

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DOUTORADO EM QUÍMICA

Juliana Alves dos Santos

Preparação e avaliação biológica de conjugados esteroides/bases de Schiff

Juiz de Fora
2015

Juliana Alves dos Santos

Preparação e avaliação biológica de conjugados esteroides/bases de Schiff

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Doutora em Química. Área de concentração: Química Orgânica.

Orientador: Dr. Adilson David da Silva
Coorientadora: Dra. Elaine Soares Coimbra

Juiz de Fora

2015

Dedico este trabalho aos meus pais Maria José e Miguel, ao meu irmão André e ao meu noivo Rafael por todo apoio e incentivo. Amo vocês !!!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder o dom da vida, saúde, força e coragem para alcançar mais este objetivo.

Aos meus pais Maria e Miguel, pelo apoio incondicional e por sempre estarem ao meu lado. Obrigada pelas orações e por sempre acreditaram em mim e nos meus sonhos. Ao meu irmão André pelo carinho e apoio. Sem vocês eu não conseguiria.

Ao meu noivo Rafael pelo companheirismo, carinho e incentivo. Obrigada por acreditar nos meus sonhos; obrigada ainda mais por fazer parte deles. A D. Vilma e ao Sr. Pedro por me acolherem e por sempre me incentivarem.

A todos os meus familiares que sempre me apoiaram e me incentivaram a seguir em frente. Em especial agradeço a minha tia Emília e a minha madrinha Maria do Carmo pelas orações e incentivo.

Ao professor Adilson David por todos os ensinamentos, pela oportunidade a mim concedida e principalmente por despertar em mim o gosto pela ciência. Obrigada pela confiança e dedicação. Obrigada pela sensibilidade de me perceber, ainda lá durante as aulas de química orgânica I, dentre tantos outros, e por me dar esta oportunidade.

À professora Elaine Soares pela coorientação e pela oportunidade de conhecer parte de seu trabalho. Obrigada pela disposição e dedicação.

Às professoras Nádia Raposo, Clarice Abramo e Elaine Soares, ao professor Fernando Pavan e aos respectivos membros de seus grupos de pesquisa pela realização dos testes biológicos.

A todos os colegas do laboratório 3 ("lab. 3") pela companhia todos os dias, pelos momentos de descontração e por toda a ajuda: Arturene, Isabela, Larissa, Nícolas, Pedro, Raíssa Meinel.

Aos professores e funcionários do Departamento de Química da UFJF pelos ensinamentos e suporte durante toda a minha trajetória por esta universidade. Todos foram essenciais para esta conquista, direta ou indiretamente com seus exemplos de profissionalismo e competência. Em especial agradeço às professoras Mara Rúbia e Bárbara e ao professor Maurício pelo suporte durante minha atuação como professora substituta do departamento. Não poderia deixar de agradecer aos técnicos Fernando, Bárbara, Gedair, Sérgio, Mariângela e Hilda não só pelo suporte mas também pela amizade e por tornar tudo mais prazeroso.

Aos amigos que conquistei em algum momento desses dez anos de UFJF, aos quais devo as emoções do dia a dia; pessoas com as quais eu dividi grandes momentos, momentos estes que, também por causa de vocês, tornaram-se mais felizes e inesquecíveis: Larissa, Lívia, Gustavo, Rafael Mafra, Marcos Joel, Nelson, Leonã, Mathias, Fábio e Arthur.

Em especial, agradeço as amigas Aline Vitor (Line, obrigada por tudo, por sua companhia, pela cumplicidade e por tornar meus dias mais felizes, mais que uma amiga você é uma irmã para mim !!!), Glauca (pela amizade, por ser tão prestativa e sincera, por estar sempre ao meu lado), Gilvânia (Gil, obrigada por tudo, nossa amizade é muito importante para mim) e Roberta (Roberta, muito obrigada por ser tão sincera e prestativa, por ter se tornado minha amiga "além das bancadas" e por suas risadas contagiantes ...).

À amiga-irmã Marlene por toda cumplicidade, incentivo e amizade verdadeira. Obrigada por me apoiar e dividir essa família linda comigo. Ao Giovani e ao Thiago por todo carinho.

Às "meninas do ICB" por estarem sempre dispostas e pelas valiosas trocas de experiências (foi muito bom aprender um pouquinho de biologia com vocês !!!), em especial agradeço a Roberta Reis e a Patrícia Machado: Paty, o que começou com uma colaboração se tornou uma amizade e que ela cresça sempre mais !!! Ao Hudson Polonini pelas colaborações na parte antioxidante e fotoprotetora e por ser tão prestativo.

Aos meus amigos "não científicos" Luciana, Leandra, Laís e Luís Felipe, obrigada pelo incentivo sempre e principalmente pela certeza de que a distância não diminui nossa admiração mútua.

Por fim, mas não menos importante, gostaria de agradecer a TODOS os meus professores, todos estes exemplos que, de alguma maneira me ajudaram a chegar até aqui. Agradeço aos professores do querido Colégio Estadual Barão de Palmeiras e aos do Colégio Sul Fluminense. Muito obrigada !!!

À UFJF por proporcionar a realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.”

(Eclesiastes 3:1)

RESUMO

A presente tese, intitulada "Preparação e avaliação biológica de conjugados esteroides/bases de Schiff" trata, sobretudo, da preparação, caracterização e avaliação do potencial biológico de compostos orgânicos contendo uma porção esteroidal associada a uma base de Schiff nos quais a conjugação se deu nas posições C-3 ou C-24 dos núcleos esteroidais cólico, desoxicólico ou colesterol. Além destes, encontra-se descrita também a preparação de derivados destas duas classes de compostos de forma não conjugada. Os compostos aqui descritos foram preparados através da utilização de metodologias clássicas em síntese orgânica, as quais envolvem a formação de amidas, reações de esterificação e formação de iminas; todas relacionadas à química de compostos carbonílicos. As estruturas químicas dos produtos obtidos, bem como as dos intermediários sintéticos, foram devidamente confirmadas por espectroscopia no infravermelho, de ressonância magnética nuclear de próton e de carbono, por espectrometria de massas, além de faixa de fusão e análise elementar. Os compostos sintetizados foram avaliados como potenciais antiparasitários (leishmanicidas e antimaláricos), antibacterianos (antituberculosos) e antioxidantes (inibidores do radical DPPH). Tais propriedades foram selecionadas por já serem atividades descritas para as duas classes de moléculas exploradas neste trabalho- derivados esteroidais e bases de Schiff. Baseado nas estruturas dos compostos descritos neste trabalho realizou-se também testes de avaliação da atividade fotoprotetora (fatores de proteção solar UVA e UVB e determinação do comprimento de onda crítico) de alguns dos conjugados obtidos. Grande parte dos compostos sintéticos apresentaram atividade biológica promissora.

Palavras-chave: Derivados esteroidais. Bases de Schiff. Iminas. Malária. Leishmanioses. Tuberculose. Antioxidantes. Fotoprotetores.

ABSTRACT

The thesis entitled "Preparation and biological evaluation of conjugated steroids/Schiff bases" deals mainly with the preparation, characterization and evaluation of the biological potential of organic compounds containing a steroid portion associated with a Schiff base in which the conjugation occurred the C-3 or C-24 positions of the steroid nucleus cholic, deoxycholic or cholesterol. In addition, is also described the preparation of derivatives of these two classes of compounds in non conjugated form. The compounds described herein were prepared by using classical methods of organic synthesis, which involves amide formation, sterification and imine formation; all related to chemistry of carbonyl compounds. The chemical structures of the obtained products, as well as synthetic intermediates were confirmed by infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance of proton and carbon, by mass spectrometry, elemental analysis and melting point. The synthesized compounds were evaluated as potential antiparasitic (antileishmanial and antimalarial), antibacterial (antituberculosis) and antioxidants (DPPH radical inhibitors). These properties have been selected by already being activities described for the two classes of molecules explored in this work-steroidal derivatives and bases Schiff. Based on the structures of the compounds described in this work also conducted evaluation tests of sunscreen activity (sun protection factor UVA and UVB, and determining the critical wavelength) of some of the conjugates. Much of the synthetic compounds showed promising biological activity.

Keywords: Steroidal derivatives. Schiff bases. Imines. Malaria. Leishmaniases. Tuberculosis. Antioxidant. Photoprotective.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Proposta de mecanismo de formação de amida usando DCC como ativador	16
Esquema 2 - Proposta de mecanismo da esterificação de Steglich	18
Esquema 3 - Mecanismo de formação de uma imina (i) na ausência de catálise e (ii) na presença de um catalisador ácido (de Arrhenius ou de Bronsted)	20
Esquema 4 - Preparação dos conjugados 1a-g e 2a-g	21
Esquema 5 - Reações de ácidos carboxílicos com carbodiimidas: i) reação com um nucleófilo, ii) ocorrência de rearranjo	22
Esquema 6 - Metodologia para conjugação via esterificação em C-3	36
Esquema 7 - Rota sintética alternativa para conjugação via esterificação em C-3	37
Esquema 8 - Preparação de conjugados via esterificação em C-3 do colesterol	44
Esquema 9 - Preparação das amidas e aldeídos biliares 13-16	48
Esquema 10 - Preparação das bases de Schiff lipofílicas (de cadeia alquila longa) 20-24	51
Esquema 11 - Reação de formação do benzotiazol 24	56
Esquema 12 - Preparação das bases de Schiff 3-5 , derivadas do 4-carboxibenzaldeído	58
Esquema 13 - Preparação das bases de Schiff derivadas do 1,4-diaminobenzeno e da anilina ..	60
Esquema 14 - Preparação da base de Schiff alquilada 30 derivada do 1,4-diaminobenzeno	61
Esquema 15 - Preparação das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas 31a-e e 32a-e	64
Esquema 16 - Preparação das tioiminas 33-35	67
Esquema 17 - Esquema de síntese das tioiminas com grupo -SH alquilado 37-39	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas químicas do colesterol e dos ácidos biliares cólico e desoxicólico	2
Figura 2 - Biossíntese de ácidos biliares a partir do colesterol	3
Figura 3 - Representação da estrutura do ácido cólico e suas faces α e β	3
Figura 4 - Algumas possibilidades de funcionalizações/modificações estruturais nos ácidos biliares exemplificadas no ácido cólico.....	4
Figura 5 - Estrutura química e perfis biológicos de derivados esteroidais descritos na literatura	5
Figura 6 - Estrutura química de alguns conjugados esteroides/moléculas bioativas descritos na literatura	6
Figura 7 - Estrutura química geral de uma base de Schiff	8
Figura 8 - Estruturas químicas e perfis biológicos de bases de Schiff descritas na literatura	9
Figura 9 - Estrutura química de bases de Schiff contendo cadeia alquila longa (lipofílicas).....	10
Figura 10 - Estrutura química da vitamina E e do galato de dodecila.....	11
Figura 11 - Estruturas químicas dos conjugados esteroides/bases de Schiff almeçados neste trabalho.....	13
Figura 12 - Estruturas químicas dos derivados esteroidais, bases de Schiff lipofílicas e bases de Schiff não associadas almeçados neste trabalho	14
Figura 13 - Espectro infravermelho do composto 1	24
Figura 14 - Espectro de RMN de ^1H do composto 1 (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	25
Figura 15 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1 (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	26
Figura 16 - Espectro de massas (LC-MS) do composto 1	26
Figura 17 - Comparação dos espectros infravermelho dos compostos 1f e 2f	27
Figura 18 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H dos compostos 1f e 2f (DMSO- d_6 , 300 MHz)	29
Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1f (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	30
Figura 20 - Espectro de massas (LC-MS) do composto 1f	30
Figura 21 - Seções expandidas dos espectros de RMN de ^1H (3-5,0 ppm) e de ^{13}C (30-80,0 ppm) dos conjugados 1a e 2a (DMSO- d_6 , 300 MHz, 75 MHz).	32
Figura 22 - Seção expandida do espectro COSY (2,5-5,0 ppm) do conjugado 1f (DMSO- d_6 , 300 MHz)	32
Figura 23 - Espectro infravermelho do composto 7	38
Figura 24 - Espectro de RMN de ^1H do composto 7 (CDCl $_3$, 300 MHz)	39
Figura 25 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto 7 (CDCl $_3$, 75 MHz)	40
Figura 26 - Espectro infravermelho do composto 8	41
Figura 27 - Espectro de RMN de ^1H do composto 8 (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	42
Figura 28 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto 8 (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	43
Figura 29 - Espectro infravermelho do composto 11	45
Figura 30 - Espectro de RMN de ^1H do composto 11 (CDCl $_3$, 500 MHz)	46
Figura 31 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto 11 (CDCl $_3$, 75 MHz)	47
Figura 32 - Espectro de RMN de ^1H do composto 13 (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	49
Figura 33 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto 15 (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	50
Figura 34 - Comparação dos espectros infravermelho dos compostos 17 e 20	52
Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H do composto 20 (CDCl $_3$, 300 MHz)	53
Figura 36 - Espectro de RMN ^{13}C do composto 20 (CDCl $_3$, 75 MHz)	54
Figura 37 - Espectro DEPT 135° do composto 20 (CDCl $_3$, 75 MHz)	55

Figura 38 - Espectro de RMN de ^1H do composto 24 (CDCl_3 , 300 MHz)	56
Figura 39 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H das iminas 3-5 ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz)..	59
Figura 40 - Espectro infravermelho do composto 30	62
Figura 41 - Espectro de RMN de ^1H do composto 30 (CDCl_3 , 300 MHz)	63
Figura 42 - Comparação das regiões entre δ 6,00 e 10,00 ppm dos espectros de RMN de ^1H das iminas 31a e 32a ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz)	65
Figura 43 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H da tioimina 38 e do precursor 36 (CDCl_3 , 300 MHz)	70
Figura 44 - (A) Promastigotas de <i>Leishmania braziliensis</i> . (B) Amastigotas de <i>Leishmania major</i> no interior de macrófagos. Aumento de 1000x.....	72
Figura 45 - Estruturas químicas de drogas empregadas no tratamento das Leishmanioses	74
Figura 46 - Estruturas químicas de drogas empregadas no tratamento da malária	89
Figura 47 - Estruturas químicas de drogas empregadas no tratamento da tuberculose	93
Figura 48 - Estruturas químicas de alguns antioxidantes	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tentativas de condensação das amidas biliares 1 e 2 com aldeídos aromáticos	23
Tabela 2 - Principais dados espectrais de RMN de ¹ H e de ¹³ C dos conjugados 1a-g e 2a-g* ...	33
Tabela 3 - Faixas de fusão dos conjugados 1a-g e 2a-g	35
Tabela 4 - Dados da análise elementar das bases de Schiff lipofílicas 20 , 21 e 22	57
Tabela 5 - Tentativas de preparação das iminas derivadas do 1,4-diaminobenzeno	60
Tabela 6 - Principais dados de caracterização* das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas	66
Tabela 7 - Principais dados de caracterização* das tioiminas 33-35	67
Tabela 8 - Principais dados de caracterização* das tioiminas alquiladas 38 e 39	69
Tabela 9 - Atividade leishmanicida em promastigotas de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos conjugados 1a-g e 2a-g e amidas precursoras 1 e 2	77
Tabela 10 - Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 7 , 8 , 9-12 , 13-16 ..	80
Tabela 11 - Atividade leishmanicida em promastigotas de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 17-24	84
Tabela 12 - Atividade leishmanicida em promastigotas de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 31a-e e 32a-e	85
Tabela 13 - Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das tioiminas 33-39 e do precursor 36	86
Tabela 14 - Supressão da parasitemia em camundongos promovida pelo tratamento com os compostos 1 , 1b-e , 2e e cloroquina, na dose de 10 mg/Kg contra <i>P. berghei</i> NK65.....	91
Tabela 15 - Supressão da parasitemia em camundongos promovida pelo tratamento com os compostos 31a , 31d , 15 , 18 e 21 e cloroquina, na dose de 10 mg/Kg contra <i>P. berghei</i> NK65.	92
Tabela 16 - Atividade antitubercular (<i>M. tuberculosis</i> H37Rv ATCC 27294) dos compostos 7 , 8 , 9-12 , 13-16	95
Tabela 17 - Atividade antitubercular (<i>M. tuberculosis</i> H37Rv ATCC 27294) dos compostos 17-24	97
Tabela 18 - Atividade antitubercular (<i>M. tuberculosis</i> H37Rv ATCC 27294) dos compostos 31a-e e 32a-e	98
Tabela 19 - Atividade antitubercular (<i>M. tuberculosis</i> H37Rv ATCC 27294) dos compostos 33-39	99
Tabela 20 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos compostos 1a-g e 2a-g no ensaio do DPPH ..	103
Tabela 21 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos compostos 7-12 , 4 e 5 no ensaio do DPPH....	105
Tabela 22 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos compostos 13-16 no ensaio do DPPH	106
Tabela 23 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos compostos 17-24 no ensaio do DPPH	107
Tabela 24 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos compostos 31a-e e 32a-e no ensaio do DPPH	109
Tabela 25 - Atividade antioxidante <i>in vitro</i> dos compostos 33-39 no ensaio do DPPH	110
Tabela 26 - Sistema Boots Star Rating relacionado a razão UVA/UVB	113
Tabela 27 - Resultados de fotoproteção dos conjugados 1a-e e 2a-e e das amidas biliares precursoras	118

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOH	ácido acético
ACTs	Artemisin Combination Therapies
CAT	catalase
CC ₅₀	50% da concentração citotóxica
CCD	cromatografia em camada delgada
CCS	cromatografia em coluna de sílica
CDCl ₃	clorofórmio deuterado
CI ₅₀	Concentração que inibe 50 % do crescimento de uma determinada população
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COLIPA	European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association
d	duplete
DCC	diciclo-hexilcarbodiimida
DCU	diciclo-hexilureia
dd	duplete duplo
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMAP	dimetilaminopiridina
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
DNA	Deoxyribonucleic acid
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
DPPH-H	2,2-difenil-1-picril-hidrazina
EROs	espécies reativas de oxigênio
EtOH	etanol
F. F	faixa de fusão
FDA	Food and Drug Administration
FPS	Fator de Proteção Solar UVB
FPUVA	Fator de Proteção UVA)
I.V.	infravermelho
IC	intervalo de confiança
IMP	Inibição da Multiplicação do Parasito
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LC-MS	espectrometria de massas/cromatografia líquida de alta performance
μM	micro molar

m	multiplete
m/z	razão massa/carga
MBT	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MDR-TB	Muiltidrug Resitant tuberculosis
MeOH	metanol
MHz	mega hertz
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazólio
OADC	enriquecimento de meio de cultura com ácido oleico, albumina, dextrose e catalase
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Phosphate buffered saline
PMMA	polimetilmetacrilato
ppm	partes por milhão
REMA	Resazurin Microtiter Assay
RMN de ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
RMN de ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de próton
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Institute (meio de cultura)
s	simpleto
SBF	soro bovino fetal
S _N 2	substituição nucleofílica bimolecular
SOD	superóxido dismutase
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
t	tripleto
t.a.	temperatura ambiente
TB	tuberculose
TEA	trietilamina
THF	tetra-hidrofurano
TMS	trimetilsilano
TsOH	ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
UV	radiação ultravioleta
UVA	radiação ultravioleta "A"
UVB	radiação ultravioleta "B"
UVC	radiação ultravioleta "C"
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
δ	deslocamento químico
λ_c	comprimento de onda crítico
ν	número de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 JUSTIFICATIVA.....	12
3 OBJETIVOS.....	13
3.1 OBJETIVOS GERAIS	13
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3.2.1 Preparação de conjugados esteroides/bases de Schiff via conjugação nas posições C-24 e C-3 dos núcleos esteroidais cólico, desoxicólico e colesterol (Figura 11).	13
3.2.2 Preparação de derivados esteroidais (amidas e aldeídos biliares), bem como a preparação de bases de Schiff lipofílicas (de cadeia alquila longa) e de bases de Schiff não associadas (Figura 12).....	14
3.2.3 Avaliação biológica dos compostos sintetizados como potenciais antiparasitários (leishmanicidas e antimaláricos), antimicrobianos (antituberculares), antioxidantes e fotoprotetores.....	14
3.2.4 Realização de um estágio supervisionado no Núcleo de Pesquisas em Parasitologia (NUPEP) pertencente ao Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFJF com o intuito de acompanhar a realização dos testes de avaliação leishmanicida dos compostos sintetizados.	14
4 METODOLOGIA	15
4.1 FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO AMIDA	15
4.2 REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO - A ESTERIFICAÇÃO DE STEGLICH	17
4.3 FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO IMÍNICA - SÍNTESE DE BASES DE SCHIFF	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5.1 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CONJUGADOS ESTEROIDES/BASES DE SCHIFF	21
5.1.1 Preparação e caracterização de conjugados via formação de amida em C-24 dos ácidos cólico e desoxicólico	21
5.1.2 Preparação e caracterização de conjugados via esterificação de Steglich em C-3 do ácido cólico.....	35
5.1.3 Preparação e caracterização de conjugados via esterificação de Steglich em C-3 do colesterol.....	43
5.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDAS E ALDEÍDOS BILIARES	47
5.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BASES DE SCHIFF LIPOFÍLICAS (DE CADEIA ALQUILA LONGA).....	50
5.4 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BASES DE SCHIFF	57
5.4.1 Preparação e caracterização de bases de Schiff derivadas do 4-carboxibenzaldeído	58
5.4.2 Preparação e caracterização de bases de Schiff derivadas do 1,4-diaminobenzeno e da anilina.....	59

5.4.3	Preparação e caracterização de piridinilimininas e piridinil-hidrazonas derivadas do 4- e do 2-piridinocarboxaldeído.....	63
5.4.4	Preparação e caracterização de tioimininas.....	66
6	AVALIAÇÃO BIOLÓGICA.....	71
6.1	ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA	71
6.1.1	Leishmanioses	71
6.1.1.1	Parte experimental	74
6.1.1.1.1	Ensaio anti-promastigota	74
6.1.1.1.2	Citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos	75
6.1.1.2	Resultados e discussão	76
6.1.1.2.1	Atividade leishmanicida em promastigotas de quatro espécies de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 1a-g e 2a-g	76
6.1.1.2.2	Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 7, 8, 9-12, 13-16 ..	79
6.1.1.2.3	Atividade leishmanicida em promastigotas de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das bases de Schiff lipofílicas (20-24) e seus aldeídos precursores (17-19)	83
6.1.1.2.4	Atividade leishmanicida em promastigotas de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das piridinilimininas e piridinil-hidrazonas (31a-e, 32a-e).....	84
6.1.1.2.5	Atividade leishmanicida em promastigotas de <i>Leishmania</i> e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das tioimininas 33-39 e do precursor 36	86
6.1.2	Malária	87
6.1.2.1	Parte experimental	89
6.1.2.2	Resultados e discussão	90
6.1.2.2.1	Atividade antimalárica de conjugados esteroides/bases de Schiff expressa pela Inibição da Multiplicação do Parasito (IMP) de <i>P. berguei</i> NK65 em camundongos infectados com o parasito	90
6.1.2.2.2	Atividade antimalárica dos compostos 31a, 31d, 15, 18 e 21 expressa pela Inibição da Multiplicação do Parasito (IMP) de <i>P. berguei</i> em camundongos infectados com o <i>P. berguei</i> NK65	91
6.2	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA.....	92
6.2.1	Parte experimental	94
6.2.2	Resultados e discussão	95
6.2.2.1	Atividade antitubercular dos compostos 7, 8, 9-12, 13-16	95
6.2.2.1.2	Atividade antitubercular das bases de Schiff lipofílicas (20-24) e seus aldeídos precursores (17-19)	96
6.2.2.1.3	Atividade antitubercular das piridinilimininas e piridinil-hidrazonas 31a-e e 32a-e	97
6.2.2.1.4	Atividade antitubercular das tioimininas 33-39 e do precursor 36	98

6.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	99
6.2.1 Parte experimental	101
6.2.1.1 <i>Avaliação da capacidade antioxidante pelo método DPPH</i>	101
6.2.2 Resultados e Discussão	102
6.2.2.1 <i>Atividade antioxidante in vitro dos compostos 1a-g e 2a-g no ensaio do DPPH</i>	102
6.2.2.2 <i>Atividade antioxidante in vitro dos compostos 7, 8, 9-12 e bases de Schiff derivadas do 4-carboxibenzaldeído (4 e 5) no ensaio do DPPH</i>	104
6.2.2.3 <i>Atividade antioxidante in vitro dos aldeídos e amidas biliares (compostos 13-16) no ensaio do DPPH</i>	106
6.2.2.4 <i>Atividade antioxidante in vitro das bases de Schiff lipofílicas e dos aldeídos precursores (compostos 17-24) no ensaio do DPPH</i>	107
6.2.2.5 <i>Atividade antioxidante in vitro das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas 31a-e e 32a-e no ensaio do DPPH</i>	108
6.3 ATIVIDADE FOTOPROTETORA	110
6.3.1 Parte experimental	111
6.3.1.1 <i>Avaliação da eficácia fotoprotetora</i>	112
6.3.1.2 <i>Avaliação in vitro da eficácia fotoprotetora</i>	113
6.3.2 Resultados e discussão	116
7 PARTE EXPERIMENTAL	120
7.1 MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS	120
7.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTÉTICOS	121
7.2.1 Preparação dos conjugados esteroides/bases de Schiff	121
7.2.1.1 <i>Via formação de amida em C-24 dos ácidos cólico e desoxicólico</i>	121
7.2.1.1.1 <i>Preparação das amidas biliares 1 e 2</i>	121
7.2.1.1.2 <i>Procedimento geral de preparação dos conjugados 1a-e e 2a-e</i>	125
7.2.1.2 <i>Via esterificação em C-3 do ácido cólico</i>	154
7.2.1.2.1 <i>Preparação do éster metílico do ácido cólico 6</i>	154
7.2.1.2.2 <i>Preparação do aldeído 7 via esterificação do composto 6 em C-3</i>	155
7.2.1.2.2 <i>Preparação do conjugado 8</i>	157
7.2.1.3 <i>Via esterificação em C-3 do colesterol</i>	160
7.2.1.3.1 <i>Preparação do aldeído 9</i>	160
7.2.1.3.1 <i>Procedimento geral de preparação dos conjugados 10-12</i>	163
7.2.2 Preparação de amidas e aldeídos biliares derivados dos ácidos cólico e desoxicólico	170
7.2.2.1 <i>Preparação das amidas biliares 13 e 14</i>	170
7.2.2.2 <i>Preparação dos aldeídos biliares 15 e 16</i>	175
7.2.3 Preparação de bases de Schiff lipofílicas (de cadeia alquila longa)	180

7.2.3.1 Procedimento geral de preparação dos aldeídos de cadeia longa 17-19.....	180
7.2.3.1 Procedimento geral de preparação das bases de Schiff lipofílicas 20-24	186
7.2.4 Preparação de bases de Schiff não associadas	196
7.2.4.1 Procedimento geral de preparação das bases de Schiff derivadas do 4-carboxibenzaldeído 3-5	196
7.2.4.2 Preparação de bases de Schiff derivadas do 1,4-diaminobenzeno e da anilina.....	200
7.2.4.2.1 Preparação da base de Schiff 28.....	200
7.2.4.2.2 Preparação da base de Schiff alquilada 30.....	203
7.2.4.3 Procedimento geral de preparação das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas derivadas do 2- e do 4-piridinocarboxaldeído 31a-e e 32a-e.....	205
7.2.4.4 Procedimento geral de preparação das tioiminas 33-39	224
7.2.4.4.1 Preparação de tioiminas 33-35	224
7.2.4.4.2 Preparação das tioiminas 38 e 39	230
7.2.4.4.2.1 Alquilação da 2-mercapto anilina: preparação do composto 36.....	230
7.2.4.4.2.2 Procedimento geral de preparação das tioiminas 38 e 39.....	232
8 CONCLUSÕES	237
REFERÊNCIAS	240
APÊNDICE A - RELAÇÃO DOS COMPOSTOS PREPARADOS.....	253
APÊNDICE B - PUBLICAÇÕES	256

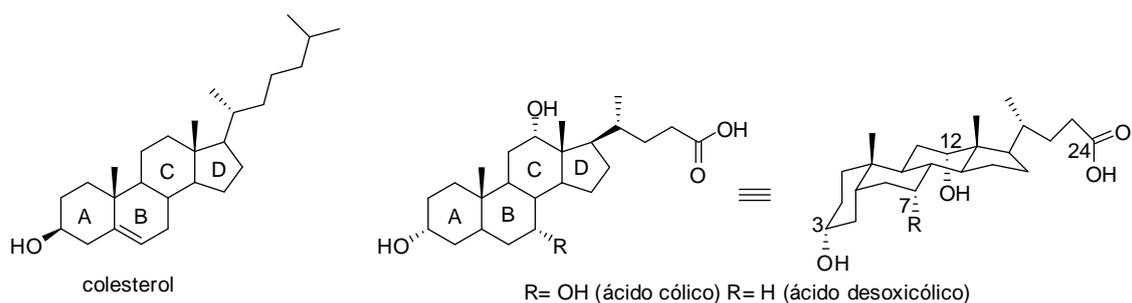
1 INTRODUÇÃO

Esteroides são compostos naturais que encontram aplicações em muitos campos de pesquisa tais como farmacologia, biomimética, química supramolecular e também em nanotecnologia (VIRTANEN; KOLEHMAINEN, 2004). O interesse na química de esteroides é em grande parte justificado pela frequência com a qual estes compostos vêm sendo citados na medicina: drogas esteroidais compreendem uma categoria que incluem os hormônios, como corticoides, progesterona, estrógenos, andrógenos; agentes anabólicos e outros (DANGATE; SALUNKE; AKAMANCHI, 2011).

O colesterol é um importante esteroide e o principal representante da classe dos esteróis de origem animal. Participa de diversos processos bioquímicos importantes: é precursor dos ácidos biliares, dos hormônios sexuais masculinos e femininos e da vitamina D, sendo também essencial ao crescimento e viabilidade das células (BANDEIRA *et al.*, 2008). Foi o primeiro esterol a ser conhecido, por químicos franceses há mais de 200 anos, como um componente cristalino de cálculos biliares humanos. A fórmula estrutural correta deste esterol foi proposta em 1888 por F. Reinitze, no entanto, a representação exata da estereoquímica da molécula só foi estabelecida 30 anos depois, após esforços que renderam os prêmios Nobel de química a Wieland em 1927 e a Windaus em 1928 (NES, 2011).

Quanto à estrutura química, a molécula de colesterol é então constituída por um núcleo esteroidal e uma cadeia carbônica lateral (Figura 1). A unidade tetracíclica é comum à classe dos esteroides, sendo formada por três anéis de seis membros (A, B e C) e um anel de cinco membros (D) e denominada *ciclopentanoper-hidrofenantreno* ou *estereno* (NES, 2011). Além disso, há uma hidroxila na posição C-3 do anel A, a qual caracteriza o colesterol como um álcool secundário e uma dupla ligação em C-5; ambas as funcionalidades são alvo de modificações químicas em virtude de suas reatividades, como revisado recentemente (MORZYCKI, 2014).

Figura 1 - Estruturas químicas do colesterol e dos ácidos biliares cólico e desoxicólico

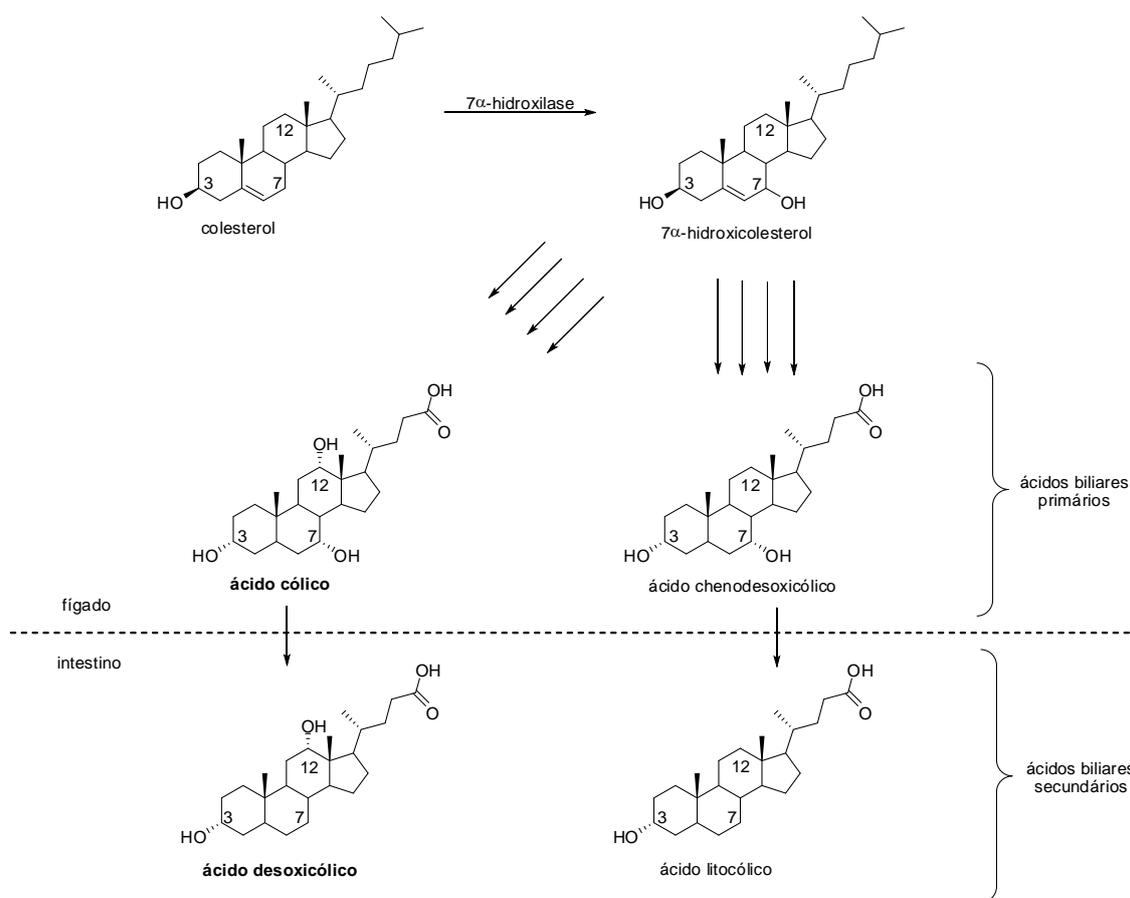


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Ácidos biliares e, em particular, os ácidos cólico e desoxicólico (Figura 1) têm sido considerados bastante úteis na preparação de novas drogas farmacêuticas devido a suas propriedades químicas e biológicas (MUKHOPADHYAY; MAITRA, 2004; HOFMANN; HAGEY, 2008). Tratam-se de compostos formados como produtos finais do metabolismo do colesterol no fígado, sendo este um processo complexo que envolve um grande número de etapas com modificações estruturais tanto no núcleo esteroidal quanto na cadeia lateral (MUKHOPADHYAY; MAITRA, 2004). (Figura 2).

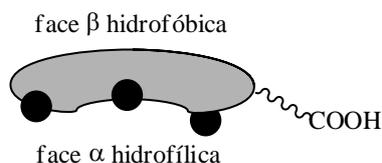
Como pode ser observado na Figura 1, os ácidos cólico e desoxicólico diferem-se entre si apenas pela presença de um grupo hidroxila adicional em C-7 no ácido cólico. Contudo, todos os ácidos biliares, assim como o colesterol, consistem, estruturalmente, em duas unidades conectadas: um núcleo esteroidal rígido (unidade tetracíclica) e uma cadeia lateral alifática curta. Tais compostos, bem como os demais representantes desta classe de esteroides, exibem promissora natureza anfifílica devido à presença de grupos hidroxila polares em uma face (face α , côncava) e de grupos metila hidrofóbicos não polares na outra (face β , convexa). (Figura 3). Este arranjo cria uma anfifilicidade única para esta classe de moléculas, e, em solução aquosa, sais biliares se agregam através de associações hidrofóbicas das faces β e adicionais interações de hidrogênio (MUKHOPADHYAY; MAITRA, 2004; ZHANG, 2010). Os ácidos biliares são, portanto, considerados biosurfactantes.

Figura 2 - Biossíntese de ácidos biliares a partir do colesterol



Fonte: ADAPTADA DE (BURTIS; ASHWOOD; BRUNS, 2008)

Figura 3 - Representação da estrutura do ácido cólico e suas faces α e β

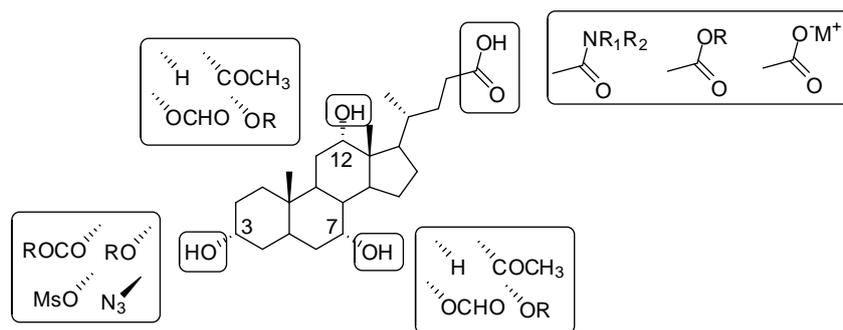


Fonte: ADAPTADA DE (MUKHOPADHYAY; MAITRA, 2004)

Em relação à reatividade, as reações dos ácidos biliares são bastante previsíveis e amplamente descritas na literatura: várias modificações em posições definidas do esqueleto esteroidal e/ou da cadeia carbônica lateral (sobretudo nas posições C-24 e C-3) levaram à obtenção de derivados e conjugados biliares com diferentes funcionalidades, tamanho e polaridade. Assim, o grupo ácido carboxílico pode ser esterificado, reduzido, amidado ou submetido à formação de sais com íons metálicos ou

bases orgânicas; enquanto as hidroxilas, por exemplo, podem ser oxidadas, acetiladas ou convertidas à um grupo abandonador e depois substituídas (ENHESEN; KRAMER; WESS, 1998; VIRTANEN; KOLEHMAINEN, 2004). A Figura 4 ilustra algumas destas possibilidades de funcionalizações/modificações estruturais.

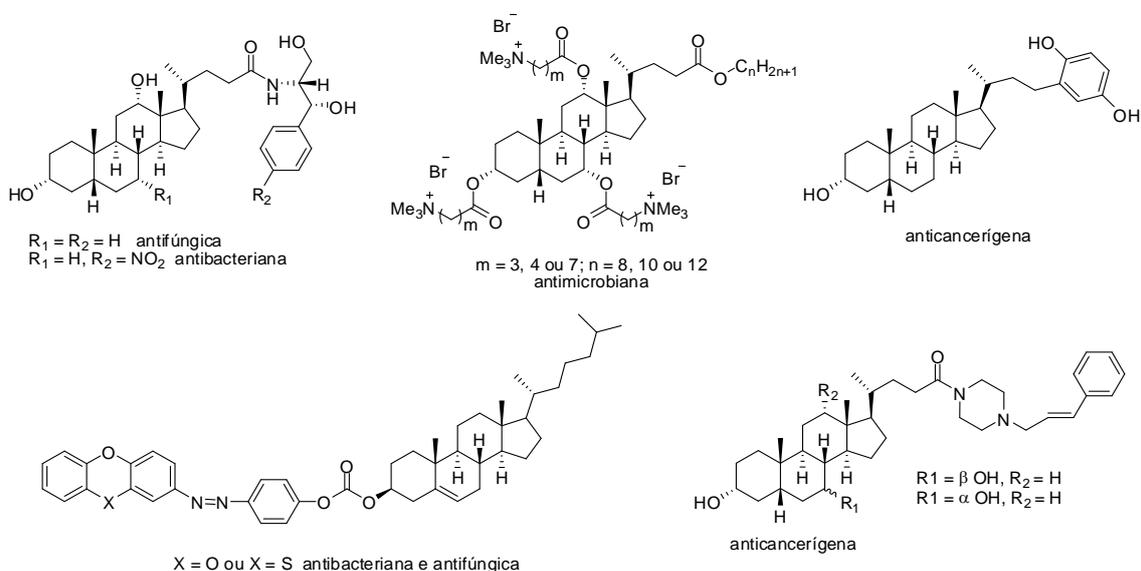
Figura 4 - Algumas possibilidades de funcionalizações/modificações estruturais nos ácidos biliares exemplificadas no ácido cólico



Fonte: ADAPTADA DE (ENHESEN; KRAMER; WESS, 1998) e (VIRTANEN; KOLEHMAINEN, 2004)

Na literatura diversas atividades farmacológicas são atribuídas aos derivados esteroidais, sobretudo aos derivados de ácidos biliares. Amidas biliares, derivadas dos ácidos cólico e desoxicólico foram preparadas e descritas por Hazra e colaboradores como antimicrobianas e antifúngicas (HAZRA *et al.*, 2004); derivados iônicos do ácido cólico foram descritos pelo grupo de pesquisa de Willemen como agentes antimicrobianos (WILLEMEN *et al.*, 2002); a preparação de carbonatos derivados do colesterol foi descrita por Dumitru e tais compostos apresentaram atividade antibacteriana e antifúngica (DUMITRU, 2012). Atividade anticancerígena é também atribuída à alguns derivados: hidroquinonas derivadas de diferentes ácidos biliares, sintetizadas recentemente por Siless e colaboradores (SILESS *et al.*, 2012) e piperazinas derivadas dos ácidos ursodesoxicólico e chenodesoxicólico (BROSSARD *et al.*, 2010). Na Figura 5 estão representadas as estruturas de alguns desses derivados bioativos.

Figura 5 - Estrutura química e perfis biológicos de derivados esteroidais descritos na literatura



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

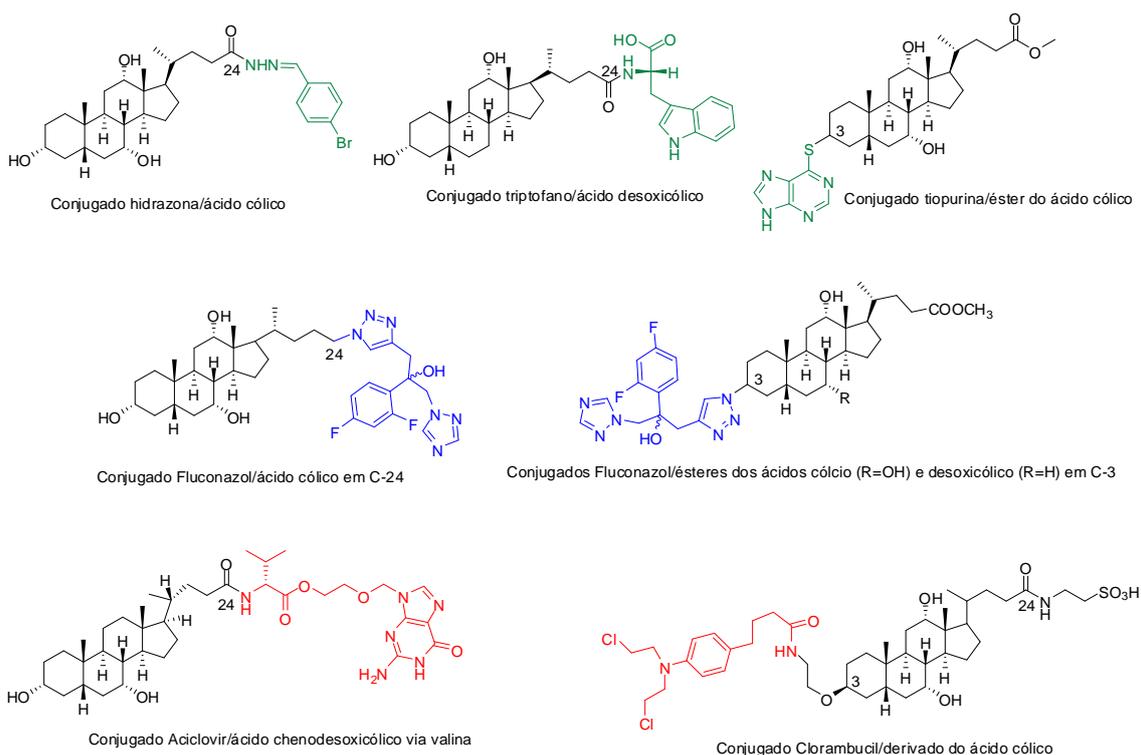
No entanto, uma das mais promissoras aplicações dos derivados biliares é a utilização dos mesmos como *carreadores de fármacos*, consequência direta do caráter anfifílico apresentado por tal classe de moléculas: ácidos biliares têm sido bem reportados por aumentar a permeabilidade em membranas celulares incluindo a parede bacteriana (ENHESEN; KRAMER; WESS, 1998; HAZRA *et al.*, 2004; MUKHOPADHYAY; MAITRA, 2004). Uma vez conjugados a drogas pouco solúveis, tais esteroides auxiliam o transporte das mesmas, que são caracterizadas por sua absorção incompleta e baixa biodisponibilidade no que se refere à absorção intestinal principalmente após a administração oral ou, menos comumente, absorção transdérmica após aplicação local (CHUNG *et al.*, 2005; MRÓZEK *et al.*, 2011). A elevada especificidade e capacidade dos sistemas de transporte de ácidos biliares durante a circulação entero-hepática é o que permite que derivados biliares conjugados a drogas as transportem para o fígado e, melhorem, assim, a absorção intestinal das mesmas.

Dentro desta perspectiva, vários trabalhos descrevem a conjugação de compostos ativos tais como o aminoácido triptofano (VIRTANEN *et al.*, 2002), peptídeos (SWAAN *et al.*, 1997), hidrazonas (RASRAS *et al.*, 2010), o antifúngico Fluconazol (PORE *et al.*, 2006), o antiviral Aciclovir (TOLLE-SANDER *et al.*, 2003; BALAKRISHNAN; POLLI, 2006) e o antineoplásico Clorambucil (KRAMER *et al.*,

1992) a derivados biliares através de modificações químicas nas posições C-3 e C-24 do núcleo esteroidal. Nosso grupo de pesquisa divulgou recentemente dois estudos com esta abordagem: a conjugação de tiopurinas (CORRALES *et al.*, 2011) e aminoquinolinas (ANTINARELLI *et al.*, 2012) a derivados do ácido cólico.

Como conclusão geral, pode-se afirmar que, nos estudos citados, os carreadores biliares contribuíram para o potencial biológico das moléculas a eles associados (RASRAS *et al.*, 2010), conduziram satisfatoriamente o fármaco ao seu local de ação (KRAMER *et al.*, 1992), e/ou foram essenciais para o aumento da biodisponibilidade oral de drogas pouco biodisponíveis (SWAAN *et al.*, 1997). A Figura 6 mostra a estrutura química de alguns dos conjugados citados.

Figura 6 - Estrutura química de alguns conjugados esteroides/moléculas bioativas descritos na literatura



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Dentre os citados, Pore (2006) e colaboradores descreveram a síntese de conjugados Fluconazol/ácidos cólico e desoxicólico via anel triazólico nas posições C-3 e C-24 do esqueleto esteroidal. Fluconazol é um poderoso antifúngico e os conjugados obtidos apresentaram importante atividade antifúngica frente a espécies de *Candida*.

Tolle-Sander (2003) e colaboradores conseguiram aumentar significativamente a biodisponibilidade oral do Aciclovir através da conjugação desta droga antiviral com o ácido chenodesoxicólico via um ligante valina. Enquanto a biodisponibilidade oral do Aciclovir é de apenas 20%, devido à sua baixa permeabilidade intestinal, a do pró-fármaco sintetizado foi de 54%.

Kramer (1992) e seu grupo de pesquisa conjugaram o Clorambucil via ligação amida a um derivado do ácido cólico e a molécula resultante além de preservar a atividade anticancerígena do fármaco original auxiliou no transporte desta droga especificamente para o fígado e sistema biliar, o que levou os autores a concluir que carreadores biliares são opções farmacológicas importantes para o desenvolvimento de drogas com esse destino específico.

Desta forma, a exemplo da potencialização biológica que carreadores biliares trazem às moléculas a eles associadas, da própria atividade diversificada apresentada por derivados esteroidais, e, do potencial biológico apresentado pelas chamadas bases de Schiff, propusemos neste trabalho a preparação e avaliação biológica de conjugados esteroides/bases de Schiff.

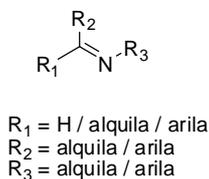
As bases de Schiff, assim denominadas em homenagem ao químico alemão Hugo Schiff, quem primeiramente as sintetizou em 1864, são compostos orgânicos formados a partir de uma condensação reversível entre uma amina primária e um aldeído ou cetona, sob condições específicas (MEYER; JOINER; STODDART, 2007).

Também conhecidas como azometinas, aldiminas e mais comumente como iminas, as Bases de Schiff possuem estrutura química geral representada na Figura 7 e podem ser descritas como análogos nitrogenados de aldeídos ou cetonas nos quais o grupo carbonila (C=O) foi substituído por um grupo imina ou azometina (DA SILVA *et al.*, 2011).

As bases de Schiff constituem uma das classes de compostos orgânicos mais amplamente utilizadas, sejam como catalisadores, intermediários sintéticos de outras classes de compostos, corantes e pigmentos, ou como estabilizadores de polímeros e inibidores de corrosão (ALI; NAIMI-JAMAL; DEKAMIN, 2013; KAJAL *et al.*, 2013). Além dessas aplicações, que permitem que estas moléculas sejam utilizadas em diversos

ramos da indústria, as iminas se destacam na área da química medicinal, uma vez que apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, como será discutido a seguir.

Figura 7 - Estrutura química geral de uma base de Schiff



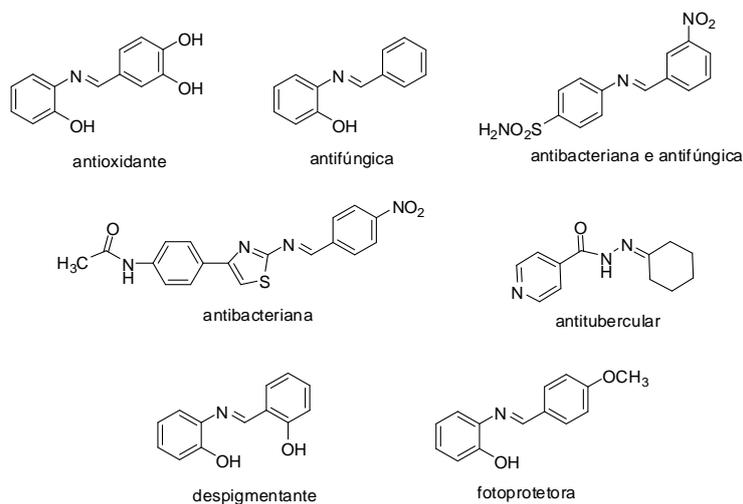
Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Dentre as atividades biológicas descritas na literatura para as bases de Schiff, encontram-se: antioxidante (LU *et al.*, 2012; SILVA; CARVALHO; RAPOSO, 2013), antitubercular (HEARN *et al.*, 2009), antibacteriana (SHAKEEL *et al.*, 2010), antimicrobiana (KUMAR *et al.*, 2010; DA SILVA *et al.*, 2011) e antifúngica (SILVA *et al.*, 2011). Recentemente, nosso grupo de pesquisa divulgou ainda a atividade fotoprotetora (POLONINI *et al.*, 2013) e despigmentante de um grupo de bases de Schiff (LIMA *et al.*, 2013).

Algumas das bases de Schiff hidroxiladas em diferentes posições do anel preparadas por Lu, Li (2012) e colaboradores, apresentaram atividade antioxidante comparável à da vitamina C no teste de inibição do radical DPPH. Já as bases de Schiff derivadas da isoniazida preparadas pelo grupo de pesquisa de Hearn e Cynamon (2009), além de apresentarem expressiva atividade contra o *M. tuberculosis*, não foram citotóxicas. Shakeel (2010) e colaboradores obtiveram bases de Schiff derivadas de um aminotiazol que apresentaram atividades bacterianas comparáveis à ampicilina, contra *S. aureus* e *E. coli*. Algumas das bases de Schiff preparadas por Kumar (2010) e seu grupo de pesquisa, derivadas da 4-aminobenzeno-sulfonamida, apresentaram-se ativas frente a bactérias gram positivas e gram negativas e fungos. Aldiminas preparadas por da Silva (2011) e colaboradores foram avaliadas frente a diversas espécies de fungos e duas delas apresentaram atividade antifúngica promissora frente a algumas das espécies analisadas. Além destas, algumas bases de Schiff com ação antimicrobianas foram selecionadas e descritas no artigo de revisão preparado por da Silva e colaboradores (DA SILVA *et al.*, 2011). Quanto às atividades fotoprotetora e despigmentante, as iminas preparadas por nosso grupo de pesquisa demonstraram atividade superior às apresentadas pelo resveratrol, já conhecido por retardar ou reverter os efeitos deletérios

da radiação ultravioleta e utilizado como adjuvante no tratamento de hiperpigmentação. As estruturas de algumas dessas bases de Schiff e suas respectivas atividades biológicas estão representadas na Figura 8.

Figura 8 - Estruturas químicas e perfis biológicos de bases de Schiff descritas na literatura



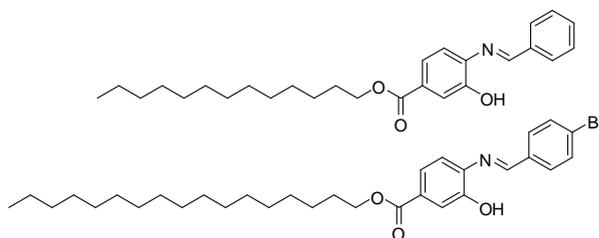
Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Classes particulares de bases de Schiff, tais como as piridiniliminas e as tioiminas têm recebido destaque principalmente nas áreas de química de coordenação (ABOU-HUSSEIN, 2010; SETH; BHATTACHARYA, 2011; BRAYMER; MERRILL; LIM, 2012). Tanto as piridiniliminas, iminas que contêm o anel piridínico em sua estrutura, quanto as tioiminas, caracterizadas por apresentar o grupo mercapto, são descritas como ligantes na obtenção de complexos de coordenação sem, no entanto, serem exploradas isoladamente como moléculas bioativas. Dentre os poucos relatos disponíveis na literatura, Braymer e colaboradores descreveram a preparação de piridiniliminas derivadas do 2-piridinocarboxaldeído como compostos bifuncionais a serem utilizados no tratamento do mal de Alzheimer (BRAYMER *et al.*, 2011). Para as tioiminas, há poucos relatos, dentre os quais a atividade antifúngica descrita por Rahman e sua equipe (RAHMAN; EL-GENDY; MAHMOUD, 1990).

Outra classe de iminas, as bases de Schiff aromáticas contendo cadeia alquila longa, têm recebido destaque na literatura por exibirem propriedade de cristais líquidos (PARRA *et al.*, 2004; UMADEVI; SADASHIVA, 2005; HA *et al.*, 2009; HA *et al.*, 2010). (Figura 9). De acordo com revisão feita na literatura, o interesse neste tipo de

estrutura está voltado para aplicações na área de materiais, enquanto o interesse biológico parece não ser explorado.

Figura 9 - Estrutura química de bases de Schiff contendo cadeia alquila longa (lipofílicas)

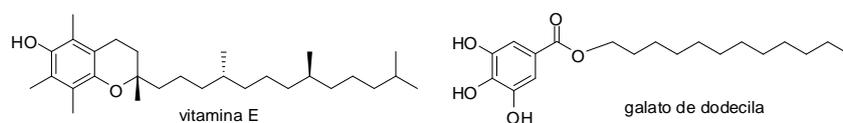


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A inserção de uma cadeia alquila à estrutura imínica confere lipofilicidade a esta molécula e, uma vez que esta propriedade está relacionada ao perfil biológico de um determinado composto (HANSCH; DUNN, 1972), torna-se interessante avaliar as potencialidades biológicas dessa classe de bases de Schiff.

A influência da cadeia alquila em algumas propriedades biológicas de uma molécula pode ser discutida através dos exemplos da vitamina E e do galato de dodecila (Figura 10). A vitamina E é um antioxidante natural que auxilia a proteção do organismo contra a peroxidação lipídica excessiva e os responsáveis por seu potencial antioxidante são duas características-chave estruturais: o componente fenólico, que reage com as espécies reativas de oxigênio (EROs) pelo mecanismo de doação de próton; e a cadeia hidrofóbica, que ancora a molécula de vitamina E na membrana celular (BENNETT *et al.*, 2004). A cadeia alquila longa da vitamina E é essencial para a sua absorção pelo intestino, transporte sistêmico e afinidade com as membranas celulares e, assim, para o desempenho de sua função antioxidante. Em relação ao galato de dodecila, um antioxidante amplamente utilizado nas indústrias, sua atividade antioxidante preventiva é em grande parte associada a cadeia dodecila hidrofóbica presente em sua estrutura, e estudos têm sido realizados para esclarecer essa influência (KUBO *et al.*, 2002).

Figura 10 - Estrutura química da vitamina E e do galato de dodecila



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Fundamentados, pois, no fato de o caráter lipofílico das moléculas estar associado ao perfil biológico das mesmas (HANSCH; DUNN, 1972), Imen Aissa (2012) e colaboradores prepararam derivados lipofílicos do antioxidante natural tirosol, objetivando que os mesmos fossem capazes de apresentar uma maior afinidade com os constituintes das membranas celulares. Alguns dos compostos obtidos exibiram atividade antimicrobiana e leishmanicida (IMEN AISSA *et al.*, 2012). A síntese de derivados alquilados da miricetina, um flavonoide antioxidante natural, foi planejada por Bennet e colaboradores (BENNETT *et al.*, 2004) de modo a combinar a porção fenólica da miricetina com cadeias lipofílicas similares (em extensão) à da vitamina E. Os autores concluíram que não só a extensão da cadeia alquila, mas também sua orientação e ramificações influenciam no potencial biológico dos derivados preparados.

Desta forma, o interesse por avaliar as propriedades biológicas de bases de Schiff de cadeia alquila longa é justificado, sendo este também conveniente para que possamos comparar a influência da lipofilicidade atribuída por esta cadeia com aquela proveniente das porções esteroidais, uma vez que dispusermos de bases de Schiff conjugadas a esteroides e à cadeias hidrofóbicas longas.

2 JUSTIFICATIVA

A natureza anfifílica de esteroides, tais como os ácidos cólico e desoxicólico e o colesterol, proporcionam a estas moléculas diversas aplicações, destacando-se o uso das mesmas como carreadores de drogas. Além disso, a exemplo da própria atividade biológica apresentada por derivados esteroidais, uma vez associados a moléculas bioativas, tais esteroides mostram-se capazes de potencializar a ação biológica da molécula original.

As bases de Schiff constituem uma classe de moléculas orgânicas de amplo perfil biológico e aplicações, de relativa facilidade de preparação e que vêm sendo exploradas sobretudo pela área da química medicinal.

A preparação de conjugados esteroides/bases de Schiff é então justificada pelo interesse em se investigar o perfil biológico dos compostos resultantes da associação dessas duas classes de moléculas, bem como inferir sobre uma possível potencialização da atividade biológica como resultado dessa conjugação.

3 OBJETIVOS

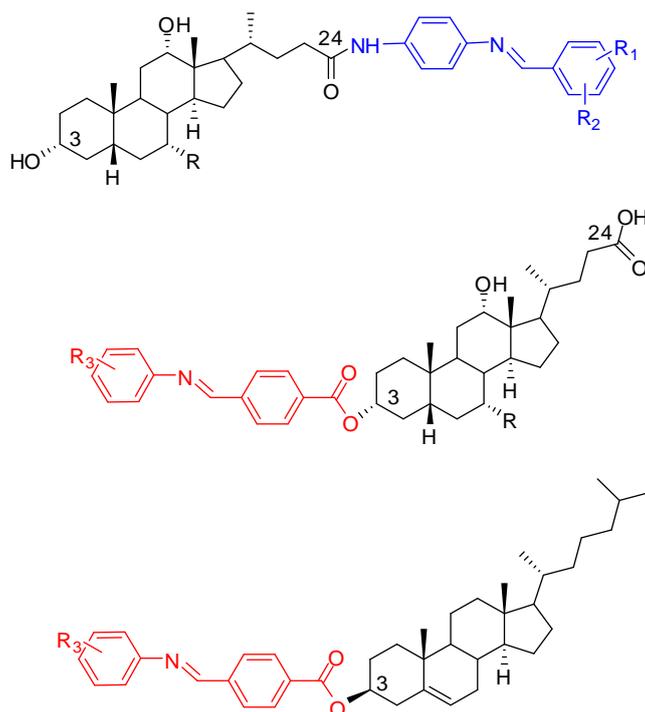
3.1 OBJETIVOS GERAIS

Este trabalho objetiva a preparação, caracterização e avaliação biológica de conjugados esteroides/bases de Schiff, além da obtenção de derivados destas duas classes de compostos de forma não associada. Objetiva-se ainda avaliar a influência da conjugação no perfil biológico dos compostos sintetizados.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Preparação de conjugados esteroides/bases de Schiff via conjugação nas posições C-24 e C-3 dos núcleos esteroidais cólico, desoxicólico e colesterol (Figura 11).

Figura 11 - Estruturas químicas dos conjugados esteroides/bases de Schiff almejados neste trabalho

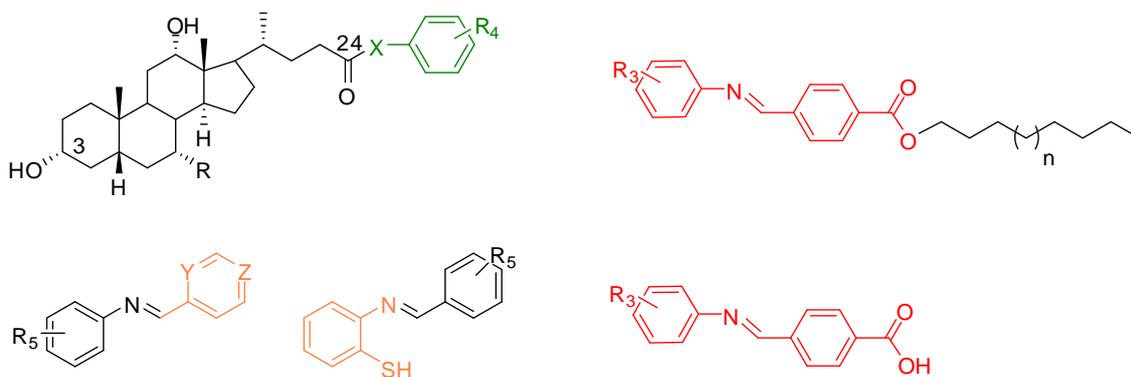


R = OH, ácido cólico; R = H, ácido desoxicólico; R₁ e R₂ são grupos ativadores e/ou desativadores do anel e R₃ = H ou OH.

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

3.2.2 Preparação de derivados esteroidais (amidas e aldeídos biliares), bem como a preparação de bases de Schiff lipofílicas (de cadeia alquila longa) e de bases de Schiff não associadas (Figura 12).

Figura 12 - Estruturas químicas dos derivados esteroidais, bases de Schiff lipofílicas e bases de Schiff não associadas almejados neste trabalho



R = OH, ácido cólico; R = H, ácido desoxicólico; R₃ = H ou OH; R₄ = -NH₂ ou -CHO; X = -NH ou O;
R₅ são grupos ativadores ou desativadores do anel, Y = H ou N; Z = H ou N; n = 1, 2 ou 5.

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

3.2.3 Avaliação biológica dos compostos sintetizados como potenciais antiparasitários (leishmanicidas e antimaláricos), antimicrobianos (antituberculares), antioxidantes e fotoprotetores.

3.2.4 Realização de um estágio supervisionado no Núcleo de Pesquisas em Parasitologia (NUPEP) pertencente ao Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFJF com o intuito de acompanhar a realização dos testes de avaliação leishmanicida dos compostos sintetizados.

4 METODOLOGIA

As metodologias utilizadas na obtenção dos compostos almejados neste trabalho envolveram: formação de ligação amida, reações de esterificação e formação de ligação imínica. Todas estão relacionadas à química de compostos carbonílicos e dão origem a importantes funções orgânicas, tanto do ponto de vista químico quanto do ponto de vista biológico (COSTA *et al.*, 2003).

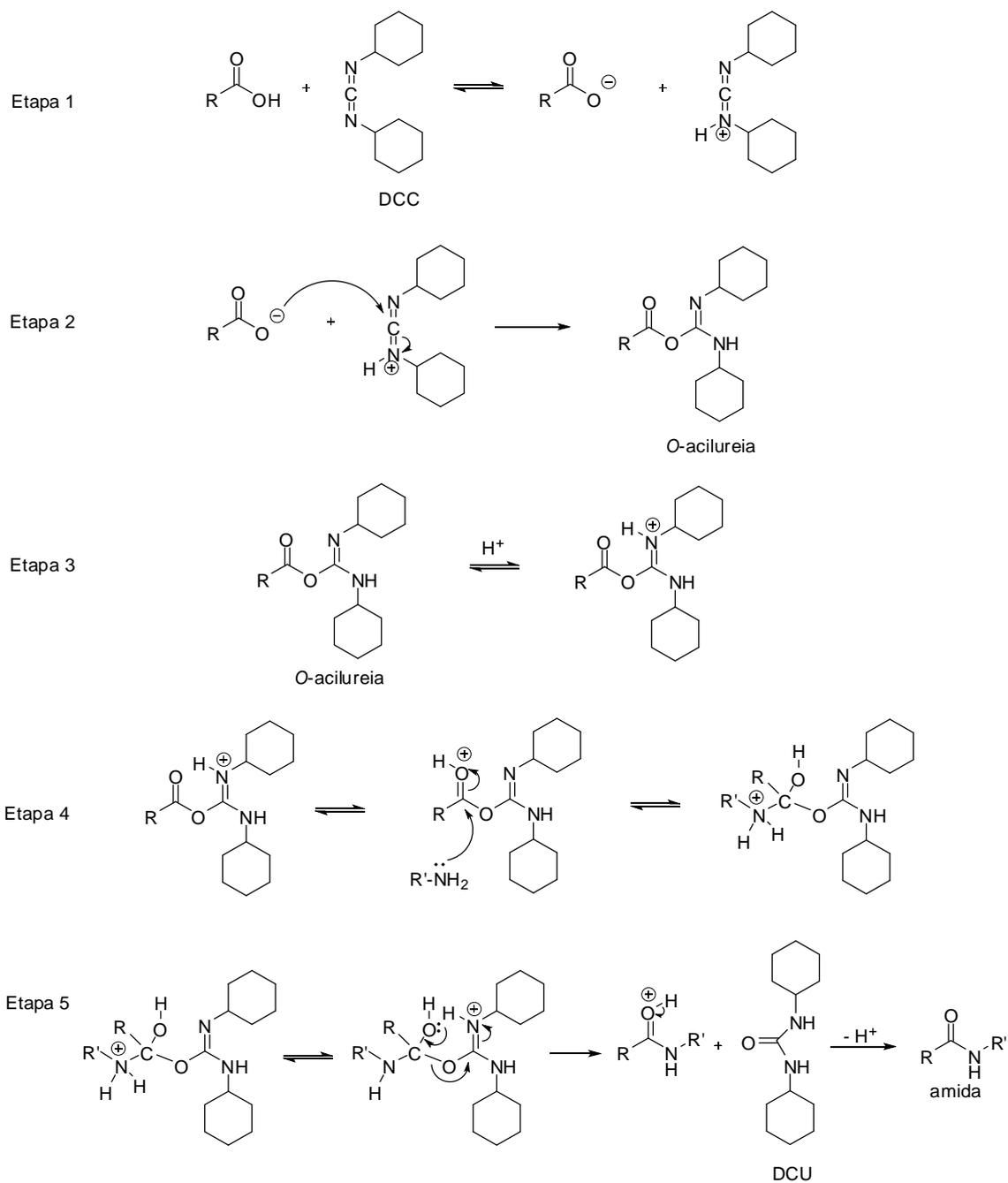
4.1 FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO AMIDA

Amidas são usualmente sintetizadas pela união de ácidos carboxílicos e aminas; no entanto, a condensação destes dois grupos funcionais não ocorre espontaneamente à temperatura ambiente, sendo necessária a eliminação de água e altas temperaturas (160-180°C) - condições geralmente prejudiciais aos substratos. Como consequência, é necessária uma prévia ativação do ácido, procedimento que converte o grupo -OH do carbono acila em um bom grupo abandonador antes do tratamento com a amina. Dentre os agentes ativadores (ou de acoplamento) utilizados, encontram-se as carbodiimidas, tais como a *N-N'*-díciclo-hexilcarbodiimida (DCC) (MONTALBETTI; FALQUE, 2005; VALEUR; BRADLEY, 2009).

DCC vem sendo utilizado desde 1955 (SHEEHAN; HESS, 1955) e um mecanismo proposto para sua ação na síntese de amidas encontra-se ilustrado no Esquema 1 a seguir. A força motriz para esta reação é a formação do subproduto *N-N'*-díciclo-hexilureia (DCU).

De acordo com o mecanismo proposto, a primeira etapa consiste numa reação ácido-base entre o ácido carboxílico e o DCC. A seguir, o ataque nucleofílico do carboxilato ao átomo de carbono central da espécie DCC protonada, leva à formação do intermediário *O*-acilureia. Uma vez protonado, este intermediário *O*-acilureia sofre adição nucleofílica da amina originando um intermediário tetraédrico que, ao eliminar o DCU, fornece a amida almejada após a etapa de eliminação de H⁺.

Esquema 1 - Proposta de mecanismo de formação de amida usando DCC como ativador



Fonte: ADAPTADO DE (SMITH, 2013)

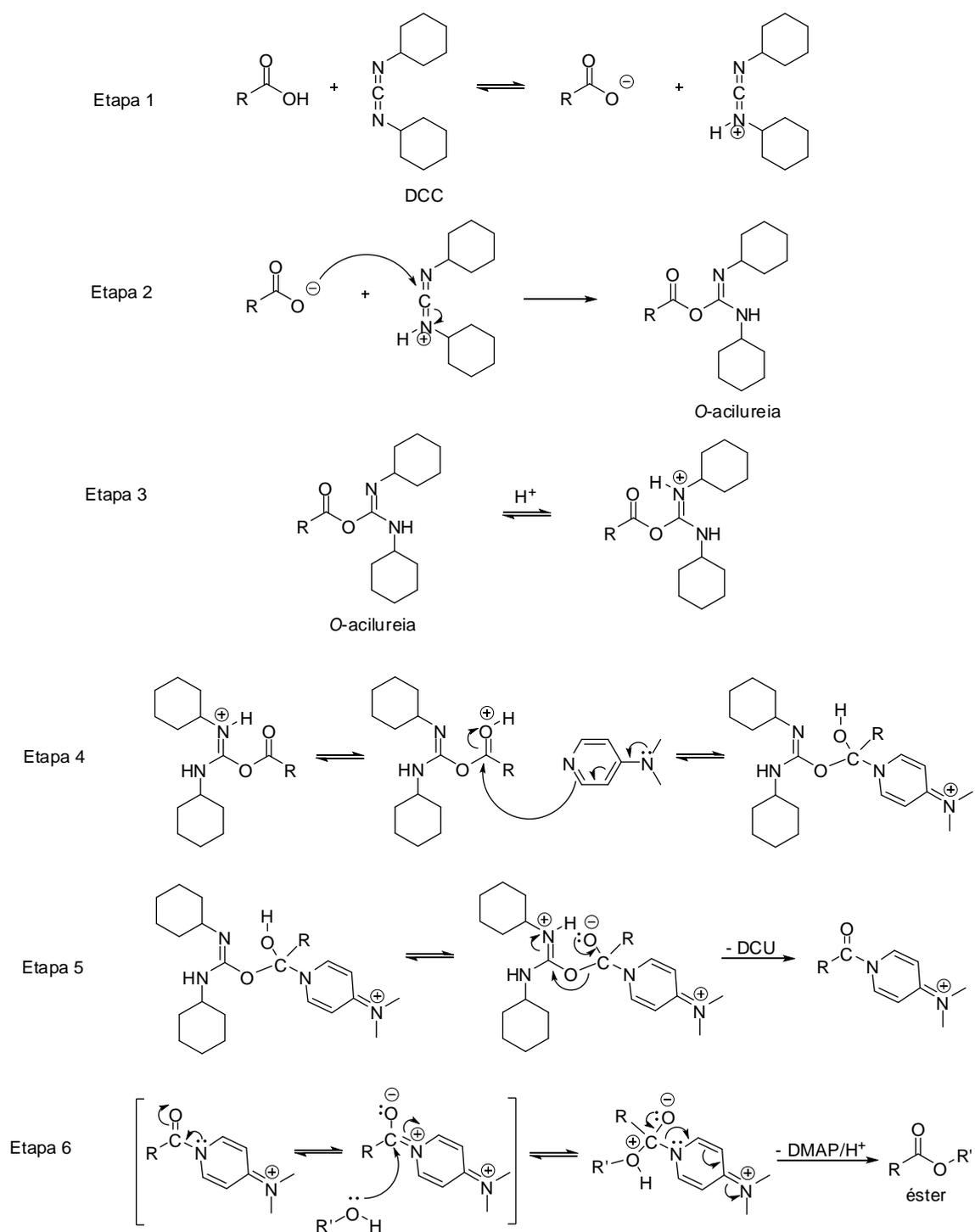
4.2 REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO - A ESTERIFICAÇÃO DE STEGLICH

A síntese clássica de ésteres envolve a reação entre um ácido carboxílico e um álcool sob catálise ácida e aquecimento, na qual produtos e reagentes estão em equilíbrio, sendo denominada esterificação de Fischer (FISCHER, 2013).

Uma metodologia branda alternativa proposta por Steglich (NEISES; STEGLICH, 1978) faz uso de um ácido carboxílico, um álcool, do agente ativador DCC e de DMAP em quantidade catalítica. Enquanto na prática DCC e aminas formam amidas prontamente, o uso de DMAP é crucial para a formação eficiente de ésteres, uma vez que o intermediário formado a partir da reação desta base com a *O*-acilureia atua como reagente de transferência acila, de acordo com o mecanismo proposto no Esquema 2.

Como proposto no Esquema 2, as três primeiras etapas do mecanismo da esterificação de Steglich são idênticas às etapas de formação da ligação amida representadas anteriormente no Esquema 1. No entanto, na etapa 4 do mecanismo de esterificação, a *O*-acilureia protonada sofre adição nucleofílica da base DMAP, levando à formação de um intermediário transferidor de acila. Nas últimas etapas sintéticas, ocorrem a liberação de DCU e a reação do álcool com o referido agente transferidor de acila originando, assim, o éster.

Esquema 2 - Proposta de mecanismo da esterificação de Steglich



Fonte: ADAPTADO DE (SMITH, 2013)

4.3 FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO IMÍNICA - SÍNTESE DE BASES DE SCHIFF

A ligação imínica (C=N) é formada pela condensação reversível entre uma amina e um aldeído com perda de uma molécula de H₂O e dá origem a uma das classes de compostos orgânicos mais amplamente utilizadas.

Uma vez que este processo ocorre sob controle de equilíbrio, é comum utilizar algum recurso para a remoção da água formada, seja separando-a fisicamente num aparelho de Dean-Stark, ou através da adição de um agente dessecante ao meio reacional (MEYER; JOINER; STODDART, 2007).

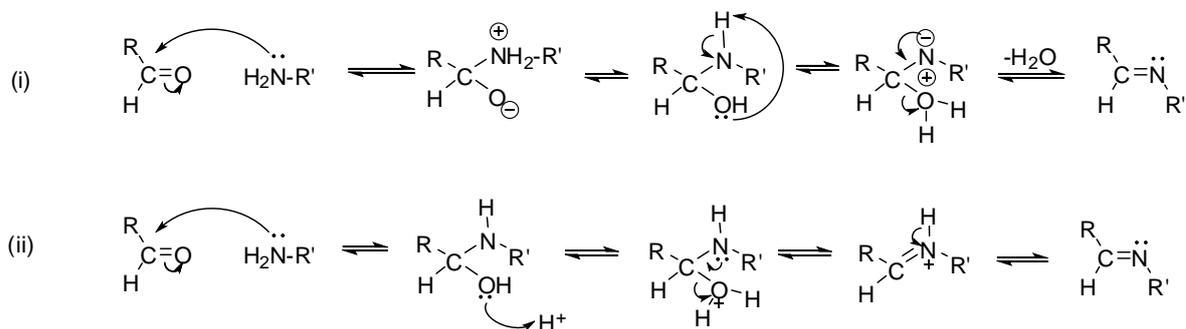
Esta reação foi desenvolvida em 1864 por Hugo Schiff (TIDWELL, 2008) e a síntese clássica relatada por este químico alemão envolve a condensação de um composto carbonílico com uma amina sob destilação azeotrópica (DA SILVA *et al.*, 2011). Desde então, uma variedade de métodos de preparação de iminas têm sido descrito na literatura, sobretudo nas últimas décadas: catálise ácida/refluxo (KUMAR *et al.*, 2010), ausência de solvente/irradiação de microondas (BEKDEMIR *et al.*, 2014), solvente/refluxo (IBRAHIM; SHARIF, 2007), síntese *one pot* (ZHENG *et al.*, 2009), irradiação ultrassom (GUZEN *et al.*, 2007), dentre outros.

As bases de Schiff preparadas neste trabalho foram obtidas a partir da condensação de quantidades equimolares de um aldeído e uma amina aromáticos em metanol ou etanol. Quando necessário, utilizou-se catálise de ácido acético.

Os mecanismos de formação de uma imina na ausência (i) e na presença (ii) de catálise ácida estão representados no Esquema 3.

De acordo com a literatura, na ausência da catálise ácida a reação é bastante lenta (CLAYDEN *et al.*, 2009). É importante observar que a catálise ácida não é necessária na etapa de adição do mecanismo, mas sim na etapa de eliminação de água. Reações com aminas são rápidas em pH entre 4 e 6, abaixo deste limite, a amina é protonada e a velocidade da reação é baixa; acima deste limite, a concentração do próton é muito baixa para protonar o grupo -OH e promover, assim, a etapa de desidratação.

Esquema 3 - Mecanismo de formação de uma imina (i) na ausência de catálise e (ii) na presença de um catalisador ácido (de Arrhenius ou de Bronsted)



Fonte: ADAPTADO DE (CLAYDEN *et al.*, 2009)

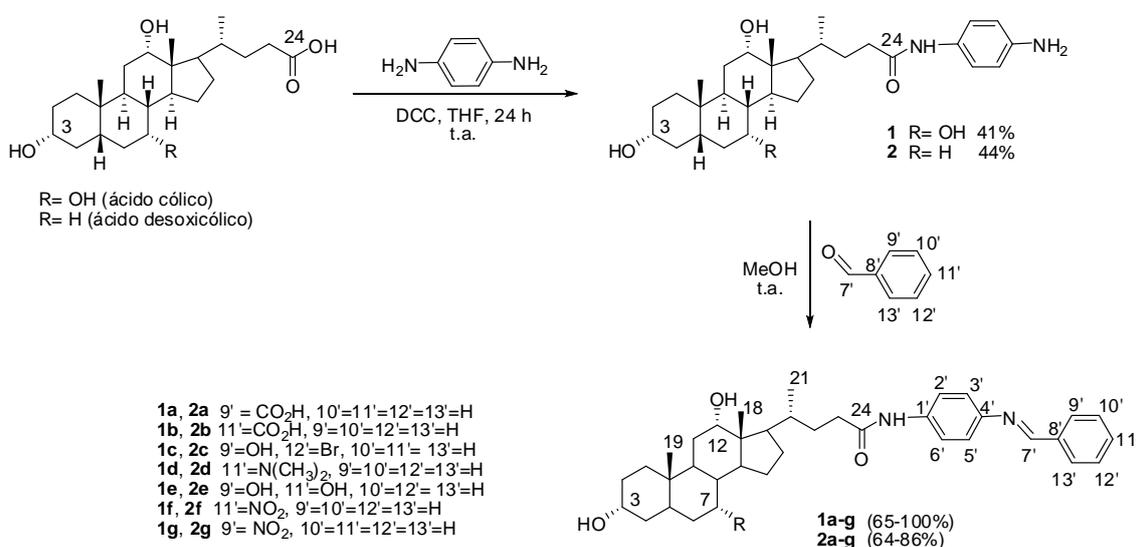
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CONJUGADOS ESTEROIDES/BASES DE SCHIFF

5.1.1 Preparação e caracterização de conjugados via formação de amida em C-24 dos ácidos cólico e desoxicólico

Para a síntese dos conjugados desta classe, primeiramente foram preparadas duas amidas biliares (compostos **1** e **2**) contendo grupo amino livre a partir da reação dos ácidos biliares cólico e desoxicólico com 1,4-diaminobenzeno. Neste processo, utilizou-se DCC como agente ativador do ácido carboxílico e THF como solvente, mantendo-se a mistura reacional sob agitação constante a t.a. por 24 h, quando se observou a precipitação de DCU (JEGANATHAN *et al.*, 1986). Após purificação por CCS, as amidas foram obtidas como sólidos em rendimentos de 41 e 44%, respectivamente. Esquema 4.

Esquema 4 - Preparação dos conjugados **1a-g** e **2a-g**

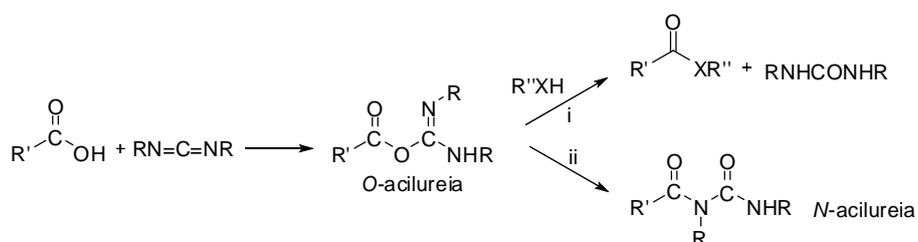


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

É importante ressaltar que o acompanhamento da reação por CCD revelou a presença dos materiais de partida além de um subproduto de caráter puramente alifático (confirmado por RMN de ^1H). Trabalhos recentes (KAISER *et al.*, 2008) relatam que nas reações entre ácidos carboxílicos e carbodiimidas, as etapas subsequentes à formação do intermediário *O*-acilureia dependem dos reagentes e condições reacionais envolvidas e, descrevem que dois caminhos são possíveis: i) a reação com um

nucleófilo (uma amina, um álcool ou um ânion carboxilato, representados por R''XH) ou ii) a ocorrência de um rearranjo que origina o subproduto *N*-acilureia como representado a seguir no Esquema 5.

Esquema 5 - Reações de ácidos carboxílicos com carbodiimidas: i) reação com um nucleófilo, ii) ocorrência de rearranjo



Fonte: REPRODUZIDO DE (KAISER *et al.*, 2008)

O subproduto observado por placa cromatográfica e isolado posteriormente em coluna quando submetido à análise por RMN de ^1H mostrou-se ser constituído apenas por prótons de caráter alifático, o que nos leva a propor duas hipóteses: que o rearranjo discutido acima possa ter ocorrido ou que o intermediário *O*-acilureia não tenha sido convertido totalmente à amida, comprometendo o rendimento do processo.

Uma vez isoladas, as amidas biliares foram submetidas à reação de formação da ligação imínica em meio metanólico na presença de quantidade equimolar de um aldeído aromático (Esquema 4). Como resumido na Tabela 1, de um total de 12 tentativas de formação de imina a partir da amida biliar derivada do ácido cólico, amida **1**, 5 não foram bem-sucedidas (entradas **1-5**). Nestas observou-se a presença dos dois materiais de partida e de um produto de polaridade intermediária aos dois, provavelmente o conjugado almejado em cada processo. Modificações reacionais foram realizadas, mas não foi possível isolar o produto formado. Então, os aldeídos utilizados sem sucesso nestas tentativas não foram utilizados em tentativas de reação com a amida biliar **2**.

Tabela 1 - Tentativas de condensação das amidas biliares **1** e **2** com aldeídos aromáticos

Tentativa	Amida	Aldeído	Condições reacionais*	Produto obtido (rendimento %)
1	1	4-hidroxibenzaldeído	i, ii e iii	não isolado
2	1	3-hidroxi- <i>p</i> -anisaldeído	i	não isolado
3	1	4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído	i	não isolado
4	1	4-metoxibenzaldeído	i	não isolado
5	1	3,4,5-trimetoxibenzaldeído	i	não isolado
6	1	2-carboxibenzaldeído	i	1a (100)
7	1	4-carboxibenzaldeído	i	1b (71)
8	1	5-bromosalicilaldeído	i	1c (66)
9	1	4- <i>N',N'</i> -dimetilaminobenzaldeído	i	1d (79)
10	1	2,4-dihidroxibenzaldeído	i	1e (80)
11	1	4-nitrobenzaldeído	i	1f (81)
12	1	2-nitrobenzaldeído	i	1g (65)
13	2	2-carboxibenzaldeído	i	2a (65)
14	2	4-carboxibenzaldeído	i	2b (76)
15	2	5-bromosalicilaldeído	i	2c (64)
16	2	4- <i>N',N'</i> -dimetilaminobenzaldeído	i	2d (86)
17	2	2,4-dihidroxibenzaldeído	i	2e (86)
18	2	4-nitrobenzaldeído	i	2f (82)
19	2	2-nitrobenzaldeído	i	2g (75)

* i) metanol, t.a., agitação magnética; ii) metanol, refluxo, 3h, agitação magnética; iii) metanol, catálise de AcOH, refluxo, agitação magnética. Fonte: ELABORADA PELA

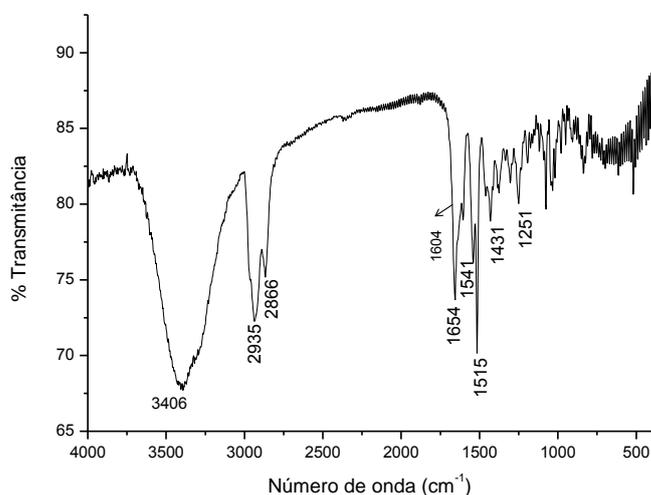
PRÓPRIA AUTORA

Em todos os demais experimentos (entradas **6-19**) observou-se a formação de precipitado e, portanto, os compostos **1a-g** e **2a-g** foram isolados por simples filtração do meio reacional em rendimentos satisfatórios (64-100%). Todos os compostos desta classe foram obtidos como sólidos coloridos e caracterizados por faixa de fusão, RMN de ^1H e de ^{13}C , espectroscopia no I.V. e espectrometria de massas de alta resolução.

Para exemplificar a discussão sobre a caracterização espectroscópica das amidas biliares selecionou-se a amida **1**, derivada do ácido cólico.

No espectro no I.V. (Figura 13), algumas evidências sugerem a formação da amida biliar desejada, como por exemplo, a existência de uma banda de absorção característica da ligação C=O de amida em ν 1654 cm^{-1} . A presença da porção aromática introduzida no processo reacional é confirmada pela ocorrência de bandas de absorção na faixa de ν 1604 a 1515 cm^{-1} referentes ao estiramento dos grupos C=C do anel aromático.

Figura 13 - Espectro infravermelho do composto **1**

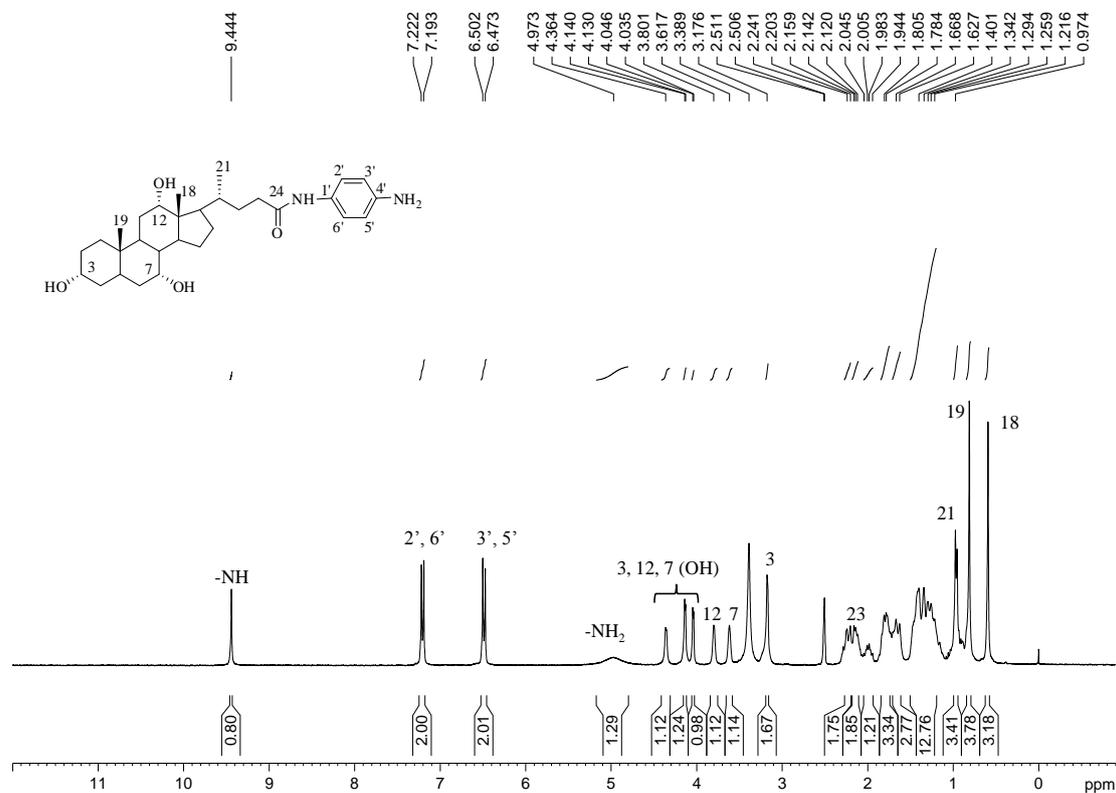


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ^1H (Figura 14) da amida biliar **1** observou-se sinais entre δ 0,59 e 2,24 ppm correspondentes aos prótons da porção esteroidal da molécula: dois simpletos intensos e um dubleto, característicos dos grupos metílicos 18, 19 e 21- CH_3 , respectivamente, e multipletos referentes aos prótons metilênicos e metínicos do esqueleto. Além destes, sinais entre δ 3,18 e 4,36 ppm atribuídos aos prótons 3, 7 e 12 β e aos prótons dos 3 grupos hidroxilas das referidas posições do esqueleto esteroidal. A principal evidência da obtenção do composto desejado é a observação de dois dubletos, um em δ 6,49 e o outro em 7,21 ppm ($J=8,7$ Hz) referentes aos prótons aromáticos 3' e 5' e 2' e 6', respectivamente. Além destes sinais, a formação do produto é sugerida pela presença de um simpleto em δ 9,44 ppm referente ao próton $-\text{NH}$ da função amida

formada e por um simpleto largo em δ 4,97 ppm, região típica de sinal de prótons $-NH$ de aminas aromáticas.

Figura 14 - Espectro de RMN de 1H do composto **1** (DMSO- d_6 , 300 MHz)

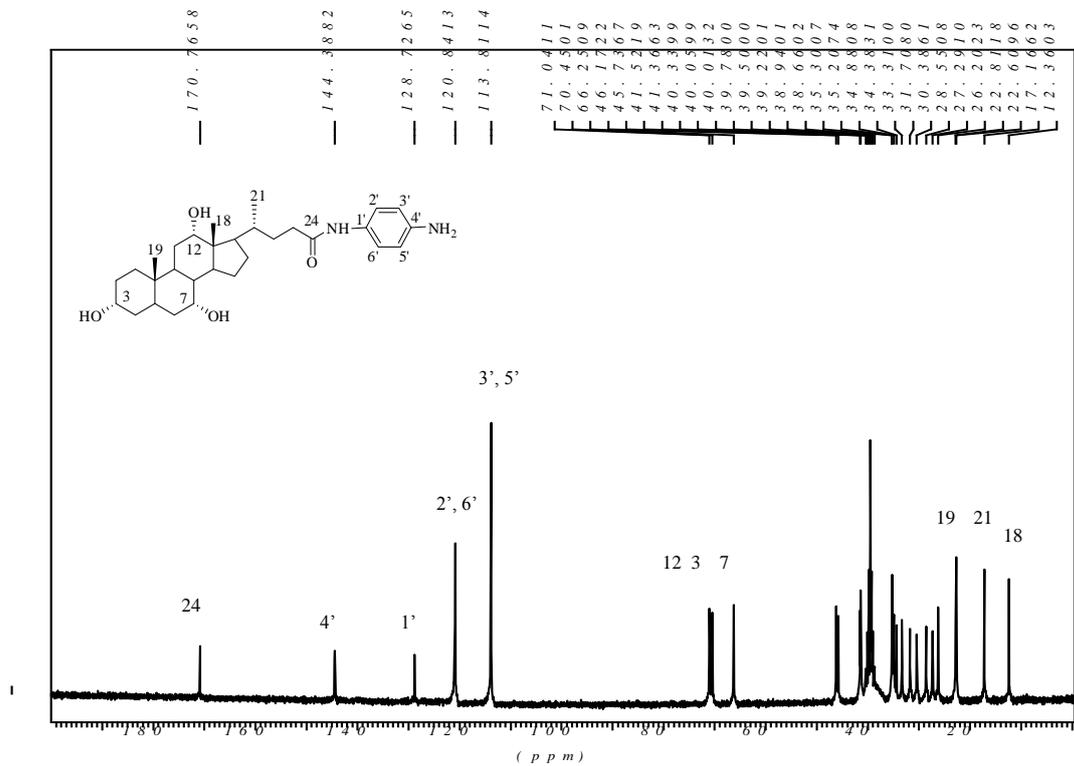


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Já no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 15) da mesma amida, é importante mencionar os quatro sinais na região entre δ 113,8 e 144,4 ppm, correspondentes aos carbonos da porção aromática conjugada à porção esteroidal e de um sinal em δ 170,8 ppm atribuído ao C-24 da molécula. Entre δ 12,4 e 71,0 ppm pode-se observar os demais sinais previstos para a molécula **1**, correspondentes aos carbonos do esqueleto esteroidal.

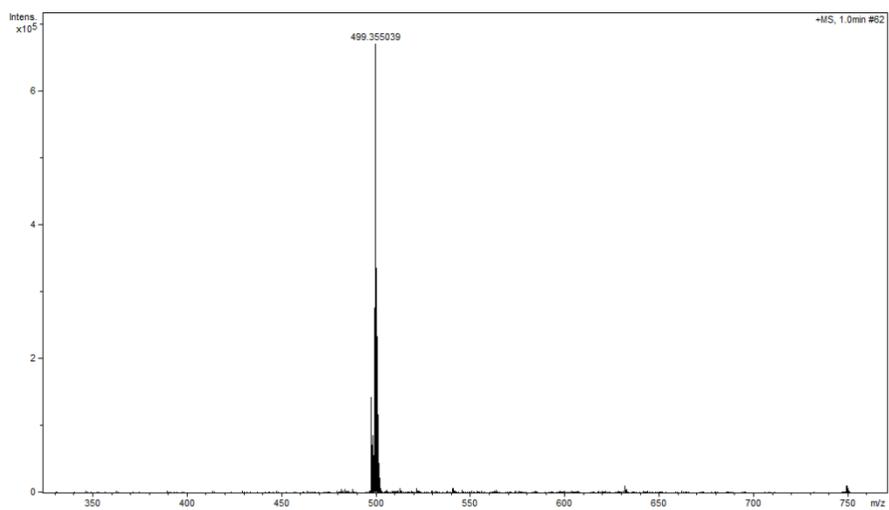
No espectro de massas de alta resolução (LC-MS) do composto **1** (Figura 16) observou-se um pico correspondente a $[M+H]^+$ ($C_{30}H_{47}N_2O_4$) em m/z 499,3550 (calculado m/z 499,3536), confirmando assim a massa molar da amida biliar.

