

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**LAÍS REGINA DOS SANTOS FOLQUITTO**

**SÍNTESE DE DERIVADOS BENZOXAZÓLICOS, POTENCIAIS AGENTES ANTI-  
*Leishmania* E INIBIDORES DE PROTEASES**

**Alfenas/MG**

**2016**

**LAÍS REGINA DOS SANTOS FOLQUITTO**

**SÍNTESE DE DERIVADOS BENZOAZÓLICOS, POTENCIAIS AGENTES ANTI-  
*Leishmania* E INIBIDORES DE PROTEASES**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientadora: Danielle Ferreira Dias

Coorientador: Marcos José Marques

**Alfenas/MG**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Folquitto, Laís Regina dos Santos.

Síntese de derivados benzoxazólicos, potenciais agentes anti-Leishmania e inibidores de proteases / Laís Regina dos Santos Folquitto. -- Alfenas/MG, 2016.

107 f.

Orientadora: Danielle Ferreira Dias.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2016.

Bibliografia.

1. Benzoxazóis. 2. Benzofenonas. 3. Acetofenonas. 4. Leishmania.  
I. Dias, Danielle Ferreira. II. Título.

CDD-547

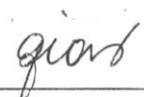
**Laís Regina dos Santos Folquito**

**“Síntese de derivados benzoxazólicos, potenciais agente anti-*Leishmania* e inibidores de protease”**

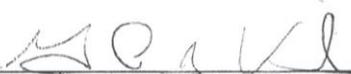
A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovado em: 26/02/2016

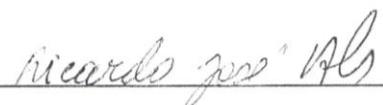
Profa. Dra. Danielle Ferreira Dias  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas –  
UNIFAL-MG

Assinatura: 

Profa. Dra. Marcia Paranho Veloso  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas –  
UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Ricardo José Alves  
Instituição: UFMG

Assinatura: 

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Alfenas e aos órgãos de fomento, por oferecerem infraestrutura e suporte financeiro para realização do trabalho.

À minha orientadora, que desde os tempos da minha iniciação científica, compartilha conhecimento para o meu crescimento científico, nunca poupou tempo e disposição para me ajudar e tirar dúvidas no que fosse preciso, sendo sempre muito presente e dedicada.

Ao meu Coorientador, por toda disposição e suporte que forneceu para que fosse possível a realização do trabalho, além de todo conhecimento compartilhado para discussão e crescimento científico do trabalho.

À banca examinadora, por aceitar ao meu convite e por contribuir cientificamente comigo e com meu trabalho.

Ao Thiago, pela amizade e por toda contribuição científica ao trabalho, que nunca poupou esforços ao me ajudar e me ensinar, sempre que fosse preciso, contribuindo com meu crescimento profissional.

À Priscila, minha parceira de bancada, que no último ano tanto me ajudou e esteve sempre disposta a aprender junto comigo, segurando a barra e me “aturando” neste período. Você foi essencial para que eu conseguisse.

À Patrícia e à Vanessa, pela dedicação e disposição ao realizar os ensaios biológicos, além de estarem sempre prontas a me ajudar e tirar minhas dúvidas.

Ao professor Diogo e a Larissa, pela colaboração e contribuição para que fosse possível a realização do trabalho.

Aos meus amigos de laboratório que tanto me ajudaram profissional e pessoalmente, suportando junto comigo todos os momentos de dificuldades e também de alegrias, me colocando para cima todas as vezes que precisei, em especial, Jaque, Welton, Isadora, Luiza, Victor, Paloma, Bruna, Rafael e Felipe Bley, sem vocês seria impossível.

Ao Thomas, por todo amor, carinho, companheirismo e força que sempre me deu, disposto a me ajudar e apoiar no que fosse preciso.

Aos meus pais, Sueli e Osmar, minha irmã Laura e minha madrinha Norma, por todo o amor, carinho, suporte e apoio que sempre me deram para seguir os meus sonhos, profissionais e pessoais, estando ao meu lado para o que fosse preciso. Vocês são tudo!

## RESUMO

A leishmaniose é uma doença encontrada em diversas regiões no mundo, e milhares de casos são registrados por ano no Brasil. É causada por protozoários do gênero *Leishmania*, podendo se manifestar por, basicamente, duas formas, visceral ou tegumentar, dependendo da espécie, e sendo transmitida através da picada do mosquito flebotomíneo infectado. As intensas investigações na interação hospedeiro-parasito possibilitaram a descoberta de novos alvos de ação, como por exemplo as proteases, que possuem grande destaque, uma vez que são essenciais para a sobrevivência e a proliferação do parasito. Existem relatos de benzofenonas naturais e sintéticas, assim como derivados que contém núcleo acetofenônico, e outros derivados cetônicos contendo heterocíclios em suas estruturas, que possuem atividades inibidoras de protease e anti-*Leishmania*. Dessa forma, foram obtidos e caracterizados derivados benzoxazólicos de benzofenona e acetofenona, que foram submetidos à avaliação de sua atividade anti-*Leishmania* e inibitória de protease. Foram obtidos dez derivados benzoxazólicos finais, e todos foram caracterizados por espectroscopia de absorção na região do infravermelho e espectroscopia de RMN de  $^1\text{H}$ , de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135. Na avaliação de sua atividade *in vitro* contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis*, os derivados **22e** e **24b** apresentaram boa atividade, com valores de  $\text{CI}_{50}$  de 90,3 e 130,9  $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente, além da benzofenona de partida (**23a**) e seu derivado nitro **24a**, com valores de  $\text{CI}_{50}$  de 190,9 e 158,4  $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente. Além disso, as substâncias **22e**, **24b** e **23a** foram avaliadas quanto suas atividades inibitória de papaína e tripsina, como modelo de proteases, mostrando-se mais ativos contra a papaína, com valores de  $\text{CI}_{50}$  mais satisfatórios do que o inibidor padrão utilizado.

**Palavras-chave:** Benzoxazol, Benzofenona, Acetofenona, anti-*Leishmania*.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is a disease found in various regions in the world, and thousands of cases are recorded each year in Brazil. Caused by protozoa of the genus *Leishmania* and transmitted by the infected sandfly, it can cause visceral or cutaneous infections to develop depending on the species. Intense investigations in host-parasite interaction enabled the discovery of new targets of action, such as proteases that have high profile, since they are essential for survival and proliferation of the parasites. There are reports of natural and synthetic benzophenones as well as derivatives containing acetophenone core, and other ketone derivatives containing heterocycles in their structures, which have protease inhibitory and anti-leishmanial activity. Thus, benzophenone and acetophenone-based benzoxazoles were obtained and characterized, and evaluated for their anti-leishmanial and protease inhibitory activities. Ten final benzoxazoles derivatives were obtained, and all were characterized by infrared and  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectroscopies. All compounds were submitted to *in vitro* testing to evaluate their activity against the promastigote form of *Leishmania amazonensis*. The derivatives **22e** and **24b** showed good activity with  $\text{IC}_{50}$  values of 90.3 and 130.9  $\mu\text{M}$ , respectively; and the starting benzophenone (**23a**) and its nitro derivative **24a**, had  $\text{IC}_{50}$  values of 190.9 and 158.4  $\mu\text{M}$ , respectively. In addition, compounds **22e**, **24** and **23a** were evaluated for their inhibitory activities of papain and trypsin as model proteases, and were found to be more active against papain, with  $\text{IC}_{50}$  values more satisfactory than the standard inhibitor used.

**Keywords:** Benzoxazole, Benzophenone, Acetophenone, anti-leishmanial.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas dos fármacos anti- <i>Leishmania</i> disponíveis <b>1</b> (Pentostan), <b>2</b> (Glucantime), <b>3</b> (Anfotericina B), <b>4</b> (Pentamidina) e <b>5</b> (Miltefosina).....	16
Figura 2 – Representação simplificada do sítio ativo de cisteíno protease.....	18
Figura 3 – Representação do mecanismo de ação da cisteíno protease.....	18
Figura 4 – Estruturas de benzofenonas e análogos de benzofenonas naturais com atividade anti- <i>Leishmania</i> .....	20
Figura 5 – Derivados benzofenônico com atividade anti- <i>Leishmania</i> .....	21
Figura 6 – Estrutura das fenilacetofenonas e oximas ativas contra <i>L. major</i> .....	21
Figura 7 – Representação esquemática do ataque da enzima ao sítio “eletrofilico” dos substratos vinilsulfona e seu análogo carbonílico.....	22
Figura 8 – Estrutura dos derivados heterociclos <b>17-20</b> ativos contra protease CPB2.8 de <i>L. mexicana</i> .....	23
Figura 9 – Estrutura dos derivados <b>21a</b> e <b>21b</b> ativos contra <i>L. donovani</i> .....	24
Figura 10 – Estrutura das substâncias a serem obtidas neste trabalho.....	25
Figura 11 – Representação esquemática da rota sintética para obtenção dos derivados <b>22a-1</b> .....	27
Figura 12 – Representação esquemática para síntese de <b>24a</b> e <b>24b</b> .....	28
Figura 13 – Mecanismo de reação proposto para síntese de <b>24a</b> e <b>24b</b> .....	29
Figura 14 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>24a</b> .....	30
Figura 15 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) de <b>24a</b> .....	31
Figura 16 – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 75 MHz) de <b>24a</b> .....	31
Figura 17 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>24b</b> .....	32
Figura 18 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) de <b>24b</b> .....	33
Figura 19 – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 75 MHz) de <b>24b</b> .....	33
Figura 20 – Representação esquemática para síntese de <b>25a</b> e <b>25b</b> .....	34
Figura 21 – Mecanismo de reação proposto para síntese de <b>25a</b> e <b>25b</b> .....	35
Figura 22 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>25a</b> .....	35
Figura 23 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>25b</b> .....	36
Figura 24 – Representação esquemática para síntese de <b>22a</b> .....	37
Figura 25 – Mecanismo proposto para a síntese de <b>22a</b> e <b>22g</b> .....	37

Figura 26 – Representação esquemática para obtenção de <b>28</b> utilizando <i>p</i> -benzoquinona.....	38
Figura 27 – Representação esquemática para obtenção de <b>28</b> utilizando glicerol.....	39
Figura 28 – Mecanismo de reação proposto para síntese de <b>28</b> utilizando glicerol.....	40
Figura 29 – Representação esquemática para obtenção de <b>28</b> utilizando CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> H.....	40
Figura 30 – Representação esquemática para obtenção de <b>28</b> utilizando bissulfato de potássio adsorvido em sílica.....	41
Figura 31 – Representação esquemática para obtenção de <b>28</b> utilizando o aduto do aldeído <b>27</b> com metabissulfito de sódio.....	41
Figura 32 – Mecanismo proposto para a síntese de <b>28</b> utilizando metabissulfito de sódio, a partir do aldeído <b>27</b> .....	42
Figura 33 – Representação esquemática para obtenção de <b>30a-j</b> .....	43
Figura 34 – Mecanismo de reação proposto para obtenção de <b>30a-j</b> .....	43
Figura 35 – Representação esquemática para obtenção de <b>22b-f</b> e <b>22h-l</b> .....	44
Figura 36 – Mecanismo de reação proposto para obtenção de <b>22b-f</b> e <b>22h-l</b> .....	44
Figura 37 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>22b</b> .....	45
Figura 38 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>22b</b> .....	46
Figura 39 – Espectro de RMN de <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>22b</b> .....	48
Figura 40 – Representação esquemática para obtenção de <b>31a</b> e <b>31b</b> .....	49
Figura 41 – Mecanismo de reação proposto para síntese de <b>31a</b> e <b>31b</b> .....	49
Figura 42 – Representação esquemática para síntese de <b>32a</b> e <b>32b</b> .....	50
Figura 43 – Mecanismo de reação proposto para obtenção de <b>32a</b> e <b>32b</b> .....	50
Figura 44 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>32a</b> .....	51
Figura 45 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 300 MHz) de <b>32a</b> .....	52
Figura 46 – Espectro de DEPT 135 (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 75 MHz) e RMN de <sup>13</sup> C (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> , 75 MHz) de <b>32a</b> .....	52
Figura 47 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>32b</b> .....	53
Figura 48 – Espectro de RMN de <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz) de <b>32b</b> .....	54
Figura 49 – Espectro de DEPT 135 (CDCl <sub>3</sub> , 75 MHz) e RMN de <sup>13</sup> C (CDCl <sub>3</sub> , 75 MHz) de <b>32b</b> .....	54
Figura 50 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>22c</b> .....	87
Figura 51 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>22d</b> .....	88
Figura 52 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>22e</b> .....	89

Figura 53 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b><u>22h</u></b> .....	90
Figura 54 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b><u>22i</u></b> .....	91
Figura 55 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b><u>22j</u></b> .....	92
Figura 56 – Espectro de absorção na região do infravermelho de <b><u>22k</u></b> .....	93
Figura 57 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de <b><u>22c</u></b> .....	94
Figura 58 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de <b><u>22d</u></b> .....	95
Figura 59 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de <b><u>22e</u></b> .....	96
Figura 60 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de <b><u>22h</u></b> .....	97
Figura 61 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de <b><u>22i</u></b> .....	98
Figura 62 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de <b><u>22j</u></b> .....	99
Figura 63 – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de <b><u>22k</u></b> .....	100
Figura 64 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de <b><u>22c</u></b> .....	101
Figura 65 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de <b><u>22d</u></b> .....	102
Figura 66 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de <b><u>22e</u></b> .....	103
Figura 67 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de <b><u>22h</u></b> .....	104
Figura 68 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de <b><u>22i</u></b> .....	105
Figura 69 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de <b><u>22j</u></b> .....	106
Figura 70 – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de <b><u>22k</u></b> .....	107

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Dados biológicos para os derivados benzoxazólicos 22b-e, 22h-k, 32a, 32b e 23a, 23b, 24a e 24b, em comparação com anfotericina B e pentamidina..... 56
- Tabela 2 – Efeito inibitório das substâncias sintéticas em cisteíno protease (papaína) e serino protease (tripsina)..... 57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOH	-	Ácido acético
APTS	-	Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
CI <sub>50</sub>	-	Concentração inibitória 50%
CC <sub>50</sub>	-	Concentração citotóxica 50%
cm <sup>-1</sup>	-	Centímetros recíprocos
CCD	-	Cromatografia em camada delgada
DCM	-	Diclorometano
DMF	-	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	-	Dimetilssulfóxido deuterado
DTT	-	Ditiotreitol
E.M.	-	Espectro de massas
EDTA	-	Ácido etilenodiamino tetra-acético
HIV	-	Vírus da imunodeficiência humana
Hz	-	Hertz
I.V.	-	Infravermelho
<i>J</i>	-	Constante de acoplamento
MHz	-	Mega hertz
m/m	-	Massa por massa
nm	-	Nanômetro
OMS	-	Organização Mundial da Saúde
ppm	-	Partes por milhão
p/p	-	Partes por partes
PT	-	Prototropismo
p/v	-	Partes por volume
RMN de <sup>1</sup> H	-	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN de <sup>13</sup> C	-	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
SINAN	-	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SIDA	-	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
t.a.	-	Temperatura ambiente
THF	-	Tetrahidrofurano

v/v	-	Volume por volume
v	-	Número de onda
$\delta$	-	Deslocamento químico
$\mu\text{g/mL}$	-	Micrograma por mililitro
$\mu\text{mol/L}$	-	Micromol por litro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	25
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	26
<b>4</b>	<b>PLANO DE SÍNTESE</b> .....	27
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	28
5.1	QUÍMICA.....	28
5.2	ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	55
<b>6</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	58
6.1	MÉTODOS GERAIS.....	58
6.2	QUÍMICA.....	59
<b>6.2.1</b>	<b>Procedimento geral para preparação de <u>24a</u> e <u>24b</u> (SUDARMA et al., 2014)</b> .....	59
6.2.1.1	4-hidroxi-3-nitrobenzofenona ( <u>24a</u> ).....	60
6.2.1.2	4-hidroxi-3-nitroacetofenona ( <u>24b</u> ).....	60
<b>6.2.2</b>	<b>Procedimento geral para preparação de <u>25a</u> e <u>25b</u> (BELLAMY, 1984)</b> .....	61
6.2.2.1	3-amino-4-hidroxibenzofenona ( <u>25a</u> ).....	62
6.2.2.2	3-amino-4-hidroxiacetofenona ( <u>25b</u> ).....	62
<b>6.2.3</b>	<b>Tentativa de preparação de [2-(4-hidroxi-3-metoxi) fenil-5-benzoxazolil] fenil metanona (<u>22a</u>)</b> .....	63
<b>6.2.4</b>	<b>Tentativa de preparação de {2-[4-(2,3,4,6-tetra-<i>o</i>-acetil-<math>\beta</math>-D-glicopiranosiloxi)-3-metoxi]fenil-5-benzoxazolil}fenil metanona (<u>28</u>)</b> .....	63
<b>6.2.5</b>	<b>Procedimento geral para preparação de <u>30a-j</u> (SENER et al., 2000)</b> .....	65
<b>6.2.6</b>	<b>Procedimento geral para preparação de <u>22b-22f</u> e <u>22h-22l</u> (NAKAMURA; YASUI; BAN, 2013)</b> .....	66
6.2.6.1	(2-fenil-5-benzoxazolil)fenil metanona ( <u>22b</u> ).....	66
6.2.6.2	[2-(4-nitrofenil)-5-benzoxazolil]fenil metanona ( <u>22c</u> ).....	67
6.2.6.3	[2-(4-clorofenil)-5-benzoxazolil]fenil metanona ( <u>22d</u> ).....	68
6.2.6.4	[2-(4-metoxifenil)-5-benzoxazolil]fenil metanona ( <u>22e</u> ).....	69
6.2.6.5	(2-butil-5-benzoxazolil)fenil metanona ( <u>22f</u> ).....	69
6.2.6.6	1-(2-fenil-5-benzoxazolil)etanona ( <u>22h</u> ).....	70

6.2.6.7	1-[2-(4-nitrofenil)-5-benzoxazolil]etanona ( <b>22i</b> ).....	70
6.2.6.8	1-[2-(4-clorofenil)-5-benzoxazolil]etanona ( <b>22j</b> ).....	71
6.2.6.9	1-[2-(4-metoxifenil)-5-benzoxazolil]etanona ( <b>22k</b> ).....	72
6.2.6.10	1-(2-butil-5-benzoxazolil)etanona ( <b>22l</b> ).....	72
<b>6.2.7</b>	<b>Procedimento geral para preparação de <u>31a</u> e <u>31b</u> (TEMPERINI et al., 2010).....</b>	<b>73</b>
<b>6.2.8</b>	<b>Procedimento geral para preparação de <u>32a</u> e <u>32b</u> (TRUJILLO-FERRERA et al., 2004).....</b>	<b>73</b>
6.2.8.1	Ácido 3-(5-benzoil-2-benzoxazolil)propanoico ( <b>32a</b> ).....	74
6.2.8.2	Ácido 3-(5-acetil-2-benzoxazolil)propanoico ( <b>32b</b> ).....	74
6.3	ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	75
<b>6.3.1</b>	<b>Ensaio da atividade anti-promastigota.....</b>	<b>75</b>
<b>6.3.2</b>	<b>Avaliação da citotoxicidade.....</b>	<b>76</b>
<b>6.3.3</b>	<b>Ensaio de inibição enzimático.....</b>	<b>76</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>77</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>78</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>87</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose é uma enfermidade causada por protozoários do gênero *Leishmania* que provoca um espectro de doenças, desde a forma letal de infecção, a visceral, até a mais suave, a forma cutânea (ESCHENLAUER et al., 2009). Pode se manifestar em quatro formas principais: a forma visceral, que é a mais fatal quando não tratada, a forma mucocutânea, a forma cutânea difusa, que é a mais duradoura quando a resposta imunológica da célula é deficiente, e a forma cutânea, que é incapacitante quando são muitas as lesões (DESJEUX, 2004).

Ela é transmitida aos seres humanos pela picada de mais de 30 espécies diferentes de flebotomíneos, em que pequenos mamíferos e canídeos são hospedeiros vertebrados desses parasitos (PHILLIPS; STANLEY, 2011). Os protozoários que causam a leishmaniose são flagelados e se apresentam de duas formas no seu ciclo biológico, sendo elas a forma amastigota, quando os parasitos estão dentro das células dos hospedeiros vertebrados, e a forma promastigota, quando se desenvolvem no tubo digestivo dos flebotomíneos e nos meios de cultura (REY, 2002).

A forma promastigota do parasito é expelida pelo flebotomíneo durante a sua alimentação, penetra no hospedeiro vertebrado, e então os macrófagos teciduais a fagocita. Após serem fagocitados, estes se transformam no interior do macrófago para a forma amastigota, onde residem e se multiplicam até que a célula se rompa. Dessa forma, invadem mais macrófagos e propagam a infecção. Os flebotomíneos ingerem novamente a forma amastigota ao se alimentarem do sangue do hospedeiro vertebrado, onde se transforma novamente em promastigota, recomeçando o ciclo. O tipo de doença causada dependerá da espécie do parasito que causa a infecção, da resposta imune do hospedeiro e da distribuição dos macrófagos infectados (PHILLIPS; STANLEY, 2011).

Estima-se que aproximadamente 1,3 milhões de casos das diversas formas clínicas são registrados por ano, sendo que trezentos e cinquenta milhões de pessoas estão expostas ao risco, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (BRASIL, 2010). Dados apontam que de 200 a 400 mil novos casos de leishmaniose visceral são registrados por ano, em que mais de 90% estão em Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia e Sudão. Cerca de 95% dos casos de leishmaniose tegumentar (forma cutânea) ocorrem nas Américas, bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio e Ásia Central, e mais de dois terços dos novos casos ocorrem em seis países: Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, Irã e República Árabe Síria. Quanto a leishmaniose mucocutânea,

90% dos casos ocorrem na Bolívia, no Brasil e Peru (OMS, 2015). No território brasileiro, a leishmaniose tegumentar ocorre em todas as regiões do país (BRASIL, 2010), e há um registro de uma média de 3679 casos por ano, no período de 2005 a 2009, de leishmaniose visceral. Para a leishmaniose tegumentar, a média foi de 24684 casos por ano, no período de 2000 a 2009, confirmados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN (PELISSARI et al., 2011).

Existem em torno de 25 fármacos utilizados contra a leishmaniose, porém poucos deles são classificados como anti-*Leishmania* usados para humanos, em que a maior parte não é ministrada por via oral. Com o desenvolvimento dos derivados contendo o antimônio pentavalente, estes se tornaram a base para o tratamento de todas as formas de leishmanioses (SINGH; SIVAKUMAR, 2004). Estes derivados de antimônio pentavalente são a primeira linha de fármacos e foram introduzidos há mais de cinquenta anos (CROFT, COOMBS, 2003). Destes, o mais usado é o gluconato de antimônio e sódio (**1**, Pentostan®) e o antimoniato de *N*-metilglucamina (**2**, Glucantime®, Figura 1) (SINGH, SIVAKUMAR, 2004). Dentre as formas de manifestação de leishmaniose, a visceral é àquela para o qual o arsenal terapêutico é mais limitado (GUERIN et al., 2002).

Os derivados de antimônio ainda vêm sendo bastante utilizados no tratamento da leishmaniose. O elevado consumo destes fármacos têm provocado uma resistência ao tratamento em algumas localidades, o que leva ao desenvolvimento de alternativas, algumas citadas a seguir, ao tratamento dessas e de outras doenças (BERMAN, 1997). Entretanto, eles ainda são convencionais para o tratamento em algumas localidades (READY, 2014).

A anfotericina B (**3**, Figura 1) é um antifúngico da classe dos polienos e é usada no tratamento da leishmaniose e doença de Chagas desde os anos 60. Possui afinidade pelo ergosterol, o principal esteroide nesses microrganismos, enquanto que nas células mamíferas do hospedeiro o esteroide principal é o colesterol (CROFT, SUNDAR, FAIRLAMB, 2006). No entanto, tem-se o problema de insuficiência renal atrelado ao uso de anfotericina B.

Outra opção para o tratamento da leishmaniose é a pentamidina (**4**, Figura 1), um derivado da classe das diamidinas aromáticas que foi desenvolvido quando comprovada a resistência aos derivados de antimônio. Entretanto, a eficácia da pentamidina é questionável quando comparada aos outros medicamentos, sendo mais ativa em leishmanioses cutâneas causadas por duas espécies específicas, a *L. panamensis* e *L. guyanensis* (SINGH, KUMAR, SINGH, 2012).

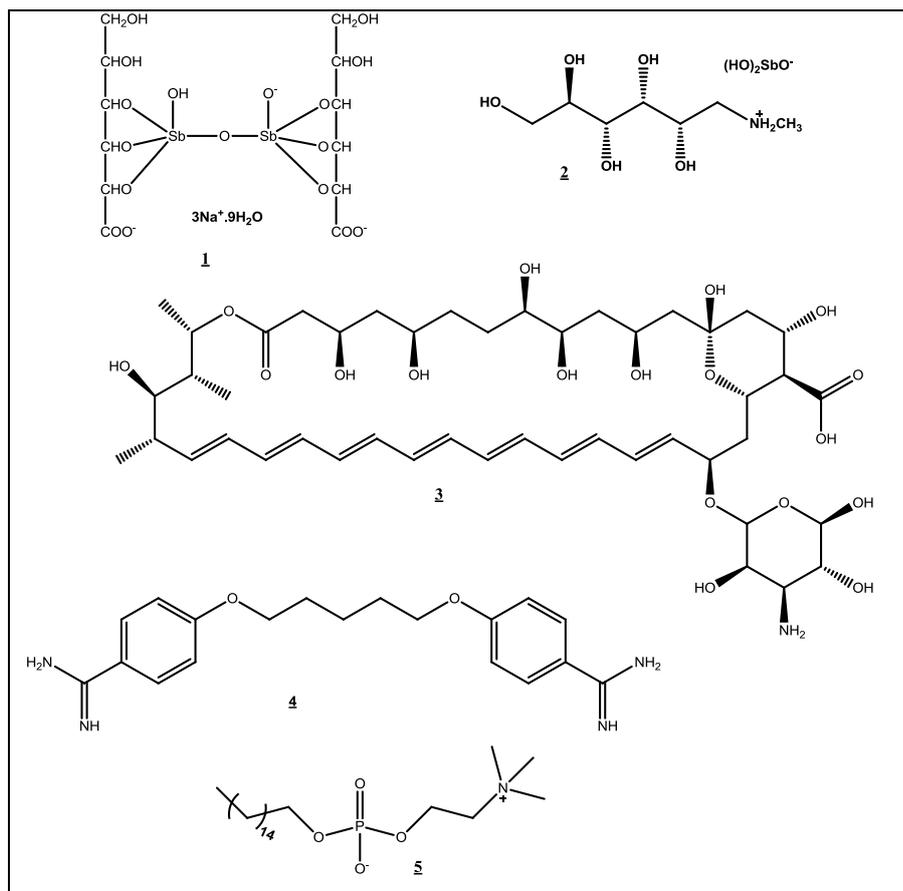


Figura 1 - Estruturas dos fármacos anti-*Leishmania* disponíveis 1 (Pentostan), 2 (Glucantime), 3 (Anfotericina B), 4 (Pentamidina) e 5 (Miltefosina).  
Fonte: Da autora.

A miltefosina (5, Figura 1) é um fármaco anti-*Leishmania*, da classe dos alquilfosfolipídeos, originalmente desenvolvido para ser usado no tratamento do câncer (BERMAN, 2006). Em um dos primeiros testes, *in vitro*, apresentou atividade para *L. donovani*, que data de 1987 (CROFT et al., 1987), e foi utilizada no tratamento da leishmaniose visceral, e depois para cutânea (BERMAN, 2006). Um avanço é a eficácia do tratamento por via oral para leishmaniose visceral (CROFT, COOMBS, 2003).

As intensas investigações na interação hospedeiro-parasito, e na virulência de *Leishmania*, possibilitam alguns alvos para a descoberta de novos fármacos. Os principais alvos são as enzimas, devido às suas especificidades bioquímicas e caminhos metabólicos, que podem ser diferentes no hospedeiro e no parasito. O gênero *Leishmania* possui uma significativa diferença na sua organização celular em comparação aos mamíferos, o que possibilita encontrar alvos específicos em enzimas do parasito para o desenvolvimento de inibidores, sem ação no hospedeiro. Existem diversas enzimas que são essenciais para a sobrevivência e proliferação de *Leishmania*. Dentre elas, as proteases são as mais estudadas e consideradas um excelente alvo no planejamento de novos fármacos com atividade anti-*Leishmania* (DAS et al., 2013).

O desenvolvimento de inibidores de enzimas essenciais à sobrevivência do parasito é uma estratégia em potencial (DAS et al., 2013), como por exemplo as enzimas de biossíntese de poliaminas, enzimas do metabolismo de tiois, quinases, enzimas da biossíntese de esteróis, diidrofolato redutase, topoisomerasas, proteases, entre outras (SINGH, KUMAR, SINGH, 2012). Os inibidores de protease já são utilizados no tratamento de diversas doenças e com sucesso, como por exemplo, no tratamento da SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida), por inibidores de aspartato protease do vírus HIV, e no tratamento de mieloma múltiplo (DAS et al., 2013). Além disso, as proteases estão presentes nos parasitos do gênero *Leishmania*, sendo um alvo de interesse para o desenvolvimento de novos fármacos anti-*Leishmania* (MARYANOFF, COSTANZO, 2008).

Dentre as proteases do parasito, as mais importantes são: cisteíno, serino, aspartato e metaloproteases (DAS et al., 2013). As cisteíno proteases têm muitos papéis importantes na modulação da resposta imune e na degradação de várias proteínas do hospedeiro, na autofagia parasitária, na diferenciação das formas promastigotas para amastigotas na invasão celular do hospedeiro (MOTTRAM; COOMBS; ALEXANDER, 2004). Estudos mostram de forma consistente que a inibição de cisteíno proteases leva a uma perda significativa da virulência/infecção ou uma diminuição da sobrevivência *in vitro* e *in vivo* do parasito (LIMA; REIS; COSTA, 2013). As investigações sobre a interação hospedeiro-parasito na virulência da *Leishmania* tornaram as cisteíno proteases alvos de intensos estudos em interesse de desenvolvimento de inibidores, uma vez que os disponíveis começam a apresentar resistência (DAS et al, 2013).

O mecanismo que ocorre nos sítios ativos de serino, cisteíno e treonino proteases são muito semelhantes. A hidrólise de ligações peptídicas é uma reação energeticamente favorável, mas extremamente lenta. Uma representação geral do sítio ativo de cisteíno protease está na Figura 2 (POWERS et al., 2002).

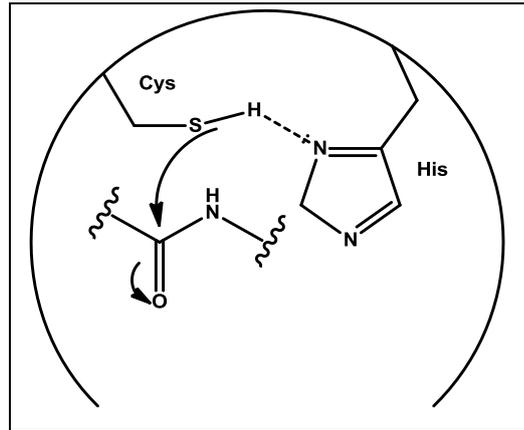


Figura 2 - Representação simplificada do sítio ativo de cisteína protease.

Fonte: Da autora.

Cada enzima tem um resíduo de aminoácido específico no sítio ativo, responsável pela sua ação. No caso de cisteína proteases, o mecanismo de ação utiliza o grupo tiol de um resíduo de cisteína do sítio ativo como nucleófilo durante a proteólise. A formação do par iônico histidina-cisteína é a preparação do sítio ativo da enzima para receber o substrato. Após a acomodação do substrato, o átomo de enxofre da cisteína ataca o carbono carbonílico da amida do substrato para formar o intermediário tetraédrico. Posteriormente o intermediário tetraédrico é desfeito, liberando o peptídeo clivado e ocorre a regeneração do sítio ativo da enzima (FRICKER, 2010). O mecanismo detalhado da ação da cisteína protease está representado na Figura 3.

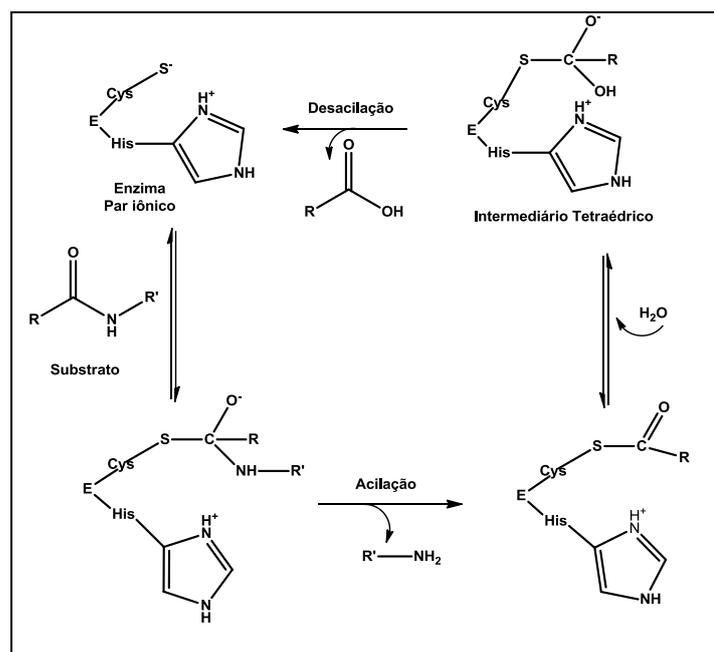


Figura 3 - Representação do mecanismo de ação da cisteína protease.  
Fonte: LECAILLE et al (2002).

O desenvolvimento de inibidores de cisteíno proteases é uma estratégia no desenvolvimento de novas substâncias para o tratamento de muitas doenças, como câncer, artrite, osteoporose e infecções microbianas, assim como leishmaniose e outras doenças parasitárias (SCHEIDT et al., 1998, SELZER et al., 1999).

São vários os trabalhos que exploram inibidores de cisteíno protease, com atividade anti-*Leishmania* (ALVES et al., 2000; ALVES et al. 2001; ALVES et al., 2005; BOYSEN, MATUSCHEWSKI, 2013; CARRION, RO, PATTERSON, 2003; DAS et al., 2013; DEMARCHI et al., 2012; FRICKER, 2010; GONTIJO et al., 2012; LANFRANCO et al., 2008; LECAILLE, KALETA e BROMME, 2002; LIMA, REIS, COSTA, 2013; LIU, DANIELS e CAO, 2012; MARYANOFF, COSTANZO, 2008; MOTTRAM, COOMBS, ALEXANDRE, 2004; PEREIRA, BRITO, ALVES, 2012; PIMENTEL-ELARDO et al., 2011; POWERS et al., 2002; RANA et al., 2012; RING et al., 1993; SCHEIDT et al., 1998; SCHRODER et al., 2013; SELZER et al., 1997; SELZER et al., 1999; SILVA-LOPES, 2010; SINGH, KUMAR, SINGH, 2012; VEINBERG, POTOROCINA, VORONA, 2014). Alguns deles fazem um estudo sobre a sua importância como novos alvos, tanto em leishmaniose como em outras doenças. Outros apresentam a avaliação de substâncias de origem natural, sintéticas ou semissintéticas acerca da inibição desta enzima.

Diversos autores, como Ayres et al. (2007), Azebaze et al. (2008), Costa Júnior et al. (2013), Hai et al. (2008), Lenta et al. (2007) e Pereira et al. (2010), relatam a atividade anti-*Leishmania* de benzofenonas e análogos de benzofenona naturais, e também benzofenonas sintéticas ou semissintéticas (AL-KAHRAMAN, YASINZAI, SINGH, 2012; FROMENTIN et al., 2013; MACIEL-REZENDE et al., 2013; ROMÁN-LUQUE-ORTEGA et al., 2010). Os análogos de benzofenona naturais (**6** e **7**) isolados das cascas dos frutos de *Garcinia brasiliensis* (Figura 4) apresentaram atividade contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania amazonensis* (PEREIRA et al., 2010). Os autores relataram que dentre as benzofenonas e análogos de benzofenona avaliados, o que possuía o maior caráter lipofílico, a 7-epiclusianona (**6**), foi também o mais ativo, seguido pela guttiferona A (**7**) que possui quatro grupos prenila, que também lhe confere lipofilicidade necessária para ser ativa contra *Leishmania amazonensis*.

As benzofenonas **8** e **9** (Figura 4), isoladas das cascas do caule de *Garcinia vieillardii* apresentaram atividade *in vitro* contra as formas promastigotas de *Leishmania infantum* e *L. mexicana*. A benzofenona **9** foi mais ativa e apresentou atividade também contra as formas amastigotas de *L. infantum* com  $CI_{50}$  de 0,7  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto que o padrão anfotericina B 0,2  $\mu\text{g/mL}$ . Os autores sugerem que o grupo geranila, presente na posição 2 de **9**, possa estar relacionado com essa atividade (HAY et al., 2008).

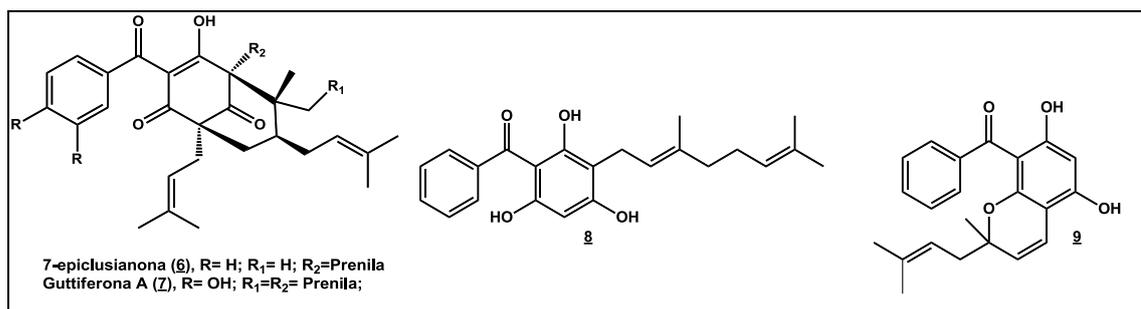


Figura 4 - Estruturas de benzofenonas e análogos de benzofenonas naturais com atividade anti-*Leishmania*.  
 Fonte: Da autora.

São poucos os relatos de benzofenonas sintéticas com potencial anti-*Leishmania* (AL-KAHRAMAN, YASINZAI, SINGH, 2012; MACIEL-REZENDE et al., 2013; ROMÁM-LUQUE-ORTEGA et al., 2010). Nestes trabalhos, observa-se que variando os substituintes no anel benzofenônico por grupos mais lipofílicos leva a derivados que apresentam maior atividade contra *Leishmania* (MACIEL-REZENDE et al., 2013; ROMÁM-LUQUE-ORTEGA et al., 2010). As benzofenonas sintéticas **10**, **11**, **12** e **13** (Figura 5) foram testadas contra a forma promastigota da *Leishmania amazonensis* e apresentaram boa inibição do crescimento do parasito (CI<sub>50</sub> 4,90; 7,05; 5,05 e 5,94 µg/mL, respectivamente). Destaca-se o derivado benzofenônico **13** (citotoxicidade >160) que apresentou melhor relação entre a atividade anti-*Leishmania* e citotoxicidade contra macrófagos (MACIEL-REZENDE et al., 2013). Além disso, o derivado benzofenônico **14**, que contém um grupo fosfônio, apresentou CI<sub>50</sub> de 0,97 e 1,09 µmol/L, contra *Leishmania pifanoi* (forma amastigota) e contra *Leishmania donovani* (forma promastigota), respectivamente (ROMÁM-LUQUE-ORTEGA et al., 2010). Os autores afirmam que o grupo fosfônio conferiu uma lipofilicidade adequada aos derivados, de modo a favorecer a capacidade de atravessar a membrana plasmática.

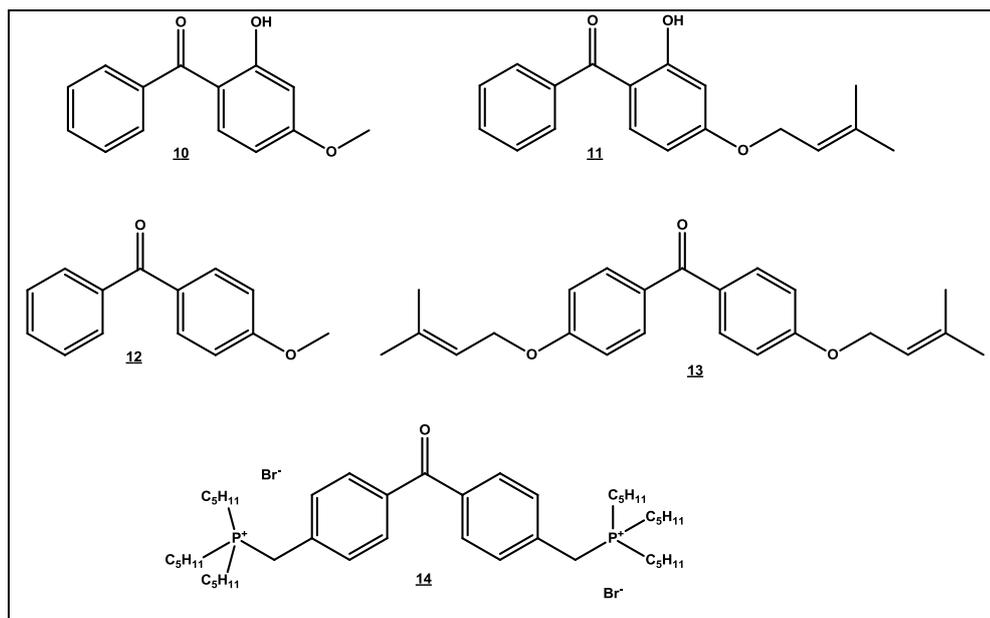


Figura 5 - Derivados benzofenônico com atividade anti-*Leishmania*.

