

MARCUS VINÍCIUS DE ANDRADE BARROS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E DO EFEITO
SOBRE O TRANSPORTE FOTOSSINTÉTICO DE ELÉTRONS DE
TRIFLUOROMETIL-ARIL-AMIDAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2014**

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

B277s
2014
Barros, Marcus Vinícius de Andrade, 1988-
Síntese e avaliação da atividade citotóxica e do efeito sobre
o transporte fotossintético de elétrons de
trifluorometil-aril-amidas / Marcus Vinícius de Andrade Barros.
– Viçosa, MG, 2014.
xix, 214f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Robson Ricardo Teixeira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Ervas daninhas - Controle. 2. Herbicidas. 3. Amidas.
4. Toxicologia. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Química. Programa de Pós-graduação em Agroquímica.
II. Título.

CDD 22. ed. 632.954

MARCUS VINÍCIUS DE ANDRADE BARROS

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E DO EFEITO
SOBRE O TRANSPORTE FOTOSSINTÉTICO DE ELÉTRONS DE
TRIFLUOROMETIL-ARIL-AMIDAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de setembro de 2014.

Sérgio Oliveira de Paula

Antônio Jacinto Demuner

Gustavo Costa Bressan
(Coorientador)

Mayura Marques Magalhães Rubinger
(Coorientadora)

Róbson Ricardo Teixeira
(Orientador)

Dedico essa dissertação ao meu Deus.

Aos meus pais.

Ao meu irmão.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para que mais esta etapa da minha vida fosse concretizada.

“Para que todos vejam, e saibam, e considerem, e juntamente entendam que a mão do Senhor fez isso, e o Santo de Israel o criou.”

(Sagradas Escrituras, Isaías 41: 20).

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu fiel amigo, por me esforçar, ajudar, sustentar e estar junto a mim nesta vereda da vida.

Aos meus pais João e Suely, e ao meu irmão Rodrigo pelo apoio e encorajamento contínuo. Por serem exemplos de que com humildade e fé as intempéries da vida são vencidas e os sonhos se realizam.

Ao professor Róbson Ricardo, pela orientação, confiança e incentivo durante todo o desenvolvimento deste estudo. Por compartilhar seus conhecimentos e pelos anos de convívio prazeroso e harmonioso.

À minha coorientadora Mayura pelas relevantes dicas concernentes ao preparo de seminários e escrita de projetos e dissertações.

Ao meu coorientador Gustavo Bressan e ao seu aluno Raoni Siqueira pela realização dos dispendiosos e importantíssimos ensaios biológicos.

Ao professor Giuseppe Forlani, que mesmo estando à distância fisicamente, contribuiu significativamente com ensaios biológicos.

À Fabíola pela amizade, disposição e pelo seu imprescindível auxílio neste trabalho de pesquisa, em especial pelas muitas vezes que fez a síntese e purificação de compostos envolvidos nesta dissertação.

Aos colegas do grupo de pesquisa, Wágner, Poliana, Ângela, Franciele, Deborah, Michele, Eugênia e Angélica, por toda amizade e colaboração coletiva.

Ao Tiago Lage que prontamente compartilhou sua experiência laboratorial e aos demais colegas do laboratório de Química Supramolecular e Biomimética, por todos os favores prontamente prestados e pelo convívio divertido.

Aos companheiros de república estudantil Thiago Dutra, Lucas, Gepoliano, Abraão e Édipo Zanon, pelo convívio harmonioso, divertido e alegre.

Aos colegas da Pós-Graduação em Agroquímica, pelo companheirismo.

Aos professores da banca examinadora, que prontamente aceitaram participar da finalização desta pesquisa.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

E aos irmãos em Cristo Jesus pelas orações, as quais não foram poucas e moveram o coração de Deus em meu favor.

BIOGRAFIA

Marcus Vinícius de Andrade Barros, filho de João Otaviano Barros e Suely Maria de Andrade Barros, nasceu em Muriaé, Minas Gerais, em 13 de janeiro de 1988.

Em 2008 ingressou na Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde concluiu o curso de Bacharelado em Química em setembro de 2012.

Em novembro de 2012 ingressou no Departamento de Química (DEQ) da UFV para o curso de Pós-Graduação *stricto sensu* em Agroquímica, tendo como área de concentração Síntese de Agroquímicos.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ESQUEMAS	xi
LISTA DE TABELAS	xii
ANEXO	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA	7
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	8
CAPÍTULO 2 - SÍNTESE DE TRIFLUOROMETIL-ARIL-AMIDAS	10
2.1 INTRODUÇÃO	10
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	19
2.2.1 Generalidades	19
2.2.2 Procedimentos sintéticos	20
2.2.2.1 Síntese da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina	20
2.2.2.2 Síntese da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina	28
2.2.2.3 Síntese da N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
4. CONCLUSÕES	81
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE O TRANSPORTE DE ELÉTRONS DE TRIFLUOROMETIL-ARIL-AMIDAS	83
3.1 INTRODUÇÃO	83
3.2 FOTOSSÍNTESE	86
3.3 A REAÇÃO DE HILL	88
3.4 INIBIDORES DA FOTOSSÍNTESE	89
3.5 MATERIAL E MÉTODOS	92
3.5.1 Metodologia empregada na avaliação dos efeitos das trifluorometil-aril- amidas sobre o transporte de elétrons fotossintético	92
3.5.1.1 Isolamento de cloroplastos	92
3.5.1.2 Avaliação do efeito das trifluorometil-aril-amidas sobre o transporte de elétrons fotossintético	93
3.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
3.7 CONCLUSÕES	96
3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE TRIFLUOROMETIL-ARIL-AMIDAS.....	100
4.1 INTRODUÇÃO	100
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	104
4.2.1 Generalidades	104
4.2.2 Isolamento de células brancas de sangue periférico (PBMCs)	105
4.2.3 Ensaio de Viabilidade Celular (MTT)	106
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	106
4.4 CONCLUSÕES	111
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

1	Estrutura química de herbicidas inibidores do fotossistema II	3
2	Exemplos de semelhanças na estrutura química de fármacos e agroquímicos	4
3	Exemplos de fármacos contendo o grupo funcional amida	5
4	Estruturas das amidas alvo de estudo deste trabalho	6

CAPÍTULO 2

1	Exemplos de compostos contendo o grupamento amida e de importância nas indústrias farmacêutica, alimentícia, têxtil e agroquímica	11
2	Estrutura do agente antirretroviral enfuvirtide	12
3	Representação simplificada da síntese de proteínas pelos ribossomos	12
4	Espectro no infravermelho (ATR) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina (2a)	70
5	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina (2a).....	71
6	Espectro de ¹³ C-RMN (75 MHz, CDCl ₃) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina (2a)	72
7	Espectro no infravermelho (ATR) da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (3a)	74
8	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (3a)	75
9	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (3a)	76
10	Espectro no infravermelho (ATR) da N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340)	78
11	Espectro de RMN de ¹ H (300 MHz, CDCl ₃) da N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340)	79
12	Espectro de RMN de ¹³ C (75 MHz, CDCl ₃) da N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340)	80
13	Valores descritos de constantes de acoplamento ¹⁹ F- ¹³ C	69

CAPÍTULO 3

1	Estrutura química dos herbicidas 2,4-D, Monuron e ingrediente ativo Glifosato	85
2	a) A fotossíntese natural envolve uma cadeia transportadora de elétrons, que inclui vários componentes tais como plastoquinona (Pq), complexo citocromo e plastocianina (Pc). O centro de reação no fotossistema II (P680) desencadeia uma reação de oxidação da água no centro de reação envolvendo oxigênio (CEO). No fotossistema I ocorre transferência de elétrons excitados para NADP ⁺ através do receptor primário ferridoxina (Fd) resultando na formação de NADPH. O NADPH obtido na fase luminosa é, então, consumido durante a redução de dióxido de carbono em carboidratos no ciclo de Calvin. b) A membrana tilacóide nos cloroplastos, onde uma eficiente transferência de elétrons	

	fotoinduzida ocorre por meio de um arranjo preciso e coordenado de componentes dos fotossistemas I e II. Adaptado de KIM <i>et al.</i> , 2014.....	87
3	Formas oxidada e reduzida do corante 2,6-diclorofenolindolifenol	88
4	Exemplos de herbicidas (utilizados no Brasil) inibidores do FS II e seus respectivos grupos químicos	90
5	Reações metabólicas de transferência de elétrons em que a ferridoxina está envolvida e que são bloqueadas após o desvio do fluxo de elétrons pelos inibidores do FS I (bipiridínicos) nos cloroplastos. Adaptada de (OLIVEIRA JR. <i>et al.</i> , 2011)	91
6	Exemplos de herbicidas inibidores do FS I	91

CAPÍTULO 4

1	Processo de diferenciação celular do sistema hematopoético. Adaptado de KING e GOODELL, 2011	101
2	Estrutura química da N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340)	103
3	Estrutura de alguns quimioterápicos empregados no tratamento do câncer	104
4	Estrutura do quimioterápico citosina-arabinosídeo (citarabina)	106
5	Quantificação da expressão relativa das quinases SRPK1, SRPK2 e CLK em linhagens de leucemia. Leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfóide aguda derivada de célula T (LLA-T) e leucemia linfóide aguda derivada de célula B (LLA-B) (RIGUETTO, 2013)	108

LISTA DE ESQUEMAS

CAPÍTULO 2

1	Método convencional de formação de amidas. Envolve a ativação do ácido carboxílico por um grupo ativante (A*), seguido de um ataque nucleofílico da amina gerando uma ligação amida na presença de um reagente acoplante, base e solvente (PATTABIRAMAN e BODE, 2011) ..	13
2	Acoplamento usando DCC (VALEUR e BRADLEY, 2009)	15
3	Esquema geral para a reação de amidação de um ácido carboxílico com cloreto cianúrico	16
4	Síntese do herbicida propizamida via processo de amidação de ácido carboxílico com cloreto cianúrico	16
5	Conversão de ácido carboxílico no seu respectivo cloreto de acila, seguido da reação deste com aminas para formar amidas	16
6	Síntese de amidas a partir de álcoois e aminas	17
7	Conversão de ácido carboxílico no seu respectivo cloreto de acila, seguido da reação deste com aminas para formar amidas	18
8	Exemplo de formação de amida via catálise com ácido borônico	18
9	Análise retrossintética para preparação de trifluorometil-aril-amidas (SRPINS)	65
10	Rota sintética envolvida na preparação de trifluorometil-aril-amidas (SRPINS). i = DMF, 0 °C → temperatura ambiente; ii = SnCl ₂ /HCl; iii) CH ₂ Cl ₂ , Et ₃ N, 0 °C → temperatura ambiente	66
11	Rota sintética envolvida na preparação do SRPIN 340 (HAGIWARA, <i>et al.</i> , 2009)	67
12	Mecanismo da reação de substituição nucleofílica aromática entre 1 e a piperidinila resultando na formação de 2a	68

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

1	Informações sobre as reações conduzidas para preparação dos compostos 2b-2f	22
2	Informações sobre as reações conduzidas para preparação dos compostos 3b-3f	30
3	Informações sobre as reações conduzidas para preparação das amidas SRPIN 340#01 a SRPIN 340#06 e SRPIN 340#08 a SRPIN 340#23	38

CAPÍTULO 3

1	Avaliação <i>in vitro</i> da atividade das trifluorometil-aril-amidas sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de <i>Spinacea oleracea</i> L. ^a	95
2	Concentrações dos herbicidas Diuron, Hezaxinona e Lenacil capazes de inibir 50% da taxa basal de transporte fotossintético de elétrons em espinafre (<i>Spinacea oleracea</i> L.). Os valores de IC ₅₀ estão representados em $\mu\text{mol L}^{-1}$	96

CAPÍTULO 4

1	Estimativa do IC ₅₀ dos análogos do SRPIN 340 e análogos. As linhagens HL60 (LMA) e Jurkat (LLA-T) foram incubadas com concentrações dos análogos e do agente quimioterápico citosina-arabinosídeo entre 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Como controle negativo foi utilizado o veículo DMSO na concentração 0,4%. Para permitir as comparações realizadas, considerou-se 100% de viabilidade celular neste grupo controle. Os resultados mostram média \pm desvio padrão de quatro réplicas biológicas de dois experimentos independentes	107
2	Estruturas químicas do SRPIN 340 e dos análogos que apresentaram efeitos citotóxicos mais pronunciados. Os valores de IC ₅₀ estão representados em $\mu\text{mol L}^{-1}$	109
3	Estimativa dos valores de IC ₅₀ nas PBMCs para o SRPIN 340 e análogos 01, 03, 09, 11, 13, 17, 19 e 23 . Determinação dos respectivos índices de seletividade desses compostos frente a linhagens HL60	110

ANEXO

ESPECTROS	115
-----------------	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio)
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
J	Constante de acoplamento escalar
CCD	Cromatografia em camada delgada
PBMCs	Células mononucleadas do sangue periférico
DCC	Dicicloexilcarbodiimida
DCU	Dicicloexiluréia
DCFIF	2,6-diclorofenolindofenol
DMF	Dimetilformamida
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
ddd	Dupleto duplo duplo
dl	Dupleto largo
δ	Deslocamento químico
R_f	Fator de retenção
FS I	Fotossistema I
FS II	Fotossistema II
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
LLA-T	Leucemia linfoblástica aguda-T
LMA	Leucemia mielóide aguda
m/m	Massa/massa
MHz	Megahertz
m	Multiplete
$\text{MeOH-}d_4$	Metanol deuterado
$\bar{\nu}$	Número de onda
SRPIN 340	N-[2-(piperidina-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida
P. A.	Para análise
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
quint.	Quinteto
ATR	Reflectância Total Atenuada
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13

RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
dt	Tripleto duplo
t.a.	Temperatura ambiente
T_f	Temperatura de fusão
v/v	Volume/volume

RESUMO

BARROS, Marcus Vinícius de Andrade, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2014. **Síntese e avaliação da atividades citotóxica e do efeito sobre o transporte fotossintético de elétrons de trifluorometil-aril-amidas** Orientador: Róbson Ricardo Teixeira. Coorientadores: Gustavo Costa Bressan e Mayura Marques Magalhães Rubinger.

O presente trabalho de pesquisa teve por meta a síntese e avaliação do efeito de vinte e três trifluorometil aril amidas sobre o transporte de elétrons da fotossíntese com vistas à possível obtenção de novos princípios ativos para o controle de plantas daninhas. Partindo-se da substância 1-fluoro-2-nitro-4-(trifluorometil)benzeno, as amidas foram preparadas empregando-se reações de substituição nucleofílica aromática, redução do grupo nitro com SnCl_2/HCl e processos de acilação. As amidas foram caracterizadas utilizando-se a espectroscopia no infravermelho (IV) e de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e de ^{13}C (1D), bem como espectrometria de massas. As substâncias *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#05**), 2-cloro-*N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil] nicotinamida (**SRPIN 340#11**), *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil] nicotinamida (**SRPIN 340#17**) e *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (**SRPIN 340#23**) foram aquelas que apresentaram maior eficiência com respeito ao efeito inibitório sobre o transporte de elétrons na reação de Hill e seus respectivos valores de IC_{50} foram 1,5; 1,2; 4,9 e 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Destaca-se que os valores obtidos são comparáveis àqueles descritos na literatura para herbicidas comerciais e inibidores da fotossíntese. As trifluorometil-aril-amidas também tiveram seus efeitos citotóxicos avaliados buscando identificar possíveis protótipos que possam ser desenvolvidos como novos quimioterápicos para o tratamento do câncer. Realizou-se uma avaliação de suas atividades citotóxicas contra as linhagens de células tumorais HL60 (leucemia mieloide aguda-LMA) e Jurkat (leucemia linfoblástica aguda T – LLA-T). Dez das amidas avaliadas foram capazes de inviabilizar o crescimento das células HL60 e/ou Jurkat, apresentando valores de IC_{50} abaixo de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os resultados também mostraram que há compostos que apresentaram atividade citotóxica mais elevada em relação ao inibidor de quinases SRPKs **SRPIN 340**, uma das trifluorometil-aril-amidas

sintetizadas. Tomando-se a linhagem HL60, observou-se que o análogo **SRPIN 340#11** é aproximadamente três vezes mais ativo, enquanto que o **SRPIN 340#17** mostrou-se quatro vezes mais ativo; o análogo **SRPIN 340#23** apresentou atividade duas vezes superior. Outro resultado importante foi obtido na avaliação da citotoxicidade de nove amidas, as mais ativas, contra culturas primárias de células brancas periféricas extraídas de pacientes saudáveis (PBMCs). Os resultados demonstraram que, de modo geral, as amidas foram mais ativas sobre as linhagens leucêmicas do que sobre as PBMCs. Em termos de estrutura química-atividade biológica, observou-se que as amidas que apresentaram os melhores resultados nos ensaios de avaliação de atividades biológicas apresentaram em sua estrutura o grupo 4-bromofenila, indicando que esse grupo é impactante para a atividade biológica.

ABSTRACT

BARROS, Marcus Vinícius de Andrade, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2014. **Synthesis, cytotoxicity and effects on the photosynthetic electron transport of trifluoromethyl aryl amides.** Advisor: Róbson Ricardo Teixeira. Co-advisors: Gustavo Costa Bressan and Mayura Marques Magalhães Rubinger.

It is described in this work the synthesis of twenty three trifluoromethyl aryl amides and the evaluation of their effects on the photosynthetic electron transport. Starting with commercially available 1-fluoro-2-nitro-4-(trifluoromethyl)benzene, the preparation of the amides was achieved via a three step sequence, namely nucleophilic aromatic substitution, reduction with SnCl_2/HCl and acetylation reactions. The amides were fully characterized by infrared (IR) and NMR (^1H and ^{13}C , one dimension) spectroscopy and mass spectrometry. The measurement of ferricyanide reduction by functionally intact spinach chloroplasts showed that several derivatives are capable of inhibiting the Hill reaction. The most active amides N-[2-(4-bromophenylamino)-5-(trifluoromethyl)phenyl]isonicotinamide (**SRPIN 340#05**), N-[2-(4-bromophenylamino)-5-(trifluoromethyl)phenyl]-2-chloronicotinamide (**SRPIN 340#11**), N-[2-(4-bromophenylamino)-5-(trifluoromethyl)phenyl]nicotinamide (**SRPIN 340#17**) and N-[2-(4-bromophenylamino)-5-(trifluoromethyl)phenyl]benzamide (**SRPIN 340#23**) presented IC_{50} values respectively equal to 1.5, 1.2, 4.9 and $1.1 \mu\text{mol L}^{-1}$. These values are comparable to IC_{50} values presented by commercial herbicides that act inhibiting the photosynthesis. The cytotoxic effects of the amides were also evaluated against the cancer cell lines HL60 (human promyelocytic leukemia cells), and Jurkat (acute T cell leukemia). Ten amides were capable of interfering with cell viability. For these active amides, the determined IC_{50} values were below $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. The biological evaluation revealed that some trifluoromethyl amides present higher cytotoxicity compared to the SPRKs kinase inhibitor N-[2-(piperidin-1-yl)-5-(trifluoromethyl)phenyl]isonicotinamide (**SRPIN 340**) which was also synthesized. Taking into consideration the cell line HL60, it was found that **SRPIN#11**, **SRPIN#17** and **SRPIN#23** are, respectively, three, four, and two times more potent than **SRPIN 340**. The evaluation of the nine most active amides against peripheral blood mononucleated cells (PMBC immune cell lines) showed that, in general, the

synthesized compounds presented higher cytotoxicity against cancer cell lines HL60 and Jukart. In terms of structure- activity relationship, all the biological assays showed that the most active amides possess as a common structural feature the presence of a 4-bromo phenyl group.

CAPÍTULO 1

APRESENTAÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

Atualmente a Organização das Nações Unidas (ONU) estima que existem 7,2 bilhões de pessoas no mundo e que este número será de 8,2 bilhões em 2025 e de 9,6 bilhões em 2050. Vários desafios decorrentes desse aumento populacional terão de ser enfrentados, sendo um deles o aumento da produtividade agrícola para nutrir de maneira adequada o maior número de seres humanos. A disponibilidade de terras aráveis é restrita na maioria dos países; ao mesmo tempo, é cada vez maior o apelo mundial para a preservação dos recursos naturais. Assim, será necessário aumentar a produtividade de alimentos sem aumentos significativos de áreas de cultivo (ANDEF, 2013).

Os defensivos agrícolas, os quais são também conhecidos como agroquímicos, são fundamentais para os agricultores melhorarem a produtividade e a qualidade dos alimentos, fibras e vegetais utilizados como fontes renováveis de energia. Portanto, trata-se de uma tecnologia

imprescindível para a humanidade superar os desafios socioambientais que se apresentam (ANDEF, 2013).

Os agroquímicos, de acordo com o Decreto nº 4074 de 04 de janeiro de Janeiro de 2002 que regulamenta a lei nº 7802, de 11 de Julho de 1989, são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm).

No Brasil, os herbicidas correspondem a uma das classes de agroquímicos mais consumidas. Tendo como finalidade controlar plantas daninhas, nas últimas duas décadas a utilização dos herbicidas vem crescendo continuamente na agricultura. A utilização dessa classe de agroquímicos pode ser justificada pelo fato de que, se não mantidas sob controle, as plantas daninhas competem com as culturas por nutrientes, água e luz culminando em perda significativa da produtividade. As plantas daninhas são responsáveis em média pela perda de 34% da produtividade agrícola em todo o mundo. Só nos EUA o custo anual de perdas de safras devido às plantas daninhas é superior a 26 bilhões de dólares (DÉLYE, *et al.*, 2013). Salienta-se, ainda, que o emprego de herbicidas na agricultura apresenta como aspecto positivo a diminuição dos custos de produção.

Dentre os diferentes tipos de herbicidas, existem aqueles que atuam inibindo o transporte de elétrons da fotossíntese. A grande maioria desses compostos inibe o fluxo de elétrons no fotossistema II. Exemplos de inibidores do fotossistema II são o propanil, o bentazon, o diuron, o linuron e o tebuthiuron (Figura 1, pg. 3). Todos esses ingredientes ativos possuem como característica comum a presença do grupamento amida em suas estruturas (SILVA e SILVA, 2007).

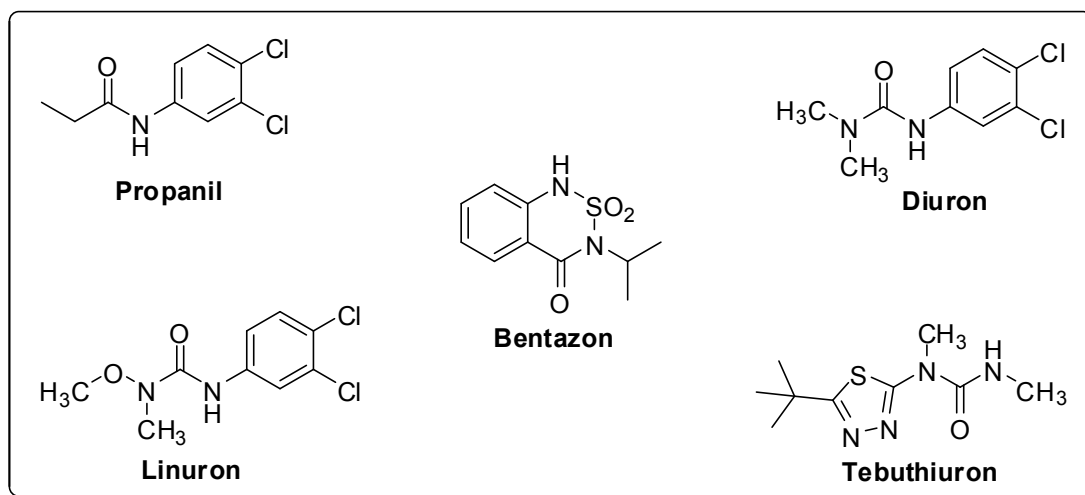


Figura 1- Estruturas químicas de herbicidas inibidores do fotossistema II.

Certos agroquímicos ou análogos de uma classe química particular de agroquímicos podem também apresentar aplicações como fármacos. Em alguns casos, inclusive os sítios moleculares de atuação de um fármaco e de um agroquímico podem ser os mesmos e, em outros, eles são diferentes. Por exemplo, a tricetona nitisinona (NTBC) é estruturalmente semelhante ao herbicida mesotriona (Figura 2, pg. 4). As atividades biológicas descritas para essas substâncias resultam de sua atuação sobre a enzima *p*-hidroxifenilpiruvato-dioxigenase (HPPD), embora a enzima possua funções metabólicas muito diferentes em plantas e seres humanos. As aplicações farmacêuticas das tricetonas, como a nitisinona, foram revisadas por Beaudegnies e colaboradores (BEAUDEGNIES *et al.*, 2009).

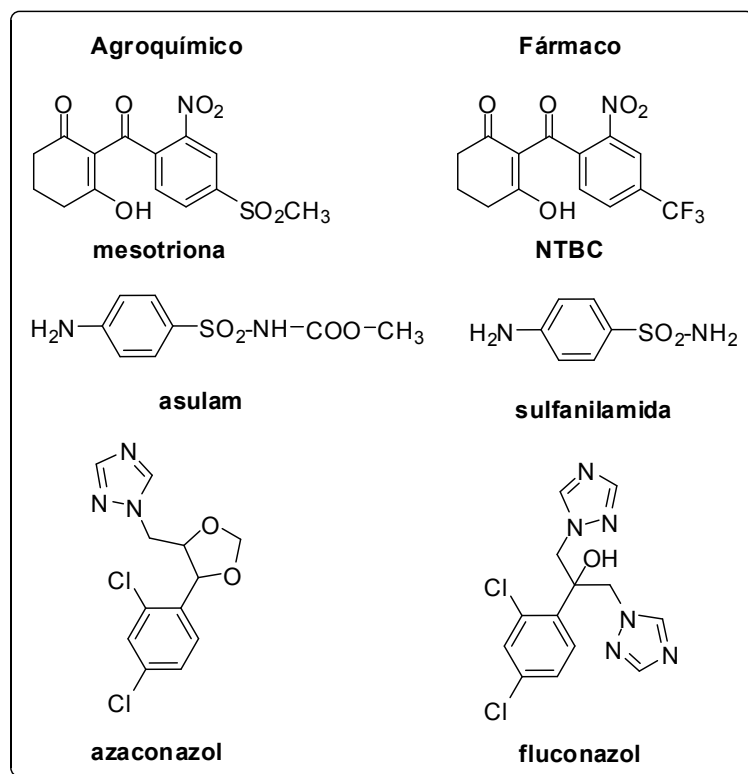


Figura 2 - Exemplos de semelhanças na estrutura química de fármacos e agroquímicos.

Outro exemplo de compostos que atuam sobre um mesmo alvo molecular são o herbicida asulam e o antibiótico sulfanilamida (Figura 2), que atuam inibindo a 7,8-diidropteroato sintase, acarretando a não formação do folato, uma substância essencial no metabolismo de plantas e micróbios (DUKE, 2010). Fungicidas azólicos (ex. fluconazol e azaconazol, Figura 2) são utilizados tanto como fármacos quanto como fungicidas agrícolas e atuam inibindo a síntese de esteróides em fungos. O fluconazol, um produto farmacêutico, foi patenteado primeiramente para uso agrícola (DELANEY *et al.*, 2006).

Em outros casos de semelhanças estruturais, tais como as sulfoniluréias, os alvos moleculares associados à ação dos fármacos e agroquímicos são bastante diferentes. Por exemplo, herbicidas pertencentes à classe das sulfoniluréias atuam na inibição da enzima aceto-lactato sintase. Essa inibição interrompe a síntese protéica, que por sua vez, interfere na síntese do DNA e no crescimento celular. As plantas sofrem clorose, definham e morrem em até duas semanas (SILVA e SILVA, 2007). Certas sulfoniluréias

também têm sido usadas no tratamento de diabetes do tipo II. Elas atuam no pâncreas estimulando o aumento da secreção de insulina (DUKE, 2010).

Dentro desse contexto, tem-se observado que o uso de compostos contendo o grupamento amida não está restrito a aplicações na agroquímica, de modo que muitos medicamentos disponíveis comercialmente e com diferentes aplicações também pertencem à classe das amidas (Figura 3).

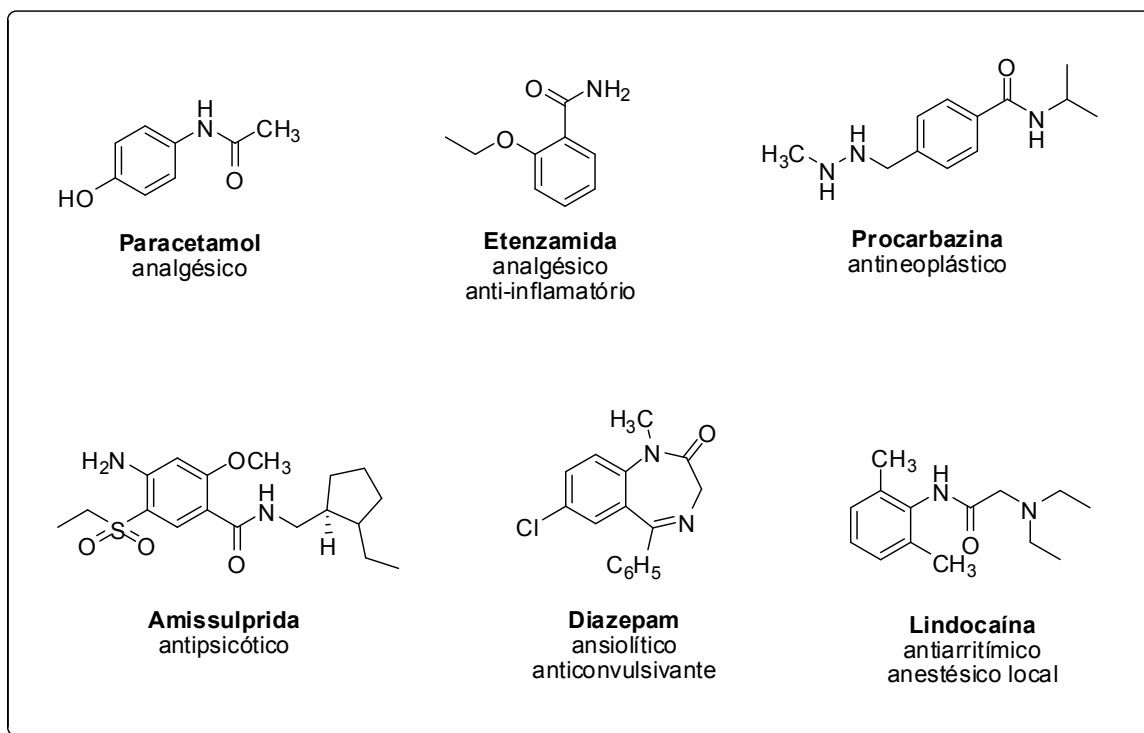


Figura 3 - Exemplos de fármacos contendo o grupo funcional amida.

Considerando: i) que compostos com aplicações como fármacos também podem apresentar propriedades úteis para o desenvolvimento de novos agroquímicos; ii) a necessidade constante de inovação tanto no desenvolvimento de fármacos como agroquímicos, buscou-se neste trabalho a síntese, caracterização estrutural e avaliação da atividade citotóxica e do efeito sobre o transporte de elétrons fotossintético de 23 amidas (nicotinamidas, isonicotinamidas e benzamidas). As estruturas de todas as substâncias alvos de estudo deste trabalho estão apresentadas na Figura 4, pg. 6. Os códigos (SRPIN) apresentados junto às estruturas das amidas serão aqueles utilizados para identificar estas substâncias ao longo da descrição deste trabalho de dissertação.

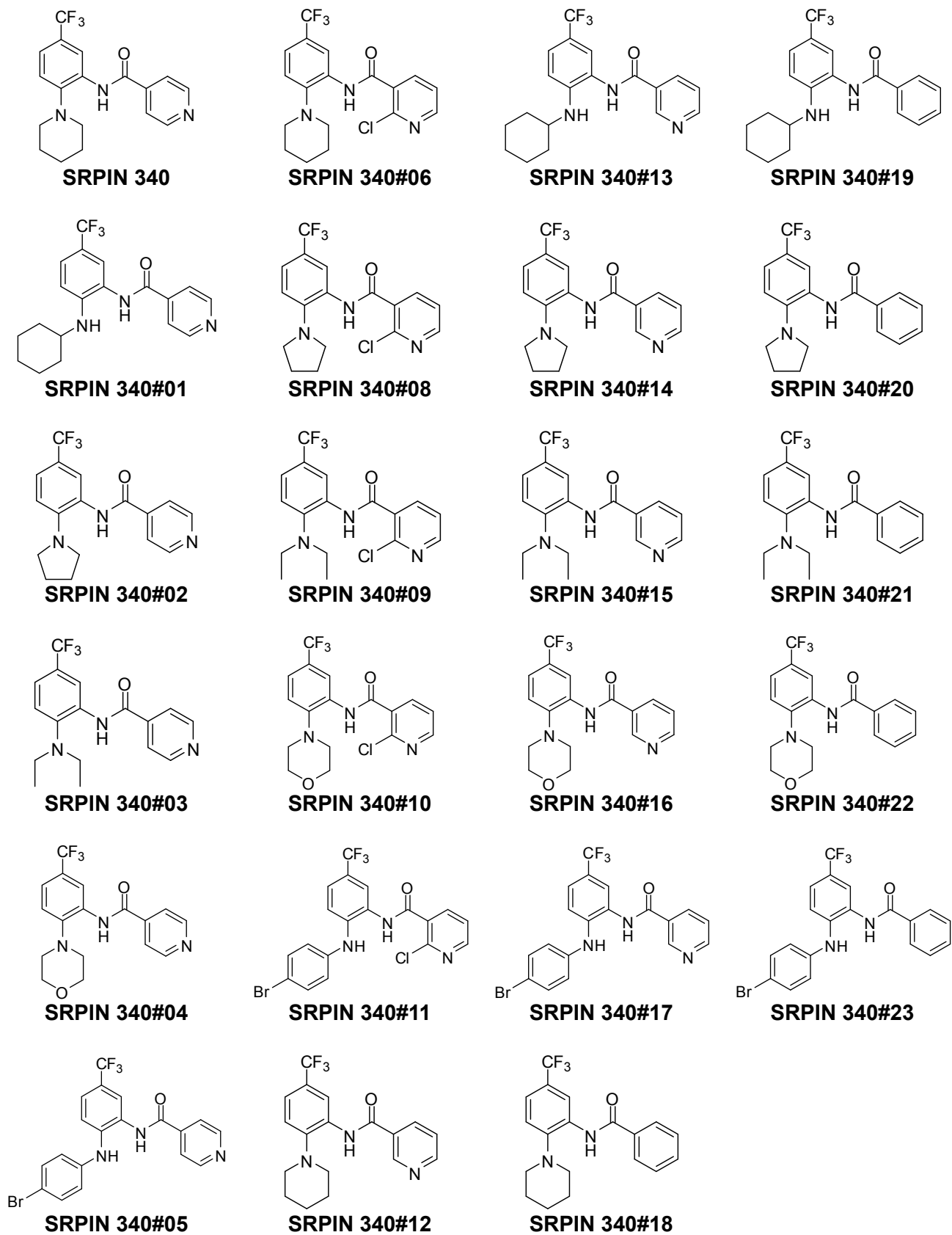


Figura 4 - Estrutura das amidas alvo de estudo deste trabalho.

1.2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Apesar de haver no mercado um grande número de compostos para controlar os mais diversos tipos de plantas daninhas, existe uma demanda crescente por novos produtos, uma vez que essas, assim como outros organismos, desenvolvem resistência a tais compostos após certo tempo de contato. Com isso, estes passam a ser menos efetivos e muitas das vezes perdem totalmente a atividade. Outro aspecto importante a considerar é o surgimento de novas espécies de plantas daninhas, o que também aumenta a demanda por novos herbicidas. A crescente regulação imposta por órgãos governamentais no tocante aos herbicidas (e demais agroquímicos) demanda o desenvolvimento de produtos que sejam ativos em concentrações cada vez menores e com elevada especificidade, além de serem ambientalmente benignos.

De acordo com os dados divulgados pelo Sindiveg (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal), as vendas de agroquímicos chegaram a R\$ 1,799 milhões em julho de 2013, registrando um aumento de 42% em relação ao mesmo período do ano anterior. Durante os primeiros sete meses de 2013, as vendas aumentaram 34%, somando R\$ 8,435 milhões. Desse total, os herbicidas responderam por 38% das vendas, com R\$ 3,196 milhões (AGOPECUÁRIA PARCERIA, 2013).

Dentro desse contexto, uma meta do presente projeto de pesquisa foi avaliar o efeito de um grupo de trifluorometil aril amidas sobre o transporte de elétrons da fotossíntese com vistas à possível obtenção de novos princípios ativos para o controle de plantas daninhas. Assim, a descoberta de um novo herbicida comercial poderá ter um impacto socioeconômico, uma vez que o Brasil é bastante dependente da importação dos agroquímicos aqui comercializados.

As trifluorometil aril amidas também tiveram seus efeitos citotóxicos avaliados buscando identificar possíveis protótipos que possam ser desenvolvidos como novos quimioterápicos. Segundo um estudo realizado pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC, na sigla em inglês) e publicado na Revista *The Lancet Oncology* em 2012, o número de casos de câncer no mundo deverá aumentar em 75% até 2030 (BRAY *et al.*, 2012). Além

dessa patologia atingir milhões de pessoas em todo o mundo, os quimioterápicos atualmente disponíveis para o seu tratamento são, frequentemente, citotóxicos e não específicos. É importante destacar que o tratamento quimioterápico contra o câncer apresenta diversos problemas dentre os quais se destacam os efeitos colaterais como diarreia, vômito, fraqueza, queda de cabelo, tonteadas e etc. Assim, é de relevância a busca por novos agentes terapêuticos contra o câncer que apresentam maior especificidade e que sejam capazes de mitigar ou até mesmo eliminar os efeitos colaterais dos fármacos atualmente utilizados no tratamento do câncer.

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROPECUÁRIA PARCERIA. Venda de agroquímicos disparam 34% em 2013. Disponível em <<http://agropecuariaparceria.com.br/noticias/36-vendas-de-agroquimicos-disparam-34-em-2013>>. Acesso em 25 de junho de 2014.

ANDEF. Defensivos Agrícolas / Ciência e Tecnologia - Por que a agricultura necessita de defensivos agrícolas? Disponível em <<http://www.undef.com.br/defensivos/index.asp?cod=4>>. Acesso em 06 de novembro de 2013.

BEAUDEGNIES, R.; EDMUNDS, A. J. F.; FRASER, T. E. M.; HALL, R. G.; HAWKES, T. R.; MITCHELL, G.; SCHAEZTER, J.; WENDEBORN, S.; WIBLEY, J. Herbicidal 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitors - A review of the triketone chemistry story from a Syngenta perspective. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 17, p. 4134-4152, 2009.

BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A. A Química dos Agrotóxicos. *Química Nova na Escola*, v. 34, p. 10-15, 2012.

BRAY, F.; JEMAL, A.; GREY, N.; FERLAY, J.; FORMAN, D. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008-2030): a population-based study. *The Lancet Oncology*, v. 13, p. 790-801, 2012.

DELANEY, J.; CLARKE, E.; HUGHE, D.; RICE, M. Modern agrochemical research: a missed opportunity for drug discovery. *Drug Discovery Today*, v. 11, p. 839-845, 2006.

DÉLYE, C.; JASIENIUK, M.; LE CORRE, V. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends in Genetics*, v. 29, p. 649-658, 2013.

DOE, J. E.; STURGESS, N. C.; TRAVIS, K. Z. Use of 2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzyl)-1,3-cyclohexanedione in the treatment of Parkinson's disease. Syngenta AG, WO2006090177, 2006.

DUKE, S. O. Herbicide and Pharmaceutical Relationships. *Weed Science*, v. 58, p. 334-339, 2010.

SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, J. B. Herbicidas: Classificação e Mecanismos de Ação. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. (Eds.). *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 83-148, 2007.

CAPÍTULO 2

SÍNTESE DE TRIFLUOROMETIL-ARIL-AMIDAS

2.1 INTRODUÇÃO

O grupamento amida ocupa papel de destaque na química e na bioquímica. Diversos são os exemplos de substâncias contendo o grupo amida que são comercializados pelas indústrias farmacêutica, alimentícia, têxtil e agroquímica. A atorvastatina é o fármaco mais vendido em todo o mundo desde 2003 e utilizado no controle dos níveis de colesterol no sangue. A amida cíclica diltiazem bloqueia o canal de cálcio sendo empregada no tratamento da hipertensão (VALEUR e BRADLEY, 2009). O (S,S)-aspartame é um dos adoçantes mais usados no mundo inteiro e é cerca de 180 vezes mais doce que a sacarose. O nylon, uma poliamida, é amplamente utilizado na confecção de roupas. O herbicida nicosufuron, o fungicida metalaxil-M e o inseticida indoxacarbe são importantes agroquímicos comerciais (Figura 1, pg. 11).

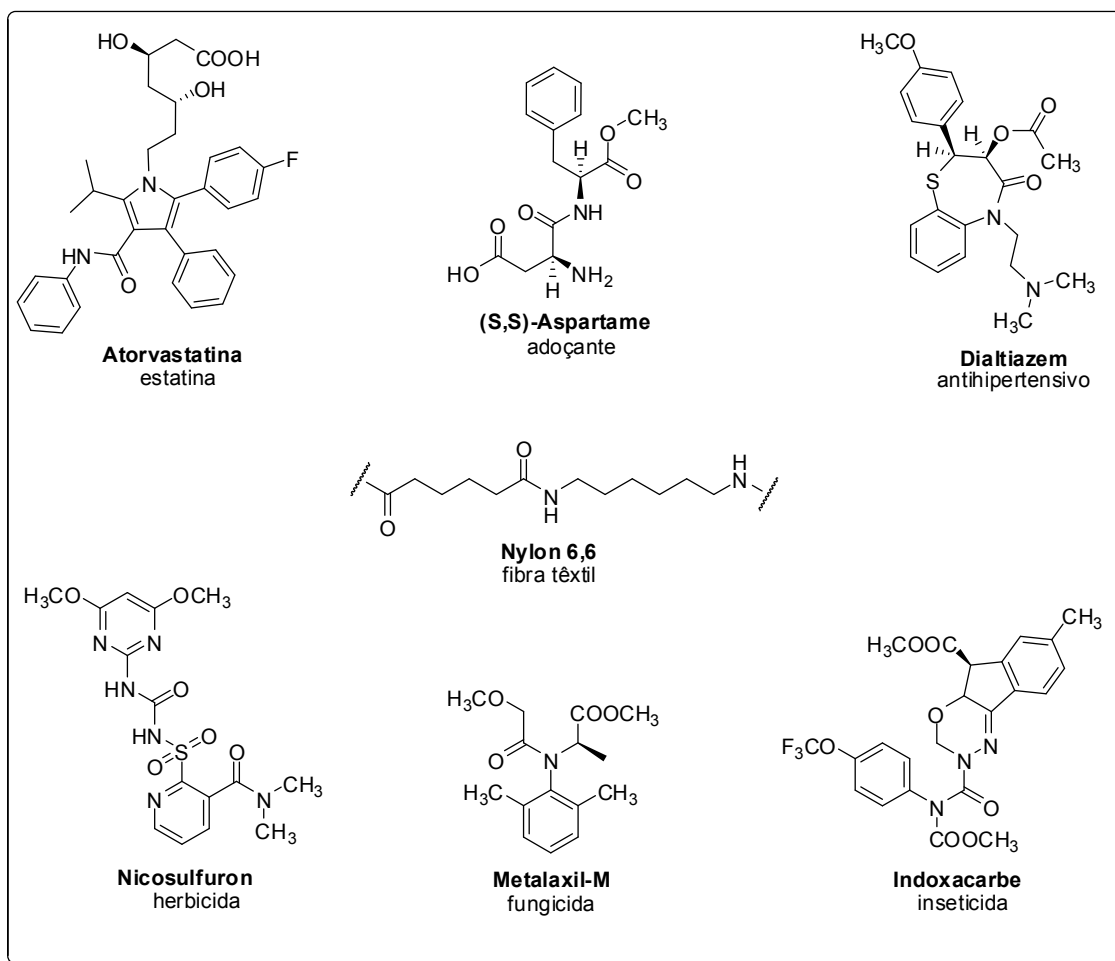


Figura 1 - Exemplos de compostos contendo grupamento amida e de importância nas indústrias farmacêutica, alimentícia, têxtil e agroquímica.

Determinadas moléculas apresentam não apenas um, mas dezenas de grupamentos amidas, como é o caso do enfuvirtide (Figura 2, pg. 12), o primeiro antirretroviral aprovado para inibição da fusão extracelular do HIV-1. (MATTHEWS *et al.*, 2004). Salienta-se ainda que uma análise profunda de dados da *Comprehensive Medicinal Chemistry* revelou que o grupo carboxamida aparece em mais que 25% dos fármacos (MONTALBETTI e FALQUE, 2005).

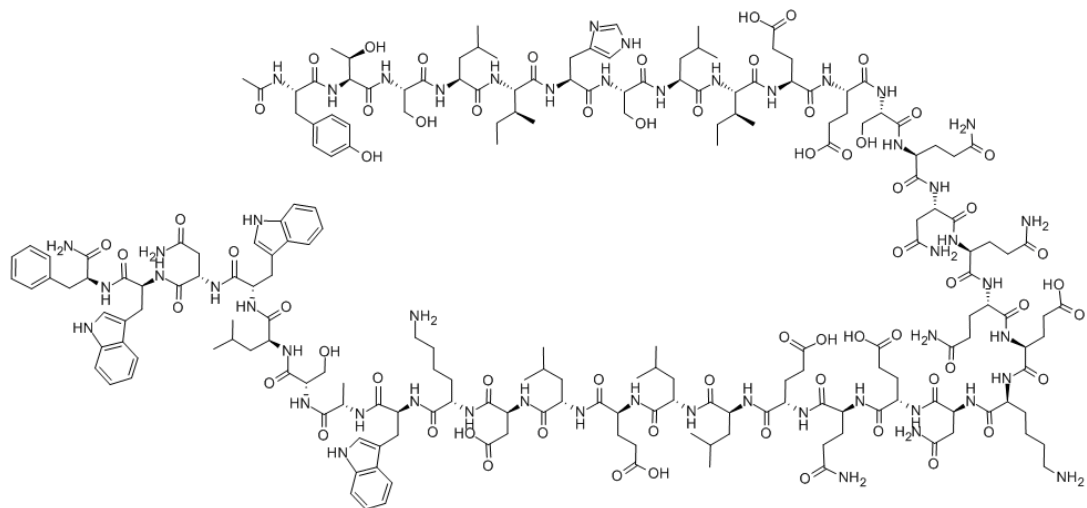


Figura 2 - Estrutura do agente antirretroviral enfuvirtide.

Nos sistemas biológicos, o grupamento amida é parte integrante das estruturas das proteínas. Essas macromoléculas são sintetizadas, aminoácido por aminoácido, nos ribossomos utilizando um eficiente processo de amidação entre monômeros de aminoácidos (esferas azuis, AAx, Figura 3). Tal processo envolve ainda o ácido ribonucléico (RNA). Um aminoacilo-RNAt se liga ao sítio A (cinza, à direita, Figura 3). Em seguida, ocorre transferência da cadeia polipeptídica crescente do RNAt no sítio P (cinza, esquerda) para o RNAt no sítio A pela formação de uma ligação peptídica (ligação amida) (PATTABIRAMAN e BODE, 2011).

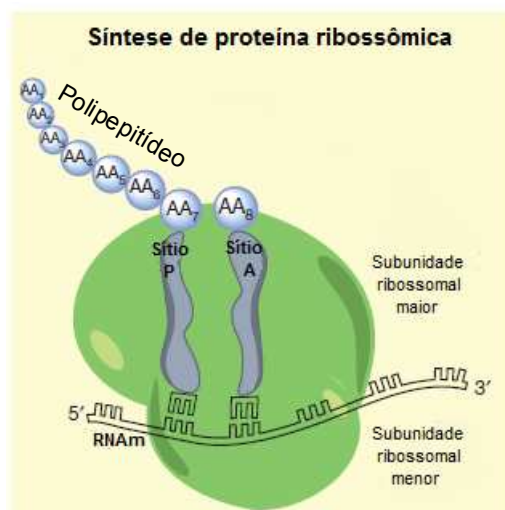
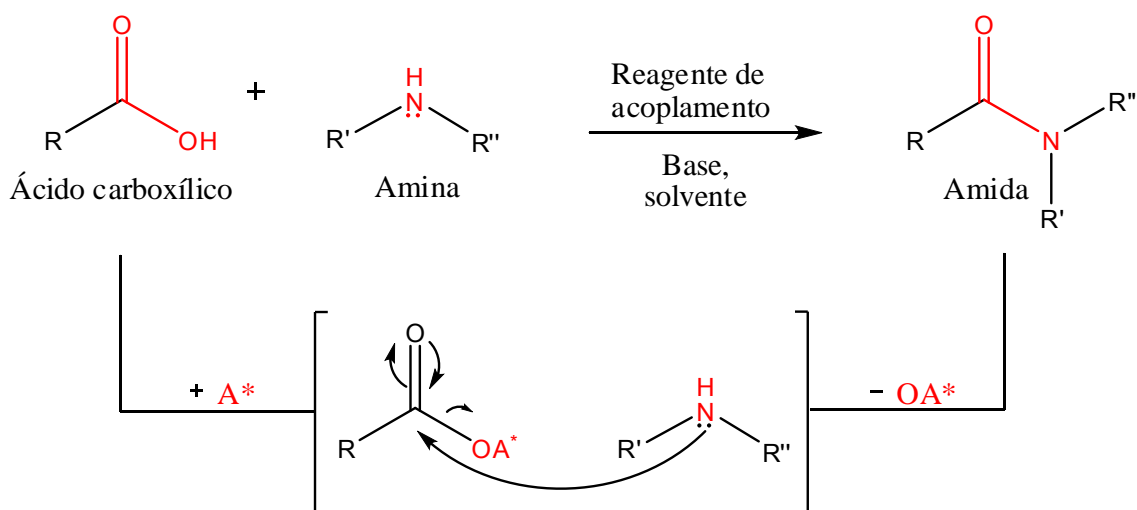


Figura 3 - Representação simplificada da síntese de proteínas pelos ribossomos (PATTABIRAMAN e BODE, 2011).

Em função da importância desta funcionalidade, diferentes metodologias vêm sendo desenvolvidas para preparação de amidas. Algumas dessas metodologias serão brevemente descritas a seguir.

As amidas podem ser sintetizadas a partir da união de ácidos carboxílicos e aminas. No entanto, a reação entre estes substratos requer a eliminação de água e elevadas temperaturas (por exemplo, 200 °C), condições estas tipicamente prejudiciais à integridade dos substratos. Por esta razão, é normalmente necessário primeiro ativar o ácido carboxílico, um processo que usualmente ocorre convertendo-se grupo OH do ácido carboxílico em um bom grupo de saída, antes do tratamento com a amina (VALEUR e BRADLEY, 2009). No Esquema 1 a seguir (A*) representa um agente capaz de promover o acoplamento entre o ácido e a amina.



Esquema 1 - Método convencional de formação de amidas. Envolve a ativação do ácido carboxílico por um grupo ativante (A*), seguido de um ataque nucleofílico da amina gerando uma ligação amida na presença de um reagente acoplante, base e solvente (PATTABIRAMAN e BODE, 2011).

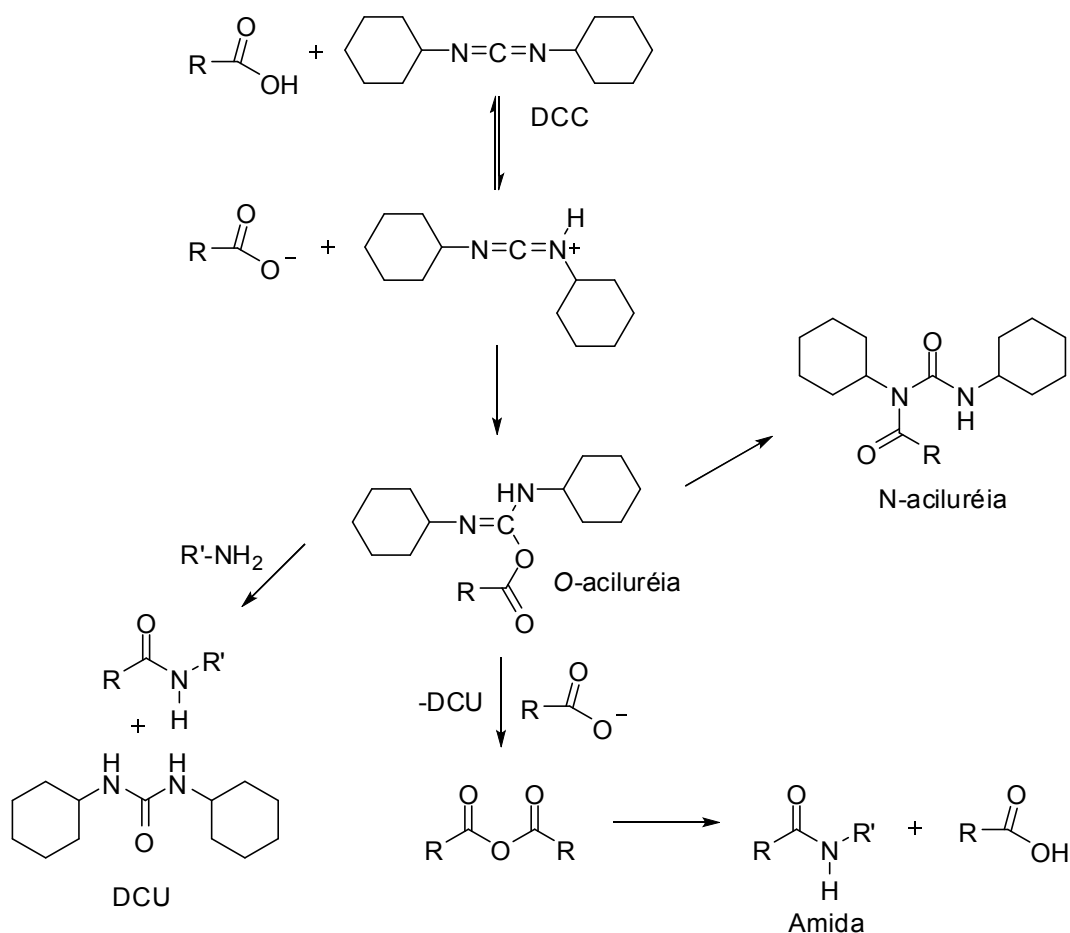
Na ausência de um agente capaz de realizar o acoplamento, o ácido carboxílico e a amina reagem entre si resultando simplesmente na formação de sal (um carboxilato de amônio), ao invés de uma amida como produto, devido à termodinâmica desfavorável da reação de formação de amida. Salienta-se que a acilação de aminas com ácidos carboxílicos ativados é a reação mais frequentemente utilizada na síntese de produtos farmacêuticos modernos, respondendo por 16% de todas as reações, de acordo com uma recente

análise de um conjunto dados de química medicinal (PATTABIRAMAN e BODE, 2011).

Carbodiimidias foram os primeiros reagentes de acoplamento a serem utilizados em reações de formação de amidas a partir de ácidos carboxílicos e aminas. A dicitloexilcarbodiimida (DCC) é utilizada na formação de amidas desde 1955 e o mecanismo para a transformação é apresentada no Esquema 2, pg. 15 (VALEUR e BRADLEY, 2009).

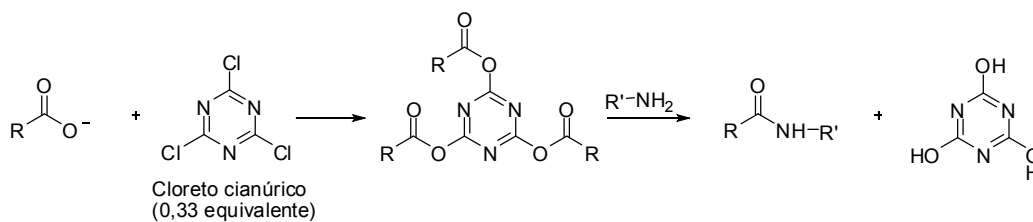
O primeiro passo envolve a reação do ácido carboxílico com DCC para formar a *O*-aciluréia. Este intermediário, então, pode produzir um número de diferentes produtos:

- i) Uma amida via acoplamento direto com aminas (um produto formado, a dicitloexiluréia (DCU) é geralmente insolúvel no solvente de reação e pode ser removida por filtração);
- ii) Formação da *N*-acilureia como subproduto;
- iii) Formação do anidrido de ácido carboxílico que subseqüentemente, produz a amida por reação com a amina (este processo consome dois equivalentes do ácido carboxílico).



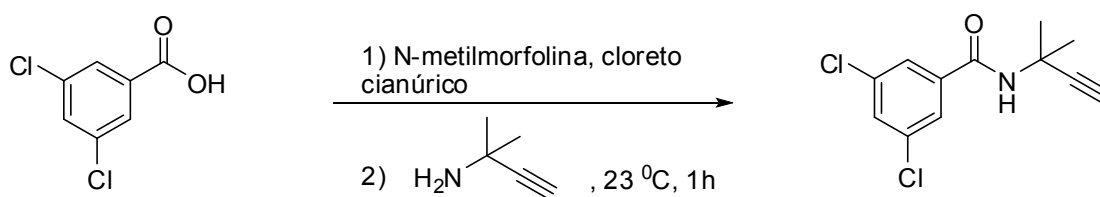
Esquema 2 - Acoplamento usando DCC (VALEUR e BRADLEY, 2009).

Outra maneira de se ativar um ácido carboxílico em processos que visem a preparação de amidas consiste em reagí-lo com cloreto cianúrico (RAYLE e FELLMETH, 1999). Assim, conforme apresentado no Esquema 3 (pg. 16), a reação do carboxilato do ácido carboxílico com o heterociclo nitrogenado resulta na formação de um éster que, quando tratado com aminas, leva à formação de amidas com bons rendimentos. Os carboxilatos podem ser gerados *in situ* a partir de bases orgânicas (como a *N*-metilmorfolina) ou inorgânicas (como hidróxido de sódio ou potássio). É possível também realizar a reação tendo como material de partida o carboxilato (em outras palavras, não se utiliza uma base para geração do carboxilato *in situ*).



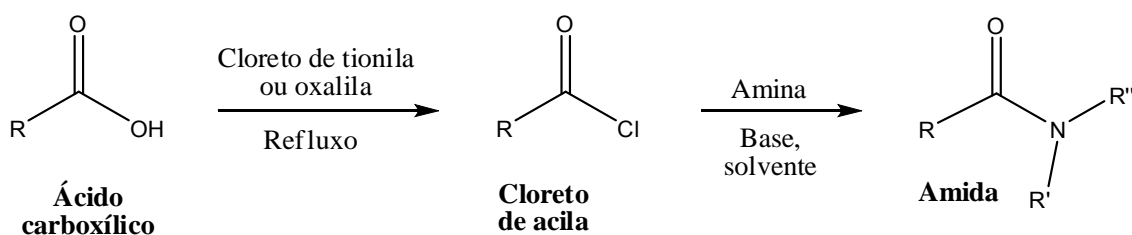
Esquema 3 - Esquema geral para a reação de amidação de um ácido carboxílico com cloreto cianúrico.

Um exemplo de aplicação dessa metodologia é a preparação do herbicida propizamida em 69% de acordo com a sequência de reações mostrada no Esquema 4.



Esquema 4 - Síntese do herbicida propizamida via processo de amidação de ácido carboxílico com cloreto cianúrico.

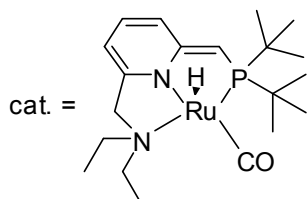
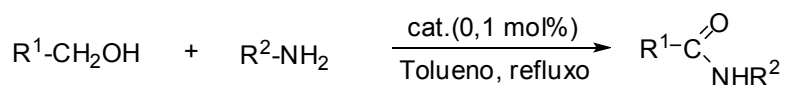
Um método clássico de conversão de ácidos carboxílicos em amidas envolve haletos de acila como intermediários. O processo envolve inicialmente a conversão do ácido no respectivo haleto, seguida da reação do haleto com uma amina (MONTALBETTI e FALQUE, 2005). Tipicamente, um ácido carboxílico é convertido no correspondente haleto de acila via tratamento com cloreto de tionila ou cloreto de oxalila (Esquema 5).



Esquema 5 - Conversão de ácido carboxílico no seu respectivo haleto de acila, seguido da reação deste com amina para formar amidas.

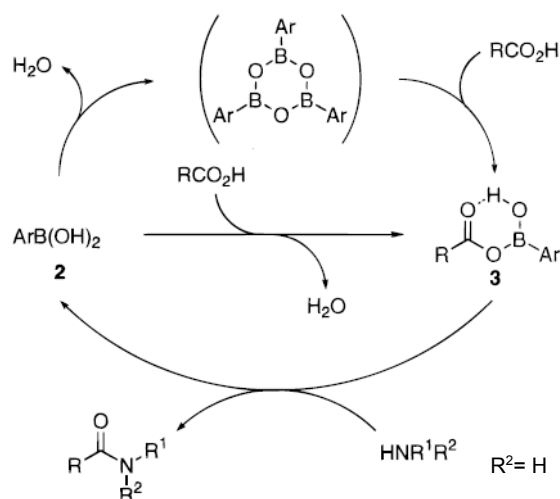
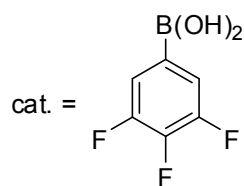
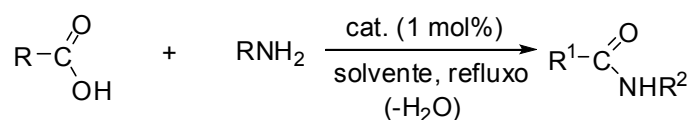
Nos últimos anos diferentes metodologias que não envolvem o uso de reagentes de acoplamento para formação de amidas têm sido descritas na literatura (PATTABIRAMAN e BODE, 2011). Dois exemplos serão

apresentados a seguir. Gunanathan e colaboradores (2007) descreveram a síntese de amidas a partir de álcoois e aminas (Esquema 6). Tal processo envolve liberação de gás hidrogênio e é catalisado por um complexo de rutênio.



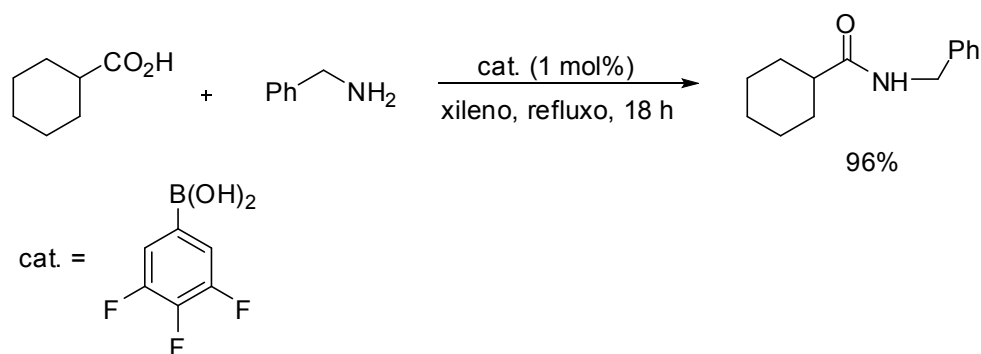
Esquema 6 - Síntese de amidas a partir de álcoois e aminas.

Na presença do ácido 3,4,5-trifluorobenzeno borônico, ácidos carboxílicos podem ser convertidos em amidas em elevados rendimentos (ISHIHARA *et al.*, 1996). As reações podem ser conduzidas em tolueno, xileno ou mesitileno. Tipicamente, 1 mol% de catalisador é necessário neste processo de amidação (Esquema 7, pg. 18). No Esquema 7 é ainda apresentado um ciclo catalítico que procura racionalizar a formação da amida a partir do ácido borônico.



Esquema 7 - Reação de amidação tendo o ácido 3,4,5-trifluorobenzeno borônico como catalisador e ciclo catalítico proposto para explicar a formação das amidas.

No Esquema 8 está representado um exemplo de formação de amida empregando-se o processo de amidação catalisado por ácido borônico.



Esquema 8 - Exemplo de formação de amida via catálise com ácido borônico.

Descreve-se neste capítulo a síntese de 23 trifluorometil-aryl-amidas, as quais foram obtidas empregando-se como etapa chave a reação de haletos de acila com diferentes aminas.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Generalidades

Na síntese dos compostos foram utilizados reagentes de grau P. A.

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas empregando-se placas cromatográficas de sílica-gel impregnadas sobre alumínio (espessura de 250 μm). As separações em colunas foram feitas utilizando-se sílica-gel (70 - 230 mesh) como fase estacionária. Os solventes utilizados como eluentes foram usados sem prévia purificação.

1-Fluoro-2-nitro-4-(trifluorometil)benzeno, os cloridratos dos cloretos de isonicotinoíla, nicotinoíla e 2-cloronicotinoíla, o cloreto de benzoíla e a 4-bromoanilina foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, Estados Unidos). A piperidina, a cicloexilamina, a pirrolidina, a dietilamina, a morfolina, o cloreto de estanho(II) anidro, o ácido clorídrico, o metanol, o diclorometano e a trietilamina foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

As placas de CCD após eluição foram observadas em câmara de luz ultravioleta, não sendo necessário o uso de agentes reveladores.

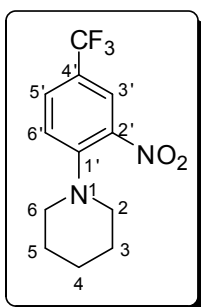
As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho MQAPF-302 e não foram corrigidas.

Os espectros no infravermelho (IV) foram adquiridos empregando-se a técnica reflectância total atenuada (ATR) em equipamento Varian 660-IR com acessório GladiATR ou por meio de pastilhas de KBr, em espectrofotômetro PERKIN ELMER SPECTRUM 1000 (Departamento de Química - UFV).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 300 MHz) e de carbono (RMN de ^{13}C , 75 MHz) foram obtidos em espectrômetros VARIAN MERCURY 300 (Departamento de Química - UFV). Para a aquisição dos espectros, foram utilizados como solventes clorofórmio (CDCl_3) e metanol (CD_3OD) deuterados. As constantes de acoplamento escalar (J) foram expressas em Hertz (Hz).

2.2.2 Procedimentos sintéticos

2.2.2.1 Síntese da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina



(2a)

A um balão de fundo redondo (100 mL) foram adicionados 8,6 mL (88,2 mmol) de piperidina, 4,14 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF) e 4,2 mL (28,7 mmol) de 1-fluoro-2-nitro-4-(trifluorometil)benzeno (**1**) a 0 °C. A mistura de reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 1,5 hora. Após este período, adicionou-se à mistura 25,0 mL de água destilada e a mistura resultante foi transferida para um funil de separação. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (4x80,0 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O sólido resultante foi purificado por recristalização empregando-se metanol como solvente, resultando na obtenção da substância **2a** em 91% de rendimento (7,15 g; 26,1 mmol).

Característica: sólido alaranjado.

CCD: $R_f = 0,40$ (hexano-acetato de etila 16:1 v/v).

T_f = 50,1-50,7 °C (**T_f literatura:** 48,0-49,5 °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2938, 2867, 2827, 1621, 1560, 1528, 1493, 1449, 1386, 1323, 1297, 1260, 1233, 1211, 1149, 1115, 1080, 1064, 1021, 974, 929, 906, 882, 856, 832, 789, 760, 724, 678, 629, 528. O espectro é apresentado na Figura 4, pg. 70.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,61-1,75 (m, 6H, H-3'/H-5' e H-4'); 3,12 (t, 4H, $J = 5,3$ Hz, H-2/H-6); 7,14 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-6); 7,60 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz

e $J = 8,7$ Hz, H-5'); 8,03 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-3'). O espectro é apresentado na Figura 5, pg. 71.

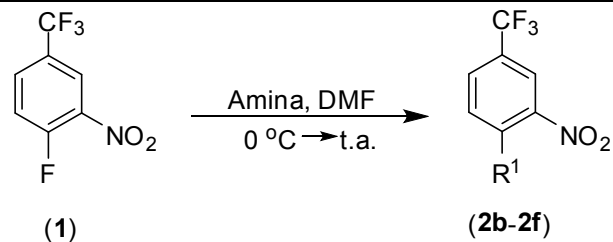
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,0 (C-4'); 25,8 (C-3'/C-5'); 52,3 (C-2'/C-6'); 120,6 (C-6); 120,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 34,1$ Hz, C-4); 123,7 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,6$ Hz; CF_3); 124,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,0$ Hz, C-3'); 130,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,4$ Hz, C-5'); 139,8 (C-1); 148,8 (C-2). O espectro é apresentado na Figura 6, pg. 72.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$, 275,1070; encontrado: 275,0926.

Os compostos **2b-2f** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto **2a**. Na Tabela 1 (pg. 22) estão descritas as informações relativas às reações que foram realizadas para a preparação dos nitrocompostos **2b-2f**.

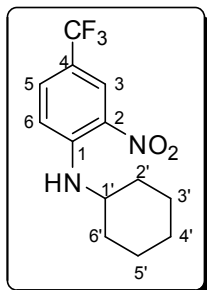
Tabela 1 - Informações sobre as reações conduzidas para preparação dos compostos **2b-2f**



Composto	R ¹	Volume de 1 (mL)	Amina/ Quantidade utilizada	Volume de DMF (mL)	Tempo de reação (h)	Massa de produto obtida (g)	Rendimento (%)
2b		4,02	cicloexilamina/ 9,20 mL	21,0	1,0	6,39	81
2c		4,18	pirrolidina/ 7,00 mL	8,0	4,0	7,21	97
2d		4,18	dietilamina/ 6,60 mL	12,0	2,0	7,37	98
2e		4,18	morfolina/ 5,15 mL	12,0	4,5	7,69	97
2f		2,10	4-bromo anilina/ 5,45 g	7,5	4,0	4,83	93

As estruturas dos compostos **2b-2f** são suportadas pelos dados apresentados a seguir.

N-cicloexil-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina



(2b)

Característica: sólido amarelo purificado via recristalização empregando metanol como solvente.

CCD: $R_f = 0,10$ (hexano).

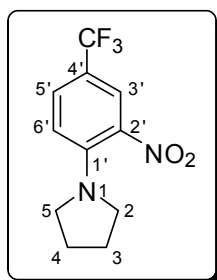
$T_f = 79,3-80,2$ °C ($T_{f \text{ literatura}}: 80,0-81,5$ °C, SCHELTZ e ROTZLER, 1983).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm^{-1}): 3365, 3114, 2931, 2861, 1634, 1572, 1529, 1436, 1411, 1324, 1260, 1244, 1227, 1187, 1152, 1112, 1063, 976, 912, 899, 831, 763, 694, 642. O espectro é apresentado na Figura 1 do Anexo, pg. 116.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,30-2,07 (m, 10H, H-2'/H-6', H-3'/H-5' e H-4'); 3,51-3,61 (m, 1H, H-1'); 6,95 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz, H-6); 7,56 (dd, 1H, $J = 2,1$ Hz e $J = 9,3$ Hz, H-5); 8,34 (dl, 1H, $J = 6,3$ Hz, NH); 8,45 (dl, 1H, $J = 2,1$ Hz, H-3). O espectro é apresentado na Figura 2 do Anexo, pg. 117.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,6 (C-3'/C-5'); 25,6 (C-4'); 32,7 (C-2'/C-6'); 51,5 (C-1'); 115,0 (C-6); 117,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 34,1$ Hz, C-4); 123,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,0$ Hz, CF_3); 125,4 (q, $J = 4,2$ Hz, C-3); 132,1 (q, $J = 3,0$ Hz, C-5); 130,7 (C-1); 146,2 (C-3). O espectro é apresentado na Figura 3 do Anexo, pg. 118.

1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]pirrolidina



(2c)

Característica: sólido alaranjado purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,45$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 52,3-53,8$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 2975, 2871, 1622, 1554, 1504, 1428, 1388, 1322, 1268, 1150, 1103, 1074, 884, 808, 781, 719, 688, 634. O espectro é apresentado na Figura 4 do Anexo, pg. 119.

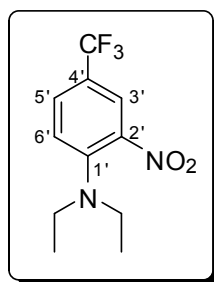
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,98-2,03 (m, 4H, H-3/H-4); 3,23-3,27 (m, 4H, H-2/H-5); 6,95 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H-6'); 7,53 (dd, 1H, $J = 2,4$ Hz e $J = 9,0$ Hz, H-5'); 7,99 (sl, 1H, H-3'). O espectro é apresentado na Figura 5 do Anexo, pg. 120.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 25,8 (C-3/C-4); 50,8 (C-2/C-5); 116,4 (C-6'); 117,1 (q, $J_{C-F} = 34,2$ Hz, C-4'); 124,0 (q, $J_{C-F} = 269,1$ Hz, CF₃); 124,7 (q, $J_{C-F} = 4,0$ Hz, C-3'); 129,4 (q, $J_{C-F} = 3,2$ Hz, C-5'); 135,8 (C-1'); 144,4 (C-2'). O espectro é apresentado na Figura 6 do Anexo, pg. 121.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para C₁₁H₁₂F₃N₂O₂, 261,0851; encontrado: 261,0770.

***N,N*-dietil-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina**



(2d)

Característica: óleo alaranjado purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (8:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,55$ (hexano-acetato de etila 8:1 v/v).

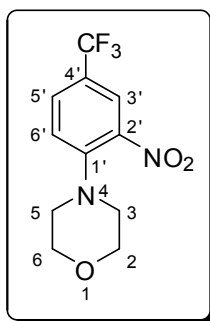
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 2979, 2939, 2877, 1621, 1531, 1322, 1258, 1114, 1083, 903, 877, 816, 784, 717, 669, 601. O espectro é apresentado na Figura 7 do Anexo, pg. 122.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,16 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz, 2CH_3); 3,26 (q, 4H, $J = 7,1$ Hz, 2CH_2); 7,14(d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H-6'); 7,58 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz e $J = 8,9$ Hz, H-5'); 7,96 (sl, 1H, H-3'). O espectro é apresentado na Figura 8 do Anexo, pg. 123.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,6 (2CH_3); 46,1 (2CH_2); 119,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 34,0$ Hz, C-4'); 120,6 (C-6'); 123,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,3$ Hz, CF_3); 124,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,0$ Hz, C-3'); 129,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,3$ Hz, C-5'); 139,8 (C-1'); 146,6 (C-2'). O espectro é apresentado na Figura 9 do Anexo, pg. 124.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):
Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$, 263,1007; encontrado: 263,0944.

4-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]morfolina



(2e)

Característica: óleo alaranjado purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (3:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,27$ (hexano-acetato de etila 3:1 v/v).

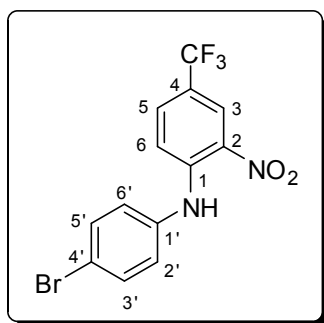
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 2967, 2858, 1713, 1622, 1532, 1322, 1275, 1252, 1235, 1168, 1110, 1083, 1044, 938, 884, 824, 789, 720, 678, 640, 526. O espectro é apresentado na Figura 10 do Anexo, pg. 125.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,13 (t, 4H, $J = 4,7$ Hz, H-3/H-5); 3,84 (t, 4H, $J = 4,7$ Hz, H-2/H-6); 7,16 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-6'); 7,68 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz e $J = 8,7$ Hz, H-5'); 8,05 (sl, 1H, H-3'). O espectro é apresentado na Figura 11 do Anexo, pg. 126.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 51,4 (C-3/C-5); 66,6 (C-2/C-6); 120,6 (C-6'); 123,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,9$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{F}_3$); 122,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 34,1$ Hz, C-4'); 124,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,9$ Hz, C-3'); 130,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,3$ Hz, C-5'); 141,0 (C-2'), 148,1 (C-1'). O espectro é apresentado na Figura 12 do Anexo, pg. 127.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):
Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$, 277,0800; encontrado: 277,0727.

N-(4-bromofenil)-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina



(2f)

Característica: sólido alaranjado purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,78$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

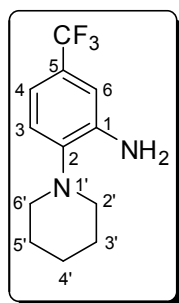
$T_f = 89,5-89,9$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3347, 3102, 1636, 1571, 1528, 1486, 1430, 1319, 1250, 1147, 1070, 1011, 909, 841, 805, 693, 632. O espectro é apresentado na Figura 13 do Anexo, pg. 128.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 7,15-7,26 (m, 3H, H-2'/H-6', H-6); 7,54-7,60 (m, 3H, H-5 e H-3'/H-5'); 8,50 (sl, 1H, H-3); 9,63 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 14 do Anexo, pg. 129.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 116,8 (C-4'); 120,1(q, $J_{\text{C-F}} = 34,1$ Hz, C-4); 120,2 (C-6); 123,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,5$ Hz, CF_3); 125,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,2$ Hz, C-3); 126,8 (C-2'/C-6'); 132,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,2$ Hz, C-5); 132,4 (C-2); 133,3 (C-3'/C-5'); 136,8 (C-1'); 144,9 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 15 do Anexo, pg. 130.

2.2.2.2 Síntese da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina



(3a)

A um balão de fundo redondo (50 mL) foram adicionados 10,8 mL (129,6 mmol) de ácido clorídrico concentrado, 6,71 g (35,4 mmol) de cloreto de estanho anidro, 20,0 mL de metanol e 1,50 g (5,47 mmol) de 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)]fenil]piperidina (**2a**) a 0 °C. A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 42 horas. Após este período, a mistura foi neutralizada com solução de NaOH até pH aproximadamente igual a 10 e transferida para um funil de separação. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila (4x80,0 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (11:1 v/v), obtendo-se a substância **3a**, em 78% de rendimento (1,34 g; 5,49 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,48$ (hexano-acetato de etila 11:1 v/v).

$T_f = 50,0-50,5$ °C ($T_{f \text{ literatura}}: 49,5-50,5$ °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{max}}$ (cm⁻¹): 3452, 3355, 2950, 2865, 2805, 1611, 1589, 1512, 1469, 1439, 1379, 1328, 1288, 1256, 1227, 1205, 1160, 1104, 1064, 936, 892, 860, 810, 745, 722, 663, 643. O espectro é apresentado na Figura 7, pg. 74.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,60-1,75 (m, 6H, H-3'/H-5' e H-4'); 2,88 (sl, 4H, H-2'/H-6'); 4,11 (sl, 2H, NH₂); 6,93-7,03 (m, 3H, H-3, H-4 e H-6). O espectro é apresentado na Figura 8, pg. 75.

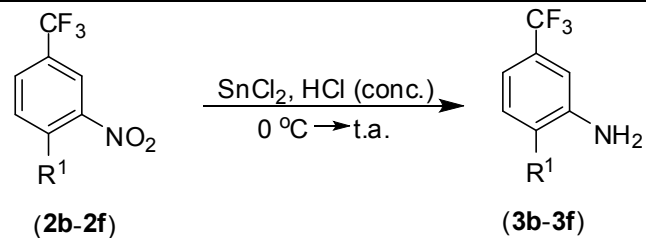
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,4 (C-4'); 26,8 (C-3'/C-5'); 52,4 (C-4'); 111,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,5$ Hz, C-6); 115,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,1$ Hz, C-4); 119,7 (C-3); 124,7 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,0$ Hz, CF_3); 126,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 31,9$ Hz, C-5); 141,7 (C-2); 143,4 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 9, pg. 76.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_2$, 245,1266; encontrado: 245,1182.

As substâncias **3b-3f** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto **3a**. Na Tabela 2 (pg. 30) estão descritas as informações relativas às reações que foram realizadas para a preparação dos compostos **3b-3f**.