Figura 15 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto **1** (DMSO- d_6 , 75 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Figura 16 - Espectro de massas (LC-MS) do composto **1**

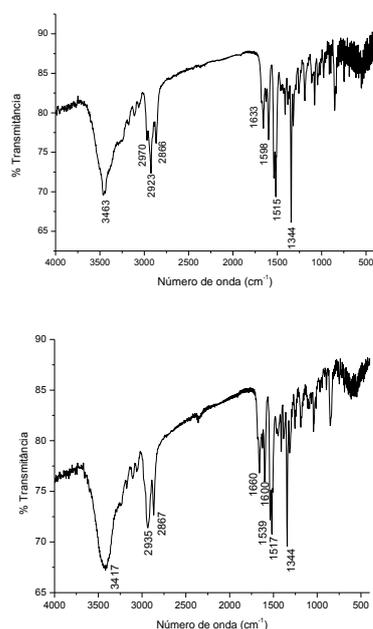


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Uma vez que os pares de conjugados **1a/2a**, **1b/2b**, ..., **1g/2g**, diferem-se apenas pela presença de um grupo hidroxila na posição C-7 do esqueleto esteroidal no derivado cólico e, ausência deste grupo no derivado desoxicólico, os dados espectroscópicos dos pares apresentam-se bastante similares. Os compostos **1f/2f** foram selecionados para a discussão detalhada da caracterização espectroscópica.

Nos espectros no I.V. dos conjugados **1f** e **2f** (Figura 17), a principal observação é a ocorrência de uma banda em ν 1598 cm^{-1} (**1f**) e em ν 1600 cm^{-1} (**2f**) referente ao estiramento da ligação C=N do grupo imínico, sugerindo a ocorrência da reação de condensação entre a amida biliar e o 4-nitrobenzaléido. Está presente também a banda de absorção característica da ligação C=O de amida (ν 1633 cm^{-1} em **1f** e ν 1660 cm^{-1} em **2f**) nos dois espectros. Além destas, uma banda intensa em ν 1344 cm^{-1} foi observada em ambos os espectros, banda esta característica da deformação axial simétrica da ligação N=O do grupo nitro.

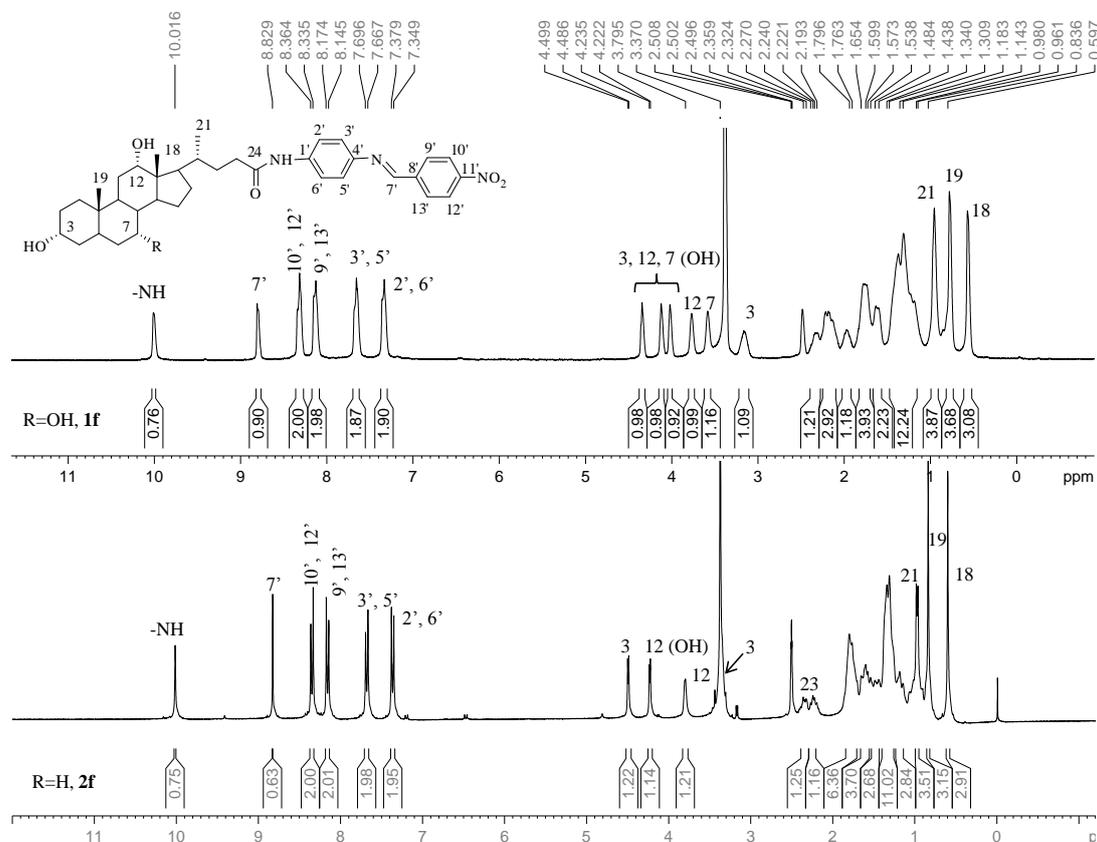
Figura 17 - Comparação dos espectros infravermelho dos compostos **1f** e **2f**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

A Figura 18 a seguir corresponde à comparação dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **1f** e **2f**. Quanto à região dos espectros relativa às porções alifática e aromática dos dois conjugados, observou-se bastante similaridade dos espectros, enquanto a região entre δ 3,00 e 5,00 ppm apresenta-se distinta para cada um dos compostos, devido a ausência de uma hidroxila em C-7 no esqueleto esteroidal do ácido desoxicólico quando comparado ao do ácido cólico. Três sinais presentes na região aromática de ambos os espectros evidenciam a formação dos conjugados almejados, a saber: um simpleto próximo a δ 8,80 ppm característico de próton imínico e dois doublets, entre δ 8,00 e 8,50 ppm, referentes aos prótons da segunda porção aromática introduzida na molécula. Adicionalmente, a ausência do simpleto largo próximo a δ 5,00 ppm referente aos prótons do grupo $-\text{NH}_2$ do material de partida reforça os indícios de ocorrência da reação. É importante ressaltar ainda que os prótons 3' e 5' do primeiro anel aromático sofreram um processo de desblindagem eletrônica como consequência da introdução do segundo anel aromático e, assim, o sinal a eles relativos aparece em uma região de campo de maior frequência ($\sim 1,2$ ppm de deslocamento) nos espectros dos conjugados quando comparado aos espectros das amidas de partida. O mesmo comportamento é observado para o próton $-\text{NH}$ da porção amida.

Figura 18 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H dos compostos **1f** e **2f** ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

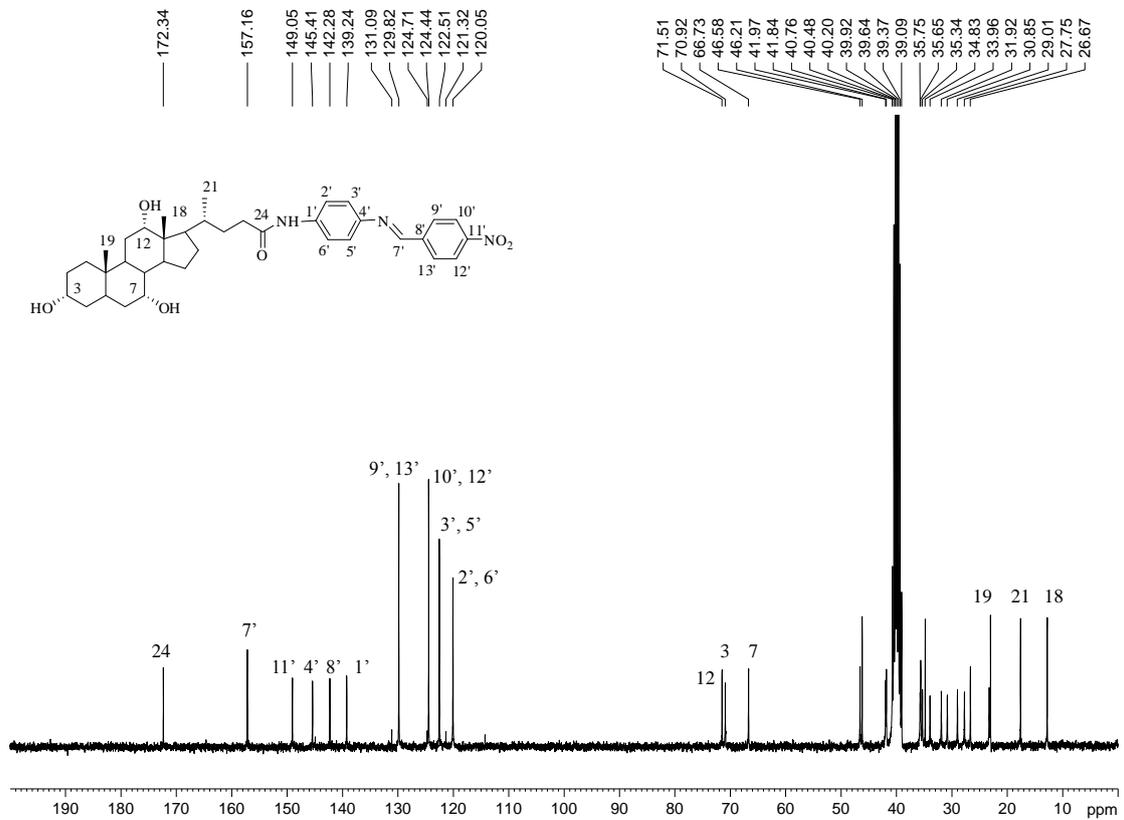


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ^{13}C do conjugado **1f**, representado na Figura 19, as evidências de formação do produto almejado são os 5 sinais que ocorrem entre δ 122,5 e 157,2 ppm, relativos aos carbonos introduzidos pela segunda porção aromática, incluindo o sinal em δ 157,2 ppm característico do carbono imínico 7'.

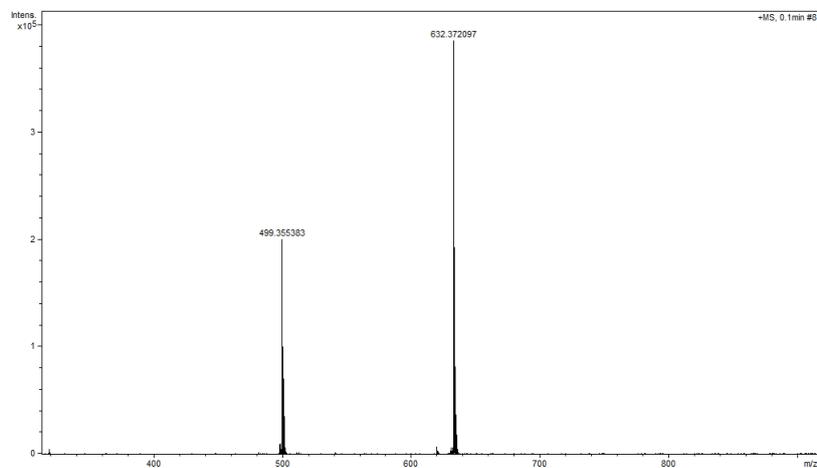
No espectro de massas de alta resolução (LC-MS) do composto **1f** (Figura 20) observou-se um pico correspondente a $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_6$) em m/z 632,3720 (calculado m/z 632,3700), confirmando assim a massa molar do conjugado. Além deste, observou-se um sinal em m/z 499,3553, de mesma razão m/z que o da amida biliar **1** de partida (Figura 16).

Figura 19 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto **1f** (DMSO- d_6 , 75 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Figura 20 - Espectro de massas (LC-MS) do composto **1f**



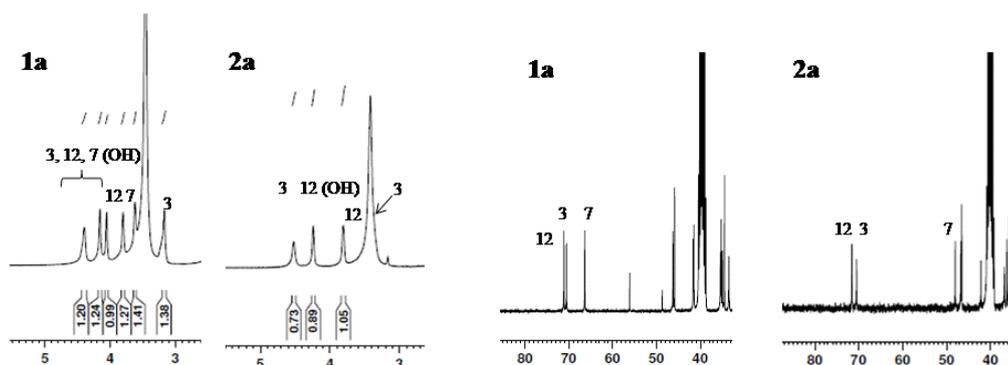
Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Algumas considerações gerais podem ser feitas quanto à caracterização espectroscópica dos conjugados **1a-g/2a-g**. Primeiramente, em relação aos estudos dos espectros na região do infravermelho, a principal evidência que sugere a formação dos referidos conjugados é a ocorrência de uma banda de intensidade variável próxima a região de 1600 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C=N do grupo imínico. Além desta, a inserção do segundo anel aromático na reação de condensação pode ser indicada ainda pela presença de bandas características dos grupos funcionais presentes no aldeído utilizado em cada processo.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H apresentam, sem exceções, duas regiões bastante distintas, encontrando-se a primeira delas mais próxima ao TMS (δ 0,5-4,5 ppm) e a segunda, na região típica de sinais pertencentes principalmente a núcleos aromáticos e ao sinal do próton imínico (δ 6,0-9,0 ppm) (Figura 21). A diferença no perfil dos espectros de RMN de ^1H dá-se sobretudo na região entre δ 3,0 e 5,0 ppm quando comparamos os pares **1a/2a**, **1b/2b**, ..., **1g/2g**, como consequência dos conjugados serem derivados dos ácido cólico ou desoxicólico. As atribuições dos sinais aos seus respectivos prótons 3, 7 e 12-OH do esqueleto esteroidal foram feitas com auxílio do espectro cosy do conjugado **1f** (Figura 22) uma vez que os sinais referentes aos prótons 3, 7 e 12β já são precisamente descritos na literatura.

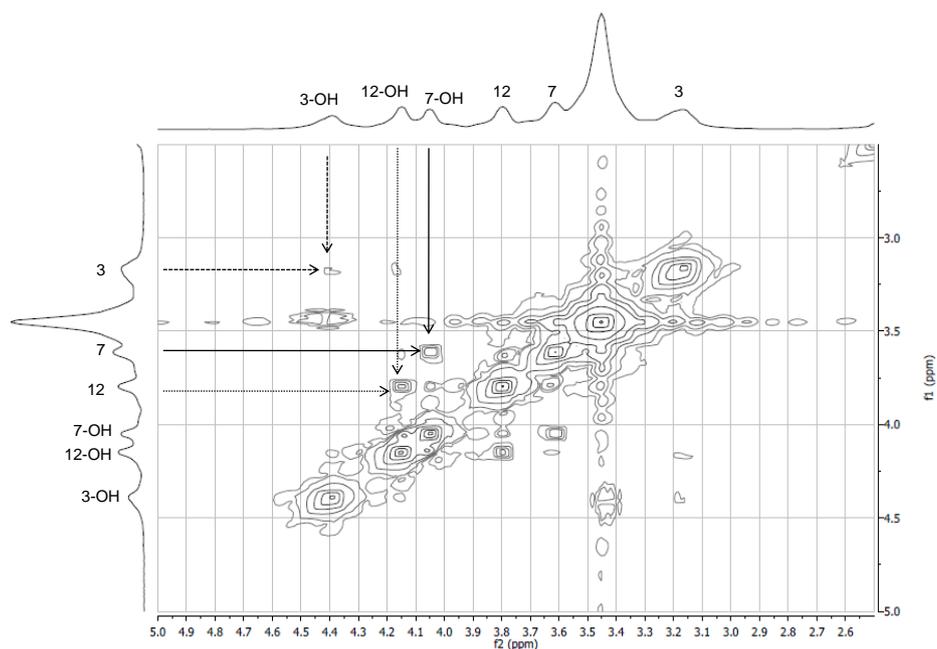
Em relação aos espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C dos conjugados desta classe, também duas regiões distintas predominam. A primeira se dá entre δ 12,0 e 72,0 ppm, onde estão presentes os sinais da porção esteroidal do conjugado, e a segunda, que ocorre entre δ 100,0 e 175,0 ppm, contém os sinais referentes aos carbonos da porção aromática da molécula, bem como o sinal referente ao C-24 do esteroide (Figura 21). Similarmente ao que ocorre nos espectros de RMN de ^1H , a diferença no perfil dos espectros de RMN de ^{13}C dos pares de conjugados também é observada, e aqui se dá na região entre δ 40,0 e 75,0 ppm, onde se encontram os carbonos C-3, C-7 e C-12 do núcleo esteroidal. Na Figura 21 temos representadas as regiões dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de um par de conjugados que exemplificam as observações citadas.

Figura 21 - Seções expandidas dos espectros de RMN de ^1H (3-5,0 ppm) e de ^{13}C (30-80,0 ppm) dos conjugados **1a** e **2a** ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz, 75 MHz).



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA.

Figura 22 – Seção expandida do espectro COSY (2,5-5,0 ppm) do conjugado **1f** ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Na Tabela 2 a seguir estão descritos os principais dados espectrais de ressonância magnética nuclear de ^1H e de ^{13}C dos conjugados **1a-g** e **2a-g**.

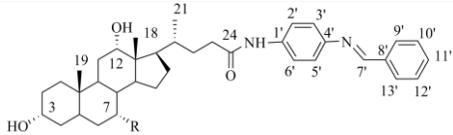
Tabela 2 - Principais dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C dos conjugados **1a-g** e **2a-g***

(continua)

		H/C 2', 6'	H/C 3', 5'	H/C 7'	H/C 9'	H/C 10'	H/C 11'	H/C 12'	H/C 13'
Código									
1a	R=OH, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	6,89(d)/ 114,0	7,44(d)/ 120,5	7,19(m)/ 169,1	-/ 132,0	7,74(m)/ 134,2	7,74(m)/ 131,9	7,74(m)/ 124,1	7,74(m)/ 124,7
1b	R=OH, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	7,33(d)/ 120,1	7,67(d)/ 122,2	8,74(s)/ 158,4	8,05(m)/ 128,9	8,05 (m)/ 130,2	-/ 133,2	8,05 (m)/ 130,2	8,05 (m)/ 128,9
1c	R=OH, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'= 13'=H	7,38(d)/ 121,3	7,69(d)/ 121,9	8,92(s)/ 159,3	-/ 160,1	6,93(d)/ 119,0	7,52(dd)/ 135,1	-/ 109,8	7,83(d)/ 133,8
1d	R=OH, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	7,59(d)/ 120,2	7,72(d)/ 121,6	8,40(s)/ 158,9	7,16(d)/ 130,5	6,77(d)/ 111,9	-/ 152,7	6,77(d)/ 111,9	7,16(d)/ 130,5
1e	R=OH, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'= 13'=H	7,30(d)/ 119,8	7,64(d)/ 121,3	8,77(s)/ 161,1	-/ 162,9	6,28(s)/ 102,4	-/ 162,2	6,38(d)/ 107,7	7,39(d)/ 134,2
1f	R=OH, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	7,36(d)/ 120,0	7,68(d)/ 121,3	8,82(s)/ 157,2	8,15(d)/ 129,8	8,34(d)/ 124,4	-/ 149,0	8,34(d)/ 124,4	8,15(d)/ 129,8
1g	R=OH, 9'= NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	7,29(d)/ 119,7	7,67(d)/ 121,9	8,87(s)/ 154,8	-/ 131,6	8,17(d)/ 133,6	7,80(m)/ 130,2	7,80(m)/ 124,5	8,09(d)/ 129,4

Tabela 2 - Principais dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C dos conjugados **1a-g** e **2a-g***

(conclusão)



Código		H/C 2', 6'	H/C 3', 5'	H/C 7'	H/C 9'	H/C 10'	H/C 11'	H/C 12'	H/C 13'
2a	R=H, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	6,90(d)/ 114,2	7,45(d)/ 120,9	7,19(m)/ 169,6	-/ 132,3	7,74(m)/ 134,7	7,74(m)/ 130,9	7,74(m)/ 124,6	7,74(m)/ 125,1
2b	R=H, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	7,33(d)/ 119,6	7,67(d)/ 121,8	8,75(s)/ 157,9	8,05(m)/ 128,4	8,05(m)/ 129,7	-/ 132,7	8,05(m)/ 129,7	8,05(m)/ 128,4
2c	R=H, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'= 13'=H	7,38(d)/ 121,7	7,69(d)/ 122,3	8,92(s)/ 159,8	-/ 160,5	6,93(d)/ 119,4	7,51(dd)/ 135,6	-/ 110,3	7,83(d)/ 134,3
2d	R=H, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	7,60(d)/ 119,7	7,72(d)/ 121,1	8,14(s)/ 158,5	7,16(d)/ 130,1	6,78(d)/ 111,5	-/ 152,2	6,78(d)/ 111,5	7,16(d)/ 130,1
2e	R=H, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'= 13'=H	7,31(d)/ 119,8	7,65(d)/ 121,3	8,78(s)/ 161,1	-/ 163,0	6,29(d)/ 102,4	-/ 162,2	6,39(dd)/ 107,8	7,40(d)/ 134,2
2f	R=H, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	7,36(d)/ 119,5	7,68(d)/ 122,0	8,83(s)/ 156,7	8,16(d)/ 129,3	8,35(d)/ 124,0	-/ 148,6	8,35(d)/ 124,0	8,16(d)/ 129,3
2g	R=H, 9'= NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	7,30(d)/ 119,8	7,68(d)/ 121,9	8,88(s)/ 154,8	-/ 131,7	8,19(dd)/ 133,7	7,81(m)/ 129,4	7,81(m)/ 124,5	8,10(dd)/ 129,4

* os experimentos de RMN de ^1H (300 ou 500 MHz) e de ^{13}C (75 ou 125 MHz) foram realizados em DMSO-*d*₆. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA

AUTORA

As faixas de fusão dos conjugados desta classe foram também determinadas e estão descritas na Tabela 3. Os valores elevados desta propriedade física pode ser justificado em parte pela estrutura altamente rígida da porção esteroidal. Além disso, é importante considerar a polaridade da face α e a ocorrência de ligações de hidrogênio intermoleculares.

É possível observar ainda uma tendência dos valores das F.F dos conjugados derivados do ácido cólico (**1a-g**) serem ligeiramente maiores que os valores daqueles dos respectivos derivados do ácido desoxicólico (**2a-g**). Uma vez que a ocorrência de interações intermoleculares promovem um aumento dos valores da temperatura de fusão dos compostos orgânicos, e, o ácido cólico possui um grupo hidroxila (7-OH) adicional quando comparado ao ácido desoxicólico, as ligações de hidrogênio ocorrem com maior frequência nestes derivados e elevam, assim, o ponto de fusão dos mesmos.

Tabela 3 - Faixas de fusão dos conjugados **1a-g** e **2a-g**

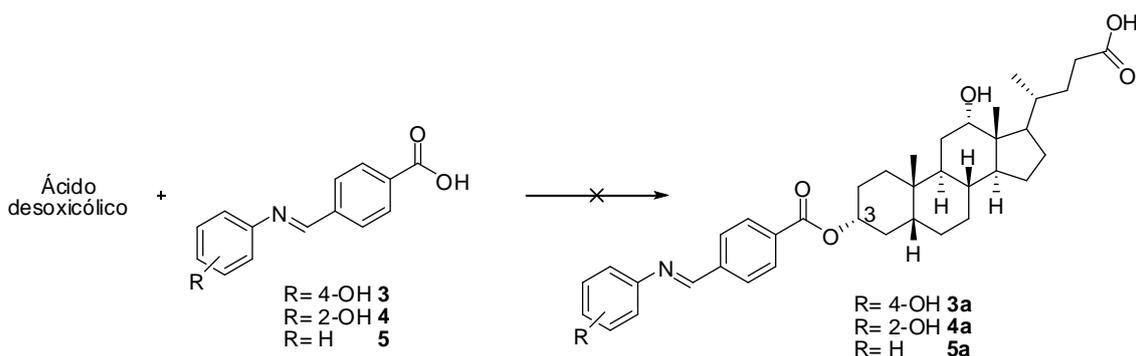
Conjugado	F.F (°C)	Conjugado	F.F (°C)
1a	175,5-177,0	2a	163,5-165,0
1b	338,0-339,5	2b	320,1-321,0
1c	301,5-303,0	2c	262,7-264,2
1d	268,4-269,3	2d	253,3-255,0
1e	204,2-205,5	2e	185,5-187,7
1f	223,5-224,3	2f	141,9-142,5
1g	285,9-287,0	2g	257,7-259,8

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

5.1.2 Preparação e caracterização de conjugados via esterificação de Steglich em C-3 do ácido cólico

Propôs-se inicialmente obter conjugados esteroides/bases de Schiff na posição C-3 do esqueleto esteroidal a partir da esterificação direta de iminas contendo grupo carboxi livre com o grupo hidroxila em C-3 do esteroide. Desta forma, as iminas **3**, **4** e **5** (cuja preparação será descrita na seção 5.4), foram submetidas a tentativas de esterificação utilizando-se trietilamina (TEA) em CHCl_3 , segundo metodologia já descrita (STANCIU; NICHIFOR; SIMIONESCU, 2009). (Esquema 6).

Esquema 6 - Metodologia para conjugação via esterificação em C-3



Condições reacionais: 1,1 eq. TEA, CHCl₃, refluxo, 24 h.

Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

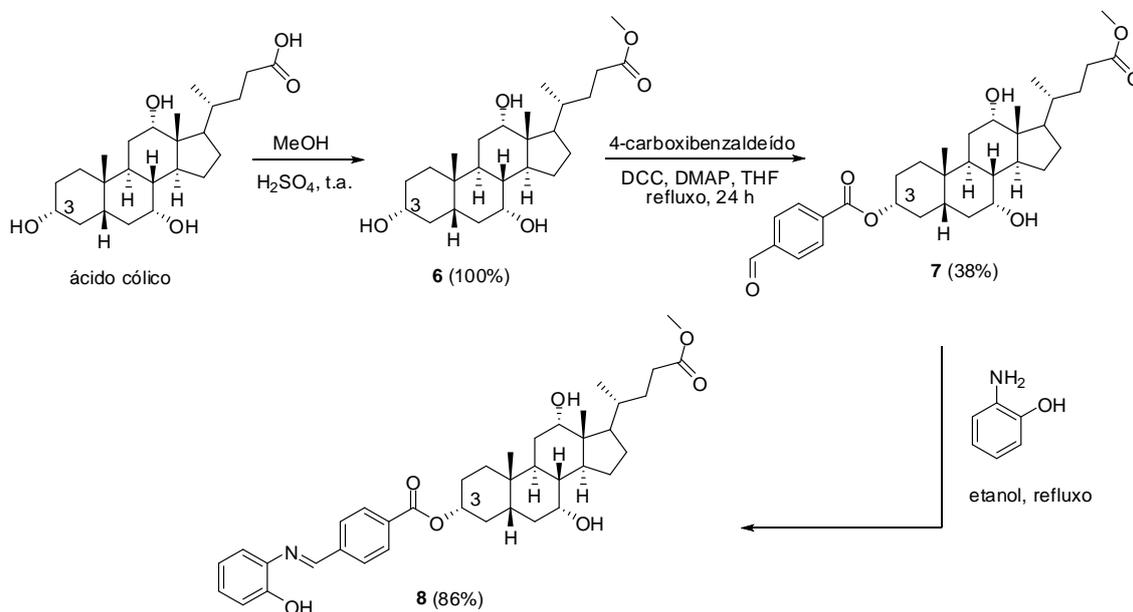
No entanto, em nenhum dos experimentos realizados foi possível isolar o produto desejado na forma pura. O acompanhamento da reação por CCD indicou que, somente após adição de excesso de TEA a reação evoluía no sentido de formação do produto desejado. Apenas quando se utilizou a base de Schiff **5** foi possível isolar por CCS o produto almejado mas que mostrou-se impuro após análise do seu espectro de RMN de ¹H. A dificuldade de purificação foi o principal fator que nos levou a propor uma metodologia alternativa.

Então, propôs-se primeiramente acoplar o aldeído ao esqueleto esteroidal e, em seguida, conjugar as aminas aromáticas, de acordo com a rota sintética representada no Esquema 7.

Inicialmente, preparou-se o éster metílico do ácido cólico adaptando-se a metodologia já descrita (RASRAS *et al.*, 2010). O éster **6** foi obtido em rendimento quantitativo como um sólido branco e suas caracterizações estão de acordo com as descritas na literatura (PORE *et al.*, 2006). A seguir, este derivado foi submetido a uma esterificação de Steglich com o 4-carboxibenzaldeído. A reação foi realizada em THF, sob refluxo, por 20 h. Após ser submetido à purificação por CCS o aldeído **7** derivado do ácido cólico foi obtido como um sólido branco em 38% de rendimento. O baixo rendimento pode ser atribuído aos fatos de que além da reação não ter se completado, a temperatura utilizada (refluxo) é um fator que contribui para a conversão do derivado *O*-acilureia ao *N*-acilureia, conforme referência consultada (KAISER *et al.*, 2008). Assim como na preparação das amidas biliares **1** e **2**, observou-se, por CCD, a presença

de um subproduto de características alifáticas, sugerindo a ocorrência do rearranjo apresentado no Esquema 5.

Esquema 7 - Rota sintética alternativa para conjugação via esterificação em C-3

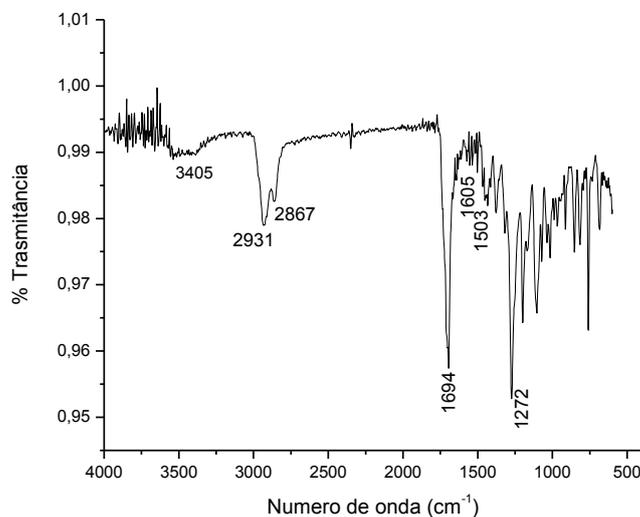


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Por fim, o aldeído **7** foi então submetido à reação de condensação com quantidade equimolar de 2-hidroxianilina em meio etanólico que se completou após poucos minutos, evidenciada pela formação de um precipitado amarelo. Após filtrado e seco, o conjugado **8** foi obtido em 86% de rendimento.

No espectro infravermelho do aldeído **7** (Figura 23), a banda de absorção característica da ligação C=O de aldeído (ν 1605 cm⁻¹) encontra-se sobreposta por uma banda intensa em ν 1694 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C=O dos grupos ésteres presentes na estrutura.

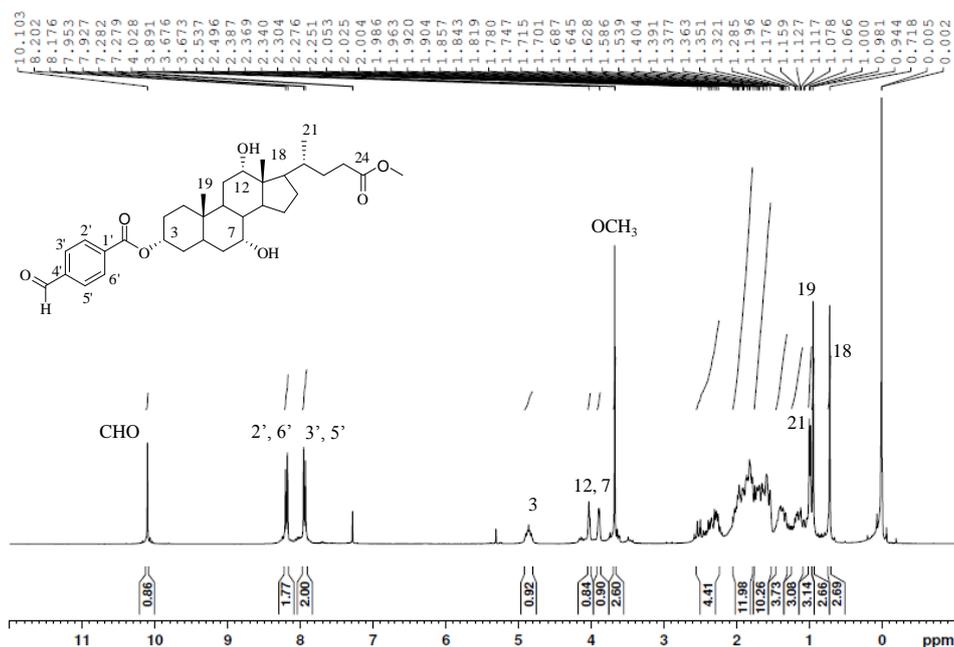
Figura 23 - Espectro infravermelho do composto **7**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ¹H (Figura 24) do aldeído biliar **7** três sinais evidenciam sua formação: um simpleto em δ 10,10 ppm, referente ao próton do grupo -CHO e dois dupletos, um em δ 7,94 ppm ($J=7,8$ Hz) e o outro em δ 8,19 ppm ($J=7,8$ Hz), atribuídos aos prótons do anel aromático introduzido na reação de esterificação em C-3. Além destes, estão presentes um simpleto em δ 3,67 ppm atribuído aos prótons metílicos introduzidos na esterificação da posição C-24 na primeira etapa sintética, o sinal referente ao próton H-3 β em δ 4,82 ppm como um multiplete, ou seja, em região e formato típicos deste sinal em compostos esteroidais modificados em C-3, e diversos sinais na região entre δ 0,72 e 4,03 ppm, correspondentes aos demais prótons da porção esteroidal.

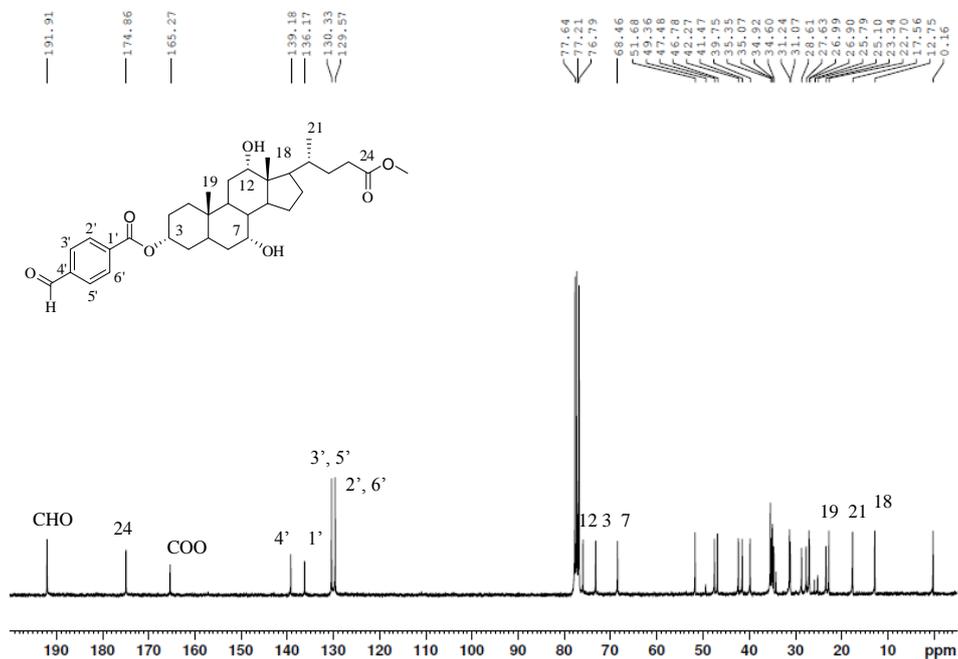
Figura 24 - Espectro de RMN de ^1H do composto **7** (CDCl_3 , 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Já no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 25) deste aldeído biliar, além dos sinais correspondentes aos carbonos da porção esteroidal (δ 12,7-76,0 ppm), estão presentes sinais na região entre δ 129,6 e 191,9 ppm que sugerem a formação do composto desejado, a saber: 4 sinais referentes aos carbonos da porção aromática introduzida na posição C-3, um sinal em 165,3 ppm atribuído à carbonila do éster (COO) e um sinal em δ 191,9 ppm atribuído ao carbono do grupo aldeído (CHO).

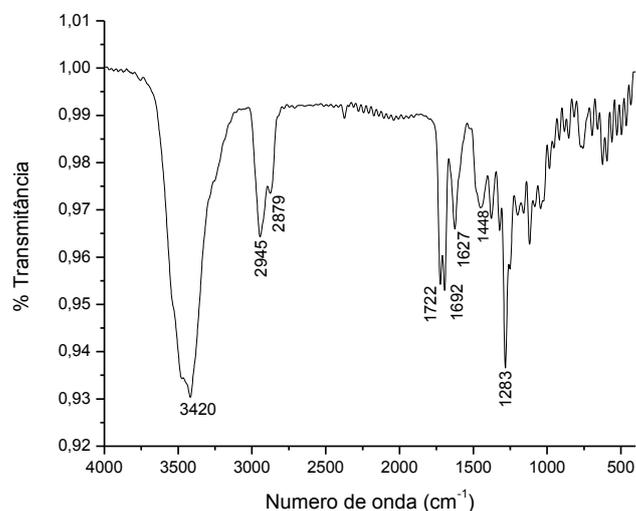
Figura 25 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto **7** (CDCl_3 , 75 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Tratando da caracterização do conjugado **8**, no que se refere à análise de seu espectro infravermelho, é importante citar a presença de uma banda em ν 1627 cm^{-1} devido ao estiramento da ligação C=N do grupo imínico, sugerindo a ocorrência da reação de condensação do aldeído biliar com a 2-hidroxianilina. Além desta, observou-se uma banda em ν 1722 cm^{-1} , devida a absorção característica das ligações C=O de ésteres e bandas de absorção na faixa de ν 1627 a 1448 cm^{-1} referentes ao estiramento dos grupos C=C da porção aromática.

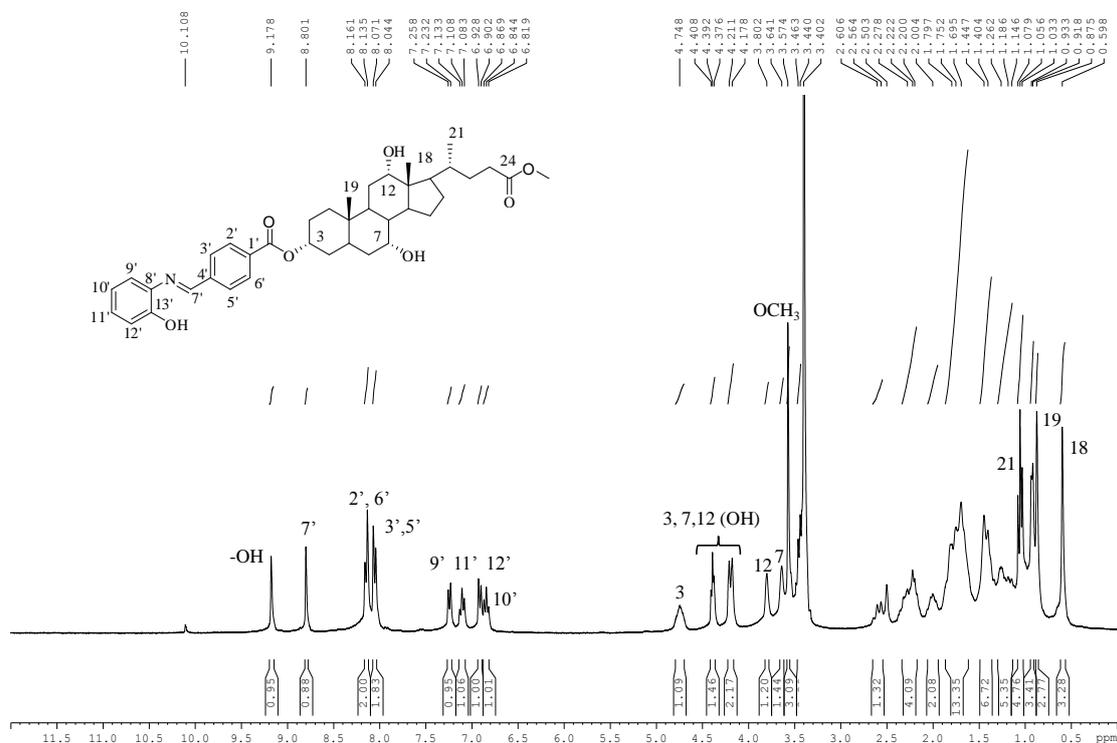
Figura 26 - Espectro infravermelho do composto **8**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Na região do espectro de RMN de ^1H característica de sinais aromáticos observou-se sinais com multiplicidades definidas entre δ 6,82 e 7,26 ppm relativos aos prótons da segunda porção aromática: um tripleto atribuído ao H-10' em δ 6,85 ppm ($J_{10',9'}=J_{10',11'}=7,8$ Hz), um dubleto em δ 6,92 ppm referente ao H-12' ($J_{12',11'}=7,8$ Hz), um outro tripleto em δ 7,11 ppm atribuído ao H-11' ($J_{11',10'}=J_{11',12'}=7,8$ Hz) e, por fim, um dubleto em δ 7,24 ppm referente ao próton H-9' ($J_{9',10'}=7,8$ Hz). Além destes, é importante destacar o singleto em δ 8,80 ppm característico do próton imínico e os dois dubletos, um em δ 8,06 ppm (H-3' e H-5') e outro em δ 8,16 ppm (H-2' e H-6'). Novamente observa-se que os prótons 3' e 5' do primeiro anel aromático sofreram um processo de desblindagem eletrônica como consequência da introdução do segundo anel aromático (Figura 27).

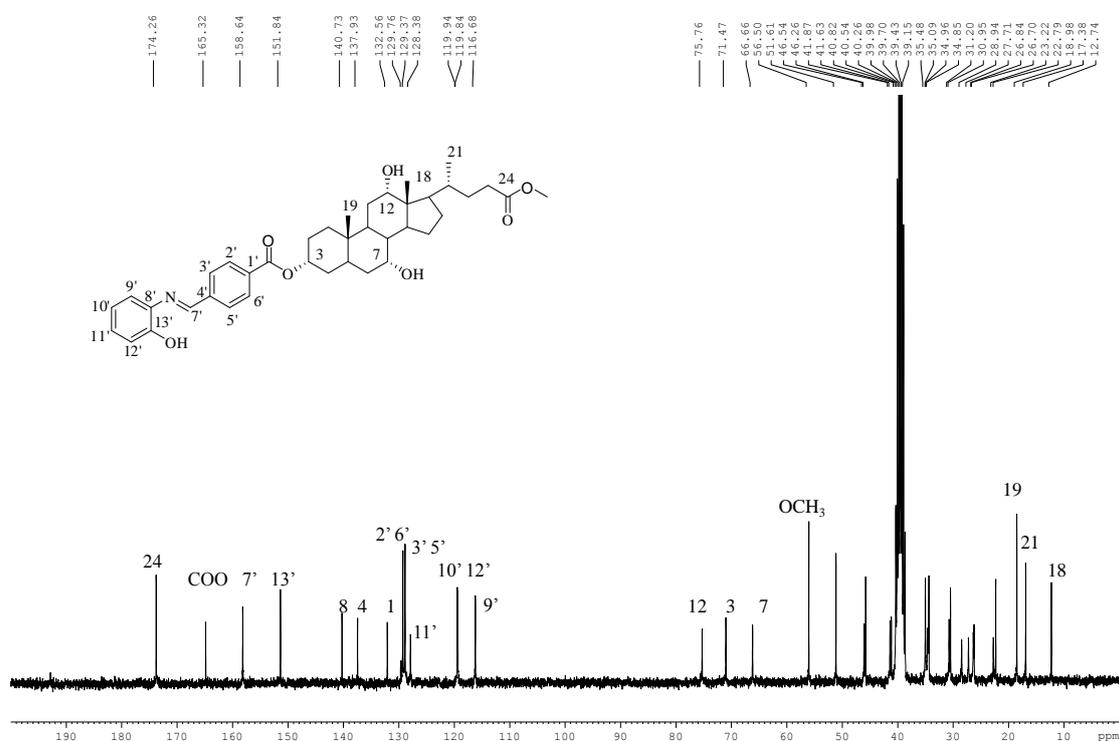
Figura 27 - Espectro de RMN de ^1H do composto **8** ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

O espectro de RMN de ^{13}C do conjugado **8** difere-se do espectro de seu precursor **7** pela presença de 5 sinais adicionais entre δ 116,7 e 151,8 ppm, referentes aos carbonos da segunda porção aromática, pela ocorrência de um sinal em δ 158,6 ppm devido ao carbono da ligação imínica $\text{C}=\text{N}$ formada, além da ausência do sinal do carbono CHO. Todos esses são indícios de ocorrência da conjugação almejada.

Figura 28 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto **8** (DMSO- d_6 , 300 MHz)



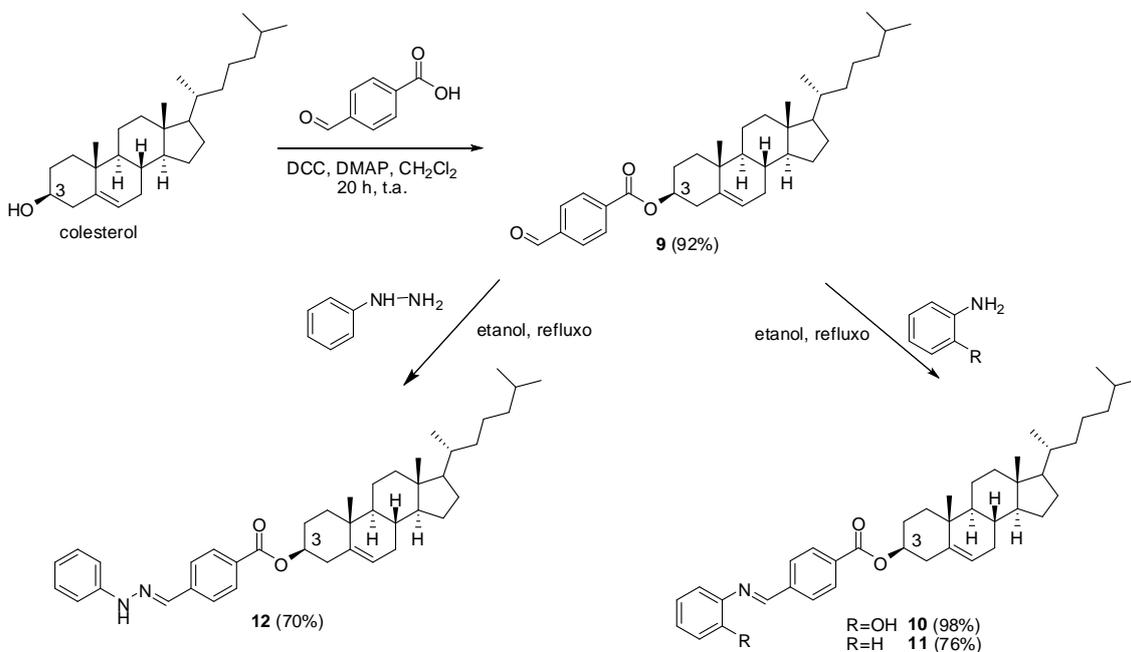
Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

5.1.3 Preparação e caracterização de conjugados via esterificação de Steglich em C-3 do colesterol

Para a obtenção dos conjugados desta classe, preparou-se primeiramente o aldeído **9** derivado do colesterol a partir de uma reação de esterificação de Steglich entre a hidroxila da posição C-3 da molécula de colesterol e a carboxila da molécula de 4-carboxibenzaldeído. Como descrita anteriormente, a metodologia utilizada neste processo faz uso de DCC como agente ativador do ácido carboxílico e catálise com DMAP. O processo foi realizado à t.a. em CH_2Cl_2 , sendo o tempo reacional de 20 h (APREUTESEI *et al.*, 2005). O produto puro foi obtido como um sólido branco em 92% de rendimento após uma filtragem em coluna de sílica utilizando-se CH_2Cl_2 como solvente. A seguir, este aldeído biliar foi então submetido à reação de condensação com quantidades equimolares de uma amina aromática (2-hidroxianilina ou anilina) ou fenilhidrazina em etanol, sob refluxo, por cerca de 6 h, para a formação das iminas

correspondentes. Em todos os experimentos realizados foi observada a formação de precipitado e então os sólidos **10-12** foram filtrados e obtidos na sua forma pura em rendimentos entre 76 e 98% (Esquema 8).

Esquema 8 - Preparação de conjugados via esterificação em C-3 do colesterol

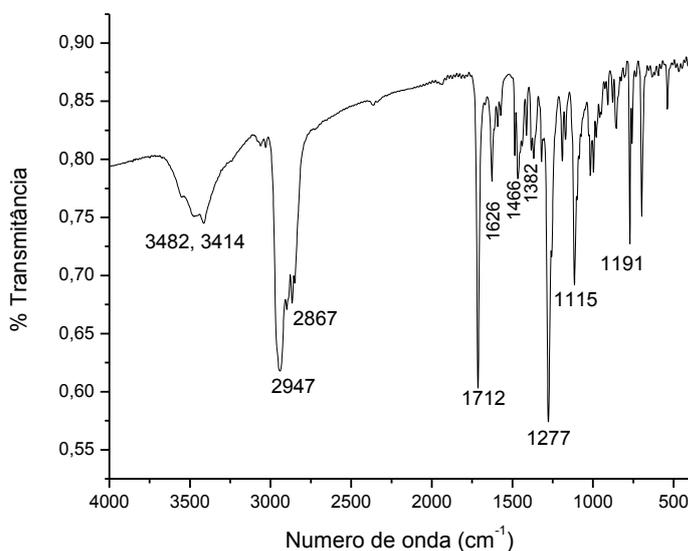


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

As caracterizações do aldeído biliar **9** estão de acordo com as descritas na literatura (PANDEY; SINGH, 2012). Para a discussão das caracterizações espectroscópicas desta classe de compostos, selecionou-se o conjugado **11**.

No espectro infravermelho do composto **11** (Figura 29), a principal indicação de ocorrência de sua formação é uma banda em ν 1626 cm⁻¹, devido a presença do grupo imínico na estrutura (C=N). Além desta estão presentes: uma banda intensa em ν 1712 cm⁻¹ (estiramento da ligação C=O do grupo éster), uma outra banda intensa em ν 1277 (estiramento da ligação C-O), além de bandas próximas a ν 1466 cm⁻¹ referentes ao estiramento dos grupos C=C da porção aromática.

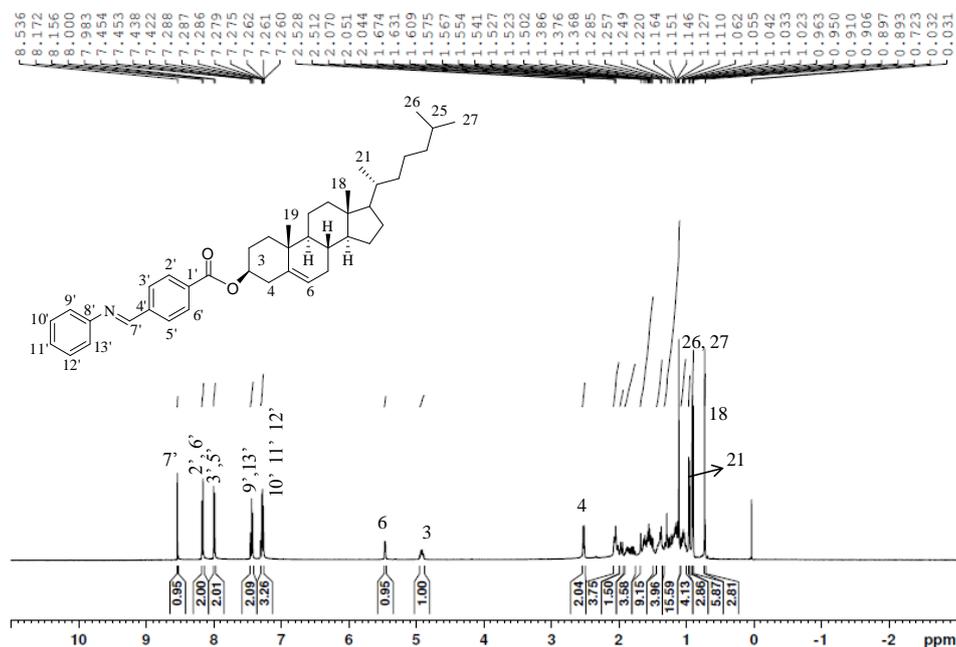
Figura 29 - Espectro infravermelho do composto **11**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

O espectro de RMN de ^1H do composto **11**, bem como os dos demais conjugados desta série, apresenta regiões bastante distintas: uma que se estende de δ 0,72 a 2,52 ppm, onde estão presentes os sinais dos prótons metílicos, metilênicos e metínicos do esqueleto esteroidal, uma estreita região central (δ 4,50 a 6,00 ppm) em que aparecem os sinais típicos dos prótons H-3 e H-6 e, finalmente, uma região entre δ 6,50 e 9,00 ppm em que se apresentam sinais pertencentes principalmente a núcleos aromáticos. Na Figura 30, a ocorrência de um simpleto em δ 8,54 ppm (típico de próton imínico), somada a presença de dois multipletos, entre δ 7,26 e 7,54 ppm (referentes aos 5 prótons do segundo anel aromático), são indícios relevantes da formação do composto almejado.

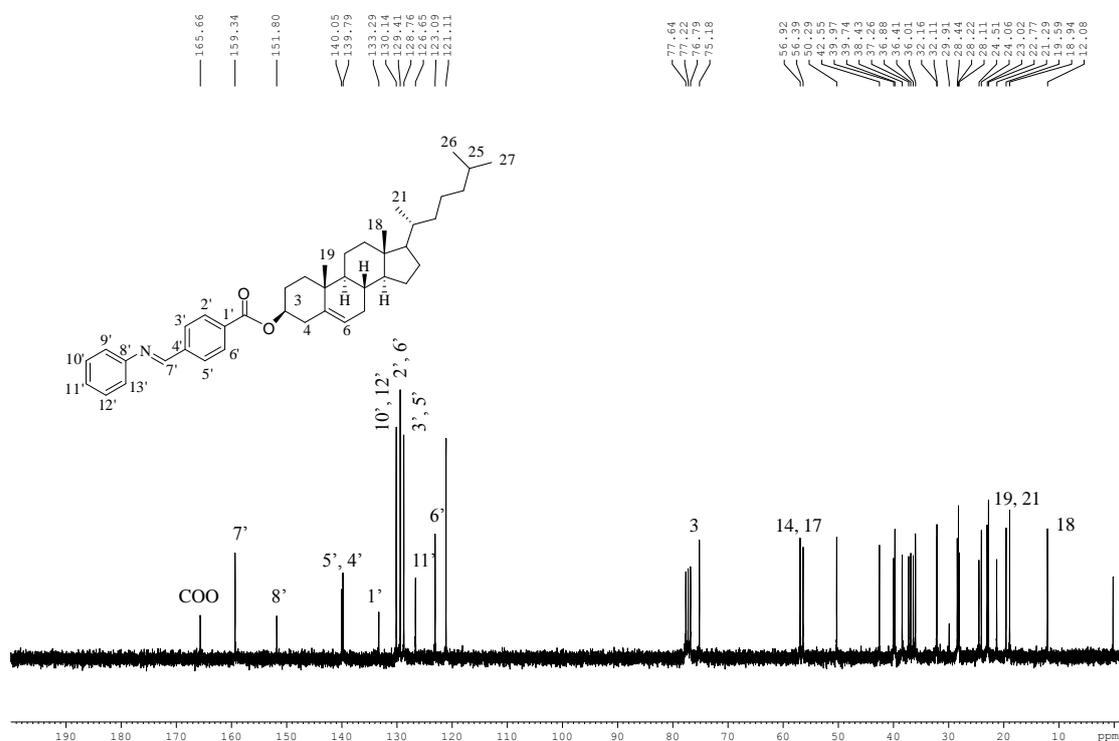
Figura 30 - Espectro de RMN de ^1H do composto **11** (CDCl_3 , 500 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ^{13}C do referido conjugado, Figura 31, observou-se a presença de sinais adicionais na região aromática do espectro (atribuídos aos carbonos C-8' a C-13') e de um sinal em δ 159,3 ppm, típico de carbono imínico, que indicam a ocorrência da reação de condensação. Além destes, os diversos sinais decorrentes dos carbonos do esqueleto esteroidal foram observados entre δ 12,08 e 75,18 ppm.

Figura 31 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto **11** (CDCl_3 , 75 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

5.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE AMIDAS E ALDEÍDOS BILIARES

O fato de derivados biliares tais como amidas já serem apontados na literatura como moléculas bioativas, somado a resultados promissores revelados por testes biológicos para as amidas biliares **1** e **2** (discutidos na seção 6), nos levaram a propor também a síntese de outros derivados biliares.

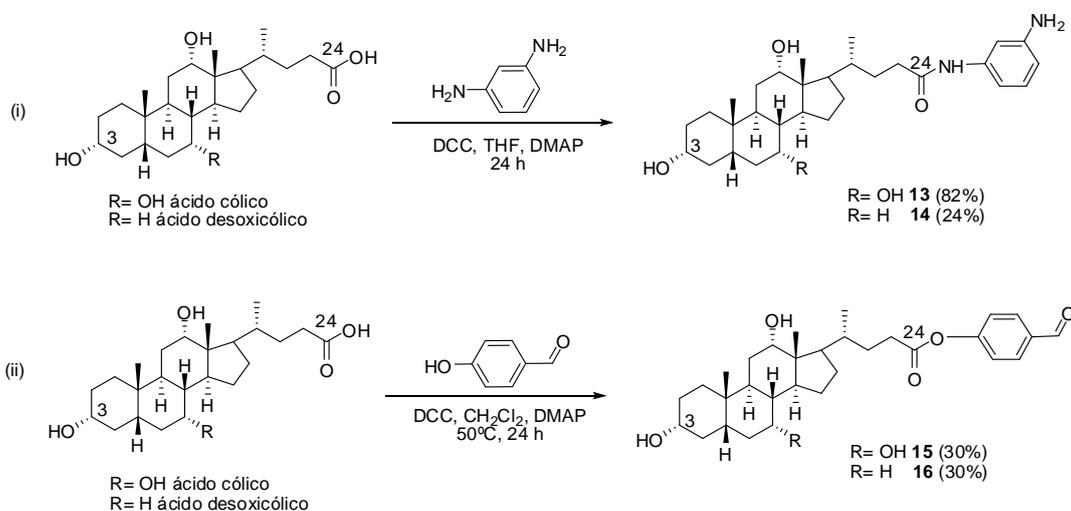
Desta forma, foram preparados 4 derivados, sendo 2 amidas e 2 aldeídos biliares, ambas as funcionalizações realizadas na posição C-24 do esqueleto dos ácidos cólico e desoxicólico.

Como mostrado no Esquema 9, (i), as amidas biliares **13** e **14**, derivadas do 1,3-diaminobenzeno, foram preparadas de maneira análoga a preparação das amidas **1** e **2**. No entanto, utilizou-se DMAP com o intuito de se investigar a influência desta catálise no rendimento dos processos. A amida **13** foi obtida em 82% de rendimento após

purificação em coluna cromatográfica utilizando-se como eluente uma mistura dos solventes CH_2Cl_2 e MeOH, rendimento este bastante superior aos obtidos para as amidas derivadas do 1,4-diaminobenzeno. Por outro lado, a amida **14** foi obtida em apenas 24% de rendimento.

Os aldeídos biliares **15** e **16** foram preparados utilizando-se novamente a metodologia de esterificação de Steglich, como representado no Esquema 9, (ii). Nos dois procedimentos, as reações ocorreram entre a função ácida em C-24 dos ácidos cólico e desoxicólico e a hidroxila do 4-hidroxibenzaldeído. As reações foram realizadas em diclorometano e refluxo e o tempo reacional foi de 24 h. Os produtos brutos foram purificados em CCS utilizando $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ como gradiente e então obtidos como sólidos em rendimentos de apenas 30% cada. Novamente, uma possível explicação para o baixo rendimento obtido pode ser atribuída ao relato da literatura de que o aumento da temperatura promove a conversão do derivado *O*-acilureia ao *N*-acilureia (Esquema 5) (KAISER *et al.*, 2008).

Esquema 9 - Preparação das amidas e aldeídos biliares **13-16**



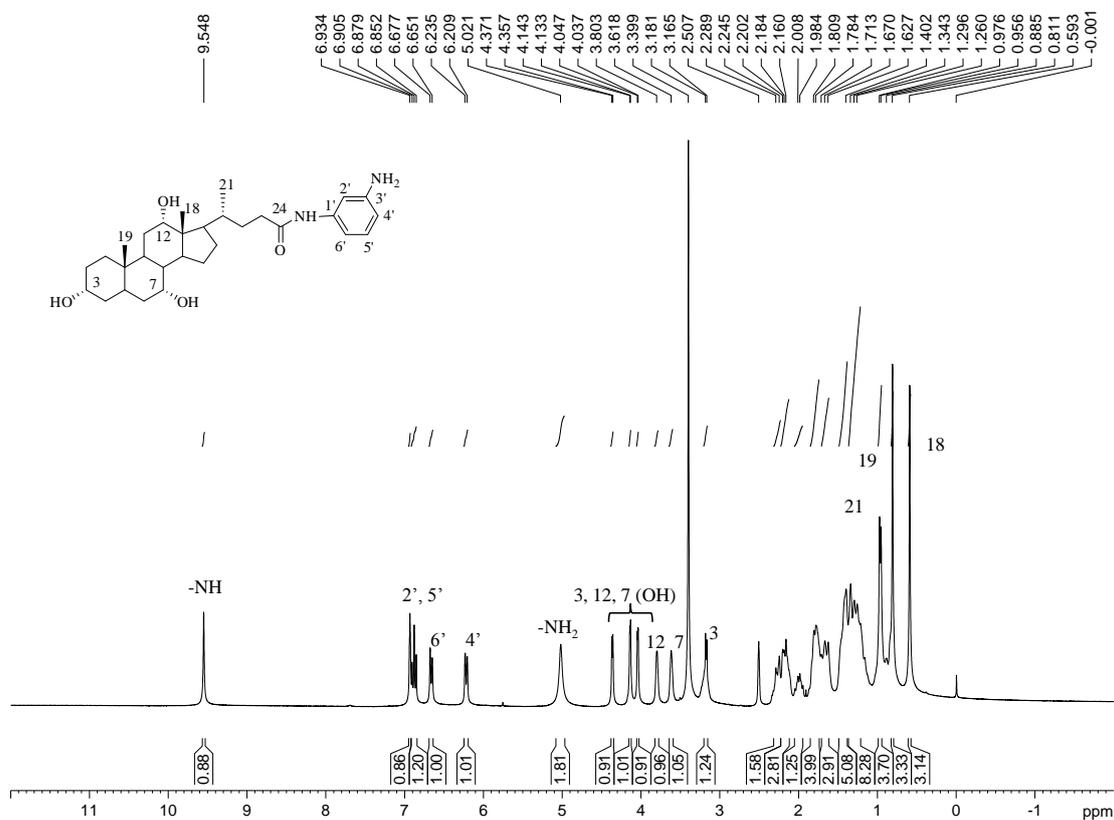
Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Devido à semelhança estrutural dessas amidas e aldeídos com os compostos já apresentados nos itens anteriores, a discussão espectroscópica será breve.

No espectro de RMN de ^1H da amida biliar **13** as evidências da obtenção do composto desejado são a presença de sinais com multiplicidades definidas entre δ 6,00 e 7,00 ppm, relativos aos prótons aromáticos H-2', H-4', H-5' e H-6', de um simpleto em

δ 9,55 ppm, referente ao próton –NH da função amida e de um simpleto largo em δ 5,02 ppm, região típica de sinal de prótons –NH de aminas aromáticas.

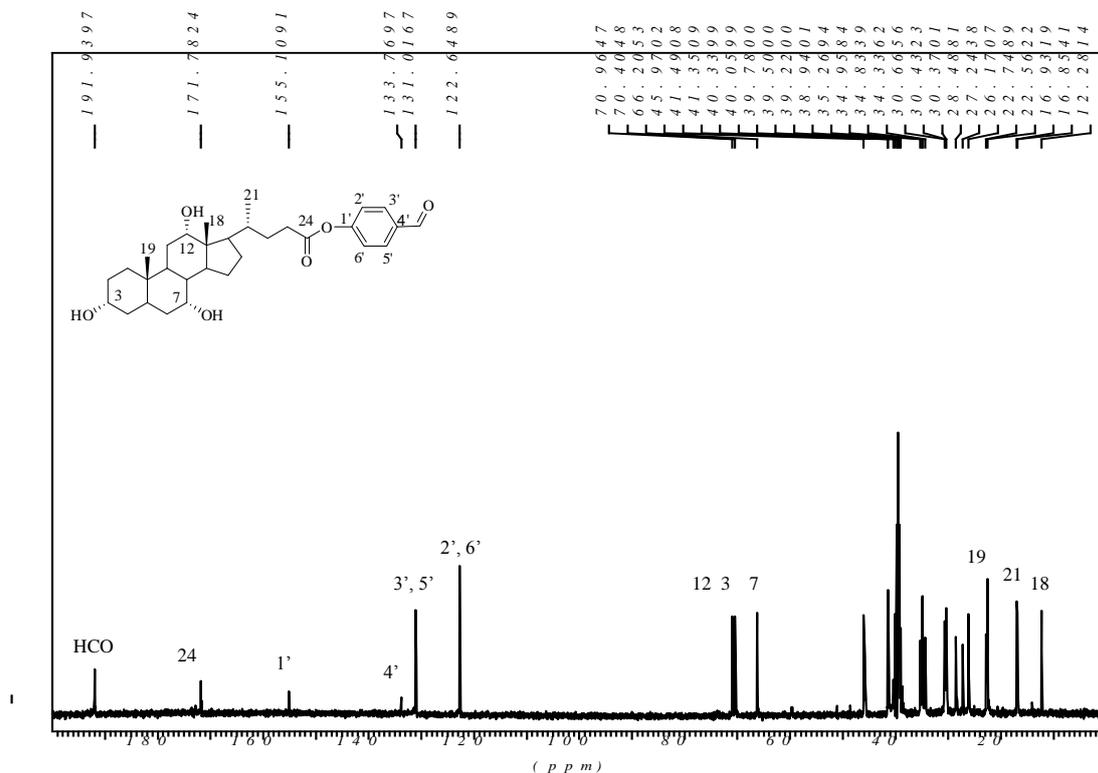
Figura 32 - Espectro de RMN de ^1H do composto **13** (DMSO- d_6 , 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 33) do aldeído biliar **15**, além dos sinais na região entre δ 12,3 e 45,9 ppm referentes aos carbonos da porção esteroidal, observou-se a presença de dois sinais intensos em δ 122,6 e 131,0 ppm atribuídos aos carbonos 2' e 6' e 3' e 5' da porção aromática introduzida na molécula e de outros dois sinais pouco intensos em δ 137,8 e 155,1 ppm referentes aos dois carbonos aromáticos não hidrogenados (1' e 4'). Além destes, observou-se um sinal em δ 171,8 ppm atribuído a C-24 e um sinal em δ 191,9 ppm característico de carbono do grupo CHO, sugerindo assim a obtenção do aldeído esteroidal almejado.

Figura 33 - Espectro de RMN de ^{13}C do composto **15** (DMSO- d_6 , 75 MHz)

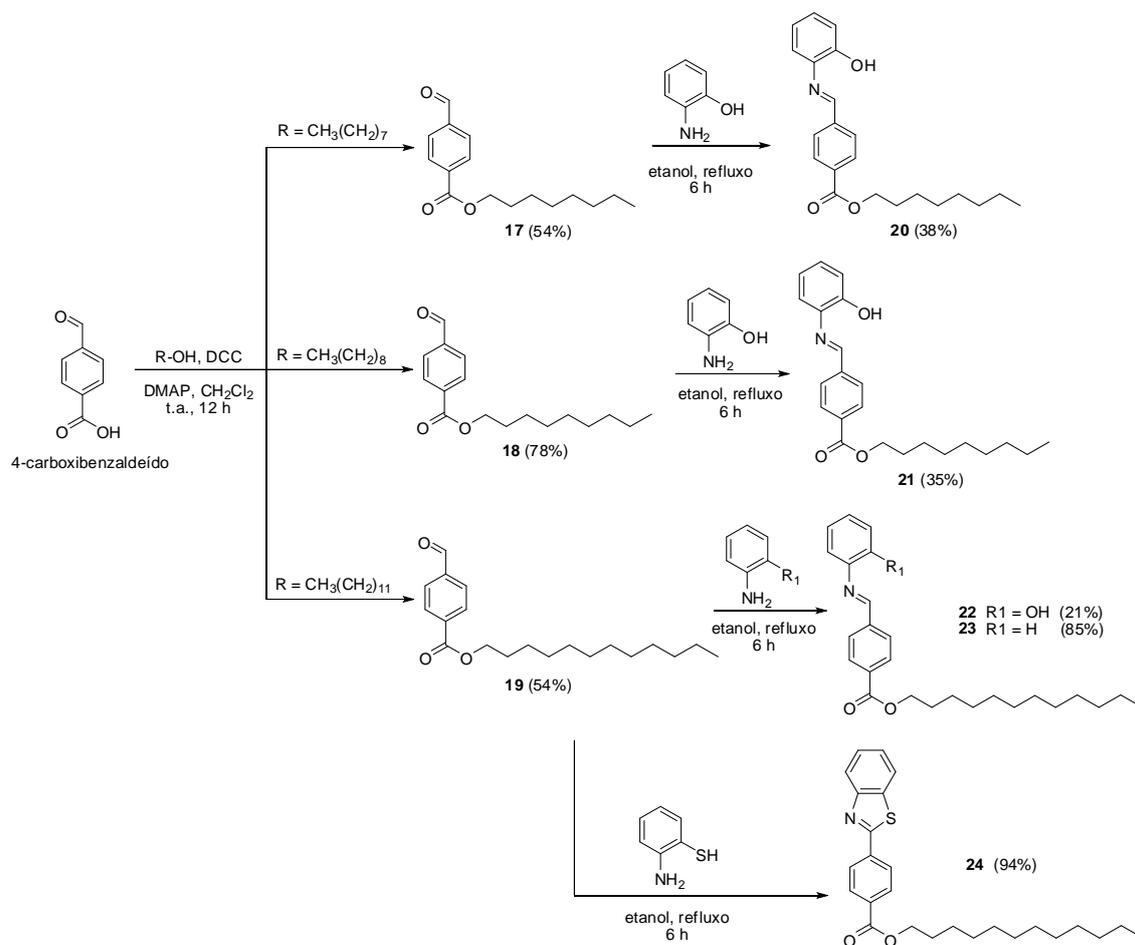


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

5.3 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BASES DE SCHIFF LIPOFÍLICAS (DE CADEIA ALQUILA LONGA)

A obtenção das bases de Schiff desta classe foi possível a partir de uma rota sintética linear de duas etapas utilizando-se como material de partida o 4-carboxibenzaldeído. Primeiramente, realizou-se uma esterificação de Steglich entre a função ácida da molécula de 4-carboxibenzaldeído e os alcoóis alifáticos 1-octanol, 1-nonanol ou 1-dodecanol em CH_2Cl_2 , à t.a. por 12 h (UMADEVI; SADASHIVA, 2005). Após a purificação por CCS utilizando-se como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila, os aldeídos de cadeia longa foram obtidos como sólidos brancos em rendimentos de 54 a 78% (Esquema 10).

Esquema 10 - Preparação das bases de Schiff lipofílicas (de cadeia alquila longa) **20-24**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

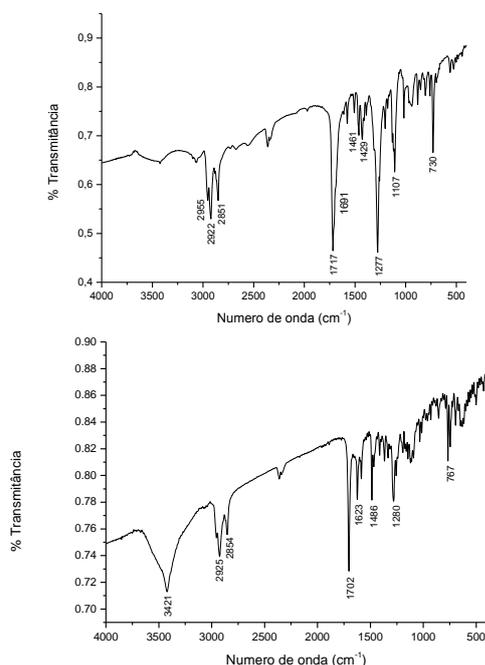
Uma vez obtidos e caracterizados, os aldeídos de 8, 9 e 12 átomos de carbono **17-19** foram submetidos às condições reacionais de formação da ligação imínica utilizando quantidades equimolares de um dos aldeídos e de uma amina aromática (anilina, 2-hidroxianilina ou 2-mercapto anilina) em etanol, sob refluxo, durante 6 h. Após resfriamento do meio reacional, observou-se a formação de precipitados amarelos em todos os procedimentos realizados. Os produtos **20-24** foram então isolados por filtração simples e recristalizados em etanol. Os rendimentos variaram de 21-94%.

Para a discussão das caracterizações espectroscópicas, selecionou-se o aldeído **17** e a base de Schiff lipofílica **20**.

A Figura 34 consiste na comparação dos espectros infravermelhos dos compostos **17** e **20**. Observa-se que no espectro do aldeído de cadeia longa, duas bandas são relevantes em sua identificação: uma em ν 1717 cm⁻¹, resultante do estiramento da

ligação C=O do grupo éster, e a outra, sobreposta pela primeira, em ν 1691 cm^{-1} , característica da ligação C=O de aldeído. Já no espectro do derivado lipídico, a principal evidência da reação de conjugação com a 2-hidroxianilina é a ocorrência de uma banda em ν 1623 cm^{-1} , devido à presença do grupo imínico na estrutura (C=N). Além desta, há uma banda em ν 3421 cm^{-1} resultante da deformação axial da ligação O-H do grupo hidroxila do anel aromático.

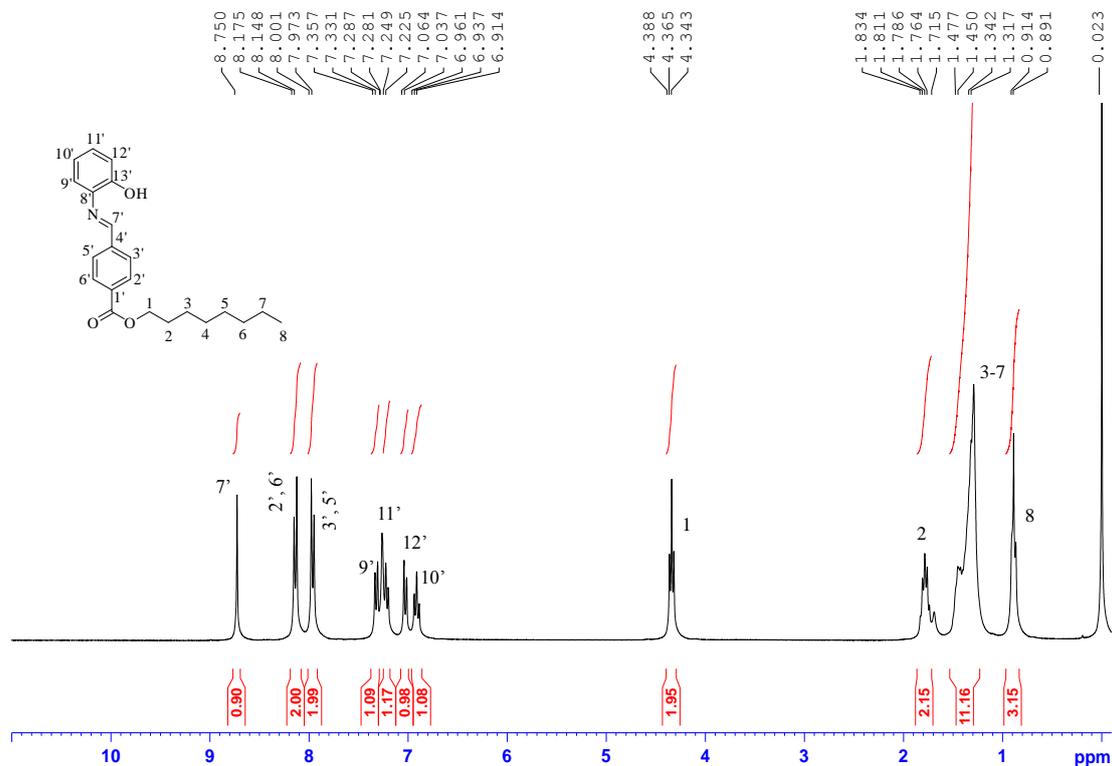
Figura 34 - Comparação dos espectros infravermelho dos compostos **17** e **20**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ^1H (Figura 35) do derivado lipídico **20**, observou-se os sinais referentes aos prótons metílicos e metilênicos (H2-H8) da cadeia alifática (entre δ 0,89 e 1,83 ppm), um tripleto em δ 4,36 ppm ($J = 6,8$ Hz) atribuído aos prótons metilênicos vizinhos ao grupo carboxi, além dos sinais na região de δ 6,91 a 8,17 ppm, característica de prótons aromáticos. Os sinais entre δ 6,91 e 7,36 ppm, referentes a segunda porção aromática, bem como o simpleto em δ 8,75 ppm característico de próton imínico, são as principais evidências da formação do composto lipídico almejado.

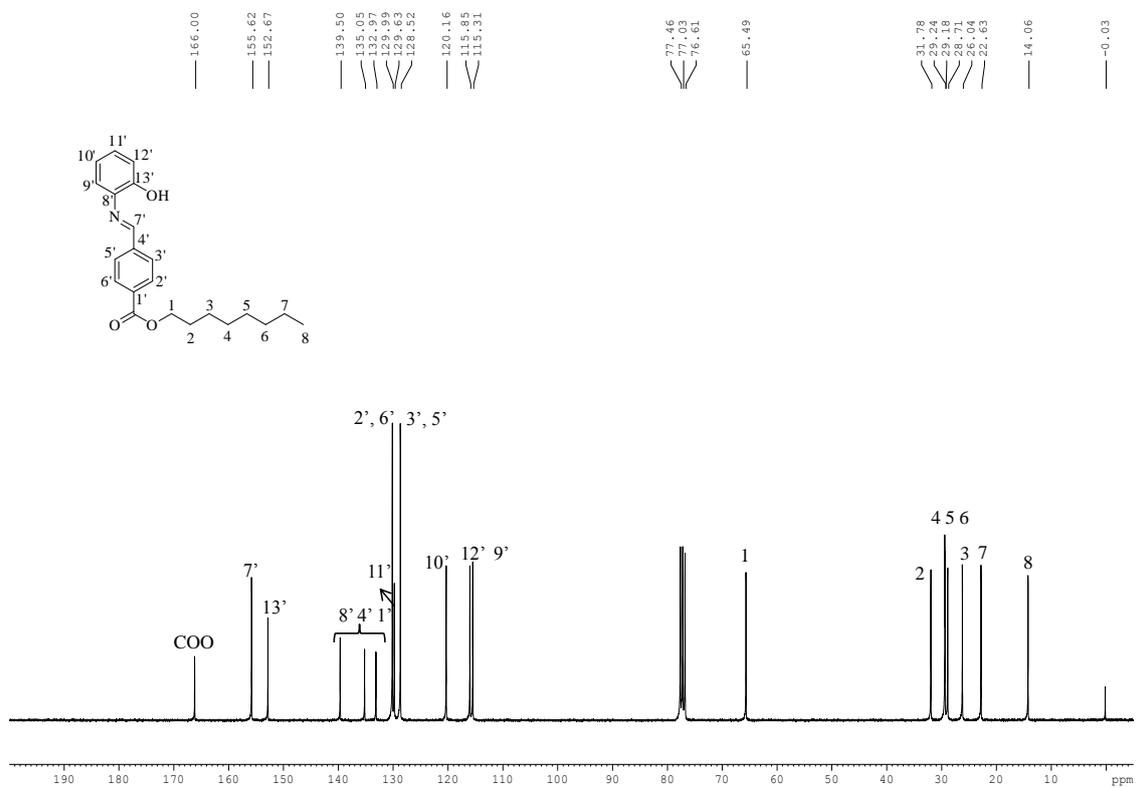
Figura 35 - Espectro de RMN de ^1H do composto **20** (CDCl_3 , 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

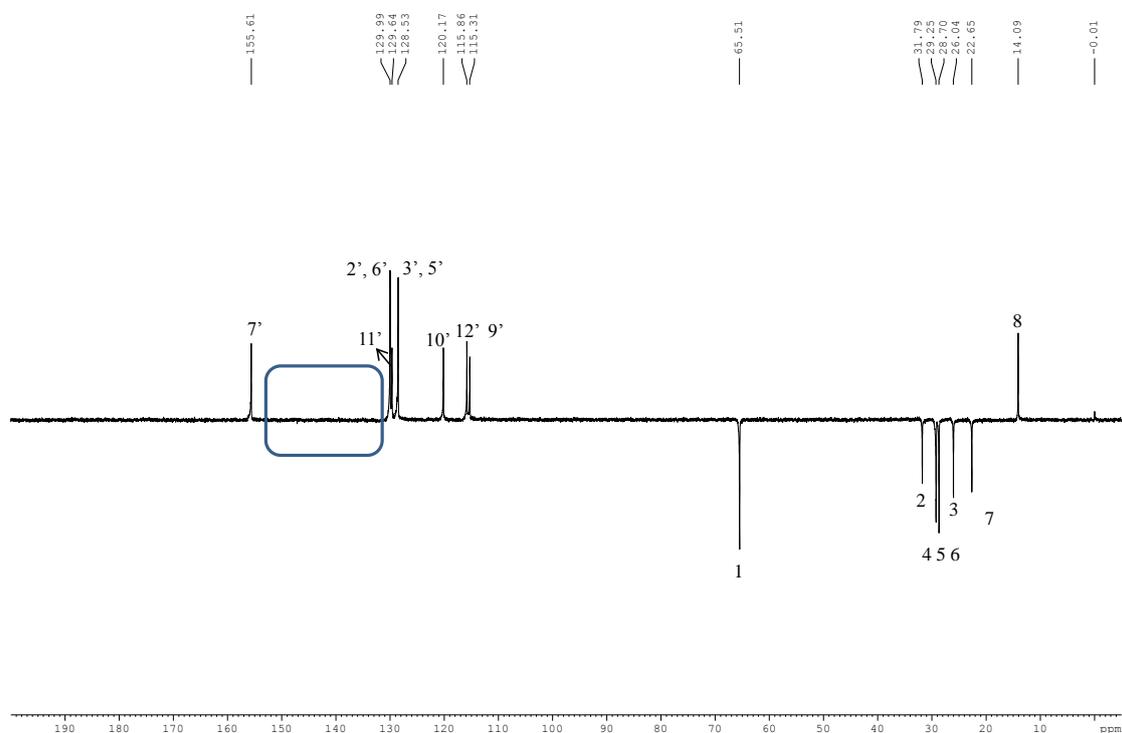
O espectro de RMN de ^{13}C do composto **20** também é condizente com o esperado para sua estrutura química (Figura 36). Há duas regiões distintas no referido espectro, sendo a primeira delas entre δ 14,0 e 65,5 ppm a qual contém os sinais referentes aos carbonos da porção alifática da molécula e a outra, situada entre δ 115,3 e 166,0 ppm que contém os sinais da porção aromática, incluindo o sinal típico de carbono imínico em δ 155,6 ppm e um sinal em δ 166,0 ppm atribuído ao carbono da carbonila de éster. Os sinais da porção aromática foram atribuídos com auxílio da análise do espectro DEPT 135° (Figura 37). Uma vez que os sinais de carbonos não hidrogenados não são detectados neste tipo de espectro, esta técnica foi útil na atribuição dos sinais dos carbonos 1', 4', 8' e 13'.

Figura 36 - Espectro de RMN ^{13}C do composto **20** (CDCl_3 , 75 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Figura 37 - Espectro DEPT 135° do composto **20** (CDCl₃, 75 MHz)

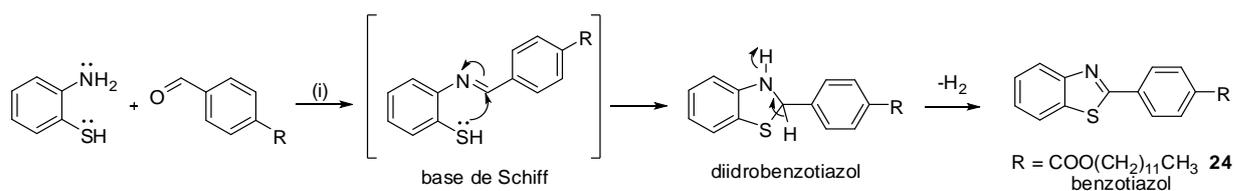


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Como ilustrado no Esquema 10 quando o aldeído de cadeia longa **19** foi submetido à reação de condensação com a 2-mercapto anilina (2-aminotiofenol), observou-se a formação de um composto cíclico, **24**, pertencente à classe dos benzotiazóis.

É sabido que reações entre benzaldeídos e 2-aminotiofenóis produzem 2-fenilbenzotiazóis quando realizadas em meio etanólico (DELIGEORGIEV, 1990). De acordo com a literatura (LANKELMA; SHARNOFF, 1931; LANKELMA; SHARNOFF, 1932) e, como ilustrado no Esquema 11, a base de Schiff formada na primeira etapa do processo (i) cicliza-se espontaneamente ao seu respectivo di-hidrobenzotiazol, o qual é rapidamente oxidado a benzotiazol.

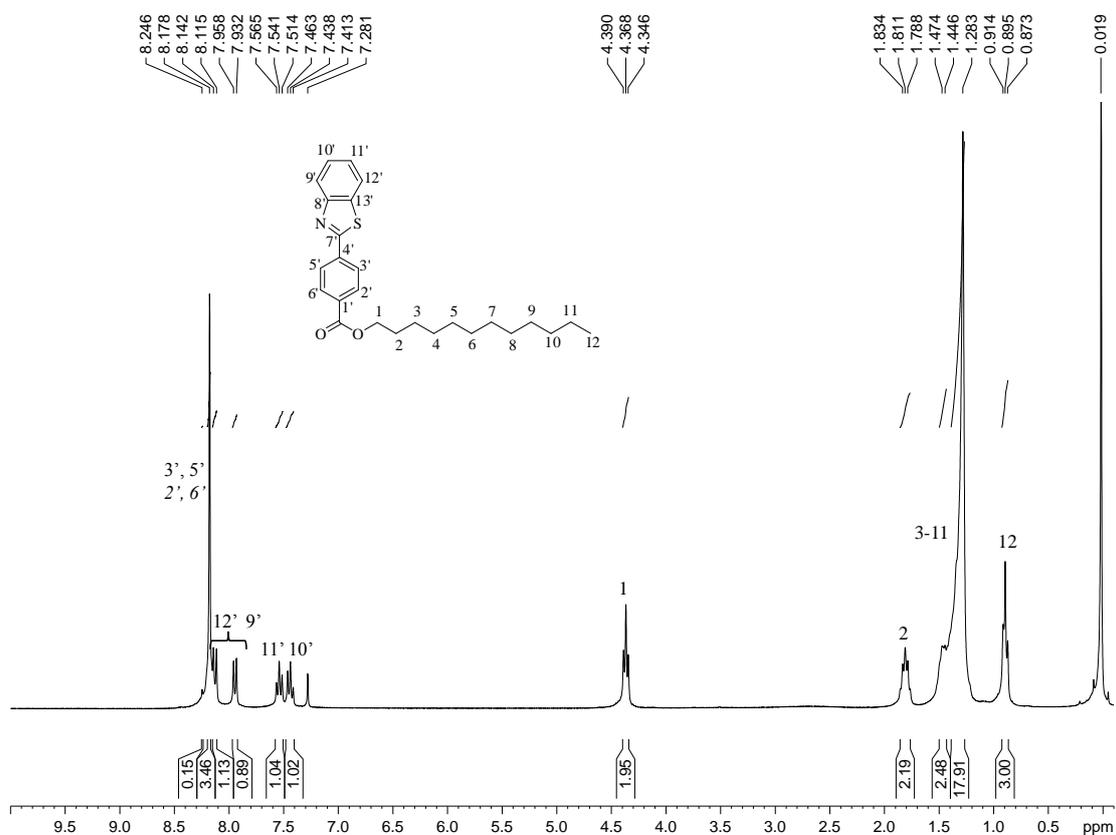
Esquema 11 - Reação de formação do benzotiazol **24**



Fonte: ADAPTADO DE (LANKELMA; SHARNOFF, 1931)

A formação do benzotiazol **24** foi observada ao se analisar o seu espectro de RMN de ^1H . Primeiramente, o sinal característico do próton imínico para os derivados desta série (um simpleto entre δ 8,50 e 8,70 ppm) não foi observado. Além disso a integração dos sinais da região aromática totaliza 8 prótons, valor condizente com a estrutura cíclica. Os demais sinais também estão de acordo com a estrutura do benzotiazol.

Figura 38 - Espectro de RMN de ^1H do composto **24** (CDCl_3 , 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ^{13}C do benzotiazol, a principal evidência de sua formação é a desblindagem do carbono 7', uma consequência da ligação deste com o átomo de enxofre na estrutura cíclica. Desta forma, o sinal correspondente ao carbono 7' é observado em δ 166,7 ppm no derivado cíclico enquanto nos espectros dos demais derivados lipídicos aparece próximo a δ 156,0 ppm.

Ainda como forma de caracterização, as bases de Schiff de cadeia alquila longa **20**, **21** e **22** foram submetidas à técnica de análise elementar e os resultados encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 - Dados da análise elementar das bases de Schiff lipofílicas **20**, **21** e **22**

Base de Schiff	% Carbono		% Hidrogênio		% Nitrogênio	
	calculado	encontrado	calculado	encontrado	calculado	encontrado
20 ($\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_3$)	74,76	74,45	7,70	7,61	3,96	3,96
21 ($\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_3$)	75,17	74,97	7,95	7,88	3,81	3,83
22 ($\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{NO}_3$)	76,25	76,09	8,61	8,53	3,42	3,41

Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Uma vez que os valores de porcentagem em massa determinados experimentalmente não diferem significativamente dos valores teóricos (erro relativo máximo de 1,16%), estes dados confirmam a identidade das amostras bem como a pureza das mesmas.

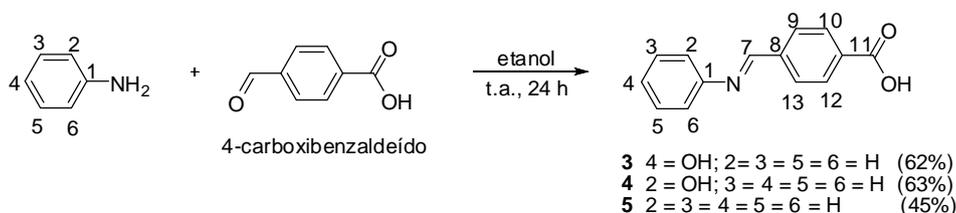
5.4 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BASES DE SCHIFF

As bases de Schiff não associadas preparadas neste trabalho foram divididas em quatro grupos, de acordo com a amina ou o aldeído de partida. Desta forma, serão descritas as iminas derivadas do 4-carboxibenzaldeído, do 1,4-diaminobenzeno e da anilina, as piridiniliminas e piridinil-hidrazonas e, por fim, as tioiminas ou tio-bases de Schiff.

5.4.1 Preparação e caracterização de bases de Schiff derivadas do 4-carboxibenzaldeído

As bases de Schiff desta classe foram preparadas utilizando-se condições reacionais comumente utilizadas na formação da ligação imínica (Esquema 12). Quantidades equimolares das aminas aromáticas (4-hidroxianilina, 2-hidroxianilina ou anilina) e de 4-carboxibenzaldeído foram adicionados em etanol à temperatura ambiente e a mistura foi mantida sob agitação magnética até que se observou a formação de precipitado no meio reacional (período máximo de 24 h). Este foi então filtrado e lavado com etanol. Após secos, os sólidos foram obtidos em coloração amarela em rendimentos moderados (45-63%).

Esquema 12 - Preparação das bases de Schiff **3-5**, derivadas do 4-carboxibenzaldeído

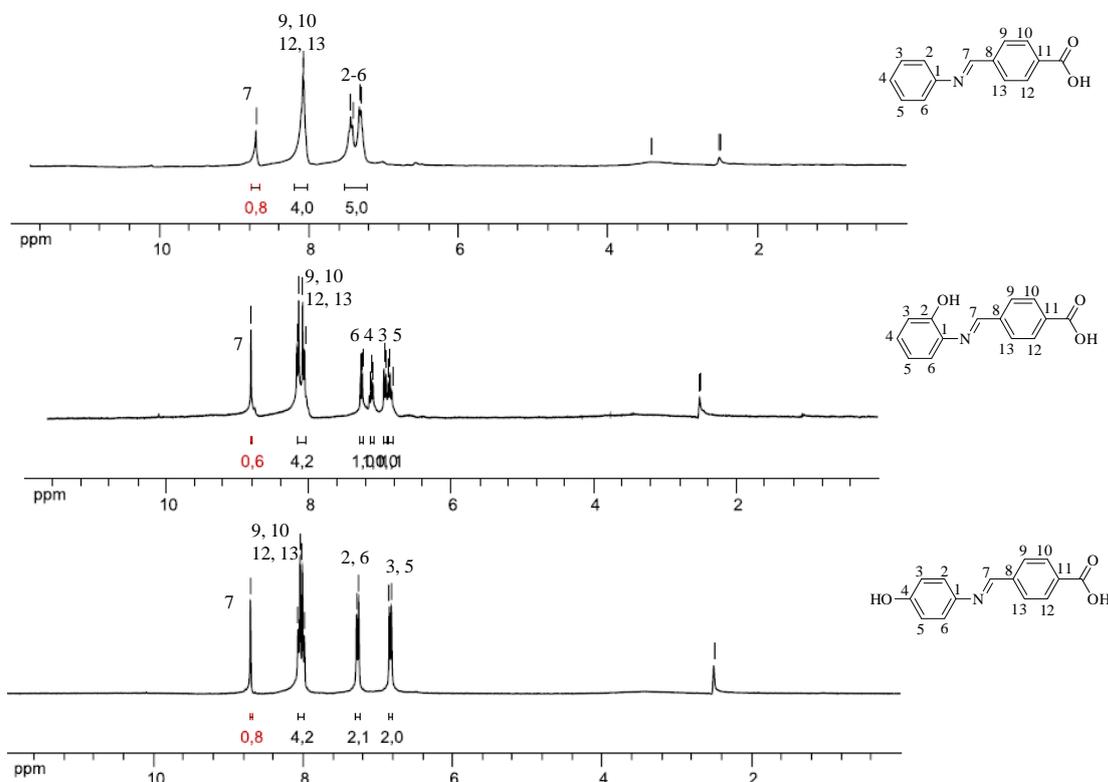


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Nos espectros de RMN de ^1H das iminas **3-5** (Figura 39) a ocorrência de um simpleto próximo a δ 8,80 ppm é o principal indicativo da ocorrência da reação de condensação. Este sinal é característico de próton imínico e, associado aos demais sinais que aparecem entre δ 6,80 e 8,50 ppm, referentes aos prótons aromáticos da estrutura, sugerem a formação dos compostos almejados.

