

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

DOUGLAS HENRIQUE DE SOUZA

**ESTUDOS SOBRE A PREPARAÇÃO DE UM
PROTÓTIPO PARA A TERAPIA DO CÂNCER DE
PULMÃO DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS**

Versão Corrigida da Dissertação

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

18/07/2022

DOUGLAS HENRIQUE DE SOUZA

**ESTUDOS SOBRE A PREPARAÇÃO DE UM
PROTÓTIPO PARA A TERAPIA DO CÂNCER DE
PULMÃO DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS**

*Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de São Paulo para
obtenção do Título de Mestre em Ciências
Química*

*Orientadora: Profa. Dra. Liliana
Marzorati*

São Paulo

2022

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.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

S719e	Souza, Douglas Henrique de Estudos sobre a preparação de um protótipo para a terapia do câncer de pulmão de células não pequenas / Douglas Henrique de Souza. - São Paulo, 2022. 79 p.
	Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental. Orientador: Marzorati, Líliliana
	1. Câncer de pulmão. 2. Síntese de protótipo. I. T. II. Marzorati, Líliliana, orientador.



Universidade de São Paulo
Instituto de Química

"Estudos sobre a preparação de um protótipo para a terapia do câncer de pulmão de células não pequenas"

DOUGLAS HENRIQUE DE SOUZA

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências - no Programa de Química.

APROVADO(A) POR:

Profa. Dra. Lilians Marzorati
(Orientadora e Presidente)

Profa. Dra. Jeanine Giarolla Vargas
FCF - USP

Profa. Dra. Adriana Karla Cardoso Amorim Reis
UNIFESP - Diadema

SÃO PAULO
03 de outubro de 2022

AGRADECIMENTO(S)

Agradeço primeiramente a Deus, por conceder esta rica oportunidade de realizar esta etapa importante do conhecimento nesta universidade, na qual sempre tive muita admiração e respeito.

Agradeço aos meus pais, em especial minha mãe Roseli (Dona Rose), sempre me incentivando e apoiando com palavras de ânimo e carinho para nunca desistir da caminhada.

A minha tia Lindauria, meus irmãos Priscila e Diego, muito obrigado pelo apoio e a força de sempre. A minha sobrinha Ana Luiza, que embora ainda criança, já apresenta enorme interesse e curiosidade pela ciência.

Agradeço ao Wantuыр pelo incentivo, a amizade e companheirismo nos momentos difíceis. Obrigado Wan.

Ao meu grande amigo e irmão Charles. Desde o segundo ano de graduação, vindo também de escola pública, passamos por lutas e vitórias. Muito obrigado pela força, amizade e pela ajuda na conclusão deste trabalho. Valeu meu irmão!

Aos meus amigos de laboratório, aos mais antigos, Rebeca obrigado pelas ótimas e divertidas conversas, risadas e bandejões. Aos mais recentes, Melina e Vitor, infelizmente devido a pandemia de Covid-19, não tivemos muitas oportunidades de nos conhecermos melhor, desejo muito sucesso e realizações a vocês.

Ao IQUSP pela estrutura para que este trabalho fosse executado. Aos docentes que participaram da minha formação, desde a graduação até a conclusão deste trabalho. Ao coordenador do programa de pós graduação, o professor Atualpa.

Aos funcionários da Central Analítica pela ajuda, ensinamentos e as análises realizadas.

A professora Liliana, por esses 10 anos de amizade e aprendizado. Pelo empenho, pela paciência, compreensão, pelo entusiasmo pela ciência, pelos cafezinhos e momentos de descontração. Posso dizer que, hoje estando na indústria, quando me deparo com certas situações e problemas a serem

solucionados, eu paro e reflito nos conceitos sólidos aprendidos em sala de aula. Porém existem as situações extra classe, aquelas da vida, que também aprendi: a empatia, a paciência e o lado otimista de sempre enxergar uma saída. Muito obrigado, professora!

Ao CNPq pela bolsa concedida durante a execução do curso de mestrado.

RESUMO

Souza, D. H. **Estudos sobre a preparação de um protótipo para a terapia do câncer de pulmão de células não pequenas**. 2022. 80p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Em 2018, o câncer de pulmão provocou 1,8 milhões de mortes em todo o mundo. Diante deste triste cenário, há uma grande necessidade de desenvolver novos fármacos que se mostrem mais efetivos no tratamento dessa doença, sejam imunes ao surgimento de resistência e com pouco ou nenhum efeito colateral.

Nas últimas duas décadas, houve um grande avanço nos métodos computacionais em geral e, em especial, no seu emprego para o design de novos fármacos. As novas propostas estruturais, assim geradas, se constituem em desafios para o químico orgânico sintético.

O presente trabalho teve como objetivo a síntese de um composto-protótipo, com potencial para ser transformado em um novo fármaco, desde que apresente a esperada atividade biológica. Idealmente, esse composto deve ter a estrutura de uma molécula pequena e deve ser sintetizado a partir de reagentes comerciais e por processos químicos que não agridam o ambiente.

Estudos de modelagem computacional apontaram para o composto **1** como um possível protótipo que poderia interagir com o alvo biológico do câncer de pulmão de células não-pequenas. Quanto ao planejamento sintético, foram propostos dois fragmentos formadores do composto **1**.

O fragmento **A** foi preparado em quatro passos de síntese, partindo-se do ácido 2-amino-nicotínico. Assim, após um passo de esterificação do ácido de partida, o nitrogênio amínico foi bloqueado com o grupo de proteção CBz. Uma etapa de redução com AlLiH_4 resultou na formação do álcool que foi mesclado e feito reagir, *in situ*, com o 2-(pirrolidin-3-il)-etanol.

O fragmento **B** foi preparado em bom rendimento pela reação do 1-bromononano com etileno-glicol, sob condições de catálise de transferência de fase, o que é bastante adequado em termos dos preceitos da Química Verde.

O diéster do ácido fosfórico desejado não pôde ser sintetizado a partir de **A** e **B**. Diante deste insucesso, decidiu-se substituí-lo por um diéster do ácido succínico, preparado em duas etapas: (i) obtenção do mono-éster do ácido succínico pela reação do fragmento **B** com o anidrido succínico e (ii) reação de acoplamento do mono-éster do ácido succínico com o fragmento **A**, utilizando o hidrocloreto de N-(3-aminometilpropil)-N-etil-carbodiimida (EDC-HCl) como agente condensante.

O composto **1**, será futuramente submetido a testes de atividade biológica.

Palavras-chave: Câncer de pulmão, síntese de protótipo

ABSTRACT

Souza, D. H. **Studies on the preparation of a prototype for the therapy of non-small cells lung cancer**. 2022. 80p. Master Thesis – Graduate Program in Chemistry, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

All over the World, in 2018, lung cancer was responsible for ca. 1,8 million deaths. In such scenario there is an urge for new drugs that could improve the efficacy, minimize side effects and circumvent drug resistance.

In the last two decades, the ever expanding progress of hard and software provided several new tools for drug design, posing new challenges to the Synthetic Organic Chemist.

This work was dedicated to the synthesis of a new compound to be considered as a prototype for potential new drugs, provided it presents the expected biological activity. Ideally, such compound should have a small molecule and to be easily prepared from commercial reagents by simple and eco-friendly methods.

Computational modeling studies pointed to compound **1** as a prototype that could successfully interact with the biological target of the non small cells lung cancer. As for the synthetic planning, two fragments could be envisaged.

Fragment **A** could be prepared in four steps, from 2-aminonicotinic acid. To this end, after esterification of the starting material, the amino group was blocked by a CBz protecting group. Reduction with LiAlH_4 afforded the corresponding alcohol that was further mesylated and *in situ* submitted to reaction with 2-(pyrrolidin-3-yl)ethanol.

Fragment **B** was readily prepared from 1-bromononane and diethylene glycol, by a greener phase-transfer catalysis procedure.

The phosphate diester **1** could not be prepared from **A** and **B**. In view of this failure, a succinate diester was alternatively prepared in a two step procedure : (i) reaction of fragment **B** with succinic anhydride, affording the mono-ester of

succinic acid, and (ii) coupling of the succinic mono-ester to fragment **A**, using N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethyl-carbodiimide hydrochloride (EDC-HCl) as condensing agent.

As for biological activity, compound **1** will be tested in due course.

Key words: lung cancer, prototype synthesis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de câncer de pulmão	13
Figura 2. Principais quimioterápicos para o tratamento do CPCNP	15
Figura 3. A via Kennedy de biossíntese de fosfolípídeos derivados do glicerol.	25
Figura 4. Elementos formadores da molécula 1	33
Figura 5. Produtos isoméricos que poderiam se formar na reação do mesilato 3 com o 2-(pirrodin-3-il)-etanol.	40
Figura 6. Deslocamentos químicos de alguns hidrogênios significativos.	41
Figura 7. Deslocamentos químicos de alguns carbonos significativos.	41
Figura 8. Espectro de RMN de H do fragmento A	42
Figura 9. Espectro de RMN de C-13 do fragmento A região de 90 a 20 ppm.	42
Figura 10. Elementos formadores da molécula 1A	45
Figura 11. Moléculas biológicas construídas com um espaçador de dois carbonos.....	46
Figura 12. Prótons metilênicos d e d', no mono-succinato do fragmento 1	48
Figura 13. Espectro de RMN de H do composto 6	48
Figura 14. Espectro de RMN de H do composto 1A	50

SUMÁRIO

1.	Introdução	13
1.1.	A quimioterapia do câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP)	14
1.2.	Síntese de alguns quimioterápicos.....	16
1.2.1.	Síntese da Gemcitabina.	16
1.2.2.	Síntese da Vinorelbina	18
1.2.3.	Síntese do Paclitaxel (Taxol A) e do Docetaxel	19
1.2.4.	Síntese do Erlotinibe	22
1.3.	A busca de novos quimioterápicos.....	24
1.3.1.	A inibição de uma enzima da via Kennedy. Um exemplo de alvo biológico.....	24
1.3.1.1.	A biosíntese da fosfonoetanolamina e da fosfatidilcolina pela via Kennedy	25
1.4.	O planejamento racional de fármacos.....	29
2.	Objetivos	32
3.	Resultados e Discussão.....	34
3.1.	A preparação do fragmento A.....	34
3.2.	A preparação do fragmento B.....	42
3.3.	Estudos visando o acoplamento dos fragmentos A e B.	44
4.	Conclusões	50
5.	Parte Experimental.....	51
5.1.	Materiais e Métodos	51
5.1.1.	Instrumento, solventes e reagentes utilizados	51
5.1.2.	Métodos	52
5.1.2.1	Preparação do fragmento A.	52

5.1.2.1.1	Preparação do 6-amino-nicotinato de etila.....	52
5.1.2.1.2.	Preparação do 2-[[(Fenilmetóxi)carbonil]amino]-3-piridinil-carboxilato de etila	53
5.1.2.1.3.	Preparação do Fenilmetil-N-[5-(hidroximetil)-2-piridinil] carbamato ³⁰	54
5.1.2.1.4.	Preparação do fragmento A, via mesilato ²⁷	55
5.1.2.2.	Preparação do Fragmento B	57
5.1.2.2.1.	Preparação do 1-bromo-nonano	57
5.1.2.2.2.	Preparação do Mono-nonil- éter do etileno glicol ²⁹	58
5.1.2.3.	Preparação do Monosuccinato do fragmento B	59
5.1.2.3.1.	Utilizando trietilamina ³⁶	59
5.1.2.3.2.	Sem utilizar catalisador ou base ³⁷	59
5.1.2.4.	Preparação do produto composto-protótipo 1A ³²	60
	Referências Bibliográficas	61
	Apêndice A - Espectros de RMN 1H e ¹³ C	64
	Apêndice B - Espectrometria de massa de alta resolução	75

1. INTRODUÇÃO

Segundo dados do ano de 2020, o câncer de pulmão é altamente letal, sendo responsável, no mundo, por cerca de 2,12 milhão de novos casos, incluindo os dois gêneros humanos. Há fundamentalmente dois tipos de câncer de pulmão, histologicamente distintos: o de células pequenas (CPCP) e o de células não pequenas (CPCNP) (figura 1). Porém, estes dois tipos não se distribuem uniformemente, sendo o CPCNP responsável por 85% dos casos¹.

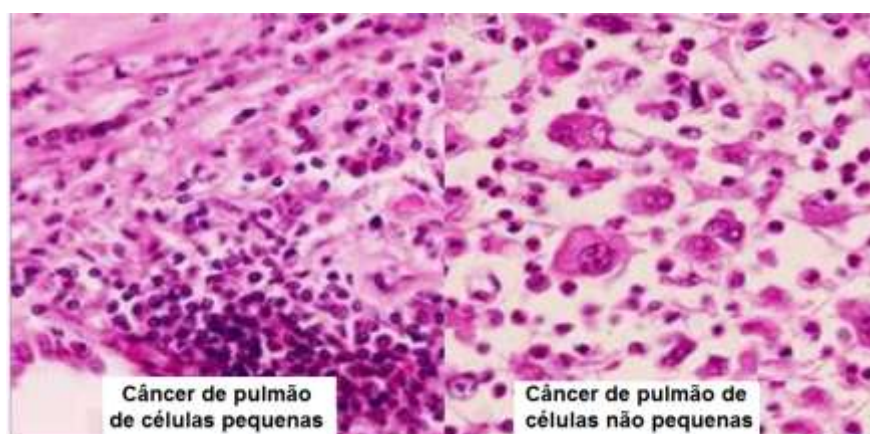


Figura 1. Tipos de câncer de pulmão

O câncer de pulmão, no mundo, ocupa o primeiro lugar entre os homens e o terceiro entre as mulheres, sendo as maiores taxas de incidência observadas na Oceania, nos países de leste europeu (homens) e na América do Norte e países do oeste europeu (mulheres). Com relação a dados de anos anteriores, parece haver uma tendência à diminuição da taxa de incidência do câncer de pulmão em homens, o que não se observa entre as mulheres. Essa diminuição pode ser devida ao gradativo abandono do tabagismo nos dias atuais, embora haja outros fatores causadores desse tipo de câncer como, por exemplo, a exposição a agentes químicos ou físicos, tais como o asbesto, o urânio, o radônio e o cromo².

Para o Brasil, O Instituto Nacional do Câncer (INCA) efetuou um trabalho estatístico que permitiu prever a incidência de novos casos de câncer de pulmão para o triênio 2020-2021. Os resultados desse trabalho apontam para uma incidência de 17.600 casos para homens e 12.440 em mulheres, com um risco

estimado em cerca de 17 casos novos para cada 100 mil homens e cerca de 11,6 para cada 100 mil mulheres².

O câncer de pulmão de pequenas células se apresenta de forma disseminada e o tratamento consiste no emprego de quimioterápicos e ou radioterapia, já que não é possível uma intervenção cirúrgica. Contrariamente, o tratamento do câncer de pulmão de células não pequenas se baseia no ato de ressecção cirúrgica ou na radioterapia, associados à quimioterapia adjuvante³.

1.1. A quimioterapia do câncer de pulmão de células não pequenas (CPCNP).

Apesar dos grandes avanços no campo da imuno-oncologia e da terapia molecular, o emprego de quimioterápicos citotóxicos ainda se constitui na principal via de tratamento do câncer de pulmão.

Os primeiros quimioterápicos usados no tratamento do CPCNP eram derivados da platina, tais como a cis-Platina e a Carboplatina, ou substâncias fosforiladas como a Ifosfamida. Porém, as décadas de 80 e 90 do século passado trouxeram, para a prática clínica, novas substâncias a serem empregadas isoladamente ou em conjunto com os derivados de platina. Dentre esses novos quimioterápicos podem ser citados os taxanos a gemcitabina, a vinorelbina e o erlotinib. Alguns anos mais tarde, surgiram novas formas de transporte do quimioterápico como, por exemplo, as nanopartículas de Paclitaxel (um taxano), associado a albumina⁴ (figura 2).

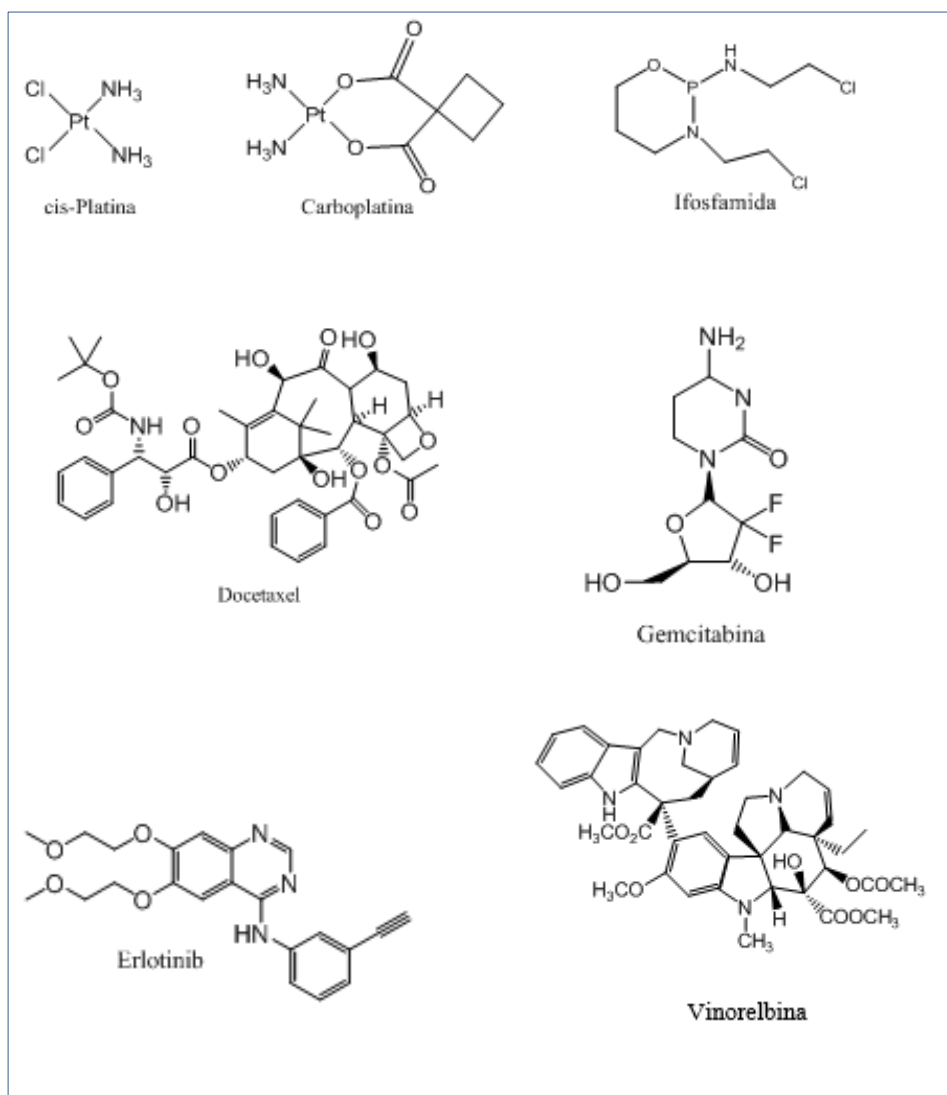


Figura 2. Principais quimioterápicos para o tratamento do CPCNP

Os principais mecanismos de ação para os quimioterápicos citados são: (i) interação direta com o DNA (agentes alquilantes); (ii) substituição de substâncias construtoras do DNA ou do RNA de células cancerígenas, e alteração da função de enzimas no interior da célula. Mimetização de nutrientes para a célula, o que resulta na morte celular (antimetabólitos). (iii) inibição direta da reprodução celular (anti-mitóticos)⁵.

Quanto à forma de tratamento, os quimioterápicos podem ser administrados como neoadjuvantes, em casos em que a redução do tumor se faz necessária antes da cirurgia de remoção. Sua administração como adjuvantes, no pós operatório, tem como objetivo evitar a recidiva.

Em ambos os casos, podem ser administrados de forma isolada ou em duplas. A terapia de manutenção^{4,6} se destina a pacientes que não apresentaram progressão no tumor ou remissão, com o objetivo de evitar uma recidiva.

Como alternativa ao tratamento em que os quimioterápicos são administrados em ciclos intervalados, pode ser aplicada a assim chamada “quimioterapia metronômica”⁷. Neste caso, o quimioterápico é administrado em doses baixas, de forma contínua ou com intervalos curtos. Este tipo de tratamento foi originalmente proposto para driblar a resistência aos quimioterápicos, e se baseia em uma mudança do alvo da quimioterapia. Assim, o objetivo não é atacar as células do tumor mas, por exemplo, inibir a angiogênese, bloqueando a vascularização do tumor e, portanto, o acesso a nutrientes vitais.

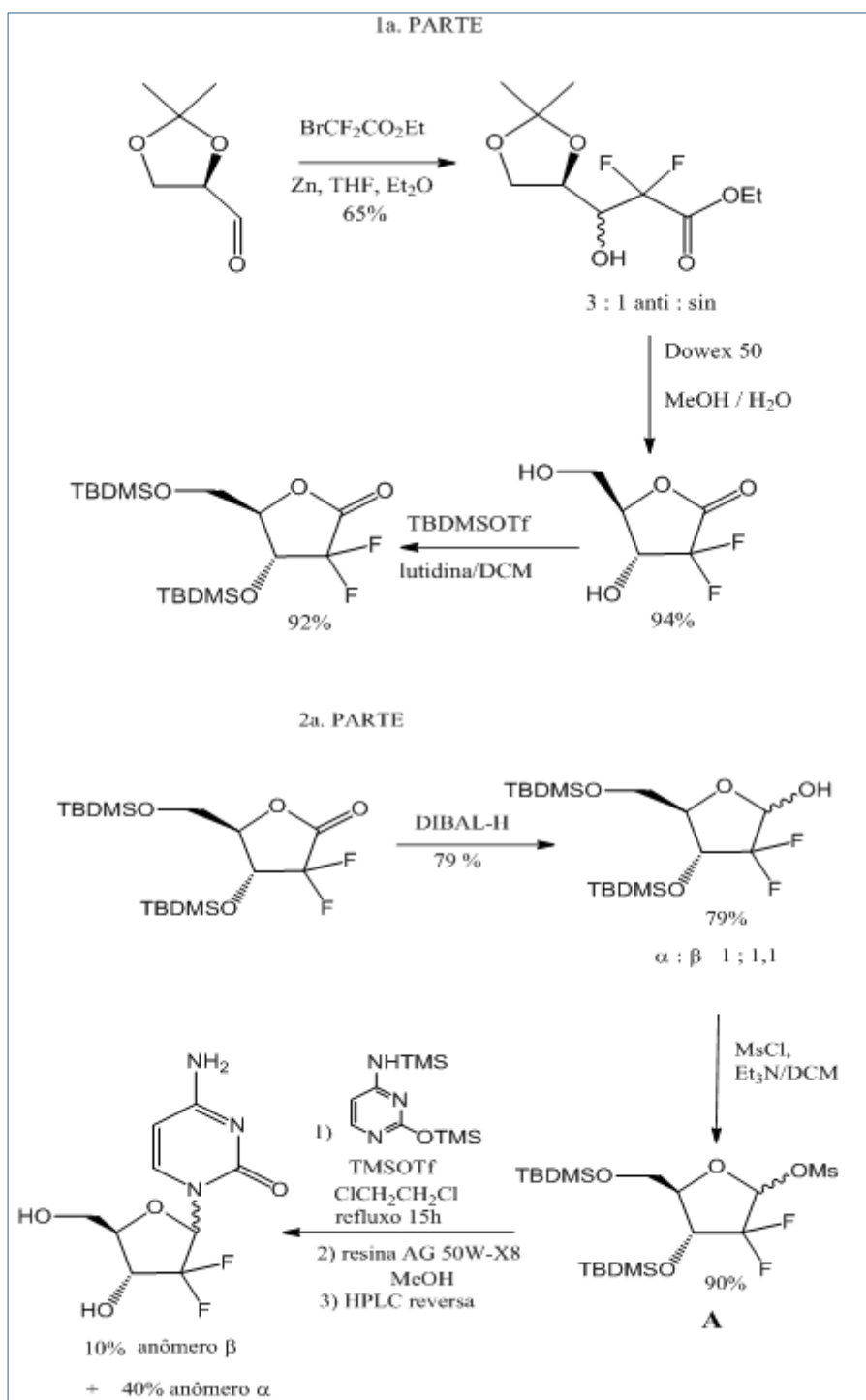
1.2. Síntese de alguns quimioterápicos

1.2.1. Síntese da Gemcitabina.

Este quimioterápico age substituindo um dos blocos construtores do DNA (ácidos nucleicos), especificamente a citidina, o que resulta na morte celular⁸.

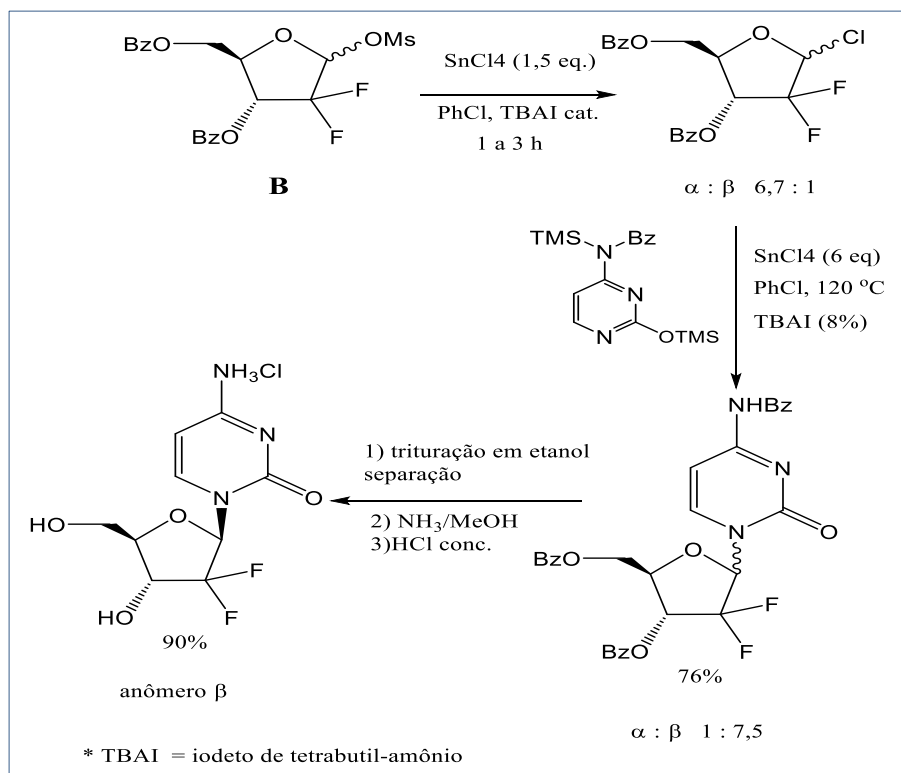
A síntese original da Gemcitabina foi desenvolvida por Hertel et al.^{8a}, em 1988, nos laboratórios de pesquisa da empresa farmacêutica Lilly (Esquema 1).

