

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área Insumos Farmacêuticos

---

***Planejamento, síntese e avaliação biológica de candidatos a fármacos: busca de inibidores epigenéticos da Sirtuína 2 – Sir2***

***Evelin Fornari Pereira***

Orientador:  
Prof. Dr. Gustavo H. G. Trossini

São Paulo  
2022

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos  
Área Insumos Farmacêuticos

---

***Planejamento, síntese e avaliação biológica de candidatos a fármacos: busca de inibidores epigenéticos da Sirtuína 2 – Sir2***

***Evelin Fornari Pereira***

Versão original

Trabalho apresentado como exigência parcial  
para obtenção do Título de DOUTOR

Orientador:  
Prof. Dr. Gustavo H. G. Trossini

São Paulo  
2022

**Evelin Fornari Pereira**

***Planejamento, síntese e avaliação biológica de candidatos a fármacos:***

***busca de inibidores epigenéticos da Sirtuína 2 – Sir2***

Comissão Julgadora  
Exame de defesa nível Doutorado

---

1º. examinador / presidente

---

2º. examinador

---

3º. examinador

---

4º. examinador

São Paulo

2022

Esta tese é dedicada à minha mãe, Sueli, e ao meu irmão, Luis.

Sem vocês este trabalho não teria passado de um sonho.

Também dedico ao meu pai, Walter, às minhas tias Fátima e Sandra, à Alessandra,  
à minha família e amigos: aos que ficaram... mesmo nos momentos mais difíceis.

Vocês foram fundamentais para esta conquista.

Amo vocês!!!

*“Eu sempre gosto de ir aos extremos. Podemos fazer coisas que antes eram simplesmente impossíveis?”*

*Benjamin List - Prêmio Nobel em Química, 2021.*

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todas as pessoas que tornaram este projeto possível: ao Professor Gustavo Trossini, ao Professor Ganesan, que me recebeu na *University of East Anglia* e me tornou parte do seu grupo em tão pouco tempo, e ao Professor Hélio Stefani, por abrir as portas do seu laboratório e colaborar com este projeto.

À agência de fomento CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento deste projeto (processo 165771/2017-8) e a CAPES (Edital PrInt 2019) – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo financiamento do doutorado sanduíche na *UEA*. Espero que todos tenham ciência da importância que essas agências expressam e que voltemos a ter retorno dos investimentos da forma que a Ciência Brasileira realmente merece!

Agradeço aos funcionários que contribuíram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho e a todos os colegas do grupo, especialmente ao Witor e Glaucio, ao grupo LITEC e aos alunos do bloco 13 por tantas trocas de informação, também agradeço a Jéssica que me deu uma ajuda bem aos 45 minutos do segundo tempo. Aos meus amigos da *UEA*, que fizeram eu me sentir em casa (e com muita vontade de voltar!): Ana Alvarez, Philip Schuler e Essra Yousseff. Agradeço também ao amigo desde a iniciação científica: Gustavo Tripodi.

Com muito carinho, agradeço ao meu “melhor IC”, que nos deixou em 2019... Tainã Garcia, sentimos muito a sua falta!

Não tem como não agradecer ao meu primo Marcos, que me incentivou e esteve comigo virtualmente durante toda a caminhada na terra da rainha; e também a minha prima Andréia pelo apoio.

Em especial dedico à minha família... Vocês são essenciais na minha vida e nada seria possível sem o apoio de vocês... obrigada por fazerem parte desta difícil e longa caminhada!

## SUMÁRIO

RESUMO .....	10
ABSTRACT .....	11
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS .....	12
LISTA DE FIGURAS .....	14
LISTA DE TABELAS .....	15
LISTA DE ESQUEMAS .....	16
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS .....	18
1.1. Doenças Negligenciadas .....	18
1.2. Doença de Chagas .....	19
1.3. Epigenética .....	20
1.3.1. Sirtuína 2 - Sir2 .....	21
1.4. Planejamento Racional de Fármacos .....	24
1.4.1. Modificação Molecular .....	26
1.5. Química Verde .....	26
1.5.1. Microrreator de Fluxo Contínuo .....	26
2. OBJETIVOS .....	31
2.1. Objetivos gerais .....	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
3.1. Planejamento por <i>LBDD</i> .....	33
3.2. Síntese dos compostos orgânicos .....	34
3.2.1. Síntese dos análogos do sirtinol .....	34
3.2.2. Síntese de pequenas moléculas .....	43
3.2.3. Síntese dos análogos da salermida .....	48
3.3. Ensaio biológico .....	62
4. EXPERIMENTAL .....	66
4.1. Estratégia de Planejamento – <i>LBDD</i> .....	66



4.2. Material.....	66
4.3. Métodos .....	69
4.3.1. Procedimento Geral A – Síntese do sirtinol e análogos em fluxo contínuo .....	69
4.3.2. Procedimento Geral B – Síntese de pequenas moléculas .....	69
4.3.3. Procedimento Geral C – Síntese da salermida e análogos.....	70
4.3.4. Procedimento Geral D – Síntese do sirtinol <i>one-pot</i> .....	70
4.4. Ensaio biológico.....	70
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	74
ANEXOS.....	76
Anexo 1. Inibidores conhecidos de sirtuína 2. ....	76
Anexo 3. Ficha do Aluno.....	108
Anexo 4. Currículo Lattes .....	110

## RESUMO

PEREIRA, EVELIN FORNARI. **Planejamento, síntese e avaliação biológica de candidatos a fármacos: busca de inibidores epigenéticos da Sirtuína 2 – Sir2**. 113f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2022.

As doenças negligenciadas são causadas por agentes infecciosos e parasitários, como vírus, bactérias, protozoários e helmintos. Essas doenças são prevalentes em populações de baixa renda que vivem em países em desenvolvimento e são responsáveis por incapacitar e levar milhares de pessoas à morte. Este nome se dá pois, apesar de sua grande relevância médica, recebem pouca atenção dos governos e indústrias farmacêuticas. Dentre essas doenças podemos destacar a Doença de Chagas, doença infecciosa causada pelo parasita hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Endêmica em 21 países, com 6 a 7 milhões de pessoas infectadas resultando em 7500 mortes por ano. A quimioterapia disponível contra essa parasitose é baseada em apenas dois medicamentos, o benznidazol e o nifurtimox, ativos principalmente na fase aguda da doença e com efeitos adversos graves que comprometem a adesão ao tratamento e, além disso, apesar dos enormes esforços na pesquisa de novos agentes antichagásicos em nível nacional e internacional, na maioria realizada academicamente, ainda não foram encontradas alternativas terapêuticas para a doença, persistindo, assim, a necessidade de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos. O início de um planejamento de um novo fármaco se dá pela definição de um alvo bioquímico a ser utilizado na busca de moléculas que possam exercer a função de inibidores ou moduladores, conforme a atividade biológica desejada. Neste sentido, as sirtuínas 2 (Sir2) são enzimas que se mostraram essenciais para o crescimento *in vitro* do *T. cruzi* em suas formas amastigota e epimastigota. No caso de tripanosomatídeos, em geral, a superexpressão de Sir2 está relacionada à sobrevivência de formas amastigotas. Assim, essas evidências indicam que a Sir2 de tripanosomatídeos tem grande potencial como alvo biológico na busca e desenvolvimento de novos fármacos antichagásicos. O objetivo principal deste projeto foi identificar moléculas que apresentaram atividade inibitória para a sirtuína 2 de *T. cruzi* por meio da utilização da estratégia de Planejamento de Fármacos Baseada no Ligante - *Ligand Based Drug Design (LBDD)* e o desenvolvimento de análogos dos inibidores da Sir2. A modificação molecular está entre algumas das técnicas tradicionais usadas no desenvolvimento racional de um fármaco, e é usada principalmente no desenvolvimento de análogos, e busca melhorar as propriedades farmacocinéticas e/ou farmacodinâmicas de um protótipo, obter propriedades de interação semelhantes ao alvo e, em alguns casos, revelar uma atividade biológica. Com este intuito, análogos do sirtinol e da salermida foram sintetizados e uma nova rota sintética utilizando o microrreator em fluxo contínuo foi desenvolvida e apresentou rendimento superior quando comparado à síntese em bancada. A partir desta metodologia foram obtidos 20 compostos. Os ensaios *in vitro* contra formas amastigotas do *T. cruzi* indicaram que 8 compostos inibiram a atividade parasitária em mais de 50%, na dose de 10  $\mu$ M, sendo que alguns destes apresentaram maior inibição parasitária quando comparados ao benznidazol, o fármaco de referência e único disponível no Brasil. Com estes resultados preliminares, novos ensaios estão sendo realizados para identificar potência e mecanismo de ação destes candidatos a agentes tripanomicidas.

**Palavras-Chave:** Planejamento de Fármacos, LBDD, Doença de Chagas, Sirtuína 2, Síntese.

## ABSTRACT

PEREIRA, EVELIN FORNARI. **Design, synthesis and biological evaluation of drug candidates: search for Sirtuin 2 (Sir 2) epigenetic inhibitors.** 113p. Thesis (PhD degree). Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo. São Paulo, 2022.

Neglected diseases are caused by infectious and parasitic agents such as viruses, bacteria, protozoa and helminths. These diseases are prevalent in low-income populations living in developing countries and are responsible for disabling and killing thousands of people. They get this name because, despite their great medical relevance, they end up receiving little attention from governments and pharmaceutical industries. Among these diseases, we can highlight Chagas disease, an infectious endemic disease caused by the hemoflagellate parasite *Trypanosoma cruzi*. This disease is endemic in 21 countries, with 6 to 7 million people infected resulting in 7,500 deaths per year.

Chemotherapy is based on just two drugs, benznidazole and nifurtimox, which are mainly active in the acute phase of the disease. These drugs have adverse effects that compromise adherence, even more, considering that they are not effective from the point of view of the chronic phase of the disease. Despite the enormous efforts in researching new anti-chagasic agents at the national and international level, and mostly carried out academically, therapeutic alternatives for the disease have not yet been found, thus, the need for the discovery and development of new drugs persists.

Sirtuins 2 (Sir2) are enzymes that have been shown to be essential for the *in vitro* growth of *T. cruzi* in its amastigote and epimastigote forms. In the case of trypanosomatids in general, Sir2 overexpression is related to the survival of amastigote forms. Sir2 inhibitors, such as sirtinol, have shown efficacy in leishmanicides. Thus, these evidences indicate that Sir2 from trypanosomatids can be considered as a biological target in the search and development of new anti-chagasic drugs. The beginning of a new drug planning study is the definition of a biochemical target to be used in the search for molecules that can play the role of inhibitors or modulators, according to the desired biological activity. The main objective of this project was to identify molecules that presented inhibitory activity to sirtuin 2 of *T. cruzi* using the Ligand Based Drug Design (LBDD) strategy of planning and the development of analogues of Sir2 inhibitors. Molecular modification is a traditional technique used in the rational development of a drug, as well as the use of natural products, combinatorial chemistry, high-throughput screening (HTS), among others. Mainly used in the development of analogues, molecular modification is applied for different purposes, among them, it seeks to improve the pharmacokinetic and/or pharmacodynamic properties of a prototype, obtain target-like interaction properties and, in some cases, reveal an activity biological. For this purpose, analogues of sirtinol and salermide were synthesized and a new synthetic route using the microreactor in continuous flow was developed and presented superior yield when compared to benchtop synthesis. From this methodology, 20 compounds were obtained. *In vitro* assays against amastigote forms of *T. cruzi* indicated that 8 compounds inhibited parasitic activity by more than 50% at a dose of 10  $\mu$ M, and some of these showed greater parasitic inhibition when compared to benznidazole, the reference drug, and only available in Brazil. With these preliminary results, new assays are being carried out to identify the potency and mechanism of action of these candidate trypanocidal agents.

**Keywords:** Drug Design, LBDD, Chagas Disease, Sirtuin 2, Synthesis.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
BOP	Benzotriazol-1-iloxitris (dimetilamino)fosfônio hexafluorofosfato
CADD	<i>Computer assisted drug design</i>
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio deuterado
δ	Deslocamento químico
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo dupleto
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Sulfóxido de dimetila
DMSO-d <sub>6</sub>	Sulfóxido de dimetila deuterado
DNDi	<i>Drugs for Neglected Diseases initiative</i>
EC <sub>50</sub>	Concentração em que ocorre a metade do efeito biológico máximo
ET <sub>3</sub> N	Trietilamina
EtOH	Etanol
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
h	horas
HRMS	Espectrometria de massa de alta resolução
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
Hz	Hertz
IC <sub>50</sub>	<i>Inhibitory concentration</i> : concentração em que promove 50% de inibição
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LBDD	<i>Ligand-based drug design</i>
μ	milionésima parte de uma medida
<i>m</i>	Multiplete
m/z	Razão da massa sobre a carga
min	minutos
MgSO <sub>4</sub>	Sulfato de magnésio
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NH <sub>4</sub> Cl	Cloreto de amônio
nm	Nanômetro

PF	Ponto de fusão
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
Py-BOP	Benzotriazol-1-iloxitripirrolidino-fosfônio hexafluorofosfato
R	Grupamento orgânico
R <sub>f</sub>	<i>Retention factor</i> – fator de retenção
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono
s	Simpleto
SBDD	<i>Structure-based drug design</i>
Sir2	Sirtuína 2
TcSir2rp1	Proteína 1 relacionada à sirtuína 2 de <i>Trypanosoma cruzi</i> (citoplasmática)
TcSir2rp3	Proteína 3 relacionada à sirtuína 2 de <i>Trypanosoma cruzi</i> (mitocondrial)
TMS	Tetrametilsilano
t.a.	Temperatura ambiente
τ	Tempo de residência
WHO	<i>World Health Organization</i>

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Estruturas dos antichagásicos disponíveis.</i>	20
<i>Figura 2. Visão geral da deacetilação de lisina catalisado por sirtuína 2.</i>	23
<i>Figura 3. Estrutura química dos inibidores de sirtuína 2 humanas e parasitárias.</i>	24
<i>Figura 4. Microrreator de fluxo contínuo (Asia).</i>	27
<i>Figura 5. Mistura de fluxo laminar.</i>	28
<i>Figura 6. Exemplos de inibidores conhecidos da sirtuína 2.</i>	33
<i>Figura 7. Porção farmacofórica em destaque na molécula de salermida.</i>	34
<i>Figura 8. Série de compostos obtidos pela metodologia descrita por Ebrahimi et al.</i>	36
<i>Figura 9. RMN <sup>1</sup>H do intermediário 5.</i>	38
<i>Figura 10. RMN <sup>1</sup>H do sirtinol (4b).</i>	39
<i>Figura 11. RMN <sup>1</sup>H do sirtinol obtido em fluxo contínuo.</i>	41
<i>Figura 12. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto 5a.</i>	45
<i>Figura 13. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do composto 8c, análogo da salermida.</i>	52

## LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Otimização das condições de reação.</i>	36
<i>Tabela 2. Determinação das melhores condições em fluxo para a 1ª etapa de reação.</i>	40
<i>Tabela 3. Determinação das melhores condições em fluxo para a 2ª etapa de reação.</i>	41
<i>Tabela 4. Análogos obtidos pela reação em fluxo contínuo, indicando a amina primária utilizada, o produto obtido e seus rendimentos.</i>	42
<i>Tabela 5. Otimização das condições de reação para obtenção dos derivados de sirtinol simplificados.</i>	44
<i>Tabela 6. Exemplos obtidos a partir da variação das aminas e seus respectivos rendimentos.</i>	46
<i>Tabela 7. Determinação das melhores condições para a primeira etapa da reação.</i>	49
<i>Tabela 8. Determinação da relação estequiométrica.</i>	49
<i>Tabela 9. Determinação das melhores condições para a segunda etapa da reação.</i>	49
<i>Tabela 10. Análogos obtidos a partir da variação dos ácidos carboxílicos, seus intermediários e rendimentos.</i>	50
<i>Tabela 11. Atividade antiparasitária após 48 horas.</i>	63
<i>Tabela 12. Atividade antiparasitária após 96 horas.</i>	64

## LISTA DE ESQUEMAS

<i>Esquema 1. Proposta de síntese one-pot para a obtenção de um análogo do sirtinol.</i>	35
<i>Esquema 2. Reação em 2 etapas para a obtenção do sirtinol.</i>	37
<i>Esquema 3. Otimização da reação para a obtenção do sirtinol.</i>	38
<i>Esquema 4. Proposta de mecanismo da formação do sirtinol.</i>	39
<i>Esquema 5. Disposição inicial para a síntese em fluxo contínuo.</i>	40
<i>Esquema 6. Disposição final da reação em fluxo contínuo.</i>	42
<i>Esquema 7. Disposição final da reação em fluxo contínuo para as pequenas moléculas.</i>	45
<i>Esquema 8. Rota sintética para obtenção da salermida.</i>	48
<i>Esquema 9. Esquema geral para a síntese dos análogos da salermida.</i>	50



## *INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS*

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS

### 1.1. Doenças Negligenciadas

As doenças negligenciadas assim são denominadas devido à grande relevância médica que apresentam, somada à pouca atenção dada pelos governos e pela indústria farmacêutica. São prevalentes em populações de baixa renda que vivem em países em desenvolvimento e são responsáveis por incapacitar ou levar milhões de indivíduos à morte. A principal causa das doenças negligenciadas se dá por agentes infecciosos e parasitários como vírus, bactérias, protozoários e helmintos.<sup>1,2,3,4</sup> Por estarem relacionadas a infecções acometidas que afetam, em sua maioria, a população mais pobre e de países em desenvolvimento, a falta de retorno financeiro deixa menos atrativa a pesquisa por parte das indústrias farmacêuticas. Prova disso é que somente 1,3% dos fármacos introduzidos na terapêutica entre 1975 e 2004 foram direcionados a essas doenças.<sup>5</sup> Desta maneira, as doenças negligenciadas se apresentam como um sério problema de saúde pública, chegando a representar 11,4% das doenças mundiais.<sup>6</sup>

Dentre as doenças negligenciadas podemos citar as leishmanioses, filariose linfática, dengue, tuberculose e esquistossomose. Outras doenças são, ainda, consideradas doenças extremamente negligenciadas, sendo elas a doença do sono (tripanossomíase humana africana - THA), a leishmaniose visceral (LV) e a doença de Chagas (tripanossomíase americana). Estas doenças acometem mais de 500 milhões de pessoas e recebem menos de 5% dos investimentos mundiais em inovação pelas indústrias farmacêuticas.<sup>7</sup> Dentre as doenças extremamente negligenciadas, a doença de Chagas apresenta alta prevalência no Brasil e se tornou um problema de saúde pública mundial devido aos movimentos migratórios que ocorreram nas últimas décadas.<sup>8</sup>

---

<sup>1</sup> DNDi. [www.dndial.org/doencas/doenca-chagas](http://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas) [Acesso em 08 de fevereiro de 2021]

<sup>2</sup> Fidalgo, L. M.; Gille, L. *Pharm Res.* **2011**, *28*, 2758.

<sup>3</sup> Willyard, C. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 2.

<sup>4</sup> WHO. [www.who.int/chagas/en/](http://www.who.int/chagas/en/) [Acesso em 14 de fevereiro de 2022]

<sup>5</sup> Andricopulo, A. D.; Salum, L. B.; Abraham, D. J. *Curr. Top Med. Chem.* **2009**, *9*, 771.

<sup>6</sup> Chatelain, E.; Ioset, J. R. *Drug Des Devel Ter.* **2011**, *5*, 175.

<sup>7</sup> Fiocruz. <https://agencia.fiocruz.br/doencas-negligenciadas> [acesso em 23 de outubro de 2021]

<sup>8</sup> DNDi. <https://www.dndial.org/2020/comunicacao-e-informacao/primeiro-dia-mundial-de-chagas-pacientes-podem-visibilidade-e-fim-da-negligencia> [Acesso em 08 de fevereiro de 2022]

## 1.2. Doença de Chagas

Em 1909, o médico brasileiro Dr. Carlos Justiniano Ribeiro Chagas descobriu uma doença que acometia humanos, causada por um protozoário hemoflagelado, o qual denominou *Trypanosoma cruzi*, em homenagem ao seu companheiro de trabalho Oswaldo Cruz.<sup>9</sup>

Posteriormente, essa doença recebeu o nome de Doença de Chagas, em homenagem a seu descobridor.<sup>10</sup>

Endêmica em 21 países, estima-se que há entre 6 e 7 milhões de pessoas infectadas pelo parasita e que outros 70 milhões de indivíduos estejam sob risco de infecção. Segundo dados epidemiológicos, a doença apresenta 30.000 novos casos por ano, causando cerca de 14.000 mortes.<sup>1,4</sup>

A via de transmissão mais conhecida é a vetorial, a qual ocorre por meio das fezes dos insetos triatomíneos, sendo a espécie *Triatoma infestans* a mais comum, conhecidos popularmente como barbeiro. Outras vias de transmissão são menos frequentes, mas também são reportadas, tais como transfusão sanguínea e de órgãos, transmissão placentária, acidentes laboratoriais e alimentos contaminados.<sup>1</sup>

Os processos migratórios da população influenciaram o perfil epidemiológico da doença de Chagas, deslocando os casos restritamente rurais para zonas urbanizadas. A prevalência da doença rural estava relacionada à utilização de casas de taipa como moradia, o que propiciava o alojamento e a procriação dos insetos vetores. Com a chegada de pessoas infectadas às cidades, houve uma dispersão do número de infectados aumentando, também, o risco de transmissão pelas vias menos frequentes, como transfusão sanguínea e via alimentação. O processo de globalização e trânsito de indivíduos por todo o mundo levaram focos da doença para outros continentes.<sup>7</sup> Sendo assim, a doença de Chagas, que era considerada um problema da América Latina, hoje se encontra em países da América do Norte, Europa, Austrália e Japão, tornando-se um problema de saúde pública mundial.<sup>11</sup>

A quimioterapia disponível para a doença de Chagas baseia-se em apenas dois fármacos, que contêm grupos heterocíclicos em sua estrutura. Sendo eles o benznidazol e o nifurtimox (**Figura 1**), os quais foram introduzidos na terapêutica durante as décadas de 1960 – 1970 e atuam

---

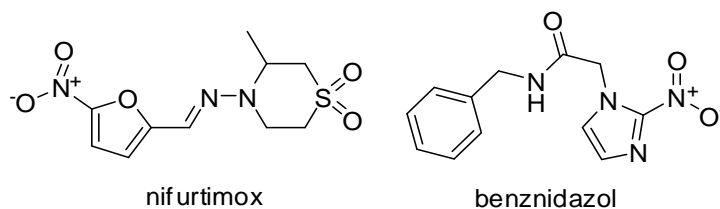
<sup>9</sup> Pasternak, A.; et al. *Bioorg. Med. Chem. Let.* **2009**, *19*, 6237.

<sup>10</sup> Urbina, J. A.; *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *49*, 1685.

<sup>11</sup> Ferreira, R. S.; et al. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* **2012**, *15*, 97.

majoritariamente na fase aguda da doença. Estes medicamentos apresentam alta toxicidade e efeitos adversos que comprometem sua utilização.<sup>7,8,12,13</sup>

Estes fármacos não são fabricados de maneira adequada para atender a população infectada; o benznidazol, por exemplo, teve sua fabricação descontinuada pela Roche (Rochagan® e Radanil®) em 2003 por não ser financeiramente vantajoso. Seu processo de produção foi transferido para o LAFEPE (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco) e teve seu princípio ativo doado pela Roche até 2011. Mas apesar disso, devido ao aumento do número de infectados, foi recentemente aprovado pelo FDA para o uso em crianças. Já o nifurtimox era comercializado pela Bayer (Lampit®) e teve sua fabricação interrompida no Brasil no final do século passado; este mesmo medicamento foi aprovado em 2020 pela FDA para uso em crianças nos Estados Unidos da América.<sup>14</sup> Apesar de apresentarem bons resultados na fase aguda da doença, menos de 1% dos infectados receberam tratamento.<sup>1,15</sup>



**Figura 1.** Estruturas dos antichagásicos disponíveis.

Apesar dos esforços na pesquisa de novos agentes antichagásicos em âmbito nacional e internacional, em sua maioria realizados academicamente, ainda não foram encontradas alternativas terapêuticas eficazes para o tratamento, persistindo, assim, a necessidade urgente de descoberta e desenvolvimento de novos quimioterápicos eficazes, seguros e que atuem na fase crônica.<sup>6,7,8,9</sup>

### 1.3. Epigenética

A epigenética é a ciência que busca compreender alterações reversíveis da expressão gênica, que resultam em alterações do fenótipo, ocasionadas por mecanismos que não modificam

<sup>12</sup> Buckner, F. S.; Waters, N. C.; Avery, V. M. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug. Resist.* **2012**, *2*, 230.

<sup>13</sup> Ferreira, R. S. et al. *Exp. Op. Drug Disc.* **2011**, *6*, 481.

<sup>14</sup> FDA drug approvals. **2020**, (nature.com) [Acesso em 04/04/2022]

<sup>15</sup> Fiocruz. <http://chagas.fiocruz.br/doenca/tratamento/> [Acesso em 15 de fevereiro de 2022]

a sequência genética.<sup>16,17,18</sup> Essas alterações ocorrem devido a modificações relevantes do genoma como metilação de DNA e modificação de histonas, porém, sem alterar a sequência de nucleotídeos. Ou seja, essas alterações funcionam como marcas que representam o resultado do código epigenético.<sup>19</sup>

Dentre as possíveis modificações epigenéticas, podemos citar a metilação do DNA e as modificações covalentes de histonas. Ambas regulam a expressão gênica em conjunto, sinalizando a ativação ou repressão da transcrição gênica.<sup>20,21</sup> Dentre as enzimas que estão relacionadas ao controle epigenético, podemos citar:

- DNA metiltransferases e histonas acetiltransferase, (que catalisam as modificações do DNA e histonas),
- Histona deacetilases e lisina desmetilase, (que removem as modificações de DNA e histonas) e domínios de proteínas que reconhecem e interagem com DNA e histonas modificadas.<sup>22</sup>

Do ponto de vista terapêutico, há duas diferenças importantes entre genética e epigenética. Em primeiro lugar, o genoma é estático (com exceção das mutações), enquanto o epigenoma é dinâmico. Em segundo lugar, uma modificação genética é permanente, enquanto alterações epigenéticas são reações reversíveis catalisadas por enzimas.<sup>23</sup> Assim, eles são suscetíveis à modulação por pequenas moléculas de inibidores.

### 1.3.1. Sirtuína 2 - Sir2

As sirtuínas são enzimas que regulam uma ampla variedade de processos celulares, incluindo metabolismo, homeostase mitocondrial, estresse oxidativo, inflamação, autofagia e apoptose. Esta classe de enzimas consiste em sete membros, da sirtuína 1 a sirtuína 7, e desempenham papéis importantes no envelhecimento e em doenças relacionadas ao envelhecimento, como obesidade, doenças cardiovasculares, câncer, doenças neurodegenerativas.<sup>24</sup> Dentro desta classe, as sirtuínas 2, chamadas reguladoras silenciadoras de informação 2 (*silent information regulator 2*, Sir2), são enzimas N-acetil-lisina deacetilases

---

<sup>16</sup> Bird, A. *Genes Dev.* **2002**, *16*, 6.

<sup>17</sup> Bird, A. et al. *Nature.* **2001**, *419*, 411.

<sup>18</sup> Bird, A. *Nat. Immunol.* **2003**, *4*, 208.

<sup>19</sup> Abhishek, S.; Palamadai, K. S. *Cell. J.* **2016**, *18*, 1.

<sup>20</sup> Cascobri, I.; Schwab, M. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2016**, *99*, 468.

<sup>21</sup> Elhamamsy, A. R. *Cell. Biochem. Funct.* **2016**, *34*, 289.

<sup>22</sup> Alsford, S. et al. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2005**, *144*, 142.

<sup>23</sup> Yoo, C. B.; Jones, P. A. *Nature.* **2006**, *5*, 37.

<sup>24</sup> Zhou, S.; Tang, X.; Chen, H. Z. *Front. Endocrinol.* **2018**, 00748.

dependentes de  $\text{NAD}^+$ , que estão presentes em várias espécies, desde bactérias até humanos, pertencem a classe III das lisinas deacetilases (*lisine deacetylases* – *KDACs*, também conhecidas como *histone deacetylases* - *HDACs*).<sup>25</sup> A atividade desta enzima está relacionada ao espalhamento da heterocromatina em regiões teloméricas como um importante mecanismo de silenciamento de genes de telômeros.<sup>26,27,28</sup>

A sirtuína 2 catalisa a clivagem da ligação glicosídica entre nicotinamida e ADP ribose, utilizando  $\text{NAD}^+$  como co-substrato.<sup>29</sup> Seu mecanismo acontece pela remoção catalítica promove do grupo acetil ligado ao nitrogênio  $\epsilon$  de lisinas (**Figura 2**).<sup>30,31</sup> Primeiro, a lisina acetilada se liga de forma não-covalente à Sir2 para que então o  $\text{NAD}^+$  possa entrar no sítio catalítico, formando o complexo ternário e a catálise então se iniciar.<sup>32,33</sup> Por  $\text{S}_\text{N}2$  (substituição nucleofílica bimolecular), ocorre o ataque nucleofílico dos elétrons não compartilhados da carbonila do grupo acetil no orbital antiligante da ligação sigma entre o ADP-ribose e a nicotinamida, ocorrendo a formação do O-alkilamidato e da nicotinamida. O par de elétrons da 2'-hidroxila reage e um segundo ataque nucleofílico (intramolecular) do carbono ligado ao nitrogênio da imina formando um segundo intermediário amino-acetal cíclico. Logo em seguida ocorre a hidrólise grupo acetal, liberando o intermediário formado, resultando nos produtos lisina desacetilada e 2'-O-acetil-ADP-ribose.<sup>34,35,36,37</sup>

---

<sup>25</sup> Vaquero, A.; Sternglanz, R.; Reinberg. *Oncogene*. **2007**, *26* (37), 5505–5520.

<sup>26</sup> Alsford, S. et al. *Mol. Microbiol.* **2007**, *63*, 724.

<sup>27</sup> Alsford, S. et al. *Genome Res.* **2011**, *21*, 915.

<sup>28</sup> Alsford, S. et al. *Nature*. **2012**, *482*, 232.

<sup>29</sup> Rodriguez, M.; Aquino, M.; Bruno, I.; De Martino, G.; Taddei, M.; Gomez-Paloma, L. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*(10):1119.

<sup>30</sup> Dai, H.; Sinclair, D. A.; Ellis, J. L.; Steegborn, C. *Pharmacol. Ther.* **2018**, *188*, 140.

<sup>31</sup> Weinert, B. T. *Sci. Signal.* **2011**, *4* (183), ra48.

<sup>32</sup> Borra, M. T.; Langer, M. R.; Slama, J. T.; Denu, J. M. *Biochemistry* **2004**, *43* (30), 9877.

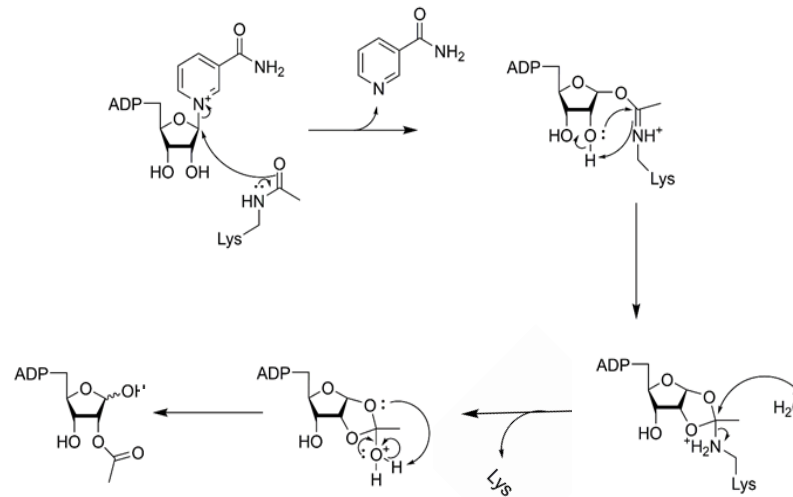
<sup>33</sup> Feldman, J. L. et al. *Biochemistry*. **2015**, *54* (19), 3037.

<sup>34</sup> Rumpf, T. et al. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6263.

<sup>35</sup> Hoff, K. G.; Avalos, J. L.; Sens, K.; Wolberger, C. *Structure*. **2006**, *14* (8), 1231.

<sup>36</sup> Zhou, Z.; Ma, T.; Zhu, Q.; Xu, Y.; Zha, X. *Future Med. Chem.* **2018**, *10* (8), 907.

<sup>37</sup> Feldman, J. L.; Dittenhafer-Reed, K. E.; Denu, J. M. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287* (51), 42419.



**Figura 2.** Visão geral da deacetilação de lisina catalisado por sirtuína 2.

As sirtuínas 2 são essenciais para o crescimento *in vitro* do *T. cruzi* em suas formas amastigotas e epimastigotas.<sup>38,39</sup> Este parasita expressa duas enzimas: uma citoplasmática (TcSir2rp1) e outra mitocondrial (TcSir2rp3).<sup>40</sup> Para *P. falciparum* e *T. brucei*, as sirtuínas estão envolvidas em diversos processos biológicos como invasão do hospedeiro e sobrevivência ao sistema imune. Em humanos, as sirtuínas estão relacionadas a diversas doenças associadas ao envelhecimento, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, câncer e doença de Alzheimer.<sup>34</sup>

Alguns inibidores conhecidos possuem atividade antitumoral em testes *in vitro*, tais como nicotinamida, esplitomicina, sirtinol, cambinol, dihidrocoumarina, alguns indóis e salermida (**figura 3**).<sup>41,42</sup>

No caso de parasitas como os tripanossomatídeos em geral, sua superexpressão está relacionada à sobrevivência de amastigotas.<sup>43,44,45</sup> Quanto aos inibidores conhecidos, se destacam os inibidores NAD<sup>+</sup> dependentes, considerados inibidores por atuarem no sítio de ligação da nicotinamida.<sup>46</sup> Inibidores de Sir2 mostraram eficácia como leishmanicidas,<sup>47</sup> e

<sup>38</sup> Sacconay, L. et al. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2014**, *8*, 2689.

<sup>39</sup> Sacconay, L. et al. *Eur J Pharm Sci.* **2016**, *85*, 59.

<sup>40</sup> Ritagliati, C.; Alonso, V. L.; Manarin, R.; Cribb, P.; Serra, E. C. *PLoS Negl Trop Dis.* **2015**, *9* (4), e0003725.

<sup>41</sup> Moretti, N. S.; da Silva Augusto, L.; Clemente, T. M.; Antunes, R. P.; Yoshida, N.; Torrecilhas, A. C.; Cano, M. I.; Schenkman, S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, *59*, 4669–4679.

<sup>42</sup> Rotili, D.; et al. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*(24), 10937-10947.

<sup>43</sup> Vergnes, B. et al. *Mol. Cell. Proteomics.* **2007**, *6*, 88.

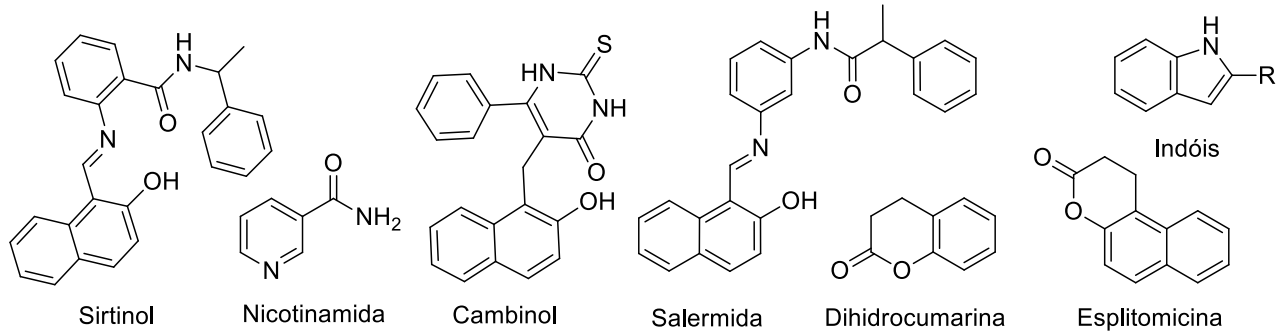
<sup>44</sup> Vergnes, B. et al. *Gene.* **2005**, *363*, 85.

<sup>45</sup> Vergnes, B. et al. *Acta Trop.* **2005**, *94*, 107.

<sup>46</sup> Mai, A.; Massa, S.; Lavu, S.; et al. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*(24), 7789-7795.

<sup>47</sup> Coppel, R.L.; Black, C.G. *Int. J. Parasitol.* **2005**, *35*, 465.

tripanossomicidas. Dentre estes, destacam-se o sirtinol,<sup>46,48</sup> o cambinol<sup>49,50,51</sup> e a salermida, que são pequenas moléculas e apresentam potência em concentrações de micromolar. Dessa forma, essas evidências indicam que as Sir2 de tripanossomatídeos pode ser considerada como alvos biológicos na busca e desenvolvimento de novos fármacos antichagásicos.<sup>52,53,54</sup>



**Figura 3.** Estrutura química dos inibidores de sirtuína 2 humanas e parasitárias.

Em 2015, Moretti e colaboradores<sup>41</sup> caracterizam as sirtuínas de *T. cruzi* como possíveis alvos moleculares na busca de fármacos para doenças de Chagas. Para isso, a salermida, que é um conhecido inibidor de sirtuínas humanas, foi testada contra formas parasitárias do *T. cruzi* apresentando EC<sub>50</sub> no valor de 10.6 µM para inibição do crescimento do parasita.

#### 1.4. Planejamento Racional de Fármacos

O início de um estudo para o planejamento de um novo fármaco consiste na definição de um alvo bioquímico a ser utilizado na busca de moléculas que possam exercer função de inibidores ou moduladores, dependendo da atividade biológica desejada. Já a seleção destas moléculas pode ser realizada utilizando técnicas modernas de química medicinal, as quais utilizam computadores de alto desempenho, de *softwares* e também de ensaios bioquímicos complexos e extremamente específicos.<sup>55,56,57</sup>

<sup>48</sup> Mai, A.; Massa, S.; Pezzi, R.; et al. *Med. Chem.* **2005**, *1*, 245-254.

<sup>49</sup> Heltweg, B. et al. *Cancer Res.* **2006**, *66*, 4368.

<sup>50</sup> Bedalov, A. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2001**, *98*, 15113.

<sup>51</sup> Gatbonton, T. et al. *PLoS Genet.* **2006**, *2*, 35.

<sup>52</sup> Gazanion, E. et al. *Int. J. Parasitol.* **2012**, *42*, 323.

<sup>53</sup> Adriano, M. A. et al. *Parasitol. Res.* **2007**, *100*, 811.

<sup>54</sup> Tavares, J. et al. *Biochem. J.* **2008**, *415*, 377.

<sup>55</sup> Ferreira, L. G.; Andricopulo, A. D. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2015**, *18*, 464.

<sup>56</sup> Andricopulo, A. D. et al. *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, *9*, 771.

<sup>57</sup> Ferreira, L. G.; De Oliveira, M. T.; Andricopulo, A. D. *Curr. Top. Med. Chem.* **2016**, *16*, 2990.