As iminas desta classe foram também caracterizadas por faixa de fusão ($^{\circ}\text{C}$) e a imina **3** também por RMN de ^{13}C . Os dados experimentais determinados para as iminas **4** e **5** estão de acordo com os descritos na literatura (CALIL *et al.*, 2012; SILVA; CARVALHO; RAPOSO, 2013).

Figura 39 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H das iminas **3-5** (DMSO- d_6 , 300 MHz)

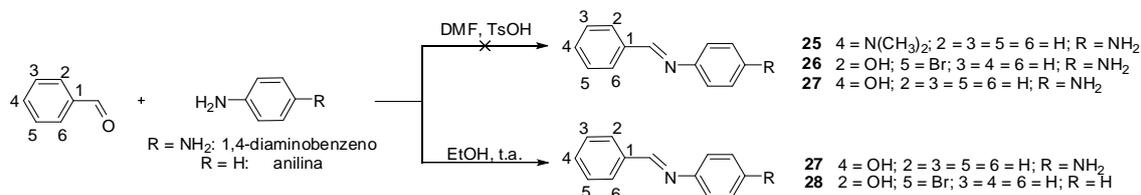


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

5.4.2 Preparação e caracterização de bases de Schiff derivadas do 1,4-diaminobenzeno e da anilina

De acordo com a literatura (YU *et al.*, 2007), iminas derivadas do 1,4-diaminobenzeno podem ser obtidas a partir da reação desta diamina com um aldeído aromático utilizando-se DMF como solvente e ácido *p*-toluenossulfônico (TsOH) como catalisador sob atmosfera de N_2 . Baseando-se nesta metodologia, algumas tentativas foram realizadas (entradas 1-3) e os resultados encontram-se descritos na Tabela 5 a seguir. Por outro lado, o uso de metodologia clássica de síntese de iminas (apesar de não descrito na literatura para a síntese desta classe de bases de Schiff), mostrou-se mais eficaz para a síntese do composto **27**, como descrito na entrada **4** da Tabela 5.

Esquema 13 - Preparação das bases de Schiff derivadas do 1,4-diaminobenzeno e da anilina



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Tabela 5 - Tentativas de preparação das iminas derivadas do 1,4-diaminobenzeno

Tentativa	Aldeído de partida	Condições reacionais	Resultados
1	4- <i>N,N'</i> -dimetilamino-benzaldeído	DMF, TsOH, t.a.	Formação imediata de precipitado. Dificuldade de purificação.
2	5-bromo-salicilaldeído	DMF, TsOH, 80°C, 48h	Formação de precipitado insolúvel nos solventes deuterados disponíveis*.
3	4-hidroxi-benzaldeído	DMF, TsOH, 110°C, 3h	Formação de precipitado após adição de H ₂ O. Verificou-se por RMN de ¹ H a formação do produto e traços de TsOH.
4	4-hidroxi-benzaldeído	EtOH, t.a.	Formação imediata de precipitado. Verificou-se por RMN de ¹ H a formação do produto almejado 27 .

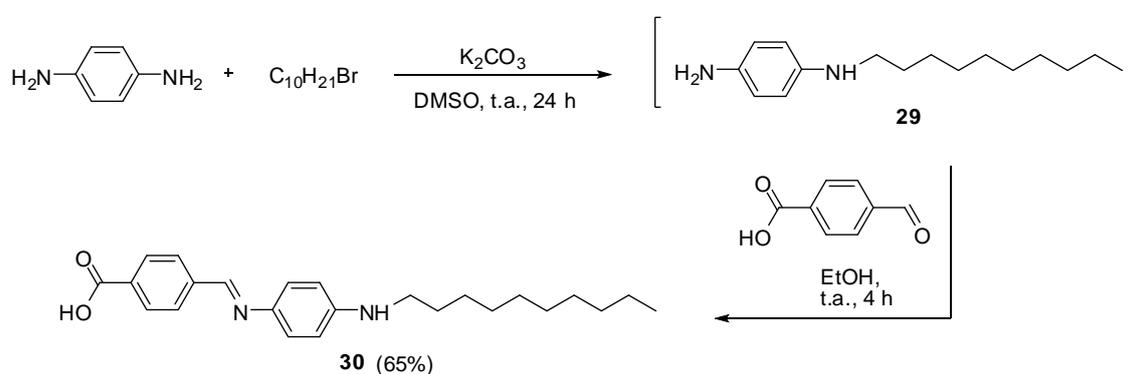
* dificuldade de caracterização por RMN de líquidos. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Somente a entrada 4 forneceu o produto almejado, composto **27**, que foi purificado por recristalização. Frente à dificuldade de purificação do produto gerado na entrada 3 e ao insucesso das demais tentativas, outros derivados do 1,4-diaminobenzeno não foram preparados.

Já a base de Schiff **28**, derivada da anilina, foi obtida a partir da reação de condensação de quantidades equimolares desta amina aromática e o 5-bromo-salicilaldeído em etanol como um sólido de cor laranja em 70% de rendimento.

Ainda visando a obtenção de iminas derivadas do 1,4-diaminobenzeno, propôs-se inicialmente a monoalquilação da diamina, seguida de formação de ligação imínica, de acordo com o Esquema 14.

Esquema 14 - Preparação da base de Schiff alquilada **30** derivada do 1,4-diaminobenzeno



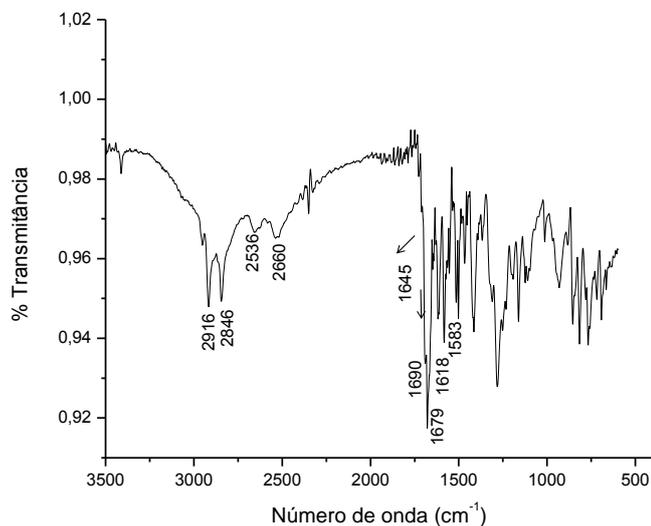
Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

De acordo com o exposto no Esquema 14, primeiramente a diamina foi tratada com K_2CO_3 e 1-bromo-decano em DMSO à t.a. por cerca de 24 h, baseando-se em uma metodologia descrita (STARK *et al.*, 2007). Após verificar por CCD a formação de uma mistura complexa de produtos, o solvente foi removido e o material resultante foi submetido à extração líquido-líquido ($CHCl_3/H_2O$ e $CHCl_3/H_2O$ saturada com NaCl), seco, e o sólido bruto (intermediário alquilado **29**) foi solubilizado em etanol. Em seguida, adicionou-se o aldeído para a formação da imina almejada. Após um curto intervalo de tempo da adição do 4-carboxibenzaldeído observou-se a formação de um precipitado verde escuro. Este, após 4 h em repouso no meio reacional, foi filtrado e seco. O rendimento do processo foi de 65%.

No espectro infravermelho da base de Schiff **30** (Figura 40) algumas evidências sugerem formação da imina alquilada: bandas em ν 2916 e 2846 cm^{-1} , características de deformação axial da ligação C-H de grupos metílicos e metilênicos, como consequência da presença da cadeia alquila longa; uma banda em ν 1618 cm^{-1} , devido ao estiramento

da ligação C=N do grupo imínico, além de uma banda em ν 1583 cm^{-1} , consequência do estiramento dos grupos C=C da porção aromática.

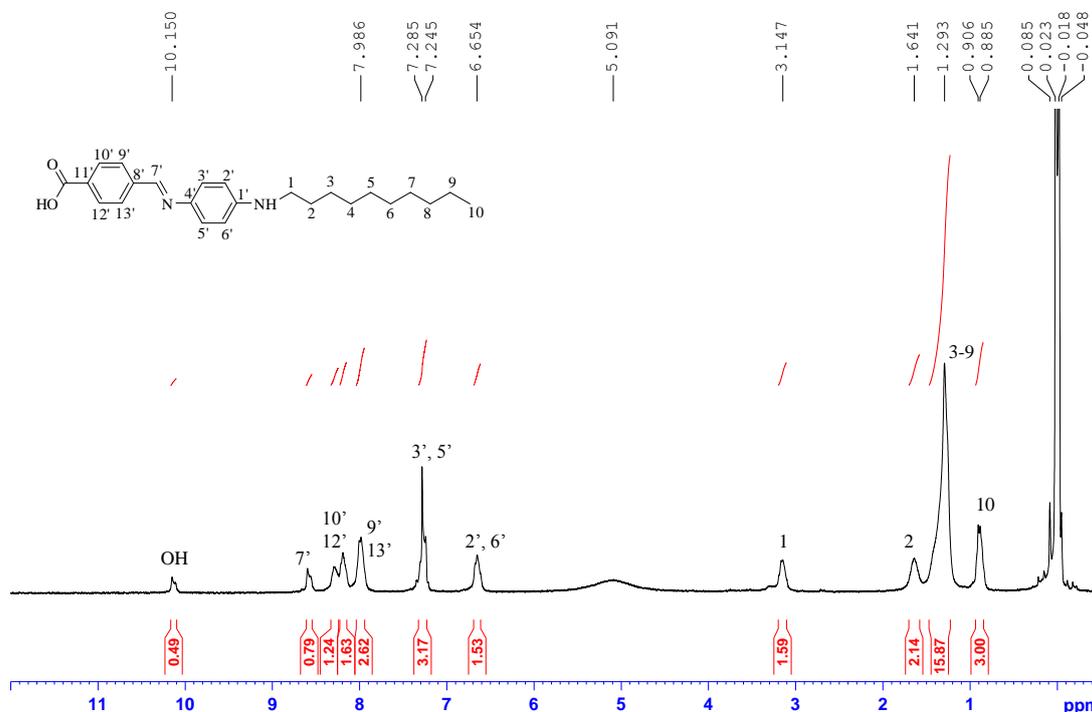
Figura 40 - Espectro infravermelho do composto **30**



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

No espectro de RMN de ^1H desta base de Schiff alquilada **30** (Figura 41), os sinais entre δ 0,88 e 3,15 ppm são referentes aos prótons da porção alifática da molécula, enquanto na região do espectro entre δ 6,65 e 8,40 ppm encontram-se os sinais dos 8 prótons da porção aromática. A ocorrência de um simpleto em δ 8,60 ppm, característico do próton imínico, é um importante indício de obtenção do composto almejado.

Figura 41 - Espectro de RMN de ^1H do composto **30** (CDCl_3 , 300 MHz)

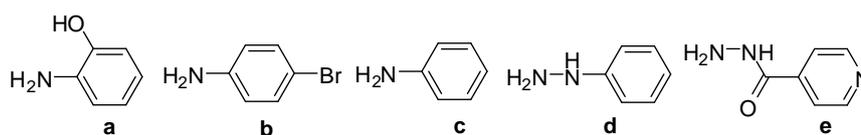
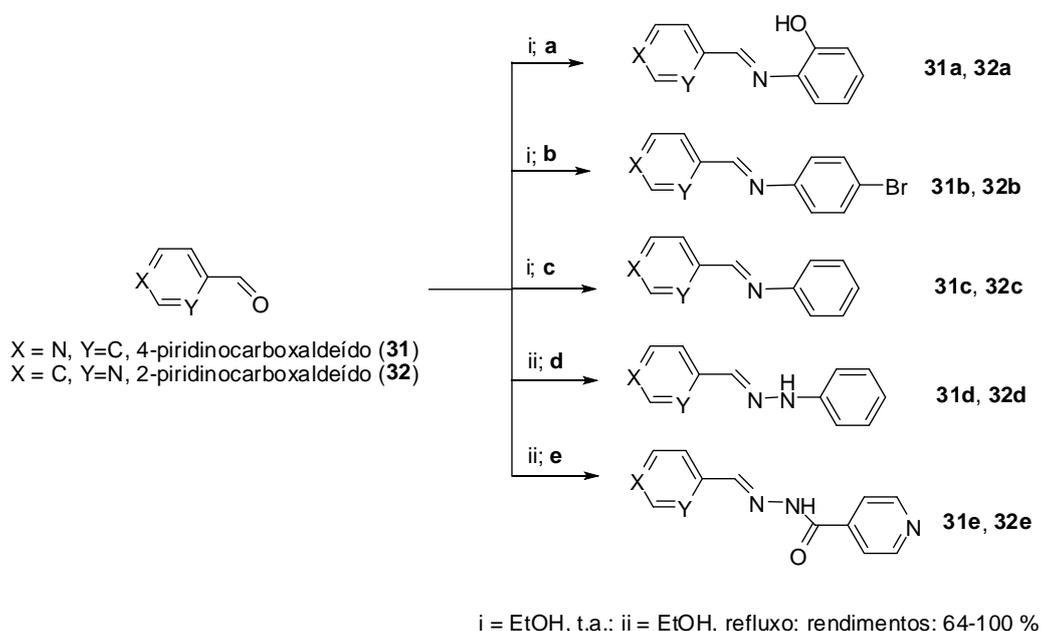


Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

5.4.3 Preparação e caracterização de piridiniliminas e piridinil-hidrazonas derivadas do 4- e do 2-piridinocarboxaldeído

Utilizando-se metodologia clássica de formação de ligação imínica, os compostos desta classe foram sintetizados em rendimentos satisfatórios e facilmente isolados do meio reacional por filtração simples (Esquema 15). Quantidades equimolares dos aldeídos 4- ou 2-piridinocarboxaldeído e de aminas aromáticas (anilinas substituídas ou anilina), de fenil-hidrazina ou de isoniazida foram adicionadas em etanol e a mistura foi mantida a t.a. (exceto quando se utilizou a fenil-hidrazina e isoniazida, que, por questão de solubilidade tiveram que ser adicionadas sob refluxo). A mistura foi mantida sob agitação magnética até que se observou a formação de um precipitado (exceto para o composto **32c**, que foi obtido como óleo), o que ocorreu em um intervalo de tempo que variou entre 10 min. e 48 h. Os rendimentos foram satisfatórios, variando de 64 a 100%.

Esquema 15 - Preparação das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas **31a-e** e **32a-e**

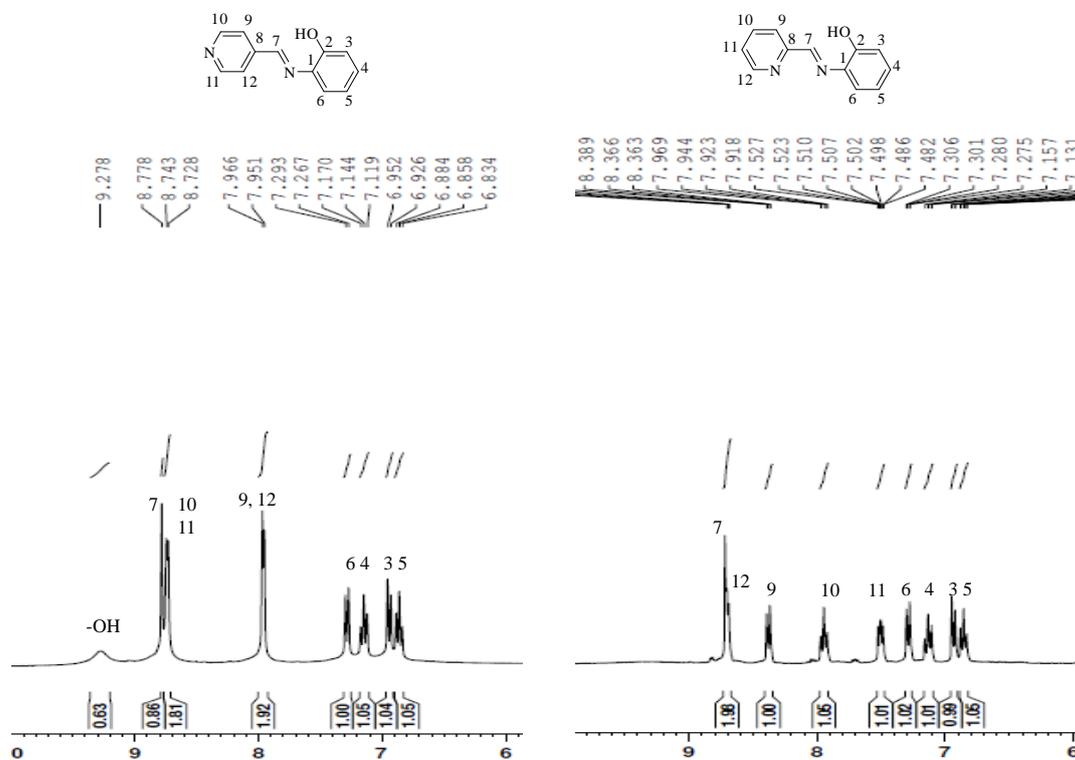


Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Em função da posição do heteroátomo nas estruturas do 2- e do 4-piridinocarboxaldeído, algumas diferenças são observadas quando comparamos os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C de dois derivados. Para uma breve discussão, selecionou-se os espectros de RMN de ^1H do par **31a/32a** (Figura 42).

A primeira observação é a de que o espectro do derivado **31a** é menos complexo que o do **32a**, uma consequência da equivalência dos pares de prótons 9, 12 e 10, 11 da porção aromática derivada do 4-carboxibenzaldeído. Desta forma, os sinais relativos a esses quatro prótons aparecem como 2 dupletos, um em δ 7,96 ppm ($J=4,5$ Hz) e o outro em δ 8,73 ppm ($J=4,5$ Hz). Já no espectro do derivado **32a** os prótons da porção aromática derivada do 2-carboxibenzaldeído não são equivalentes e, portanto, cada próton deste anel aromático tem um sinal individual no espectro. Em comum, os dois espectros apresentam os sinais referentes aos prótons H3, H4, H5 e H6 (δ 6,83-7,30 ppm) e um simpleto próximo a δ 8,70 ppm, referente ao próton imínico 7.

Figura 42 - Comparação das regiões entre δ 6,00 e 10,00 ppm dos espectros de RMN de ^1H das iminas **31a** e **32a** (DMSO- d_6 , 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Todos os derivados desta série foram devidamente caracterizados por faixa de fusão (exceto o composto **32c** que foi obtido como óleo), RMN de ^1H e de ^{13}C , espectroscopia no I.V. e os dados experimentais obtidos foram comparados com os disponíveis na literatura para cada um deles. A Tabela 6 resume os principais dados de caracterização dessas piridiniliminas e piridinil-hidrazonas.

Tabela 6 - Principais dados de caracterização* das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas

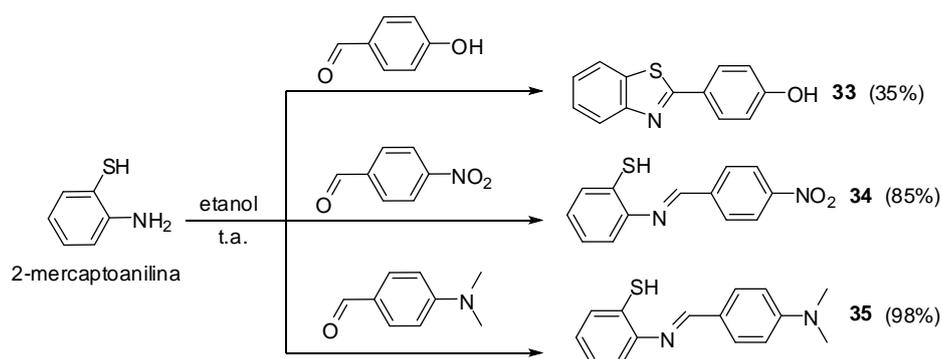
Composto	δ HC=N	δ C=N	ν C=N (imina)	F.F (°C)		Rendimento (%)
				exp.	lit.	
31a	8,78	157,4	1625	177	168 ^a	84
31b	8,69	160,5	1623	111	**	64
31c	8,68	159,6	1620	69	69 ^b	100
31d	7,81	133,8	1600	181	179 ^c	97
31e	8,45	147,2	1652	237	232 ^d	100
32a	8,72	159,3	1627	108	107 ^e	88
32b	8,58	162,0	1621	65	**	70
32c	8,73	160,7	1625	óleo	óleo ^f	65
32d	7,23-7,26	136,8	1604	187	189 ^g	100
32e	8,49	149,3	1660	165	163 ^h	100

* os experimentos de RMN foram realizados a 300 MHz para ¹H e 75 MHz para ¹³C em DMSO-*d*₆/** não encontrado na literatura/ a: (WALKER; KLETT, 1966); b: (WONG; WONG, 1999); c: (FROLOVA *et al.*, 2006); d: (GRAMMATICAKIS, 1956); e: (PURSCHE *et al.*, 2003); f: (TROISI *et al.*, 2006); g: (SEBLI *et al.*, 2010); h: (YUMNAM; RAJKUMARI, 2008). Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

5.4.4 Preparação e caracterização de tioiminas

As tioiminas **33-35** foram sintetizadas utilizando-se quantidades equimolares de 2-mercaptopanilina e dos aldeídos 4-hidroxibenzaldeído, 4-nitrobenzaldeído ou 4-*N,N'*-dimetilaminobenzaldeído, respectivamente em etanol (Esquema 16). A mistura foi mantida à t.a. e agitação constante até que se observou a formação de precipitado. O tempo reacional variou de 5 a 24 h. Os sólidos foram então filtrados, lavados com etanol e secos à temperatura ambiente.

Esquema 16 - Preparação das tioiminas **33-35**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

O composto **33** foi obtido na forma cíclica e caracteriza-se como um benzotiazol. Tanto a análise dos seus espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C quanto a comparação do ponto de fusão experimental com o descrito na literatura para esta molécula confirmam a formação do composto cíclico (LONDHE *et al.*, 2010). A mesma discussão feita anteriormente para a formação do benzotiazol **24** é válida neste caso.

Uma vez que estas moléculas são descritas na literatura, as caracterizações realizadas foram resumidas na Tabela 7 abaixo.

Tabela 7 - Principais dados de caracterização* das tioiminas **33-35**

Composto	Característica física	Rend. (%)	ν C=N	δ HC=N	δ C=N	F.F (°C) exp.
33	sólido incolor	35	1606	-	167,4	227,0-228,5
34	sólido amarelo	85	1606	6,44	149,5	120,8-121,9
35	sólido amarelo	98	1610	6,34	169,0	162,9-165,0

* os experimentos de RMN foram realizados a 300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C em CDCl_3 para os compostos **34** e **35** e em $\text{DMSO}-d_6$ para o composto **33**. Fonte:

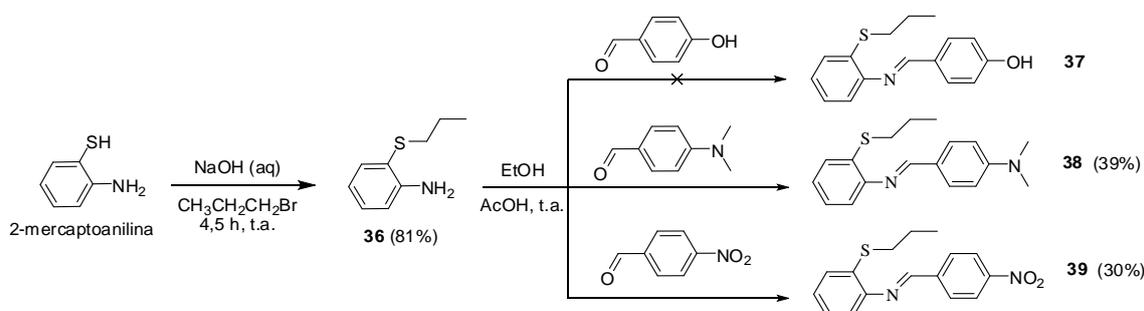
ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Ainda visando a obtenção de iminas derivadas da 2-mercapto anilina, propôs-se a prévia alquilação do seu grupo -SH para posterior reação de condensação com os

aldeídos aromáticos. Esta estratégia pode ser útil na avaliação da influência deste grupo mercapto no potencial biológico destes derivados.

Para a obtenção destas tioiminas, primeiramente preparou-se o derivado alquilado da 2-mercapto anilina (composto **36**) utilizando-se uma metodologia já descrita na literatura (UCHIDA *et al.*, 1995), fundamentada em uma reação do tipo S_N2, na qual uma solução metanólica de 2-aminotiofenol é tratada com uma solução aquosa de NaOH (para promover a remoção do próton do grupo –SH) na presença de 1-bromo-propano. Após 4,5 h à t.a. observou-se a formação de um produto mais apolar que foi purificado através de extração líquido-líquido e uma filtragem em sílica com CH₂Cl₂ como eluente. Esquema 17.

Esquema 17 - Esquema de síntese das tioiminas com grupo –SH alquilado **37-39**



Fonte: ELABORADO PELA PRÓPRIA AUTORA

Uma vez caracterizado o composto **36**, este foi então utilizado na condensação com quantidades equimolares dos aldeídos 4-hidroxibenzaldeído, 4-*N,N'*-dimetilaminobenzaldeído ou 4-nitrobenzaldeído em meio etanólico. Como o acompanhamento da reação por CCD não indicou consumo dos materiais de partida, fez-se necessário utilizar catálise de ácido acético. Após adição do catalisador a mistura foi mantida sob agitação e à t.a. até que se observou a formação de precipitado após períodos de tempo que variaram de 48 h a 5 dias para as tioiminas **38** e **39**, não ocorrendo para o composto **37**. O meio reacional deste foi então submetido a aquecimento na temperatura de refluxo, mas ainda assim a reação não ocorreu. As tioiminas alquiladas **38** e **39** foram isoladas do meio reacional por filtração simples em rendimentos de 39 e 30%, respectivamente.

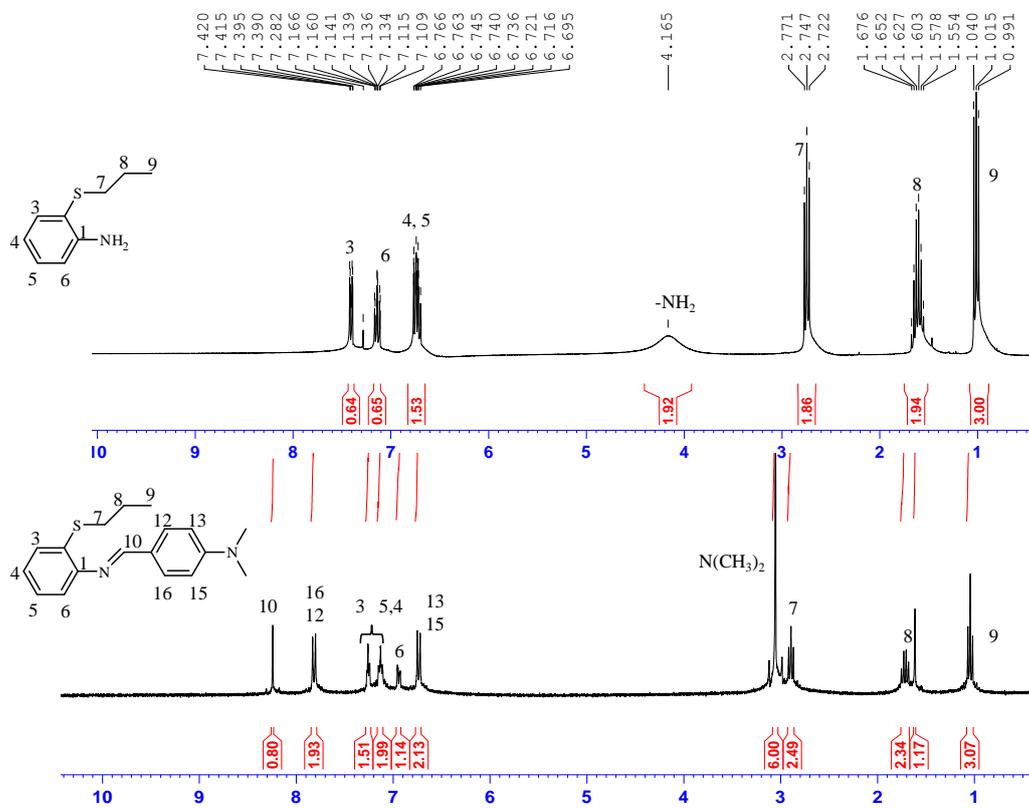
As duas tioiminas alquiladas foram devidamente caracterizadas por F.F (°C), RMN de ^1H e de ^{13}C e por espectroscopia no infravermelho. Na Figura 43 compara-se os espectros de RMN de ^1H da imina alquilada **38** e do composto **36**, seu precursor sintético. No espectro da tioimina **38**, a presença de um sinal intenso próximo a δ 3,10 ppm referente aos prótons metílicos do substituinte $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, a ausência do simpleto largo em δ 4,16 ppm atribuído ao prótons do grupo $-\text{NH}_2$ do precursor sintético bem como a presença de um simpleto próximo a δ 8,30 ppm, característico de próton imínico, são indícios de que ocorreu a formação da ligação imínica e a formação do composto almejado.

Tabela 8 - Principais dados de caracterização* das tioiminas alquiladas **38** e **39**

Composto	δ HC=N	δ C=N	F.F (°C) exp.
38	8,27	160,0	90,6-91,0
39	8,50	157,2	64,5-65,7

*os experimentos de RMN foram realizados a 300 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C em CDCl_3 . Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Figura 43 - Comparação dos espectros de RMN de ^1H da tioimina **38** e do precursor **36** (CDCl_3 , 300 MHz)



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

Os compostos aqui descritos como "conjugados esteroides/bases de Schiff", "derivados de esteroides" e "bases de Schiff" foram avaliados como potenciais antiparasitários, antibacterianos e antioxidantes. Tais propriedades biológicas foram selecionadas por já serem atividades descritas para as duas classes de moléculas exploradas neste trabalho- derivados esteroidais e bases de Schiff. Realizaram-se ainda testes de avaliação da atividade fotoprotetora de alguns dos compostos obtidos.

A seguir serão apresentadas breves discussões a respeito de cada uma das atividades biológicas avaliadas, a parte experimental de cada teste, bem como os resultados e a relação estrutura-atividade para cada grupo de moléculas avaliadas.

6.1 ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA

Doenças parasitárias caracterizam doenças infecciosas causadas ou transmitidas por parasitos (CDC, 2014). Neste trabalho foram realizados testes biológicos visando atividade leishmanicida e antimalárica de novos compostos sintéticos. *Leishmanioses* e *malária* são doenças tropicais, causadas por protozoários, de transmissão vetorial e responsáveis por um grande impacto na saúde pública mundial, com consequências sociais e econômicas de relevância.

6.1.1 *Leishmanioses*

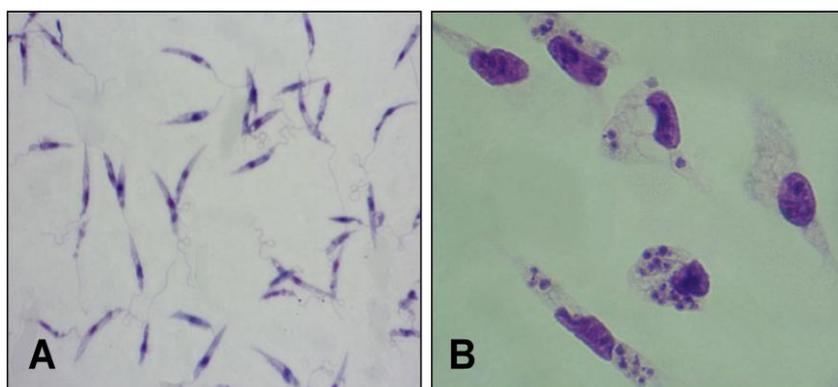
O termo leishmanioses compreende um grupo de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania* que são transmitidas aos seres humanos (e também a outras espécies de mamíferos) pela picada de insetos vetores, fêmeas, conhecidos genericamente como flebotomíneos (WHO, 2014). Existem cerca de 30 espécies de *Leishmania* que podem infectar o homem e, de modo geral, estas enfermidades se dividem em leishmaniose cutânea (tegumentar americana) e leishmaniose visceral (ou calazar) (FIOCRUZ, 2013), a saber:

- A *leishmaniose cutânea* causa lesões na pele, mais comumente ulcerações e, em casos mais graves, atacam as mucosas do nariz e da boca, podendo destruir parcial ou totalmente estas mucosas (leishmaniose mucosa);
- A *leishmaniose visceral* afeta as vísceras (ou órgãos internos), sobretudo fígado, baço, gânglios linfáticos e medula óssea. É caracterizada por febre alta, perda de

peso substancial, inchamento do baço e do fígado e anemia, podendo levar à morte quando não tratada. Trata-se da segunda doença parasitária que mais faz vítimas no mundo, sendo ultrapassada apenas pela malária.

Durante o ciclo biológico, independente da espécie envolvida, a *Leishmania* se reproduz por divisão binária, adquirindo nos hospedeiros duas formas evolutivas: amastigotas em hospedeiros vertebrados e promastigotas nos insetos vetores. As formas amastigotas são ovais, não possuem flagelo externalizado e habitam o vacúolo parasitóforo (fagolisossomo) no interior de macrófagos que fagocitam os parasitos, enquanto as formas promastigotas são formas longas e flageladas encontradas no trato digestivo do inseto vetor (Figura 44).

Figura 44 - (A) Promastigotas de *Leishmania braziliensis*. (B) Amastigotas de *Leishmania major* no interior de macrófagos. Aumento de 1000x



Fonte: REPRODUZIDA DE (MACHADO, 2013), COM AUTORIZAÇÃO DA AUTORA

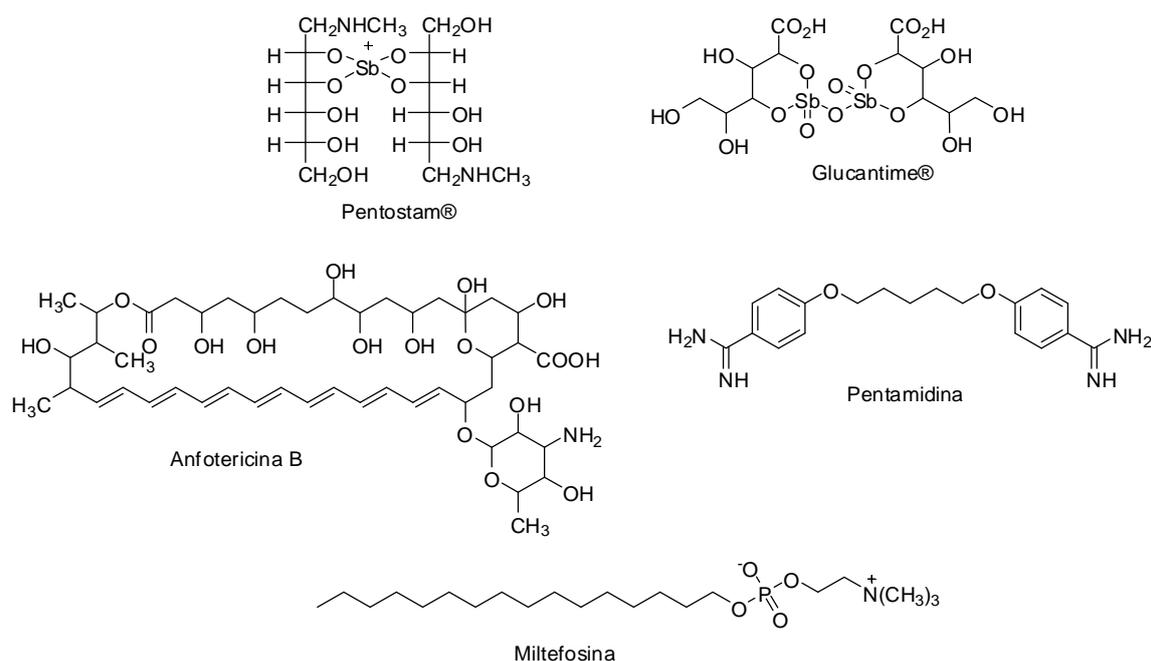
Ao picar o animal ou o homem infectado, o inseto suga, juntamente com o sangue, macrófagos parasitados ou amastigotas (livres no sangue ou tecidos), onde dentro do intestino do vetor se transformam em formas promastigotas, que irão se multiplicar e migrar para o aparelho sugador/picador do inseto vetor. Ao picar o homem ou outro animal o vetor inocula as formas promastigotas, que irão ser fagocitadas principalmente pelos macrófagos, onde se diferenciarão em amastigotas. Os amastigotas irão se multiplicar e após algum tempo, a célula hospedeira se rompe liberando esses amastigotas, que infectam outras células. O ciclo se completa quando fagócitos infectados são ingeridos por outro flebotomíneo durante seu processo de alimentação (CORRALES, 2011; MACHADO, 2013).

O arsenal terapêutico contra as leishmanioses é ainda muito restrito (RATH *et al.*, 2003). A escolha do tratamento adequado depende da espécie do parasito, da sensibilidade aos fármacos, do tipo e estágio da doença e do estado imunológico do paciente. O tratamento clássico para todas as formas de leishmanioses é realizado a base de antimoniais, que são drogas de primeira escolha utilizadas no tratamento das leishmanioses há mais de 50 anos. Atualmente os antimoniais pentavalentes estão disponíveis em duas diferentes formulações, Glucantime® e Pentostam®, sendo que somente o primeiro é comercializado no Brasil. A terapia com antimoniais pentavalentes é longa, possui alto custo, a via de administração é intravenosa ou intramuscular e está relacionada a vários efeitos colaterais. Além disso, não deve ser usada por pacientes com insuficiência renal e por mulheres grávidas e mostra-se ineficaz em pacientes co-infectados por HIV-*Leishmania* (MACHADO, 2013).

Têm-se como drogas de segunda escolha para o tratamento das leishmanioses a anfotericina B e a pentamidina, ambas com via de administração intravenosa e responsáveis por diversos efeitos colaterais. Apesar da anfotericina B apresentar uma excelente atividade leishmanicida com pequeno número de casos de recorrência e melhor ação do que os antimoniais, as dificuldades encontradas no uso fora do ambiente hospitalar e o seu alto potencial nefrotóxico inibe o seu uso como droga de primeira escolha (AMATO *et al.*, 2008). A pentamidina é uma diamina aromática indicada para os casos não responsivos aos antimoniais pentavalentes. Já a miltefosina constitui a primeira e, até o momento, única droga oralmente administrada para o tratamento das leishmanioses. As estruturas químicas das drogas mencionadas encontram-se na Figura 45.

Desta forma, diante do arsenal restrito para a quimioterapia das leishmanioses, a busca por novos compostos com ação leishmanicida mostra-se imprescindível. Neste trabalho foram usadas várias espécies de *Leishmania*: *L. major*, associada a manifestações cutânea e encontrada exclusivamente em países do Velho Mundo; *L. amazonensis* e *L. brazilienses* associadas a manifestações cutânea e, no caso de *L. braziliensis*, também à forma cutâneo-mucosa; sendo ambas as espécies encontradas nas Américas (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012) e *L. infantum*, associada à forma mais grave (visceral), sendo esta espécie encontrada em países do Velho e Novo Mundos.

Figura 45 - Estruturas químicas de drogas empregadas no tratamento das Leishmanioses



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.1.1.1 Parte experimental

Os ensaios biológicos para determinação do potencial leishmanicida dos compostos sintéticos descritos neste trabalho foram realizados no Núcleo de Pesquisas em Parasitologia (NUPEP) pertencente ao Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora - MG, sob orientação da Profa. Dra. Elaine Soares Coimbra.

6.1.1.1.1 Ensaios anti-promastigota

O potencial leishmanicida dos compostos foram estudados em até quatro espécies promastigotas de *Leishmania*: *L. amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8), *L. braziliensis* (MHOM/BR/M2903), *L. infantum* (MHOM/BR/PP75) e *L. major* (MRHO/SU/59/P) de acordo com o teste colorimétrico do sal MTT, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazólio. No referido teste, o sal tetrazólio de cor amarela e solúvel em água é convertido em formazan, insolúvel e de cor lilás pela atividade das desidrogenases mitocondriais das células vivas, se tornando

posteriormente solúvel com a adição de isopropanol (MOSMANN, 1983). Em resumo: as formas promastigotas de *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. infantum*, *L. major* obtidas a partir da fase logarítmica de crescimento foram contadas em câmara de Neubauer e lançadas à razão de 2×10^6 células/mL (*L. amazonensis*) e 3×10^6 células/mL (*L. braziliensis*, *L. infantum*, *L. major*) em placa de 96 poços e incubadas à 26 °C. Os compostos foram adicionados em diferentes concentrações, após diluições em série (100,00, 50,00, 25,00, 12,50, 6,25, 3,12 e 1,56 µM) em água ou DMSO, sendo que a maior concentração utilizada de DMSO foi de 0,5% (v/v), que não é citotóxica para os parasitos. Em alguns poços não houve adição de compostos, os quais foram utilizados como controle. Os testes foram realizados em três experimentos independentes, e cada concentração foi testada em duplicata. A concentração máxima utilizada foi de 100 µM. Após 72 horas de incubação em estufa a 26°C, adicionou-se 10 µL de MTT à 5mg/mL em cada poço e a placa permaneceu incubada por mais quatro horas sob as mesmas condições. A reação foi interrompida pela adição de 100 µL de isopropanol/ácido clorídrico (solução de isopropanol/HCl a 0,4 %) e o material dissolvido foi lido em espectrofotômetro à 570 nm (Multiskan EX- Thermo Electron Corporation, Vantaa, Finlândia). A partir do teste de viabilidade celular foi determinada a concentração inibitória (CI₅₀) para cada composto que representa a concentração molecular que inibe 50 % do crescimento parasitário, o qual foi calculado por interpolação gráfica utilizando o programa estatístico Grafit 5 (Erithacus Software Ltd., Horley, U.K).

6.1.1.1.2 Citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos

Os ensaios para a análise da toxicidade dos compostos sintetizados foram realizados utilizando-se macrófagos peritoneais murinos (estas células foram obtidas e cultivadas como descrito por Machado 2013). Resumidamente, os macrófagos foram depositados em placas de cultura de 96 poços a 2×10^6 células/mL em meio RPMI-1640 suplementado com 10 % SBF. Os macrófagos aderidos foram incubados com diferentes concentrações dos compostos sintetizados (150,00, 75,00, 37,50, 18,75, 9,37 e 4,69 µM), durante 72 h a 33 °C. A viabilidade dos macrófagos foi determinada através do ensaio do MTT (como descrito anteriormente) e confirmada pela comparação da morfologia dos macrófagos tratados com o grupo controle, via microscópio óptico invertido. Cada concentração dos compostos foi avaliada em duplicata e controles com DMSO e não contendo drogas também foram utilizados. Os valores de CI₅₀ foram

obtidos utilizando o programa Grafit 5. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (#016/2012-CEEA).

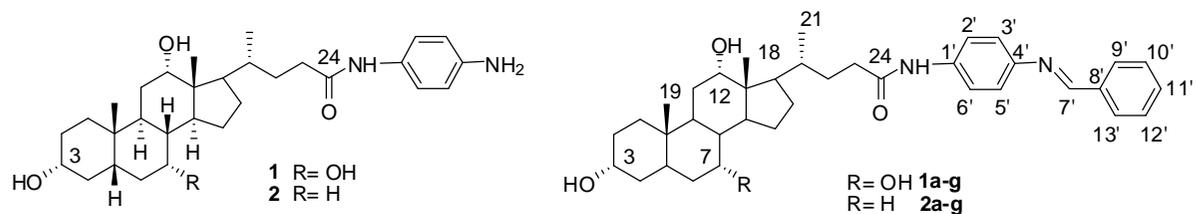
6.1.1.2 Resultados e discussão

6.1.1.2.1 Atividade leishmanicida em promastigotas de quatro espécies de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos **1a-g** e **2a-g**

Os testes referentes aos compostos **1a-g** e **2a-g** foram realizados em formas promastigotas de quatro espécies de *Leishmania*. Conforme descrito na Tabela 9, foram testados os 14 conjugados esteroides/bases de Schiff, suas amidas precursoras e também os ácidos cólico e desoxicólico. Os resultados mostraram que tanto a amida biliar **1** quanto os seus conjugados **1a-g** e o conjugado **2g** não tiveram atividade leishmanicida significativa em nenhuma das espécies de *Leishmania* testadas até a máxima concentração avaliada ($CI_{50} > 100,00 \mu M$). Entretanto, a amida **2** e seus conjugados **2a-f** apresentaram atividade leishmanicida com CI_{50} variando de $15,83 \mu M$ a $59,23 \mu M$. Vale ainda ressaltar que estes compostos tiveram atividade nas formas promastigotas de todas as quatro espécies testadas.

Além disso, alguns conjugados derivados da amida biliar **2**, apresentaram atividade leishmanicida em formas promastigotas das espécies *L. braziliensis* e *L. major* superior a apresentada pela Miltefosina, como verificado pelo valor do CI_{50} . Das quatro espécies testadas, os conjugados **2a-f** foram mais ativos em *L. braziliensis* e menos ativos em *L. infantum*. No que diz respeito ao efeito dos compostos sintetizados sobre a citotoxicidade dos macrófagos, apenas 4 (**1e**, **2a**, **2c** e **2e**) dos 14 conjugados apresentaram toxicidade em macrófagos peritoneais murinos em concentrações inferiores à concentração máxima testada ($150,00 \mu M$).

Tabela 9 - Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos conjugados **1a-g** e **2a-g** e amidas precursoras **1** e **2**



(continua)

Compostos	Estrutura	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b				Macrófagos
		<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. infantum</i>	<i>L. major</i>	CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
Ác. cólico	-	>100	>100	>100	>100	>150
1	-	>100	>100	>100	>100	>150
1a	R=OH, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	>100	>100	>100	>100	>150
1b	R=OH, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	>100	>100	>100	>100	>150
1c	R=OH, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'= 13'=H	>100	>100	>100	>100	>150
1d	R=OH, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	>100	>100	>100	>100	>150
1e	R=OH, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'= 13'=H	>100	>100	>100	>100	76,80±1,65
1f	R=OH, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	>100	>100	>100	>100	>150
1g	R=OH, 9'= NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	>100	>100	>100	>100	>150
Ác. desoxic.	-	>100	>100	>100	>100	>150

Tabela 9 - Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos conjugados 1a-g e 2a-g e amidas precursoras 1 e 2

(conclusão)

Compostos	Estrutura					Macrófagos
		<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. infantum</i>	<i>L. major</i>	CC ₅₀ (µM) ^c (95% IC) ^b
2	-	32,81±0,76	19,33±1,36	31,67±0,61	29,33±3,07	>150
2a	R=H, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	29,06±0,53	15,83±0,29	31,80±0,46	28,88±2,33	53,13±3,56
2b	R=H, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	31,33±1,55	17,58±0,99	39,25±0,13	16,69±0,47	>150
2c	R=H, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'=13'=H	>100	56,10±8,98	56,17±0,15	52,33±0,14	89,85±7,97
2d	R=H, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	53,74±6,02	23,73±0,97	59,23±0,69	19,62±0,43	>150
2e	R=H, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'=13'=H	34,99±1,53	25,18±1,30	47,70±0,04	27,10±2,9	54,25±4,36
2f	R=H, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	>100	28,54±1,33	>100	22,81±1,18	>150
2g	R=H, 9'=NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	>100	>100	>100	>100	>150
Miltefosina^d	-	21,00±2,92	28,07±0,47	17,27 ± 1,10	20,00±0,52	131,99 ± 3,95
Anfotericina^d	-	0,15±0,009	0,4±0,06	0,08 ± 0,004	0,31±0,07	85,81 ± 30,49

^a CI₅₀ concentração que inibe 50% do crescimento parasitário / ^b IC é o intervalo de confiança/ ^c CC₅₀ valores (50% da concentração citotóxica) em macrófagos ± desvio padrão das médias/ ^d Miltefosina e Anfotericina foram utilizadas como drogas de controle. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Baseando-se na estrutura química das moléculas testadas, estes resultados nos permitem inferir que a presença da hidroxila na posição C-7 do esqueleto esteroidal (nos derivados do ácido cólico **1**, **1a-g**) contribui de forma negativa para a atividade leishmanicida desta classe de moléculas, uma vez que apenas derivados do ácido desoxicólico (o qual não apresenta o grupo -OH na posição C-7 da porção esteroidal) mostraram-se ativos. Quanto à influência dos grupos substituintes do anel aromático proveniente do aldeído, os resultados são bastante distintos para nos permitir uma análise aprofundada. No entanto, o composto mais ativo em três das quatro espécies testadas, **2a**, possui um grupo carboxi como substituinte, enquanto o composto menos ativo (dos derivados do ácido desoxicólico) nas quatro espécies testadas, conjugado **2c**, apresenta duas substituições no anel aromático terminal, sendo uma delas um grupo -OH e a outra um halogênio -Br.

6.1.1.2.2 Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos **7**, **8**, **9-12**, **13-16**

Conforme descrito na Tabela 10, dentre os derivados do colesterol (**9-12**), apenas o conjugado **10** apresentou atividade leishmanicida nas formas promastigotas de *L. braziliensis* e *L. major*, valendo ressaltar que o mesmo apresentou um valor de CI_{50} de 7,00 μM em *L. braziliensis*, que quando comparado ao da Miltefosina (CI_{50} de 28,07 μM em *L. braziliensis*), mostra-se cerca de quatro vezes mais potente. Além disto, na espécie *L. major*, o referido conjugado apresentou atividade leishmanicida comparável a esta droga de referência. Ressalta-se ainda que o composto **10** não apresentou toxicidade em macrófagos peritoneais murinos na concentração máxima testada (150,00 μM). Uma vez que o seu precursor, o aldeído **9**, não mostrou-se ativo, a conjugação foi eficiente na potencialização da atividade biológica. Além disso, a presença da hidroxila como substituinte no anel aromático terminal parece influenciar positivamente no perfil biológico, uma vez que os conjugados **11** (derivado da anilina) e **12** (derivado da fenilhidrazina) não são ativos.

Tabela 10 - Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 7, 8, 9-12, 13-16

(continua)

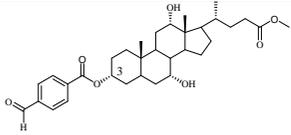
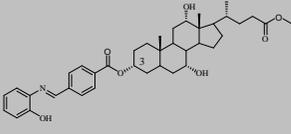
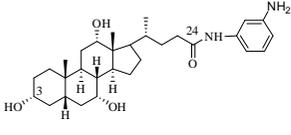
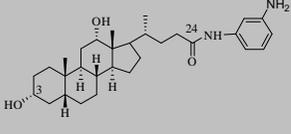
Compostos	Estruturas químicas	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b			Macrófagos CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
		<i>L.amazonensis</i>	<i>L.braziliensis</i>	<i>L.major</i>	
7		58,69 ± 4,40	35,18 ± 3,43	35,68 ± 0,32	> 150,00
8		59,75 ± 3,49	19,86 ± 1,71	32,83 ± 0,50	> 150,00
13		>100,00	>100,00	>100,00	>150,00
14		33,31 ± 0,24	24,96 ± 2,11	21,88 ± 4,08	80,81 ± 0,32

Tabela 10 - Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 7, 8, 9-12, 13-16

(continuação)

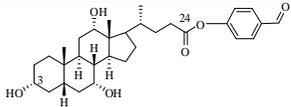
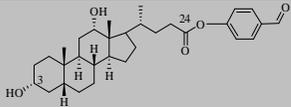
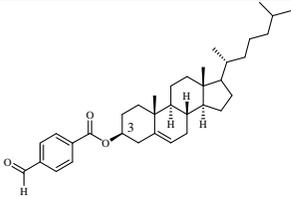
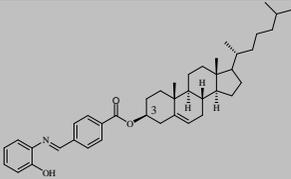
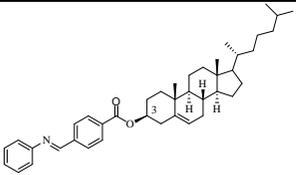
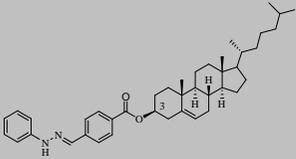
Compostos	Estruturas químicas	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b			Macrófagos CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
		<i>L.amazonensis</i>	<i>L.braziliensis</i>	<i>L.major</i>	
15		>100,00	>100,00	>100,00	>150,00
16		54,40 ± 2,17	44,16 ± 1,09	44,49 ± 0,52	> 150,00
9		> 100,00	> 100,00	> 100,00	> 150,00
10		> 100,00	7,00 ± 0,61	23,89 ± 2,89	> 150,00

Tabela 10 - Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 7, 8, 9-12, 13-16

(conclusão)

Compostos	Estruturas químicas	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b			Macrófagos CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
		<i>L.amazonensis</i>	<i>L.braziliensis</i>	<i>L.major</i>	
11		> 100,00	> 100,00	> 100,00	> 150,00
12		> 100,00	> 100,00	> 100,00	> 150,00
Miltefosina ^d	-	21,00±2,92	28,07±0,47	20,00±0,52	131,99 ± 3,95
Anfotericina ^d	-	0,15±0,009	0,4±0,06	0,31±0,07	85,81 ± 30,49

^a CI₅₀ concentração que inibe 50% do crescimento parasitário / ^b IC é o intervalo de confiança/ ^c CC₅₀ valores (50% da concentração citotóxica) em macrófagos ± desvio padrão das médias/ ^d Miltefosina e Anfotericina foram utilizadas como drogas de controle. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

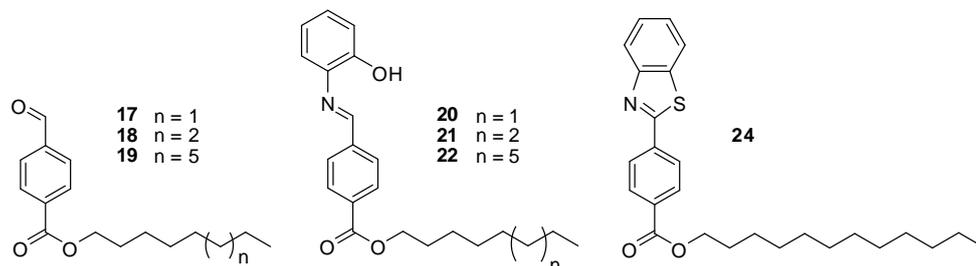
Em relação ao potencial leishmanicida do conjugado **8** e de seu precursor, o aldeído **7**, podemos observar que ambos apresentaram atividade leishmanicida discreta, uma vez que os valores de CI_{50} variaram de 19,86 a 59,75 μM . Este par de moléculas foi mais ativo em *L. braziliensis* e menos ativo em *L. amazonensis*. Com exceção desta primeira espécie, a conjugação pode ser vista como um recurso favorável à potencialização da atividade biológica, uma vez que os valores de CI_{50} para o **8** sofreram uma sutil redução em comparação aos apresentados pelo **7** quando estes compostos foram avaliados nas demais espécies de *Leishmania*. Vale destacar ainda que nenhuma dessas duas moléculas sintéticas apresentou toxicidade em macrófagos peritoneais murinos na concentração máxima testada (150,00 μM).

As amidas e os aldeídos biliares (compostos **13-16**) também foram analisados em três espécies de *Leishmania*. Observou-se que, assim como ocorrido com os derivados **1a-g** e **2a-g**, tanto a amida quanto o aldeído biliar derivados do ácido cólico (**15** e **13**) não apresentaram atividade leishmanicida até a máxima concentração avaliada ($CI_{50} > 100,00 \mu\text{M}$). Por outro lado, tanto a amida quanto o ácido biliar derivados do ácido desoxicólico mostraram-se ativos frente às três espécies testadas. Destes dois compostos sintetizados, a amida biliar **14** apresentou um maior potencial leishmanicida quando comparada ao aldeído **16** em todas as espécies de *Leishmania*, por outro lado, esta mesma amida mostrou-se tóxica em macrófagos peritoneais murinos em concentrações inferiores à concentração máxima testada (150,00 μM).

6.1.1.2.3 Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das bases de Schiff lipofílicas (**20-24**) e seus aldeídos precursores (**17-19**)

Conforme descrito na Tabela 11, os resultados dos testes que avaliaram o potencial leishmanicida das bases de Schiff lipofílicas e de seus aldeídos precursores mostraram que a maioria dos compostos não apresentou atividade leishmanicida até a máxima concentração testada (100 μM) ou foi pouco ativo (CI_{50} variando de 38,63 μM a 56,21 μM) nas formas promastigotas das três espécies de *Leishmania* testadas. Por outro lado, nenhum destes compostos sintéticos mostrou-se tóxico em macrófagos peritoneais murinos até a concentração máxima testada (150,00 μM).

Tabela 11 - Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos **17-24**



Compostos	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b			Macrófagos CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. major</i>	
17	>100	>100	>100	>150
18	>100	>100	>100	>150
19	>100	>100	>100	>150
20	>100	>100	>100	>150
21	>100	38,63±0,87	55,19±0,67	>150
22	>100	56,21±1,48	>100	>150
24	>100	>100	>100	>150
Miltefosina^d	21,00±2,92	28,07±0,47	20,00±0,52	131,99 ± 3,95
Anfotericina^d	0,15±0,009	0,4±0,06	0,31±0,07	85,81 ± 30,49

^a CI₅₀ concentração que inibe 50% do crescimento parasitário / ^b IC é o intervalo de confiança / ^c CC₅₀ valores (50% da concentração citotóxica) em macrófagos ± desvio padrão das médias / ^d Miltefosina e Anfotericina foram utilizadas como drogas de controle. Fonte: ELABORADA

PELA PRÓPRIA AUTORA

6.1.1.2.4 Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas (**31a-e**, **32a-e**)

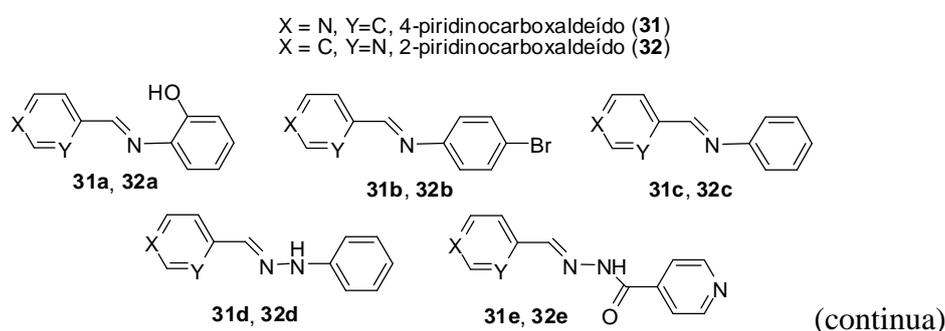
As bases de Schiff pertencentes ao grupo aqui denominado "piridiniliminas e piridinil-hidrazonas" foram avaliadas em formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. major*. Os resultados encontram-se na Tabela 12.

Dentre as bases de Schiff derivadas do 4-piridinocarboxaldeído (**31a-e**), a piridinilimina **31a** apresentou atividade em ambas as espécies de *Leishmania* testadas

(CI_{50} de 13,64 e 5,32 μM para *L. amazonensis* e *L. major*, respectivamente) e a piridinil-hidrazona **31d** apresentou atividade apenas em *L. major* (CI_{50} de 11,13 μM). Estes resultados sugerem que a presença das porções anilina hidroxilada (**31a**) e fenil-hidrazina (**31d**) são importantes para a atividade leishmanicida desses compostos. Já dentre as bases de Schiff derivadas do 2-piridinocarboxaldeído (**32a-e**), somente a piridinilimina **32a** mostrou-se ativa. No entanto, esta imina mostrou-se consideravelmente mais ativa (CI_{50} de 3,38 e 10,00 μM para *L. amazonensis* e *L. major*, respectivamente) do que a Miltefosina (CI_{50} de 21,39 e 20,00 μM para *L. amazonensis* e *L. major*, respectivamente), usada como droga de referência).

No que diz respeito aos efeitos sobre a citotoxicidade dos macrófagos, a maioria dos compostos não apresentou toxicidade em macrófagos peritoneais murinos na concentração máxima testada (150,00 μM), exceto o composto **32a** (CC_{50} de 54,35 μM).

Tabela 12 - Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos **31a-e** e **32a-e**



Compostos	CI_{50} (μM) ^a (95% IC) ^b		Macrófagos CC_{50} (μM) ^c (95% IC) ^b
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. major</i>	
31a	13,64 ± 0,30	5,32 ± 0,51	>150,00
31b	>100	>100	>150,00
31c	>100	>100	>150,00
31d	>100	11,13±0,30	>150,00
31e	>100	>100	>150,00
32a	3,38 ± 0,10	10,00 ± 1,37	54,35±0,005
32b	>100	>100	>150,00

Tabela 12 - Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos dos compostos 31a-e e 32a-e

(conclusão)

Compostos	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b		Macrófagos CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. major</i>	
32c	>100	>100	>150,00
32d	>100	>100	>150,00
32e	>100	>100	>150,00
Miltefosina ^d	21,39 ± 1,18	20,00 ± 0,52	131,99 ± 3,95

^a CI₅₀ concentração que inibe 50% do crescimento parasitário / ^b IC é o intervalo de confiança/ ^c

CC₅₀ valores (50% da concentração citotóxica) em macrófagos ± desvio padrão das médias/ ^d

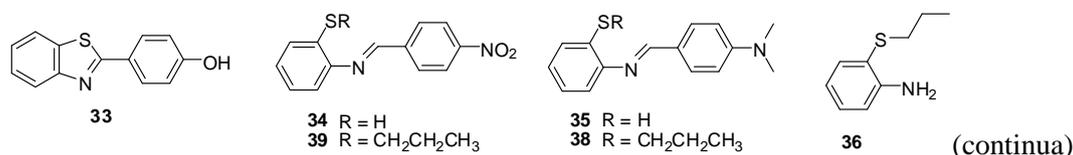
Miltefosina e Anfotericina foram utilizadas como drogas de controle. Fonte: ELABORADA

PELA PRÓPRIA AUTORA

6.1.1.2.5 Atividade leishmanicida em promastigotas de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das tioiminas 33-39 e do precursor 36

Conforme descrito na Tabela 13, os resultados dos testes que avaliaram o potencial leishmanicida das tioiminas mostraram que tais compostos não foram ativos nas formas promastigotas das três espécies de *Leishmania* testadas. Por outro lado, nenhum destes compostos sintéticos mostrou-se tóxico contra macrófagos peritoneais murinos até a concentração máxima testada (150,00 μM).

Tabela 13 - Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das tioiminas 33-39 e do precursor 36



Compostos	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b			Macrófagos CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. major</i>	
33	>100	>100	>100	>150

Tabela 13 - Atividade leishmanicida em promastigotas de três espécies de *Leishmania* e citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos das tioiminas **33-39** e do precursor **36**

(conclusão)

Compostos	CI ₅₀ (μM) ^a (95% IC) ^b			Macrófagos
	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. braziliensis</i>	<i>L. major</i>	CC ₅₀ (μM) ^c (95% IC) ^b
34	>100	>100	>100	>150
35	>100	>100	>100	>150
36	>100	>100	>100	>150
38	>100	>100	>100	>150
39	>100	>100	>100	>150
Miltefosina ^d	21,00±2,92	28,07±0,47	20,00±0,52	131,99 ± 3,95
Anfotericina ^d	0,15±0,009	0,4±0,06	0,31±0,07	85,81 ± 30,49

^a CI₅₀ concentração que inibe 50% do crescimento parasitário / ^b IC é o intervalo de confiança / ^c

CC₅₀ valores (50% da concentração citotóxica) em macrófagos ± desvio padrão das médias / ^d

Miltefosina e Anfotericina foram utilizadas como drogas de controle. Fonte: ELABORADA

PELA PRÓPRIA AUTORA

6.1.2 Malária

A malária é uma doença infecciosa febril aguda causada por cinco espécies de parasitos que afetam o ser humano, sendo todas essas espécies pertencentes ao gênero *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e recentemente *P. knowlesi* (WHO, 2013b). A malária causada por *P. falciparum* caracteriza-se como a responsável pelas formas mais graves da doença, como pode ser vista na malária cerebral.

Esta doença parasitária é transmitida através da picada da fêmea do mosquito do gênero *Anopheles* infectado que, geralmente, picam entre o anoitecer e o amanhecer. Os principais sintomas da malária são febre alta acompanhada por calafrios, suores e cefaléia, que ocorrem em padrões cíclicos, dependendo da espécie do parasita infectante, além de dor nas articulações, vômitos frequentes, convulsão e coma (MSF, 2013).

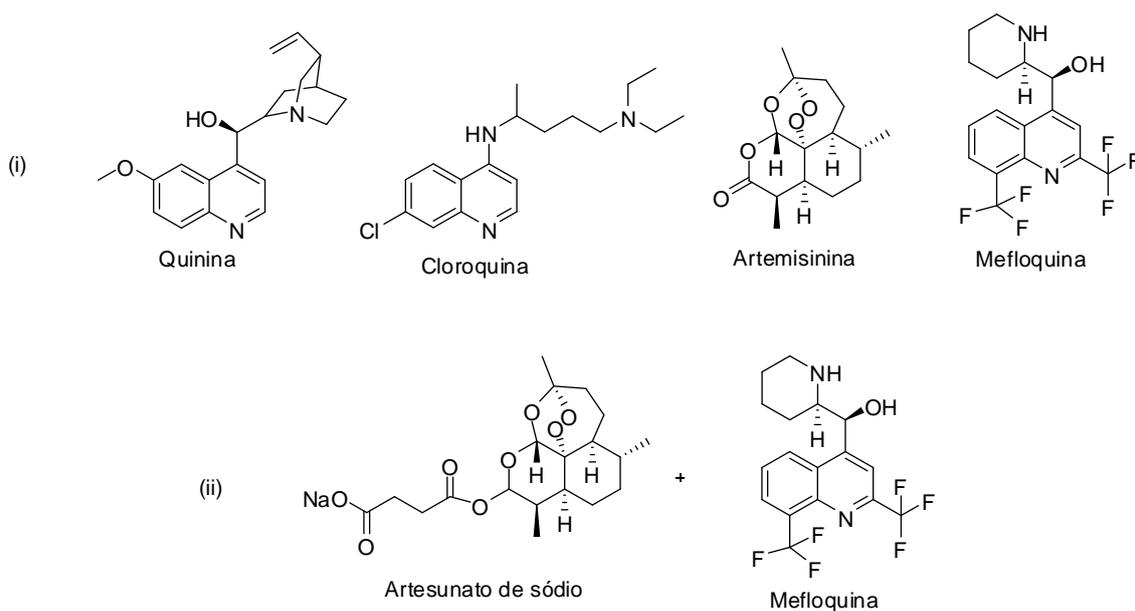
De acordo com a OMS, 207 milhões de casos de malária foram reportados em 2013 ocorrendo cerca de 627 mil óbitos. Destes, a maioria dos casos (80%) e de mortes

(90%), ocorreram na África, sendo a maioria das mortes (77%) em crianças menores de 5 anos de idade (WHO, 2013b). Outro dado alarmante é que, apesar de o índice de mortalidade pela malária ter reduzido na última década, a doença ainda mata uma criança a cada minuto na África.

A infecção em humanos tem início com a picada da fêmea infectada do mosquito do gênero *Anopheles*. Juntamente com uma pequena quantidade de saliva contendo substâncias dilatadoras e anticoagulantes, a fêmea injeta esporozoítas na corrente sanguínea do homem, que circulam livremente pelo sangue e alguns chegam a alcançar o fígado, iniciando o ciclo hepático da doença. No interior das células hepáticas (hepatócitos), os parasitos se diferenciam e se multiplicam, originando merozoítos hepáticos, que, ao romperem a célula hepática, tem acesso ao sangue onde invadem os eritrócitos, iniciando o ciclo eritrocítico. Devido à ruptura dos eritrócitos, ocorre anemia intensa e em alguns casos a morte, devido as complicações da doença (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008; CORRALES, 2011).

A escolha correta do fármaco a ser utilizado no tratamento ou prevenção da malária depende da espécie de *Plasmodium* causadora da infecção. Apesar de medicamentos antimaláricos serem usados principalmente para o controle da doença, estes também podem ser empregados como medida de prevenção no caso de grupos de alto risco, tais como mulheres grávidas e de visitantes de regiões endêmicas (quimioprofilaxia). A cloroquina foi uma das substâncias antimaláricas mais utilizadas em muitas regiões endêmicas no tratamento de malária causada por *P. falciparum*, *P. vivax*, sendo o fármaco preferido até o surgimento da resistência ao parasito. A mefloquina tem sido utilizada no combate a *P. falciparum* resistente à cloroquina, mas, apesar de ser um fármaco relativamente novo, já há relatos de casos de resistência a este (FRANÇA; SANTOS; FIGUEROA-VILLAR, 2008). (Figura 46 (i)).

Figura 46 - Estruturas químicas de drogas empregadas no tratamento da malária



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Atualmente, o tratamento mais eficiente para malária é uma terapia combinada à base de Artemisinina (ACTs, em inglês), como representado por artesunato de sódio + mefloquina na Figura 46 (ii) (WHO, 2013b). Esta terapia tem baixo nível de toxicidade, poucos efeitos colaterais e age rapidamente contra o parasito.

Para controle da malária existem as medidas preventivas, como por exemplo o controle de vetores, através do uso de mosquiteiros impregnados com inseticidas, pulverizações de moradias, bem como evitar a exposição no horário de atividade do mosquito, o uso de telas em portas e janelas, entre outros.

Tendo em vista o surgimento de casos de resistência do parasito aos antimaláricos tradicionalmente usados no combate à doença (como a cloroquina), e a ausência de uma vacina para prevenção da malária, a busca por novos fármacos eficazes para o tratamento desta enfermidade é justificado.

6.1.2.1 Parte experimental

Os ensaios biológicos para determinação do potencial antimalárico de alguns dos compostos sintéticos descritos neste trabalho foram realizados no Núcleo de Pesquisas em Parasitologia (NUPEP) pertencente ao Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade

Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora - MG, sob orientação da Profa. Dra. Clarice Abramo.

O potencial antimalárico de um pequeno grupo de moléculas sintetizadas neste trabalho foi avaliado de acordo com o Teste Supressivo de Peters (PETERS, 1965). Foram usados camundongos Suíços outbreed, fêmeas de 19 a 22 g, obtidos do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora sob o processo aprovado no Comitê de Ética nº 054/2010-CEEA e OSS/2010-CEEA.

Os camundongos foram divididos em grupos e foram inoculados com o parasito, *Plasmodium berghei* cepa NK65, por via intraperitoneal. No mesmo dia do inóculo, os camundongos foram tratados via oral com uma dose de 10 mg/Kg, um grupo com cada droga. O tratamento foi feito por 4 dias consecutivos. No 5º, 7º, 9º, e 12º dias após o inóculo, foi colhido sangue dos camundongos e foi feito o esfregaço sanguíneo para contagem da parasitemia. Participaram do experimento também um grupo controle que não recebeu nenhuma droga (controle não tratado) e um grupo controle tratado com cloroquina, droga padrão ativa contra o parasito. A inibição da multiplicação do parasito foi avaliada através da Equação 1.

$$\%_{IMP} = 100 \times (A - B)/A \quad \text{Equação 1}$$

Na qual, A é a parasitemia média no grupo controle (não tratado) e B é a parasitemia média do grupo teste. (CARVALHO *et al.*, 1991).

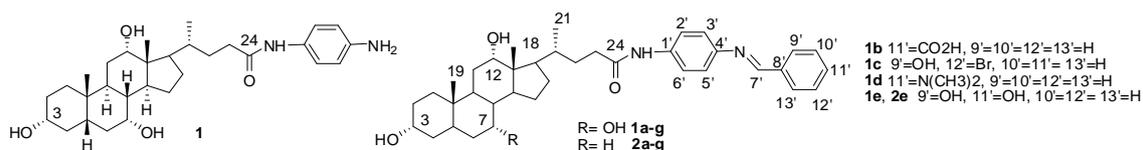
6.1.2.2 Resultados e discussão

6.1.2.2.1 Atividade antimalárica de conjugados esteroides/bases de Schiff expressa pela Inibição da Multiplicação do Parasito (IMP) de *P. berguei* NK65 em camundongos infectados com o parasito

A Tabela 14 apresenta os resultados dos ensaios *in vivo* em *P. berghei* NK65, os quais foram expressos como porcentagem de inibição da parasitemia em relação ao grupo de controle (animais infectados e não tratados). Como pode ser observado, dentre os avaliados, os compostos **1**, **1c** e **1e** apresentaram significativa atividade antimalárica nos 9º e 12º dias de experimento, sendo capazes de inibir a multiplicação do parasito com conseqüente redução da parasitemia, ou seja, diminuindo o número de parasitos circulantes no sangue dos camundongos. No 12º dia de experimento, a inibição da

parasitemia pelos compostos (**1**: 80,77 %, **1c**: 83,86 %, **1e**: 87,60 %) foi semelhante ou maior do que a inibição provocada pela cloroquina (cloroquina: 86,53 %), droga antimalárica tradicionalmente utilizada como referência em ensaios de quimioterapia antimalárica.

Tabela 14 - Supressão da parasitemia em camundongos promovida pelo tratamento com os compostos **1**, **1b-e**, **2e** e cloroquina, na dose de 10 mg/Kg contra *P. berghei* NK65



Inibição da Multiplicação do Parasito (IMP) (%)

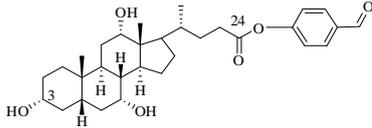
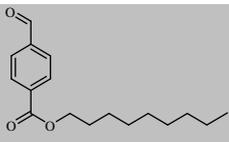
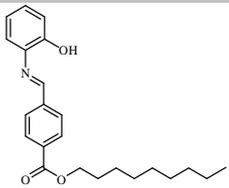
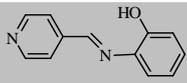
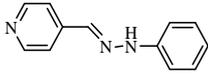
Compostos	5º dia	7º dia	9º dia	12º dia
1	0,00	0,00	50,21	80,77
1b	0,00	0,00	23,29	0,00
1c	0,00	11,69	73,08	83,86
1d	0,00	5,54	48,53	0,00
1e	0,00	28,25	71,15	87,60
2e	17,11	0,00	34,93	0,00
Cloroquina^a	96,77	73,38	80,98	86,53

^a Cloroquina foi utilizada como droga de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.1.2.2.2 Atividade antimalárica dos compostos **31a**, **31d**, **15**, **18** e **21** expressa pela Inibição da Multiplicação do Parasito (IMP) de *P. berguei* em camundongos infectados com o *P. berguei* NK65

Alguns outros compostos, de diferentes séries, foram também avaliados como antimaláricos e os resultados encontram-se na Tabela 15 abaixo. O composto **31d** não apresentou atividade antimalárica, visto que o seu percentual de supressão da parasitemia foi de 7,60 % no 5º dia e de 0 % nos demais, enquanto os demais apresentaram atividade bastante inferior à da Cloroquina apresentando atividade em apenas um dos dias analisados (geralmente no 9º dia).

Tabela 15 - Supressão da parasitemia em camundongos promovida pelo tratamento com os compostos **31a**, **31d**, **15**, **18** e **21** e cloroquina, na dose de 10 mg/Kg contra *P. berghei* NK65

Compostos	Estruturas químicas	Inibição da Multiplicação do Parasito (IMP) (%)			
		5º dia	7º dia	9º dia	12º dia
15		0,00	0,00	17,50	0,00
18		0,00	0,00	33,79	0,00
21		0,00	0,00	26,94	0,00
31a		0,00	0,00	0,00	62,07
31d		7,60	0,00	0,00	0,00
Cloroquina^a	-	96,77	73,38	80,98	86,53

^a Cloroquina foi utilizada como droga de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A tuberculose (ou TB) é uma doença bacteriana infecciosa causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) que afeta principalmente os pulmões (TB pulmonar), mas pode afetar também outros órgãos, incluindo os ossos e o sistema nervoso (TB extrapulmonar) (WHO, 2010; MSF, 2014). É transmitida pelo ar, quando uma pessoa infectada expele bactérias, por exemplo, através da tosse.

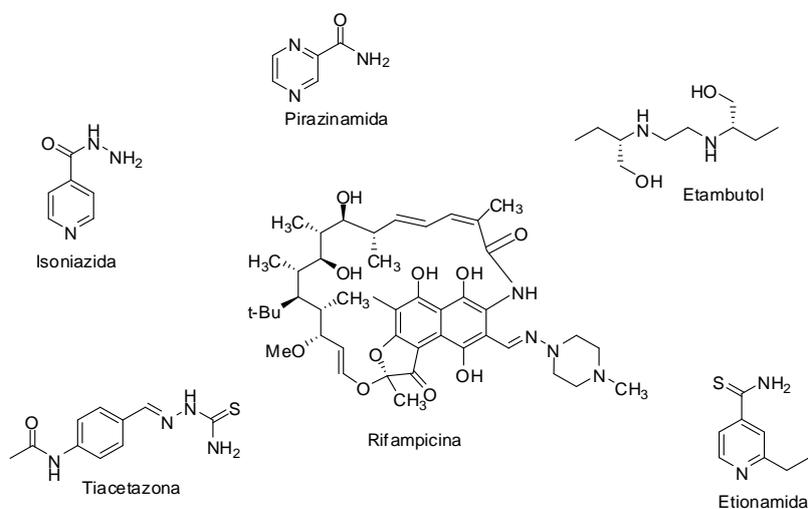
Trata-se de uma das doenças infecciosas que mais causa mortes no mundo, sendo portanto considerada como um importante problema de saúde global. De acordo com a OMS, todos os anos, há cerca de 9 milhões de novos casos de TB, e

aproximadamente 2 milhões de casos de mortes pela doença (WHO, 2010). Os principais sintomas compreendem tosse seca, suor, dor no tórax, febre, falta de apetite e perda de peso.

Os primeiros tratamentos efetivos contra TB datam da década de 40, já a droga anti-TB de primeira escolha mais efetiva, a rifampicina, começou a ser disponibilizada na década de 60. Atualmente, o tratamento recomendado para novos casos de TB consiste basicamente na combinação de quatro drogas de primeira escolha: isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida, que são administradas durante um período de seis meses (WHO, 2013a). Geralmente a taxa de sucesso deste tratamento é de 85% ou mesmo superior, entretanto, o grande problema associado ao fato é a adesão do paciente, uma vez que muitos deles abandonam o longo tratamento ao observarem o desaparecimento dos sintomas. Como consequência, surgem cepas multirresistentes a estes fármacos de primeira linha; tais cepas contribuem para o aumento na incidência e mortalidade pela doença (SOUZA, 2005).

Cepas de *M. tuberculosis* resistentes a múltiplas drogas (MDR-TB), caracterizam-se como cepas resistentes à isoniazida e à rifampicina (as duas drogas anti-TB mais efetivas) e precisam ser tratadas com drogas mais tóxicas e de custo mais elevado, tais como etionamida e tioacetazona. Além disso, esse tipo de tratamento é mais demorado (WHO, 2013a). Na Figura 47 estão representadas as drogas mencionadas utilizadas no tratamento da tuberculose.

Figura 47 - Estruturas químicas de drogas empregadas no tratamento da tuberculose



Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Logo, o tratamento prolongado, associado ao surgimento de casos de resistência aos fármacos mais comumente utilizados no combate à TB são fatores que comprometem o controle da doença e impulsionam a busca por novos fármacos.

6.2.1 Parte experimental

Os ensaios biológicos para determinação do potencial anti-TB de alguns dos compostos sintéticos descritos neste trabalho foram realizados no Laboratório de Micobacteriologia “Prof. Dr. Hugo David”, no Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP- campus Araraquara, sob orientação do Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan.

A atividade anti-TB dos compostos foi determinada pelo método REMA (*Resazurin Microtiter Assay*) (PALOMINO *et al.*, 2002). Soluções estoque dos compostos sintéticos a serem analisados foram preparadas em DMSO e diluídas em meio Middlebrook 7H9 (Difco), enriquecido com ácido oleico, albumina, dextrose e catalase (enriquecimento OADC - BBL/Bectron Dickinson, Sparks, MD, USA), de modo a se obter concentrações dos compostos sintéticos variáveis entre 0,15 e 250 µg/mL. A isoniazida foi dissolvida em água destilada, de acordo com as recomendações do fabricante (Laboratórios Difco, Detroit, MI, USA) e utilizada como droga de referência. A cepa de *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 foi cultivada durante 7 a 10 dias em meio Middlebrook 7H9 enriquecido com OADC, mais 0,05% de Tween 80, para evitar grumos. Após uma diluição adicional de 1:25 em meio Middlebrook 7H9 enriquecido com OADC, 100 µL da cultura foi transferida para cada um dos 96 poços de uma microplaca (NUNCtm), juntamente com os compostos sintéticos a serem analisados. Cada análise foi realizada em triplicata. As microplacas foram incubadas durante 7 dias a 37 °C e após este intervalo, resazurina foi adicionada para leitura. Os poços nos quais houve alteração da coloração de azul para rosa, com desenvolvimento de fluorescência, indicaram crescimento das células bacterianas, enquanto a manutenção da coloração azul indicaram inibição bacteriana. A fluorescência foi lida num microfluorímetro *SpectraFluor Plus* (Tecan[®]) (filtros: 530nm de excitação e 590nm de emissão). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) é definida como a menor concentração de um composto capaz de inibir o crescimento de 90% da cepa de *M. tuberculosis* (COLLINS; FRANZBLAU, 1997). Como teste padrão, a CIM da isoniazida foi determinada em cada microplaca. A faixa aceitável de CIM para a

isoniazida é 0,015-0,06 g / mL (COLLINS; FRANZBLAU, 1997; PALOMINO *et al.*, 2002).

6.2.2.1 Resultados e discussão

6.2.2.1.1 Atividade antitubercular dos compostos **7, 8, 9-12, 13-16**

Os resultados dos ensaios realizados para este grupo de moléculas encontram-se na Tabela 16. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) estão expressas em µg/mL. De acordo com a OMS e o *National Health Institute* (NHI) (TDSP, 2001), novos candidatos anti-TB devem apresentar valores de CIM < 10,0 µg/mL (ou o equivalente molar) contra culturas de MTB.

De acordo com as recomendações acima, nenhum dos compostos deste grupo são considerados promissores agentes anti-TB, pois o valor mínimo de CIM foi de 20,9 µg/mL (composto **10**). Por outro lado, quando comparado à Pirazinamida, uma droga anti-TB de primeira escolha, o referido composto bem como o aldeído biliar **16** (CIM de 22,3 µg/mL) apresentam valores significativamente inferiores ao da droga.

Tabela 16 - Atividade antitubercular (*M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294) dos compostos **7, 8, 9-12, 13-16**

(continua)

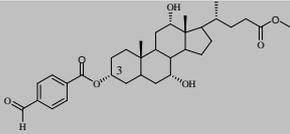
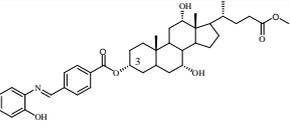
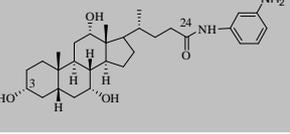
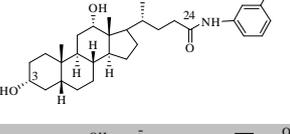
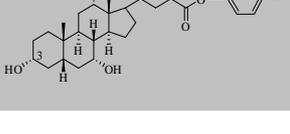
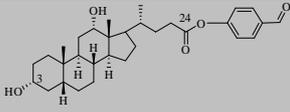
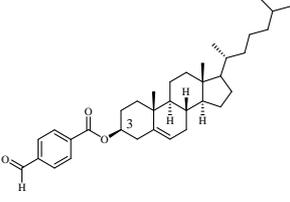
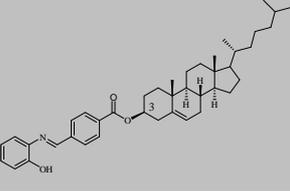
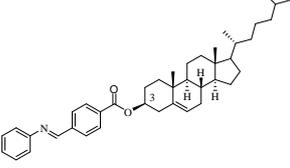
Compostos	Estrutura química	CIM (µg/mL) ^a
7		>25
8		>25
13		>25
14		>25
15		>25

Tabela 16 - Atividade antitubercular (*M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294) dos compostos **7, 8, 9-12, 13-16**

(conclusão)

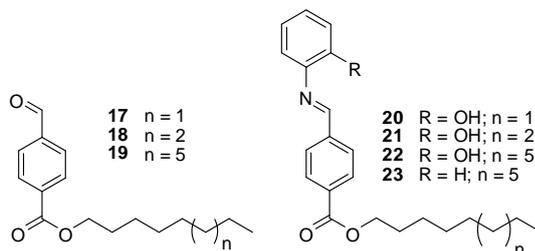
Compostos	Estrutura química	CIM ($\mu\text{g/mL}$) ^a
16		22,3
9		>25
10		20,9
11		>25
Isoniazida^b	-	0,03
Rifampicina^b	-	0,1
Pirazinamida^b	-	50,00-100,00

^a CIM: Concentração Inibitória Mínima é a concentração mínima capaz de inibir 90% do crescimento de *M. tuberculosis* / ^b Isoniazida, Rifampicina e Pirazinamida foram utilizadas como drogas de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.2.2.1.2 Atividade antitubercular das bases de Schiff lipofílicas (**20-24**) e seus aldeídos precursores (**17-19**)

Os resultados dos testes anti-TB revelaram que bases de Schiff lipofílicas bem como os aldeídos precursores não apresentaram atividade antitubercular (Tabela 17), pois os valores de CIM para a maioria destes compostos foi superior a 25 $\mu\text{g/mL}$. No entanto, se compararmos a base de Schiff lipofílica **21** (CIM de 18,7 $\mu\text{g/mL}$) com a Pirazinamida (CIM de 50,00-100,00 $\mu\text{g/mL}$), o valor apresentado pelo composto sintético torna-se comparável ao da droga utilizada na terapia corrente da tuberculose.

Tabela 17 - Atividade antitubercular (*M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294) dos compostos **17-24**



Compostos	CIM ($\mu\text{g/mL}$) ^a
17	>25
18	>25
19	>25
20	>25
21	18,7
22	>25
23	>25
Isoniazida ^b	0,03
Rifampicina ^b	0,1
Pirazinamida ^b	50,00-100,00

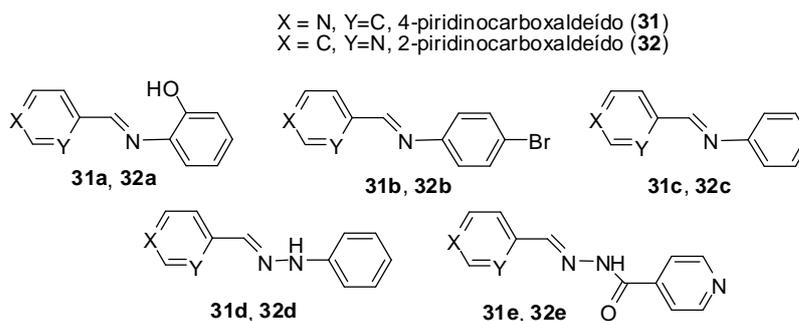
^a CIM: Concentração Inibitória Mínima é a concentração mínima capaz de inibir 90% do crescimento de *M. tuberculosis* / ^b Isoniazida, Rifampicina e Pirazinamida foram utilizadas como drogas de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.2.2.1.3 Atividade antitubercular das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas **31a-e** e **32a-e**

As bases de Schiff derivadas do 2- e do 4-piridinocarboxaldeído também foram avaliadas como candidatos anti-TB e os resultados encontram-se na Tabela 18. Observando os valores de CIM dos compostos sintéticos avaliados, é possível afirmar que tais compostos não apresentam atividade anti-TB (valores de CIM > 25 $\mu\text{g/mL}$, exceto para o composto **31a**, valor de CIM = 12 $\mu\text{g/mL}$). Uma vez que os compostos **31e** e **32e** são derivados da isoniazida, droga anti-TB de primeira escolha, esperava-se que tais compostos apresentassem atividade anti-TB. Os resultados sugerem então que a conjugação da isoniazida com o 2- e o 4-piridinocarboxaldeído não deve ser considerada uma estratégia eficiente na busca por novos agentes anti-TB. Além disso,

comparando os valores de CIM dos compostos **31a** (CIM = 12 µg/mL) e **32a** (CIM > 25 µg/mL), observa-se que a conjugação do 4-piridinocarboxaldeído com a 2-hidroxianilina mostrou-se mais eficaz para o perfil antitubercular do que a conjugação do 2-piridinocarboxaldeído com a mesma amina aromática.

Tabela 18 - Atividade antitubercular (*M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294) dos compostos **31a-e** e **32a-e**



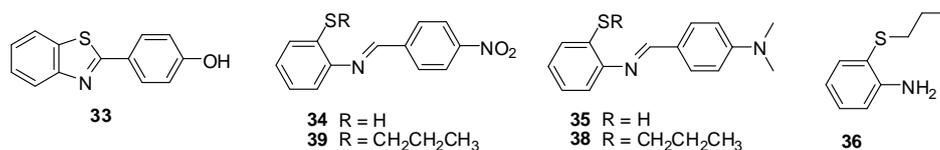
Compostos	CIM (µg/mL) ^a	Compostos	CIM (µg/mL) ^a
31a	12	32a	>25
31b	>25	32b	>25
31c	>25	32c	>25
31d	>25	32d	>25
31e	>25	32e	>25
Isoniazida^b	0,03		
Rifampicina^b	0,1		
Pirazinamida^b	50,00-100,00		

^a CIM: Concentração Inibitória Mínima é a concentração mínima capaz de inibir 90% do crescimento de *M. tuberculosis* / ^b Isoniazida, Rifampicina e Pirazinamida foram utilizadas como drogas de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.2.2.1.4 Atividade antitubercular das tioiminas **33-39** e do precursor **36**

Os resultados dos ensaios anti-TB das tioiminas estão dispostos na Tabela 19. Todos os compostos sintéticos desta classe apresentaram CIM > 25 µg/mL e, portanto, não foram considerados como agentes anti-TB promissores.

Tabela 19 - Atividade antitubercular (*M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294) dos compostos **33-39**



Compostos	CIM (µg/mL) ^a
33	>25
34	>25
36	>25
38	>25
39	>25
Isoniazida^b	0,03
Rifampicina^b	0,1
Pirazinamida^b	50,00-100,00

^a CIM: Concentração Inibitória Mínima é a concentração mínima capaz de inibir 90% do crescimento de *M. tuberculosis* / ^b Isoniazida, Rifampicina e Pirazinamida foram utilizadas como drogas de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

De acordo com Halliwell (1995), um antioxidante pode ser definido como "qualquer substância que, uma vez presente em baixas concentrações quando comparadas a um substrato oxidável, é capaz de impedir ou inibir a oxidação daquele substrato" (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995).

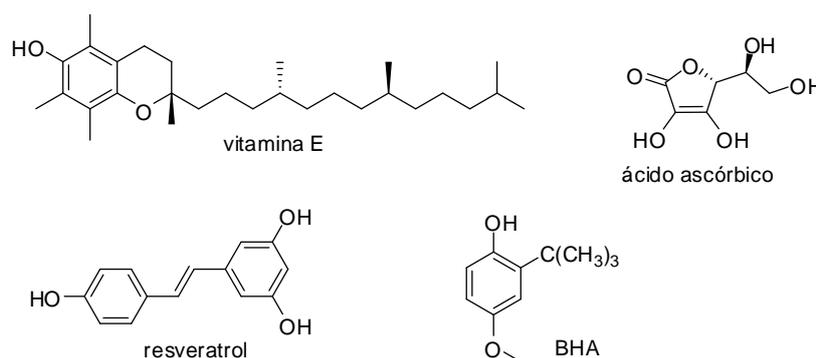
Radicais livres e outros oxidantes têm sido apontados como responsáveis pelo envelhecimento e por doenças degenerativas associadas a este processo, tais como o câncer, doenças vasculares e disfunções cerebrais (ATOUI *et al.*, 2005; FABRIS *et al.*, 2008). Em sua maioria, os radicais livres são espécies derivadas do metabolismo do oxigênio (O₂) e melhor denominados *espécies reativas de oxigênio* (EROs), tais como: radical hidroxila (·OH), ânion radical superóxido (O₂^{·-}) e hidroperoxila (ROO[·]). Estas espécies são continuamente formadas durante os processos metabólicos (normais ou patogênicos) ou são provenientes de fontes exógenas físicas e químicas (MANSUR, 2011). Assim, antioxidantes são substâncias capazes de estabilizar ou desativar as EROs

antes que as mesmas ataquem alvos biológicos, como lipídios e proteínas, por exemplo, causando oxidação e alteração destas moléculas.

Por outro lado, as EROs desempenham também várias funções positivas tais como algumas relacionadas à produção de energia e à regulação de crescimento celular, além da síntese de compostos biologicamente importantes. No entanto, quando a presença destes radicais livres é superior à das defesas do organismo ocorre o comprometimento da manutenção de muitas funções fisiológicas (PIETTA, 2000; MANSUR, 2011).

Antioxidantes podem ser de origem endógena, como as enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) (BENZAQUEN, 2009), ou provenientes da dieta alimentar ou de outras fontes como o ácido ascórbico (Vitamina C), os tocoferóis (Vitamina E), polifenóis e carotenóides (FABRIS *et al.*, 2008). (Figura 48).

Figura 48 - Estruturas químicas de alguns antioxidantes



Fonte: ELABORADADA PELA PRÓPRIA AUTORA

Há duas maneiras dos antioxidantes impedirem ou inibirem um processo de oxidação: protegendo os alvos lipídicos a partir dos iniciadores da oxidação ou bloqueando a fase de propagação. Para tal, diferentes tipos de antioxidantes utilizam-se de diferentes mecanismos, tais como: doação de átomos de hidrogênio (antioxidantes primários), remoção de oxigênio (antioxidantes removedores de oxigênio), complexação com íons metálicos (antioxidantes quelantes), entre outros (BENZAQUEN, 2009; MANSUR, 2011).

Em virtude de suas propriedades, os antioxidantes são amplamente utilizados nas indústrias alimentícia (BENZAQUEN, 2009), farmacêutica e de cosméticos (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2006). Uma vez que os antioxidantes sintéticos

têm encontrado espaço no âmbito industrial, a busca por novos agentes continua a atrair o interesse de pesquisadores.

6.2.1 Parte experimental

Os ensaios biológicos para determinação do potencial antioxidante dos compostos sintéticos descritos neste trabalho foram realizados no Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde (NUPICS), da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora - MG, sob orientação da Profa. Dra. Nádia Rezende Barbosa Raposo.

6.2.1.1 Avaliação da capacidade antioxidante pelo método DPPH

A atividade antioxidante foi avaliada utilizando-se o método 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH; Sigma Aldrich, USA), descrito por Sreejayan e Rao (SREEJAYAN; RAO, 1996) com mínimas modificações. Este método é baseado na redução do radical DPPH a um não-radical (DPPH-H), na presença de um antioxidante (AH) doador de prótons (H^+) (KOLEVA *et al.*, 2002). Desta forma, no referido método, o radical livre DPPH \cdot , de coloração violeta e que absorve luz próximo a 510 nm, quando sofre redução pelo antioxidante da amostra, converte-se a 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (DPPH-H), de coloração amarela; conseqüentemente, ocorre o desaparecimento da banda de absorção que pode ser monitorado pelo decréscimo da absorbância. Uma vez que a descoloração da amostra inicial é proporcional ao grau de redução e ao DPPH restante, torna-se possível avaliar a captura dos radicais livres pelo suposto antioxidante (MANSUR, 2011).

À alíquotas de 150 μ L de uma solução de DPPH em etanol a 0,05 mM foram adicionadas 50 μ L de soluções etanólicas de cada um dos compostos sintéticos nas concentrações de 0,97 a 250 μ g/mL em placas de 96 poços. Resveratrol (trans-resveratrol 99,0%, Attivos Magistrais, Brasil) e/ou ácido ascórbico foi utilizado como padrão nas mesmas concentrações. As reações ocorreram à temperatura ambiente, no escuro, durante 30 minutos e então as absorbâncias foram lidas em um espectrofotômetro ($\lambda = 510$ nm). A inibição do radical DPPH foi calculada usando a Equação 2:

$$\% \text{ de inibição} = 100 \times (A_o - A_s) / A_o \quad \text{Equação 2}$$

Na qual A_o é a absorvância do controle negativo e A_s é a absorvância das amostras testadas.

