

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Estratégias de heterociclização aplicadas a produtos naturais e sintéticos subexplorados pela química medicinal

Paulo Eliandro da Silva Júnior

Ribeirão Preto
2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Estratégias de heterociclização aplicadas a produtos naturais e sintéticos subexplorados pela química medicinal

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos

Orientado: Paulo Eliandro da Silva Júnior

Orientador: Prof. Dr. Flavio da Silva Emery

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 26/03/2014. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2014

SILVA
JÚNIOR, P.E.

**Estratégias de heterociclização aplicadas a produtos
naturais e sintéticos subexplorados pela química
medicinal**

MESTRADO
FCFRPUSP
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Silva-Junior, Paulo Eliandro.

Estratégias de heterociclicização aplicadas a produtos naturais e sintéticos subexplorados pela química medicinal. Ribeirão Preto, 2014. 151p.; 30 cm.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos

Orientador: Emery, Flavio da Silva

1. Heterociclos. 2. Naftoquinonas. 3. Rearranjo de Claisen.

FOLHA DE APROVAÇÃO

NOME DO ALUNO: SILVA JUNIOR, PAULO ELIANDRO

Título do trabalho: Estratégias de heterociclicização aplicadas a produtos naturais e sintéticos subexplorados pela química medicinal

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Prof. Dr. Flavio da Silva Emery

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Ao Prof. Dr. Flavio da Silva Emery pelo apoio e motivação durante a realização deste projeto assim como pela inspiração e orientação na minha carreira científica.

Agradecimentos

À minha família.

Ao Prof. Dr. Flavio da Silva Emery pela dedicação e entusiasmo durante o desenvolvimento deste projeto.

À CAPES pela bolsa concedida e financiamento do projeto.

À FAPESP e o INCT_if pelo financiamento de projetos do QHETEM.

Ao Prof. Dr. Ganesan pela colaboração no projeto.

Ao Prof. Dr. James Dale pela ajuda e supervisão do projeto desenvolvido na Novartis, NIBR-UK.

Ao Prof. Dr. Ian Clemens pela colaboração durante o processo de NGS da Novartis, NIBR-UK.

Aos amigos do laboratório de Química Heterocíclica e Medicinal, Gabriela Bianchi, Lucas Rezende, Fernando Fumagali, Rodrigo Brito, Shaiani Gil, Márcia Franco, Miguel Menezes, Douglas Gonçalves, Felícia Ito, Pedro Moraise Luciana Coitinho, pela colaboração, diversão e bom ambiente de laboratório.

Ao Dr. Vinícius Maltarollo, pelos estudos computacionais envolvendo os heterociclos propostos.

Ao técnico Murilo Helder de Paula pela contribuição no laboratório durante os experimentos.

Aos técnicos Vinicius, Tomás e Clóvis Júnior pela realização das análises de RMN, ESI-MS e IV.

Ao E, D&I Office em NIBR, Basel, Suíça, assim como colegas em Horsham e Basel pelo suporte durante o estágio como NGS.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP pelo apoio e disponibilização de laboratório.

“ You, me, or nobody is gonna hit as hard as life. But it ain’t about how hard you hit. It’s about how hard you can get hit and keep moving forward; how much you can take and keep moving forward. That’s how winning is done! ”

Rocky Balboa

“Keep your eyes on the stars, and your feet on the ground.”

Theodore Roosevelt

RESUMO

SILVA-JÚNIOR, P. E. **Estratégias de heterociclicização aplicadas a produtos naturais e sintéticos subexplorados pela química medicinal.** 2014.151f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

O presente trabalho divide-se em três capítulos: Capítulo I – Nova síntese de α -xiloidona: rearranjo de Claisen em hidroxinaftoquinonas; Capítulo II – Síntese e estudo de reatividade de promissores núcleos heteroaromáticos subexplorados pela química medicinal; Capítulo III – Análise computacional de similaridade e propriedades físico-químicas dos núcleos heterocíclicos do capítulo II. O capítulo I descreve uma nova rota para a síntese de α -xiloidona, um produto natural relacionado ao lapachol, subexplorado pela química medicinal. Esta rota é baseada no rearranjo propargílico de Claisen, a partir da reação de lausona com 3-cloro-3-metilbutino sob catálise de CuCl_2/I_2 . Este capítulo também descreveu a síntese de um derivado furano naftoquinoidal, o qual pode ser utilizado como precursor de α -duniona, via rearranjo de Claisen aril-aliílico. Além da realização desta metodologia substituindo o 3-cloro-3-metilbutino por cinco diferentes alcinos. Este novo processo ofereceu como vantagens principais o menor custo dos catalisadores empregados, os rendimentos melhorados e o reduzido número de etapas reacionais em relação as rotas descritas na literatura para obtenção de α -xiloidona. O Capítulo II apresenta o desenvolvimento de métodos sintéticos novos e eficazes para 3 núcleos heterocíclicos (naftiridinona, pirazolopiridinona e dihidropirrolpirazinona) pouco explorados pela química medicinal porém com potencial para descoberta de fármacos. Buscando abranger metodologias orientadas pela diversidade, neste capítulo foi realizado um estudo preliminar de reatividade destes núcleos frente diferentes abordagens, tanto frente métodos diretos de arilação quanto metodologias clássicas de modificação de anéis aromáticos. Além disso, no capítulo III foram realizados estudos de similaridade para a obtenção de padrões estruturais que possam ser aplicados em programas de descoberta de fármacos assim como o estudo de propriedades físico-químicas dos núcleos do capítulo II. Todo este trabalho permitiu desenvolver 10 moléculas inéditas na literatura, bem como novas metodologias para a síntese de compostos previamente descritos.

Palavras-chave: Heterociclos; Naftoquinonas; Rearranjo de Claisen.

ABSTRACT

SILVA-JÚNIOR, P. E. **Heterocyclization strategies applied to synthetic and natural products underexplored by medicinal chemistry.** 2014. 151f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

The present work is divided in two chapters: Chapter I - New synthesis of α -xiloidone: Claisen rearrangement of hydroxynaphthoquinones; Chapter II - Synthesis and reactivity study of promising heteroaromatic cores underexplored by medicinal chemistry; Chapter III - Similarity and physico-chemical properties analysis of the heterocyclic cores from chapter II. Chapter I describes a new synthetic route to α -xiloidone, which is a natural product related to lapachol and underexplored by medicinal chemistry. This route is based on propargyl Claisen rearrangement from the reaction of lawsone and 3-chloro-3-methylbutyne mediated by CuCl_2/I_2 . This chapter also describes the synthesis of a furan derivative which can be used as α -xiloidone precursor. Also this methodology had been applied replacing the 3-chloro-3-methylbutyne for five different alkynes. This new process is associated with lower cost, improved yields and reduced number of reaction steps when compared to the literature. The chapter II aimed at the development of synthetic methods to obtain 3 heterocyclic cores (naphthyridinone, pyrazolopyridinone and dihydropyrrolopyrazinone) with drug discovery potential but also underexplored by medicinal chemistry. Diversity-oriented methodologies had been performed resulting in a reactivity study of these cores across several synthetic approaches. Furthermore, the chapter III described the similarity studies that were conducted aiming to obtain structural patterns that can be applied in drug discovery programs. This work describes the development of 10 non-published molecules as well as new methodologies for the synthesis of these previously described compounds.

Keywords: Heterocycles; Naphthoquinones; Claisen Rearrangement

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Funcionalizações de alenos intermediários de transformações [3,3]-sigmatrópicas de éteres vinil-propargílicos.	3
Figura 1.2. Estrutura de dimetilcromeno selecionada.....	6
Figura 1.3. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de 2 e 6 (300 MHz, CDCl_3)..	10
Figura 1.4. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de 2 e 6 (400 MHz, CDCl_3)..	11
Figura 1.5. Espectro de RMN de ^1H de 12 (400 MHz, CDCl_3).....	18
Figura 1.6. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de 12 e 15	19
Figura 2. 1. Dentre os 10 fármacos mais vendidos, 5 são pequenas moléculas, destacando-se 4 (vermelho) com fragmentos heterocíclicos.	31
Figura 2. 2. Fragmentos heterocíclicos propostos para estudo - 16, 17,18 a partir de biblioteca de fragmentos desenhada por Pitt e colaboradores (2009)	32
Figura 2. 3. Novos alvos heterocíclicos cuja síntese é um dos objetivos deste trabalho.	33
Figura 2. 4. Alvos sintéticos do capítulo II.	39
Figura 2. 5. Anel piridínico 3,4-substituído, espectro de RMN de ^1H do cianeto intermediário 26	44
Figura 2. 6. Espectro de RMN de ^1H do composto 27 , 300 mHz, Metanol-4d(ANEXO 34).	46
Figura 2. 7. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de 16 e 27	48
Figura 2. 8. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de 30 e 32	53
Figura 2. 9. Sobreposição dos espectros de RMN de ^{13}C de 30 e 32	54
Figura 2. 10. Espectro de RMN de ^1H do composto 18 , 400 mHz, CDCl_3	57
Figura 2. 11. Planejamento de DOS para os núcleos 16,17 e 18	58

Figura 2. 12. Gráfico ilustrativo de propriedades estruturais dos derivados propostos desenvolvido pelo software Vortex.....	70
Figura 3. 1. Amostra dos principais núcleos presentes nos 100 mais vendidos produtos farmacêuticos do terceiro bimestre de 2013 nos E.U.A.....	93
Figura 3. 2. Distribuição de semelhanças de volume 3D e farmacóforo de 42 fragmentos com 16 , 17 e 18 fragmentos de propostos.	98
Figura 3. 3. Intersecção de dados de similaridade de volume 3D e farmacóforo entre os três fragmentos propostos.....	99
Figura 3. 4. Contribuição da substituição de 59 por 16 , 17 e 18	102

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. 1. Variações do Rearranjo de Claisen, vinil-alílico, vinil-propargílico, e aril-alílico.	3
Esquema 1. 2. Esquema de catalisadores empregados para síntese de 2,2-dimetilcromenos.	4
Esquema 1. 3. Rearranjo de Claisen aplicado a 2-hidroxiquinonas descrito por Perez. ¹¹	4
Esquema 1. 4. Rotas sintéticas para obtenção de α -xiloidona 2	5
Esquema 1. 5. Planejamento sintético e retró sintéticos para obtenção de 2	8
Esquema 1. 6. Plano sintético para obtenção do éter propargílico 4 a partir de lausona 1	8
Esquema 1. 7. Síntese de α -xiloidona 2 e p-furanoquinone 6 a partir de lausona 1 ..	9
Esquema 1. 8. Sumário da metodologia para síntese de α -xiloidona 2 e precursor de duniona 6	13
Esquema 1. 9. Mecanismo proposto para formação seletiva de 2	14
Esquema 1. 10. Proposta mecanística para formação seletiva de 6	14
Esquema 1. 11. Proposta para formação de ambos compostos, 2 e 6	15
Esquema 1. 12. Reações de heterociclicização a cromeno naftoquinonas a partir de uma série de alcinos.	16
Esquema 1. 13. Reação de formação do éter propargílico intermediário 12	17
Esquema 1. 14. Tentativa de heterociclicização por rearranjo de Claisen a partir de éter propargílico 12	18
Esquema 2. 1. Planejamento sintético e retró sintéticos para obtenção de 16	37
Esquema 2. 2. Planejamento sintético e retró sintéticos para obtenção de 17	37

Esquema 2. 3. Planejamento sintético e retró sintéticos para obtenção de 18	38
Esquema 2. 4. Rota sintética proposta para obtenção do núcleo 16 via formação de íon imínio. a- TsOH cat., refluxo de tolueno por 72 h com uso de Dean-Stark.	40
Esquema 2. 5. Síntese de 2.6-naftiridin-3-ol 16 , 44% de rendimento global.	41
Esquema 2. 6. N-oxidação de 23	42
Esquema 2. 7. Alquilação do N-óxido 24	43
Esquema 2. 8. Síntese de 26 por cianação de 25	43
Esquema 2. 9. Heterociclicização de 26 para 27	45
Esquema 2. 10. Condições de oxidação sem sucesso.	47
Esquema 2. 11. Oxidação de 27 para obtenção de 16	47
Esquema 2. 12. Síntese de 17 a partir de ciclização de intermediário N-acil-N-nitroso, 54% de rendimento global.....	49
Esquema 2. 13. Acetilação de 28 e hidrogenação de 29 para formação da acetamida 30	50
Esquema 2. 14. Nitrosilação de 30 por íons nitrônio.	51
Esquema 2. 15. Rearranjo N-nitroso para formação de 31	52
Esquema 2. 16. Deacetilação de 31	52
Esquema 2. 17. Métodos de demetilação sem sucesso.....	54
Esquema 2. 18. Síntese de 18 explorando reatividade de anéis pirrólicos, 15% de rendimento global.....	55
Esquema 2. 19. Síntese do intermediário 37	56
Esquema 2. 20. Reação de amidação do intermediário 37	56
Esquema 2. 21. Reação de ciclização e obtenção do núcleo 18	56

Esquema 2. 22. Estudo de reatividade de 16 frente usuais transformações sintéticas.	59
Esquema 2. 23. Estudo de reatividade de 32 frente usuais transformações sintéticas.	60
Esquema 2. 25. Estratégia de bromação dos núcleos 16 , 32 e 18	62
Esquema 2. 26. Abordagem de nitração dos núcleos 16 e 32	63
Esquema 2. 27. Reação de Mitsunobu entre os núcleos 16 e ciclohexanol.....	64
Esquema 2. 28. Borilação mediada por irídio aplicada aos núcleos 16 e 32	65
Esquema 2. 29. Química de Minisci aplicada ao núcleo 16	65
Esquema 2. 30. Química de Minisci aplicada a 32	65
Esquema 2. 31. Arilação direta de 16 por ativação de ligação de C-H mediada por Paládio.	66
Esquema 2. 32. Ativação de ligação de C-H mediada por paládio para arilação direta de 32	67
Esquema 2. 33. Reatividade de 27 sob condições da química de Minisci e ativação de ligação de C-H.....	68
Esquema 2. 34. Acoplamento de Suzuki aplicado ao brometo 41	69
Esquema 2. 35. Acoplamento de Heck-Mizoroki aplicado ao brometo 41	69

Lista de Tabelas

Tabela 1.1. Parâmetros reacionais avaliados para obtenção de 2 e 6 , e os rendimentos correspondentes.....	12
Tabela 2. 1. Condições reacionais para síntese de 24	42
Tabela 2. 2. Condições de cianação de 26	43
Tabela 2. 3 . Condições reacionais da síntese de 27	45
Tabela 3. 1. Pontuação farmacóforica e de volume 3D obtidos dos cálculos de vROCS	95
Tabela 3. 2. Análise estatística de índices de similaridade.....	97
Tabela 3. 3. Propriedades farmacologicamente relevantes dos núcleos 16 , 32 e 18	101

LISTA DE ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS

AcOH - ácido acético	IES-EM: Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray
AMCPB – ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico	IV- ATR: Infravermelho –
B ₂ Pin ₂ - Bis (pinacolato) diboro	CL-EM -cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CL-EM / CL-EM)
Cy ₂ Me – N-metildiciclohexilamina	m/z: Relação massa carga
d: duplete	m: multiplete
DBU- 1,8-Diazabicycloundec-7-eno	mCPBA- ácido <i>m</i> -cloroperbenzóico
dd: duplo-duplete	MeOH- Metanol
DDQ-2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona	MO- micro-ondas
DIAD- Dietil azodicarboxilato	p.f.: Ponto de fusão
p-TsOH-Ácido <i>p</i> -toluenossulfônico	Pd(Cl ₂ dtbpf) – Pd-118
DMA - <i>N,N</i> -dimetilacetamida	Pd(OAc) ₂ - acetato de paládio
DMAP: dimetilaminopiridina	Pd/C- Paládio sobre carbono
DMF - <i>N,N</i> -dimetilformamida	PPh ₃ - trifenilfosfina
DMSO - dimetilsulfóxido	ppm: Partes por milhão
dtBpy- di- <i>tert</i> -butil bipyridina	q: quardruplete
ESI - <i>electrospray ionization</i> (ionização por eletrospray)	t.a. – temperatura ambiente
Etl – Iodo etano	TBAC- cloreto de tetrabutyl amônio
EtOAc - acetato de etila	RMN - ressonância magnética nuclear
EtOH- Etanol	s: simpleto
FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo	t: tripleto
GC-MS - <i>gas chromatography/mass spectrometry</i> (cromatografia gasosa com espectroscopia de massas)	TBDMSCl: cloreto de <i>tert</i> -butildimetilsilano
HCl: Ácido clorídrico	<i>t</i> -BuOH - álcool <i>tert</i> -butílico
HRMS – espectroscopia de massas de alta resolução	<i>t</i> -BuOK <i>tert</i> -butóxido de potássio
IBX- ácido 2-Iodoxibenzóico	TFA - ácido trifluoroacético
	THF: tetrahidrofurano
	δ: Deslocamento químico
	DFT: Teoria Funcional de Densidade
	ESP: Potencial eletrostático

ÍNDICE

RESUMO	I
ABSTRACT	II
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE ESQUEMAS.....	V
LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS	IX
CAPÍTULO I- NOVA SÍNTESE DE A-XILOIDONA: REARRANJO DE CLAISEN EM HIDROXINAFTOQUINONAS	1
1. Introdução	2
2. Objetivos	5
3. Material e Métodos	6
3.1. Materiais	6
3.1.1 Equipamentos Analíticos	6
3.1.2 Equipamentos.....	7
3.1.3 Solventes e Reagentes.....	7
3.2 Métodos	7
3.2.1. Estratégia sintetica para α -xiloidona 2	7
4. Resultadose Discussão	8
4.1. Síntese de α -Xiloidona 2	8
4.2. Síntese de derivados Naftoquinoidais.....	16
5. Conclusão	20
6. Sessão Experimental	21
Referências do Capítulo I	26
CAPÍTULO II - SÍNTESE E ESTUDO DE REATIVIDADE DE PROMISSORES NÚCLEOS HETEROAROMÁTICOS SUBEXPLORADOS PELA QUÍMICA MEDICINAL	29
1. Introdução	30
2. Objetivos	33
3. Material e Métodos	34
3.1 Materiais	34

3.1.1	Equipamentos Analíticos	34
3.1.2	Equipamentos.....	34
3.1.3	Solventes e Reagentes.....	35
3.1.4	Software	35
3.2	Métodos	36
3.2.1.	Estratégia sintética para a obtenção do núcleo heterocíclico 16	36
3.2.2.	Estratégia sintética para a obtenção do heterocíclico 17	37
3.2.3.	Estratégia sintética para a obtenção do núcleo heterocíclico 18	38
3.2.4.	<i>Análise computacional</i>	88
4.	Resultados e Discussão	38
4.1.	Síntese do núcleo 16 , naftiridinol	39
4.2.	Síntese do núcleo 17 , pirazolopiridinona.	49
4.3.	Síntese do núcleo 18 , dihidropirrolpirazinona	55
4.4.	Síntese Orientada pela Diversidade – <i>do inglês Diversity Oriented Synthesis (DOS)</i> -Estudo da reatividade dos núcleos 16 , 17 e 18	58
4.5.	Análise Computacional dos núcleos 16 , 17 e 18	94
4.5.1.	Análise estrutural dos núcleos propostos	94
5.	Conclusões	71
6.	Sessão Experimental	71
	Referências do Capítulo II	82
	CAPÍTULO III - INOVAÇÃO EM PROCESSOS DE DESCOBERTA DE FÁRMACOS: ANÁLISE COMPUTACIONAL DE SIMILARIDADE E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS NÚCLEOS SINTETIZADOS	87
1.	Introdução	88
2.	Objetivos	91
3.	Material e Métodos	91
3.1	Materiais	91
3.2	Métodos	36
3.3.	Cálculo de propriedades farmacêuticas relevantes.....	94
4.	Resultados e Discussão	94
5.	Conclusões	103
	Referências do Capítulo III	103

MATERIAL SUPLEMENTAR	105
ANEXOS – CAPÍTULO I	106
ANEXOS – CAPÍTULO II	119
PUBLICAÇÕES	154

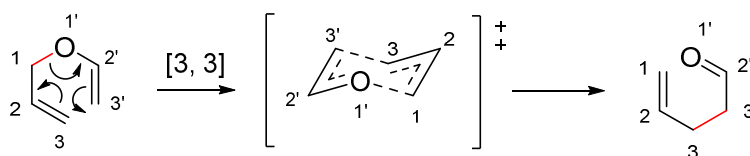
CAPÍTULO I

NOVA SÍNTESE DE α -XILOIDONA:
REARRANJO DE CLAISEN EM HIDROXINAFTOQUINONAS

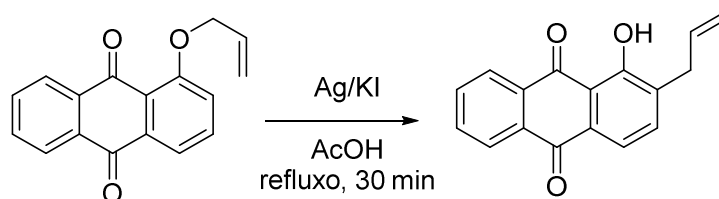
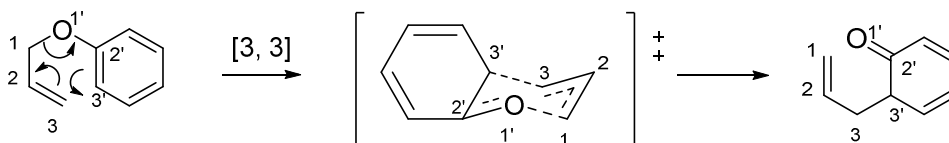
1. Introdução

Desde a primeira publicação do rearranjo de Claisen por Ludwig Claisen, em 1912,¹ essa versátil ferramenta sintética é base para um grande número de trabalhos,² abrangendo a síntese de compostos bioativos,^{1,2} síntese assimétrica,³ produção de blocos de construção⁴ e estratégias orientadas pela diversidade.⁵ O rearranjo de Claisen é fundamentalmente descrito como um processo [3,3]-sigmatrópico de conversão de éteres aril-álílicos em compostos carbonílicos γ , δ -insaturados.⁶ Algumas variações desse tipo de reação incluem a substituição de grupos vinílicos, e a introdução de grupos arílicos, propargílicos ou heteroátomos (Esquema 1.1).^{6,7}

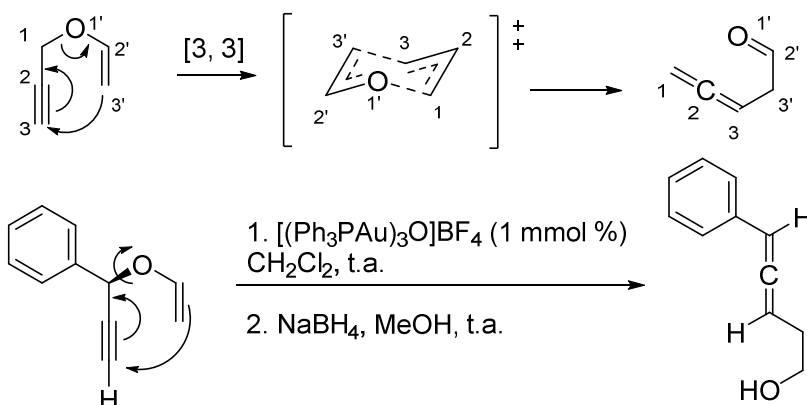
Rearranjo vinil-álílico



Rearranjo aril-álílico



Rearranjo vinil-propargílico



Esquema 1. 1. Variações do Rearranjo de Claisen, vinil-álílico, vinil-propargílico, e aril-álílico.

Dentre as variações mais comuns, o rearranjo propargílico de Claisen, conhecido por proporcionar a obtenção de alenos funcionalizados por transformação [3,3]-sigmatrópica de éteres vinil-propargílicos (Esquema 1.1). Estes alenos são intermediários com grande utilidade na preparação de heterociclos e compostos funcionalizados (Figura 1.1).⁷

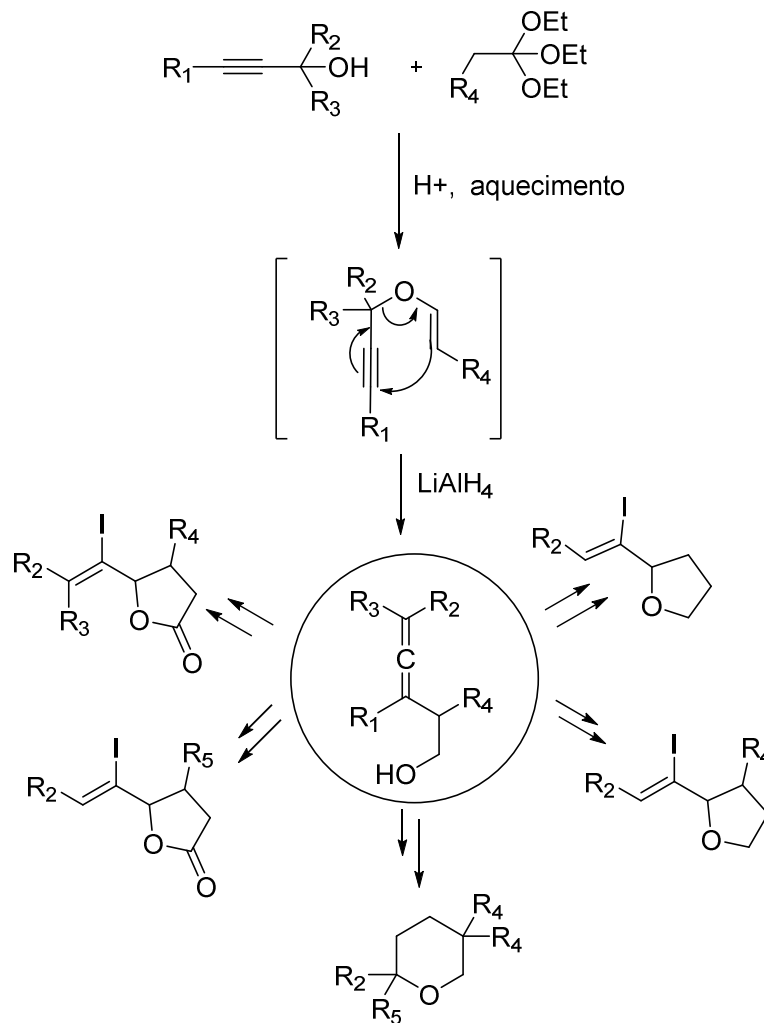
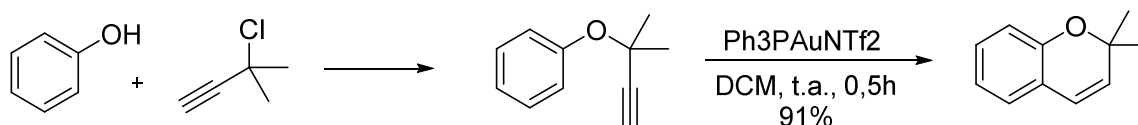


Figura 1.1. Funcionalizações de alenos intermediários de transformações [3,3]-sigmatrópicas de éteres vinil-propargílicos.

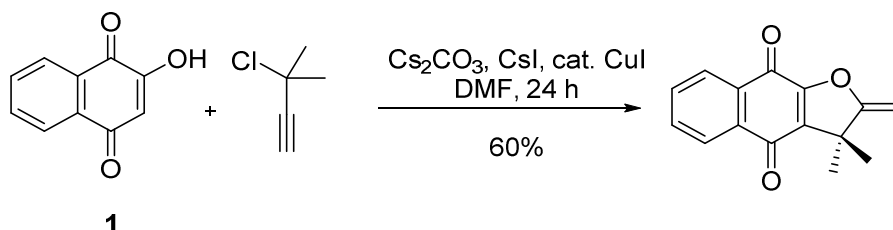
A síntese de 2,2-dimetil-2H-cromenosé bem estabelecida na literatura a partir de éteres propargílicos provenientes da reação de fenol e 3-cloro-3-metilbutino. Em particular, os 2,2-dimetil-cromenos tiveram a síntese descrita por Hlubucek em 1969,⁸

Meepagala em 2010,⁹eLykakis em 2011.¹⁰Destacando-se o método mediado por catalisador de ouro ($\text{Ph}_3\text{PAuNTf}_2$) descrito por Lykakis (Esquema 1.2).



Esquema 1. 2. Esquema de catalisadores empregados para síntese de 2,2-dimetil-cromenos.

Alguns trabalhos como de Bonifazi em 2010,¹¹Rathwell em 2009¹² e Naito em 1986,¹³descrevem o rearranjo de Claisen aril-alílico aplicado a 2-hidroxi-naftoquinonas. Porém o rearranjo estrutural propargílico de Claisen é pouco descrito na literatura. Recentemente, Perez mostrou um exemplo deste rearranjo em que a reação entre lausona **1** e 3-cloro-3-metilbutino, utilizando como sistema catalítico Cs_2CO_3 , CsI e CuI em DMF, que resultou na formação de um furano naftoquinoidal (Esquema 1.3).¹⁴

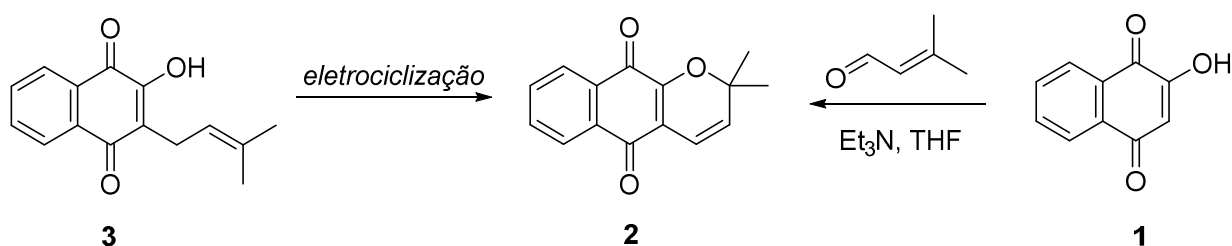


Esquema 1. 3. Rearranjo de Claisen aplicado a 2-hidroxiquinonas descrito por Perez.¹⁴

Considerando a possibilidade de explorar essa classe de reações e estruturas, observou-se que um dos mais interessantes cromenos, devido suas atividades biológicas,¹⁵⁻¹⁷ é a α -xiloidona **2**, a qual é comumente extraída da casca de árvores pertencentes a família *Bignoneaceae*.¹⁵ Estruturalmente, esse composto é uma naftoquinona relacionada ao lapachol **3**. α -xiloidona **2** apresenta uma estrutura de 2,2-dimetilcromeno presente em diversos derivados naturais.

Atualmente são descritas diversas rotas sintéticas para α -xiloidona **2**. Sendo obtida principalmente a partir de dois materiais de partida, lapachol **3** e lausona **1**. Quando utilizado o lapachol **3**, a síntese pode seguir métodos de eletrociclação, como refluxo em piridina,¹⁸ métodos mediados por DDQ,¹⁹ manganês,²⁰ sais de Tálcio III¹⁵ e $\text{Pd}(\text{OAc})_2$,²¹ e também métodos de biotransformação.²² Partindo da

lausona **1**, geralmente é utilizada a reação entre esta e 3-metil-2-butenal, resulta na formação de α -xiloidona **2** (Esquema 1.4).²³⁻²⁵



Esquema 1. 4. Rotas sintéticas para obtenção de α -xiloidona **2**.

Considerando os custos, tanto de materiais de partida quanto sistemas catalíticos, e os rendimentos descritos, este capítulo do trabalho propôs a obtenção de uma nova rota sintética para a obtenção de **2** a partir da reação de **1** com 3-cloro-3-metilbutino sob catálise térmica ou metálica,²⁶ e subsequente rearranjo sigmatrópico [3,3] propargílico de Claisen.²⁷ O presente foi realizado a fim de proporcionar mais opções sintéticas para a obtenção desse produto natural subexplorado pela química medicinal, assim como adicionar mais dados a literatura sobre esta útil ferramenta sintética, o rearranjo de Claisen. Estabelecida a rota sintética para obtenção de **2**, propôs-se também um estudo sobre a reatividade química da lausona **1** frente diversos alcinos utilizando as mesmas condições de Rearranjo de Claisen empregadas para a obtenção de **2**.

2. Objetivos

Objetivos Gerais

Esse capítulo visa estabelecer uma nova e efetiva rota sintética para α -xiloidona **2**, a qual ainda não foi descrita na literatura a partir da metodologia de rearranjo de Claisen dehidroxi-naftoquinona. Bem como explorar a reatividade de **1** frente diversos alcinos sob as mesmas condições catalíticas utilizadas na síntese de **2**.

Objetivos Específicos

Desenvolvimento de uma nova rota sintética para dimetilcromenos (Figura 1.2).

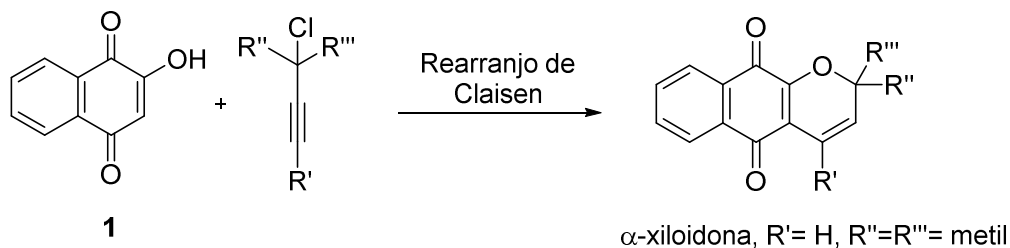


Figura 1.2. Estrutura de dimetilcromeno selecionada.

3. Material e Métodos

3.1. Materiais

3.1.1 Equipamentos Analíticos

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de próton (RMN de ^1H) foram registrados à 300 e 500 MHz em espectrômetro BRUKER(R) - Modelo DPX300 e DRX500 Ultra Shield, respectivamente. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13 (RMN de ^{13}C) foram registrados à 75 e 125 MHz em espectrômetro BRUKER(R) - Modelo DPX300 e DRX500 Ultra Shield, respectivamente, no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo na Universidade de São Paulo. Os valores de deslocamento químicos (δ) estão relatados em partes por milhão (ppm), utilizando-se como referência o Tetrametilsilano (TMS). As multiplicidades dos sinais estão apresentadas entre parênteses (s=simpleto, d=dupleto, t=tripleto, q=quarteto, dd=duplo dupleto, m=multiplero), utilizando como padrão interno, os valores de constante de acoplamento (J) são dados em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos a partir da integral relativa.

As análises de espectrometria de massas por IES-EM (Espectrometria de massas utilizando ionização por eletrospray) foram realizadas em aparelho modelo ultrOTOFQ-IES-TOF Mass Spectrometer, da Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA

As análises de absorção no infravermelho foram realizadas em espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo 1600-FT, em celas de KBr para líquidos (filme).

3.1.2 Equipamentos

Abaixo é apresentada a descrição dos equipamentos utilizados durante procedimentos sintéticos, os quais são mais detalhados na sessão experimental.

- Balança analítica Mettler PE 400/ Sartorius BP 121S
- Medidor de Ponto de fusão: Marconi MA 381
- Bomba de alto vácuo E2M5 (Edwards)
- Agitador magnético: IKA C-MAG H57
- Evaporador rotatório com controlador de vácuo: Büchi R-215

3.1.3 Solventes e Reagentes

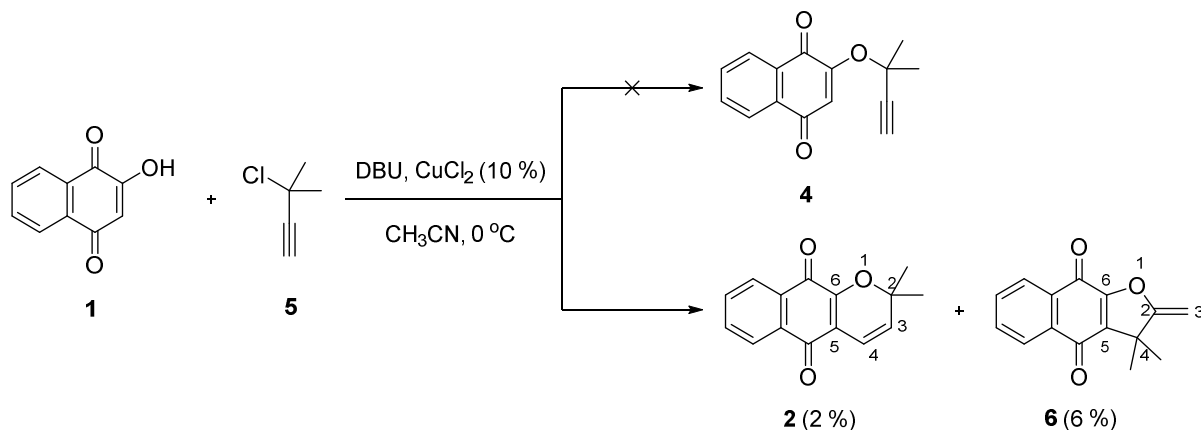
Os solventes e reagentes comerciais foram convenientemente purificados, como descrito na literatura.²⁸ Os solventes utilizados na extração e síntese foram adequadamente separados e enviados para o centro de tratamento de resíduos. Os reagentes foram obtidos através da Sigma-Aldrich Brasil.

3.2 Métodos

3.2.1. Estratégia sintética para α -xiloidona 2

A síntese deste dimetilcromeno **2** foi planejada com base no esquema retrosintético descrito abaixo (Esquema 1.5). A partir de um intermediário propargílico, obtido por métodos adaptados do trabalho de Godfrey,²⁶ se utilizaria a metodologia do Rearranjo de Claisen envolvendo intermediários propargílicos para a obtenção de α -xiloidona **2** (Esquema 1.5).

sinteticamente para a obtenção de α -duniona, assim como compostos derivados, que apresentam atividades inseticidas, antifúngicas e provável atividade antioxidante.¹⁴



Esquema 1. 7. Síntese de α -xiloidona **2** e p-furanoquinona **6a** a partir de lausona **1**.

A obtenção dos isômeros **2** e **6** foi confirmada por análise comparativa entre os espectros de RMN de ¹H e ¹³C experimentais e obtidos na literatura.^{8,14} Os espectros de RMN de ¹H de **2** (ANEXO 1) e **6** (ANEXO 6) apresentam o padrão aromático de 1,4-naftoquinonas, dois multipletos em $\delta=7,63-8,04$ ppm. A estrutura **2** apresenta dois dupletos em $\delta=6,60$ ppm ($J=9,99$ Hz) e $\delta=5,68$ ppm ($J=9,99$ Hz), referentes aos hidrogênios vinílicos. Já a estrutura **6**, apresenta os sinais referentes aos hidrogênios vinílicos em $\delta=4,88$ ppm ($J=3,45$ Hz) e $\delta=4,41$ ppm ($J=3,45$ Hz), estes mostram-se mais blindados em relação aos sinais de **2**, provavelmente devido ao efeito mesomérico, doador de elétrons do átomo de O-1, tornando os hidrogênios vinílicos mais ricos eletronicamente. Além disso, apresenta sinal das metilas em $\delta=1,52$ ppm (Figura 1.3).

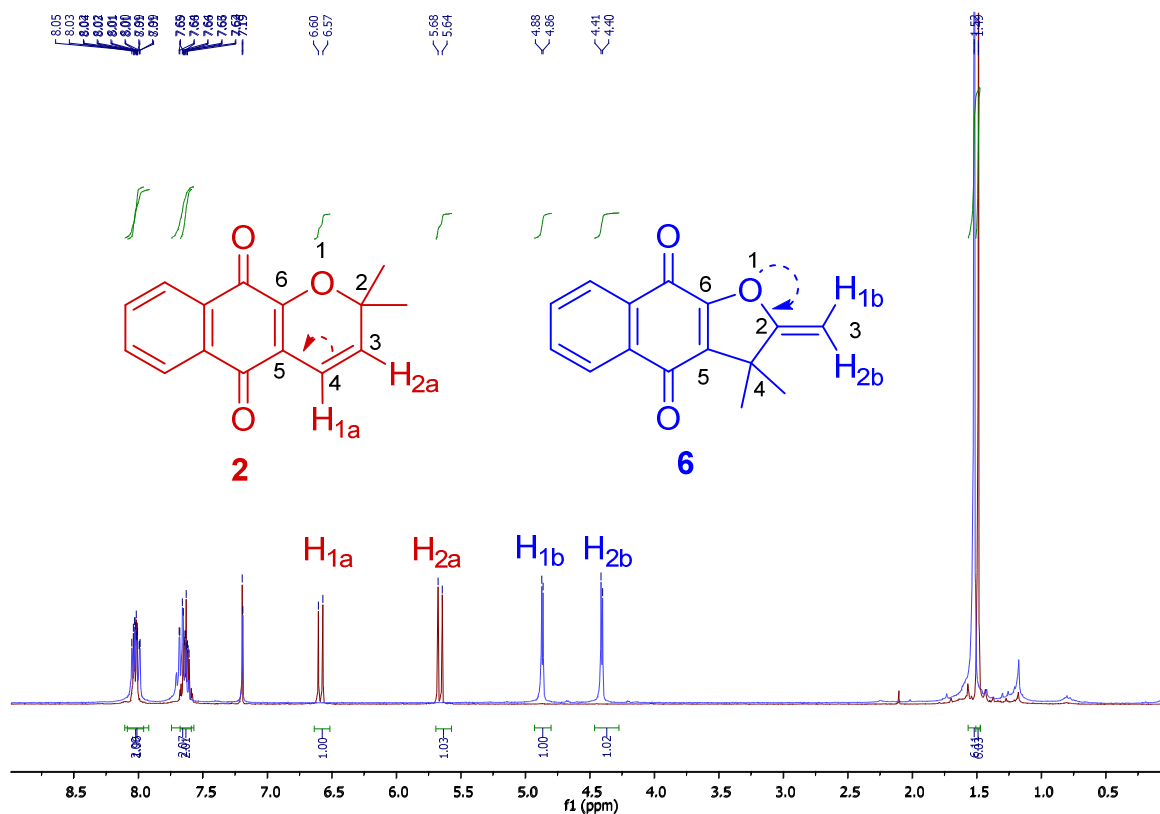


Figura 1.3. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de **2** e **6** (300 MHz, CDCl_3) (ANEXO 1 e 6).

Os espectros de RMN de ^{13}C corroboram os resultados do espectro de RMN de ^1H . No espectro de ^{13}C de **6** (ANEXO 7) é possível observar os sinais referentes aos carbonos C-2 e C-3, em $\delta = 169,92$ ppm e $\delta = 87,8$ ppm, e do carbono quaternário ligado as C-4, em $\delta = 45,43$ ppm, enquanto que para o composto **2** (ANEXO 2) os sinais referentes aos carbonos C-3 e C-4 são observados na região característica de $\delta = 115,48$ e $\delta = 130,89$ ppm, e do C-2 em $\delta = 80,45$ ppm (Figura 1.4).

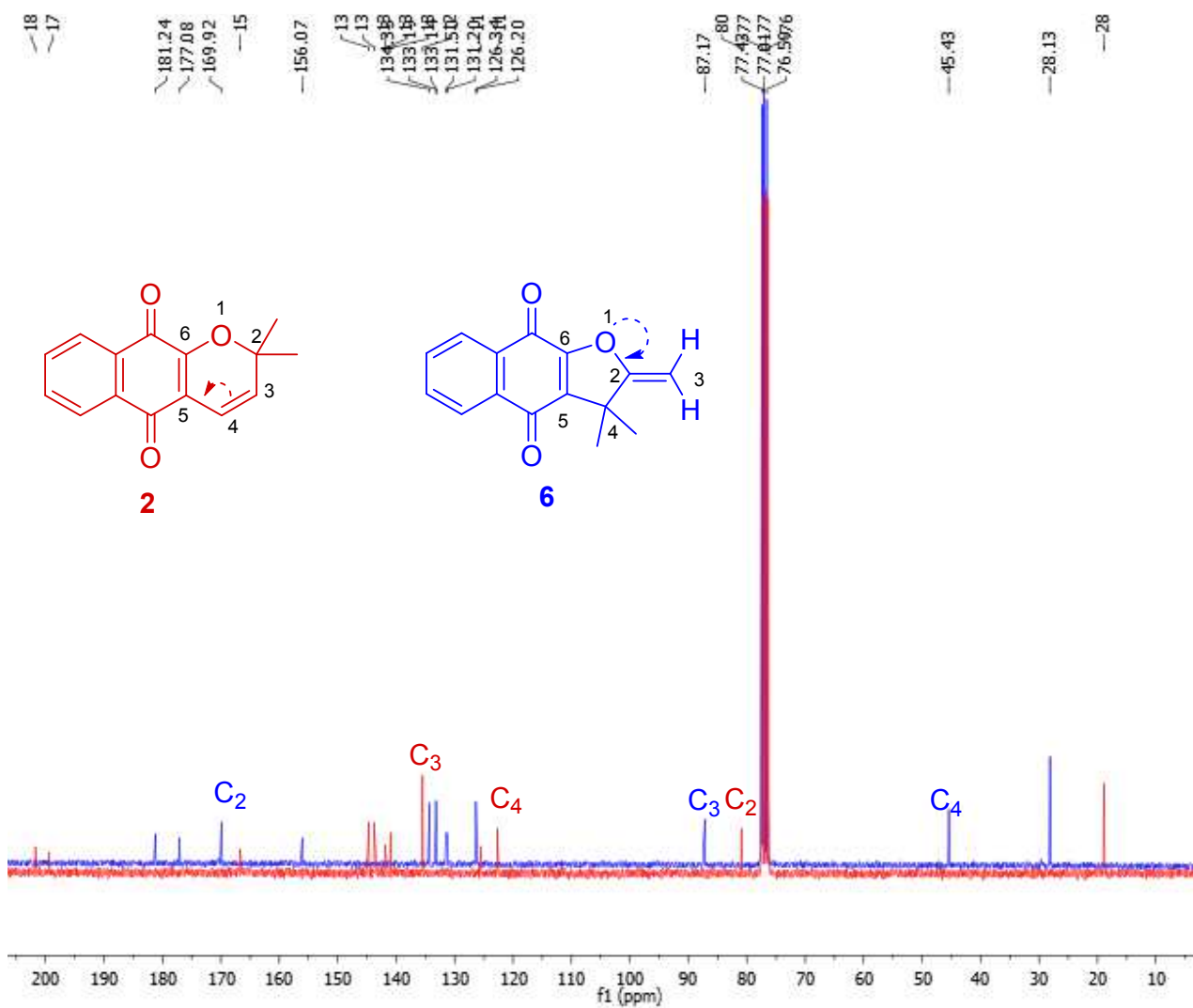


Figura 1.4. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de **2** e **6** (400 MHz, CDCl_3) (ANEXO 2 e 7).

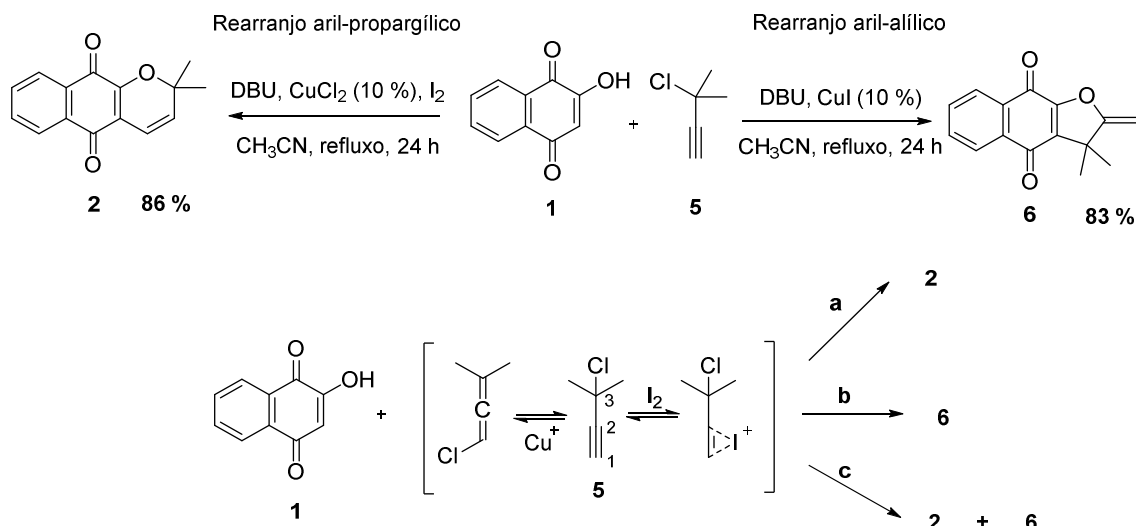
Para assegurar o melhor rendimento e a seletividade para **2** ou **6**, várias condições reacionais foram avaliadas a partir da variação da temperatura, tempo de reação e o sistema catalítico, visando a otimização das estratégias de síntese, tal como mostrado na Tabela 1.1.

Tabela 1.1. Parâmetros reacionais avaliados para obtenção de **2** e **6**, e os rendimentos correspondentes.

Entrada	1(mmol)	5(mmol)	Base(mmol)	Catalisador (10%)	Solvente	Procedimento*	t (h)	% Rend.	
								2	6
1	1,0	2,0	DBU (1.2)	CuCl ₂	CH ₃ CN	A	12	2	6
2	0,6	2,0	DBU (2.0)	CuCl ₂	CH ₃ CN	A	12	22	30
3	0,6	2,0	DBU (0.7)	CuCl ₂	CH ₃ CN	A	12	-	-
4	0,3	1,0	DBU (1.0)	CuCl ₂	CH ₃ CN	B	12	46	51
5	0,3	1,0	DBU (1.0)	-	CH ₃ CN	C	3	-	14
6	0,1	0,5	DBU (2.0)	CuCl ₂	CH ₃ CN	B	48	-	-
7	0,1	0,5	DBU (0.5)	CuCl ₂	DMF	B	12	-	-
8	0,1	0,5	DBU (0.5)	CuI	CH ₃ CN	B	12	-	83
9	0,1	0,5	DBU (0.5)	Cu(OAc) ₂	CH ₃ CN	B	12	-	-
10	0,1	0,5	K ₂ CO ₃ (0.5)	CuCl ₂	CH ₃ CN	B	24	-	-
11	0,1	0,5	DBU (0.5)	Cs ₂ CO ₃	CH ₃ CN	B	24	-	-
12	0,1	0,5	DBU (0.5)	InCl ₃	CH ₃ CN	B	24	-	-
13	0,6	2,0	DBU (0.5)	AgCl	CH ₃ CN	B	24	-	-
14	0,3	1,0	DBU (0.5)	PtO ₂	CH ₃ CN	B	24	-	-
15	0,3	1,0	DBU (0.5)	RuCl ₃ .H ₂ O	CH ₃ CN	B	24	-	-
16	0,3	1,0	DBU (0.5)	CuCl ₂ / KI (1 eq)	CH ₃ CN	B	24	29	68
17	0,3	1,0	DBU (0.5)	CuCl ₂ / I ₂ (2eq)	CH ₃ CN	B	24	89	6
18	0,6	2,0	DBU (0.5)	CuCl ₂ / I ₂ (2eq)	CH ₃ CN	B	24	86	4
19	0,3	1,0	DBU (0.5)	CuCl ₂ / I ₂ (4eq)	CH ₃ CN	B	24	47	31
20	0,3	1,0	DBU (0.5)	CuI / I ₂ (1eq)	CH ₃ CN	B	24	-	-
21	0,3	1,0	DBU (0.5)	I ₂	CH ₃ CN	B	24	-	-

* A: agitação a 0 ° C, aquecimento até à temperatura ambiente, B: agita-se a 0 ° C, aquecimento até à temperatura ambiente e então refluxo, C: temperatura ambiente e refluxo.

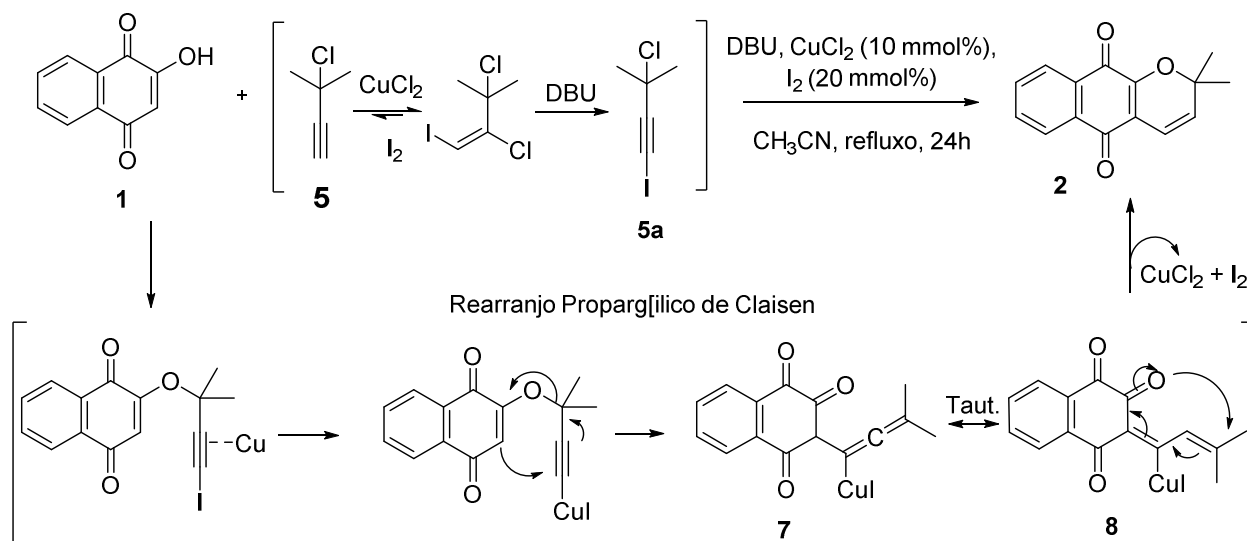
Com base nos dados obtidos, pode-se deduzir que a seletividade para cromeno ou furano é dependente do tipo de espécies de cobre utilizados (Cu⁺ ou Cu⁺²) e da presença de I₂ no meio reacional. Assim, é possível descrever três caminhos distintos de heterociclização: (i) caminho **a**, a reação resulta majoritariamente em α -xiloidona**2**, (ii) caminho **b**, onde a seletividade favorece a formação da furanonaftoquinona**4**, e (iii) caminho **c**, em que é gerada uma mistura de **2** e **6** (Esquema 1.8).



Esquema 1. 8. Sumário da metodologia para síntese de α -xiloidona **2** e precursor de duniona **6**. Condições: **a**: **1**, CH₃CN, DBU, CuCl₂ (10 mmol %), I₂ (20 mmol %), **5**, 24h; **b**: **1**, CH₃CN, DBU, CuI (10%), **5**, 24h; **c**: **1**, CH₃CN, DBU, CuCl₂ (10 mmol %), **5**, 24h.

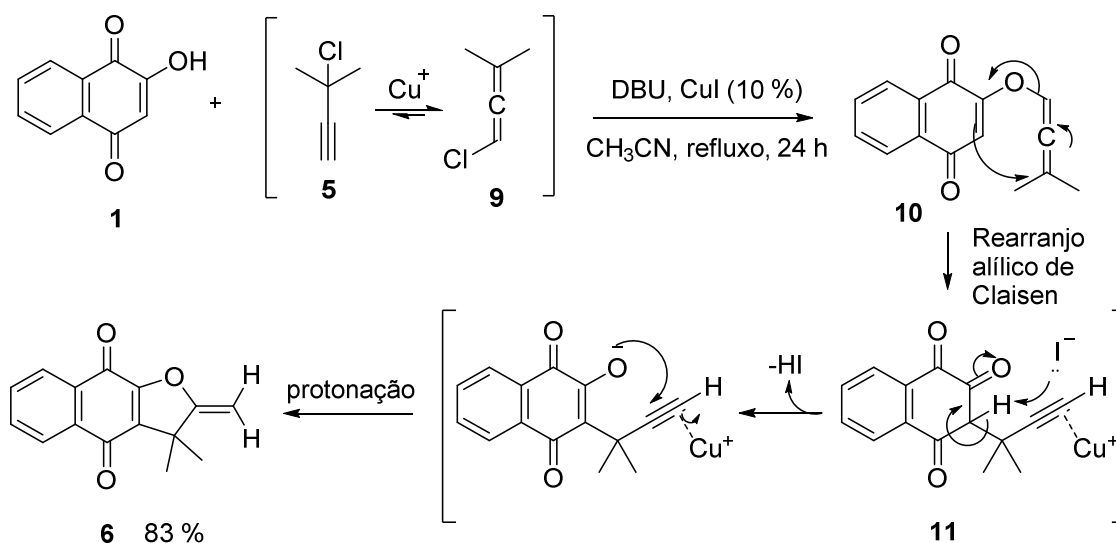
Propõe-se que o equilíbrio entre o alcino/aleno e alcino/iodônio congêneres, formados *in situ* a partir do reagente **5**, determine o caminho reacional (Esquema 1.8). De acordo com Grygorian em 1982, na presença de Cu⁺, o alcino **5** sofre isomerização, e a posição do átomo de cloro é deslocado do C-3 para o C-1.²⁹ Além disso, um derivado iodo vinílico pode ser produzido na presença de I₂ (Esquema 1.9).³⁰

No caminho **a**, **2** é obtido usando CuCl₂ (Cu²⁺) em presença de I₂. Nesta reação, o equilíbrio é deslocado para o iodeto intermediário **5a**, o qual favorece o ataque nucleofílico em C-3. Subsequentemente, ocorre um rearranjo [3,3]-sigmatrópico propargílico de Claisen, favorecido por Cu⁺², com consequente eliminação do íon iodeto, para produção do aleno intermediário **7**. Em seguida, **7** sofre tautomerização para o dieno conjugado **8**, para subsequente heterociclicização a **2** (Esquema 1.9).



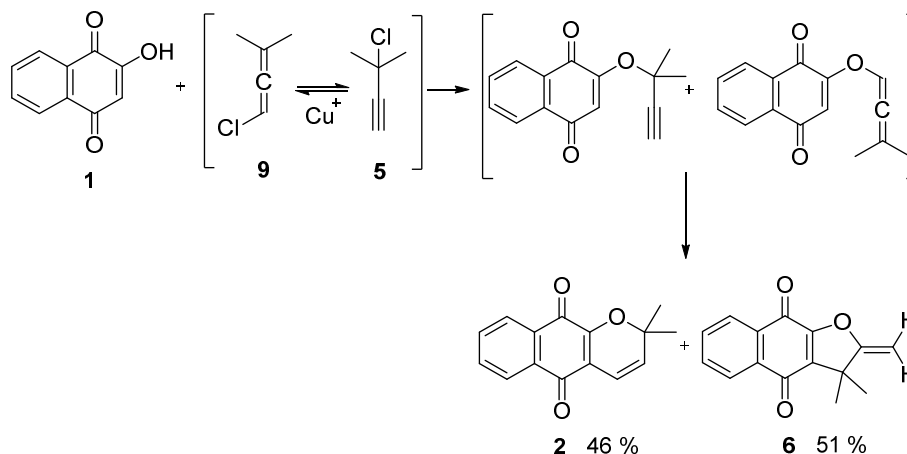
Esquema 1. 9. Mecanismo proposto para formação seletiva de **2**.

O caminho **b** é catalisado por CuI (Cu^+) para formar **6**. A ciclização para a formação de uma *p*-furanonaftoquinona pode ser explicada em termos pelo deslocamento do equilíbrio para a formação do aleno **9**, que é resultado do isomerismo de **5**, causado pela presença de meio básico e Cu^+ . Assim, o ataque nucleofílico pela hidroxila ocorre na posição C-1 de **9**, resultando na formação do éter **10**, e subsequente rearranjo de Claisen. Ao contrário do processo de obtenção de **2**, neste caso, há um rearranjo aril-alílico para se obter **11**, que é um compostocarbonílico γ , δ -insaturado. A heterociclização de **11** conduz à formação de **6**, possivelmente favorecida pela complexação do intermediário **11** com Cu^+ (Esquema 1.10), como descrita anteriormente.¹⁴



Esquema 1. 10. Proposta mecanística para formação seletiva de **6**.

Finalmente, o caminho **c** envolve a formação dos produtos **2** e **4**, demonstrando o equilíbrio entre as duas formas isoméricas do alcino **5**, que concorrem para os seguintes rearranjos alílicos ou propargílicos (Esquema 1.11).



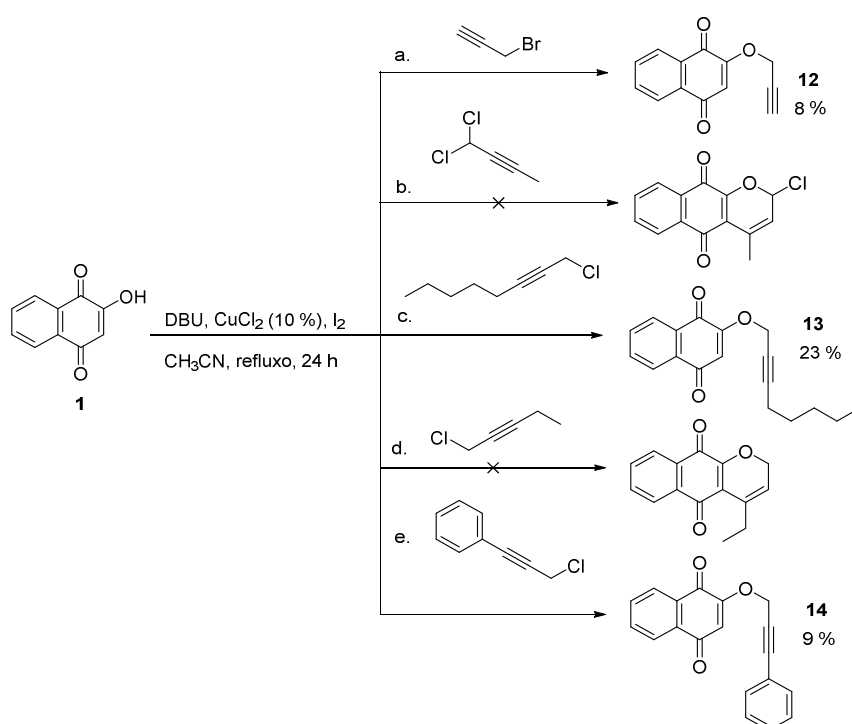
Esquema 1. 11.Proposta para formação de ambos compostos,**2** e**6**.

Assim, de maneira geral quando utilizada lausona **1** e o alcino **5** como reagentes de partida para obtenção de derivados naftoquinoidais por metodologia de rearranjo de Claisen se observam dois cenários. A formação de um anel de furano ou pirano a partir de **1** que pode ser resultado da variação do sistema catalítico (fonte de cobre e iodo). O rearranjo propargílico de Claisen originando a formação de dimetilcromeno prevalece quando $\text{Cu}^{2+}/\text{I}_2$ é usado, com conseqüente formação de **2**. Em contraste, o rearranjo de Claisen do tipo aril-alílico é favorecido na presença de catalisadores de Cu^+ resultando em uma furanonaftoquinona **6**. (Tabela 1, Entrada 8).

Além disso, outros parâmetros tais como a quantidade de base, temperatura e tempo estão diretamente relacionados com o rendimento reacional. Em temperatura ambiente ou abaixo desta não foi observada a formação de produtos. Outro parâmetro importante é o tempo reacional o qual está diretamente relacionado à temperatura, pois quando a reação é realizada em temperaturas elevadas, por exemplo, sob refluxo em acetonitrila por períodos superiores à 24h, observa-se uma redução nos rendimentos devido à formação de uma mistura complexa de produtos. Por fim, a presença de base no meio afeta diretamente a desprotonação da hidroxila que realiza o ataque nucleofílico ao alcino **5**, assim como participa da formação dos intermediários dienos **8** e **9**.⁷

4.2. Síntese de derivados Naftoquinoidais

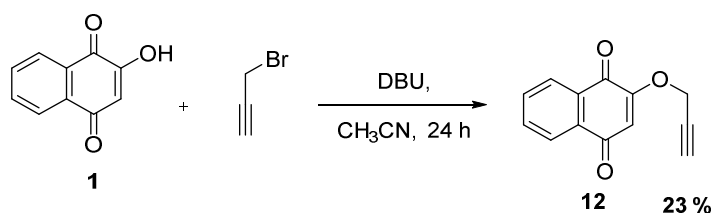
Estabelecida um método para a síntese de cromenos naftoquinoidais, uma série de alcinos, de diferentes características estruturais, foi submetida às mesmas condições estabelecidas anteriormente, para a síntese de uma biblioteca de cromenonaftoquinonas. Foi utilizada lausona **1** como naftoquinona de partida, sistema catalítico de $\text{Cu}^{2+}/\text{I}_2$, e os seguintes alcinos: a. brometo de propargila, b. 1,4-dicloro-2-butino, c. 1-cloro-2-octino, d. 1-cloro-2-pentino e e. 3-cloro-1-fenil-1-propino (Esquema 1.12).



Esquema 1. 12. Reações de heterociclicização a cromeno naftoquinonas a partir de uma série de alcinos.

Os resultados obtidos da reação de lausona **1** com diferentes alcinos não se mostrou eficiente para a formação de outras cromenonaftoquinonas. Interessantemente, observou-se a formação dos éteres propargílicos intermediários **12** (Anexo 11-13), **13** (Anexo 15-16) e **14** (Anexo 18-20), referentes às reações envolvendo brometo de propargila (reação a), 1-cloro-2-octino (reação c) e 3-cloro-1-fenil-1-propino (reação e), respectivamente. As demais reações apresentaram a formação de mistura complexa de produtos, todavia sem indícios da formação do cromeno ou éter intermediário.