O planejamento racional de fármacos consiste num processo dinâmico e integrado de métodos experimental e, além de abranger as múltiplas áreas do conhecimento, como biologia, genética, farmacologia, química, física, bioquímica, química computacional, entre outras.<sup>58, 59, 60</sup>

Dentre as estratégias existentes no planejamento de fármacos, as abordagens mais utilizadas são *SBDD* (do inglês, *structure based drug design*) e *LBDD* (do inglês, *ligand based drug design*). A estratégia de *SBDD* baseia-se no planejamento realizado pelo conhecimento estrutural do alvo bioquímico. Esse conhecimento pode se dar por modelagem por homologia, comparativa ou por técnicas experimentais, como ressonância magnética de proteínas, cristalografia e criomicroscopia eletrônica,<sup>61</sup> e então a triagem e / ou a síntese do composto visando à complementaridade a esse alvo.<sup>62, 63, 64</sup> O *LBDD* utiliza como base para o planejamento uma molécula promissora ou a estrutura química de uma série de moléculas com a atividade biológica já conhecida. Por meio de técnicas de modificação molecular como simplificação molecular, bioisosterismo, hibridação molecular, fechamento do anel ou outros métodos, propõem-se novas estruturas com propriedade estéricas e eletrônicas similares a serem sintetizadas e ensaiadas, buscando otimizar as propriedades biológicas. Ambas as estratégias podem ser assistidas por métodos computacionais de desenvolvimento de fármaco (*CADD*, do inglês, *computer assisted drug design*). A *CADD* é uma estratégia amplamente aplicada na atualidade e se utiliza de algoritmos e dados estatísticos para obtenção de modelos teóricos, os quais embasam as estratégias do planejamento.<sup>65, 66</sup> O processo de descoberta de uma nova entidade química (*NCE*, do inglês, *New Chemical Entity*) busca integrar diferentes abordagens com o objetivo de otimizar um *lead* ou aprimorar um ligante (*hit*) e se tornar um composto-líder (*lead*), sendo a expressão *hit-to-lead* bastante utilizada para representar a otimização de moléculas.<sup>67</sup>

---

<sup>58</sup> Khan, F. et al. *Lett. Drug Des. Discov.* **2011**, 8, 469.

<sup>59</sup> Guido, R. V. C.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2011**, 14, 830.

<sup>60</sup> Davis, A. M.; Teague, S. J.; Kleywegt, G. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 23, 2718.

<sup>61</sup> Leow, J.W.H.; Chan, E.C.Y. *Biochem. Pharmacol.* **2019**, 169, 113615.

<sup>62</sup> Patrick, G. L. *Int. Med. Chem. Oxford University Press.* **2009**, 17, 332.

<sup>63</sup> Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. *Quím. Med.: as bases moleculares da terapêutica.* **2009**, 271.

<sup>64</sup> Sams-Dodd, F. *Drug Discov. Today.* **2007**, 12, 314.

<sup>65</sup> Moitessier, N. et al. *Br. J. Pharmacol.* **2008**, 153, 7.

<sup>66</sup> Tang, Y. et al. *Drug Discov. Today Technol.* **2006**, 3, 307.

<sup>67</sup> Guido, R. V. C.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2011**, 14, 830.

### 1.4.1. Modificação Molecular

A modificação molecular está entre as técnicas tradicionais empregadas no desenvolvimento racional de um fármaco. É utilizada, principalmente, no desenvolvimento de análogos, tal técnica se aplica com diferentes objetivos, como na busca de melhorar propriedades farmacocinéticas e/ou farmacodinâmicas de um protótipo, obter propriedades similares de interação com o alvo e, em alguns casos, revelar uma atividade inesperada em outro alvo. Tais objetivos podem ser alcançados por meio de processos laboratoriais sintéticos como: substituição de elementos ou pequenos grupos estruturais, troca de fragmentos da molécula, substituição do esqueleto original do análogo, introdução e retirada de grupos químicos, fechamento e abertura de anéis, entre outros. Como consequência, tem-se a participação determinante na atividade biológica, podendo assim auxiliar na interação com o receptor.<sup>68</sup>

## 1.5. Química Verde

As questões ambientais têm se tornado cada vez mais discutidas e, a partir dos anos 90, surgiu uma nova tendência na maneira em que os resíduos químicos devem ser tratados, visando a busca de alternativas que evitem ou minimizem sua geração. Esse processo evita assim, o tratamento do descarte no fim da linha de produção, reduzindo o impacto da atividade química ao ambiente, que é chamado de "*green chemistry*", ou química verde, química limpa, química ambientalmente benigna, e química autossustentável.<sup>69</sup> Essa técnica é definida como o projeto, planejamento e implementação de produtos químicos e processos com a finalidade de reduzir ou eliminar o uso ou a geração de substâncias nocivas à saúde e ao meio.<sup>70</sup> O conceito de tecnologia limpa é relativamente comum em aplicações industriais, especialmente em países mais desenvolvidos com controle rigoroso na emissão de poluentes e vem, gradativamente, sendo incorporado ao meio acadêmico, no ensino e na pesquisa.<sup>71</sup>

### 1.5.1. Microrreator de Fluxo Contínuo

Baseado na intensificação de processos, os microrreatores - que são aparelhos que podem ser descritos como reatores com estruturas tridimensionais e dimensões internas variando entre

---

<sup>68</sup> Wermuth, C. G. *The Practice of Med. Chem.* **2008**, 6, 125.

<sup>69</sup> Tundo, P.; Anastas, P.; Black, D.S.; Breen, J.; Collins, T.; Memoli, S.; Miyamoto, J.; Polyakoff, M.; Tumas, W. *Pure Appl. Chem.* **2000**, 72, 1207.

<sup>70</sup> Anastas, P. T.; Warner, J. C. *Green Chemistry: Theory and Practice.* Oxford University Press. **1998**, 30.

<sup>71</sup> Lenardão, E. J.; Freitag, R. A.; Dabdoub, M. J.; Batista A. C. F.; Silveira, C. *Quím. Nova.* **2003**, 26, 1.

dez e cem micrômetros<sup>72</sup> - podem ser utilizados como uma alternativa para obter o resultado máximo com menor investimento,<sup>73</sup> uma vez que possibilitam sintetizar produtos químicos como nos reatores convencionais, mas em menores quantidades. Ademais, ainda permitem explorar a operação em novas condições de processo (“*New Process Windows*”), como altas temperaturas e elevadas pressões, visando o aumento de rendimento das reações.<sup>74, 75</sup>

A tecnologia da química de fluxo contínuo é baseada em microrreatores que utilizam *chip* como uma opção para a síntese de moléculas pequenas,<sup>76</sup> permitindo de uma forma mais rápida e segura a produção de bibliotecas de compostos com potencial farmacológico. Para a pesquisa e desenvolvimento de novas moléculas, onde pequenas quantidades são utilizadas, esta tecnologia é eficaz; e para a produção industrial, o *scale-up* ocorre de uma forma mais segura e pode ser feito através da paralelização.<sup>77, 79, 80</sup> A **figura 4** mostra a imagem de um microrreator de fluxo contínuo:



**Figura 4.** Microrreator de fluxo contínuo (Asia). Fonte: Syrris

---

<sup>72</sup> Jänisch, V. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 406.

<sup>73</sup> Teuschel, U. *Rev. Mol. Biotechnol.* **2001**, *82*, 87.

<sup>74</sup> McQuade, D.T.; Seeberger, P.H. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 6384.

<sup>75</sup> Webb, D.; Jamison, T.F. *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 675.

<sup>76</sup> Herath, A.; Cosford, N. D. P. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5182.

<sup>77</sup> Dallinger, D.; Guttman, B.; Kappe, O. *Acc. Chem. Res.* **2020**, *53*, 7, 1330.

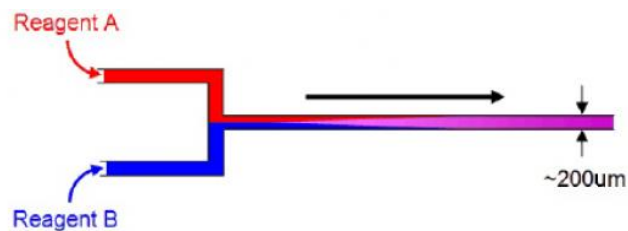
<sup>78</sup> Wiles, C.; Watts, P.; *Chem. Today.* **2010**, *28*, 3.

<sup>79</sup> Zaborenko, N.; Bedore, M. W.; Jamison, T. F.; Jensen, K. F.; *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 131.

<sup>80</sup> Shirazi, A. G.; Rolando, C. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8059.

Este aparelho possui algumas características específicas, tais como:

- Volume: Com maior controle dos parâmetros do processo (pressão, temperatura, tempo de residência e taxa de fluxo), reações que ocorrem em pequenos volumes.<sup>81</sup>
- Área de superfície: Apresentam maior área, calcula-se que possuem proporções de superfície interna muito altas (5000 - 50000 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>), enquanto os reatores tradicionais têm apenas uma área de superfície de aproximadamente 100 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>.
- Tempo de mistura: Em misturadores otimizados, os tempos típicos para misturas líquidas são inferiores a 1 segundo, sendo mais rápido que a maioria dos agitadores convencionais, que têm tempos de um segundo a alguns minutos.
- Fluxo laminar (**Figura 5**): Possuem o grande diferencial da mistura ocorrer por difusão; em muitos micromisturadores, o fluxo do reagente é dividido em diversos segmentos de laminação para aumentar a área de contato e reduzir os comprimentos de difusão; assim, a influência do transporte de massa na velocidade de uma reação pode ser consideravelmente reduzida. Na maioria dos casos, os microrreatores apresentam fluxo laminar e assim a mistura de volta é suprimida, o que ajuda a evitar reações secundárias.



**Figura 5.** Mistura de fluxo laminar. Fonte: Syrris

A síntese em fluxo contínuo tem chamado a atenção da indústria farmacêutica nos últimos anos e pode auxiliar no desenvolvimento de novos fármacos.<sup>82,83</sup> Sabendo-se que a indústria químico-farmacêutica tem características bem específicas, como reações em múltiplas etapas, reagentes e produtos perigosos ou muito tóxicos, além de reações com baixo rendimento e prazo

<sup>81</sup> Jensen, K. F.; *Chem. Eng. Sci.* **2001**, 56, 293

<sup>82</sup> Sacher, S. et al. *Chem. Eng. Res. Des.* **2022**, 177, 493.

<sup>83</sup> May, S. A. *J. Flow Chem.* **2017**, 7, 137.

de patente para gerar retorno dos investimentos, torna-se necessária a redução do tempo entre a síntese da molécula com atividade farmacológica à sua produção industrial.<sup>84, 85, 86, 87</sup>

---

<sup>84</sup> Gernaey, K.V.; Padrell, A.E.C.; Woodley, J.M. *Future Med. Chem.* **2012**, *4*, 1371.

<sup>85</sup> Wiles, C.; Watts, P.; *Green Chem.* **2014**, *16*, 55.

<sup>86</sup> De Souza, R.O.M.A.; Miranda, L.S.M. *Rev. Virtual Quím.* **2014**, *6*, 34.

<sup>87</sup> Wiles, C.; Watts, P.; *Green Chem.* **2012**, *14*, 38.

*OBJETIVOS*

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivos gerais

O objetivo principal desta tese foi identificar moléculas que apresentaram atividade inibitória para a sirtuína 2 de *T. cruzi* por meio da utilização da estratégia de Planejamento de Fármacos Baseada no Ligante - *Ligand Based Drug Design* (LBDD) na busca de agentes antichagásicos.

### 2.2. Objetivos específicos

- Planejamento molecular;
- Síntese, caracterização e purificação dos compostos obtidos;
- Ensaio de atividade biológica *in vitro* contra o parasita *T. cruzi*.

## *RESULTADOS E DISCUSSÃO*

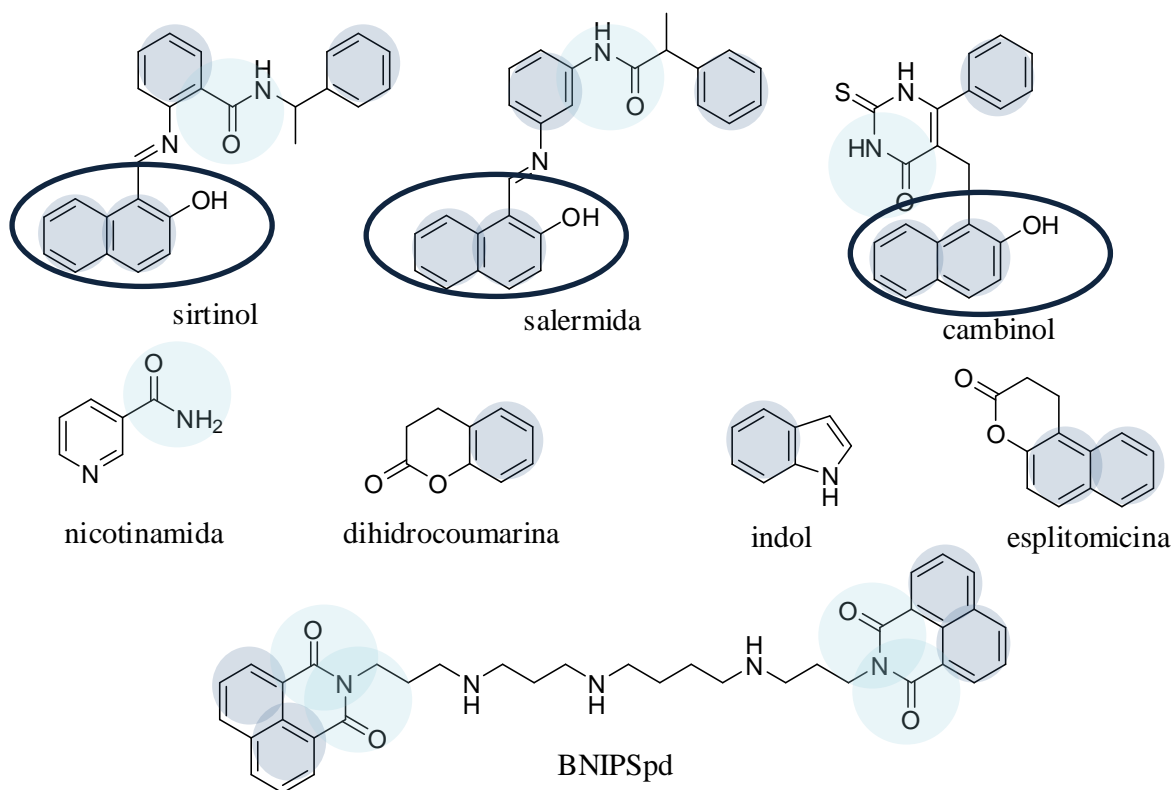


### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Planejamento por LBDD

Uma forma utilizada para o planejamento racional de fármacos quando não se conhece a estrutura do alvo bioquímico, mas estão disponíveis dados referentes a compostos com atividade biológica determinada é estratégia de *Ligand Based Drug Design (LBDD)*. Essa técnica tem grande aplicação em Química Medicinal, sendo que já foi utilizada no desenvolvimento de diversos fármacos, entre eles delafloxacina, acalabrutinib, betrixaban e semaglutide.<sup>88</sup>

Para este projeto, iniciou-se uma revisão na literatura e a coleta de dados das moléculas que apresentam atividade biológica conhecida como inibidores de Sir2, visto a estrutura tridimensional da enzima de *T. cruzi* ainda não ter sido obtida experimentalmente. De todos os compostos analisados, alguns se destacaram por compartilhar os mesmos grupos comuns. A **figura 6** ilustra alguns destes compostos.<sup>89</sup>



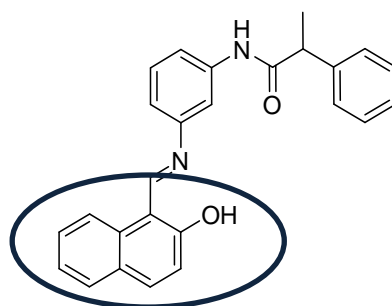
**Figura 6.** Exemplos de inibidores conhecidos da sirtuína 2. Em destaque: Anéis de benzeno, grupo amida e hidroxifenila foram destacados em azul escuro, azul claro e elipse, respectivamente.

<sup>88</sup> Lima, E. J. C.; Gomes, R. A.; Fornari, E.; Emery, F. S.; Trossini, G. H. G. *Mini Rev Med Chem.* **2021**, *21*, 1-22.

<sup>89</sup> Gomes, R. A.; Fornari, E.; Rocha, A. C. S.; Tripodi, G. L.; Emery, F. S.; Trossini, G. H. G. *Fut Med Chem.* **2021**, *13*(16):1397-1409.

Em um trabalho publicado em 2015, Moretti e colaboradores<sup>41</sup> destacaram alguns compostos com atividade inibitória para a Sir 2, como por exemplo a salermida que apresentou atividade inibitória para a enzima do *Trypanosoma cruzi*. Em outros trabalhos, o sirtinol apresentou atividade inibitória para a Sir2 do *Plasmodium falciparum*,<sup>90,91</sup> *Leishmania infantum*<sup>92</sup> e *Leishmania donovani*.<sup>93</sup>

Como dito anteriormente, algumas moléculas já foram identificadas como inibidores da Sir2. Um exemplo é a salermida, inibidor da Sir2 humana<sup>94</sup> que é conhecida por impedir o crescimento de células de alguns tipos de câncer.<sup>95,94</sup> No trabalho de Rotili e colaboradores,<sup>96</sup> observou-se atividade biológica relacionada a uma porção específica da molécula (**figura 7**); algumas substituições foram feitas, mas somente os compostos que mantiveram a 2-hidroxifenila tiveram atividade biológica. Após o levantamento das referências bibliográficas (Anexo 1), planejou-se do sirtinol e da salermida, mantendo a porção da 2-hidroxifenila, com a finalidade de obter inibidores da Sir 2 do parasita de *T. cruzi*.



**Figura 7.** Porção farmacofórica em destaque na molécula de salermida.

## 3.2. Síntese dos compostos orgânicos

### 3.2.1. Síntese dos análogos do sirtinol

Visando a busca de condições ideais para a síntese de análogos do sirtinol, um *screening* de condições reacionais foi realizado. As condições foram baseadas na reação descrita por

<sup>90</sup> Chakrabarty, S. P.; Saikumari, Y. K.; Bopanna, M. P.; Balaram, H. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2008**, *158*, 139–151.

<sup>91</sup> Merrick, C. J.; Duraisingh, M. T. *Eukaryotic Cell.* **2007**, *6*, 2081–2091.

<sup>92</sup> Tavares J, Ouaiissi A, Kong Thoo Lin P, Loureiro I, Kaur S, Roy N, Cordeiro-da-Silva A. *ChemMedChem.* **2010**, *5*, 140 – 147.

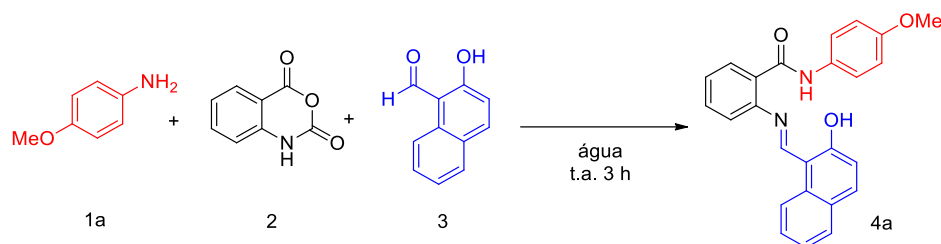
<sup>93</sup> Mittal N, Muthuswami R, Madhubala R. *PLoS Negl Trop Dis.* **2017**, *11*(5): e0005590

<sup>94</sup> Lara, E.; Mai, A.; Calvanese, V.; et al. *Oncogene*, **2009**, *28*, 781–791.

<sup>95</sup> Mai, A.; Massa, S.; Lavu, S.; et al. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*(24), 7789-7795.

<sup>96</sup> Rotili, D.; et al, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*(24), 10937-10947.

Ebrahimi e colaboradores<sup>97</sup>, porém a *p*-anisidina foi utilizada como amina primária. O **esquema 1** ilustra a proposta *one-pot* para a obtenção de um análogo do sirtinol.



**Esquema 1.** Proposta de síntese *one-pot* para a obtenção de um análogo do sirtinol.

O primeiro experimento foi realizado nas condições descritas por Ebrahimi e colaboradores e acompanhada por cromatografia por camada delgada (CCD), do inglês *TLC – thin layer chromatography*, que consiste em utilizar uma placa de sílica gel para separar os compostos por polaridade, isolando as misturas não voláteis. Utiliza-se uma mistura de solventes com diferentes polaridades (fase móvel). O fator de retenção *RF* (do inglês *retention factor*) é um número puro que expressa a distância percorrida pela amostra / distância percorrida pela mistura de solventes. Os compostos se movem por afinidade pela fase móvel (solvente) e pela fase estacionária (placa de sílica). A fase móvel utilizada foi de 30% acetato de etila e 70% hexano. A análise de CCD sugere que não ocorreu a formação do produto **4a** após 3 horas. Continuou-se, então, acompanhando-a por CCD durante os dias seguintes, verificando-se a formação do provável produto somente após cinco dias de reação (tabela 1, entrada 1). Em análise visual, posterior, notou-se que o material de partida não foi solubilizado completamente e em análise por CCD notavam-se a presença dos três reagentes iniciais. A partir destes resultados, decidiu-se testar a solubilidade dos reagentes em outros solventes (a quente e a frio). Foram testados em MeOH e EtOH e foi observado que os reagentes eram solúveis em EtOH, sendo este escolhido para os próximos experimentos.

Após a determinação do solvente para a reação, efetuou-se novamente o experimento, substituindo a água por EtOH. Nesta condição, notou-se a formação de um produto após 16 horas de reação (tabela 1, entrada 2). Assim, adotou-se o EtOH como solvente para a realização do *screening*.

Na sequência avaliamos a influência da temperatura. Assim, a reação foi realizada à 80 °C, o que, aparentemente, diminuiu a formação do provável produto (tabela 1, entrada 3).

<sup>97</sup> Ebrahimi, S. M. et al. *Synth. Commun.* **2014**, *44*, 665.

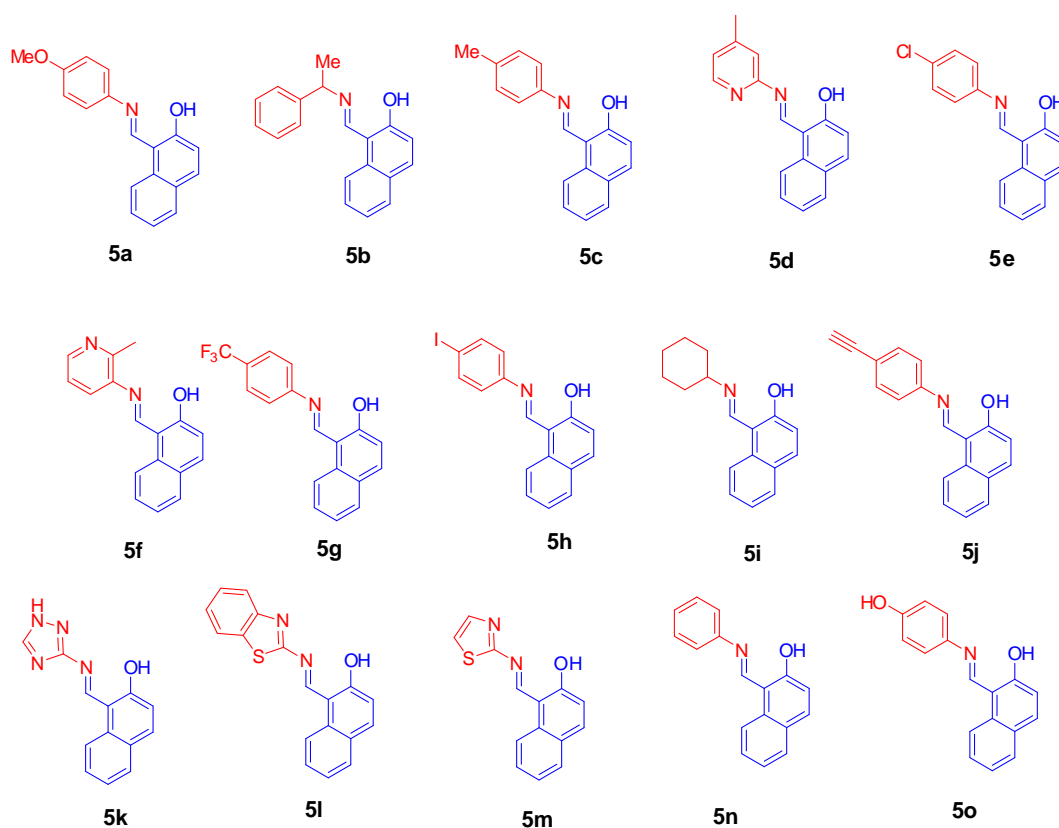
**Tabela 1.** Otimização das condições de reação.<sup>a</sup>

#	Tempo	Temperatura	Solvente	Rendimento
1	120 h	ambiente	H <sub>2</sub> O	< 10%
2	16 h	ambiente	EtOH	25%
3	1,5 h	80 °C	EtOH	< 10%
4	3 h	80 °C	EtOH	51%

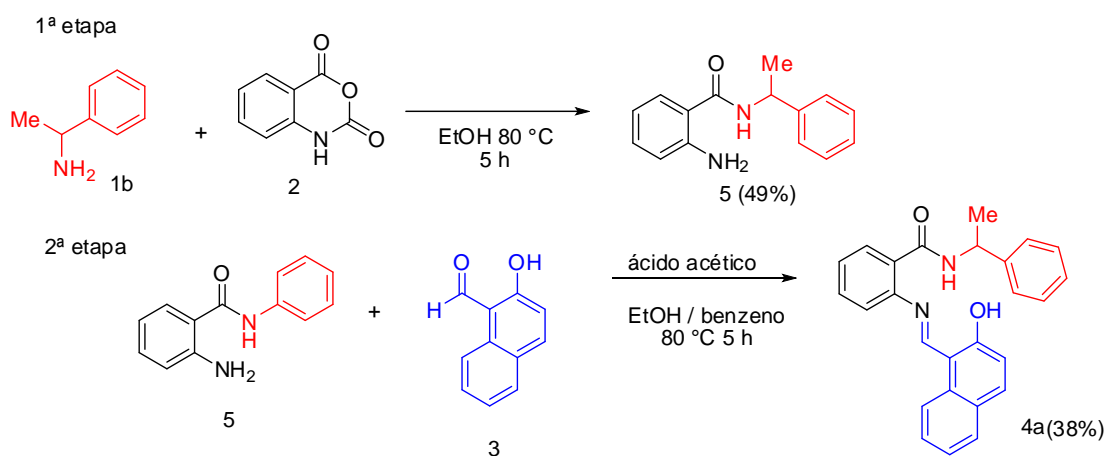
<sup>a</sup>Condições de reação: 1 mmol de anidrido isatóico, 1 mmol de *p*-anisidina e 1 mmol de 2-hidroxi-1-naftaldeído.

O produto formado (tabela 1 – entrada 4) foi recristalizado de EtOH e submetido à análise de RMN <sup>1</sup>H. A análise do espectro do produto obtido indicou que não era o produto esperado e sim uma reação da amina primária com o 2-hidróxi-1-naftaldeído; também se observou que os compostos apresentavam resíduo do anidrido isatóico, o que comprometeu o rendimento real dos compostos obtidos. Visto o insucesso na formação do sirtinol por meio da reação *one-pot* descrita por Ebrahimi e colaboradores, as tentativas por essa metodologia foram descontinuadas.

Apesar do insucesso na síntese do sirtinol e seus análogos por esse método, observou-se a formação de uma série de compostos inéditos que poderiam ser submetidos a ensaio enzimático, como potenciais inibidores de Sir2. A **figura 8** apresenta os compostos obtidos por esta metodologia.

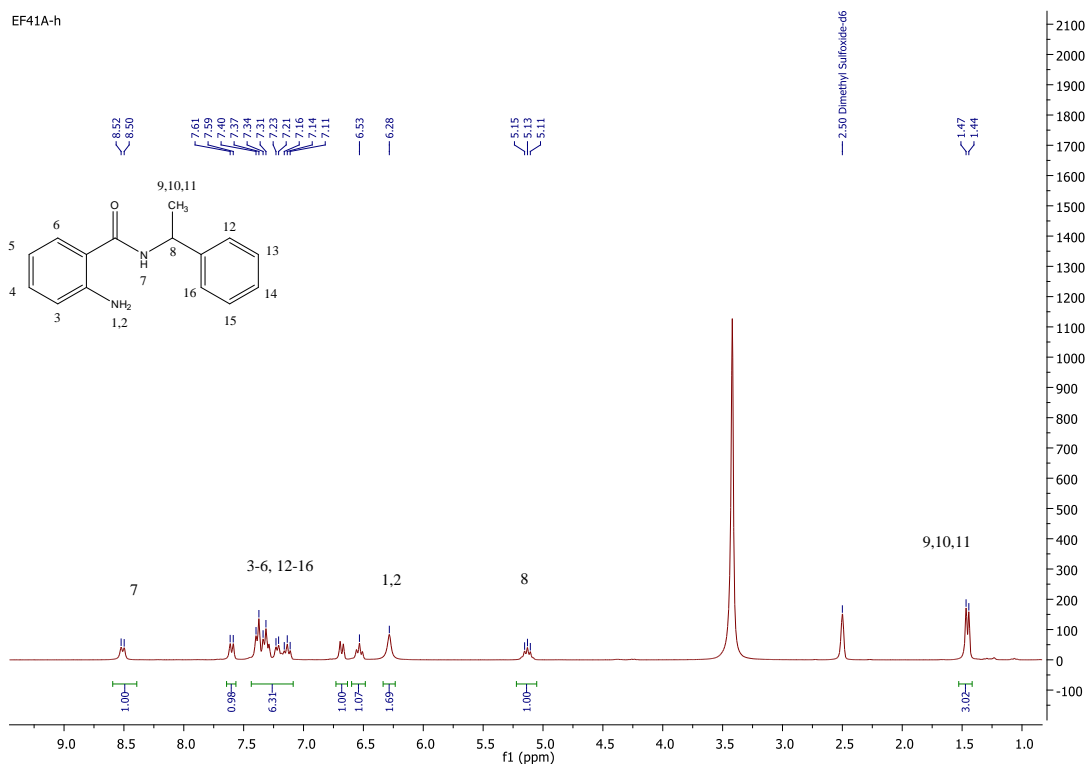
**Figura 8.** Série de compostos obtidos pela metodologia descrita por Ebrahimi *et al.*

Diante da dificuldade de realizar a síntese dos análogos do sirtinol com o procedimento anterior, buscou-se, então, novas referências na literatura. Assim, notou-se que não havia uma rota sintética definida para a obtenção do sirtinol por meio de química verde. Deste modo, uma metodologia foi adaptada para realizar a reação em 2 etapas, sendo a primeira etapa descrita por Strakovs<sup>98</sup> e a segunda etapa descrita por Mai e colaboradores:<sup>48</sup> O **esquema 2** exemplifica a reação em duas etapas.



A primeira etapa foi realizada utilizando EtOH como solvente, numa temperatura de 80 °C e a reação ocorreu durante 5 horas. A purificação foi feita em Biotage, com sílica flash como fase estacionária e acetato de etila / hexano foram utilizados como solventes na fase móvel num gradiente de 0 a 50% de AcOEt. O produto obtido foi caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H, o qual os sinais são indicados na **figura 9**.

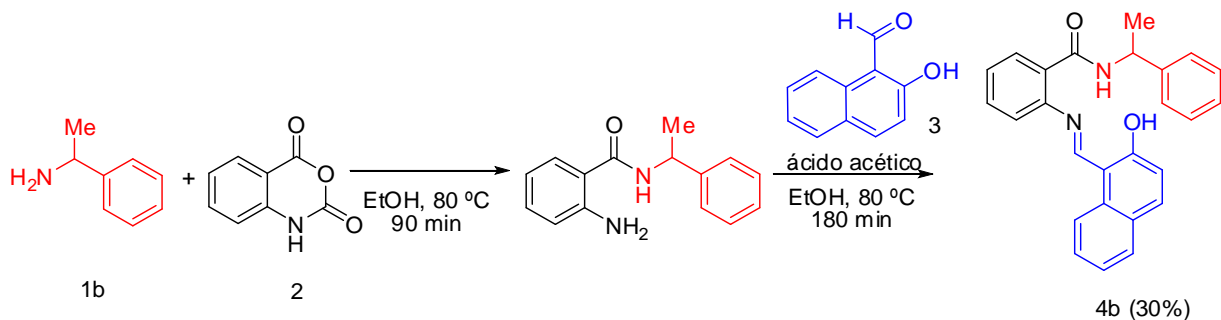
<sup>98</sup> Strakovs, A.; et al. *Mat. Sci. Appl. Chem.*, **2004**, *9*, 64-70.



**Figura 9.** RMN  $^1\text{H}$  do intermediário 5.

Após identificação da formação do intermediário **5**, procedeu-se a segunda etapa da reação, realizada em refluxo e em meio ácido, onde foi adicionado o 2-hidroxi-1-nataldeído (**3**) com o intermediário e acompanhou-se a reação por CCD (fase móvel 30% AcOEt e 70% hexano) por 5 horas. O rendimento foi de 39% e o rendimento global foi de apenas 19%.

Com a finalidade de realizar a síntese em condição *one-pot* visando o aumento de rendimento, foi realizada uma nova proposta (**Esquema 3**) de síntese em refluxo, onde a 1-feniletilamina (**1b**) e o anidrido isatóico (**2**) foram adicionados num balão com etanol como solvente e após 90 minutos, 2-hidroxi-1-nataldeído (**3**) foi adicionado ao meio, na presença de ácido acético. Após 3 horas notou-se a formação produto. A **figura 10** apresenta o espectroscópio de RMN  $^1\text{H}$  do sirtinol com os sinais característicos da obtenção do produto desejado.



**Esquema 3.** Otimização da reação para a obtenção do sirtinol.

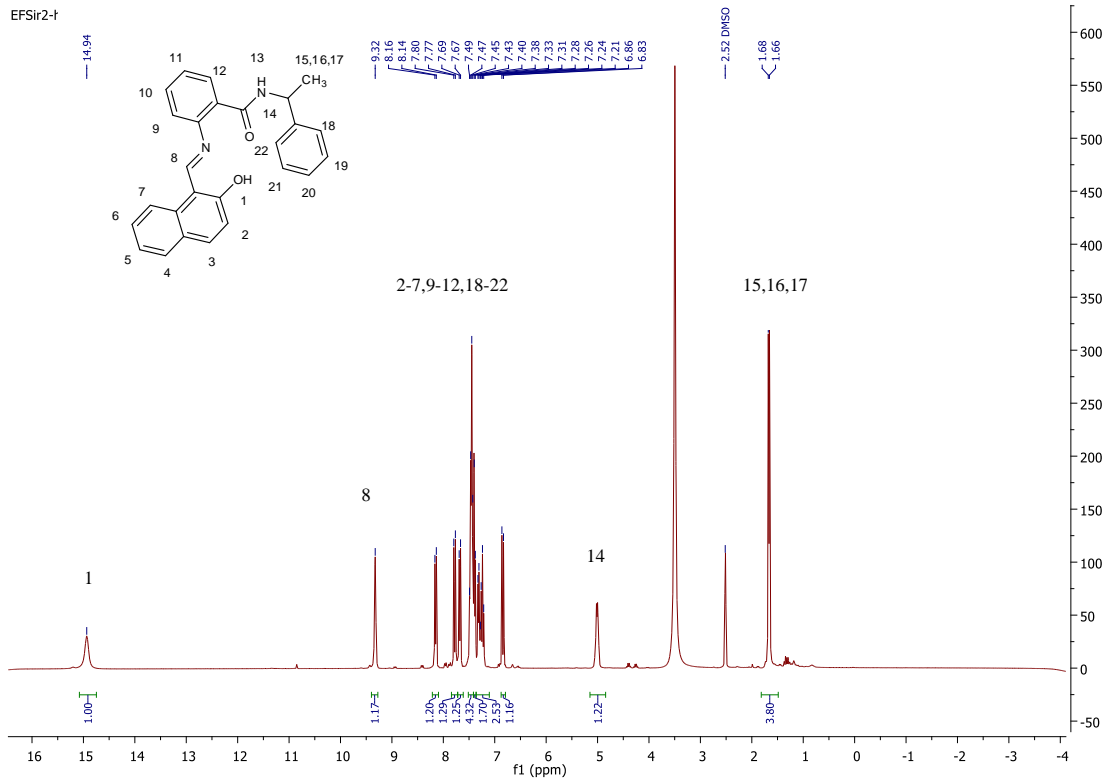
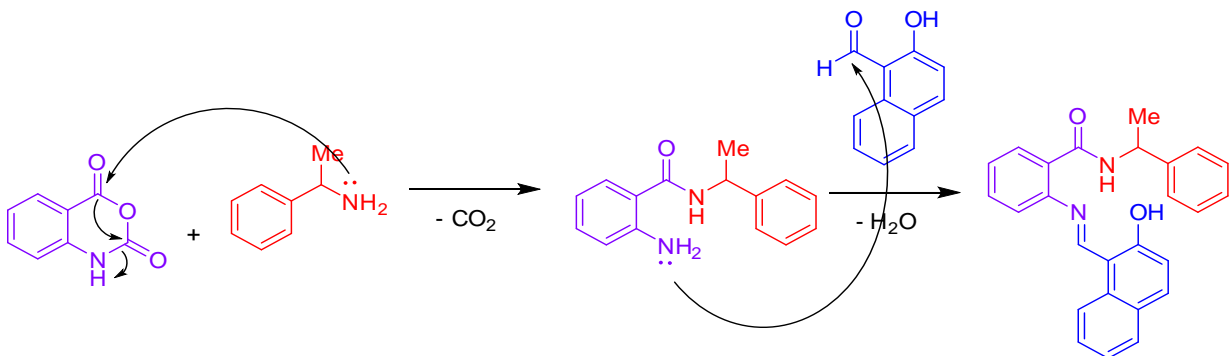


Figura 10. RMN  $^1\text{H}$  do sirtinol (**4b**).