O valor da concentração inibitória mínima (CI_{50}) foi calculado a partir da equação da curva obtida no gráfico de dispersão linear e expressos em $\mu\text{g/mL}$ ou em μM . Todas as análises foram realizadas em triplicata. Foi realizada uma análise estatística descritiva e ANOVA seguida pelo teste de Tukey, com auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) v.14.0 para software Windows, para comparar os valores médios de CI_{50} calculados para as amostras sintéticas *versus* o padrão. O nível de significância foi de 5%.

6.2.2 Resultados e Discussão

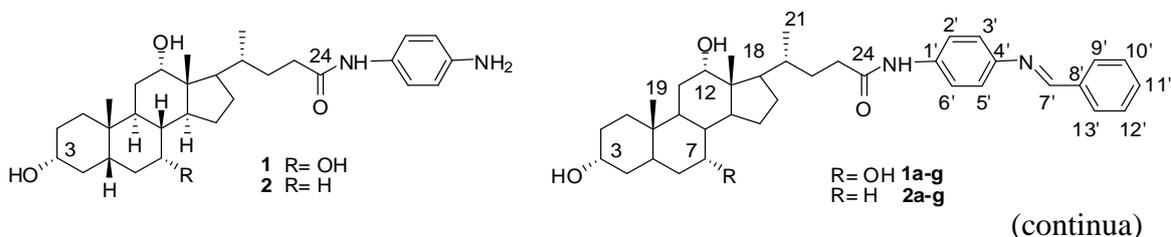
6.2.2.1 Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **1a-g** e **2a-g** no ensaio do DPPH

Os resultados da análise da atividade antioxidante dos conjugados esteroides/bases de Schiff **1a-g** e **2a-g** estão na Tabela 20 e foram expressos em CI_{50} , medida que corresponde à concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH \cdot em 50%. Logo, quanto mais baixo o valor de CI_{50} , mais eficiente é o composto sintético como antioxidante. Foram avaliados também os ácidos biliares de partida, cólico e desoxicólico.

Dentre os compostos analisados, as amidas biliares precursoras **1** e **2** foram as que necessitaram das mais baixas concentrações para inibir o radical DPPH \cdot . A opção por conjugar bases de Schiff aos esteroides foi baseada no fato de as iminas já serem descritas como antioxidantes. Contudo, considerando o mecanismo pelo qual os candidatos a antioxidantes inibem o radical DPPH \cdot , os grupos funcionais substituintes da porção aromática imínica terminal (ou, os grupos funcionais presentes no aldeído de partida) é que serão ou não responsáveis pela captação do radical livre. Nesta perspectiva, os conjugados que apresentaram melhor atividade foram os compostos **1a**, **1b**, **2a** e **2b**; todos eles possuem um grupo carboxila (-COOH) como substituinte do anel terminal, o qual pode ser o responsável pela captação de DPPH \cdot , embora isto tenha ocorrido de forma menos intensa do que com as amidas precursoras. Os grupos carboxila podem também interagir com íons metálicos, responsáveis pela iniciação da reação de Fenton, a qual é responsável pela produção de radicais hidroxila. Assim, as moléculas que contêm grupo carboxila seriam úteis como quelantes de metais (ROSA *et al.*, 2008). Os conjugados menos ativos como antioxidantes foram os compostos **1f** e **2f**,

que possuem um grupo nitro na posição *para* do anel aromático terminal. Isto sugere que a presença deste grupo funcional influencia de forma negativa o perfil antioxidante dos conjugados.

Tabela 20 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **1a-g** e **2a-g** no ensaio do DPPH



Compostos	Estrutura	CI ₅₀ (µg/mL) ^a
ácido cólico	-	718,40
1	-	19,60
1a	R=OH, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	23,35
1b	R=OH, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	31,83
1c	R=OH, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'= 13'=H	232,10
1d	R=OH, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	247,18
1e	R=OH, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'= 13'=H	246,93
1f	R=OH, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	449,10
1g	R=OH, 9'= NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	124,87
ácido desoxicólico	-	669,29
2	-	19,12
2a	R=H, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	20,45
2b	R=H, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	30,60
2c	R=H, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'= 13'=H	307,61
2d	R=H, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	238,35
2e	R=H, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'= 13'=H	200,27

Tabela 20 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos 1a-g e 2a-g no ensaio do DPPH

(conclusão)

Compostos	Estrutura	CI ₅₀ (µg/mL) ^a
2f	R=H, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	325
2g	R=H, 9'= NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	123,06
Resveratrol^b	-	9,18

^aCI₅₀: Concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH· em 50% / ^b Resveratrol foi utilizado como droga de referência. Fonte:

ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

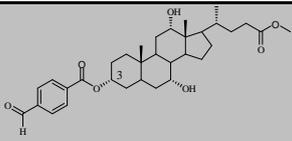
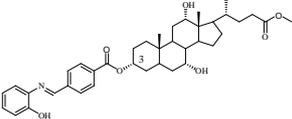
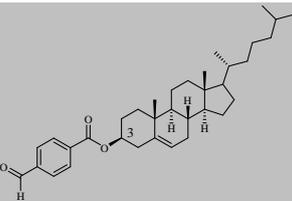
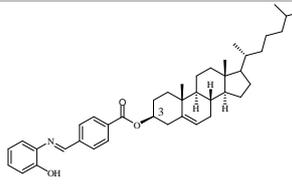
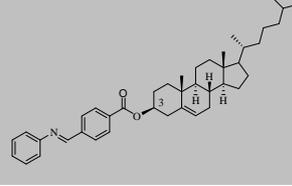
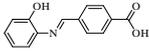
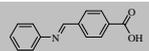
6.2.2.2 Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **7**, **8**, **9-12** e bases de Schiff derivadas do 4-carboxibenaldeído (**4** e **5**) no ensaio do DPPH

O perfil antioxidante dos conjugados **8**, **10-12**, bem como de seus aldeídos precursores **7** e **9** e das duas bases de Schiff livres **4** e **5** estão descritos na Tabela 21. A primeira observação é de que, dentre os conjugados, os compostos **8** e **10** são os que necessitaram das mais baixas concentrações para inibir o radical DPPH·. Estes dois compostos não diferem estatisticamente do controle resveratrol, o que os torna bastante atrativos do ponto de vista biológico. Por outro lado, o conjugado **11** não mostrou-se ativo como antioxidante. Estes resultados sugerem que a presença do grupo hidroxila no anel aromático terminal foi essencial para o perfil antioxidante dos conjugados, uma vez que o único conjugado não-ativo não possui este substituinte no anel terminal. Além disso, estes resultados sugerem também que as diferentes porções esteroidais (ácido cólico, no conjugado **8** e colesterol no conjugado **10**) não influenciam significativamente a atividade antioxidante dos conjugados, pois os valores de CI₅₀ são equivalentes (9,14 e 10,21 µg/mL).

Comparando agora as atividades antioxidantes dos conjugados com as das bases de Schiff livres, os resultados mostram que, para o par conjugado **11** / imina livre **5**, a porção esteroideal potencializou a atividade antioxidante da base livre em quase duas vezes (CI₅₀ = 279,1 µg/mL para a imina **5** e CI₅₀ = 161,87 µg/mL para o conjugado **11**). Por outro lado, comparando os conjugados **8** e **10** com a base de Schiff **4**, observa-se que a imina é cerca de duas vezes mais ativa como antioxidante. Ainda assim, é possível

concluir que a conjugação de bases de Schiff e núcleos esteroidais constitui-se uma estratégia útil no desenvolvimento de agentes antioxidantes mais lipofílicos; tal afirmativa é reforçada pelo fato de que ambos os aldeídos precusores (**7** e **9**) não apresentaram atividade antioxidante.

Tabela 21 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **7-12**, **4** e **5** no ensaio do DPPH

Compostos	Estrutura química	CI ₅₀ (µg/mL) ^a
7		3111,36 ± 0,47
8		9,14 ± 0,05*
9		2132,01 ± 28,51
10		10,21 ± 0,03*
11		161,87 ± 0,50
4		4,17 ± 0,04
5		279,7 ± 2,83
Resveratrol^b	-	9,18 ± 0,08

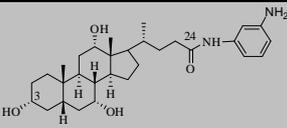
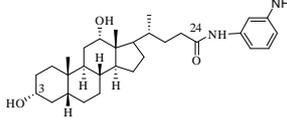
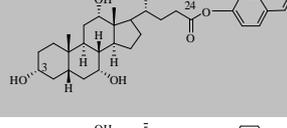
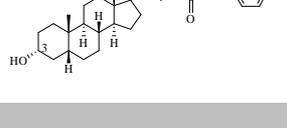
^a CI₅₀: Concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH em 50% ± desvio padrão das médias / ^b Resveratrol foi utilizado como droga de referência / * p>0,05, entre os compostos sintéticos e o resveratrol padrão. Fonte: ELABORADA PELA

PRÓPRIA AUTORA

6.2.2.3 Atividade antioxidante *in vitro* dos aldeídos e amidas biliares (compostos **13-16**) no ensaio do DPPH

Os resultados da análise da atividade antioxidante dos aldeídos e amidas biliares revelaram que os aldeídos **15** e **16**, em concordância com o descrito no item anterior para os demais aldeídos (**7** e **9**), não apresentam atividade antioxidante. Por outro lado, esperava-se que as amidas biliares **13** e **14** apresentassem atividade antioxidante comparável às apresentadas pelas amidas **1** e **2** (derivadas do 1,4-diaminobenzeno), o que não ocorreu. As amidas derivadas do 1,3-diaminobenzeno, como pode ser observado na Tabela 22, não foram capazes de inibir o radical DPPH. Estes resultados sugerem que a posição dos substituintes -NH₂ influencia de forma significativa no perfil antioxidante dessas amidas biliares. A substituição na posição 4 parece ser mais efetiva para a inibição do radical DPPH do que a substituição na posição 3.

Tabela 22 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **13-16** no ensaio do DPPH

Compostos	Estrutura química	CI ₅₀ (µg/mL) ^a
13		não quantificável
14		553,16
15		1207,27
16		não quantificável
Resveratrol^b		9,18

^a CI₅₀: Concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH· em 50% / ^b Resveratrol foi utilizado como droga de referência. Fonte: ELABORADA PELA

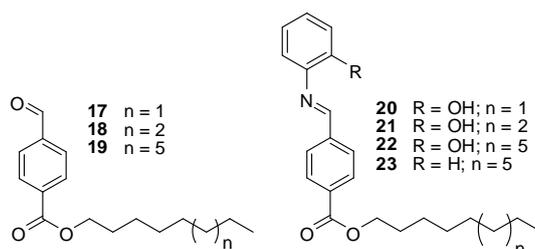
PRÓPRIA AUTORA

6.2.2.4 Atividade antioxidante *in vitro* das bases de Schiff lipofílicas e dos aldeídos precursores (compostos **17-24**) no ensaio do DPPH

Na Tabela 23 a seguir encontram-se os resultados dos testes que avaliaram a atividade antioxidante dos compostos desta série. Como podemos observar, nenhum dos aldeídos precursores apresentou atividade antioxidante satisfatória, ou seja, as concentrações destes compostos sintéticos necessárias à redução da concentração inicial do DPPH· em 50% são bastante elevadas. Por outro lado, os compostos **20-22** apresentaram atividades antioxidantes bastante satisfatórias, os valores de CI_{50} foram de 4,85, 5,86 e 7,01 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Tais valores são comparáveis ao apresentado pelo resveratrol (9,18 $\mu\text{g/mL}$). Além disso, a observação de que o composto **23** não apresenta atividade antioxidante e que, este difere do composto **22** pela presença de um grupo hidroxila como substituinte do anel aromático terminal, sugere que este grupo -OH seja o responsável pela captação de DPPH·, através do mecanismo de doação de próton ao radical.

Ainda em relação à influência da estrutura química no perfil biológico desta classe de compostos, é possível observar a seguinte ordem decrescente na atividade antioxidante: **22**>**20**>**21**. Tal ordem compreende os compostos contendo 12, 8 e 9 átomos de carbono na cadeia alquila, respectivamente.

Tabela 23 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **17-24** no ensaio do DPPH



(continua)

Compostos	CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) ^a
17	779,57
18	2484,29
19	1406,84

Tabela 23 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **17-24** no ensaio do DPPH

(conclusão)

Compostos	CI ₅₀ (µg/mL) ^a
20	5,86
21	7,01
22	4,85
23	366,35
Resveratrol^b	9,18

^a CI₅₀: Concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH· em 50% / ^b Resveratrol foi utilizado como droga de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

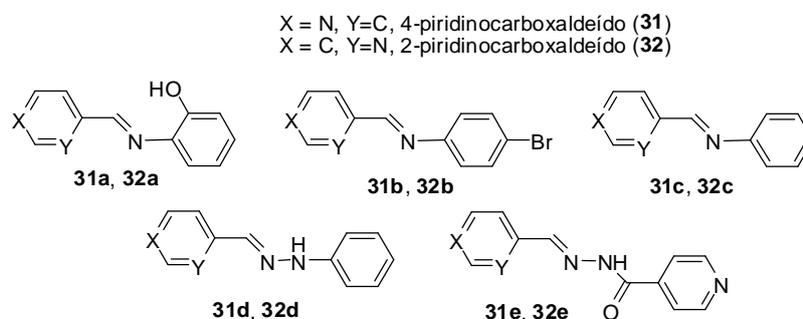
6.2.2.5 Atividade antioxidante *in vitro* das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas **31a-e** e **32a-e** no ensaio do DPPH

Como mostrado na Tabela 24, os resultados da atividade antioxidante dessa classe de moléculas mostraram que os compostos derivados do 4-piridinocarboxaldeído necessitaram de menores concentrações para inibir o radical DPPH· do que os derivados do 2-piridinocarboxaldeído. Isto sugere que a posição do heteroátomo nitrogênio influencia o perfil biológico dessas moléculas e, a posição 4- mostrou-se preferencial a posição 2- na busca por agentes antioxidantes. No entanto, estudos adicionais são necessários para se estabelecer uma relação estrutura-atividade.

Dentre os derivados do 4-piridinocarboxaldeído (**31a-e**), o composto mais ativo foi a imina **31a**, com CI₅₀ = 8,79 µM, o qual é estatisticamente similar ao valor apresentado pelo ácido ascórbico (CI₅₀ = 9,48 µM) e cerca de 4 vezes mais ativa do que o resveratrol (CI₅₀ = 37,28 µM). Para os compostos derivados deste mesmo aldeído a seguinte ordem decrescente de atividade foi observada: **31a** > **31d** > **31e** > **31b** > **31c**. Dentre os derivados do 2-piridinocarboxaldeído (**32a-e**), o composto mais ativo foi a imina **32a**, com CI₅₀ = 19,82 µM e a seguinte ordem decrescente de atividade foi observada para estes derivados: **32a** > **32d** > **32b/2e** > **32c**. Diante destes resultados, é possível sugerir que novamente a presença de uma hidroxila fenólica desempenha um papel na inibição do radical DPPH·, através do mecanismo de doação de próton ao

radical. Os demais compostos não são considerados antioxidantes promissores, uma vez que necessitaram de altas concentrações para promover a inibição do radical DPPH.

Tabela 24 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **31a-e** e **32a-e** no ensaio do DPPH



Compostos	CI ₅₀ (µM) ^a	Compostos	CI ₅₀ (µM) ^a
31a	8,79 ± 1,21	32a	19,82 ± 0,91
31b	491,72 ± 6,15	32b	2236,68 ± 188,71
31c	581,42 ± 14,73	32c	3462,65 ± 104,36
31d	63,61 ± 0,76	32d	254,06 ± 2,92
31e	291,81 ± 7,76	32e	2091,79 ± 92,41
Ácido ascórbico^b	9,48 ± 0,06	Resveratrol^b	37,28

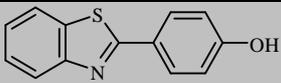
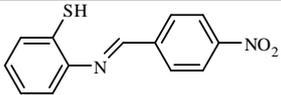
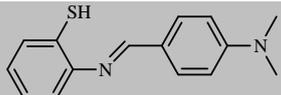
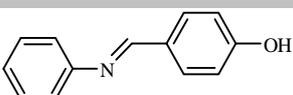
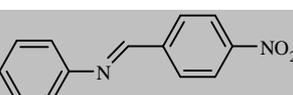
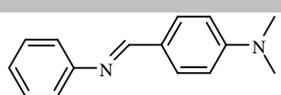
^a CI₅₀: Concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH em 50% ± desvio padrão das médias / ^b Ácido ascórbico e resveratrol foram utilizados como drogas de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.2.2.6 Atividade antioxidante *in vitro* das tioiminas **33-39** e do precursor **36** no ensaio do DPPH

As duas tioiminas e o benzotiazol derivados da 2-mercaptopanilina também foram avaliados como antioxidantes e, objetivando avaliar a influência do grupo mercapto -SH na atividade biológica em questão, comparamos estas tioiminas com suas respectivas iminas, previamente sintetizadas e avaliadas como antioxidantes por nosso grupo de pesquisa (CALIL *et al.*, 2012), Tabela 25. A melhor atividade antioxidante foi demonstrada pela tioimina **34** (CI₅₀ = 18,45 µM), que é duas vezes mais ativa do que o resveratrol (CI₅₀ = 37,28 µM) e 85,5 vezes mais ativa que a correspondente imina **34a**. Observou-se também que a tioimina **35** (CI₅₀ = 76,22 µM) é 36 vezes mais ativa que a

correspondente imina **35a** e que o benzotiazol **33**, apesar de não apresentar atividade antioxidante significativa, é ainda mais ativo do que a imina **33a**. Todos estes resultados demonstram a influência do grupo mercapto na atividade antioxidante dos compostos, que caracteriza-se como o responsável pela inibição do radical DPPH·. Como foi demonstrado, a inserção de um grupo mercapto é uma estratégia eficaz na busca por novos agentes antioxidantes e os compostos aqui descritos podem ser utilizados como protótipos no desenvolvimento de novos agentes antioxidantes.

Tabela 25 - Atividade antioxidante *in vitro* dos compostos **33-39** no ensaio do DPPH

Compostos	Estrutura química	CI ₅₀ (µM) ^a
33		247,53
34		18,45
35		76,22
33a		403,87
34a		1577,80
35a		2721,87
Resveratrol^b		37,28

^aCI₅₀: Concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH· em 50% / ^b Resveratrol foi utilizado como droga de referência. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

6.3 ATIVIDADE FOTOPROTETORA

A radiação solar é imprescindível para a vida na Terra e proporciona diversos efeitos benéficos à saúde humana, como por exemplo, a conversão de ergosterol à vitamina D, ação fungicida e bactericida, e até mesmo sensação de bem estar. Por outro lado, a radiação ultravioleta (UV), cuja maior fonte natural é o sol, pode provocar

alterações fisiológicas diversas no organismo humano, dependendo da intensidade, tempo de exposição, suscetibilidade genética e a da própria pigmentação da pele do indivíduo (VELASCO *et al.*, 2011). Dentre estas alterações, estão danos ao DNA, alterações químicas e histológicas na epiderme, envelhecimento precoce, cataratas, carcinogênese, e outras (BALOGH, 2011).

A radiação ultravioleta (λ entre 100 e 400 nm) é dividida em UVC (λ 100-280 nm), UVB (λ 280-320 nm) e UVA (λ 320-400 nm). Enquanto a radiação UVC é retida na estratosfera, as radiações UVA e UVB estão associadas a danos cumulativos à pele: os raios solares UVA penetram nas camadas mais profundas da pele e danificam o DNA e os tecidos através da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (WANG; OSTERWALDER; JUNG, 2011), que são as principais responsáveis pelo desenvolvimento do câncer de pele e pelo fotoenvelhecimento; enquanto os raios UVB produzem eritemas e queimaduras (MANSUR, 2011).

A fotoproteção pode ser definida como um "método profilático e terapêutico frente aos efeitos danosos da radiação ultravioleta" (GONZALEZ; FERNANDEZ-LORENTE; GILABERTE-CALZADA, 2008) e é realizada por meio do uso de protetores solares, roupas protetoras e acessórios adequados, além é claro, de exposição segura ao sol.

Apesar desses recursos, ainda se observa um aumento da incidência de câncer de pele em grande parte do mundo, inclusive no Brasil. De acordo com o Ministério da Saúde e com o INCA, em estimativa divulgada, o câncer de pele do tipo não melanoma (tipo mais frequente de câncer de pele e câncer mais frequente na população de pele clara) será o tipo de câncer mais incidente na população brasileira em 2015 (OMS, 2014).

Desta forma, a busca por substâncias com potencial ação fotoprotetora é uma importante ferramenta de prevenção a este tipo de câncer.

6.3.1 Parte experimental

Os ensaios biológicos para determinação do potencial fotoprotetor dos compostos sintéticos descritos neste trabalho foram realizados no Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde (NUPICS), da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora - MG, sob orientação da Profa. Dra. Nádia Rezende Barbosa Raposo.

6.3.1.1 Avaliação da eficácia fotoprotetora

A atividade fotoprotetora dos compostos sintéticos foi determinada em termos do FPS (Fator de Proteção Solar UVB), FPUVA (Fator de Proteção UVA) e Comprimento de Onda Crítico (λ_c), com o objetivo de determinar todo o espectro de proteção UV. O FPS é a razão entre a dose de radiação UVB necessária para desenvolver eritema na pele protegida pelo fotoprotetor e a dose de radiação UVB, para o mesmo efeito, com a pele desprotegida, sem aplicação de qualquer produto (VELASCO *et al.*, 2011); enquanto o FPUVA, por sua vez, se refere à proteção contra a radiação UVA, responsável pela produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (WANG; OSTERWALDER; JUNG, 2011). Neste contexto, o Comprimento de Onda Crítico (λ_c) é um parâmetro que determina se um filtro tem amplo espectro de proteção ou não. Trata-se de uma outra medida da propriedade de proteção UVA de um produto, definida como o comprimento de onda mais curto em que a absorção de radiação corresponde a 90% da absorção total, de 290 a 400 nm. A FDA (FDA, 2011) adota a mesma classificação criada por Springsteen (SPRINGSTEEN *et al.*, 1999), que considera que para ser indicado como adequado na proteção à radiação UVA, um fotoprotetor deve apresentar valor de λ_c maior que 370 nm (VELASCO *et al.*, 2011).

Determinou-se também a razão UVA/UVB. Esta é mais uma medida do espectro de proteção e dá uma boa idéia de qual região UV é melhor bloqueada pelas substâncias analisadas. A proporção UVA/UVB está associada com a plenitude de proteção quando esta razão excede 0,92 (VELASCO *et al.*, 2011). A proporção UVA/UVB pode também ser expressa com estrelas, e esta representação é chamada de sistema *Boots Star Rating* o qual classifica os produtos em categorias de 0 a 5 estrelas (DERMATEST, 2008); sendo que o maior número delas corresponde a uma maior proteção UVA (Tabela 26).

Tabela 26 - Sistema Boots Star Rating relacionado a razão UVA/UVB

		<i>Medida inicial da razão UVA/UVB</i>			
		0,0 a 0,59	0,6 a 0,79	0,8 a 0,89	> 0,89
Razão UVA/UVB após exposição	0,0 a 0,56	<i>sem classificação</i>	<i>sem classificação</i>	<i>sem classificação</i>	<i>sem classificação</i>
	0,57 a 0,75	<i>sem classificação</i>	★★★	★★★	★★★
	0,76 a 0,85	<i>sem classificação</i>	★★★	★★★★	★★★★
	> 0,86	<i>sem classificação</i>	★★★	★★★★	★★★★★

Fonte: TRADUZIDA DE *Test Protocol Outline Boots Star UVA Rating Determination - per sample* (DERMATEST, 2008)

6.3.1.2 Avaliação *in vitro* da eficácia fotoprotetora

A atividade fotoprotetora dos compostos sintéticos foi avaliada seguindo metodologias reconhecidas e devidamente validadas descritas pela *European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association* (COLIPA, 2009).

Os protetores solares a serem analisados foram compostos pela adição de 15% de cada substância sintética à loção inerte Lanette. Cada amostra a ser analisada foi pesada precisa e rapidamente (para reduzir a evaporação do produto e secagem) para satisfazer a taxa de aplicação de $1,3 \text{ mg cm}^{-2}$ em placas de polimetilmetacrilato (PMMA) Helioplate™ HD6 (Helioscreen, França) com superfície texturizada ($Sa \approx 6 \mu\text{m}$) (quantidade real aplicada: 32,5 mg determinada por pesagem das placas antes e imediatamente após a aplicação dos produtos). As amostras foram pesadas diretamente na superfície da placa, aplicando-se o produto testado em um grande número de pequenas gotículas de massa aproximadamente iguais, e espalhando-o manualmente com a ponta do dedo coberto com dedeira pré-saturada com a amostra, até se obter um filme visualmente uniforme.

A difusão do produto foi realizado em duas etapas: (i) distribuição rápida do produto, sem pressão (20-30 segundos); e (ii) esfregando-o na superfície rugosa usando pressão (também 20-30 segundos). Para cada produto, foram preparadas três placas que

foram então mantidas em repouso, protegidas da exposição à luz em câmara escura à temperatura ambiente (~20 °C) durante 15 minutos, a fim de facilitar a formação de um filme de protetor solar.

Após este intervalo de tempo, as placas contendo o produto foram lidas em espectrofotômetro de transmitância difusa (UV-2000S, Labsphere, EUA). A transmissão/difração/reflexão da radiação UV através da amostra foi medida na faixa de 290-450 nm, em intervalos de 1 nm em 9 locais diferentes de cada uma das placas (área total de medição = 2,0 cm²). O branco foi preparado utilizando placas HD6 cobertas com 15 µL de glicerina, devido à sua transparência e não-fluorescência UV. Utilizando os dados gerados, o FPS_{in vitro} foi calculado usando a Equação 3.

$$FPS_{in vitro} = \frac{\int_{\lambda=290 nm}^{\lambda=400 nm} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290 nm}^{\lambda=400 nm} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)} \times d\lambda} \quad \text{Equação 3}$$

Na qual:

$E(\lambda)$ = Espectro de Ação Eritematosa; $I(\lambda)$ = Irradiância espectral simulada na faixa UV; $A_0(\lambda)$ = Absorbância monocromática média do produto, antes da exposição à radiação ultravioleta e $d\lambda$ = Diferença entre os comprimentos de onda (1nm).

Com o intuito de se obter o valor FPUVA, primeiramente calculou-se o coeficiente de ajuste "C", como mostrado na Equação 4, utilizando-se o FPS rotulado, calculado previamente pelo software UV-2000.

$$FPS_{in vitro, adj} = FPS_{rotulado} = \frac{\int_{\lambda=290 nm}^{\lambda=400 nm} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290 nm}^{\lambda=400 nm} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda) \times C} \times d\lambda} \quad \text{Equação 4}$$

Utilizando o valor de "C", foi calculado o FPUVA inicial, através da Equação 5, e a dose de irradiação ultravioleta "D", foi calculada através da Equação 6.

$$FPUVA_0 = \frac{\int_{\lambda=320 nm}^{\lambda=400 nm} P(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290 nm}^{\lambda=400 nm} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda) \times C} \times d\lambda} \quad \text{Equação 5}$$

$$D = FPUVA_0 \times D_0 \quad \text{Equação 6}$$

Na qual:

D_0 é a dose de radiação UVA ($1,2 \text{ J cm}^{-2}$) e $P(\lambda)$ é o espectro de ação PPD padronizados pela COLIPA (COLIPA, 2009).

As placas foram inseridas na fonte de irradiação UV (simulador solar Suntest™, CPS+, Atlas, EUA), a temperatura da câmara de irradiação foi mantida abaixo de 40°C e, em seguida, expostas à dose D de UV calculada. Depois disso, novas medições de absorvância foram realizadas para os protetores solares, para a aquisição do segundo espectro de UV. O FPUVA final foi então calculado de acordo com a Equação 7. Se o coeficiente de variação (CV) entre os espectros FPUVA da mesma placa tivesse sido superior a 20%, mais placas eram medidas até que o valor limite de CV fosse alcançado.

$$\text{FPUVA} = \frac{\int_{\lambda=320 \text{ nm}}^{\lambda=400 \text{ nm}} P(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290 \text{ nm}}^{\lambda=400 \text{ nm}} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A(\lambda) \times C} \times d\lambda} \quad \text{Equação 7}$$

Na qual:

$A(\lambda)$ é a absorvância monocromática média do produto após a irradiação UV.

Para o cálculo do comprimento de onda crítico (λ_c), uma série de valores de absorvância foram calculados para cada uma das três placas separadamente nas quais foram aplicados cada um dos compostos sintéticos. A absorvância de cada incremento do comprimento de onda A_λ foi calculada usando a Equação 8 e o λ_c usando a Equação 9.

$$\int_{290 \text{ nm}}^{\lambda_c} A_\lambda \times d\lambda = 0.9 \int_{290 \text{ nm}}^{400 \text{ nm}} A_\lambda \times d\lambda \quad \text{Equação 8}$$

$$A_\lambda = \log \left(\frac{C_\lambda}{P_\lambda} \right) \quad \text{Equação 9}$$

Na qual:

$$C_\lambda = \sqrt[n]{(C_\lambda[1] \times C_\lambda[2] \times \dots \times C_\lambda[n])} \quad \text{e} \quad P_\lambda = \sqrt[n]{(P_\lambda[1] \times P_\lambda[2] \times \dots \times P_\lambda[n])}$$

Finalmente, a razão UVA/UVB foi calculada como a razão entre o FPUVA final e o FPS rotulado.

A verificação da validade dos resultados foi obtida utilizando o *Cosmetics Europe Reference Sunscreen S2* (FPS determinado = $18 \pm 1,5$, FPUVA = $12 \pm 1,1$, $\lambda_c = 381$ nm, e razão UVA/UVB = 0,88). Todos os resultados foram expressos como a média de 27 determinações (3 placas, 9 leituras, cada uma em diferentes locais) para amostras contendo 15% de cada composto sintético avaliado.

6.3.2 Resultados e discussão

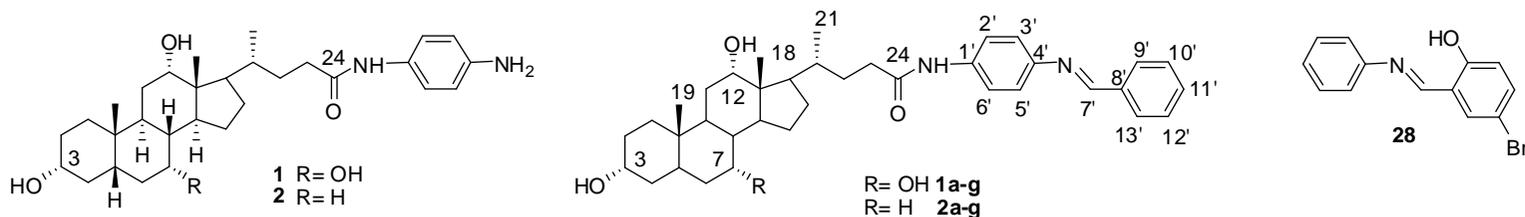
Os conjugados **1a-e** e **2a-e**, bem como suas amidas biliares precursoras (**1** e **2**) apresentaram um perfil de fotoproteção variado, com FPS variando de 2 a 9 e FPUVA de 2 a 11, como mostrado na Tabela 27. O FPS, ou seja, a proteção destes compostos contra os raios solares UVB foi semelhante, mas as atividades dos conjugados **2c**, **2e** e **2g** foram mais significativas do que a do resveratrol e a da base de Schiff livre, **c**. Isto demonstra que a presença dos grupos hidroxila, brometo e nitro no anel terminal podem ser vistos como influências positivas para os satisfatórios valores de FPS. Por outro lado, em relação aos seus respectivos derivados do ácido cólico, compostos **1c**, **1e** e **1g**, apenas o conjugado **1c** apresentou um FPS satisfatório. **1a** e **1e** apresentaram os menores valores de FPS. No entanto, uma vez que os conjugados **1c** e **1f** apresentaram fotoproteção semelhante a do resveratrol e superior a da base de Schiff **28**, a presença destes grupos funcionais mencionados é, de fato, relevante para a proteção contra os raios UVA. É importante ressaltar ainda que todos os conjugados sintetizados são melhores fotoprotetores que suas amidas biliares precursoras, o que sugere que a porção base de Schiff influencia positivamente na atividade fotoprotetora.

Quanto à determinação dos valores de FPUVA, os conjugados **1b-d**, **1f**, **2b**, **2c**, **2e** e **2g** apresentaram proteção muito semelhante entre si contra os raios UVA e, a conjugação levou a uma melhoria significativa da atividade neste intervalo do espectro solar, uma vez que o FPUVA aumentou de 2 no resveratrol e 5 na base de Schiff **28** para 5-11 nos conjugados citados. Além disso, todos os conjugados foram igualmente ou, pelo menos, duas vezes mais ativos que o resveratrol, apesar de alguns deles permanecerem com o mesmo FPUVA da base de Schiff. Isto é de enorme importância, se consideramos que os raios UVA são conhecidos por desempenharem um papel influente no desenvolvimento do câncer de pele.

Em relação à determinação do comprimento de onda crítico, tanto os conjugados quanto as amidas precursoras são considerados fotoprotetores adequados, pois todos esses compostos sintéticos apresentaram valores de λ_c maior que 370 nm.

De acordo com a Tabela 26, de sistema *Boots Star Rating*, os conjugados **1b-f**, **2b-f** e **2g** são, portanto, 5 estrelas; **1g** e **2f** são 4 estrelas; **2a** é 3 estrelas e, por fim, as amidas precursoras **1** e **2**, bem como o conjugado **1a**, não recebem estrelas.

Tabela 27 - Resultados de fotoproteção dos conjugados **1a-e** e **2a-e** e das amidas biliares precursoras



(continua)

<i>Composto</i>	<i>Estrutura química</i>	<i>FPS^a</i>	<i>FPUVA^b</i>	<i>λ_c (nm)</i>	<i>Razão UVA/UVB inicial</i>	<i>Razão UVA/UVB após exposição</i>
1	-	3 ± 0,1	6 ± 0,6	377	0,31	0,30
1a	R=OH, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	2 ± 0,1	2 ± 0,1	383	0,48	0,48
1b	R=OH, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	5 ± 0,4	5 ± 0,2	389	1,01	1,01
1c	R=OH, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'= 13'=H	7 ± 0,9	11 ± 0,6	388	1,17	1,16
1d	R=OH, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	5 ± 0,5	5 ± 0,3	389	1,09	1,08
1e	R=OH, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'= 13'=H	2 ± 0,1	2 ± 0,1	387	1,07	1,06
1f	R=OH, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	5 ± 0,6	5 ± 0,1	389	0,89	0,90
1g	R=OH, 9'= NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	3 ± 0,2	4 ± 0,3	388	0,87	0,87
2	-	2 ± 0,4	5 ± 0,6	383	0,43	0,41
2a	R=H, 9'=CO ₂ H, 10'=11'=12'=13'=H	3 ± 0,2	4 ± 0,5	385	0,65	0,62
2b	R=H, 11'=CO ₂ H, 9'=10'=12'=13'=H	5 ± 0,4	5 ± 0,6	389	1,04	1,02
2c	R=H, 9'=OH, 12'=Br, 10'=11'= 13'=H	9 ± 1,6	11 ± 1,1	388	1,11	1,09
2d	R=H, 11'=N(CH ₃) ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	2 ± 0,1	2 ± 0,1	389	1,02	1,02

(conclusão)

<i>Composto</i>	<i>Estrutura química</i>	<i>FPS^a</i>	<i>FPUVA^b</i>	<i>λ_c (nm)</i>	<i>Razão UVA/UVB inicial</i>	<i>Razão UVA/UVB após exposição</i>
2e	R=H, 9'=OH, 11'=OH, 10'=12'= 13'=H	8 ± 0,8	8 ± 0,7	388	1,00	1,00
2f	R=H, 11'=NO ₂ , 9'=10'=12'=13'=H	3 ± 0,2	4 ± 0,3	389	0,89	0,86
2g	R=H, 9'= NO ₂ , 10'=11'=12'=13'=H	8 ± 0,3	7 ± 0,2	389	0,94	0,93
28	-	3 ± 0,5	5 ± 0,5	387	1,10	1,11
Resveratrol		7 ± 1,7	2 ± 0,2	362	0,44	0,46

^a FPS: Fator de Proteção Solar (UVB)/ ^b FPUVA: Fator de Proteção UVA/ ^c Comprimento de Onda Crítico. Fonte: ELABORADA PELA PRÓPRIA AUTORA

7 PARTE EXPERIMENTAL

7.1 MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS

Para a determinação das faixas de fusão dos compostos sintetizados utilizou-se um aparelho digital modelo MQAPF-301-Microquímica no Departamento de Química, ICE, UFJF.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram registrados em espectrômetro BOMEM-FTIR MB-102 ou no espectrômetro BRUKER ALPHA FT IR no Departamento de Química, ICE, UFJF.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , bem como os espectros de RMN em 2D foram obtidos em espectrômetro BRUKER AVANCE DRX300 (300MHz) ou no BRUKER AVANCE DRX300 HD 500 no Departamento de Química, ICE, UFJF. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm e referenciados pelo TMS ($\delta = 0$ ppm).

Os dados de análise elementar foram obtidos no Analisador modelo Perkin-Elmer 2400 CHN na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Os espectros de massas de alta resolução (LC-MS) foram obtidos no Espectrômetro MICROTOF – Bruker Daltonics na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Para cromatografia em camada delgada de sílica utilizou-se sílica-gel 60G MERK contendo revelador fluoresceína para U.V. disposta em lâminas de vidro ou placas comerciais de TLC contendo indicador de fluorescência F₂₅₄.

Para cromatografia em coluna de sílica utilizou-se sílica-gel 60G 0,063-0,200mm (70-230 mesh ASTM) MERK.

Como reveladores para cromatografia em camada delgada foram utilizados solução etanólica de H₂SO₄ a 20% v/v (seguida de aquecimento) e lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254$ nm).

Nos procedimentos de purificação por extração, recristalização ou coluna cromatográfica, foram utilizados solventes P.A. VETEC ou QUIMIS.

Foram utilizados reagentes de diferentes procedências, principalmente Vetec, Merk, Aldrich e Fluka.

Obs.: A numeração nas estruturas dos compostos obtidos neste trabalho foi adotada por questões didáticas e não corresponde com a numeração usada para a nomenclatura.

7.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTÉTICOS

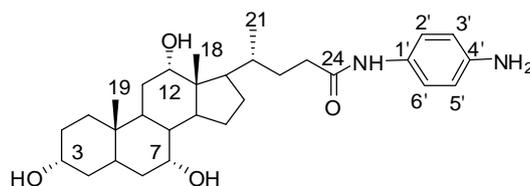
7.2.1 Preparação dos conjugados esteroides/bases de Schiff

7.2.1.1 Via formação de amida em C-24 dos ácidos cólico e desoxicólico

7.2.1.1.1 Preparação das amidas biliares **1** e **2**

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, solubilizou-se 4,89 mmol de um ácido biliar (cólico ou desoxicólico) em 30 mL de tetra-hidrofurano (THF). A seguir, adicionou-se 4,89 mmol de 1,4-diaminobenzeno e 5,07 mmol de dicitclohexilcarbodiimida (DCC) à mistura reacional, que foi então mantida a temperatura ambiente e agitação constante por 24 h. Após este intervalo de tempo, verificou-se por cromatografia em camada delgada (CCD) a formação da amida biliar desejada. Prosseguiu-se com a adição de acetato de etila para precipitação do subproduto dicitclohexilureia (DCU), filtração simples deste subproduto e evaporação da fase orgânica com auxílio de um rotaevaporador. O sólido obtido foi então submetido à purificação em coluna cromatográfica utilizando-se como eluente uma mistura dos solventes CH₂Cl₂ e MeOH, sendo a amida biliar **1** obtida nas frações de gradiente 90:10 e a amida biliar **2** nas de gradiente 95:05.

Nomenclatura: *N*-(4-aminofenil)-4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **1**



F.M.: C₃₀H₄₆N₂O₄ / **M.M.:** 498,35 g.mol⁻¹

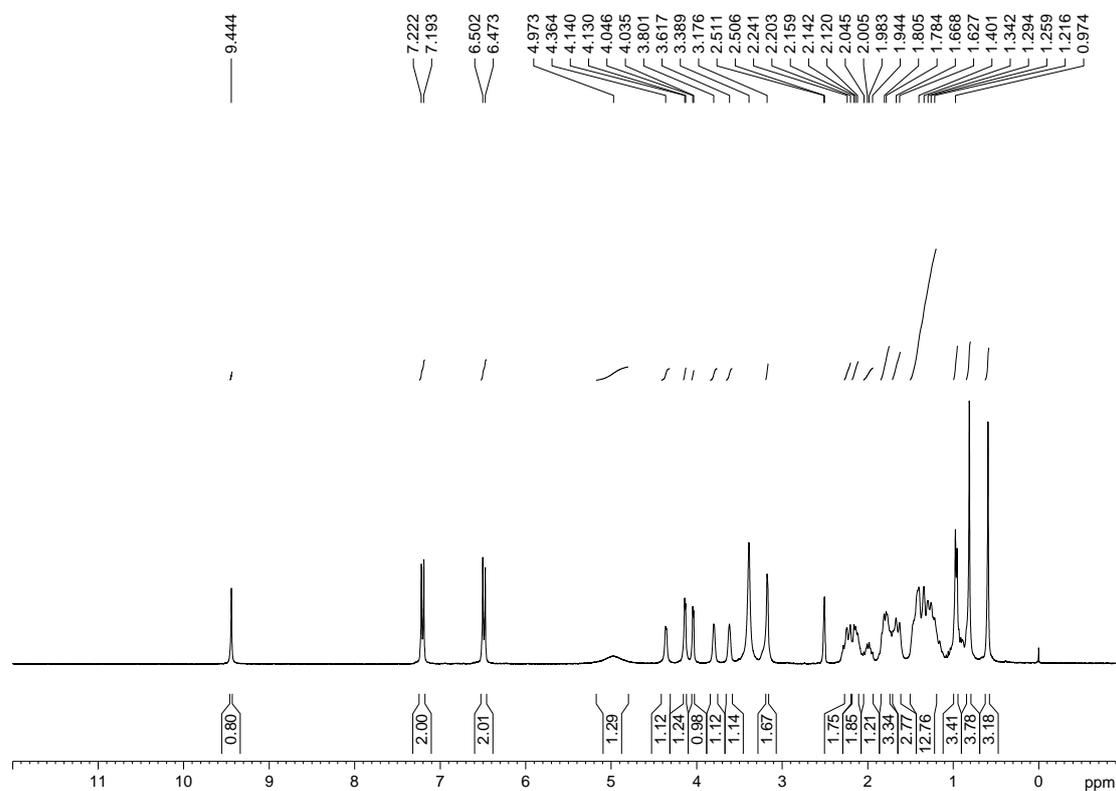
Característica física: sólido cinza

F.F. (experimental): 157,8-158,3 °C

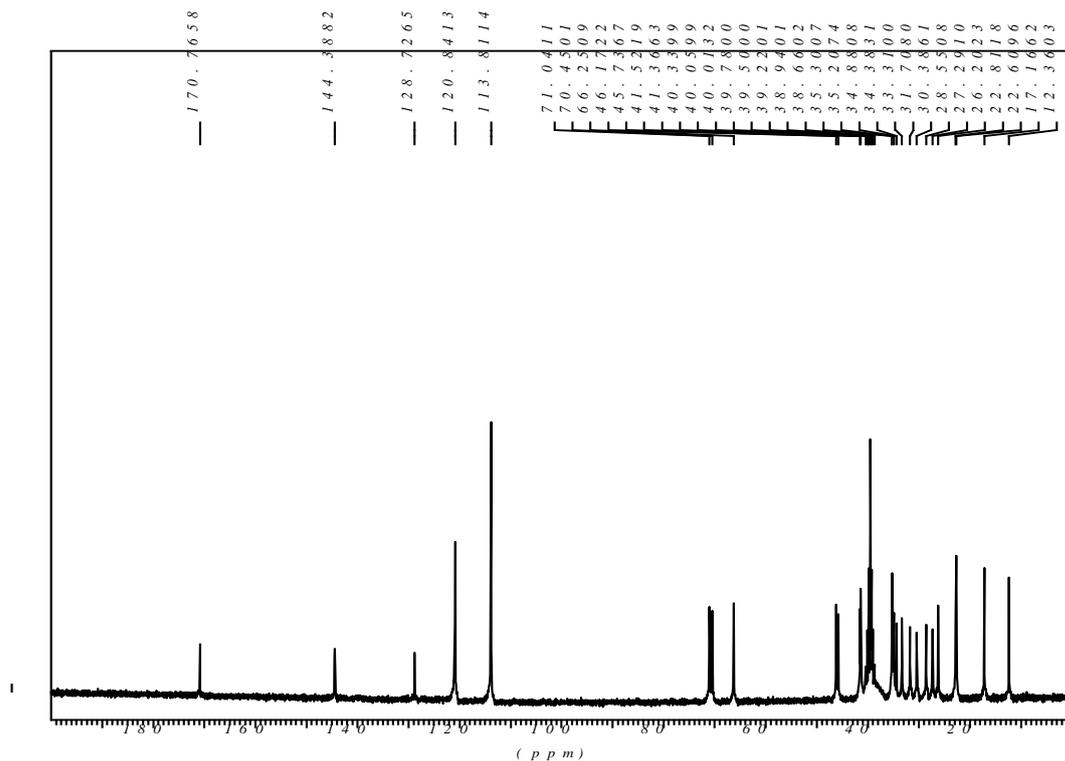
Rf (CCD): 0,66 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 41%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,59 (s, 3H, 18-CH₃); 0,81 (s, 3H, 19-CH₃); 0,97 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 6,0); 1,22-2,04 (m, 22H, CH₂ e CH esqueleto); 2,16 (m, 2H, 23-CH₂); 3,17 (sl, 1H, H-3β); 3,62 (sl, 1H, H-7β); 3,80 (sl, 1H, H-12β); 4,04 (d, 1H, 7-OH, *J* = 3,3); 4,13 (d, 1H, 12-OH, *J* = 3,0); 4,36 (sl, 1H, 3-OH); 4,97 (sl, 2H, -NH₂); 6,48 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 8,7); 7,21 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 8,7); 9,44 (s, 1H, -NH).



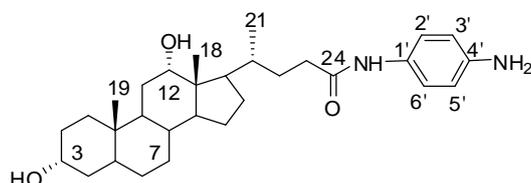
RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 12,4 (C-18); 17,2 (C-21); 22,6 (C-19); 22,8-46,2 (CH₂ e CH esqueleto); 66,2 (C-7); 70,4 (C-3); 71,0 (C-12); 113,8 (C-3' e C-5'); 120,8 (C-2' e C-6'); 128,7 (C-1'); 144,4 (C-4'); 170,8 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3406 (ν O-H e ν N-H), 2935, 2866 (ν C-H), 1654 (ν C=O amida), 1541, 1515 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_4$) requer m/z 499,3536, encontrado m/z 499,3550.

Nomenclatura: *N*-(4-aminofenil)-4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **2**



F.M.: $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_3$ / **M.M.:** 482,35 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

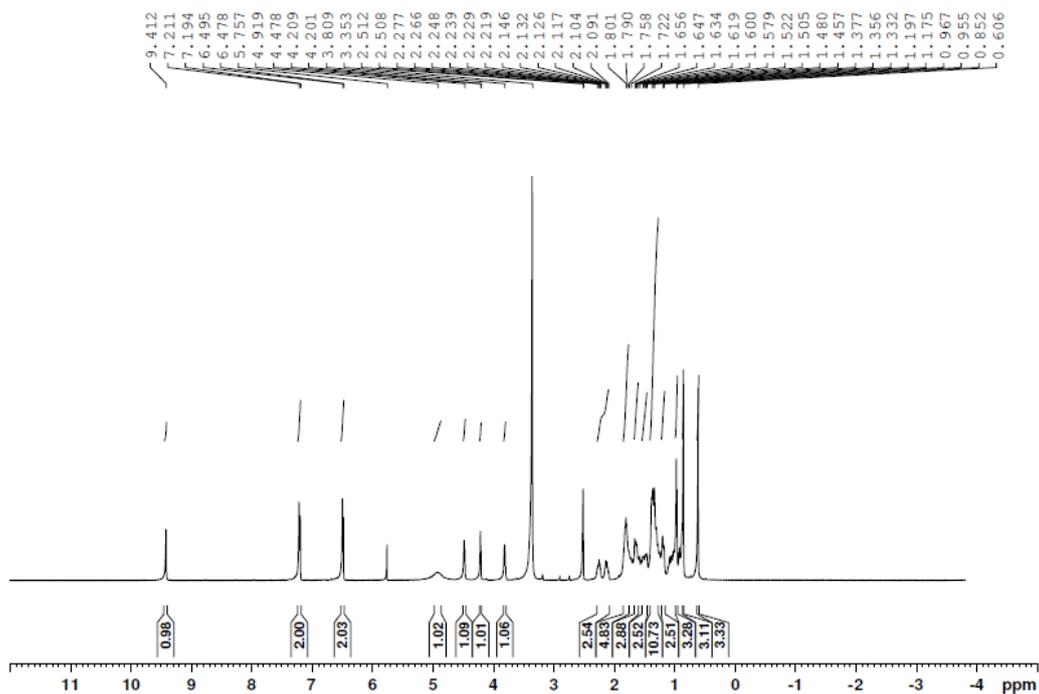
Característica física: sólido rosa seco

F.F. (experimental): 134,4-136,0 $^{\circ}\text{C}$

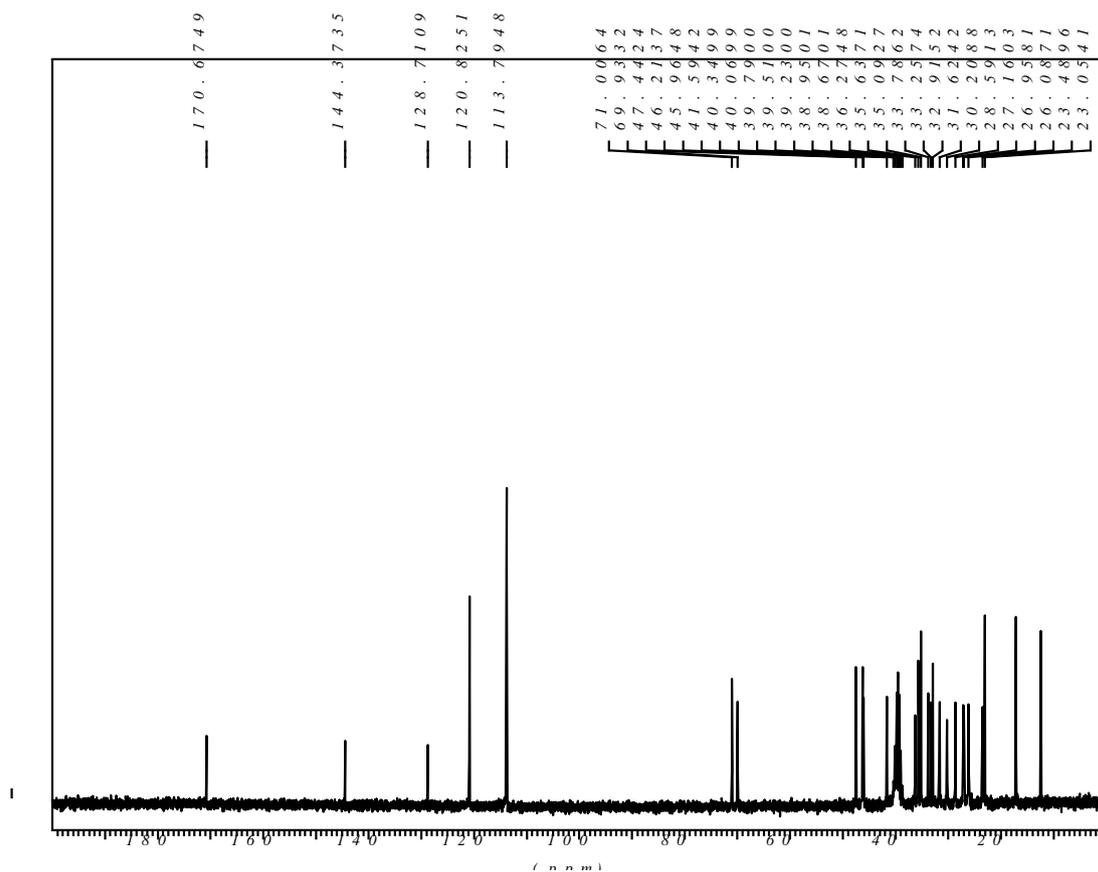
R_f (CCD): 0,47 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 44%

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,61 (s, 3H, 18- CH_3); 0,85 (s, 3H, 19- CH_3); 0,96 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 6,0$); 1,17-1,80 (m, 23H, CH_2 e CH esqueleto); 2,18 (m, 2H, 23- CH_2); 3,80 (s, 1H, H-12 β); 4,20 (d, 1H, 12-OH, $J = 4,0$); 4,48 (s, 1H, 3-OH); 4,92 (sl, 2H, $-\text{NH}_2$); 6,49 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,5$); 7,20 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,5$); 9,41 (s, 1H, $-\text{NH}$).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,0 (C-18); 17,0 (C-21); 23,0 (C-19); 26,9-46,2 (CH_2 e CH esqueleto); 47,4 (C-7); 69,9 (C-3); 71,0 (C-12); 113,8 (C-3' e C-5'); 120,8 (C-2' e C-6'); 128,7 (C-1'); 144,4 (C-4'); 170,7 (C-24).



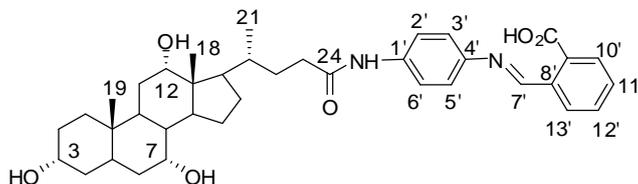
I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3433, 3398 (ν O-H e ν N-H), 2933, 2864 (ν C-H), 1650 (ν C=O amida), 1515, 1512 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_3$) requer m/z 483,3587, encontrado m/z 483,3618.

7.2.1.1.2 Procedimento geral de preparação dos conjugados **1a-e** e **2a-e**

Em um balão de 25,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se 0,100 g da amida biliar (0,20 mmol da amida **1** ou 0,21 mmol da amida **2**) em 3,0 mL de metanol e em seguida, sob agitação constante, adicionou-se 1 eq. molar de um aldeído aromático. A mistura permaneceu sob agitação e à temperatura ambiente e após um determinado intervalo de tempo (o qual variou de 5 min. a 10 h) observou-se a formação de um precipitado. O meio reacional foi então filtrado e o precipitado foi lavado com metanol e seco na estufa. Todos os compostos desta classe foram obtidos como sólidos coloridos.

Nomenclatura: ácido-2-(4-(4-(4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamido)fenilimino)metil)benzóico **1a**



F.M.: C₃₈H₅₀N₂O₆ / **M.M.:** 630,81 g.mol⁻¹

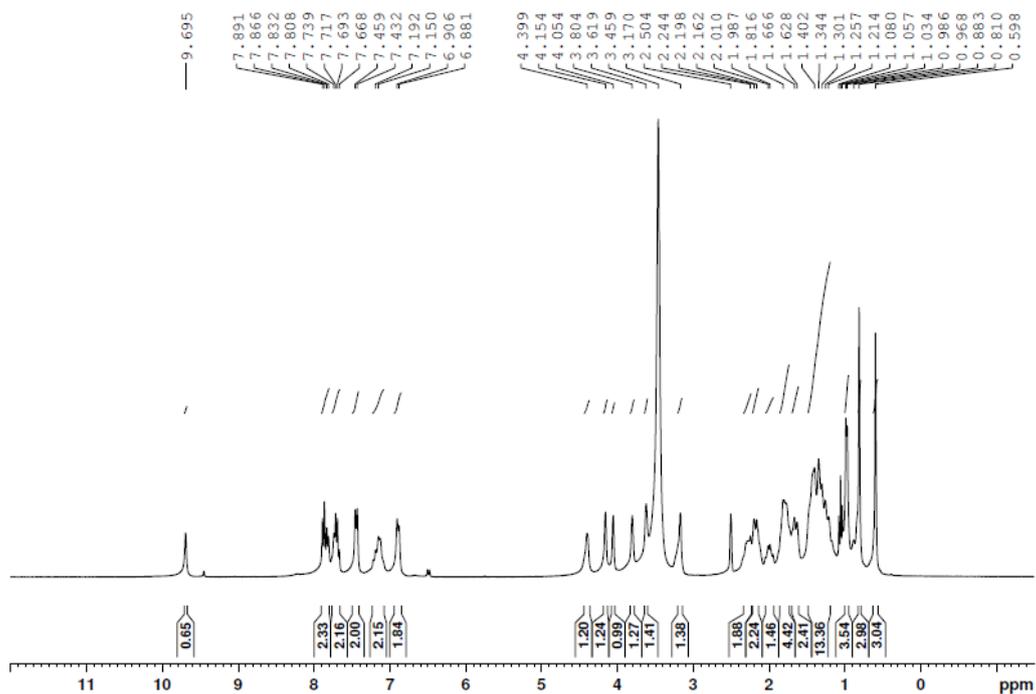
Característica física: sólido bege

F.F. (experimental): 175,5-177,0 °C

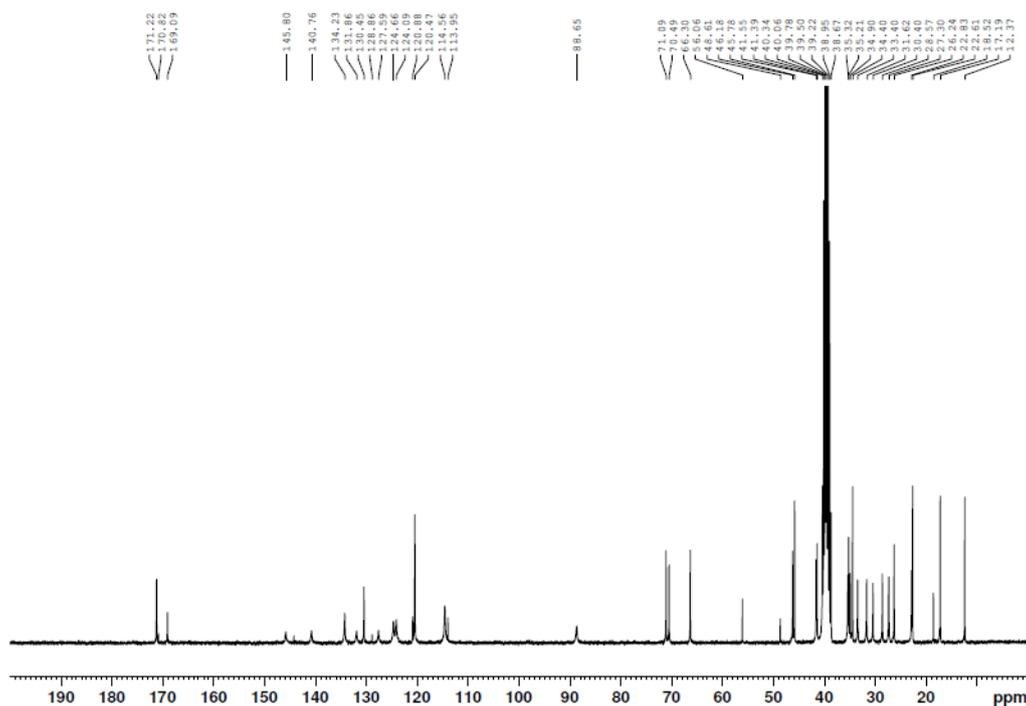
Rf (CCD): 0,61 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 100%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,59 (s, 3H, 18-CH₃); 0,81 (s, 3H, 19-CH₃); 0,98 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 5,4); 1,21-2,24 (m, 24H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 3,17 (sl, 1H, H-3 β); 3,62 (sl, 1H, H-7 β); 3,80 (sl, 1H, H-12 β); 4,05 (sl, 1H, 7-OH); 4,15 (sl, 1H, 12-OH); 4,40 (sl, 1H, 3-OH); 6,89 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 7,5); 7,15-7,19 (m, 2H, H-7' e -COOH); 7,44 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 8,1); 7,67-7,74 e 7,81-7,89 (m, 4H, H-10', H-11', H-12' e H-13'); 9,69 (s, 1H, -NH).



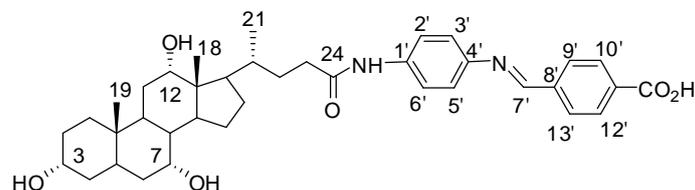
RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,4 (C-18); 17,2 (C-21); 22,6 (C-19); 22,8-56,1 (CH_2 e CH esqueleto); 66,3 (C-7); 70,5 (C-3); 71,1 (C-12); 114,5 (C-2' e C-6'); 120,5 (C-3' e C-5'); 124,1 (C-12'); 124,7 (C-13'); 131,9 (C-11'); 132,0 (C-9'); 134,2 (C-10'); 140,8 (C-8'); 144,5 (C-1'); 145,8 (C-4'); 169,1 (C-7'); 171,2 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3348 (ν O-H e ν N-H), 2931, 2860 (ν C-H), 1747 (ν C=O ácido), 1660 (ν C=O amida), 1616 (ν C=N), 1523 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{38}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_6$) requer m/z 631,3747, encontrado m/z 631,3750.

Nomenclatura: ácido-4-(4-(4-(4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamido)fenilimino)metil)benzóico **1b**



F.M.: $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_6$ / **M.M.:** 630,81 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

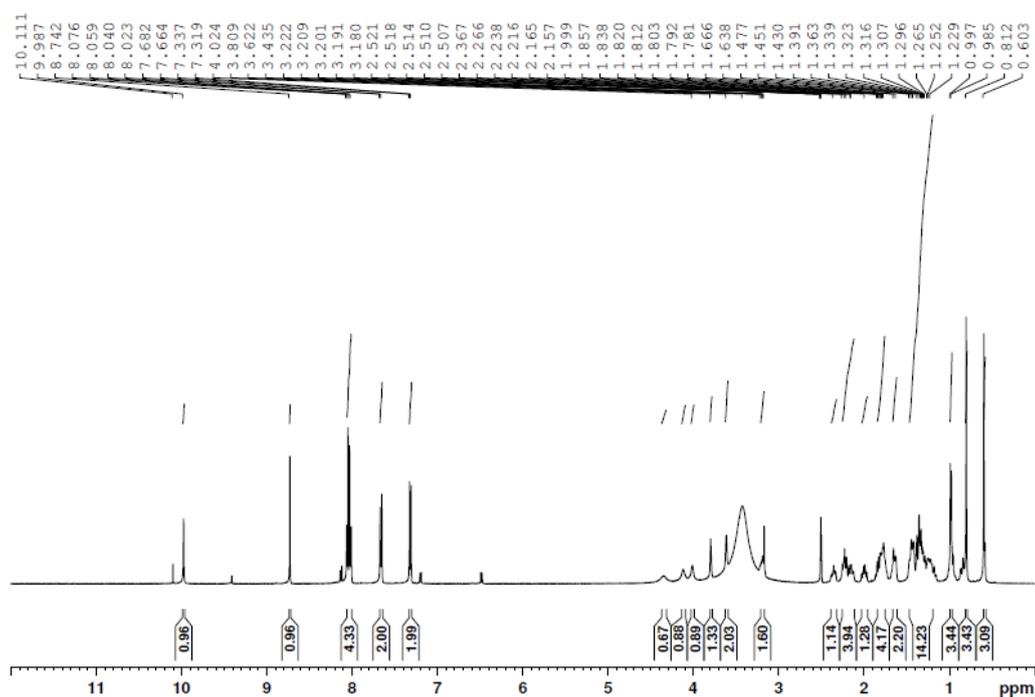
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 338,0-339,5 $^{\circ}\text{C}$

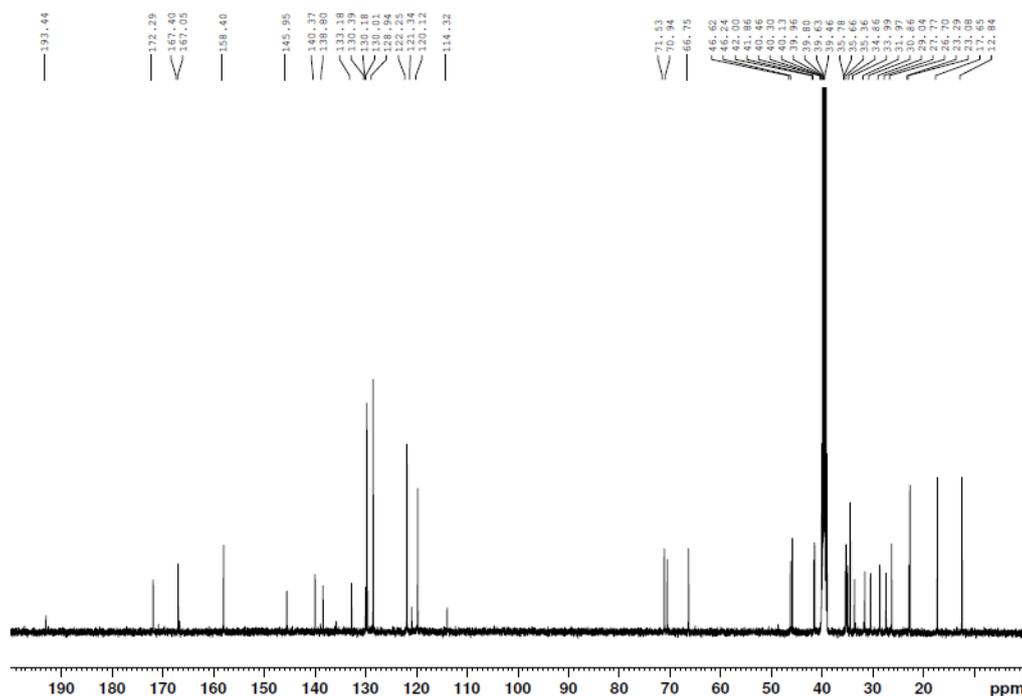
R_f (CCD): 0,41 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 71%

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,60 (s, 3H, 18- CH_3); 0,81 (s, 3H, 19- CH_3); 0,99 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 6,0$); 1,23-2,37 (m, 24H, CH_2 e CH esqueleto e 23- CH_2); 3,20 (sl, 1H, H-3 β); 3,62 (sl, 1H, H-7 β); 3,81 (sl, 1H, H-12 β); 4,02 (sl, 1H, 7-OH); 4,13 (sl, 1H, 12-OH); 4,34 (sl, 1H, 3-OH); 7,33 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 9,0$); 7,67 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 9,0$); 8,02-8,08 (m, 4H, H-9', H-10', H-12' e H-13'); 8,74 (s, 1H, H-7'); 9,99 (s, 1H, -NH).



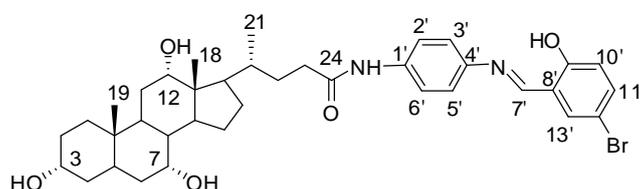
RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,8 (C-18); 17,6 (C-21); 23,1 (C-19); 23,3-46,6 (CH_2 e CH esqueleto); 66,7 (C-7); 70,9 (C-3); 71,5 (C-12); 120,1 (C-2' e C-6'); 122,2 (C-3' e C-5'); 128,9 (C-9' e C-13'); 130,2 (C-10' e C-12'); 133,2 (C-11'); 138,8 (C-1'); 140,4 (C-8'); 145,9 (C-4'); 158,4 (C-7'); 167,4 (COOH); 172,3 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3350 (ν O-H e ν N-H), 2921, 2867 (ν C-H), 1699 (ν C=O ácido), 1672 (ν C=O amida), 1598 (ν C=N), 1537, 1510 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{38}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_6$) requer m/z 631,3747, encontrado m/z 631,3747.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(5-bromo-2-hidroxibenzilidenoamino)fenil)-4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **1c**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{BrN}_2\text{O}_5$ / **M.M.:** 681,70 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

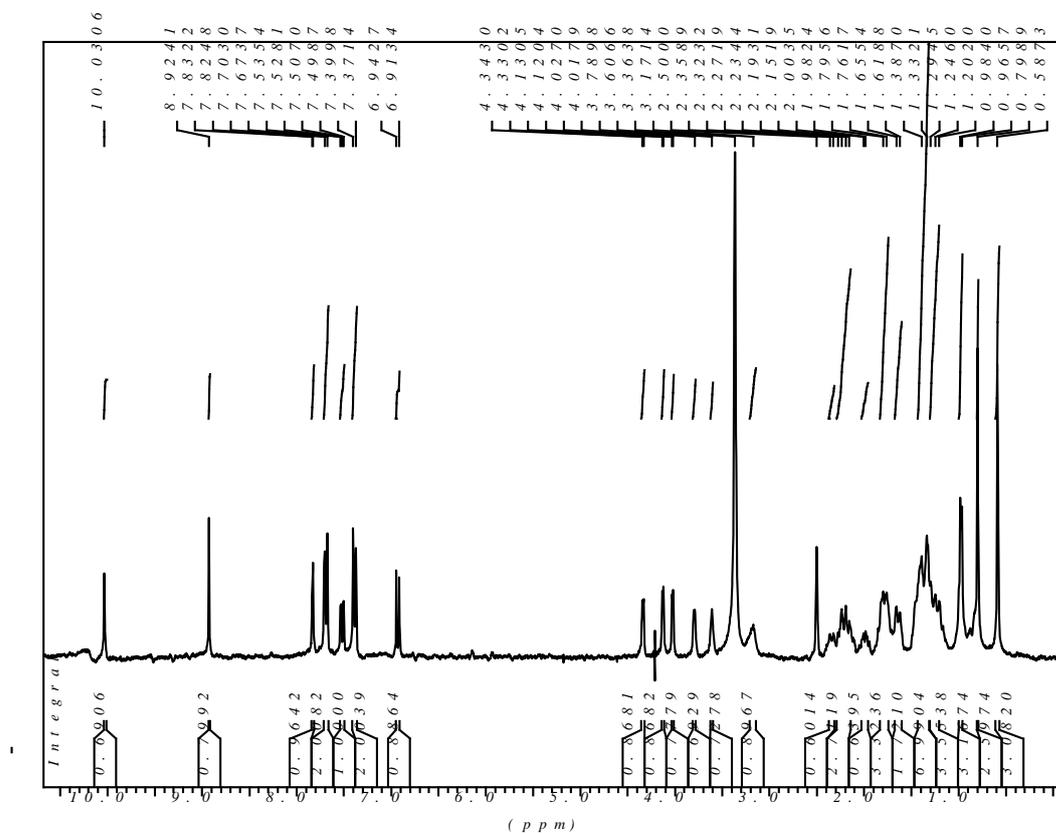
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 301,5-303,0 $^{\circ}\text{C}$

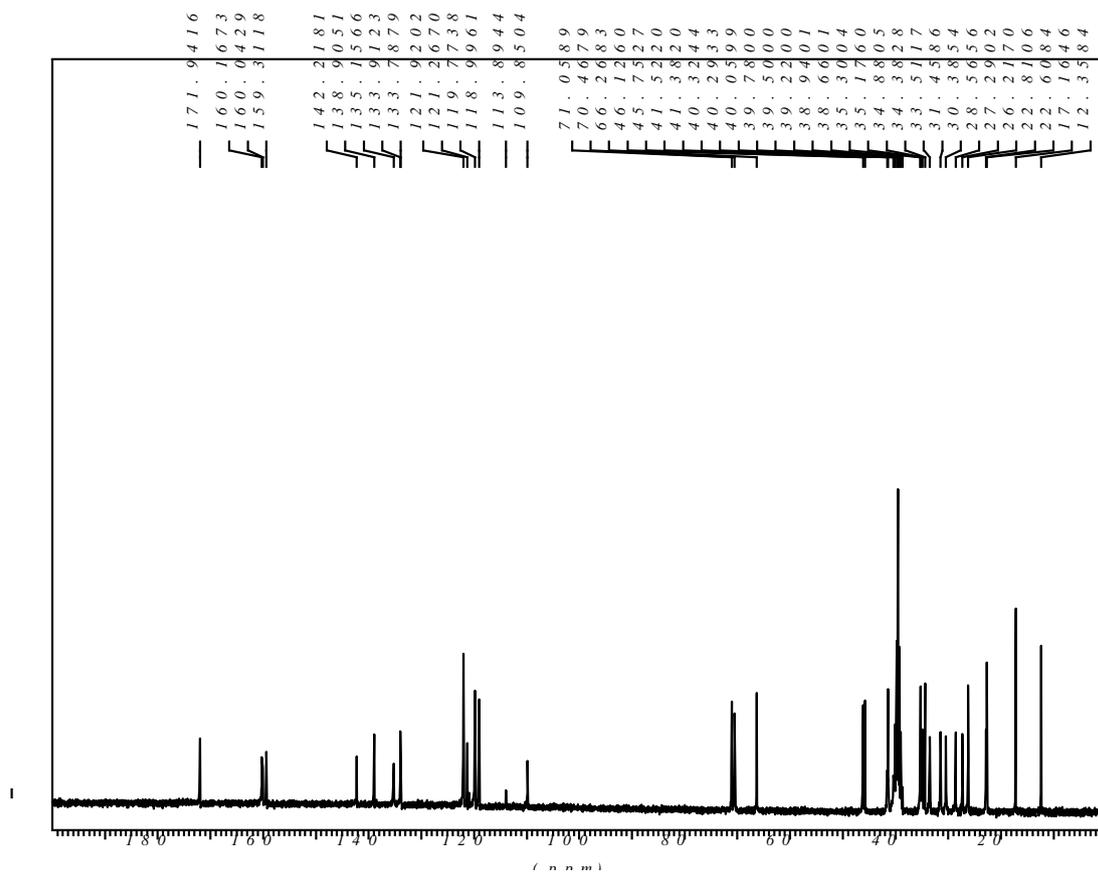
Rf (CCD): 0,67 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 66%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,59 (s, 3H, 18- CH_3); 0,80 (s, 3H, 19- CH_3); 0,97 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 5,5$); 1,20-2,36 (m, 24H, CH_2 e CH esqueleto e 23- CH_2); 3,17 (sl, 1H, H-3 β); 3,60 (sl, 1H, H-7 β); 3,79 (sl, 1H, H-12 β); 4,01 (d, 1H, 7-OH, $J = 2,7$); 4,12 (d, 1H, 12-OH, $J = 3,0$); 4,34 (d, 1H, 3-OH, $J = 3,8$); 6,93 (d, 1H, H-10', $J = 8,8$); 7,38 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,5$); 7,52 (dd, 1H, H-11', $J = 8,6$, $J = 2,7$); 7,68 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,8$); 7,83 (d, 1H, H-13', $J = 2,2$); 8,92 (s, 1H, H-7'); 10,03 (s, 1H, -NH).



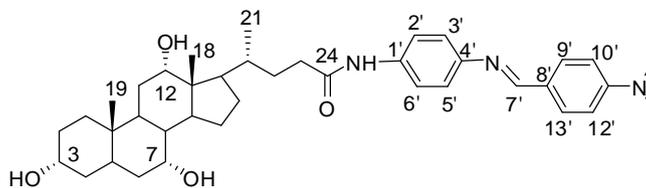
RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,3 (C-18); 17,2 (C-21); 22,6 (C-19); 22,8-46,1 (CH_2 e CH esqueleto); 66,3 (C-7); 70,5 (C-3); 71,0 (C-12); 109,8 (C-12'); 119,0 (C-10'); 119,8 (C-8'); 121,3 (C-2' e C-6'); 121,9 (C-3' e C-5'); 133,8 (C-13'); 135,1 (C-11'); 138,9 (C-1'); 142,1 (C-4'); 159,3 (C-7'); 160,1(C-9'); 171,9 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3456 (ν O-H), 3317 (ν N-H), 2925, 2866 (ν C-H), 1644 (ν C=O amida), 1600 (ν C=N), 1539, 1508 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{BrN}_2\text{O}_5$) requer m/z 681,2903, encontrado m/z 681,2941.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(4-(dimetilamino)benzilidenoamino)fenil)-4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **1d**



F.M.: $\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_4$ / **M.M.:** 629,87 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

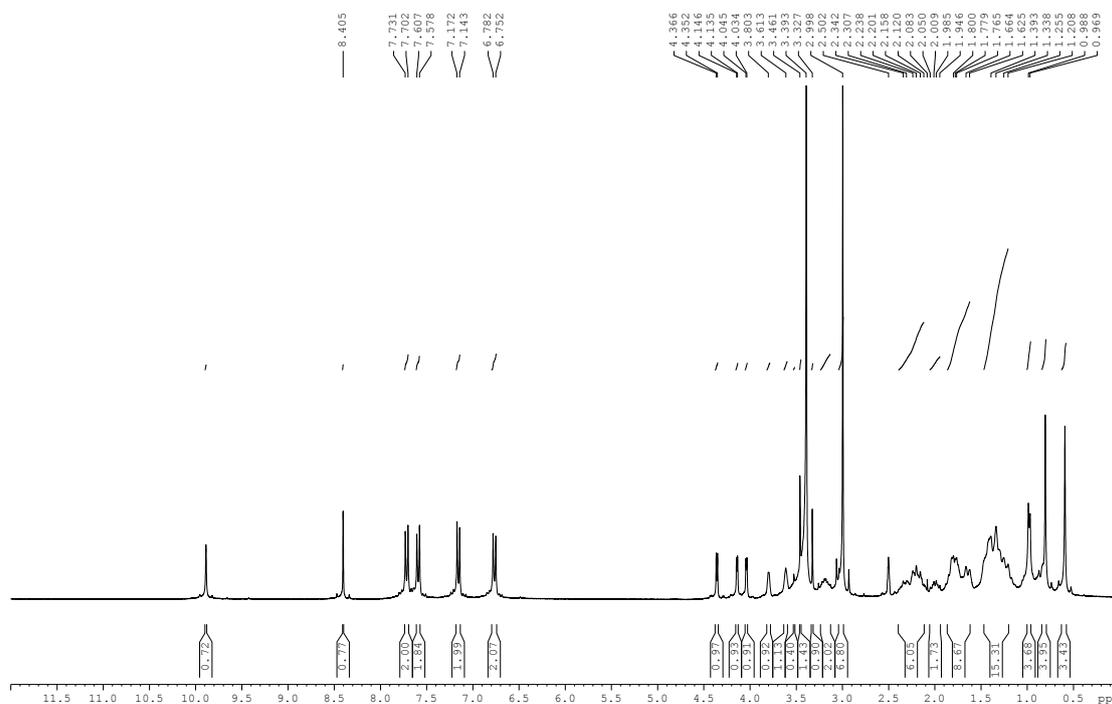
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 268,4-269,3 $^{\circ}\text{C}$

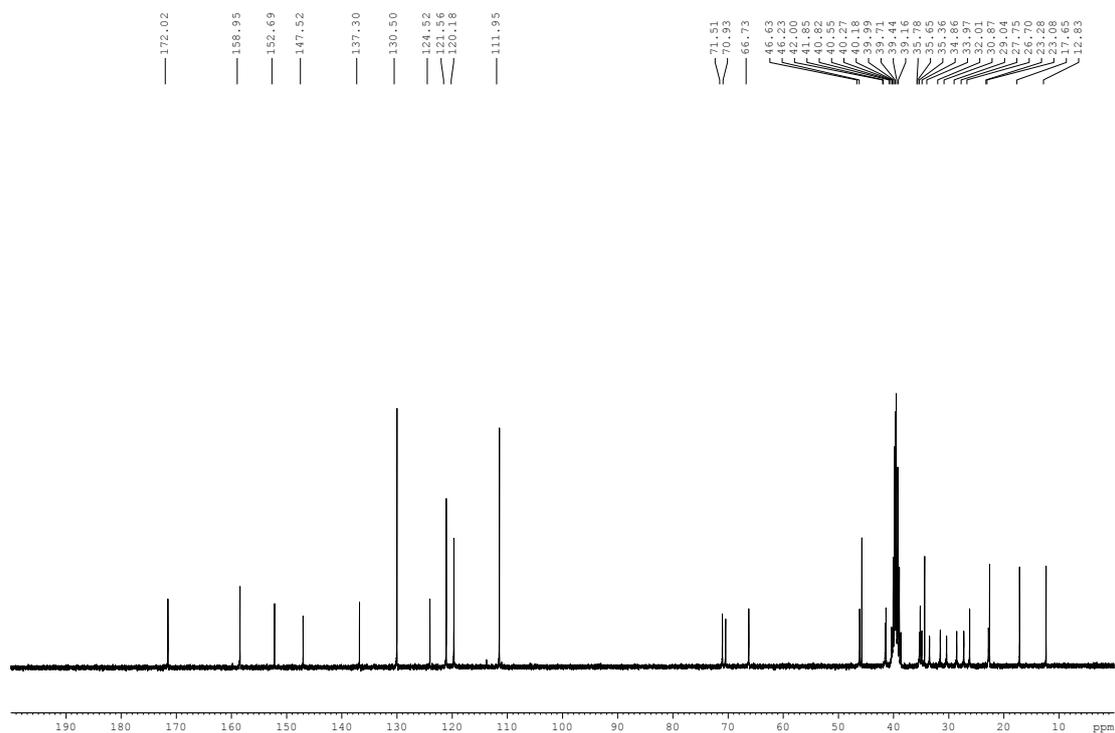
Rf (CCD): 0,61 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 79%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,59 (s, 3H, 18-CH₃); 0,80 (s, 3H, 19-CH₃); 0,98 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 5,7); 1,21-2,34 (m, 24H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 2,99 (s, 6H, N(CH₃)₂); 3,20 (sl, 1H, H-3β); 3,61 (sl, 1H, H-7β); 3,80 (sl, 1H, H-12β); 4,04 (d, 1H, 7-OH, *J* = 3,3); 4,14 (d, 1H, 12-OH, *J* = 3,3); 4,36 (d, 1H, 3-OH, *J* = 4,2); 6,77 (d, 2H, H-10' e H-12', *J* = 9,0); 7,16 (d, 2H, H-9' e H-13', *J* = 8,7); 7,59 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 8,7); 7,72 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 8,7); 8,40 (s, 1H, H-7'); 9,89 (s, 1H, -NH).



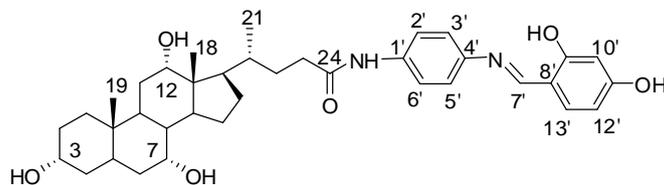
RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 12,8 (C-18); 17,6 (C-21); 23,1 (C-19); 23,3-46,6 (CH₂ e CH esqueleto); 66,7 (C-7); 70,9 (C-3); 71,5 (C-12); 111,9 (C-10' e C-12'); 120,2 (C-2' e C-6'); 121,6 (C-3' e C-5'); 124,5 (C-8'); 130,5 (C-9' e C-13'); 137,3 (C-1'); 147,5 (C-4'); 152,7 (C-11'); 158,9 (C-7'); 172,0 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3433 (ν O-H e ν N-H), 2933, 2866 (ν C-H), 1662 (ν C=O amida), 1608 (ν C=N), 1533, 1504 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{39}\text{H}_{56}\text{N}_3\text{O}_4$) requer m/z 630,4271, encontrado m/z 630,4296.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(2,4-di-hidroxibenzilidenoamino)fenil)-4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **1e**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_6$ / **M.M.:** 618,80 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

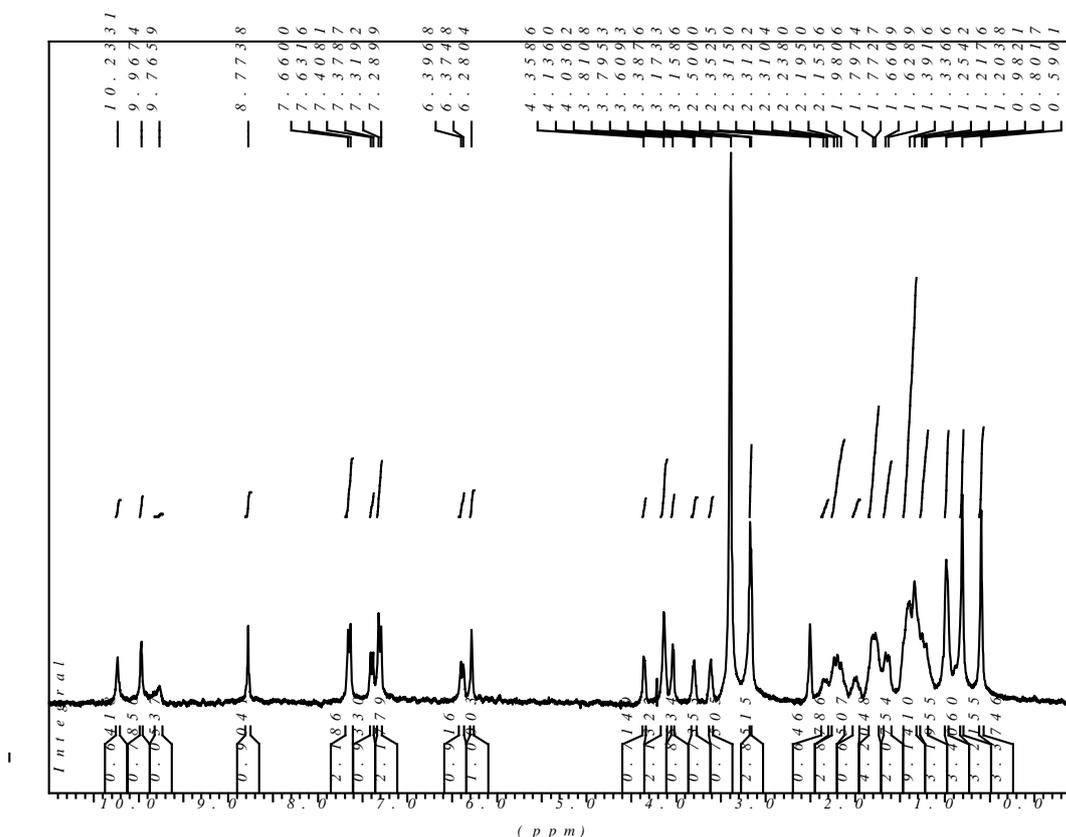
Característica física: sólido amarelo escuro

F.F. (experimental): 204,2-205,5 °C

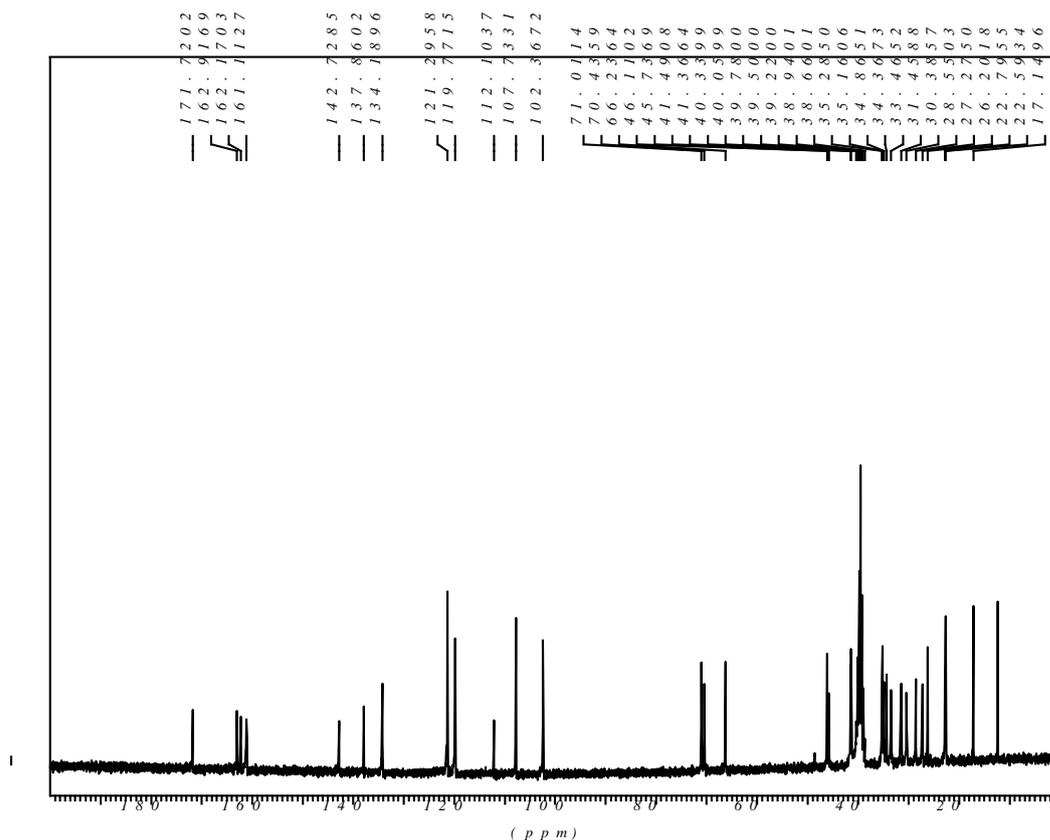
Rf (CCD): 0,48 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 80%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,59 (s, 3H, 18-CH₃); 0,80 (s, 3H, 19-CH₃); 0,98 (sl, 3H, 21-CH₃); 1,20-2,35 (m, 24H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 3,16 (sl, 1H, H-3β); 3,61 (sl, 1H, H-7β); 3,80 (sl, 1H, H-12β); 4,04 (sl, 1H, 7-OH); 4,14 (s, 2H, 12-OH e -OH aromático); 4,36 (s, 1H, 3-OH); 6,28 (s, 1H, H-10'); 6,38 (d, 1H, H-12', *J* = 6,6); 7,30 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 8,8); 7,39 (d, 1H, H-13', *J* = 8,8); 7,64 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 8,5); 8,77 (s, 1H, H-7'); 9,97 (s, 1H, -NH); 10,23 (s, 1H, -OH aromático).



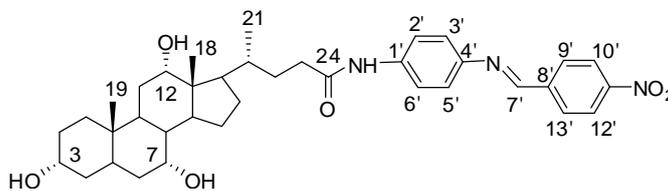
RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 12,5 (C-18); 17,1 (C-21); 22,6 (C-19); 22,8-46,1 (CH₂ e CH esqueleto); 66,2 (C-7); 70,4 (C-3); 71,0 (C-12); 102,4 (C-10'); 107,7 (C-12'); 112,1 (C-8'); 119,8 (C-2' e C-6'); 121,3 (C-3' e C-5'); 134,2 (C-13'); 137,9 (C-1'); 142,7 (C-4'); 161,1 (C-7'); 162,2 (C-11'); 162,9 (C-9'); 171,7 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3442 (ν O-H e ν N-H), 2921, 2866 (ν C-H), 1666 (ν C=O amida), 1616 (ν C=N), 1535 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_6$) requer m/z 619,3747, encontrado m/z 619,3765.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(4-nitrobenzilidenoamino)fenil)-4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **1f**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_6$ / **M.M.:** $631,80 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

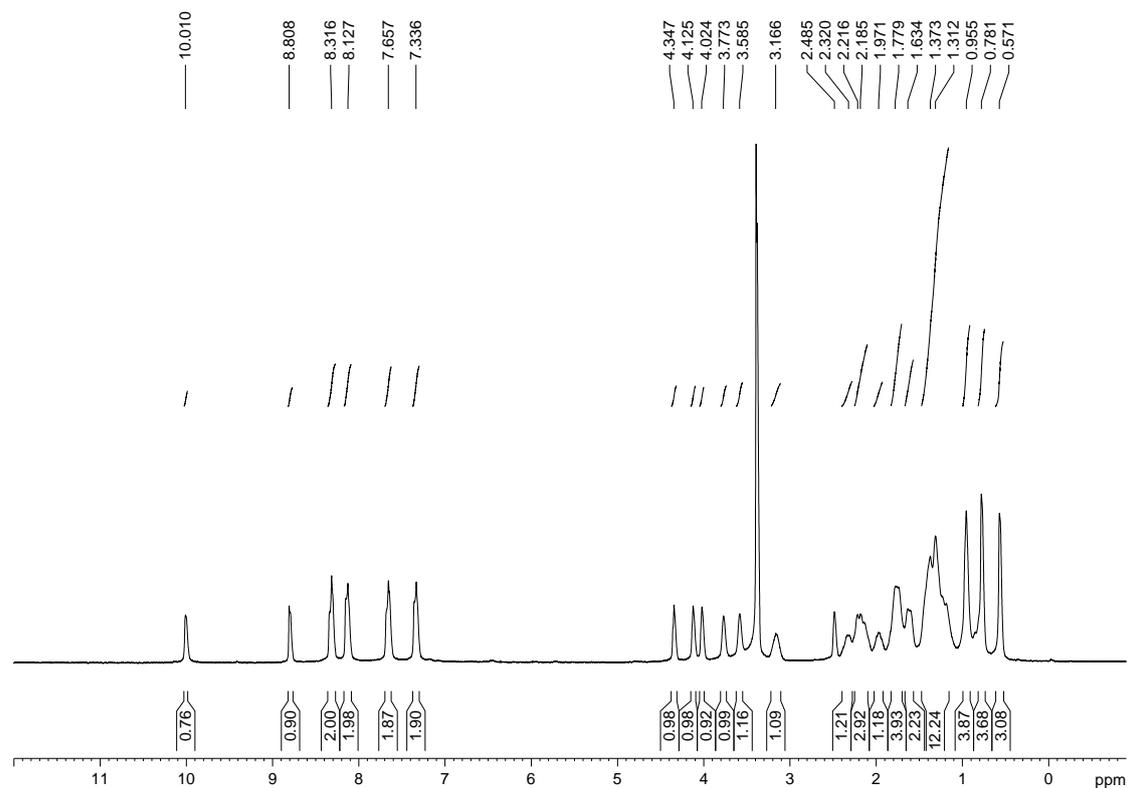
Característica física: sólido amarelo canário

F.F. (experimental): 223,5-224,3 °C

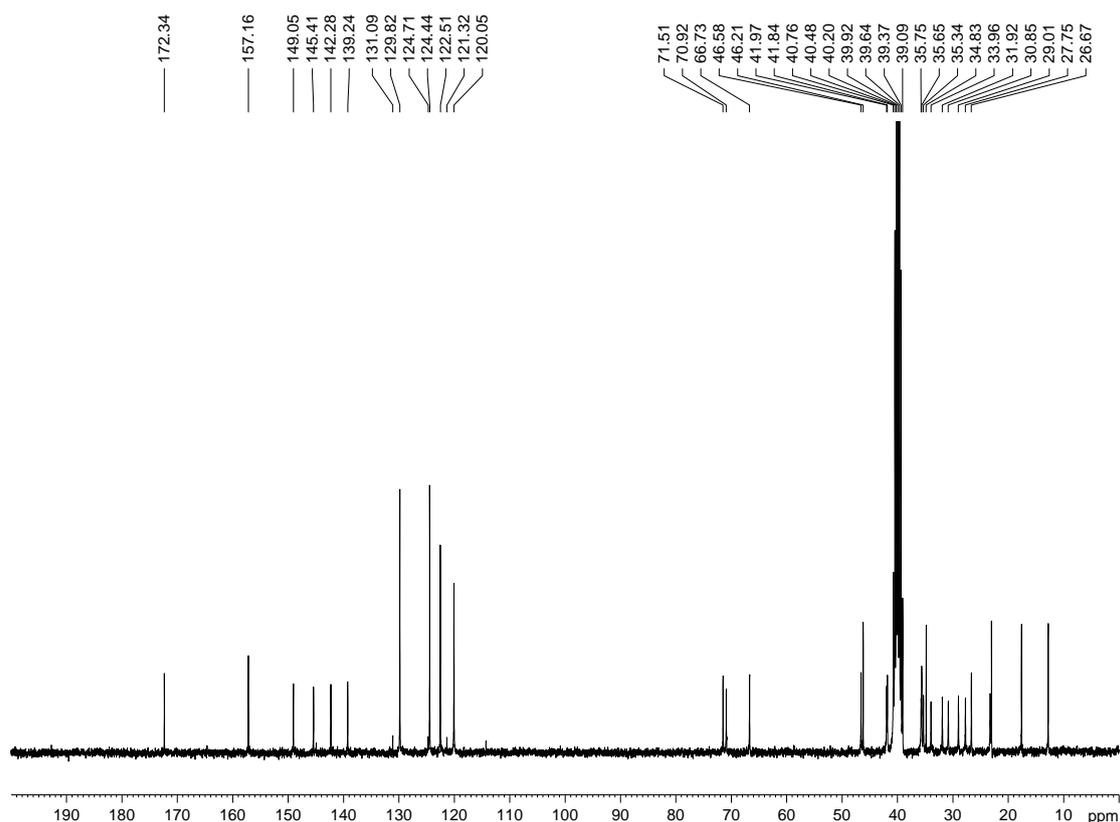
Rf (CCD): 0,56 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 81%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,59 (s, 3H, 18- CH_3); 0,79 (s, 3H, 19- CH_3); 0,98 (sl, 3H, 21- CH_3); 1,20-2,36 (m, 24H, CH_2 e CH esqueleto e 23- CH_2); 3,17 (sl, 1H, H-3 β); 3,61 (sl, 1H, H-7 β); 3,79 (s, 1H, H-12 β); 4,04 (s, 1H, 7-OH); 4,14 (s, 1H, 12-OH); 4,35 (d, 1H, 3-OH, $J = 3,8$); 7,36 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,2$); 7,68 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 7,7$); 8,15 (d, 2H, H-9' e H-13', $J = 8,8$); 8,34 (d, 2H, H-10' e H-12', $J = 8,5$); 8,82 (s, 1H, H-7'); 10,02 (s, 1H, -NH).



