

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Síntese e avaliação preliminar *in vitro* do potencial antileishmania de 4-
metilselenocianatocumarinas

GUILHERME ARRACHÉ GONÇALVES

PORTO ALEGRE, 2021

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Síntese e avaliação preliminar *in vitro* do potencial antileishmania de 4-
metilselenocianatocumarinas**

Dissertação apresentada por **Guilherme Arraché Gonçalves** para obtenção
do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Eifler-Lima
Coorientador: Prof. Dr. Rômulo Faria Santos Canto

Porto Alegre, 2021

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, avaliada em 15/06/21 pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Gilsane Lino von Poser
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. José Angelo Silveira Zuanazzi
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof. Dr. Pablo Machado
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

CIP - Catalogação na Publicação

Gonçalves, Guilherme Arraché
Síntese e avaliação preliminar in vitro do
potencial antileishmania de
4-metilselenocianatocumarinas / Guilherme Arraché
Gonçalves. -- 2021.
211 f.
Orientadora: Vera Lucia Eifler-Lima.

Coorientador: Rômulo Faria Santos Canto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2021.

1. Química Medicinal. 2. Doenças Tropicais
Negligenciadas. 3. Leishmaniose. 4. Cumarinas. 5.
Química do selênio. I. Eifler-Lima, Vera Lucia,
orient. II. Canto, Rômulo Faria Santos, coorient.
III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Agradecimentos a CAPES, órgão que financiou a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho, ao Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal (LaSOM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e ao Laboratório de Imunologia Celular e Molecular (UFCSPA) que disponibilizaram os equipamentos e materiais necessários para a realização dos experimentos práticos na elaboração da presente dissertação.

AGRADECIMENTOS

A elaboração desta dissertação não seria possível sem a educação e suporte provido pela minha família. Agradeço meu querido pai Paulo César Arraché Gonçalves por ter sempre me incentivado e partilhado de sua sabedoria; minha querida mãe Maria Salete Lima Gonçalves por ter sido meu porto seguro em todos os momentos e seu amor incondicional; e meu irmão Eric Arraché Gonçalves por acreditar em mim e pelo seu companheirismo. Vocês significam tudo para mim e espero um dia conseguir retribuir.

Sinto-me uma das pessoas mais sortudas do mundo por ter em minha vida meus amigos Eduardo Cezar, Douglas Jacques, Pedro Moreno, Fernando Dias, Pablo Werner, Leonardo Radaelli e Guilherme Führ Hartmann. Vocês foram minha fuga quando eu me senti sobrecarregado.

Agradeço minha namorada Fernanda Gularte Keller por ter me acompanhado nessa trajetória e ter sempre acreditado em mim nos meus momentos de incerteza. Novamente, sinto-me sortudo por ter em minha vida alguém que torna tudo mais leve e fácil e que possui um talento artístico inspirador.

Meus colegas de laboratório Itamar Luís Gonçalves, Leonardo Davi, Gabriela Göethel, Gustavo Machado das Neves, Luciano Kagami, João Pedro Silveira de Souza e Lucas Augsten contribuíram cada a sua forma. Não poderia ter tido um grupo mais unido que este.

Agradeço a professora Gilsane Lino von Poser pela parceria e pelos ensinamentos sobre a classe dos iridoides.

Agradeço a orientação do professor Rômulo Faria Santos Canto e por ter me introduzido ao mundo da química do selênio.

Por fim, agradeço a professora Vera Lucia Eifler-Lima por ter sempre me acolhido. Agradeço sua orientação e por ter contribuído para a minha formação como pesquisador.

O aspecto mais triste da vida atual é que a ciência alcança o conhecimento mais rapidamente do que a sociedade alcança a sabedoria.