Com base nos resultados acima foram conduzidos experimentos para verificar a influência do sistema catalítico de $\text{Cu}^{2+}/\text{I}_2$, assim como da temperatura, sob a formação dos intermediários propargílicos. Então, foi realizada a mesma reação utilizada para a obtenção de **12**, todavia em ausência de sistema catalítico e aquecimento. Foi observada a formação do intermediário propargílico **12**, apresentando o mesmo resultado obtido anteriormente com uso de catalisador e temperatura revelando que o uso destestorna-se desnecessários quando visado o intermediário como produto principal (Esquema 1.13).



Esquema 1. 13. Reação de formação do éter propargílico intermediário **12**.

Com base nos espectros de RMN de ^1H de **12** (ANEXO 11), pôde-se confirmar a estrutura do éter intermediário. Verificou-se a presença de três simpletos em $\delta = 6,29$ (s, 1H), 4,74 (s, 2H) e 2,59 (s, 1H), referentes ao hidrogênio arílico H1, aos dois metilênicos H2 e H3, e o hidrogênio ligado ao carbono com tripla ligação H4 (Figura 1.5). Os resultados obtidos com o espectro de massas de alta resolução concordam com a estrutura proposta com peso calculado para HRMS: $(\text{M}+\text{H}^+)$ $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{O}_3^+$: 213,0546, sendo o obtido: 213,0546 (ANEXO 13).

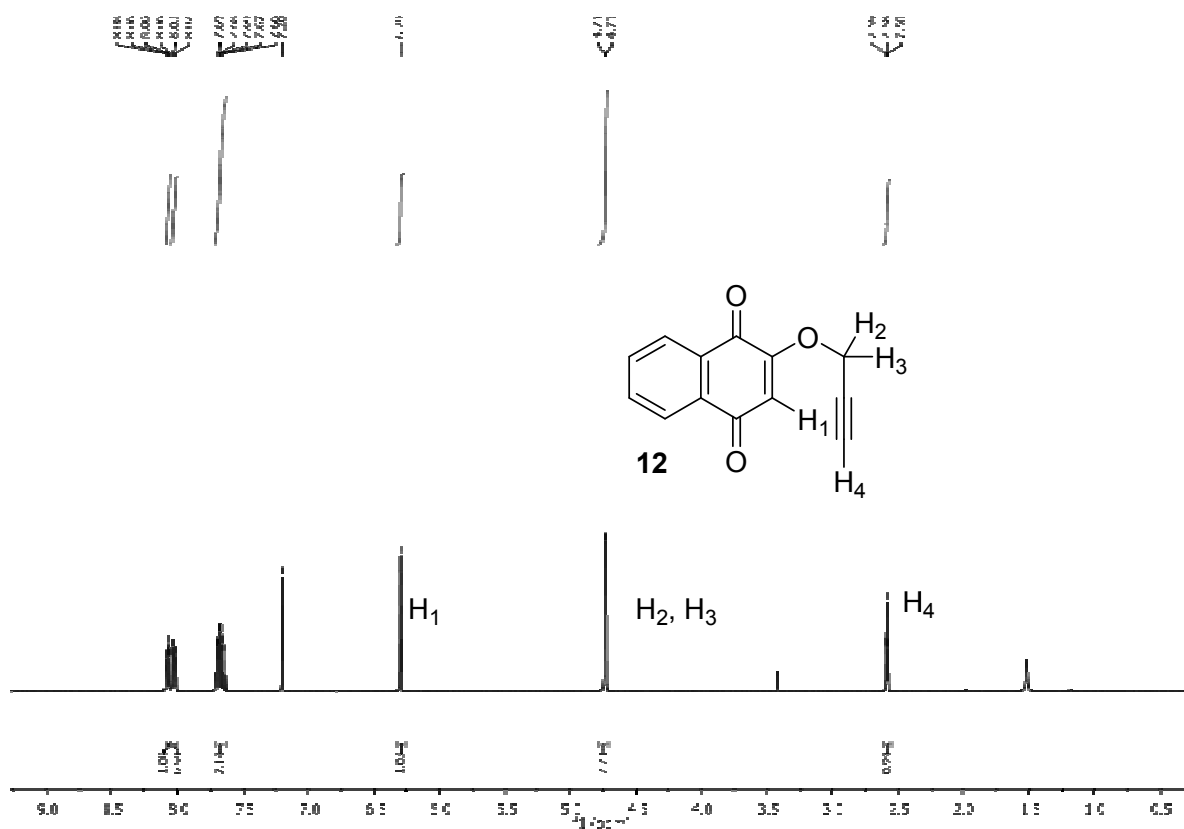
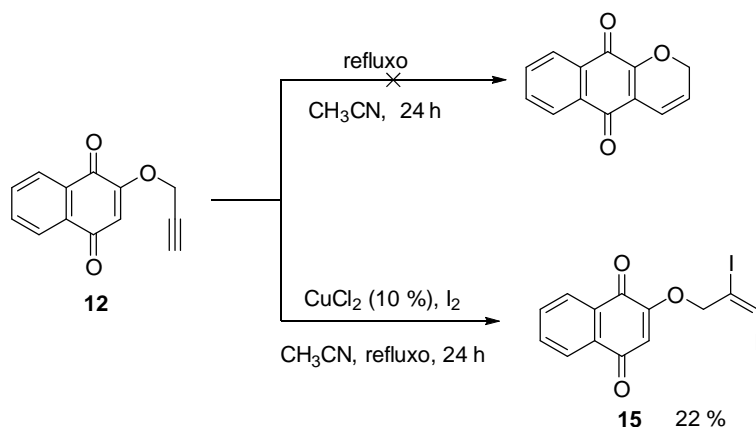


Figura 1.5. Espectro de RMN de ¹H de **12** (400 MHz, CDCl₃) (ANEXO 11).

A partir do intermediário **12** foi proposta a ciclização deste intermediário propargílico por duas condições, aquecimento sem sistema catalítico e aquecimento com catálise de Cu²⁺/I₂, ambas visando a formação de cromenonaftoquinonas por rearranjo de Claisen (Esquema 1.14).



Esquema 1. 14. Tentativa de heterociclização por rearranjo de Claisen a partir de éter propargílico **12**.

Os resultados da reação sem sistema catalítico não apresentaram a formação de produtos, já a reação catalisada por $\text{Cu}^{2+}/\text{I}_2$ indicou a iodação do intermediário propargílico **12** resultando em **15**. O qual teve sua estrutura proposta com base espectros de massas (ANEXO 23) e RMN de ^1H (ANEXO 21), A presença do mesmo sinal simpleto em $\delta = 6,05$ (s, 1H) referente ao hidrogênio H-1a do anel quinoidal, indicou a não ciclização da estrutura, entretanto verificou-se um novo sinal, um simpleto em $\delta = 7,29$ (s, 1H), referente a um hidrogênio vinílico H-4a e o desaparecimento do sinal do hidrogênio que estaria próximo a tripla ligação em 2,58 H-4 (Figura 1.6). Os dados de espectroscopia de massas de alta resolução corroboram com a estrutura proposta, sendo o calculado para HRMS: (M^{+1}) de $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{I}_2\text{O}_3$: 466,8636 e o sinal encontrado de 466,8614 (ANEXO 23).

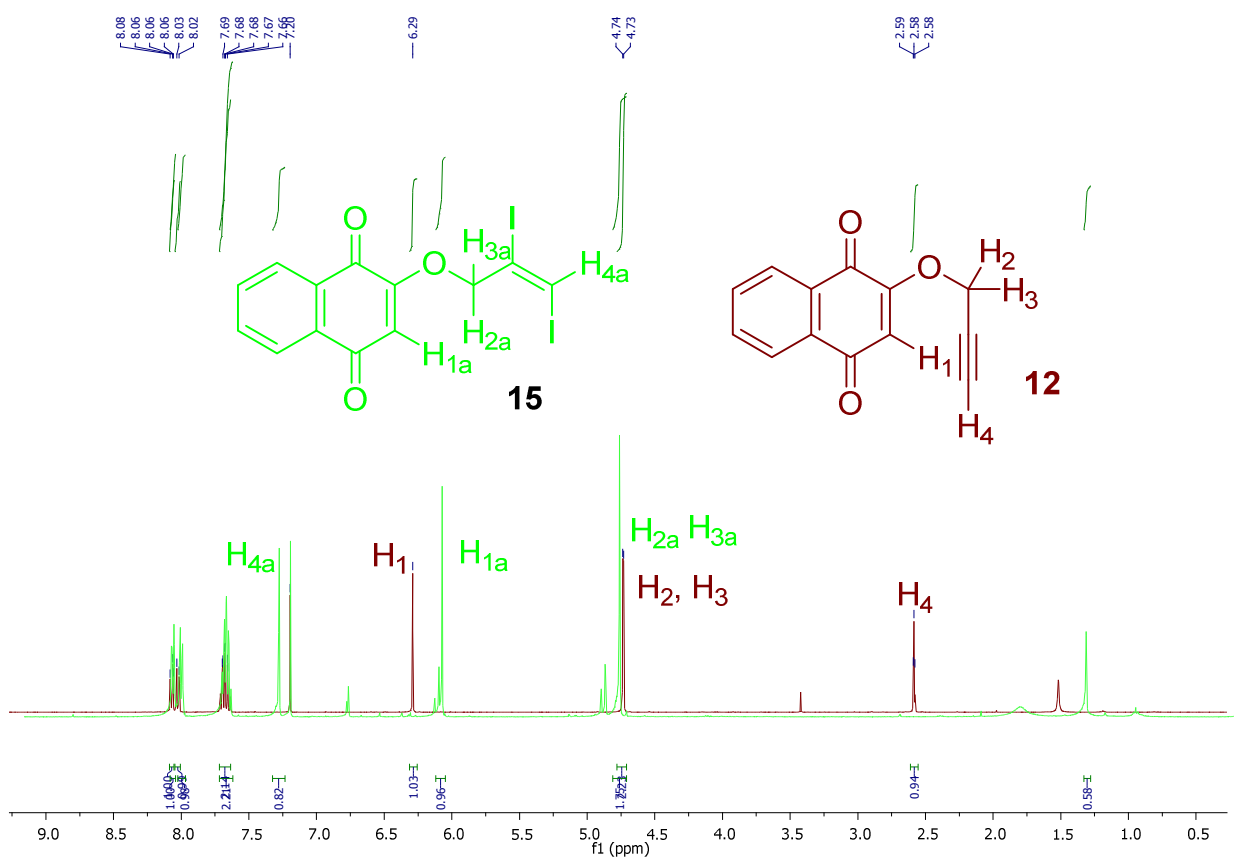


Figura 1.6. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de **12** e **15** (400 MHz, CDCl_3) (ANEXO 11 e 21).

Com base nos dados obtidos a partir dos intermediários propargílicos, pode-se fazer referência a proposta mecanística proposta no Esquema 1.9, onde a formação de um intermediário propargílico dissustituído por haletos **5a**, favoreceria

a complexação entre a ligação tripla e Cu^{2+} , conseqüentemente resultaria no rearranjo de Claisen mediado por cobre. Logo, quando **5a** não é formado (seja devido à alcinos não ramificados ou não-terminais) pode resultar na formação de intermediário éter propargílico ao invés de ciclização, como pôde ser observado nos casos de formação de **12**, **13** e **14**. Além disso, o uso de I_2 pode estar relacionado à ocorrência de reações de iodação, gerando espécies substituídas que não complexariam com cobre, e não sofreriam rearranjo propargílico de Claisen pela perda da tripla ligação. Desse modo, outras maneiras de formação de derivados cromenonaftoquinonas deve ser explorada, uma vez que não foram obtidos resultados satisfatórios pela catálise de cobre.

5. Conclusão

O primeiro capítulo deste trabalho apresenta uma nova rota para a síntese de α -xiloidona **2** baseada no Rearranjo propargílico de Claisen, bem como a síntese do derivado furano naftoquinoidal **6**, o qual pode ser utilizado como precursor de α -duniona,⁸ via rearranjo de Claisen aril-alílico. Este novo processo oferece como vantagem econômica principal o menor custo dos catalisadores empregados em relação aos catalisadores utilizados nas sínteses anteriormente descritas de **2**. Assim, esta técnica é um método promissor para a formação seletiva de derivados do tipo dimetilcromeno e furânicos de naftoquinonas a partir de lausona **1**, tais como **2** e **6**, respectivamente. Além do custo reduzido e da simplicidade do sistema catalítico, outras vantagens do método proposto são os rendimentos melhorados e o reduzido número de etapas reacionais. Por outro lado, esta estratégia não foi eficiente ao utilizar haletos primários de alcinos, visto, que sob as mesmas condições de obtenção de **2** não apresentaram a formação de cromenonaftoquinona mas sim de intermediários propargílicos ainda que em baixos rendimentos, sugerindo a necessidade de estudos complementares a essa rota de rearranjo de Claisen. Desse modo, mais material é proporcionado para futuros estudos dessas classes pouco exploradas sob a perspectiva da química medicinal, além de expandir ainda mais a base de dados sobre rearranjos de Claisen 100 anos após sua primeira publicação.

6. Sessão Experimental

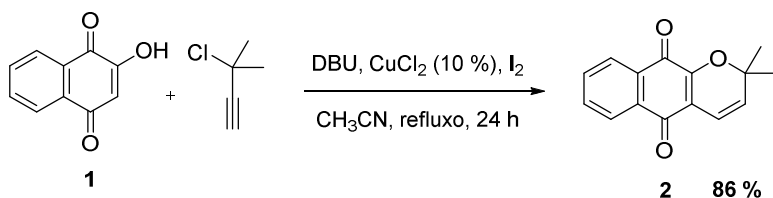
Procedimentos Gerais

Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC): As análises de CCDC foram realizadas em cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 F254-MERCK® cortadas em tamanhos de 2 cm X 5 cm. As amostras foram solubilizadas em solventes apropriados e aplicadas nas cromatofolhas por meio de capilares de vidro.

Cromatografia Líquida “Clássica”: Realizada em coluna de vidro, empacotada com sílica gel 60 Å (70 – 230 Mesh/Sigma Aldrich Brasil Ltda) e diferentes sistemas eluentes, conforme análise de CCDC.

Cromatografia Líquida “Flash”: Realizada em coluna de vidro com adaptação para entrada de ar comprimido. A fase estacionária utilizada foi sílica gel 60 Å (230-400 Mesh/ Sigma Aldrich Brasil Ltda) e diferentes sistemas eluentes.

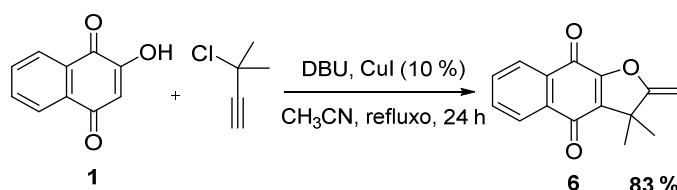
2,2-dimetil-2H-benzo[g]cromeno-5,10-diona (2)



A uma solução de **1** (0,56 mmol, 100 mg) em CH₃CN (20mL) a 0°C, sob agitação, foi adicionado DBU (2 mmol, 0,28mL), cloreto de cobre II (57 μmol, 7.6 mg) , I₂ (28,5 μmol, 14,4 mg) e 3-cloro-3-metil-1-buteno (2 mmol, 0,22mL). Após a mistura dos reagentes, esperou-se a reação atingir temperatura ambiente e em seguida foi refluxada por 12h. A reação foi interrompida com adição de água gelada, extraída com AcOEt (2x). A fase orgânica foi lavada com solução salina, e seca com Na₂SO₄. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:9, AcOEt:Hex). cristal laranja, 89%. Cristal laranja cujos dados espectroscópicos estão de acordo com aqueles descritos na literatura.¹⁵ Ponto de fusão: 156°C. RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ= 1,49 (s, 6H), 5,64 (d, *J* = 9,99 Hz, 1H), 6,57 (d, *J* = 9,99 Hz, 1H), 7,63 (m, 2H), 8,01

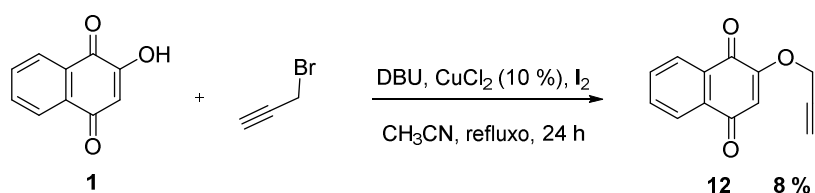
(m, 2H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 181,9, 179,8, 152,4, 133,9, 133,2, 131,6, 131,5, 130,8, 126,2, 117,9, 117,8, 115,5, 80,5, 28,4. ,IV (cm^{-1}): 2918, 2357, 1651, 1271, 966, 717. HRMS: ($\text{M} + \text{H}^+$) calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_3^+$: 241,0859, obtido: 241,0856

2-(2-metilbut-3-in-2-iloxi)naftaleno-1,4-diona (6)



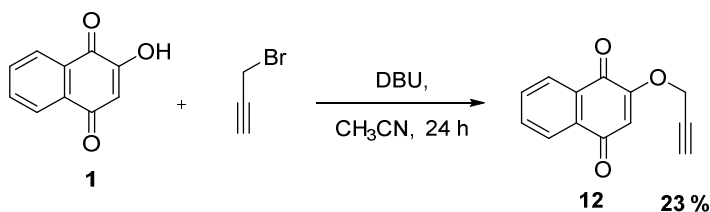
A uma solução de **1** (0,14mmol, 25mg) em CH_3CN (10mL) a 0°C , sob agitação, foi adicionado DBU (0,5 mmol, 0,07mL), CuI (14 μmol , 2,6 mg) e 3-cloro-3-metil-1-butino (0,5 mmol, 0,055mL). Após a mistura dos reagentes, esperou-se a reação atingir temperatura ambiente e em seguida foi refluxada por 12h. A reação foi interrompida com adição de água gelada, extraída com AcOEt (2x). A fase orgânica foi lavada com solução salina, e seca com Na_2SO_4 . O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:9, AcOEt:Hex), cristal amarelo, 83,3%. Cristal amarelo cujos dados espectroscópicos estão de acordo com aqueles descritos na literatura.¹⁴ P.f. 137°C . RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,52 (s, 6H), 4,4 (d, $J = 3,45$ Hz, 1H), 4,86 (d, $J = 3,45$ Hz, 1H), 7,66 (m, 2H), 8,02 (m, 2H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 181,24, 177,08, 169,9, 156,0, 134,33, 133,19, 133,14, 131,5, 131,2, 126,34, 126,2, 87,14, 45,43, 28,13. IV (cm^{-1}): 2918, 2357, 1651, 1271, 966, 717. HRMS: ($\text{M} + \text{H}^+$) calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{O}_3^+$: 241,0859, obtido: 241,0855.

2H-benzo[g]cromeno-5,10-diona (12) – método A

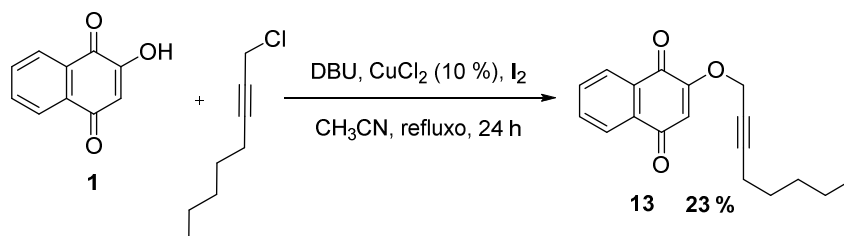


A uma solução de **1** (0,56 mmol, 100 mg) em CH₃CN (20mL) a 0 °C, sob agitação, foi adicionado DBU (2 mmol, 0,28mL), cloreto de cobre II (57 μmol, 7.6 mg) , I₂ (28.5 μmol, 14.4 mg) e brometo de propargila (2 mmol, 0,150 mL). Após a mistura dos reagentes, esperou-se a reação atingir temperatura ambiente e em seguida foi refluxada por 12h. A reação foi interrompida com adição de água gelada, extraída com AcOEt (2x). A fase orgânica foi lavada com solução salina, e seca com Na₂SO₄. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:4, AcOEt:Hex). sólido laranja, 8%. Sólido laranja. Ponto de fusão: 52 °C. RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃): δ=2,58 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 3,42 (s, 1H), 4,73 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 6,29 (s, 1H), 7,77 (m, 2H), 8,05 (d, J = 12.6 Hz, 2H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃): δ= 184,80, 179,91, 158,11, 134,46, 133,55, 131,95, 131,12, 126,83, 126,31, 111,73, 78,26, 75,47, 56,80. IV (cm⁻¹): 3251, 3052, 2917, 2130, 1651, 1648, 1605, 1247, 1016, 719. HRMS: (M + H⁺) calculado para C₁₃H₉O₃⁺: 213.0546, obtido: 213.0546.

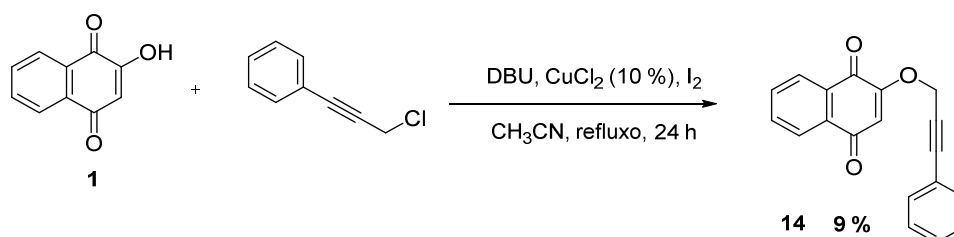
2-(prop-2-in-1iloxi)naftaleno-1,4-diona (**12**) – método B



A uma solução de **1** (0,56 mmol, 100 mg) em CH₃CN (20mL) foi adicionado DBU (2 mmol, 0,28mL e brometo de propargila (2 mmol, 0,150 mL). A reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 24 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:4, AcOEt:Hex). sólido laranja, 8%. Sólido laranja. Ponto de fusão: 52 °C. RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃): δ=2,58 (t, J = 2,4 Hz, 1H), 3,42 (s, 1H), 4,73 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 6,29 (s, 1H), 7,77 (m, 2H), 8,05 (d, J = 12,6 Hz, 2H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃): δ= 184,80, 179,91, 158,11, 134,46, 133,55, 131,95, 131,12, 126,83, 126,31, 111,73, 78,26, 75,47, 56,80. IV (cm⁻¹): 3251, 3052, 2917, 2130, 1651, 1648, 1605, 1247, 1016, 719. HRMS: (M+ H⁺) calculado para C₁₃H₉O₃⁺: 213.0546, obtido: 213.0546.

2-(oct-2-in-1-iloxi)naftalo-1,4-diona(13)

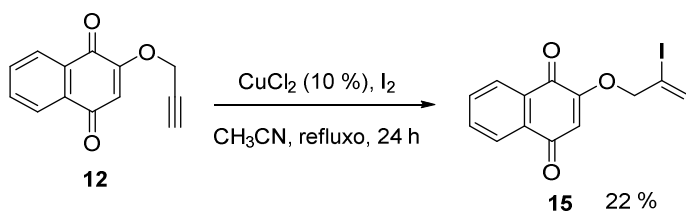
A uma solução de **1** (0,56 mmol, 100 mg) em CH₃CN (20mL) a 0°C, sob agitação, foi adicionado DBU (2 mmol, 0,28mL), cloreto de cobre II (57 μmol, 7.6 mg) , I₂ (28.5 μmol, 14.4 mg) e 1-cloro-2-octino (2 mmol, 0,267 mL). Após a mistura dos reagentes, esperou-se a reação atingir temperatura ambiente e em seguida foi refluxada por 12h. A reação foi interrompida com adição de água gelada, extraída com AcOEt (2x). A fase orgânica foi lavada com solução salina, e seca com Na₂SO₄. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:4, AcOEt:Hex). sólido laranja, 23%. Sólido laranja. Ponto de fusão: 98 °C. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ=0,84 (m, 3H), 1,31 (m, 2H), 1,47 (m, 2H), 2,14 (tt, *J* = 7.1, 2.1 Hz, 2H), 4,72 (t, *J* = 12 Hz, 1H), 6,29 (s, 1H), 7,66 (m, 2H), 8,03 (dd, *J* = 2 Hz, 2H), 8,07 (dd, *J* = 8 Hz, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃): δ= 183,86, 179,10, 157,34, 133,26, 132,33, 130,93, 130,10, 125,67, 125,14, 110,59, 90,22, 70,91, 56,69, 29,97, 26,86, 21,09, 17,71, 12,88. IV (cm⁻¹): 3422, 2923, 2854, 1655, 1462, 1255, 400. HRMS: (M + H⁺) calculado para C₁₈H₁₉O₃⁺: 283.1329, obtido: 283,1310.

2-((3-fenilprop-2-in-1-il)oxi)naftaleno-1,4-diona (14)

A uma solução de **1** (0,56 mmol, 100 mg) em CH₃CN (20mL) a 0 °C, sob agitação, foi adicionado DBU (2 mmol, 0,28mL), cloreto de cobre II (57 μmol, 7.6

mg) , I₂ (28.5 μmol, 14.4 mg) e 3-cloro-1-fenil-1-propino (2 mmol, 0,329 mL). Após a mistura dos reagentes, esperou-se a reação atingir temperatura ambiente e em seguida foi refluxada por 12h. A reação foi interrompida com adição de água gelada, extraída com AcOEt (2x). A fase orgânica foi lavada com solução salina, e seca com Na₂SO₄. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:4, AcOEt:Hex). sólido laranja, 9%. Sólido laranja. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ=4,96 (s, 2H), 6,38 (s, 1H), 7,3 (m, 4H), 7,42 (m, 2H), 7,67 (td, J = 7,1 Hz, 2H), 8.13(m, 2H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃): δ= 134,37, 133,45, 131,97, 129,23, 128,40, 126,77, 126,24, 111,64, 80,61, 57,7. HRMS: (M + H⁺) calculado para C₁₉H₁₃O₃⁺: 289.0859, obtido: 289,0836.

2-((2,3-diiodoalil)oxi)naftalene-1,4-diona(15)



A uma solução de **12**(0,1 mmol, 21 mg) em CH₃CN (20mL) foi adicionado cloreto de cobre II (57 μmol, 7.6 mg) , I₂ (28.5 μmol, 14.4 mg). A reação foi refluxada por 24h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:4, AcOEt:Hex). sólido laranja, 15%. Sólido laranja. Ponto de fusão: 172 °C. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ= 7,41 (s, 1H), 6,05 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,7 (m, 2H), 8,03 (dd, J = 4 Hz, 2H), 8,10 (dd, J = 4 Hz, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, CDCl₃): δ= 184,67, 179,44, 158,05, 134,39, 133,53, 131,90, 126,82, 126,27, 111,86, 94,36, 84,58, 68,63, 29,71. IV (cm⁻¹): 3394, 3047, 2913, 2844, 2342, 1600, 1254, 1191, 1017, 782, 713. HRMS: (M + H⁺) calculado para C₁₃H₉I₂O₃⁺: 466,8636, obtido: 466,8614.

Referências do Capítulo I

1. Majumdar, K. C.; Nandi, R. K., The Claisen rearrangement in the syntheses of bioactive natural products. *Tetrahedron*2013, 69, 6921-6957.
2. Hai, N.; Khatri, H. R.; Zhu, J., Reductive iodonio-Claisen rearrangement of iodothiophene diacetates with allylsilanes: formal synthesis of Plavix (R). *Tetrahedron Letters* 2013, 54, 5464-5466.
3. Tan, J.; Cheon, C.-H.; Yamamoto, H., Catalytic Asymmetric Claisen Rearrangement of Enolphosphonates: Construction of Vicinal Tertiary and All-Carbon Quaternary Centers. *Angewandte Chemie-International Edition* 2012, 51, 8264-8267.
4. Hiratani, K.; Albrecht, M., The tandem Claisen rearrangement in the construction of building blocks for supramolecular chemistry. *Chemical Society Reviews*2008, 37, 2413-2421.
5. Kotha, S.; Mandal, K.; Tiwari, A.; Mobin, S. M., Diversity-oriented approach to biologically relevant molecular frameworks starting with beta-naphthol and using the Claisen rearrangement and olefin metathesis as key steps. *Chemistry-a European Journal*2006, 12, 8024-8038.
6. Osuna, S.; Kim, S.; Bollot, G.; Houk, K. N., Aromatic Claisen Rearrangements of O-Prenylated Tyrosine and Model Prenyl Aryl Ethers: Computational Study of the Role of Water on Acceleration of Claisen Rearrangements. *European Journal of Organic Chemistry*2013, 2823-2831.
7. Tejedor, D.; Mendez-Abt, G.; Cotos, L.; Garcia-Tellado, F., Propargyl Claisen rearrangement: allene synthesis and beyond. *Chemical Society Reviews*2013, 42, 458-471.
8. Hlubucek, J.; Ritchie, E.; Taylor, W. C. Synthesis of 2,2-dimethylchromenes. *Tetrahedron Letters*1969, 1369-&.
9. Meepagala, K. M.; Schrader, K. K.; Burandt, C. L.; Wedge, D. E.; Duke, S. O., New Class of Algicidal Compounds and Fungicidal Activities Derived from a Chromene Amide of *Amyris texana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*2010, 58, 9476-9482.
10. Lykakis, I. N.; Efe, C.; Gryparis, C.; Stratakis, M., Ph₃PAuNTf₂ as a Superior Catalyst for the Selective Synthesis of 2H-Chromenes: Application to the Concise Synthesis of Benzopyran Natural Products. *European Journal of Organic Chemistry*2011, 2334-2338.
11. Bonifazi, E. L.; Rios-Luci, C.; Leon, L. G.; Burton, G.; Padron, J. M.; Misico, R. I., Antiproliferative activity of synthetic naphthoquinones related to lapachol. First synthesis of 5-hydroxylapachol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2010, 18, 2621-2630.
12. Rathwell, D. C. K.; Yang, S.-H.; Tsang, K. Y.; Brimble, M. A., An Efficient Formal Synthesis of the Human Telomerase Inhibitor (+/-)-gamma-Rubromycin. *Angewandte Chemie-International Edition*2009, 48, 7996-8000.

13. Naito, T.; Makita, Y.; Yazaki, S.; Kaneko, C. Cycloadditions in syntheses .26. 1,2-dihydrocyclobuta beta -naphthalene-3,8-diones - synthesis by photochemical means and their reactions via 2,3-dimethylene-1,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydronaphthalenes. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*1986, 34, 1505-1517.
14. Perez, A. L.; Lamoureux, G.; Sanchez-Kopper, A., Efficient syntheses of streptocarbone and (+/-)-alpha-dunnione. *Tetrahedron Letters*2007, 48, 3735-3738.
15. Ribeiro, C. M. R.; de Souza, P. P.; Ferreira, L.; Pinto, L. A.; de Almeida, L. S.; de Jesus, J. G., Cyclization of lapachol induced by thallium salts. *Química Nova*2008, 31, 759-762.
16. Bala, B. D.; Rajesh, S. M.; Perumal, S., An eco-friendly sequential catalyst- and solvent-free four-component stereoselective synthesis of novel 1,4-pyranonaphthoquinones. *Green Chemistry*2012, 14, 2484-2490.
17. da Silva, M. N.; Ferreira, V. F.; de Souza, M., An overview of the chemistry and pharmacology of naphthoquinones with emphasis on beta-lapachone and derivatives. *Química Nova*2003, 26, 407-416.
18. De Lima, O. G.; D'Albuquerque, I. L.; Borba, M. A. P.; Mello, J. F., *Revista do Instituto de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco*1966, 6, 2.
19. Eyong, K. O.; Kumar, P. S.; Kuete, V.; Folefoc, G. N.; Nkengfack, E. A.; Baskaran, S., Semisynthesis and antitumoral activity of 2-acetylfuranonaphthoquinone and other naphthoquinone derivatives from lapachol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*2008, 18, 5387-5390.
20. Pires, S. M. G.; De Paula, R.; Simoes, M. M. Q.; Silva, A. M. S.; Domingues, M. R. M.; Santos, I. C. M. S.; Vargas, M. D.; Ferreira, V. F.; Neves, M. G. P. M. S.; Cavaleiro, J. A. S., Novel biomimetic oxidation of lapachol with H₂O₂ catalysed by a manganese(III) porphyrin complex. *Rsc Advances* 2011, 1, 1195-1199.
21. Adonias, J. Reações de ciclo-oxidação de derivados nitrogenados do lapachol-aminação alílica utilizando complexos de paládio (II) catalítico. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2010.
22. Crombie, L.; Rossiter, J. T.; Vanbruggen, N.; Whiting, D. A., DEGUELIN CYCLASE, A PRENYL TO CHROMEN TRANSFORMING ENZYME FROM TEPHROSIA-VOGELLII. *Phytochemistry*1992, 31, 451-461.
23. Ferreira, S. B.; da Silva, F. d. C.; Pinto, A. C.; Gonzaga, D. T. G.; Ferreira, V. F., Syntheses of Chromenes and Chromanes via o-Quinone Methide Intermediates. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 2009, 46, 1080-1097.
24. Kumar, S.; Malachowski, W. P.; DuHadaway, J. B.; LaLonde, J. M.; Carroll, P. J.; Jaller, D.; Metz, R.; Prendergast, G. C.; Muller, A. J., Indoleamine 2,3-dioxygenase is the anticancer target for a novel series of potent naphthoquinone-based inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*2008, 51, 1706-1718.

25. Jung, E. J.; Park, B. H.; Lee, Y. R., Environmentally benign, one-pot synthesis of pyrans by domino Knoevenagel/6 pi-electrocyclization in water and application to natural products. *Green Chemistry*2010, 12, 2003-2011.
26. Godfrey, J. D.; Mueller, R. H.; Sedergran, T. C.; Soundararajan, N.; Colandrea, V. J. Improved synthesis of aryl 1,1-dimethylpropargyl ethers. *Tetrahedron Letters*1994, 35, 6405-6408.
27. Coombes, C. L.; Moody, C. J., First syntheses of 2,2-dimethyl-7-(2'-methylbut-3'-en-2'-yl)-2H-chromen-6-ol and 2-(3'-methylbut-2'-enyl)-5-(2'-methylbut-3'-en-2'-yl)-1,4-benzoquinone, novel prenylated quinone derivatives from the New Zealand brown alga *Perithalia capillaris*. *Journal of Organic Chemistry*2008, 73, 6758-6762.
28. Armarego, W. L. F.; Chai, C. L. L.; Chai, C. L. L., Purification of Laboratory Chemicals, *6th Edition*. 2009; p 1-743.
29. Grigoryan, L. G. et al, Reactions of unsaturated compounds. LXXXV. Chlorophenylation of dimethyl(vinylethynyl)carbinol. *Armyanskii Khimicheskii Zhurnal*, 1982; Vol. 35, pp 247-251.
30. Shih, T. L.; Holmes, M. A.; Mrozik, H.; Fisher, M. H. Synthesis of an avermectin-nemadectin hybrid. *Tetrahedron Letters*1991, 32, 3663-3666.

CAPÍTULO II

SÍNTESE E ESTUDO DE REATIVIDADE DE PROMISSORES NÚCLEOS
HETEROAROMÁTICOS SUBEXPLORADOS PELA QUÍMICA MEDICINAL

1. Introdução

Estima-se que o espaço químico de moléculas de baixo peso molecular, inferior a 500 Da, seja de aproximadamente 10^{62} compostos, no entanto, apenas uma pequena fração deste espaço é atualmente explorada para a descoberta de fármacos.³¹

Ao longo das últimas décadas, o *pipeline* para a descoberta de pequenas moléculas de fármacos na indústria farmacêutica tornou-se dependente de abordagens de triagens de alto rendimento (HTS), abrangendo grandes bibliotecas de compostos (10^6) que são adquiridas/desenvolvidas ao longo do tempo. Entretanto, a manutenção da diversidade e da qualidade destas bibliotecas é um constante desafio.³²

Inevitavelmente, a pesquisa em empresas tende ao desenvolvimento de moléculas derivadas de esqueletos conhecidos e disponíveis comercialmente, muitas vezes derivados de produtos naturais.³² Desse modo, a variação estrutural para alternativas menos conhecidas, porém biológica e quimicamente equivalentes, é subexplorada, mesmo quando sinteticamente viáveis.³³

Conseqüentemente a subexploração de alternativas de variação estrutural, as bibliotecas de compostos geralmente apresentam moléculas que não apresentam características de fármacos. O conceito de característica de fármaco (do inglês Drug-like) relaciona características moleculares simples, como peso molecular, propriedades físico-químicas, número de ligações rotacionáveis, lipofilicidade ou número de anéis aromáticos, ao sucesso de descoberta de fármacos. Normalmente essas características são associadas a propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo e excreção- ADME) e segurança.^{34, 35} Como consequência, os falsos positivos são constantemente observados na descoberta de fármacos, ou seja apesar das moléculas possuírem atividades biológicas elas não possuem características de fármacos, assim não sendo bons pontos de partida para o desenvolvimento de fármacos.³²

Considerando este cenário aberto para inovação em bibliotecas químicas, somado ao imenso espaço químico de moléculas com baixo peso molecular (<500 Da), Pitt e colaboradores propuseram um estudo computacional que resultou na

descrição de uma biblioteca virtual de heterociclos (VEHICLE).³³ Esta biblioteca reúne um conjunto de sistemas heteroaromáticos, estruturas comuns em pequenas moléculas bioativas (Figura 2.1), para servir como fonte de inspiração para projetos de pesquisa, assim como para construção de bibliotecas para programas de descoberta de fármacos.

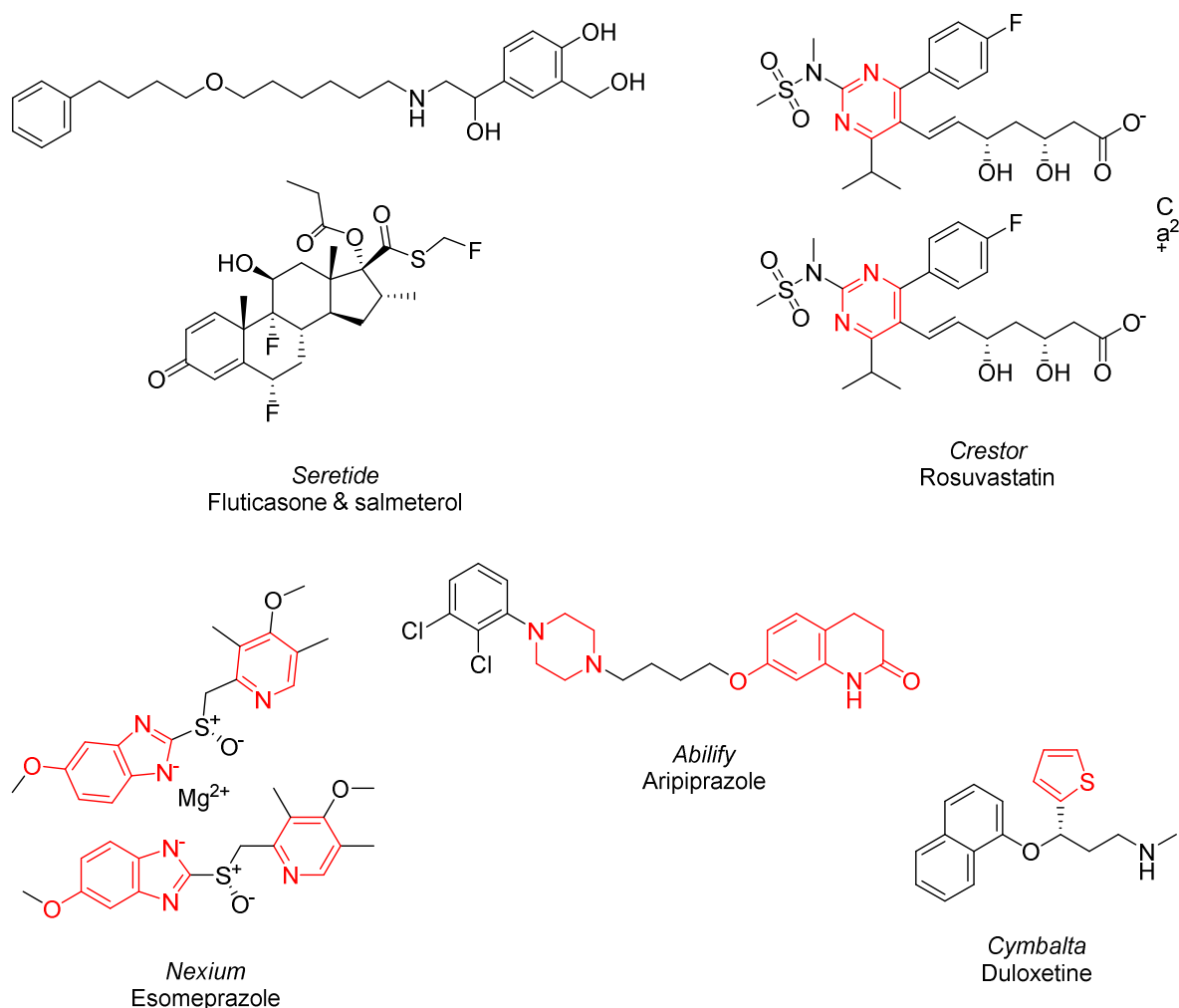


Figura 2. 1. Dentre os 10 fármacos mais vendidos, 5 são pequenas moléculas, destacando-se 4 (vermelho) com fragmentos heterocíclicos.³⁶

Dentre as estruturas propostas por Pitt³³ é possível destacar algumas características que as tornam altamente relevantes para processos de descoberta de fármacos: (a) a alta eficiência para realizar ligações com proteínas devido à sua forma e natureza hidrofóbica, (b) a falta de flexibilidade, combinada com o potencial de realização de ligações de hidrogênio de seus heteroátomos, fornecendo maior nível de seletividade, (c) potencial para adição de diferentes substituintes facilitada pela capacidade de reações frente às diversas abordagens de derivação estrutural,

tais como a formação de ligação aril- aril (Acoplamentos de Suzuki e Stille, por exemplo), ou outras reações de acoplamento mediadas por paládio, (d) os fragmentos possuem duas ou mais posições de substituição possíveis de serem exploradas sem a complicação de criação de centros estereogênicos, e (e) são sistemas heteroaromáticos, muitas vezes inéditos, que podem gerar novidades suficientes para aplicação de patente ou publicações a partir da elaboração de metodologias ou padrões de substituição.³³

Surpreendentemente, a maior parte dos compostos propostos por Pitt³³ não apresentam síntese conhecida ou apresentam metodologias pouco versáteis, o que torna essas estruturas muitas vezes indisponíveis em bibliotecas comerciais, corroborando a informação de que a produção de novos esqueletos heterocíclicos segue uma taxa de 5-10 por ano.³³

Inspirados pela biblioteca de compostos de Pitt,³³ foram selecionados 3 fragmentos heterocíclicos para estudo sintético: naftiridinona **16**, pirazolopiridinona **17** e dihidropirrolpirazinona **18** (Figura 2.2).

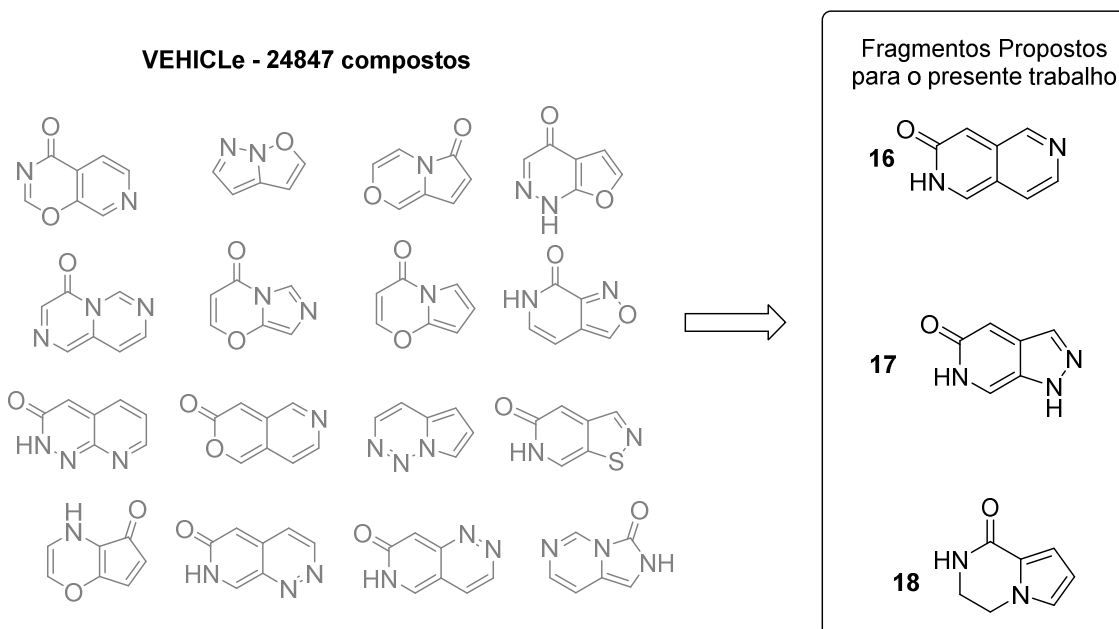


Figura 2. 2. Fragmentos heterocíclicos propostos para estudo - **16**, **17**, **18** a partir de biblioteca de fragmentos desenhada por Pitt e colaboradores (2009).³³

Os três núcleos selecionados podem ser ditos subexplorados do ponto de vista químico medicinal, ou seja, apresentam reduzido número de relatos na literatura, tanto relacionados à síntese e modificações estruturais quanto atividades

biológicas. O núcleo **16** é uma estrutura que ainda não apresentava síntese descrita até o presente trabalho, apenas relatado em estudos computacionais em 2011 por Leach³⁷ e Gumus.³⁸ O núcleo **17**, assim como os núcleos **16** e **18**, foi selecionado com base nos promissores fragmentos de Pitt³³, todavia já apresenta síntese descrita por Tsikouris em 2008³⁹ e também é citado no trabalho de Leach.³⁷ Já o núcleo **18**, apresenta maior número de trabalhos relacionados, dentre eles duas sínteses descritas por Brimble em 1988⁴⁰ e Campiani em 1999,⁴¹ e uma reação de metilação também descrita por Brimble em 1988.⁴⁰

Desse modo, caracteriza-se um cenário aberto tanto para a exploração da síntese dos núcleos selecionados, quanto para estudos de reatividade química visando modificações estruturais aplicadas a essas três promissoras estruturas, aumentando a diversidade de compostos disponíveis no espaço químico.

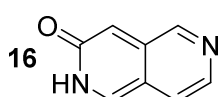
2. Objetivos

Objetivo Geral

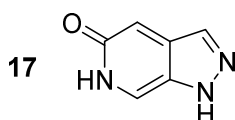
Este capítulo visa o desenvolvimento de métodos sintéticos novos e eficazes para núcleos heterocíclicos pouco explorados pela química medicinal, abrangendo desde metodologias orientadas pela diversidade a estudos de similaridade para a obtenção de padrões estruturais que possam ser aplicados em programas de descoberta de fármacos.

Objetivos Específicos

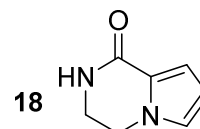
- Síntese de três promissores núcleos heterocíclicos ainda subexplorados, porém com potencial para descoberta de fármacos (Figura 2.3).



2,6-naftiridin-3(2H)-ona



1,6-dihidro-5H-pirazolo
[3,4-c]piridin-5-ona



3,4-dihidropirrólo
[1,2-a]pirazin-1(2H)-ona

Figura 2. 3. Novos alvos heterocíclicos cuja síntese é um dos objetivos deste trabalho.

b. Realização de estudo químico exploratório das reatividades dos núcleos frente a diversas metodologias sintéticas úteis na obtenção de biblioteca de análogos.

3. Material e Métodos

3.1 Materiais

3.1.1 Equipamentos Analíticos

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de próton (RMN de ^1H) foram registrados à 300 e 500 MHz em espectrômetro BRUKER(R) - Modelo DPX300 e DRX500 Ultra Shield, respectivamente. Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de carbono-13 (RMN de ^{13}C) foram registrados à 75 e 125 MHz em espectrômetro BRUKER(R) - Modelo DPX300 e DRX500 Ultra Shield, respectivamente, no Departamento de Química da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo na Universidade de São Paulo. Os valores de deslocamento químicos (δ) estão relatados em partes por milhão (ppm), utilizando-se como referência o Tetrametilsilano (TMS). As multiplicidades dos sinais estão apresentadas entre parênteses (s=simpleto, d=dupleto, t=tripleto, q=quarteto, dd=duplo dupleto, m=multipleto), utilizando como padrão interno, os valores de constante de acoplamento (J) são dados em Hertz (Hz) e o número de hidrogênios deduzidos a partir da integral relativa.

As análises de espectrometria de massas por IES-EM (Espectrometria de massas utilizando ionização por eletrospray) foram realizadas em aparelho modelo ultrOTOFG-IES-TOF Mass Spectrometer, da Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA

As análises de absorção no infravermelho foram realizadas em espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo 1600-FT, em celas de KBr para líquidos (filme).

3.1.2 Equipamentos

Abaixo é apresentada a descrição dos equipamentos utilizados durante procedimentos sintéticos, os quais são mais detalhados na sessão experimental.

- Balança analítica Mettler PE 400/ Sartorius BP 121S
- Medidor de Ponto de fusão: Marconi MA 381
- Reator de microondas Biotage
- Bomba de alto vácuo E2M5 (Edwards)
- ISOLUTE 103 for the extraction of water soluble compounds
- Agitador magnético: IKA C-MAG H57
- Evaporador rotatório com controlador de vácuo: Büchi R-215
- Genevac
- H-Cube
- Hidrogenador PARR Instrument Company INC, número 3911
- Bomba de alto vácuo: V-700 Büchi
- Sistema de purificação ISCO
- Coluna ISOLUTE 103
- Jones Flash Master
- Coluna de fase reversa - C18
- Colunas de Si-TMT para remoção de Pd/Ir
- Sistema de purificação de água por osmose reversa LX 0510 (Gehaka)

3.1.3 Solventes e Reagentes

Os solventes e reagentes comerciais foram convenientemente purificados como descrito na literatura.²⁸ Os solventes utilizados na extração e síntese foram adequadamente separados e enviados para o centro de tratamento de resíduos. Os reagentes foram obtidos através da Sigma-Aldrich Brasil.

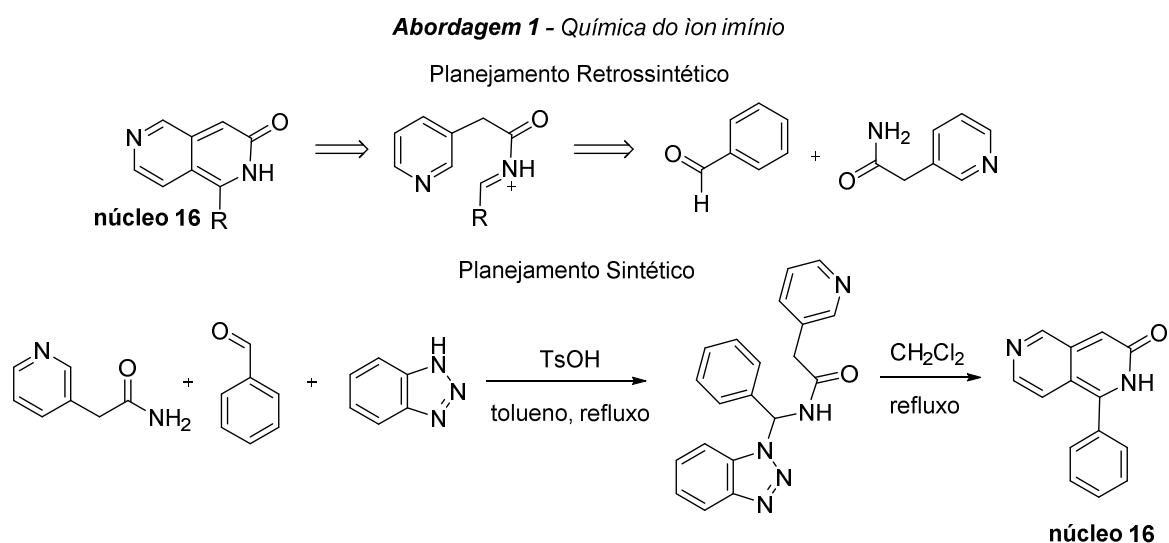
3.1.4 Software

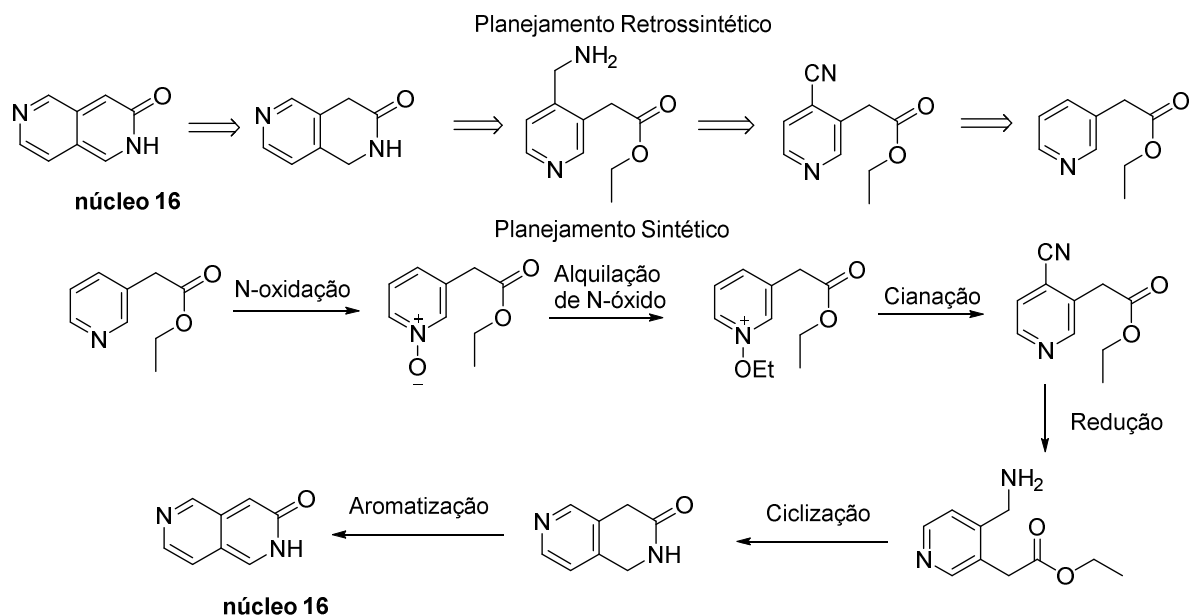
Para o cálculo de propriedades das estruturas propostas foram utilizados os softwares: Vortex v2013.08.24454 (c) Dotmatics Limited 2007, 2013 e vROCS. Para o cálculo de geração de confôrmeros foi utilizado OMEGA 2.5.1.4. As estruturas dos compostos descritos foram editadas usando o ChemBioDraw 13.0 da PerkinElmer Informatics.

3.2 Métodos

3.2.1 Estratégia sintética para a obtenção do núcleo heterocíclico 16

A síntese do núcleo **16** foi proposta a partir de duas abordagens: utilizando a química do íon imínio (abordagem 1)⁴² ou explorando a reatividade de anéis piridínicos (abordagem 2) (Esquema 2.1).⁴³

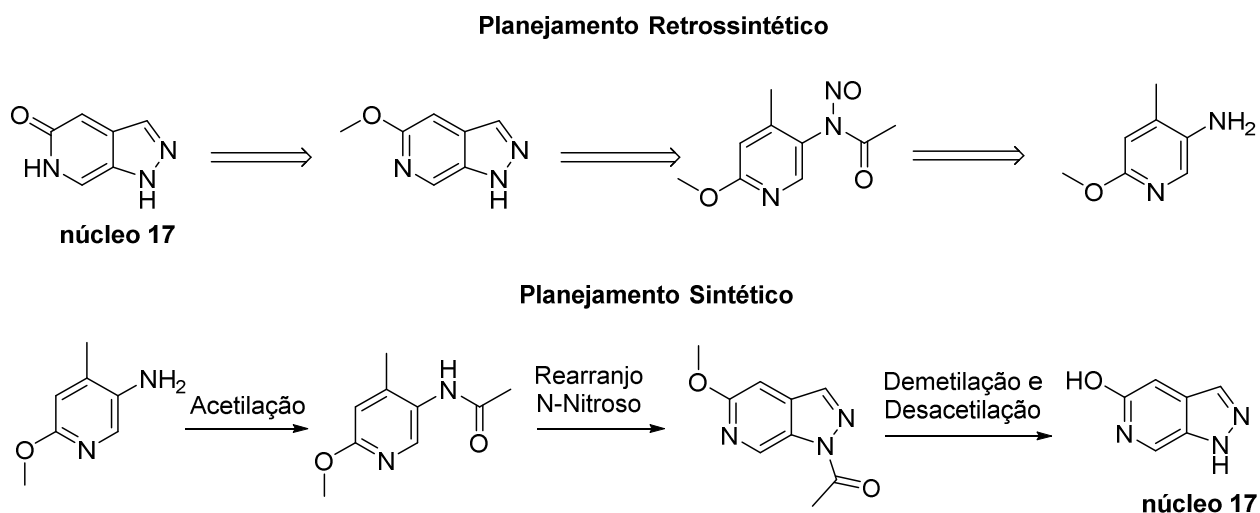


Abordagem 2 - Reatividade de Piridina

Esquema 2. 1.Planejamento sintético e retrossintéticos para obtenção de **16**, abordagem 1-química do íon imínio abordagem 2- reatividade de anéis piridínicos.

3.2.2. Estratégia sintética para a obtenção do heterocíclico 17

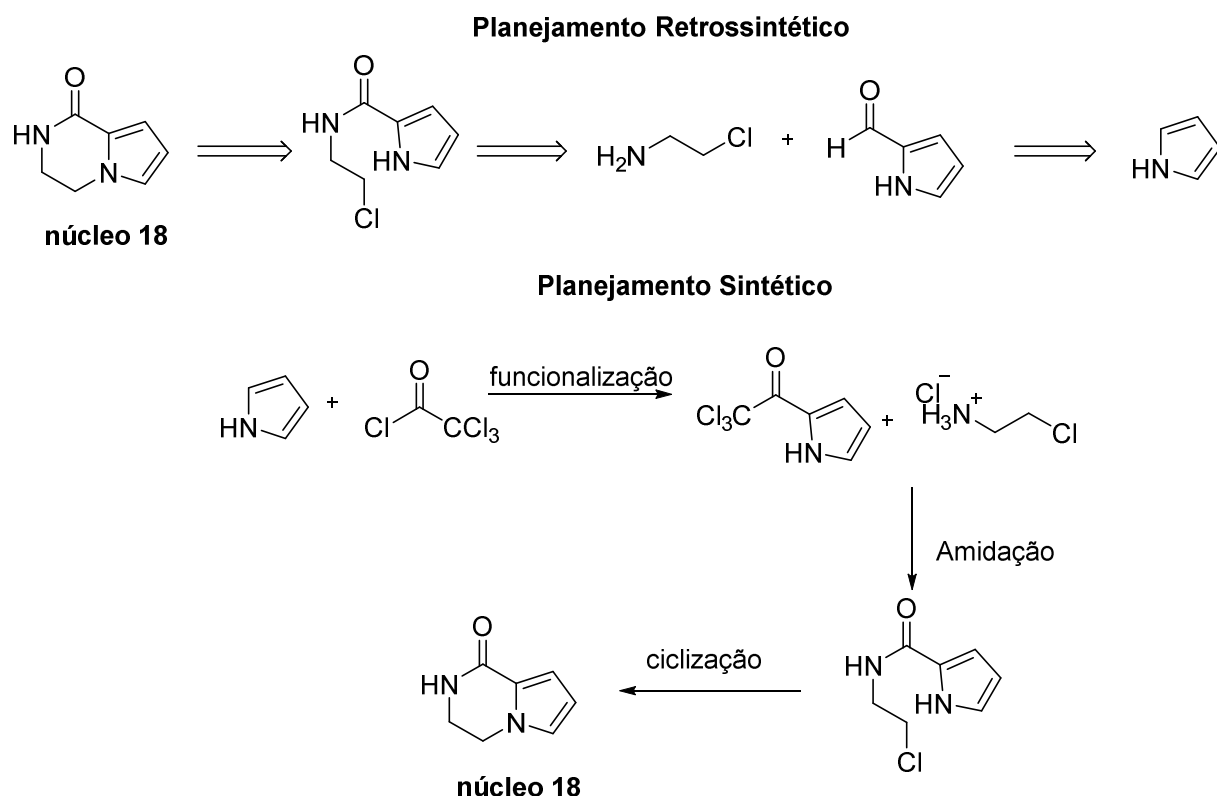
O planejamento sintético para a obtenção de **17** foi desenvolvido a partir de uma estratégia retrossintética baseada em rearranjo N-nitroso (Esquema 2.2).³⁹



Esquema 2. 2. Planejamento sintético e retrossintéticos para obtenção de **17**.

3.2.3. Estratégia sintética para a obtenção do núcleo heterocíclico 18

O núcleo **18** foi proposto a partir de metodologias de acilação e N-alkilação de anéis pirrólicos. A partir da funcionalização do pirrol com grupo acila⁴⁴, seguido de amidação⁴⁵ é formada uma estrutura favorável a heterociclicização intramolecular (Esquema 2.3).



Esquema 2. 3.Planejamento sintético e retrossintéticos para obtenção de **18**.

4. Resultados e Discussão

O objetivo deste capítulo foi a síntese dos heterociclos **16**, **17** e **18** e a exploração da reatividade química destas estruturas frente a uma série de transformações sinteticamente úteis. Além disso, a tentativa de correlacionar as estruturas dos núcleos propostos com fragmentos comuns em fármacos através de estudos computacionais.

Os três esqueletos heterocíclicos foram selecionados com base na biblioteca virtual (VEHICLE) desenvolvida por Pitt.³³ A seleção de tais estruturas buscou representar núcleos com diferentes características eletrônicas, sistemas aromáticos de seis membros fundidos: π -deficiente (núcleo **16**); e sistemas de anéis de cinco

membros fundidos a anéis de 6 membros: π -excessiva + π -deficiente (núcleos **17** e **18**). Todos os núcleos podem ser considerados pouco explorados pela química medicinal, propiciando a oportunidade de ampliar e desenvolver uma área pouco conhecida do espaço químico (Figura 2.4).

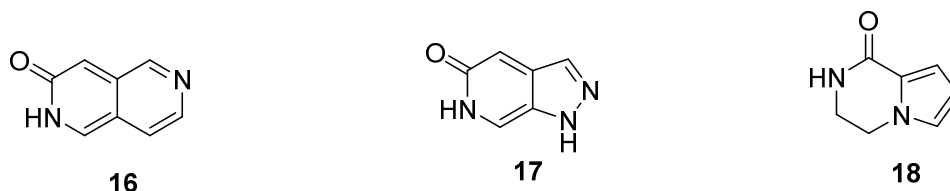


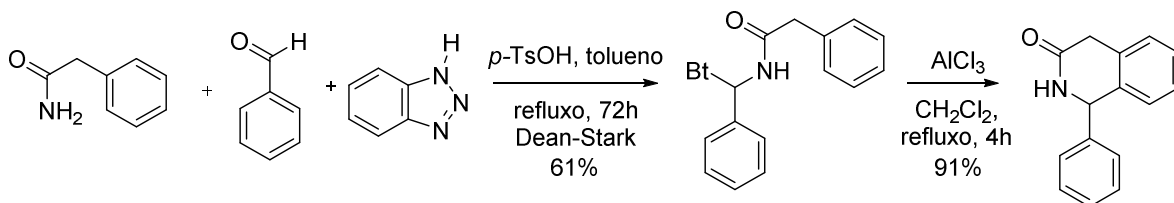
Figura 2. 4. Alvos sintéticos do capítulo II.

4.1. Síntese do Núcleo 16, naftiridinol

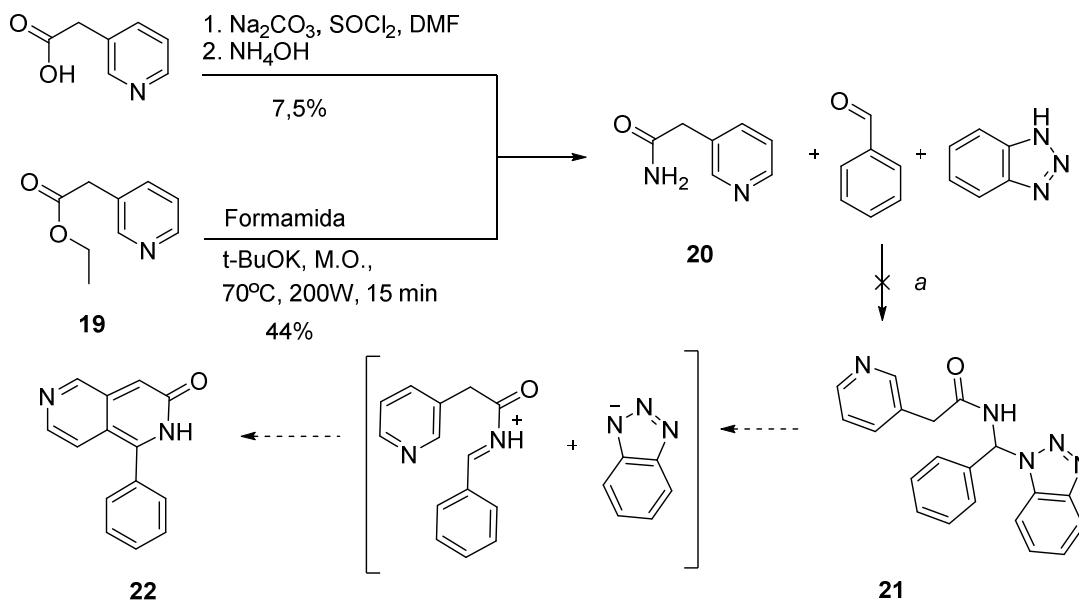
A primeira rota sintética para o núcleo **16** foi baseada na química do íon imínio (Esquema 2.4).⁴² De acordo com a análise retrossintética descrita anteriormente (Esquema 2.1), a rota sintética se iniciou pela obtenção da amida **20**, seja pela reação com cloreto de tionila e amônia ou a partir de métodos de irradiação de microondas (MO)⁴⁶ (Esquema 2.4). O método de MO revelou-se mais eficaz para a síntese de **20**.