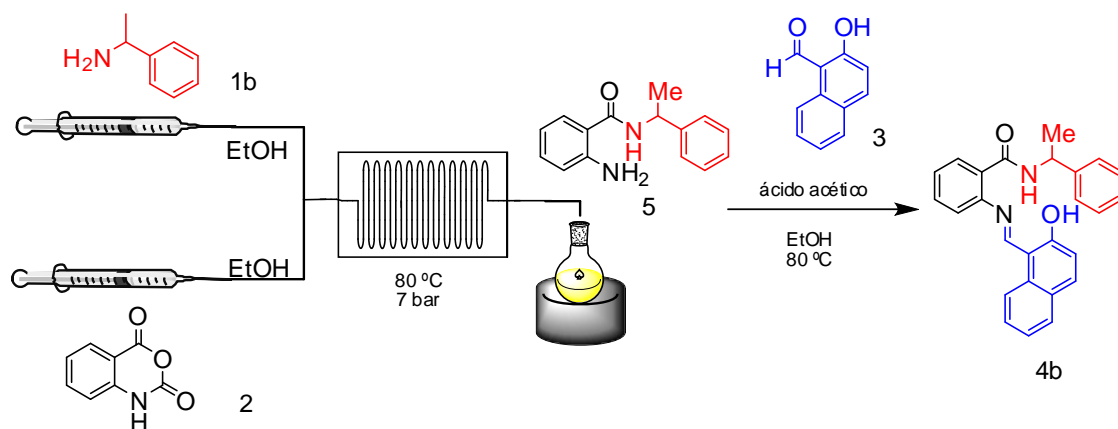
O **esquema 4** apresenta o provável mecanismo da formação do sirtinol. Inicialmente, um ataque nucleofílico da amina primária ocorre no carbono carbonílico do anidrido isatóico seguido da abertura do anel e de uma descarboxilação, resultando na formação de um intermediário chamado antranilamida. Um novo ataque nucleofílico do intermediário formado ocorre no aldeído aromático, seguido de uma condensação e então se dá a formação da Base de Schiff.



**Esquema 4.** Proposta de mecanismo da formação do sirtinol.

O rendimento obtido para a reação do **esquema 3** foi de 30%. Com o intuito de aumentar o rendimento, resolveu-se fazer um novo *screening* para a obtenção do produto, desta vez, utilizando o microrreator em fluxo contínuo, que é um método alternativo mais sustentável e que visa a intensificação do processo, gerando menos resíduo e vai de encontro aos princípios da

Química Verde. Como as condições para a obtenção de amidas já foram descritas em fluxo contínuo,<sup>99</sup> um esquema inicial foi sugerido para o início dos testes.



**Esquema 5.** Disposição inicial para a síntese em fluxo contínuo.

O **esquema 5** representa as condições iniciais para a reação em fluxo: com o tempo de residência em 1 minuto e acompanhando por CCD (fase móvel AcOEt 30% / hexano 70%) a formação do produto, foi observado que 1 mmol de anidrido isatóico (2) não se solubiliza completamente em 1 mL de EtOH. Assim sendo, dividiu-se em 0,5 mmol para cada injeção, juntamente com 0,5 mmol da amina (1b). Dessa forma, buscou-se o melhor tempo de residência e relação estequiométrica para a injeção dos reagentes para a primeira etapa da reação. A tabela 2 apresenta as condições em fluxo contínuo para a primeira etapa da reação.

**Tabela 2.** Determinação das melhores condições em fluxo para a 1ª etapa de reação.

#	Tempo de residência $\tau$ (min)	Relação Estequiométrica P1	Relação Estequiométrica P2	Formação do produto? <sup>a</sup>
1	1	1	1	Não
2	4	1	1	Não
3	5	1	1	Não
4	1	0,5:0,5	0,5:0,5	Não
5	4	0,5:0,5	0,5:0,5	Parcialmente
6	5	0,5:0,5	0,5:0,5	Sim

<sup>a</sup>Formação do intermediário acompanhada por CCD. Condições da reação: Solvente EtOH, temperatura em 80 °C, pressão ajustada para 7 bar

<sup>99</sup> Vasconcelos, S. N. S.; Fornari, E.; Caracelli, I.; Stefani, H. A. *Mol. Divers.* **2017**, *21* (4), 893-902.



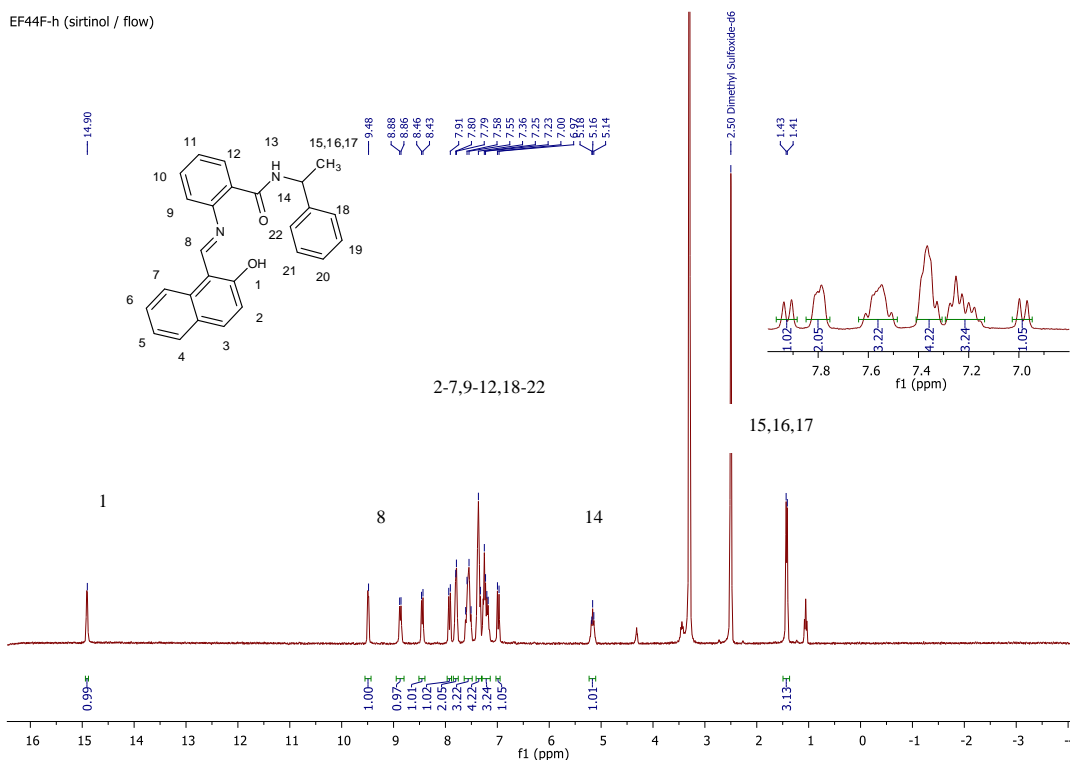
Após análise de CCD (fase móvel AcOEt 30% / hexano 70%) notou-se que 5 minutos foram suficientes para a obtenção do intermediário (**5**) da reação (tabela 2, entrada 6). O composto obtido foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$ . Diante dos resultados obtidos, foram realizados experimentos para determinação das melhores condições da segunda etapa da reação.

**Tabela 3.** Determinação das melhores condições em fluxo para a 2ª etapa de reação.

#	Método	Temperatura (° C)	Tempo (min)	Relação Estequiométrica	Rendimento %
7	fase sólida	80	5	1:1	30
8	Agitação	80	120-180	1:1	63
9 <sup>a</sup>	Agitação	80	120-180	1:1	81

<sup>a</sup>Solvente alterado para EtOH / tolueno, na proporção de 2:1

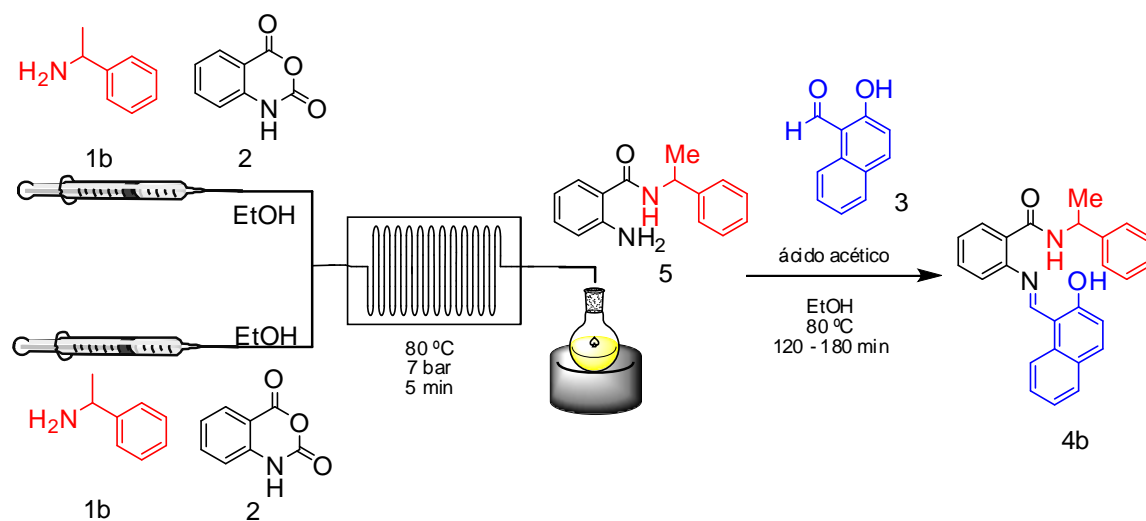
O produto foi caracterizado por RMN de  $^1\text{H}$  (**figura 11**). O aumento do rendimento da reação foi notável e adotou-se então esta nova rota sintética para a síntese dos análogos do sirtinol.



**Figura 11.** RMN de  $^1\text{H}$  do sirtinol obtido em fluxo contínuo.

O **esquema 6** apresenta a disposição final para a obtenção do sirtinol, sendo: anidrido isatóico (**2**) e 1-feniletanamina (**1b**) foram solubilizados em EtOH e injetados no loop do microrreator (2 seringas com 1 mL cada), a temperatura de 80 °C, pressão em 7 bar e 5 minutos de reação no chip. Uma mangueira foi acoplada na saída do equipamento, e o intermediário formado

foi adicionado num balão com etanol / tolueno e na presença de ácido acético glacial. Foi mantido sob agitação constante e temperatura de 80 °C. Após 3 horas notou-se a formação do produto com as características do sirtinol, o qual foi caracterizado por RMN  $^1\text{H}$  e também por ponto de fusão.

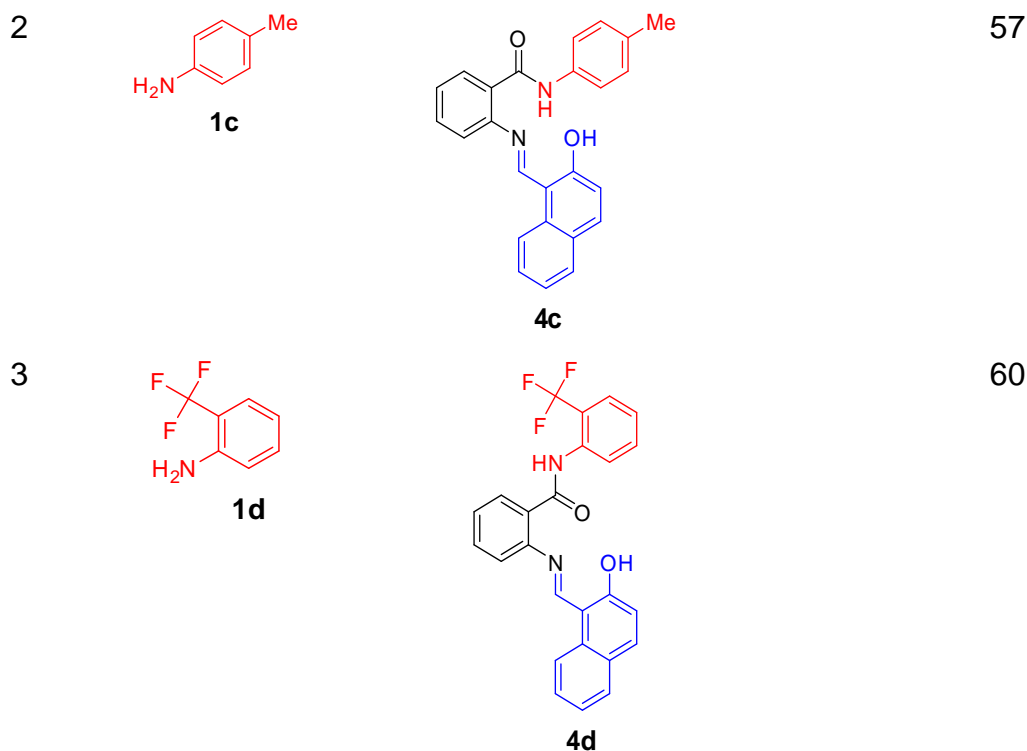


**Esquema 6.** Disposição final da reação em fluxo contínuo.

Após determinar as melhores condições reacionais para obtenção do protótipo, sirtinol, foram performadas reações para obtenção dos análogos planejados. A **tabela 4** apresenta as estruturas das aminas utilizadas, os produtos obtidos e seus respectivos rendimentos.

**Tabela 4.** Análogos obtidos pela reação em fluxo contínuo, indicando a amina primária utilizada, o produto obtido e seus rendimentos.

Ensaio	Amina	Produto	Rendimento (%)
1	 1a	 4a	79



De um modo geral, as reações apresentaram bons rendimentos quando comparadas às primeiras reações realizadas em 2 etapas, que tiveram rendimentos em torno de 30%. Aminas com grupos doadores de elétrons como a *p*-anisidina **1a** e a *p*-toluidina **1c** levaram a formação dos compostos **4a** com 79% e **4c** com 57%, respectivamente. Já a amina com um grupo retirador de elétron, a 2-(trifluorometil)anilina **1d**, resultou no produto **4d** com rendimento de 60%. Outras aminas também foram testadas, como a amina contendo heterocíclico com 6 membros a piridina (4-metilpiridin-2-amina **1e**), *1H*-indazol-6-amina **1f** e outra amina heteroaromática com um grupo retirador de elétrons, a 5-nitropiridin-2-amina **1g**, porém, parte dos compostos mostraram-se instáveis em presença de luz e à exposição ao ambiente. Isso pode ser explicado pela instabilidade da imina.

### 3.2.2. Síntese de pequenas moléculas

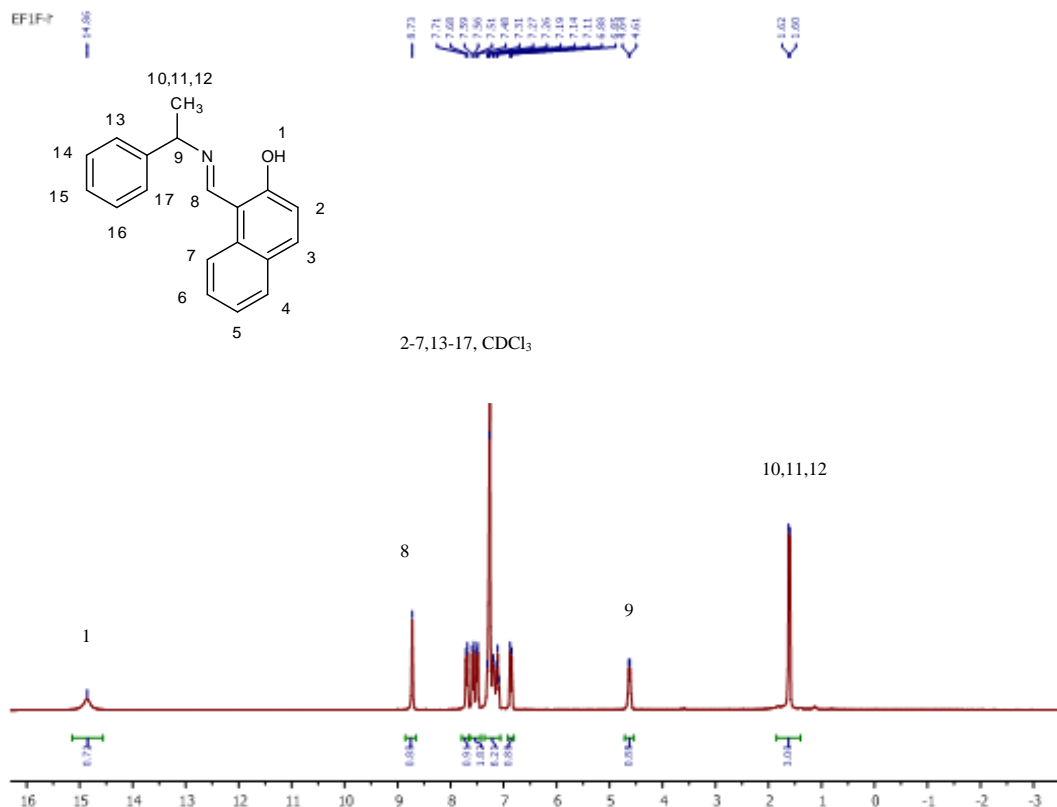
Os produtos obtidos no início do projeto e estão ilustrados na **figura 8** são compostos inéditos que ainda não tinham uma rota sintética definida, sendo assim, decidiu-se utilizar o microrreator de fluxo contínuo para sintetizá-los e assim quantificar o rendimento dessas novas moléculas que são simplificações do sirtinol, e que possuem a porção farmacofórica já reportada na literatura.<sup>96</sup> Para isso um *screening* foi realizado para determinar as melhores condições de obtenção dessas pequenas moléculas:

**Tabela 5.** Otimização das condições de reação<sup>a</sup> para obtenção dos derivados de sirtinol simplificados.

#	Tempo de residência $\tau$ (min)	Temperatura (°C)	Estequiometria 1a:2	Rendimento (%) <sup>b</sup>
1	1	80	0,5:0,5	-
2	2	80	0,5:0,5	-
3	5	80	0,5:0,5	97

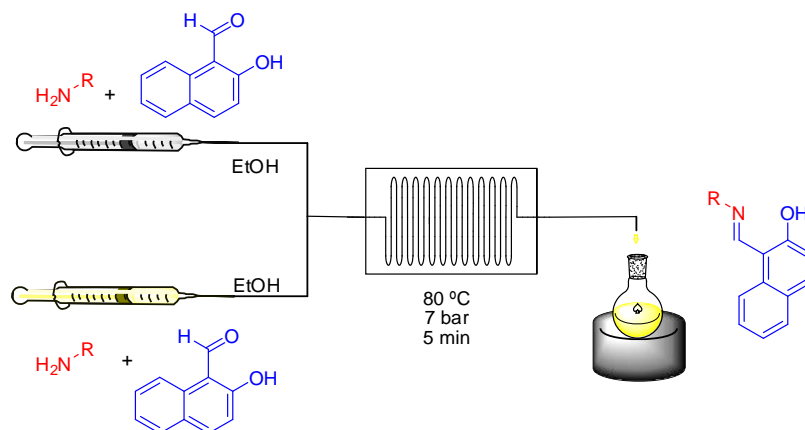
<sup>a</sup>Condições de reação: 2 mL de solvente 0,25 mmol da amina (1b) e do 2-hidroxi-1-naftaldeído (2) foram utilizados em cada seriga. <sup>b</sup>Rendimento obtido após purificação. Reações monitoradas por CCD.

Os resultados apresentados na Tabela 5 referem-se aos ensaios realizados para a síntese do produto 5a (tabela 6). Inicialmente, 0,5 mmol de 1-feniletilamina (**1b**) foi solubilizada em 1 mL de EtOH e 0,5 mmol de 2-hidroxi-1-naftaldeído **3** foi solubilizado em 1 mL do mesmo solvente, mas, mesmo após aquecimento, o reagente **3** não foi solúvel o suficiente para injetar no microrreator. Preparou-se, então, 0,25 mol/L da amina (**1b**) e 0,25 mol/L do aldeído (**3**) e percebeu-se que os reagentes se solubilizam completamente, então esta quantidade foi mantida, e injetados nas bombas 1 e 2. O primeiro experimento em química de fluxo para essa série de compostos foi realizado ajustando a temperatura em 80 °C, pressão em 7 bar, conforme as sínteses realizadas anteriormente para obtenção do sirtinol, variando-se o tempo de residência ( $\tau$ ), inicialmente em 1 min (Tabela 4, entrada 1). Por esse procedimento a análise de CCD (fase móvel: 70% hexano / 30% acetato de etila) indicou que não foi possível obter o produto planejado, acredita-se que devido ao pouco tempo de residência no reator, pois na placa foi visível a presença dos reagentes. Em uma segunda tentativa, dobrou-se o tempo de residência foi (Tabela 4, entrada 2), mantendo a temperatura, porém não foi visualizada em CCD a formação da Base de Schiff. A terceira tentativa foi realizada com o tempo de residência elevado para 5 min (Tabela 4, entrada 3), sendo possível verificar em CCD a formação de apenas um composto, com *R<sub>f</sub>* diferente dos reagentes. Esse composto foi isolado, obtendo-se um produto sólido amarelo, que foi recristalizado de EtOH e teve 97% de rendimento. A **figura 12**, espectro de RMN<sup>1</sup>H referente ao composto 5a obtido, tem o sinal 8 próximo de 9 ppm, característico da formação de imina.



**Figura 12.** RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5a**.

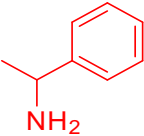
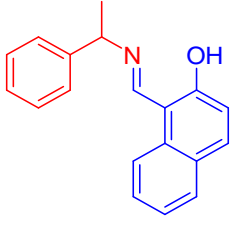
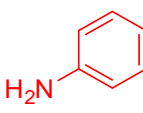
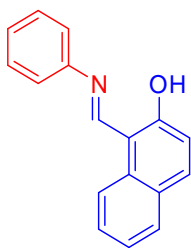
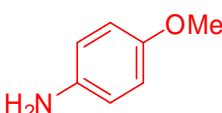
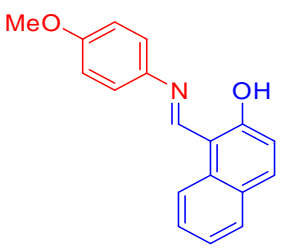
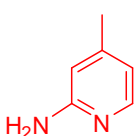
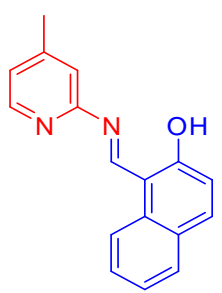
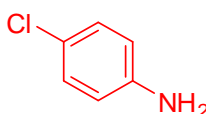
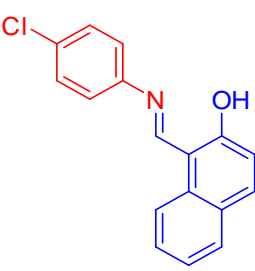
Este procedimento demonstrou a eficiência da química de fluxo contínuo, usando apenas EtOH como solvente e completamente livre de catalisador. O **esquema 7** apresenta a disposição final para a síntese das moléculas:

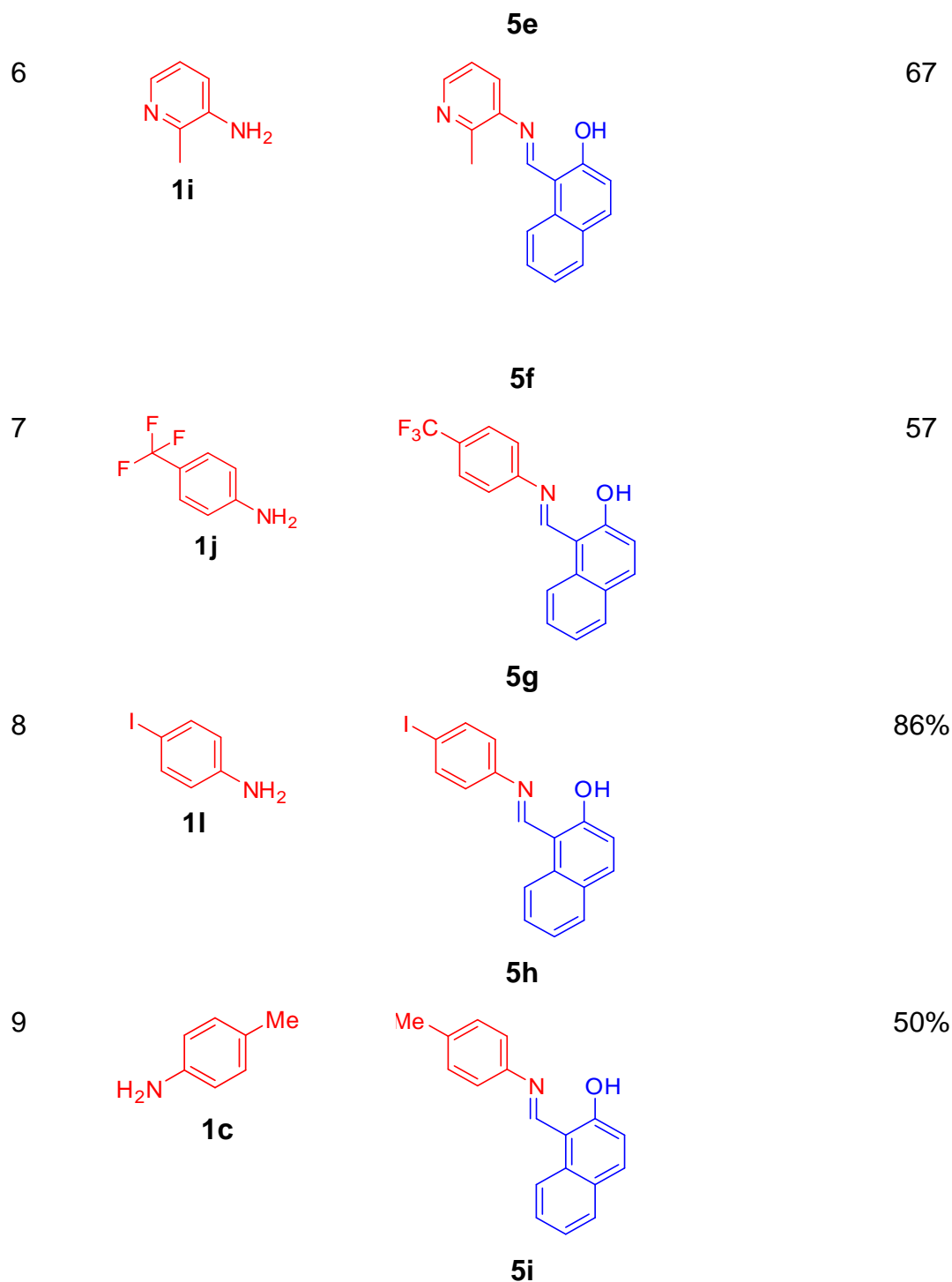


**Esquema 7.** Disposição final da reação em fluxo contínuo para as pequenas moléculas.

O método desenvolvido para síntese do composto **5a** foi adotado para a síntese e outras novas moléculas planejadas pela estratégia de simplificação molecular. A **tabela 6** apresenta as aminas primárias utilizadas, os produtos obtidos e seus respectivos rendimentos. Os compostos foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , infravermelho e ponto de fusão.

**Tabela 6.** Exemplos obtidos a partir da variação das aminas e seus respectivos rendimentos.

#	Amina	Produto	Rendimento (%)
1	 <b>1b</b>	 <b>5a</b>	97
2	 <b>1k</b>	 <b>5b</b>	50
3	 <b>1a</b>	 <b>5c</b>	39
4	 <b>1e</b>	 <b>5d</b>	80
5	 <b>1h</b>	 <b>5e</b>	74

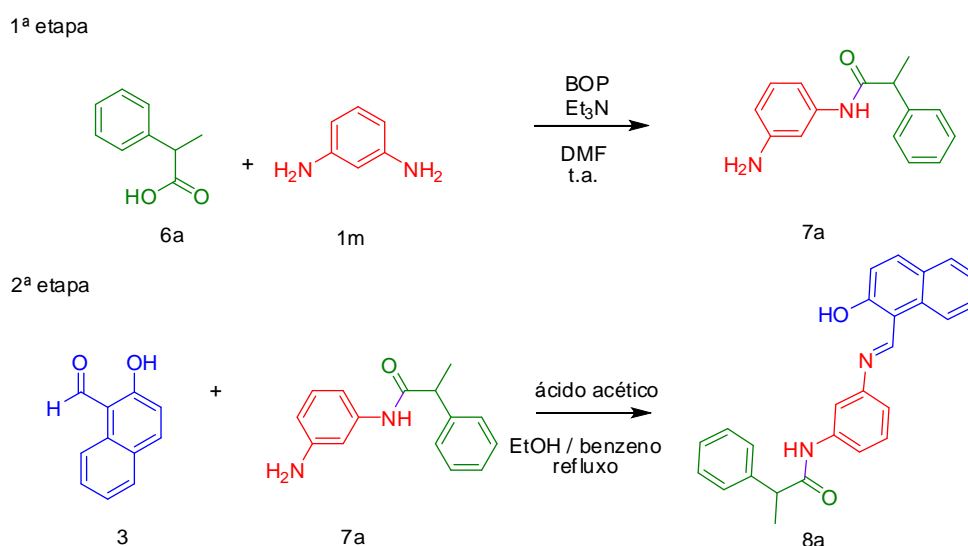


Utilizando o 2-hidroxi-1-naftaldeído (**3**) para a reação de formação da imina e variando as aminas, os rendimentos obtidos variaram entre 39% e 97%. Sendo que, 1-feniletanamina (**1b**) apresentou o melhor rendimento: 97% após a recristalização do produto **5a**. A anilina (**1k**) apresentou rendimento de 50%, dando origem ao produto **5b**. Já a amina com grupo doador de elétrons *p*-anisidina (**1a**) apresentou o menor rendimento, com apenas 39%. Substituindo por aminas heterocíclicas com 6 membros, 4-metilpiridin-2-amina (**1e**) e 2-metilpiridin-3-amina (**1i**),

os produtos **5d** e **5f** apresentaram bons rendimentos: 80% e 67% respectivamente. As aminas que possuem haletos, como a 4-cloroanilina **1h** e 4-iodoanilina **1l** tiveram bons rendimentos em 74% e 86% respectivamente. Outra amina com grupo retirador de elétrons, a 4-trifluorometil anilina **1j** apresentou 57% de rendimento.

### 3.2.3. Síntese dos análogos da salermida

Durante a revisão bibliográfica, a salermida se destacou como um protótipo interessante na busca de inibidores da Sir2, porém pouco se explorou sobre a síntese deste composto. O procedimento descrito por Lara e colaboradores<sup>94</sup> apresenta somente um esquema reacional sem as informações para a síntese, não descrevem a relação estequiométrica e não mostram os dados da caracterização do produto, por isso houve a necessidade em trabalhar num *screening* reacional visando obter as melhores condições para a síntese de salermida. O **esquema 8** representa a rota sintética descrita.



**Esquema 8.** Rota sintética para obtenção da salermida.

Na primeira etapa foi utilizado um balão de 50 mL contendo 10 mL de DMF seco, foi mantido sob agitação constante e foram adicionados 5 mmol de *m*-fenilenodiamina (**1m**), 5 mmol de ácido fenilpropionico (**6a**), 5 mmol de BOP e 12,5 mmol de trietilamina. Acompanhou-se a reação por CCD (fase móvel: 30% acetato de etila / 70% hexano e 20% acetato de etila / 80% hexano) a cada 30 minutos durante 4 horas. Como não foi observada a formação de produtos, performou-se a reação overnight e após esse período nova análise por CCD foi feita, na qual observou-se a formação de um produto com *Rf* diferente dos reagentes utilizados. No intuito de purificar o produto obtido, foram feitas extrações com AcOEt / NH<sub>4</sub>Cl, lavado 3 vezes, filtrado com



MgSO<sub>4</sub>, purificado no Combi Flash Rf 150. O produto obtido foi evaporado a pressão reduzida (rotaevaporado) e colocado na bomba de N<sub>2</sub> para a secagem do produto. As **tabelas 7, 8 e 9** apresentam as condições testadas para determinar a temperatura, tempo de reação e relação estequiométrica para a primeira e segunda etapas reacionais.

**Tabela 7.** Determinação das melhores condições para a primeira etapa da reação.

#	Temperatura (°C)	Tempo de reação (horas)	Acoplante	Formação do produto <sup>a</sup>
1	25	2	BOP	Nao
2	25	4	BOP	Nao
3	25	4	BOP	Nao
4	25	6	BOP	Nao
5	25	overnight	BOP	Sim
6	25	6	Py-BOP	Nao
7	25	overnight	Py-BOP	Sim

<sup>a</sup>Formação do produto visualizada em CCD.

**Tabela 8.** Determinação da relação estequiométrica.

#	<i>m</i> -fenilenodiamina (eq)	ácido 2-fenilpropionico (eq)	Py-BOP (eq)	Et <sub>3</sub> N (eq)
8	1	1	1	2,5
9	1	1,5	1,5	3,75

Obs: houve a necessidade de alterar a estequiometria da reação e utilizar a *m*-fenilenodiamina como reagente limitante devido ao Rf ser muito próximo entre a diamina e do produto formado.

**Tabela 9.** Determinação das melhores condições para a segunda etapa da reação.

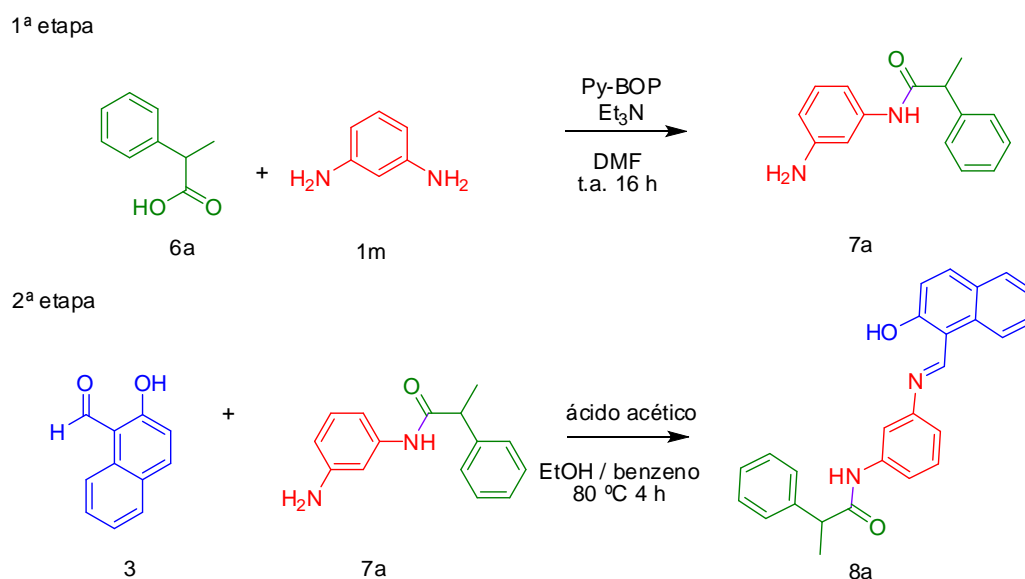
#	Temperatura (°C)	Tempo de reação (horas)	Relação estequiométrica	Formação do produto <sup>a</sup>
10	80	4	1 (produto 1 <sup>a</sup> etapa): 1 (aldeído)	Sim

<sup>a</sup>Formação do produto visualizada em CCD (fase móvel: 70% hexano / 30% AcOEt).

A segunda etapa da reação foi performada em um balão de 2 bocas sob agitação constante e em refluxo, adicionou-se 2,1 mmol do produto obtido na primeira etapa **7a** e 2,1 mmol de 2-hidroxi-1-naftaldeído **3** em meio ácido. Foram utilizados 10 mL de benzeno e 20 mL de etanol

como solvente da reação. Acompanhou-se em placas de CCD a cada 30 minutos, por um período de 4 horas.<sup>46</sup> Após este tempo, observou-se a formação de um produto, que foi purificado no Combi Flash Rf 150, rotaevaporado e colocado na bomba de N<sub>2</sub> para a secagem.

O produto obtido foi caracterizado por RMN de <sup>1</sup>H, confirmando a formação da salermida. Dessa forma, as condições utilizadas, foram consideradas ideais para a síntese dos análogos da salermida. Assim, foram sintetizados 10 análogos que são, juntamente com os rendimentos obtidos, apresentados na **tabela 10**.

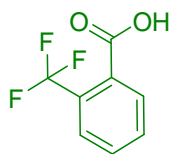


**Esquema 9.** Esquema geral para a síntese dos análogos da salermida.

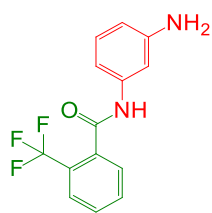
**Tabela 10.** Análogos obtidos a partir da variação dos ácidos carboxílicos, seus intermediários e rendimentos.