Fonte: Da autora.

Substâncias contendo o núcleo acetofenônico também já se apresentaram relevantes na avaliação de suas atividades biológicas, como por exemplo, as dihidrochalconas, que apresentaram bons resultados na avaliação de suas atividades anti-*Leishmania*, em testes *in vitro* e *in vivo*. Dessa forma, inspiradas nestas substâncias, foram sintetizadas fenilacetofenonas (**15a** e **15b**) e, a partir destas, oximas (**16a** e **16b**), representadas na figura 6, que apresentaram resultados bastante satisfatórios contra a forma promastigota de *Leishmania major*, em teste *in vitro* (ANSARI et al., 2012).

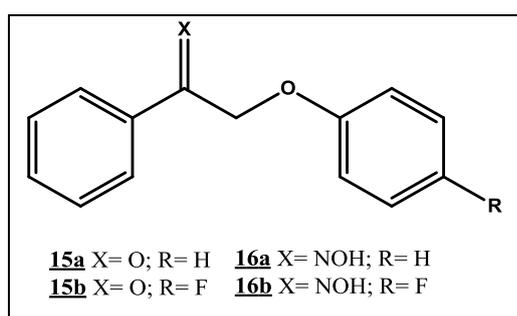


Figura 6 – Estrutura das fenilacetofenonas e oximas ativas contra *L. major*.

Fonte: ANSARI et al (2012).

As fenilacetofenonas mostraram-se mais ativas quando comparadas às oximas, em concentração de 75 µg/mL, o derivado **15a**, sem nenhum substituinte no anel aromático, foi o mais ativo, com um valor de 48% de inibição, seguido do derivado **15b**, que apresentou 42%,

e os derivados **16a** e **16b** com 37% de inibição, contra 50% do padrão glucontime, em concentração de 25 µg/mL (ANSARI et al., 2012).

As catepsinas L e B são cisteíno proteases e estão presentes em todas as espécies de *Leishmania*. São essenciais para o crescimento e virulência do parasito, portanto são alvos no planejamento de novos fármacos por muitos pesquisadores. Ao mimetizar o substrato natural das catepsinas, diversos autores planejaram a síntese de análogos pseudo-peptídios (PALMER et al., 1995; SELZER et al., 1999; STEERT et al., 2010). Esses atuam como inibidores irreversíveis pela interação com o grupo sulfidril do sítio ativo da enzima inativando-a (SELZER et al., 1999).

Um inibidor desejável deve mimetizar o substrato e conter sítios para uma reação nucleofílica pelo resíduo de cisteína presente na enzima. Os inibidores pseudo-peptídeos contendo heterociclos são de grande valia, pois mimetizam esse sítio do ataque inicial. Uma série de derivados cetônicos pseudo-peptídeos contendo um anel heterocíclico em sua estrutura, inspirado nos inibidores do tipo vinilsulfonas, foi obtida (Figura 7, STEERT et al., 2010).

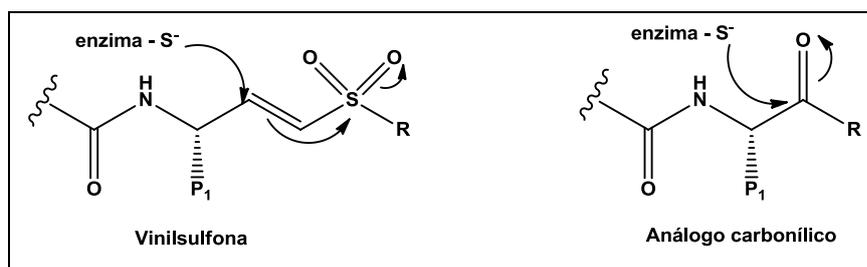


Figura 7 – Representação esquemática do ataque da enzima ao sítio eletrofílico dos substratos vinilsulfona e seu análogo carbonílico.

Fonte: STEERT et al (2010).

Muitos derivados cetônicos têm sido obtidos para a inibição de proteases de protozoários incluindo,  $\alpha$ -fluorocetonas segundo Troeberg e colaboradores (1999),  $\alpha$ -hidroximetilcetonas pelos autores Huang e Brinen (2003),  $\alpha$ -cetoamidas segundo Choe e colaboradores (2005),  $\alpha$ -cetoeterociclos por Palmer e colaboradores (2006) e Tavares e colaboradores (2005) e derivados pseudo-peptídeos contendo heterociclos (STEERT et al., 2010). Acredita-se que a carbonila cetônica seria a parte eletrofílica da estrutura responsável pela reação com o resíduo de cisteína do sítio ativo e dependendo da natureza do heterociclo, esse efeito poderia ser ainda maior.

Estudos mostraram que o análogo natural de benzofenona guttiferona A (**7**) apresentou bons resultados na avaliação de sua atividade inibitória de protease, com CI<sub>50</sub> de 1,9 µM contra papaína, 2,1 µM contra catepsina B, 2,7 µM contra catepsina G e 9,4 µM contra tripsina, com

valores próximos aos padrões utilizados, principalmente ao inibidor padrão de catepsina G, que apresentou valor de  $CI_{50}$  de 2,1  $\mu\text{M}$ , mostrando-se bastante promissor (MARTINS et al., 2009). Além disso, recentemente, a benzofenona sintética **11** também se mostrou bastante promissora com inibição de CPB2.8 e CPB3.0, cisteíno proteases específicas de *L. mexicana*, com  $CI_{50}$  de 2,9 e 4,3  $\mu\text{M}$ , respectivamente, e a partir destes resultados pode-se inferir o potencial leishmanicida da substância (ALMEIDA et al., 2015).

Inibidores contendo heterociclos apresentaram-se bastante promissores contra a protease CPB2.8 de *L. mexicana*. Destacam-se os isoxazóis **17-19** e o oxadiazol **20**, que foram os mais ativos com valores de  $CI_{50}$  0,13; 0,19; 0,23 e 0,05  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente (Figura 8, STEERT et al., 2010). Os autores comentam ainda que a presença dos heterociclos estaria auxiliando no aumento do número de interações inibidor-enzima, principalmente pelos ciclos que contêm nitrogênio serem capazes de fazer ligações de hidrogênio com resíduo de histidina do sítio ativo.

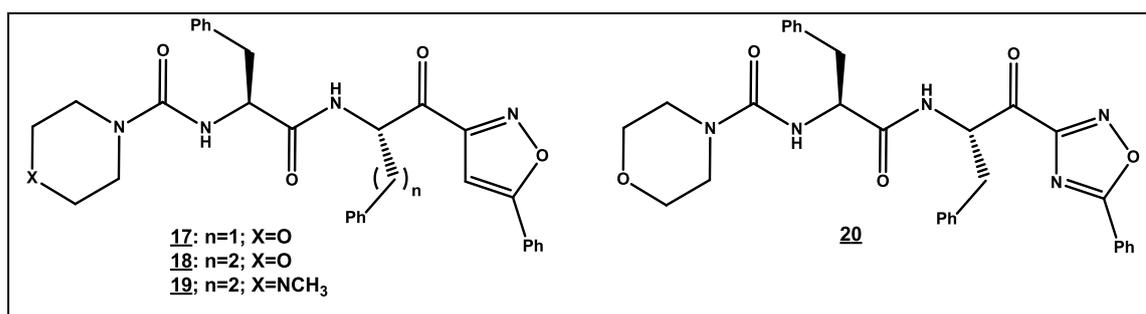


Figura 8 - Estrutura dos derivados heterociclos **15-18** ativos contra protease CPB2.8 de *L. mexicana*.  
 Fonte: STEERT et al (2010).

A substância **21a** (Figura 9) é um antibiótico que foi isolado há algumas décadas, a partir da bactéria do gênero *Streptomyces* sp (MICHAEL et al., 1984). Esta substância apresentou atividade antibacteriana bastante elevada, o que fez com que fosse despertado um interesse em investigar o desenvolvimento de novos agentes anti-infecciosos, como anti-*Leishmania*, baseados em sua estrutura. Foram sintetizados diversos derivados benzoxazólicos, inclusive **21b**, e que apresentaram boa atividade *in vitro* contra *L. donovani*. Os compostos **21a** e **21b** foram os mais ativos com  $CI_{50}$  de 0,08 e 0,31  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, enquanto que o padrão miltefosina 0,26  $\mu\text{g/mL}$  (TIPPARAJU et al., 2008).

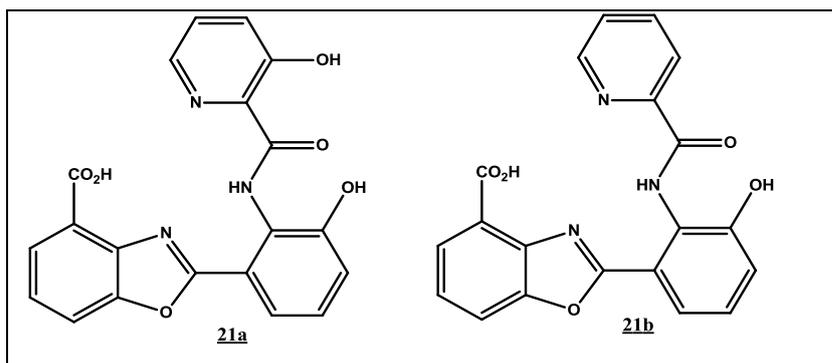


Figura 9 – Estrutura dos derivados **21a** e **21b** ativos contra *L. donovani*.  
Fonte: TIPPARAJU et al (2008).

## 2 OBJETIVOS

Tem-se por objetivo com este trabalho a síntese de substâncias que contenham grupos de conhecida atividade anti-*Leishmania* e inibitória de protease (Figura 10). Para isso foi planejada a síntese de derivados com a estrutura geral representada por **22**, que contém um núcleo benzofenônico ou acetofenônico, e um anel benzoxazólico, fundidos.

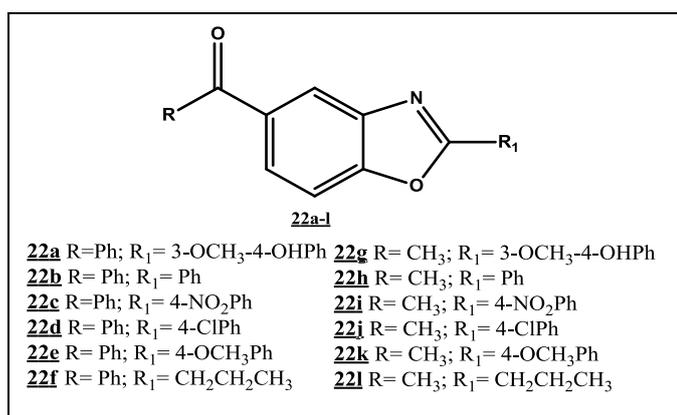


Figura 10 - Estrutura das substâncias a serem obtidas neste trabalho.

Fonte: Da autora.

Todas as substâncias serão caracterizadas pelos métodos usuais (I.V., RMN). Além disso, serão avaliadas quanto à atividade inibitória de *Leishmania amazonensis* e a determinação da concentração inibitória 50% em papaína e tripsina, como modelo de proteases de *Leishmania*.

### 3 JUSTIFICATIVA

A obtenção de substâncias ativas e úteis para o tratamento das leishmanioses é de extrema importância, pois cerca de 350 milhões de pessoas estão expostas a esta doença, com registro aproximado de dois milhões de novos casos nas diferentes formas clínicas ao ano, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (BRASIL, 2010). Portanto, há a necessidade de se obter novos fármacos para o tratamento dessa doença, que afeta principalmente as populações dos países em desenvolvimento.

Estudos realizados em nosso grupo de pesquisa mostraram que os análogos de benzofenonas naturais guttiferona-A (**7**) e 7-epiclusianona (**6**) (Figura 4), isoladas das cascas dos frutos de *Garcinia brasiliensis*, e as benzofenonas lipofílicas sintéticas (**10**, **11**, **12**, **13** e **14**, Figura 5) possuem atividade anti-*Leishmania* em ambas as formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania amazonensis*, e os derivados **7** e **11** com atividades inibidoras de protease específicas de *Leishmania*, CPB2.8 e CPB3.0, bastante promissoras (MARTINS et al., 2009; PEREIRA et al., 2010; MACIEL-REZENDE et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015). Estes resultados nos levaram planejar a síntese de análogos com grupos diferentes e que exibam atividade no alvo biológico em estudo e continuem a ser não tóxicos, no contexto molecular.

Além disso, estudos indicam que a presença de heterociclos na estrutura das substâncias auxiliam para o aumento da atividade anti-*Leishmania* (STEERT et al., 2010). Assim como novos derivados benzoxazólicos baseados em **21a** de origem natural, que se apresentaram bastante promissores contra estes parasitos (TIPPARAJU et al., 2008).

Aliando ao fato de as benzofenonas possuírem atividade anti-*Leishmania* e inibidora de protease, e que estas são um alvo promissor na busca por novos fármacos, por estarem envolvidas diretamente no processo de infecção do macrófago e na virulência da doença (POWERS et al., 2002, LIMA, REIS, COSTA, 2013), e que o grupo acetofenônico e os benzoxazóis também podem apresentar a atividade desejada nesse trabalho (STEERT et al., 2010; TIPPARAJU et al., 2008), planejou-se a síntese de derivados benzoxazólicos de benzofenona e de acetofenona, variando-se os substituintes do benzoxazol por um anel aromático com grupos doadores ou retiradores de elétrons, ou sem substituintes, ou por um grupo alifático, de forma a possibilitar o estudo estrutura-atividade das substâncias sintetizadas na avaliação de sua atividade anti-*Leishmania* e inibitória de proteases.

## 4 PLANO DE SÍNTESE

Os derivados **22a-l** foram planejados a partir da 4-hidroxibenzofenona e 4-hidroxiacetofenona, por uma rota em três etapas, representada a seguir (Figura 11).

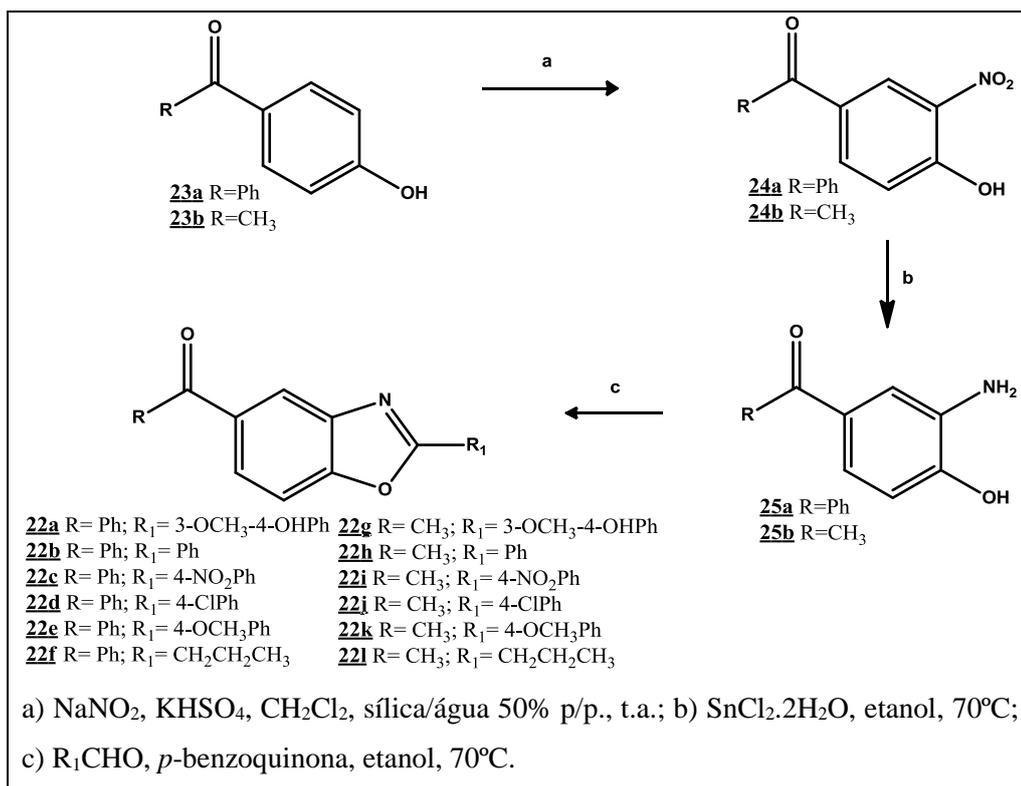


Figura 11 - Representação esquemática da rota sintética para obtenção dos derivados **22a-l**.  
 Fonte: Da autora.

Inicialmente seriam realizadas as reações de nitração da 4-hidroxibenzofenona e da 4-hidroxiacetofenona, para obtenção de **24a** e **24b**, por reação com nitrito de sódio e bissulfato de potássio, na presença de sílica (SUDARMA et al., 2014). Em seguida, seria feita a redução do grupo nitro, segundo o método citado por Bellamy (1984), na presença de cloreto de estanho II diidratado, para obtenção de **25a** e **25b**, que seriam submetidos à reação com o aldeído correspondente, na presença de *p*-benzoquinona em etanol, obtendo-se os derivados benzoxazólicos desejados **22a-l** (STARCEVIC et al., 2007).

Todos os produtos obtidos seriam caracterizados pelos métodos usuais (I.V., RMN).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, desde o início da realização da rota sintética até a obtenção dos produtos finais, serão apresentados a seguir, juntamente com a discussão sobre todos os métodos sintéticos utilizados, purificação e caracterização dos produtos obtidos. E em sequência, a realização dos ensaios biológicos propostos inicialmente com os produtos purificados e caracterizados.

### 5.1 QUÍMICA

Para a síntese dos derivados benzoxazólicos da benzofenona e acetofenona propostos (Figura 10), inicialmente foi realizada a nitração da 4-hidroxibenzofenona e 4-hidroxiacetofenona (Figura 12). A reação de nitração de substâncias aromáticas é amplamente estudada, e o método clássico envolve a utilização de ácido nítrico como agente nitrante, na presença de um ácido mais forte, como por exemplo, o ácido sulfúrico, que atua como catalizador (BRUICE, 2013). Existem diferentes métodos para nitração de fenóis, com variações dos reagentes e condições, que podem permitir a redução da formação de subprodutos (CHEHARDOLI et al., 2011; ZOLFIGOL et al., 2008).

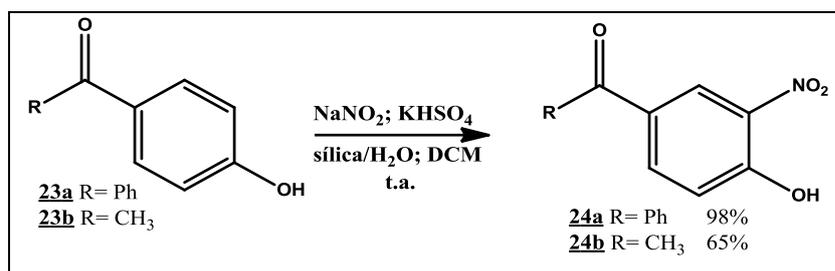


Figura 12 - Representação esquemática para síntese de **24a** e **24b**.

Fonte: Da autora.

Para este trabalho, foram utilizados nitrito de sódio e bissulfato de potássio, na presença de SiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O 50% p/p. Estes reagentes permitem a reação de forma semelhante ao método clássico, citado, no entanto, sob condições mais brandas, mostrando-se mais eficiente, regioselectiva e com altos rendimentos (SUDARMA et al., 2014). Os produtos **24a** e **24b** foram obtidos na forma de sólidos amarelos amorfos, com rendimento de 98 e 65%, respectivamente,

após purificação por recristalização. O mecanismo proposto para essa reação está representado na Figura 13.

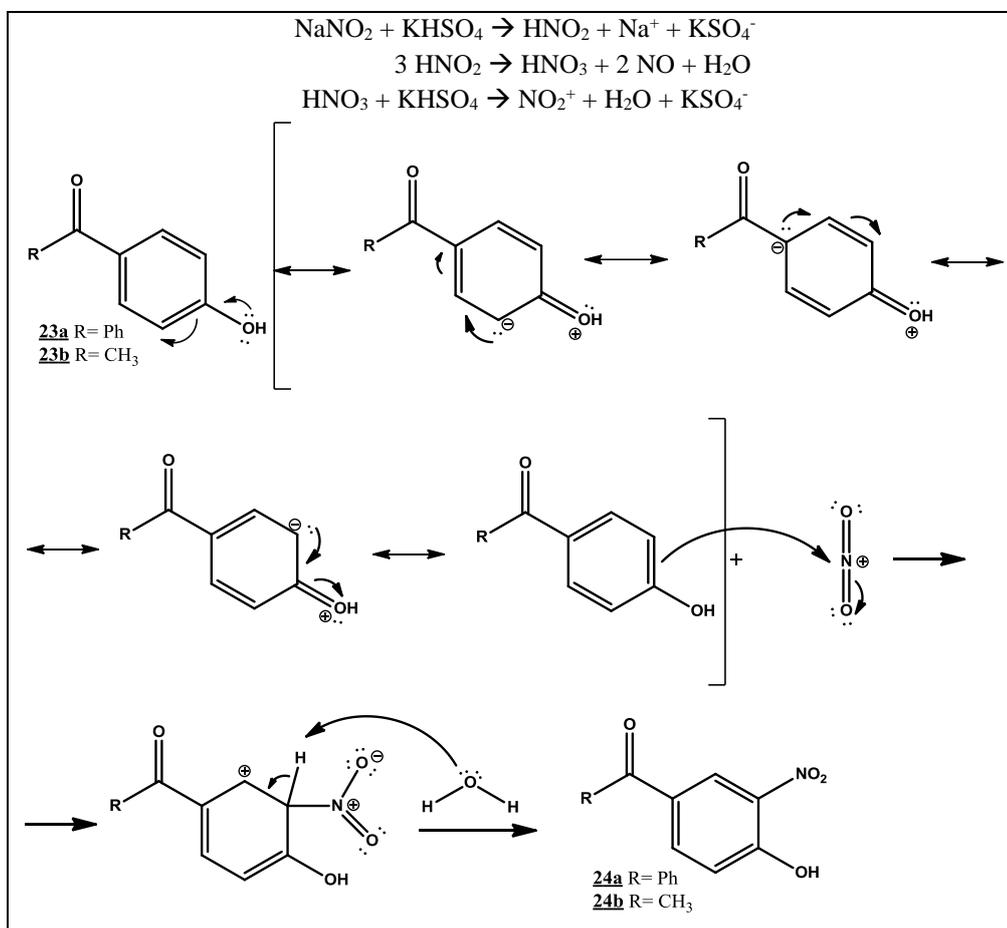


Figura 13 - Mecanismo de reação proposto para síntese de **24a** e **24b**.  
 Fonte: HERAVI; OSKOOIE; BAGHERNEJAD (2007).

No espectro de absorção na região do infravermelho de **24a** (Figura 14) puderam ser observadas as bandas em 1525 e 1319  $\text{cm}^{-1}$  características de estiramento assimétrico e simétrico, respectivamente, da ligação N-O ou N=O de nitro compostos, em 3296  $\text{cm}^{-1}$  característica de deformação axial O-H de fenóis, em 3069  $\text{cm}^{-1}$  característica de deformação axial de C-H de aromáticos, em 1660  $\text{cm}^{-1}$  banda típica de deformação axial de ligação C=O da carbonila cetônica da benzofenona e em 1609, 1569 e 1525  $\text{cm}^{-1}$  bandas atribuídas a deformação axial de C=C de aromáticos.

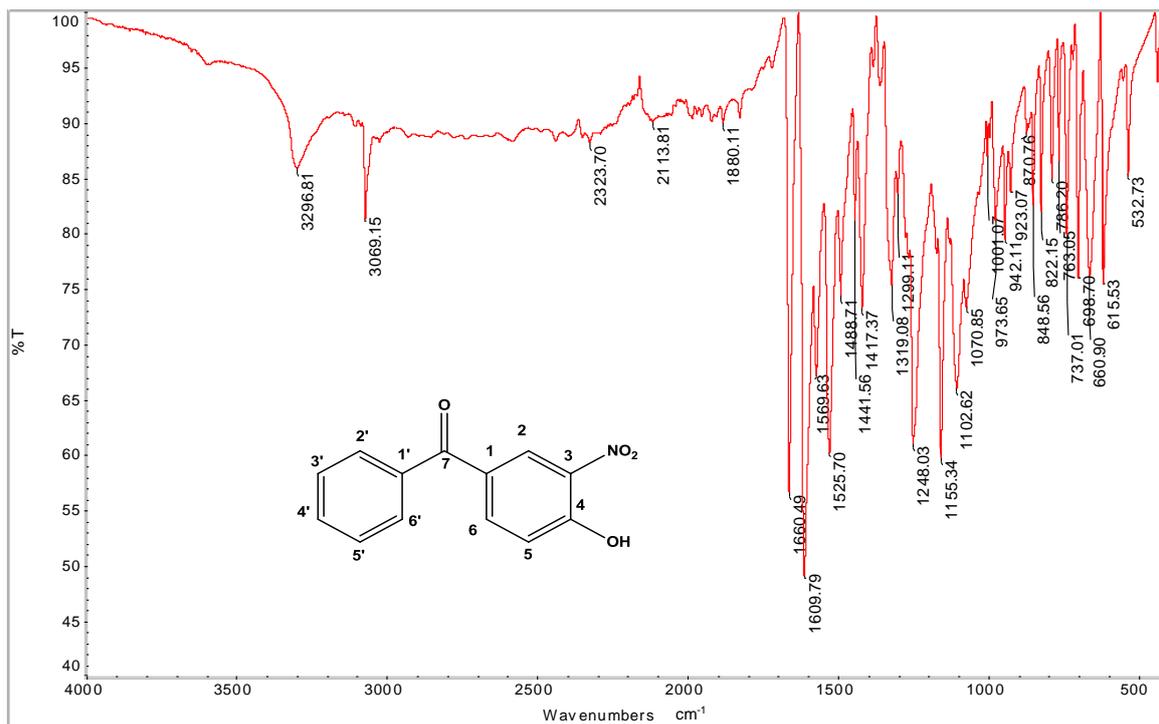


Figura 14 - Espectro de absorção na região do infravermelho de **24a**.  
Fonte: Da autora.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **24a** (Figura 15) foi possível observar em  $\delta$  8,58 um duplete referente ao hidrogênio H-2 ( $^4J_{\text{H-2}-\text{H-6}} = 2,1$  Hz), em  $\delta$  8,12 o duplo duplete referente ao hidrogênio H-6 ( $^3J_{\text{H-6}-\text{H-5}} = 8,7$  Hz,  $^4J_{\text{H-6}-\text{H-2}} = 2,1$  Hz), no intervalo  $\delta$  7,78-7,74 um multiplete referente a dois hidrogênios que foi atribuído à H-2' e H-6'. Em  $\delta$  7,64 foi observado um triplo triplo referente ao hidrogênio H-4' ( $^3J_{\text{H-4}'-\text{H-3}'} = ^3J_{\text{H-4}'-\text{H-5}'} = 7,5$  Hz,  $^4J_{\text{H-4}'-\text{H-2}'} = ^4J_{\text{H-4}'-\text{H-6}'} = 1,2$  Hz), no intervalo  $\delta$  7,55-7,49 um multiplete referente a dois hidrogênios, H-3' e H-5' e, por fim, um duplete em  $\delta$  7,28 que é referente ao hidrogênio H-5 ( $^3J_{\text{H-5}-\text{H-6}} = 8,7$  Hz).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **24a** (Figura 16) é possível observar o sinal referente ao carbono carbonílico da benzofenona (C-7) em  $\delta$  193,2, em  $\delta$  157,9 foi observado o sinal referente a C-4, em  $\delta$  138,4 o sinal referente aos carbonos C-1' e C-6. O carbono C-3 que está ligado ao grupo nitro, apresentou um deslocamento químico em  $\delta$  136,6 mais desprotegido que os carbonos não substituídos. Os demais carbonos hidrogenados dos anéis aromáticos foram registrados entre  $\delta$  132,9 - 120,3 (C-4, C-1, C-2', C-6', C-3' e C-5', C-2 e C-5).

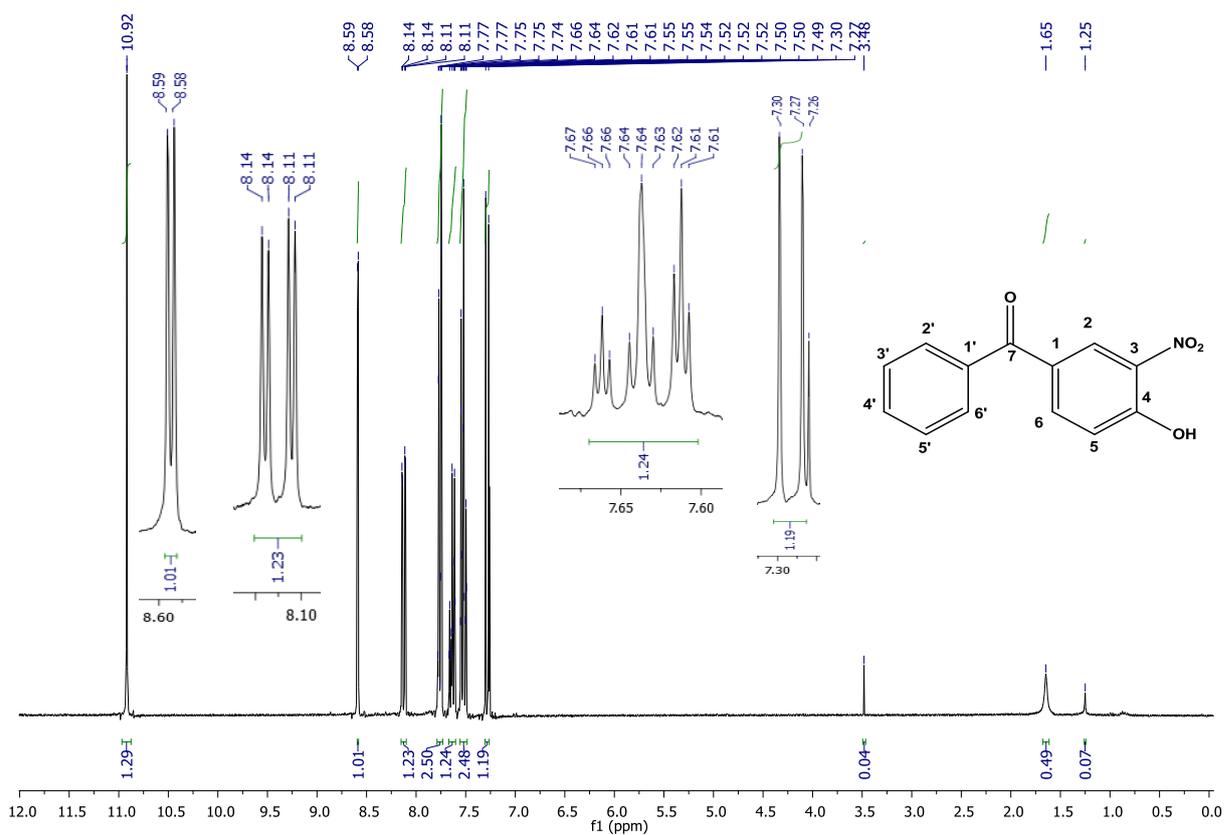


Figura 15 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de **24a**.

Fonte: Da autora.

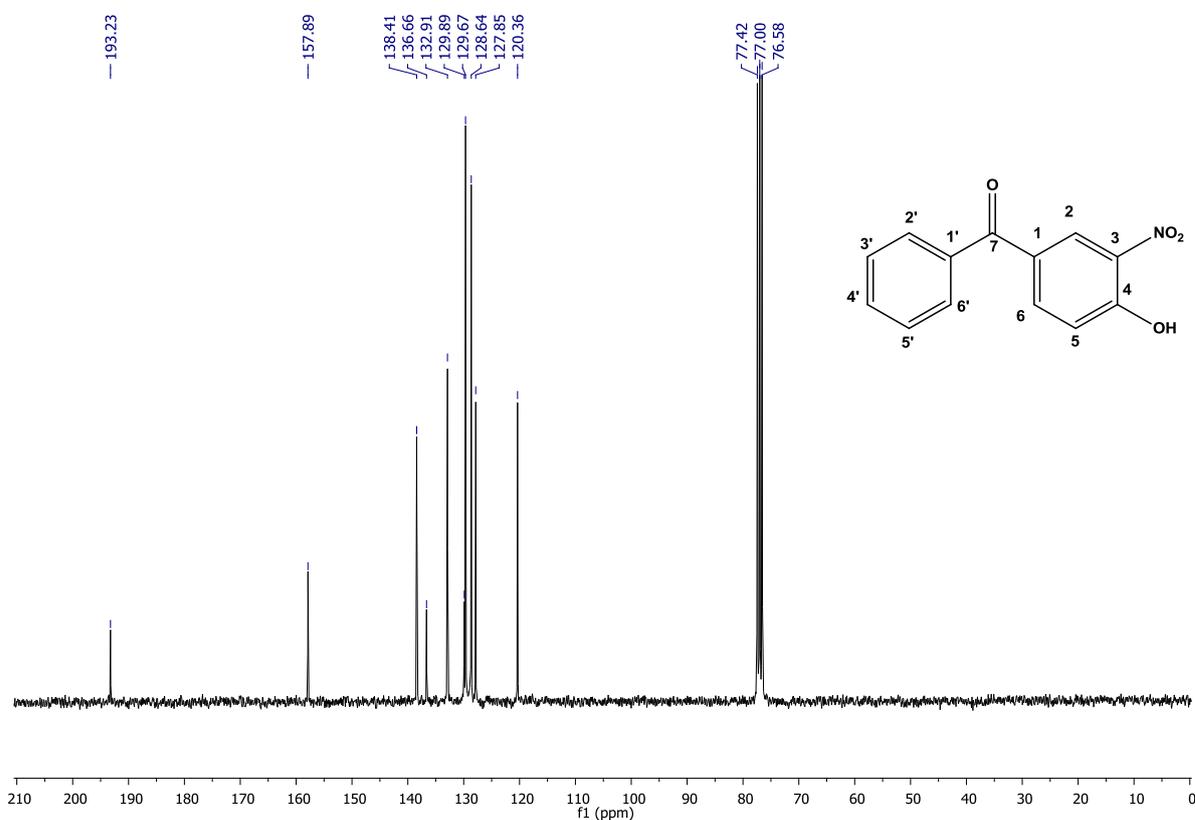


Figura 16 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de **24a**.

Fonte: Da autora.

No espectro de absorção na região do infravermelho de **24b** (Figura 17), foi possível observar, dentre outras, as bandas referentes aos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo nitro em 1525 e 1334  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Destaca-se ainda a banda em 2927  $\text{cm}^{-1}$  referente à deformação axial da ligação C-H de carbono  $\text{sp}^3$ , do grupo metila, ausente em **24a**.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **24b** (Figura 18) foi possível observar os sinais dos três hidrogênios aromáticos: em  $\delta$  7,24 um duplete atribuído a H-5 ( $^3J_{\text{H-5}-\text{H-6}} = 9$  Hz), em  $\delta$  8,20 um duplo duplete referente ao hidrogênio H-6 ( $^3J_{\text{H-6}-\text{H-5}} = 9$  Hz,  $^4J_{\text{H-6}-\text{H-2}} = 2,1$  Hz), e em  $\delta$  8,71 um duplete referente ao hidrogênio H-2, com constante de acoplamento  $^4J_{\text{H-2}-\text{H-6}} = 2,1$  Hz. Além desses sinais, foi observado um singlete em  $\delta$  2,62 atribuído aos hidrogênios do grupo metila (H-8).

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **24b** (Figura 19) foi possível observar um sinal em  $\delta$  194,8 referente ao carbono carbonílico da acetofenona (C-7), em  $\delta$  158,4 referente a C-4 e em  $\delta$  136,7 referente a C-3. Os sinais referentes aos carbonos aromáticos não substituídos foram registrados entre  $\delta$  129,9 – 115,7 (C-6, C-1, C-2 e C-5) e um sinal em  $\delta$  26,4 referente ao carbono metílico (C-8).

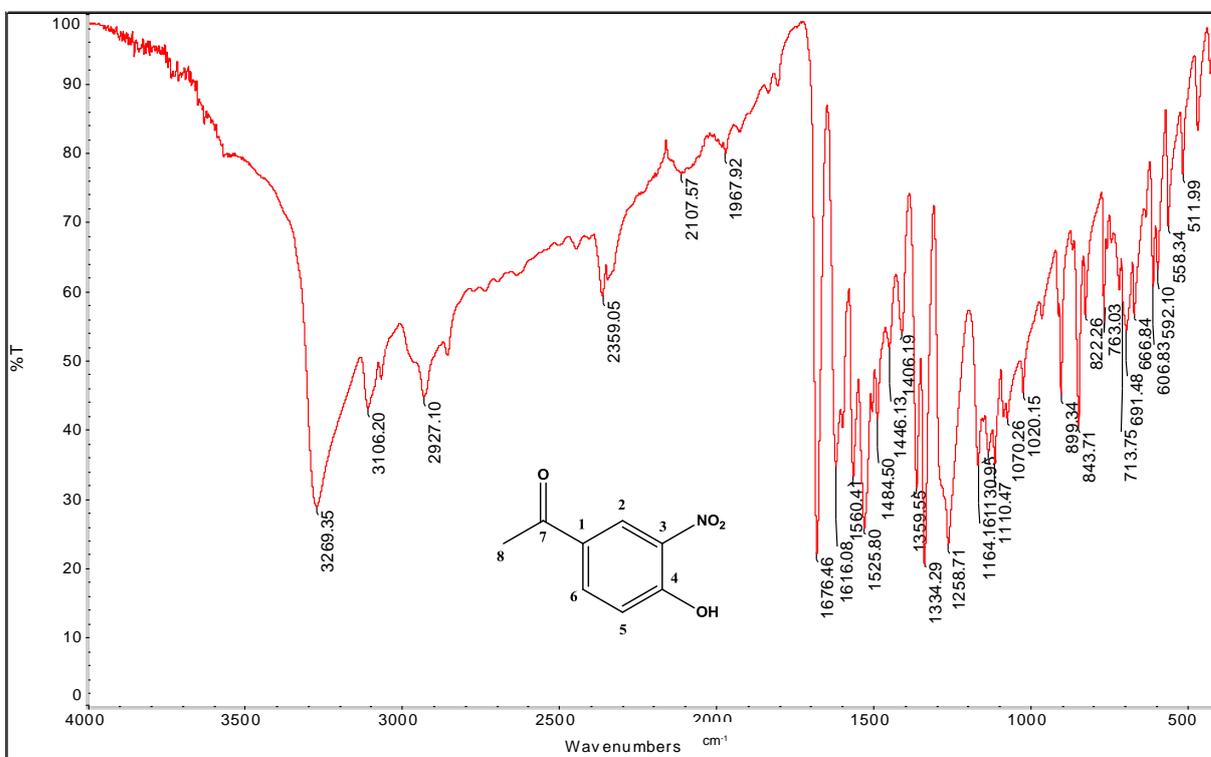


Figura 17 - Espectro de absorção na região do infravermelho de **24b**.

Fonte: Da autora.

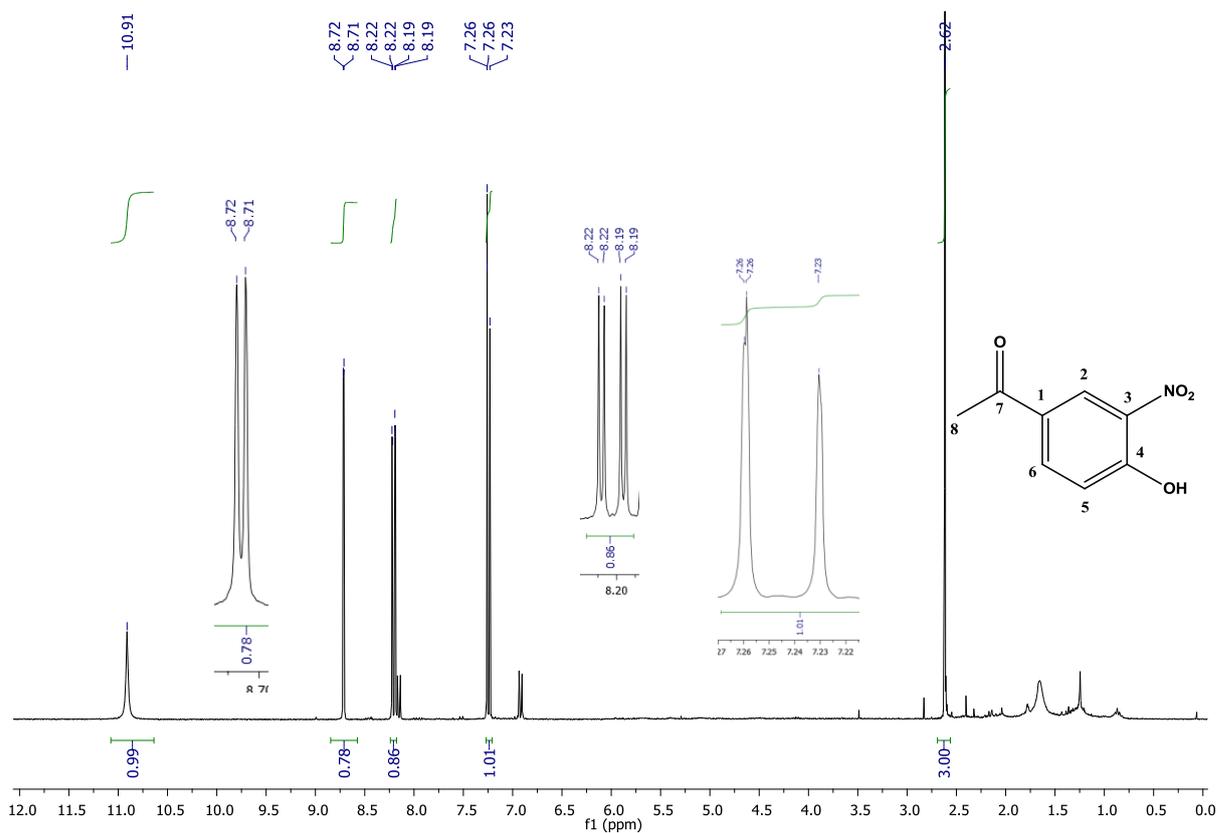


Figura 18 - Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) de **24b**.