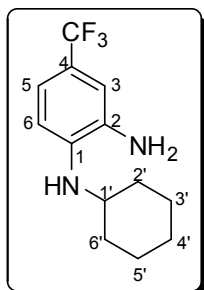
Tabela 2 - Informações sobre as reações conduzidas para preparação dos compostos **3b-3f**



Composto	R ¹	Massa de nitrocomposto 2b-2f (g)	Massa de SnCl ₂ (g)	Volume de HCl concentrado (mL)	Volume de metanol (mL)	Tempo de reação (h)	Massa de produto (g)	Rendimento (%)
3b		2,55	11,25	21,0	20,0	42	1,43	56
3c		1,50	3,83	6,8	10,0	7	1,02	77
3d		2,21	9,59	20,0	20,0	24	1,32	67
3e		1,82	8,95	15,0	20,0	42	1,58	94
3f		1,60	7,23	14,5	22,0	46	1,16	79

As estruturas dos compostos **3b-3f** são suportadas pelos dados apresentados a seguir.

1-*N*-cicloexil-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina



(3b)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (14:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,25$ (hexano-acetato de etila 14:1 v/v).

$T_f = 71,6-72,0$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3421, 3350, 2928, 2855, 1625, 1601, 1528, 1470, 1440, 1362, 1324, 1300, 1240, 1217, 1146, 1107, 1084, 1055, 913, 885, 863, 808, 737, 668, 635. O espectro é apresentado na Figura 16 do Anexo, pg. 131.

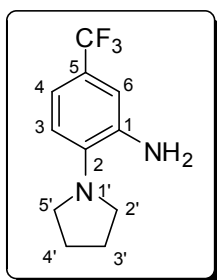
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,17-2,15 (m, 10H, H-2'/H-6', H-3'/H-5' e H-4'); 3,37-3,25 (m, 4H, NH_2 e NH , H-1'); 6,65 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-6); 6,93 (dl, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-3); 7,08 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 8,4$ Hz, H-5). O espectro é apresentado na Figura 17 do Anexo, pg. 132.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 25,1 (C-3'/C-5'); 26,0 (C-4'); 33,4 (C-2'/C-6'); 51,8 (C-1'); 110,9 (C-6); 113,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-3); 118,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,1$ Hz, C-5); 119,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,1$, C-4); 125,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 268,8$ Hz, CF_3); 133,2 (C-2); 139,9 (C-1). O espectro é apresentado na Figura 18 do Anexo, pg. 133.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_2$, 259,1422; encontrado: 259,1341.

2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina



(3c)

Característica: óleo violáceo purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (12:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,68$ (hexano-acetato de etila 3:1 v/v).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3440, 3355, 2969, 2877, 2823, 1711, 1618, 1516, 1439, 1328, 1244, 1148, 1105, 954, 903, 866, 808, 661. O espectro é apresentado na Figura 19 do Anexo, pg. 134.

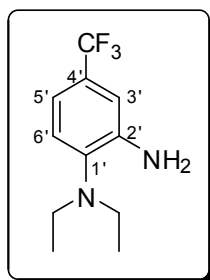
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,91-1,97 (m, 4H, H-3'/H-4'); 3,09-3,13 (m, 4H, H-2'/H-5'); 3,92 (s, 1H, NH); 6,92-6,98 (m, 3H, $J = 1,2$ Hz, H-3, H-4 e H-6). O espectro é apresentado na Figura 20 do Anexo, pg. 135.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,3 (C-3'/C-4'); 50,6 (C-2'/C-5'); 112,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,8$ Hz, C-6); 115,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,1$ Hz, C-4); 117,8 (C-3); 124,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,6$ Hz, CF_3); 124,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 31,8$ Hz, C-5); 140,8 (C-1 e C-2). O espectro é apresentado na Figura 21 do Anexo, pg. 136.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_2$, 231,1109; encontrado: 231,1026.

***N,N*-dietil-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina**



(3d)

Característica: óleo amarelo purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (12:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,22$ (hexano-acetato de etila 30:1 v/v).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\text{máx.}}(\text{cm}^{-1})$: 3469, 3362, 2973, 2933, 2870, 2826, 1615, 1593, 1514, 1441, 1384, 1335, 1294, 1260, 1232, 1163, 1120, 928, 867, 817, 745, 666. O espectro é apresentado na Figura 22, pg. 137.

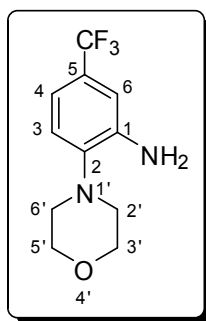
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 0,99 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz, 2CH_3); 2,99 (q, 4H, $J = 7,1$ Hz, 2CH_2); 4,19 (sl, 2H, NH_2); 6,94-6,97 (m, 2H, H-3' e H-5'); 7,05 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-6'). O espectro é apresentado na Figura 23 do Anexo, pg. 138.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 12,3 (2CH_3); 46,6 (2CH_2); 111,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-3'); 114,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,9$ Hz, C-5'); 122,5 (C-6'); 124,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,0$ Hz, CF_3); 126,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 31,8$ Hz, C-4'); 139,9 (C-1'); 143,7 (C-2'). O espectro é apresentado na Figura 24 do Anexo, pg.139.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_2$, 233,1266; encontrado: 233,1211.

2-morfolino-5-(trifluorometil)anilina



(3e)

Característica: sólido branco obtido sem necessidade de posterior purificação.

CCD: $R_f = 0,48$ (hexano-acetato de etila 3:1 v/v).

$T_f = 130,6-131,1$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3430, 3338, 2827, 2823, 1620, 1515, 1448, 1331, 1256, 1217, 1153, 1099, 938, 897, 860, 818, 651. O espectro é apresentado na Figura 25 do Anexo, pg. 140.

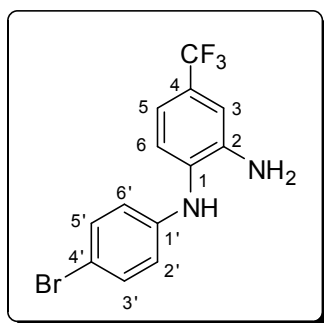
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2,95 (t, 4H, $J = 4,7$ Hz, H-3'/H-5'); 3,87 (t, 4H, $J = 4,7$ Hz, H-2'/H-6'); 6,96 (sl, 1H, H-6); 6,96-7,05 (m, 2H, H-3/H-4). O espectro é apresentado na Figura 26 do Anexo, pg. 141.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 51,2 (C-2'/C-6'); 67,6 (C-3'/C-5'); 111,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-6); 115,7 (q, $J_{\text{C-F}} = 4,0$ Hz, C-4); 119,7 (C-3); 124,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,0$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{F}_3$); 126,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,0$ Hz, C-5); 141,7 (C-1 e C-2). O espectro é apresentado na Figura 27 do Anexo, pg. 142.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$, 247,1058; encontrado: 247,0956.

N-4-(bromofenil)-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina



(3f)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,25$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 123,5-123,8$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3469, 3384, 1591, 1518, 1485, 1436, 1385, 1334, 1249, 1154, 1106, 928, 868, 820. O espectro é apresentado na Figura 28 do Anexo, pg. 143.

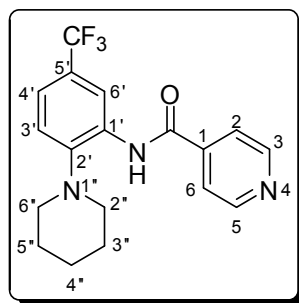
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 3,73 (sl, 2H, NH_2), 5,39 (sl, 1H, NH), 6,72 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, H-2'/H-6'); 6,97-7,91 (m, 2H, H-3 e H-5); 7,16 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-6); 7,34 (d, 2H, $J = 9,0$ Hz, H-3'/H-5'). O espectro é apresentado na Figura 29 do Anexo, pg. 144.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 113,0 (C-4'); 113,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-3); 117,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,9$ Hz, C-5); 118,6 (C-2'/C-6'); 121,9 (C-6); 124,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,3$ Hz, CF_3); 126,7 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,3$ Hz, C-4); 132,5 (C-3'/C-5'); 132,6 (C-2); 139,5 (C-1); 142,7 (C-1'). O espectro é apresentado na Figura 30 do anexo, pg. 145.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrF}_3\text{N}_2$, 331,0058; encontrado: 330,9987.

2.2.2.3 Síntese da N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida



(SRPIN 340)

A um balão de fundo redondo (25 mL) foram adicionados 0,629 g (3,38 mmol) de cloridrato do cloreto de isonicotinoíla, 0,80 mL de trietilamina, 8,0 mL de diclorometano e 0,400g (1,64 mmol) de 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (**3a**) a 0 °C. A mistura de reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente por 3 horas. Após este período adicionaram-se à mistura 10,0 mL de água destilada. A mistura resultante foi transferida para um funil de separação e a fase aquosa extraída com acetato de etila (4x30,0 mL). Os extratos orgânicos foram combinados e a fase orgânica resultante foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio, secada com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. O material resultante foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (3:1 v/v). O sólido resultante foi recristalizado empregando-se acetona. O procedimento descrito resultou na obtenção da substância **SRPIN 340** em rendimento de 75% (430 mg; 1,23 mmol).

Característica: sólido branco.

CCD: $R_f = 0,13$ (hexano-acetato de etila 3:1 v/v).

T_f = 95,9-96,7 °C (**T_f literatura:** 97,0-98,5 °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3347, 2945, 2917, 2811, 1679, 1611, 1587, 1556, 1527, 1455, 1434, 1380, 1334, 1308, 1239, 1165, 1107, 1093, 1061, 1022, 915, 895, 878, 839, 826, 751, 728, 681, 662, 644. O espectro é apresentado na Figura 10, pg. 78.

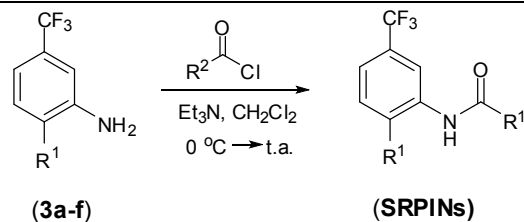
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,67-1,81 (m, 3H, H-4'', H-3'' e H-5''); 2,86 (t, 4H, $J = 5,1$ Hz, H-2''/H-6''); 7,28 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,37 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 8,4$ Hz, H-4'); 7,76 (dd, 2H, $J = 4,5$ Hz e $J = 1,5$ Hz, H-2/H6); 8,83-8,85 (m, 3H, H-3/H-5 e H-6'); 9,55 (s, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 11, pg. 79.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,0 (C-4''); 27,1 (C-3''/C-5''); 53,8 (C-2''/C-6''); 116,6 (C-3'); 120,9 (C-1'); 121,1 (C-2/C-6); 121,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-6'); 124,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,5$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{F}_3$); 127,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,3$ Hz, C-5'); 133,4 (C-4'); 141,8 (C-1); 145,9 (C-2'); 151,1 (C-3/C-5), 163,0 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$). O espectro é apresentado na Figura 12, pg. 80.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):
Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}$, 350,1480; encontrado: 350,1420.

As amidas **SRPIN340#01** a **SRPIN 340#06** e **SRPIN340#08** a **SRPIN 340#23** foram sintetizados empregando-se a mesma metodologia descrita para a preparação do composto **SRPIN 340**. Na Tabela 3 (pg. 38) estão descritas as informações relativas às reações que foram realizadas para a preparação dos compostos **SRPIN340#01** a **SRPIN 340#06** e **SRPIN340#08** a **SRPIN 340#23**.

Tabela 3 - Informações sobre as reações conduzidas para preparação das amidas **SRPIN340#01** a **SRPIN 340#06** e **SRPIN340#08** a **SRPIN 340#08** e **SRPIN340#23**.



Composto	R ¹	R ²	Massa de amina 3b-3f (g)	Massa de haleto de acila (g)	Volume de Et ₃ N (mL)	Volume de CH ₂ Cl ₂ (mL)	Tempo de reação (h)	Massa de produto obtida (g)	Rendimento (%)
SRPIN 340#01			0,340	0,368	0,60	7,0	6	0,393	82
SRPIN 340#02			0,200	0,461	0,60	7,0	5	0,203	70
SRPIN 340#03			0,250	0,571	0,80	8,0	2	0,309	85
SRPIN 340#04			0,300	0,681	0,80	10,0	49	0,335	78
SRPIN 340#05			0,200	0,321	0,50	7,0	5	0,212	81

Tabela 3 - cont.

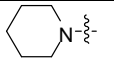
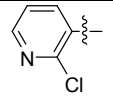
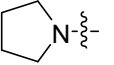
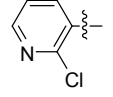
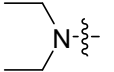
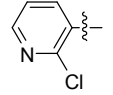
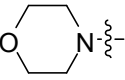
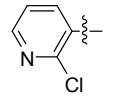
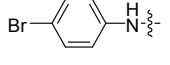
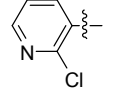
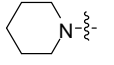
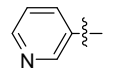
Composto	R ¹	R ²	Massa de amina (g)	Massa de haleto de acila (g)	Volume de Et ₃ N (mL)	Volume de CH ₂ Cl ₂ (mL)	Tempo de reação (h)	Massa de produto obtida (g)	Rendimento (%)
SRPIN 340#06			0,200	0,380	0,70	7,0	21	0,245	78
SRPIN 340#08			0,200	0,440	0,72	7,0	21	0,255	79
SRPIN 340#09			0,200	0,399	0,72	7,0	24	0,189	59
SRPIN 340#10			0,200	0,376	0,67	7,0	24	0,285	91
SRPIN 340#11			0,200	0,278	0,50	7,0	24	0,103	37
SRPIN 340#12			0,200	0,435	0,68	7,0	20	0,185	65

Tabela 3 - cont.

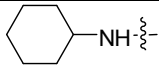

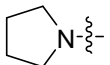

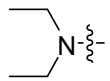

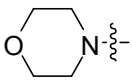

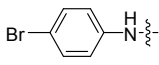

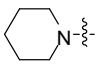

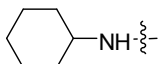

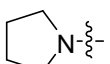

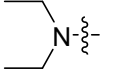

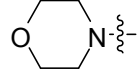

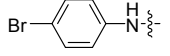

Composto	R ¹	R ²	Massa de amina (g)	Massa de haleto de acila (g)	Volume de Et ₃ N (mL)	Volume de CH ₂ Cl ₂ (mL)	Tempo de reação (h)	Massa de produto obtida (g)	Rendimento (%)
SRPIN 340#13			0,200	0,411	0,64	7,0	21	0,148	53
SRPIN 340#14			0,200	0,462	0,72	7,0	20	0,212	73
SRPIN 340#15			0,200	0,456	0,72	7,0	42	0,253	87
SRPIN 340#16			0,200	0,430	0,67	7,0	41	0,209	74
SRPIN 340#17			0,200	0,318	0,50	7,0	21	0,078	30
SRPIN 340#18			0,250	121*	0,41	7,0	18	0,313	88
SRPIN 340#19			0,250	116*	0,39	7,0	25	0,192	55
SRPIN 340#20			0,250	129*	0,44	7,0	43	0,291	80

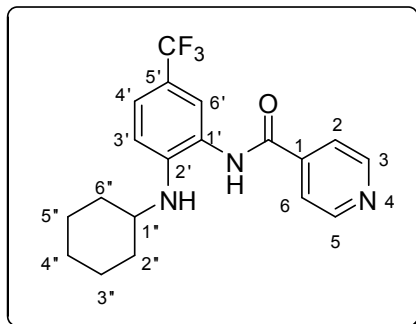
Tabela 3 – cont.

Composto	R ¹	R ²	Massa de amina (g)	Massa de haleto de acila (g)	Volume de Et ₃ N (mL)	Volume de CH ₂ Cl ₂ (mL)	Tempo de reação (h)	Massa de produto obtida (g)	Rendimento (%)
SRPIN 340#21			0,250	128*	0,43	7,0	23	0,305	84
SRPIN 340#22			0,250	120*	0,41	7,0	54	0,270	78
SRPIN 340#23			0,250	90*	0,30	7,0	65	0,185	58

* (valor apresentado em μ Litros).

As estruturas dos compostos **SRPIN340#01** a **SRPIN340#06** e **SRPIN 340#08** **SRPIN 340#23** são suportadas pelos dados apresentados a seguir.

N-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida



(SRPIN 340#01)

Característica: sólido branco purificado por recristalização empregando-se acetato de etila como solvente.

CCD: $R_f = 0,33$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 159,9-160,2$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 3262, 2931, 2851, 1657, 1617, 1543, 1510, 1485, 1441, 1324, 1205, 1254, 1238, 1147, 1133, 1103, 1069, 998, 931, 880, 841, 806, 754, 709, 687, 637. O espectro é apresentado na Figura 31 do Anexo, pg. 146.

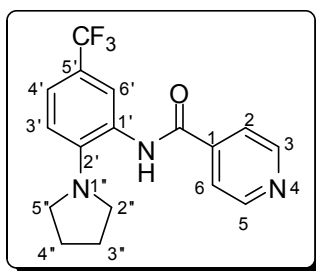
RMN de 1H (300 MHz, MeOH- d_4) δ : 1,10-2,20 (m, 10H, H-2''/H-6'', H-3''/H-5'' e H-4''); 3,30 (quint, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-1''); 3,32-3,43 (m, 1H, NH); 6,87 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-3'); 7,40 (dd, 1H, $J = 1,7$ Hz e $J = 8,7$ Hz, H-4'); 7,47-7,46 (m, 1H, H-6'); 7,93 (dd, 2H, $J = 1,8$ Hz e $J = 4,7$ Hz, H-3/H-5); 8,73 (dd, 2H, $J = 1,7$ Hz e $J = 4,7$ Hz, H-2/H-6). O espectro é apresentado na Figura 32 do Anexo, pg. 147.

RMN de ^{13}C (75MHz, MeOH- d_4) δ : 24,9 (C-3''/C-5''); 25,7 (C-4''); 32,6 (C-2''/C-6''); 51,3 (C-1''); 111,2 (C-3'); 116,9 (q, $J_{C-F} = 32,7$ Hz, C-5'); 121,6 (C-1'); 122,1 (C-2/C-6); 124,6 (q, $J = 3,8$ Hz, C-6'); 125,1 (q, $J_{C-F} = 3,9$ Hz, C-4'); 125,1 (q, $J = 267,7$ Hz, C_{CF_3}); 142,4 (C-2'); 145,8 (C-1); 149,7 (C-3/C-5); 165,9 ($C=O$). O espectro é apresentado na Figura 33 do Anexo, pg. 148.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para $C_{19}H_{21}F_3N_3O$, 364,1637; encontrado: 364,1556.

N-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida



(SRPIN 340#02)

Característica: sólido branco purificado por recristalização utilizando-se acetona como solvente.

CCD: $R_f = 0,24$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 110,0-110,6$ °C (T_f literatura: 134-135 °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3242, 2976, 2872, 1654, 1613, 1538, 1512, 1489, 1436, 1409, 1370, 1327, 1291, 1152, 1093, 929, 901, 849, 816, 755, 656. O espectro é apresentado na Figura 34 do Anexo, pg. 149.

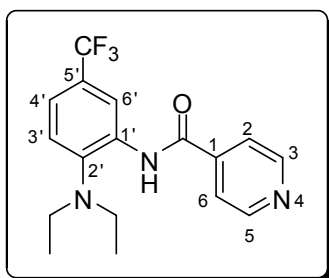
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,94-1,98 (m, 4H, H-3''/H-4''); 3,13-3,17 (m, 4H, H-2''/H-5''), 7,10 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-3'); 7,35 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 8,7$ Hz, H-4'); 7,71-7,73 (m, 2H, H-2/H6); 8,31 (sl, 1H, H-6'); 8,77 (sl, 2H, H-3/H-5); 8,97 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 35 do Anexo, pg. 150.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 25,0 (C-3''/C-4''); 52,0 (C-2''/C-5''); 118,4(C-6'); 120,6 (C-3'); 121,1(C-2/C-6); 123,0 (q, $J_{C-F} = 3,6$ Hz, C-4'); 124,4 (q, $J_{C-F} = 269,9$ Hz, CF₃); 124,3 (q, $J_{C-F} = 32,6$ Hz, C-5'); 129,4 (C-1'); 141,8 (C-1); 145,1 (C-2'); 150,9 (C-3/C-5), 163,6 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 36 do Anexo, pg. 151.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para C₁₇H₁₇F₃N₃O, 336,1324; encontrado: 336,1282.

N-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida



(SRPIN 340#03)

Característica: sólido branco purifica por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,60$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 73,8-74,3$ °C. (T_f literatura: 78,0-80,0 °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3326, 2976, 2925, 2856, 1680, 1588, 1530, 1439, 1333, 1241, 1164, 1094, 1060, 922, 895, 826, 746, 676, 562. O espectro é apresentado na Figura 37 do Anexo, pg. 152.

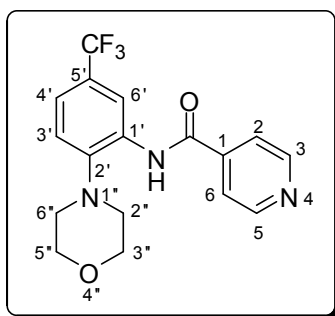
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 0,98 (t, 6H, $J = 7,2$ Hz, 2CH₃); 3,02 (q, 4H, $J = 7,2$ Hz, 2CH₂); 7,31-7,40 (m, 2H, H-3' e H-4'); 7,72 (dd, 2H, $J = 1,5$ Hz e $J = 4,5$ Hz, H-2/H-6); 8,82-8,89 (m, 3H, H-3 /H-5 e H-6'); 9,92 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 38 do Anexo, pg. 153.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 13,0 (2CH₃); 49,5 (2CH₂); 116,3 (C-6'); 120,9 (C-3'); 121,7 (q, $J_{C-F} = 3,7$ Hz, C-4'); 123,7 (C-2/C-6); 124,1 (q, $J_{C-F} = 270,7$ Hz, CF₃); 128,3 (q, $J_{C-F} = 32,8$ Hz, C-5'); 136,2 (C-1'); 141,9 (C-1); 142,7 (C-2'); 151,0 (C-3/C-5); 163,0 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 39, pg. 154.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para C₁₇H₁₉F₃N₃O, 338,1480; encontrado: 338,1453.

N-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida



(SRPIN 340#04)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,18$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v)

$T_f = 166,5-168,4$ °C (T_f literatura: 172,0-173 °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3351, 2969, 2921, 2858, 2162, 1676, 1590, 1531, 1439, 1333, 1242, 1155, 1108, 918, 823, 750, 656. O espectro é apresentado na Figura 40 do Anexo, pg. 155.

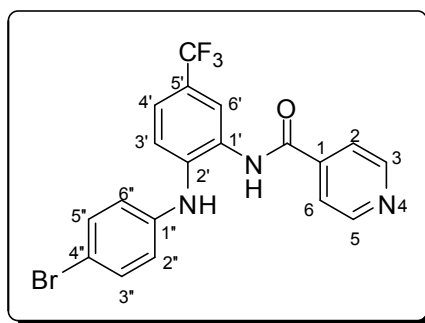
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 2,95 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-2''/H-6''); 3,91 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-3''/H-5''), 7,32 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,41 (dd, 1H, $J = 2,1$ Hz e $J = 8,4$ Hz, H-4'); 7,74 (dd, 2H, $J = 2,8$ Hz e $J = 4,5$ Hz, H-2/H6); 8,85-8,86 (m, 3H, H-3/H-5 e H-6'); 9,48 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 41 do Anexo, pg. 156.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 52,6 (C-2''/C-6''); 67,7 (C-3''/C-5''); 117,0 (q, $J_{C-F} = 3,9$ Hz, C-6'); 120,8 (C-3'); 121,3 (C-2/C-6); 121,9 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-4'); 124,0 (q, $J_{C-F} = 270,6$ Hz, CF₃); 128,3 (q, $J_{C-F} = 32,6$ Hz, C-5'); 133,5 (C-1'); 141,8 (C-1); 144,2 (C-2'); 151,0 (C-3/C-5), 162,9 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 42 do Anexo, pg. 157.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para C₁₇H₁₇F₃N₃O, 352,1273; encontrado: 352,1218.

N-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida



(SRPIN 340#05)

Característica: sólido amarelo purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (1:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,22$ (hexano-acetato de etila 2:1 v/v).

$T_f = 203,5-203,9$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 3386, 3243, 3081, 1675, 1589, 1510, 1469, 1324, 1249, 1163, 1101, 923, 885, 821, 804, 749. O espectro é apresentado na Figura 43 do Anexo, pg. 158.

RMN de 1H (300 MHz, CD_3OH) δ : 7,06 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2''/H-6''); 7,36-7,49 (m, 4H, \underline{NH} , H-4' e H-3''/H-5''); 7,77-7,85 (m, 3H, H-2/H-6 e H-3'); 8,16 (sl, 1H, H-6'); 8,75-8,77 (m, 2H, H-3/H-5); 10,14 (sl, 1H, \underline{NH}). O espectro é apresentado na Figura 44 do Anexo, pg. 159.

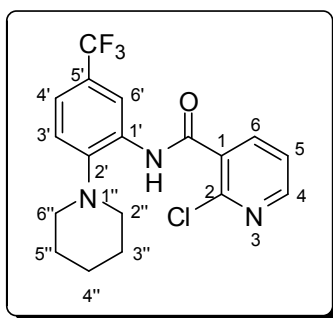
*É possível calcular o valor da constante de acoplamento entre H-3''/H-5'' e H-2''/H-6''. O duplete (δ_H 7,42) embebido no multiplete apresenta $J = 8,7$ Hz.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ : 113,4 (C-4''); 117,5 (C-3'); 120,6 (q, $J_{C-F} = 32,2$ Hz, C-5'); 121,8 (C-2''/C-6''); 122,5 (C-2/C-6); 124,5 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz; C-6'); 125,1 (q, $J_{C-F} = 269,2$ Hz, $\underline{CF_3}$); 125,3 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-4'); 127,0 (C-1'); 132,6 (C-3''/C-5''); 142,0 (C-1'' e C-2'); 142,3 (C-1); 150,8 (C3/C-5), 165,2 ($\underline{C=O}$). O espectro é apresentado na Figura 45 do Anexo, pg. 160.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($M+H^+$):

Calculado para $C_{19}H_{14}BrF_3N_3O$, 436,0272; encontrado: 436,0202.

2-cloro-*N*-[2-(piperidin-1-il)-5(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#06)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (3:1 v/v).

$T_f = 120,3-121,2$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3322, 2919, 2827, 1678, 1655, 1613, 1578, 1526, 1474, 1433, 1400, 1333, 1263, 1214, 1100, 915, 893, 858, 824, 754, 662, 642, 601. O espectro é apresentado na Figura 46 do Anexo, pg. 161.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,58-1,73 (m, 6H, H-3''/H-5'' e H-4''); 2,85 (t, 4H, $J = 5,0$ Hz, H-2''/H-6''); 7,30 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'), 7,36-7,46 (m, 2H, H-5 e H-6); 8,23 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 8,4$ Hz, H-4'); 8,54 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 4,5$ Hz, H-4); 8,87 (s, 1H, H-6'); 9,73 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 47 do Anexo, pg. 162.

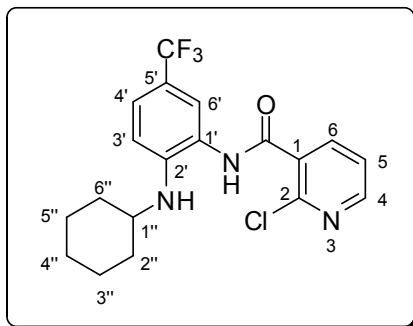
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 23,9 (C-4''); 26,6 (C-3''/C-5''); 54,1 (C-2''/C-6''); 116,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-6'); 121,4 (C-3'); 121,7 (C-5); 121,7 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,9$ Hz, H-4')*; 123,2 (C-5); 124,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,4$ Hz, CF_3); 127,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,1$ Hz, C-5'); 131,6 (C-1'); 133,8 (C-1); 140,4 (C-6); 146,1 (C-2); 146,9 (C-2'); 151,6 (C-4), 162,7 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 48 do Anexo, pg. 163.

*O sinal de C-3' está parcialmente sobreposto ao sinal de C-4'. No entanto, foi possível determinar $J_{\text{C-F}}$ para C-4' como sendo igual a 3,9 Hz.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}$, 384,1090; encontrado: 384,1043.

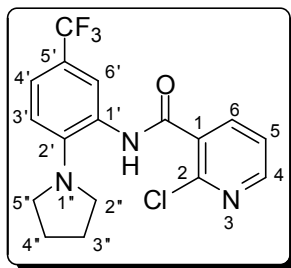
Tentativa de síntese do 2-cloro-N-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#07)

Quando se tentou realizar a síntese deste derivado partindo-se da amina **3b** (pg. 31) e do cloreto de 2-cloronicotinoíla, empregando-se condições similares às aquelas descritas para o **SRPIN 340**, não foi observada a formação do produto. Optou-se por realizar a reação em condições de refluxo. Um produto foi isolado, mas este não correspondeu ao **SRPIN 340#07** e sua identidade não pôde ser determinada. Os espectros no infravermelho, de RMN de ^1H e de ^{13}C deste produto não identificado são apresentados, respectivamente, nas páginas 164, 165 e 166. Este produto não caracterizado foi obtido como um sólido branco apresentando temperatura de fusão compreendida na faixa 212,7-214,3 °C.

2-cloro-*N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#08)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (2:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,52$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 147,5-148,7$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3232, 2968, 2882, 2818, 1659, 1615, 1581, 1535, 1508, 1405, 1368, 1331, 1275, 1151, 1095, 818, 802, 768, 708, 540. O espectro é apresentado na Figura 52 do Anexo, pg. 167.

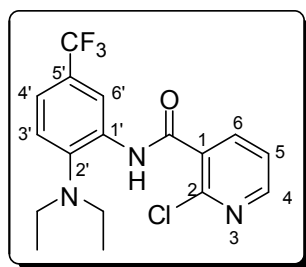
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,94-2,01 (m, 4H, H-3''/H-4''); 3,13 (t, 4H, $J = 6,3$ Hz, H-2''/H-5''), 7,20 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-3'); 7,38 (dd, 1H, $J = 8,7$ Hz e $J = 1,5$ Hz, H-4'); 7,44 (dd, 1H, $J = 4,7$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-5); 8,32 (dd, 1H, $J = 7,8$ Hz, H-6); 8,79 (dd, 1H, $J = 4,7$ Hz e $J = 1,8$ Hz, H-4); 8,56 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 1,5$ Hz, H-6'); 9,32 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 53 do Anexo, pg. 168.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,8 (C-3''/C-4''); 52,5 (C-2''/C-5''); 119,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,8$ Hz, C-6'); 119,5 (C-3'); 122,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-4'); 123,4 (C-5); 125,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,5$ Hz, C-5'); 131,1 (C-1'); 131,3 (C-1); 140,9 (C-6); 144,7 (C-2); 147,0 (C-2'); 151,7 (C-4); 162,6 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 54 do Anexo, pg. 169. O sinal para o carbono do grupo trifluorometila não foi observado.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}$, 370,0934; encontrado: 370,0851.

2-cloro-*N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#09)

Característica: sólido amarelo purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (3:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,75$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 74,3-75,4$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3291, 2976, 2934, 2848, 1666, 1612, 1578, 1531, 1395, 1334, 1258, 1167, 1116, 1065, 926, 899, 829, 760, 696. O espectro é apresentado na Figura 55 do Anexo, pg. 170.

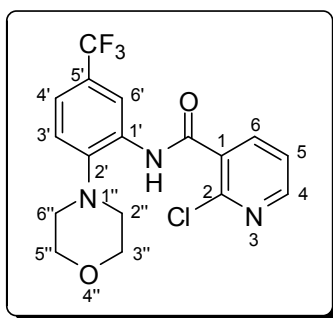
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 0,96 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz, 2CH₃); 3,00 (q, 4H, $J = 7,1$ Hz, 2CH₂); 7,31 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,39 (m, 2H, H-4' e H-5); 8,25 (dd, 1H, $J = 7,7$ Hz e $J = 2,0$ Hz, H-6); 8,53 (dd, 1H, $J = 2,0$ Hz e $J = 4,7$ Hz, H-4); 8,92 (sl, 1H, H-6'); 10,02 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 56 do Anexo, pg. 171.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 12,5 (2CH₃); 49,1 (2CH₂); 116,7 (sl, C-6'); 121,3 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-4'); 123,2 (C-3'); 123,9 (C-5); 124,2 (q, $J_{C-F} = 270,8$ Hz, CF₃); 131,5 (C-1'); 136,4 (C-1); 140,5 (C-6); 147,0 (C-4); 151,6 (C-2 e C-2'); 162,7 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 57 do Anexo, pg. 172. Houve degenerescência acidental para os sinais de C-4 e C-2'. O sinal para C-5' não foi observado.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para C₁₇H₁₈ClF₃N₃O, 372,1090; encontrado: 372,1016.

2-cloro-*N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#10)

Característica: sólido amarelo purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (3:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,43$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 131,2-133,2$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 3258, 2924, 2890, 2844, 1665, 1616, 1581, 1539, 1489, 1440, 1400, 1329, 1268, 1108, 923, 895, 828, 807, 754, 648. O espectro é apresentado na Figura 58 do Anexo, pg. 173.

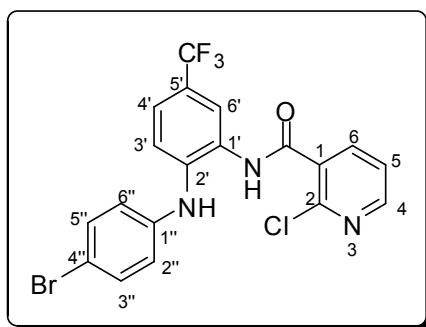
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 2,94 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-2''/H-6''); 3,87 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-3''/H-5''), 7,36 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,42-7,48 (m, 2H, H-4' e H-5); 8,28 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-6); 8,55 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 4,8$ Hz, H-4); 8,92 (sl, 1H, H-6'); 9,82 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 59 do Anexo, pg. 174.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 52,9 (C-2''/C-6''); 67,3 (C-3''/C-5''); 117,3 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz; C-6'); 121,8 (C-5); 123,4 (C-3'); 124,1 (q, $J_{C-F} = 270,5$ Hz, CF_3); 128,5 (q, $J_{C-F} = 32,6$ Hz, C-5'); 131,2 (C-1); 134,1 (C-1'); 140,9 (C-6); 144,3 (C-2); 146,6 (C-2'); 151,8 (C-4); 162,7 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 60 do Anexo, pg. 175. O sinal de C-4' foi observado sobreposto ao sinal de C-5 não sendo possível o cálculo do valor da constante de acoplamento C-F.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($M+H^+$):

Calculado para $C_{17}H_{16}ClF_3N_3O_2$, 386,0883; encontrado: 386,0842.

2-cloro-*N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#11)

Característica: sólido amarelo purificado por recristalização empregando-se acetona como solvente.

CCD: $R_f = 0,58$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 175,0-176,0$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$: 3404, 3217, 3048, 1644, 1592, 1529, 1489, 1401, 1334, 1098, 1073, 882, 808, 751. O espectro é apresentado na Figura 61 do Anexo, pg. 176.

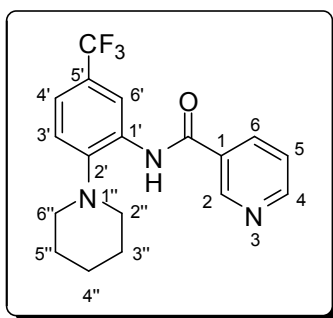
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 6,10 (sl, 1H, NH); 6,81 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2''/H-6''); 7,34-745 (m, 5H, H-5, H-3', H-4' e H-3''/H-5''); 8,11 (s, 1H, H-6'); 8,16 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-6); 8,49 (dd, 1H, $J = 2,0$ Hz e $J = 4,7$ Hz, H-4); 8,66 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 62 do Anexo, pg. 177.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 114,5 (C-4''); 120,0 (C-2''/C-6''); 121,3 (C-3'); 121,7 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-6'); 123,2 (C-5); 124,2 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-4'); 125,6 (q, $J_{C-F} = 32,8$ Hz, C-5'); 129,0 (C-1'); 130,5 (C-1); 132,7 (C-3''/C-5''); 138,9 (C-1''); 140,4 (C-6); 141,9 (C-2); 147,1 (C-2'); 151,9 (C-4), 163,6 ($C=O$). O espectro é apresentado na Figura 63 do Anexo, pg. 178.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($M+H^+$):

Calculado para $C_{19}H_{13}ClBrF_3N_3O$, 469,9803; encontrado: 469,9707.

***N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida**



(SRPIN 340#12)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (1:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,45$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

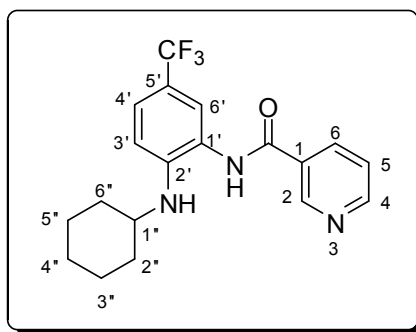
$T_f = 129,8-130,3$ °C. (T_f literatura: 145,0-146,0 °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3332, 2940, 2856, 2811, 1664, 1588, 1529, 1467, 1435, 1332, 1243, 1163, 1105, 1023, 893, 834, 729, 703, 645, 584. O espectro é apresentado na Figura 64 do Anexo, pg. 179.

RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,64-1,65 (m, 2H, H-4''); 1,75-1,82 (m, 4H, H-3''/H-5''), 2,88 (t, 4H, $J = 4,8$ Hz, H-2''/H-6''); 7,28 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,37 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 8,4$ Hz, H-4'); 7,50 (ddd, 1H, $J = 0,8$ Hz, $J = 4,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-5); 8,30 (td, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-6); 8,80 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 4,8$ Hz, H-4); 8,84 (sl, 1H, H-6'); 9,15 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-2); 9,55 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 65 do Anexo, pg. 180.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 23,9 (C-4''); 27,0 (C-3''/C-5''); 53,9 (C-2''/C-6''); 116,7 (sl, C-6'); 121,0 (C-3'); 121,4 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-4'); 124,1 (C-5); 124,2 (q, $J_{C-F} = 270,6$ Hz, C-F₃); 127,6 (q, $J_{C-F} = 33,4$ Hz, C-5'); 130,6 (C-1'); 133,6 (C-1); 135,6 (C-6); 145,8 (C-2'); 147,7 (C-4); 152,8 (C-2), 163,2 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 66 do Anexo, pg. 181.

***N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida**



(SRPIN 340#13)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (1:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,38$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 137,0-138,4$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 3434, 3234, 3046, 2930, 2852, 1643, 1615, 1591, 1532, 1456, 1331, 1105, 883, 813, 712, 636. O espectro é apresentado na Figura 67 do Anexo, pg. 182.

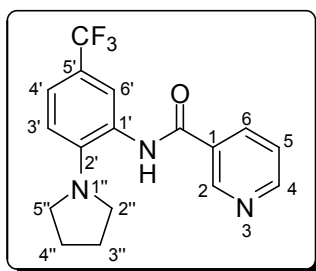
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 1,12-2,03 (m, 10H, H-2''/H-6'', H-3''/H-5'' e H-4''); 3,28-3,29 (m, 1H, H-1''); 4,19 (sl, NH) 6,79 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,36-7,46 (m, 2H, H-5 e H-4'); 7,52 (s, 1H, NH); 8,19-8,25 (m, 2H, H-6 e H-6'); 8,72 (d, 1H, $J = 4,2$ Hz, H-4); 9,08 (sl, 1H, H-2). O espectro é apresentado na Figura 68 do Anexo, pg. 183.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 24,7 (C-3''/C-5''); 25,6 (C-4''); 32,9 (C-2''/C-6''); 51,6 (C-1''); 112,5 (C-3'); 118,5 (q, $J_{C-F} = 32,6$ Hz, C-5'); 124,4 (q, $J = 269,1$ Hz, $\underline{C}F_3$); 122,0 (C-4'); 123,7 (C-5); 125,1 (C-6'); 129,6 (C-1'); 135,7 (C-1 e C-6); 144,6 (C-2'); 147,9 (C-4); 152,6 (C-2); 164,5 ($\underline{C}=\underline{O}$). O espectro é apresentado na Figura 69 do Anexo, pg. 184.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($M+H^+$):

Calculado para $C_{19}H_{21}F_3N_3O$, 364,1638; encontrado: 364,1549

N-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#14)

Característica: sólido branco purificado por recristalização empregando-se acetato de etila como solvente.

CCD: $R_f = 0,33$ (hexano-acetato de etila 1:2 v/v).

$T_f = 127,8-128,5$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3289, 3056, 2972, 2870, 2842, 1644, 1615, 1592, 1530, 1372, 1332, 1266, 1249, 1152, 1109, 1082, 1024, 932, 897, 875, 827, 707, 656. O espectro é apresentado na Figura 70 do Anexo, pg. 185.

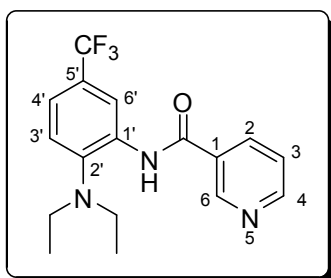
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,96-2,01 (m, 4H, H-3''/H-4''); 3,20 (t, 4H, $J = 6,2$ Hz, H-2''/H-5''); 7,14 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,35-7,38 (m, 1H, H-4'); 7,48 (dd, 1H, $J = 4,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-5); 8,26 (td, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-6); 8,47 (sl, 1H, H-6'); 8,79 (dd, 1H, $J = 1,8$ Hz e $J = 4,8$ Hz, H-4); 8,82 (s, 1H, NH); 9,10 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-2). O espectro é apresentado na Figura 71 do Anexo, pg. 186.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,9 (C-3''/C-4''); 52,2 (C-2''/C-5''); 118,8 (C-3'); 119,6 (sl, C-6') 122,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,6$ Hz, C-4'); 124,4 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,2$ Hz, CF_3); 124,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,6$ Hz, C-5'); 124,1 (C-5); 130,5 (C-1'); 130,6 (C-1); 135,6 (C-6); 144,8 (C-2'); 147,8 (C-4); 152,9 (C-2); 163,6 ($\text{C}=\text{O}$). O espectro é apresentado na Figura 72 do Anexo, pg. 187.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}$, 336,1324; encontrado: 336,1201.

***N*-[2-(diethylamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida**



(SRPIN 340#15)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (1:1 v/v).

CCD: 0,50 (hexano: acetato de etila 1:1 v/v).

T_f = 64,8-66,8 °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm⁻¹): 3334, 2975, 2932, 2854, 1678, 1614, 1586, 1534, 1483, 1440, 1336, 1247, 1167, 1150, 1114, 1062, 1021, 923, 898, 828, 716, 567. O espectro é apresentado na Figura 73 do Anexo, pg. 188.

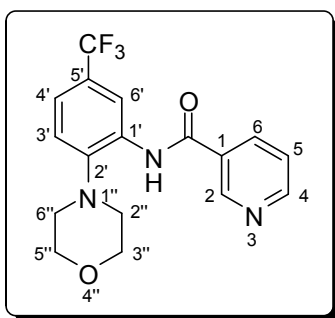
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 0,99 (t, 6H, *J* = 7,2 Hz, 2CH₃); 3,05 (q, 4H, *J* = 7,2 Hz, 2CH₂); 7,32 (d, 1H, *J* = 8,1 Hz, H-3'); 7,39 (dd, 1H, *J* = 1,5 Hz e *J* = 8,1 Hz, H-4'); 7,49 (dd, 1H, *J* = 8,3 Hz e *J* = 4,7 Hz, H-5); 8,27 (td, 1H, *J* = 8,3 Hz e *J* = 1,8 Hz, H-6); 8,80 (dd, 1H, *J* = 1,8 Hz e *J* = 4,8 Hz, H-4); 8,92 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-6'); 9,12 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz, H-2); 9,90 (s, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 74 do Anexo, pg. 189.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 13,0 (2CH₃); 49,5 (2CH₂); 116,3 (q, *J*_{C-F} = 3,9 Hz, C-6'); 121,0 (q, *J*_{C-F} = 3,9 Hz, C-4'); 123,6 (C-3'); 124,1 (C-5); 124,2 (q, *J*_{C-F} = 270,5 Hz, CF₃); 128,3 (q, *J*_{C-F} = 32,3 Hz, C-5'); 130,6 (C-1'); 135,6 (C-1); 136,5 (C-6); 142,6 (C-4); 147,8 (C-2'); 152,9 (C-2); 163,2 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 75 do Anexo, pg. 190.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO *m/z* (M+H⁺):

Calculado para C₁₇H₁₉ClF₃N₃O, 338,1480; encontrado: 338,1399.

N-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#16)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (1:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,18$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

$T_f = 157,5 - 159,0$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3344, 2970, 2846, 1674, 1588, 1534, 1469, 1441, 1339, 1247, 1198, 1156, 1114, 1022, 936, 918, 897, 880, 833, 734, 707, 661. O espectro é apresentado na Figura 76 do Anexo, pg. 191.

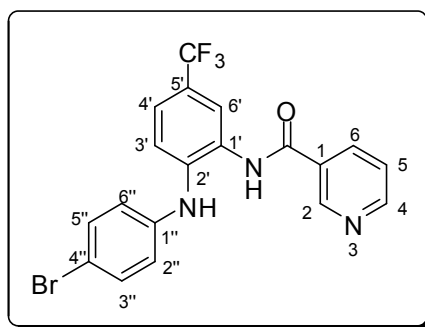
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 2,95 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-2''/H-6''); 3,91 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-3''/H-5''), 7,33 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-3'); 7,43 (dd, 1H, $J = 2,1$ Hz e $J = 8,4$ Hz, H-4'); 7,51 (dd, 1H, $J = 4,8$ Hz e $J = 7,8$ Hz, H-5); 8,28 (td, 1H, 1,8 Hz e 7,8 Hz, H-6); 8,81-8,88 (m, 2H, H-4 e H-6'); 9,13 (sl, 1H, H-2); 9,45 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 77 do Anexo, pg. 192.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 52,6 (C-2''/C-6''); 67,7 (C-3''/C-5''); 117,0 (q, $J_{C-F} = 3,9$ Hz, C-6'); 121,3 (C-3'); 121,6 (q, $J_{C-F} = 3,7$ Hz, C-4'); 124,1 (q, $J_{C-F} = 270,3$ Hz, CF₃); 124,2 (C-5); 128,4 (q, $J_{C-F} = 32,5$ Hz, C-5'); 130,4 (C-1'); 133,7 (C-1); 135,5 (C-6); 144,1 (C-2'); 147,6 (C-4); 153,1 (C-2); 163,1 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 78 do Anexo, pg. 193.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para C₁₇H₁₇F₃N₃O₂, 352,1273; encontrado: 352,1201.

N-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida



(SRPIN 340#17)

Característica: sólido branco purificado por recristalização empregando-se acetona como solvente.

CCD: $R_f = 0,38$ (hexano-acetato de etila 1:1 v/v).

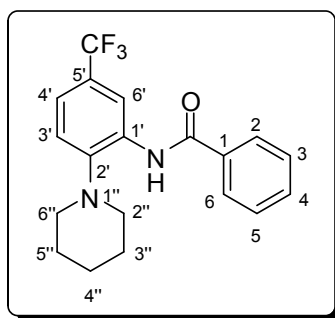
$T_f = 166,7-167,2$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 3314, 3188, 3068, 1663, 1621, 1592, 1514, 1440, 1337, 1250, 1162, 1114, 1074, 1025, 1008, 887, 808, 709. O espectro é apresentado na Figura 79 do Anexo, pg. 194.

RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 6,82 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2''/H-6''); 6,34 (s, 1H, NH); 7,33-7,46 (m, 5H, H-5, H-3', H-4' e H-3''/H-5''); 8,08-8,12 (m, 2H, H-6 e H-6'); 8,72 (dd, 1H, $J = 1,5$ Hz e $J = 4,8$ Hz, H-4); 8,96 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, H-2); 8,53 (s, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 80 do Anexo, pg. 195.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 114,4 (C-4''); 120,0 (C-2''/C-6''); 121,3 (C-3'); 121,6 (q, $J_{C-F} = 3,6$ Hz, C-6'); 123,9 (q, $J_{C-F} = 3,7$ Hz, C-4'); 124,1 (C-5); 124,1 (q, $J_{C-F} = 270,0$ Hz, CF₃); 125,5 (q, $J_{C-F} = 33,4$ Hz, C-5'); 129,2 (C-1'); 129,7 (C-1); 132,7 (C-3''/C-5''); 135,8 (C-6); 138,9 (C-2'); 141,9 (C-1''); 148,0 (C-4); 152,9 (C-2), 164,5 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 81 do Anexo, pg. 196.

N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida



(SRPIN 340#18)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,55$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 116,0-117,0$ °C. (T_f literatura: 128,0-129,0 °C, HAGIWARA *et al.*, 2009).

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm⁻¹): 3338, 2932, 2846, 1675, 1588, 1530, 1472, 1439, 1378, 1337, 1272, 1240, 1162, 1116, 1026, 932, 913, 902, 877, 828, 796, 697, 648. O espectro é apresentado na Figura 82 do Anexo, pg. 197.

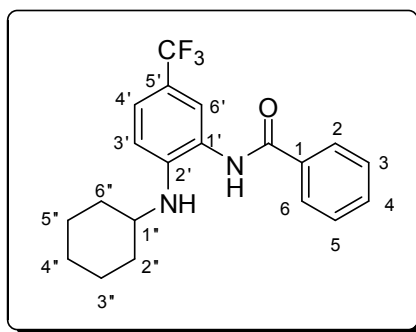
RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1,64-1,66 (m, 2H, H-4''); 1,74-1,82 (m, 4H, H-3''/H-5''); 2,88 (t, 4H, $J = 5,1$ Hz, H-2''/H-6''); 7,26 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-3'); 7,35 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-4'); 7,51-7,62 (m, 3H, H-4 e H-3/H-5); 7,94-7,96 (m, 2H, H-2/H-6); 8,91 (sl, 1H, H-6'); 9,45 (s, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 83, pg. 198.

RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 24,1 (C-4''); 27,1 (C-3''/C-5''); 53,7 (C-2''/C-6''); 116,5 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-6'); 120,8 (C-3' e C-4') 124,4 (q, $J_{C-F} = 269,9$ Hz, CF₃); 127,1 (C-2/C-6); 129,2 (C-3/C-5); 132,2 (C-1'); 134,0 (C-4); 134,8 (C-1'); 145,8 (C-1); 165,1 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 84 do Anexo, pg. 199. O sinal para C-5' ficou sobreposto ao sinal de C-2/C-6, dificultando a determinação do valor da constante de acoplamento C-F.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z (M+H⁺):

Calculado para C₁₉H₂₀F₃N₂O, 349,1528; encontrado: 349,1451.

***N*-[2-(cicloexilamino)-5-trifluorometil]fenil]benzamida**



(SRPIN 340#19)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,43$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 157,5-158,8$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3396, 3214, 3058, 2935, 2862, 1636, 1613, 1552, 1334, 1243, 1213, 1161, 1105, 1073, 880, 812, 707, 624. O espectro é apresentado na Figura 85 do Anexo, pg. 200.

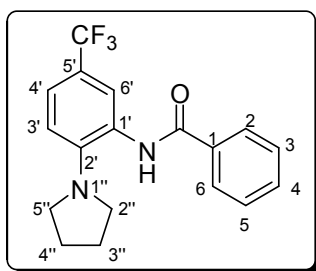
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,13-2,04 (m, 10H, H-2''/H-6'', H-3''/H-5'' e H-4''); 3,27-3,33 (m, 1H, H-1''); 4,10-4,22 (sl, 1H, NH); 6,79 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, H-3'); 7,38 (dd, 1H, $J = 1,4$ Hz e $J = 8,6$ Hz, H-4'); 7,46-7,60 (m, 4H, H-3/H-5, H-4 e H-6'); 7,76 (s, 1H, NH); 7,89 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-2/H-6). O espectro é apresentado na Figura 86, pg. 201.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 25,0 (C-3''/C-5''); 25,9 (C-4''); 33,2 (C-2''/C-6''); 51,8 (C-1''); 112,7 (C-6'); 118,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,7$ Hz, C-5'); 122,9 (C-3'); 125,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,6$ Hz, C-4'); 127,5 (C-2/C-6); 129,0 (C-3/C-5); 132,5 (C-4/C-1'); 133,9 (C-1); 145,0 (C-2'); 166,5 ($\text{C}=\text{O}$). O espectro é apresentado na Figura 87 do Anexo, pg. 202.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$, 363,1684; encontrado: 363,1613.

***N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida**



(SRPIN 340#20)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,30$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 122,2-122,8$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3242, 2986, 2948, 2870, 1637, 1616, 1578, 1519, 1488, 1366, 1331, 1266, 1149, 1098, 1082, 874, 799, 695, 656. O espectro é apresentado na Figura 88 do Anexo, pg. 203.

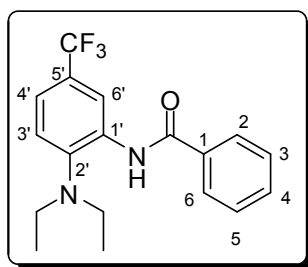
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,96-2,01 (m, 4H, H-3''/H-4''); 3,13-3,17 (t, 4H, $J = 6,3$ Hz, H-2''/H-5''), 7,15 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,34 (dd, 1H, $J = 1,5$ Hz, $J = 8,4$ Hz, H-4'); 7,49-7,61 (m, 3H, H-3/H-5 e H-4) 7,89-7,91 (m, 2H, H-2/H-6); 8,51 (sl, 1H, H-6'); 8,70 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 89 do Anexo, pg. 204.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 24,9 (C-3''/C-4''); 52,0 (C-2''/C-5''); 118,5 (C-3'); 119,6 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,8$ Hz, C-6'); 122,0 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,9$ Hz, C-4'); 124,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 269,9$ Hz, CF₃); 124,8 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,5$ Hz, C-5'); 127,2 (C-2/C-6); 129,2 (C-3/C-5); 131,1 (C-1'); 132,2 (C-4); 134,7 (C-1); 144,6 (C-2'); 165,3 (C=O). O espectro é apresentado na Figura 90 do Anexo, pg. 205.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$, 335,1371; encontrado: 335,1277.

N-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida



(SRPIN 340#21)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,65$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 65,1-66,0$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3290, 2968, 2932, 2838, 1676, 1588, 1527, 1485, 1440, 1332, 1240, 1167, 1115, 931, 903, 822, 795, 699. O espectro é apresentado na Figura 91 do Anexo, pg. 206.

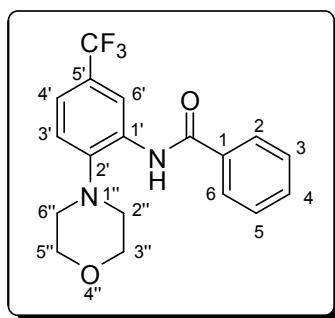
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,00 (t, 6H, $J = 7,2$ Hz, 2CH_3); 3,03 (q, 4H, $J = 7,2$ Hz, 2CH_2); 7,30 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,36 (dd, 1H, $J = 1,5$ e Hz $J = 8,4$ Hz, H-4'); 7,50-7,61 (m, 3H, H-3/H-5 e H-4); 7,92 (dd, 2H, $J = 1,5$ Hz e $J = 8,1$ Hz, H-2/H-6); 8,97 (sl, 1H, H-6'); 9,81 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 92 do Anexo, pg. 207.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 13,0 (2CH_3); 49,3 (2CH_2); 116,2 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,9$ Hz, C-6'); 120,5 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,8$ Hz; C-4'); 123,4 (C-3'); 124,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,7$ Hz, CF_3); 128,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 32,3$ Hz, C-5'); 127,2 (C-2/C-6); 129,1 (C-3/C-5); 132,2 (C-4); 134,9 (C-1'); 136,9 (C-1); 142,5 (C-2'); 165,1 ($\text{C}=\text{O}$). O espectro é apresentado na Figura 93 do Anexo, pg. 208.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($\text{M}+\text{H}^+$):

Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$, 337,1528; encontrado: 337,1449.

N-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]benzamida



(SRPIN 340#22)

Característica: sólido branco purificado por recristalização empregando-se acetona como solvente.

CCD: $R_f = 0,18$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 137,3 - 138,5$ °C.

IV (ATR) $\bar{\nu}_{max}$ (cm^{-1}): 3369, 2967, 2896, 2851, 1668, 1589, 1534, 1465, 1438, 1335, 1238, 1157, 1112, 1075, 1025, 937, 917, 897, 877, 821, 801, 707, 659. O espectro é apresentado na Figura 94 do Anexo, pg. 209.

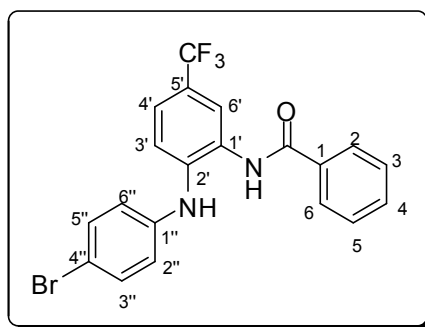
RMN de 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 2,96 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-2''/H-6''); 3,92 (t, 4H, $J = 4,5$ Hz, H-3''/H-5''); 7,30 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-3'); 7,38 (dd, 1H, $J = 1,5$ Hz e $J = 8,4$ Hz, H-4'); 7,52-7,63 (m, 3H, H-3/H-5 e H-4); 7,93 (dd, 2H, $J = 1,5$ Hz e $J = 8,1$ Hz, H-2/H-6); 8,91 (sl, 1H, H-6'); 9,39 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 95 do Anexo, pg. 210.

RMN de ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 52,5 (C-2''/C-6''); 67,8 (C-3''/C-5''); 116,9 (q, $J_{C-F} = 3,8$ Hz, C-6'); 121,0 (C-3'); 121,1 (q, $J_{C-F} = 3,9$ Hz, C-4'); 124,2 (q, $J_{C-F} = 270,5$ Hz, $\underline{C}F_3$); 127,0 (C-2/C-6); 128,2 (q, $J_{C-F} = 32,5$ Hz, C-5'); 129,2 (C-3/C-5); 132,5 (C-4); 134,1 (C-1'); 134,6 (C-1); 144,0 (C-2'); 165,0 ($\underline{C}=\underline{O}$). O espectro é apresentado na Figura 96 do Anexo, pg. 211.

ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO m/z ($M+H^+$):

Calculado para $C_{18}H_{18}F_3N_2O_2$, 351,1320; encontrado: 351,1266.

***N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida**



(SRPIN 340#23)

Característica: sólido branco purificado por cromatografia em coluna de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5:1 v/v).

CCD: $R_f = 0,25$ (hexano-acetato de etila 5:1 v/v).

$T_f = 157,3-158,0$ °C.

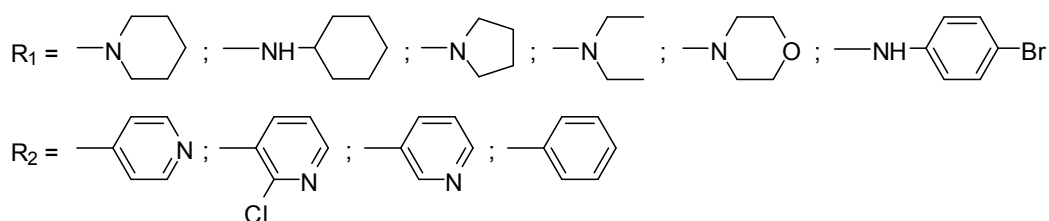
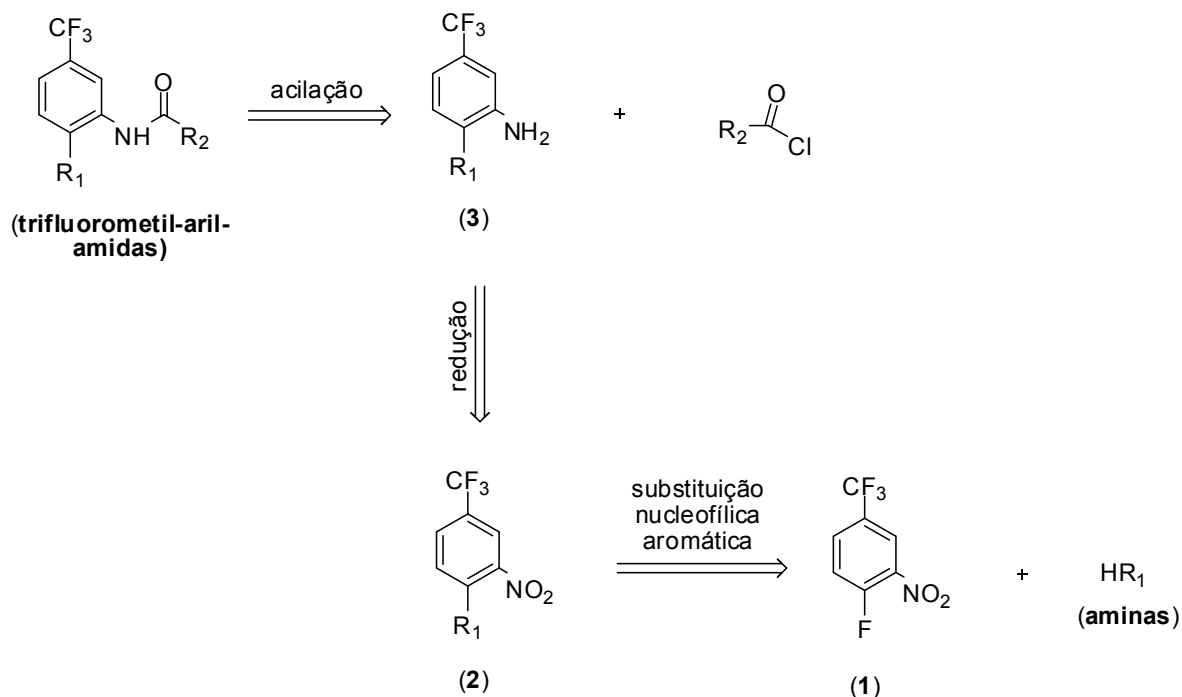
IV (ATR) $\bar{\nu}_{\max}$ (cm^{-1}): 3366, 2967, 2892, 2852, 1668, 1589, 1534, 1465, 1438, 1335, 1238, 1157, 1112, 937, 917, 897, 877, 821, 802, 707, 659. O espectro é apresentado na Figura 97 do Anexo, pg. 212.

RMN de ^1H (300 MHz, O espectro é apresentado na Figura 99 do Anexo, pg. 214. CDCl_3) δ : 6,30 (sl, 1H, NH); 6,83 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2''/H-6''); 7,31-7,47 (m, 6H, H-3/H-5, H-3', H-4' e H-3''/H-5''); 7,55 (tl, 1H, $J = 7,4$ Hz, H-4); 7,75 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2/H-6); 8,05 (sl, 1H, H-6'); 8,22 (sl, 1H, NH). O espectro é apresentado na Figura 98 do Anexo, pg. 213.

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 113,9 (C-4''); 119,7 (C-2''/C-6''); 120,9 (C-3'); 121,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,9$ Hz, C-6'); 123,3 (q, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, C-4'); 123,9 (q, $J_{\text{C-F}} = 270,1$ Hz, CF_3); 125,1 (q, $J_{\text{C-F}} = 33,0$ Hz, C-5'); 127,1 (C-2 /C-6); 128,9 (C-3/C-5); 129,3 (C-4 e C-1'); 132,4 (C-3''/C-5''); 133,3 (C-1); 138,6 (C-2'); 141,8 (C-1''); 166,3 ($\text{C}=\text{O}$). O espectro é apresentado na Figura 99 do Anexo, pg. 214.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise retrossintética para a preparação das trifluorometil-aril-amidas é apresentada no Esquema 9.

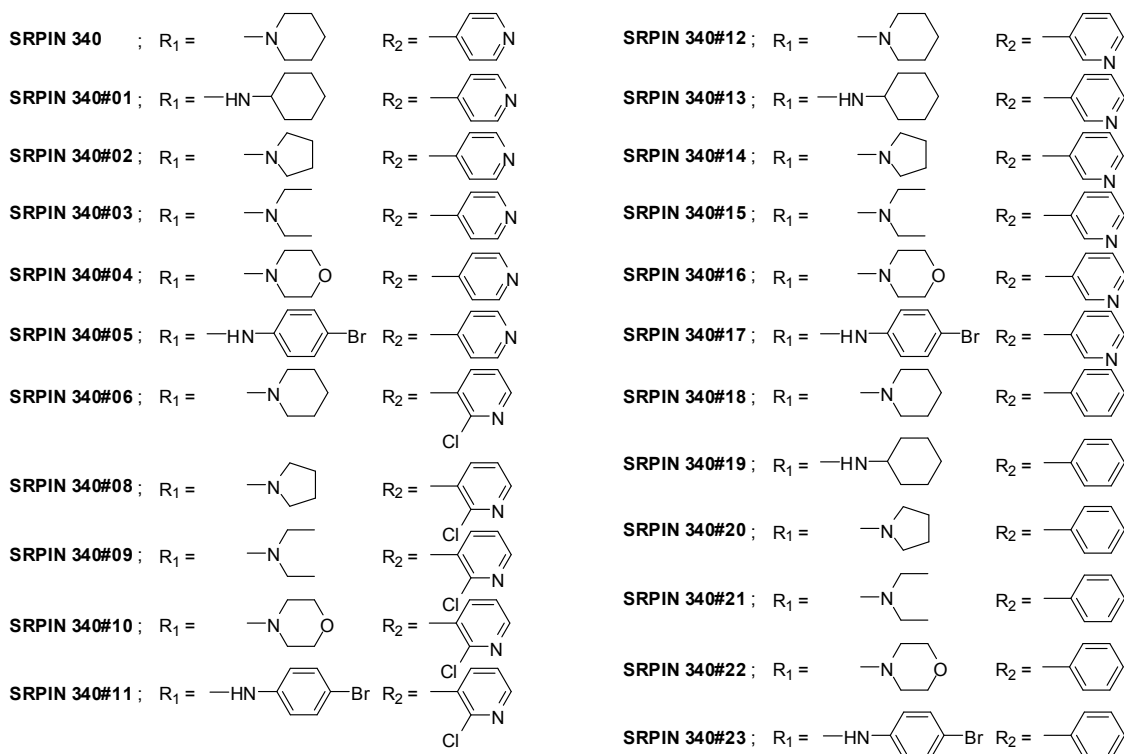
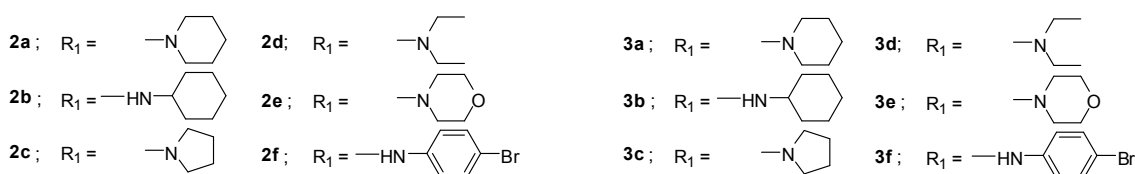
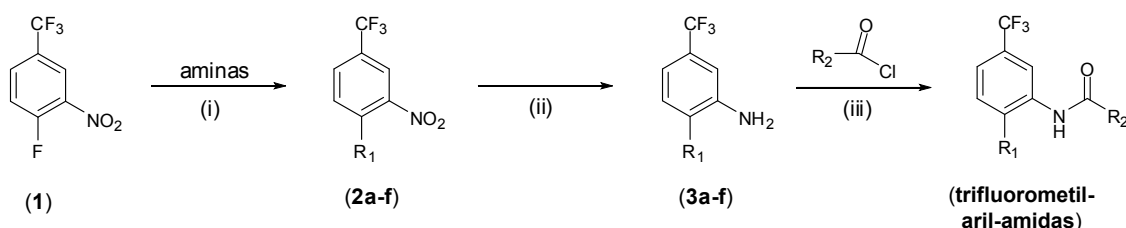


Esquema 9 - Análise retrossintética para preparação de trifluorometil-aril-amidas.

De acordo com a retrossíntese, as trifluorometil-aril-amidas seriam formadas via reação de acilação entre as anilinas de estrutura geral **3** e diferentes cloretos de acila. A redução dos nitro compostos de estrutura geral **2** levariam à formação das anilinas **3**. Os compostos **2**, por sua vez, resultariam da reação de substituição nucleofílica aromática entre **1** e diferentes aminas. A síntese dos compostos foi planejada de modo que fosse possível analisar o

efeito dos diferentes grupos R¹ e R² sobre as atividades biológicas avaliadas para as trifluorometil-aril-amidas.

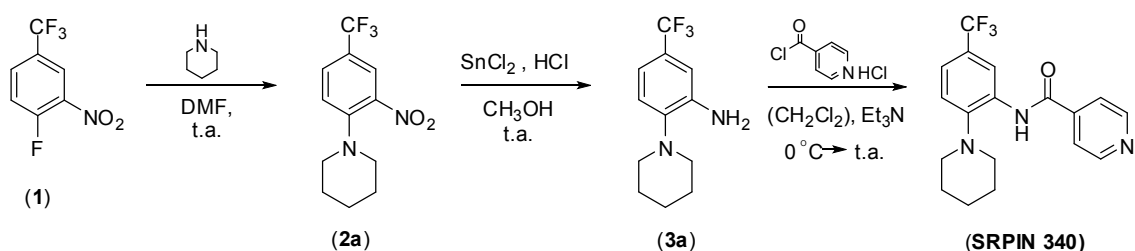
Com base na análise retrossintética, as trifluorometil-aril-amidas foram preparadas de acordo com a sequência de reações mostrada no Esquema 10. Foi utilizado como material de partida o 1-fluoro-2-nitro-4-(trifluorometil)benzeno (**1**), que é disponível comercialmente.



Esquema 10 - Rota sintética envolvida na preparação de trifluorometil-aril-amidas. i = DMF, 0 °C → temperatura ambiente; ii = SnCl₂/HCl; iii) CH₂Cl₂, Et₃N, 0 °C → temperatura ambiente.

O composto **1** foi submetido a reações de substituição nucleofílica aromática conduzindo à formação dos nitrocompostos **2a-f**. Esses derivados foram, por sua vez, reduzidos na presença de SnCl₂/HCl resultando na obtenção das anilinas **3a-f**. Os processos de acilação das anilinas **3a-f** resultaram na obtenção das trifluorometil-aril-amidas (**SRPINs**).

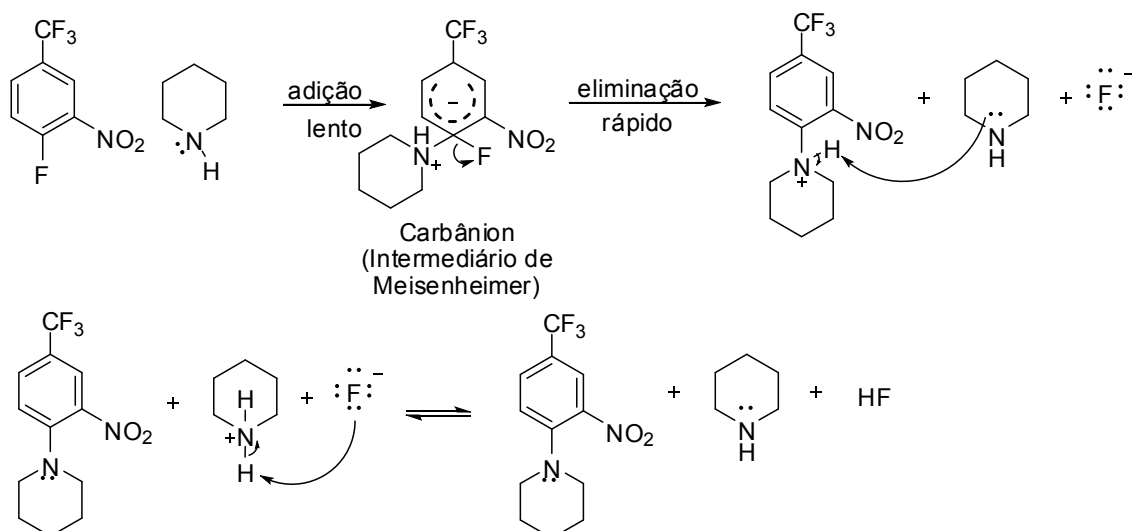
O desenvolvimento do trabalho de pesquisa vinculado a esta dissertação teve início com a síntese da amida **SRPIN 340** de acordo com a sequência sintética apresentada no Esquema 11.



Esquema 11 - Rota sintética envolvida na preparação do **SRPIN 340** (HAGIWARA, *et al.*, 2009).

De acordo com esta sequência, a substância **2a** foi obtida em 91% de rendimento a partir da reação de substituição nucleofílica aromática entre o composto **1** e a piperidina. As informações sobre as reações utilizadas para a síntese dos nitrocompostos **2b-2f** (Esquema 10, pg. 66) estão apresentadas na Tabela 1 (pg. 22).

No Esquema 12 (pg. 68) estão representadas as etapas do mecanismo envolvido na formação do composto **2a**. O intermediário de Meisenheimer formado na reação (um carbânion) é estabilizado pelos grupos retiradores de elétrons CF₃ e NO₂ ligados às posições *orto* e *para* em relação ao átomo de flúor (SOLOMONS, 2011).



Esquema 12 - Mecanismo da reação de substituição nucleofílica aromática entre **1** e a piperidina resultando na formação de **2a**.

No espectro no infravermelho de **2a** (Figura 4, pg. 70) as bandas em 1528 e 1323 cm⁻¹ foram atribuídas ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo nitro, presente na estrutura de **2a**. Menciona-se ainda a banda em 1115 cm⁻¹ atribuída ao estiramento da ligação C-F (FRESENIUS, *et al.*, 1989; BARBOSA, 2008).

No espectro de RMN de ¹H (Figura 5, pg. 71), os sinais relativos aos átomos de hidrogênio do grupo piperidinila foram observados em δ_H 1,61-3,12. Os hidrogênios aromáticos foram atribuídos como se segue: δ_H 7,14 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz, H-6'); 7,60 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz e $J = 9,0$ Hz, H-5'); 8,03 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-3').

Os sinais observados em δ_C 130,1 (q, $J_{C-F} = 3,4$ Hz, C-5); 124,6 (q, $J_{C-F} = 4,0$ Hz, C-3); 123,7 (q, $J_{C-F} = 269,6$ Hz, CF₃); 120,9 (q, $J_{C-F} = 34,1$ Hz, C-4) no espectro de RMN de ¹³C da substância **2a** (Figura 6, pg. 72) apresentaram-se como quartetos devido ao acoplamento desses carbonos com os átomos de flúor do grupo trifluorometila (CF₃). As constantes de acoplamento (J) estão em acordo com valores descritos na literatura e apresentados na Figura 13, pg. 69 (FRESENIUS *et al.*, 1989) e (HAGIWARA *et al.*, 2009).

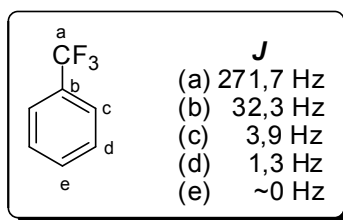


Figura 13 - Valores descritos de constantes de acoplamento ^{19}F - ^{13}C (FRESENIUS *et al.*, 1989).

Os sinais para os átomos de carbono C-2 e C-6 não foram observados como quartetos uma vez que, conforme mostrado na Figura 13, os valores das constantes para o acoplamento desses carbonos com o grupo CF_3 são pequenos. Conforme pode ser percebido na Figura 6, (p. 72), o número de sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C é compatível com a estrutura do composto **2a**.

Os dados espectroscópicos para os compostos **2b-2f** estão apresentados na seção 2.2.2.1 (pg. 20) e os espectros para as referidas substâncias estão apresentados no Anexo Figuras 1 a 15 (pg. 116 a 130). As informações sobre as reações conduzidas para a preparação dos derivados **2b-2f** são apresentadas na Tabela 1 (pg. 22).

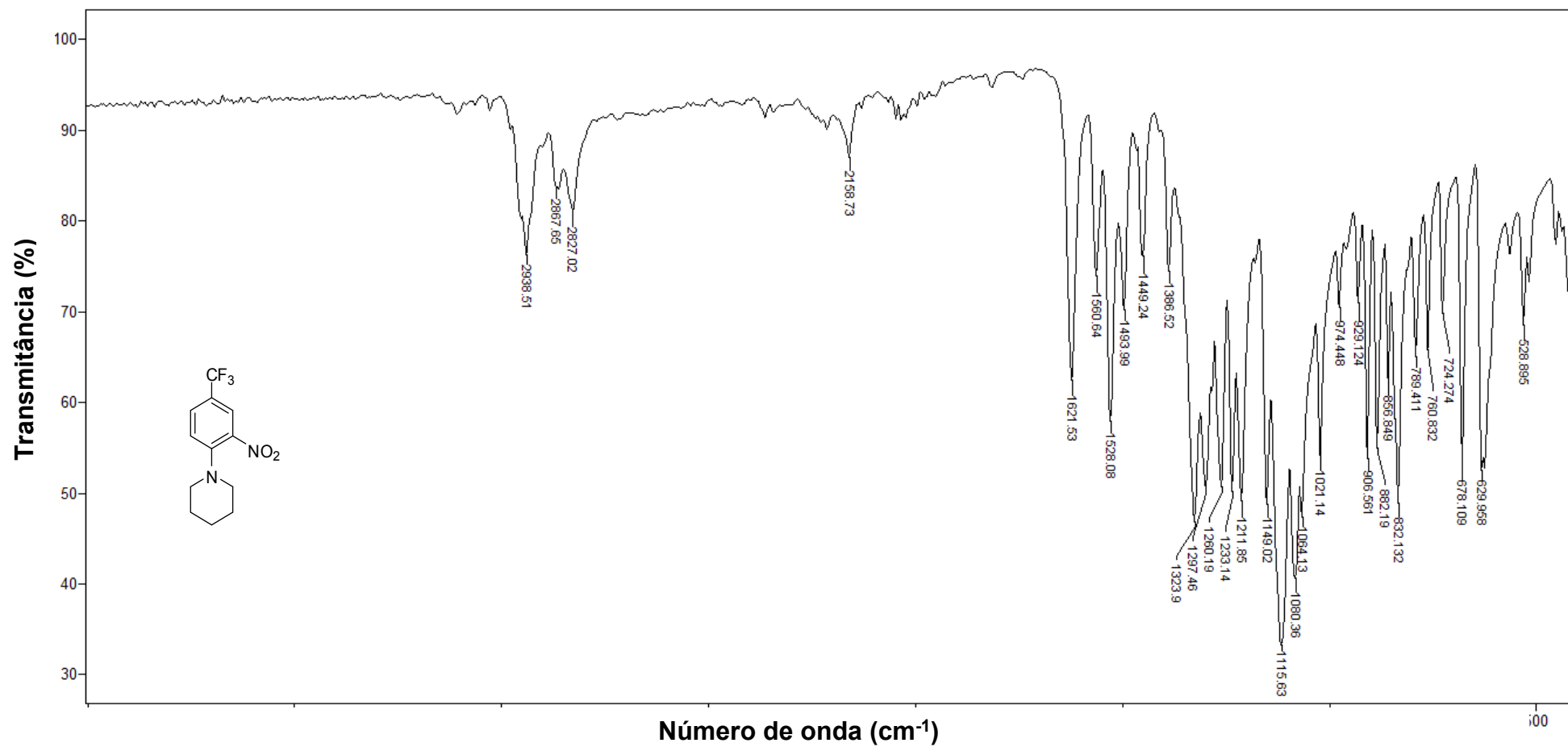


Figura 4 - Espectro no infravermelho (ATR) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina (**2a**).