#	Ácido Carboxílico	Intermediário	Rendimento Intermediário (%)	Produto Final	Rendimento Produto Final (%)
1			96		74

2

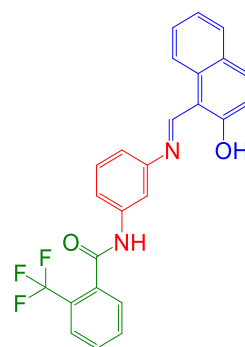


6c



7c

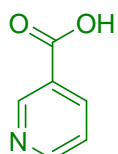
87



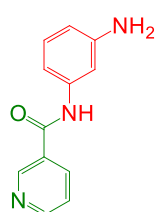
8c

63

3

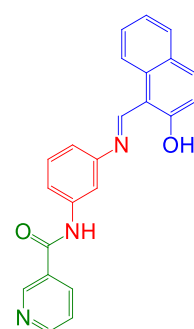


6d



7d

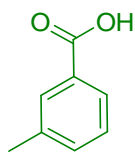
75



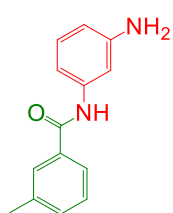
8d

43

3

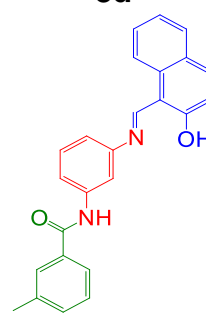


6e



7e

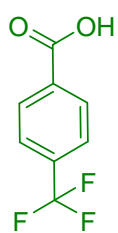
97



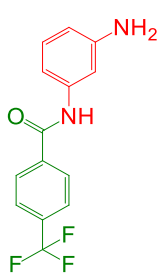
8e

55

5

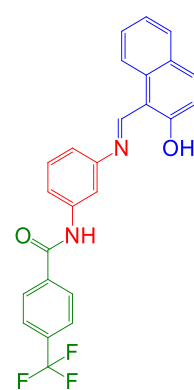


6f



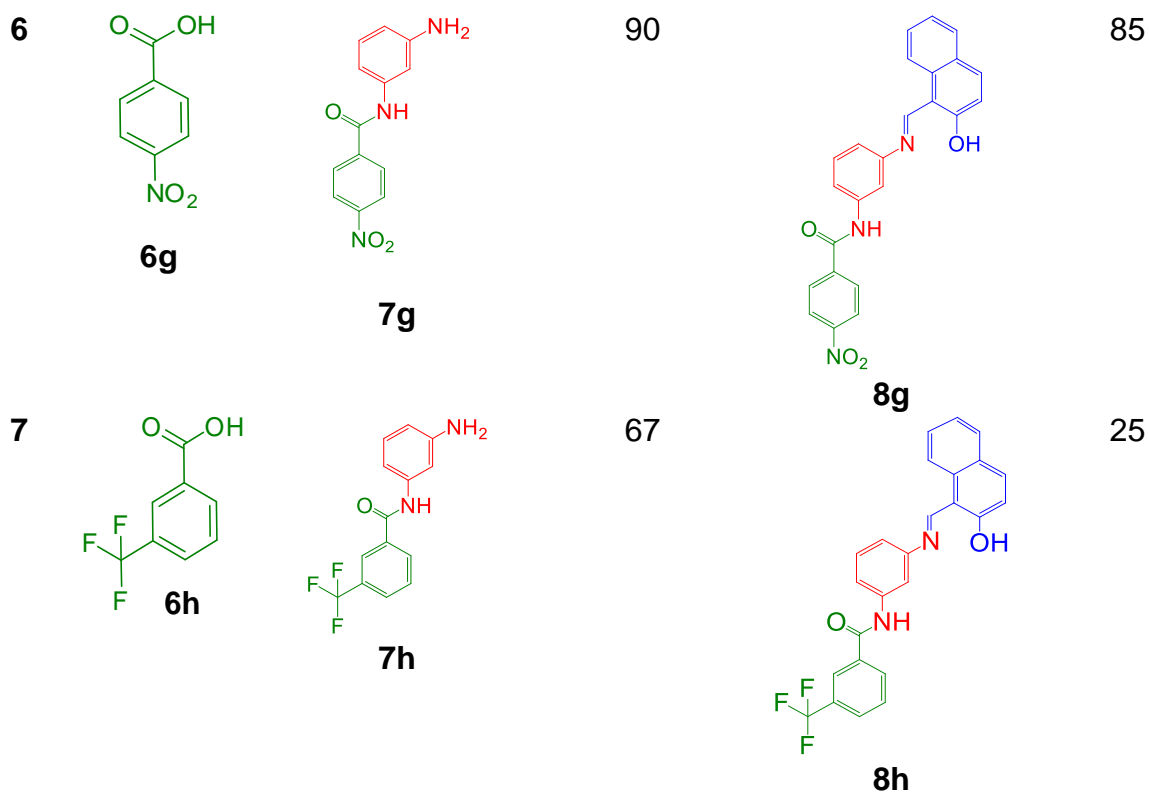
7f

93

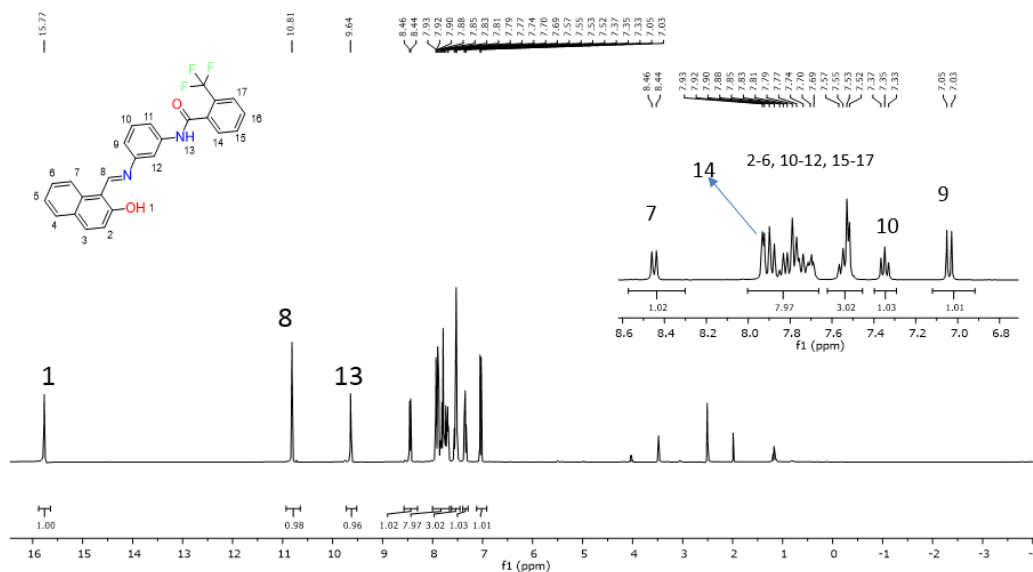


8f

70



A espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$  ilustrada na **figura 13** indica a formação de um análogo da salermida, o composto **8c**, com a substituição do ácido fenilpropiónico **6a** para o ácido 2-(trifluorometil)benzóico **6c**. O sinal 8, próximo de 11 ppm, característico da imina, e o sinal 13 entre 9 e 10 ppm, característico da amida, indicam a formação do análogo.

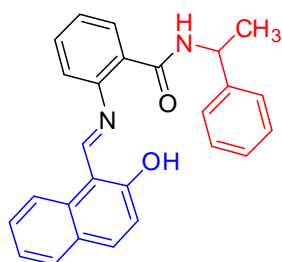


**Figura 13.** RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do composto **8c**, análogo da salermida.

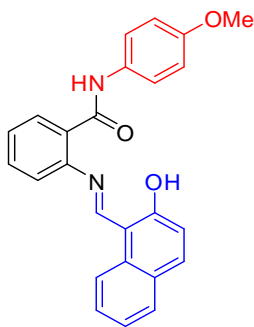
Os rendimentos dos análogos obtidos foram bem amplos, variando de 25% a 85% no produto final. Os ácidos carboxílicos foram selecionados de uma forma que apresentassem tanto grupos doadores quando grupos receptores de elétrons, neutros e heteroátomos. O produto **8b** apresentou rendimento de 74%, foi obtido a partir da reação com o ácido benzóico **6b**, resultando no intermediário **7b** com 96% de rendimento. Utilizando os ácidos 2-(trifluorometil)benzóico **6c**, 3-(trifluorometil)benzóico **6h** e 4-(trifluorometil)benzóico **6f**, os intermediários **7c**, **7h** e **7f** foram obtidos com rendimento de 87%, 67% e 93% respectivamente. Apesar do bom rendimento desses intermediários, os produtos acabaram apresentando rendimentos bem variados, mas seguindo a ordem dos rendimentos dos intermediários, como no caso do **8c** com rendimento de 63%, o **8h** com apenas 25% e o **8f** com 70%. Ao utilizar o ácido nicotínico **6d**, que possui um heteroátomo de 6 membros, o rendimento do intermediário **7d** de 75% e do produto **8d** de apenas 43% devido a um vazamento na coluna durante o processo de purificação. Quando utilizado um ácido que possui um grupo doador de elétrons (ácido 3-metilbenzóico **6e**), obteve-se o melhor rendimento do intermediário **7e** com 97% e o produto **8e** em 55%. Ao utilizar um ácido com um grupo retirador de elétrons como o ácido 4-nitrobenzóico **6g**, o intermediário **7g** teve 90% e o produto **8g** 85% de rendimento. Também foram sintetizados compostos utilizando outros ácidos, como o *1H*-indol-3-ácido carboxílico **6i**, ácido furóico **6j** com heteroátomo de 5 membros, e também com o ácido cinâmico **6k**, porém estes três últimos compostos mostraram-se instáveis em presença de luz e à exposição ao ambiente. Isso pode ser explicado pela instabilidade da imina.

### 3.2.4. Produtos sintetizados

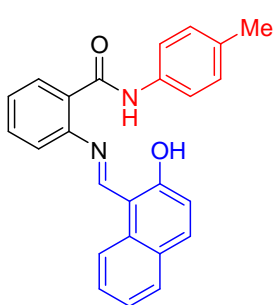
#### (*E*)-2-((2-hidroxi-naftalen-1-il)metilenoamino)-*N*-(1-feniletil)benzamida - sirtinol **4a**



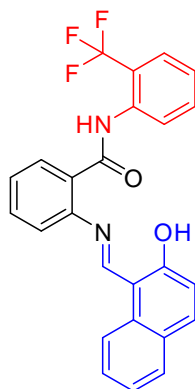
O composto **4a** foi preparado de acordo com o procedimento geral A. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 81% de rendimento. É obtido comercialmente pelo CAS 410536-97-9. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 14.90 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 8.87 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 8.45 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 3.7 Hz, 2H), 7.56 (dd, *J* = 21.4, 9.8 Hz, 3H), 7.35 (d, *J* = 11.6 Hz, 4H), 7.21 (dd, *J* = 14.8, 7.3 Hz, 3H), 6.98 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.16 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 1.42 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H). **IV** 3192, 3181, 1559, 1574, 1486, 1279, 737, 724, 678 cm<sup>-1</sup>. **PF**: 240 - 242 °C.

**(E)-2-((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileneamino)-N-(4-metoxifenil)benzamida 4b**

O composto **4b** foi preparado de acordo com o procedimento geral A. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou rendimento de 79%. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 14.98 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 8.08 – 7.26 (m, 14H), 6.73 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H). **IV** 3308, 3276, 2833, 1559, 1460, 1452, 1205, 992, 974, 726 cm<sup>-1</sup>. **PF**: 160 - 163 °C

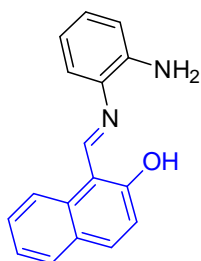
**(E)-2-((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileneamino)-N-p-tolilbenzamida 4c**

O composto **4c** foi preparado de acordo com o procedimento geral A. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou rendimento de 57%. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 15.88 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 38.7 Hz, 3H), 7.55 (m, 3H), 7.39 – 7.10 (m, 4H), 6.99 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H). **IV** 3330, 3272, 1566, 959, 1262, 719, 685, 665 cm<sup>-1</sup>. **PF**: 115 – 117 °C.

**(E)-2-((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileneamino)-N-(2(trifluorometil)fenil)benzamida 4d**

O composto **4d** foi preparado de acordo com o procedimento geral A. O produto foi obtido na forma líquida extremamente densa, com coloração alaranjada. Apresentou rendimento de 60%. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 14.81 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 8.61 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), (m, *J* = 52.2, 22.0, 8.0 Hz, 3H), 7.86 (m, *J* = 22.9, 7.4 Hz, 4H), 7.86 (3, *J* = 22.9, 7.4 Hz, 4H), 7.77 – 7.30 (m, 3H). **IV** 3276, 1566, 1503, 992, 961, 739, 722, 693, 665 cm<sup>-1</sup>.

### 2-amino-*N*-(1-fenyletil)benzamida **5**

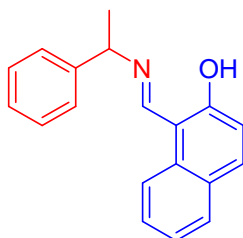


140 °C.

O composto **5** é o intermediário na reação de obtenção do sirtinol. Foi obtido na forma sólida e coloração branca. Apresentou 49% de rendimento. O composto é encontrado comercialmente pelo CAS 85592-80-9. **RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.51 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.60 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.45 – 7.08 (m, 6H), 6.77 – 6.61 (s, 1H), 6.53 (t, 1H), 6.28 (s, 1H), 5.26 – 5.03 (t, 1H), 1.46 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H). **IV** 3304, 3190, 566, 1536, 1484, 719, 676  $\text{cm}^{-1}$ . **PF**: 138 -

### (*E*)-1-((1-feniletilimino)metil)naftalen-2-ol **5a**

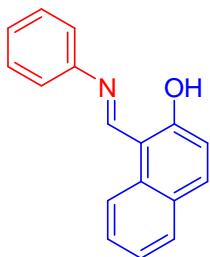
O composto **5a** foi preparado de acordo com o procedimento geral B. O produto foi obtido na



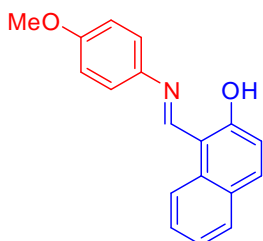
forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 97% de rendimento. **RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.86 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 7.70 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.54 (dd,  $J = 23.2, 8.5$  Hz, 2H), 7.26 (m, 5H), 6.86 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 4.63 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H), 1.68 (t,  $J = 31.9$  Hz, 3H). **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  173.95 (C-OH), 156.98 (HC=N), 142.59, 136.75, 133.63, 129.13, 127.85, 126.46 (d,  $J = 18.7$  Hz), 123.98, 122.86, 118.11, 107.18, 77.52, 77.10, 76.68, 63.39 (C-N), 24.26 ( $\text{CH}_3$ ). **IV** 3190, 1574, 1557, 1482, 1171, 737, 724, 676  $\text{cm}^{-1}$ . **PF**: 214 - 216 °C.

### (*E*)-1-((fenilimino)metil)naftalen-2-ol **5b**

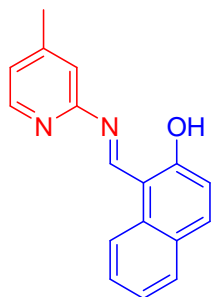
O composto **5b** foi preparado de acordo com o procedimento geral B. O produto foi obtido na



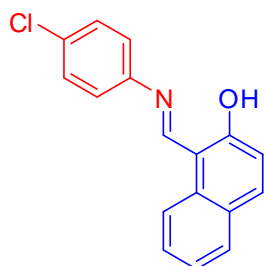
forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 91% de rendimento. **RMN**  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  15.36 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 7.94 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.61 (dd,  $J = 25.0, 8.4$  Hz, 3H), 7.42 – 7.28 (m, 5H), 7.27 – 7.09 (m, 5H), 6.95 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H), **RMN**  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.84 (C-OH), 154.40 (HC=N), 145.06 (C-N), 136.82, 133.33, 129.69, 129.39, 128.10, 127.29, 126.51, 123.54, 122.46, 120.24, 118.84, 108.81, 80.41, 68.57. **IV** 2821, 1560, 1534, 1300, 1262, 1104, 732  $\text{cm}^{-1}$ . **PF**: 129 - 132 °C

**(E)-1-((4-metoxifenilimino)metil)naftalen-2-ol 5c**

O composto **5c** foi preparado de acordo com o procedimento geral B. O produto foi obtido na forma líquida extremamente densa, com coloração amarela. Apresentou 39% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 15.66 (s, 1H), 9.35 (s, 1H), 8.16 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 7.93 – 7.69 (m, 2H), 7.54 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 7.38 (s, 3H), 7.07 (d, *J* = 27.2 Hz, 3H), 3.88 (s, 3H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 168.97 (C-OH), 158.50 (C=O), 153.83 (C=N), 138.71, 135.66, 132.95, 129.23, 127.80, 127.26, 123.26, 121.88, 121.51, 118.79, 55.49 (O-CH<sub>3</sub>). **IV** 3272, 1568, 1469, 981, 922, 720, 687 cm<sup>-1</sup>.

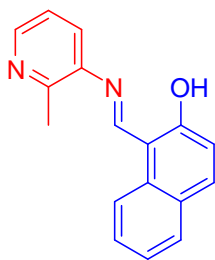
**(E)-1-((4-metilpiridin-2-ilimino)metil)naftalen-2-ol 5d**

O composto **5d** foi preparado de acordo com o procedimento geral B. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 80% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15.38 (s, 1H), 9.94 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 8.34 (d, *J* = 5.1 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.74 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.51 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.31 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H + CDCl<sub>3</sub>), 6.92 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 2.41 (s, 3H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 179.02 (C-OH), 152.75 (C=N), 150.05 (C-N), 148.59 (C=N), 139.2, 134.20, 129.29, 128.47, 126.93, 124.91, 123.82, 122.27, 119.31, 116.34, 108.67, 21.01 (CH<sub>3</sub>). **HRMS** calculada para [C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O + H]<sup>+</sup>: 263,11; Massa encontrada: 263,11. **IV** 2935, 1566, 1551, 1486, 1272, 1244, 1207, 728 cm<sup>-1</sup>. **PF**: 224 - 226 °C.

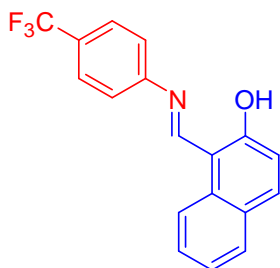
**(E)-1-((4-clorofenilimino)metil)naftalen-2-ol 5e**

O composto **5e** foi preparado de acordo com o procedimento geral B. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 74% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 14.88 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 7.66 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.42 (d, *J* = 2.1 Hz, 4H), 7.35 (s, 1H), 7.27 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.06 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 173.57 (C-OH), 157.08 (C=N), 136.94, 129.42 – 128.89 (d, C-Cl), 127.92, 126.49, 123.76, 122.94, 118.10, 77.43, 77.00, 76.58. **IV** 2836, 1559, 1443, 1270, 1145, 806, 726, 678 cm<sup>-1</sup>. **PF**: 122 - 125 °C.

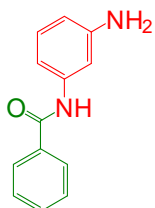


**(E)-1-((2-methylpyridin-3-ylimino)methyl)naphthalen-2-ol 5f**

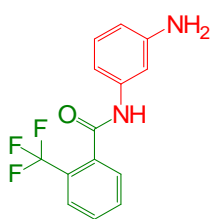
O composto **5f** foi preparado de acordo com o procedimento geral B. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 67% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15.02 (s, 1H), 9.30 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 27.1 Hz, 1H), 7.79 (d, *J* = 16.9 Hz, 1H), 7.69 -7.48 (m, *J* = 11.5 Hz, 3H), 7.31 – 7,17 (m, *J* = 10.6 Hz, 3H), 2.65 (s, 3H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.88 (C-OH), 157.81(C=N), 152.49 (C-CH<sub>3</sub>), 146.50 (C-N), 142.07 (C-N), 136.52, 132.88, 129.46, 128.24, 127.66, 125.07, 123.84, 122.25, 120.80, 119.03, 109.41, 77.46, 77.04, 76.61, 21.10 (CH<sub>3</sub>). **IV** 2836, 1559, 1445, 1283, 808, 726, 715, 674 cm<sup>-1</sup>. **PF**: 123 - 126 °C.

**(E)-1-((4-(trifluorometil)fenilimino)metil)naftalen-2-ol 5g**

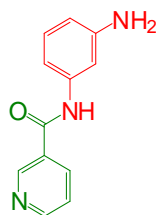
O composto **5g** foi preparado de acordo com o procedimento geral B. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 57% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 15.19 (s, 1H), 9.30 (d, *J* = 45.4 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.59 (dd, *J* = 20.0, 8.4 Hz, 2H), 7.36 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.25 – 7.09 (m, 3H), 6.99 (t, *J* = 8.5 Hz, 3H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 167.84 (C-OH), 162.99 (s), 159.73 (C-N), 155.72 (C=N), 142.47, 136.12, 133.04, 129.36 - 127.48 (CF<sub>3</sub>), 123.55, 122.02, 121.34, 119.01, 116.57, 116.38, 108.99. **IV** 2946, 1566, 1452, 1188, 1119, 795, 728, 720 cm<sup>-1</sup>. **PF**: 119 - 122 °C.

**N-(3-aminofenil)benzamida - intermediário 7b**

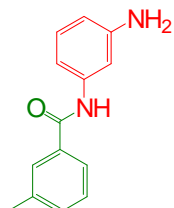
O composto **7b** (CAS 16091-26-2) foi preparado de acordo com a primeira etapa do procedimento geral C. O produto foi obtido na forma líquida extremamente densa, com coloração amarela. Apresentou 96% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.06 (s, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.83 – 6.61 (m, 4H), 6.54 – 6,06 (m, 4H), 5.29 (s, 2H).

***N*-(3-aminofenil)-2-(trifluorometil)benzamida - intermediário 7c**

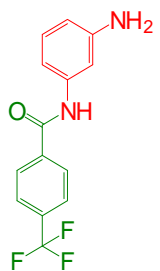
O composto **7c** (CAS 926233-78-5 / PubChem CID: 16774950) foi preparado de acordo com a primeira etapa do procedimento geral C. O produto foi obtido na forma líquida, com coloração amarela. Apresentou 87% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.32 (s, 1H), 7.10 (dd, *J* = 10.9, 4.9 Hz, 1H), 7.04 – 6.93 (m, 4H), 6.68 (d, *J* = 1.6 Hz, 1H), 6.50 – 6.43 (m, 2H), 5.91 – 5.86 (s, 2H).

***N*-(3-aminofenil)nicotinamida - intermediário 7d**

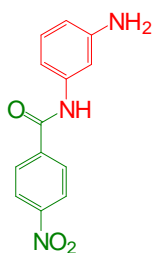
O composto **7d** (CAS 63556-12-7) foi preparado de acordo com a primeira etapa do procedimento geral C. O produto foi obtido na forma líquida extremamente densa, com coloração amarela. Apresentou 75% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.92 (dd, *J* = 48.1, 23.0 Hz, 1H), 7.56 – 6.97 (m, 4H), 6.93 – 6.61 (m, 4H), 5.89 (s, 2H).

***N*-(3-aminofenil)-3-metilbenzamida - intermediário 7e**

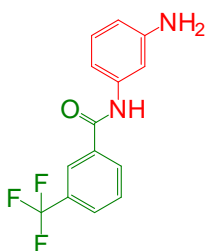
O composto **7e** (CAS 585517-66-4) foi preparado de acordo com a primeira etapa do procedimento geral C. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração marrom. Apresentou 97% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.19 (s, 1H), 7.42 – 6.73 (m, 4H), 6.64 – 6.47 (m, 4H), 5.93 (s, 2H), 3.16 – 3.08 (t, 3H).

***N*-(3-aminofenil)-4-(trifluorometil)benzamida - intermediário 7f**

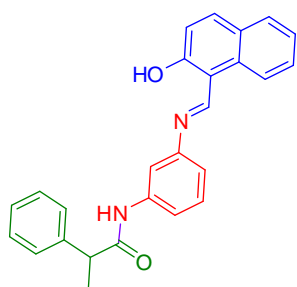
O composto **7f** (CAS 1011244-71-5) foi preparado de acordo com a primeira etapa do procedimento geral C. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 93% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.39 (s, 1H), 7.46 - 7.01 (m, 2H), 6.62 - 6.28(m, 6H), 5.81 (s, 2H).

***N*-(3-aminofenil)-4-nitrobenzamida - intermediário 7g**

O composto **7g** (CAS 105870-84-6) foi preparado de acordo com a primeira etapa do procedimento geral C. O produto foi obtido na forma líquida extremamente densa, com coloração marrom. Apresentou 90% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.36 (s, 1H), 7.73 – 7.38 (m, 6H), 6.47 (dd, 2H), 5.76 (s, 2H).

***N*-(3-aminofenil)-3-(trifluorometil)benzamida - intermediário 7h**

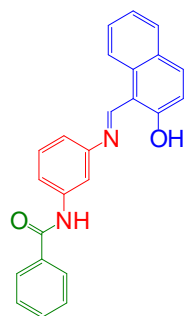
O composto **7h** (PubChem CID 20117519) foi preparado de acordo com a primeira etapa do procedimento geral C. O produto foi obtido na forma sólida, com coloração amarela. Apresentou 67% de rendimento. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.28 (s, 1H), 7.36 – 7.06 (m, 4H), 6.88 – 6.08 (m, 4H), 5.50 (s, 2H).

***(E)*-*N*-(3-((2-hidroxinaftalen-1-il)metileneamino)fenil)-2-fenilpropanamida (salermida) 8a**

O composto **8a** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido na forma sólida, com coloração amarela e rendimento de 86%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)-2-fenilpropanamida (7a). É obtido comercialmente pelo CAS number 1105698-15-4. **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 15.73 (s, *J* = 4.1 Hz, 1H), 12.01 (s, 1H), 10.82 (s, 1H), 9.76 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 8.93 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.55 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.20 – 7.74 (m, 6H), 7.69 – 7.19 (m, 6H), 7.02 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H), 1.33 (dt, *J* = 69.6, 11.7 Hz, 3H).

***(E)*-*N*-(3-(((2-hidroxinaftalen-1-il)metileno)amino)fenil)benzamida 8b**

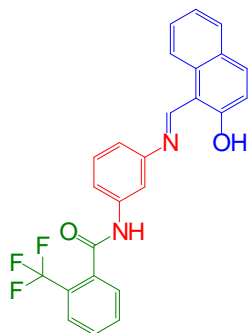
O composto **8b** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido na forma sólida, com coloração alaranjada e rendimento de 74%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)benzamida (7b). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO) δ 15.78 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 9.69 (d, *J* = 48.4 Hz, 1H), 8.50 (dd, *J* = 32.3, 8.4 Hz, 1H), 8.04 – 7.98 (m, 2H), 7.98 – 7.90 (m, 2H), 7.84 – 7.72 (m, 2H), 7.60 (dd, *J* = 5.0, 3.6 Hz, 1H), 7.57 (ddd, *J* = 5.1, 3.6, 2.2 Hz, 2H), 7.55 – 7.51 (m, 1H), 7.48 (dd, *J* = 4.0, 2.0 Hz, 2H), 7.40 – 7.31 (m, 1H), 7.02 (dd, *J* = 9.2, 2.4 Hz, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (101 MHz, DMSO) δ 173.19 (C-OH), 155.57 (C=O), 151.52 (C=N), 143.67, 142.65, 139.58, 139.32, 137.40, 129.78, 129.35, 127.44, 124.70, 123.98, 122.88,



120.66, 115.80. **HRMS** calculada para  $[C_{24}H_{18}N_2O_2 + H]^+$  367,14 Massa encontrada: 367,14. **IV** 3213, 1600, 1483, 1439, 1271, 998, 668  $cm^{-1}$ . **PF**: 202 – 204 °C.

**(E)-N-(3-(((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileno)amino)fenil)-2-(trifluorometil)benzamida 8c**

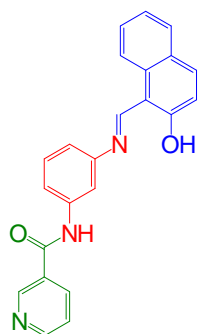
O composto **8c** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido



na forma sólida, com coloração marrom e rendimento de 74%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)-2-(trifluorometil)benzamida (**7c**). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO)  $\delta$  15.72 (s, 1H), 10.75 (s, 1H), 9.63 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 8.45 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.86 (dd, *J* = 9.9, 4.9 Hz, 2H), 7.80 (dd, *J* = 12.6, 4.4 Hz, 2H), 7.77 – 7.70 (m, 2H), 7.62 (dd, *J* = 5.4, 3.5 Hz, 1H), 7.53 (ddd, *J* = 13.2, 4.5, 2.6 Hz, 3H), 7.39 – 7.32 (m, 1H), 7.02 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (101

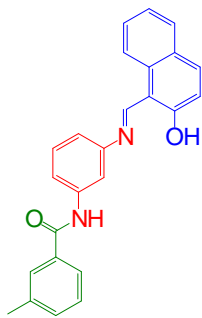
MHz, DMSO)  $\delta$  171.04 (C-OH), 166.29 (C=O), 156.18 (C=N), 144.93, 140.50, 137.50, 136.47, 133.57, 133.13, 130.66, 130.58, 129.53, 129.03, 128.64, 127.17, 126.90, 126.84 - 125.63 (CF<sub>3</sub>), 124.02, 122.91, 122.60, 120.65, 118.09, 115.48, 112.86, 108.94. **HRMS** calculada para  $[C_{25}H_{17}F_3N_2O_2 + H]^+$  435,12; Massa encontrada: 435,13. **IV** 3197, 1617, 1483, 1266, 1087, 752, 724, 674. **PF**: 169 – 172 °C.

**(E)-N-(3-(((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileno)amino)fenil)nicotinamida 8d**

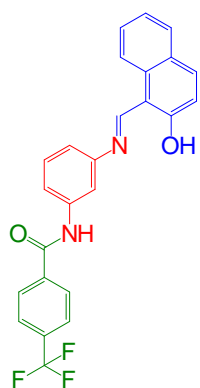


O composto **8d** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido na forma sólida, com coloração laranja e rendimento de 43%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)nicotinamida (**7d**). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO)  $\delta$  15.74 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H), 10.68 (s, 1H), 9.63 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 8.45 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.38 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 8.22 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.92 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 7.84 – 7.70 (m, 2H), 7.63 – 7.46 (m, 3H), 7.34 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.01 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H).

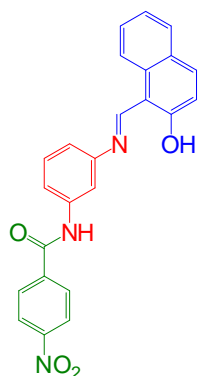
**RMN <sup>13</sup>C** (101 MHz, DMSO)  $\delta$  171.14 (C-OH), 164.44 (C=O), 155.97 (C=N), 149.69 (C-N), 144.71 (C-N), 140.76 (C=N), 140.33, 137.49, 133.57, 130.42, 129.61, 128.62, 127.15, 124.02, 122.63, 120.62, 118.89, 115.86, 113.57, 108.93, 40.62, 40.31, 39.99, 39.78, 39.57, 39.37. **IV**: 3197, 1550, 1478, 1260, 741, 691, 668. **PF**: 232 – 234 °C.

**(E)-N-(3-(((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileno)amino)fenil)-3-metilbenzamida 8e**

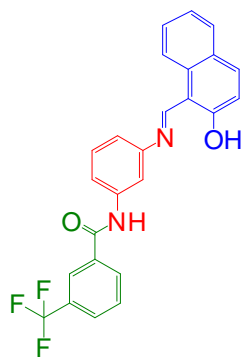
O composto **8e** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido na forma sólida, com coloração amarela e rendimento de 25%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)-3-metilbenzamida (**7e**). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO) δ 15.77 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 10.35 (s, 1H), 9.64 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 8.46 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 7.81 (dd, J = 4.3, 3.0 Hz, 2H), 7.76 (dd, J = 5.9, 5.4, 1.5 Hz, 2H), 7.58 – 7.52 (m, 1H), 7.48 (dd, J = 3.9, 1.9 Hz, 2H), 7.43 (dd, J = 4.6, 2.4 Hz, 2H), 7.40 – 7.31 (m, 1H), 7.02 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 2.42 (s, 3H). **RMN <sup>13</sup>C** (75 MHz, DMSO) δ 171.27 (C-OH), 155.87 (C=O), 144.61 (C=N), 138.25, 135.22, 133.61, 132.77, 130.35, 129.54, 128.82, 128.61, 127.15, 125.32, 124.01, 122.71, 120.63, 118.78, 113.31, 108.92, 21.44 (CH<sub>3</sub>). **HRMS** calculada para [C<sub>25</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> +H]<sup>+</sup> 381,15 Massa encontrada: 381,15. **IV**: 3180, 1600, 1539, 1478, 1277, 998, 970, 774, 668. **PF**: 234 – 236 °C.

**(E)-N-(3-(((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileno)amino)fenil)-4-(trifluorometil) benzamida 8f**

O composto **8f** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido na forma sólida, com coloração amarela e rendimento de 70%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)-4-(trifluorometil)benzamida (**7f**). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO) δ 15.72 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 10.76 (s, 1H), 9.64 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 8.46 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.87 (dd, J = 9.9, 4.9 Hz, 2H), 7.81 (dd, J = 12.6, 4.4 Hz, 2H), 7.75 (dd, J = 9.9, 7.8 Hz, 2H), 7.64 (dt, J = 6.4, 2.1 Hz, 1H), 7.59 – 7.47 (m, 3H), 7.40 – 7.33 (m, 1H), 7.03 (d, J = 9.2 Hz, 1H). **RMN <sup>13</sup>C** (101 MHz, DMSO) δ 171.17 (C-OH), 164.99 (C=O), 156.02 (C=N), 144.70, 140.46, 138.98, 137.51, 133.59, 131.82, 130.43, 129.53, 129.10, 128.64, 127.15, 125.94 - 125.91(CF<sub>3</sub>), 124.01, 122.65, 120.66, 118.88, 115.76, 113.54, 108.93, **HRMS** calculada para [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> +H]<sup>+</sup> 435,12. Massa encontrada: 435,13. **IV**: 3180, 1595, 1573, 1545, 1483, 1282, 1093, 836, 719. **PF**: 204 – 207 °C.

**(E)-N-(3-(((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileno)amino)fenil)-4-nitrobenzamida 8g**

O composto **8g** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido na forma sólida, com coloração marrom claro e rendimento de 85%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)-4-nitrobenzamida (7g). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 13.16 (s, 1H), 10.83 (s, 1H), 9.43 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 8.39 – 8.32 (m, 1H), 8.16 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 9.0, 2.2 Hz, 1H), 7.83 (dt, J = 11.8, 5.6 Hz, 2H), 7.74 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 7.66 – 7.59 (m, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 2H), 7.48 – 7.40 (m, 1H), 7.40 – 7.33 (m, 2H), 7.18 – 7.10 (m, 3H). **HRMS** calculada para [C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> +H]<sup>+</sup> 412,12; Massa encontrada: 412,19. **IV**: 3308, 1573, 1494, 1282, 998, 975, 825, 802. **PF**: 202 – 205 °C.

**(E)-N-(3-(((2-hidroxi-naftalen-1-il)metileno)amino)fenil)-3-(trifluorometil)benzamida 8h**

O composto **8h** foi preparado de acordo com a segunda etapa do procedimento geral C e foi obtido na forma sólida, com coloração amarela e rendimento de 25%. Foi proveniente da reação do 2-hidroxi-1-naftaldeído com o *N*-(3-aminofenil)-3-(trifluorometil)benzamida (7h). **RMN <sup>1</sup>H** (400 MHz, DMSO) δ 15.73 (s, 1H), 12.06 (s, 1H), 10.82 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.91 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 8.52 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 8.10 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.64 – 7.52 (m, 2H), 7.51 – 7.46 (m, 1H), 7.38 (dt, J = 14.8, 7.7 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 9.2 Hz, 1H). **HRMS** calculada para [C<sub>25</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> +H]<sup>+</sup> 435,12; Massa encontrada: 435,13. **IV**: 2957, 1573, 1271, 998, 802, 724, 696. **PF**: 280 – 283 °C.

**3.3. Ensaios biológicos**

Os ensaios biológicos apresentados foram realizados em colaboração com o Professor Sérgio Schenkman e executados pela Dra. Carolina Borsoi de Moraes da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de São Paulo.

Os derivados sintéticos obtidos neste trabalho, sendo 3 análogos de sirtinol, 7 análogos de salermida e 8 derivados de simplificação molecular, foram avaliados quanta a sua atividade antiparasitário e, também, a atividade total parasitária. No intuito de fazer uma triagem dos compostos mais ativos, foram realizados ensaios em dose única de 10 μM contra as formas do

clone YH10 e células U-2OS seguindo protocolo determinado pelo grupo de pesquisa.<sup>100</sup> Mesmo preliminares, os resultados obtidos foram promissores como pode ser observado nas tabelas **11** e **12**.

Na **tabela 11**, na qual são apresentados os valores referentes a 48 horas após a infecção, dos 20 compostos testados, 8 compostos tiveram inibição da atividade antiparasitária e inibição da atividade total do parasita acima de 50%, e outros 2 apresentaram inibição da atividade total do parasita acima de 50%, sendo um deles o protótipo sirtinol. Já quando avaliados após 96 horas de infecção, 10 compostos inibiram a atividade antiparasitária e inibição da atividade total do parasita acima de 50%, enquanto a maioria inibiu a atividade antiparasitário acima de 50%. Observa-se ainda que os compostos 5a, 5b, 5h e 5f são promissores tanto em 48 quanto em 96 horas após a infecção parasitária. Assim, notamos que quatro compostos oriundos da simplificação molecular, 5a, 5b, 5h, 5f e um análogo de salermida, 8f, inibiram a atividade de formas YH-10S do *T. cruzi* acima de 50% na dose de 10 µM. A partir disso, estes compostos serão testados em outras concentrações para determinação de potência e mecanismo de ação.

**Tabela 11.** Atividade antiparasitária após 48 horas.

Código	Descritor	Atividade antiparasitária	Proporção celular	Atividade total parasitária
benznidazol	Benz_dil1	44,22	1,08	86,54
4a (sirtinol)	EF44F	44,37	0,96	69,65
4b	EF45	56,14	1,06	70,03
4c	EF46	29,69	1,10	17,98
5	EF41A	24,20	1,13	22,70
5a	EF1F	64,22	1,09	75,69
5b	EF2F	20,18	1,18	-8,24
5c	EF4F	13,18	1,01	1,37
5d	EF8F	55,52	0,74	73,05
5e	EF14F	32,08	1,08	29,50
5f	EF16F	52,08	1,10	61,04
5g	EF36F	43,75	0,98	50,54
5h	EF9F	56,35	0,95	70,50
5i	EF34F	39,34	1,14	43,53
8b	EF23	25,97	1,14	16,19
8c	EF24	31,84	1,14	25,76
8d	EF25	24,59	1,05	-0,32
8e	EF26	16,10	1,01	8,85

<sup>100</sup> Moraes, C. B.; Giardini, M.A.; Kim, H.; Franco, C.H.; Araujo-Junior, A.M.; Schenkman, S.; Chatelain, E.; Freitas-Junior, L.H. *Scientific Reports*. **2014**, *4*, 4703.