Fonte: Da autora.

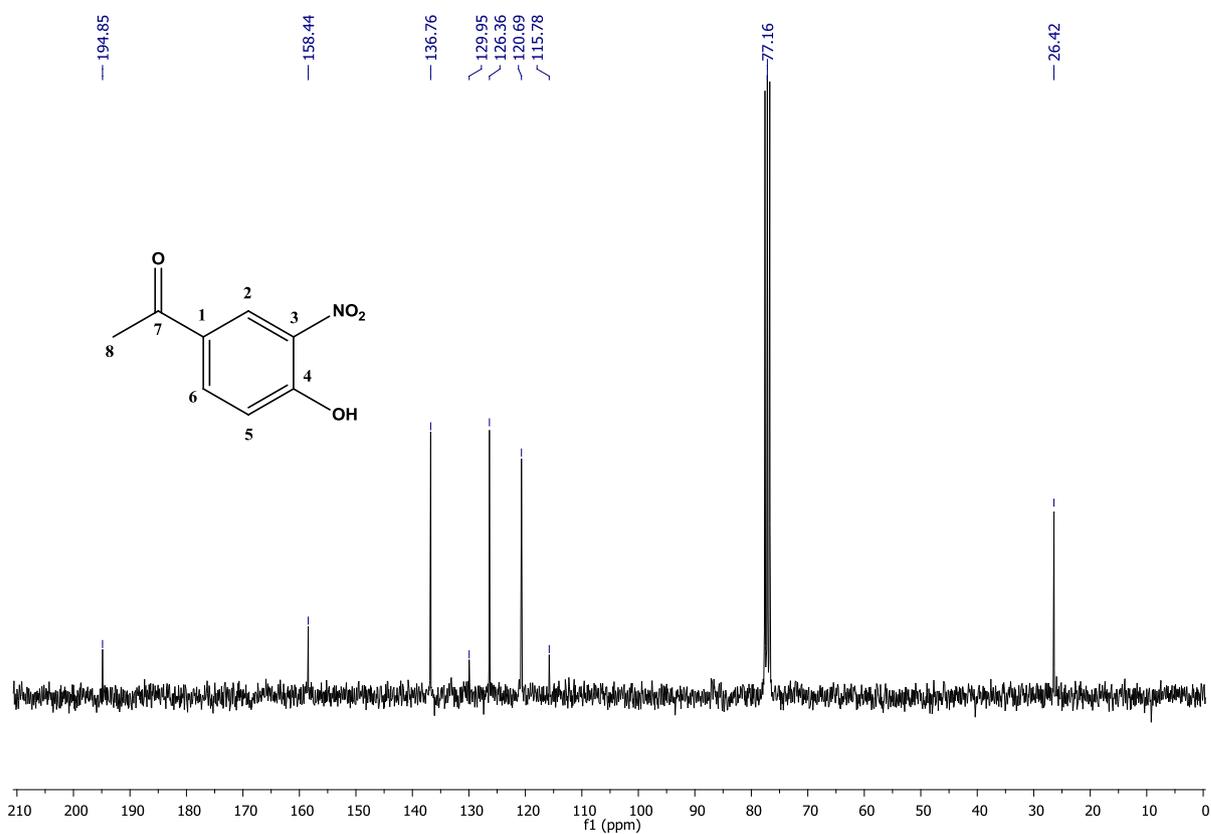


Figura 19 - Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) de **24b**.

Fonte: Da autora.

Sequencialmente foi realizada a nitro redução de **24a** e **24b** (Figura 20), originando os derivados 3-amino-4-hidroxibenzofenona e 3-amino-4-hidroxiacetofenona (**25a** e **25b**, respectivamente). Reações de redução de nitro compostos são bastante descritas na literatura, variando-se as condições e os reagentes. Um dos métodos mais clássicos é a hidrogenação catalítica, utilizando-se gás hidrogênio e um catalisador metálico suportado em carvão, podendo ser paládio e/ou platina (Pd/C e Pt/C). A utilização de alguns metais, como zinco e ferro, em meio ácido também é descrita, como agentes redutores (ONO, 2001). É também descrita a utilização de cloreto de estanho II diidratado ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ou anidro ( $\text{SnCl}_2$ ) como uma alternativa branda e de baixo custo, seletiva para a redução de grupos nitro e que não afetam outros grupos sensíveis ao meio ácido (BELLAMY; OU, 1984).

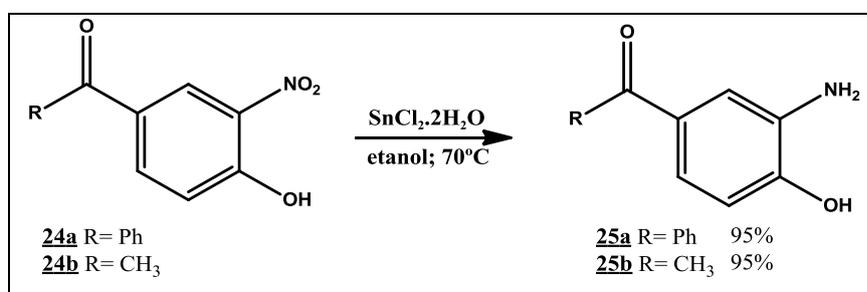


Figura 20 – Representação esquemática para síntese de **25a** e **25b**.

Fonte: Da autora.

Neste trabalho, o método escolhido para redução do grupo nitro utilizou o cloreto de estanho II diidratado ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) e etanol como solvente (BELLAMY; OU, 1984). O mecanismo proposto para esta reação está representado na Figura 21 (PELISSON, 2007).

Ao término da reação, o pH da mistura reacional foi ajustado para 7 e os produtos **25a** e **25b** foram obtidos na forma de óleos amarelo e marrom, respectivamente, com um rendimento bruto de 95%, sendo utilizados imediatamente na etapa subsequente sem prévia purificação.

Nos espectros de absorção na região do infravermelho, da aminobenzofenona **25a** (Figura 22) e aminoacetofenona **25b** (Figura 23) puderam ser observadas, entre outras, as bandas em  $3382$  e  $3351 \text{ cm}^{-1}$  para **25a** e  $3482$  e  $3384 \text{ cm}^{-1}$  para **25b**, características de estiramento assimétrico e simétrico, respectivamente, de aminas primárias. Além disso, bandas em  $1584 \text{ cm}^{-1}$  para **25a** e em  $1581 \text{ cm}^{-1}$  para **25b**, características de deformação angular de aminas primárias. Não se observam as bandas descritas em **24a** e **24b** referente as deformações de grupo nitro, confirmando o sucesso da reação.

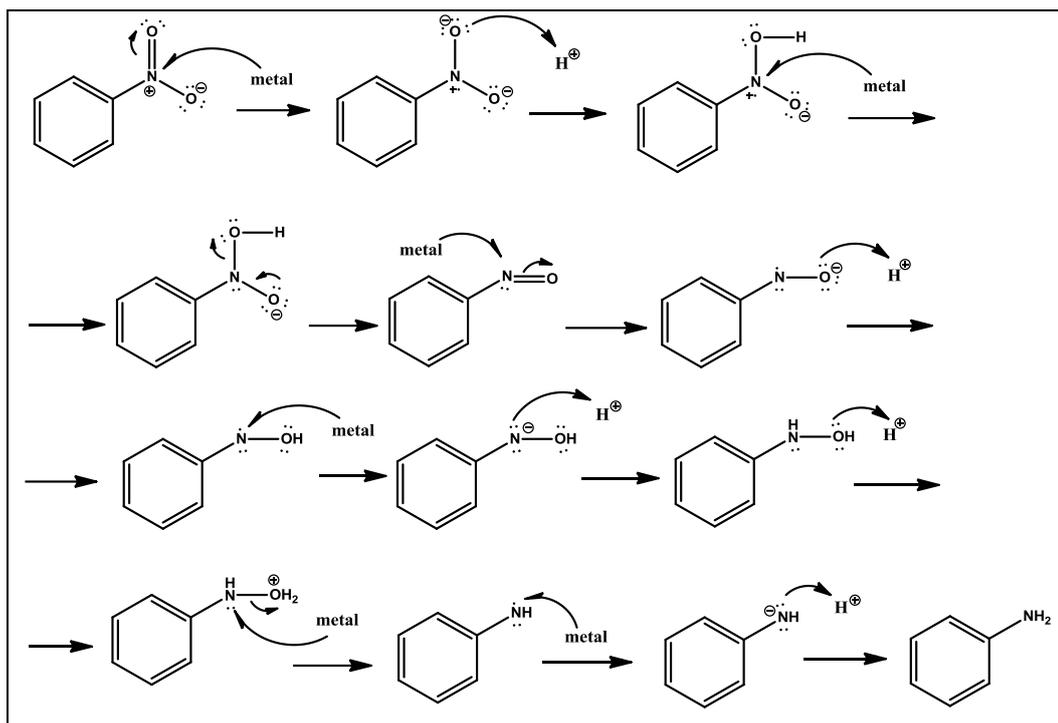


Figura 21 – Mecanismo de reação proposto para obtenção de **25a** e **25b**.

Fonte: PELISSON (2007).

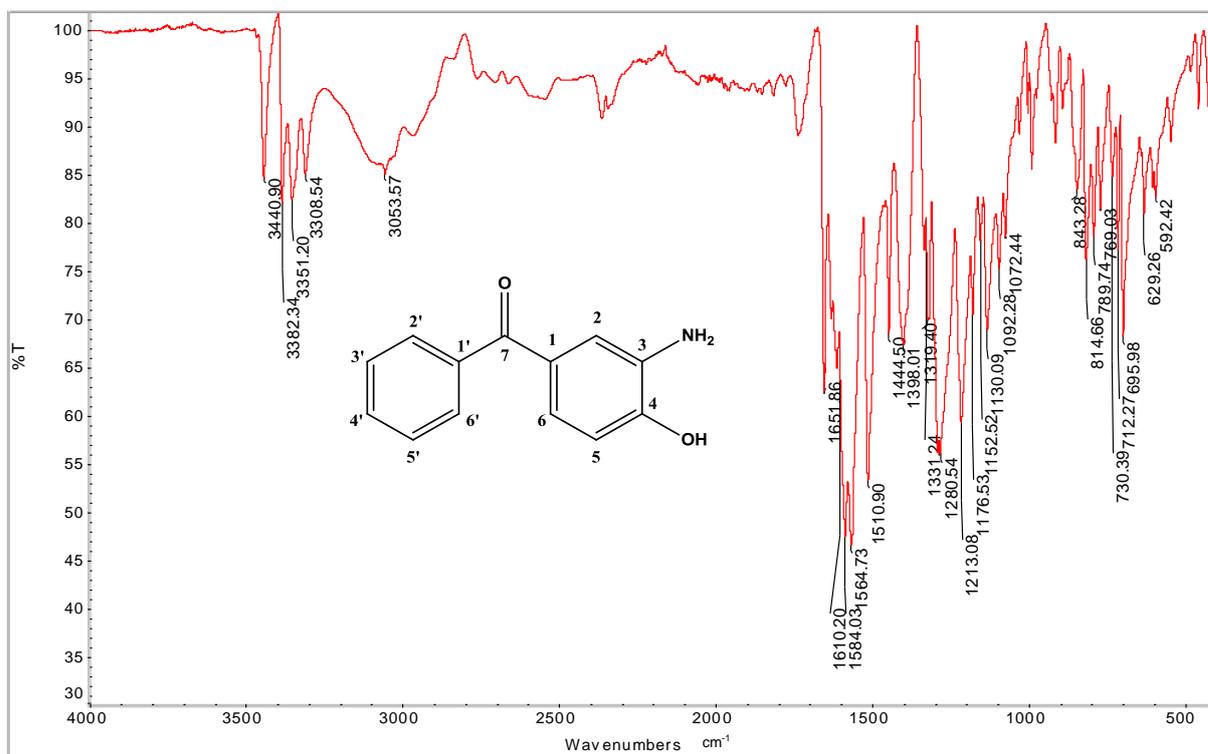


Figura 22 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **25a**.

Fonte: Da autora.

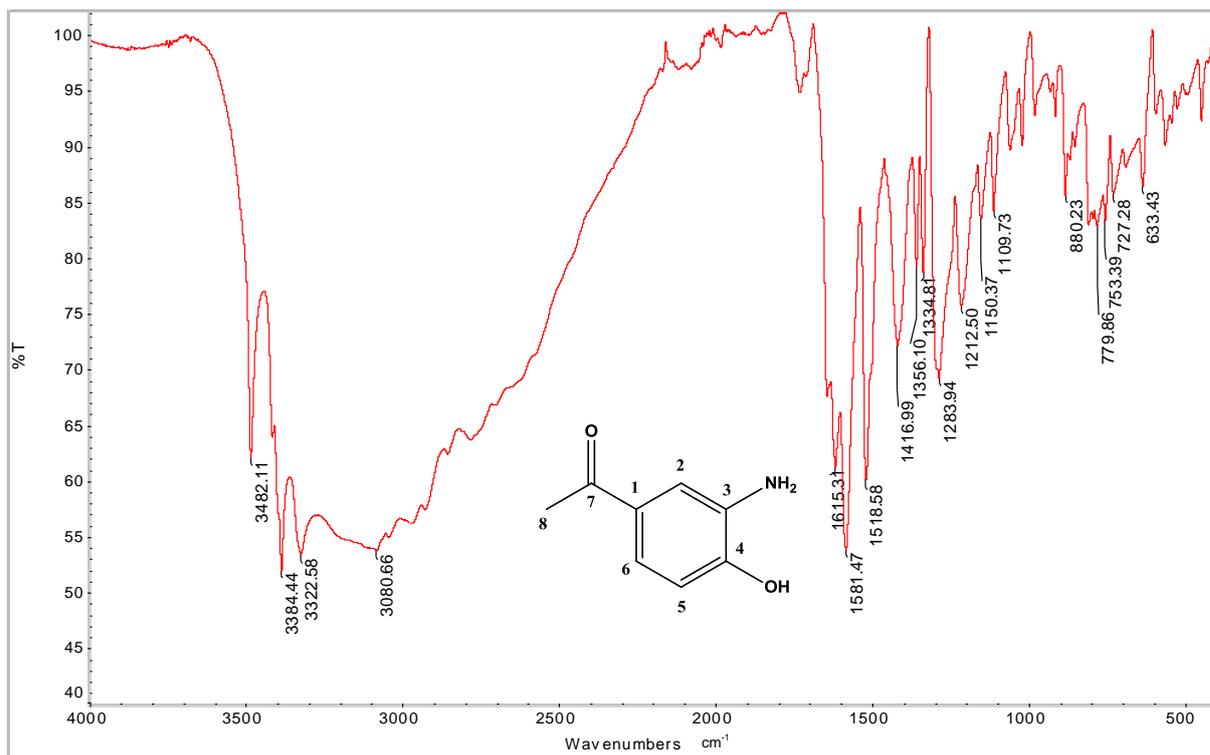


Figura 23 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **25b**.  
Fonte: Da autora.

A última etapa desta rota consistiu na síntese dos derivados benzoxazólicos. Para a obtenção desses heterociclos, são descritos alguns métodos clássicos, como por exemplo, a condensação de 2-aminofenóis com derivados de ácido carboxílico, na presença de ácidos fortes e altas temperaturas (VIIRRE; EVINDAR; BATEY, 2008) ou sob aquecimento por radiação de micro-ondas e em presença de PS-PPh<sub>3</sub>/CCl<sub>3</sub>CN (WANG et al., 2006). É descrito também o acoplamento de cloretos de acila com 2-aminofenóis ou 2-haloanilida, em catálise por cobre (VIIRRE; EVINDAR; BATEY, 2008). Além disso, a obtenção de derivados benzoxazólicos pode ocorrer por meio da ciclização intramolecular de amidas, na presença de agentes desidratantes (TRUJILLO-FERRERA et al, 2004) ou iminas, na presença de agentes oxidantes (JILANI; SHOMAF; ALZOUBI, 2013).

Outra alternativa bastante descrita na obtenção de derivados benzoxazólicos é a condensação de 2-aminofenóis com diferentes aldeídos, na presença de agentes oxidantes fortes (VIIRRE; EVINDAR; BATEY, 2008). Esta metodologia não exige condições muito drásticas e específicas, como altas temperaturas ou a utilização de micro-ondas, por exemplo. Além disso, é realizada em uma única etapa, sem a necessidade de isolamento de intermediários para posterior ciclização intramolecular, de amidas ou iminas. Dessa forma, **25a** foi submetido à reação com 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído, na presença de *p*-benzoquinona em etanol (Figura 24) (HRANJEC et al., 2003).

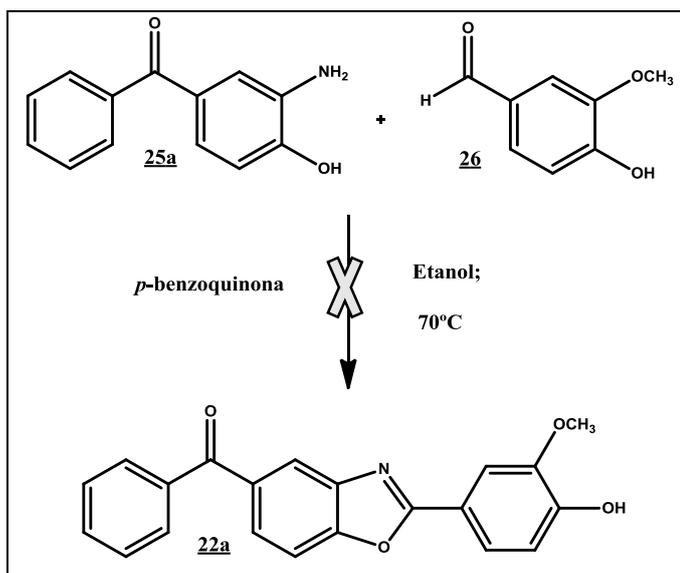


Figura 24 – Representação esquemática para síntese de **22a**.  
Fonte: Da autora.

A *p*-benzoquinona é amplamente utilizada como agente oxidante forte e em reações de desidrogenação (EYDEN et al., 1995). Esta reação é de simples execução, realizada com quantidades equimolares dos reagentes, e o mecanismo da reação é representado a seguir (Figura 25), em que a base de Schiff formada sofre uma ciclização oxidativa formando o anel benzoxazólico.

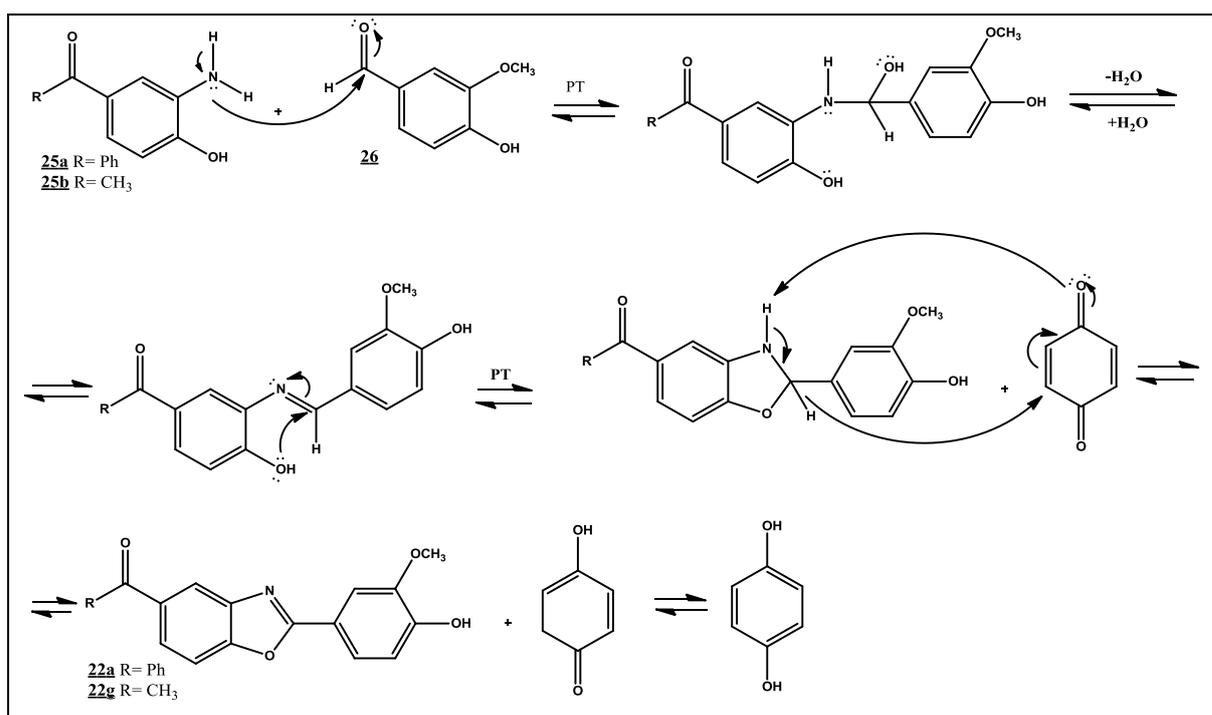


Figura 25 – Mecanismo proposto para a síntese de **22a** e **22g**.  
Fonte: EYDEN et al (1995).

Foi isolado um produto a partir dessa reação, no entanto, após análise de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  observou-se não se tratar do produto desejado, não podendo ser identificado o que era.

Diante do insucesso e das dificuldades encontradas durante a realização dessa reação, como a formação de muitos subprodutos, que podem confundir a identificação da formação do produto de interesse, foi realizada uma nova tentativa desta síntese. O novo reagente escolhido foi um aldeído que possui um resíduo de glicose em sua extremidade. Este aldeído foi escolhido pois o resíduo de açúcar poderia facilitar a identificação do benzoxazol formado, uma vez que se revela de maneira específica na placa cromatográfica, em presença de solução etanólica de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Esperava-se que o produto desejado, bem como os subprodutos de oxidação produzidos pela *p*-benzoquinona, fossem mais facilmente identificados e diferenciados dos materiais de partida (Figura 26).

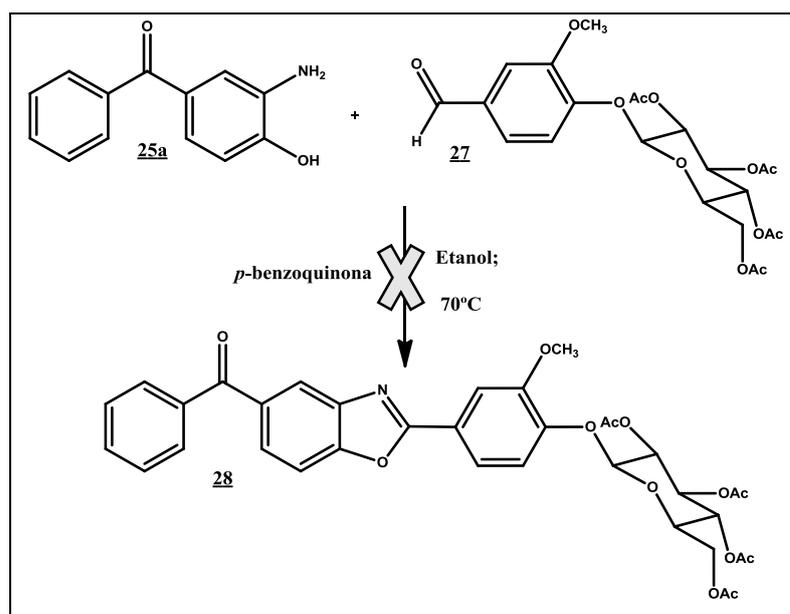


Figura 26 – Representação esquemática para obtenção de **28** utilizando *p*-benzoquinona.

Fonte: Da autora.

A reação foi conduzida sob agitação e aquecimento, acompanhada por análise de CCD, sendo utilizado como revelador uma solução etanólica de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 15% e aquecimento. A reação foi interrompida após dez horas e não foi observada a formação de nenhum produto, apenas os materiais de partida.

Como não foi possível obter o produto desejado, uma nova tentativa foi realizada. Recentemente foi descrita a utilização de glicerol como solvente na preparação de derivados benzoxazólicos, proporcionando condições mais brandas por não exigir a presença de

catalizadores como usualmente descrito, ambientalmente favorável e econômico (BACHHAV; BHADAT; TELVEKAR, 2011), além de se tratar de uma reação mais limpa e com menos subprodutos. Dessa forma, o produto **25a** foi então submetido à reação com o mesmo aldeído **27**, na presença de glicerol em metanol, sob aquecimento (Figura 27).

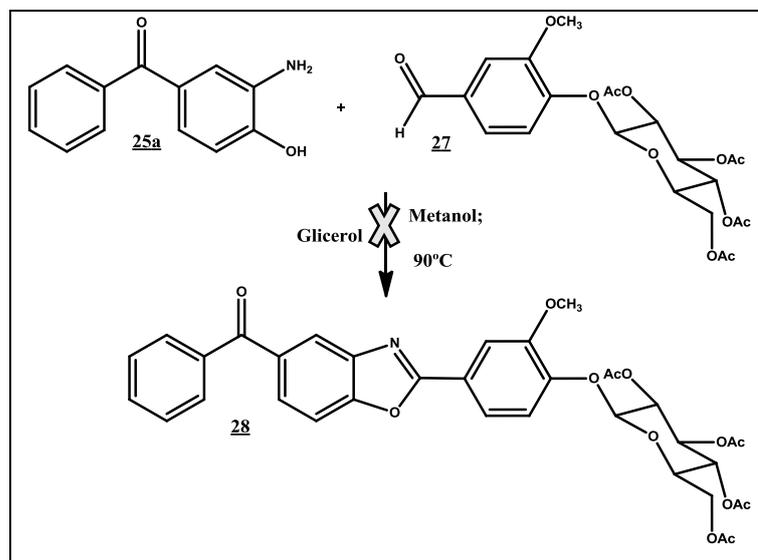


Figura 27 – Representação esquemática para obtenção de **28** utilizando glicerol.

Fonte: Da autora.

A forma como o glicerol promove a formação do benzoxazol ainda não é clara, porém acredita-se que a alta capacidade de solvatação do glicerol ao aldeído, provoca a ativação do carbono carbonílico devido à ligação de hidrogênio intermolecular do oxigênio do aldeído com as hidroxilas do glicerol, deixando o carbono mais eletrofílico e mais susceptível ao ataque nucleofílico do nitrogênio do *o*-aminofenol, formando a imina intermediária, seguida de ciclização intramolecular (SADEK et al., 2012). O mecanismo proposto está representado na Figura 28.

A reação foi acompanhada por CCD, utilizando solução etanólica H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 15% como revelador, e após vinte e oito horas foi interrompida, pois o consumo do material de partida não foi observado.

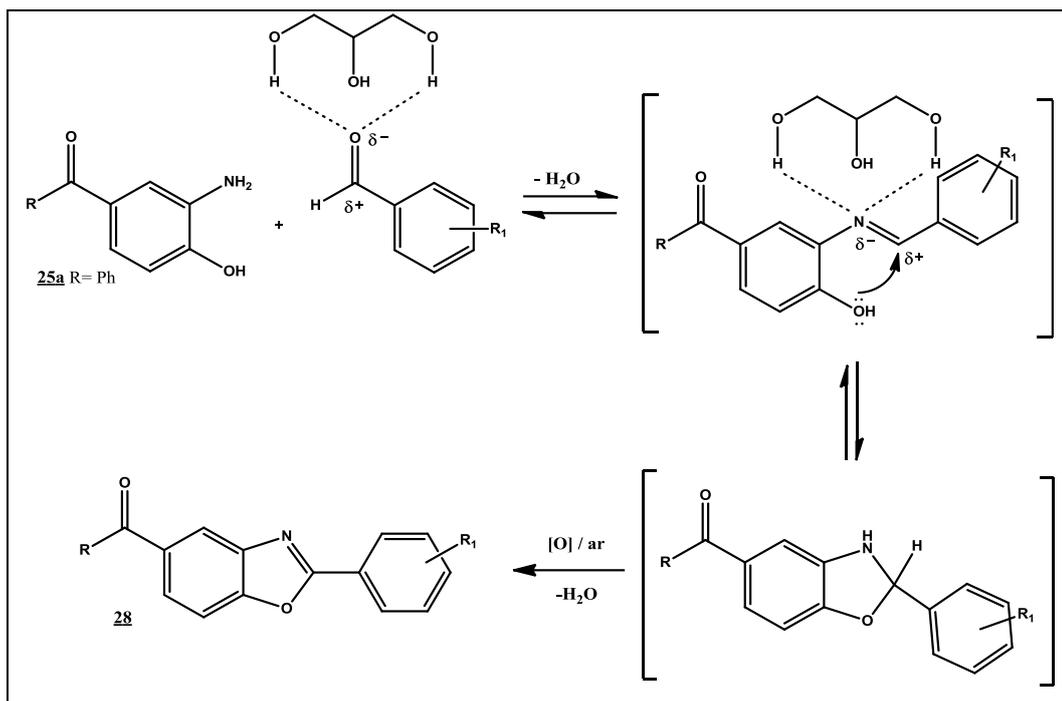


Figura 28 – Mecanismo de reação proposto para síntese de **28** com glicerol.  
Fonte: SADEK et al (2012).

Diante do insucesso da reação, uma nova tentativa de síntese de **28** foi realizada. Tem sido descrita a utilização do ácido acético como solvente, catalizador e em alguns casos também como reagente, para a síntese de benzoxazóis, benzotiazóis e benzimidazóis (BALASWAMY et al, 2012; RACANÉ et al, 2010; XING et al, 2010). Dessa forma, o produto **25a** foi submetido à reação com o aldeído **27**, na presença de ácido acético como solvente (Figura 29). Novamente a reação não evoluiu e a formação do produto de interesse não foi observada.

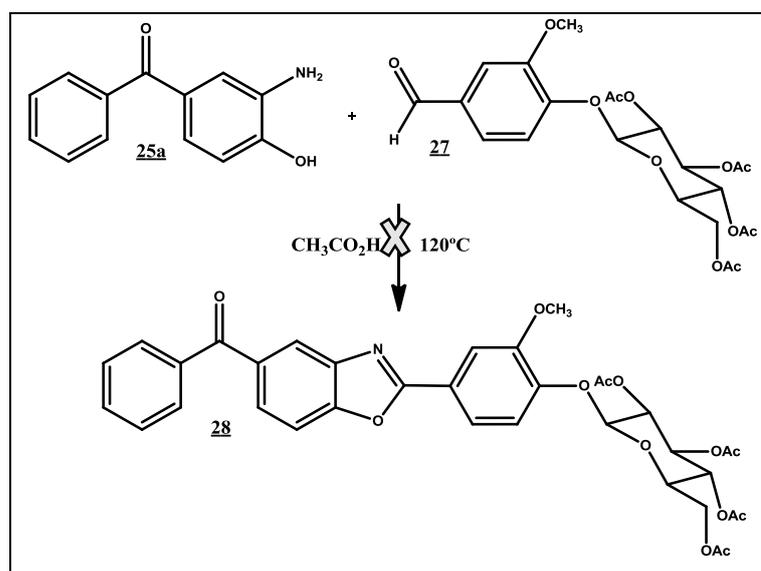


Figura 29 – Representação esquemática para obtenção de **28** utilizando  $CH_3CO_2H$ .

Fonte: Da autora.

Foi descrita recentemente a utilização de bissulfato de sódio adsorvido em sílica como eficiente catalizador na síntese de benzoxazóis, a partir de 2-aminofenol e aldeído, como uma alternativa barata e, pelo fato do catalizador apresentar natureza heterogênea, é de fácil remoção (KUMAR; SATYANARAYANA; REDDY, 2012). Então, o produto **25a** foi submetido à reação com **27**, na presença de bissulfato de potássio suportado em sílica, em dioxano (Figura 30). Mais uma vez não houve reação.

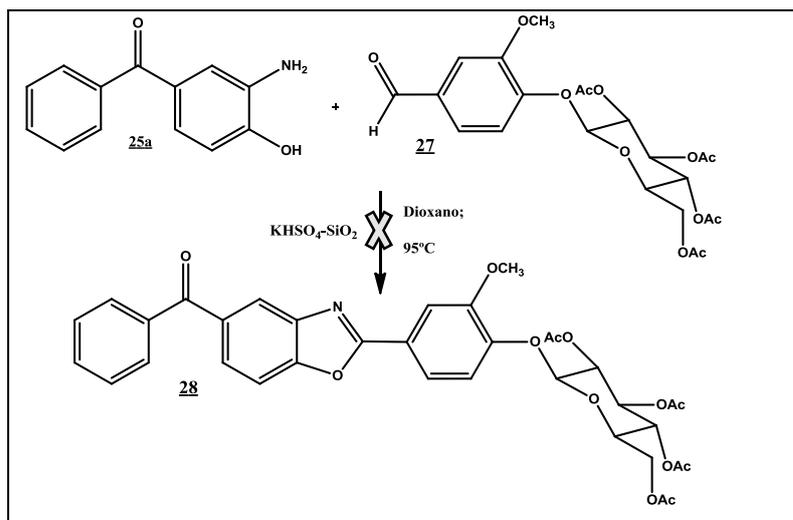


Figura 30 – Representação esquemática para obtenção de **28** utilizando bissulfato de potássio adsorvido em sílica.

Fonte: Da autora.

Tem sido bastante descrita também a utilização de metabissulfito de sódio como agente oxidante, na síntese de heterociclos, a partir de aldeídos (GOKER et al, 2002; KAMAL et al, 2013; KEURULAINEN et al, 2015; SHARMA; GANGAL; RAUF, 2008). Assim, foi preparado, inicialmente, um aduto do metabissulfito de sódio com o aldeído **27**, em etanol (GOKER et al, 2002). Em seguida, **25a** foi submetido à reação com o aduto bissulfito do aldeído derivado de **27**, em *N,N*-dimetilformamida (Figura 31). Novamente não foi possível observar a formação do produto de interesse.

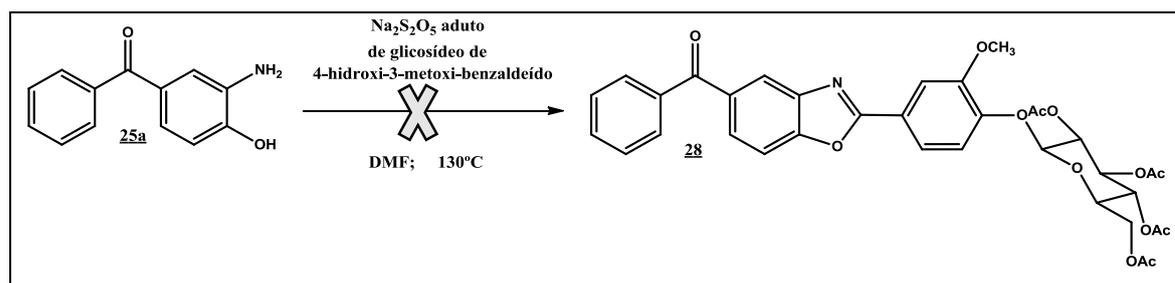


Figura 31 – Representação esquemática para obtenção **28** utilizando o aduto do aldeído **27** com metabissulfito de sódio.

Fonte: Da autora.

O mecanismo proposto para esta reação sugere que a adição de água à mistura do metabissulfito de sódio e o aldeído, leva a formação de bissulfito de sódio, sequencialmente formando o aduto bissulfito aldeído. Este sal formado proporciona a ativação necessária para o ataque nucleofílico do *o*-aminofenol, levando a formação de um intermediário que, por deslocamento do grupo sulfito de sódio, seguida de oxidação pelo ânion bissulfito formado, geraria o benzoxazol desejado (Figura 32) (RIDLEY; SPICKETT; TIMMIS, 1965):

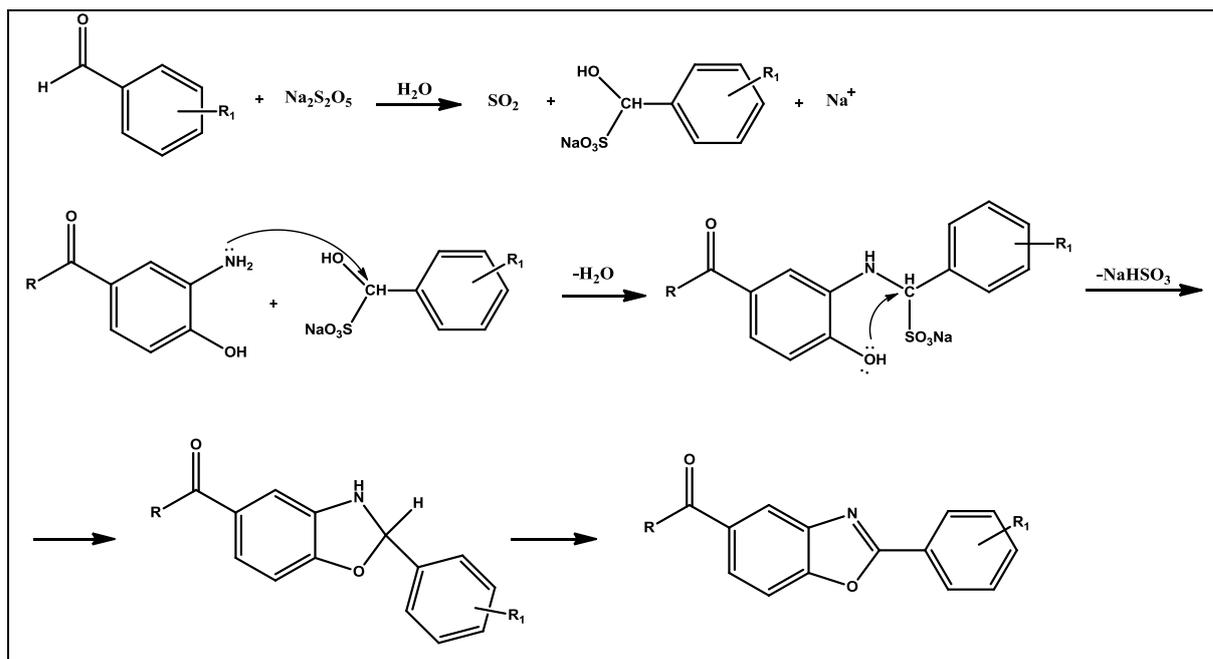


Figura 32 – Mecanismo proposto para a síntese de **28** utilizando metabissulfito de sódio, a partir do aldeído **27**.  
Fonte: RIDLEY; SPICKETT; TIMMIS (1965).

Diante dos seguidos insucessos, pensou-se em obter os derivados benzoxazólicos por meio de ciclização intramolecular de amidas, já que esse método também é bastante descrito para síntese destas substâncias (LAEEQ; SIRBAIYA; SIDDIQUI, 2013; NAKAMURA; YASUI; BAN, 2013; TRUJILLO-FERRARA et al, 2004; VIIRRE; EVINDAR; BATEY, 2008; XING et al, 2010). Para isso, seria necessário, primeiramente, obter a amida a partir do 2-aminofenol, utilizando o cloreto de ácido correspondente, para posterior ciclização intramolecular por meio de desidratação.

Dessa forma, os produtos **25a** e **25b** reagiram com diferentes cloretos de ácidos (**29a-e**), para obtenção das amidas **30a-i** (Figura 33) (SENER et al., 2000).

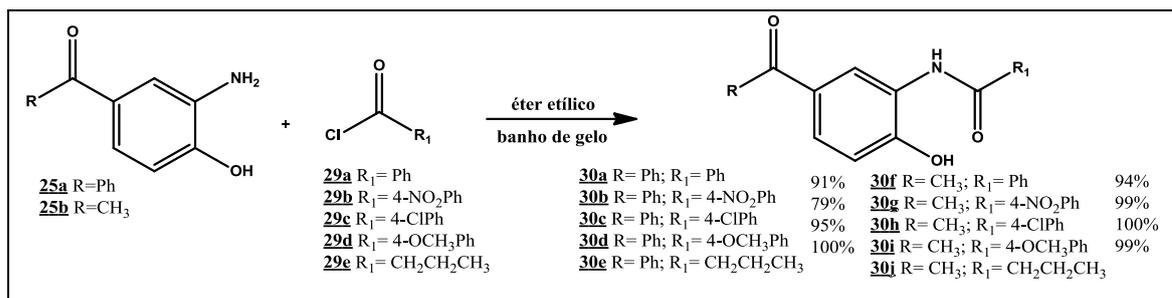


Figura 33 – Representação esquemática para obtenção de **30a-j**.

Fonte: Da autora.

O mecanismo para a síntese das amidas está representado a seguir (Figura 34):

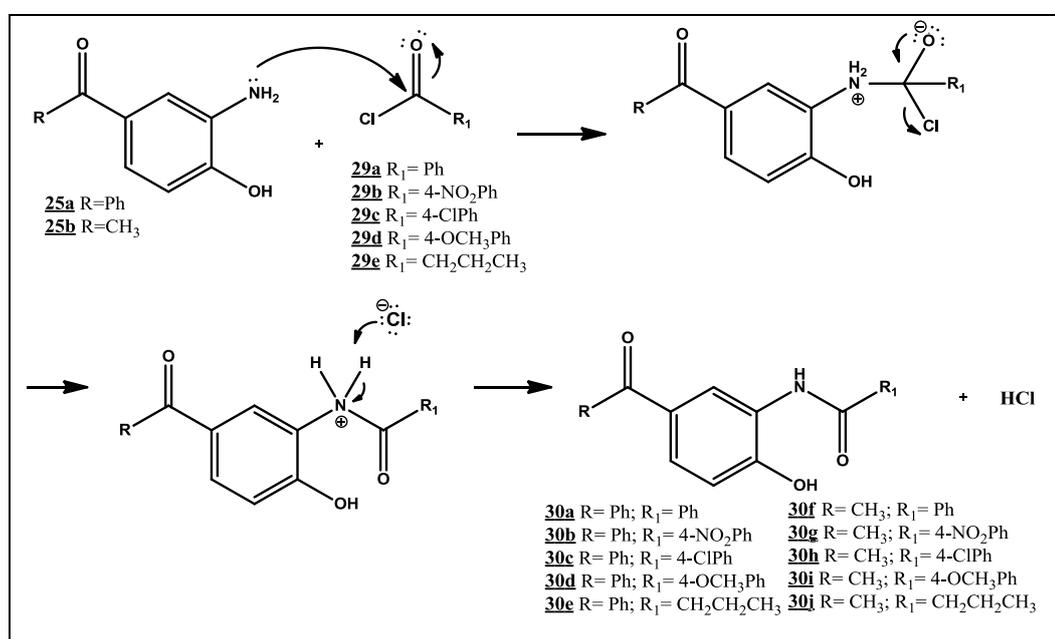


Figura 34 – Mecanismo de reação proposto para obtenção de **30a-j**.

