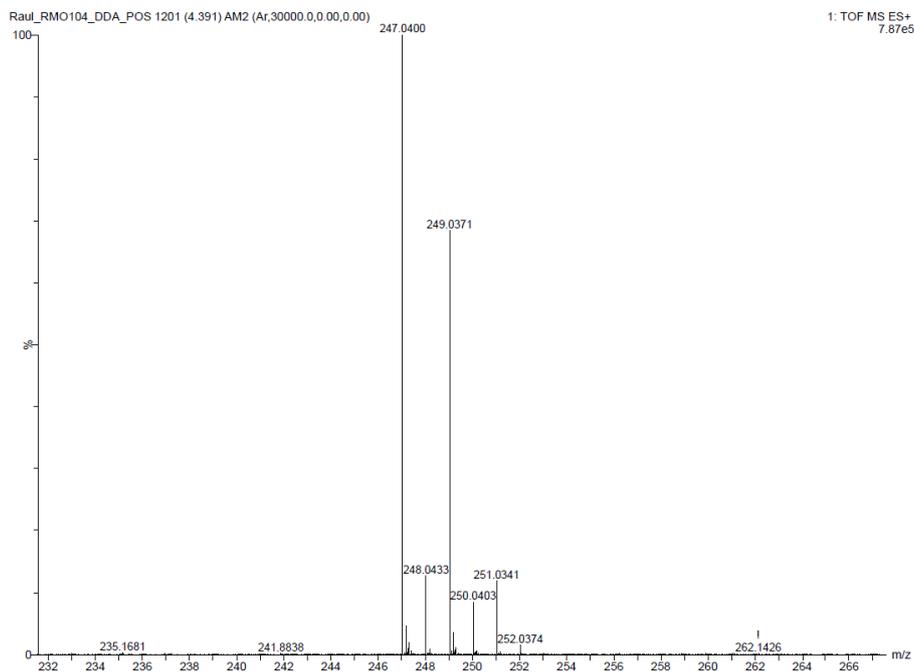
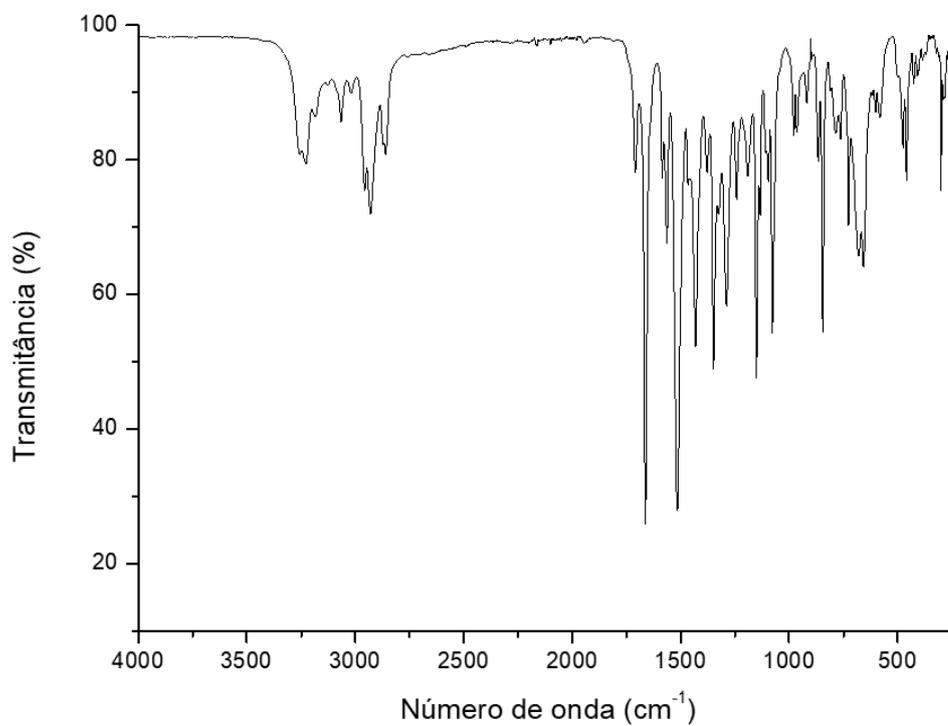
Espectro 193: Espectro de RMN de ^1H de **70** (600MHz, DMSO).**Espectro 194:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **70**.