Esquema 1



Visando melhorar a estereosseletividade da N-glicosilação da citosina, Liu et al.⁹, apresentaram, em 2019, uma nova rota, em que empregaram um intermediário **B**, análogo a Esquema 1, porém benzilado (Esquema 2).

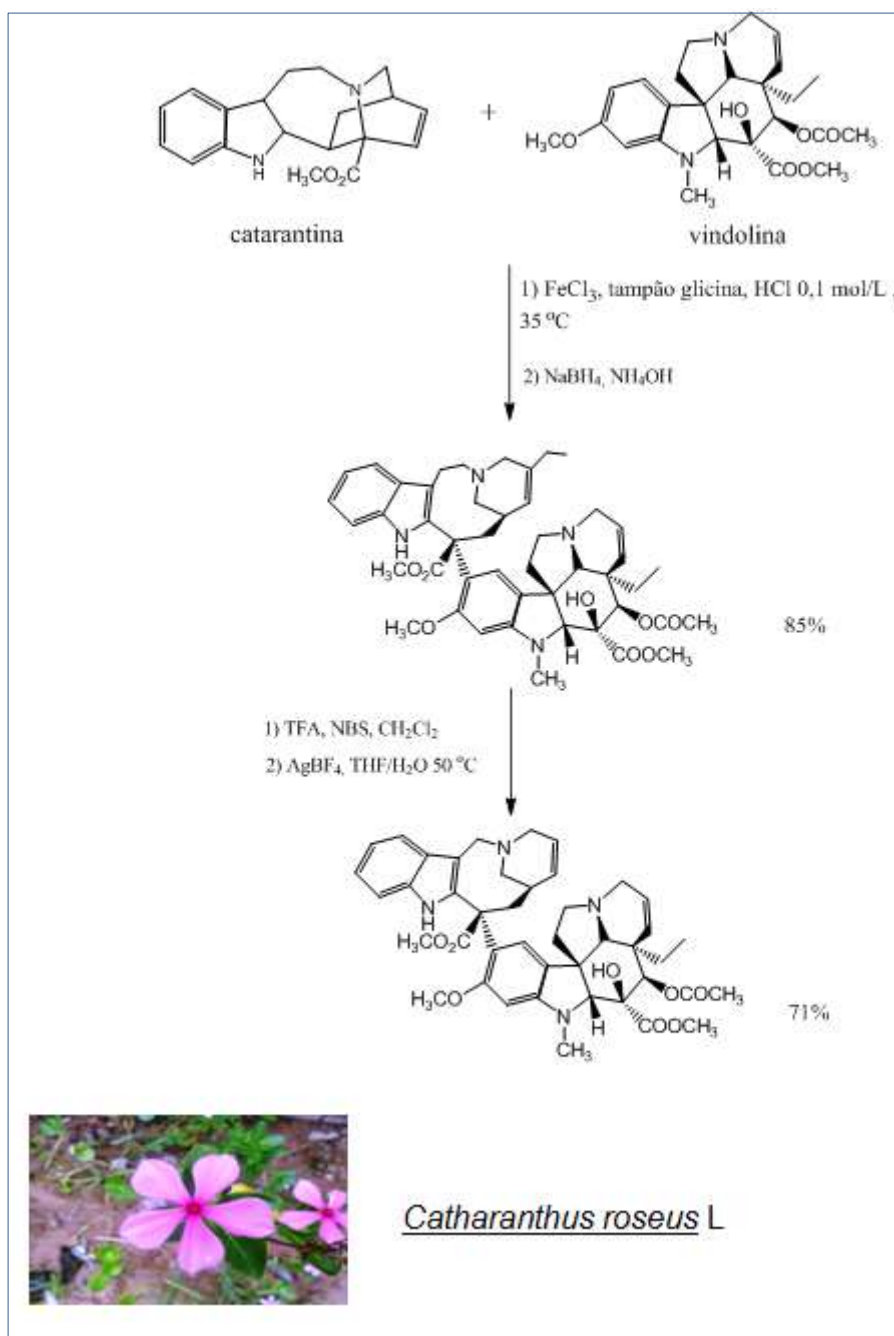
Esquema 2



1.2.2. Síntese da Vinorelbina

A Vinorelbina é um alcaloide do tipo vinca que interfere na polimerização da tubulina, inibindo a mitose celular (anti-mitótico)^{10a} e é sintetizada a partir dos produtos naturais carantina e vindolina^{10b-c}, presentes na *Catharanthus roseus* L, espécie endêmica de Madagascar. Após o acoplamento original dos dois alcaloides, ocorre a contração do anel da porção vilbenamina (Esquema 3).

Esquema 3



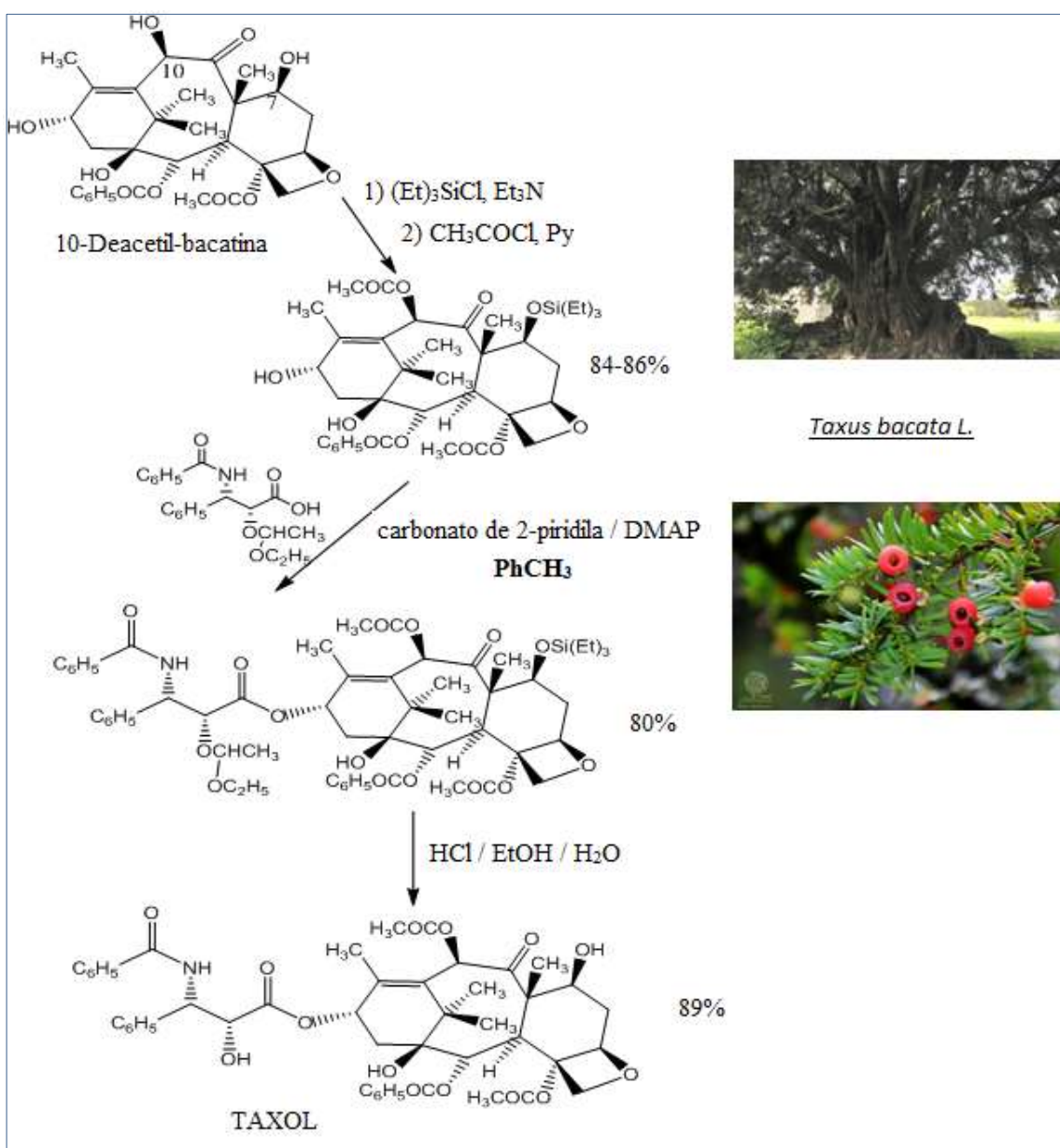
1.2.3. Síntese do Paclitaxel (Taxol A) e do Docetaxel

A propriedade anti-neoplásica do taxol foi relatada pela primeira vez em 1971^{11a,b} e se deve à sua capacidade de se ligar à tubulina, interferindo no processo de divisão celular^{8c} (anti-mitótico). Inicialmente, era isolado, em baixo rendimento, de algumas espécies de treixo (gênero *Taxus*, família Taxaceae). Porém, a extração do taxol ameaçava a planta de extinção, como expresso em

um artigo publicado em 1987 em jornal norte-americano de grande circulação: “There is wide spread concern that, ironically, if taxol proves effective...the yew population could be so severely depleted that there would not be enough trees left to make treatment successful”¹².

Esse tipo de limitação foi pela primeira vez contornado, em 1988, pela utilização do precursor sintético 10-Deacetil-bacatina, extraído, com bom rendimento, das folhas do freixo *Taxus baccata L*, cujas folhas se regeneram com facilidade após a colheita.

Esquema 4

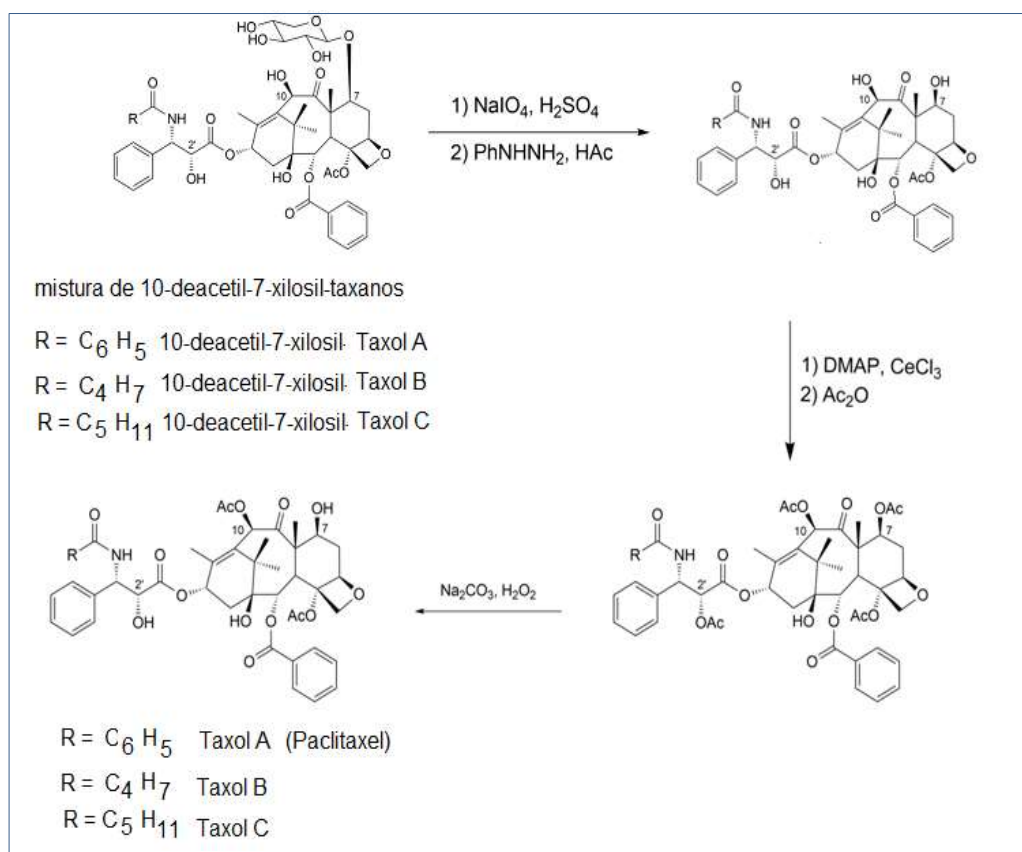


No esquema 4, está apresentada a síntese original do taxol a partir da 1-Deacetil-bacantina. Nesta rota sintética, condições reacionais controladas conduziram à proteção seletiva da hidroxila na posição 7, assim como a acetilação seletiva da hidroxila em posição 10.

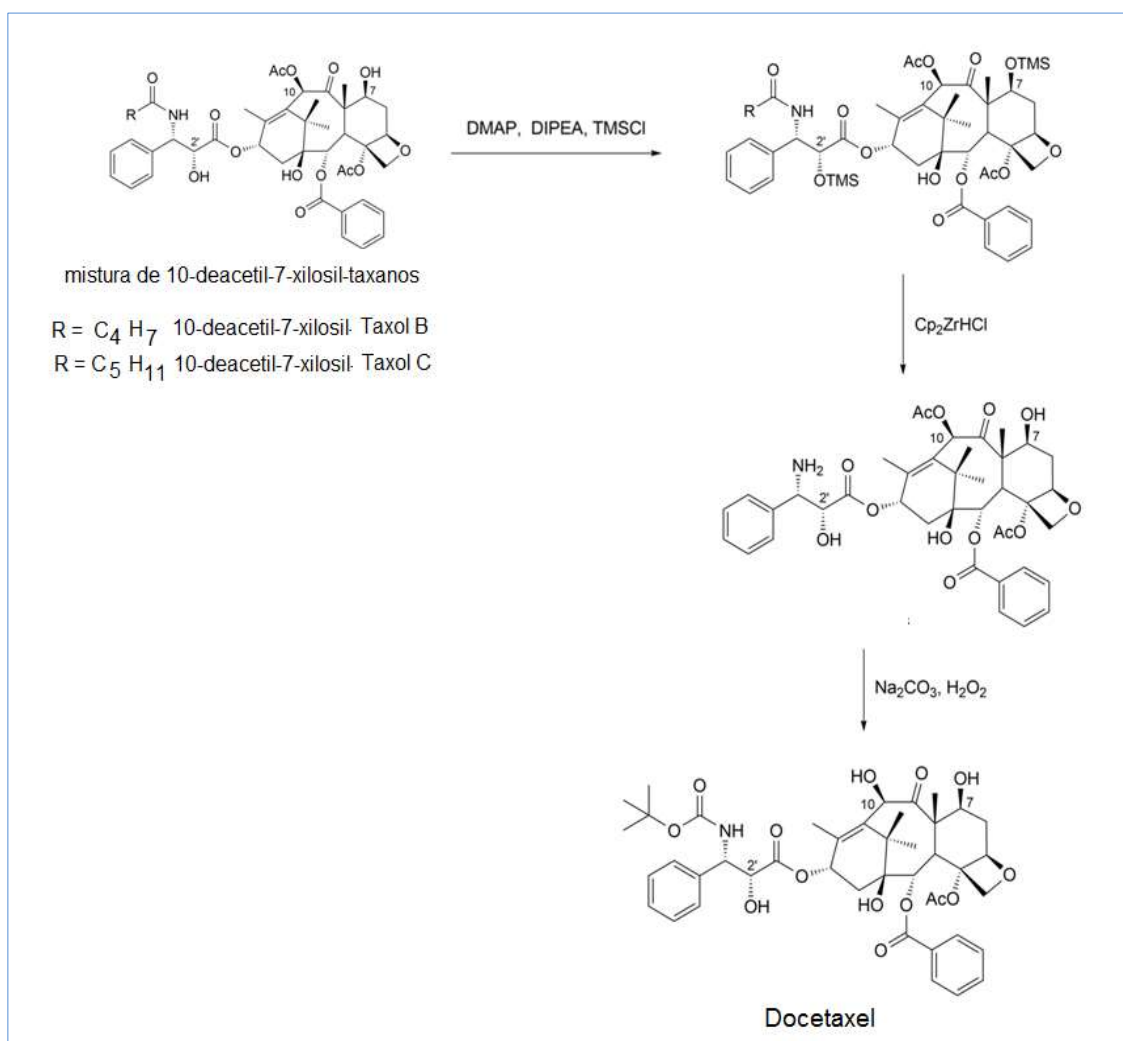
Durante a elaboração da síntese semi-sintética do taxol, foi descoberto outro derivado, o docetaxel, com maior solubilidade, biodisponibilidade e atividade anti-neoplásica superior à do taxol.

Em função da grande importância do taxol e seus análogos no tratamento de alguns tipos de câncer, incluindo o CPCNP, a China iniciou um intenso processo de plantio do freixo *Taxus chinensis*. Porém, o conteúdo de taxol e de 10-deacetil-bacatina, nesse espécimen, é muito inferior quando comparado ao da *Taxus bacata* L. Porém, a *Taxus chinensis* é rica em 10-deacetyl-7-xylosyltaxanes (uma mistura de 10-deacetyl-7-xylosyltaxols A, B and C). Em artigo recente¹³, tais intermediários foram utilizados com sucesso na síntese semi-sintética do Taxol A e do Docetaxel (Esquemas 5 e 6, respectivamente).

Esquema 5



Esquema 6

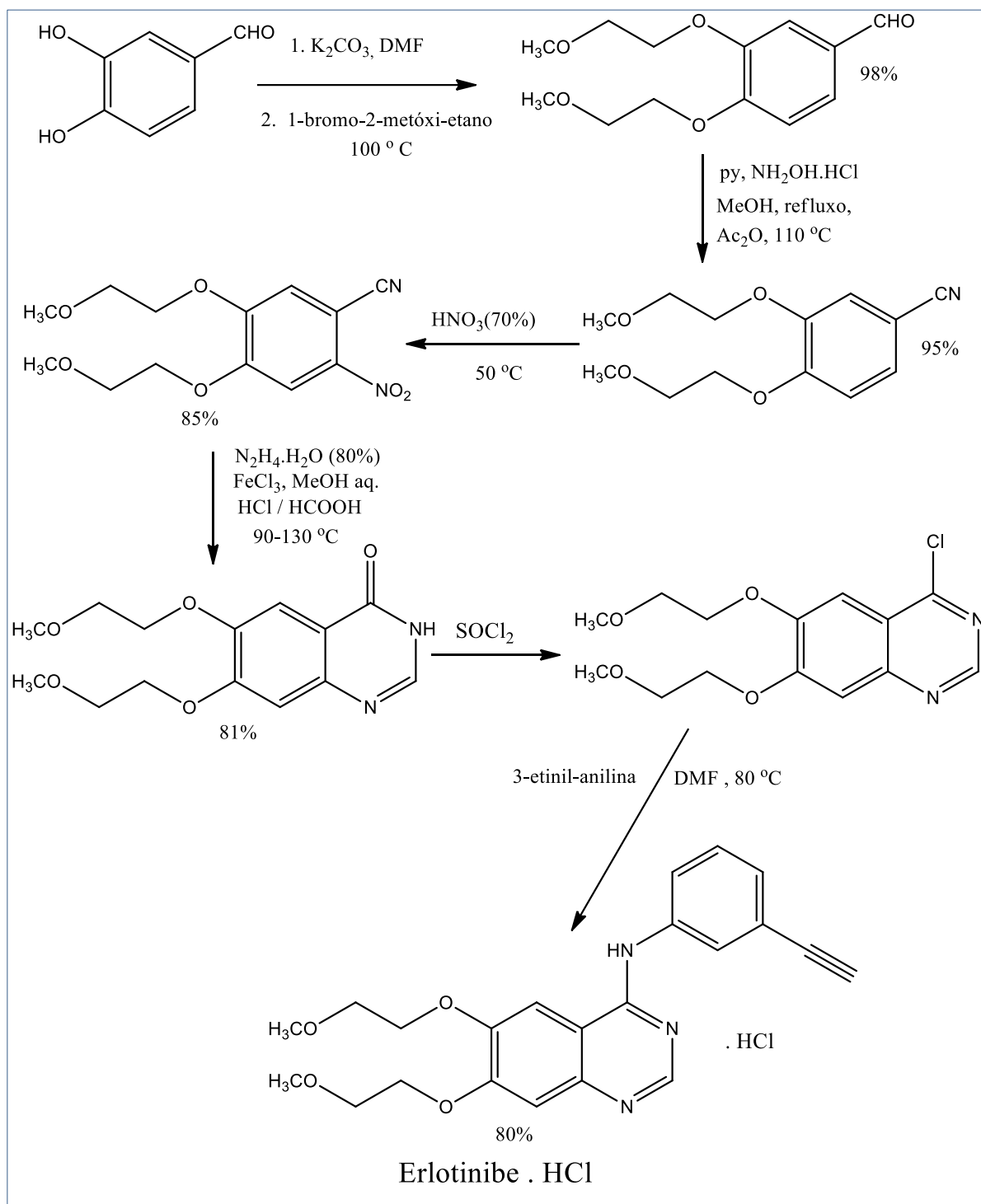


1.2.4. Síntese do Erlotinibe

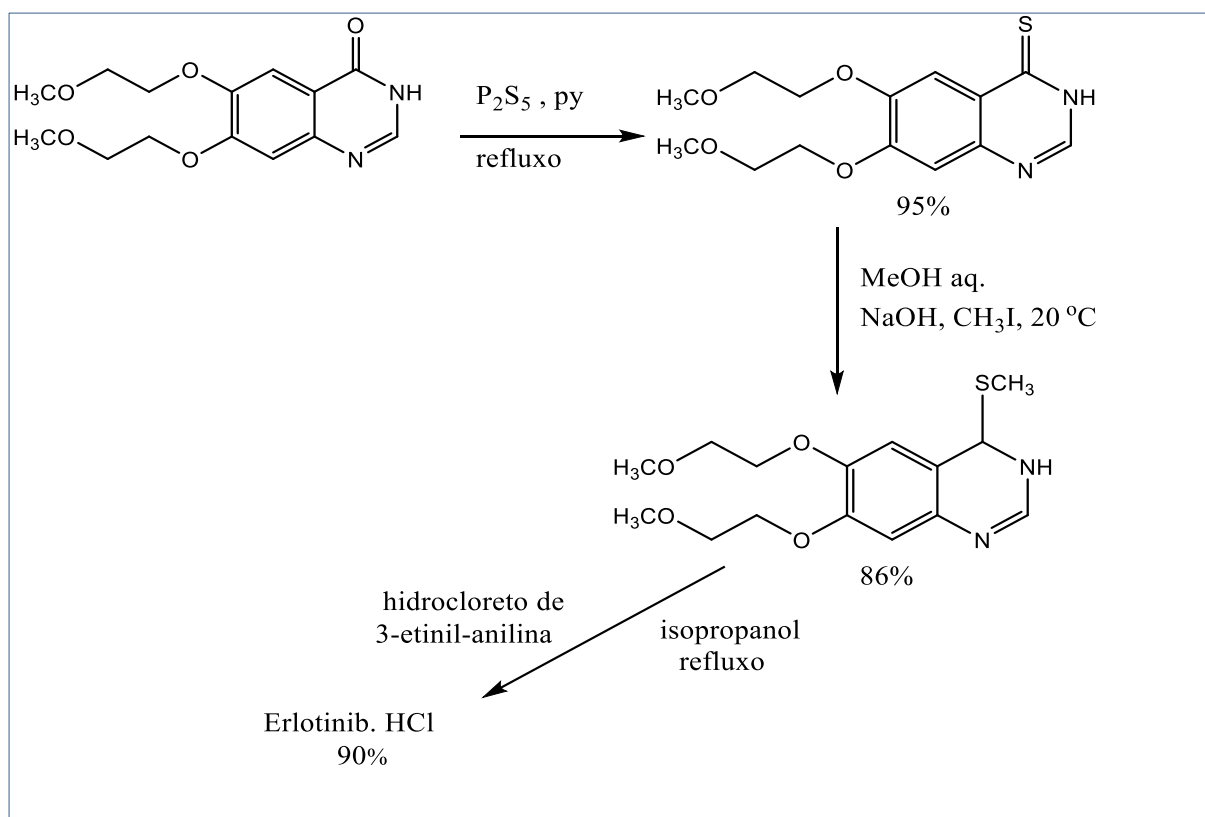
O Erlotinib atua na inibição do Fator de Crescimento Epidermal (EGF), uma glicoproteína que atua regulando funções celulares tais como a proliferação, a diferenciação, e a sobrevivência celulares, além de controlar a angiogênese¹⁴.

Em 2007, Chandregowda et al.¹⁴ publicaram um síntese do Erlotinib com rendimento global de 42%, a partir de 3,4,-di-hidróxi-benzaldeído (Esquema 7). No mesmo ano, os mesmos autores publicaram uma nova rota sintética, bastante semelhante à anterior, mas que evitava o uso da 4-cloro-quinazolina que é um composto instável¹⁵ (Esquema 8).

Esquema 7



Esquema 8



1.3. A busca de novos quimioterápicos

1.3.1. A inibição de uma enzima da via Kennedy. Um exemplo de alvo biológico

A procura de novos compostos-protótipos, candidatos a novos fármacos, exige um planejamento racional, visando a interação com determinado alvo biológico, que está envolvido no mecanismo bioquímico de determinado quadro patológico¹⁶. O câncer, em geral, se caracteriza por neoplasias, em que há uma proliferação descontrolada das células tumorais. Assim, uma possível estratégia no desenvolvimento consiste em inibir uma enzima de importância em uma das fases da reprodução celular. Nesse contexto, a enzima CTP: fosfoetanolamina citidililtransferase se apresenta como um alvo em potencial. Cabe lembrar que a inibição dessa enzima é um dos mecanismos de ação dos fosfolípídeos anti-neoplásicos, em que há interrupção da biossíntese de fosfolípídeos naturais (produzidos via Kennedy), com a consequente morte celular.

1.3.1.1. A biosíntese da fosfoetanolamina e da fosfatidilcolina pela via Kennedy

A fosfatidiletanolamina e a fosfatidilcolina são os principais fosfolipídeos, derivados do glicerol, presentes nas membranas de células eucarióticas. Em meados do século passado, Kennedy e Weiss, trabalhando com células de fígado de rato, elucidaram a rota biosintética de formação desses dois fosfolipídeos¹⁷.

A rota biosintética, assim chamada de a “via Kennedy”, consiste de dois braços, um relativo à síntese da fosfatidiletanolamina (FE) e outro à da fosfatidilcolina (FC) (Figura 3).