Fonte: CLAYDEN et al (2000).

Ao término das reações, os produtos foram isolados, com rendimentos entre 79 e 100%, todos na forma sólida, e então, utilizados na etapa seguinte, sem prévia purificação.

Sequencialmente, os produtos obtidos **30a-j** foram submetidos à reação de ciclização intramolecular, na presença de ácido *p*-toluenossulfônico em tolueno, para obtenção dos derivados benzoxazólicos desejados (Figura 35) (NAKAMURA; YASUI; BAN, 2013).

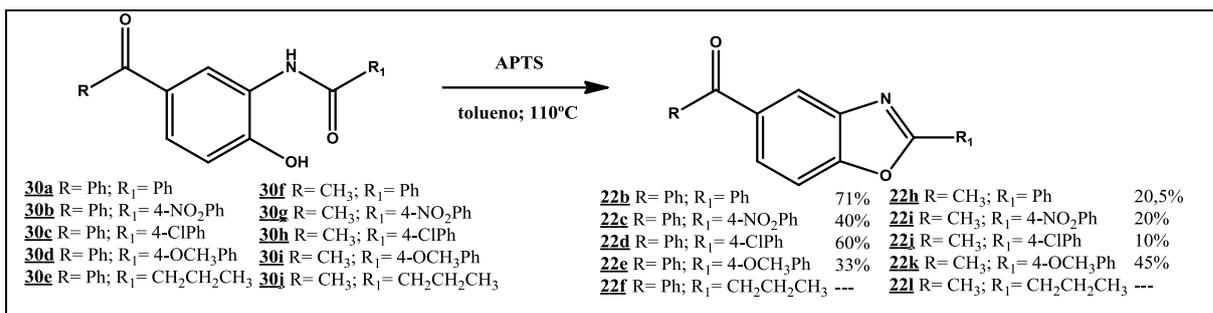


Figura 35 – Representação esquemática para obtenção de **22b-f** e **22h-l**.

Fonte: Da autora.

O mecanismo proposto para a reação de ciclização das amidas **30a-j** está representado a seguir (Figura 36):

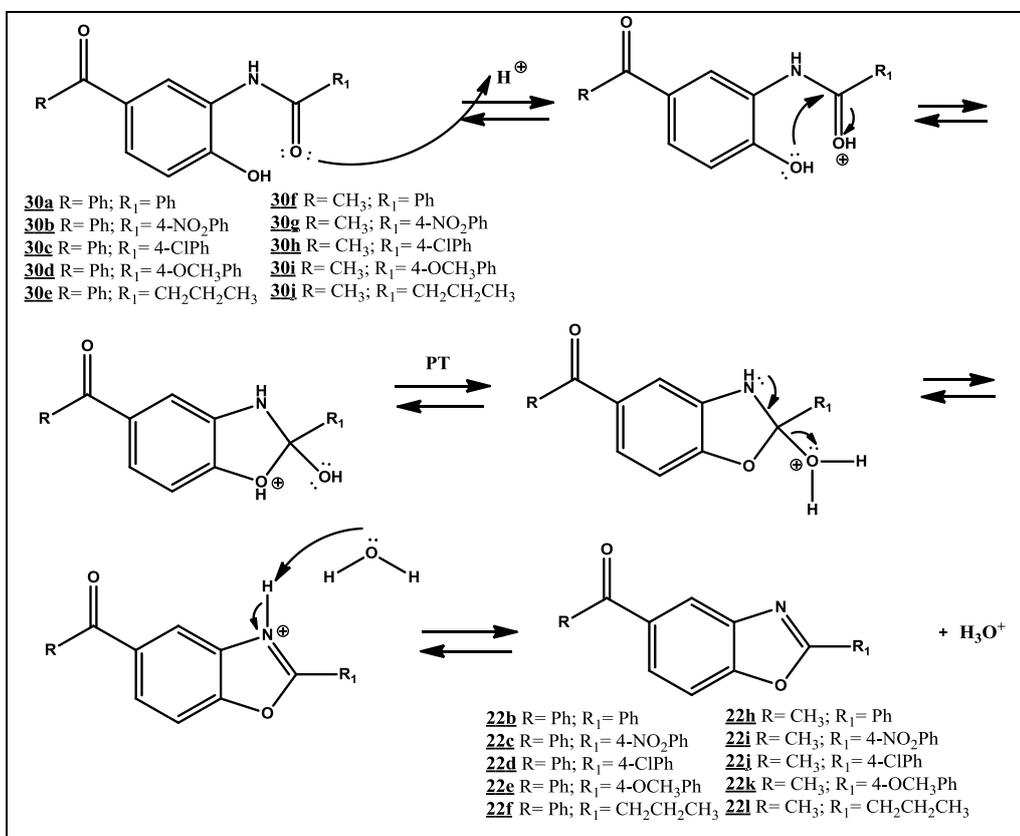


Figura 36 – Mecanismo de reação proposto para obtenção de **22b-f** e **22h-l**.

Fonte: NAKAMURA; YASUI; BAN (2013).

Ao término das reações, o solvente foi evaporado e como forma de isolamento e purificação os produtos brutos foram submetido a purificação por cromatografia em coluna de sílica. Foram obtidos os produtos **22b-e** e **22h-k** todos na forma sólida, com rendimentos entre 10 e 71%, devidamente identificados na Figura 35. Porém, não foi possível isolar os produtos **22f** e **22l**, pois logo ao iniciar o procedimento de purificação, se observou que os produtos eram convertidos nas butanamidas de partida **30e** e **30j**, e dessa forma, os produtos desejados não puderam ser purificados. Acredita-se que por ser um grupo alifático como substituinte em C-2

no anel benzoxazólico, a ausência de uma estrutura que possibilitasse a extensão da aromaticidade da molécula, não conferiu uma maior estabilidade, resultando na abertura do anel e novamente a formação dos materiais de partida. Isso seria possível devido labilidade do anel benzoxazólico, que facilmente pode ser clivado em C-2, por tratar-se de um carbono bastante eletrofílico, estando entre dois átomos eletronegativos, o nitrogênio e o oxigênio. Todos os demais produtos obtidos foram caracterizados pelos métodos espectrométricos usuais: I.V. e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .

No espectro de absorção na região do infravermelho de **22b** (Figura 37) não foi observada a banda referente à hidroxila fenólica, sugerindo que o benzoxazol havia sido formado. Além disso, foi observada uma banda de deformação axial em  $1643\text{ cm}^{-1}$  referente à carbonila cetônica do núcleo benzofenônico, uma banda em  $1623\text{ cm}^{-1}$  característica da ligação C=N do anel benzoxazólico. Foram identificadas também as bandas em  $3052\text{ cm}^{-1}$  característica de deformação axial de C-H de anel aromático, em  $1603$ ,  $1596$ ,  $1574$  e  $1557\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação C=C de anel aromático e também em  $1278$  e  $1048\text{ cm}^{-1}$  características de estiramento assimétrico e simétrico, respectivamente, de ligação C-O-C no anel benzoxazólico.

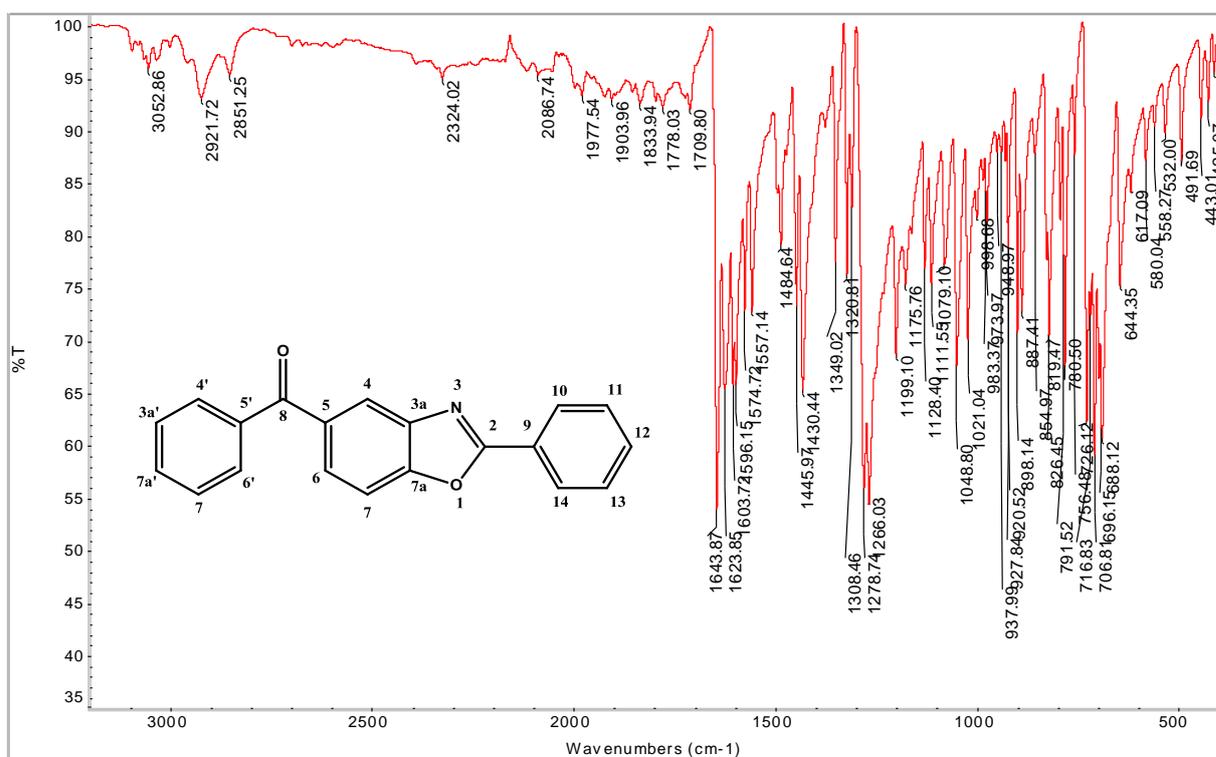


Figura 37 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22b**.

Fonte: Da autora.

Todos os demais derivados **22c-e** e **22h-k** apresentaram basicamente o mesmo padrão de bandas em seus espectros de absorção na região do infravermelho. Foi possível observar, como esperado, a presença do grupo nitro como substituinte para **22c** e **22i** com bandas de estiramento assimétrico (1512 e 1516  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente) e simétrico (1340 e 1343  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente) de  $\text{NO}_2$  (Figuras 50 e 54, pág. 87 e 91, respectivamente). As bandas características da deformação axial da ligação cloro-anel aromático de **22d** e **22j** foram observadas em 1016 e 1008  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente (Figuras 51 e 55, pág. 88 e 92, respectivamente). Por fim, para os derivados **22e** e **22k**, que apresentam o grupo metoxila ( $\text{OCH}_3$ ) como substituinte do anel aromático, foi possível identificar as bandas de deformação axial de C-H de carbonos primários em 2922 e 2920  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente (Figuras 52 e 56, pag. 89 e 93, respectivamente).

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **22b** (Figura 38) foi possível observar, dentre outros, os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos da benzofenona, H-10 e H-14 em  $\delta$  8,28 na forma de um duplete duplo ( $^3J_{\text{H}10-\text{H}11} = \text{H}14-\text{H}13 = 7,8 \text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H}10-\text{H}12} = \text{H}14-\text{H}12 = 1,2 \text{ Hz}$ ) e em  $\delta$  7,58-7,53 um multiplete atribuído aos hidrogênios H-11, H-12 e H-13.

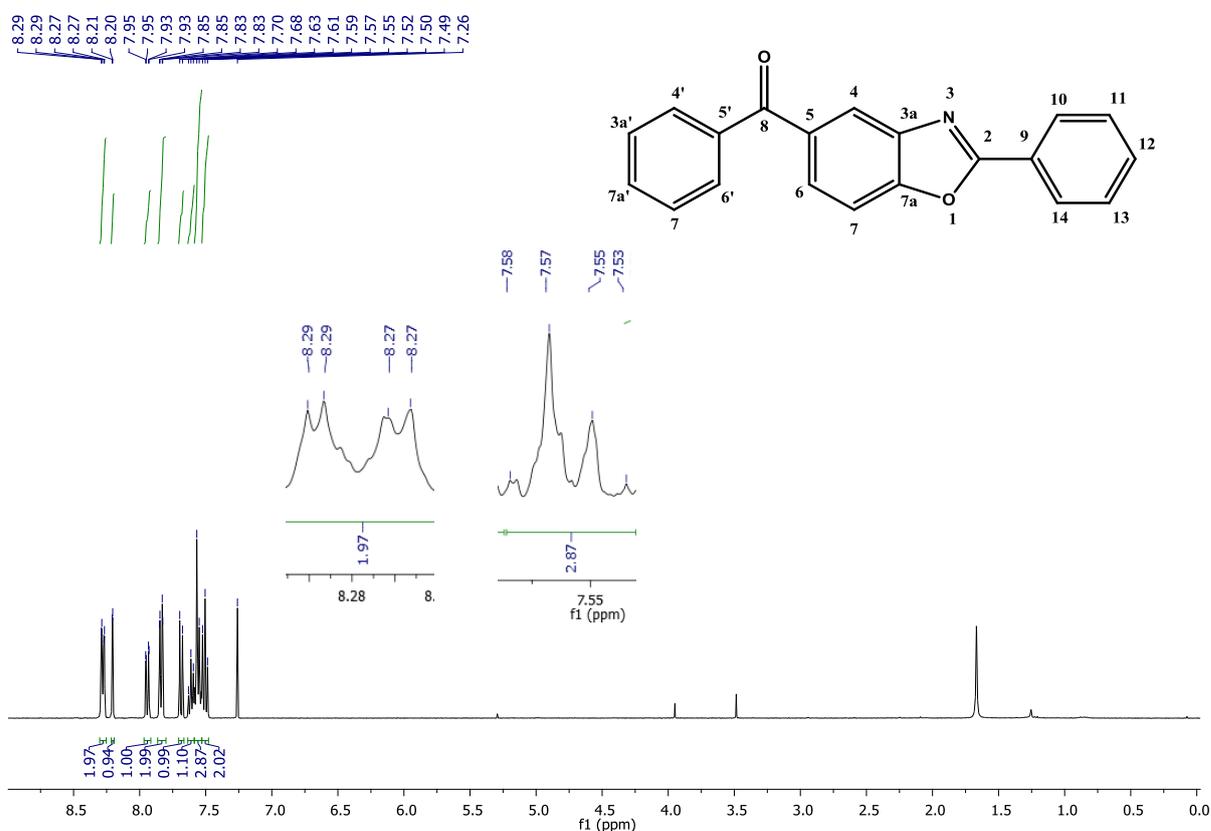


Figura 38 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **22b**.  
Fonte: Da autora.

Todos os derivados **22c-e** e **22h-k** apresentaram basicamente o mesmo padrão de sinais, porém de acordo com a mudança do substituinte no anel aromático na posição 2 do anel benzoxazólico, foi possível observar algumas poucas mudanças nos deslocamentos dos hidrogênios próximos ao substituinte. Como pode ser observado nos espectros dos derivados **22c** e **22i** (Figuras 57 e 61, pag. 94 e 98 respectivamente), os hidrogênios H-11 e H-13, vizinhos ao substituinte NO<sub>2</sub>, sofrem uma maior desblindagem e apresentam um deslocamento químico maior ( $\delta$  8,44 e 8,46-8,41, respectivamente) quando comparado com **22b** ( $\delta$  7,53-7,58) desprovido de tal substituinte. Isso acontece por razão do grupo nitro ser retirador de elétrons devido aos efeitos indutivo e de ressonância, o que diminui a densidade eletrônica nos átomos vizinhos e provoca maior a desblindagem destes hidrogênios.

Dessa mesma forma, também foi observado nos espectros dos compostos **22e** e **22k** (Figuras 59 e 63, pag. 96 e 100 respectivamente) a influência do grupo metoxi nos seus hidrogênios vizinhos. Como se trata de um grupo doador de elétrons por efeito de ressonância, a sua presença provoca uma maior blindagem nestes hidrogênios, diminuindo seus deslocamentos químicos ( $\delta$  7,04 em ambos os casos) em relação a **22b** ( $\delta$  7,53-7,58). Já os derivados **22d** e **22j** que possuem o cloro como substituinte, não apresentaram tanta variação no deslocamento químico dos hidrogênios vizinhos ( $\delta$  7,48 e 7,52, respectivamente), conforme observado em seus espectros (Figuras 58 e 62, pag. 95 e 99, respectivamente). Isso se deve às características do átomo de cloro, que devido a sua alta eletronegatividade é um grupo retirador de elétron por efeito indutivo, mas em contrapartida, doa elétrons ao anel por efeito de ressonância, por possuir três pares de elétrons livres.

No espectro de RMN de <sup>13</sup>C de **22b** (Figura 39), além dos sinais referentes aos carbonos da benzofenona, foi possível observar um sinal em  $\delta$  164,7 atribuído à C-2 do anel benzoxazólico, além dos sinais dos carbonos aromáticos C-9 em  $\delta$  132,2, C-10 e C-14 em  $\delta$  127,8, C-11 e C-13 em  $\delta$  129,2 e C-12 em  $\delta$  128,5.

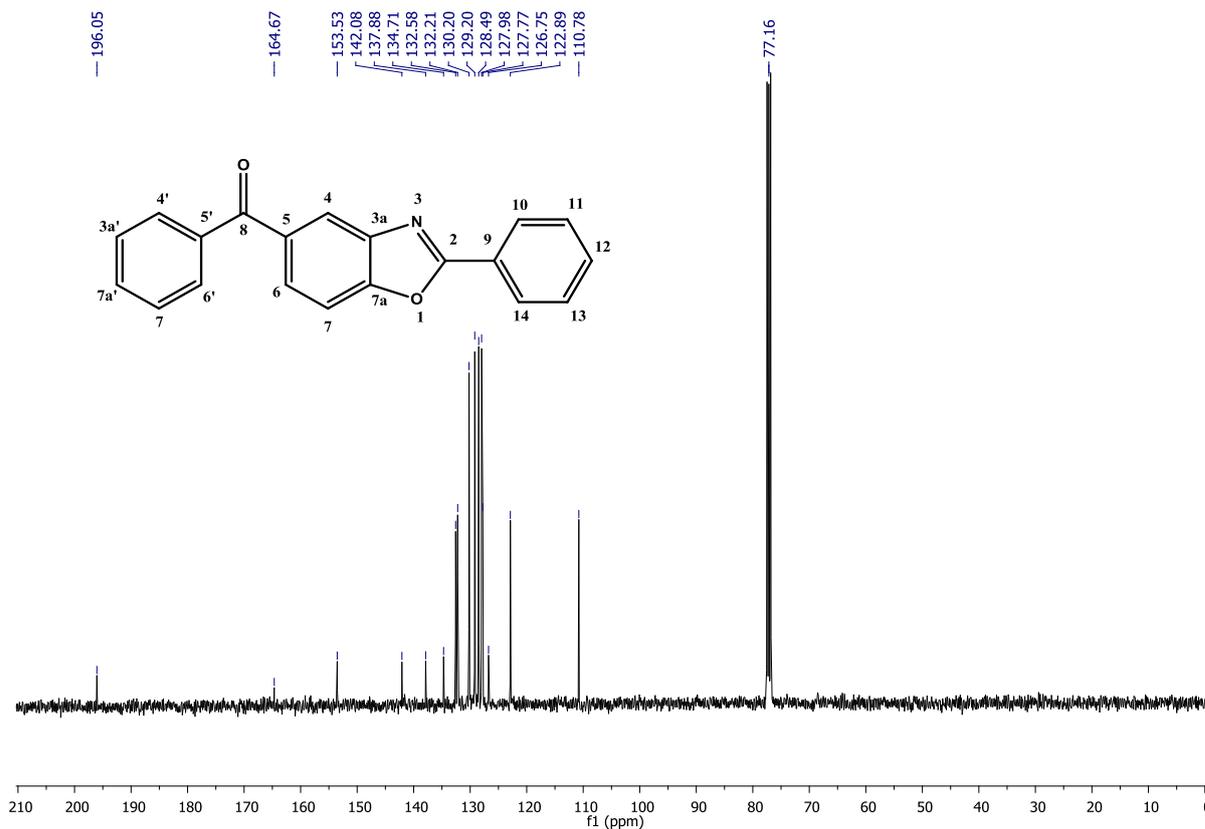


Figura 39 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de **22b**.  
Fonte: Da autora.

Todos os derivados **22c-e** e **22h-k** apresentaram basicamente o mesmo padrão de sinais em seus espectros de RMN de <sup>13</sup>C, porém algumas diferenças podem ser observadas quanto aos sinais referentes aos carbonos que estão diretamente ligados ao substituinte. Nos espectros dos derivados **22c** e **22i** (Figuras 64 e 68, pag. 101 e 105, respectivamente), por exemplo, foi possível observar o sinal referente a C-12, em ambos os casos, em  $\delta$  149,8, devido a presença do grupo nitro, retirador de elétrons, o que levou ao deslocamento químico deste carbono, quando comparado ao sinal atribuído ao mesmo carbono em **22b** ( $\delta$  128,5). Assim como um pequeno efeito de desblindagem de C-12 causado pelo cloro em **22d** e **22j**, devido à sua eletronegatividade, que diminui a densidade eletrônica neste carbono e aumenta o deslocamento químico, podendo ser observado um sinal em  $\delta$  134,8 e 134,7, respectivamente, nos espectros correspondentes (Figuras 65 e 69, pag. 102 e 106, respectivamente). Nos espectros dos derivados **22e** e **22k**, os sinais referentes ao carbono C-12, ligado diretamente à metoxila, aparecem em  $\delta$  162,9 em ambos os casos (Figuras 66 e 70, pag. 103 e 107, respectivamente). O átomo de oxigênio extremamente eletronegativo, ligado diretamente a este carbono, provoca um efeito de desblindagem, diminuindo a sua densidade eletrônica, e resultando no aumento de seu deslocamento químico.

Diante do insucesso em se obter os derivados **22f** e **22l**, outros derivados com uma cadeia alifática e uma carboxila em sua extremidade foram sintetizados. As aminas **25a** e **25b** foram submetidas à reação com anidrido succínico, para formação das respectivas amidas (Figura 40) (TEMPERINI et al., 2010).

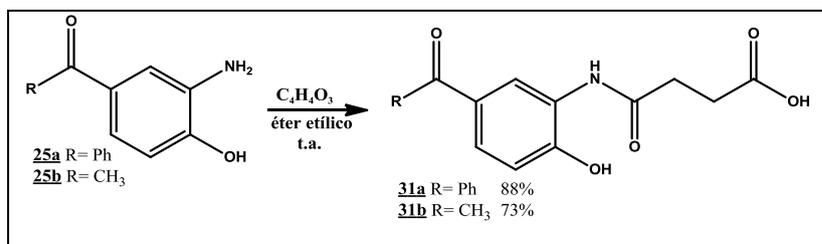


Figura 40 – Representação esquemática para síntese de **31a** e **31b**.

Fonte: Da autora.

O mecanismo proposto para esta reação é representado na Figura 41.

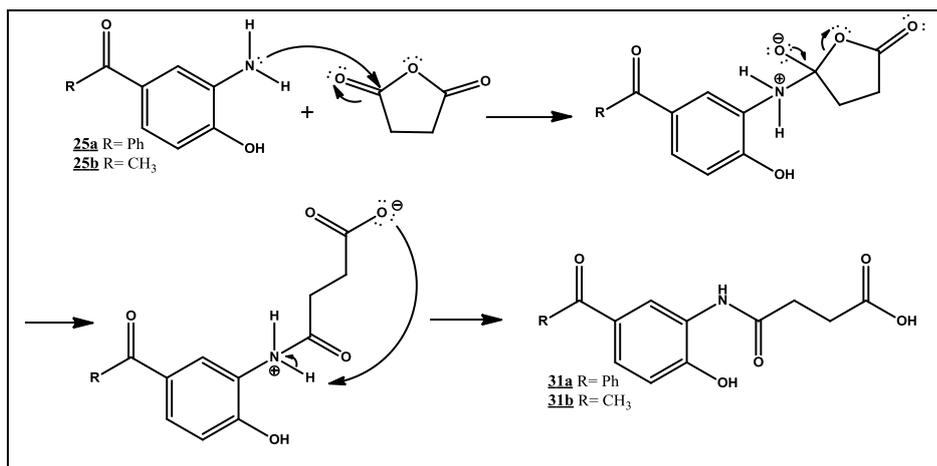


Figura 41 – Mecanismo de reação proposto para síntese de **31a** e **31b**.

Fonte: PELISSON (2007).

Os produtos **31a** e **31b** foram obtidos com rendimentos de 88 e 73%, respectivamente, exibidos na Figura 40, na forma de sólidos amorfos de coloração marrom, que foram purificados por recristalização em água/metanol (1:1 v/v) e utilizados imediatamente na etapa seguinte. Então, **31a** e **31b** foram submetidos à reação de ciclização intramolecular, sob aquecimento na presença de anidrido acético, em THF (Figura 42) (TRUJILLO-FERRERA et al, 2004).

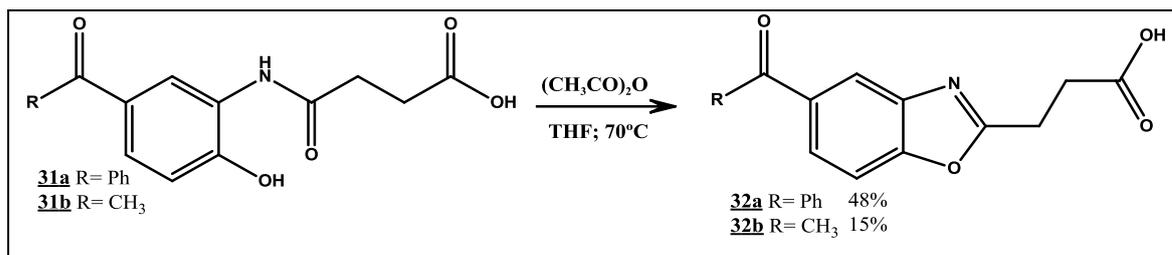


Figura 42 – Representação esquemática para síntese de **32a** e **32b**.

Fonte: Da autora.

Acredita-se que esta reação siga a proposta de mecanismo representada na Figura 43, a seguir:

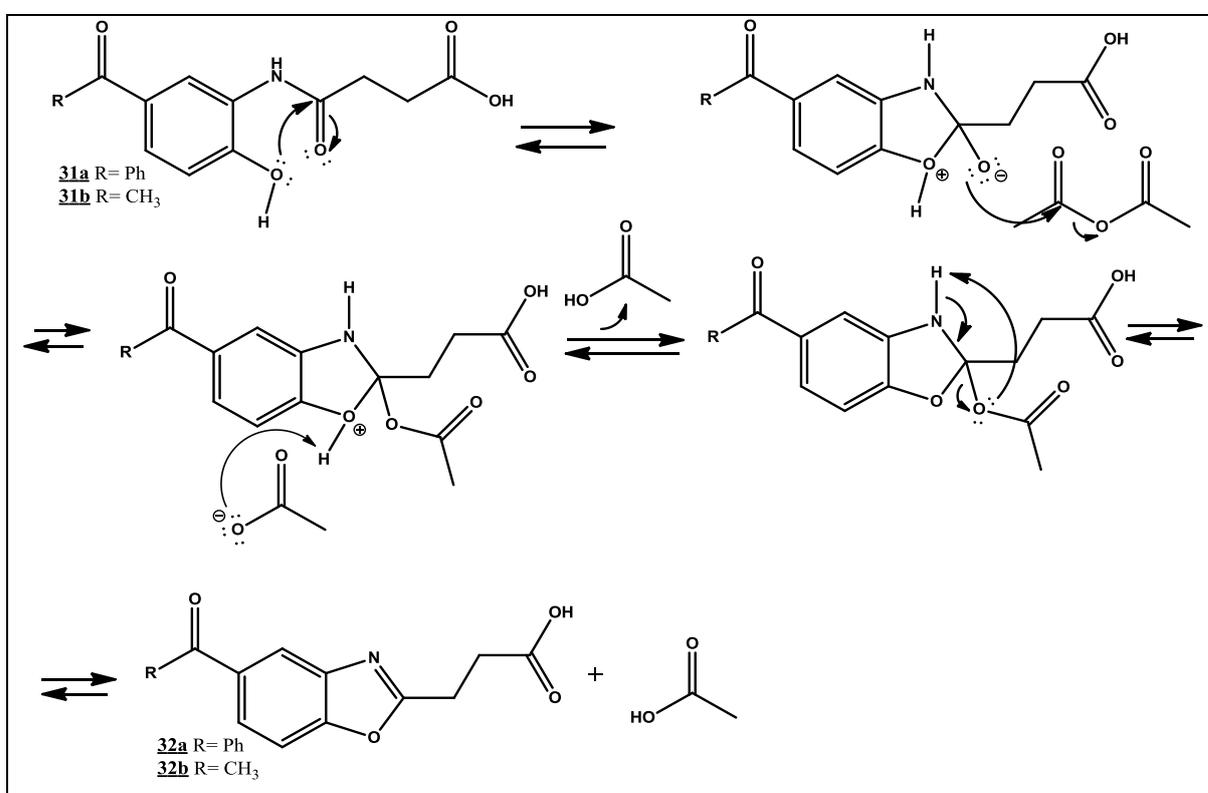


Figura 43 – Mecanismo de reação proposto para obtenção de **32a** e **32b**.

Fonte: Da autora.

Os produtos **32a** e **32b** foram purificados por recristalização, com rendimentos de 48 e 15%, respectivamente, exibidos na Figura 42, na forma de sólidos amorfos. No espectro de absorção na região do infravermelho de **32a** (Figura 44) foi possível observar a banda em 1651  $\text{cm}^{-1}$  característica de deformação axial de ligação C=N indicando a formação do anel benzoxazólico. Além desta, e entre outras, destacam-se as bandas de deformação axial das carbonilas: em 1761  $\text{cm}^{-1}$  referente a deformação da ligação C=O do grupo cetona, e em 1712  $\text{cm}^{-1}$  referente a deformação da ligação C=O de ácido carboxílico.

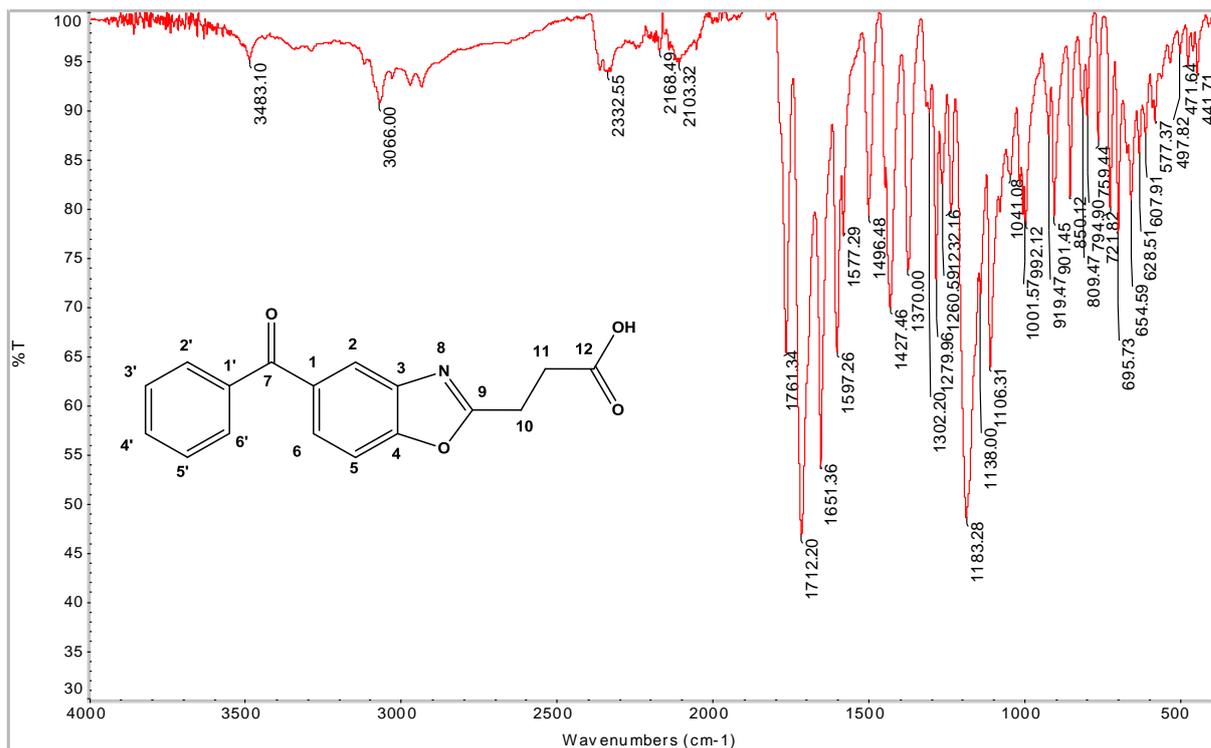


Figura 44 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **32a**.  
Fonte: Da autora.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **32a** (Figura 45), além dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos da benzofenona, pôde ser observado um multiplete no intervalo de  $\delta$  2,76-2,91 referente a quatro hidrogênios metilênicos H-10 e H-11.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **32a** (Figura 46) foi possível observar, dentre outros sinais, aquele em  $\delta$  167,5 referente ao C-9 do anel benzoxazólico, bastante desblindado, pois além de sua hibridização  $sp^2$ , encontra-se diretamente ligado a dois átomos eletronegativos, o oxigênio e o nitrogênio. Além desse, o sinal em  $\delta$  176,1 referente ao grupo C=O do ácido carboxílico e os carbonos metilênicos foram relacionados ao sinal registrado em  $\delta$  28,6 (C-10 e C-11).

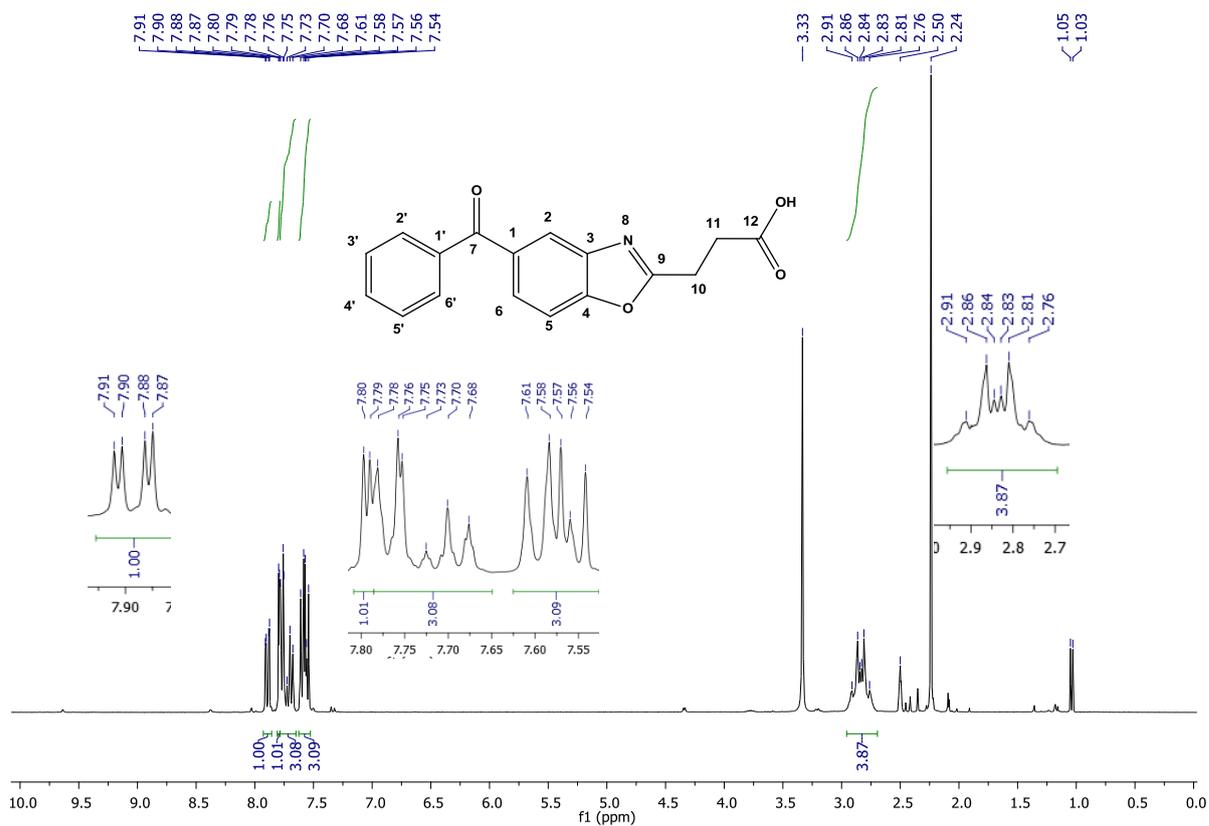


Figura 45 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 300 MHz) de **32a**.

Fonte: Da autora.

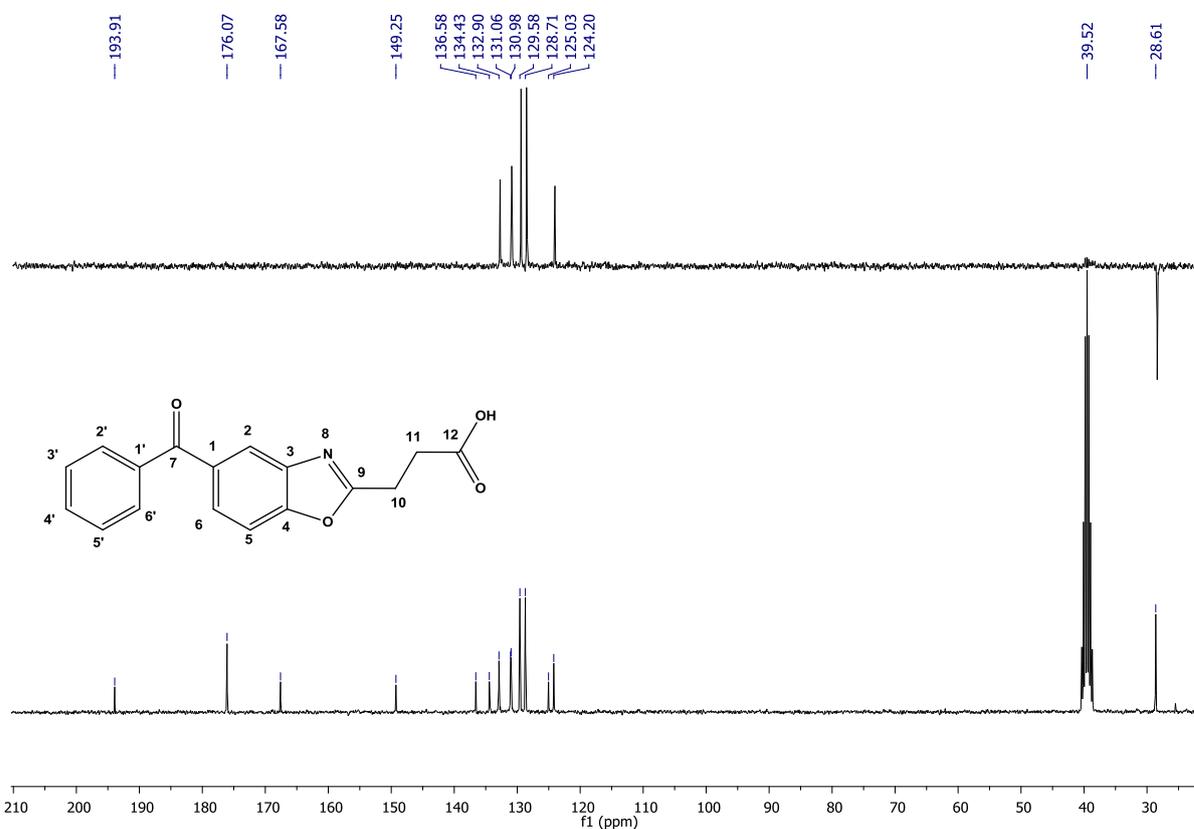


Figura 46 – Espectro de DEPT 135 (DMSO- $d_6$ , 75 MHz) e RMN de  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 75 MHz) de **32a**.

Fonte: Da autora.

No espectro de absorção na região do infravermelho de **32b** (Figura 47) pôde ser observado, dentre outras, a banda referente ao estiramento C=N em  $1682\text{ cm}^{-1}$ , as bandas de deformação axial das ligações C-H em  $3073\text{ cm}^{-1}$  de compostos aromáticos, em  $2955\text{ cm}^{-1}$  C-H de carbonos primários e secundários alifáticos. As bandas referentes aos estiramentos das ligações C=O foram observadas em  $1759\text{ cm}^{-1}$  e em  $1700\text{ cm}^{-1}$  para cetona e ácido carboxílico, respectivamente.