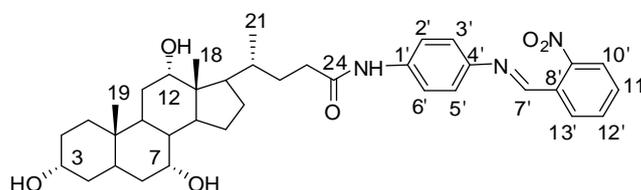
RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,8 (C-18); 17,6 (C-21); 23,0 (C-19); 23,3-46,6 (CH_2 e CH esqueleto); 66,7 (C-7); 70,9 (C-3); 71,5 (C-12); 120,0 (C-2' e C-6'); 122,5 (C-3' e C-5'); 124,4 (C-10' e C-12'); 129,8 (C-9' e C-13'); 139,2 (C-1'); 142,2 (C-8'); 145,4 (C-4'); 149,0 (C-11'); 157,1 (C-7'); 172,3 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3463 (ν O-H e ν N-H), 2970, 2923, 2866 (ν C-H), 1633 (ν C=O amida), 1598 (ν C=N), 1515 (ν C=C), 1344 (ν N=O).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_6$) requer m/z 632,3700, encontrado m/z 632,3720.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(2-nitrobenzilidenoamino)fenil)-4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **1g**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_6$ / **M.M.:** $631,80 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

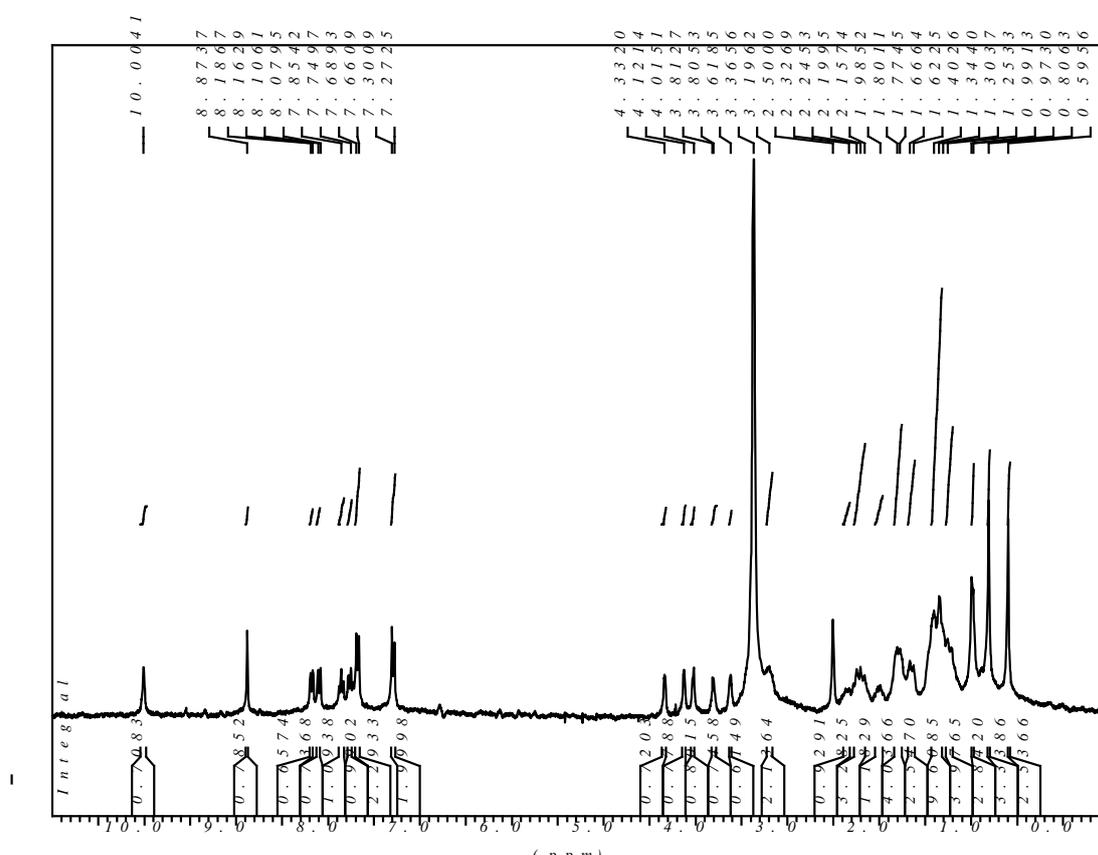
Característica física: sólido amarelo canário

F.F. (experimental): $285,9\text{-}287,0 \text{ }^\circ\text{C}$

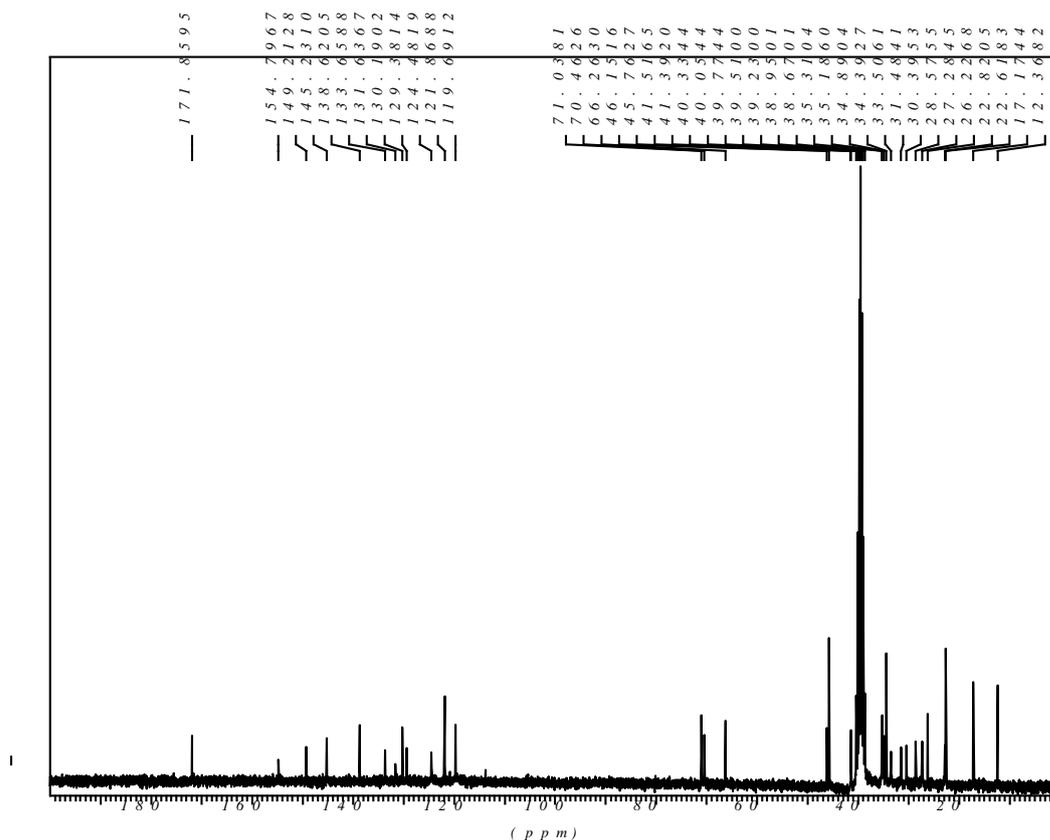
Rf (CCD): 0,56 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 65%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm), J (Hz): 0,59 (s, 3H, 18-CH₃); 0,81 (s, 3H, 19-CH₃); 0,98 (d, 3H, 21-CH₃, J = 5,5); 1,25-2,33 (m, 24H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 3,20 (sl, 1H, H-3β); 3,62 (sl, 1H, H-7β); 3,81 (sl, 1H, H-12β); 4,02 (sl, 1H, 7-OH); 4,12 (sl, 1H, 12-OH); 4,33 (sl, 1H, 3-OH); 7,29 (d, 2H, H-2' e H-6', J = 8,5); 7,67 (d, 2H, H-3' e H-5', J = 8,5); 7,80 (m, 2H, H-11' e H-12'); 8,09 (d, 1H, H-13', J = 8,0); 8,17 (d, 1H, H-10', J = 7,1); 8,87 (s, 1H, H-7'); 10,00 (s, 1H, -NH).



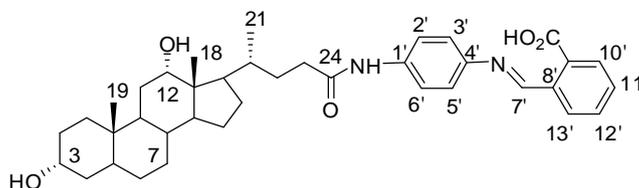
RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm): 12,4 (C-18); 17,2 (C-21); 22,6 (C-19); 22,8-46,1 (CH₂ e CH esqueleto); 66,3 (C-7); 70,5 (C-3); 71,0 (C-12); 119,7 (C-2' e C-6'); 121,9 (C-3' e C-5'); 124,5 (C-10'); 129,4 (C-9'); 130,2 (C-11'); 131,7 (C-13'); 133,7 (C-12'); 138,6 (C-8'); 145,3 (C-1'); 149,2 (C-4'); 154,8 (C-7'); 171,8 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3404 (ν O-H e ν N-H), 2925, 2864 (ν C-H), 1668 (ν C=O amida), 1593 (ν C=N), 1523 (ν C=C), 1340 (ν N=O).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_6$) requer m/z 632,3700, encontrado m/z 632,3723.

Nomenclatura: ácido-2-(4-(4-(4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamido)fenilimino)metil)benzóico **2a**



F.M.: $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_5$ / **M.M.:** $614,81 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

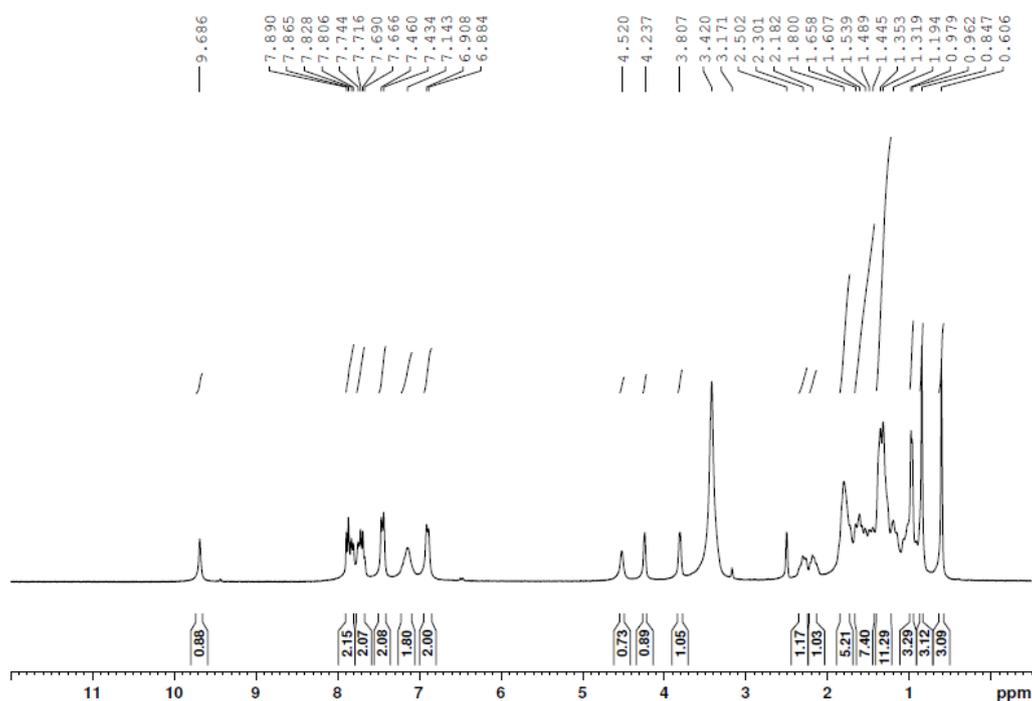
Característica física: sólido bege

F.F. (experimental): $163,5\text{-}165,0 \text{ }^\circ\text{C}$

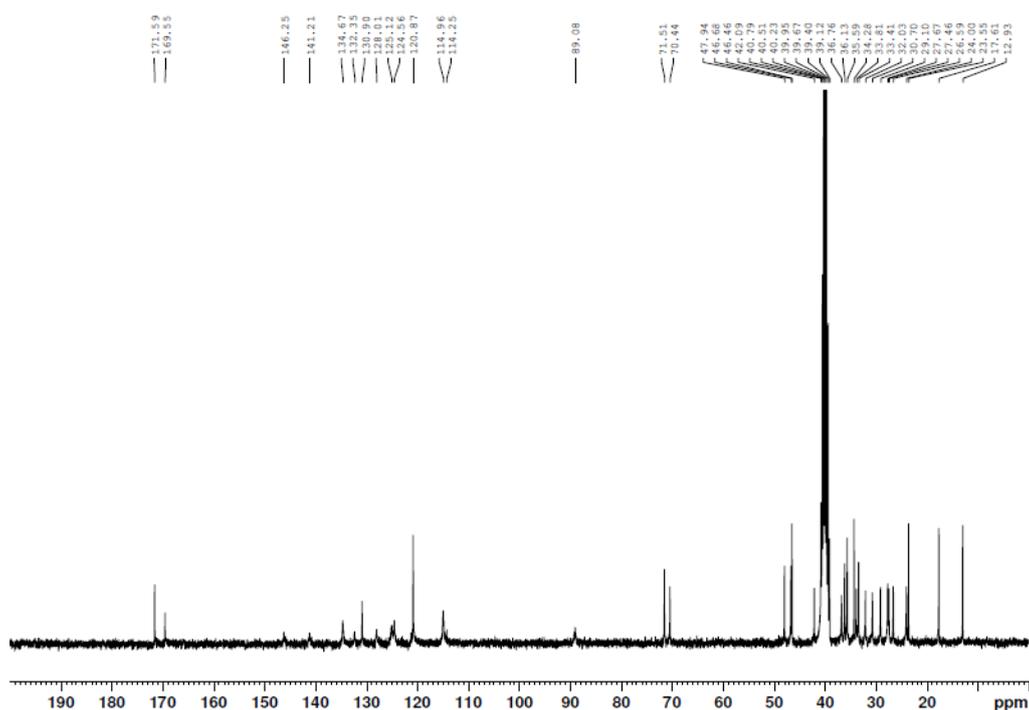
Rf (CCD): 0,61 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 65%

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,61 (s, 3H, 18-CH₃); 0,85 (s, 3H, 19-CH₃); 0,97 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 5,1); 1,19-1,80 (m, 23H, CH₂ e CH esqueleto); 2,18-2,30 (m, 2H, 23-CH₂); 3,81 (s, 1H, H-12β); 4,24 (s, 1H, 12-OH); 4,52 (s, 1H, 3-OH); 6,90 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 7,2); 7,14 (sl, 2H, H-7' e -COOH); 7,45 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 7,8); 7,67-7,74 e 7,81-7,89 (m, 4H, H-10', H-11', H-12' e H-13'); 9,69 (s, 1H, -NH).



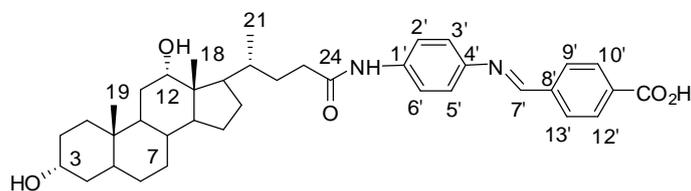
RMN de ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 12,9 (C-18); 17,6 (C-21); 23,6 (C-19); 24,0-46,7 (CH₂ e CH esqueleto); 47,9 (C-7); 70,4 (C-3); 71,5 (C-12); 114,2 (C-2' e C-6'); 120,9 (C-3' e C-5'); 124,6 (C-12'); 125,1 (C-13'); 130,9 (C-11'); 132,3 (C-9'); 134,7 (C-10'); 141,2 (C-8'); 144,5 (C-1'); 146,2 (C-4'); 169,6 (C-7'); 171,6 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3406 (ν O-H e ν N-H), 2931, 2858 (ν C-H), 1747 (ν C=O ácido), 1664 (ν C=O amida), 1612 (ν C=N), 1517 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{38}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_5$) requer m/z 615,3798, encontrado m/z 615,3802.

Nomenclatura: ácido-4-(4-(4-(4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamido)fenilimino)metil)benzóico **2b**



F.M.: $\text{C}_{38}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_5$ / **M.M.:** 614,81 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

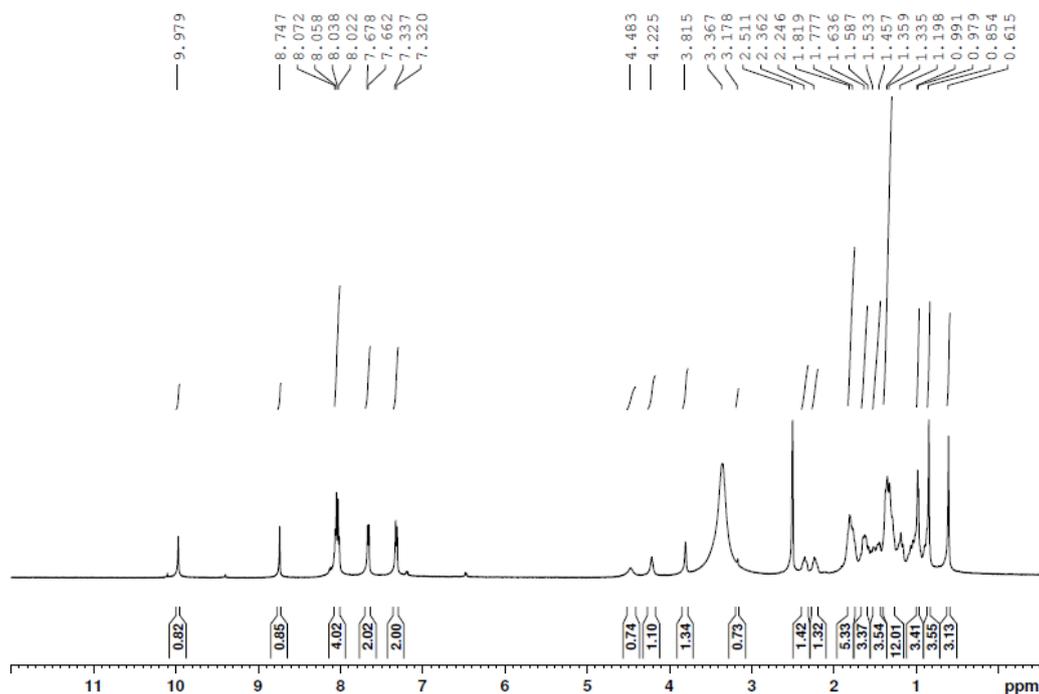
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 320,1-321,0 $^{\circ}\text{C}$

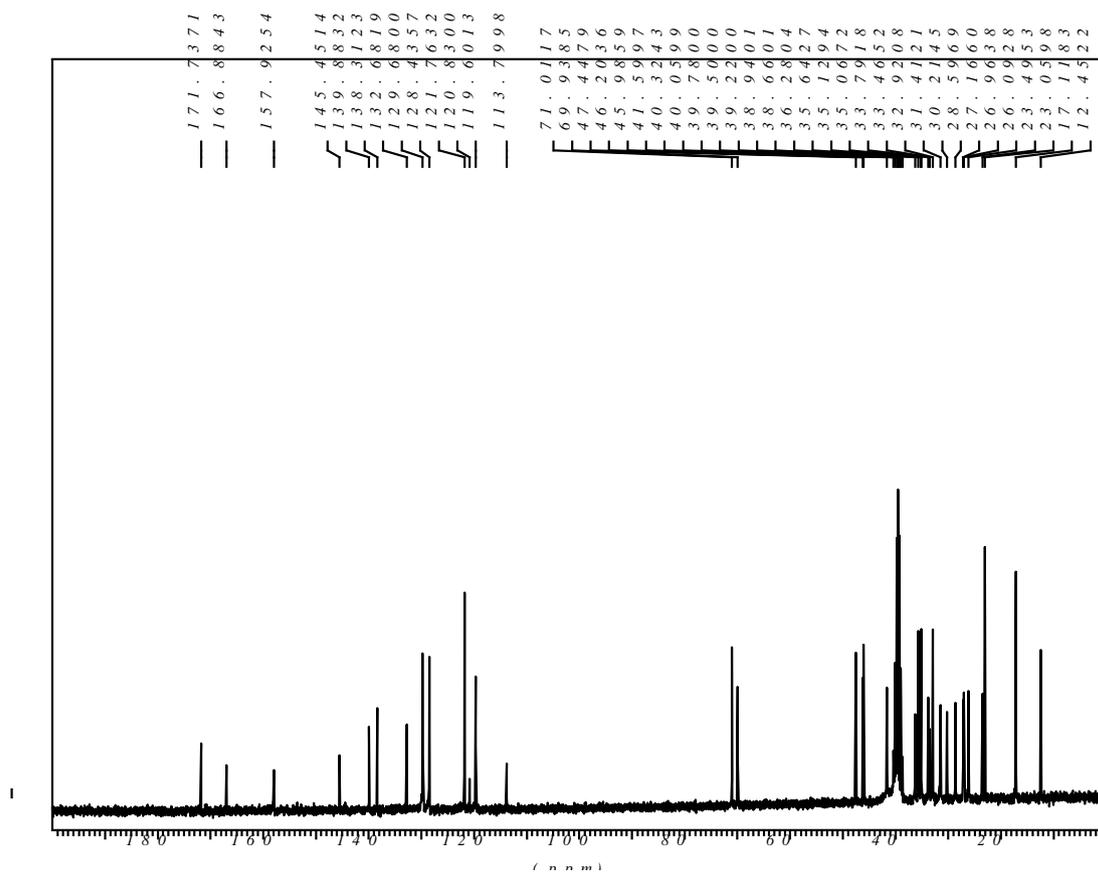
Rf (CCD): 0,60 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 76%

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,61 (s, 3H, 18- CH_3); 0,85 (s, 3H, 19- CH_3); 0,98 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 6,0$); 1,20-1,82 (m, 23H, CH_2 e CH esqueleto); 2,25-2,36 (m, 2H, 23- CH_2); 3,18 (s, 1H, H-3 β); 3,81 (s, 1H, H-12 β); 4,22 (s, 1H, 12-OH); 4,48 (s, 1H, 3-OH); 7,33 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,5$); 7,67 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,0$); 8,02-8,07 (m, 4H, H-9', H-10', H-12' e H-13'); 8,75 (s, 1H, H-7'); 9,98 (s, 1H, -NH).



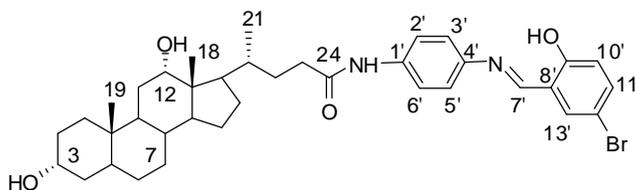
RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,4 (C-18); 17,1 (C-21); 23,1 (C-19); 23,5-47,4 (CH_2 e CH esqueleto); 47,4 (C-7); 69,9 (C-3); 71,0 (C-12); 119,6 (C-2' e C-6'); 121,8 (C-3' e C-5'); 128,4 (C-9' e C-13'); 129,7 (C-10' e C-12'); 132,7 (C-11'); 138,3 (C-1'); 139,9 (C-8'); 145,4 (C-4'); 157,9 (C-7'); 166,9 (COOH); 171,7 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3353 (ν O-H e ν N-H), 2925, 2864 (ν C-H), 1708 (ν C=O ácido), 1676 (ν C=O amida), 1598 (ν C=N), 1535, 1508 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{38}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_5$) requer m/z 615,3798, encontrado m/z 615,3804.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(5-bromo-2-hidroxibenzilidenoamino)fenil)-4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **2c**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{BrN}_2\text{O}_4$ / **M.M.:** 665,70 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

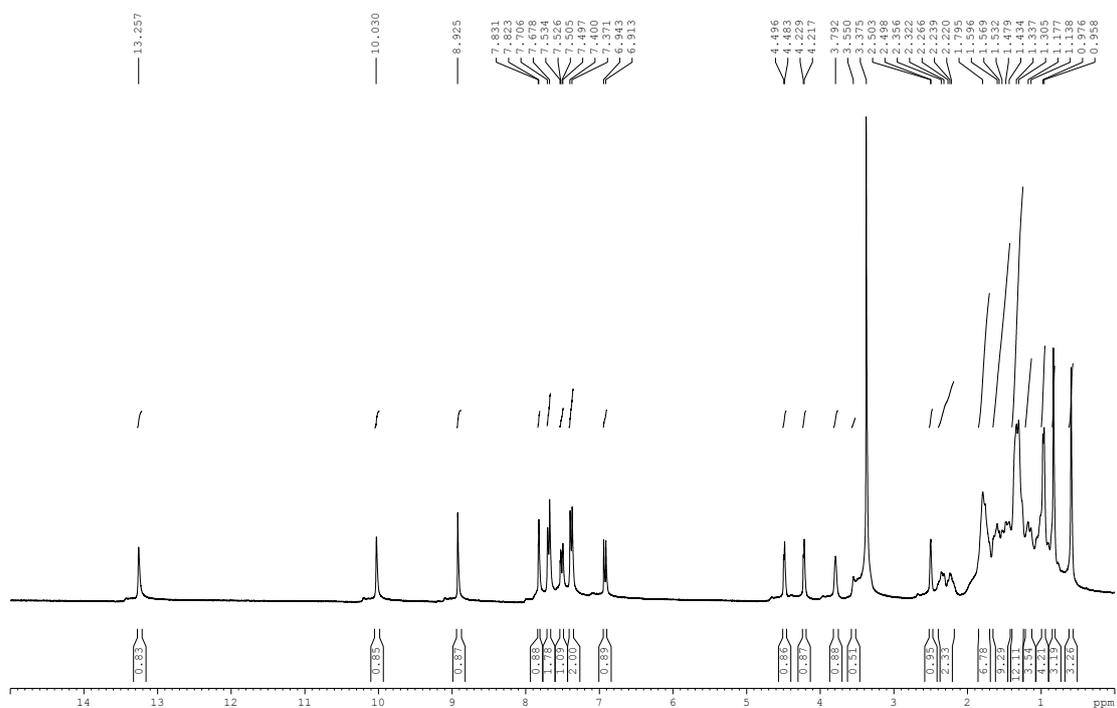
Característica física: sólido bege

F.F. (experimental): 262,7-264,2 $^{\circ}\text{C}$

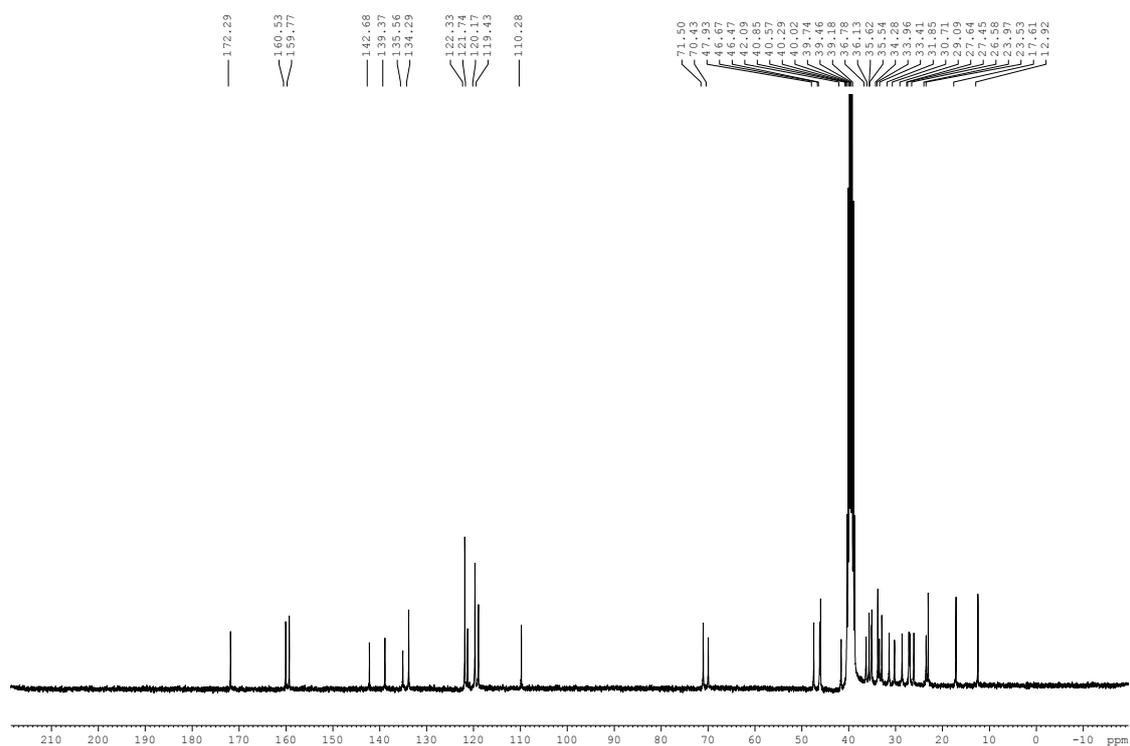
Rf (CCD): 0,79 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 64%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,59 (s, 3H, 18-CH₃); 0,83 (s, 3H, 19-CH₃); 0,97 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 5,4); 1,14-1,79 (m, 23H, CH₂ e CH esqueleto); 2,22-2,35 (m, 2H, 23-CH₂); 3,55 (sl, 1H, H-3β); 3,79 (s, 1H, H-12β); 4,22 (d, 1H, 12-OH, *J* = 3,6); 4,49 (d, 1H, 3-OH, *J* = 3,9); 6,93 (d, 1H, H-10', *J* = 9,0); 7,38 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 8,7); 7,51 (dd, 1H, H-11', *J* = 8,7, *J* = 2,4); 7,69 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 8,4); 7,83 (d, 1H, H-13', *J* = 2,4); 8,92 (s, 1H, H-7'); 10,03 (s, 1H, -NH); 13,2 (s, 1H, -OH aromático).



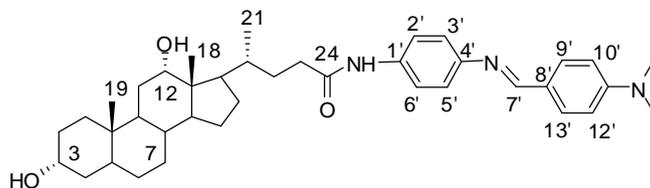
RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 12,3 (C-18); 17,6 (C-21); 23,5 (C-19); 23,9-46,7 (CH₂ e CH esqueleto); 47,9 (C-7); 70,4 (C-3); 71,5 (C-12); 110,3 (C-12'); 119,4 (C-10'); 119,4 (C-8'); 121,7 (C-2' e C-6'); 122,3 (C-3' e C-5'); 134,3 (C-13'); 135,6 (C-11'); 139,4 (C-1'); 142,7 (C-4'); 159,8 (C-7'), 160,5 (C-9'); 172,3 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3421 (ν O-H), 3282 (ν N-H), 3066, 2923, 2860 (ν C-H), 1664 (ν C=O amida), 1618 (ν C=N).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{BrN}_2\text{O}_4$) requer m/z 665,2954, encontrado m/z 665,2959.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(4-(dimetilamino)benzilidenoamino)fenil)-4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **2d**



F.M.: $\text{C}_{39}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_3$ / **M.M.:** $613,87 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

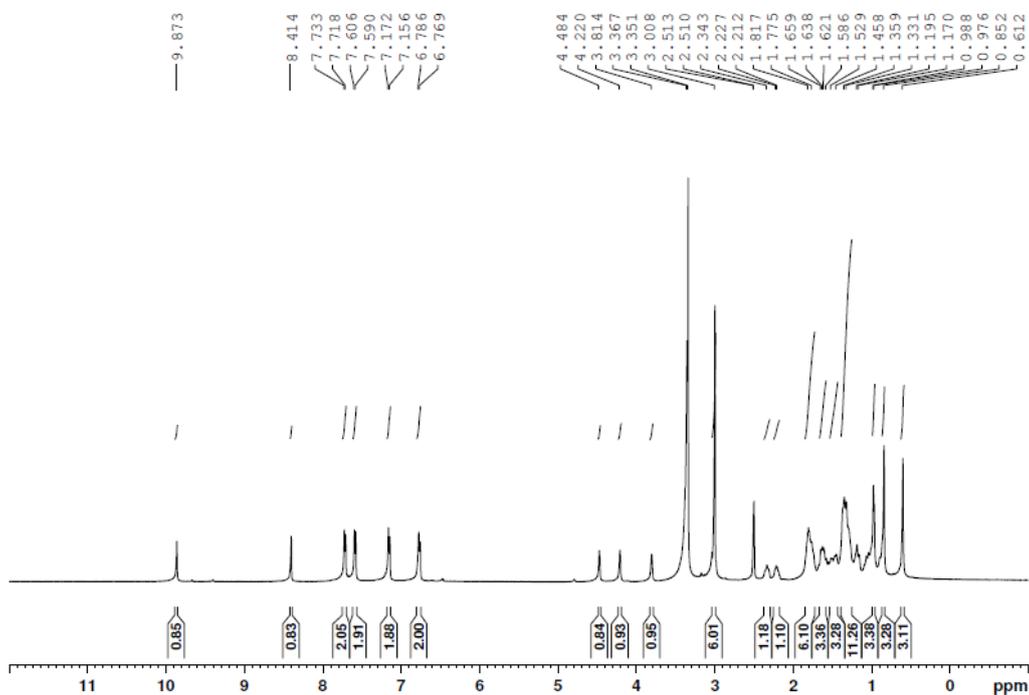
Característica física: sólido amarelo claro

F.F. (experimental): $253,3\text{-}255,0 \text{ }^\circ\text{C}$

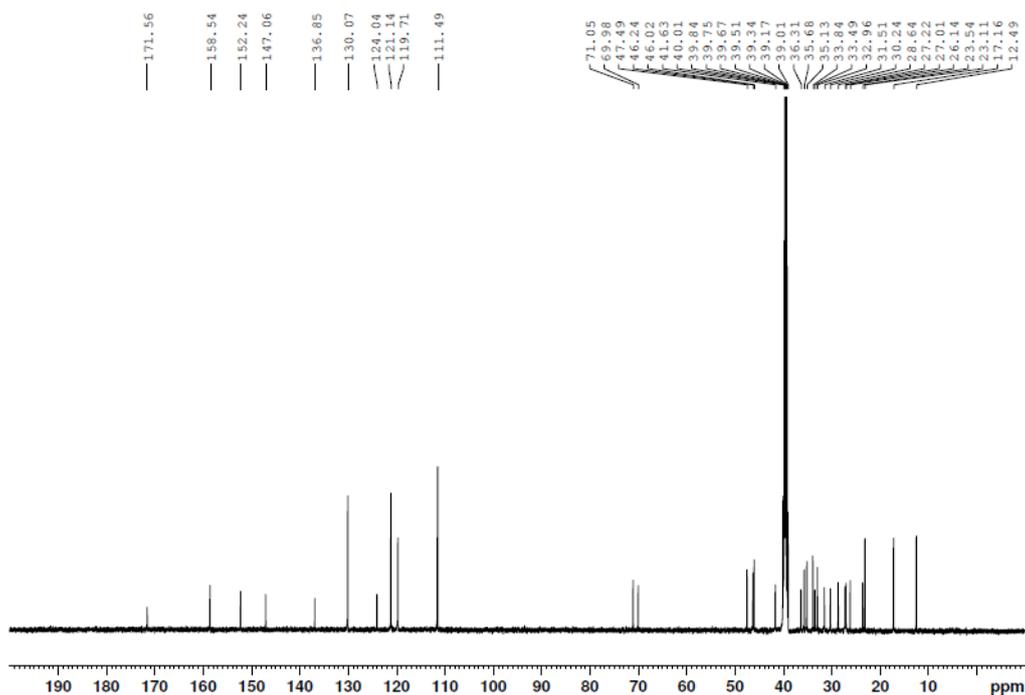
Rf (CCD): 0,78 CH₂Cl₂/MeOH (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 86%

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,61 (s, 3H, 18-CH₃); 0,85 (s, 3H, 19-CH₃); 0,98 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 6,0); 1,17-1,82 (m, 23H, CH₂ e CH esqueleto); 2,21-2,34 (m, 2H, 23-CH₂); 3,01 (s, 6H, N(CH₃)₂); 3,81 (sl, 1H, H-12β); 4,22 (s, 1H, 12-OH); 4,48 (s, 1H, 3-OH); 6,78 (d, 2H, H-10' e H-12', *J* = 8,5); 7,16 (d, 2H, H-9' e H-13', *J* = 8,0); 7,60 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 8,0); 7,72 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 7,5); 8,41 (s, 1H, H-7'); 9,87 (s, 1H, -NH).



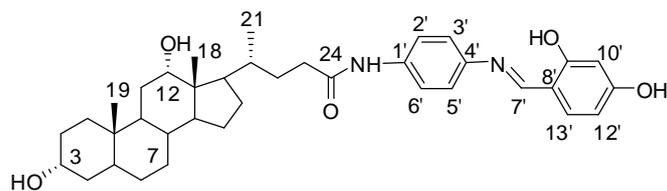
RMN de ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 12,5 (C-18); 17,2 (C-21); 23,1 (C-19); 23,5-46,2 (CH₂ e CH esqueleto); 47,5 (C-7); 70,0 (C-3); 71,0 (C-12); 111,5 (C-10' e C-12'); 119,7 (C-2' e C-6'); 121,1 (C-3' e C-5'); 124,0 (C-8'); 130,1 (C-9' e C-13'); 136,8 (C-1'); 147,1 (C-4'); 152,2 (C-11'); 158,5 (C-7'); 171,6 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3438 (ν O-H e ν N-H), 2937, 2864 (ν C-H), 1664 (ν C=O amida), 1610 (ν C=N), 1537, 1502 (ν C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{BrN}_2\text{O}_4$) requer m/z 665,2954, encontrado m/z 665,2959.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(2,4-di-hidroxibenzilidenoamino)fenil)-4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **2e**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_5$ / **M.M.:** 602,80 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

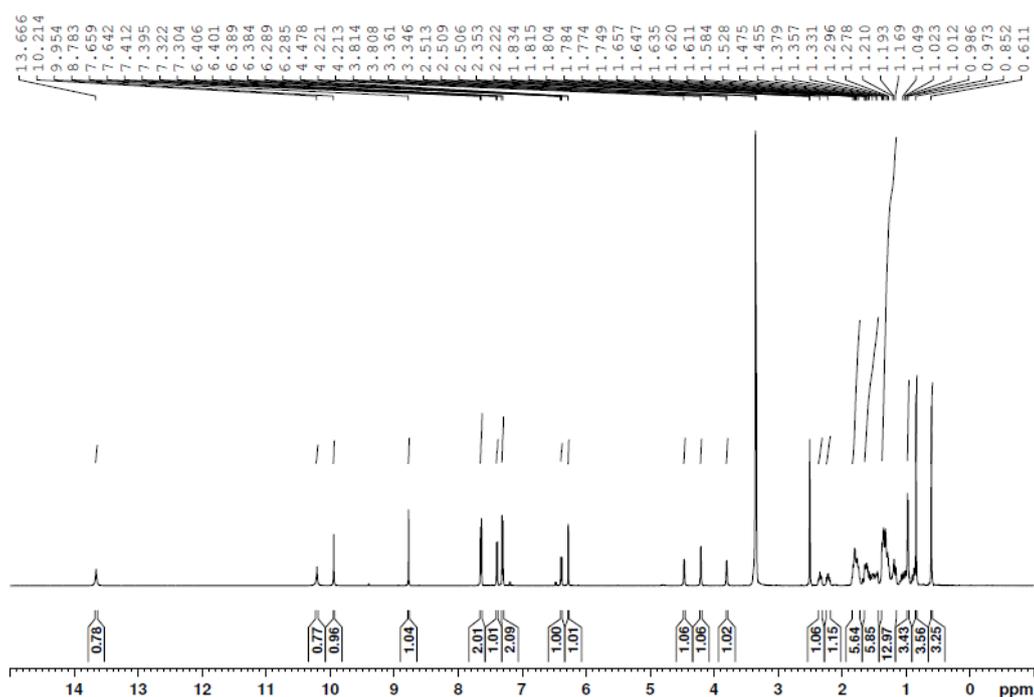
Característica física: sólido amarelo canário

F.F. (experimental): 185,5-187,7 $^{\circ}\text{C}$

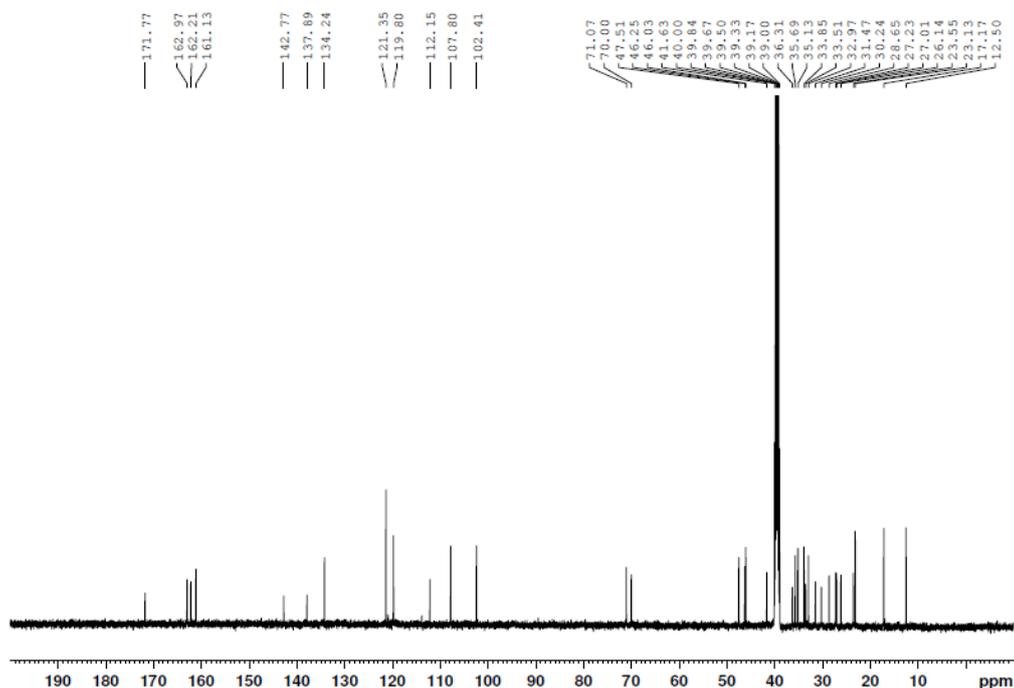
R_f (CCD): 0,64 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 86%

RMN de ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm), J (Hz): 0,61 (s, 3H, 18- CH_3); 0,85 (s, 3H, 19- CH_3); 0,98 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 6,5$); 1,01-1,83 (m, 23H, CH_2 e CH esqueleto); 2,22-2,35 (m, 2H, 23- CH_2); 3,81 (d, 1H, H-12 β , $J = 3,0$); 4,21 (d, 1H, 12-OH, $J = 4,0$); 4,48 (s, 1H, 3-OH); 4,36 (s, 1H, 3-OH); 6,29 (d, 1H, H-10', $J = 2,0$); 6,39 (dd, 1H, H-12', $J = 8,5$ e $J = 2,5$); 7,31 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 9,0$); 7,40 (d, 1H, H-13', $J = 8,5$); 7,65 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,5$); 8,78 (s, 1H, H-7'); 9,95 (s, 1H, -NH); 10,21 (s, 1H, -OH aromático); 13,67 (s, 1H, -OH aromático).



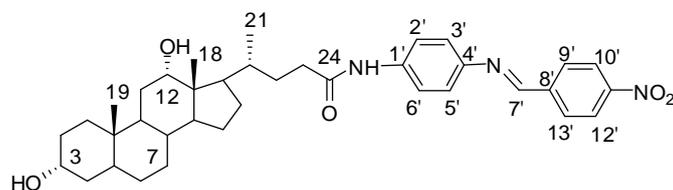
RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 12,5 (C-18); 17,2 (C-21); 23,1 (C-19); 23,5-46,2 (CH_2 e CH esqueleto); 47,5 (C-7); 70,0 (C-3); 71,1 (C-12); 102,4 (C-10'); 107,8 (C-12'); 112,1 (C-8'); 119,8 (C-2' e C-6'); 121,3 (C-3' e C-5'); 134,2 (C-13'); 137,9 (C-1'); 142,8 (C-4'); 161,1 (C-7'), 162,2 (C-11'); 163,0 (C-9'); 171,8 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3438 (ν O-H e ν N-H), 2929, 2864 (ν C-H), 1660 (ν C=O amida), 1622 (ν C=N), 1515 (ν , C=C).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_5$) requer m/z 603,3798, encontrado m/z 603,3799.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(4-nitrobenzilidenoamino)fenil)-4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **2f**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_5$ / **M.M.:** 615,80 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

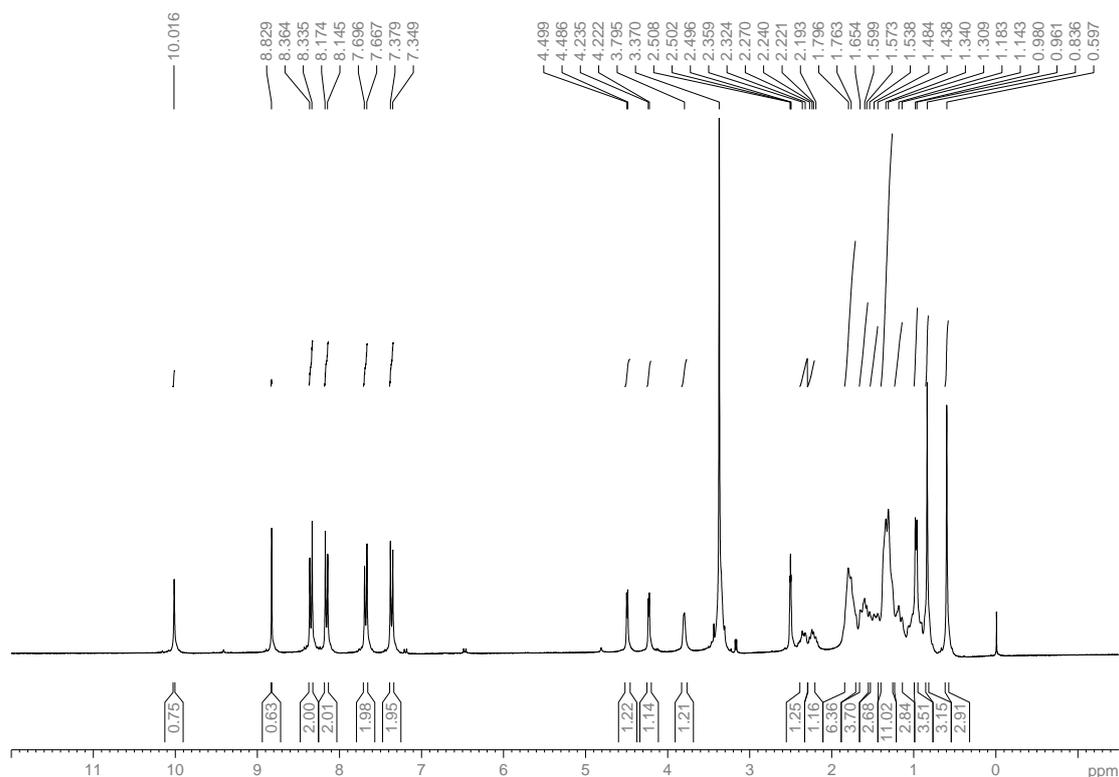
Característica física: sólido amarelo canário

F.F. (experimental): 141,9-142,5 $^{\circ}\text{C}$

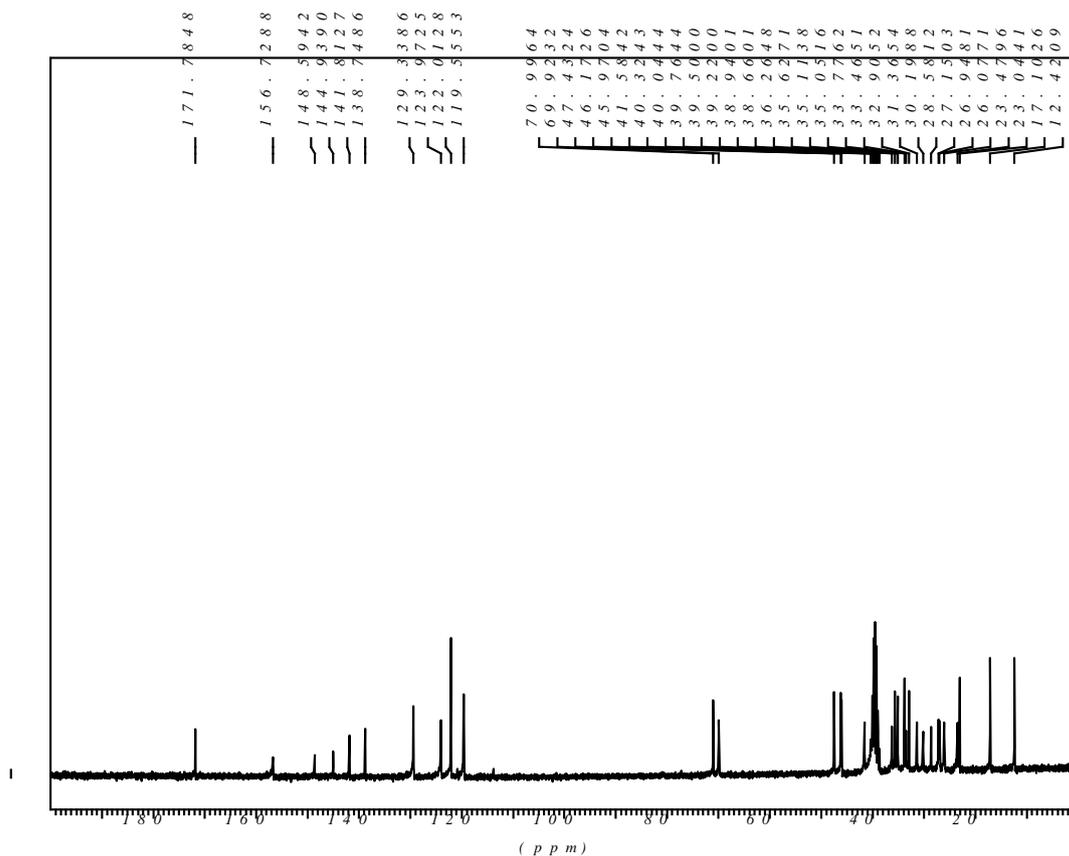
R_f (CCD): 0,67 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 82%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,60 (s, 3H, 18- CH_3); 0,84 (s, 3H, 19- CH_3); 0,97 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 5,7$); 1,14-1,80 (m, 23H, CH_2 e CH esqueleto); 2,19-2,50 (m, 2H, 23- CH_2); 3,79 (s, 1H, H-12 β); 4,23 (d, 1H, 12-OH, $J = 3,9$); 4,49 (d, 1H, 3-OH, $J = 3,9$); 7,36 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 9,0$); 7,68 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,7$); 8,16 (d, 2H, H-9' e H-13', $J = 8,7$); 8,35 (d, 2H, H-10' e H-12', $J = 8,7$); 8,83 (s, 1H, H-7'); 10,02 (s, 1H, -NH).



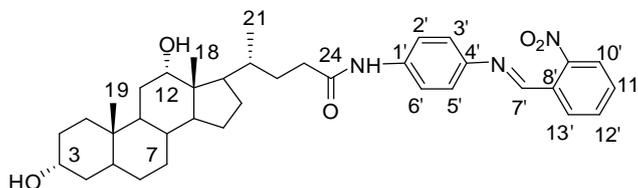
RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,4 (C-18); 17,1 (C-21); 23,0 (C-19); 23,3-46,2 (CH_2 e CH esqueleto); 47,4 (C-7); 69,9 (C-3); 71,0 (C-12); 119,5 (C-2' e C-6'); 122,0 (C-3' e C-5'); 124,0 (C-10' e C-12'); 129,3 (C-9' e C-13'); 138,7 (C-1'); 141,8 (C-8'); 144,9 (C-4'); 148,6 (C-11'); 156,7 (C-7'); 171,8 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3417 (ν O-H e ν N-H), 2935, 2867 (ν C-H), 1660 (ν C=O amida), 1600 (ν C=N), 1539, 1517 (ν C=C), 1344 (ν N=O).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_5$) requer m/z 616,3750, encontrado m/z 616,3747.

Nomenclatura: 4-*N*-(4-(2-nitrobenzilidenoamino)fenil)-4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **2g**



F.M.: $\text{C}_{37}\text{H}_{49}\text{N}_3\text{O}_5$ / **M.M.:** $615,80 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

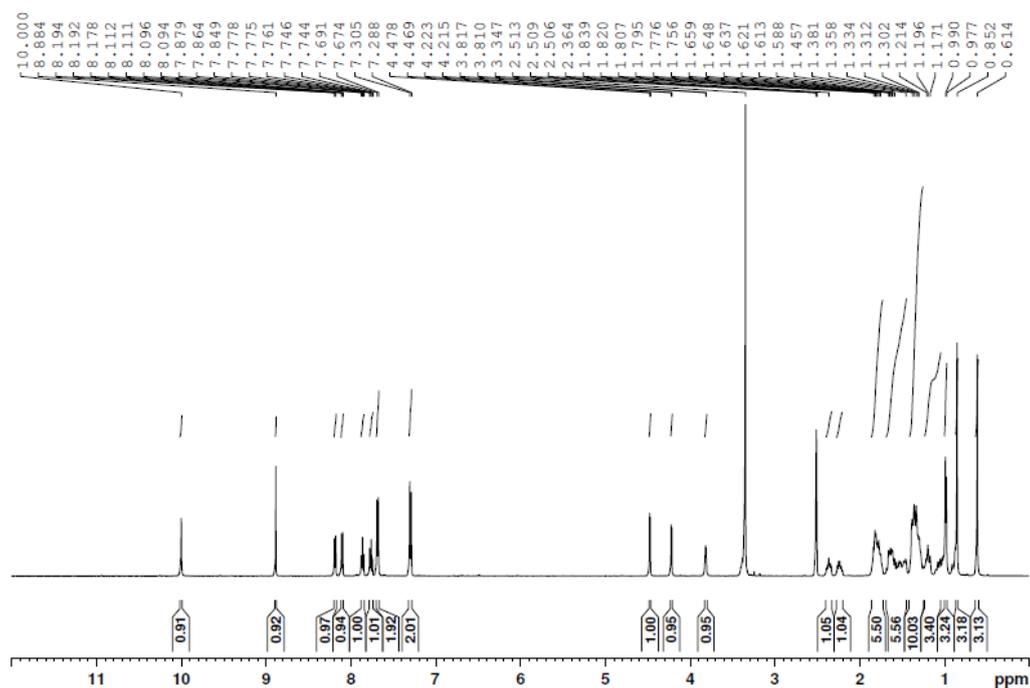
Característica física: sólido marrom

F.F. (experimental): 257,7-259,8 °C

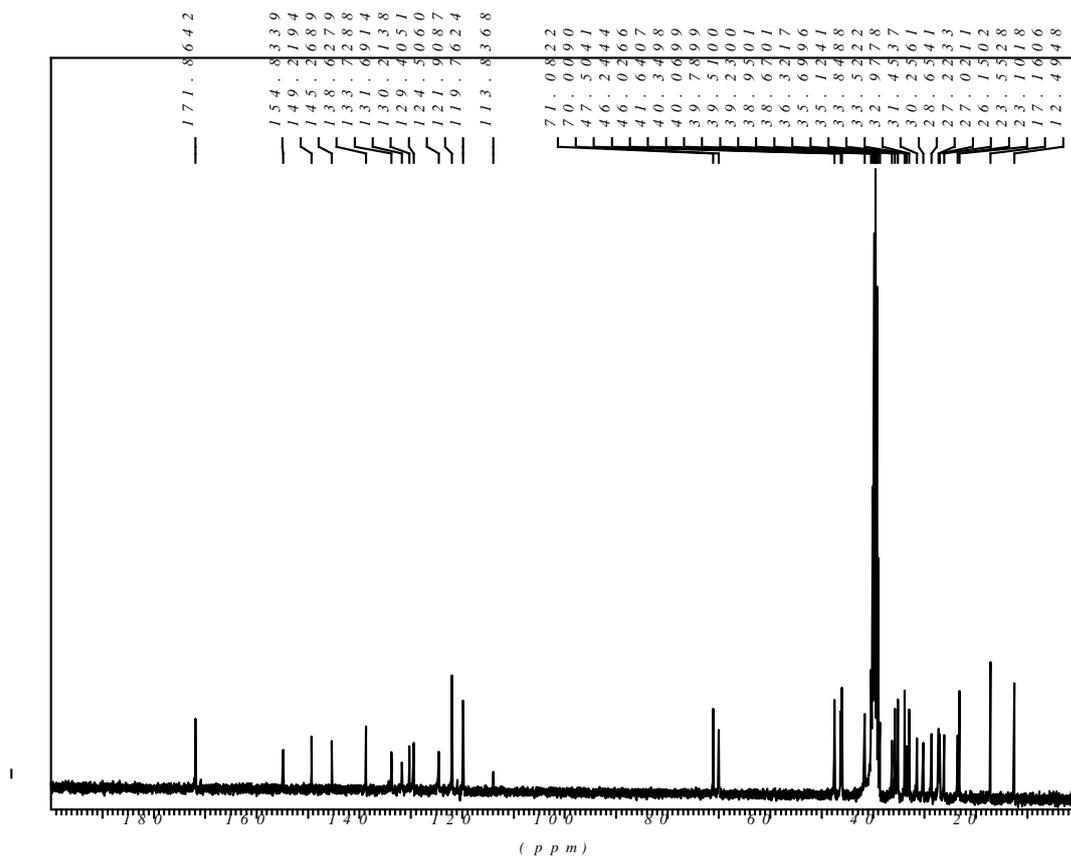
R_f (CCD): 0,67 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (85:15) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 75%

RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,61 (s, 3H, 18- CH_3); 0,85 (s, 3H, 19- CH_3); 0,98 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 6,5$); 1,17-1,84 (m, 23H, CH_2 e CH esqueleto); 2,20-2,36 (m, 2H, 23- CH_2); 3,82 (s, 1H, H-12 β); 4,22 (d, 1H, 12-OH, $J = 4,0$); 4,47 (d, 1H, 3-OH, $J = 4,5$); 7,30 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,5$); 7,68 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,5$); 7,74-7,88 (m, 2H, H-11' e H-12'); 8,10 (dd, 1H, H-13', $J = 8,2$ e $J = 0,5$); 8,19 (dd, 1H, H-10', $J = 7,0$ e $J = 1,0$); 8,88 (s, 1H, H-7'); 10,00 (s, 1H, -NH).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,5 (C-18); 17,2 (C-21); 23,1 (C-19); 23,5-46,2 (CH_2 e CH esqueleto); 47,5 (C-7); 70,0 (C-3); 71,1 (C-12); 119,8 (C-2' e C-6'); 121,9 (C-3' e C-5'); 124,5 (C-12'); 129,4 (C-13'); 130,2 (C-11'); 131,7 (C-9'); 133,7 (C-10'); 138,6 (C-8'); 145,3 (C-1'); 149,2 (C-4'); 154,8 (C-7'); 171,9 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3463 (ν O-H e ν N-H), 2927, 2864 (ν C-H), 1666 (ν C=O amida), 1598 (ν C=N), 1525, 1508 (ν C=C), 1338 (ν N=O).

HRMS (LC-MS): calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_5$) requer m/z 616,3750, encontrado m/z 616,3745.

7.2.1.2 Via esterificação em C-3 do ácido cólico

7.2.1.2.1 Preparação do éster metílico do ácido cólico **6**

A síntese do composto **6** foi realizada baseando-se no procedimento já descrito na literatura (RASRAS *et al.*, 2010), para a síntese do éster etílico do ácido cólico. Em um balão de 100,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se 1,000 g de ácido cólico em 20,0 mL de metanol. A seguir, sob agitação, gotejou-se, lentamente, 0,40 mL de H_2SO_4 concentrado à mistura reacional que foi então mantida sob agitação constante e a t.a. por 72 h. Após este intervalo de tempo verificou-se, por CCD, a formação de um produto mais apolar do que o ácido de partida e o total consumo deste último. Prosseguiu-se com a neutralização da mistura reacional (pH 7) utilizando-se uma solução de NaOH

1M. O solvente foi removido no rotaevaporador e o sólido bruto obtido foi submetido a uma extração EtOAc/H₂O. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e evaporada. Obteve-se 1,03 g de um sólido branco fino (99% de rendimento).

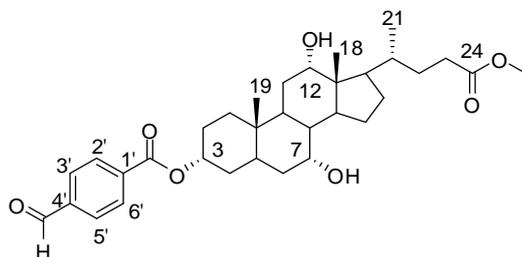
O éster **6** foi caracterizado por RMN de ¹H e faixa de fusão e os dados obtidos estão de acordo com os descritos na literatura (SREEKANTH *et al.*, 2013).

7.2.1.2.2 Preparação do aldeído **7** via esterificação do composto **6** em C-3

Em um balão de 100,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se 2,000 g (4,70 mmol) do composto **6** em cerca de 30,0 mL de THF. A seguir, adicionou-se 0,740 g (4,93 mmol) de 4-carboxibenzaldeído à solução sob agitação vigorosa. A seguir, 1,02 g (4,93 mmol) de DCC e quantidade catalítica de DMAP foram adicionados à mistura reacional que foi então levada a aquecimento em banho de glicerina a 70°C. Após 20 h de tempo reacional nestas condições, verificou-se por CCD a formação de um produto mais apolar que o éster de partida e presença de quantidade mínima deste.

Prosseguiu-se com a adição de acetato de etila para precipitação do subproduto dicitclo-hexilureia (DCU), filtração simples do mesmo e evaporação da fase orgânica com auxílio de um rotaevaporador. O sólido obtido foi então submetido à purificação em CCS utilizando-se uma mistura dos solventes CH₂Cl₂ e MeOH como eluente. Nas frações correspondentes ao gradiente 98:02 (CH₂Cl₂/MeOH) obteve-se o aldeído **7** almejado.

Nomenclatura: 7,12-di-hidroxi-17-(5-metoxi-5-oxopentan-2-il)-10,13-dimetil-hexadecaidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-3-il-4-formilbenzoato **7**



F.M.: C₃₃H₄₆O₇ / **M.M.:** 554,71 g.mol⁻¹

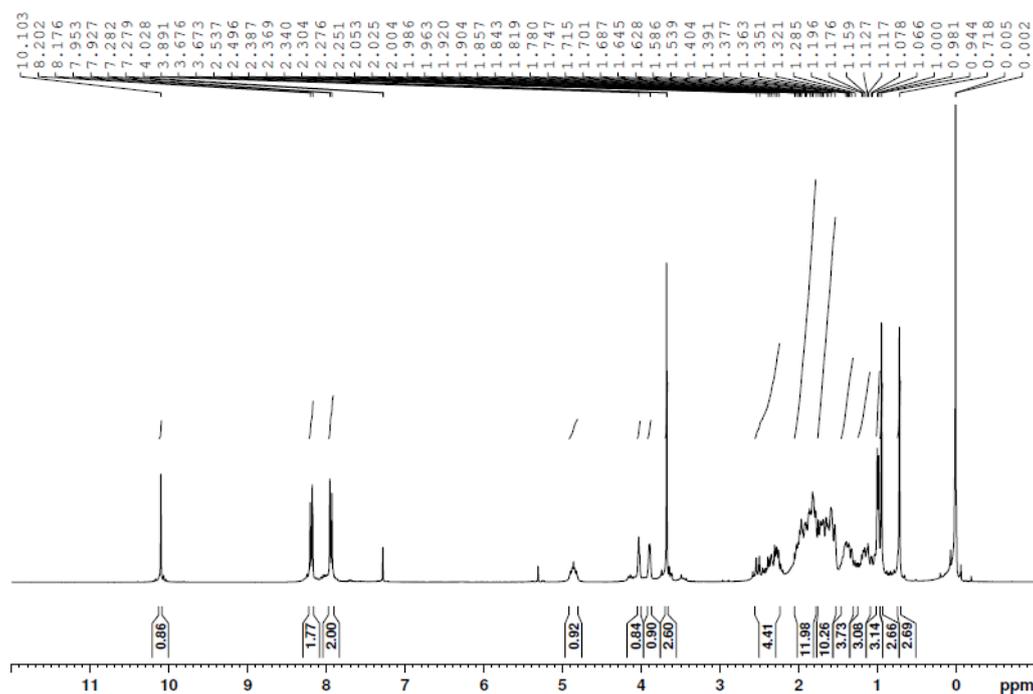
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): 194,0-196,0 °C

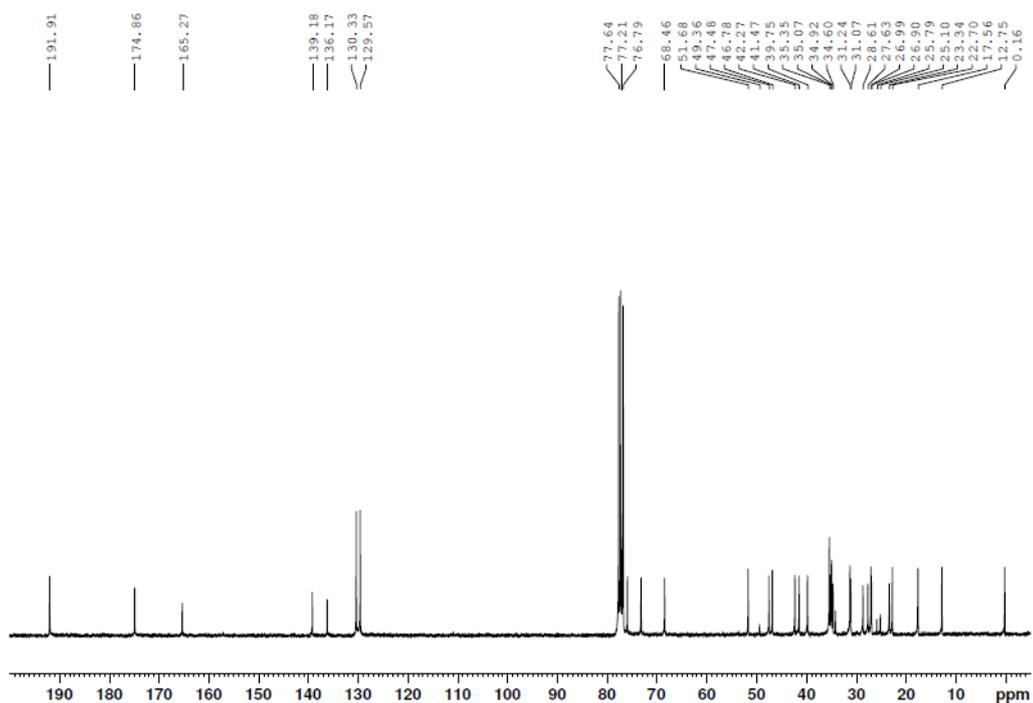
Rf (CCD): 0,73 CH₂Cl₂/MeOH (90:10) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 38%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,72 (s, 3H, 18-CH₃); 0,94 (s, 3H, 19-CH₃); 0,99 (d, 3H, 21-CH₃, J = 5,7); 1,07-2,53 (m, 31H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 3,67 (s, 3H, -OCH₃); 3,89 (s, 1H, H-7β); 4,03 (s, 1H, H-12β); 4,82 (sl, 1H, H-3β); 7,94 (d, 2H, H-3' e H-5', J = 7,8); 8,19 (d, 2H, H-2' e H-6', J = 7,8); 10,10 (s, 1H, HCO).



RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 12,7 (C-18); 17,6 (C-21); 22,7 (C-19); 23,3-51,7 (CH₂ e CH esqueleto); 68,5 (C-7); 73,0 (C-3); 76,0 (C-12); 129,6 (C-2' e C-6'); 130,3 (C-3' e C-5'); 136,2 (C-1'); 139,2 (C-4'); 165,3 (COO); 174,9 (C-24); 191,9 (HCO).



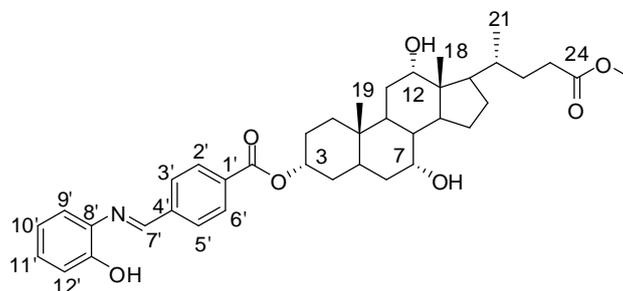
I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3405 (ν O-H), 2931, 2867 (ν C-H), 1694 (ν C=O éster), 1605 (ν C=O aldeído), 1503 (ν C=C), 1272 (ν C-O).

7.2.1.2.2 Preparação do conjugado **8**

Em um balão de fundo redondo de 25,0 mL solubilizou-se 0,100 g (0,18 mmol) do aldeído **7** em 3,0 mL de etanol e a seguir adicionou-se, aos poucos, 0,020 g (0,18 mmol) de 2-hidroxianilina. A mistura foi mantida a t.a. e sob agitação magnética. Poucos minutos após observou-se que a reação havia turvado e sinais de precipitação. Então, a agitação magnética foi interrompida e observou-se a formação de um precipitado amarelo. O mesmo foi filtrado no dia seguinte, lavado com etanol e seco à temperatura ambiente.

Nomenclatura: 7,12-di-hidroxi-17-(5-metoxi-5-oxopentan-2-il)-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-3-il 4-(-(2-hidroxifenilimino)metil)benzoato

8



F.M.: C₃₉H₅₁NO₇ / **M.M.:** 645,82 g.mol⁻¹

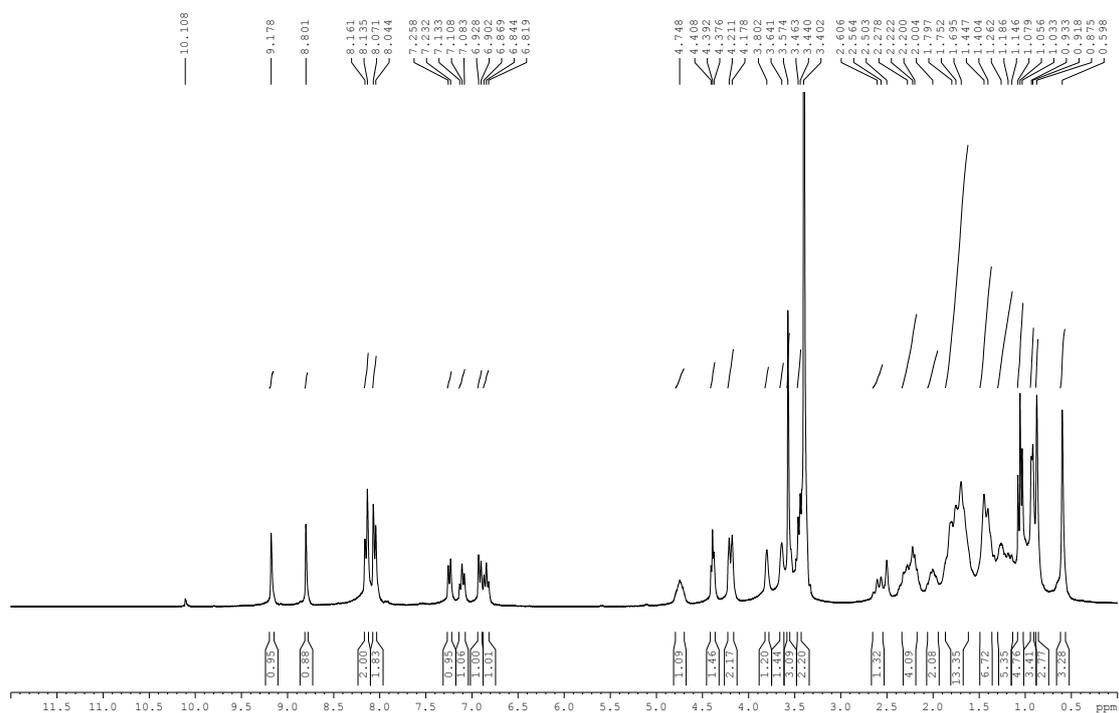
Característica física: sólido

F.F. (experimental): 184,0-185,5 °C

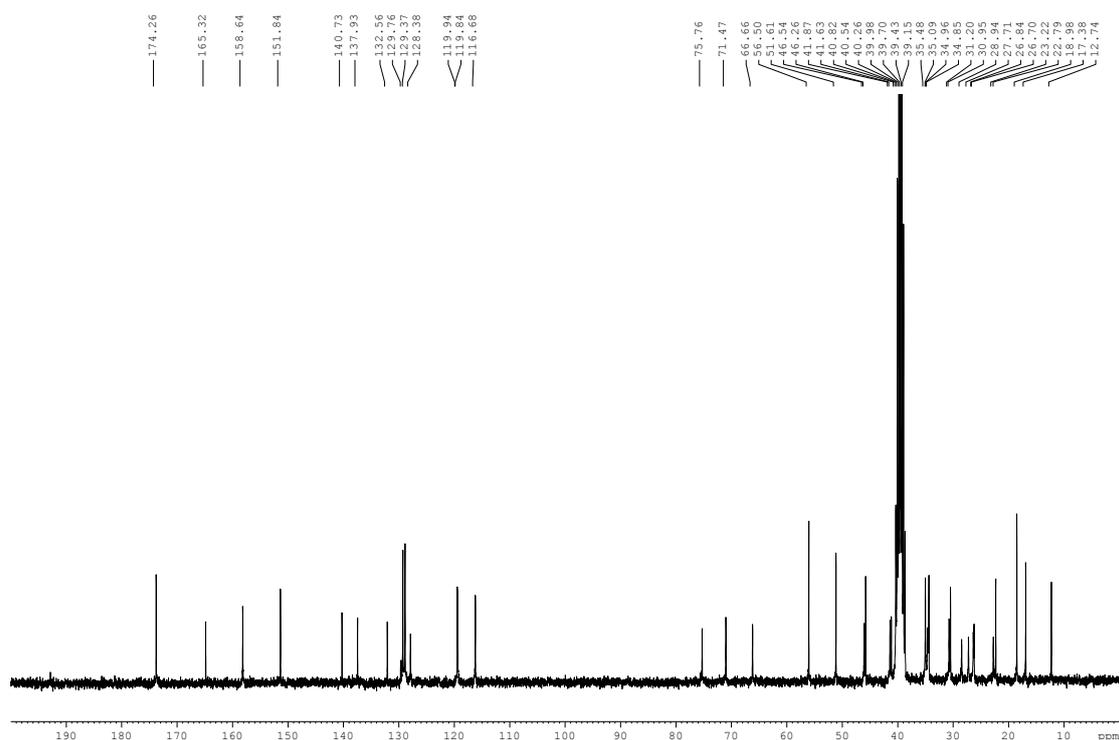
Rf (CCD): 0,53 CH₂Cl₂/MeOH (90:10) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 86%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,60 (s, 3H, 18-CH₃); 0,87 (s, 3H, 19-CH₃); 0,93 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 4,8); 1,03-2,61 (m, 32H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 3,57 (s, 3H, -OCH₃); 3,68 (s, 1H, H-7 β); 3,80 (s, 1H, H-12 β); 4,19 (d, 2H, 7-OH, *J* = 9,9); 4,39 (m, 1H, 12-OH); 4,75 (sl, 1H, H-3 β); 6,85 (t, 1H, H-10', *J* = 7,8); 6,92 (d, 1H, H-12', *J* = 7,8); 7,11 (t, 1H, H-11', *J* = 7,8); 7,24 (d, 1H, H-9', *J* = 7,8); 8,06 (d, 2H, H-3'e H-5', *J* = 8,1); 8,15 (d, 2H, H-2'e H-6', *J* = 7,8); 9,19 (s, 1H, H-7').



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,7 (C-18); 17,4 (C-21); 19,0 (C-19); 22,3-51,6 (CH_2 e CH esqueleto); 56,5 (-OCH $_3$); 66,7 (C-7); 71,5 (C-3); 75,8 (C-12); 116,7 (C-9'); 119,8 (C-12'); 119,9 (C-10'); 128,4 (C-11'); 129,4 (C-3' e C-5'); 129,8 (C-2' e C-6'); 132,6 (C-1'); 137,9 (C-4'); 140,7 (C-8'); 151,8 (C-13'); 158,6 (C-7'); 165,3 (COO); 174,3 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3420 (ν O-H), 2945, 2879 (ν C-H), 1722 (ν C=O éster), 1692, 1627 (ν C=N), 1448 (ν C=C).

Análise Elementar: $\text{C}_{39}\text{H}_{51}\text{NO}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$; calculado: C 70,56 %, H 8,05 %, N 2,11%; encontrado: C 69,45 %, H 8,01 %, N 1,85 %.

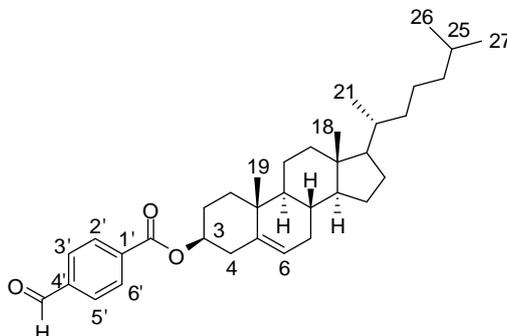
7.2.1.3 Via esterificação em C-3 do colesterol

7.2.1.3.1 Preparação do aldeído **9**

Em um balão de 50,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se 0,300 g (0,77 mmol) de colesterol em 20,0 mL de CH_2Cl_2 anidro. A seguir, adicionou-se 1,0 eq. molar (0,77 mmol) de 4-carboxibenzaldeído e quantidade catalítica de DMAP. Após alguns minutos sob agitação, adicionou-se 1,1 eq. molar (0,85 mmol) de DCC solubilizado em CH_2Cl_2 à mistura reacional que foi então mantida a t.a e sob agitação constantes por cerca de 20 h, quando observou-se a formação do precipitado branco de DCU. Verificou-se, por CCD, a formação de um único produto sendo este mais apolar que os materiais de partida. Prosseguiu-se com uma filtração simples para eliminar o DCU e a fase orgânica

foi seca no rotaevaporador. O sólido obtido foi então filtrado em uma coluna de sílica utilizando-se CH_2Cl_2 como solvente. O produto puro foi obtido como um sólido branco.

Nomenclatura: 4'-(3-colesteriloxicarbonil)benzaldeído **9**



F.M.: $\text{C}_{35}\text{H}_{50}\text{O}_3$ / **M.M.:** $518,77 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

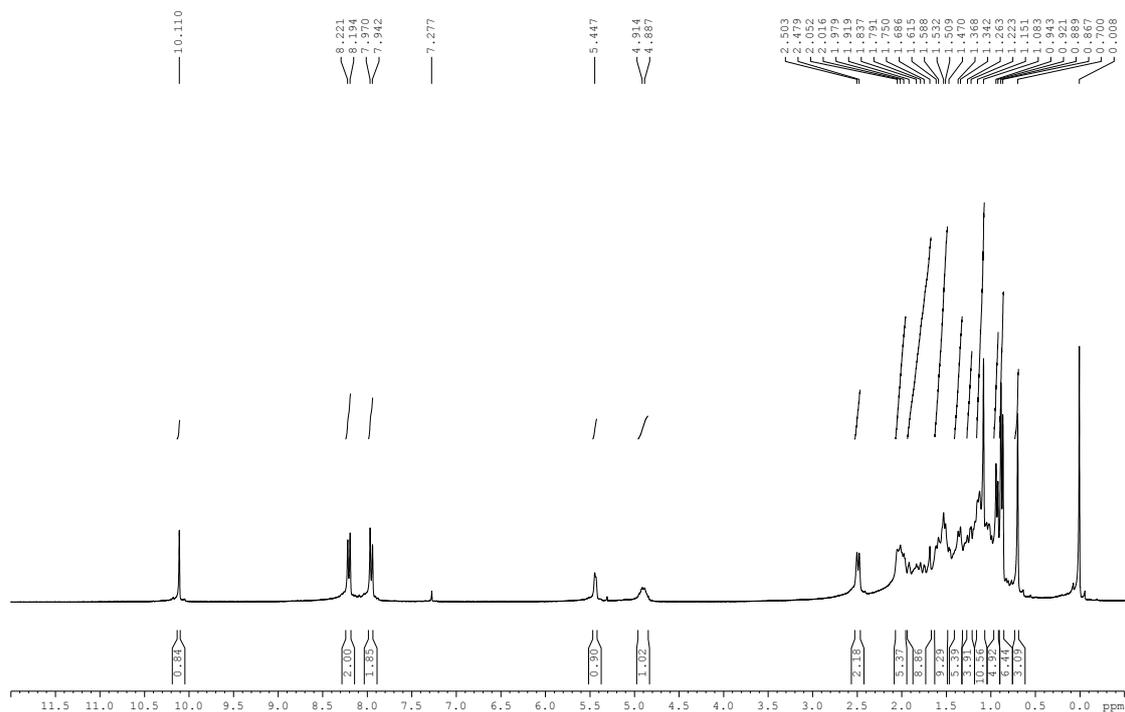
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): $177,5\text{-}178,0 \text{ }^\circ\text{C}$

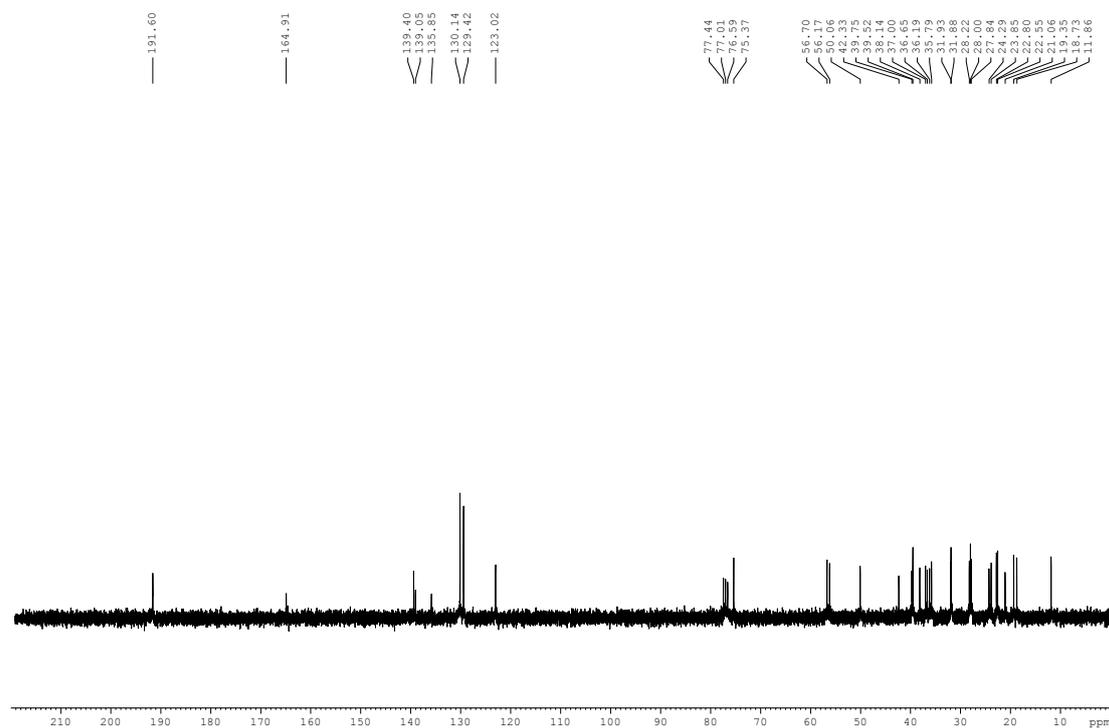
Rf (CCD): 0,51 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 92%

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm), J (Hz): 0,70 (s, 3H, 18- CH_3); 0,88 (d, 6H, 26- CH_3 e 27- CH_3 , $J = 6,6$); 0,93 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 6,6$); 1,08-2,05 (m, 32H, 19- CH_3 e CH_2 e CH esqueleto); 2,49 (d, 2H, 4- CH_2 , $J = 7,2$); 4,90 (sl, 1H, 3-H); 5,46 (sl, 1H, 6-H); 7,96 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,4$); 8,21 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,1$); 10,11 (s, 1H, HCO).



RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 11,9 (C-18); 18,7(C-21); 19,3 (C-19); 21,1(C-11); 22,6 e 22,8 (C-26 e C-27); 23,8-56,7 (CH_2 e CH esqueleto); 75,4 (C-3); 123,0 (C-6); 129,4 (C-2' e C-6'); 130,1 (C-3' e C-5'); 135,8 (C-4'); 139,0 (C-1'); 139,4 (C-5); 164,9 (COO); 191,6 (CHO).

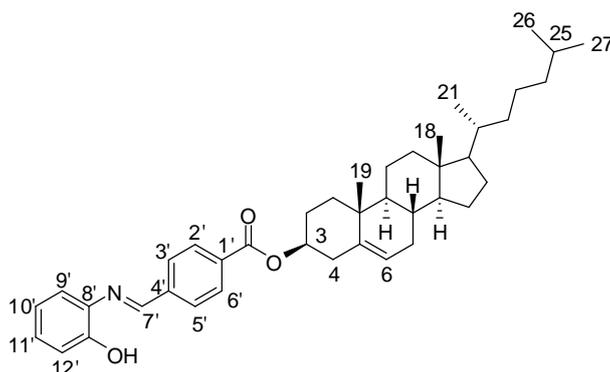


I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2943, 2861 (ν C-H), 1720 (ν C=O éster), 1705 (ν C=O aldeído), 1637, 1467 (ν C=C), 1271 (ν C-O).

7.2.1.3.1 Procedimento geral de preparação dos conjugados **10-12**

Em um balão de 25,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se, sob refluxo, 0,100 g (0,20 mmol) do aldeído **9** em cerca de 2,0 mL de etanol. A seguir foram adicionados 1,0 eq. molar (0,20 mmol) de uma amina aromática (2-hidroxianilina ou anilina) ou de fenil-hidrazina. A mistura foi mantida sob refluxo (70-80 °C) durante 6 h sendo observada, em todos os experimentos, a formação de precipitado. Então, a agitação e o aquecimento foram interrompidos e a mistura foi mantida em repouso por cerca de 12 h. Após este intervalo de tempo, o precipitado foi filtrado, lavado com etanol e seco à temperatura ambiente.

Nomenclatura: 4'-(3-colesteriloxicarbonil)benzilideno-(2-hidroxi)anilina **10**



F.M.: C₄₁H₅₅NO₃ / **M.M.:** 609,88 g.mol⁻¹

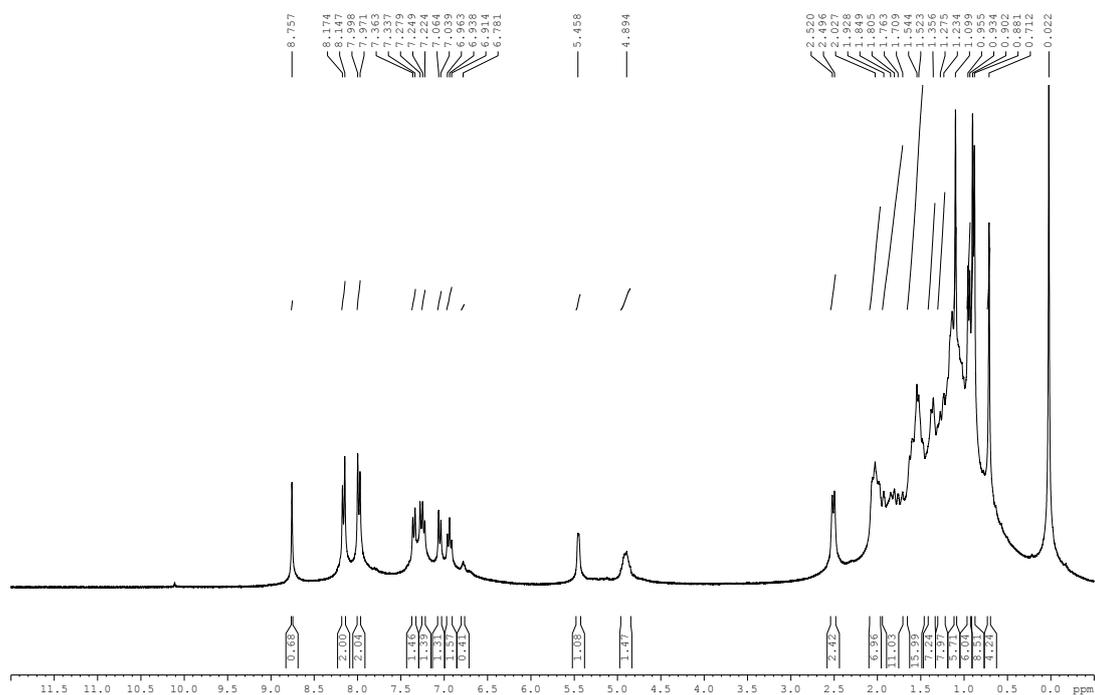
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 174,1-176,0 °C

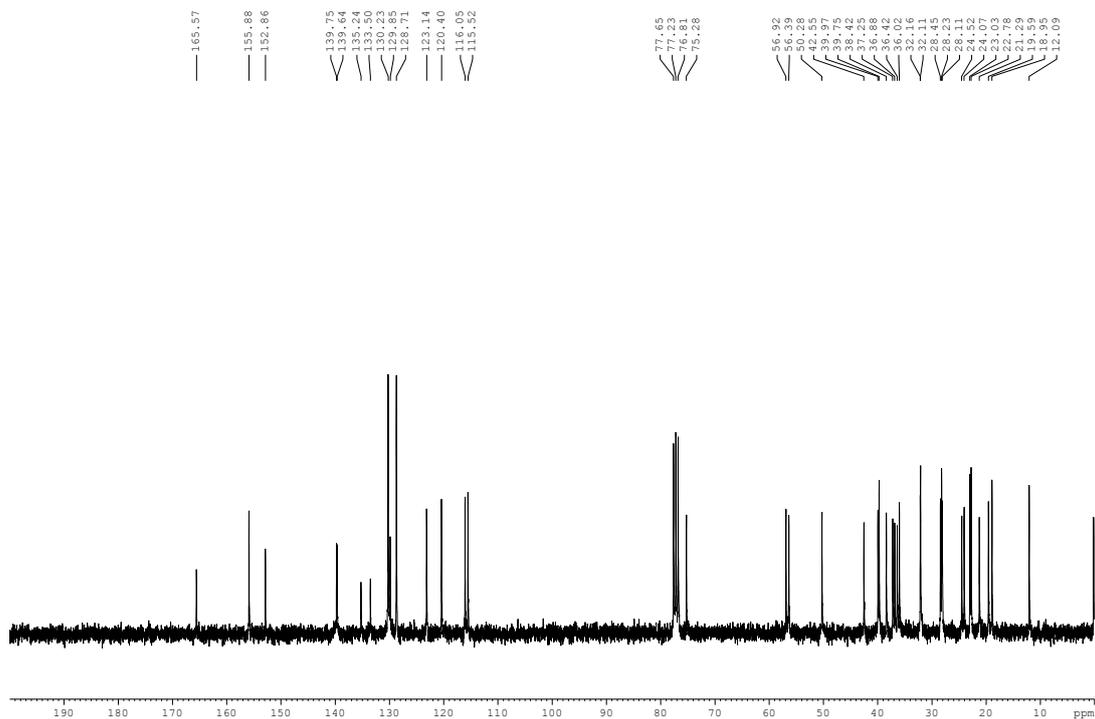
Rf (CCD): 0,49 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 98%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,71 (s, 3H, 18-CH₃); 0,89 (d, 6H, 26-CH₃ e 27-CH₃, J = 6,3); 0,94 (d, 3H, 21-CH₃, J = 6,3); 1,10-2,03 (m, 32H, 19-CH₃ e CH₂ e CH esqueleto); 2,51 (d, 2H, 4-CH₂, J = 7,2); 4,90 (sl, 1H, 3-H); 5,46 (sl, 1H, 6-H); 6,78 (sl, 1H, -OH); 6,94 (t, 1H, H-10', J = 7,2); 7,05 (d, 1H, H-12', J = 7,5); 7,25 (t, 1H, H-11', J = 8,2); 7,35 (d, 1H, H-9', J = 7,8); 7,98 (d, 2H, H-3' e H-5', J = 8,1); 8,16 (d, 2H, H-2' e H-6', J = 8,1); 8,75 (s, 1H, H-7').