Com o objetivo de obter-se **16**, foi adotada uma abordagem sintética para formação de íons de imínio baseada no trabalho de Katritzky para formação de isoquinolinonas (1993) (Esquema 2.4).⁴² Neste trabalho, o íon N-acilimínio seria gerado a partir da eliminação do benzotriazol do intermediário **21**, e então a partir do íon formado ocorria um processo de ciclização intramolecular (Esquema 2.4). Diferentes condições foram testadas visando à obtenção do intermediário **21** e o derivado do núcleo alvo **22**. No entanto, a caracterização dos produtos não foi possível devido à recorrente formação de misturas complexas de produtos e a instabilidade de compostos, resultando em espectros de RMN não conclusivos.

Katritzky, A. R. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. **1993**, 30, 381-387.

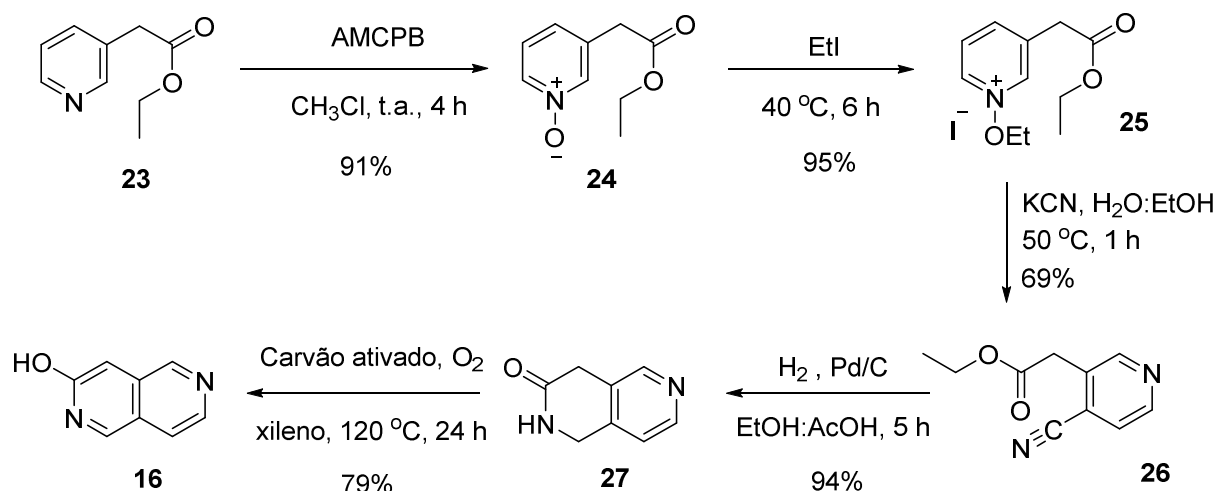


Abordagem 1 - Química do íon imínio



Esquema 2. 4. Rota sintética proposta para obtenção do núcleo **16** via formação de íon imínio. *a*- TsOH cat., refluxo de tolueno por 72 h com uso de Dean-Stark.

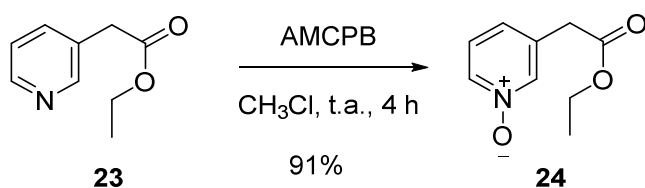
Considerando as dificuldades da rota baseada na química do íon imínio (Caminho 1), o trabalho foi direcionado para a segunda análise retróssintética proposta, o caminho 2 (Esquema 2.1), baseado na química de anéis piridínicos (Esquema 2.5).



Esquema 2. 5. Síntese de 2,6-naftiridin-3-ol **16**, 44% de rendimento global.

A síntese de 2,6-naftiridin-3-ol **16**, núcleo heterocíclico inédito, foi realizada com base em um método de cianação descrito em uma patente da Novartis.⁴³ Inicialmente, **23** foi ativado, visando aumentar a reatividade do anel piridina para a introdução do grupamento cianeto na posição 4, por N-oxidação, por AMCPB e subsequente alquilação de N-óxido, obtendo-se **25**. Uma vez ativado o anel piridínico, o acetato de ciano piridina **26** foi obtido a partir da reação de cianação de **25** utilizando KCN. A síntese do núcleo **1** também foi baseada no método de redução catalítica de cianeto descrito por Engbersen,⁴⁷ esse processo de redução da amina primária foi realizado tanto por hidrogenação em H-Cube quanto em hidrogenador PARR. Em seguida, uma heterociclição intramolecular de **26** resultou em **27**. Por fim, **16** foi obtido por oxidação mediada por carvão ativado sob atmosfera rica em oxigênio e aquecimento.⁴⁸

A reação de N-oxidação do nitrogênio piridínico de **23** para obtenção de **24** foi realizada como descrito pela patente da Novartis.²⁰ utilizando ácido m-cloroperbenzóico (AMCPB) (Esquema 2.6). A N-oxidação de piridina é uma estratégia de ativação de anéis piridínicos devido às suas características eletrônicas π -deficientes.

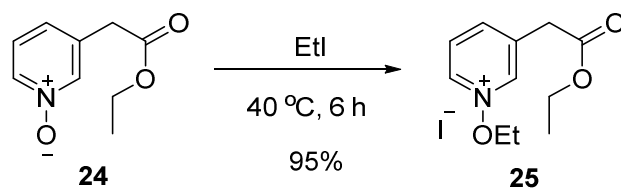


Esquema 2. 6.N-oxidação de 23.**Tabela 2. 1.** Condições reacionais para síntese de 24.

23 (mmol)	AMCPB (mmol)	t (h)	Rendimento (%)	Atmosfera de N ₂
6.57	9.86	5	49	Sim
19.71	29.58	5	33	Sim
19.71	29.58	24	42	Sim
19.71	29.58	96	86	Sim
19.71	29.58	120	96	Sim
60.6	90.1	4	91	Não

Considerando os dados obtidos é possível verificar que a atmosfera de nitrogênio não é necessária para a reação, podendo até mesmo retardar o processo de oxidação.

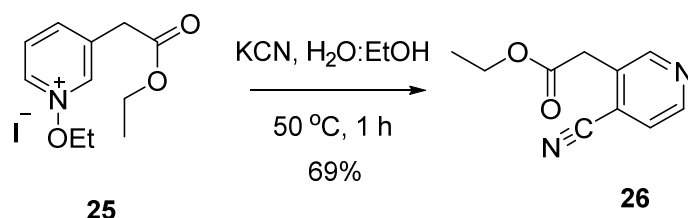
Obtido o N-óxido **24** foi realizada uma alquilação de N-óxido (Esquema 2.7). Esta reação foi otimizada em relação ao descrito na literatura.⁴³ Dados bibliográficos informam que a reação era realizada sob atmosfera inerte e mantida sob agitação a temperatura ambiente por 144 horas.⁴³ Neste trabalho, o tempo reacional foi reduzido para apenas 6 horas, sob aquecimento e sem a necessidade de atmosfera inerte. A diferença de condições provavelmente se deu pelo aquecimento da reação, que reduziu consideravelmente o tempo reacional, assim otimizando a rota. A atmosfera na qual era realizada a reação não mostrou diferença quanto aos rendimentos obtidos quando inerte ou normal, assim reduzindo o custo e manuseio relacionados ao uso de N₂. Esta reação é característica para o favorecimento de adição de um grupo nucleofílico na posição 4 do anel piridínico, no caso cianeto, e assim apresentou-se fundamental para a formação do intermediário seguinte, **26**, da rota.



Esquema 2. 7.Alquilação do N-óxido**24**.

Depois da ativação da piridina, a reação de cianação foi conduzida utilizando cianeto de potássio (Esquema 2.8).⁴³Medidas apropriadas de segurança foram adotadas, desde o processo de pesagem até o descarte em solução de hipoclorito.

Diversas condições foram testados a fim de determinar o melhor e mais seguro método para a obtenção de **26**(Tabela 2.2). Além de **26**, foi verificada a formação de dois isômeros, provavelmente substituídos nas posições 2 e 6 do anel. Com base na tabela 3 é possível inferir que a equivalência de KCN utilizada não é determinante para a seletividade ou rendimento dessa etapa. O mesmo rendimento pode ser obtido seja utilizando 1 ou 2 equivalentes de KCN apenas variando o tempo reacional. Assim, a redução do sal utilizado resulta em menor quantidade de cianeto no descarte consequentemente aumenta o grau de segurança do processo.



Esquema 2. 8.Síntese de**26**por cianação de**25**.

Tabela 2. 2.Condições de cianação de**26**.

25(mmol)	KCN (mmol, eq.)	t (h)	Rendimento(%)
1,7	3,4, 2	0,5	38
4	8, 2	0,5	9
8,2	16,4, 2	0,5	52
15,5	31, 2	0,5	62

27,9	27,9, 1	2	63
54,5	54,5, 1	2	58

A cianação da posição 4 do anel piridínico pode ser confirmada através do espectro de RMN de ^1H (ANEXO 31)(Figura 2.5),por meio dos sinais característicos de anéis piridínicos 3,4-substituídos. Dois dupletos em $\delta = 7.49$ (d, $J = 5\text{Hz}$, 1H,) H-2 e 8.64 (d, $J = 5\text{ Hz}$, 1H) H-3, e um simpleto em $\delta = 8.68$ (s, 1H) H-1.

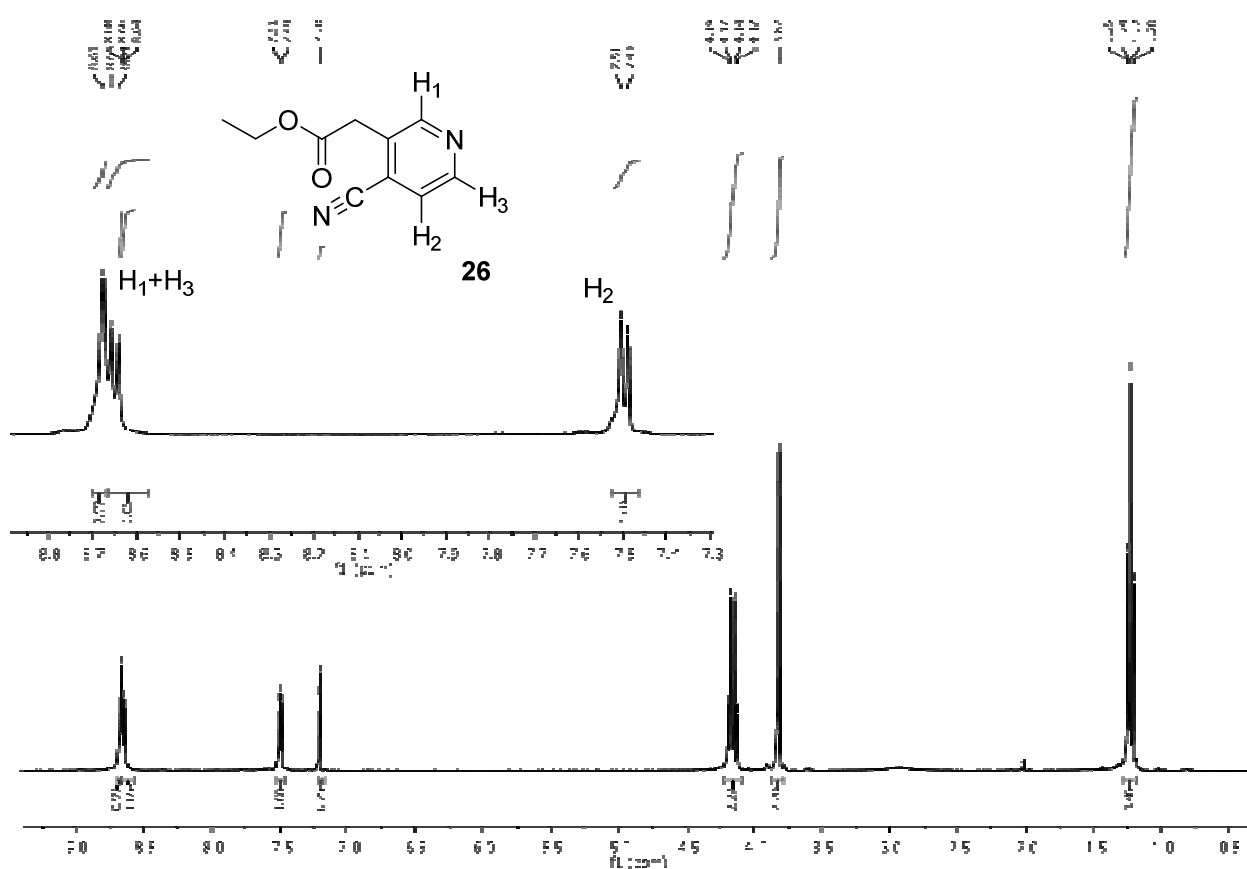
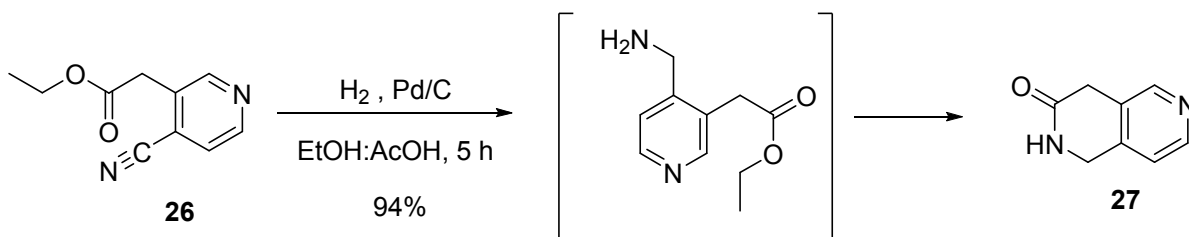


Figura 2. 5. Anel piridínico 3,4-substituído, espectro de RMN de ^1H do cianeto intermediário **26**(ANEXO 31).

O grupo ciano em **26** pode ser facilmente reduzido à amina primária. A condição mais comum para esta redução é uma hidrogenação catalítica por H_2 mediada por Pd/C (Tabela 2.3).⁴⁷. Interessantemente, verificou-se que o processo de redução do grupo ciano de **26** em presença de ácido acético, propicia a ciclização intramolecular para formação do intermediário **27** (Esquema 2.9).



Esquema 2. 9. Heterociclização de **26** para **27**.

Tabela 2. 3 . Condições reacionais da síntese de **27**.

26 (mmol)	H₂ (bar)	Solvente	T(°C)	t (h)	Rend.(%)	Equipamento
0.36	1	AcOH	t.a	0,5	42	Hidrogenador PAAR
0.36	1.25	AcOH	t.a	0,5	36	Hidrogenador PAAR
4.29	1.25	AcOH	t.a	1	43	Hidrogenador PAAR
9.6	3	AcOH	t.a	2	38	Hidrogenador PAAR
3.84	1	EtOH:AcOH (4:1)	t.a	24	94	H-Cube
15.4	1	EtOH:AcOH (4:1)	35	16	94	H-Cube
31.5	30	EtOH:AcOH (4:1)	35	24	95	H-Cube

A partir dos dados apresentados na tabela 2.3, verificou-se a maior eficiência do processo ao utilizar o equipamento H-Cube, visto que é possível observar melhores rendimentos, menor quantidade de resíduos metálicos e maior praticidade quando comparado com o mesmo processo conduzido em hidrogenador convencional. O H-Cube utiliza colunas pré-empacotadas de catalisador, no caso colunas de 10% (30 mm) de Pd/C, e não o habitual Pd/C em suspensão utilizado em hidrogenadores convencionais.

O H-Cube se trata basicamente de um sistema de fluxo que pode gerar H₂ *in situ*, e aliado à utilização de colunas pré-empacotadas de Pd/C, otimiza o contato catalisador/mistura reacional fazendo com que o catalisador apresente resultados

semelhantes aqueles observados quando utilizados em excesso em reações no hidrogenador convencional. Além disso as colunas de Pd são sustentáveis, é possível a reutilização das mesmas até que a eficiência do catalisador seja considerada insatisfatória.

A heterociclicização foi comprovada pelo espectro de RMN de ^1H (ANEXO 34), pela presença de sinais em $\delta = 3,6$ (s, 2H) e 4,52 (s, 2H), referentes aos sinais de hidrogênios metilênicos H-1 e H-4, respectivamente, e $\delta = 7,43$ (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 8,4 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H) e 8,43 (s, 1H), referentes aos hidrogênios do anel de piridina (Figura 2.6). Além disso, o espectro de massas de alta resolução do composto **23**, modo de detecção positiva, apresentou o pico característico da molécula protonada (calculado para $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}^+]$: 149,0709, obtido: 149,0711) (ANEXO 36).

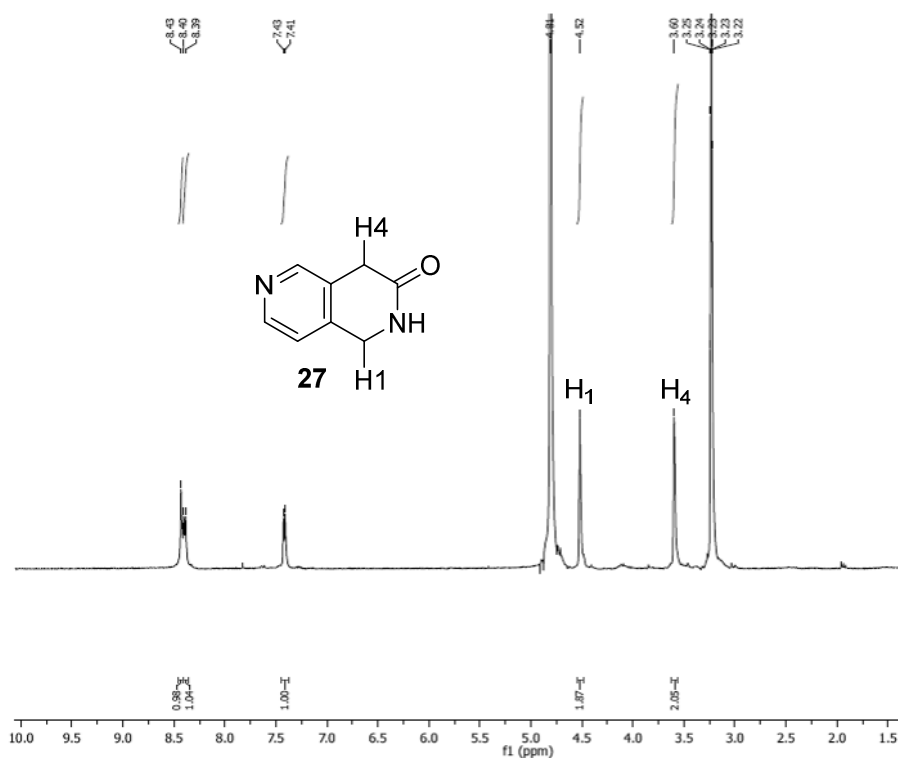
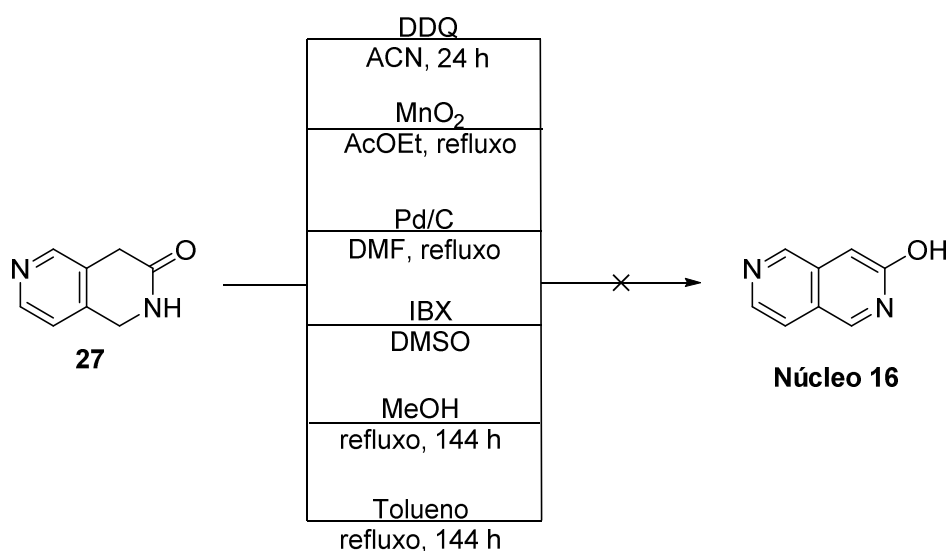


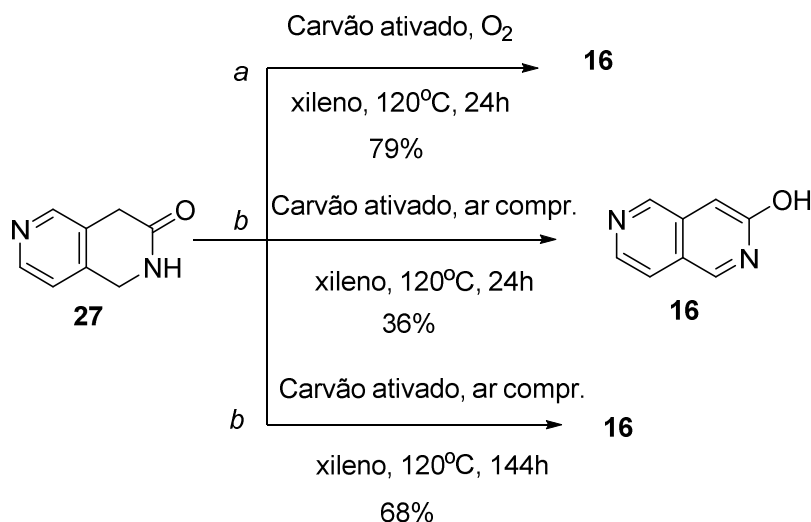
Figura 2. 6. Espectro de RMN de ^1H do composto **27**, 300 MHz, Metanol- $4d$ (ANEXO 34).

Uma série de condições de oxidação foram avaliadas em busca da obtenção de **11**: Pd/C, sobrefluxo de tolueno ou DMF,⁴⁹ reações mediadas por agentes oxidantes como DDQ,⁵⁰ IBX e MnO_2 ,⁵¹ no entanto, em nenhuma delas foi

observada a formação do produto desejado. Outros métodos testados foram baseados no refluxo em solventes como tolueno ou metanol, com ou sem borbulhamento de ar comprimido por períodos de até 144 horas (Esquema 2.10). Curiosamente, **16** foi obtido por um método de oxidação mediada por carvão ativado em atmosfera rica em O₂, conforme descrito por Tanaka (Esquema 2.11).⁴⁸



Esquema 2. 10. Condições de oxidação sem sucesso.



Esquema 2. 11. Oxidação de **27** para obtenção de **16**.

O método de oxidação foi realizado variando a quantidade de carvão ativado utilizada, de 100% a 10% de massa. Não foi verificada alteração efetiva na formação do produto. No entanto, a atmosfera saturada de O₂ mostrou-se muito relevante para o processo de oxidação. A reação foi realizada sob duas condições atmosféricas

distintas, *a*- sob atmosfera rica de O₂, utilizando balões de carbogênio conectados as vidrarias vedadas por septo. E condição *b*-borbulhando apenas ar comprimido na mistura reacional por meio de agulha e mangueiras. (Esquema 2.11). É possível inferir que a condição *a*, de atmosfera rica de O₂ favoreceu a reação uma vez que o mecanismo proposto é baseado na reação de desidratação e não de desidrogenação. Tanaka propõe que, inicialmente, uma oxidação ocorra por espécies de radicais de oxigênio, favorecida pela superfície do carvão, e, em seguida, a subsequente desidratação,⁴⁸ resultou na estrutura aromática **16**.

A estrutura do núcleo **16** pode ser comprovada através dos espectros de RMN de ¹H (ANEXO 38) e de massas de alta resolução (HRMS) (ANEXO 40),. (Figura 2.7).

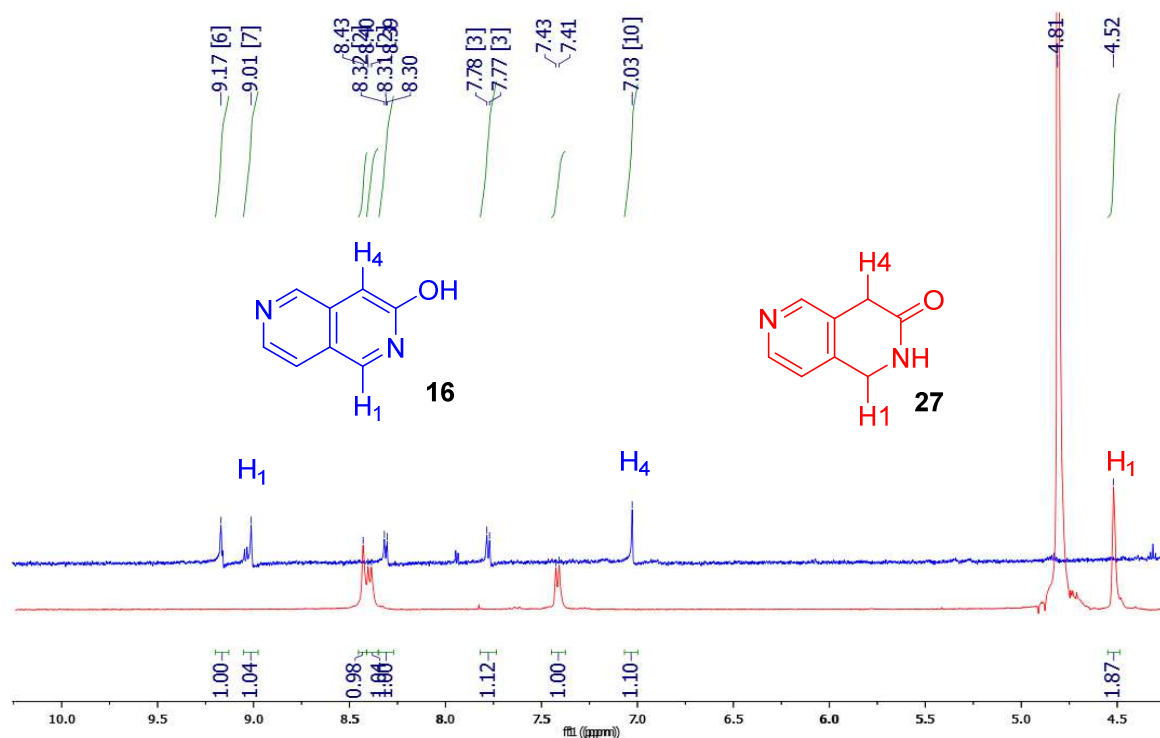


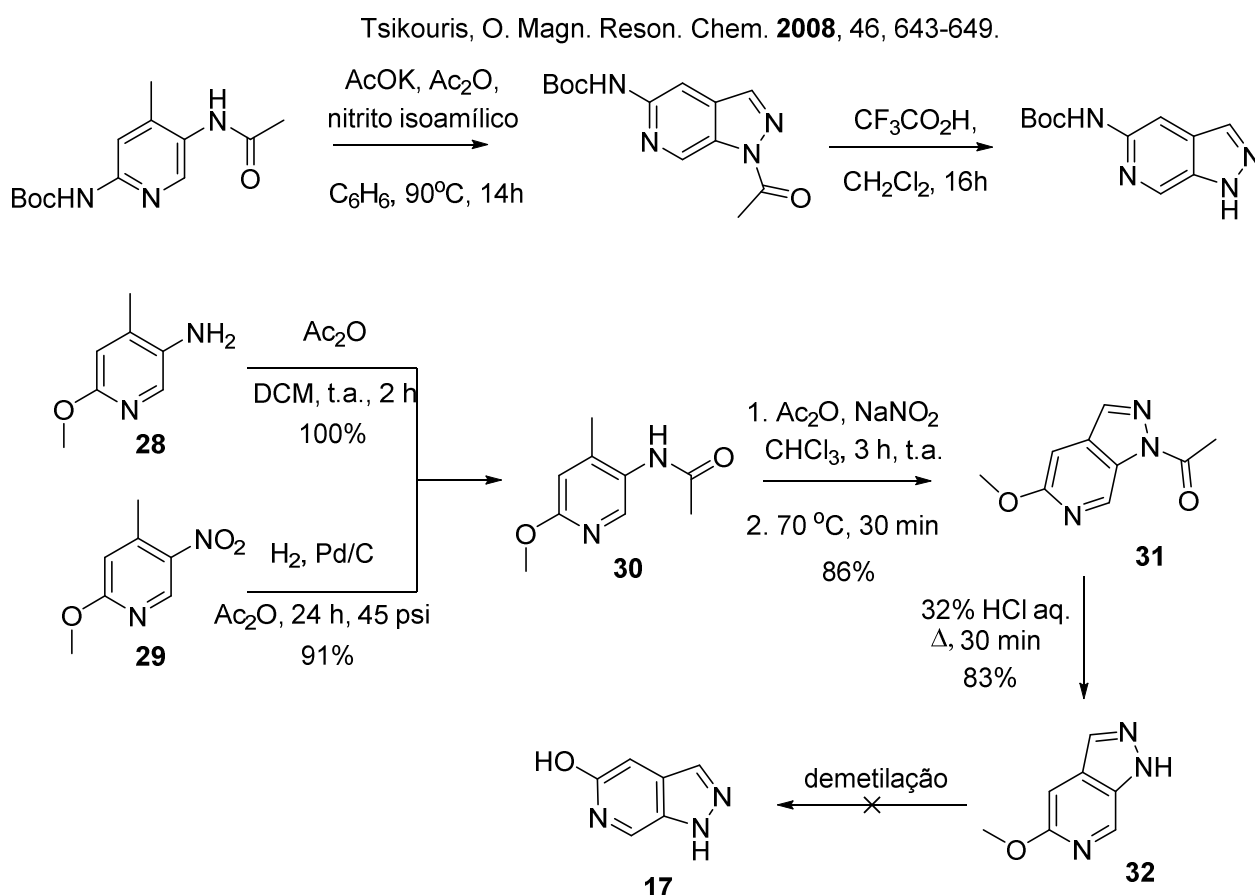
Figura 2. 7. Sobreposição de espectros de RMN de ¹H de **16** e **27** (500 MHz, CDCl₃) (ANEXO 34 e 38).

A oxidação de **27** pode ser comprovada pelos espectros de RMN de ¹H e massas de alta resolução. O espectro de RMN de ¹H (ANEXO 38) apresentou dois novos simpletos em $\delta = 9,1$ (s, 1H) H-1 e 7,03 (s, 1H) H-4. Além disso, o espectro de massas de alta resolução do composto **16**, modo de detecção positiva, apresentou o

pico característico da molécula protonada (calculado para $C_8H_6N_2O$ $[M+H]^+$: 147,0553, obtido: 147,0548) (ANEXO 40).

4.2. Síntese do núcleo 17, pirazolopiridinona.

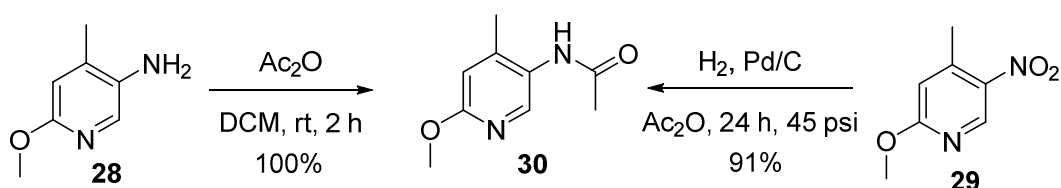
Condições adaptadas de Tsikouris em 2008 foram utilizadas para a tentativa de obtenção de **17** (Esquema 2.12).³⁹ Para este fim, as piridinas **28**⁵² e **29** foram empregados como materiais de partida para gerar **30**. A acetil-pirazolopiridina **31** foi preparada por nitroação de **30** em presença de $Ac_2O-NaNO_2$,⁵³ e subsequente rearranjo e ciclização do intermediário N-acetil-N-nitroso. Após a formação do anel pirazólico, **31** foi submetido a deacetilação por solução de HCl,⁵⁴ e uma série de tentativas de demetilação foram testadas na estrutura **32**, entretanto nenhuma mostrou-se promissora.



Esquema 2. 12. Síntese de **17** a partir de ciclização de intermediário N-acil-N-nitroso, 54% de rendimento global.

A primeira etapa da rota foi a síntese da piridinil acetamida **30**, que pode ser obtida a partir do anel piridínico substituído por grupos amina **28**⁵² ou nitro **29**

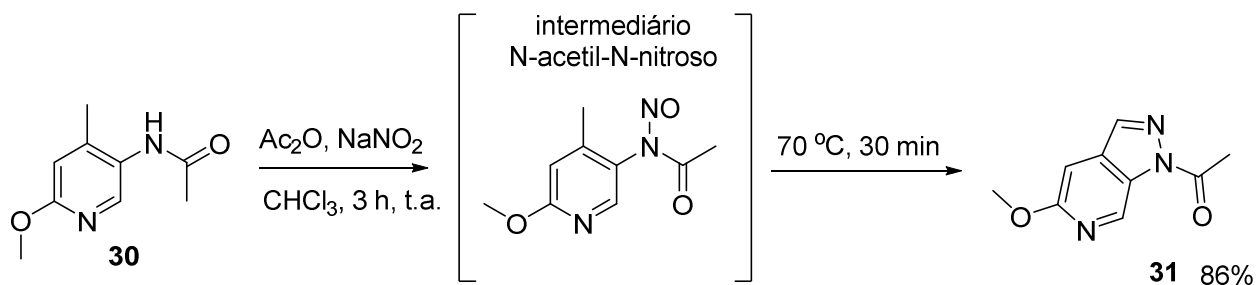
(Esquema 2.13). Quando empregado **28** como material de partida, foi realizado um acetilação com anidrido acético (Ac_2O) em DCM a temperatura ambiente. Se utilizado **29** de partida, **30** é obtido a partir de hidrogenação reductiva do grupo nitro em hidrogenador sob catálise de Pd/C 10 mmol%, 45 psi, anidrido acético como solvente, a temperatura ambiente por um período de 24 horas. Os dois métodos apresentaram a formação de **30** em bons rendimentos (91-100%), entretanto o processo de acetilação é a primeira escolha nessa síntese, isso por apresentar melhor rendimento, menor tempo de reação, além de maior facilidade de manuseio comparado ao outro método.



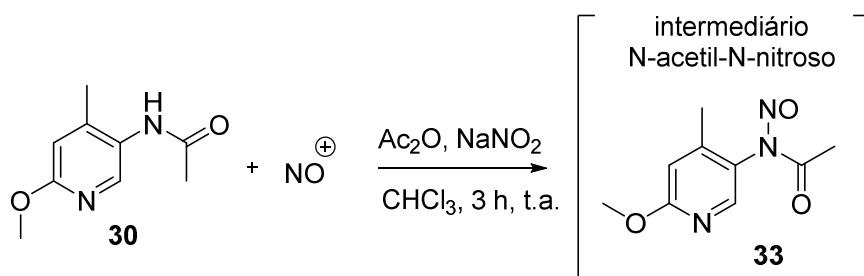
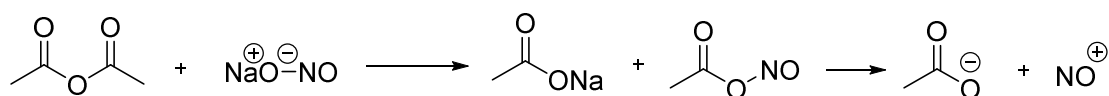
Esquema 2. 13. Acetilação de **28** e hidrogenação de **29** para formação da acetamida **30**.

A formação de **30** foi confirmada pelo espectro de RMN de ^1H (ANEXO 41), pela presença de sinais relativos ao grupo acetil em $\delta = 2.19$ (s, 3H). O sinal da carbonila em $\delta = 169.62$ ppm no espectro de RMN de ^{13}C (ANEXO 42) também contribuiu para a elucidação estrutural. Além disso, o espectro de massas de alta resolução mostrou o pico da molécula protonada de **30**, $[\text{M}+\text{H}^+]$ 181,0975, sendo o peso molecular calculado 181,0972 (ANEXO 43).

O anel pirazolopiridina **31** foi preparado por nitroação de **30** em presença de $\text{Ac}_2\text{O}\text{-NaNO}_2$,⁵³ e subsequente rearranjo e ciclização do intermediário N-acetil-N-nitroso a **31** (Esquema 2.14). O intermediário N-acetil-N-nitroso foi gerado por nitrosilação do átomo de nitrogênio da acetamida por íons nitrônio produzidos da reação entre $\text{Ac}_2\text{O}\text{-NaNO}_2$ (Esquema 2.14).⁵³

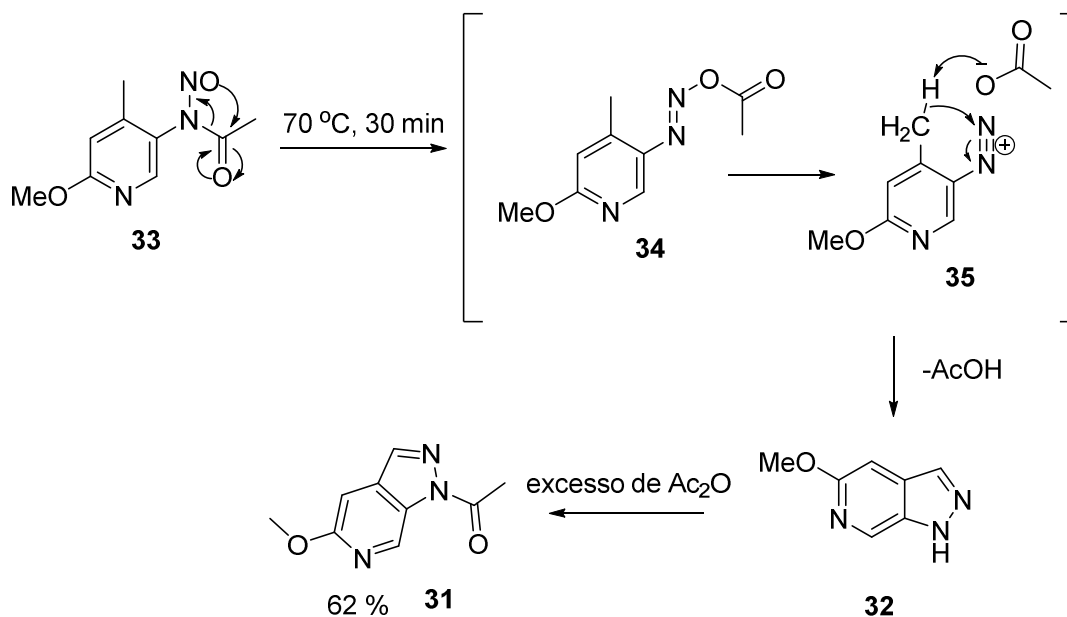


Formação de íon nitrônio



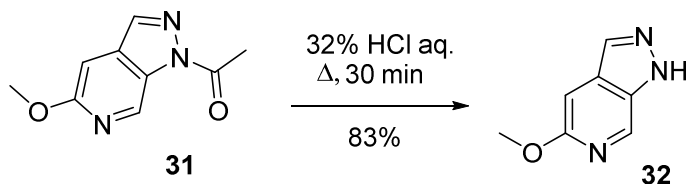
Esquema 2. 14.. Nitrosilação de **30** por íons nitrônio.

O rearranjo N-nitroso foi realizado pelo aquecimento da mistura reacional a 70°C por 30 minutos (Esquema 2.15). Neste rearranjo, o grupo acetilamida para o grupo nitrosil resultando no intermediário **34**. Após eliminação de acetato, **34** fornece um grupo diazo (**35**), que ao desprotonar a metila vizinha, catalisa a heterociclização para formação de **32**. Uma vez formada a pirazolopiridina **32**, o átomo de nitrogênio é inesperadamente acetilado pelo excesso de anidrido acético, resultando em **31** (Esquema 2.15).⁵⁴



Esquema 2. 15. Rearranjo N-nitroso para formação de **31**.

Visando a obtenção da metoxi-pirazolopiridina **32**, o grupo acetil foi hidrolisado com solução de HCl ao produto bruto da reação de rearranjo N-nitroso sob aquecimento (Esquema 2.16).⁵⁴



Esquema 2. 16. Deacetilação de **31**.

A formação da estrutura proposta **32** foi sugerida baseada no espectro de RMN de ^1H , caracterizada principalmente pela ausência dos sinais referentes ao grupo acetil. O espectro apresentou três simples em $\delta = 8,55$ (s, 1H) H-1, 7,97 (s, 1H) H-3, 7,01 (s, 1H) H-2, e apenas um simples em $\delta = 3,86$ (s, 3H) referente ao grupo metoxi ligado em C-2 (ANEXO 47).

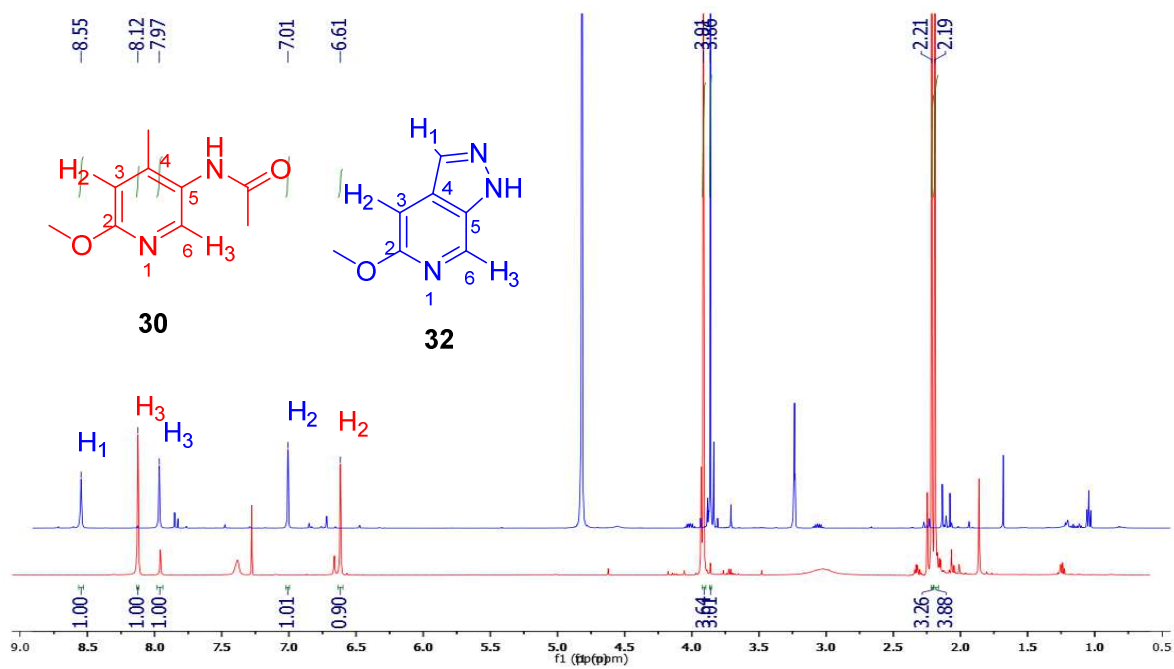


Figura 2. 8. Sobreposição de espectros de RMN de ^1H de **30** e **32** (ANEXO 41 e 47).

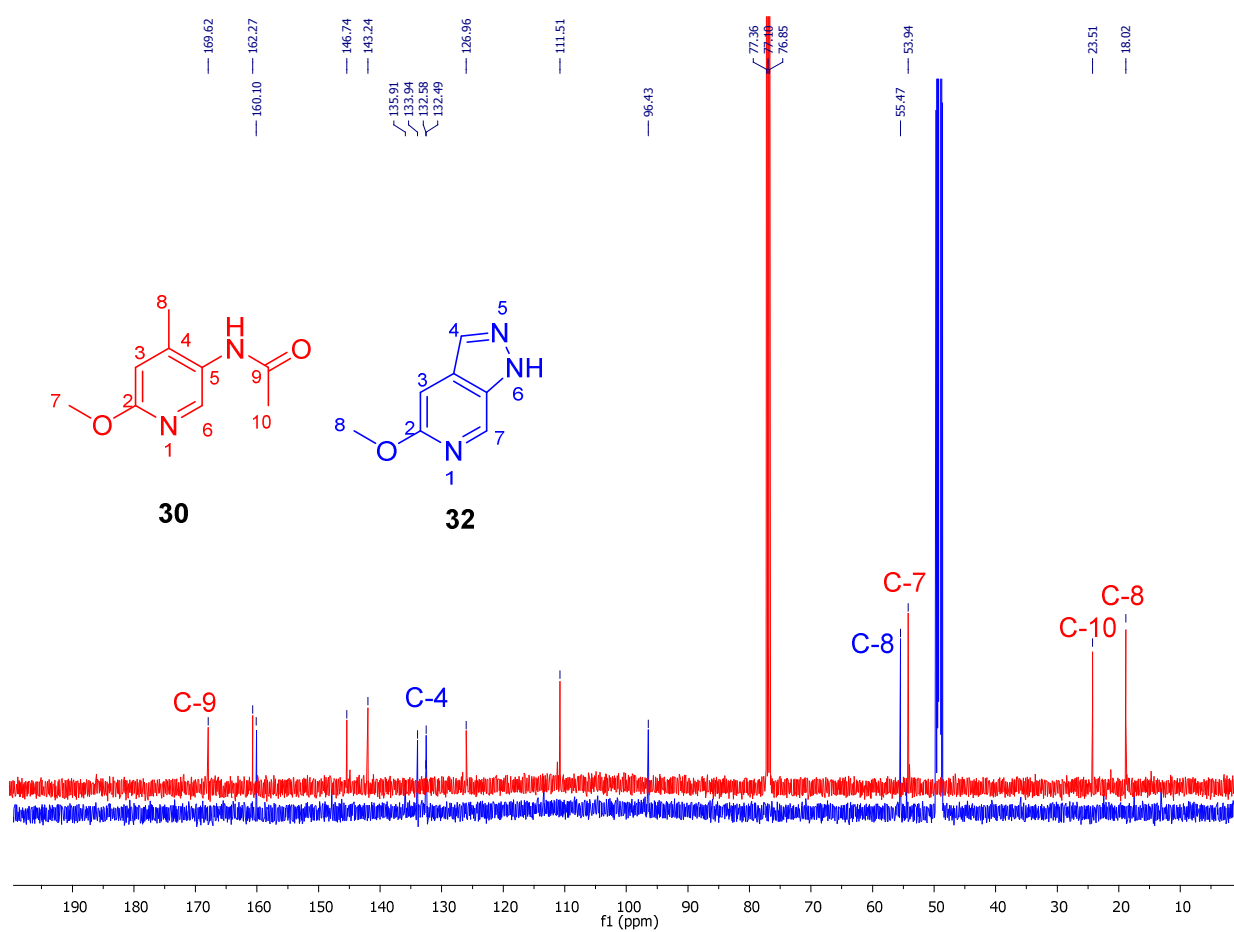
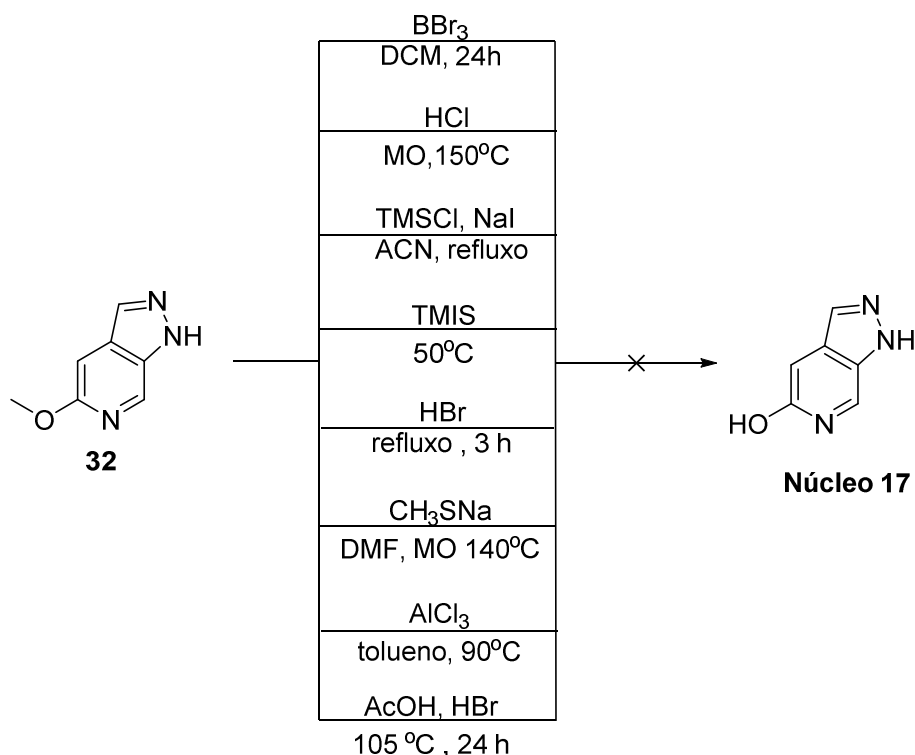


Figura 2. 9. Sobreposição dos espectros de RMN de ^{13}C de **30** e **32** (125 mHz, Metanol-*4d*) (ANEXO 42 e 48).

Somado a isso, o espectro de RMN de ^{13}C (ANEXO 48) mostrou apenas um sinal correspondente a um $-\text{CH}_3$, referente a metoxila em ligada a C-2 em $\delta = 55,47$ ppm. Além disso, existe o sinal correspondente a C-4 em $\delta = 112,49$ ppm. Os resultados da análise de RMN são confirmados pelo espectro de massas de alta resolução de **29**, no qual pode ser visto o pico da molécula protonada $[\text{M}+\text{H}^+]$ de 150,0654, quando o valor calculado é 150,0662 (ANEXO 49).

A última etapa para a obtenção do núcleo **17** foi a reação de demetilação de **35**. Diversas metodologias foram aplicadas, demetilações mediadas por BBr_3 ,⁵⁵ HCl ,⁵⁵ TMSCl ,³⁹ HBr , HBr/AcOH ,⁵⁶ CH_3SNa ,⁵⁷ AlCl_3 (Esquema 2.17).⁵⁸



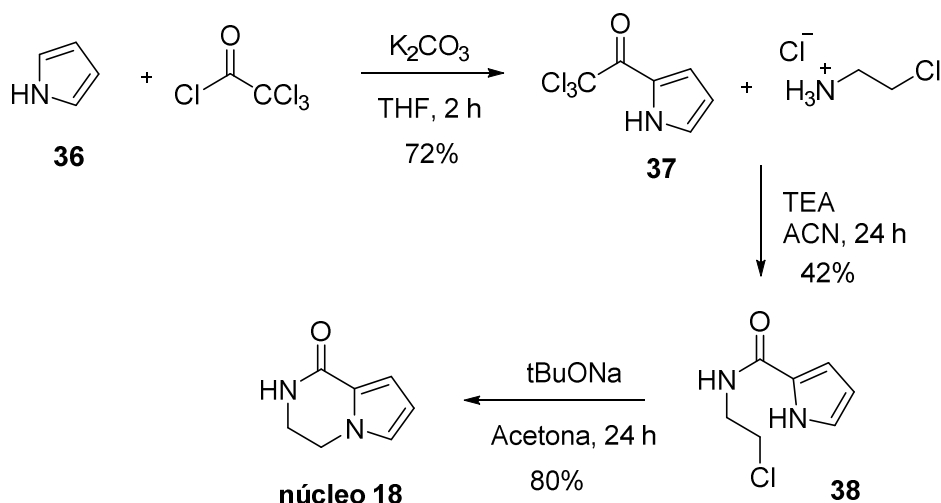
Esquema 2. 17. Métodos de demetilação sem sucesso.

Infelizmente, nenhuma das condições testadas apresentaram a formação do produto desejado **17**. Assim estudos complementares sobre essa etapa de demetilação ainda se fazem necessários.

4.3. Síntese do núcleo 18, dihidropirrolopirazinona

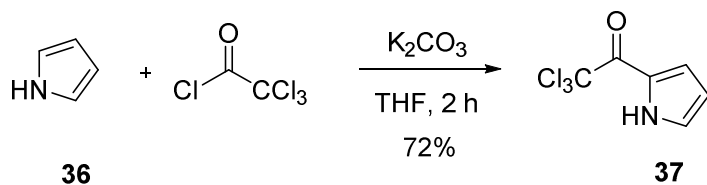
O núcleo **18**, uma dihidropirrolopirazinona, teve sua síntese proposta por Brimble em 1988⁴⁰ a partir da ciclização intramolecular de intermediários pirrólicos substituídos por grupos éster e ciano, onde a redução do ciano em presença de NaBH_4 e CoCl_2 resulta na formação de **18**.

O presente trabalho buscando outra rota sintética para **18**, baseou-se inicialmente no método de Schmuck, de funcionalização de anéis pirrólicos por grupo tricloro acetil.⁴⁴ Então a partir do pirrol acilado, foi proposta uma reação com cloreto de etilamina, formando a amida **38**, que em meio básico leva à heterociclização intramolecular, conseqüentemente a formação do núcleo **18** (Esquema 2.18).



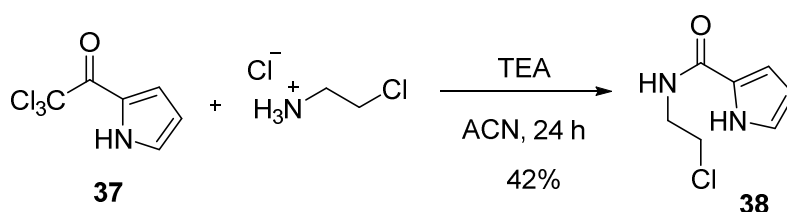
Esquema 2. 18. Síntese de **18** explorando reatividade de anéis pirrólicos, 15% de rendimento global.

A primeira etapa para a síntese de **18** é a adição do grupo tricloro acetil ao pirrol.⁴⁴ Esta reação é uma substituição eletrofílica comum em anéis pirrólicos, visto que por ser um sistema π -excessivo, seus carbonos C-2 e C-3 são reativos frente eletrófilos, preferencialmente C-2 devido a maior deslocalização de cargas positivas dos intermediários de substituição nessa posição. Esta reação foi realizada utilizando-se o pirrol como material de partida em presença de cloreto de tricloroacetila e carbonato de potássio em THF, resultando no intermediário **37** com rendimento de 72% (Esquema 2.19).



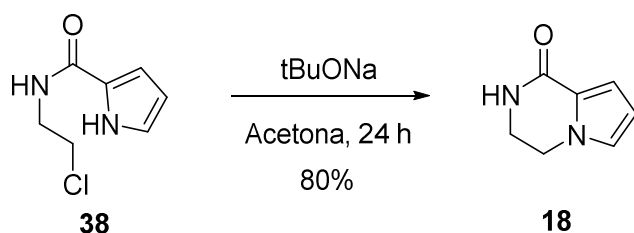
Esquema 2. 19. Síntese do intermediário **37**.

Após a obtenção de **37**, foi proposta uma reação de amidação utilizando cloreto de etilamina.⁴⁵ A reação foi conduzida em acetonitrila em presença de trietilamina por 24 horas resultando na formação da carboxamida **38** (Esquema 2.20).



Esquema 2. 20. Reação de amidação do intermediário **37**.

Então a partir de **38**, foi realizada uma heterociclicização originando o núcleo **18**. A etapa de ciclização ocorreu em meio básico, *t*BuONa em acetona, favorecendo a substituição do cloreto da cadeia lateral pelo nitrogênio pirrólico, desprotonado pela base, resultando na dihidropirrolopirazinona **18** (Esquema 2.21).



Esquema 2. 21. Reação de ciclização e obtenção do núcleo **18**.

A formação do núcleo **18** foi confirmada com base nos espectros de RMN de ¹H (ANEXO 51), onde verificou-se a presença de dois tripletos em $\delta = 4,03$ (H-2)(t, $J = 9,3$ Hz, 2H) e $4,44$ (H-2)(t, $J = 9,3$ Hz, 2H) referente aos hidrogênios metilênicos, e três duplos dupletos em $\delta = 6,24$ (H-4)(dd, $J = 2,6, 3,6$ Hz, 1H), $6,77$ (H-5)(dd, $J = 1,4, 3,6$ Hz, 1H), e $6,94$ (H-3)(dd, $J = 1,4, 2,6$ Hz, 1H) referentes aos hidrogênios do anel pirrólico (Figura 2.10). Os resultados de RMN de ¹³C (ANEXO 52) e de massas de alta resolução de **18** (ANEXO 53), corroboraram a estrutura proposta. No espectro

de HRMS pôde ser visto o pico da molécula protonada $[M+H^+]$ de 137,706, quando o valor calculado para $C_7H_9N_2O^+$ é 137,0709.

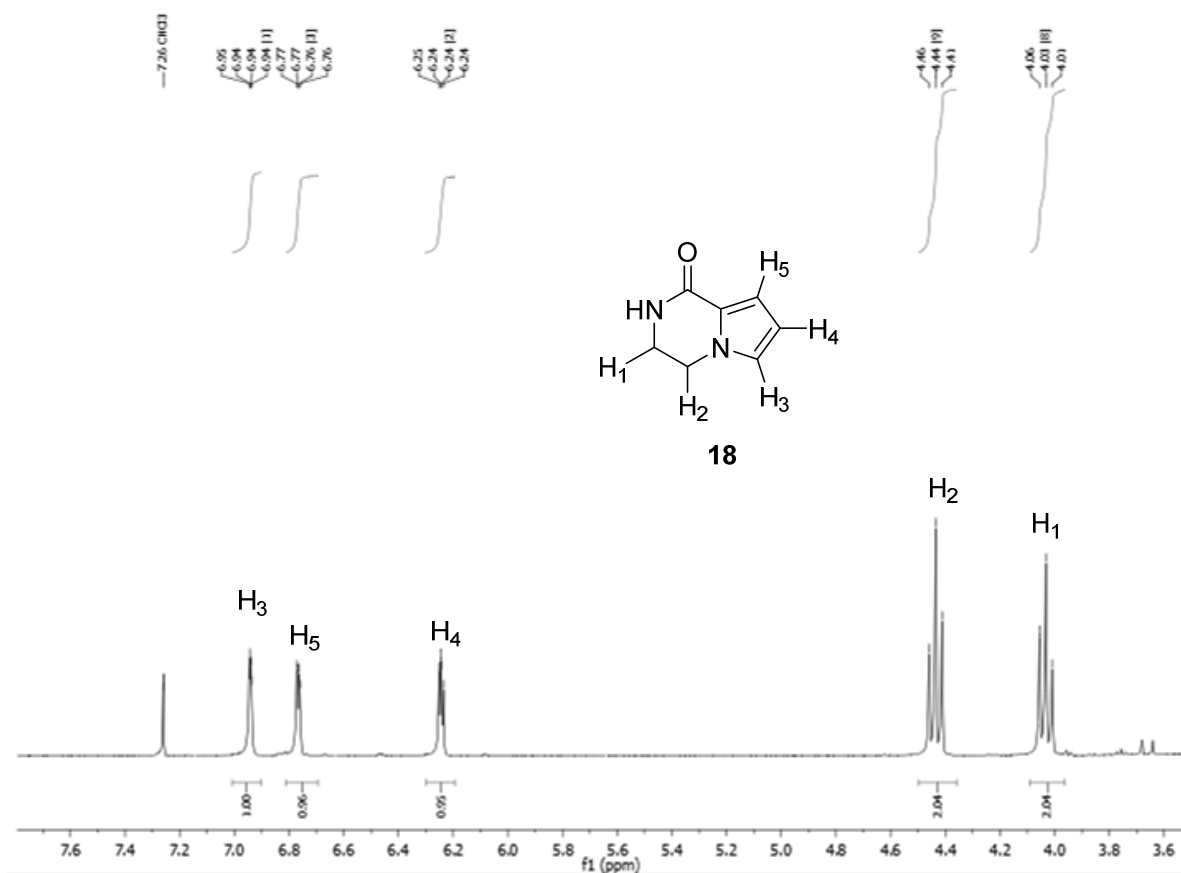


Figura 2. 10. Espectro de RMN de 1H do composto **18**, 400 mHz, $CDCl_3$ (ANEXO 51).

A rota sintética estabelecida para **18** mostrou-se satisfatória, equiparando-se a descrita por Brimble,⁴⁰ todavia a esta rota destaca-se quando considerada a maior segurança oferecida, visto que esta não utiliza grupos ou reagentes contendo grupo ciano, associado a diversos riscos e medidas de segurança.

Uma vez obtidas metodologias sintéticas adequadas, foram conduzidos estudos de varredura diferencial calorimétrica (DSC) (ANEXO 29) de etapas que apresentavam riscos nas rotas de **16** e **17**, como a alquilação de N-óxido e rearranjo N-acil-nitroso. A leitura de tais dados possibilitou o aumento de escala para obtenção de tais núcleos com segurança.

4.4. Síntese Orientada pela Diversidade – *do inglês Diversity Oriented Synthesis (DOS)* -Estudo da reatividade dos núcleos 16, 17 e 18.

DOS é uma importante ferramenta para os químicos sintéticos em buscado desenvolvimento de bibliotecas de compostos de baixo peso molecular, caracterizados como possíveis candidatos para estudos biológicos para alvos conhecidos ou para triagens fenotípicas.⁵⁹

Os núcleos **16**, **17** e **18**, desenvolvidos aqui neste trabalho, foram submetidos a um estudo exploratório sobre suas reatividades frente uma gama de transformações sintéticas. Os métodos sintéticos estudados foram escolhidos visando abranger tanto métodos considerados clássicos da síntese orgânica, quanto reações de acoplamento. (Figura 2.11).

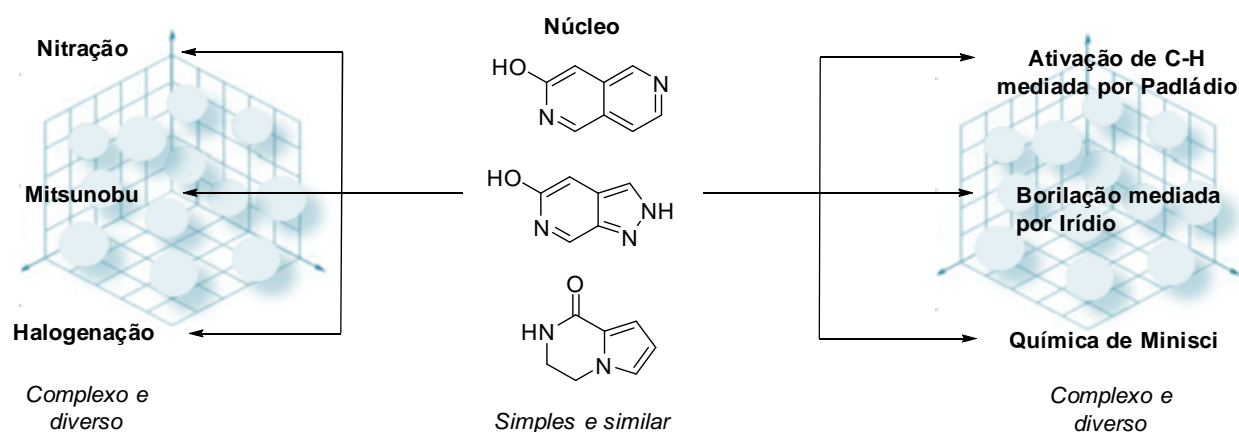


Figura 2. 11.Planejamento de DOS para os núcleos**16,17e18**.

