

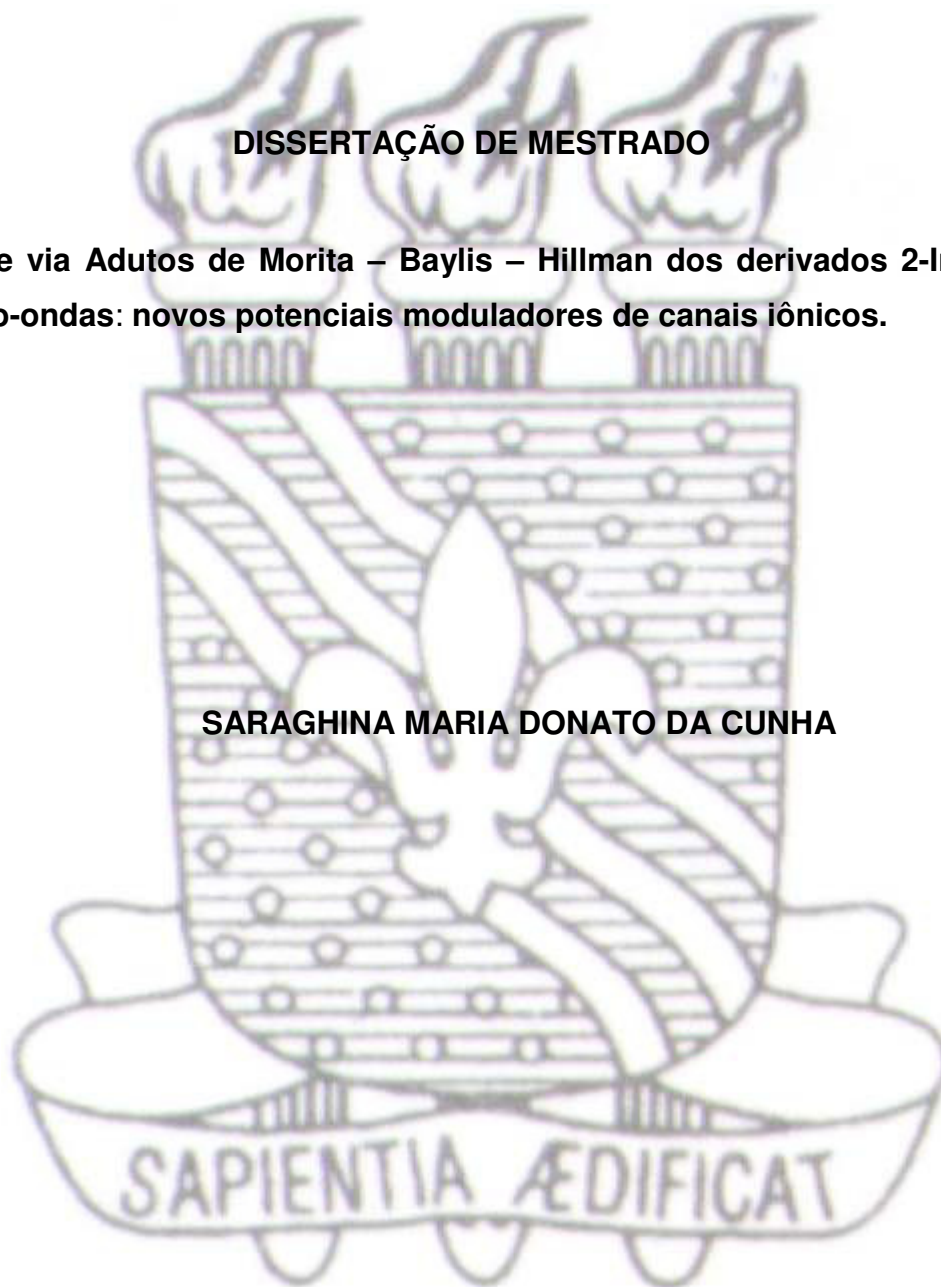


**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**A síntese via Adutos de Morita – Baylis – Hillman dos derivados 2-Indolizina
em micro-ondas: novos potenciais moduladores de canais iônicos.**

SARAGHINA MARIA DONATO DA CUNHA



***João Pessoa – PB - Brasil
Janeiro /2013***



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

A síntese via Adutos de Morita – Baylis – Hillman dos derivados 2-Indolizina em micro-ondas: novos potenciais moduladores de canais iônicos.

Saraghina Maria Donato da Cunha*

**Tese de Mestrado apresentada
como requisito para obtenção do
título de Mestrado em Química pela
Universidade Federal da Paraíba.**

Orientador: Mário Luiz Araújo de Almeida Vasconcellos

***Bolsista (CNPQ)**

**João Pessoa – PB - Brasil
Janeiro /2013**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SARAGHINA MARIA DONATO DA CUNHA

A síntese via Adutos de Morita – Baylis – Hillman dos derivados 2-Indolizina em micro-ondas: novos potenciais moduladores de canais iônicos.

.

Dissertação de Mestrado avaliada em: ____ / ____ / ____.

Banca examinadora:

Prof. Dr. MÁRIO LUIZ ARAUJO DE ALMEIDA VASCONCELLOS
Orientador/ Presidente

Prof. Dr. José Rodrigues de Carvalho Filho
Examinador

Prof. Dr. Ticiano Pereira Barbosa
Examinador

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida; a minha família e amigos que estiveram todo o tempo ao meu lado me fazendo acreditar no meu potencial, aos meus professores que desenvolveram em mim a capacidade para executar este trabalho e ao meu pai (em memória) porque sei o quanto estaria feliz por mais essa conquista.

AGRADECIMENTOS

É difícil colocar em palavras o verdadeiro reconhecimento por todos aqueles que ajudaram de alguma forma na conclusão desse trabalho. Mesmo assim, desejo registrar de forma singela os meus sinceros agradecimentos:

Primeiramente a Deus, por ter me dado a plena capacidade física e mental para desenvolver tal trabalho, pela vida que me foi dada e, nesta existência, ter a oportunidade de fazer grandes amigos que de alguma forma elevaram meus conhecimentos e me impulsionaram nos momentos que mais precisei.

Aos meus pais Antonio *in memoriam* e Sonia que, antes de tudo, me amaram, mas também me educaram de forma exemplar, apesar das dificuldades, e me orientaram com toda confiança e dedicação nos caminhos da vida.

Aos meus irmãos Suellany, Sheylla, Sydia e Luiz por todo apoio dado, pelos bons momentos familiares, pela paciência, pelos diálogos de incentivo e pelo companheirismo.

Ao professor Mário Vasconcellos que dedicou seu tempo em orientar, aconselhar, encorajar, pela confiança que teve no meu trabalho e pela prestatividade que teve diante das minhas limitações.

Ao meu cunhado e companheiro de trabalho Ramon que dedicou grande parte do seu tempo para elaborar e ajudar no desenvolvimento desse projeto de mestrado, além do mais, pelo incentivo e companheirismo nos momentos mais difíceis da minha vida.

Aos companheiros de laboratório que estiveram comigo todo esse tempo:, Wagner ,Clarissa, Cláudio Jr., Ticiano, Hermesson, Edilson, Saulo, Suervy, Natalia, Yen Paiva, Fernanda, Ramon, Everton,Thiago,Francisco, Gutemberg e Fábio, pelos bons momentos, pela ótima amizade conquistada e incentivos que me ajudaram em muitas etapas deste trabalho acadêmico.

Aos grandes amigos conquistados no decorrer da vida, em especial aqueles conquistados no Canadá, que me proporcionaram momentos inesquecíveis e que, com certeza, fazem parte dela.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A todos aqueles que, de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

“Se aparência e a essência das coisas coincidissem,
a ciência seria desnecessária.”

(Karl Marx)

RESUMO

A síntese via Adutos de Morita – Baylis – Hillman dos derivados 2-Indolizina em micro-ondas: novos potenciais moduladores de canais iônicos.

Este trabalho apresenta um estudo sintético promovido por irradiação de micro-ondas, produzindo pela primeira vez a 2-Indolizina-carbonitrila (**1**) e a 2-Indolizina-carboxilato de metila (**2**) em bons a altos rendimentos (70% e 81% de rendimentos respectivamente) em uma única etapa, a partir dos Adutos de Morita-Baylis-Hillman (AMBH) 2 –(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila(**10**) e metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato(**9**) respectivamente. Estes compostos foram subseqüentemente transformados em excelentes rendimentos em mais três derivados 2-indolizínicos já conhecidos na literatura, a saber: indolizin-2-il metanamina (**5**), 99%, indolizin-2-il metanol (**6**), 100%, ácido Indolizina-2-carboxílico(**3**), 100%, e mais três inéditos, a saber: terc-butil (indolizin-2-il metil) carbonato(**7**), 99% inédito, butil Indolizina-2-carboxilato (**4**), 94% inédito, e terc-butil (indolizin-2-il metil)carbamato (**8**), 86% inédito. Todos os Adutos foram caracterizados através dos métodos físicos de Infravermelho, Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas e Ressonância Magnética Nuclear (RMN¹H e RMN¹³C). Todas as sínteses neste trabalho foram desenvolvidas em padrões convenientes a indústria. A ativação reacional por irradiação de microondas (MO) foi amplamente utilizada na maioria das etapas sintéticas deste trabalho, conduzindo aos altos rendimentos químicos e aos tempos reacionais reduzidos. Os oito compostos sintetizados foram idealizados *in silico* objetivando apresentarem potenciais atividades seletivas como moduladores de canais iônicos. Estas atividades foram sugeridas pelos altos valores obtidos de *score* usando o programa quimioinformático *Molinspiration*.

Palavras-chave: Adutos de Morita-Baylis-Hillman, Derivados da 2-Indolizina, Micro-ondas, Potenciais moduladores de canais iônicos, Programa quimioinformático *Molinspiration*

ABSTRACT

syntheses of 2–Indolizine derivatives from Morita-Baylis-Hillman Adducts in microwave: new potential ion channel modulators

This work presents microwave irradiation promoting synthetic studies that producing by the first time indolizine-2-carbonitrile (**1**) and indolizine-2-carboxylate (**2**) in good to high yields (70% and 81%, respectively) in one step from Morita-Baylis-Hillman adducts (MBHA) 2-(hydroxy(pyridin-2-yl)methyl)acrylonitrile (**10**) and methyl 2-(hydroxy(pyridin-2-yl)methyl)acrylate (**9**) respectively. These compounds were subsequently transformed in excellent yields on three 2-indolizine derivatives know in the literature. they are: indolizin-2-yl methanamine (**5**), 99%, indolizin-2-ylmethanol (**6**), 100%, indolizine-2-carboxylic acid (**3**), 100%, in new more three Indolizine, namely : tert-butyl (indolizin-2-ylmethyl) carbonate (**7**), 99% new, butyl-indolizine-2-carboxylate(**4**), 94% new, tert-butyl (indolizin-2-ylmethyl)carbamate (**8**), 86% new. All of the adducts were characterized by infrared physical methods, Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry and Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR and ^{13}C NMR).All syntheses were developed in this study appropriate industry standards. The reaction activation by microwave irradiation (MO) has been widely used in most synthetic stages of this work, leading to high chemical yields and reduced reaction times. The eight synthesized compounds were *in silico* designed aiming to present potential selective activities as modulators of ion channels. These activities were suggested by the high score values obtained by using *Molinspiration* cheminformatics program.

Keywords: Morita-Baylis-Hillman adducts, 2–Indolizine Derivatives, Microwave, Potential Ion channel modulators, Molinspiration Cheminformatic program

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Interdisciplinaridade do processo da descoberta racional de fármacos. Fonte: Figura adaptada de BARREIRO(2002).....	20
Figura 2: Etapas hierárquicas no processo de descoberta racional de fármacos, com base em uma abordagem fisiológica. (NCE = nova entidade química). Fonte: Figura adaptada de BARREIRO(2002)	23
Figura 3: O número de publicações desde 2000 até 2012, tendo como palavra chave “privileged structure”. Fonte: Figura adaptada de (www.scienfinder.com).....	24
Figura 4: Estruturas privilegiadas e suas respectivas atividades biológicas. Fonte: Figura adaptada de (HUNT <i>et al</i> , 2000; ROMER <i>et al</i> , 1982;MCDOWELL <i>et al</i> , 1994).....	25
Figura 5: Representação do núcleo indolizínico como estrutura privilegiada). Fonte: Figura adaptada de (GIRIJA e EDWARD, 2011)	26
Figura 6: Derivados naturais da Indolizina Fonte: Figura adaptada de (GIRIJA e EDWARD, 2011)	27
Figura 7: O número de publicações desde 2000 até 2012, tendo como palavra chave “Indolizine”. Fonte: Figura adaptada (www.scifinder.com).....	28
Figura 8: Estrutura e numeração do núcleo indolizínicos, e a estrutura geral da 2-Indolizina. Fonte: Esquema adaptado de (GIRIJA e EDWARD, 2011).	31
Figura 9: Reação de Morita Baylis-Hillman	32
Figura 10: Visualização da estrutura da Indolizina 2-amina no Moliinspiration. Fonte: Figura adaptada de (www.molinspiration.com).	34
Figura 11: O número de publicações desde 2010 até 2012, tendo como palavra chave “Molinspiration”. Fonte: Figura adaptada de (www.scifinder.cas.org).....	36
Figura 12: Moléculas sinalizadoras e seus receptores. Fonte: Figura adaptada de (http://www.uff.br/WebQuest/pdf/comunicacao.htm).	38
Figura 13 Receptor NMDA. Fonte: Figura adaptada de (http://audiology.wordpress.com/).....	39
Figura 14: Estruturas selecionadas para ser sintetizadas	42
Figura 15 Mecanismo de esterificação com DCC/DMAP. Fonte: Esquema adaptada de (http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/steglich-esterification.shtm) ..	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Screening virtual dos resultados obtidos no Molinspiration dos compostos 1-7 e a média de score das moléculas drug-like e do banco de dados.....	49
Tabela 2 Otimizando as condições de obtenção da piridina-2-carboxialato (2)	52
Tabela 3 As condições de obtenção do terc-butil indolizin-2-il metil carbonato (7)...	56
Tabela 4: As condições de obtenção da indolizia 1.	61

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Síntese da 2-FenilIndolizina. Fonte: Esquema adaptado de (BRAGG e WIBBERLY, 1963).....	29
Esquema 2: Reação via ciclização 1,3 dipolar. Fonte: Esquema adaptado de (B WANG et al, 2006).	29
Esquema 3: Síntese da Indolizina D via ciclização com anidrido acético. Fonte: Esquema adaptado de (KIM e VEDEJS, 2004).....	30
Esquema 4: Mecanismo proposto para a formação da Indolizina via Aduto de Baylis-Hillman. Fonte: Esquema adaptado de (BODE e KAYE, 1990).	31
Esquema 5: mecanismo geral proposto por Hoffmann e Rabe em 1983	33
Esquema 6 Análise retrossintética de duas Indolizinas(1 e 2) proposto no trabalho.	45
Esquema 7 Análise retrossintética das Indolizinas (3,4,6 e 7) proposto no trabalho.	45
Esquema 8 Possibilidade de formação da bis(indolizin-2-il metil) carbonato e tert-butil (indolizin-2-ilmetil) carbonato	46
Esquema 9 Análise retrossintética de duas Indolizinas(8 e 5) proposto no trabalho.	46
Esquema 10 Reação de obtenção do Aduto de Morita-Baylis-Hillman 9 e 10	50
Esquema 11 Esquema de obtenção da Indolizina 2	51
Esquema 12 Esquema de obtenção da Indolizina 6	54
Esquema 13 Proposta mecanística para redução do éster. Fonte: esquema adaptado de (COSTA et al,2003).	54
Esquema 14 Reação de obtenção da Indolizina 7	55
Esquema 15: Mecanismo de reação do álcool com o BOC ₂ O-DMAP. Fonte: Esquema adaptada de (YOCHAI e ALFRED, 2000)	56
Esquema 16: Algumas fragmentações do derivado da Indolizina 7	57
Esquema 17 Reação de obtenção da Indolizina 3	57
Esquema 18 Mecanismo de reação da Hidrólise básica de éster. Fonte: Esquema adaptada de (SOLOMON e FRYHLE, 2006).....	58
Esquema 19: Reação de obtenção da Indolizina 4	59
Esquema 20: Algumas fragmentações do derivado da Indolizina 4	60
Esquema 21 Reação de obtenção da Indolizina 1	60
Esquema 22 Reação de obtenção da Indolizina 5	62
Esquema 23 Reação de obtenção da Indolizina 8	62

Esquema 24: Algumas fragmentações do derivado da Indolizina 8	63
---	----

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1	Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 1	86
Espectro 2	Expansão do Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200 MHz) da Indolizina 1 na região de 6.2 a 8.3 ppm.	87
Espectro 3	Espectro de RMN ^{13}C (CDCl ₃ , 50 MHz) da Indolizina 1	88
Espectro 4	Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 1	89
Espectro 5	Espectro de Infravermelho da Indolizina 1	90
Espectro 6	Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 7	91
Espectro 7	Expansão do Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200 MHz) da Indolizina 7 na região de 6.4 a 7.9 ppm.	92
Espectro 8	Espectro de RMN ^{13}C (CDCl ₃ , 50 MHz) da Indolizina 7	93
Espectro 9	Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 7	94
Espectro 10	Espectro de Infravermelho da Indolizina 7	95
Espectro 11	Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 4	96
Espectro 12	Expansão do Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200 MHz) da Indolizina 4 na região de 6.4 a 8.0 ppm	97
Espectro 13	Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl ₃ , 50MHz) da Indolizina 4	98
Espectro 14	Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 4	99
Espectro 15	Espectro de Infravermelho da Indolizina 4	100
Espectro 16	Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 3	101
Espectro 17	Expansão do Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200 MHz) da Indolizina 3 na região de 6.4 a 8.6 ppm	102
Espectro 18	Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl ₃ , 50MHz) da Indolizina 3	103
Espectro 19	Espectro de Infravermelho da Indolizina 3	104
Espectro 20	Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 8	105
Espectro 21	Expansão do Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200 MHz) da Indolizina 8 na região de 6.2 a 8.1 ppm	106
Espectro 22	Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl ₃ , 50MHz) da Indolizina 8	107
Espectro 23	Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 8	108
Espectro 24	Espectro de Infravermelho da Indolizina 8	109
Espectro 25	Espectro de RMN ^1H (CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 2	110

Espectro 26	Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) da Indolizina 2 na região de 6.45 a 7.85 ppm	111
Espectro 27	Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) da Indolizina 2.....	112
Espectro 28	Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 2.....	113
Espectro 29	Espectro de Infravermelho da Indolizina 2	114
Espectro 30	Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) da Indolizina 5.....	115
Espectro 31	Expansão do Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200 MHz) da Indolizina 5 na região de 5.9 a 8.1 ppm	116
Espectro 32	Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 5	117
Espectro 33	Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 5.....	118
Espectro 34	Espectro de Infravermelho da Indolizina 5	119
Espectro 35	Espectro de RMN ¹³ C-APT(CDCl ₃ , 50MHz) da Indolizina 6.....	120
Espectro 36	Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 6.....	121
Espectro 37	Espectro de Infravermelho da Indolizina 6	122
Espectro 38	Espectro de RMN ¹ H(CDCl ₃ , 200MHz) da Indolizina 6	123
Espectro 39	Espectro de RMN ¹³ C- APT do Aduto 10 (CDCl ₃ , 50 MHz).....	124
Espectro 40	Espectro de RMN ¹ H do Aduto 10 (CDCl ₃ , 200 MHz)	125
Espectro 41	Espectro de RMN ¹³ C - APT do Aduto 9 (CDCl ₃ , 50 MHz).....	126
Espectro 42	Espectro de RMN ¹ H do Aduto 9 (CDCl ₃ , 200 MHz)	126

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α - Alfa

ADMET - Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade

AMBH - Adutos de Morita-Baylis-Hillman

AMPA – Alfa-Amino-3-Hidroxi-5-Metil-4-Isoxazol-Propiónico

β - Beta

BOC – Di-tert-Butil Dicarbonato

CCDA - Cromatografia de Camada delgada Analítica

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

δ - Deslocamento químico

d – Dupleto

DABCO - 1,4 - diazabicyclo [2.2.2]octano

DCC – Dicicloexilcarbodiimida

dd - Duplo dupleto

ddd – Duplo duplo dupleto

DMAP – N,N- dimetilaminopiridina

ESI-MS - Espectrometria de massas com ionização electrospray

GABA – Ácido Gama Aminobutírico

GEA – Grupos Elétron-atratores

HIT – Ligante ou análogo ativo de baixa afinidade ou eficácia

HTS – “high throughput screening”. (Triagem de alta produtividade)

Hz – Hertz

IUPAC - União internacional de química pura e aplicada (do inglês, International Union of Pure and Applied Chemistry)

J – Constante de acoplamento

NCE – Nova Entidade Química

NMDA – N-MetilD-Aspartato

P&D – Pesquisa e Desenvolvimento

pKa – cologaritmo da constante de acidez

QSAR - Relação Quantitativa Estrutura-Atividade

RMBH – Reação de Morita-Baylis-Hillman

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

s – Singleto

SAR - “Structure Activity Relationship” (Relação estrutura-atividade)

sex - sexteto

sl – Singleto largo

t – tripleto

THF – tetrahidrofurano

TMS – Tetrametilsilano

VOC’S – Canais Iônicos Operados por Voltagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
1.1 Química Medicinal	20
1.2 Estrutura Privilegiada	23
1.3 Indolizina	26
1.4 Síntese da Indolizina	28
1.5 Reação de Morita Bayllis-Hilman	32
1.6 Químioinformática	33
1.7 Como agem os fármacos	36
1.8 Canais iônicos como alvos primários para a ação dos fármacos	38
2. OBJETIVOS	41
2.1 Objetivos gerais	41
2.2 Objetivos específicos	41
3. ESTRATÉGIA	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	49
4.1 Screening virtual das Indolizinas via moliinspiration	49
4.2 Obtenção do Aduto de Morita-Baylis-Hillman 2 e 3	50
4.3 Obtenção da Indolizina (2) via Aduto de Morita-Baylis-Hillman (9)	51
4.4 Obtenção da indolizin-(6) via Indolizina (2)	54
4.5 Obtenção da indolizin (7) via Indolizina (6)	55
4.6 Obtenção da indolizin (3) via Indolizina (2)	57
4.7 Obtenção da Indolizina (4) via indolizin (3)	58
4.8 Obtenção da Indolizina (1) via Aduto de Morita Baylis Hillman (10)	60
4.9 Obtenção da Indolizina (5) via Indolizina (1)	62
4.9.1 Obtenção da Indolizina (8) via Indolizina (5)	62
5. CONCLUSÃO	65

6. PARTE EXPERIMENTAL.....	67
6.1 Materiais e métodos.....	67
6.2 Procedimento geral para a síntese do 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila(10) e metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato (9).....	68
6.3 Procedimento para a síntese da metil Indolizina 2 carboxilato (2).....	69
6.4 Procedimento para a síntese da Indolizin-2-il metanol (6).	70
6.5 Procedimento para a síntese do terc-butil indolizina-2-il metil carbonato (7)..	71
6.6 Procedimento para a síntese da Indolizina-2-ácido carboxílico(3).....	72
6.7 Procedimento para a síntese da butil Indolizina-2-carboxilato(4).....	73
6.0 Procedimento para a síntese da indolizin-2-il metanamina (5).	75
7.0 Procedimento para a síntese do tert-butil-indolizin-2-il metil carbamato (8)	76

Capítulo 1:

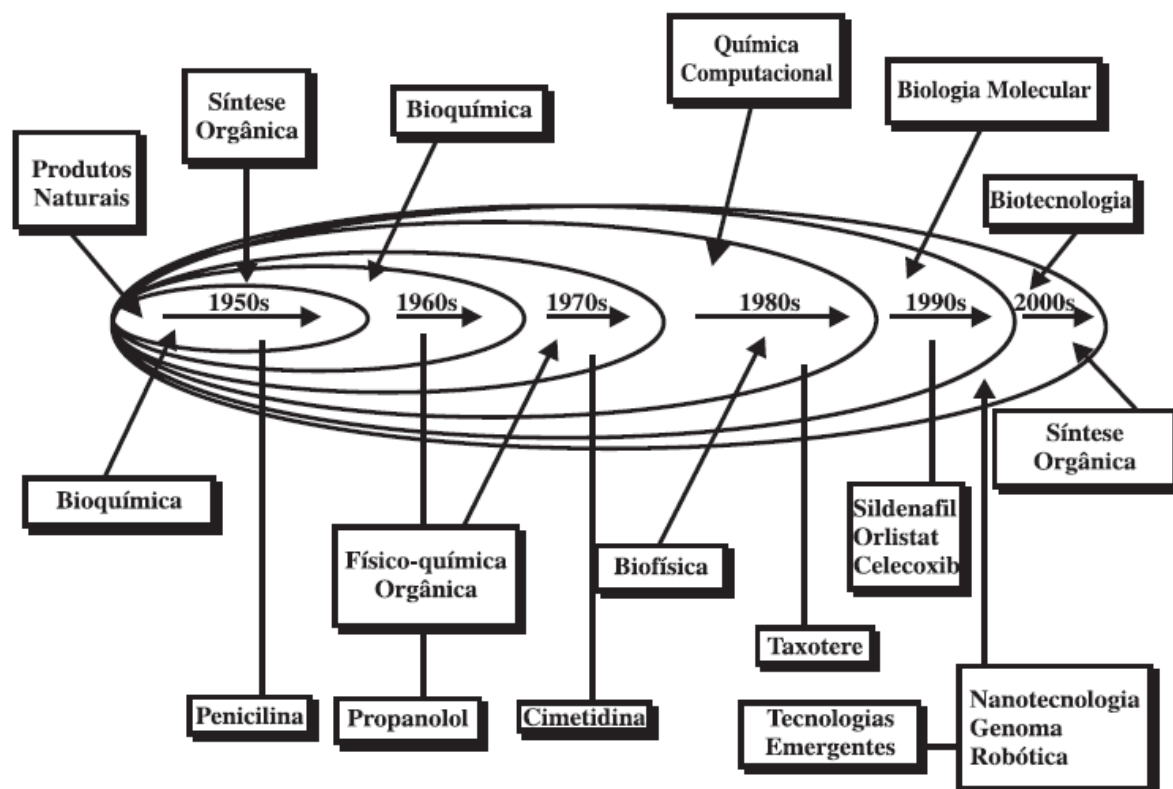
Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1 Química Medicinal

A Química Medicinal, em sua essência, é tão antiga quanto a Química e as Ciências Médicas. As bases e seus conceitos antigos surgem na Grécia, com Hipócrates (chamado de o Pai da Medicina), época em que de maneira rústica, mas de grande pensamento filosófico, tentava-se entender a relação entre as doenças e a cura promovida por certos tipos de materiais, geralmente as plantas ditas medicinais. Destacam-se também Claudius Galenus, em Roma, e Paracelso na Idade Média (MONTANARI, 2000).

Figura 1: Interdisciplinaridade do processo da descoberta racional de fármacos. Fonte: Figura adaptada de BARREIRO(2002)



É importante reconhecer que a Química Medicinal é uma disciplina de caráter híbrido, inter e multidisciplinar (Figura 1). Conhecimentos de várias disciplinas como

biofísica, biologia molecular, bioquímica, clínica médica, físico-química, fisiologia, neurobiologia, patologia, química biológica, química inorgânica, química orgânica e química quântica são necessários para a formação e atuação dos estudos em Química Medicinal.

Na Figura 1. estão ilustrados também alguns fármacos que poderiam ser merecedores do título de “fármaco da década”, considerando-se o impacto terapêutico que representaram à época de seus lançamentos, tanto pelo nível de inovação quanto pelo índice de benefício à saúde que trouxeram.

Segundo as recomendações de 1998 da IUPAC, a Química Medicinal pode ser definida como: a disciplina com base na Química que também envolve aspectos das ciências biológicas, médicas e farmacêuticas. Ela ocupa-se com a criação, descoberta, planejamento, identificação e preparação de compostos biologicamente ativos, o estudo de seu metabolismo, a interpretação do seu mecanismo de ação em nível molecular e a construção de uma relação estrutura-atividade (WERMUTH *et al.*, 1998).

Um projeto de Química Medicinal compreende as etapas de descoberta, otimização e desenvolvimento do protótipo. Entende-se por descoberta a etapa destinada à eleição do alvo terapêutico, útil para o tratamento de uma determinada fisiopatologia. Nesta etapa, são utilizadas estratégias de modificação molecular clássicas da Química Medicinal como ferramentas para o planejamento de novas moléculas (LIMA, 2007).

A etapa de otimização compreende o melhoramento da molécula protótipo, através de modificações planejadas com auxílio de técnicas definidas. Estas podem identificar os diferentes níveis de contribuição farmacofórica, fornecer informações sobre a conformação bioativa e antecipar o índice de reconhecimento molecular pelo alvo selecionado. Todas essas informações visam o aumento da potência, seletividade, diminuição da toxicidade, adequação do perfil farmacocinético (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, ADMET) e estabelecimento da SAR (Relação estrutura-atividade) (LIMA, 2007).

A etapa de desenvolvimento do protótipo objetiva a otimização de suas propriedades ADMET e farmacêuticas (solubilidade, odor, sabor), de modo a viabilizar seu uso clínico, através da preparação eventual de pró-fármacos,

complexos de inclusão, microemulsões, formulações de liberação lenta, entérica etc. (LIMA, 2007).

Fazendo uma abordagem fisiológica em Química Medicinal, é importante destacar que uma vez comprovada a atividade farmacológica desejada por meio de protocolos farmacológicos *in vivo*, tem-se um novo composto-protótipo (Figura 2), candidato a novo fármaco (BARREIRO, 2002). Recentemente introduziu-se o termo “hit” para designar ligante ou análogo-ativo de baixa afinidade ou eficácia, respectivamente, representando uma etapa anterior à identificação do composto-protótipo.

A identificação do composto-protótipo constitui etapa chave no processo da descoberta de fármacos e é objetivo primário da Química Medicinal. Logo, apesar do amplo espectro de fatores envolvidos, resultado da complexidade do sistema biológico, várias estratégias vem sendo explorada, de modo a tornar esse universo menos complexo, tais como: a modificação e melhoria de moléculas ativas existentes, o rastreio de compostos selecionados por ensaios biológicos e estruturais (screening), e entre elas, o uso de estruturas ditas “privilegiadas”.

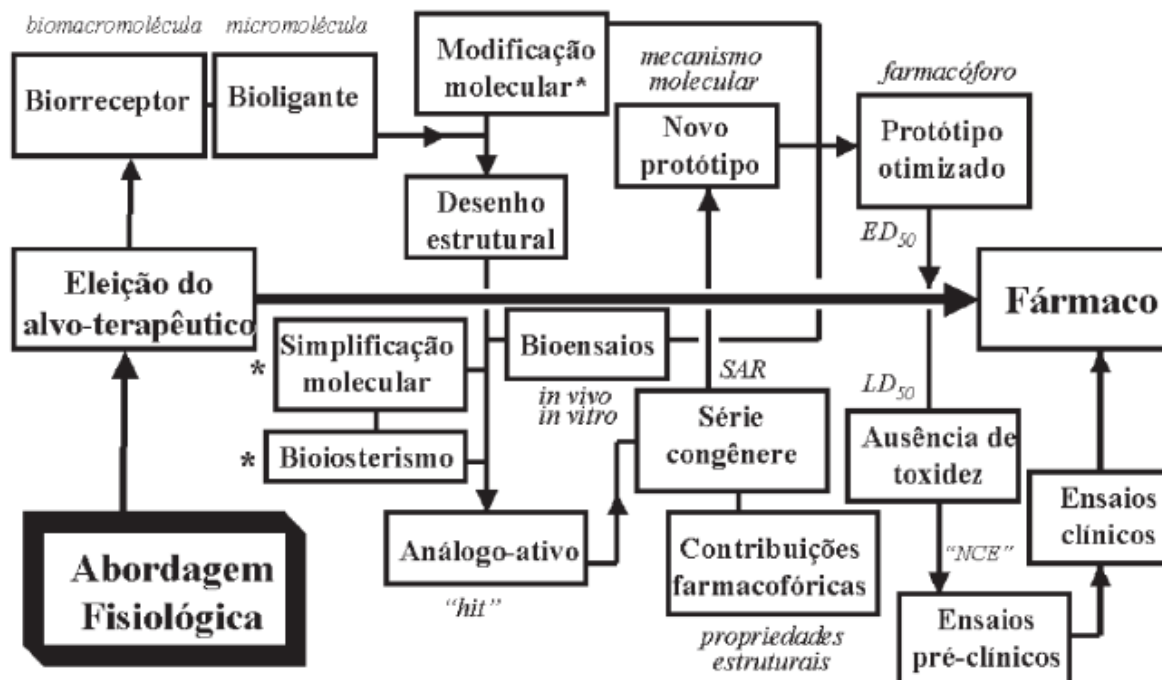
Na academia e na indústria farmacêutica a aplicação da estratégia de identificação do composto-protótipo baseada em modificações planejadas na estrutura de princípios ativos conhecidos – a partir de literatura científica, patentária, banco de dados de laboratório de pesquisa ou de empresa farmacêutica – é uma atividade bastante comum empregada no desenho de fármacos “me-too”(BARREIRO E MANSSOUR, 2001). Como também, incluindo: o “screening” sistemático de compostos naturais e sintéticos, eleitos em função da diversidade estrutural e dos ensaios biológicos disponíveis; otimização do “hit” identificado por HTS (Triagem de alta produtividade) e através da aplicação das estratégias racionais de desenho molecular.

Outra estratégia para identificação do composto-protótipo explora as informações geradas pela observação clínica de efeitos adversos de fármacos comercializados ou em estudos de fase clínica. Esta estratégia permite identificar novas aplicações terapêuticas para fármacos já existentes, mesmo quando, ainda, não existam modelos farmacológicos em animais para avaliação das atividades observadas em humanos. Um exemplo de sucesso desta abordagem foi a descoberta da sildenafil (Viagra®, Pfizer), originalmente planejada e desenvolvida

para tratamento de doenças coronarianas e, posteriormente, comercializada para o tratamento da disfunção erétil (Campbell, 2000).