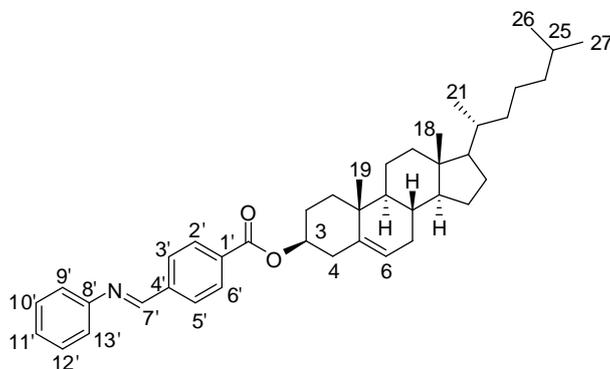
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 12,1 (C-18); 18,9 (C-21); 19,6 (C-19); 21,3(C-11); 22,8 e 23,0 (C-26 e C-27); 24,1-56,9 (CH_2 e CH esqueleto); 75,3 (C-3); 115,5 (C-9'); 116,0 (C-12'); 120,4 (C-6); 123,1 (C-10'); 128,5 (C-3' e C-5'); 129,8 (C-11'); 130,2 (C-2' e C-6'); 133,5 (C-1'); 135,2 (C-1'); 139,6 (C-5); 152,8 (C-13'); 155,9 (C-7'); 165,6 (COO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3420 (ν O-H), 2938, 2865 (ν C-H), 1715 (ν C=O éster), 1626 (ν C=N), 1589, 1486 (ν C=C), 1118 (ν C-O), 1276 (ν C-O).

Análise Elementar: $\text{C}_{41}\text{H}_{55}\text{NO}_3$; calculado: C 80,74 %, H 9,09 %, N 2,30%; encontrado: C 80,46 %, H 9,19 %, N 2,40 %.

Nomenclatura: 4'-(3-colesteriloxycarbonyl)benzilideno-anilina **11**



F.M.: $\text{C}_{41}\text{H}_{55}\text{NO}_2$ / **M.M.:** 593,88 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

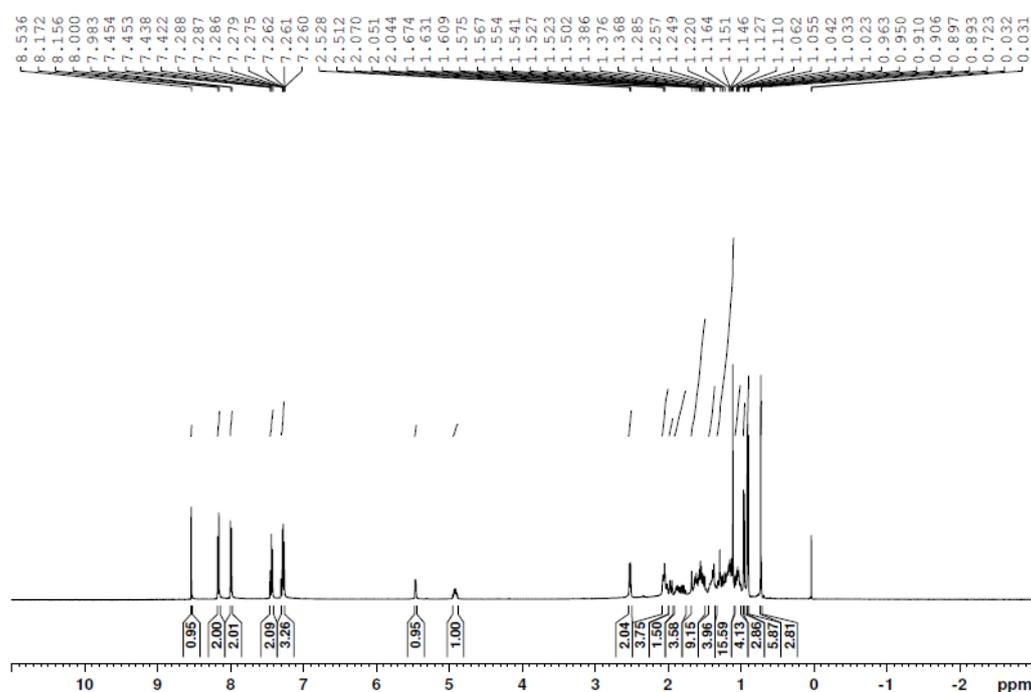
Característica física: sólido amarelo pálido

F.F. (experimental): 163,0-164,0 °C

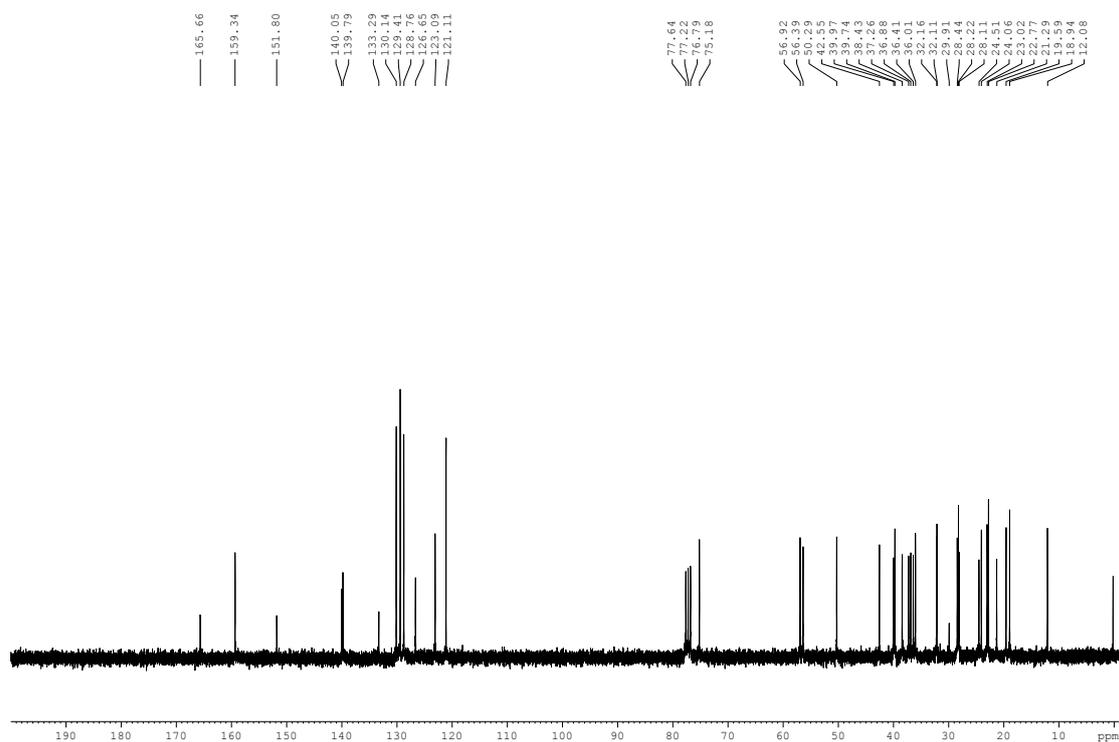
Rf (CCD): 0,59 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 76%

RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,72 (s, 3H, 18-CH₃); 0,89 (2xd, 6H, 26-CH₃ e 27-CH₃, J = 2,0); 0,96 (d, 3H, 21-CH₃, J = 6,5); 1,02-2,07 (m, 32H, 19-CH₃ e CH₂ e CH esqueleto); 2,52 (d, 2H, 4-CH₂, J = 8,0); 4,91 (sl, 1H, 3-H); 5,45 (d, 1H, 6-H, J = 3,9); 7,26-7,28 (m, 3H, H-10', H-11' e H-12'); 7,42-7,45 (m, 2H, H-9' e H-13'); 7,99 (d, 2H, H-3' e H-5', J = 8,5); 8,16 (d, 2H, H-2' e H-6', J = 8,0); 8,54 (s, 1H, H-7').

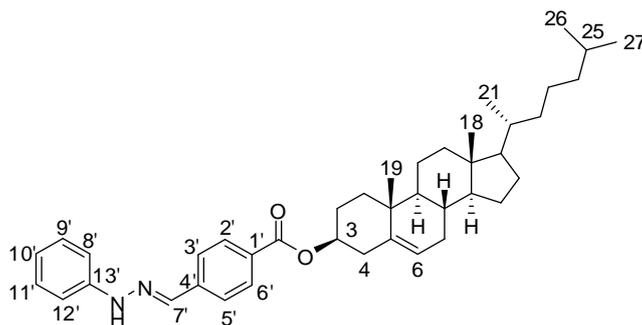


RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 12,1 (C-18); 18,9 (C-21); 19,6 (C-19); 21,3(C-11); 22,8 e 23,0 (C-26 e C-27); 24,1-56,9 (CH₂ e CH esqueleto); 75,2 (C-3); 121,1 (C-9' e C-13'); 123,0 (C-6); 126,6 (C-11'); 128,8 (C-3' e C-5'); 129,4 (C-2' e C-6'); 130,1 (C-10' e C-12'); 133,3 (C-1'); 139,8 e 140,0 (C-5' e C-4'); 151,8 (C-8'); 159,3 (C-7'); 165,6 (COO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2947, 2864 (ν C-H), 1712 (ν C=O éster), 1626 (ν C=N), 1466 (ν C=C), 1277 (ν C-O).

Nomenclatura: 4'-(3-colesteriloxicarbonil)benzilideno-fenil-hidrazina **12**



F.M.: $\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_2$ / **M.M.:** 608,90 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

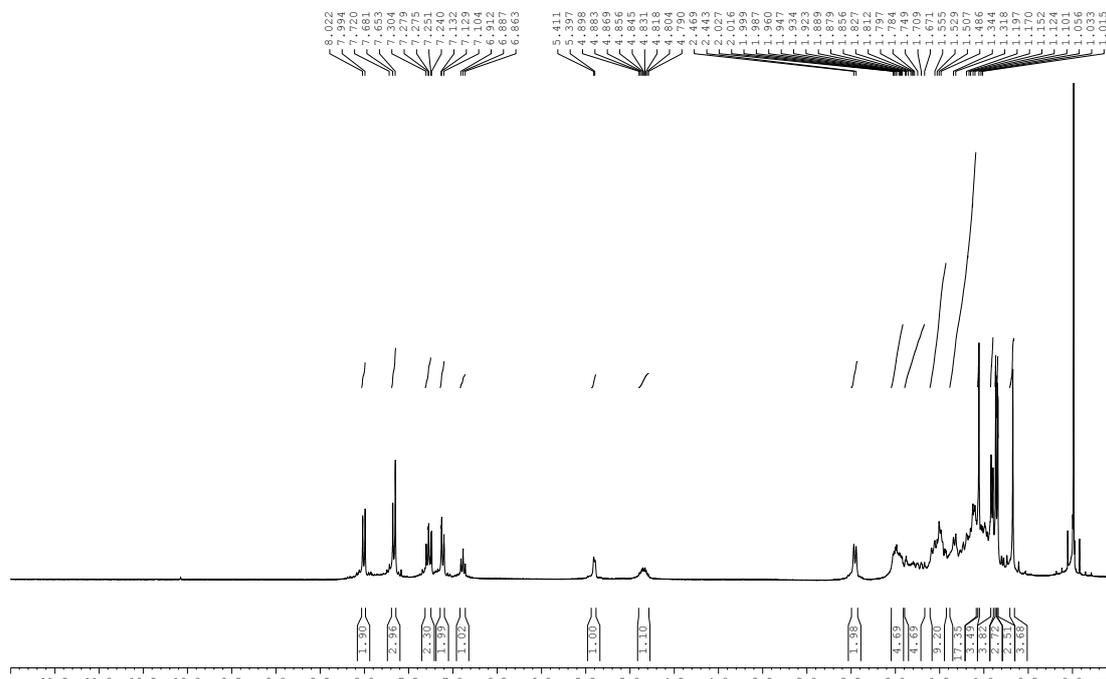
Característica física: sólido amarelo pálido

F.F. (experimental): 214,3-215,0 $^{\circ}\text{C}$

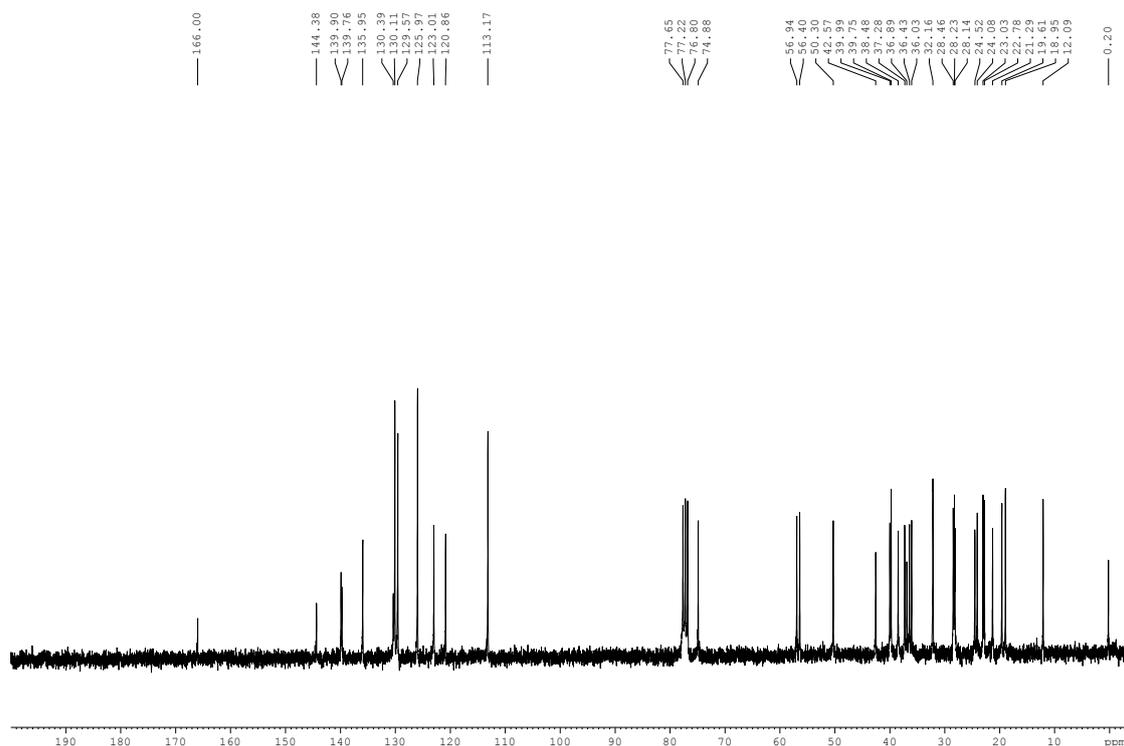
R_f (CCD): 0,29 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 70%

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm), J (Hz): 0,67 (s, 3H, 18- CH_3); 0,89 (d, 6H, 26- CH_3 e 27- CH_3 , $J = 7,0$); 0,95 (d, 3H, 18- CH_3 , $J = 6,5$); 1,01-2,03 (m, 32H, 19- CH_3 e CH_2 e CH esqueleto); 2,46 (d, 2H, 4- CH_2 , $J = 7,8$); 4,85 (m, 1H, 3-H); 5,40 (d, 1H, 6-H, $J = 4,2$); 6,89 (t, 1H, H-11', $J = 7,3$); 7,12 (m, 2H, H-10' e H-12'); 7,25-7,30 (m, 2H, H-9' e H-13'); 7,65 (s, 2H, H-3' e H-5'); 7,68 (s, 1H, H-7'); 8,01 (d, 2H, H-2' e H-6').



RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 12,1 (C-18); 18,9 (C-21); 19,6 (C-19); 21,3(C-11); 22,8 e 23,0 (C-26 e C-27); 24,1-56,9 (CH_2 e CH esqueleto); 74,9 (C-3); 113,2 (C-9' e C-13'); 120,9 (C-6); 123,0 (C-11'); 125,9 (C-3' e C-5'); 129,6 (C-10' e C-12'); 130,1 (C-2' e C-6'); 130,4 (C-1'); 135,9 (C-4'); 139,8 e 139,9 (C-5' e C-7'); 144,4 (C-8'); 166,0 (COO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3464, 3291 (ν N-H), 2936, 2867 (ν C-H), 1697 (ν C=O éster), 1605 (ν C=N), 1582, 1535 (ν C=C), 1266 (ν C-O).

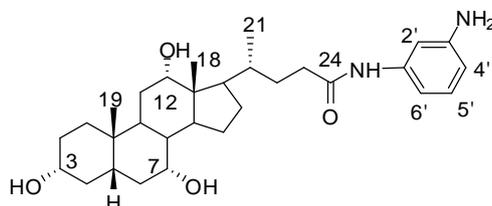
7.2.2 Preparação de amidas e aldeídos biliares derivados dos ácidos cólico e desoxicólico

7.2.2.1 Preparação das amidas biliares **13** e **14**

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, solubilizou-se 4,89 mmol de um ácido biliar (cólico ou desoxicólico) em 30 mL de tetra-hidrofurano (THF). A seguir, adicionou-se 4,89 mmol (1 eq. molar) de 1,3-diaminobenzeno, 5,07 mmol (1,05 eq. molar) de díciclo-hexilcarbodiimida (DCC) e, por fim, adicionou-se cristais de DMAP à mistura reacional que foi então mantida a temperatura ambiente e agitação constante por 24 h. Após este intervalo de tempo, verificou-se por cromatografia em camada delgada (CCD) a formação da amida biliar desejada. Prosseguiu-se com a adição de acetato de etila para precipitação do subproduto díciclo-hexilureia (DCU), filtração simples do mesmo e evaporação da fase orgânica com auxílio de um rotaevaporador. O sólido obtido foi então submetido à purificação em CCS utilizando-se como eluente uma

mistura dos solventes CH₂Cl₂ e MeOH, sendo a amida biliar **13** obtida nas frações de gradiente 90:10 e a amida biliar **14** nas de gradiente 95:05.

Nomenclatura: *N*-(3-aminofenil)-4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **13**



F.M.: C₃₀H₄₆N₂O₄ / **M.M.:** 498,35 g.mol⁻¹

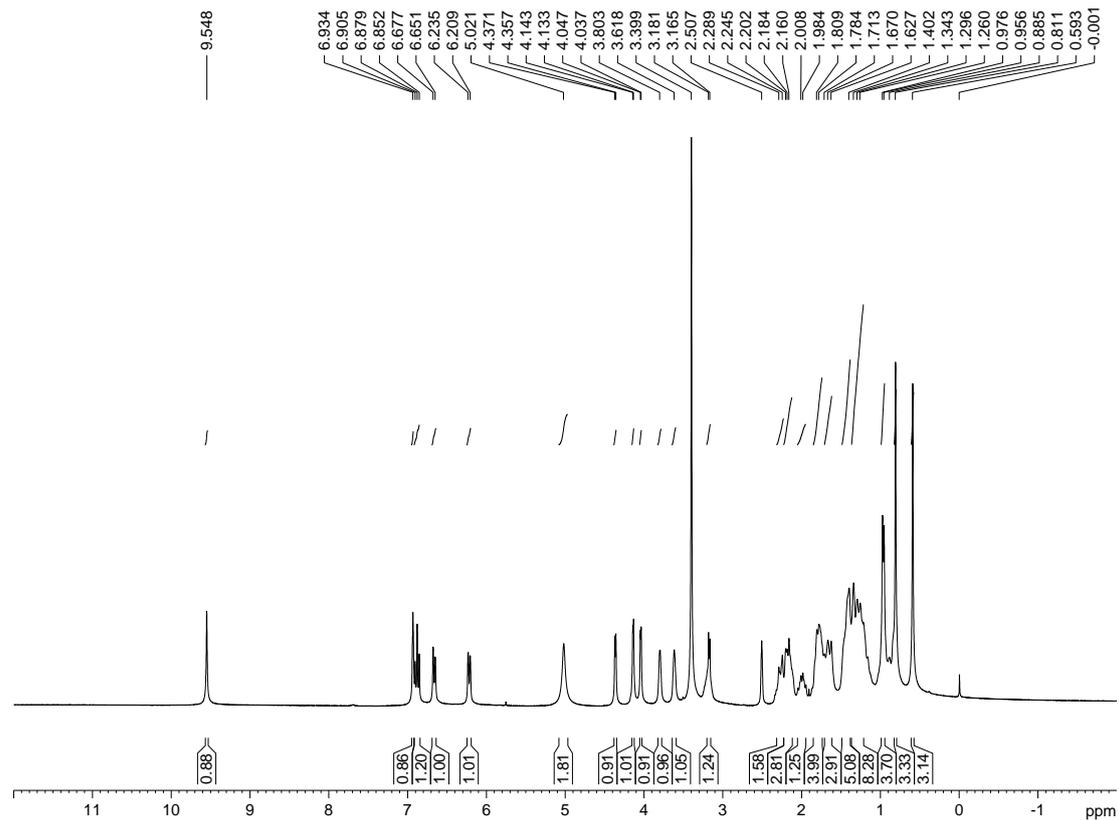
Característica física: sólido bege

F.F. (experimental): 153,2-154,0 °C

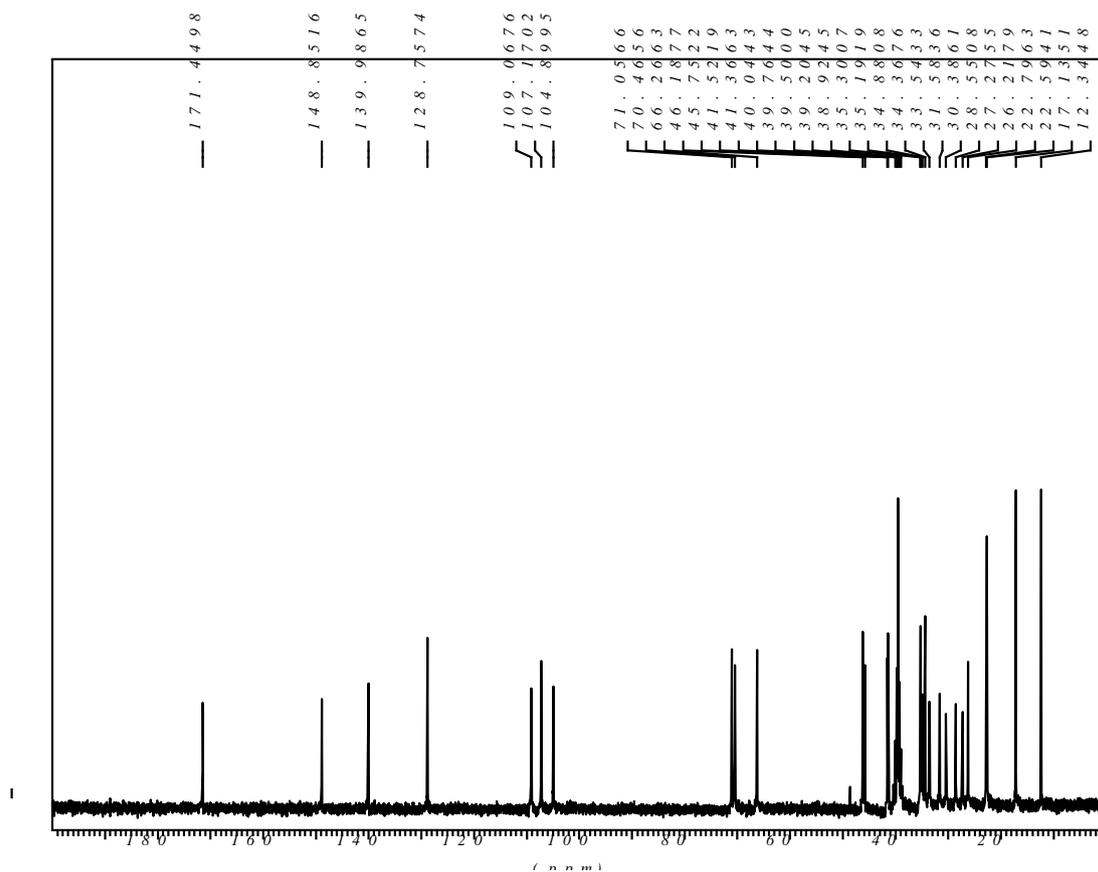
Rf (CCD): 0,34 CH₂Cl₂/MeOH (90:10) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 82%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,59 (s, 3H, 18-CH₃); 0,81 (s, 3H, 19-CH₃); 0,97 (d, 2H, 21-CH₃, *J* = 6,0); 1,26-2,29 (m, 24H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 3,17 (d, 1H, H-3 β , *J* = 4,8); 3,62 (s, 1H, H-7 β); 3,80 (s, 1H, H-12 β); 4,04 (d, 1H, 7-OH, *J* = 3,0); 4,14 (d, 1H, 12-OH, *J* = 3,0); 4,36 (d, 1H, 3-OH, *J* = 4,2); 5,02 (sl, 2H, -NH₂); 6,22 (d, 1H, H-4', *J* = 7,8); 6,66 (d, 1H, H-6', *J* = 7,8); 6,88 (t, 1H, H-5', *J* = 7,9); 6,93 (s, 1H, H-2'); 9,55 (s, 1H, -NH).

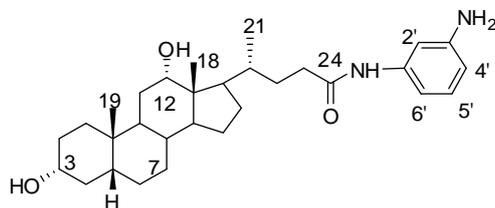


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,3 (C-18); 17,1 (C-21); 22,6 (C-19); 22,8-46,2 (CH_2 e CH esqueleto); 66,2 (C-7); 70,5 (C-3); 71,0 (C-12); 104,9 (C-2'); 107,2 (C-4'); 109,1 (C-6'); 128,7 (C-5'); 139,9 (C-1'); 148,8 (C-3'); 171,4 (C-24).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3390 (ν O-H), 3135 (ν N-H), 2936, 2868 (ν C-H), 1664 (ν C=O amida), 1552, 1400, 1386 (ν C=C).

Nomenclatura: *N*-(3-aminofenil)-4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanamida **14**



F.M.: $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_3$ / **M.M.:** $482,35 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

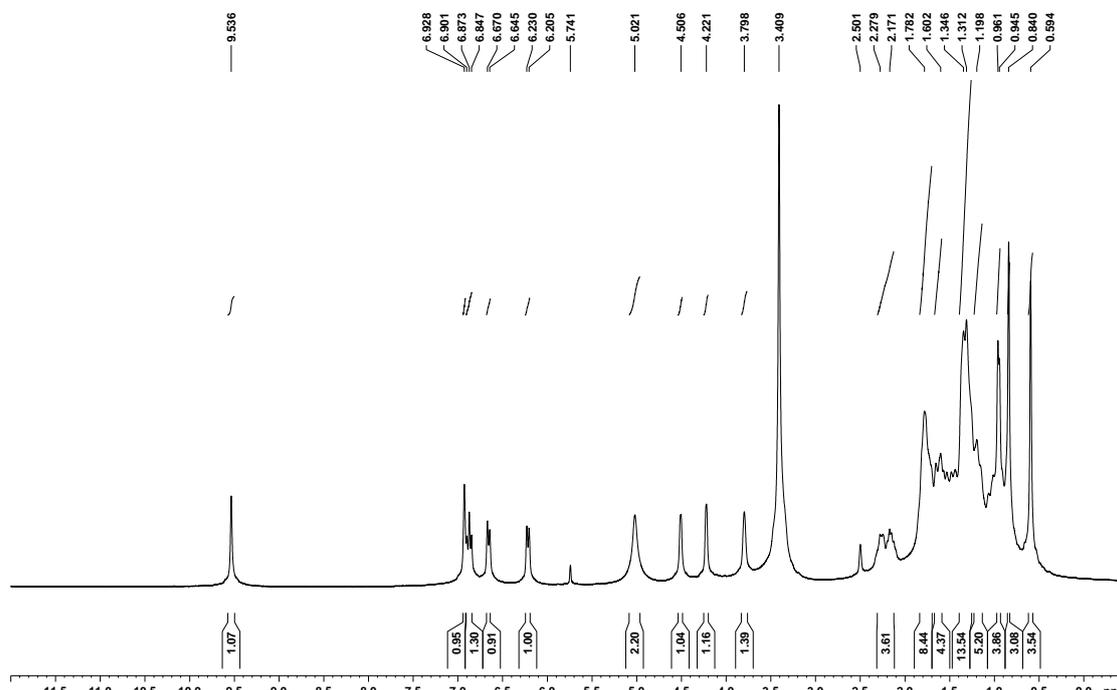
Característica física: sólido bege

F.F. (experimental): $136,5\text{-}138,0 \text{ }^\circ\text{C}$

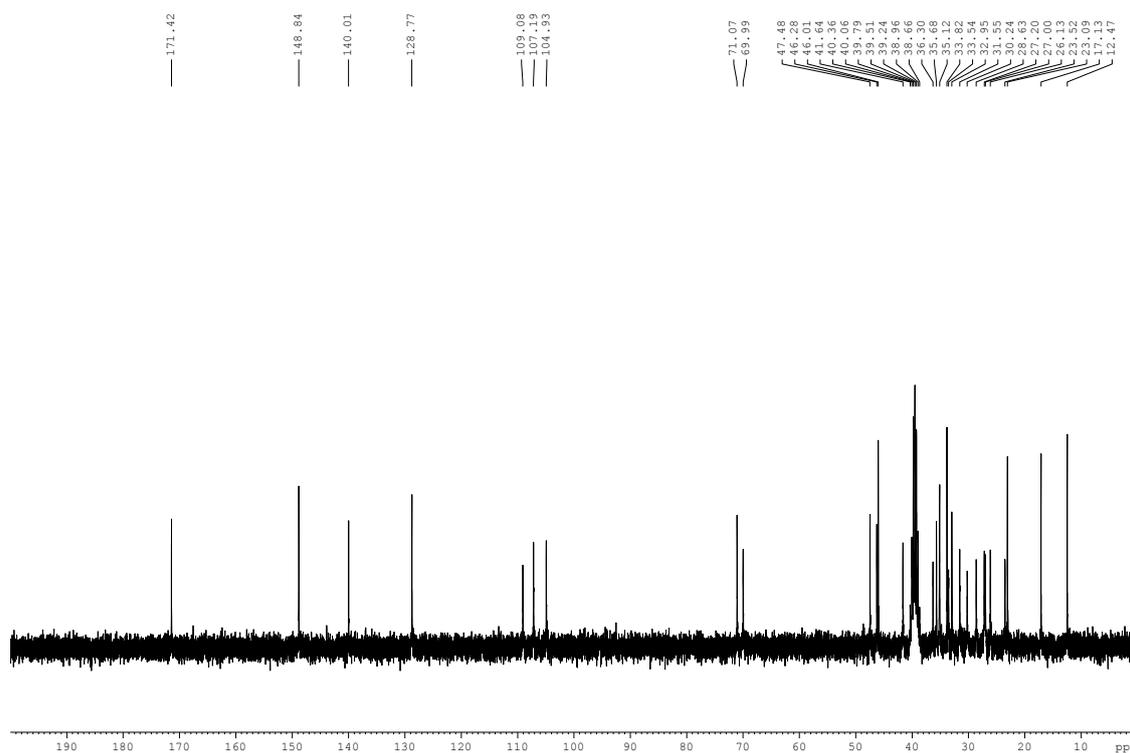
Rf (CCD): 0,50 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 21%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,59 (s, 3H, 18- CH_3); 0,84 (s, 3H, 19- CH_3); 0,95 (d, 2H, 21- CH_3 , $J = 4,8$); 1,20-1,78 (m, 23H, CH_2 e CH esqueleto); 2,17-2,28 (m, 2H, 23- CH_2); 3,80 (s, 1H, H-12 β); 4,22 (s, 1H, 12-OH); 4,51 (s, 1H, 3-OH); 5,02 (sl, 2H, $-\text{NH}_2$); 6,22 (d, 1H, H-4', $J = 7,5$); 6,66 (d, 1H, H-6', $J = 7,5$); 6,87 (t, 1H, H-5', $J = 8, 1$); 6,93 (s, 1H, H-2'); 9,54 (s, 1H, $-\text{NH}$).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,5 (C-18); 17,1 (C-21); 23,1 (C-19); 23,5-46,3 (CH_2 e CH esqueleto); 47,5 (C-7); 70,0 (C-3); 71,1 (C-12); 104,9 (C-2'); 107,2 (C-4'); 109,1 (C-6'); 128,8 (C-5'); 140,0 (C-1'); 148,8 (C-3'); 171,4 (C-24).

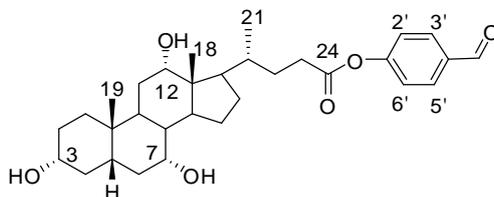


I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3335 (ν O-H), 3149 (ν N-H), 2935, 2862 (ν C-H), 1666 (ν C=O amida), 1551, 1450 (ν C=C).

7.2.2.2 Preparação dos aldeídos biliares **15** e **16**

Em um balão de fundo redondo de 100 mL, solubilizou-se 2,45 mmol de um ácido biliar (cólico ou desoxicólico) em 50 mL de diclorometano (CH_2Cl_2). A solubilidade foi apenas parcial. A seguir, adicionou-se 1,05 eq. molar de 4-hidroxibenzaldeído e 1,05 eq. molar de dicitlo-hexilcarbodiimida (DCC) e, por fim, cristais de DMAP foram adicionados à mistura reacional que foi então mantida sob refluxo e agitação constante por 24h. Após este intervalo de tempo, verificou-se por cromatografia em camada delgada (CCD) a formação do produto desejado. Prosseguiu-se com uma filtração simples para a eliminação do subproduto dicitlo-hexilureia (DCU) do meio reacional e a fase orgânica residual foi evaporada no rotaevaporador. O sólido obtido foi então submetido à purificação em CCS utilizando-se como eluente uma mistura dos solventes CH_2Cl_2 e MeOH, sendo ambos os aldeídos biliares obtidos nas frações de gradiente 97:03.

Nomenclatura: 4-formilfenil 4-(3,7,12-tri-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanoato **15**



F.M.: C₃₁H₄₄O₆ / **M.M.:** 512,68 g.mol⁻¹

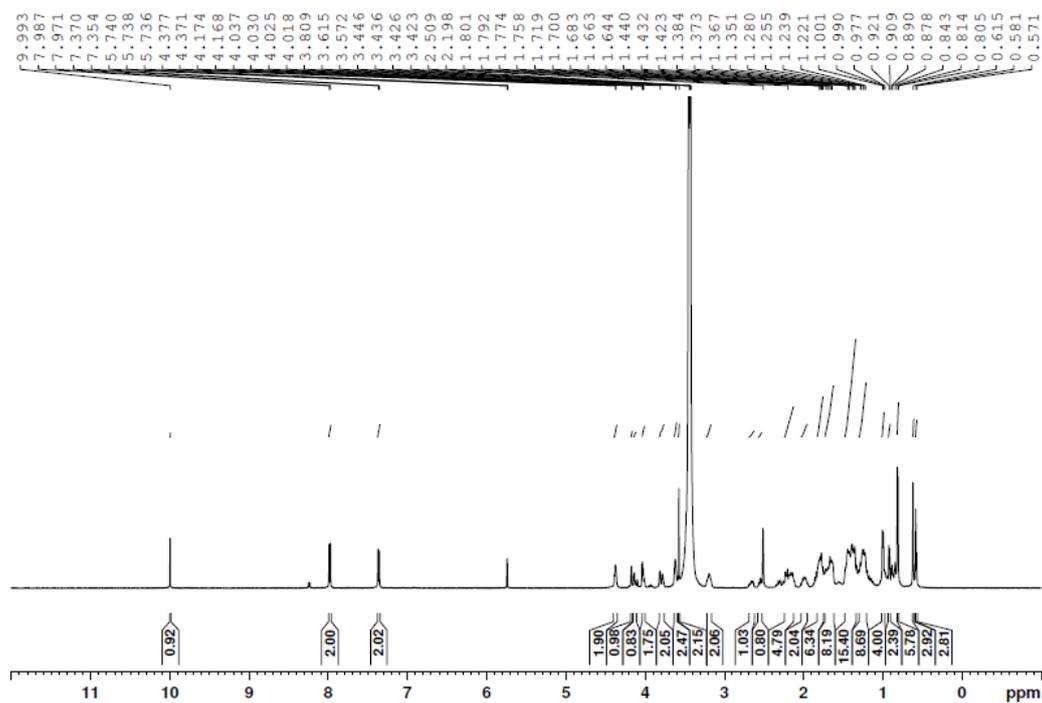
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): 194,7-196,0 °C

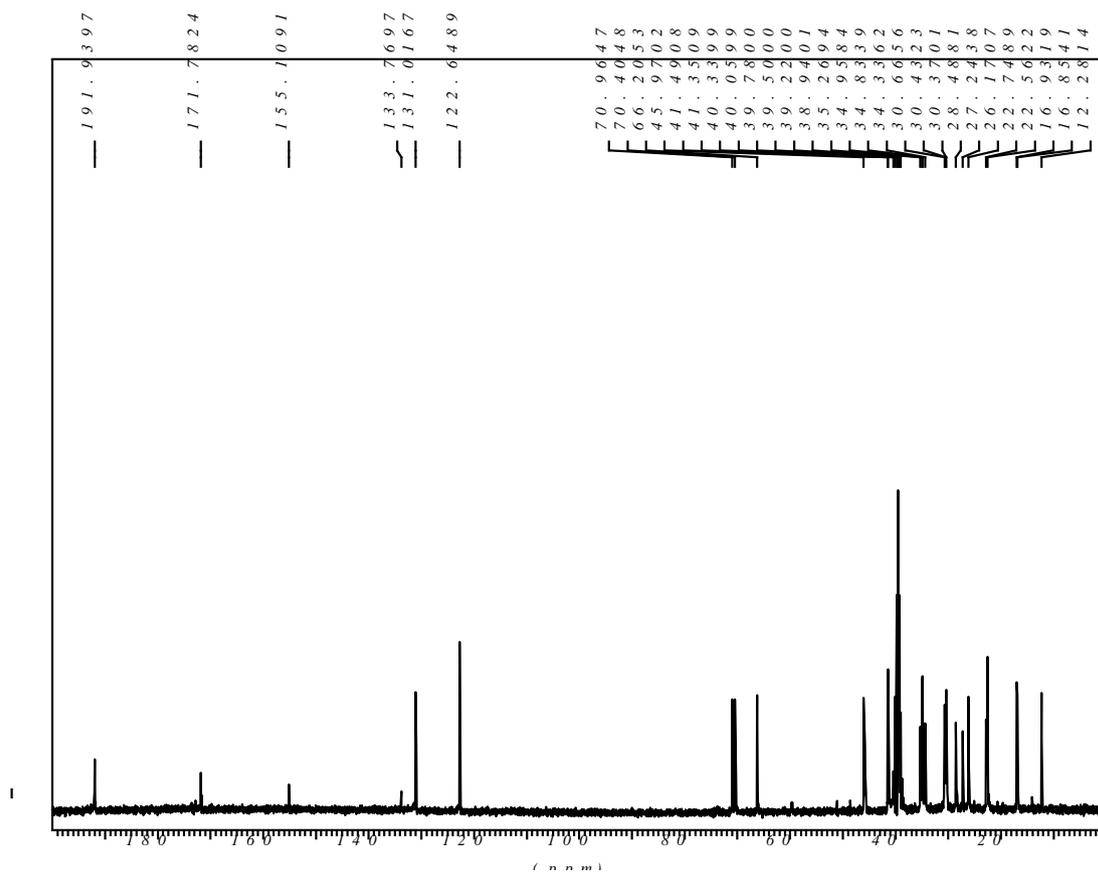
Rf (CCD): 0,62 CH₂Cl₂/MeOH (90:10) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 30%

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 0,58 (s, 3H, 18-CH₃); 0,61 (s, 3H, 19-CH₃); 0,81 (d, 3H, 21-CH₃, *J* = 4,5); 0,84-2,20 (m, 24H, CH₂ e CH esqueleto e 23-CH₂); 3,17 (d, 3H, *J* = 4,1); 3,20 (sl, 1H, H-3 β); 3,60 (s, 1H, H-7 β); 3,80 (s, 1H, H-12 β); 4,02 (s, 1H, 7-OH); 4,20 (s, 1H, 12-OH); 4,40 (s, 1H, 3-OH); 7,36 (d, 2H, H-2' e H-6', *J* = 8,0); 7,98 (d, 2H, H-3' e H-5', *J* = 8,0); 9,99 (s, 1H, HCO).

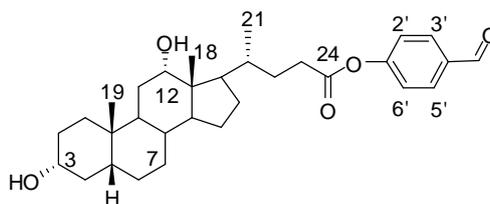


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,3 (C-18); 16,8 (C-21); 22,6 (C-19); 22,7-45,9 (CH₂ e CH esqueleto); 66,2 (C-7); 70,4 (C-3); 70,9 (C-12); 122,6 (C-2' e C-6'); 131,0 (C-3' e C-5'); 133,8 (C-4'); 155,1 (C-1'); 171,8 (C-24); 191,9 (HCO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3429, 3326 (ν O-H), 2927, 2850 (ν C-H), 1764 (ν C=O éster), 1699 (ν C=O aldeído), 1625, 1575 (ν C=C).

Nomenclatura: 4-formilfenil 4-(3,12-di-hidroxi-10,13-dimetil-hexadeca-hidro-1*H*-ciclopenta[α]fenantren-17-il)pentanoato **16**



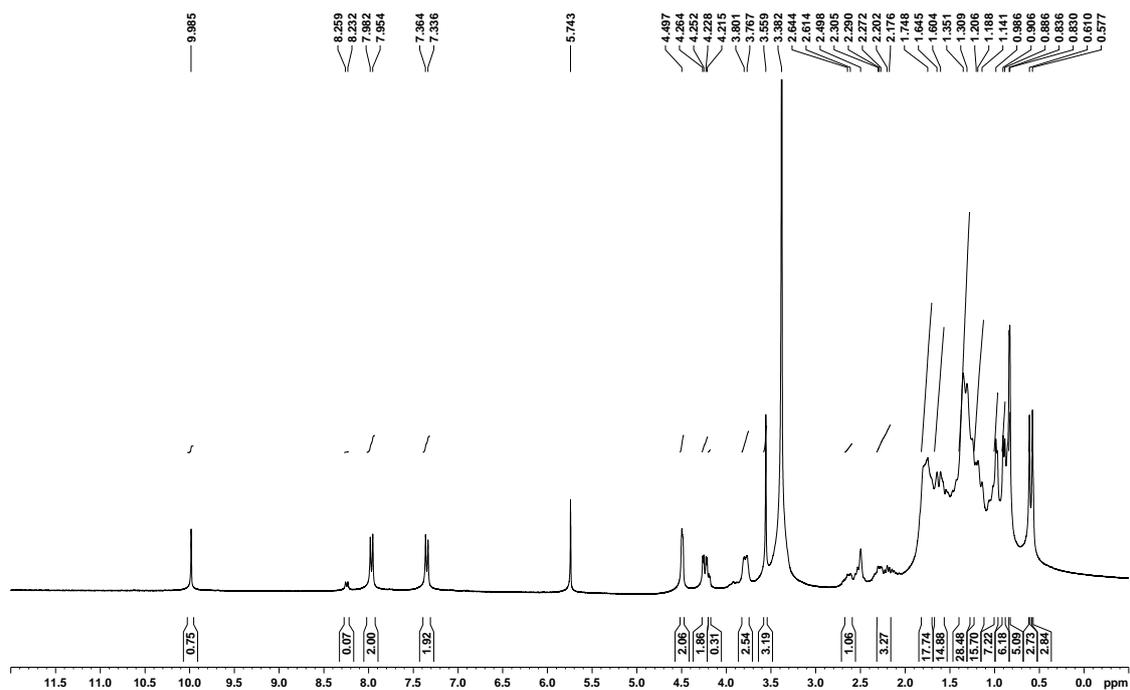
F.M.: $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{O}_5$ / **M.M.:** $496,68 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Característica física: óleo

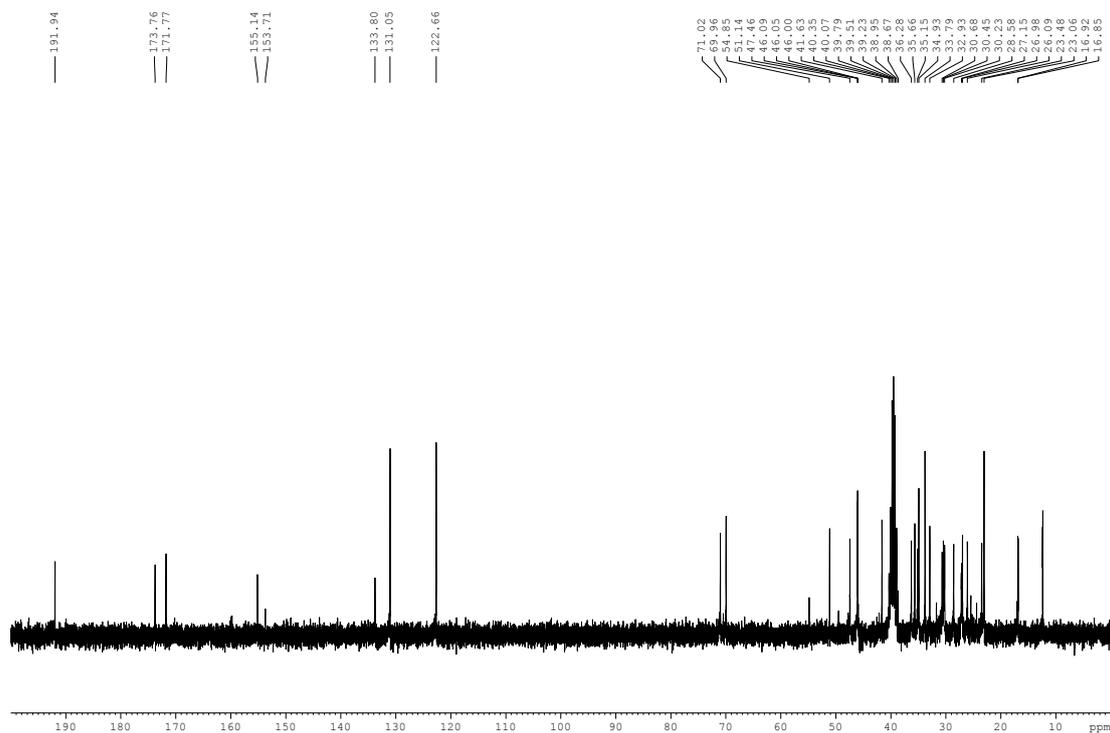
Rf (CCD): 0,75 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 30%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 0,58 (s, 3H, 18- CH_3); 0,61 (s, 3H, 19- CH_3); 0,83 (d, 3H, 21- CH_3 , $J = 4,5$); 0,87-2,30 (m, 25H, CH_2 e CH esqueleto e 23- CH_2); 3,78 (sl, 1H, H-12 β); 4,23 (m, 1H, 12-OH); 4,50 (s, 1H, 3-OH); 7,35 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,4$); 7,97 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,4$); 9,98 (s, 1H, HCO).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 12,0 (C-18); 16,8 (C-21); 23,1 (C-19); 23,5-45,9 (CH_2 e CH esqueleto); 47,5 (C-7); 70,0 (C-3); 71,0 (C-12); 122,7 (C-2' e C-6'); 131,0 (C-3' e C-5'); 133,8 (C-4'); 155,1 (C-1'); 171,8 (C-24); 191,9 (HCO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3406, 3136 (ν O-H), 2936, 2862 (ν C-H), 1741 (ν C=O éster), 1703 (ν C=O aldeído).

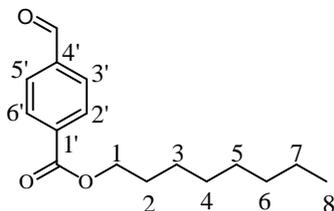
7.2.3 Preparação de bases de Schiff lipofílicas (de cadeia alquila longa)

7.2.3.1 Procedimento geral de preparação dos aldeídos de cadeia longa **17-19**

Em um balão de fundo redondo de 50,0 mL, solubilizou-se parcialmente 1,0 g de 4-carboxibenaldeído (6,6 mmol) em diclorometano seco. A esta mistura, adicionou-se o álcool *n*-alquila de interesse (6,6 mmol) e quantidade catalítica de DMAP. Após 15 min. sob agitação, uma solução de DCC (7,3 mmol) em CH_2Cl_2 foi então adicionada a mistura reacional que permaneceu sob agitação durante cerca de 12h à t.a. Verificou-se, por CCD, a formação de um composto mais apolar que o ácido carboxílico de partida e a formação do precipitado branco de DCU. Este foi removido do meio reacional por filtração simples e lavado com clorofórmio. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o sólido bruto resultante foi purificado por CCS utilizando-se como eluente

uma mistura de hexano e acetato de etila. Nos três procedimentos de purificação por CCS, o produto puro foi obtido nas frações de gradiente 97:03 (Hex/EtOAc).

Nomenclatura: 4-formilbenzoato de octila **17**



F.M.: C₁₆H₂₂O₃ / **M.M.:** 262,34 g.mol⁻¹

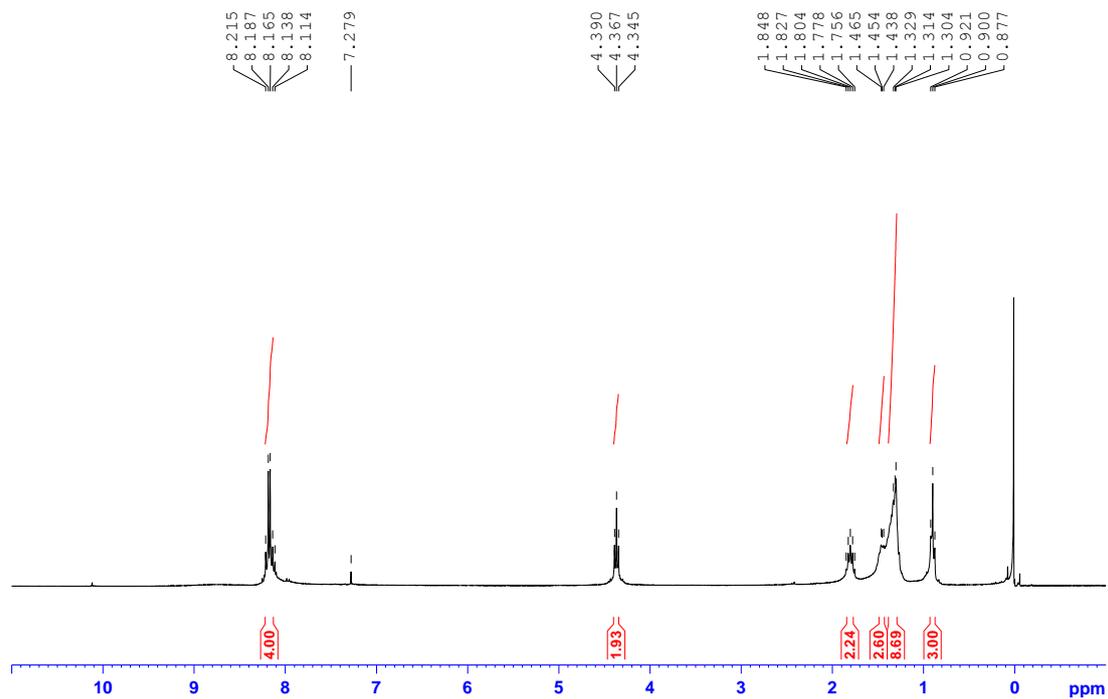
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): 104,7-107,0 °C

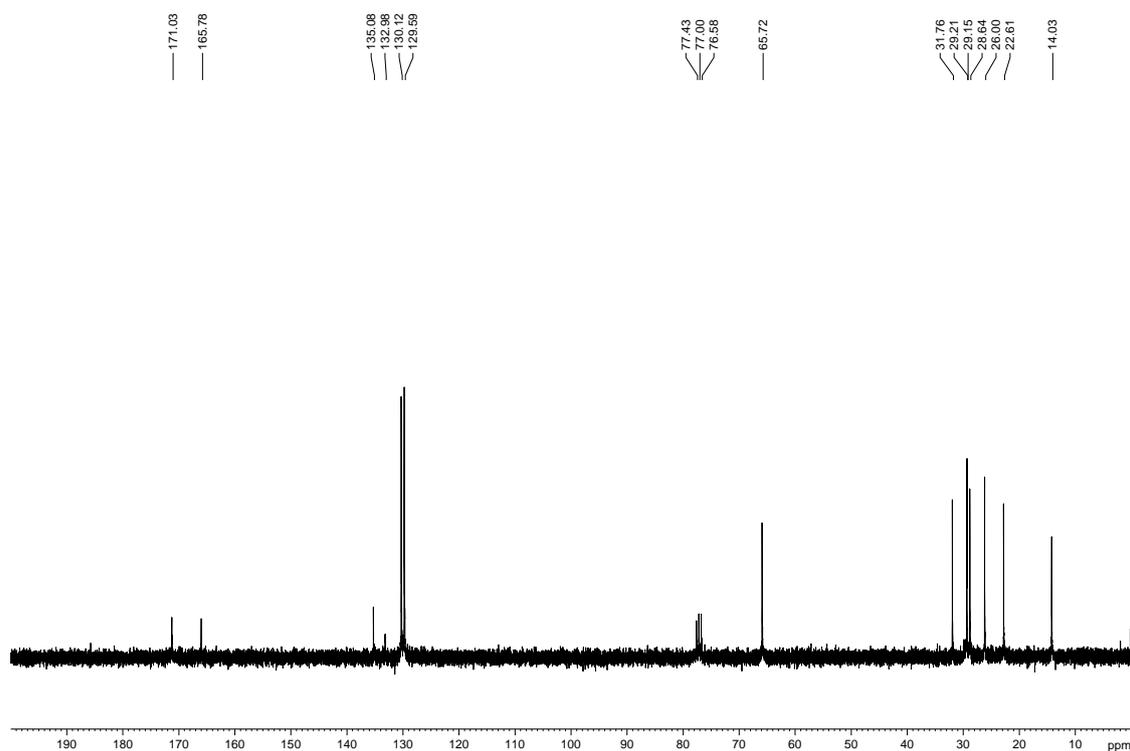
Rf (CCD): 0,48 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 54 %

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,90 (t, 3H, 8-CH₃, J = 6,4); 1,30-1,46 (m, 10H, 3- a 7-CH₂); 1,80 (qui, 2H, 2-CH₂); 4,37 (t, 2H, 1-CH₂, J = 6,7); 8,11-8,21 (m, 4H, H-2', H-3', H-5' e H-6').

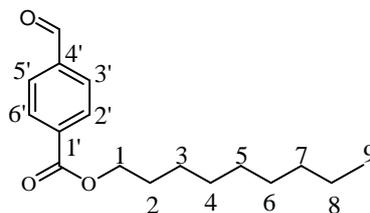


RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 14,0 (8-CH₃); 22,6 (7-CH₂); 26,0 (3-CH₂); 28,6 e 29,1(4- e 5-CH₂); 31,8 (2- e 6-CH₂); 65,7 (1-CH₂); 129,6 (C-3' e C-5'); 130,1 (C-2' e C-6'); 133,0 (C-1'); 135,0 (C-4'); 165,8 (-COO); 171,0 (HCO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2955, 2922, 2851 (ν C-H), 1717 (ν C=O éster), 1691 (ν C=O aldeído), 1461, 1429 (ν C=C), 1277 (ν C-O).

Nomenclatura: 4-formilbenzoato de nonila **18**



F.M.: $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_3$ / **M.M.:** $276,37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

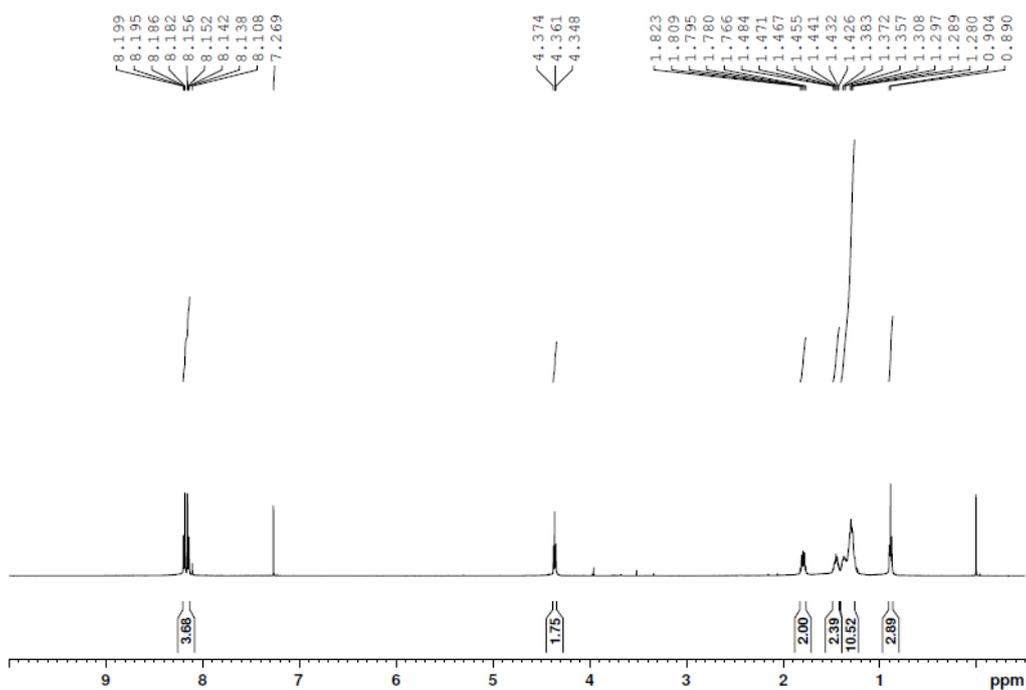
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): $93,6\text{-}95,0 \text{ }^\circ\text{C}$

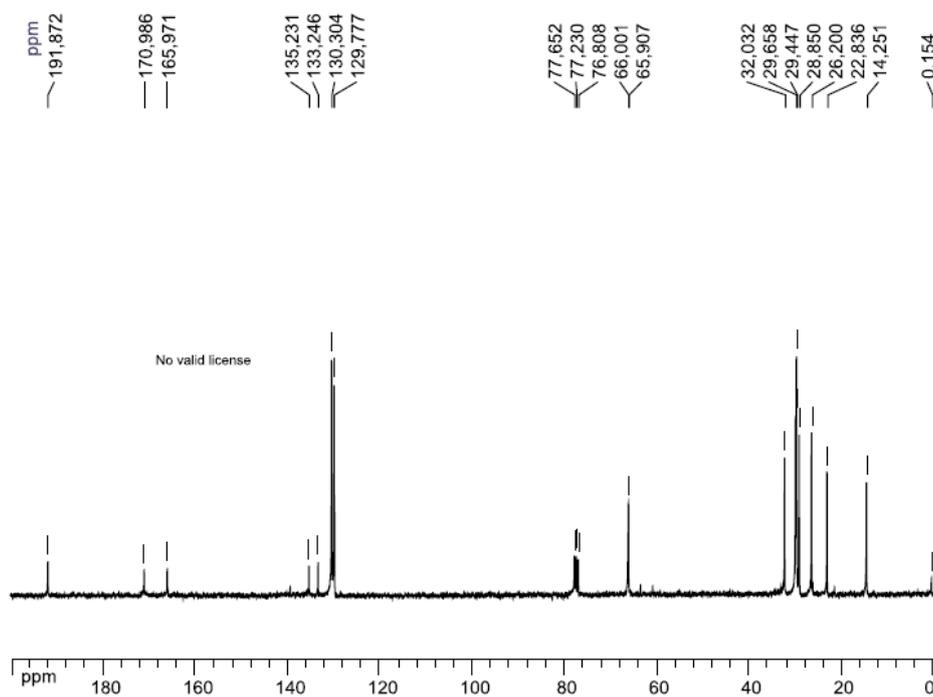
Rf (CCD): 0,44 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 78 %

RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3), δ (ppm), J (Hz): 0,89 (t, 3H, 9- CH_3 , $J = 7,0$); 1,28-1,48 (m, 12H, 3- a 8- CH_2); 1,79 (qui, 2H, 2- CH_2); 4,36 (t, 2H, 1- CH_2 , $J = 6,5$); 8,11-8,20 (m, 4H, H-2', H-3', H-5' e H-6').

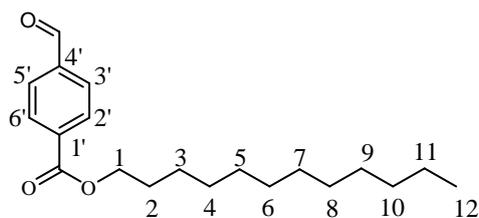


RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 14,2 (9- CH_3); 22,8 (8- CH_2); 26,2 (3- CH_2); 28,6 29,4 e 29,6 (4- a 6- CH_2); 32,0 (2- e 7- CH_2); 65,9 (1- CH_2); 129,8 (C-3' e C-5'); 130,3 (C-2' e C-6'); 133,2 (C-1'); 135,2 (C-4'); 165,9 (-COO); 171,0 (HCO); 191,8 (HCO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2955, 2922, 2851(ν C-H), 1717 (ν C=O éster), 1690 (ν C=O aldeído), 1463, 1430 (ν C=C), 1277 (ν C-O).

Nomenclatura: 4-formilbenzoato de dodecila **19**



F.M.: $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$ / **M.M.:** $318,45 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): $73,4\text{-}76,0 \text{ }^\circ\text{C}$

Rf (CCD): 0,48 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

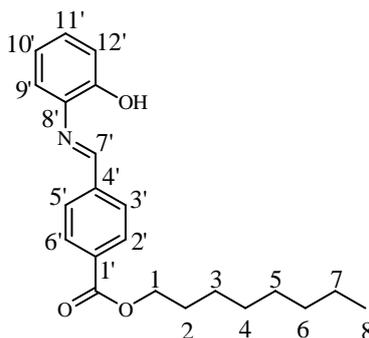
Rendimento: 54 %

I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2921, 2850 (ν C-H), 1717 (ν C=O éster), 1691 (ν C=O aldeído), 1463, 1429 (ν C=C), 1277 (ν C-O).

7.2.3.1 Procedimento geral de preparação das bases de Schiff lipofílicas **20-24**

Em um balão de 25,0 mL de fundo redondo solubilizou-se, sob refluxo, o aldeído de cadeia alquila longa de interesse (**17**, **18** ou **19**) em etanol. A seguir foram adicionados, em pequenas porções, 1,0 eq. molar de uma amina aromática (2-hidroxianilina, anilina ou 2-mercapto anilina). Então, a mistura foi mantida sob refluxo (70-80°C) por 6 h. Quando a mistura foi resfriada à temperatura ambiente observou-se a formação de precipitado em todos os experimentos. O sólido foi filtrado, lavado com etanol e seco à temperatura ambiente.

Nomenclatura: (*E*)-4-((2-hidroxifenilimino)metil)benzoato de octila **20**



F.M.: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ / **M.M.:** $353,45 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

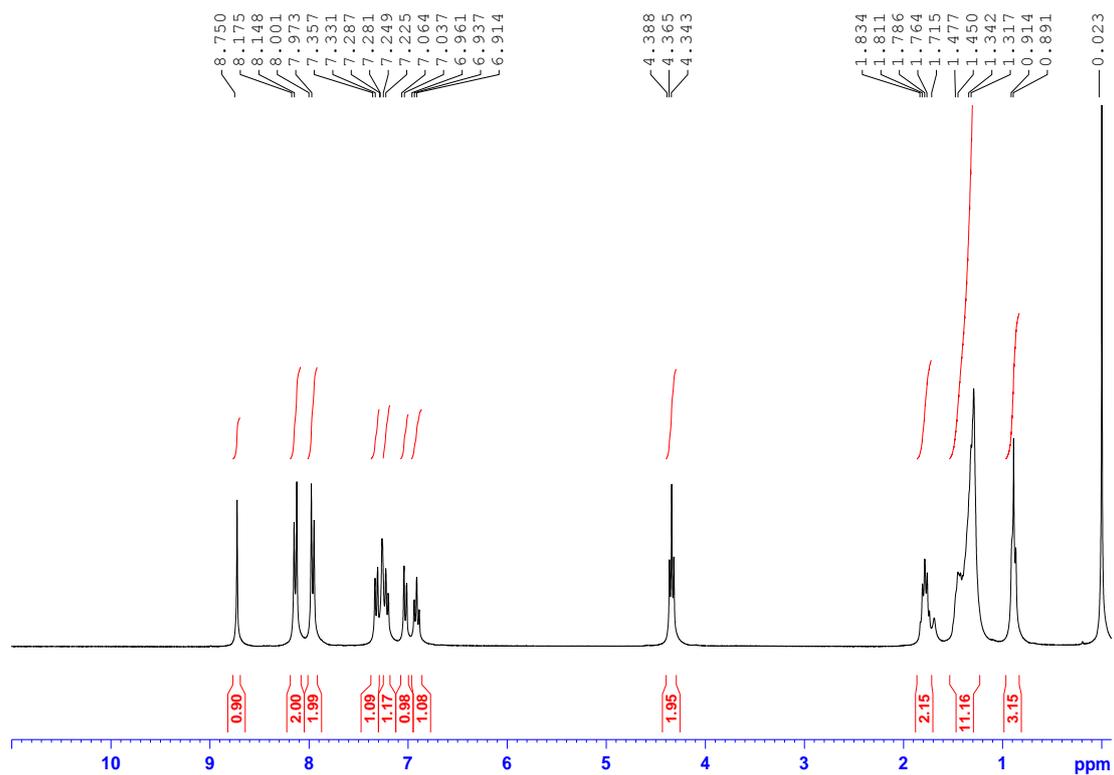
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 103,8-104,0 °C

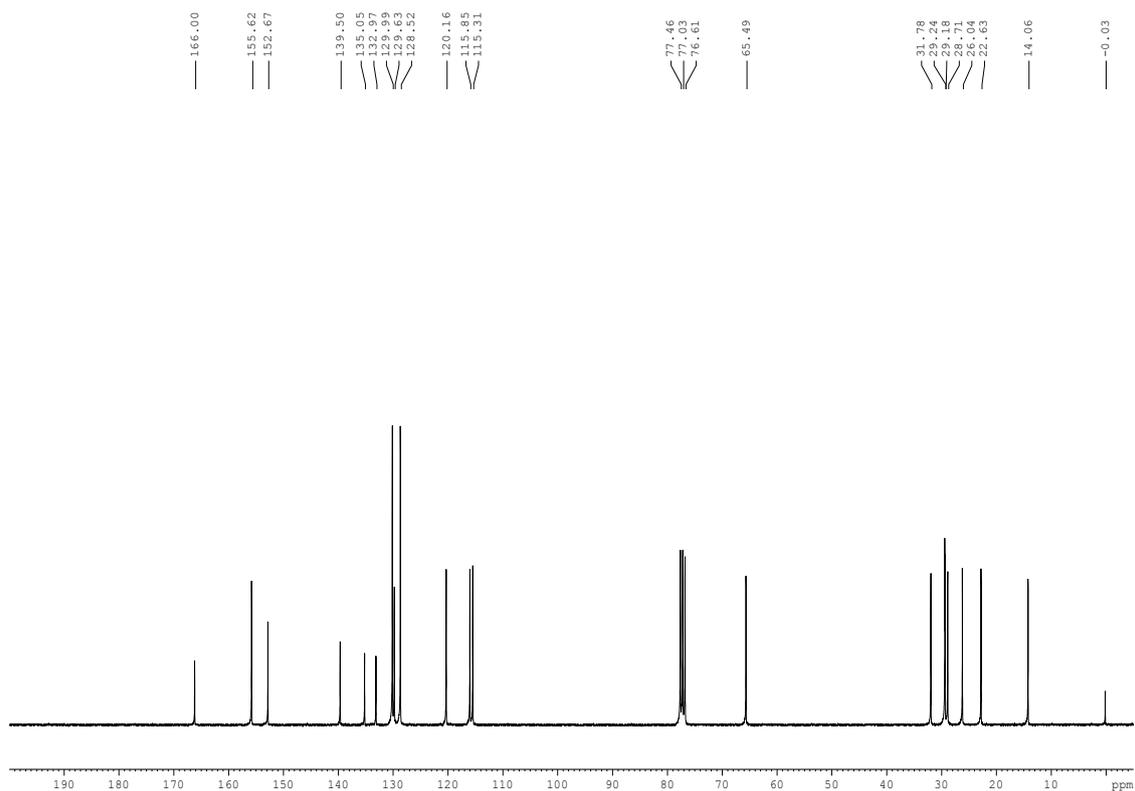
Rf (CCD): 0,44 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 38 %

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm), J (Hz): 0,91 (m, 3H, 9- CH_3); 1,32-1,48 (m, 10H, 3- a 7- CH_2); 1,76-1,83 (m, 2H, 2- CH_2); 4,36 (t, 2H, 1- CH_2 , $J = 6,7$); 6,94 (t, 1H, H-10', $J = 7,0$); 7,05 (d, 1H, H-12', $J = 8,1$); 7,25 (t aparente, 1H, H-11', $J = 7,3$); 7,34 (d, 1H, H-9', $J = 7,8$); 7,99 (d, 2H, H-3' e H-5', $J = 8,4$); 8,16 (d, 2H, H-2' e H-6', $J = 8,1$); 8,75 (s, 1H, H-7').



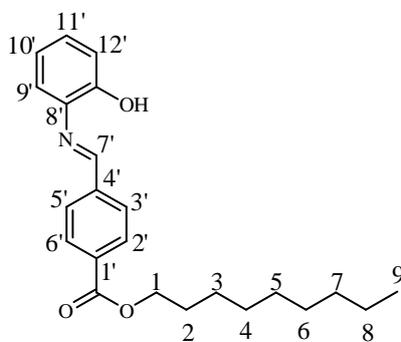
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 14,1 (8-CH₃); 22,6 (7-CH₂); 26,0 (3-CH₂); 28,7-29,2 (4- a 6-CH₂); 31,8 (2-CH₂); 65,5 (1-CH₂); 115,3 (C-9'); 115,8 (C-12'); 120,2 (C-10'); 128,5 (C-3' e C-5'); 129,6 (C-11'); 130,0 (C-2' e C-6'); 133,0 (C-1'); 135,0 (C-4'); 139,5 (C-8'); 152,7 (C-13'); 155,6 (C-7'); 166,0 (-COO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3421(ν O-H), 2925, 2854 (ν C-H), 1702 (ν C=O éster), 1623 (ν C=N), 1486 (ν C=C).

Análise Elementar: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_3$; calculado: C 74,76 %, H 7,70 %, N 3,96 %; encontrado: C 74,45 %, H 7,61 %, N 3,96 %.

Nomenclatura: (*E*)-4-((2-hidroxifenilimino)metil)benzoato de nonila **21**



F.M.: $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_3$ / **M.M.:** $367,48 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

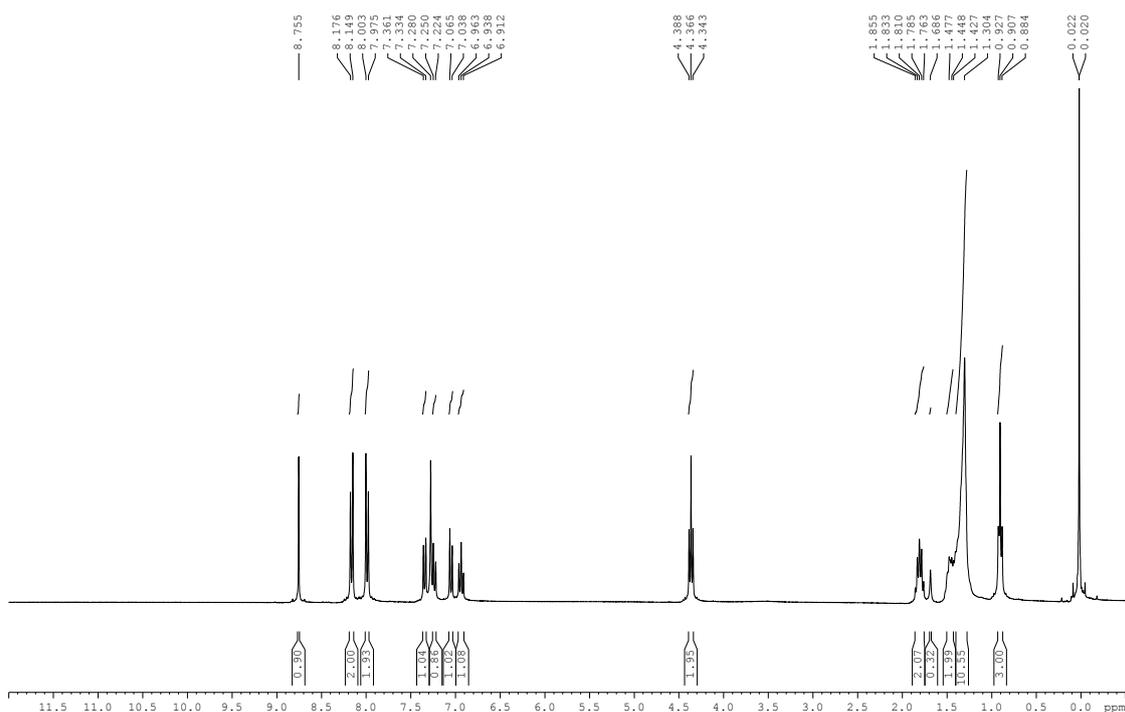
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 96,1-97,7 °C

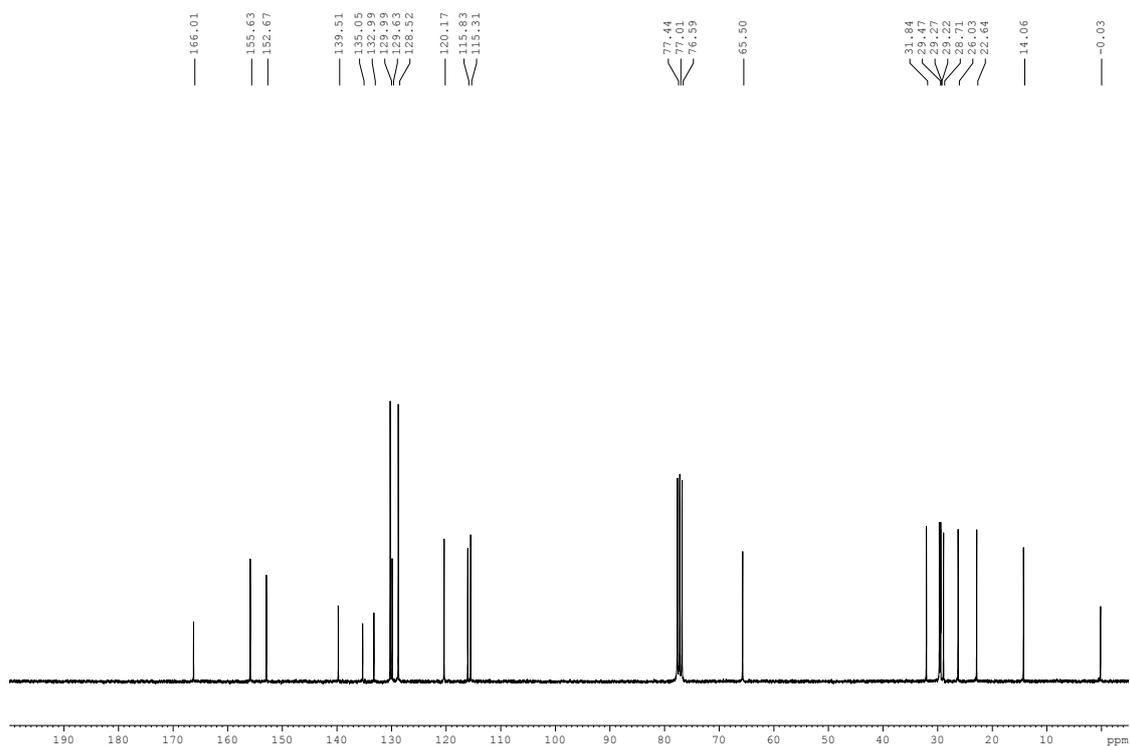
Rf (CCD): 0,44 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 35%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,91 (t, 3H, 9-CH₃, J = 6,4); 1,30-1,48 (m, 12H, 3- a 8-CH₂); 1,76-1,86 (m, 2H, 2-CH₂); 4,37 (t, 2H, 1-CH₂, J = 6,7); 6,94 (t, 1H, H-10', J = 7,6); 7,05 (d, 1H, H-12', J = 8,1); 7,25 (t, 1H, H-11', J = 7,8); 7,35 (d, 1H, H-9', J = 8,1); 7,99 (d, 2H, H-3' e H-5', J = 8,4); 8,16 (d, 2H, H-2' e H-6', J = 8,1); 8,75 (s, 1H, H-7').



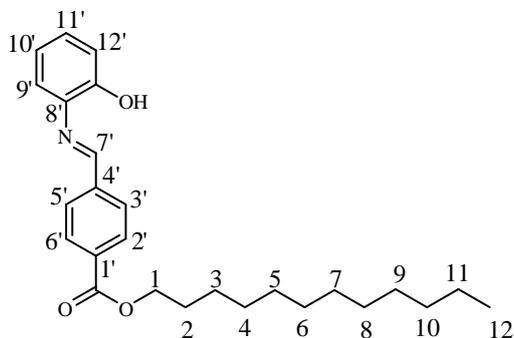
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 14,1 (9-CH₃); 22,6 (8-CH₂); 26,0 (3-CH₂); 28,7-29,5 (4- a 7-CH₂); 31,8 (2-CH₂); 65,5 (1-CH₂); 115,3 (C-9'); 115,8 (C-12'); 120,2 (C-10'); 128,5 (C-3' e C-5'); 129,6 (C-11'); 130,0 (C-2' e C-6'); 133,0 (C-1'); 135,0 (C-4'); 139,5 (C-8'); 152,7 (C-13'); 155,6 (C-7'); 166,0 (-COO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3425 (ν O-H), 2923, 28512 (ν C-H), 1702 (ν C=O éster), 1625 (ν C=N), 1486 (ν C=C).

Análise Elementar: $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_3$; calculado: C 75,17 %, H 7,95 %, N 3,81 %; encontrado: C 74,97 %, H 7,88 %, N 3,83 %.

Nomenclatura: (*E*)-4-((2-hidroxifenilimino)metil)benzoato de dodecila **22**



F.M.: $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{NO}_3$ / **M.M.:** $409,56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

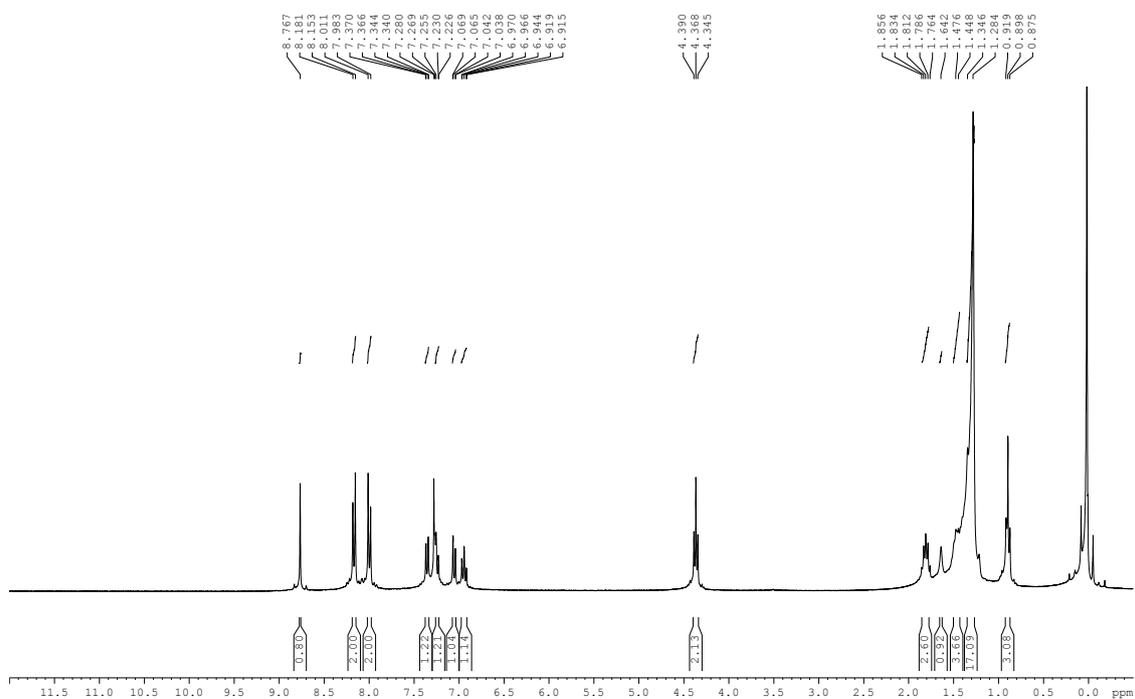
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 87,3-87,9 °C

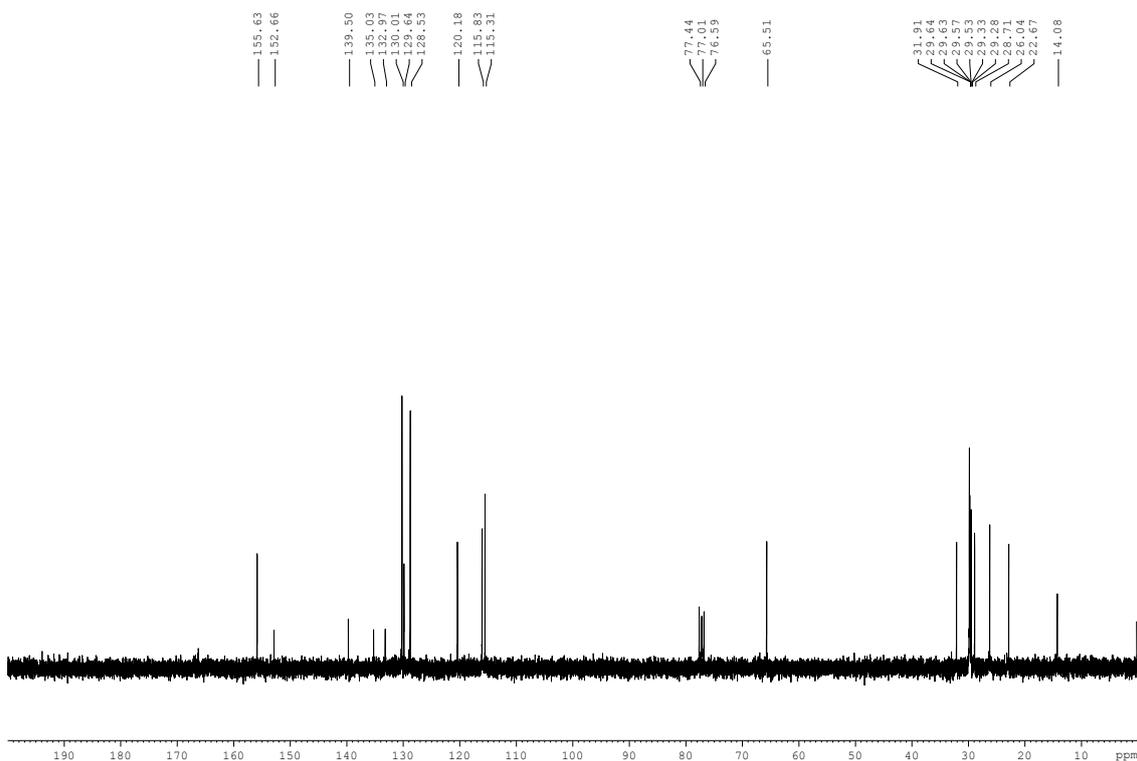
Rf (CCD): 0,46 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 21%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,90 (t, 3H, 12-CH₃, J = 6,6); 1,28-1,47 (m, 18H, 3- a 11-CH₂); 1,76-1,86 (m, 2H, 2-CH₂); 4,37 (t, 2H, 1-CH₂, J = 6,7); 6,94 (m, 1H, H-10^o); 7,05 (dd, 1H, H-12', J = 1,2, J = 8,1); 7,23-7,27 (m, 1H, H-11'); 7,35 (dd, 1H, H-9', J = 1,2, J = 7,8); 7,99 (d, 2H, H-3' e H-5', J = 8,4); 8,17 (d, 2H, H-2' e H-6', J = 8,4); 8,77 (s, 1H, H-7').



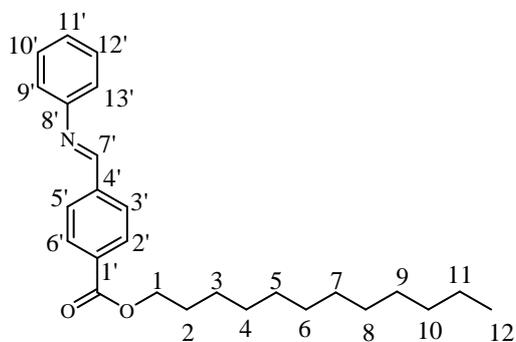
RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 14,1 (12-CH₃); 22,7 (11-CH₂); 26,0 (3-CH₂); 28,7-29,6 (4- a 10-CH₂); 31,9 (2-CH₂); 65,5 (1-CH₂); 115,3 (C-9^o); 115,8 (C-12'); 120,2 (C-10'); 128,5 (C-3' e C-5'); 129,6 (C-11'); 130,0 (C-2' e C-6'); 132,8 (C-1'); 135,0 (C-4'); 139,5 (C-8'); 152,7 (C-13'); 155,6 (C-7'); 166,0 (-COO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3424 (ν O-H), 2922, 2851 (ν C-H), 1704 (ν C=O éster), 1625 (ν C=N), 1486 (ν C=C).

Análise Elementar: $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{NO}_3$; calculado: C 76,25 %, H 8,61 %, N 3,42 %; encontrado: C 76,09 %, H 8,53 %, N 3,41 %.

Nomenclatura: (*E*)-4-((fenilimino)metil)benzoato de dodecila **23**



F.M.: $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{NO}_2$ / **M.M.:** $393,56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

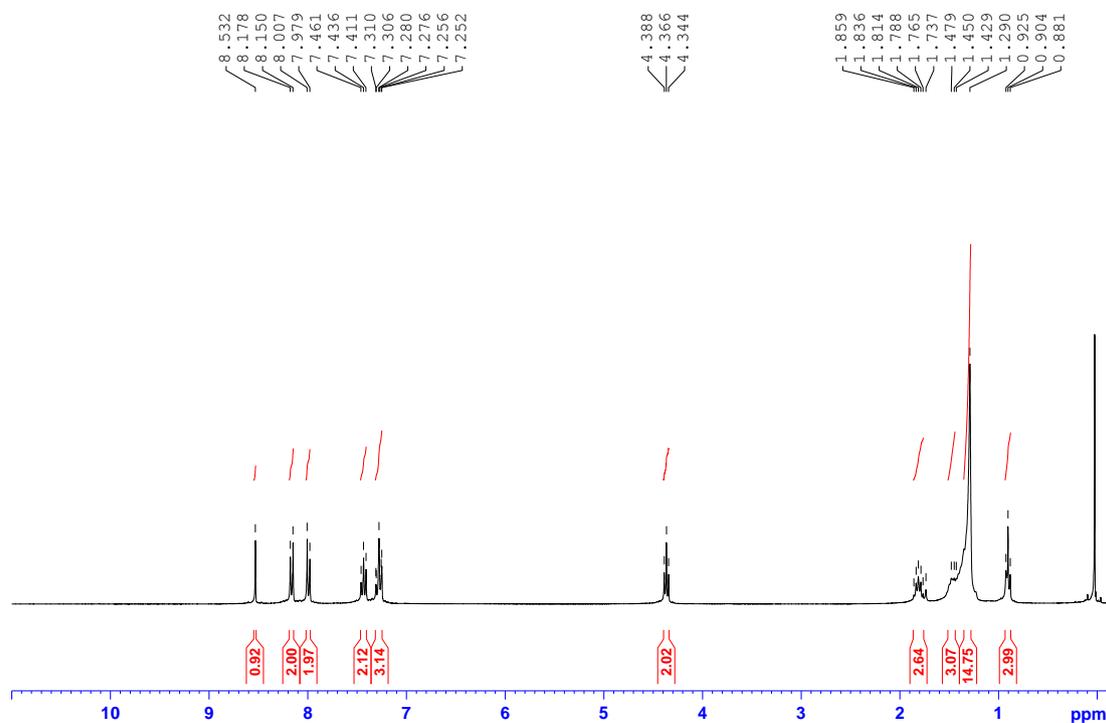
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): 60,4-61,0 °C

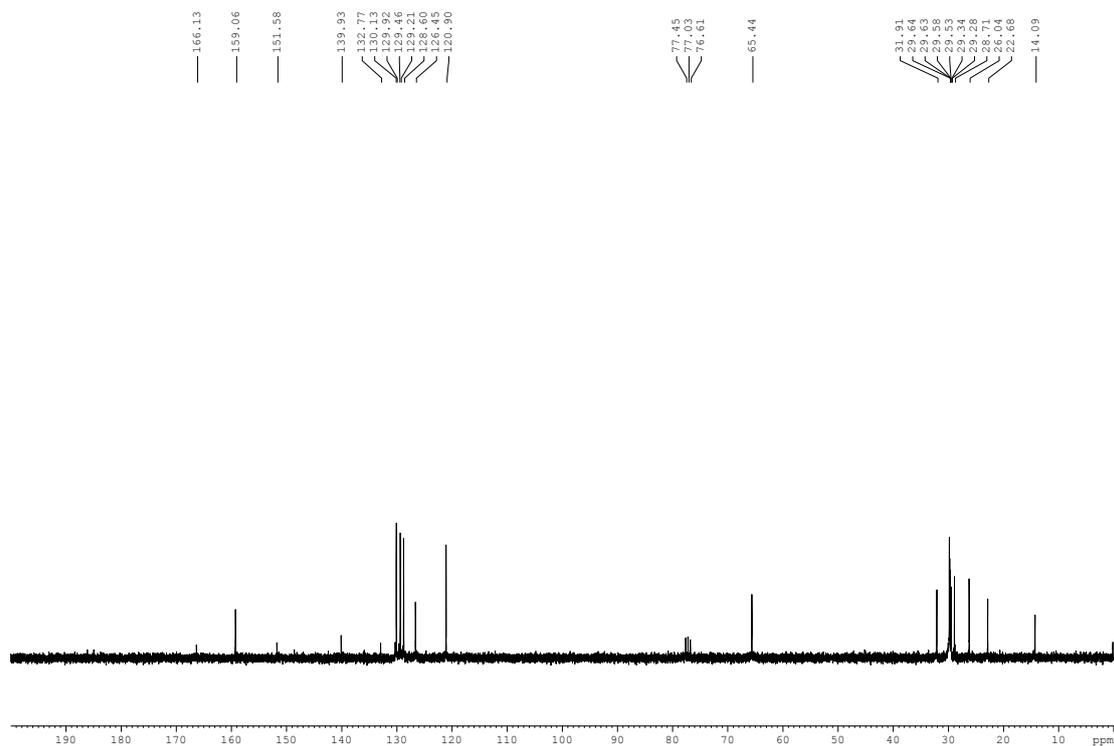
Rf (CCD): 0,58 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V. e 20% H₂SO₄ em etanol

Rendimento: 85%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,90 (t, 3H, 12-CH₃, J = 6,6); 1,29-1,48 (m, 18H, 3- a 11-CH₂); 1,79-1,86 (m, 2H, 2-CH₂); 4,37 (t, 2H, 1-CH₂, J = 6,6); 7,28 (m, 1H, H-10'); 7,36 (t, 2H, H-9', H-13', J = 7,5); 7,99 (d, 2H, H-3' e H-5', J = 8,4); 8,16 (d, 2H, H-2' e H-6', J = 8,4); 8,53 (s, 1H, H-7').

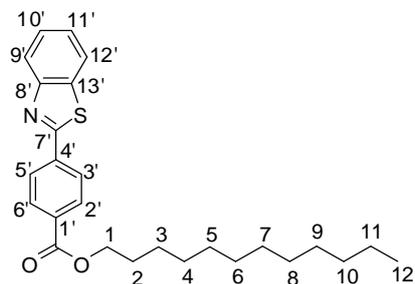


RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 14,1 (12-CH₃); 22,7 (11-CH₂); 26,0 (3-CH₂); 28,7-29,6 (4- a 10-CH₂); 31,9 (2-CH₂); 65,4 (1-CH₂); 120,9 (C-9' e C-13'); 126,4 (C-11'); 128,6 (C-3' e C-5'); 129,2 (C-2' e C-6'); 129,4 (C-10' e C-12'); 132,8 (C-1'); 139,9 (C-4'); 151,6 (C-8'); 159,1 (C-7'); 166,1 (-COO).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2955, 2918, 2850 (ν C-H), 1717 (ν C=O éster), 1622 (ν C=N), 1471 (ν C=C).

Nomenclatura: 4-(benzo[d]tiazol-2-il) benzoato de dodecila **24**



F.M.: $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NO}_2\text{S}$ / **M.M.:** $423,61\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

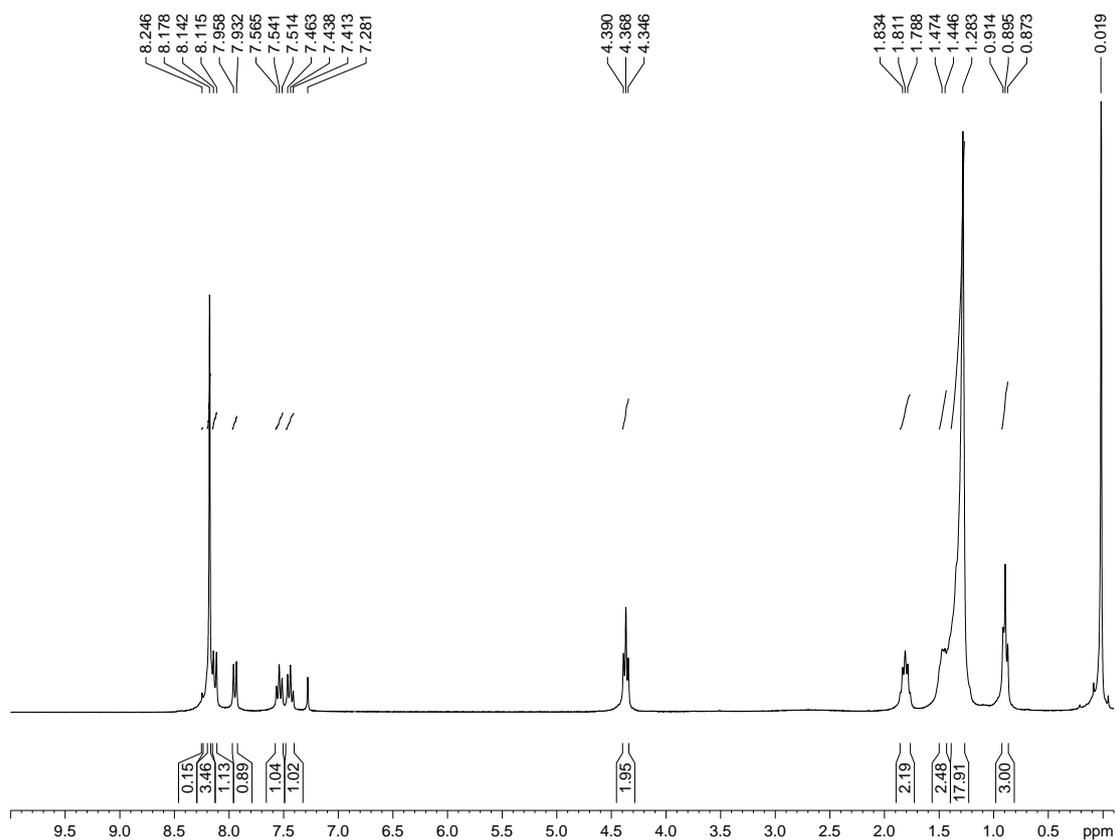
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): $86,5-86,7\text{ }^\circ\text{C}$

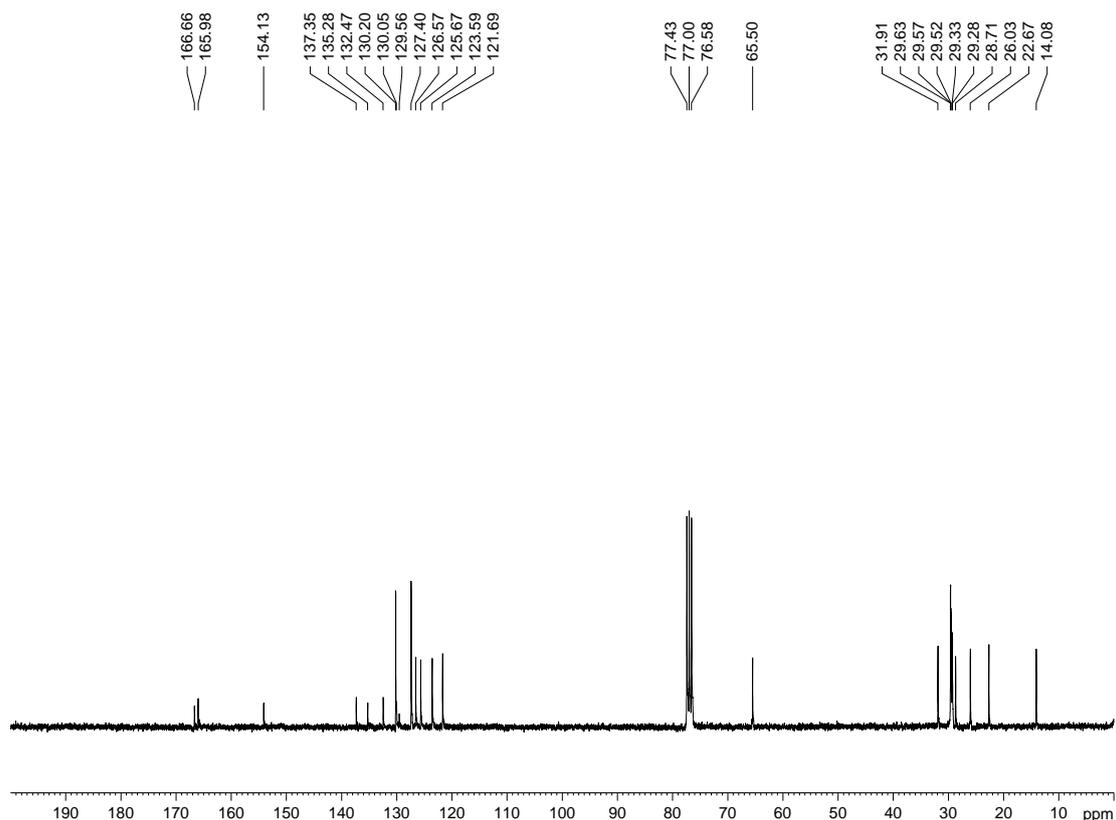
Rf (CCD): 0,75 CH_2Cl_2 **Revelador:** luz U.V. e 20% H_2SO_4 em etanol

Rendimento: 94%

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm), J (Hz): 0,89 (t, 3H, 12- CH_3 , $J = 6,1$); 1,28-1,47 (m, 18H, 3- a 11- CH_2); 1,79-1,83 (m, 2H, 2- CH_2); 4,37 (t, 2H, 1- CH_2 , $J = 6,6$); 7,44 (t, 1H, H-10', $J = 7,5$); 7,54 (t, 1H, H-11', $J = 7,6$); 7,94 (d, 1H, H-9', $J = 7,8$); 8,13 (d, 1H, H-12', $J = 8,1$); 8,18 (m, 4H, H-2', H-3', H-5' e H-6').



RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 14,1 (12- CH_3); 22,7 (11- CH_2); 26,0 (3- CH_2); 28,7-29,6 (4- a 10- CH_2); 31,9 (2- CH_2); 65,5 (1- CH_2); 121,7 -126,6 (C-9', C-10', C-11' e C-13'); 127,4 (C-3' e C-5'); 130,0 (C-2' e C-6'); 132,5 (C-13'); 135,3 (C-11'); 137,3 (C-4'); 154,1 (C-8'); 166,0 (COO); 166,7 (C-7').



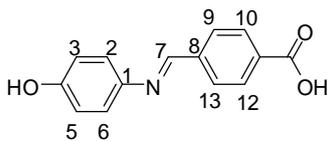
I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2952, 2912, 2846 (ν C-H), 1709 (ν C=O éster), 1610 (ν C=N), 1272 (ν C-O).

7.2.4 Preparação de bases de Schiff não associadas

7.2.4.1 Procedimento geral de preparação das bases de Schiff derivadas do 4-carboxibenzaldeído **3-5**

Em um balão de fundo redondo de 50,0 mL solubilizou-se 3,32 mmol da amina aromática de interesse (4-hidroxianilina, 2-hidroxianilina ou anilina) em 8,0 mL de etanol. A seguir, adicionou-se, aos poucos, 3,32 mmol de 4-carboxibenzaldeído e a mistura reacional foi mantida sob agitação constante e à temperatura ambiente por 24 h quando foi observada a formação de um precipitado amarelo em todos os três experimentos. O precipitado foi filtrado, lavado com EtOH e seco na estufa.

Nomenclatura: (*E*)-4-carboxi-*N*-(4'-hidroxibenzilideno)anilina **3**



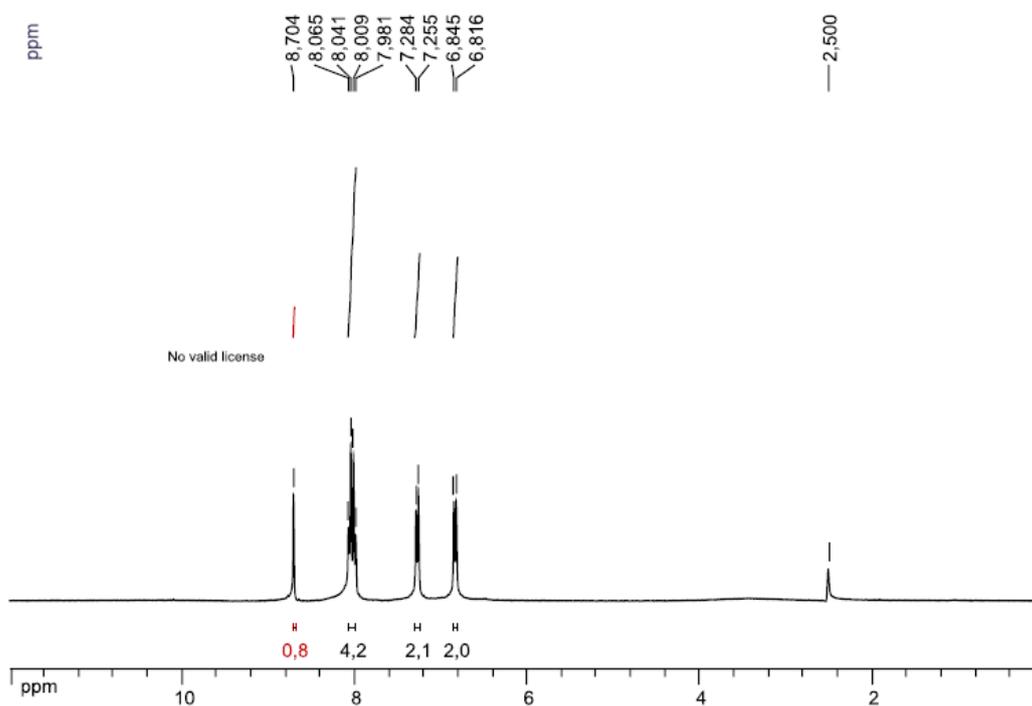
F.M.: C₁₄H₁₁NO₃ / **M.M.:** 241,24 g.mol⁻¹

Característica física: sólido amarelo

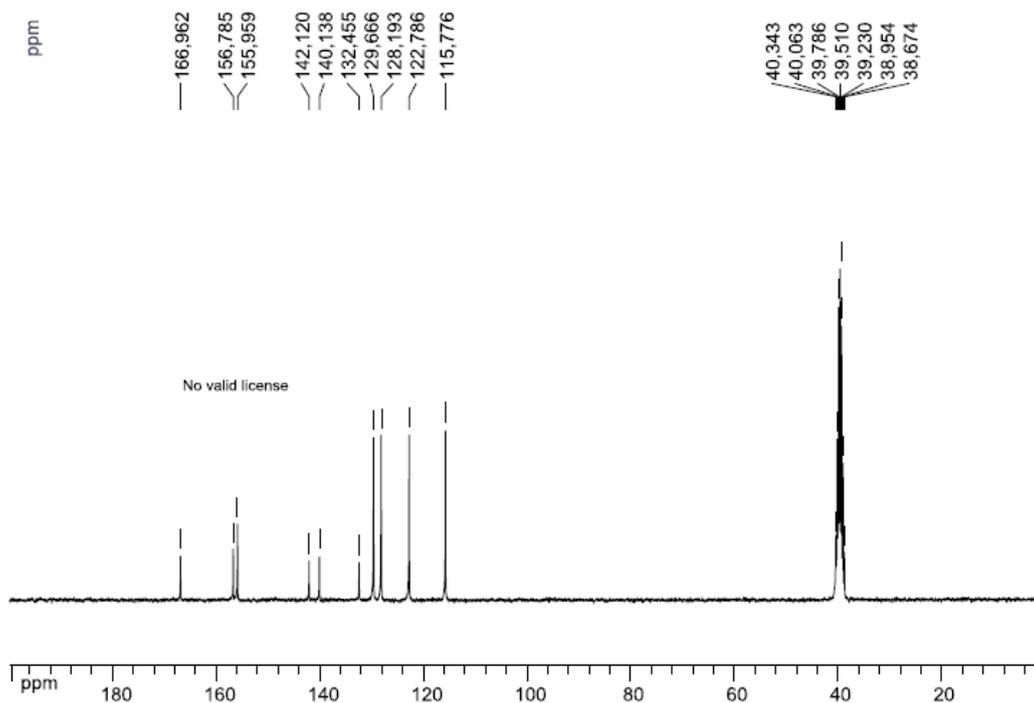
F.F. (experimental): 240,0-242,0 °C

Rendimento: 62%

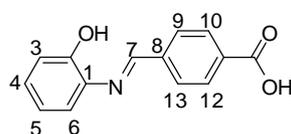
RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 6,82 (d, 2H, H-3 e H-5, *J* = 8,7); 7,27 (d, 2H, H-2 e H-6); 7,98-8,06 (m, 4H, H-9, H-10, H-12 e H-13); 8,70 (s, 1H, H-7).



RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 115,8 (C-3 e C-5); 122,8 (C-2 e C-6); 128,2 e 129,7 (C-10 e C-12); 132,4 (C-11); 140,1 (C-8); 142,1 (C-1); 155,9 (C-4); 156,8 (C-7); 166,9 (COO).



Nomenclatura: (*E*)-4-carboxi-*N*-(2'-hidroxibenzilideno)anilina **4**



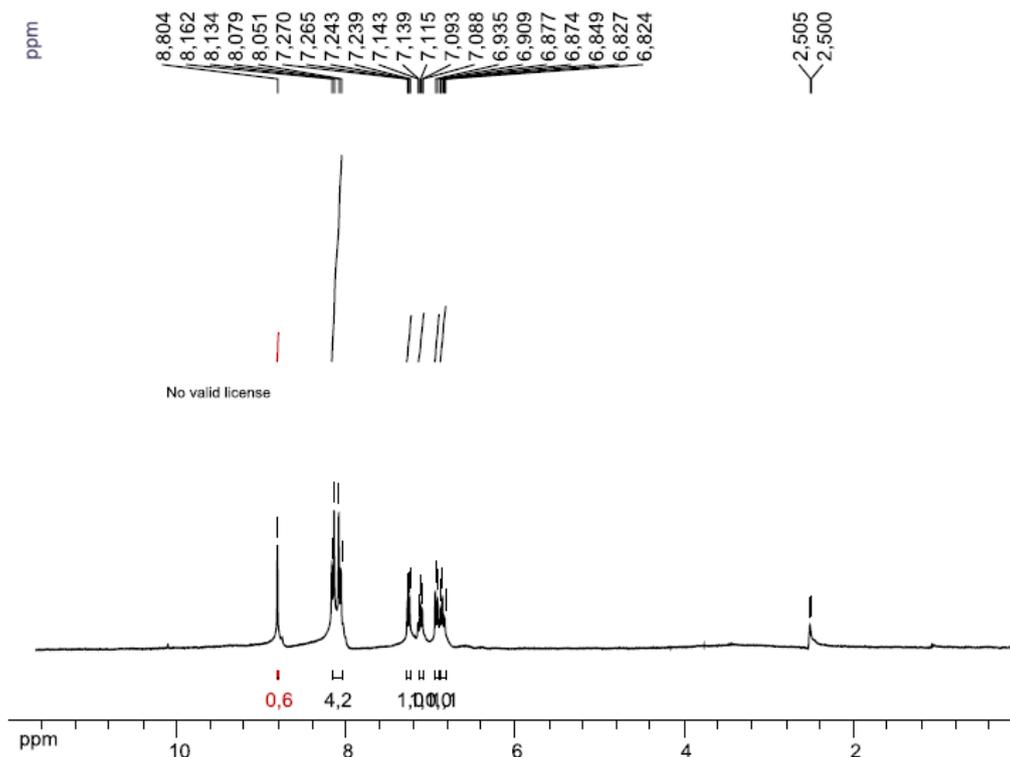
F.M.: C₁₄H₁₁NO₃ / **M.M.:** 241,24 g.mol⁻¹

Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 244,5-246,0 °C

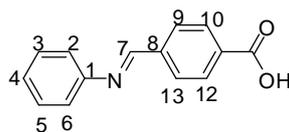
Rendimento: 63%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 6,82-6,93 (m, 2H, H-3 e H-5); 7,09-7,14 (m, 1H, H-4); 7,24-7,27 (m, 1H, H-6); 8,05-8,16 (m, 4H, H-9, H-10, H-12 e H-13); 8,80 (s, 1H, H-7).



RMN de ^{13}C , I.V. : (SILVA; CARVALHO; RAPOSO, 2013)

Nomenclatura: (*E*)-4-carboxi-N-(benzilideno)anilina **5**



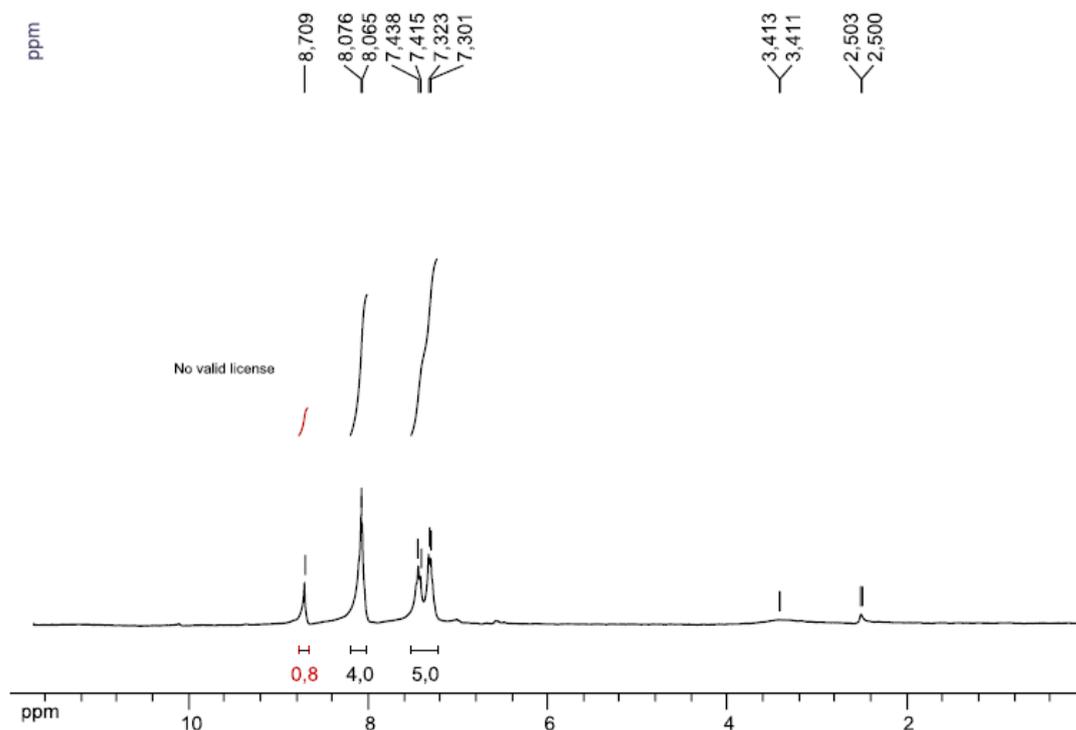
F.M.: $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_2$ / **M.M.:** $225,24 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): $228,5\text{-}230,0 \text{ }^\circ\text{C}$

Rendimento: 45%

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm), J (Hz): 7,30-7,44 (m, 5H, H-2 a H-6); 8,07 (m, 4H, H-9, H-10, H-12 e H-13); 8,71 (s, 1H, H-7).



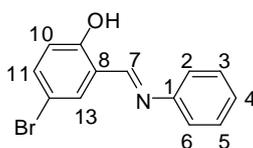
RMN de ^{13}C , I.V. : (CALIL *et al.*, 2012)

7.2.4.2 Preparação de bases de Schiff derivadas do 1,4-diaminobenzeno e da anilina

7.2.4.2.1 Preparação da base de Schiff **28**

Em um balão de 50,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se o 5-bromosalicilaldeído em quantidade mínima de etanol e a seguir, sob agitação magnética constante, gotejou-se quantidade equimolar de anilina à solução inicial. A mistura foi mantida à t.a. e sob agitação constante durante aproximadamente 24 h, quando já foi observada a formação de um precipitado de coloração laranja. O sólido foi filtrado, lavado com etanol e seco à t.a.; o rendimento foi de 70%.

Nomenclatura: (*E*)-4-bromo-2-((fenilimino)metil)fenol **28**



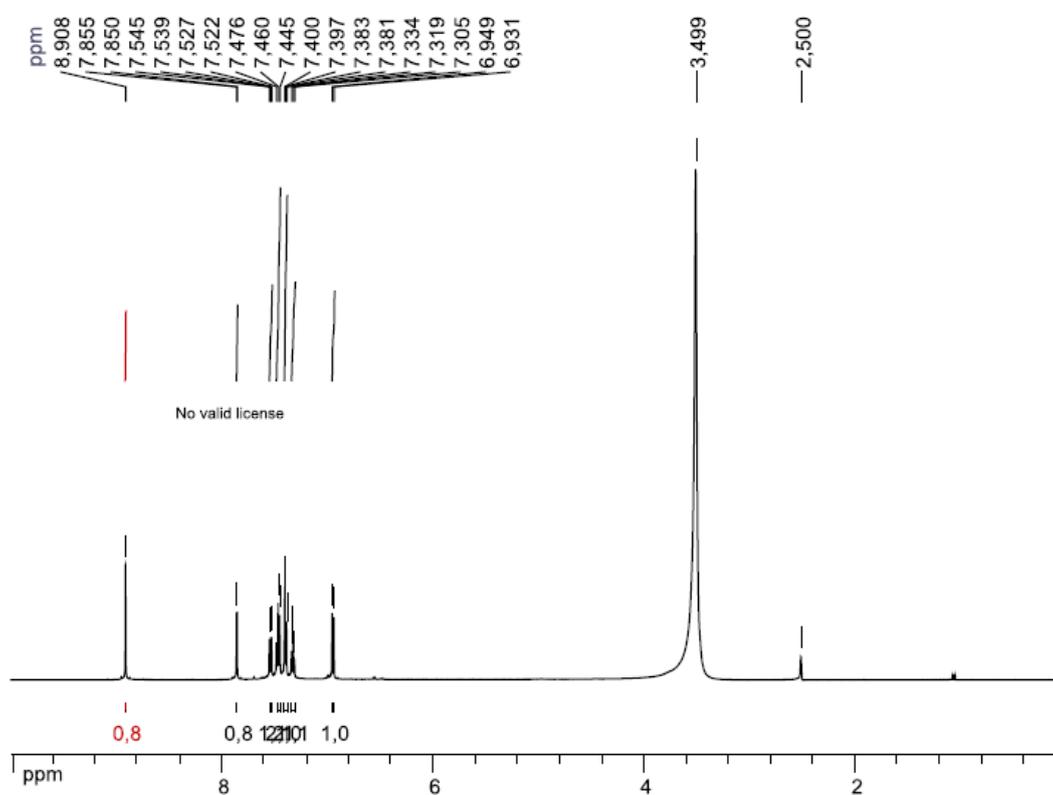
F.M.: C₁₃H₁₀BrNO / **M.M.:** 276,12 g.mol⁻¹

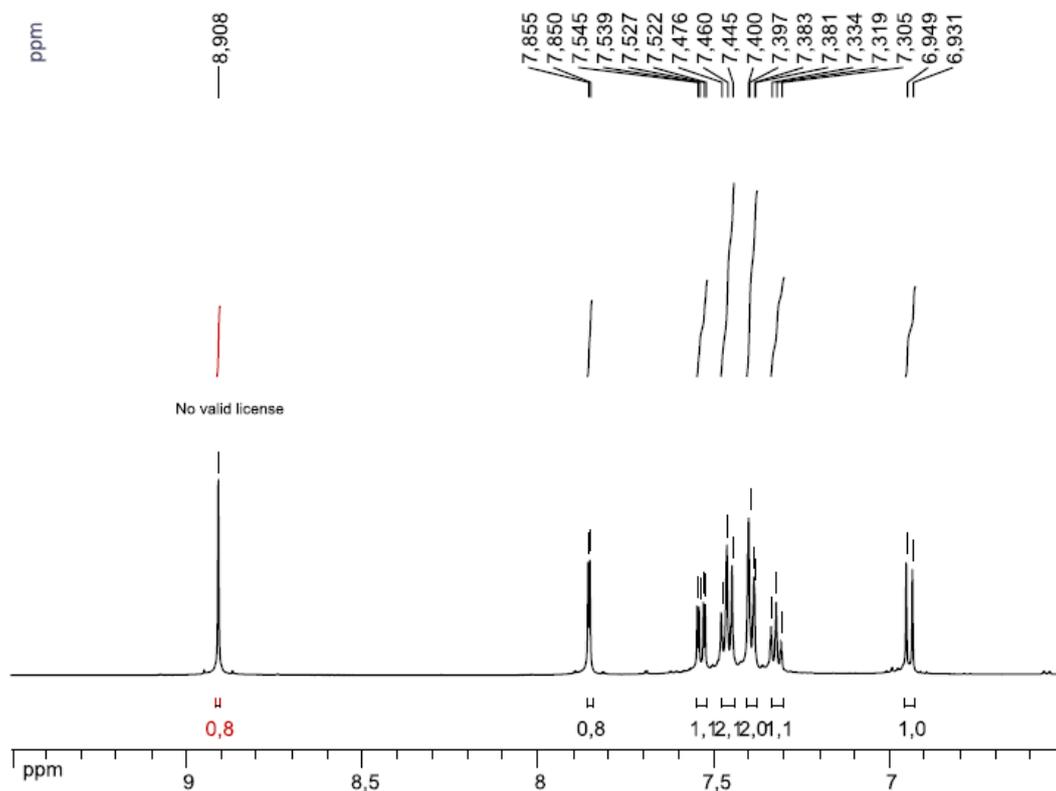
Característica física: sólido laranja

F.F. (experimental): 120,0-122,0 °C

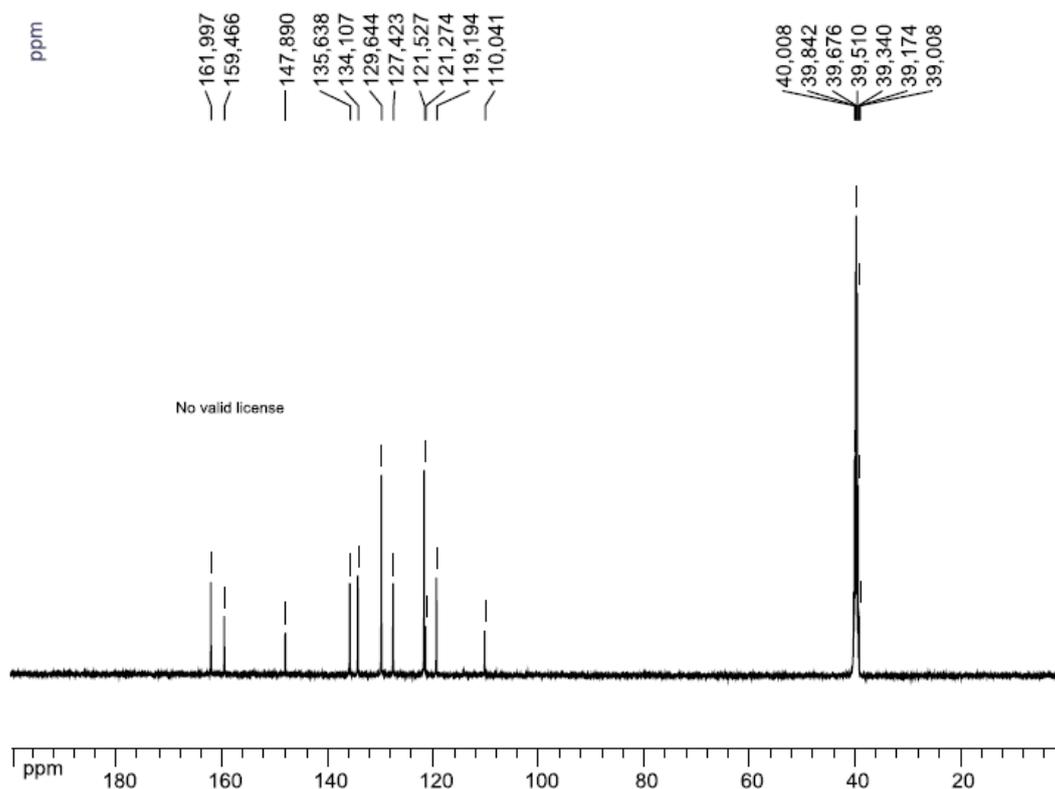
Rendimento: 70%

RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 6,94 (d, 1H, H-10, *J* = 9,0); 7,32 (t, 1H, H-4); 7,38-7,40 (m, 2H, H-3 e H-5); 7,44-7,48 (m, 2H, H-2 e H-6); 7,53 (dd, 1H, H-11, *J* = 2,5, *J* = 8,7); 7,85 (d, 1H, H-11, *J* = 2,5); 8,91 (s, 1H, H-7).





RMN de ^{13}C (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 110,0 (C-12); 119,2 (C-10); 121,3 (C-8); 121,5 (C-2 e C-6); 127,4 (C-4); 129,6 (C-3 e C-5); 134,1 (C-13); 135,6 (C-11); 147,9 (C-1); 159,4 (C-7); 162,0 (C-9).

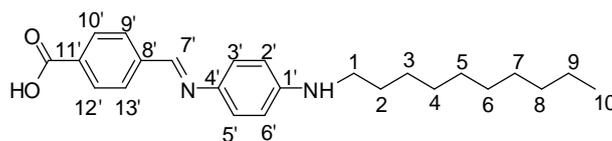


I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): (MISRA *et al.*, 2011)

7.2.4.2.2 Preparação da base de Schiff alquilada **30**

Em um balão de 25,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se 2,77 mmol de 1,4-diaminobenzeno em cerca de 2,0 mL de DMSO. A seguir, adicionou-se 4,15 mmol de K_2CO_3 e 1,39 mmol de 1-bromo-decano gota a gota à mistura, que foi então mantida à t.a. por 24 h. Após verificar por CCD a formação de uma mistura complexa de produtos, o solvente foi removido e o material resultante foi submetido à extração líquido-líquido ($\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ e $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ saturada com NaCl), seco, eo sólido bruto foi então solubilizado em etanol. Prosseguiu-se com a adição de 2,77 mmol de 4-carboxibenzaldeído, observando-se a formação imediata de um precipitado verde escuro. Este, após 4 h em repouso no meio reacional, foi filtrado e seco. O rendimento do processo foi de 65%.

Nomenclatura: ácido (*E*)-4-((4-(decilamino)fenilimino)metil) benzóico **30**



F.M.: C₂₄H₃₂N₂O₂ / **M.M.:** 380,52 g.mol⁻¹

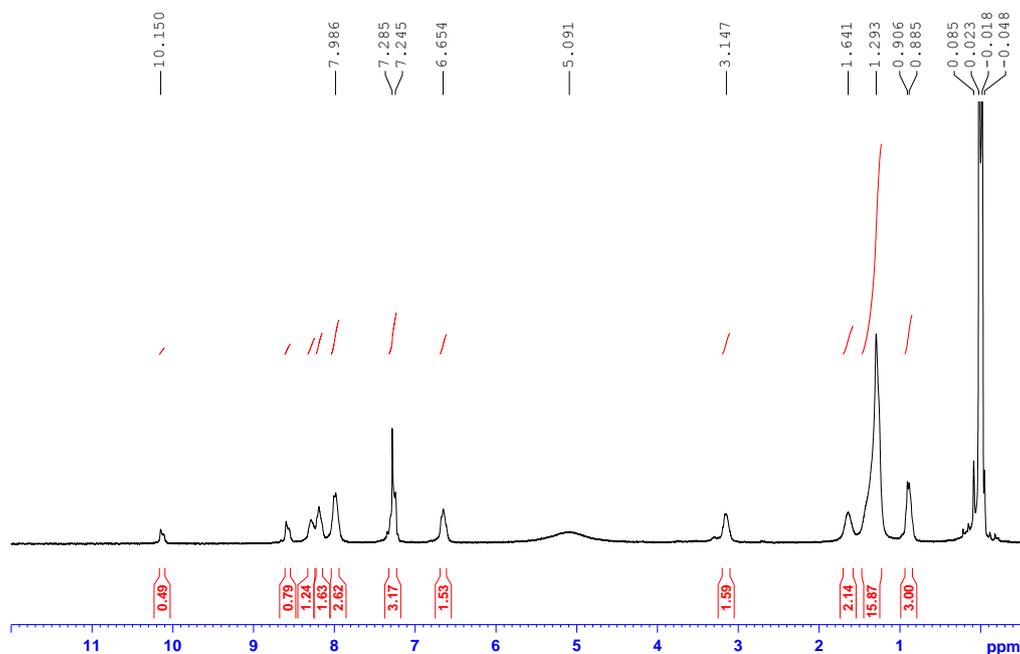
Característica física: sólido verde

F.F. (experimental): 220,7-222,0 °C

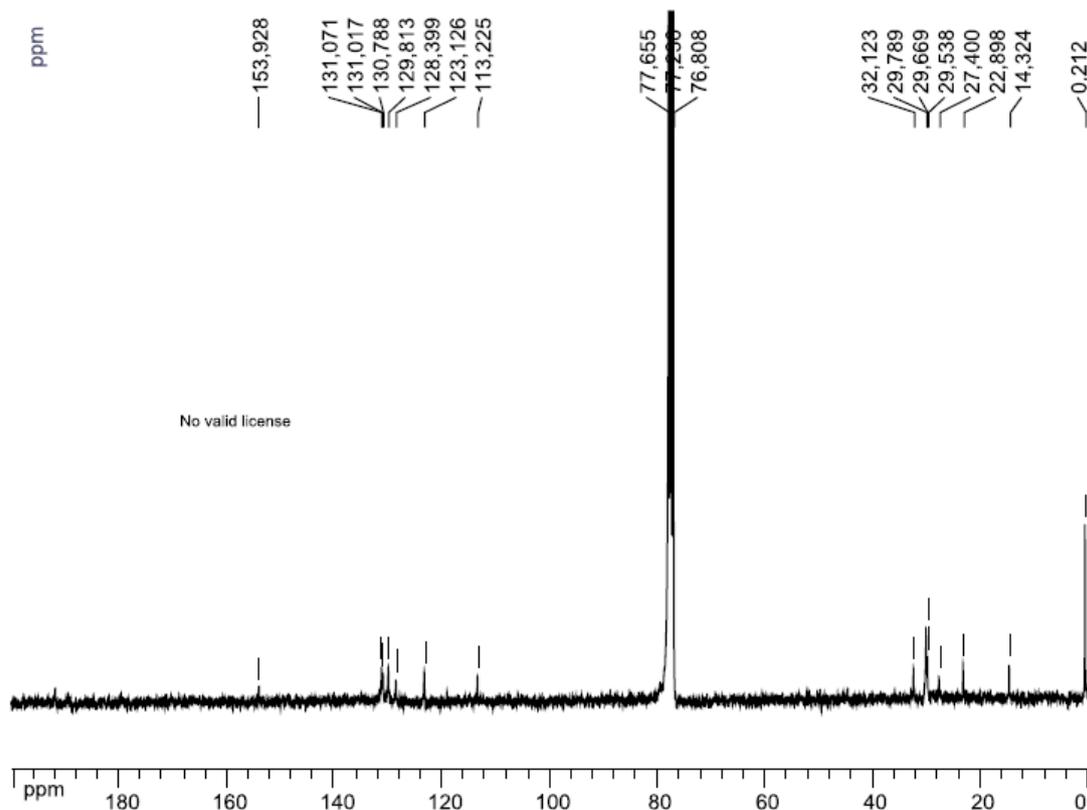
Rf (CCD): 0,44 CH₂Cl₂/MeOH (95:0,5) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 28%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 0,89 (m, 3H, 10-CH₃); 1,29 (m, 14H, 3- a 9-CH₂); 1,64 (sl, 2H, 2-CH₂); 3,15 (sl, 2H, 1-CH₂); 6,65 (m, 2H, H-2' e H-6'); 7,24 (m, 2H, H-3' e H-5'); 7,99 (m, 2H, H-9' e H-13'); 8,20 (m, 2H, H-2' e H-10'); 8,60 (sl, 1H, H-7'); 10,15 (sl, 1H, COOH).



RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 14,3 (C-10); 22,9-32,1 (C-1 a C-9); 113,2 (C-2' e C-6'); 123,1 (C-3' e C-5'); 128,4 (C-9' e C-13'); 129,8 (C-10' e C-12'); 130,8 (C-11'); 131,0 (C-4' e C-1'); 153,9 (C-7).



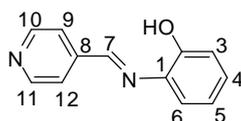
I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2916, 2846 (ν C-H), 1618 (ν C=N), 1583 (ν C=C).

7.2.4.3 Procedimento geral de preparação das piridiniliminas e piridinil-hidrazonas derivadas do 2- e do 4-piridinocarboxaldeído **31a-e** e **32a-e**

Em um balão de 25,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se a amina aromática de interesse (anilinas substituídas ou anilina), a fenil-hidrazina ou a isoniazida em etanol e, sob agitação, adicionou-se, gota a gota, quantidade equimolar do aldeído (2- ou 4-piridinocarboxaldeído). Este procedimento foi utilizado para todas as aminas aromáticas sólidas utilizadas. Já para as aminas aromáticas líquidas, primeiramente o aldeído (2- ou 4-piridinocarboxaldeído) foi adicionado ao etanol e, em seguida a amina foi gotejada na mistura reacional. Após a adição do segundo reagente, a mistura reacional foi mantida sob agitação constante e à t.a. até que foi observada a formação de precipitado. O tempo

reacional variou de 10 min. a 48 h e quando se utilizou a fenil-hidrazina e a isoniazida fez-se necessário o uso de aquecimento na temperatura de refluxo por 20 h. Com exceção do **31c**, os produtos foram obtidos como sólidos depois de filtrados, lavados com etanol e secos em estufa.

Nomenclatura: (*E*)-2-(piridin-4-ilmetilenoamino)fenol **31a**



F.M.: C₁₂H₁₀N₂O / **M.M.:** 198,22 g.mol⁻¹

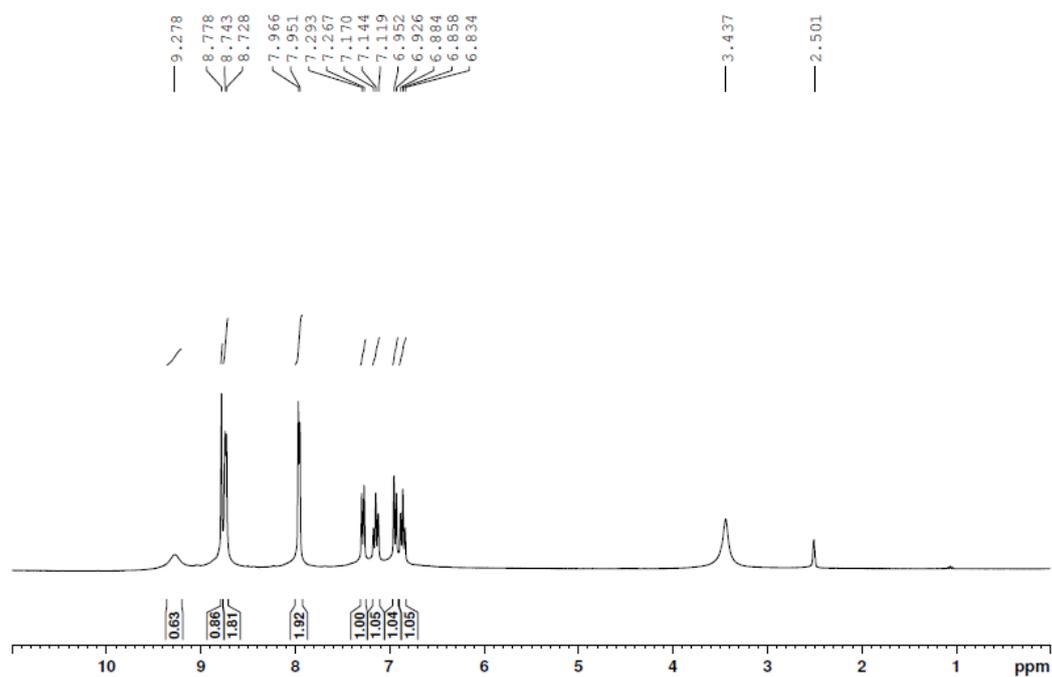
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 177,6-179,0 °C

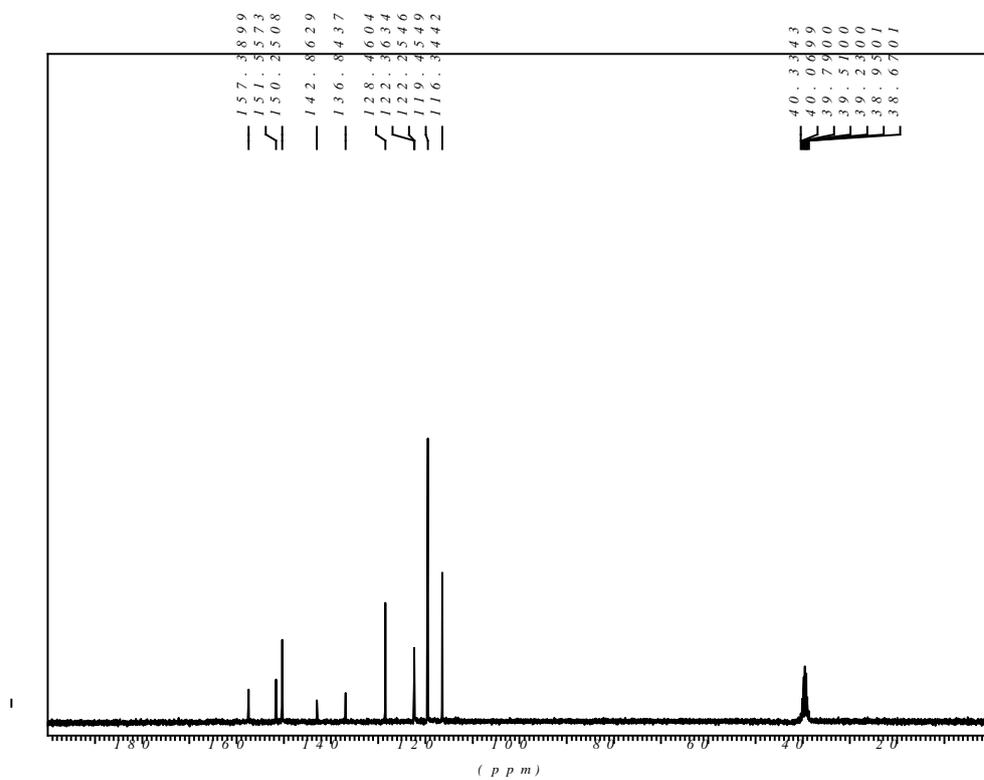
Rf (CCD): 0,56 CH₂Cl₂/MeOH (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 84%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 6,86 (t, 1H, H-5, *J* = 7,5); 6,94 (d, 1H, H-3, *J* = 7,8); 7,14 (t, 1H, H-4, *J* = 7,6); 7,28 (d, 1H, H-6, *J* = 7,8); 7,96 (d, 2H, H-9 e H-12, *J* = 4,5); 8,73 (d, 2H, H-10 e H-11, *J* = 4,5); 8,78 (s, 1H, H-7); 9,28 (sl, 1H, -OH).

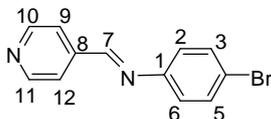


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 116,3 (C-3); 119,4 (C-6, C-9 e C-12); 122,2 (C-5); 128,5 (C-4); 136,8 (C-1); 142,9 (C-8); 150,2 (C-10, C-11); 151,6 (C-2); 157,4 (C-7).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3440 (ν O-H), 1602 (ν C=N), 1479; 1417 (ν C=C), 1178 (ν C=N aromático).

Nomenclatura: (*E*)-4-bromo-*N*-(piridin-4-ilmetileno)anilina **31b**



F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{BrN}_2$ / **M.M.:** 261,12 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

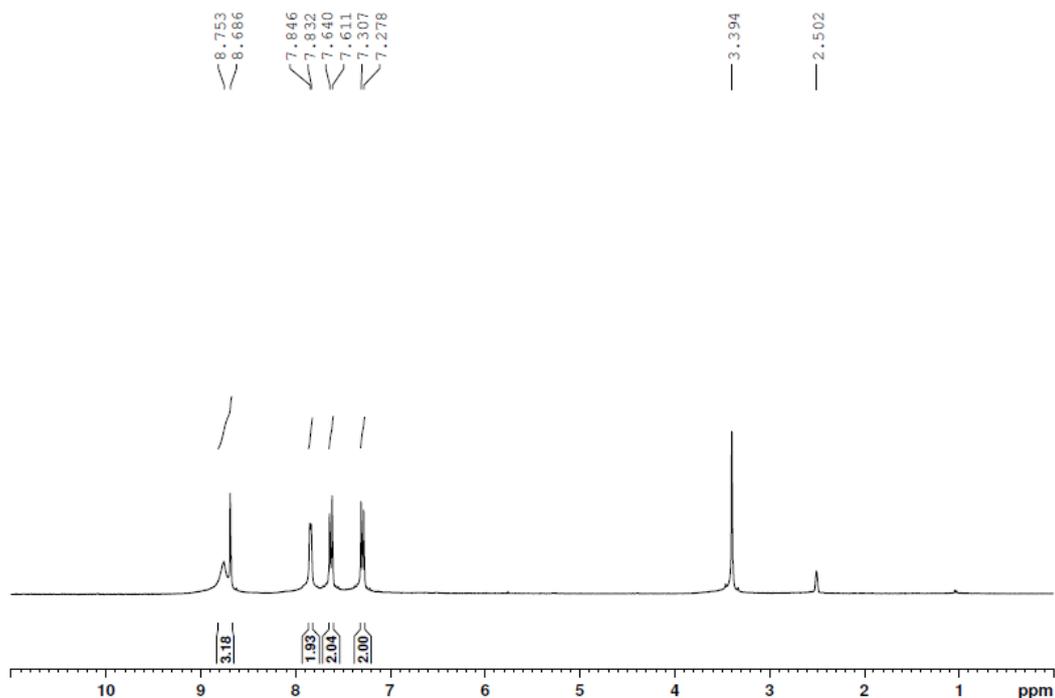
Característica física: sólido marrom

F.F. (experimental): 110,8-111,0 $^{\circ}\text{C}$

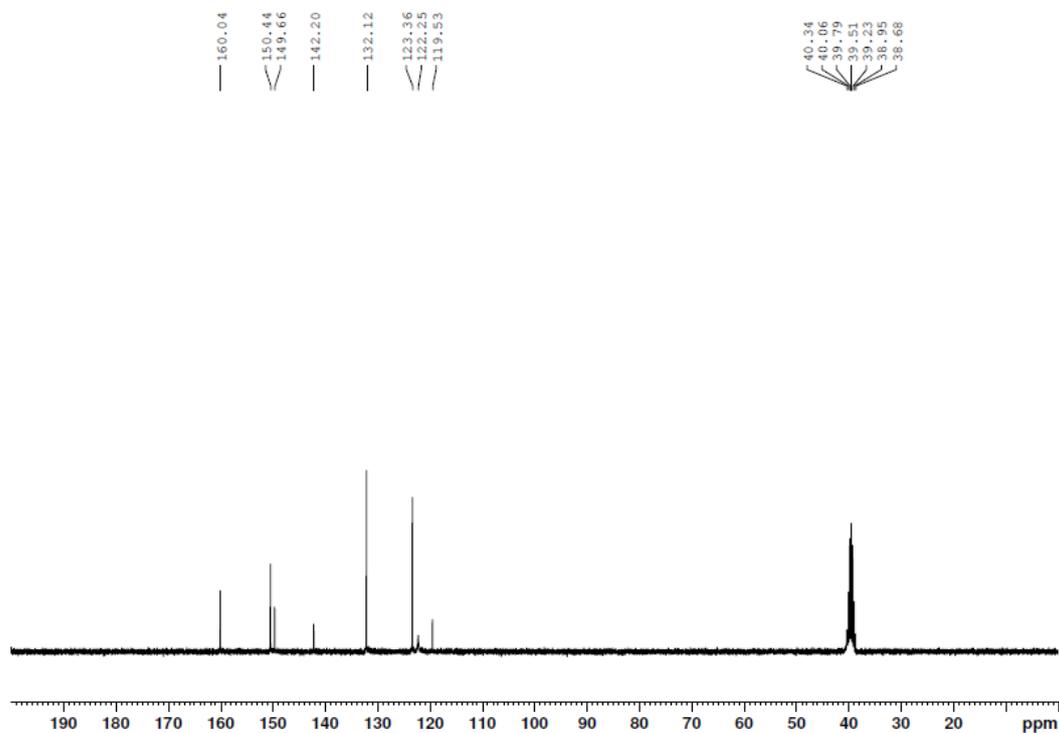
R_f (CCD): 0,66 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 64%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 7,29 (d, 2H, H-2 e H-6, $J = 8,7$); 7,62 (d, 2H, H-3 e H-5, $J = 8,7$); 7,84 (d, 2H, H-9 e H-12, $J = 4,2$); 8,69 (s, 1H, H-7); 8,75 (sl, 2H, H-10 e H-11).

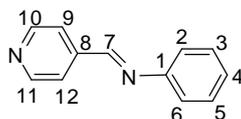


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 119,5 (C-9 e C-12); 122,2 (C-4); 123,4 (C-2 e C-6); 132,1 (C-3 e C-5); 142,2 (C-8); 149,7 (C-1); 150,4 (C-10 e C-11); 160,0 (C-7).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3458 (ν O-H), 1623 (ν C=N), 1546, 1479 (ν C=C), 1166 (ν C=N aromático), 676 (δ C-Br).

Nomenclatura: (*E*)-*N*-(piridin-4-ilmetileno)anilina **31c**



F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}$ / **M.M.:** $182,22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

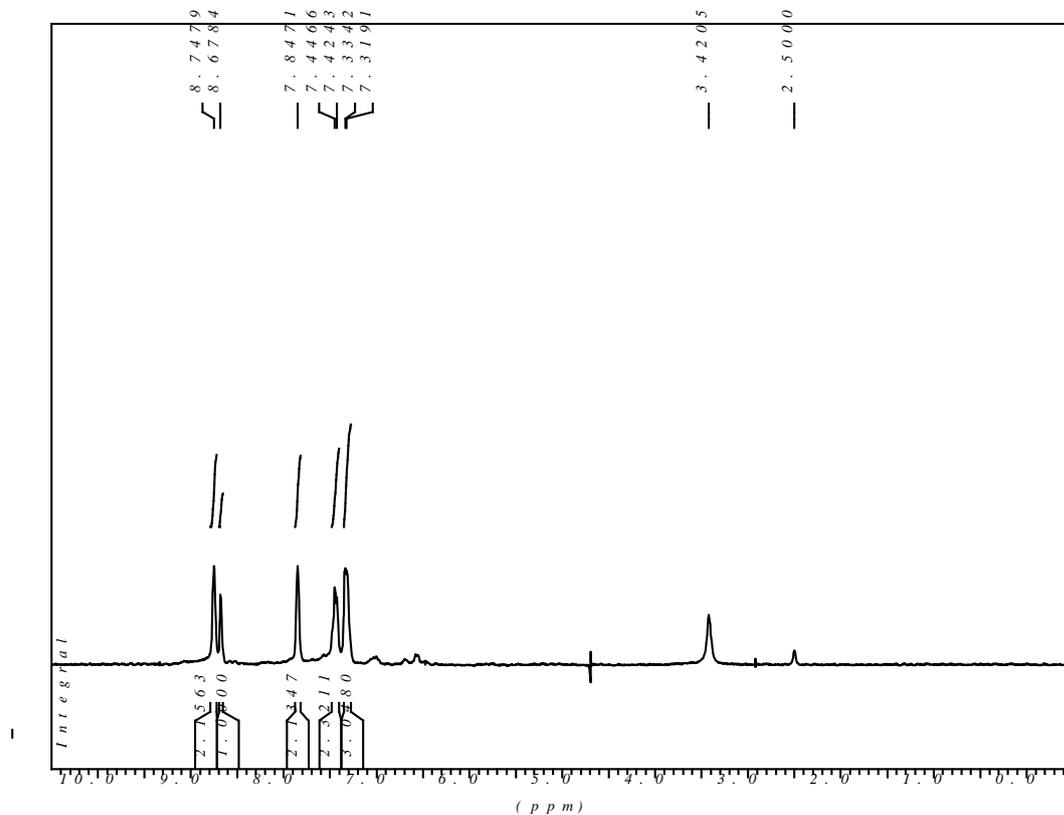
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): $69,2\text{-}70,4 \text{ }^\circ\text{C}$

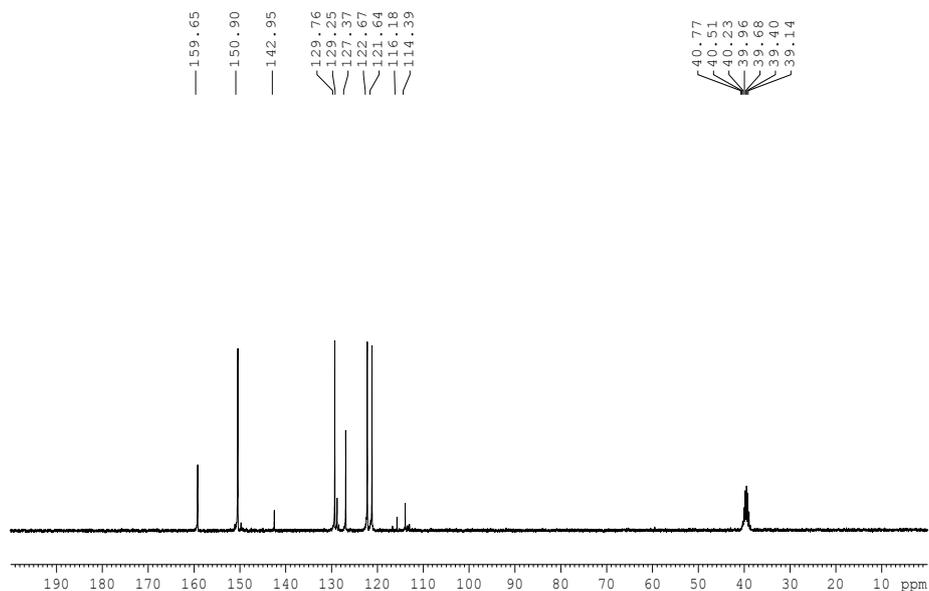
Rf (CCD): 0,60 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 100%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 7,33 (m, 3H, H-3, H-4 e H-5); 7,43 (d, 2H, H-2 e H-6, $J = 6,7$); 7,85 (s, 2H, H-9 e H-12); 8,68 (s, 1H, H-7); 8,75 (s, 2H, H-10 e H-11).

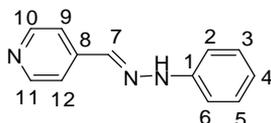


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 121,6 (C-9 e C-12); 122,7 (C-2 e C-6); 127,4 (C-4); 129,2 (C-3 e C-5); 142,9 (C-8); 149,0 (C-1); 150,9 (C-10 e C-11); 159,6 (C-7).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3452 (ν O-H), 1620 (ν C=N), 1595, 1483 (ν C=C), 1164 (ν C=N aromático).

Nomenclatura: (*E*)-4-((2-fenil-hidrazona)metil)piridina **31d**



F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_3$ / **M.M.:** $197,10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

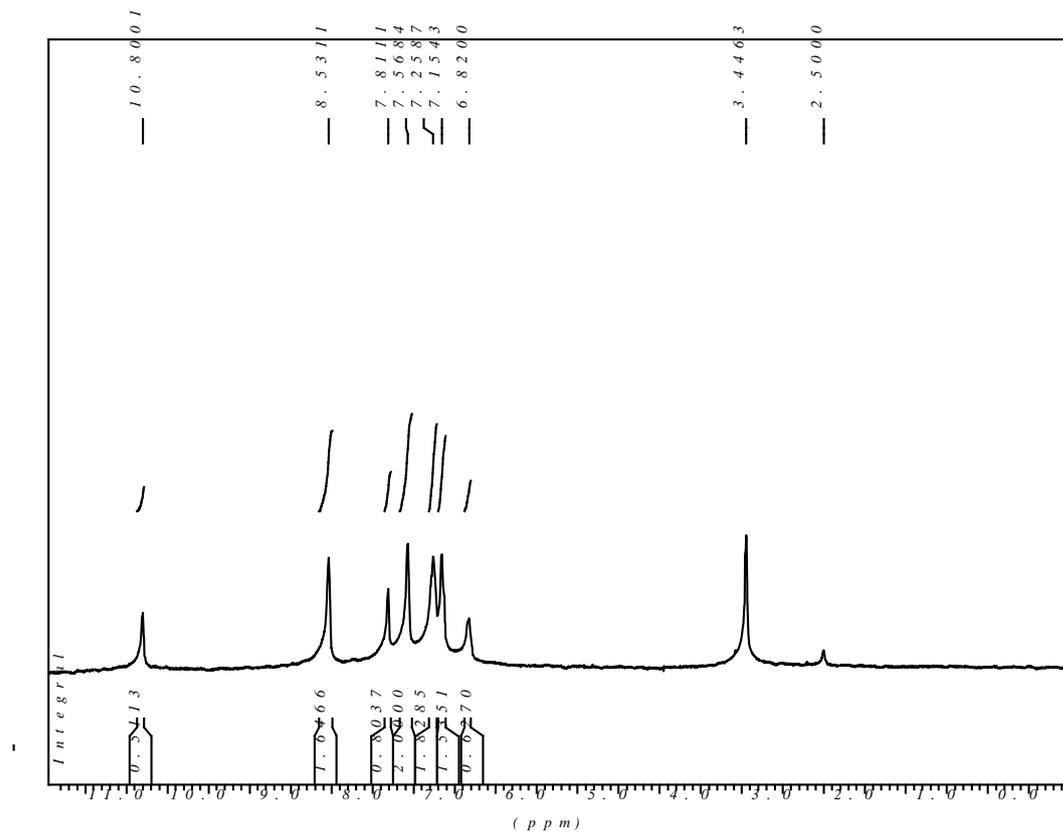
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): 181,2-182,6°C

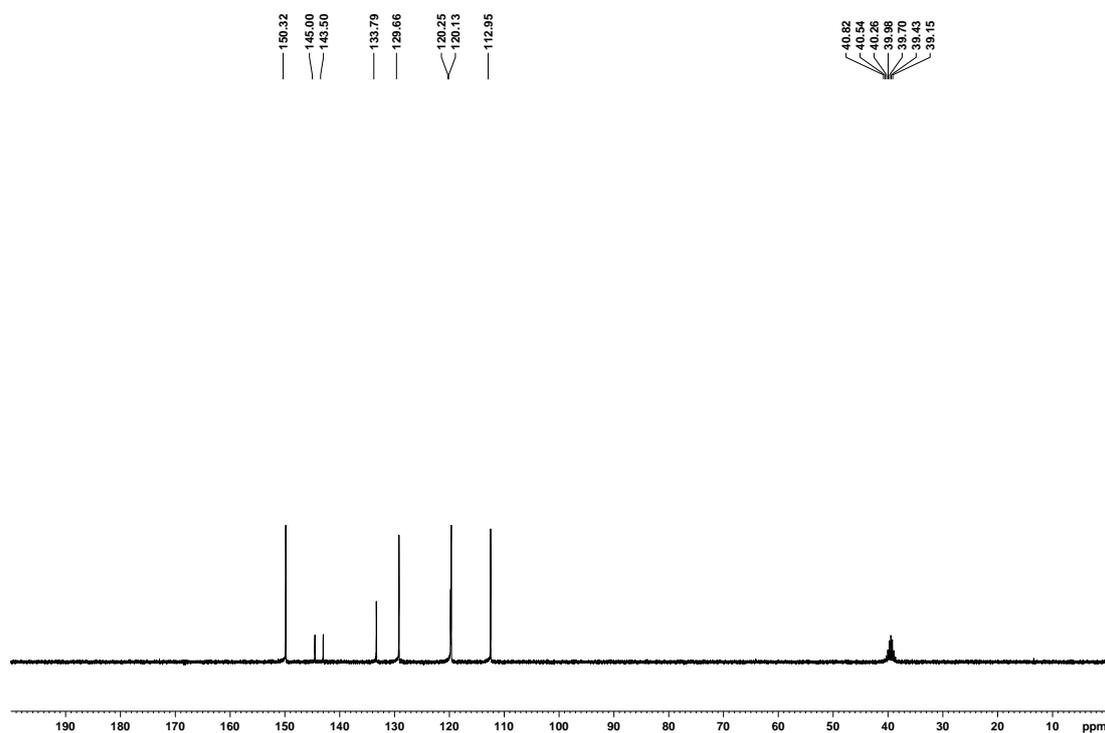
Rf (CCD): 0,56 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 97%

RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$), δ (ppm), J (Hz): 6,82 (sl, 1H, H-4); 7,15 (sl, 2H, H-3 e H-5); 7,26 (sl, 2H, H-2 e H-6); 7,57 (s, 2H, H-9 e H-12); 7,81 (s, 1H, H-7), 8,53 (s, 2H, H-10 e H-11); 10,80 (s, 1H, -NH).

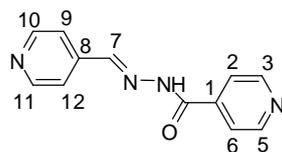


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 112,9 (C-2 e C-6); 120,2 (C-4, C-9 e C-12); 129,7 (C-3 e C-5); 133,8, 143,5 e 145,0 (C-1, C-7 e C-8); 150,3 (C-10 e C-11).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3454 (ν O-H), 3026 (ν C-H), 1598 (ν C=N), 1575, 1492 (ν C=C); 1141 (ν C=N aromático).

Nomenclatura: (*E*)-*N'*-(piridin-4-ilmetileno)isonicotino-hidrazida **31e**



F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$ / **M.M.:** 226,23 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

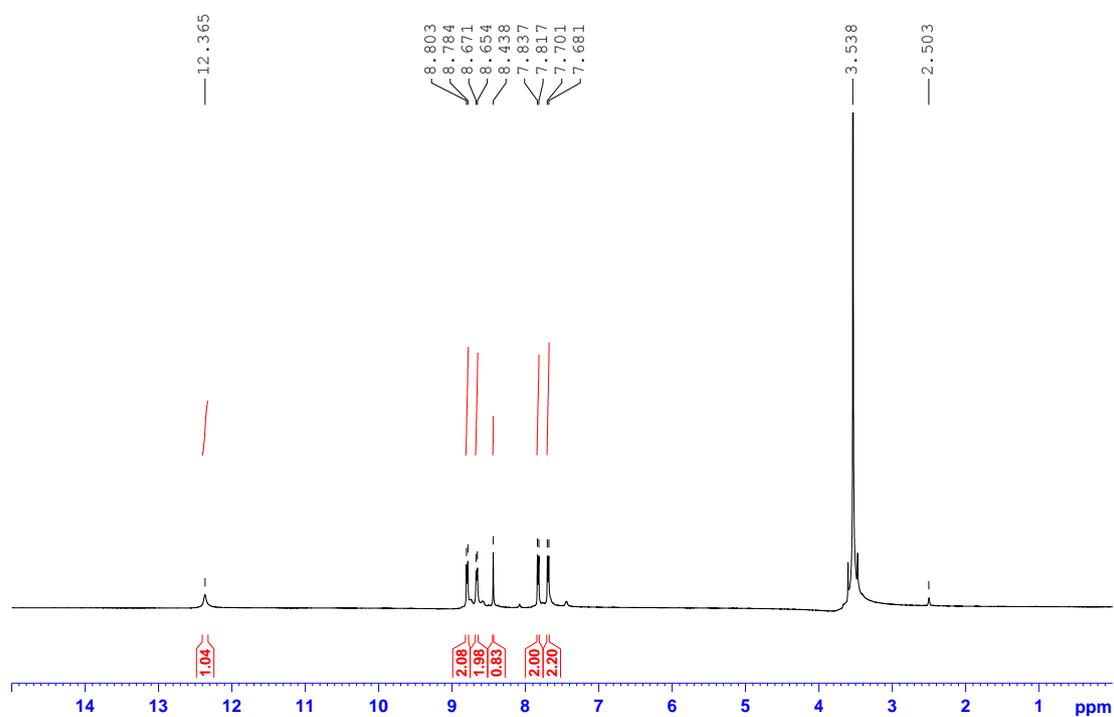
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): 236,5-237,0 $^{\circ}\text{C}$

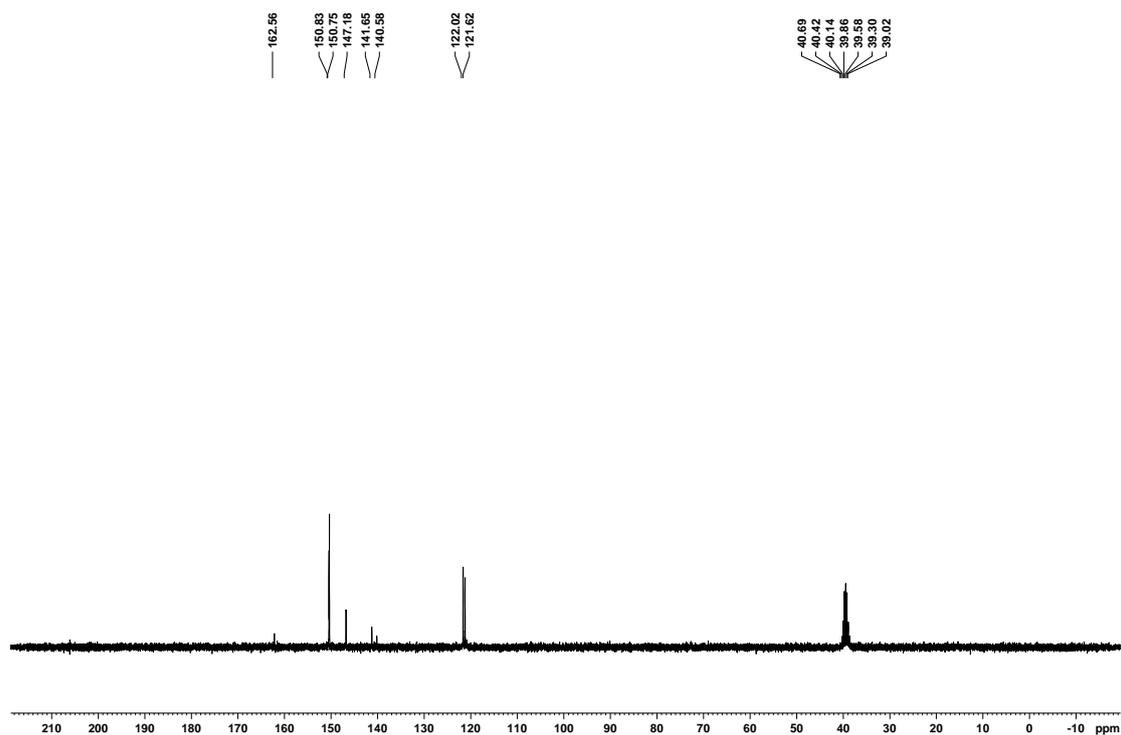
R_f (CCD): 0,66 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 100%

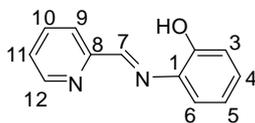
RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 7,69 (d, 2H, H-3 e H-6, $J = 6,0$); 7,83 (d, 2H, H-9 e H-12, $J = 6,0$); 8,44 (s, 1H, H-7); 8,66 (d, 2H, H-10 e H-11, $J = 5,1$); 8,79 (d, 2H, H-4 e H-5, $J = 5,7$); 12,36 (s, 1H, -NH).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 121,6 e 122,0 (C-3, C-6, C-9 e C-12); 140,6 (C-2); 141,6 (C-8); 147,2 (C-7); 150,7 e 150,8 (C-4, C-5, C-10 e C-11); 162,6 (CO).



Nomenclatura: (*E*)-2-(piridin-2-ilmetilenoamino)fenol **32a**



F.M.: C₁₂H₁₀N₂O / **M.M.:** 198,22 g.mol⁻¹

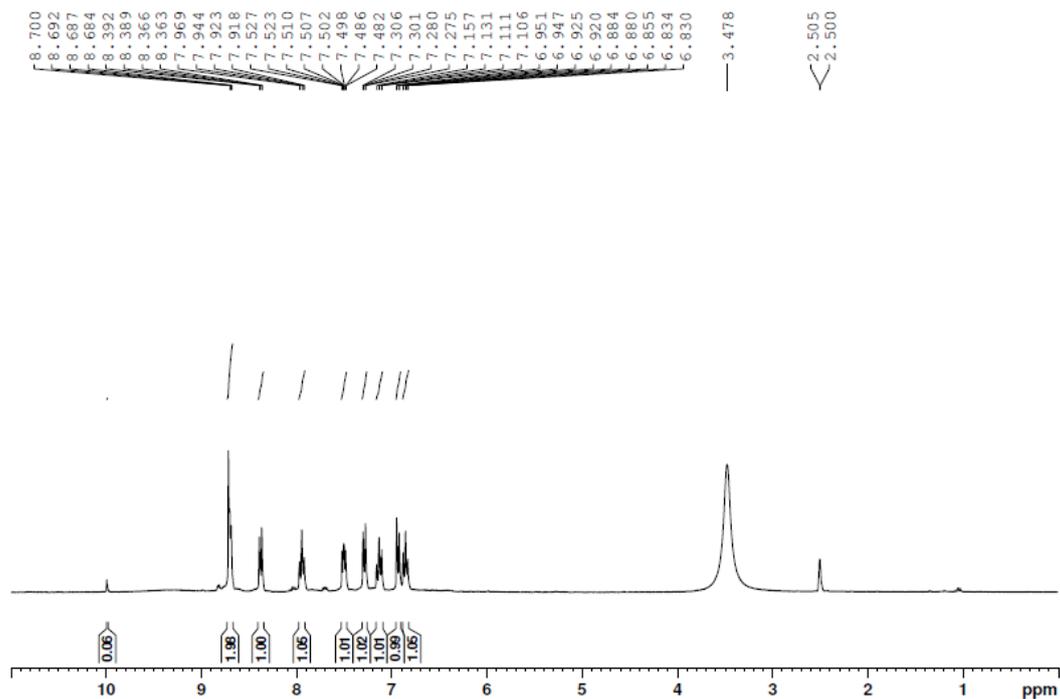
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 108,6-109,1 °C

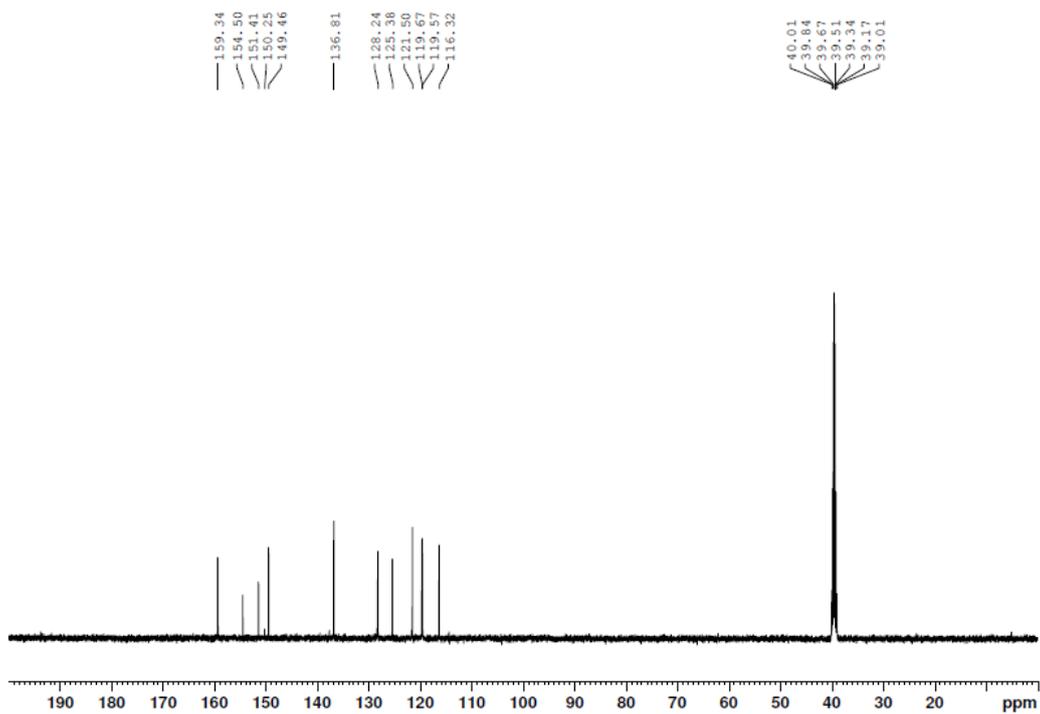
Rf (CCD): 0,36 CH₂Cl₂ **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 88%

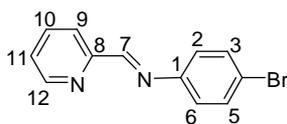
RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 6,83-6,95 (m, 2H, H-5 e H-3); 7,11-7,16 (m, 1H, H-4); 7,29 (dd, 1H, H-6, *J* = 1,5, *J* = 7,2); 7,48-7,53 (m, 1H, H-11); 7,92-7,99 (m, 1H, H-10); 8,38 (dd, 1H, H-9, *J* = 1,0, *J* = 7,8); 8,68-8,72 (m, 2H, H-7 e H-12).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 116,3 (C-6); 119,5 e 119,6 (C-3 e C-5); 121,5 (C-11); 125,4 (C-4); 128,2 (C-10); 136,8 (C-9); 138,0 (C-1); 149,5 (C-8); 151,4 (C-12); 154,5 (C-2); 159,3 (C-7).



Nomenclatura: (*E*)-4-bromo-*N*-(piridin-2-ilmetileno)anilina **32b**



F.M.: C₁₂H₉BrN₂ / **M.M.:** 261,12 g.mol⁻¹

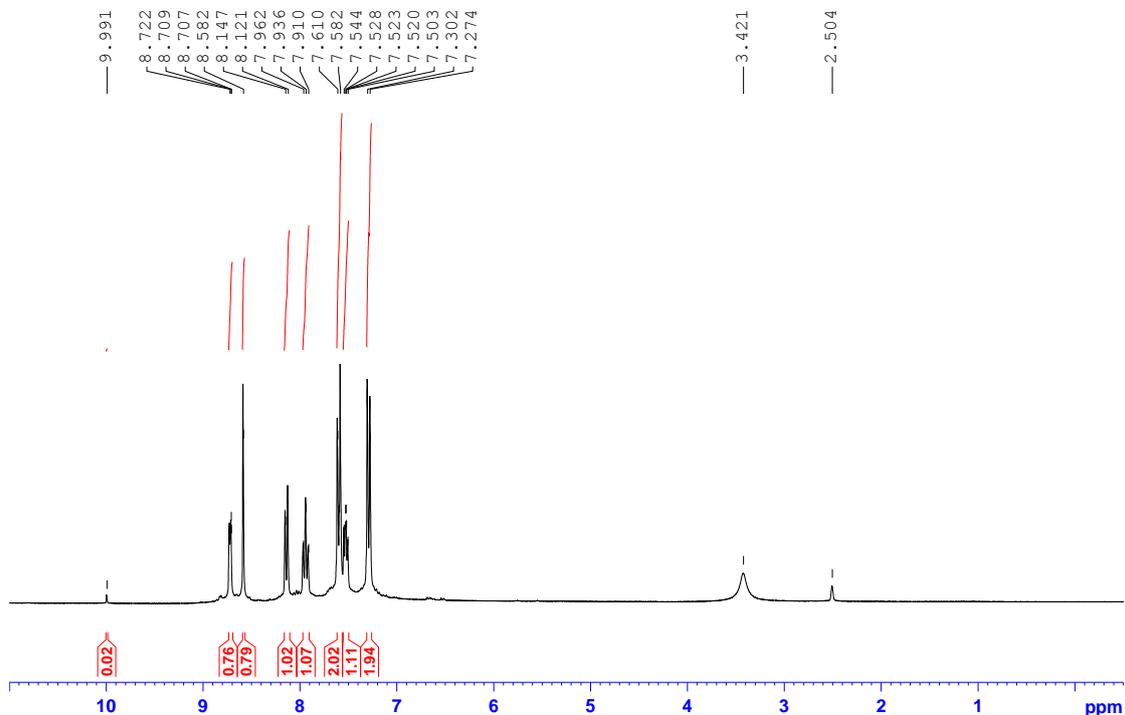
Característica física: sólido marrom

F.F. (experimental): 64,0-66,2 °C

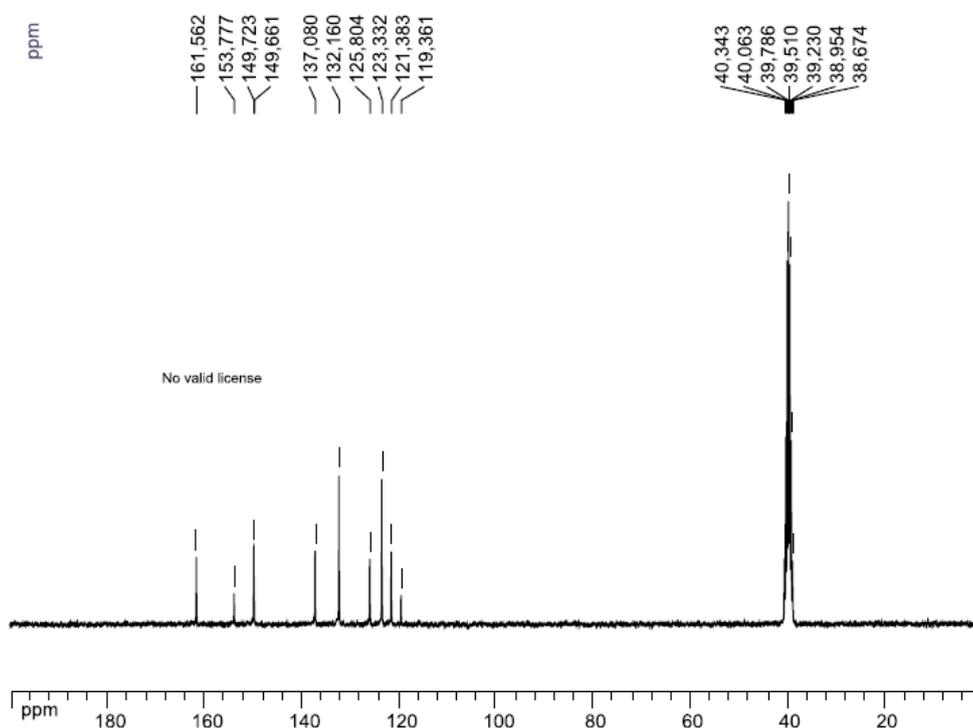
Rf (CCD): 0,80 CH₂Cl₂/MeOH (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 70%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 7,29 (d, 2H, H-2 e H-6, *J* = 8,4); 7,52 (m, 1H, H-11); 7,59 (d, 2H, H-3 e H-5, *J* = 8,4); 7,94 (t, 1H, H-10, *J* = 7,8); 8,13 (d, 1H, H-9, *J* = 7,8); 8,58 (s, 1H, H-7); 8,71 (d, 1H, H-12, *J* = 4,5).

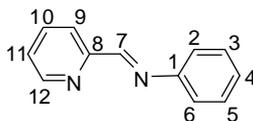


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 119,4 (C-4); 121,4 (C-10); 123,3 (C-2 e C-6); 125,8 (C-11); 132,2 (C-3 e C-5); 137,1 (C-9); 149,6 e 149,7 (C-1 e C-12); 153,8 (C-8); 161,6 (C-7).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3051, 2994, 2915 (ν C-H), 1616 (ν C=N), 1585, 1559, 1466 (ν C=C); 1134 (ν C=N aromático).

Nomenclatura: (*E*)-*N*-(piridin-2-ilmetileno)anilina **32c**



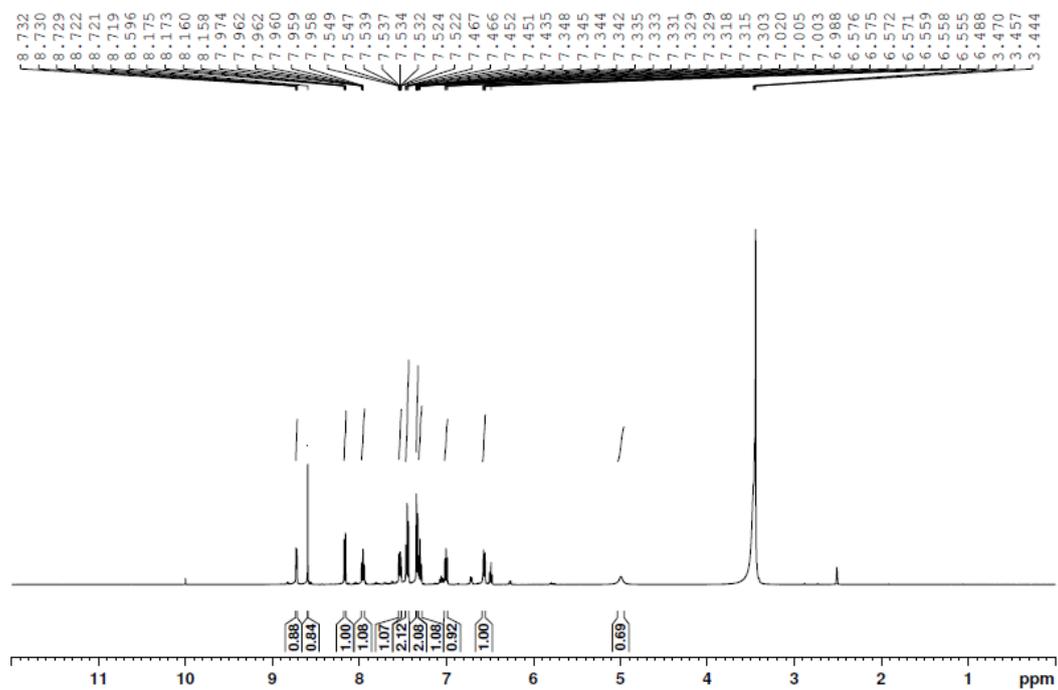
F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2$ / **M.M.:** $182,22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Característica física: óleo marrom escuro

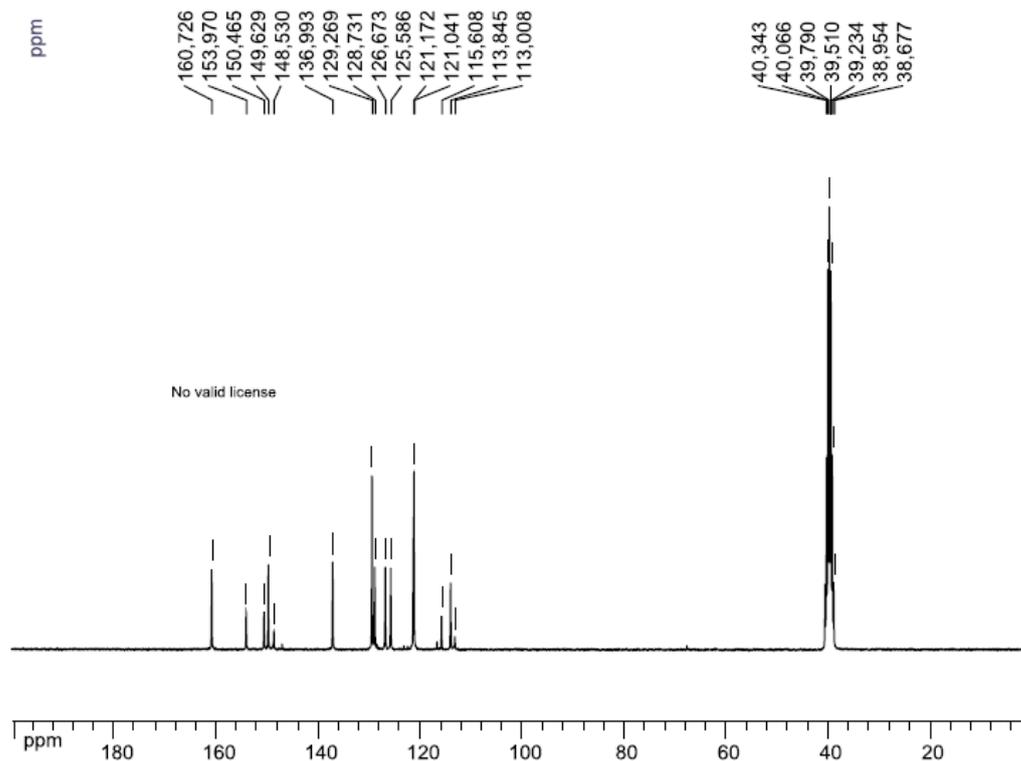
Rf (CCD): 0,80 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 65%

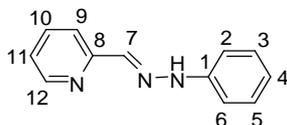
RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 7,30-7,35 (m, 3H, H3, H-4 e H-5); 7,43-7,47 (m, 2H, H-2 e H-6); 7,52-7,55 (H-11); 7,96-7,97 (m, 1H, H-10); 8,16-8,17 (m, 1H, H-9); 8,60 (s, 1H, H-7); 8,73 (d, 1H, H-12, $J = 1,0$).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 121,0 e 121,2 (C-2 e C-6); 125,6 (C-11); 126,7 (C-4); 128,7 (C-10); 129,3 (C-3 e C-5); 137,0 (C-9); 149,6 e 150,5 (C-1 e C-12); 153,9 (C-8); 160,7 (C-7).



Nomenclatura: (*E*)-2-((2-fenil-hidrazona)metil)piridina **32d**



F.M.: C₁₂H₁₁N₃ / **M.M.:** 197,24 g.mol⁻¹

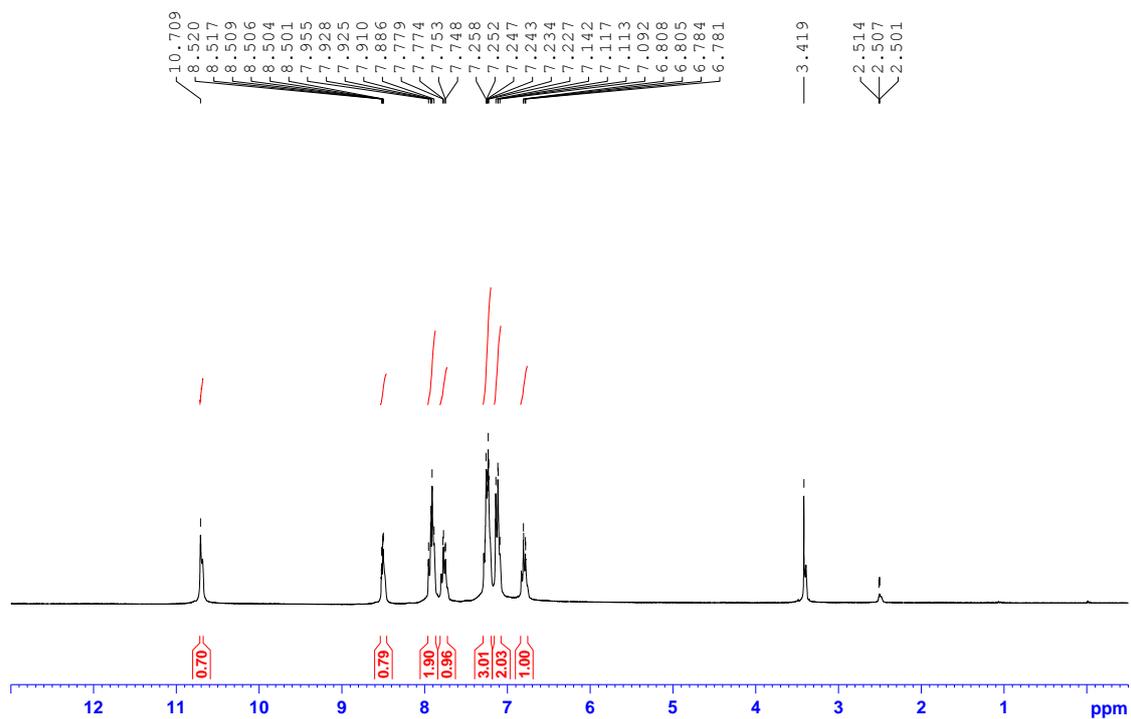
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): 185,1-186,6 °C

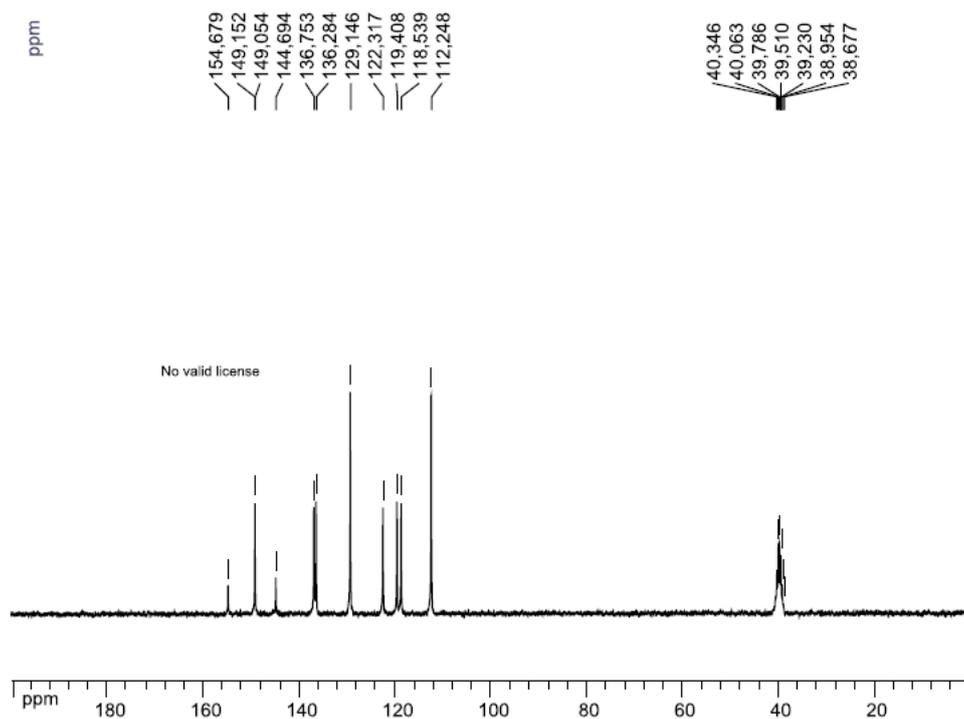
Rf (CCD): 0,74 CH₂Cl₂/MeOH (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 100%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm), *J* (Hz): 6,78-6,81 (m, 1H, H-4); 7,09-7,14 (m, 2H, H-3 e H-5); 7,23-7,26 (m, 3H, H-2, H-6 e H-7); 7,75-7,78 (m, 1H, H-11); 7,89-7,95 (m, 2H, H-9, H-10); 8,50-8,52 (m, 1H, H-12); 10,71 (s, 1H, -NH).

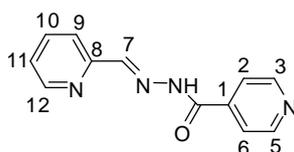


RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ (ppm): 112,2 (C-2 e C-6); 118,5 (C-9); 119,4 (C-4); 122,3 (C-11); 129,1 (C-3 e C-5); 136,3 (H-10); 136,7 (C-7); 144,7 (C₁); 149,1 (C-12); 154,7 (C-8).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3421, 3225, 3184, 3006, 2943 (ν C-H), 1605 (ν C=N), 1598, 1568, 1494 (ν C=C); 1150 (ν C=N aromático).

Nomenclatura: (*E*)-*N'*-(piridin-2-ilmetileno)isonicotino-hidrazida **32e**



F.M.: $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}$ / **M.M.:** $226,23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

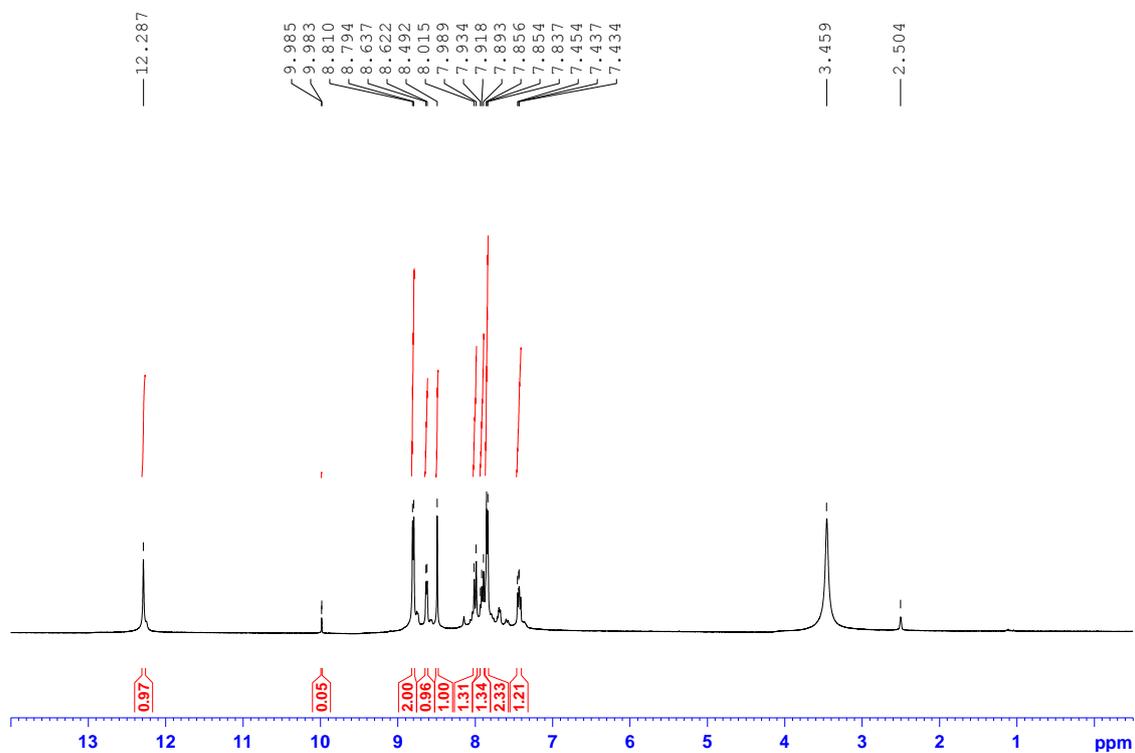
Característica física: sólido branco

F.F. (experimental): $165,0\text{-}165,7 \text{ }^\circ\text{C}$

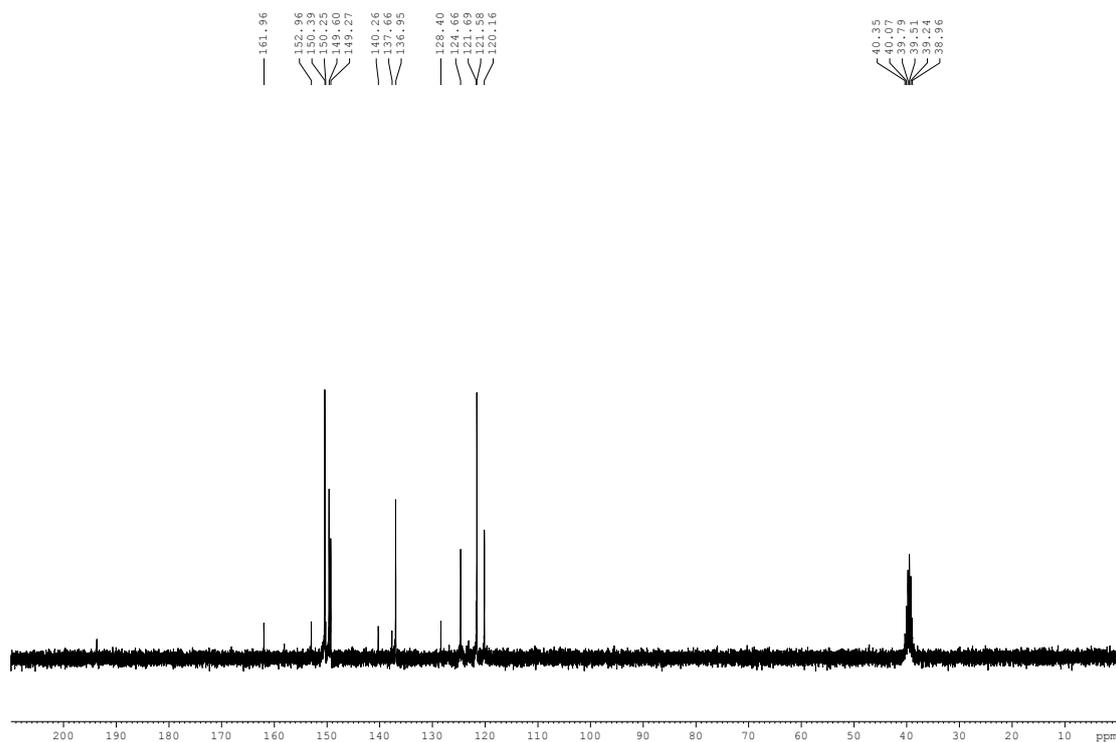
Rf (CCD): 0,50 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (90:10) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 100%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 7,43-7,45 (m, 1H, H-11); 7,84 (d, 2H, H-3 e H-6, $J = 5,1$); 7,91 (m, 1H, H-10); 8,00 (d, 1H, H-9, $J = 7, 8$); 8,49 (s, 1H, H-7); 8,63 (d, 1H, H-12, $J=4,5$); 8,80 (d, 2H, H-4 e H-5, $J=4,8$); 12,29 (s, 1H, -NH).



RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 120,2 (C-9); 121,5 e 121,6 (C-3 e C-6); 124,7 (C-11); 136,9 (C-10); 140,3 (C-2); 149,3 (C-7); 149,6 (C-12); 150,3 (C-4 e C-5), 153,0 (C-8); 162,0 (C-1).



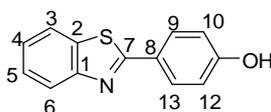
I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3442, 3200, 3000, 2834 (ν C-H), 1605 (ν C=N), 1659, 1566, 1551 (ν C=C); 1142 (ν C=N aromático).