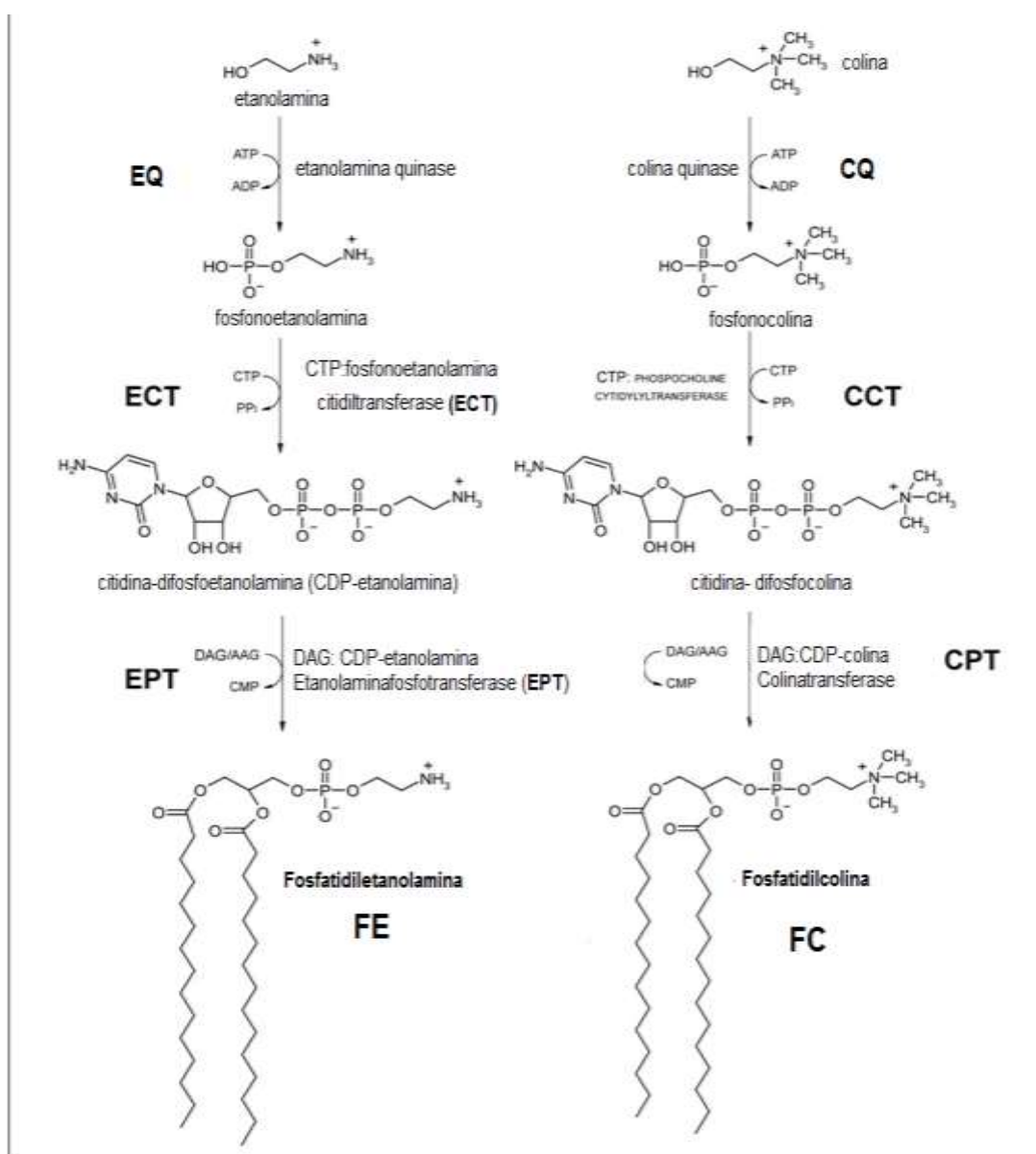


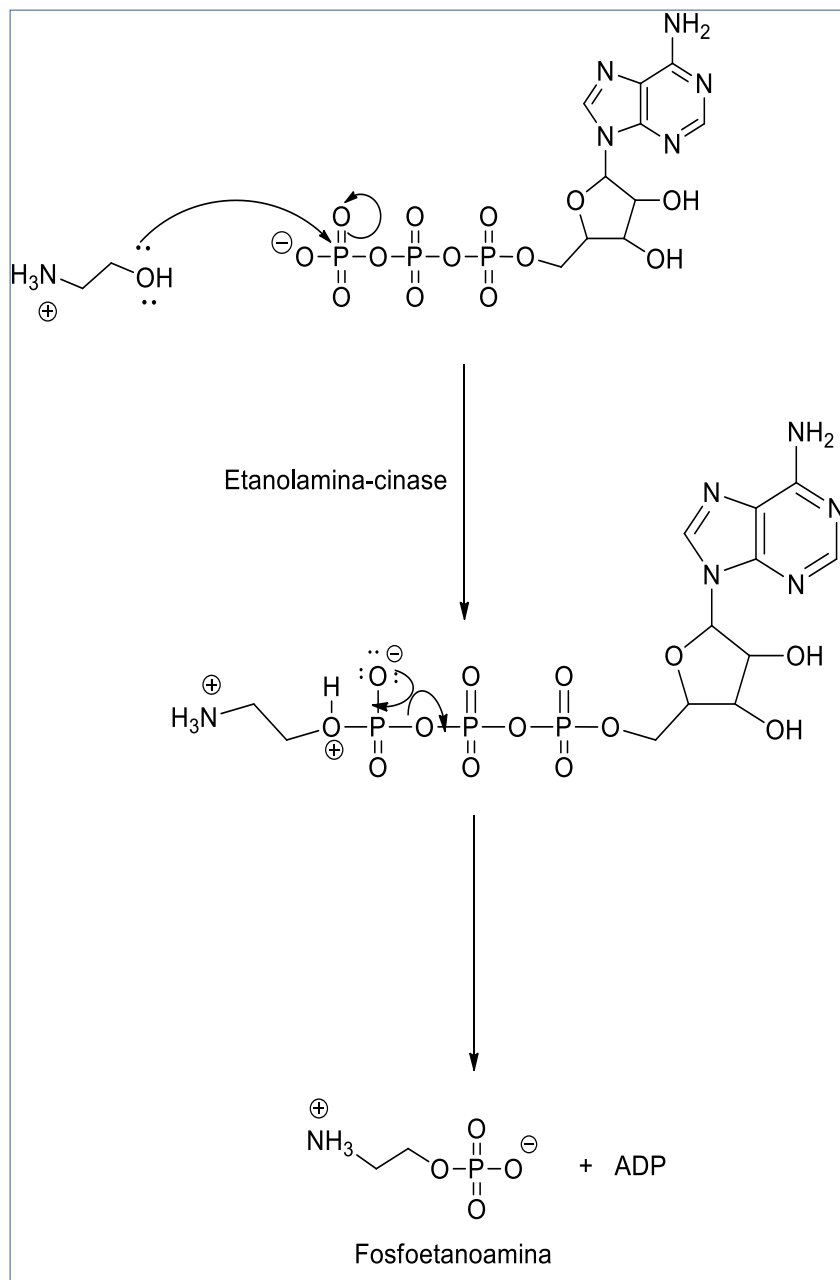
Figura 3. A via Kennedy de biossíntese de fosfolipídeos derivados do glicerol¹⁸.

O primeiro passo da biossíntese da FE consiste na fosforilação da etanolamina, pelo ATP, resultando na fosfoetanolamina. Esse passo é catalisado pela enzima etanolamina quinase (EQ). O segundo passo, considerado o passo limitante da velocidade global da reação de síntese, consiste na formação de citidina-fosfoetanolamina (CDP-etanolamina), pela reação catalisada entre a fosfoetanolamina e a citidina-5'-trifosfato (CTP), com liberação de pirofosfato. A enzima atuante nesse passo é a CDP:fosfoetanolamina-citidil-transferase (ECT). O último passo, catalisado pela enzima CDP-etanolamina:1,2-diacilglicerol etanolaminafosfotransferase (EPT), consiste na formação da fosfatidiletanolamina (FE), pela reação do diacil-glicerol (DAG) com o precursor CDP-etanolamina. No outro braço da via Kennedy, passos análogos levam à formação da fosfatidilcolina (FC)¹⁸.

A seguir, são apresentados os mecanismos para cada passo da biossíntese da fosfatidiletanolamina:

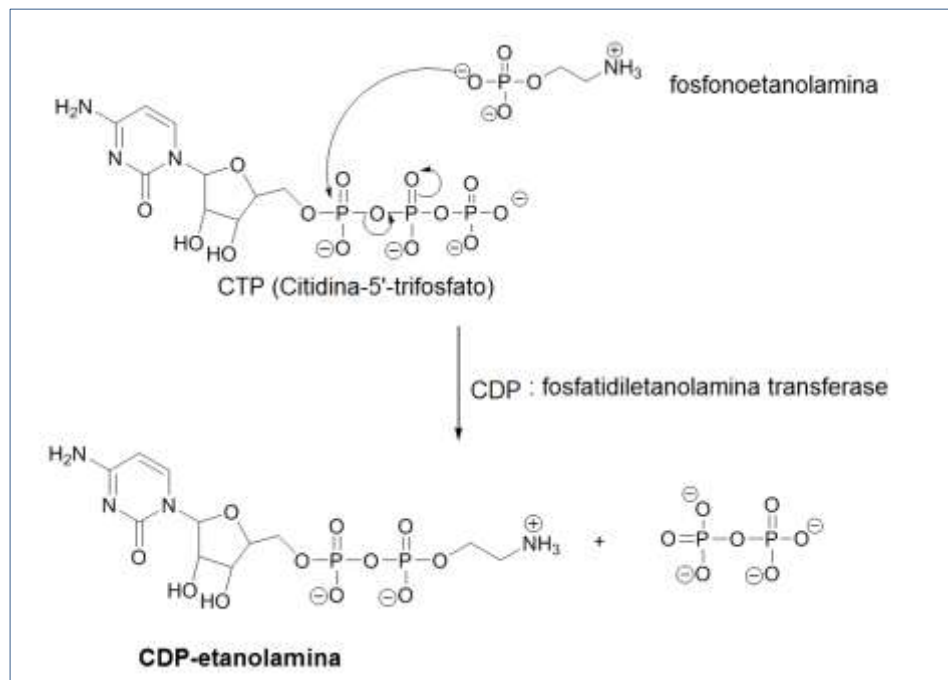
Primeira etapa : Fosforilação da etanolamina (Esquema 9).

Esquema 9



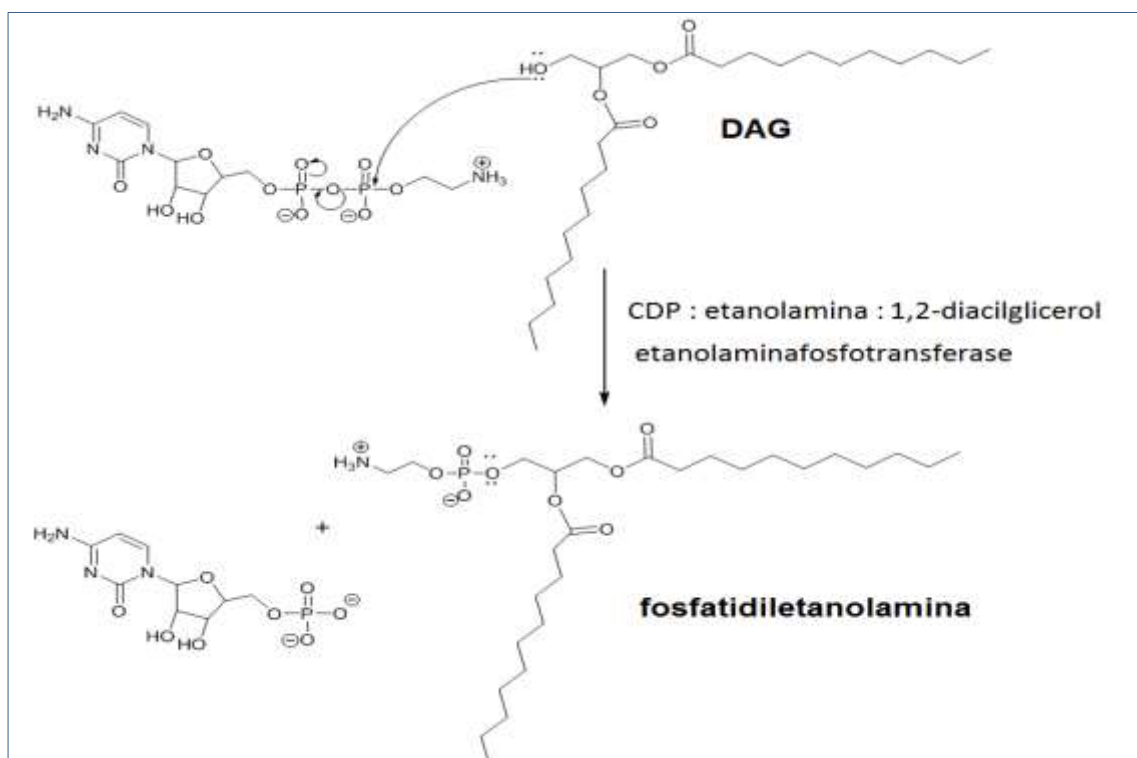
Segunda etapa : Formação da citidina-fosfoetanolamina (CDP-etanolamina)

Esquema 10



Terceira etapa : Formação da fosfatidiletanolamina.

Esquema 11



A fosfatidiletanolamina participa da arquitetura da membrana celular. Possui uma pequena cabeça polar e longas cadeias carbônicas hidrofóbicas, formando estruturas hexagonais, não lamelares. A fosfatidiletanolamina tem um papel central na divisão celular. Assim sendo, em células com deficiência de FE a divisão celular é incompleta. Por outro lado, a inibição da síntese da fosfatidiletanolamina pode afetar a distribuição transmembranar de proteínas que, na mitocôndria, estão envolvidas na respiração celular. A desestruturação da distribuição de tais proteínas pode conduzir à morte celular¹⁸.

1.4. O planejamento racional de fármacos

Uma vez definido o alvo biológico, é necessário buscar compostos que possam interagir de forma efetiva com esse alvo, competindo com o metabólito natural.

Para a construção dessa quimioteca, são utilizados recursos computacionais que exploram as estruturas tridimensionais do alvo biológico e dos complexos formados pela sua interação com ligantes. O desenvolvimento tecnológico da bio-informática permitiu a formação de um poderoso banco de dados sobre a estrutura de proteínas, determinada quer seja por espectroscopia de Raios-X ou por RMN. Como primeiro passo em seu trabalho computacional, o químico medicinal recorre a esse banco de dados e inicia a busca de moléculas pequenas as quais possam funcionar como ligantes bloqueadores da propriedade biológica da proteína escolhida como alvo.

Um primeiro método computacional consiste em, utilizando um programa específico, fazer o “docking” (encaixe) de várias moléculas pequenas nos pontos passíveis de interação da proteína. Essas várias pequenas moléculas são encontradas em um banco de dados, e ali estão descritas em sua geometria mais estável. Este procedimento gera uma série de moléculas-candidatas, que são classificadas em função da qualidade do entrosamento. Mais recentemente, o “docking” já pode ser feito com múltiplas conformações do ligante, de uma forma mais flexível.

É também possível construir um ligante ideal, que é uma molécula inédita não descrita na literatura química. Nesse caso, a estratégia computacional

consiste em investigar interações de grupos funcionais ou de fragmentos moleculares com a macromolécula alvo. Tais interações deverão ser energeticamente favoráveis e são do tipo ligação de hidrogênio, ligação iônica e de van der Waals, além de efeitos hidrofóbico e de solvente. A seguir, os fragmentos são conectados, criando a estrutura molecular do ligante. Nesse processo, podem ser criadas ou quebradas ligações, inseridos átomos de carbono ou cadeias laterais, visando, sempre, uma minimização da energia global. Neste método pode haver a construção de uma molécula que, por tratamento computacional posterior, poderá dar origem a uma biblioteca virtual de moléculas análogas.

A associação macromolécula alvo / ligante é governada por fatores cinéticos e termodinâmicos. A termodinâmica da associação é comandada pela variação da energia livre quando da formação do complexo. Assim, encaixe será favorável se o ΔG for negativo. Para uma estimativa da efetividade da associação, a variação de energia livre calculada para o novo complexo poderá ser comparada com a de um complexo formado com ligantes conhecidos, presentes no meio biológico.

Em resumo, o planejamento de fármacos mediado por computadores (Computer-Assisted Drug Design) empregará, além da modelagem molecular, dados fornecidos pela quimiometria e pelas relações quantitativas entre estrutura e atividade (QSAR).

Embora globalmente haja um grande dispêndio de recursos públicos no tratamento do câncer, as terapias em voga ainda apresentam uma efetividade aquém do esperado, quando comparadas às de outras doenças, com um indesejável elevado número de mortes. Este panorama desalentador exige um maior investimento na procura de novos anti-neoplásicos, quer seja pela comunidade acadêmica, quer seja pelo setor produtivo¹⁹.

Uma nova estratégia, aplicada não apenas ao tratamento de câncer, mas também a outras patologias, é o reposicionamento de fármacos já existentes no mercado farmacêutico. Assim, a tabela 1 apresenta alguns desses medicamentos e suas novas aplicações que estão, atualmente, sob investigação²⁰.

Tabela 1. Alguns fármacos cujo reposicionamento está sendo investigado²⁰.

Fármaco	Uso primário	Possível aplicação por tipo de câncer	Fase	Situação atual
Digoxina	Anti-arrítmico	Sarcoma Karposi, Câncer de próstrata, mama e melanoma	II	Recrutando voluntários
Metilformina	tratamento de Diabetes	Câncer de cólon Câncer de pâncreas	II II	Recrutando voluntários Completada
Diclofenato	Anti-inflamatório	Câncer de próstata	II	Completada

Esta nova estratégia apresenta as seguintes vantagens com relação ao desenvolvimento de novos anti-neoplásicos : (i) menor tempo e custo dispendidos em testes clínicos, pois medicamentos já testados têm seu perfil de farmacocinética, tolerabilidade e toxicidade já bem definidos, (ii) fases II e III mais rápidas. Porém, com relação ao desenvolvimento de anti-cancerígenos inéditos, o reposicionamento de fármacos apresenta alguns desafios a serem superados, já que, na sua maioria, a pesquisa de tais substâncias se dirige não ao tumor mas sim a sua vizinhança, como seria o caso de um fármaco anti-angiogênese. Além disso, como esses fármacos têm múltiplos alvos, não podem ser considerados como agentes de monoterapia do câncer. Caso o fármaco seja patenteado, haverá pouco interesse da indústria farmacêutica. Por outro lado, fármacos cuja patente já se esgotou são pouco atrativos em termos de retorno financeiro.

Apesar das perspectivas animadoras do reposicionamento de fármacos, a pesquisa “de novo” de agentes anti-neoplásicos ainda recebe a maior atenção tanto na academia como no setor produtivo.

O presente trabalho está focado na síntese de um um composto com potencial aplicação no tratamento do câncer de pulmão de células não pequenas. Nesse sentido, é desejável que esse composto inédito tenha uma estrutura pequena, e que sua preparação demande poucas etapas. Por outro lado, é desejável que essas etapas sejam realizadas a partir de compostos facilmente disponíveis e que os métodos empregados se aproximem o mais possível das demandas da Química Verde. Essas premissas podem resultar em menores custos e facilidade de produção na moderna indústria farmacêutica.

Guiados por tais objetivos, visualizamos um possível caminho sintético para uma nova molécula, cuja estrutura foi definida a partir do trabalho de planejamento racional, realizado pela Dra. Kerly Fernanda Mesquita Pasqualoto e com a colaboração do Dr. Márcio Henrique Zaim (Alchemy Biotecnologia Ltda).

2. OBJETIVOS

Estudos computacionais conduziram a uma proposta estrutural para um protótipo destinado ao desenvolvimento de um novo fármaco para a terapia de câncer de pulmão de células não pequenas.

O objetivo central do presente trabalho é o desenvolvimento de uma rota de preparação do protótipo proposto e que apresente as seguintes características:

- (i) poucas etapas preparativas e de fácil execução,
- (ii) emprego de reagentes de fácil acesso comercialmente.

A rota inicialmente proposta consiste no acoplamento de dois fragmentos:

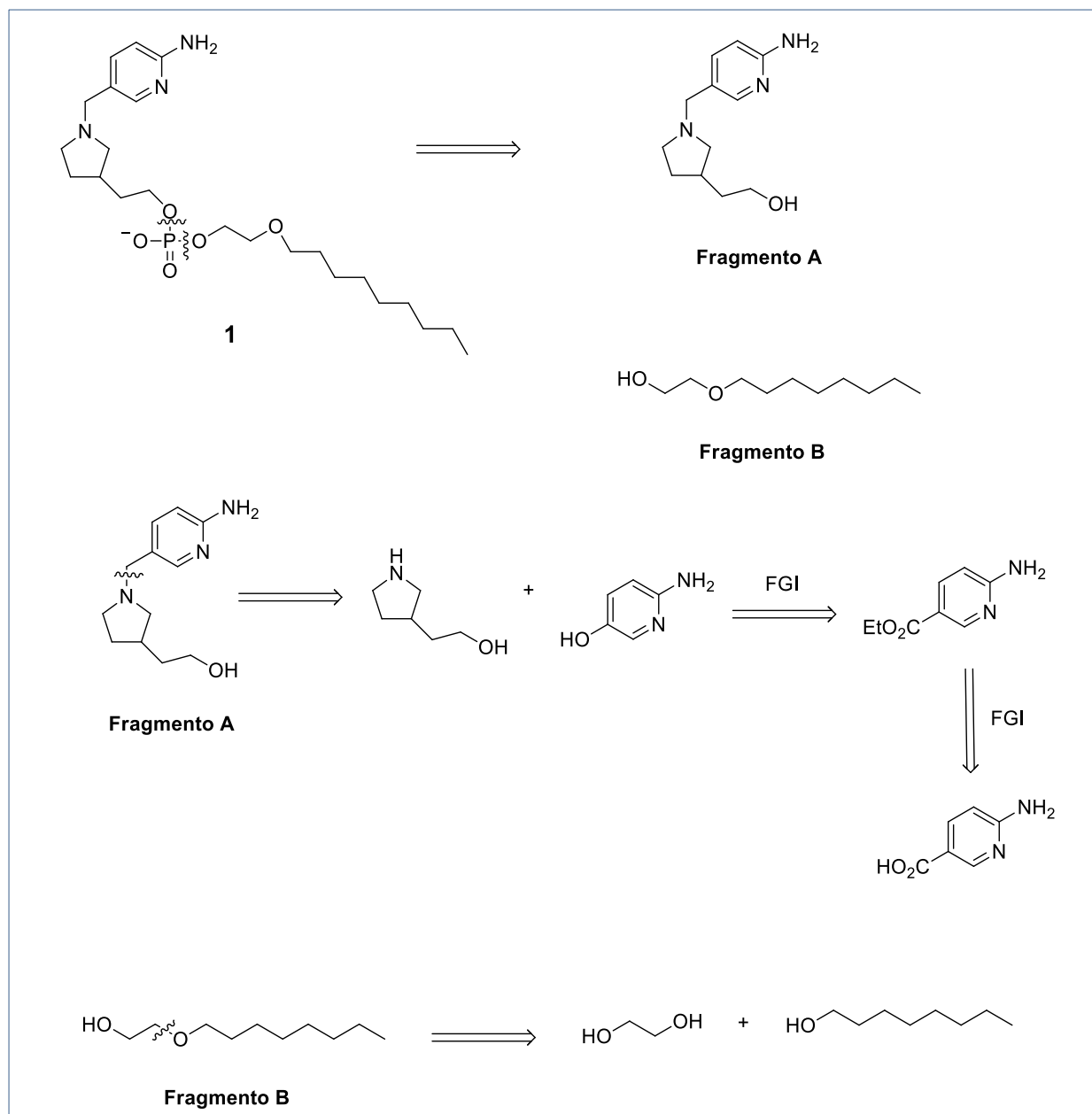


Figura 4. Elementos formadores da molécula 1.

Para a preparação do fragmento **A**, são propostas 5 etapas a partir do ácido 2-amino-nicotínico e que envolvem reações de esterificação, redução, mesilação e substituição nucleofílica alifática.

O fragmento **B** é derivado do etilenoglicol, pela sua eterificação com bromo-nonano, em condições catálise de transferência de fase.

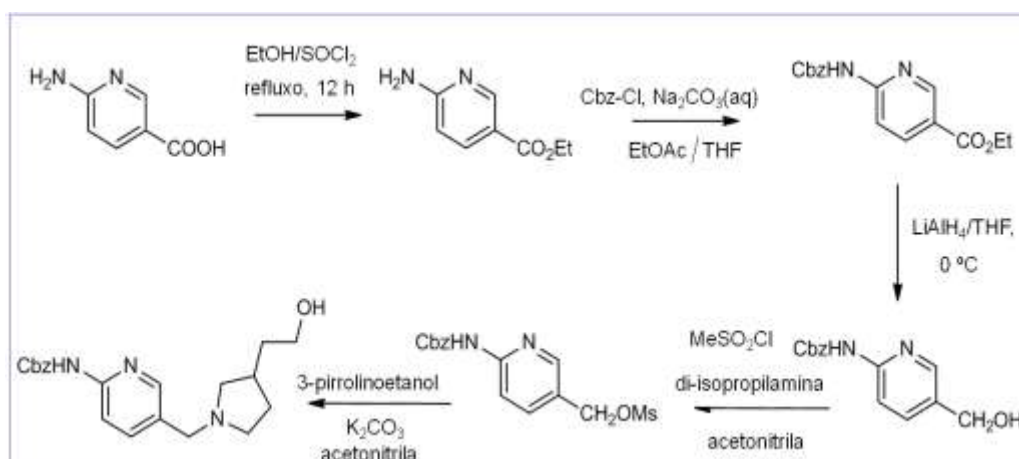
O diéster do ácido fosfórico **1** deve resultar do acoplamento dos dois fragmentos **A** e **B**, segundo método especificamente descrito.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. A preparação do fragmento A

Para a preparação do fragmento **A**, foi proposto seguinte caminho sintético, em analogia ao proposto para a preparação da (S)-5((3-fluoropirrolidinil)metil)-2-amino-piridina²¹ (Esquema 12).