O novo composto-protótipo pode ter sua eficácia otimizada por modificações estruturais subseqüentes, planejadas de forma a preservar as propriedades farmacocinéticas detectadas nos bioensaios *in vivo*. Uma vez otimizado o composto-protótipo identificado na série congênere bioativa e com comprovada ausência de toxicidade, tem-se uma nova entidade química, estruturalmente original, que pode ser submetida às fases de ensaios pré-clínicos e clínicos, resultando, finalmente, num novo fármaco. Neste processo, embora a *intuição química* do químico medicinal contribua enormemente, identificar e preservar as sub-unidades farmacofóricas é essencial para o sucesso do desenho dos novos padrões estruturais pretendidos

Figura 2: Etapas hierárquicas no processo de descoberta racional de fármacos, com base em uma abordagem fisiológica. (NCE = nova entidade química). **Fonte:** Figura adaptada de BARREIRO(2002)



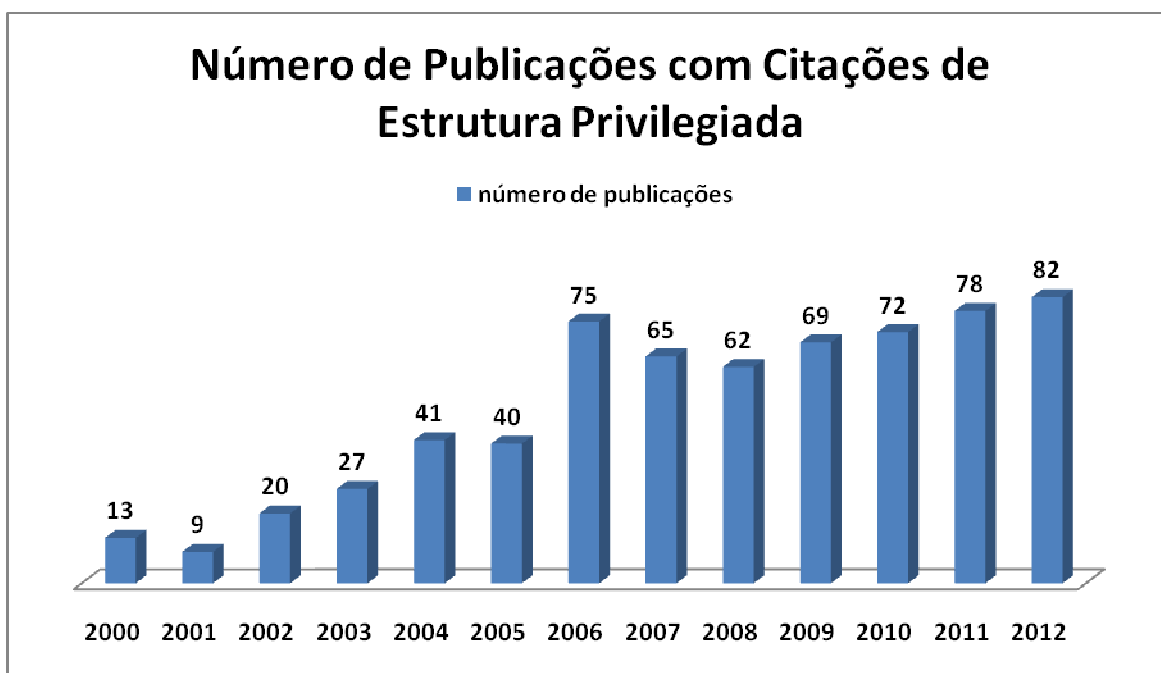
1.2 Estrutura Privilegiada

Uma ferramenta importante para a construção de um novo fármaco é a técnica de utilização de estruturas ditas "Privilegiadas". Tal ferramenta é uma

estratégia de planejamento racional de novos ligantes ou composto-protótipo e corresponde à subunidade estrutural mínima, comum em vários fármacos ou compostos-protótipos de fármacos, capaz de fornecer pontos ligantes para mais de um tipo de biorreceptor.(BARREIRO, 2008)

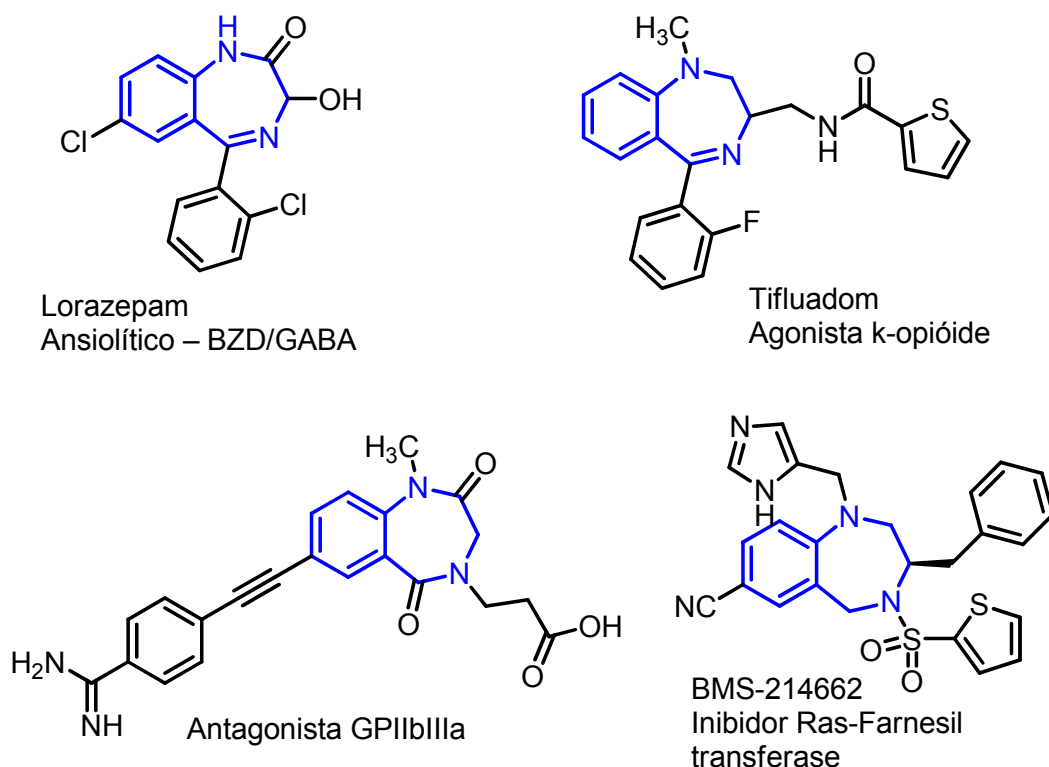
Este conceito foi inicialmente formulado por Evans em 1988, em relação ao heterociclo 1,4-benzodiazepina-2-ona, definido como "uma única estrutura molecular capaz de fornecer pontos ligantes para os diversos receptores"(EVANS *et. al*, 1988) e logo em seguida o conceito foi aprimorado por Patchett e Nargund (PATCHETT e NARGUND, 2000), que identificou propriedades nestas subestruturas que tornam a sua interação com biomacromoléculas mais fácil. Além disso, a partir da identificação de uma estrutura privilegiada, a selectividade desejada pode ser modulada por meio suplementar modificações moleculares envolvendo outras subunidades ou grupos auxofórico. A adoção desse novo conceito tem causado impacto expressivo sobre o desenvolvimento da Química Medicinal moderna, como pode ser notado pelo significativo crescimento do número anual de citações da expressão "Estruturas privilegiadas".(Figura 3).

Figura 3: O número de publicações desde 2000 até 2012, tendo como palavra chave "privileged structure". **Fonte:** Figura adaptada de (www.sciencifinder.com)



A utilização de "estruturas privilegiadas" para a descoberta de compostos capazes de interagir com uma família de proteínas é um dado muito atraente (Figura 4). A análise do genoma humano realça cerca de 400 proteínas capazes de se tornar potencial alvos para o desenvolvimento de novas drogas. Uma grande porcentagem delas pode ser agrupada em famílias, tais como proteínas-G, receptores acoplados, serina, treonina e tirosina quinases, proteases de serina, cisteína, canais iônicos e receptores hormonais nucleares. A utilização de "estrutura privilegiada" poderia permitir a descoberta, em um tempo mais curto, de compostos capazes de interagir com os membros de uma mesma família (COSTATINO E BARLOCCO, 2006).

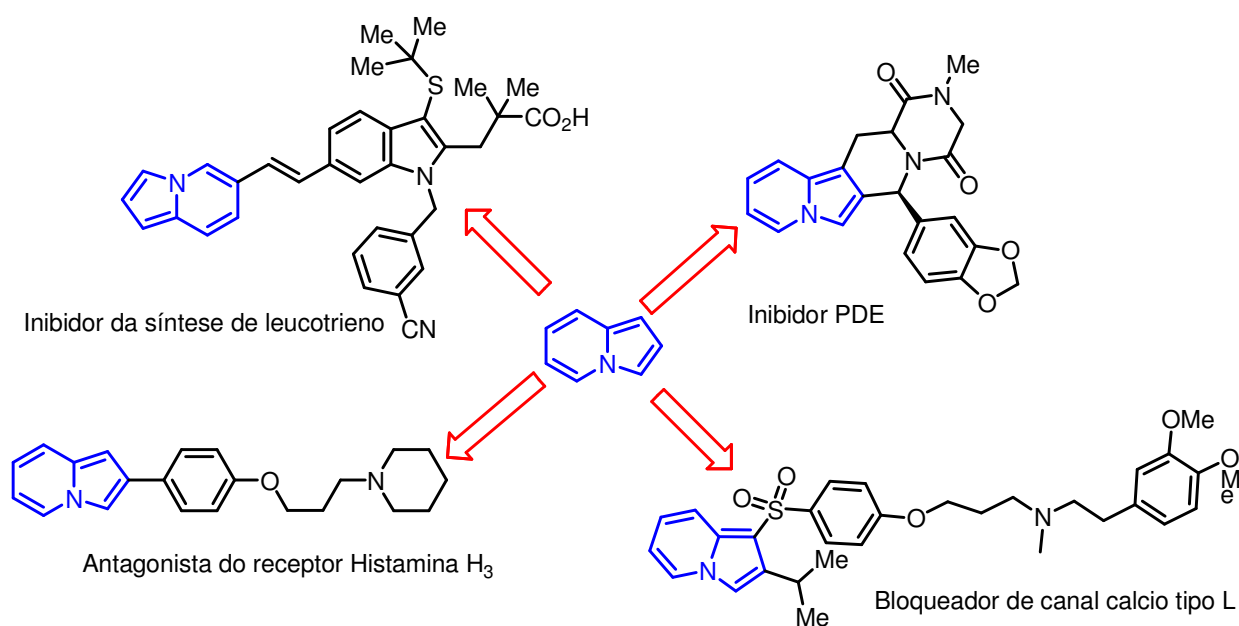
Figura 4: Estruturas privilegiadas e suas respectivas atividades biológicas. **Fonte:** Figura adaptada de (HUNT *et al* , 2000; ROMER *et al* , 1982; MCDOWELL *et al* , 1994).



Sendo assim, os derivados indolizidínico são uma *estrutura privilegiada* (Figura 5). Eles constituem uma classe de compostos heteroaromáticos contendo dois anéis condensado e um átomo de nitrogênio, possuindo 10 elétrons

deslocalizados. E vários nomes tem sido utilizados para denominar a Indolizina, tais como: pirindole, pirrodina, pirrolo[1,2-a] piridina (SWINBOURNE *et al*, 1978)

Figura 5: Representação do núcleo indolizínico como estrutura privilegiada). **Fonte:** Figura adaptada de (GIRIJA e EDWARD, 2011)

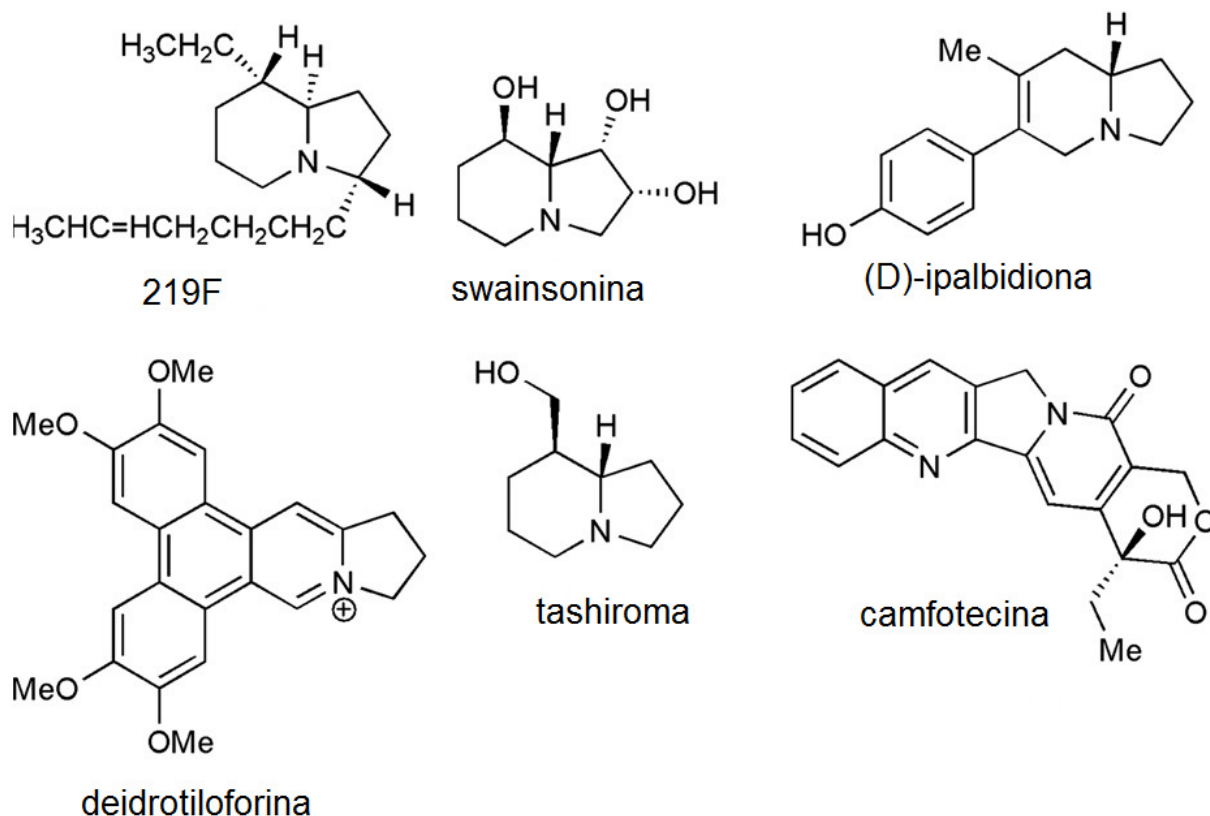


1.3 Indolizina

Uma das primeiras revisões abrangente sobre Indolizinas e seus derivados foi publicado por Borrows e Holanda em 1948 (Borrows e Holland, 1948). Desde então sínteses das Indolizinas foram revistas de tempos em tempos. Recentemente, foi publicado um artigo que abrange a relevância biológica desses compostos, analisando os trabalhos recentes (2000 e 2010) sobre a síntese e atividade biológica da Indolizina e seus derivados (Indolizina reduzida parcialmente e totalmente) (SINGH E MMATLI, 2011).

A Indolizina aromática é dificilmente encontrada na natureza, mas a sua forma reduzida é muito difundida (Figura 6). Ela tem sido isolada de plantas, insetos, vida marinha e micróbios (ONG *et al*, 2002). Alguns exemplos incluem: swainsonina (PYNE, 2005), (D)-ipalbidiona (HONDA *et al*, 2003), deidrotiloforina (WEI *et al*, 2008), 219F (TOYOOKA *et al*, 2007), tashiroma (MARSDEN e MCELHINNEY, 2008) e camfotecina (ZUNINO *et al*, 2002).

Figura 6: Derivados naturais da Indolizina **Fonte:** Figura adaptada de (GIRIJA e EDWARD, 2011)



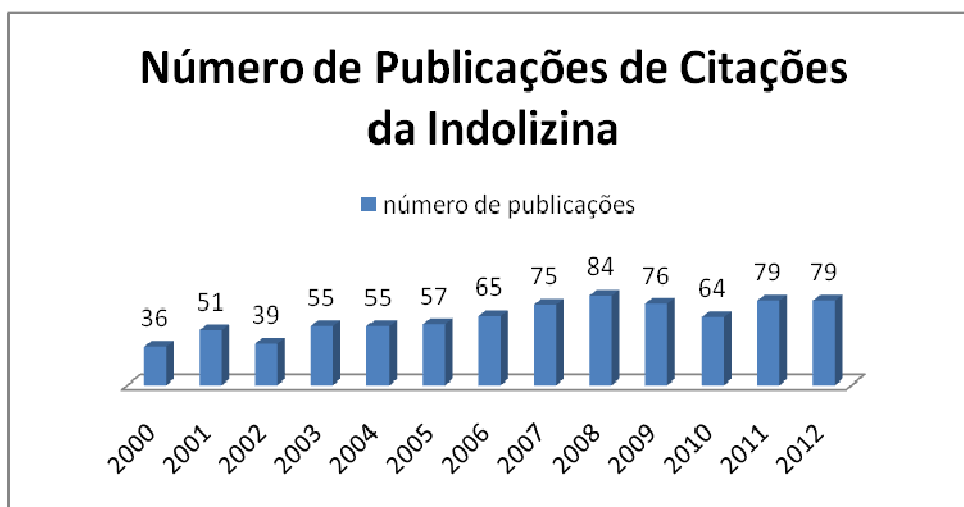
Os derivados da Indolizina contendo uma variedade de grupos funcionais estão sendo utilizados devido à sua interessante atividades biológicas como: antibacteriano (GUNDERSEN *et al*, 2003), antiviral e antileishmania (BOLLE *et al*, 2004), antiinflamatória (MALONNE *et. al*, 1998) , analgésica(CAMPAGNA *et al*, 1990), antitumoral (OLDEN *et al*, 1991), antioxidante (TEKLU *et al*, 2005), inibidores aromatase (SONNET *et al*, 2000), bloqueadores de canais de cálcio (GUPTA *et al*, 2003), anti-histamínico H3 (CHAI *et al*, 2003), e também avaliadas quanto agroquímico (ZHOU *et al*, 1999).

Atualmente, muitas novas metodologias e atraente síntese da Indolizina estão sendo inventadas e a síntese de uma grande variedade de compostos possuindo potencial atividade biológica tem sido realizada (Figura 5).

Logo, pode-se perceber esse considerável interesse, principalmente pelos químicos medicinais, através das inúmeras publicações que citam essa classe de composto (Figura 7).

Figura 7: O número de publicações desde 2000 até 2012, tendo como palavra chave “Indolizina”.

Fonte: Figura adaptada (www.scifinder.com)



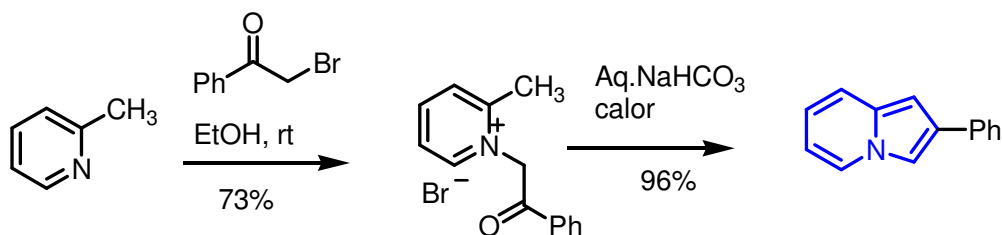
O significado da Indolizina em desenho de drogas pelos químicos medicinais é um desafio, pois a síntese de tais compostos, descrito atualmente, dificilmente atingem ótimos rendimentos, principalmente devido à complexidade química da reação, custo e questões ambientais. Sendo assim, o desenvolvimento de Indolizinas com padrões bem definidos de substituição e que superem todos esses desafios fazem-nas atraentes alvos sintéticos.

1.4 Síntese da Indolizina

Várias vias sintéticas para Indolizina podem ser classificadas como reação Tschirschibabin, reações de cicloadição (1,3 -cicloadição dipolar), ciclização intramolecular usando anidrido acético, e entre elas, a reação de Morita-Baylis-Hillman (MBH).

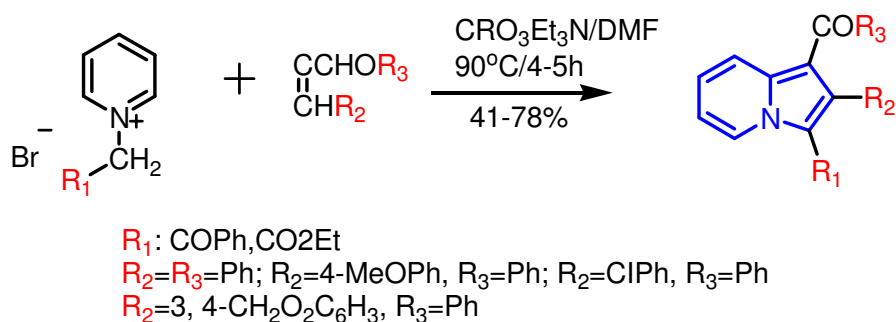
Reação de Tschirschibabin envolve a quaternização de um 2-alkilpiridina com uma halocetona seguido de um catalisador básico na ciclização intramolecular por desprotonação do grupo piridina o-metil, o que é mais fácil quando o grupo alquil está ainda ativado. Um processo representativo é a síntese de 2-FenilIndolizina(BRAGG e WIBBERLY, 1963)(Esquema .1.1).

Esquema 1: Síntese da 2-Fenilindolizina. **Fonte:** Esquema adaptado de (BRAGG e WIBBERLY, 1963).



As reações de cicloadição 1,3-dipolar de ilidas N-heterocíclicos com alcinos elétron-deficiente, alcenos e alenos constituem uma metodologia importante para a formação da Indolizina. Vários tipos de dipolarófilos têm sido utilizadas em reações com piridina, quinolina ou ilídeos isoquonilina para formar diversos tipos de Indolizina. A reação de cicloadição 1,3-dipolar de piridina N-ilídes (Esquema 2), oferece moderados rendimentos de 1-benzoil-2-arilindolizinas (41 e 78%) (B-WANG et al, 2006).

Esquema 2: Reação via ciclicização 1,3 dipolar. **Fonte:** Esquema adaptado de (B WANG et al, 2006).



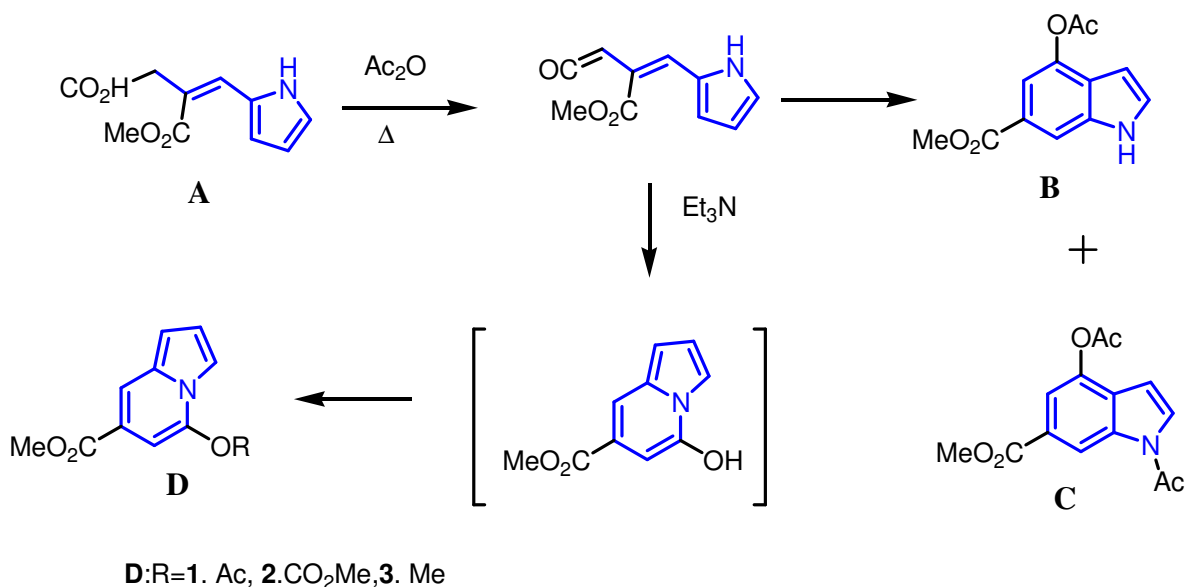
A Ciclização intramolecular usando anidrido acético é uma rota sintética que utiliza o ester-**A**, obtidos a partir da condensação de Stobbe pirrol-2 carboxaldeído e succinato de dimetil, sofre ciclização formando Indolizina **D** (Esquema 3) (KIM e VEDEJS, 2004). O intermediário acetona vinil tem sido propostos para explicar a formação dos produtos.

O uso de anidrido acético / acetato de sódio de acordo com o método relatado acarreta derivados indolizínicos **D** juntamente com derivados de indole **B** ou **C**. O uso de cinco equivalentes de trietilamina e anidrido acético em excesso forma

Indolizina **D1** em mais de 95% de rendimento logo após 1 hora (KIM e VEDEJS, 2004).

Alguns Aduto de Baylis-Hillman contendo o grupo de piridina vêm sendo amplamente usados para a obtenção de forma eficiente de algumas Indolizinas. A abordagem geral para a Indolizinas 2-substituídos é apresentada através da reação Baylis-Hillman, a qual envolve o ataque nucleofílico por uma espécie de enolato dipolar, sobre piridina-2-carbaldéido(Esquema 1.4)(BODE e KAYE, 1990).

Esquema 3: Síntese da Indolizina D via ciclização com anidrido acético. **Fonte:** Esquema adaptado de (KIM e VEDEJS, 2004).

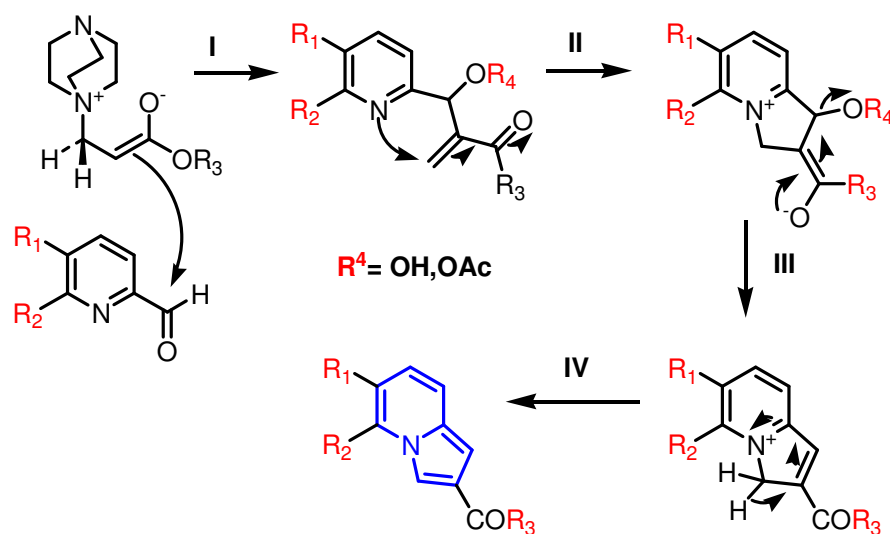


A ciclização térmica descrita para formação da Indolizina feita por Kaye e Bode envolve três etapas, sendo uma delas a transformação da função hidroxila no acetato como um melhor grupo de saída (BODE e KAYE, 1990, 1993).

Numa abordagem semelhante, Boekelheide e Windgassen achou necessário aquecer 3-acetoxi-3-(6-metil-2-piridil) propeno para 450°C para obter 5-metilindolizina em 30% de rendimento de ciclização, presumivelmente envolvendo deslocamento alílico direto do grupo acetoxi (BOEKELHEIDE e WINDGASSEN, 1959).

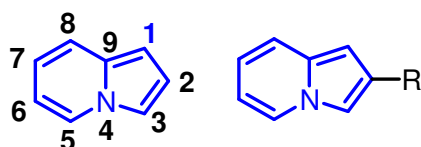
No entanto, os métodos de síntese eficientes para a produção de derivados da Indolizina têm sido continuamente necessários para ultrapassar dificuldades de introdução de substituintes específicos, ou requisitos da síntese de múltiplos passos.

Esquema 4: Mecanismo proposto para a formação da Indolizina via Aduto de Baylis-Hillman. **Fonte:** Esquema adaptado de (BODE e KAYE, 1990).



Portanto, um método alternativo que tenha variações dos grupos funcionais no núcleo da Indolizina é altamente desejável para o estudo da relação estrutura e atividade biológica (QSAR). Curiosamente, não há descrição na literatura de uma síntese eficiente e “verde” para o derivado 2-Indolizina. (figura 8) Por exemplo, a melhor síntese da Indolizina-2-carbonitrila foi descrito por Kaye e Bode utilizando condição térmica para ciclização em três etapas com um rendimento de 32% (BODE e KAYE, 1990).

Figura 8: Estrutura e numeração do núcleo indolizínicos, e a estrutura geral da 2-Indolizina. **Fonte:** Esquema adaptado de (GIRIJA e EDWARD, 2011).

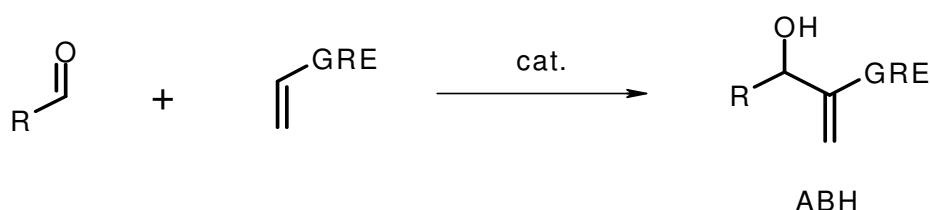


Ratificando a importância da síntese da Indolizina 2-substituída, tem-se o trabalho de Gubin e colaboradores (GUBIN et al, 1992,1993), que relatam estudos em QSAR com algumas Indolizinas e demonstram que o substituinte na posição 2 do anel poderia afetar as atividades tanto através da sua hidrofobicidade como propriedades eletrônicas

1.5 Reação de Morita Bayllis-Hilman

Diante das várias reações já conhecidas, uma que está cada vez mais se destacando como uma das principais estratégias de formação da ligação C–C e se tornando um grande desafio para os químicos orgânicos frente ao desenvolvimento de novas estratégias sintéticas para a sua execução é a reação de Morita-Baylis-Hillman (RMBH) (Figura 9)(BASAVAIH, 2003).

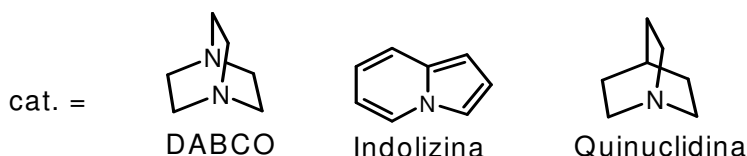
Figura 9: Reação de Morita Baylis-Hillman



R = Alquila ou Arila

GRE = Grupo retirador de elétrons (COOR, CN, et.)

ABH = Aduto de Baylis-Hillman



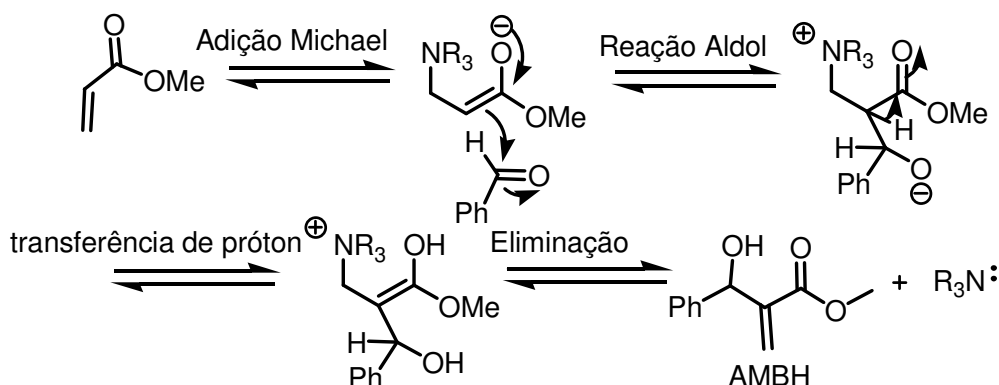
Uma das definições mais apropriadas encontradas na literatura sobre a RMBH é que tal reação consiste no acoplamento entre aldeídos, cetonas e iminas (neste caso é conhecida como reação de Aza-Morita- Baylis-Hillman) à alcenos ligados a variados grupos eletrôn-atratores (GEA) na presença de um catalisador, que geralmente é uma amina terciária, no qual o 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO) é mais comumente utilizado (BASAVIAH *et. al.*, 2003, 2007, 2010). Mais recentemente tal reação já é descrita como sendo uma reação de economia de átomos, formando ligação carbono-carbono que envolve o acoplamento entre a posição de uma ligação dupla ativada e um carbono eletrofílico sp^2 na presença de um catalisador nucleofílico (BASAVIAH *et. al.*, 2010; DECLERCK *et. al.*, 2009).

Desde o trabalho de Drewes e Emslie e Hoffman e Rabe, o AMBH têm sido usados por químicos como intermediários sintéticos na síntese total. Vários produtos naturais e moléculas de interesse biológico foram sintetizados a partir de AMBH ou

usando a reação de MBH como passo chave para a preparação de Adutos com interesse biológico(LIMA-JUNIOR e VASCONCELLOS, 2012).

Quinze anos após o seu descobrimento o primeiro trabalho abordando uma proposta mecanística em torno da RMBH surgiu com Hoffmann e Rabe(1983).

Esquema 5: mecanismo geral proposto por Hoffmann e Rabe em 1983



Nesta discussão, de acordo com o Esquema 5, podemos observar que o mecanismo da RMBH é, na verdade, uma combinação de etapas que envolvem uma adição de Michael, uma reação do tipo aldol, uma etapa de transferência de próton e uma eliminação.

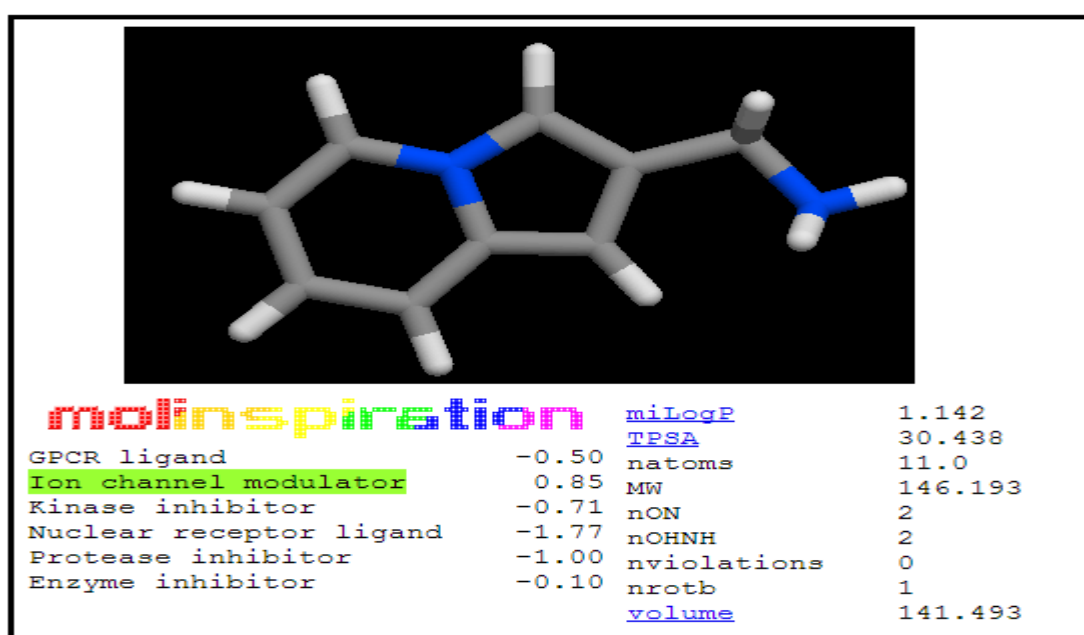
1.6 Quimiinformática

A partir da década de 1960, com o desenvolvimento da computação moderna, nasce a área de estudos e pesquisas chamada *Química Computacional*, a qual permitiu o estabelecimento de estratégias que formam o que hoje conhecemos como Quimiinformática. Esta última foi recente e sucintamente definida como —Qualquer tentativa de utilizar informações químicas para inferir relações entre estruturas químicas ou seus atributos (MUCHMORE *et. al*, 2010). Na perspectiva da descoberta de fármacos, os princípios da Quimiinformática podem ser aplicados dos estágios iniciais da descoberta de protótipos (similaridade química ou construção de biblioteca de compostos) até a otimização destes protótipos (estudos QSAR), através dos resultados do desenvolvimento pré-clínico (testes em modelos animais) e clínico (testes em humanos). A Química Computacional, em um contexto

mais amplo, permite a concepção de estruturas tridimensionais dos fármacos (estudos conformacionais), estabelecimento de padrões de interação fármaco-receptor (“docagem” molecular), bem como modelagem matemática relacionando propriedades físico-químicas de moléculas em uma série com suas atividades biológicas (QSAR), poupando esforços e custos no desenvolvimento de moléculas bioativas.