(Isaac Asimov)

RESUMO

Introdução: A doença tropical negligenciada leishmaniose ainda é um importante problema de saúde pública que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Relacionada a más condições de vida, esta doença transmitida por vetores apresenta diversas manifestações clínicas - desde condições assintomáticas a sistêmicas. As intervenções farmacológicas estão desatualizadas e apresentam várias desvantagens, portanto, a busca por novos compostos antileishmaniais é imprescindível. Várias classes de heterocíclios já foram descritas com potencial antileishmania, e as cumarinas não são exceção. Esses compostos versáteis têm um amplo espectro de atividades biológicas, incluindo propriedades antileishmania. Paralelamente, na última década, substâncias contendo selênio surgiram como uma estratégia promissora no desenvolvimento de derivados antileishmania mais potentes. Considerando a relevância farmacológica da classe das cumarinas na química medicinal e o potencial antileishmania dos compostos de selênio, a união dessas entidades parece ser uma estratégia coerente para a obtenção de novas substâncias bioativas. **Objetivos:** Sintetizar uma série de 4-metilselenocianatocumarinas e avaliar seu potencial antileishmania contra parasitas da espécie *Leishmania amazonensis*. **Métodos:** Oito derivados de 4-metilselenocianatocoumarinas foram sintetizados e caracterizados por técnicas espectroscópicas de RMN e IV. As avaliações antileishmania foram realizadas nas formas promastigotas de *L. amazonensis*. **Resultados:** A rota sintética proposta permitiu a obtenção de compostos inéditos com rendimentos moderados a satisfatórios (43-80%). A avaliação antileishmania preliminar demonstrou que todos os compostos sintetizados exibiram ação leishmanicida contra as formas promastigotas de *L. amazonensis* a 100 µM. A série foi capaz de reduzir a viabilidade das promastigotas em até 85%. **Conclusões:** Uma nova série de 4-metilselenocianatocoumarinas foi facilmente obtida em duas etapas. Todos os compostos demonstraram atividade antileishmania em condições *in vitro* contra parasitas da espécie *L. amazonensis*.

Palavras-chave: cumarina; selenocianato; antileishmania; doenças tropicais negligenciadas

Synthesis and preliminary *in vitro* evaluation of the antileishmanial potential of 4-methylselenocyanatecoumarins

ABSTRACT

Introduction: The neglected tropical disease leishmaniasis is still a major public health problem that affects millions of people worldwide. Related to poor living conditions, this vector-borne disease presents multiple clinical manifestations - from asymptomatic to systemic conditions. Current pharmacological interventions are outdated and present several drawbacks, thus the search for new antileishmanial compounds is imperative. Various classes of heterocycles have been described as potential antileishmanial scaffolds, and coumarins are no exception. These versatile compounds have a wide spectrum of biological activities, including antileishmanial properties. In parallel, in the last decade, selenium-containing compounds have emerged as a promising strategy to access more potent antileishmanial derivatives. Given the pharmacological relevance of coumarin class in medicinal chemistry and the antileishmanial potential of selenium compounds, the union of these entities seems to be a coherent strategy for obtaining new bioactive substances. **Objectives:** To synthesize a series of 4-methylselenocyanatecoumarins and evaluate its antileishmanial potential against *Leishmania amazonensis*. **Methods:** Eight 4-methylselenocyanatecoumarins derivatives were synthesized and characterized using NMR and IR spectroscopy techniques. Antileishmanial assessments were performed against *L. amazonensis* promastigotes. **Results:** The proposed synthetic route allowed the generation of novel compounds with moderate to satisfactory yields (43-80%). Preliminary antileishmanial evaluation showed that all synthesized compounds exhibited leishmanicidal action against *L. amazonensis* promastigotes at 100 μ M. The series was able to reduce promastigotes viability up to 85%. **Conclusions:** A new series of 4-methylselenocyanatecoumarins was easily obtained in a two-step route. All compounds showed antileishmanial activity on *in vitro* conditions against *L. amazonensis* parasites.