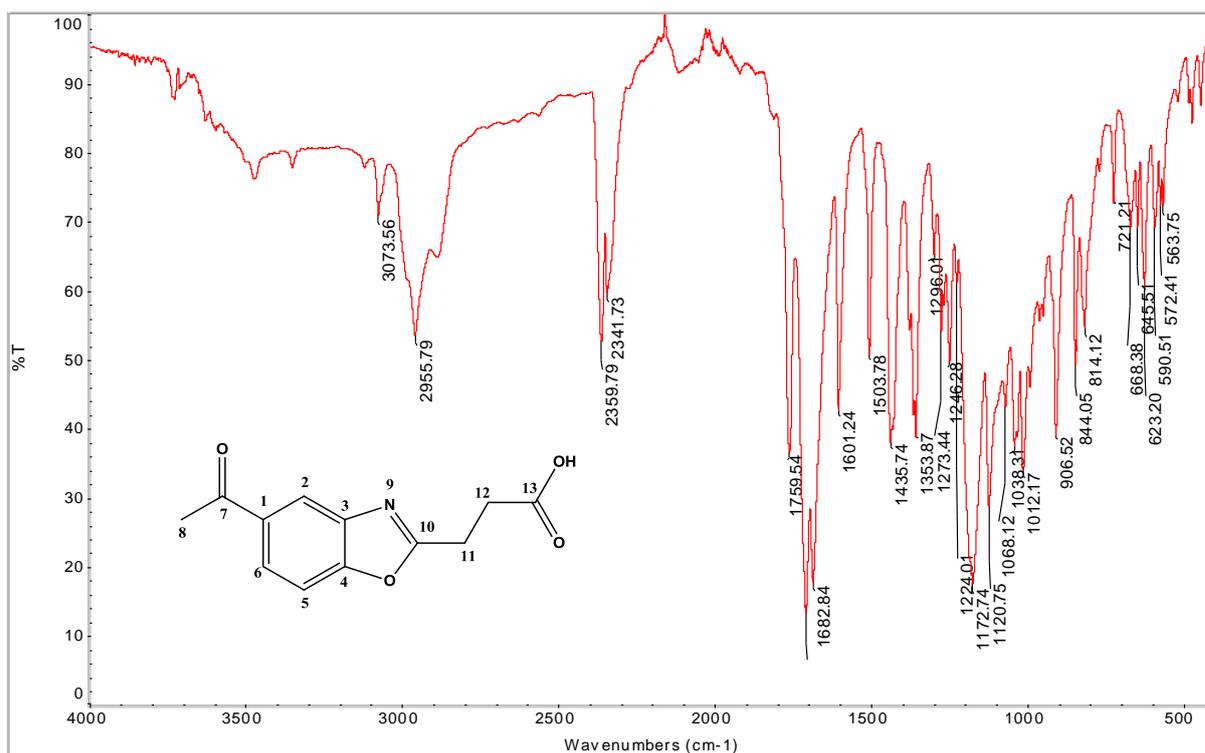


Figura 47 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **32b**.  
Fonte: Da autora.

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **32b** (Figura 48) além dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos da acetofenona, foi verificada a presença de um singlete em  $\delta$  2,92 atribuído aos quatro hidrogênios metilênicos (H-11 e H-12) e o sinal em  $\delta$  2,58 é referente aos hidrogênios metílicos (H-8).

Já no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **32b** (Figura 49) foi possível identificar o sinal em  $\delta$  167,3 atribuído ao carbono C-10 do anel benzoxazólico, assim como um sinal em  $\delta$  28,6 referente aos carbonos metilênicos (C-11 e C-12), que foram comprovados pelo espectro de DEPT 135. Destacam-se também os sinais referentes aos carbonos carbonílicos: em  $\delta$  195,8 (cetona) e em  $\delta$  175,1 (ácido carboxílico).

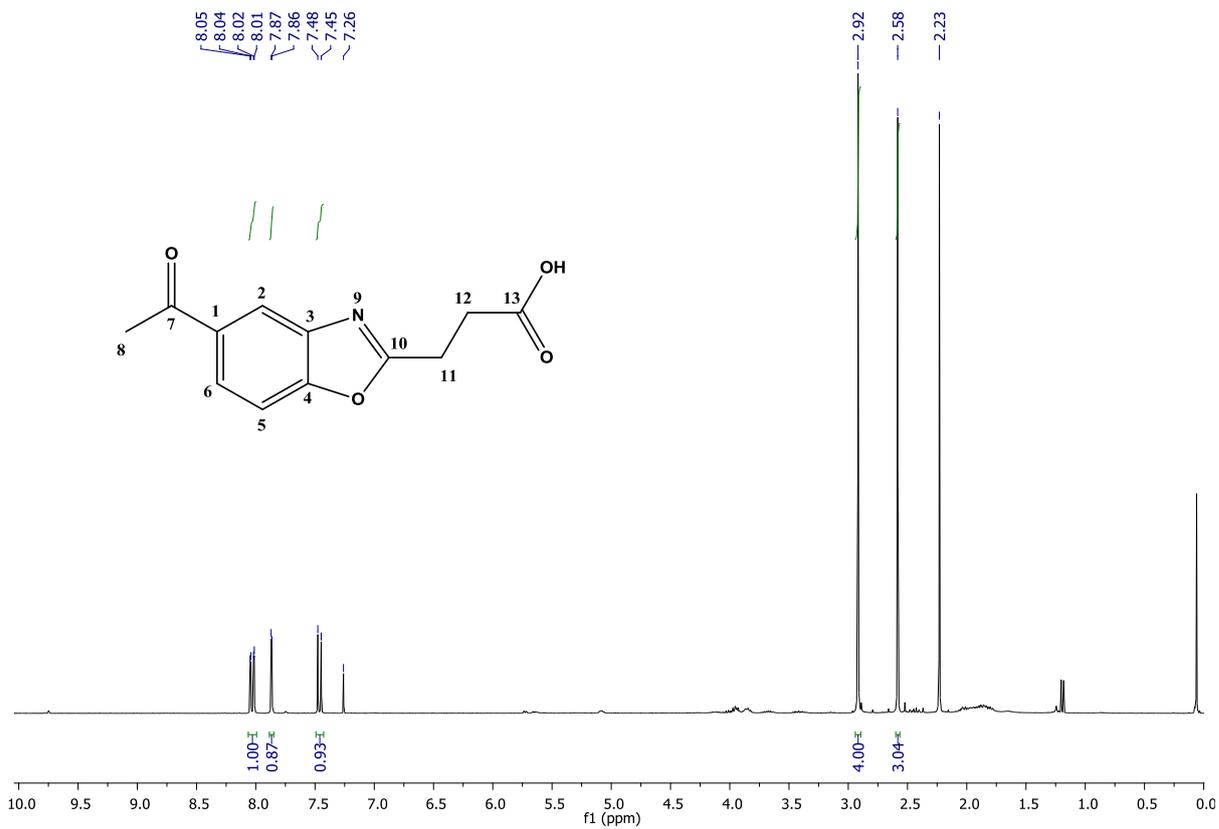


Figura 48 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) de **32b**.

Fonte: Da autora.

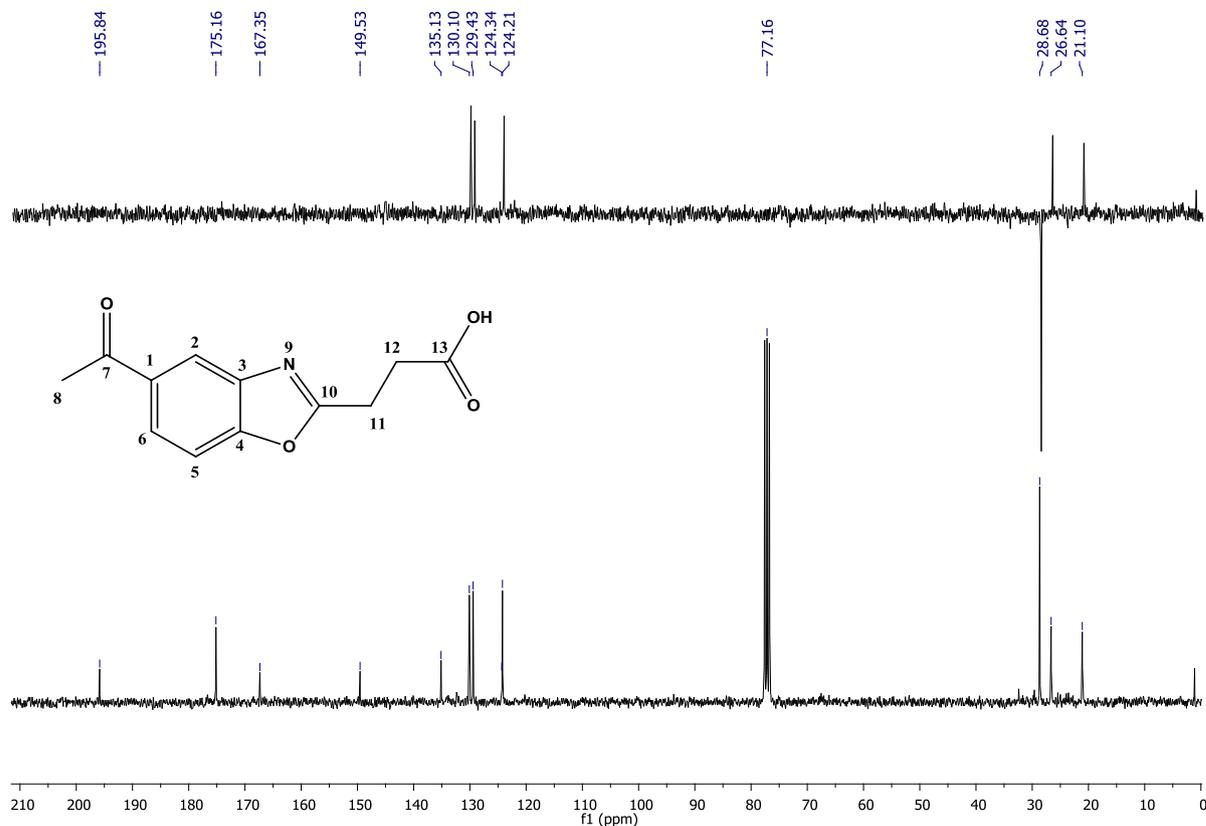


Figura 49 – Espectro de DEPT 135 (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) e RMN de  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) de **32b**.

Fonte: Da autora.

Após obter todos os derivados benzoxazólicos finais **22b-e**, **22h-k**, **32a** e **32b** purificados e caracterizados, estes foram submetidos à avaliação de seu potencial anti-*Leishmania* e inibidor de protease.

## 5.2 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Todas as substâncias obtidas, incluindo os reagentes de partida 4-hidroxibenzofenona (**23a**) e a 4-hidroxiacetofenona (**23b**), foram avaliadas contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis in vitro*, com exceção de **22c**, **22d** e **22i**, que não foram solúveis no meio de cultura. Os ensaios biológicos foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular da UNIFAL-MG, sob a supervisão do Prof. Marcos José Marques.

Para o teste de inibição da forma promastigota, as substâncias foram testadas nas concentrações de 0,1; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 80,0 e 160,0 µg/mL. Para melhor comparação dos resultados obtidos, os valores de CI<sub>50</sub> foram convertidos para µmol/L. De todas as substâncias testadas, **23a**, **24a**, **24b** e **22e** foram ativas, apresentando valores de CI<sub>50</sub> de 190,9; 158,4; 130,9 e 90,3 µmol/L, respectivamente. Os fármacos padrões utilizados, pentamidina e anfotericina B apresentaram CI<sub>50</sub> de 19,5 e 5,1 µmol/L, respectivamente (Tabela 1).

Pode ser observado que as substâncias apresentaram valores de CI<sub>50</sub> moderados, em relação aos padrões. O substituinte nitro da benzofenona (**24a**) e da acetofenona (**24b**) contribuiu para a melhora na atividade leishmanicida em relação aos seus materiais de partida, uma vez que a benzofenona (**23a**) e a acetofenona (**23b**) apresentaram CI<sub>50</sub> de 190,9 e >1176,5 µmol/L, respectivamente. Além disso, **24b** apresentou um índice de seletividade bastante interessante. Quanto ao benzoxazol, pode-se dizer que este grupo contribuiu para otimizar a atividade leishmanicida, uma vez que o derivado **22e**, com o substituinte metoxi, apresentou boa atividade, sendo a mais ativa dentre todas as substâncias testadas. E vale ressaltar também que tanto **22e** quanto **24a** e **24b** foram mais ativos que a benzofenona de partida **23a**, já com atividade anti-*Leishmania* conhecida.

Tabela 1 - Dados biológicos para os derivados benzoxazólicos **22b-e**, **22h-k**, **32a**, **32b** e **23a**, **23b**, **24a** e **24b**, em comparação com anfotericina B e pentamidina.

Substâncias	Promastigotas <sup>a</sup> CI <sub>50</sub> (µmol/L)	Macrófagos <sup>b</sup> CC <sub>50</sub> (µmol/L)	Índice de Seletividade (IS)	log P <sup>c</sup>
<b>23a</b>	190,9 ± 2,5	547,9 ± 17,5	2,85	3,13
<b>23b</b>	>1176,5	-	-	1,23
<b>24a</b>	158,4 ± 77,4	-	-	3,07
<b>24b</b>	130,9 ± 0,55	2368,3 ± 317,8	18,09	1,17
<b>22b</b>	>535,1	-	-	4,80
<b>22c</b>	nd	nd	-	4,74
<b>22d</b>	nd	nd	-	5,41
<b>22e</b>	90,3 ± 2,7	471,1 ± 64,5	5,22	4,65
<b>22h</b>	>675,1	-	-	2,90
<b>22i</b>	nd	nd	-	2,84
<b>22j</b>	>589,3	-	-	3,51
<b>22k</b>	>599,3	-	-	2,74
<b>32a</b>	>542,4	-	-	2,73
<b>32b</b>	>686,7	-	-	0,83
Pentamidina	19,5 ± 0,08	11,2 ± 3,8	0,58	-
Anfotericina B	5,1 ± 0,39	27,1 ± 2,3	5,31	-

Fonte: Da autora.

<sup>a</sup> Cada valor de CI<sub>50</sub> representa a média ± desvio padrão.

<sup>b</sup> Concentração de citotoxicidade para 50% de macrófagos.

<sup>nd</sup> Não determinado

<sup>c</sup> log P calculado pelo programa Marvin Sketch 5.6.0.1.

A partir dos resultados obtidos no teste *in vitro* contra a forma promastigota de *L. amazonensis*, foi realizado o teste antiproteolítico. Foram utilizadas as enzimas papaína, da classe das cisteíno proteases, e tripsina, da classe das serino proteases, Z-Phe-Arg-7-amido-4-metilcoumaril (Z-Phe-Arg-MCA) como substrato e **TLCK** (*N*-α-tosil-L-lisil-clorometilcetona) e **E64** (*trans*-epoxisuccinil-L-leucilamido(4-guanidino)butano) como padrões de inibidores para tripsina e papaína, respectivamente. Os resultados obtidos estão representados na tabela a seguir (Tabela 2):

Tabela 2 – Efeito inibitório das substâncias sintéticas em cisteíno protease (papaína) e serino protease (tripsina).

Substâncias	Valores de $CI_{50}$ ( $\mu\text{mol/L} \pm$ Desvio Padrão) <sup>a</sup>	
	Tripsina	Papaína
<b><u>23a</u></b>	84,52 $\pm$ 10,45	0,17 $\pm$ 0,026
<b><u>24b</u></b>	16,27 $\pm$ 6,28	0,49 $\pm$ 0,022
<b><u>22e</u></b>	43,48 $\pm$ 4,61	0,55 $\pm$ 0,076
<b>TLCK<sup>b</sup></b>	1,39 $\pm$ 0,65	-
<b>E64<sup>b</sup></b>	-	0,64 $\pm$ 0,13

Fonte: Da autora.

<sup>a</sup> Cada valor de  $CI_{50}$  representa a média  $\pm$  desvio padrão determinado pelo software Grafit 5.0.

<sup>b</sup> As substâncias **TLCK** e **E64** foram usadas como inibidores de referência para as proteases correspondentes que foram ensaiadas.

Como pôde ser observado, todas as substâncias avaliadas foram mais ativas contra a papaína do que contra a tripsina, sendo todas (**23a**, **24b** e **22e**) mais ativas ( $CI_{50}$  de 0,17; 0,49 e 0,55  $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente) que o inibidor padrão, **E64** ( $CI_{50}$  de 0,64  $\mu\text{mol/L}$ ). Segundo Pereira e colaboradores (2011), as cisteíno proteases são expressas em altos níveis em parasitos do gênero *Leishmania*, e que as cisteíno proteases conhecidas específicas de *Leishmania* (CPB2.8 e CPB3.0) são semelhantes à papaína, o que faz com que as substâncias testadas sejam promissoras inibidoras destas enzimas e potenciais agentes anti-*Leishmania*.

Dessa forma, de todas as substâncias testadas, as que apresentaram atividades promissoras foram o derivado benzoxazólico de benzofenona **22e**, que contém o grupo metoxila como substituinte do anel aromático, a única com grupo doador de elétrons, sendo uma substância inédita, apresentando resultado em ambos os testes, e o derivado nitrado da acetofenona **24b**, mostrando que o substituinte nitro contribuiu para a melhora na atividade desta substância. Pode-se inferir que a atividade anti-*Leishmania* apresentada por **22e** e **24b** possa estar ligada à inibição de cisteíno-proteases presentes no parasito, essenciais para o seu crescimento e desenvolvimento do parasito.

## 6 MATERIAIS E MÉTODOS

Os métodos experimentais utilizados serão apresentados a seguir, tanto para a síntese dos produtos desejados, com os dados espectrais de cada produto caracterizado, assim como os métodos utilizados para realização dos ensaios biológicos.

### 6.1 MÉTODOS GERAIS

Os solventes utilizados foram obtidos a partir de similares comerciais, sem prévia purificação e/ou destilação.

Todas as reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), sendo utilizadas placas de sílica gel 60 G, de 0,20 mm de espessura, em base de alumínio e indicador de fluorescência UV 254. As placas foram visualizadas sob luz ultravioleta em comprimentos de onda 254 nm e/ou 360 nm. Foi utilizado também, em alguns casos, um revelador de solução etanólica de ninhidrina 0,2% p/v, ou solução etanólica H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, de acordo com a necessidade.

Para a purificação dos produtos foram utilizadas as técnicas de recristalização ou cromatografia em coluna de vidro de diâmetro interno adequado para cada caso (em sílica-gel 60 230 – 400 Mesh<sup>®</sup> - 0,200 a 0,360 nm).

Os pontos de fusão foram medidos em aparelho Aaker PFM-II do Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal, Instituto de Química, UNIFAL-MG.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Thermo Scientific Nicolet-iS50 e os valores dados em número de onda ( $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$ ). As análises no IV foram realizadas no Laboratório de Análise Química de Fármacos, Instituto de Química, UNIFAL-MG.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos em espectrômetro Bruker AC-300, do Instituto de Química, UNIFAL-MG, e também em parceria com o Instituto de Química, UFSCar, em espectrômetro Bruker DRX 400 MHz.

Para a avaliação da citotoxicidade, foi utilizado espectrofotômetro Shimadzu, duplo-feixe, modelo 2550, do Departamento de Ciências da Natureza, UNIFAL-MG.

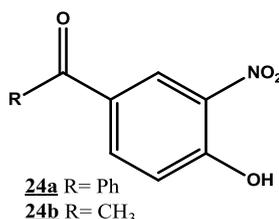
Para a avaliação da atividade inibitória de protease foi utilizado o espectrofotômetro de fluorescência Cary Eclipse, do Instituto de Química, UNIFAL-MG.

As enzimas papaína e tripsina utilizadas no ensaio biológico foram obtidas comercialmente.

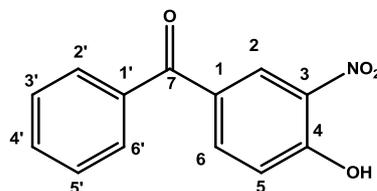
## 6.2 QUÍMICA

Todas as tentativas de obtenção e todos os produtos obtidos foram sintetizados a partir de métodos descritos na literatura científica, que serão descritos detalhadamente a seguir.

### 6.2.1 Procedimento geral para preparação de 24a e 24b (SUDARMA et al., 2014).



Em balão de fundo redondo de 50 mL, foi adicionada 4-hidroxibenzofenona ou 4-hidroxiacetofenona (1,26 mmol), em 15 mL de diclorometano, sob agitação magnética. Em seguida, foram adicionados nitrito de sódio (7,32 mmol) e hidrogenossulfato de potássio (6,82 mmol). Em um béquer a parte foi preparada a suspensão de sílica gel para cromatografia em coluna e água (50% p/p) que foi adicionada à mistura reacional, que permaneceu em agitação magnética vigorosa por 15 horas, quando por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2) foi verificado o consumo total do material de partida. A mistura reacional foi filtrada e o sólido lavado com 40 mL de diclorometano. O solvente foi evaporado e o resíduo foi purificado por recristalização em mistura água: metanol (1:1 v/v).

6.2.1.1 4-hidroxi-3-nitrobenzofenona (**24a**).

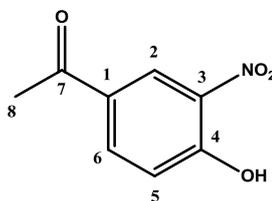
O produto foi obtido a partir do procedimento descrito no item 6.2.1, na forma de um sólido amarelo amorfo, com rendimento de 98%. Faixa de Fusão: 105-107°C.

**C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>4</sub>** MM = 243,218 g/mol.

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ) 7,28 (d, 1H, H-5, <sup>3</sup>J<sub>H-5-H-6</sub> = 8,7 Hz), 7,49-7,55 (m, 2H, H-3', H-5'), 7,64 (tt, 1H, H-4', <sup>3</sup>J<sub>H-4'-H-3'</sub> = H-4'-H-5' = 1,2 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H-4'-H-2'</sub> = H-4'-H-6' = 7,5 Hz), 7,74-7,78 (m, 2H, H-2', H-6'), 8,12 (dd, 1H, H-6, <sup>4</sup>J<sub>H-6-H-2</sub> = 2,1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>H-6-H-5</sub> = 8,7 Hz), 8,58 (d, 1H, H-2, <sup>4</sup>J<sub>H-2-H-6</sub> = 2,1 Hz).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz, δ) 193,2 (C-7), 157,8 (C-4), 138,4 (C-6, C-1'), 136,6 (C-3), 132,9 (C-4'), 129,8 (C-1), 129,6 (C-2', C-6'), 128,6 (C-3', C-5'), 127,8 (C-2), 120,3 (C-5).

IV (ν<sub>max</sub>/cm<sup>-1</sup>) 3296 (O-H), 3069 (C-H aromáticos), 1660 (C=O), 1609, 1569 e 1525 (C=C de aromáticos), 1525 (NO<sub>2</sub> v<sub>as</sub>) e 1319 (NO<sub>2</sub> v<sub>s</sub>).

6.2.1.2 4-hidroxi-3-nitroacetofenona (**24b**).

O produto foi obtido a partir do procedimento descrito no item 6.2.1, na forma de um sólido amarelo amorfo, com rendimento de 65%. Faixa de fusão: 145-148°C.

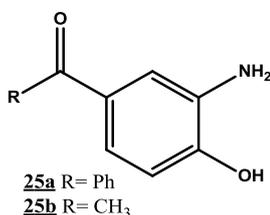
**C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>** MM = 181,147 g/mol.

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ) 2,62 (s, 3H, H-8) 7,24 (d, 1H, H-5, <sup>3</sup>J<sub>H-5-H-6</sub> = 9 Hz) 8,20 (dd, 1H, H-6, <sup>3</sup>J<sub>H-6-H-5</sub> = 9 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H-6-H-2</sub> = 2,1 Hz) 8,71 (d, 1H, H-2, <sup>4</sup>J<sub>H-2-H-6</sub> = 2,1 Hz).

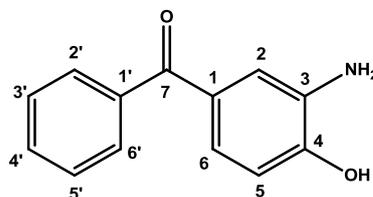
RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz,  $\delta$ ) 194,8 (C-7) 158,4 (C-4) 136,7 (C-3) 129,9 (C-6) 126,3 (C-1) 120,7 (C-2) 115,7 (C-5) 26,4 (C-8).

I.V. ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ) 3269 (O-H), 3106 (C-H aromático), 2927 (C-H de carbono primário), 1676 (C=O), 1616, 1560 e 1525 (C=C de aromáticos), 1525 ( $\text{NO}_2$   $\nu_{\text{as}}$ ), 1334 ( $\text{NO}_2$   $\nu_{\text{s}}$ ).

### 6.2.2 Procedimento geral para preparação de **25a** e **25b** (BELLAMY, 1984).



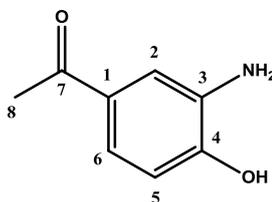
Em balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado a 4-hidroxi-3-nitrobenzofenona (**24a**) ou 4-hidroxi-3-nitroacetofenona (**24b**) (1,03 mmol), solubilizada em 9 mL de etanol, sob agitação magnética. Em seguida, foi adicionado o cloreto de estanho II diidratado ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (5,14 mmol). A mistura reacional foi mantida a  $70^\circ\text{C}$  por três horas, até que foi verificado o final da reação pelo consumo do material de partida, observado por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 8:2, relevado também com solução etanólica de ninhidrina 0,2%). A mistura reacional foi vertida em um béquer com água e gelo, e o pH foi ajustado até aproximadamente 7, com solução de bicarbonato de sódio  $\text{NaHCO}_3(\text{aq})$  10% p/v. Foi feita uma extração com acetato de etila (3 x de 30 mL) em funil de separação. As fases orgânicas reunidas foram secas em sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente foi evaporado em rotaevaporador. Os produtos obtidos foram utilizados imediatamente na etapa seguinte, sem purificação.

6.2.2.1 3-amino-4-hidroxibenzofenona (**25a**).

O produto foi obtido a partir do procedimento descrito no item 6.2.2, na forma de um óleo amarelo, com rendimento bruto de 97%, e foi utilizado na etapa seguinte sem prévia purificação.

$C_{13}H_{11}NO_2$  MM = 213,236 g/mol.

I.V. ( $v_{max}/cm^{-1}$ ) 3440 (O-H fenólico), 3382 ( $NH_2$   $v_{as}$ ), 3351 ( $NH_2$   $v_s$ ), 3053 (C-H), 1651 (C=O), 1584 (N-H deformação angular), 1564 (C=C), 1280 (C-O-H), 1213 (C-N).

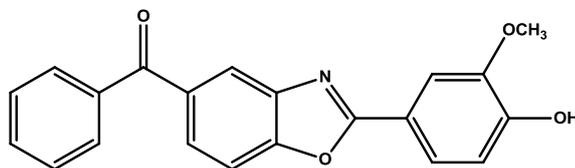
6.2.2.2 3-amino-4-hidroxi acetofenona (**25b**).

O produto foi obtido a partir do procedimento descrito no item 6.2.2, na forma de um óleo marrom, com rendimento bruto de 95%, e foi utilizado na etapa seguinte, sem prévia purificação.

$C_8H_9NO_2$  MM = 151,165 g/mol

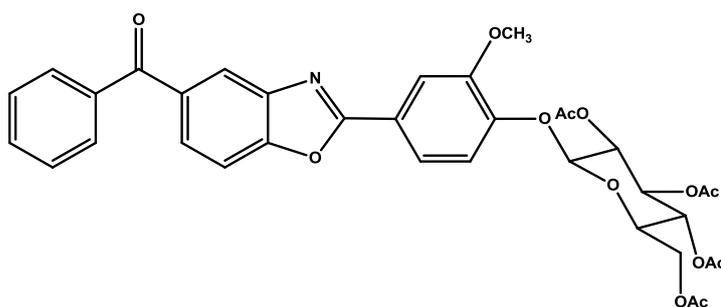
I.V. ( $v_{max}/cm^{-1}$ ) 3482 (O-H fenólico), 3384 ( $NH_2$   $v_{as}$ ), 3322 ( $NH_2$   $v_s$ ), 3080 (C-H de aromáticos), 1615 (C=O), 1581 (N-H deformação angular), 1518 (C=C), 1283 (C-O-H), 1212 (C-N).

### 6.2.3 Tentativa de preparação de [2-(4-hidroxi-3-metoxi)fenil-5-benzoxazolil]fenil metanona (22a)



Em balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (25a) (1,02 mmol), solubilizado em 15 mL de etanol absoluto. Em seguida foram adicionados 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (1,02 mmol) e a *p*-benzoquinona (1,02 mmol). O sistema reacional foi mantido em aquecimento à 70°C, sob agitação magnética. Após 43 horas, foram adicionados mais vanilina (0,514 mmol) e *p*-benzoquinona (0,514 mmol). Após 46 horas foi identificado o final da reação pelo consumo total do material de partida, observado por CCD (eluente: 6:4 hexano/acetato de etila). O produto foi purificado por cromatografia em coluna, com rendimento de 5,3%. Por análise de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  se observou não se tratar do produto desejado.

### 6.2.4 Tentativa de preparação de {2-[4-(2,3,4,6-tetra-*o*-acetil- $\beta$ -D-glicopiranosiloxi)-3-metoxi]fenil-5-benzoxazolil}fenil metanona (28)



Para a tentativa de síntese deste produto, foram testados cinco métodos.

1) Em um balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (25a) (1,02 mmol), solubilizado em 15 mL de etanol absoluto. Em seguida, foram adicionados o glicosídeo de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (1,02 mmol) e a *p*-benzoquinona (1,02 mmol). O sistema reacional foi

mantido em aquecimento à 70°C, sob agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 7:3 hexano/acetato de etila, revelador solução etanólica H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, seguido de aquecimento). Após 10 horas, a reação foi interrompida, pois foi observado que não houve reação.

2) Em um balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (**25a**) (0,47 mmol), solubilizado em 1 mL de metanol. Em seguida foi adicionado 5 mL de glicerol. O sistema reacional foi mantido em aquecimento à 90°C, sob agitação magnética. Após atingir a temperatura desejada, foi adicionado o glicosídeo de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (0,47 mmol). A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 6:4 hexano/acetato de etila, revelador solução etanólica H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, seguido de aquecimento). Após 28 horas, a reação foi interrompida, pois foi observado que não houve reação.

3) Em um balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (**25a**) (0,47 mmol), solubilizado em 5 mL de ácido acético glacial. Em seguida foi adicionado o glicosídeo de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (0,47 mmol). O sistema foi mantido em atmosfera de nitrogênio e sob aquecimento, à 110°C. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 6:4 hexano/acetato de etila, revelador solução etanólica H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, seguido de aquecimento). Após 9 horas, a reação foi interrompida, pois foi observado que não houve reação.

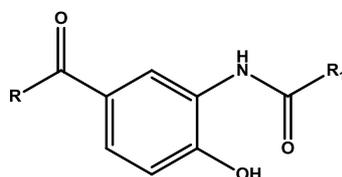
4) Primeiramente, foi preparado bissulfato de potássio adsorvido em sílica (KHSO<sub>4</sub>-SiO<sub>2</sub>). Em um balão de fundo redondo de 250 mL, foi adicionado o bissulfato de potássio (0,03 mol), em 20 mL de água destilada, sob agitação magnética. Em seguida foi adicionado 10 g de sílica para cromatografia em coluna (70-230 mesh). O sistema reacional foi levemente aquecido à 60°C, em constante agitação, por 15 minutos. Um sólido branco foi obtido. O sólido foi filtrado e seco em estufa à 120°C por 48 horas.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (**25a**) (0,235 mmol), solubilizado em 4 mL de dioxano. Em seguida foi adicionado o glicosídeo de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (0,282 mmol), e o bissulfato de potássio adsorvido em sílica (25% m/m). O sistema reacional foi mantido em aquecimento à 95°C, sob agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 6:4 hexano/acetato de etila, revelador solução etanólica H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, seguido de aquecimento). Após 10 horas, a reação foi interrompida, pois foi observado que não houve reação.

5) Primeiramente, foi preparado o aduto do aldeído com metabissulfito de sódio. Em balão de 100 mL foi adicionado o glicosídeo de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído (0,83 mmol), solubilizado em 10 mL de etanol absoluto, sob agitação magnética. Separadamente, o metabissulfito de sódio (0,0885 g) foi solubilizado em 0,6 mL de água destilada, e então adicionado ao sistema reacional, gota-a-gota. Após 5 horas sob agitação foi adicionado mais 2 mL de etanol e então armazenado em freezer. Após 17 horas, o precipitado foi filtrado à vácuo.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (**25a**) (0,47 mmol), solubilizado em 5 mL de *N,N*-dimetilformamida. Em seguida, o aduto preparado anteriormente foi adicionado (0,47 mmol). O sistema reacional foi mantido em aquecimento à 130°C, sob agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 6:4 hexano/acetato de etila, revelador solução etanólica H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15%, seguido de aquecimento). Após 22 horas, a reação foi interrompida, pois foi observado que não houve reação.

### 6.2.5 Procedimento geral para preparação de **30a-j** (SENER et al, 2000).

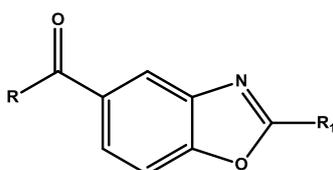


<b>30a</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = Ph	<b>30f</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = Ph
<b>30b</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = 4-NO <sub>2</sub> Ph	<b>30g</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = 4-NO <sub>2</sub> Ph
<b>30c</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = 4-ClPh	<b>30h</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = 4-ClPh
<b>30d</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = 4-OCH <sub>3</sub> Ph	<b>30i</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = 4-OCH <sub>3</sub> Ph
<b>30e</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	<b>30j</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foi adicionado o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (**25a** ou **25b**) (1,02 mmol), solubilizado em 5 mL de éter etílico, mantido sob agitação magnética. Em seguida, o cloreto de acila apropriado (1,02 mmol) foi solubilizado separadamente, em 5 mL de éter etílico, e então adicionado lentamente, gota-a-gota, sobre o sistema reacional que estava em banho de gelo. A reação seguiu à temperatura ambiente e foi acompanhada por CCD (eluente: 6:4 hexano/acetato de etila). Ao término da reação, observado pelo consumo total do material de partida, o solvente foi evaporado. Foram adicionados 15 mL de água destilada e a mistura foi transferida para um funil de separação. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (3 vezes de 30 mL). A fase orgânica foi então extraída com 25 mL de solução 10% de NaHCO<sub>3</sub>(aq), por 3 vezes. A nova fase aquosa foi

extraída com 30 mL de acetato de etila, por três vezes. Reuniram-se as duas fases orgânicas e secou-se com MgSO<sub>4</sub>(s) anidro, filtrou-se e então o solvente foi evaporado. O produto obtido foi utilizado imediatamente na etapa seguinte, sem prévia purificação.

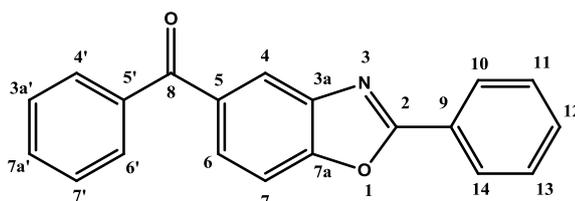
### 6.2.6 Procedimento geral para preparação de **22b-22f** e **22h-22l** (NAKAMURA; YASUI; BAN, 2013).



<b>22b</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = Ph	<b>22h</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = Ph
<b>22c</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = 4-NO <sub>2</sub> Ph	<b>22i</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = 4-NO <sub>2</sub> Ph
<b>22d</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = 4-ClPh	<b>22j</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = 4-ClPh
<b>22e</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = 4-OCH <sub>3</sub> Ph	<b>22k</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = 4-OCH <sub>3</sub> Ph
<b>22f</b> R= Ph; R <sub>1</sub> = CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	<b>22l</b> R= CH <sub>3</sub> ; R <sub>1</sub> = CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

Em balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado à um condensador de refluxo, foi adicionado o produto correspondente obtido na reação anterior (**30a-j**) (1,02 mmol), solubilizado em 25 mL de tolueno. Em seguida, foi adicionado ácido *p*-toluenossulfônico (3,06 mmol). O sistema reacional foi mantido em aquecimento à 110°C, sob agitação magnética. A reação foi acompanhada por CCD (eluente: 7:3 hexano/acetato de etila). Após 6 horas, foi observado o término da reação pelo consumo total do material de partida. O solvente foi evaporado e o produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna.

#### 6.2.6.1 (2-fenil-5-benzoxazolil)fenil metanona (**22b**).



Obtido na forma de um sólido branco, através do procedimento descrito no item 6.2.6. Rendimento de 71%. Faixa de fusão: 182-193°C.

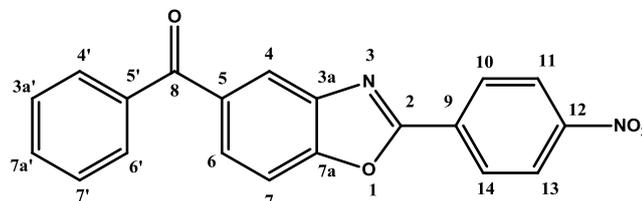
**C<sub>20</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>** MM = 299,329 g/mol.

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz,  $\delta$ ) 7,50 (t, 2H, H3a' e H7',  $^3J_{\text{H3a}'-\text{H7a}'} = \text{H3a}'-\text{H4}' = \text{H7}'-\text{H7a}' = \text{H7}'-\text{H6}' = 8\text{Hz}$ ) 7,53-7,58 (m, 3H, H11, H12 e H13) 7,61 (tt, 1H, H7a',  $^3J_{\text{H7a}'-\text{H3a}'} = \text{H7a}'-\text{H7}' = 7,6\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H7a}'-\text{H4}'} = \text{H7a}'-\text{H6}' = 1,2\text{ Hz}$ ) 7,69 (d, 1H, H7,  $^3J_{\text{H7}-\text{H6}} = 8,4\text{ Hz}$ ) 7,84 (dd, 2H, H4' e H6',  $^3J_{\text{H4}'-\text{H3a}'} = \text{H6}'-\text{H7}' = 8,2\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H4}'-\text{H7a}'} = \text{H6}'-\text{H7a}' = 1,2\text{ Hz}$ ) 7,94 (dd, 1H, H6,  $^3J_{\text{H6}-\text{H7}} = 8,4\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H6}-\text{H4}} = 1,6\text{ Hz}$ ) 8,21 (d, 1H, H4,  $^4J_{\text{H4}-\text{H6}} = 1,6\text{ Hz}$ ) 8,28 (dd, 2H, H10 e H14,  $^3J_{\text{H10}-\text{H11}} = \text{H14}-\text{H13} = 7,8\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H10}-\text{H12}} = \text{H14}-\text{H12} = 1,2\text{ Hz}$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz,  $\delta$ ) 196,1 (C-8), 164,7 (C-2), 153,5 (C-7a), 142,1 (C-3a), 137,9 (C-5'), 134,7 (C-5), 132,6 (C-7a'), 132,2 (C-9), 130,2 (C-4' e C-6'), 129,2 (C-11 e C-13), 128,5 (C-12), 127,9 (C-3a' e C7'), 127,8 (C-10 e C-14), 126,8 (C-6), 122,9 (C-4), 110,8 (C-7).

I.V. ( $v_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ) 3052 (C-H aromáticos), 1643 (C=O cetona), 1623 (C=N), 1603, 1596, 1574 e 1557 (C=C aromáticos), 1278 (C-O  $v_{\text{as}}$ ), 1048 (C-O  $v_{\text{s}}$ ).

#### 6.2.6.2 [2-(4-nitrofenil)-5-benzoxazolil]fenil metanona (**22c**).



Obtido na forma de um sólido amarelo claro, através do procedimento descrito no item 6.2.6. Rendimento de 40%. Faixa de fusão: 221-225°C.

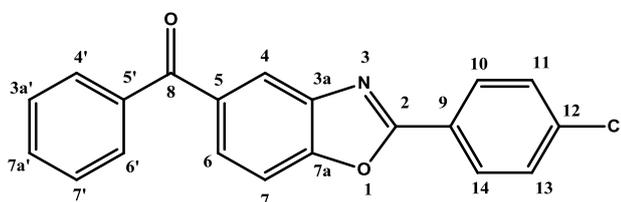
$\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$  MM = 344,326 g/mol.

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ) 7,51 (t, 2H, H3a' e H7',  $^3J_{\text{H3a}'-\text{H7a}'} = \text{H3}'-\text{H4}' = \text{H7}'-\text{H7a}' = \text{H7}'-\text{H6}' = 7,2\text{ Hz}$ ) 7,62 (tt, 1H, H7a',  $^3J_{\text{H7a}'-\text{H3a}'} = \text{H7a}'-\text{H7}' = 7,2\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H7a}'-\text{H4}'} = \text{H7a}'-\text{H6}' = 1,5\text{ Hz}$ ) 7,73 (d, 1H, H7,  $^3J_{\text{H7}-\text{H6}} = 8,4\text{ Hz}$ ) 7,83 (dd, 2H, H4' e H6,  $^3J_{\text{H4}'-\text{H3a}'} = \text{H6}'-\text{H7}' = 7,2\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H4}'-\text{H7a}'} = \text{H6}'-\text{H7a}' = 1,5\text{ Hz}$ ) 7,99 (dd, 1H, H6,  $^3J_{\text{H6}-\text{H7}} = 8,7\text{ Hz}$ ,  $^4J_{\text{H6}-\text{H4}} = 1,5\text{ Hz}$ ) 8,24 (d, 1H, H4,  $^4J_{\text{H4}-\text{H6}} = 1,2\text{ Hz}$ ) 8,39 (d, 2H, H10 e H14,  $^3J_{\text{H10}-\text{H11}} = \text{H14}-\text{H13} = 9\text{ Hz}$ ) 8,44 (d, 2H, H11 e H13,  $^3J_{\text{H11}-\text{H10}} = \text{H13}-\text{H14} = 9\text{ Hz}$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz,  $\delta$ ) 195,7 (C-8), 162,2 (C-2), 153,6 (C-7a), 149,8 (C-12), 141,8 (C-3a), 137,6 (C-5'), 135,3 (C-9'), 132,8 (C-5), 132,3 (C-7a'), 130,2 (C-10 e C-14), 128,7 (C4', C6', C11 e C13), 128,5 (C-3a' e C6'), 124,4 (C-6), 123,4 (C-4), 111,1 (C-7).