Esse processo de descoberta de drogas é apoiado por um grande número de softwares disponíveis gratuitamente na Internet. Nesses programas incluem inúmeras coleções de dados que fornecem acesso a recursos valiosos dados químicos, permitindo consultas complexas de estruturas compostas, associadas propriedades físico-químicas e atividades biológicas a serem realizados e, em muitos casos, fornecendo “links” para fornecedores de produtos químicos comerciais. Outras aplicações estão disponíveis para pesquisa de proteína-ligante, complexos e identificar importantes interações de ligação que ocorrem. Isto é particularmente útil para a compreensão do reconhecimento molecular de ligantes no processo de descoberta de farmacos(www.ingentaconnect.com).

Figura 10: Visualização da estrutura da Indolizina 2-amina no Moliinspiration. **Fonte:** Figura adaptada de (www.molinspiration.com).



No entanto, as previsões *in silico* não substituem ou desqualificar testes experimentais, e ambos devem trabalhar em parceria. Pois, a parte experimental *in vitro* e testes *in vivo* da farmacocinética são particularmente importantes para a avaliação de um novo medicamento e, portanto, indispensáveis. Tem-se que as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmica dos compostos estão intimamente associados com a estrutura química. Logo, os dados experimentais são armazenados em banco de dados do computador, e um grande número de observações experimentais são comparadas com a estrutura. Estas propriedades podem ser utilizadas para assistir a avaliação dos compostos *in silico* (TETKO *et. al.*, 2006).

Nos últimos anos, grupos de pesquisa vêm utilizando esses extensos bancos de dados cujos fragmentos são —*classificados* em valores numéricos (*scores*) e moléculas inéditas podem ser projetadas e avaliadas *in silico* nas suas potenciais bioatividades. Entre eles o banco de dados fornecido pelo programa *Molinspiration Cheminformatic®* (<http://www.molinspiration.com/>).

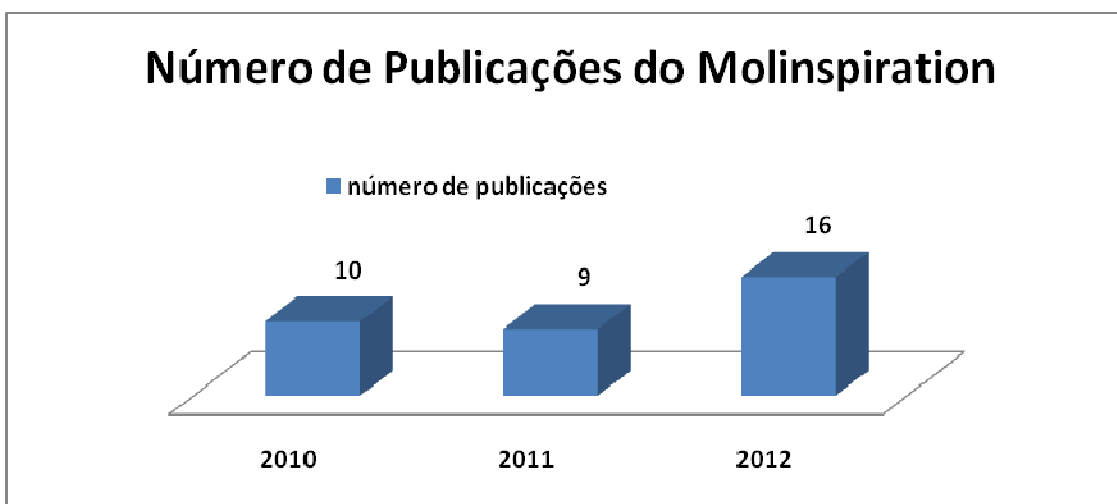
O *Molinspiration Cheminformatic* é um programa de software disponível gratuitamente na internet e oferece manipulação e processamento de moléculas, incluindo SMILES e conversão SDfile, a normalização das moléculas, a geração de tautômeros, fragmentação molecular, cálculo de várias propriedades moleculares necessários em QSAR, modelagem molecular e desenho de drogas, representação das molécula com alta qualidade, ferramentas de banco de dados moleculares que suportam pesquisas de subestrutura e semelhança. Além do mais, esse software suporta também fragmento de despistagem virtual, previsão de bioatividade e visualização de dados (figura 10) (<http://www.molinspiration.com/>).

A tendência de usar o software está em constante crescimento, especialmente em centros de pesquisa e universidades. Como pode-se perceber pelo aumento de citações da utilização do Molinspiration nos últimos anos (Figura 11).

Portanto, o planejamento de um novo fármaco seguido dos testes necessários a sua liberação comercial consome investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) da ordem de milhões de dólares e décadas de trabalho de uma equipe multidisciplinar. Logo, para otimizar tempo e custos, essas ferramentas vem sendo introduzidas nesse processo de avaliação de um candidato a fármaco.

Os avanços científicos e tecnológicos nas interfaces entre a química e biologia têm proporcionado oportunidades e desafios notáveis na área de P&D de fármacos, com amplo destaque para dois componentes fundamentais: inovação e integração, que traduzem muito bem o papel central da química medicinal moderna

Figura 11: O número de publicações desde 2010 até 2012, tendo como palavra chave “Molinspiration”. **Fonte:** Figura adaptada de (www.scifinder.cas.org).



A área de P&D de fármacos vem crescendo de forma acentuada no Brasil. Essa tendência deve ser ampliada cada vez mais, mediante investimentos em infraestrutura, qualificação de pessoal e em pesquisa, incentivando um desenvolvimento regional mais equilibrado e a consolidação de parcerias entre universidade, governo e indústria. Olhar para o futuro requer uma visão estratégica numa perspectiva de continuidade. São fundamentais criatividade e ousadia para perceber e antecipar fármacos realmente promissores

1.7 Como agem os fármacos

Um dos princípios básicos da farmacologia afirma que as moléculas dos fármacos precisam exercer alguma influência química sobre um ou mais constituintes das células para produzir uma resposta farmacológica. Em outras palavras, as moléculas de um fármaco precisam ficar tão próximas das moléculas dos constituintes celulares que os dois interajam quimicamente de tal modo que a função desses últimos seja alterada (RANG e DALE, 2007)

Esses sítios de ligação tão importante são referidos com frequência como “alvo farmacológico”. Os mecanismos pelos quais a associação entre uma molécula de um fármaco e seu alvo leva a uma resposta fisiológica constituem o foco principal da pesquisa farmacológica (Figura 12). A maioria dos alvos farmacológicos é representada por moléculas proteicas (RANG e DALE, 2007).

Há quatro tipos principais de proteínas reguladoras que normalmente atuam como alvos farmacológicos primários: receptores, enzimas, moléculas carregadoras (transportadoras) e canais iônicos (RANG e DALE, 2007).

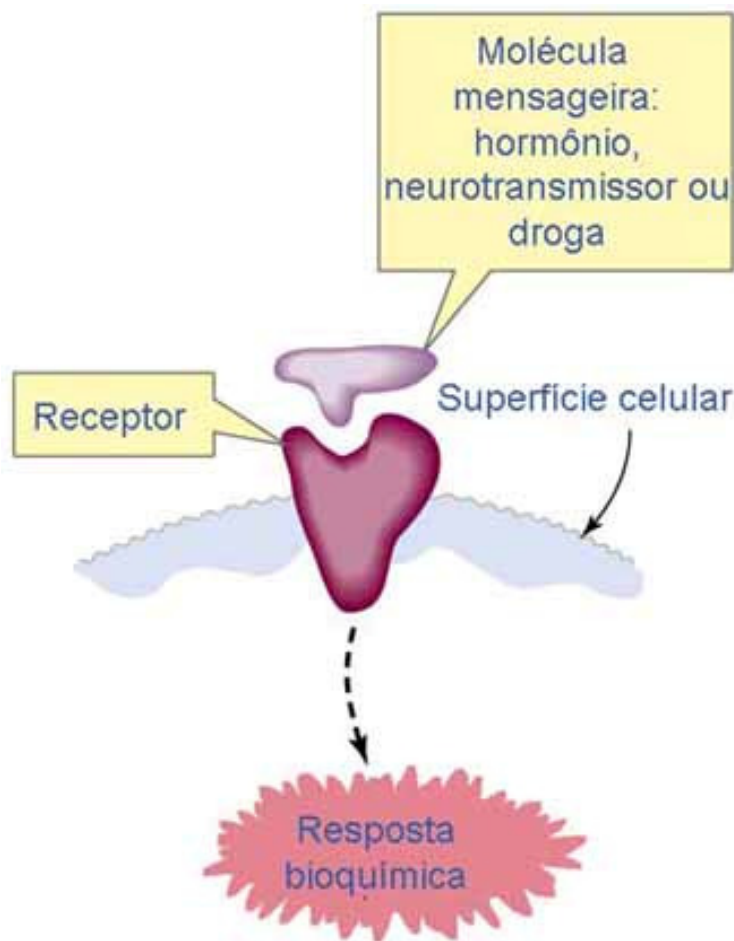
Já são conhecidos alguns outros tipos de proteínas que atuam como alvos farmacológicos, e existem muitos fármacos com sítios de ação ainda desconhecidos. Há também muitos fármacos que, além de se ligarem a seus alvos primários, são conhecidos por se ligarem a proteína do plasma e a uma variedade de proteínas celulares, sem produzir nenhum efeito fisiológico evidente (RANG e DALE, 2007).

Os fármacos ditos estruturalmente inespecíficos são aqueles que dependem única e exclusivamente de suas propriedades físico-químicas, (coeficiente de partição, pKa) para promoverem o efeito biológico. Os anestésicos gerais são um exemplo clássico de substâncias que pertencem a esta classe de fármacos, uma vez que seu mecanismo de ação envolve o bloqueio dos canais iônicos e conseqüentemente a propagação do potencial de ação das biomembranas lipoprotéicas, elevando o limiar de excitabilidade celular ou a interação inespecífica com sítios hidrofóbicos de proteínas do sistema nervoso central, provocando perda da consciência (<http://qnesc.sbq.org.br/>).

Os fármacos estruturalmente específicos exercem seu efeito biológico pela interação seletiva com uma determinada biomacromolécula alvo, que apresenta na maior parte dos casos propriedades de enzima, proteína sinalizadora (receptor), canal iônico ou ácido nucléico. O reconhecimento do fármaco (micromolécula) pela biomacromolécula depende do arranjo espacial dos grupamentos funcionais e das propriedades da superfície da micromolécula, que devem ser complementares ao sítio de ligação localizado na macromolécula, o sítio receptor.

A ligação dos fármacos aos receptores envolve todos os tipos de interação química conhecidos: iônicas polares (íon-dipolo ou íon-íon) e não iônicas (dipolo-dipolo), as ligações de hidrogênio, as hidrofóbicas, as de Van der Waals e as covalentes. (<http://www.ufpi.br/>).

Figura 12: Moléculas sinalizadoras e seus receptores. **Fonte:** Figura adaptada de (<http://www.uff.br/WebQuest/pdf/comunicacao.htm>).



1.8 Canais iônicos como alvos primários para a ação dos fármacos

Os canais iônicos são formados por proteínas integrais e estão presentes nas membranas plasmáticas das células. Alguns desses canais (conhecidos como canais iônicos controlados por ligante ou receptores ionotrópicos) incorporam um receptor e se abrem apenas quando o receptor é ocupado por um agonista; como também há canais que podem ser ativados tanto por variação do potencial de membrana (VOC'S – voltage operated channels), e ainda por estimulação mecânica ou via agentes intracelulares, como íons cálcio, nucleotídeos cíclicos, trifosfato de inositol e proteína G (que liga nucleotídeos de Guanosina) (Garrett e Grisham, 1995).

São três os VOC's: canais de potássio (K^+), de sódio (Na^+) e de cálcio (Ca^{2+}); cada um com vários subtipos. Entre os canais de Ca^{2+} operados por voltagem

(VOCC's), por exemplo, existem os subtipos: "P", "T", "N", "Q", "R" e, o melhor estudado, o "L", que se localiza em terminações nervosas pré e pós-sinápticas, além de em outras células corporais. O cálcio, tanto de origem extracelular quanto intracelular, tem um papel de destaque na sinalização celular em várias funções orgânicas (Garrett e Grisham, 1995).

Entre os receptores ionotrópicos, pode-se destacar diferentes tipos: receptor nicotínico de acetilcolina. Forma um canal catiônico. Quando ativado, induz à despolarização celular, resultando em excitação fisiológica.

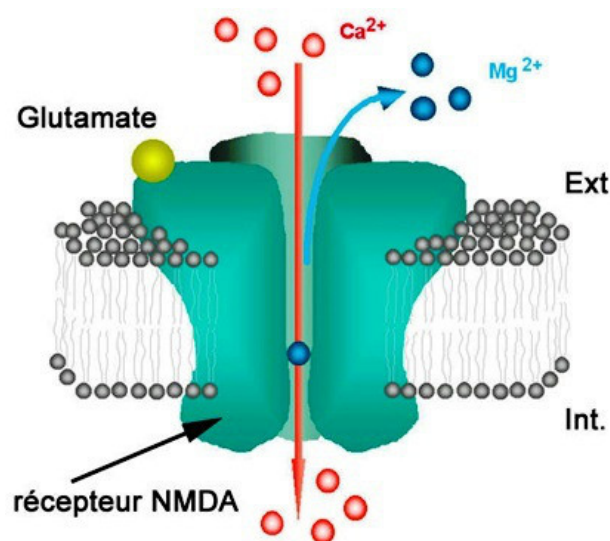
Os receptores de glutamato do tipo N-metilD-aspartato (NMDA) são seletivos aos íons Na^+ e Ca^{2+} e despolarizam a célula, sendo bloqueados pelo Mg^{2+} (figura 13).

O cainato (seletivo aos íons Na^+ e K^+) e o AMPA (seletivo ao Na^+). Ambos são receptores ionotrópicos de glutamato do tipo não NMDA e contribuem para as correntes pós-sinápticas excitatórias.

O receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA), neurotransmissor inibitório, do subtipo A (GABA_A) e o receptor da glicina, que são canais de cloreto (Cl^-) e que quando ativados geram hiperpolarização.

Além desses, outros receptores são relacionados como ionotrópicos, tais como: o receptor 5HT_3 da serotonina.

Figura 13 Receptor NMDA. **Fonte:** Figura adaptada de (<http://audiology.wordpress.com/>).



Capítulo 2:

Objetivos

2. OBJETIVOS

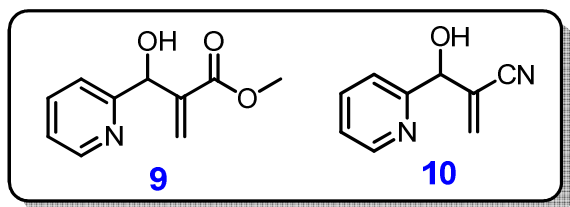
2.1 Objetivos gerais

Dentro de um programa de pesquisa que visa à síntese total de moléculas que tenham uma razoável complexidade estrutural associada com um perfil biológico promissor, nos propusemos a desenvolver estudos para efetuar a síntese das Indolizinas (Figura 14). Cabe salientar que não se encontram na literatura relatos de uma síntese eficiente e “verde” para o derivado 2-Indolizina.

Para isso, decidiu-se explorar a potencialidade sintética dos Adutos de Morita-Baylis-Hillman como matéria prima simples, de fácil obtenção, baixo custo e com elevada versatilidade sintética.

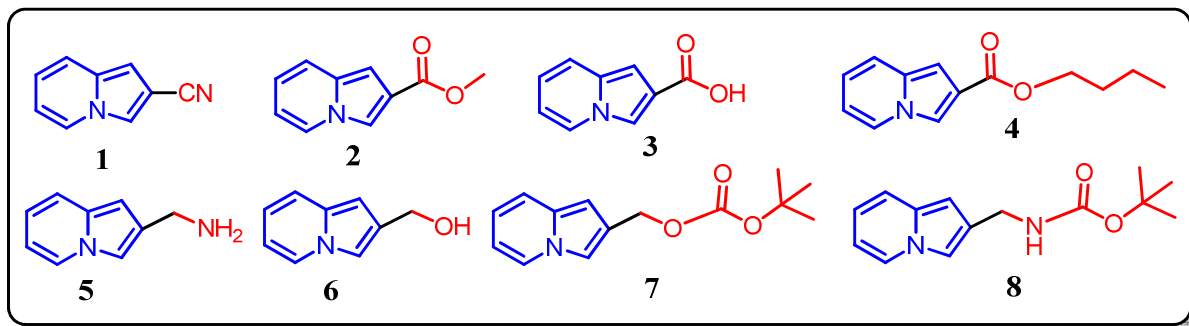
2.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar os Adutos de Baylis-Hillman **9** e **10**



- ✓ Sintetizar novos compostos indolizínicos a partir dos Adutos **9** e **10**
Otimizar rotas sintéticas estabelecidas na obtenção das Indolizinas
- ✓ Caracterizar as Indolizinas (**1** a **8**), pelas técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (^1H e ^{13}C), Espectroscopia de infravermelho e Espectrometria de Massas de alta resolução (Figura 14).
- ✓ Otimizar rotas sintéticas estabelecidas na obtenção das Indolizinas

Figura 14: Estruturas selecionadas para ser sintetizadas



Capítulo 3:

Estratégias

3. ESTRATÉGIA

Alguns fatos já conhecidos e estudos com base na química medicinal serviram de grande suporte no desenvolvimento deste trabalho sintético. Uma descrição sucinta da ideia principal adotada nesta pesquisa é apresentada a seguir.

De acordo com o que foi exposto anteriormente em relação aos Adutos de Baylis-Hillman, sua obtenção em altos rendimentos e utilizando materiais de partida baratos, torna possível e viável a utilização desta estrutura como parte importante na obtenção das Indolizinas.

Outro fato importante vem da observação dessas estruturas no programa de *quimioinformática*, *molinspiration*. Nesse programa, foram desenhadas várias Indolizinas com diversos grupos funcionais. No entanto, as moléculas propostas foram as que apontaram uma alta e específica atividade biológica. Como também, corroborando com planejamento sintético, tem-se os relatos da literatura da importância do núcleo da Indolizina.

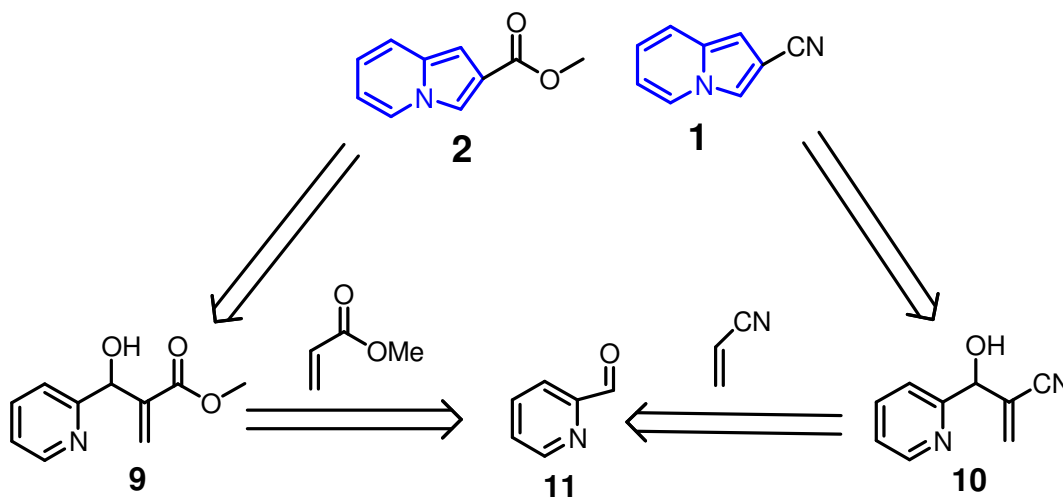
Diante disto a proposta adotada neste trabalho foi baseada na ciclização termal de determinados Adutos de Baylis-Hillman, como um fator determinante para formação do núcleo da Indolizina, previamente descritos por Bode e colaboradores (1990). Como também acredita-se que a investigação da melhor condição, tais como: temperatura, solvente e catalisadores, acarretarão no meio ideal para a obtenção do produto em poucas etapas e em ótimos rendimentos.

Diante desses dados, propusemos a síntese e otimização de novos compostos indolizínicos a partir do Aduto de Baylis-Hillman, 2 –(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila(**10**) e metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato(**9**), em uma série de oito Indolizinas (**1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8**), como mostra a Figura 14

No esquema 6 é mostrada a análise retrosintética das Indolizinas **1 e 2** propostos neste trabalho, que pode ser obtido a partir do Aduto de Morita-Baylis-Hillman, metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato (**9**) e 2 –(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila (**10**) respectivamente. O Adutos **9 e 10**, por sua vez, podem ser obtido a partir da reação de Morita-Baylis-Hillman, utilizando o mesmo aldeído, piridina-2-carboxialdeído(**11**), e o acrilato de metila para a síntese (**9**) e acrilonitrila para síntese (**10**). Propõe na etapa de formação da Indolizina a descoberta de um meio ideal como: um solvente adequado e na presença irradiação de micro-ondas,

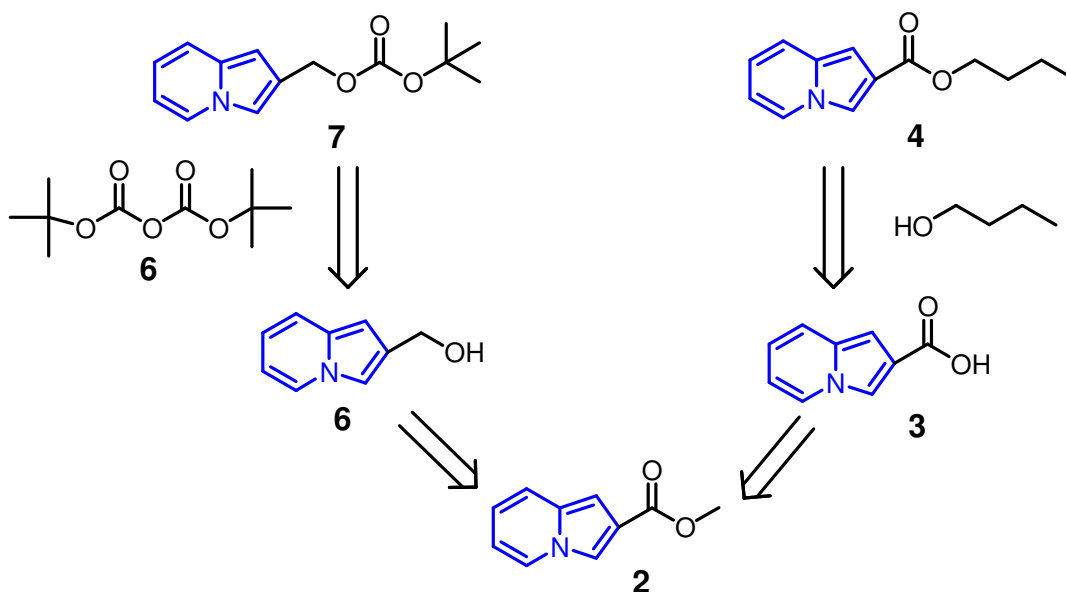
para a diminuição das etapas de obtenção desse produto previsto na literatura, ou seja, evitaria etapa de acetilação da hidroxila.

Esquema 6 Análise retrosintética de duas Indolizinas(1 e 2) proposto no trabalho.



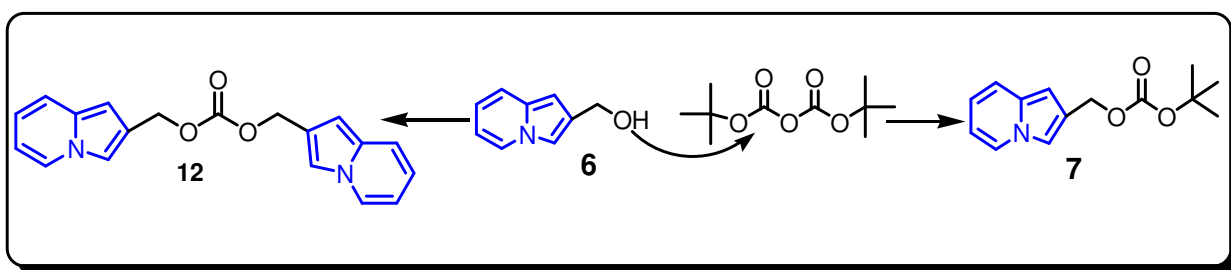
As Indolizinas **3 e 6** podem ser preparadas a partir da indolizina **2** (esquema 7) através da hidrólise em meio básico e uma reação de redução da porção éster respectivamente. A síntese de **6** deve ocorrer com uma boa seletividade.

Esquema 7 Análise retrosintética das Indolizinas (**3,4,6 e 7**) proposto no trabalho



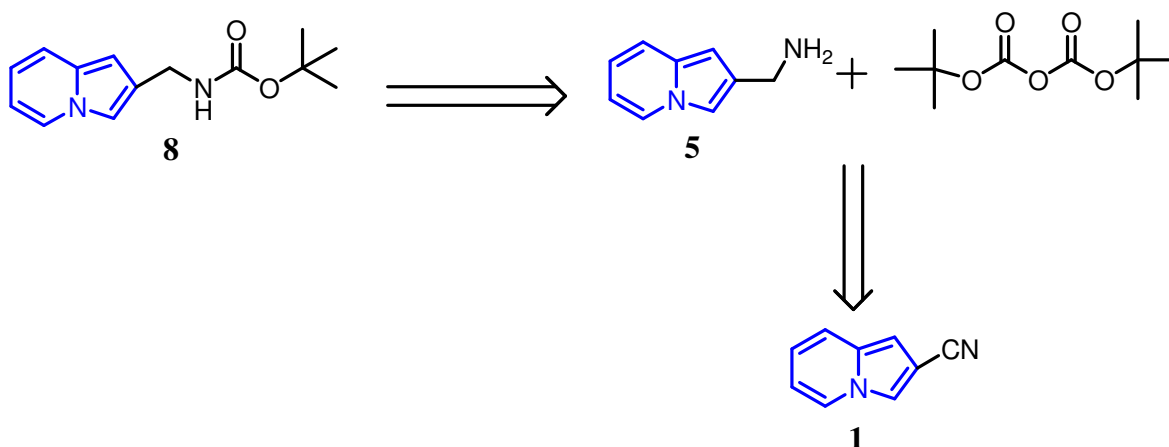
Através dessa seqüência, a síntese da indolizina **4** e **7** poderia ser obtida a partir de uma reação de esterificação (esquema 7). No caso do **7**, o ataque nucleofílico é crítico nessa etapa, pois há possibilidade de formação de dois tipos de produtos (Esquema 8) (YOCHAI e ALFRED, 2000).

Esquema 8 Possibilidade de formação da bis(indolizin-2-il metil) carbonato e tert-butil (indolizin-2-ilmetil) carbonato



A Indolizina **8** pode ser obtida a partir da Indolizina **5**, através de uma reação de amidação. Por sua vez, a preparação da Indolizina **5** se dá via a Indolizina **1**, a partir da reação de redução (Esquema 9).

Esquema 9 Análise retrossintética de duas Indolizinas (**8** e **5**) proposto no trabalho



Por fim, com as avaliações da atividade biológica frente a canais iônicos, poderemos então procurar entender melhor a relação entre estrutura química e a atividade das Indolizinas propostas neste trabalho, bem como reforçar a hipótese do possível grupo farmacofórico contido na estrutura química. Como também corroborar

o uso da quimioinformática como ferramenta para auxiliar na descoberta de novos fármacos.

Capítulo 4:

Resultados

e

Discussões

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção são apresentados os avanços e as dificuldades encontradas em cada etapa sintética desenvolvida neste trabalho.

4.1 Screening virtual das Indolizinas via moliinspiration

Os compostos selecionados mostrados na (figura 14) foi baseado na evolução *in silico* do uso do Moliinspiration.

Esse programa destaca-se por classificar as potenciais bioatividades separadas das moléculas em cinco classes: *Inibidores de canais iônicos, receptores Nucleares, Inibidores enzimáticos, ligantes para sistemas Proteína G*. Estas potencialidades moleculares são expressas na forma de valores numéricos (*scores*). Conhecendo o valor numérico médio do banco de dados do programa, moléculas que apresentem *scores* maiores que a media serão potenciais mediadores dos alvos correspondentes. Por exemplo na tabela 1, a estrutura **7** apresentou valor de score: + 0.64 para modulador de canais iônicos e score: + 0.42 para inibidor de enzima, que são maiores do que a média de score das droga datadas no banco de dados do programa (<http://www.molinspiration.com/>)

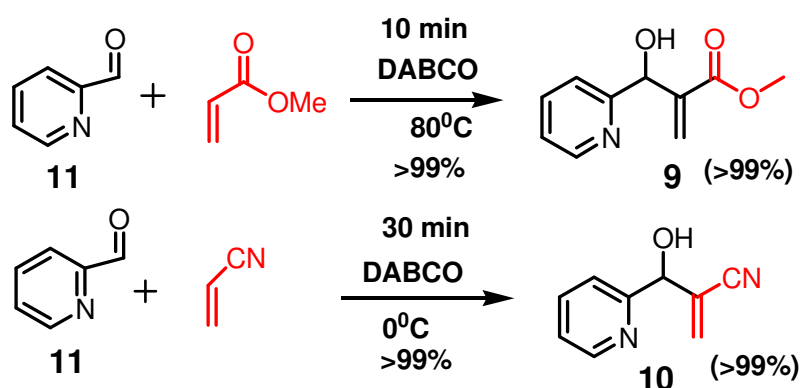
Tabela 1: Screening virtual dos resultados obtidos no Molinspiration dos compostos 1-7 e a média de score das moléculas drug-like e do banco de dados

Entrada	Composto	R-L violação ^b	M.C.I. Score ^c	I.E. score ^d
1	Indolizina	0	-0.65	-1.40
2	1	0	+0.32	-0.17
3	2	0	+0.39	-0.03
4	3	0	+0.59	-0.03
5	4	0	+0.48	0.00
6	5	0	+0.85	-0.10
7	6	0	+0.51	-0.07
8	7	0	+0.64	+0.42
9	8	0	+0.97	+0.37
10	M.S.D ^a	-	+0.25	+0.30

4.2 Obtenção do Aduto de Morita-Baylis-Hillman 2 e 3

A primeira reação visando a síntese da Indolizina consistiu na síntese do Aduto de Morita-Baylis-Hillman **9** e **10**. Para tanto utilizamos uma metodologia sintética descrita na literatura para a obtenção desses AMBH. O esquema 10 mostra as condições para a síntese desses compostos (LIMA-JUNIOR *et al*, 2011).

Esquema 10 Reação de obtenção do Aduto de Morita-Baylis-Hillman 9 e 10



A reação de Morita-Baylis-Hillman possui duas qualidades importantes: economia de átomos e geração de grupos funcionais. A reação é essencialmente tri-componente envolvendo o acoplamento da posição α de um alceno ativado com eletrófilos de carbono sob a influência catalítica de uma amina terciária, fornecendo assim uma metodologia simples e conveniente para a síntese de moléculas densamente funcionalizadas. O mecanismo de reação envolve uma sequência iniciada por uma adição de Michael seguida de eliminação. A reação pode se dar na presença ou não de espécies próticas. Na ausência de álcool, a primeira etapa do processo envolve a adição da amina sobre o acrilato para formar o enolato.

As reações foram acompanhada por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA). O tempo total da reação foi 10 min para o Aduto **9** e 30 minutos para o Aduto **10**, com um rendimento de 99% após a purificação do produto em cromatografia em coluna. Os dois produtos se apresentaram na forma de um óleo.

O produto **9** foi identificado como sendo o Aduto de MBH esperado para a reação. Na análise do seu espectro de RMN¹H (Espectro 42), mais especificamente, na faixa entre 5,5 e 6,5 ppm podemos observar os sinais relativos aos Hidrogênios da dupla ligação terminal e também do Hidrogênio ligado ao Carbono carbinólico,

todos na forma de simpletos (s, 1H) confirmando, como esperado, a formação da ligação C-C.. Nos espectros de RMN ^{13}C (Espectro 41) o sinal mais importante diz respeito ao carbono carbinólico mostrando a formação da ligação C-C dos Adutos e foram identificados em torno de 72,01 ppm. O segundo sinal importante a se destacar apresenta deslocamento químico δ 136.620 ppm, atribuído ao carbono alfa do sistema insaturado do acrilato.

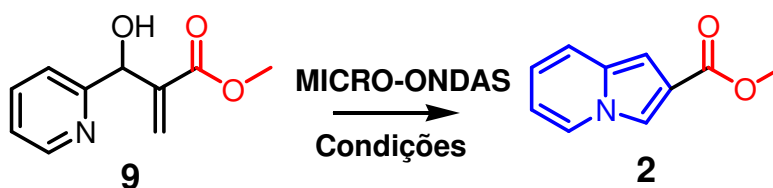
Na análise do espectro de RMN ^{13}C do produto **10** (Espectro 40), dois sinais que são característicos para o grupo de Adutos de MBH propostos neste trabalho, o primeiro é um sinal com deslocamento químico δ 74,31 ppm, atribuído ao carbono carbinólico formado e a ausência deste sinal indica a não formação do Aduto..

Na análise dos espectros de RMN ^1H do produto **10** (Espectros 38) foi possível observar dois simpletos δ 6,06 ppm (1H) e 6,23 ppm (1H) que, pelos deslocamentos químicos, foram atribuídos a dois hidrogênios vicinais de uma dupla ligação terminal, proveniente do sistema insaturado da nitrila

4.3 Obtenção da Indolizina (2) via Aduto de Morita-Baylis-Hillman (9)

Após a obtenção do Aduto **9**, prosseguiu-se a síntese, no intuito de promover a ciclização, para formação da Indolizina **2** (esquema 11).