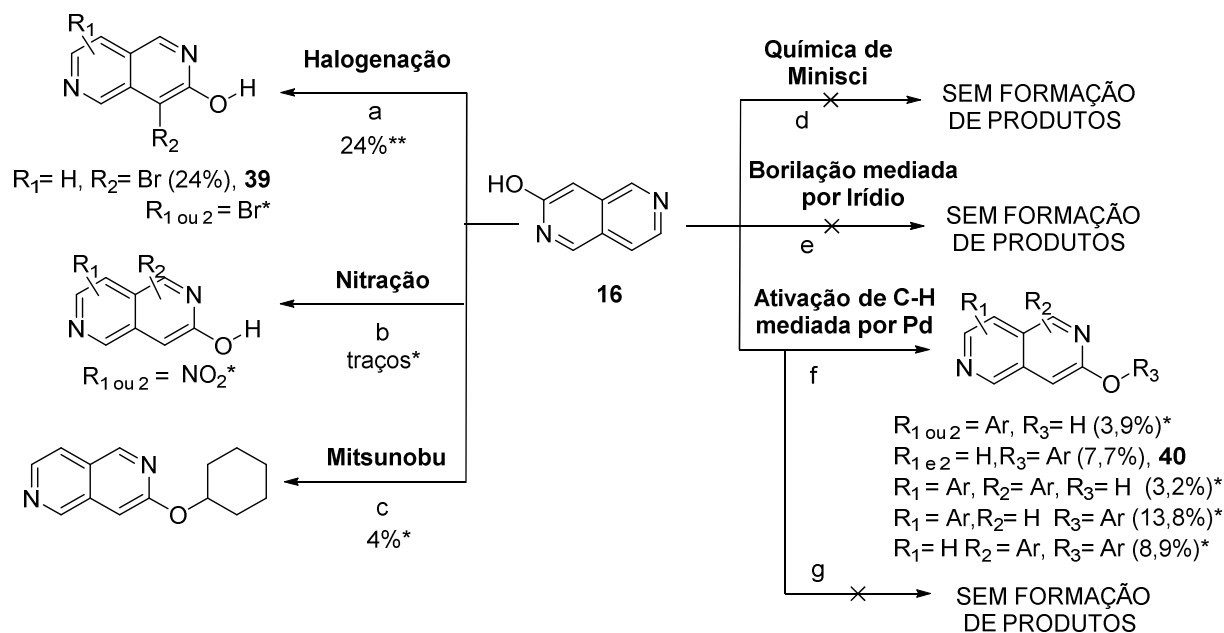
Os resultados descritos abaixo são em sua maioria baseados a partir de análises de espectros de CL-EM e/ou espectros de RMN. Portanto, os resultados sugerem a estrutura proposta neste estudo, porém, maiores estudos são necessários para confirmação definitiva.

As diversas reações realizadas neste estudo apresentaram formação de mistura complexa de produtos que, combinadas com a pequena quantidade de material de partida utilizada, contribuíram parao alto grau de dificuldade de elucidação estrutural e purificação eficiente dos produtos desejados. Desse modo, para fins de identificação neste trabalho, quando nos esquemas é observado um rendimento marcado com *um asterisco(*)* significa que a proposta estrutural é

baseada apenas nos espectros de CL-EM, indicando que apesar do sinal de massa correspondente ter sido observado, outras análises não apresentaram resultados claros suficientes para comprovar definitivamente a estrutura proposta. Quando a estrutura ou rendimento são marcados com *dois asteriscos (**)* a elucidação estrutural foi realizada a partir de sinais de CL-EM aliados aos espectros de RMN.

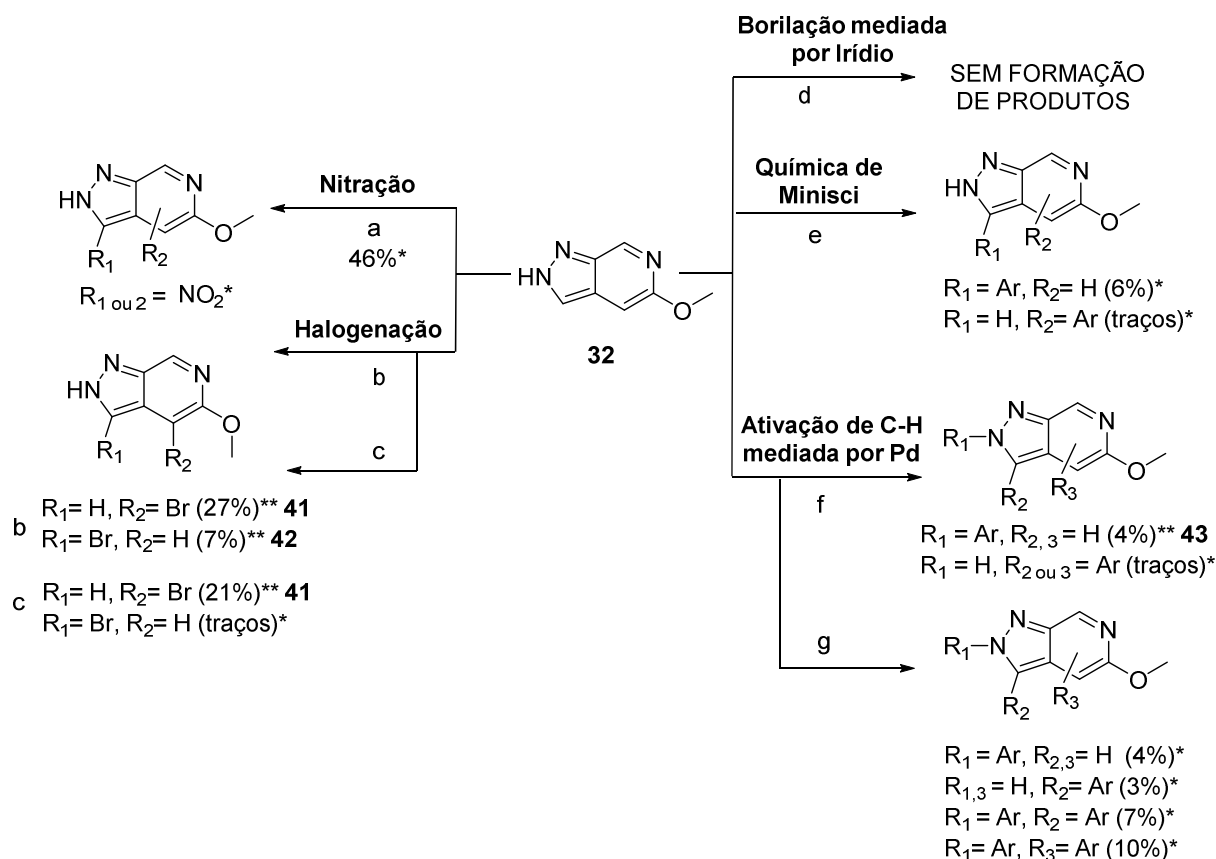
Resumo das Estratégias de Diversificação Estrutural

Desse modo, a seguir é apresentado um estudo abrangente sobre a reatividade dos núcleos, que se iniciou com os estudos da reatividade do núcleo **16**, que foi submetido a diversos tipos de reação (Esquema 2.22).



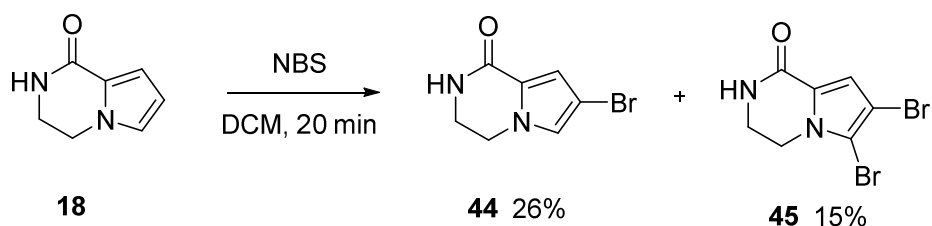
No que diz respeito a exploração química de **17**, foi utilizada a mesma abordagem anteriormente descrita para **16**, no entanto as reações propostas foram

conduzidas com o composto **32**, visando a proteção da hidroxila presente na estrutura(Esquema 2.23).



Esquema 2. 23. Estudo de reatividade de **32** frente usuais transformações sintéticas. Condições:a) H_2SO_4 , HNO_3 , 0 °C, 1 h; b) NBS, $\text{DMSO}:\text{H}_2\text{O}$, t.a., 24 h; c) AcOH , HBr , 60 °C, 4 h; d) $1. [\text{Ir}(\text{COD})(\text{OMe})_2]_2$, dtbpy, B_2Pin_2 , THF , 100 °C, 30 min MO, 2. 1-bromo-4-(metilsulfonil)benzeno, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, K_2CO_3 , THF , 100 °C, 1 h MW; e) ácido *p*-toluillborônico, TFA, AgNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$; f) 1-bromo-4-(metilsulfonil)benzeno, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PPh_3 , K_2CO_3 , DMA , 160°C, 1 h MO; g) 1-bromo-4-metoxibenzeno, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, PPh_3 , K_2CO_3 , DMA , 160°C, 1 h MO.

O menor número de estudos de reatividade da estrutura **18** em comparação aos demais, se deve ao fato deste núcleo ter sido obtido recentemente, sendo realizado apenas o estudo da halogenação de **18** (Esquema 2.24).



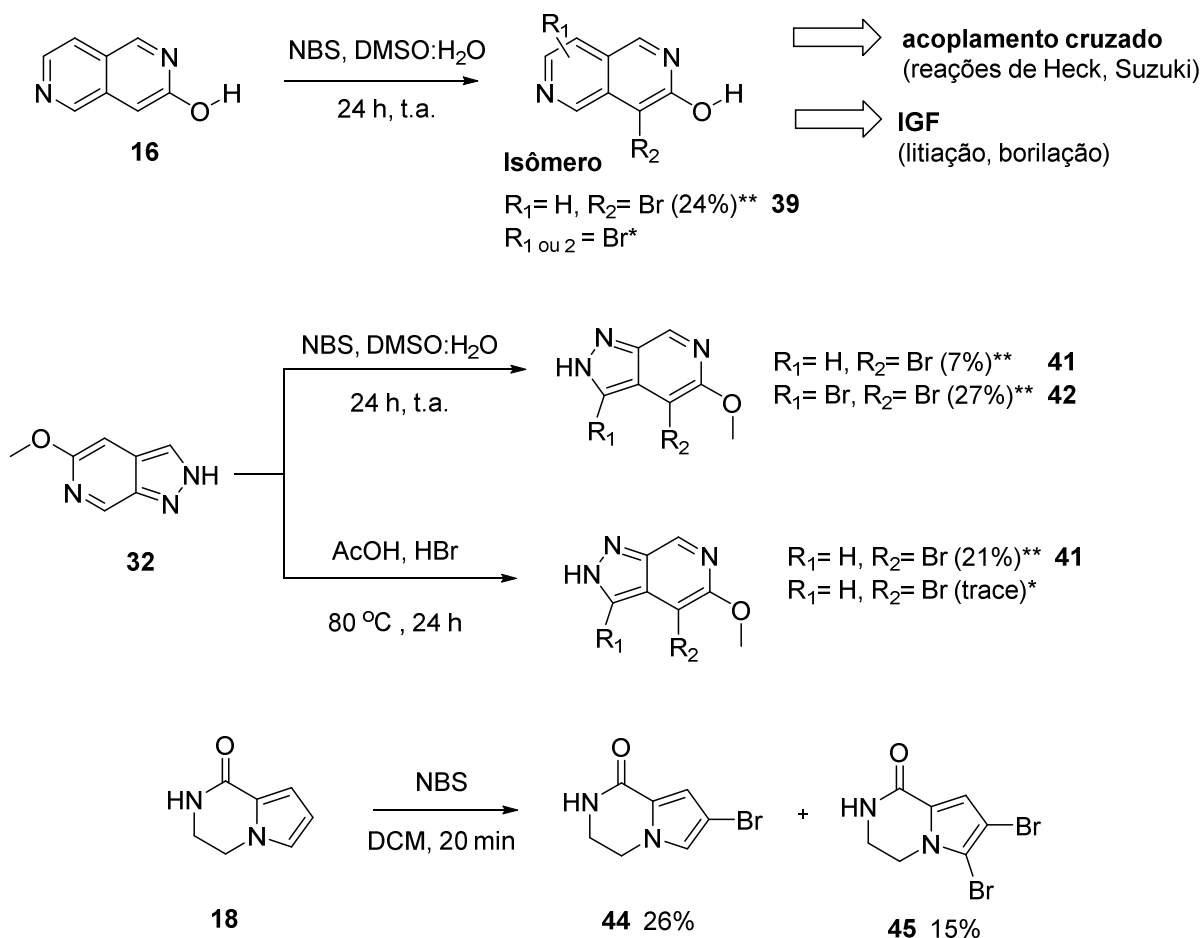
Esquema 2. 24. Reação de bromação de **18**.*Estratégia de Halogenação*

A halogenação, especificamente a bromação, é uma estratégia para a obtenção de derivados dos núcleos heterocíclicos em estudo, que ao mesmo tempo possuam diferentes propriedades físico-químicas da estrutura original e servem de material de partida para reações seguintes. Em geral, são obtidas estruturas mais lipofílicas, que possam ser utilizadas como material de partida para uma série de reações, como métodos de acoplamento cruzado (por exemplo, reações de Heck e Suzuki) e interconversões de grupos funcionais (IGF) (por exemplo, substituições aromáticas nucleofílicas).⁶⁰

Para este fim, foram utilizadas duas metodologias baseadas no uso de NBS, diferindo pelo solvente empregado. **16** e **32** foram submetidos ao método descrito por Cameron em 2010,⁶¹ o qual faz uso de DMSO/H₂O como solventes. Para a bromação de **18** foi empregada uma metodologia descrita por Gracia em 2009,⁶² onde o núcleo **18** em solução de diclorometano foi acrescido de NBS e mantido sob agitação por 20 minutos. As metodologias de bromação utilizando NBS, apresentaram a formação dos derivados bromados **39** (ANEXO 55-56), **41** (Anexo 60-62) e **44** (Anexo 67-69), respectivamente dos núcleos **16**, **32** e **18**.

A reação de bromação ocorreu na posição 4, α à carbonila em **16** e à metoxila em **32**, e na posição 7 do núcleo **18**. Além disso, verificou-se a formação dos produtos dibromados **42** (Anexo 63-64) derivado de **32** e **45** (Anexo 70-72) derivado de **18**. (Esquema 2.25).

Outro método testado apenas para a estrutura **32** foi utilizando HBr/AcOH.⁶³ Esta reação indicou a formação do derivado bromado **41** e, assim como o método que usa NBS, apresentou sinais referentes a vestígios de um outro isômero nos espectros de CL-EM (Esquema 2.25).

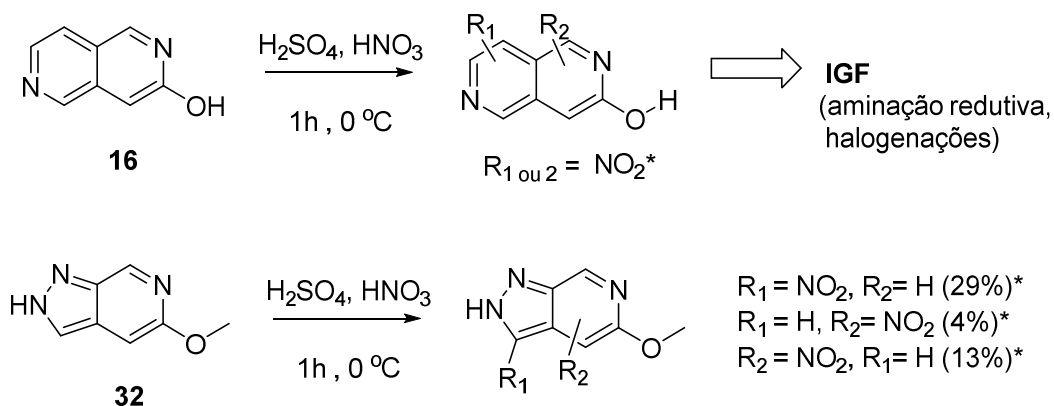


Esquema 2. 24. Estratégia de bromação dos núcleos **16**, **32** e **18**

Estratégia de Nitração

A estratégia de nitração é outra abordagem empregada para geração de derivados, e assim como a bromação previamente descrita, proporciona propriedades diferentes para os núcleos e gera material de partida para outras reações. O núcleo nitro-substituído pode ser um promissor alvo para funcionalização por reações de aminação reductiva.⁶⁴ O método selecionado para esta reação utilizou o clássico sistema H_2SO_4 e HNO_3 ⁶⁵ como reagentes, e apresentou formação de derivados nitrados para os núcleos **16** (Anexo 73) e **32** (Anexo 74) em 1 hora de reação, conforme análise por CL-EM. Entretanto, as reações foram mantidas *overnight* na tentativa de aumentar os rendimentos e foi observada apenas a presença de traços dos produtos previamente observados nos espectro de CL-EM.

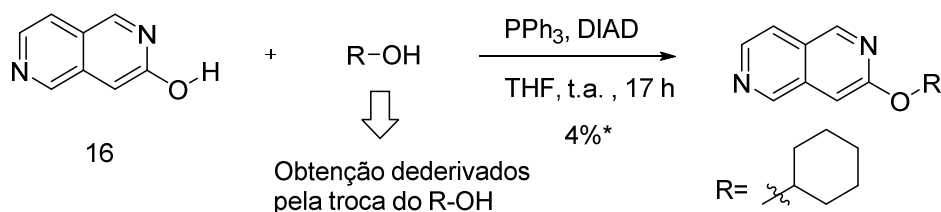
Revelando a sensibilidade em relação ao período reacional para esse tipo de condição aplicada aos núcleos (Esquema 2.26).

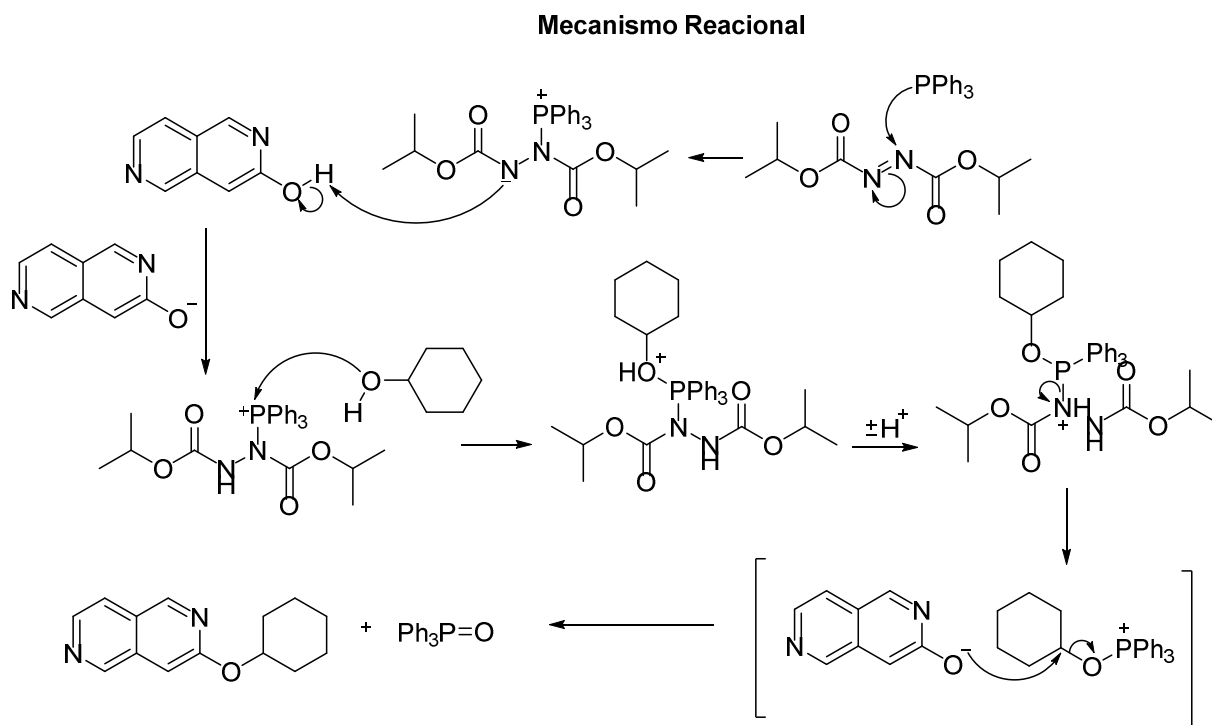


Esquema 2. 25. Abordagem de nitração dos núcleos **16**e **32**.

Reação de Mitsunobu

Neste trabalho também foi abordada a reação de Mitsunobu,⁶⁶ uma substituição de alcóois primários ou secundários por nucleófilos mediada por uma combinação redox de triálquil- ou triarilfosfina e um dialquil azodicarboxilato. Diversas variações dessa reação foram descobertas, destacando seu potencial como ferramenta sintética, destacando-se pela capacidade de gerar bibliotecas de compostos, principalmente derivados éteres e ésteres.⁶⁷ A abordagem selecionada foi conduzida com **16** e ciclohexanol, mediada por PPh₃ e DIAD em THF. Infelizmente os espectros de CL-EMsugeriram a formação do éter esperado porém em baixo rendimento (Anexo 75) (Esquema 2.27).





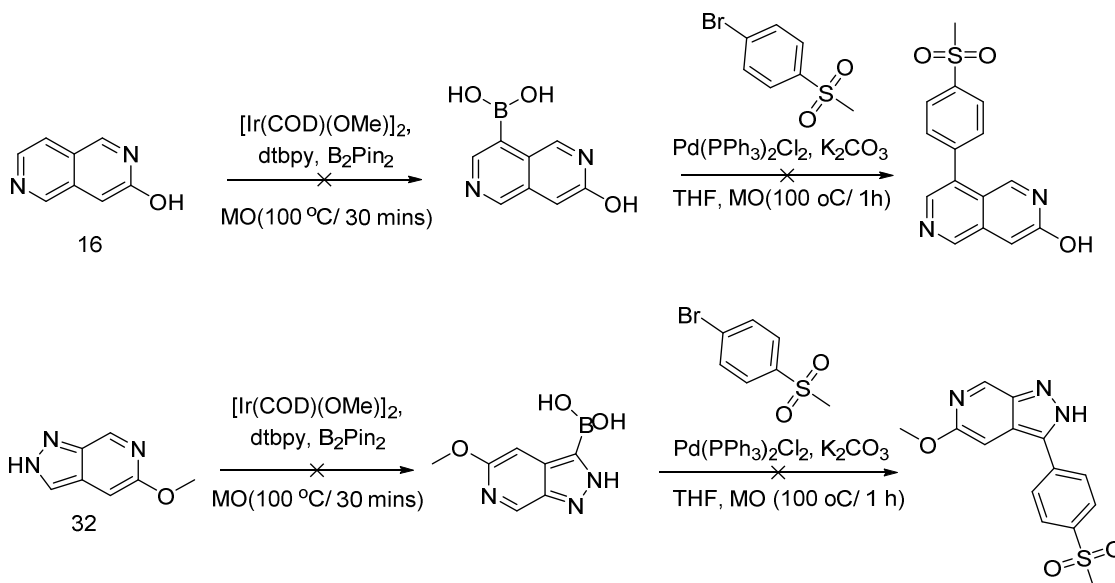
Esquema 2. 26. Reação de Mitsunobu entre os núcleos **16** e ciclohexanol.

Estratégias de Acoplamento cruzado

Os núcleos **16** e **32** foram alvos de uma série de estratégias de acoplamento para verificar a reatividade deste novo heterociclo frente métodos diretos de arilação (Esquema 2.22). **16** e **32** foram submetido a estratégias de borilação mediada por irídio,⁶⁸ química de Minisci⁶⁹ e ativação de ligação C-H mediada por Paládio.⁷⁰ Estes métodos possibilitariam um acesso mais rápido e fácil a uma variedade de heterociclos arilados em comparação a métodos usuais.

Borilação mediada por irídio

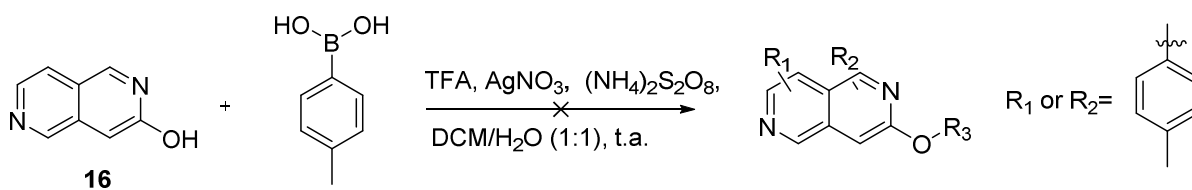
A borilação mediada por irídio é uma reação rápida e eficiente para a obtenção de diversos compostos biarílicos e heteroarílicos.⁶⁸ Esta abordagem se dá como um processo de etapa única, sendo o acoplamento C-C resultado de uma sequência de reações, inicialmente ocorre uma borilação de C-H e em seguida um acoplamento cruzado de Suzuki-Miyaura. Entretanto, a estratégia testada não se mostrou eficiente frente ambos os núcleos, **16** e **32** (Esquema 2.28).



Esquema 2. 27. Borilação mediada por irídio aplicada aos núcleos **16** e **32**.

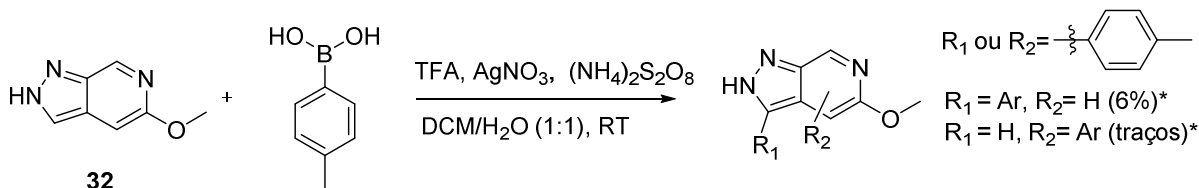
Química de Minisci

A química de Minisci⁶⁹ é uma arilação direta por ácidos arilborônicos utilizada em diversos sistemas heterocíclicos eletro-deficientes. Esta reação é caracterizada por utilizar reagentes de baixo custo, como nitrato de prata(I) catalítico, em presença de persulfato co-oxidante. (Esquema 2.29). No teste realizado utilizando **16**, esta abordagem não se mostrou eficiente.



Esquema 2. 28. Química de Minisci aplicada ao núcleo **16**.

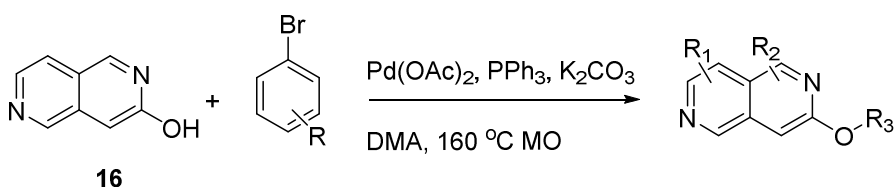
Entretanto, diferentemente do núcleo **16**, a abordagem da química de Minisci para **32**, com base no espectro de CL-EM (Anexo 76), mostrou a formação de três isômeros (Esquema 2.30).



Esquema 2. 30. Química de Minisci aplicada a **32**.

Ativação de ligação C-H mediada por Paládio

Ativação de ligação C-H mediada por Paládio⁷⁰ é uma estratégia *one-pot* de reações catalisadas por metais de transição, para elaboração de ligações C-C_{Ar} utilizando brometos arílicos ou heteroarílicos. Este tipo de reação, que pode ser realizada sob aquecimento convencional ou assistida por reator de microondas, consiste em um método de acoplamento de Suzuki/ processo de arilação catalisada por paládio, realizado em duas etapas. Comparativamente aos métodos anteriores (Esquema 2.28-30), os resultados para o núcleo **16** indicam resultados positivos frente a ativação de C-H mediada por paládio, sendo observados sinais no espectro de CL-EM referentes aos produtos de acoplamento (Esquema 2.31).



método a Grupo eletrorretirador

R = Metilsulfonil



R_{1 ou 2} = Ar, R₃ = H (3.9%)*

R_{1 e 2} = H, R₃ = Ar (7.7%)** **40**

R₁ = Ar, R₂ = Ar (3.2%)*

R₁ = Ar, R₃ = Ar (13.8%)*

R₂ = Ar, R₃ = Ar (8.9%)*

método b Grupo eletror-doador

R = Metoxil



R_{1 ou 2} = Ar (traços%)*

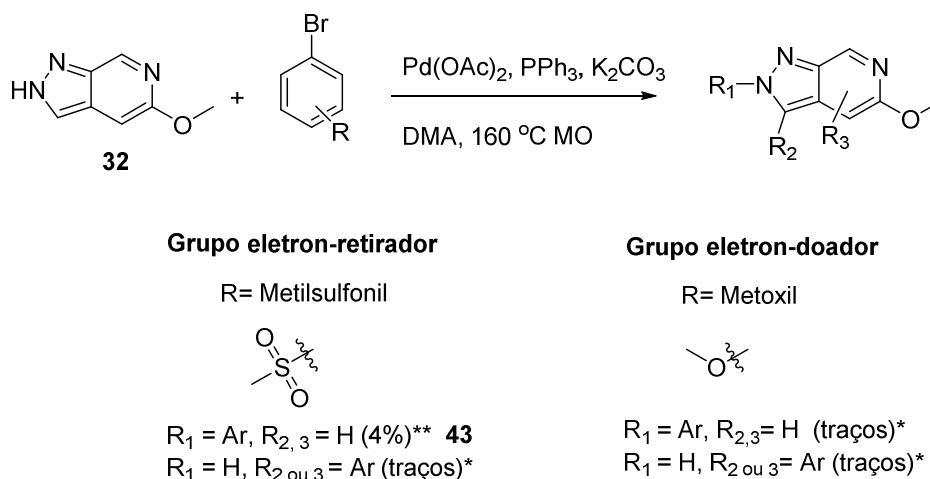
Esquema 2. 29. Arilação direta de **16** por ativação de ligação de C-H mediada por Paládio. a) 1-bromo-4-(metilsulfonil)benzeno, Pd(OAc)₂, PPh₃, K₂CO₃, DMA, 160°C, 1 h MO; b) 1-bromo-4-metoxibenzeno, Pd(OAc)₂, PPh₃, K₂CO₃, DMA, 160°C, 1 h MO.

Esses métodos foram conduzidos com dois brometos arílicos *p*-substituídos, por grupos eletro-doadores e retiradores. O método **a** (Anexo 77) (Esquema 2.31) mostrou a formação de cinco isômeros resultantes de reações de acoplamento C-C, através da análise de CL-EM, e também um produto resultado de acoplamento de Buchwald-Hartwig, **40** (Anexo 57-59). A reação de Buchwald-Hartwig é descrita

como um acoplamento catalisado por paládio para a formação de ligações C-N e C-O entre amina/alcoóis, e haletos de arila ou alcoóis arílicos. É uma técnica amplamente utilizada para síntese de derivados de amina e éteres, tornando-se uma ferramenta sintética muito útil em ambientes industriais e acadêmicos devido à versatilidade e confiabilidade dessa reação.⁷¹

Por outro lado, analisando o método **b** (Anexo 78) (Esquema 2.31) não foi observada a formação dos produtos esperados. Isto pode ser justificado pela característica eletro deficiente do anel naftiridinol, resultando em baixa reatividade frente brometos substituídos por grupos doadores de elétrons. Apesar disso, **16** apresentou certa reatividade frente brometos de arila substituídos por grupos retiradores embora tenha sido observada a formação do produto de substituição no átomo de oxigênio, que poderia ter sido evitado pelo uso de grupos protetores ou otimizações das condições reacionais.

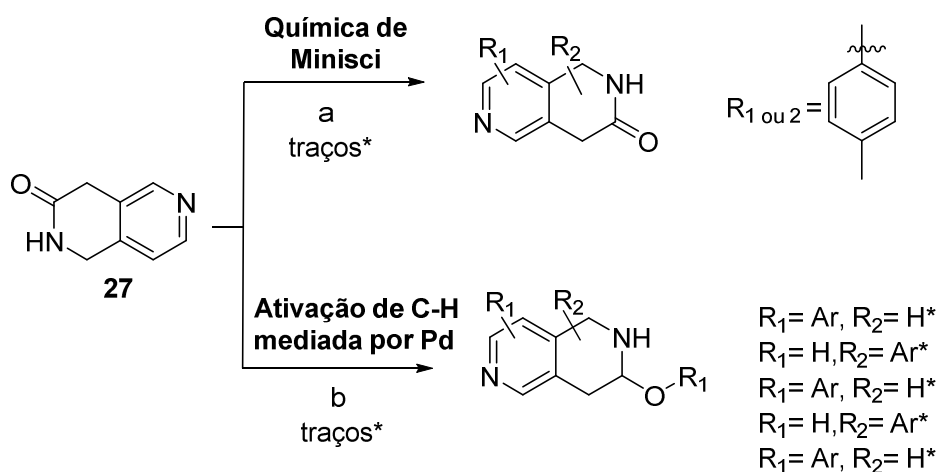
Assim como observado para **16**, estas condições quando aplicadas ao núcleo **32** (Esquema 2.32) forneceram o produto elucidado referente a reação de acoplamento de Buchwald-Hartwig, **43** (Anexo 65-66). Entretanto os dados de CL-EM indicaram maior formação de isômeros, provavelmente resultantes do acoplamento quando é utilizado brometo de arila substituído por grupo elétron-doador.



Esquema 2.30. Ativação de ligação de C-H mediada por paládio para arilação direta de **32**.

Assim, observou-se que brometos de arila com grupos doadores de elétrons apresentam se melhores reagentes para reações de acoplamento com **32**, visto que apresentam menor reatividade para reações de substituição que brometos de arila substituídos por grupos retiradores de elétrons (Anexo 79). Entretanto, para reações de acoplamento com **16** verificou-se melhor reatividade frente brometos de arila substituídos por grupos doadores de elétrons (Anexo 80).

Interessantemente, as reações de Minisci⁶⁹ (Anexo 81) e de ativação de ligação de C-H pelas condições **b**⁷⁰ (Anexo 82) (Esquema 2.33) funcionaram para a estrutura **27**, de acordo com análises de CL-EM.

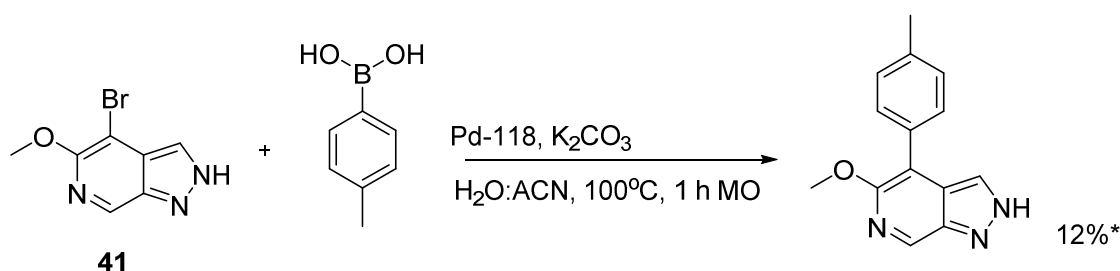


Esquema 2. 31. Reatividade de **27** sob condições da química de Minisci e ativação de ligação de C-H. Condições: a) ácido *p*-toluolborônico, TFA, AgNO₃, (NH₄)₂S₂O₈ b) 1-bromo-4-metoxibenzeno, Pd(OAc)₂, PPh₃, K₂CO₃, DMA, 160°C, 1 h MO.

Reação de Suzuki

A reação de Suzuki é uma conhecida por ser uma eficiente técnica na síntese orgânica para a formação de compostos biarílicos não simétricos, e tem sido amplamente utilizada desde a sua descoberta em 1979.⁷² A reação de Suzuki foi realizada como descrito na literatura,⁷² o material de partida utilizado foi o brometo **41** e o ácido *p*-toluolborônico, e a reação foi catalisada por PdCl₂(dtbpf) (Pd-118). Com base na análise dos espectros de CL-EM (Anexo 83), verificou-se formação do produto de acoplamento esperado associado a **41**, todavia não foram obtidos

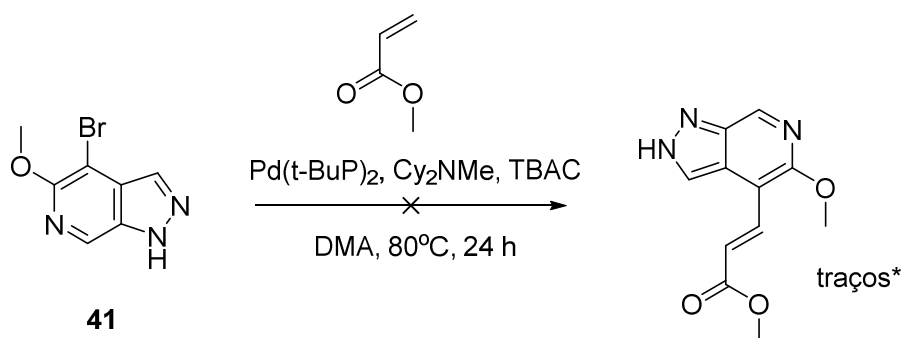
espectros de RMN suficientemente claros para elucidação da estrutura (Esquema 2.34).



Esquema 2. 32. Acoplamento de Suzuki aplicado ao brometo **41**.

Reação de Heck–Mizoroki (HM)

A reação de Heck Mizoroki (HM) é utilizada como um método de formação de ligações C-C, sendo uma das reações mais utilizadas para este fim na síntese contemporânea.⁷³ Para esse fim, empregou-se como material de partida o mesmo brometo **41** e metil acrilato, e foi catalisado por $\text{Pd}(\text{t-BuP})_2$, Cy_2NMe (base) e TBAC.⁷³ A adição de TBAC está relacionada ao aumento de reatividade descrito na literatura, provavelmente associado ao aumento da concentração de cloreto, o qual é conhecido por estabilizar ligantes ao paládio, desse modo potencializando o sistema catalítico.⁷⁴ As condições utilizadas não indicaram o acoplamento da estrutura **41** e o alceno selecionado nos espectros de CL-EM (Esquema 2.35).



Esquema 2. 33. Acoplamento de Heck-Mizoroki aplicado ao brometo **41**.

Embora nem todas as estruturas tenham sido propriamente elucidadas, este estudo reacional preliminar revela dados importantes sobre o comportamento deste três promissores núcleos. A estratégia de DOS foi aplicada aos núcleos visando a

obtenção de derivados que possuíssem propriedades diferentes dos núcleos **16**, **17** e **18**, de modo a aumentar o espaço químico conhecido sobre essas classes de compostos. A diversificação estrutural proposta por esta abordagem é ilustrada pela Figura 2.12 abaixo, tratando-se de um gráfico de dados de propriedades estruturais, tais como peso molecular (MW), área superficial polar total (TPSA) e LogP, calculadas para cada um dos derivados, elucidados ou não, propostos na sessão 4.4 do presente trabalho.

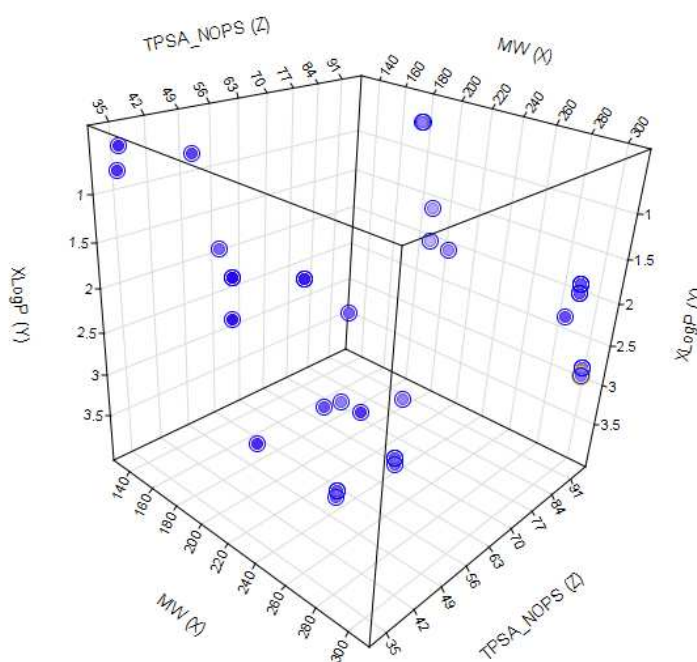


Figura 2. 12.Gráfico ilustrativo de propriedades estruturais dos derivados propostos desenvolvido pelo software Vortex.

A partir da figura 2.12 pode-se observar propriedades dos núcleos que são susceptíveis a modificação assim como estabelecer relações, como por exemplo a relação direta entre as três características selecionadas, MW, LogP e TSPA. Confirmando o potencial da estratégia de DOS para obtenção de derivados e expansão do espaço químico.

5. Conclusões

O Capítulo II descreve a síntese de um novo núcleoheterocíclico **16**, uma nova rota para obtenção de um sistema pouco explorado **18**, e avaliou a eficácia da síntese de **17**, assim como comprova que os métodos são robustos e escaláveis. Os núcleos selecionados representam núcleos promissores para a descoberta de fármacos, bem como para obtenção de bibliotecas, devido suas capacidades de reação em várias posições como foi observado neste trabalho. Uma variedade de estratégias sintéticas foi aplicada aos núcleos, revelando a versatilidade e reatividade de tais estruturas frente diferentes abordagens, tanto frente métodos diretos de arilação quanto metodologias consideradas clássicas. Os dados gerados a partir destas reações podem ser inspiração e guia para o desenvolvimento de novas bibliotecas de compostos, assim como para estudos biológicos e computacionais para essas novas e promissoras classes.

6. Sessão Experimental

Procedimentos Gerais

Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC): As análises de CCDC foram realizadas em cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 F254-MERCK® cortadas em tamanhos de 2 cm X 5 cm. As amostras foram solubilizadas em solventes apropriados e aplicadas nas cromatofolhas por meio de capilares de vidro.

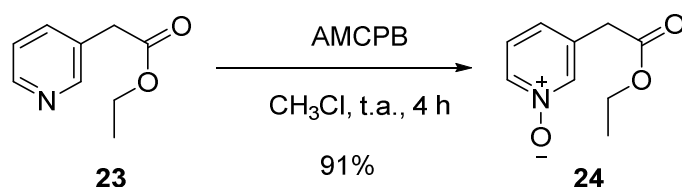
Cromatografia Líquida “Clássica”: Realizada em coluna de vidro, empacotada com sílica gel 60 Å (70 – 230 Mesh/Sigma Aldrich Brasil Ltda) e diferentes sistemas eluentes, conforme análise de CCDC.

Cromatografia Líquida “Flash”: Realizada em coluna de vidro com adaptação para entrada de ar comprimido, também utilizando Jones Flash Master e sistema de purificação ISCO. A fase estacionária utilizada foi sílica gel 60 Å (230-400 Mesh/ Sigma Aldrich Brasil Ltda) para coluna de vidro, e colunas pré-empacotadas com sílica flash de fase normal e reversa (RediSep®). Diferentes sistemas eluentes foram empregados.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE): Realizada por um CLAEAgilent 1200 acoplado a um detector de massas 6100.

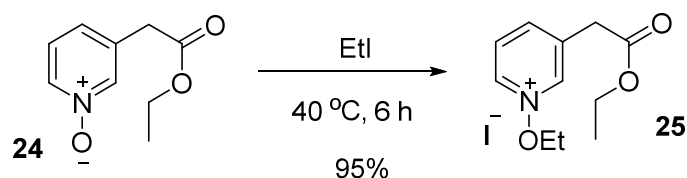
As análises cromatográficas foram realizadas por LCMS, utilizando coluna Waters Acquity CSH 1.7 μ m, 2,1 x 50 milímetros, a temperatura de 50 °C, com fase móvel A: água +0.1% amônia, B: acetonitrila +0.1% amônia. Os gradientes utilizados foram: 0.0min 5%B, 0.2-1.8min 5-98%B, 1.8-2.1min 98%B, 2.1-2.3min 98-5%B.

3-(2-etoxi-2-oxoetil)piridina 1-óxido (24)



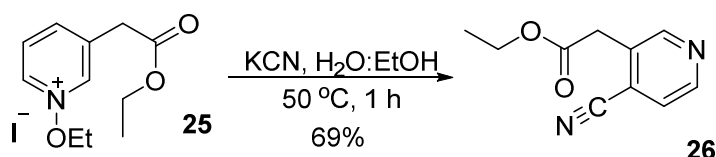
Uma solução de AMCPB (91 mmol, 15,67 g) em clorofórmio (100 mL) foi gotejada por funil de adição a uma solução de **23** (60,6 mmol, 10 g) sob agitação a temperatura ambiente. A reação foi acompanhada por C.C.D. Depois de 6 horas a reação estava completa, o solvente foi removido sob pressão reduzida. O sólido foi solubilizado em solução de Na_2CO_3 2M e extraído com clorofórmio (3x 20 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO_4 e o solvente removido sob pressão reduzida, resultando em 9,98 g (91%) de cristal claro cujos dados espectroscópicos estão de acordo com aqueles descritos na literatura.⁴³ P.f. 103 °C. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 1,24 (dd, $J = 9,5, 4,8$ Hz, 3H), 3,57 (s, 2H), 4,36 (q, $J = 5$ Hz, 2H), 7,26 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,2 (s, 1H). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 169,36, 139,86, 137,99, 133,66, 128,03, 125,83, 61,74, 38,07, 14,16$. IV (cm^{-1}): 3377, 2330, 1724, 1442, 1263, 1159, 1022, 769. HRMS (EI) m/z $[\text{M}+\text{H}^+]$ calc. para $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{NO}_3^+$: 182,0812; obtido: 182,0814.

1-etoxi-3-(2-etoxi-2-oxoetil)piridin-1-íliodeto (25)



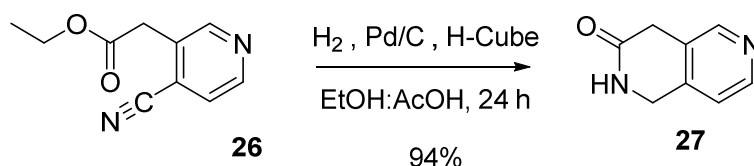
Iodoetano (15 mL, 188 mmol) foi adicionado à **24** (9,87 g, 54,53 mmol), a mistura foi mantida sob agitação por 6 horas a 40 °C sob atmosfera de nitrogênio. A mistura foi concentrada sob pressão reduzida, resultando em 17,45g (95%) de produto bruto, óleo laranja escuro. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,24 (dd, J = 9,5, 4,8 Hz, 3H), 3,57 (s, 2H), 4,36 (q, J = 5Hz, 2H), 7,26 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,2 (s, 1H).

etil 2-(4-cianopiridin-3-il)acetata (26)



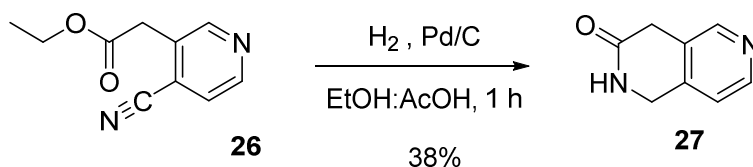
Uma solução aquosa de KCN 2,75 M (20 mL) foi adicionada por gotejamento por 20 minutos a uma solução de **25** (18,37, 54,5 mmol) em $\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$ (7:3, 30 mL), a reação foi mantida sob agitação a 50 °C por 4 horas. A reação foi acompanhada por C.C.D. A mistura reacional foi vertida em gelo, extraída com DCM (3x30), seca com MgSO_4 e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia Flash (Hex:EtOAct, 3:2) resultando em 7,14 g (69%) de óleo laranja cujos dados espectroscópicos estão de acordo com aqueles descritos na literatura.⁴³. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ = 1,24 (dd, J = 9,5, 4,8 Hz, 3H), 3,82 (s, 2H), 4,45 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 7,5 (d, J = 5,2Hz, 1H), 8,65 (d, J = 5,3Hz, 1H), 8,68 (s, 1H). IV (cm^{-1}): 2355, 1732, 1166, 1024, 773, 769, 578. HRMS (EI) m/z [$\text{M}+\text{H}^+$] calc. para $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2^+$: 191,0815; obtido: 191,0831.

1,4-dihidro-2,6-naftiridin-3(2H)-ona (27)



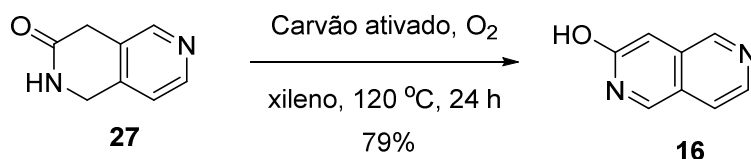
Método com H-Cube - Uma solução de **26** (5,98 g, 31,4 mmol) em ácido acético:etanol (150 ml, 1:4) foi hidrogenada por H-Cube por 24 h a 30 bar e 35 °C

com coluna de Pd/C 10% (30 mm). A reação foi acompanhada por C.C.D. Após a conclusão da reação, a mistura foi removida do H-Cube e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida. O resíduo foi solubilizado em solução aquosa de K_2CO_3 10%, extraído com $CHCl_3$ (6x20 mL), seco com $MgSO_4$ e teve o solvente removido para se obter 4,36 g (94%) de um sólido castanho-claro. RMN de 1H (400 MHz, DMSO-*d*10) δ = 1,24 (t, J = 6 Hz, 3H), 3,82 (s, 2H), 4,45 (q, J = 6Hz, 2H), 7,5 (d, J =5 Hz, 1H), 8,65 (d, J =5 Hz, 1H), 8,68 (s, 1H). RMN de ^{13}C NMR(100 MHz, DMSO-*d*10) δ = 32,42, 44,54, 120,51, 127,65, 140,43, 146,82, 147,86, 176,25. IV (cm^{-1}): 3398, 2357, 1647, 1217, 1020, 771, 667, 576. HRMS (EI) m/z $[M+H^+]$ calc. for $C_8H_9N_2O^+$:149,0709; obtido: 149,0711.

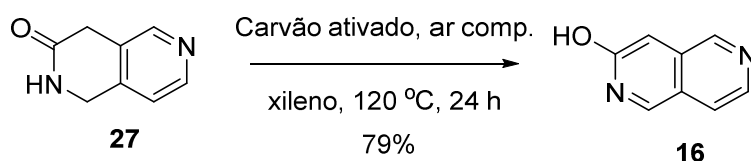


Método com Hidrogenador - Uma solução de **26** (1,83 g, 9,6 mmol) em ácido acético (25 ml) foi hidrogenada a 20 psi a temperatura ambiente na presença de 384 mg de Pd/C 10%. Depois de 1 hora a mistura reacional foi removida do hidrogenador, filtrada em celite, e o resíduo lavado com ácido acético quente (3x 10 ml). A solução foi evaporada sob pressão reduzida, o resíduo foi vertido em solução de carbonato de potássio 10%, e extraída novamente com acetato de etila (6x). O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (AcOEt), 38%. castanho-claro. RMN de 1H (400 MHz, DMSO-*d*10) δ = 1,24 (t, J = 6 Hz, 3H), 3,82 (s, 2H), 4,45 (q, J = 6Hz, 2H), 7,5 (d, J =5,2Hz, 1H), 8,65 (d, J =5,3Hz, 1H), 8,68 (s, 1H). RMN de ^{13}C NMR(100 MHz, DMSO-*d*10) δ = 32,42, 44,54, 120,51, 127,65, 140,43, 146,82, 147,86, 176,25. IV (cm^{-1}): 3398, 2357, 1647, 1217, 1020, 771, 667, 576. HRMS (EI) m/z $[M+H^+]$ calc. for $C_8H_9N_2O^+$:149,0709; obtido: 149,0711.

2,6-naftiridin-3-ol (16)

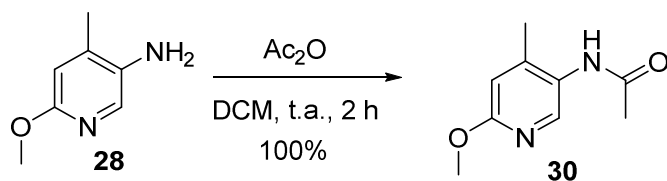


Método com atmosfera rica em O₂ -Carvão ativado (460 mg) foi adicionado a uma solução de **27** (4,6 g, 31 mmol) em xileno (150 mL) a 120°C sob atmosfera rica em oxigênio. A reação foi mantida sob agitação por 24h a 120°C. A reação foi acompanhada por C.C.D. A mistura reacional foi filtrada em celite e o carvão retido lavado com EtOAc. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto foi purificado por cromatografia Flash (EtOAc) resultando em 1,62 g (79%) de sólido amarelo. RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ 7,0 (s, 1H), 7,7 (d, J=2Hz, 1H), 8,2 (d, J=6Hz, 1H), 8,8 (s, 1H) 9,04 (s, 1H). RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ = 163,37, 152,23, 146,22, 140,44, 132,41, 129,88, 121,19, 118,69. IV (cm⁻¹): 3261, 2914, 771, 669, 399. HRMS (EI) m/z [M+H⁺] calc. para C₈H₇N₂O⁺:147,0553; obtido: 147, 0548.

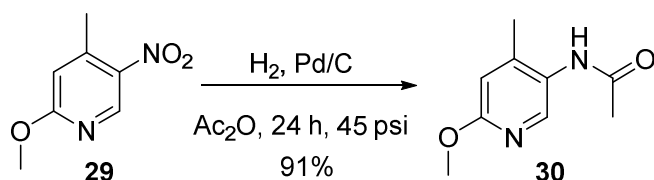


Método com ar comprimido -Carvão ativado (460 mg) foi adicionado a uma solução de **27** (4,6 g, 31 mmol) em xileno (150 mL) a 120°C. A reação foi mantida sob agitação por 24h a 120 °C com borbulhamento de ar comprimido na mistura reacional. A reação foi acompanhada por C.C.D. A mistura reacional foi filtrada em celite e o carvão retido lavado com EtOAc. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto foi purificado por cromatografia Flash (EtOAc) resultando em 1,62 g (36%) de sólido amarelo. RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ 7,0 (s, 1H), 7,7 (d, J=2Hz, 1H), 8,2 (d, J=6Hz, 1H), 8,8 (s, 1H) 9,04 (s, 1H). RMN de ¹³C (100 MHz, MeOD) δ = 163,37, 152,23, 146,22, 140,44, 132,41, 129,88, 121,19, 118,69. IV (cm⁻¹): 3261, 2914, 771, 669, 399. HRMS (EI) m/z [M+H⁺] calc. para C₈H₇N₂O⁺:147,0553; obtido: 147, 0548.

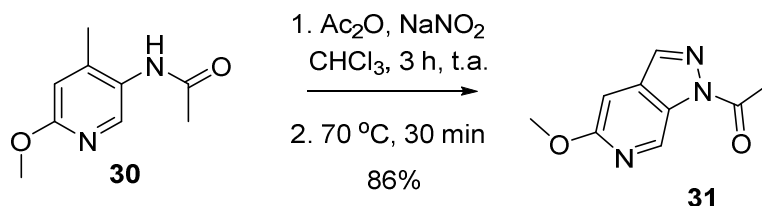
N-(6-metoxi-4-metilpiridin-3-il)acetamida (**30**)



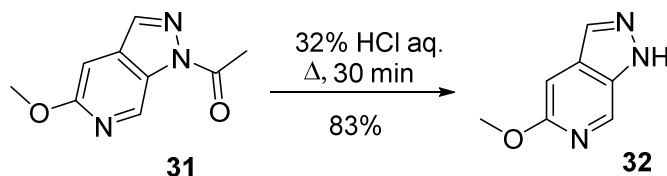
Método com Amino-piridina -28(10 g, 72,4 mmol) foi adicionado a um balão selado com septo. O balão foi purgado com nitrogênio e DCM seco foi adicionado (60 mL). Anidrido acético (8,19 mL, 87 mmol) foi adicionado e a reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 2 horas. A reação foi acompanhada por LCMS. Após completa a reação, a mistura reacional foi lavada com solução aquosa de Na_2CO_3 2M, a fase orgânica foi seca com MgSO_4 e teve o solvente foi removido sob pressão reduzida, resultando em 13,03 g (100%) de produto bruto, sólido claro. RMN de ^1H (500 MHz, Metanol- d_4) δ = 2,19(s,3H), 2,21(s,3H), 3,91 (s,3H), , 6,61 (s,1H), 7,27 (s,1H), 8,12 (s,1H). RMN de ^{13}C (125 MHz, Metanol- d_4) δ = 169,62, 162,27, 146,74, 143,24, 126,96, 111,51, 77,36, 77,10, 76,85, 53,94, 23,51, 18,02.IV (cm^{-1}): 3307, 3163, 2916, 2846, 2355, 1481, 1359, 1149, 935, 941, 771, 399. HRMS (EI) m/z $[\text{M}+\text{H}^+]$ calc. para $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_3\text{O}^+$:181,0972; obtido: 181,0971.



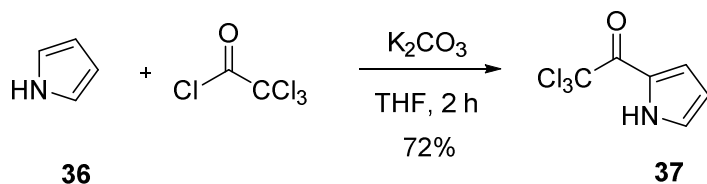
Método com Nitro-piridina -A uma solução de **29**(100 mg, 0,58 mmol) em anidrido acético (20 mL), foi adicionado 10% Pd/C (63,2 mg, 0,06 mmol). A mistura reacional foi hidrogenada sob 3.5 bar por 24 horas. A reação foi acompanhada por C.C.D.(Hex:EtOAc, 1:1). Após completa a reação, a mistura reacional foi removida do hidrogenador, filtrada em celite e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna flash (AcOEt), resultando em 95 mg (91%) de sólido claro. RMN de ^1H (500 MHz, Metanol- d_4) δ = 2,19(s,3H), 2,21(s,3H), 3,91 (s,3H), , 6,61 (s,1H), 7,27 (s,1H), 8,12 (s,1H). RMN de ^{13}C (125 MHz, Metanol- d_4) δ = 169,62, 162,27, 146,74, 143,24, 126,96, 111,51, 77,36, 77,10, 76,85, 53,94, 23,51, 18,02.IV (cm^{-1}): 3307, 3163, 2916, 2846, 2355, 1481, 1359, 1149, 935, 941, 771, 399. HRMS (EI) m/z $[\text{M}+\text{H}^+]$ calc. para $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_3\text{O}^+$:181,0972; obtido: 181,0971.

1-(5-metoxi-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-1-yl)etan-1-ona (31)

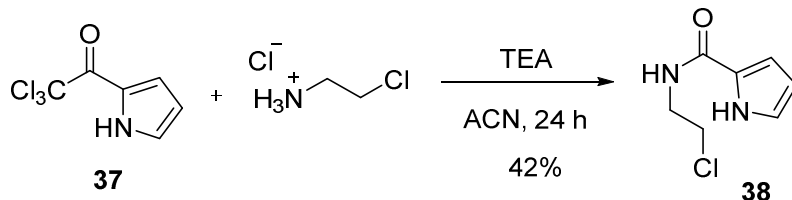
NaNO₂ (34,9g, 507 mmol) foi adicionado a uma solução de **30** (13,03 g, 72,4 mmol) e anidrido acético (30 mL, 318 mmol) em DCM (30 mL) sob agitação vigorosa a temperatura ambiente por 3 horas, depois desse tempo a reação foi aquecida a 50 °C por 30 minutos. A reação foi acompanhada por LCMS. Após completa a reação o solvente foi removido sob pressão reduzida, resultando em 11,9 g (86%) de produto bruto, sólido marrom. RMN de ¹H (400 MHz, Metanol-4d) δ = 2,77 (s,3H), 4,06 (s,3H), 7,03 (s,1H), 8,09 (s,1H), 9,44 (s,1H). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ = 7,74, 23,39, 53,51, 111,41, 126,70, 143,85, 145,81, 162,55, 169,49. MS (70 eV) m/z 192.1 (M+, 100), 193.1 (20).

5-metoxi-1H-pirazolo[3,4-c]piridina (32)

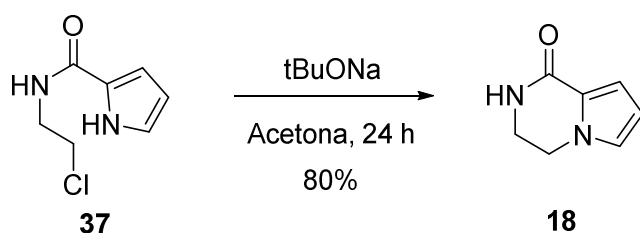
Uma solução de **31** (8 g, 41.9 mmol) em HCl 32% (15 mL) foi aquecida a 50 °C e mantida sob agitação por 1 hora. A reação foi monitorada por LCMS. A mistura foi resfriada a temperatura ambiente e baseificada para pH=10 com solução aquosa de NaOH 1M, então foi extraída com clorofórmio (4x40mL), seca com MgSO₄ e evaporada sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia Flash (Hex:EtOAc, 2:1) resultando em 5,18 g (83%) de sólido laranja. RMN de ¹H (500 MHz, Metanol-4d) δ = 8,55 (s,1H), 7,97 (s,1H), 7,01 (s,1H), 3,86 (s,3H). RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ = 160,10, 135,91, 133,94, 132,58, 132,49, 96,43, 55,47. IR (cm⁻¹): 3307, 3163, 2916, 2846, 2355, 1481, 1359, 1149, 935, 941, 771, 399. HRMS (EI) m/z [M+H⁺] calc. para C₇H₈N₃O⁺: 150,0662; obtido: 150,0654.

2,2,2-tricloro-1-(1H-pirrol-2-il)etan-1-ona(37)

A uma solução detricloroacetila (10 mmol, 1,15 mL) em THF anidro sob agitação e utilizando tubo secante, foi adicionada uma solução de pirrol**36** (9,6 mmol, 670 μL) em THF utilizando funil de adição. A reação foi mantida sob agitação por 1 hora e então foi adicionada 12 mL de solução aquosa de K_2CO_3 2,5 M. A reação foi mantida por mais 1 hora sob agitação e então foi separada a fase orgânica e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto foi recristalizado em hexano a 0 °C, 72%.

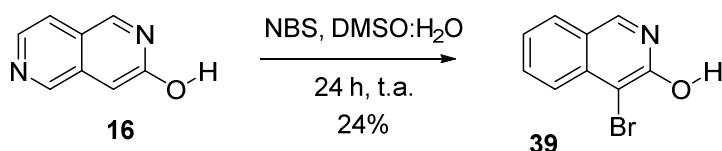
N-(2-cloroetil)-1H-pirrole-2-carboxamida(38)

A uma solução de **37**(6,9 mmol, 1,44g) em acetonitrila foi adicionado cloreto de cloroetilamina (15 mmol, 1,74 g) e trietilamina (16 mmol, 2,24 mL). A reação foi mantida sob agitação por 24 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida, o sólido resultante foi solubilizado em clorofórmio, e lavado com água, solução de HCl 5% e solução salina. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:1, AcOEt:Hex), 42%.

3,4-dihidropirrolo[1,2-a]pirazin-1(2H)-ona (18)

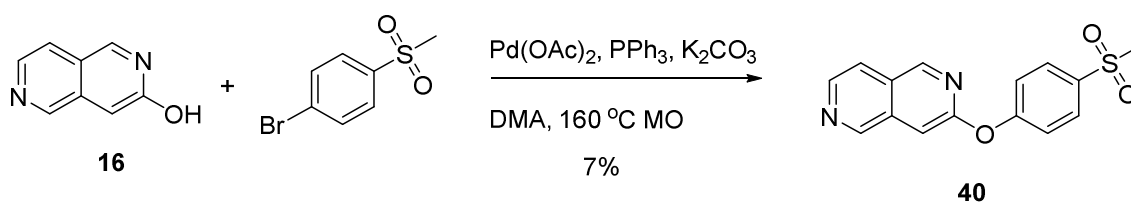
A uma solução de **37** (0,2 mmol, 35 mg) em acetona foi adicionado tBuONa (0,42 mmol, 40 mg). A reação foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 24 horas. A mistura reacional foi vertida em água e extraída com AcOEt. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (3:2, AcOEt:Hex), 80 %. Cristal amarelo claro. P.f.: 176 °C. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ= 4,03 (t, *J* = 9,3 Hz, 2H), 4,44 (t, *J* = 9,3 Hz, 2H), 6,24 (dd, *J* = 2,6, 3,6 Hz, 1H), 6,77 (dd, *J* = 1,4, 3,6 Hz 1H), 6,94 (dd, *J* = 1,4, 2,6, Hz 1H). RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ= 160,1, 122,9, 119,6, 113,5, 109,8, 67,8, 53,65. IV (cm⁻¹): 3128, 2971, 2874, 1656, 1433, 1131, 956, 860, 732, 471. HRMS: [M + H⁺] calc. para C₇H₉N₂O⁺: 137,0709, obtido: 137, 0706.

4-bromo-2,6-naftiridin-3-ol (**39**)



A uma solução de **16** (40 mg, 0,27 mmol) em DMSO (5 ml) e água (0,125 ml) a 0 °C foi adicionado em porções N-bromossuccinimida (NBS) (146 mg, 0,821 mmol). A mistura foi agitada durante 24 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi concentrada sob pressão reduzida e a mistura enviada para CL-EM preparativa (05-20% detecção apenas de UV). Sólido amarelo escuro, 24%. RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₁₀): δ= 7,91 (d, *J* = 5,65 Hz, 1H), 8,51 (t, *J* = 5,65 Hz, 2H), 9,1 (s, 1H), 9,36 (s, 1H). CL-EM: Rt 0.59 mins; MS *m/z* of [M+H⁺]⁺ calculado para: 224,958, obtido: 225,1.

