

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DÉBORA ASSUMPÇÃO ROCHA

**SÍNTESE ASSIMÉTRICA DO FRAGMENTO C1.C6 DE INIBIDOR
COMPETITIVO QUIRAL DE CRUZAÍNA**

Porto Alegre
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DÉBORA ASSUMPÇÃO ROCHA

**SÍNTESE ASSIMÉTRICA DO FRAGMENTO C1.C6 DE INIBIDOR
COMPETITIVO QUIRAL DE CRUZAÍNA**

Monografia apresentada como requisito parcial
para a obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Saulo Fernandes de
Andrade

Porto Alegre
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Reitor: Prof. Carlos Alexandre Netto

Vice-Reitor: Prof. Rui Vicente Oppermann

Pró-Reitor de Graduação: Prof. Sérgio Roberto Kieling Franco

Diretor da Faculdade de Farmácia: Prof. José Angelo Silveira Zuanazzi

Coordenador do Curso de Farmácia: Profa. Denise Bueno

Bibliotecária-Chefe da Faculdade de Farmácia: Cláudia da Silva Gonçalves.

*“Há uma força motriz mais poderosa do que o vapor,
a eletricidade e a energia atômica: a vontade.”*

—Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Gostaria de em primeiro lugar agradecer a Deus.

Aos meus pais Maria Regina e Regis, que sempre estiveram ao meu lado em todos os meus tropeços ao longo de toda a minha vida. Que foram incansáveis durante todo o meu crescimento, me ensinando e orientando a cada passo dado nessa trajetória, sempre com todo o amor, carinho e compreensão.

Ao meu irmão, Daniel, pelo carinho e apoio.

Ao meu namorado, Norton, pela paciência, apoio e amor durante todo o desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus amigos-colegas pelos estudos compartilhados ao longo da faculdade.

Aos colegas do LaSOM por todo apoio e ensinamentos no laboratório, em especial a Angélica e a Isadora, pelo companheirismo e que além de colegas tornarem-se verdadeiras amigas.

As minhas primeiras co-orientadoras do Laboratório de Microbiologia Celular, Aline e Roberta, que além de me ensinarem muito dentro e fora do laboratório tornaram-se minhas amigas após a saída deste trabalho. E em especial a Nicolle, que além de amiga, é minha cunhada.

Ao meu orientador Saulo, por ter me convidado a participar deste projeto e ter acreditado na minha capacidade de desenvolvê-lo. Assim como por toda a paciência, amizade e ensinamentos ao longo da iniciação científica.

RESUMO

A doença de Chagas é uma doença negligenciada que tem como agente etiológico o *Trypanosoma cruzi*. Um dos alvos terapêuticos validados para o tratamento da doença são as proteases, como a cruzaina, principal cisteíno-protease do protozoário. Um estudo foi feito utilizando-se *docking* molecular e *High-Throughput Screening* (HTS) para identificar possíveis inibidores não-covalentes de cruzaina. Neste estudo foi identificado o composto quiral não covalente N-[1-[[[2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)etil]amino]carbonil]-2-metilpropil]-2-furancarboxamida. No presente trabalho foi feita a síntese assimétrica do fragmento (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano, que é o intermediário-chave na síntese do inibidor quiral de cruzaina. Inicialmente, o furfural foi convertido no ácido furanilpropenóico através da reação de Doebner. Este ácido furanilpropenóico foi descarboxilado com Cu₂O fornecendo o vinilfurano. Este foi tratado com ferricianeto de potássio, carbonato de potássio e quantidades catalíticas de (DHQD)₂-PHAL e osmato de potássio diidratado. O uso de (DHQD)₂-PHAL forneceu o enantiômero S utilizando o método de diidroxilação assimétrica de Sharpless. As hidroxilas do glicol resultante foram protegidas utilizando carbonato de dimetila na presença de quantidade catalítica de KOH fornecendo o carbonato. Este composto por reação com azida de sódio forneceu o azido álcool estereoespecificamente com inversão de configuração. A redução do grupo azido com hidrogênio na presença do catalisador de Lindlar resultou no conhecido amino álcool. A formação do anel piperidínico do intermediário inédito foi realizada através do tratamento do amino álcool com 1,5-dibromopentano e carbonato de potássio. Finalmente, a hidroxila do piperidinil etanol resultante foi convertida em grupo azido nas condições de Mitsunobu, resultando no intermediário (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano.

Palavras-chave: Doença de Chagas. *Trypanosoma cruzi*. Cruzaina. Inibidor quiral. Síntese Assimétrica.

ABSTRACT

Chagas disease is a neglected disease whose etiological agent is the *Trypanosoma cruzi*. One of the validated drug targets for the treatment of the disease are proteases such as cruzain, main protozoan cysteine protease. A study was made using docking and High-throughput screening (HTS) to identify potential non-covalent inhibitors of cruzain. This study identified the noncovalent chiral compound N- [1 - [[2- (2-furanyl) -2- (1-piperidinyl) ethyl] amino] carbonyl] -2-methylpropyl] -2-furancarboxamide. In the present study the asymmetric synthesis of the fragment (R) -2- (2-furanyl) -2- (1-piperidinyl) -1-azidoetano was made, which is the key intermediate in the synthesis of the chiral cruzain inhibitor. Initially, furfural was converted to the furanilpropenoic acid by Doebner reaction. This furanilpropenoic acid was decarboxylated with Cu₂O providing vinylfuran. This was treated with potassium ferricyanide, potassium carbonate and catalytic amounts of (DHQD)₂-PHAL and potassium osmate dihydrate. Using (DHQD)₂-PHAL provided the S enantiomer using asymmetric Sharpless dihydroxylation method. The hydroxyl of the resulting glycol was protected using dimethyl carbonate in the presence of catalytic amount of KOH providing carbonate. This compound by reaction with sodium azide produce the azido alcohol stereospecifically with inversion of configuration. The reduction of the azido group with hydrogen in the presence of Lindlar catalyst resulted in the known amino alcohol. The formation of the piperidine ring (unpublished intermediate) was accomplished by treatment of the amino alcohol with 1,5-dibromopentane and potassium carbonate. Finally, the hydroxy group of piperidinyl ethanol was converted into the azido group in Mitsunobu conditions, resulting in intermediate (R) -2- (2-furanyl) -2- (1-piperidinyl) -1-azidoetano.

Keywords: Chagas disease. *Trypanosoma cruzi*. Cruzain. Chiral inhibitor. Asymmetric Synthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Os fármacos utilizados no tratamento da doença de Chagas, nifurtimox (1) e benznidazol (2). Estão marcados em vermelho seus grupamentos nitro, responsáveis por sua atividade.	9
Figura 1.2 - Estrutura tridimensional da enzima cruzaina, com destaque para resíduos da tríade catalítica (Cys 25, His162, Asn182).	11
Figura 1.3. Alguns inibidores covalentes de Cruzaina, K777 (3), 2,3,5,6 – tetrafluorofenoximetilcetona (4) e arilnitrilas (5).	12
Figura 1.4 - Proposta de mecanismo de inibição covalente da cruzaina por K777 (3).	13
Figura 1.5. Demonstração das sucessivas etapas de triagem feitas utilizando <i>Docking</i> e HTS de modo paralelo resultando em 5 classes de inibidores competitivos de cruzaina, incluindo o composto selecionado para nosso estudo.	14
Figura 1.6 - Estrutura do composto difurânico peptídeo-mimético N-[1-[[[2-(2-Furanil)-2-(1-piperidinil)etil]amino]carbonil]-2-metilpropil]-2-furancarboxamida 6.	15
Figura 1.7 - Estrutura do fragmento C1-C6 7.	15
Figura 3.1 Tentativa de obtenção do 2-vinilfurano 9 nas condições de Wittig utilizando BuLi como base.	17
Figura 3.2 Tentativa de obtenção do 2-vinilfurano 9 nas condições de Wittig utilizando Ba(OH) ₂ como base.	17
Figura 3.3 Obtenção do ácido 3-(2-furanil)-2-propenóico 15.	18
Figura 3.4 Obtenção do 2-vinilfurano 9.	19
Figura 3.5 Diidroxilação assimétrica do 2-vinilfurano 9.	19
Figura 3.6 Obtenção do (S)-4-(2-furanil)-1,3-dioxolan-2-ona 11.	20
Figura 3.7 Obtenção do (R)-2-(2-furanil)-2-azido-1-etanol 12.	21
Figura 3.8 Tentativa de obtenção de (R)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol 13 utilizando formato de amônio.	21
Figura 3.9 Tentativa de obtenção do composto (R)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol 13 utilizando trifetilfosfina.	22
Figura 3.10 Obtenção do (R)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol 13.	22
Figura 3.11 Obtenção do (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol 14 utilizando trietilamina como base.	23
Figura 3.12 Obtenção do (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol 14.	23
Figura 3.13 Tentativa de obtenção do (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-[(tosil)oxi]etano 17.	24
Figura 3.14 Tentativa de obtenção do (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano 7.	25
Figura 3.15 Obtenção do (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano 7.	25
Figura 4.1. Plano de síntese original. Reagentes: (a) brometo de metiltrifenilfosfônio, BuLi e THF; (b) K ₃ Fe(CN) ₆ , K ₂ CO ₃ , K ₂ OsO ₂ (OH) ₄ e (DHQD) ₂ - PHAL, <i>tert</i> -butanol e H ₂ O; (c) KOH e dimetilcarbonato; (d) NaN ₃ , DMF e H ₂ O; (e) H ₂ , catalisador de Lindlar e EtOH; (f) 1,5-dibromopentano, K ₂ CO ₃ e EtOH; (g) HN ₃ , PPH ₃ , DIAD e THF.	27
Figura 5.1. Rota sintética experimental. Reagentes: (a) ácido malônico, piridina e morfolina; (b) Cu ₂ O e quinolina; (c) K ₃ Fe(CN) ₆ , K ₂ CO ₃ , K ₂ OsO ₂ (OH) ₄ e (DHQD) ₂ - PHAL, <i>tert</i> -butanol e H ₂ O; (d) KOH e dimetilcarbonato; (e) NaN ₃ , DMF e H ₂ O; (f) H ₂ , catalisador de Lindlar e EtOH; (g) 1,5-dibromopentano, K ₂ CO ₃ e EtOH; (h) HN ₃ , PPH ₃ , DIAD e THF.	29
Figura 5.2 <i>Orto</i> -litação do furfural através da reação com Bu-Li.	30
Figura 5.3 – Proposta de mecanismo da reação do furfural 8 com ácido malônico, piridina e morfolina resultando no composto 15.	32
Figura 5.4 – Proposta de mecanismo da reação do composto 15 com quinolina e óxido de cobre resultando no composto 9.	33
Figura 5.5. Estrutura dos reagentes quirais (DHQD) ₂ PHAL e (DHQ) ₂ PHAL.	34
Figura 5.6. Enantioseletividade do reagente quiral (DHQD) ₂ PHAL e (DHQ) ₂ PHAL na diidroxilação assimétrica de Sharpless com o composto 9, resultando no composto 10.	34

LISTA DE FIGURAS (CONTINUAÇÃO)

Figura 5.7 – Proposta de mecanismo da reação assimétrica do composto 9 com $K_3Fe(CN)_6$, K_2CO_3 , $(DHQD)_2-PHAL$, $K_2OsO_2(OH)_4$, em éter, <i>tert</i> -butanol e água destilada, resultando no composto 10	35
Figura 5.8 – Proposta de mecanismo de reação do composto 4 com carbonato de dimetila e KOH resultando no composto 5	36
Figura 5.9 – Proposta de mecanismo da reação do composto 11 com azida de sódio resultando no composto 12	37
Figura 5.10 – Proposta de mecanismo da reação do composto 13 com 1,5-dibromopentano, carbonato de potássio e etanol resultando no composto 14	39
Figura 5.11 . Preparação do ácido azídico utilizando azida de sódio, ácido sulfúrico e água.	41
Figura 5.12 – Proposta de mecanismo da reação de Mitsunobu.	42
Figura A1 : Espectro no infravermelho do composto 15	47
Figura A2 : Espectro no RMN de 1H do composto 15	47
Figura A3 : Espectro no RMN de ^{13}C do composto 15	48
Figura A4 : Espectro no infravermelho do composto 10	48
Figura A5 : Espectro no RMN de 1H do composto 10	49
Figura A6 : Espectro no RMN de ^{13}C do composto 10	49
Figura A7 : Espectro no infravermelho do composto 11	50
Figura A8 : Espectro no RMN de 1H do composto 11	50
Figura A9 : Espectro no RMN de ^{13}C do composto 11	51
Figura A10 : Espectro no infravermelho do composto 12	51
Figura A11 : Espectro no infravermelho do composto 14	52
Figura A12 : Espectro no RMN de 1H do composto 14	52
Figura A13 : Espectro no RMN de ^{13}C do composto 14	53
Figura A14 : Espectro no infravermelho do composto 7	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Asn182	Asparagina 182
Atm	Atmosfera
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
ClogP	Logaritmo do coeficiente de partição n-octanol/água calculado
Cys25	Cisteína 25
d	Dupleto
dd	Dupleto duplo
DIAD	Diisopropyl azodicarboxylate (Azodicarboxilato de diisopropila)
DMF	N,N-Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
His162	Histidina 162
HTS	<i>High Throughput Screening</i>
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento escalar
Ki	Constante de inibição
M	Multiplete
MHz	Megahertz
M. M.	Massa molar
ppm	Partes por milhão
p/v	Peso por volume
q	Quarteto
R	<i>Rectus</i> - sentido horário
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S	<i>Sinister</i> - sentido anti-horário
s	Simpleto
t	Triplete
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
THF	Tetraidrofurano
δ	Deslocamento químico

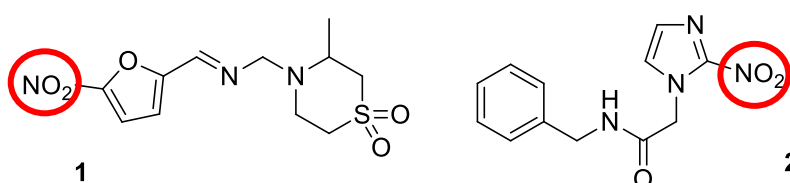
SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	09
2 OBJETIVOS.....	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS	17
4 PLANO DE SÍNTESE	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6 CONCLUSÃO	43
7 REFERÊNCIAS.....	44
APÊNDICE A ESPECTROS NO INFRAVERMELHO E DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	

1. INTRODUÇÃO

Doenças negligenciadas são doenças tropicais endêmicas que prevalecem em populações menos favorecidas de países da África, Ásia e América do Sul. Entre essas doenças destaca-se a doença de Chagas, que tem como agente etiológico o *Trypanosoma cruzi*, um protozoário que possui três diferentes formas de desenvolvimento: epimastigota, forma presente no vetor e em cultura axênica; tripomastigota, forma sanguínea circulante e infectante; e amastigota, forma de replicação intracelular. A parasitemia apresenta-se em duas fases: a fase aguda, que na maioria das vezes é assintomática e dura até 60 dias, sendo facilmente detectados parasitas por exame direto do sangue periférico (ENGEL, 1998) e a fase crônica, a qual tipicamente se prolonga por toda a vida do hospedeiro (DIAS, 2009). Para o tratamento existem dois medicamentos disponíveis, nifurtimox **1** e benznidazol **2** (Figura 1.1).

Figura 1.1. Os fármacos utilizados no tratamento da doença de Chagas, nifurtimox (1) e benznidazol (2). Estão marcados em vermelho seus grupamentos nitro, responsáveis por sua atividade.

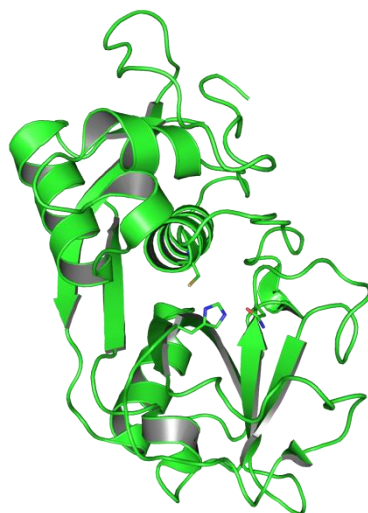


O principal mecanismo de ação do nifurtimox **1** é a produção do radical livre hidroxila ($\cdot\text{OH}$) por meio da redução do radical nitro, o que leva a uma intoxicação do parasita (BERNARDES, 2006). A esta espécie tem sido atribuído o efeito tripanossomicida por mecanismos complexos que envolvem ligação a lipídeos, proteínas e ao DNA do *T. cruzi*. O nifurtimox é eficaz contra as formas amastigotas do *T. cruzi* (URBINA, 2002). No benznidazol, as espécies reativas de oxigênio parecem não ser importantes. Na realidade, o radical nitro formado por ação da NADPH citocromo P450 redutase seria responsável pelo efeito tripanocida através de formação de ligação covalentes com macromoléculas. Os radicais livres e os metabólitos eletrofílicos formados por estes fármacos, não possuem especificidade

para o parasita, sendo também nocivos para as células do hospedeiro e essa falta de seletividade causa efeitos adversos ao paciente, que muitas vezes levam ao abandono do tratamento (SAJID, 2011). Além disso, estes não são capazes de eliminar completamente o parasita e, também, já foram relatados vários casos de resistência a estas terapias (MOTT, 2010).