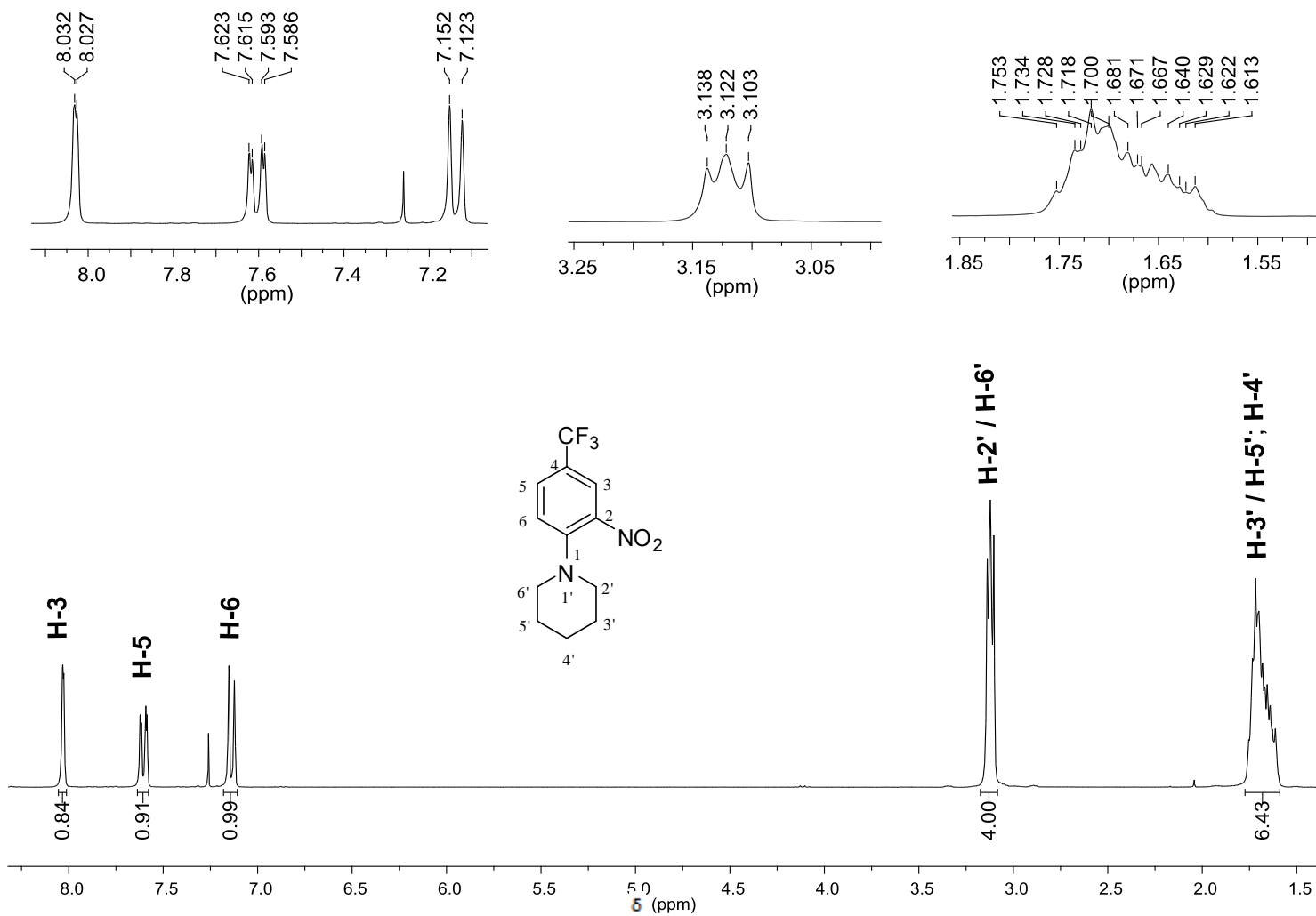


Figura 5 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina (**2a**).

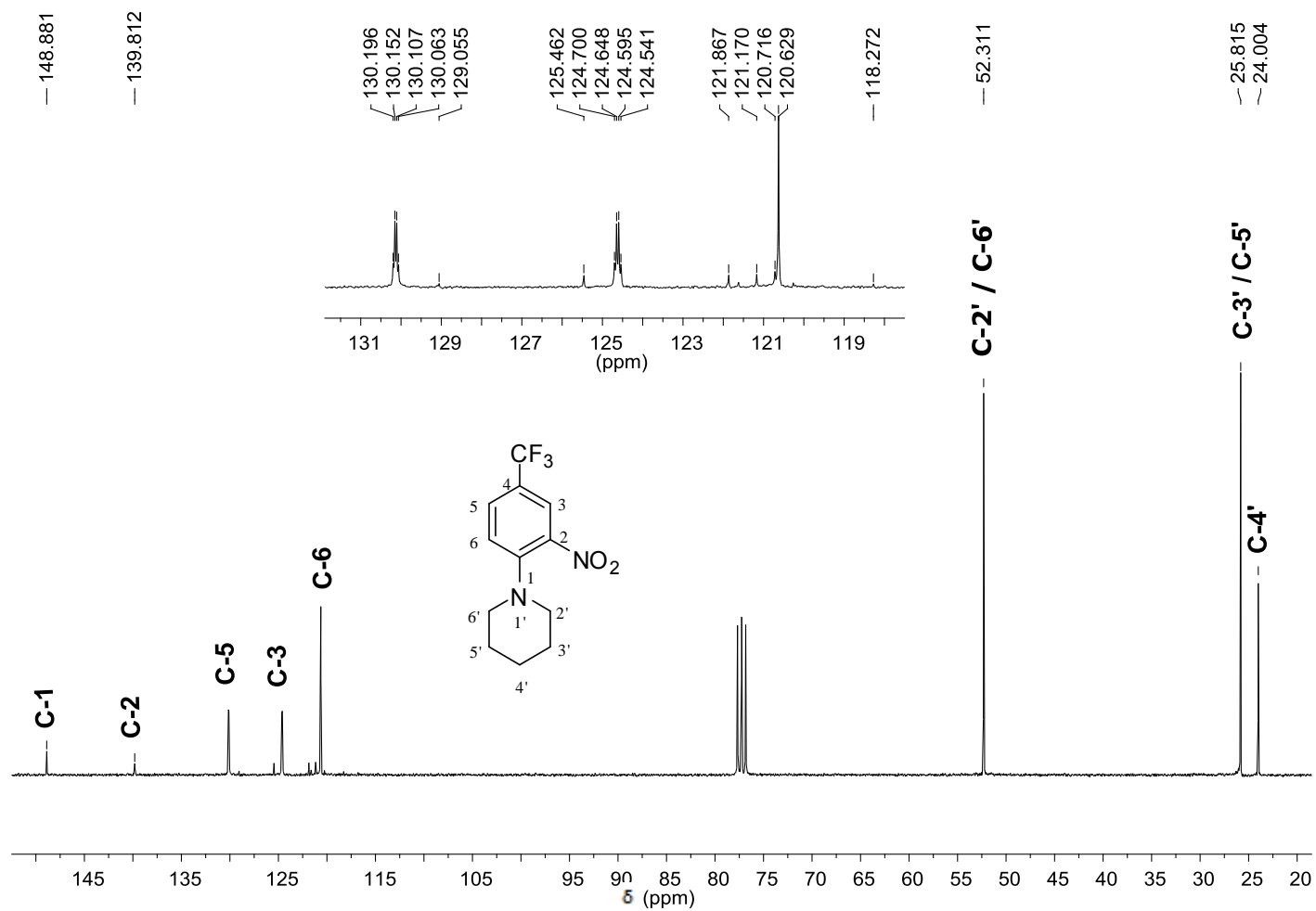


Figura 6 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]piperidina (**2a**).

A redução do nitro composto **2a** com cloreto de estanho em meio ácido (Esquema 11, pg. 67) resultou na obtenção da amina **3a** (HAGIWARA *et al.*, 2009). No espectro no infravermelho de **3a** (Figura 7, pg. 74) foram observadas duas bandas em 3452 e 3355 cm^{-1} (ausentes no espectro no infravermelho de **2a**, (Figura 4, pg. 70) relativas, respectivamente, aos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo NH_2 .

A presença do sinal alargado em δ_H 4,10 (integrado para dois átomos de hidrogênio) também confirma a presença do grupo amino na estrutura de **3a** (Figura 8, pg. 75). Os sinais relativos aos hidrogênios aromáticos foram observados na região δ_H 6,94-7,04. Já os sinais em δ_H 1,60-1,75 (m, 6H, H-3'/H-5' e H-4') e 2,87 (sl, 4H, H-2'/H-6') confirmam a presença do grupo piperidinila na estrutura de **3a**. Conforme descrito anteriormente para o composto **2a**, no espectro de RMN de ^{13}C da amina **3a** (Figura 9, pg. 76) alguns sinais se apresentam como quartetos devido ao acoplamento dos carbonos com os átomos de flúor do grupo CF_3 .

Os dados espectroscópicos para os compostos **3b-3f** estão apresentados na seção 2.4.2.2 (pg. 28) e os espectros para as referidas substâncias estão apresentados no Anexo Figuras 16 a 30 (pg. 131 a 145). As informações sobre as reações conduzidas para a preparação dos derivados **3b-3f** são apresentadas na Tabela 2 (pg. 30).

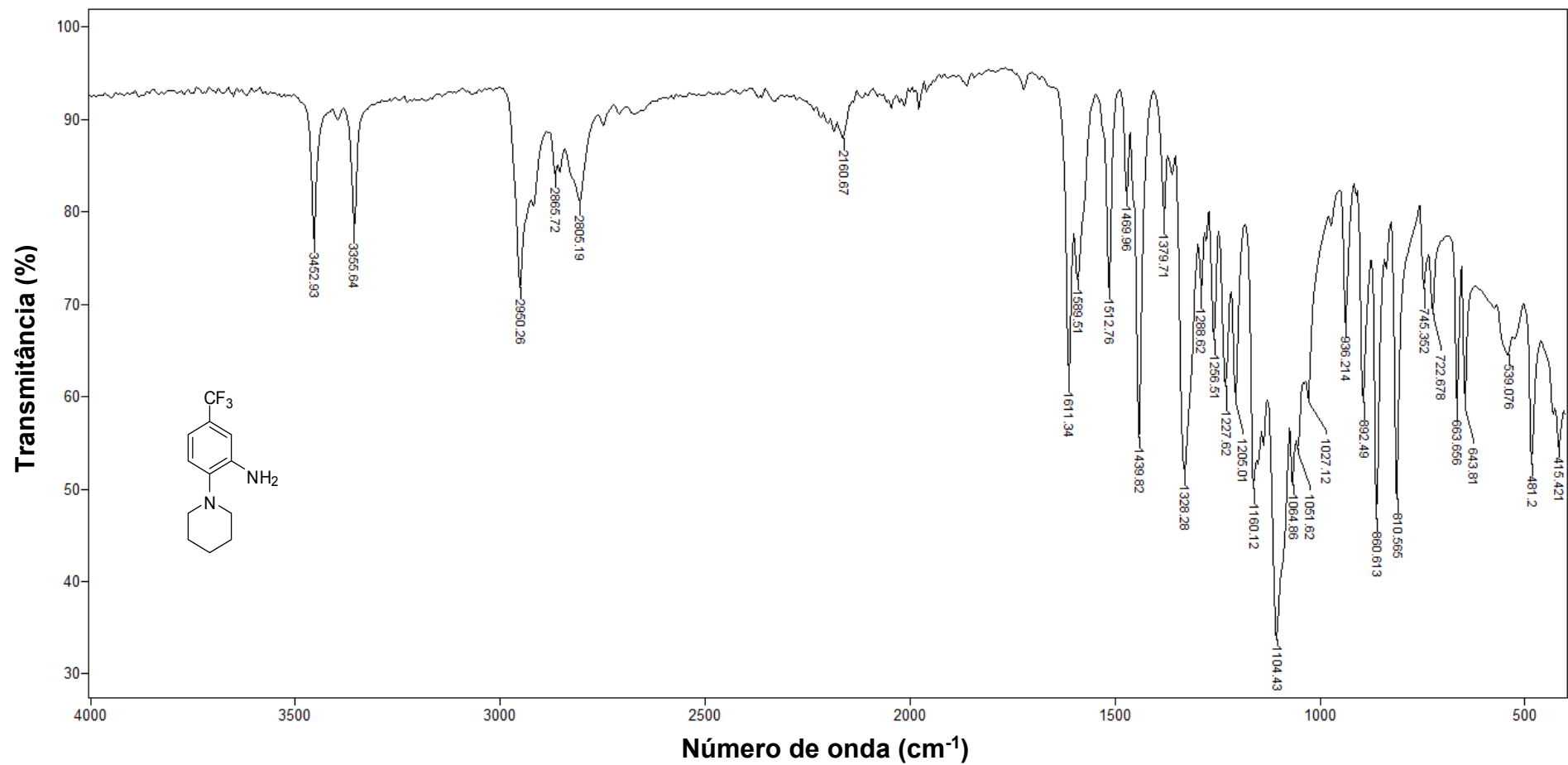


Figura 7 - Espectro no infravermelho (ATR) da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (**3a**).

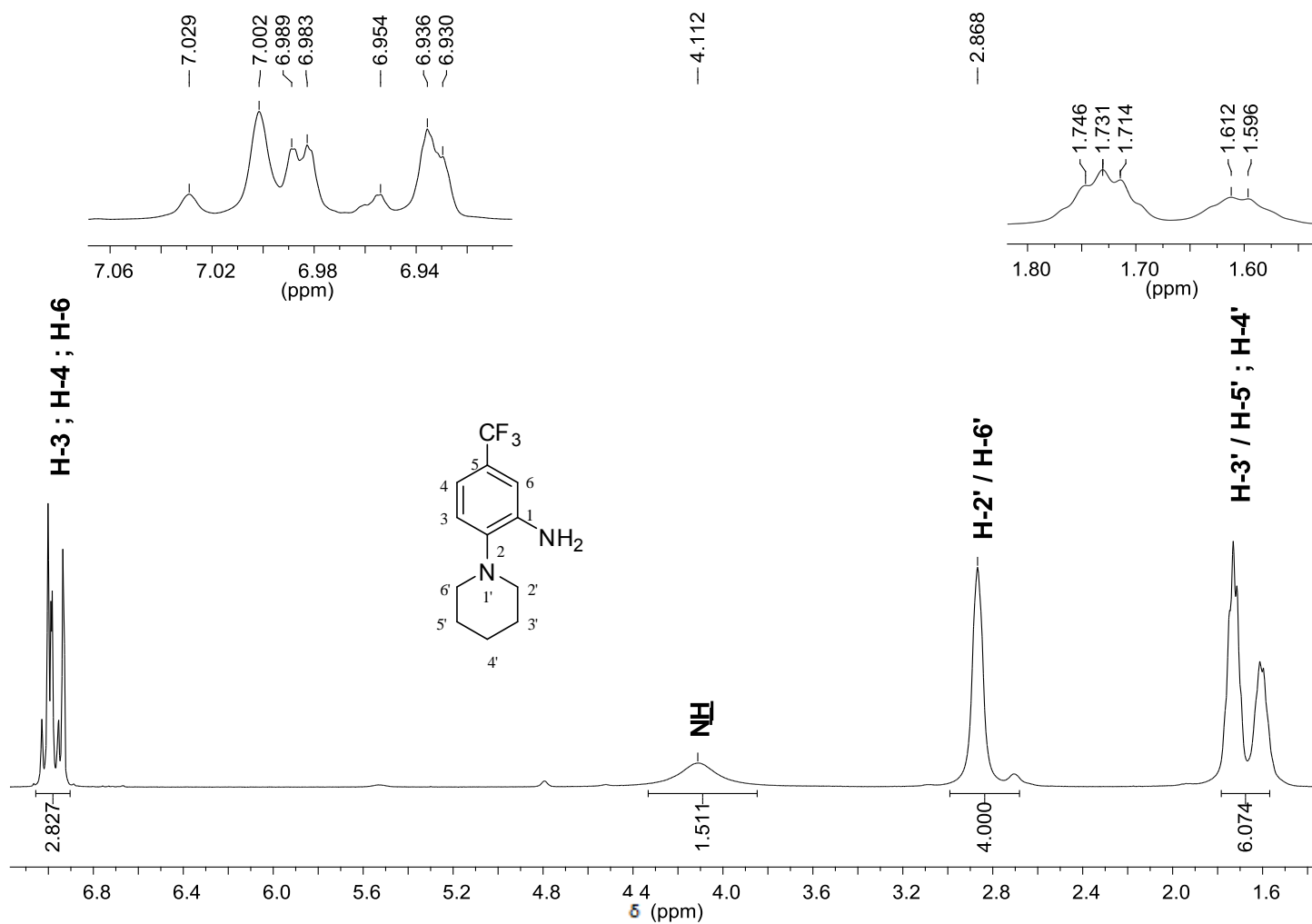


Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (**3a**).

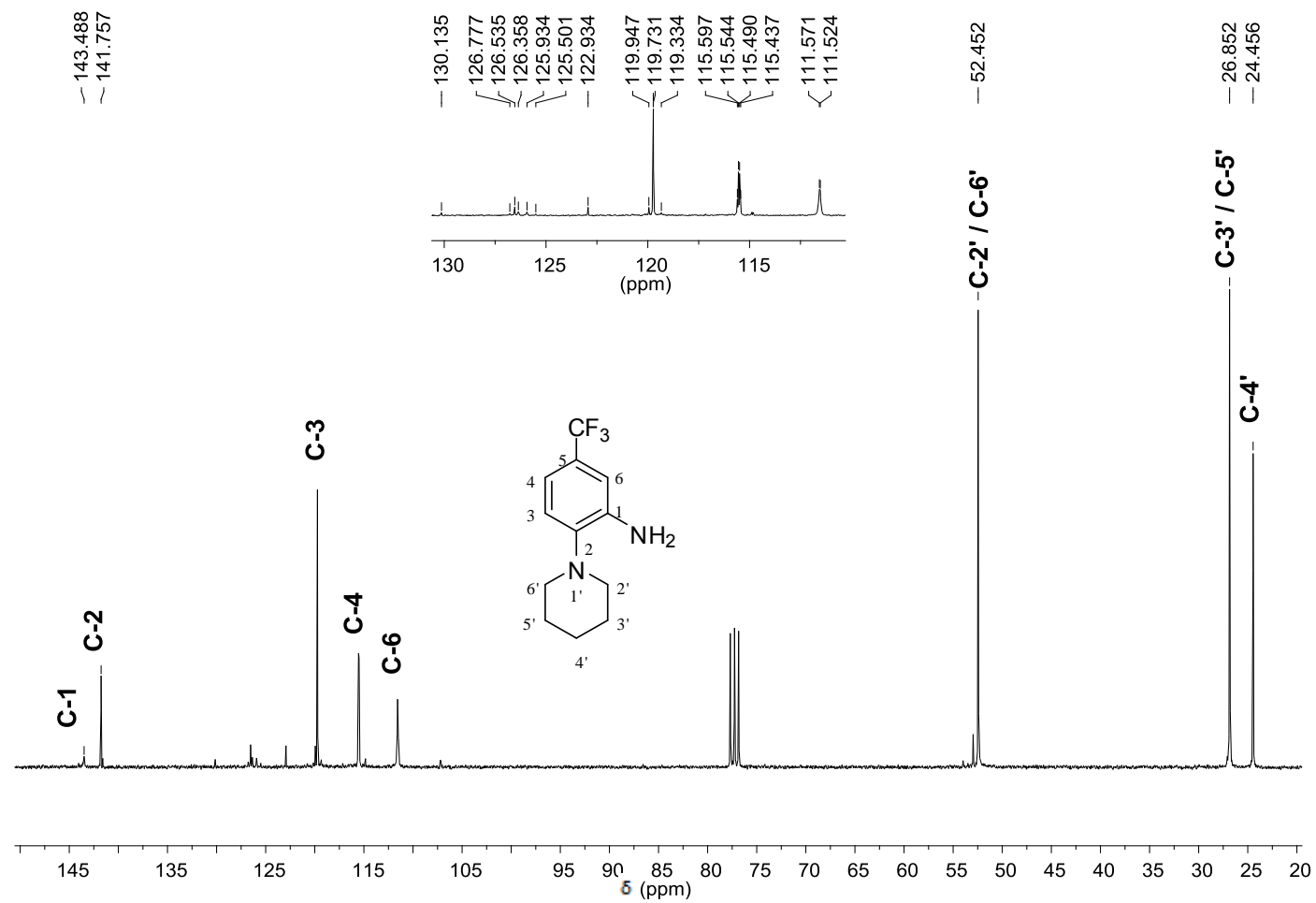


Figura 9 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (**3a**).

Uma vez preparada a amina **3a**, procedeu-se à sua acilação (Esquema 11, pg. 67) empregando-se o cloridrato do cloreto de isocotinoíla, resultando na obtenção de **SRPIN 340** em 75% de rendimento.

A forte absorção observada no espectro no IV em 1679 cm^{-1} (Figura 10, pg. 78), juntamente com o sinal observado em δ_c 163,0 no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 12, pg. 80), confirmaram a presença do grupo carbonila na estrutura **SRPIN 340**. Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C do **SRPIN 340** apresentam muitas semelhanças com os espectros correspondentes dos compostos **2a** e **3a**, não sendo necessária uma descrição pormenorizada dos sinais observados nos espectros de RMN do **SRPIN 340**. Salienta-se, no entanto, que os dados da espectroscopia de RMN para o composto estão em acordo com aqueles descritos na literatura (HAGIWARA, *et al.*, 2009).

Os dados espectroscópicos para as amidas **SRPIN 340#01** a **SRPIN 340#06** e **SRPIN 340#08** a **SRPIN 340#23** estão apresentados na seção 2.4.2.3 (pg. 36) e os espectros para as referidas substâncias estão apresentados no Anexo Figuras 31 a 99 (pg. 149 a 214). As informações sobre as reações conduzidas para a preparação dos derivados **SRPIN 340#01** a **SRPIN 340#06** e **SRPIN 340#08** a **SRPIN 340#23** são apresentadas na Tabela 3 (pg. 38).

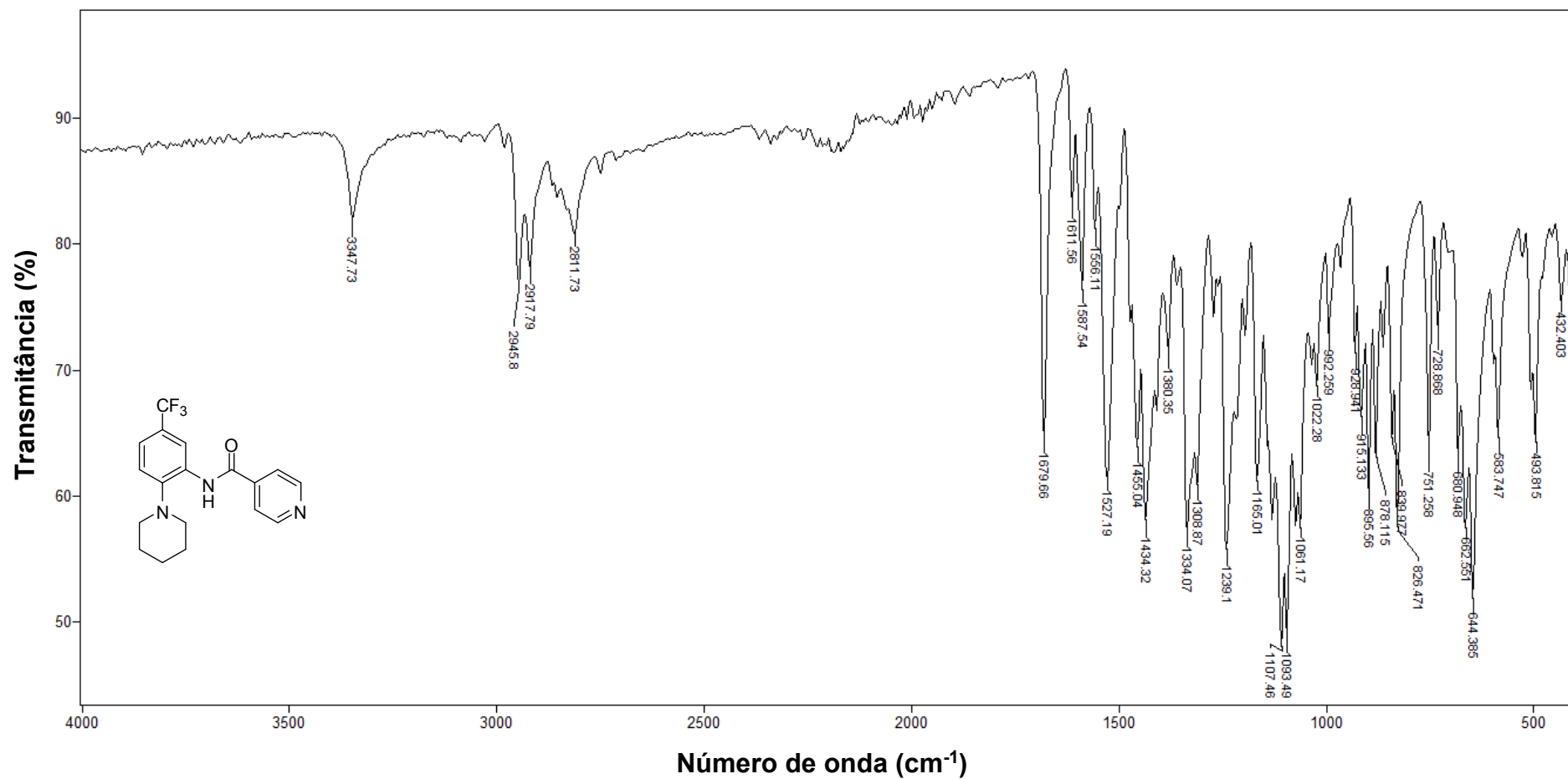


Figura 10 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340**).

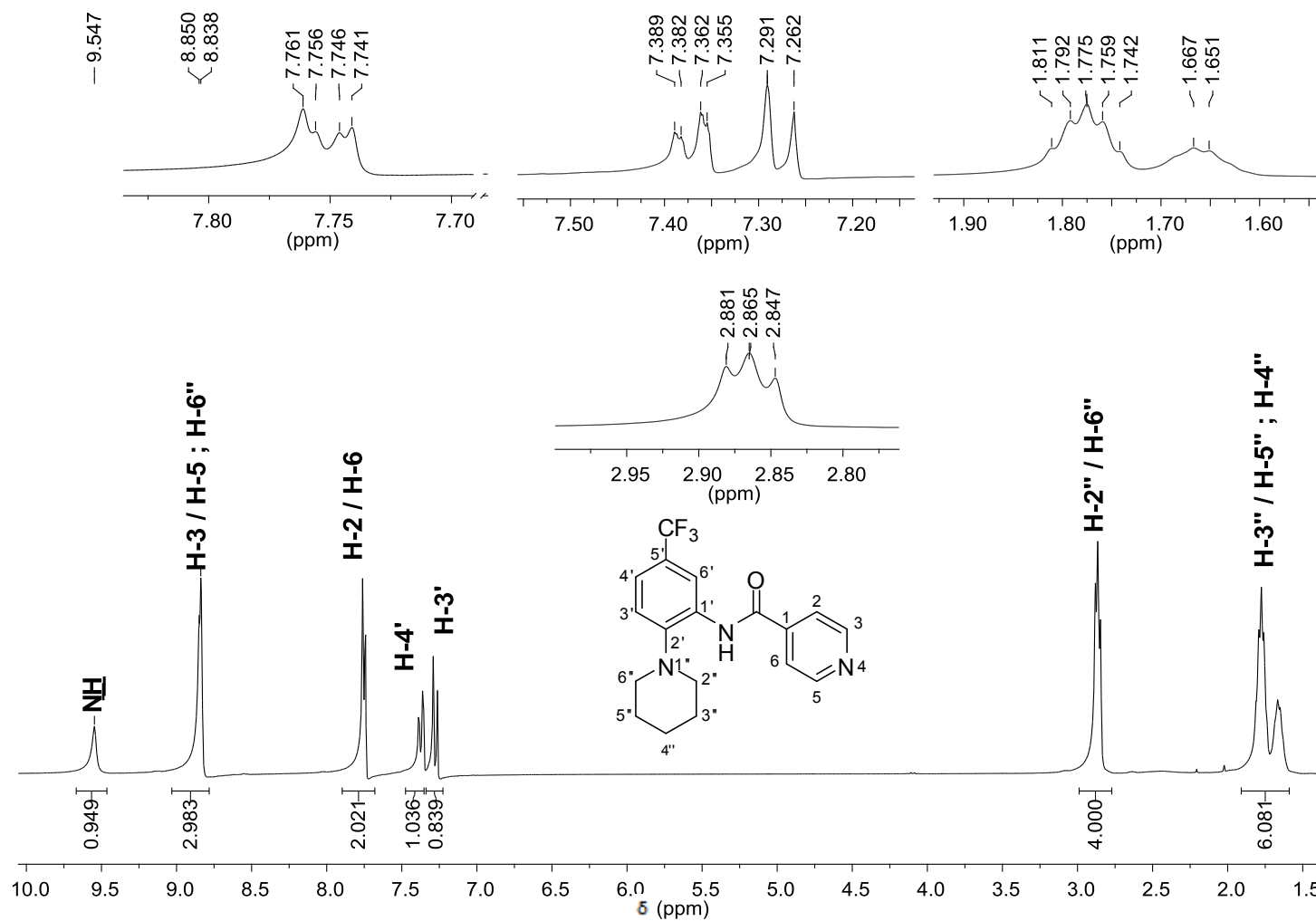


Figura 11 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340**).

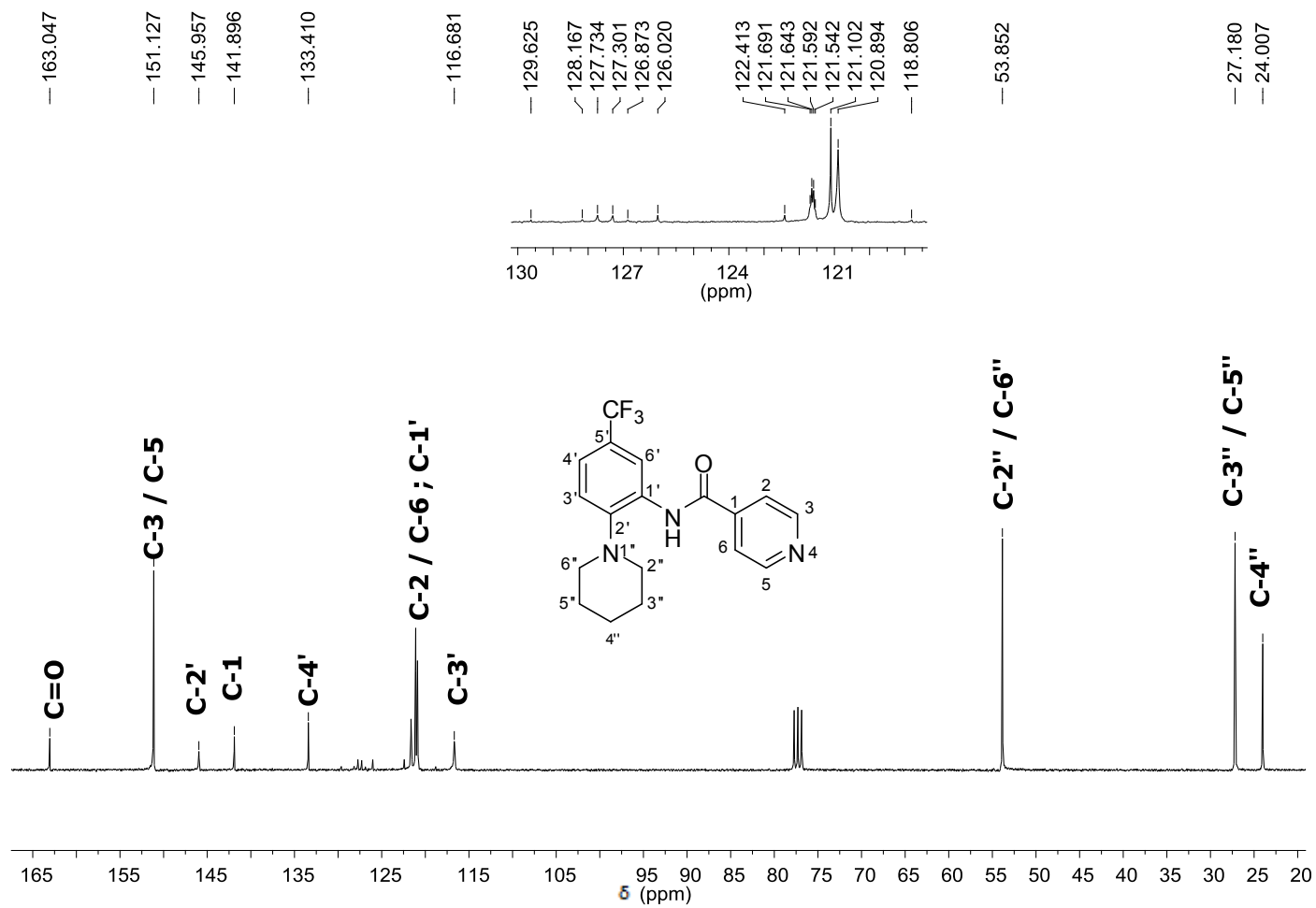


Figura 12 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340**).

Tendo assegurado a obtenção de todas as 23 trifluorometil-aril-amidas (Figura 4, pg.6), procedeu-se à avaliação de suas atividades citotóxicas e do efeito sobre o transporte de elétrons fotossintético (capítulos 3 e 4).

4. CONCLUSÕES

Descreveram-se neste capítulo as etapas envolvidas na obtenção de uma série de trifluorometil-aril-amidas. Foram sintetizadas ao todo 35 substâncias, sendo 6 nitrocompostos (2a-f), 6 anilinas (3a-f) e 23 amidas (SRPIN 340 e 22 análogos). Do total das 23 amidas, 17 delas são inéditas e tiveram suas estruturas confirmadas por meio da espectroscopia no infravermelho e de RMN e espectrometria de massas. Para a síntese dessas substâncias, foram utilizadas metodologias como reações de substituição nucleofílica aromática, redução de grupo nitro e acilação o que permitiu, de um modo geral, que os compostos sintetizados fossem obtidos com rendimento sinteticamente úteis.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, L. C. A. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. Viçosa: Editora UFV, 2008.

FRESENIUS, W., HUBER, J. F. K.; PUNGOR, E.; RECHNITZ, G. A.; SIMON, W.; WEST, TH. S.; Eds. Tables of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds - ¹³C-NMR, ¹H-NMR, IR, MS, UV/VIS, Springer-Verlag, 1989.

GUNANATHAN, C.; BEN-DAVID, Y.; MILSTEIN, D. Direct synthesis of amides from alcohols and amines with liberation of H₂. *Nature*, v. 317, p. 790-792, 2007.

HAGIWARA, M.; FUKUHARA, T.; SUZUKI, M., HOSOYA, T. Method for controlling SR protein phosphorylation, and antiviral agents whose active

ingredients comprise agents that control SR protein activity. United States Patent, 7569536 B2, 2009.

ISHIHARA, K.; OHARA, S.; YAMAMOTO, H. 3,4,5-trifluorobenzenoboronic acid as an extremely active amidation catalyst. *Journal of Organic Chemistry*, v. 61, p. 4196-4197, 1996.

MATTHEWS, T.; SALGO, M.; GREENBERG, M.; CHUNG, J.; DEMASI, R.; BOLOGNESI, D. Enfuvirtide: The first therapy to inhibit the entry of HIV-1 into host CD4 lymphocytes. *Nature Reviews / Drug discovery*, v. 3, p. 215-225, 2004.

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

RAYLE, H. L.; FELLMETH, L. Development of a process for triazine-promoted amidation of carboxylic acids. *Organic Process Research & Development*, v. 3, p. 172-176, 1999.

SCHELZ, D.; ROTZLER, N. Synthesis of 1-aryl- and 1-alkyl-2,3-dimethylquinoxalium perchlorates. Part 3. Synthesis of 1,2,3-trimethyl-6-x- and 1-cyclohexyl-2,3-dimethyl-6-x-quinoxalinium perchlorates. *Dyes and Pigments*, v. 4, p. 305, 1983.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. Química Orgânica. Rio de Janeiro: LTC, v. 2, p. 372-406, 2011.

PATTABIRAMAN, V. R.; BODE, J. W. Rethinking amide bonds synthesis. *Nature*, v. 480, p. 471-480, 2011.

VALEUR, E.; BRADLEY, M. Amides bonds formation: beyond the myth of coupling reagents. *Chemical Society Reviews*, v. 38, p. 606-631, 2009.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE O TRANSPORTE DE ELÉTRONS DAS TRIFLUOROMETIL- ARIL-AMIDAS

3.1 INTRODUÇÃO

As culturas agrícolas estão sujeitas ao ataque de pragas e doenças, tais como insetos, nematóides, vírus, bactérias e fungos. Além disso, as plantas daninhas competem com as culturas por luz, água e nutrientes. Conforme descrito por Deuber (1992), planta daninha pode ser definida como qualquer planta que, isoladamente ou em grupo, causa algum dano ou inconveniência. Ainda de acordo com Deuber (1992) os danos causados por plantas daninhas envolvem diversos aspectos da agricultura e da vida do homem, como a redução da produtividade e do valor da terra, perda da qualidade do produto agrícola, disseminação de pragas e doenças, aumento de custos e maior dificuldade no manejo agrícola, problemas com o manejo da água, interferência com diversas atividades humanas e danos à vida e à saúde, tanto do homem

quanto de animais. Considerando todos esses problemas envolvendo plantas daninhas, seu controle é altamente desejável.

Dentre os vários métodos utilizados para o controle de plantas daninhas (SILVA *et al.*, 2007), o uso de herbicidas tem se tornado o de prática mais difundida. Os primeiros relatos da utilização de substâncias químicas para o controle de plantas daninhas remontam ao início do século XX. Por volta de 1908, pesquisadores como Bolley (North Dakota, EUA), Bonnet (França) e Schulz (Alemanha) usaram sais de cobre e depois ácido sulfúrico para o controle de plantas daninhas em cereais (OLIVEIRA JR. *et al.*, 2011).

Um importante marco no que se refere ao controle químico ocorreu em 1941 com a síntese do ácido 2,4-diclorofenoxiacético, o 2,4-D (Figura 1, pg. 85). Durante a Segunda Guerra Mundial foram descobertas as propriedades fitotóxicas dos derivados do ácido fenoxiacético. Porém, somente após o término da guerra foi anunciado publicamente a ação do 2,4-D como herbicida que causava morte diferenciada de plantas (OLIVEIRA JR. *et al.*, 2011).

Posteriormente, foi descrito o primeiro herbicida (monuron, Figura 1, pg. 85) que não era derivado do ácidos fenóxico, mas pertencente à classe das uréias (OLIVEIRA JR. *et al.*, 2011). Na segunda metade do século 20, ocorreu um grande desenvolvimento da indústria de herbicidas e o controle químico de plantas daninhas intensificou-se. Nesse período, grande número de produtos de diferentes classes químicas e modos de ação foram introduzidos no mercado. Um destes produtos foi o glifosato (Figura 1, pg. 85), descoberto em 1970 por um grupo de pesquisadores da Companhia Monsanto (EUA), componente ativo do herbicida mais vendido no mundo, o Roundup®. Salienta-se que o Roundup® é comercializado em mais de cem países, sendo registrado para uso em mais de uma centena de culturas (TONI *et al.*, 2006). Ele também tem sido usado em áreas urbanas na manutenção de estradas e ferrovias.

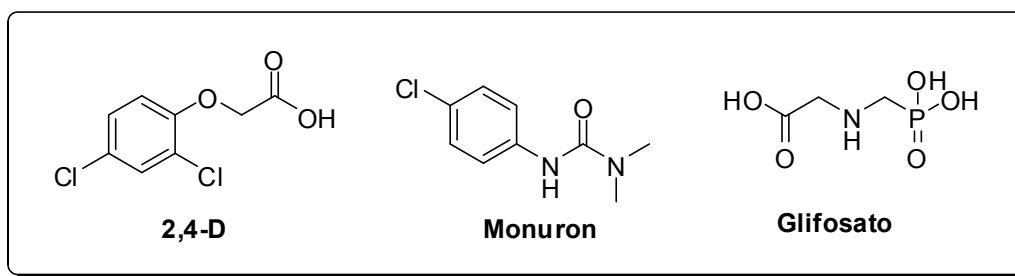


Figura 1 - Estrutura química dos herbicidas 2,4-D, Monuron e ingrediente ativo Glifosato.

Os herbicidas, assim como outras classes de agroquímicos, são indispensáveis na agricultura em todo o mundo e têm desempenhado um papel significativo para o grande aumento da produtividade agrícola alcançada durante os últimos 60 anos. Conforme atesta a FAO, Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, o não controle de pragas levaria a uma redução em cerca de 40% da produção de alimentos. Ou seja, não proteger as plantações implicaria numa situação de calamidade mundial no quadro, hoje, já dramático, conforme o relatório recente da ONU: apesar da crescente oferta de alimentos, a fome atinge cerca de 1 bilhão de pessoas (ANDEF, 2010).

Além de importantes para o crescimento da produtividade agrícola, os agroquímicos desempenham papel importante na economia de muitos países. No Brasil, por exemplo, esse setor em 2013 faturou cerca de 10,500 bilhões de dólares, considerando o montante de vendas de herbicidas, inseticidas, acaricidas e fungicidas, segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal (SINDIVEG, 2014).

Considerando a importância dos agroquímicos, é possível afirmar que o desenvolvimento de novos princípios ativos para o controle de diversos tipos de pragas agrícolas continuará sendo uma área de intensa pesquisa. Esta atividade irá se desenvolver em um mercado altamente competitivo que irá requerer produtos que apresentam elevada eficiência e especificidade, que apresentem preços competitivos, de fácil aplicação e que sejam ambientalmente benignos (LEIN *et al.*, 2004).

3.2 FOTOSSÍNTESE

A fotossíntese, um complexo processo bioquímico envolvendo transferência de elétrons, representa o caminho pelo qual praticamente toda a energia entra na biosfera. Sem a existência desse fluxo de energia oriundo do sol e canalizado nas células através dos cloroplastos, a vida no Planeta Terra se extinguiria por completo (FLOOD *et al.*, 2011).

As plantas convertem energia solar (luminosa) em energia química, através do processo fotossintético. Os produtos da fotossíntese são carboidratos formados a partir de dióxido de carbono (CO₂) e água (H₂O). Esses produtos da síntese fotossintética são de suma importância para os vegetais por dois motivos: (1) são a fonte energética para o vegetal, ou seja, podem ser quebrados pela respiração para liberar a energia necessária para os processos vitais; (2) esses carboidratos podem ser convertidos em diversas biomoléculas importantes como proteínas e lipídeos (NELSON e BEN-SHEM, 2004).

O processo fotossintético, de modo geral, é dividido em duas fases: a primeira denominada de fase fotoquímica e a segunda de fase bioquímica (ou ciclo de Calvin) (DAYAN e ZACCARO, 2012).

As reações na fotossíntese natural podem ser entendidas analisando-se o conhecido Esquema-Z, que mostra como o transporte de elétrons fotossintético ocorre da água para o acceptor biológico NADP⁺, envolvendo os fotossistemas I (FS I) e II (FS II), Figura 2, pg. 87. No FS II, clorofila *a* presente no centro de reação P680 absorve energia dos fótons, o que excita os elétrons e transfere-os para plastoquinona (Pq), um receptor de elétrons. Enquanto isso, os P680 fotoexcitados (P680 *) geram uma força motriz para a extração de elétrons da molécula água no centro de cálcio-manganês, que atua como um catalisador da oxidação de água. A cadeia transportadora de elétrons, a qual é constituída por Pq, complexo de citocromo, e plastocanina (Pc), transporta os elétrons do FS II ao FS I. À semelhança do FS II, os elétrons excitados pelo P700 são transferidos à ferredoxina (Fd) e utilizados para reduzir NADP⁺ para NADPH com o auxílio da NADP redutase. O NADPH recém formado é, então, consumido para fixar CO₂ através da cascata biocatalítica do ciclo de Calvin. De maneira geral, pode-se dizer que a fotossíntese natural consiste de um

complexo processo de conversão de energia, em várias etapas, envolvendo oxidação da água, captura de luz, transferência de elétrons em cascata e o ciclo de Calvin (KIM *et al.*, 2014).

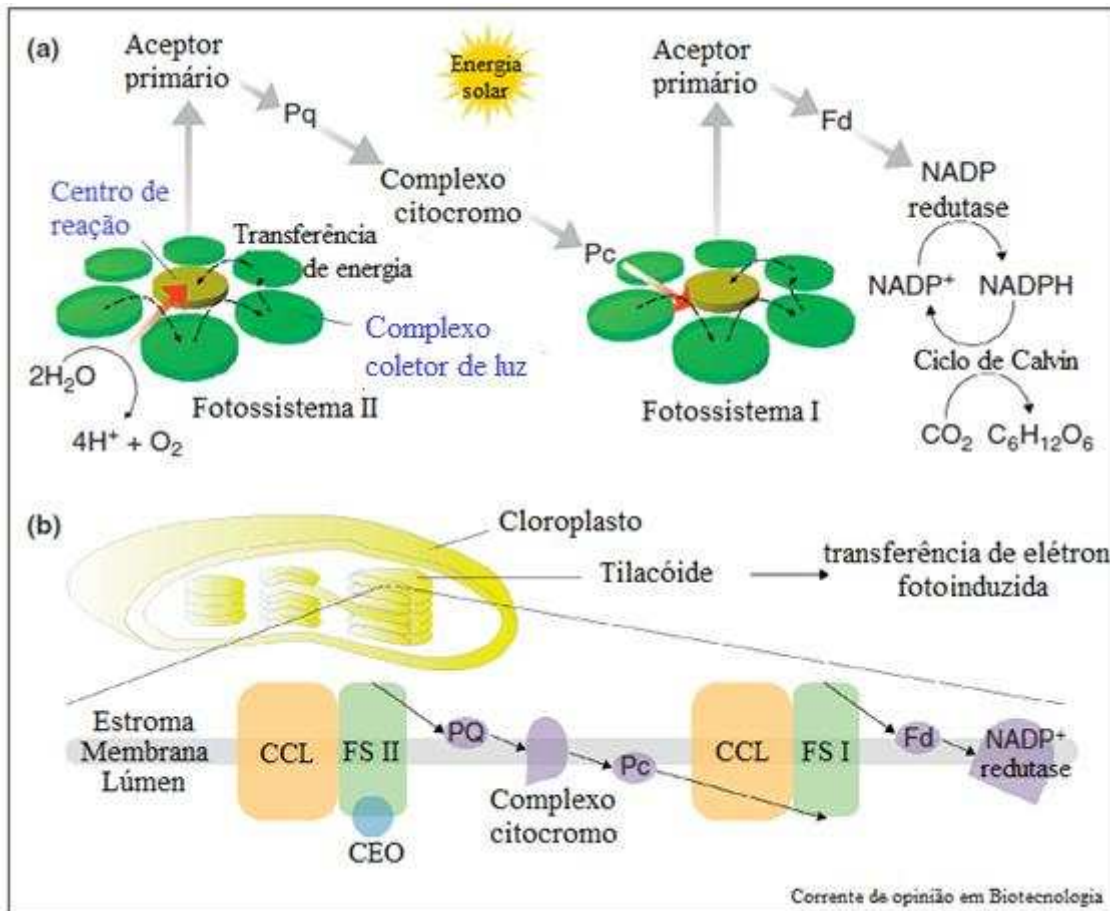
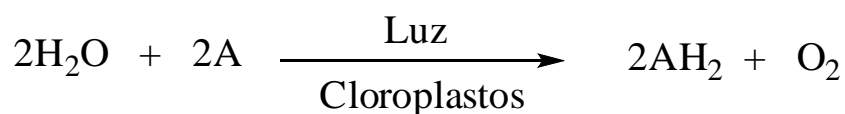


Figura 2 - a) A fotossíntese natural envolve uma cadeia transportadora de elétrons, que inclui vários componentes tais como plastoquinona (Pq), complexo citocromo e plastocianina (Pc). O centro de reação no fotossistema II (P680) desencadeia uma reação de oxidação da água no centro de reação envolvendo oxigênio (CEO). No fotossistema I ocorre transferência de elétrons excitados para NADP⁺ através do receptor primário ferridoxina (Fd) resultando na formação de NADPH. O NADPH obtido na fase luminosa é, então, consumido durante a redução de dióxido de carbono em carboidratos no ciclo de Calvin. b) A membrana tilacóide nos cloroplastos, onde uma eficiente transferência de elétrons fotoinduzida ocorre por meio de um arranjo preciso e coordenado de componentes dos fotossistemas I e II. Adaptado de KIM *et al.*, 2014.

Por fim, ressalta-se que o desempenho do FS II e consequentemente a capacidade de conversão da energia luminosa em carboidratos podem ser modificados por uma série de estresses, como por exemplo, temperatura, luminosidade, além de algumas substâncias específicas inibidoras do FS II, como é o caso de alguns herbicidas (DAYAN e ZACCARO, 2012).

3.3 A REAÇÃO DE HILL

Em 1937, Robert Hill, na Universidade de Cambridge, realizou experimentos que foram de fundamental importância no entendimento dos eventos que ocorrem na fotossíntese. Empregando centrifugação diferencial, ele conseguiu isolar cloroplastos a partir de plantas. Ele determinou que quando extratos contendo cloroplastos eram iluminados na presença de água e de um aceptor artificial de elétron (aceptor não biológico), ocorria a liberação de oxigênio (HILL, 1937), conforme mostrado pela equação seguinte



onde A é um receptor não natural de elétrons.

Esse processo fotossintético de transporte de elétrons da água para um aceptor não natural de elétrons é conhecido como reação de Hill. Vários aceptores podem ser utilizados tais como íons férricos, benzoquinona e corantes como o 2,6-diclorofenolindofenol (DCFIF). Quando o corante DCFIF de coloração azul (forma oxidada) aceita elétrons ele é convertido na sua forma reduzida incolor, permitindo assim que essa alteração possa ser medida espectrofotometricamente (Figura 3).

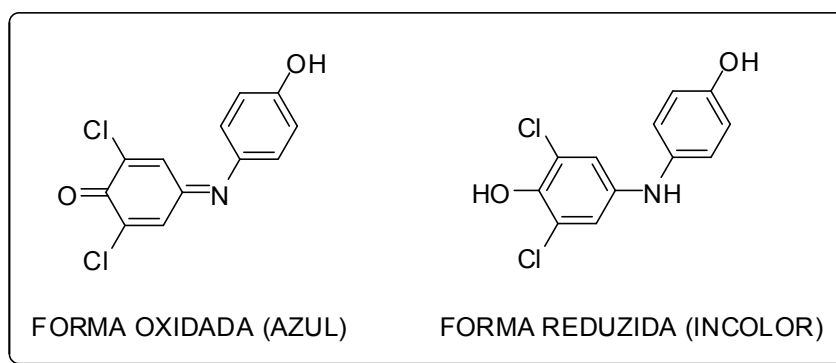


Figura 3 - Formas oxidada e reduzida do corante 2,6-diclorofenolindofenol.

A importância da reação de Hill está relacionada ao fato de que este pesquisador demonstrou como a absorção de luz induz uma alteração química que resulta na conversão da energia luminosa em energia química. Além disso, Hill também observou em seus experimentos que não havia produção de CO₂.

Essa observação demonstra o fato de que na fotossíntese a liberação de oxigênio pode ser separada da redução do CO₂.

A reação de Hill é uma reação redox básica do fotossistema II (FS II). Herbicidas que inibem essa reação pertencem ao grupo de herbicidas FS II (IMRAMOVSKY *et al.*, 2011). Portanto substâncias que inibem a reação de Hill geralmente provocam inibição do processo de fotossíntese em plantas e podem ser consideradas como estruturas-modelo para o desenvolvimento de novos herbicidas (HANSCH e LEO, 1995).

3.4 INIBIDORES DA FOTOSSÍNTESE

No processo de transporte de elétrons entre os FS II e FS I, a plastoquinona desempenha um papel de suma importância. Em condições normais ela se liga em um sítio específico na proteína D1 do FS II, denominado sítio Q_B. Nesse sítio, a plastoquinona é parcialmente reduzida, dando sequência ao fluxo de elétrons entre o FS II e o complexo do citocromo b6/f (OLIVEIRA JR. *et al.*, 2011). No entanto, este sítio de ligação Q_B na proteína D1 no FSII não é seletivo, uma vez que pode alocar várias outras substâncias que então inibirão o FS II, como é o caso de alguns herbicidas (FUERST e NORMAN, 1991; DAYAN e ZACCARO, 2012; TROPALDI, 2012). Essa ocupação do sítio de ligação por estes herbicidas não permite a formação da plastoquinona reduzida (plastoidroquinona). Como consequência, há um bloqueio do transporte de elétrons entre os fotossistemas, resultando na interrupção da produção de NADPH e ATP e suspensão da fixação de carbono, ocasionando a inanição de carboidratos e o estresse oxidativo (CARVALHO, 2013; POWLES e YU, 2010).

Os herbicidas inibidores do FS II, utilizados no Brasil, são divididos em oito grupos químicos a saber: amidas (ex.: propanil), benzotiadiazinonas (ex.: bentazon), nitrilas (ex.: ioxynil), triazinas (ex.: ametrina e atrazina), triazinonas (ex.: met amitron, metribuzin e hexazinona), triazolinonas (ex.: amicarbazon), uracilas (ex.: bromacil) e uréias (diuron, linuron e tebuthiuron). Figura 4, pg. 90 (CARVALHO, 2013).

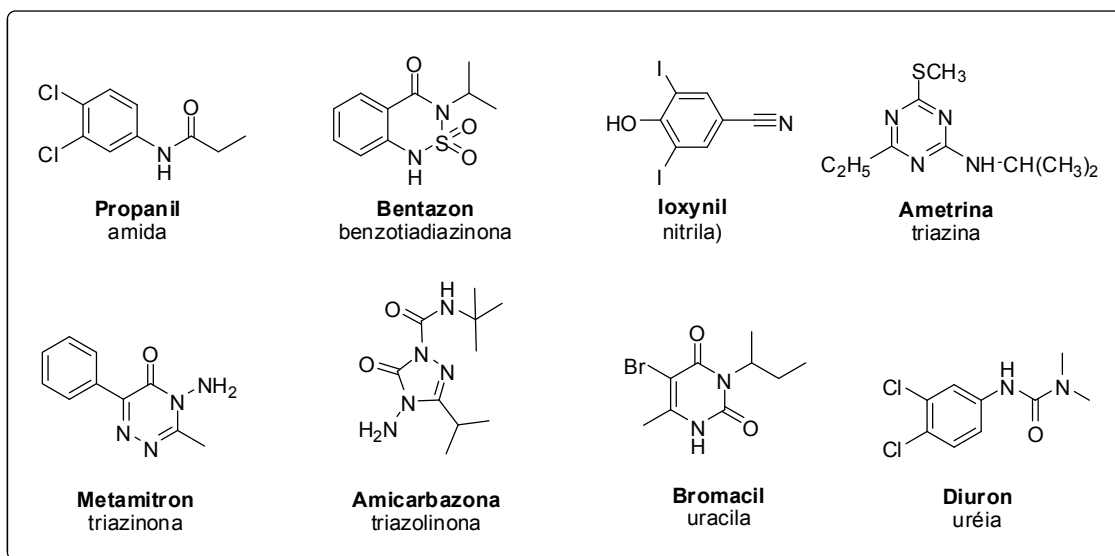


Figura 4 - Exemplos de herbicidas (utilizados no Brasil) inibidores de FS II e seus respectivos grupos químicos

Os inibidores do FS II são também conhecidos como inibidores da síntese de Hill, por inibirem a evolução do oxigênio a partir da água na presença de cloroplasto e de um aceptor adequado de elétrons (OLIVEIRA JR. *et al*, 2011). A ação seletiva destes compostos foi descoberta na década de 1950, mas tais substâncias constituem, até hoje, um dos mais numerosos e importantes grupos de herbicidas, com ampla utilização em diversas culturas, tais como milho e cana-de-açúcar. Porém, a pesquisa por novos inibidores do FS II é de relevância, uma vez que a cada ano surgem novas populações resistentes a esses tipos de inibidores. Como exemplo mencionaM-se os registros de centenas de populações resistentes de *Echinochloa crusgalli* e *Echinochloa colona* que já foram identificadas em vários países que fazem uso da amida propanil no controle de plantas daninhas em culturas de arroz (OLIVEIRA JR. *et al*, 2011).

Herbicidas pertencentes ao grupo de inibidores do FS I interrompem o percurso normal de elétrons, impedindo a redução da ferredoxina e as reações subsequentes descritas na Figura 5, pg. 91. A ausência de substâncias reduzidas acarreta num desequilíbrio bioquímico. Espécies altamente reativas, tais como os radicais livres são gerados, os quais acabam levando à clorose, necrose e morte das células vegetais, uma vez que esses radicais rompem ligações de proteínas e lipídeos das membranas, que perdem sua função e

permitem o vazamento do conteúdo celular (CARVALHO, 2013; OLIVEIRA JR. *et al.*, 2011).

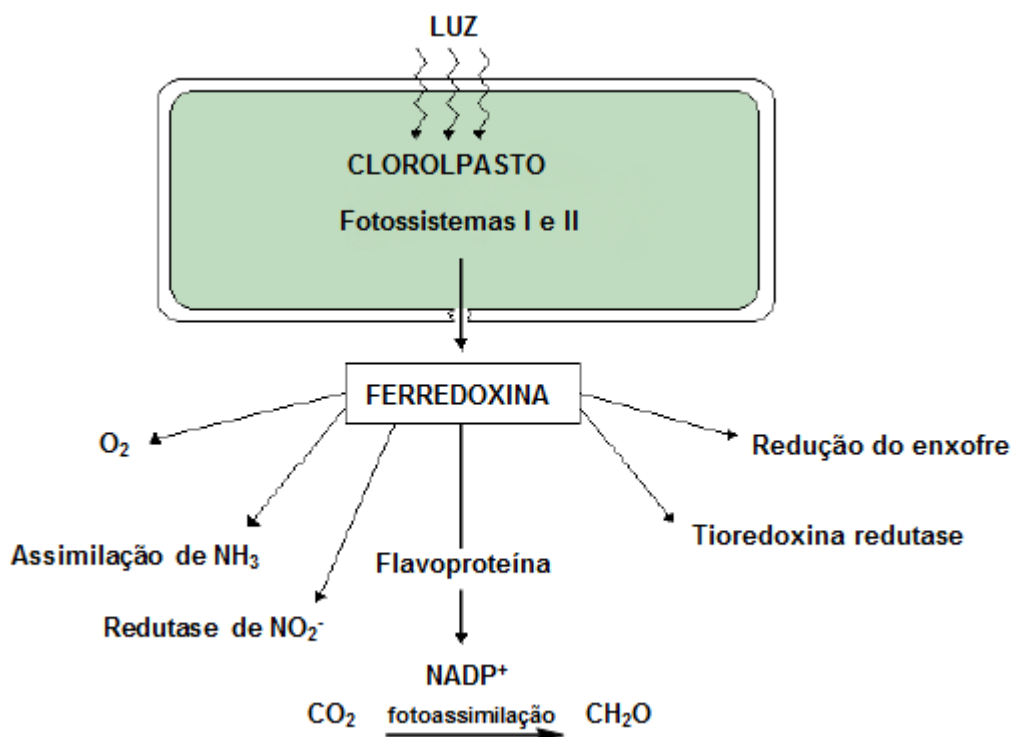


Figura 5 - Reações metabólicas de transferência de elétrons em que a ferredoxina está envolvida e que são bloqueadas após o desvio do fluxo de elétrons pelos inibidores do FS I (bipiridínicos) nos cloroplastos. Adaptada de (OLIVEIRA JR. *et al.*, 2011).

Herbicidas inibidores do FS I pertencem ao grupo químico dos bipiridínicos (paraquat e diquat), Figura 6.

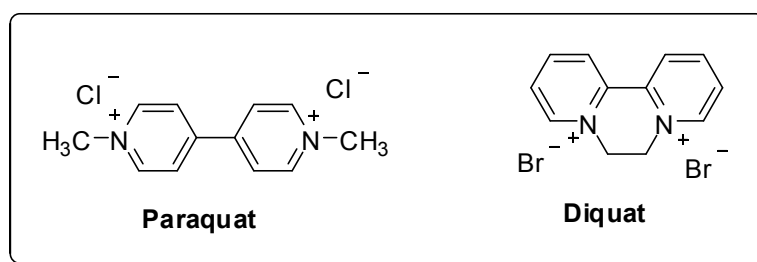


Figura 6 - Exemplos de herbicidas inibidores do FS I.

Ressalta-se ainda que os herbicidas bipiridínicos são usados para controle de plantas daninhas tanto de folhas largas quanto folhas estreitas (CARVALHO, 2013).

Considerando que vários herbicidas inibidores da fotossíntese possuem como característica estrutural a presença de um grupo amida e levando em consideração a necessidade da busca de novos compostos para o controle químico de plantas daninhas, descreve-se neste capítulo o resultado da avaliação *in vitro* dos efeitos das trifluorometil-aril-amidas sobre o transporte de elétrons fotossintético.

3.5 MATERIAL E MÉTODOS

3.5.1 Metodologia empregada na avaliação dos efeitos das trifluorometil-aril-amidas sobre o transporte de elétrons fotossintético

3.5.1.1 Isolamento de cloroplastos

Cloroplastos fotossinteticamente ativos foram extraídos de folhas de espinafre (*Spinacea oleracea* L.), obtidas em supermercados ou feiras livres. Para o processo de extração, folhas livres da nervura central e das extremidades basal e apical foram misturadas com uma solução-tampão 20 mmol L⁻¹ de *N*-tris(hidroximetil)metilglicina(tricina)-NaOH (pH = 8,0; 5 mL de solução por grama de material vegetal), previamente resfriada em banho de gelo e contendo 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂ e 0,4 mol L⁻¹ de sacarose. Esse material foi homogeneizado em um liquidificador doméstico por 30 segundos, empregando-se velocidade máxima. O material macerado foi filtrado através de gaze cirúrgica, e o filtrado, centrifugado a 4 °C (1 minuto, 500 g). O sobrenadante foi submetido a nova centrifugação (10 minutos, 1.500 g). Os cloroplastos, contidos no precipitado, foram então suspensos em uma solução não-tamponada de sacarose. A suspensão foi imediatamente diluída (proporção de 1:1 v/v) com uma solução tamponada de sacarose. A nova suspensão assim obtida foi mantida em banho de gelo e abrigada da luz, sendo utilizada logo após sua preparação. Para determinação do teor de clorofila, alíquotas dessa suspensão foram pipetadas e convenientemente diluídas com acetona 80% (v/v). Após diluição, medidas de absorbância foram feitas nos comprimentos de onda de 645 e 663 nm. O conteúdo de clorofila foi calculado com base na fórmula de Arnon (HALL, 1980):

$$\text{Clorofila } (\mu\text{g mL}^{-1}) = 20,2 (A_{645}) + 8,02 (A_{663})$$

3.5.1.2 Avaliação do efeito das trifluorometil-aril-amidas sobre o transporte de elétrons fotossintético

Alíquotas da suspensão de cloroplastos contendo 20 μg de clorofila foram incubadas a 24 °C em cubetas de 1 mL contendo solução tamponada de tricina-NaOH (pH = 8,0), 10 mmol L⁻¹ de NaCl, 5 mmol L⁻¹ de MgCl₂, 0,2 mol L⁻¹ de sacarose e 1 mmol L⁻¹ de ferricianeto de potássio (K₃[Fe(CN)₆]). As cubetas foram expostas a uma luz saturante (800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A taxa de redução do ferricianeto foi medida a 420 nm a cada 30 segundos durante 10 minutos e contra um branco. A atividade foi calculada sobre a porção linear da curva, a partir de coeficiente de extinção molar de 1.000 M⁻¹ cm⁻¹. O valor da taxa de redução de ferricianeto encontrado a partir deste procedimento corresponderá ao controle.

As trifluorometil-aril-amidas avaliadas (Figura 4, pg. 6) foram dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO). Em seguida, alíquotas dessas soluções foram convenientemente diluídas com água até a obtenção de concentrações que variaram 0,5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A avaliação dessas amidas, nas suas respectivas concentrações, sobre o transporte de elétrons direcionada da água para o oxidante não biológico ferricianeto de potássio, foi conduzida via adição destes compostos às suspensões de cloroplastos preparadas como descrito anteriormente. Similarmente ao que foi descrito acima, para cada valor de concentração a taxa de redução do ferricianeto de potássio foi medida a 420 nm a cada 30 segundos durante 10 minutos e contra um branco. Os experimentos foram realizados em quadruplicata. Os resultados foram expressos como valores de IC₅₀ (concentração necessária para inibir 50% do transporte de elétrons da fotossíntese).

A avaliação *in vitro* do efeito inibitório sobre o transporte de elétrons foi realizado pelo Professor Giuseppe Forlani da Universidade de Ferrara - Itália.

3.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As trifluorometil-aril-amidas apresentadas na Figura 4 (pg. 6) foram avaliadas no tocante às suas habilidades em interferir ou não no transporte de elétrons, dirigido pela luz, da água para o oxidante não-biológico ferricianeto de potássio (reação de Hill), na presença de cloroplastos isolados e iluminados, segundo metodologia descrita por Vicentini e colaboradores (2005). Na avaliação da atividade biológica foram utilizadas concentrações de 0,5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os resultados foram analisados por meio de regressão não-linear, obtendo os valores IC_{50} apresentados na Tabela 1, pg. 95.

Tabela 1 - Avaliação *in vitro* da atividade das trifluorometil-aril-amidas sobre a redução do ferricianeto de potássio na presença de cloroplastos isolados de folhas de *Spinacea oleracea* L.^a.

SRPINs	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)
SRPIN 340	26,1 ± 4,7
SRPIN 340#01	93,8 ± 13,0
SRPIN 340#02	30,9 ± 3,2
SRPIN 340#03	63,0 ± 8,1
SRPIN 340#04	213 ± 86
SRPIN 340#05	1,5 ± 0,3
SRPIN 340#06	13,2 ± 1,4
SRPIN 340#08	124 ± 26
SRPIN 340#09	19,6 ± 4,2
SRPIN 340#10	85,2 ± 16,7
SRPIN 340#11	1,2 ± 0,2
SRPIN 340#12	NA
SRPIN 340#13	23 ± 3,5
SRPIN 340#14	210 ± 82
SRPIN 340#15	76,3 ± 7,5
SRPIN 340#16	245 ± 136
SRPIN 340#17	4,9 ± 0,7
SRPIN 340#18	107 ± 44
SRPIN 340#19	NA
SRPIN 340#20	128 ± 69
SRPIN 340#21	13,9 ± 1,8
SRPIN 340#22	NA
SRPIN 340#23	1,1 ± 0,3

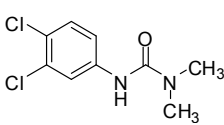
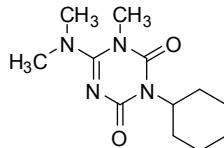
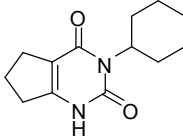
^a Atividade determinada conforme metodologia descrita na Seção 3.5 (Material e Métodos).

^{aa}NA (não ativo)= IC₅₀ > 500 μM

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que, dentre das 23 trifluorometil aril amidas (SRPINs) submetidas à avaliação da atividade biológica, apenas 3 (**SRPIN 340#12**, **SRPIN 340#19** e **SRPIN 340#22**) não foram ativas. As demais apresentaram valores de IC₅₀ variando de 1,1 a 245

$\mu\text{mol L}^{-1}$. Dentre essas substâncias ativas as substâncias **SRPIN 340#05**, **SRPIN 340#11**, **SRPIN 340#17** e **SRPIN 340#23** foram aquelas que apresentaram maior efeito inibidor sobre o transporte de elétrons na reação de Hill e seus respectivos valores de IC_{50} foram 1,5, 1,2, 4,9 e 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Para efeito de comparação, os herbicidas comerciais e inibidores da fotossíntese (Tabela 2) utilizados como controle positivo por DEMUNER e colaboradores (2013), em condições similares às aquelas descritas na seção 3.5 (pg. 92) para avaliação do efeito de compostos orgânicos sobre o transporte de elétrons fotossintético, apresentaram valores de IC_{50} variando de 0,1 a 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Tabela 2 - Concentrações dos herbicidas Diuron, Hexazinona e Lenacil capazes de inibir 50% da taxa basal de transporte fotossintético de elétrons em espinafre (*Spinacia oleracea* L.). Os valores de IC_{50} estão representados em $\mu\text{mol L}^{-1}$ (DEMUNER, *et al.*, 2013).

Herbicidas			
	DIURON	HEXAZINONA	LENACIL
			
IC_{50}	0,27	0,11	0,08

É importante observar que os compostos mais ativos (Tabela 1, pg. 95; Figura 2, pg. 6) possuem como característica estrutural comum a presença do grupo 4-bromofenila (Figura 2, pg. 6), sugerindo que a presença deste substituinte é impactante para a atividade biológica.

3.7 CONCLUSÕES

As trifluorometil-aryl-amidas foram avaliadas *in vitro* com respeito à sua capacidade de interferirem sobre o transporte de elétrons fotossintético em células eucarióticas. Enquanto três amidas não apresentaram atividade, as amidas restantes atuaram como inibidoras da reação de Hill. As amidas que apresentaram os melhores resultados como inibidoras da reação de Hill apresentaram em sua estrutura o grupo 4-bromofenila. Assim, é bastante

plausível projetar que novas modificações estruturais podem ser realizadas de modo a se obter compostos que podem apresentar maior eficácia no que diz respeito à atividade biológica. Nesse contexto e considerando os resultados dos ensaios de avaliação da atividade inibitória do transporte de elétrons *in vitro*, pode-se afirmar que novos derivados poderão ser preparados e biologicamente avaliados, mantendo-se o substituinte bromofenila e variando as posições de orientação (*orto* ou *meta*) do átomo de bromo ou então até mesmo utilizando-se substituintes com mais de um átomo de bromo ligado ao anel aromático.

3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDEF (Associação Nacional de Defesa Vegetal). Defensivos agrícolas: ciência que protege a agricultura brasileira, 2010. Disponível em <<http://www.andef.com.br/noticias/noticia.asp?cod=154> >. Acesso em 25 de junho de 2014.

CARVALHO, L. B. Herbicidas. Editado pelo autor, Lages, Santa Catarina, 62 p., 2013. Disponível em <<http://leonardobcarvalho.files.wordpress.com/2013/02/livroherbicidas.pdf> >. Acesso em 03 de julho de 2014.

DAYAN, F. E.; ZACCARO, M. L. M. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 102, p. 189-197, 2012.

DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; MIRANDA, A. C. M.; GERALDO, G. C.; DA SILVA, C. M.; GILBERTI, S.; BERTAZZINI, M.; FORLANI, G. The fungal phytotoxin alternariol 9-methyl éter and some its synthetic analogues inhibit the photosynthetic electron transport chain. *Journal of Natural Products*, v. 76, p. 2234-2245, 2013.

DEUBER, R. *Ciência das plantas daninhas: Fundamentos*. Jaboticabal, SP: FUNEP, 431p., 1992.

FLOOD, P. J.; HARBINSON, J.; AARTS, M. G. M. Natural genetic variation in plant photosynthesis. *Trends in Plants Science*, v. 16, p. 327-335, 2011.

FUERST, E. P.; NORMAN, M. A. Interactions of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Science*, v. 39, p. 458-464, 1991.

KIM, H.; NAM, D. H.; PARK, C. B. Nanobiocatalytic assemblies for artificial photosynthesis. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 28, p. 1-9, 2014.

HALL, D. O. *Fotossíntese*. São Paulo: EPU, 89 p., 1980.

HANSCH, C.; LEO, A. *Exploring QSAR- Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology*. Washington, DC: ACS Professional Reference Book, 557 p., 1995.

HILL, R. Oxygen evolved by isolated chloroplasts. *Nature*, v. 139, p. 881-882, 1937.

IMRAMOVSKY, A.; PESKO, M.; FERRIZ, J. M.; KRALOVA, K.; VINSOVA, J.; JAMPILEK, J. Photosynthesis-Inhibiting efficiency of 4-choro-2-(chorophenylcarbamoyl)-phenyl alkylacarbamates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 21, p. 4564-4567, 2011.

LEIN, W.; T, BORNKE, F.; REINDL, A.; EHRHARD, T.; STITT, M.; SONNEWALD, U. Target-based Discovery of novel herbicides. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 7, p. 219-225, 2004.

NELSON, N.; BEN-SHEM, A. The complex architecture of oxygenic photosynthesis. *Nature Reviews / Molecular cell biology*, v. 5, p. 1-12, 2004.

OLIVEIRA, JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. *Biologia e manejo de plantas*. Omnipax editora: Curitiba, p. 1-348, 2011.

POWLES, S. B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, v. 61, p. 317-347, 2010.

SINDIVEG (Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Devesa Vegetal). Press - Helicoverpa contribui para o crescimento do mercado de insumos no Brasil. Disponível em <<http://www.sindiveg.org.br/noticia.php?ed=01&cod=2373>>. Acesso em 25 de junho de 2014.

SILVA, A. A.; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R.; SANTOS, J. B. *Métodos de Controle de Plantas Daninhas*. In: SILVA, A. A., SILVA, J. F. (Eds.). *Tópicos em manejo de plantas daninhas*. Editora UFV: Viçosa, p. 63-68, 2007.

TONI, L. R. M.; SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M. Adsorção de glyphosate sobre solos e minerais. *Química Nova*, v. 29, p. 829-833, 2006.

TROPALDI, L. Tolerância de *Digitaria ciliaris*, *Digitaria horizontalis* e *Digitaria nuda* a herbicidas usados em cana-de açúcar. V. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Agricultura), 2012.

VICENTINI, C. B.; MARES, D.; TARTARI, A.; MANFRINI, M.; FORLANI, G. Synthesis of pyrazole derivatives and their evaluation as photosynthetic electron transport inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 3848-3855, 2005.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE TRIFLUOROMETIL-ARIL-AMIDAS

4.1 INTRODUÇÃO

Atualmente são conhecidos mais de cem tipos de câncer, diferenciados pela etiologia, processo de evolução e forma de tratamento e, por isso, o câncer não pode ser definido como uma única patologia. A célula cancerígena caracteriza-se por perdas funcionais em consequência da ausência de diferenciação, proliferação incontrolada, invasividade dos tecidos adjacentes e metástase (CARVALHO, 2006).

No ano de 2012, estima-se que 8,2 milhões de pessoas no mundo morreram vítimas de câncer e o número de pessoas diagnosticadas ultrapassou os 14 milhões, conforme informado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (STEWART e WILD, 2014).

Em 2014, o Brasil deverá ter cerca de 576 mil novos casos de câncer diagnosticados. A estimativa é do Inca (Instituto Nacional do Câncer) e do

Ministério da Saúde. Os tipos de câncer que mais atingirão brasileiros neste presente ano serão o de pele (182 mil casos), de próstata (68,8 mil), de mama (57,1 mil), de intestino (33 mil) e de pulmão (27 mil) (INCA, 2013).

Ainda de acordo com dados do INCA, o câncer no Brasil, assim como em países desenvolvidos, representa a segunda causa de morte entre crianças e adolescentes de 1 a 19 anos. Os tumores mais frequentes na infância e na adolescência são as leucemias (que afeta os glóbulos brancos), os do sistema nervoso central e linfomas (sistema linfático) (INCA, 2009).

As leucemias são oriundas de mutações ocorridas no processo de diferenciação celular, que ocorre na medula óssea (SIQUEIRA, 2014). Em determinado instante desse processo ocorre a subdivisão das células de origem linfóide das células de origem mieloide, fato que explica a ocorrência de diferentes tipos de leucemias. Em etapas posteriores (Figura 1), as células linfóides ainda se diferenciam em linfócitos B e T (KING e GOODELL, 2011).

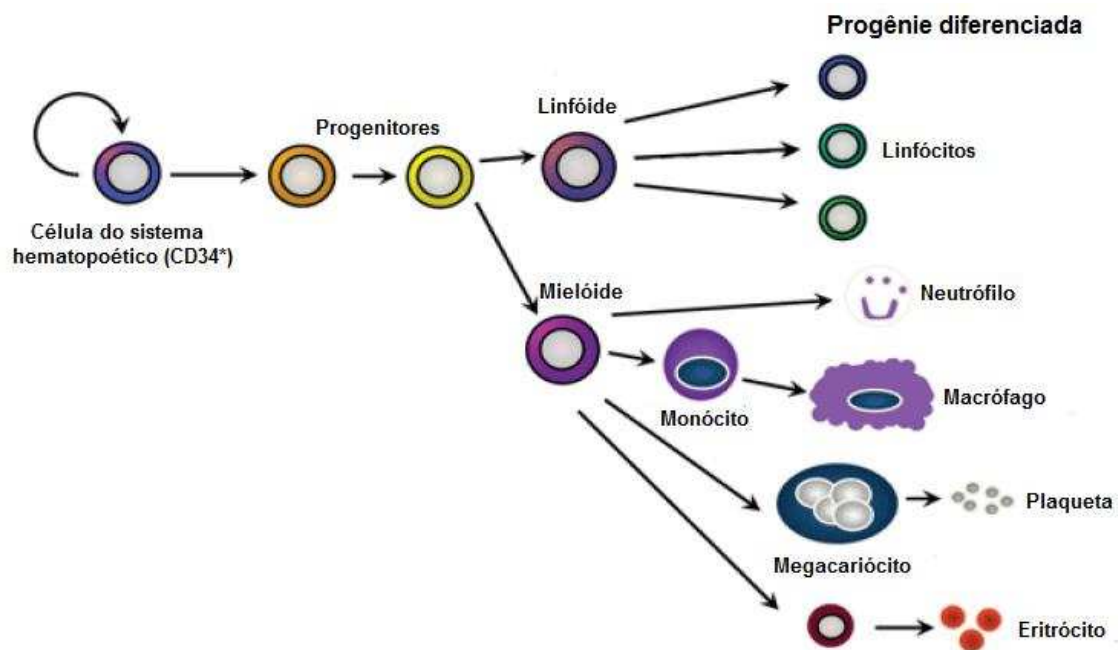


Figura 1 - Processo de diferenciação celular do sistema hematopoético. Adaptado de KING e GOODELL, 2011.

Um fato muito observado no desenvolvimento de células neoplásicas é a desregulação da atividade da maquinaria de *splicing*, uma vez que este é um passo importante da expressão gênica. O *splicing* é um mecanismo molecular que media a remoção das sequências dos íntrons e promove a junção dos

éxons no pré-mRNA de maneira altamente regulada (WARD e COOPER, 2010). Além disso, várias isoformas proteicas geradas por *splicing* alternativo podem desempenhar papéis cruciais para a progressão do câncer e, por este motivo, são objetos de intervenção terapêutica experimental (KELEMEN *et al.*, 2013). Portanto, o entendimento de mecanismo do controle de proteínas que atuam na regulação do ciclo celular, em especial quinases que regulam a atividade da maquinaria de *splicing* sobre o pré-mRNA, tem despertado o interesse de muitos pesquisadores, principalmente visando à descoberta de novos fármacos.

Neste contexto, a superexpressão e desregulação na atividade de quinases SRPKs (*serine arginine protein kinases*) tem-se apresentado como relevantes fatores na promoção de proliferação celular em vários cânceres (HAYES *et al.*, 2006; HAYES *et al.*, 2007; JANG *et al.*, 2008; GOUT *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2013). Em relação a leucemia, pesquisas demonstraram a superexpressão da quinase SRPK1 em indivíduos com leucemias linfóide aguda derivada de célula T e mielóide crônica (SALESSE *et al.*, 2004; HISHIZAWA *et al.*, 2005). Ademais, níveis elevados da quinase SRPK2 foram encontrados em células leucêmicas linfóide aguda derivadas de células B e T, e em células de leucemia mielóide crônica (JANG *et al.*, 2008). Quando superexpressas as SRPKs alteram a atividade os fatores SR sobre o transcrito primário, o que eventualmente pode ocasionar a expressão de isoformas contribuintes para o processo tumorigênico (ZHOU e FU, 2013). Por isso, acredita-se que a superexpressão e a desregulação da atividade destas quinases possam ser utilizadas como alvo para o tratamento quimioterápico da leucemia.