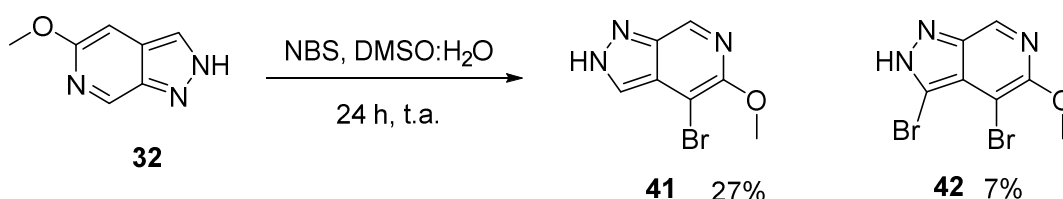
3-(4-(metilsulfonil)fenoxi)-2,6-naftidina (**40**)



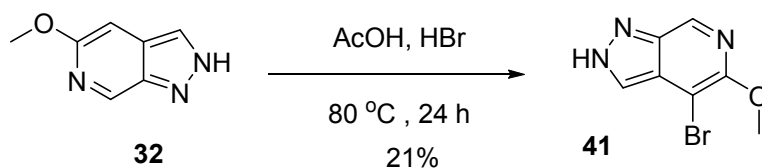
Pd(OAc)₂ (7,68 mg, 0,034 mmol) e PPh₃ (13,46 mg, 0,051 mmol) foram solubilizados

em DMA anidra (1,59 mL), e então **16** (50 mg, 0,342 mmol) foi adicionado, em seguida, borbulhou-se nitrogênio na solução para 5 minutos. Carbonato de potássio (70,9 mg, 0,513 mmol) foi adicionado a um frasco de micro-ondas contendo o 1-bromo-4-(metilsulfonil)benzeno (80 mg, 0,342 mmol), seguido pela solução de **16**. A solução foi aquecida a 160 °C durante 30 minutos em reator de microondas. A mistura reacional foi filtrada em cartucho de Si-TMT (500mg/6ml, Biotage 538-0050-C) pré-humedecido com 1 ml de DMA, o cartucho foi lavado com DMA (2x 1mL), seguido por MeCN (2x 1 mL). Os eluentes foram analisados por LCMS. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto foi obtido por LCMS preparativa, 7,8 mg (7,7%). Sólido amarelo escuro, 7%. RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,91 (d, J = 5,65 Hz, 1H), 8,51 (t, J = 5,65Hz, 2H), 9,1 (s, 1H), 9,36 (s, 1H). CL-EM: Rt 0.59 mins; MS m/z of $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para:224,958, obtido: 225,1.

4-bromo-5-methoxy-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine (**41** e **42**)

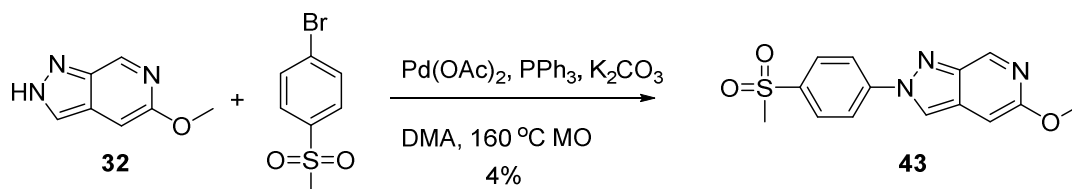


Método usando NBS - A uma solução de **32** (25 mg, 0,185 mmol) em DMSO (5 ml) e água (0,125 ml) a 0 °C foi adicionado em porções N-bromossuccinimida (NBS) (99 mg, 0,55 mmol). A mistura foi agitada durante 24 horas à temperatura ambiente. A mistura reacional foi concentrada sob pressão reduzida e a mistura enviada para CL-EM preparativa (05-20% detecção apenas de UV) resultando em **41** (27%) e **42** (7%). **41**- RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_{10}$) δ = δ 8,55 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 3,32 (s, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, $\text{DMSO-}d_{10}$) δ = 158,54, 134,36, 132,36, 131,01, 130,90, 94,88, 53,87. CL-EM: Rt 0.97 mins; MS m/z of $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para: 227,97, obtido: 228,2. **42**- RMN de ^1H (400 MHz, Metanol- d_4) δ = 3,97 (s, 3H), 8,75 (s, 1H). CL-EM: Rt 0.1.2 mins; MS m/z of $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para: 307,9, obtido: 308,1.



Método usando HBr - A uma solução de **32** (1 g, 6,7 mmol) em ácido acético sob agitação foi adicionado HBr 33% (5 mL). A reação foi aquecida a 60 °C e mantida sob agitação por 1 hora. A reação foi monitorada por C.C.D. (EtOAc). A mistura foi resfriada a temperatura ambiente e o solvente removido sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi solubilizado em DCM (200 mL), lavado com solução saturada de NaHCO₃ (100 mL), solução salina (60 mL) e seco com MgSO₄, a fase orgânica foi evaporada resultando no produto bruto que foi purificado por cromatografia Flash (DCM:MeOH, 9:1) resultando em **41**, 21%. RMN de ¹H (400 MHz, Metanol-4d) δ= 8,55 (s, 1H), 7,97 (s, 1H). RMN de ¹³C (101 MHz, MeOD) δ= 158,54, 134,36, 132,36, 131,01, 130,90, 94,88, 53,87. CL-EM: Rt 0,97 mins; MS m/z of [M+H]⁺ calculado para: 227,97, obtido: 228,2.

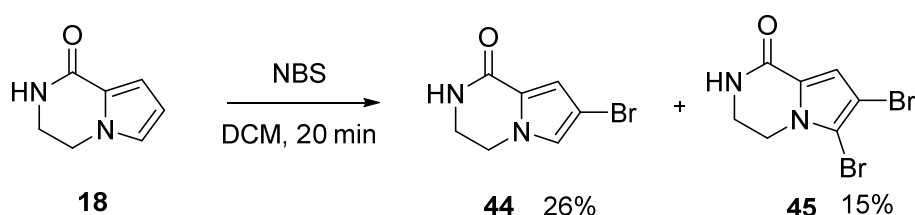
5-metoxi-2-(4-(metilsulfonil)phenil)-2H-pirazolo[3,4-c]piridine (43)



Pd(OAc)₂ (7,53 mg, 0,034 mmol) e PPh₃ (13,19 mg, 0,05 mmol) foram solubilizados em DMA anidra (1,59 mL), e então **32** (50 mg, 0,342 mmol) foi adicionado, em seguida, borbulhou-se nitrogênio na solução para 5 minutos. Carbonato de potássio (70,9 mg, 0,513 mmol) foi adicionado a um frasco de microondas contendo o 1-bromo-4-(metilsulfonil)benzeno (79 mg, 0,335 mmol), seguido pela solução de **32**. A solução foi aquecida a 160 °C durante 30 minutos em reator de microondas. A mistura reacional foi filtrada em cartucho de Si-TMT (500mg/6ml, Biotage 538-0050-C) pré-umedecido com 1 ml de DMA, o cartucho foi lavado com DMA (2x 1 mL), seguido por MeCN (2x 1 mL). Os eluentes foram analisados por LCMS. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto foi obtido por LCMS preparativa, 4%. Sólido laranja claro. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ= 3,06

(s, 3H), 3,97 (s, 3H), 7,02 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 8,07 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 8,15 (s, 1H), 8,92 (s, 1H). CL-EM: Rt 1.2 mins; MS m/z of $[M+H]^+$ calculado para: 304,34, obtido: 304,4.

6-bromo-3,4-dihidropirrolol[1,2-a]pirazin-1(2H)-ona (44) e 6,7-dibromo-3,4-dihidropirrolol[1,2-a]pirazin-1(2H)-ona (45)



A uma solução de 18 (100 mg) em DCM (0,12M) foi adicionado NBS (1 eq) aos poucos. A mistura resultante foi agitada por 20 minutos a temperatura ambiente e monitorada por C.C.D. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado em coluna cromatográfica clássica de gel de sílica (1:1, AcOEt:Hex), resultando em **44**(26%) e **45**(15%), sólidos claros. **44**-Cristal claro. P.f.: 192 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.26, 6.74, 6.73, 6.54, 6.53, 4.26, 3.86. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 3,86 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 4,26 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 6,54 (s, 1H), 6,74 (s, 1H). RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ = 163,31, 126,75, 125,20, 119,13, 101,27, 72,33, 58,74. HRMS: (M + 1) calculado para $\text{C}_7\text{H}_8\text{BrN}_2\text{O}^+$: 214,9815, obtido: 214,9814. **45**- Cristal claro. P.f.: 178 °C. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 4,24 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 4,69 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 7,0 (s, 1H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3): δ = 156,66, 121,83, 114,44, 104,79, 98,29, 67,36, 53,45, 39,52. HRMS: (M + 1) calculado para $\text{C}_7\text{H}_8\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}^+$: 294,9535, obtido: 294,8916.

Referências do Capítulo II

31. Leeson, P. D.; Davis, A. M.; Steele, J., Drug-like properties: guiding principles for design – or chemical prejudice? *Drug Discovery Today: Technologies* 2004, 1, 189-195.
32. Scott, D. E.; Coyne, A. G.; Hudson, S. A.; Abell, C., Fragment-Based Approaches in Drug Discovery and Chemical Biology. *Biochemistry* 2012, 51, 4990-5003.
33. Pitt, W. R.; Parry, D. M.; Perry, B. G.; Groom, C. R., Heteroaromatic Rings of the Future. *Journal of Medicinal Chemistry* 2009, 52, 2952-2963.

34. Lipinski, C. A., Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 2000, 44, 235-249.
35. Yusof, I.; Segall, M. D., Considering the impact drug-like properties have on the chance of success. *Drug Discovery Today* 2013, 18, 659-666.
36. Mullin, R., THE FUTURE IS NOW. *Chemical & Engineering News* 2013, 91, 12-17.
37. Leach, A. G.; Kidley, N. J., Quantitatively Interpreted Enhanced Inhibition of Cytochrome P450s by Heteroaromatic Rings Containing Nitrogen. *Journal of Chemical Information and Modeling* 2011, 51, 1048-1063.
38. Gumus, S., The aromaticity of substituted diazanaphthalenes. *Computational and Theoretical Chemistry* 2011, 963, 263-267.
39. Tsikouris, O.; Bartl, T.; Tousek, J.; Lougiakis, N.; Tite, T.; Marakos, P.; Pouli, N.; Mikros, E.; Marek, R., NMR study of 5-substituted pyrazolo 3,4-c pyridine derivatives. *Magnetic Resonance in Chemistry* 2008, 46, 643-649.
40. Brimble, M. A.; Brimble, M. T.; Hodges, R.; Lane, G. A., SYNTHESIS OF 2-METHYLPYRROLO 1,2-A PYRAZIN-1(2H)-ONE. *Australian Journal of Chemistry* 1988, 41, 1583-1590.
41. Campiani, G.; Morelli, E.; Gemma, S.; Nacci, V.; Butini, S.; Hamon, M.; Novellino, E.; Greco, G.; Cagnotto, A.; Goegan, M.; Cervo, L.; Dalla Valle, F.; Fracasso, C.; Caccia, S.; Mennini, T., Pyrroloquinoxaline derivatives as high-affinity and selective 5-HT₃ receptor agonists: Synthesis, further structure-activity relationships, and biological studies. *Journal of Medicinal Chemistry* 1999, 42, 4362-4379.
42. Katritzky, A. R.; Lan, X. F.; Zhang, Z. X., NOVEL ROUTES TO 1-ARYL-1,4-DIHYDRO-3(2H)-ISOQUINOLINONES AND 2-SUBSTITUTED OR 2,3-DISUBSTITUTED BENZOFURANS BY INTRAMOLECULAR CYCLIZATIONS. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 1993, 30, 381-387.
43. BOCK, M. G. N. I. f. B. R., Inc. 250 Massachusetts Avenu, Cambridge Massachusetts, 02139, US), GAUL, Christoph (Novartis Pharma AG, Werk KlybeckPostfach, Basel, CH-4002, CH), GUMMADI, Venkateshwar Rao (Aurigene Discovery Technologies Limited, 39-40 KIADB Industrial Area, Electronic City Phase II, Hosur Roa, Bangalore Karnataka 0, 560 10, IN), MOEBITZ, Henrik (Novartis Pharma AG, Werk KlybeckPostfach, Basel, CH-4002, CH), SENGUPTA, Saumitra (Aurigene Discovery Technologies Limited, 39-40 KIADB Industrial Area, Electronic City Phase II, Hosur Roa, Bangalore Karnataka 0, 560 10, IN) 17a-HYDROXYLASE/C17,20-LYASE INHIBITORS. WO/2012/035078, 2012.
44. Schmuck, C.; Bickert, V.; Merschky, M.; Geiger, L.; Rupprecht, D.; Dudaczek, J.; Wich, P.; Rehm, T.; Machon, U., A facile and efficient multi-gram synthesis of N-protected 5-(Guanidinocarbonyl)-1H-pyrrole-2-carboxylic acids. *European Journal of Organic Chemistry* 2008, 324-329.
45. La Regina, G.; Silvestri, R.; Artico, M.; Lavecchia, A.; Novellino, E.; Befani, O.; Turini, P.; Agostinelli, E., New pyrrole inhibitors of monoamine oxidase: Synthesis, biological evaluation, and structural determinants of MAO-A and MAO-B selectivity. *Journal of Medicinal Chemistry* 2007, 50, 922-931.
46. Zradni, F. Z.; Hamelin, J.; Derdour, A., Synthesis of amides from esters and amines under microwave irradiation. *Synthetic Communications* 2002, 32, 3525-3531.
47. Engbersen, J. F. J.; Koudijs, A.; Joosten, M. H. A.; Vanderplas, H. C., SYNTHESIS OF 2-AMINOMETHYL-1,10-PHENANTHROLINE - A NEW

CHELATING AGENT AND VERSATILE SYNTHON FOR OTHER CHELATING COMPOUNDS. *Journal of Heterocyclic Chemistry* 1986, 23, 989-990.

48. Tanaka, T.; Okunaga, K.-i.; Hayashi, M., Dehydrogenation of 1,2,3,4-tetrahydroquinoline and its related compounds: comparison of Pd/C-ethylene system and activated carbon-O-2 system. *Tetrahedron Letters* 2010, 51, 4633-4635.

49. Buchstaller, H.-P.; Burgdorf, L.; Finsinger, D.; Stieber, F.; Sirrenberg, C.; Amendt, C.; Grell, M.; Zenke, F.; Krier, M., Design and synthesis of isoquinolines and benzimidazoles as RAF kinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2011, 21, 2264-2269.

50. Sotiriou-Leventis, C.; Mao, Z.; Rawashdeh, A. M. M., A convenient synthesis and spectroscopic characterization of N,N'-bis(2-propenyl)-2,7-diazapyrenium quaternary salts. *Journal of Organic Chemistry* 2000, 65, 6017-6023.

51. Ishikura, M.; Hino, A.; Yaginuma, T.; Agata, I.; Katagiri, N., A novel entry to pyrido 4,3-b carbazoles: An efficient synthesis of ellipticine. *Tetrahedron* 2000, 56, 193-207.

52. Stuart, D. R.; Bertrand-Laperle, M.; Burgess, K. M. N.; Fagnou, K., Indole Synthesis via Rhodium Catalyzed Oxidative Coupling of Acetanilides and Internal Alkynes. *Journal of the American Chemical Society* 2008, 130, 16474-+.

53. Hou, J. Y.; Wang, Y. L.; Wang, J. Y., A simple and efficient method for the N-nitrosation of secondary amines with NaNO₂-Ac₂O under mild conditions. *Journal of Chemical Research-S* 2003, 626-627.

54. Chapman, D.; Hurst, J., PYRAZOLOPYRIDINES .5. PREPARATION AND REACTIONS OF PYRAZOLO- 3,4-C PYRIDINES. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* 1980, 2398-2402.

55. Huang, Y.-S.; Zhang, W.-Q.; Zhang, X.; Wang, J.-Z., Manufacturing synthesis of 5-hydroxy-2-methyl-1H-indole. *Research on Chemical Intermediates* 2010, 36, 975-983.

56. Botman, P. N. M.; Postma, M.; Fraanje, J.; Goubitz, K.; Schenk, H.; van Maarseveen, J. H.; Hiemstra, H., Synthesis and resolution of BICOL, a carbazole analogue of BINOL. *European Journal of Organic Chemistry* 2002, 1952-1955.

57. Masatoshi; Tanimura; Watanabe, N.; Ijuin, H. K.; Matsumoto, M., Base-Induced Chemiluminescent Decomposition of Bicyclic Dioxetanes Bearing a (Benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphenyl Group: A Radiationless Pathway Leading to Marked Decline of Chemiluminescence Efficiency. *Journal of Organic Chemistry* 2012, 77, 4725-4731.

58. [JP], K. H.; [JP], I. S.; [JP], S. A.; [JP], N. Y.; [JP], H. Y.; [JP], K. T.; [JP], S. G.; [JP], S. A.; +, O. H. J. DIARYL-SUBSTITUTED FIVE-MEMBERED HETEROCYCLE DERIVATIVE

59. Burke, M. D.; Schreiber, S. L., A planning strategy for diversity-oriented synthesis. *Angewandte Chemie-International Edition* 2004, 43, 46-58.

60. Kim, Y. H.; Kim, Y.-J.; Chang, S.-Y.; Kim, B. T.; Heo, J.-N., A general strategy for the synthesis of amino-substituted 2-pyridones using a palladium-catalyzed amination reaction. *Bulletin of the Korean Chemical Society* 2007, 28, 777-782.

61. CAMERON, K. O. K. P. G. R. a. D., Eastern Point RoadGroton, Connecticut, 06340, US), KRAUSS, Achim Hans-Peter (419 Nottingham Lane, Collegeville, Pennsylvania, 19426, US), LEFKER, Bruce Allen (Pfizer Global Research and Development, Eastern Point RoadGroton, Connecticut, 06340, US), NAIR, Sajiv Krishnan (Pfizer Global Research and Development, 10777 Science Center DriveSan Diego, California, 92121, US), PRASANNA, Ganesh (4420 Angus Drive, Fort Worth, Texas, 76116, US), RUI, Eugene Yuanjin (Pfizer Global Research and Development,

10777 Science Center Drive San Diego, California, 92121, US) EP2/4 AGONISTS. WO/2010/116270, 2010.

62. Gracia, S.; Metay, E.; Pellet-Rostaing, S.; Lemaire, M., Synthesis of 8-Oxo-3-acetylenic-5,6,7,8-tetrahydroindolizines via Sonogashira Coupling. *Synlett* 2009, 2617-2620.

63. CHANG, H.-T. G. D., Livermore, CA, 94550, US), CHARMOT, Dominique (1238 Bracebridge Court, Campbell, CA, 95008, US), GLINKA, Tomasz (21122 Patriot Way, Cupertino, CA, 95014, US), COPE, Michael James (1111 Russell Street, Berkeley, CA, 94702, US), GOKA, Elizabeth (1699 Willow Creek Dr, San Jose, CA, 95124, US), SHAO, Jun (39663 Leslie Street, Apt. #341 Fremont, CA, 94538, US), MONG, Tony Kwok-Kong (955 Escalon Avenue, Apt. #512 Sunnyvale, CA, 94085, US), CHEN, Shiah-yun (2410 Benjamin Drive, Mountain View, CA, 94043, US), BUYSSE, Jerry M. (270 Alvarado Avenue, Los Altos, CA, 94022, US) AZAINDOLE COMPOUNDS AND USE THEREOF AS PHOSPHOLIPASE-A2 INHIBITORS. WO/2007/056184, 2007.

64. Zhang, L.; Rogers, B. N.; Duplantier, A. J.; McHardy, S. F.; Efremov, I.; Berke, H.; Qian, W.; Zhang, A. Q.; Maklad, N.; Candler, J.; Doran, A. C.; Lazzaro, J. T.; Ganong, A. H., 3-(Imidazolylmethyl)-3-aza-bicyclo 3.1.0 hexan-6-yl)methyl ethers: A novel series of mGluR2 positive allosteric modulators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2008, 18, 5493-5496.

65. DOLLE, R., E. (536 Elliott Drive, King Of Prussia, PA, 19406, US), WORM, Karin (6 Buxton Drive, East Windsor, NJ, 08520, US), GOODMAN, Allan, J. (116 West 7th Street, Media, PA, 19063, US), CHU, Guo-Hua (228 Cambridge Chase, Exton, PA, 19341, US), LeBOURDONNEC, Bertrand (317 Ivy Lane, East Fallowfield, PA, 19320, US) PYRIDINE COMPOUNDS AND METHODS OF THEIR USE. WO/2008/063625, 2008.

66. TING, P., C. (2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey, 07033, US), LEE, Joe, F. (2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey, 07033, US), ASLANIAN, Robert, G. (2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, New Jersey, 07033, US) INHIBITORS OF DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE. WO/2011/031628, 2011.

67. Swamy, K. C. K.; Kumar, N. N. B.; Balaraman, E.; Kumar, K. V. P. P., Mitsunobu and Related Reactions: Advances and Applications. *Chemical Reviews* 2009, 109, 2551-2651.

68. Harrisson, P.; Morris, J.; Marder, T. B.; Steel, P. G., Microwave-Accelerated Iridium-Catalyzed Borylation of Aromatic C-H Bonds. *Organic Letters* 2009, 11, 3586-3589.

69. Seiple, I. B.; Su, S.; Rodriguez, R. A.; Gianatassio, R.; Fujiwara, Y.; Sobel, A. L.; Baran, P. S., Direct C-H Arylation of Electron-Deficient Heterocycles with Arylboronic Acids. *Journal of the American Chemical Society* 2010, 132, 13194-13196.

70. El Akkaoui, A.; Berteina-Raboin, S.; Mouaddib, A.; Guillaumet, G., Direct Arylation of Imidazo 1,2-b pyridazines: Microwave-Assisted One-Pot Suzuki Coupling/Pd-Catalysed Arylation. *European Journal of Organic Chemistry* 2010, 862-871.

71. Schlummer, B.; Scholz, U., Palladium-catalyzed C-N and C-O coupling - A practical guide from an industrial vantage point. *Advanced Synthesis & Catalysis* 2004, 346, 1599-1626.

72. Moseley, J. D.; Murray, P. M.; Turp, E. R.; Tyler, S. N. G.; Burn, R. T., A mild robust generic protocol for the Suzuki reaction using an air stable catalyst. *Tetrahedron* 2012, 68, 6010-6017.
73. Murray, P. M.; Bower, J. F.; Cox, D. K.; Galbraith, E. K.; Parker, J. S.; Sweeney, J. B., A Robust First-Pass Protocol for the Heck-Mizoroki Reaction. *Organic Process Research & Development* 2013, 17, 397-405.
74. Battistuzzi, G.; Cacchi, S.; Fabrizi, G., An efficient palladium-catalyzed synthesis of cinnamaldehydes from acrolein diethyl acetal and aryl iodides and bromides. *Organic Letters* 2003, 5, 777-780.

CAPÍTULO III

INOVAÇÃO EM PROCESSOS DE DESCOBERTA DE FÁRMACOS:
ANÁLISE COMPUTACIONAL DE SIMILARIDADE E PROPRIEDADES FÍSICO-
QUÍMICAS DOS NÚCLEOS SINTETIZADOS

1. Introdução

Ao longo das últimas décadas, o *pipeline* para a descoberta de pequenas moléculas de fármacos na indústria farmacêutica tornou-se dependente de abordagens de triagens de alto rendimento (HTS), abrangendo grandes bibliotecas de compostos (10^6) que são adquiridas/desenvolvidas ao longo do tempo. Entretanto, a manutenção da diversidade e da qualidade destas bibliotecas é um constante desafio. Inevitavelmente, as bibliotecas contêm moléculas que não apresentam características de fármacos, eles podem ser relativamente lipofílicos, ou ter solubilidade termodinâmica inadequada. Como consequência, os falsos positivos são constantemente observados, não podendo ser bons pontos de partida para desenvolvimento de fármacos. Outro ponto crucial é que inevitavelmente estas bibliotecas representam apenas uma fração muito pequena do espaço químico, reduzindo o sucesso ou a chance de inovação nas buscas. Além de tudo isso, mesmo se a estrutura obtida em um HTS for ativa frente ao alvo, ela pode apresentar grupos que contribuem negativamente com a energia de ligação, levando a ambiguidade sobre a melhor forma de aumentar a potência.³²

Considerando estas limitações, uma alternativa emergente para otimizar esse processo é o planejamento de fármaco assistido por computador (do inglês *Computer-Aided Drug Design-CADD*).

Esta estratégia vem ganhando destaque na descoberta de fármacos por sua capacidade de redução de custos, visto que muitos compostos podem ser previstos como inativos, e assim ser descartados em HTS, de modo a priorizar aqueles previstos como mais ativos. Isso reduz o custo e a carga de trabalho de ensaios de HTS sem comprometer todo o processo.⁷⁵ Além disso, os ensaios de HTS tradicionais muitas vezes requerem maiores esforços para o desenvolvimento e

validação dos testes para poderem ser usados.⁷⁵ Já o CADD requer muito menos tempo de preparação, podendo ser realizados simultaneamente ao HTS. O fato de ambas as ferramentas poderem ser utilizadas em paralelo, proporciona um benefício adicional para CADD em projetos de descoberta de fármacos. O CADD é capaz de aumentar a taxa de sucesso na obtenção de novos compostos ativos, por ser mais específico do que os tradicionais HTS e a química combinatória. O CADD não só tem como objetivo explicar a base molecular da atividade terapêutica, mas também prever possíveis derivados que com melhores atividades.⁷⁵

Em processos de descoberta de fármacos o CADD é usado geralmente para três principais propósitos: (1) filtrar bibliotecas de compostos grandes em conjuntos menores de compostos ativos previstos, que podem ser testadas experimentalmente; (2) orientar a otimização dos compostos líderes, seja para aumentar sua afinidade ou otimizar o metabolismo e propriedades farmacocinética (DMPK), incluindo absorção, distribuição, metabolismo, excreção, e potencial de toxicidade (ADMET) da molécula; (3) design inovador dos compostos, seja pelo "crescimento" a partir de um grupo de moléculas ativas ou reunindo fragmentos em novos quimiotipos.⁷⁵

O CADD pode ser classificado em duas categorias: abordagem baseada em estruturas (SBCADD- do inglês *structure-based Computer-Aided Drug Design*), e a baseada em ligantes (LBCADD- do inglês *ligand-based Computer-Aided Drug Design*).⁷⁵

A primeira abordagem, baseada em estrutura, é uma técnica muito robusta, que envolve a aquisição das informações tridimensionais relativas à estrutura do alvo molecular (proteína), através de métodos experimentais, tais como acristalografia de raio-X, espectroscopia de RMN ou modelagem de homologia, seguido pelo projeto

de compostos promissores com base na eficiência de ligação (EL) e seletividade para os seus alvos moleculares.^{76, 77}

A LBCADD é um processo indireto de desenvolvimento de compostos farmacologicamente ativos a partir de estudos estruturais e físicos de moléculas com conhecida interação com o alvo biológico de interesse.⁷⁸ O CADD baseado em ligantes utiliza-se geralmente da construção de modelos de previsão, modelos de relação quantitativa de estrutura-atividade (QSAR).⁷⁵ O QSAR clássico envolve a correlação de recursos eletrônicos, hidrofóbicos e estéricos com a atividade biológica resultante.

Além de QSAR, a LBCADD utiliza também metodologias de pesquisa de similaridade, as quais buscam em bancos de dados visando estruturas semelhantes ao composto alvo a ser estudado, proporcionando a obtenção de derivados mais ativos. Estas buscas podem ser realizadas por métodos de *fingerprint* por farmacóforos.⁷⁵ Técnicas baseadas em *fingerprints* moleculares tentam representar moléculas de tal forma a permitir uma rápida comparação estrutural em um esforço para identificar estruturalmente moléculas similares ou para coleções de *cluster* baseada em similaridade estrutural.⁷⁵ Já modelos de similaridade por farmacóforos, buscam resumir recursos estéricos e eletrônicos necessários para ótima interação de um ligante com um alvo específico. As principais propriedades utilizadas para definir farmacóforos são ligações de hidrogênioceptoras e doadoras, grupos ácidos, cargas parciais, porções hidrofóbicas alifáticas e aromáticos.⁷⁵

Características de farmacóforo vem sendo amplamente utilizadas em processos de descoberta de fármacos para ensaios virtuais para *design de novo* e otimizações de compostos líderes. Além dos modelos de farmacóforos poderem ser

utilizados para pesquisar banco de dados para obtenção de promissoras bibliotecas, estes também podem ser utilizados por algoritmos de planejamento *de novo* para orientar a concepção de novos compostos.⁷⁵

Assim o presente capítulo propôs a aplicação de técnicas de CADD aos núcleos obtidos no capítulo II buscando validar seus promissores potenciais para processos de descoberta de fármacos, já descrito por Pitt.³³ De modo a gerar um banco de dados que possa servir como fonte de inspiração e inovação para o desenvolvimento de bibliotecas de análogos ou otimizações estruturais.

2. Objetivos

Objetivo Geral

Este capítulo visa a elaboração de análises estruturais e de similaridade dos núcleos propostos visando estabelecer seu potencial para descoberta de fármacos.

Objetivos Específicos

- a. Comparação dos coeficientes de similaridade de volume 3D e farmacóforo entre os núcleos propostos, **1**, **2** e **3**, e os fragmentos derivados de fármacos.
- b. Cálculo de propriedades farmacêuticas relevantes tanto dos núcleos **1**, **2**, e **3** quanto dos derivados de fármacos.

3. Material e Métodos

3.1. Material

Software

Os estudos de similaridade de volume 3D, farmacóforo e potenciais eletrostáticos foram conduzidos empregando softwares da Openeye (<http://www.eyesopen.com>), vROCS e EON.

Todo o conteúdo gráfico foi gerado usando o software VIVA, também da Openeye (<http://www.eyesopen.com>).

O software utilizado para o cálculo de propriedades físico-químicas das estruturas propostas foi o Vortex v2013.08.24454 (c) (Dotmatics Limited 2007, 2013).

3.2. Métodos

Análise computacional

Visando verificar seus potenciais para a descoberta de fármacos, assim como seus usos como blocos de construção para derivados de estruturas ativas já conhecidas, foi realizado um estudo de similaridade entre os núcleos **16**, **17** e **18** e os 100 fármacos mais vendidos no terceiro trimestre de 2013 nos E.U.A.⁷⁹

Para este estudo as estruturas dos fármacos foram inicialmente obtidas no website ChemSpider (<http://www.chemspider.com>). Foram obtidas as fórmulas estruturais dos fármacos, cada molécula foi decomposta em seu respectivo fragmento cíclico usando o programa Chem3D Pro 13.0 da PerkinElmer Informatics. Esse núcleo consiste em sistemas de anéis individuais ou contíguos mantendo tipos de átomos, ordens de ligações, informação de aromaticidade e ligações duplas exocíclicas, porém descartando a estereoquímica e cargas. Direcionando o estudo aos sistemas heterociclos, os núcleos foram divididos em duas categorias: *Categoria A: apresentam núcleo heterocíclico; Categoria B: não apresentam núcleo heterocíclico* (Figura 3.1). Esta análise resultou na separação de 42 fragmentos heterocíclicos representados na figura abaixo. Após a construção das estruturas, foram realizados cálculos de análise conformacional com o software OMEGA 2.5.1.4,⁸⁰ a fim de gerar a conformação mais estável de cada fragmento. A análise conformacional realizada pelo OMEGA utiliza o campo de força molecular da Merck (MMFF) para calcular os parâmetros de conformação e energias.

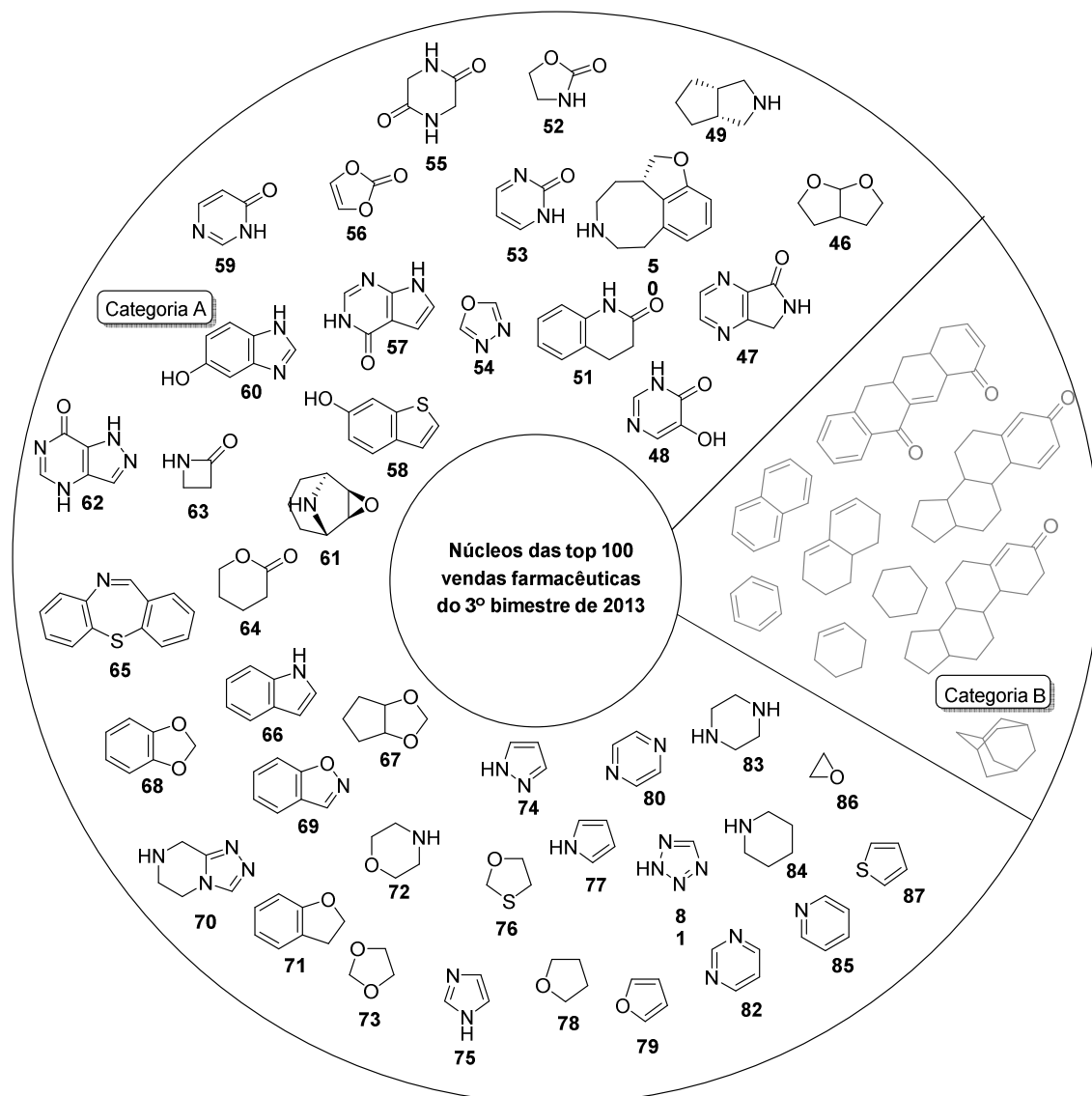


Figura 3. 13. Amostra dos principais núcleos presentes nos 100 mais vendidos produtos farmacêuticos do terceiro bimestre de 2013 nos E.U.A.

Em seguida os fragmentos **46-87** foram alinhados com os fragmentos **16, 17** e **18**, respectivamente, com o software vROCS.⁸¹⁻⁸³ Os alinhamentos foram realizados com base na sobreposição de volume 3D e farmacóforo dos compostos, além de pontuados pela semelhança de Tanimoto. As características das estruturas (volume 3D, farmacóforo) foram comparadas através de a partir de cálculos de similaridade de Tanimoto (Equação 1) que varia entre 0 (estruturas completamente diferentes) e 1 (estruturas idênticas). E, finalmente, os valores de volume 3D e farmacóforo dos compostos bem como a superposição das estruturas foram gerados usando o software VIDA.

$$Sim_{Tanimoto}(A,B) = \frac{AB}{|A|+|B|-AB} = \frac{AB}{A+B+AB} \quad (1)$$

3.3. Cálculo de propriedades farmacêuticas relevantes

A partir das estruturas construídas para o estudo de similaridade foram calculadas propriedades farmacêuticas relevantes a partir da estrutura molecular dos núcleos **16**, **32** e **18**, utilizando o software Vortex. As propriedades calculadas foram: peso molecular (MW), LogP, ligações de hidrogênio aceptoras (HBA), ligações de hidrogênio doadoras (HBD), número de ligações rotacionáveis, área topológica de superfície polar (ASPT), além destas foram determinados os números de violações das regras de Lipinsky de Três

4. Resultados e Discussão

Análise Computacional dos Núcleos **16**, **17** e **18**

Com o objetivo de estabelecer uma relação entre os fragmentos propostos e a suas potenciais aplicações na descoberta de fármacos, foi calculada a similaridade de volume 3D e farmacóforo entre **16**, **17** e **18** e os 42 núcleos heterocíclicos selecionados de sucessos farmacêuticos. Inicialmente as estruturas dos fragmentos, **16**, **17** e **18**, foram alinhadas as estruturas dos 42 núcleos empregando o software vROCS.⁸¹⁻⁸³

Após o alinhamento entre os 42 núcleos a cada um dos 3 fragmentos propostos, foram calculados os índices de similaridade de Tanimoto de volume 3D e farmacóforos em relação a **16**, **17** e **18** (Tabela 2.6). A similaridade de volume 3D está relacionada às informações de "forma", ou seja, a estrutura necessária para que a molécula interaja com o alvo. Assim, dois compostos que apresentem alta similaridade de volume 3D, podem realizar um "encaixe" semelhante com alvo. Já a similaridade de farmacóforo está relacionada à capacidade da realização de interações específicas, como ligações de hidrogênio, interações π -stacking (ou empilhamento de anéis aromáticos), interações hidrofóbicas. Assim está também

diretamente relacionada à presença de grupos funcionais, assim como sua distribuição espacial.

Tabela 3. 1. Pontuação de farmacóforo e de volume 3D obtidos dos cálculos de vROCS

Frag	Similaridade de Tanimoto para 16		Similaridade de Tanimoto para 17		Similaridade de Tanimoto para 18	
	Volume 3D	Farmacóforo	Volume 3D	Farmacóforo	Volume 3D	Farmacóforo
46	0,776	0,267	0,677	0,233	0,827	0,189
47	0,677	0,489	0,612	0,584	0,685	0,725
48	0,765	0,168	0,682	0,2	0,765	0,252
49	0,66	0,298	0,68	0,336	0,653	0,381
51	0,815	0,366	0,79	0,249	0,843	0,43
53	0,773	0,431	0,698	0,500	0,77	0,601
56	0,706	0,252	0,634	0,286	0,713	0,334
57	0,549	0,324	0,541	0,246	0,61	0,274
58	0,897	0,418	0,909	0,387	0,963	0,631
59	0,944	0,412	0,916	0,336	0,9	0,455
60	0,578	0,461	0,525	0,549	0,590	0,674
61	0,911	0,556	0,88	0,398	0,989	0,499
62	0,777	0,376	0,702	0,428	0,777	0,495
63	0,851	0,293	0,696	0,400	0,78	0,501
64	0,997	0,321	0,973	0,381	0,918	0,248
65	0,927	0,492	0,893	0,502	0,929	0,426

66	0,785	0,286	0,752	0,33	0,868	0,35
68	0,875	0,41	0,765	0,427	0,745	0,501
69	0,983	0,332	0,972	0,329	0,874	0,344
70	0,706	0,287	0,636	0,333	0,714	0,4
71	0,608	0,147	0,548	0,167	0,627	0,194
72	0,955	0,5	0,909	0,538	0,952	0,398
77	0,897	0,352	0,902	0,441	0,929	0,452
79	0,721	0,13	0,609	0,198	0,719	0,229
84	0,771	0,291	0,728	0,333	0,845	0,342
85	0,618	0,249	0,556	0,282	0,611	0,328

Analisando estatisticamente os índices de semelhanças calculados, foi possível observar que as similaridades de volume 3D variam de 32% a 99%, enquanto a similaridade de farmacóforo varia de 17% a 58% (Tabelas 2.7). Também foram calculados os coeficientes de similaridades de volume 3D e de farmacóforo entre **16**, **17** e **18** (Tabela 2.7). A partir desta análise, pode-se observar que os fragmentos propostos mais similares com base nos índices de forma e cor são **16** e **17**, seguidos por **16** e **18**, e **17** e **18** (Tabelas 2.7).

Tabela 3. 2. Análise estatística de índices de similaridade.

	<i>Similaridade de Volume 3D</i>			<i>Similaridade de farmacóforo</i>		
	16	17	18	16	17	18
Mínimo	0,357	0,317	0,312	0,130	0,167	0,189
Máximo	0,997	0,992	0,989	0,556	0,584	0,725
Média	0,756	0,712	0,760	0,318	0,334	0,387
Desvio Padrão	0,151	0,163	0,141	0,121	0,117	0,142

Matriz de Correlação						
	<i>Similaridade de Volume 3D</i>			<i>Similaridade de farmacóforo</i>		
	16	17	18	16	17	18
16	1,000			1,000		
17	0,962	1,000		0,842	1,000	
18	0,934	0,915	1,000	0,806	0,772	1,000

Com base nos valores obtidos verifica-se maior similaridade de volume 3D do que de farmacóforo entre os 42 núcleos e **16**, **17**, **18** (Figura 3.2).

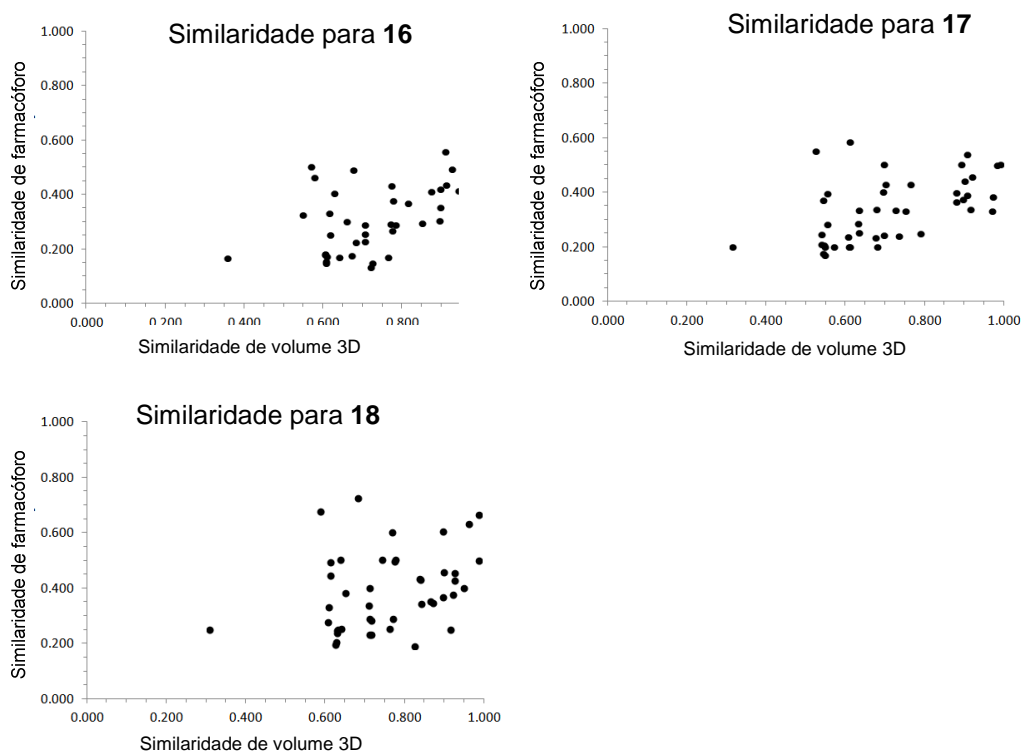


Figura 3. 2. Distribuição de semelhanças de volume 3D e farmacóforo de 42 fragmentos com **16**, **17** e **18** fragmentos de propostos.

Dentre os resultados pode-se destacar a similaridade de volume 3D entre os três núcleos (**16**, **17**, **18**) com o fragmento **64** apresentando altos índices de similaridade que variam de 91-99%. Indicando assim a possibilidade de substituição da estrutura **64** de um fármaco alvo por qualquer um dos núcleos do trabalho mantendo um volume 3D similar ao fármaco original. Destaca-se também a similaridade de farmacóforo de **17** e **18** ao fragmento **47**, mostrando também a possibilidade de substituição visando a semelhança de farmacóforo.

Com base nos dados descritos acima, foram elaborados gráficos de intersecção que ilustram os compostos com elevada similaridade entre dois ou três dos fragmentos (Figura 3.3). Considerou-se que compostos com alta similaridade possuem pontuação de volume 3D de Tanimoto igual ou superior a 0,9 (90% de similaridade) e pontuações de farmacóforo de Tanimoto igual ou superior a 0,5 (50%

de similaridade, ou seja, compostos que têm pelo menos metade dos recursos farmacofóricos do fragmento modelo).

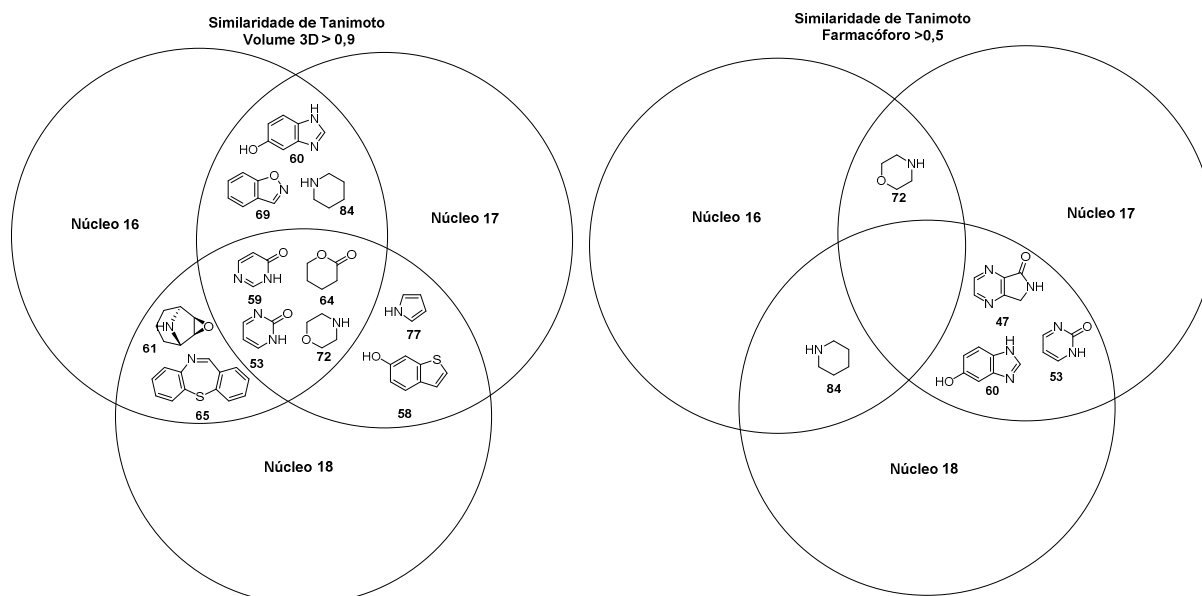


Figura 3. 3. Intersecção de dados de similaridade de volume 3D e farmacóforo entre os três fragmentos propostos.

A partir da figura 2.16, é possível notar que os fragmentos **59**, **53**, **64** e **72** podem ser substituídos por qualquer um dos três fragmentos propostos mantendo alta similaridade de volume 3D. Entretanto, analisando a similaridade de farmacóforo, estes mesmos compostos não apresentam valores superiores a 50% para os fragmentos propostos.

Portanto, com base nos coeficientes de Tanimoto obtidos, os fragmentos apresentam maior semelhança de volume 3D do que de farmacóforo. Ou seja, a substituição de fragmentos de fármacos pelos fragmentos **16**, **17** e **18** pode ser uma estratégia promissora quando aplicada visando-se mimetizar a complementaridade ligante-receptor e, apenas em alguns casos, buscando mimetizar interações químicas (similaridade de farmacóforo).

Análise estrutural dos núcleos propostos

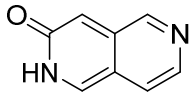
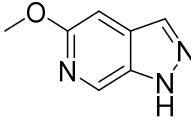
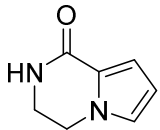
Com base nos dados de similaridade obtidos, a substituição dos 42 núcleos de fármacos pelos fragmentos **16**, **17** e **18**, pode ser uma alternativa para o desenvolvimento/manutenção de moléculas visando a obtenção de novos

compostos com características de fármacos ou mesmo a otimização de propriedades físico-químicas. Desse modo, a substituição pelos fragmentos propostos no presente trabalho, previamente descritos por Pitt,³³ é uma promissora ferramenta para inovação em processos de descoberta de fármacos.

O planejamento de pequenas moléculas com baixo peso molecular, fragmentos ou núcleos, que sejam promissoras para a descoberta de fármacos é atualmente relacionado a *Regra de Três*. Esta "regra" é semelhante a *Regra de Lipinski*, todavia aplicada quando trata-se de fragmentos, como os núcleos **16**, **17** e **18**. Ambas regras visam resumir as propriedades necessárias para alcançar maior probabilidade de adequada biodisponibilidade oral, extremamente relevante para uma substância ativa ser considerada um candidato potencial para ensaios clínicos. A regra de Três utiliza parâmetros semelhantes aos de Lipinsky, peso molecular (MW), LogP, ligações de hidrogênio aceptoras (HBA) e doadoras (HBD). Parâmetros inversamente relacionados a permeabilidade de membranas. Assim esta regra dita que a pequena molécula deve apresentar peso molecular <300 g/mol, o número de ligações de hidrogênio doadoras e aceptoras ≤ 3 , $\log P \leq 3$, o número de ligações rotacionáveis ≤ 3 , e a área de superfície polar total $\leq 60 \text{ \AA}$.³² Além destas existem propriedades adicionais que também podem se relacionar a biodisponibilidade por via oral, estas são o número de ligações rotacionáveis e área topológica de superfície polar (ASPT).

Usando o software Vortex, foram calculadas as propriedades moleculares relevantes a partir da estrutura molecular dos núcleos **16**, **32** e **18**, relacionadas as regras anteriormente descritas- peso molecular (MW), LogP, ligações de hidrogênio aceptoras (HBA), ligações de hidrogênio doadoras (HBD), número de ligações rotacionáveis área topológica de superfície polar (ASPT), além do número de violações das regras de Lipinsky de Três (Tabela 3.3).

Tabela 3. 3. Propriedades moleculares relevantes dos núcleos **16**, **32** e **18**.

			
	16	32	18
MW	146,15	149,15	136,15
LogP	0.66	1.72	0.5
HBA	3	4	3
HBD	1	1	1
ASPT-NOPS	46	50,8	34
Violações da regra de Lipinsky	0	0	0
Violações da regra dos 3	0	1	0
Ligações rotacionáveis	1	1	0

Com base na tabela 2.4, verificou-se que os três núcleos apresentam promissoras propriedades para descoberta de fármacos. Os três núcleos se enquadram tanto na regra de Lipinsky, sem violações, quanto na Regra de Três, todavia com uma exceção de **32**, que apresentou número superior de ligações de hidrogênio aceptoras, 4, sendo o estabelecido de até 3 ligações. Ainda assim, pode ser observado o imenso potencial dessas estruturas para o processo de descoberta de fármacos baseada em fragmentos.⁸⁴

Buscando mapear as contribuições de cada substituição dos 42 núcleos pelos fragmentos **16**, **17** e **18**, foram elaborados cálculos das mesmas propriedades descritas anteriormente para cada um dos 42 núcleos (Anexo 84). A partir dos dados obtidos no Anexo 84, foi possível realizar a verificação da contribuição que cada um dos núcleos às propriedades dos 42 fragmentos, gerando uma ferramenta de inovação e direcionamento para processos de descoberta de fármacos. Como exemplo foi selecionado o núcleo **59** (Figura 3.4).

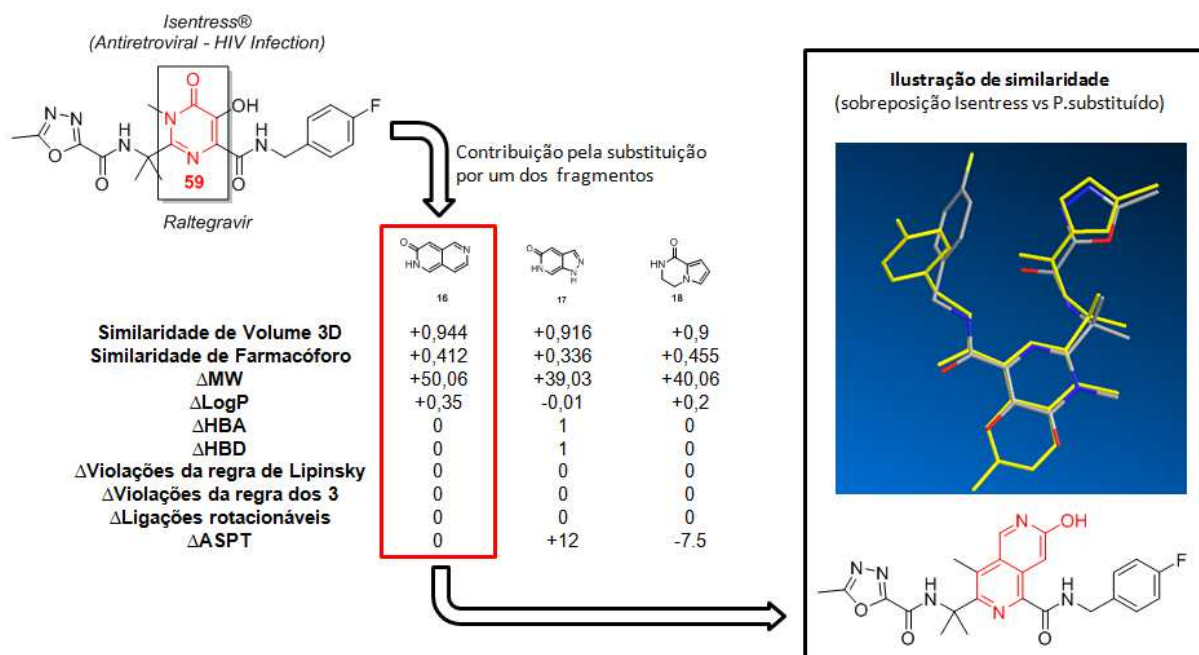


Figura 3. 4. Contribuição da substituição de **59** por **16**, **17** e **18**. (Isentress representado em cinza, ligações e átomos de carbono, azul átomos de nitrogênio e vermelho átomos de oxigênio, a estrutura substituída do isentress foi representada em amarelo).

O núcleo **59** foi obtido a partir da estrutura do Raltegravir, vendido comercialmente como Isentress®, um antirretroviral indicado para tratamento de infecções por HIV, sendo o 60º produto farmacêutico mais vendido no terceiro bimestre de 2013.⁷⁹ O núcleo **59** apresenta similaridade de volume 3D superior a 90% em relação aos três fragmentos propostos, **16**, **17** e **18**, e similaridade de farmacóforo variando de 33-45%. Considerando a possibilidade de substituição com base na similaridade de volume 3D, pode-se observar as diferentes características de fármacos que podem ser alteradas. Destacam-se entre elas o aumento de lipoficidade, atribuído a substituição pelo núcleo **16**, assim como a redução da mesma pela substituição por **17**. Além disso, pode-se verificar um aumento área topológica de superfície polar quando substituído por **17** e redução quando comparado a **18**. Outro ponto relevante que pode ser verificado é que as substituições não resultam em violações das regras de Lipinski e de Três, desse modo não prejudicando a farmacocinética do fármaco. Adicionalmente, não são incorporadas as ligações rotacionáveis às estruturas, o que poderia prejudicar a afinidade fármaco-ligante. Dessa forma, foi possível determinar a contribuição de

cada núcleo para a manutenção das propriedades de fármacos aplicando-se dados do Anexo 84.

5. Conclusões

Neste capítulo foram descritos estudos computacionais de similaridade e estruturais, realizados com auxílio do Pós-doutorando Vinícius Maltarollo, os quais revelaram características promissoras relacionadas as propriedades físico-químicas dos núcleos propostos no capítulo II, assim como sugere a possibilidade de substituição de fragmentos derivados de fármacos por estes núcleos. Assim os núcleos heteroaromáticos selecionados, uma vez descritos por Pitt,³³ representam estruturas promissoras para a obtenção de bibliotecas. Assim, a aplicação destes núcleos, bem como a estratégias de substituição proposta neste trabalho é uma ferramenta promissora para gerar inovação em processos de descoberta de fármacos.³³

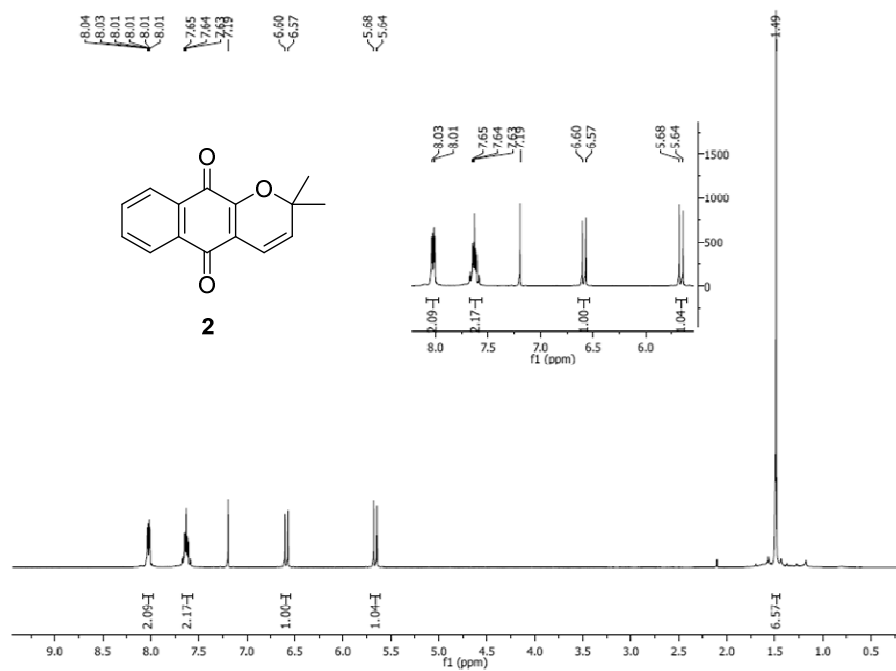
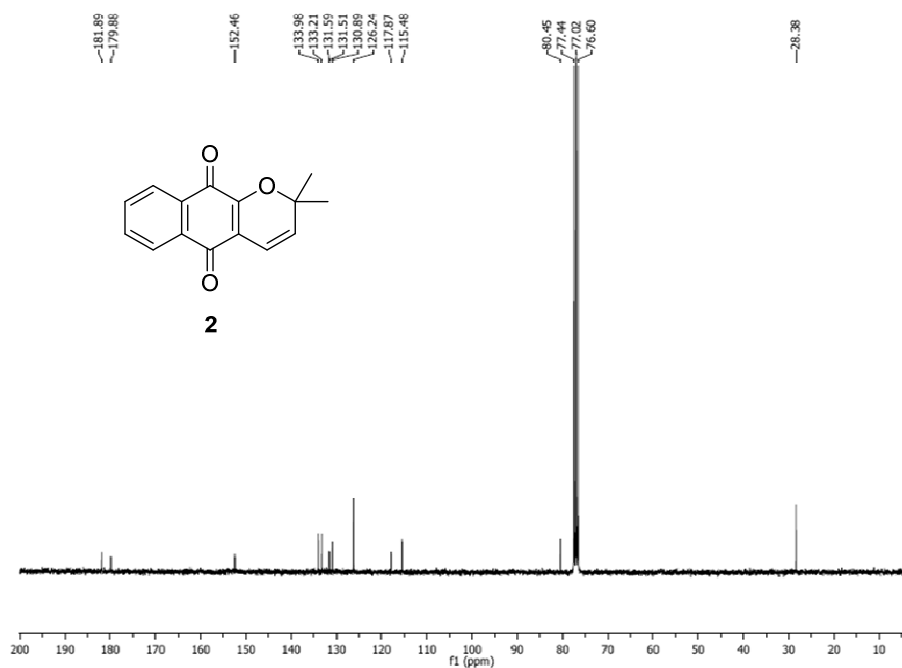
Referências do Capítulo III

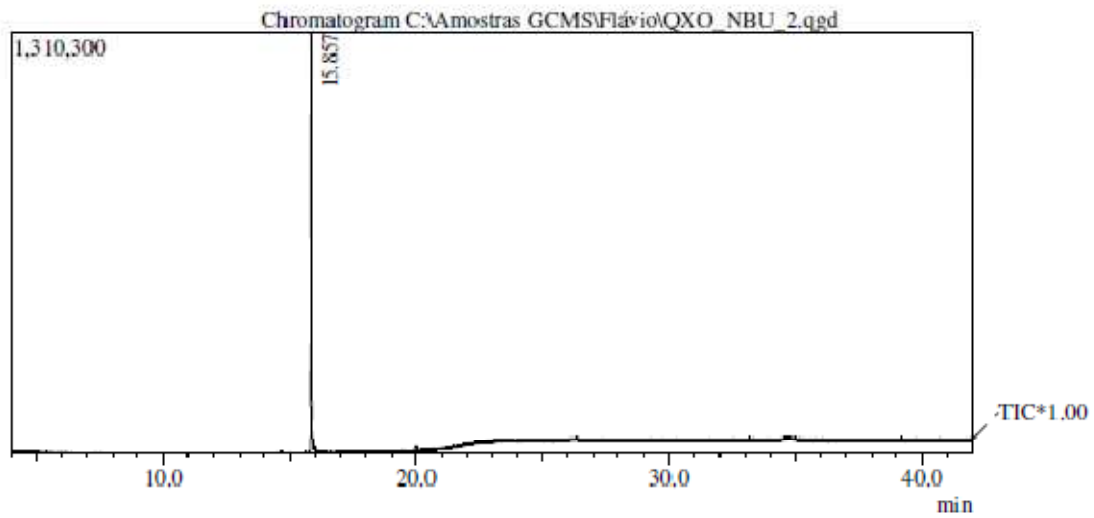
32. Scott, D. E.; Coyne, A. G.; Hudson, S. A.; Abell, C., Fragment-Based Approaches in Drug Discovery and Chemical Biology. *Biochemistry* 2012, 51, 4990-5003.
33. Pitt, W. R.; Parry, D. M.; Perry, B. G.; Groom, C. R., Heteroaromatic Rings of the Future. *Journal of Medicinal Chemistry* 2009, 52, 2952-2963.
75. Sliwoski, G.; Kothiwale, S.; Meiler, J.; Lowe, E. W., Jr., Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacological Reviews* 2014, 66, 334-395.
76. Tanaka, T.; Sugawara, H.; Maruoka, H.; Imajo, S.; Muto, T., Discovery of novel series of 6-benzyl substituted 4-aminocarbonyl-1,4-diazepane-2,5-diones as human chymase inhibitors using structure-based drug design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2013, 21, 4233-4249.
77. P, A., Structure-Based Drug Design. . *J Pharmacovigilance* 2013.
78. Acharya, C.; Coop, A.; Polli, J. E.; MacKerell, A. D., Jr., Recent Advances in Ligand-Based Drug Design: Relevance and Utility of the Conformationally Sampled Pharmacophore Approach. *Current Computer-Aided Drug Design* 2011, 7, 10-22.
79. (Midas), I. H. U.S. Pharmaceutical Sales - Q3 2013. (accessed 13/11/13).
80. Hawkins, P. C. D.; Skillman, A. G.; Warren, G. L.; Ellingson, B. A.; Stahl, M. T., OMEGA 2.5.1.4: OpenEye Scientific Software. Santa Fe, NM. <http://www.eyesopen.com>.
81. Grant, J. A.; Gallardo, M. A.; Pickup, B. T., A fast method of molecular shape comparison: A simple application of a Gaussian description of molecular shape. *Journal of Computational Chemistry* 1996, 17, 1653-1666.

82. Hawkins, P. C. D.; Skillman, A. G.; Nicholls, A., Comparison of shape-matching and docking as virtual screening tools. *Journal of Medicinal Chemistry* 2007, 50, 74-82.
83. Santa Fe, N. ROCS 3.2.0.4.
84. Koester, H.; Craan, T.; Brass, S.; Herhaus, C.; Zentgraf, M.; Neumann, L.; Heine, A.; Klebe, G., A Small Nonrule of 3 Compatible Fragment Library Provides High Hit Rate of Endothiapepsin Crystal Structures with Various Fragment Chemotypes. *Journal of Medicinal Chemistry* 2011, 54, 7784-7796.

MATERIAL SUPLEMENTAR

ANEXOS – CAPÍTULO I

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H do composto **2**, 300 MHz, CDCl_3 .Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **2**, 75 MHz, CDCl_3 .