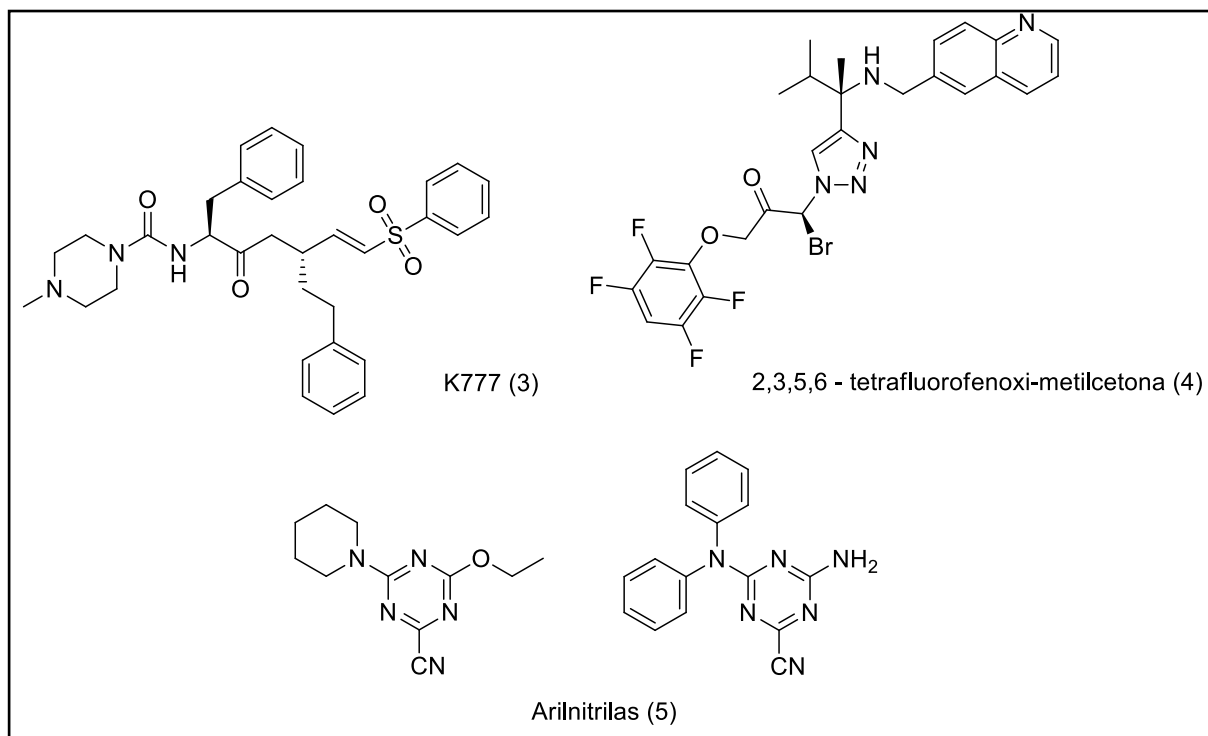
Com base no exposto, se faz necessário o desenvolvimento de novos fármacos capazes de tratar a doença causando menos efeitos adversos ao paciente, aumentando assim sua qualidade de vida e adesão ao tratamento (CLAYTON, 2010). Uma estratégia potencial para o tratamento de doenças causadas por parasitas é a produção de compostos que inibem seletivamente enzimas cruciais para a sobrevivência destes parasitas no interior do hospedeiro (MCGRATH, 1995). Um dos alvos terapêuticos para o tratamento da doença são as proteases, devido ao seu papel na replicação, metabolismo, invasão celular e escape do parasita do sistema imune do hospedeiro, sendo essenciais para a sobrevivência do parasita no hospedeiro (MCGRATH, 1995) (DIAS, 2009). Entre elas destaca-se a enzima cruzaina, que é a principal cisteíno-protease do *Trypanosoma cruzi*, estando presente em todas as suas formas de vida (amastigota, tripomastigota e epimastigota). Esta enzima é importante na imunoinvasão do parasita, na aquisição de nutrientes e sobrevivência do organismo no hospedeiro. Em 1995, McGrath e colaboradores publicaram pela primeira vez a estrutura tridimensional da cruzaina, na qual esta se apresentava complexada com o inibidor peptídico irreversível Z-Phe-Ala-fluormetilcetona, através da cristalografia por difração de raio-X. Neste estudo foi determinado que a enzima possui em sua estrutura 215 aminoácidos estruturados em dois domínios, sendo um predominantemente formado por alfa-hélices e o outro por folhas-beta antiparalelas. Entre estes domínios está sua tríade catalítica composta pelos resíduos: Cys25, His162 e Asn182 (**Figura 1.2**). Esta enzima é fortemente N- e O- glicosilada (até 10% da massa total) e apresenta elevado teor de N-glicanos de manose sulfatados, podendo também ser salicilados no domínio C-terminal (SAJID, 2011).

Figura 1.2 - Estrutura tridimensional da enzima cruzaina, com destaque para resíduos da tríade catalítica (Cys 25, His162, Asn182).



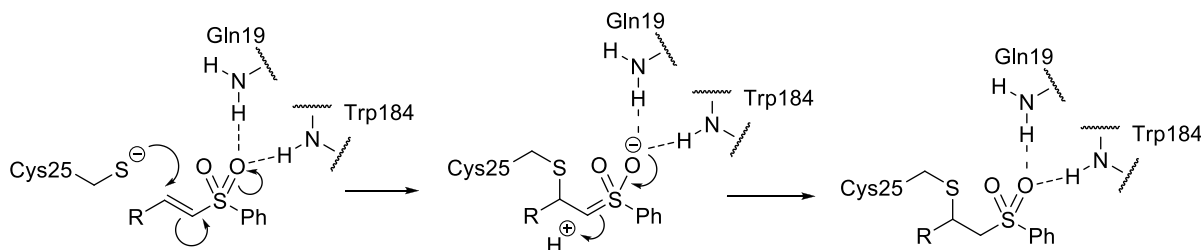
Sendo esta enzima essencial a sobrevivência do protozoário, a publicação de sua estrutura tridimensional elucidada estimulou o desenvolvimento racional de diversas classes de inibidores para cruzaina (MOTT, 2010), dentre esses destacam-se a vinilssulfona K777 **3**, a 2,3,5,6-tetrafluorofenoximetilcetona **4** e as arilnitrilas **5** (**Figura 1.3**) (BARR, 2005, ENGEL, 1998 e MOTT, 2010). Estes três compostos são inibidores covalentes, exercendo inibição irreversível, e até o presente momento somente os inibidores irreversíveis demonstraram capacidade de curar a infecção pelo *T. cruzi*.

Figura 1.3. Alguns inibidores covalentes de Cruzaína, K777 (**3**), 2,3,5,6 – tetrafluorofenoxi-metilcetona (**4**) e arilnitrilas (**5**).



Foi relatado que o K777 **3** e a 2,3,5,6-tetrafluorofenoximetilcetona **4** ligam-se covalentemente a enzima através de um ataque nucleofílico da cisteína 25 do sítio ativo da enzima ao centro eletrofílico destes inibidores (FERREIRA, 2010). Para exemplificar este tipo de interação, o mecanismo de inibição covalente do K777 **3** foi ilustrado na figura 1.4. As arilnitrilas **5** possuem em sua estrutura um anel triazina que por natureza é um forte removedor de elétrons, por isso a nitrila presente na estrutura nesta classe de compostos é particularmente eletrofílica e foi proposto que esta classe poderia formar uma ligação covalente com a Cys25, mas de maneira reversível (MOTT, 2010). Apesar dos bons resultados obtidos com estas substâncias, de um modo geral, é preferível a identificação de inibidores não-covalentes a fim de evitar inibição inespecífica de alvos indesejados (BACHOVCHIN, 2012). Sendo assim, a identificação de novos inibidores reversíveis da cruzaína seria importante na busca por novos candidatos a fármacos para doença de Chagas.

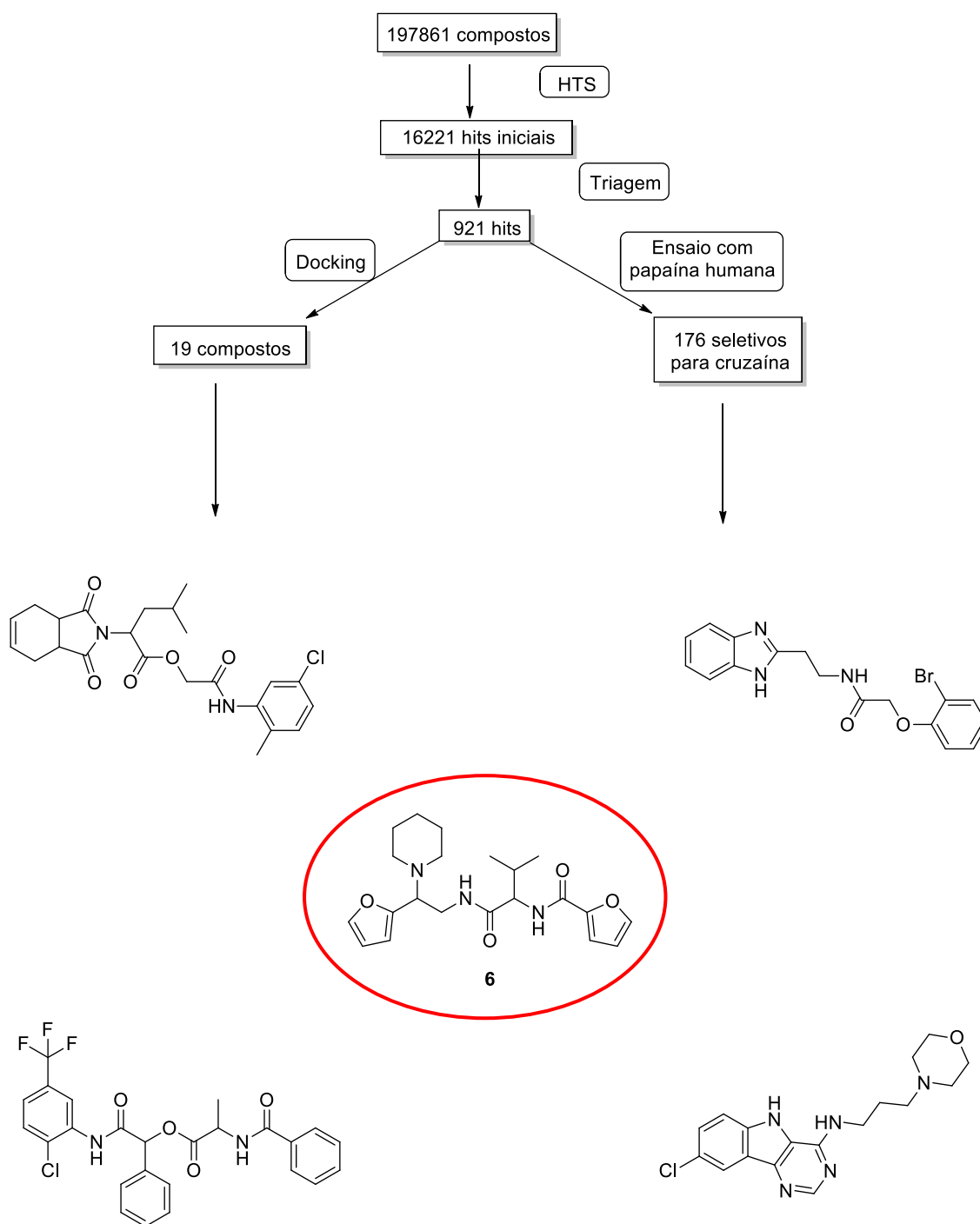
Figura 1.4 - Proposta de mecanismo de inibição covalente da cruzaina por K777 (**3**).



Ferreira e colaboradores propuseram em 2010 um estudo em que realizaram uma triagem valendo-se de dois métodos combinados, *docking* molecular e *High-Throughput Screening* (HTS). As duas técnicas podem complementar-se, sendo as carências do *docking* ortogonais as do HTS. Além disso, se uma substância interage adequadamente com a proteína no modelo de *docking* e apresenta atividade inibitória comprovada pelo HTS, esta substância pode ser considerada um bom hit para posteriores modificações.

Os métodos foram realizados com a mesma biblioteca de moléculas e o mesmo alvo analisando sistematicamente o mecanismo de ação das moléculas ativas e identificando os compostos que seriam novos inibidores competitivos. Neste estudo uma biblioteca de 197861 compostos adquiridos da base ZINC foram triados por HTS (**Figura 1.5**), em um teste totalmente automatizado. Destes, 16221 foram selecionados como hits pois apresentaram inibição da enzima. Em um ensaio mais criterioso este número foi reduzido a 921 inibidores, sendo retirados inibidores ineficientes, formações de agregados e artefatos fluorescentes. Em seguida, dois filtros foram aplicados para seleção dos melhores hits. No primeiro, escolheram-se 19 compostos dos 921, pois estes foram também identificados como bons inibidores na triagem virtual por *docking* molecular. No segundo filtro, foram selecionados 176 compostos que além de inibirem cruzaina não são inibidores da papaína humana (enzima humana homóloga a cruzaina). Estes compostos foram agrupados em 5 diferentes classes de inibidores competitivos para cruzaina devido à semelhança estrutural, sendo o composto **6** (N-[1-[[[2-(2-Furanil)-2-(1-piperidinil)etil]amino]carbonil]-2-metilpropil]-2-furancarboxamida) o escolhido para síntese pelo nosso grupo.

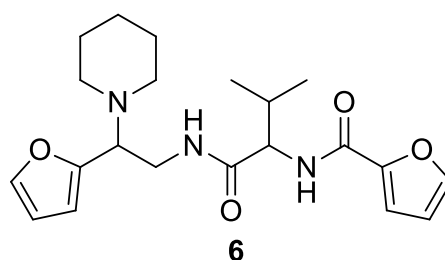
Figura 1.5. Demonstração das sucessivas etapas de triagem feitas utilizando *Docking* e HTS de modo paralelo resultando em 5 classes de inibidores competitivos de cruzaina, incluindo o composto selecionado para nosso estudo.



Na Regra dos cinco de Lipinski (LIPINSKI, 2004), foi estabelecido que para um bom potencial de absorção oral um fármaco necessita ter massa molecular inferior a 500 g/mol, log P inferior a 5, até cinco grupamentos doadores de ligação de

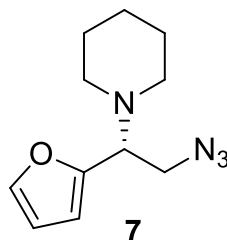
hidrogênio e até 10 grupamentos aceptores de ligação de hidrogênio. Logo, o composto **6** demonstra bom potencial para absorção por via oral, visto que possui massa molecular de 387 g/mol, ClogP de 2,93, dois grupamentos doadores de ligação de hidrogênio e sete grupamentos aceptores de ligação de hidrogênio. Com relação a farmacodinâmica, são preferíveis substâncias mais potentes, com valores de inibição entre 1- 30 μM ou inferiores (KESERU, 2006). O protótipo apresenta K_i de 6 μM para cruzaina, sendo que a substância comercial utilizada no teste era uma mistura dos quatro estereoisômeros do composto **6** (Figura 1.6).

Figura 1.6 - Estrutura do composto difurânico peptídeo-mimético N-[1-[[[2-(2-Furanil)-2-(1-piperidinil)etil]amino]carbonil]-2-metilpropil]-2-furancarboxamida **6**.



É possível que um dos isômeros seja mais potente do que os outros, sendo importante a síntese dos quatro estereoisômeros para identificar o mais potente. O foco do presente trabalho foi a síntese assimétrica do fragmento C1-C6 **7** (Figura 1.7), que é o intermediário-chave na síntese do inibidor quiral da cruzaina **6**.

Figura 1.7 - Estrutura do fragmento (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7**.



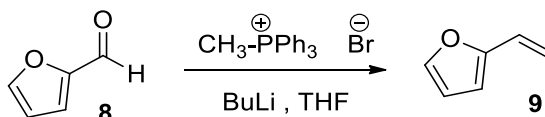
2. OBJETIVOS

Realizar a síntese assimétrica do composto **7** que é o intermediário-chave na síntese de inibidor quiral competitivo de cruzáína.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Tentativa de obtenção de 2-vinilfurano **9**

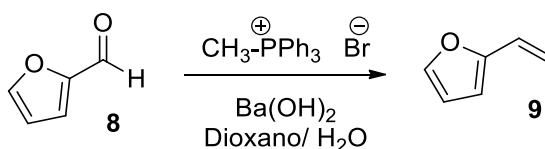
Figura 3.1 Tentativa de obtenção do 2-vinilfurano **9** nas condições de Wittig utilizando BuLi como base.



A um balão de fundo redondo tritubulado, adicionaram-se o sal de fosfônio (4,10 g, 0,0114 mol) e THF anidro (5 mL). A mistura foi mantida sob agitação a temperatura ambiente e atmosfera de nitrogênio. Em seguida, com o auxílio de uma seringa, adicionou-se a solução de *n*-BuLi 2,5 M em hexano (5,4 mL, 0,0135 mol) observando-se a formação de um precipitado laranja. Após 10 minutos, o furfural **8** (0,86 mL, 0,0104 mol) foi adicionado com o auxílio de um funil de adição. O funil foi lavado com THF anidro (2 mL). A suspensão foi mantida sob agitação por 2 horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (clorofórmio ou hexano/acetato de etila 8:2). À suspensão resultante adicionou-se H₂O gelada (20 mL) e acetato de etila (40 mL) sob banho de gelo. A fase orgânica foi lavada com H₂O (20 mL), secada com Na₂SO₄ e concentrada em evaporador rotatório.

3.2. Tentativa 2 de obtenção de 2-vinilfurano **9**

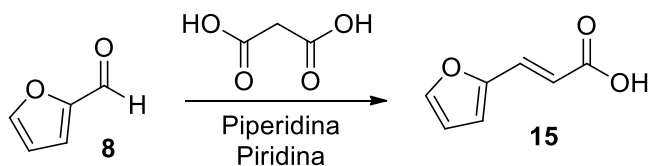
Figura 3.2 Tentativa de obtenção do 2-vinilfurano **9** nas condições de Wittig utilizando Ba(OH)₂ como base.



A uma solução de dioxano (20 mL) e H₂O (0,4 mL), adicionaram-se furfural **8** (0,86 mL, 0,0104 mol), sal de fosfônio (3,71 g, 0,0104 mol) e hidróxido de bário (3,64 g, 0,0116 mol). A mistura foi mantida sob agitação a 70 °C. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (clorofórmio ou hexano/acetato de etila 8:2). Não se observou consumo do material de partida.

3.3. Obtenção do ácido 3-(2-furanil)-2-propenóico 15

Figura 3.3 Obtenção do ácido 3-(2-furanil)-2-propenóico 15.

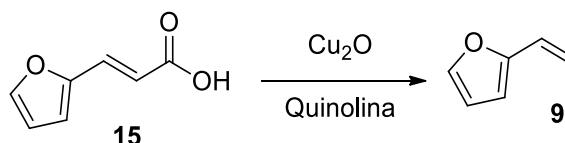


A uma solução do furfural **8** (0,86 mL, 0,0104 mol) em piridina (7 mL), adicionaram-se o ácido malônico (4,33 g, 0,0416 mol) e a piperidina (0,5 mL). A mistura foi mantida sob agitação a 95°C por 2 horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (hexano/acetato de etila/ácido acético 7:3:0,3). A mistura foi vertida em um funil de separação, e, em seguida, adicionou-se acetato de etila (40 mL). A fase orgânica foi lavada duas vezes com ácido clorídrico 6 M (2 x 20 mL), H₂O destilada (2 x 20 mL), secada com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi removido no evaporador rotatório.

Foram obtidos 1,24 g do produto bruto com 86% de rendimento bruto. O produto apresentou-se na forma de um sólido amarelado: RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 12,41 (s, 1H, COOH), 7,81 (sl, 1H, H-1), 7,39 (d, 1H, H-5, *J*_{5,6} = 15,8 Hz), 6,91 (d, 1H, H-3, *J*_{2,3} = 3,6 Hz), 6,61-6,59 (dd, 1H, H-2, *J*_{2,3} = 3,6 Hz, *J*_{1,2} = 2,0 Hz), 6,17 (d, 1H, H-6, *J*_{5,6} = 15,8 Hz) (**Figura A2**); RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 167,51 (C-7), 150,41 (C-4), 145,80 (C-1), 130,94 (C-5), 116,11 (C-6), 115,56 (C-3) e 112,76 (C-2) (**Figura A3**).