Esquema 11 Esquema de obtenção da Indolizina **2**



De acordo com o estudo do efeito do solvente para obtenção de algumas Indolizinas (MEDINA, 2008), os solventes próticos foram significativamente melhores sobre os solventes apróticos e que a reação se processava com maior rapidez com o metanol, pois de acordo com o mecanismo, proposta para a formação do núcleo da indolizina, o solvente prótico melhora o grupo abandonador, logo utilizou-se o metanol como solvente de partida para a síntese da metil Indolizina 2 carboxilato(**2**).

Como também fez-se uso da irradiação do micro-ondas e a variação das condições, como está disposta na (tabela 2).

De acordo com os resultados descritos na Tabela 2, podemos destacar que embora observa-se em CCDA a conversão dos reagentes em produto, utilizando Amberlyst-15 ácido seca, a obtenção do produto isolado é altamente ineficiente frente a Amberlyst-15 ácida úmida, entrada 1 e 2, . Porém, comparando com as reações que prosseguiram na ausência da resina, esta se mostrou ineficiente. Logo, as reações sem catalisador processaram com maior eficiência.

Tabela 2 Otimizando as condições de obtenção da piridina-2-carboxialato (2)

Entrada	AMBH(2)	Solvente	Cat.	T(°C)	t(min)	Rend.
1	1mmol	3mL MeOH	Amb-15 úmida	100 ^o C	20	51%
2	1mmol	3mL MeOH	Amb15 seca	100 ^o C	20	17%
3	1mmol	3mL MeOH	-	100 ^o C	20	68%
4	1mmol	3mL MeOH	-	100 ^o C	60	55%
5	1mmol	2 mL MeOH	-	100 ^o C	60	46%
6	1mmol	1 mL MeOH	-	100 ^o C	60	55%
7	2.5 mmol	2 mL MeOH	-	100 ^o C	100	80%
8	3 mmol	2 mL MeOH	-	100 ^o C	100	70%
9	5mmol	2.5mL MeOH	-	100 ^o C	100	81%

De acordo com a tabela 2, na progressão da entrada 6 e 7 houve a mudança de 2 variáveis, sendo elas: a quantidade de Aduto(material de partida) e a mudança no tempo. Essas duas variações foram devido ao não consumo do material de partida nos 60 minutos, logo se prolongou o tempo de reação para 100 minutos.

Portanto, pode-se concluir com os resultados disposto na tabela, que há uma quantidade ideal de solvente na proporção aproximadamente de 0.5 mL para cada 1mmol, para alcançar o melhor rendimento, como também o aumento da escala favorece esse aumento de rendimento.

A princípio o produto da reação foi identificado apenas por CCDA comparando-o com o material de partida **9**. O produto **2** apresentou um fato de retenção maior, como esperado para produtos mais apolares.

A mistura foi colocada dentro do aparelho de micro-ondas e irradiado a 300w e depois foi resfriada à temperatura ambiente, onde o metanol foi extraído do meio reacional e o produto foi isolado da reação bruta por cromatográfica em coluna. Os produtos da reação foram concentrados sob pressão reduzida e caracterizados de RMN ^1H e RMN ^{13}C , cromatografia gasosa acoplado ao um detector de massa e infravermelho.

O produto se apresentou na forma de um sólido esbranquiçado, e na análise do seu espectro de infravermelho (espectro 29) foi possível observar uma absorção em 1708 cm^{-1} , uma banda característica de estiramento de ligações $\text{C}=\text{O}$ (carbonilas) de éster. Uma banda em 1215 cm^{-1} e 1100 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento da ligação $\text{C}-\text{O}$ bem como as bandas 3132 cm^{-1} ($\text{C}-\text{H } sp^2$) e 3113 cm^{-1} ($\text{C}-\text{H } sp^2$) podem ser atribuídas ao anel indolizínico. A ausência de uma banda larga em torno de 3200 cm^{-1} confirma que a reação foi bem sucedida, uma vez que essa banda seria característica de estiramento de ligação $\text{O}-\text{H}$, presente no AMBH.

Na análise do espectro de RMN ^1H (espectro 25) podemos observar os valores de deslocamento químicos δ 7.80(m, 2H), 7.31(d, $J = 8\text{ Hz}$, 1H), 6.81(s, 1H), 6.66(m, 1H), 6.50(m, 1H) e 6,61 (1H, $J = 1,8$ e $17,2\text{Hz}$) ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios ligados ao núcleo da Indolizina. E o valor do deslocamento químico δ 3.87(s, 3H) pode ser atribuído aos hidrogênios do grupo metoxila da porção éster.

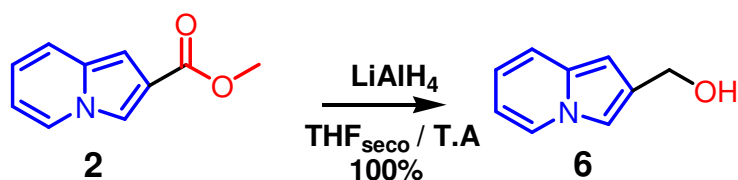
Através da análise do espectro de RMN ^{13}C (espectro 27) foi possível observar os sinais que confirmaram a formação do produto da reação, são eles: δ 101.08, 112.95, 116.60, 118.85, 120.29, 120.96, 126.06, 133.46 ppm. Estes sinais foram atribuídos ao núcleo indolizínico. Como também evidenciou o aparecimento do carbono carbonílico da função éster em 167,20 ppm, assim como o carbono da metoxila em 52,13 ppm.

ESI-MS m/z $[(M+H)^+]$: massa calculada – 175.06; massa observada – 175(espectro 28).

4.4 Obtenção da indolizina-(6) via Indolizina (2)

Para a síntese de **6**, realizou-se a reação de redução do composto carbonílico **2** na qual o hidreto de lítio e alumínio(LiAlH_4) foi utilizado como agente redutor e THF seco como solvente da reação (Esquema 12).

Esquema 12 Esquema de obtenção da Indolizina **6**



A utilização de hidretos de boro e de alumínio para a redução de compostos carbonílicos é muito comum na redução de ésteres e ácidos carboxílicos(TEMBA et. al, 2003).

A estrutura química desses hidretos consiste em um ânion formado por um átomo central ligado covalentemente a quatro átomo de hidrogênio. Nesse ânion, o átomo central encontra-se com a (carga formal -1), ligado ionicamente a um cátion metálico (carga +1). A redução exaustiva de sistemas carbonílicos α,β – insaturados por hidretos metálicos envolve a redução inicial da carbonila, seguida de transferência de hidreto intramolecular para a ligação dupla(COSTA et. al, 2003) como exemplificado no esquema 13 para a redução do éster.

Esquema 13 Proposta mecanística para redução do éster. **Fonte:** esquema adaptado de (COSTA et al,2003).

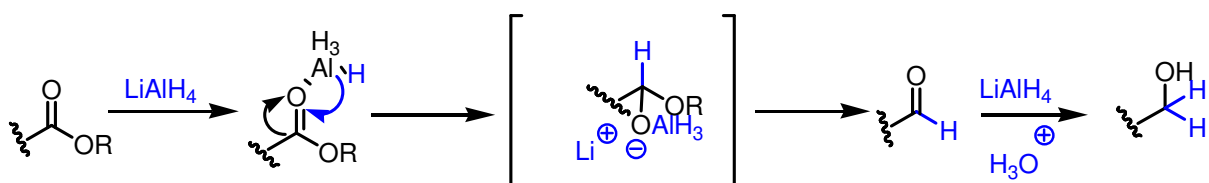
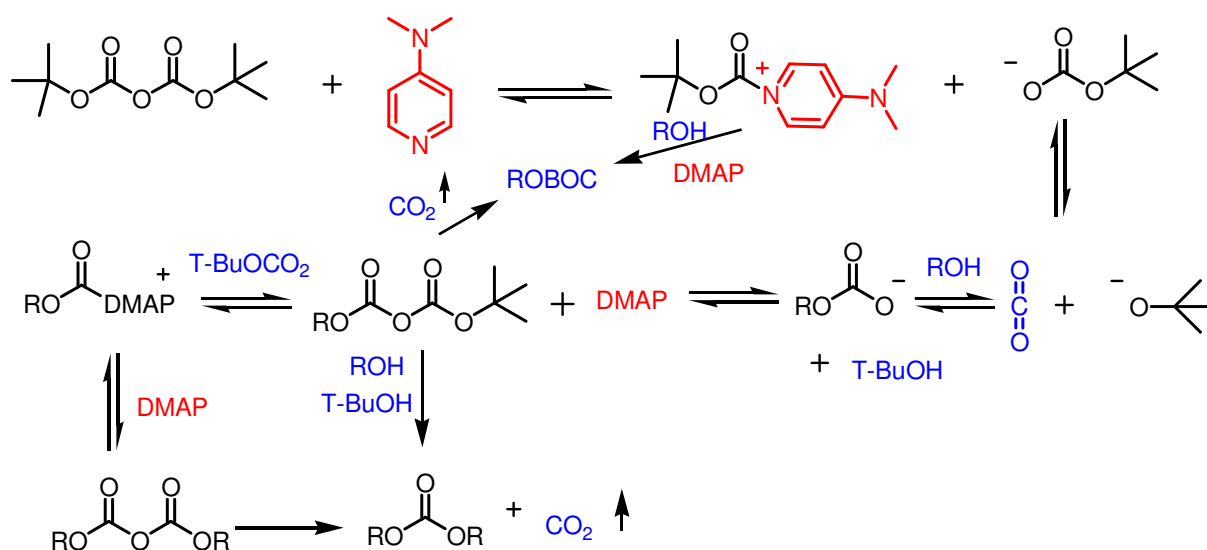


Tabela 3 As condições de obtenção do terc-butil indolizin-2-il metil carbonato (**7**)

Entrada	6	Solvente (5 mL)	DMAP	BOC ₂ O	t(min.)	T(°C)	7, Rend
1	1 mmol	-	0.4 Equiv.	3 mL	60	T.A.	56%
2	1 mmol	CH ₃ CN	0.4 Equiv.	1.2 Equiv.	60	T.A	43 %
3	1 mmol	Tolueno	0.4 Equiv.	1.3 Equiv.	30	T.A	< 5%
4	1 mmol	dioxano	0.4 Equiv.	1.3 Equiv.	30	T.A	100%

Após a formação do produto protegido, seguiu-se o isolamento, obtendo um líquido viscoso de coloração marrom com rendimento de 100%

Esquema 15: Mecanismo de reação do álcool com o BOC₂O-DMAP. **Fonte:** Esquema adaptada de (YOCHAI e ALFRED, 2000)



A proposta mecanística é mostrada no esquema 15 onde consiste na ativação do pirocarbonato pelo DMAP seguido do ataque da amina secundária sobre o intermediário formado.

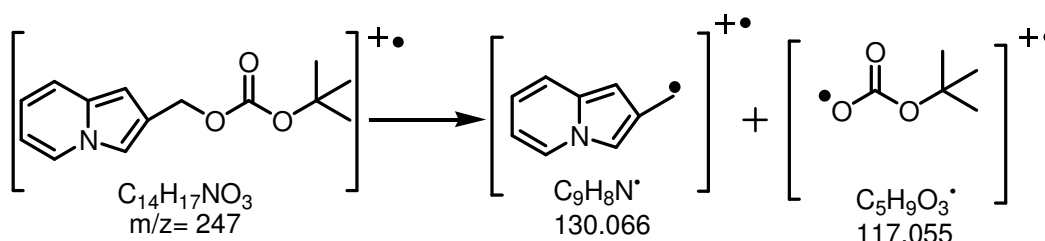
A formação do produto **7** ficou claramente evidenciada pelo espectro de infravermelho (espectro 10), no qual o estiramento da hidroxila que estava em

3290.56 cm^{-1} desaparece e aparece o estiramento em 1739.79 cm^{-1} correspondente à carbonila do carbonato, como era de se esperar para este sistema.

Igualmente elucidativo foi o espectro de RMN de ^1H (espectro 6) que mostrou o aparecimento dos hidrogênios correspondente às metilas do grupo BOC em 1,49 ppm (s,9H) . Da mesma forma o espectro de RMN de ^{13}C (Espectro 8) mostrou o aparecimento do carbono carbonílico do carbonato em 154,33 ppm.

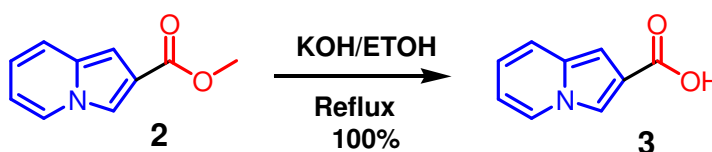
A formação dos derivados da Indolizina foi corroborada através do espectro de massas do CG-MS(Espectro 9) pela presença dos íons molecular $m/z = 247$ e alguns fragmentos (Esquema 16).

Esquema 16: Algumas fragmentações do derivado da Indolizina 7



4.6 Obtenção da indolizina (3) via Indolizina (2)

Esquema 17 Reação de obtenção da Indolizina 3



O composto **3** foi obtido conforme metodologia descrita na literatura (BODE e KAYE, 1994), ou seja, a reação foi realizada utilizando a mistura de etanol e Hidróxido de potássio juntamente com metil Indolizina 2-carboxilato(**2**), sendo em seguida acrescentado uma mistura de $\text{HCl/H}_2\text{O}$.

O produto foi obtido sem maiores problemas com rendimento quantitativo e foi plenamente identificado de acordo com a análise espectroscópica.

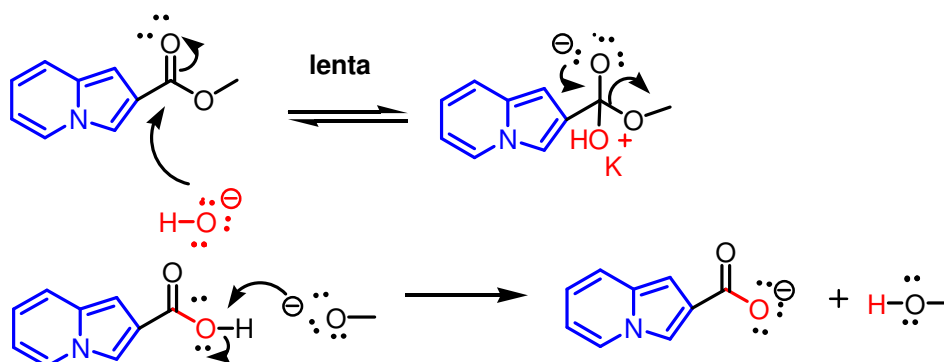
Observou-se no infravermelho (Espectro 19) o desaparecimento do sinal referente ao estiramento da ligação (carbonila) do éster em 1741 cm^{-1} e o

aparecimento uma banda larga correspondente ao estiramento OH e a C=O (carbonila) do ácido em 1670 cm^{-1} . O espectro de RMN ^1H (Espectro 16) mostrou o desaparecimento do sinal referente ao grupo metila do éster $\delta\ 3.87(\text{s}, ^1\text{H})$ ppm e o surgimento do sinal referente ao hidrogênio da hidroxila $\delta\ 12.36 (\text{sl}, ^1\text{H}, \text{OH})$, e no espectro de RMN ^{13}C (Espectro 18) mostrou o desaparecimento do sinal do carbono carbonílico do éster em $167,20\text{ ppm}$, assim como a metila do éster em $52,13\text{ ppm}$.

A hidrólise promovida por base é algumas vezes chamada de *saponificação*, da palavra em latim *sapo*, *sabão*. O refluxo de um éster em hidróxido de potássio ou sódio aquoso, por exemplo, produz um álcool e o sal de sódio do ácido.

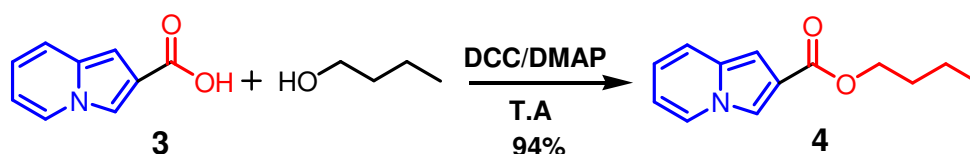
O íon carboxilato é muito pouco reativo frente à substituição nucleofílica por ser carregado negativamente. A hidrólise de um éster promovida por base, como resultado, é uma reação irreversível (Esquema 18).

Esquema 18 Mecanismo de reação da Hidrólise básica de éster. **Fonte:** Esquema adaptada de (SOLOMON e FRYHLE, 2006)

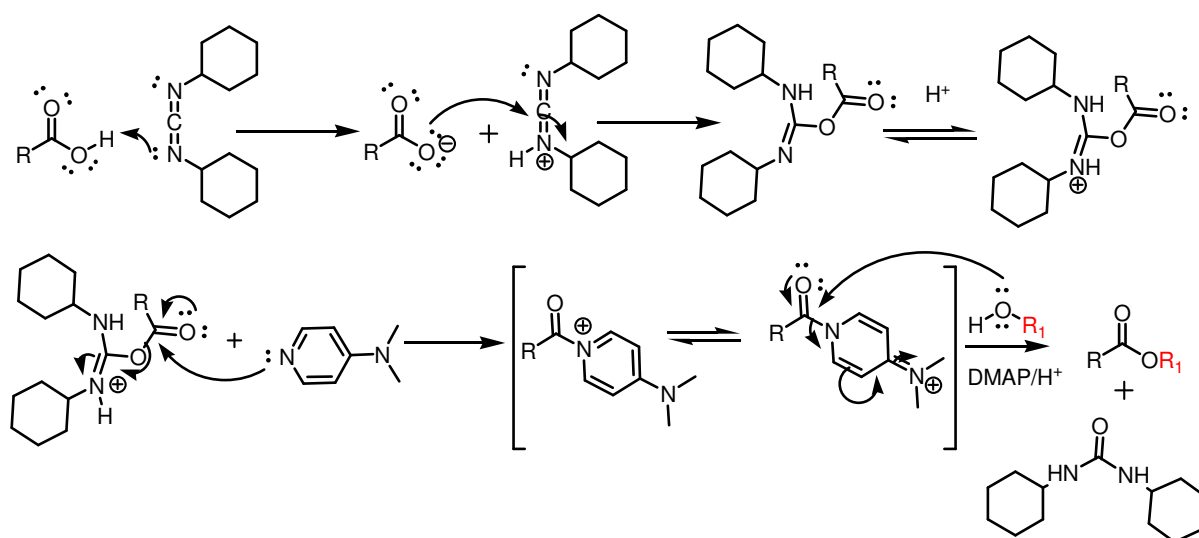


4.7 Obtenção da Indolizina (4) via indolizina (3)

A preparação da etapa sintética para obtenção de **4** (Esquema 19) foi realizada utilizando dicicloexilcarbodiimida (DCC) como agente desidratante, N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) como catalisador nucleofílico, juntamente com a Indolizina **3** e o Butanol. A reação foi realizada a temperatura ambiente.

Esquema 19: Reação de obtenção da Indolizina 4

O uso do DCC como agente desidratante na esterificação de ácido carboxílico é um método rotineiramente utilizado (COSTA, *et al*, 2003). A adição de DMAP como catalisador nucleofílico é geralmente feita para casos onde o ácido carboxílico seja pouco eletrofílico.

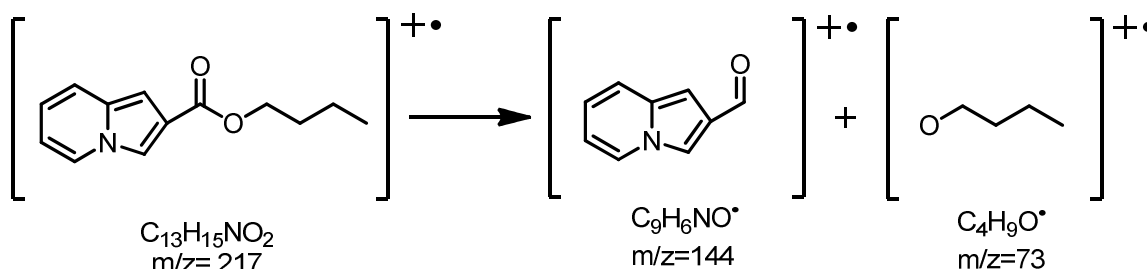
Figura 15 Mecanismo de esterificação com DCC/DMAP. **Fonte:** Esquema adaptada de (<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/steglich-esterification.shtml>)

A formação do produto foi comprovada pelo espectro 15 na região de IV que mostrou o desaparecimento do sinal correspondente ao estiramento da carbonila do ácido em 1670 cm^{-1} e a formação do sinal correspondente ao estiramento da carbonila do éster em $1708\text{ (C=O)}\text{ cm}^{-1}$ assim como pelo ressonância de ^1H (Espectro 11) onde pode se verificar o aparecimento dos metilenos do éster na faixa 1.46(m, 1H) , 1.69(m, 1H) e 4.26(t, 3H) ppm e da metila em 0.94(t, 3H) ppm e pelo C^{13} (Espectro 13) onde se observou o desaparecimento do carbono carbonílico do ácido

em δ 167.10 ppm e o aparecimento do sinal correspondente ao carbono carbonílico do éster em δ 165.93 ppm.

A formação dos derivados da Indolizina foi corroborada através do espectro de massas do CG-MS (Espectro 14) pela presença dos íons molecular $m/z = 217$ e alguns fragmentos (Esquema 20).

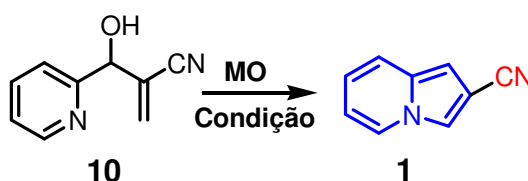
Esquema 20: Algumas fragmentações do derivado da Indolizina 4



4.8 Obtenção da Indolizina (1) via Aduto de Morita Baylis Hillman (10)

Primeiramente efetuou-se a síntese do Aduto de Morita-Baylis-Hillman **10** a partir do aldeído **11** com o acrilonitrila a 0°C, como disposto no esquema 21, obtendo-o com rendimento de 99% em apenas 30 min.

Esquema 21 Reação de obtenção da Indolizina **1**



A seguir, a mistura foi colocada dentro do aparelho de micro-ondas e irradiando, variando as condições como está disposto na tabela 4. Observa-se que na entrada 8 obteve-se um rendimento de 70% da indolizina **1** que é superior frente ao da literatura 32%

O produto se apresentou na forma de um sólido marrom, e a análise do seu espectro de infravermelho (Espectro 5) foi possível observar uma absorção em 2229 cm^{-1} característica de estiramento de ligações CN (nitrila). Uma banda em 3128 cm^{-1}

1 pode ser atribuída ao estiramento da ligação C-H (sp^2), bem como as bandas 1635 e 1404 cm^{-1} pode ser atribuídas ao estiramento das ligações C=C. A ausência de uma banda larga em torno de 3200 cm^{-1} confirma que a reação foi bem sucedida, uma vez que essa banda seria característica de estiramento de ligação O-H, presente no AMBH.

Tabela 4: As condições de obtenção da indolizina 1.

Entrada	Aduto 3 (mmol)	cat	Solvente (1mL)	T(°C)	t (min.)	Rend(%) ^a
1	1	200 mg wet Amb– 15	MeCN	100	60	8
2	1	-	MeCN	100	60	10
3	1	-	MeCN	100	90	15
4	1	-	DMF	100	60	>5 b
5	1	-	AC ₂ O	100	90	45
6	1	-	MeOH	100	60	>5 b
7	1	-	EtOH	100	60	32
8	1	-	TFE ^c	100	60	70
9	1.5	-	TFE ^c	100	60	56
10	1.5	-	TFE ^c	100	90	61

a rendimento isolado; **b** complexo de misturas com o produto; **c** 2,2,2-trifluoroetanol

Na análise do espectro de RMN¹H (Espectro 1) podemos observar os valores de deslocamento químicos δ 7.84(d, J = 8 Hz, 1H), 7.65(s, 1H), 7.32(d, J =8 Hz, 1H), 6.78(m, 1H), 6.61(m, 2H) ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios ligados ao núcleo da Indolizina.

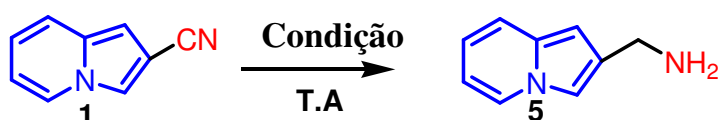
Através da análise do espectro de RMN¹³C (Espectro 3) foi possível observar os sinais que confirmaram a formação do produto da reação, são eles: δ 97.90, 103.14, 113.75, 118.20, 120.19, 120.34, 125.79, 133.31 ppm. Estes sinais foram atribuídos ao núcleo indolizínico. Como também evidenciou o aparecimento do carbono da função nitrila em 117,21 ppm.

ESI-MS m/z [(M+H)+]: massa calculada – 142.05; massa observada – 142(Espectro 4)

4.9 Obtenção da Indolizina (5) via Indolizina (1)

Para a síntese de **5**, realizou-se a reação de redução do composto **1** na qual o hidreto de lítio e alumínio (LiAlH_4) foi utilizado como agente redutor e THF seco como solvente da reação.

Esquema 22 Reação de obtenção da Indolizina 5



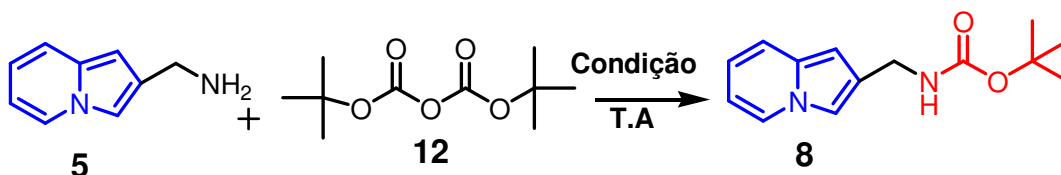
Ao realizar esta etapa sintética utilizou-se o THF seco como solvente e em atmosfera inerte, juntamente com 1mmol de Indolizina **1**. O sucesso desta reação é a formação da amina **5** em 98.54% de rendimento, após 3 horas.

A formação do produto foi comprovado pelo Espectro 34 na região de IV que mostrou o desaparecimento do sinal 2229.71 cm^{-1} característica de estiramento de ligações CN (nitrila) e a formação do sinal correspondente ao estiramento da amina $3275.13(\text{NH})\text{ cm}^{-1}$, assim como pelo ressonância de ^1H (Espectro 32) onde pode se verificar desaparecimento do carbono da função nitrila em $\delta\ 117,21\text{ ppm}$.

ESI-MS $m/z\ [(\text{M}+\text{H})^+]$: massa calculada – 146.08; massa observada – 146(Espectro 33)

4.9.1 Obtenção da Indolizina (8) via Indolizina (5)

Esquema 23 Reação de obtenção da Indolizina 8



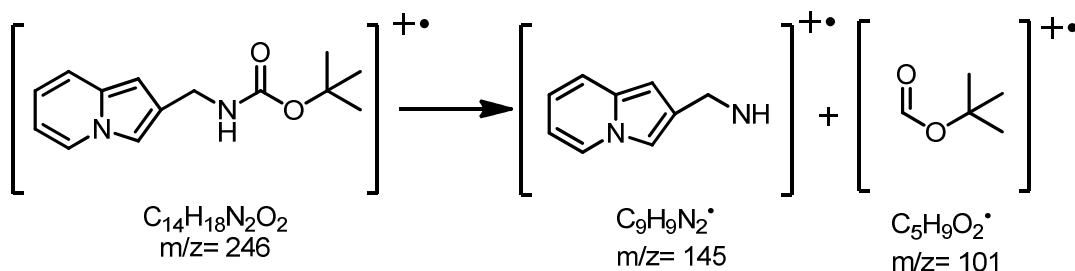
Segundo os procedimentos utilizados na síntese de proteção das aminas com BOC (Di-*tert*-butil Dicarbonato), conforme metodologia similares descrita na literatura(YOCHAI e ALFRED, 2000).

A preparação da etapa sintética para obtenção de **8** (Esquema 23) foi realizada utilizando 1mmol da Indolizina **5**, 1 mL acetonitrila juntamente com 1.2 mmol BOC₂O. A reação foi realizada a temperatura ambiente.

A formação do produto foi verificada por espectroscopia na região do IV (Espectro 24) onde se observou o aparecimento do sinal de absorção correspondente ao estiramento da carbonila do carbamato em 1685 cm⁻¹ assim como por ressonância de ¹H (Espectro 20) onde pode se verificar o aparecimento das metilas do grupo BOC em 1.47 ppm e por ¹³C (Espectro 22) onde se observou o aparecimento do carbono carbonílico do carbamato em 156.59 ppm.

A formação dos derivados da Indolizina foi corroborada através do espectro de massas do CG-MS(Espectro 23) pela presença dos íons molecular m/z= 246 e alguns fragmentos (Esquema 24).

Esquema 24: Algumas fragmentações do derivado da Indolizina **8**



Capítulo 5:

Conclusão

5. CONCLUSÃO

Os resultados observados neste trabalho mostraram que as rotas sintéticas idealizadas, demonstraram ser eficientes, fáceis e rápidas proporcionando bons resultados para a obtenção das Indolizinas em bons rendimentos a partir dos AMBH, como por exemplo: Um passo eficiente em rota de AMBH para preparar Indolizina-2-carbonitrila(**1**) foi descoberta (micro-ondas, 70% uma etapa, versus 32%, por aquecimento convencional, duas etapas), como também um caminho para um passo eficiente Indolizina-2-carboxilato de metila(**2**) (micro-ondas, 81% uma etapa, versus 70%, por aquecimento convencional, duas etapas). Estes dois compostos foram utilizados para preparar, em rendimentos elevados os compostos na Figura 14. A síntese do carbonato (**7**) e carbamato (**8**) não descrito na literatura foram realizadas com rendimentos muito elevados.

Nós também apresentamos aqui a nossa estratégia com base em química medicinal, ou seja, fazendo uso de uma estrutura privilegiada. Como também a utilização do programa *Molinspiration cheminformatic* dirigindo a seleção de compostos com potencial seletivo de atividades biológicas em moduladores de canal iônico. Os estudos biológicos destes compostos como fármacos anti-hipertensivos estão agora em avaliação.

Capítulo 7:

Parte Experimental

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiais e métodos

As reações envolvendo reagentes sensíveis à umidade foram realizadas sob atmosfera inerte de argônio em balão previamente seco em estufa anidra.

Alguns solventes comerciais utilizados foram previamente tratados. Tetraidrofurano (THF) foi previamente refluxado na presença de sódio/benzofenona e argônio imediatamente antes do uso. Os demais solventes e reagentes foram obtidos de fornecedores especializados e usados sem prévio tratamento e purificação.

Todas as reações foram monitoradas por cromatografia de camada delgada analítica CCDA

usando cromatofolhas Macherey-Nagel UV254 suportadas em gel de sílica 60 como fase estacionária onde a detecção foi em lâmpada de UV de 254 nm. A purificação dos produtos foi feita utilizando a técnica de cromatografia em coluna do tipo flash utilizando também gel de sílica como fase estacionária da marca Acros, apresentando uma granulometria de 0.035 - 0.070mm, Acetato de Etila/Hexano ou acetato de etila/metanol como fase móvel. Os solventes foram todos evaporados a pressão reduzida e temperatura controlada em evaporador rotatório da marca Fisaton.

As reações que necessitaram de irradiação de micro-ondas foram feitas em um reator de micro-ondas CEM® modelo Discover-sistem benchmate com temperatura monitorada por sensor de infravermelho.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ^1H e ^{13}C) foram obtidos a partir de dois equipamentos: um espectrômetro Varian Mercury Spectra AC 20 (200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C) para os Adutos (9 e 10) e as Indolizinas 1-8.

Os deslocamentos químicos foram expressos utilizando Clorofórmio deuterado (CDCl_3), Metanol deuterado (CD_3OD) e dimetilsulfóxido (DMSO-d_6). com tetrametilsilano (TMS) como padrão interno.

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm.

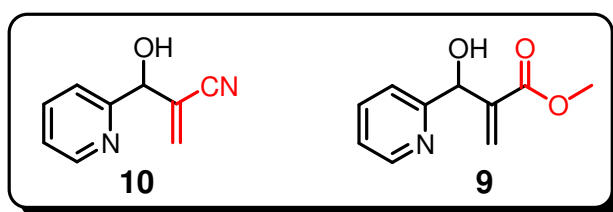
Os espectros de hidrogênio são apresentados na seguinte ordem: números de hidrogênios; multiplicidade (s, singlete; d, duplete; dd, duplo duplete; td, triplo duplete; ddd, duplo duplo duplete; t, tripleto; dt, duplo tripleto; q, quarteto; dq, duplo quarteto; quint, quinteto; m, multiplete; sl, sinal largo); atribuição; constante de acoplamento (J) em Hertz.

Os espectros de Infravermelho foram registrados no espectrofotômetro FTIR modelo IRPrestige-21 do fabricante Shimadzu com resolução de 8cm⁻¹ verredura/Escans e utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr).

Os dados de espectrometria de massas foram medidos em um espectrômetro CGMS – QP2010. Os espectros de massas de alta resolução foram determinados usando um espectrômetro MicroTOF Ic Bruker Daltonics.

A numeração dos compostos obtidos não segue regras de numeração oficial, foram referenciados somente para facilitar a atribuição dos sinais e a nomenclatura dos compostos obtidos e descritos nesta tese corresponde à nomenclatura oficial da IUPAC fornecida pelo programa ChemBioDraw Ultra 11.78

6.2 Procedimento geral para a síntese do 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila(10) e metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato (9)



Em um balão de 25 mL, foi adicionado 1 mmol (107 mg) da 2-piridina carboxialdeído, 0,4 mL de acrilonitrila (6 mmol) e 1 mmol de DABCO para a formação do Aduto **10**. Essa mistura reacional foi colocada em banho de gelo e sob agitação magnética. Após 30 minutos, seguiu-se o isolamento.

Na síntese do Aduto **9** utilizou-se 0,6 mL de acrilato de metila (6,6 mmol), 1 mmol de DABCO e 1 mmol (107 mg) da 2-piridina carboxialdeído. A reação foi realizada sob irradiação de micro-ondas à 80° C (leitura monitorada por sensor de infravermelho) durante 10 minutos (“Hold Time”) sob condições de vaso fechado (“closed vessel”). A reação foi acompanhada por CCDA. Após o término da reação,

a mistura reacional foi diretamente filtrada em sílica gel, usando acetato de etila-Hexano (2:8) como eluente.

O produto foi concentrado a pressão reduzida obtendo como rendimento para o 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila(10) 99% com tempo de reação de 30 minutos e o metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato(9) 99% com o tempo de reação 10 minutos.

Caracterização do metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato(9):

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ= 3,71 (s, 3H); 5,61 (s, 1H); 5,96 (s, 1H); 6,34 (s, 1H); 7,19 (ddd, 1H, 7,6/5,0/0,6 Hz); 7,40 (d, 1H, 8,0 Hz); 7,66 (ddd, 7,8/7,6/1,6 Hz); 8,51 (m, 1H).