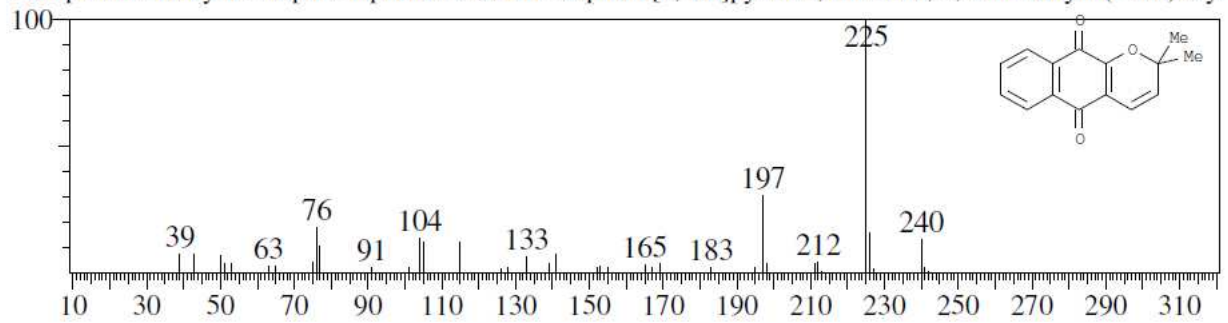


Peak#	R.Time	Area	Area%	Name	Base m/z
1	15.857	2074466	100.00		225.00
		2074466	100.00		

Hit#:1 Entry:146148 Library:WILEY7.LIB

SI:93 Formula:C₁₅H₁₂O₃ CAS:15297-92-4 MolWeight:240 RetIndex:0

CompName:Dehydro-.alpha.-lapachone \$\$ 2H-Naphtho[2,3-b]pyran-5,10-dione, 2,2-dimethyl- (CAS) Xy

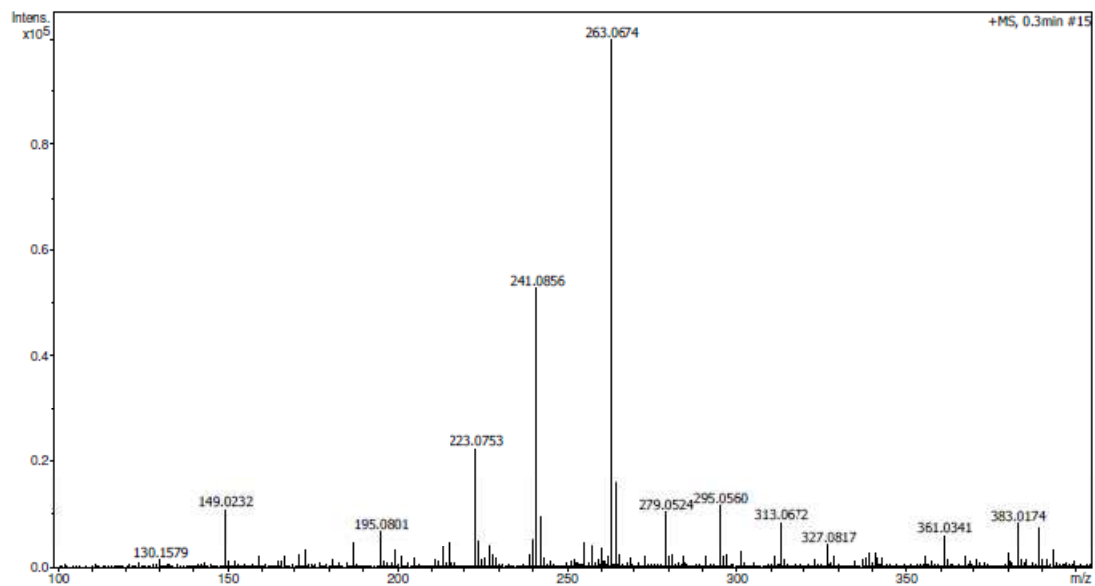


Anexo 3. Espectro deCG-MS do composto 2.

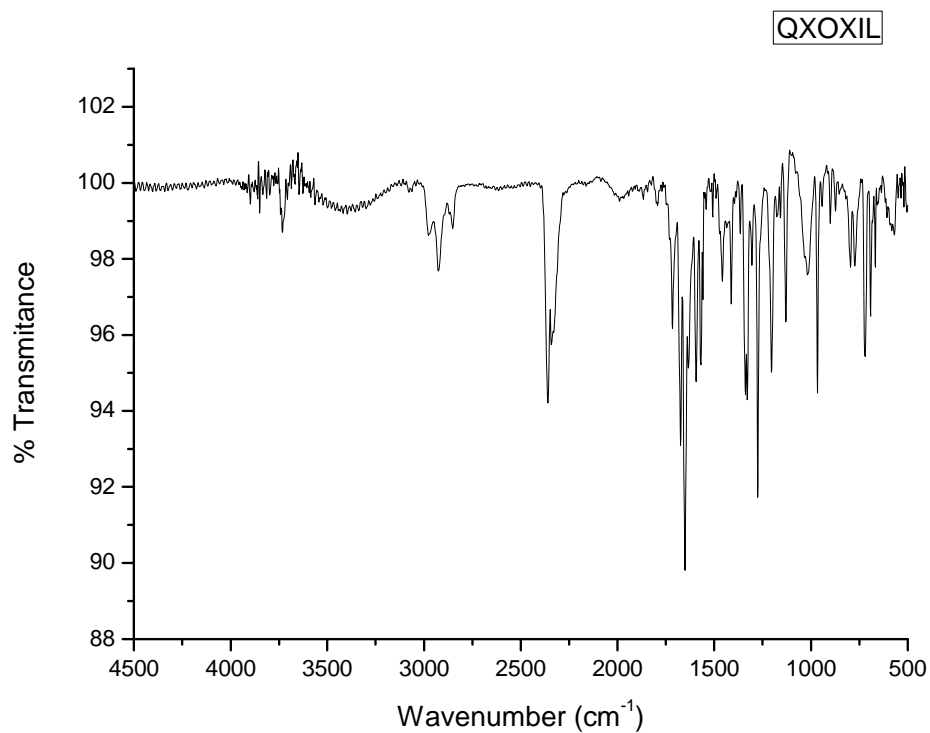
Analysis Info

Analysis Name D:\Data\PROF FLAVIO_QF\ID\QXOXIL_POS_1-13_01_1721.d
Method tune_low_tomaz1000_pos_04-04-13.m
Sample Name QXOXIL_POS
Comment

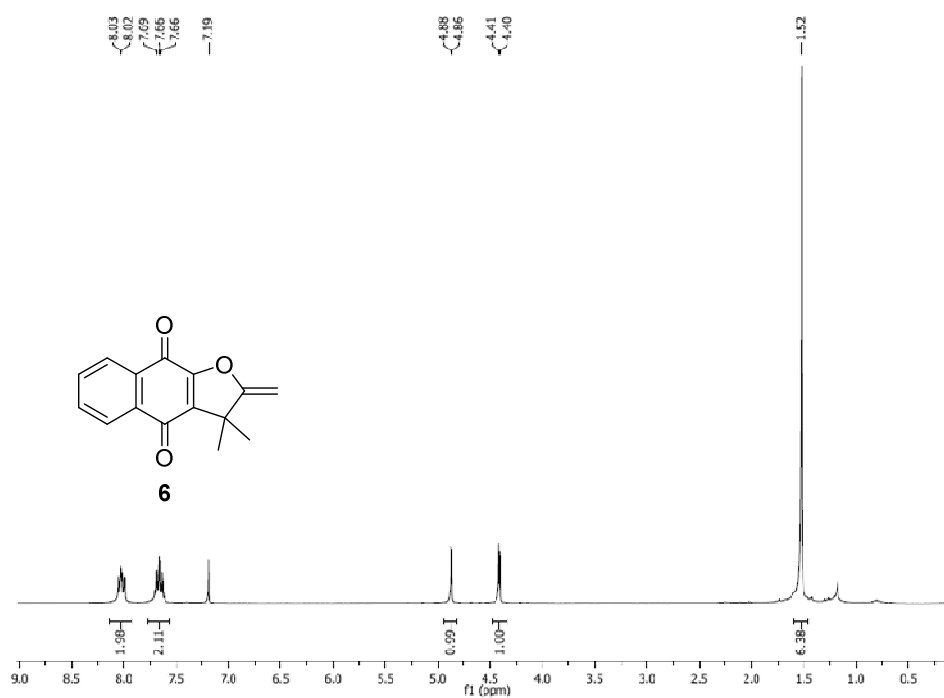
Acquisition Date 4/4/2013 1:06:20 PM
Operator Jose Carlos Tomaz
Instrument micrOTOF



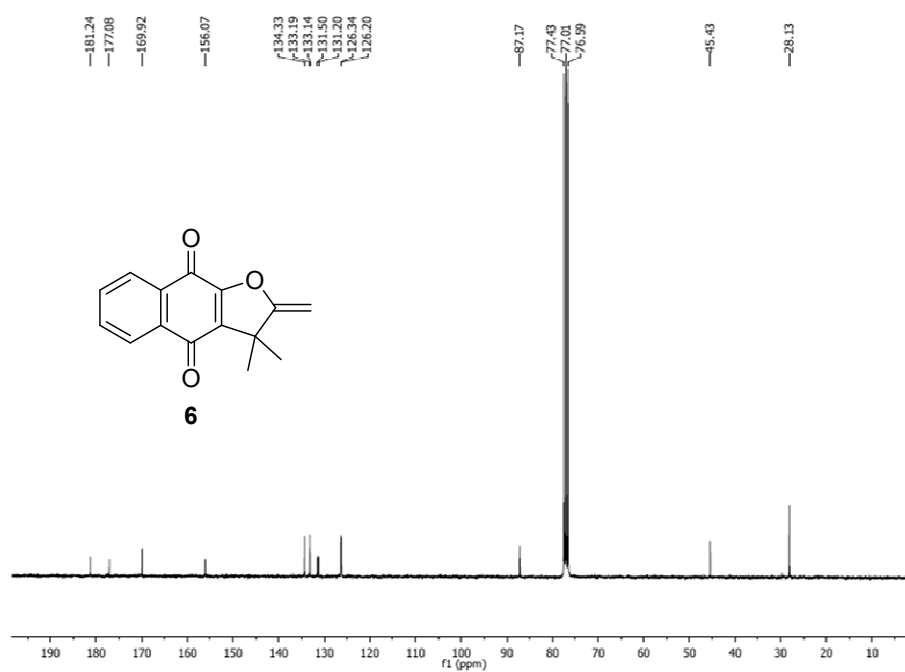
Anexo 4. Espectro deHRMS (ESI-MS) do composto 2.



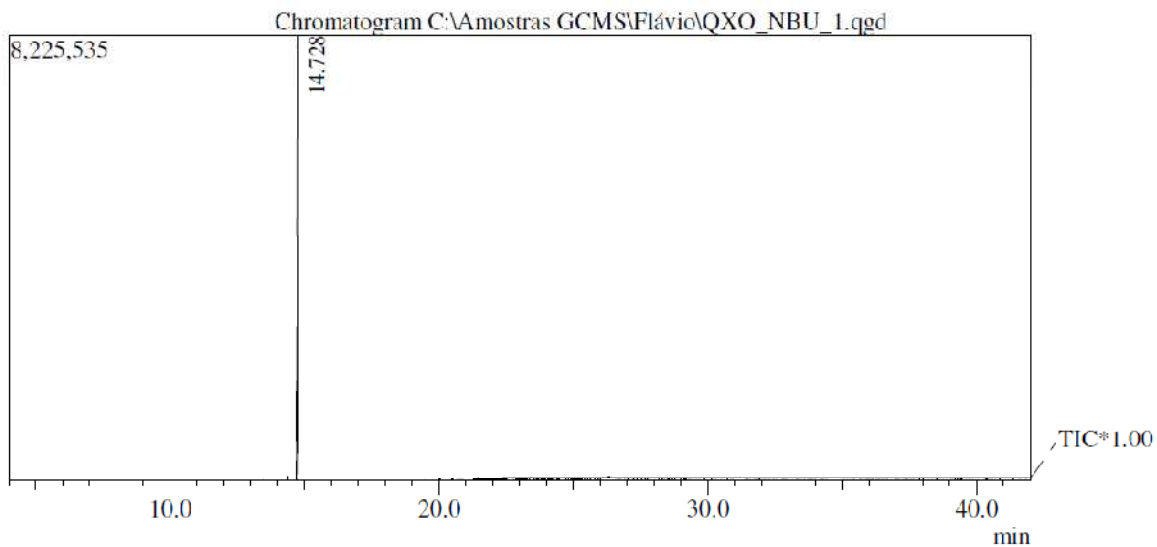
Anexo 5. Espectro de IV (disco de KBr) do composto 2.



Anexo 6. Espectro de RMN de ^1H do composto **6**, 300 mHz, CDCl_3 .



Anexo 7. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **6**, 75 mHz, CDCl_3 .



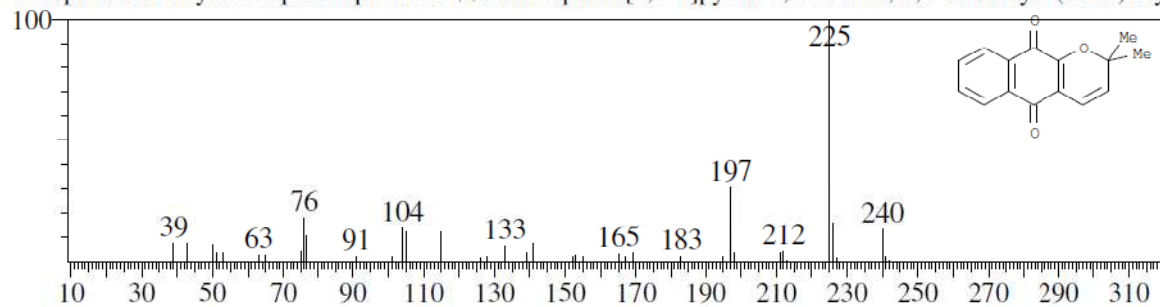
Peak Report TIC

Peak#	R.Time	Area	Area%	Name	Base m/z
1	14.728	13689193	100.00		225.00
		13689193	100.00		

Hit#:1 Entry:146148 Library:WILEY7.LIB

SI:87 Formula:C15 H12 O3 CAS:15297-92-4 MolWeight:240 RetIndex:0

CompName:Dehydro-.alpha.-lapachone \$\$ 2H-Naphtho[2,3-b]pyran-5,10-dione, 2,2-dimethyl- (CAS) Xy



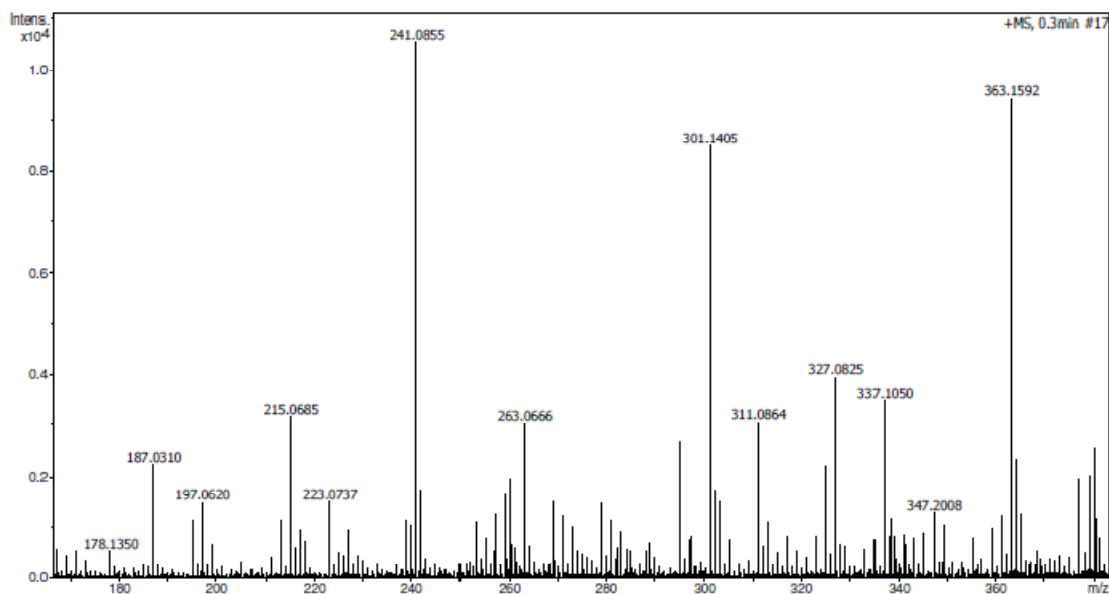
Anexo 8. Espectro deCG-MS do composto 6.

Analysis Info

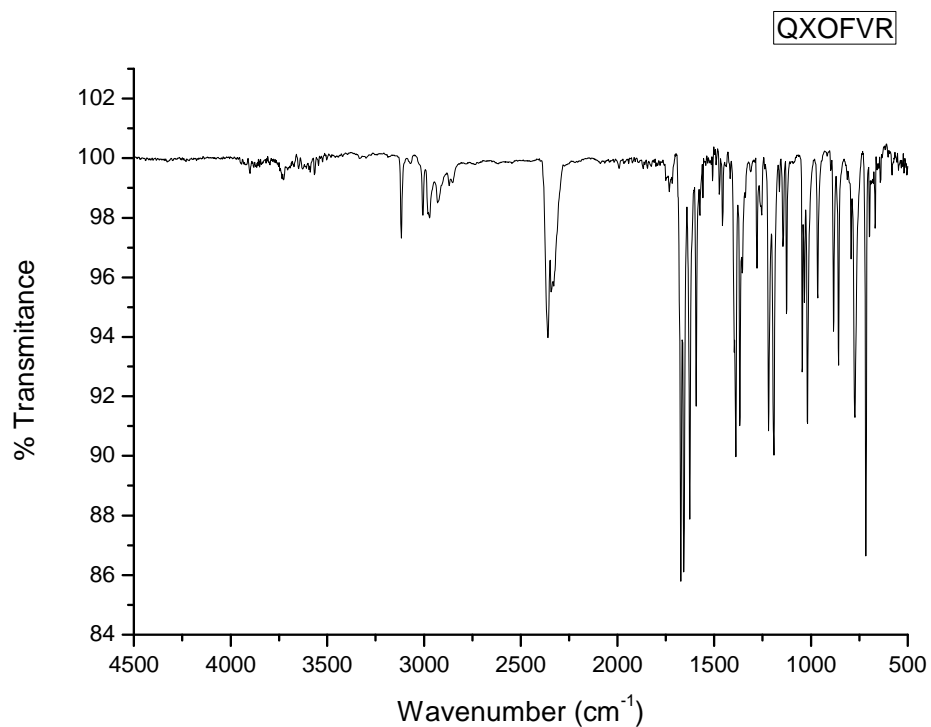
Analysis Name D:\Data\PROF FLAVIO_QF\ID\QXOFUR_POS_1-14_01_1722.d
Method tune_low_tomaz1000_pos_04-04-13.m
Sample Name QXOFUR_POS
Comment

Acquisition Date 4/4/2013 1:12:07 PM

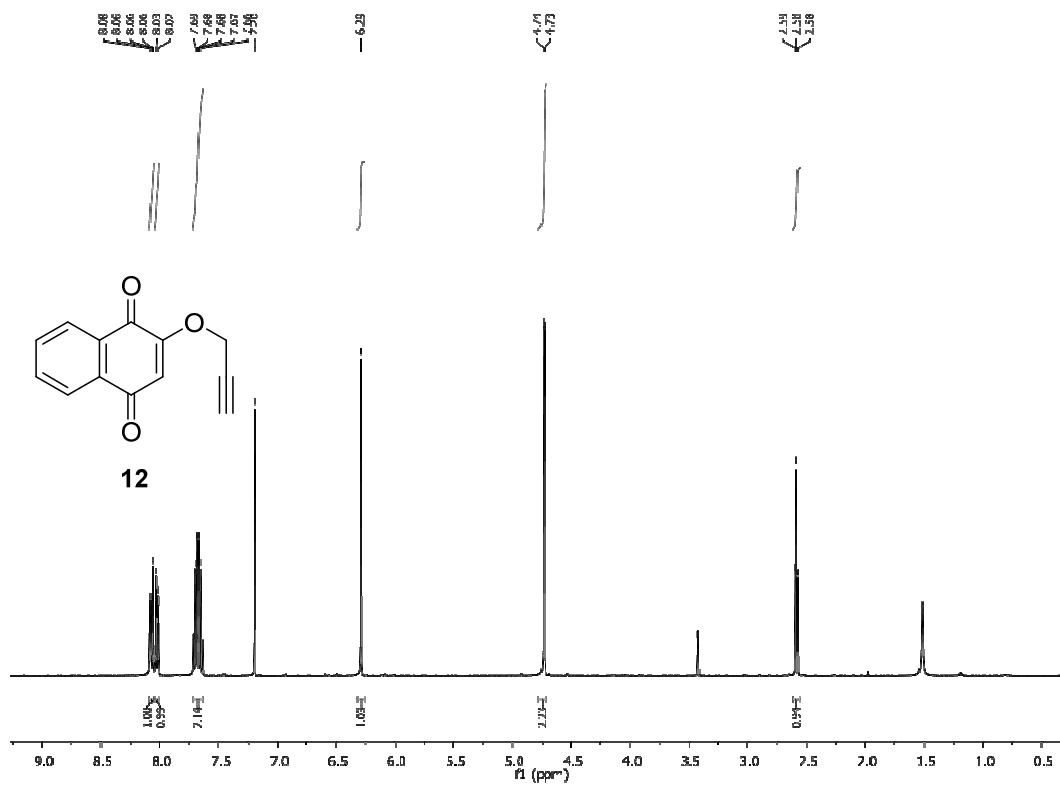
Operator Jose Carlos Tomaz
Instrument micrOTOF



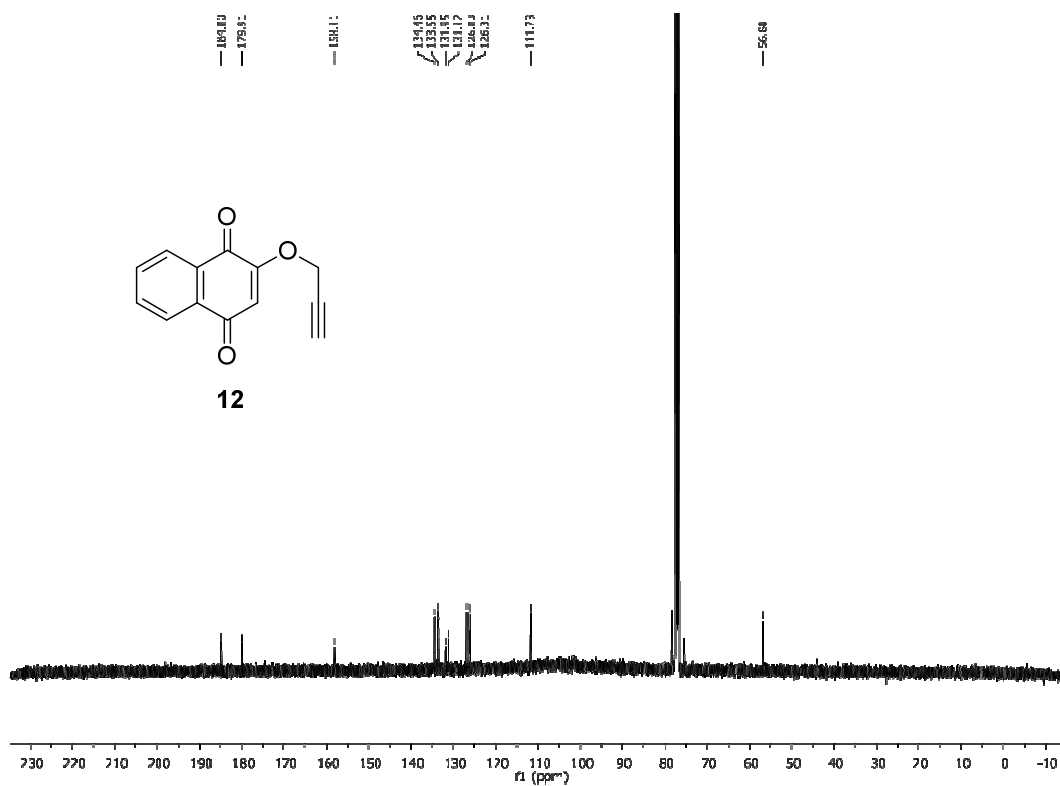
Anexo 9. Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto 6.



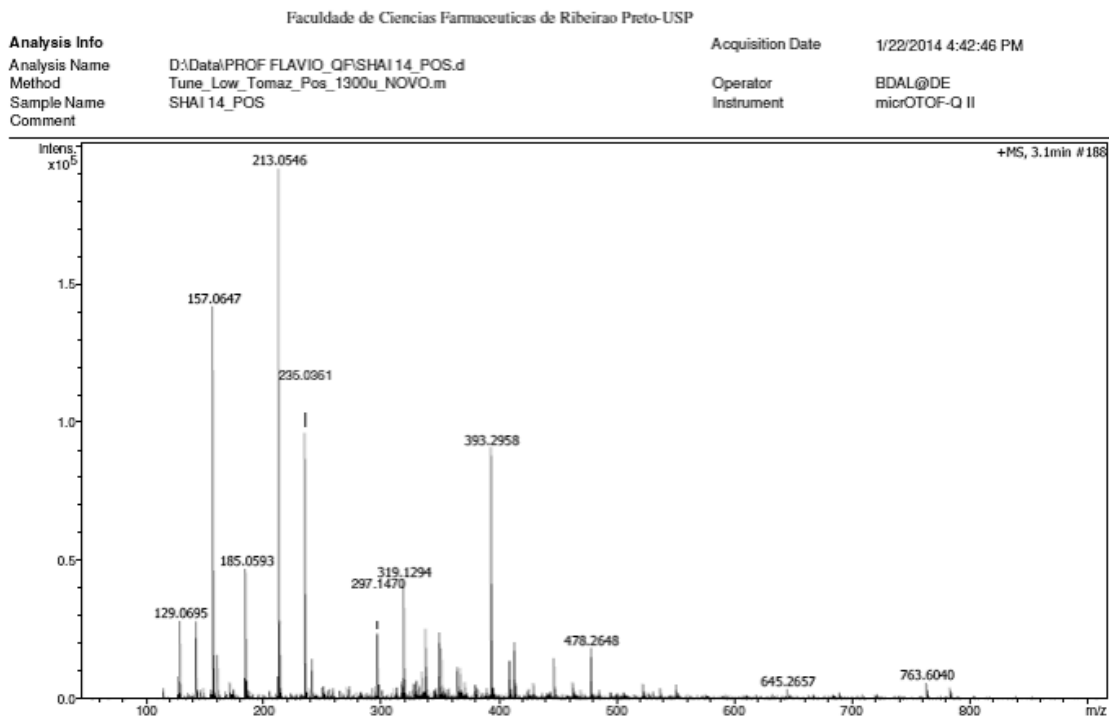
Anexo 10. Espectro de IV (disco de KBr) do composto 6.



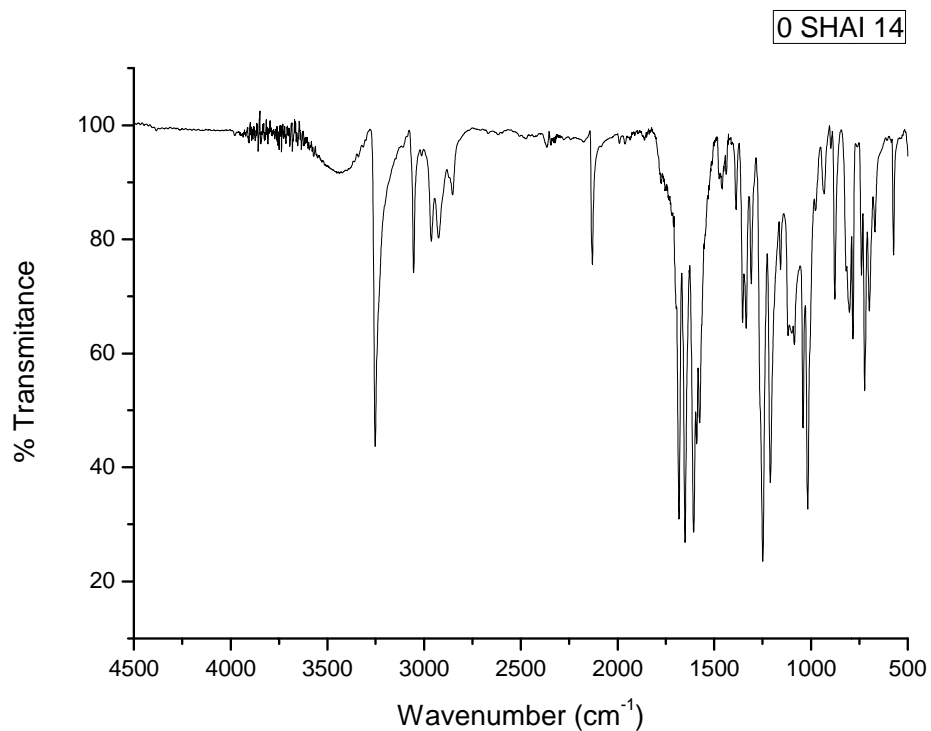
Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H do composto 12, 400 MHz, CDCl_3



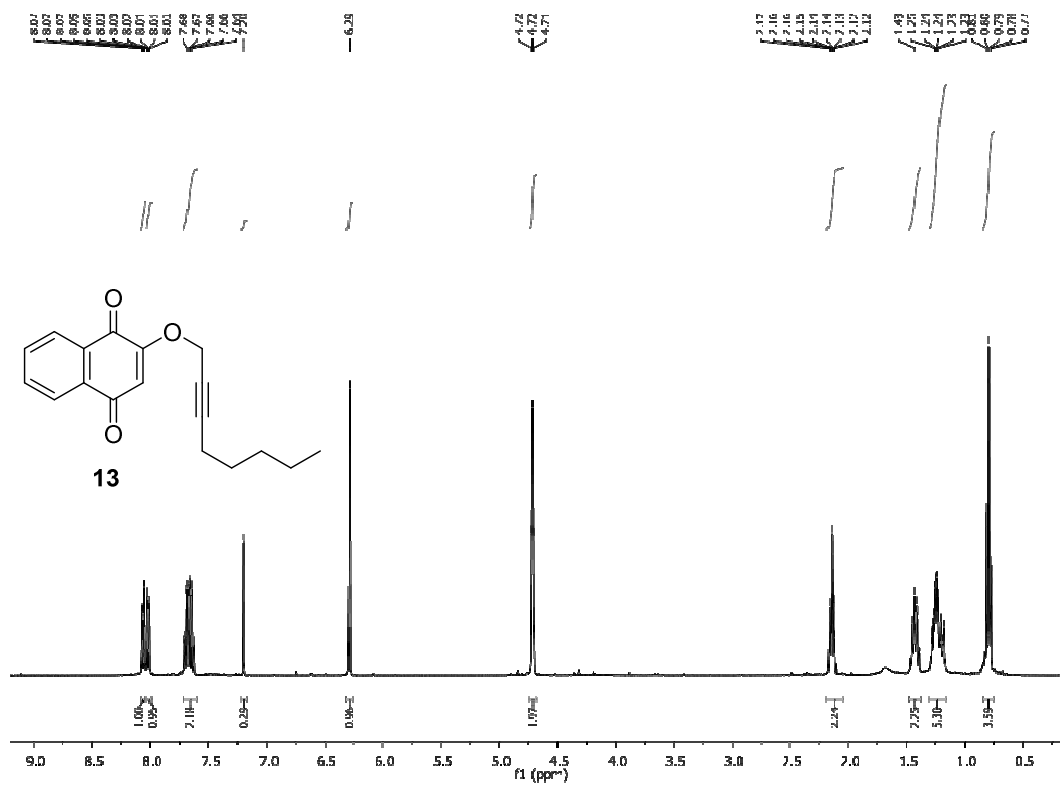
Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 12, 101 MHz, CDCl_3 .



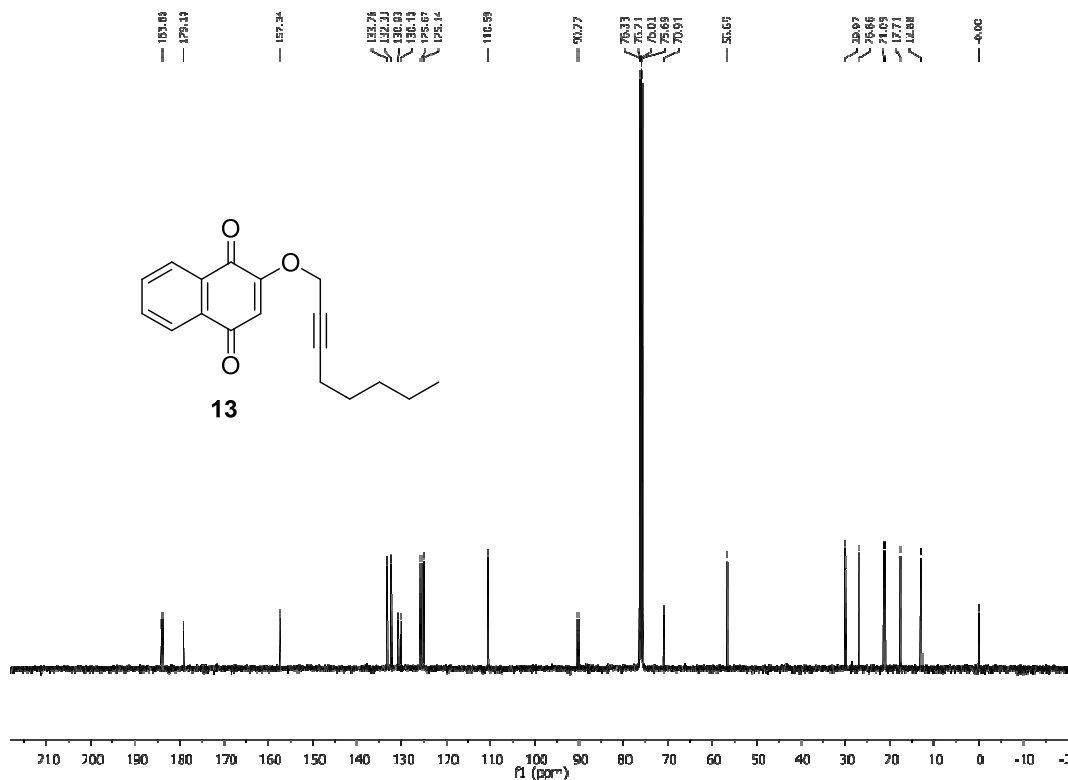
Anexo 13. Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto **12**.



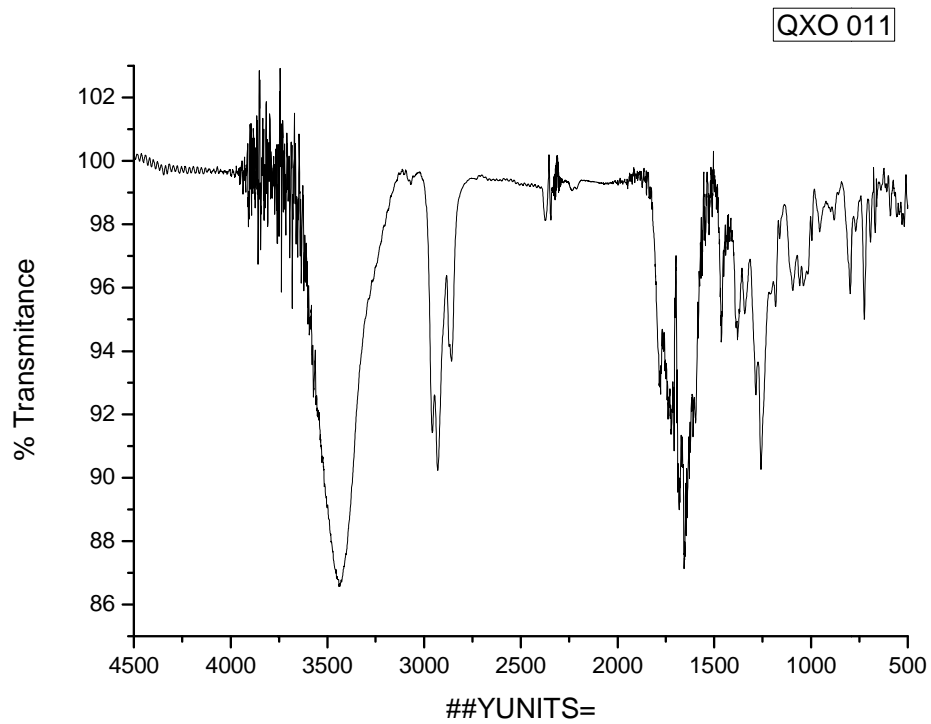
Anexo 14. Espectro de IV (disco de KBr) do composto **12**.



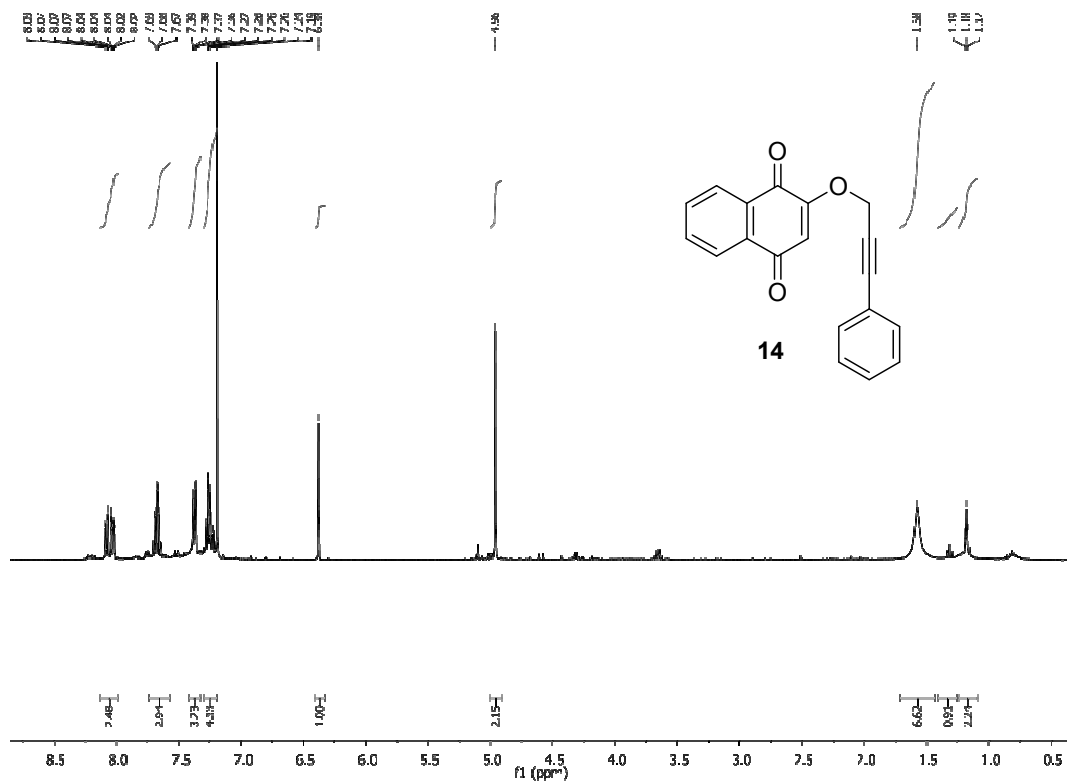
Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H do composto 13, 400 MHz, CDCl_3



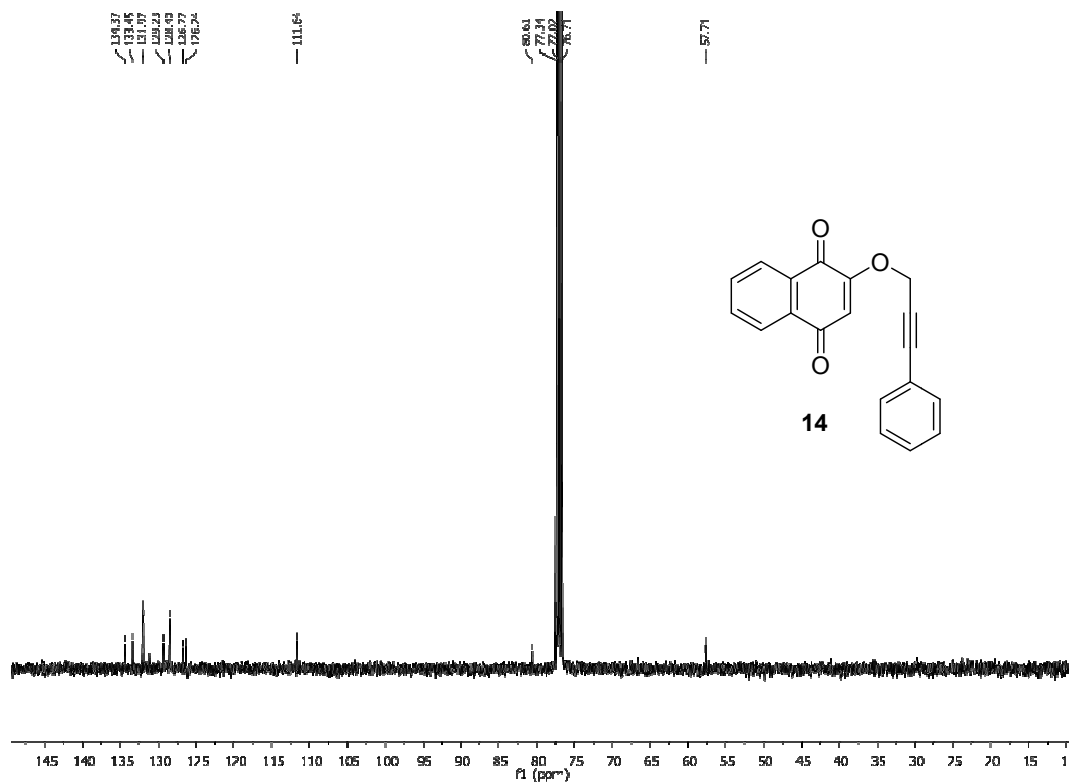
Anexo 16. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 13, 101 MHz, CDCl_3 .



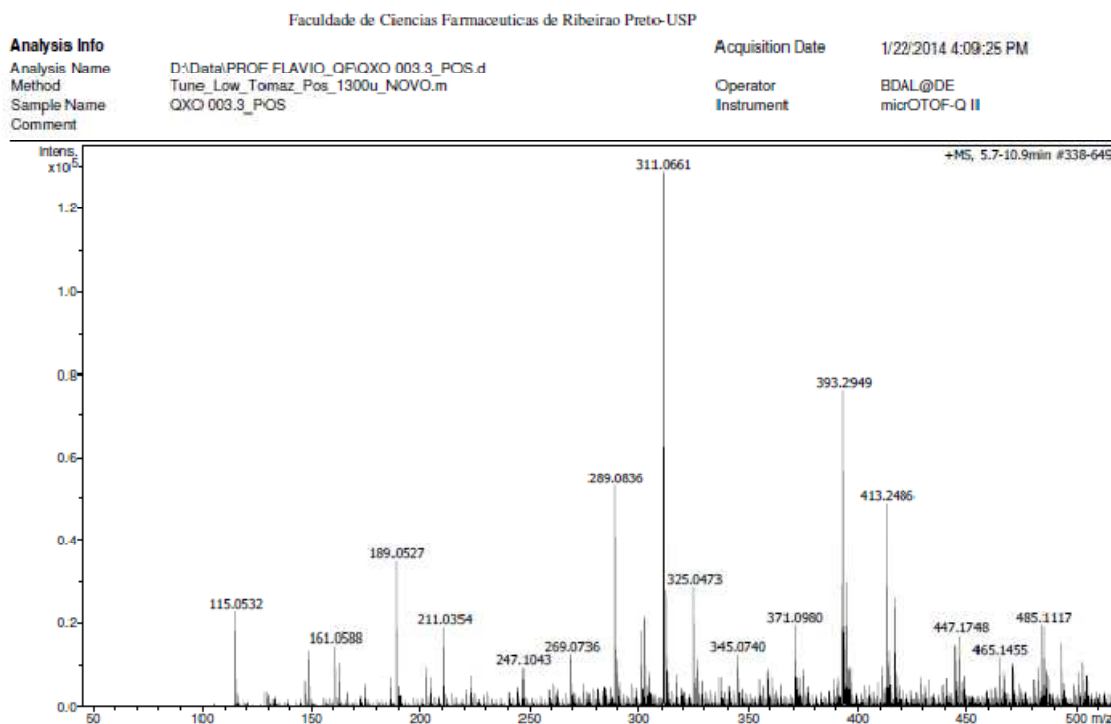
Anexo 17. Espectro de IV (disco de KBr) do composto **13**.



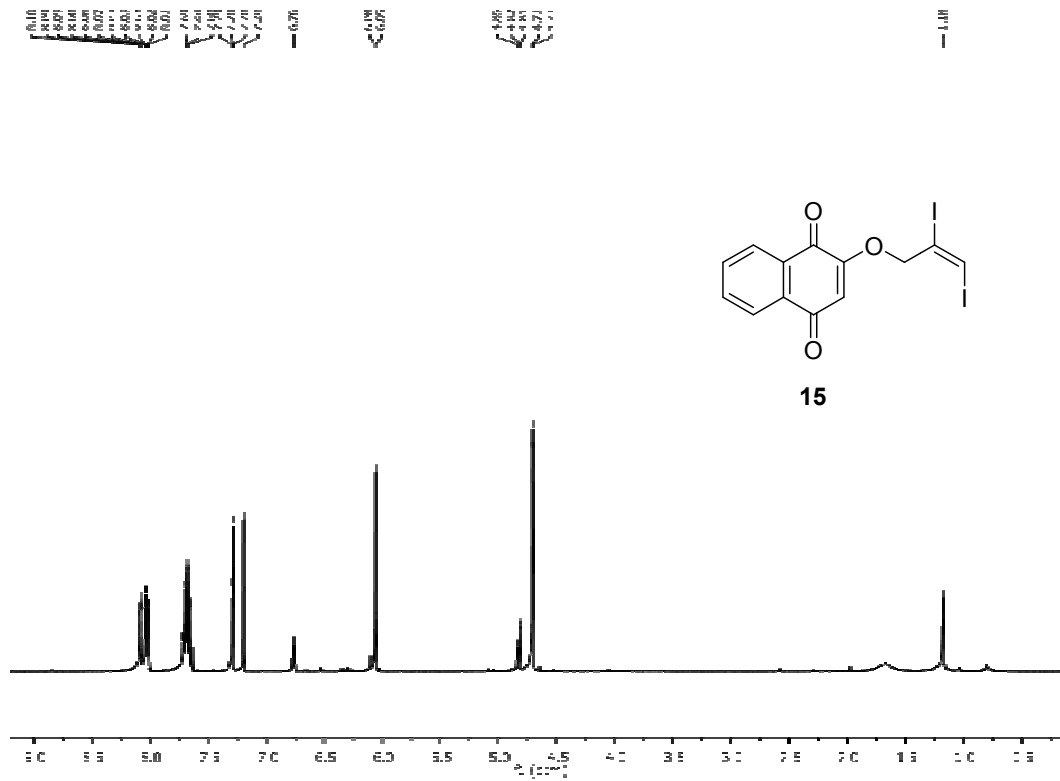
Anexo 18. Espectro de RMN de ^1H do composto **14**, 400 MHz, CDCl_3



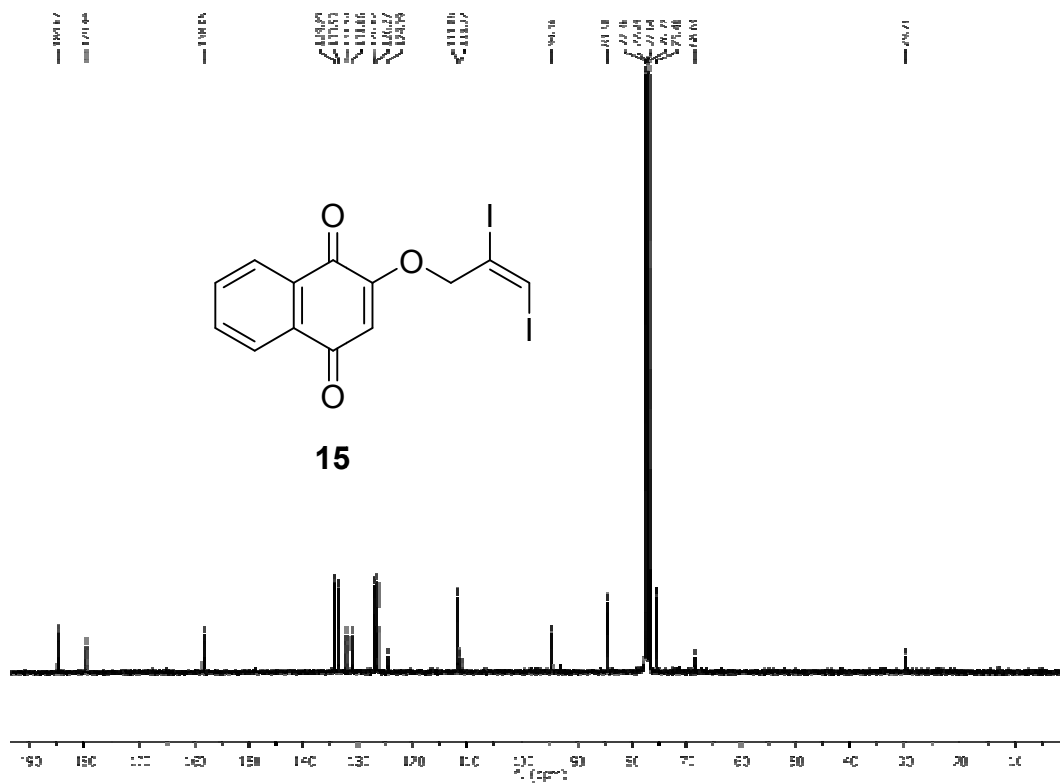
Anexo 19. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **14**, 101 MHz, CDCl_3 .



Anexo 20 Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto **14**.



Anexo 21. Espectro de RMN de ^1H do composto **15**, 400 MHz, CDCl_3



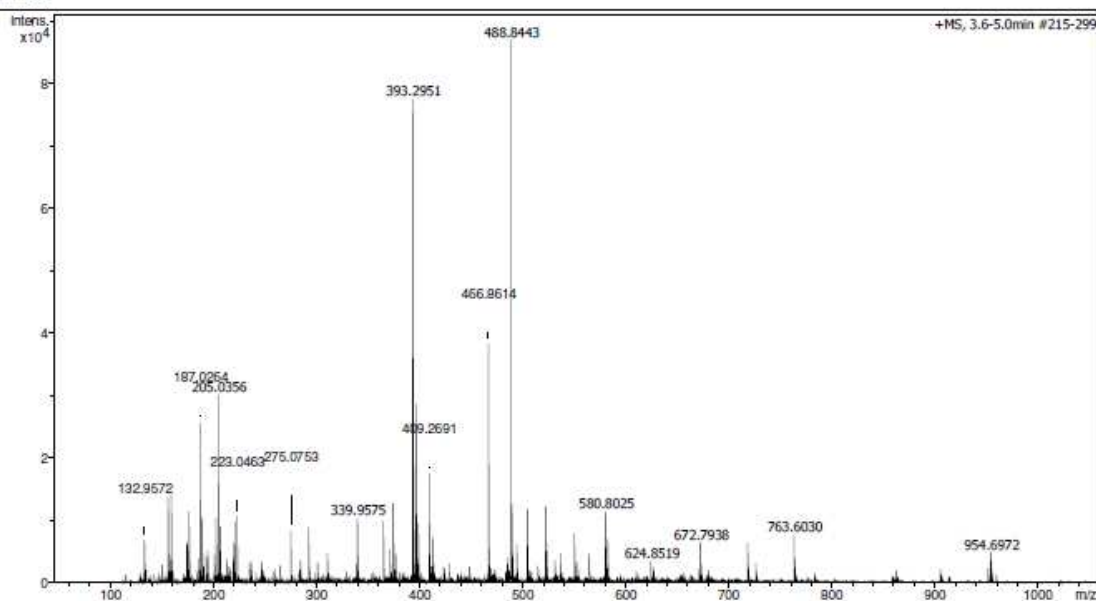
Anexo 22. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **15**, 101 MHz, CDCl_3

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP

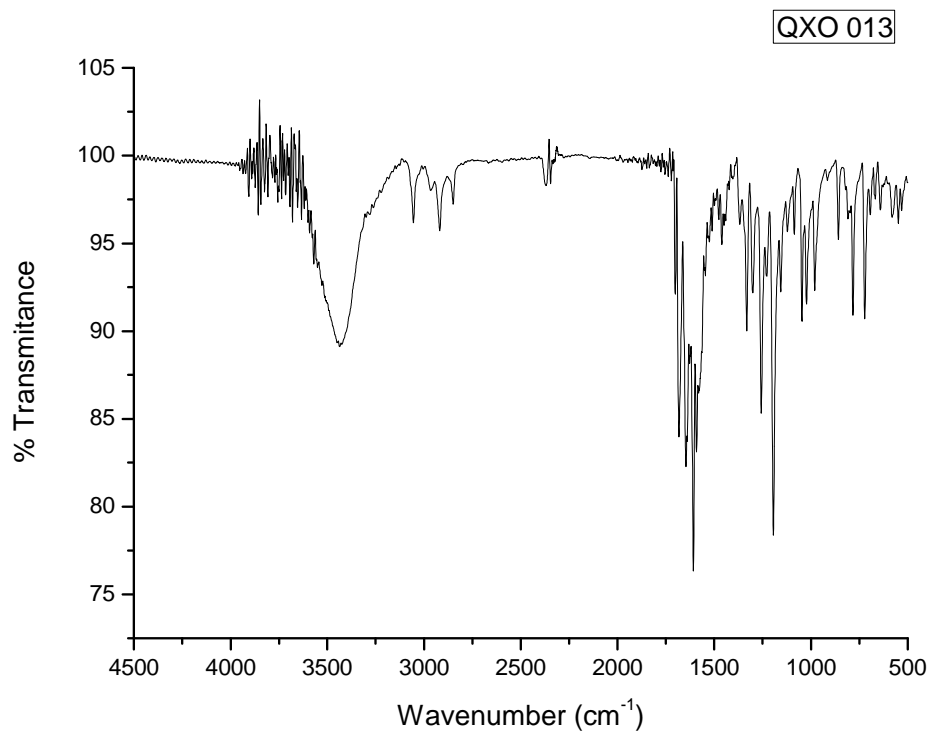
Analysis Info

Analysis Name D:\Data\PROF FLAVIO_QF\QXO 013_POS.d
Method Tune_Low_Tomaz_Pos_1300u_NOVO.m
Sample Name QXO 013_POS
Comment

Acquisition Date 1/22/2014 5:11:16 PM
Operator BDAL@DE
Instrument micrOTOF-Q II

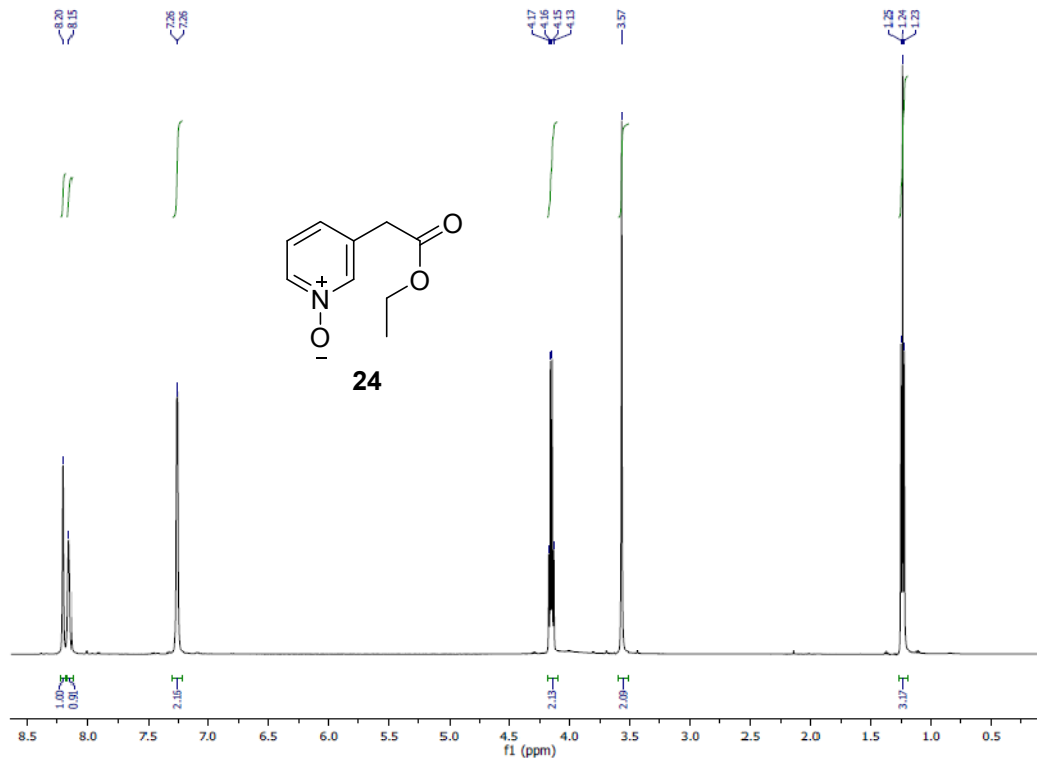


Anexo 23 Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto **15**.

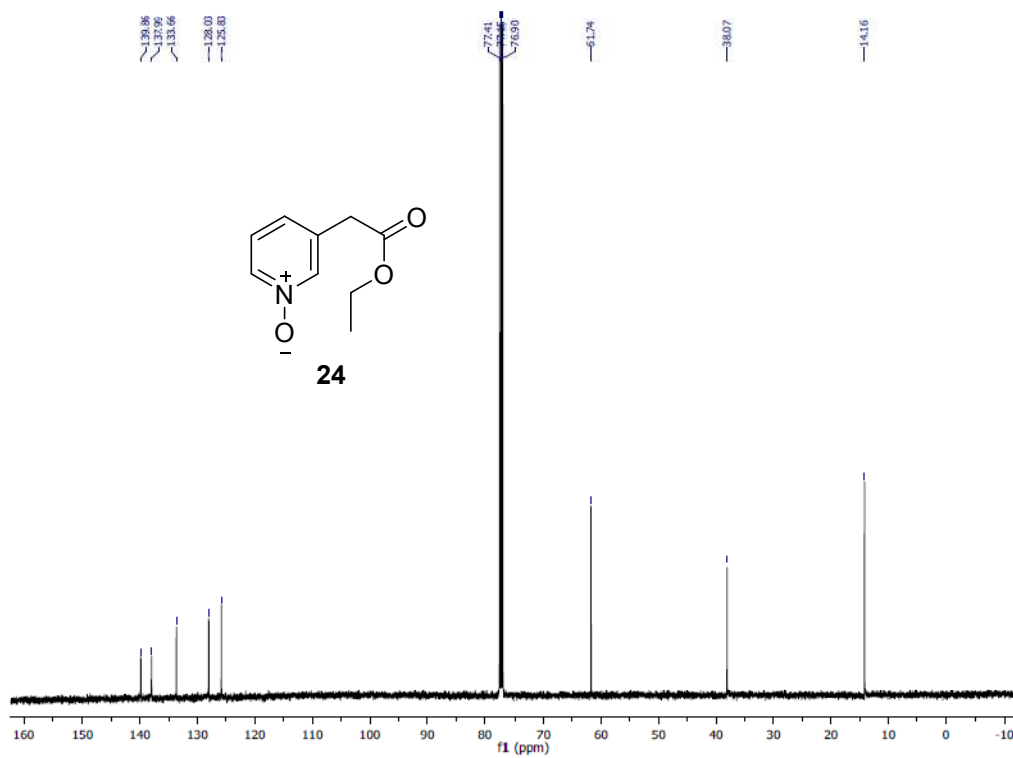


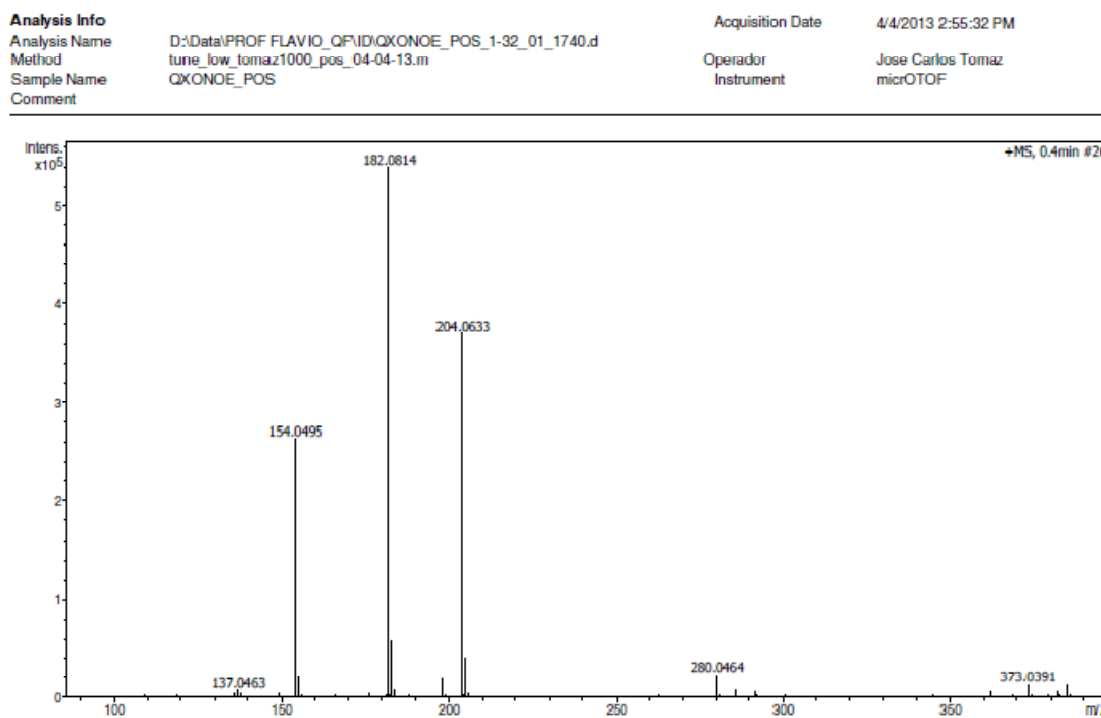
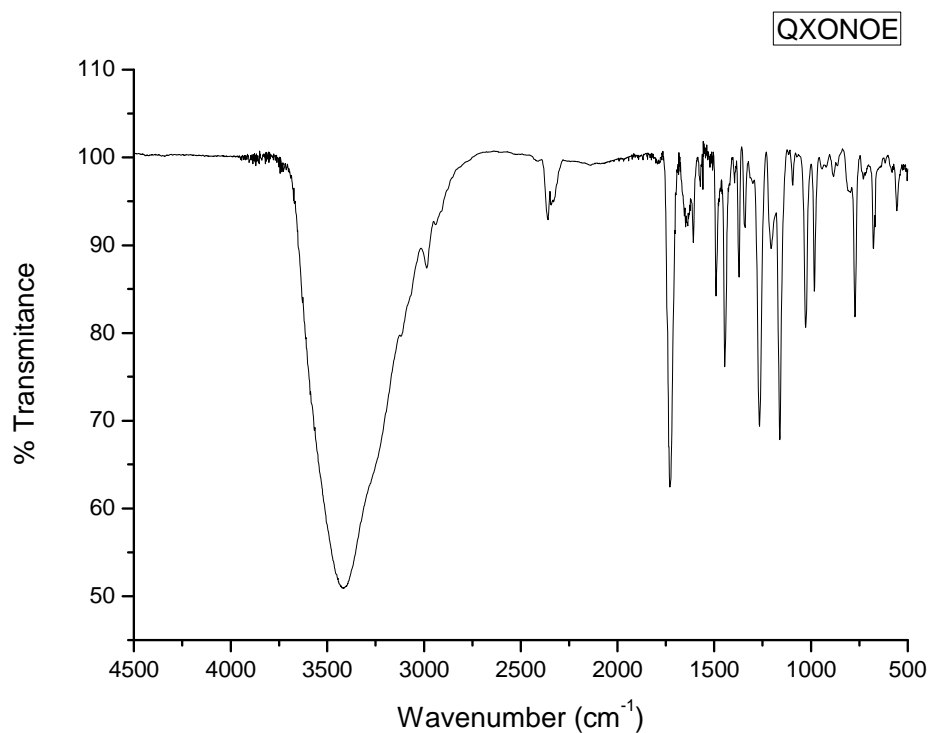
Anexo 24. Espectro de IV (disco de KBr) do composto **15**.