7.2.4.4 Procedimento geral de preparação das tioiminas **33-39**

7.2.4.4.1 Preparação de tioiminas **33-35**

As tioiminas **33-35** foram preparadas utilizando-se quantidades equimolares de 2-mercapto anilina e dos aldeídos 4-hidroxibenzaldeído, 4-nitrobenzaldeído e 4-*N',N'*-dimetilaminobenzaldeído, respectivamente. Primeiramente, promoveu-se a solubilização dos aldeídos aromáticos em etanol e, a seguir, gotejou-se um equivalente molar de 2-mercapto anilina. A mistura foi mantida à t.a. e agitação constante até que se observou a formação de precipitado. O tempo reacional variou de 5 a 24 h.

Nomenclatura: 4-(benzo[d]tiazol-2-il)fenol **33**



F.M.: C₁₃H₉NOS / **M.M.:** 227,28 g.mol⁻¹

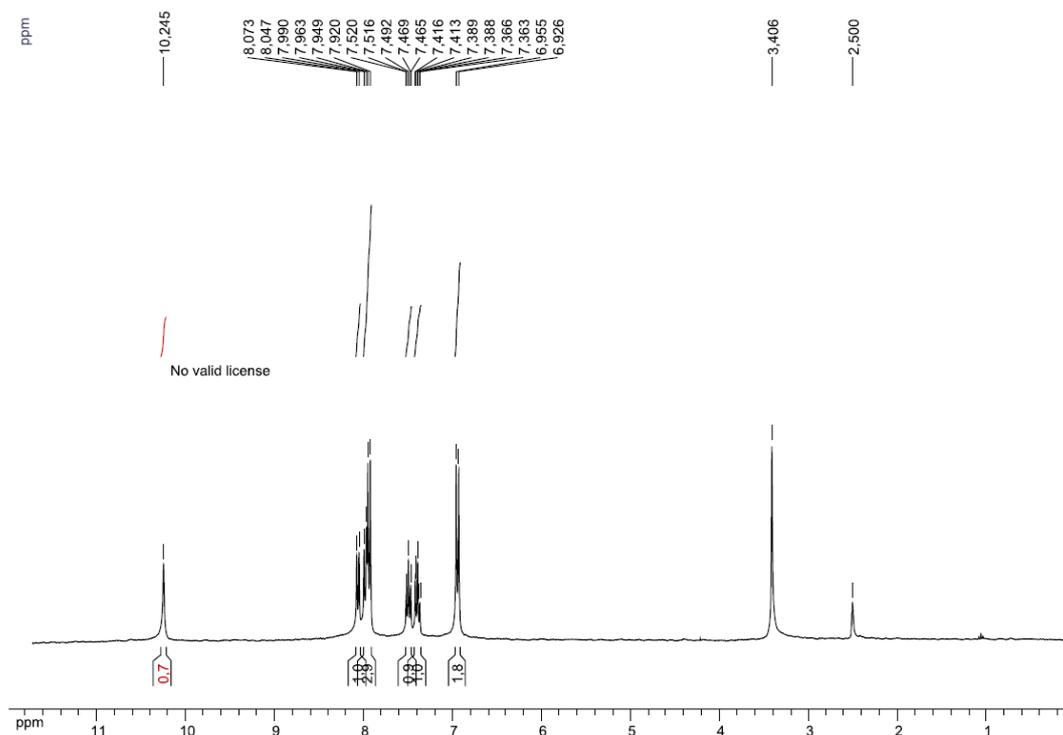
Característica física: sólido incolor

F.F. (experimental): 227,0-228,5 °C

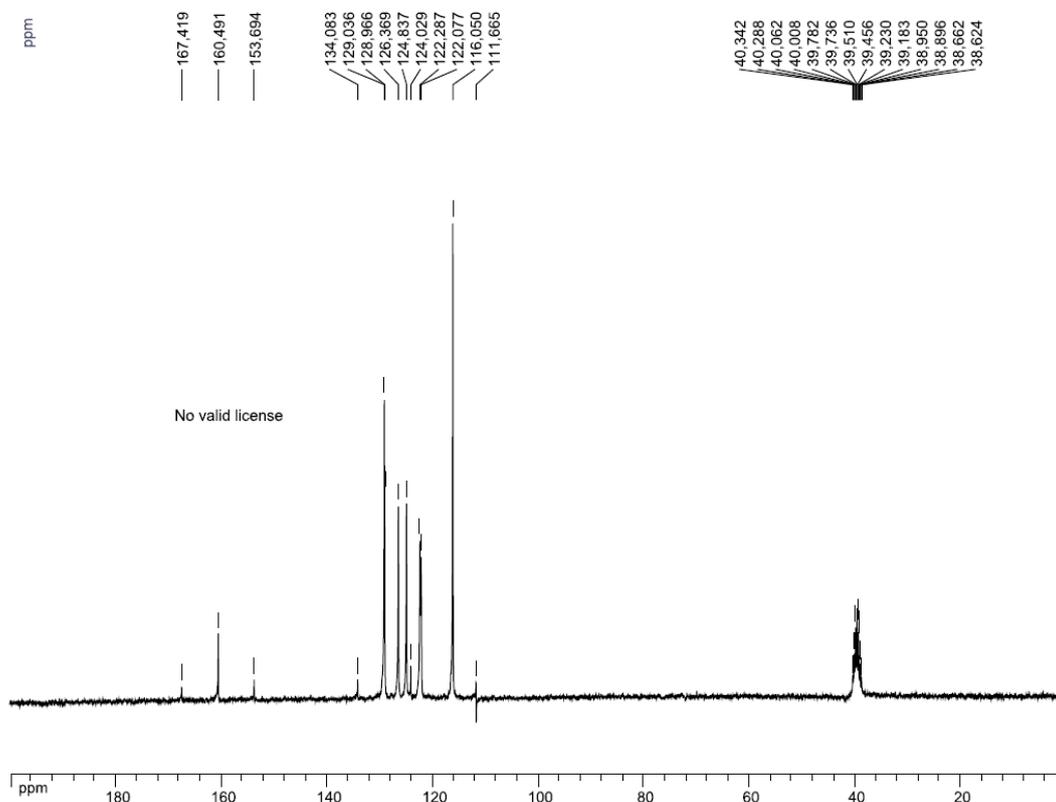
Rf (TLC): 0,40 CH₂Cl₂/MeOH (95:05) **Revelador:** luz U.V.

Rendimiento: 35%

RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-d₆), δ (ppm), J (Hz): 6,94 (d, 2H, H-10 e H-12, J = 8,7); 7,38 e 7,49 (2td, 2H, H-4 e H-5, J = 1,0, J = 7,6); 7,93 (d, 2H, H-9 e H-13, J = 8,7); 7,98 (d, 1H, H-6, J = 8,1); 8,06 (d, 1H, H-3, J = 7,8); 10,24 (s, 1H, -OH).

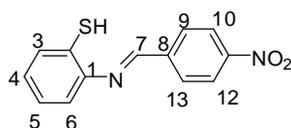


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 116,0 (C-10 e C-12); 122,1 e 122,3 (C-3 e C-6); 124,8 (C-4 e C-5); 126,3 (C-8); 128,9 e 129,0 (C-9 e C-13); 134,1 (C-8); 153,7 (C-1); 160,5 (C-11); 167,4 (C-7).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 3485 (ν O-H); 2993 (ν C-H); 1606 (ν C=N); 1483; 1456 (ν C=C).

Nomenclatura: (*E*)-2-(4-nitrobenzilidenoamino)benzenotiol **34**



F.M.: $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ / **M.M.:** $258,29 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

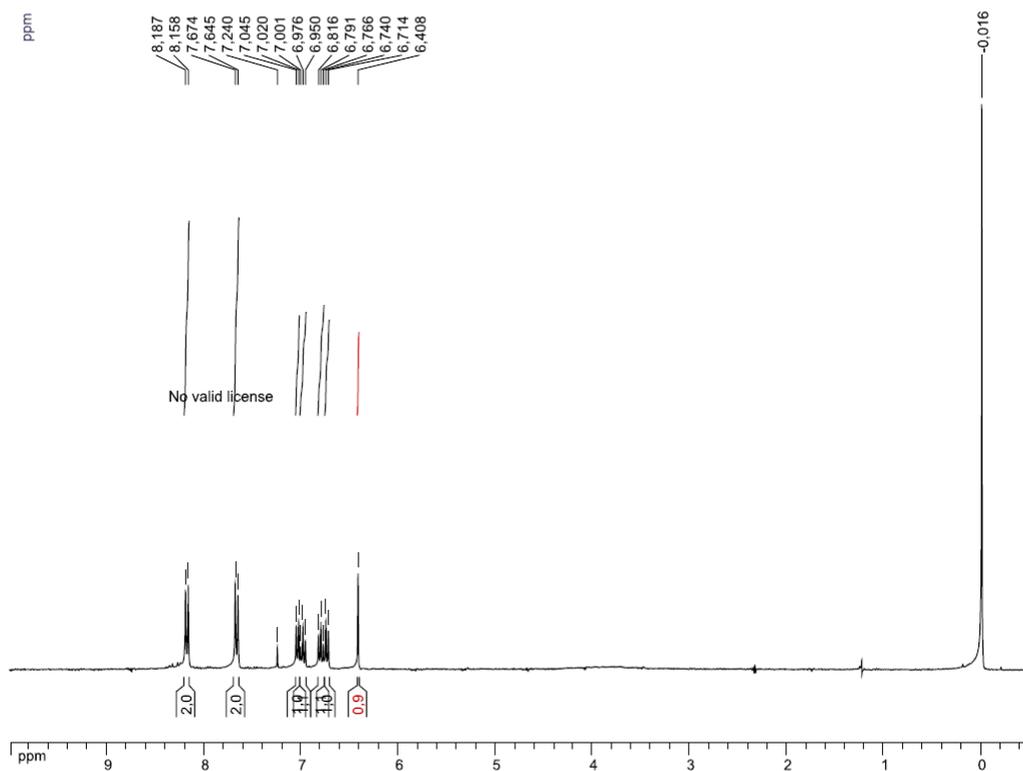
Característica física: sólido amarelo canário

F.F. (experimental): $120,8\text{-}121,9 \text{ }^\circ\text{C}$

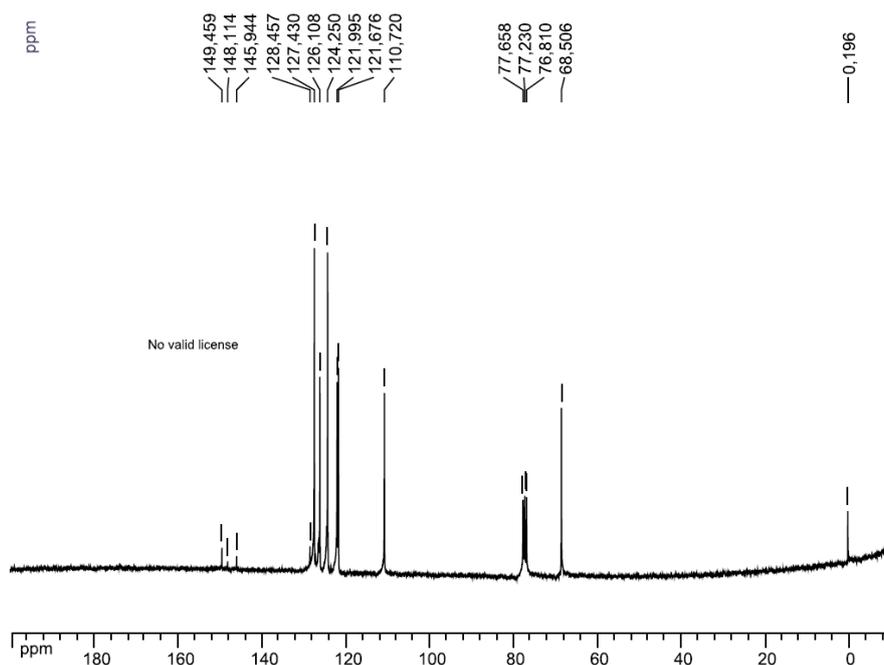
Rf (TLC): 0,80 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95:05) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 85%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 6,41 (s, 1H, H-7); 6,73 (d, 1H, H-6, $J = 7,8$); 6,79 (t, 1H, H-4, $J = 7,5$); 6,98 (t, 1H, H-5, $J = 7,6$); 7,03 (d, 1H, H-3, $J = 7,5$); 7,66 (d, 2H, H-9 e H-13, $J = 8,7$); 8,17 (d, 2H, H-10 e H-12, $J = 8,7$).

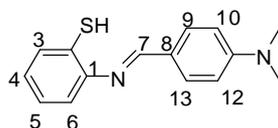


RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 110,7 (C-6); 121,7 (C-2); 121,9 (C-3 e C-4); 124,2 (C-10 e C-12); 126,1 (C-5); 127,4 (C-9 e C-13); 128,4 (C-8); 145,9 (C-11); 148,1 (C-1); 149,4 (C-7).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 1606 (ν C=N); 1515; 1458 (ν C=C); 1342 (ν N=O).

Nomenclatura: (*E*)-2-(4-(dimetilamino)benzilidenoamino)benzenotiol **35**



F.M.: $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}$ / **M.M.:** $256,36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

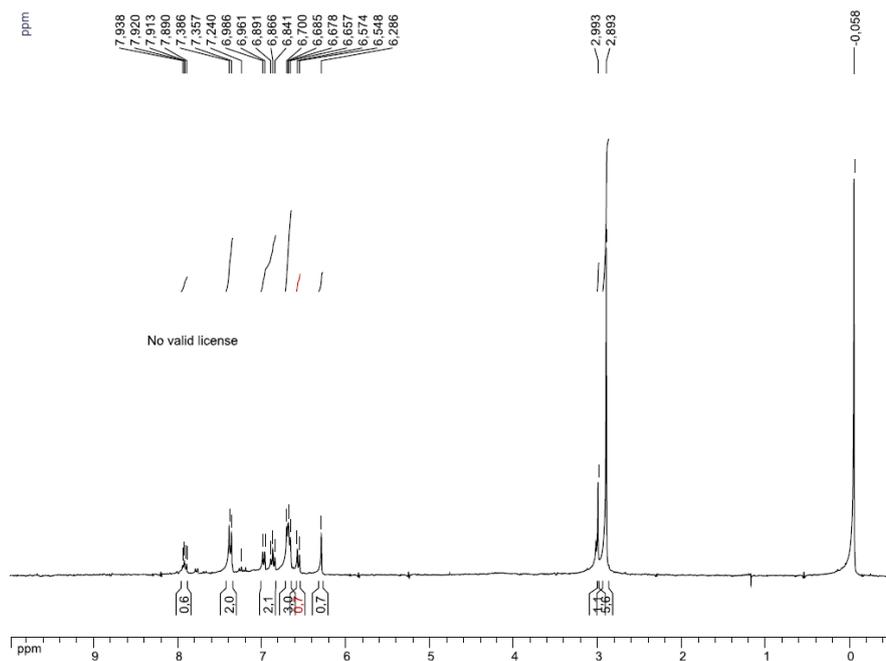
Característica física: sólido amarelo pálido

F.F. (experimental): $162,9\text{-}165,0 \text{ }^\circ\text{C}$

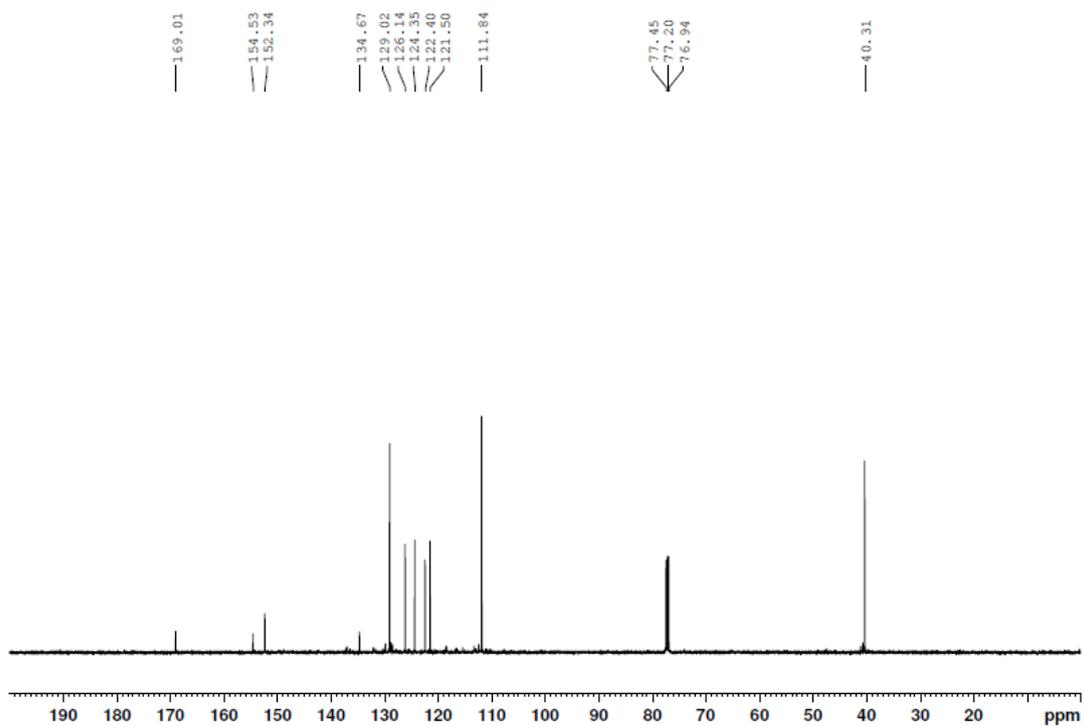
R_f (TLC): 0,80 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (95:05) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 68%

RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm), J (Hz): 2,89 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 2,99 (s, 1H, -SH); 6,29 (s, 1H, H-7); 6,56 (d, 1H, H-6, $J = 7,8$); 6,66-6,70 (m, 2H, H-10 e H-12); 6,87 (t, 1H, H-5, $J = 7,5$); 6,97 (d, 1H, H-4, $J = 7,5$); 7,37 (d, 2H, H-9 e H-13, $J = 8,7$); 7,89-7,94 (m, 1H, H-3).



RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$), δ (ppm): 40,3 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 111,8 (C-10 e C-12); 121,5 (C-6); 122,4 (C-2 e C-8); 124,3 (C-4); 126,1 (C-5); 129,0 (C-9 e C-13); 134,7 (C-3); 152,3 (C-11); 154,3 (C-1); 169,0 (C-7).



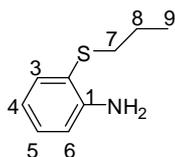
I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2920 (ν C-H); 1610 (ν C=N); 1487; 1431 (ν C=C).

7.2.4.4.2 Preparação das tioiminas **38** e **39**

7.2.4.4.2.1 Alquilação da 2-mercapto anilina: preparação do composto **36**

Uma solução de 0,480 g de NaOH em 30,0 mL de água (12,0 mmol) foi adicionada a uma solução de 2-mercapto anilina (1,25 g , 10,0 mmol) em 30,0 mL de metanol. A seguir, 1,5 g de 1-bromo-propano (12,0 mmol) foram adicionados gota a gota à mistura reacional, que foi então mantida sob agitação magnética constante e à t.a. por aproximadamente 4,5 h. Após este intervalo de tempo verificou-se por CCD a formação de um produto mais apolar, como esperado. Prosseguiu-se com a eliminação do metanol no rotaevaporador e o resíduo marrom contendo água foi então submetido a uma extração utilizando-se CHCl_3 e H_2O . A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro, concentrada e o óleo marrom resultante foi submetido a uma filtragem em sílica utilizando-se CH_2Cl_2 como eluente.

Nomenclatura: 2-(propiltio)anilina **36**



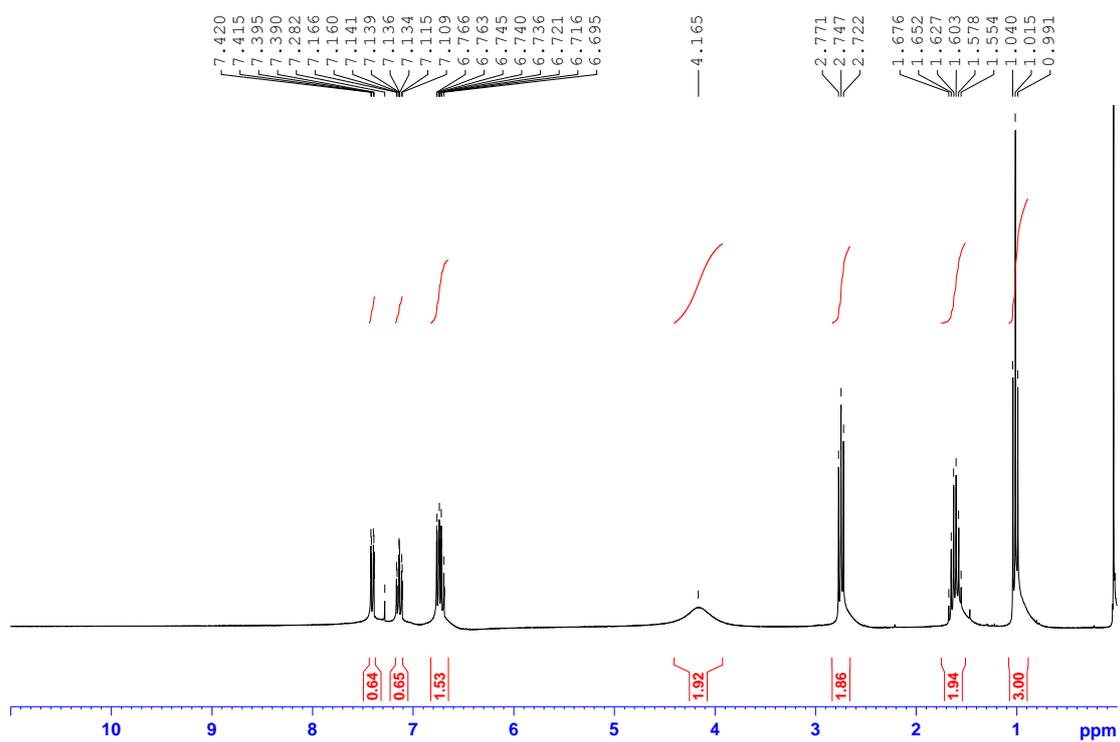
F.M.: $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NS}$ / **M.M.:** $167,27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Característica física: óleo amarelo

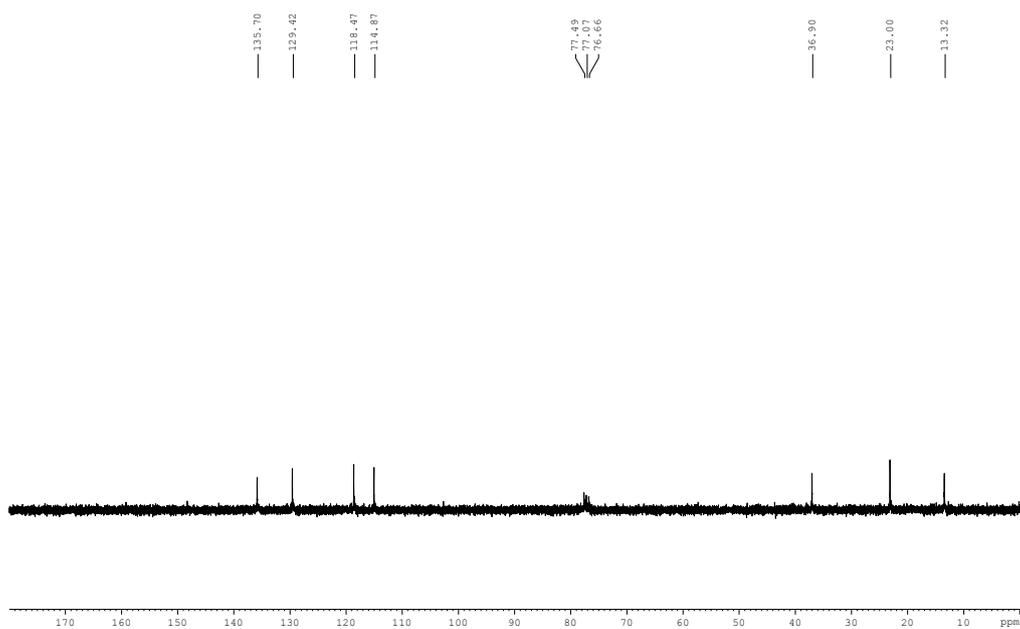
Rf (CCD): 0,45 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V e I_2

Rendimento: 81%

RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm), J (Hz): 1,01 (t, 3H, 9- CH_3 , $J = 7,3$); 1,68 (sex, 2H, 8- CH_2); 2,75 (t, 2H, 7- CH_2 , $J = 7,3$); 4,16 (sl, 2H, - NH_2); 6,69-6,77 (m, 2H, H-4 e H-5); 7,11-7,17 (m, 1H, H-6); 7,39-7,42 (m, 1H, H-3).



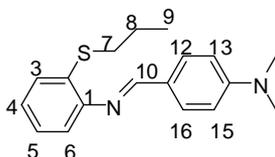
RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 13,3 (C-9); 23,0 (C-8); 36,9 (C-7); 114,9 (C-2 e C-6); 118,5 (C-4); 129,4 (C-3 e C-5); 135,7 (C-1).



7.2.4.4.2.2 Procedimento geral de preparação das tioiminas **38** e **39**

Em um balão de 50,0 mL de fundo redondo, solubilizou-se 0,89 mmol da amina **36** em 4,0 mL de etanol. A seguir, adicionou-se 0,89 mmol de um aldeído aromático (4-*N,N'*-dimetilaminobenzaldeído ou 4-nitrobenzaldeído) e a mistura foi mantida sob agitação constante e à t.a. Uma vez que o acompanhamento dessas reações por CCD (durante um período de 24 h) não indicou consumo dos materiais de partida, fez-se necessária a utilização de catálise ácida. Adicionou-se então 3 gotas de ácido acético à cada uma das misturas reacionais. Após a adição do catalisador, períodos de 48 h (**38**) à 5 dias (**39**) de repouso do meio reacional à t.a. foram necessários para a formação de um precipitado.

Nomenclatura: (*E*)-*N,N*-dimetil-4-((2-(propiltio)fenilimino)metil)anilina **38**



F.M.: C₁₈H₂₂N₂S / **M.M.:** 298,45 g.mol⁻¹

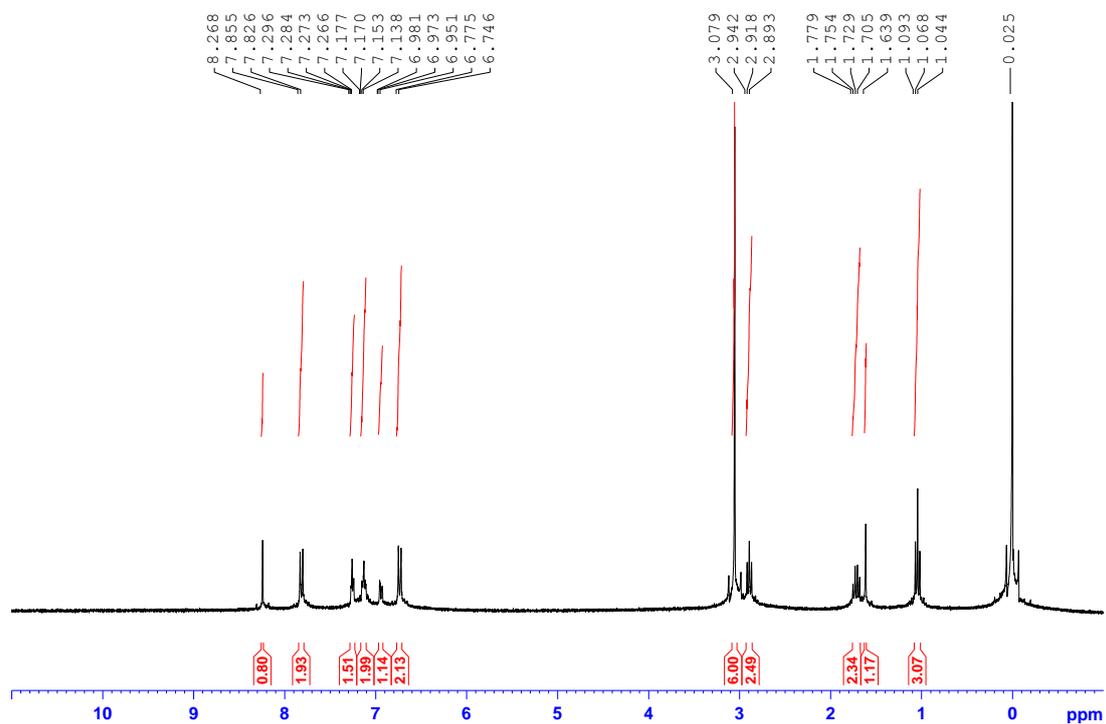
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): 90,6-91,0 °C

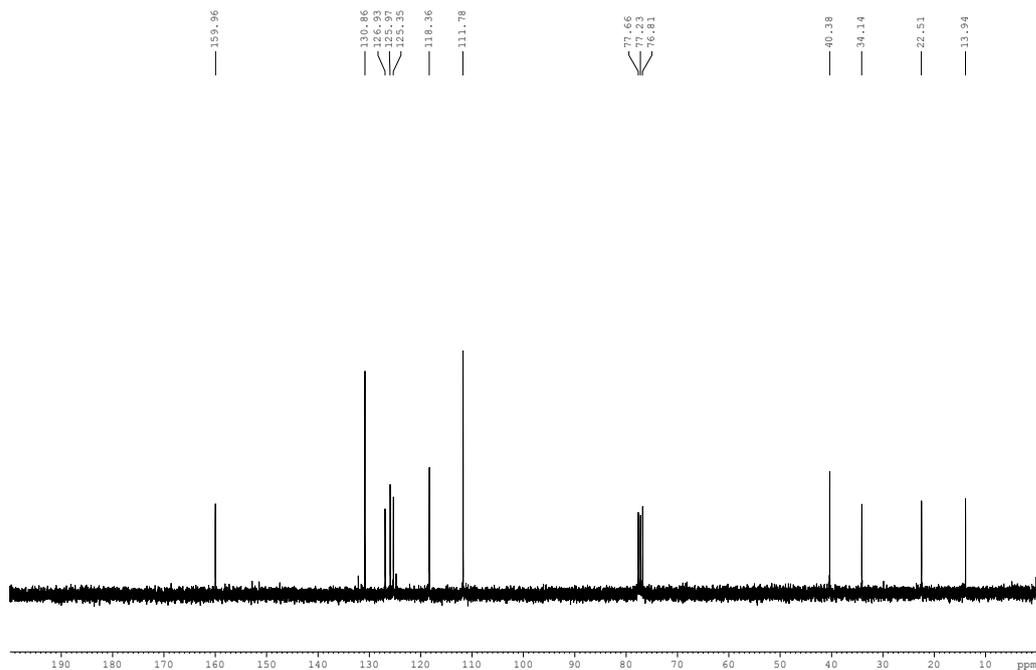
Rf (CCD): 0,36 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 39%

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ (ppm), J (Hz): 1,07 (t, 3H, 9-CH₃, J = 7,3); 1,64-1,78 (m, 2H, 8-CH₂); 2,92 (t, 2H, 7-CH₂, J = 7,3); 3,08 (s, 6H, N(CH₃)₂); 6,76 (d, 2H, H-13 e H-15, J = 8,7); 6,95-6,98 (m, 1H, H-6); 7,14-7,18 (m, 2H, H-4 e H-5); 7,27-7,30 (m, 1H, H-3); 7,84 (d, 2H, H-12 e H-16, J = 8,7); 8,27 (s, 1H, H-10).

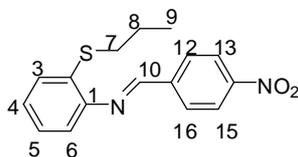


RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13,9 (C-9); 22,5 (C-8); 34,1 (C-7); 40,4 ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 111,8 (C-13 e C-15); 118,4 (C-6); 125,0 (C-2); 125,3 (C-11); 126,0 (C-4); 126,9 (C-3); 130,9 (C-12 e C-16); 132,0 (C-5); 147,0 (C-14); 153,0 (C-1); 160,0 (C-10).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2955 (ν C-H); 1615 (ν C=N); 1595 (ν C=C).

Nomenclatura: (*E*)-*N*-(4-nitrobenzilideno)-2-(propiltio)anilina **39**



F.M.: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ / **M.M.:** $300,38 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

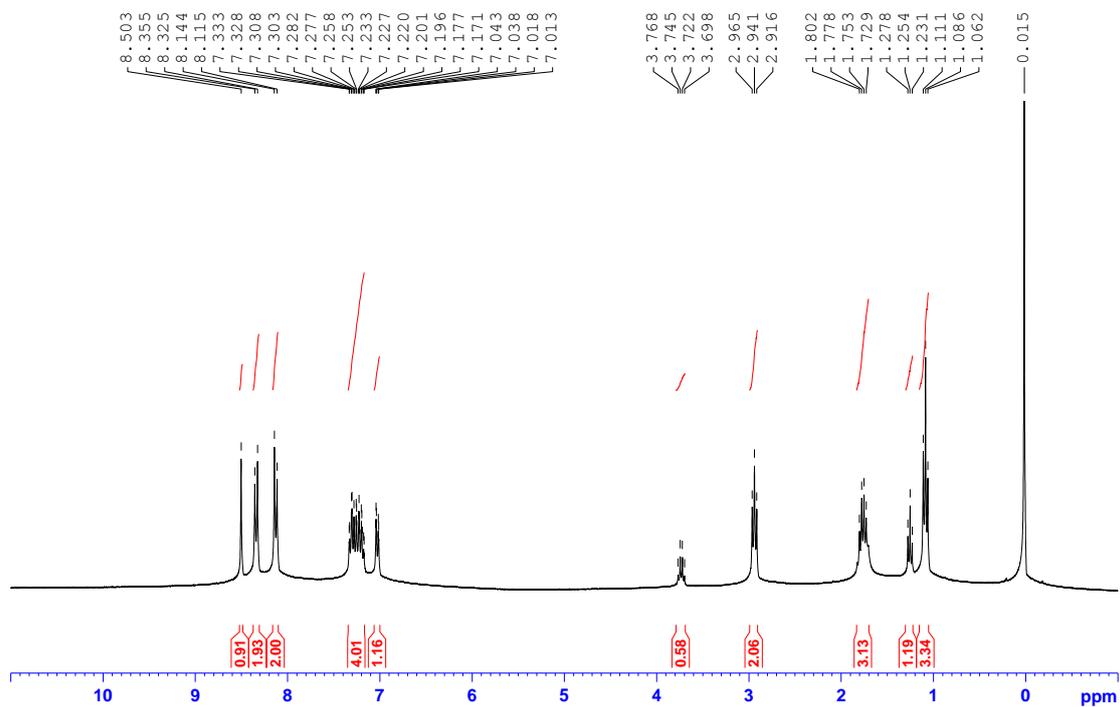
Característica física: sólido amarelo

F.F. (experimental): $64,5\text{-}65,7 \text{ }^\circ\text{C}$

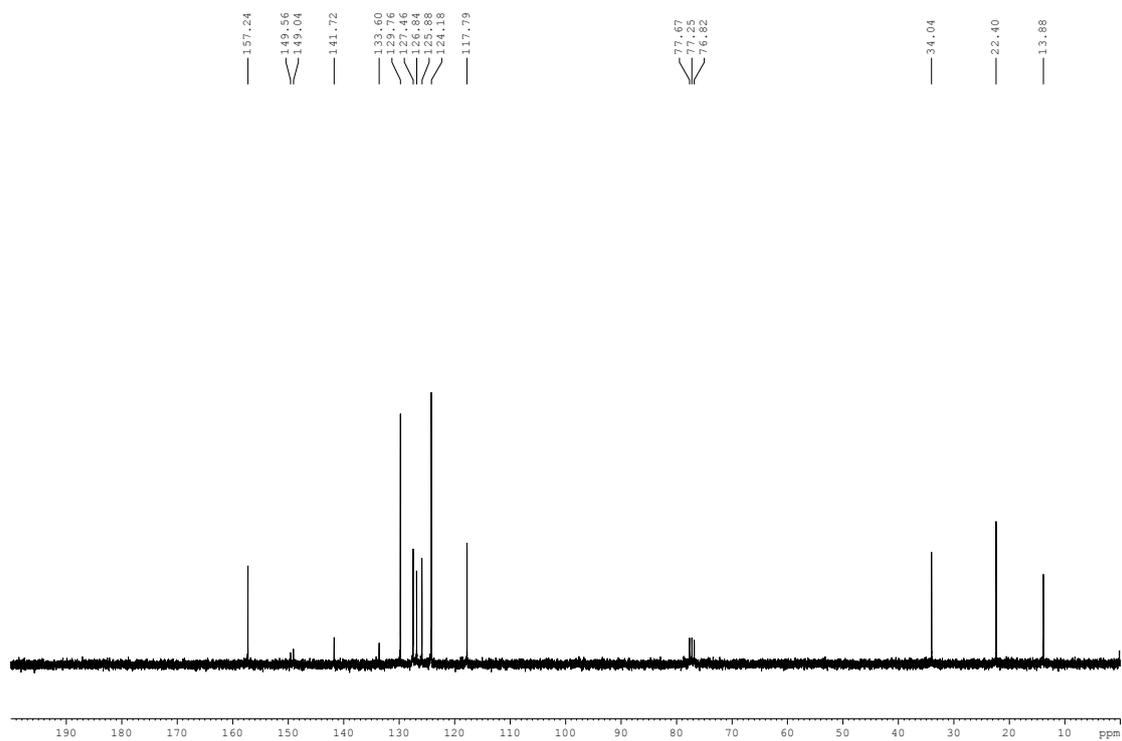
Rf (CCD): 0,43 Hex/EtOAc (95:05) **Revelador:** luz U.V.

Rendimento: 30%

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ (ppm), J (Hz): 1,09 (t, 3H, 9- CH_3 , $J = 7,3$); 1,73-1,80 (m, 2H, 8- CH_2); 2,94 (t, 2H, 7- CH_2 , $J = 7,3$); 7,01-7,04 (m, 1H, H-6); 7,17-7,33 (m, 3H, H-4, H-5 e H-6); 8,13 (d, 2H, H-12 e H-16, $J = 8,7$); 8,34 (d, 2H, H-13 e H-15, $J = 9,0$); 8,50 (s, 1H, H-10).



RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), δ (ppm): 13,9 (C-9); 22,4 (C-8); 34,0 (C-7); 117,8 (C-6); 124,2 (C-13 e C-15); 125,9 (C-2); 126,8 (C-4); 127,5 (C-3); 129,8 (C-12 e C-16); 133,6 (C-5); 141,7 (C-11); 149,0 (C-14); 149,6 (C-1); 157,2 (C-10).



I.V. (KBr), ν (cm^{-1}): 2958-2861 (ν C-H); 1622 (ν C=N); 1590 (ν C=C), 1335 (ν N=O).

8 CONCLUSÕES

Neste trabalho foi descrita a preparação de 56 compostos orgânicos, a saber: 18 conjugados esteroides/bases de Schiff, sendo 17 destes inéditos; 9 derivados esteroidais, sendo 7 inéditos; 25 bases de Schiff, dentre as quais 9 são inéditas; além de 4 precursores para a obtenção das bases de Schiff, sendo 1 deles inédito.

Os conjugados esteroides/bases de Schiff **1a-g** e **2a-g** foram obtidos a partir da construção de uma base de Schiff na posição C-24 dos núcleos esteroidais cólico e desoxicólico em rendimentos que variaram de 64 a 100 %, enquanto os conjugados **8** e **10-12** foram obtidos a partir da inserção da imina na posição C-3 dos núcleos cólico e colesterol, respectivamente em rendimentos de 70 a 98 %. A estratégia sintética utilizada foi similar para os três grupos de conjugados: primeiramente preparou-se uma amida ou um aldeído biliar a partir dos esteroides disponíveis comercialmente (ácidos cólico e desoxicólico e colesterol) e a seguir, promoveu-se a conjugação com um aldeído ou amina aromáticos, originando a porção imínica.

Os derivados esteroidais (aminas **13** e **14**, aldeídos **15** e **16**, bem como os intermediários **1** e **2**, **7** e **9**) foram obtidos a partir de reações de formação de ligação amida ou esterificações, nas quais DCC foi utilizado como agente ativador do ácido carboxílico, em rendimentos que variaram de 24 a 82%. As bases de Schiff, por sua vez, foram preparadas utilizando-se condições reacionais clássicas de formação da ligação imínica, ou seja, a condensação entre quantidades equimolares de um aldeído e de uma amina aromáticos em etanol ou metanol, à temperatura ambiente, em rendimentos entre 21 e 100%. Para a síntese das iminas **38** e **39** fez-se necessário o uso de catálise ácida.

Todos os compostos obtidos foram devidamente caracterizados por espectroscopia de RMN (de ^1H e de ^{13}C), I.V. e os inéditos por espectrometria de massas (LC-MS) ou análise elementar, além de faixa de fusão ($^{\circ}\text{C}$).

Em relação à avaliação do potencial leishmanicida dos compostos aqui preparados, os resultados mostraram que dentre os conjugados **1a-g** e **2a-g**, apenas os derivados do segundo grupo (derivados do ácido desoxicólico) apresentaram atividade em formas promastigotas de *Leishmania*, com CI_{50} variando de 15,83 μM a 59,23 μM . Vale à pena ressaltar ainda que estes compostos tiveram atividade nas formas promastigotas de todas as quatro espécies testadas. Dentre os conjugados derivados do

colesterol, apenas o conjugado **10** apresentou atividade leishmanicida nas formas promastigotas de *L. brazilienses* e *L. major*, valendo ressaltar que o mesmo apresentou um valor de CI_{50} de 7,00 μM em *L. braziliensis*, valor este que faz deste conjugado cerca de quatro vezes mais potente que a Miltefosina. Dentre as bases de Schiff avaliadas, apenas as piridiniliminas **31a**, **32a** e a piridinil-hidrazona **31d** apresentaram atividade leishmanicida promissora em promastigotas de *L. brazilienses* e *L. major*, destacando-se a imina **32a** que apresentou um valor de CI_{50} de 3,38 μM em *L. braziliensis*. Por outro lado, as demais bases de Schiff preparadas (lipofílicas e tioiminas), não apresentaram atividade leishmanicida até a máxima concentração testada ou foram pouco ativas. Por fim, vale ressaltar que a maioria dos compostos preparados não apresenta toxicidade em macrófagos peritoneais murinos na concentração máxima testada (150,00 μM).

No que se refere à atividade antimalárica, dentre os compostos sintéticos analisados, os conjugados **1c** e **1e**, bem como a amida biliar **1** apresentaram significativa atividade antimalárica nos 9º e 12º dias de experimento, sendo capazes de inibir a multiplicação do parasito com consequente redução da parasitemia. No 12º dia de experimento, a inibição da parasitemia pelos compostos (**1**: 80,77 %, **1c**: 83,86 %, **1e**: 87,60 %) foi semelhante ou maior do que a inibição provocada pela cloroquina (cloroquina: 86,53 %), droga antimalárica tradicionalmente utilizada como referência em ensaios de quimioterapia antimalárica.

No que se refere à atividade antitubercular, nenhum dos compostos avaliados (conjugados **8**, **10-12**, seus precursores **7** e **9**, os derivados esteroidais **13-16**, as bases de Schiff lipofílicas **20-24**, bem como as tioiminas **33-39** e as piridiniliminas e piridinil-hidrazonas **31a-e** e **32a-e**) são considerados promissores agentes anti-TB, uma vez que novos candidatos anti-TB devem apresentar valores de CIM < 10,0 $\mu\text{g/mL}$ contra culturas de MTB.

Em relação ao potencial antioxidante dos compostos sintéticos como inibidores do radical DPPH, merecem destaque: as bases de Schiff lipofílicas **20-22**, que apresentaram valores de CI_{50} entre 4,85 e 7,01 $\mu\text{g/mL}$, todos inferiores ao do resveratrol (CI_{50} = 9,18 $\mu\text{g/mL}$); os conjugados **8** e **10** (CI_{50} = 9,14 e 10,21 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente); a piridinilimina **31a** (CI_{50} = 8,79 μM), cujo valor de CI_{50} é similar ao

valor apresentado pelo ácido ascórbico ($CI_{50} = 9,48 \mu\text{M}$) e a tioimina **34** ($18,45 \mu\text{M}$), que é duas vezes mais ativa que o resveratrol ($CI_{50} = 37,28 \mu\text{M}$).

Os conjugados **1a-e** e **2a-e**, bem como suas amidas biliares precursoras (**1** e **2**) apresentaram um perfil de fotoproteção variado, com FPS variando de 2 a 9 e FPUVA de 2 a 11, sendo que todos os conjugados sintetizados são melhores fotoprotetores que suas amidas biliares precursoras e igualmente ou, pelo menos, duas vezes mais ativos que o resveratrol.

Por fim, os resultados obtidos neste trabalho levaram à publicação de três artigos científicos, um artigo de revisão e ao pedido de três depósitos de patentes no INPI. Além disso, outro artigo científico foi submetido e aguarda decisão.

REFERÊNCIAS

- ABOU-HUSSEIN, A. A. A. Spectroscopic and biological studies of mono- or binuclear complexes derived from thio-Schiff bases of some transition metals. **Journal of Sulfur Chemistry**, v. 31, n. 5, p. 427-446, out. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/17415993.2010.503774>>. Acesso em: 21 fev. 2012.
- ALI, E.; NAIMI-JAMAL, M. R.; DEKAMIN, M. G. Highly efficient and rapid synthesis of imines in the presence of nano-ordered MCM-41- SO₃H heterogeneous catalyst. **Scientia Iranica**, v. 20, n. 3, p. 592-597, jun. 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1026309813000138>>. Acesso em: 23 maio 2014.
- AMATO, V. S. et al. Mucosal leishmaniasis: Current scenario and prospects for treatment. **Acta Tropica**, v. 105, n. 1, p. 1-9, jan. 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X07002045>>. Acesso em: 13 dez. 2014.
- ANTINARELLI, L. et al. Increase of leishmanicidal and tubercular activities using steroids linked to aminoquinoline. **Organic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 2, n. 1, p. 16, maio 2012. Disponível em: <<http://www.orgmedchemlett.com/content/2/1/16>>. Acesso em: 4 jan. 2013.
- APREUTESEI, D. et al. Thermotropic properties of ferrocene derivatives bearing a cholesteryl unit: structure-properties correlations. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 19, n. 9, p. 1022-1037, ago. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/aoc.953>>. Acesso em: 1 jun. 2013.
- ATOUI, A. K. et al. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, n. 1, p. 27-36, jan. 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814604001670>>. Acesso em: 13 jan. 2011.
- BALAKRISHNAN, A.; POLLI, J. E. Apical Sodium Dependent Bile Acid Transporter (ASBT, SLC10A2): A potential prodrug target. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, n. 3, p. 223-230, jun. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/mp060022d>>. Acesso em: 14 maio 2013.
- BALOGH, Tatiana Santana. **Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo da estabilidade e potencial fotoprotetor**. Dissertação (Mestrado em Produção e Controle Farmacêuticos)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-15072011-110304/>>. Acesso em: 4 jan. 2015.
- BANDEIRA, C. M. et al. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de colesterol em ração para ruminantes através de planejamento experimental fatorial. **Química Nova**, v. 31, p. 1422-1426, ago. 2008. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000600027&nrm=iso>. Acesso em: 6 jul. 2013.

BEKDEMIR, Y. et al. Microwave assisted solvent-free synthesis of some imine derivatives. **Organic Chemistry International**, v. 2014, p. 5, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2014/816487>>. Acesso em: 14 dez. 2014.

BENNETT, C. J. et al. Potential therapeutic antioxidants that combine the radical scavenging ability of myricetin and the lipophilic chain of vitamin E to effectively inhibit microsomal lipid peroxidation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 9, p. 2079-2098, jan. 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089604001531>>. Acesso em: 6 nov. 2014.

BENZAQUEN, T. Dossiê antioxidantes. **Food Ingredients Brasil**, n. 6, p. 16-30, jan. 2009. Disponível em: <www.revista-fi.com>. Acesso em: 14 jul. 2013.

BRAYMER, J. J. et al. Development of bifunctional stilbene derivatives for targeting and modulating metal-amyloid-beta species. **Inorg Chem**, v. 50, n. 21, p. 10724-10734, nov. 2011.

BRAYMER, J. J.; MERRILL, N. M.; LIM, M. H. Characterization of pyridinylimine and pyridinylmethylamine derivatives and their corresponding metal complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 380, n. 0, p. 261-268, jan. 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020169311007110>>. Acesso em: 12 jul. 2013.

BROSSARD, D. et al. Synthesis of bile acid derivatives and *in vitro* cytotoxic activity with pro-apoptotic process on multiple myeloma (KMS-11), glioblastoma multiforme (GBM), and colonic carcinoma (HCT-116) human cell lines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2912-2918, mar. 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523410002308>>. Acesso em: 7 jul. 2013.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, A. D.; BRUNS, D. E. **Fundamentals of clinical chemistry**. 6. ed. EUA: Elsevier, 2008.

CALIL, N. O. et al. Antioxidant activity of resveratrol analogs. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 9, n. 1, p. 8-11, jan. 2012.

CARVALHO, L. H. et al. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied *in vivo* in *Plasmodium berghei*-infected mice and *in vitro* against *Plasmodium falciparum* in culture. **Braz J Med Biol Res**, v. 24, n. 11, p. 1113-23, 1991.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Parasites**. Atlanta, USA: 2014. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/>>. Acesso em: 27 fev. 2015.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; SALGADO, H. R. N. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 88, n. 3, p. 113-118, 2006.

CHUNG, M.-C. et al. Latenciação e formas avançadas de transporte de fármacos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 2, p. 155-179, abr./jun. 2005.

CLAYDEN et al. **Organic chemistry**. 1. ed. USA: Oxford, 2009.

COLIPA. Guidelines. **In vitro method for the determination of the uva protection factor and “critical wavelength” values of sunscreen products**. Bélgica, 2009. Disponível em: <<http://www.ctfa.org.nz/documents/members/In%20vitro%20UVA%20Combined%20UVAPF%20and%20CW%20Version%20June%202009-corrected.pdf>>. Acesso em: 8 fev. 2015.

COLLINS, L.; FRANZBLAU, S. G. Microplate alamar blue assay versus BACTEC 460 system for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 5, p. 1004-1009, maio 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC163841/>>. Acesso em: 18 dez. 2014.

CORRALES, Roberta Cristina Novaes Reis. **Síntese e avaliação biológica de derivados de 6-mercaptopurina, carboidratos e aminoálcoois**. 2011. Tese (Doutorado em Química)-Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.

CORRALES, R. C. N. R. et al. Thiopurine derivatives containing triazole and steroid: Synthesis, antimalarial and antileishmanial activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, n. 3, p. 198-203, nov. 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332210002015>>. Acesso em: 15 dez. 2012.

COSTA, P. et al. **Substâncias carboniladas e derivados**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

DA SILVA, C. M. et al. Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. **Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 1, p. 1-8, jan. 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123210000603>>. Acesso em: 17 jan. 2012.

DANGATE, P. S.; SALUNKE, C. L.; AKAMANCHI, K. G. Regioselective oxidation of cholic acid and its 7 β epimer by using *o*-iodoxybenzoic acid. **Steroids**, v. 76, n. 12, p. 1397-1399, jul. 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039128X11002479>>. Acesso em: 8 jan. 2012.

DELIGEORGIEV, T. G. An Improved method for the preparation of 2-aryl-, 2-hetaryl- and 2-styrylbenzothiazoles. **Dyes and Pigments**, v. 12, n. 4, p. 243-248, 1990. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/014372089085016H>>. Acesso em: 8 jan. 2012.

DERMATEST. Dermatest pty ltda. **Test Protocol Outline Boots Star UVA Rating Determination - per sample**. [S.l.]. Disponível em: <<http://www.dermatest.com.au/pdf/Boots%20UVA%20Protocol.pdf> 2008. >. Acesso em: 20 dez. 2014.

DUMITRU, Elena. **Synthesis, physical -chemical characterization and pharmacological testing of some new cholesterol derivatives**. 2012. Tese (Doutorado em Farmácia)-Faculdade de Farmácia, University of Medicine and Pharmacy of Craiova, Romênia, 2012. Disponível em: <<http://www.umfcv.ro/files/s/y/SYNTHESIS,%20PHYSICAL%20E2%80%93%20CHEMICAL%20CHARACTERIZATION%20AND%20PHARMACOLOGICAL%20TESTING%20OF%20SOME%20NEW%20CHOLESTEROL%20DERIVATIVES.pdf>>. Acesso em: 27 set. 2014.

ENHESEN, A.; KRAMER, W.; WESS, G. Bile acids in drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 3, p. 409-418, out. 1998.

FABRIS, S. et al. Antioxidant properties of resveratrol and piceid on lipid peroxidation in micelles and monolamellar liposomes. **Biophysical Chemistry**, v. 135, n. 1-3, p. 76-83, mar. 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301462208000598>>. Acesso em: 24 jul. 2013.

FIOCRUZ. Agência FIOCRUZ de notícias. Saúde e ciência para todos. **Leishmaniose**. Disponível em: <<http://www.agencia.fiocruz.br/leishmaniose>>. Acesso em: 12 maio. 2013.

FISCHER, O. C. P. Organic Chemistry Portal. **Fischer esterification**. Disponível em: <<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/fischer-esterification.shtm>>. Acesso em: 12 jun. 2013.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Federal register. **Sunscreen drug products for over the counter human use; final rules and proposed rules**. [S.l.]. Disponível em: <<http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2011-06-17/pdf/2011-14766.pdf>>. Acesso em: 23 dez. 2014.

FRANÇA, T. C. C.; SANTOS, M. G. D.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Malária: aspectos históricos e quimioterapia. **Química Nova**, v. 31, p. 1271-1278, abr. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000500060&nrm=iso>. Acesso em: 12 jun. 2013.

FROLOVA, N. A. et al. Oxidation of 3-(3-or 4-pyridyl)-1,5-diphenylformazans in tetrazolium trichlorometallates: Structural and electrochemical investigation. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 42, n. 11, p. 1444-1456, nov. 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10593-006-0261-5>>. Acesso em: 9 jan. 2013.

GONZALEZ, S.; FERNANDEZ-LORENTE, M.; GILABERTE-CALZADA, Y. The latest on skin photoprotection. **Clin Dermatol**, v. 26, n. 6, p. 614-26, nov./dez. 2008.

GRAMMATICAKIS, P. The ultraviolet and visible absorption of pyridine derivatives. II. a-, b-, and g-Pyridinecarboxaldehydes and their nitrogen derivatives. **Bulletin de la Societe Chimique de France**, v. 109, p. 19, 1956.

GUZEN, K. P. et al. Eco-friendly synthesis of imines by ultrasound irradiation. **Tetrahedron Letters**, v. 48, n. 10, p. 1845-1848, mar.2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040403907000500>>. Acesso em: 12 jun. 2014.

HA, S.-T. et al. 3-Hydroxy-4-[(4-bromophenyl)imino]methyl}phenyl Octadecanoate. **Molbank**, M675, p. 1-3, abr. 2010. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1422-8599/2010/2/M675>>. Acesso em: 1 abr. 2012.

HA, S.-T. et al. 3-Hydroxy-4-[(phenylimino)methyl]phenyl Myristate. **Molbank**, n. 4, p. M632, out. 2009. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1422-8599/2009/4/M632>>. Acesso em: 3 abr. 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radic Biol Med**, v. 18, n. 1, p. 125-126, jan. 1995.

HANSCH, C.; DUNN, W. J., 3RD. Linear relationships between lipophilic character and biological activity of drugs. **J Pharm Sci**, v. 61, n. 1, p. 1-19, jan. 1972.

HAZRA, B. et al. Bile acid amides derived from chiral amino alcohols: novel antimicrobials and antifungals. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, n. 3, p. 773-777, fev. 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X0301206X>>. Acesso em: 10 jan. 2011.

HEARN, M. J. et al. Preparation and antitubercular activities *in vitro* and *in vivo* of novel Schiff bases of isoniazid. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 10, p. 4169-4178, out. 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S022352340900302X>>. Acesso em: 12 jan. 2012.

HOFMANN, A. F.; HAGEY, L. R. Bile Acids: Chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 16, p. 2461-2483, ago. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00018-008-7568-6>>. Acesso em: 23 jan. 2011.

IBRAHIM, M. N.; SHARIF, S. E. A. Synthesis, characterization and use of Schiff bases as fluorimetric analytical reagents. **E-Journal of Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 531-535, out. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2007/191805>>. Acesso em: 23 fev. 2011.

IMEN AISSA et al. Synthesis of lipophilic tyrosyl esters derivatives and assessment of their antimicrobial and antileishmania activities. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, n. 13, p. 2-8, jan. 2012.

JEGANATHAN, A. et al. Selective reactions of azide-substituted alpha-diazo amides with olefins and alcohols using rhodium(II) catalysts. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 51, n. 26, p. 5362-5367, dez. 1986. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jo00376a057> >. Acesso em: 14 jun. 2013.

KAISER, C. R. et al. Formation of *N*-acyl-*N,N*-dicyclohexylureas from DCC and arenecarboxylic acids in the presence of hydroxybenzotriazole in CH₂Cl₂ at room temperature. **Journal of Chemical Research**, v. 2008, n. 8, p. 468-472, ago. 2008. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/stl/jcr/2008/00002008/00000008/art00012>>. Acesso em: 5 mar. 2013.

KAJAL, A. et al. Schiff bases: A versatile pharmacophore. **Journal of Catalysts**, v. 2013, p. 14, jun. 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2013/893512> >. Acesso em: 14 dez. 2014.

KOLEVA, I. I. et al. Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 1, p. 8-17, jan./fev. 2002. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/pca.611> >. Acesso em: 15 dez. 2014.

KRAMER, W. et al. Liver-specific drug targeting by coupling to bile acids. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 26, p. 18598-18604, set. 1992.

KUBO, I. et al. Antioxidant activity of dodecyl gallate. **J Agric Food Chem**, v. 50, n. 12, p. 3533-3539, jun. 2002.

KUMAR, S. et al. Synthesis and antimicrobial study of some Schiff bases of sulfonamides. **Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 1, n. 1, p. 39-42, 2010.

LANKELMA, H. P.; SHARNOFF, P. X. The condensation of aldehydes with ortho-aminothiophenols, benzothiazolines and benzothiazoles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 53, n. 7, p. 2654-2657, jul. 1931. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ja01358a028> >. Acesso em: 23 jul. 2013.

LANKELMA, H. P.; SHARNOFF, P. X. The condensation of aldehydes and ketones with ortho-aminothiophenols, benzothiazolines and benzothiazoles. II. **Journal of the American Chemical Society**, v. 54, n. 1, p. 379-381, jan. 1932. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ja01340a057> >. Acesso em: 31 jul. 2013.

LIMA, L. L. et al. Azastilbene analogs as tyrosinase inhibitors: New molecules with depigmenting potential. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 7, jan. 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2013/274643> >. Acesso em: 24 jul. 2013.

LONDHE, B. S. et al. Synthesis of 2-arylbenzothiazoles catalyzed by biomimetic catalyst, β -cyclodextrin. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 31, n. 8, p. 2329-2332, jun. 2010.

LU, J. et al. The antioxidant effect of imine resveratrol analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 17, p. 5744-5747, sep. 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X12007779>>. Acesso em: 12 dez. 2012.

MACHADO, Patrícia de Almeida. **Atividade leishmanicida de análogos de alcalóides marinhos e bioisómeros do resveratrol em *Leishmania amazonensis***. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)-Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

MANSUR, Maria Cristina Pinheiro Pereira Reis. **Estudo preliminar das atividades fotoprotetora e antioxidante dos extratos das folhas de *Bauhinia microstachya* var. *massambabensis* Vaz numa formulação antissolar**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

MEYER, C. D.; JOINER, C. S.; STODDART, J. F. Template-directed synthesis employing reversible imine bond formation. **Chemical Society Reviews**, v. 36, n. 11, p. 1705-1723, nov. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/B513441M>>. Acesso em: 13 jul. 2013.

MISRA, S. et al. Antihyperglycemic, α -glucosidase inhibitory and DPPH free radical scavenging activity of 5-bromosalicylaldehyde and schiff bases. **Medicinal Chemistry Research**, v. 20, n. 9, p. 1431-1437, dez. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00044-010-9377-3>>. Acesso em: 11 set. 2014.

MONTALBETTI, C. A. G. N.; FALQUE, V. Amide bond formation and peptide coupling. **Tetrahedron**, v. 61, n. 46, p. 10827-10852, nov. 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402005013876>>. Acesso em: 19 jun. 2013.

MORZYCKI, J. W. Recent advances in cholesterol chemistry. **Steroids**, v. 83, n. 0, p. 62-79, jun. 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039128X14000361>>. Acesso em: 12 jul. 2014.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, dez. 1983.

MRÓZEK, L. et al. Investigation of new acyloxy derivatives of cholic acid and their esters as drug absorption modifiers. **Steroids**, v. 76, n. 10-11, p. 1082-1097, maio 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039128X11001474>>. Acesso em: 5 out. 2011.

MSF. Médicos Sem Fronteiras. **Malária**. Disponível em: < <http://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/malaria> >. Acesso em: 16 fev. 2015.

_____. Tuberculose. <http://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/tuberculose>, 2014. Acesso em: 16 fev. 2015.

MUKHOPADHYAY, S.; MAITRA, U. Chemistry and biology of bile acids. **Current Science**, v. 87, n. 12, p. 1666-1683, dez. 2004.

NEISES, B.; STEGLICH, W. Simple method for the esterification of carboxylic acids. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 17, n. 7, p. 522-524, jul. 1978. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/anie.197805221> >. Acesso em: 14 jul. 2013.

NES, W. D. Biosynthesis of cholesterol and other sterols. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p. 6423-6451, out. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3191736/>>. Acesso em: 12 jun. 2013.

PALOMINO, J.-C. et al. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, ago. 2002. Disponível em: <<http://aac.asm.org/content/46/8/2720.abstract> >. Acesso em: 9 jan. 2015.

PANDEY, A.; SINGH, B. Mesogens based on cholesterol derivatives: Synthesis and characterization. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 562, n. 1, p. 166-176, ago. 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1080/15421406.2012.687323>>. Acesso em: 9 fev. 2015.

PARRA, M. et al. Synthesis and mesomorphic properties of esters derived from Schiff's bases containing 1,3,4-thiadiazole. **Liquid Crystals**, v. 31, n. 11, p. 1531-1537, nov. 2004. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1080/02678290412331304104>>. Acesso em: 21 fev. 2015.

PETERS, W. Drug resistance in *Plasmodium berghei* Vincke and Lips, 1948. III. Multiple drug resistance. **Experimental Parasitology**, v. 17, n. 1, p. 97-102, ago. 1965. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0014489465900147> >. Acesso em: 15 jan. 2015.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **J Nat Prod**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, jul. 2000.

POLONINI, H. C. et al. Photoprotective activity of resveratrol analogues. **Bioorg Med Chem**, v. 21, n. 4, p. 964-968, fev. 2013.

PORE, V. S. et al. Design and synthesis of fluconazole/bile acid conjugate using click reaction. **Tetrahedron**, v. 62, n. 48, p. 11178-11186, out. 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402006014712> >. Acesso em: 18 jan. 2011.

PURSCHE, D. et al. Synthesis and characterization of $[\text{Mn}_3(\text{ppi})_2(\mu\text{-OAc})_4(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 2\text{MeOH}$ — Unusual structural properties of a trinuclear oxygen-Rich manganese complex. **Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie**, v. 629, n. 1, p. 24-28, jan. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/zaac.200390012>>. Acesso em: 9 fev. 2013.

RAHMAN, R. M.; EL-GENDY, Z.; MAHMOUD, M. B. Biologically active thiazolidinone. Part I. Synthesis and fungitoxicities of thiazolidinones and their derivatives derived from *o*-aminothiophenol. **Journal of Indian Chemical Society**, v. 67, n. 1, p. 61-64, 1990.

RASRAS, A. J. M. et al. Synthesis and antimicrobial activity of cholic acid hydrazone analogues. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 2307-2313, fev. 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523410001236>>. Acesso em: 20 fev. 2013.

RATH, S. et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, v. 26, p. 550-555, jul./ago. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422003000400018&nrm=iso>. Acesso em: 14 dez. 2014.

ROSA, C. S. D. et al. Atividade antioxidante do ácido hialurônico extraído da crista de frango. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2593-2698, jul. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000900029&nrm=iso>. Acesso em: 10 dez. 2014.

SAÚDE, Ministério da. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa 2014**: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/perfil/gestor/homepage/outros-destaques/estimativa-de-incidencia-de-cancer-2014/estimativa_cancer_24042014.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2015.

SEBLI, C. P. et al. *fac*-Specific syntheses of homochiral $[\text{Fe}(\text{NN}[\text{prime or minute}])_3]^{2+}$ complexes (NN[prime or minute] = pyridine keto-hydrazone); origins of the stereoselectivity. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 18, p. 4447-4454, maio 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C000815J>>. Acesso em: 15 jan. 2013.

SETH, D. K.; BHATTACHARYA, S. Copper(I) complexes of *N*-(aryl)pyridine-2-aldimines: Spectral, electrochemical and catalytic properties. **Polyhedron**, v. 30, n. 15, p. 2438-2443, set. 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0277538711003627>>. Acesso em: 27 fev. 2013.

SHAKEEL, A. S. et al. Synthesis and antibacterial activity of new Schiff's bases. **International Journal of Pharmacy and Life Sciences**, v. 1, n. 5, p. 246-249, set. 2010.

SHEEHAN, J. C.; HESS, G. P. A new method of forming peptide bonds. **Journal of the American Chemical Society**, v. 77, n. 4, p. 1067-1068, fev. 1955. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/ja01609a099>>. Acesso em: 12 jun. 2013.

SILESS, G. E. et al. Synthesis of steroidal quinones and hydroquinones from bile acids by Barton radical decarboxylation and benzoquinone addition. Studies on their cytotoxic and antifungal activities. **Steroids**, v. 77, n. 1-2, p. 45-51, jan. 2012.

SILVA, A. D. D.; CARVALHO, G. S. G. D.; RAPOSO, N. R. B. **Preparation of substituted nitrogenous trans-stilbene analogs, particularly imine derivatives, for encapsulation with liposomes, and their human and veterinary use in pharmaceutical compositions and as antioxidant in the field of cosmetics, cosmeceuticals, food preservatives and nutrition.** BR 2011003868 A2 20130730 2013.

SILVA, C. M. D. et al. Synthesis of aryl aldimines and their activity against fungi of clinical interest. **Chem Biol Drug Des**, v. 78, n. 5, p. 810-815, set. 2011.

SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R. K. Leishmaniasis: current status of available drugs and new potential drug targets. **Asian Pac J Trop Med**, v. 5, n. 6, p. 485-97, jun. 2012.

SMITH, M. B. **March's advanced organic chemistry: Reactions, mechanisms and structure.** 7. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2013.

SOUZA, M. V. N. D. Rifampicina, um importante fármaco no combate à tuberculose. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 86, n. 3, p. 92-94, jun. 2005.

SPRINGSTEEN, A. et al. *In vitro* measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. **Analytica Chimica Acta**, v. 380, n. 2-3, p. 155-164, fev. 1999. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267098005777> >. Acesso em: 20 dez. 2014.

SREEJAYAN, N.; RAO, M. N. Free radical scavenging activity of curcuminoids. **Arzneimittelforschung**, v. 46, n. 2, p. 169-172, fev. 1996.

SREEKANTH, V. et al. Design, synthesis, and mechanistic investigations of bile acid-tamoxifen conjugates for breast cancer therapy. **Bioconjugate Chemistry**, v. 24, n. 9, p. 1468-1484, set. 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/bc300664k> >. Acesso em: 23 fev. 2015.

STANCIU, M. C.; NICHIFOR, M.; SIMIONESCU, B. C. New biocompatible polyesters based on bile acids. **Revue Roumaine de Chimie** v. 54, n. 11-12, p. 951-955, maio 2009.

STARK, D. et al. *In vitro* affinities of various halogenated benzamide derivatives as potential radioligands for non-invasive quantification of D2-like dopamine receptors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 21, p. 6819-6829, nov. 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089607006517> >. Acesso em: 9 jul. 2013.

SWAAN, P. W. et al. Enhanced transepithelial transport of peptides by conjugation to cholic acid. **Bioconjugate Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 520-525, jul. 1997. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/bc970076t>>. Acesso em: 14 maio 2013.

TIDWELL, T. T. Hugo (Ugo) Schiff, Schiff bases, and a century of β -lactam synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 47, n. 6, p. 1016-1020, jan. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/anie.200702965>>. Acesso em: 23 mar. 2013.

TOLLE-SANDER, S. et al. Increased Acyclovir oral bioavailability via a bile acid conjugate. **Molecular Pharmaceutics**, v. 1, n. 1, p. 40-48, jan. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/mp034010t>>. Acesso em: 14 maio 2013.

TROISI, L. et al. Stereoselective synthesis and functionalization of 4-heterosubstituted β -lactams. **Tetrahedron**, v. 62, n. 7, p. 1564-1574, fev. 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402005019952>>. Acesso em: 21 jan. 2013.

TDSP. Tuberculosis Drug Screening Program. Search for new drugs for treatment of tuberculosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 7, p. 1943-1946, jul. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC90582/>>. Acesso em: 8 jan. 2015.

UCHIDA, M. et al. Synthesis of 4-(phenylamino)quinoline-3-carboxamides as a Novel Class of Gastric H^+K^+ -ATPase inhibitors. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 43, n. 4, p. 693-698, 1995.

UMADEVI, S.; SADASHIVA, B. K. New five-ring symmetrical bent-core mesogens exhibiting the fascinating B7 phase. **Liquid Crystals**, v. 32, n. 10, p. 1233-1241, out. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/02678290500345461>>. Acesso em: 14 jun. 2013.

VALEUR, E.; BRADLEY, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 2, p. 606-631, fev. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/B701677H>>. Acesso em: 11 ago. 2012.

VELASCO, M. V. R. et al. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (*in vitro*) – revisão. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 27-34, 2011.

VIRTANEN, E.; KOLEHMAINEN, E. Use of bile acids in pharmacological and supramolecular applications. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2004, n. 16, p. 3385-3399, ago. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/ejoc.200300699>>. Acesso em: 13 jan. 2011.

VIRTANEN, E. et al. Synthesis, 1H , ^{13}C , ^{15}N , and ^{113}Cd NMR, ESI-TOF MS, Semiempirical MO (PM3), ab initio/HF and Cation/Anion Binding Studies of *N*-deoxycholy-l-tryptophan.

Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry, v. 43, n. 3-4, p. 319-327, ago. 2002. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1023/A%3A1021275012904> >. Acesso em: 19 jul. 2013.

WALKER, G. N.; KLETT, M. A. Synthesis of varied heterocyclic and substituted aryl alkyl secondary amines, related Schiff bases, and amides. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 4, p. 624-630, jul. 1966. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jm00322a049> >. Acesso em: 24 maio 2014.

WANG, S. Q.; OSTERWALDER, U.; JUNG, K. Ex vivo evaluation of radical sun protection factor in popular sunscreens with antioxidants. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 65, n. 3, p. 525-530, set. 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0190962210008169> >. Acesso em: fev. 2015.

WHO. World Health Organization. **The Global Plan to Stop TB 2011–2015**. [S.l.]. Disponível em: < http://www.stoptb.org/assets/documents/global/plan/tb_globalplantostoptb2011-2015.pdf >. Acesso em: 26 jan. 2015.

_____. **Global Tuberculosis Report 2013**. World Health Organization. 2013a. Disponível em: < http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656_eng.pdf >. Acesso em: 23 jan. 2015.

_____. **World Malaria Report 2013**. 2013b. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/ >. Acesso em: 23 jan. 2015.

_____. Leishmaniasis. **Health topics**, 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/topics/leishmaniasis/en/> >. Acesso em: 30 jan. 2015.

WILLEMEN, H. M. et al. Micelle formation and antimicrobial activity of cholic acid derivatives with three permanent ionic head groups. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 22, p. 4275-4277, nov. 2002. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773\(20021115\)41:22<4275::AID-ANIE4275>3.0.CO;2-U](http://dx.doi.org/10.1002/1521-3773(20021115)41:22<4275::AID-ANIE4275>3.0.CO;2-U) >. Acesso em: 20 jan. 2011.

WONG, W.-Y.; WONG, W.-T. Synthesis, structural characterization and solvatochromic studies of a series of Schiff base-containing triosmium alkylidyne carbonyl clusters. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 584, n. 1, p. 48-57, jul. 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022328X99000911> >. Acesso em: 3 jul. 2013.

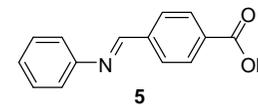
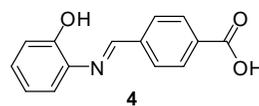
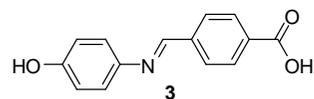
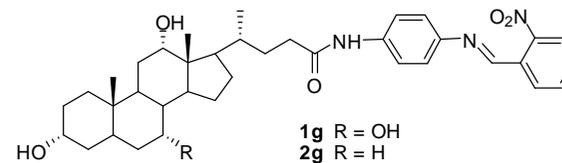
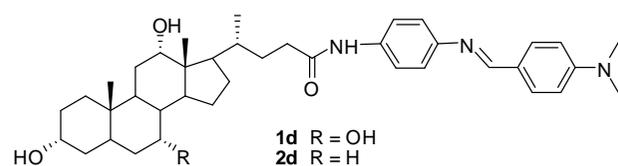
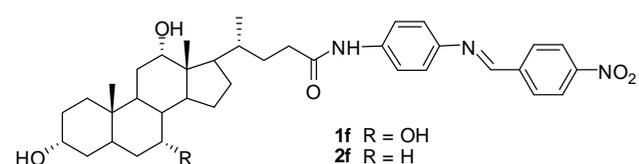
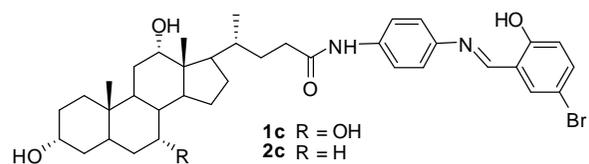
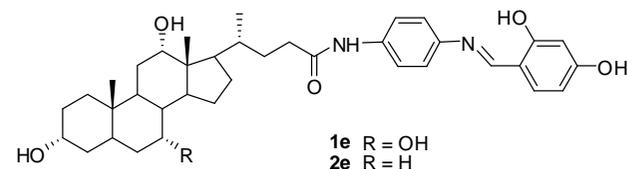
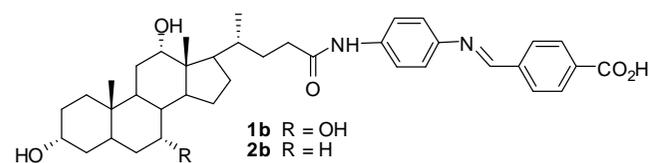
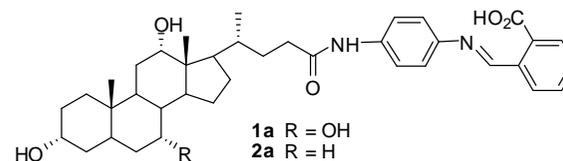
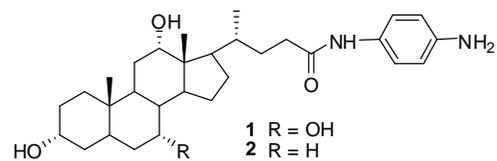
YU, Y. et al. Formation of fibril structures in polymerizable, rod-coil-oligomer-modified epoxy networks. **Chemistry – A European Journal**, v. 13, n. 10, p. 2920-2928, mar. 2007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/chem.200601049> >. Acesso em: 25 jul. 2013.

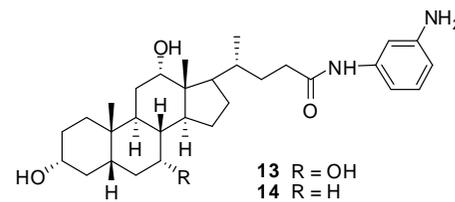
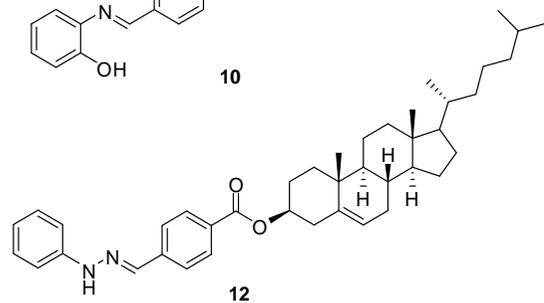
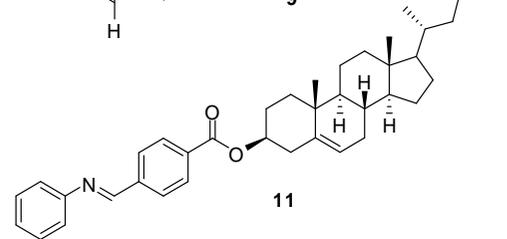
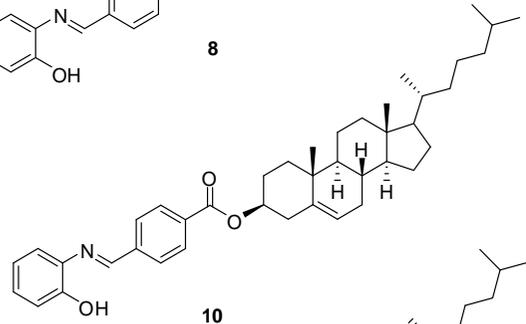
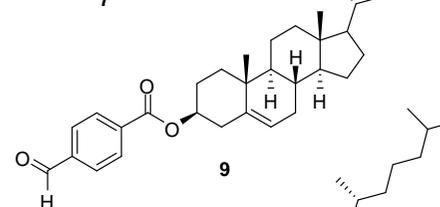
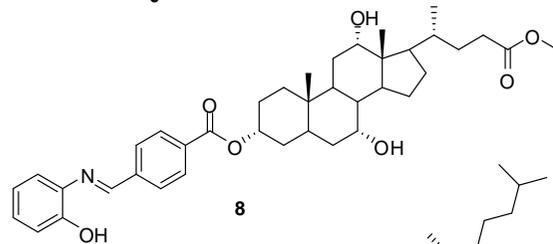
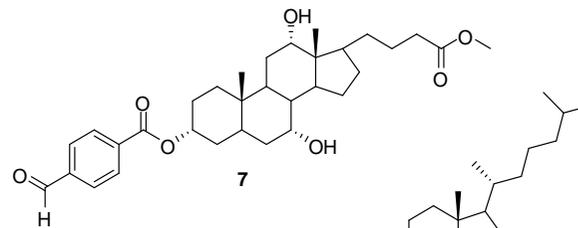
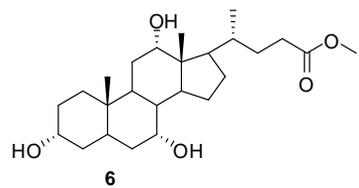
YUMNAM, S.; RAJKUMARI, L. Thermodynamics of the complexation of *N*-(Pyridin-2-ylmethylene) isonicotinohydrazide with lighter lanthanides. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 54, n. 1, p. 28-34, jan. 2009/dez. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/je8003904>>. Acesso em: 25 maio 2014.

ZHANG, Jie. **Synthesis and Characterization of Main-Chain Bile Acid-Based Degradable Polymers**. 2010. Tese (Doutorado de Química)-Departamento de Química, Universidade de Montreal, Montreal, 2010. Disponível em: <https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/4407/Zhang_jie_2010_thesis.pdf>. Acesso em: 17 jun. 2013.

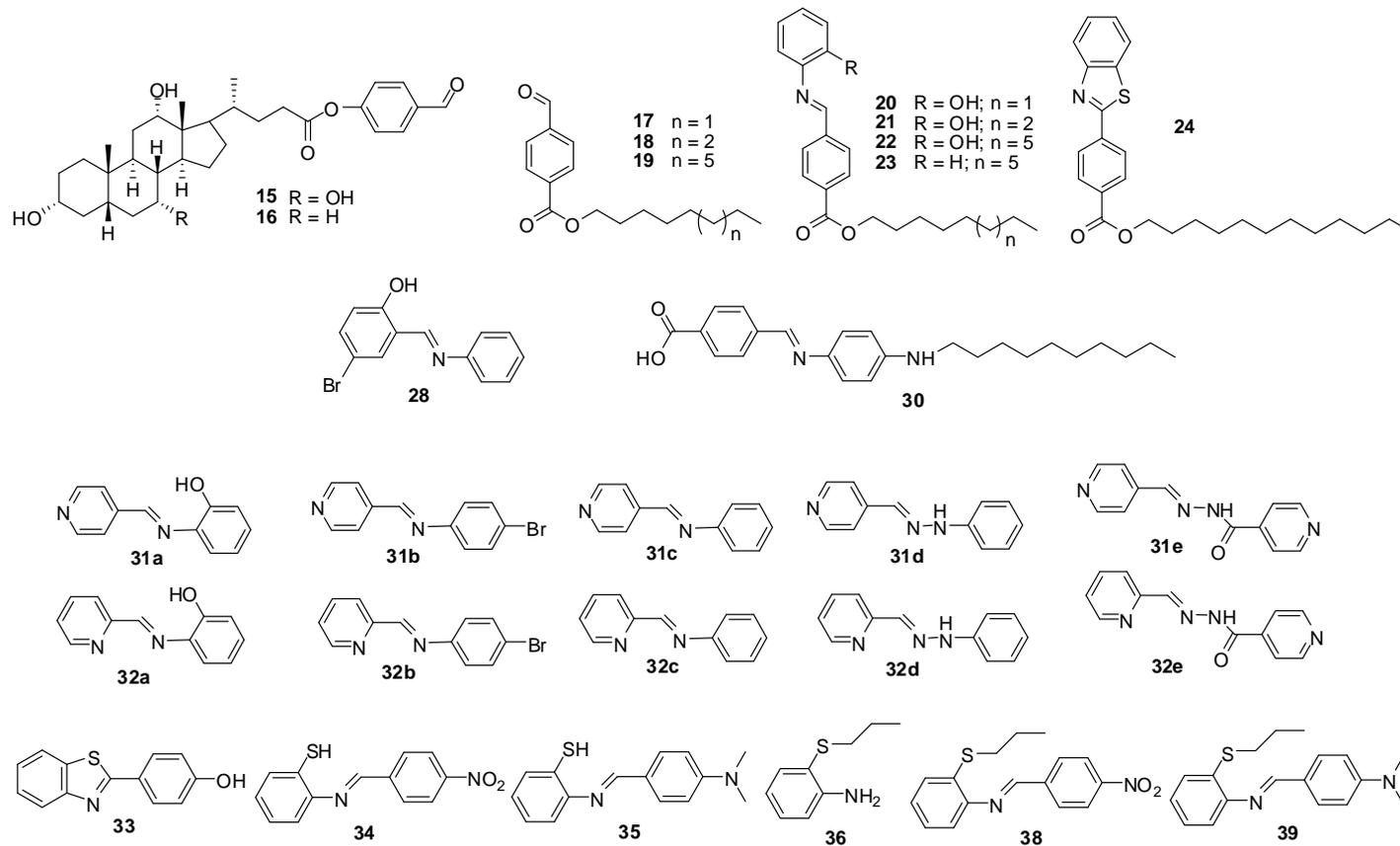
ZHENG, Y. A.-M. et al. One pot synthesis of imines from aromatic nitro compounds with a novel Ni/SiO₂ magnetic catalyst. **Catalysis Letters**, v. 128, p. 465-474, mar. 2009.

APÊNDICE A - RELAÇÃO DOS COMPOSTOS PREPARADOS





14 R = H



APÊNDICE B - PUBLICAÇÕES

PATENTES DEPOSITADAS NO INPI

Bioisósteros do resveratrol bioconjugados com esteroides, antiparasitários

BRASIL Acesso à informação

Consulta à Base de Dados do INPI
[Pesquisa Base Marcas | Pesquisa Base Desenhos | Pesquisa Base Programas | Ajuda?]

» Consultar por: Base Patentes | Finalizar Sessão

Depósito de pedido nacional de Patente

(21) Nº do Pedido: **BR 10 2012 013082 3 A2**

(22) Data do Depósito: 31/05/2012

(51) Classificação: A61K 31/05 ; A61K 47/28 ; A61P 33/02 ; A61P 33/04

(54) Título: **BIOISÓSTEROS DO RESVERATROL BIOCONJUGADOS COM ESTERÓIDES, ANTIPARASITÁRIOS**

(57) Resumo: **BIOISÓSTEROS DO RESVERATROL BIOCONJUGADOS COM ESTERÓIDES, ANTIPARASITÁRIOS. TRATA-SE A PRESENTE INVENÇÃO DE COMPOSTOS BIOISÓSTEROS DO RESVERATROL BIOCONJUGADOS COM ESTERÓIDES (OU ÁCIDOS BILIARES), QUE SERÃO UTILIZADOS PARA A PREPARAÇÃO, ENCAPSULAÇÃO COM LIPOSSOMAS PARA AUMENTAR A BIODISPONIBILIDADE E USO EM COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, FÁRMACOS (ANTIPARASITÁRIOS E ANTIVIRAIS), TODOS PARA O SEGMENTO HUMANO E /OU VETERINÁRIO. ASSIM, OS ESTERÓIDES SÃO DERIVADOS DE ÁCIDOS BILIARES (ÁCIDO CÓLICO E DESOXCÍCLICO) CONJUGADOS COM BASES DE SCHIFF.**

(71) Nome do Depositante: Universidade Federal de Juiz de Fora (BR/MG)

(72) Nome do Inventor: Adilson David da Silva / Elaine Soares Coimbra / Clarice Abramo / Roberta Reis Soares / Juliana Alves dos Santos / Ayla das Chagas Almeida / Patrícia de Almeida Machado

Para visualizar o documento, clique na imagem acima.
Aviso Importante

PETIÇÕES

Pgo	Protocolo	Data	Img	Serviço	Cliente	Delivery
✓	800140147279	01/07/2014	-	220	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA - UFJF	
✓	020120049283	31/05/2012	-	200	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA - UFJF	

PUBLICAÇÕES

RPI	Data RPI	Despacho	Complemento do Despacho
2261	06/05/2014	3.1	
2199	26/02/2013	2.1	
2168	24/07/2012	2.10	Número de Protocolo 20120049283 em 31/05/2012 10:38(RJ).

Dados atualizados até 24/02/2015 - Nº da Revista: 2303

Bioisósteros do resveratrol bioconjugados com esteroides, antioxidantes

BRASIL Acesso à informação

Consulta à Base de Dados do INPI
[Pesquisa Base Marcas | Pesquisa Base Desenhos | Pesquisa Base Programas | Ajuda?]

» Consultar por: Base Patentes | Finalizar Sessão

Depósito de pedido nacional de Patente

(21) Nº do Pedido: **BR 10 2012 013083 1 A2**

(22) Data do Depósito: 31/05/2012

(51) Classificação: A61K 31/05 ; A61K 47/28 ; A61K 8/34 ; A61K 8/63

(54) Título: **BIOISÓSTEROS DO RESVERATROL BIOCONJUGADOS COM ESTERÓIDES, ANTIOXIDANTES**

(57) Resumo: **BIOISÓSTEROS DO RESVERATROL BIOCONJUGADOS COM ESTERÓIDES, ANTIOXIDANTES. TRATA-SE A PRESENTE INVENÇÃO DE COMPOSTOS BIOISÓSTEROS DO RESVERATROL BIOCONJUGADOS COM ESTERÓIDES (OU ÁCIDOS BILIARES), QUE SERÃO UTILIZADOS PARA A PREPARAÇÃO, ENCAPSULAÇÃO COM LIPOSSOMAS PARA AUMENTAR A BIODISPONIBILIDADE E USO EM COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, COMO ANTIOXIDANTE E NO CAMPO DE COSMÉTICOS, COSMECÊUTICOS, CONSERVANTES, ALIMENTÍCIO E NUTRIÇÃO, TODOS PARA O SEGMENTO HUMANO E / OU VETERINÁRIO. ASSIM, OS ESTERÓIDES SÃO DERIVADOS DE ÁCIDOS BILIARES (ÁCIDO CÓLICO E DESOXCÍCLICO) CONJUGADOS COM BASES DE SCHIFF.**

(71) Nome do Depositante: Universidade Federal de Juiz de Fora (BR/MG)

(72) Nome do Inventor: Adilson David da Silva / Juliana Alves dos Santos / Annelisa Farah da Silva / Nádia Rezende Barbosa Raposo

Para visualizar o documento, clique na imagem acima.
Aviso Importante

PETIÇÕES

Pgo	Protocolo	Data	Img	Serviço	Cliente	Delivery
✓	800140147280	01/07/2014	-	220	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA - UFJF	
✓	020120049285	31/05/2012	-	200	UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA - UFJF	

PUBLICAÇÕES

RPI	Data RPI	Despacho	Complemento do Despacho
2258	15/04/2014	3.1	
2199	26/02/2013	2.1	
2168	24/07/2012	2.10	Número de Protocolo 20120049285 em 31/05/2012 10:40(RJ).

Dados atualizados até 24/02/2015 - Nº da Revista: 2303

Iminas Aromáticas Lipídicas com atividade Cosmética, Cosmecêutica, farmacêutica e alimentícia 2013 (BR10 2013 010607 0)

ARTIGOS ACEITOS PARA PUBLICAÇÃO OU PUBLICADOS

Antioxidant Activity of Thio-Schiff Bases

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Letters in Drug Design & Discovery, 2013, 10, 557-560

557

Antioxidant Activity of Thio-Schiff Bases

Juliana Alves dos Santos¹, Rebeca Mól Lima², Thamiris Vilela Pereira², Antônio Márcio Resende do Carmo³, Nádia Rezende Barbosa Raposo^{2,*} and Adilson David da Silva^{1,*}

¹Departamento de Química, I.C.E., Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brasil

²Faculdade de Farmácia, NUPICS, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brasil

³Faculdade de Odontologia, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brasil

Abstract: This study evaluated and compares the antioxidant activity of six resveratrol analogues. The analogues 4'-Hydroxyphenyl-benzo[d]thiazole (A), p-(N,N-dimethyl)aminobenzylidene-2-aminothiophenol (B) and p-Nitrobenzylidene-2-aminothiophenol (C) were synthesized and the antioxidant activity was evaluated using the DPPH method. A descriptive statistical analysis and ANOVA followed by the Tukey test, with the aid of software. The best antioxidant activity was demonstrated by compound C (half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) = 18.45µM), this compound is two times more active than resveratrol (IC₅₀ = 37.28µM). Taken together, the data presented herein suggest that these molecules might serve as potential antioxidant considering that molecular modification is an effective strategy. As such, the compounds described herein can serve as prototypes for further research and the development of novel antioxidant agents.

Keywords: Antioxidants, Chemical synthesis, Resveratrol, Statistical analysis, Structure-activity relationship, Thio-Schiff bases.

Resveratrol and Analogues: A Review of Antioxidant Activity and Applications to Human Health

Send Orders of Reprints at reprints@benthamscience.net

144

Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, 2013, 5, 144-153

Resveratrol and Analogues: A Review of Antioxidant Activity and Applications to Human Health

Juliana A. Santos^{1#}, Gustavo S.G. de Carvahó^{1#}, Virgínia Oliveira^{2#}, Nádia R.B. Raposo² and Adilson D. da Silva^{1*}

¹Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, M.G. CEP 36036-900, Brazil; ²NUPICS, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, M.G. CEP 36036-330, Brazil

Received: March 21, 2013; Revised April 30, 2013; Accepted: May 10, 2013

Abstract: Resveratrol has been extensively researched for its powerful antioxidant capacity and other biological effects. The number of patents involving this compound has been growing in recent years. However, the biggest problem associated with this molecule, a limited bioavailability due to its fast metabolism in the liver, has led to obtaining its analogues or derivatives. In this work, we selected patents which describe the application of the antioxidant activity of resveratrol and its analogues as food for the human segment.

Keywords: Antioxidant activity, human health, resveratrol, resveratrol analogues, Stilbenes

Biological Properties of Hetrocyclic Pyridinylimines and Pyridinylhydrazones

Home Browse Journals Bentham Online For Authors

Letters in Drug Design & Discovery

ISSN: 1875-628X (Online)
ISSN: 1570-1808 (Print)

Volume 12, 10 Issues, 2015

Download PDF Flyer

Table of Contents Alerts

Letters in Drug Design & Discovery

[Aims & Scope](#) [Abstracted/Indexed in](#)

[Submit Abstracts Online](#) [Submit Manuscripts Online](#)

Editor-in-Chief:
Atta-ur-Rahman, FRS
Honorary Life Fellow
Kings College
University of Cambridge
Cambridge
UK
Email: ldddd@benthamscience.org

[View Full Editorial Board](#)

[Subscribe](#) [Purchase Articles](#) [Order Reprints](#)

IMPACT FACTOR
Current: 0.963
3-Year: 0.937

Journal Home
Editorial Policies
Self-Archiving Policies
Reviewer Guidelines
Instructions for Authors
Free Copies Online
Contents & Abstracts
Open Access Articles
Most Accessed Articles
Most Cited Articles
Advertise With Us
Library Recommendation
Trial Requests
Special Issue Submission

f in

Biological Properties of Heterocyclic Pyridinylimines and Pyridinylhydrazones

Author(s): Francislene J. Martins, Rebeca Mol Lima, Juliana Alves dos Santos, Patricia de Almeida Machado, Elaine Soares Coimbra, Adilson David da Silva and Nadia Rezende Barbosa Raposo

Affiliation: Departamento de Química, I.C.E., Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-900, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

Abstract

This work describes the synthesis and biological properties of a series of 2- and 4-pyridinylimines and pyridinylhydrazones. All compounds were evaluated *in vitro* against two species of *Leishmania*. The antioxidant activity and the toxic effect against murine peritoneal macrophages of the compounds were also performed. The synthesized compounds showed significant antileishmanial and antioxidant activities. For the antileishmanial assay, compounds 1a, 1d and 2a were active against the *Leishmania* species, and compound 2a was the most effective on promastigotes (IC₅₀ value = 5.58 µM) and amastigotes (IC₅₀ value = 10.95 µM) of *L. amazonensis*. Only compound 2a exhibited toxicity against murine peritoneal macrophages (CC₅₀ of 54.35 µM). However, this compound was 2.8 times more destructive to the intracellular amastigotes than the host cell. Regarding the antioxidant activity, compounds 1a and 2a exhibited a strong antioxidant effect (IC₅₀ values of 8.79 µM and 19.82 µM), compound 1a being better than the L-ascorbic acid (9.48 µM), used as reference.

Synthesis of conjugated bile acids/azastilbenes as potential antioxidant and photoprotective agents

Steroids 98 (2015) 114–121



Contents lists available at ScienceDirect

Steroids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/steroids



Synthesis of conjugated bile acids/azastilbenes as potential antioxidant and photoprotective agents



Juliana Alves dos Santos^{a,*}, Hudson Caetano Polonini^{b,c}, Érika Yoko Suzuki^b, Nádia R.B. Raposo^b, Adilson David da Silva^a

^aDepartamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora 36036-900, Brazil

^bNUPICS Núcleo de Pesquisa e Inovação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG 36036-900, Brazil

^cChemical and Food Engineering Department, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC 88040-090, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 October 2014

Received in revised form 9 February 2015

Accepted 12 March 2015

Available online 23 March 2015

Keywords:

Bile acids

Azastilbenes

Schiff bases

Antioxidant activity

Photoprotective activity

ABSTRACT

A series of 14 bile acids/azastilbenes conjugates (1a–g and 2a–g) was prepared through the condensation of bile amides (1 and 2) and aromatic aldehydes. The newly synthesized conjugates were evaluated *in vitro* for their antioxidant and photoprotective activities. Six compounds (1, 1a, 1b, 2, 2a and 2b) showed promising antioxidant activity with IC₅₀ values of 19.60–31.83 µg mL⁻¹. The synthesized compounds presented a varied photoprotection profile, with the SPF ranging from 2 to 9. Among the 16 compounds tested for the protection against UVB sunrays, 3 compounds (2c, 2e and 2g) presented more significant protection than resveratrol and the free azastilbene 3; while the UVAPF increased from 2 in resveratrol and 5 in 3 to 5–11 in the majority of the conjugates.

© 2015 Published by Elsevier Inc.