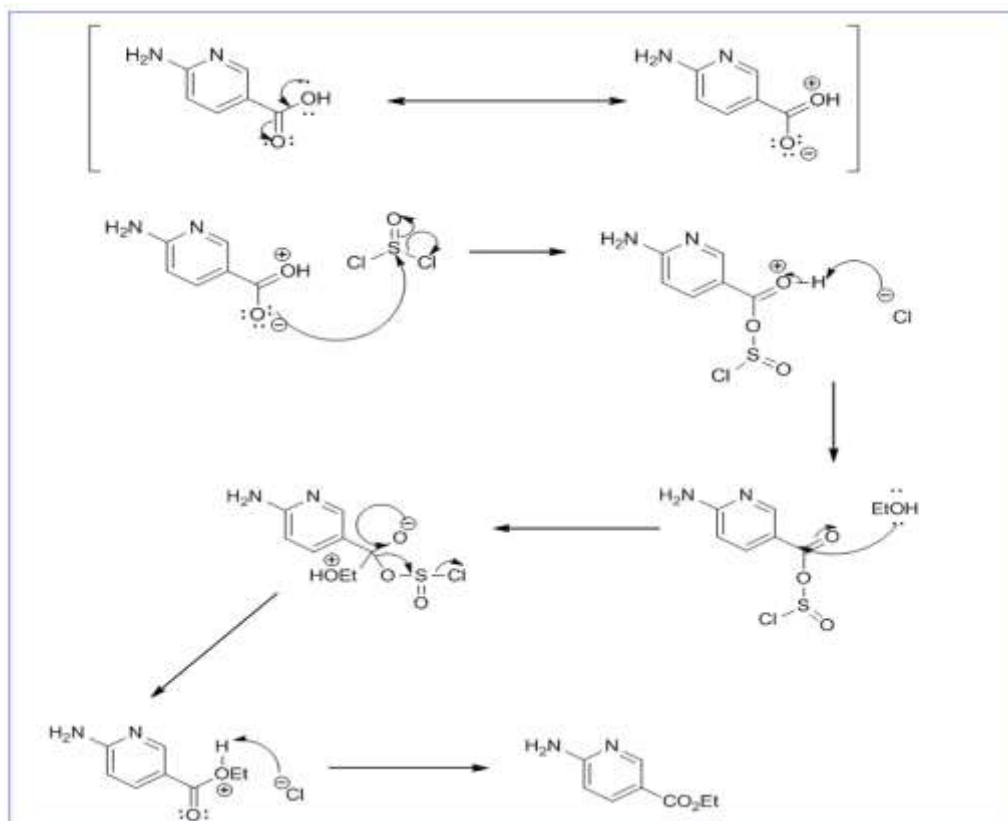
Esquema 12



Em uma primeira tentativa de esterificação do ácido 3-amino-nicotínico, este reagente e cloreto de tionila, na proporção molar de 1:3, foram dissolvidos em etanol a 60 °C, e assim mantidos sob agitação por 7 horas. Porém, após este tempo a análise por cromatografia de camada delgada indicou que a reação não havia ocorrido. Porém, sob aquecimento a refluxo²², após, 12 horas de reação, o produto pôde ser isolado puro, em 93% de rendimento.

O mecanismo desta reação está representado no esquema 13:

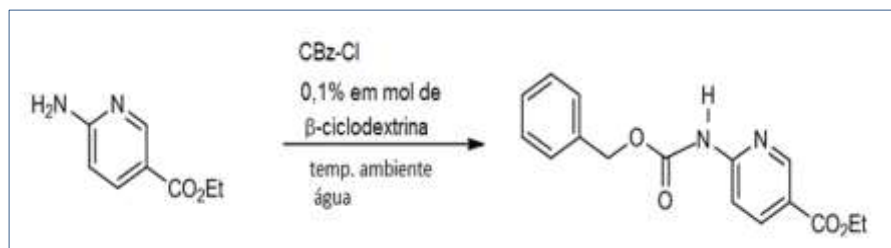
Esquema 13



Uma vez obtido o 6-amino-nicotinato de etila, decidiu-se pela proteção do grupo amino, para que pudessem ser efetuadas as etapas reacionais seguintes, sem interferência deste grupo que apresenta caráter básico e nucleofílico.

Para esta proteção do grupo amino, havia duas descrições na literatura^{23,24}. A primeira delas²³, apresentava uma nova metodologia de proteção de grupo NH₂, utilizando o cloroformiato de benzila em água, à temperatura ambiente e na presença de uma quantidade catalítica de β-ciclodextrina (Esquema 14). Este método parecia ser superior ao método clássico, pois evita a utilização de condições muito básicas, a mistura de solventes orgânicos/água e longos tempos de reação. Porém, mesmo seguindo estritamente as condições indicadas no artigo de referência, a reação de proteção não foi bem sucedida, recuperando-se integralmente o reagente de partida.

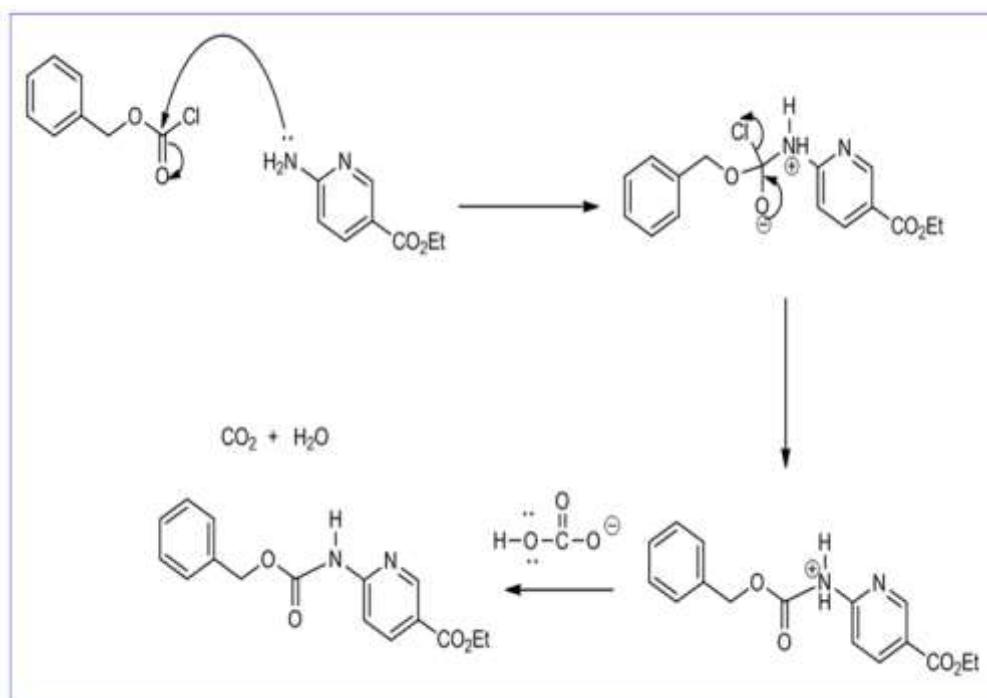
Esquema 14



Em vista do insucesso da reação na presença de β -ciclodextrina, passou-se a utilizar o método clássico de proteção²⁴, qual seja, a reação do 6-aminopiridinato de etila com o cloroformiato de benzila na presença de uma solução aquosa de bicarbonato de sódio. Após 18h de agitação a 0°C, o produto foi extraído e isolado. O rendimento do éster *N*-protegido puro assim preparado foi de 25%.

O mecanismo da reação de proteção do nitrogênio amínico está representado no esquema 15.

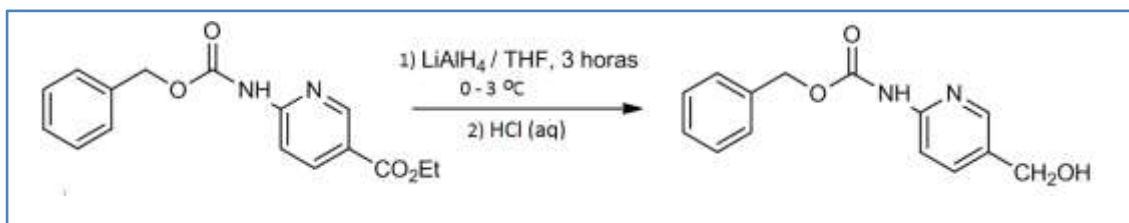
Esquema 15



A seguir, o 2-[[fenilmetóxi]carbonil]-3-piridinil carboxilato de etila, foi tratado com hidreto de lítio e alumínio, visando obter o álcool correspondente

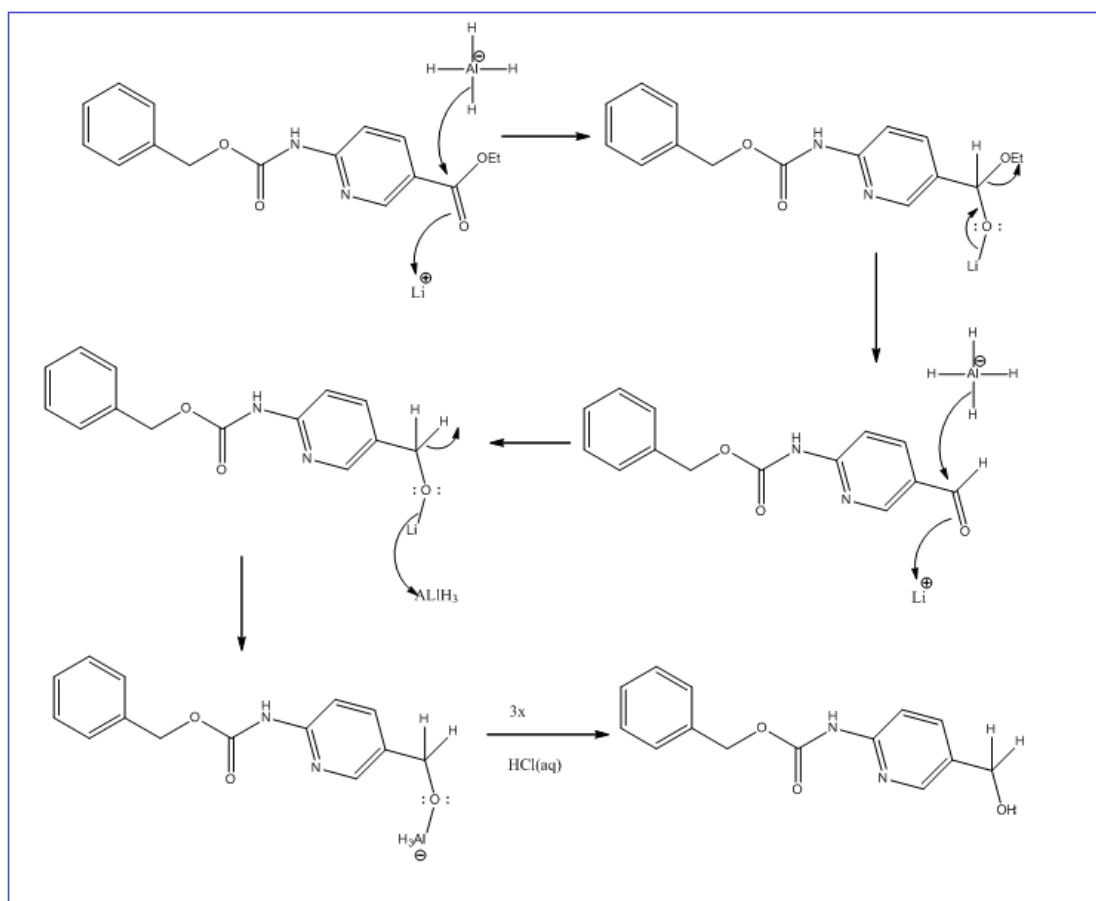
(esquema 16). Esta transformação foi bem sucedida e o álcool pôde ser isolado puro em 49% de rendimento.

Esquema 16



O mecanismo para o passo de redução está representado no esquema 17:

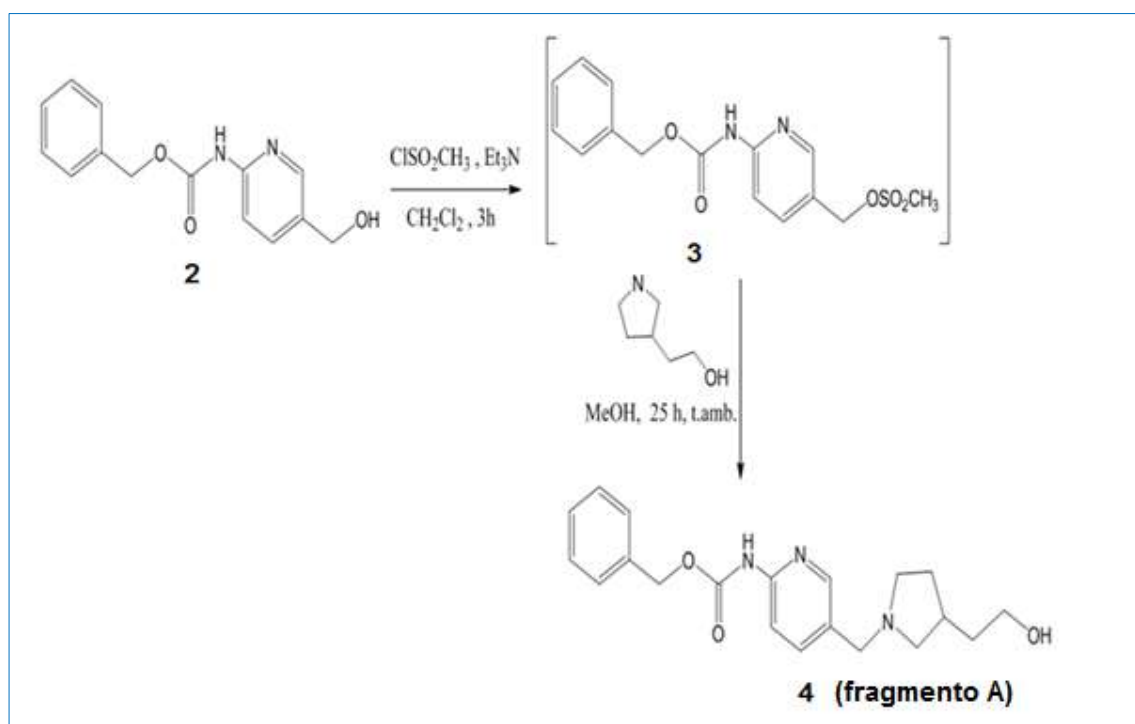
Esquema 17



O último passo sintético para a obtenção do fragmento **A** consistia em condensar o álcool **2** com o 2-(pirrolidin-3-il)-etanol. Esta reação poderia ser feita via uma substituição nucleofílica alifática, do tipo $\text{S}_{\text{N}}2$, desde que o grupo OH

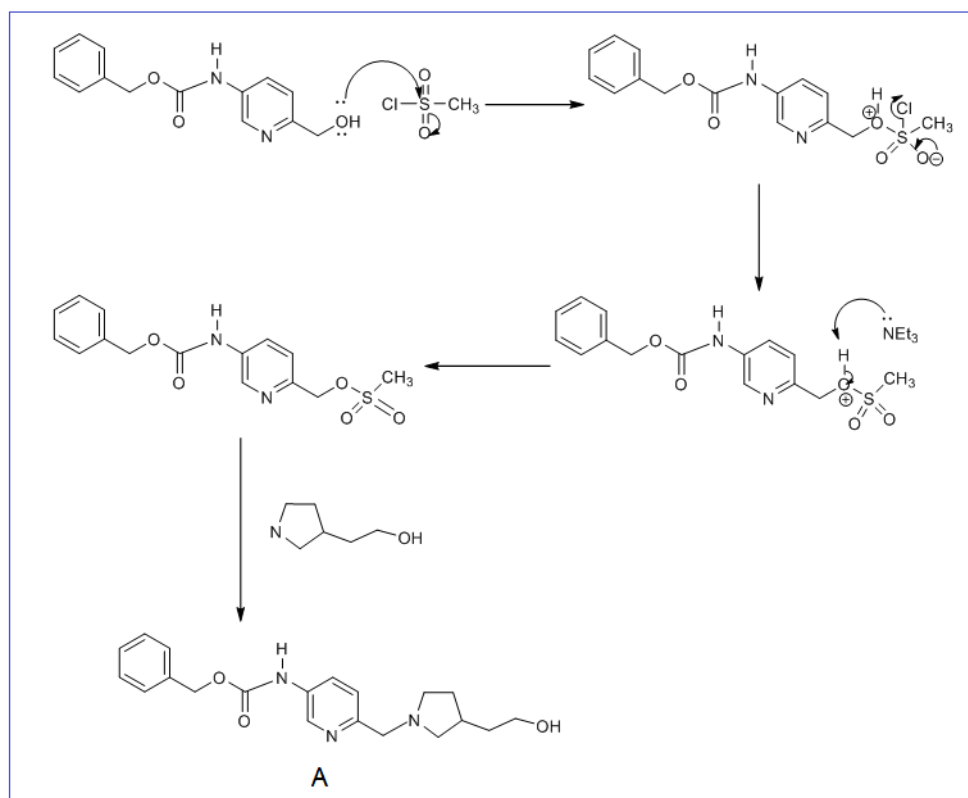
fosse transformado em um melhor grupo de partida. Para tanto, fez-se reagir o fenilmetil-N-[5-(hidroximetil)-2-piridinil] carbonato **2** com cloreto de mesila²⁶ e, sem isolar o mesilato formado **3**, efetuou-se a reação com o 2-(pirrolidin-3-il) etanol, de procedência comercial, dissolvido em etanol²⁷. O produto bruto, obtido em 88% de rendimento, foi submetido a separação cromatográfica em coluna de sílica, sendo obtido puro em apenas 11% de rendimento. O baixo rendimento desta etapa pode ser atribuído ao fato de ter sido utilizado um solvente nucleofílico (etanol) que, embora preconizado pela literatura de referência²⁷, deve competir como o álcool pirrolidínico, consumindo parte do composto mesilado (Esquema 18).

Esquema 18



O mecanismo global desta transformação está representado no esquema 19:

Esquema 19



A fórmula molecular do composto obtido (fragmento **A**) foi confirmada pelo registro do espectro de massas de alta resolução, cujo valor apresentava um desvio de apenas 4,2 ppm com relação ao valor teórico. Porém, é preciso considerar que o 2-(pirrolidin-3-il) etanol possui dois centros nucleofílicos, quais sejam o grupo OH e o nitrogênio anelar. Assim, a reação via cada um desses grupos conduziria a dois produtos isoméricos (figura 5).

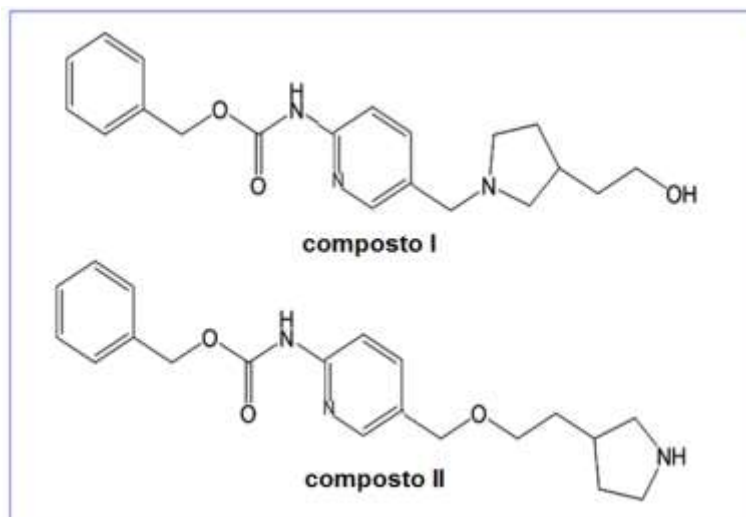


Figura 5. Produtos isoméricos que poderiam se formar na reação do mesilato **3** com o 2-(pirrodin-3-il)-etanol.

Para dirimir a dúvida quanto à estrutura do produto efetivamente formado, após isolamento e purificação do produto em coluna de sílica, foram registrados os seus espectros de RMN de H e de C-13.

Primeiramente, era necessário verificar se a diferença entre os deslocamentos químicos entre os dois compostos seria significativa para uma definição inequívoca da estrutura do produto. Para tanto, foram efetuadas simulações, para os dois isômeros, utilizando o programa ChemDraw 12.0. Como esperado, os deslocamentos químicos para o grupamento amino-piridina protegida eram praticamente idênticos em ambos os compostos. Restava, portanto, analisar o grupamento que se constitui no elo de ligação entre os anéis piridínicos e pirrolidínicos. As figuras 6 e 7 mostram, em evidência, os deslocamentos químicos dessa porção estrutural, quer seja para os espectros de RMN de H ou de C-13.

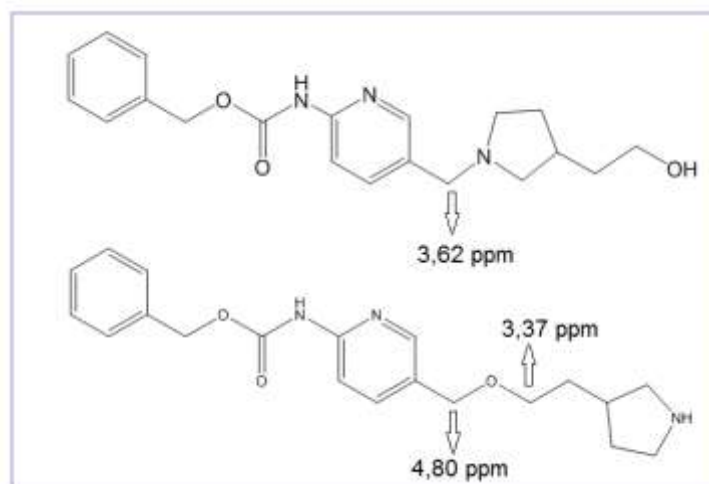


Figura 6. Deslocamentos químicos de alguns hidrogênios significativos.

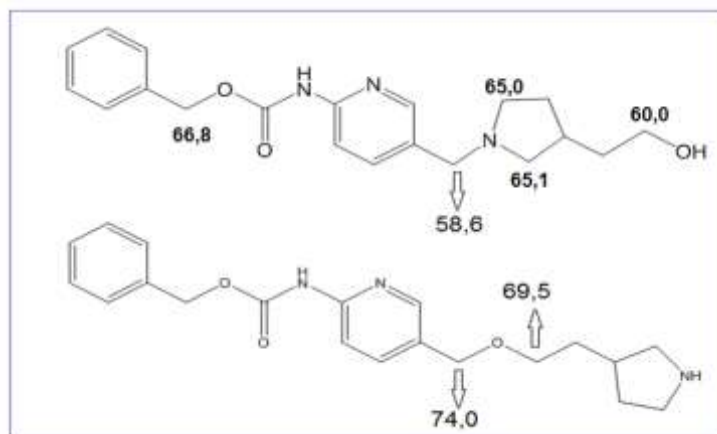


Figura 7. Deslocamentos químicos de alguns carbonos significativos.

Um excerto ampliado dos espectros de RMN de H e de C-13 experimentais estão apresentados nas figuras 8 e 9. Como se pode observar, no espectro de RMN de H não há um sinal em ca. de 4,80 ppm. Por outro lado, no espectro de RMN de C-13, não há qualquer sinal de carbono alifático abaixo de 67,3 ppm. Assim sendo, os deslocamentos químicos para os prótons metilênicos de interesse correspondem à estrutura do isômero I.

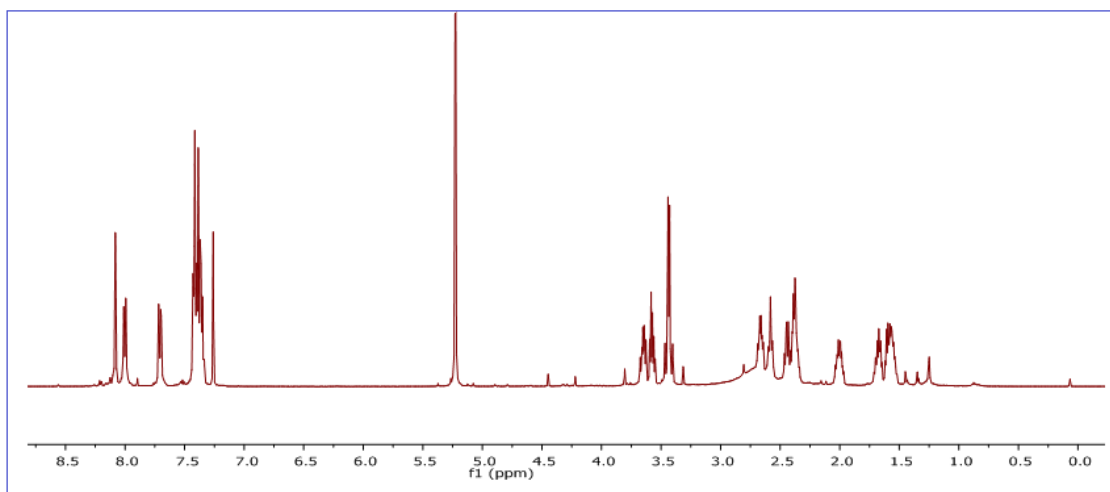


Figura 8. Espectro de RMN de H (300 MHz, CDCl₃) do fragmento **A**

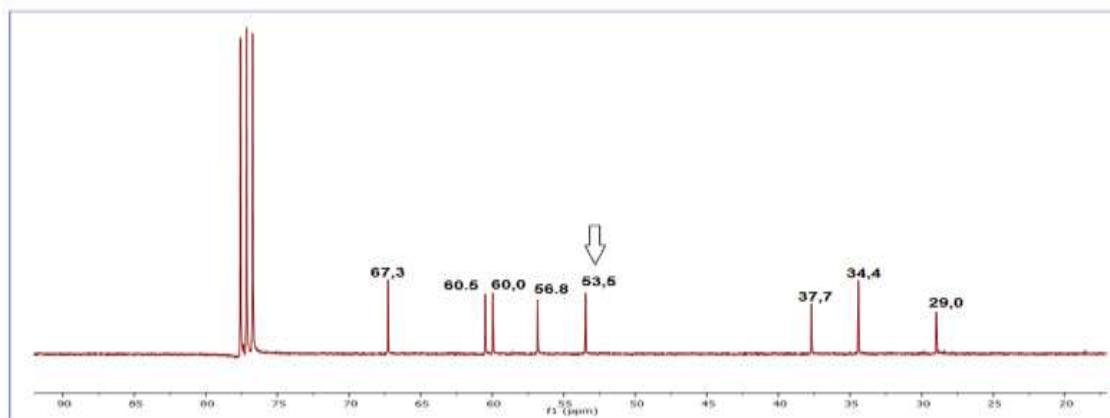
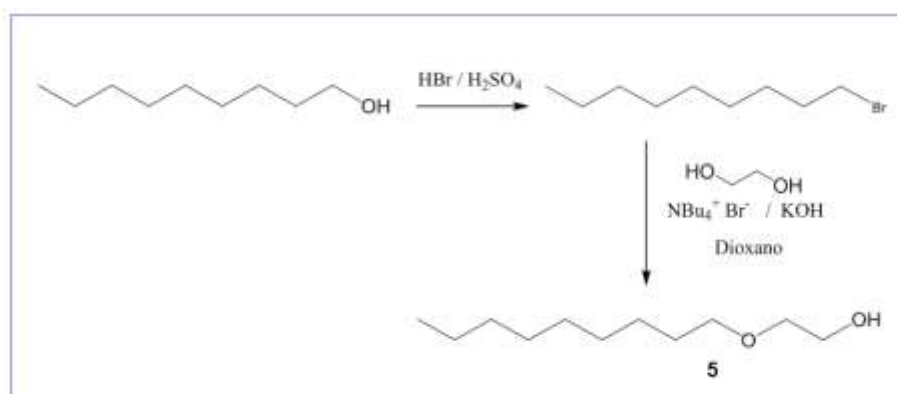


Figura 9. Espectro de RMN de C-13 (75z MHz, CDCl₃) do fragmento **A** região de 90 a 20 ppm.