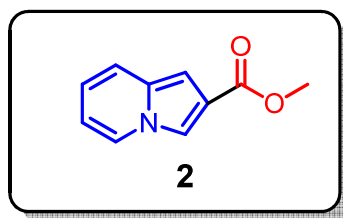
¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ= 51,82; 72,01; 121,22; 122,61; 126,83; 136,82; 141,56; 148,16; 159,40; 166,47.

Caracterização do 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila(10):

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ= 5,00 (sl, 1H); 5,31 (sl, 1H); 6,06 (s, 1H); 6,23 (s, 1H); 7,31 (m, 1H); 7,41 (d, 1H, 7,8 Hz); 7,77 (ddd, 1H, 7,8/7,6/1,6 Hz); 8,57 (m, 1H).

¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃): δ = 74,31; 118,15; 122,69; 125,16; 127,07; 132,54; 139,01; 149,80; 157,48.

6.3 Procedimento para a síntese da metil Indolizina 2 carboxilato (2).



A Indolizina **2** foi preparada por reação do AMBH com o metanol com auxílio de um aparelho de micro-ondas. A mistura de metil 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilato(**9**) (5mmol) e metanol em 2.5mL, foram colocados em tubo de vidro específico para reator de micro-ondas, juntamente com um agitador magnético. A reação foi realizada sob irradiação de micro-ondas à 100° C (leitura monitorada por

sensor de infravermelho) durante 100 minutos (“Hold Time”) sob condições de vaso fechado (“closed vessel”). Após o término da reação, o solvente foi evaporado a pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando Acetato de Etila / Hexano como eluente, resultando em um sólido esbranquiçado com rendimento de 81% após o isolamento.

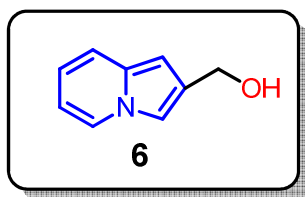
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.80(m, 2H), 7.31(d, J = 8 Hz, 1H), 6.81(sl, 1H), 6.66(m, 1H), 6.50(m. 1H), 3.87(s, 1H)).

^{13}C NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 52.13, 101.08, 112.95, 116.60, 118.85, 120.29, 120.96, 126.06, 133.46, 166.29.

IR (cm^{-1}): 3132.40(C-H sp^2), 3113.11(C-H sp^2), 2943.37(C-H sp^3), 1708.93(C=O), 1215.15(C-O).

GCMS: m/z = 175 (íon molecular), 144, 117, 89 e 63

6.4 Procedimento para a síntese da Indolizina-2-il metanol (6).



Em um balão de 50mL, foi adicionado 1mmol (175mg) de ester, 10mL de THF seco e hidreto de lítio e alumínio em excesso. A adição de hidreto de lítio e alumínio foi realizada a 0°C , devido à essa reação ser exotérmica. Esta reação foi mantida sob agitação magnética, temperatura ambiente e na presença de argônio. Após 3 horas de reação, neutralizou a mistura reacional com hidróxido de amônio aquoso e fez-se uma filtração adicionando diclorometano, em seguida iniciou-se o seu isolamento. O isolamento desta reação foi feito transferindo o meio reacional para um funil de separação com a ajuda de 15mL de diclorometano, em seguida a fase orgânica foi lavada com uma solução gelada de NaOH 10% (2 x 8mL) e

posteriormente com uma solução saturada e gelada de NaCl (1 x 8mL). A fase orgânica foi separada da fase aquosa, seca em Na₂SO₄ e filtrada. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e temperatura controlada em evaporador rotatório, obtendo um sólido marrom com rendimento de 100%.

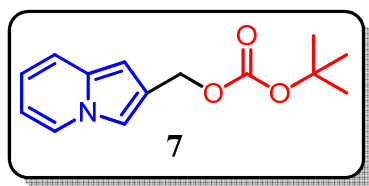
¹³C NMR (200 MHz, CD₃OD): δ= 142.73, 141.19, 136.29, 129.39, 127.53, 121.61, 119.94, 108.47, 68.01

¹H NMR (200 MHz, CD₃OD): δ= 7.86(m, 1H), 7.14(s, 1H), 7.05(d, *J*=8,1H), 6.37(m, 1H), 6.20(m, 1H), 6.03(s, 1H), 3.51(s,2H).

IR (cm⁻¹): 3290.56(O-H), 2916.37(C-H *sp*³), 2866.22(C-H *sp*³), 1458.18(-CH₂-), 1138.00(C-O).

CG-MS: *m/z* = 147(ion molecular), 147,130 e 118

6.5 Procedimento para a síntese do terc-butil indolizina-2-il metil carbonato (7).



A Indolizina **6** (1 mmol) foi adicionada a 5 mL de dioxano juntamente com 0.4 mmol de DMAP e 1.3 mmol de BOC₂O, estes foram mantidos sob agitação magnética a temperatura ambiente. A agitação foi continuada durante 30min à temperatura ambiente, acompanhadas pela técnica de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). Após a formação do produto protegido, seguiu-se o isolamento. O isolamento desta reação foi feito transferindo o meio reacional para um funil de separação com a ajuda de 15mL de diclorometano, em seguida a fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa com 2% HCl (2x 10mL). As alíquotas da fase orgânicas foram combinadas e seca sob sulfato de sódio anidro. O produto foi

concentrado sob pressão reduzida e a temperatura controlada em evaporador rotatório, obtendo um líquido viscoso de coloração marrom com rendimento de 99%.

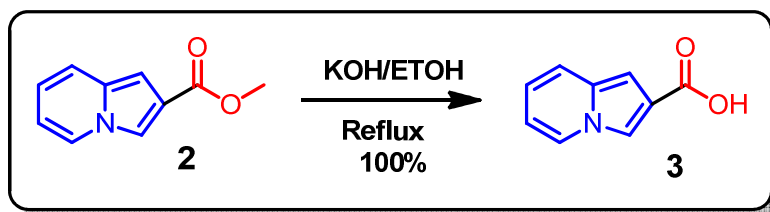
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.85(d, J = 6 Hz, 1H), 7.35(m, 2H), 6.64(m, 1H), 6.47(m, 2H), 5.21(s, 1H), 1.49(s, 9H).

^{13}C NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 28.55, 63.48, 82.72, 100.02, 111.27, 112.83, 118.04, 119.92, 124.11, 125.82, 133.65, 154.35.

IR (cm^{-1}): 2978.09(C-H sp^2), 2927.94(C-H sp^2), 2854.65(C-H sp^3), 1739.79(C=O), 1458.18 e 1369.46(-CH₃, 1280.73(C-O).

CG-MS: m/z = 247(íon molecular), 191, 147, 130 e 118.

6.6 Procedimento para a síntese da Indolizina-2-ácido carboxílico(3)



O composto **3** foi obtido conforme metodologia descrita na literatura(BODE e KAYE, 1994), ou seja, adicionou-se a metil Indolizina 2-carboxilato(3mmol) com uma solução de KOH(18.9mmol) em 21 mL de etanol. Em seguida foi deixado em refluxo por 16 horas. Após as 16 horas foi adicionado água até solubilizar o sólido contido na mistura reacional e em seguida adicionou-se uma solução aquosa de HCl(7%) para ajustar o pH na faixa de 2-3.

O isolamento desta reação foi feito transferindo o meio reacional para um funil de separação com a ajuda de 20 mL acetato de etila, em seguida a fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL) e separada da fase aquosa. O filtrado foi seco sob sulfato de sódio anidro e evaporou-se o solvente sob pressão reduzida e

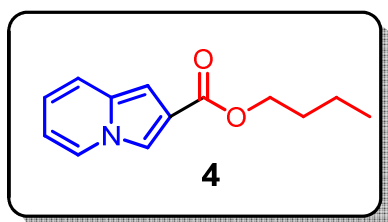
temperatura controlada em evaporador rotatório, obtendo um cristal de cor creme com rendimento de 100%.

^1H NMR (500 MHz, DMSO): δ = 12.36 (sl, 1H, OH), 8.27(d, J = 6, Hz, 1H), 8.05(s, 1H), 7.44(d, J = 8 Hz, 1H), 6.74(M, 3H).

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO): δ = 101.25, 113.22, 117.73, 119.68, 121.03, 121.29, 127.46, 133.43, 167.10

IR (cm^{-1}): 2920.23(O-H), 1670.35(C=O)

6.7 Procedimento para a síntese da butil Indolizina-2-carboxilato(4).



Em um balão de 50mL, foi adicionado 1 mmol de **3**(indolizina-2-ácido carboxílico), 3mmol butanol, ou seja, um dos reagentes serviu como solvente da mistura reacional, 1.2 mmol de **DCC** e 0.4 mmol de **DMAP**. A reação foi mantida sob agitação magnética e a temperatura ambiente e acompanhada por CCDA. A princípio o produto da reação foi identificado apenas por CCDA comparando-o com o material de partida **3**. O produto **4** encontrava-se localizado em uma parte mais apolar da placa, como esperado. Após 120 minutos seguiu-se o isolamento da seguinte forma: foi realizada a transferência do meio reacional para um funil de separação com a ajuda de 20 mL dicloro metano, em seguida a fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 20 mL) e separada da fase aquosa, seca em Na_2SO_4 e filtrada. Além do mais, foi realizada uma simples filtração em coluna cromatográfica, utilizando sílica gel (fase estacionária) da marca Acros, apresentando uma granulometria de 0.035 - 0.070mm, e uma mistura de Acetato de Etila / Hexano como fase móvel.

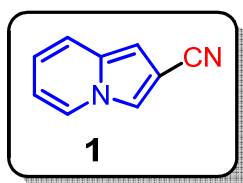
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.78(M, 2H), 7.32(d, J = 8 Hz, 1H), 6.79(sl, 1H), 6.62(M, 2H), 4.26(t, 2H), 1.69(quinteto, 2H), 1.46(sexteto, 2H), 0.94(t, 3H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 14.50, 19.99, 31.57, 64.76, 101.07, 112.87, 116.46, 118.76, 120.73, 120.91, 126.01, 133.41, 165.93

IR (cm^{-1}): 2958.80(C-H sp^2), 2870.08(C-H sp^3), 1708.93(C=O), 1458.18 e 1357.89(-CH₃), 1211.30(C-O).

GCMS: m/z = 217(íon molecular), 161, 144, 131, 117 e 89.

6.8 Procedimento para a síntese da Indolizina 2-carbonitrila (1)



A Indolizina **1** foi preparada por reação do AMBH com o metanol com auxílio de um aparelho de micro-ondas. A mistura de 2-(hidroxi(piridin-2-il)metil)acrilonitrila (**10**) (1.5mmol) e trifluoroetanol em 1 mL, foram colocados em tubo de vidro específico para reator de micro-ondas, juntamente com um agitador magnético. A reação foi realizada sob irradiação de micro-ondas à 100° C (leitura monitorada por sensor de infravermelho) durante 90 minutos (“Hold Time”) sob condições de vaso fechado (“closed vessel”). Após o término da reação, o solvente foi evaporado a pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando Acetato de Etila / Hexano como eluente, resultando em um sólido amarelo com rendimento de 61% após o isolamento.

A mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente onde o trifluoroetanol foi extraída do meio reacional em evaporador rotatório e o produto foi isolado da reação bruta por coluna cromatográfica através de sílica gel, usando Acetato de etila / hexano. Os produtos da reação foram concentrados sob pressão reduzida e caracterizados.

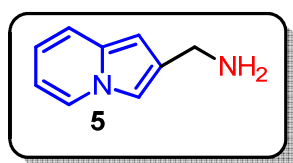
^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.84(d, J = 8 Hz, 1H), 7.65(s, 1H), 7.32(d, J = 8 Hz, 1H), 6.78(m, 1H), 6.61(m, 2H).

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 97.90, 103.14, 113.75, 117.21, 118.20, 120.19, 120.34, 125.79, 133.31

IR (cm^{-1}): 3128.54(C-H sp^2), 2229.71(CN), 1635.64 e 1404.18(C=C)

CG-MS: m/z = 142 (íon molecular), 115, 88 e 63.

6.0 Procedimento para a síntese da indolizina-2-il metanamina (5).



Em um balão de 50mL, foi adicionado 1mmol (142mg) de Indolizina-2-carbonitrila, 2 mL de THF seco e hidreto de lítio e alumínio em excesso. A adição de hidreto de lítio e alumínio foi realizada a 0°C, devido à essa reação ser exotérmica. Esta reação foi mantida sob agitação magnética, temperatura ambiente e na presença de argônio. Após um 3 horas de reação, neutralizou a mistura reacional com hidróxido de amônio aquoso e fez-se uma filtração adicionando diclorometano, em seguida iniciou-se o seu isolamento. O isolamento desta reação foi feito transferindo o meio reacional para um funil de separação com a ajuda de 15mL de diclorometano, em seguida a fase orgânica foi lavada com água destilada (2 x 8mL). A fase orgânica foi separada da fase aquosa, seca em Na_2SO_4 e filtrada. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e temperatura controlada em evaporador rotatório, obtendo um sólido creme com rendimento de 98.54%.

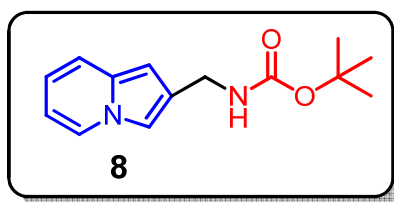
^1H NMR (500 MHz, DMSO): δ = 7.86(m, 1H), 7.14(s, 1H), 7.05(d, J = 8,1H), 6.37(m, 1H), 6.20(m. 1H), 6.03(s, 1H), 3.51(s,2H).

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO): δ = 98.98, 105.86, 110.64, 111.61, 117.88, 119.53, 126.80, 133.42

IR (cm^{-1}): 3275.13(NH), 3109.25, 2920.23(C-H sp^2), 2850.79(C-H sp^3), 1589.34(N-H), 1300.02(C-N).

CG-MS: m/z = 146 (íon molecular), 130, 118 e 89.

7.0 Procedimento para a síntese do tert-butil-indolizina-2-il metil carbamato (8)



A Indolizina **5** (1 mmol) foi adicionada a 1 mL de acetonitrila juntamente com 1.2 mmol de BOC_2O , estes foram mantidos sob agitação magnética a temperatura ambiente. A agitação foi continuada durante 90min à temperatura ambiente, acompanhadas pela técnica de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA). Após a formação do produto protegido, seguiu-se o isolamento. O solvente da mistura reacional foi extraído em evaporador rotatório e o produto foi isolado da reação bruta por coluna cromatográfica através de sílica gel, usando Acetato de etila / hexano como solvente. O produtos da reação foram concentrados sob pressão reduzida O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e temperatura controlada em evaporador rotatório, obtendo um sólido marrom com rendimento de 85.42%.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3): δ = 7.83(d, J = 6 Hz, 1H), 7.30(m, 2H), 6.66(m, 3H), 4.39(d, J = 6 Hz, 2H), 1.47(s, 9H)

^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3): δ = 29.10, 38.80, 80.02, 98.80, 110.88, 111.41, 117.89, 119.52, 125.74, 127.54, 133.71, 156.59.

IR (cm^{-1}): 3352.28(N-H), 2974.23(C-H sp^2), 2920.23(C-H sp^3), 1685.79(C=O), 1527.62(N-H), 1458.18 e 1385.60($-\text{CH}_3$).

CG-MS: m/z = 246 (íon molecular); 190, 145, 130 e 118

Referências

REFERÊNCIAS

1. BARREIRO, E. J., Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo, *Química Nova*, 25, 1172-1180, 2002.
2. Barreiro, E. J.; Manssour, C. A. M.; *Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*, Art Med Editora Ltda: Porto Alegre, 2001, p. 83-122.
3. Barreiro, Eliezer J. *Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos*/Eliezer J. Barreiro, Carlos Alberto Mansour Fraga.-2. Ed.-Porto Alegre: Artmed, 2008
4. BASAVAIAH, D.; RAO, J.; SATYANARAYANA, T. Recent advances in Baylis-Hillman reactions and applications, *Chemical Society Reviews*, v. 103(3), p. 811-891, 2003.
5. BASAVAIAH, D.; RAO, K. V.; REDDY, R. J. The Baylis–Hillman reaction: a novel source of attraction, opportunities, and challenges in synthetic chemistry, *Chemical Society Reviews*, v. 36, p. 1581–1588, 2007.
6. BASAVAIAH, D.; REDDY, B. S.; BADSARA, S. S. Recent Contributions from the Baylis-Hillman Reaction to Organic Chemistry RMBH, *Chemical Reviews*, v. 110, p. 5447–5674, 2010.
7. Bragg, D.R. and Wibberly., D.G.(1963) *Journal of the Chemical Society*, 3277.
8. Bode, M. L.; Kaye, P. T. A new synthesis of indolizines via thermal cyclisation of 2-pyridyl derivatives. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1990, 2612–2613; Bode, M. L.; Kaye, P. T. Indolizine studies, part 2: Synthesis and NMR spectroscopic analysis of 2-substituted indolizines. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1993, 1809–1815.
9. Borrows, E.T.; Holland D.O.; *Chem. Rev.* 42 (1948) 611.

10. Bolle, L.D.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Zhang, Y.; Lommel, A.V.; Otto, M.; Bousseau, A.; Roy, C.; Clercq, E.D.; Naesens, L.; *Biochem. Pharmacol.* 67 (2004) 325e336.
11. Boekelheide, V.; Windgassen, R. J.; Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, 1959, 81, 1456.
12. B-Wang, X.; Liu, W.; He, T.; He, H.-W. ; *Chin. J. Chem.* 24 (2006) 279e281
13. Campagna, F.; Carotti, A., Casini, G.; Macripo, M.; *Heterocycles* 31 (1990) 97e107.
14. Campbell, S. F.; *Clinical Science* 2000, 99, 255.
15. Chai, W.; Breitenbucher, J.G.; Kwok, A.; Li, X.; Wong, V.; Carruthers, N.I.; Lovenberg, T.W.; Mazur, C.; Wilson, S.J.; Axe, F.U.; Jones, T.K.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13 (2003) 1767e1770
16. Costantino, L.; Barlocco, D. Privileged Structures as Leads in Medicinal Chemistry. *Current Medicinal Chemistry*, 2006, ¹³, 65-85
17. COELHO, F. A. S.; ALMEIDA, W. P.; VERONESE, D.; MATEUS, C. R.; LOPES, E.; SILVEIRA, G. P. C. E.; ROSSI, R. C.; PAVAM, C. H. Ultrasound in Baylis-Hillman Reactions with Aliphatic and Aromatic Aldehydes: Scope and Limitations, *tetrahedron*, v. 58, p. 7437, 2002.
18. COSTA, P. R. R.; PILLI, R.A.; PINHEIRO, S.; VASCONCELLOS, M. L. A. A., *Substâncias Carboniladas e Derivados*, Porto Alegre: Bookman, P. 155-160, 2003.
19. DECLERCK, V.; MARTINEZ, J.; LAMATY, F. Aza-Baylis-Hillman Reaction, *Chemical Reviews*, v. 109 (1), p. 1-48.
20. de SOUZA, R. O. M. A.; MEIRELES, B. A.; AGUIAR, L. C. S.; VASCONCELLOS, M. L. A. A. Hexamethylenetetramine as a Cheap and Convenient

Alternative Catalyst in the Baylis–Hillman Reaction: Synthesis of Aromatic Compounds with Anti-Malarial Activity, *Synthesis*, No. 10, p.1595–1600, 2004.

21. de SOUZA, R. O. M. A.; VASCONCELLOS, M. L. A. A. The Use of DMAP as Catalyst in the Baylis-Hillman Reaction Between Methyl Acrylate and Aromatic Aldehydes. *Synthetic Communications*, v. 33, n. 8, p. 1383-1389, 2003.

22. de SOUZA, R. O. M. A.; MIRANDA, L. S.M. Recent Advances in the Morita-Baylis-Hillman Reaction Under Microwave Irradiation, *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, v. 7, Nº 3, p. 212-220(9), 2010.

23. de SOUZA, R. O. M. A.; FREGADOLLI, P. H.; AGUIAR, L. C.; GONÇALVES, K. M.; PEREIRA, V. L. P.; FILHO, L. C.; ESTEVES, P. M.; VASCONCELLOS, M. L. A. A.; ANTUNES, O. A. C. Hexamethylenetetramine-Ionic Liquids Combined System to Promote Baylis Hillman Reactions, *Organic Chemistry*, v. 3, p. 936, 2006.

24. Evans, B.E.; Rittle, K.E.; Bock, M.G.; DiPardo, R.M.; Freidinger, R.M.; Whitter, W.L.; Lundell, G.F.; Veber, D.F.; Anderson, P.S.; Chang, R.S.L.; Lotti, V.J.; Cerino, D.J.; Chen, T.B.; Kling, P.J.; Kunkel, K.A.; Springer, J.P.; Hirshfield, J. *J. Med. Chem.* 1988,3¹, 2235.

25. Garrett RH, Grisham CM. *Molecular aspects of cell biology*. Orlando: Sounders College Publishing; 1995.

26. Gundersen, L.-L.; Negussie, A.H.; Rise, F.; Østby, O.B.; *Arch. Pharm. Pharm. Med.Chem.* 336 (2003) 191e195.

27. Gupta, S.P.; Mathur, A.N.; Nagappa, A.N.; Kumar, D.; Kumaran, S.; *Eur. J. Med. Chem.* 38 (2003) 867e873.

28. Gubin, J.; Lucchetti, J.; Mahaux. J.; Nisato, D.; Rosseels, G.; Clinet, M.; Polster, P.; Chatelain, P.; *J. Med. Chem.* 35 (1992) 981e988. (a) Gubin, J.; Devogelaer, H.; Inion, H.; Houben, C.; Lucchetti, J.; Mahaux, J.; Rosseels, G.;

Peiren, M.; Clinet, M.; Polster, P.; Chatelain, P.; J. Med. Chem. 36 (1993) 1425e1433.

29. HAYASHI, Y.; OKADO, K.; ASHIMINE, I.; SHOJI, M. The Baylis–Hillman reaction under high pressure induced by water-freezing, Tetrahedron Letters, v. 43, p. 8683-8686, 2002

30. Honda, T.; Namiki, H.; Nagase, H.; Mizutani H.; Tetrahedron Letts 44 (2003) 3035 e 3038.

31. Kim, M.; Vedejs, E.; J. Org. Chem. 69 (2004) 6948.

32. LIMA, Lídia M. Química Medicinal Moderna: desafios e contribuição brasileira. *Quím. Nova*[online]. 2007, vol.30, n.6, pp. 1456-1468. ISSN 0100-4042.

33. Lima-Junior, C. G.; Fábio, P. L. Silva; Ramon, G. de Oliveira; Fernanda, L. Subrinho; Natália, G. de Andrade; Mário, L. A. A. Vasconcellos. Microwave Irradiation or Low Temperature Improved Synthesis of Antiparasitic Morita-Baylis-Hillman Adducts, J. Braz. Chem. Soc., Vol. 22, No. 11, 2220-2224, 2011

34. Marsden, S.P.; McElhinney, A.D.; Beil. J. Org. Chem. 4 (2008) 8

35. Malonne H.; Hanuise, J.; Fontaine, J.; Pharm. Pharmacol. Commun. 4 (1998) 241e243; (b) J. Gubin, J. Luchetti, J. Mahaux, D. Nisato, G. Rosseels, M. Clinet, P. Polster, P. Chatlain, J. Med. Chem. 35 (1992) 981e988.

36. MONTANARI, C. A., A Química Medicinal na próxima década, Química Nova, 23, 134-137, 2000.

37. MUCHMORE, S. W. EDMUNDS, J. J. STEWART, K. D. and HAJDUK, P. J. Cheminformatic Tools for Medicinal Chemists. J. Med. Chem., 53, 4830–4841, 2010.

38. Ong, C.; Lai, M.C.; Jan, J.J.; Chang, Y.A.; Heterocycles 57 (2002) 1303e1310.

39. Olden, K.; Breton, P.; Grzegorzewski, K.; Yasuda, Y.; Gause, B.L.; Creaipe, O.A.; Newton, S.A.; White, S.L.; *Pharmacol. Ther.* 50 (1991) 285e290.
40. Patchett, A. A.; Nargund, R. P. *Annu. Rep. Med. Chem.*, 2000, 35,289.
41. Pyne, S.G.; *Curr. Org. Synth.* 2 (2005) 39e57.
42. RANG, HP; DALE, M.M. *Farmacologia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007
43. Singh, G. S.; Mmatli E. E.; Recent progress in synthesis and bioactivity studies of indolizines. *European Journal of Medicinal Chemistry* 46 (2011) 5237e5257.
44. Sonnet, P.; Dallemagne, P.; Guillon, J.; Engueard, C.; Stiebing, S.; Tangué, J.; Bureau, B.; Rault, S.; Auvray, P.; Moslemi, S.; Sourdain, P.; Seralini, G.-E.; *Bioorg. Med. Chem.* 8 (2000) 945e955.
45. Shi, M.; Wang, F.; Zhao, M.-X.; Wei, Y. *Chemistry of the Morita–Baylis–Hillman Reaction*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 2011.
46. SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. *Química Orgânica*, 8ª edição. Volume 2. tradução de Robson Mendes Matos. Rio de Janeiro: LTC, 2006. p. 09
47. Swinbourne, F.J.; Hunt, J.H.; Klinkert, G.; *Adv. Heterocycl. Chem.* 23 (1978)103e170.
48. Teklu. S.; Gundersen, L.-L.; Larsen, T.; Malterud, K.E.; Rise, F.; *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 3127e3139.
49. TEMBA, E. S. C.; OLIVEIRA, I. M. F.; DONNICI, C. L., Alcoóis Quirais: Métodos Químicos e Catalíticos de Obtenção por Redução Assimétrica, *Quim. Nova*, 26: 112-122, 2003.
50. TETKO, I. V.; BRUNEAU, P.; MEWES, H.; ROHRER, D. C.; PODA, G. I. Can we estimate the accuracy of ADMET predictions? *Drug Disc. Today*, v.11, p.700-707, 2006.

51. Toyooka, N.; Zhou, D.; Nemoto, H.; Garraffo, H.M.; Spande, T.F.; Daly, W.; John, W.; Beil. J. Org. Chem. 3 (2007) 29.
52. VASCONCELLOS, Mário L.A.A. Morita–Baylis–Hillman adducts: Biological activities and potentialities to the discovery of new cheaper drugs. Bioorganic & Medicinal Chemistry 20 (2012) 3954–3971.
53. Zunino, F.; Kotchevar, A.T.; Waring, M.; Daoudi, M.; Larbi, N.B.; Mimouni, M.; Sam, N.; Zahidi, A.; Ben-Hadda, T.; Molecules 7 (2002) 628e640.
54. Zhou, J. ; Hu, Y.; Hu, H.; Synthesis (1999) 166e170.
55. Wei, L.; Drossi, A.; Morris-Natschke, S.L.; Bastow, K.F.; Lee, K.H.; Stud. Nat. Prod. Chem. 34 (2008) 3.
56. WERMUTH, C. G. ; GANELLIN, C. R.; LINDBERG, P.; MITSCHER, L. A., Glossary of terms used in medicinal chemistry, Pure & Applied Chemistry, 70, 1129-1143, 1998.
57. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/ctmc/2007/00000007/00000015/art00008> acesso em: setembro 2012-10-02.
58. Disponível em :< <http://www.molinspiration.com/>> acesso em: setembro 2012-10-02.
59. Disponível em :< www.scifinder.cas.org> acesso em: setembro 2012-10-02
60. Disponível em:< <http://www.uff.br/WebQuest/pdf/comunicacao.htm>> acesso em: setembro 2012-10-02.

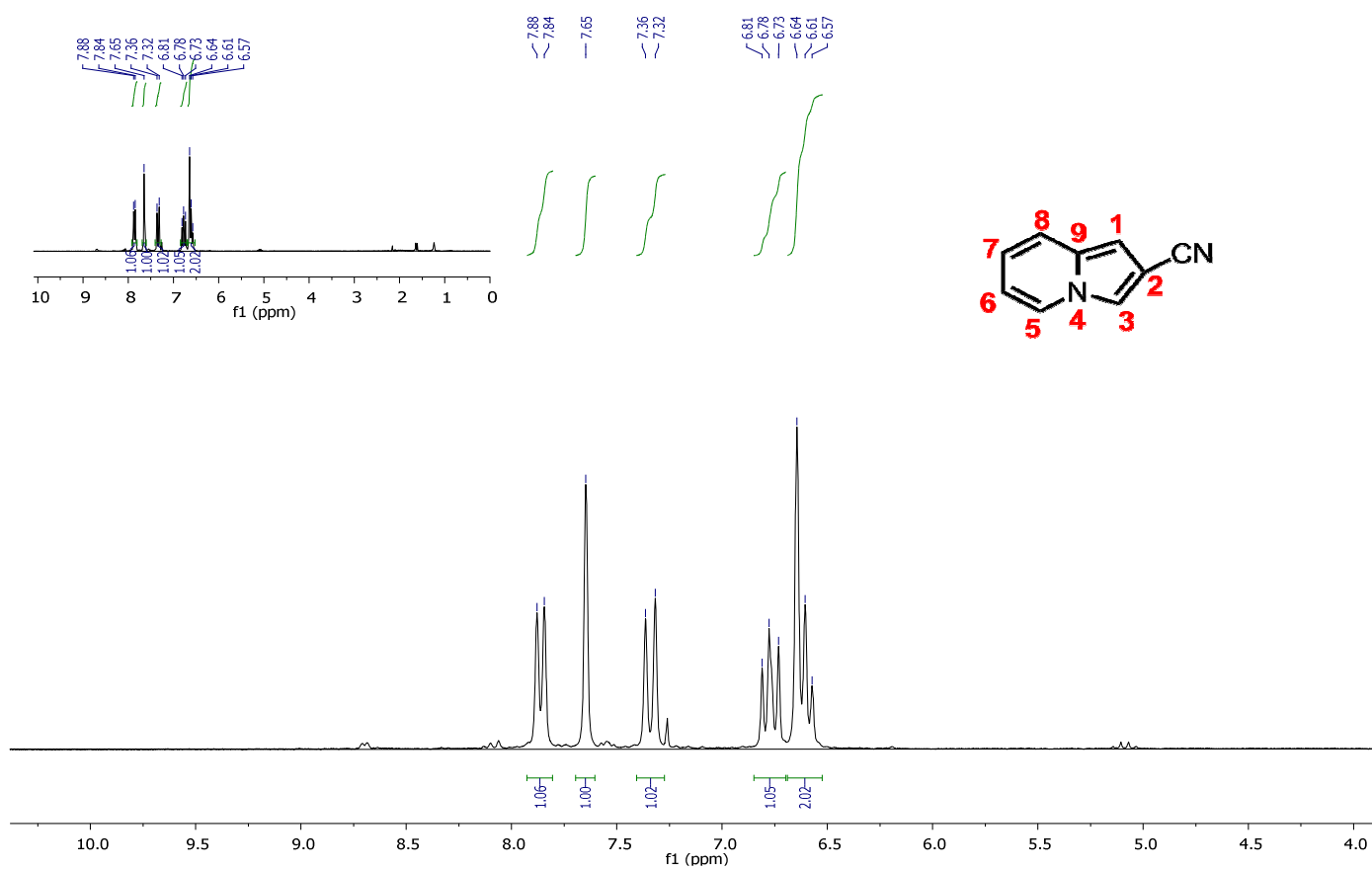
61. Disponível em:< <http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/03/atividde.pdf>>
acesso em: setembro 2012-10-02

62. Disponível em:<
<http://www.ufpi.br/subsiteFiles/lapnex/arquivos/files/Interacoes%20farmaco-receptor.PDF>> acesso em: setembro 2012-10-02.