8f	EF27	30,47	1,02	26,08
8g	EF28	21,05	0,99	8,46
8h	EF31	37,14	0,92	33,54
DMSO	DMSO	10,33	0,96	-26,03
Infec+PBS	Infec+PBS	7,43	1,10	-52,69
NonInfect	NonInfect	93,13	1,18	99,30

**Tabela 12.** Atividade antiparasitária após 96 horas.

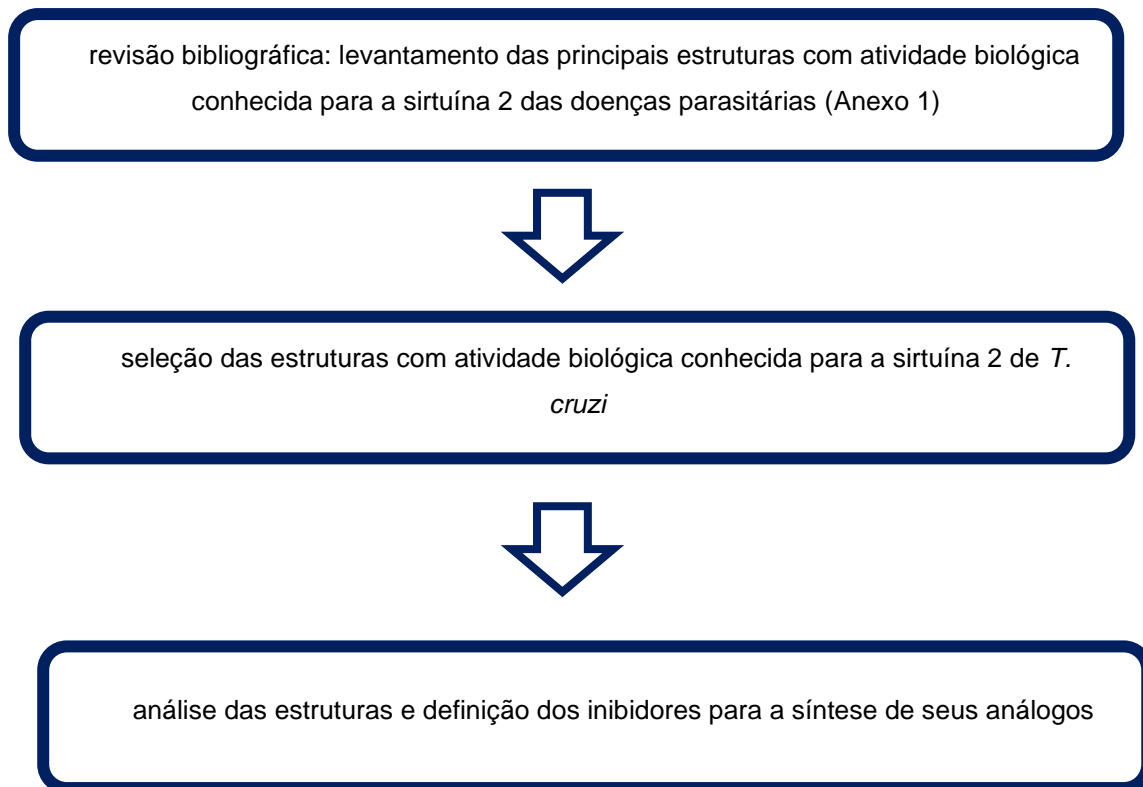
<b>Código</b>	<b>Descritor</b>	<b>Atividade antiparasitária</b>	<b>Proporção celular</b>	<b>Atividade total parasitária</b>
benznidazol	Benz_dil1	105,38	1,51	106,33
4a (sirtinol)	EF44F	77,34	1,19	-9,56
4b	EF45	80,61	1,11	25,77
4c	EF46	67,04	1,09	23,1
4d	EF48	78,73	1,07	52,21
5	EF41A	83,47	1,16	48,85
5a	EF1F	90,61	1,2	65,54
5b	EF2F	64,18	1,05	24,68
5c	EF4F	63,01	1,07	2,93
5d	EF8F	93,02	1,03	90,46
5e	EF14F	62,81	1,15	-23,88
5f	EF16F	80,9	1,11	39,34
5g	EF36F	58,57	1,03	0,61
5h	EF9F	87,83	1,02	77,51
5i	EF34F	76,23	1,13	42,31
8b	EF23	72,78	1,09	43,94
8c	EF24	77,52	1,16	52,53
8d	EF25	53,63	1,04	-17,33
8e	EF26	57,79	1,06	-5,55
8f	EF27	74,58	0,95	65,27
8g	EF28	64,07	1,04	15,63
8h	EF31	63,79	0,86	13,02
DMSO	DMSO	47,57	0,95	-16,18
Infec+PBS	Infec+PBS	51,88	1,11	-23,42
NonInfect	NonInfect	95,1	1,51	96,6



*EXPERIMENTAL*

## 4. EXPERIMENTAL

### 4.1. Estratégia de Planejamento – LBDD



### 4.2. Material

Equipamentos:

- Microrreator de fluxo contínuo com volume de 1000 µl de 3 entradas, adaptador de microrreator para Asia heater, bomba Asia de 2 canais, sistema de aquecimento e resfriamento do chip (-15 oC a 150 °C), controlador de pressão sistema Asia, cabeçote do chip para microrreatores, kit de tubos para Asia 110, microrreator – equipamento instalado no Laboratório de Compostos Heterocíclicos, responsável: Prof. Dr. Hélio Stefani
- HRMS: MALDI modelo Axima Performance (Shimadzu Co., Japão) – equipamento instalado no Instituto Butantã, responsável: Dr. Daniel C. Pimenta.
- Espectros de Infravermelho (IR): espectrofotômetro Agilent Technologies modelo Cary 630 FTIR.
- Ponto de fusão: Büchi Melting Point B-545
- HPLC Agilent Technologies 1260 Infinity Series

- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear BRUKER 300 MHz, modelo Advance DPX-300 e BRUKER 400 MHz
- Rotaevaporadores marca Büchi, modelos R210 e R205
- Bomba de alto vácuo, EDWARDS modelo nXDS6
- Bomba de vácuo/compressor de ar - Vacuubrand – ME 1C
- Câmara de ultra-violeta (UV)
- Lâmpada de radiação ultravioleta Spectroline, modelo ENF-260C
- Agitadores com aquecimento - Fisatom
- Soprador térmico - Instruterm – AS-300-220
- Balança semi-analítica
- Barras magnéticas
- Tubo capilar sem heparina (Precision Glass Inc.)
- Cromatoplasmas de sílica-gel 60 F254nm - Macherey-Nagel, Alugram® (20cm x 20cm x 0,20 mm)

Reagentes e solventes obtidos comercialmente através da Synth e Sigma Aldrich / Merck:

- *p*-anisidina **1a**
- 1-feniletanamina **1b**
- *p*-toluidina **1c**
- 2-(trifluorometil)anilina **1d**
- 4-metilpiridin-2-amina **1e**
- *1H*-indazol-6-amina **1f**
- 5-nitropiridin-2-amina **1g**
- 4-cloroanilina **1h**
- 2-metilpiridin-3-amina **1i**
- 4-trifluorometil anilina **1j**
- anilina **1k**
- 4-iodoanilina **1l**
- *m*-fenilenediamina **1m**
- anidrido isatóico **2**
- 2-hidroxi-1-naftaldeído **3**
- ácido fenilpropionico **6a**
- ácido benzóico **6b**
- 2-(trifluorometil)benzóico **6c**

- ácido nicotínico **6d**
- ácido 3-metilbenzóico **6e**
- 4-(trifluorometil)benzóico **6f**
- ácido 4-nitrobenzóico **6g**
- 3-(trifluorometil)benzóico **6h**
- *1H*-indol-3-ácido carboxílico **6i**
- ácido furóico **6j**
- ácido cinâmico **6k**
- acetato de etila (AcOEt)
- hexano
- benzeno
- tolueno
- etanol (EtOH)
- metanol (MeOH)
- Água (H<sub>2</sub>O)
- dimetilformamida (DMF)
- ácido acético glacial
- trietilamina (Et<sub>3</sub>N)
- benzotriazol-1-iloxitris (dimetilamino)fosfônio hexafluorofosfato (BOP)
- benzotriazol-1-iloxitripirrolidíniofosfônio hexafluorofosfato(Py-BOP)
- clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>)
- sulfóxido de dimetila deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>)
- sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>)
- cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl)
- sílica gel 60 (230-400 mesh - Merck)
- solução ácida de vanilina (5% de vanilina em 10% de ácido sulfúrico)

Softwares:

- Chemdraw Ultra 10.0
- Chem3D Pro 12.0
- MestreNova 7.0

### 4.3. Métodos

#### 4.3.1. Procedimento Geral A – Síntese do sirtinol e análogos em fluxo contínuo

Em um bequer de 5 mL foi pesado 0,25 mmol da amina com 0,25 mmol de anidrido isatóico (2) e dissolvido em 1 mL de EtOH. Em outro bequer de 5 mL os mesmos reagentes foram adicionados igualmente e também solubilizados em EtOH. Encheu-se a seringa 1 com a mistura do primeiro bequer e a seringa 2 com a mistura do segundo bequer. Injetou-se manualmente 1 mL em cada injetor do loop do microrreator. A reação ocorreu por difusão no chip com tempo de residência de 5 minutos. Foi acoplada uma mangueira na saída do coletor e o intermediário formado foi caindo gota a gota num balão de 25 mL sob agitação e temperatura de 80 °C. Neste balão foram adicionados 4 mL de EtOH e 3 mL de tolueno, 0,5 mmol de 2-hidroxi-1-naftaldeído (3), na presença de 100 µL de ácido acético glacial. A formação do produto ocorreu entre 2 e 3 horas após o início do gotejamento do intermediário no balão.

Purificação: Os produtos obtidos na forma sólida foram coletados, lavados e recristalizados de EtOH. Os produtos que foram obtidos na forma líquida foram purificados no Biotage, em coluna com sílica flash, num fluxo de 10 mL/min em acetato de etila / hexano num gradiente de 0% a 40% de AcOEt e foram caracterizados por RMN <sup>1</sup>H. Os compostos inéditos também foram caracterizados por RMN <sup>13</sup>C, infravermelho, espectrometria de massas e ponto de fusão.

#### 4.3.2. Procedimento Geral B – Síntese de pequenas moléculas

Em um bequer de 5 mL foi pesado 0,25 mmol da amina com 0,25 mmol de 2-hidroxi-1-naftaldeído (2) e dissolvido em 1 mL de EtOH. Em outro bequer de 5 mL os mesmos reagentes foram adicionados igualmente e também solubilizados em EtOH. Encheu-se a seringa 1 com a mistura do primeiro bequer e a seringa 2 com a mistura do segundo bequer. Injetou-se manualmente 1 mL em cada injetor do loop do microrreator. A reação ocorreu por difusão no chip com tempo de residência de 5 minutos.

Purificação: Os produtos obtidos na forma sólida foram coletados, lavados e recristalizados de EtOH. Os produtos que foram obtidos na forma líquida foram purificados no Biotage, em coluna com sílica flash, num fluxo de 10 mL/min em acetato de etila / hexano num gradiente de 0% a 40% de AcOEt e foram caracterizados por RMN <sup>1</sup>H. Os compostos inéditos também foram caracterizados por RMN <sup>13</sup>C, infravermelho, espectrometria de massas e ponto de fusão.

### 4.3.3. Procedimento Geral C – Síntese da salermida e análogos

Primeira etapa: num balao de 50 mL sob agitação constante em temperatura ambiente foram adicionados 5 mmol de *m*-fenilenodiamina, 5 mmol de ácido fenilpropionico, 5 mmol de Py-BOP e 12,5 mmol de trietilamina em 10 mL de DMF seco. Deixou-se a reação overnight e fez-se uma placa de CCD. Foram feitas as extrações com AcOEt / NH<sub>4</sub>Cl, lavado 3 vezes, filtrado com MgSO<sub>4</sub>, purificado no Combi Flash Rf 150 com sílica flash, fluxo de 10 mL, num gradiente de 0 a 50% de AcOEt / Hexano. O produto rotaevaporado e colocado na bomba de N<sub>2</sub> para a secagem e posteriores análises.

Segunda etapa: Num balão de 2 bocas sob agitação constante e em refluxo, adicionou-se 2,1 mmol do produto obtido na primeira etapa e 2,1 mmol de 2-hidroxi-1-naftaldeído em meio ácido. Foram utilizados 10 mL de benzeno e 20 mL de etanol como solvente da reação. Após 4 horas, o produto foi resfriado, rotaevaporado e purificado no Combi Flash Rf 150 com sílica flash, fluxo de 10 mL, num gradiente de 0 a 50% de AcOEt / Hexano. O produto rotaevaporado e colocado na bomba de N<sub>2</sub> para a secagem e foram caracterizados por RMN <sup>1</sup>H. Os compostos inéditos também foram caracterizados por RMN <sup>13</sup>C, infravermelho, espectrometria de massas e ponto de fusão.

### 4.3.4. Procedimento Geral D – Síntese do sirtinol *one-pot*

Num balão de 2 bocas sob agitação constante e em refluxo, 1 mmol de 1-feniletilamina (**1b**) com 1 mmol de anidrido isatóico (**2**) foram adicionados em EtOH como solvente e após 90 minutos, 1 mmol de 2-hidroxi-1-nataldeído (**3**) foi adicionado ao meio, na presença de ácido acético. Após 3 horas notou-se a formação produto, que foi obtido na forma sólida.

Purificação: O produto obtido foi coletado, lavado e recristalizado de EtOH e caracterizado por RMN <sup>1</sup>H.

## 4.4. Ensaio biológicos

Os ensaios estão sendo realizados na UNIFESP, seguindo a metodologia já descrita<sup>100</sup> pelo grupo do Professor Sérgio Schenkman.

Preparo dos compostos - Os compostos foram diluídos a 10 mM em 100% DMSO e estocado a -80 °C. Soluções diluídas a 100x a concentração final da placa de ensaio; foram duas vezes diluídos em série em 100% de DMSO, transferidos 6% para placas intermediárias de DMSO e, finalmente, plaqueadas num ensaio de 10 mL/poço para produzir 1% de DMSO, resultado final de

concentração que não teve efeito aparente no crescimento e viabilidade do parasita. Cada composto foi testado em 14 pontos de concentração contra o painel de cepas de *T. cruzi* e clones e 10 pontos em ensaios de time-kill. Os compostos foram diluídos antes de cada experimento, e cada concentração testada foi ensaiada em três poços por placa.

Ensaio de atividade antiparasitária - Células U2OS em  $1,75-2,5 \times 10^4$  células/mL. Os meios foram semeados em placas pretas de fundo chato de 384 poços, a 40 mL/poço, e infectado 24 h depois com 10 mL de sobrenadante de culturas tripomastigotas de *T. cruzi* em uma razão de 4 (Dm28c e Y), 15 (Tulahuen), 20 (ERA cl2, 92-80 cl2 e CL Brener), ou 40 (ARMA 13 cl1) tripomastigotas para 1 célula U2OS semeada 24 h antes. As proporções tripomastigotas para células de mamífero utilizadas foram determinadas empiricamente e foram a proporção mínima necessária para atingir estatisticamente os níveis ideais de infecção distinguível. Após adição de tripomastigotas à cultura, a densidade tripomastigota final nos poços variou de  $5,6 \times 10^4 - 8 \times 10^4$  tripomastigotas/mL (Y e Dm28c),  $2,1-3 \times 10^5$  tripomastigotas/mL (Tulahuen),  $2,8-4 \times 10^5$  tripomastigotas/mL (ERA cl2, 92-80 cl2 e CL Brener) e  $5,6-8 \times 10^5$  tripomastigotas/mL (ARMA 13 cl1). Após 24 h de infecção/48 h após o primeiro plaqueamento das células, 10 mL de composto em solução de DMSO foram adicionados e as placas foram incubadas a 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C por tempo adicional (72 h para o Dm28c e 96 h para todas as outras estirpes ou clones). A concentração final de DMSO foi de 1% em todos os poços. Todas as placas incluíam vários poços de infecção na ausência de qualquer composto como controles negativos e poços não infectados (branco contendo apenas células U2OS) como controles positivos. Ao final dos períodos de exposição aos compostos, as placas foram fixadas com 4% de *para*-formaldeído por 15 a 30 minutos, seguido por uma etapa de lavagem automatizada com PBS usando uma lavadora Biotek EL402 (Biotek, Seul, Coreia do Sul) e coloração de DNA com DRAQ5™ para imagens de microscópio. As imagens foram adquiridas em OperettaH Confocal Microscópio (Perkin Elmer, EUA) usando uma objetiva 203 no modo não confocal. Os experimentos foram realizados em pelo menos duplicata (ou seja, dois testes independentes realizado em dias diferentes).

Ensaio time-kill - As células U2OS foram semeadas por poço em 40 mL de meio completo em 700 células/poço em placas pretas de fundo chato de 384 poços (Greiner Bio-One). No dia 2,  $2,8 \times 10^3$  de cepas de tripomastigotas foram adicionados por poço (proporção de 4 parasitas/célula) para um volume total de 50 mL/poço, seguido de plaqueamento 24 h depois. O volume final no poço foi de 60 mL. Várias placas replicadas foram preparadas em cada experimento e em cada ponto de tempo (começando logo após o plaqueamento dos compostos e repetido a cada 24 h, ou seja, as

culturas foram expostas ao composto por 48 ou 96 h); uma placa foi fixada. Os experimentos foram realizados em pelo menos duplicata.



*CONSIDERAÇÕES FINAIS*

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho descrito foi elaborado com a finalidade de sintetizar inibidores da enzima sirtuína 2 do parasita *T. cruzi*. Na primeira parte do projeto foi realizada uma busca na literatura por inibidores de Sir2 para o desenvolvimento de novos análogos através de *LBDD*.

Uma nova rota sintética foi desenvolvida para a síntese do sirtinol e análogos. O microrreator de fluxo contínuo foi utilizado no processo sintético, com o objetivo de adequar as condições para obtenção dos produtos de maneira rápida e com melhores rendimentos. Comparando com a forma tradicional da síntese, o uso do reator em fluxo apresentou resultados superiores em termos de tempo para realizar as reações, rendimentos e, também, a redução do resíduo gerado, viabilizando o seu uso para a criação de bibliotecas químicas.

Uma série de análogos do sitinol oriundos de simplificação molecular foi sintetizada. Esses compostos, com estrutura inédita, foram obtidos com rendimento satisfatório.

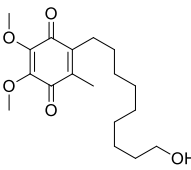
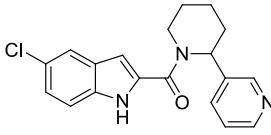
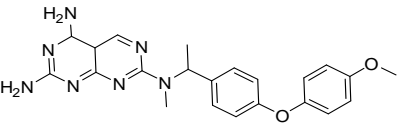
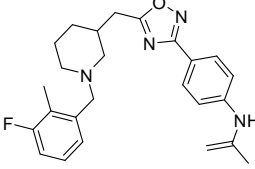
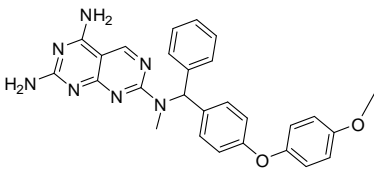
Uma série de análogos da salermida foram sintetizados e em sua maioria apresentaram bons rendimentos. Os compostos foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , infravermelho, espectrometria de massas e ponto de fusão. Essa etapa do trabalho foi realizada durante o estágio sanduiche na *University of East Anglia/UK*.

Estes novos compostos foram submetidos a testes *in vitro* em células infectadas pelo parasita *Trypanosoma cruzi* no laboratório do Professor Sérgio Schenkman, na UNIFESP. Vários compostos apresentaram resultados promissores, com inibição em 10  $\mu\text{M}$  e novos ensaios estão sendo realizados para determinação de potência e mecanismo de ação.

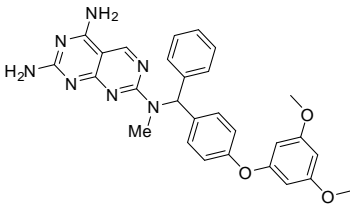
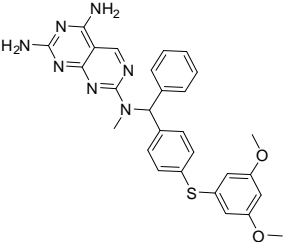
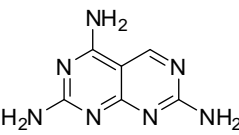
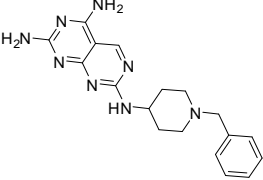
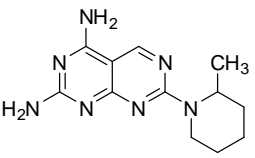
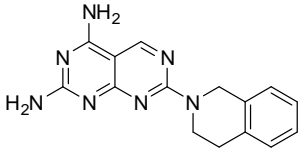
*ANEXOS*

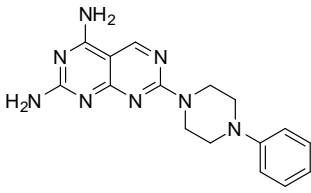
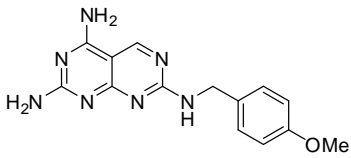
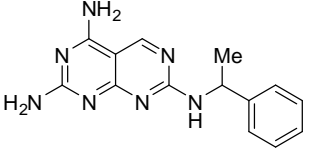
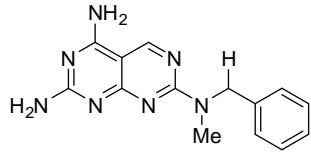
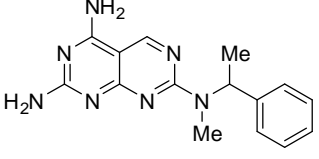
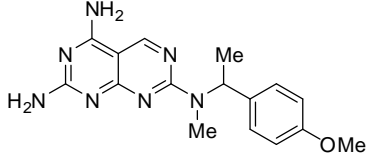
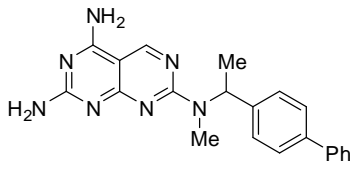
## ANEXOS

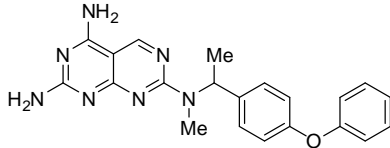
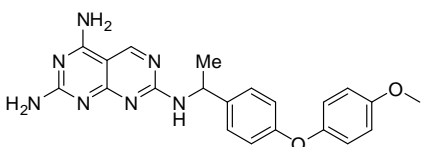
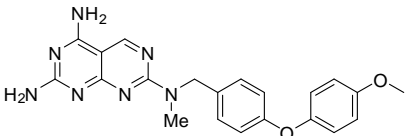
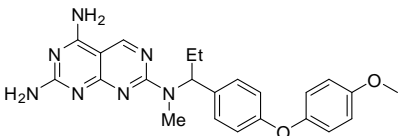
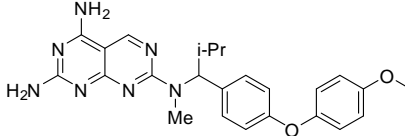
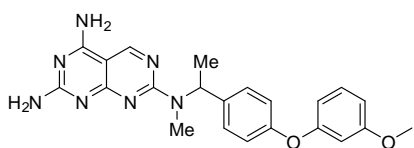
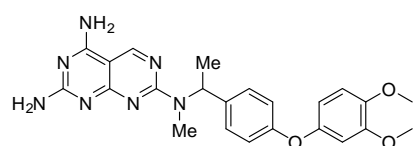
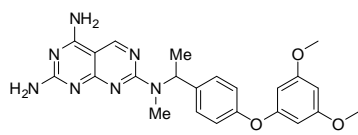
## Anexo 1. Inibidores conhecidos de sirtuína 2.

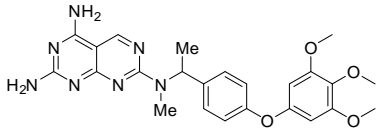
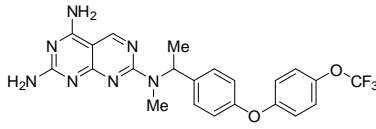
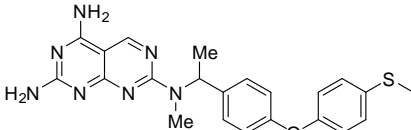
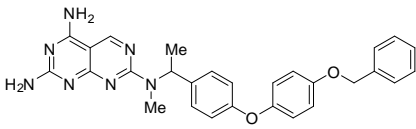
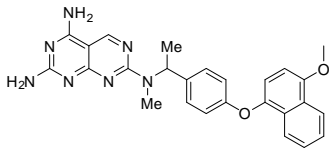
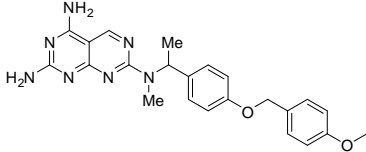
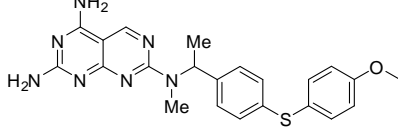
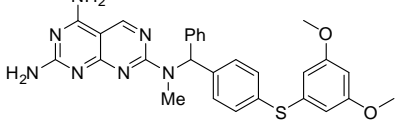
Parasita	Enzima	Estrutura / Composto	Inibição <i>in vitro</i> / <i>in vivo</i>	Referên- cia
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Idebenona 	SmSir2 IC <sub>50</sub> = 1.9 ± 0,3 μM hSir2 IC <sub>50</sub> = 15.4 ± 2.1 μM	101
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	TCMDC-143159 	SmSir2 IC <sub>50</sub> = 18.2 ± 3.7 μM hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (50 μM)	97
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	TCMDC-143295 (composto 7) 	SmSir2 IC <sub>50</sub> = 23.7 ± 9.6 μM hSir2 IC <sub>50</sub> = 21.9 ± 2.5 μM (25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> = 24.1 ± 1.4 μM (50 μM)	97
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	TCMDC-143362 (composto 6) 	SmSir2 IC <sub>50</sub> = 14.0 ± 2.0 μM hSir2 IC <sub>50</sub> = 3.6 ± 1.0 μM	97
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 29 	SmSir2 IC <sub>50</sub> 2.3 μM % in. em 25 μM hSir2 IC <sub>50</sub> = 22.1% in. em 25 μM	97

<sup>101</sup> Monaldi,D.; et al. *J. Med. Chem.* **2019**, 62, 8733-8759.

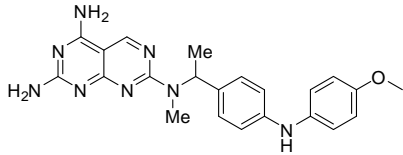
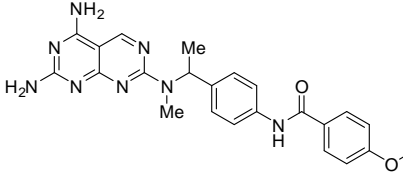
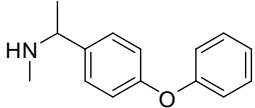
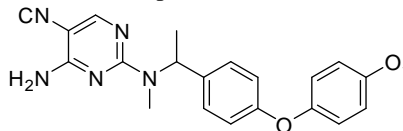
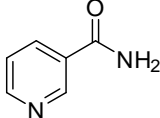
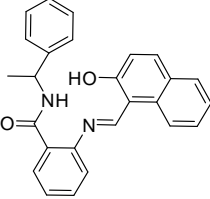
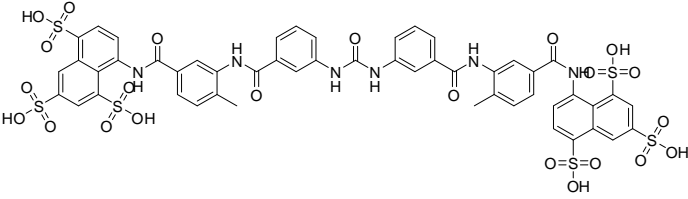
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 33	SmSir2 IC <sub>50</sub> 3.3 μM % in. em 25 μM hSir2 IC <sub>50</sub> = 29.6% in. em 25 μM	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 41	SmSir2 IC <sub>50</sub> 4.3 μM (% in em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> = 27.9% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 13	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 14	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> = 23.2 ± 0.8 % (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 15	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 16	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				

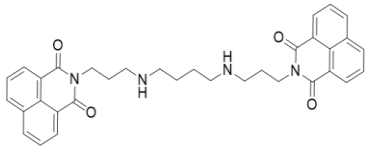
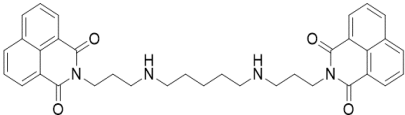
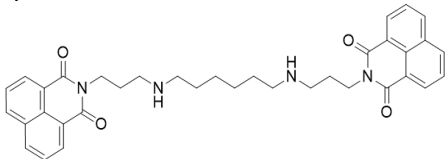
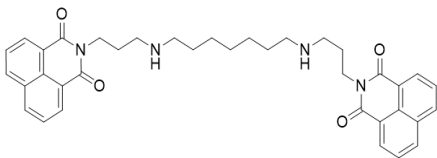
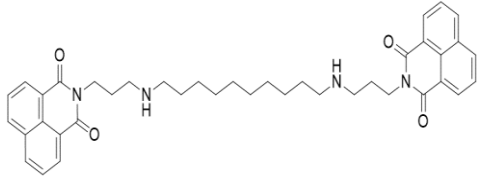
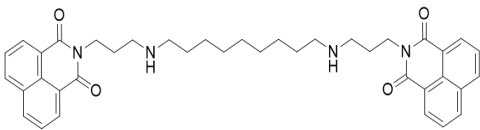
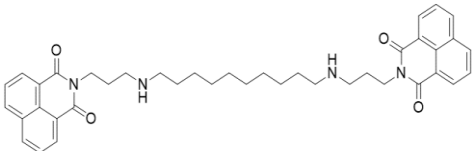
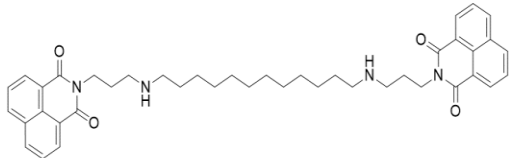
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 17	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 18	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 19	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 20	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 21	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 22	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 23	SmSir2 IC <sub>50</sub> 24.8 ± 2.2 % (in. em 25 μM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 μM)	97
				

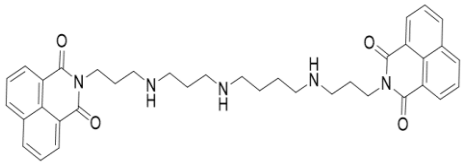
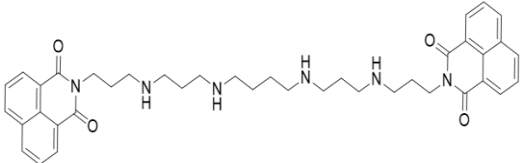
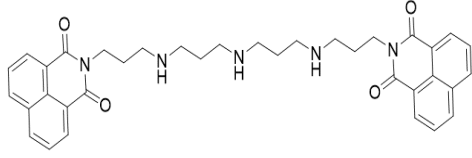
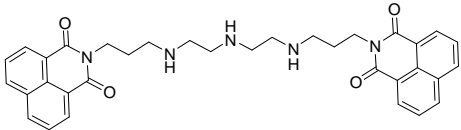
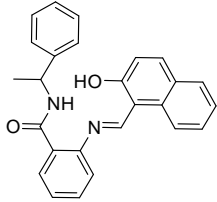
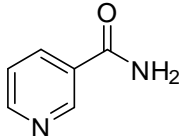
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 24	SmSir2 IC <sub>50</sub> 27.6 ± 2.8 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 25	SmSir2 IC <sub>50</sub> 37.6 ± 5.6 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 21.0 ± 3.4 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 26	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 27	SmSir2 IC <sub>50</sub> 12.8 ± 0.8 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 36.7 ± 7.7 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 28	SmSir2 IC <sub>50</sub> 27.7 ± 3.8 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 57.4 ± 5.2 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 30	SmSir2 IC <sub>50</sub> 23.1 ± 1.4 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 33.8 ± 0.4 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 31	SmSir2 IC <sub>50</sub> 44.7 ± 4.4 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 35.3 ± 4.9 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 32	SmSir2 IC <sub>50</sub> 12.5 ± 1.1 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 7.4 ± 3.9 % (in. em25 µM)	97
				

<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 34	SmSir2 IC <sub>50</sub> 30.8 ± 3.0 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 29.2 ± 3.9 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 35	SmSir2 IC <sub>50</sub> 20.3 ± 2.1 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 37.5 ± 4.8 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 36	SmSir2 IC <sub>50</sub> 49 ± 1.1 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 37	SmSir2 IC <sub>50</sub> 40.3 ± 5.2 % (in. em 25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 70.4 ± 4,2 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 38	SmSir2 IC <sub>50</sub> 18.4 ± 0,9 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 30.6 ± 0,2 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 39	SmSir2 IC <sub>50</sub> 46.2 ± 4.3 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 61.7 ± 5.3 % (in. em25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 40	SmSir2 IC <sub>50</sub> 14.9 ± 0,9 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 13.3± 1.6 % (in. em 25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 42	SmSir2 IC <sub>50</sub> 2.0 ± 0,1 % (in. em25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 21.5 ± 3.1 % (in. em 25 µM)	97
				

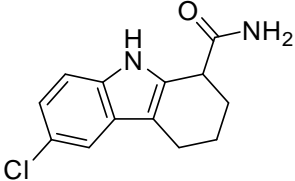
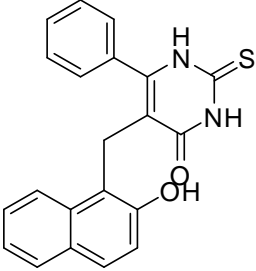
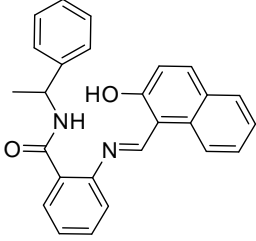


<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 43	SmSir2 IC <sub>50</sub> 65.1 ± 7.2% (in. em 25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> 40.8 ± 4.9% (in. em 25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 44	SmSir2 IC <sub>50</sub> 41.9 ± 2.2% (in. em 25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 46k	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 µM)	97
				
<i>Schistosoma sp</i>	SmSir2	Composto 47m	SmSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 µM) hSir2 IC <sub>50</sub> < 15% (in. em 25 µM)	97
				
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	Nicotinamida	IC <sub>50</sub> (LiSir2rp1) = 39.4 ± 5.0 µM IC <sub>50</sub> (hSir1) = 118.3 ± 23.6 µM	102
				
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	Sirtinol	IC <sub>50</sub> (LiSir2rp1) 193.8 ± 31.8 µM IC <sub>50</sub> (hSir1) 245.5 ± 3.5 µM	98
				
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	Suramina	IC <sub>50</sub> (LiSir2rp1) 6.8 ± 0.7 µM IC <sub>50</sub> (hSir1) 2.4 ± 0.5 µM	98
				

<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDabut	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 35.0 \pm 5.8 \mu\text{M}$ $IC_{50}(\text{hSir1}) 73.1 \pm 14.9 \mu\text{M}$	98	
					
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDapen	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 37.7 \pm 6.9 \mu\text{M}$ $IC_{50}(\text{hSir1}) 82.2 \pm 16.4 \mu\text{M}$	98	
					
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDaex	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 43.3 \pm 9.5 \mu\text{M}$ $IC_{50}(\text{hSir1}) 93.5 \pm 7.8 \mu\text{M}$	98	
					
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDahep	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 52.7 \pm 5.2 \mu\text{M}$ $IC_{50}(\text{hSir1}) 127.5 \pm 31.9 \mu\text{M}$	98	
					
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDaoct	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 9.2 \pm 1.4 \mu\text{M}$ $IC_{50}(\text{hSir1}) 116.5 \pm 23.3 \mu\text{M}$	98	
					
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDanon	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 5.7 \pm 0.2 \mu\text{M}$ $IC_{50}(\text{hSir1}) 97.4 \pm 4.9 \mu\text{M}$	98	
					
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDadec	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 11.2 \pm 1.6 \mu\text{M}$ $IC_{50}(\text{hSir1}) 113.8 \pm 22.7 \mu\text{M}$	98	
					
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDadodec	$IC_{50}(\text{LiSir2rp1}) 10.1 \pm 1.2 \mu\text{M}$   $IC_{50}(\text{hSir1}) 94.7 \pm 23.7 \mu\text{M}$	98	
					

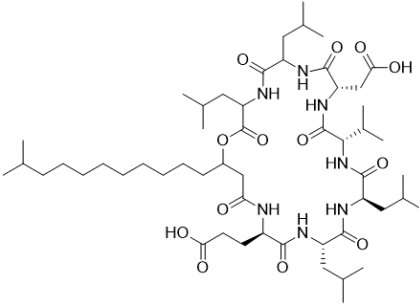
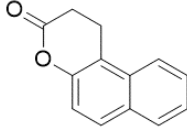
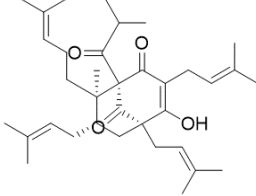
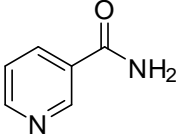
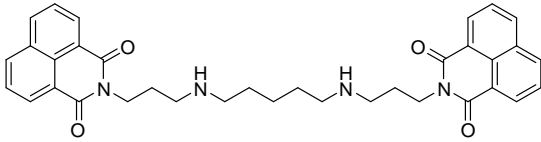
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPSpd	IC <sub>50</sub> (LiSir2rp1) 17.9± 1.6 µM   IC <sub>50</sub> (hSir1)94.8±23.7 µM	98
				
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPSpm	IC <sub>50</sub> (LiSir2rp1) 39.5± 6.5 µM   IC <sub>50</sub> (hSir1)102.2±31.9 µM	98
				
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDpta	IC <sub>50</sub> (LiSir2rp1) 32.8± 2.4 µM   IC <sub>50</sub> (hSir1) 43.1 ± 9.3 µM	98
				
<i>Leishmania</i>	LiSir2rp1	BNIPDeta	IC <sub>50</sub> (LiSir2rp1) 54.7± 15.7 µM   IC <sub>50</sub> (hSir1)182.8 ±22.2 µM	98
				
<i>Leishmania</i>	LdSir2rp2	Sirtinol	Promastigotas Tipo Selvagem = 10.8 ± 2.5 µM DLdSir2rp2 = 7.6 ± 1.4* µM D LdSir2rp2/+ = 13.9 ± 3.3 µM Amastigotas Tipo Selvagem = 5.0 ± 1.5 µM DLdSir2rp2 = 3.2 ± 0.13 µM DLdSir2rp2/+ = 8.7 ± 3.16 µM Macrófagos Murinos J774A.1 = 21.6 ± 3.2 µM	103
				
<i>Leishmania</i>	LdSir2rp2	Nicotinamida	Promastigotas Tipo Selvagem = N.D. DLdSir2rp2 = N.D. DLdSir2rp2/+ = N.D. Amastigotas Tipo Selvagem = 8.8 ± 4.4 mM DLdSir2rp2 = 5.1 ± 2.2 mM DLdSir2rp2/+ = 9.2 ± 3.2 mM	99
				

<sup>103</sup> Mittal, N.; Muthuswami. R.; Madhubala, R. *PLoS Negl Trop Dis.* **2017**, *11*(5): e0005590.

		Murine Macrophages		
		J774A.1 = 29.2 ± 5.3 mM		
<i>Leishmania</i>	LdSir2rp2	EX-527	Promastigotas	99
			Tipo Selvagem = 157 ± 3.1 μM DLdSir2rp2 = 80 ± 2.5 μM DLdSir2rp2/+ = 101 ± 2.9 μM Amastigotas Tipo Selvagem = 8.8 ± 4.4 mM 5.7 ± 3.4 μM D LdSir2rp2 = 2.8 ± 0.2 μM D LdSir2rp2/+ = 7.9 ± 2.6 μM Macrófagos murinos J774A.1 = 157 ± 4.4 μM	
<i>Leishmania</i>	LdSir2rp2	Cambinol	Promastigotas	99
			Tipo Selvagem = 19.7 ± 4.1 μM DLdSir2rp2 = 5.1 ± 6.8 μM DLdSir2rp2/+ = 15.5 ± 6.4 μM Amastigotas Tipo Selvagem = 1.7 ± 0.02 μM DLdSir2rp2 = 2.8 ± 0.2 μM DLdSir2rp2/+ = 2.4 ± 0.2 μM Macrófagos Murinos J774A.1 = 188 ± 11.6 μM	
<i>Plasmodium spp</i>	PfSir2A	Sirtinol	IC <sub>50</sub> ~ 9-13 μM (para inibição do crescimento do parasita)	104, 105
			IC <sub>50</sub> (Pfsir2A) = 51 μM (para inibição da enzima)	
<i>Plasmodium spp</i>	PfSir2A	Surfactina	IC <sub>50</sub> = 9 μM para inibição do crescimento do parasita	100
			IC <sub>50</sub> (Pfsir2A) = 35 μM (para inibição da enzima)	

<sup>104</sup> Chakrabarty, S. P.; Saikumari, Y. K.; Bopanna, M. P.; Balaram, H. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2008**, *158*, 139–151.

<sup>105</sup> Merrick, C. J.; Duraisingh, M. T. *Eukaryotic Cell.* **2007**, *6*, 2081–2091.