3.2. A preparação do fragmento **B**

O fragmento **B**, estruturalmente mais simples, poderia ser sintetizado em apenas duas etapas reacionais (Esquema 20).

Esquema 20

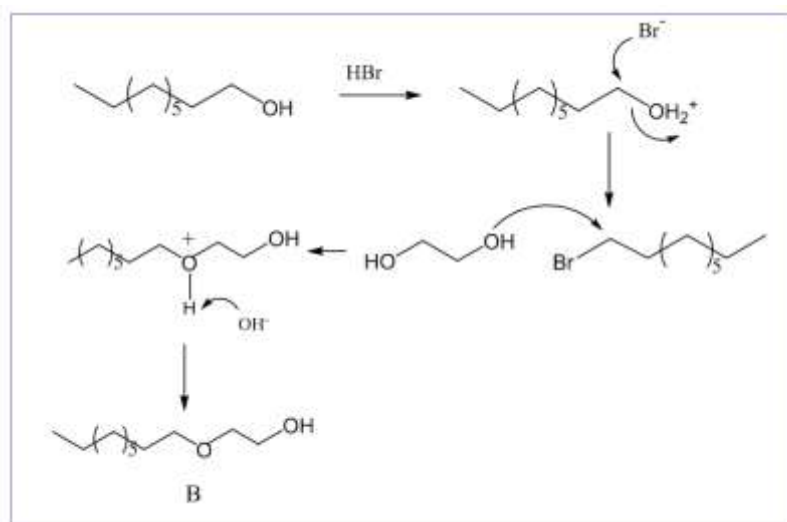


A bromação do 1-nonanol foi efetuada pelo tratamento com $\text{HBr}(\text{aq})$ 48% e H_2SO_4 concentrado²⁸, rendendo o produto esperado em 95% de rendimento.

O segundo passo da rota proposta, baseou-se em um artigo de 2014, em que é descrita a reação do 1-bromo-nonano com etilenoglicol em condição de transferência de fase. O sistema reacional é heterogêneo líquido/líquido, formado por uma solução de KOH em etilenoglicol e pelo haleto de alquila dissolvido em dioxano²⁹. O catalisador de transferência de fase, necessário para a ocorrência da reação, é o brometo de tetrabutílica. No presente trabalho, ao utilizar esse procedimento, o monoéter do etilenoglicol **5** foi obtido em puro, após destilação, em 44% de rendimento. A identidade do produto obtido foi confirmada por espectrometria de massas de alta resolução, com um desvio de 5,7 ppm.

O esquema 21 apresenta o mecanismo global envolvendo as transformações que conduziram ao fragmento **B**

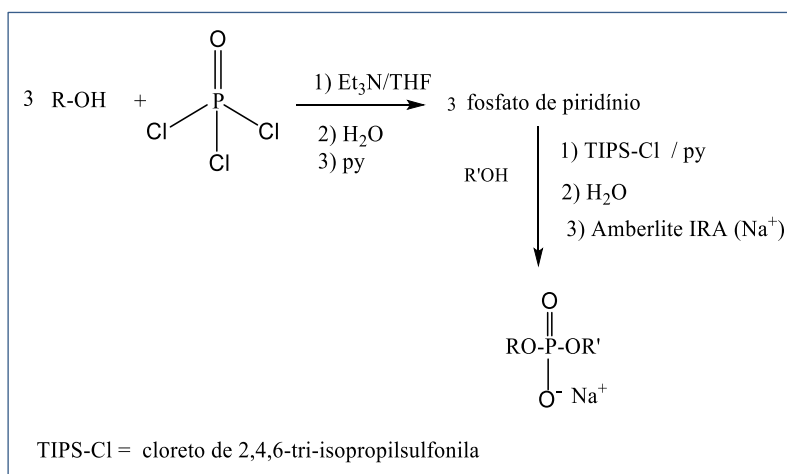
Esquema 21



3.3. Estudos visando o acoplamento dos fragmentos A e B.

Segundo o plano de pesquisa original, o acoplamento dos fragmentos **A** e **B** seria realizado conforme preconizado na literatura³⁰ (Esquema 22).

Esquema 22



Porém este método, aplicado a compostos análogos, mostrou-se de difícil execução, conduzindo à decomposição dos produtos formados³¹.

Em vista da dificuldade em preparar o diéster do ácido fosfórico **1**, decidiu-se utilizar outro grupo espaçador para acoplar os dois fragmentos **A** e **B**. O grupo escolhido foi a unidade succinato (figura 10).

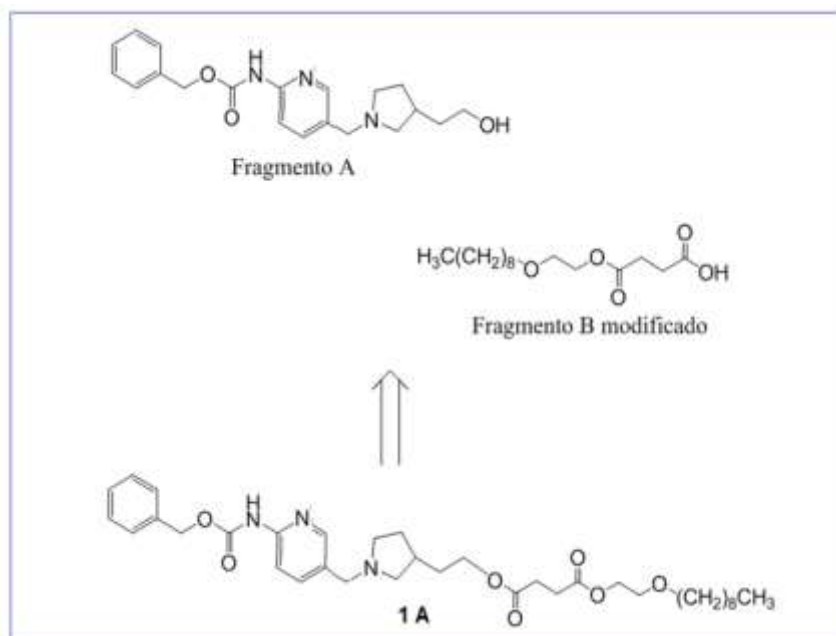


Figura 10. Elementos formadores da molécula **1A**.

Um espaçador de dois carbonos é frequentemente utilizado no acoplamento de fragmentos para compor moléculas com atividade biológica. A figura 11 apresenta o composto **III**, um antibacteriano, em que o espaçador reuniu a molécula da 14-dióxi-11,12-desidro-androandrografolida, de atividade bacteriostática conhecida, com um monometiléter do polietilenoglicol³². O composto **IV**, um novo anti-neoplásico com maior poder de penetração celular, resultou do acoplamento de um ácido biliar com o Paclitaxel³³.

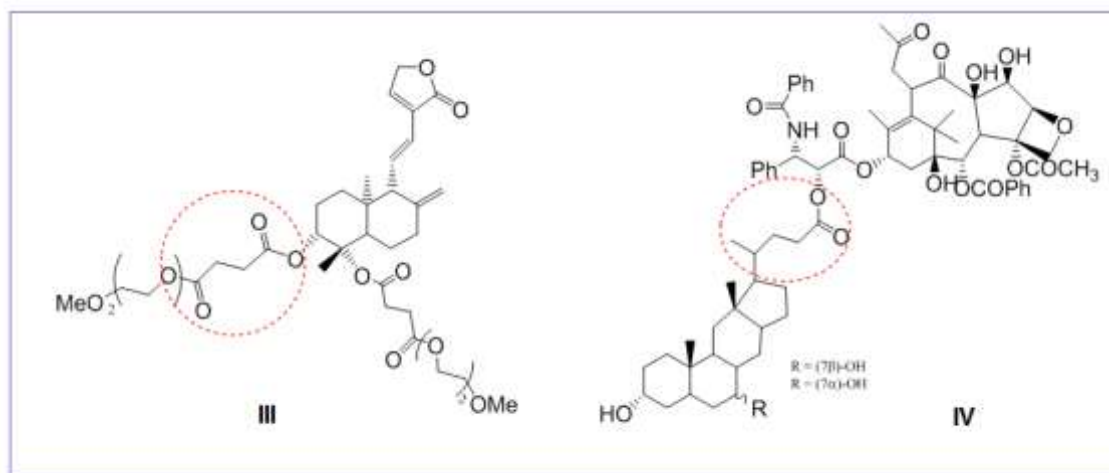
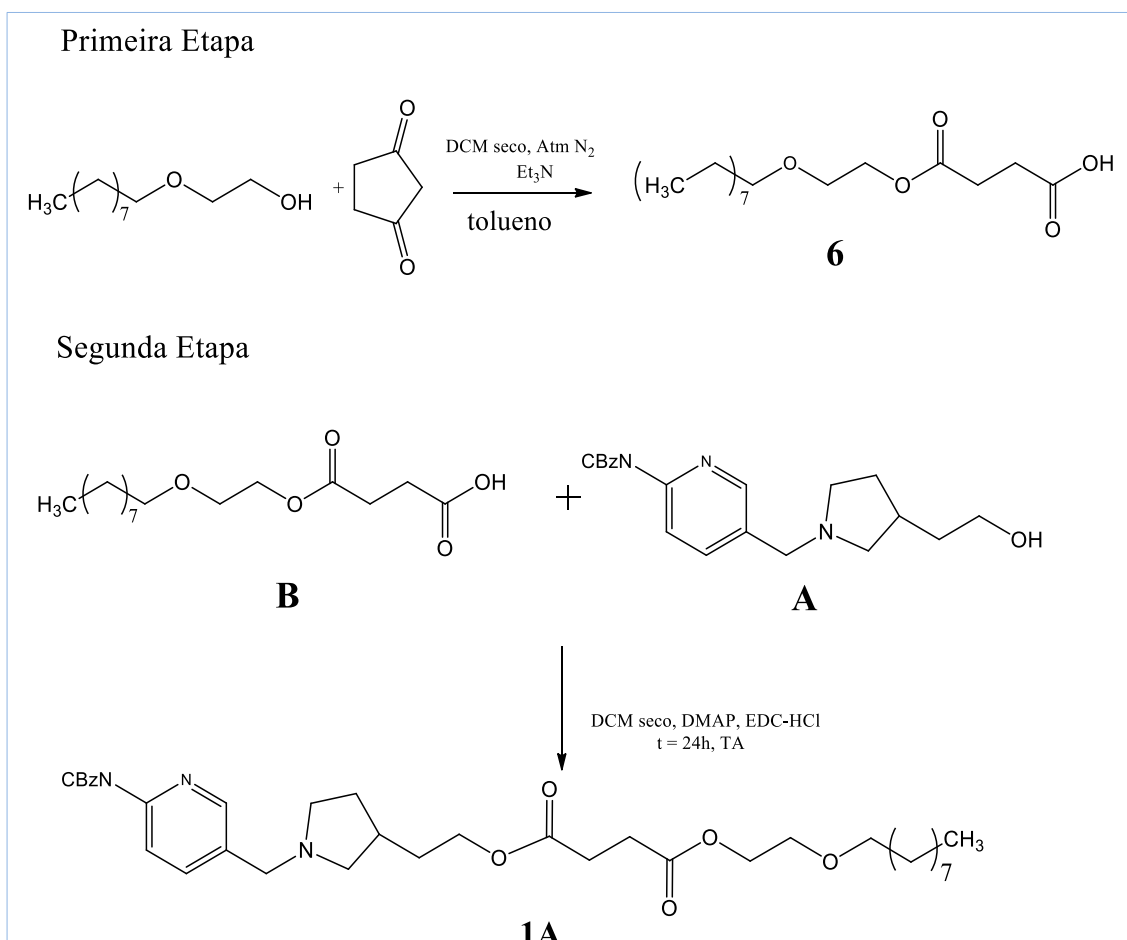


Figura 11. Moléculas biológicas construídas com um espaçador de dois carbonos.

O novo composto protótipo **1A** poderia ser preparado pela mono-esterificação do fragmento **B** com anidrido succínico. O monoéster assim preparado, poderia ser acoplado ao fragmento **A**, usando como agente condensante o EDC³² (Esquema 23).

Esquema 23



Quatro métodos foram testados para a preparação do mono-éster do anidrido succínico **6**, cuja obtenção consistia na primeira etapa de preparação de **1A**. Inicialmente, foi necessário purificar o anidrido succínico comercial, que após longo do tempo de armazenagem, havia se transformado, parcialmente, em ácido succínico. Assim sendo, o reagente comercial foi recristalizado de clorofórmio, sendo obtido o anidrido livre de ácido.

Uma vez obtido o anidrido succínico puro, fez-se reagir uma mistura de anidrido e do fragmento **B**, ambos dissolvidos em tolueno e na presença de uma quantidade catalítica de ácido p-toluenossulfônico. Nesta reação utilizou-se a aparelhagem Dean-Stark, como preconizado por Iqbal et al.³⁴. Porém, o produto obtido, após 24h de reação, era uma mistura do produto desejado e de uma quantidade equivalente do álcool de partida.

Diante do insucesso desse método, testou-se um método alternativo³⁵, utilizando o anidrido puro e seco, o fragmento **B** e uma quantidade catalítica de DMAP, na ausência de solvente. Neste caso, não houve reação, recuperando-se os reagentes de partida inalterados.

Em uma terceira tentativa, fez-se reagir o fragmento **B** com anidrido succínico seco em diclorometano seco, na presença de quantidade equimolar de trietilamina³⁶, sob atmosfera inerte e durante um tempo reacional de 24h. Nessa nova tentativa, o mono-éster desejado foi obtido em rendimento quantitativo.

À procura de um método em que se pudesse evitar o uso de atmosfera inerte e longos tempos de reação, decidiu-se testar um método descrito para a preparação de mono-ésteres de alcoóis polietoxilados, utilizando anidrido succínico. Desta forma, fez-se reagir o anidrido seco com o fragmento **B** (na proporção 1 : 1,1), dissolvidos em tolueno e sob refluxo, durante 150 minutos³⁷. Após o tratamento final da mistura reacional, foi possível obter o monoéster esperado em excelente rendimento, o que demonstrou que esse deve ser o método de escolha para a preparação do mono-succinato do fragmento **B**.

A identidade do mono-succinato do fragmento **B** foi confirmada por espectrometria de massas de alta resolução, com um desvio de apenas 0,17 ppm.

Um fato interessante, diz respeito ao espectro de RMN de H do mono-éster **6**. Nesse espectro, são claramente visíveis os sinais relativos aos prótons a, b e c. Quanto aos prótons d e d' (Figura 12), eles correspondem a um sinal único e que é um singlete, em 2,68 ppm (Figura 13). O fato de os prótons d e d' se apresentarem como um único singlete, embora sejam quimicamente diferentes, se deve ao fato de seus deslocamentos químicos serem muito próximos. Assim sendo, o valor do quociente entre a diferença de deslocamentos químicos ($\delta\nu$) e a constante de acoplamento ($\delta\nu/J$) é muito pequeno, e há distorção da multiplicidade teórica. Nesse caso, os sinais originais, que deveriam ser dois tripletos, convergem para um singlete.

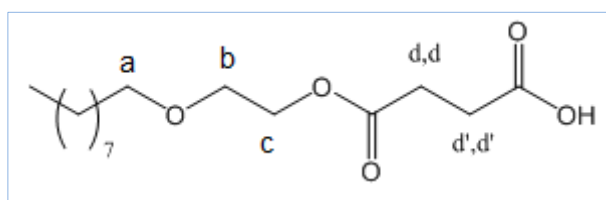


Figura 12. Prótons metilênicos d e d', no mono-succinato do fragmento **1**.

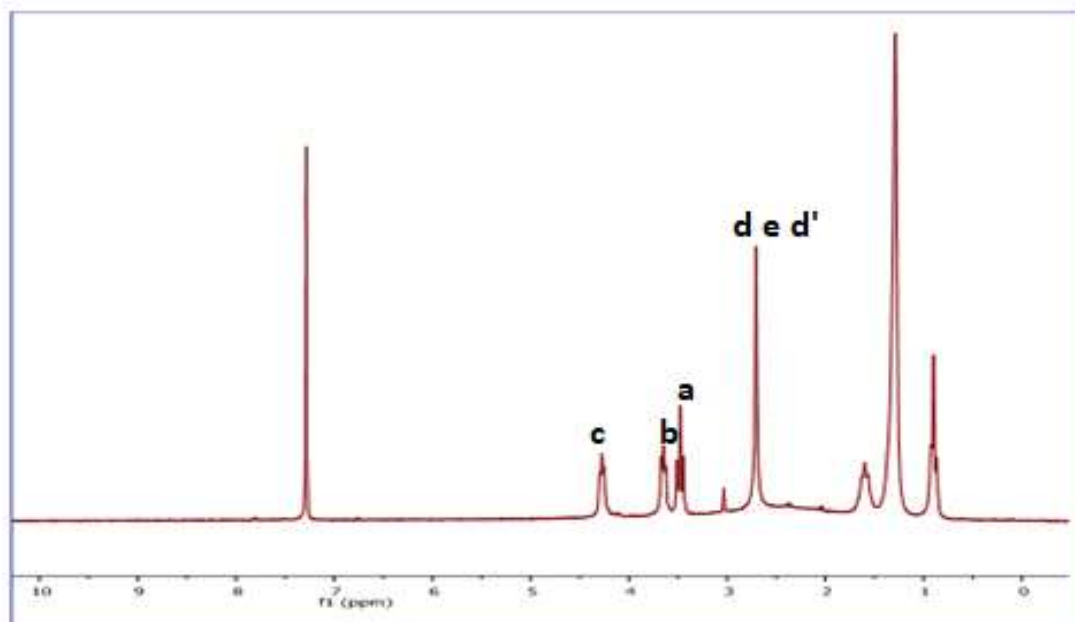
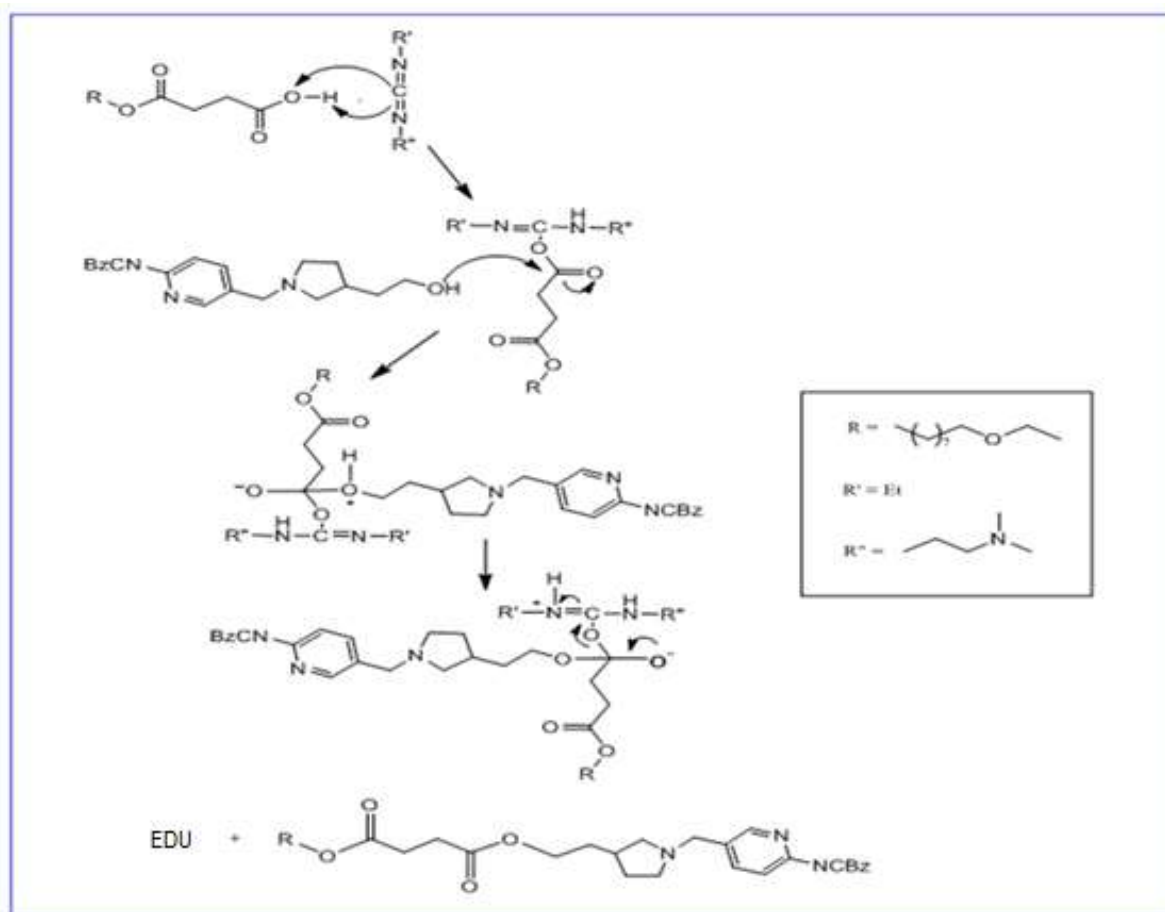


Figura 13. Espectro de RMN de H (300 MHz, CDCl₃) do composto **6**.

Finalmente, tendo em mãos o composto **6**, foi possível reagí-lo com o fragmento **A**, na presença do agente de acoplamento cloridrato de 1-etil-3-(3-dimetilamino-propil)carbodiimida (EDC-HCl)³². A reação foi bem sucedida, obtendo-se o produto **1A** em 52 % de rendimento, após purificação em coluna de sílica.

O mecanismo da reação de condensação entre **6** e o fragmento **A** está representado no Esquema 24.

Esquema 24



Os espectros de RMN de H e de C-13 do composto **1A** apresentavam os sinais esperados para todos os hidrogênios e carbonos da molécula. O espectro de RMN de H é bastante complexo, com um grande número de sinais que são multipletos, quer seja pela múltipla vizinhança, ou pela proximidade dos deslocamentos químicos, o que pode gerar efeitos de segunda ordem (figura 14)

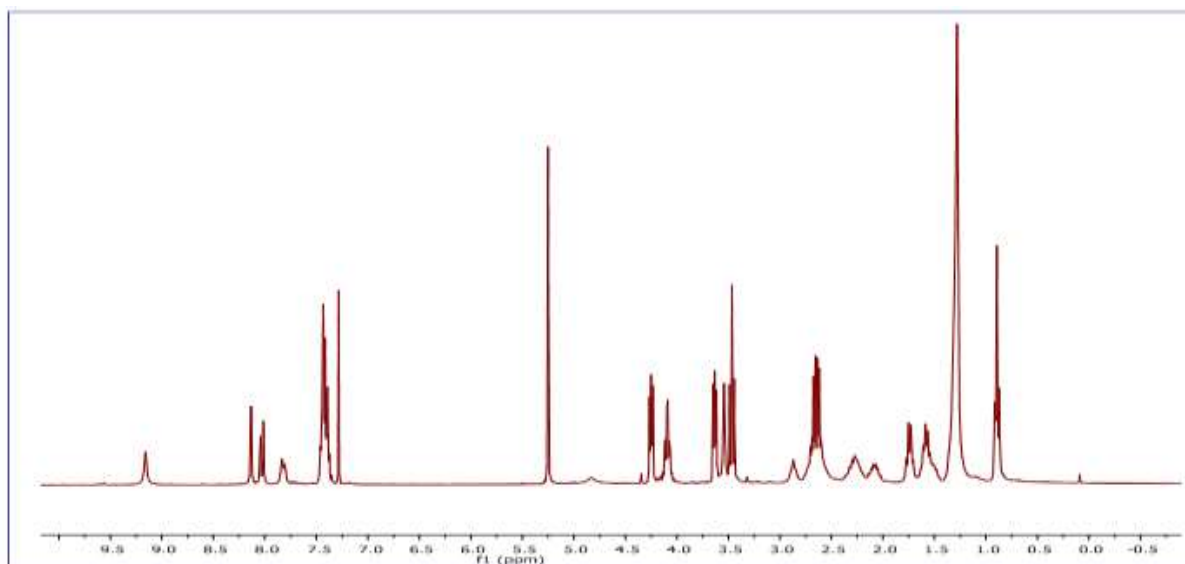


Figura 14. Espectro de RMN de H (300 MHz, CDCl_3) do composto **1A**.

A identidade do composto-protótipo **1A** foi confirmada pela obtenção de seu espectro de massas de alta resolução, com um desvio de 5,8 ppm.

4. CONCLUSÕES

Não foi possível preparar o composto-protótipo originalmente proposto **1**, pois o protocolo experimental para a formação do diéster do ácido fosfórico não se mostrou adequado. Em substituição, foi proposta e executada a síntese do composto-protótipo **1A**, em que o grupo espaçador entre os fragmentos **A** e **B** é uma unidade derivada do ácido succínico.

O composto-protótipo **1A**, ainda protegido no nitrogênio amínico, pôde ser preparado em 9 passos reacionais a partir do ácido 2-amino-nicotínico, embora com baixo rendimento global. Este baixo rendimento se deve a duas etapas ainda não otimizadas.

Além da etapa de proteção do nitrogênio amínico, a etapa final de construção do fragmento **A** também requer aperfeiçoamento, pois é a etapa de menor rendimento. Em lugar de produzir-se um mesilato intermediário, convém investigar a possibilidade de produzir um tosilato, que deve ser mais estável e

passível de isolamento e purificação. Além disso, é indispensável substituir o solvente empregado (metanol) por um solvente não nucleofílico como, por exemplo, o diclorometano ou DMF³⁹.

De forma geral, a síntese do composto **1A** é composta por etapas de fácil execução e nela são utilizados reagentes facilmente acessíveis comercialmente.

No caso de o composto **1A** não apresentar a atividade biológica esperada, os testes deverão ser repetidos com o mesmo composto, porém com o nitrogênio amínico desprotegido. Em caso positivo, este novo composto poderá ser o protótipo de uma série de novas substâncias com propriedades interessantes.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiais e Métodos

5.1.1. Instrumento, solventes e reagentes utilizados

Os espectros de RMN de H e C-13 foram obtidos utilizando os espectrômetros de RMN Varian Inova 300 MHz ou Bruker AIII 500 MHz.

Para a separação cromatográfica e purificação dos produtos, foi utilizada cromatografia por gravidade. Como fase estacionária foi empregada sílica gel 60, comercializada pela Sigma-Aldrich. Para as análises de cromatografia em camada delgada (CCD), foram utilizadas cromato-folhas Merck com indicador fluorescente, também da Sigma-Aldrich.