Espectro 195: EM-IES-(+) alta resolução do composto 70.**Espectro 196: Espectro na região do infravermelho da amida 71.**

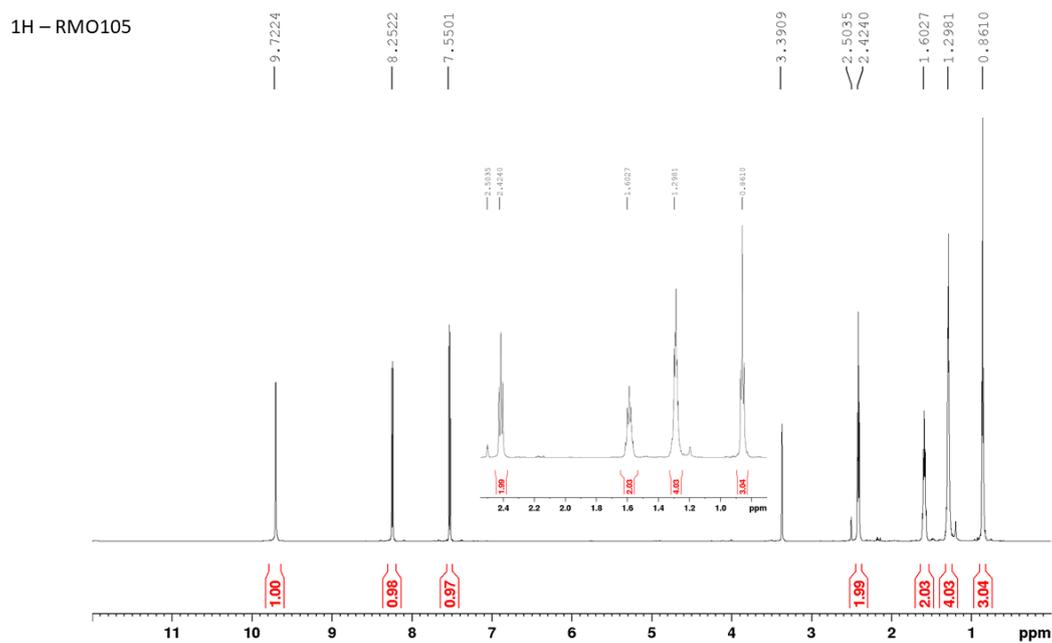
Espectro 197: Espectro de RMN de ^1H de **71** (600MHz, DMSO).**Espectro 198:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **71**.

Espectro 199: EM-IES-(+) alta resolução do composto 71.**Espectro 200: Espectro na região do infravermelho da amida 72.**

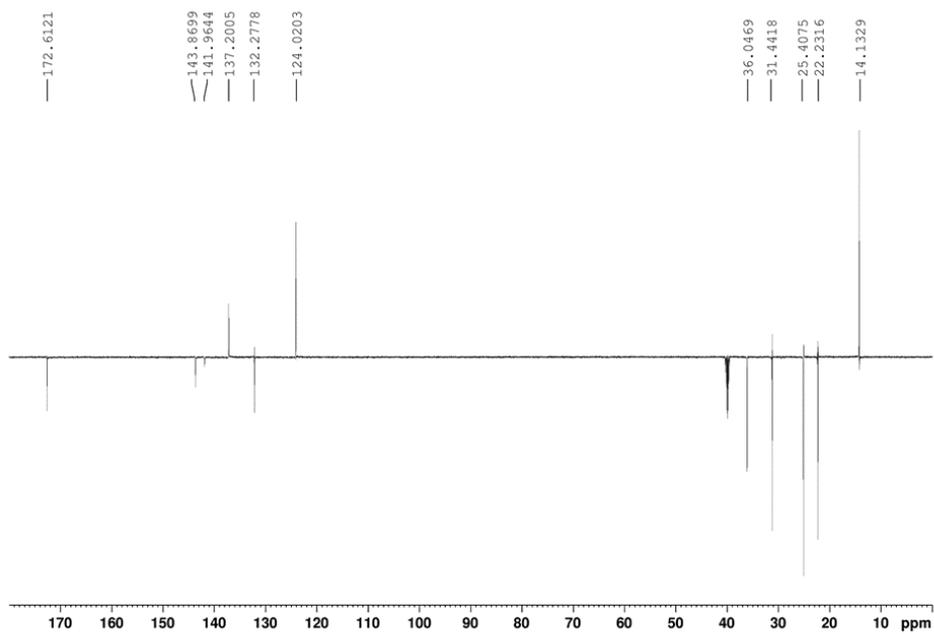
Espectro 201: Espectro de RMN de ^1H de **72** (600MHz, DMSO).**Espectro 202:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **72**.