I.V. ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ) 3108 (C-H aromáticos), 1654 (C=O cetona), 1624 (C=N), 1596, 1576 e 1554 (C=C aromáticos), 1512 ( $\text{NO}_2$   $\nu_{\text{as}}$ ), 1340 ( $\text{NO}_2$   $\nu_{\text{s}}$ ), 1281 (C-O  $\nu_{\text{as}}$ ), 1049 (C-O  $\nu_{\text{s}}$ ).

### 6.2.6.3 [2-(4-clorofenil)-5-benzoxazolil]fenil metanona (**22d**).



Obtido na forma de um sólido branco, através do procedimento descrito no item 6.2.6.

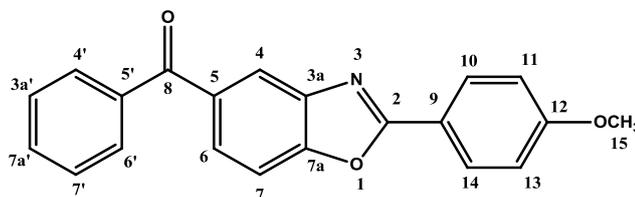
Rendimento de 60%. Faixa de fusão: 195-198°C.

**C<sub>20</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>2</sub>Cl** MM = 333,771 g/mol.

RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz,  $\delta$ ) 7,48-7,54 (m, 4H, H11, H13, H3a', H7') 7,61 (tt, 1H, H7a',  $^3J_{\text{H7a}'-\text{H3a}'=\text{H7a}'-\text{H7}'} = 7,2$  Hz,  $^4J_{\text{H7a}'-\text{H4}'=\text{H7a}'-\text{H6}'} = 1,2$  Hz) 7,66 (dd, 1H, H7,  $^3J_{\text{H7}-\text{H6}} = 8,4$  Hz,  $^5J_{\text{H7}-\text{H4}} = 0,4$  Hz) 7,82-7,84 (m, 2H, H4' e H6') 7,94 (dd, 1H, H6,  $^3J_{\text{H6}-\text{H7}} = 8,4$  Hz,  $^4J_{\text{H6}-\text{H4}} = 1,6$  Hz) 8,18-8,22 (m, 3H, H10, H14, H4).

RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz,  $\delta$ ) 195,9 (C-8), 163,7 (C-2), 153,5 (C-7a), 142,0 (C-3a), 138,5 (C-5'), 137,8 (C-5), 134,8 (C-12), 132,6 (C-7a'), 130,2 (C-4' e C-6'), 129,6 (C-11 e C-13), 129,2 (C-10 e C-14), 128,5 (C-9), 127,9 (C-3a' e C-7'), 125,0 (C-6), 122,9 (C-4), 110,8 (C-7).

I.V. ( $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ ) 3067 (C-H aromáticos), 1657 (C=O cetona), 1617 (C=N), 1596, 1576 e 1548 (C=C aromáticos), 1293 (C-O  $\nu_{\text{as}}$ ), 1048 (C-O  $\nu_{\text{s}}$ ), 1016 (Ph-Cl).

6.2.6.4 [2-(4-metoxifenil)-5-benzoxazolil]fenil metanona (**22e**).

Obtido na forma de um sólido branco, através do procedimento descrito no item 6.2.6.

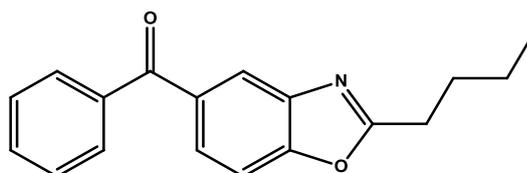
Rendimento de 33%. Faixa de fusão: 170-175°C.

$C_{21}H_{15}NO_3$  MM = 329,355 g/mol.

RMN de  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz,  $\delta$ ) 3,90 (s, 3H, H15) 7,04 (d, 2H, H11 e H13,  $^3J_{H11 \text{ e } H13 - H10 \text{ e } H14} = 9,2$  Hz) 7,50 (t, 2H, H3a' e H7',  $^3J_{H3a' - H4' = H3a' - H7a' = H7' - H7a' = H7' - H6' = 7,6}$  Hz) 7,59-7,62 (m, 1H, H7a') 7,64 (d, 1H, H7,  $^3J_{H7 - H6} = 8,4$  Hz) 7,83 (d, 2H, H-4' e H-6',  $^3J_{H4' - H3a' = H6' - H7' = 7,2}$  Hz) 7,90 (dd, 1H, H6,  $^3J_{H6 - H7} = 8,4$  Hz,  $^4J_{H6 - H4} = 1,6$  Hz) 8,16 (d, 1H, H4,  $^4J_{H4 - H6} = 1,2$  Hz) 8,21 (d, 2H, H10 e H14,  $^3J_{H10 - H11 = H14 - H13} = 8,8$  Hz).

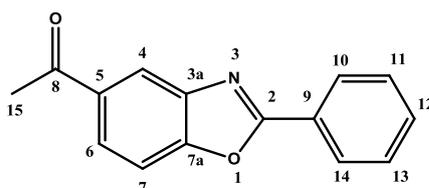
RMN de  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz,  $\delta$ ) 196,1 (C-8), 164, 8 (C-2), 162,9 (C-12), 153,5 (C-7a), 142,2 (C-3a), 137,9 (C-5'), 134,5 (C-5), 132,5 (C-7a'), 130,2 (C-4' e C-6'), 129,8 (C3a' e C-7'), 128,5 (C-6), 127,4 (C-9), 122,4 (C-4), 119,2 (C-10 e C-14), 114,6 (C-11 e C-13), 110,5 (C-7), 55,7 (C-15).

I.V. ( $v_{max}/cm^{-1}$ ) 3055 (C-H aromáticos), 2922 ( $CH_3$ ), 1645 (C=O cetona), 1608 (C=N), 1578 e 1498 (C=C aromáticos), 1292 (C-O  $v_{as}$ ), 1030 (C-O  $v_s$ ).

6.2.6.5 (2-butil-5-benzoxazolil)fenil metanona (**22f**).

Ao preparar o produto para purificação por cromatografia em coluna, observou-se a abertura do anel benzoxazólico e formação do material de partida (**30e**), por análise em CCD (eluente: 8/2 hexano/acetato de etila). O produto desejado não pôde ser isolado.

#### 6.2.6.6 1-(2-fenil-5-benzoxazolil)etanona (**22h**).



Obtido na forma de um sólido branco, através do procedimento descrito no item 6.2.6. Rendimento de 20,5%. Faixa de fusão: 160-165°C.

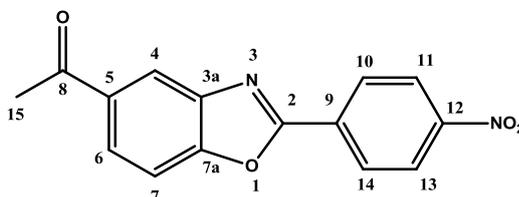
**C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>** MM = 237,258 g/mol.

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, δ) 2,69 (s, 3H, H15) 7,52-7,58 (m, 3H, H11, H12 e H13) 7,63 (d, 1H, H7, <sup>3</sup>J<sub>H7-H6</sub> = 8,4 Hz) 8,05 (dd, 1H, H6, <sup>3</sup>J<sub>H6-H7</sub> = 8,4 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H6-H4</sub> = 1,6 Hz) 8,26 (dd, 2H, H10 e H14, <sup>3</sup>J<sub>H10-H11</sub> = H14-H13 = 8 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H10-H12</sub> = H14-H12 = 1,2 Hz) 8,37 (d, 1H, H4, <sup>4</sup>J<sub>H4-H6</sub> = 1,6 Hz).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, δ) 197,3 (C-8), 164,6 (C-2), 153,6 (C-7a), 142,2 (C-3a), 134,6 (C-5), 132,3 (C-9), 129,2 (C-11 e C-13), 127,9 (C-12), 126,7 (C-10 e C-14), 125,9 (C-6), 121,1 (C-4), 110,8 (C-7), 26,9 (C-15).

I.V. (ν<sub>max</sub>/cm<sup>-1</sup>) 3066 (C-H aromáticos), 2920 (CH<sub>3</sub>), 1672 (C=O cetona), 1610 (C=N), 1554, 1481 e 1451 (C=C aromáticos), 1267 (C-O ν<sub>as</sub>), 1059 (C-O ν<sub>s</sub>).

#### 6.2.6.7 1-[2-(4-nitrofenil)-5-benzoxazolil]etanona (**22i**).



Obtido na forma de um sólido amarelo, através do procedimento descrito no item 6.2.6.

Rendimento de 20%. Faixa de fusão: 244-248°C com decomposição.

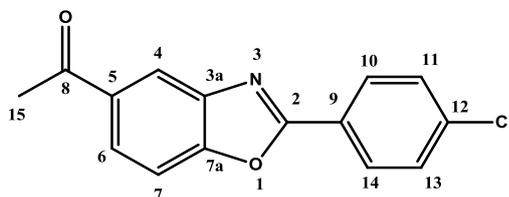
**C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>** MM = 282,255 g/mol.

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, δ) 2,71 (s, 3H, H15) 7,69 (d, 1H, H7, <sup>3</sup>J<sub>H7-H6</sub> = 8,4 Hz) 8,12 (dd, 1H, H6, <sup>3</sup>J<sub>H6-H7</sub> = 8,6 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H6-H4</sub> = 1,6 Hz) 8,39-8,46 (m, 5H, H10, H11, H13, H14, H4).

RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, δ) 196,9 (C-8), 162,2 (C-2), 153,9 (C-7a), 149,8 (C-12), 142,3 (C-3a), 135,1 (C-9), 132,3 (C-5), 128,8 (C-10 e C-14), 127,0 (C-11 e C-13), 124,4 (C-6), 121,7 (C-4), 111,2 (C-7), 26,9 (C-15).

I.V. (ν<sub>max</sub>/cm<sup>-1</sup>) 3104 (C-H aromáticos), 2921 (CH<sub>3</sub>), 1683 (C=O cetona), 1619 (C=N), 1597 e 1556 (C=C aromáticos), 1516 (NO<sub>2</sub> v<sub>as</sub>), 1343 (NO<sub>2</sub> v<sub>as</sub>), 1263 (C-O v<sub>as</sub>), 1058 (C-O v<sub>s</sub>).

6.2.6.8 1-[2-(4-clorofenil)-5-benzoxazolil]jetanona (**22j**).



Obtido na forma de um sólido branco, através do procedimento descrito no item 6.2.6.

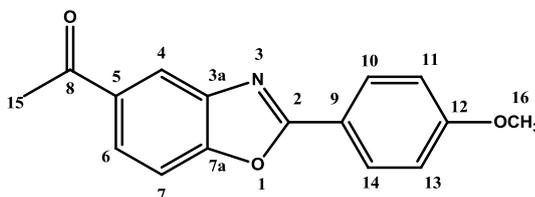
Rendimento de 10%. Faixa de fusão: 185-190°C.

**C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>2</sub>Cl** MM = 271,700 g/mol.

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, δ) 2,69 (s, 3H, H15) 7,52 (d, 2H, H11 e H13, <sup>3</sup>J<sub>H11-H10</sub> = H13-H14 = 8,4 Hz) 7,63 (d, 1H, H7, <sup>3</sup>J<sub>H7-H6</sub> = 8,4 Hz) 8,06 (dd, 1H, H6, <sup>3</sup>J<sub>H6-H7</sub> = 8,6 Hz, <sup>4</sup>J<sub>H6-H4</sub> = 1,6 Hz) 8,19 (d, 2H, H10 e H14, <sup>3</sup>J<sub>H10-H11</sub> = H14-H13 = 8,4 Hz) 8,36 (d, 1H, H4, <sup>4</sup>J<sub>H4-H6</sub> = 1 Hz).

RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz, δ) 197,1 (C-8), 163,7 (C-2), 153,8 (C-7a), 142,4 (C-3a), 138,5 (C-5), 134,7 (C-12), 129,6 (C-11 e C-13), 129,2 (C-10 e C-14), 126,2 (C-9), 125,2 (C-6), 121,1 (C-4), 110,8 (C-7), 26,9 (C-15).

I.V. (ν<sub>max</sub>/cm<sup>-1</sup>) 3063 (C-H aromáticos), 2921 (CH<sub>3</sub>), 1671 (C=O cetona), 1621 (C=N), 1606, 1553 e 1482 (C=C aromáticos), 1262 (C-O v<sub>as</sub>), 1043 (C-O v<sub>s</sub>), 1008 (Ph-Cl).

6.2.6.9 1-[2-(4-metoxifenil)-5-benzoxazolil]etanona (**22k**).

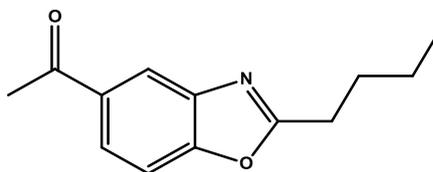
Obtido na forma de um sólido branco, através do procedimento descrito no item 6.2.6. Rendimento de 45%. Faixa de fusão: 160-165°C.

$C_{16}H_{13}NO_3$  MM = 267,284 g/mol.

RMN de  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz,  $\delta$ ) 2,68 (s, 3H, H15) 3,90 (s, 3H, H16) 7,04 (d, 2H, H11 e H13,  $^3J_{H11-H10} = H13-H14 = 8,8$  Hz) 7,59 (d, 1H, H7,  $^3J_{H7-H6} = 8,4$  Hz) 8,01 (dd, 1H, H6,  $^3J_{H6-H7} = 8,4$  Hz,  $^4J_{H6-H4} = 1,6$  Hz) 8,20 (d, 2H, H10 e H14,  $^3J_{H10-H11} = H14-H13 = 8,8$  Hz) 8,32 (d, 1H, H4,  $^4J_{H4-H6} = 1,6$  Hz).

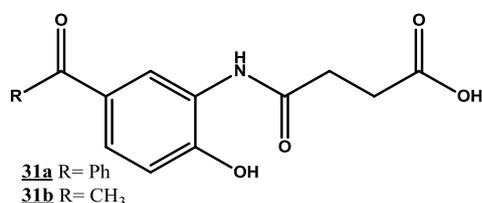
RMN de  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz,  $\delta$ ) 197,3 (C-8) 164,8 (C-2) 162,9 (C-12) 153,8 (C-7a) 142,7 (C-3a) 134,4 (C-5) 129,8 (C-6) 125,5 (C-9) 120,6 (C-4) 119,2 (C-10 e C-14) 114,6 (C-11 e C-13) 110,5 (C-7) 55,6 (C-16) 26,9 (C-15).

I.V. ( $v_{max}/cm^{-1}$ ) 3067 (C-H aromáticos), 2920 ( $CH_3$ ), 1672 (C=O cetona), 1607 (C=N), 1581, 1497 e 1468 (C=C aromáticos), 1252 (C-O  $v_{as}$ ), 1045 (C-O  $v_s$ ).

6.2.6.10 1-(2-butil-5-benzoxazolil)etanona (**22l**).

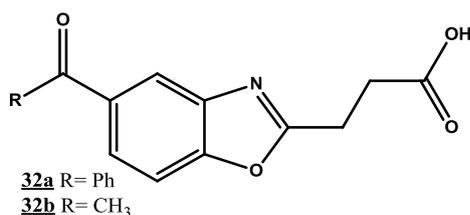
Ao preparar o produto para purificação por cromatografia em coluna, observou-se a abertura do anel benzoxazólico e formação do material de partida (**30j**), por análise em CCD (eluente: 8/2 hexano/acetato de etila). O produto desejado não pôde ser isolado.

### 6.2.7 Procedimento geral para preparação de **31a** e **31b** (TEMPERINI et al., 2010).



Em um balão de fundo redondo de 50 mL bitubulado, o produto bruto da reação de redução do grupo nitro (**25b**) foi solubilizado em 4 mL de éter etílico, sob agitação magnética. O anidrido succínico (1,13 mmol) foi parcialmente solubilizado a parte em 4mL de éter etílico e, em seguida, foi adicionado sobre a mistura reacional. O sistema reacional foi mantido em atmosfera inerte e após 17 horas, foi identificado o final da reação pelo consumo total do material de partida, que foi observado por CCD (eluente: hexano/acetato de etila 6:4 e 3 gotas de ácido acético p.a.). O solvente foi evaporado. O produto foi purificado por recristalização em água e metanol (1:1 v/v), com rendimento de 85%, e utilizado imediatamente na etapa seguinte.

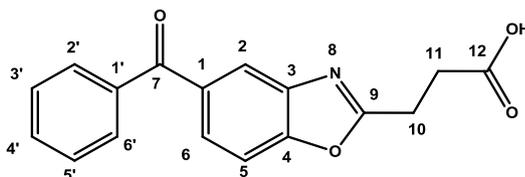
### 6.2.8 Procedimento geral para preparação de **32a** e **32b** (TRUJILLO-FERRERA et al., 2004).



Em um balão de fundo redondo de 50 mL, acoplado a um condensador de refluxo, foram adicionados o produto da reação anterior correspondente (**31a** ou **31b**) (0,642 mmol) e 17 mL de THF, e a solução foi mantida sob agitação magnética. Em seguida, foi adicionado o anidrido acético (0,642 mmol) e a solução reacional foi mantida à 70°C. Após 41 horas de reação, foi adicionado mais 0,642 mmol de anidrido acético. O final da reação foi identificado pelo consumo total do material de partida, observado por CCD (eluente: hexano/acetato de etila

6:4 e 3 gotas de ácido acético), após 5 dias. Foi evaporado o solvente da reação e o produto purificado por recristalização em isopropanol.

#### 6.2.8.1 Ácido 3-(5-benzoil-2-benzoxazolil)propanoico (**32a**).



O produto **32a** foi obtido a partir do procedimento descrito no item 6.2.8, na forma de um sólido bege amorfo, com rendimento de 48%. Faixa de fusão: 192-196°C.

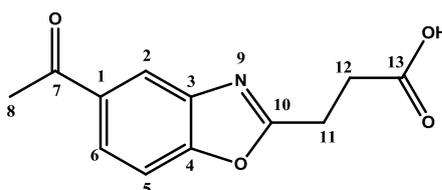
$C_{17}H_{13}NO_4$  MM = 295,294 g/mol.

RMN de  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 300 MHz,  $\delta$ ) 2,76-2,91 (m, 4H, H-10, H-11) 7,54-7,61 (m, 3H, H-3', H-5', H-4') 7,68-7,78 (m, 3H, H-5, H-2', H-6') 7,79 (d, 1H, H-2,  $^4J_{H-2-H-6} = 2,1$  Hz) 7,89 (dd, 1H, H-6,  $^3J_{H-6-H-5} = 8,4$  Hz,  $^4J_{H-6-H-2} = 2,1$  Hz).

RMN de  $^{13}C$  (DMSO- $d_6$ , 75 MHz,  $\delta$ ) 193,9 (C-7), 176,1 (C-12) 167,5 (C-9) 149,2 (C-4), 136,5 (C-3), 134,4 (C-1'), 132,9 (C-1), 131,1 (C-4'), 130,9 (C-2', C-6'), 129,5 (C-3', C-5'), 128,7 (C-6), 125,0 (C-2), 124,2 (C-5), 28,6 (C-10, C-11).

IV ( $\nu_{max}/cm^{-1}$ ) 3483 (O-H), 3066 (C-H de aromáticos), 1761 (C=O de cetona), 1712 (C=O de ácido carboxílico), 1651 (C=N), 1597 (C=C).

#### 6.2.8.2 Ácido 3-(5-acetil-2-benzoxazolil)propanoico (**32b**).



O produto **32b** foi obtido a partir do procedimento descrito no item 6.2.8, na forma de um sólido amarelo claro amorfo, com rendimento de 15%. Faixa de fusão: 196-200°C.

$C_{12}H_{11}NO_4$  MM = 233,223 g/mol.

RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ) 2,58 (s, 3H, H-8) 2,92 (s, 4H, H-11, H-12) 7,46 (d, 1H, H-5,  $^3J_{H-5-H-6} = 8,4$  Hz) 7,867 (d, 1H, H-2,  $^4J_{H-2-H-6} = 2,1$  Hz) 8,031 (dd, 1H, H-6,  $^4J_{H-6-H-2} = 2,1$  Hz,  $^3J_{H-6-H-5} = 8,4$  Hz).

RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 75 MHz,  $\delta$ ) 195,8 (C-7) 175,2 (C-13) 167,4 (C-10) 149,5 (C-4) 135,1 (C-3) 130,1 (C-1) 129,4 (C-6) 124,3 (C-2) 124,2 (C-5) 28,3 (C-11, C-12) 26,6 (C-8).

I.V. ( $v_{max}/cm^{-1}$ ) 3073 (C-H de aromático), 2955 (C-H de carbonos primário e secundários), 1759 (C=O de cetona), 1700 (C=O de ácido carboxílico), 1682 (C=N), 1601 (C=C).

### 6.3 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os testes para avaliação da atividade anti-*Leishmania* dos derivados em *Leishmania amazonensis* e foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular, da Universidade Federal de Alfenas, sob a coordenação do Prof. Dr. Marcos José Marques. Assim como os testes para avaliação da atividade inibitória de protease.

#### 6.3.1 Ensaio da atividade anti-promastigota

As formas promastigotas de *L. amazonensis* foram mantidas em meio Schneider's suplementado com 10% de soro fetal bovino em estufa a 25°C. Para a realização dos testes foram transferidas à razão de  $1 \times 10^6$  células/mL para placas de 24 poços, onde foram adicionadas as substâncias a serem avaliadas nas concentrações 0,1; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 80,0 e 160,0  $\mu g/mL$ . Após 72 horas de incubação a 25°C, foram adicionados 100  $\mu L$  de resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) em cada poço. Após 6h de incubação, as placas foram lidas em 570 nm e 600 nm, utilizando um leitor de microplacas para a determinação do  $CI_{50}$ , tendo como controle protozoários em meio de cultura sem a adição de qualquer substância.

Este  $CI_{50}$  foi então comparado aos  $CI_{50}$  dos fármacos padrões anfotericina B e pentamidina (PEREIRA, I. O. et al., 2010).

### 6.3.2 Avaliação da citotoxicidade

Para avaliação da citotoxicidade, foram utilizados macrófagos peritoneais murinos mantidos em meio RPMI 1640 a 37°C e 5% de  $CO_2$ , dispostos em placas de 96 poços na razão de  $8 \times 10^6$  por poço, aos quais foram adicionadas as substâncias a serem avaliadas nas concentrações 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,90  $\mu\text{g/mL}$  e incubadas por 72 horas. Após o período de incubação foi adicionado 10  $\mu\text{L}$  de MTT (3-(4,5- dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium brometo) a cada poço, com nova incubação por 4 horas. As células foram lisadas com DMSO e depois foram avaliadas em espectrofotômetro UV/VIS à 570 nm para determinação do  $CC_{50}$  por comparação ao controle (sem adição de substâncias) (PEREIRA, I. O. et al., 2010).

### 6.3.3 Ensaio de inibição enzimático

Foram utilizadas as enzimas papaína e tripsina, obtidas comercialmente, para realização do teste, utilizando Z-Phe-Arg-7-amido-4-metilcoumaril (Z-Phe-Arg-MCA) como substrato fluorogênico. A hidrólise do substrato peptídeo pela enzima foi realizada em acetato de sódio 0,1 mol/L, pH 5,5, a 37°C, contendo 5  $\mu\text{mol/L}$  de DTT (ditiotreitól) para ativação enzimática por 10 minutos. A hidrólise do substrato foi monitorada através das medidas da fluorescência em  $\lambda_{\text{ex}} = 380$  nm com excitação de  $\lambda_{\text{em}} = 460$  nm usando um espectrofotômetro Cary Eclipse. Os valores dos  $CI_{50}$  foram determinados usando o software Grafit 5,0 (Erithacus Software Ltda) (JUDICE et al., 2013).

## 7 CONCLUSÕES

Em suma, com este trabalho, foi possível sintetizar derivados benzoxazólicos tanto da benzofenona quanto da acetofenona, por meio de uma rota de quatro etapas, com condições brandas e acessíveis, em que dos dez derivados finais obtidos (**22b-e**, **22h-k**, **32a** e **32b**), cinco são inéditos (**22c**, **22d**, **22e**, **32a** e **32b**). Todos os produtos obtidos foram purificados e caracterizados pelos métodos usuais, como determinação da faixa de fusão, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ .

As substâncias obtidas foram avaliadas quanto a sua atividade anti-*Leishmania* contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis*. Apenas as substâncias **22e**, **24a** e **24b** foram ativas, além da benzofenona de partida **23a**. Um dos dez derivados benzoxazólicos foi ativo, sendo o derivado com o grupo metoxila como substituinte do benzoxazol da benzofenona (**22e**). É importante destacar que o derivado benzoxazólico foi a substância testada que apresentou maior atividade, e os intermediários nitrados da benzofenona (**24a**) e da acetofenona (**24b**), foram satisfatórios uma vez que melhoraram a atividade leishmanicida quando comparado ao seu material de partida.

Além disso, as substâncias **22e**, **24b** e **23a** foram avaliadas quanto a sua atividade inibitória de papaína e tripsina, como modelo de proteases semelhantes às proteases conhecidas específicas de *Leishmania*, sendo todas as substâncias testadas mais ativas frente à papaína, com valores de  $\text{CI}_{50}$  mais satisfatórios do que o inibidor padrão utilizado. Entretanto, os derivados **22e** e **24b** não foram mais ativos do que a benzofenona de partida **23a**, já com conhecida atividade inibidora de proteases.

Apesar de não obter resultados tão satisfatórios em suas atividades anti-*Leishmania*, o trabalho foi de sucesso, ao conseguir a síntese dos dez derivados benzoxazólicos, e poder contribuir com a comunidade científica, uma vez que os trabalhos relacionados à síntese desses heterociclos, em sua maioria, conta com reações mais dispendiosas. Além disso, derivados benzoxazólicos inéditos foram obtidos, principalmente acoplados ao núcleo benzofenônico, ambos de grande interesse na Química Medicinal, acreditando então que o trabalho pode ser muito proveitoso.

## REFERÊNCIAS

AL-KAHRAMAN, Y. M. S. A.; YASINZAI, M.; SINGH, G. S. Evaluation of some classical hydrazones of ketones and 1,2-diketones as antileishmanial, antibacterial and antifungal. **Agents Arch Pharm Res.**, v. 35, p. 1009-1013, 2012.

ALMEIDA, L. et al. Benzophenone derivatives as cysteine protease inhibitors and biological activity against *Leishmania (L.) amazonensis* amastigote. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 75, p. 93-99, 2015.

ALVES, C. R. et al. *Leishmania amazonensis*: early proteinase activities during promastigote-amastigote differentiation in vitro. **Exp. Parasitol.**, v. 109, p. 38-48, 2005.

ALVES, C. R. et al. Detection of cysteine-proteinases in *Leishmania amazonensis* promastigotes using a cross-reactive antiserum. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 186, p. 263-267, 2000.

ALVES, L. C. et al. Substrate specificity of recombinant cysteine proteinase, CPB, of *Leishmania mexicana*. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 116, p. 1-9, 2001.

ANSARI, M. et al. Replacement of the Methylene of Dihydrochalcones with Oxygen: Synthesis and Biological Evaluation of 2-Phenoxyacetophenones. **Chem. Biol. Drug Des.**, v. 80, p. 591-597, 2012.

AYRES, D. C.; MARCUCCI, M. C.; GIORGIO, S. Effects of Brazilian propolis on *Leishmania amazonensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 215-220, 2007.

AZEBAZE, A. G. B. et al. Antimicrobial and antileishmanial xanthenes from the stem bark of *Allanblackia gabonensis*. **Chem. Nat. Compd.**, v. 44, p. 582-587, 2008.

BACHHAV, H. M.; BHADAT, S. B.; TELVEKAR, V. N. Efficient protocol for the synthesis of quinoxaline, benzoxazole and benzimidazole derivatives using glycerol as green solvent. **Tetrahedron Lett.**, v. 52, p. 5697-5701, 2011.

BALASWAMY, G. et al. Synthesis, characterization and anti-microbial activity of novel substituted benzoxazole derivatives. **Int. J. Chem. Sci.**, v. 10, p. 619-626, 2012.

BELAMY, F.D.; OU, K. Selective reduction of aromatic nitro compounds with stannous chloride in non acidic and non aqueous medium. **Tetrahedron Lett.**, v. 25, p. 839-842, 1984.

BERMAN, J. D. Human Leishmaniasis: Clinical, Diagnostic, and Chemotherapeutic Developments in the Last 10 Years. **Clin. Infect. Dis.**, v. 24, p. 684-703, 1997.

BLUMBERG, S.; VALLEE, B. Superactivation of Thermolysin by Acylation with Amino Acid *N*-Hydroxysuccinimide Esters. **Biochemistry**, v. 14, p. 2410-2419, 1975.

BOYSEN, K.E., MATUSCHEWSKI, K. Inhibitor of cysteine proteases is critical for motility and infectivity of *Plasmodium* sporozoites. **MBio**, v. 4, p. e0874-13, 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância de Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**, 4 ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2013, v. 2.

CARRION Jr, R.; RO, Y.; PATTERSON, J. L.; Purification, Identification and Biochemical characterization of a Host-encoded Cysteine Protease that Cleaves a *Leishmaniavirus* Gag-pol Polyprotein. **J. Virol.**, v. 77, p. 10448-10455, 2003.

CHEHARDOLI, G. et al. Melamine-(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> and PVP-(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)<sub>n</sub> as solid acids: Synthesis and application in the first mono- and di-nitration of bisphenol A and other phenols. **Chin. Chem. Lett.**, v. 22, p. 827-830, 2011.

CHOE, Y. et al. Development of  $\alpha$ -keto-based inhibitors of cruzain, a cysteine protease implicated in Chagas disease. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 13, p. 2141-2156, 2005.

CLAYDEN, J. et al. **Organic Chemistry**. 2 ed. Nova York: Oxford University Press, 2000.

COSTA JÚNIOR, J.S. et al. Cytotoxic and leishmanicidal properties of garcinielliptone FC, a prenylated benzophenone from *Platonia insignis*. **Nat. Prod. Res.**, v. 27, p. 470-474, 2013.

CROFT, S. L.; COOMBS, G. H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends Parasitol.**, v. 19, p. 502-508, 2003.

CROFT, S. L. et al. II. The Activity of Alkyl Phosphorylcholine and Related Derivatives Against *Leishmania Donovanii*. **Biochem. Pharmacol.**, v. 36, p. 2633-2636, 1987.

CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug Resistance in Leishmaniasis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19, p. 111-126, 2006.

DAS, P. et al. Protease inhibitors in potential drug development for leishmaniasis. **Indian J. Biochem. Biophys.**, v. 50, p. 363-376, 2013.

DEMARCHI, I. G. et al. Effect of HIV protease inhibitors on New World *Leishmania*, **Parasitol. Int.**, v. 61, p. 538-544, 2012.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 27, p. 305-318, 2004.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: public health aspects and control. **Clin. Dermatol.**, v. 14, p. 417-423, 1996.

ESCHENLAUER, S. C. P. et al. Influence of parasite encoded inhibitors of serine peptidases in early infection of macrophages with *Leishmania major*. **Cell. Microbiol.**, v. 11, p. 106-120, 2009.

EYDEN, J. J. et al. 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone, a Mild Catalyst for the Formation of Carbon-Nitrogen Bonds. **Tetrahedron**, v. 51, p. 5813-5818, 1995.

FRICKER, S. P. Cysteine proteases as targets for metal-based drugs. **Metallomics**, v. 2, p. 366-377, 2010.

FROMENTIN, Y. et al. Synthesis of novel guttiferone A derivatives: *In vitro* evaluation toward *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma brucei* and *Leishmania donovani*. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 65, p. 284-294, 2013.

GOKER, H. et al. Synthesis of Some New 2-Substituted-phenyl-1H-benzimidazole-5-carbonitriles and Their Potent Activity Against Candida Species. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 10, p. 2589-2596, 2002.

GONTIJO, V. S. et al. Leishmanicidal, antiproteolytic and antioxidant evaluation of natural biflavonoids isolated from *Garcinia brasiliensis* and their semisynthetic derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 58, p. 613-623, 2012.

GUERIN, P. J. et al. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda. **The Lancet Infect. Dis.**, v. 2, p. 494-501, 2002.

HAY, A. E. et al. Antileishmanial polyphenols from *Garcinia vieillardii*. **Fitoterapia**, v. 79, p. 42-46, 2008.

HERAVI, M. M; OSKOOIE, K. A.; BAGHERNEJAD B. Facile, Regioselective and Green Synthesis of Ortho-nitrophenoles Using NaNO<sub>2</sub>, KHSO<sub>4</sub>. **J. Chin. Chem. Soc.**, v. 54, p. 767-770, 2007.

HRANJEC, M. et al. Synthesis and antitumor evaluation of some new substituted amidino-benzimidazolyl-furyl-phenyl-acrylates and naphtho[2,1-*b*]furan-carboxylates. **Il Farmaco**, v. 58, p. 1319-1324, 2003.

HUANG, L.; BRINEN, L. S.; ELLMAN, J. A. Crystal structures of reversible ketone-Based inhibitors of the cysteine protease cruzain. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 11, p. 21, 2003.

JILANI, J. A.; SHOMAF, M.; ALZOUBI, K. H. Synthesis and evaluation of mutual azo prodrug of 5-aminosalicylic acid linked to 2-phenylbenzoxazole-2-yl-5-acetic acid in ulcerative colitis. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 7, p. 691-698, 2013.

JUDICE, W. A. S. et al. Heparin Modulates the Endopeptidase Activity of *Leishmania mexicana* Cysteine Protease Cathepsin L-Like rCPB2.8. **PLoS ONE**, v. 8, p. e80153, 2013.

KAMAL, A. et al. Synthesis, DNA binding ability and anticancer activity of 2-heteroaryl substituted benzimidazoles linked pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepine conjugates. **Med. Chem.**, v. 9, p. 651-659, 2013.

KEURULAINEN, L. et al. Synthesis and biological evaluation of 2-arylbenzimidazoles targeting *Leishmania donovani*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 25, p. 1933-1937, 2015.

KUMAR, K. R.; SATYANARAYANA, P. V. V.; REDDY, B. S. Direct and practical synthesis of 2-Arylbenzoxazoles promoted by Silica supported sodium hydrogen sulphate, **Der Pharma Chemica**, v. 4, p. 761-766, 2012.

LANFRANCO, M. F. et al. Expression and substrate specificity of a recombinant cysteine proteinase B of *Leishmania braziliensis*. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 161, p. 91-100, 2008.

LECAILLE, F.; KALETA, J.; BROMME, D. Human and Parasitic Papain-Like Cysteine Proteases: Their Role in Physiology and Pathology and Recent Developments in Inhibitor Design. **Chem. Rev.**, v. 102, p. 4459–4488, 2002.

LENTA, B.N. et al. Leishmanicidal and Cholinesterase Inhibiting Activities of Phenolic Compounds from *Allanblackia monticola* and *Symphonia globulifera*. **Molecules**, v. 12, p. 1548-1557, 2007.

LIMA, A. P. C. A.; REIS, F. C. G.; COSTA, T. F. R. Cysteine Peptidase Inhibitors in Trypanosomatid Parasites. **Curr. Med. Chem.**, v. 20, p. 3152-3173, 2013.

LIU, T.; DANIELS, C. K.; CAO, S. Comprehensive review on the HSC70 functions, interactions with related molecules and involvement in clinical diseases and therapeutic potential. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 136, p. 354–374, 2012.

MACIEL-REZENDE, C. M. et al. Synthesis and Biological Evaluation against *Leishmania amazonensis* of a Series of Alkyl-Substituted Benzophenones. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 21, p. 3114-3119, 2013.

MARYONOFF, B. E.; COSTANZO, M. J. Inhibitors of proteases and amide hydrolases that employ an  $\alpha$ -ketoheterocycle as a key enabling functionality. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 16, p. 1562–1595, 2008.

MICHEL, K. H et al. The discovery, fermentation, isolation, and structure of antibiotic a33853 and its tetraacetyl derivative. **J. Antibiot.**, v. 37, p. 441–445, 1984.

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

MOTTRAM, J. C.; COOMBS, G. H.; ALEXANDER, J. Cysteine peptidases as virulence factors of *Leishmania*. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 7, p. 375–381, 2004.

NAKAMURA, H.; YASUI, Y.; BAN, H. S. Synthesis and biological evaluation of ortho-carborane containing benzoxazole as an inhibitor of hypoxia inducible factor (HIF)-1 transcriptional activity. **J. Organomet. Chem.**, v. 747, p. 189-194, 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. OMS. **Leishmaniose**. Ficha informativa N ° 375. Fevereiro, 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>> Acesso em: 15 jan. 2016.

ONO, N. **The nitro group in organic synthesis**. New York: Wiley-VCH, 2001.

PALMER, J. T. et al. Vinyl sulfones as mechanism-based cysteine protease inhibitors. **J. Med. Chem.**, v. 38, p. 3193-3196, 1995.

PALMER, J. T. et al. Keto-1,3,4-oxadiazoles as cathepsin K inhibitors. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 16, p. 2909-2914, 2006.

PELISSARI, D. M. et al. Tratamento da Leishmaniose Visceral e Leishmaniose Tegumentar Americana no Brasil. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 20, p. 107-110, 2011.

PELISSON, M. M. M. **Mecanismo de Reações Orgânicas**. São José dos Campos: Poliedro, 2007.

PEREIRA, I. O. et al. Leishmanicidal activity of benzophenones and extracts from *Garcinia brasiliensis* Mart. fruits. **Phytochemistry**, v. 17, p. 339-345, 2010.

PEREIRA, B. A. et al. *In silico* predicted epitopes from the COOH-terminal extension of cysteine protease B inducing distinct immune responses during *Leishmania (Leishmania) amazonensis* experimental murine infection. **BMC Immunol**, v. 12, p. 1471-2172, 2011.

PEREIRA, B. A. S.; BRITTO, C.; ALVES, C. R. Expression of infection-related genes in parasites and host during murine experimental infection with *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Microb. Pathog.**, v. 52, p. 101-108, 2012.

PHILLIPS, M. A.; STANLEY Jr, S. L. Chemotherapy of protozoal infections: amebiasis, giardiasis, trichomoniasis, trypanosomiasis, leishmaniasis, and other protozoal infections. In: BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics**. 12 ed. New York: McGraw-Hill, 2011.

PIMENTEL-ELARDO, S. M. et al. New Tetromycin Derivatives with Anti-Trypanosomal and Protease Inhibitory Activities, **Mar. Drugs**, v. 9, p. 1682-1697, 2011.

POWERS, J. C. et al. Irreversible Inhibitors of Serine, Cysteine, and Threonine Proteases. **Chem. Rev.**, v. 102, p. 4639-4750, 2002.

RACANÉ, L. Novel amidino substituted 2-phenylbenzothiazoles: Synthesis, antitumor evaluation in vitro and acute toxicity testing in vivo. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 18, p. 1038–1044, 2010.

RANA, S. et al. CPDB: cysteine protease annotation database in *Leishmania* species. **Integr. Biol.**, v. 4, p. 1351–1357, 2012.

READY, P. D. Epidemiology of visceral leishmaniasis. **Clin. Epidemiol.**, v. 6, p. 147-154, 2014.

REY, Luís. **Bases da parasitologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2002.

RIDLEY, H. F.; SPICKETT, R. G. W.; TIMMIS, G. M. A new synthesis of benzimidazoles and aza-analogs. **J. Heterocyclic Chem**, v. 2, p. 453, 1965.

RING, C. S. et al. Structure-based inhibitor design using protein models for the development of anti-parasitic agents. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 90, p. 3583–3587, 1993.

ROMÁN-LUQUE-ORTEGA, J. et al. New benzophenone-derived bisphosphonium salts as leishmanicidal leads targeting mitochondria. throughv inhibition of respiratory complex II. **J. Med. Chem.**, v. 53, p. 1788-1798, 2010.

SADEK, K. U. et al. Green and highly efficient synthesis of 2-arylbenzothiazoles using glycerol without catalyst at ambient temperature. **Molecules**, v. 17, p. 6011-6019, 2012.

SHARMA, S.; GANGAL, S.; RAUF, A. Green chemistry approach to the sustainable advancement to the synthesis of heterocyclic chemistry. **Rasayan J. Chem.**, v. 1, p. 693-717, 2008.

SCHEIDT, K. A. et al. Structure-Based Design, Synthesis and Evaluation of Conformationally Constrained Cysteine Protease Inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 6, p. 2477-2494, 1998.

SCHRÖDER, J. et al. Identification of semicarbazones, thiosemicarbazones and triazine nitriles as inhibitors of *Leishmania mexicana* cysteine protease CPB. **PLoS One**, v. 8, p. e77460, 2013.

SELZER, P. M. et al. Cysteine protease inhibitors as chemotherapy: Lessons from a parasite target. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 96, p. 11015–11022, 1999.

SELZER, P. M. et al. *Leishmania major*: Molecular modeling of cysteine proteases and prediction of new nonpeptide inhibitors. **Exp. Parasitol.**, v. 87, p. 212-221, 1997.

SENER, E. A.; BINGOL, K. K.; OREN, I; ARPACI, O. T.; YALÇIN, I.; ALTANLAR, N. Synthesis and microbiological activity of some *N*-(*o*-hydroxyphenyl)benzamides and phenylacetamides as the possible metabolites of antimicrobial active benzoxazoles: part II. **II Farmaco**, v. 55, p. 469–476, 2000.