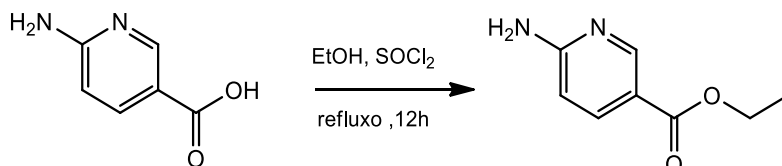
O equipamento Bruker Daltonics, modelo Q-Tof Maxis 3G foi empregado para a obtenção dos espectros de massas de alta resolução.

Os solventes utilizados neste trabalho foram adquiridos, em sua grande maioria, da LabSynth e Sigma Aldrich. O ácido 2-aminonicotínico, reagente de partida para realizar a síntese do fragmento **A**, foi adquirido de dois fornecedores; a saber: Start BioScience e Sigma Aldrich. As purificações de reagentes e solventes foram realizadas conforme descrito na literatura³⁸.

5.1.2. Métodos

5.1.2.1 Preparação do fragmento A.

5.1.2.1.1 Preparação do 6-amino-nicotinato de etila.

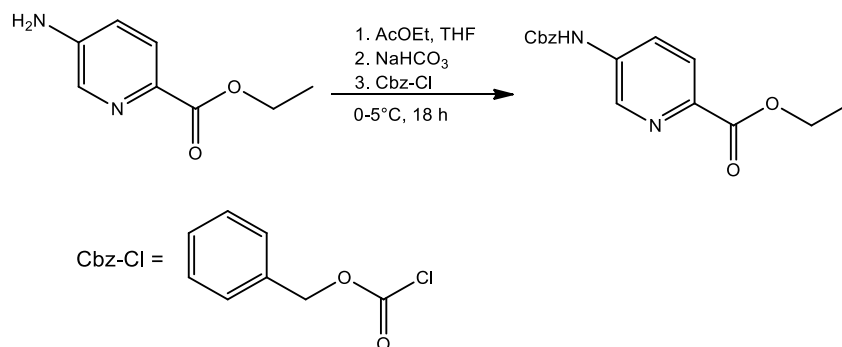


A uma suspensão de ácido 2-amino-nicotínico (2,42 mmol, 0,124 g) em etanol (25 mL) foi adicionado cloreto de tionila (7,26 mmol, 0,863 g) gotejando-se sob o resfriamento de um banho de gelo e com agitação. Mantendo-se a mistura a 60°C por 7 horas e analisando-se por CCD (acetato de etila/metanol, 4:1), não foi observada a formação do éster. Sendo assim, decidiu-se aquecer a mistura a refluxo por 12 horas. Desta forma, houve a formação de produto. Efetuou-se o isolamento do produto pela extração com 25mL acetato de etila. A seguir, a fase orgânica foi lavada com uma solução de 25mL de uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio (salmoura). O extrato orgânico foi seco com sulfato de sódio anidro por uma noite. No dia seguinte, a fase orgânica foi filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Foi obtido um sólido levemente amarelado, cujo rendimento foi de 93%.

O espectro de RMN de hidrogênio apresentou dados coerentes com os descritos na literatura (PCT Int. Appl. (2007), 74 pp. CODEN: PIXXD2; WO2007086080 (p.38)):

RMN de ^1H (300 MHz, Acetona – d_6) 8.59 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J = 8.7$, 2.1 Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.23 (s, 2H), 4.27 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

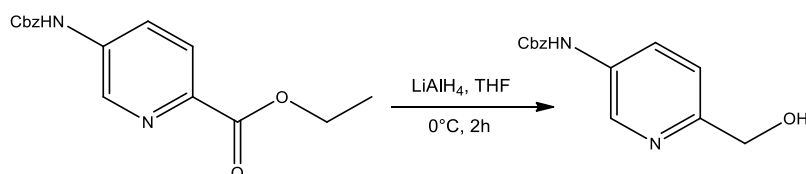
5.1.2.1.2. Preparação do 2-[[[Fenilmetóxi]carbonil]amino]-3-piridinil-carboxilato de etila



A uma solução de 6-amino-nicotinato de etila (1,65 mmol, 0,273g) em acetato de etila (12,0 mL) e THF (4,0 mL), adicionou-se, sob agitação, uma solução saturada de bicarbonato de sódio (12,0 mL) e cloroformiato de benzila (3,35 mmol, 0,5 mL) à temperatura de 0-5 °C. Ao se empregar este procedimento²⁴. Ao se adicionar o cloroformiato de benzila, a solução tornou-se turva e uma suspensão levemente amarelada foi formada. A agitação foi mantida por 18 horas. Ao final das 18 h, observou-se, por CCD (hexano/acetato de etila, 4:1), a formação de 4 produtos: Rf₁=0,57; Rf₂=0,44; Rf₃=0,32 (majoritário); Rf₄=0,18; Rf éster 2=0,07; Rf Cbz-Cl=0,97. Após a adição de metanol (5,0mL), a mistura reacional foi extraída com acetato de etila. Lavou-se a fase orgânica resultante com solução de ácido cítrico a 10% (m/m) e, em seguida, com salmoura. Secou-se o extrato com sulfato de sódio anidro. Submeteu-se o sólido resultante à recristalização de acetato de etila e dietil-éter, fornecendo o produto puro de massa igual 0,118g, cujo rendimento foi de 25%

RMN de H (300 MHz, DMSO – d₆) 10.80 (s, 1H), 8.79 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 8.26 (dd, J = 8.9, 2.3 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.52 – 7.19 (m, 5H), 5.20 (s, 2H), 4.31 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 1.31 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

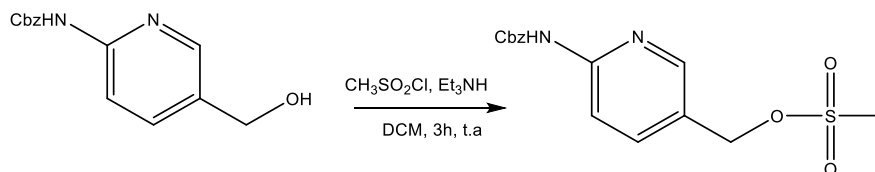
5.1.2.1.3. Preparação do Fenilmetil-N-[5-(hidroximetil)-2-piridinil] carbamato³⁰



Uma suspensão de LiAlH₄ (50 mmol, 1,90 mg), em THF anidro (100 mL) foi adicionada, a 0°C, uma solução do éster preparado no item anterior (4,75 g, 16,6 mmol) em THF anidro (10 mL). Após a adição da solução do éster à suspensão de LiAlH₄, a solução passou de uma cor acinzentada para uma coloração amarelo escuro. A mistura resultante foi agitada por 2 horas, à temperatura ambiente. Subsequentemente, a mistura foi resfriada a 0°C e a ela foi adicionada uma mistura de água e THF (1:1, 10 mL), seguida pela adição de acetato de etila (30 mL). A mistura resultante foi seca com Na₂SO₄ anidro e concentrada a vácuo para fornecer o álcool desejado como um sólido branco. Este sólido apresentou impurezas e foi recristalizado em metanol, obtendo um sólido branco livre de impurezas, cujo rendimento foi de 49%.

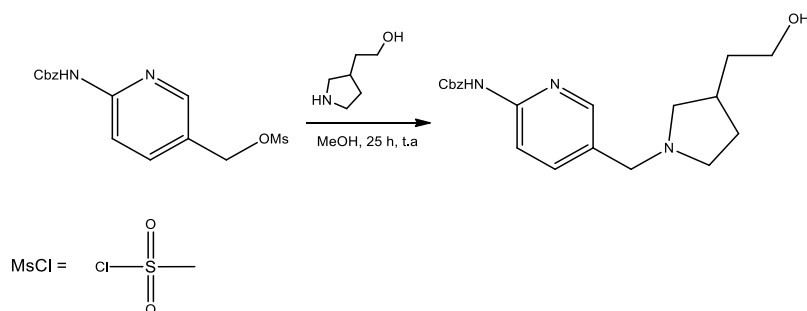
RMN de H (acetona-d₆, 200 MHz, δ ppm): 9.85 (s, 1H), 8.66 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 8.40 (d, 2H, J = 8.5 Hz), 8.20 (dd, 2H, J = 8.5, 2.3 Hz), 7.96 – 7.74 (m, 5H), 5.67 (s, 2H), 5.01 (s, 2H).

5.1.2.1.4. Preparação do fragmento A, via mesilato²⁷



Em um balão tritubulado, sob atmosfera de nitrogênio, foram dissolvidos (1,0 g, 3,9 mmol) do álcool a ser mesilado, em 10 mL de diclorometano seco. Após a dissolução completa, a solução foi resfriada, com um banho refrigerante de água e gelo até uma temperatura de 0°C. Foram adicionados (0,67 g, 5,8 mmol (1.5 eq.)), com um funil de adição com equalizador de pressão, evitando-se assim exotermia do sistema. Ao finalizar, a adição do cloreto de metanosulfonila, foram adicionados no funil de adição, mais 20 mL de diclorometano seco. Esse solvente anidro, foi adicionado, a fim de carrear o restante do reagente adicionado, e para que fosse completado o volume total de solvente ao meio reacional. A mistura foi agitada por 3 horas à temperatura ambiente. Após este tempo, o solvente foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo. O concentrado, foi diluído com 30,0mL de acetato de etila. Após essa diluição, o conteúdo foi lavado com duas porções de 20 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio. As fases aquosa e orgânica foram separadas, e a fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa saturada de cloreto de sódio. O extrato orgânico foi separado e seco com sulfato de sódio anidro por aproximadamente 2 horas. Posteriormente, a mistura foi filtrada e o líquido concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotativo. Obteve-se um sólido de coloração branca de rendimento de 77% (0,99 g, 3,0mmol).

Devido à instabilidade do composto mesilado, não foram realizadas purificações desse produto, a fim de que fossem evitadas degradações. Partiu-se com o produto bruto, sem purificações prévias, para a próxima etapa.



O produto mesilado (0,99 g, 3,0mmol), sem prévias purificações, foi dissolvido em 10 mL de álcool etílico. Após completa dissolução, foram adicionados 1,7g de solução etanólica de 2-(pirrolidin-3-il) etanol (15 mmol, 5,0 equivalentes). A mistura reacional foi agitada por 25 horas, à temperatura ambiente, sob atmosfera inerte de nitrogênio. Após esse período, o produto foi concentrado em evaporador rotativo. O resíduo foi dissolvido em 20 mL de acetato de etila. O extrato orgânico foi lavado com duas porções de 15 mL de uma solução previamente preparada de 1 mol/L de Na_2CO_3 e 15 mL de solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. O produto foi filtrado e concentrado, obtendo-se um sólido levemente amarelado e uma massa de 0,89 g (2,61 mmol), rendimento de 88 % de rendimento bruto.

Ao registrar o espectro de RMN de H do produto bruto de reação, foram observados vários sinais além dos esperados para o produto de substituição. Para isolar o produto foi feita a separação em coluna cromatográfica em sílica e fase móvel de solvente etanol e acetato de etila, na proporção 2:1, respectivamente. Após esta purificação, obteve-se uma massa de produto puro de 0,112 g, rendimento de 11%.

RMN de H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm): 9,52 (d,1H,J=22,7 Hz); 8,08 (d,1H,1,6Hz); 8,00 (d,1H, 8,5Hz); 7,71(dd, 1H,J=8,5 e 1,8 Hz); 7,33-7,43(m,5H); 5,23 (s,2H); 3,63-3,68 (m,1H); 3,55-3,60(m,1H); 3,45(d,1H, J=9Hz); 3,42 (d,1H,J=9Hz); 2,64-2,69 (m,2H); 2,57-2,60(m,1H); 2,33-2,46 (m,3H); 1,97-2,04 (m,1H); 1,65-1,71(m,1H); 1,52-1,62(m- 2H)

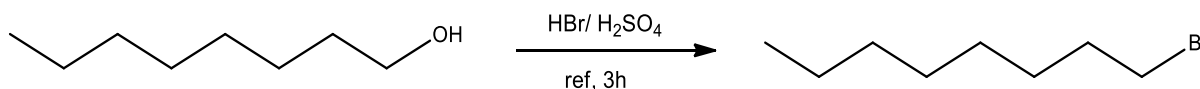
RMN de C-13 (CDCl_3 , 75MHz, δ ppm): 153.5, 151.5,147.9, 139.5, 136.0, 128.7, 112.4, 67.4, 60.5, 60,0 , 56.8, 53.5

A fração purificada foi submetida à análise por espectrometria de alta resolução, o verificando-se a identidade do produto esperado.

$C_{20}H_{25}N_3O_3$ calculado: 356,197417 observado: 356, 1959 desvio = 4,2 ppm

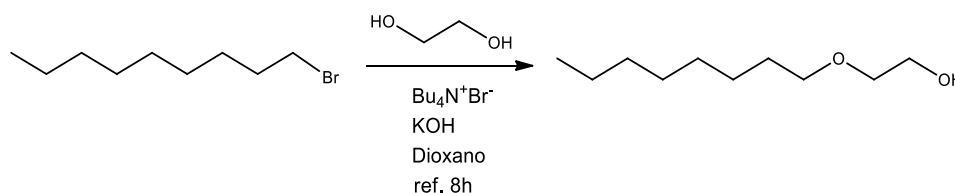
5.1.2.2.Preparação do Fragmento B

5.1.2.2.1. Preparação do 1-bromo-nonano



A 67,0 g de ácido bromídrico aquoso 48%, contido em um balão de fundo redondo, foram adicionada, aos poucos, metade de uma porção de 36,8 g de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, foram colocados 44,7 g (358 mmol) de 1-nanol. Finalmente, foi adicionada a porção final de ácido sulfúrico concentrado, seguida de algumas pedras de ebulição. A mistura reacional foi levada a refluxo por um período de 3 horas. Durante este período, observou-se a formação do 1-bromononano, o que foi evidenciado pela formação de duas fases. A fase do produto formado era a camada superior, sendo a camada inferior a que continha o ácido aquoso. Após o período de 3 horas de refluxo, o produto foi separado do meio reacional, através de destilação. O óleo destilado foi transferido para um funil de extração. A fase orgânica foi lavada, sucessivamente, com salmoura, o mesmo volume de ácido clorídrico concentrado (para remoção do éter que também é formado), água e, finalmente, uma solução de 5% de bicarbonato de sódio. O produto separado da água de lavagem foi seco em sulfato de magnésio anidro. Obteve-se uma massa do brometo de nonila de 63,6g (340 mmol), com rendimento de 95%.

5.1.2.2.2. Preparação do Mono-nonil- éter do etileno glicol²⁹



Em 30,0 mL de dioxano foram adicionados 10,4g (50,5 mmol) de 1-bromononano, 0,80g (2,4 mmol) de brometo de tetrabutilamonio e uma solução de hidróxido de potássio (3,2 g ,55mmol), em 15 mL de etilenoglicol. A mistura reacional foi levada a refluxo por 8 horas. Após este período, foram adicionados 20 mL de diclorometano e 15 mL de água destilada. As fases foram separadas, e a fase orgânica foi lavada sucessivamente com três porções de 20 mL de água destilada. Após a extração, o produto foi seco com sulfato de magnésio anidro e destilado usando coluna Vigreux a uma temperatura de 139°C sob uma pressão de 19 mmHg. Foram obtidos 4,14 g de produto com rendimento de 44%.

RMN de H (CDCl_3 , 300 MHz, δ ppm): δ 3.78 – 3.68 (m, 2H), 3.60 – 3.41 (m, 4H), 1.89 (s, 1H), 1.67 – 1.48 (m, 2H), 1.26 (s, 12H), 0.87 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H).

RMN de C-13 (CDCl_3 , 75MHz, δ ppm): 77.5, 77,2,77,0, 76.6,71,5, 71.7, 61.9 , 31.9,29.7, 29,6, 29,5, 29,3, 26.1, 22.7, 14.1.

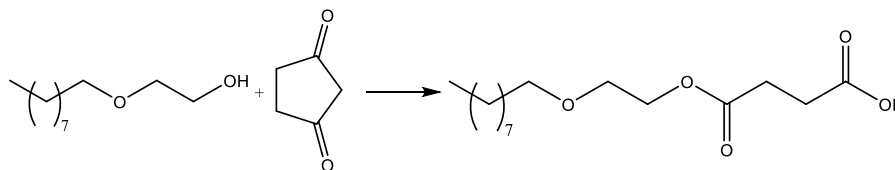
A fração purificada foi submetida à análise por espectrometria de alta resolução, que demonstrou tratar-se do produto esperado.

$\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{O}_2 + \text{Na}^+$ calculado: 211,167400

observado : 211,1662 desvio de 5,7 ppm

5.1.2.3. Preparação do Monosuccinato do fragmento B

5.1.2.3.1. Utilizando trietilamina³⁶



Anidrido succínico (0,13 g, 1,3 mmol) e o fragmento B (0,20 g, 1,1 mmol) foram dissolvidos em diclorometano seco (5 mL) sob atmosfera de nitrogênio. A essa mistura adicionou-se, com cuidadoso gotejamento, Et₃N (0,11g, 1,1 mmol), de tal forma a evitar exotermia (a mistura entra em ebulição logo após a adição da trietilamina). A mistura reacional foi agitada por 24h, à temperatura ambiente, sob atmosfera de nitrogênio. Após esse tempo, a mistura foi jogada sobre água e neutralizada com ácido clorídrico de concentração 2 mol/L. A fase orgânica foi separada e lavada com salmoura, secada sobre sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida, em um evaporador rotativo. Após registro do espectro de RMN de H do produto bruto, verificou-se que não havia necessidade de purificação do produto.

5.1.2.3.2. Sem utilizar catalisador ou base³⁷

A uma solução do fragmento B (0,20g, 1,1mmol) em 4 mL de tolueno, adicionou-se anidrido succínico (0,11g, 1,1mmol). A mistura foi aquecida a refluxo por 2 horas . Após este tempo, o solvente foi removido sob pressão reduzida em evaporador rotativo. O produto apresentou-se puro.

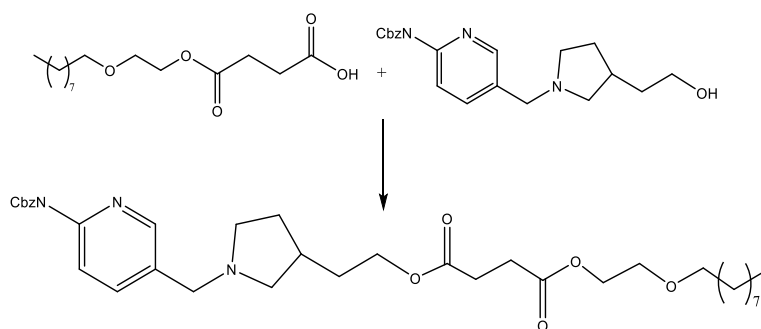
RMN de H (CDCl₃, 300 MHz, δ ppm) 4,23-4,27 (m, 2H), 3,60-3,65 (m, 2H), 3,45 (t, 2H, J= 6,7Hz), 2,68 (s, 4H), 1,54-1,61(m, 2H), 1,16-1,42 (m, 14H), 0,86 (t, 3H, J= 6,6 Hz)

RMN de C-13 (CDCl₃, 75MHz, δ ppm): 71,5, 68,4, 63,8, 45,3, 31,9, 29,5, 29,3, 26,0, 22,6, 14,0.

A espectrometria de massas de alta resolução do produto resultou nos seguintes valores, para o composto na forma de carboxilato:

C₁₅H₂₇O₅ calculado : 287,185850 observado: 287,1858 desvio = 0,17 ppm

5.1.2.4. Preparação do produto composto-protótipo 1A³²



A uma solução composta pela mistura de mono-succinato 6 (0,071g, 0,246 mmol) e do intermediário **A** (0,080g, 0,224 mmol) em 10 mL de diclorometano seco, adicionaram-se 0,005 g (0,045 mmol) de DMAP (4-dimetil-aminopiridina) e 0,086g (2,0 mmol) de EDC-HCl (hidroclorato de 1-etil-3-(3-dimetilamino-propil)carbodiimida). A mistura reacional foi agitada durante 24h à temperatura ambiente. Ao final deste tempo, a mistura reacional foi lavada com ácido clorídrico de concentração 1 mol/L (4 mL) e 10 mL de salmoura. Após remoção do solvente sob pressão reduzida, em evaporador rotativo, o produto bruto foi purificado por coluna de gravidade em sílica gel, utilizando como eluente uma mistura de etanol:clorofórmio, na proporção 5:1. As frações puras somaram 82,8 mg, com um rendimento de 52%

RMN de H RMN de H (CDCl₃, 500MHz, δ ppm) 9,13 (s,1H), 8,11 (d,1H, J=1,9Hz), 8,00 (d,1H, J=8.6Hz), 7,80 (d,1H, J=8,1Hz), 7,33-7,44 (m,5H), 5,23(s,2H), 4,21-4,24 (m,2H), 4,01-4,13 (m,2H), 3,59-3,63 (m,2H), 3,52 (sl,2H), 3,44 (t,2H, J=6,7Hz), 2,85 (s,1H), 2,54-2,70 (m,6H), 2,33-2,16 (m,2H), 2,00-2,12 (m,1H), 1,68-1,75 (m,2H), 1,46-1,59 (m,3H), 1,18-1,37 (sl, 14H), 0,87 (t,3H, J=6,7Hz).

RMN de C-13 (CDCl₃, 125MHz, δ ppm) 172,5, 172,4, 153,3, 148,2, 136,1, 128,8, 128,6, 112,4, 71,7, 68,5, 67,3, 64,1, 63,6, 56,7, 53,3, 34,5, 33,8, 32,0, 30,5, 29,7, 29,6, 29,4, 29,2, 29,1, 26,2, 22,8, 14,2.

A identidade do composto foi investigada por espectrometria de massas de alta resolução, obtendo-se os seguintes resultados:

C₃₅H₅₁N₃O₇ calculado: 626,380527 observado: 626,3769 desvio = 5,8 ppm

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

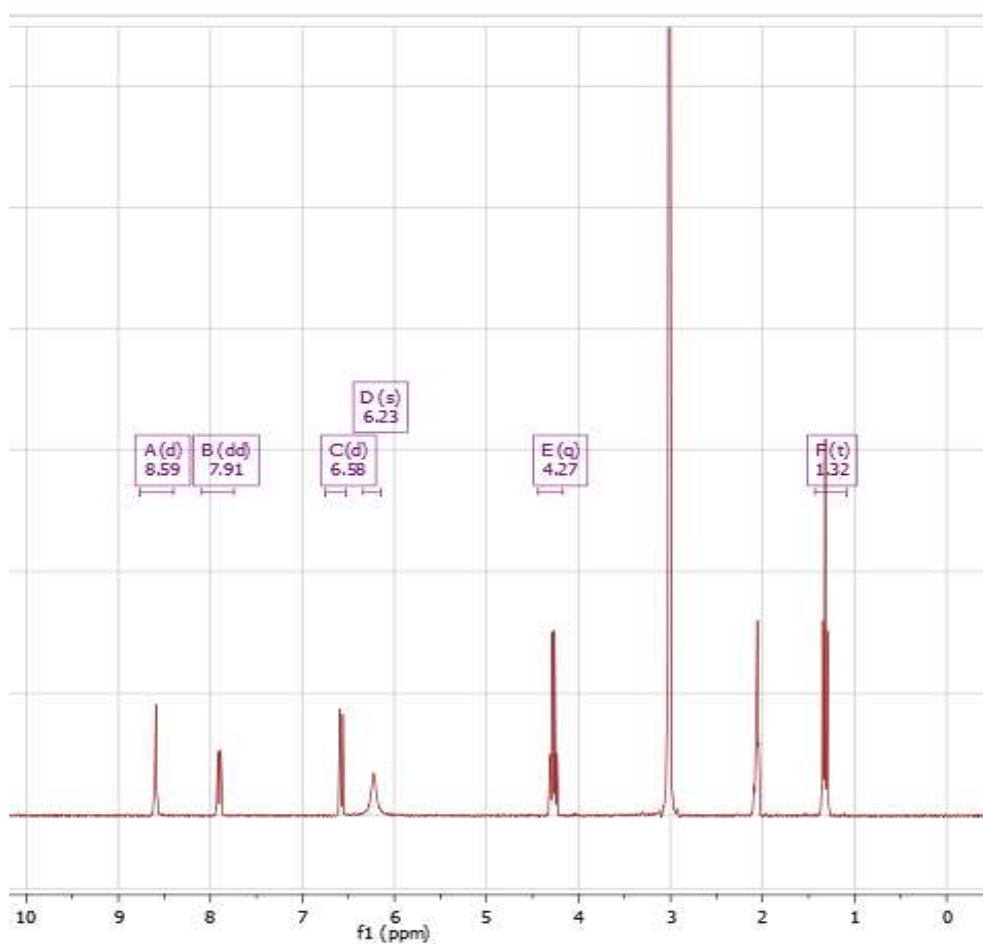
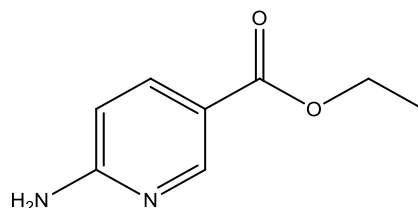
1. L. Ginn, L. Shi, M. La Montagna e M. Garofalo *Non-Coding RNA* **2020**, *6*, 25.
2. Estimativa 2020 : Incidência do Câncer no Brasil / INCA, Rio de Janeiro, Inca, 2022 e referências ali citadas. Texto acessível no Portal do INCA (<http://www.inca.gov.br>)
3. B.E. Johnson e M.J.Kelley *Lung Cancer* **1995**, *sup. 2*, S-5, S-16
4. S.H Lee, *Tuberc. Respir. Dis.* **2019**, *82*, 179.
5. A. Capasso *Current Drug Targets*, **2012**, *13*, 1065.
6. H.Sa; P.Song;K.Ma;U.Gao; L.Zang e D. Wang *Onco Targets and Therapy*, **2019**, *12*, 8151.
7. Y. Shu. S.Weng e S. Zheng *Oncology Lett.*, **2020**, *20*, 307.
8. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (a)L.W.Hertel, J.S. Kroin, J.W.Misner e J.M. Trustin, *J. Org. Chem.*, **1988**, *53*, 2406.
9. T.Liu; J.Tang; J. Linag; Y.Chen ; X.Wang; J.Shen; D.Zhao; B.Xiong; J-D. Cen e Y-L. Chen *Tetrahedron*, **2019**, *75*,1203.
10. (a) R.K.Gregory e I.E. Smith, *British J. Cancer* **2000**, *82*, 1907 (b) Q.A. Ngo; F. Roussi; A. Cormier; S.Thoret, M. Knossow: D. Guénard e F. Guéritte, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 134 , (c) P.Keglevich; L. Hazai: G.Kalaus e C. Szántay *Molecules*, **2012**, *17*, 5893.
11. (a) M.C.Wani; H.L.Taylor; M.E.Wall; P.Coggon e A.T.McPhail, *J.Am.Chem. Soc.* **1971**, *93*, 2325; (b) M.E.Wall e M.C. Wani *Cancer Res.*, **1995**, *55*, 753: (c) K.E. Gascoigne e S. S. Taylor, *J.Cell Sci.*, **2009**, *122*, 2582.
12. NewYorkTimes, 3 de Maio, 1987, p.29.
13. B.Xu; T.Zhao; Y.Fan; S.Chen; W.Li; J.Che;, Z.Li; H.Wang e H. Kong *Chem. Biodiversity*, **2020**, *17*, 1000631.
- 14.V. Chandregowda; G. V. Rao e G. C. Reddy *Heterocycles*, **2007**, *71*, 39.
- 15.V. Chandregowda; G. V. Rao e G. C. Reddy *Synth. Commun.*, **2007**, *37*, 3409.