Nesta contextura, a substância *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil) fenil]-isonicotinamida, também conhecida como **SRPIN 340** (sua estrutura é repetida na Figura 2, pg. 103), que é um derivado da isonicotinamida, tem-se apresentado como um inibidor ATP-competitivo altamente seletivo na inibição de quinases SRPKs (SRPK1 e SRPK2), as quais estão envolvidas na regulação do processo de *splicing* alternativo (FUKUHARA *et al.*, 2006; HAGIWARA *et al.*, 2009). Embora alguns estudos tenham relatado que esta amida apresenta potencial para aplicação terapêutica em tratamentos de infecção viral e terapias antiangiogênicas contra neovascularização retinal de

certos tumores, sua aplicação como antitumoral ainda não foi descrita (FUKUHARA *et al.*, 2006; KARAKAMA *et al.*, 2010; NOWAK *et al.*, 2010).

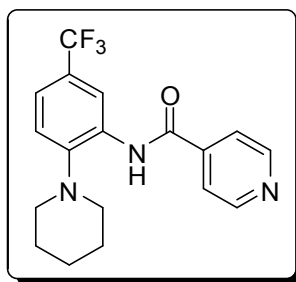


Figura 2 - Estrutura química da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340**).

Inúmeros esforços têm sido feitos ao longo das últimas décadas para melhorar as opções terapêuticas disponíveis, e diversas substâncias químicas (fármacos) foram descobertas e utilizadas na terapêutica antineoplásica. Dentre estas estão o realtrixede (Tomudex[®]), o paclitaxel (Taxol[®]), o etoposídeo (VP-16, Etopophos[®], VePesid[®] ou Toposar[®]), o metrotexato (Miaantrex CS[®]), a procarbazina (Natulanar[®]), a cisplatina (Platinil ou Platinol[®]) e a dacarbazina (Faldacar[®]), Figura 3 (pg. 104).

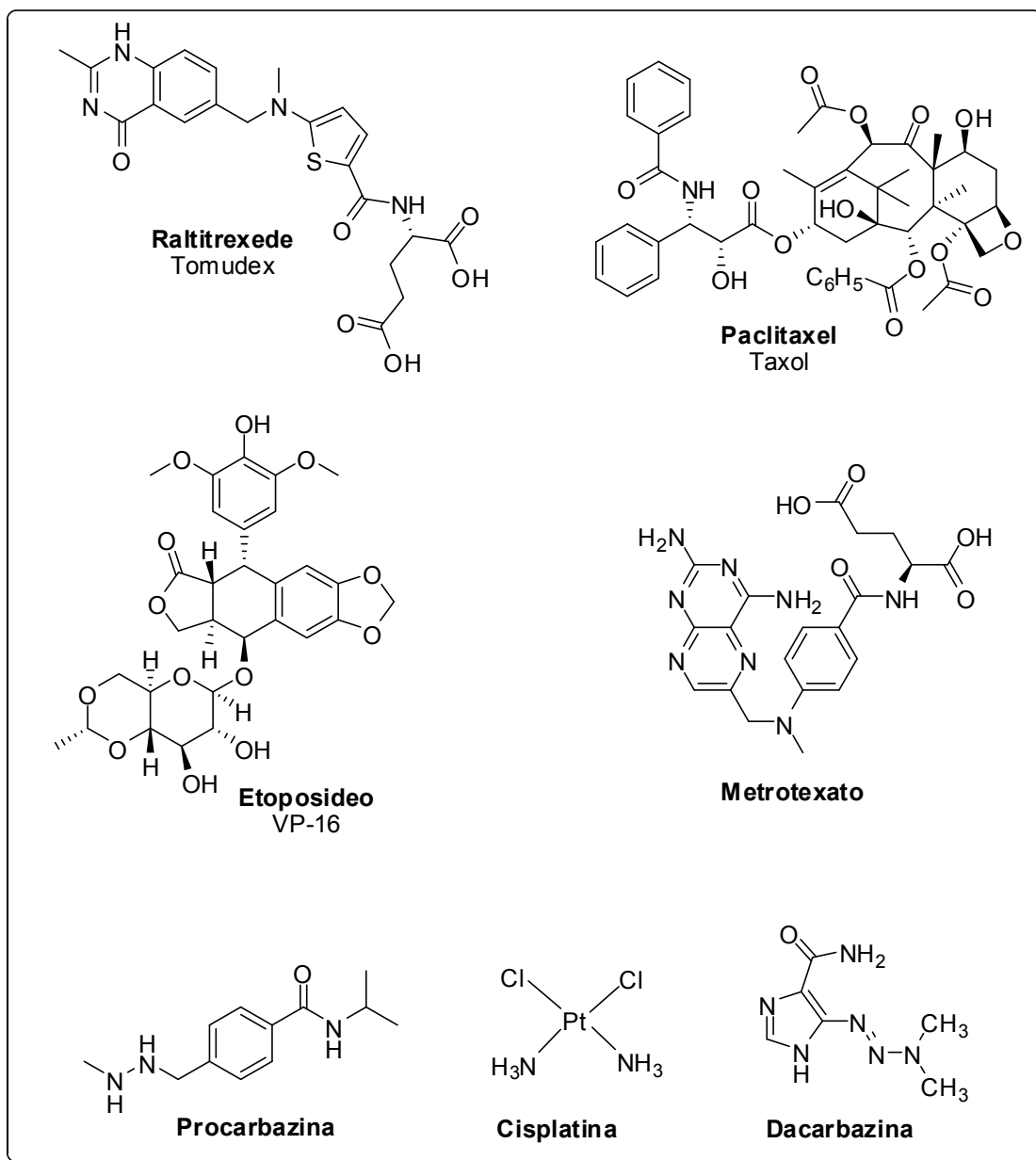


Figura 3 - Estrutura de alguns quimioterápicos empregados no tratamento do câncer.

Os agentes quimioterápicos atuais exibem uma janela terapêutica estreita, devido à sua falta de seletividade contra células cancerosas. Portanto o objetivo final da quimioterapia do câncer é o desenvolvimento de drogas seletivas que possam matar células de tumores malignos ou torná-las benignas, sem afetar as células normais.

Assim, considerando-se a necessidade de descoberta de novos fármacos para o câncer, examinou-se o efeito do **SRPIN 340** e seus análogos

(Figura 2, pg. 6) na proliferação de células leucêmicas através de ensaios de citotoxicidade.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Generalidades

O ensaio de avaliação da citotoxicidade do **SRPIN 340** e de seus análogos foi realizado em colaboração com o estudante de mestrado em Bioquímica Agrícola Raoni Pais Siqueira e seu orientador, o professor Dr. Gustavo Costa Bressan do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV.

As linhagens de células de leucemia utilizadas foram HL60 (leucemia mielóide aguda - LMA) e Jurkat (leucemia linfoblástica aguda T – LLA-T). Estas linhagens celulares foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Biologia Molecular do Centro Infantil Boldrini e pelo Laboratório de Imunologia Molecular do Centro Integrado de Pesquisas Oncohematológicas na Infância (Campinas, Brasil). As células foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino (LGC Biotecnologia), 100 g/mL de estreptomicina, e 100 unidades /mL de penicilina a 37 °C sob atmosfera de 5% de CO₂.

4.2.2 Isolamento de células brancas de sangue periférico (PBMCs)

Sangue periférico de indivíduos saudáveis normais foi recolhido em tubos de EDTA, diluído com um volume igual de solução salina equilibrada de Hank (HBSS), misturado suavemente, e posto sobre uma camada de Histopaque 1077 (Sigma) em tubos de centrifuga, de forma que se formasse um gradiente de densidade. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a temperatura ambiente, durante 30 min a 400 g. As células mononucleares foram recolhidas da interface, lavadas duas vezes em HBSS, e centrifugado à temperatura ambiente durante 8 min 240 g. Estas células foram suspensas em meio RPMI 1640 completo e contada utilizando câmara de Neubauer para as experiências seguintes.

4.2.3 Ensaio de Viabilidade Celular (MTT)

Para análise de viabilidade, as células leucêmicas e PBMCS isoladas foram cultivadas em meio RPMI 1640 completo em placa de 96 poços, a uma densidade de 50.000 ou 80.000 células por poço. Cada poço continha 100 μL de meio de cultura e 100 μL de diferentes concentrações de **SRPIN 340** e dos análogos (0 - 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$). O quimioterápico citosina arabinosídeo (Figura 4) foi utilizado como controle positivo. Após 48 h de cultura, brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (5 mg/mL, Sigma) foi adicionado aos poços (3 h, 37 $^{\circ}\text{C}$). As placas foram centrifugadas à temperatura ambiente durante 30 min a 500 g, seguida da remoção da solução de MTT e adição de 100 μL /poço de DMSO (Sigma) para solubilizar o formazan. A absorvância foi medida a 540 nm em um leitor de microplacas (Sinergia HT, Biotek). Cada procedimento experimental foi realizado em triplicata.

Para a avaliação da atividade citotóxica do **SRPIN 340** e de análogos, foram escolhidas as linhagens HL60 e Jurkat devido às diferenças de expressão de SRPKs e citotoxicidade frente ao **SRPIN 340**. Ressalta-se ainda que com exceção dos análogos **SRPIN 340#02**, **SRPIN 340#03**, **SRPIN 340#04**, **SRPIN 340#12** e **SRPIN 340#18**, os quais foram descritos na patente de Hagiwara e colaboradores (2009), os demais compostos são inéditos.

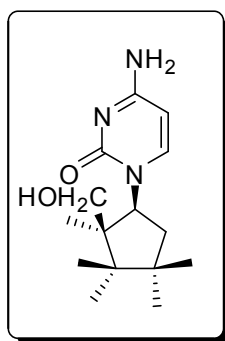


Figura 4 - Estrutura do quimioterápico citosina-arabinosídeo (citarabina).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação da citotoxicidade do **SRPIN 340** e de seus análogos estão apresentados na Tabela 1 (pg. 107). Também é apresentado

na mesma tabela o valor de IC₅₀ do quimioterápico citosina-arabinosídeo sobre a linhagem HL60.

Tabela 1 - Estimativa do IC₅₀ do **SRPIN 340** e análogos. As linhagens HL60 (LMA) e Jurkat (LLA-T) foram incubadas com concentrações dos análogos e do agente quimioterápico citosina-arabinosídeo entre 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Como controle negativo foi utilizado o veículo DMSO na concentração 0,4%. Para permitir as comparações realizadas, considerou-se 100% de viabilidade celular neste grupo controle. Os resultados mostram média \pm desvio padrão de quatro réplicas biológicas de dois experimentos independentes.

Composto	IC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	
	HL60	Jurkat
SRPIN340 (*)	44,7 \pm 2,4	82,3 \pm 1,2
SRPIN 340#01	59,2 \pm 5,0	80,9 \pm 6,7
SRPIN 340#02 (*)	>100	>100
SRPIN 340#03 (*)	89,7 \pm 12,8	>100
SRPIN 340#04 (*)	>100	>100
SRPIN 340#05	>100	>100
SRPIN 340#06	>100	>100
SRPIN 340#08	>100	>100
SRPIN 340#09	84,1 \pm 6,0	88,4 \pm 11,9
SRPIN 340#10	>100	>100
SRPIN 340#11	13,6 \pm 0,9	21,9 \pm 4,0
SRPIN 340#12 (*)	>100	>100
SRPIN 340#13	48,3 \pm 3,9	>100
SRPIN 340#14	>100	>100
SRPIN 340#15	71,0 \pm 2,3	>100
SRPIN 340#16	>100	>100
SRPIN 340#17	11,1 \pm 0,2	25,1 \pm 1,1
SRPIN 340#18 (*)	>100	>100
SRPIN 340#19	34,9 \pm 1,7	>100
SRPIN 340#20	>100	>100
SRPIN 340#21	>100	>100
SRPIN 340#22	>100	>100
SRPIN 340#23	18,9 \pm 0,4	51,0 \pm 1,8
citosina-arabinosídeo	3,7 \pm 0,5	(ND)

(*) Compostos descritos na patente de Hagiwara e colaboradores (2009).

(ND) Não determinado.

Conforme pode ser observado na Tabela 1 (pg. 107), do total de 23 amidas cuja citotoxicidade foi avaliada, dez foram capazes de inviabilizar o crescimento das células HL60 e/ou Jurkat, apresentando valores de IC₅₀ abaixo de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Os compostos **SRPIN 340** e os análogos **SRPIN 340#01**, **SRPIN 340#09**, **SRPIN 340#11**, **SRPIN 340#17** e **SRPIN 340#23** apresentaram atividade contra ambas as linhagens e os análogos **SRPIN 340#03**, **SRPIN 340#13**, **SRPIN 340#15** e **SRPIN 340#19** foram citotóxicos apenas para a linhagem HL60. Todos os compostos apresentaram menor citotoxicidade contra a linhagem HL60 do que o quimioterápico comercial citosina-arabinosídeo (Tabela 1, pg. 107).

Comparando-se os valores de IC₅₀, observa-se, como tendência geral, que a linhagem mieloide (HL60) apresentou maior sensibilidade aos compostos em relação à linhagem linfóide (Jurkat). Essa observação pode estar relacionada com um dado da literatura, o qual revelou que superexpressão das SRPKs é mais proeminente na linhagem Jurkat frente à HL60, conforme pode ser visto na Figura 5.

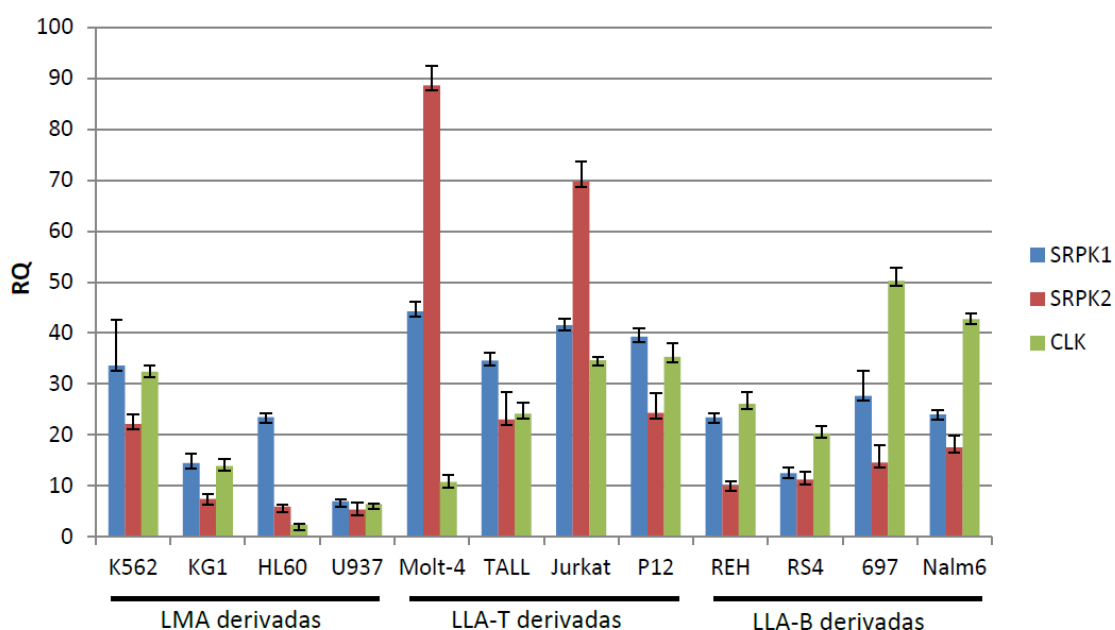
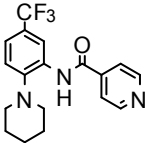
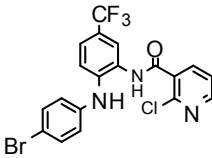
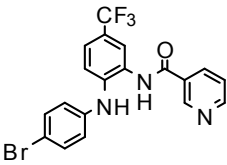
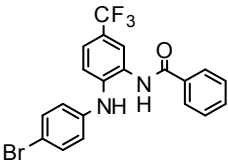


Figura 5 - Quantificação da expressão relativa das quinases SRPK1, SRPK2 e CLK em linhagens de leucemia. Leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfóide aguda derivada de célula T (LLA-T) e leucemia linfóide aguda derivada de célula B (LLA-B) (RIGUETTO, 2013).

Os resultados mostraram ainda que há compostos que apresentaram atividade citotóxica mais elevada em relação ao inibidor de SRPKs **SRPIN 340**. Tomando-se a linhagem HL60, observa-se que o análogo **SRPIN#11** é aproximadamente três vezes mais ativo, enquanto que o **SRPIN#17** mostrou-se quatro vezes mais ativo; o análogo **SRPIN#23** apresentou atividade duas vezes maior (Tabela 2).

Comparando-se as estruturas químicas dos derivados **SRPIN#11**, **SRPIN#17** e **SRPIN#23** em relação ao **SRPIN 340**, observa-se que os derivados possuem como característica estrutural comum a presença de um grupo 4-bromofenila enquanto que o **SRPIN 340** apresenta um grupo piperidinila. Além disso, enquanto que o **SRPIN 340** possui uma porção isonicotinamida, nos análogos **SRPIN#11**, **SRPIN#17** e **SRPIN#23** esta parte da molécula compreende um grupo 2-cloronicotinamida, nicotinamida e benzamida, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Estruturas químicas do **SRPIN 340** e dos análogos que apresentaram efeitos citotóxicos mais pronunciados. Os valores de IC₅₀ estão representados em $\mu\text{mol L}^{-1}$.

LINHAGEM CELULAR	Análogos			
	SRPIN 340	SRPN340#11	SRPIN340#17	SRPIN340#23
				
IC ₅₀ HL60	44,7	13,6	11,1	18,9
IC ₅₀ Jurkat	82,23	21,9	25,1	51,0

Observou-se também uma maior susceptibilidade da linhagem HL60 ao tratamento frente à Jurkat, semelhante ao observado com o **SRPIN 340**, fornecendo evidências de que a resposta celular aos novos compostos ocorra de maneira similar ao inibidor de SRPKs. Embora para que sejam tomadas estas conclusões, devam-se realizar estudos mais aprofundados a respeito da ação dos novos compostos na inibição específica das SRPKs e nas vias de regulação de *splicing* por estas quinases.

Outro resultado importante foi obtido na avaliação da citotoxicidade de nove amidas, as mais ativas reportadas na Tabela 1 (pg. 107), contra culturas primárias de células brancas periféricas extraídas de pacientes saudáveis (PBMCs). Os resultados demonstraram que, de modo geral, as amidas foram mais ativas sobre as linhagens leucêmicas em comparação com a atividade sobre as PBMCs (Tabela 3).

Tabela 3 - Estimativa dos valores de IC₅₀ nas PBMCs para o **SRPIN 340** e análogos **01, 03, 09, 11, 13, 17, 19** e **23**. Determinação dos respectivos índices de seletividade desses compostos frente a linhagens HL60.

COMPOSTO	ESTIMATIVA DO IC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) NAS PBMCs	ÍNDICE DE SELETIVIDADE* HL60
SRPIN 340	>50	NS
SRPIN 340#01	>50	NS
SRPIN 340#03	>100	NS
SRPIN 340#09	NA	S
SRPIN 340#11	>25	2
SRPIN 340#13	>100	2
SRPIN 340#17	>25	2
SRPIN 340#19	NA	S
SRPIN 340#23	>100	5

(NA) Não ativo; (NS) não seletivo; (S) seletivo; (*) Valores aproximados.

Os análogos **SRPIN#09** e **SRPIN#19** não apresentaram citotoxicidade contra as células PMBCs. Além disso, o cálculo do índice de seletividade dos SRPINs frente às linhagens HL60 indicou valor aproximadamente igual a 5 para o análogo **SRPIN#23**; aproximadamente igual a 2 para os análogos **SRPIN#11**, **SRPIN#13** e **SRPIN#17**. Não foi observada seletividade para **SRPIN 340** e seus análogos **SRPIN#01** e **SRPIN#03**. Salieta-se ainda: a) que essa avaliação será repetida e que os índices de seletividade poderão ser melhores, uma vez que os resultados apresentados na Tabela 3 foram aproximados; b) o índice de seletividade foi calculado pela razão entre os valores de IC₅₀ das PBMCs e os valores de IC₅₀ da linhagem HL60.

4.4 CONCLUSÕES

Os ensaios de avaliação da citotoxicidade do inibidor de SRPKs **SRPIN 340** e vinte e dois derivados deste demonstraram que dez substâncias

foram capazes de inibir a viabilidade celular das linhagens HL60 e/ou Jurkat. Seis substâncias apresentaram efeitos citotóxicos contra as duas linhagens celulares e quatro derivados foram ativos contra apenas uma delas. Os compostos mais ativos apresentaram como característica estrutural comum a presença de um anel 4-bromofenila em suas estruturas, apontando para o fato de que este atributo é importante em termos de atividade citotóxica dos derivados **SRPINs** investigados. Deve ser destacada a seletividade apresentada por alguns dos derivados no que tange à atividade contra células cancerígenas, característica essa revelada nos ensaios de citotoxicidade realizados com células sadias (PMBCs). Considerando que as linhagens HL60 foram mais suscetíveis aos compostos avaliados e considerando ainda que nessas linhagens há uma superexpressão de SRPKs, pode-se vislumbrar como possibilidade a utilização das vias de *splicing* como alvo quimioterápico e a síntese de novos inibidores, com maior atividade e especificidade, tendo como estrutura-modelo o **SRPIN 340**.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, J. E. Atividade Antiulcerogênica e Anticâncer de Produtos Naturais e de Síntese. *Revista Multiciência*, 7, p.1-18, 2006.

FUKUHARA, T.; HOSOYA, T.; SHIMIZU, S.; SUMI, K.; OSHIRO, T.; YOSHINAKA, Y.; SUZUKI, M.; YAMAMOTO, N.; HERZENBERG, L. A.; HAGIRAWARA, M. Utilization of host SR protein kinases and RNA-splicing machinery during viral replication. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 11329-11333, 2006.

GIRGIS, A. S.; HOSNI, H. M.; BARSOUM, F. F. Novel synthesis of nicotinamide derivatives of cytotoxic properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 14, p. 4466-4476, 2006.

GOUT, S.; BRAMBILLA, E.; BOUDRIA, A.; DRISSI, R.; LANTUEJOUL, S.; GAZERRI, S. EYMIN, B. Abnormal expression of the pre-mRNA splicing

regulators SRSF1, SRSF2, SRPK1 and SRPK2 in non small cell lung carcinoma. *Plos One*, v. 7, p. e46539, 2012.

HAGIWARA, M.; FUKUHARA, T.; SUZUKI, M., HOSOYA, T. Method for controlling SR protein phosphorylation, and antiviral agents whose active ingredients comprise agents that control SR protein activity. United States Patent, 7569536 B2, 2009.

HAYES, G. M.; CARRIGAN, P. E.; BECK, A. M.; MILLER, L. J. Targeting the RNA splicing machinery as a novel treatment strategy for pancreatic carcinoma. *Cancer Research*, v. 66, p. 3819-3827, 2006.

HAYES, G. M.; CARRIGAN, P. E.; MILLER, L. J. Serine-arginine protein kinase 1 overexpression is associated with tumorigenic imbalance in mitogen-activated protein kinase pathways in breast, colonic, and pancreatic carcinomas. *Cancer Research*, v. 67, p. 2072-2080, 2007.

HISHIZAWA, M.; IMADA, K.; SAKAI, T.; UEDA, M.; HORI, T.; UCHIYAMA, T. Serological identification of adult T-cell leukaemia-associated antigens. *British Journal of Haematology*, v. 130, p. 382-390, 2005.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva) . Estimativa 2014 – Incidência de câncer no Brasil. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/tabelaestados.asp?UF=BR>>. Acesso em 25 de junho de 2014.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva) . Particularidades do Câncer infantil, 2009. Disponível em <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=343>. Acesso em 25 de junho de 2014.

JANG, S. W.; YANG, S. J.; EHLÉN, A.; DONG, S.; KHOURY, H.; CHEN, J.; PERSSON, J. L. ; YE, K. SRPK2 Promotes Leukemia Cell Proliferation by Phosphorylating Acinus and Regulating Cyclin A1. *Cancer Research*, v. 68, p. 4559-4570, 2008.

KARAKAMA, Y.; SAKAMOTO, N.; ITSUI, Y.; NAKAGAWA, M.; TASAKA-FUGITA, M.; NISHIMURA-SAKURAI, Y.; KAKINUMA, S.; OOOKA, M.; AUMA, S.; TSUCHIYA, K.; ONOGI, H.; HAGIWARA, M.; WATANABE, M. Inhibition of hepatitis C virus replication by a specific inhibitor of serine–arginine-rich protein kinase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 54, p. 3179-3186, 2010.

KING, K. Y.; GOODELL, M. A. Direct conversion of skin cells into blood: alchemy or science? *Molecular Therapy*, v. 19, p. 227-228, 2011.

KELEMEN, O.; CONVERTINI, P.; ZHANG, Z.; WEN, Y.; SHEN, M.; FALALEEVA, M.; STAMM, S. Function of alternative splicing. *Gene*, 514, p.1-30, 2013.

NOWAK, D. G.; AMIN, E. M.; RENNEL, E. S; HAVEILLA, C. H; GAMMONS, M.; DAMORORAN, G.; HAGIWARA, M.; HARPER, S. J.; WOOLARD, J.; LADOMERY, M. R.; BATES, D. O. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) splicing from pro-angiogenic to anti-angiogenic, isoforms a novel therapeutic strategy for angiogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, v. 285, p. 5532-5540, 2010.

RIGUETTO, G. SF2/ASF: relação entre a maquinária de splicing alternativo e o desenvolvimento da leucemia. V. Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Unicamp para obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular, 2013.

SALESSE, S.; DYLLA, S. J.; VERFAILLIE, C. M. p210BCR/ABL-induced alteration of pre-mRNA splicing in primary human CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Leukemia*, v. 18, p. 727-733, 2004.

SIQUEIRA, R. P. Efeito Citotóxico da Inibição de Quinases SRPKs (*Serine/Arginine-Rich Protein Kinase*) Envolvidas no Controle do *Splicing* do pré-mRNA. M. Sc. Universidade Federal de Viçosa, p. 1-62, 2014.

STEWART, B. W.; WILD, C. P. (Eds). *World Cancer Report 2014* - Press Release 2014 No 224. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Disponível em <http://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2014/pdfs/pr224_E.pdf>. Acesso em 03 de julho de 2014.

YANG, X. H.; XIANG, L.; ZHAO, T. T.; ZHANG, H.; ZHOU, W. P.; GONG, H. B.; ZHU, H. Z. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of 1,3,4-thiadiazol-2-amide derivatives as novel anticancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 20, p. 2789-2795, 2012.

WARD, A. J.; COOPER, T. A. The pathobiology of splicing. *The Journal of Pathology*, v. 220, p. 152-63, 2010.

WU, Q.; CHANG, Y.; ZHANG, L.; ZHANG, Y.; TIAN, T.; FENG, G.; ZHOUL, S.; ZHENG, Q.; HAN, F.; HUANG, F. SRPK1 Dissimilarly Impacts on the Growth, Metastasis, Chemosensitivity and Angiogenesis of Glioma in Normoxic and Hypoxic Conditions. *Journal of Cancer*, v. 4, p. 727-735, 2013.

ZHOU, Z.; FU, X. D. Regulation of splicing by SR proteins and SR protein-specific kinases. *Chromosoma*, v. 122, p. 191-207, 2013.

ANEXO

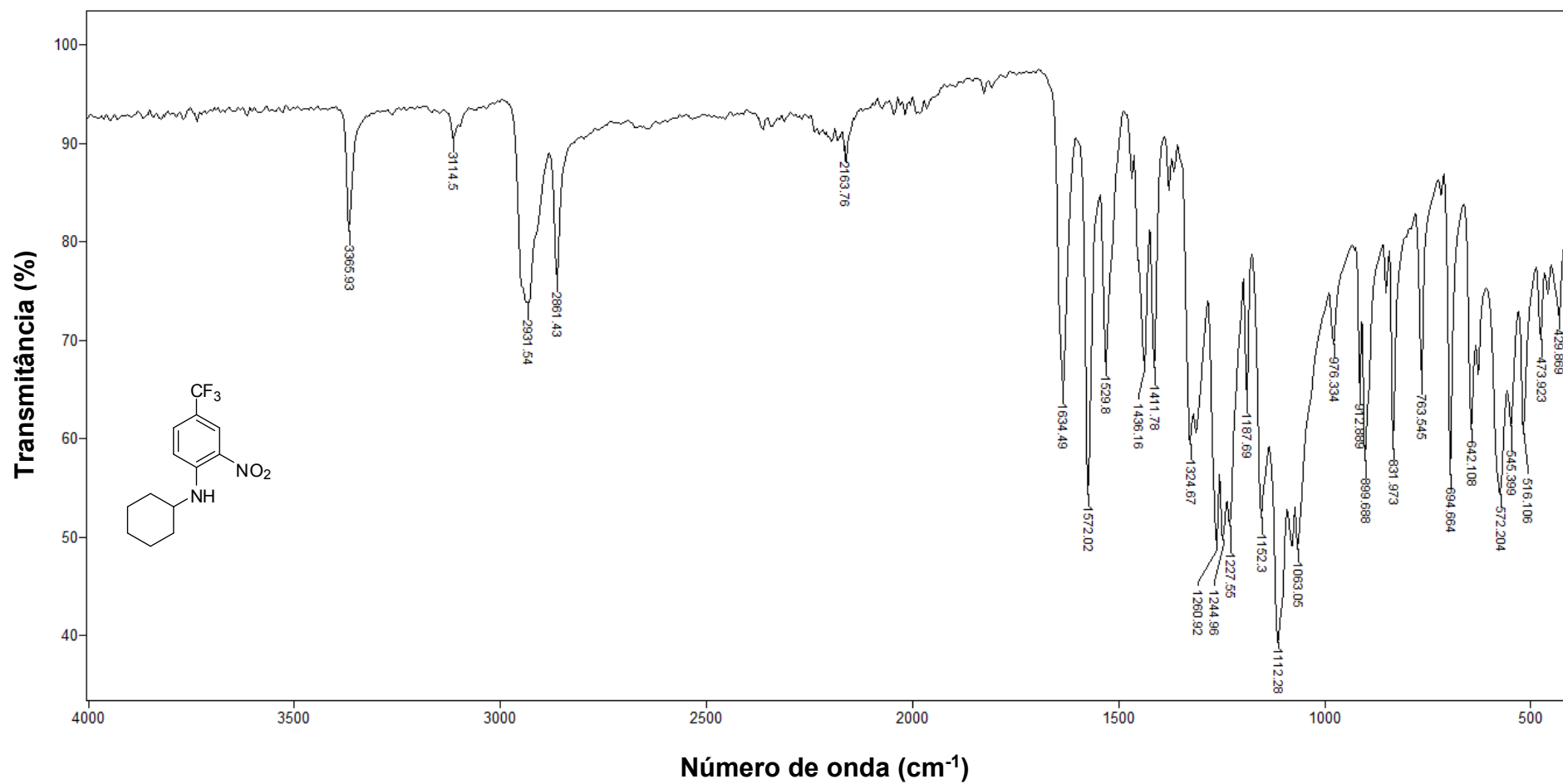


Figura 1 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-cicloexil-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina (**2b**).

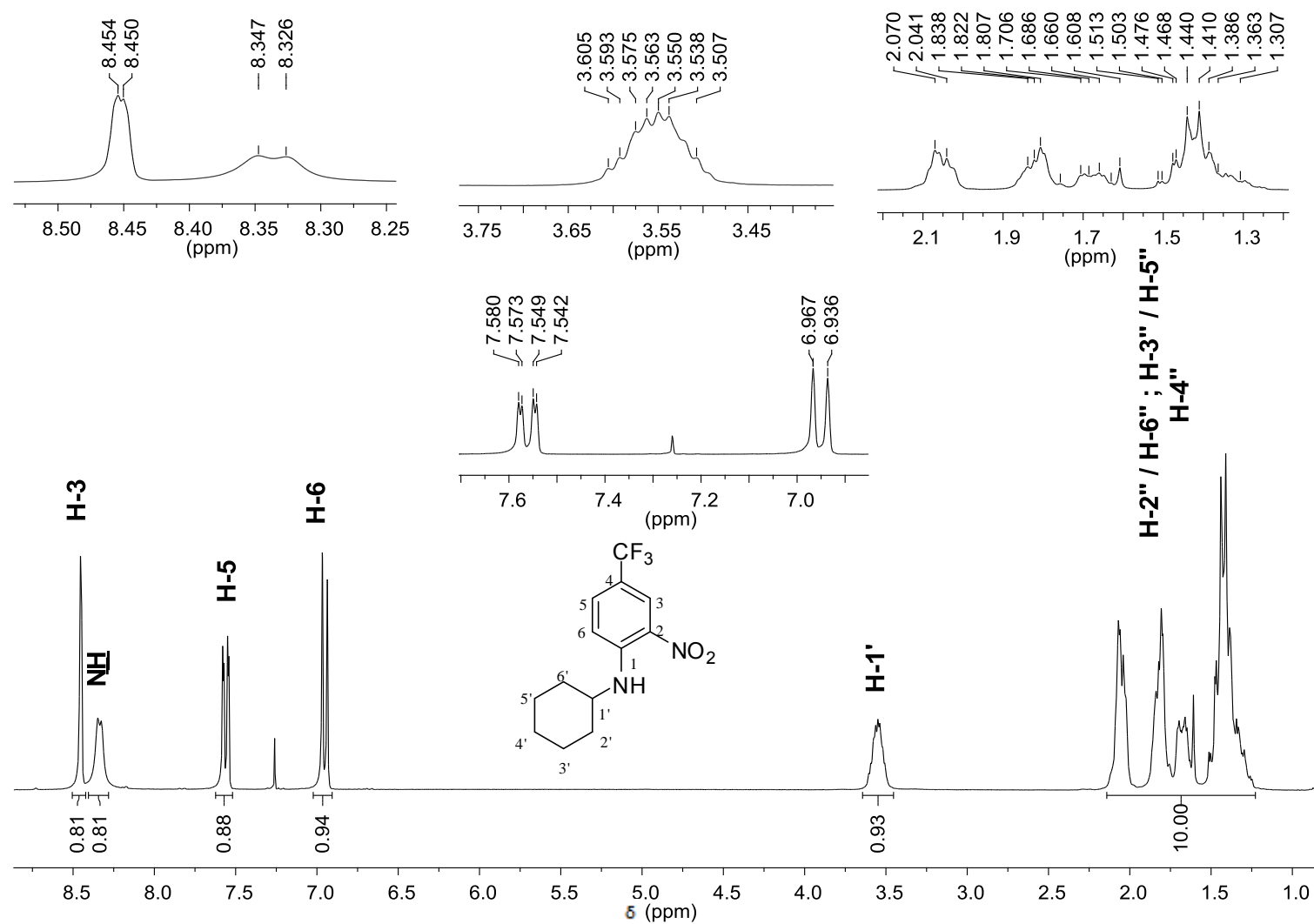


Figura 2 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *N*-cicloexil-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina (**2b**).

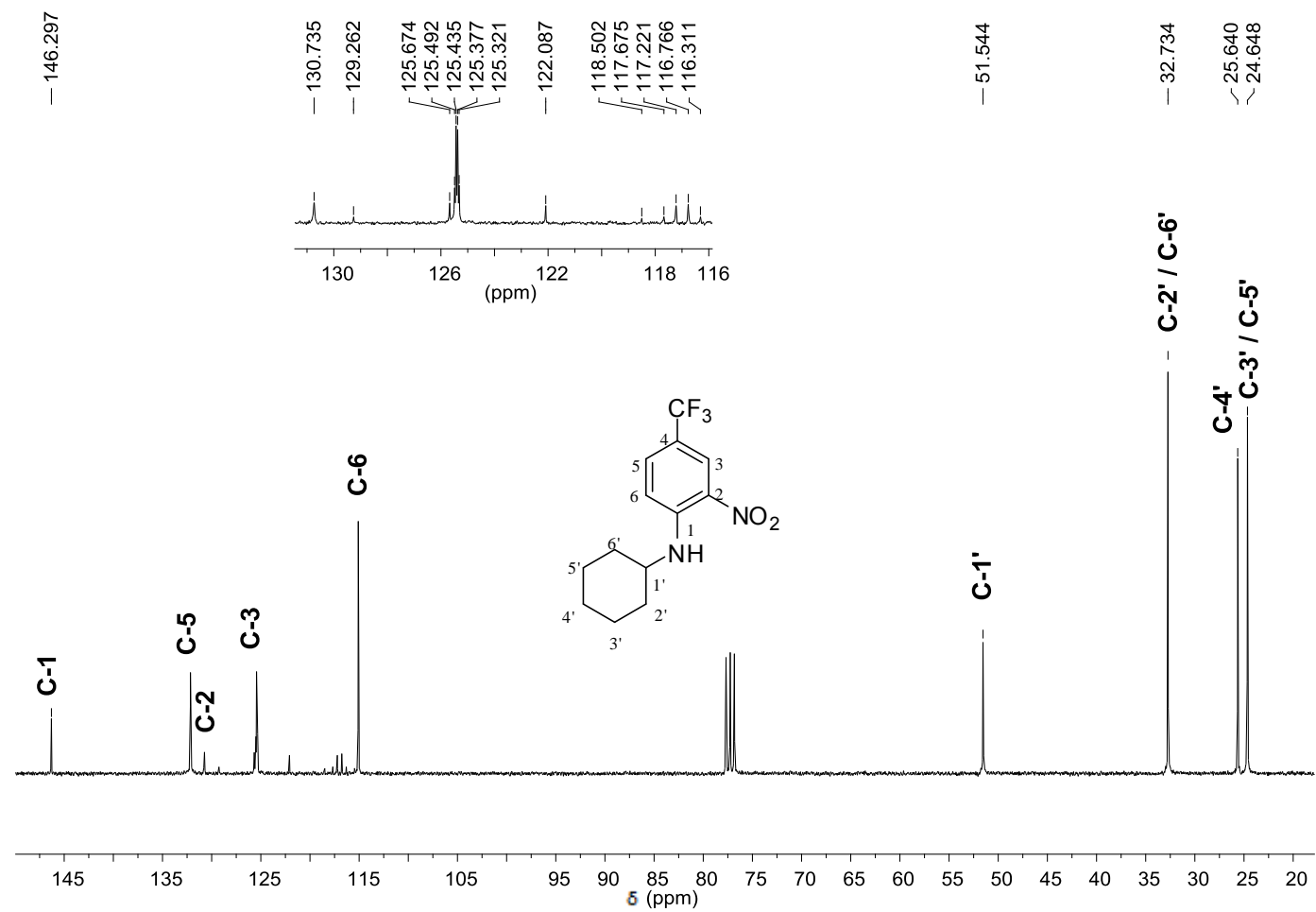


Figura 3 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-cicloexil-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina (**2b**).

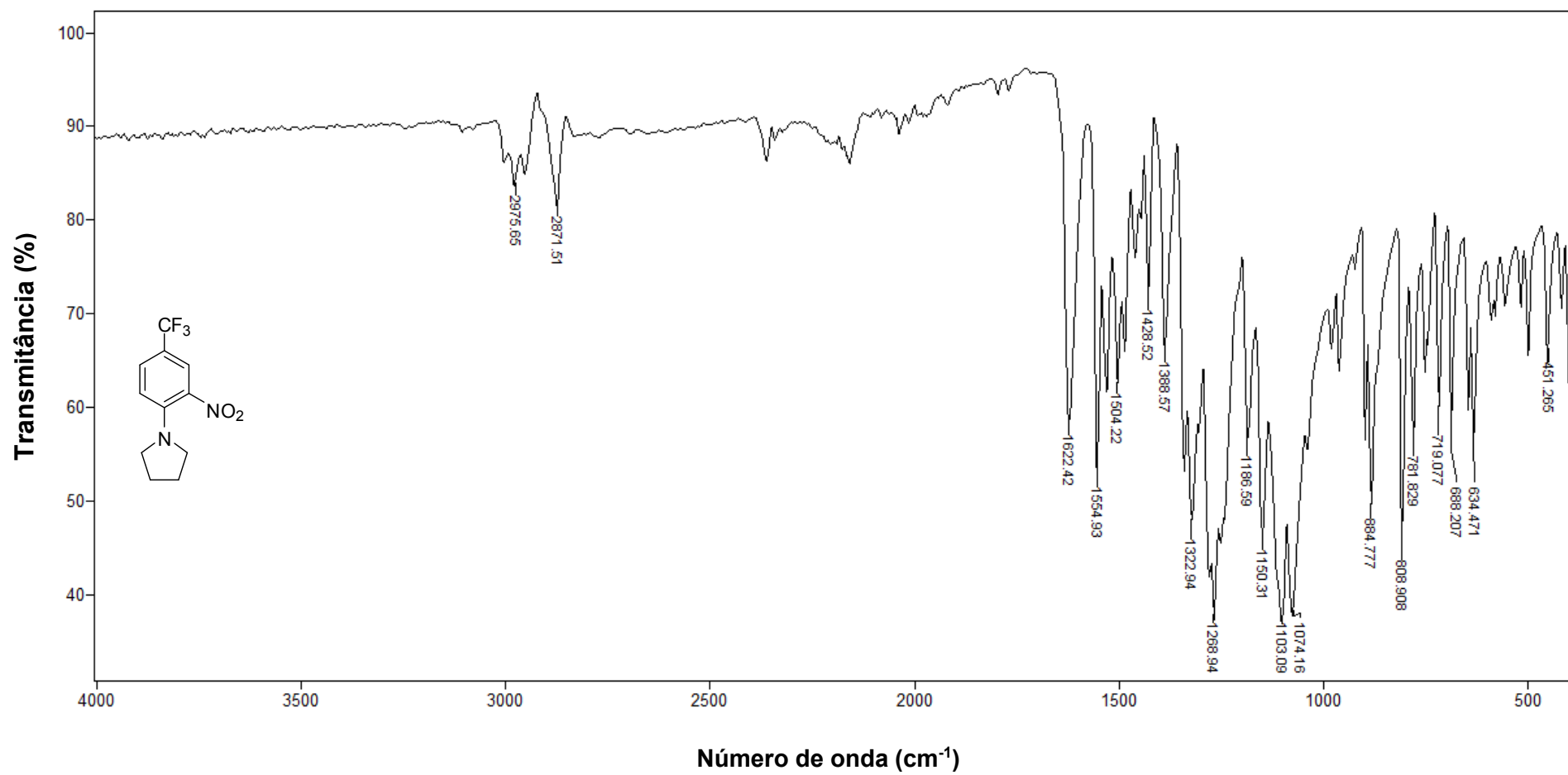


Figura 4 - Espectro no infravermelho (ATR) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]pirrolidina (**2c**).

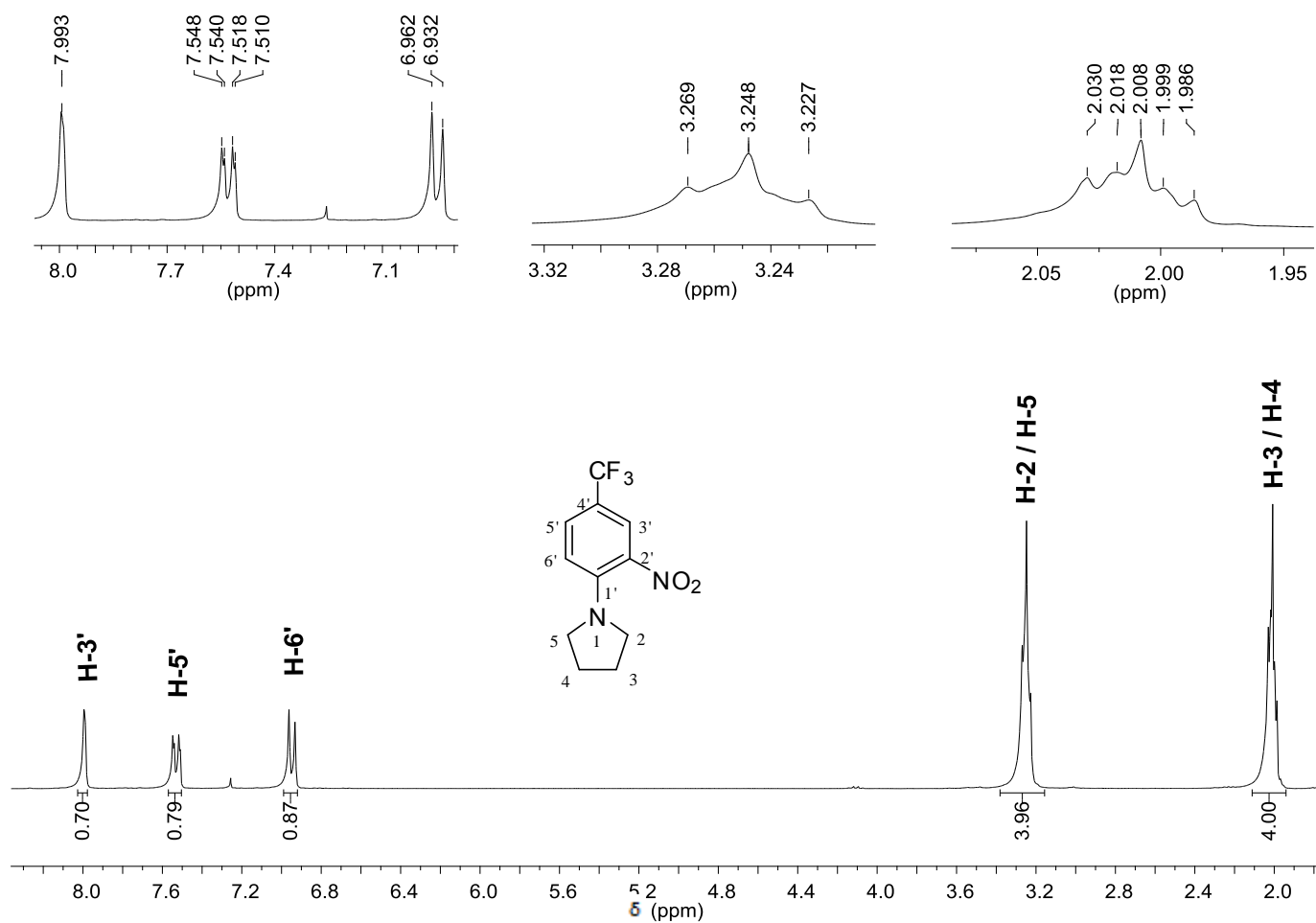


Figura 5 - Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) da 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]pirrolidina (**2d**).

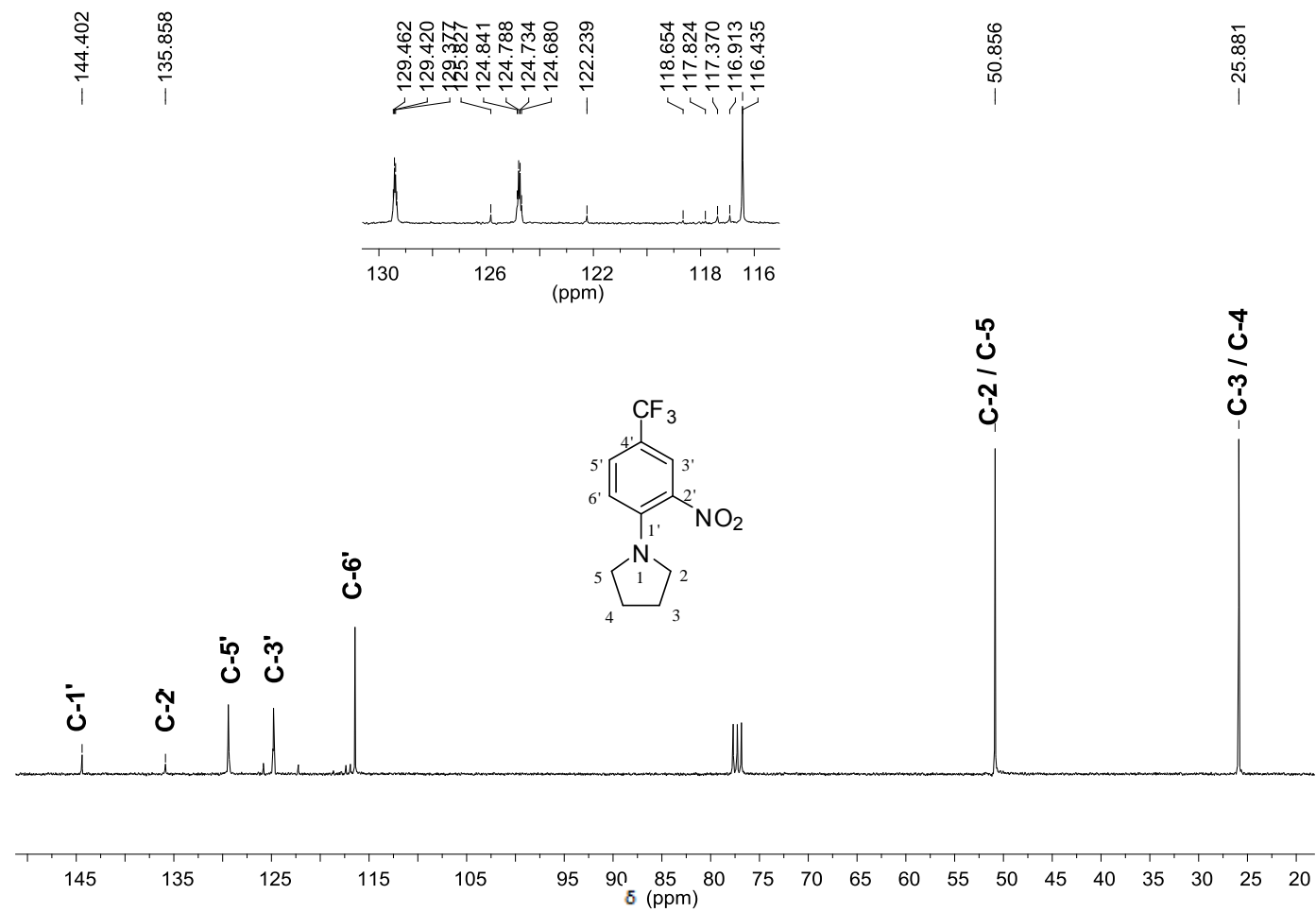


Figura 6 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) 1-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]pirrolidina (**2c**).

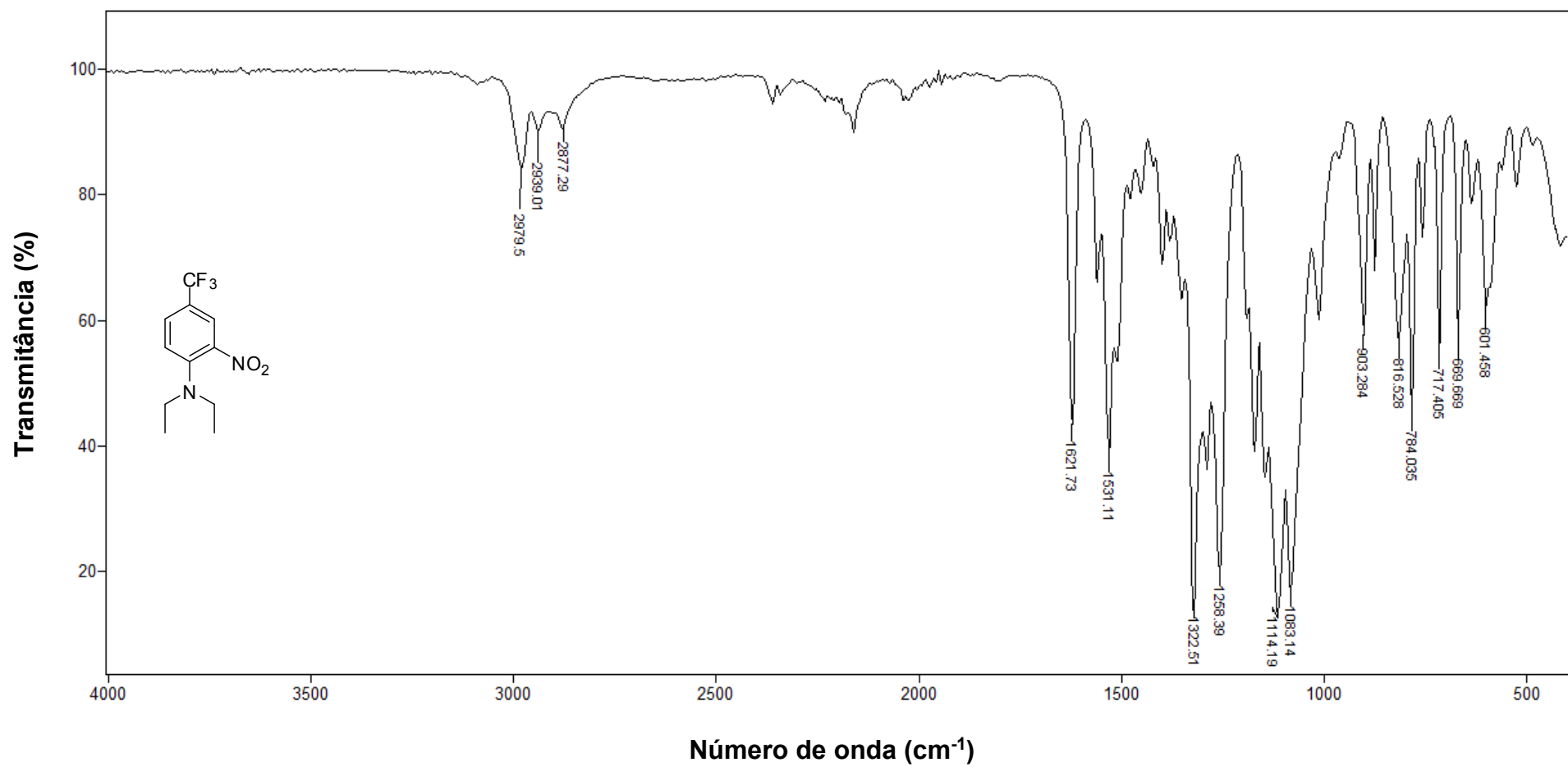


Figura 7 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N,N*-dietil-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]anilina (**2d**).

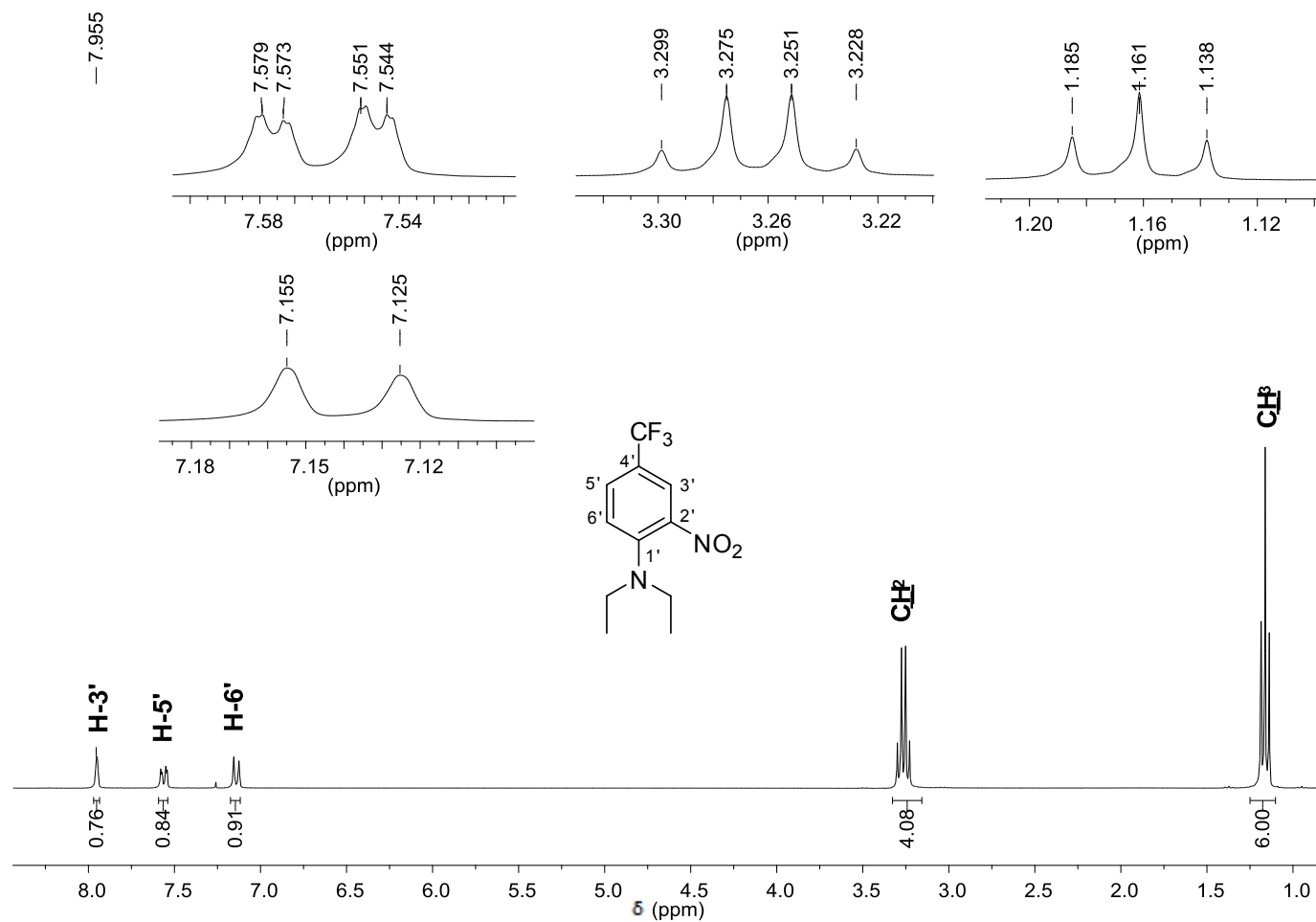


Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *N,N*-dietil-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]anilina (**2d**).

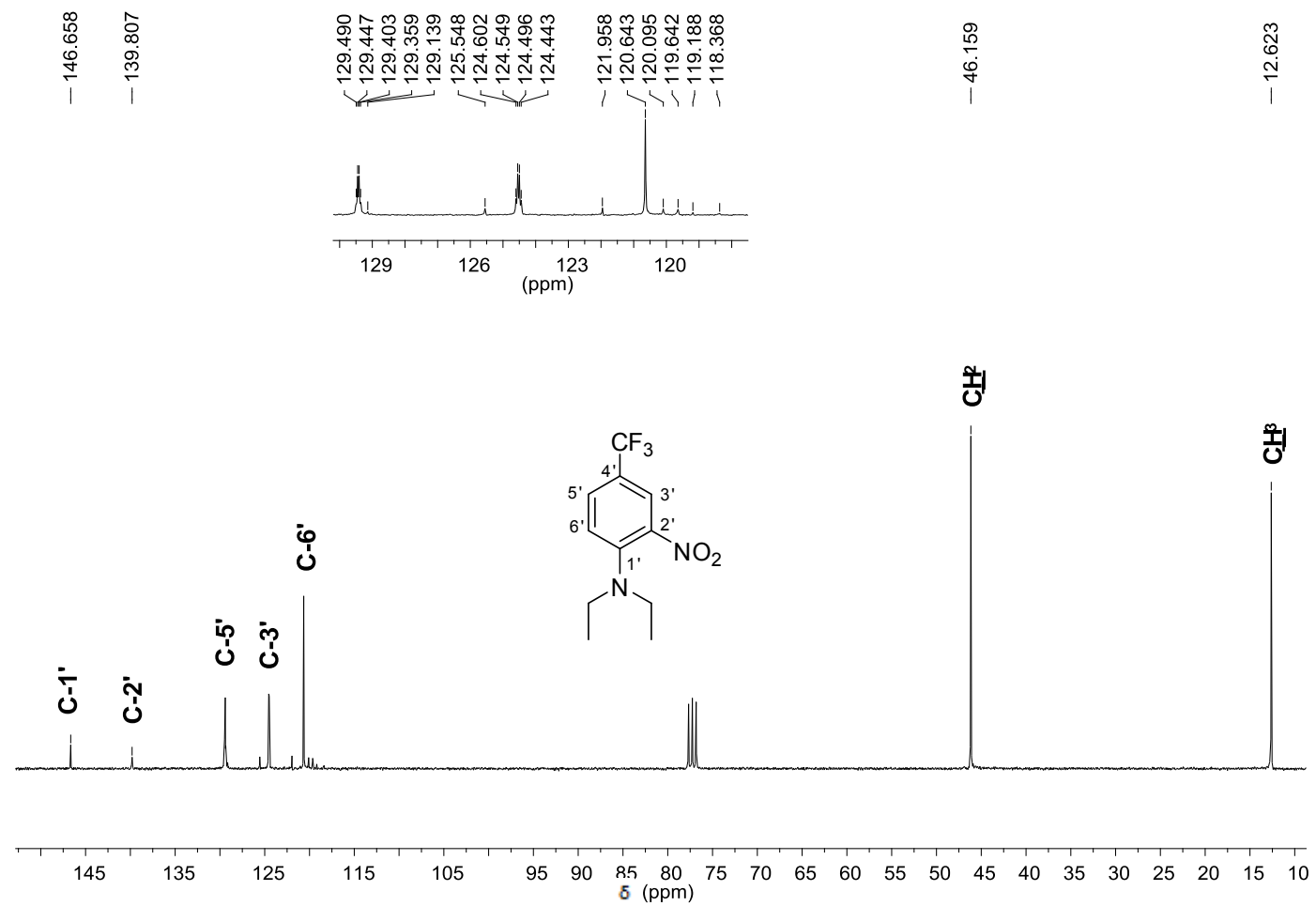


Figura 9 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N,N*-dietil-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]anilina (**2d**).

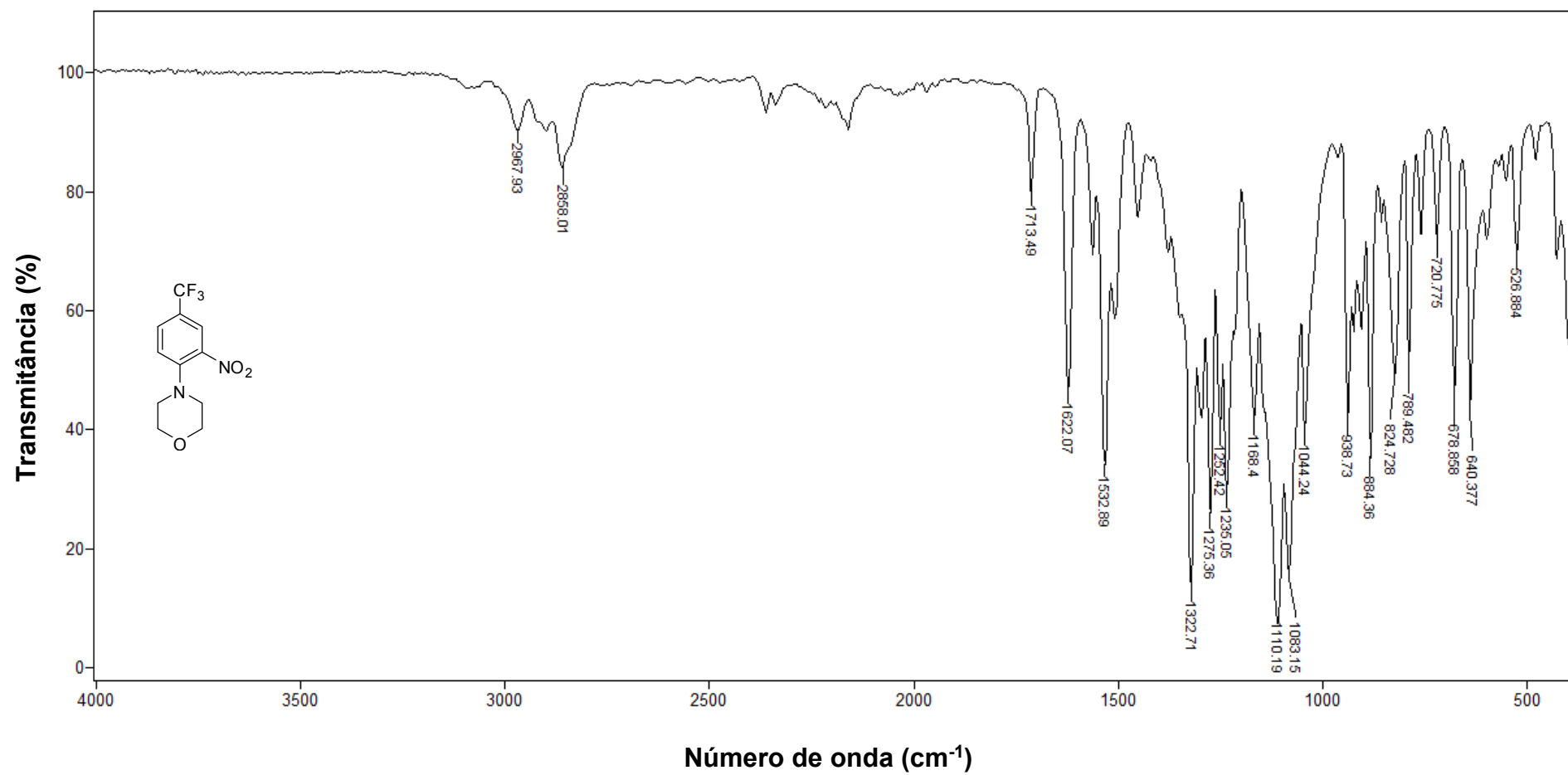


Figura 10 - Espectro no infravermelho (ATR) da 4-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]morfolina (**2e**).

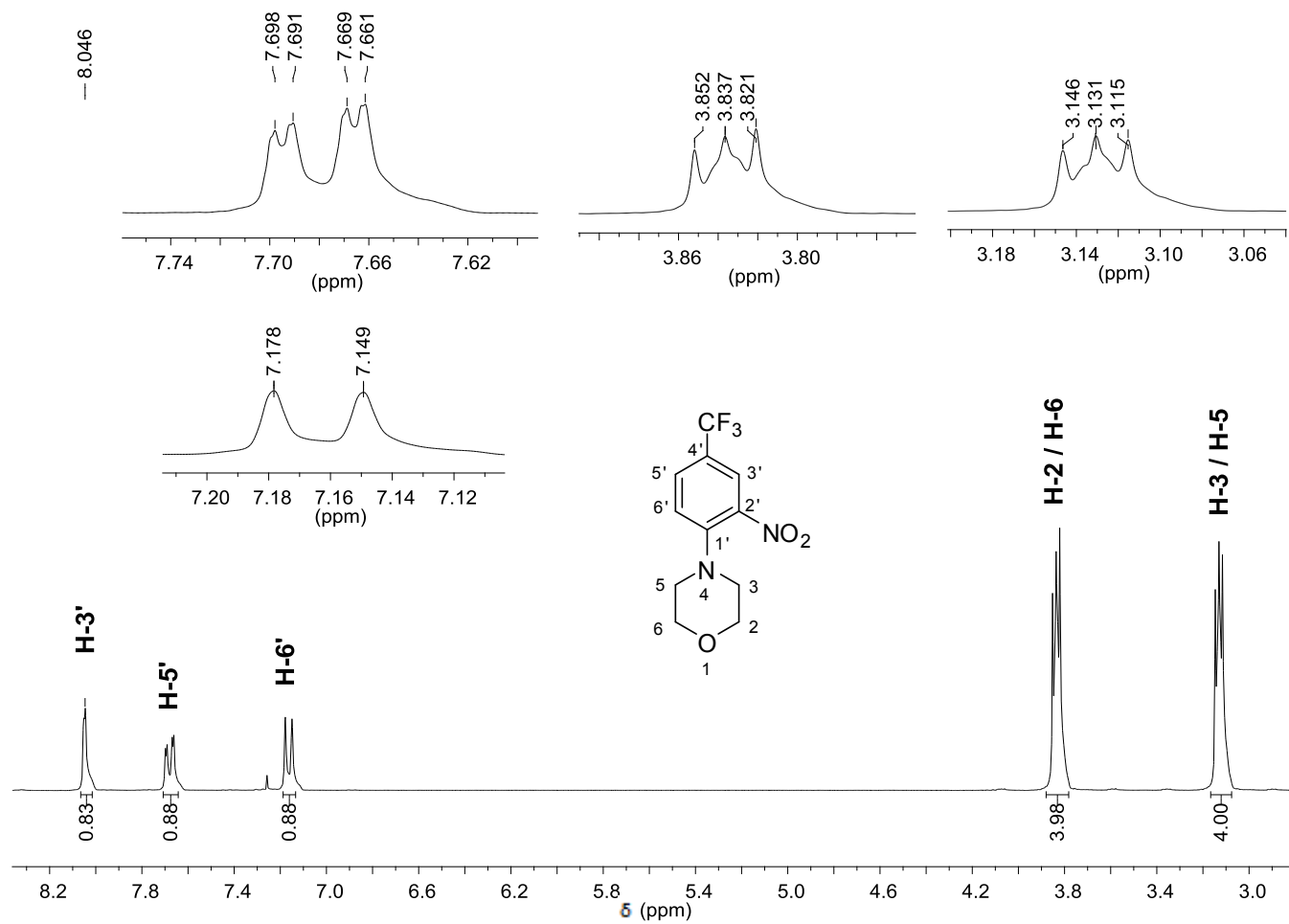


Figura 11 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 4-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]morfolina (**2e**).

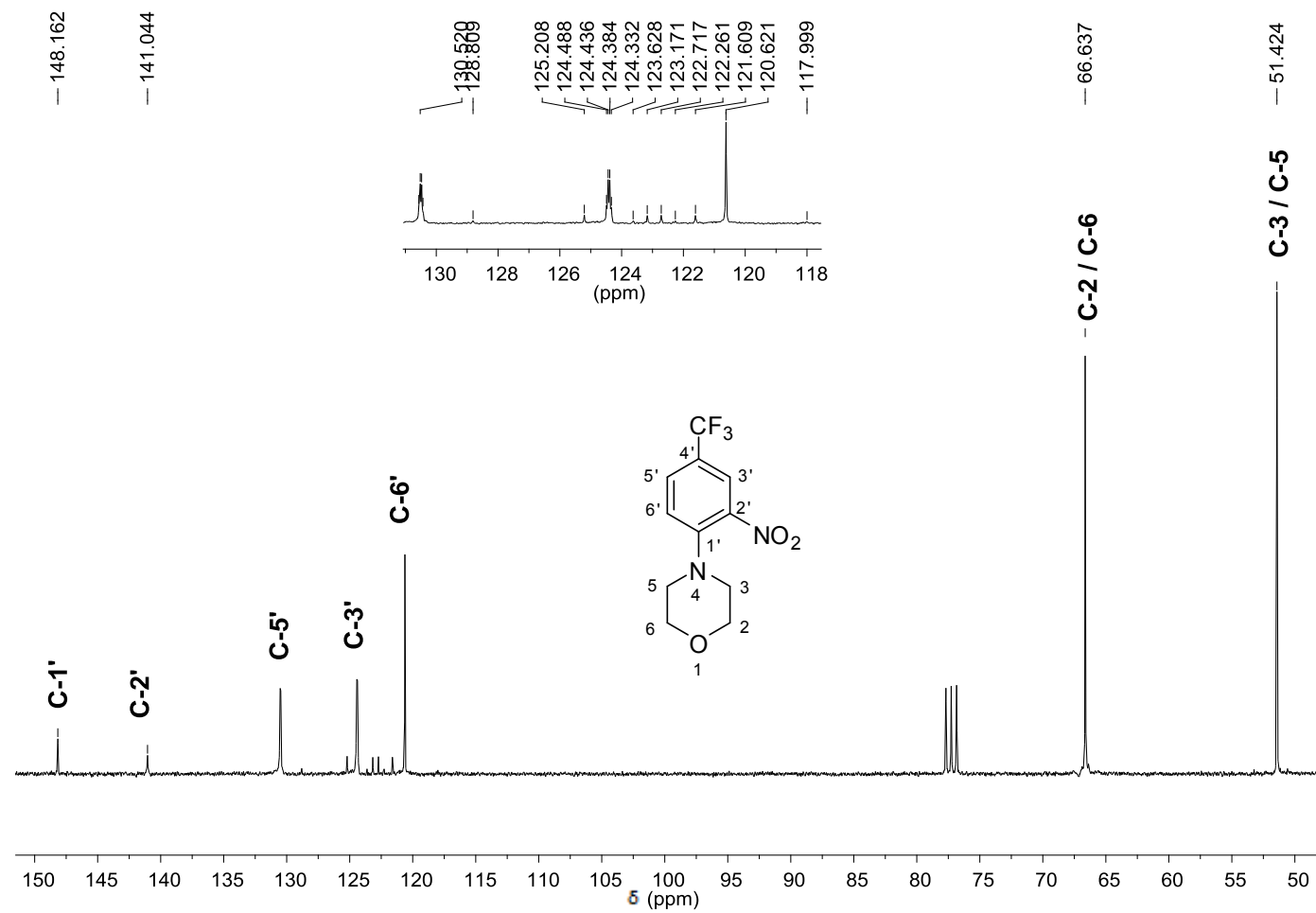


Figura 12 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 4-[2-nitro-4-(trifluorometil)fenil]morfolina (**2e**).

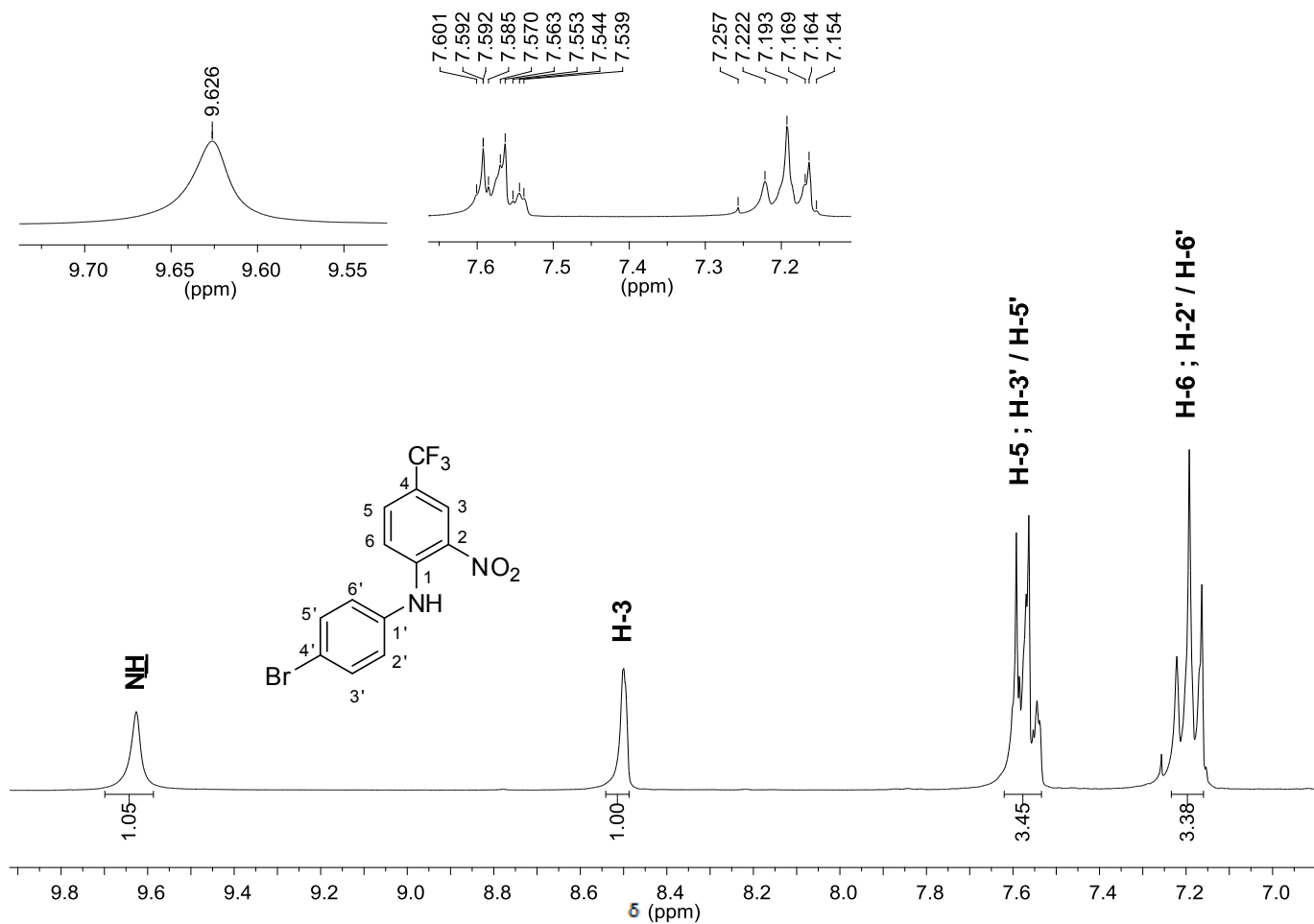


Figura 14 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-bromofenil)-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina (**2f**).

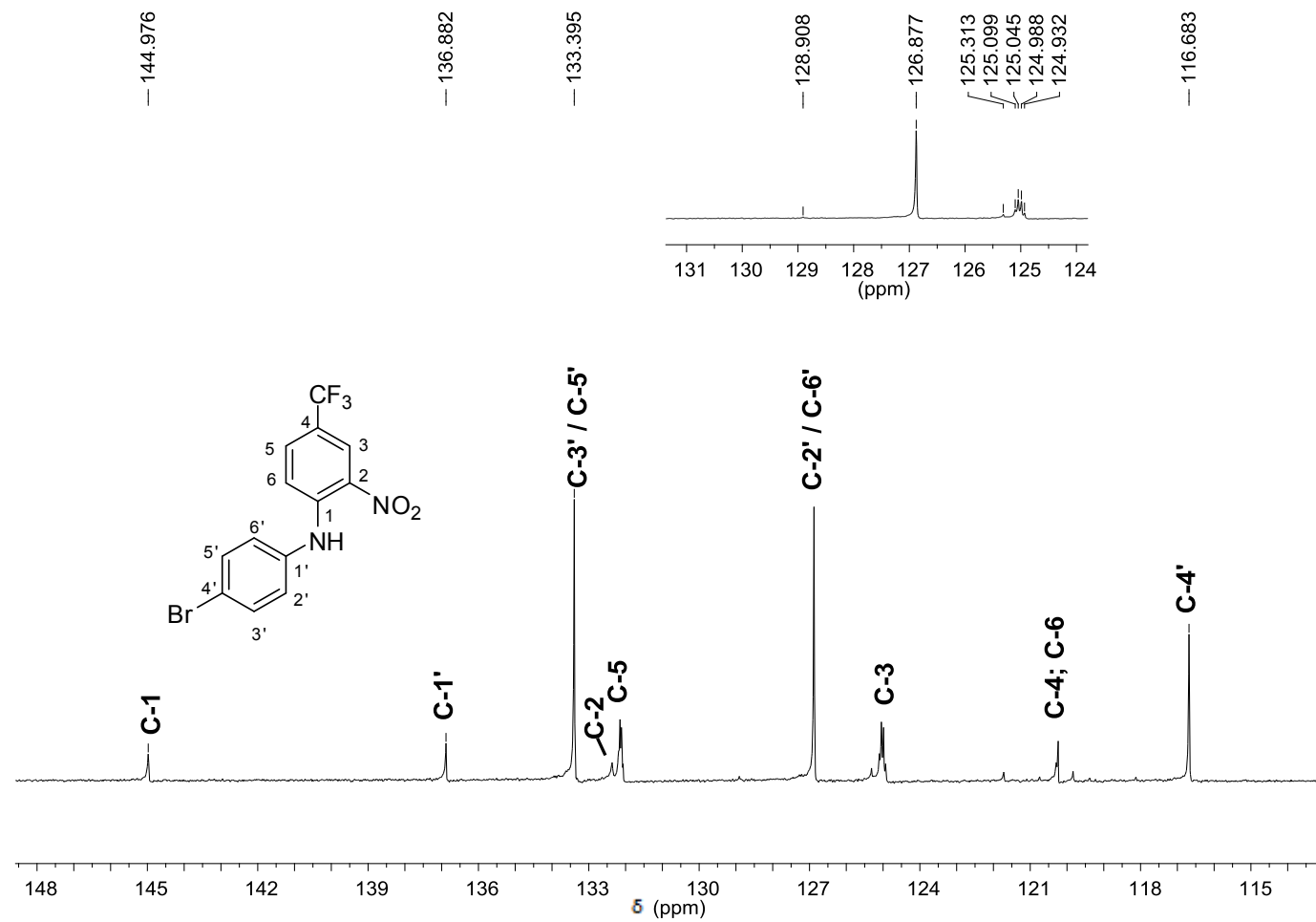


Figura 15 - Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-bromofenil)-2-nitro-4-(trifluorometil)anilina (**2f**).