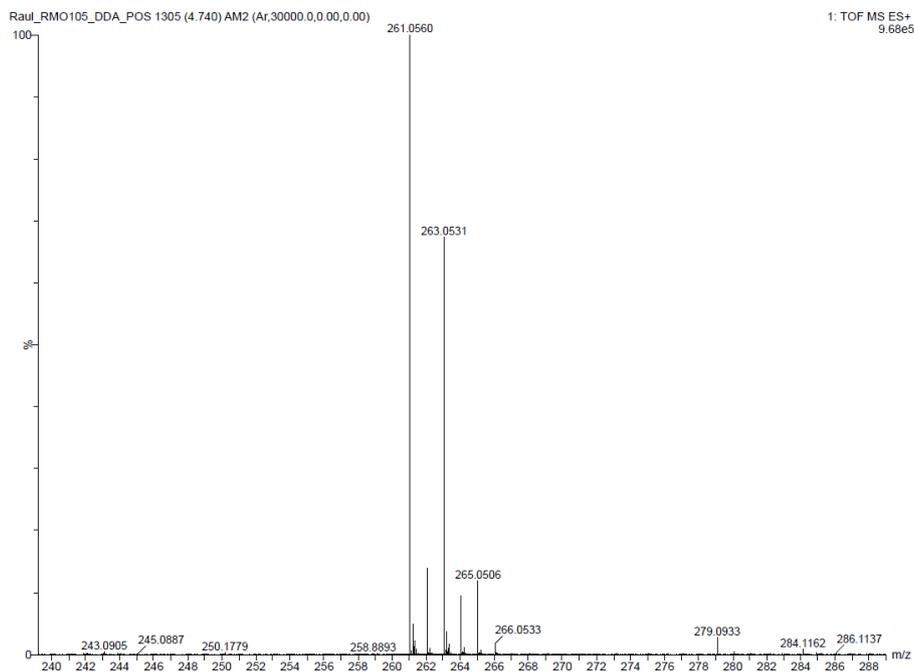
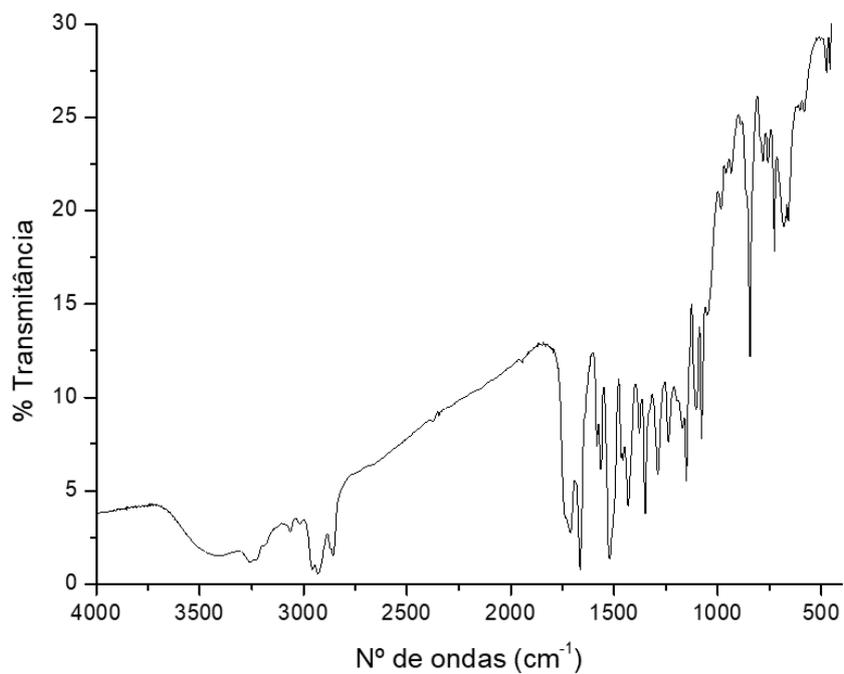
Espectro 203: EM-IES-(+) alta resolução do composto 72.**Espectro 204: Espectro na região do infravermelho da amida 73.**