Keywords: coumarin; selenocyanate; antileishmanial; neglected tropical diseases

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	25
2. OBJETIVOS.....	37
3. CAPÍTULO 1 – SÍNTESE DE 4-METILSELENOCIANATOCUMARINAS....	39
4. CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO PRELIMINAR <i>IN VITRO</i> DO POTENCIAL ANTILEISHMANIA DE 4-METILSELENOCIANATOCUMARINAS	85
5. CAPÍTULO 3 – ARTIGO DE REVISÃO “ <i>NATURAL AND SYNTHETIC COUMARINS AS ANTILEISHMANIAL AGENTS: A REVIEW</i> ”	105
6. CAPÍTULO 4 – ARTIGO DE REVISÃO “ <i>CHAGAS DISEASE AND COUMARINS: A REVIEW OF NATURAL AND SYNTHETIC COUMARINS AS ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI AGENTS</i> ”	147
7. CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS	189
ANEXOS	191
ANEXO 1 – Lista de intermediários e produtos.....	191
ANEXO 2 – Dados espectrais.....	192
ANEXO 3 – SMILES das substâncias sintetizadas.....	208
ANEXO 4 – Artigo de revisão “ <i>Revisiting nature: a review of iridoids as a potential antileishmanial class</i> ”	209
ANEXO 5 – Artigo de revisão aceito para publicação “ <i>Coumarin synthesis via Pechmann condensation: towards a greener era</i> ”	211

O Sumário foi simplificado por conter informações e descrições que podem comprometer artigos que estão sendo desenvolvidos para futuras submissões em revistas científicas.

LISTA DE FIGURAS

A Lista de Figuras foi suprimida por conter informações e descrições que podem comprometer artigos que estão sendo desenvolvidos para futuras submissões em revistas científicas.

LISTA DE TABELAS

A Lista de Tabelas foi suprimida por conter informações e descrições que podem comprometer artigos que estão sendo desenvolvidos para futuras submissões em revistas científicas.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3J ou 4J	Constante de acoplamento via três ou quatro ligações
AC- β	Anidrase carbônica β
Am	Amastigotas
AmAx	Amastigotas axênicas
ATR	<i>Attenuated total reflectance</i>
DTN(s)	Doença(s) tropical(is) negligenciada(s)
Equiv.	Equivalente
EtOAc	Acetato de etila
Fe-SOD	Ferro superóxido dismutase
FT-IR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
-H ₂ O	Desidratação
Hex	Hexano
Hz	Hertz
IC ₅₀	Valor de concentração capaz de inibir 50% da atividade enzimática, viabilidade ou proliferação celular
LaSOM	Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal
LC	Leishmaniose cutânea
LMC	Leishmaniose mucocutânea
LV	Leishmaniose visceral
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
ppm	Partes por milhão
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1
SEAr	Substituição eletrofílica aromática
-SeCN	Grupamento selenocianato
SisLeish	Sistema de Informação Regional para Leishmanioses nas Américas
SMILES	<i>Simplified Molecular Input Line Entry Specification</i>
t.a.	Temperatura ambiente
TE	Transesterificação
TryR	Tripanotiona redutase
VP	Viabilidade dos parasitas

EQUIPAMENTOS E TÉCNICAS

Análises cromatográficas

As análises em cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas em placas sílica Merck 60 F254. As placas foram visualizadas sob luz ultravioleta (254 nm) e em câmaras contendo cristais de iodo.

Ponto de fusão

As análises de ponto de fusão dos compostos sintetizados foram realizadas no equipamento Fisatom Mod.431. Os pontos de fusão não foram corrigidos e o equipamento é pertencente ao LaSOM.

Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C (desacoplados do próton) foram obtidos em espectrômetro Bruker Ascend 400, localizado no Instituto de Química da UFRGS, operando na frequência de 400 MHz e 100 MHz, respectivamente. Os dados foram adquiridos conforme os parâmetros fornecidos pelo equipamento e processados no *software* MestReNova 6.0.2. Os valores de deslocamento químico foram expressos em partes por milhão (ppm), utilizando tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. O solvente utilizado nas análises foi o DMSO- d_6 . As constantes de acoplamento estão representadas pela letra *J* e expressas em Hz. As notações utilizadas para a multiplicidade dos sinais nos espectros de RMN ^1H foram: s (simpleto), d (dubleto), t (tripleto), q (quarteto), e m (multiplete).

Espectroscopia no infravermelho (FT-IR)

As análises foram realizadas no espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) modelo Spectrum BXII marca Perkin Elmer, pertencente ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS, com a utilização de ATR. As vibrações axiais e angulares foram expressas em cm^{-1} .

1. INTRODUÇÃO GERAL

O texto completo da introdução geral, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 25 – 36, foi suprimido por conter informações sobre a estratégia de síntese dos compostos planejados para a presente dissertação. A fundamentação teórica apresentada na introdução geral, entre outras informações, será publicada em periódico científico.

2. OBJETIVOS

Os objetivos foram ocultados por apresentarem informações referentes à estratégia de síntese das substâncias desta dissertação. Esta estratégia será utilizada para uma publicação em periódico científico.

3. CAPÍTULO 1 – SÍNTESE DE 4-METILSELENOCIANATOCUMARINAS

O texto completo do Capítulo 1, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 39 – 83, foi suprimido por conter resultados e fundamentação teórica que serão publicados em periódico científico.

4. CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO PRELIMINAR *IN VITRO* DO POTENCIAL ANTILEISHMANIA DE 4-METILSELENOCIANATOCUMARINAS

O texto completo do Capítulo 2, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 85 – 103, foi suprimido por conter resultados e fundamentação teórica que serão publicados em periódico científico.

5. CAPÍTULO 3 – ARTIGO DE REVISÃO “NATURAL AND SYNTHETIC COUMARINS AS ANTILEISHMANIAL AGENTS: A REVIEW”

Periódico: *European Journal of Medicinal Chemistry* (ISSN: 0223-5234). Fator de impacto (2020): 5,572.

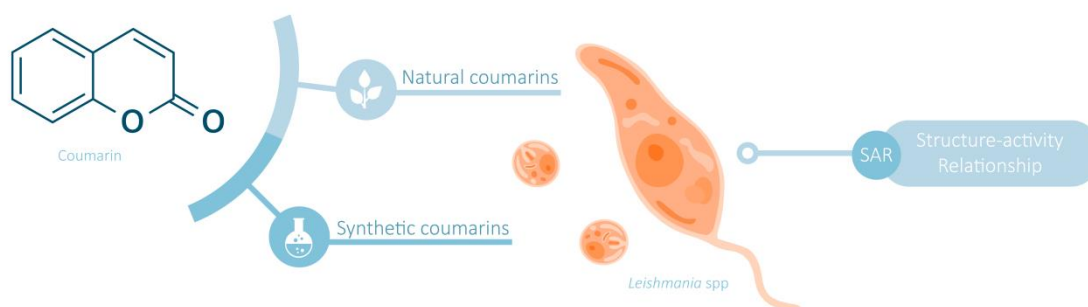
Título do artigo: *Natural and synthetic coumarins as antileishmanial agents: a review.*

Autores: Guilherme Arraché Gonçalves, Adriano Ronchi Spillere, Gustavo Machado das Neves, Luciano Porto Kagami, Gilsane Lino von Poser, Rômulo Faria Santos Canto, Vera Lucia Eifler-Lima.

Histórico: recebido em 29 de abril de 2020, revisado em 18 de maio de 2020, aceito em 25 de maio de 2020, disponível online em 9 de julho de 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112514>

Graphical abstract:



O Capítulo 3 é constituído por artigo científico publicado, conforme referência abaixo, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 106 – 146.