ANEXOS – CAPÍTULO II

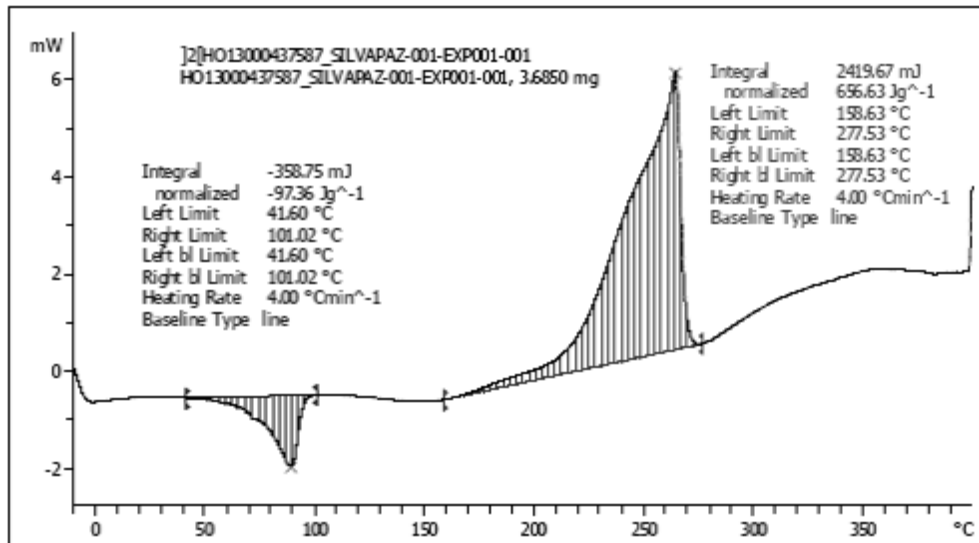


Anexo 25 Espectro de RMN de ^1H do composto **24**, 300 MHz, CDCl_3 .

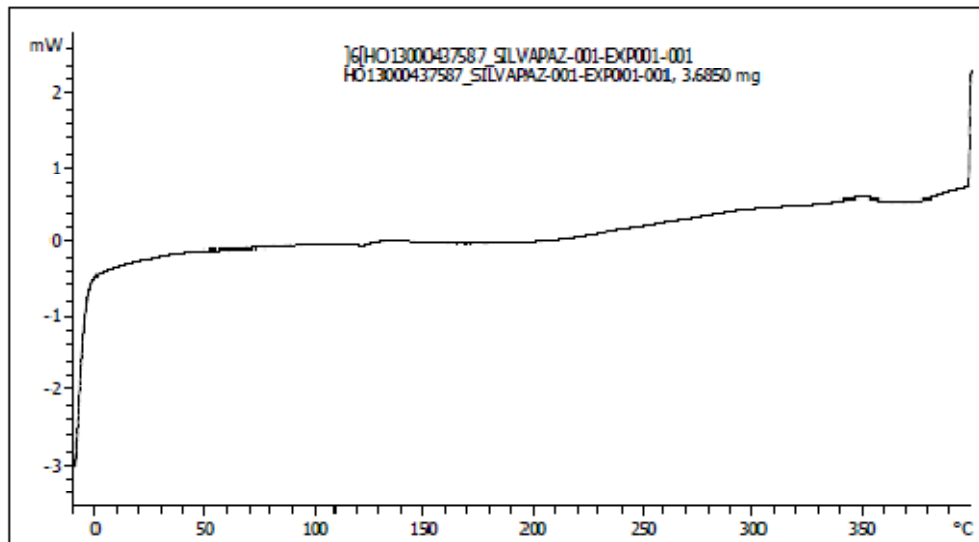


Anexo 26. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **24**, 75 MHz, CDCl_3 .**Anexo 27.** Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto **24**.**Anexo 28.** Espectro de IV (disco de KBr) do composto **24**.

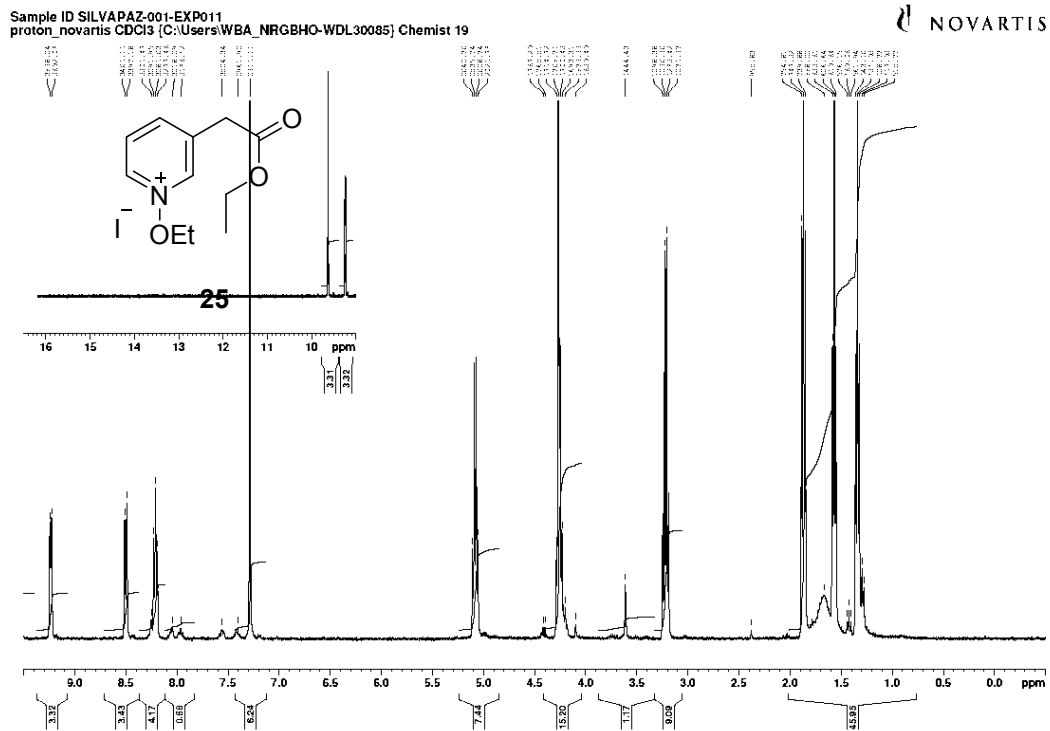
***exo** HO13000437587_SILVAPAZ-001-EXP001-001_1S 13.06.2013 13:17:01



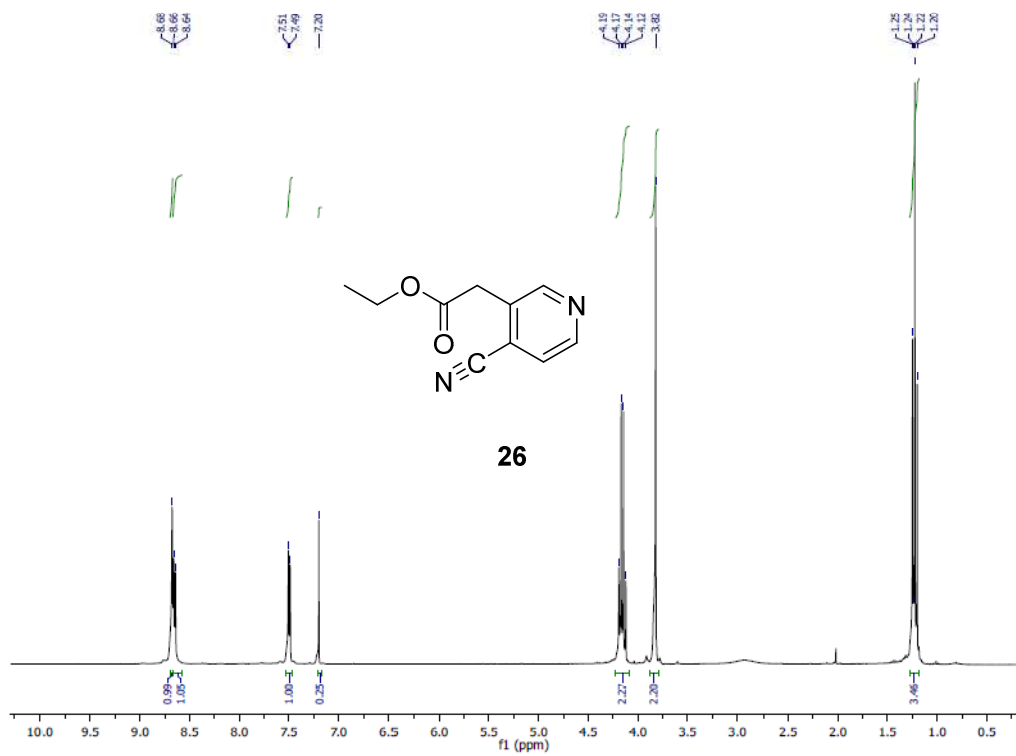
***exo** HO13000437587_SILVAPAZ-001-EXP001-001_2n 13.06.2013 13:18:23



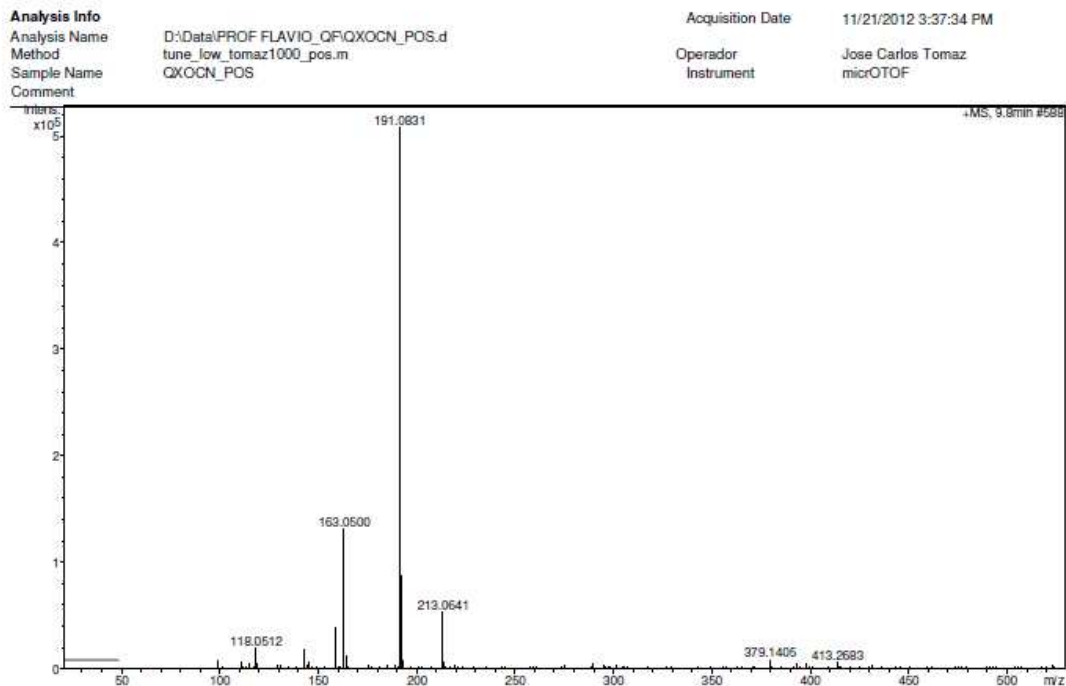
Anexo 29. Análise de DSC do composto 24.



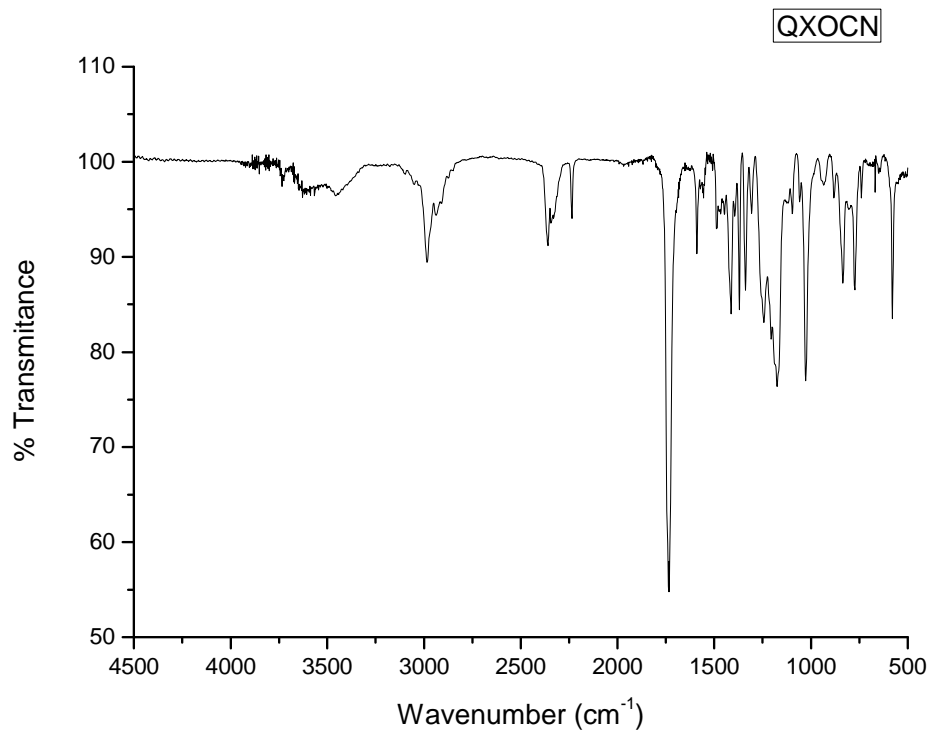
Anexo 30. Espectro de RMN de ^1H do composto **25**, 300 MHz, CDCl₃



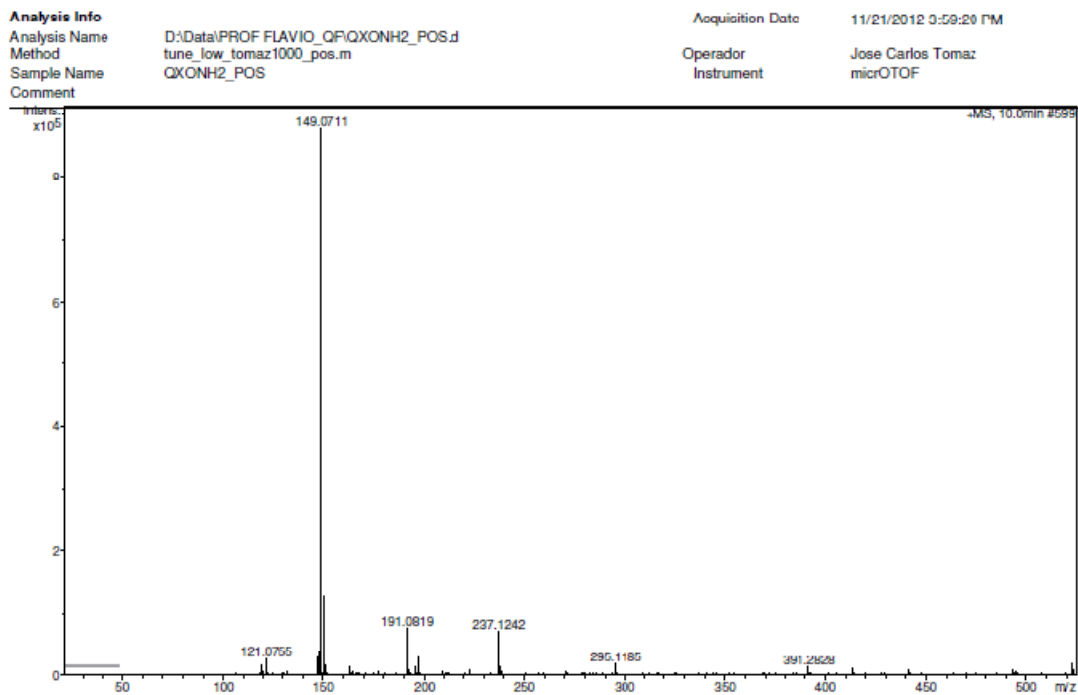
Anexo 31. Espectro de RMN de ^1H do composto **26**, 300 MHz, Metanol-*d*₄.



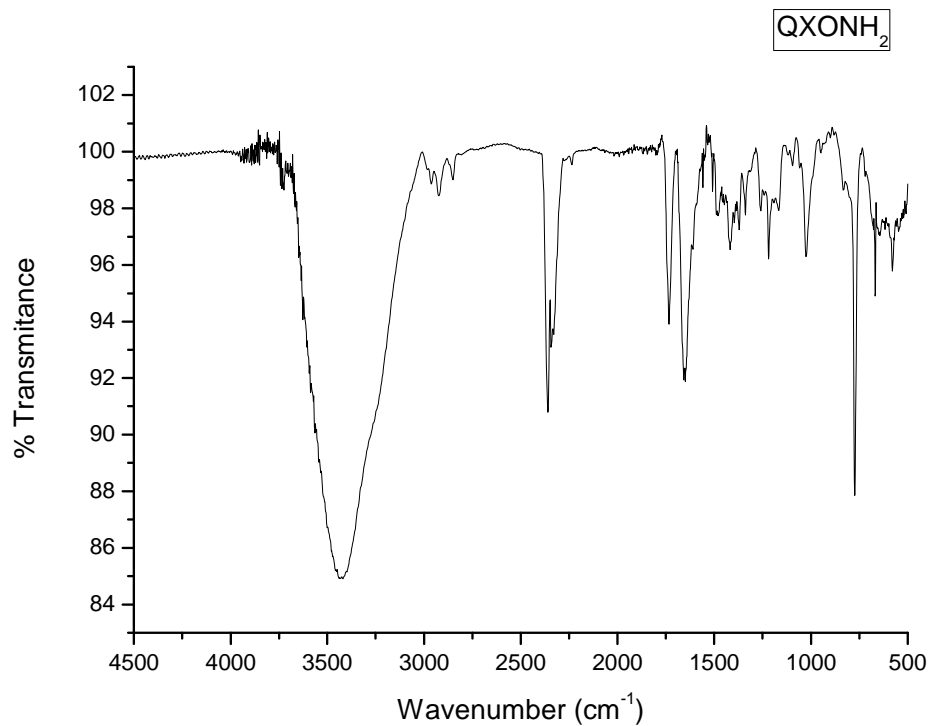
Anexo 32. Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto **26**.



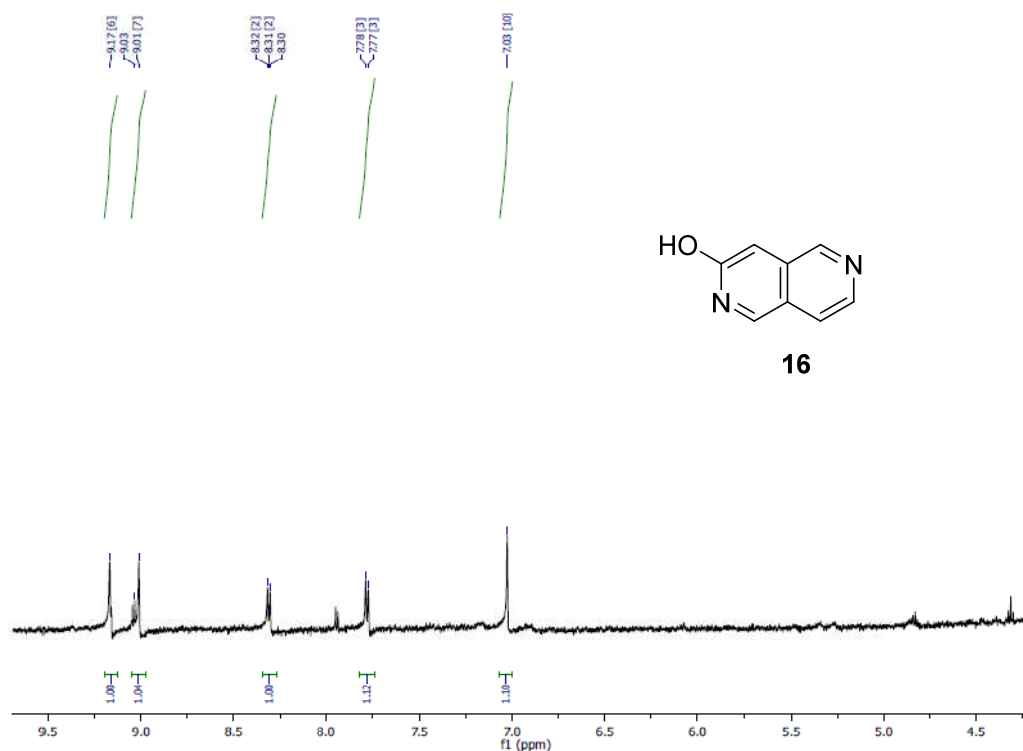
Anexo 33. Espectro de IV (disco de KBr) do composto **26**.



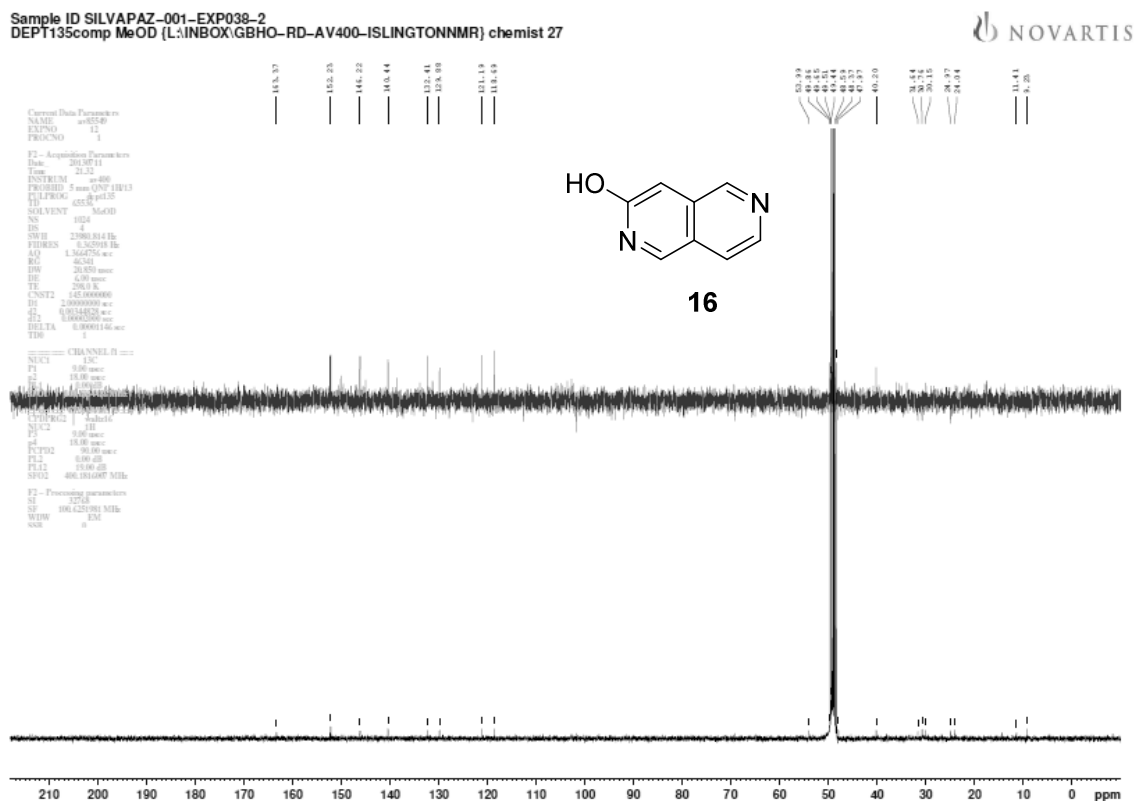
Anexo 36 Espectro deHRMS (ESI-MS) do composto **27**.

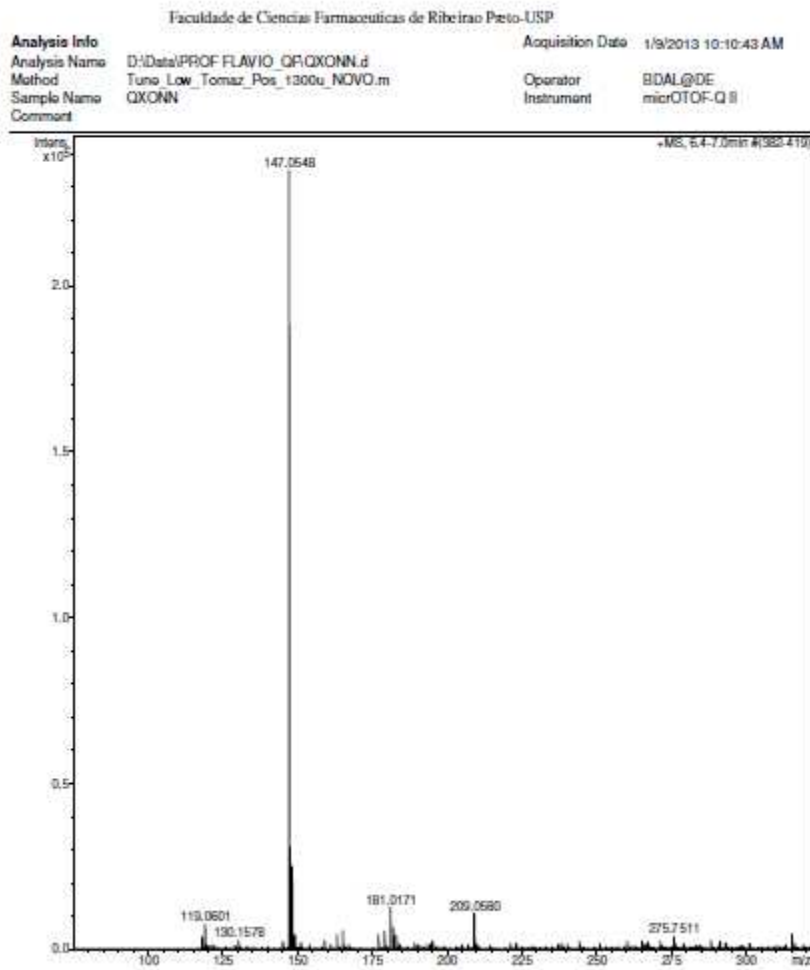


Anexo 37. Espectro de IV (disco de KBr) do composto **27**.

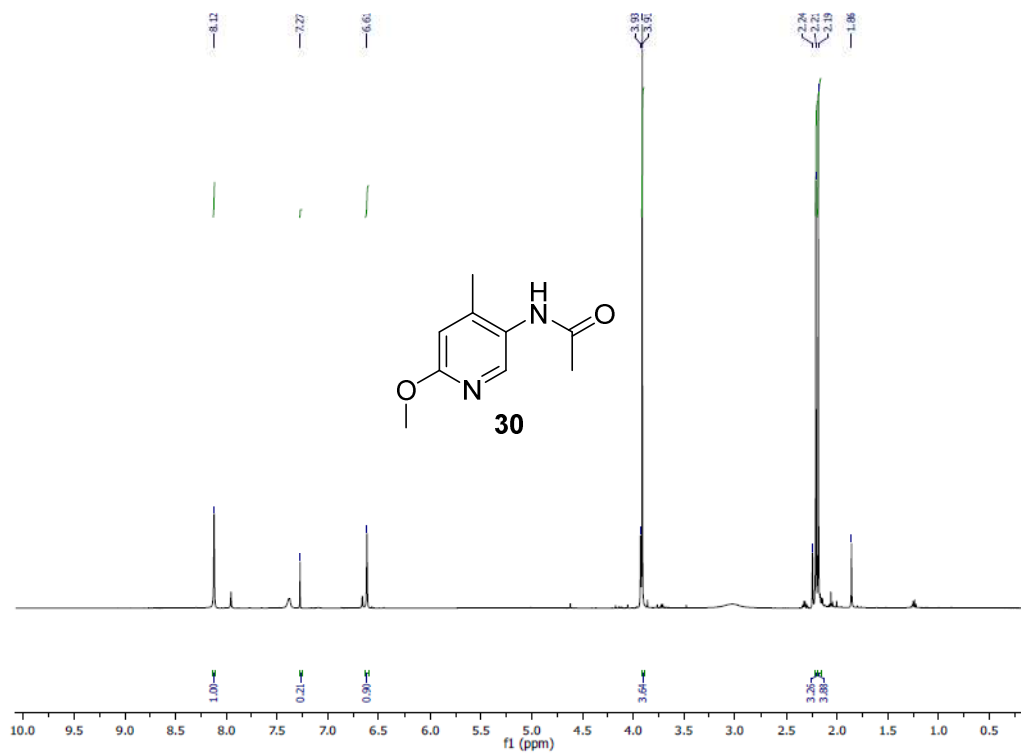


Anexo 38. Espectro de RMN de ^1H do composto 16, 500 MHz, CDCl_3 .

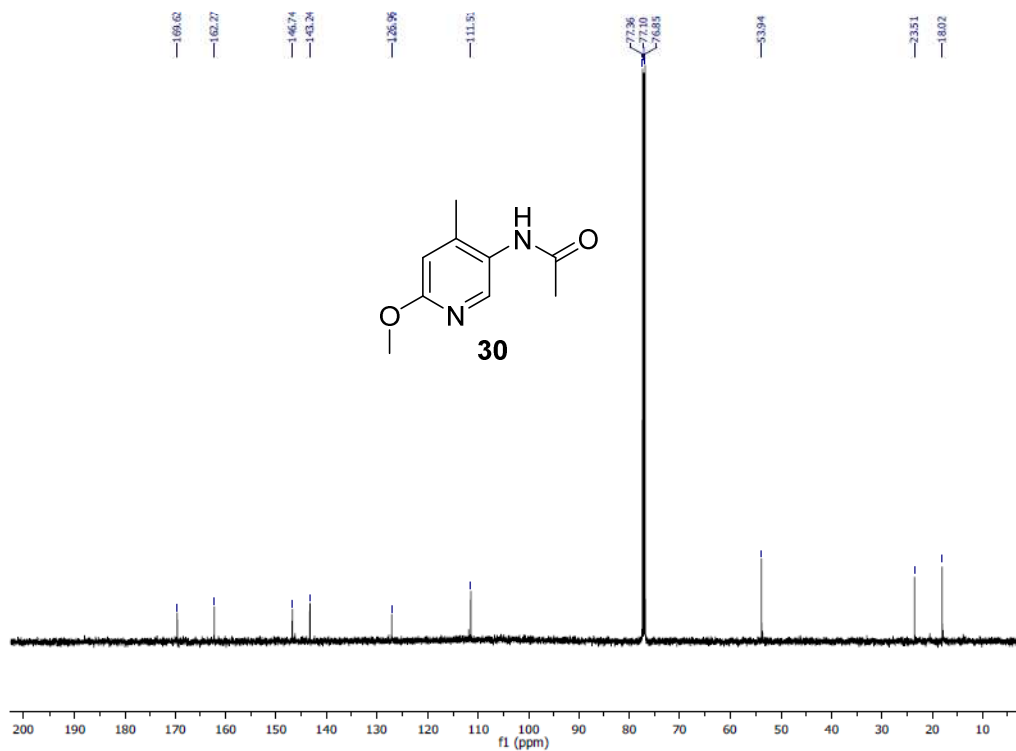




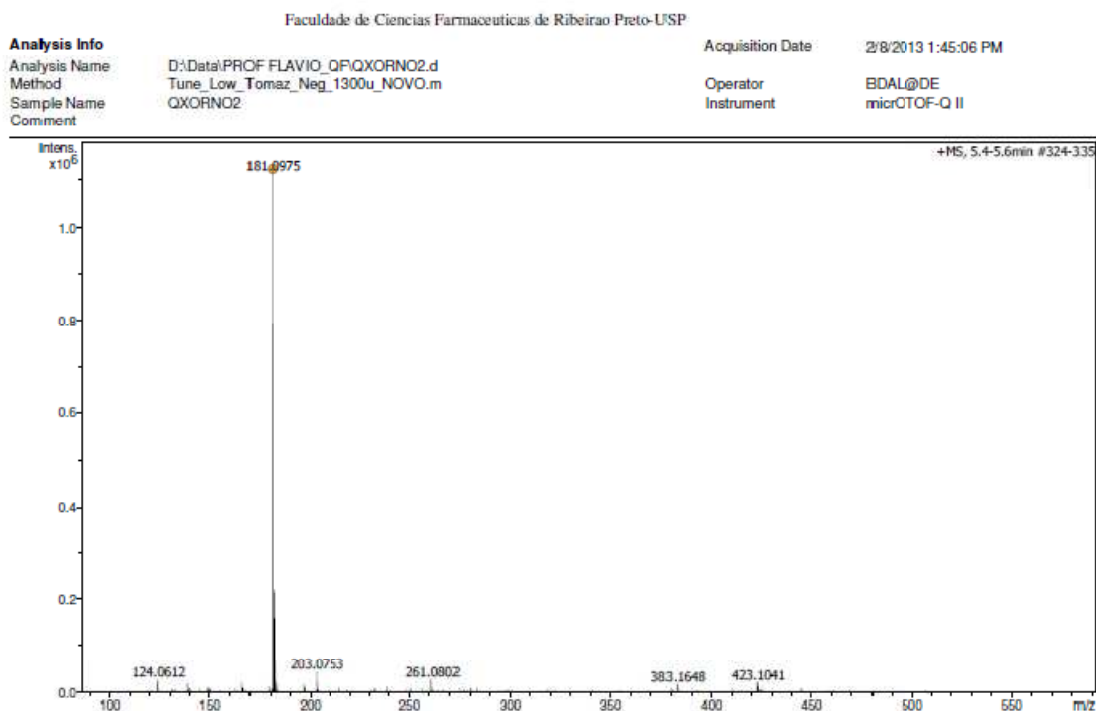
Anexo 40. Espectro deHRMS (ESI-MS) do composto **16**.



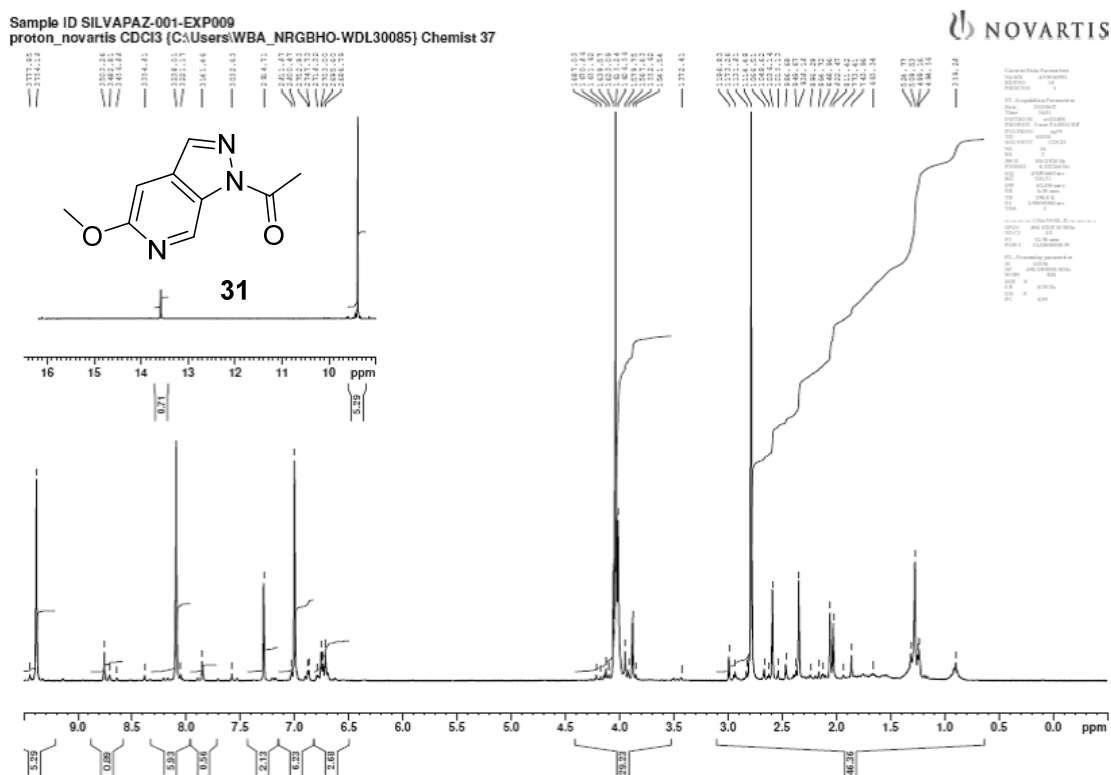
Anexo 41. Espectro de RMN de ^1H do composto **30**, 500 MHz, CDCl_3 .



Anexo 42. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **30**, 125 MHz, CDCl_3 .



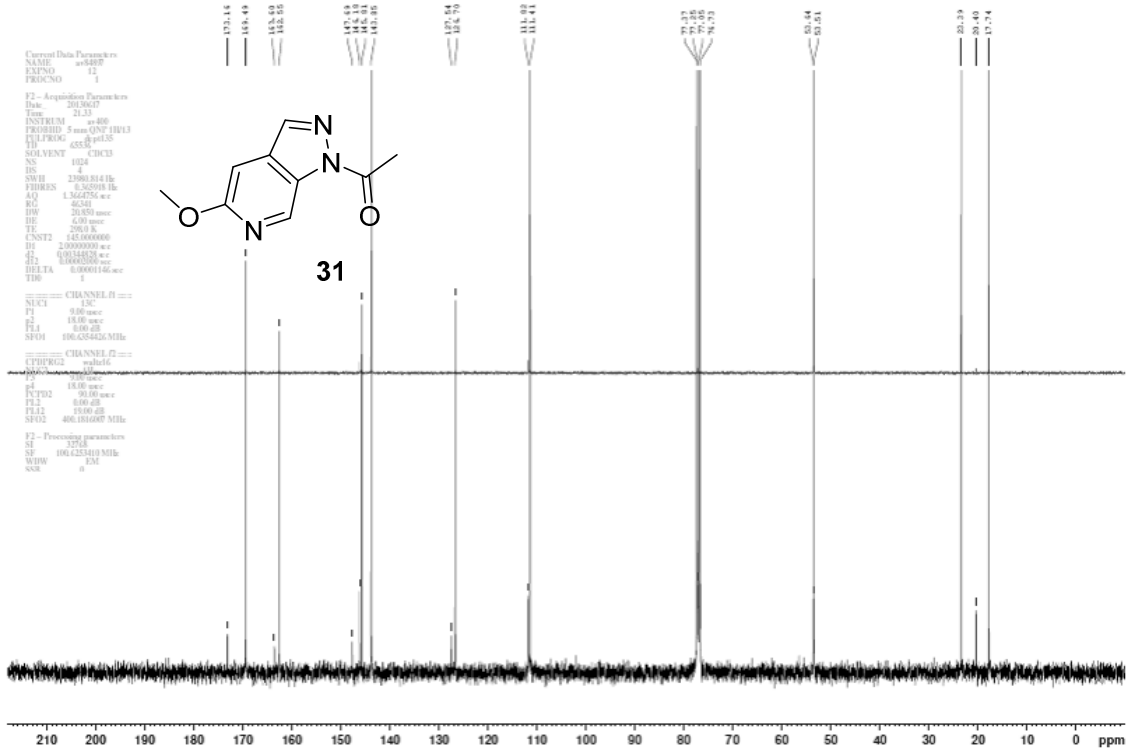
Anexo 43. Espectro deHRMS (ESI-MS) do composto **30**.



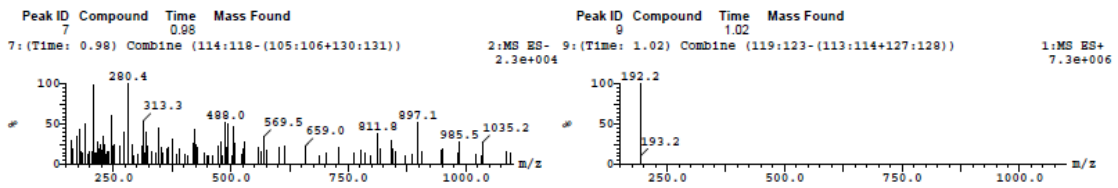
Anexo 44. Espectro de RMN de ¹H do composto **31**, 400 MHz, CDCl₃



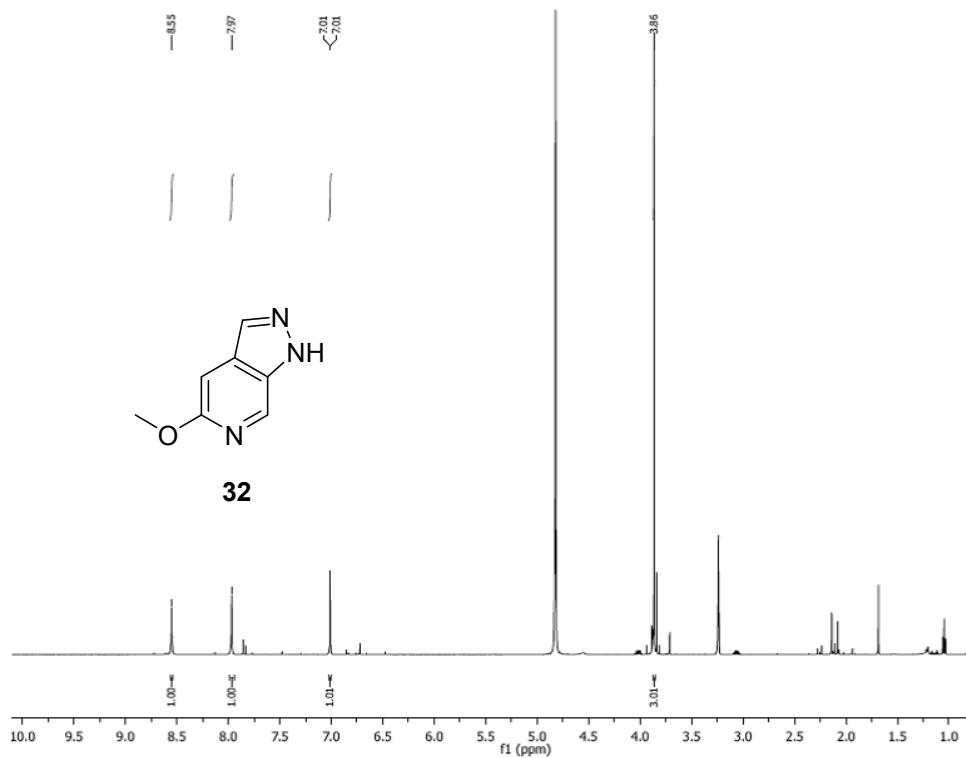
Sample ID SILVAPAZ-001-006
DEPT135comp CDC13 [L:\INBOX\GBHO-RD-AV400-ISLINGTONNMR] chemist 26



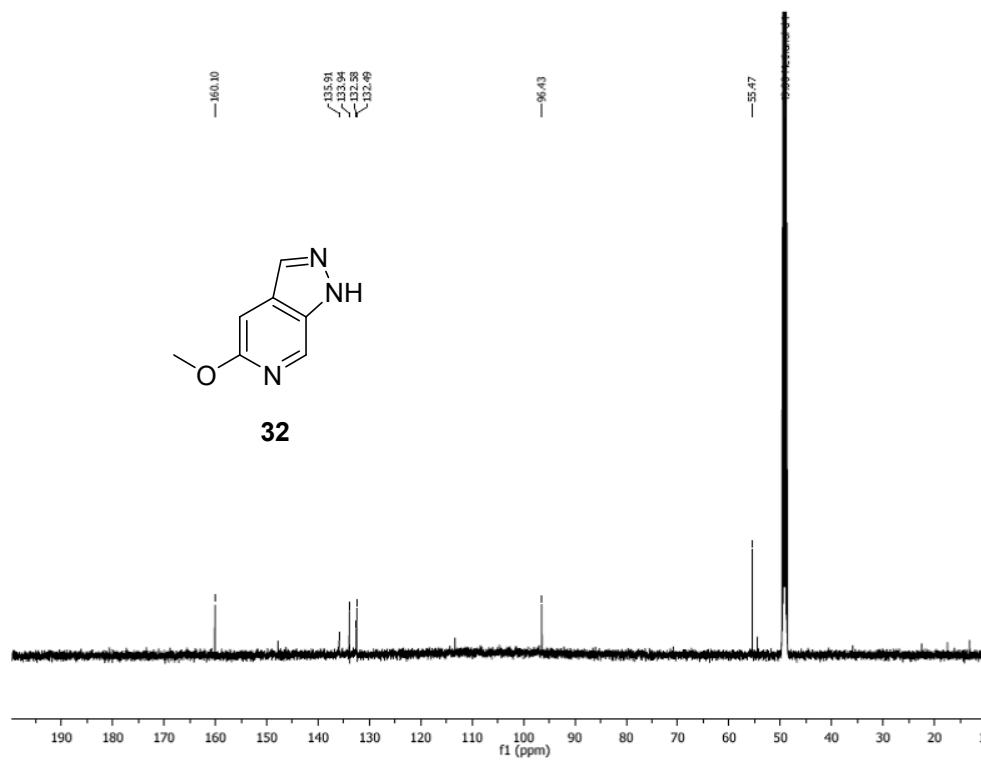
Anexo 45. Espectro de RMN de ¹³C do composto 131, 101 mHz, CDCl₃.



Anexo 46. Espectro de MS (CL-EM) do composto 31.



Anexo 47. Espectro de RMN de ^1H do composto **3**, 500 MHz, Metanol-4d.



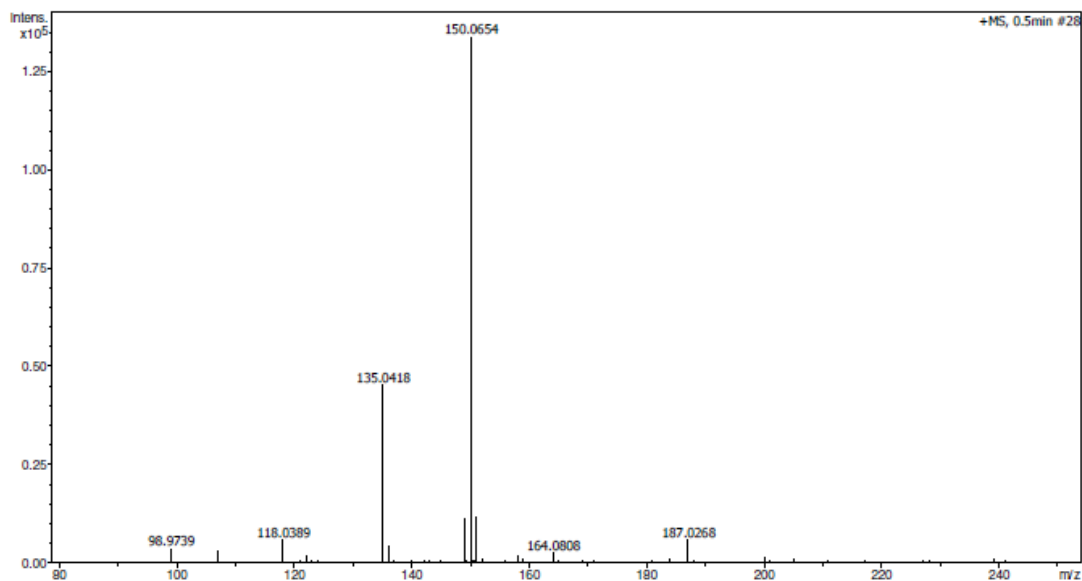
Anexo 48 . Espectro de RMN de ^{13}C do composto **32**, 125 MHz, Metanol-4d..

Analysis Info

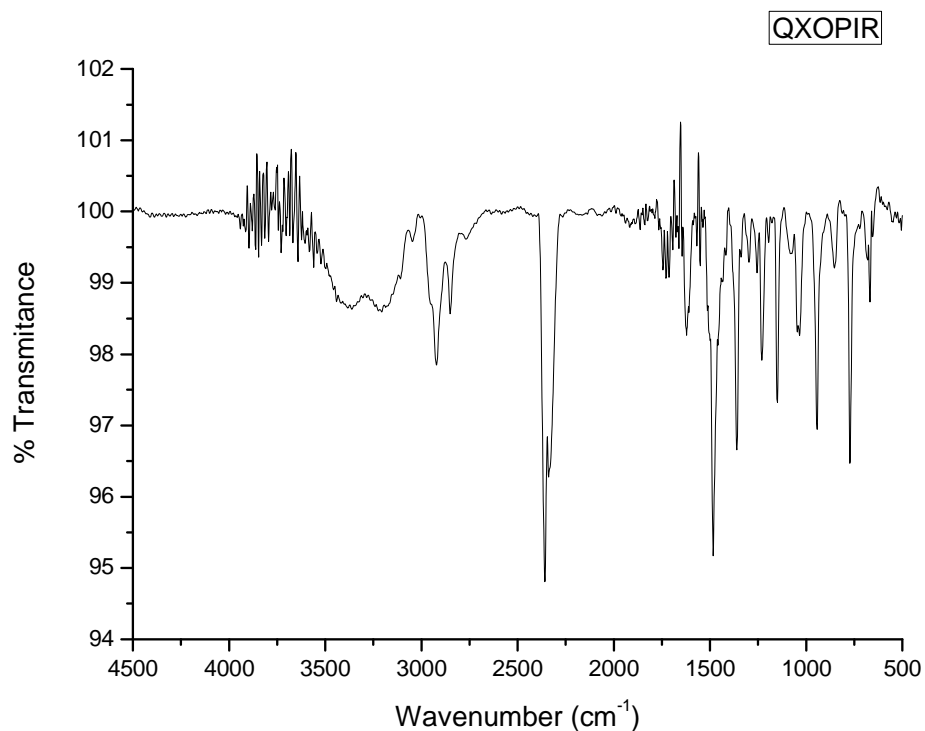
Analysis Name D:\Data\PROF FLAVIO_QFIDI\QXOPIR_POS_1-15_01_1723.d
Method tune_low_tomaz1000_pos_04-04-13.m
Sample Name QXOPIR_POS
Comment

Acquisition Date 4/4/2013 1:17:55 PM

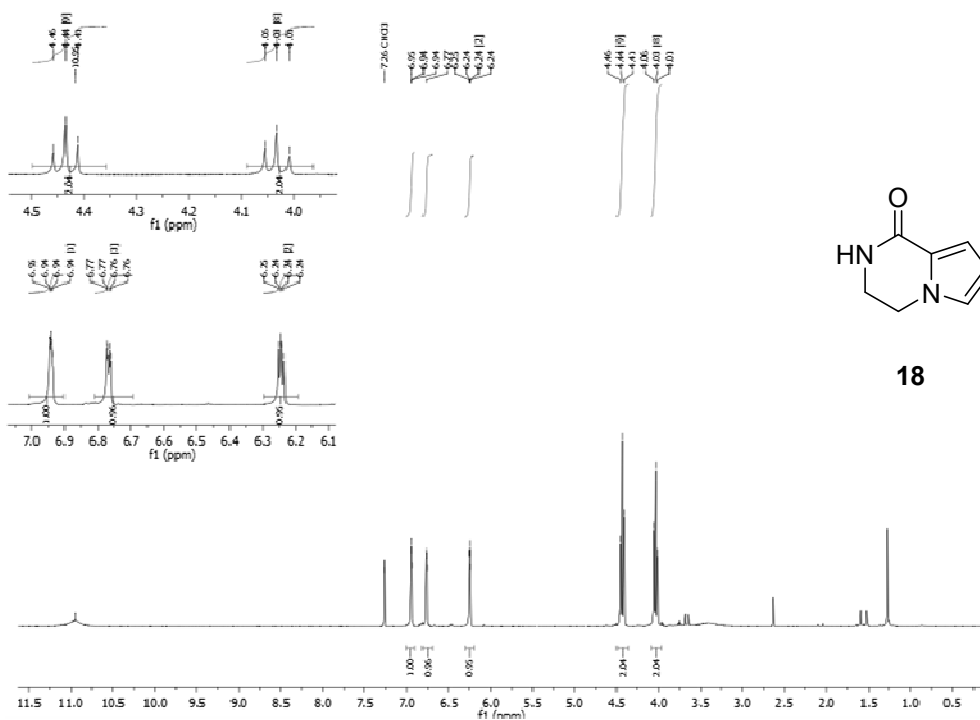
Operator Jose Carlos Tomaz
Instrument micrOTOF



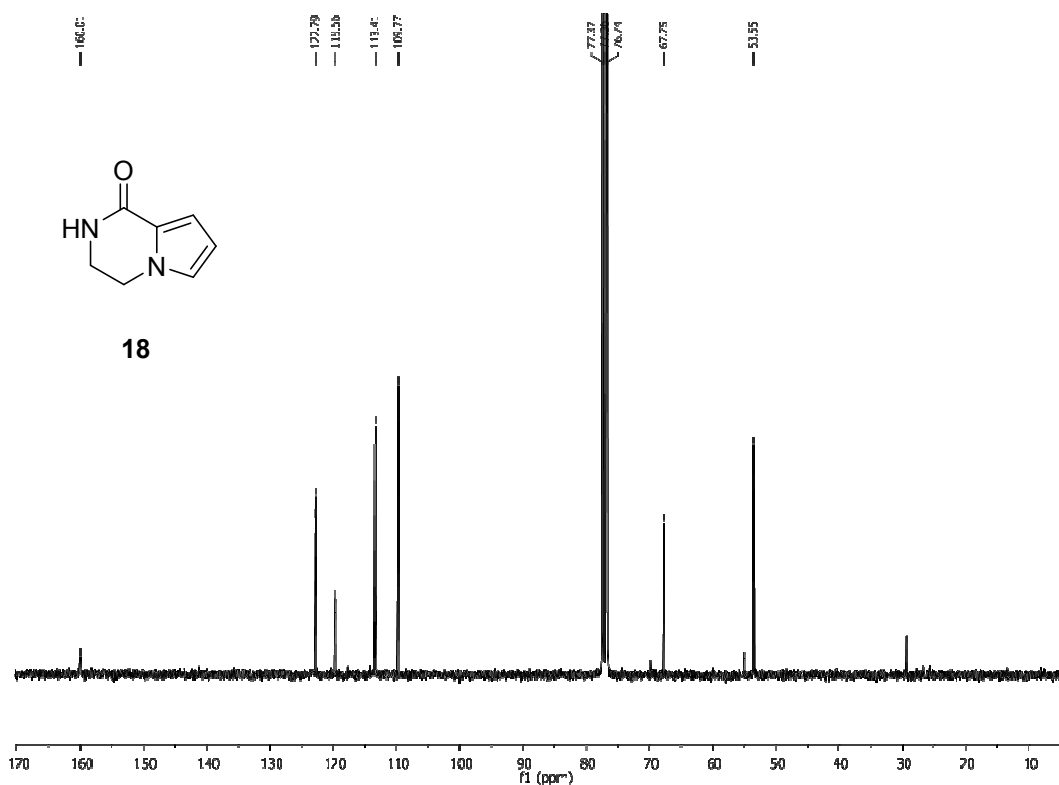
Anexo 49. Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto **32**.



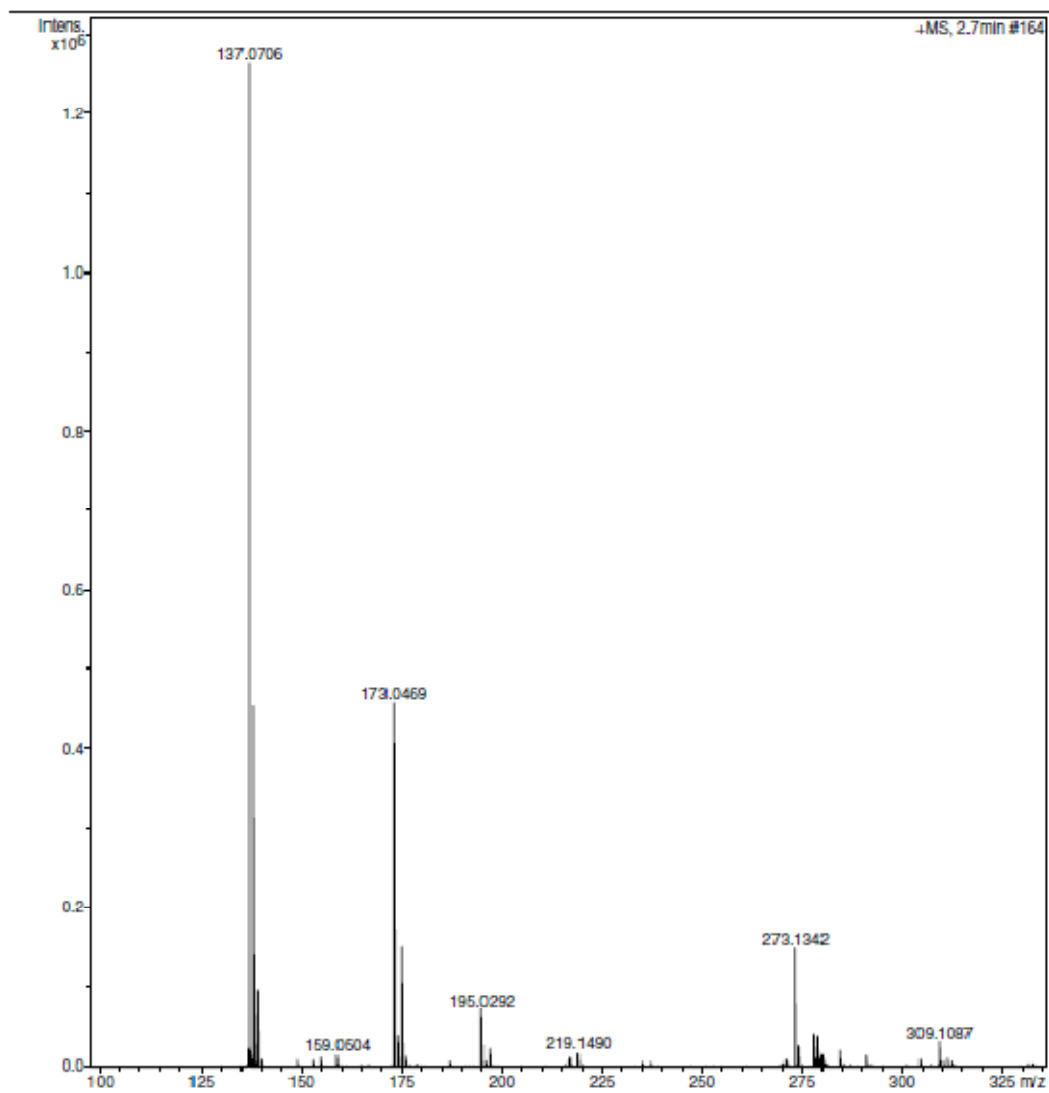
Anexo 50. Espectro de IV (disco de KBr) do composto **32**.



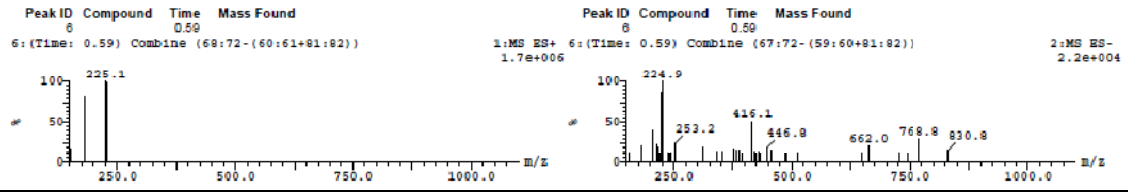
Anexo 51. Espectro de RMN de ^1H do composto **18**, 400 MHz, CDCl_3



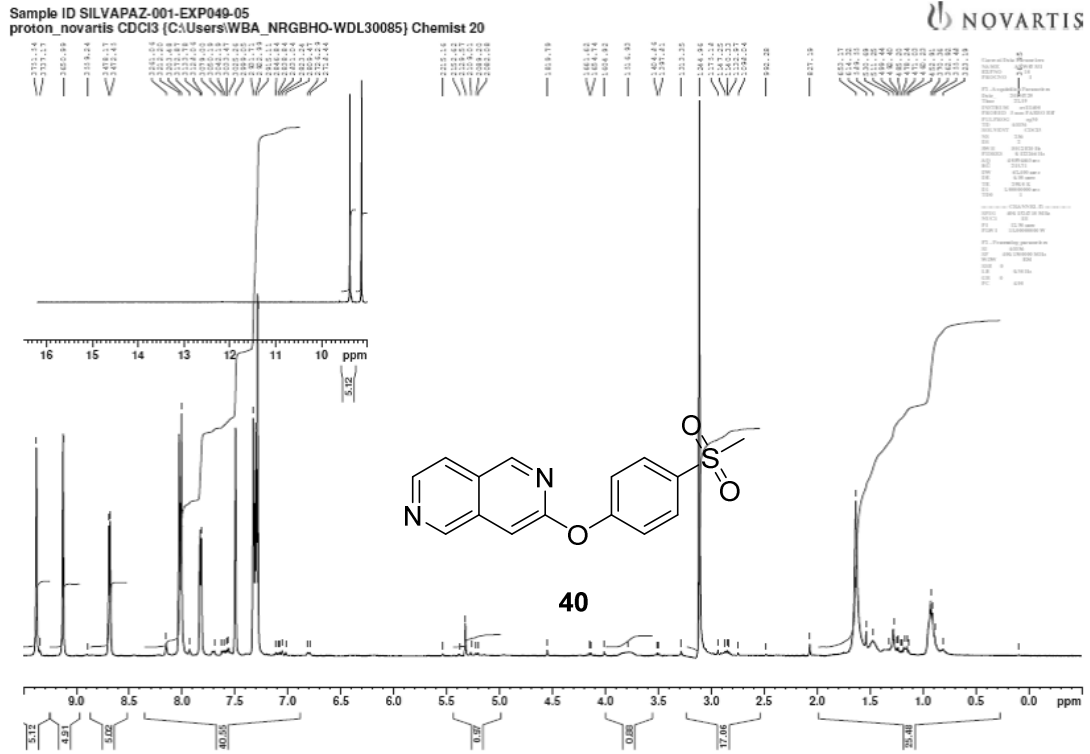
Anexo 52. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **18**, 101 MHz, CDCl_3 .



Anexo 53. Espectro deHRMS (ESI-MS) do composto **18**.



Anexo 56. Espectro de CL-EMdo composto **39**.



Anexo 57. Espectro de RMN de ¹H do composto **40**, 300 MHz, CDCl₃

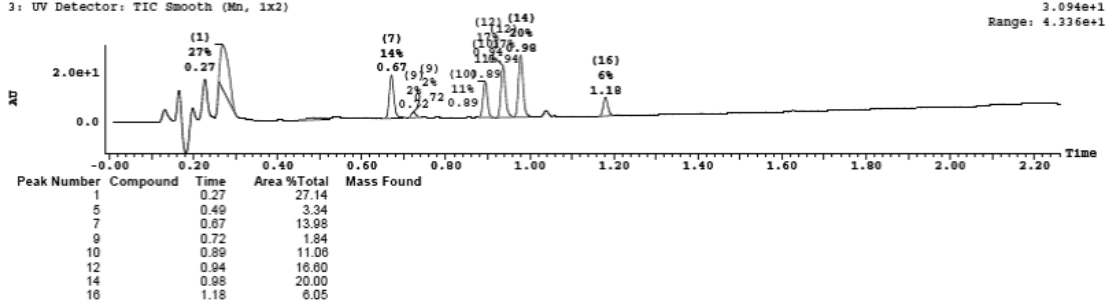
Sample ID SILVAPAZ-001-EXP049-5
carbonCPD_novartis CDCI3 (C:\Users\WBA_NRGBHO-WDL30085) Chemist 4



Anexo 58. Espectro de RMN de ¹³C do composto 40, 75 mHz, CDCl₃.