			$IC_{50}$ (hSir1) > 600 $\mu$ M (para inibição da enzima)	
<i>Plasmodium spp</i>	PfSir2A	Splitomicina 	$IC_{50}$ > 10 $\mu$ M para inibição do crescimento do parasita $IC_{50}$ (Pfsir2A) = 400 $\mu$ M (para inibição da enzima)	100, 101
<i>Plasmodium spp</i>	PfSir2A	Hiperforina 	$IC_{50}$ = 1.5-2 $\mu$ M para inibição do crescimento do parasita	106, 107, 108
<i>Plasmodium spp</i>	PfSir2A	Nicotinamida 	$IC_{50}$ ~ 9.9 mM (para inibição do crescimento do parasita) $IC_{50}$ (Pfsir2A) ~ 51 $\mu$ M (para inibição da enzima) $IC_{50}$ (hSir1) = 88-250 $\mu$ M (para inibição da enzima)	106, 109
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDapen 	(WT $EC_{50} \pm SD$ ) 1.77 $\pm$ 0.68 $\mu$ M (OE $EC_{50} \pm SD$ ) 7.94 $\pm$ 0.78	110

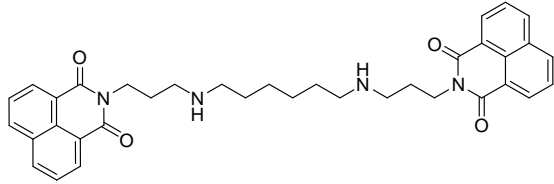
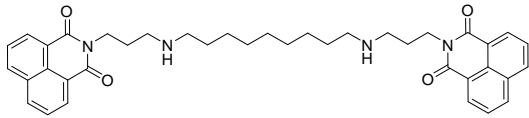
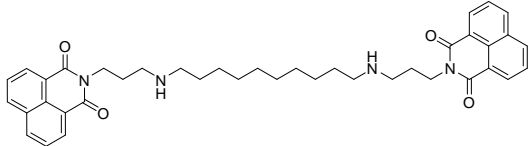
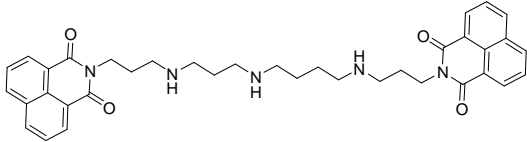
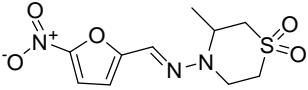
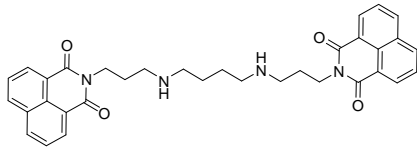
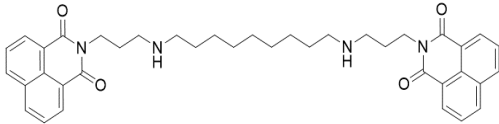
<sup>106</sup> Prusty, D.; Mehra P, Srivastava, S.; Shivange, A.V.; Gupta, A.; Roy, N.; Dhar, S. K. *FEMS Microbiol Lett.* **2008**, 282, 266–272.

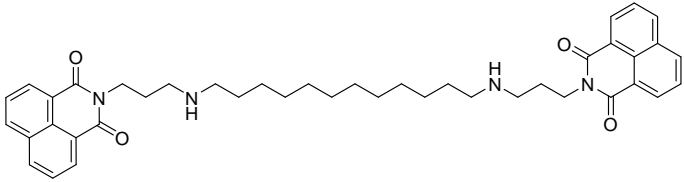
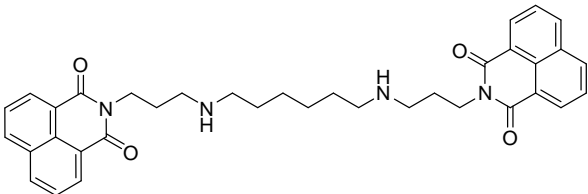
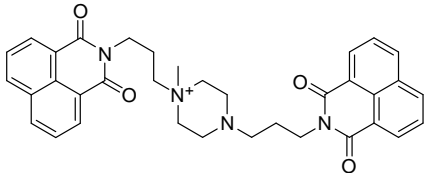
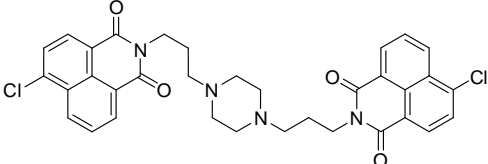
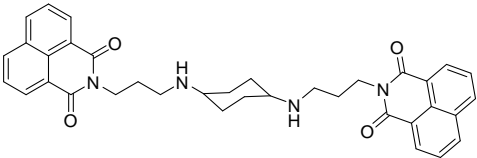
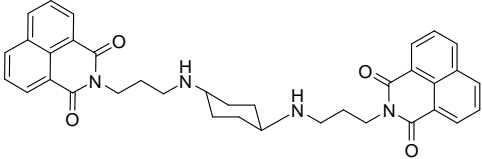
<sup>107</sup> Gey, C.; Kyrylenko, S.; Hennig, L.; Nguyen, N. H.; Büttner, A.; Pham, P. H.; Giannis, A. *Angew. Chem.* **2007**, 46, 5219–5222.

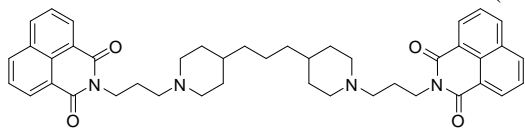
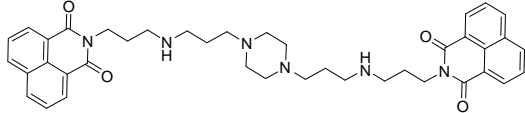
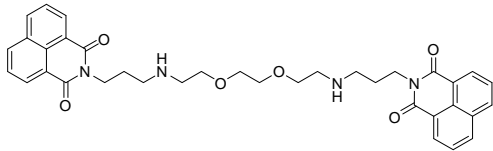
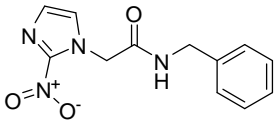
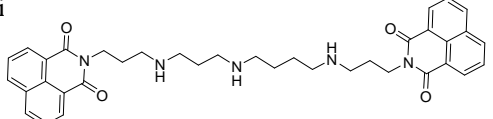
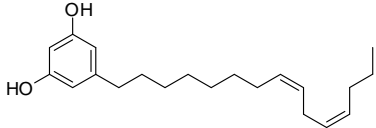
<sup>108</sup> Verotta, L.; Appendino, G.; Bombardelli, E.; Brun, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, 17, 1544–1548.

<sup>109</sup> Gebremedhin, S. H.; Forgione, D.R.M.; Sippl, W.; Rotili, D; Mai, A. *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 4780–4804.

<sup>110</sup> Gaspar, L.; Coron, R.P.; Kong, T.L.P.; Costa, D.M.; Perez-Cabezas, B.; Tavares, J.; et al. *PLoS Negl Trop Dis.* **2018**, 12(1): e0006180.

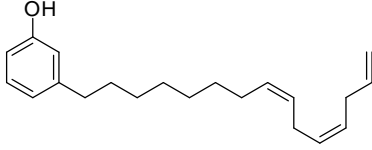
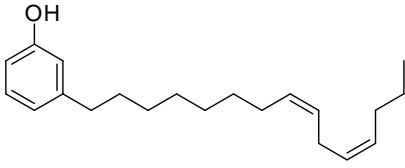
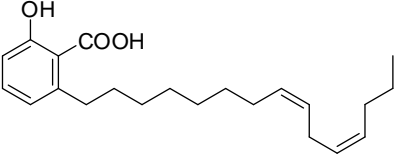
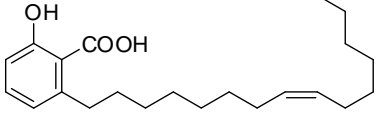
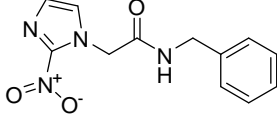
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDa <sub>hex</sub>	(WT EC <sub>50</sub> ± SD) 33.6 ± 1.5 μM (OE EC <sub>50</sub> ± SD) 102.3 ± 9.9 μM	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDa <sub>non</sub>	(WT ± SD) 23.4 ± 2.8 11 μM (OE EC <sub>50</sub> ± SD) 2.6 ± 8.2 μM	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDa <sub>dec</sub>	(WT EC <sub>50</sub> ± SD) 2.53 ± 0.41 μM (OE EC <sub>50</sub> ± SD) 2.97 ± 0.60 μM	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPSp <sub>d</sub>	(WT EC <sub>50</sub> ± SD) 13.3 ± 0.6 μM (OE EC <sub>50</sub> ± SD) 36,1 ± 1.5 μM	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	nifurtimox	(WT EC <sub>50</sub> ± SD) 2.11 ± 0.15 μM (OE EC <sub>50</sub> ± SD) 2.24 ± 0.14 μM	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDa <sub>b<sub>ut</sub></sub>	(EC <sub>50</sub> ± SD) 1.71 ± 0.23 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 2.91 ± 0.94 μM SI 1.7	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDa <sub>non</sub>	(EC <sub>50</sub> ± SD) 1.45 ± 0.37 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 2.35 ± 0.77 μM SI 1.7	106
				

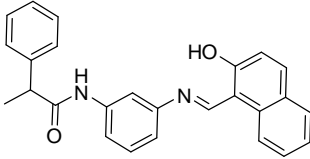
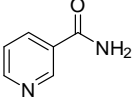
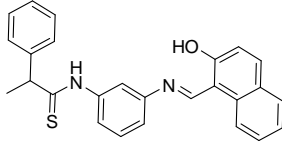
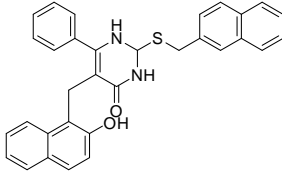
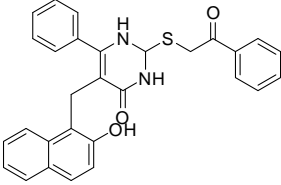
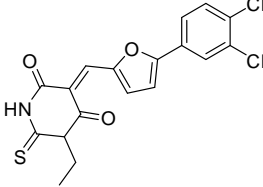
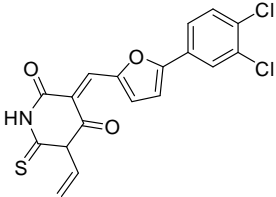
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDadodec	(EC <sub>50</sub> ± SD) 1.43 ± 0.10 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 1.91 ± 0.06 μM SI 1.3	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPSpd	(EC <sub>50</sub> ± SD) 2.84 ± 0.18 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 24.47 ± 0.45 μM SI 8.8	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDmPP	(EC <sub>50</sub> ± SD) 28.74 ± 4.09 (CC <sub>50</sub> ) > 50 μM SI > 1.7	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BCNIPP	(EC <sub>50</sub> ± SD) 0.59 ± 0.23 > 2.50 μM SI > 4.2	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	cis BNIP-1,4-Dacyhex	EC <sub>50</sub> 6.09 ± 0.14 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 8.74 ± 1.14 μM SI 1.4	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	trans BNIP-1,4-Dacyhex	EC <sub>50</sub> ± SD 0.78 ± 0.12 μM CC <sub>50</sub> > 2.50 μM SI > 3.2	106
				

<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDPP	(EC <sub>50</sub> ± SD) 1.45 ± 0.30 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 2.88 ± 0.12 μM SI 2.0	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDapp	(EC <sub>50</sub> ± SD) 13.58 ± 2.90 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 19.30 ± 5.64 μM SI 1.4	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	BNIPDaooxot	(EC <sub>50</sub> ± SD) 3.43 ± 0.57 μM (CC <sub>50</sub> ± SD) 7.37 ± 0.65 μM SI 2.1	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1	benznidazol	(EC <sub>50</sub> ± SD) 1.23 ± 0.30 (CC <sub>50</sub> ) > 100 μM SI > 81.0	106
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1 e TcSi	BNPSpd	TcSir2rp1 EC <sub>50</sub> = NA TcSir2rp3 EC <sub>50</sub> = NA Tripomastigota EC <sub>50</sub> = 23.36 ± 0.12 μM Amastigota EC <sub>50</sub> = 11.75 ± 0.40 μM hFIB CC <sub>50</sub> = 7.17 ± 0.10 μM SI = 4	111
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1 e TcSir2rp3	Composto 2	TcSir2rp1 EC <sub>50</sub> = 31.40 ± 2.33 μM TcSir2rp3 EC <sub>50</sub> = NA Tripomastigota EC <sub>50</sub> = 12.25 ± 0.25 μM Amastigota EC <sub>50</sub> = 14.70 ± 3.27 μM hFIB CC <sub>50</sub> = 53.70 ± 7.08 μM SI = 4	107
				

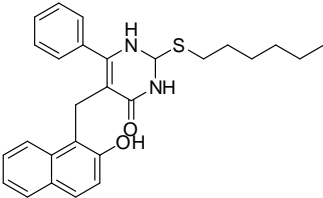
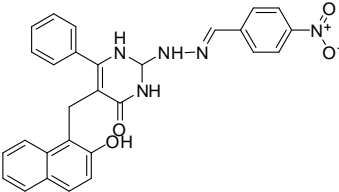
<sup>111</sup> Bastos, T.N.; Soares, M.P.S.; Franco, C.H.; Alcântara, L.; Antonini, L.; Sabatino, M.; Mautone, N.; Freitas-Junior L.H.; Moraes C.B.; Ragno, R.; Rotili, D.; Schenkman, S.; Mai, A.; Moretti, N.S.; *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 3659.



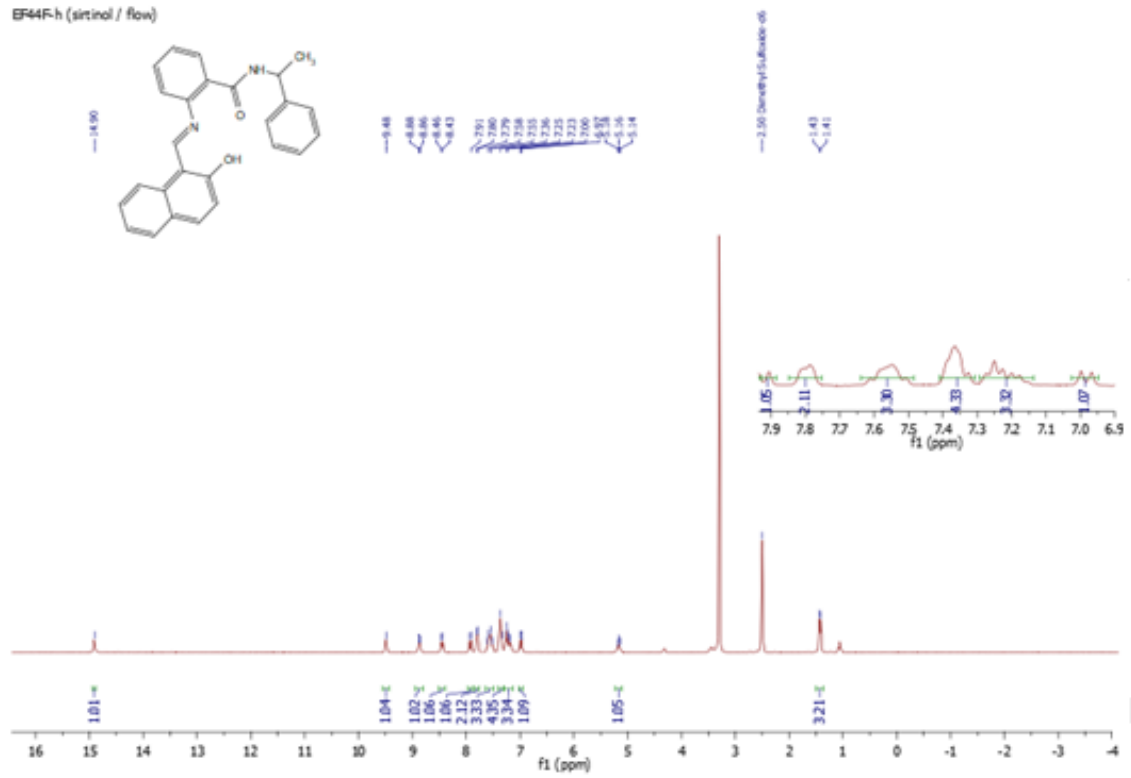
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1 e TcSir2rp3	Composto 3 	TcSir2rp1 EC <sub>50</sub> = NA TcSir2rp3 EC <sub>50</sub> = NA Tripomastigota EC <sub>50</sub> = NA Amastigota EC <sub>50</sub> = 46.98 ± 1.97 μM hFIB CC <sub>50</sub> > 100 SI > 2	107
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1 e TcSir2rp3	Composto 4 	TcSir2rp1 EC <sub>50</sub> = NA TcSir2rp3 EC <sub>50</sub> = NA Tripomastigota EC <sub>50</sub> = 43.52 ± 2.32 μM Amastigota EC <sub>50</sub> = 15.28 ± 2.00 μM hFIB CC <sub>50</sub> = 45.47 ± 0.27 μM SI = 3	107
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1 e TcSir2rp3	Composto 5 	TcSir2rp1 EC <sub>50</sub> = 23.35 ± 2.51 μM TcSir2rp3 EC <sub>50</sub> = 6.08 ± 1.16 μM Tripomastigota EC <sub>50</sub> = NA Amastigota EC <sub>50</sub> = 41.67 ± 5.53 μM hFIB CC <sub>50</sub> > 100 SI > 2	107
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1 e TcSir2rp3	Composto 6 	TcSir2rp1 EC <sub>50</sub> = 16.16 ± 4.88 μM TcSir2rp3 EC <sub>50</sub> = 7.41 ± 0.65 μM Tripomastigota EC <sub>50</sub> = NA Amastigota EC <sub>50</sub> = 42.39 ± 5.11 μM hFIB CC <sub>50</sub> > 100 SI > 2	107
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp1 e TcSir2rp3	benznidazol 	EC <sub>50</sub> 1.96 μM CC <sub>50</sub> > 200 μM SI = 102	107

<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp3	salermida	EC <sub>50</sub> ( <i>T. cruzi</i> ) = 10.6 μM para inibição do crescimento do parasita IC <sub>50</sub> = 1 μM para inibição da enzima	112
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp3	nicotinamida	EC <sub>50</sub> ( <i>T. cruzi</i> ) = 25.8 mM para inibição do crescimento do parasita	108
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp3	Composto 8	IC <sub>50</sub> ± SD 18.8 ± 5.34 μM	107
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp3	Composto 12	IC <sub>50</sub> ± SD 14.3 ± 6.06 μM	107
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp3	Composto 13	IC <sub>50</sub> ± SD 18.5 ± 1.97 μM	107
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp3	Composto 30	IC <sub>50</sub> ± SD 16.3 ± 9.54 μM	107
				
<i>Trypanosoma cruzi</i>	TcSir2rp3	Composto 32	IC <sub>50</sub> ± SD 16.4 ± 6.70 μM	107
				

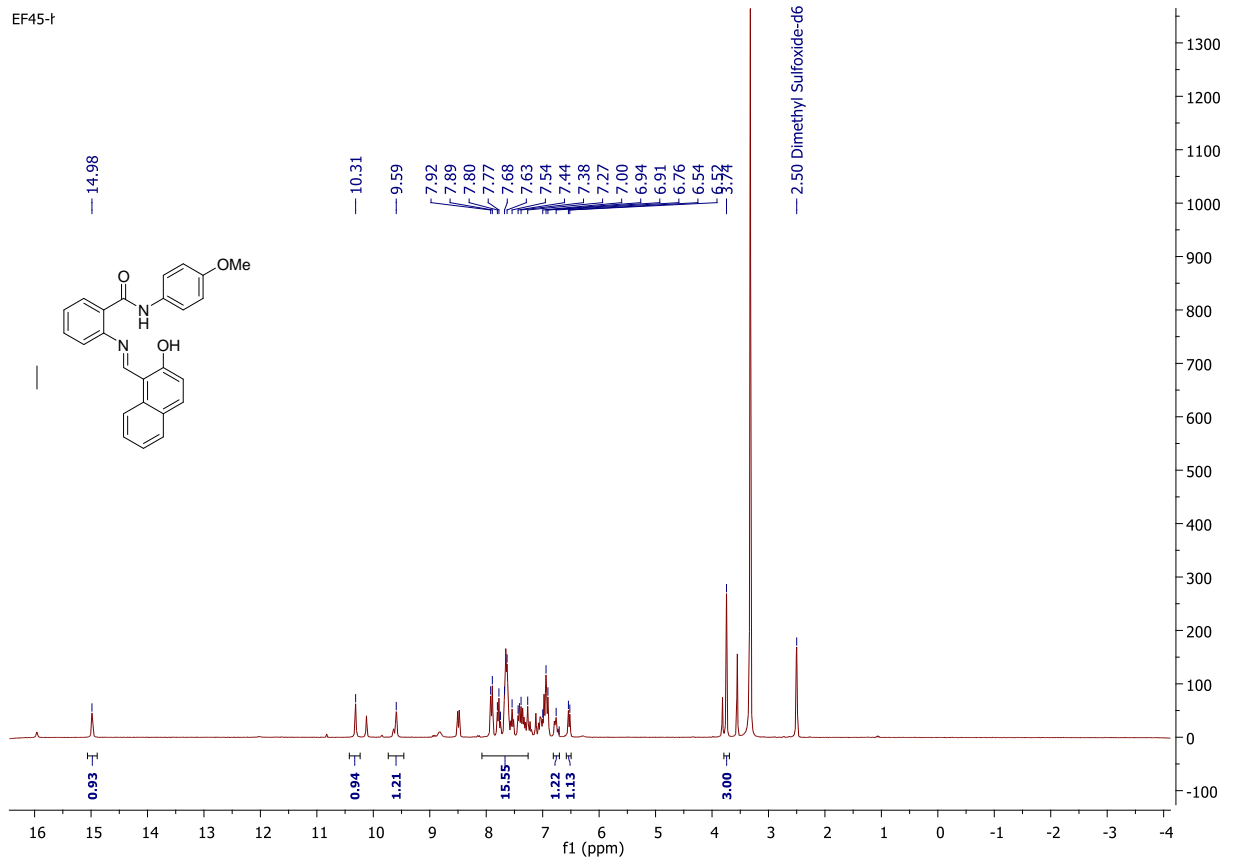
<sup>112</sup> Moretti, N. S.; da Silva Augusto, L.; Clemente, T. M.; Antunes, R. P.; Yoshida, N.; Torrecilhas, A. C.; Cano, M. I.; Schenkman, S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, *59*, 4669–4679.

<i>Trypanosoma</i> <i>cruzi</i>	TcSir2rp1	Composto 15	IC <sub>50</sub> ± SD 32.4 ± 7.88 μM	107
				
<i>Trypanosoma</i> <i>cruzi</i>	TcSir2rp1	Composto 17	IC <sub>50</sub> ± SD 25.5 ± 4.73 μM	107
				

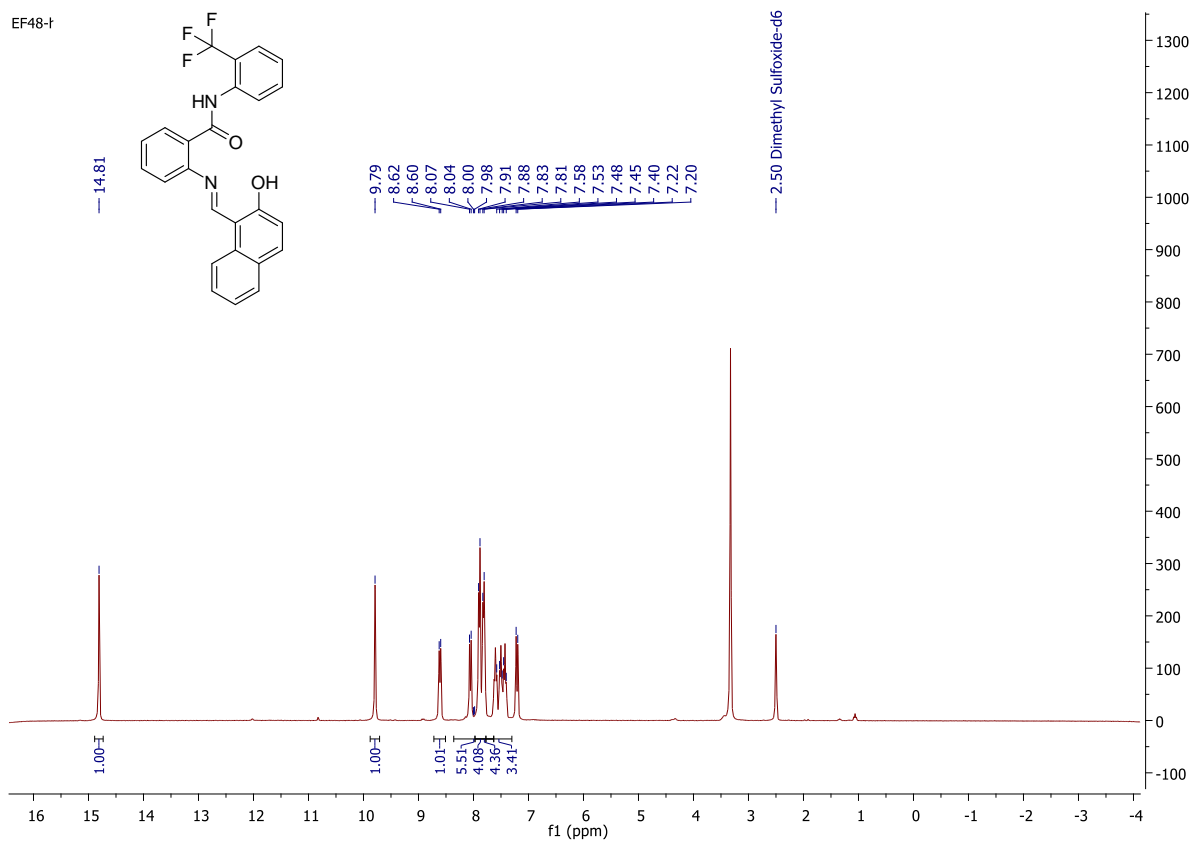
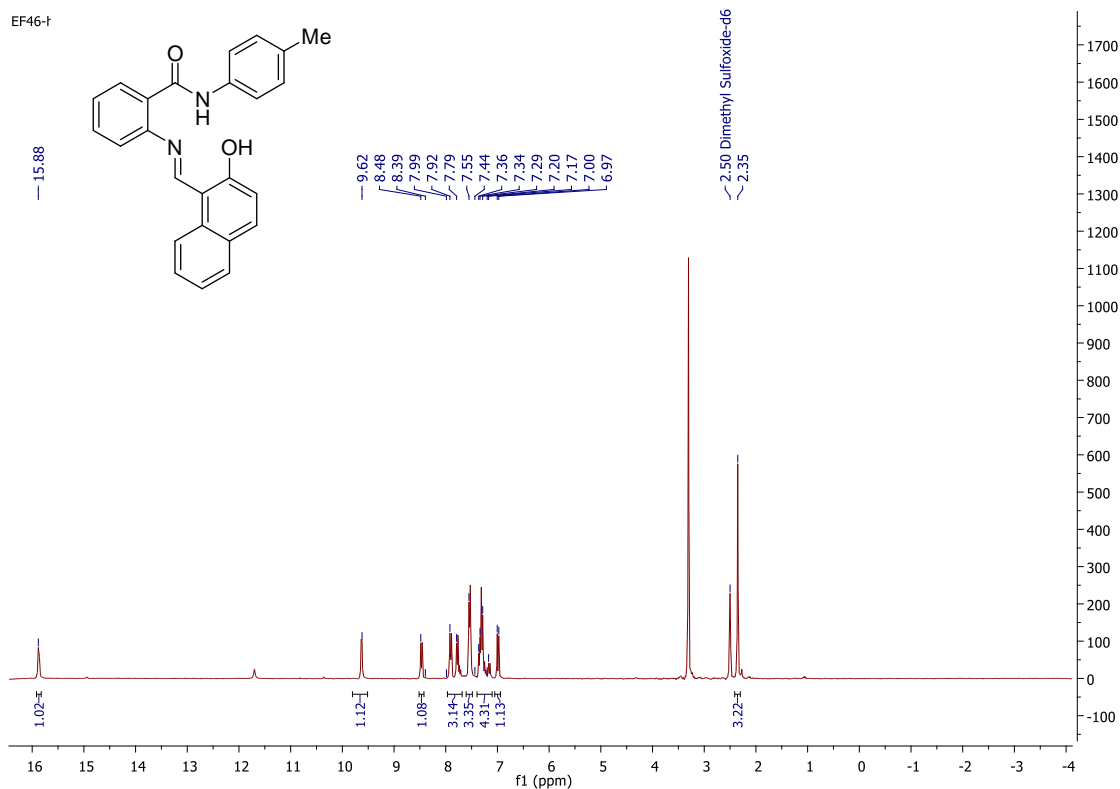
Anexo 2. RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C.

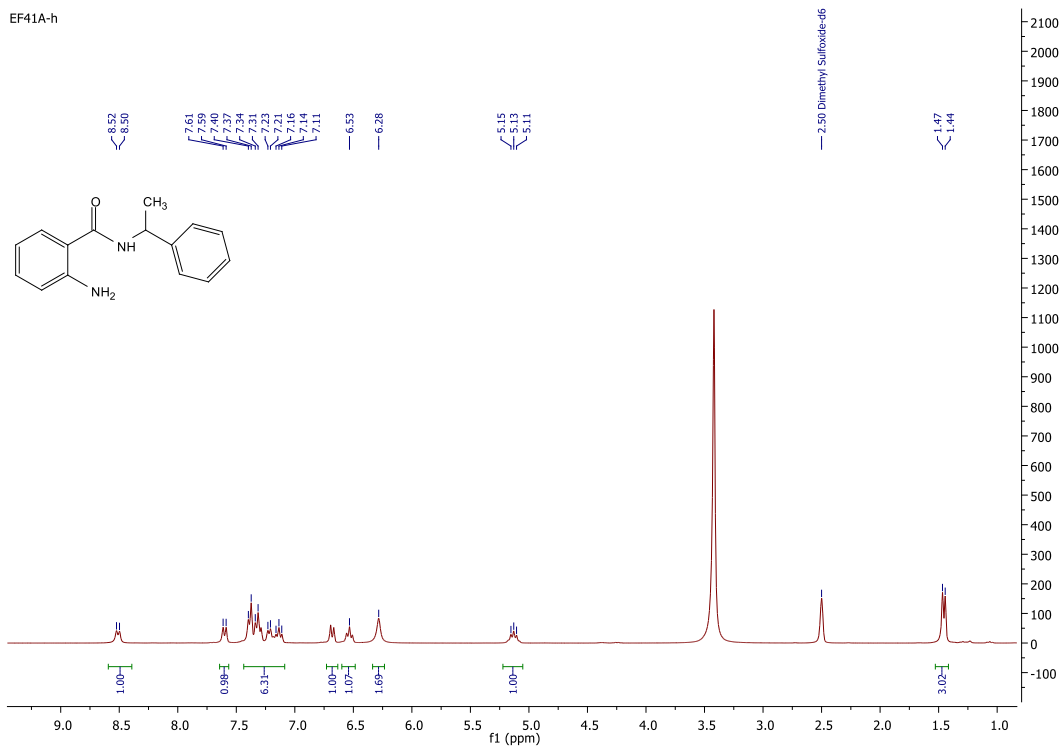
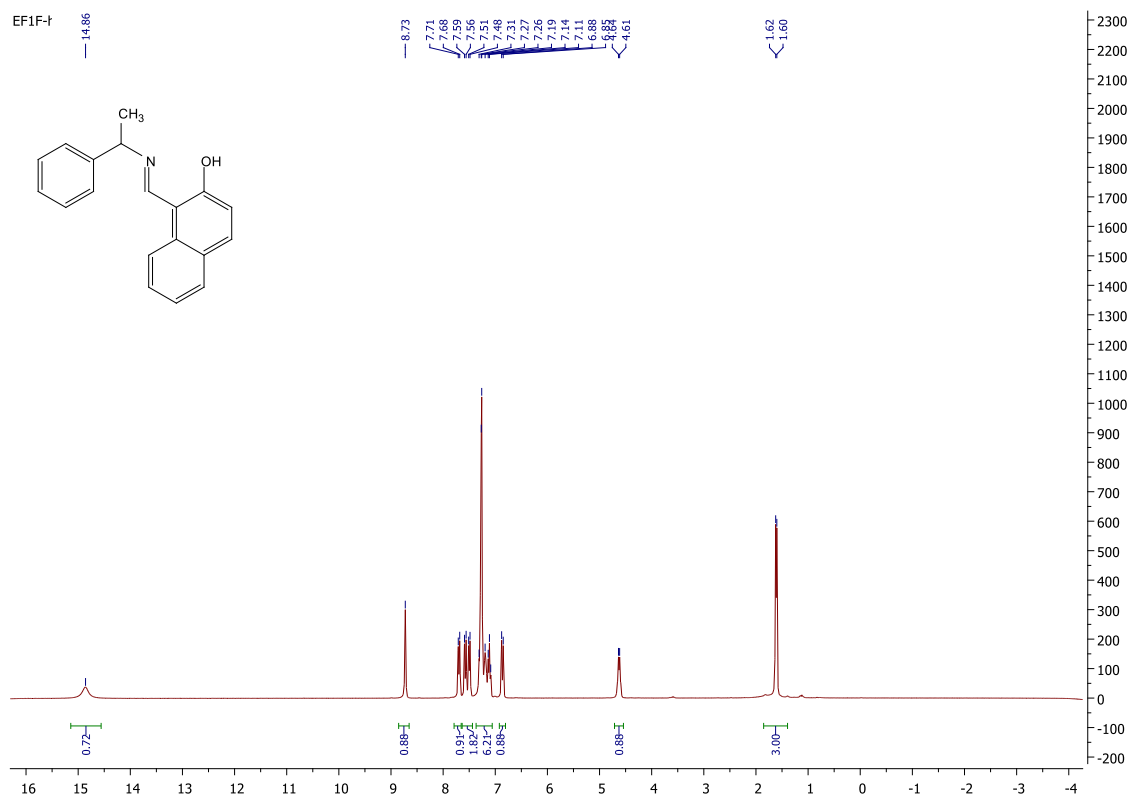


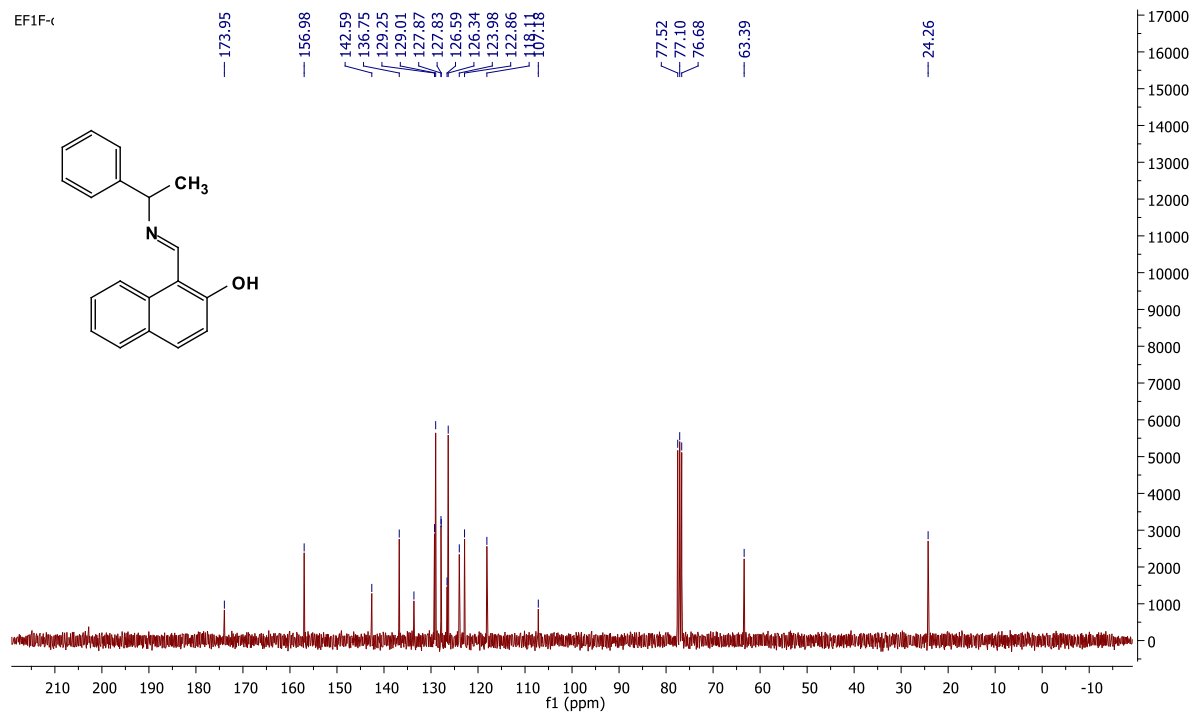
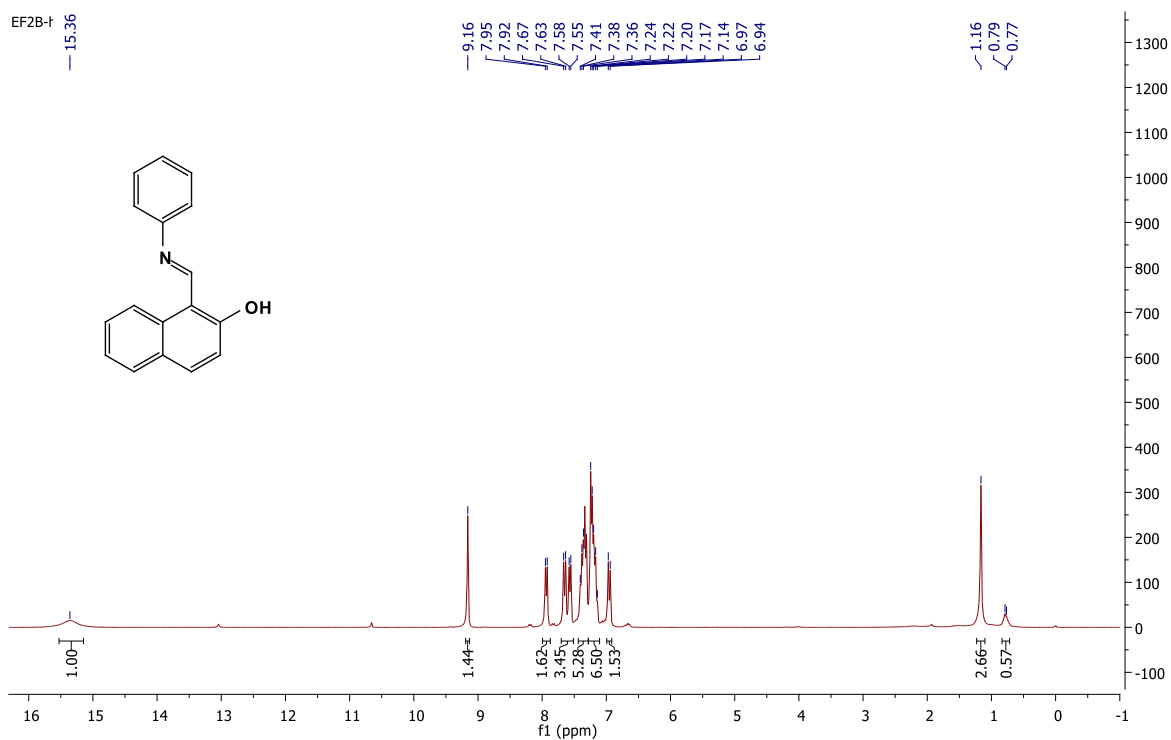
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 4a– sirtinol.