3.4. Obtenção do 2-vinilfurano **9**

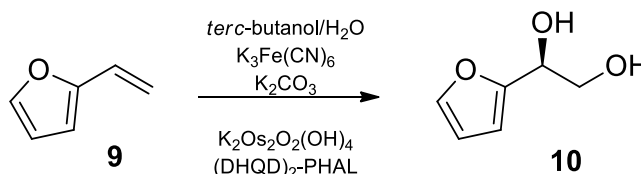
Figura 3.4 Obtenção do 2-vinilfurano **9**.



A uma solução de **15** (1,0 g, 7,25 mmol) em quinolina (3,5 mL), adicionou-se Cu_2O (0,10 g, 0,725 mmol). A suspensão foi mantida sob agitação por 1,5 horas a 150 °C e o produto foi destilado. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (hexano/acetato de etila/ácido acético 7:3:0,3).

3.5. Obtenção do (S)-1-(2-furanil)-1,2-etanodiol **10** - Diidroxilação de Sharpless

Figura 3.5 Diidroxilação assimétrica do 2-vinilfurano **9**.



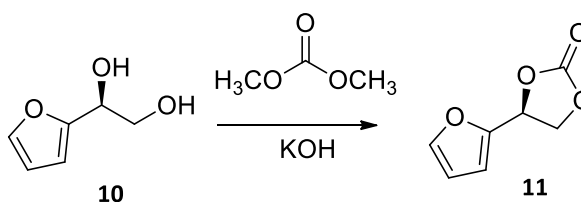
A um balão de fundo redondo contendo uma solução do 2-vinilfurano **9** (1,43 g, 15,2 mmol) em éter foram adicionados *tert*-butanol (40 mL), H_2O destilada (40 mL), $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (15,01 g, 45,6 mmol), K_2CO_3 (6,3 g, 45,6 mmol). Verificou-se o pH da mistura reacional, pois a reação não pode ser realizada em meio ácido. Em seguida, adicionou-se $(\text{DHQD})_2\text{-PHAL}$ (24 mg, 0,0308 mmol) e $\text{K}_2\text{Os}_2\text{O}_2(\text{OH})_4$ (11,8 mg, 0,032 mmol). A mistura foi mantida sob agitação por 4 horas em banho de gelo. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (hexano/acetato de etila 6,5:3,5). A mistura resultante foi filtrada sob pressão reduzida e ao filtrado foi adicionado NaCl. A mistura foi vertida em um funil de separação, e, em seguida, extraiu-se com acetato de etila (3 x 80 mL). A fase orgânica foi secada com Na_2SO_4 anidro e filtrada. O solvente foi removido no evaporador rotatório.

O produto foi purificado em coluna cromatográfica com sílica gel. Utilizou-se como eluente hexano/ acetato de etila (65:35). O produto apresentou-se como um

óleo amarelado. Obteve-se 1,2752 g do produto bruto com 66% de rendimento: RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 7,55 (dd, 1H, H-1, $J_{1,2} = 1,8$ Hz; $J_{1,3} = 0,8$ Hz), 6,38 (dd, 1H, H-2, $J_{2,3} = 3,2$ Hz; $J_{1,2} = 1,8$ Hz), 6,26-6,25 (m, 1H, H-3), 5,33 (d, 1H, CHOH , $J_{\text{CHOH},5} = 5,3\text{Hz}$), 4,78 (t, 1H, CH_2OH , $J_{\text{CH}_2\text{OH},6} = J_{\text{OH},6'} = 5,6$ Hz), 4,49 (q, 1H, H-5, $J_{\text{CHOH},5} = J_{5,6} = J_{5,6'} = 5,3$ Hz), 3,61 – 3,51 (m, 2H, H-6 e H-6') (**Figura A.5**); RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 156,73 (C-4), 141,74 (C-1), 110,20 (C-2), 106,19 (C-3), 67,87 (C-5) e 64,57 (C-6) (**Figura A.6**).

3.6. Obtenção do (S)-4-(2-furanil)-1,3-dioxolan-2-ona 11

Figura 3.6 Obtenção do (S)-4-(2-furanil)-1,3-dioxolan-2-ona 11.

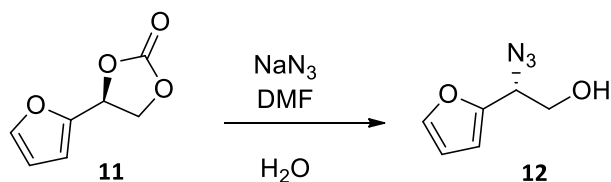


A uma solução de **10** (0,293 g, 2,29 mmol) em carbonato de dimetila (1,54 mL), adicionou-se KOH (0,128 g, 2,29 mmol). A mistura foi mantida sob agitação por 2 horas a 60 °C. O metanol resultante e o carbonato de dimetila que não reagiram foram destilados em 95-110 °C, respectivamente. A reação foi acompanhada por CCD (hexano/acetato de etila 7:3/ revelador: valina sulfurada). O resíduo foi resfriado a temperatura ambiente, e adicionou-se acetato de etila (20 mL) e H_2O destilada (20 mL). A fase aquosa foi lavada com acetato de etila (20 mL). As fases orgânicas reunidas foram secadas com Na_2SO_4 anidro e filtradas. O solvente foi removido no evaporador rotatório.

O produto foi purificado em uma coluna cromatográfica de sílica. Foram utilizados hexano e acetato de etila (75:25) como eluentes da coluna. O produto apresentou-se como um óleo castanho claro. Obteve-se 0,2598g do produto bruto com 63% de rendimento. No espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO} - d_6$) δ (ppm) 7,814 (dd, 1H, H-1, $J_{1,2} = 2\text{Hz}$; $J_{1,3} = 0,8$ Hz), 6,820 (d, 1H, H-3, $J_{2,3} = 3,2$ Hz), 6,548 (dd, 1H, H-2, $J_{2,3} = 3,2$ Hz ; $J_{1,2} = 2\text{Hz}$), 5,935 (dd, 1H, H-5, $J_{5,6} = 8,5$ Hz; $J_{5,6'} = 7,2$ Hz), 4,810(t, 1H, H-6, $J = 8,5$ Hz), 4,603 (dd, 1H, H-6', $J_{6,6'} = 8,5$ Hz; $J_{5,6'} = 7,2$ Hz) (**Figura A.8**); RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 151,39 (C-7), 148,27 (C-4), 145,10 (C-1), 111,84 (C-2), 111,04 (C-3) e 70,86 (C-5) e 67,46 (C-6) (**Figura A.9**).

3.7. Obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-azido-1-etanol **12**

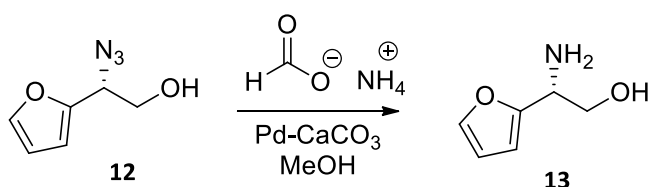
Figura 3.7 Obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-azido-1-etanol **12**.



A uma solução de **11** (0,1344 g, 0,873 mmol) em dimetilformamida (2,00 mL) adicionaram-se H₂O destilada (0,02 mL) e azida de sódio (0,1703 g, 2,62 mmol). A mistura foi mantida sob agitação por 12 horas a 120 °C. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (hexano/acetato de etila 6:4) e o revelador utilizado foi a vanilina sulfurada. À solução resultante, adicionaram-se acetato de etila (20 mL) e H₂O (10 mL). A fase orgânica foi lavada com H₂O (10 mL), secada com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi removido no evaporador rotatório. O produto foi purificado em uma coluna de sílica. Foram utilizados hexano e acetato de etila (85:15) como eluentes da coluna. O produto apresentou-se como um óleo castanho com rendimento de 74%.

3.8.1 Tentativa de obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13**

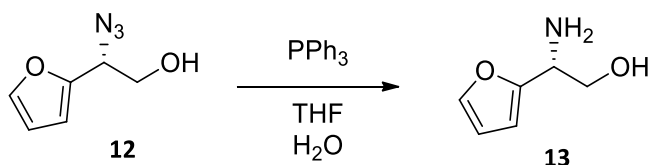
Figura 3.8 Tentativa de obtenção de (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13** utilizando formato de amônio.



A uma solução de **12** (0,239, 1,56 mmol) em metanol destilado (2 mL) foi adicionado Pd/CaCO₃ (0,0826g) e formato de amônio (0,394g, 6,25 mmol). A mistura foi mantida sob agitação e refluxo a 80 °C por 1,5 horas. A mistura reacional resultante foi extraída com clorofórmio (40 mL), solução de bicarbonato de sódio 10%p/v (20 mL) e após, a fase orgânica foi lavada com H₂O destilada (20 mL). A fase orgânica foi filtrada e o solvente evaporado em evaporador rotatório.

3.8.2 Tentativa de obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13**

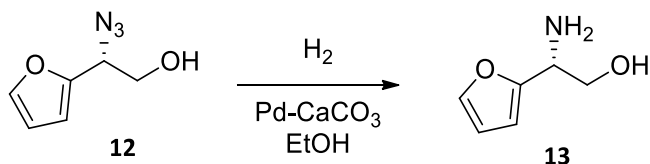
Figura 3.9 Tentativa de obtenção do composto (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13** utilizando trifenilfosfina.



Em um balão de fundo redondo foram adicionados o composto **12** (0,1 g, 0,654 mmol), trifenilfosfina (0,206 g, 0,784 mmol), tetrahydrofurano (2,3 mL) e H₂O destilada (0,22 mL). A mistura reacional foi mantida sob agitação por 3 horas. Após, o tetrahydrofurano foi evaporado em evaporador rotatório. A mistura reacional foi vertida em funil de separação e extraída com acetato de etila (25 mL) e H₂O destilada (10 mL), depois a fase aquosa resultante foi extraída com acetato de etila (20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secadas com Na₂SO₄ anidro e filtradas. O solvente foi removido no evaporador rotatório.

3.8.3 Obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13**

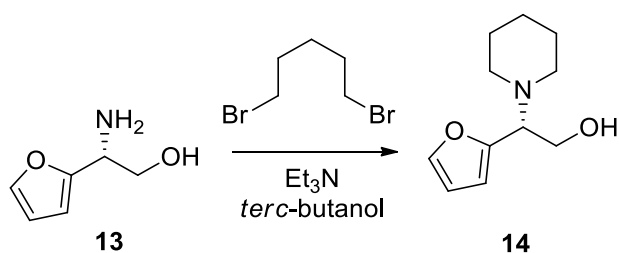
Figura 3.10 Obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13**.



Em um frasco reator contendo uma solução do composto **12** (0,12 g, 0,78 mmol) em etanol (2 mL) foram adicionados Pd/CaCO₃ (0,0413 g) e a mistura foi mantida sob atmosfera de H₂ a 4 atm por 2 horas. A mistura reacional resultante foi filtrada com etanol e o filtrado foi utilizado, imediatamente, na etapa seguinte.

3.9 Tentativa de obtenção do (*R*)-2-(2-furânil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol **14**

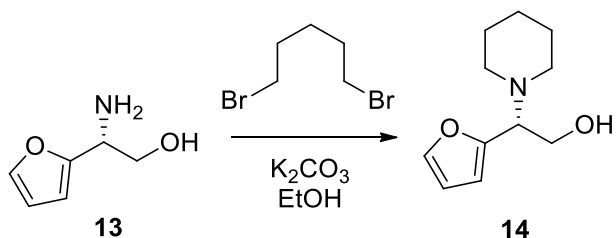
Figura 3.11 Obtenção do (*R*)-2-(2-furânil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol **14** utilizando trietilamina como base.



A uma solução do composto **13** (0,0996 g, 0,078 mmol) em *tert*-butanol (16 mL) foram adicionados trietilamina (0,326 mL, 2,34 mmol) e 1,5-dibromopentano (0,117 mL, 0,858 mmol). A mistura foi mantida sob agitação a 45 °C por 36 horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (clorofórmio /metanol 95:5). O *tert*-butanol da mistura reacional foi evaporado em evaporador rotatório e o resíduo do balão solubilizado com metanol. A mistura resultante foi filtrada e os sólidos lavados com 3 alíquotas de etanol (10 mL). Os filtrados combinados foram evaporados em evaporador rotatório.

3.9.1. Obtenção do (*R*)-2-(2-furânil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol **14**

Figura 3.12 Obtenção do (*R*)-2-(2-furânil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol **14**.

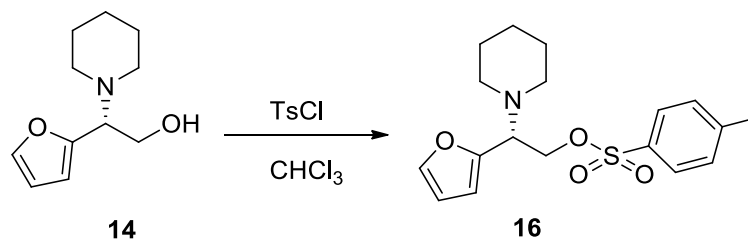


A uma solução de **13** (0,1384 g, 1,09 mmol) em etanol (5 mL) foram adicionados 1,5-dibromopentano (0,297 mL, 2,18 mmol) e carbonato de potássio (0,814 g, 5,89 mmol). A mistura foi mantida sob agitação a 70 °C overnight. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (clorofórmio /metanol 95:5). Após, a mistura reacional foi filtrada com 3 alíquotas de etanol (10 mL) e o solvente do

filtrado foi evaporado em evaporador rotatório. O produto foi purificado em uma coluna de sílica. Foram utilizados clorofórmio e metanol (99:1) como eluentes da coluna. O rendimento da reação foi de 55%. O produto apresentou-se como um óleo amarelado: RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 7,562 (dd, 1H, H-1, $J_{1,2}=2,0\text{Hz}$; $J_{1,3}=0,9\text{Hz}$), 6,387 (dd, 1H, H-2, $J_{2,3}=3,2\text{Hz}$; $J_{1,2}=2,0\text{Hz}$), 6,220 (d, 1H, H-3, $J_{2,3}=3,2\text{Hz}$), 3,760-3,579 (m, 3H, H-5 e H-6), 2,45-2,38 (m, 2H, H-7), 2,28-2,21 (m, 2H, H-7'), 1,48-1,41 (m, 4H, H-8, H-8') e 1,31-1,23 (m, 2H, H-9 e H-9') (**Figura A.12**); RMN de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) 152,89 (C-4), 141,84 (C-1), 109,96 (C-2), 107,98 (C-3), 64,11 (C-6), 60,23 (C-5), 50,60 (C-7), 25,95 (C-8), 24,27 (C-9) (**Figura A.13**).

3.10 Tentativa de obtenção de (*R*)-2-(2-furânil)-2-(1-piperidinil)-1-[(tosil)oxi]etano **16**

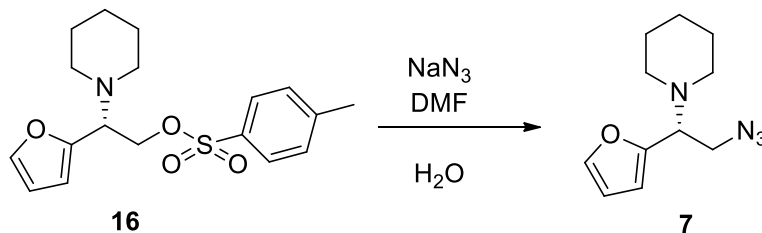
Figura 3.13 Tentativa de obtenção do (*R*)-2-(2-furânil)-2-(1-piperidinil)-1-[(tosil)oxi]etano **16**.



A uma solução de **14** (0,04 g, 0,205 mmol) em clorofórmio (2 mL) foi adicionado cloreto de tosila (0,055 g, 0,287 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação a 0 °C por 6 horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (clorofórmio /metanol 99:1). Após, adicionou-se acetato de etila (18 mL) e a mistura resultante foi lavada com solução de bicarbonato de sódio 10% p/v (10 mL). A fase orgânica foi separada e lavada com H_2O destilada (10 mL), secada com Na_2SO_4 anidro, filtrada e o solvente foi evaporado em evaporador rotatório. O rendimento bruto da reação foi de 69%. O produto apresentou-se como um sólido amarelado que foi utilizado imediatamente na próxima etapa.

3.10.1 Tentativa de obtenção de (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7**

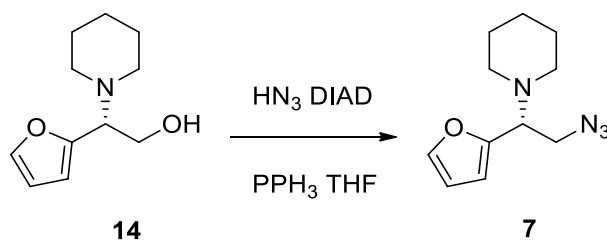
Figura 3.14 Tentativa de obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7**.



A uma solução de **16** (0,0518 g, 0,0142 mmol) em dimetilformamida (1,00 mL) adicionaram-se H₂O destilada (0,02 mL) e azida de sódio (0,028 g, 0,0426 mmol). A mistura foi mantida sob agitação a 80 °C por 12 horas. A evolução da reação foi acompanhada por CCD (hexano/acetato de etila 9:1). À solução resultante, adicionaram-se acetato de etila (40 mL) e H₂O (20 mL). A fase orgânica foi lavada com H₂O (20 mL), secada com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi removido no evaporador rotatório e o rendimento foi de 3 %.

3.10 Obtenção de (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7**

Figura 3.15 Obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7**.