SILVA-LOPEZ, R. E. Protease de *Leishmania*: Novos Alvos para o Desenvolvimento Racional de Fármacos. **Quim. Nova**, v. 33, p. 1541-1548, 2010.

SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R. K. Leishmaniasis: Current status of available drugs and new potential drug targets. **Asian Pac. J. Trop. Med.**, p. 485-497, 2012.

SINGH, S.; SIVAKUMAR, R. Challenges and new discoveries in the treatment of leishmaniasis. **J. Infect. Chemother.**, v. 10, p. 307-315, 2004.

STARCEVIC, K. et al. Synthesis, antiviral and antitumor activity of 2-substituted-5-amidino-benzimidazoles. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 15, p. 4419–4426, 2007.

STEERT, K. et al.  $\alpha$ -Ketoheterocycles as inhibitors of *Leishmania mexicana* cysteine protease CPB. **ChemMedChem**, v. 5, p. 1734-1748, 2010.

SUDARMA, I. M. et al. An Efficient Method on Nitration of Eugenol Using  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and  $\text{KHSO}_4$ . **Asian J. Chem.**, v. 26, p. 173-175, 2014.

TAVARES, F.X. et al. Ketoheterocycle-based inhibitors of cathepsin K: A novel entry into the synthesis of peptidic ketoheterocycles **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 15, p. 3891-3895, 2005.

TEMPERINI, A. et al. Additive-Free Chemoselective Acylation of Amines. **Synth. Commun.**, v. 40, p. 295–302, 2010.

TIPPARAJU, S. K. et al. In pursuit of natural products leads: Synthesis and biological evaluation of 2-[3-hydroxy-2-[(3-hydroxypyridine-2-carbonyl)amino]phenyl]benzoxazole-4-carboxylic acid (A-33853) and its analogues: discovery of *N*-(2-benzoxazol-2-ylphenyl)benzamidines as novel antileishmanial chemotypes. **J. Med. Chem.**, v. 51, p. 7344, 2008.

TROEBERG, L. et al. Cysteine proteinase inhibitors kill cultured bloodstream forms of *Trypanosoma brucei brucei*. **Exp. Parasitol.**, v. 91, p. 349-355, 1999.

TRUJILLO-FERRARA, J.G. et al. The E and Z isomers of 3-(benzoxazol-2-yl)prop-2-enoic acid. **Acta Cryst.**, v. C60, p. o723-o726, 2004.

VEINBERG, G.; POTOROCINA, I.; VORONA, M. Recent Trends in the Design, Synthesis and Biological Exploration of  $\beta$ -Lactams. **Curr. Med. Chem.**, v. 21, p. 393-416, 2014.

VIIRRE, R. D.; EVINDAR, G.; BATEY, R. A. Copper-Catalyzed Domino Annulation Approaches to the synthesis of Benzoxazoles under Micro-wave-Accelerated and Conventional Thermal Conditions. **J. Org. Chem.**, v. 73, p. 3452-3459, 2008.

XING, R. G. et al. Facile and Efficient Synthesis of Benzoxazoles and Benzimidazoles: The Application of Hantzsch Ester 1,4-Dihydropyridines in Reductive Cyclization Reactions. **Eur. J. Org. Chem.**, v. 2010, p. 6627-6632, 2010.

WANG, Y. et al. A simple and efficient one step synthesis of benzoxazoles and benzimidazoles from carboxylic acids. **Tetrahedron Lett.**, v. 47, p. 4823-4826, 2006.

YAO, L. et al. Synthesis of lipoamino acids and their activity against cerebral ischemic injury. **Molecules**, v. 14, p. 4051-4064, 2009.

ZOLFIGOL, M. A. et al. PEG-N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: An Efficient Nitrating Agent for the Selective Mono- and Dinitration of Phenols Under Mild Conditions. **Synth. Commun.**, v. 38, p. 3366-3374, 2008.

## ANEXOS

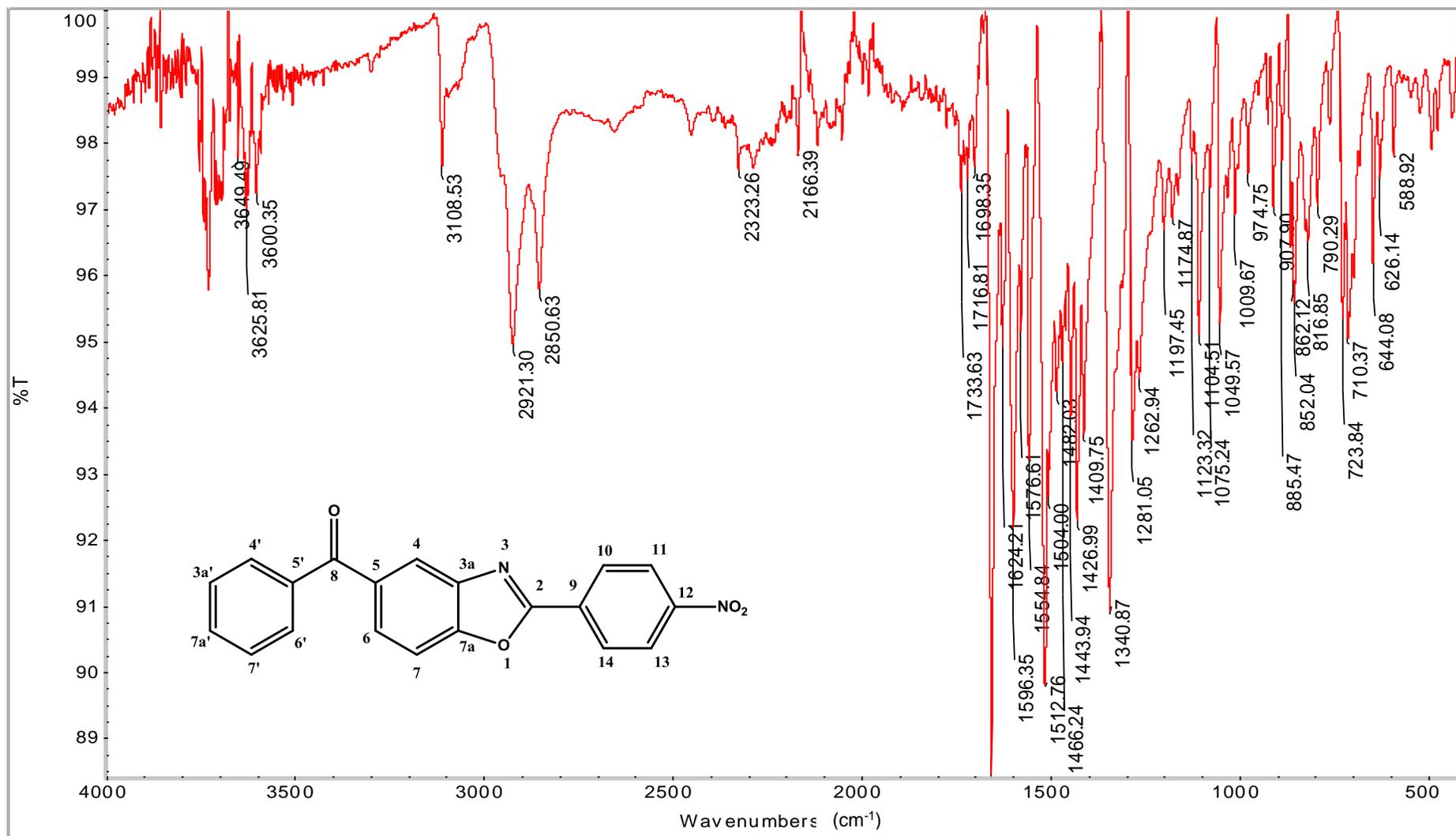


Figura 50 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22c**.

Fonte: Da autora.

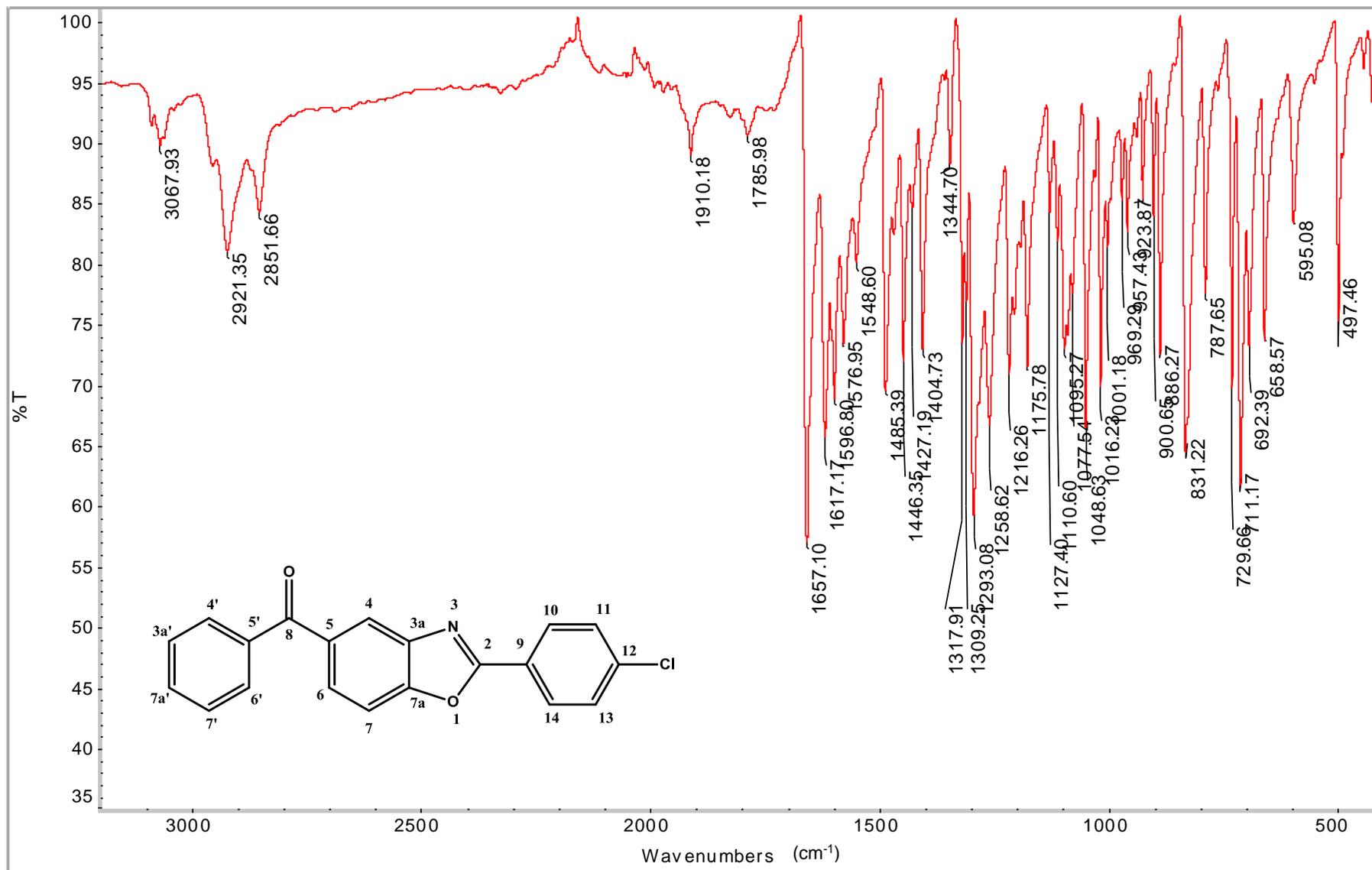


Figura 51 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22d**.  
Fonte: Da autora.

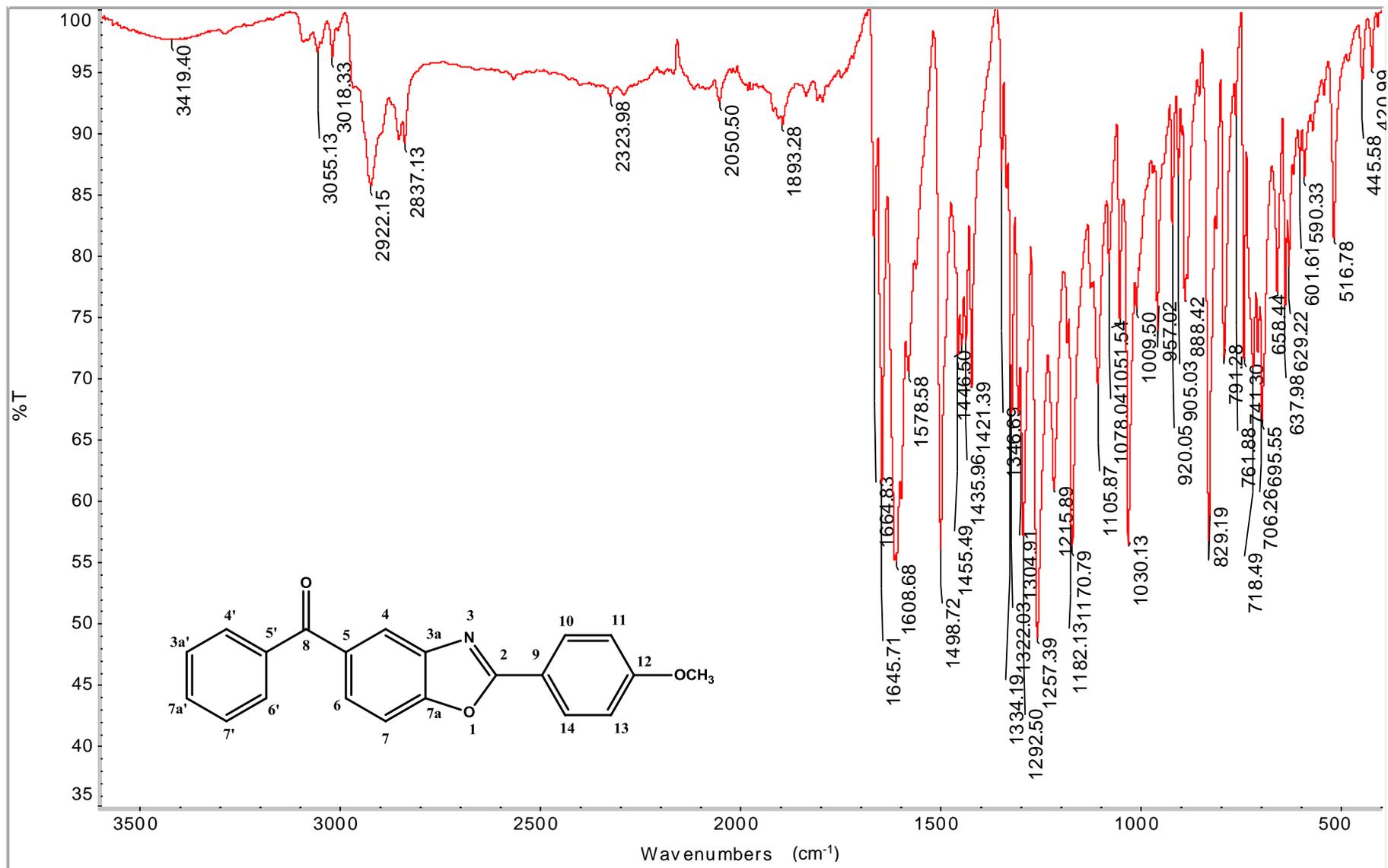


Figura 52 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22e**.  
Fonte: Da autora.

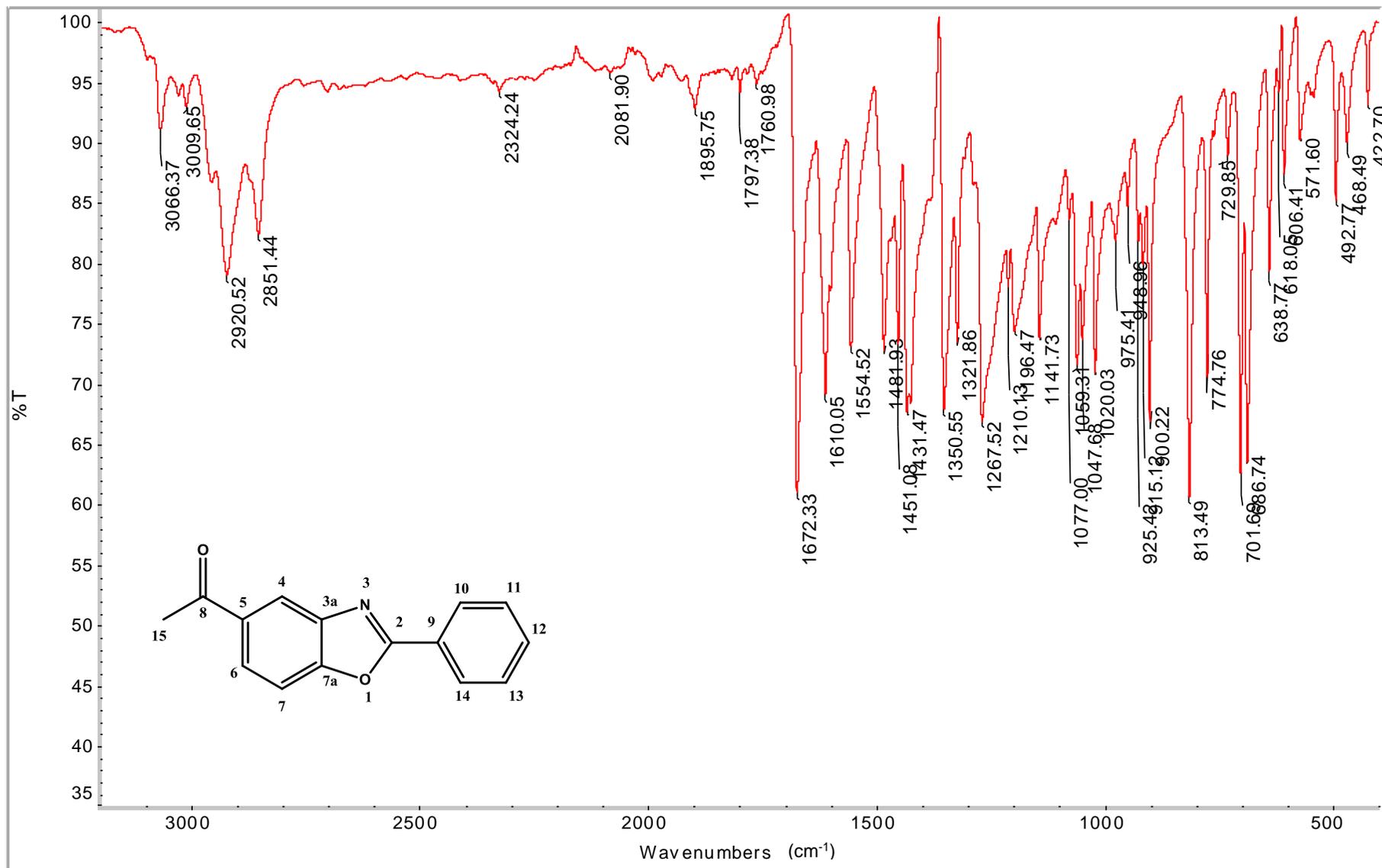


Figura 53 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22h**.

Fonte: Da autora.

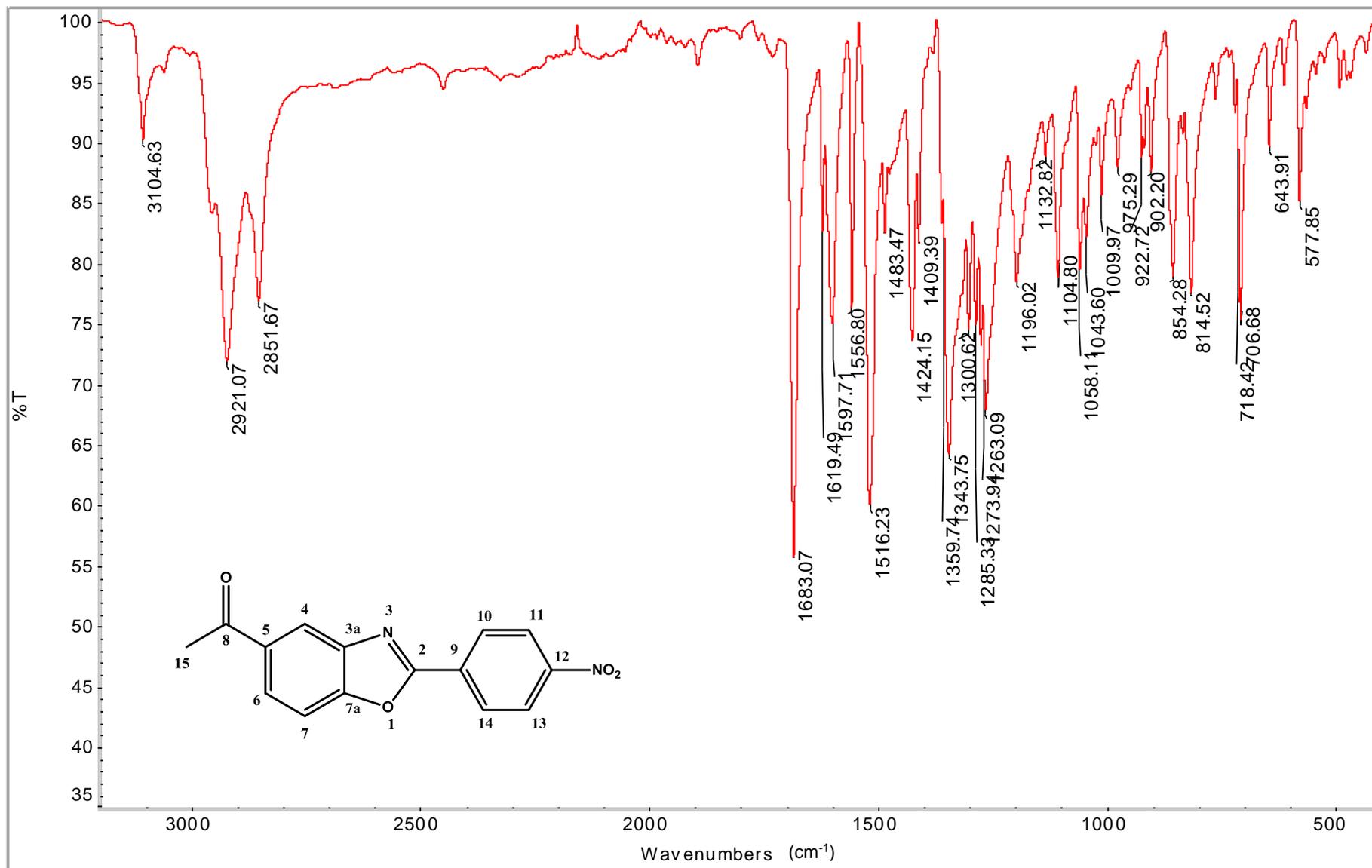


Figura 54 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22i**.

Fonte: Da autora.

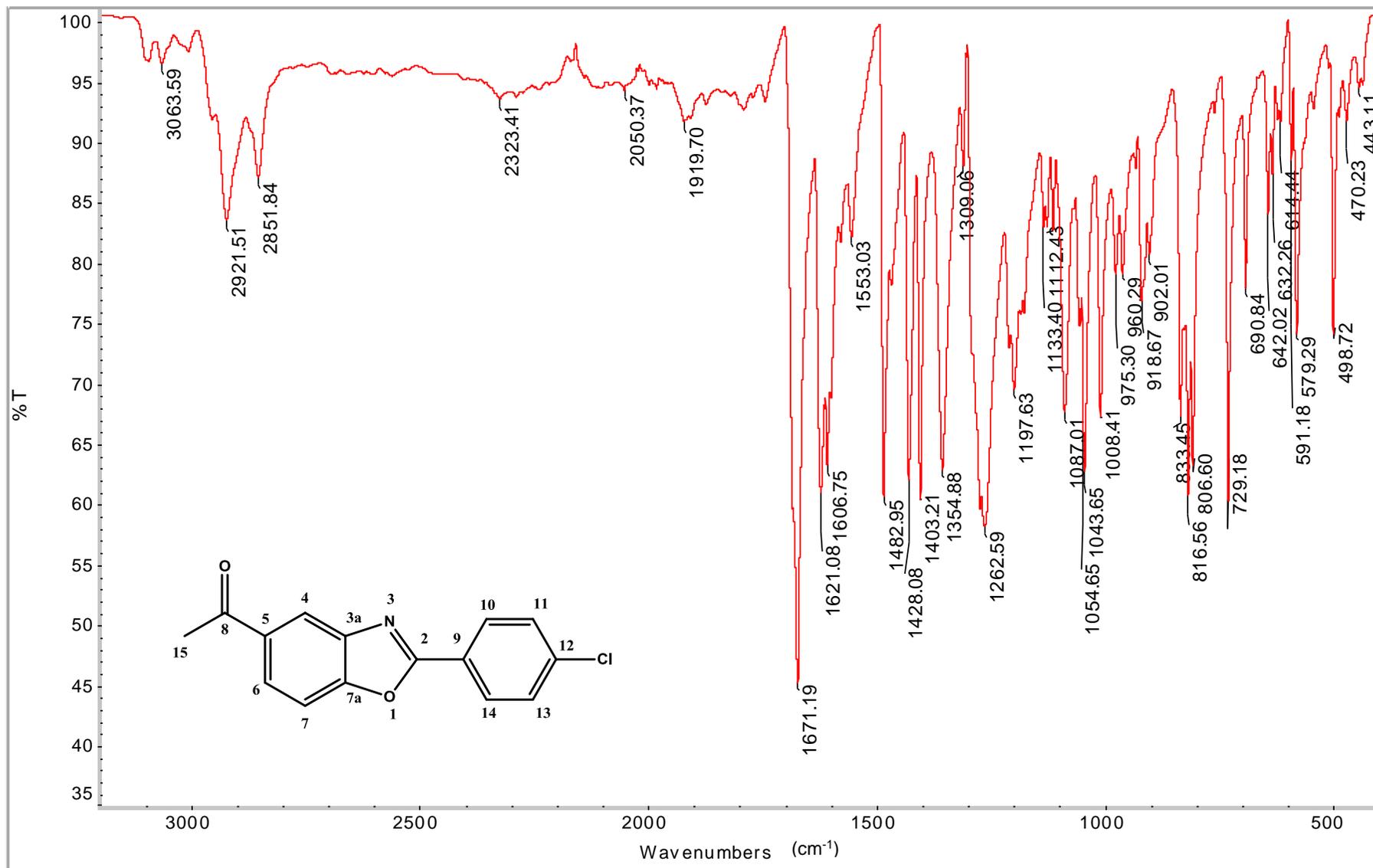


Figura 55 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22j**.  
Fonte: Da autora.

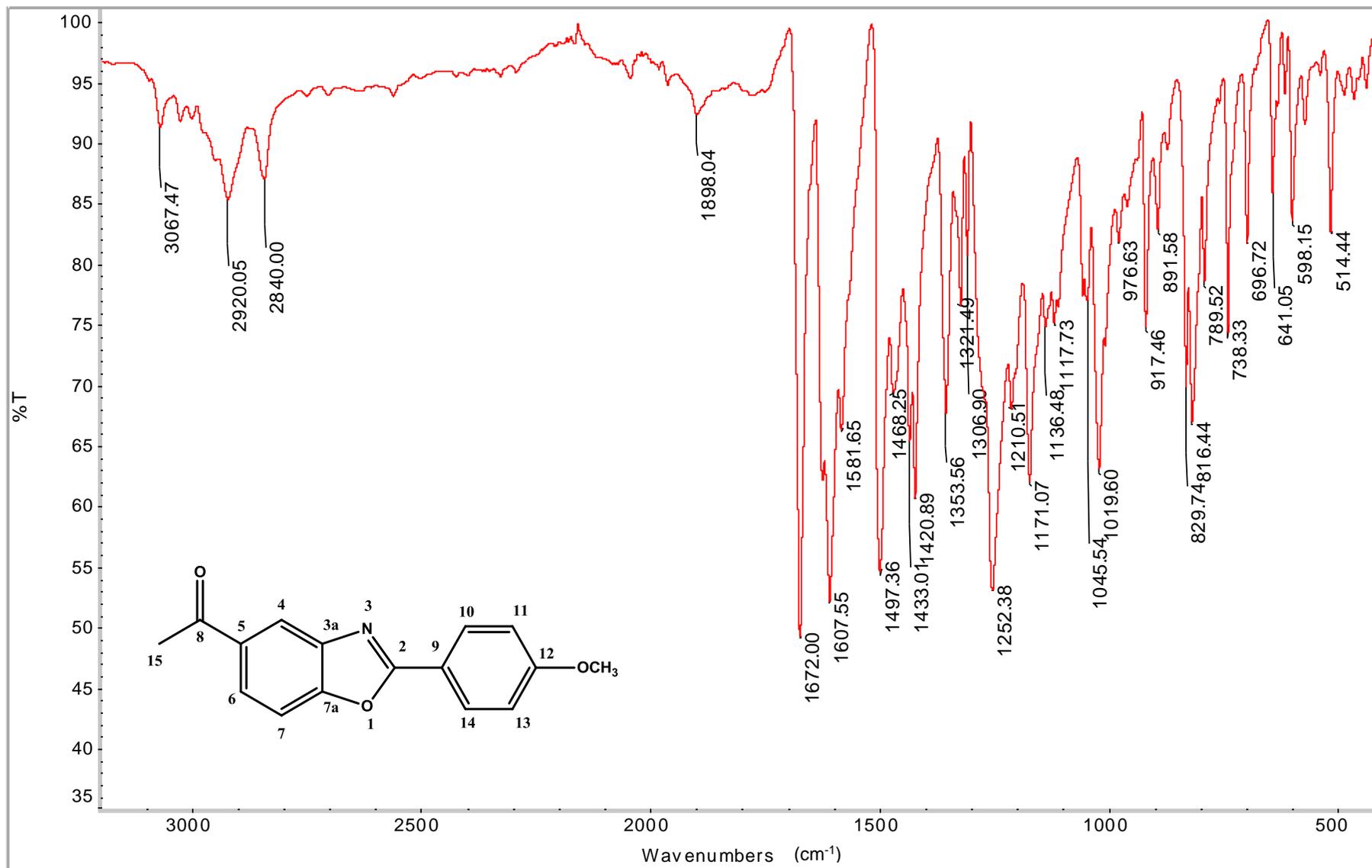


Figura 56 – Espectro de absorção na região do infravermelho de **22k**.  
Fonte: Da autora.

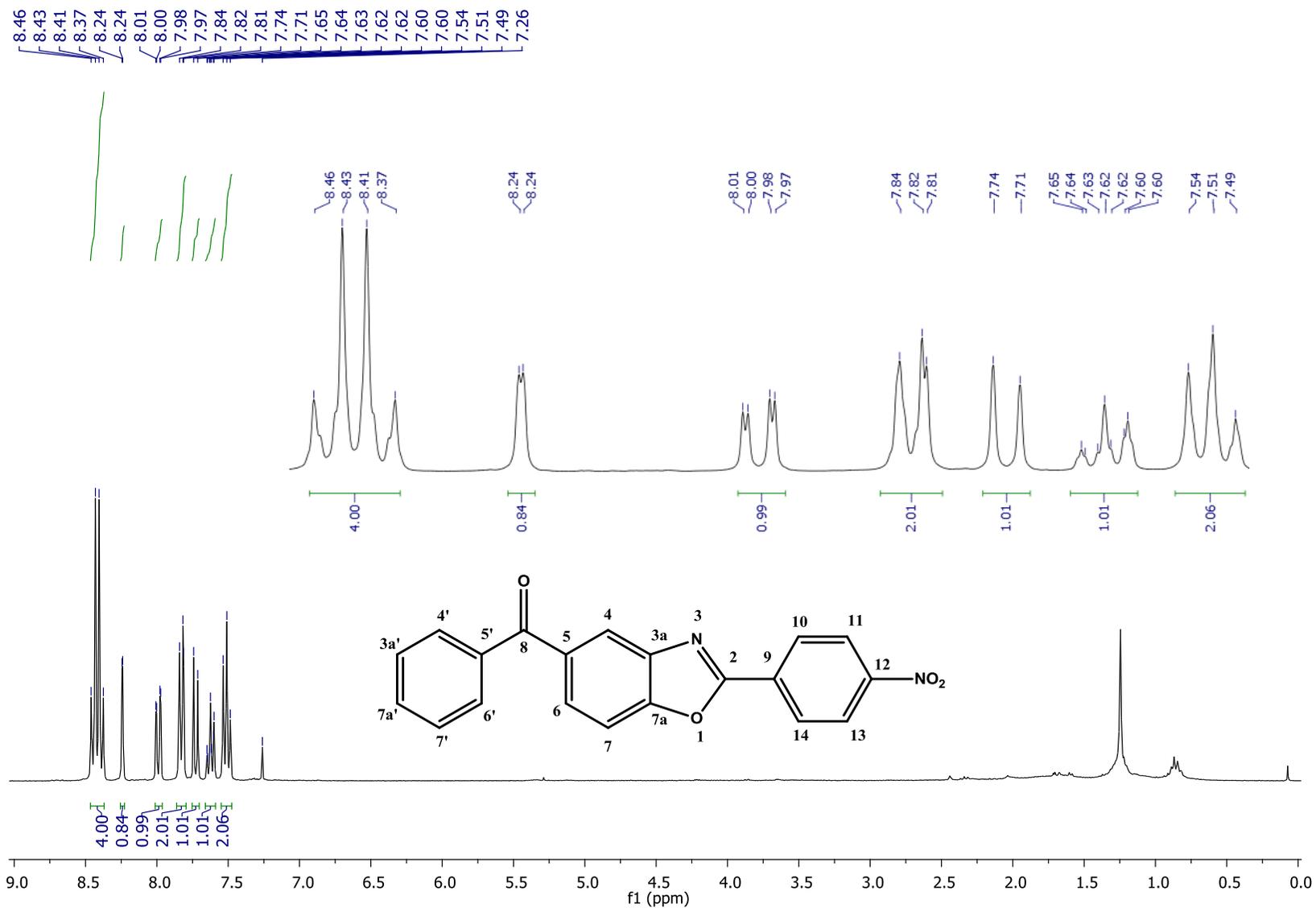


Figura 57 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) de **22c**.

Fonte: Da autora.

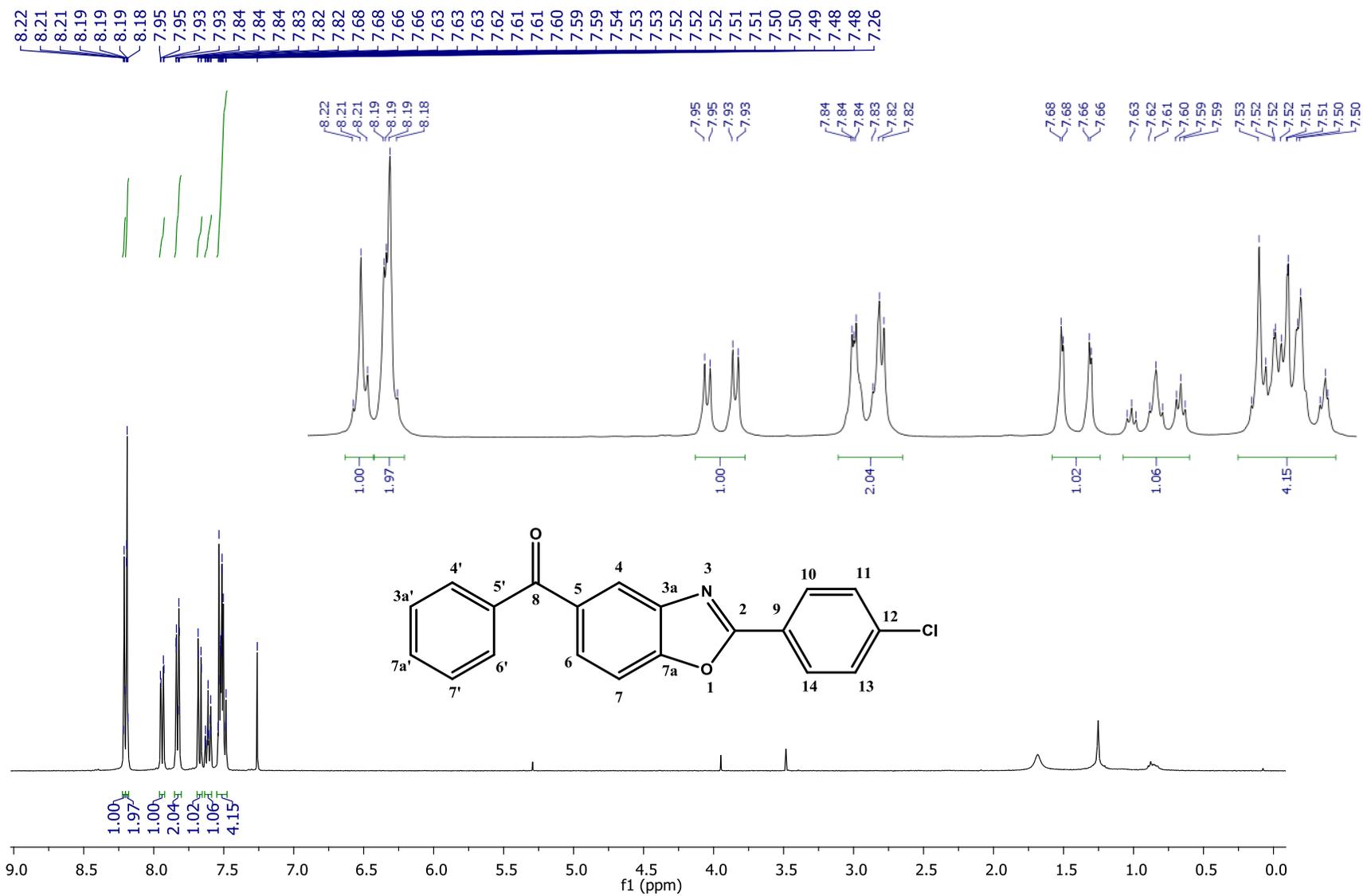


Figura 58 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **22d**.  
Fonte: Da autora.

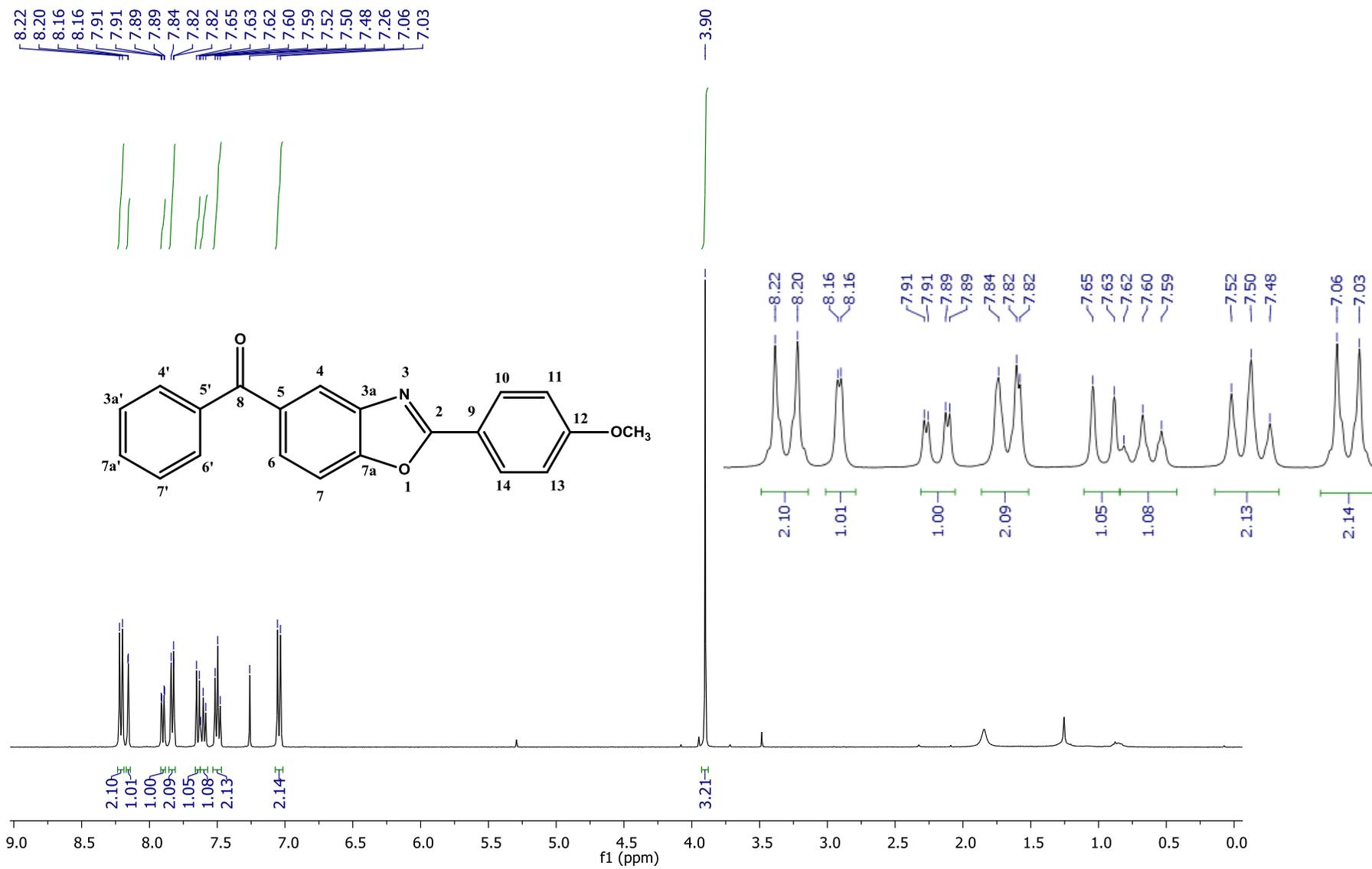


Figura 59 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **22e**.

Fonte: Da autora.