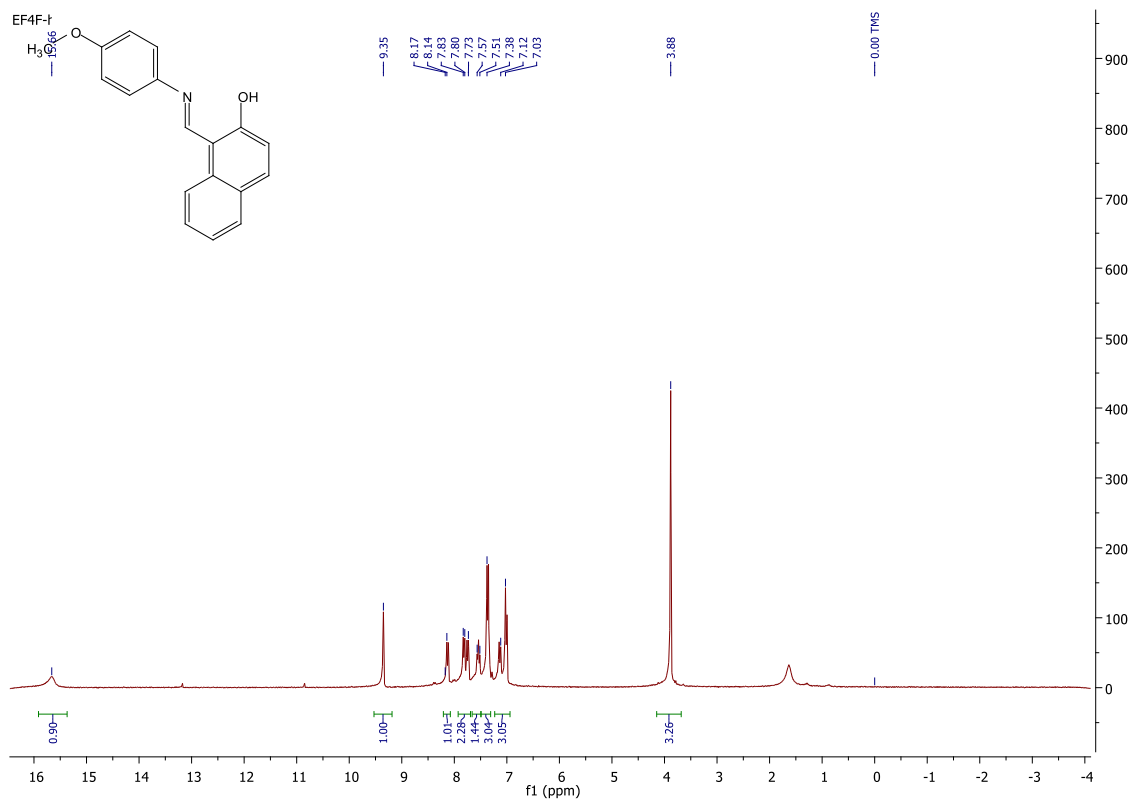
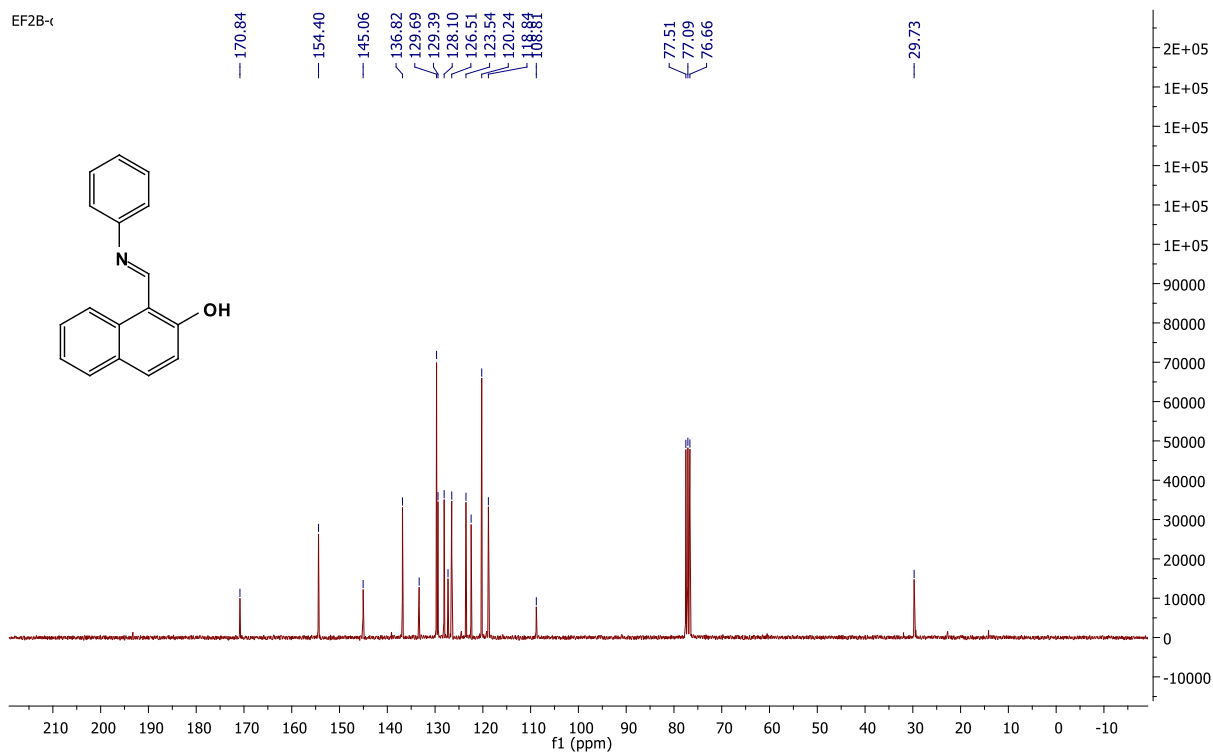


RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 4b.

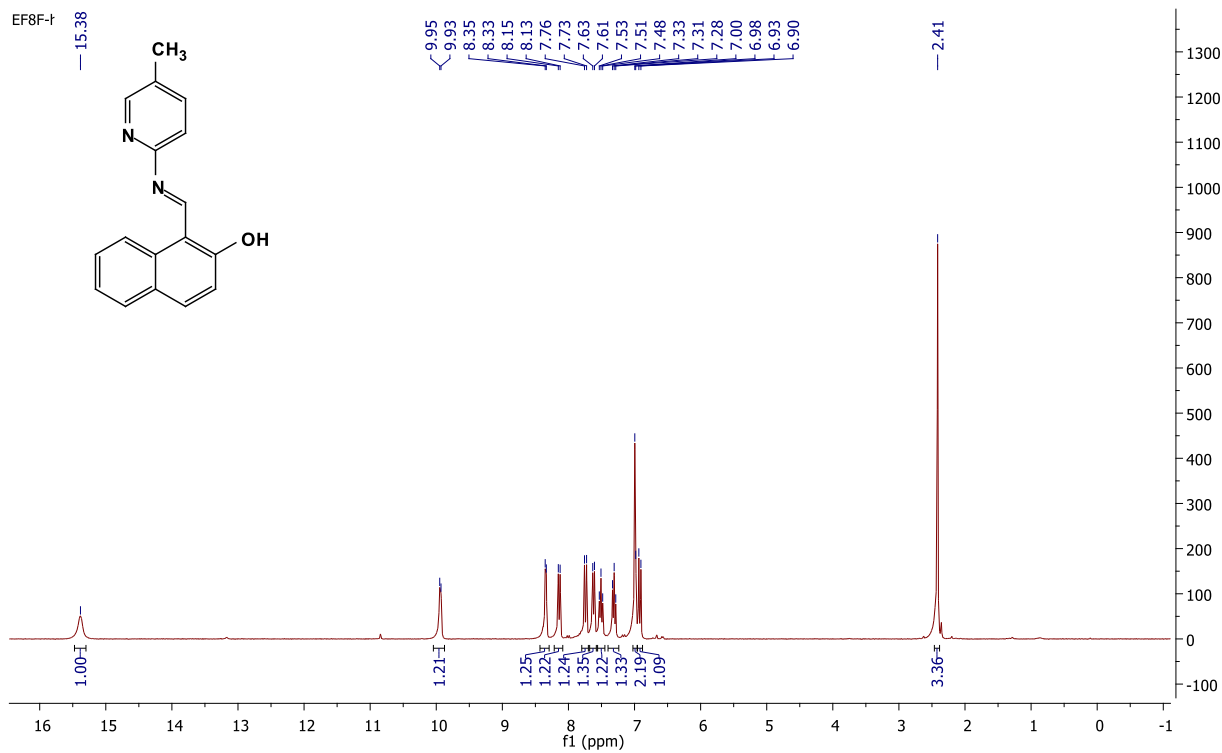
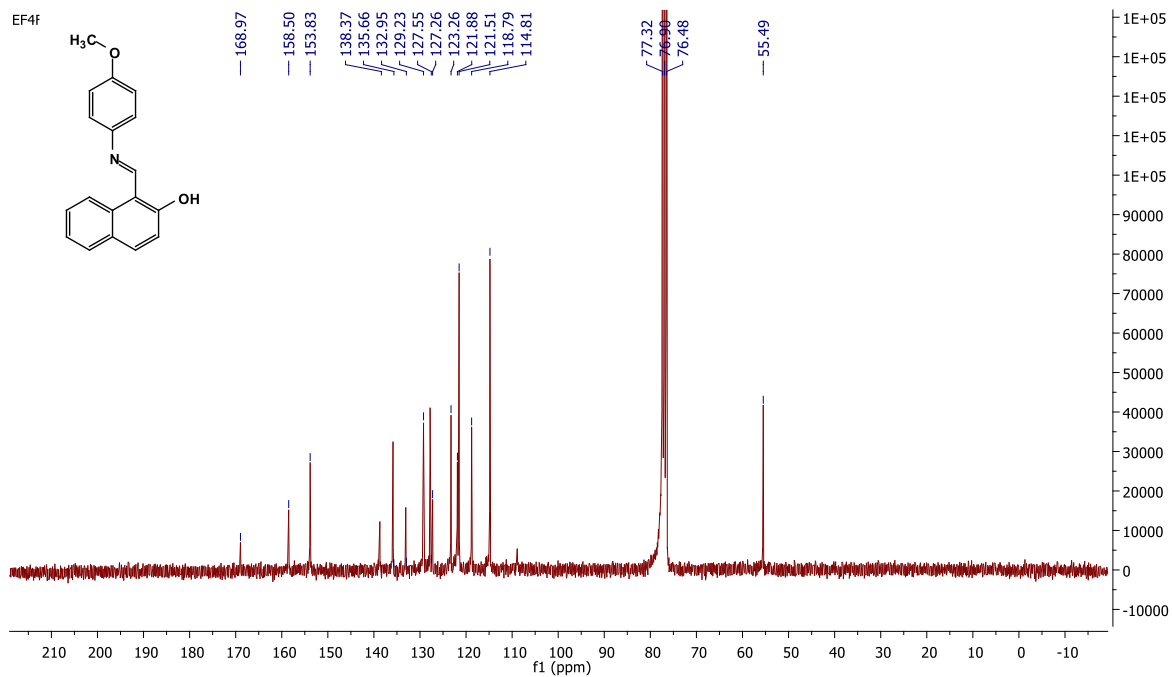


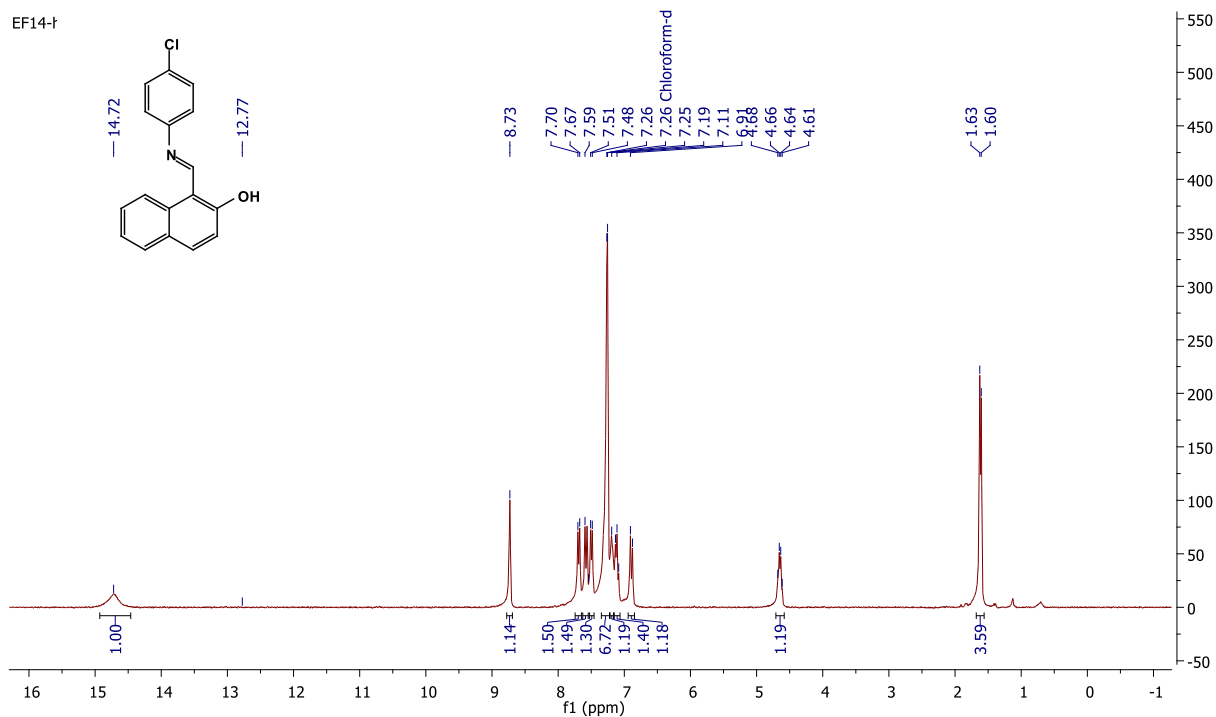
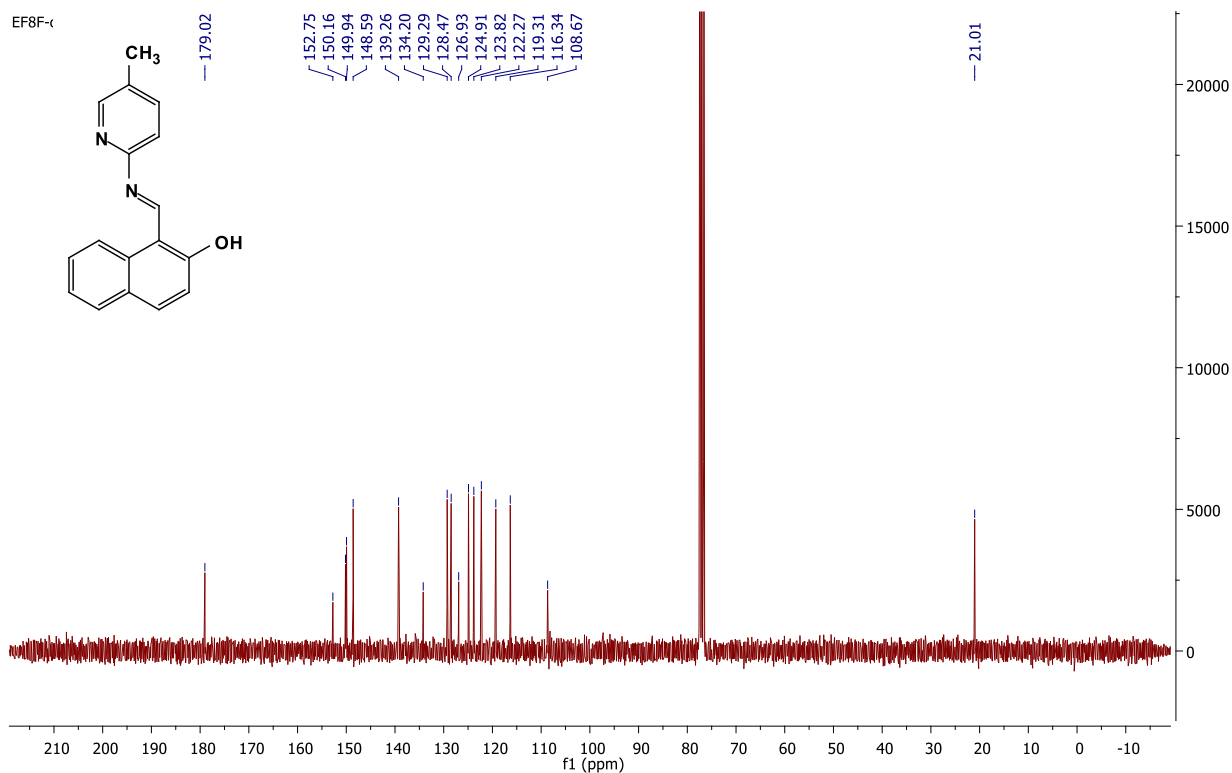
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO-d6) **5**.RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) **5a**.

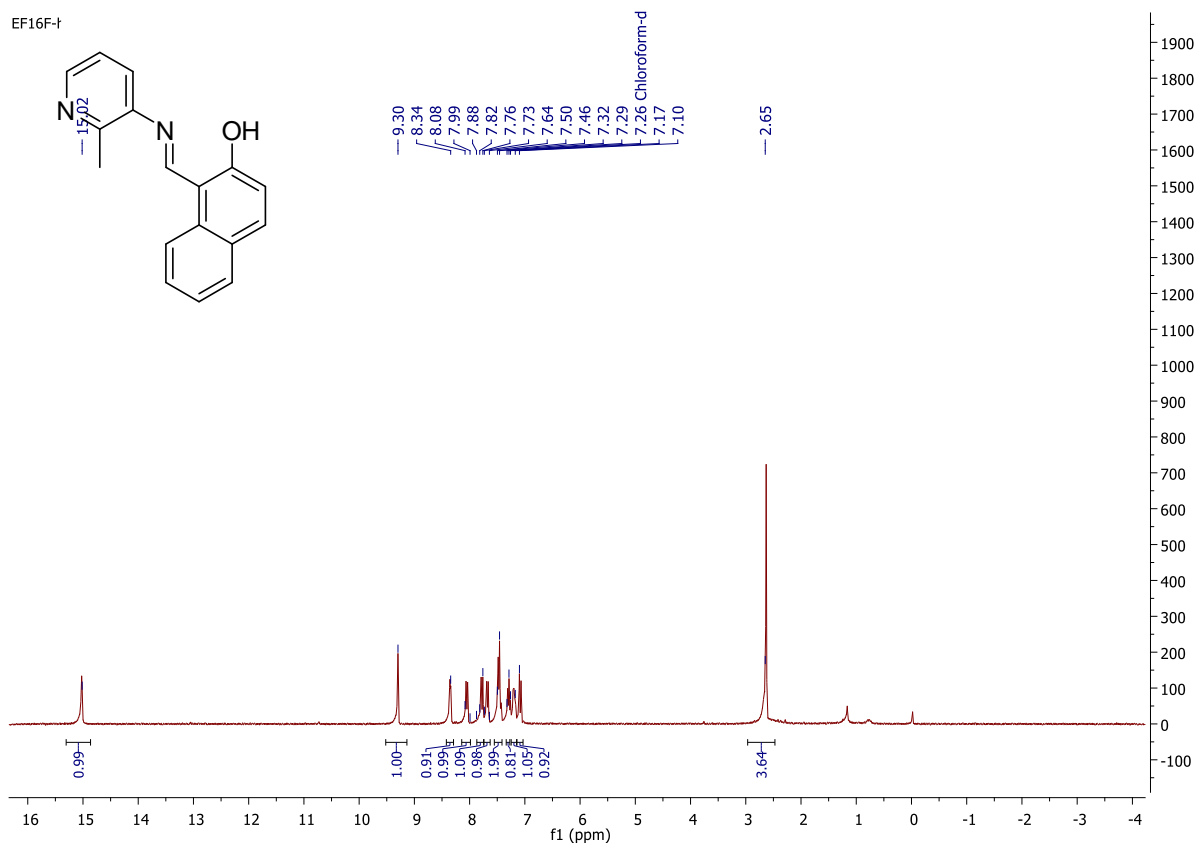
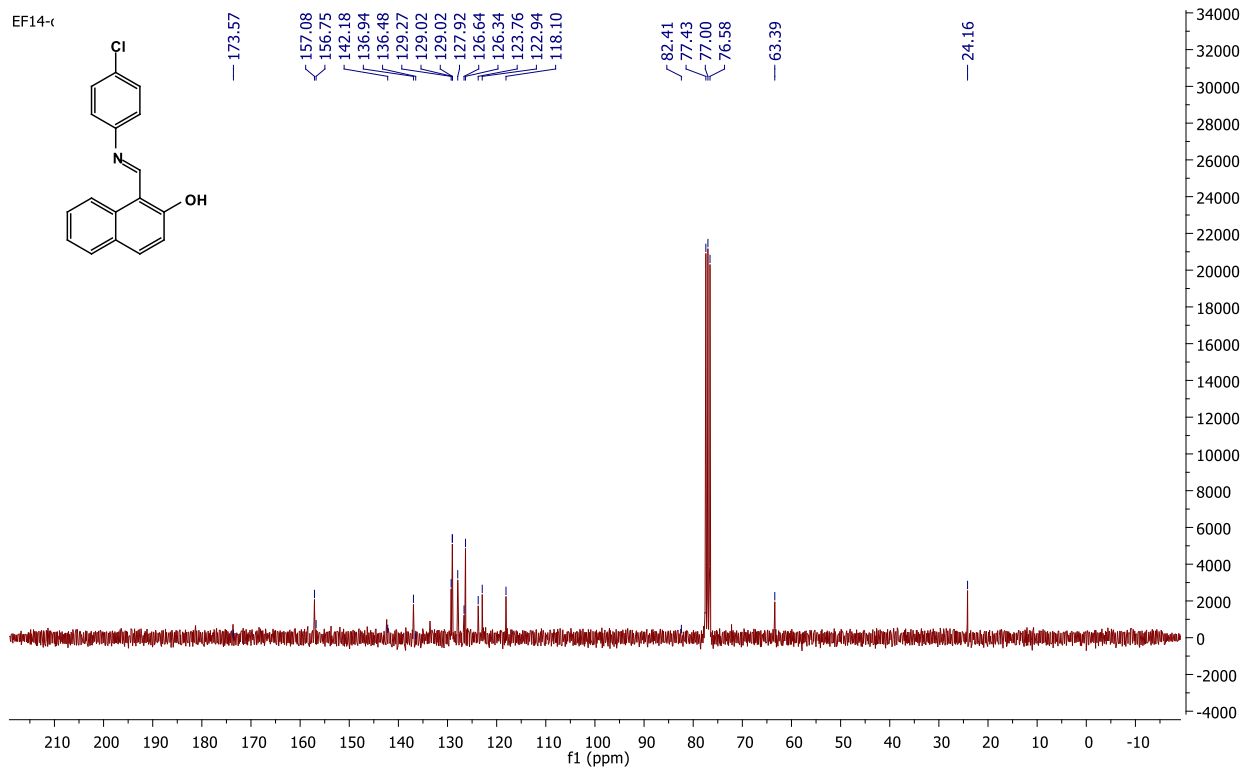
RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 5a.RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 5b.

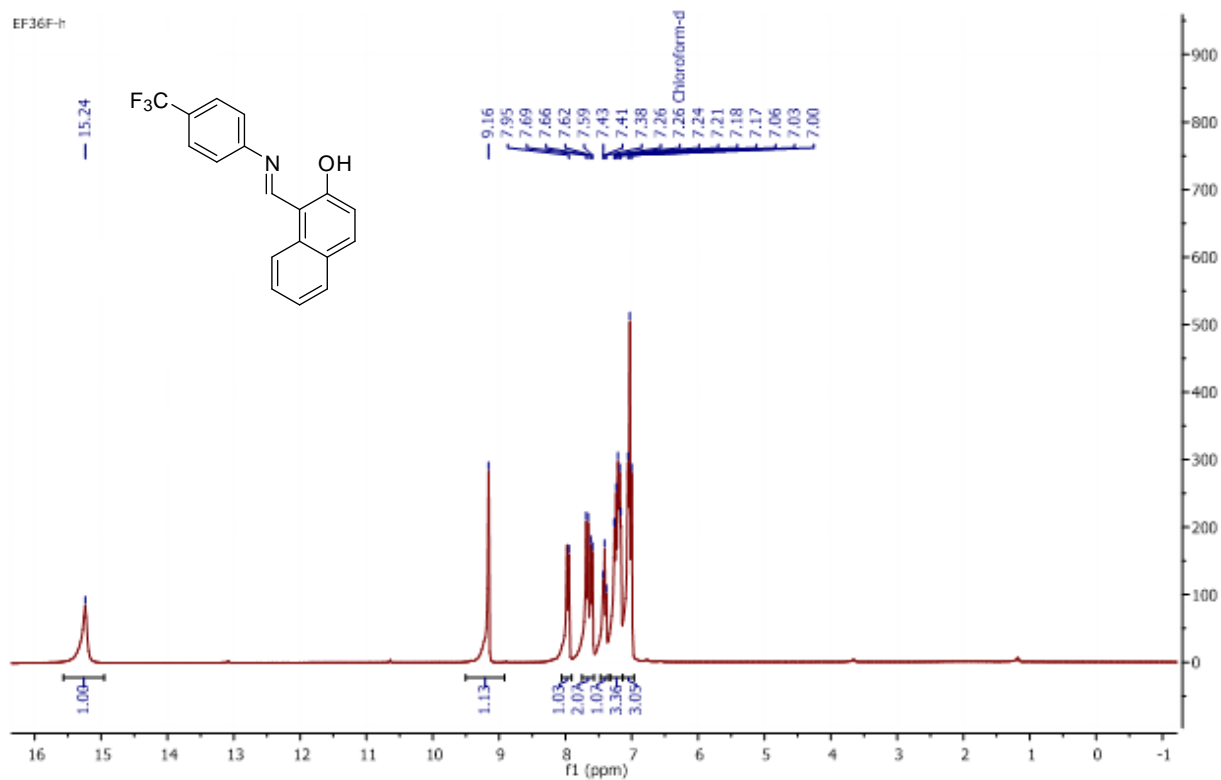
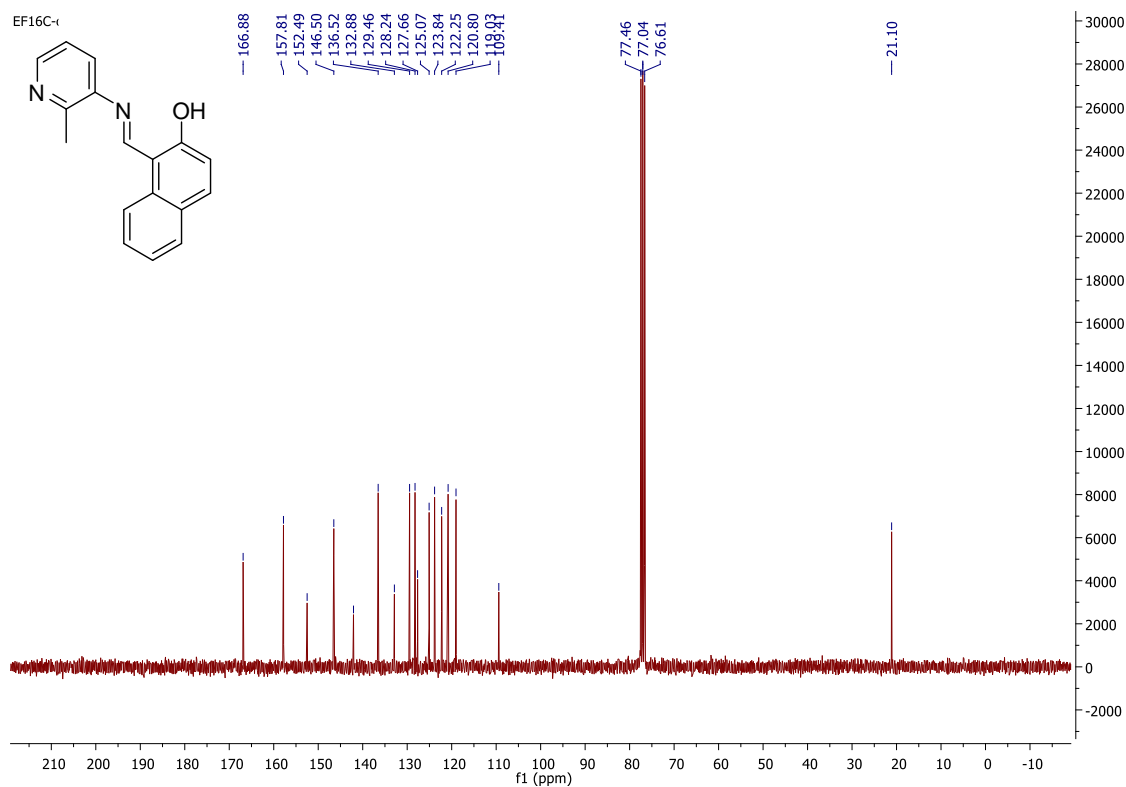


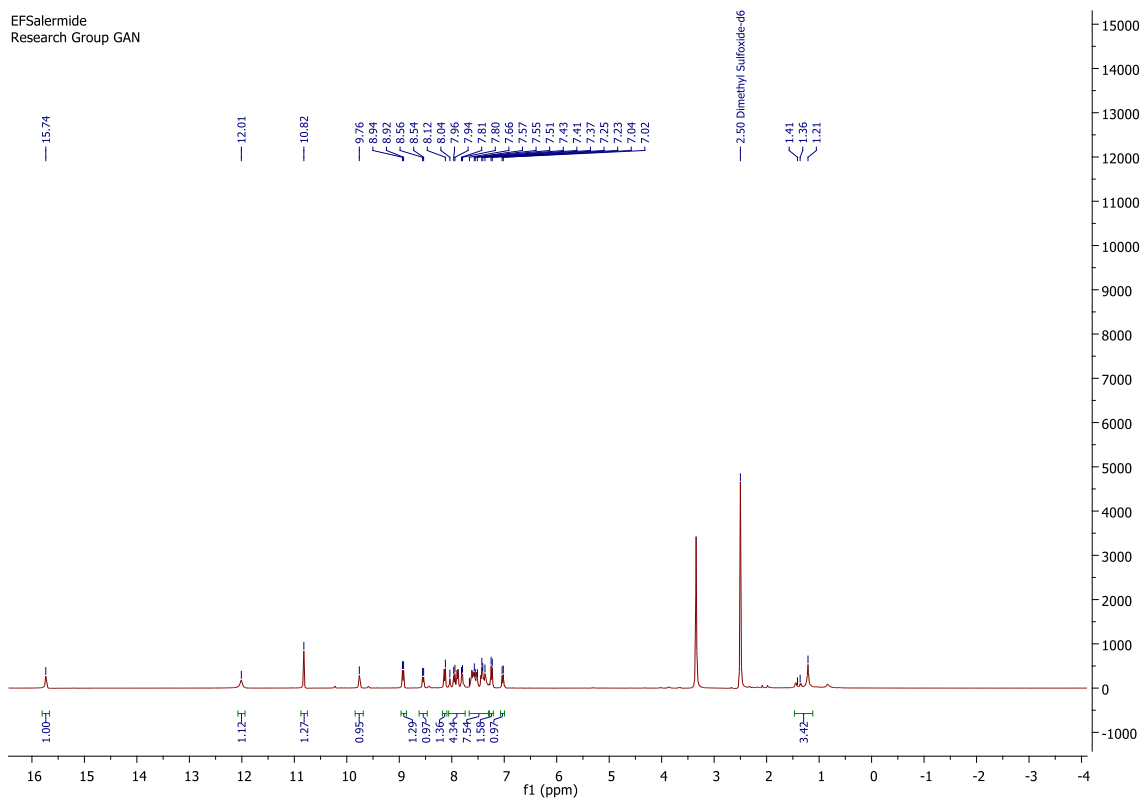
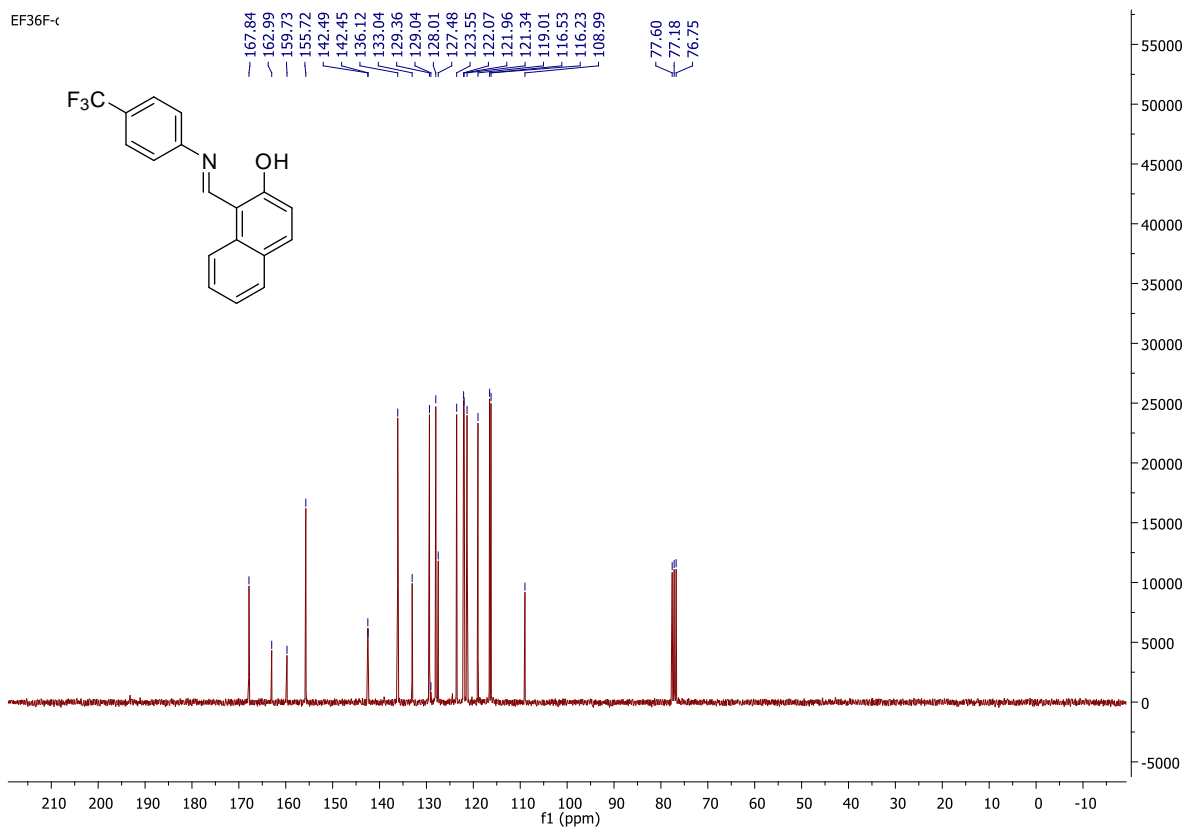


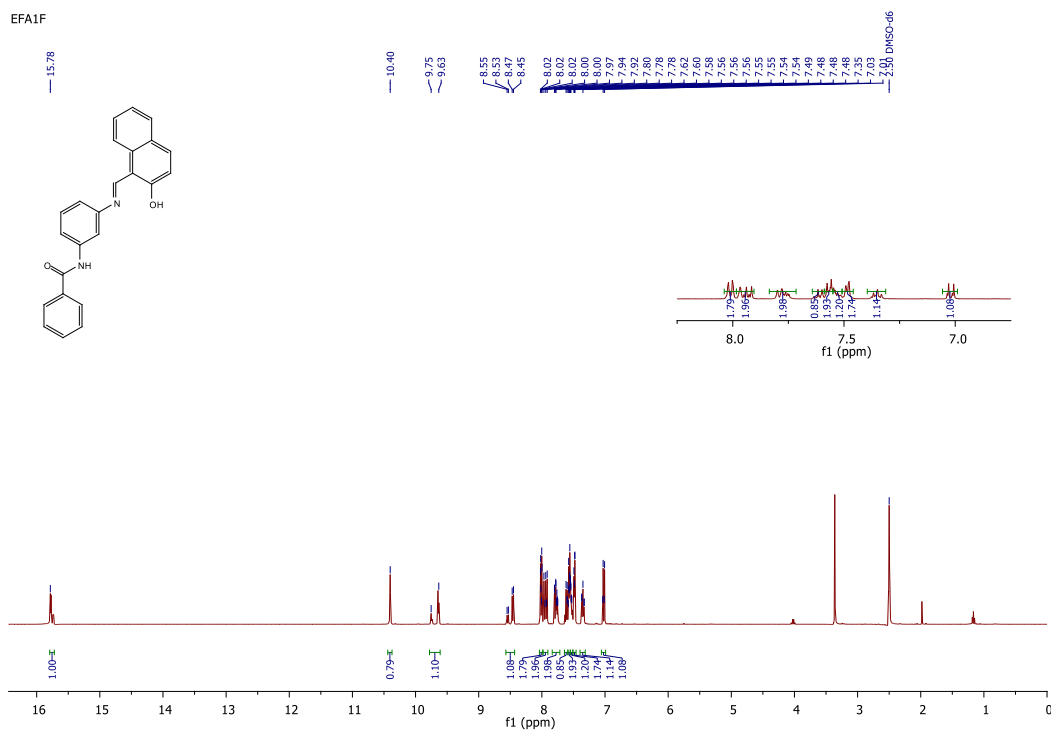
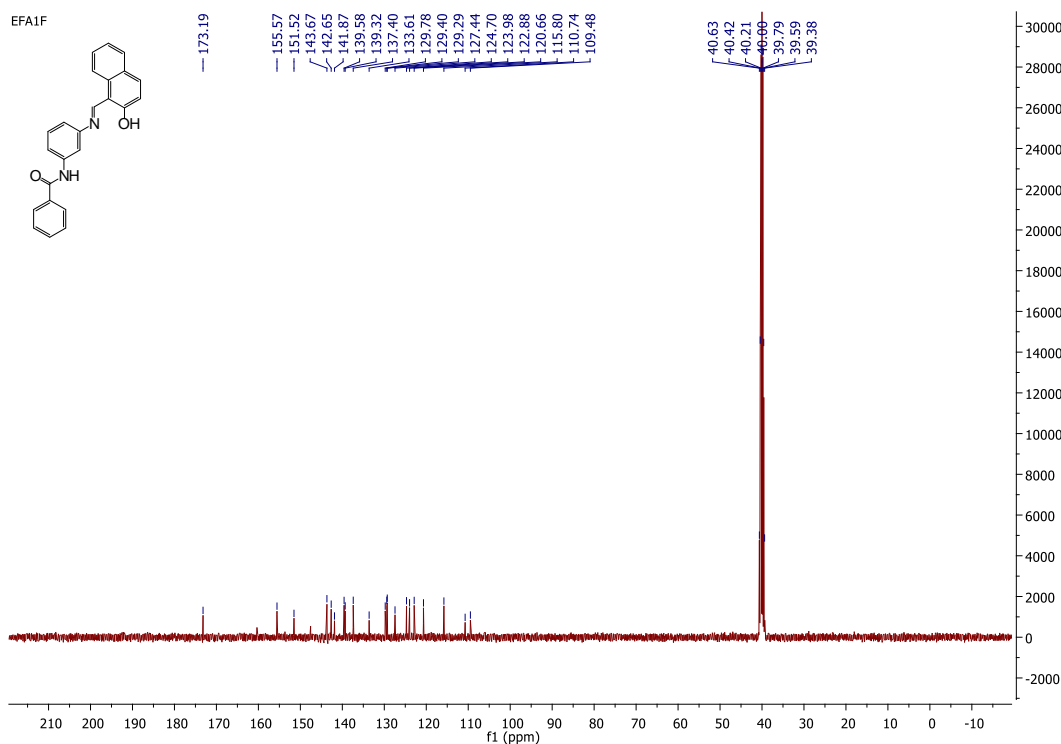