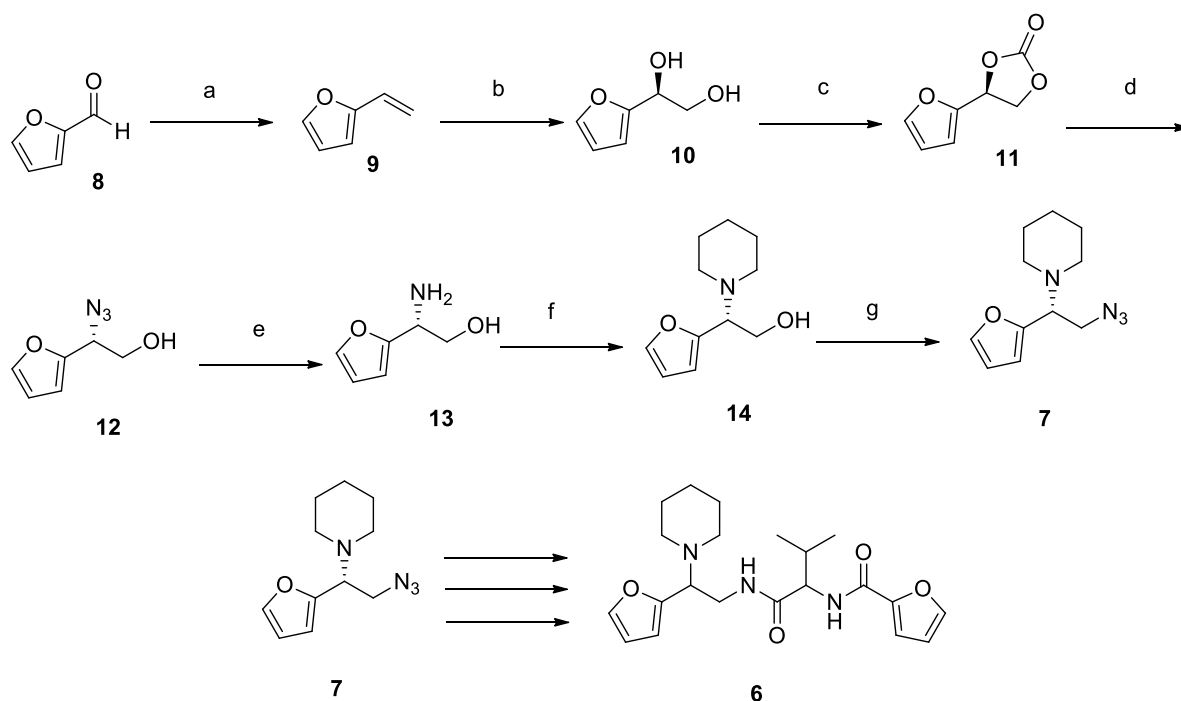
A um balão de fundo cônico foram adicionados H₂O destilada (0,5 mL), azida de sódio (0,5g, 11,63 mmol) e diclorometano (3 mL) a 0 °C. Em seguida, adicionou-se ácido sulfúrico (0,46 mL, 8,63 mmol) lentamente. A mistura foi mantida sob agitação por 10 minutos e a fase orgânica foi transferida com seringa para um balão de fundo redondo contendo sulfato de sódio anidro e, na sequência, para outro balão contendo uma solução de trifetilfosfina (0,163 g, 0,616 mmol), composto **14** (0,1022 g, 0,0513 mmol) e DIAD (0,111 mL, 0,0564 mmol) em tetrahydrofurano anidro (1,1 mL). A mistura foi mantida em refluxo sob agitação a 60 °C por 2,5 horas. A

evolução da reação foi acompanhada por CCD (clorofórmio /metanol 95:5; iodo). À solução resultante, adicionaram-se acetato de etila (20 mL) e HCl 1 M (20 mL). A fase aquosa foi alcalinizada, gota-a-gota, com NaOH 1 M (25 mL) e extraída com acetato de etila (2 X 20 mL). As fases orgânicas reunidas foram secadas com Na₂SO₄ anidro e filtradas. O solvente foi removido no evaporador rotatório. O rendimento da reação foi de 47%. O produto apresentou-se como um óleo castanho escuro.

4. PLANO DE SÍNTESE

A síntese do composto **6** foi planejada a partir do furfural **8**, seguindo-se de oito etapas até a formação do composto final, conforme mostrado na **Figura 4.1**.

Figura 4.1. Plano de síntese original. Reagentes: (a) brometo de metiltrifenilfosfônio, BuLi e THF; (b) $K_3Fe(CN)_6$, K_2CO_3 , $K_2OsO_2(OH)_4$ e $(DHQD)_2$ -PHAL, *tert*-butanol e H_2O ; (c) KOH e dimetilcarbonato; (d) NaN_3 , DMF e H_2O ; (e) H_2 , catalisador de Lindlar e EtOH; (f) 1,5-dibromopentano, K_2CO_3 e EtOH; (g) HN_3 , PPH_3 , DIAD e THF.



Inicialmente, o furfural **8** seria convertido no vinilfurano **9** nas condições da reação de Wittig através do tratamento com brometo de metiltrifenilfosfônio e butillítio ou hidróxido de bário (CLIMENT, 1989). O vinilfurano **9** seria tratado com ferricianeto de potássio ($K_3Fe(CN)_6$), carbonato de potássio (K_2CO_3) e quantidades catalíticas de $(DHQD)_2$ -PHAL e osmato de potássio diidratado ($K_2OsO_2(OH)_4$). O uso de $(DHQD)_2$ -PHAL fornecerá o enantiômero S utilizando o método clássico de dihidroxilação assimétrica de Sharpless (DA) (LIAO, 1999). As hidroxilas do glicol **10** seriam protegidas utilizando carbonato de dimetila na presença de quantidade catalítica de NaOH para fornecer o carbonato **11** (LIAO, 1999). Este composto **11** por reação com azida de sódio forneceria o azido álcool **12** estereoespecificamente com inversão de configuração (LIAO, 1999; PAOLUCCI, 2007). A redução do grupo azido de **12** com hidrogênio na presença do catalisador de Lyndlar forneceria o conhecido amino álcool **13** (PAOLUCCI, 2007). A formação do anel piperidínico da

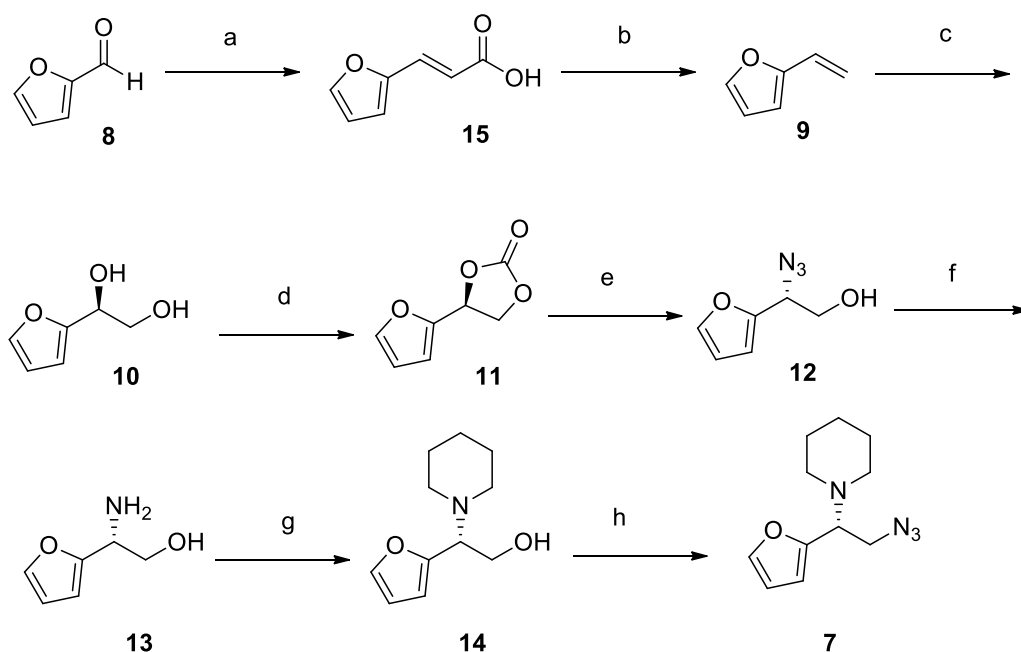
substância inédita **14** seria realizada por tratamento de **13** com 1,5-dibromopentano e trietilamina (JUÁREZ, 1997). Finalmente, a hidroxila de **13** seria convertida em grupo azido nas condições de Mitsunobu (SCHRAKE, 2000).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese do composto **6** foi planejada a partir do furfural **8**, seguindo-se de oito etapas até a formação do composto final, conforme demonstrado anteriormente na Figura 4.1. No entanto, este plano foi modificado durante o processo experimental de síntese resultando na rota ilustrada na **Figura 5.1**.

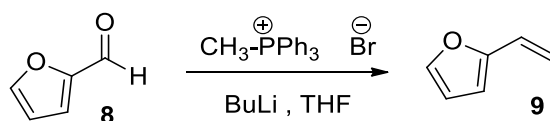
Figura 5.1. Rota sintética experimental. Reagentes: (a) ácido malônico, piridina e morfolina; (b) Cu_2O e quinolina; (c) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, K_2CO_3 , $\text{K}_2\text{OsO}_2(\text{OH})_4$ e $(\text{DHQD})_2\text{-PHAL}$, *tert*-butanol e H_2O ; (d) KOH e dimetilcarbonato; (e) NaN_3 , DMF e H_2O ; (f) H_2 , catalisador de Lindlar e EtOH; (g) 1,5-dibromopentano, K_2CO_3 e EtOH; (h) HN_3 , PPH_3 , DIAD e THF.

Esquema de Síntese



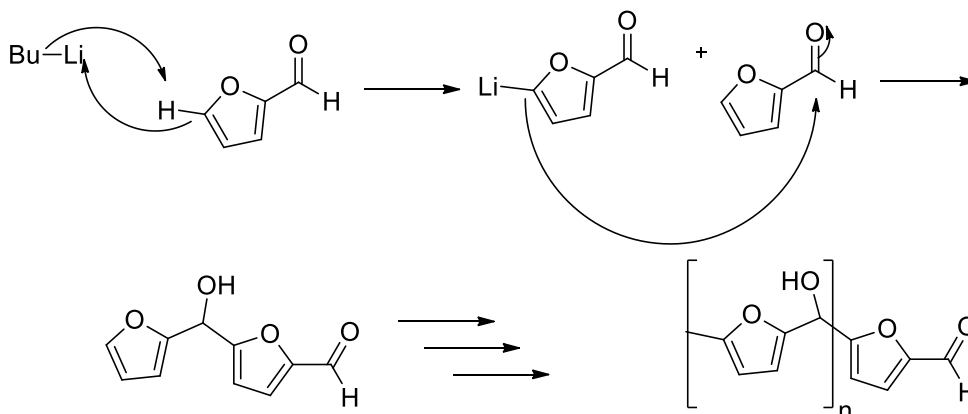
A rota foi modificada, pois não foi possível obter o composto **9** diretamente a partir do furfural, sendo necessária uma reação intermediária resultando no intermediário **15**.

5.1 Tentativa de obtenção de 2-vinilfurano **9 nas condições de Wittig utilizando BuLi como base (CLIMENT, 1989).**

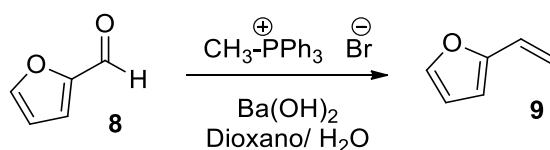


Inicialmente foi feita uma tentativa de obter o composto **9** por reação de Wittig na qual o furfural **8** reagiu com brometo de metiltrifenilfosfônio e butil-lítio em THF (CLIMENT, 1989). A mistura reacional foi concentrada em evaporador rotatório, adquirindo um aspecto de graxa e sendo insolúvel em todos os solventes orgânicos testados, tornando difícil a sua remoção do balão reacional. Suspeita-se que nessa reação ocorreu a orto-litiação, levando a formação de um polímero de furfural ao invés da formação do produto (**Figura 5.2**).

Figura 5.2 Orto-litiação do furfural através da reação com Bu-Li.



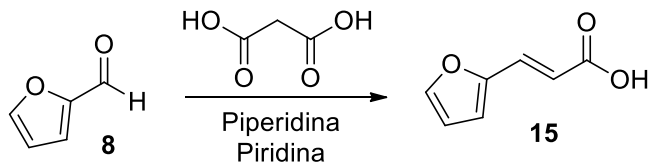
5.2 Tentativa de obtenção de 2-vinilfurano **9 nas condições de Wittig utilizando hidróxido de bário como base (CLIMENT, 1989).**



Nesta tentativa de obter o composto **9** o furfural **1** foi tratado com brometo de metiltrifenilfosfônio e hidróxido de bário em uma mistura de dioxano e H₂O, conforme relatado por CLIMENT e colaboradores. Contudo, não houve formação do produto e

não foi observado consumo do material de partida, logo supomos que o hidróxido de bário foi incapaz de desprotonar o sal de fosfônio e por isso a reação não ocorreu.

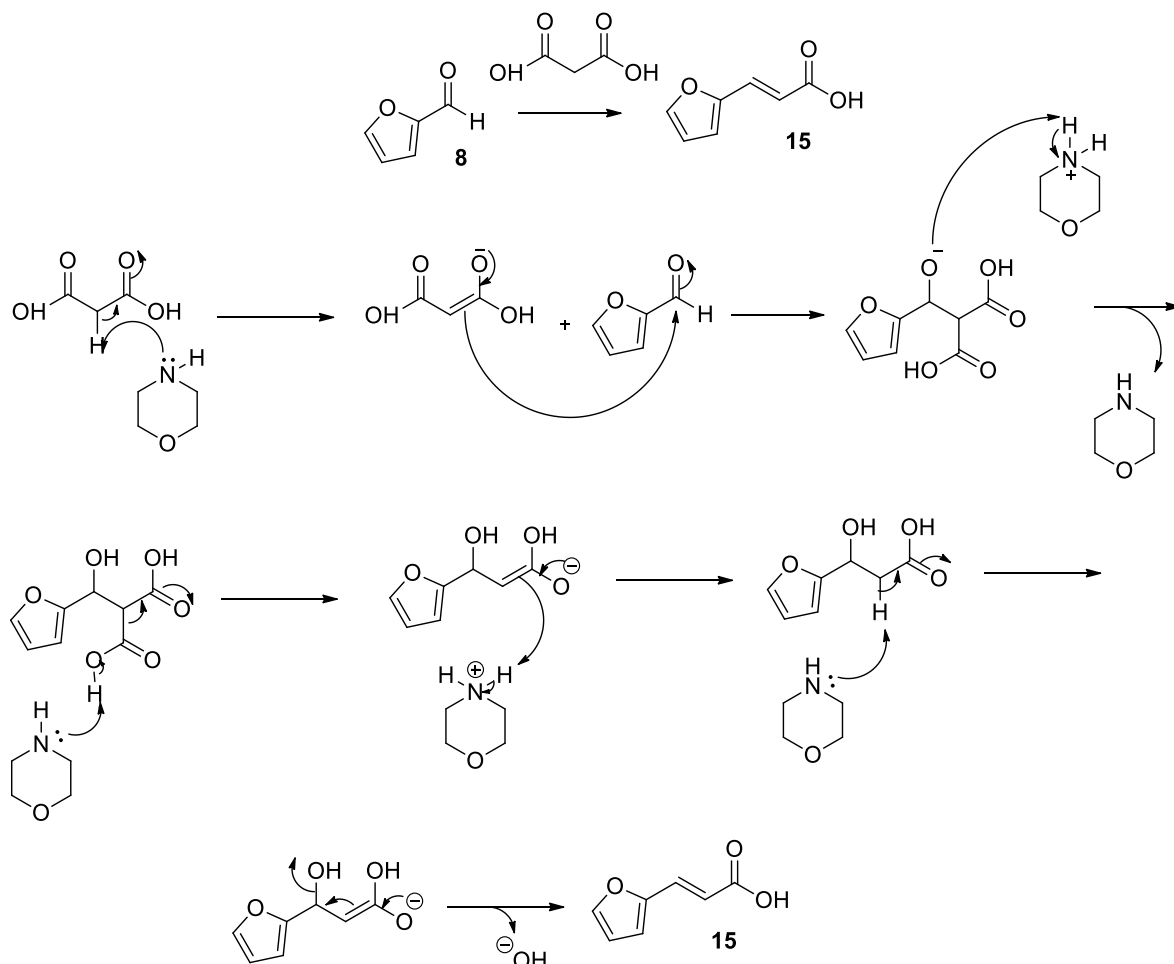
5.3 Obtenção do composto ácido 3-(2-furanil)-2-propenóico **15**



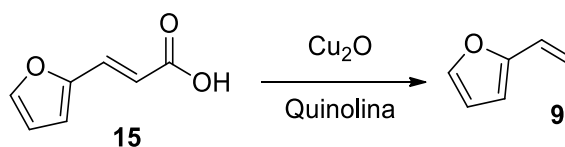
Após duas tentativas falhas de converter o furfural **8** no vinilfurano **9**, modificamos o plano de síntese incluindo uma nova etapa. Nesta nova etapa reagiu-se o furfural **8** com o ácido malônico na presença de piridina e piperidina obtendo-se a substância **15** com 86% de rendimento bruto.

Posteriormente, trocou-se piperidina por morfolina e não foram verificadas modificações significativas. No espectro no IV (**Figura A1**), nota-se uma banda característica de OH de ácido carboxílico em torno de 2922 cm⁻¹; em 1692 cm⁻¹ observa-se uma banda referente a C=O, uma banda em 1620 cm⁻¹ referente a C=C; de alqueno. No espectro de RMN de ¹H, observam-se sinais em 12,41 (COOH), 7,81 (H-1), 7,39 (H-5), 6,91 (H-3), 6,61-6,59 (H-2) e 6,17 (H-6) (**Figura A2**). Uma proposta de mecanismo para esta reação está ilustrada na **Figura 5.3**.

Figura 5.3 – Proposta de mecanismo da reação do furfural **8** com ácido malônico, piridina e morfolina resultando no composto **15**.