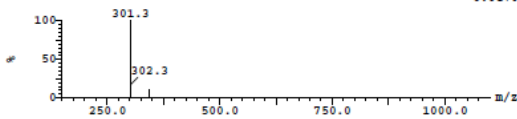
ID SILVAPAZ-001-EXP049-mwSamp 1 Vial 1:1 File AcqD_SILVAPAZ_130723155036

3: UV Detector: TIC Smooth (Mn, 1x2)



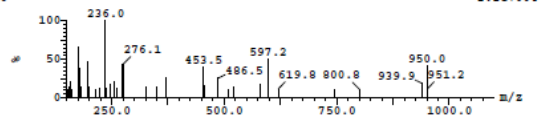
Peak ID Compound Time Mass Found

13: (Time: 0.89) Combine (104:108-(96:97+117:118))

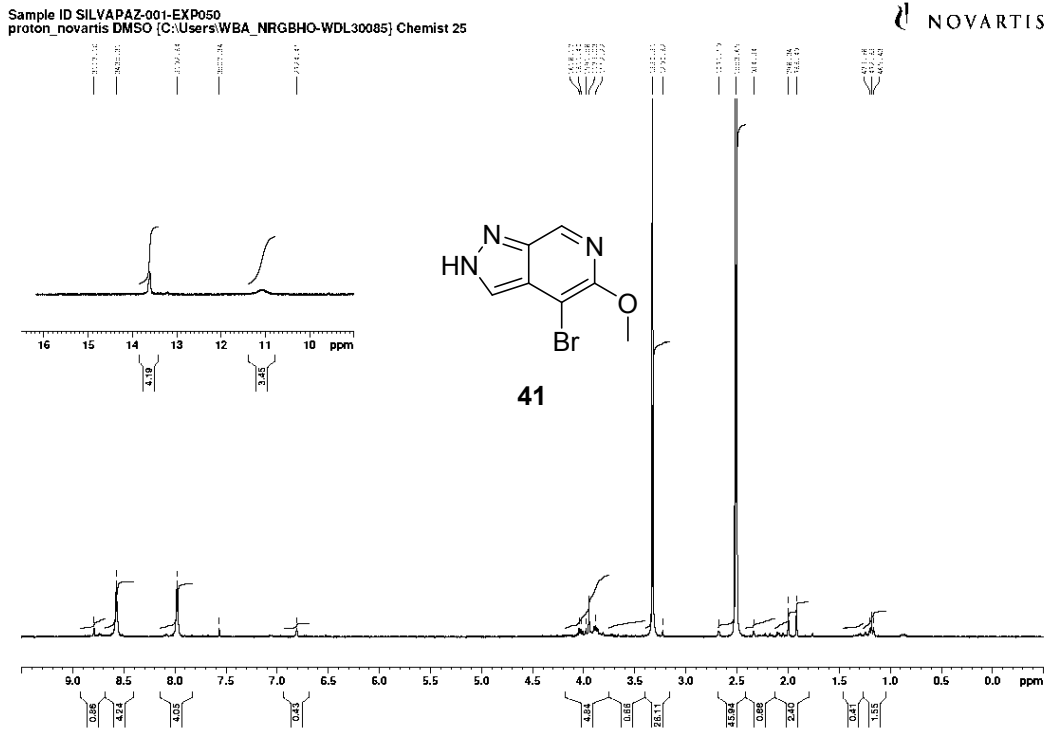


Peak ID Compound Time Mass Found

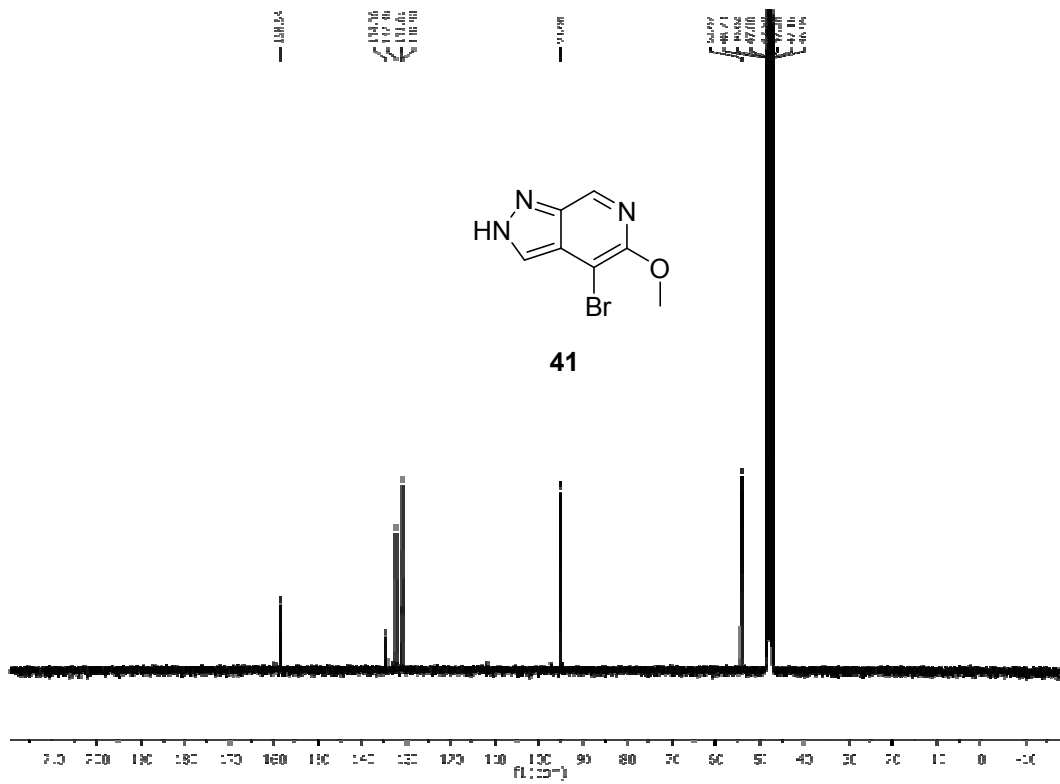
1:MS ES+ 13: (Time: 0.89) Combine (103:107-(95:96+117:118))



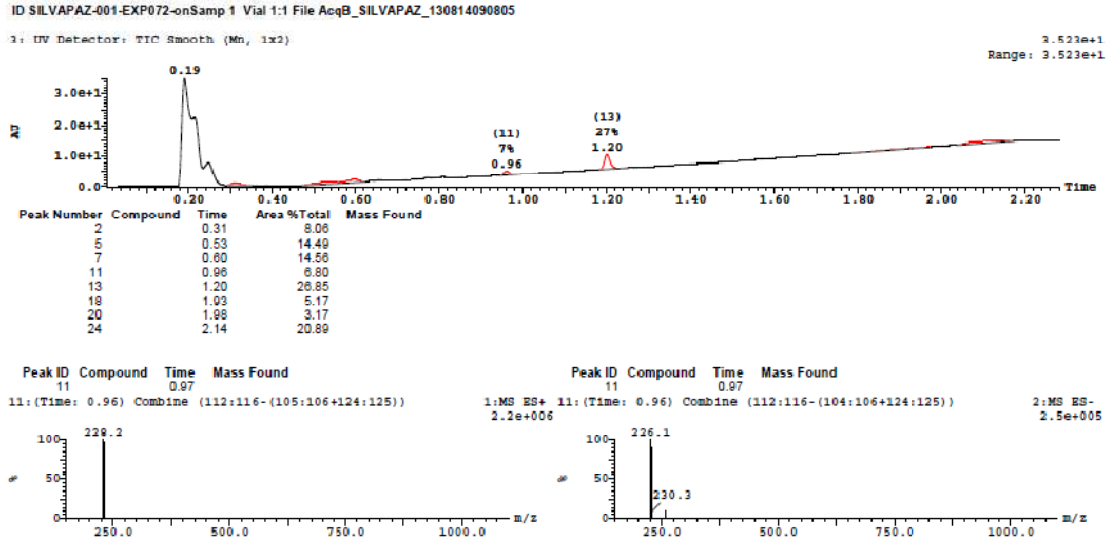
Anexo 59. Espectro de CL-EM do composto 40.



Anexo 60. Espectro de RMN de ^1H do composto 41, 400 MHz, DMSO-d10

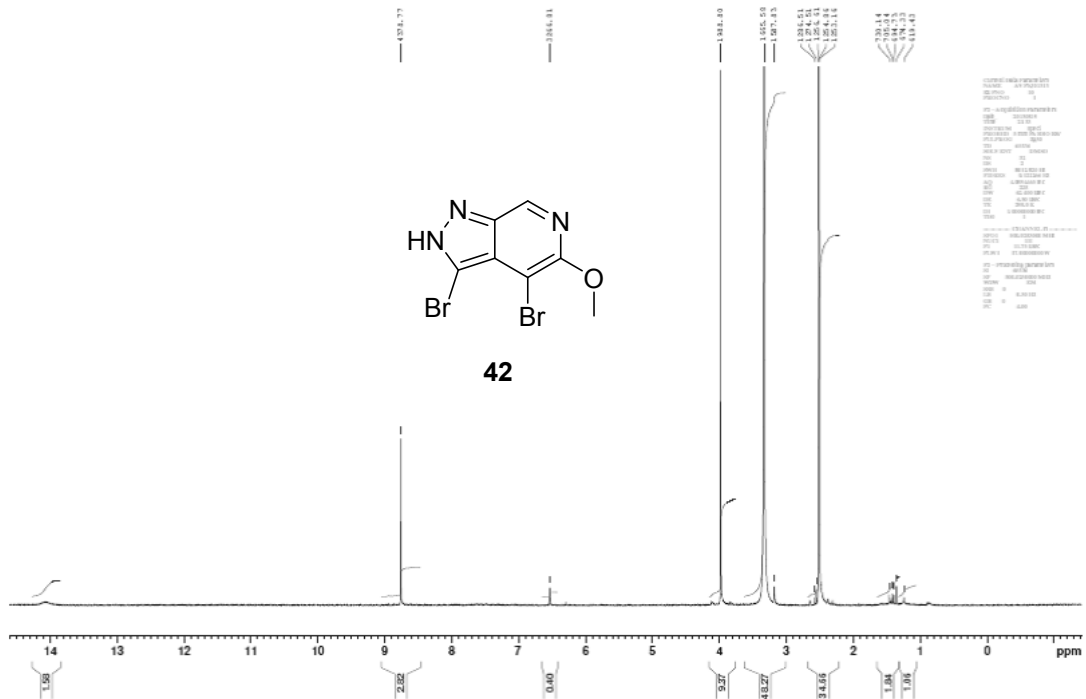


Anexo 61. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 41, 101 MHz, DMSO-d10

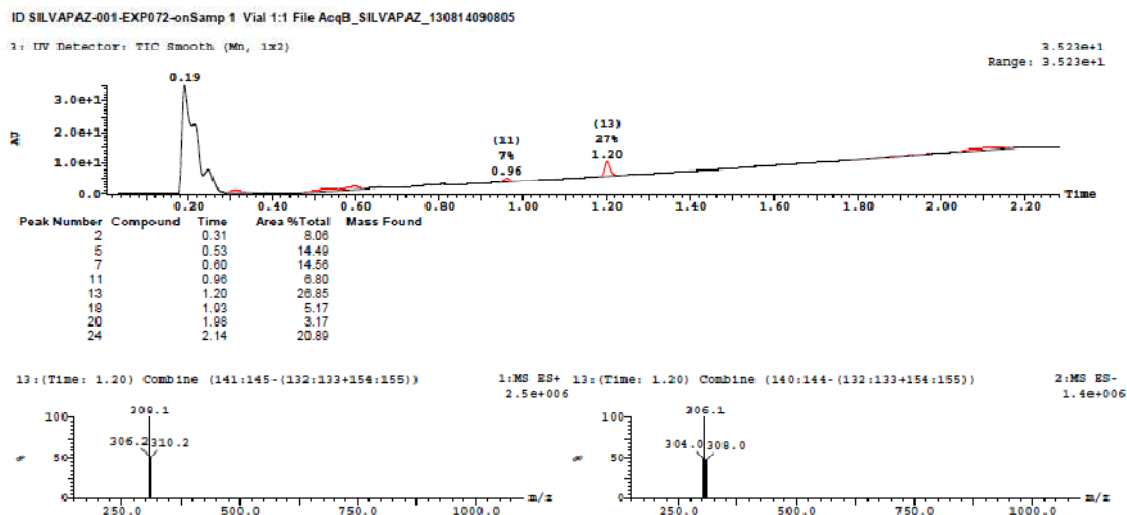


Anexo 62. Espectro de CL-EM do composto 41.

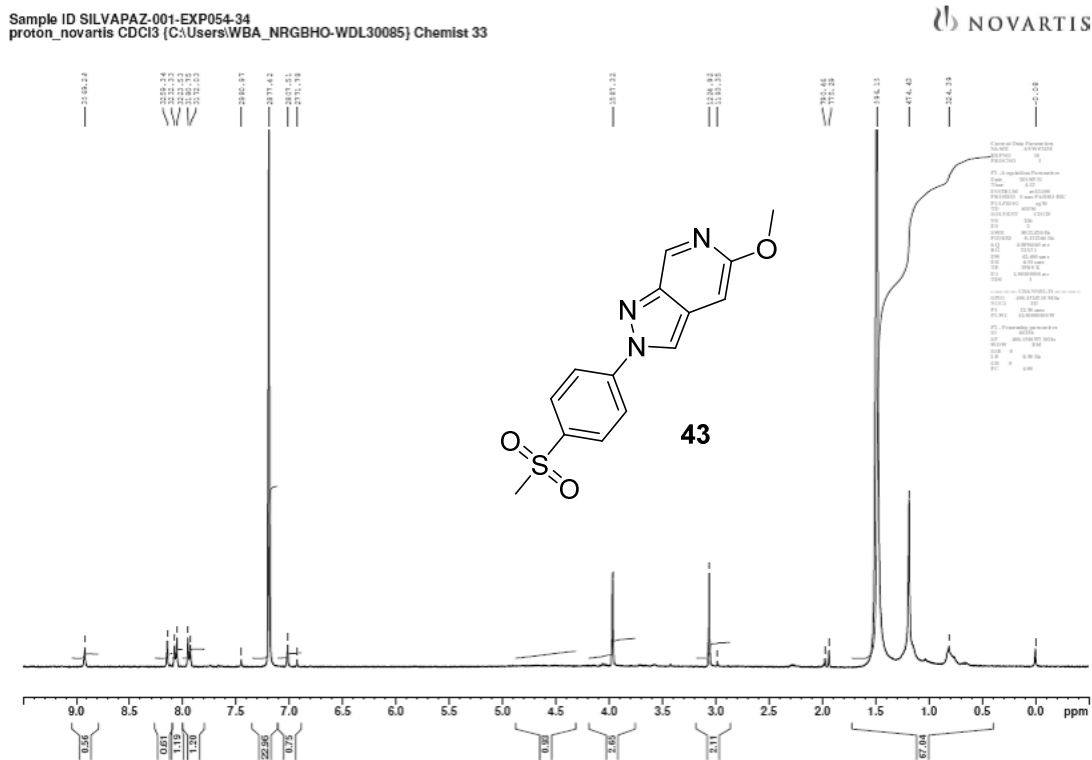
AWM No N/A
Sample ID SILVAPAZ-001-EXP072-2
Analyst eLN N/A



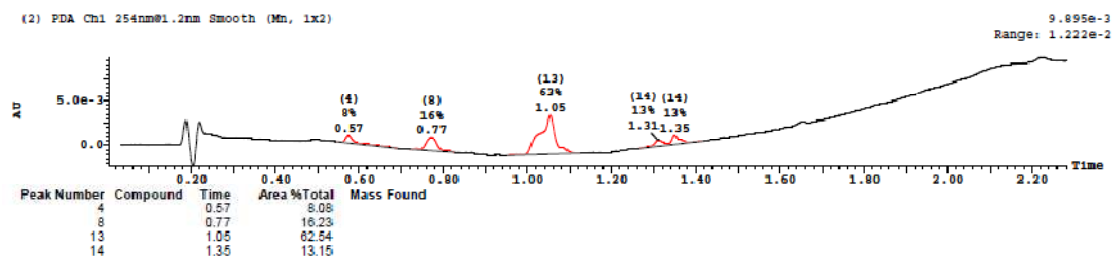
Anexo 63. Espectro de RMN de ¹H do composto 42, 400 mHz, DMSO-d10

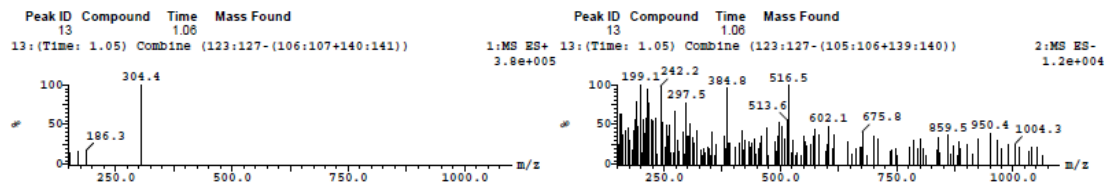


Anexo 64. Espectro de CL-EM do composto 42.

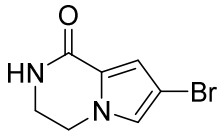
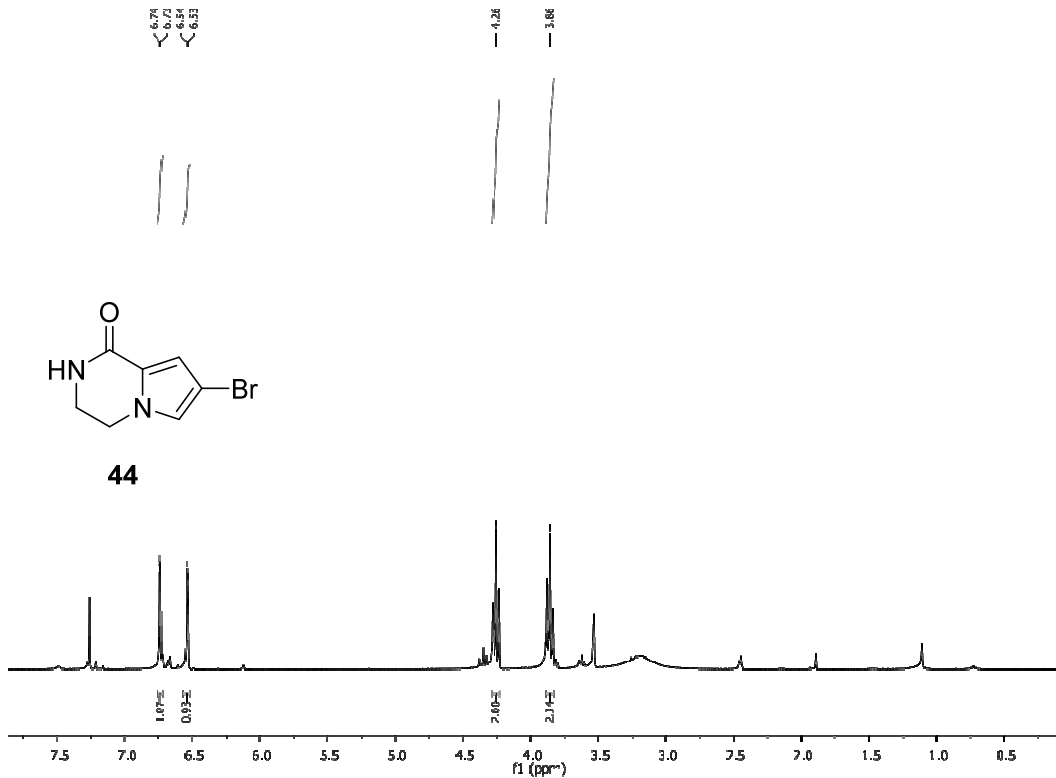


Anexo 65. Espectro de RMN de ^1H do composto 43, 400 MHz, CDCl_3



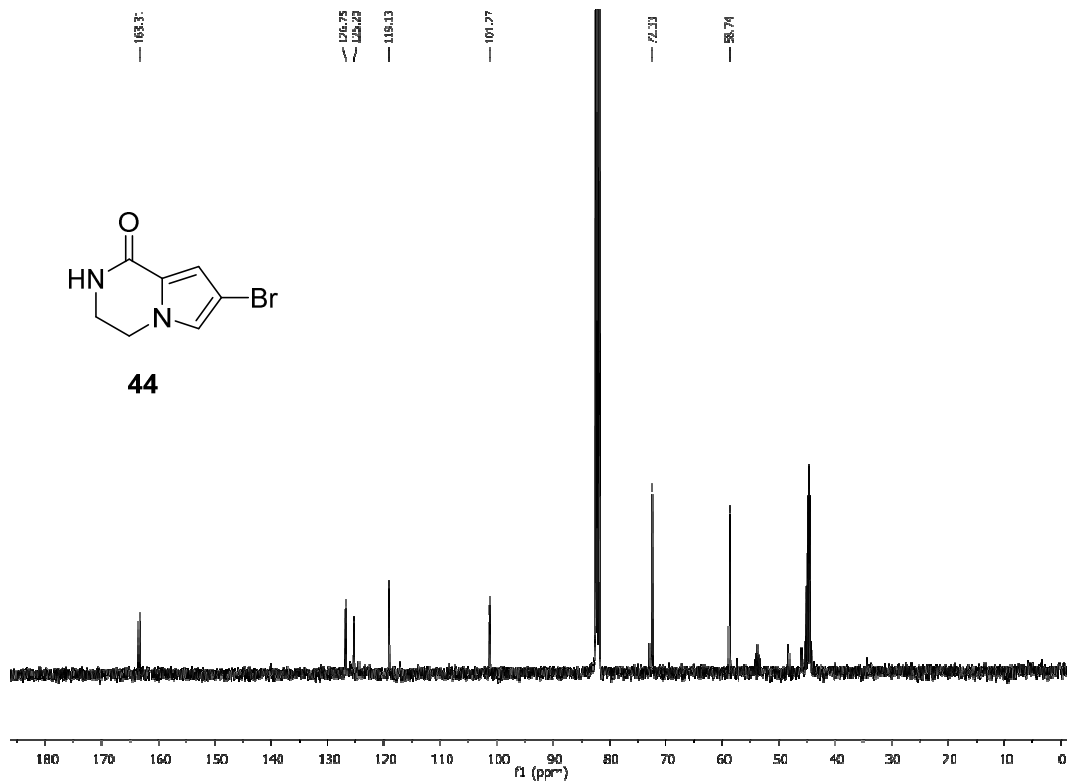


Anexo 66. Espectro de CL-EM do composto **43**

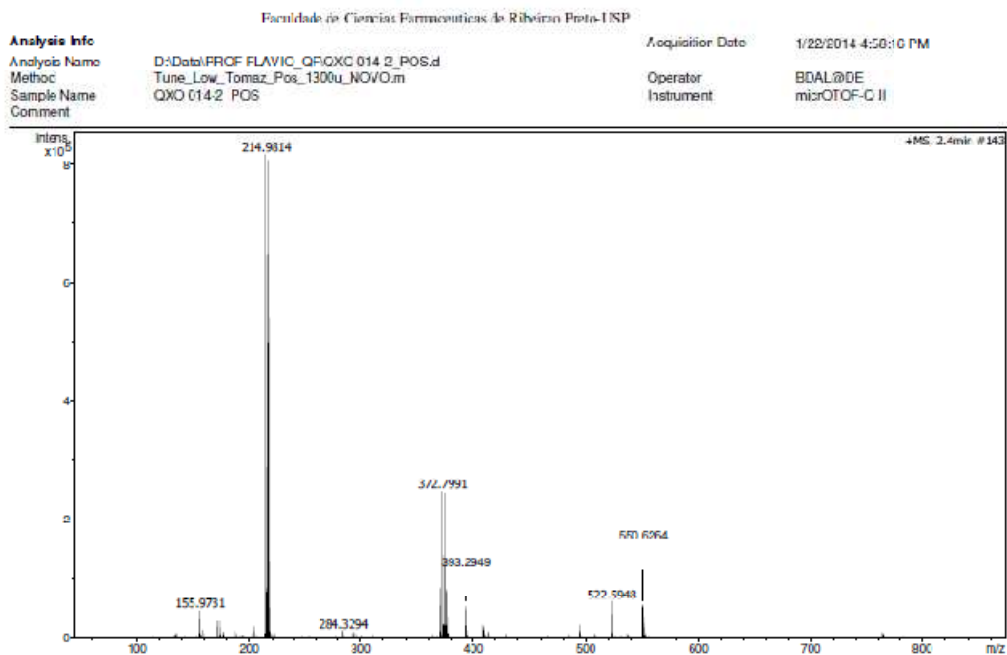


44

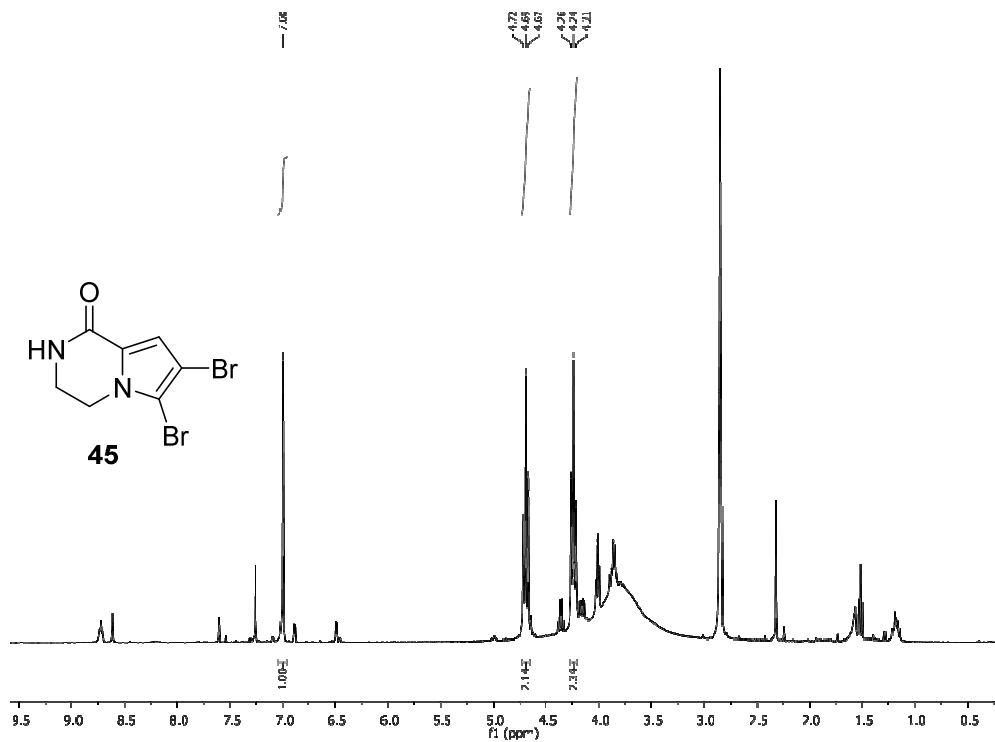
Anexo 67. Espectro de RMN de ^1H do composto **44**, 400 MHz, CDCl_3



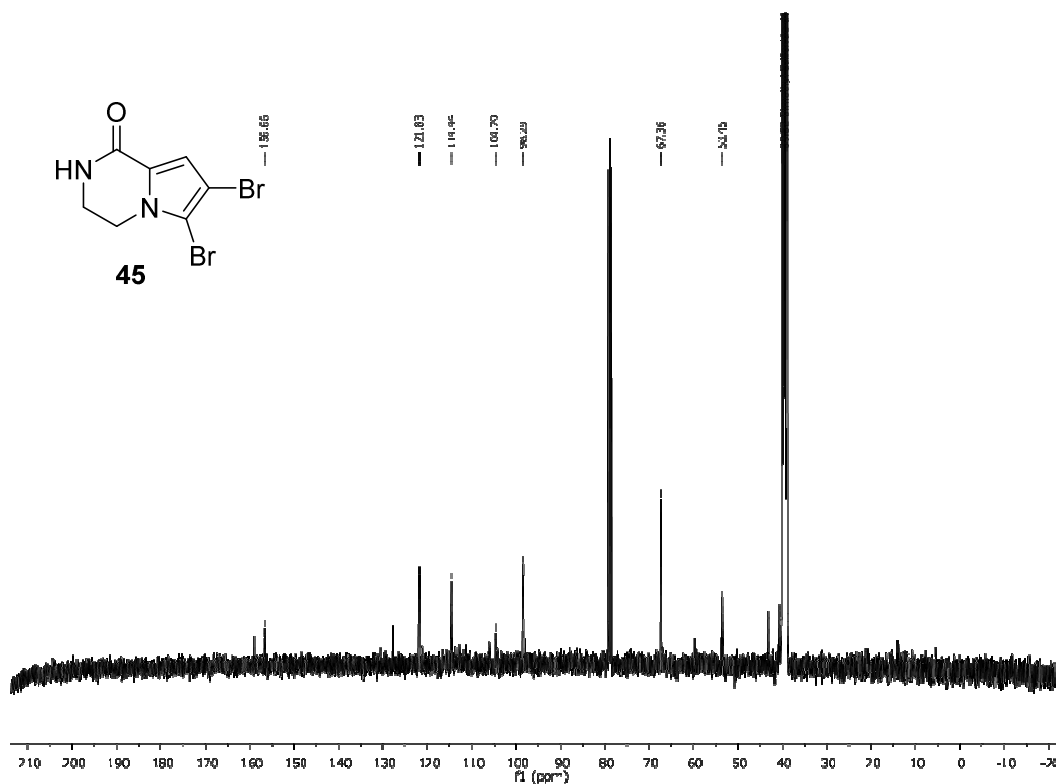
Anexo 68. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 44, 101 MHz, CDCl_3 .



Anexo 69. Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto 44.



Anexo 70. Espectro de RMN de ^1H do composto **45**, 400 mHz, CDCl_3



Anexo 71. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **45**, 101 mHz, CDCl_3 .

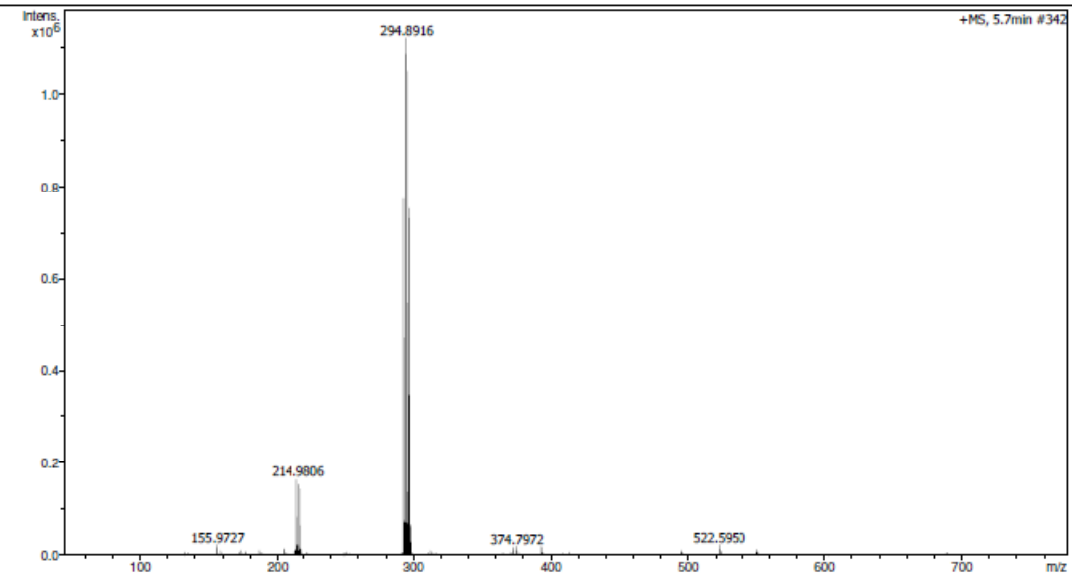
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP

Analysis Info

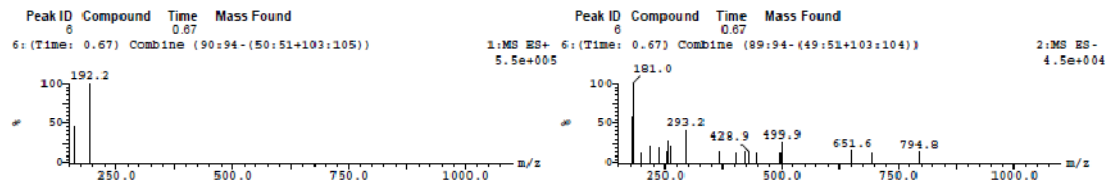
Analysis Name D:\Data\PROF FLAVIO_QF\QXO 014-1_POS.d
 Method Tuno_Low_Tomaz_Pos_1300u_NDVO.m
 Sample Name QXO 014-1_POS
 Comment

Acquisition Date 1/23/2014 10:26:48 AM

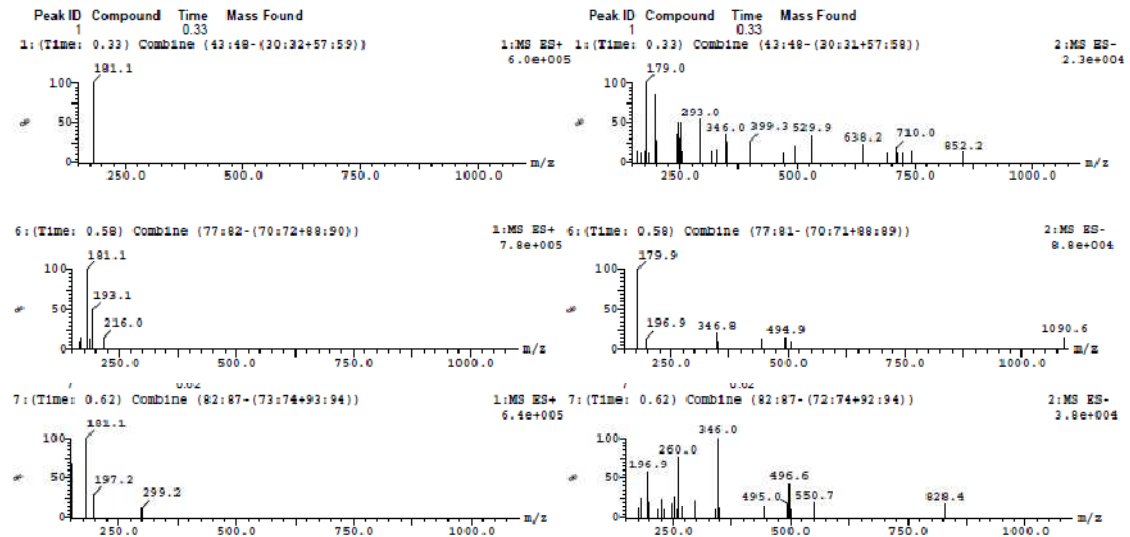
Operator BDAL@DE
 Instrument micrOTOF-Q II



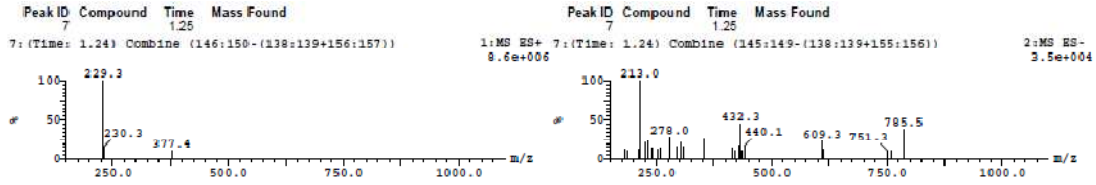
Anexo 72. Espectro de HRMS (ESI-MS) do composto 45.



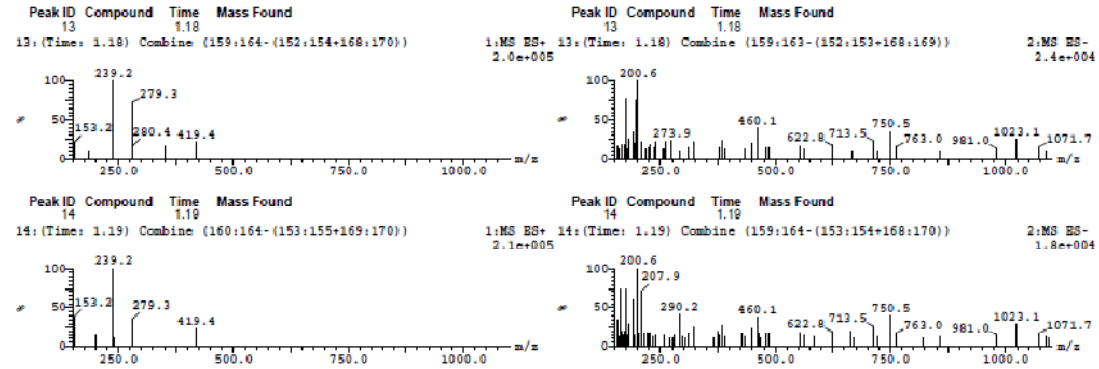
Anexo 73. Espectro de LC-MS dos derivados nitrados de 16.



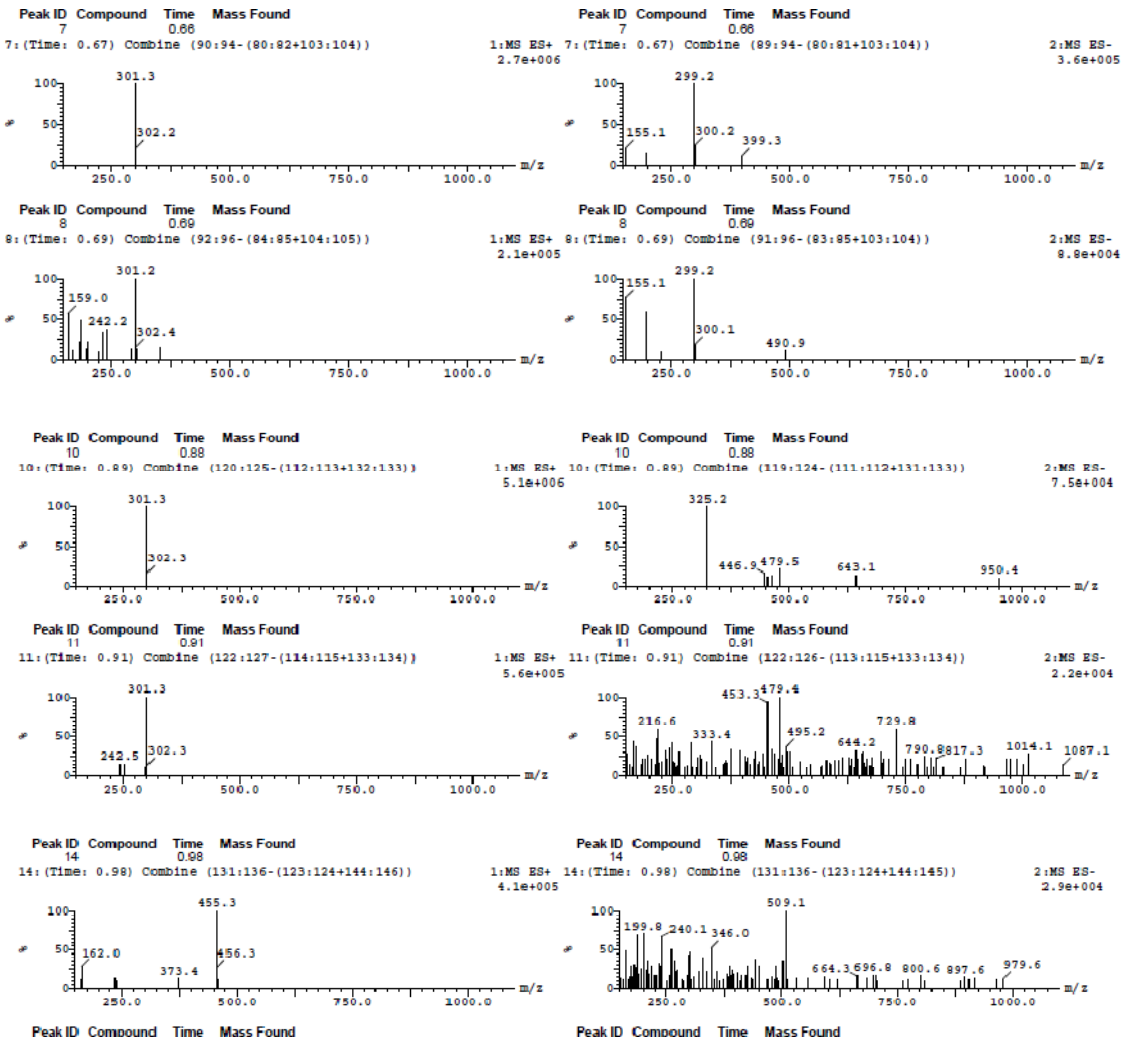
Anexo 74. Espectro de LC-MS dos derivados nitrados de 32.



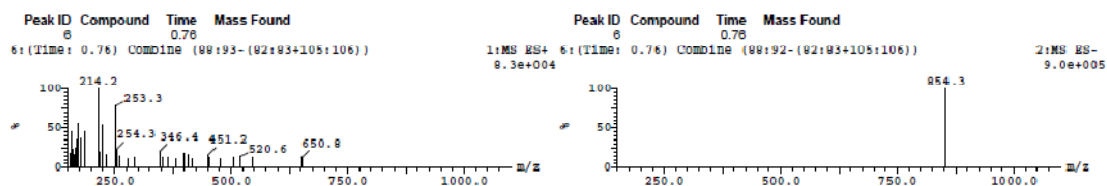
Anexo 75. Espectro de LC-MS da reação de Misunobu de 16.



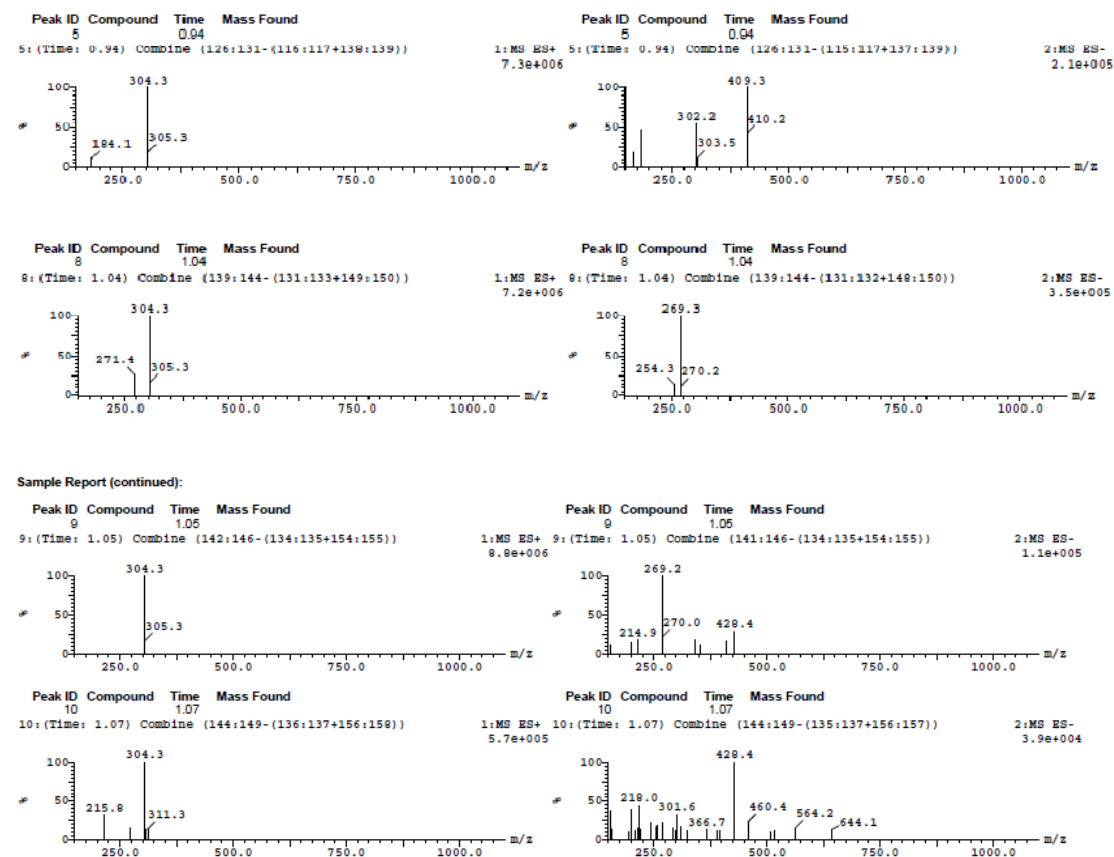
Anexo 76. Espectro de LC-MS da reação de Minisci de 32.



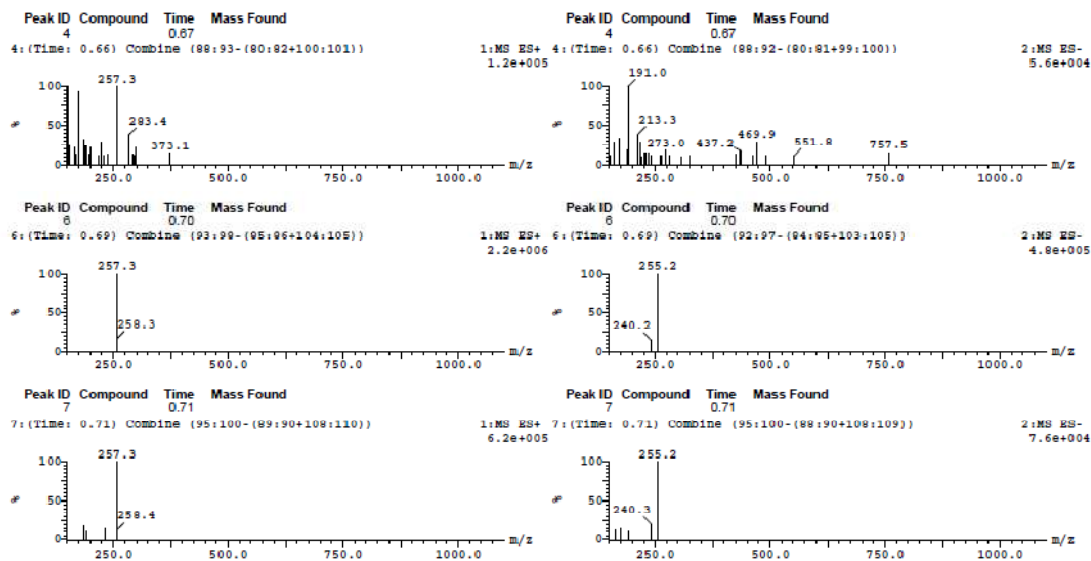
Anexo 77. Espectro de LC-MS da reação de ativação direta de ligação de C-H catalisada por Pd de **16** (método a).



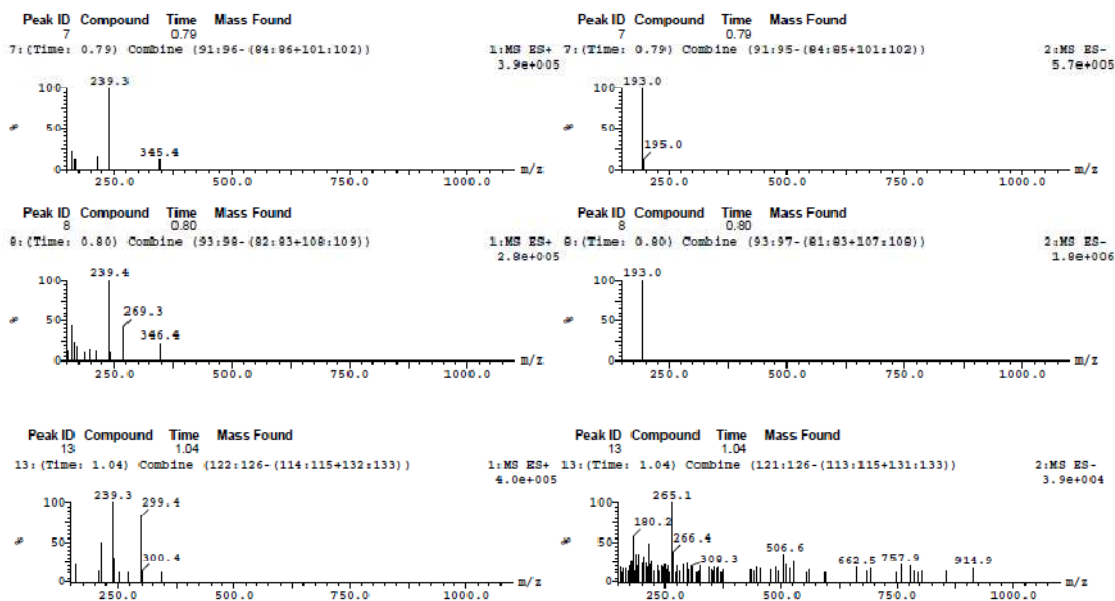
Anexo 78. Espectro de LC-MS da reação de ativação direta de ligação de C-H catalisada por Pd de **16** (método b).



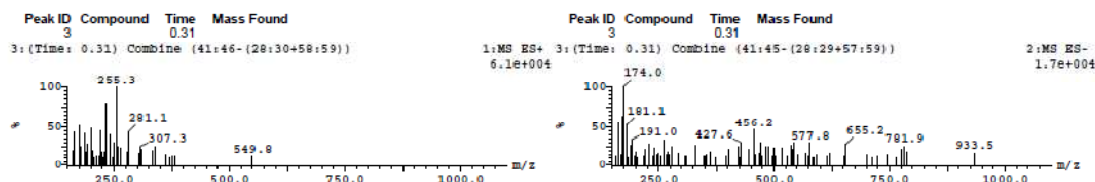
Anexo 79. Espectro de LC-MS da reação de ativação direta de ligação de C-H catalisada por Pd de **32** (método a).



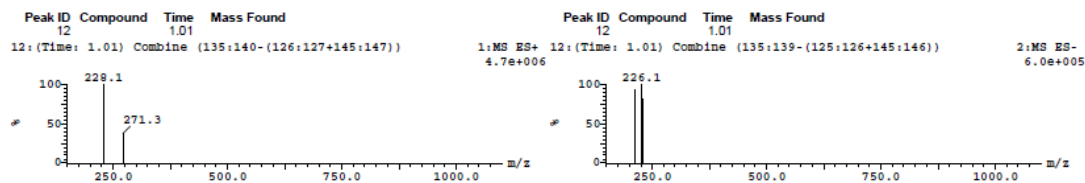
Anexo 80. Espectro de LC-MS da reação de ativação direta de ligação de C-H catalisada por Pd de **32** (método b).



Anexo 81. Espectro de LC-MS da reação de Minisci de **27**.



Anexo 82. Espectro de LC-MS da reação de ativação direta de ligação de C-H catalisada por Pd de **27** (método b).



Anexo 83. Espectro de LC-MS da reação de Suzuki de **41** (método b).

Anexo 84. Cálculo de propriedades farmacêuticas relevantes para os fragmentos de fármacos.

Estrutura	MW	ΔMW_{16}	ΔMW_{17}	ΔMW_{18}	XLogP	ΔLog_{16}	$D \text{Log}_{17}$	$D \text{Log}_{18}$
16	146.15				-0.35			
17	135.12				-0.71			
18	136.15				0.5			
46	114.14	32.01	20.98	22.01	0.88	-1.23	-1.59	-1.38
47	135.12	11.03	0	1.03	-1.71	1.36	1	1.21
48	112.09	34.06	23.03	24.06	-1.45	1.1	0.74	0.95
49	111.18	34.97	23.94	24.97	1.13	-1.48	-1.84	-1.63
50	189.25	-43.1	-54.13	-53.1	1.71	-2.06	-2.42	-2.21
51	147.17	-1.02	-12.05	-11.02	1.51	-1.86	-2.22	-2.01
52	87.08	59.07	48.04	49.07	-0.56	0.21	-0.15	0.06
53	96.09	50.06	39.03	40.06	-0.57	0.22	-0.14	0.07
54	70.05	76.1	65.07	66.1	0.51	-0.86	-1.22	-1.01
55	114.1	32.05	21.02	22.05	-1.68	1.33	0.97	1.18
56	86.05	60.1	49.07	50.1	0.27	-0.62	-0.98	-0.77
57	135.12	11.03	0	1.03	0.32	-0.67	-1.03	-0.82
58	150.2	-4.05	-15.08	-14.05	3.04	-3.39	-3.75	-3.54
59	96.09	50.06	39.03	40.06	-0.7	0.35	-0.01	0.2
60	133.13	13.02	1.99	3.02	0.92	-1.27	-1.63	-1.42
61	126.18	19.97	8.94	9.97	0.36	-0.71	-1.07	-0.86
62	136.11	10.04	-0.99	0.04	0.12	-0.47	-0.83	-0.62
63	71.08	75.07	64.04	65.07	-0.39	0.04	-0.32	-0.11
64	100.12	46.03	35	36.03	1.08	-1.43	-1.79	-1.58
65	211.28	-65.13	-76.16	-75.13	3.52	-3.87	-4.23	-4.02
66	117.15	29	17.97	19	2.62	-2.97	-3.33	-3.12
67	114.14	32.01	20.98	22.01	1.05	-1.4	-1.76	-1.55
68	122.12	24.03	13	14.03	1.63	-1.98	-2.34	-2.13

69	119.12	27.03	16	17.03	1.49	-1.84	-2.2	-1.99
70	124.14	22.01	10.98	12.01	0.22	-0.57	-0.93	-0.72
71	120.15	26	14.97	16	1.79	-2.14	-2.5	-2.29
72	87.12	59.03	48	49.03	-0.52	0.17	-0.19	0.02
73	74.08	72.07	61.04	62.07	-0.06	-0.29	-0.65	-0.44
74	68.08	78.07	67.04	68.07	1.24	-1.59	-1.95	-1.74
75	68.08	78.07	67.04	68.07	0.6	-0.95	-1.31	-1.1
76	90.14	56.01	44.98	46.01	0.62	-0.97	-1.33	-1.12
77	67.09	79.06	68.03	69.06	1.19	-1.54	-1.9	-1.69
78	72.11	74.04	63.01	64.04	0.79	-1.14	-1.5	-1.29
79	86.14	60.01	48.98	50.01	-0.84	0.49	0.13	0.34
80	80.09	66.06	55.03	56.06	-0.66	0.31	-0.05	0.16
81	70.05	76.1	65.07	66.1	-0.11	-0.24	-0.6	-0.39
82	80.09	66.06	55.03	56.06	0.06	-0.41	-0.77	-0.56
83	86.14	60.01	48.98	50.01	-0.84	0.49	0.13	0.34
84	85.15	61	49.97	51	0.93	-1.28	-1.64	-1.43
85	79.1	67.05	56.02	57.05	0.65	-1	-1.36	-1.15
86	44.05	102.1	91.07	92.1	-0.11	-0.24	-0.6	-0.39
87	84.14	62.01	50.98	52.01	1.99	-2.34	-2.7	-2.49

Estrutura	HBA	ΔHBA16	ΔHBA17	ΔHBA18	HBD	ΔHBD16	ΔHBD17	ΔHBD18
16	3				1			
17	4				2			
18	3				1			
46	2	1	2	1	0	1	2	1
47	4	-1	0	-1	1	0	1	0
48	4	-1	0	-1	2	-1	0	-1
49	1	2	3	2	1	0	1	0
50	2	1	2	1	1	0	1	0
51	2	1	2	1	1	0	1	0
52	3	0	1	0	1	0	1	0
53	3	0	1	0	1	0	1	0
54	3	0	1	0	0	1	2	1
55	4	-1	0	-1	2	-1	0	-1
56	3	0	1	0	0	1	2	1
57	4	-1	0	-1	2	-1	0	-1

SILVA-JUNIOR, P.E.

MATERIAL SUPLEMENTAR

58	1	2	3	2	1	0	1	0
59	3	0	1	0	1	0	1	0
60	3	0	1	0	1	0	1	0
61	2	1	2	1	1	0	1	0
62	5	-2	-1	-2	2	-1	0	-1
63	2	1	2	1	1	0	1	0
64	2	1	2	1	0	1	2	1
65	1	2	3	2	0	1	2	1
66	1	2	3	2	1	0	1	0
67	2	1	2	1	0	1	2	1
68	2	1	2	1	0	1	2	1
69	2	1	2	1	0	1	2	1
70	4	-1	0	-1	1	0	1	0
71	1	2	3	2	0	1	2	1
72	2	1	2	1	1	0	1	0
73	2	1	2	1	0	1	2	1
74	2	1	2	1	1	0	1	0
75	2	1	2	1	1	0	1	0
76	1	2	3	2	0	1	2	1
77	1	2	3	2	1	0	1	0
78	1	2	3	2	0	1	2	1
79	2	1	2	1	2	-1	0	-1
80	2	1	2	1	0	1	2	1
81	4	-1	0	-1	1	0	1	0
82	2	1	2	1	0	1	2	1
83	2	1	2	1	2	-1	0	-1
84	1	2	3	2	1	0	1	0
85	1	2	3	2	0	1	2	1
86	1	2	3	2	0	1	2	1
87	0	3	4	3	0	1	2	1

Estrutura	TPSA_NOPS	Δ TPSA16	Δ TPSA17	Δ TPSA18
16	41.5			
17	53.5			
18	34			
46	18.5	23	35	15.5

47	54.9	-13.4	-1.4	-20.9
48	61.7	-20.2	-8.2	-27.7
49	12	29.5	41.5	22
50	21.3	20.2	32.2	12.7
51	29.1	12.4	24.4	4.9
52	38.3	3.2	15.2	-4.3
53	41.5	0	12	-7.5
54	39.2	2.3	14.3	-5.2
55	58.2	-16.7	-4.7	-24.2
56	35.5	6	18	-1.5
57	57.3	-15.8	-3.8	-23.3
58	48.5	-7	5	-14.5
59	41.5	0	12	-7.5
60	47.2	-5.7	6.3	-13.2
61	29.1	12.4	24.4	4.9
62	70.1	-28.6	-16.6	-36.1
63	29.1	12.4	24.4	4.9
64	26.3	15.2	27.2	7.7
65	37.7	3.8	15.8	-3.7
66	15.8	25.7	37.7	18.2
67	18.5	23	35	15.5
68	18.5	23	35	15.5
69	26.3	15.2	27.2	7.7
70	42.7	-1.2	10.8	-8.7
71	9.2	32.3	44.3	24.8
72	21.3	20.2	32.2	12.7
73	18.5	23	35	15.5
74	28.7	12.8	24.8	5.3
75	28.7	12.8	24.8	5.3
76	34.5	7	19	-0.5
77	15.8	25.7	37.7	18.2
78	9.2	32.3	44.3	24.8
79	24.1	17.4	29.4	9.9
80	25.8	15.7	27.7	8.2
81	54.5	-13	-1	-20.5
82	25.8	15.7	27.7	8.2

83	24.1	17.4	29.4	9.9
84	12	29.5	41.5	22
85	12.9	28.6	40.6	21.1
86	12.5	29	41	21.5
87	28.2	13.3	25.3	5.8

Estrutura	LIPINSKI	LIPINSKI_COUNT	RO3	RO3_COUNT	FSP3	RotBondCount
16	Pass	0	Pass	0	0	0
17	Pass	0	Fail	1	0	0
18	Pass	0	Pass	0	0.286	0
46	Pass	0	Pass	0	1	0
47	Pass	0	Fail	1	0.167	0
48	Pass	0	Fail	1	0	0
49	Pass	0	Pass	0	1	0
50	Pass	0	Pass	0	0.5	0
51	Pass	0	Pass	0	0.222	0
52	Pass	0	Pass	0	0.667	0
53	Pass	0	Pass	0	0	0
54	Pass	0	Pass	0	0	0
55	Pass	0	Fail	1	0.5	0
56	Pass	0	Pass	0	0	0
57	Pass	0	Fail	1	0	0
58	Pass	0	Fail	1	0	0
59	Pass	0	Pass	0	0	0
60	Pass	0	Pass	0	0	0
61	Pass	0	Pass	0	1	0
62	Pass	0	Fail	1	0	0
63	Pass	0	Pass	0	0.667	0
64	Pass	0	Pass	0	0.8	0
65	Pass	0	Fail	1	0	0
66	Pass	0	Pass	0	0	0
67	Pass	0	Pass	0	1	0
68	Pass	0	Pass	0	0.143	0
69	Pass	0	Pass	0	0	0
70	Pass	0	Fail	1	0.6	0
71	Pass	0	Pass	0	0.25	0

SILVA-JUNIOR, P.E.

MATERIAL SUPLEMENTAR

72	Pass	0	Pass	0	1	0
73	Pass	0	Pass	0	1	0
74	Pass	0	Pass	0	0	0
75	Pass	0	Pass	0	0	0
76	Pass	0	Pass	0	1	0
77	Pass	0	Pass	0	0	0
78	Pass	0	Pass	0	1	0
79	Pass	0	Pass	0	1	0
80	Pass	0	Pass	0	0	0
81	Pass	0	Fail	1	0	0
82	Pass	0	Pass	0	0	0
83	Pass	0	Pass	0	1	0
84	Pass	0	Pass	0	1	0
85	Pass	0	Pass	0	0	0
86	Pass	0	Pass	0	1	0
87	Pass	0	Pass	0	0	0

PUBLICAÇÕES

Chem Biol Drug Des 2013; 81: 749–758

Research Article



Synthesis, Cytotoxicity and *In Vitro* Antileishmanial Activity of Naphthothiazoles

Juliano S. de Toledo¹, Paulo E. S. Junior²,
Viviane Manfim², Camilla F. Pinzan¹, Alexandre
S. de Araujo², Angela K. Cruz¹ and Flavio S.
Emery^{2,*}

¹Departamento de Biologia Celular e Molecular e
Biogênesis Patogênicos, Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av.
Candonga 1300, Ribeirão Preto, SP, 14049-900, Brazil

²Departamento de Ciências Farmacéuticas, Faculdade de
Ciências Farmacéuticas de Ribeirão Preto, Universidade
de São Paulo, Av. do Côlegio s/n, Campus USP, Ribeirão
Preto, SP, 14040-900, Brazil

³Departamento de Física, Instituto de Biociências Letras e
Ciências Exatas de São José do Rio Preto, Universidade
Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rua Cristóvão
Colombo, 2265, Jardim Nazareth, São José do Rio Preto,
SP, 14904-000, Brazil

*Corresponding author: Flavio S. Emery,
flavioemery@frcfp.usp.br

Key words: fragment embedding, *Leishmania braziliensis*,
leishmaniasis, naphthothiazoles, neglected tropical disease

Received 26 October 2012; revised 11 December 2012 and
accepted for publication 12 February 2013

The leishmaniasis is a spectral disease caused by the protozoan *Leishmania* spp., which threatens millions of people worldwide. Current treatments exhibit high toxicity, and there is no vaccine available. The need for new lead compounds with leishmanicidal activity is urgent. Considering that many lead leishmanicidal compounds contain a quinoidal scaffold and the thiazole heterocyclic ring is found in a number of antimicrobial drugs, we proposed a hybridization approach to generate a diverse set of semi-synthetic heterocycles with antileishmanial activity. We found that almost all synthesized compounds demonstrated potent activity against promastigotes of *Leishmania (Vianna) braziliensis* and reduced the survival index of *Leishmania* amastigotes in mammalian macrophages. Furthermore, the compounds were not cytotoxic to macrophages at tested higher concentrations than the EC₅₀ for promastigotes. All molecules fulfilled Lipinski's Rule of Five, which predicts efficient oral absorption and permeation through biological membranes, the *in silico* pharmacokinetic profile confirmed these characteristics. The potent and selective activity of semi-synthetic naphthothiazoles against promastigotes and amastigotes reveals that the 2-*ortho*-naphthothiazole ring may represent a scaffold for the design of compounds with leishmanicidal properties and encourage the development of drug formulation and new compounds for further studies *in vivo*.

Leishmaniasis is caused by protozoan parasites from the *Leishmania* genus and comprises two major diseases: visceral leishmaniasis (VL) and cutaneous leishmaniasis (CL). While VL is fatal if untreated, CL may heal spontaneously or leave disfiguring scars. Leishmaniasis is one of the most neglected tropical diseases and is associated with high morbidity levels. Moreover, the mortality rate of VL is approximately 30 000 per year, which is the second highest rate among parasitic diseases, only surpassed by malaria (1). The expansion of the geographical distribution of leishmaniasis in developing and developed countries in Europe (e.g. France, Italy, Spain and Greece) and North America is an alert to health authorities worldwide (2,3). This scenario makes evident that leishmaniasis is no longer a poverty-associated disease (2), since climate change (4–6), human migration (7,8) and additional socio-environmental factors (9) have become important variables affecting the incidence of this parasitic infection. Although the disease is treatable, its control is difficult for the absence of an effective vaccine, the adaptation of the vector and reservoirs to human environments, and the emergence of resistant lines. The relative high toxicity of available chemotherapy and the lack of more effective, safer and orally available therapies for all clinical manifestations is another relevant problem that sustains and makes leishmaniasis a high-risk disease (10). The long-lasting lack of commercial incentives to support the R&D for drugs against tropical diseases has been overcome by organized networks between public-private partnerships (PPP) (11,12).

The characterization of physico-chemical factors could drive the design and innovation of potential leishmanicidal hits. Specifically, the Rule of Five, which is useful for prediction of good permeability and drug-likeness for compounds, is more likely when H-bond donors (nOH/NH) are ≤ 5 , H-bond acceptors (nO/N) ≤ 10 , molecular weight (MW) ≤ 500 and calculated lipophilicity (log P) is the calculated logP using the specific logarithm of the software < 5 (13,14). In addition, oral bioavailability has also been correlated with the total polar surface area (TPSA) parameter, which represents the sum of surfaces of polar

Decision Letter (JHET-13-0214)**From:** castlyle@gmail.com**To:** flavicemery@qhetem.com**CC:****Subject:** Journal of Heterocyclic Chemistry - Decision on Manuscript ID JHET-13-0214**Body:** 02-Jun-2013

Dear Dr. Emery,

Manuscript ID JHET-13-0214 entitled "CLAISEN REARRANGEMENT OF HYDROXYNAPHTHOQUINONES: SELECTIVITY TOWARD NAPHTHOFURAN OR α -XILOIDONE USING COPPER SALTS AND IODINE" which you submitted to Journal of Heterocyclic Chemistry, has been reviewed. The comments of the referee(s) are included at the bottom of this letter.

The referee(s) have recommended acceptance for publication without revision, however, the manuscript does not follow JHC author guidelines. Please format the references to JHC style where reference designations are placed in square brackets in the body of the manuscript as well as the reference sections such as [1], [2] etc. The author guidelines can be viewed at the following link:

[http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/\(ISSN\)1943-5193/homepage/ForAuthors.html](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002/(ISSN)1943-5193/homepage/ForAuthors.html)

You can upload your revised manuscript and submit it through your Author Center. Log into <http://mc.manuscriptcentral.com/jhetchem> and enter your Author Center, where you will find your manuscript title listed under "Manuscripts with Decisions".

When submitting your revised manuscript, you will be able to respond to the comments made by the referee(s) in the space provided. You can use this space to document any changes you make to the original manuscript.

IMPORTANT: We have your original files. When submitting (uploading) your revised manuscript, please delete the file(s) that you wish to replace and then upload the revised file(s).

Once again, thank you for submitting your manuscript to Journal of Heterocyclic Chemistry. I look forward to receiving your revision.

Sincerely,

Dr. Lyle Castle
Editor-in-Chief, Journal of Heterocyclic Chemistry
castlyle@gmail.com

Referee(s)' Comments to Author:

Reviewing: 1

Comments to the Author

This is an interesting manuscript describing regioselective Claisen rearrangements of hydroxynaphthoquinones. Depending on the reagent conditions, they show that two regioisomers can be obtained in high yield and provide a mechanistic interpretation of the results. The work has enabled a short synthesis of the natural product xiloidone.

Overall, the manuscript is clearly written in both the main body and experimental sections. The paper is very relevant to the readership of the journal and acceptance is recommended.

Date Sent: 02-Jun-2013