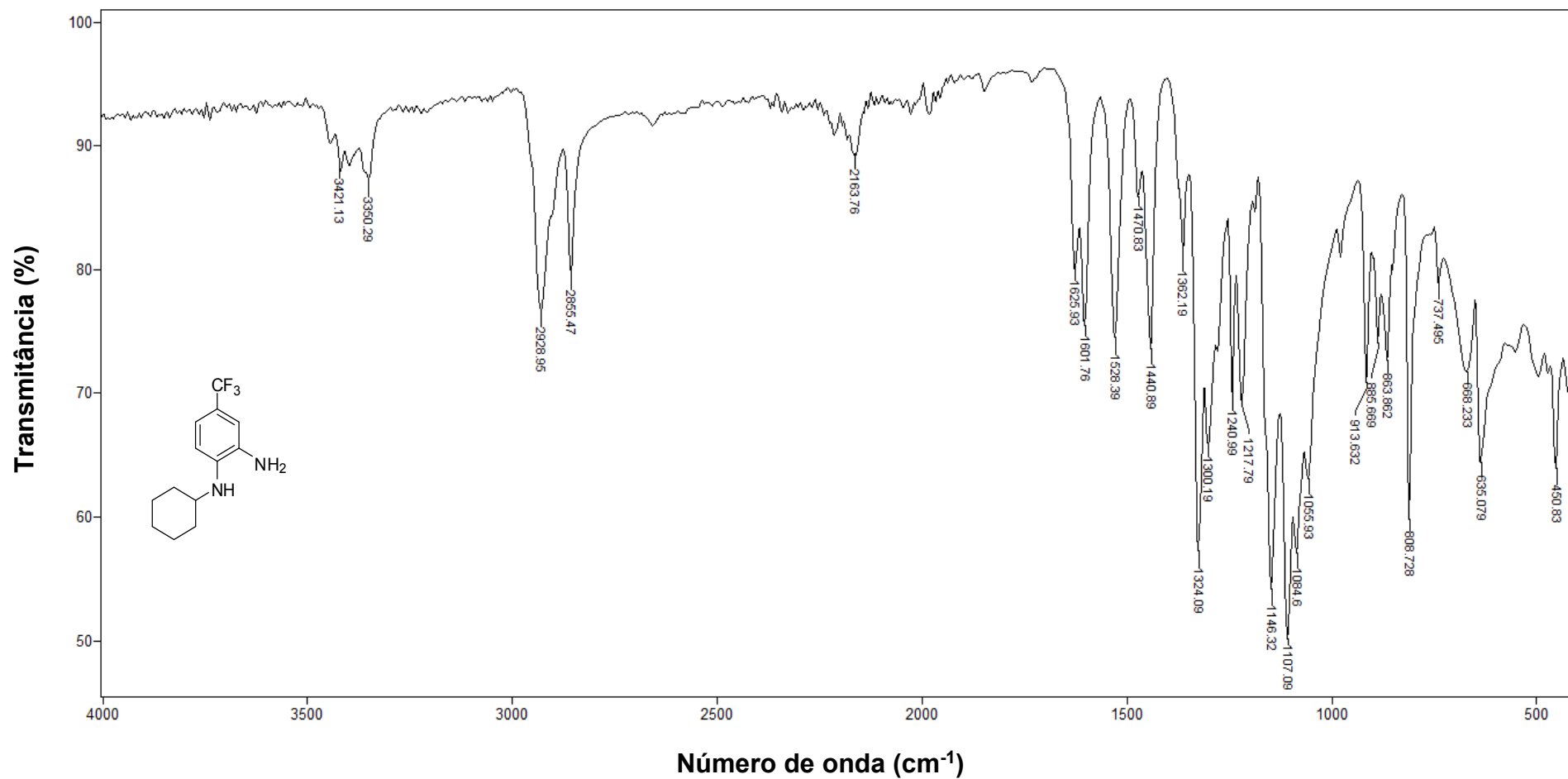


Figura 16 - Espectro no infravermelho (ATR) da 1-(N-cicloexil)-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina (**3b**).

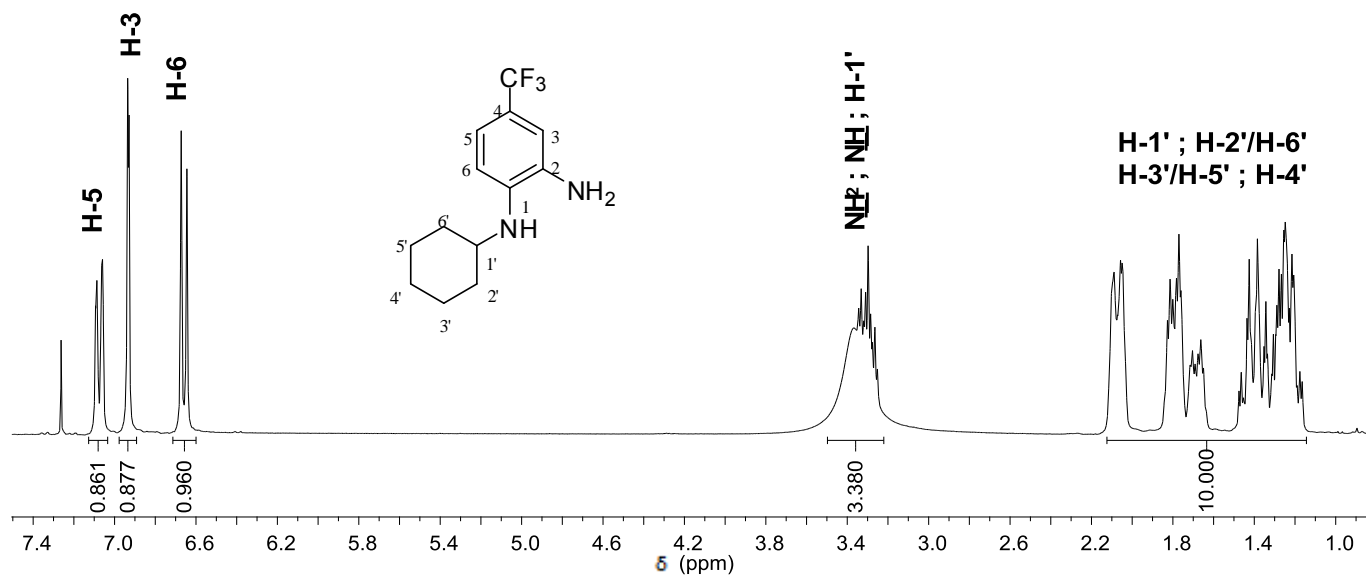
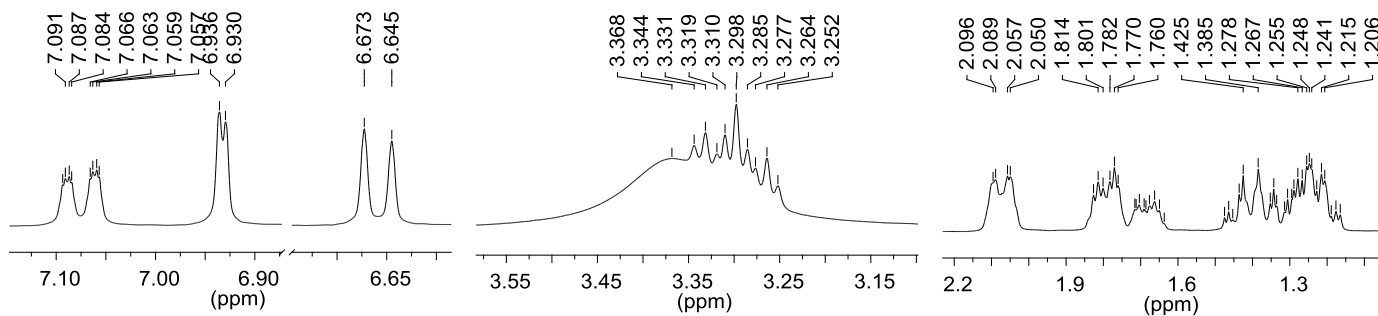


Figura 17 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 1-(*N*-cicloexil)-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina (**3b**).

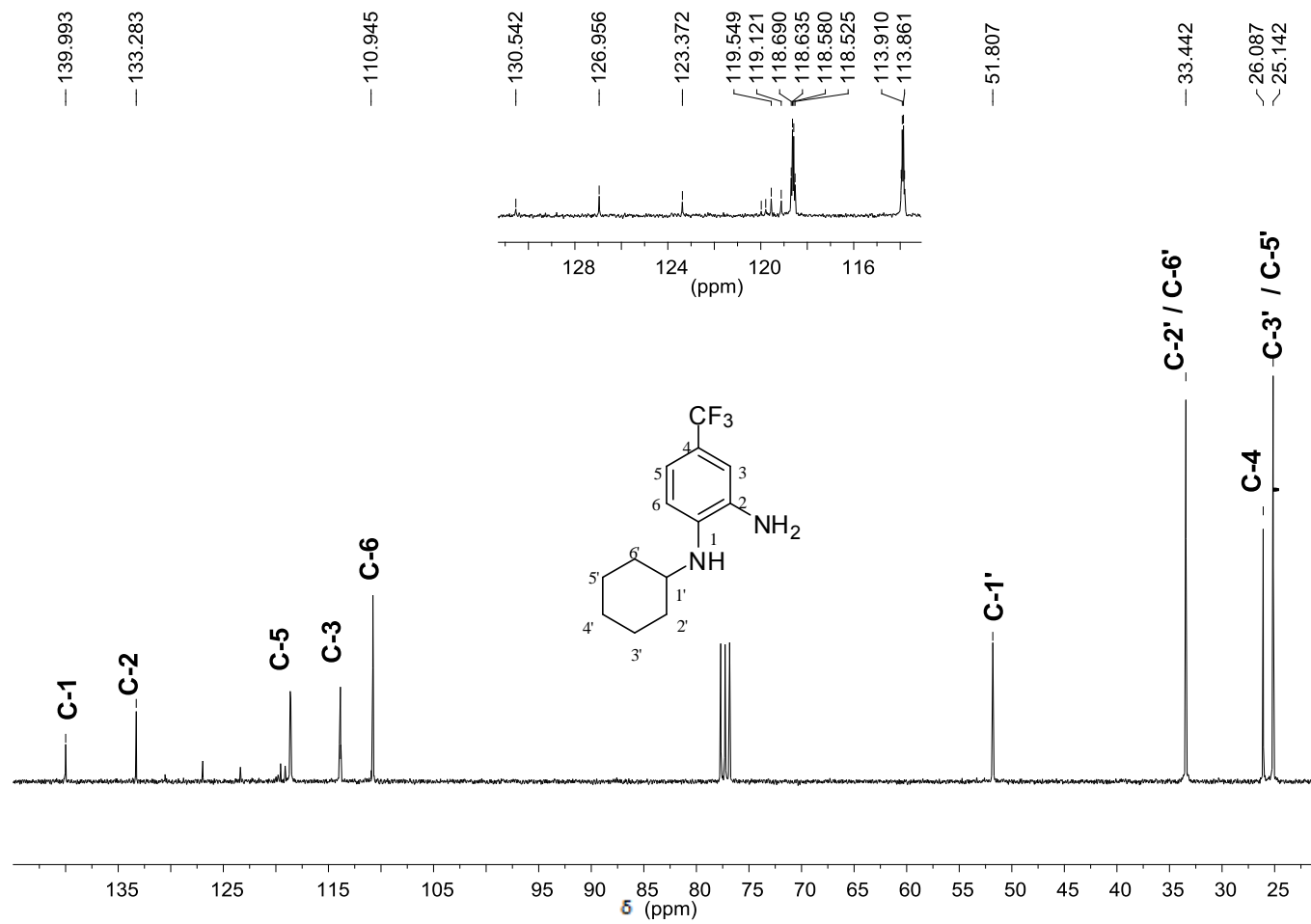


Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 1-(N-cicloexil)-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina (**3b**).

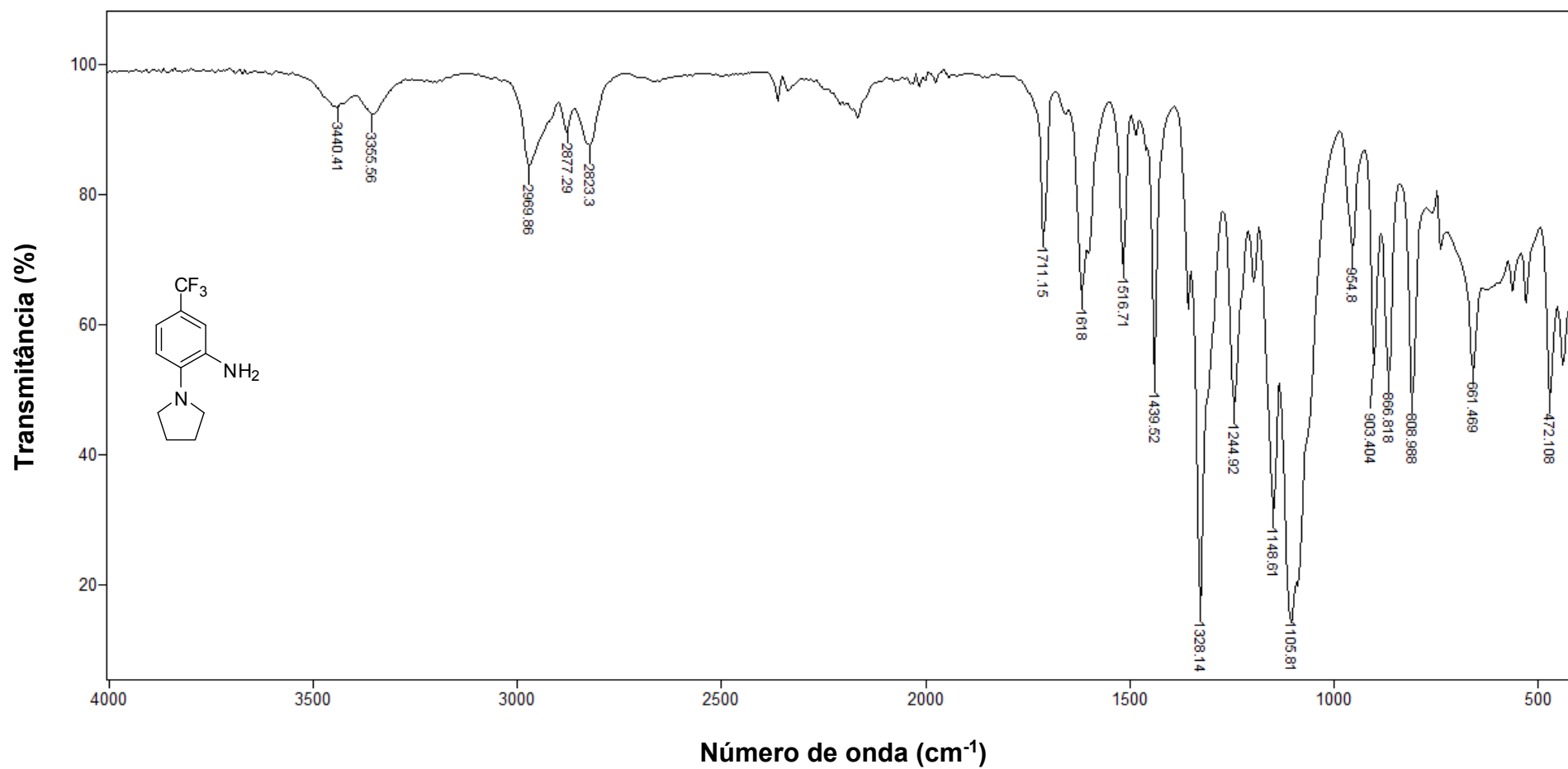


Figura 19 - Espectro no infravermelho (ATR) da 2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (**3c**).

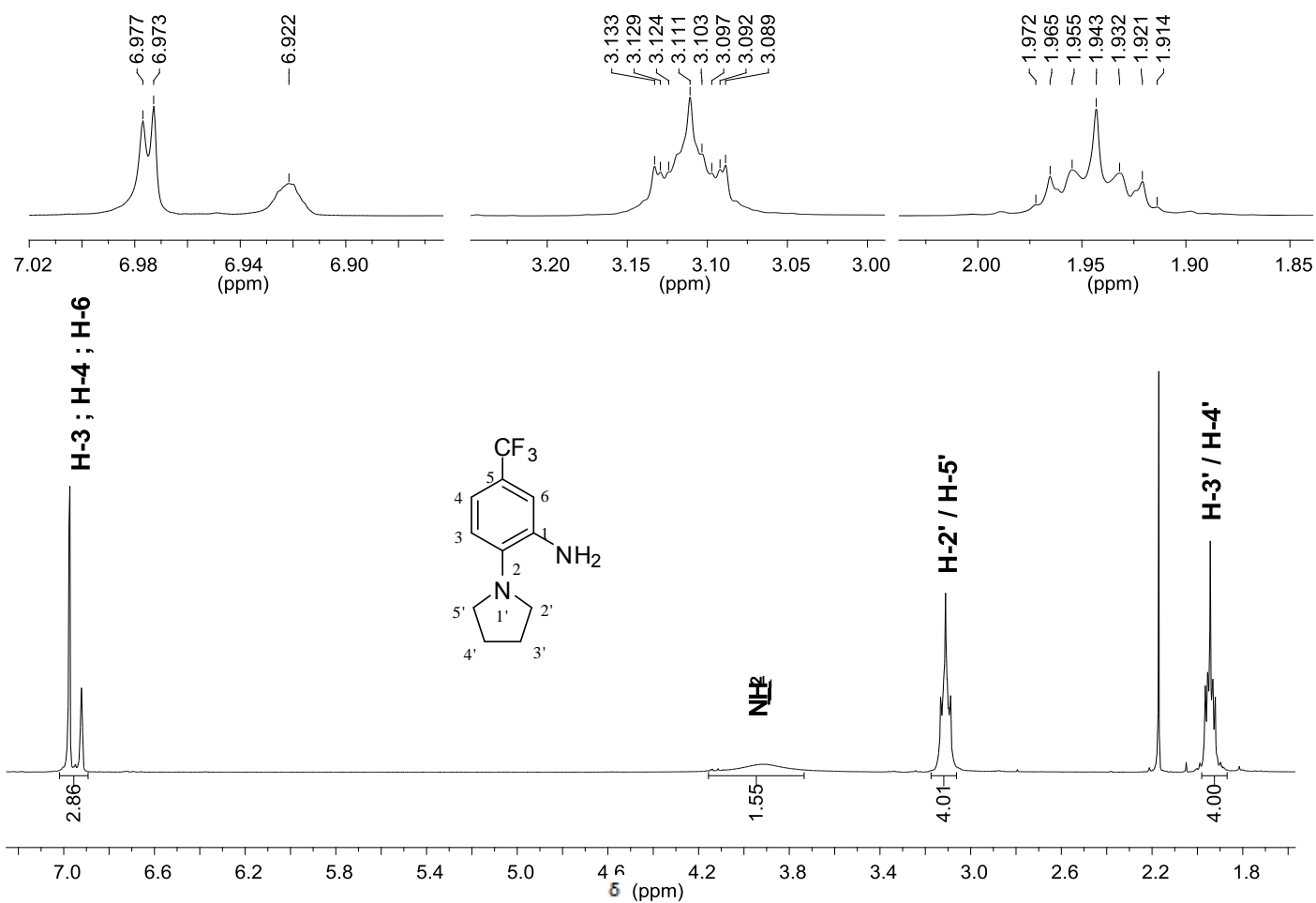


Figura 20 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (**3c**).

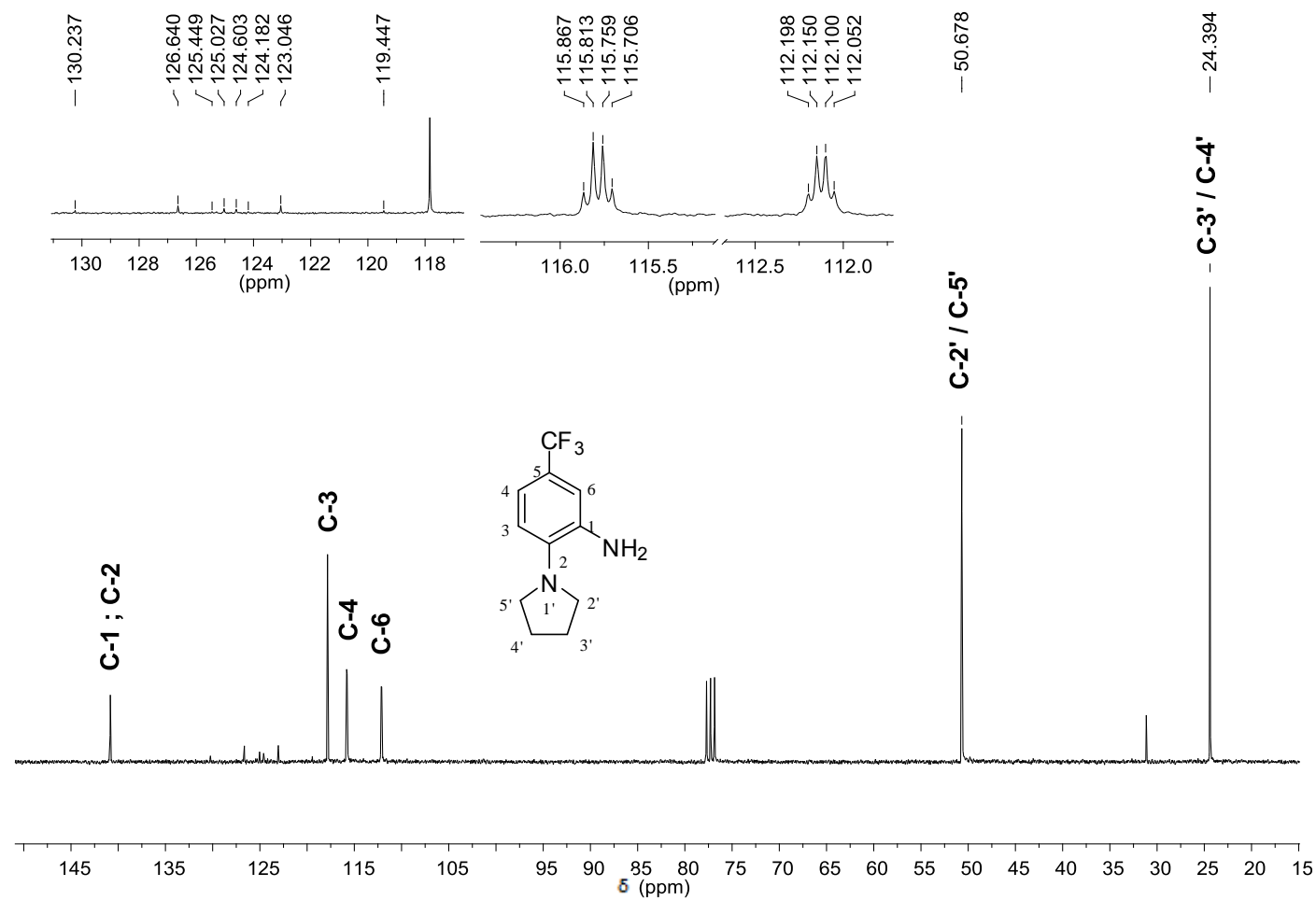


Figura 21 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)anilina (**3c**).

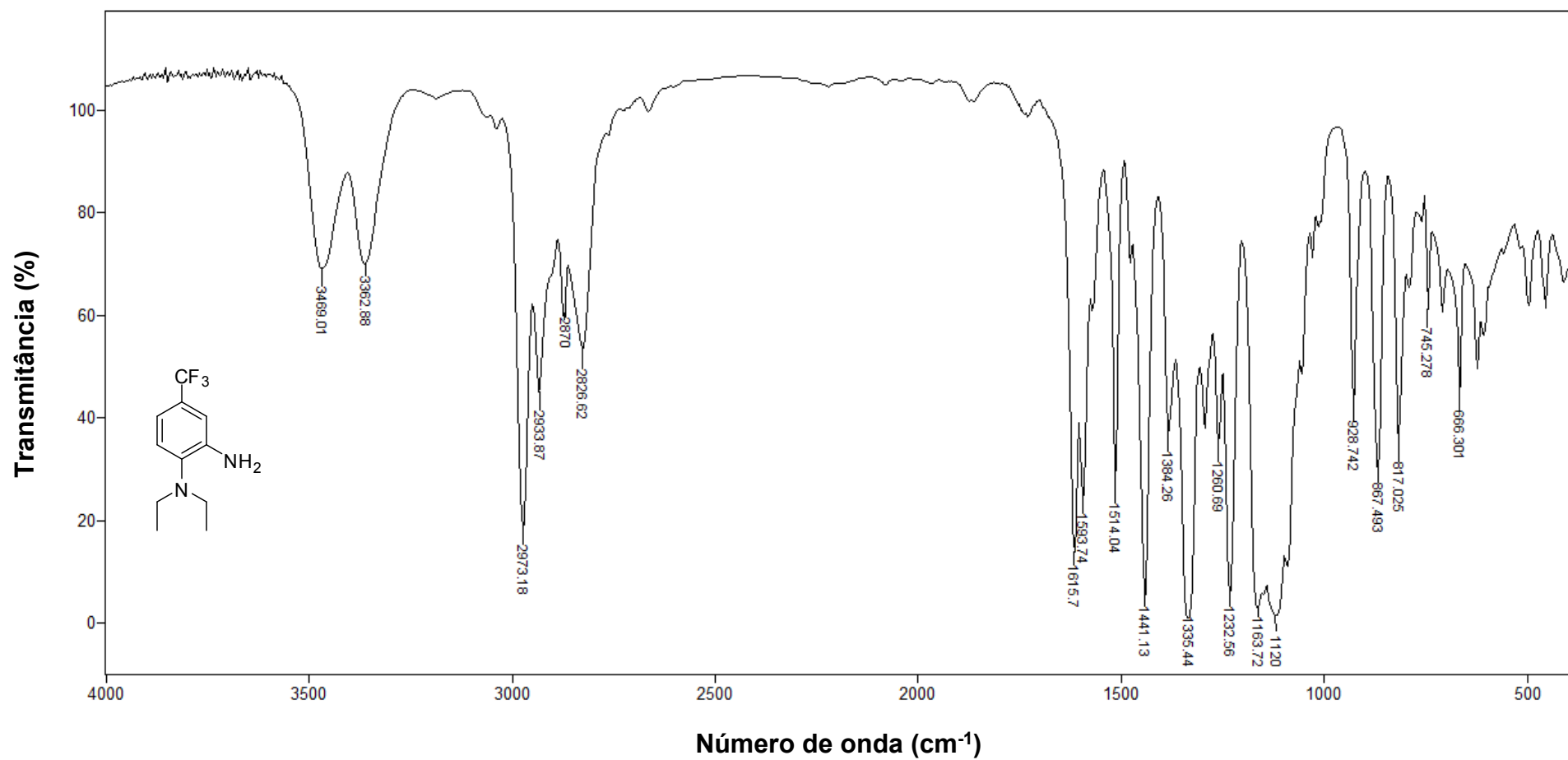


Figura 22 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N,N*-dietil-4-(trifluorometilfenil)benzeno-1,2-diamina (**3d**).

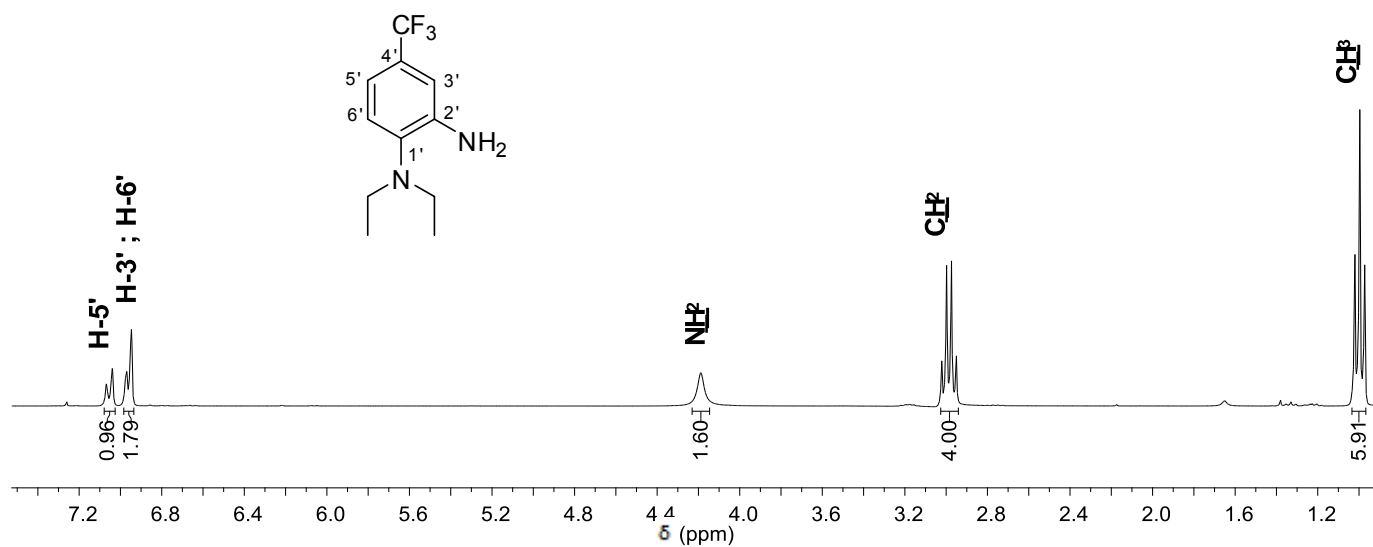
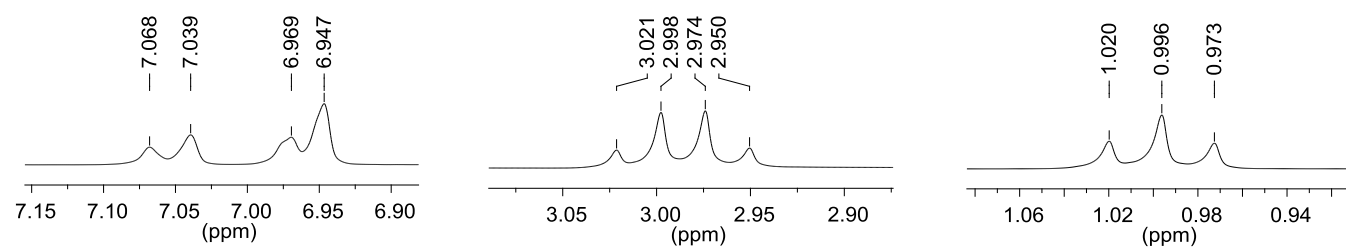


Figura 23 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N,N*-dietil-4-(trifluorometilfenil)benzeno-1,2-diamina (**3d**).

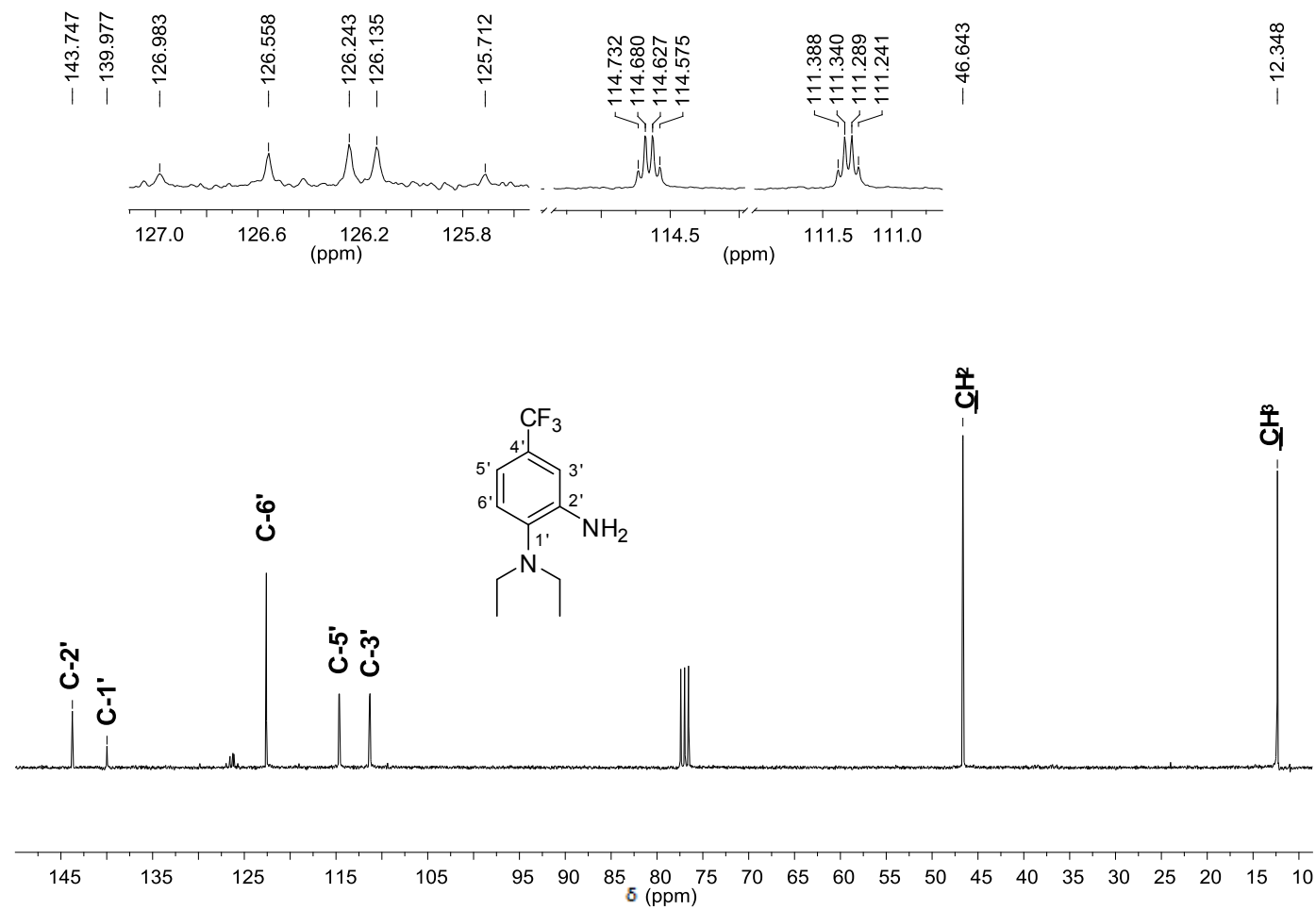


Figura 24 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da *N,N*-dietil-4-(trifluorometilfenil)benzeno-1,2-diamina (**3d**).

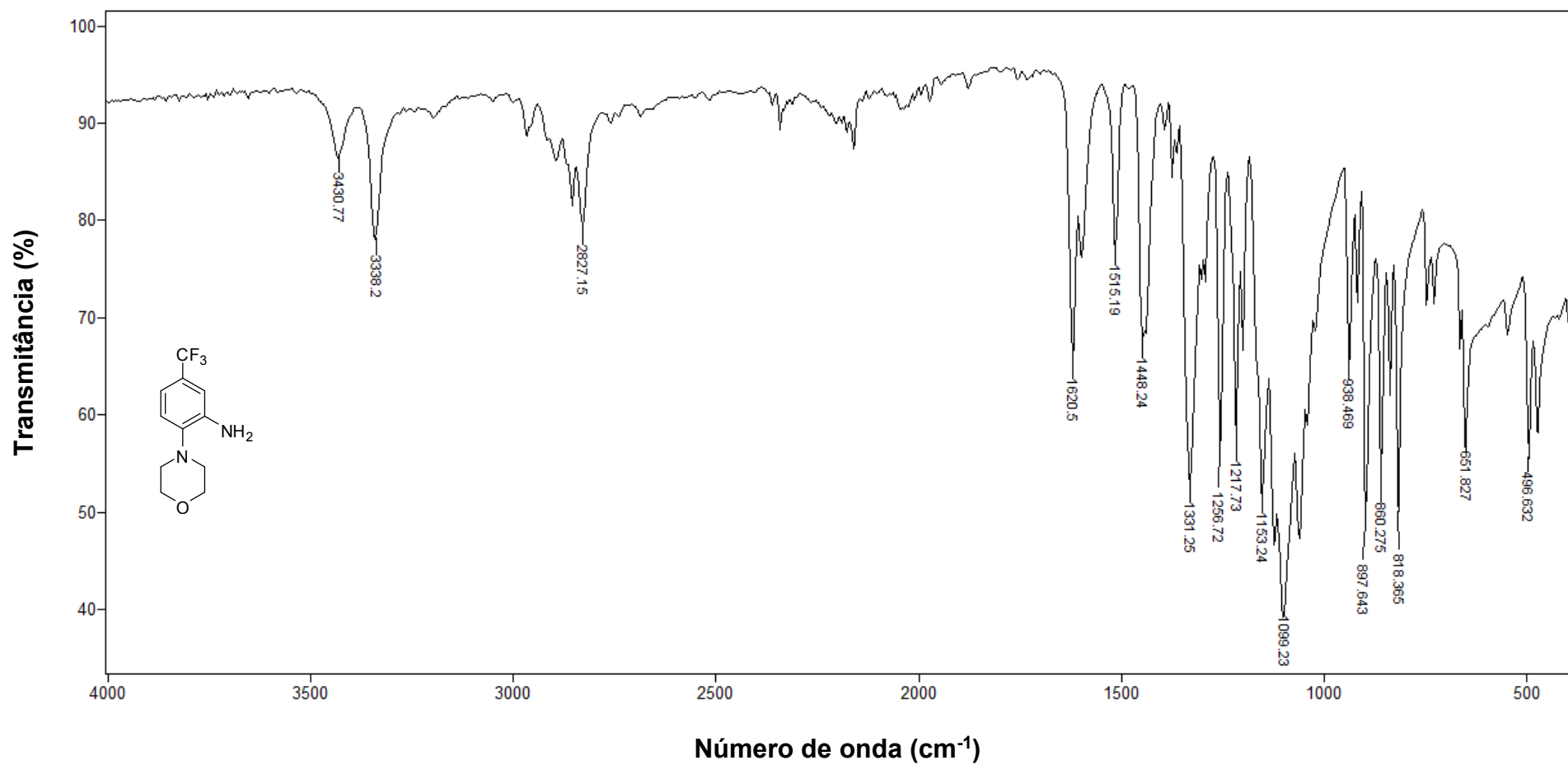


Figura 25 - Espectro no infravermelho (ATR) da 2-morfolino-5-(trifluorometil)anilina (3e).

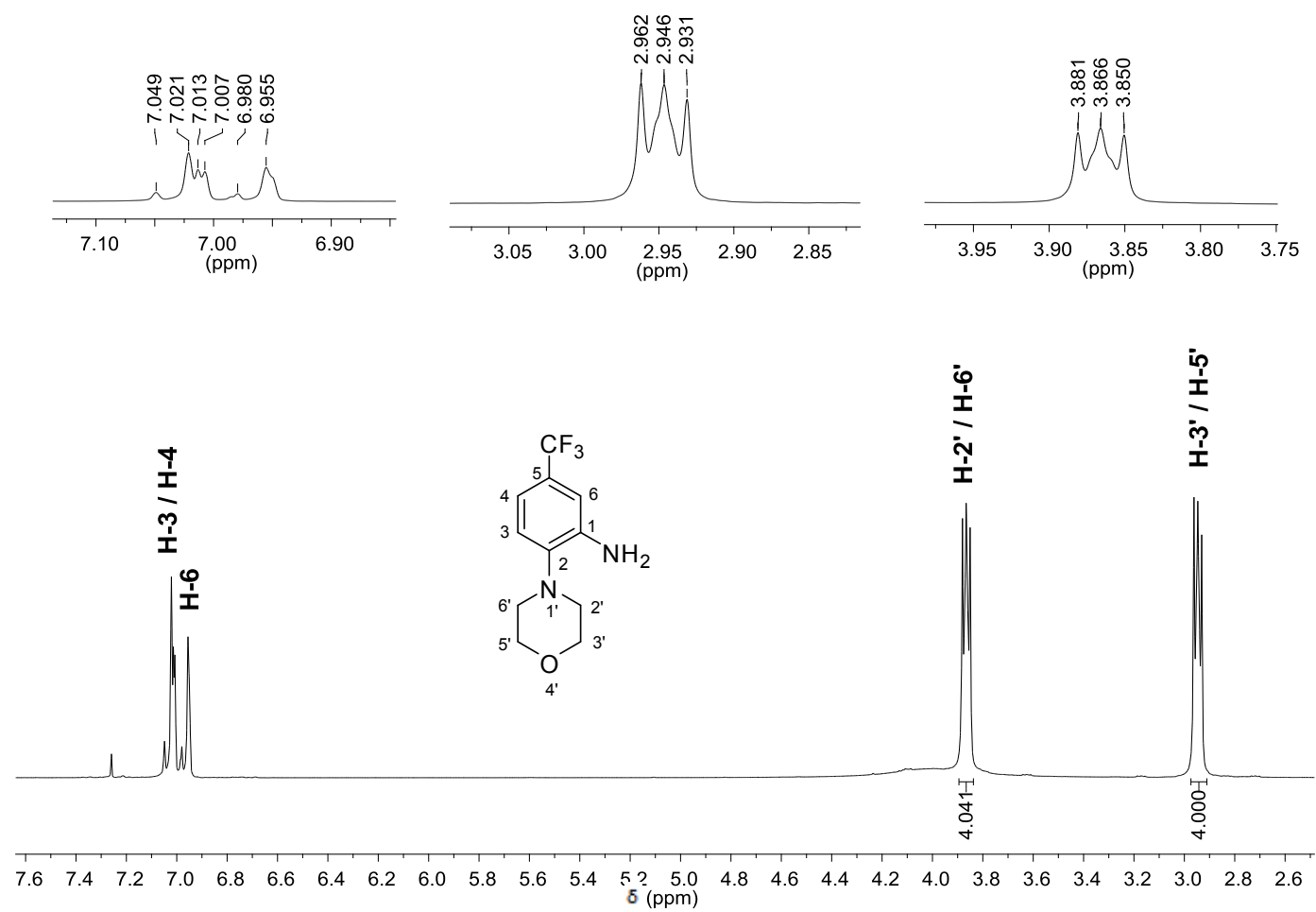


Figura 26 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2-morfolino-5-(trifluorometil)anilina (**3e**).

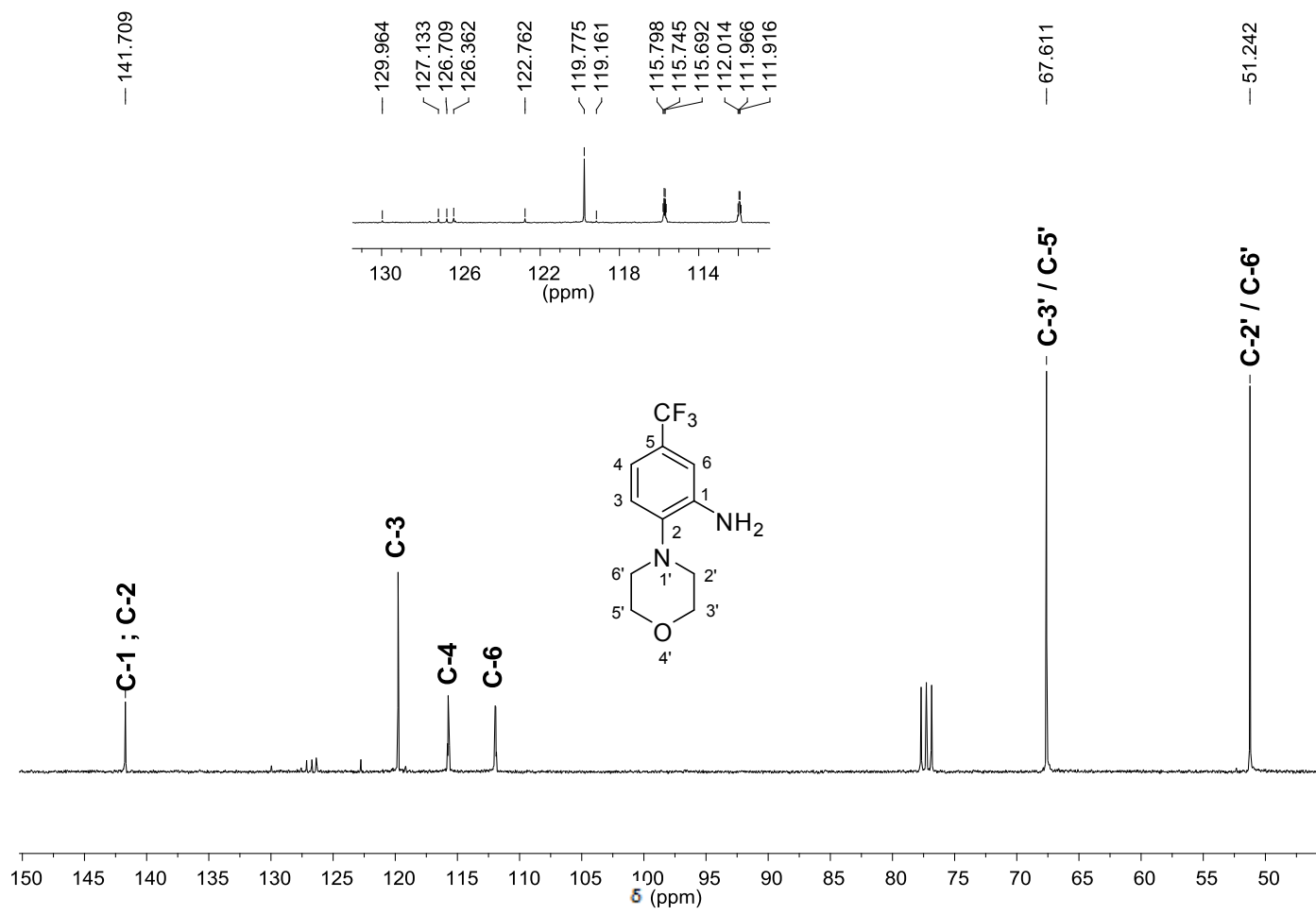


Figura 27 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 2-morfolino-5-(trifluorometil)anilina (**3e**).

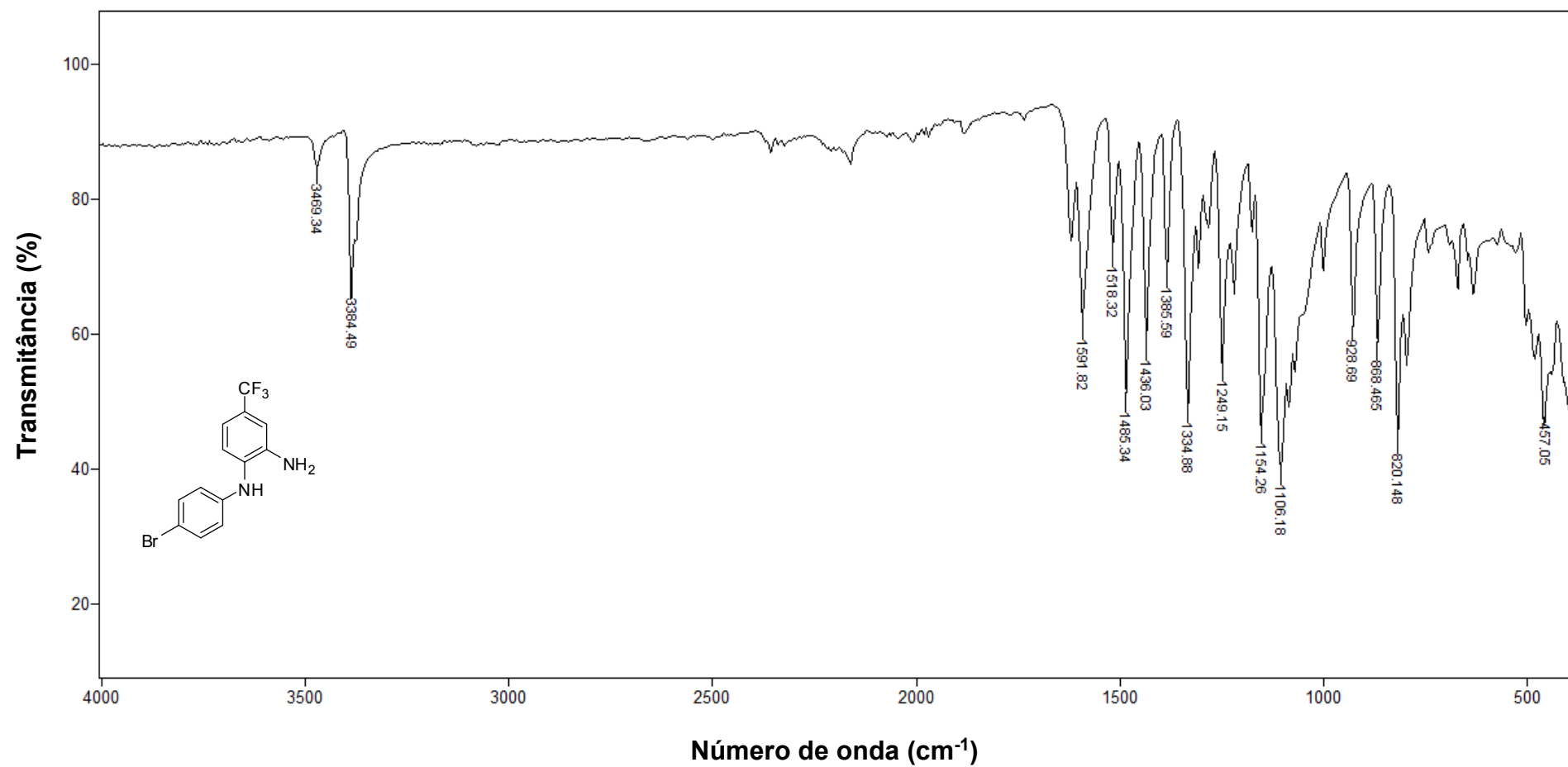


Figura 28 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-4-(bromofenil)-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina (**3f**).

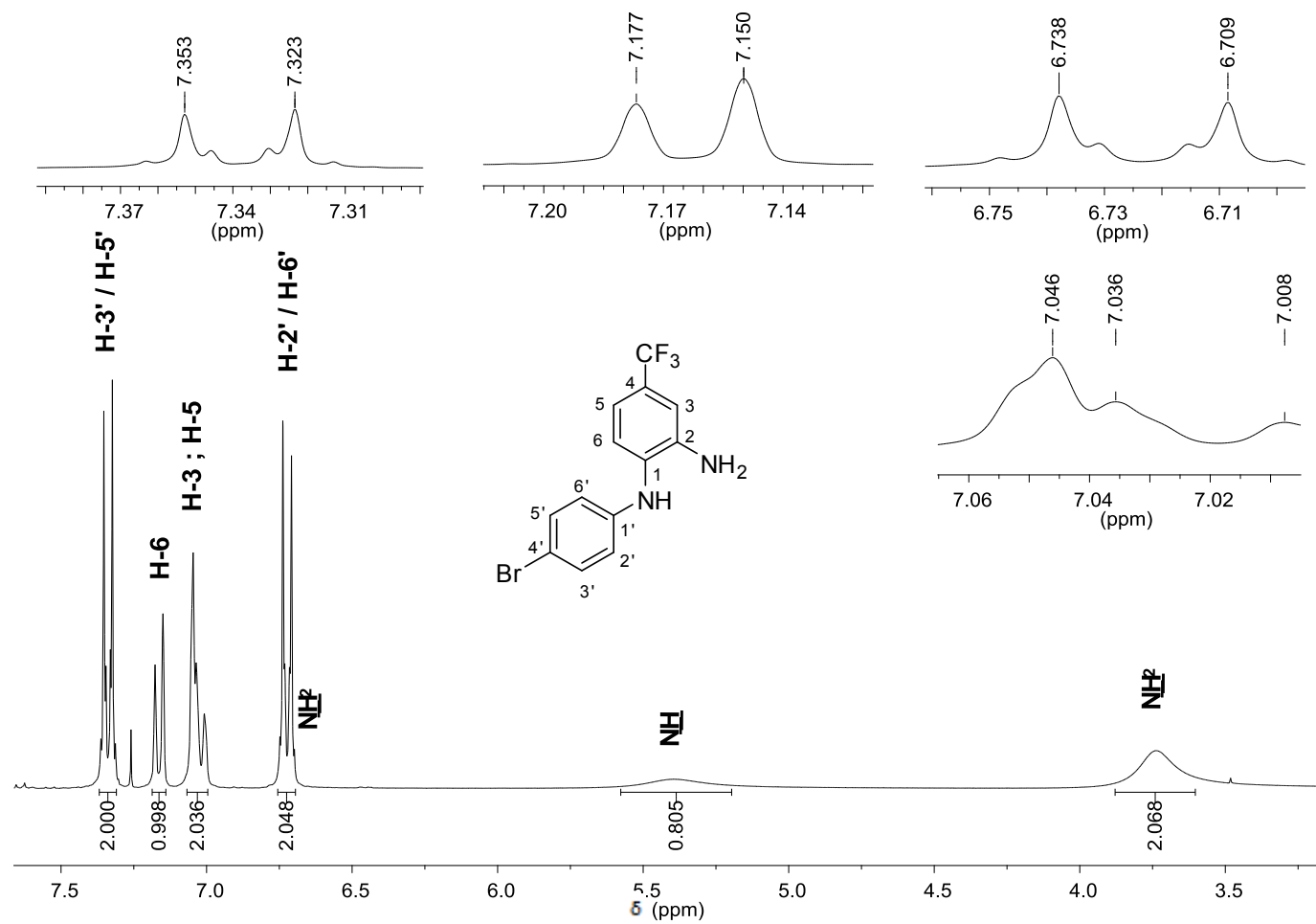


Figura 29 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *N*-4-(bromofenil)-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina (**3f**).

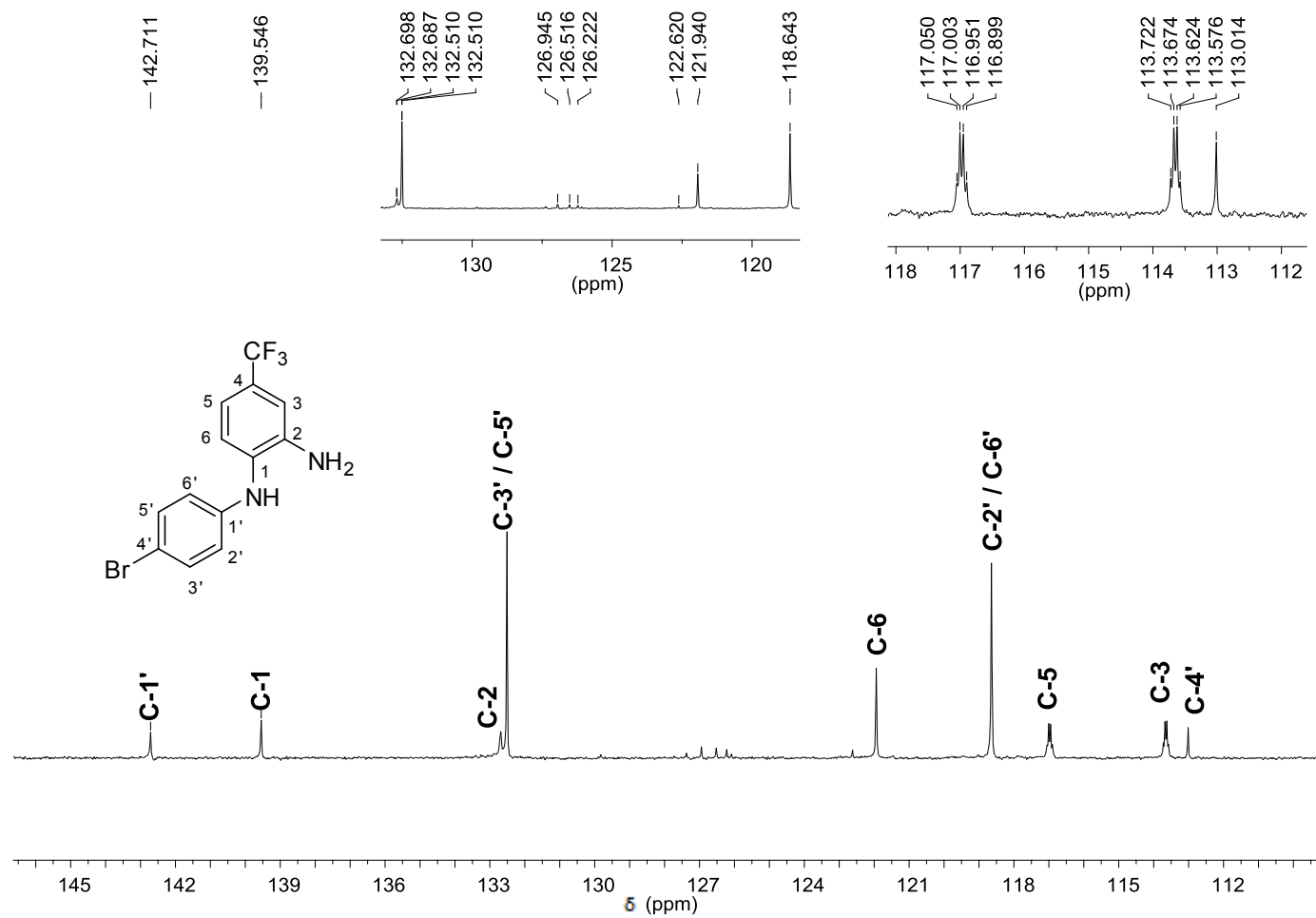


Figura 30 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-4-(bromofenil)-4-(trifluorometil)benzeno-1,2-diamina (**3f**).

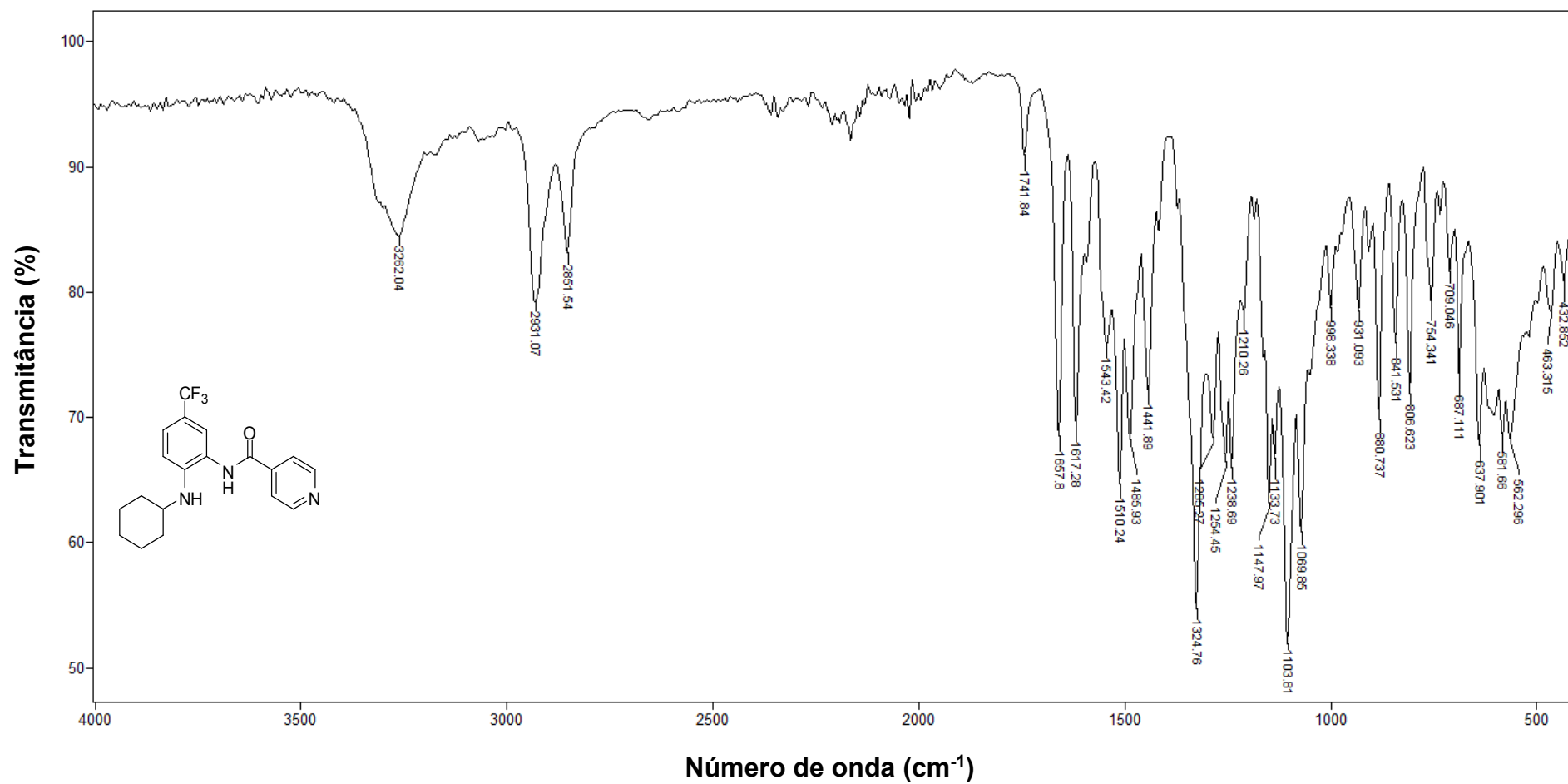


Figura 31 - Espectro no infravermelho (ATR) *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340#01).

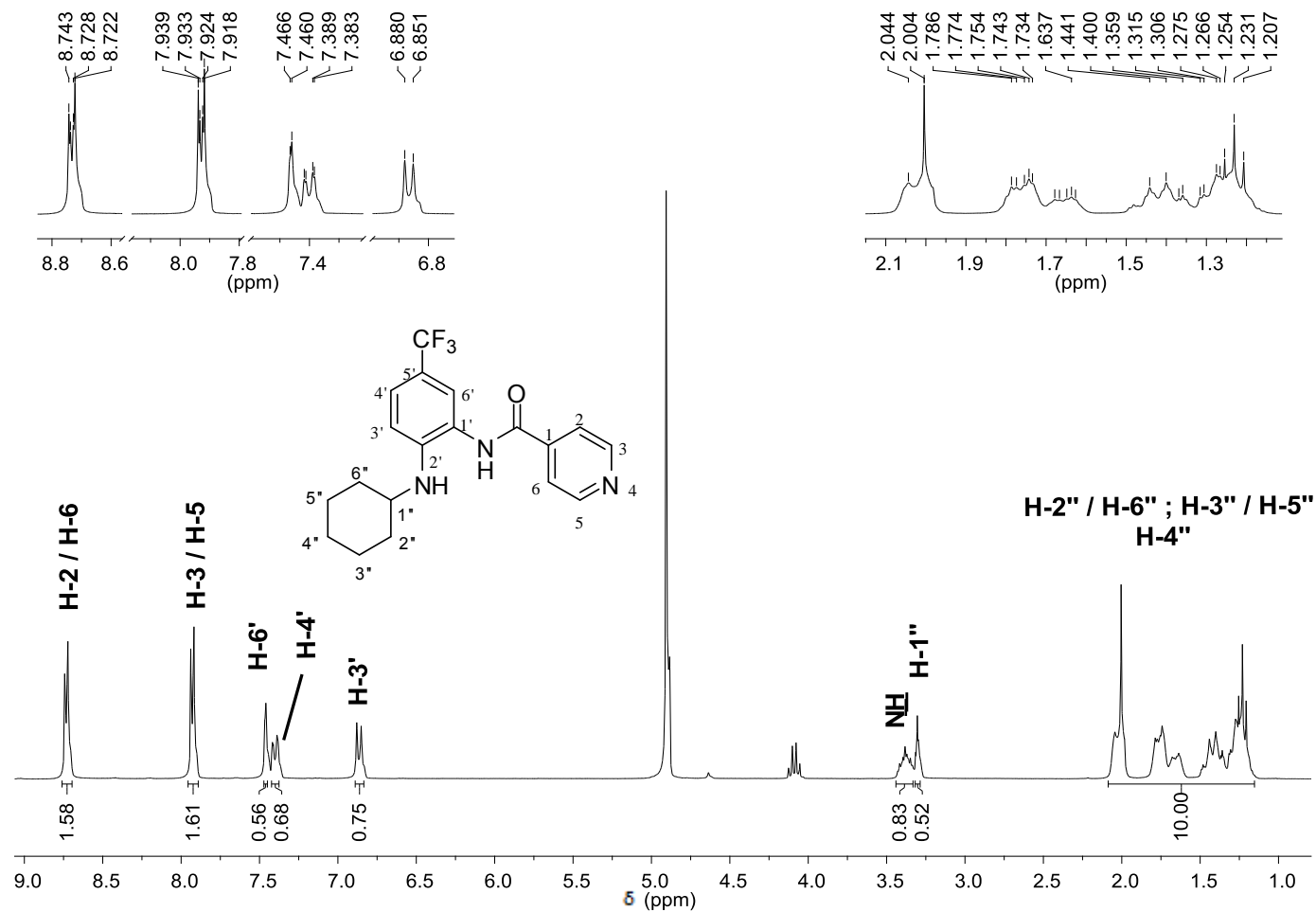


Figura 32 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CD_3OD) da *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#01**).

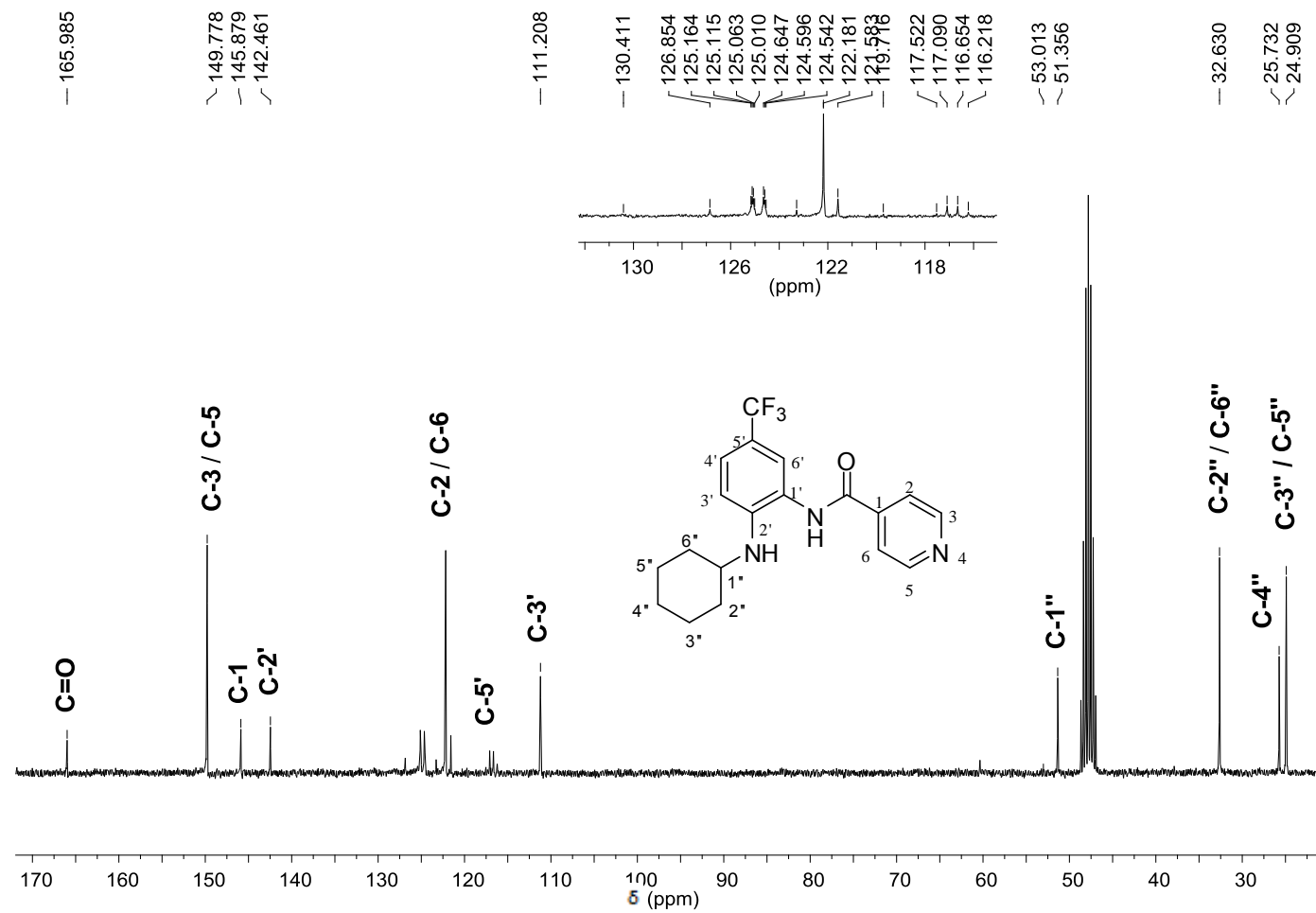


Figura 33 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CD₃OD) da *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#01**).

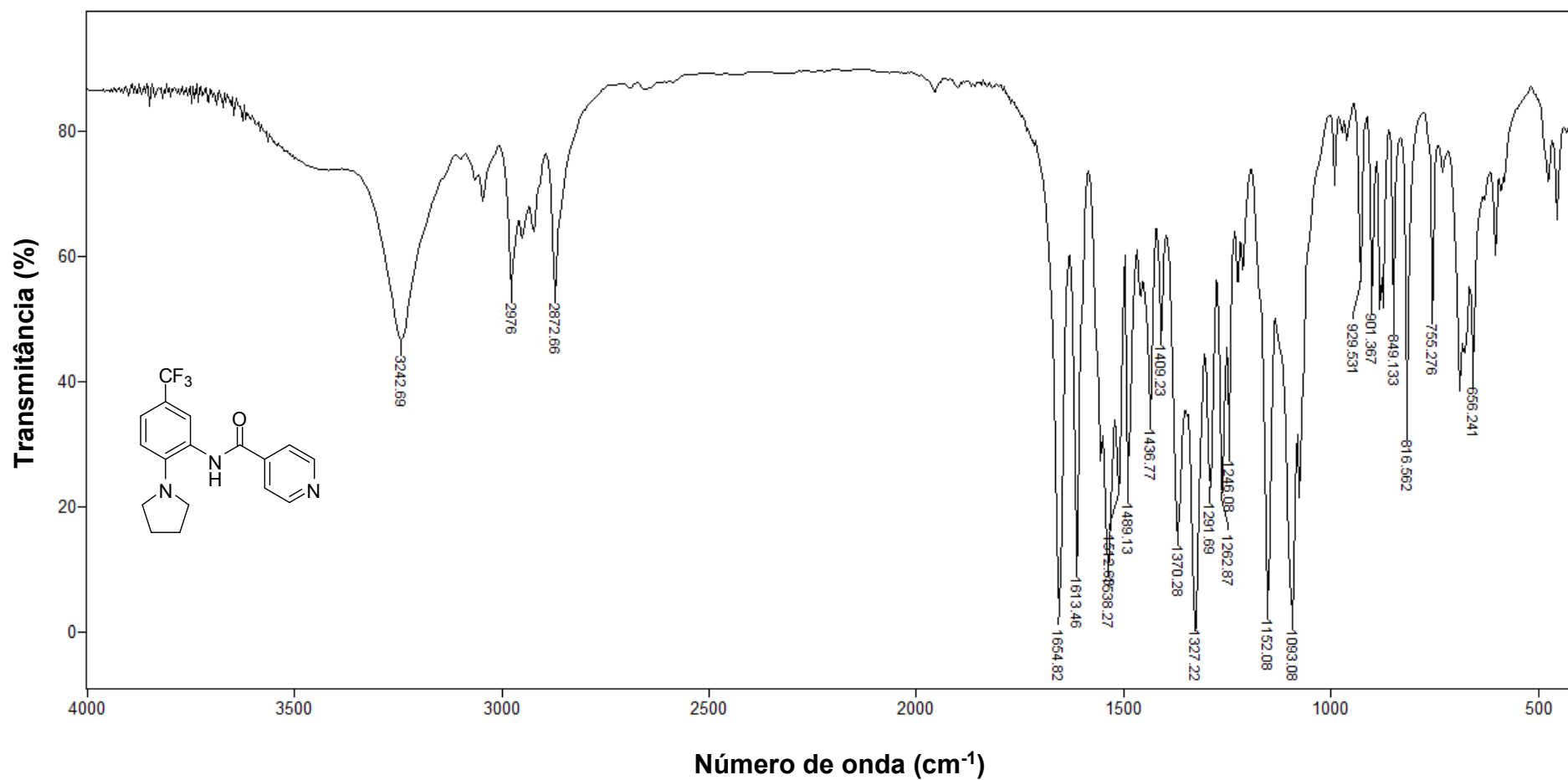


Figura 34 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#02**).

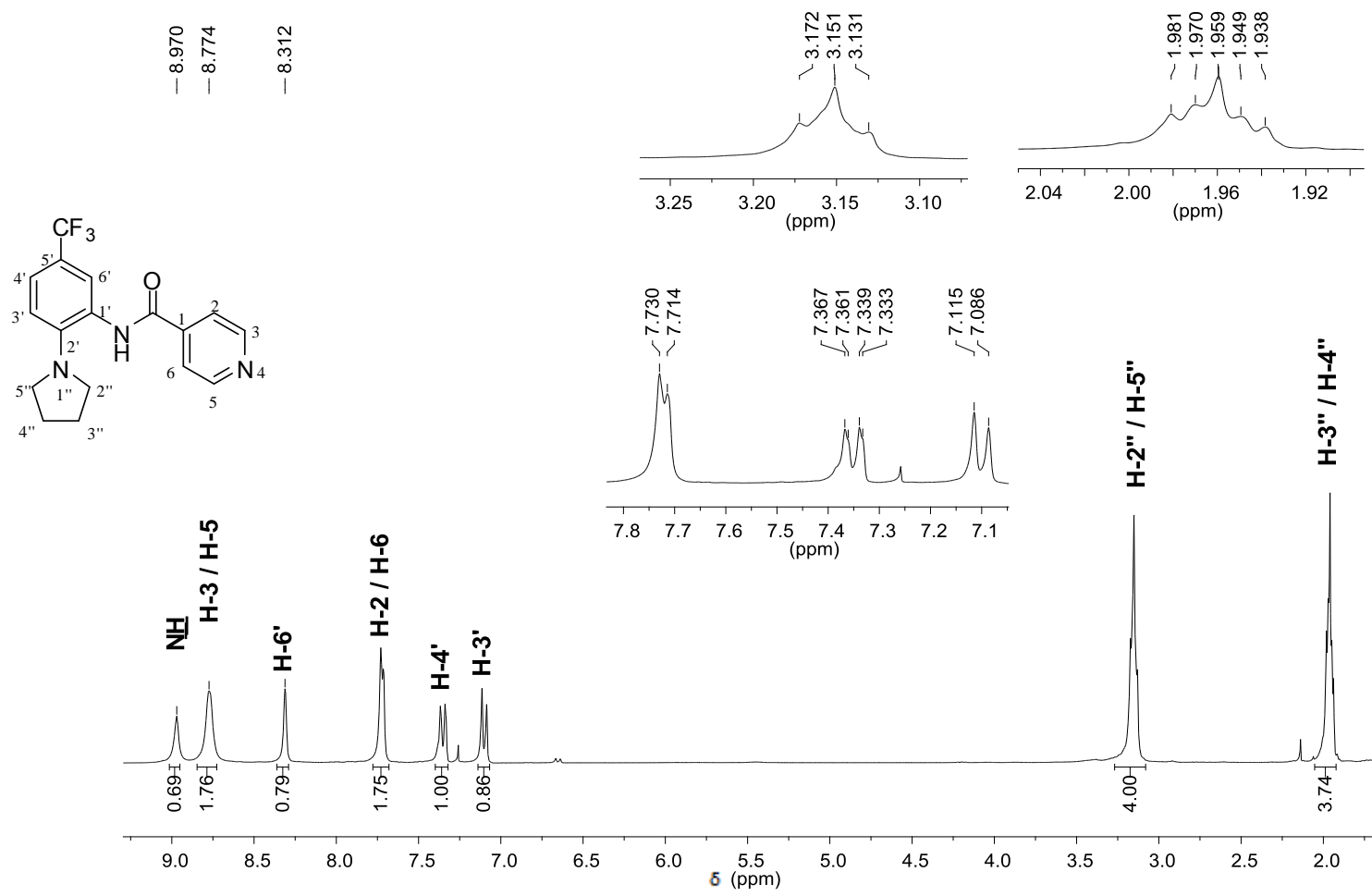


Figura 35 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340#02).

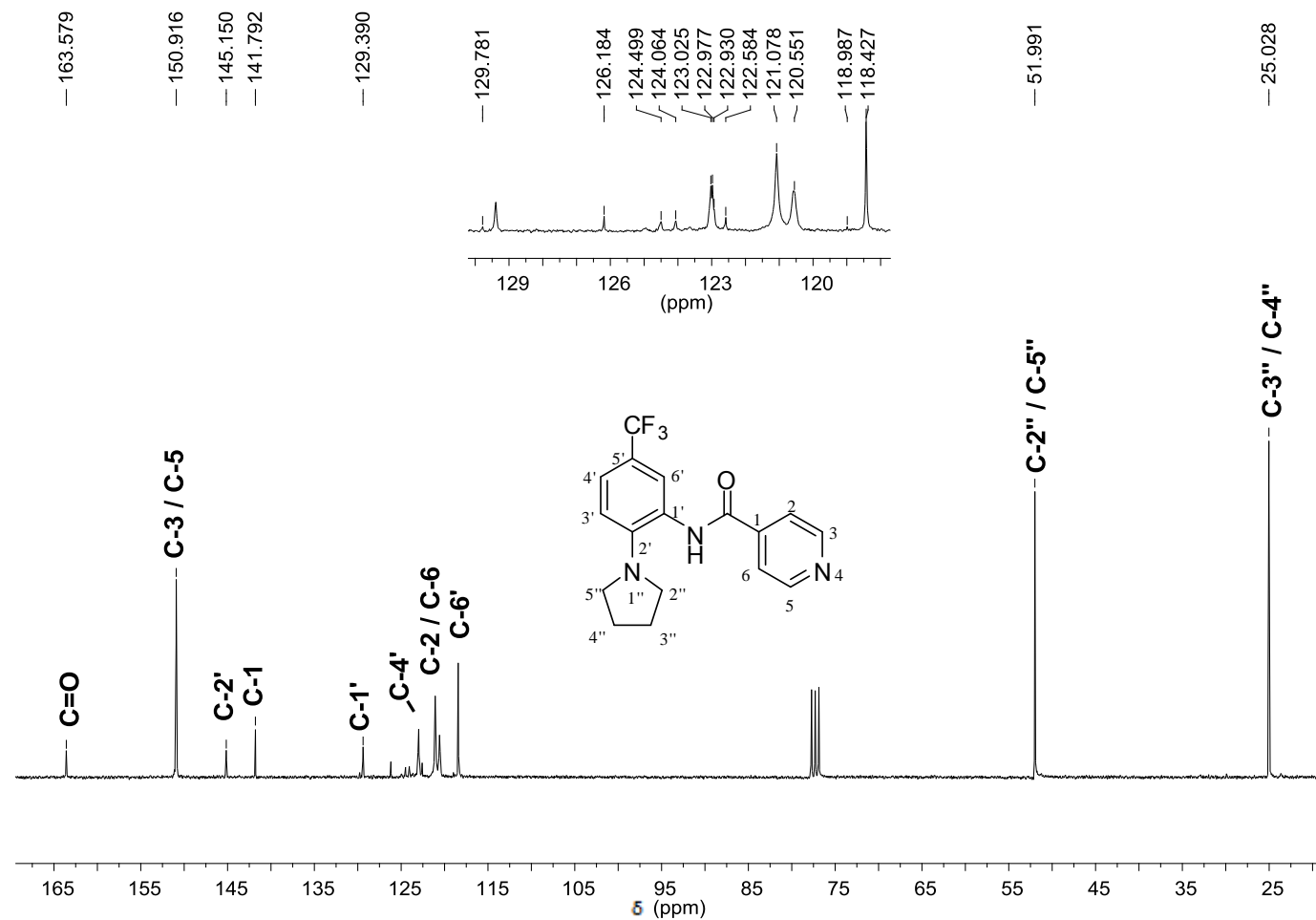


Figura 36 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340#02).