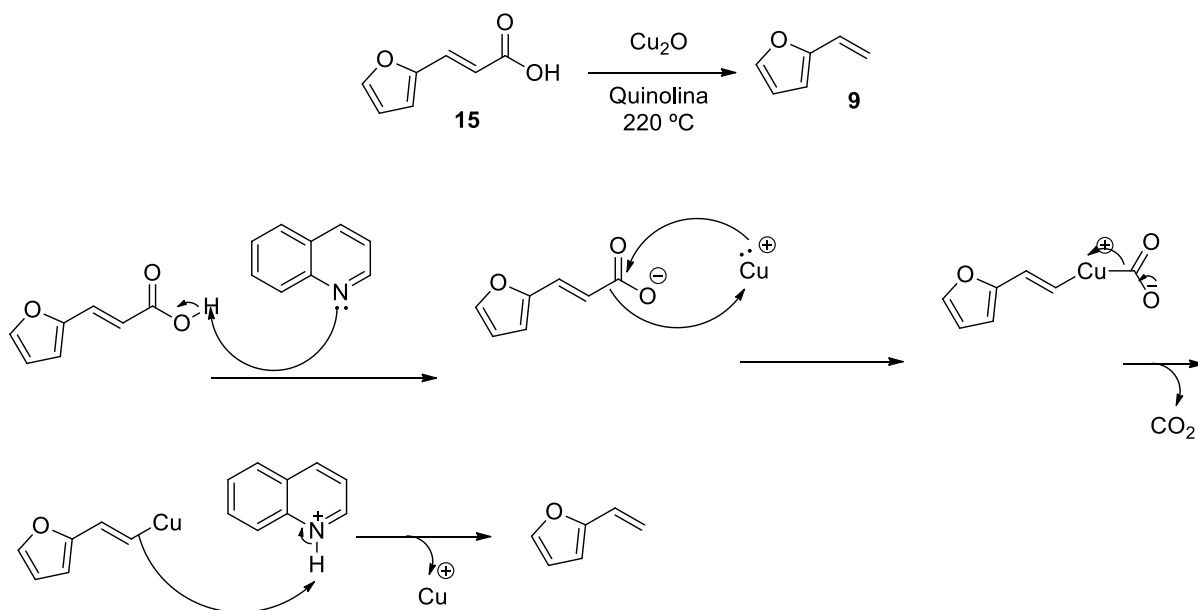


5.4 Obtenção do composto 2-vinilfurano **9**

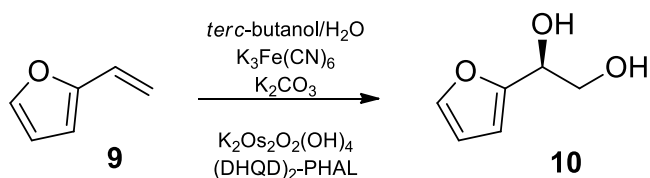


Nesta etapa de descarboxilação, o composto **15** reagiu com óxido de cobre e quinolina a 220 °C resultando no 2-vinilfurano **9**. Esta reação foi acompanhada por CCD, mas como na primeira tentativa de obtenção do produto notou-se que ele apresentava-se muito volátil, foi montado um sistema em que o produto era destilado para um balão tritubulado contendo éter destilado. Como não foi possível fazer o isolamento deste composto, este foi utilizado diretamente na próxima etapa. Uma proposta de mecanismo para esta reação está ilustrada na **Figura 5.4**.

Figura 5.4 – Proposta de mecanismo da reação do composto **15** com quinolina e óxido de cobre resultando no composto **9**.

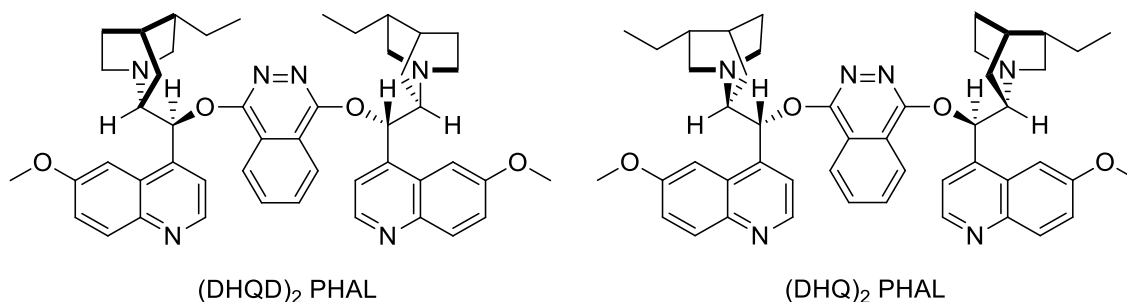


5.5 Obtenção do composto (S)-1-(2-furanil)-1,2-etanodiol **10** (LIAO, 1999)



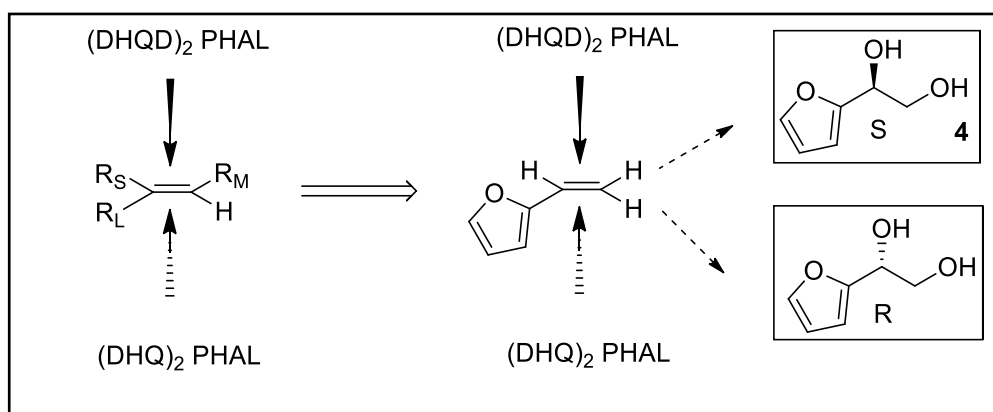
Nesta etapa foi realizada a dihidroxilação de Sharpless, na qual uma solução etérea de 2-vinilfuranol **9** foi tratada com $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, K_2CO_3 , (DHQD)₂-PHAL, $\text{K}_2\text{Os}_2\text{O}_2(\text{OH})_4$ em *tert*-butanol e H_2O destilada. A purificação do produto foi feita por cromatografia em coluna de sílica com rendimento de 66%. Nesta reação foi utilizado o reagente quiral (DHQD)₂ PHAL, que consiste em um derivado de dihidroquinidina, um alcalóide. Este reagente é utilizado para fornecer os compostos quirais, fazendo com que seja possível a síntese assimétrica, pois garante que o oxidante de ósmio seja introduzido sempre pela mesma face da molécula. Neste caso a hidroxila é adicionada por cima do plano, pois utiliza-se o reagente quiral (DHQD)₂ PHAL (**Figura 5.5**).

Figura 5.5. Estrutura dos reagentes quirais $(DHQD)_2$ PHAL e $(DHQ)_2$ PHAL.



A dihidroxilação de Sharpless é uma reação catalítica de alta enantioselectividade. O $(DHQD)_2$ PHAL e $(DHQ)_2$ PHAL não são enantioméricos, mas nesta dihidroxilação agem como se o fossem, como observados na Figura 5.6. O substrato se coloca como demonstrado, com a ligação dupla no centro do plano e o maior ligante (R_L) ficando à esquerda e inferior, o ligante de tamanho intermediário na direita superior da ligação (R_M). O $(DHQD)_2$ PHAL vai direcionar o OsO_4 a adicionar a hidroxila pela face superior do alqueno enquanto ligantes baseados em $(DHQ)_2$ PHAL conduzem a aproximação pela face inferior. No entanto, o mecanismo detalhado da dihidroxilação assimétrica ainda está longe de ser elucidado, o que foi esclarecido é que o ligante forma uma espécie de "bolsão quiral", como um sítio ativo de enzima, com o ósmio posicionado na parte inferior do mesmo. Alquenos só podem aproximar-se do ósmio, se forem corretamente alinhados neste bolsão quiral, e o impedimento estérico força o alinhamento mostrado no esquema abaixo. A analogia com o sítio ativo de uma enzima vai ainda mais longe, uma vez que parece que parte do bolsão é 'atraente' para grupos aromáticos ou fortemente hidrofóbicos. Esta parte parece acomodar R_L , motivo pelo qual a seletividade na dihidroxilação de alquenos é tão alta (CLAYDEN, 2012).

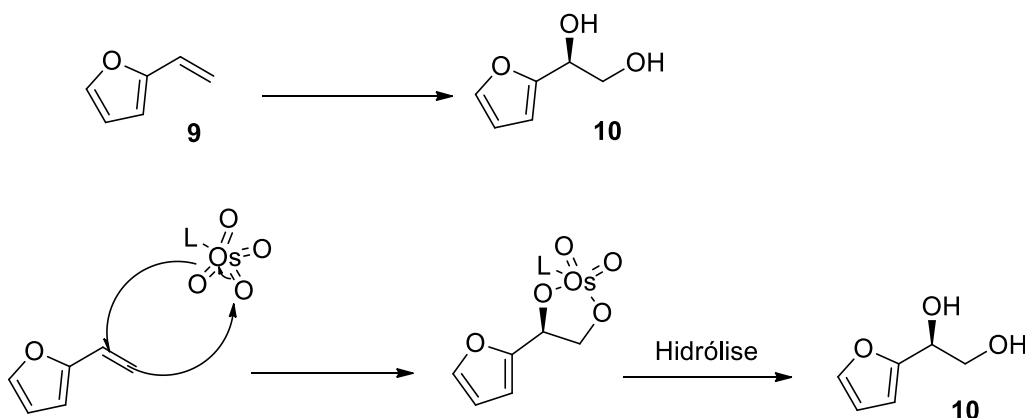
Figura 5.6. Enantioselectividade do reagente quiral $(DHQD)_2$ PHAL e $(DHQ)_2$ PHAL na dihidroxilação assimétrica de Sharpless com o composto **9**, resultando no composto **10**.



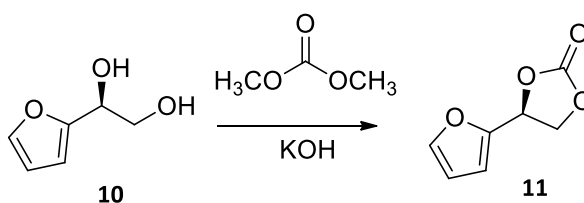
No espectro no IV (**Figura A.4**) nota-se uma banda intensa característica de OH em 3337 cm^{-1} ; de C-OH de álcool primário em 1008 cm^{-1} ; observa-se deformação de C-H do anel furano em 737 cm^{-1} . Não se observam bandas de C=O referentes ao composto **15** ou de vinila, referente ao composto **9**. No espectro de RMN de ^1H , além dos sinais correspondentes aos hidrogênios do anel furânico em 7,55 (H-1), 6,38 (H-2), 6,26-6,25 (H-3), observam-se os sinais em 5,33 (CHOH), 4,78 (CH₂OH), 4,49 (H-5), 3,61-3,51 (H-6 e H-6') comprovando que a diidroxilação ocorreu conforme esperado (**Figura A.5**)

Uma proposta de mecanismo desta reação está ilustrada na **Figura 5.7**.

Figura 5.7 – Proposta de mecanismo da reação assimétrica do composto **9** com $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, K_2CO_3 , $(\text{DHQD})_2\text{-PHAL}$, $\text{K}_2\text{OsO}_2(\text{OH})_4$, em éter, *tert*-butanol e água destilada, resultando no composto **10**.



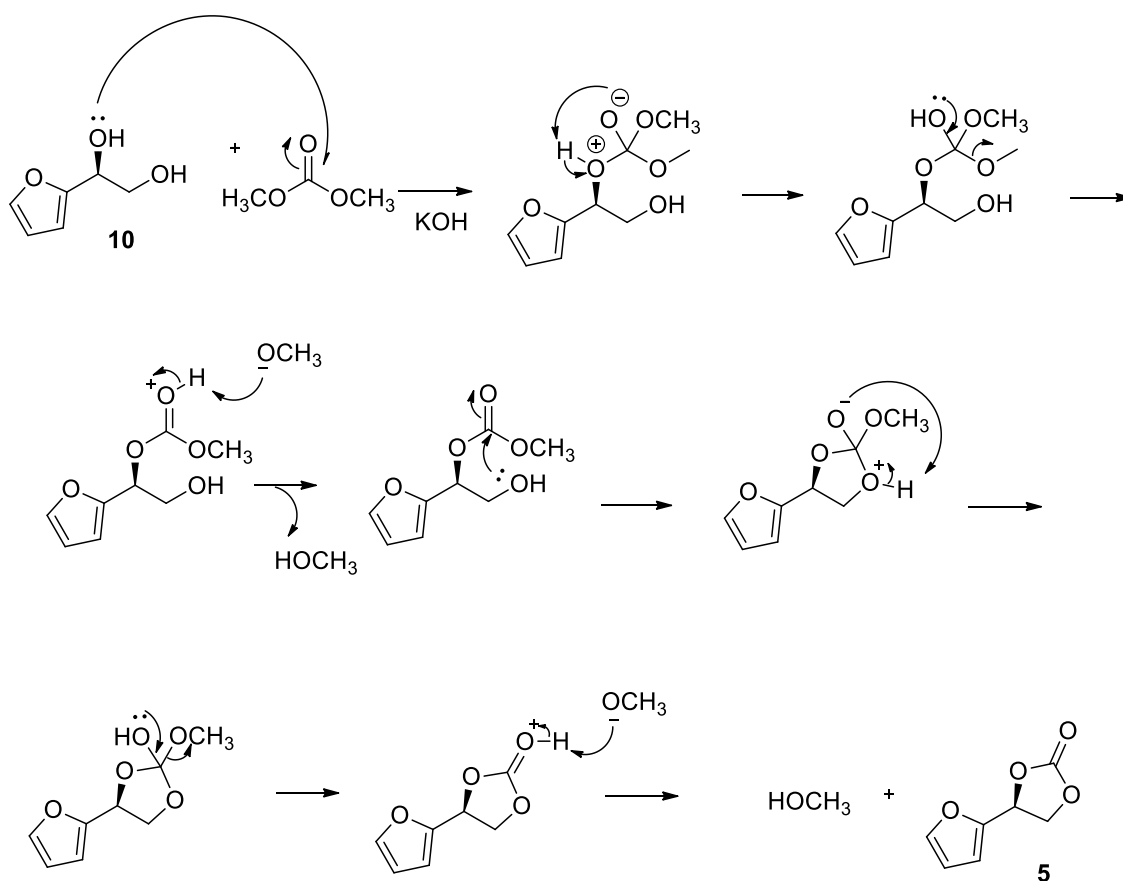
5.6 Obtenção do (S)-4-(2-furanil)-1,3-dioxolan-2-ona **11** (LIAO,1999).



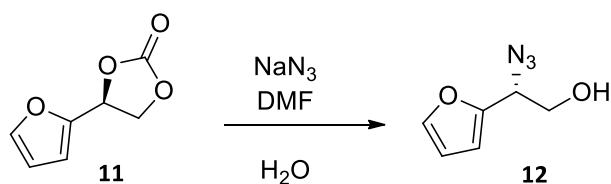
Nesta etapa o composto **10** foi mantido em solução com carbonato de dimetila e KOH sob agitação a $60\text{ }^\circ\text{C}$. O metanol e o carbonato de dimetila que não reagiram foram destilados a $95\text{-}110^\circ\text{C}$. O produto resultante apresentou-se como um óleo de coloração castanha intensa e após ser purificado em coluna de sílica apresentou coloração amarelada com 63% de rendimento. No espectro IV do composto **11** (**Figura A.7**) pode-se observar uma banda em 1789 cm^{-1} referente a C=O e uma banda em 1163 cm^{-1} referente a C-O, 1050 cm^{-1} observa-se banda em 748 referente

ao anel furano. No espectro de RMN de ^1H não se observam sinais correspondentes aos hidrogênios das hidroxilas do glicol comprovando que a proteção das hidroxilas ocorreu conforme o esperado (**Figura A.8**). (**Figura A.9**). Na figura 5.8 abaixo há uma proposta de mecanismo para esta reação.

Figura 5.8 – Proposta de mecanismo de reação do composto **4** com carbonato de dimetila e KOH resultando no composto **5**.



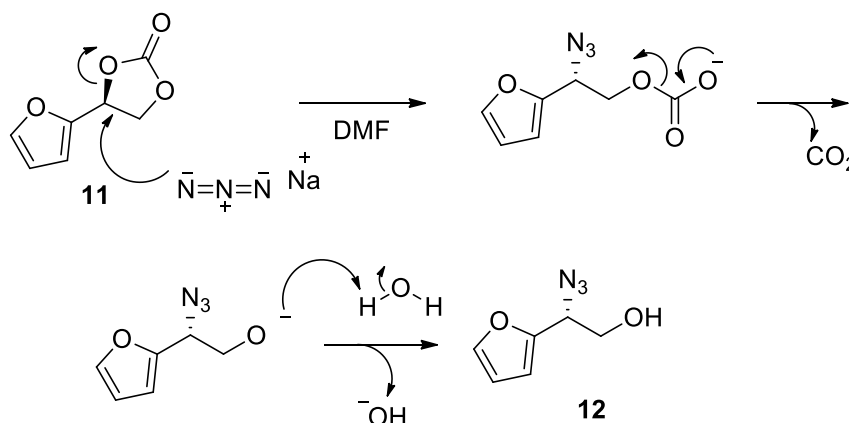
5.7 Obtenção do (*R*)-2-(2-furanil)-2-azido-1-etanol **12** (LIAO,1999).



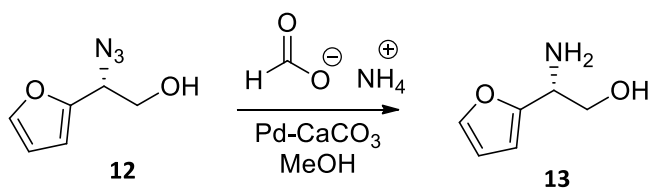
O composto **11** foi tratado com azida de sódio em solução de dimetilformamida e água destilada resultando no composto **12**. O rendimento da

reação foi de 74 %, após a cromatografia em coluna de sílica. No espectro IV do composto **12** (**Figura A.10**) pode-se observar uma banda em 3370 cm^{-1} referente a O-H alcoólica, uma banda em 2100 cm^{-1} referente ao grupamento azida, em 1011 cm^{-1} referente a C-O e em 748 cm^{-1} referente as deformações angulares de C-H do anel furano. Também pode-se observar que não há nenhuma banda referente a C=O, indicando que o material de partida foi totalmente consumido na reação. Uma proposta do mecanismo desta reação está ilustrada na **Figura 5.9**.

Figura 5.9 – Proposta de mecanismo da reação do composto **11** com azida de sódio resultando no composto **12**.

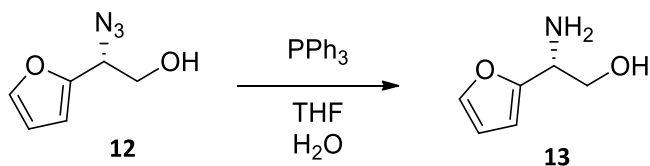


5.8 Tentativa de obtenção do composto (*R*)-2-(2-furânil)-2-amino-1-etanol **13**



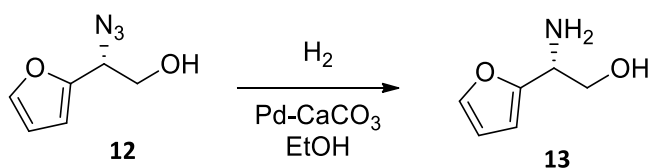
Inicialmente o composto **12** foi tratado com formato de amônio e quantidades catalíticas de Pd/CaCO_3 em metanol. A reação foi acompanhada por CCD e não houve formação do produto.