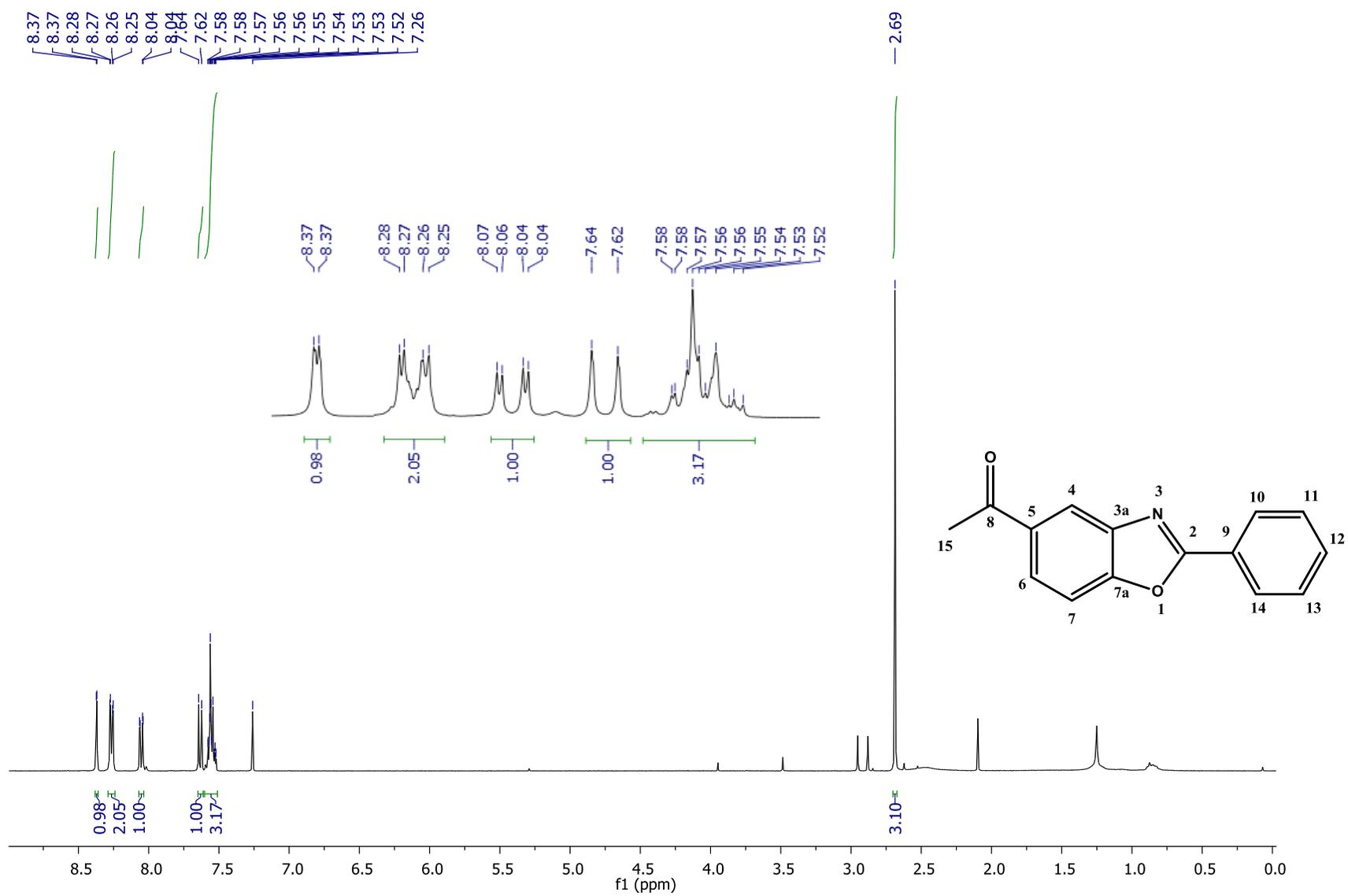


Figura 60 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **22h**.

Fonte: Da autora.

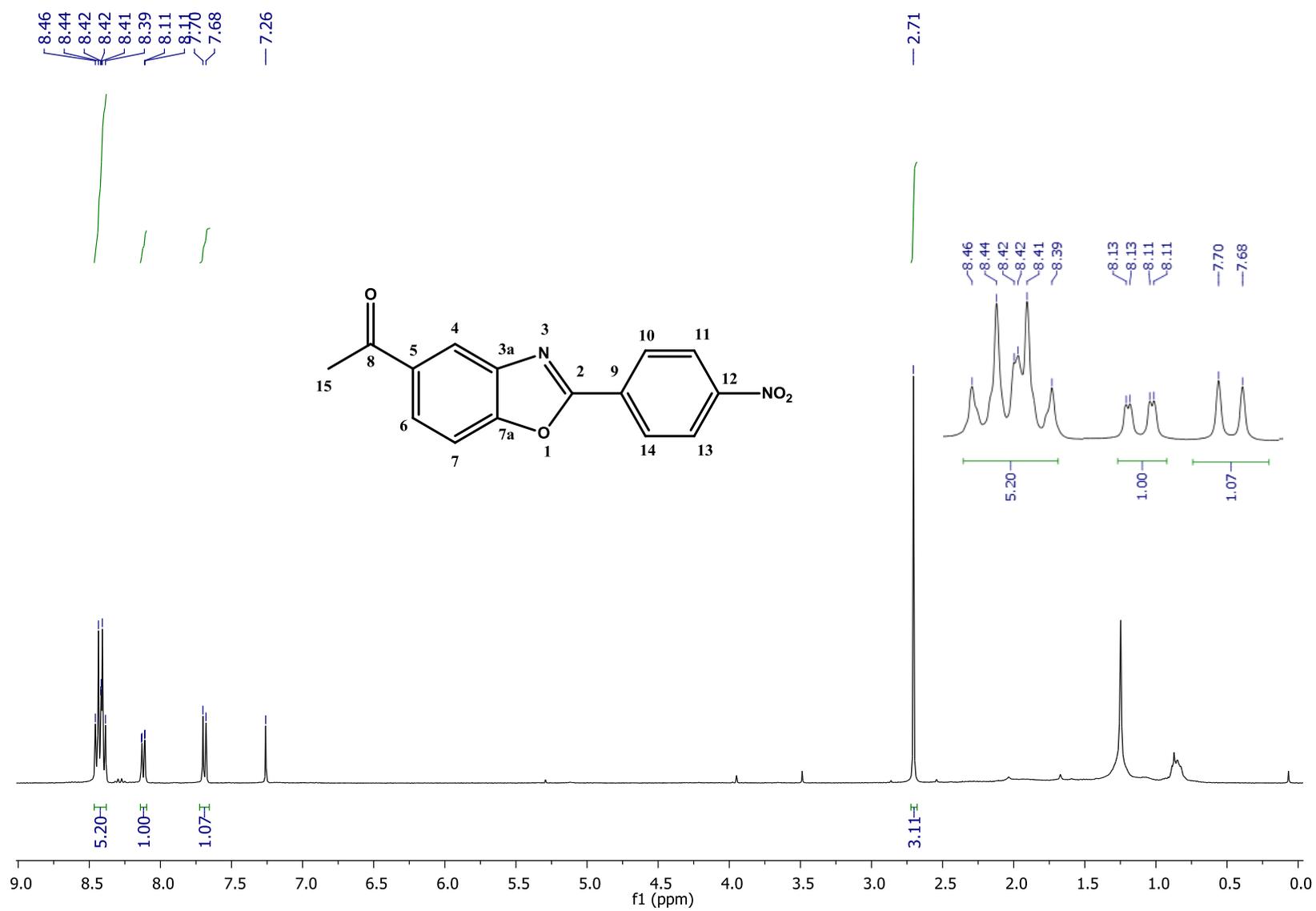
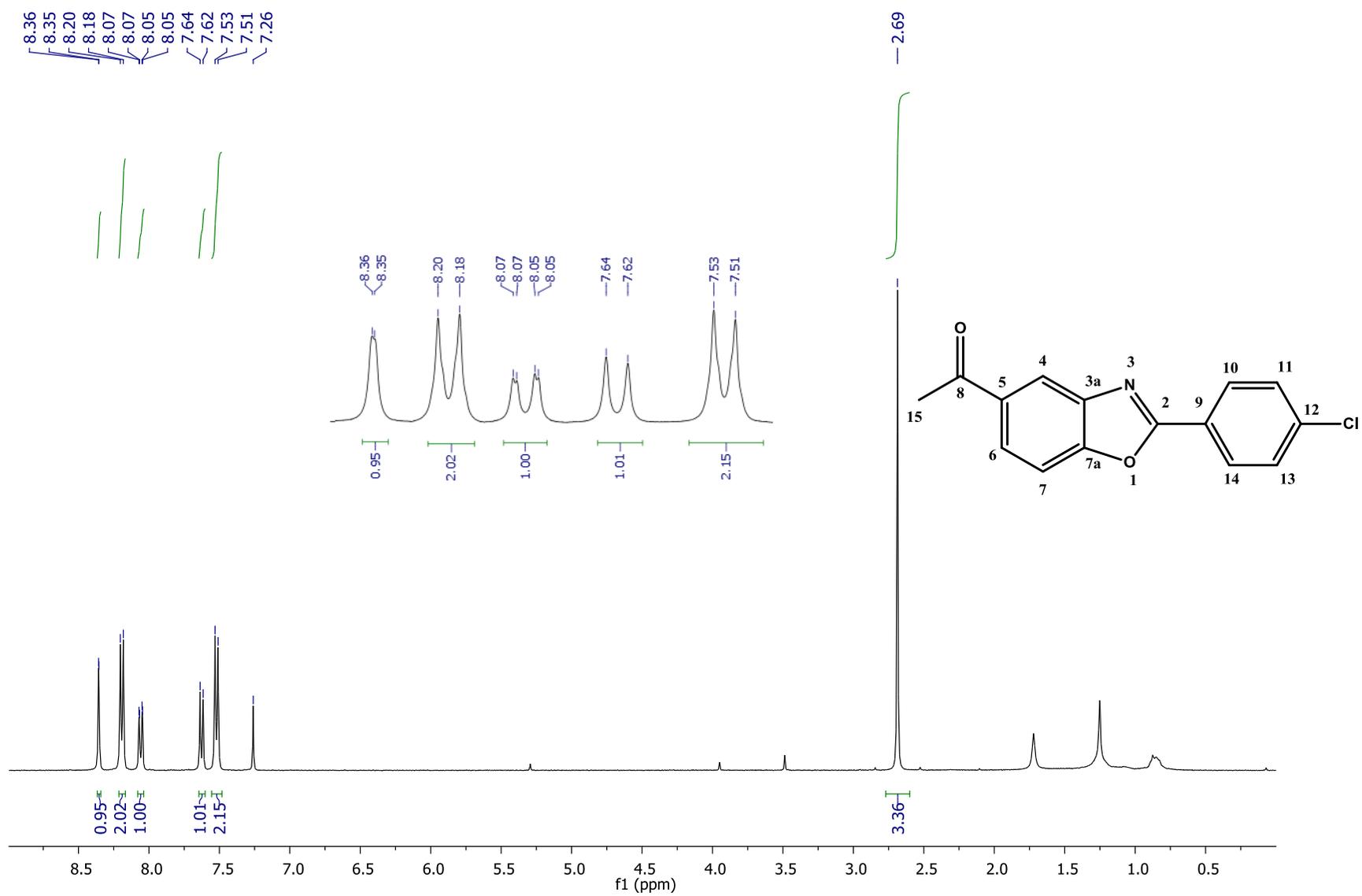


Figura 61 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **22i**.

Fonte: Da autora.

Figura 62 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **22j**.

Fonte: Da autora.

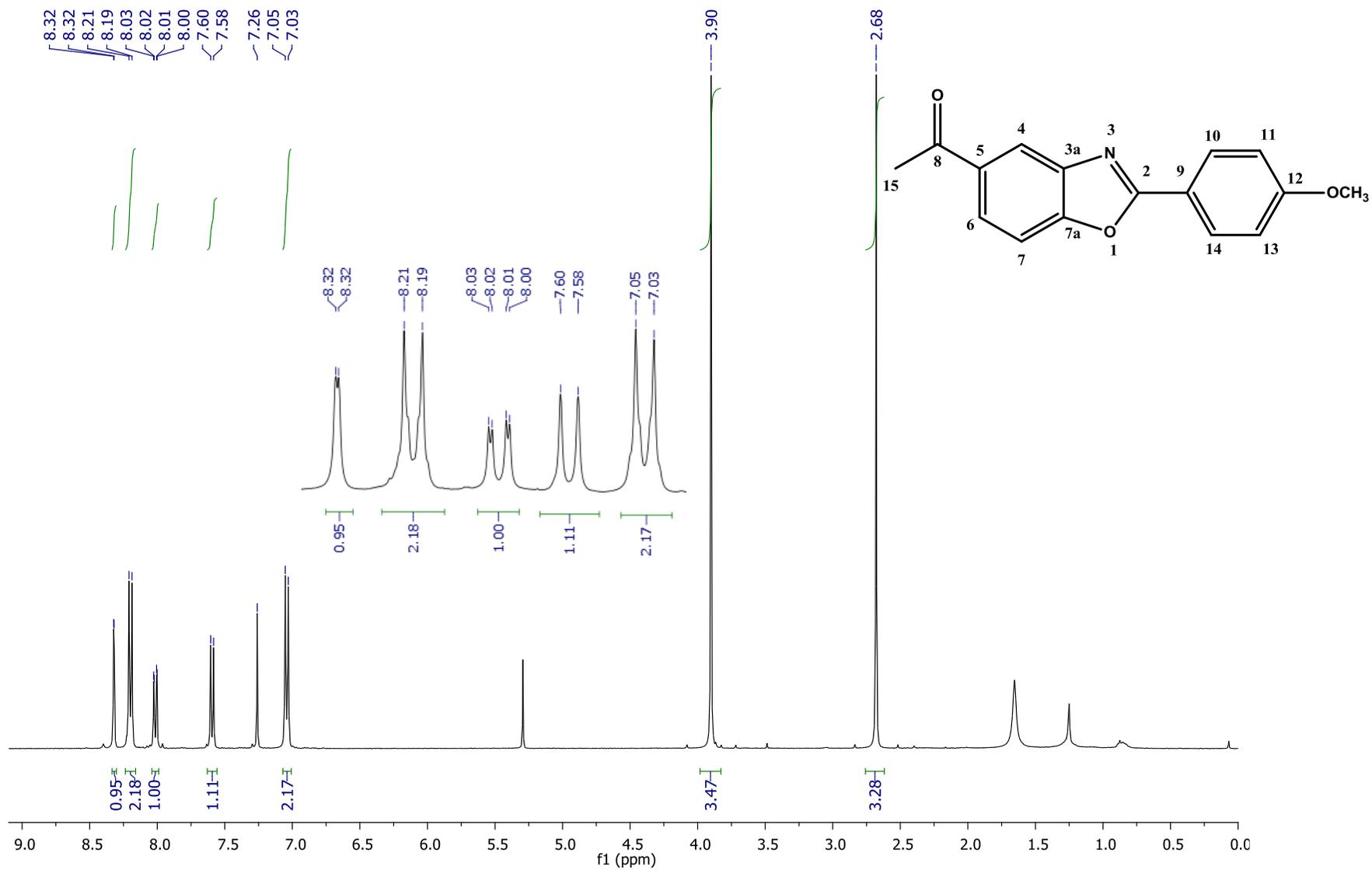


Figura 63 – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **22k**.

Fonte: Da autora.

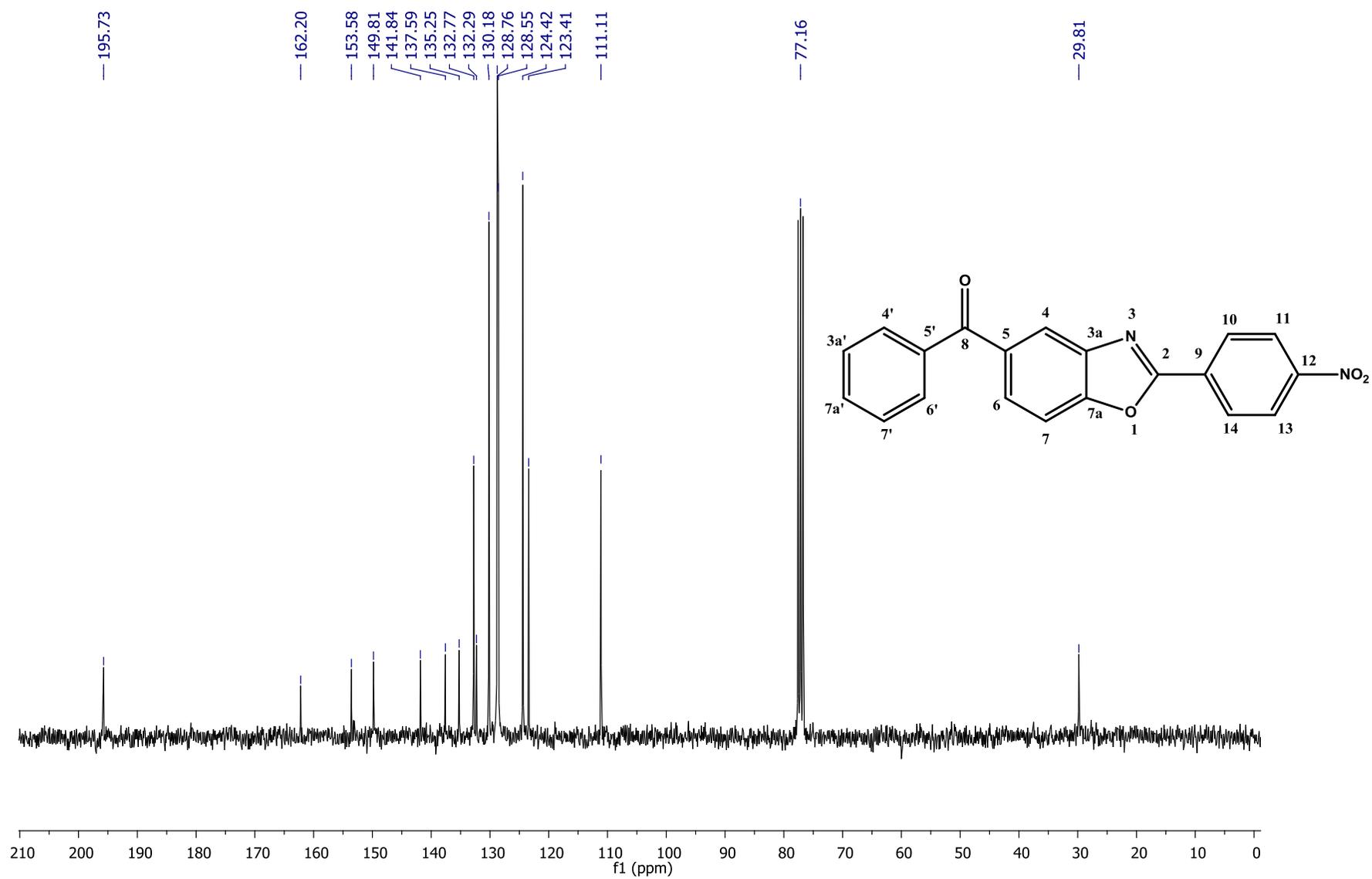


Figura 64– Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) de **22c**.

Fonte: Da autora.

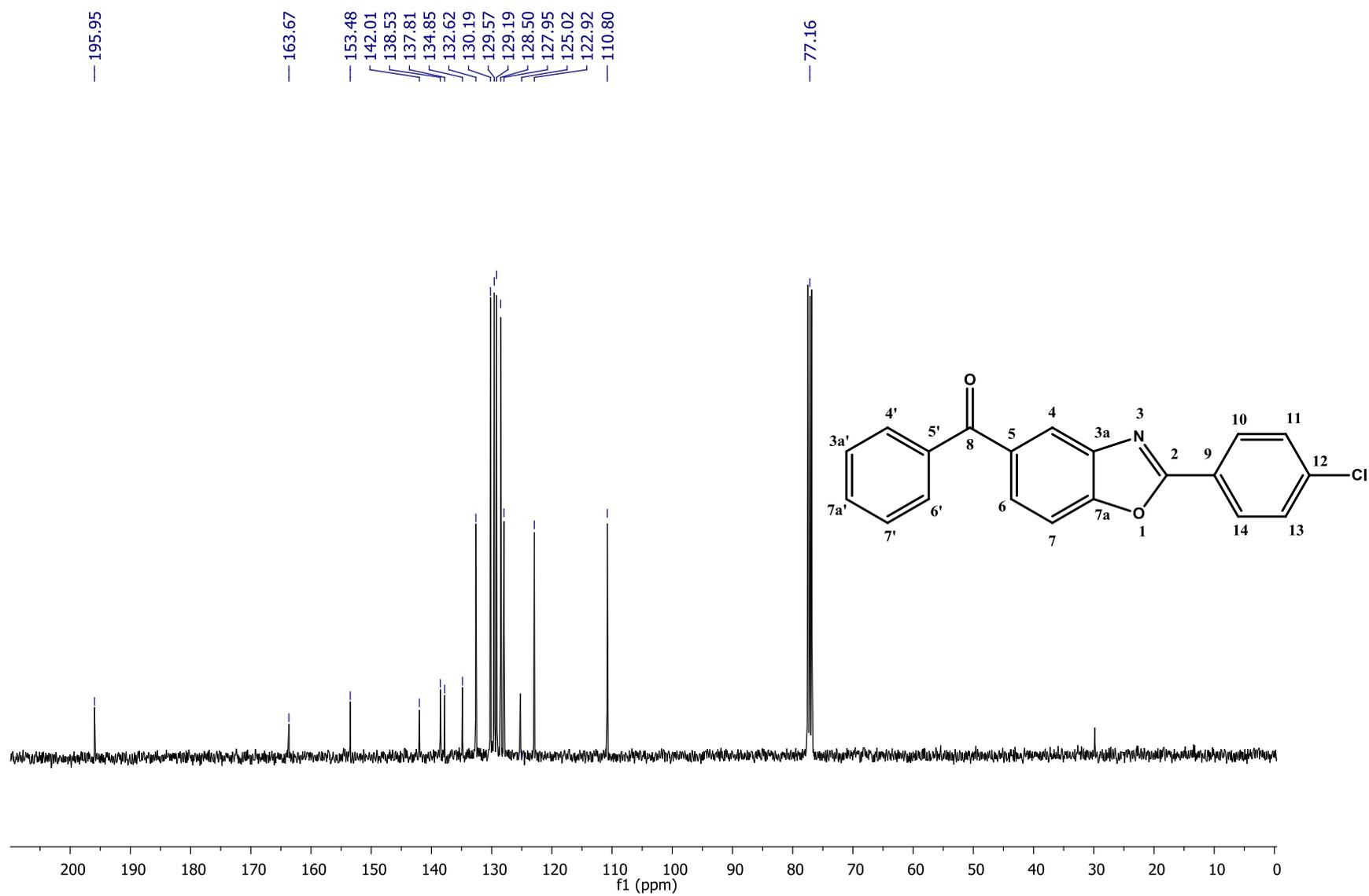
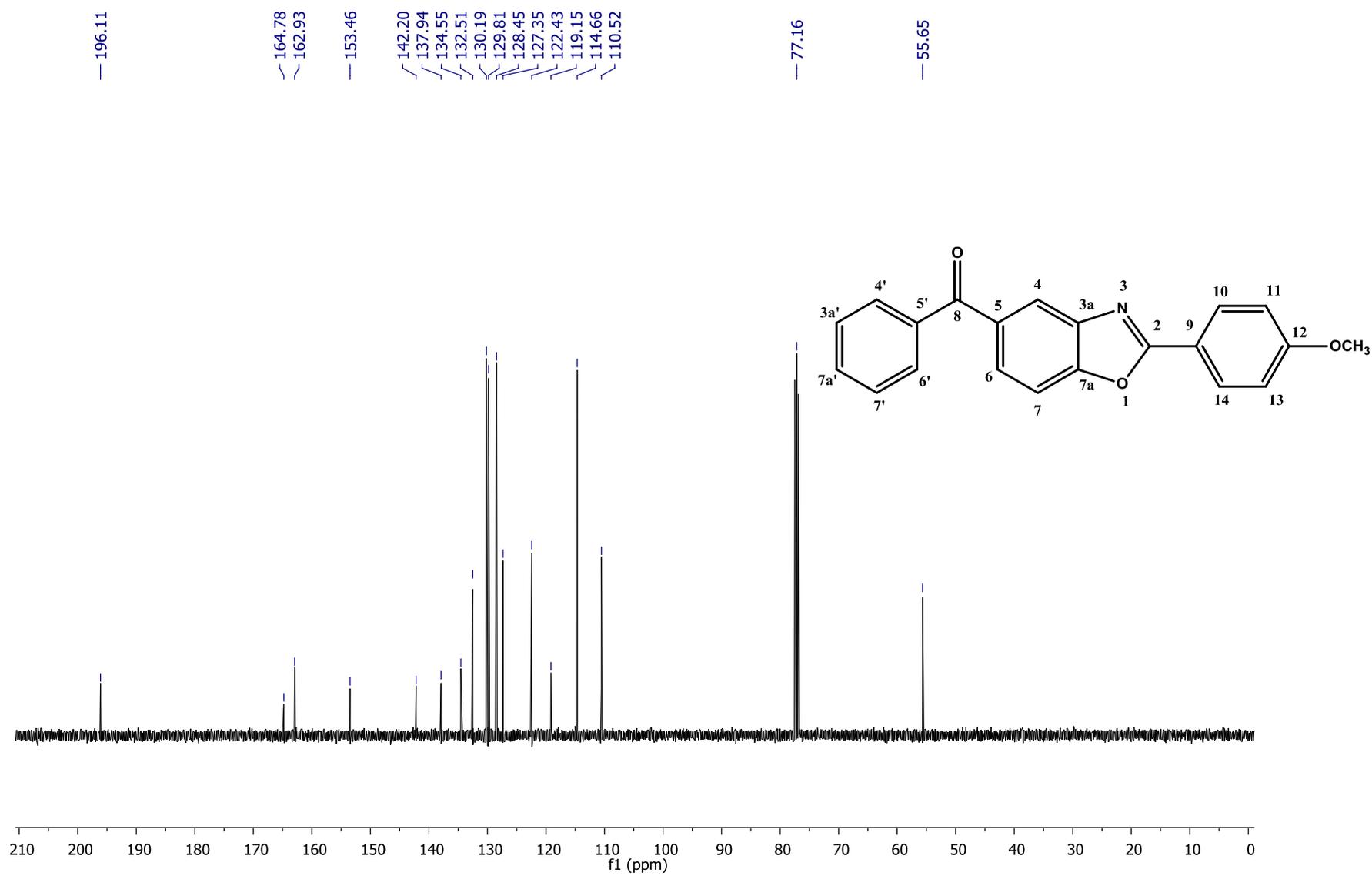


Figura 65 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de **22d**.

Fonte: Da autora.

Figura 66 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de **22e**.

Fonte: Da autora.

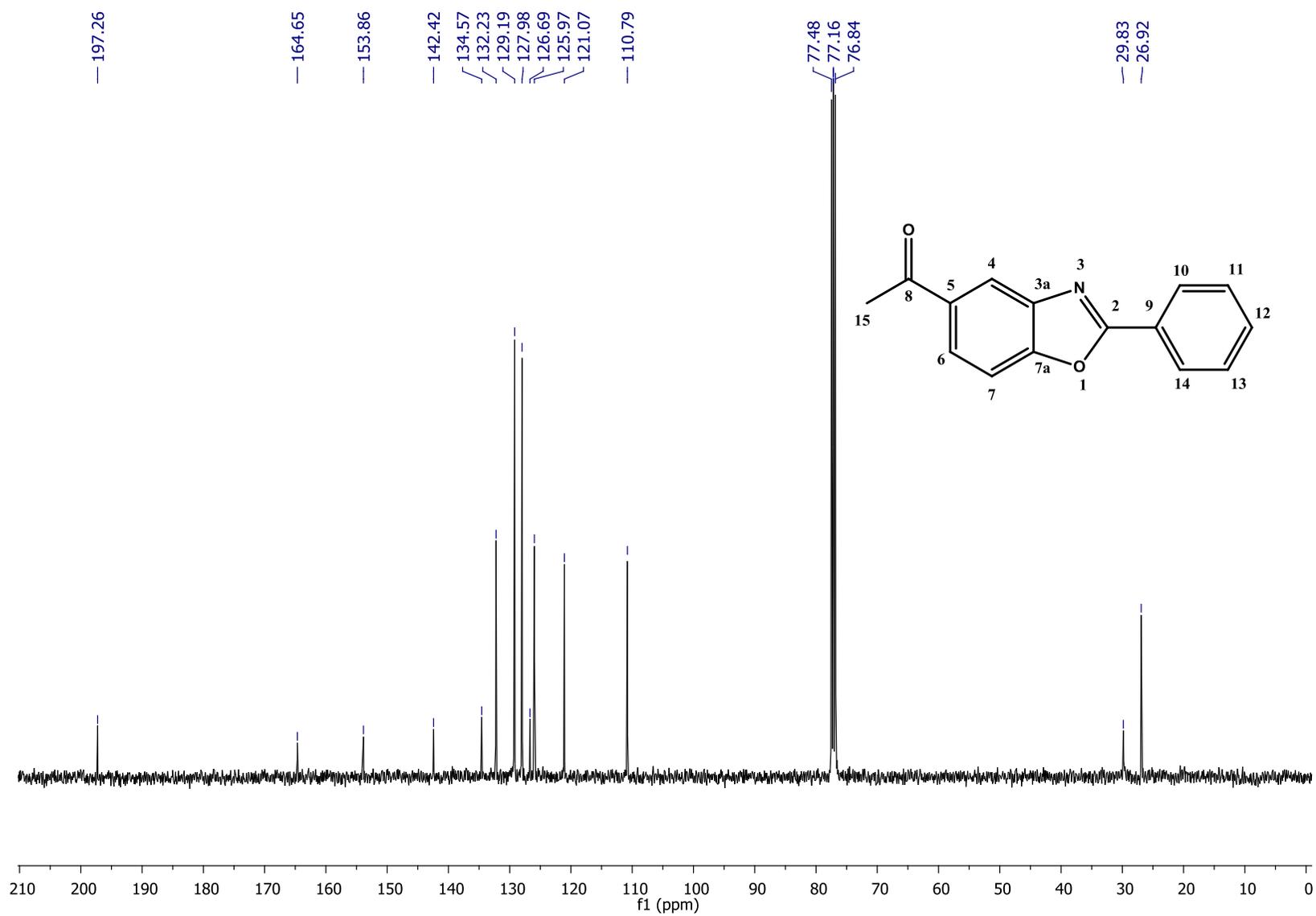


Figura 67 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **22h**.

Fonte: Da autora.

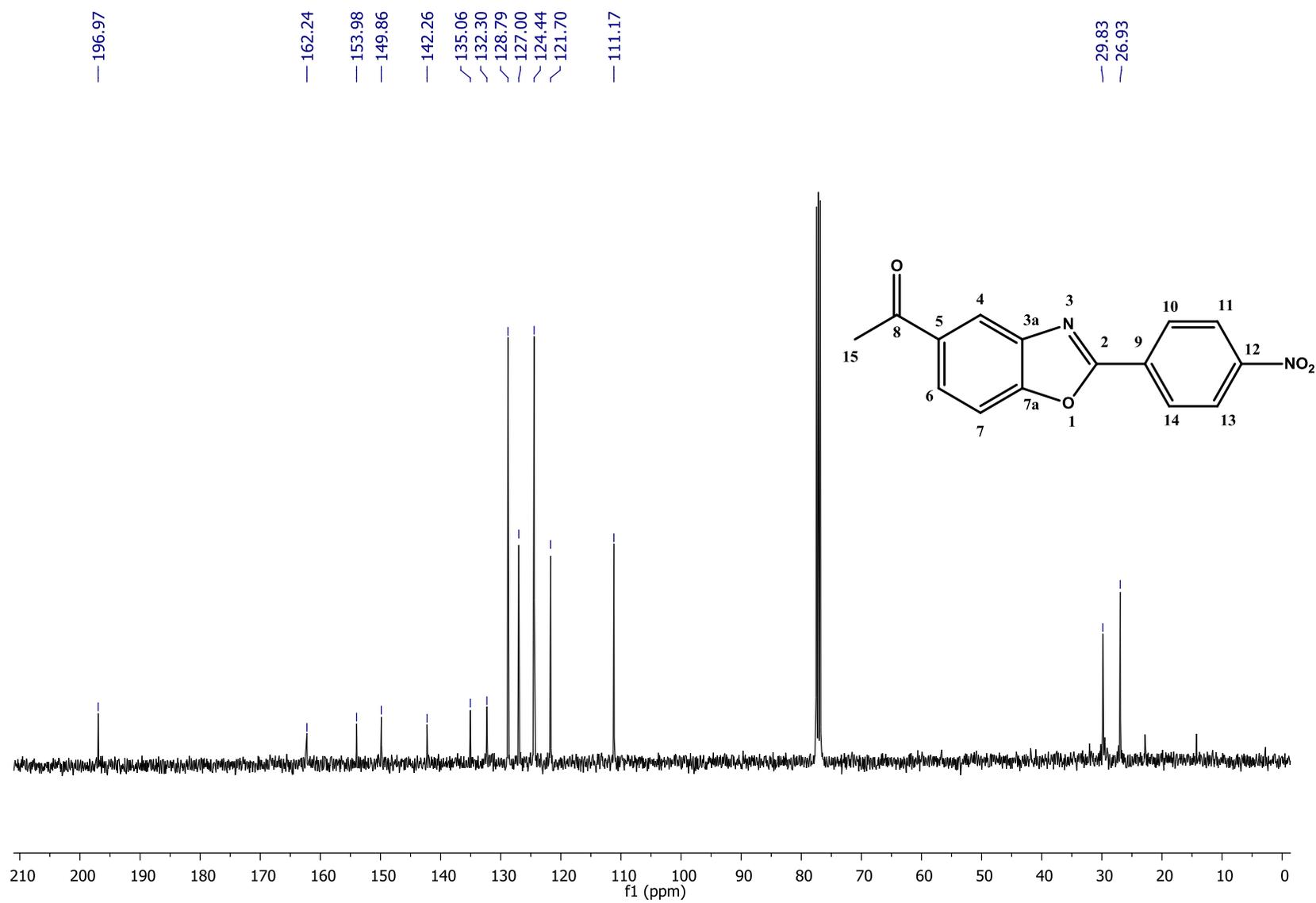


Figura 68 – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de **22i**.

Fonte: Da autora.

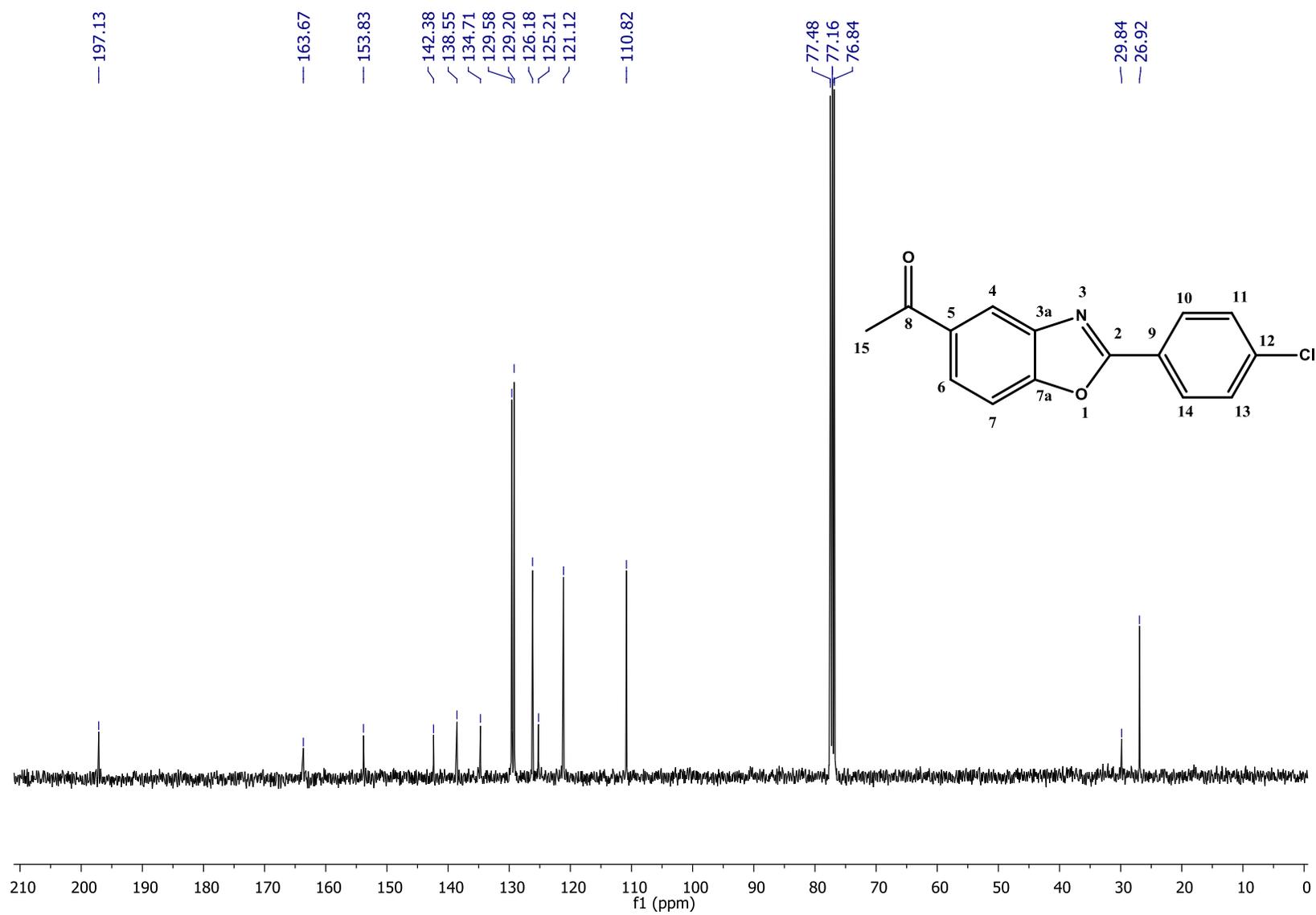


Figura 69 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de **22j**.

Fonte: Da autora.

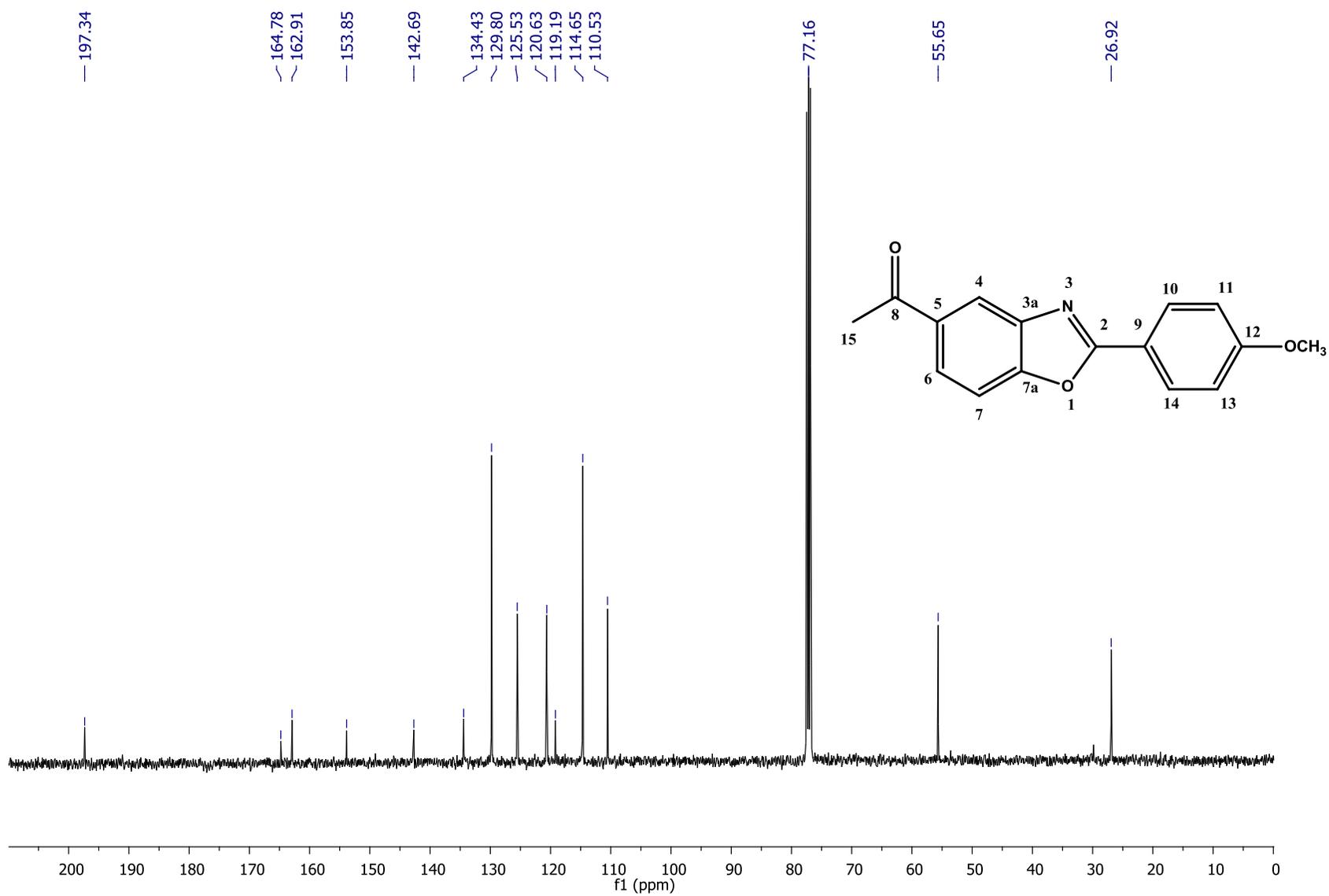


Figura 70 – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **22k**.

Fonte: Da autora.