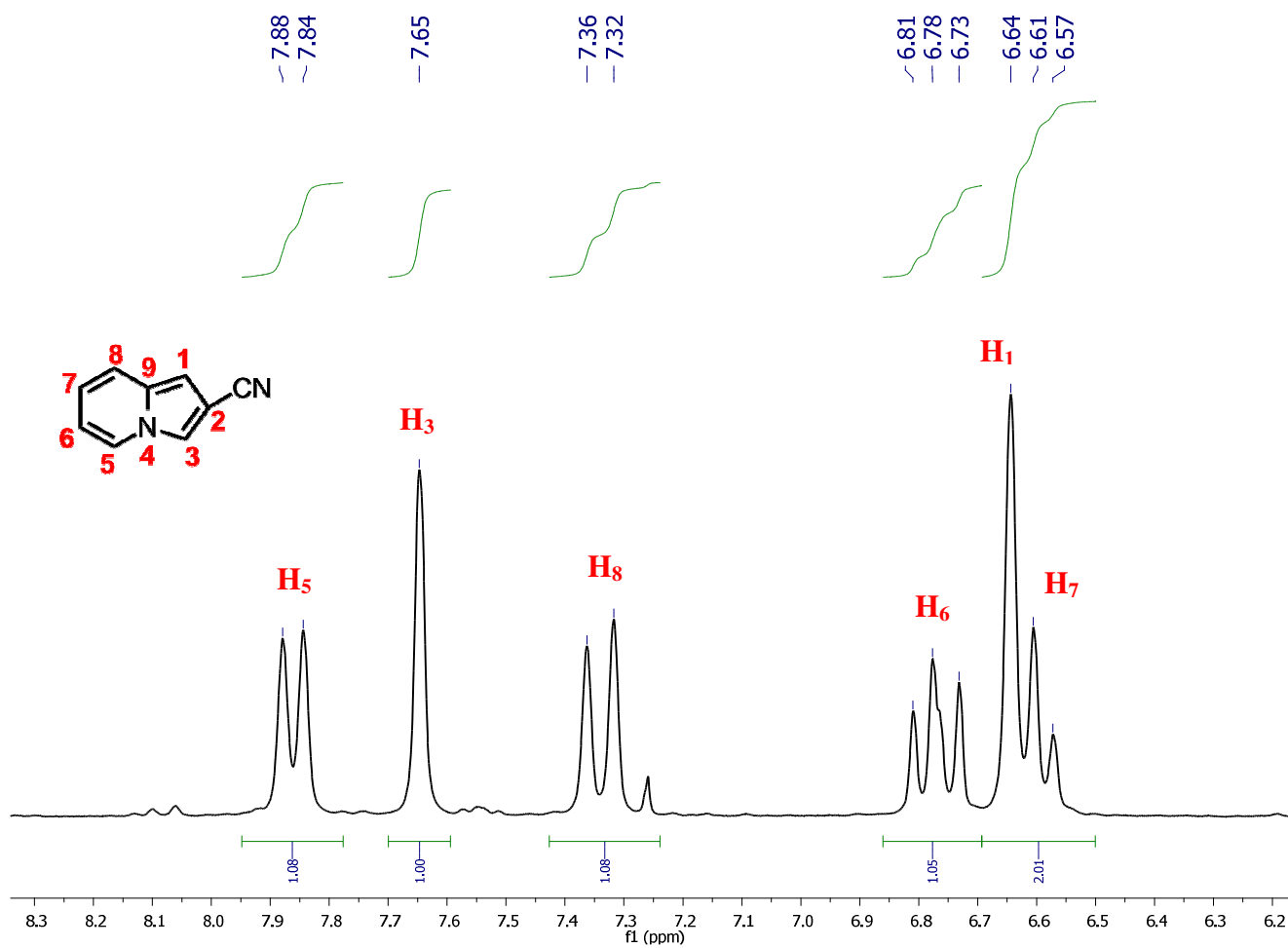
63. Disponível em:<
<http://audiology.wordpress.com/fisiologia/excitotoxicidad/nmda1> > acesso em:
setembro 2012-10-02

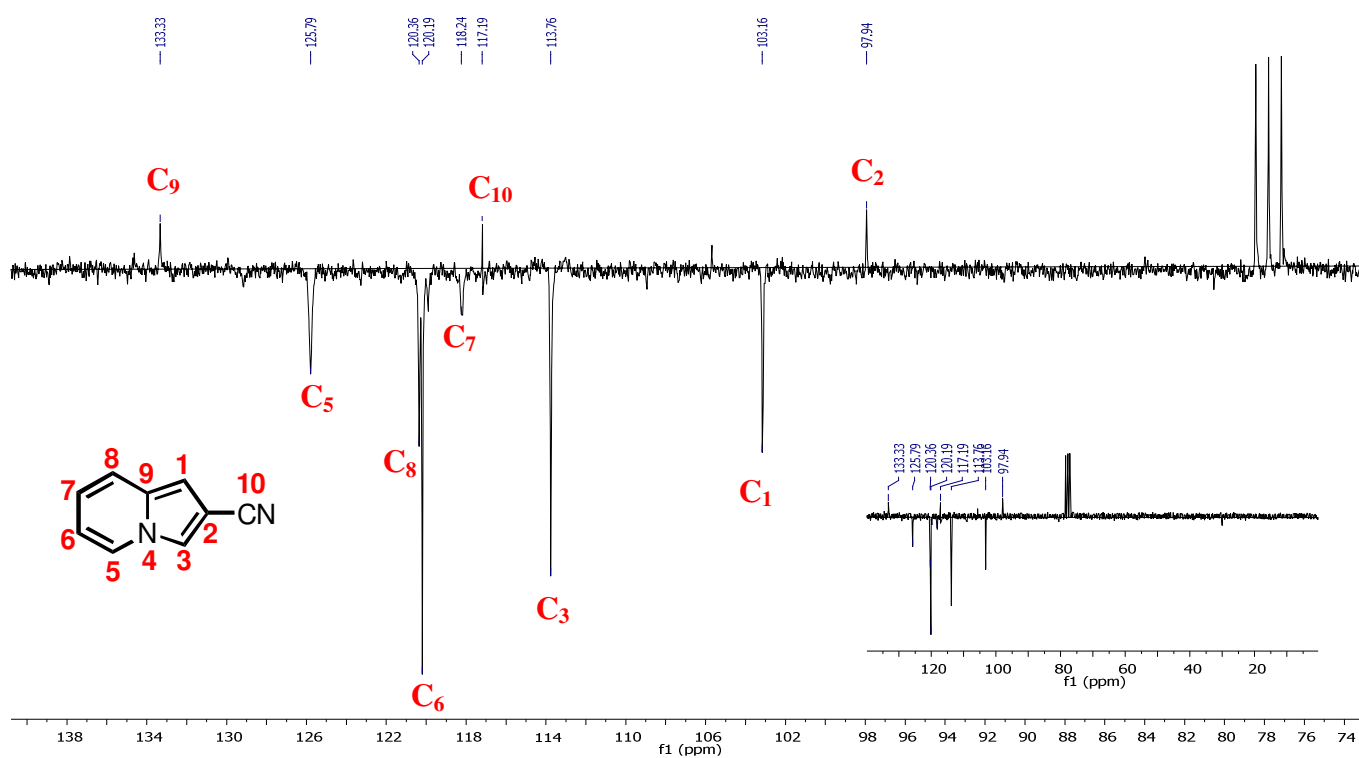
64. Disponível em:< <http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/steglich-esterification.shtm> > acesso em: setembro 2012-10-02

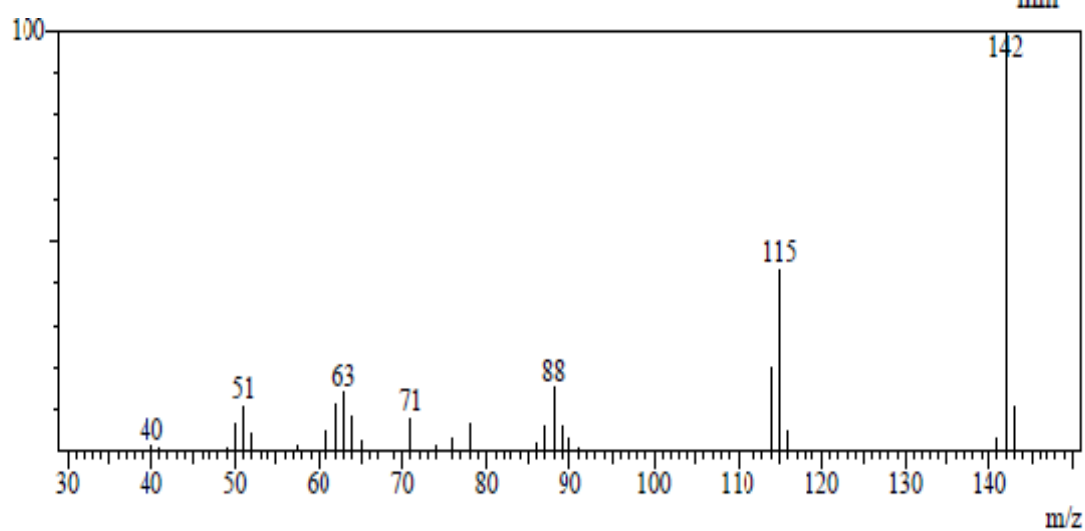
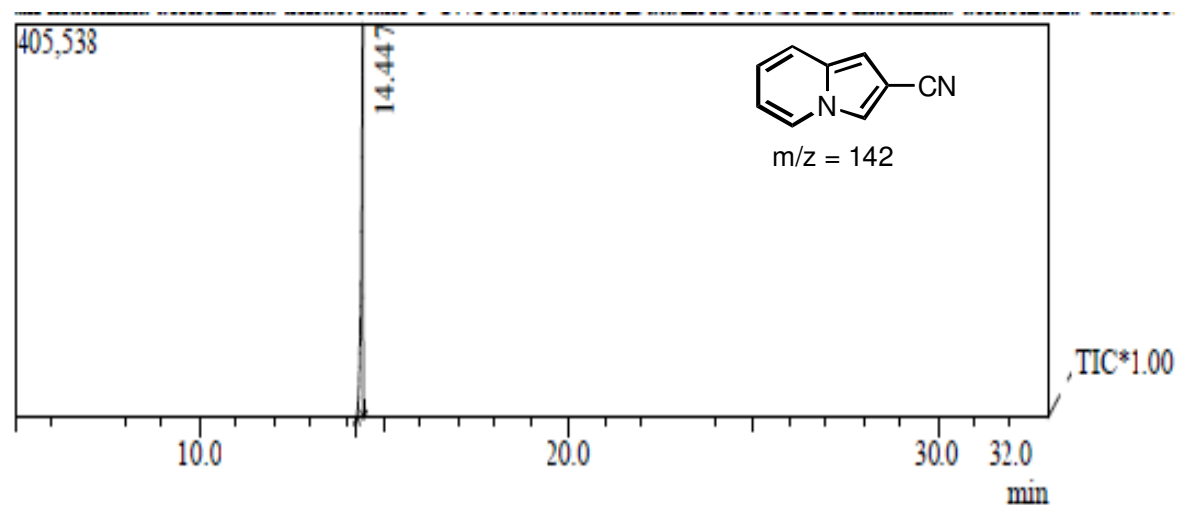
Cromatogramas
e
Espectros

Espectro 1 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina 1

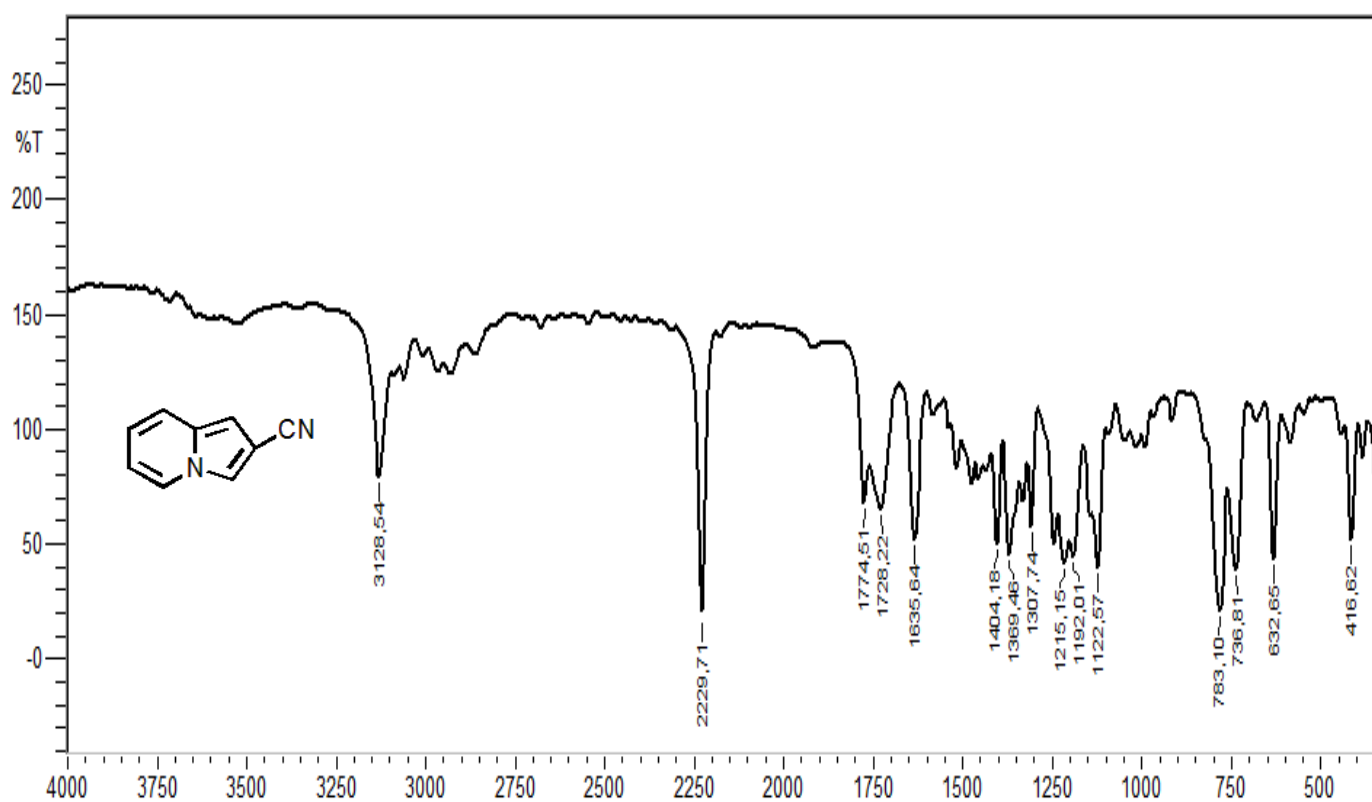
Espectro 2 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) da Indolizina **1** na região de 6.2 a 8.3 ppm.



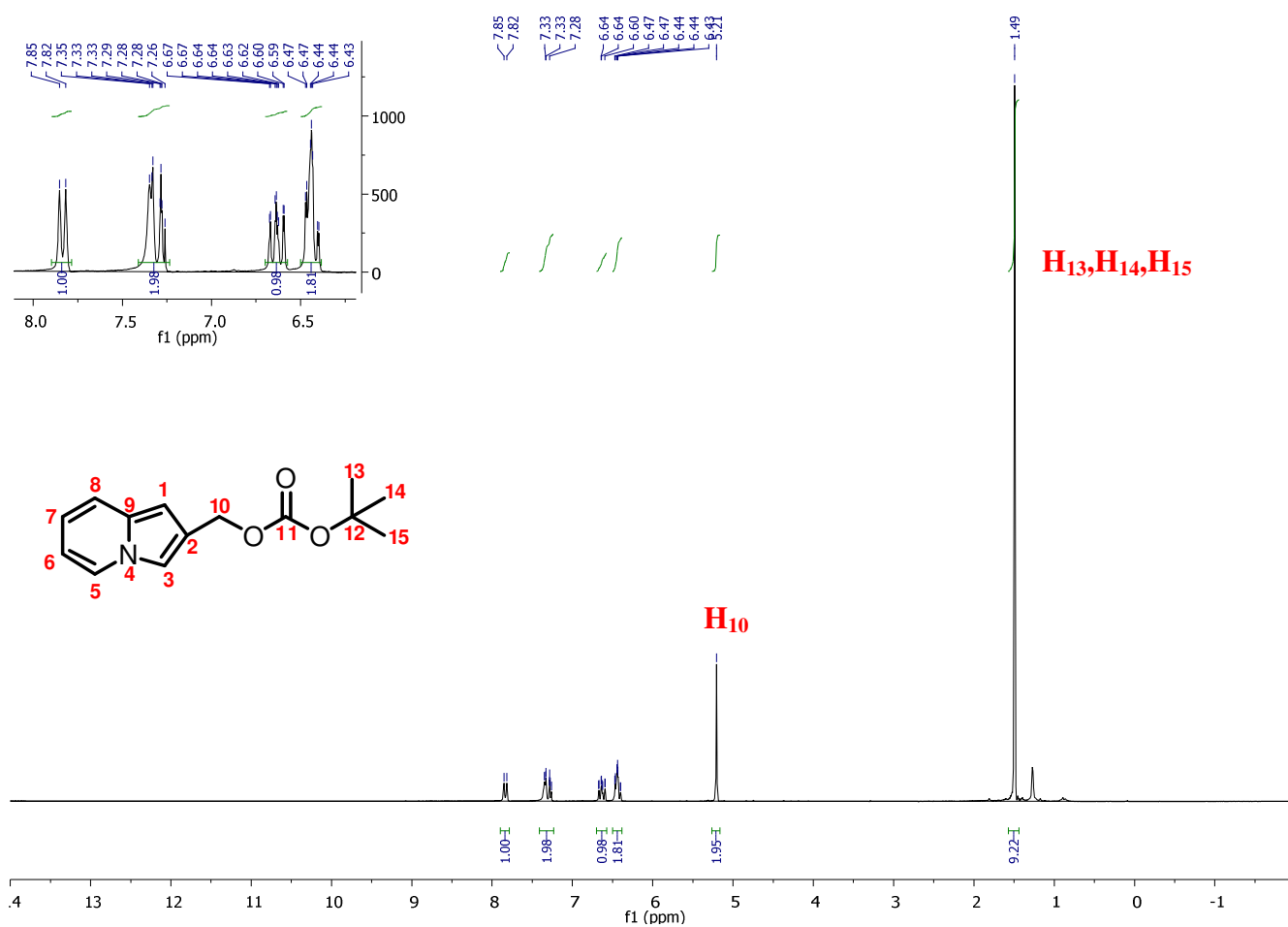
Espectro 3 Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz) da Indolizina **1**

Espectro 4 Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 1


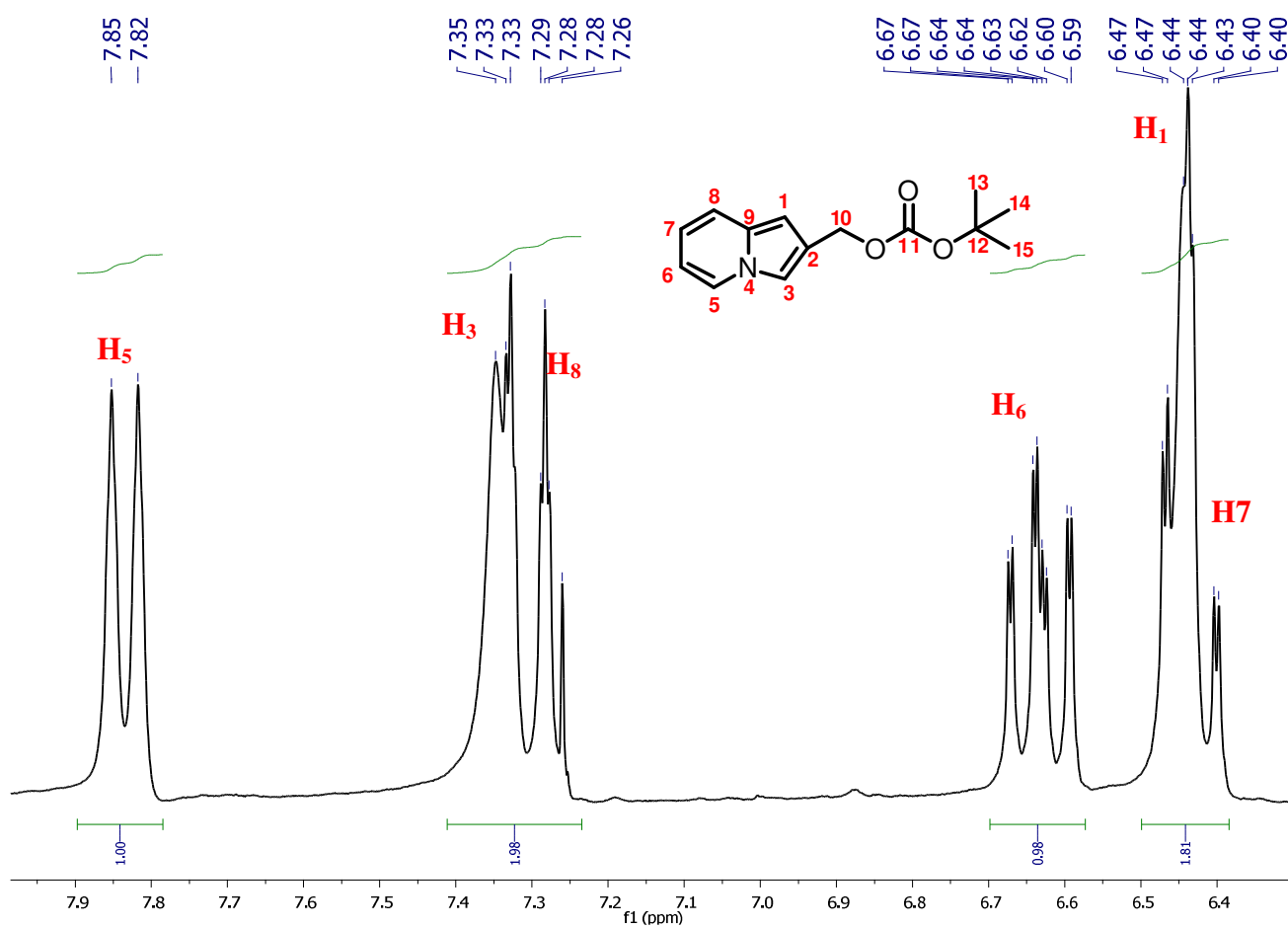
Peak Report TIC							
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height% I/H
1	14.447	14.292	14.475	1269515	100.00	405363	100.00 .13
				1269515	100.00	405363	100.00

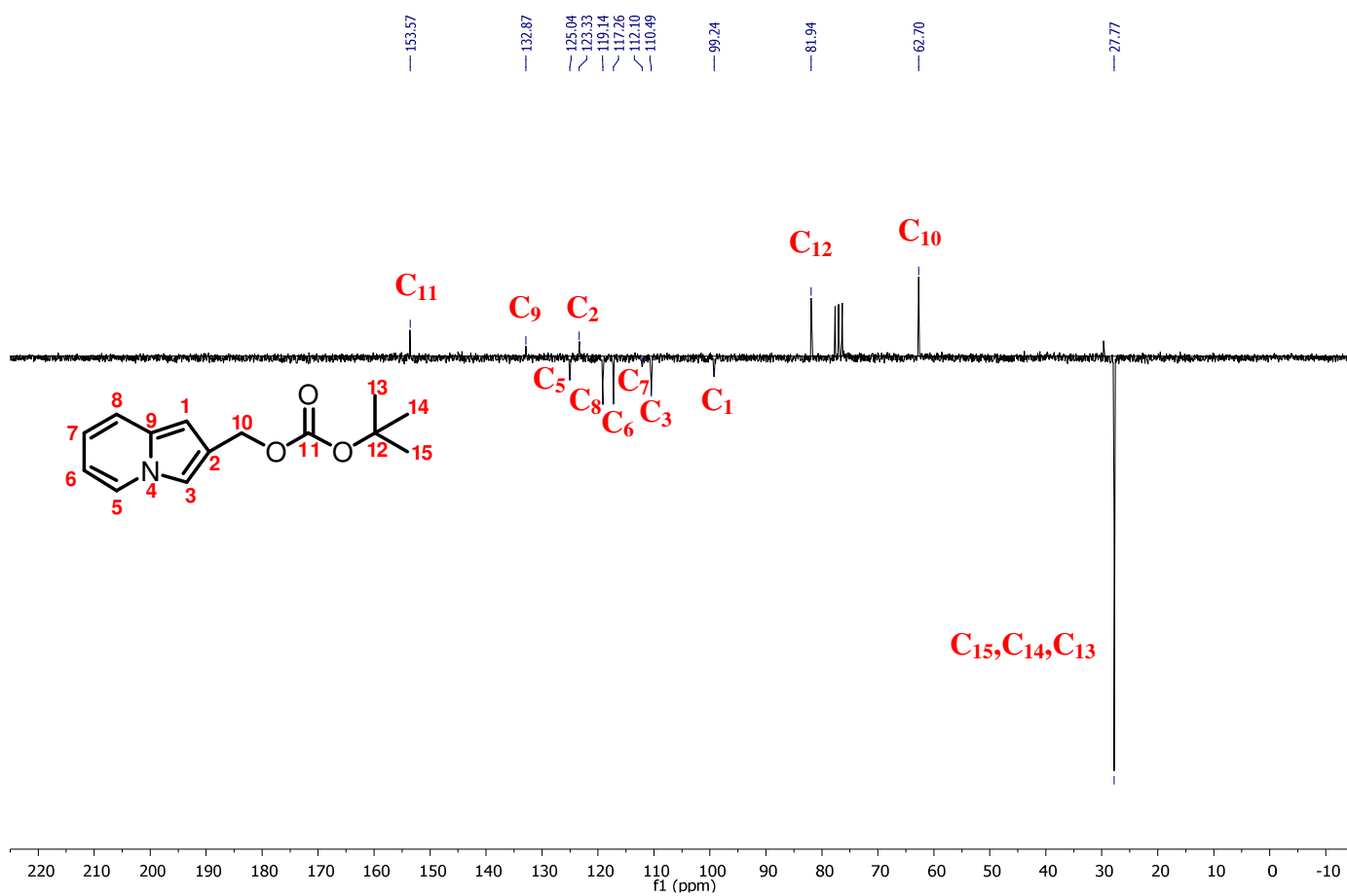
Espectro 5 Espectro de Infravermelho da Indolizina **1**

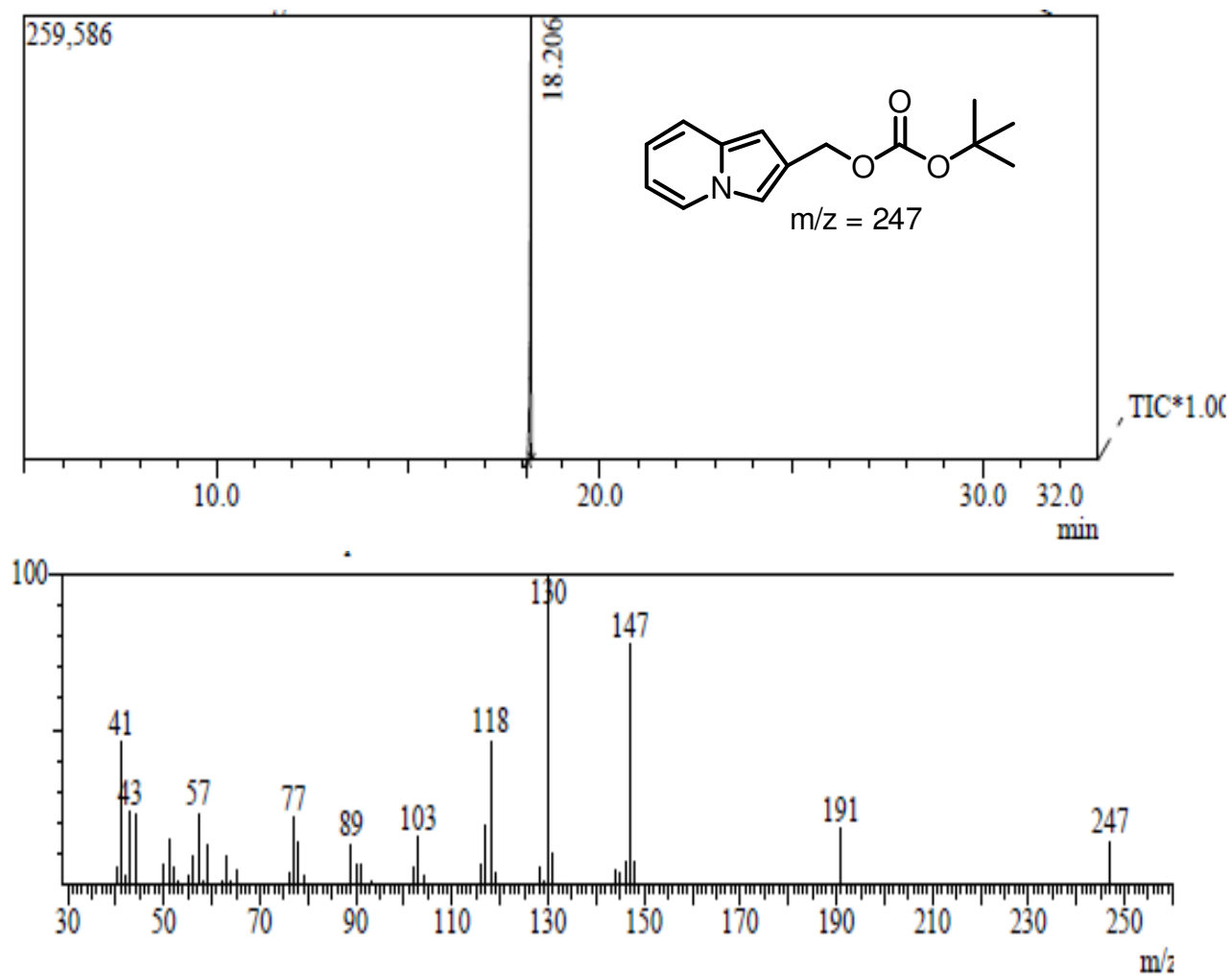
Espectro 6 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina 7



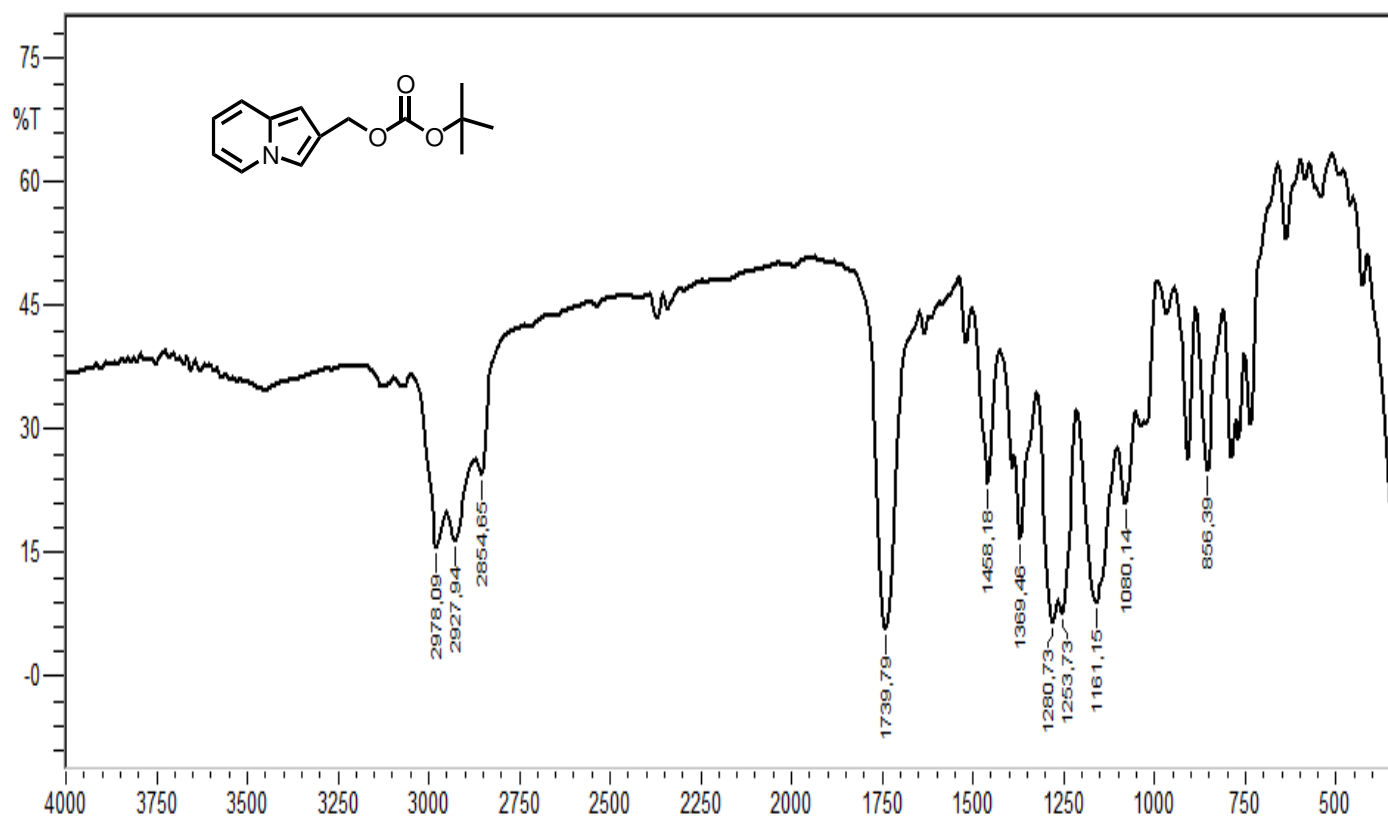
Espectro 7 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) da Indolizina **7** na região de 6.4 a 7.9 ppm.