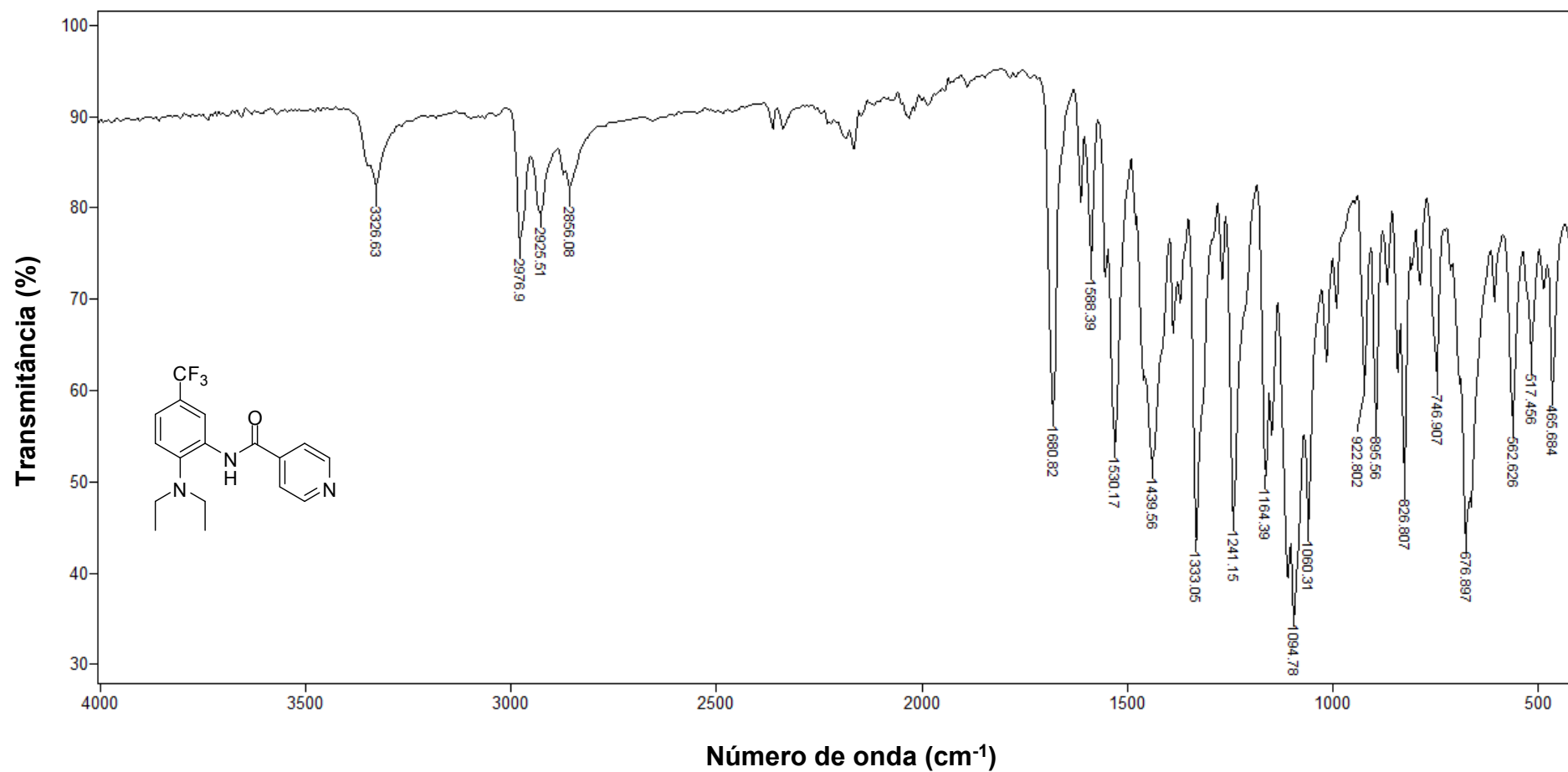


Figura 37 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#03**).

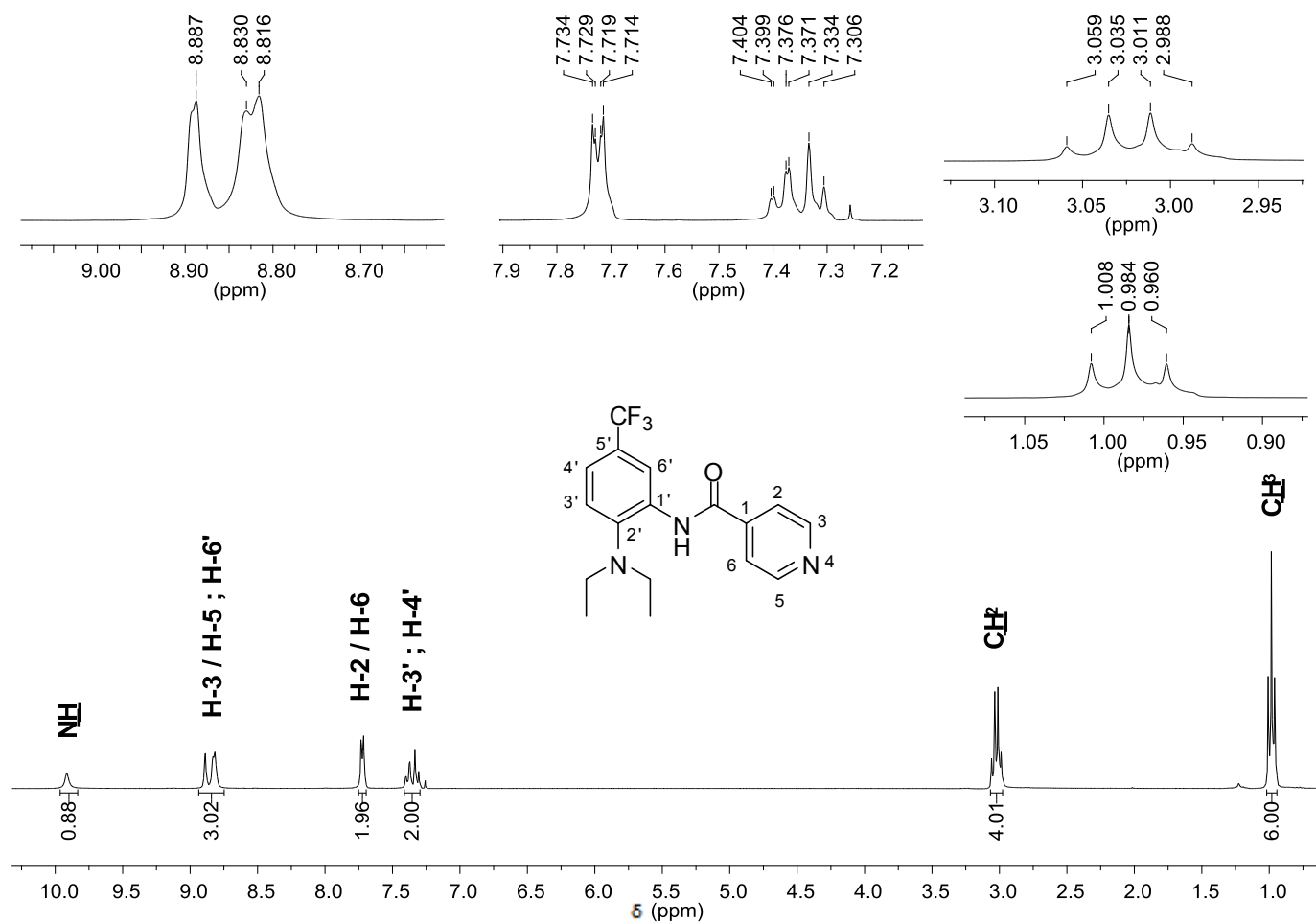


Figura 38 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340#03).

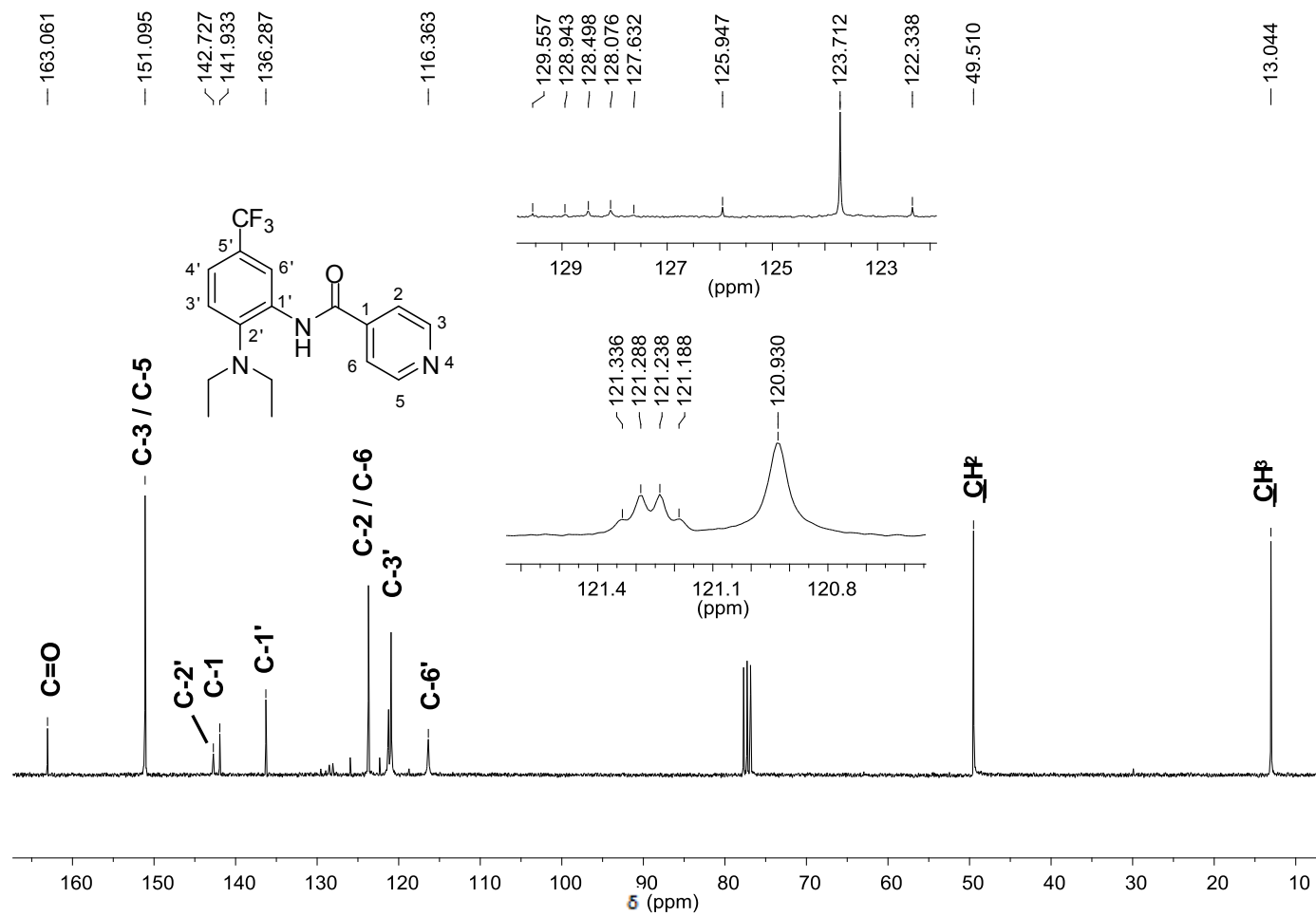


Figura 39 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340#03).

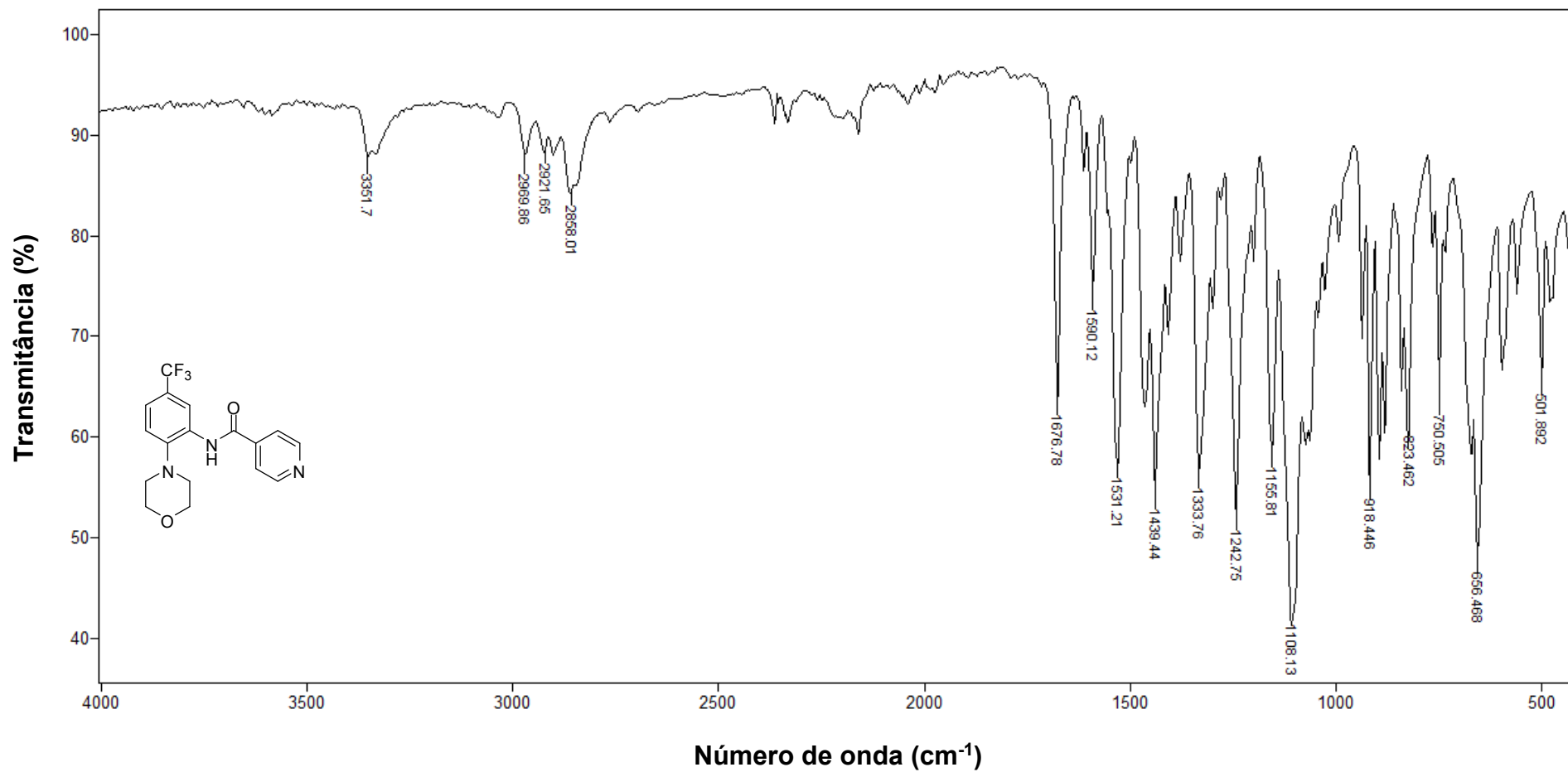


Figura 40 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#04**).

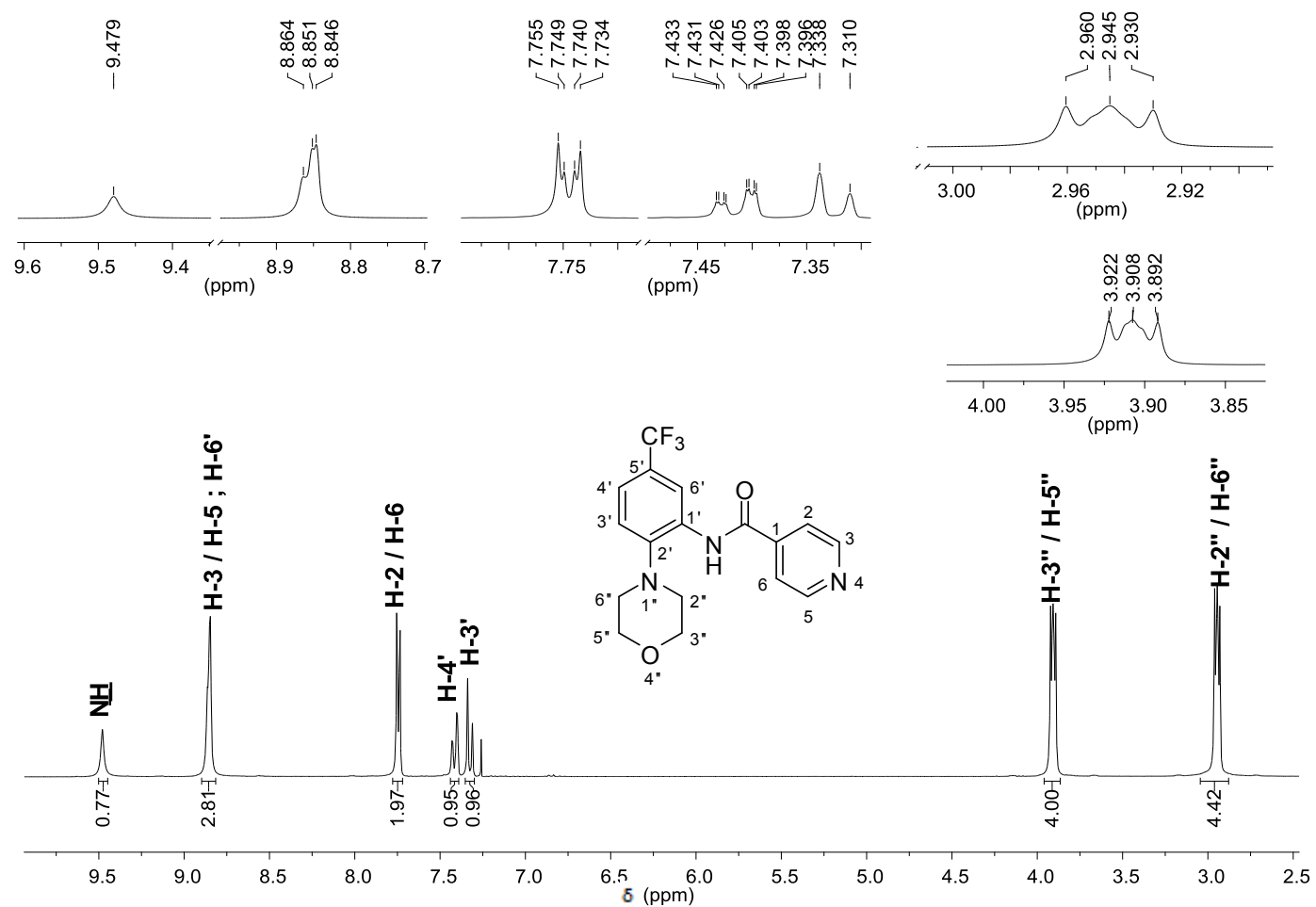


Figura 41 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (SRPIN 340#04).

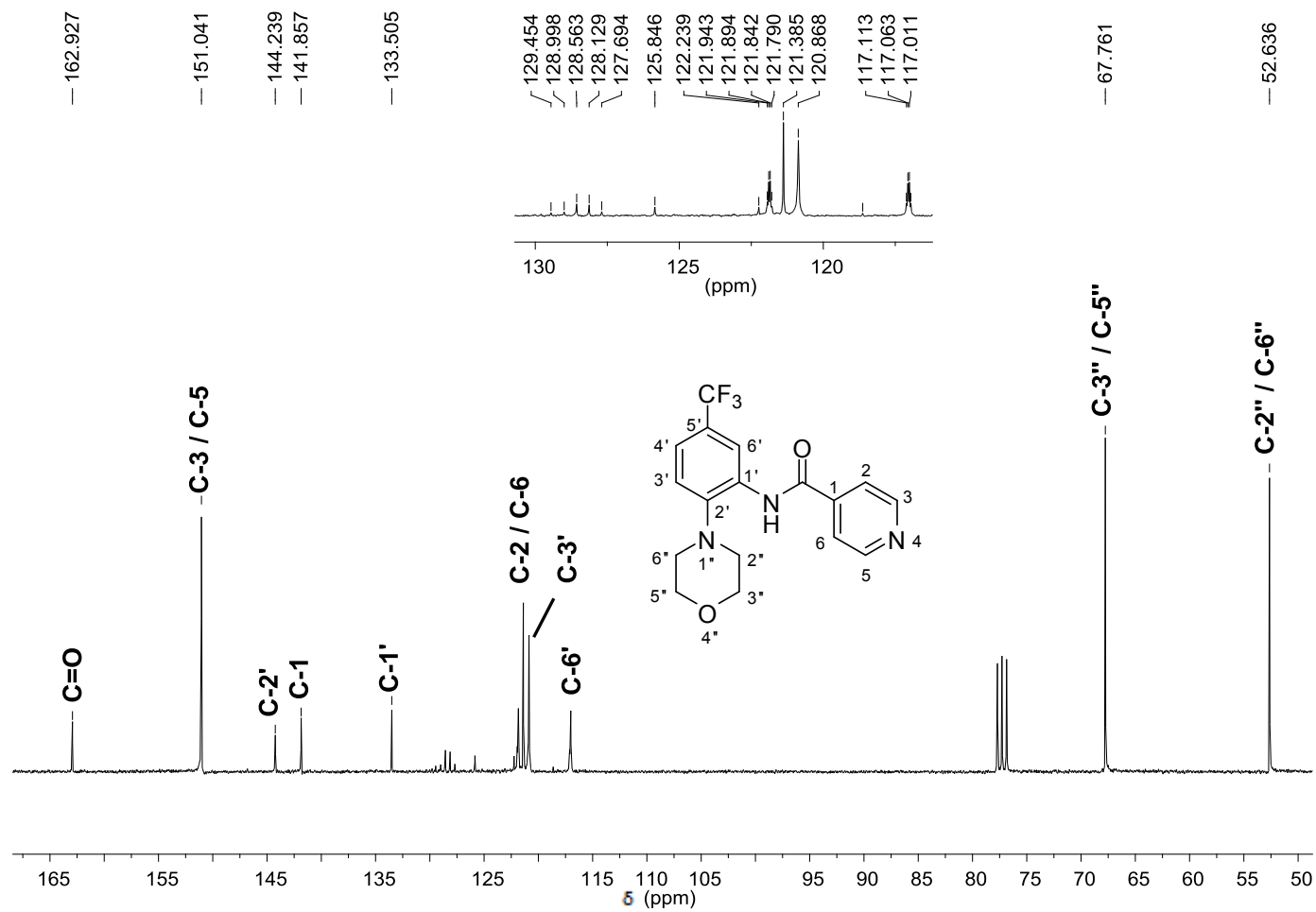


Figura 42 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#04**).

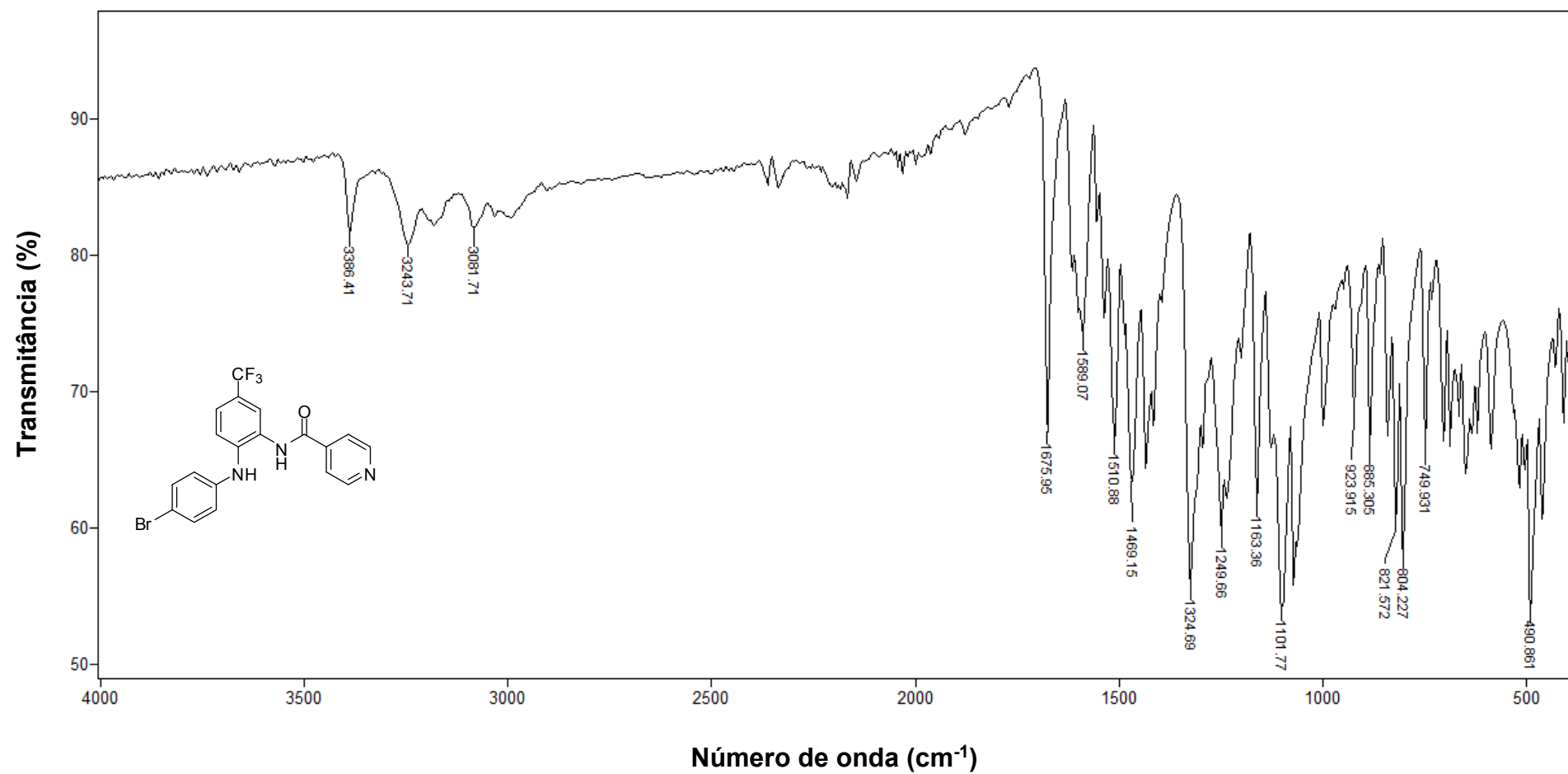


Figura 43 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#05**).

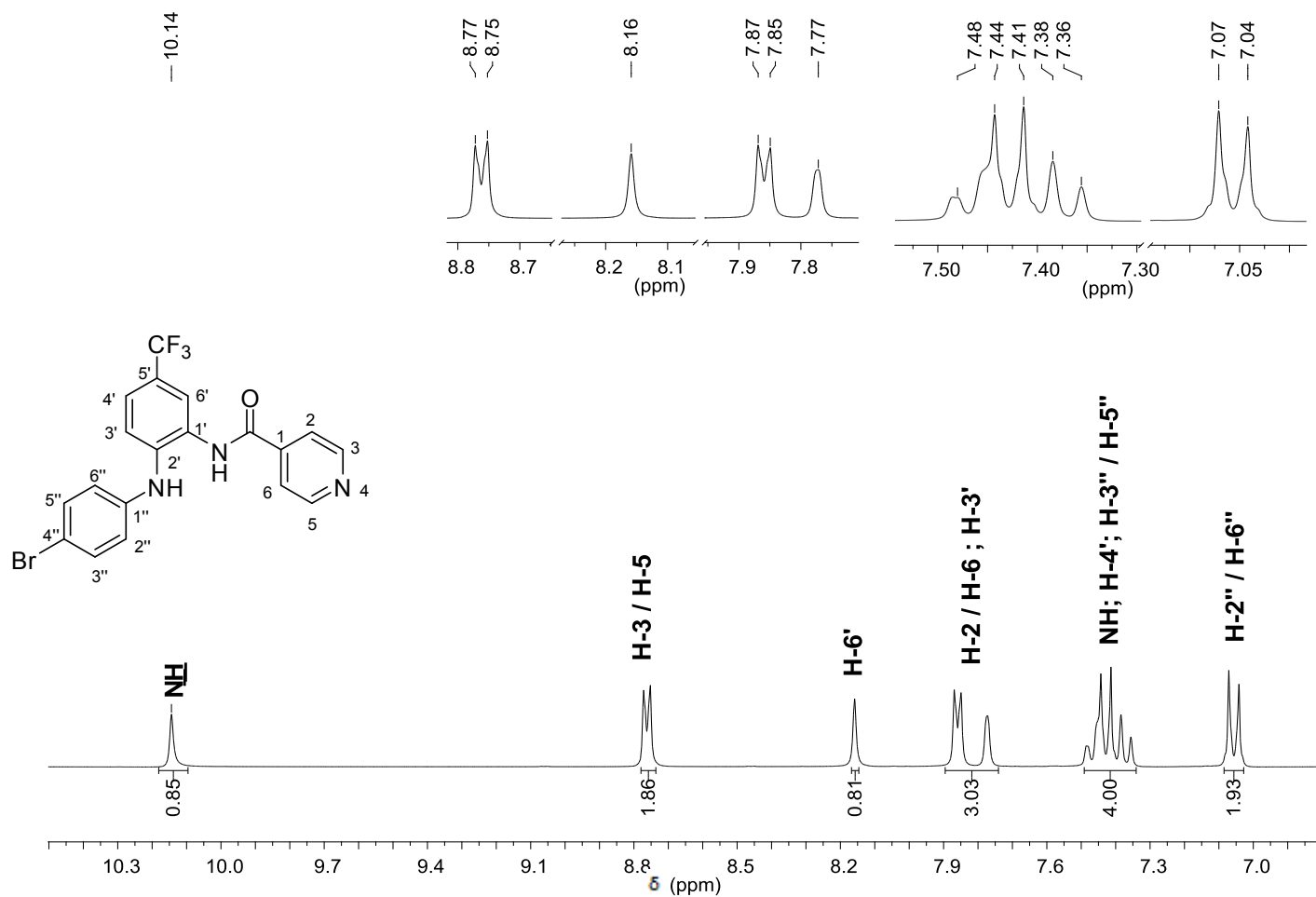


Figura 44 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CD₃OD) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#05**).

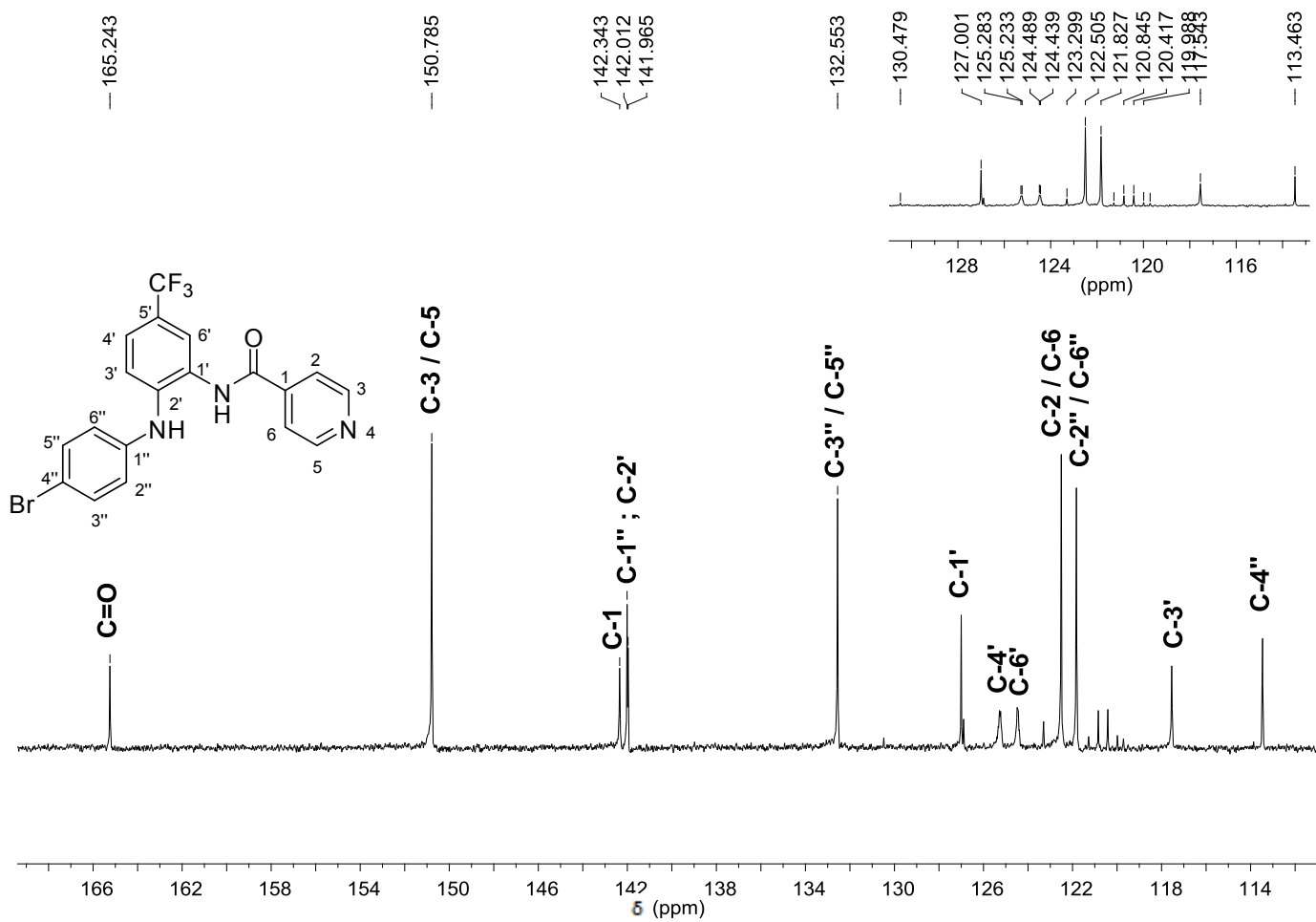


Figura 45 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]isonicotinamida (**SRPIN 340#05**).

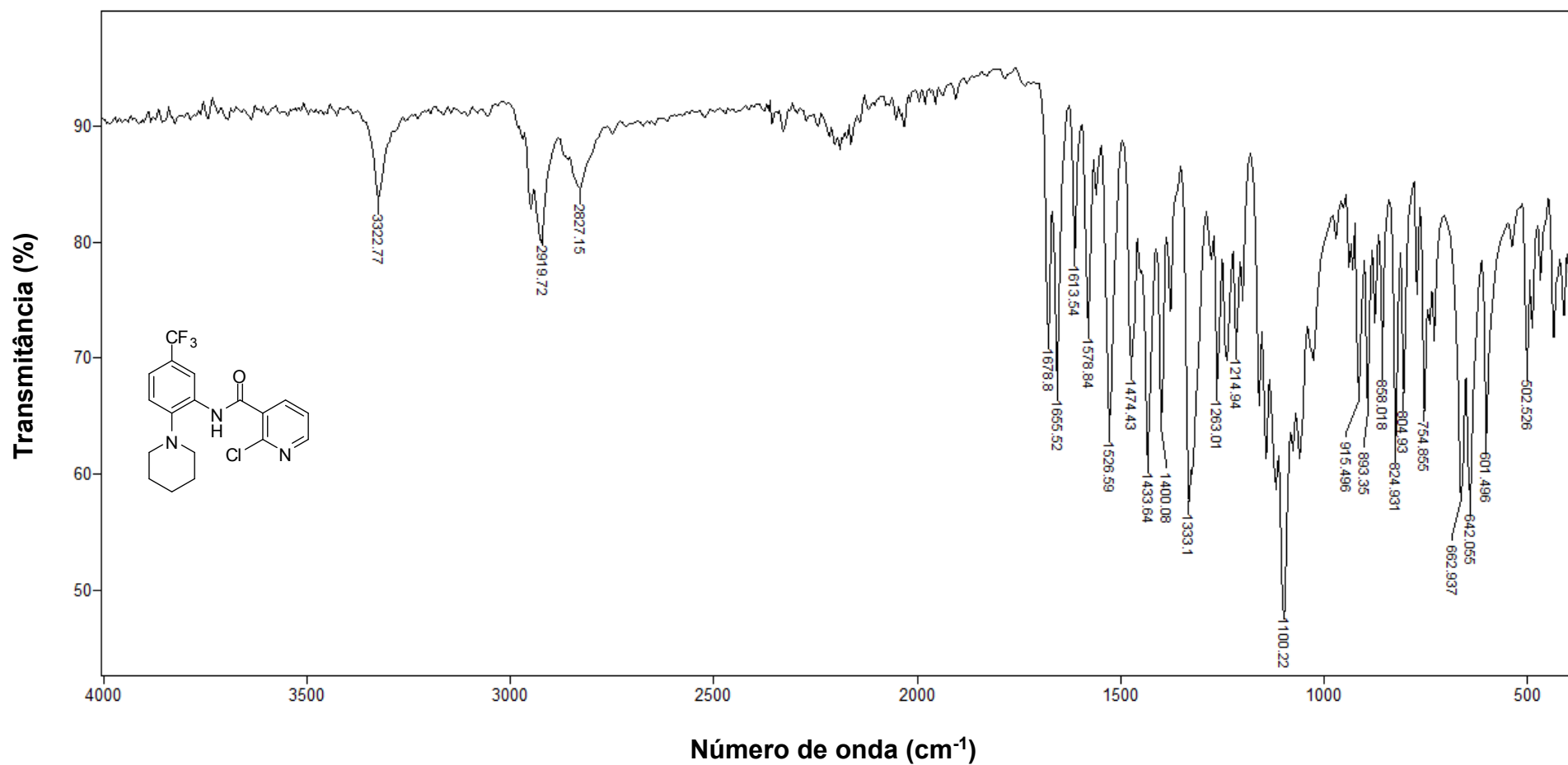


Figura 46 - Espectro no infravermelho (ATR) da 2-cloro-*N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340 #06**).

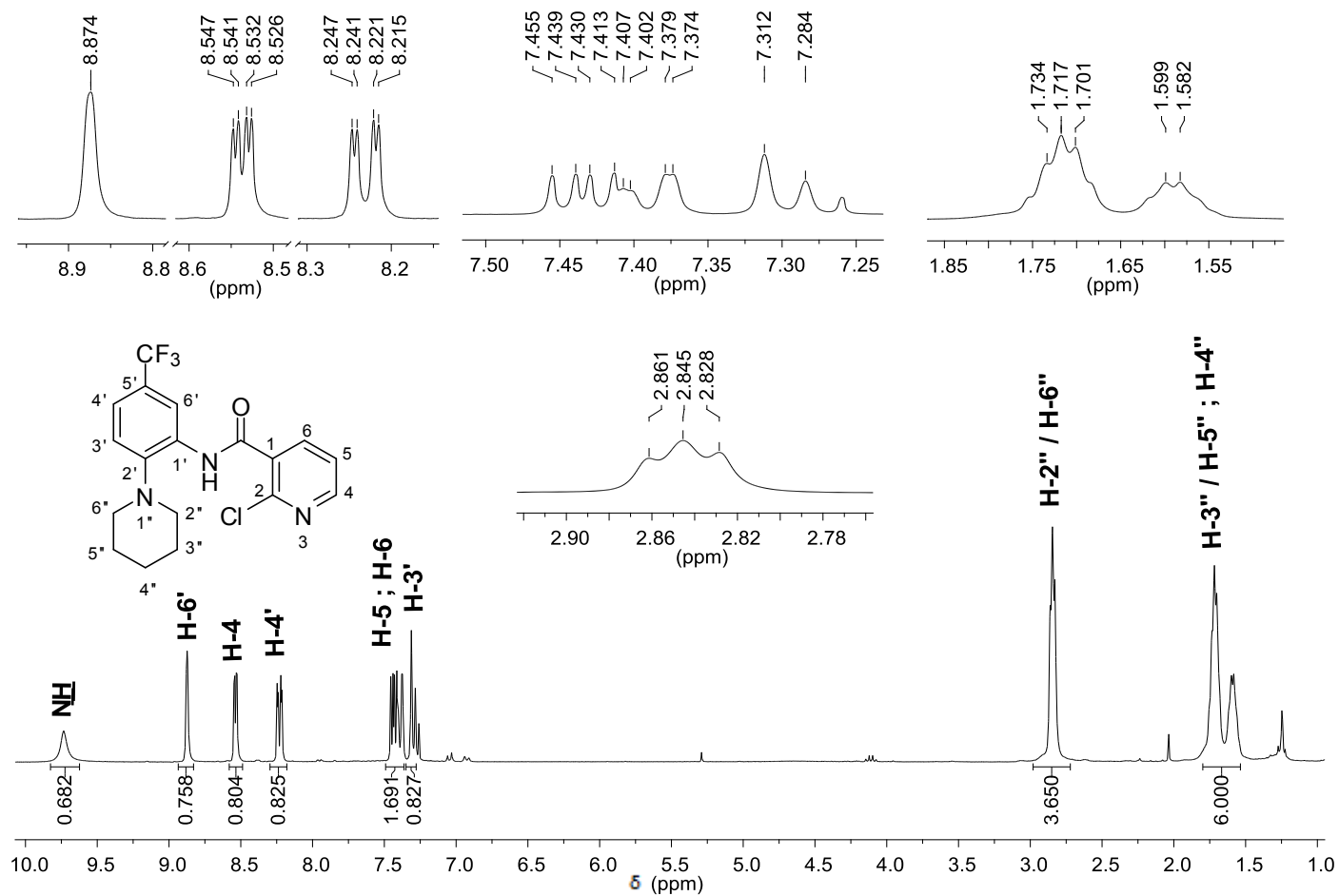


Figura 47 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#06**).

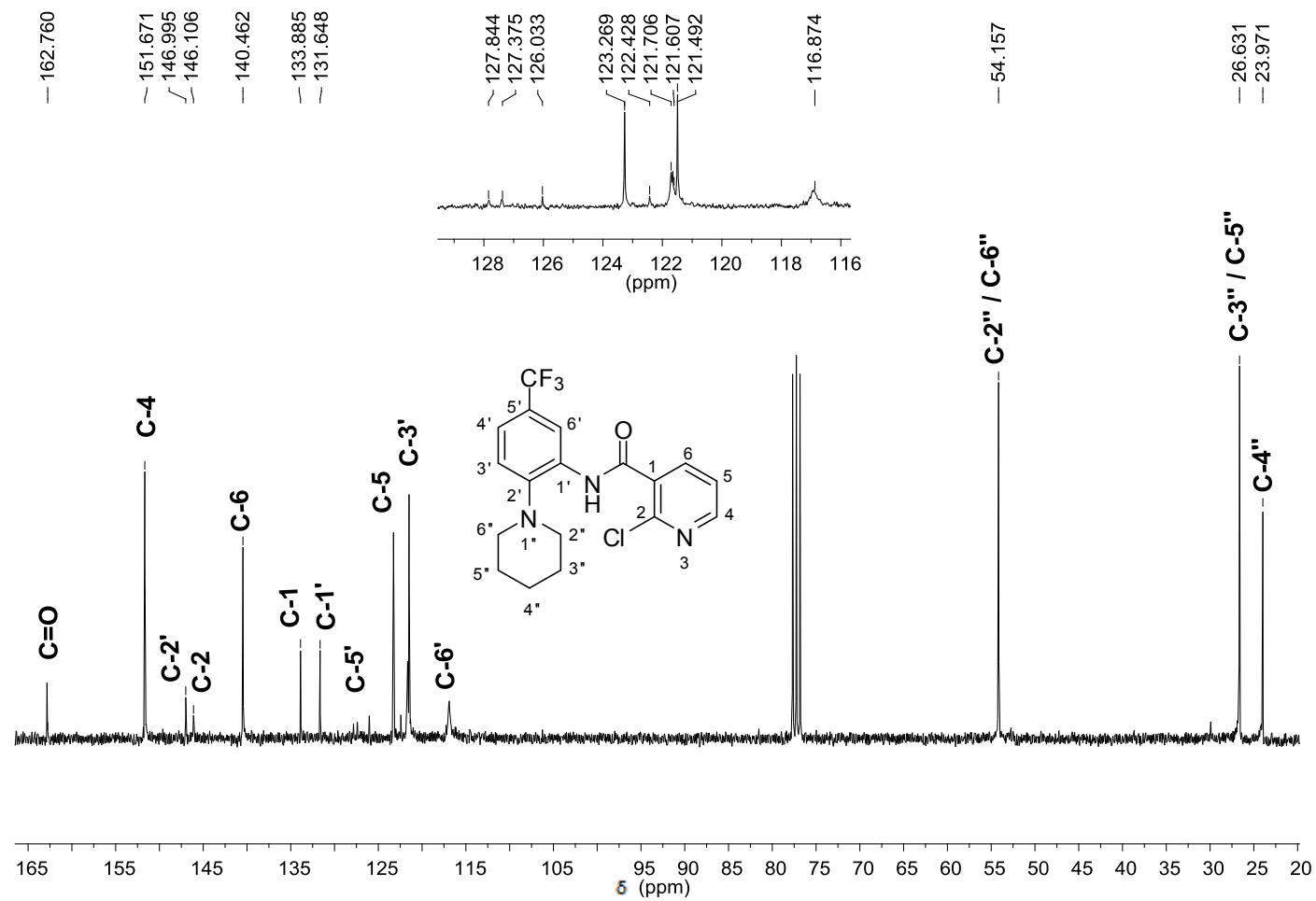


Figura 48 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-N-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#06).

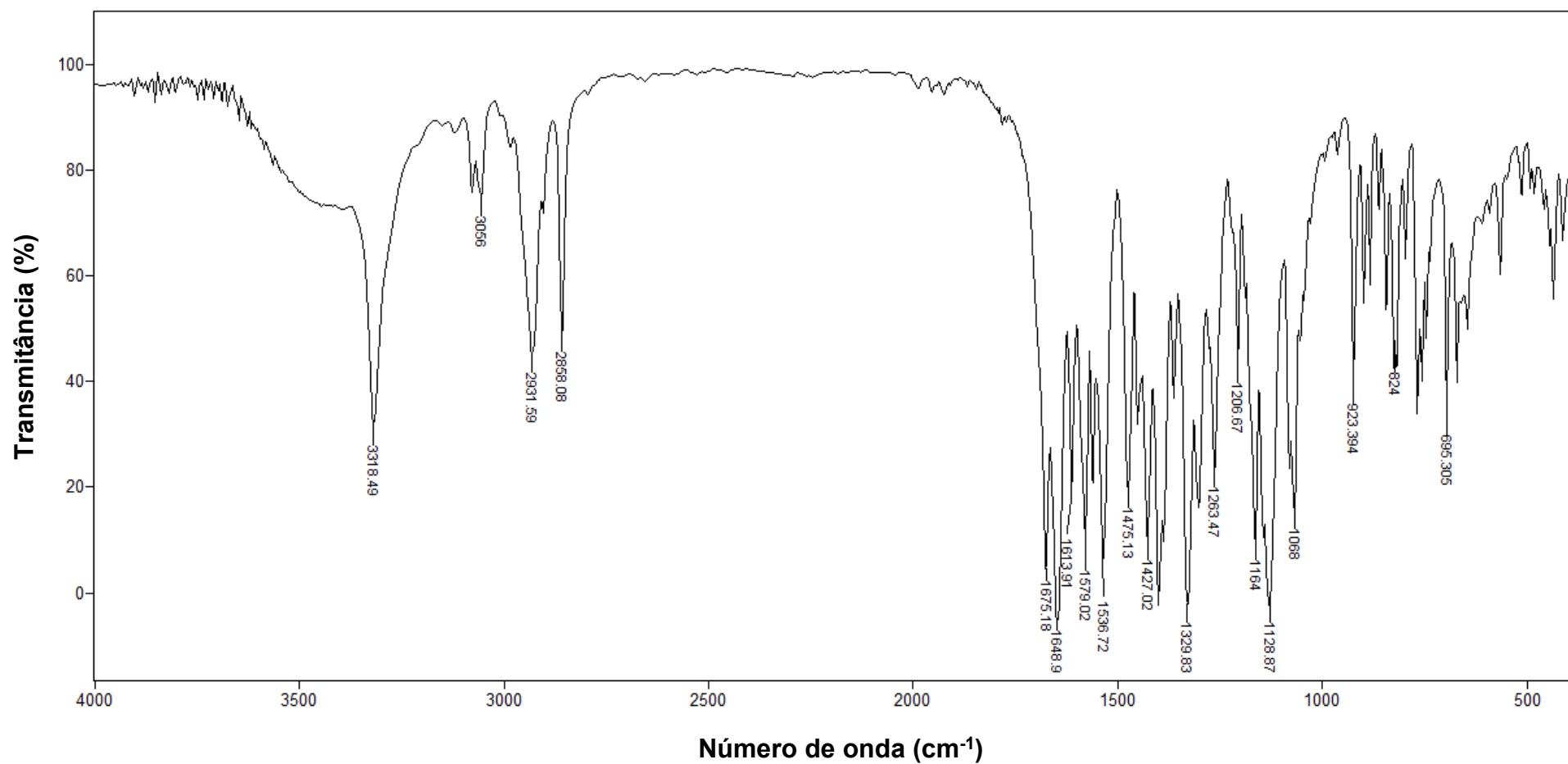


Figura 49 - Espectro no infravermelho (KBr) do composto isolado na tentativa de síntese da 2-cloro-N-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#07**).

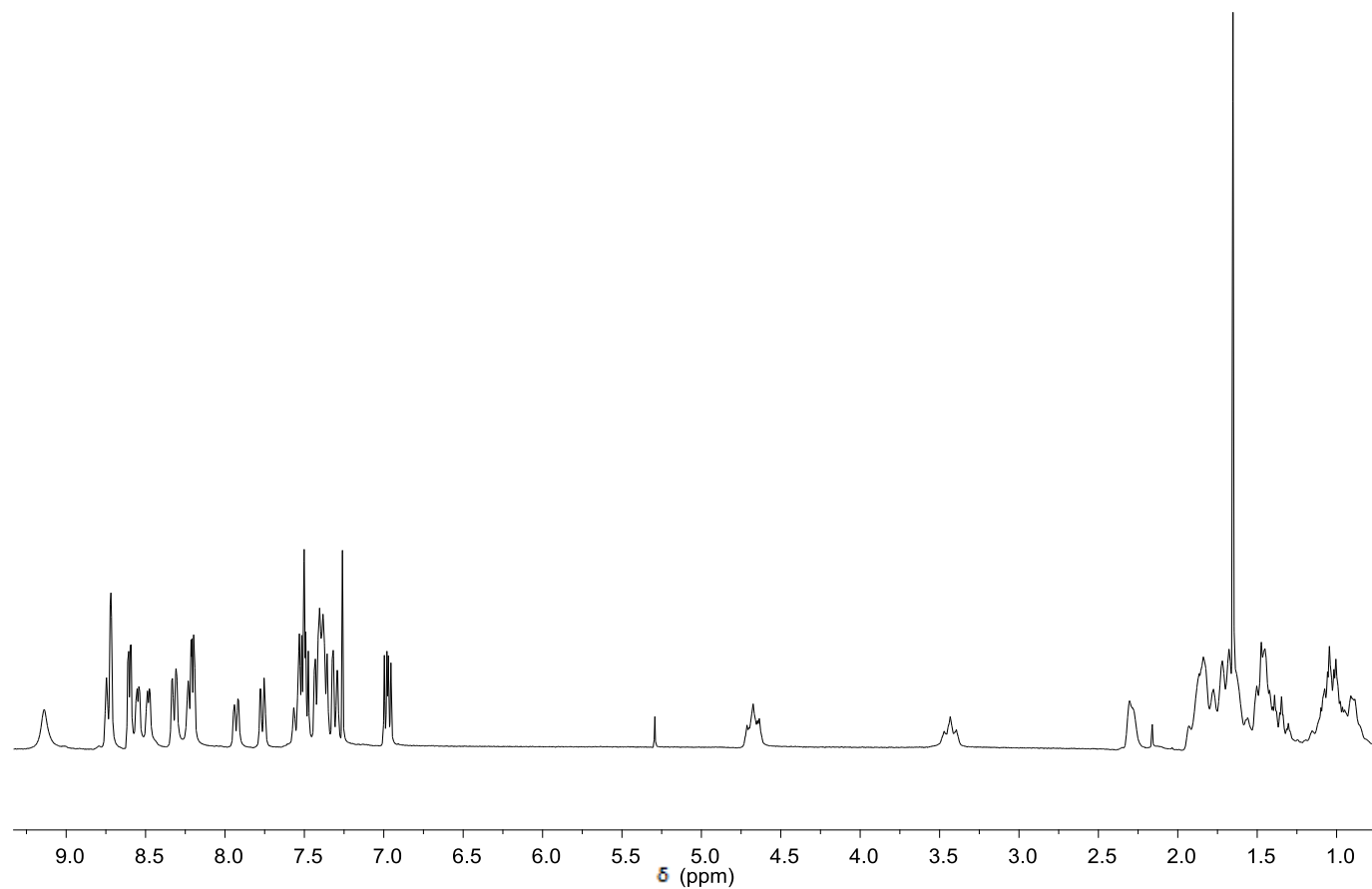


Figura 50 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do composto isolado na tentativa de síntese da 2-cloro-*N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#07**).

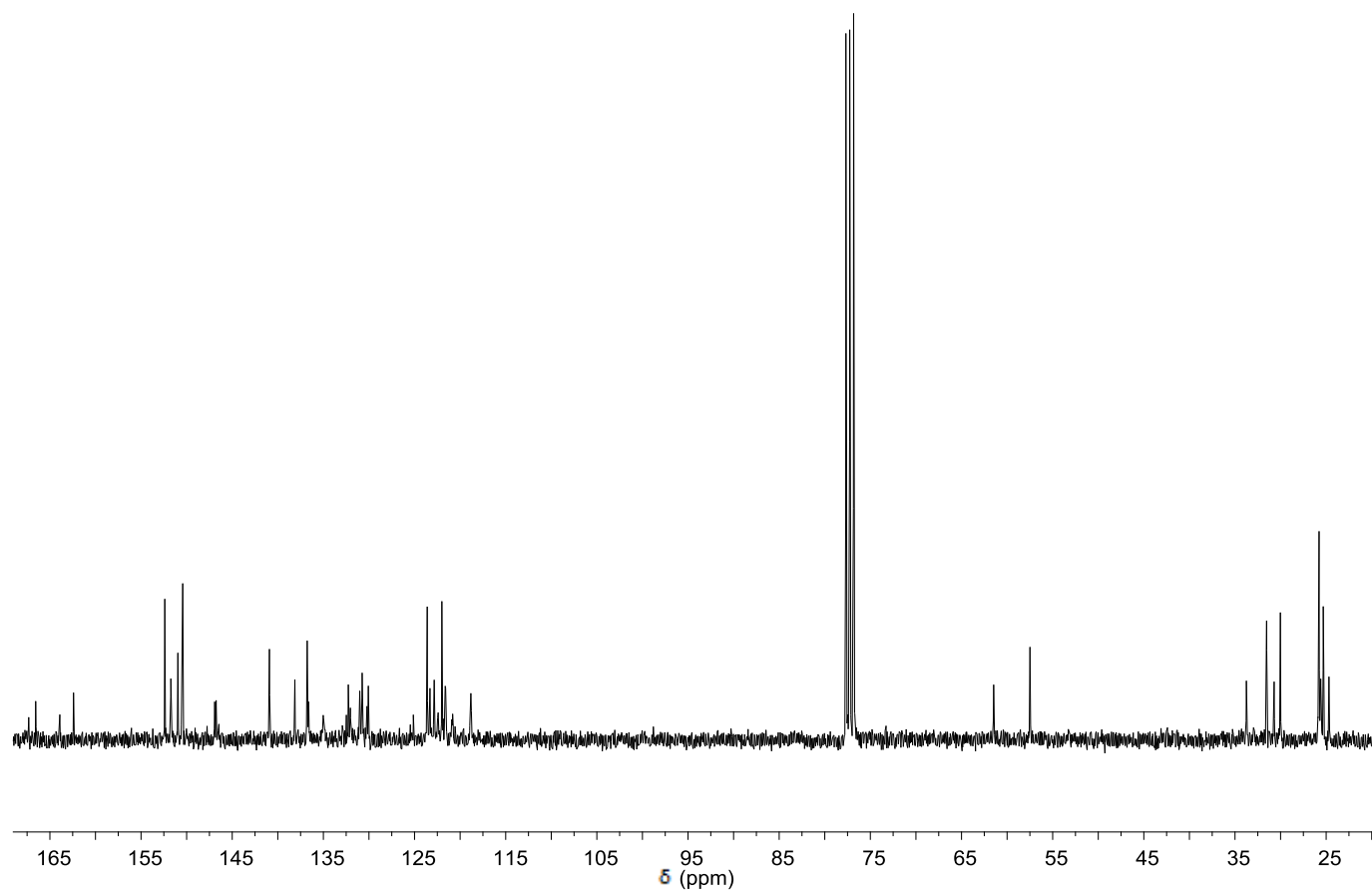


Figura 51 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto isolado na tentativa de síntese da 2-cloro-*N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#07**).

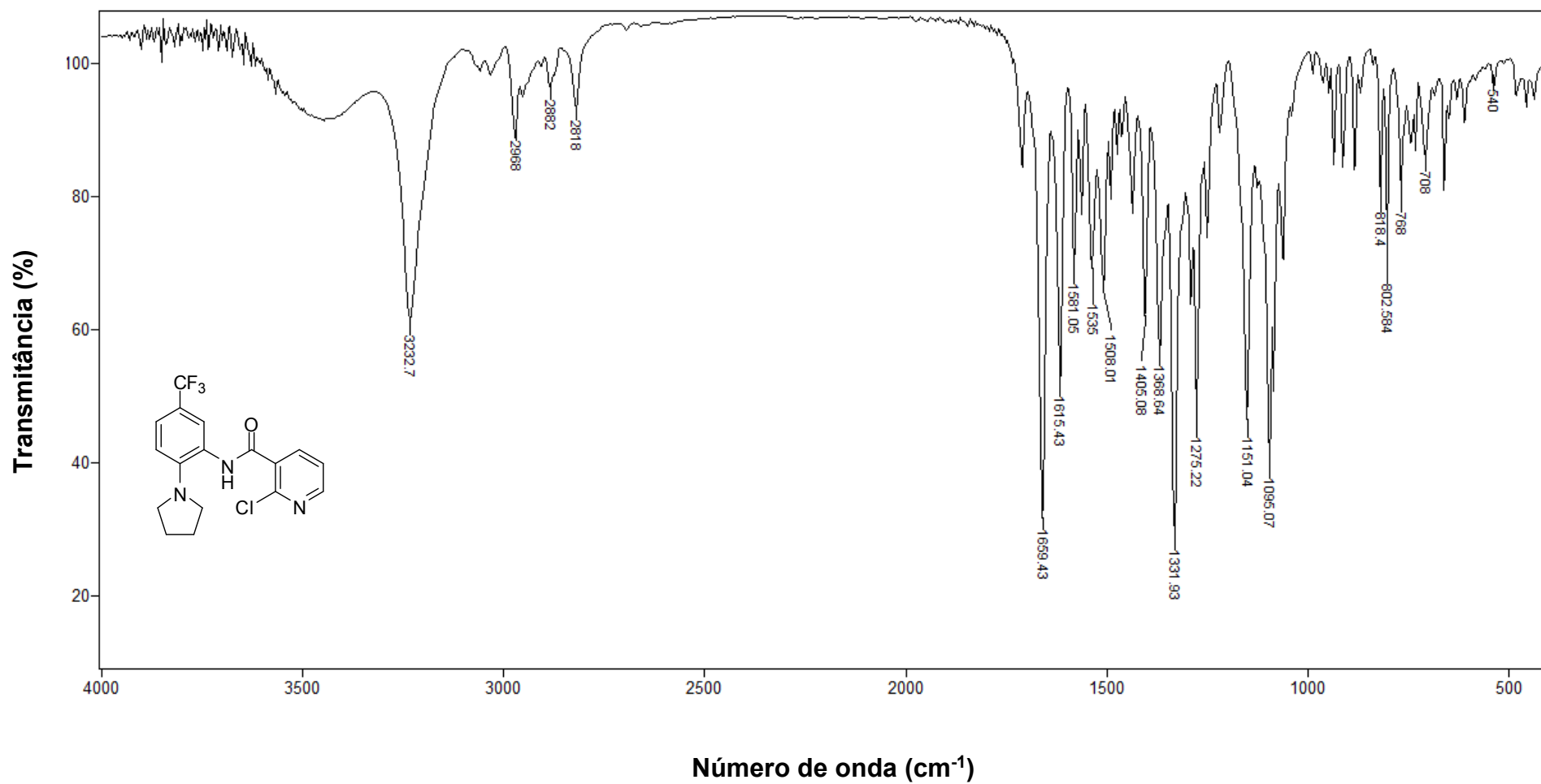


Figura 52 - Espectro no infravermelho (KBr) da 2-cloro-N-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#08**).

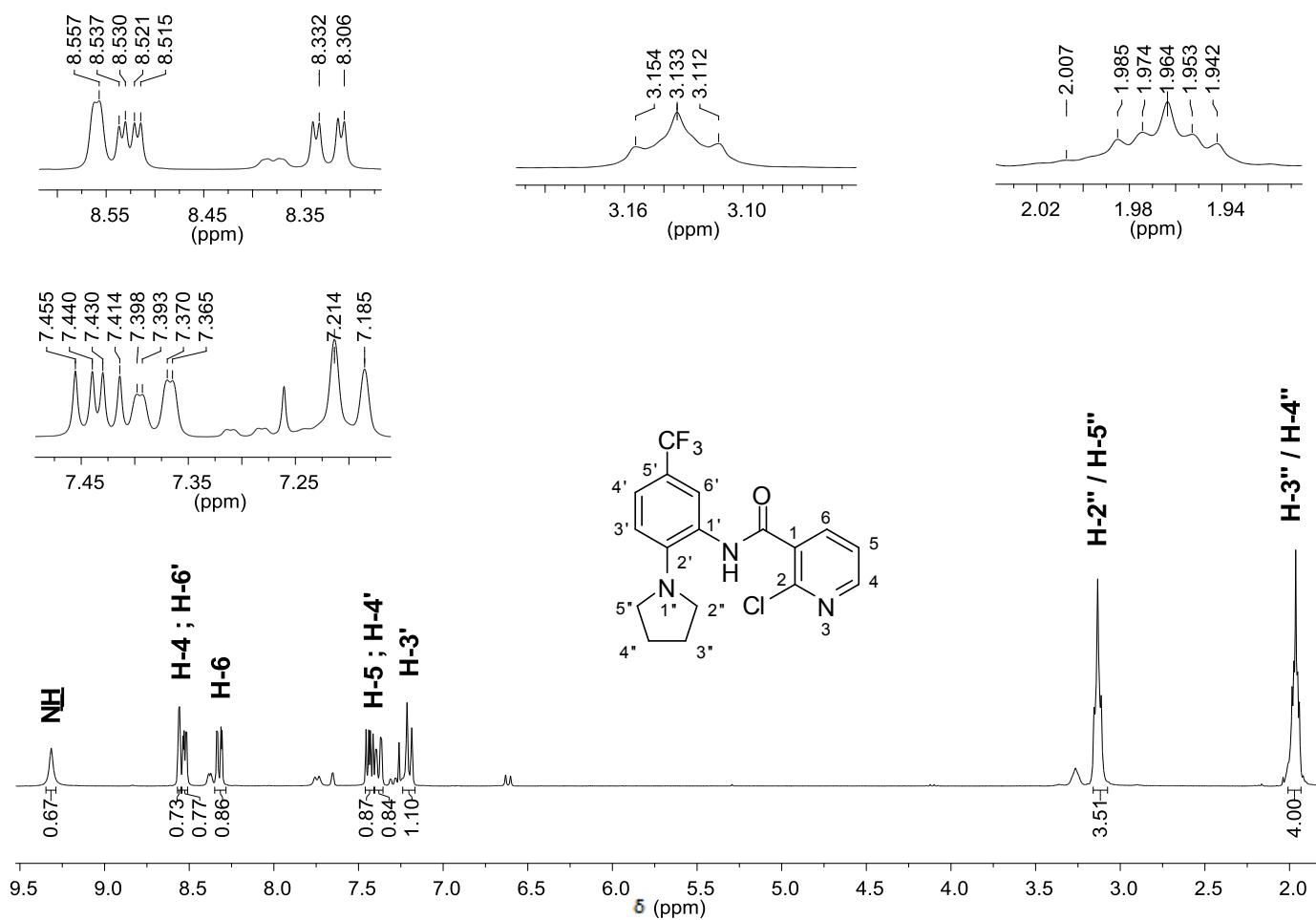


Figura 53 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-*N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#08).

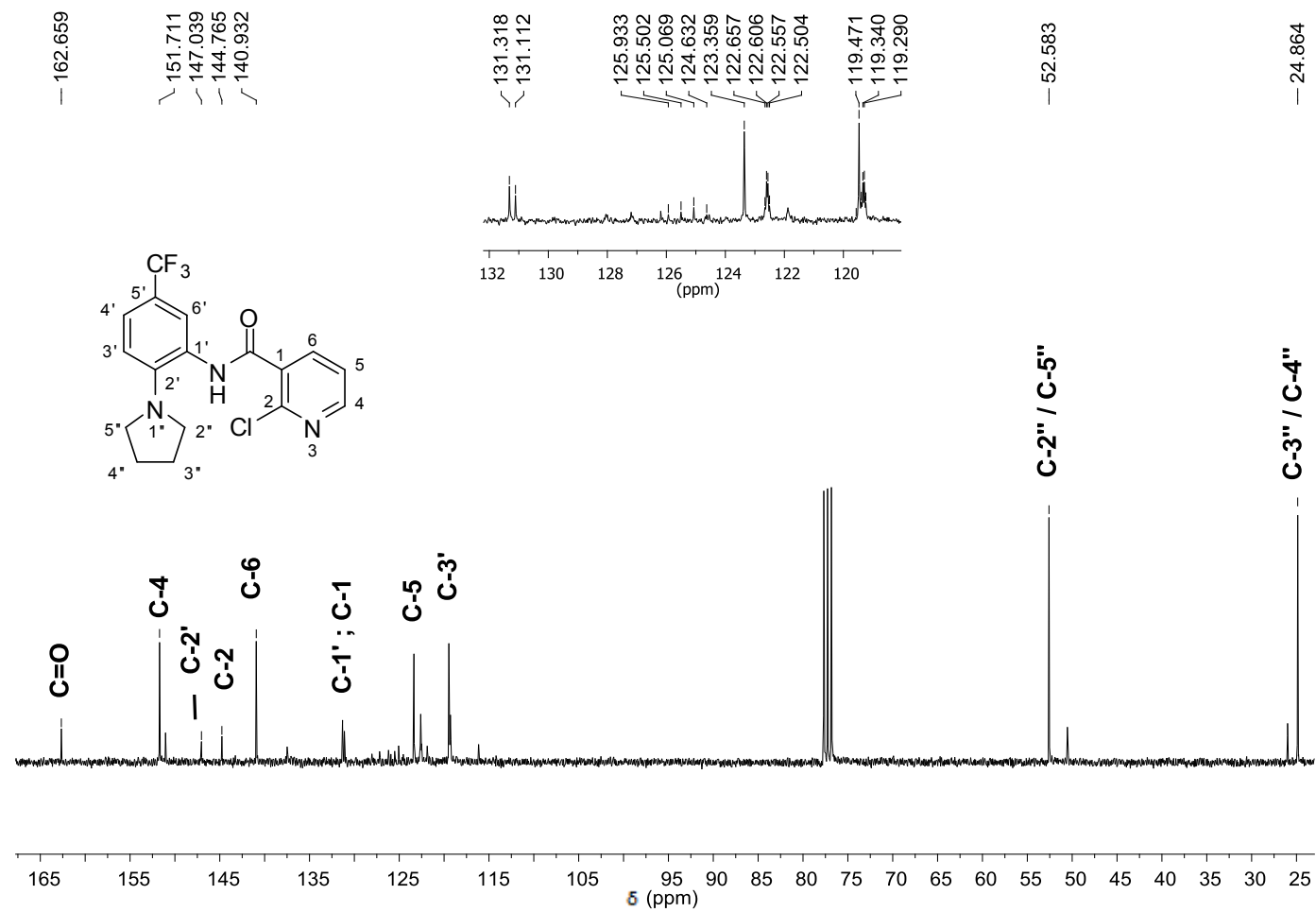


Figura 54 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-N-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340# 08**).

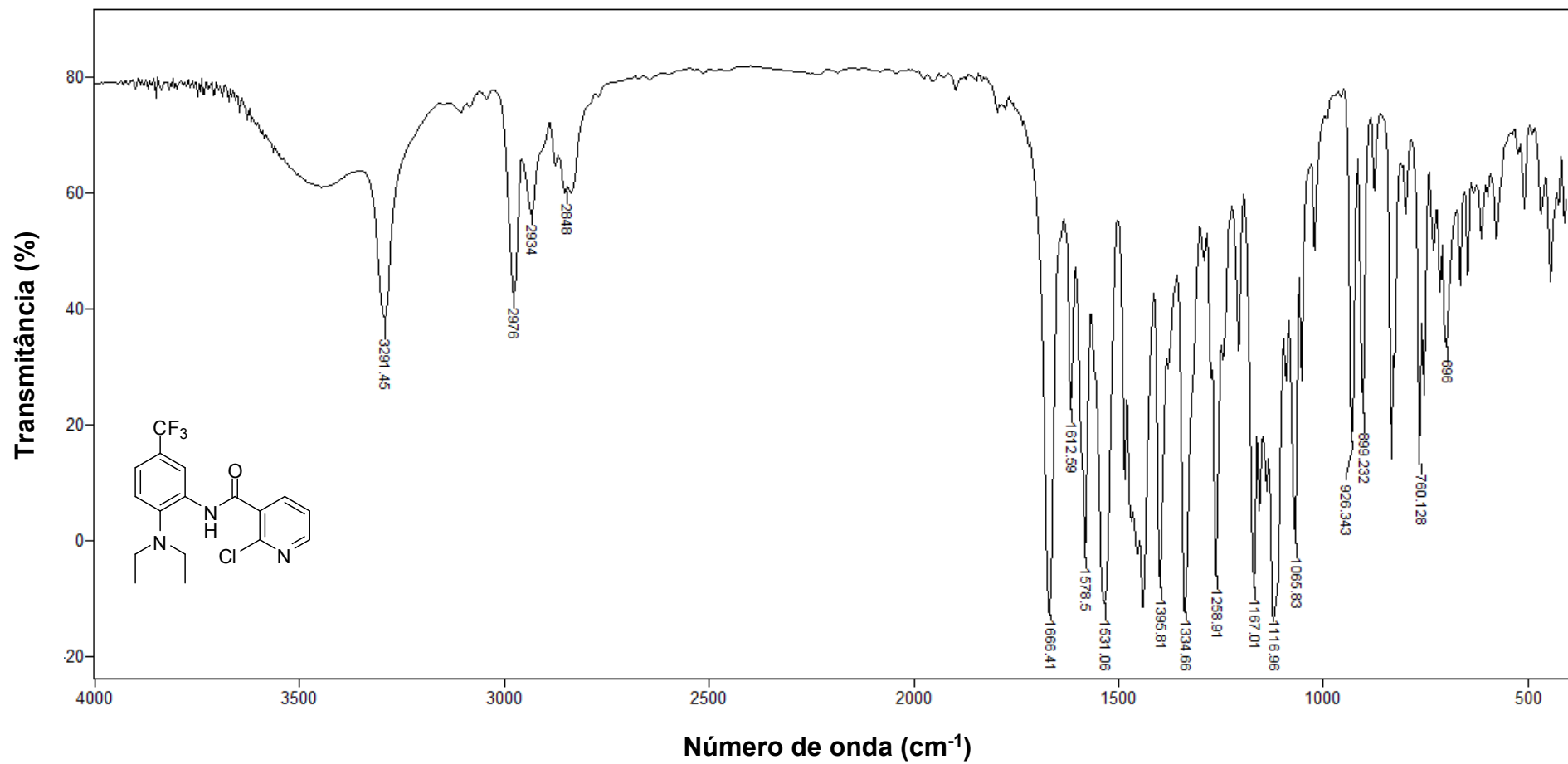


Figura 55 - Espectro no infravermelho (KBr) da 2-cloro-N-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#09).

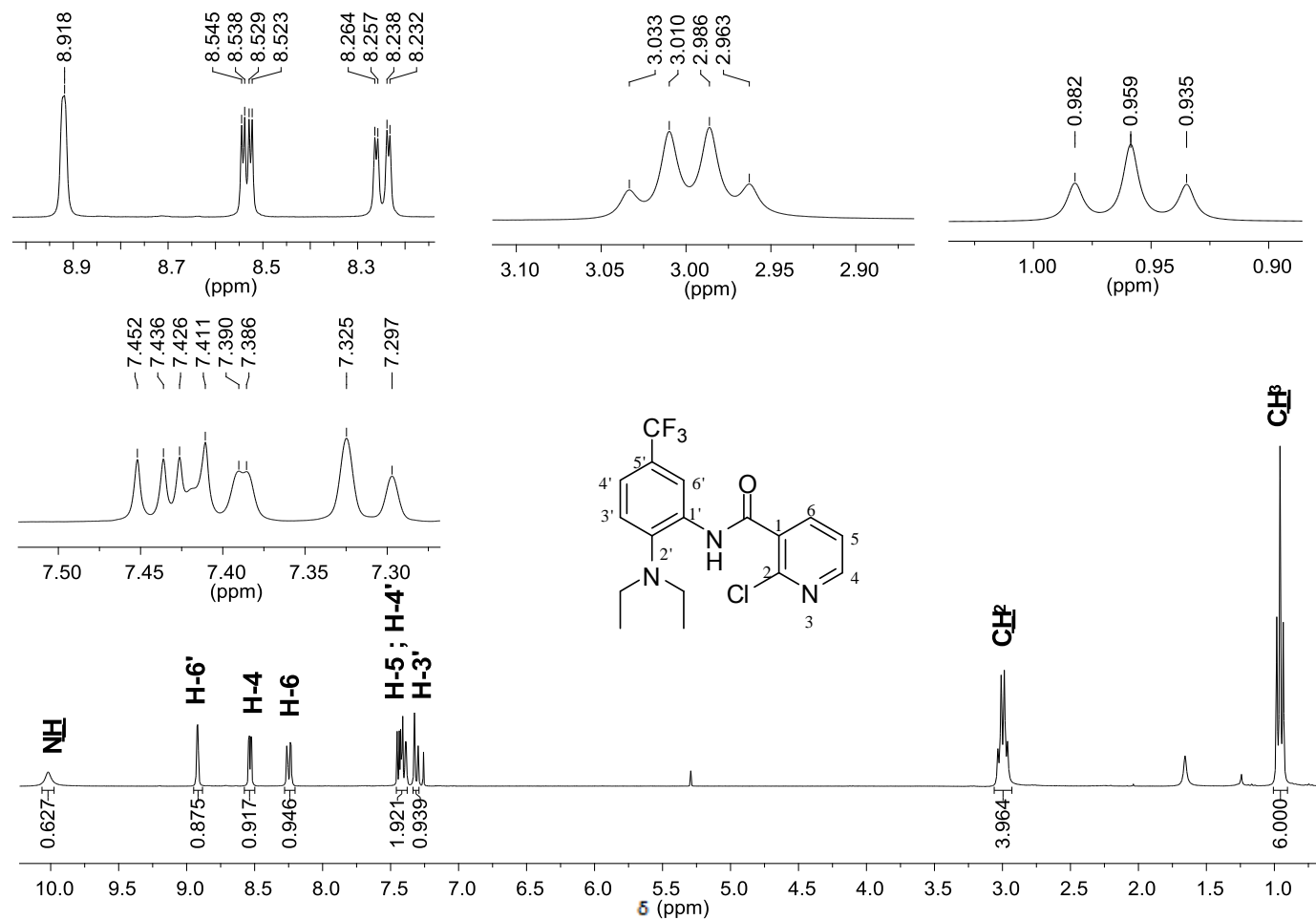


Figura 56 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da 2-cloro-N-[2-diethylamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#09**).

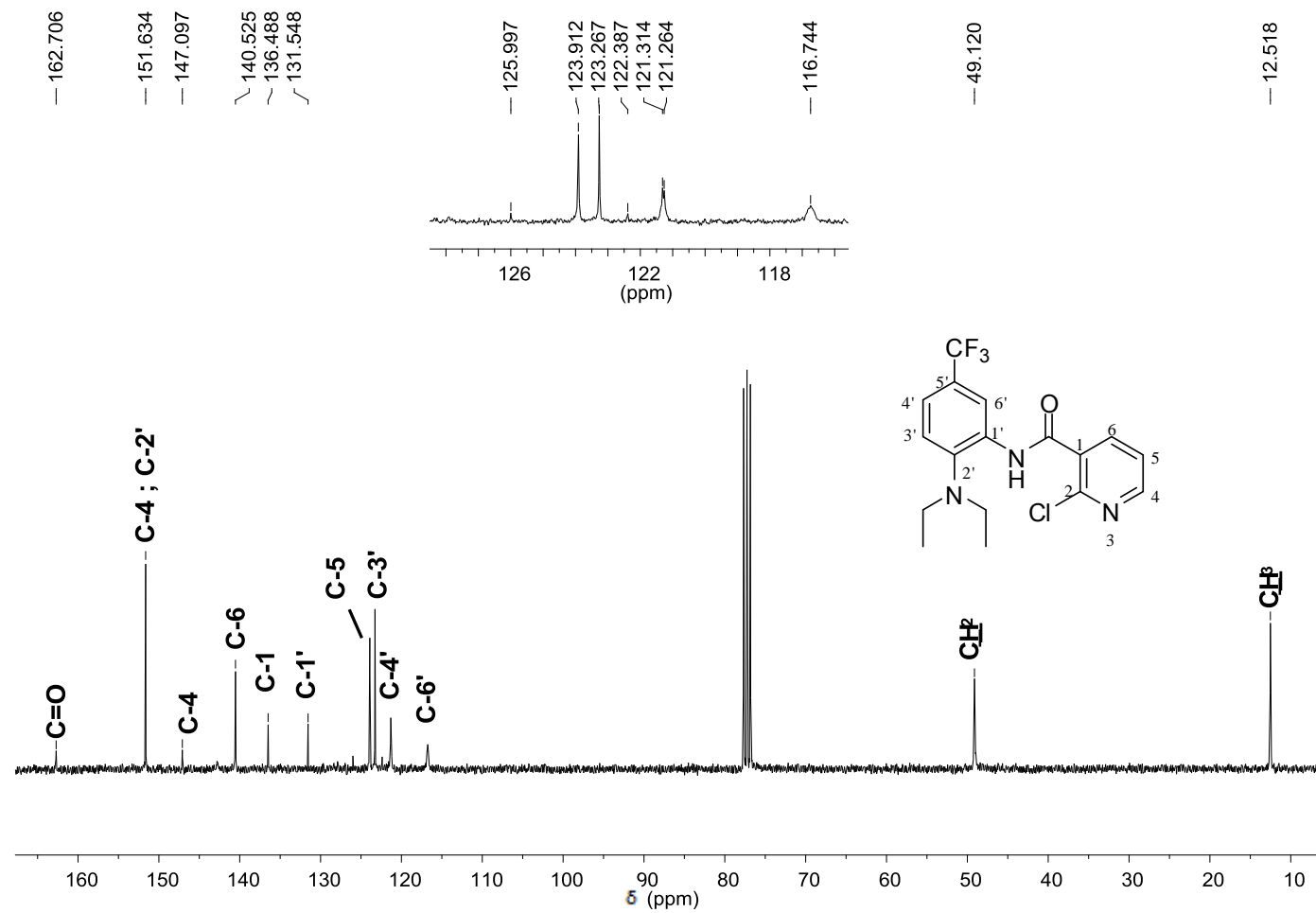


Figura 57 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da 2-cloro-N-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#09**).