16. "Química Medicinal. Métodos e Fundamentos em Planejamento de Fármacos". Carlos Montanari (org.), 1ª. Ed. reimp., São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo, 2019.
17. E.P. Kennedy e S.B.Weiss, *J. Biol. Chem.* **1956**, 222, 193.
18. F. Giubellini e T.K. Smith *JUBMB Life*, **2010**, 62, 414.
19. D.Joseph-McCarthy *Pharmacology&Therapeutics*, **1999**, 179.
20. I.Kaushik; S. Ramachandran; S. Prasad e S. Srivastava *Seminars in Cancer Biology*, **2021**, 68, 279.
21. R.L. Casaubon; R.Narayan; C.Oalman e B.Chi GLAXOSMITHKLINE USWO 2013059587 A1, 25 abril 2013.
22. A.V. Lebedev; A.B. Lebedeva; V.D. Scheludyakov; S.N. Ocharub; E.A. Kovaleva e O.L. Ustinova *Russian. J. Gen. Chem.* **2006**, 76, 1069.
23. V.P.Kumar; M.S.Reddy; M.Narender; K. Surendra, Y.V.D. Nageswar e K.R.Rao *Tetrahedon Lett.* **2006**, 47, 6393.
24. H. Rueeger; R.Lueoend; O.Rogel; J-M. Rondeau; H.Mobitz, R.Machauer; L. Jacobson; M. Staufenbiel; S. Desrrayaud e UI Neumann *J. Med. Chem.* 2012, 55, 3364.
25. N.Avlonitis; E. Lekka; A.Detsi; M. Koufaki; T.Calogeropoulou; E.Scoulica; E.Siapi; I. Kirikou; T. Kavromoustakos; A.Tsotinis e S.G. Grdalolnik e A. Makryannis *J. Med. Chem.* **2003**, 46,755.
26. S. Pramanik; R. R.Reddy e P.Ghorai, *J.Org. Chem.* **2015**, 80, 3656.
27. C.Lin; E.R. Stendronski e S. L. Regen, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, 9,19525.
28. Vogel's textbook of Pratical Organic Chemistry, 5th edition, **1989**, p. 561.
29. A. K. Kharlamov; O.I. Artyushin e N.A. Bondarenko, *Russ. Chem.Bull. Int. Ed.* **2014**, 63, 2445.
30. (a) N. Avlonitis; E. Lekka; A. Detsi; M. Koufaki; T.Calogeropoulos; E.Scoulica; E.Siapi; I.Kurikou; T.Mavromoustakos; A.Tsotinis; S. Golic e A. Makriyannis *J.Med. Chem.* **2003**, 46, 755. (b) J. Razkin, J.Lindgren, H.Nilsson e L.Baltzer, *ChemBioChem* **2008**, 9 , 1975.
31. Comunicação pessoal , Dr. Márcio Henrique Zaim.
32. Z.Wang; Y.Chen e F.Wu *Tetrahedron*, 2016, 72,2265
- 33.E.Melloni; E.Marchesi; L.Preti; F.Casciano; E.Rimondi; A. Romani; P.Secchiero, M-L. Navacchia e D. Perrone, *Molecules*, **2022**, 27, 471.

34. M.Iqbal; I.B. Baloch e M.K. Baloch *Asian J. Chem.* **2013**, *24*, 9701.
35. A.Sakakura; K. Kawajiri; T.Ohkubo, Y.Kosugi e K.Ishiara, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14775.
36. S.Kashyap e M. Jayakannan, *J. Matr. Chem. B* **2014**, *2*, 4142.
37. Y. Lei; G.Zheng; Y. Sun e Y. Zhou *Ad. Mat. Res.* **2011**, *298*, 163.
- 38."Purification of Laboratory Chemicals" W.F. Armarego e D.D. Perrin, 4^a. Ed. **2000**, Butterworth & Heinemann, Oxford.
- 39.S.Pramanik, R.Rajasekhar e P.Ghorai *J.Org. Chem.* **2015**, *80*,3656.

APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN 1H E ¹³C

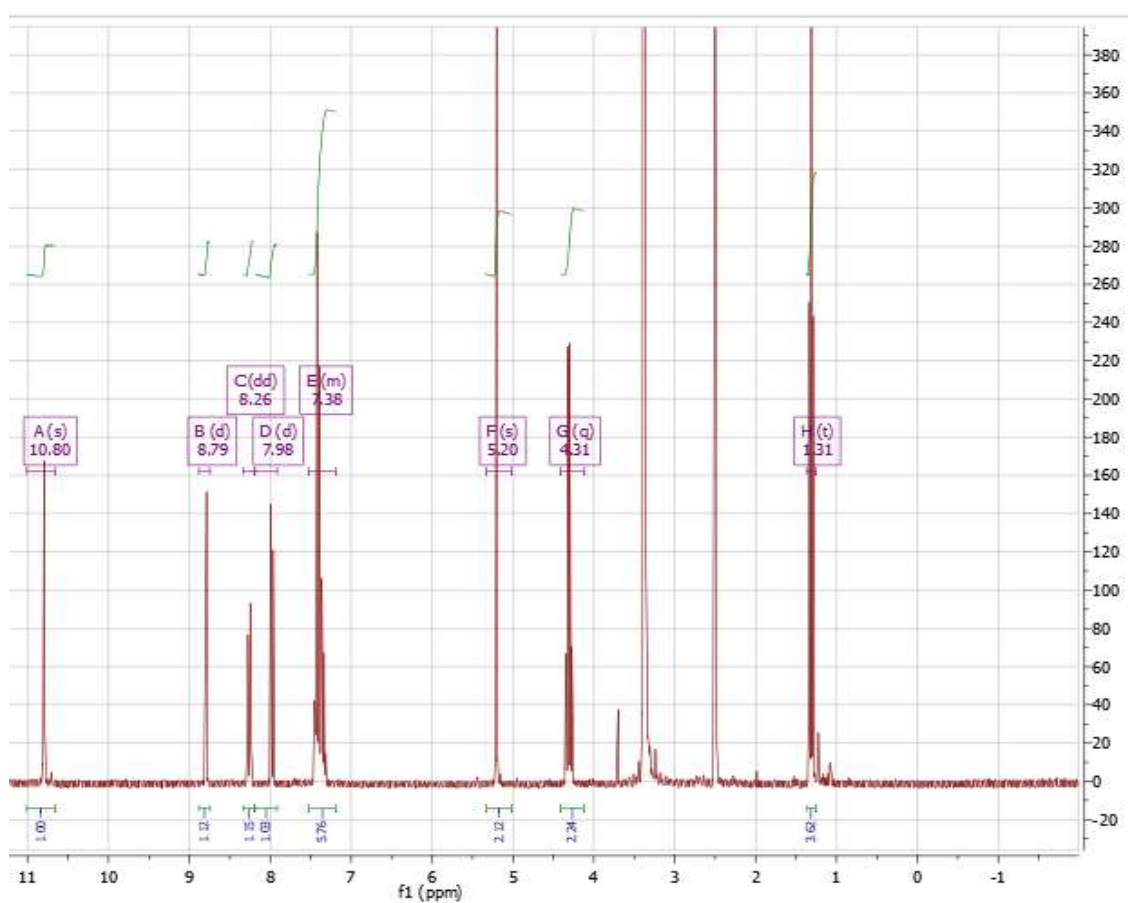
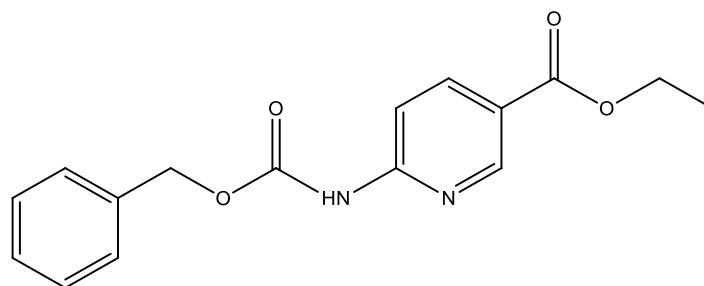
6 - amino-nicotinato de etila



RMN ¹H (300 MHz, Acetona – d₆)

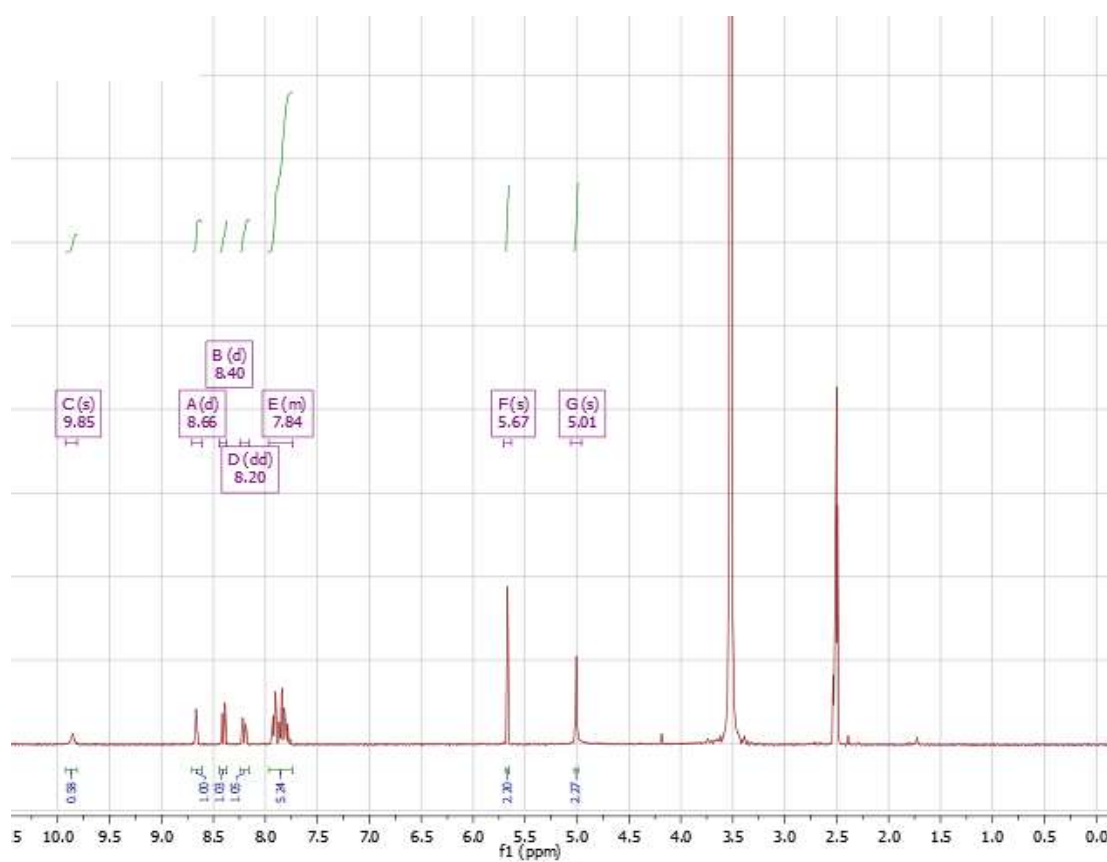
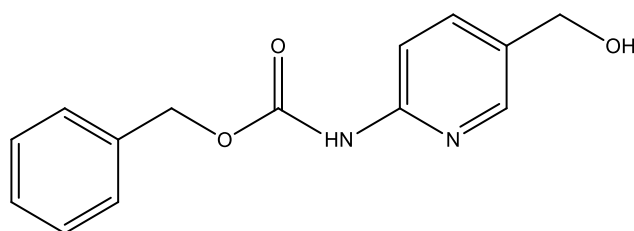
δ 8.59 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.91 (dd, J = 8.7, 2.1 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.23 (s, 2H), 4.27 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.32 (t, J = 7.1 Hz, 3H).

2- [[(Fenilmetóxi)carbonil]amino]-3-piridil-carboxilato de etila

RMN ^1H (300 MHz, DMSO - d_6)

δ 10.80 (s, 1H), 8.79 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.26 (dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.52 – 7.19 (m, 5H), 5.20 (s, 2H), 4.31 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

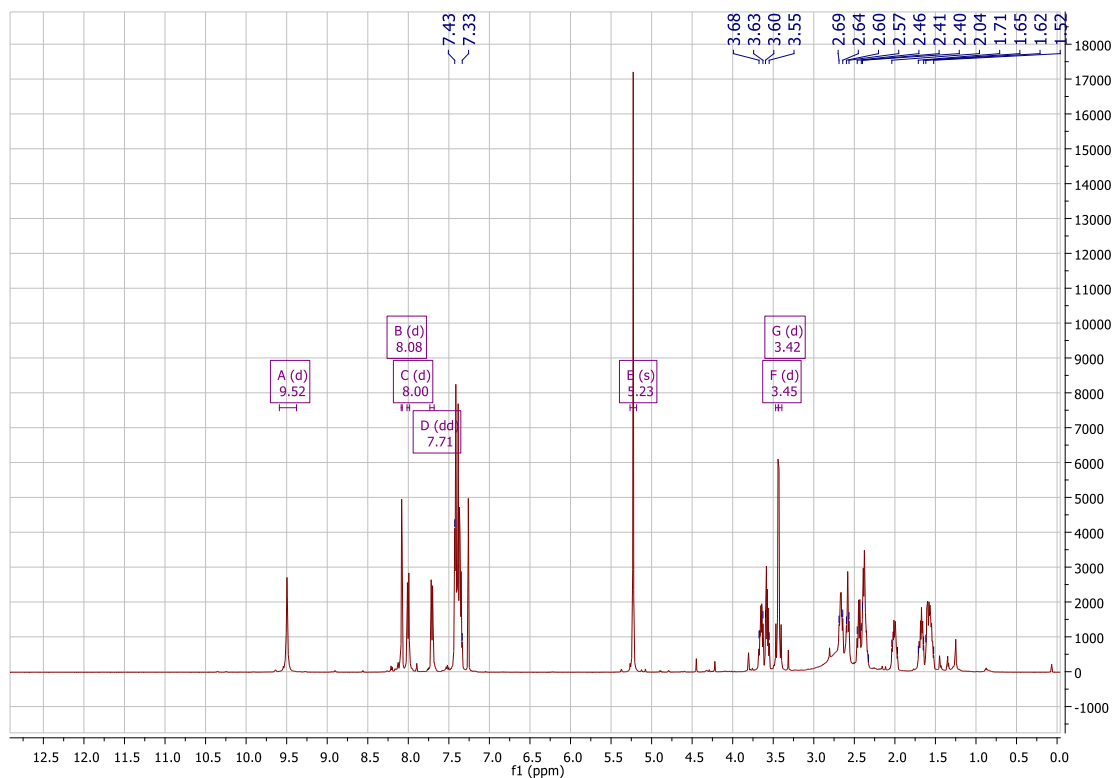
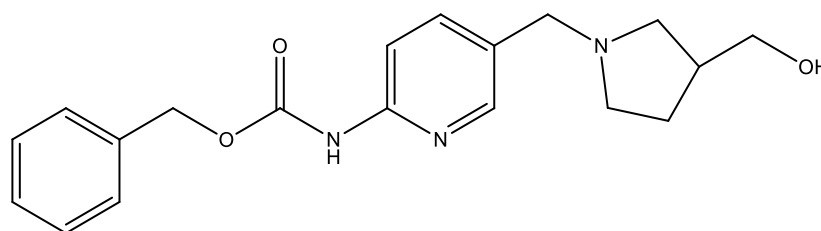
Fenilmetil *N*-[5-(hidroximetil)-2-piridinil] carbamato



RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6)

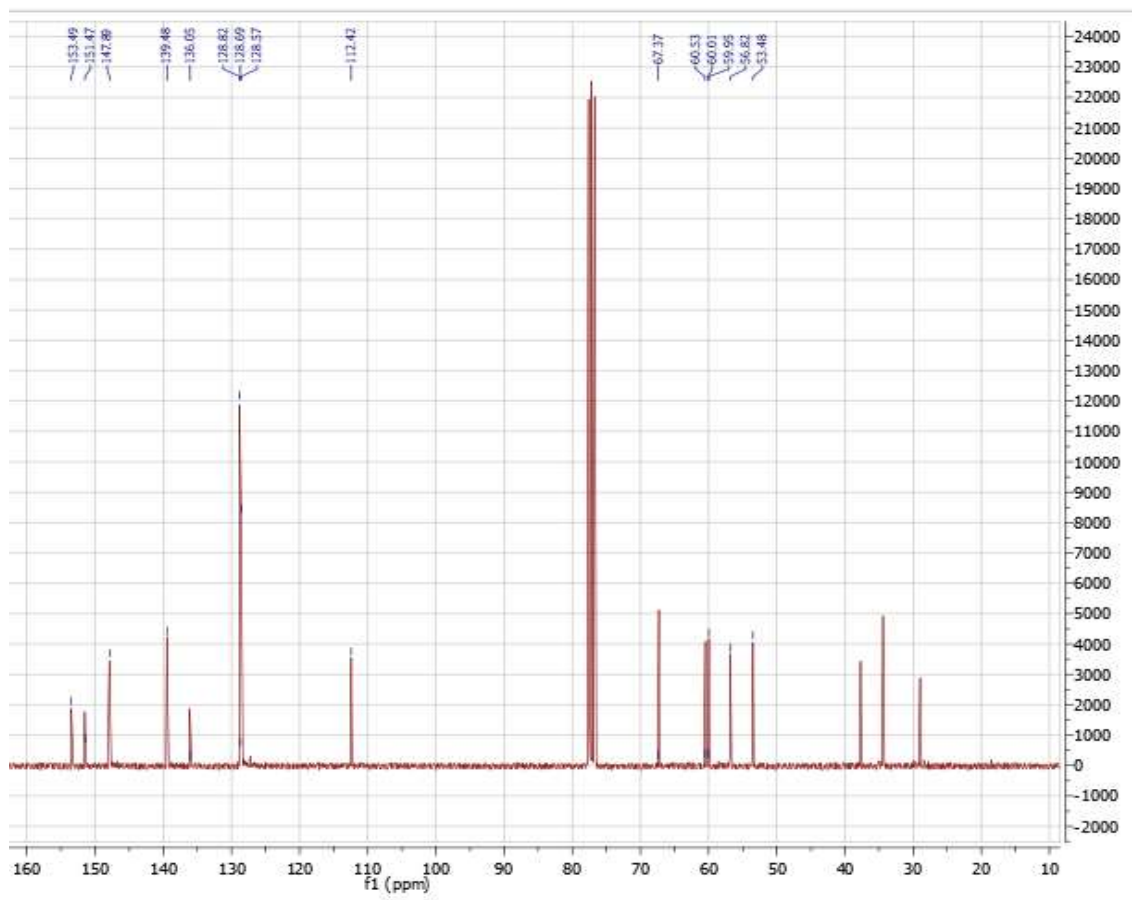
δ 9.85 (s, 1H), 8.66 (d, $J = 2.0$ Hz, 2H), 8.40 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 8.20 (dd, $J = 8.5, 2.3$ Hz, 2H), 7.96 – 7.74 (m, 5H), 5.67 (s, 2H), 5.01 (s, 2H).

Fragmento A



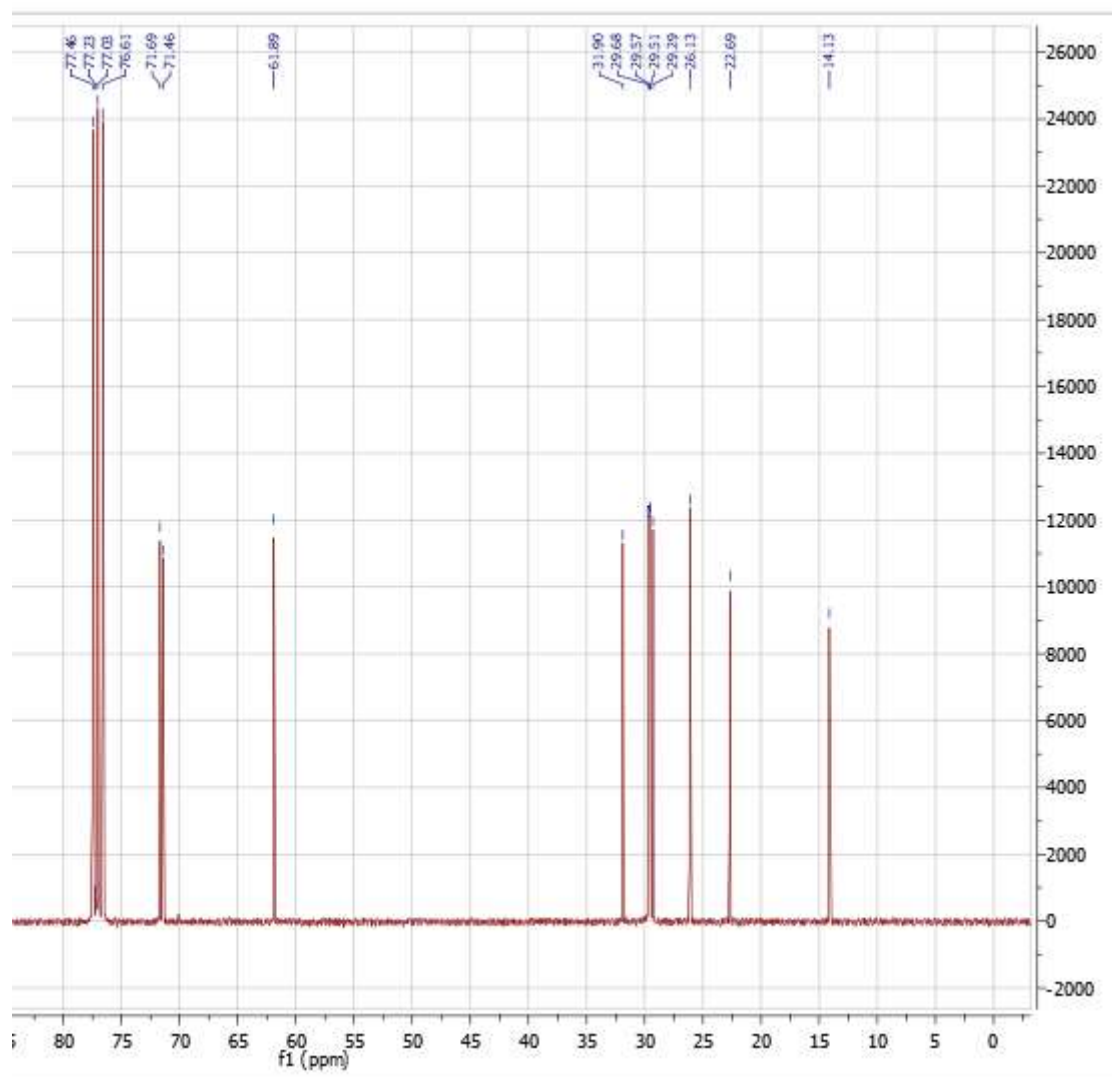
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3)

δ 9,52 (d,1H,J=22,7 Hz); 8,08 (d,1H,1,6Hz); 8,00 (d,1H, 8,5Hz); 7,71(dd, 1H, J=8,5 e 1,8 Hz); 7,33-7,43(m,5H); 5,23 (s,2H); 3,63-3,68 (m,1H); 3,55-3,60 (m,1H); 3,45(d,1H, J=9Hz); 3,42 (d,1H,J=9Hz); 2,64-2,69 (m,2H); 2,57-2,60 (m,1H); 2,33-2,46 (m,3H); 1,97-2,04 (m,1H); 1,65-1,71(m,1H); 1,52-1,62(m- 2H)



RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃)

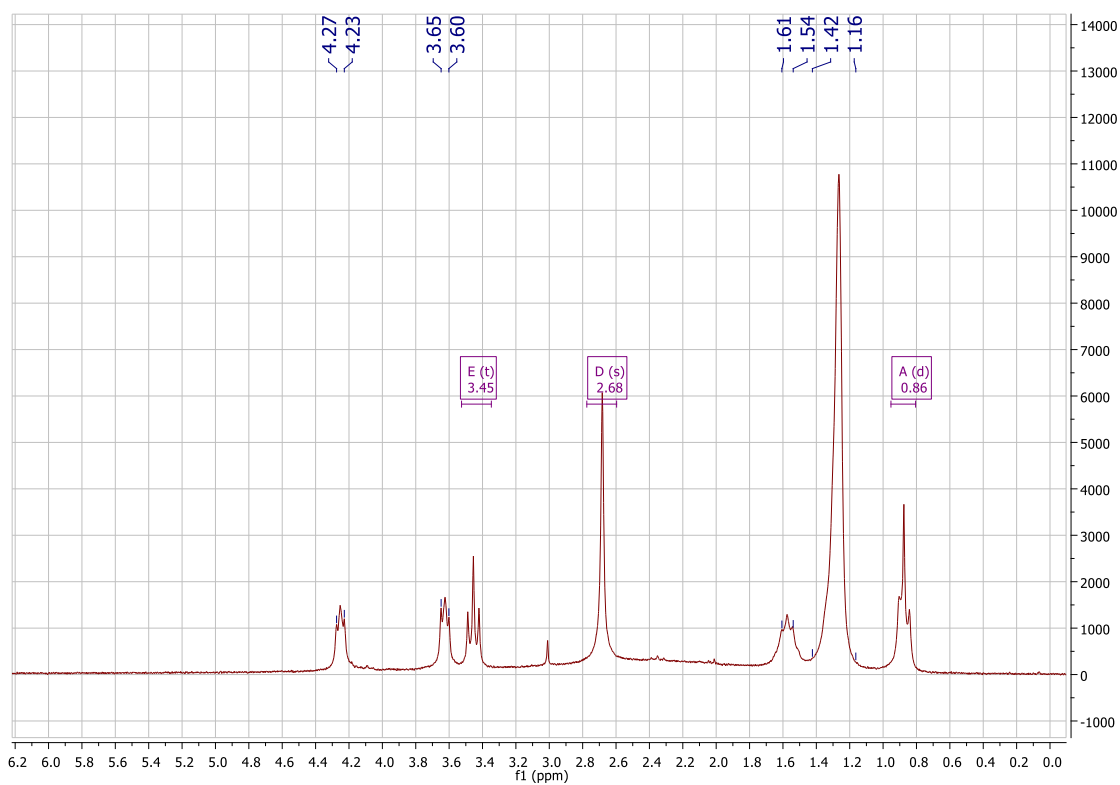
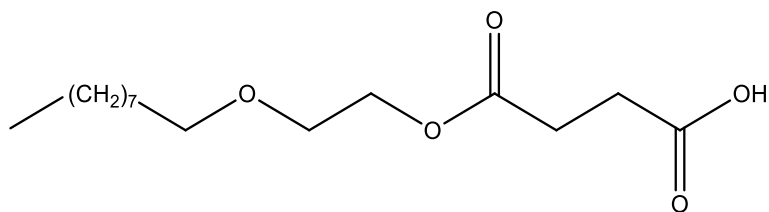
δ 153.5, 151.5, 147.9, 139.5, 136.0, 128.7, 112.4, 67.4, 60.5, 60.0 ,
56.8, 53.5