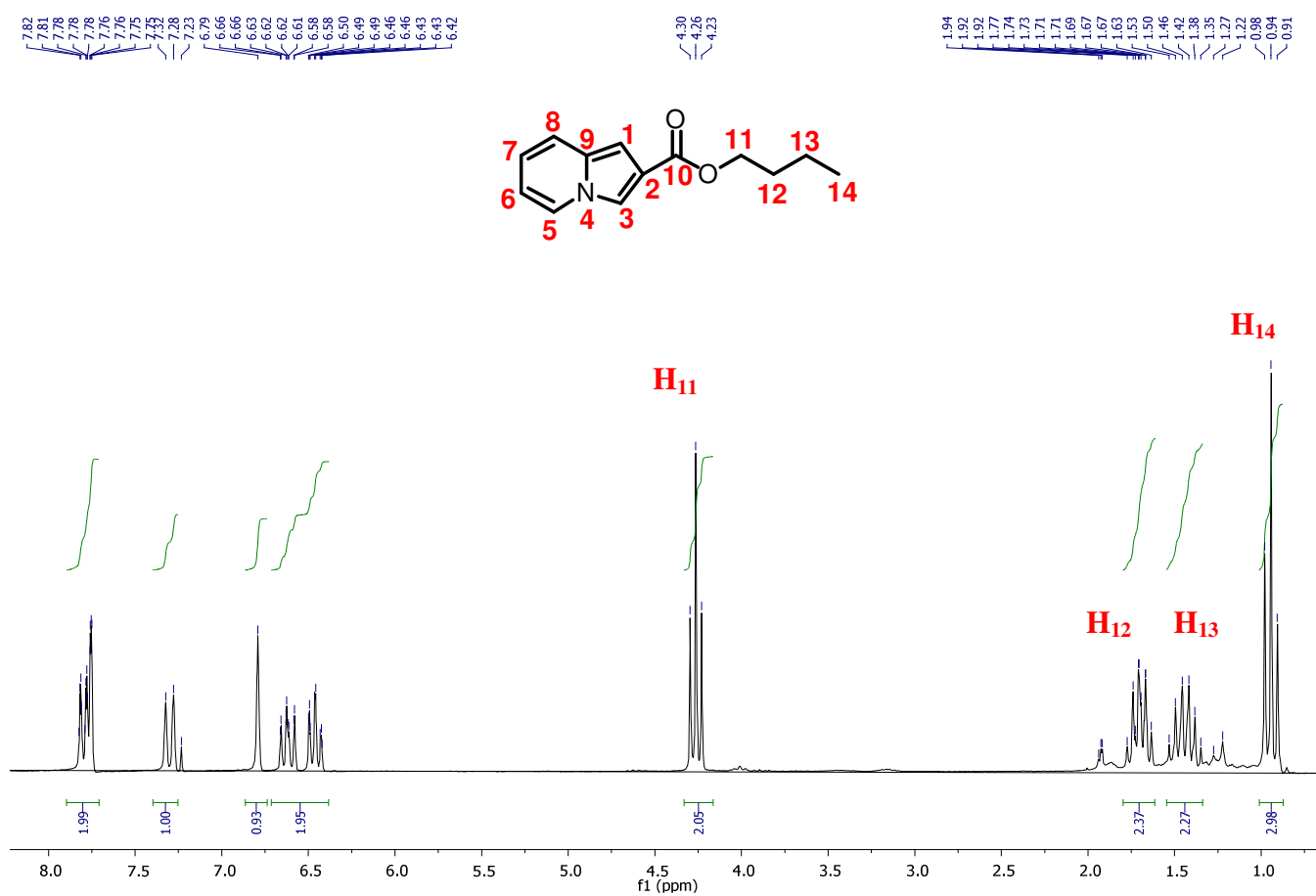


Espectro 8 Espectro de RMN¹³C (CDCl₃, 50 MHz) da Indolizina 7

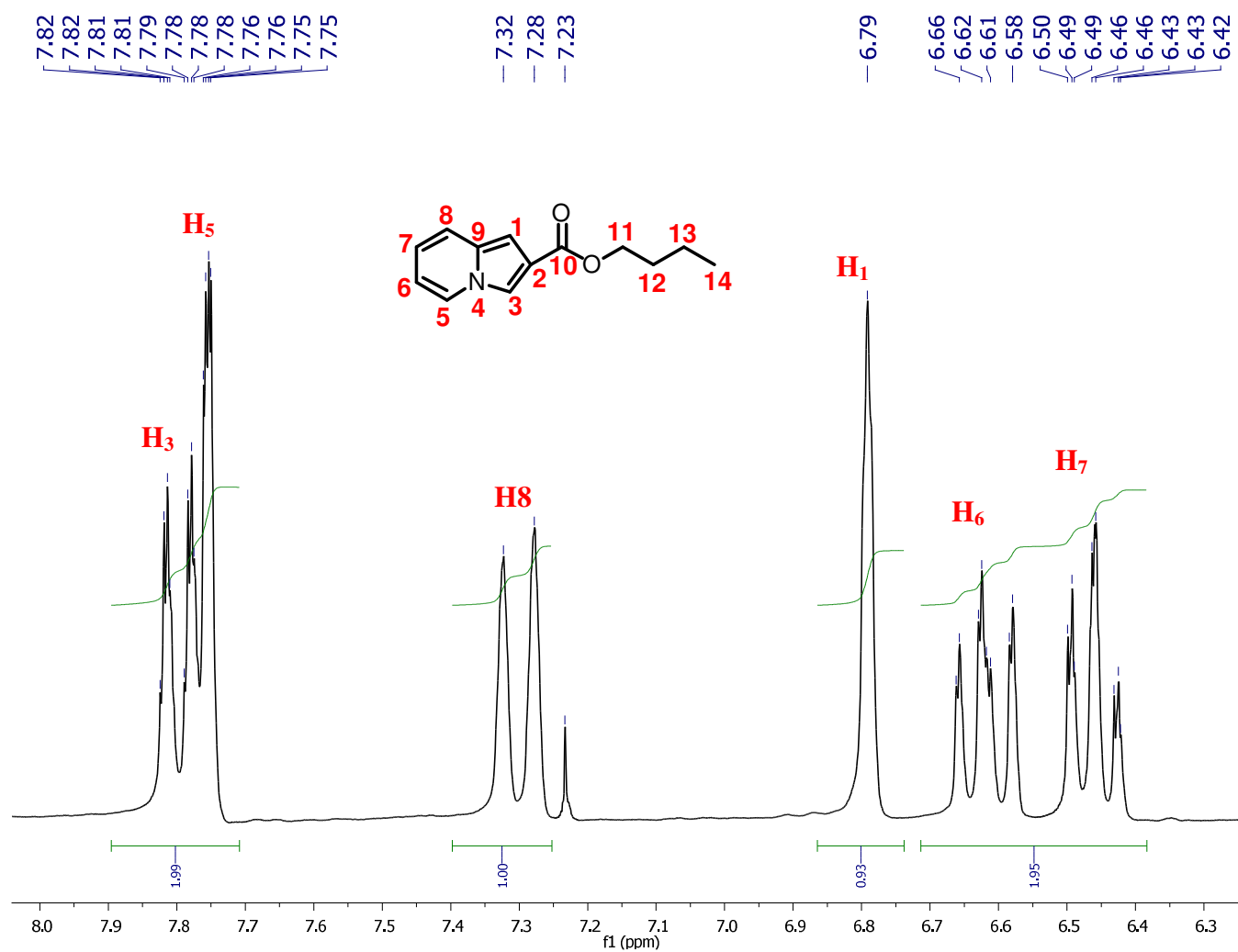
Espectro 9 Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 7


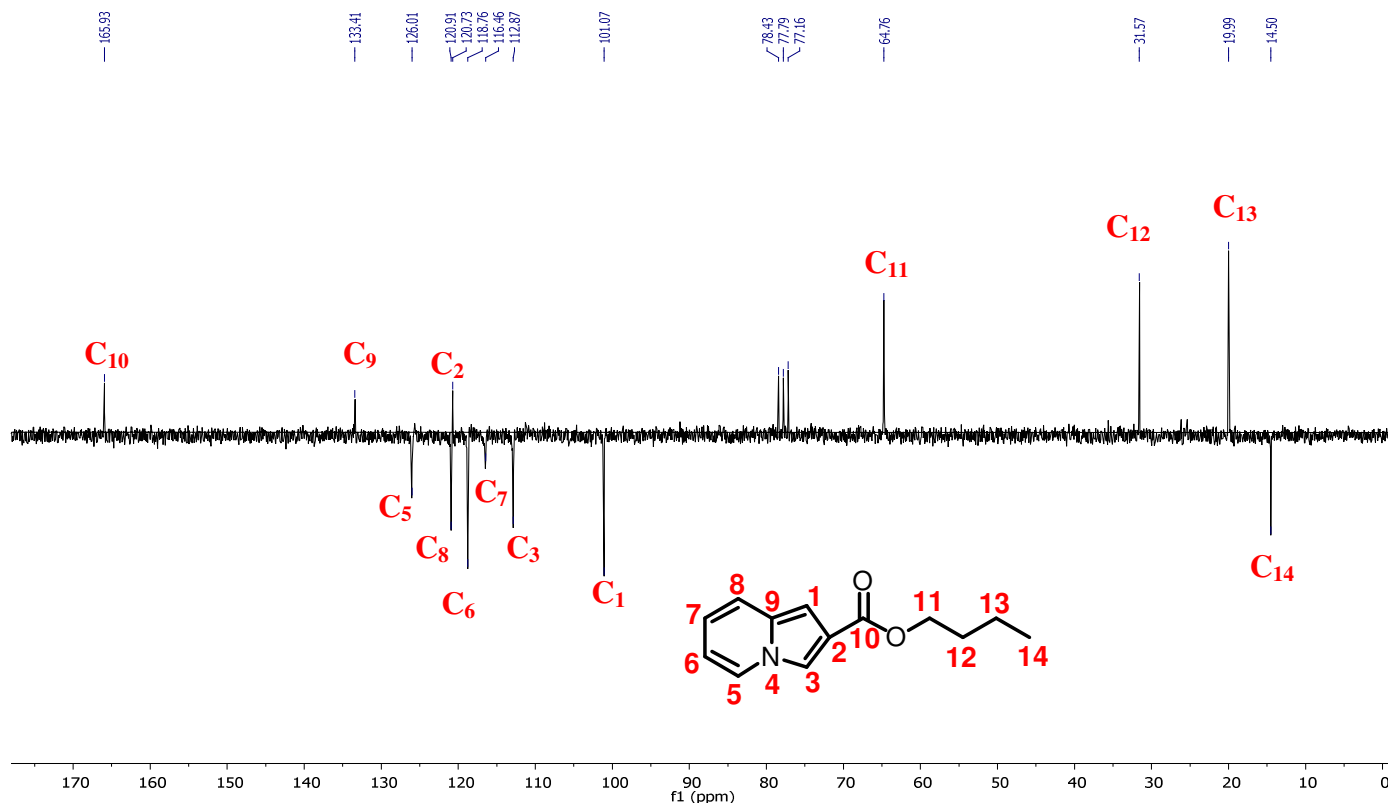
Peak Report TIC							
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height% A/H
1	18.206	18.125	18.225	471079	100.00	259586	100.00 1.81
				471079	100.00	259586	100.00

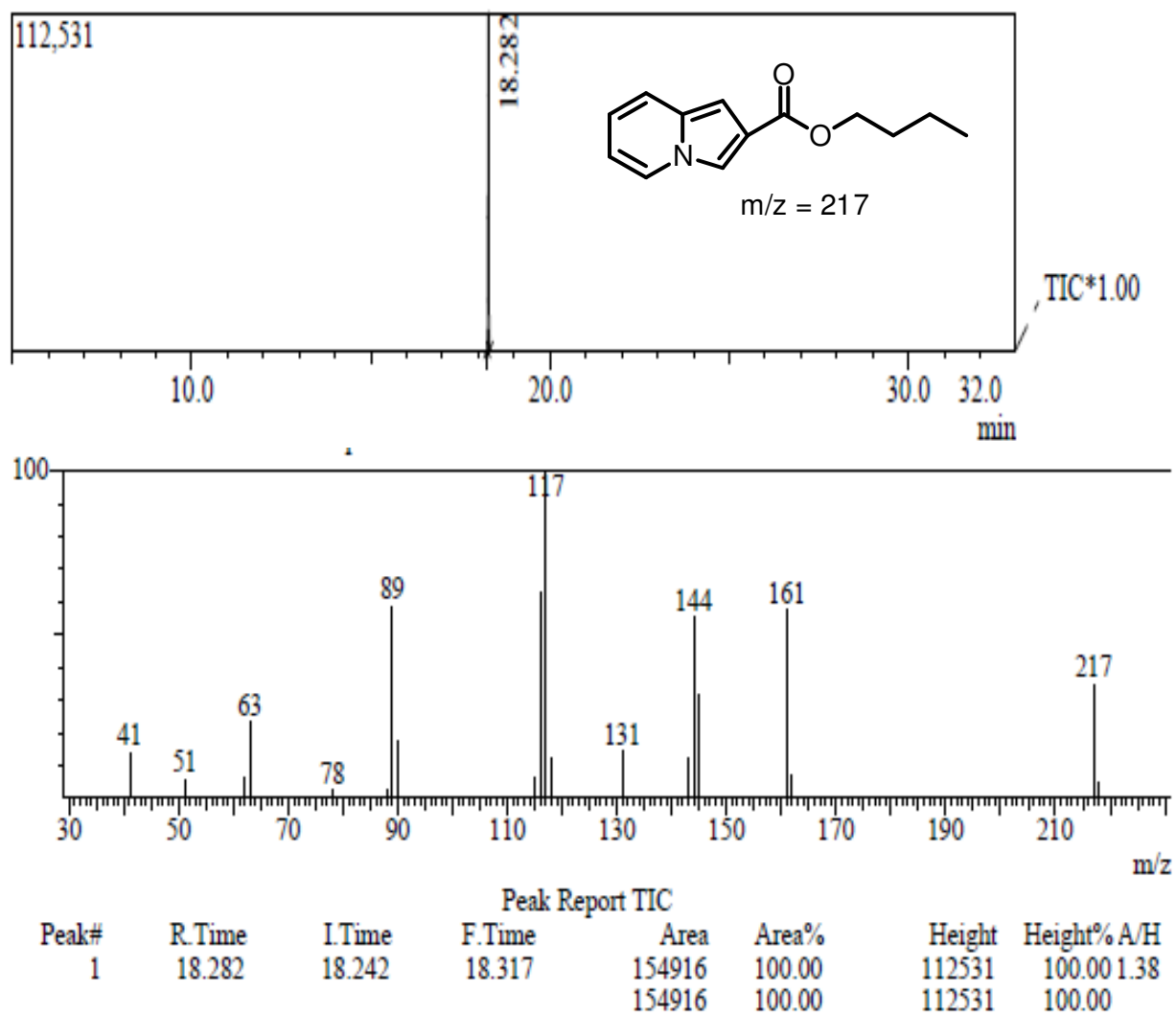
Espectro 10 Espectro de Infravermelho da Indolizina 7

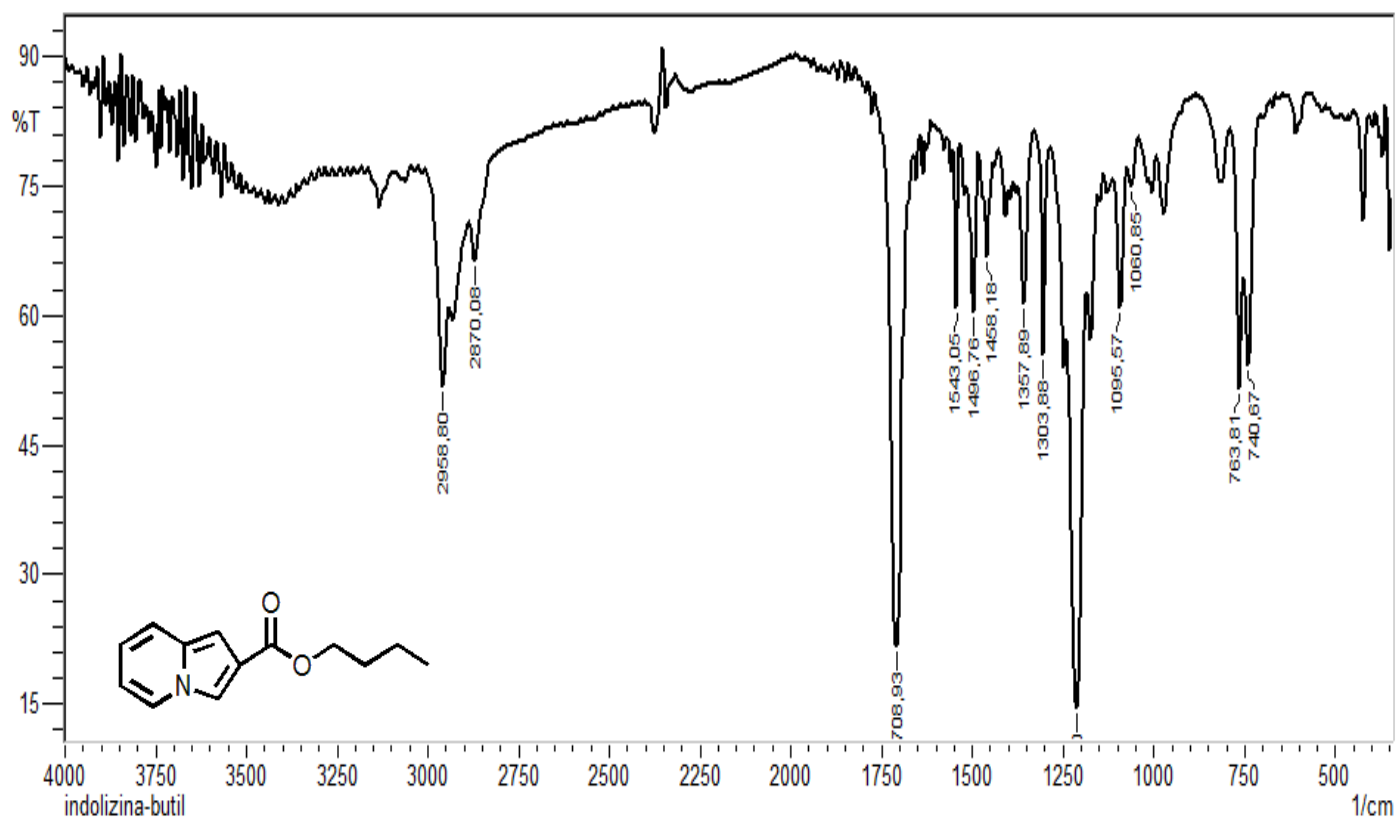
Espectro 11 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina **4**

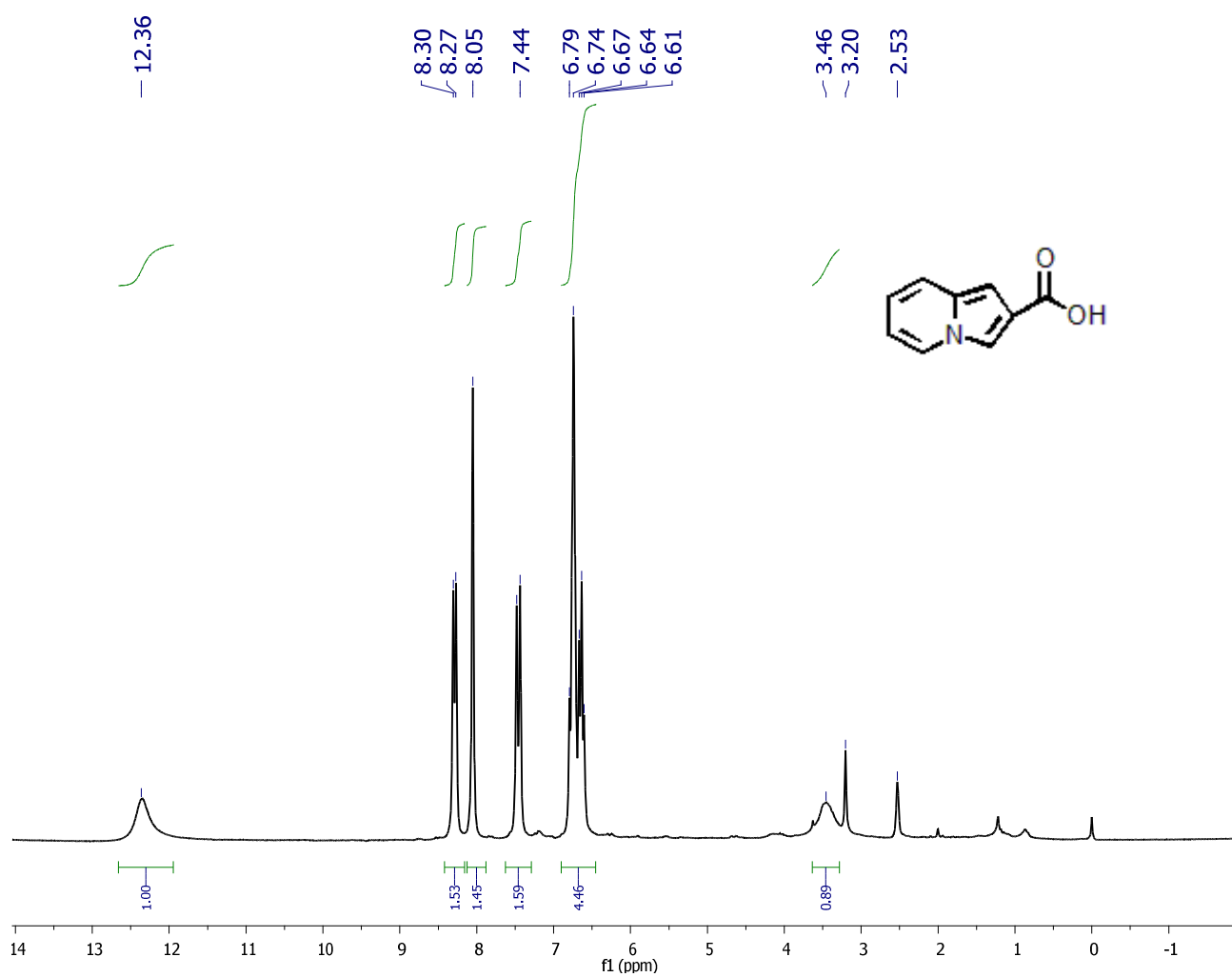
Espectro 12 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) da Indolizina **4** na região de 6.4 a 8.0 ppm



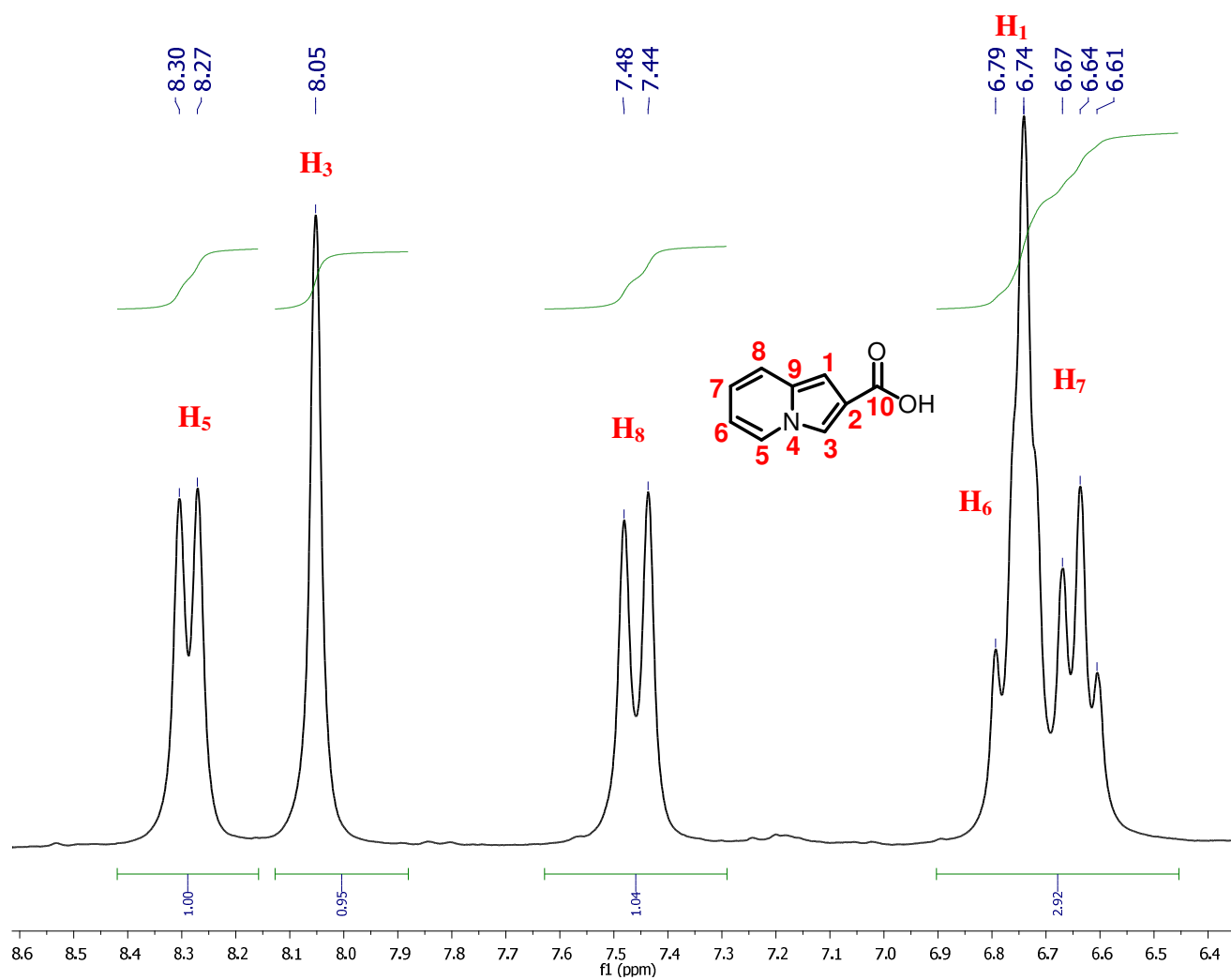
Espectro 13 Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl_3 , 50MHz) da Indolizina **4**

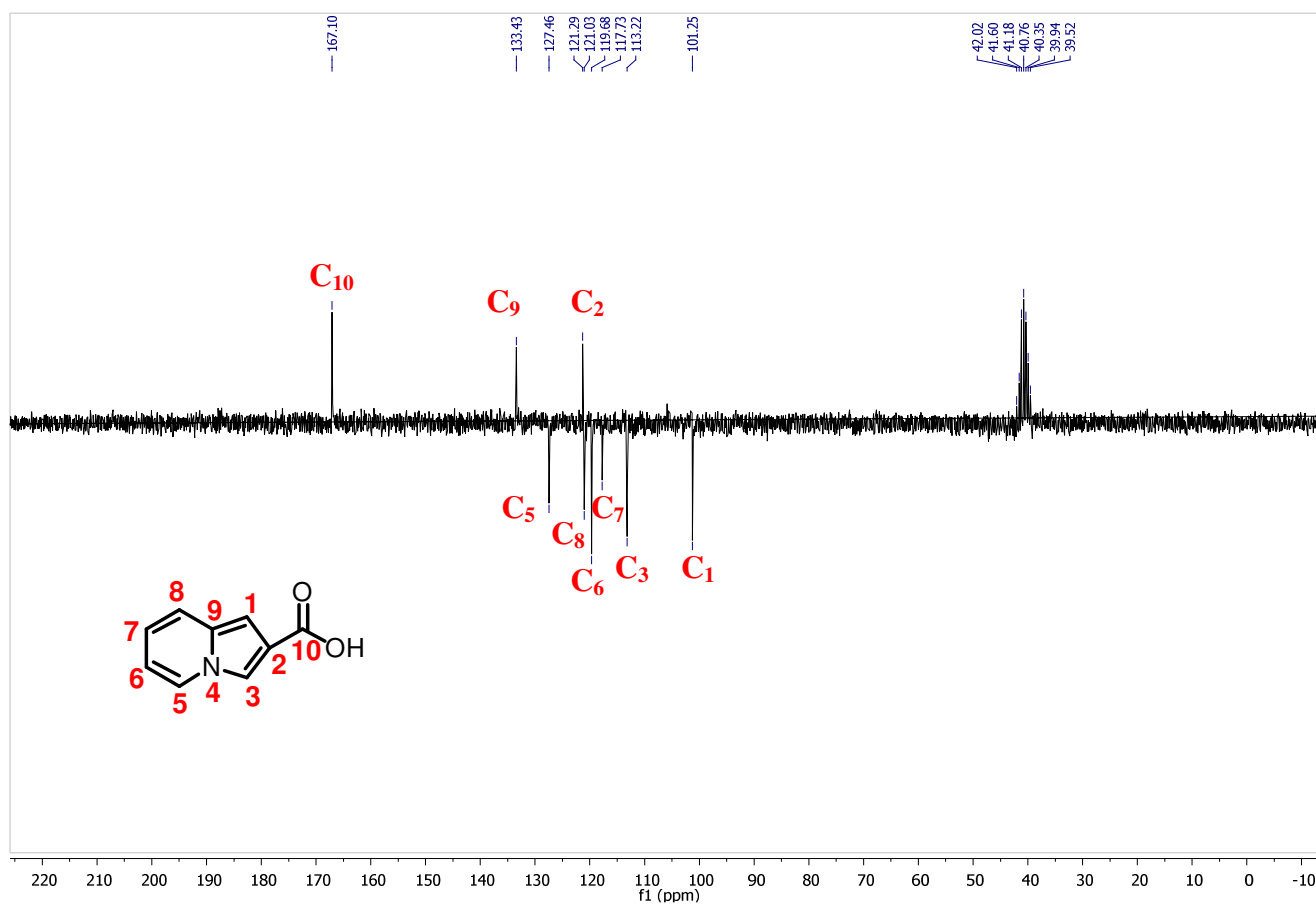
Espectro 14 Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 4

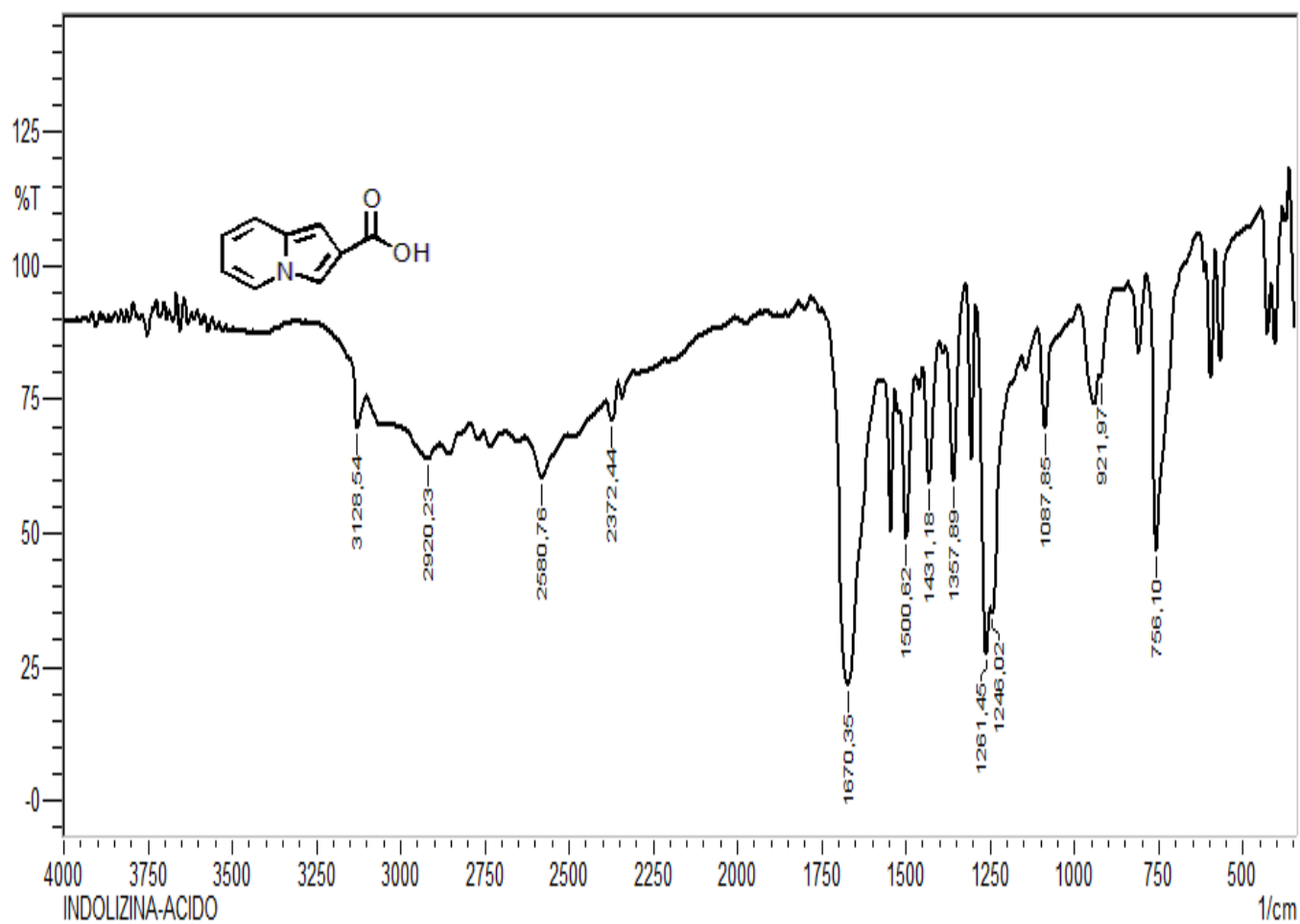
Espectro 15 Espectro de Infravermelho da Indolizina 4

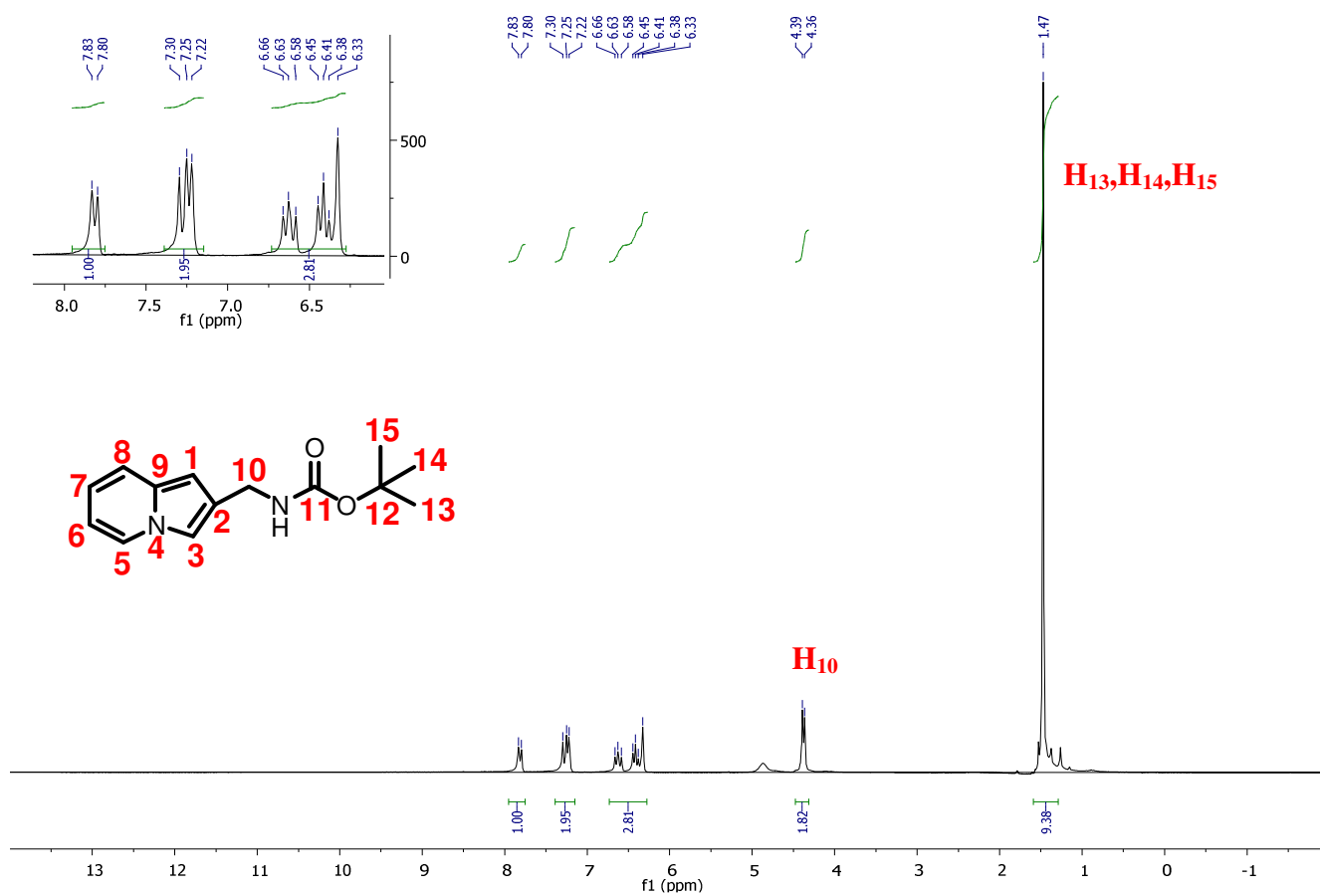
Espectro 16 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina **3**

Espectro 17 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) da Indolizina **3** na região de 6.4 a 8.6 ppm