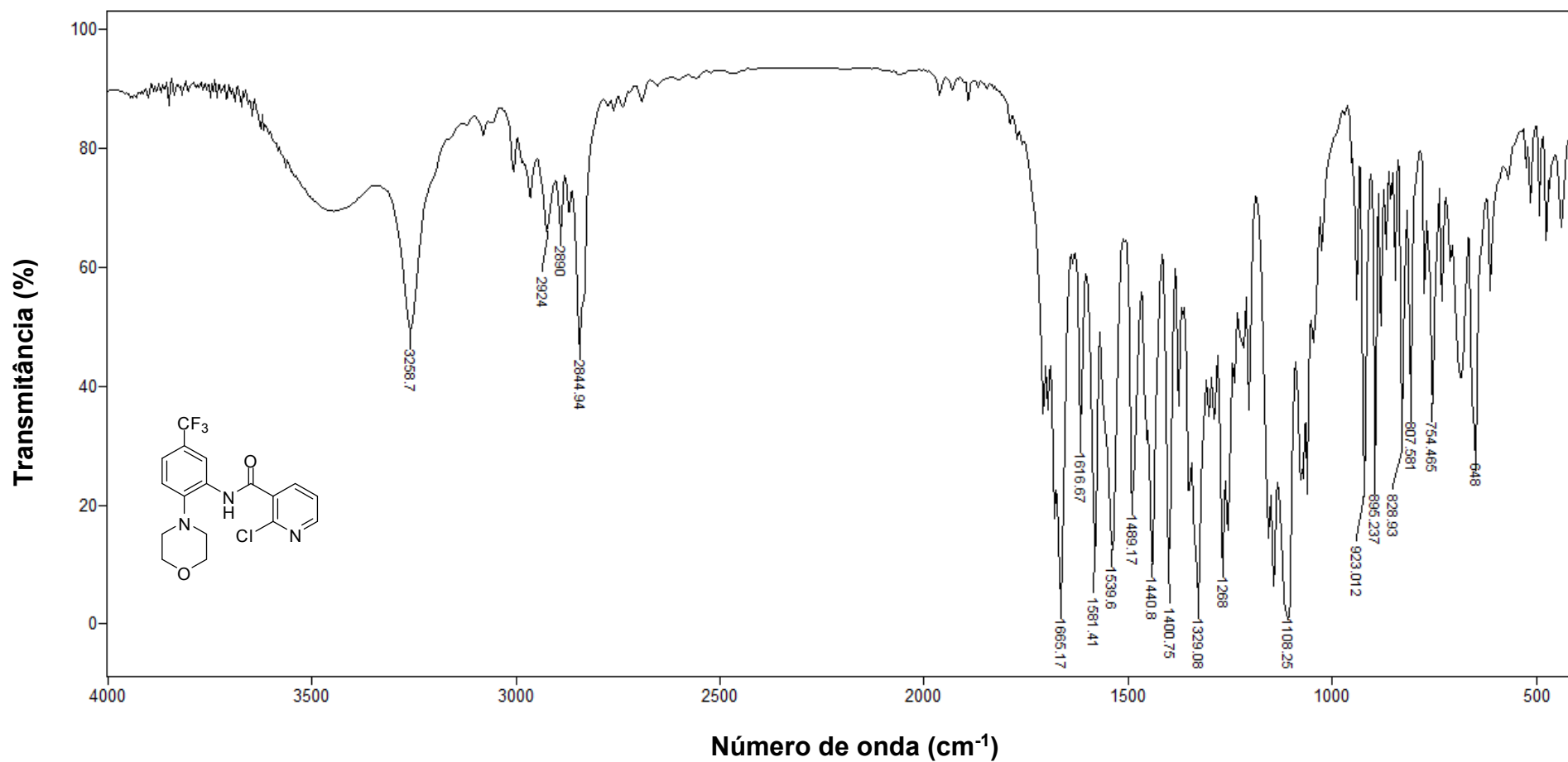


Figura 58 - Espectro no infravermelho (KBr) da 2-cloro-N-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#10**).

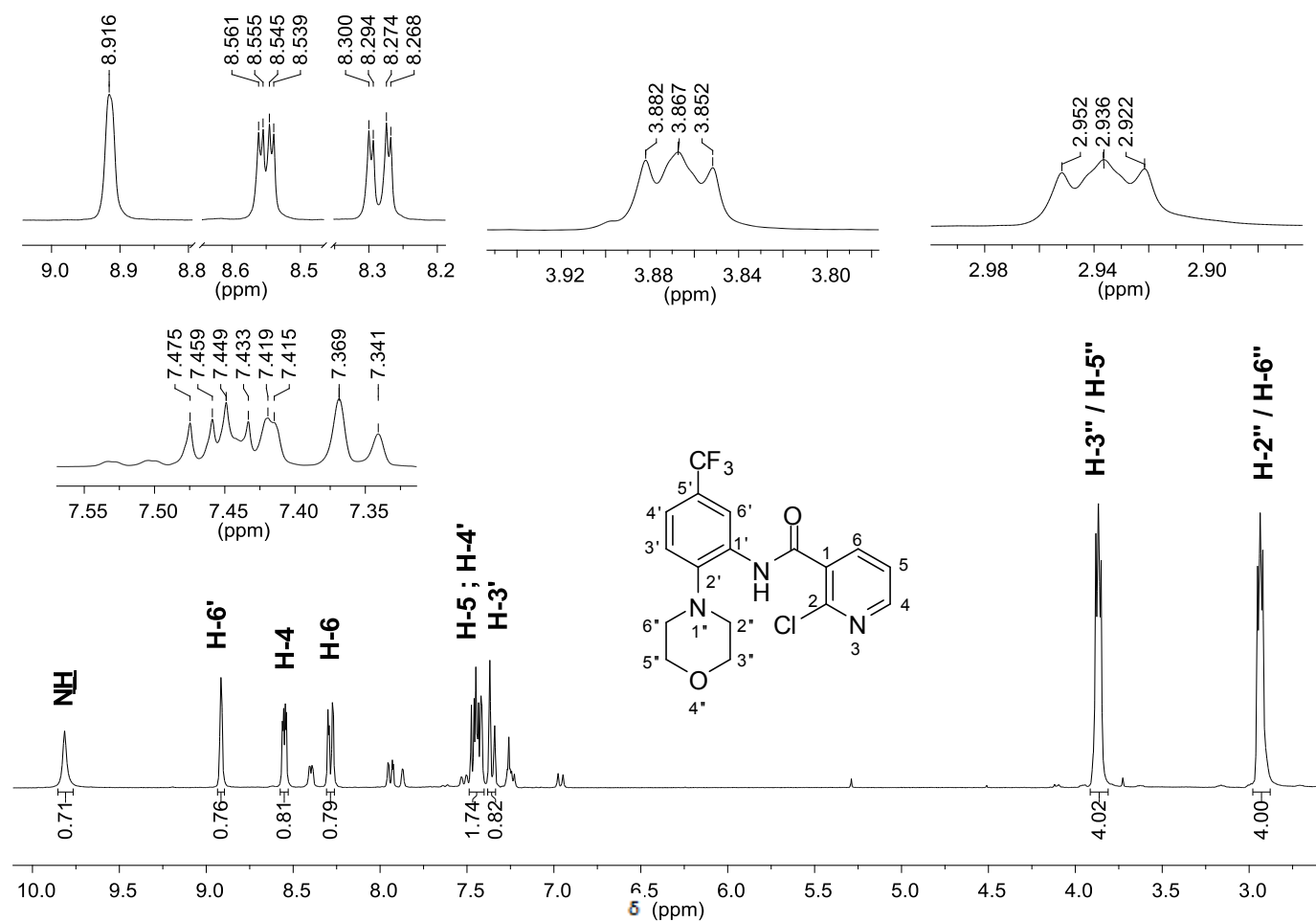


Figura 59 - Espectro de ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) da 2-cloro-N-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#10).

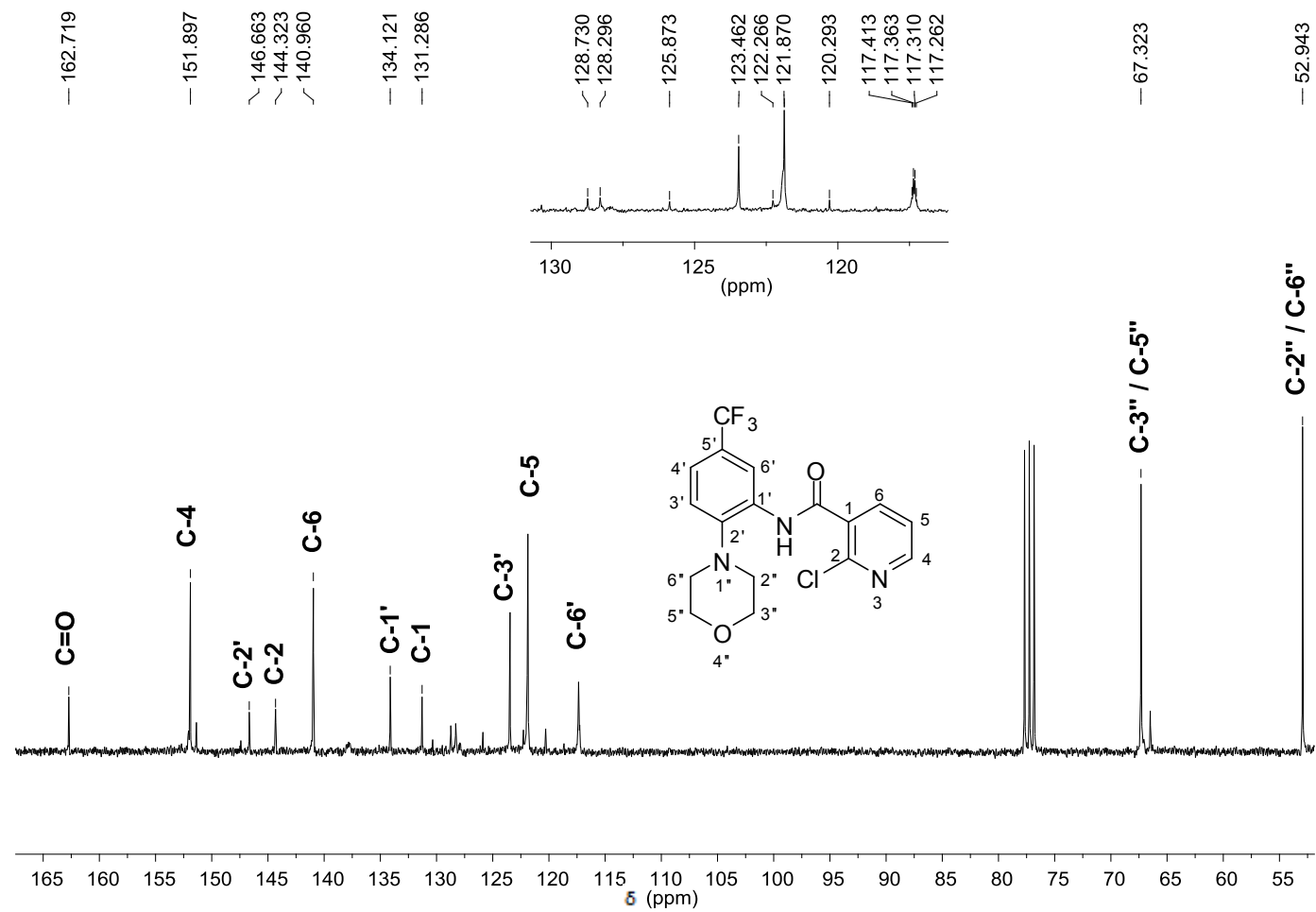


Figura 60 - Espectro de ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) da 2-cloro-N-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#10).

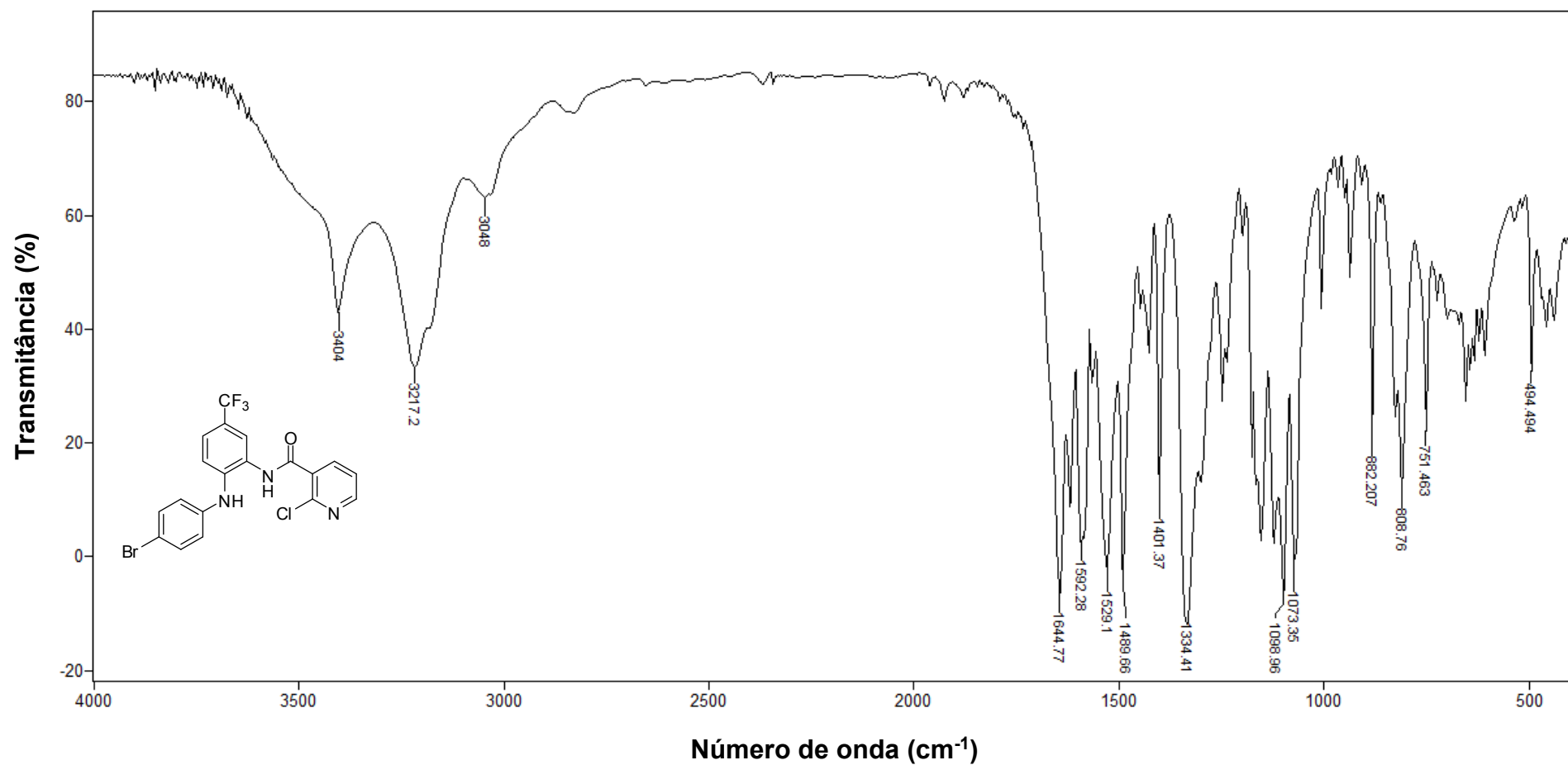


Figura 61 - Espectro no infravermelho (KBr) da 2-cloro-*N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#11**).

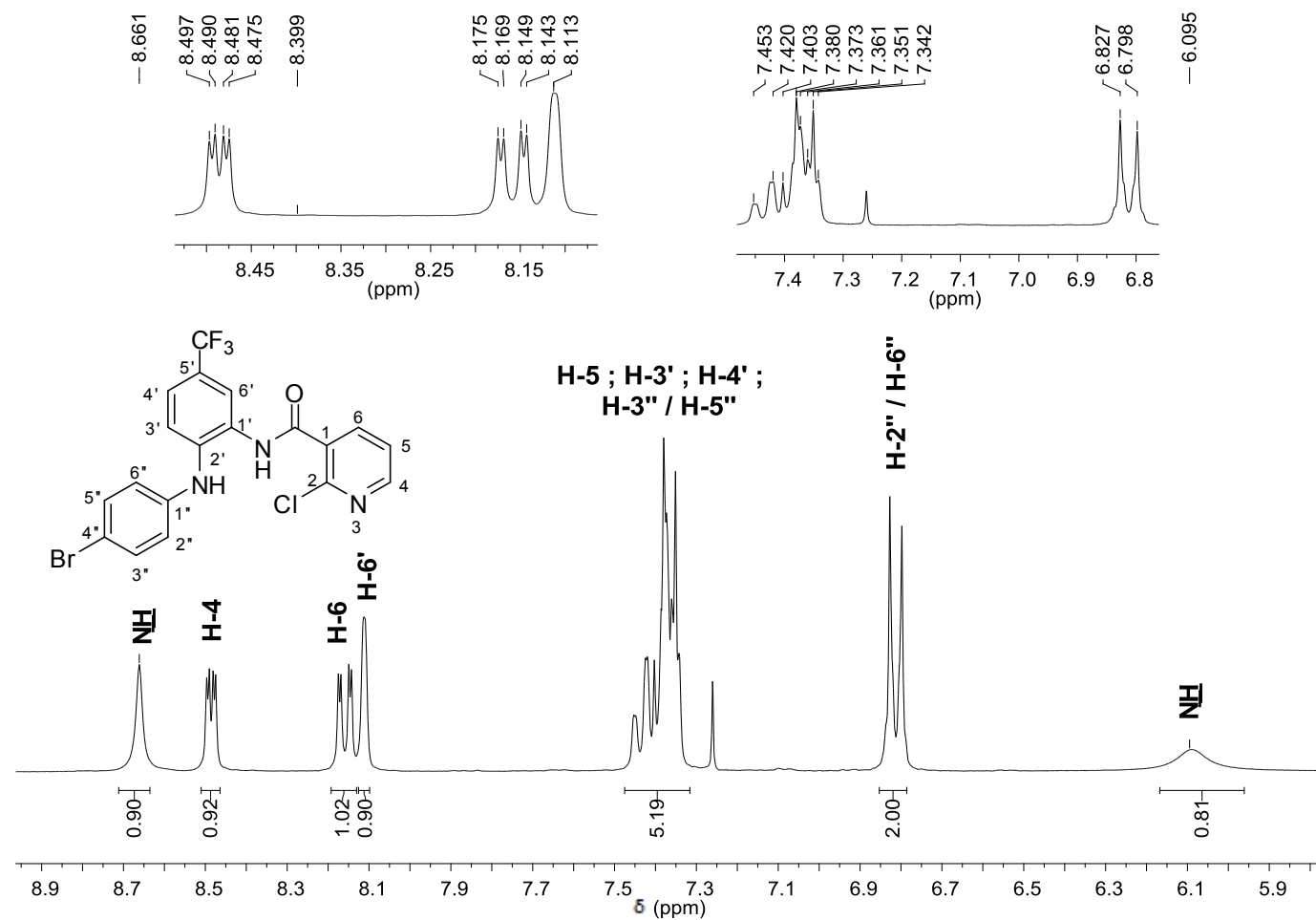


Figura 62 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da 2-cloro-N-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#11).

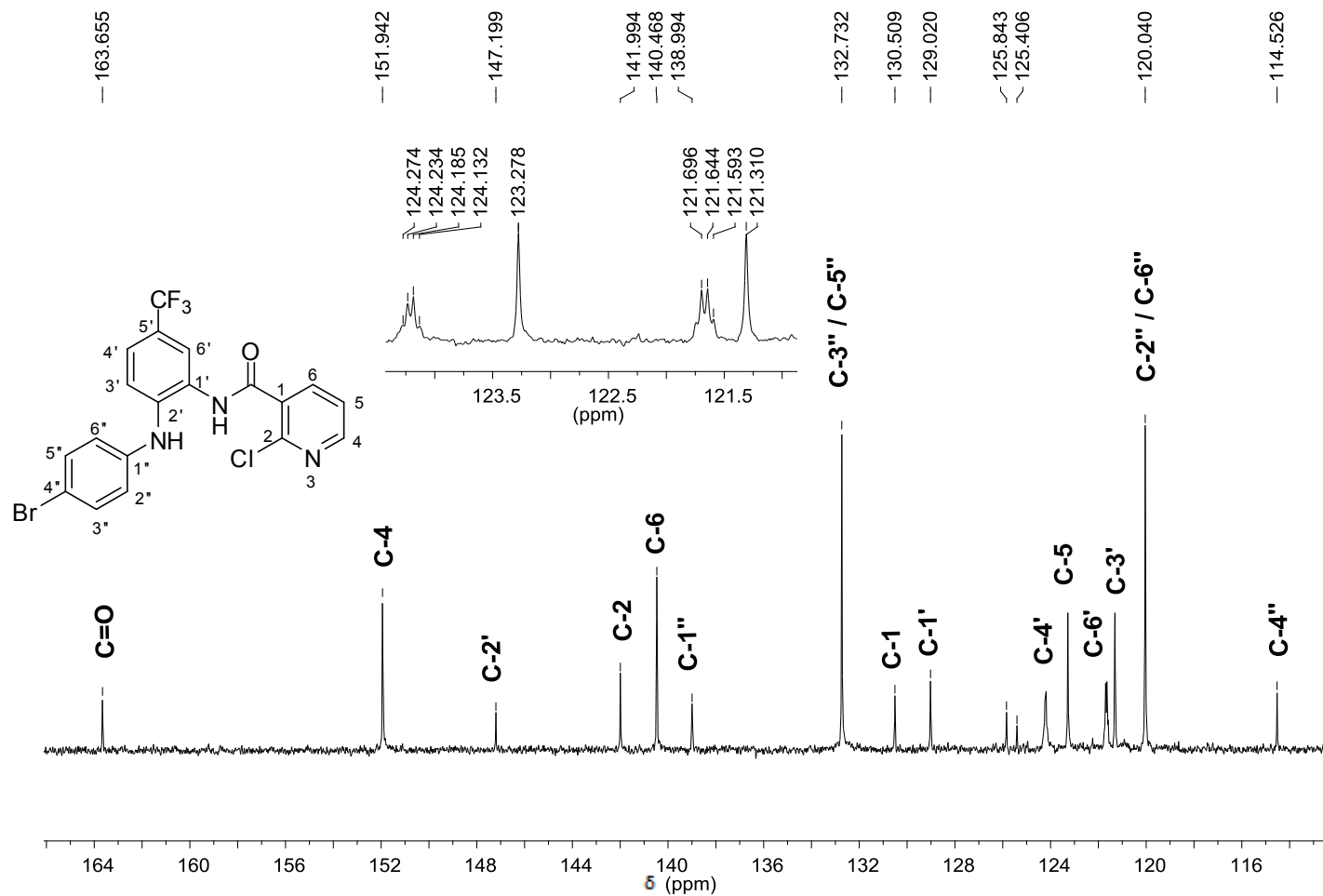


Figura 63 - Espectro de ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]-2-cloronicotinamida (**SRPIN 340#11**).

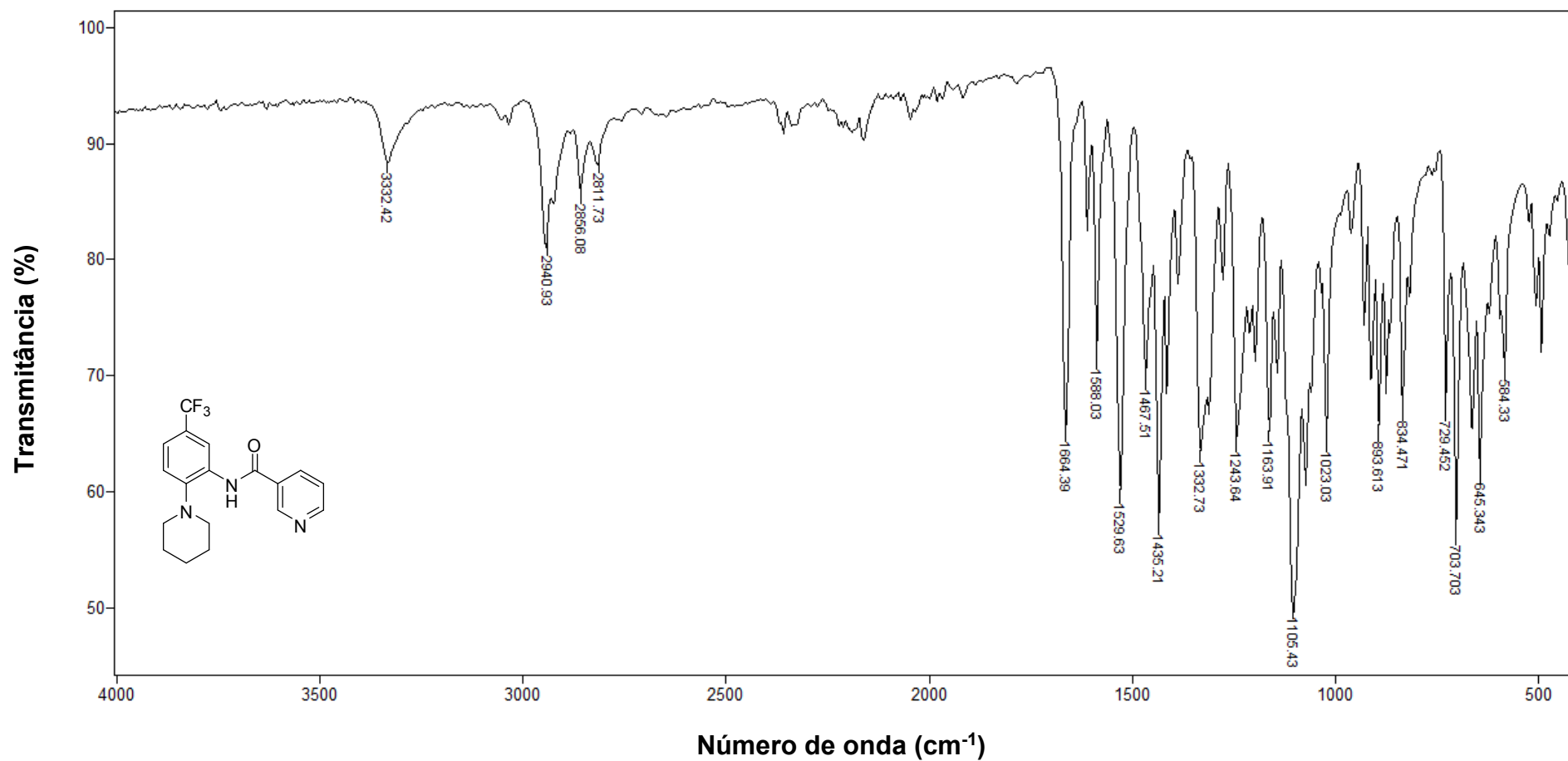


Figura 64 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#12**).

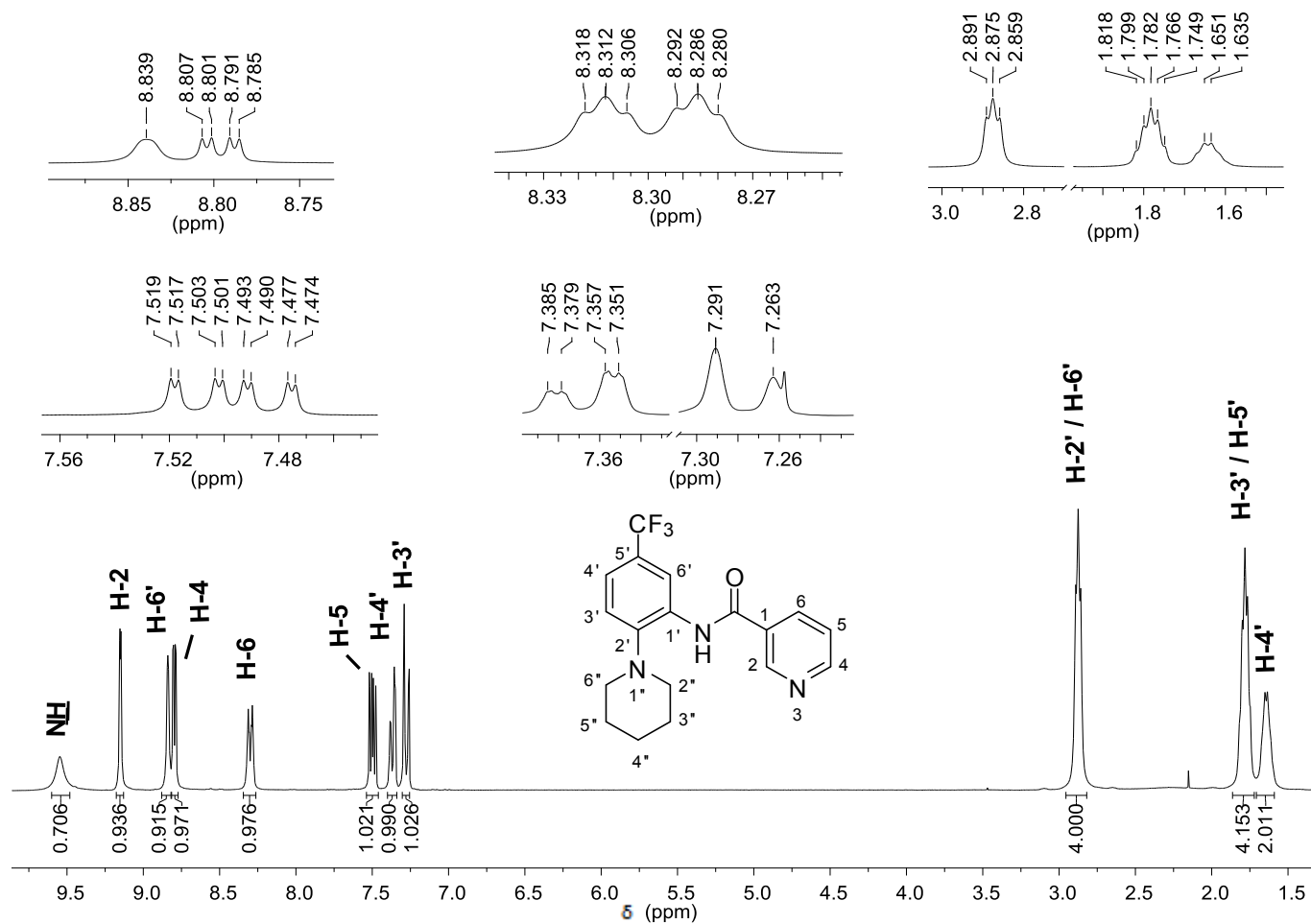


Figura 65 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#12).

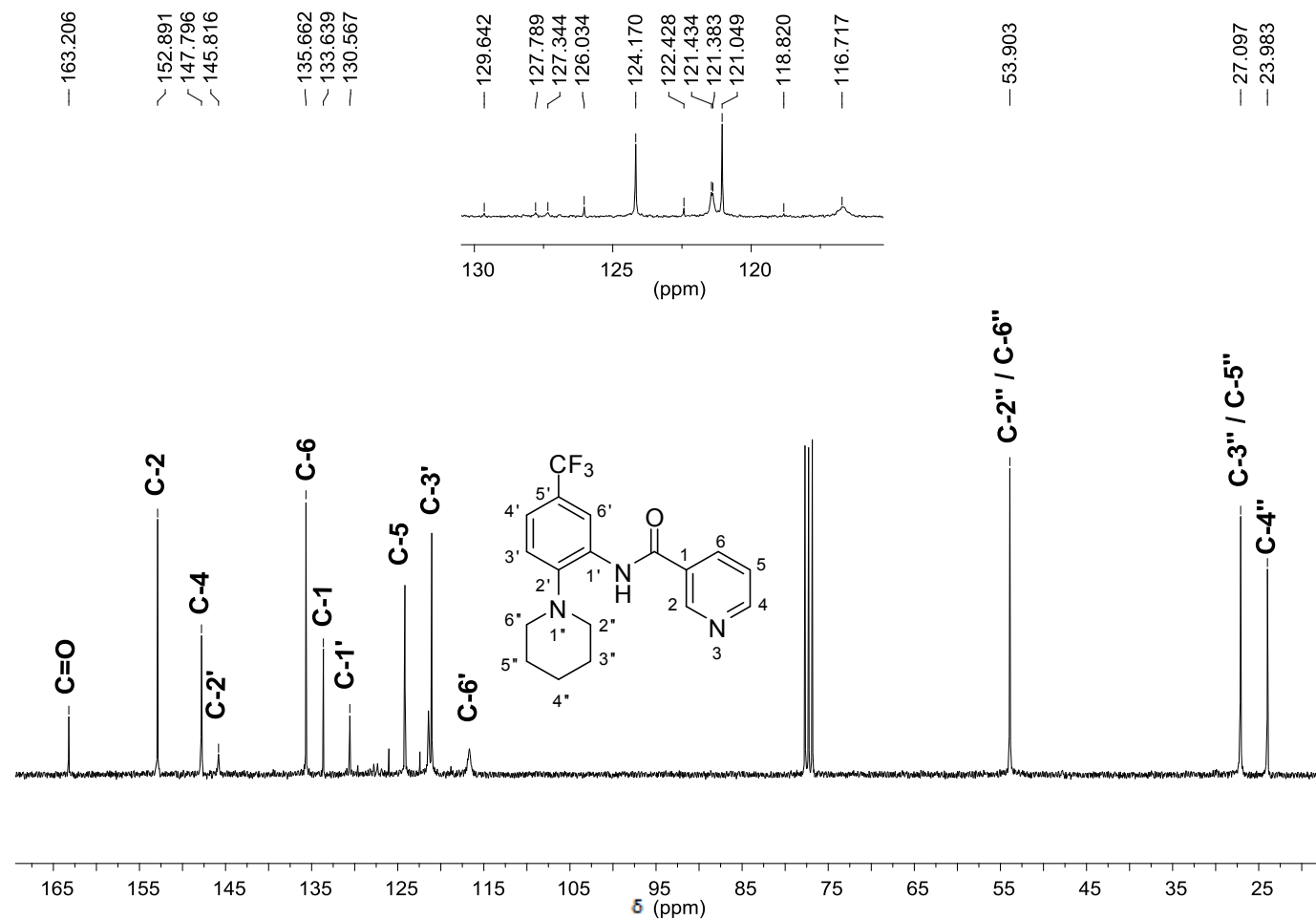


Figura 66 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#12).

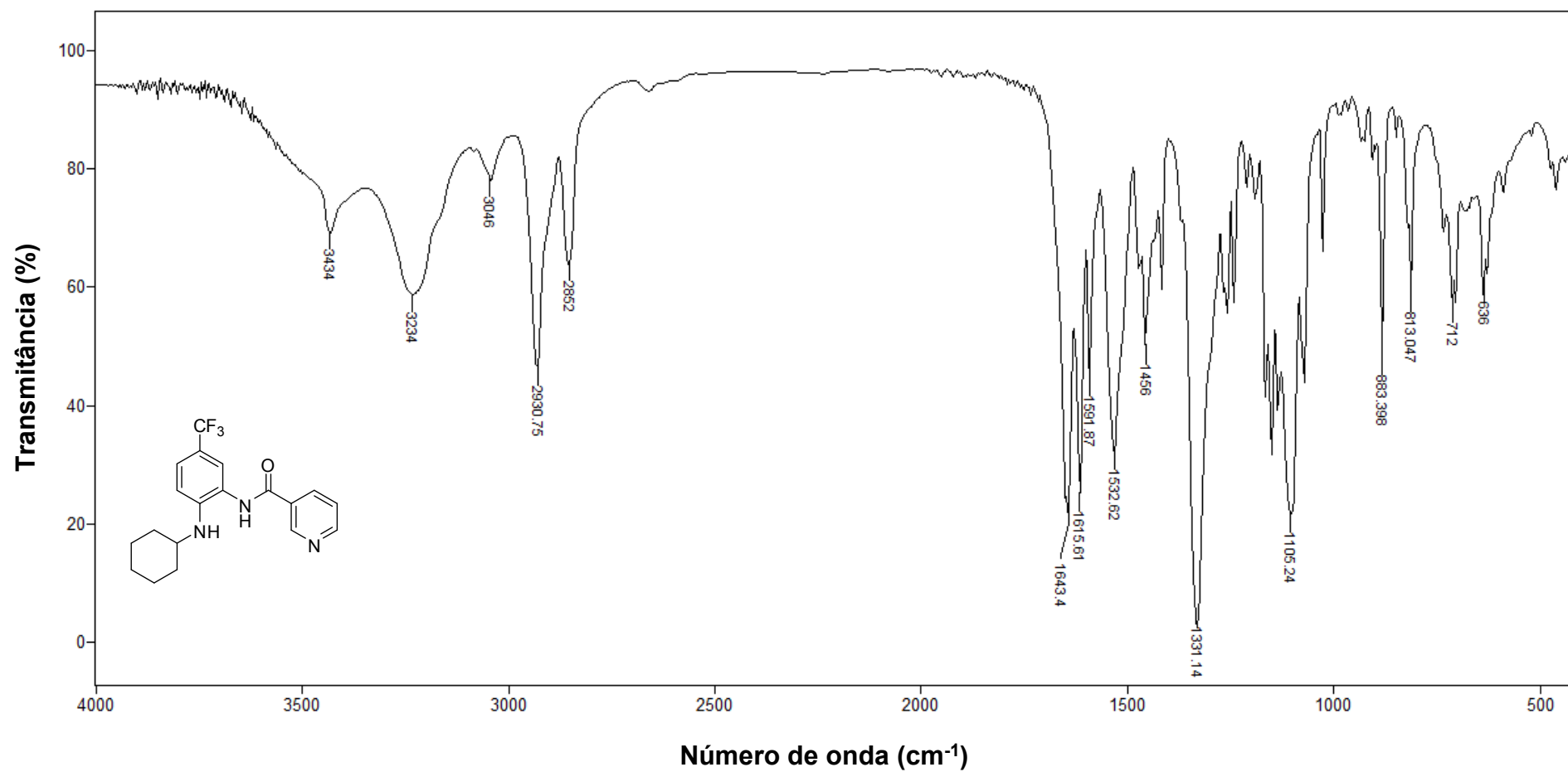


Figura 67 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#13).

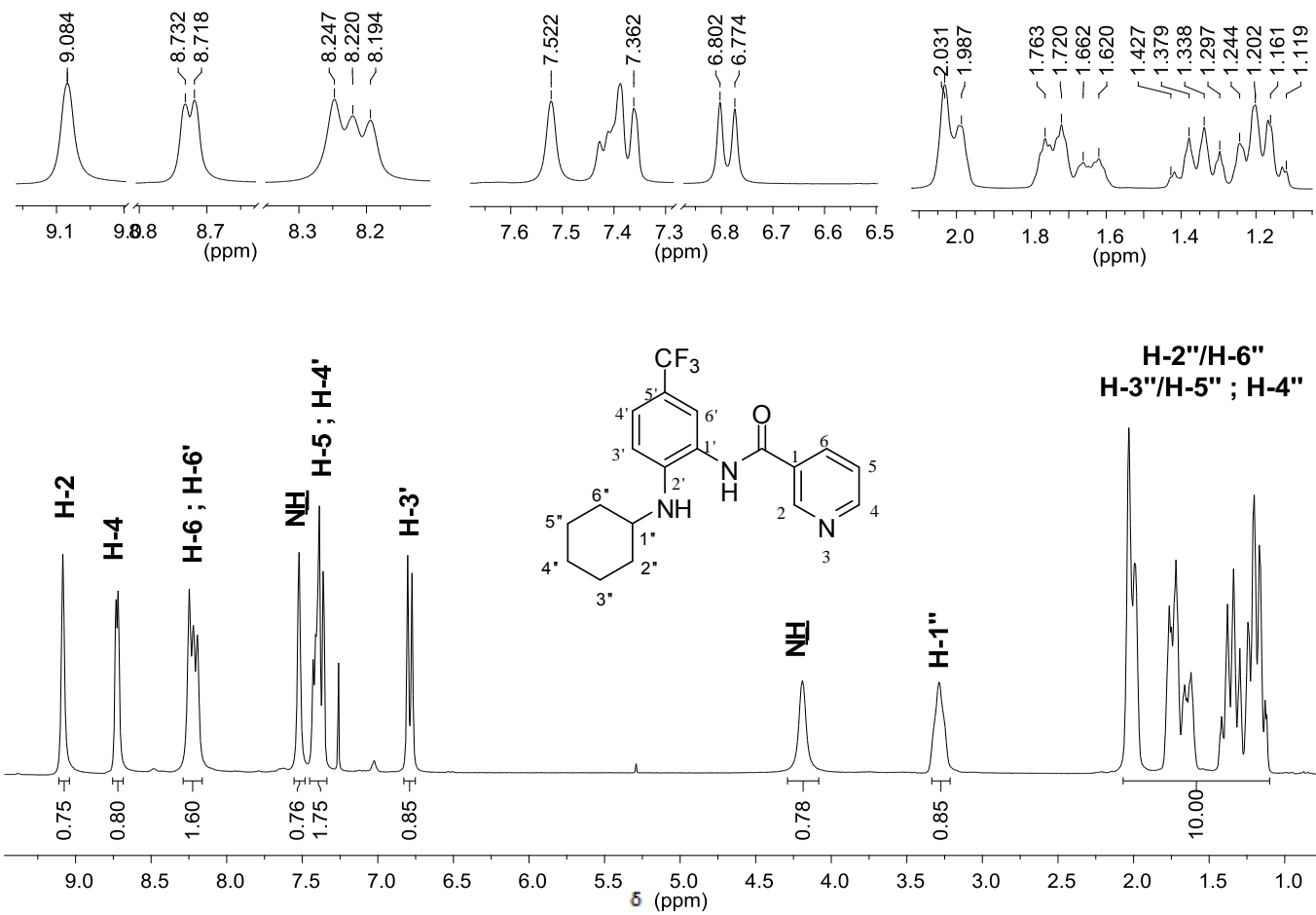


Figura 68 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#13).

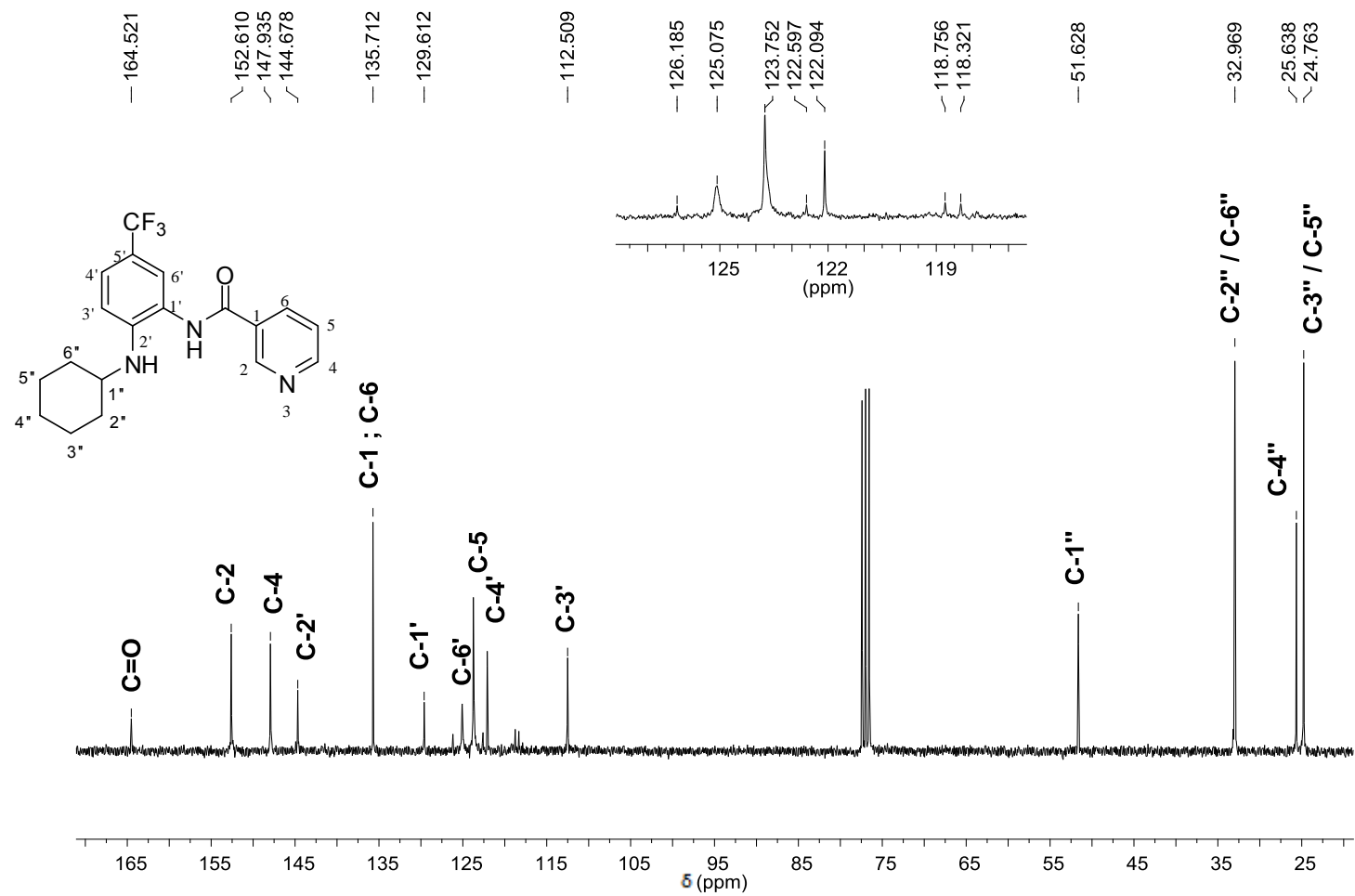


Figura 69 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(ciclohexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#13).

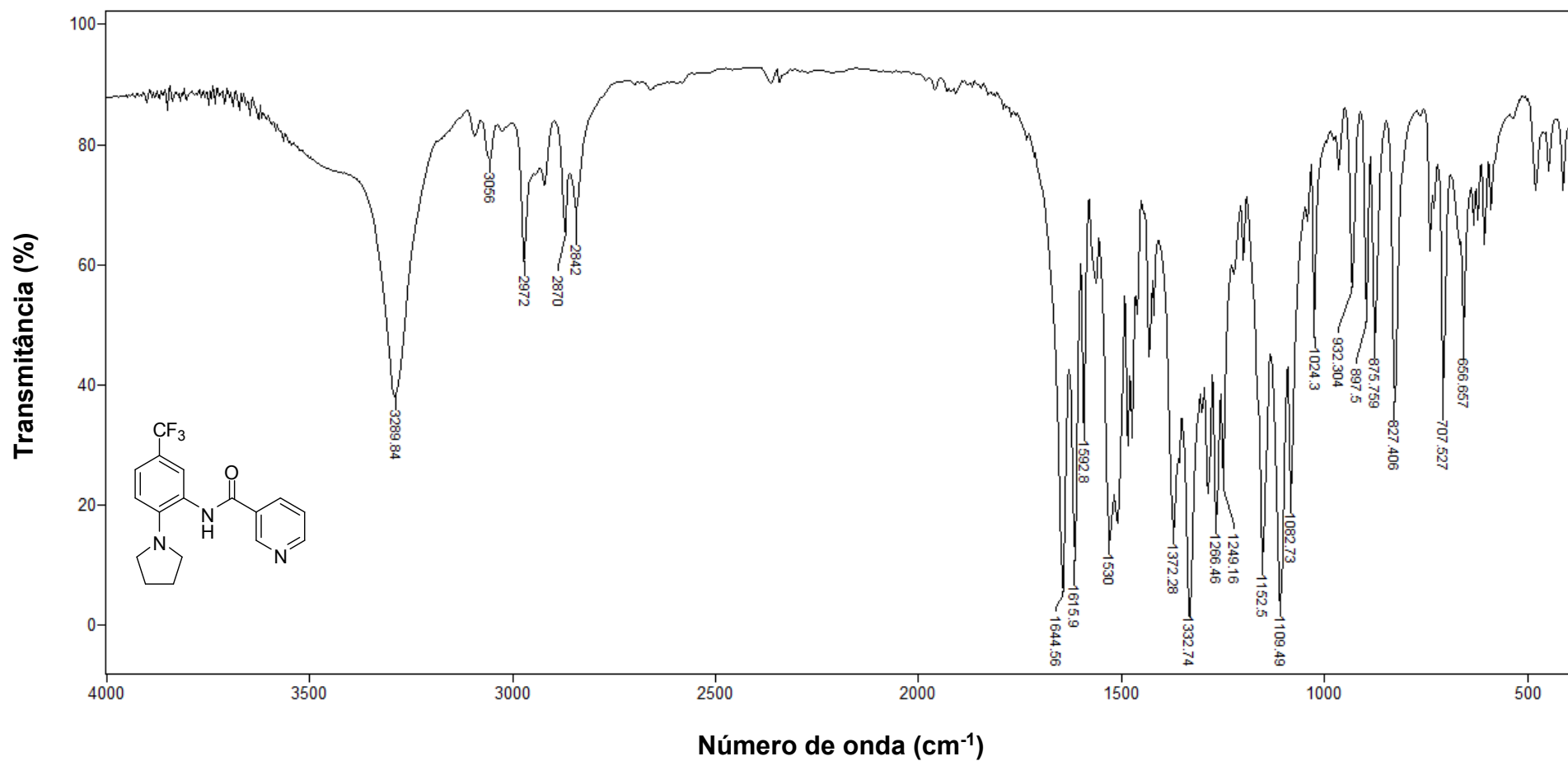


Figura 70 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340# 14**).

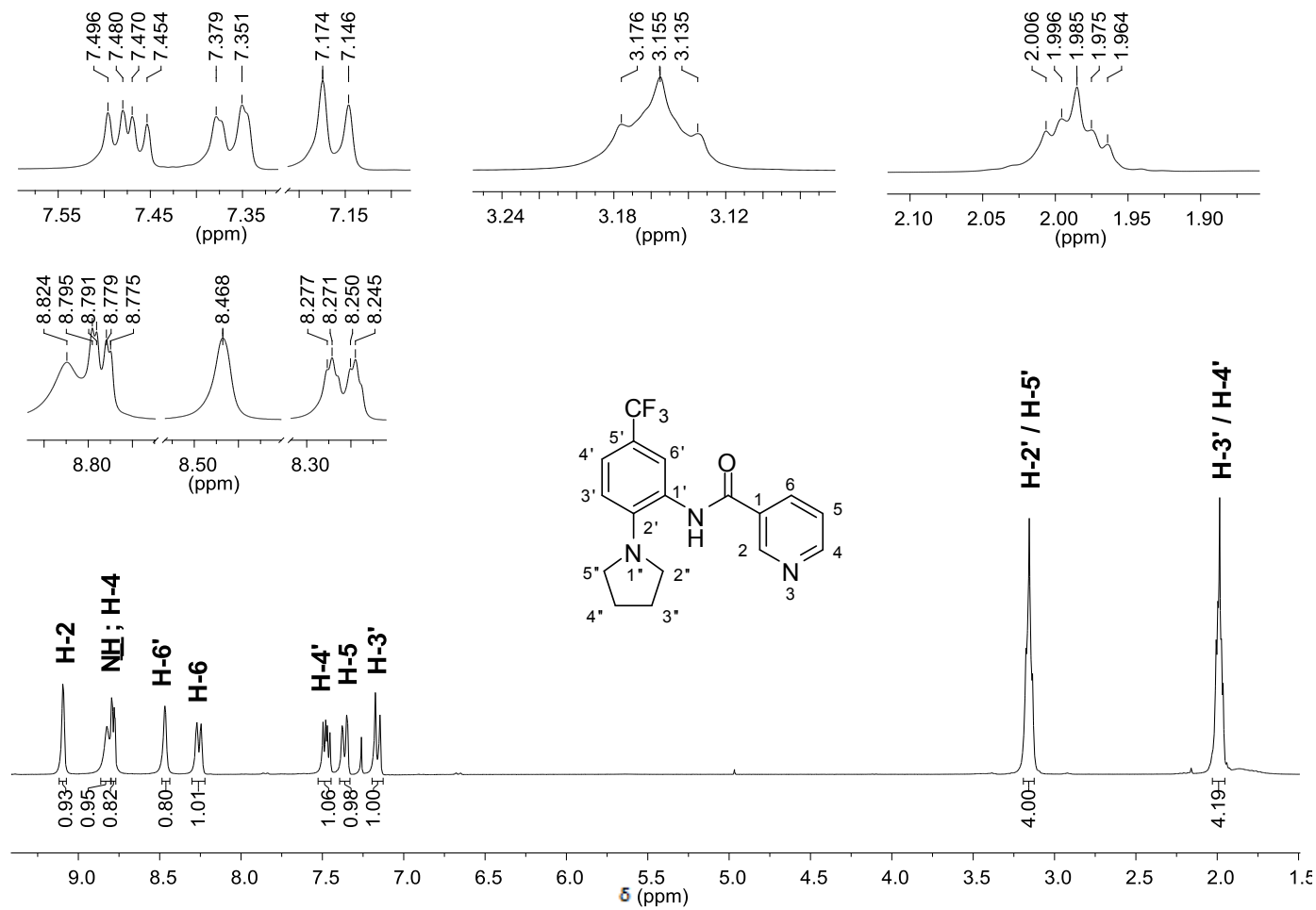


Figura 71 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340# 14**).

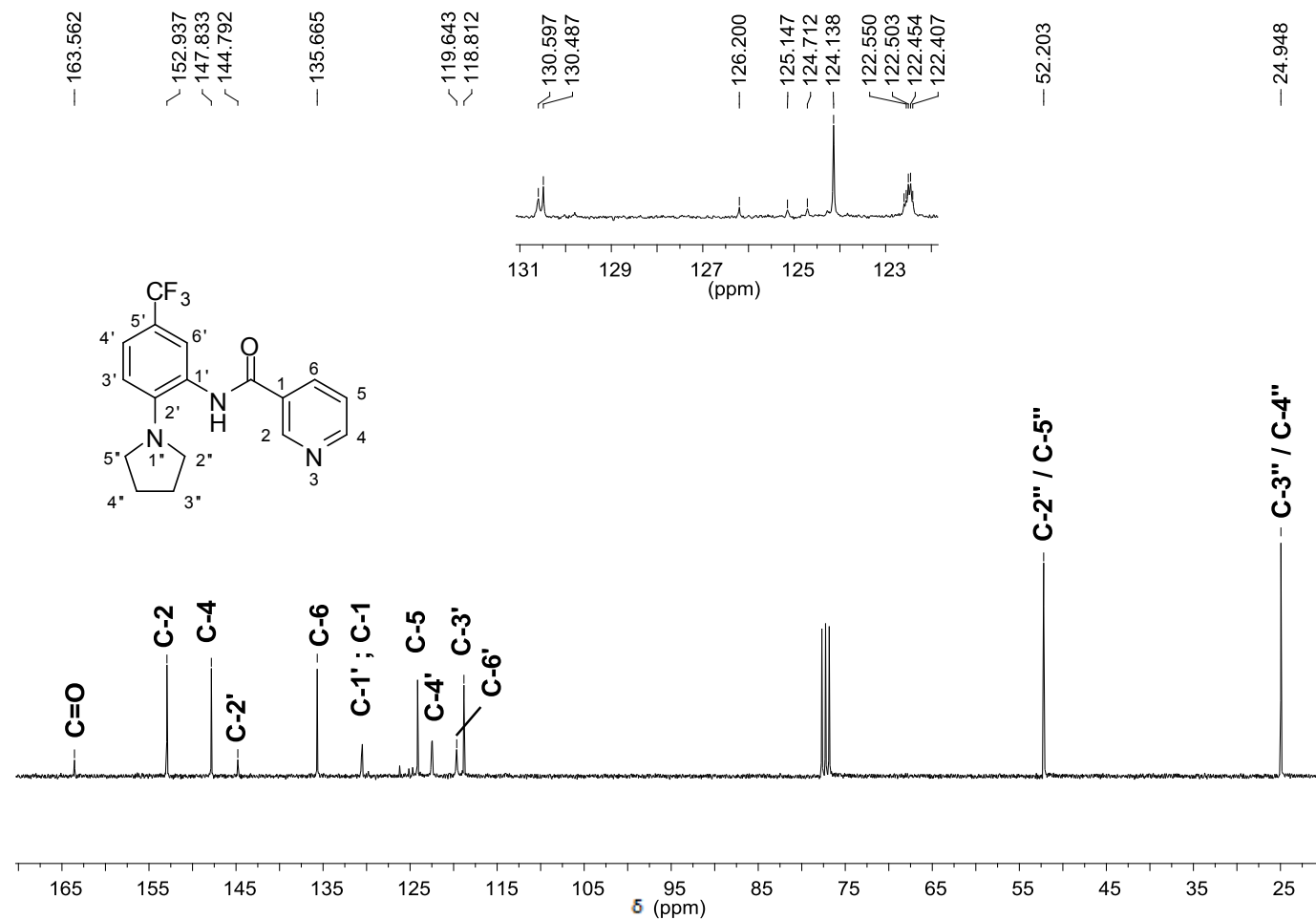


Figura 72 - Espectro de ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340# 14).

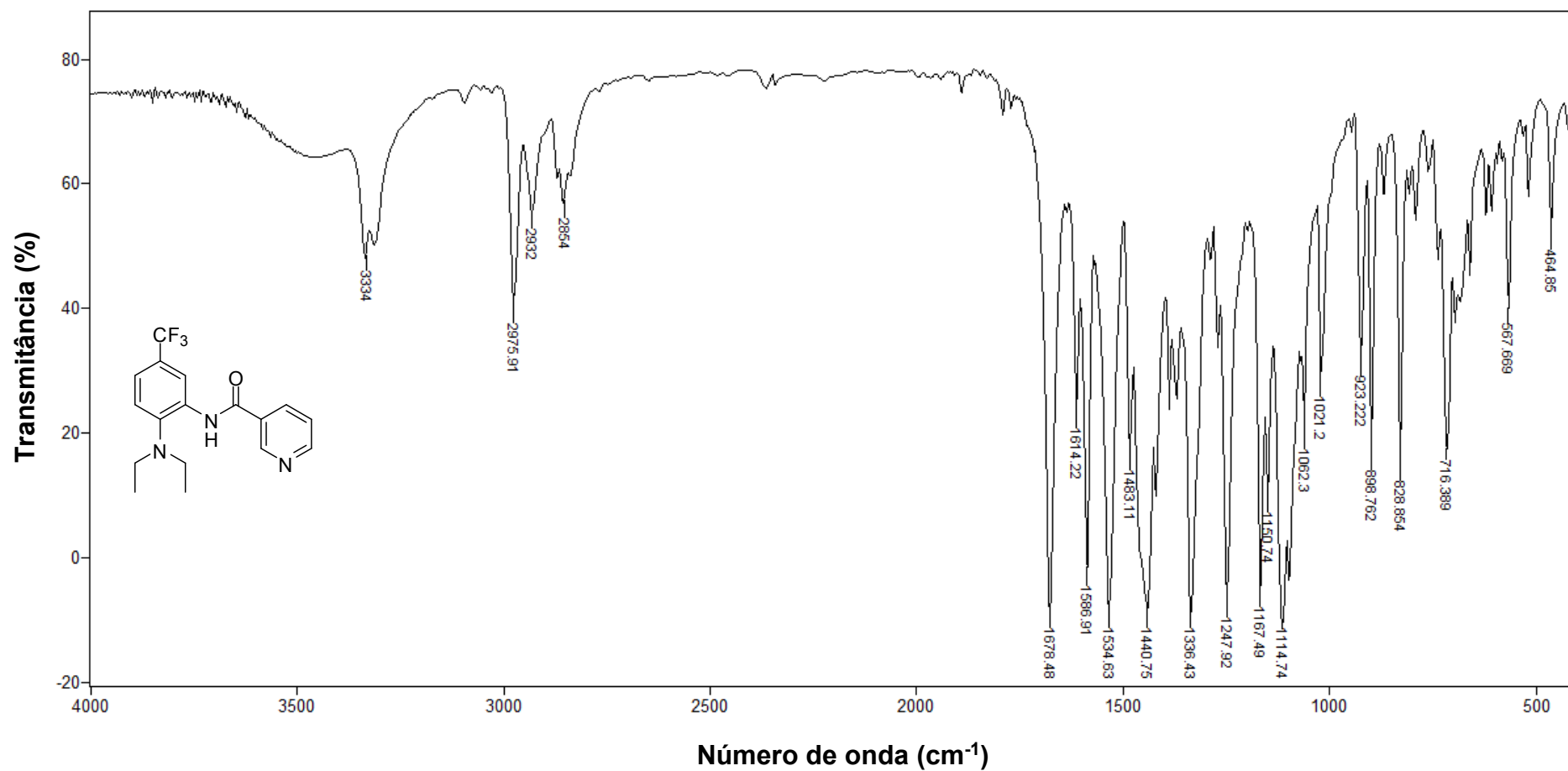


Figura 73 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-(2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil)nicotinamida (SRPIN 340#15).

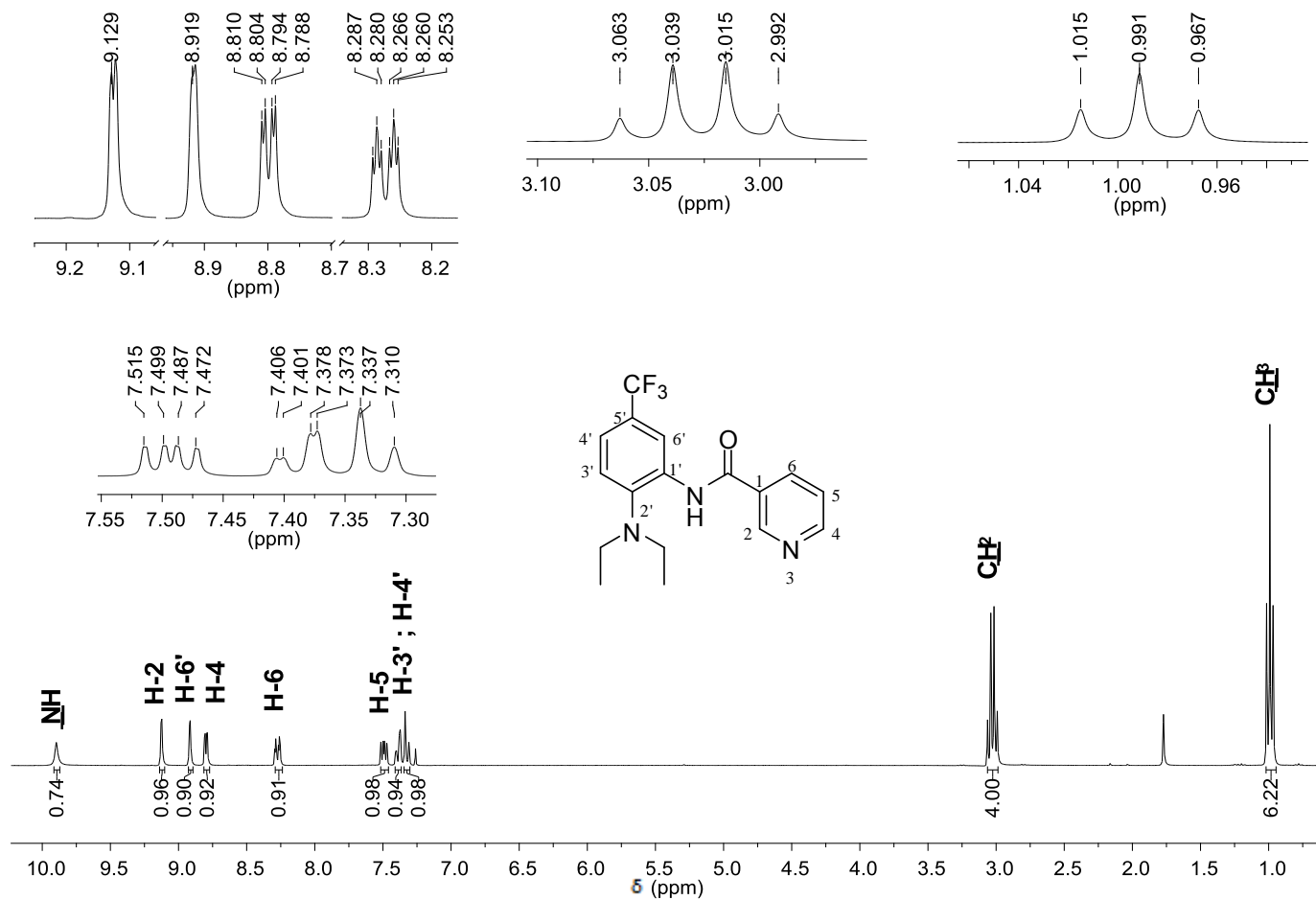


Figura 74 - Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#15).

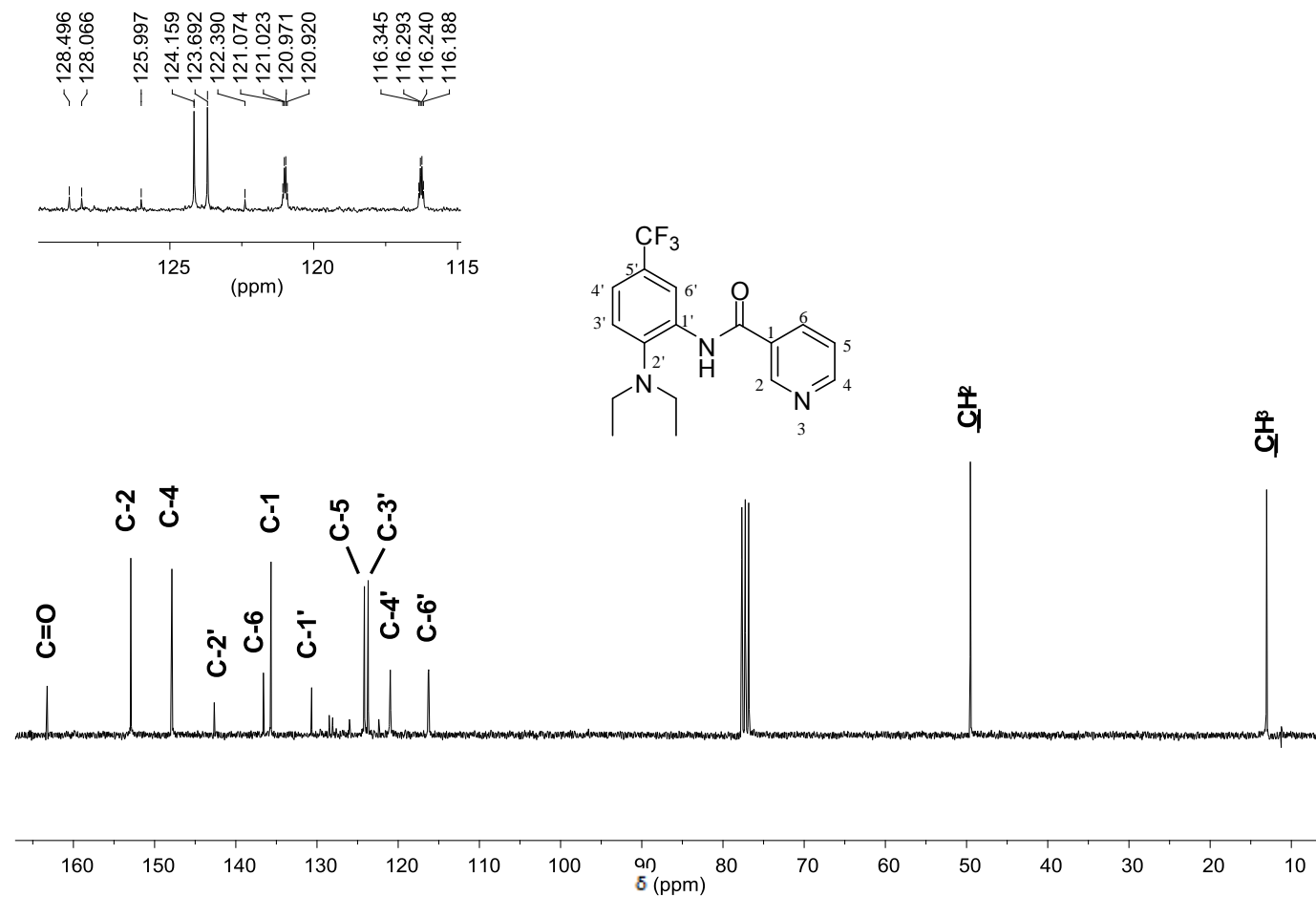


Figura 75 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#15).

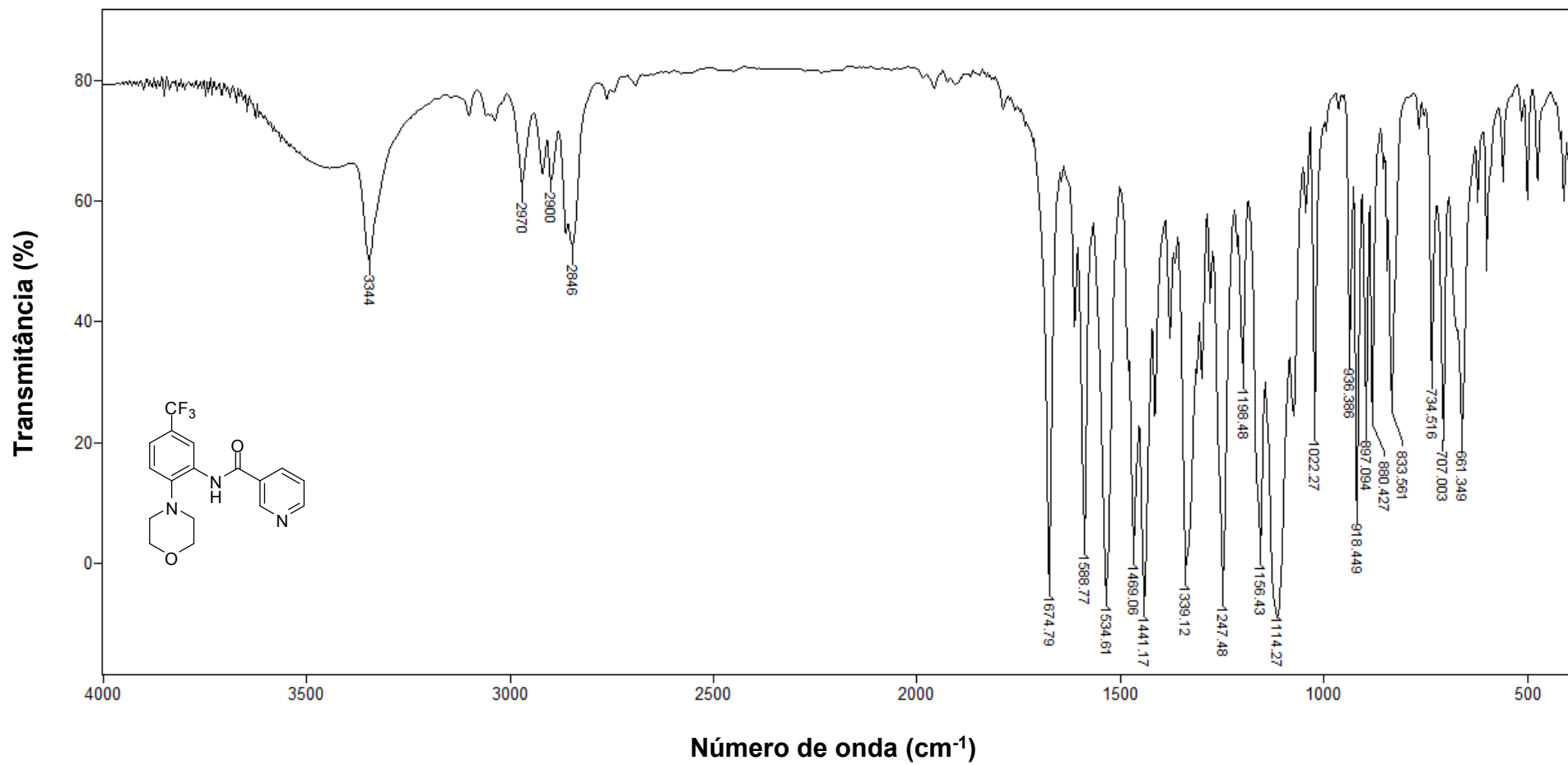


Figura 76 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#16**).

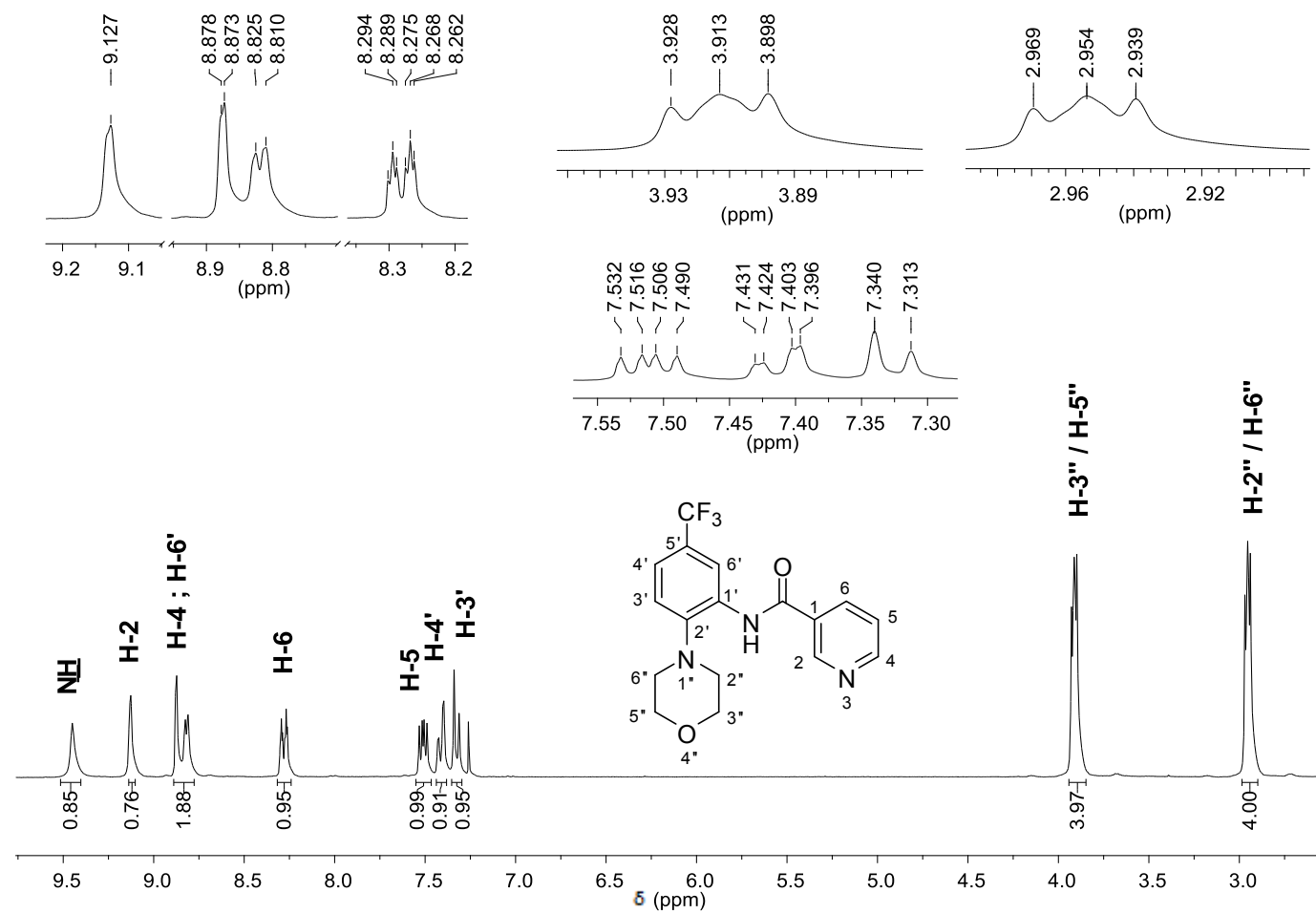


Figura 77 - Espectro de ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-morfolin-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#16**).

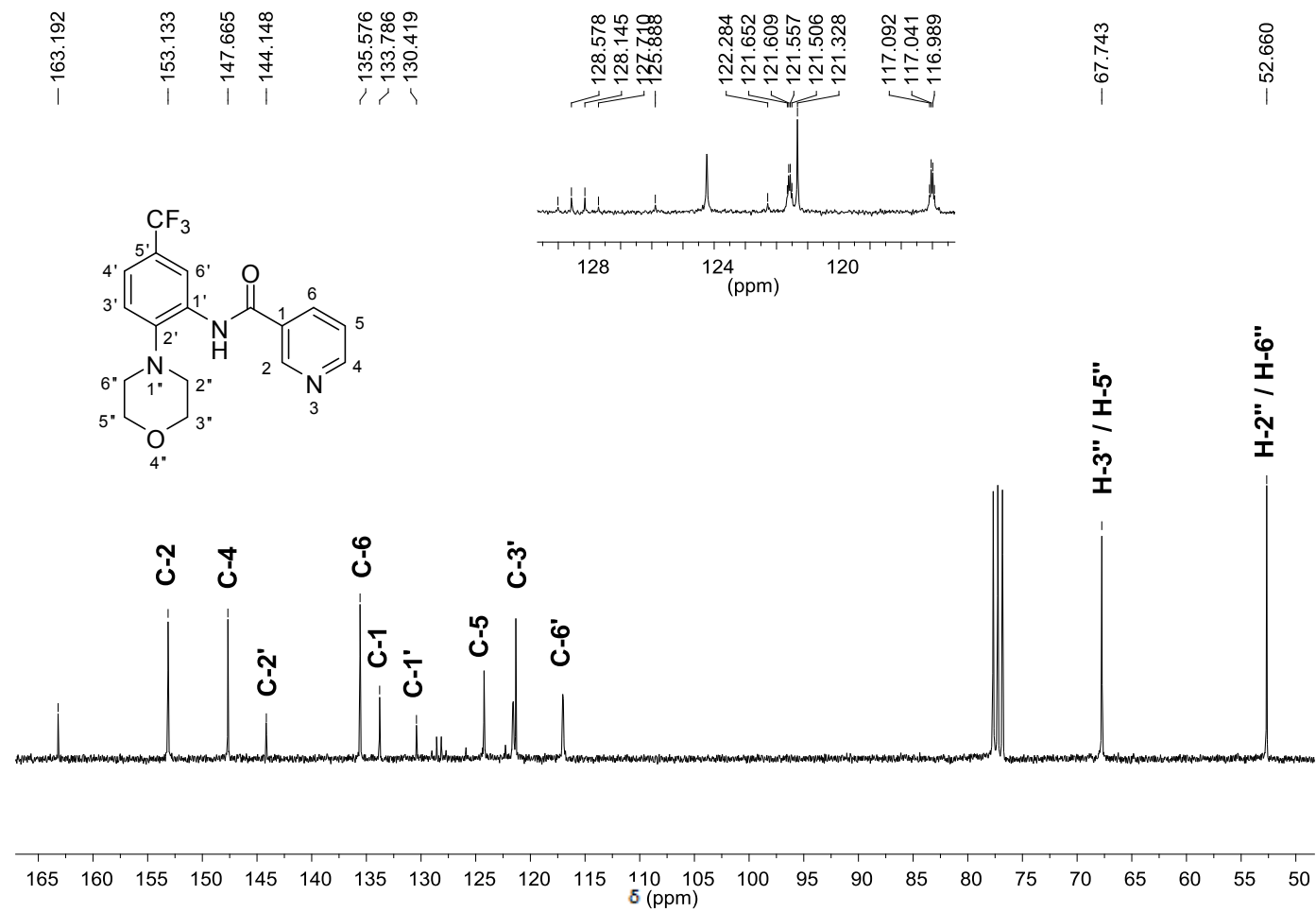


Figura 78 - Espectro de ^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (SRPIN 340#16).