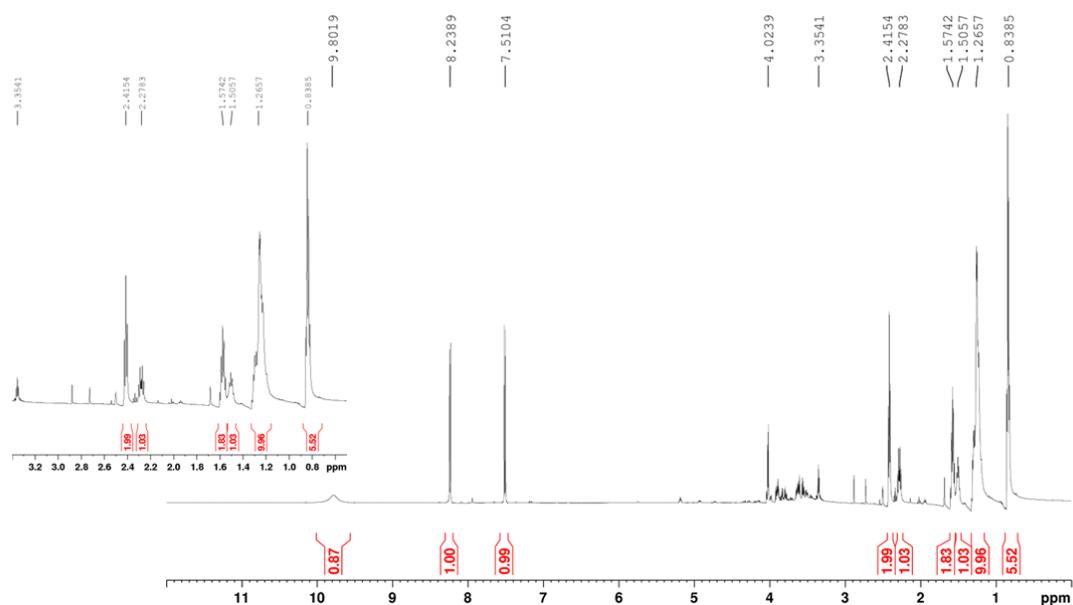
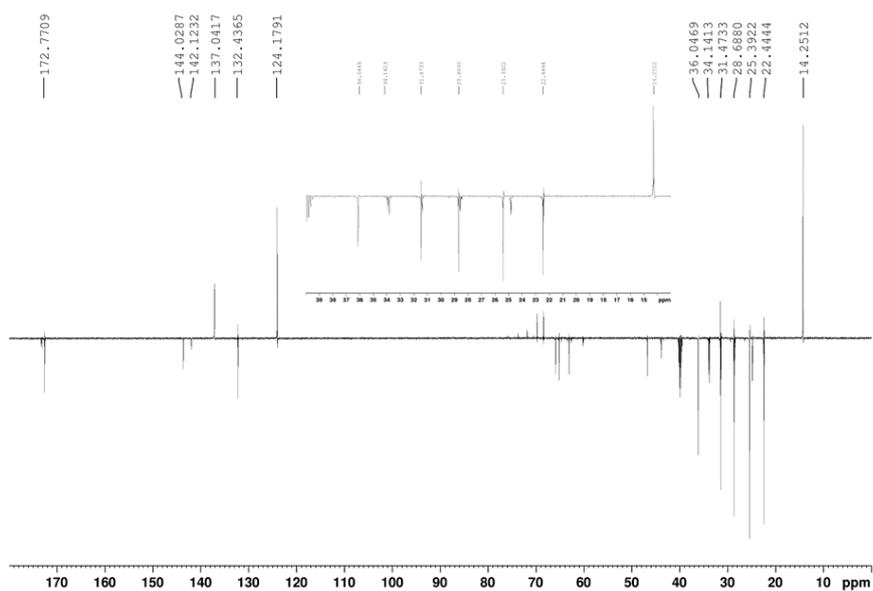
Espectro 205: Espectro de RMN de ^1H de **73** (600MHz, DMSO).



Espectro 206: Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **73**.



Espectro 207: EM-IES-(+) alta resolução do composto 73.**Espectro 208: Espectro na região do infravermelho da amida 74.**

Espectro 209: Espectro de RMN de ^1H de **74** (600MHz, DMSO).**Espectro 210:** Espectro de RMN de ^{13}C -DEPTq de **74**.

Espectro 211: EM-IES-(+) alta resolução do composto 74.