Tentativa de obtenção do composto (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13 (WALLACE, 2005).**



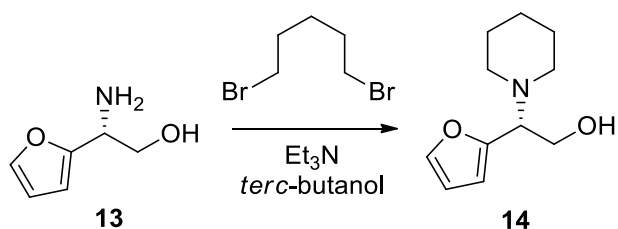
Em uma segunda tentativa, o composto **12** foi tratado com trifetilfosfina em tetrahidrofurano e água destilada. A catalíticas de Pd/CaCO₃ em metanol. A reação foi acompanhada por CCD e não houve formação do produto.

Obtenção do composto (*R*)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13 (PAOLUCCI, 2007)**



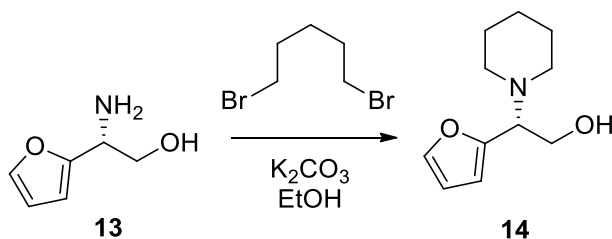
O composto **12** foi submetido à hidrogenação catalítica na presença de Pd-CaCO₃ a temperatura ambiente, a 4 atm, em etanol resultando no composto **13**. Devido a instabilidade intrínseca de aminas, a mistura foi filtrada, e utilizado, diretamente na próxima etapa desta rota.

5.9 Tentativa de obtenção do composto (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol **14 (JUARÉZ, 1997).**



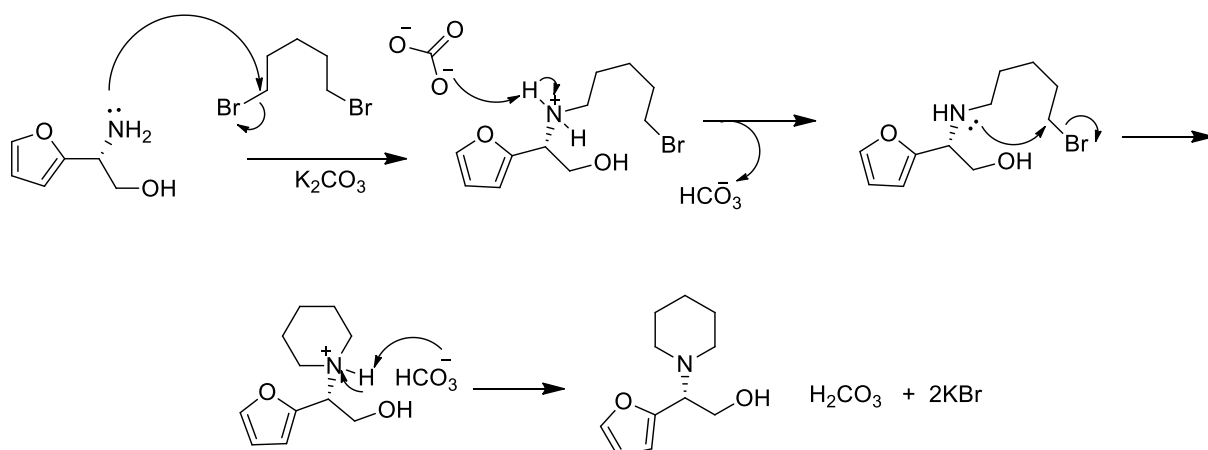
Inicialmente, o composto **13** foi mantido em solução com 1,5-dibromopentano, trietilamina e *tert*-butanol. A reação foi acompanhada por CCD. O produto resultante apresentou-se como um óleo de coloração castanha e apresentou alto nível de impurezas, havendo pouca formação de produto e de difícil separação do 1,5-dibromopentano, visto que o produto e este reagente apresentam R_f muito semelhantes. Foi realizada nova tentativa substituindo essa base.

Obtenção do composto (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol 14 (BEAUFORT-DROAL, 2006).

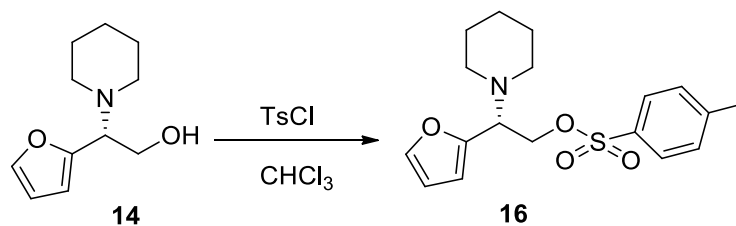


O composto **13** foi mantido em solução com 1,5–dibromopentano, carbonato de potássio e etanol. A reação foi acompanhada por CCD. O produto resultante apresentou-se como um óleo de coloração castanha e foi purificado em coluna de sílica, apresentando 55 % de rendimento. No espectro IV do composto **14** (**Figura A.11**) pode-se observar uma banda em 3391 cm^{-1} referente a O-H alcoólica; uma banda em 2932 cm^{-1} referente a C-H de alifático; uma banda em 737 cm^{-1} referente as deformações angulares do anel furano e também pode-se observar que não há nenhuma banda referente a amina primária, indicando que o material de partida foi totalmente consumido na reação. No espectro RMN de ^1H , observam-se sinais entre 2,45-1,23 referentes aos hidrogênios do anel piperidínico comprovando a formação deste anel (**Figura A.12**). Uma proposta do mecanismo desta reação está ilustrada na **Figura 5.10**.

Figura 5.10 – Proposta de mecanismo da reação do composto **13** com 1,5-dibromopentano, carbonato de potássio e etanol resultando no composto **14**.

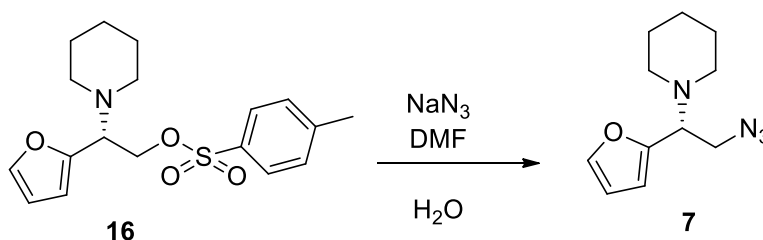


5.10 Obtenção do composto (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-[(tosil)oxi]etano **16** (SALUZZO, 2002).



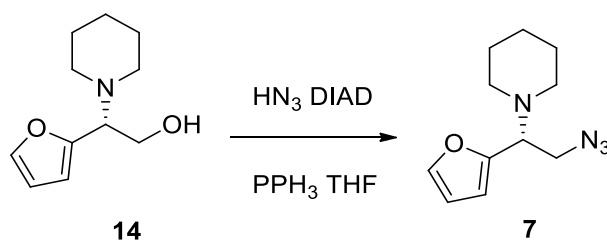
O composto **14** foi mantido em solução com cloreto de tosila e clorofórmio. A reação foi acompanhada por CCD. O produto resultante apresentou-se como um sólido amarelado com 69 % de rendimento e foi utilizado diretamente na próxima etapa sem purificação.

5.11 Tentativa de obtenção do composto (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7** (LIAO, 1999)



O composto **16** foi tratado com azida de sódio em dimetilformamida e água destilada. O produto resultante apresentou-se como um óleo e através do espectro IV observamos que houve hidrólise do tosilato, não fornecendo o derivado azido esperado.

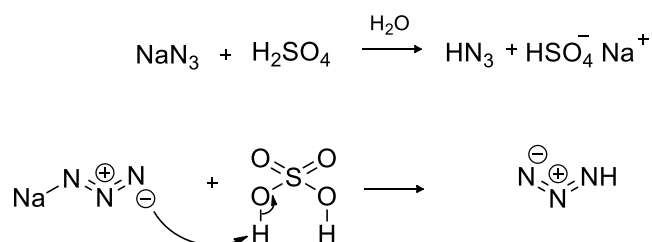
Obtenção do composto (*R*)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7** (SCHRAKE, 2000).



Diante do insucesso, uma nova alternativa foi avaliada. O composto **14** foi tratado com ácido azídico, DIAD e trifetilfosfina em tetrahidrofurano nas condições de Mitsunobu resultando no composto **7**. A purificação inicial foi feita por marcha química, devido a presença de óxido de trifetilfosfina no produto. Após mais essa etapa o produto foi purificado em coluna cromatográfica de sílica. No espectro IV do

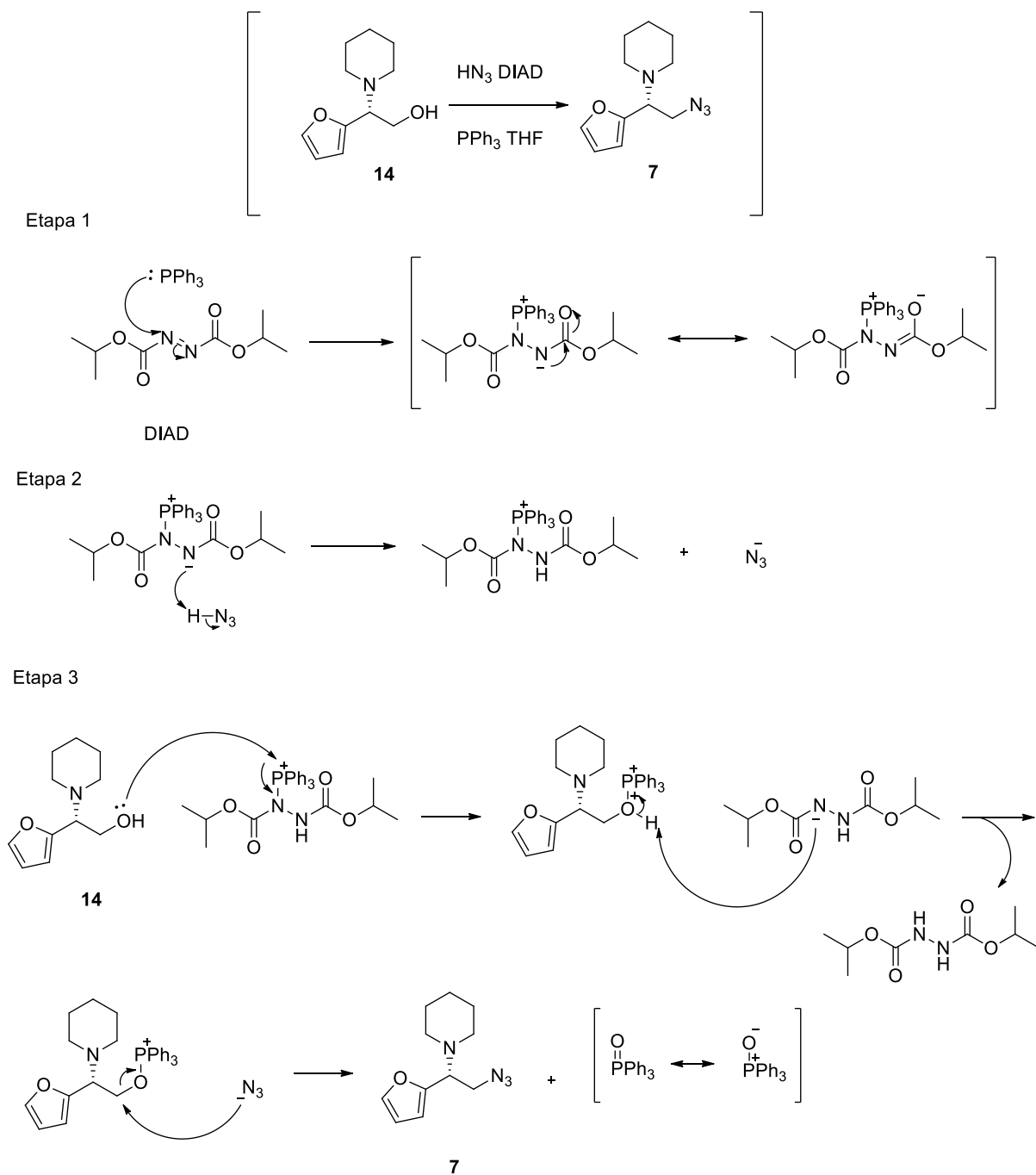
composto **7 (Figura A.14)** pode-se observar a ausência de uma banda referente a O-H alcoólica, indicando a substituição do O-H por grupamento azido. Contudo, observa-se uma banda em 1722 cm⁻¹ que indica a hidrólise parcial do anel furânico; ainda que a banda em 747 cm⁻¹ indique também a presença deste anel. Logo, as condições da reação e da elaboração deverão ser otimizadas para obter somente o produto desejado. Foi feita uma preparação inicial de ácido azídico através de uma reação de azida de sódio e ácido sulfúrico em água, obtendo-se o ácido azídico e o ácido sulfúrico na sua forma desprotonada (**Figura 5.11**).

Figura 5.11. Preparação do ácido azídico utilizando azida de sódio, ácido sulfúrico e água.



A reação de Mitsunobu foi realizada com o ácido azídico resultante desta primeira etapa e uma proposta de mecanismo está ilustrada na **Figura 5.12**.

Figura 5.12 – Proposta de mecanismo da reação de Mitsunobu.



6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

No presente trabalho foi realizada a síntese dos compostos ácido 3-(2-furanil)-2-propenóico **15**, 2-vinilfurano **9**, (S)-1-(2-furanil)-1,2-etanodiol **10**, (S)-4-(2-furanil)-1,3-dioxolan-2-ona **11**, (R)-2-(2-furanil)-2-azido-1-etanol **12**, (R)-2-(2-furanil)-2-amino-1-etanol **13**, (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-etanol **14** e (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7**. Os compostos foram obtidos com alto grau de pureza e com rendimentos de moderados a bons. O (R)-2-(2-furanil)-2-(1-piperidinil)-1-azidoetano **7** é o intermediário-chave na síntese do inibidor quiral difurânico de cruzaina e sua síntese é a etapa limitante no processo sintético deste inibidor. Logo, este trabalho foi de grande importância na busca por novos candidatos à fármacos tripanocida. Como perspectivas, espera-se a otimização da etapa de Mitsunobu, a fim de evitar a hidrólise parcial do anel furano e a conclusão da síntese total do inibidor quiral de cruzaina.

7. REFERÊNCIAS

Bachovchin D. A.; Cravatt B. F. The pharmacological landscape and therapeutic potential of serine hydrolases. **Nat. Rev. Drug. Discov.** 11, 52-68, 2012.

Barr, S. C.; Warner, K. L.; Kornreic, B. G.; Piscitelli, J.; Wolfe, A.; Benet, L.; McKerrow, J. H. A cysteine protease inhibitor protects dogs from cardiac damage during infection by *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrob. Agents Chemother.** 49, 5160-1, 2005.

Beaufort-Droal, V. Pereira, E. Théry, V. Aitken, J. D. Preparation of non-racemic single-stereocentre α -aminonitriles and a study of their fate in Bruylants reactions. **Tetrahedron.** 62, 11948-11954, 2006.

Bernardes, L. S. C.; Kato, M. J.; Albuquerque S.; Carvalho, I. Synthesis and trypanocidal activity of 1,4- bis(3,4,5-trimethoxy-phenyl)-1,4-butanediol and 1,4-bis-(3,4- dimethoxyphenyl)-1,4-butanediol. **Bioorg Med Chem.** 14, 7075-7082, 2006.

Clayden, J. P.; Greeves, N.; Warren, S. G.; Organic Chemistry (2^a ed.). Oxford. Oxford University Press, 2012.

Clayton, J. Chagas disease: pushing through the pipeline. **Nature** 465, S12-S15, 2010.

Climent, M. S.; Marinas, J. M.; Mouloungui, Z.; Bigot, Y. Le; Delmas, M.; Gaset, A.; Sinisterra, J. V. Ba(OH)₂ as catalyst in organic reactions. 20. Structure-catalytic activity relationship in the Wittig reaction. **J. Org. Chem.** 54, 3695-3701, 1989.

Dias, L. C.; Desso, M. A.; Silva, J. J. N.; Thiemann, O. H.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. Chemotherapy of Chagas disease: State of the art and perspectives for the development of new drugs. **Quim. Nova** 32, 2444-2457, 2009.

Engel, J. C.; Doyle, P. S.; Hsieh, I.; McKerrow, J. H. Cysteine protease inhibitors cure an experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **J. Exp. Med.** 188, 725-734, 1998.

Ferreira, R. S.; Simeonov, A.; Jadhav, A.; Eidam, O.; Mott, B. T.; Keiser, M. J.; McKerrow, J. H.; Maloney, D. J.; Irwin, J. J.; Shoichet, B. K. Complementarity between a docking and a high-throughput screen in discovering new cruzain inhibitors. **J. Med. Chem.** 53, 4891-4905, 2010.

Juárez, J.; Gnecco, D.; Galindo, A.; Enríquez, R. G.; Marazano, C.; Reynolds, W. F. Synthesis of α -phenyl-1-(R)-(-)-piperidineacetic esters. **Tetrahedron Asymm.** 8, 203-206, 1997.

Keseru, G. M.; Makara, G. M. Hit discovery and hit-to-lead approaches. **Drug Discov. Today.** 11, 741-748, 2006.

Liao, L.-X.; Wang, Z.-M.; Zhang, H.-X.; Zhou, W.-S. A new concise stereoselective method for the preparation of a β -hydroxyfurfurylamine derivative and synthesis of 1-deoxyazasugar isomers. **Tetrahedron: Asymmetry.** 10, 3649–3657, 1999.

Lipinski, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discov. Today Technol.** 1, 337-341, 2004.

McGrath, M. E.; Eakin, A. E.; Engel, J. C.; McKerrow, J. H.; Craik, C. S.; Fletterick, R. J. The crystal structure of cruzain: a therapeutic target for Chagas' disease. **J. Mol. Biol.** 247, 251-259, 1995.

Mott, B. T.; Ferreira, R. S.; Simeonov, A.; Jadhav, A.; Ang, K. K. H.; Leister, W.; Shen, M.; Silveira, J. T.; Doyle, P. S.; Arkin, M. R.; McKerrow, J. H.; Inglesse, J.; Austin, C. P.; Thomas, C. J.; Shoichet, B. K.; Maloney, D. J. Identification and optimization of inhibitors of trypanosomal cysteine proteases: cruzain, rhodesain and TbCatB. **J. Med. Chem.** 53, 52-60, 2010.

Paolucci, C.; Rosini, G. Approach to a better understanding and modeling of (S)-dihydrofuran-2-yl, (S)-tetrahydrofuran-2-yl-, and furan-2-yl- β -dialkylaminoethanol ligands for enantioselective alkylation. **Tetrahedron Asymm.** 18, 2923-2946, 2007.