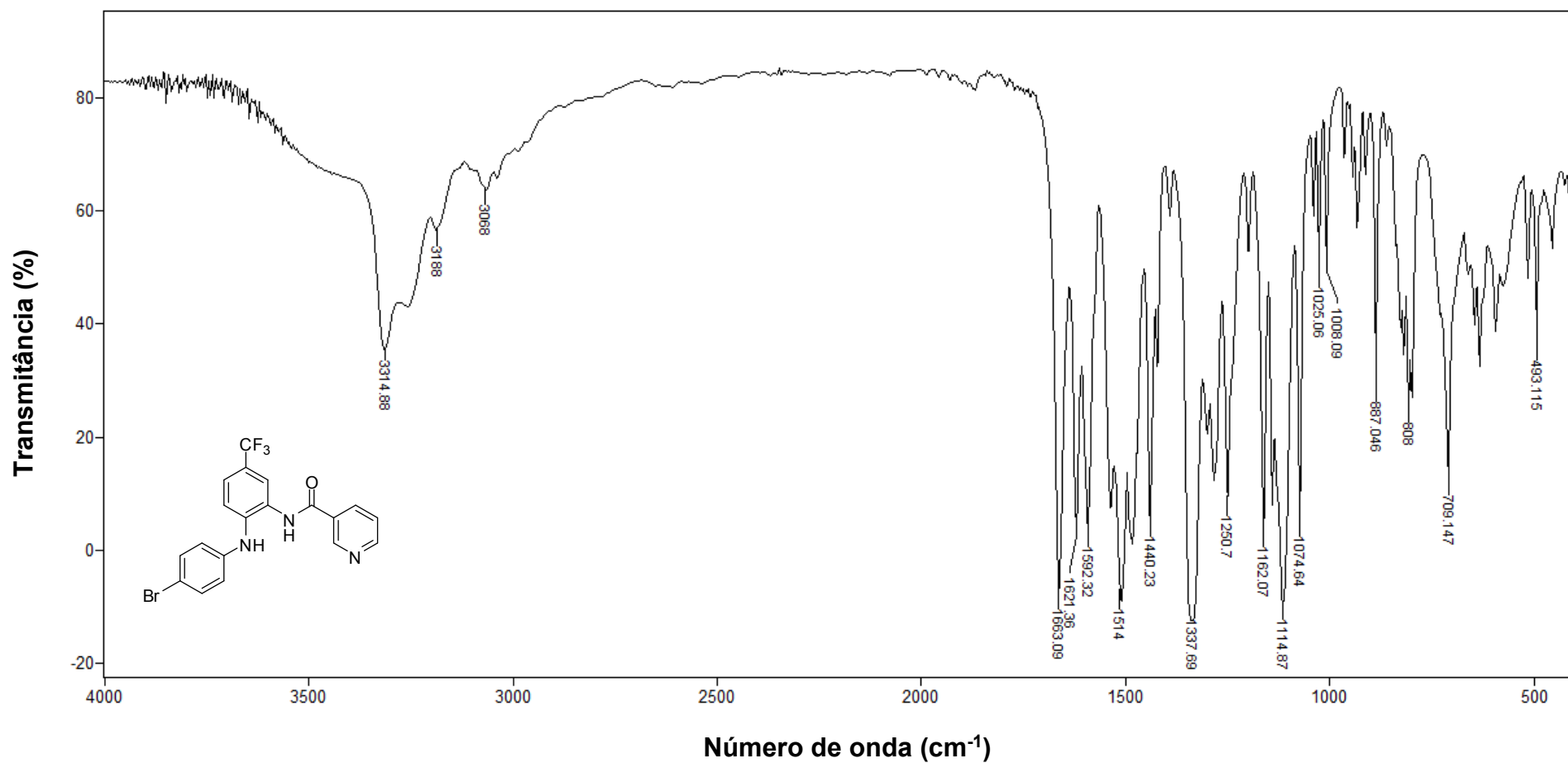


Figura 79 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#17**).

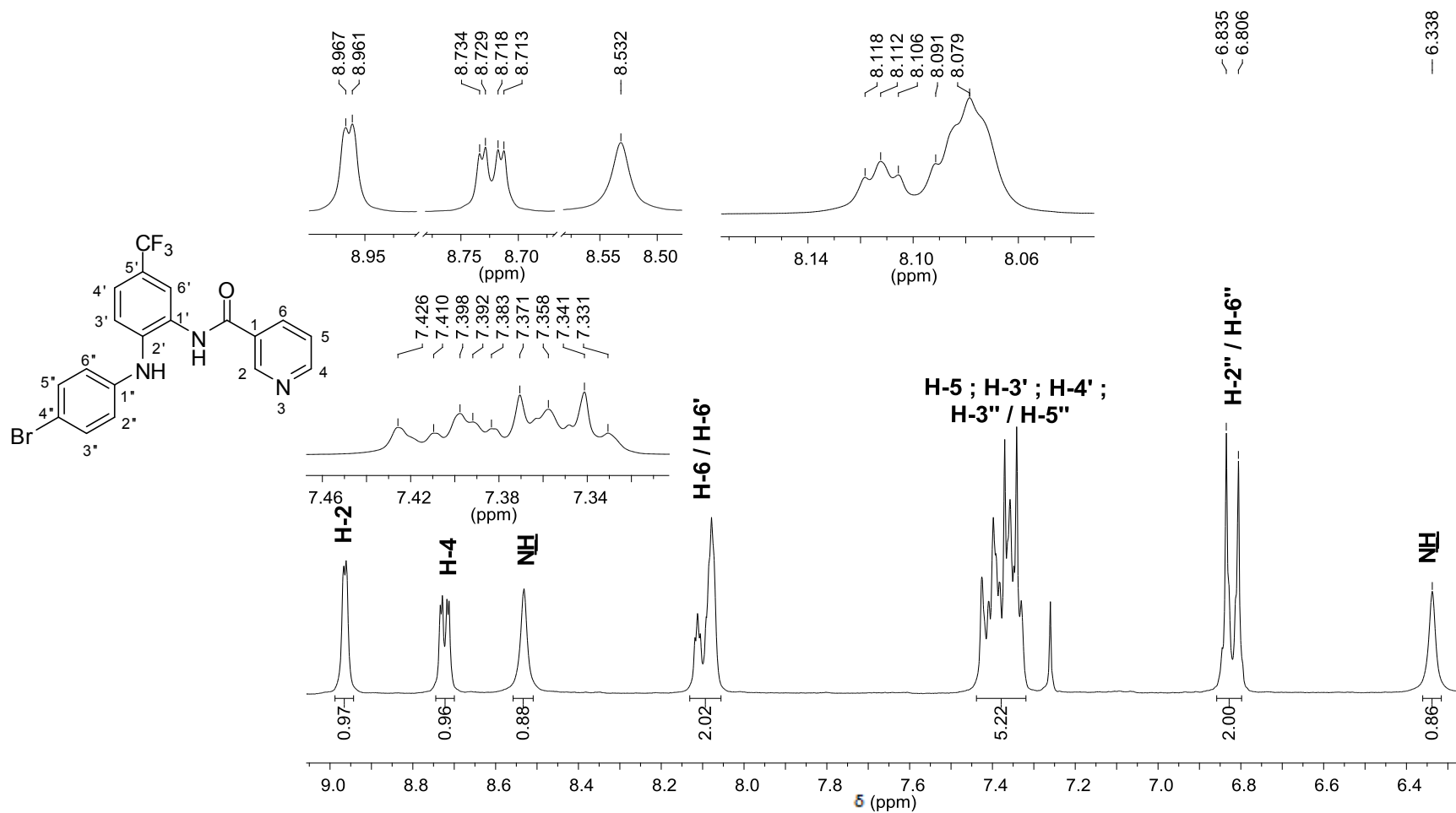


Figura 80 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#17**).

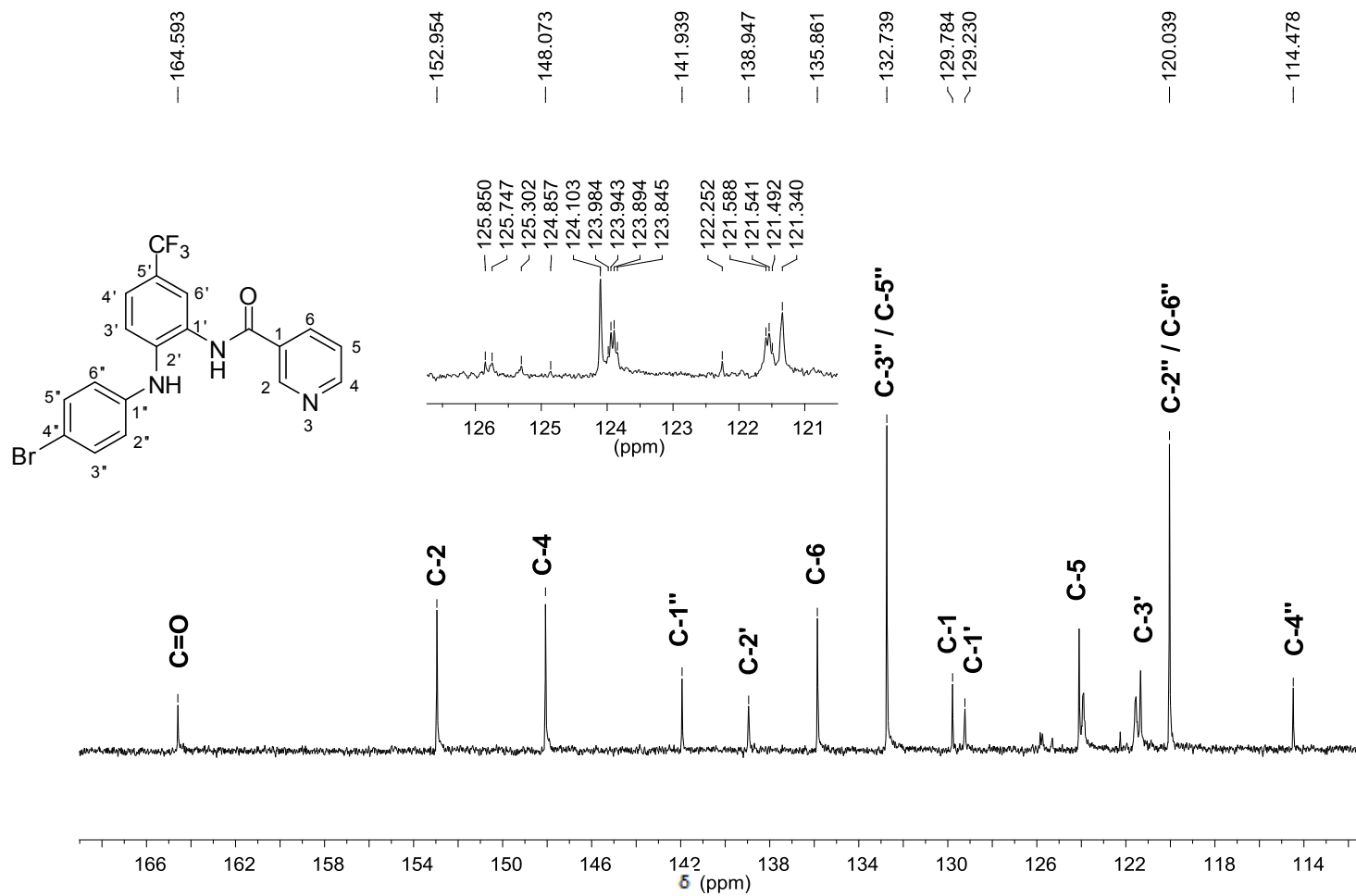


Figura 81 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]nicotinamida (**SRPIN 340#17**).

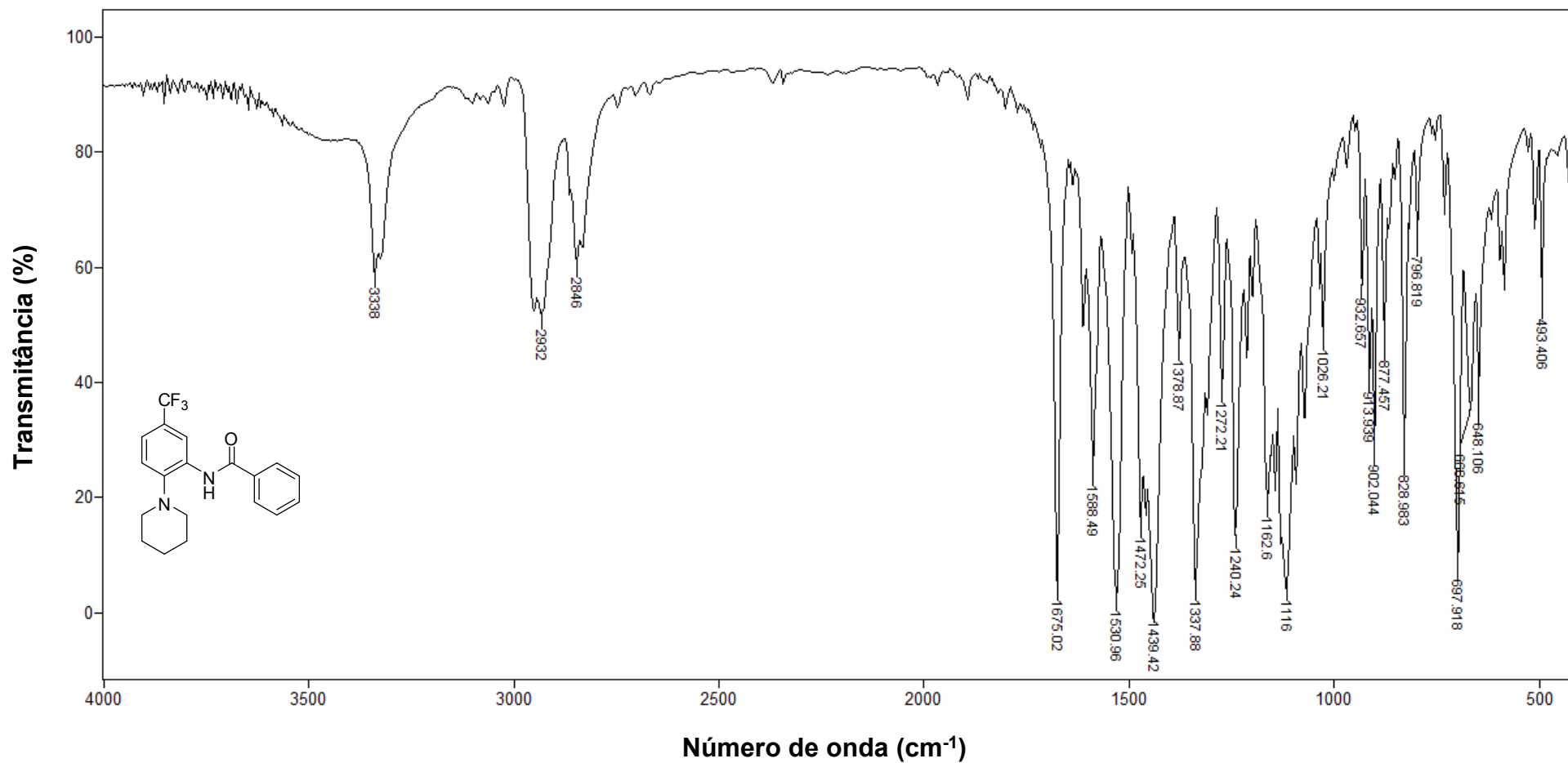


Figura 82 - Espectro no infravermelho (ATR) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (**SRPIN 340#18**).

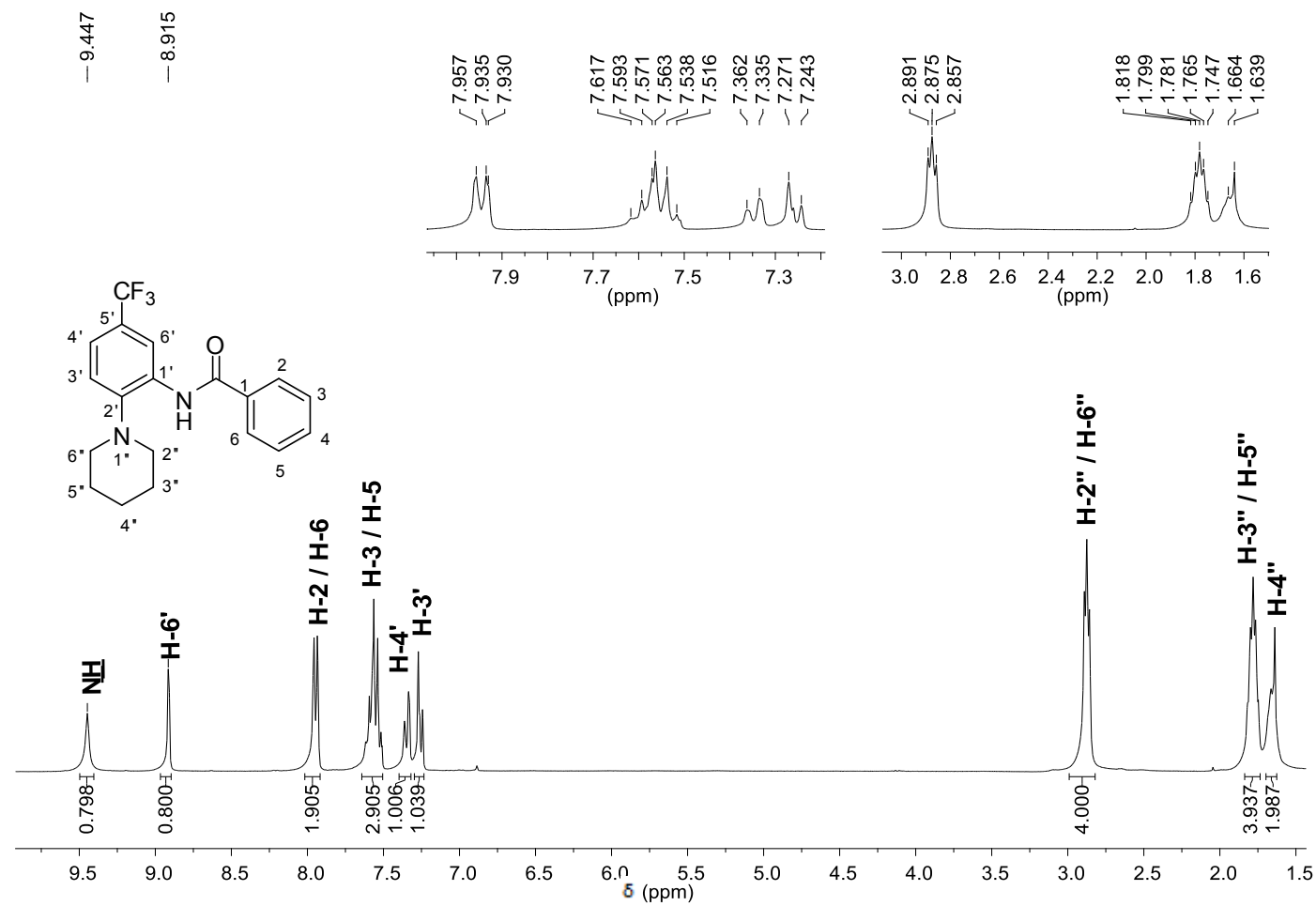


Figura 83 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#18).

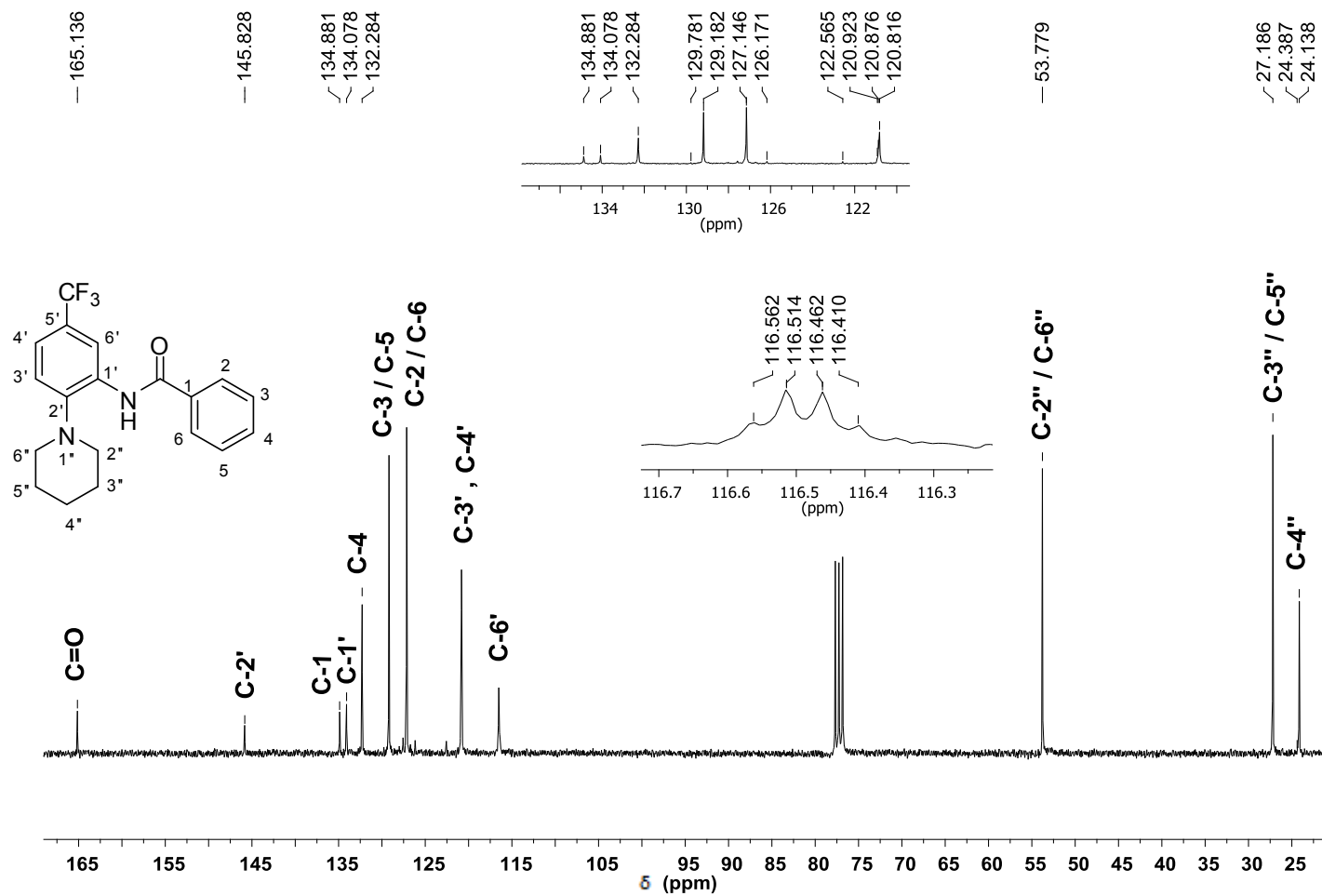


Figura 84 - Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(piperidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#18).

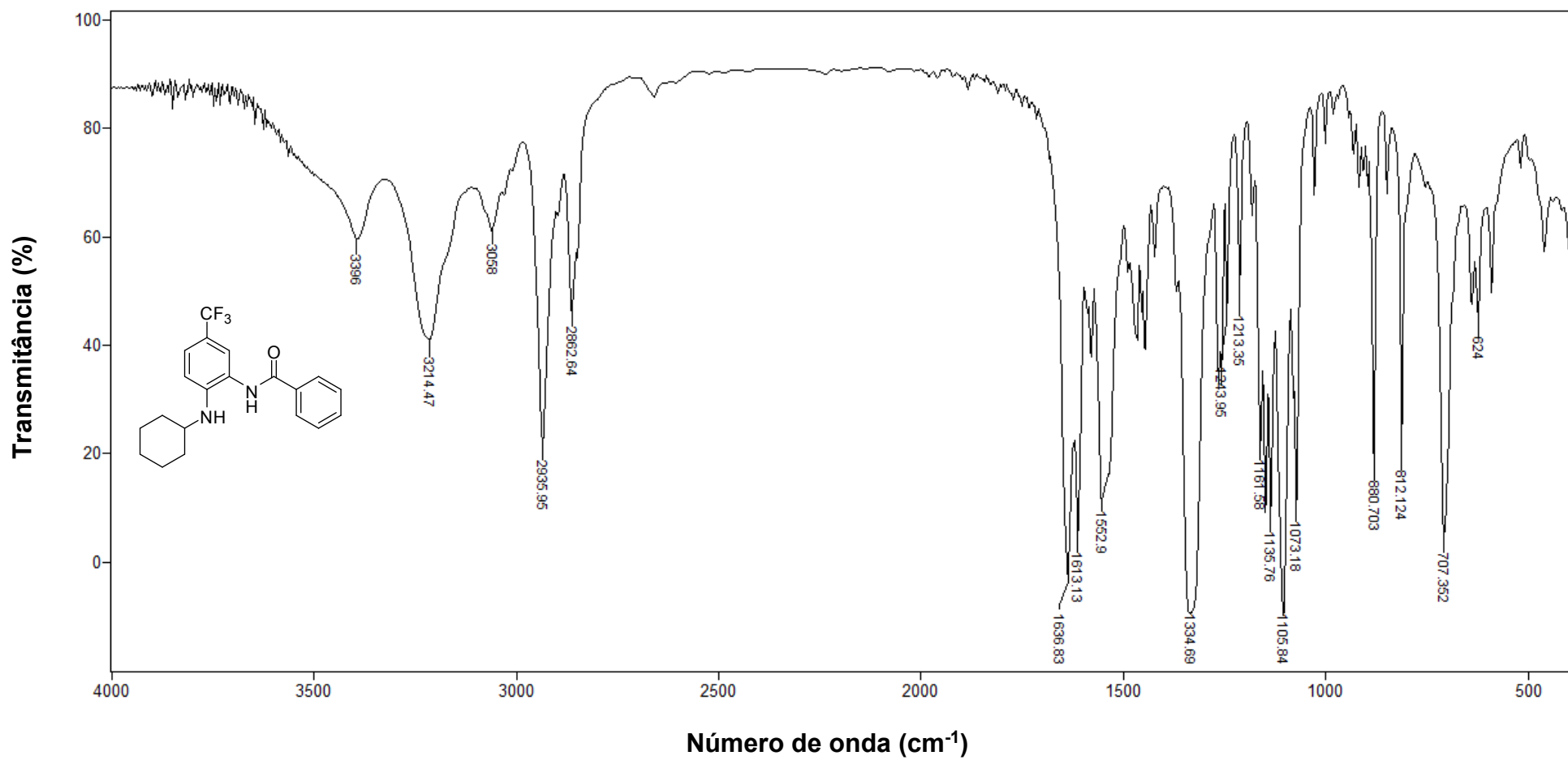


Figura 85 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (**SRPIN 340#19**).

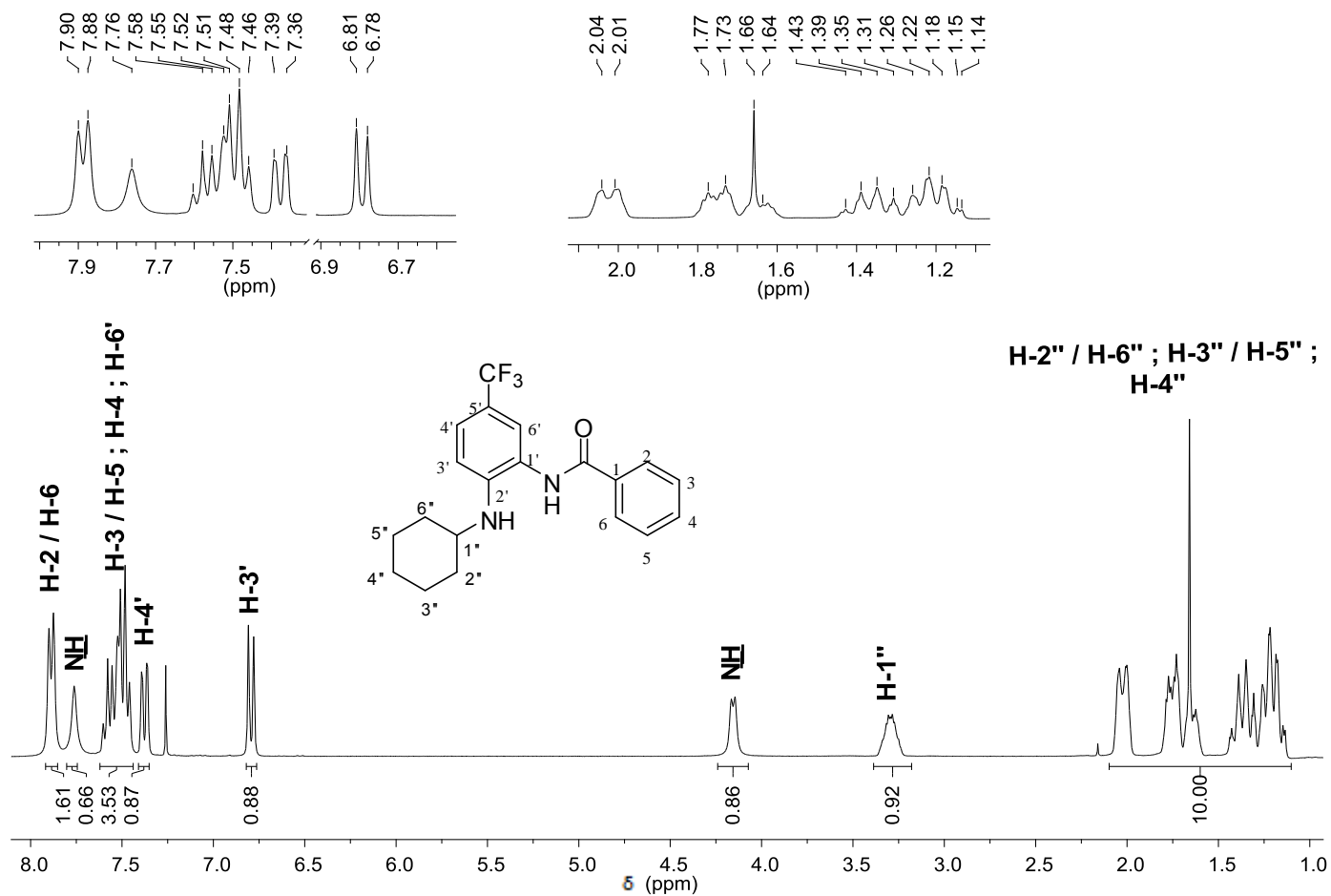


Figura 86 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (**SRPIN 340#19**).

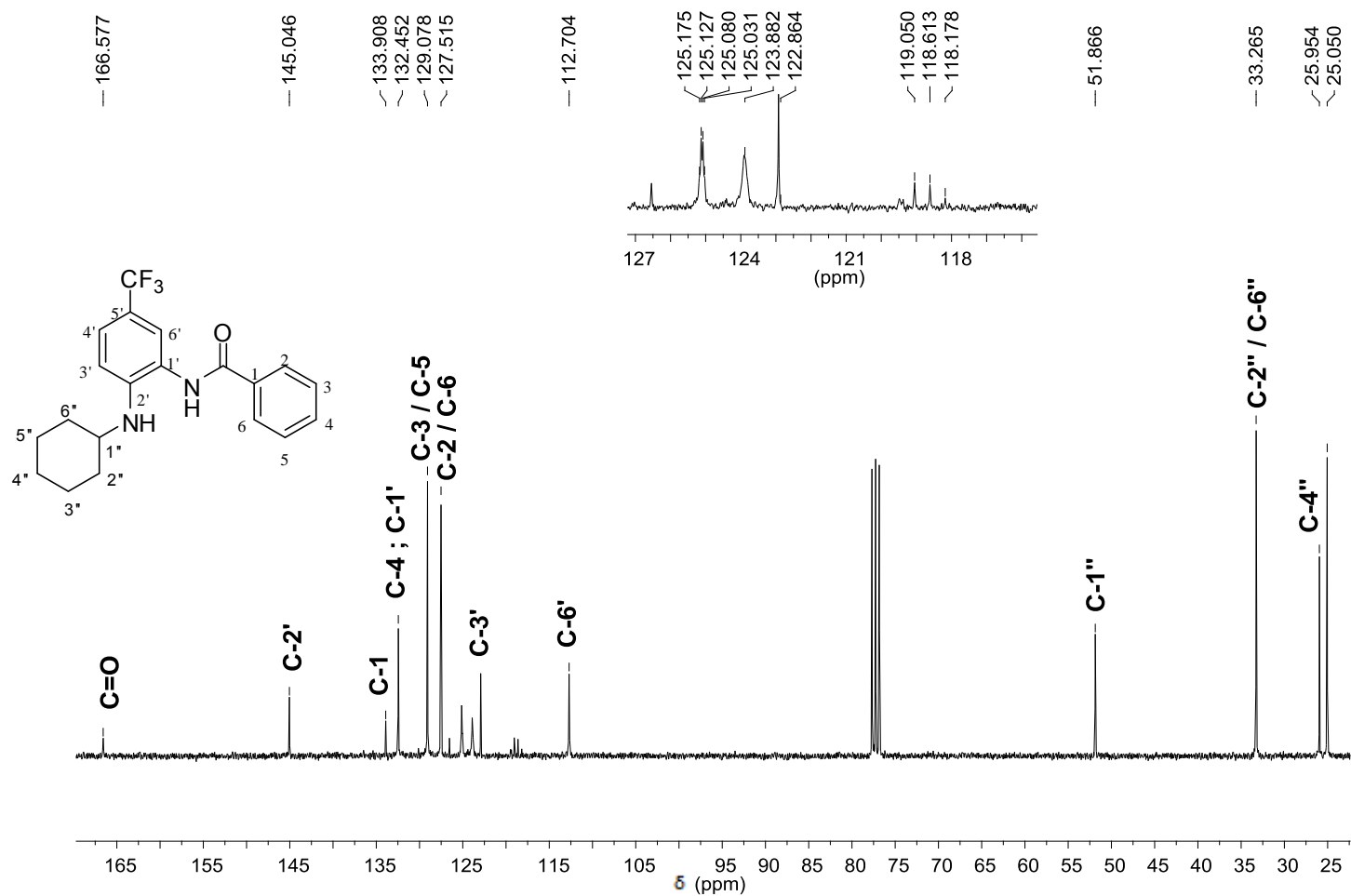


Figura 87 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) *N*-[2-(cicloexilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#19).

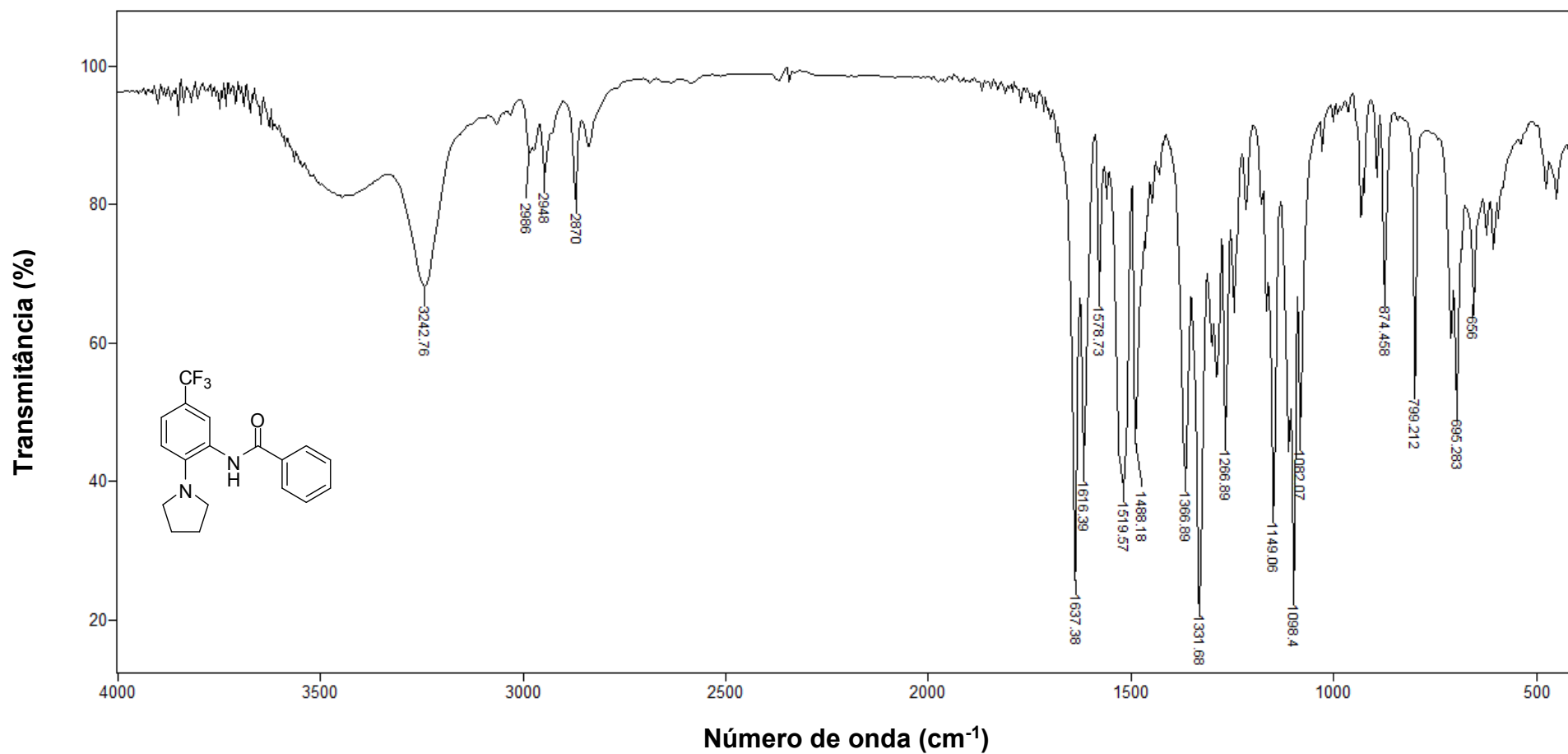


Figura 88 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (**SRPIN 340#20**).

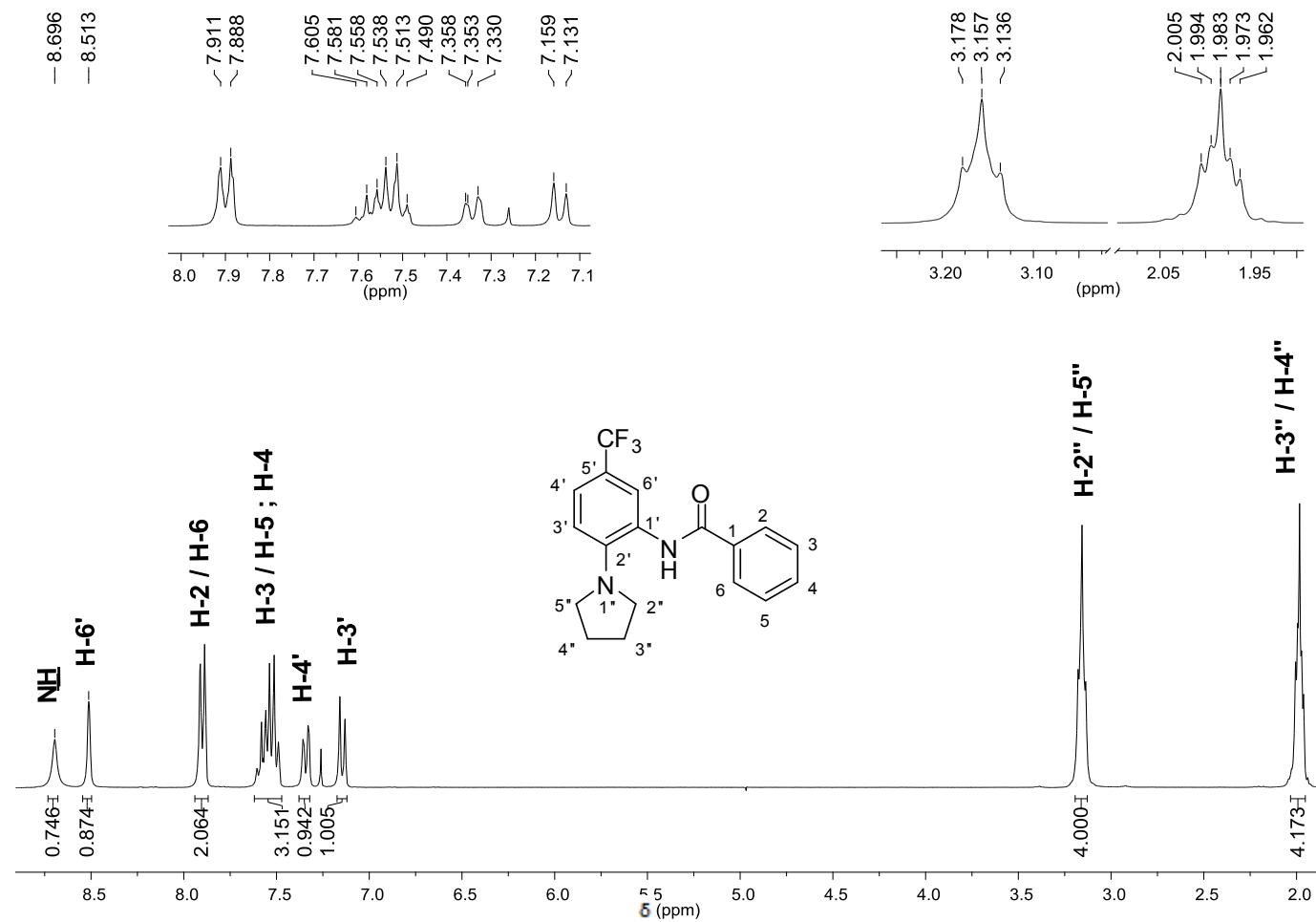


Figura 89 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#20).

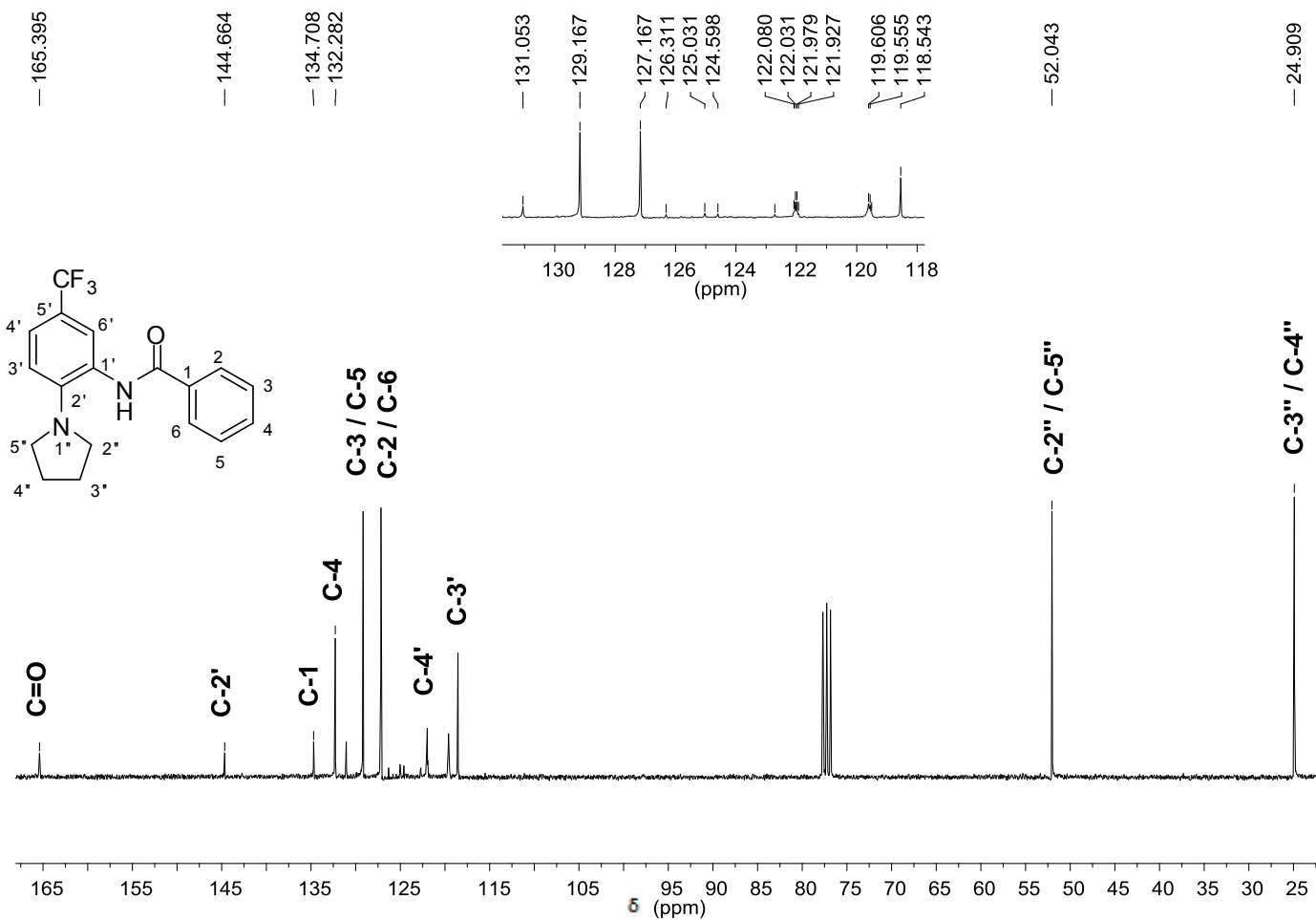


Figura 90 - Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(pirrolidin-1-il)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#20).

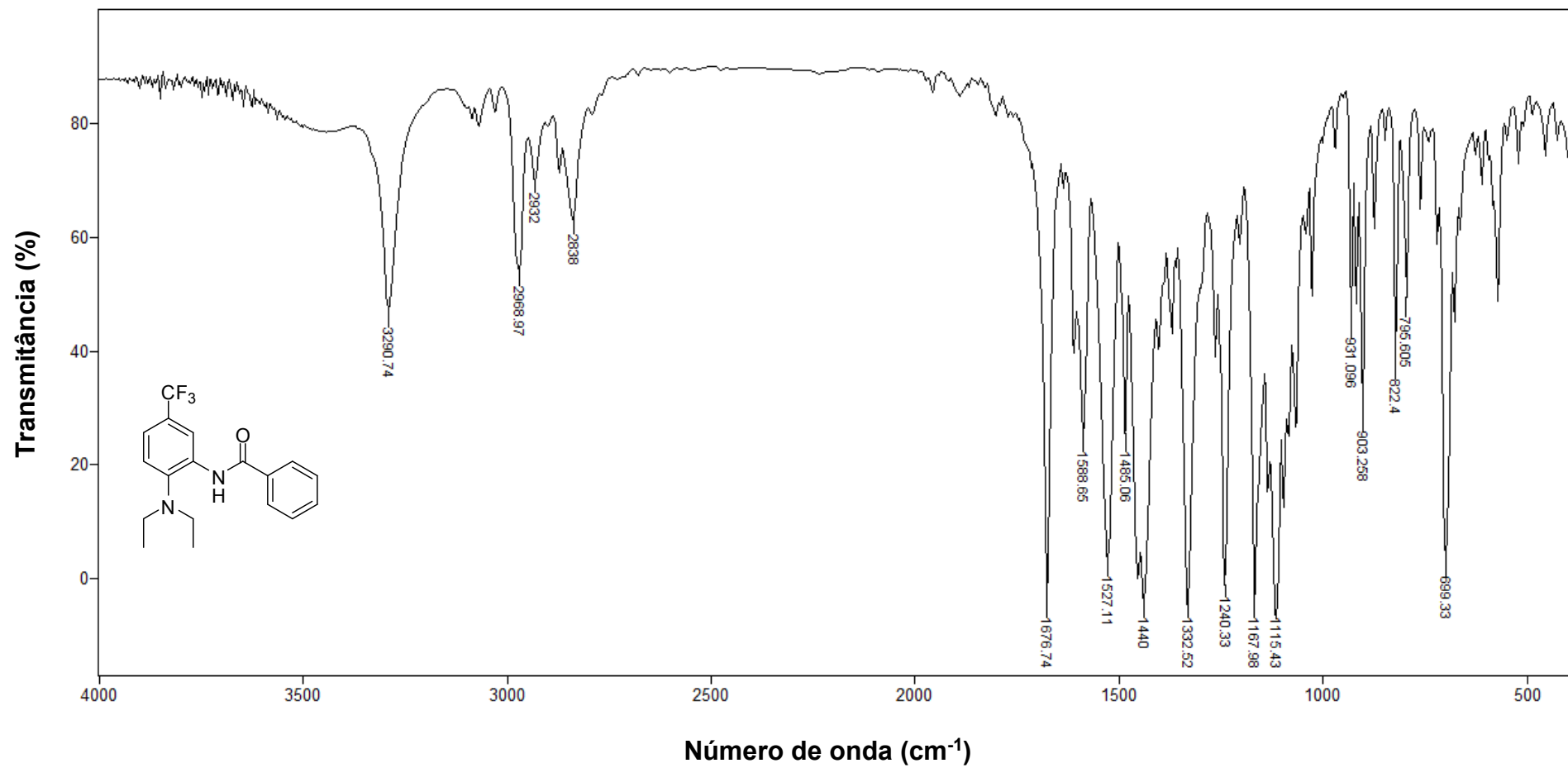


Figura 91- Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#21).

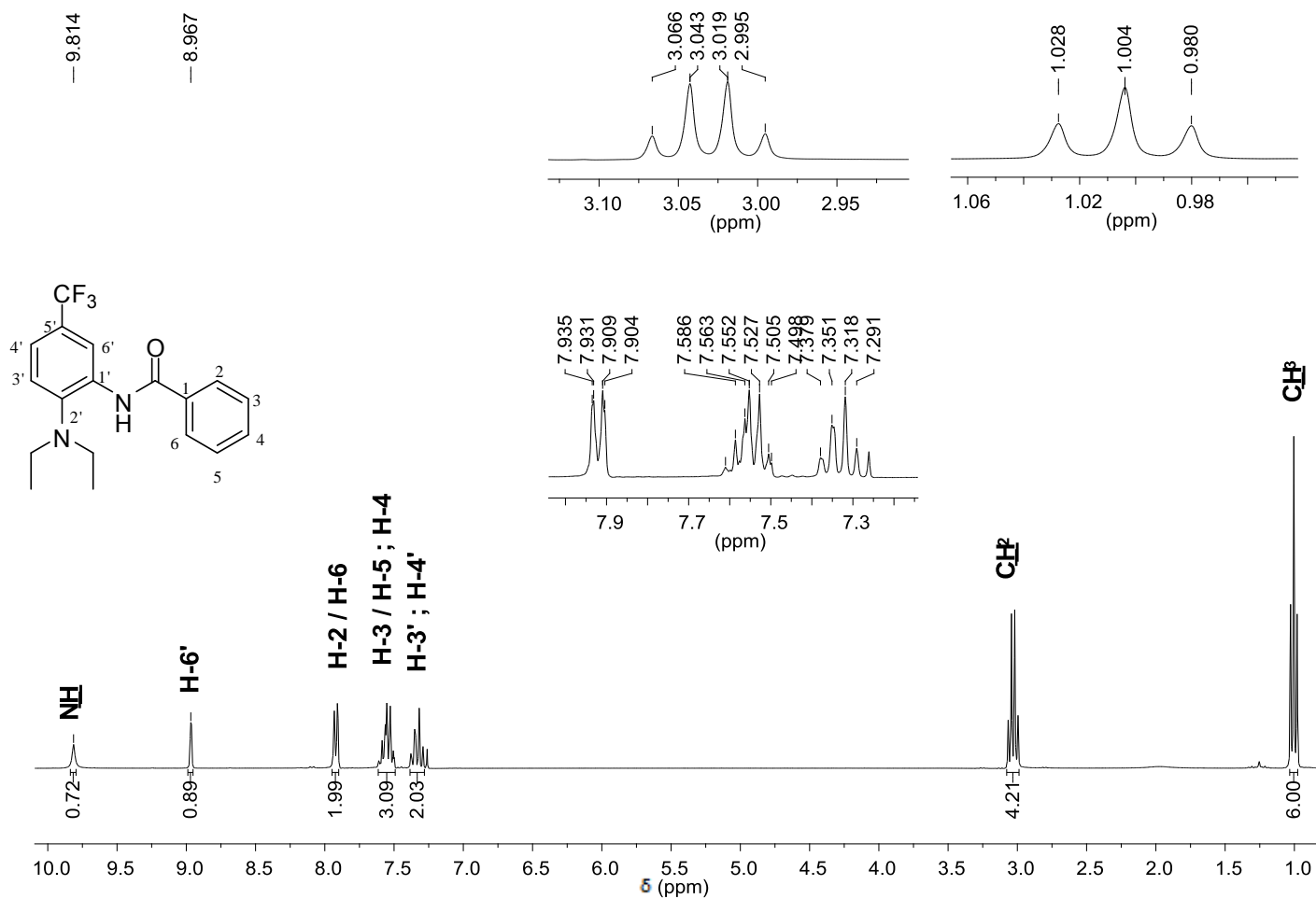


Figura 92- Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#21).

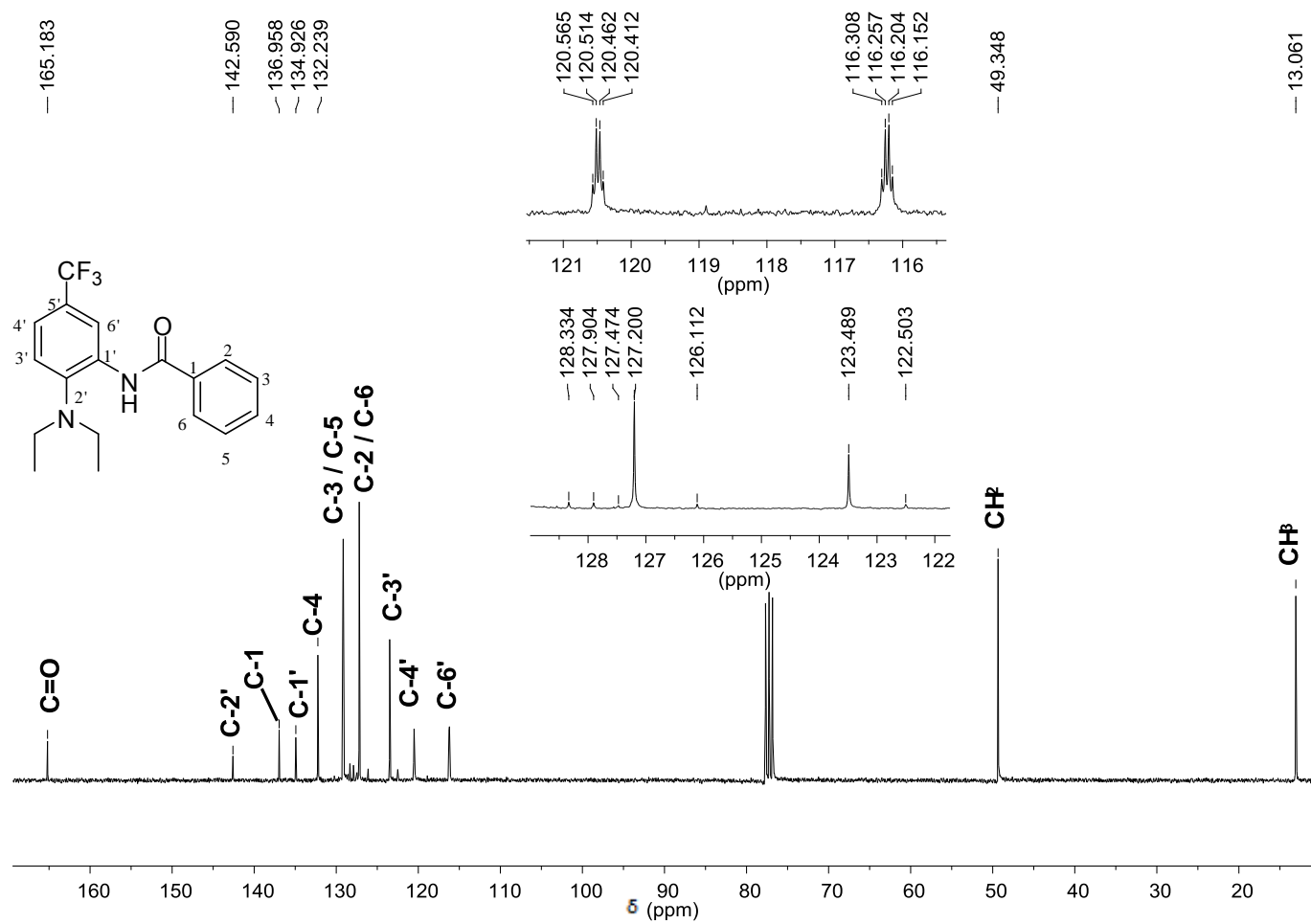


Figura 93- Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-(dietilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#21).

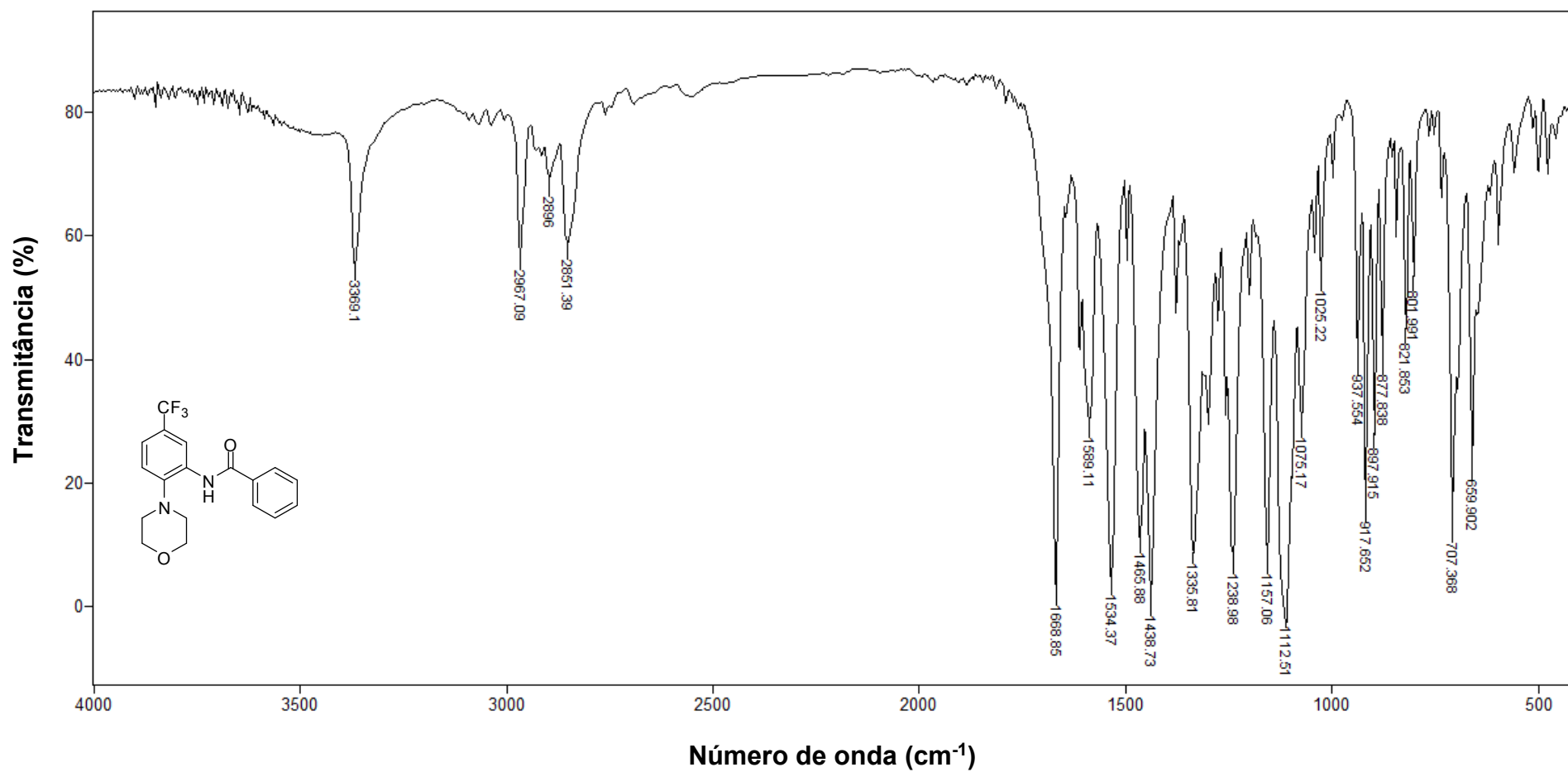


Figura 94 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#22).

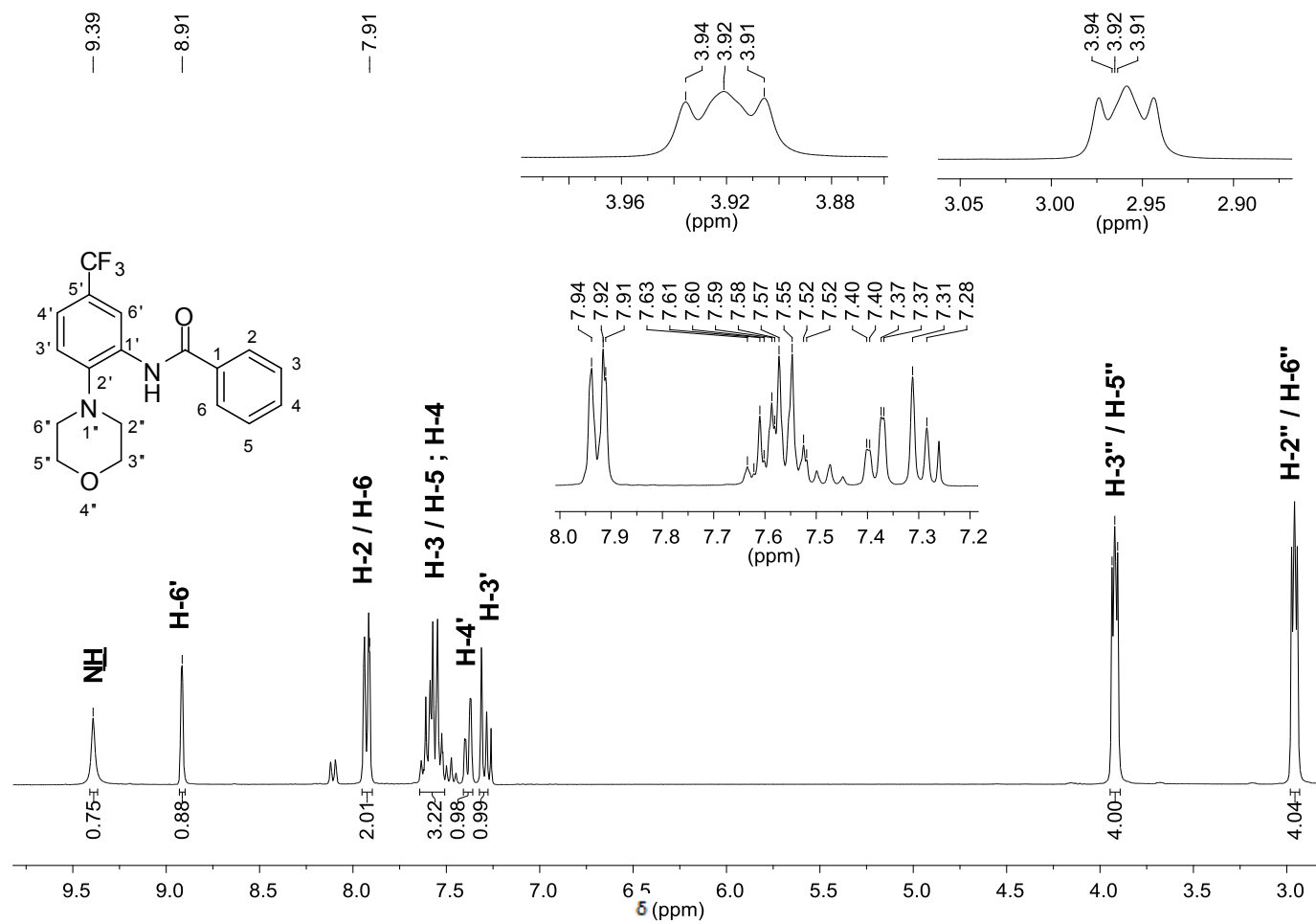


Figura 95 - Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#22).

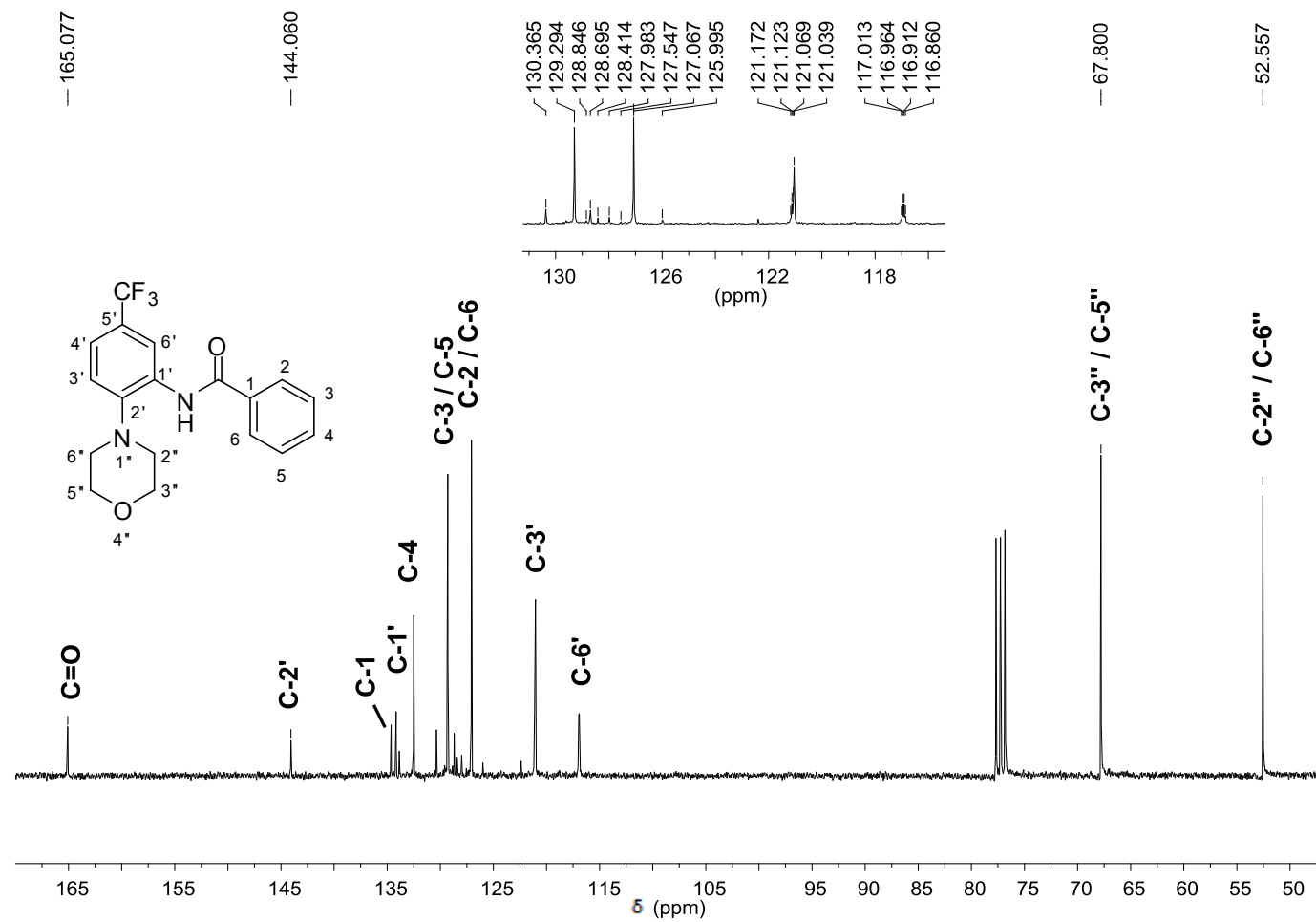


Figura 96 - Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) da *N*-[2-morfolino-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#22).

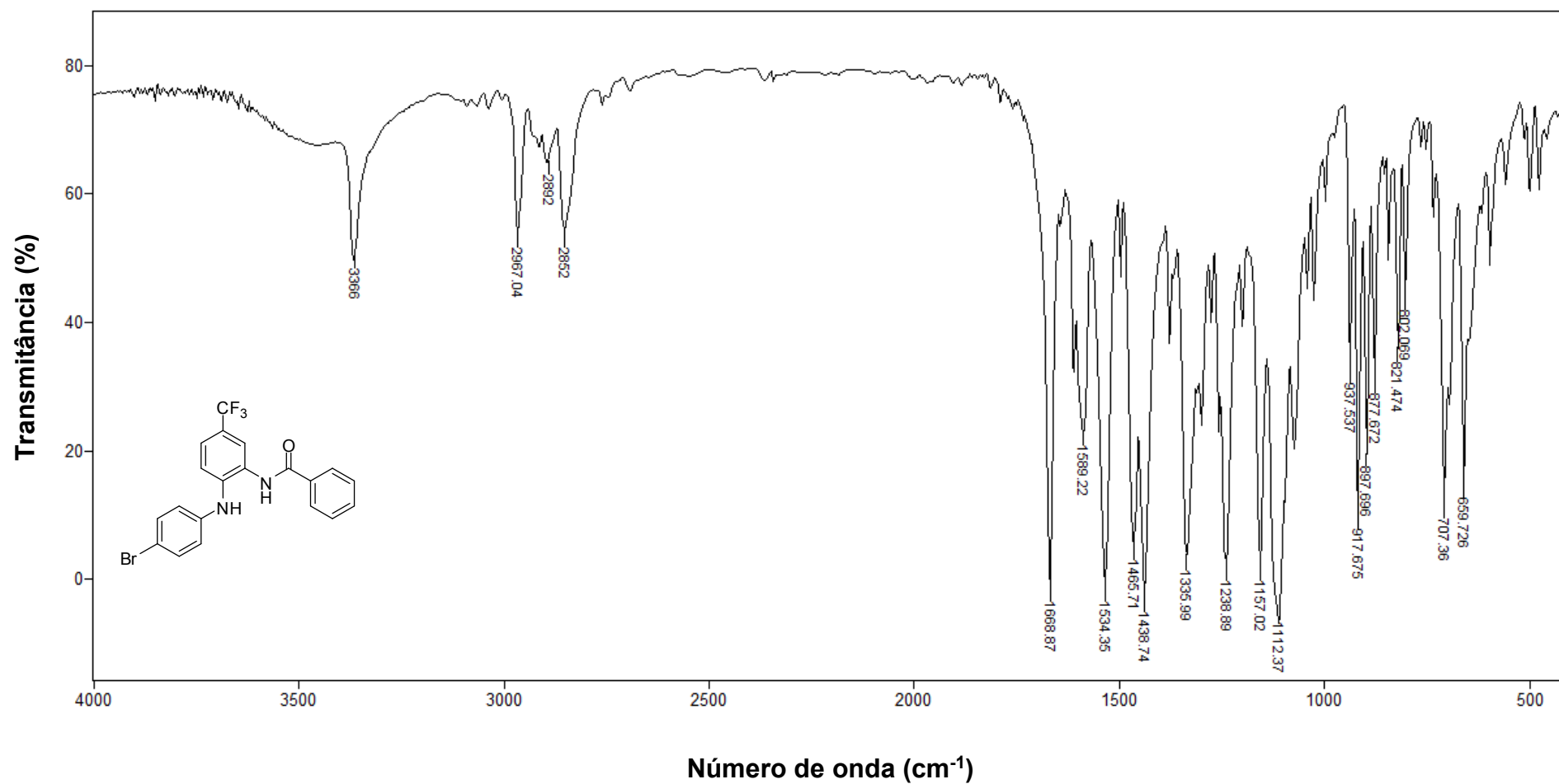


Figura 97 - Espectro no infravermelho (KBr) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (**SRPIN 340#23**).

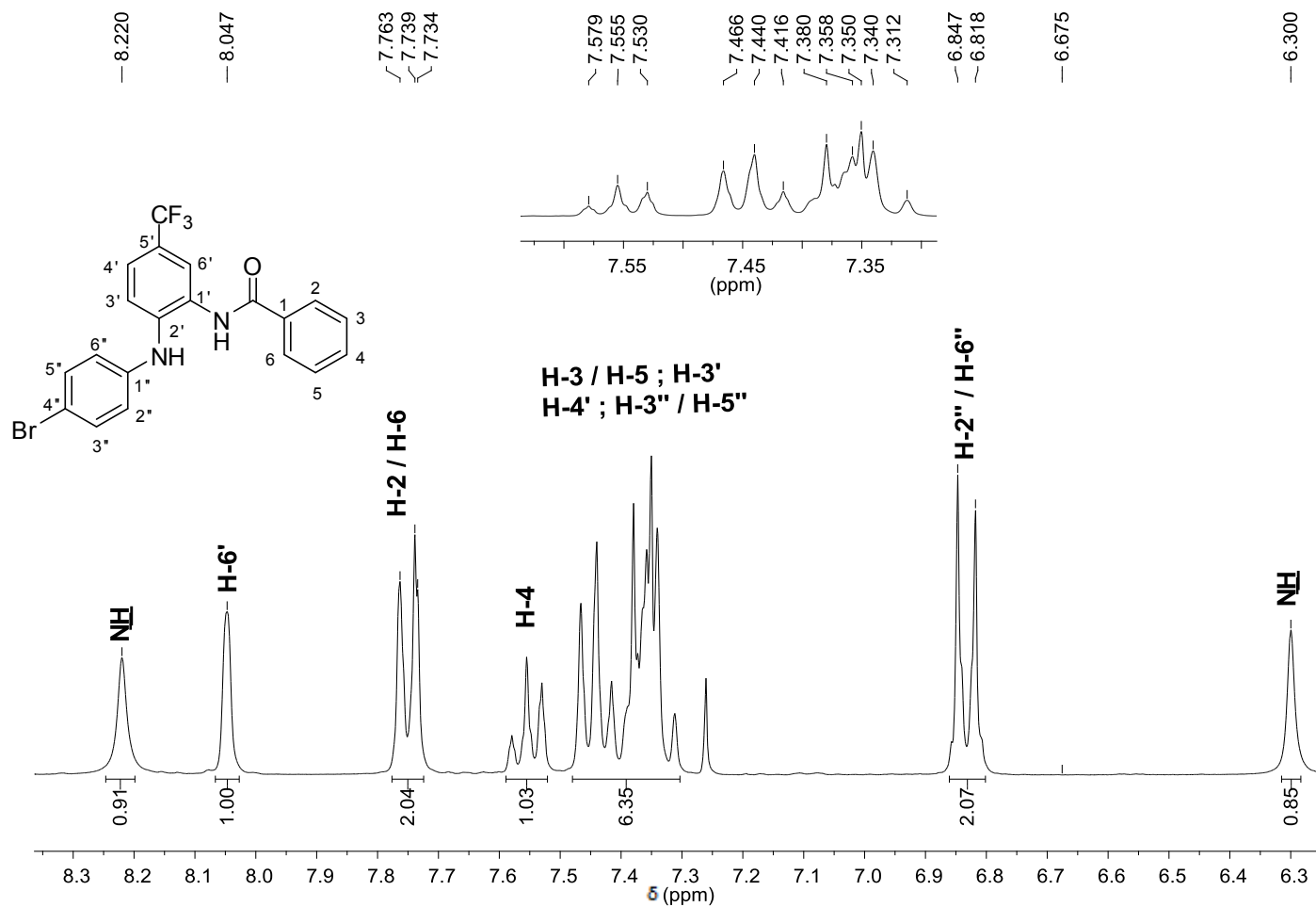


Figura 98 - Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) da N-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (SRPIN 340#23).

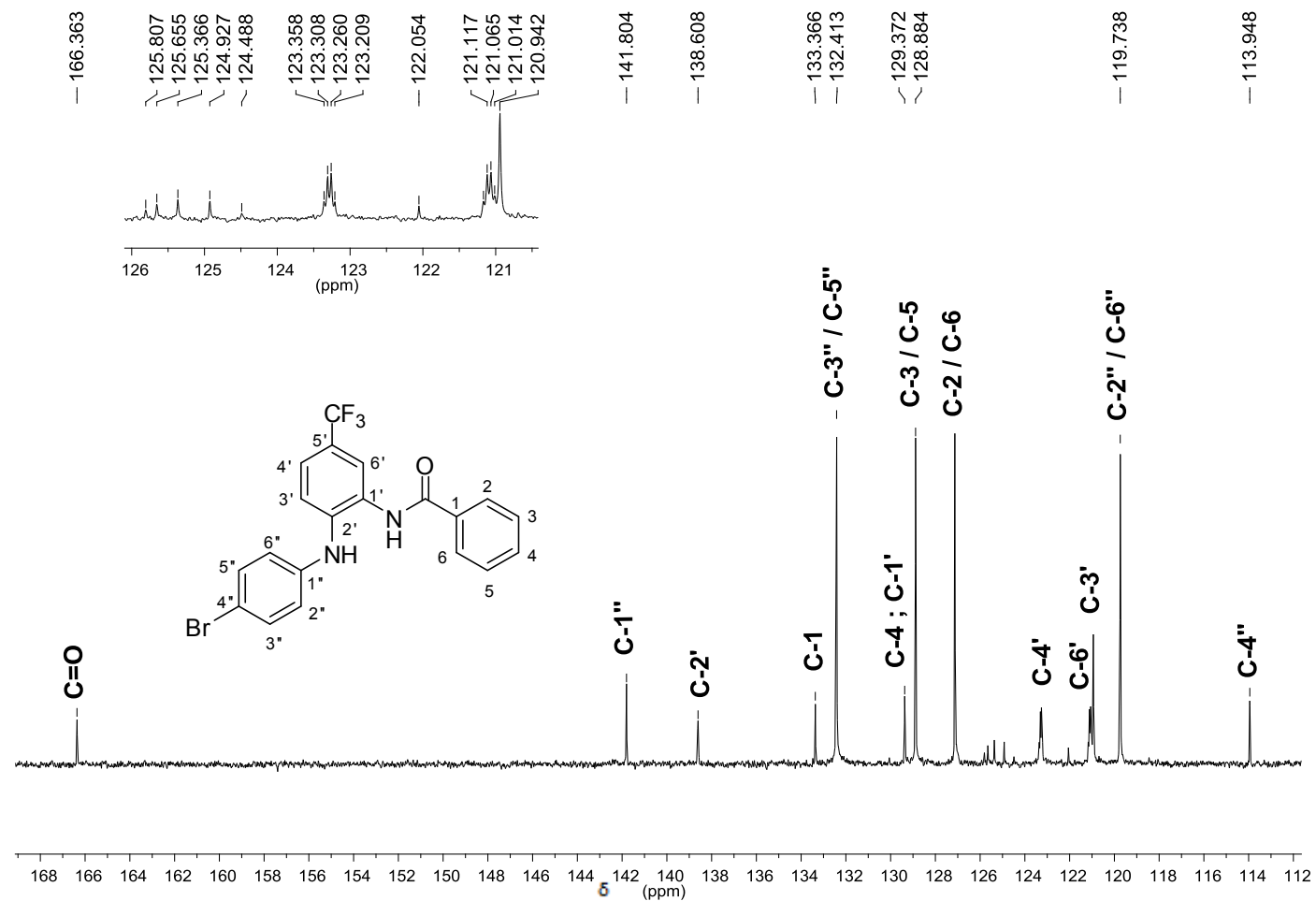


Figura 99 - Espectro de ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) da *N*-[2-(4-bromofenilamino)-5-(trifluorometil)fenil]benzamida (**SRPIN 340#23**).