Gonçalves GA, Spillere AR, das Neves GM, Kagami LP, von Poser GL, Canto RFS, Eifler-Lima V. Natural and synthetic coumarins as antileishmanial agents: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2020**;203:112514.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112514>

6. CAPÍTULO 4 – ARTIGO DE REVISÃO “CHAGAS DISEASE AND COUMARINS: A REVIEW OF NATURAL AND SYNTHETIC COUMARINS AS ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI AGENTS”

Periódico: *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* (ISSN: 1875-5607 online; 1389-5575 print). Fator de impacto (2020): 2,733.

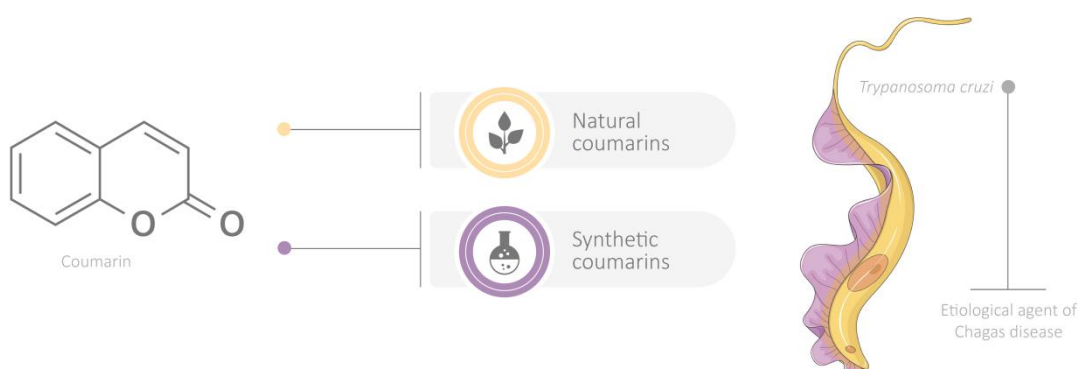
Título do artigo: *Chagas disease and coumarins: a review of natural and synthetic coumarins as anti-Trypanosoma cruzi agents.*

Autores: Guilherme Arraché Gonçalves, Hugo Cerecetto, Gilsane Lino von Poser, Rômulo Faria Santos Canto, Vera Lucia Eifler-Lima.

Histórico: recebido em 30 de junho de 2020, revisado em 15 de outubro de 2020, aceito em 19 de novembro de 2020, disponível online em 29 de dezembro de 2020 (*E-Pub Ahead of Print*).

DOI: <https://doi.org/10.2174/1389557521666201229125931>

Graphical abstract:



O Capítulo 4 é constituído por artigo científico publicado, conforme referência abaixo, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 148 – 187.

Gonçalves GA, Cerecetto H, von Poser GL, Canto RFS, Eifler-Lima V. Chagas disease and coumarins: a review of natural and synthetic coumarins as anti-*Trypanosoma cruzi* agents. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. **2021**;21(13):1701-1717.

doi: <https://doi.org/10.2174/1389557521666201229125931>

7. CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS

O texto completo das conclusões gerais e perspectivas, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 189 – 190, foi suprimido por conter resultados e informações que serão publicados em periódico científico.

ANEXOS

ANEXO 1 – Lista de intermediários e produtos

O anexo 1 (página 191) foi suprimido por conter as estruturas das substâncias sintetizadas para a presente dissertação. Estas informações serão publicadas em periódico científico.

ANEXO 2 – Dados espectrais

O anexo 2 (páginas 192 – 207) foi suprimido por conter os dados espectrais das substâncias sintetizadas para a presente dissertação. Estas informações serão publicadas em periódico científico.

ANEXO 3 – SMILES das substâncias sintetizadas

O anexo 3 (página 208) foi suprimido por conter os SMILES das substâncias sintetizadas para a presente dissertação. Estas informações serão publicadas em periódico científico.