Sajid, M.; Robertson, S. A.; Brinen, L. S.; McKerrow, J. H. Cruzain: the path from target validation to the clinic. **Adv Exp Med Biol.** 2011;712:100-15.

Saluzzo, C.; Breuzard, J.; Pellet-Rostaing, S.; Vallet, M.; Le Guyader, F.; Lemaire, M. New P,N ligands with chiral nitrogen center: applications in homogeneous catalysis. **Journal of Organometallic Chemistry.** 643–644, 98–104, 2002.

Schrake, O.; Franz, M. H.; Wartchow, R.; Hoffmann, H. M. R. Recalcitrant SN2 Displacements at Carbon C9 of Quinoline and Quinoline: 1,2-Amino Halides and Mesylates with Configurationally Rigid Nitrogen. **Tetrahedron.** 56, 4453-4465, 2000.

Sharpless, K. B.; Amberg, W.; Bennani, Y. L.; Crispino, G. A.; Hartung, J.; Jeong, K. S.; Kwong, H. L.; Morikawa, K.; Wang, Z. M. The osmium-catalyzed asymmetric dihydroxylation: A new ligand class and a process improvement. **J. Org. Chem.** 57 (10), 2768–2771, 1992.

Urbina, J.A. Chemotherapy of Chagas disease. **Curr Pharm Dis** 9, 287- 295, 2002.

Wallace, K. J.; Hanes, R.; Anslyn, E.; Morey, J.; Kilway, K. V.; Siegel, J. Preparation of 1,3,5-Tris(aminomethyl)-2,4,6-triethylbenzene from Two Versatile 1,3,5-Tri(halosubstituted) 2,4,6-Triethylbenzene Derivatives. **Synthesis.** 12, 2080-2083, 2005.

APÊNDICE A

Figura A1: Espectro no infravermelho do composto 15.

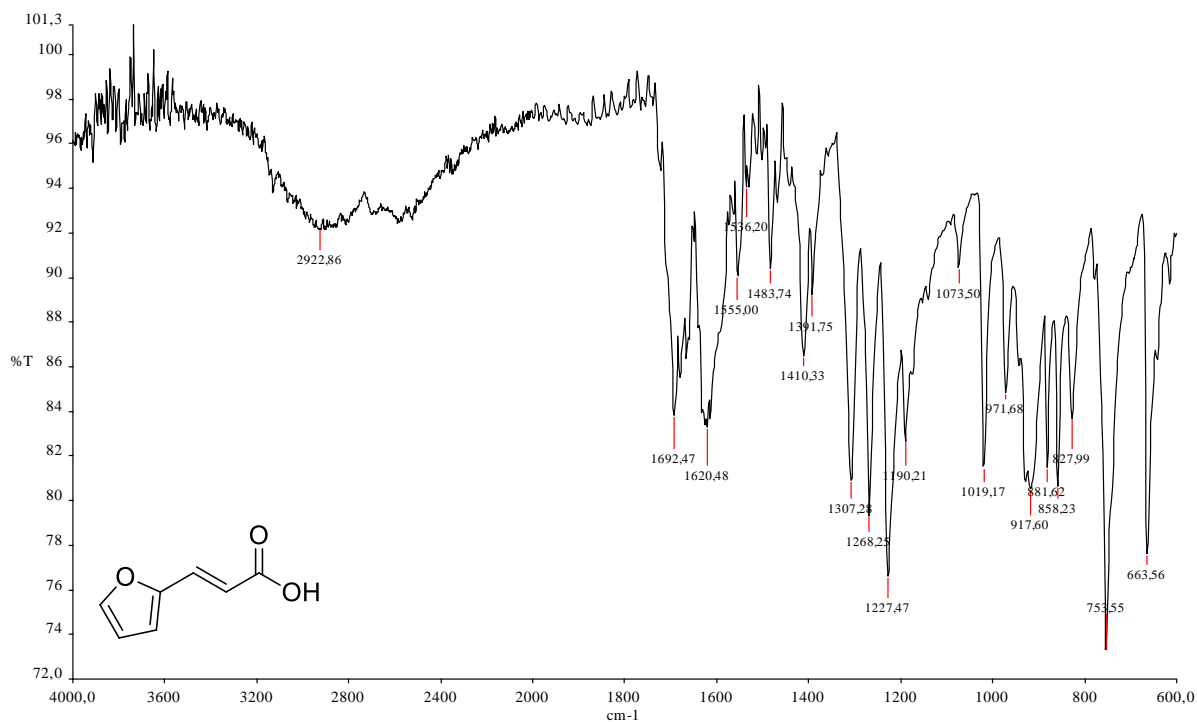
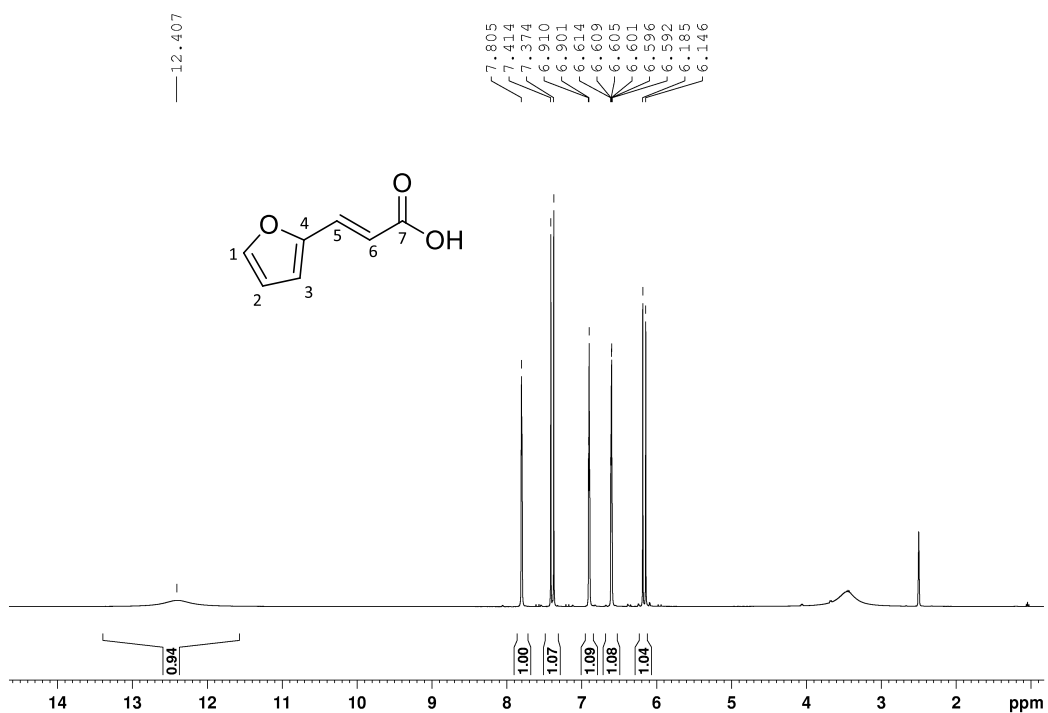
Figura A2: Espectro no RMN de ¹H do composto 15.

Figura A3: Espectro no RMN de ^{13}C do composto 15.

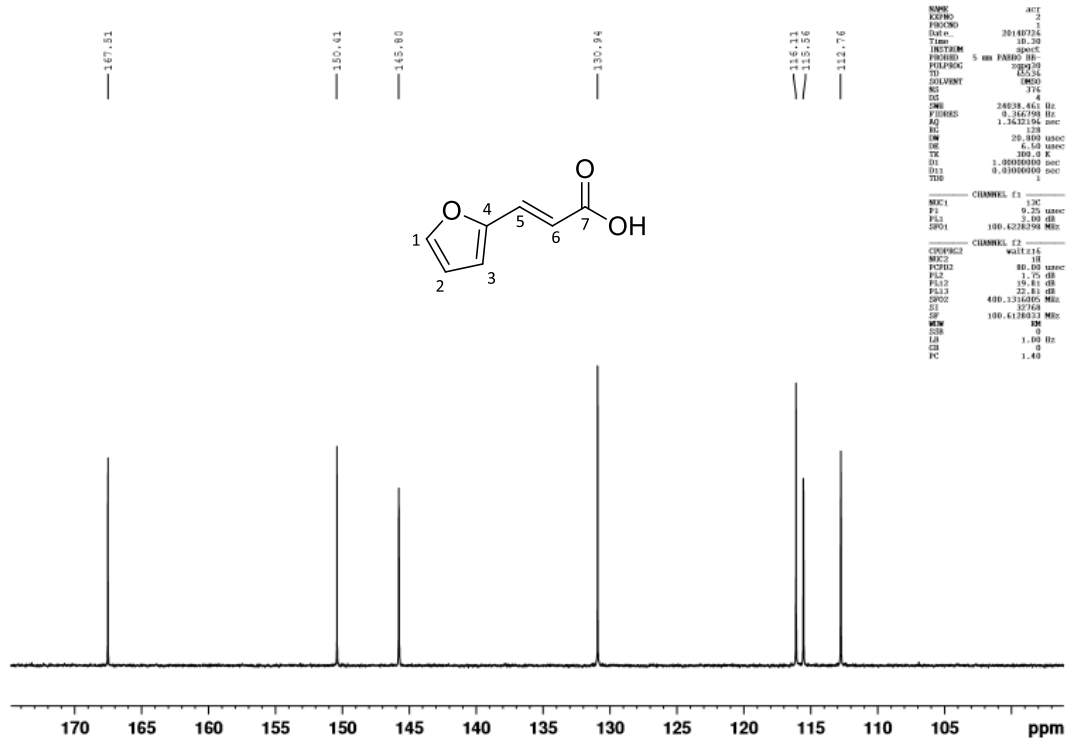


Figura A4: Espectro no infravermelho do composto 10.

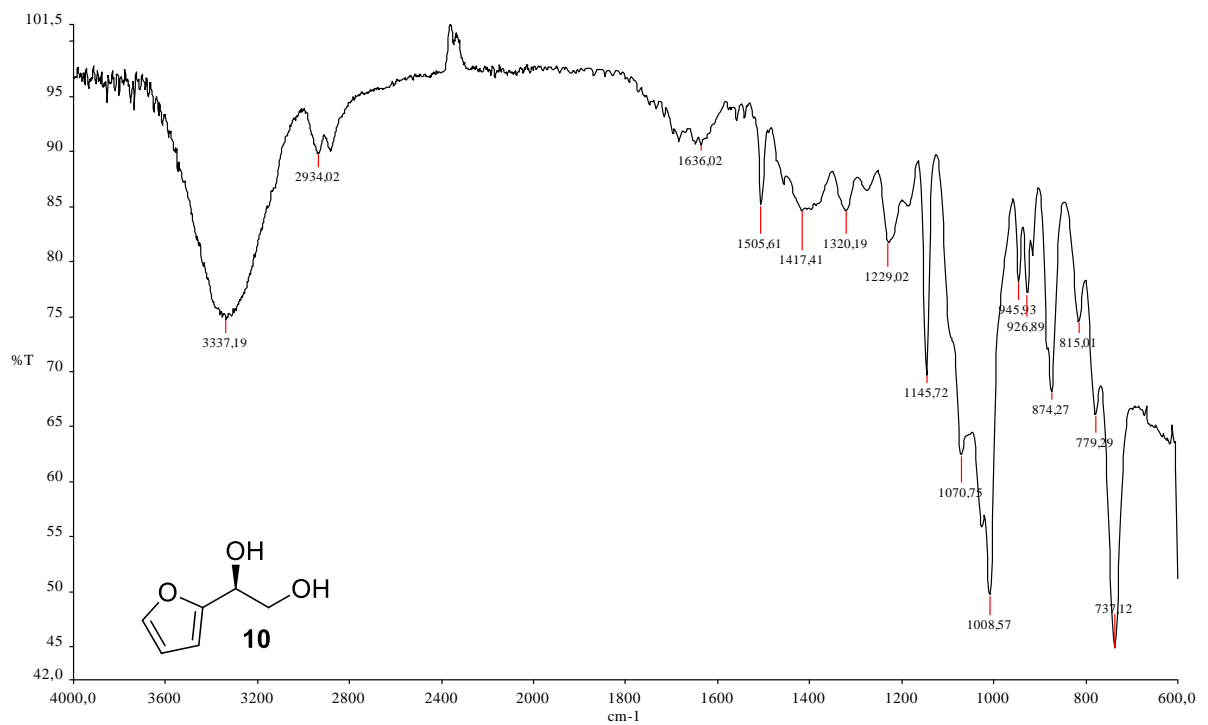


Figura A5: Espectro no RMN de ^1H do composto 10.

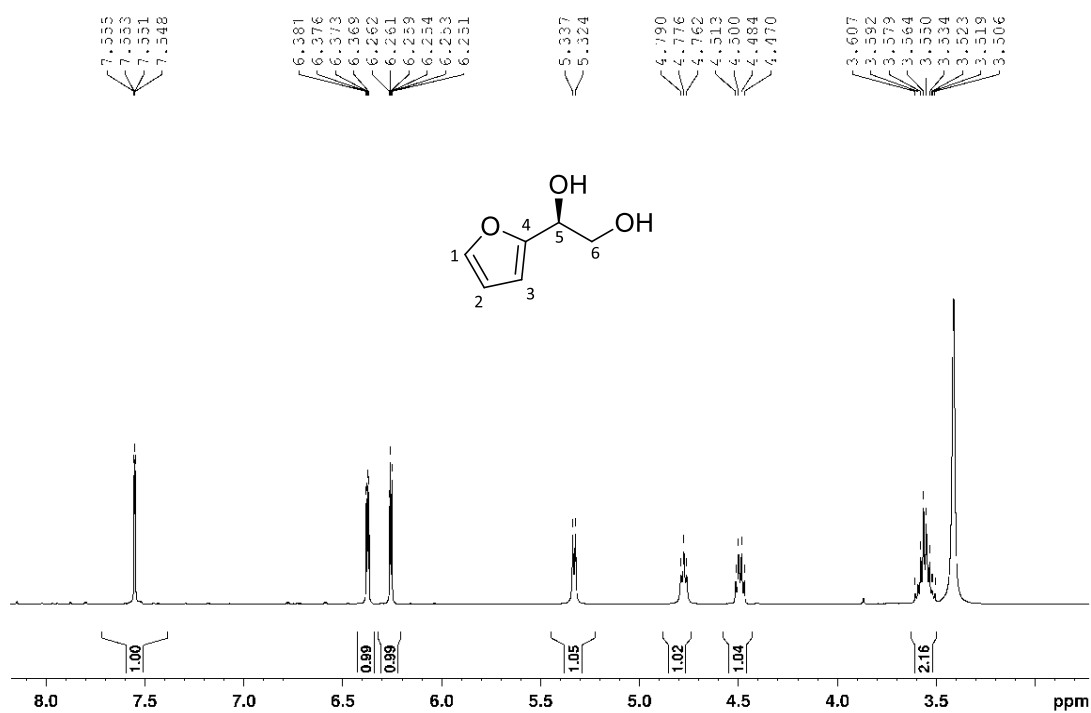


Figura A6: Espectro no RMN de ^{13}C do composto 10.

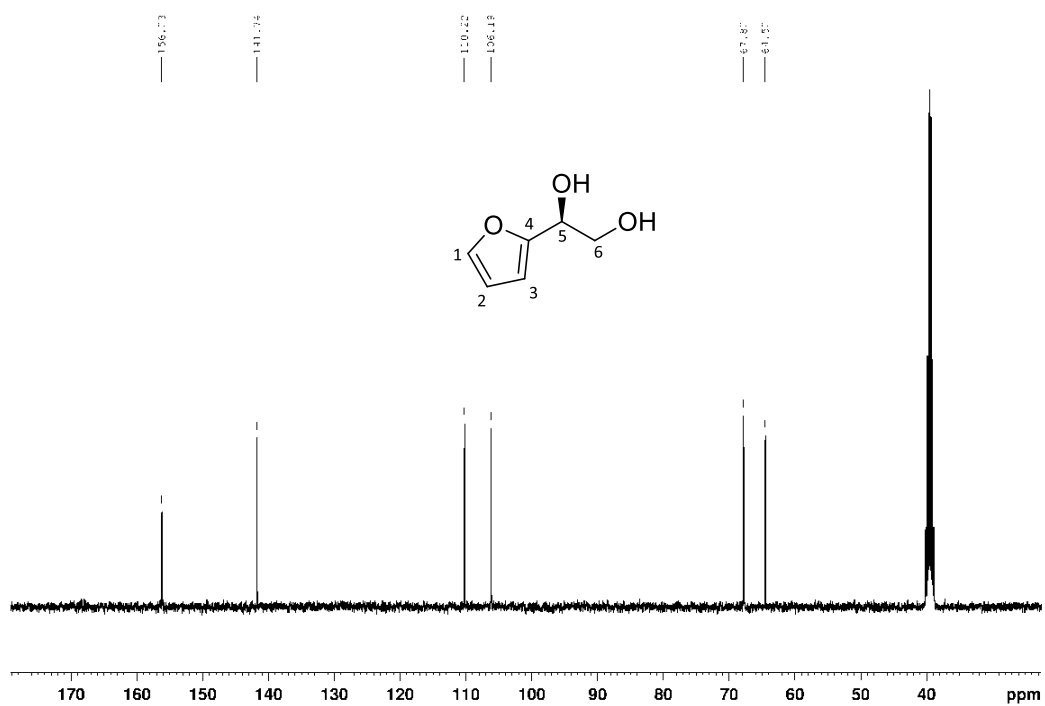


Figura A7: Espectro no infravermelho do composto 11.