^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)

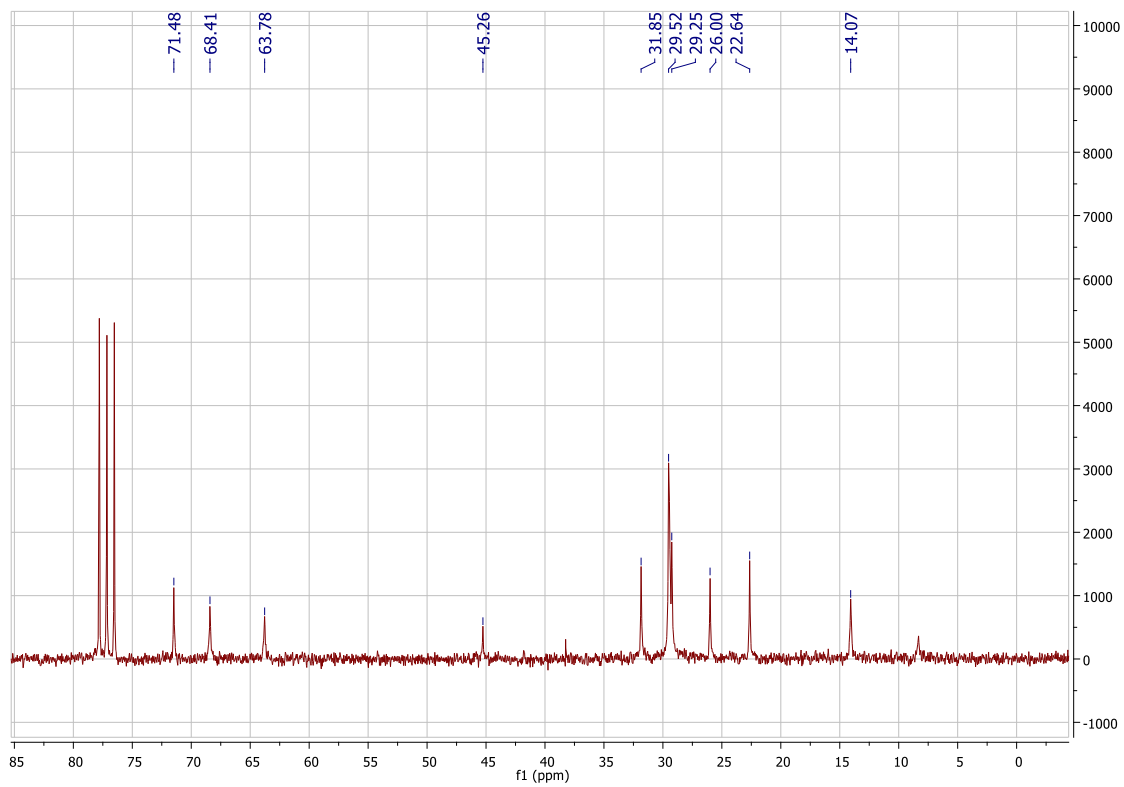
δ 77.5, 77.2, 77.0, 76.6, 71.5, 71.7, 61.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 26.1, 22.7, 14.1

Monosuccinato do fragmento B



^1H NMR (300 MHz, CDCl_3)

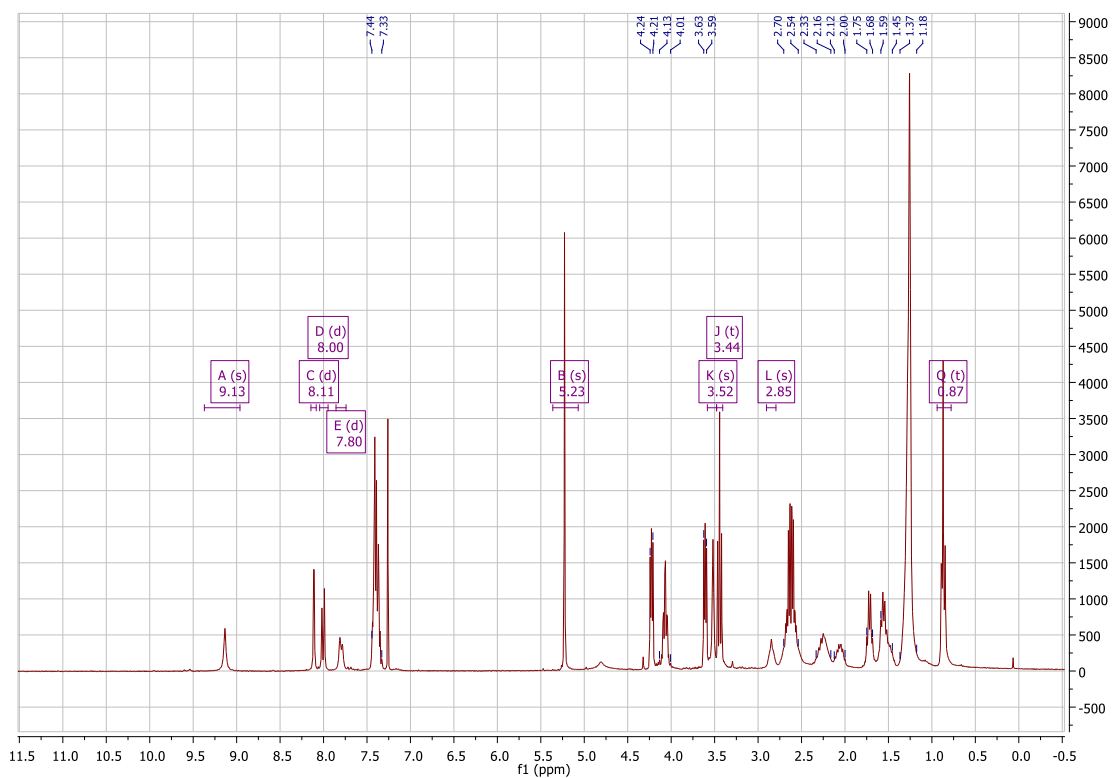
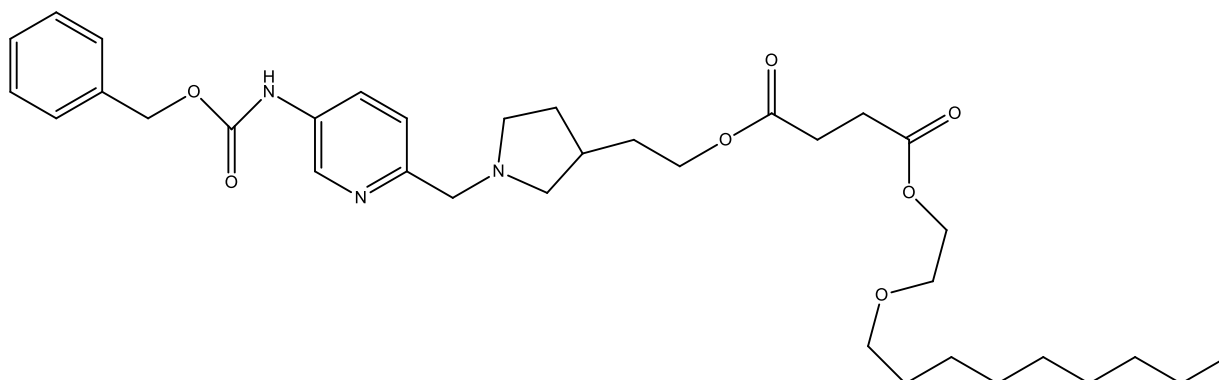
δ 4,23-4,27 (m, 2H), 3,60-3,65 (m, 2H), 3,45 (t, 2H, $J= 6,7\text{Hz}$), 2,68 (s, 4H), 1,54-1,61(m, 2H), 1,16-1,42 (m,14H), 0,86 (t, 3H, $J= 6,6$ Hz)



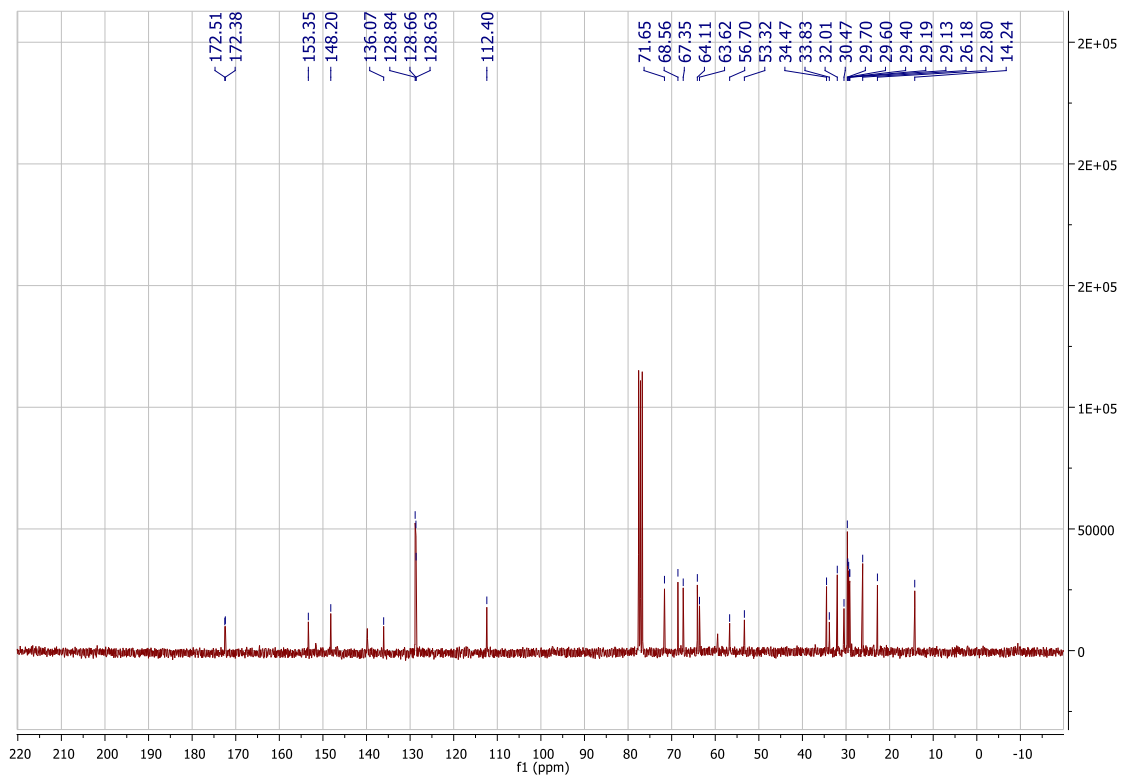
^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)

δ 71.5, 68.4, , 63.8, 45.3, 31.9, 29.5, 29.3, 26.0, 22.6, 14.0

Composto 1A

**¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)**

δ 9,13 (s,1H); 8,11 (d, 1H, J=1,9Hz); 8,00 (d, 1H, J=8,6 Hz); 7,80 (d, 1H, J=8,1 Hz); 7,33-7,44 (m, 5H); 5,23 (s, 2H); 4,21-4,24 (m,2H); 4,01-4,13 (m,2H); 3,59-3,63 (m, 2H); 3,52 (s, 2H); 3,44 (t, 2H,6,7 Hz); 2,85(s, 1H); 2,54-2,70 (m, 6H); 2,16-2,33 (m,2H) ; 2,00-2,12 (m, 1H) ; 1,68-1,75(m, 2H); 1,46-1,59 (m, 2H); 1,18-1,37(sl. 14H); 0,87 (t, 6,7Hz, 3H)



¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ 172.5 , 172.4, 153.3, 148.2, 136.1, 128.8, 128.6 , 112.4, 71.7, 68.5, 67.3, 64.1, 63.6, 56.7, 53.3, 34.5, 33.8, 32.0, 30.5, 29.7, 29.6, 29.4, 29.2, 29.1, 26.2, 22.8, 14.2

APÊNDICE B - ESPECTROMETRIA DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO

Fragmento A

Equipamento: MICROTOF – Bruker Daltonics

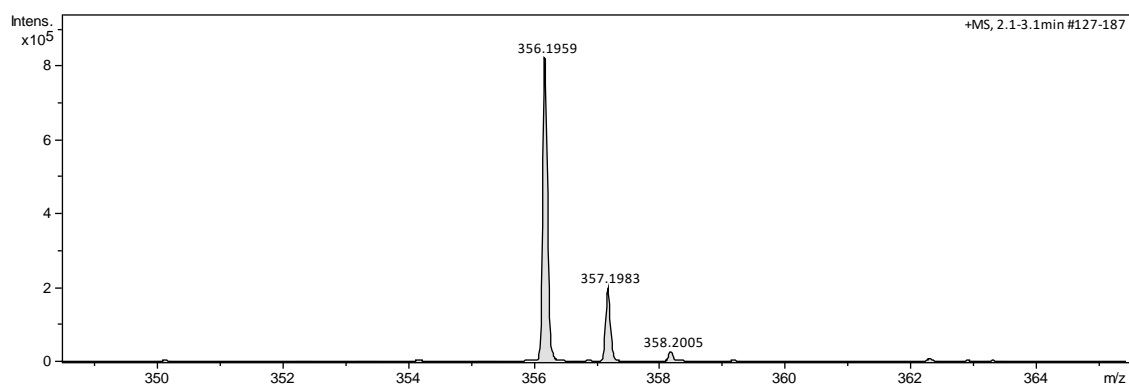
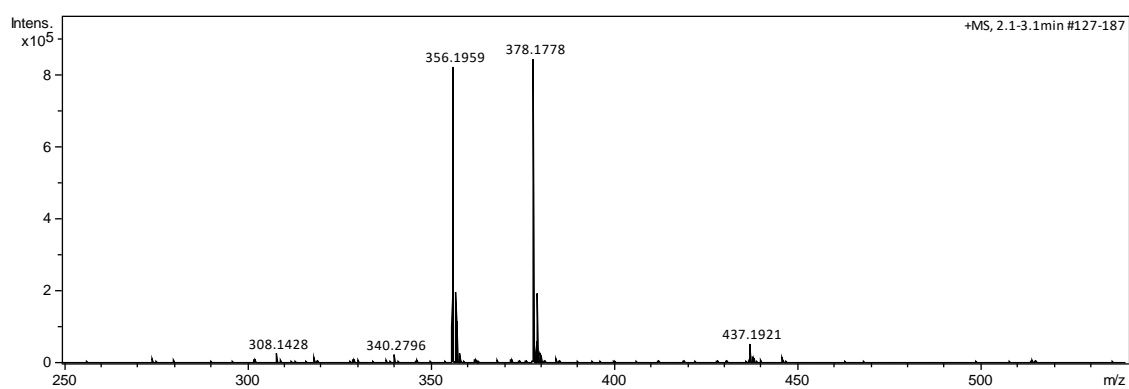
Nebulizer: 0.4 Bar

Dry gas: 4 L/min

Temp: 180°C

HV: 4500V

ESI+ | Amostra dissolvida em DCM e diluída em MeOH 0,1% ácido fórmico



Mono-nonil- éter do etileno glicol

Equipamento: MICROTOF – Bruker Daltonics

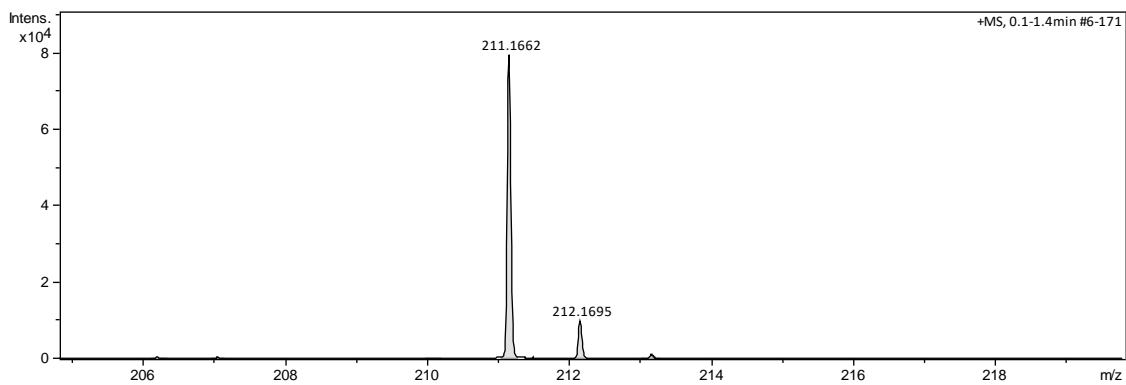
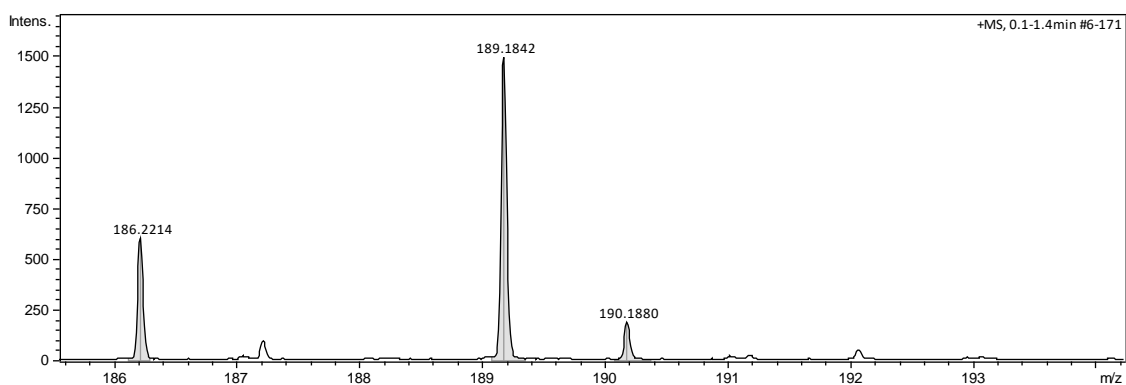
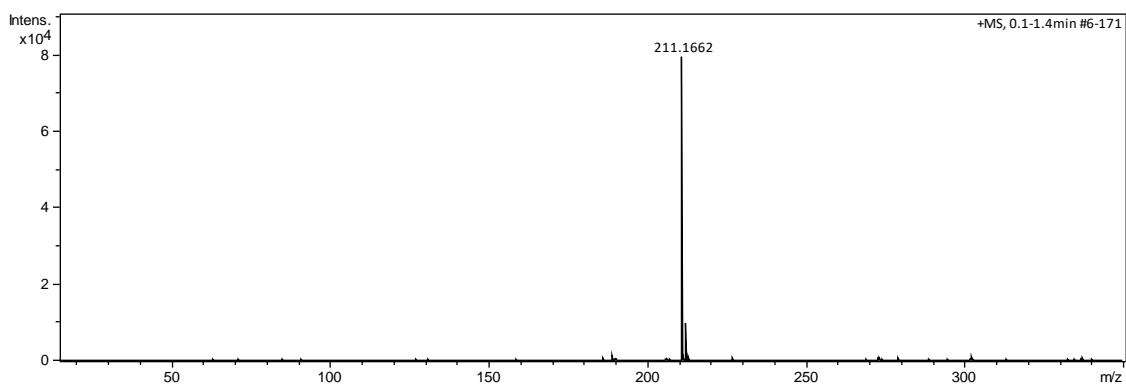
Nebulizer: 0.4 Bar

Dry gas: 4 L/min

Temp: 180°C

HV: 4500V

ESI+ | Amostra dissolvida em DCM e diluída em MeOH 0,1% ácido fórmico



Monosuccinato do fragmento B

Equipamento: MICROTOF – Bruker Daltonics

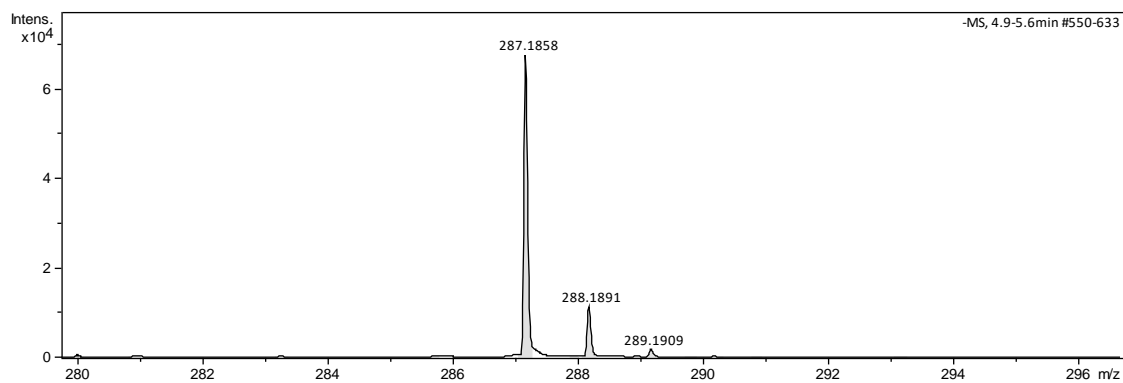
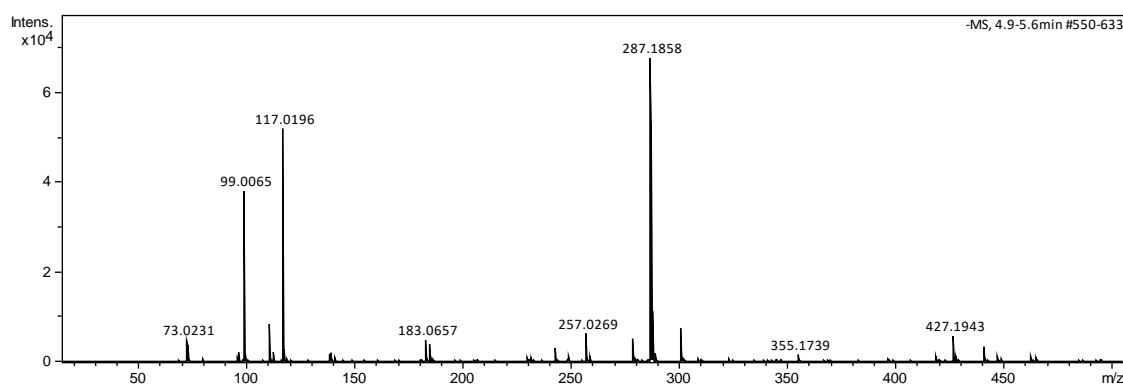
Nebulizer: 0.4 Bar

Dry gas: 4 L/min

Temp: 180°C

HV: 4500V

ESI- | Amostra dissolvida em DCM e diluída em MeOH



Composto 1A

Equipamento: MICROTOF – Bruker Daltonics

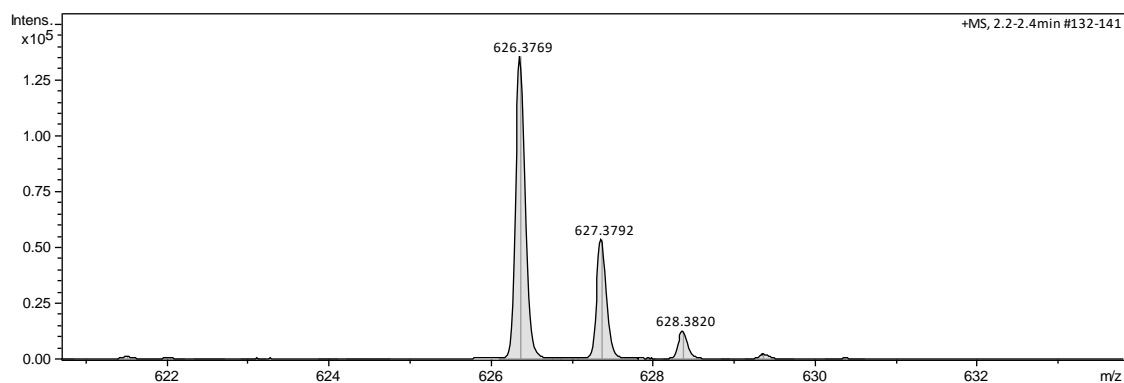
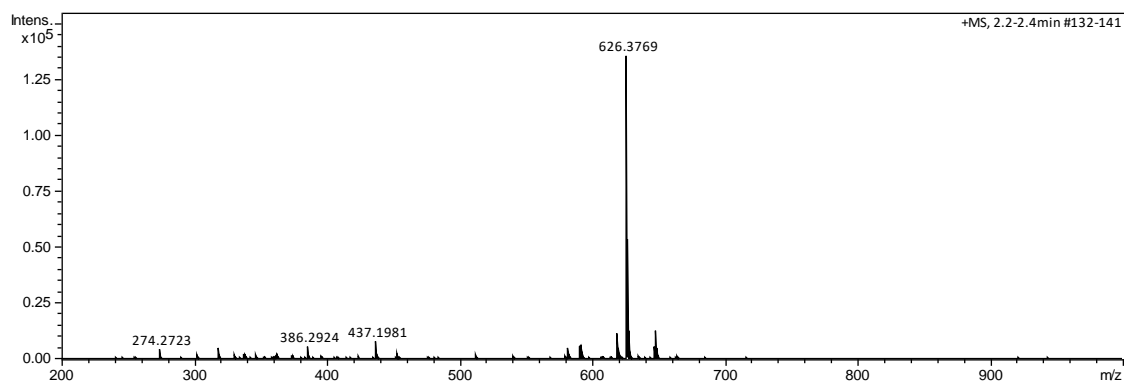
Nebulizer: 0.4 Bar

Dry gas: 4 L/min

Temp: 180°C

HV: 4500V

ESI+ | Amostra dissolvida em DCM e diluída em MeOH



SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Douglas Henrique de Souza

Nascimento: 17/11/1986 – Santo André – SP.

EDUCAÇÃO

EE Senador João Galeão Carvalhal.

Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Bacharel em Química – Instituto de Química.

OCUPAÇÃO

Bolsista de Mestrado, CNPq 11/2017 a 01/2019

Formil Química, Pesquisador – 01/02/2019 a 14/01/2021

Libbs Farmacêutica, Operador Técnico – 22/03/2021