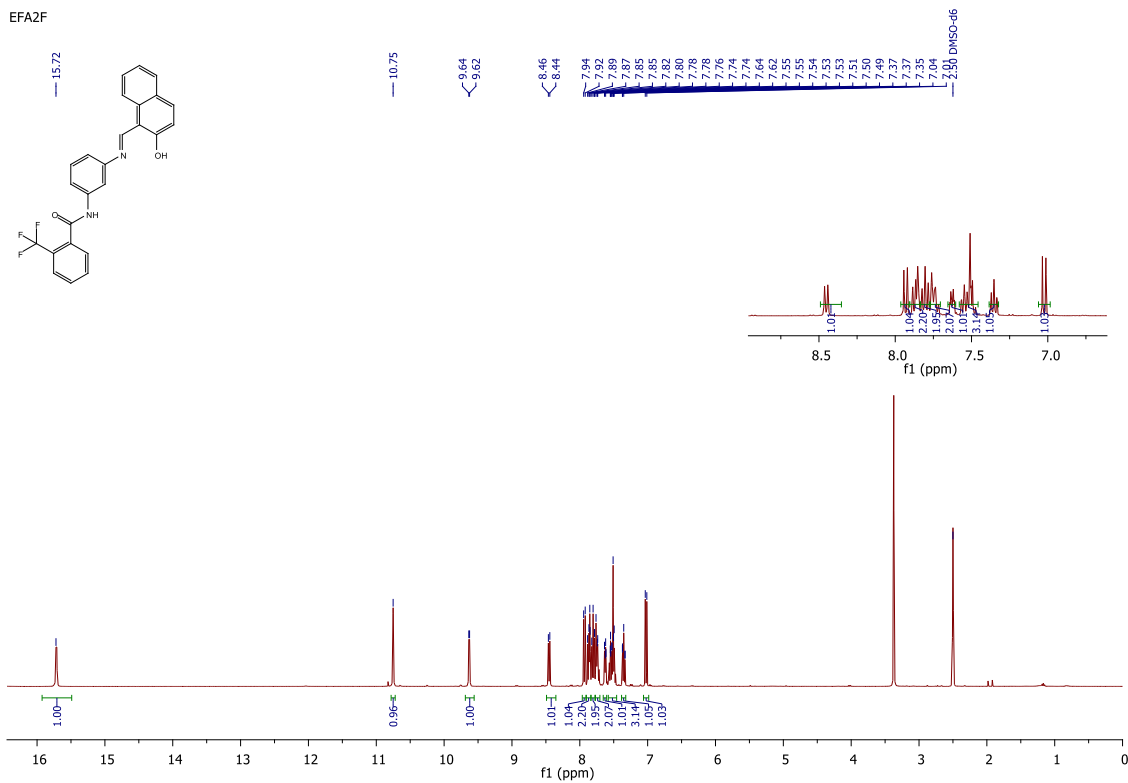
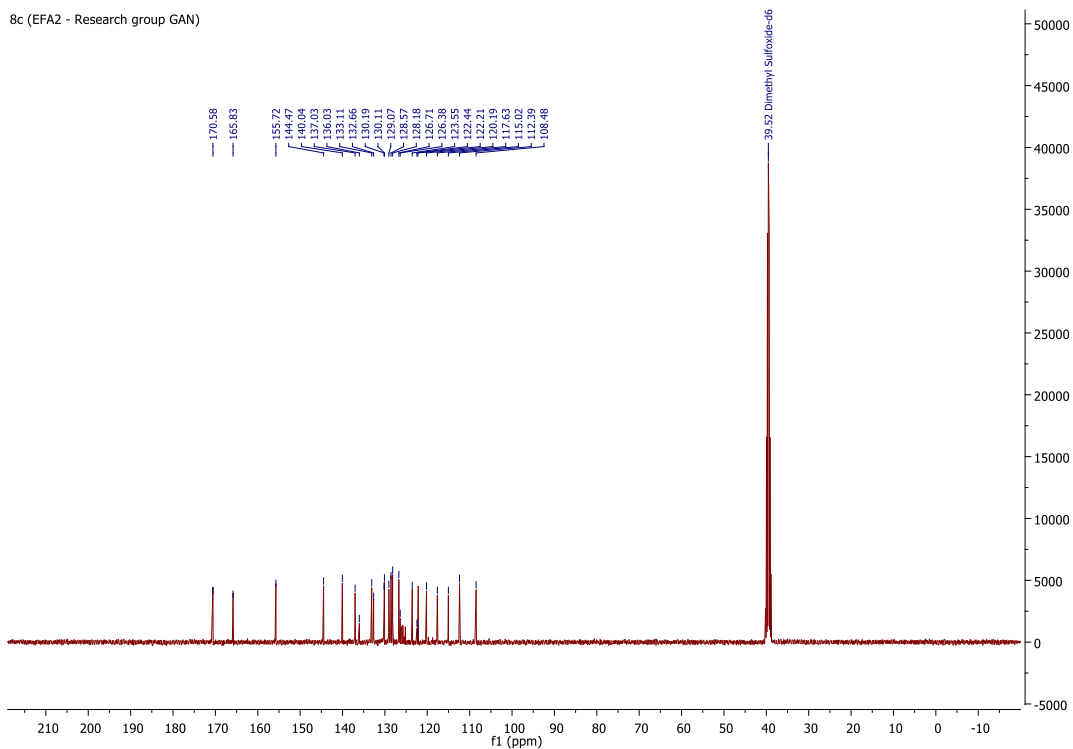


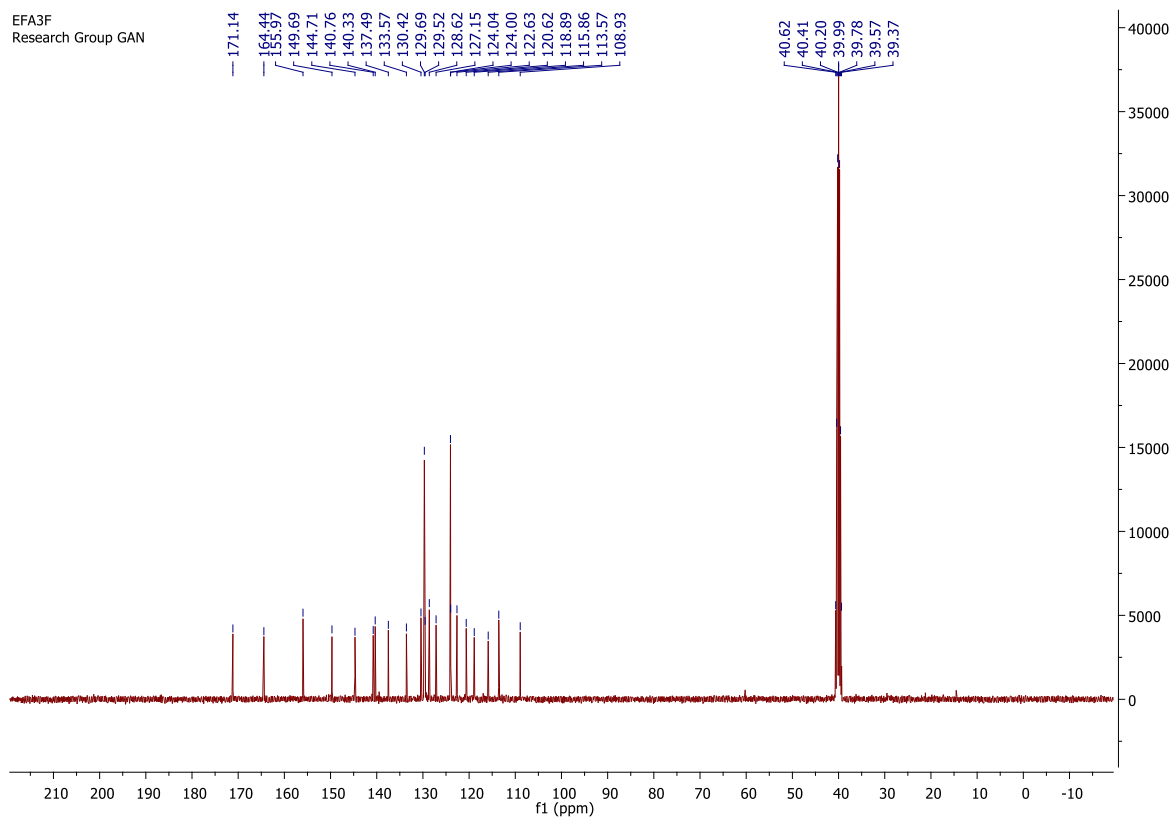
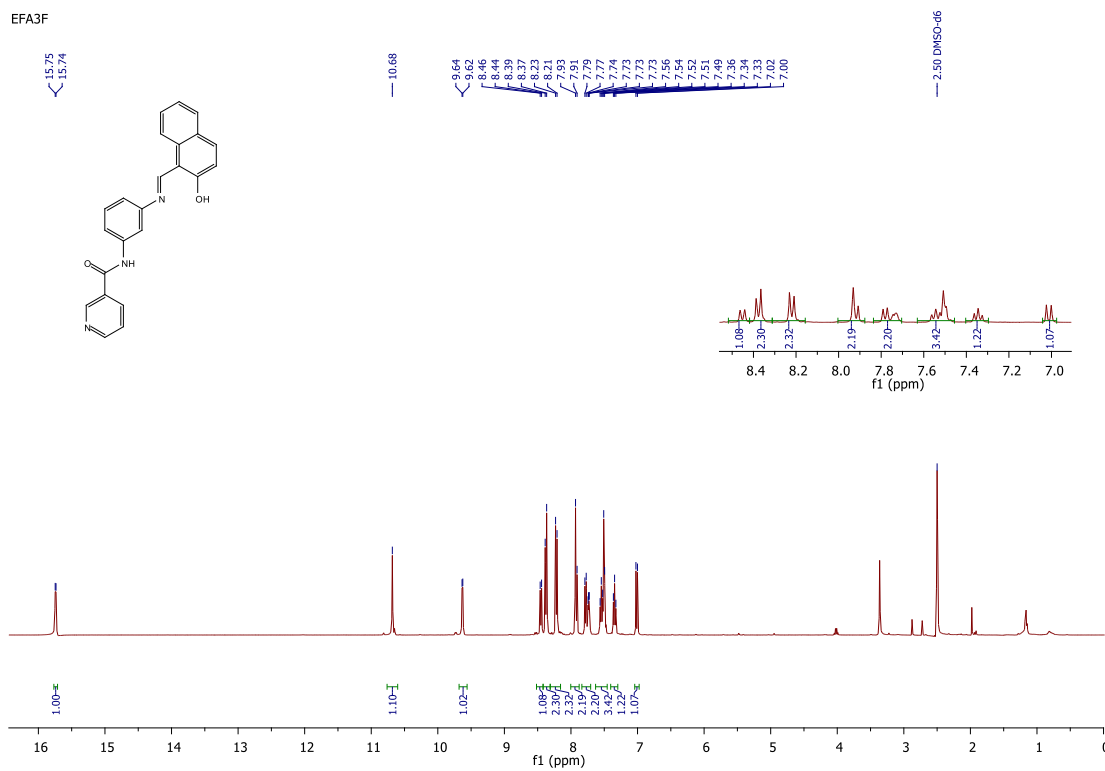






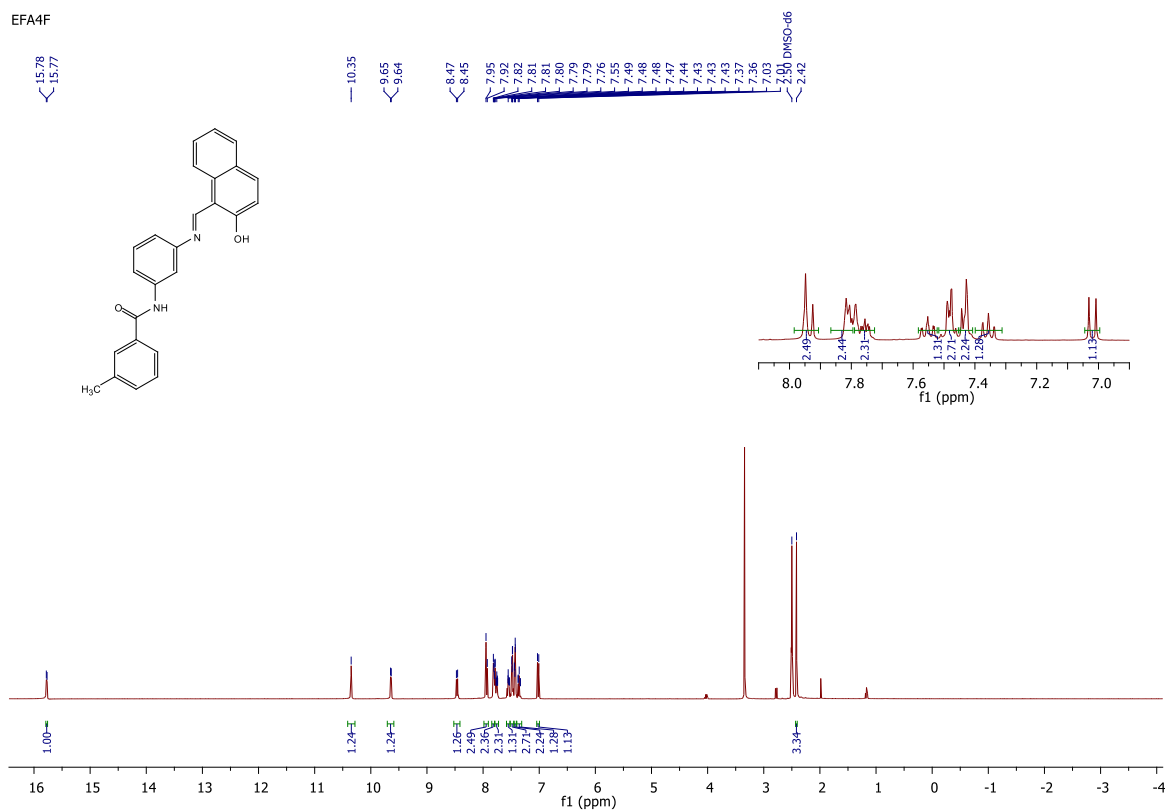
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d6) 8b.RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO-d6). 8b

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 8c.RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 8c.

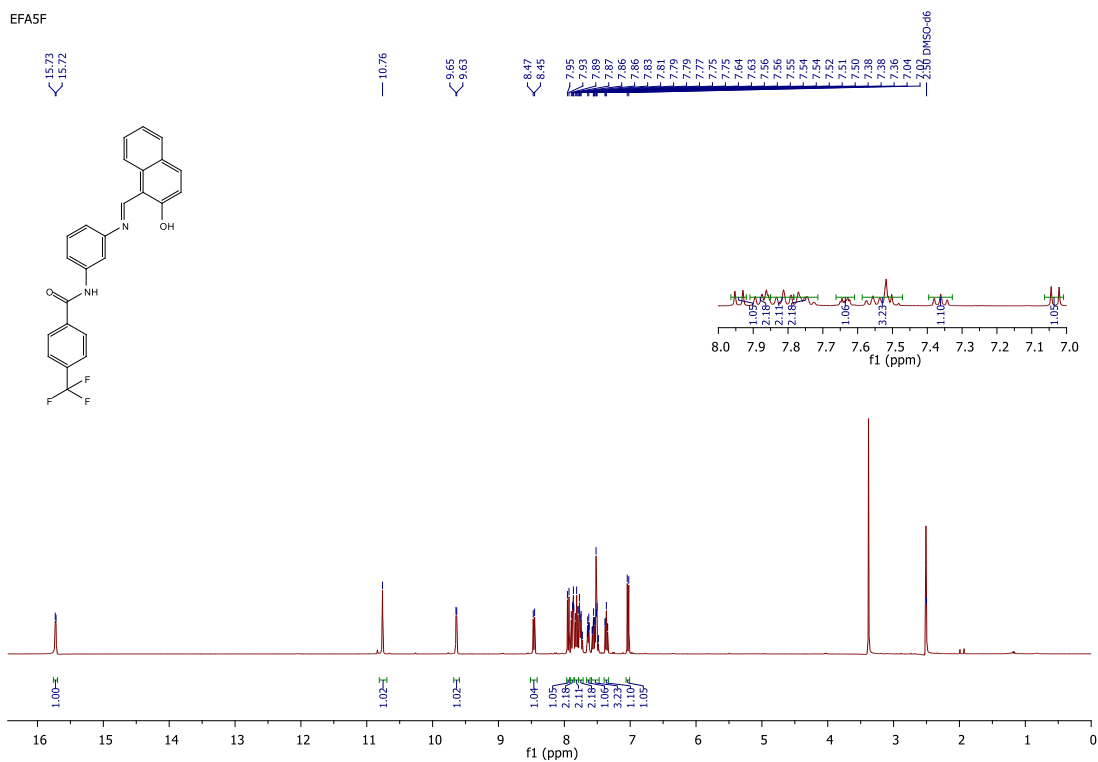




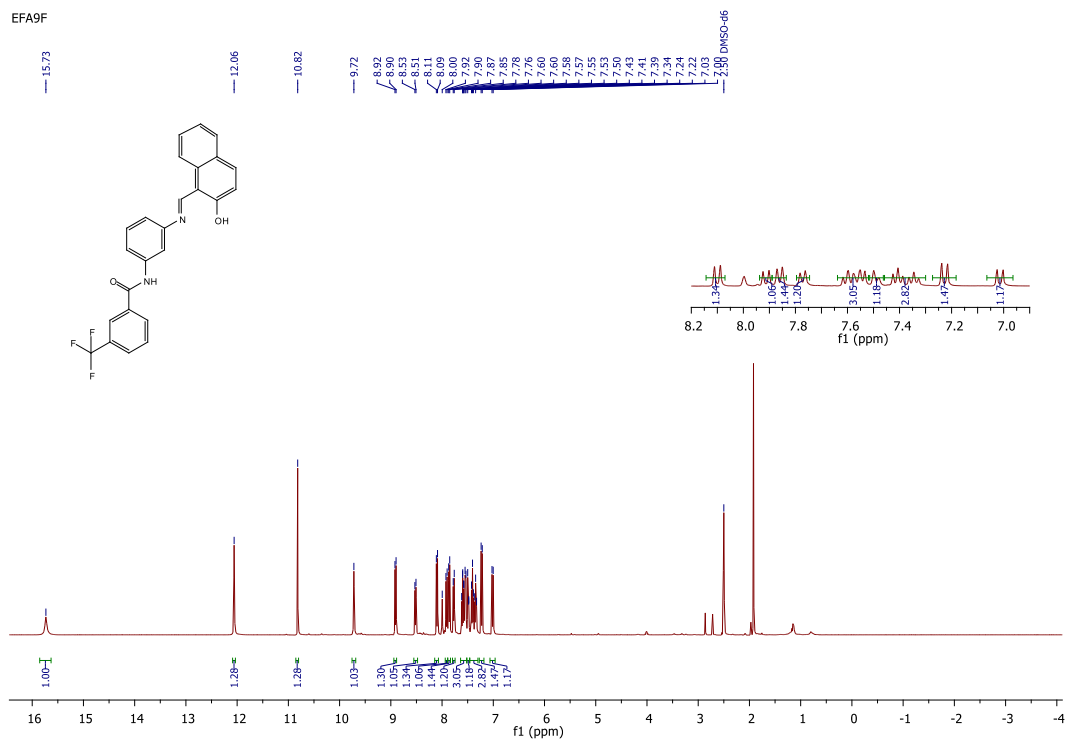
EFA4F

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 8e.

EFA5F

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 8f.



RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d6) 8h.

## Anexo 3. Ficha do Aluno.

9138 - 9233858 / 2 - Evelin Fornari Pereira

Email: evelin.fornari@usp.br

Data de Nascimento: 28/08/1978

Cédula de Identidade: RG - 28.957.114-5 - SP

Local de Nascimento: Estado de São Paulo

Nacionalidade: Brasileira

Graduação: Bacharel em Ciências - Habilitação em: Química - Faculdade de São Bernardo do Campo - São Paulo - Brasil - 2003

Mestrado: Mestra em Ciências - Área: Insumos Farmacêuticos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2017

Curso: Doutorado

Programa: Fármaco e Medicamentos

Área: Insumos Farmacêuticos

Data de Matrícula: 14/08/2017

Início da Contagem de Prazo: 14/08/2017

Data Limite para o Depósito: 15/08/2022

Orientador: Prof(a). Dr(a). Gustavo Henrique Goulart Trossini - 14/08/2017 até o presente Email: trossini@usp.br

Proficiência em Línguas:

Inglês, Aprovado em 14/08/2017

Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 01/07/2019

Data do Depósito do Trabalho:

Título do Trabalho:

Data Máxima para Aprovação da Banca:

Data de Aprovação da Banca:

Data Máxima para Defesa:

Data da Defesa:

Resultado da Defesa:

**Histórico de Ocorrências:** Primeira Matrícula em 14/08/2017  
Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 6542 em vigor de 20/04/2013 até 28/03/2018).

**Última ocorrência:** Matrícula de Acompanhamento em 19/07/2021

Sígl	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBA5754-1/4	Atualização em Ciências Farmacêuticas	25/09/2017	01/10/2017	30	2	100	A	N	Concluída
FBF5830-1/1	Formulações Cosméticas e Dermatológicas: Aspectos Clínicos	09/10/2017	12/11/2017	75	5	80	A	N	Concluída
FBT5776-5/6	Tópicos Especiais de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica II	16/10/2017	29/10/2017	30	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBF5805-2/5	Delineamento de Experimentos e Ferramentas Estatísticas Aplicadas às Ciências Farmacêuticas	06/02/2018	16/04/2018	90	6	100	A	N	Concluída
MPT6006-2/3	Planejamento e Otimização de Experimentos (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	26/02/2018	25/03/2018	60	4	100	A	N	Concluída
FBF5779-3/4	Preparo de Artigos Científicos na Área de Farmácia	15/03/2019	17/05/2019	90	6	88	A	N	Concluída
FBF5824-1/2	Introdução à Modelagem Molecular como Ferramenta no Estudo e Desenvolvimento de Moléculas Bioativas	08/04/2019	29/04/2019	90	6	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
<b>Disciplinas:</b>	0	20	29
<b>Estágios:</b>			
<b>Total:</b>	0	20	29

**Créditos Atribuídos à Tese:** 167

**Conceito a partir de 02/01/1997:**

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

**Este documento eletrônico dispensa carimbo e assinatura. Sua autenticidade pode ser comprovada fornecendo-se o código de controle na seguinte página da Universidade de São Paulo: <https://uspdigital.usp.br/iddigital>**

Documento emitido às 23:28:54 horas do dia 01/11/2021 (hora e data de Brasília)

Código de controle: ZTNE-EWC7-UI6R-LP4I

Código de controle válido até: 01/12/2021

## Anexo 4. Currículo Lattes



### Evelin Fornari Pereira

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/7938467219723572>

ID Lattes: 7938467219723572

Última atualização do currículo em 20/10/2021

Doutoranda em Ciências (Química Medicinal) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, com Doutorado Sanduíche realizado na University of East Anglia (UEA), Inglaterra. Mestra em Ciências - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo. Bacharel em Ciências - Habilitação em Química com Atribuições Tecnológicas, Licenciatura Plena em Química (Universidade Presbiteriana Mackenzie / FFCL de São Bernardo do Campo). (Texto informado pelo autor)

### Identificação

Nome Evelin Fornari Pereira

Nome em citações bibliográficas FORNARI, E.;FORNARI, EVELIN

Lattes ID <http://lattes.cnpq.br/7938467219723572>

Orcid ID <https://orcid.org/0000-0002-0519-8744>

### Endereço

**Endereço Profissional** Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.  
Avenida Professor Lineu Prestes, 580  
Butantã  
05508000 - São Paulo, SP - Brasil  
Telefone: (11) 30913116

### Formação acadêmica/titulação

- 2017** Doutorado em andamento em Fármacos e Medicamentos (Conceito CAPES 4).  
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.  
Título: Planejamento, síntese e avaliação biológica de candidatos a fármacos: busca de inibidores epigenéticos da Sirtuína 2 ? Sir2.  
Orientador: Gustavo H. G. Trossini.  
Palavras-chave: sirtuína; inibidores; síntese; planejamento.  
Grande área: Ciências Exatas e da Terra  
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Farmácia / Subárea: Química Medicinal.
- 2015 - 2017** Mestrado em Fármacos e Medicamentos (Conceito CAPES 4).  
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.  
Título: Síntese de compostos  $\alpha$ -amino-1,3-dicarbonílicos em microrreator de fluxo contínuo e suas aplicações. Ano de Obtenção: 2017.  
Orientador: Hélio Alexandre Stefani.  
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.  
Palavras-chave: microrreator; multicomponente; síntese.  
Grande área: Ciências Exatas e da Terra
- 2012 interrompida** Graduação interrompida em 2013 em Biomedicina.  
Universidade Paulista, UNIP, Brasil.  
Ano de interrupção: 2013
- 2002 - 2003** Graduação em Química.  
Faculdade de São Bernardo do Campo, FASB, Brasil.
- 1999 interrompida** Graduação interrompida em 2001 em Química.  
Universidade Presbiteriana Mackenzie, MACKENZIE, Brasil.  
Ano de interrupção: 2001
- 1994 - 1997** Curso técnico/profissionalizante em Laboratorista Industrial.  
ETEC Lauro Gomes, ETEC, Brasil.

## Formação Complementar

- 2019 - 2019** Fundamentos de Química Medicinal. (Carga horária: 20h).  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Brasil.
- 2019 - 2019** Fundamentos de Farmacologia para a Química Medicinal. (Carga horária: 10h).  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Brasil.
- 2019 - 2019** Grupos Funcionais em Química Medicinal. (Carga horária: 10h).  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Brasil.
- 2012 - 2012** Cambridge Certificate in Advanced English. (Carga horária: 200h).  
English Language School In Sydney, ELSIS, Austrália.
- 2010 - 2010** ITIL - Fundamentos ITIL V3. (Carga horária: 28h).  
Green Treinamento, GREEN, Brasil.
- 2010 - 2010** COBIT 4 Foundation. (Carga horária: 16h).  
Green Treinamento, GREEN, Brasil.
- 2010 - 2010** Gerenciamento de Projetos. (Carga horária: 20h).  
Green Treinamento, GREEN, Brasil.
- 2010 - 2010** Gestão da Tecnologia da Informação. (Carga horária: 5h).  
Fundação Getúlio Vargas, FGV, Brasil.
- 2010 - 2010** Técnicas de Gerência de Projetos. (Carga horária: 5h).  
Fundação Getúlio Vargas, FGV, Brasil.
- 2008 - 2008** Fundamentos de Rede e Cabeamento Estruturado. (Carga horária: 40h).  
SENAI - Departamento Regional de São Paulo, SENAI/DR/SP, Brasil.
- 2008 - 2008** Managing a MS Windows Server Environment. (Carga horária: 20h).  
Green Treinamento, GREEN, Brasil.
- 2008 - 2008** Maintaining MS Windows Server Environment. (Carga horária: 20h).  
Green Treinamento, GREEN, Brasil.

## Projetos de pesquisa

**2017 - Atual** Planejamento, síntese e avaliação biológica de candidatos a fármacos: busca de inibidores epigenéticos da Sirtuína 2 ? Sir2

Descrição: As doenças negligenciadas são causadas por agentes infecciosos e parasitários como, vírus, bactérias, protozoários e helmintos. Essas doenças são prevalentes em populações de baixa renda que vivem em países em desenvolvimento e são responsáveis por incapacitar e levar milhões de indivíduos à morte. São chamadas de negligenciadas devido a grande relevância médica, acompanhada da pouca atenção dos governos e indústrias farmacêuticas. Dentre estas doenças destacamos a doença de Chagas, que é uma endemia infecciosa causada pelo parasita hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Endêmica em 21 países, estima-se que em 2015, de 6 a 7 milhões de pessoas estejam infectadas pelo parasita e que outros 70 milhões de indivíduos se encontrem sob risco de infecção. Segundo dados epidemiológicos a doença apresenta 28.000 novos casos por ano, causando cerca de 12.000 mortes. A quimioterapia da doença de Chagas fundamenta-se em apenas dois fármacos, o benznidazol e o nifurtimox, ativos especialmente na fase aguda da doença. Estes fármacos apresentam efeitos adversos que comprometem sua utilização, ainda mais, tendo em vista que não se constituem nos fármacos eficazes do ponto de vista da fase crônica da doença. Apesar de enormes esforços nas pesquisas de novos agentes antichagásicos em âmbito nacional e internacional, e em sua maioria realizados academicamente, ainda não foram encontradas alternativas terapêuticas para a doença, persistindo, assim, a necessidade urgente de descoberta e desenvolvimento de novos antichagásicos, e os desafios de se encontrar alternativas quimioterapêuticas realmente eficazes na fase crônica. As sirtuínas mostraram-se essenciais para o crescimento *in vitro* do *T. cruzi* em suas formas amastigotas e epimastigotas. No caso de parasitas como tripanossomatídeos em geral, a superexpressão de Sir2 está relacionada com a sobrevivência de amastigotas. Inibidores de Sir2 como o sirtinol mostraram eficácia como leishmanicidas, e antichagásico em ensaios *in vivo*. Dessa forma, essas evidências indicam que as Sir2 de tripanossomatídeos podem ser consideradas como alvos biológicos na busca e desenvolvimento de novos fármacos antichagásicos. O início de um estudo de planejamento de um novo fármaco consiste na definição de um alvo bioquímico a ser utilizado na busca de moléculas as quais possam exercer função de inibidores ou moduladores, dependendo da atividade biológica desejada. A modificação molecular está entre umas das técnicas tradicionais utilizadas no desenvolvimento racional de um fármaco, assim como, a utilização de produtos naturais, química combinatória, High-throughput screening (HTS), entre outras. Principalmente utilizada no desenvolvimento de análogos, a modificação molecular aplica-se com diferentes objetivos, entre eles, busca-se melhorar propriedades farmacocinéticas e/ou farmacodinâmicas de um protótipo, obter propriedades similares de interação com o alvo e em alguns casos, revelar uma atividade inesperada em outro alvo. Tais objetivos podem ser alcançados por meio de processos laboratoriais sintéticos como: substituição de elementos ou pequenos grupos estruturais, troca de fragmentos da molécula, substituição do esqueleto original do análogo, introdução e retirada de grupos químicos, fechamento e abertura de anéis, entre outros. Como consequência, tem-se a participação determinante na atividade biológica, podendo assim auxiliar na interação com o receptor. O objetivo deste projeto é identificar moléculas que apresentem atividade inibitória para a sirtuína 2 de *T. cruzi* e o desenvolvimento de análogos dos inibidores da sirtuína 2. Assim sendo as etapas a serem desenvolvidas serão: planejamento molecular, síntese e caracterização de todos os compostos obtidos e ensaios de atividade biológica *in vitro* contra o parasita *T. cruzi*.

Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.  
Alunos envolvidos: Doutorado: (1) .

Integrantes: Evelin Fornari Pereira - Integrante / Gustavo H. H. Trossini - Coordenador.

### 2015 - 2017 Síntese de compostos $\alpha$ -amino-1,3-dicarbonílicos em microrreator de fluxo contínuo e suas aplicações

Descrição: Na primeira parte deste trabalho apresentamos uma forma eficiente para sintetizar quinze novos compostos  $\alpha$ -amino-1,3-dicarbonílicos através da reação multicomponente de Ugi. Para estas sínteses foi utilizado o microrreator de fluxo contínuo, um aparelho que possibilita uma excelente transferência de calor, de massa e alta relação superfície / volume. Algumas das vantagens em se utilizar um microrreator de fluxo contínuo na síntese são: redução do tempo de reação, aumento de rendimento, seletividade das reações e menor geração de resíduos. Foi possível assim estudar as reações químicas em condições inéditas, variando parâmetros como: temperatura, pressão, tempo de residência e relação estequiométrica. Um comparativo de rendimento da síntese de quatro moléculas foi realizado e pôde-se notar a eficiência do equipamento utilizado, pois os rendimentos obtidos foram superiores quando as mesmas moléculas foram sintetizadas através da reação one-pot. Um scale-up da reação de Ugi também foi realizado e apresentou um resultado satisfatório. Na segunda parte alguns destes compostos foram utilizados como intermediários na formação de uma ligação amídica e também aplicamos a metodologia relacionada à cicloadição catalisada por cobre entre alquinos e azidas na síntese de cinco novos compostos 1,2,3-triazóis. Este foi o primeiro trabalho realizado no Laboratório de Compostos Heterocíclicos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas utilizando o microrreator de fluxo contínuo e este equipamento atendeu as necessidades deste trabalho com efetividade.

Situação: Concluído; Natureza: Pesquisa.

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico: (1) Doutorado: (2) .

Integrantes: Evelin Fornari Pereira - Integrante / Stanley N. S. Vasconcelos - Integrante / Ignez Caracelli - Integrante / Hélio A. Stefani - Coordenador.

## Áreas de atuação

1. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica.

## Idiomas

**Inglês** Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

**Espanhol** Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

**Alemão** Compreende Pouco, Fala Pouco, Lê Pouco, Escreve Pouco.

## Produções

### Produção bibliográfica

#### Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica

1. [doi](#) LIMA, ELYS JULIANE CARDOSO ; GOMES, RENAN AUGUSTO ; **FORNARI, EVELIN** ; DA SILVA EMERY, FLAVIO ; TROSSINI, GUSTAVO HENRIQUE GOULART . Insights into newly approved drugs from a medicinal chemistry perspective. MINI-REVIEWS IN MEDICINAL CHEMISTRY **JCR**, v. 21, p. 1875-5607, 2021.
2. [doi](#) GOMES, RENAN AUGUSTO ; **FORNARI, EVELIN** ; SILVA ROCHA, ANA CAROLINA ; TRIPODI, GUSTAVO LUIS ; SILVA EMERY, FLAVIO DA ; GOULART TROSSINI, GUSTAVO HENRIQUE . Parasitic sirtuin 2 as an opportunity in drug discovery. Future Medicinal Chemistry **JCR**, v. 13, p. 1397-1409, 2021.
3. [doi](#) VASCONCELOS, S. N. S. ; **FORNARI, E.** ; CARACELLI, I. ; STEFANI, H. A. . Synthesis of  $\alpha$ -amino-1,3-dicarbonyl compounds via Ugi flow chemistry reaction: access to functionalized 1,2,3-triazoles. MOLECULAR DIVERSITY **JCR**, v. 21, p. 893-902, 2017.

Citações: **WEB OF SCIENCE** = 2

## Bancas

### Participação em bancas de trabalhos de conclusão

#### Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1. **FORNARI, EVELIN**; Ishii, M.; TROSSINI, GUSTAVO HENRIQUE GOULART. Participação em banca de Artur Caminero Gomes Soares. Triagem virtual por docagem molecular na busca de ligantes para receptores CB2 candidatos para o tratamento de dor neuropática.?. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) - Universidade de São Paulo.



## Eventos

## Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. Sessão Aberta - Química Medicinal. 2021. (Outra).
2. Treinamento Flow Chem. 2021. (Outra).
3. Workshop online simulações de docking e dinâmica molecular: conhecendo a plataforma Discovery Studio. 2021. (Oficina).
4. XXVII Escola de Verão em Química Farmacêutica e Medicinal ? Professor Eliezer Barreiro. 2021. (Congresso).
5. ?III Webinar Ciência USP - Covid-19: Pesquisa Clínica e Políticas Públicas?. 2020. (Outra).
6. Workshop 3D QSAR. 2020. (Oficina).
7. 42ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química. "Optimization of processes for the synthesis of Sirtuin 2 inhibitors in Trypanosoma cruzi parasites". 2019. (Congresso).
8. Workshop "Jovens Pesquisadores: futuros líderes nos setores acadêmico e empresarial?.. 2019. (Outra).
9. XXV Escola de Verão em Química Farmacêutica e Medicinal. 2019. (Congresso).
10. 3rd Summer School on ?Neglected Diseases and Drug Development?. Sirtinol analogues design and molecular docking in the search for Trypanosoma cruzi Sirtuin 2 inhibitors. 2018. (Seminário).
11. 41ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química. "Sirtinol analogues design and molecular docking in the search for Trypanosoma cruzi Sirtuin 2 inhibitors". 2018. (Congresso).
12. Cromatografia Líquida: importância e aplicações. 2018. (Seminário).
13. International Conference on Organic Synthesis - IUPAC. Synthesis of candidates of Sirtuin 2 (Sir2) inhibitors for Chagas disease treatment. 2018. (Congresso).
14. Sociedade Brasileira de Química - SBQ. Sirtinol analogues design and molecular docking in the search for Trypanosoma cruzi Sirtuin 2 inhibitors. 2018. (Exposição).
15. II Workshop de Jovens Pesquisadores em Planejamento e Desenvolvimento de Fármacos. 2017. (Outra).
16. LII Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica. 2017. (Congresso).
17. Symposium on advances in Medicinal Chemistry. 2017. (Simpósio).
18. Capacitação Teórica/Prática e Operacional no Reator Asia. 2015. (Outra).
19. Treinamento: Química em fluxo contínuo. 2015. (Outra).
20. Workshop SciFinder. 2015. (Outra).
21. Vascular Biology Symposium. 2013. (Simpósio).
22. II Jornada da Saúde. 2012. (Seminário).
23. 7º Congresso Internacional de Tintas - ABRAFATI. 2001. (Congresso).

## Organização de eventos, congressos, exposições e feiras

1. FORNARI, E.. V Escola de Verão: Pesquisa e Inovação em Fármacos e Medicamentos. 2019. (Outro).
2. ★ FORNARI, E.. 3rd Summer School on ?Neglected Diseases and Drug Development?. 2018. (Congresso).
3. FORNARI, E.. Escola de Inverno: Pesquisa e inovação em fármacos e medicamentos. 2018. (Outro).
4. ★ FORNARI, E.. IV Escola de Verão: Pesquisa e Inovação em Fármacos e Medicamentos. 2018. (Outro).