ANEXO 4 – Artigo de revisão “Revisiting nature: a review of iridoids as a potential antileishmanial class”

Periódico: *Phytochemistry Reviews* (ISSN: 1572-980X *online*; 1568-7767 *print*).
Fator de impacto (2019): 4,298.

Título do artigo: *Revisiting nature: a review of iridoids as a potential antileishmanial class*.

Autores: Guilherme Arraché Gonçalves, Gilsane Lino von Poser, Vera Lucia Eifler-Lima.

Histórico: recebido em 9 de setembro de 2020, revisado em 24 de janeiro de 2021, aceito em 2 de março de 2021, disponível online em 16 de março de 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09750-8>

Phytochem Rev
<https://doi.org/10.1007/s11101-021-09750-8>



Revisiting nature: a review of iridoids as a potential antileishmanial class

Guilherme Arraché Gonçalves  · Vera Lucia Eifler-Lima · Gilsane Lino von Poser



Received: 9 September 2020 / Accepted: 2 March 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

Revisiting nature: a review of iridoids as a potential antileishmanial class

Guilherme Arraché Gonçalves^{a*}, Vera Lucia Eifler-Lima^a, Gilsane Lino von Poser^b

^aLaboratório de Síntese Orgânica Medicinal (LaSOM), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90610-000, Porto Alegre/RS, Brazil.

^bLaboratório de Farmacognosia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90610-000, Porto Alegre/RS, Brazil.

Abstract: Leishmaniasis still stands as one of the most prevalent neglected tropical diseases in the least developed and emerging countries. The recommended therapeutic arsenal to treat leishmaniasis is characterized by several shortcomings, and resistance has already been reported. Hence, this dramatic background highlights the pressing need to develop novel, affordable, and safe antileishmanial drugs. Multiple classes of natural compounds have been reported to possess antileishmanial activity. Among these classes, iridoids stand out as a special type of monoterpenoids with diverse biological properties - including their antileishmanial potential. This review aims to discuss the available literature between 1991 and 2020 related to the antileishmanial activity of the iridoid class. Throughout the past decades, various investigations attributed antileishmanial action to assorted iridoid types, including inhibitory potential towards validated drug targets and immunomodulatory properties. The latter deserves special attention due to the ability of some iridoids to improve the host's immune response against parasites. It opens the possibility of iridoids become adjuncts in leishmaniasis treatments by improving the efficacy of currently employed drugs. Furthermore, the present study intends to provide a convenient visual representation of which iridoids and *Leishmania* spp. species have been most investigated as a guide for further researches.

Keywords: iridoids; leishmaniasis; neglected tropical diseases; antileishmanial; natural products

ANEXO 5 – Artigo de revisão aceito para publicação “*Coumarin synthesis via Pechmann condensation: towards a greener era*”

Periódico: *Chemistry of Heterocyclic Compounds* (ISSN: 1573-8353 online; 0009-3122 print). Fator de impacto (2019): 1,519.

Título do artigo: *Coumarin synthesis via Pechmann condensation: towards a greener era*.

Autores: Guilherme Arraché Gonçalves, Vera Lucia Eifler-Lima.

Histórico: recebido em 30 de março de 2021, revisado em 28 de abril de 2021, aceito em 11 de junho de 2021.

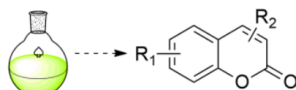


Coumarin synthesis via Pechmann condensation: towards a greener era

Guilherme Arraché Gonçalves^{1*}, Vera Lucia Eifler-Lima¹

¹Laboratório de Síntese Orgânica Medicinal (LaSOM), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 2752, 90610-000, Porto Alegre/RS, Brazil; email: arracheg@gmail.com

Pechmann condensation + sustainable approaches



This microreview summarizes the latest advances in the synthesis of coumarins via Pechmann condensation by taking advantage of green chemistry strategies. A total of twelve studies between 2015 and 2021 are covered in this article.