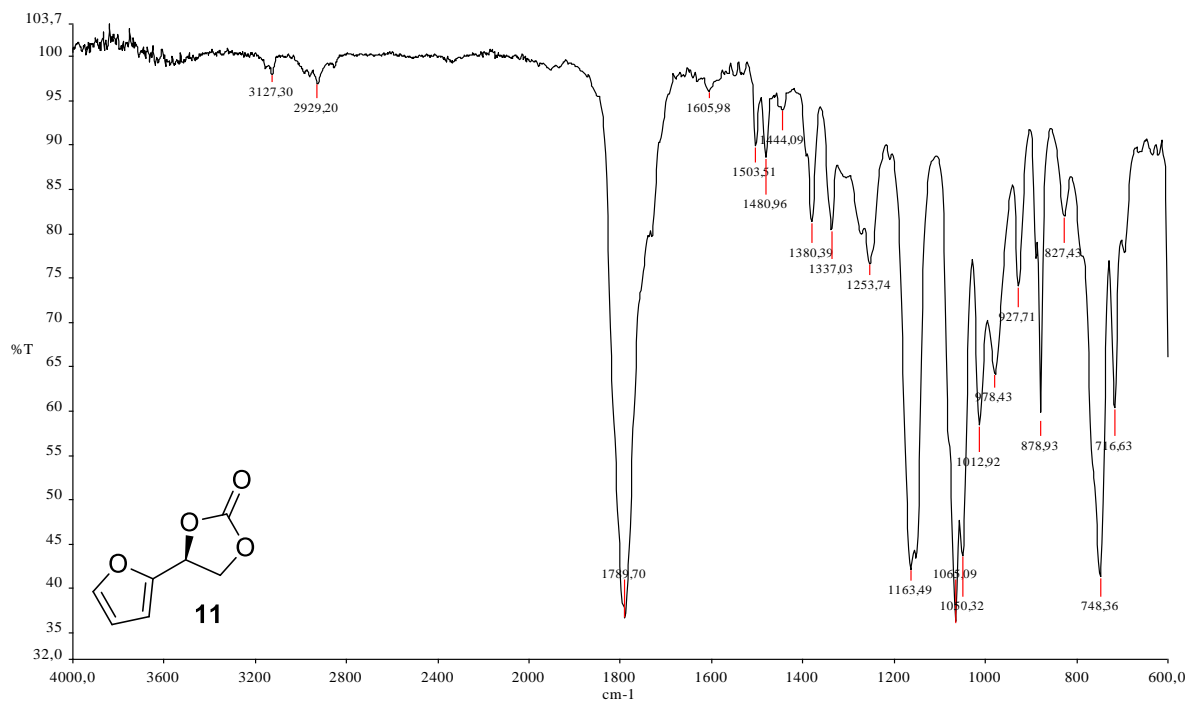
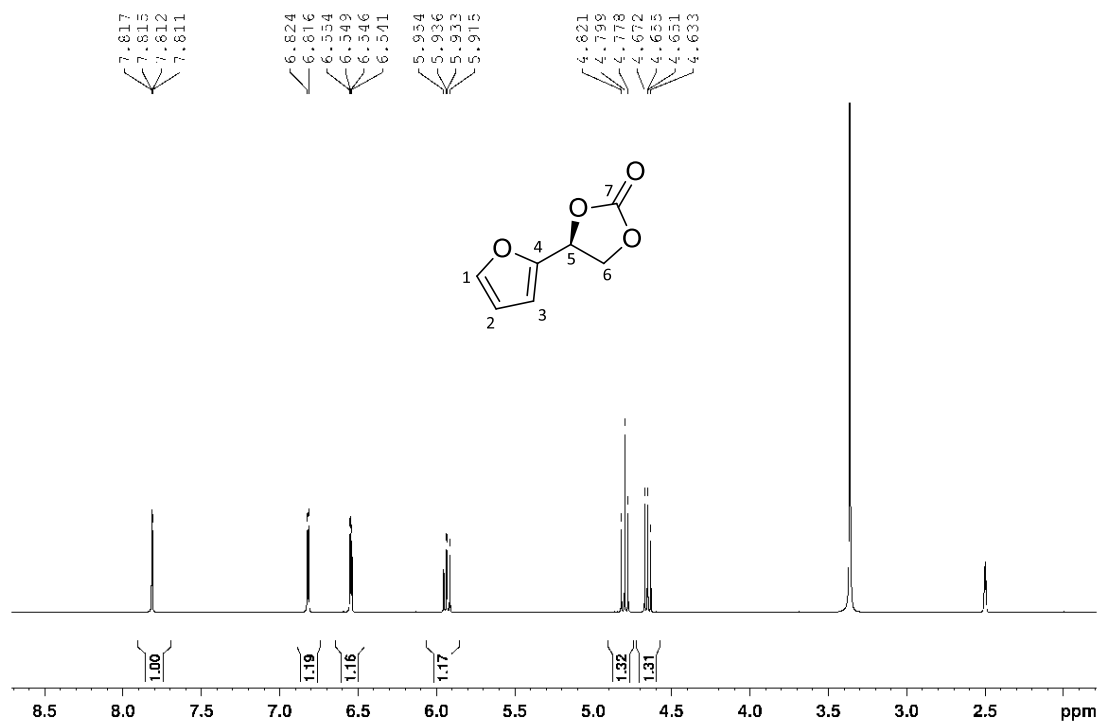
Figura A8: Espectro no RMN de ¹H do composto 11.

Figura A9: Espectro no RMN de ^{13}C do composto 11.

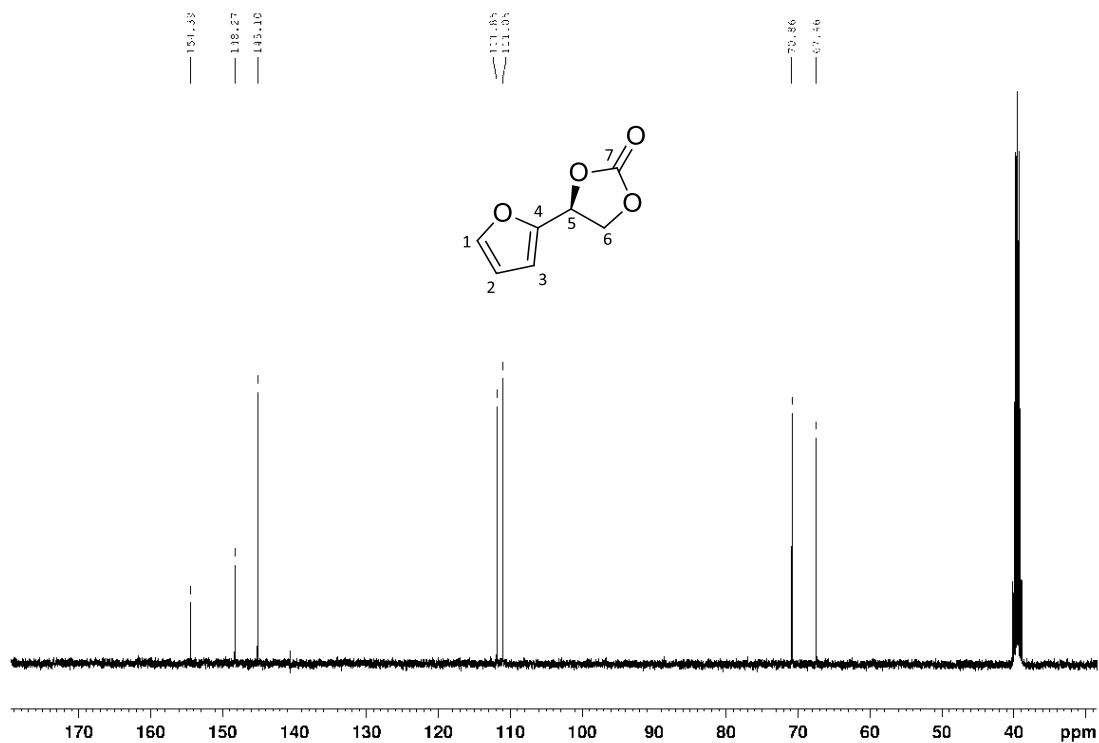


Figura A10: Espectro no infravermelho do composto 12.

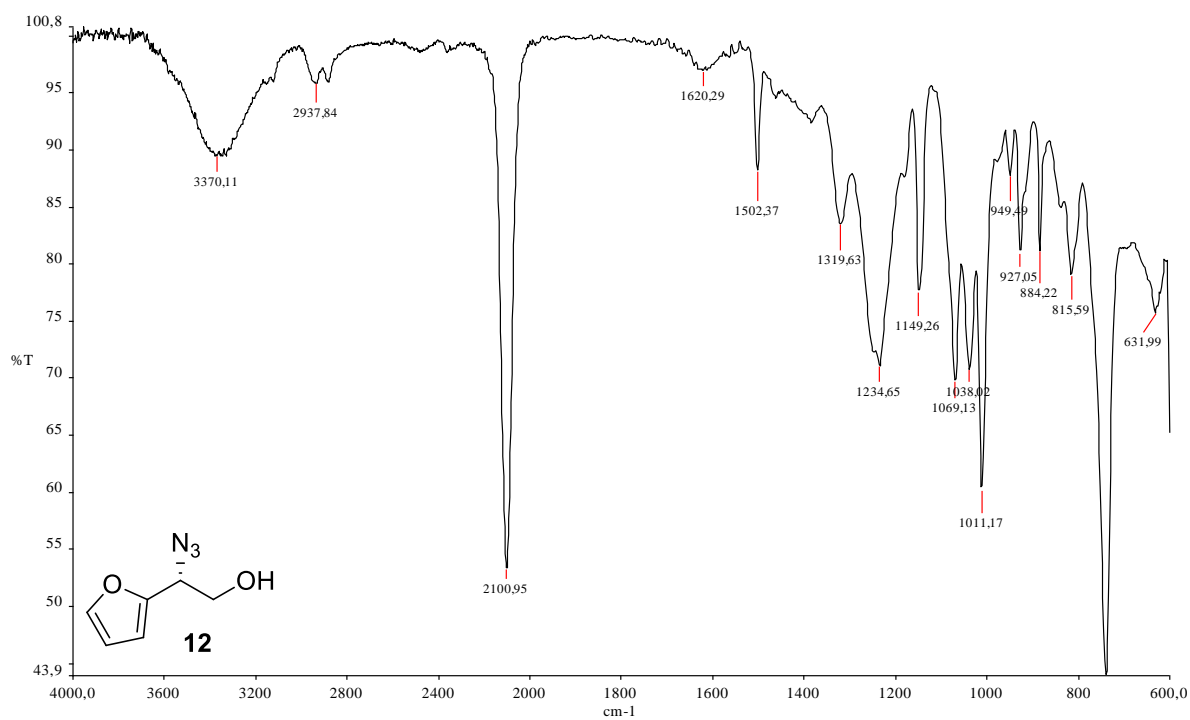


Figura A11: Espectro no infravermelho do composto 14.

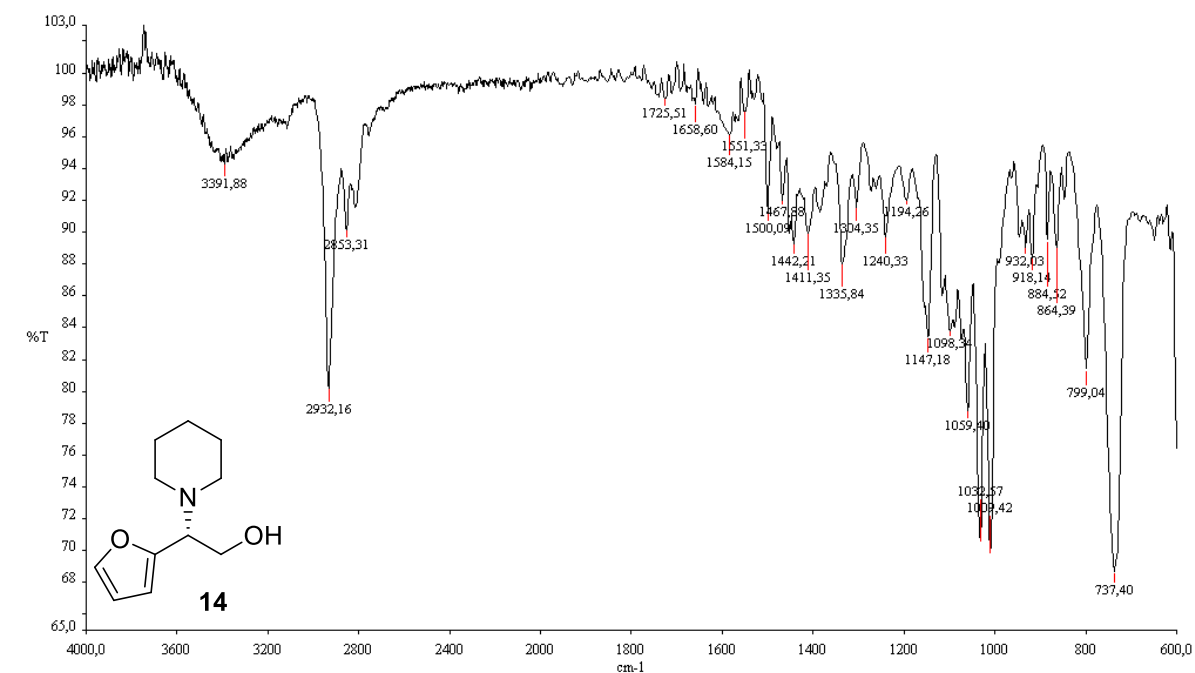
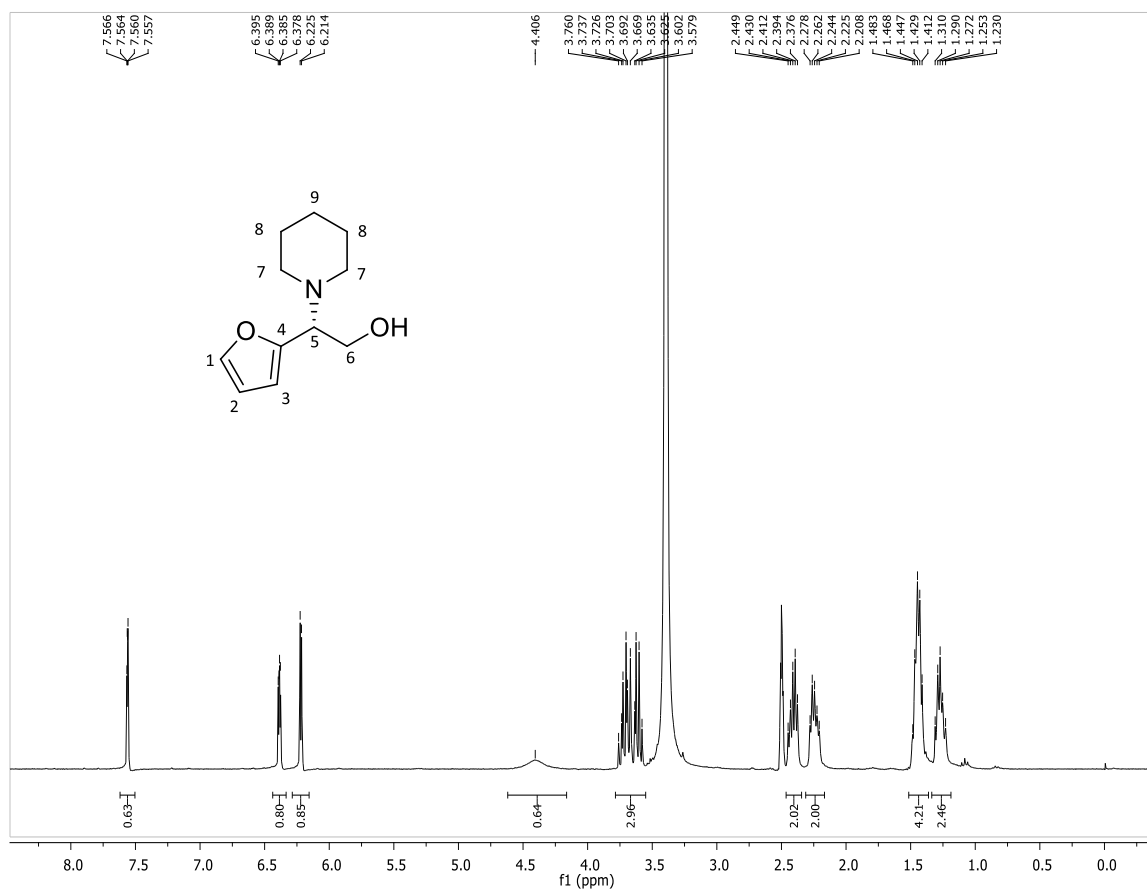
Figura A12: Espectro no RMN de ^1H do composto 14.

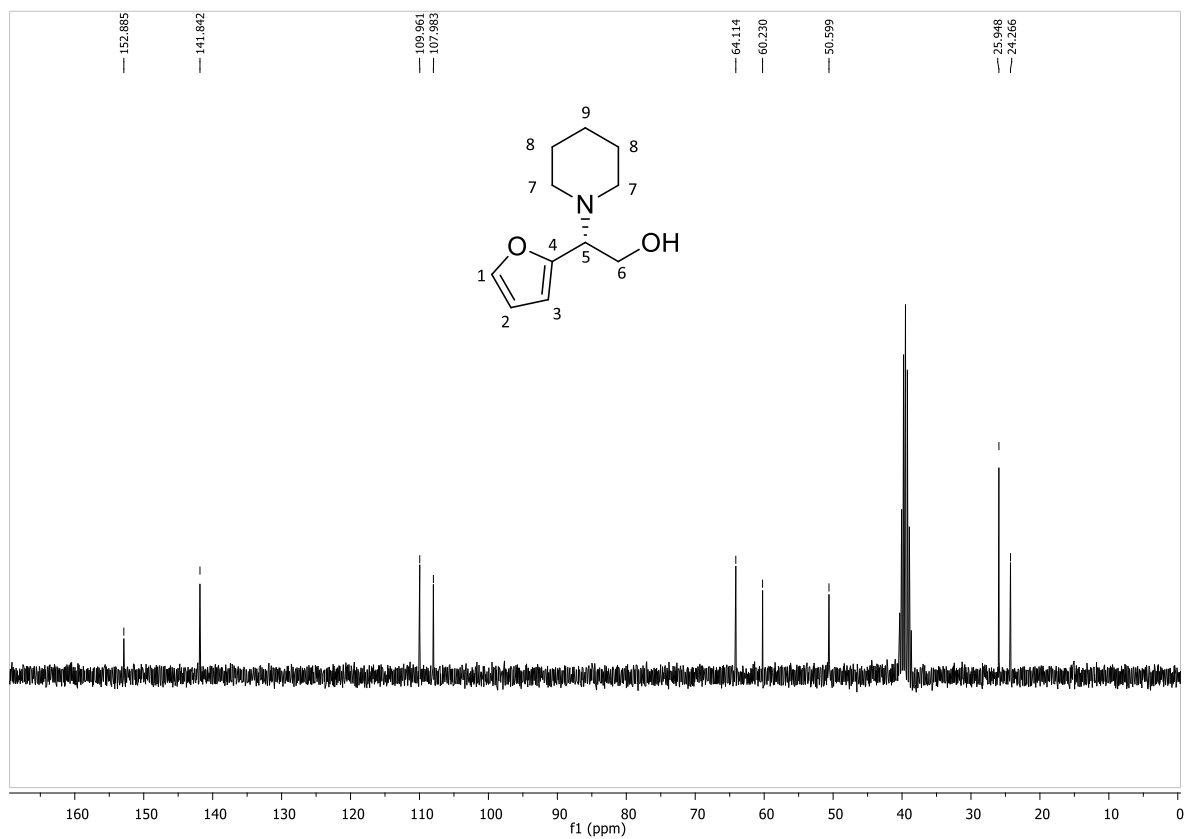
Figura A13: Espectro no RMN de ^{13}C do composto 14.

Figura A14: Espectro no infravermelho do composto 7.