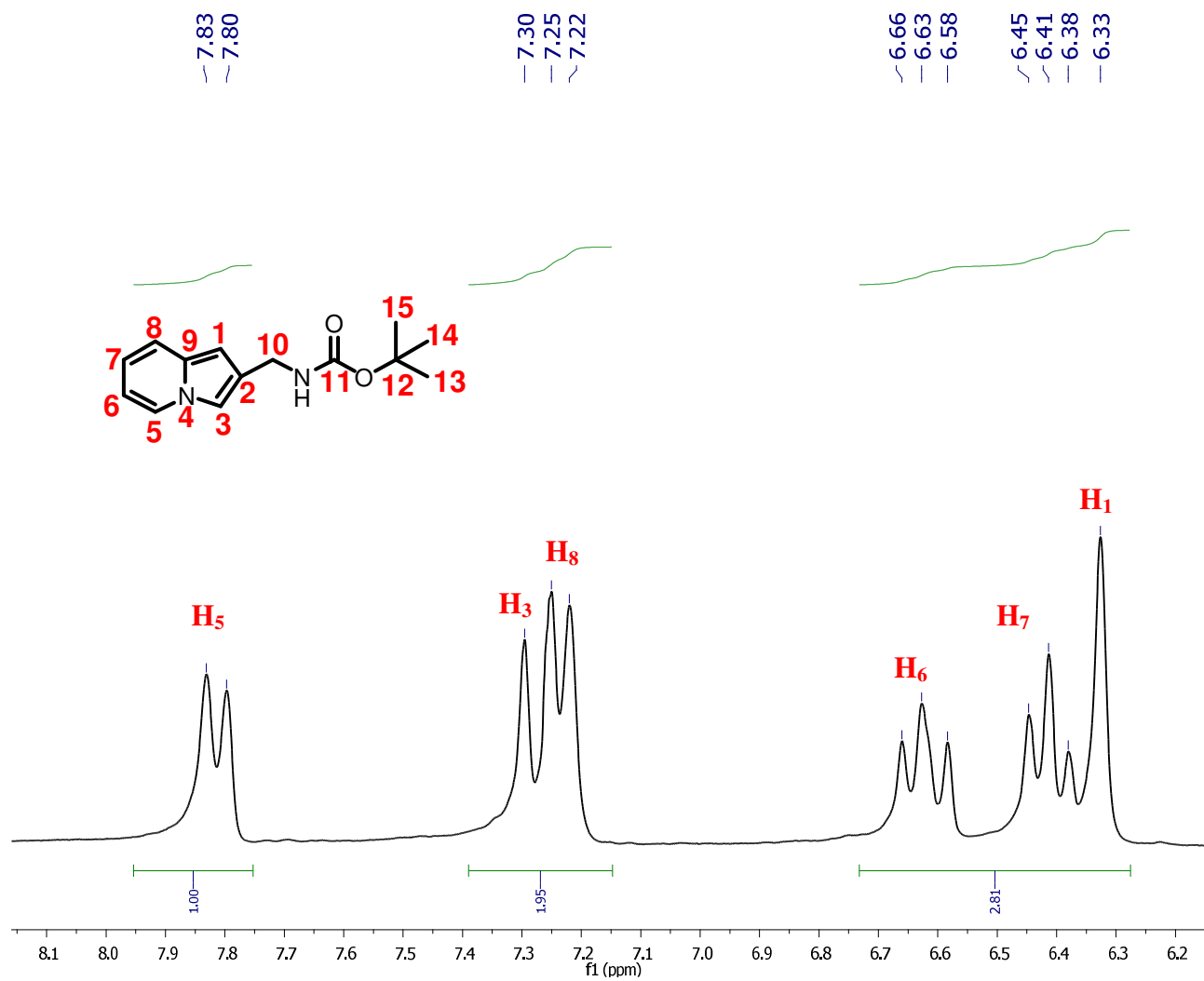


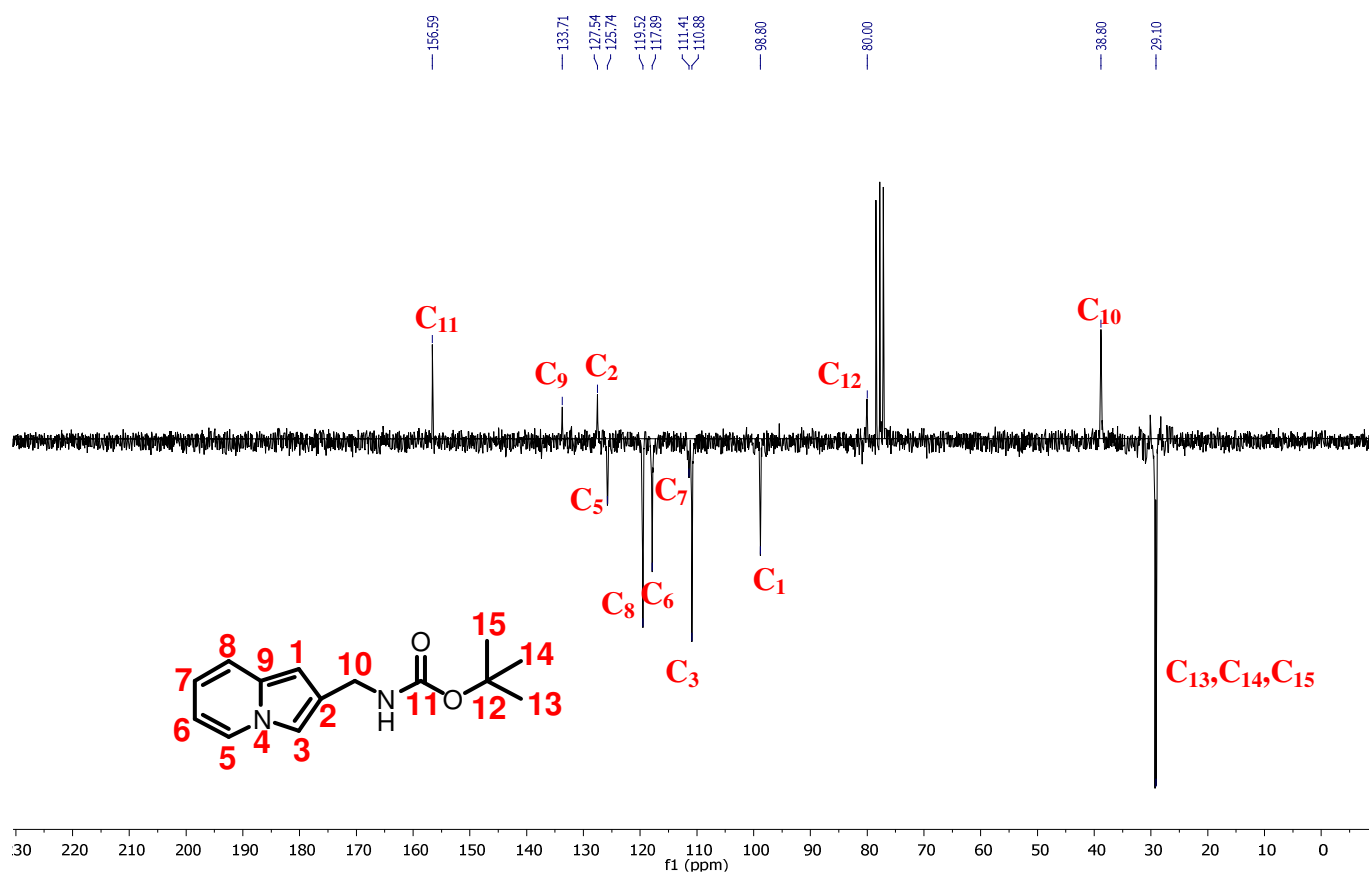
Espectro 18 Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl_3 , 50MHz) da Indolizina **3**

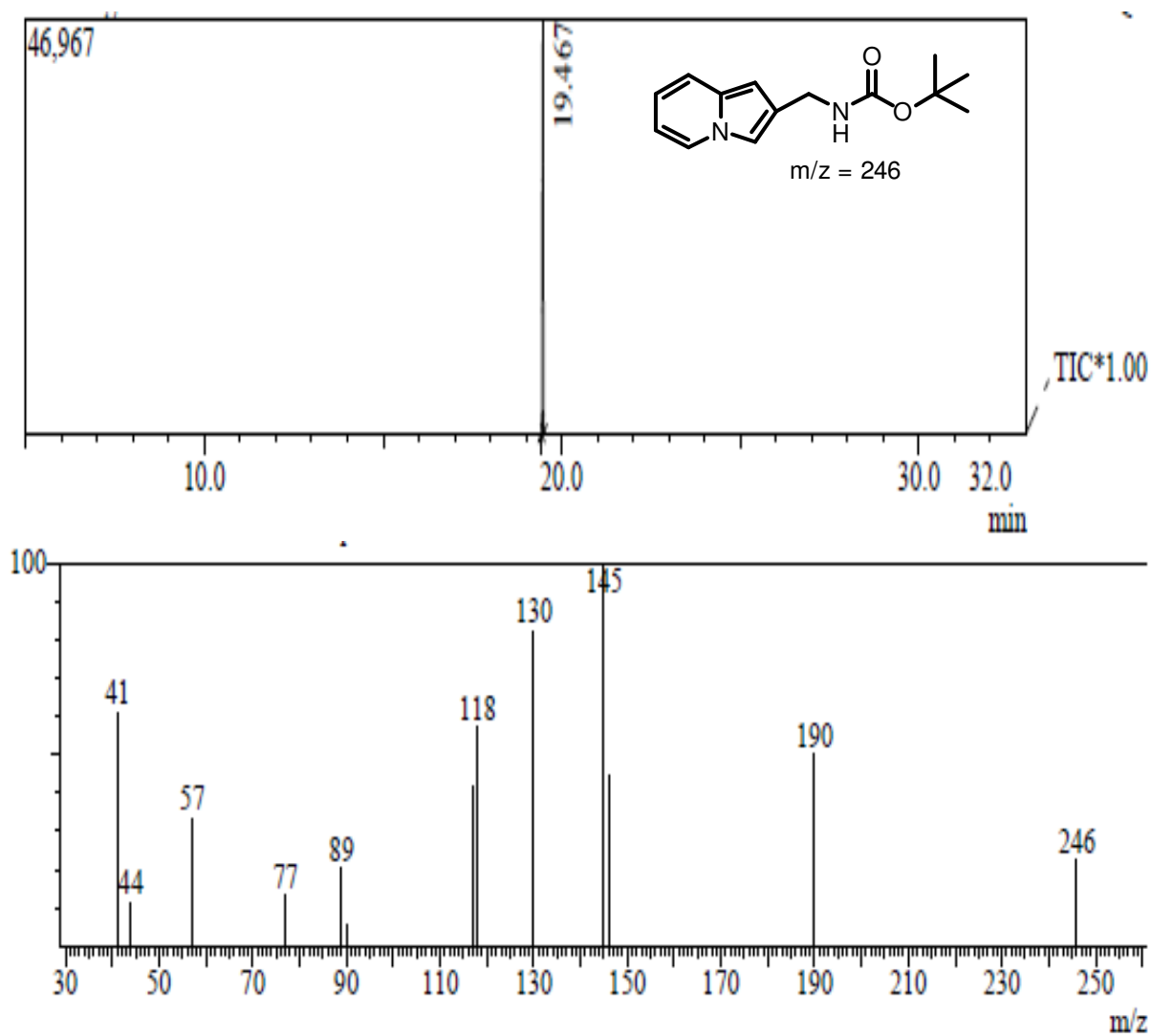
Espectro 19 Espectro de Infravermelho da Indolizina 3

Espectro 20 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina **8**

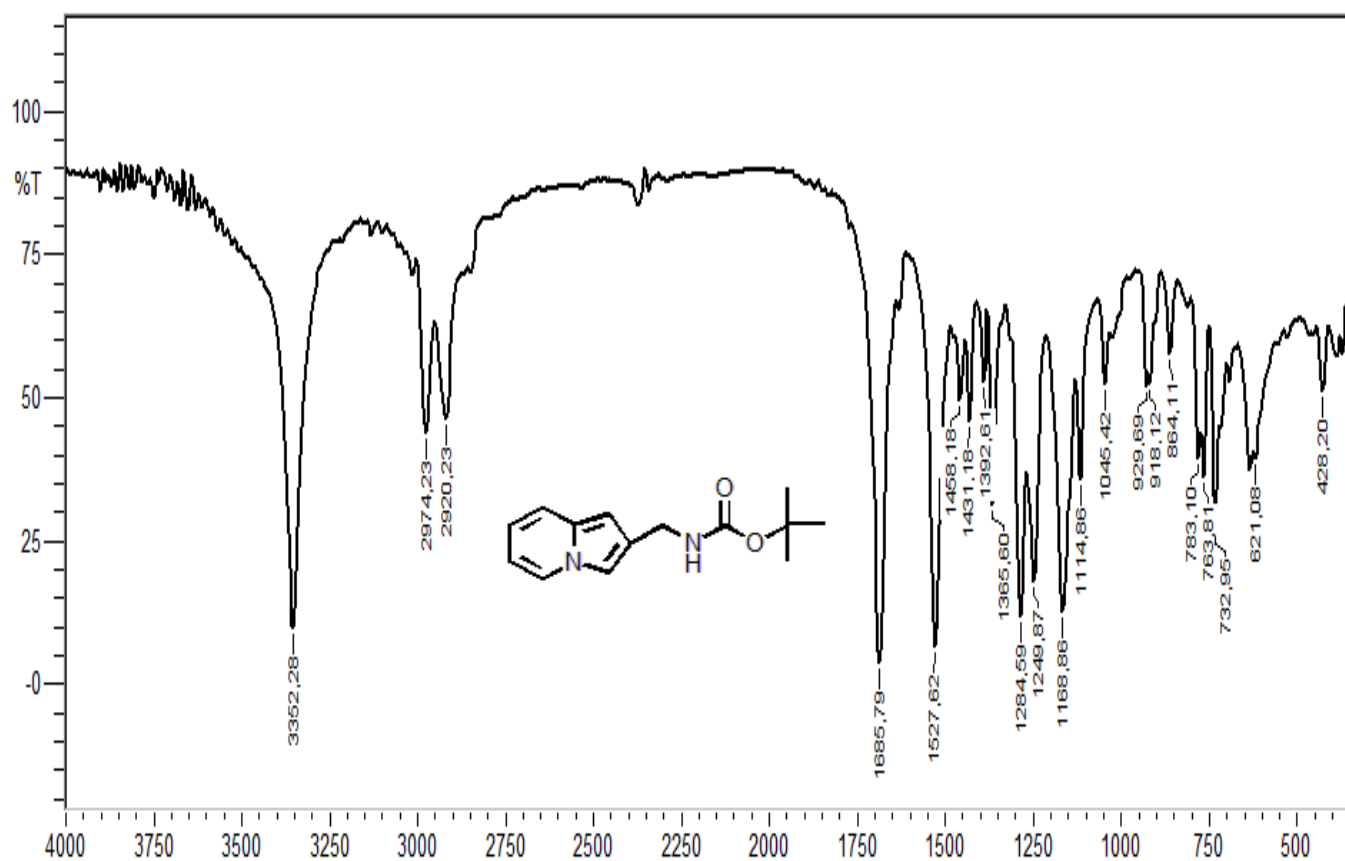
Espectro 21 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) da Indolizina **8** na região de 6.2 a 8.1 ppm

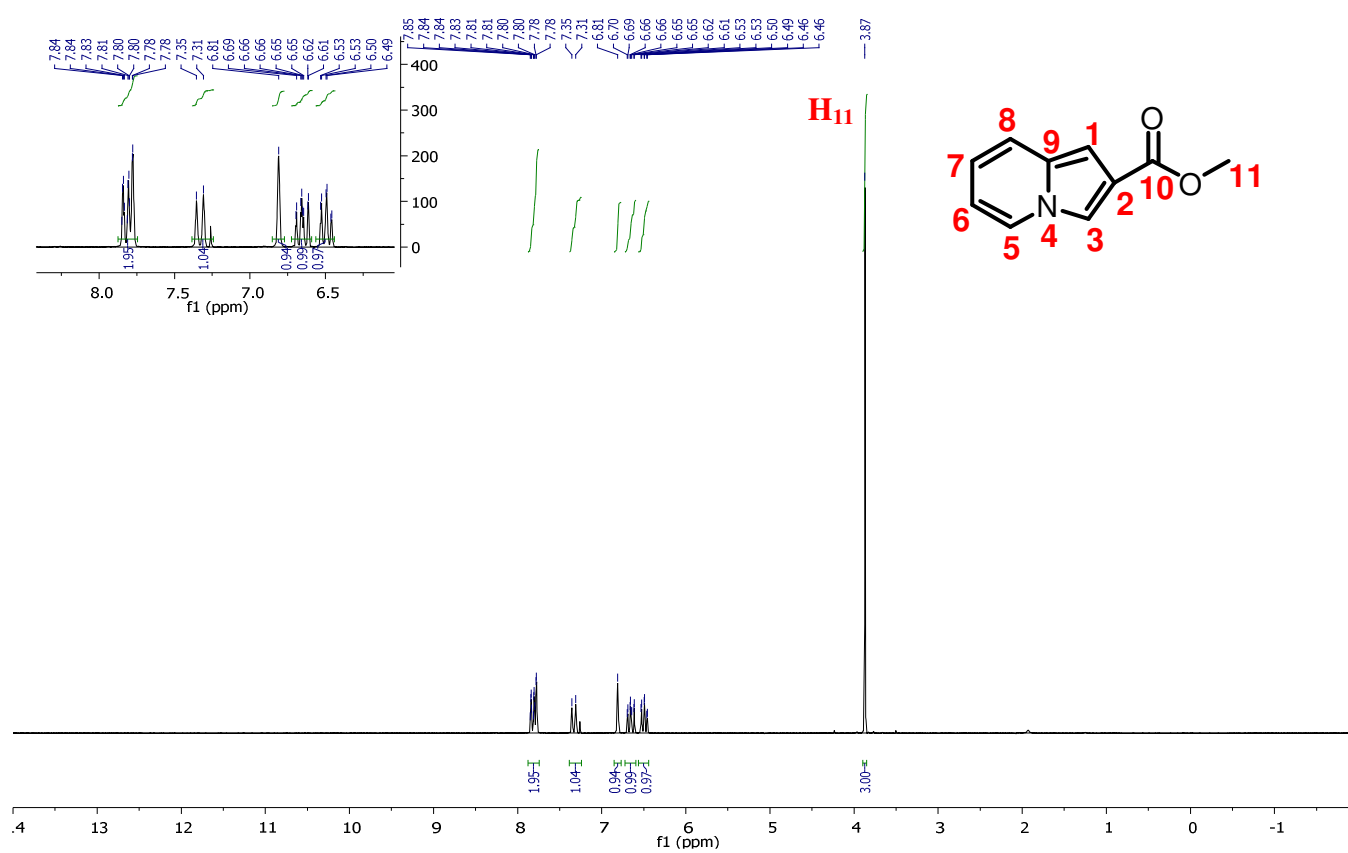


Espectro 22 Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl_3 , 50MHz) da Indolizina **8**

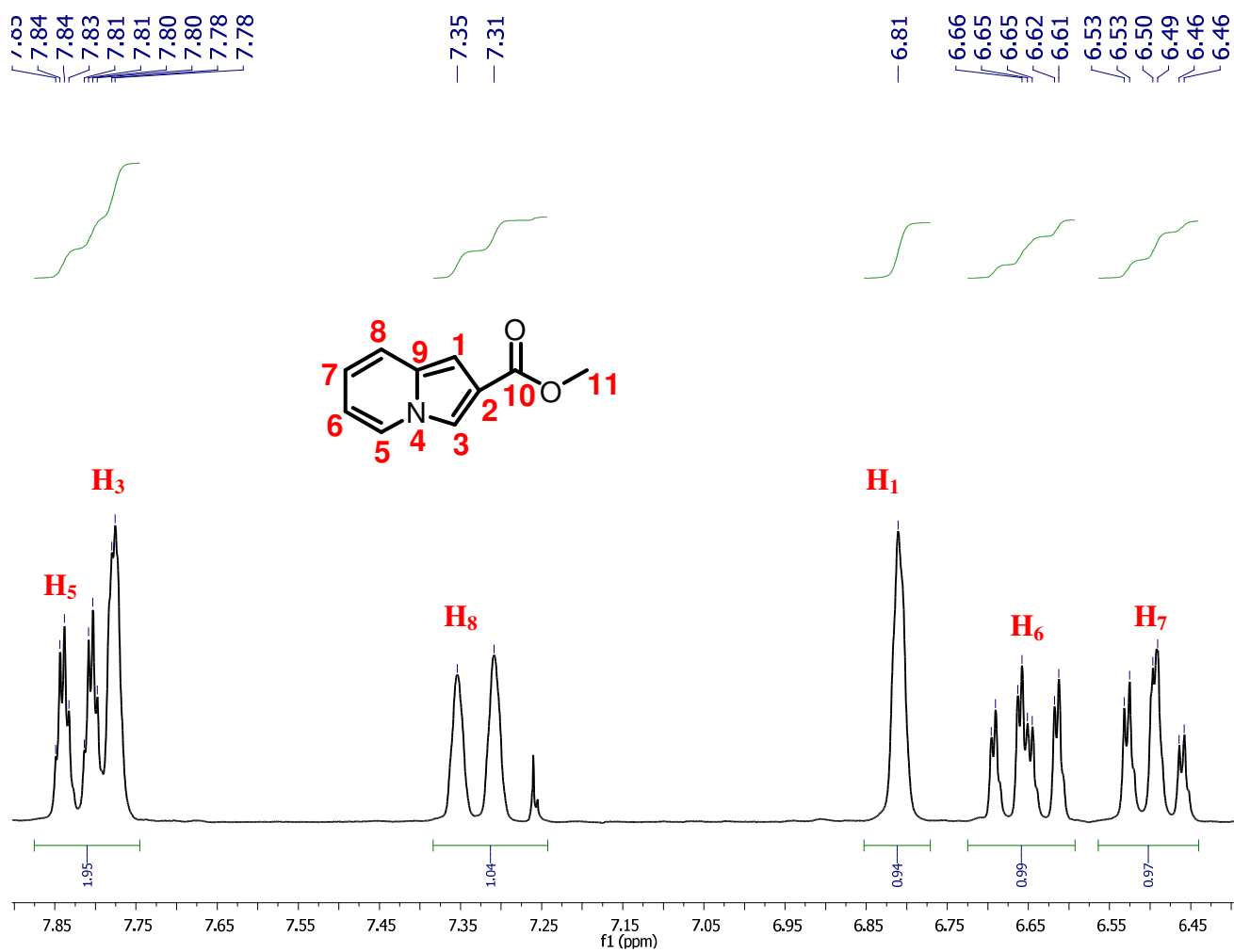
Espectro 23 Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina **8**

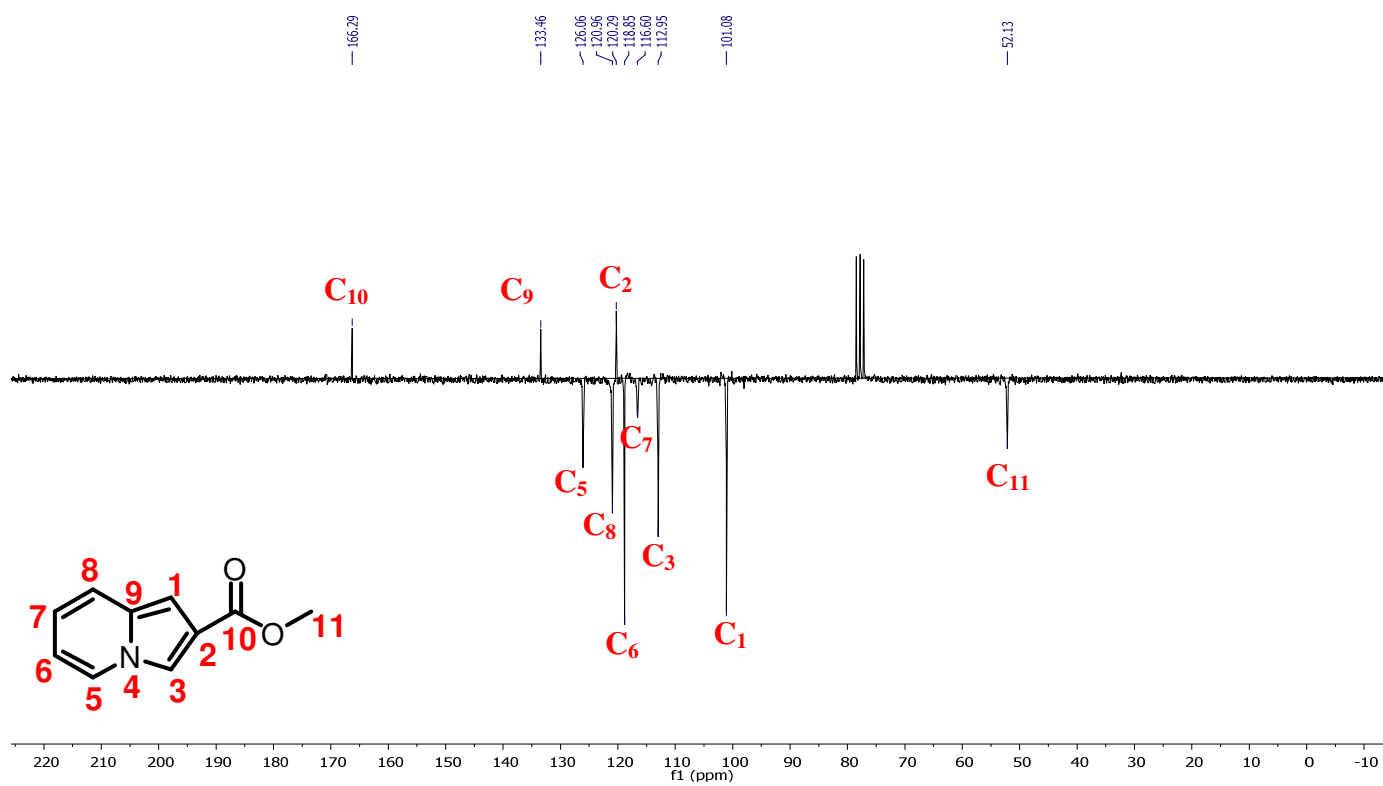
Peak Report TIC							
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height% A/H
1	19.467	19.433	19.492	61975	100.00	46967	100.001.32
				61975	100.00	46967	100.00

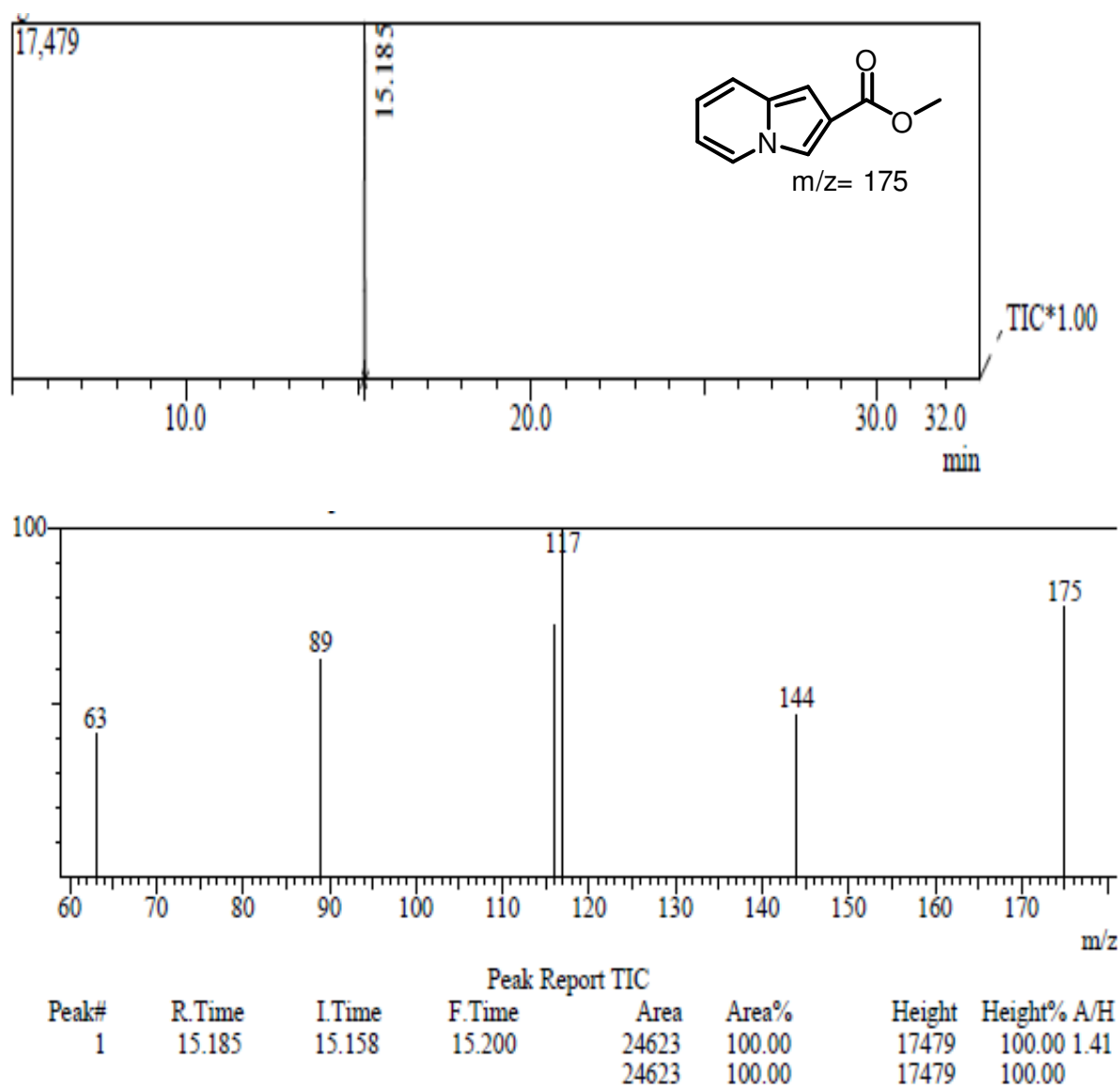
Espectro 24 Espectro de Infravermelho da Indolizina **8**

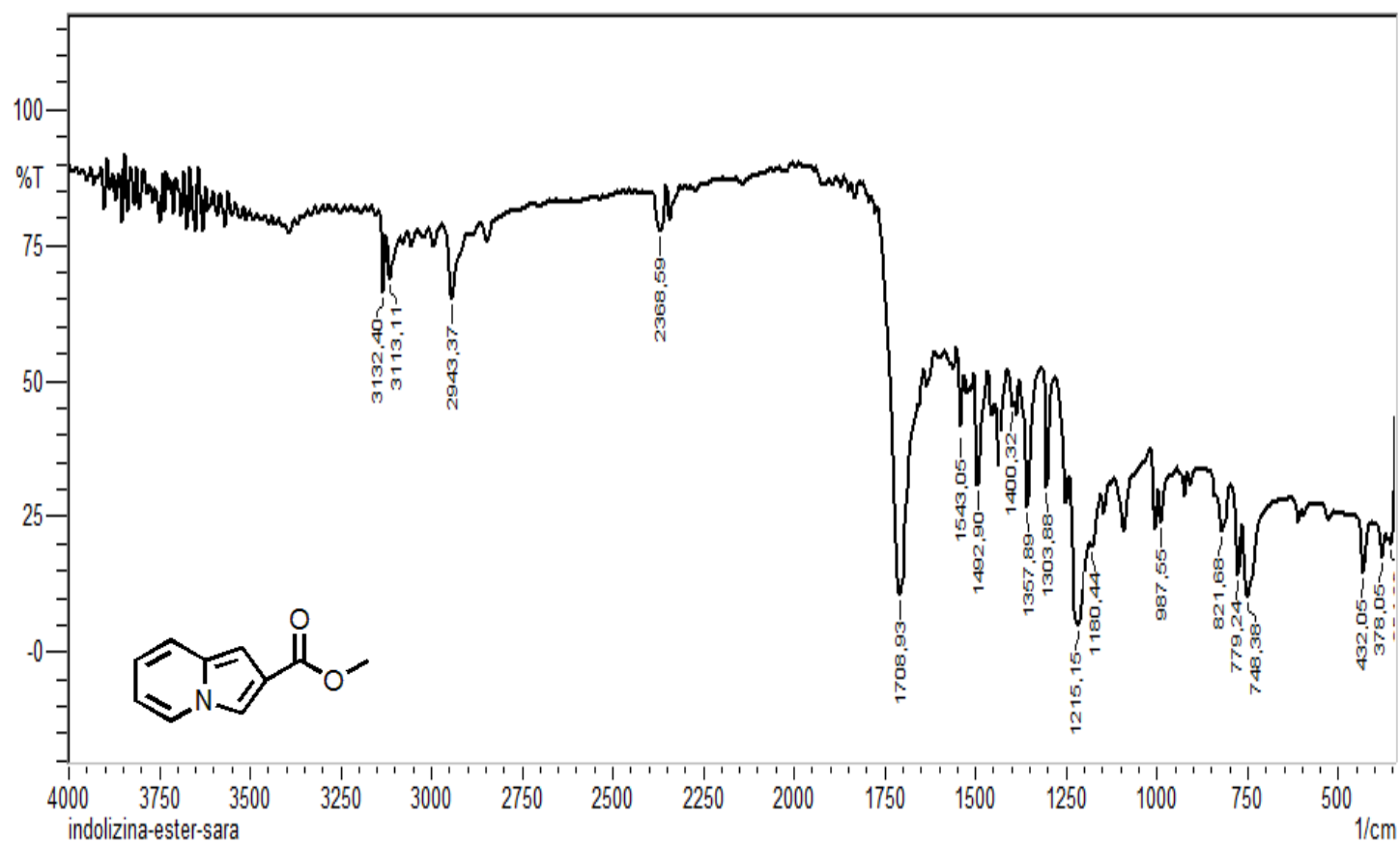
Espectro 25 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina **2**

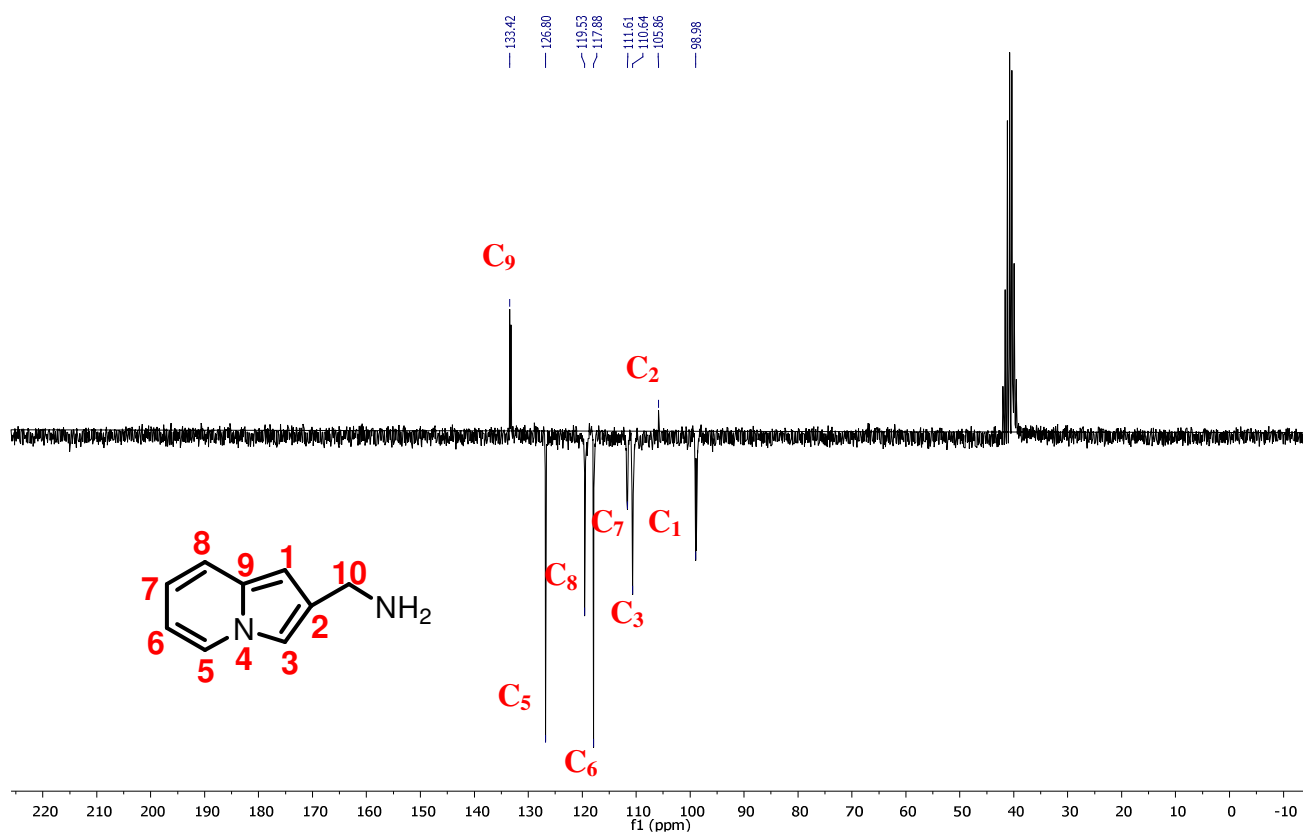
Espectro 26 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) da Indolizina **2** na região de 6.45 a 7.85 ppm



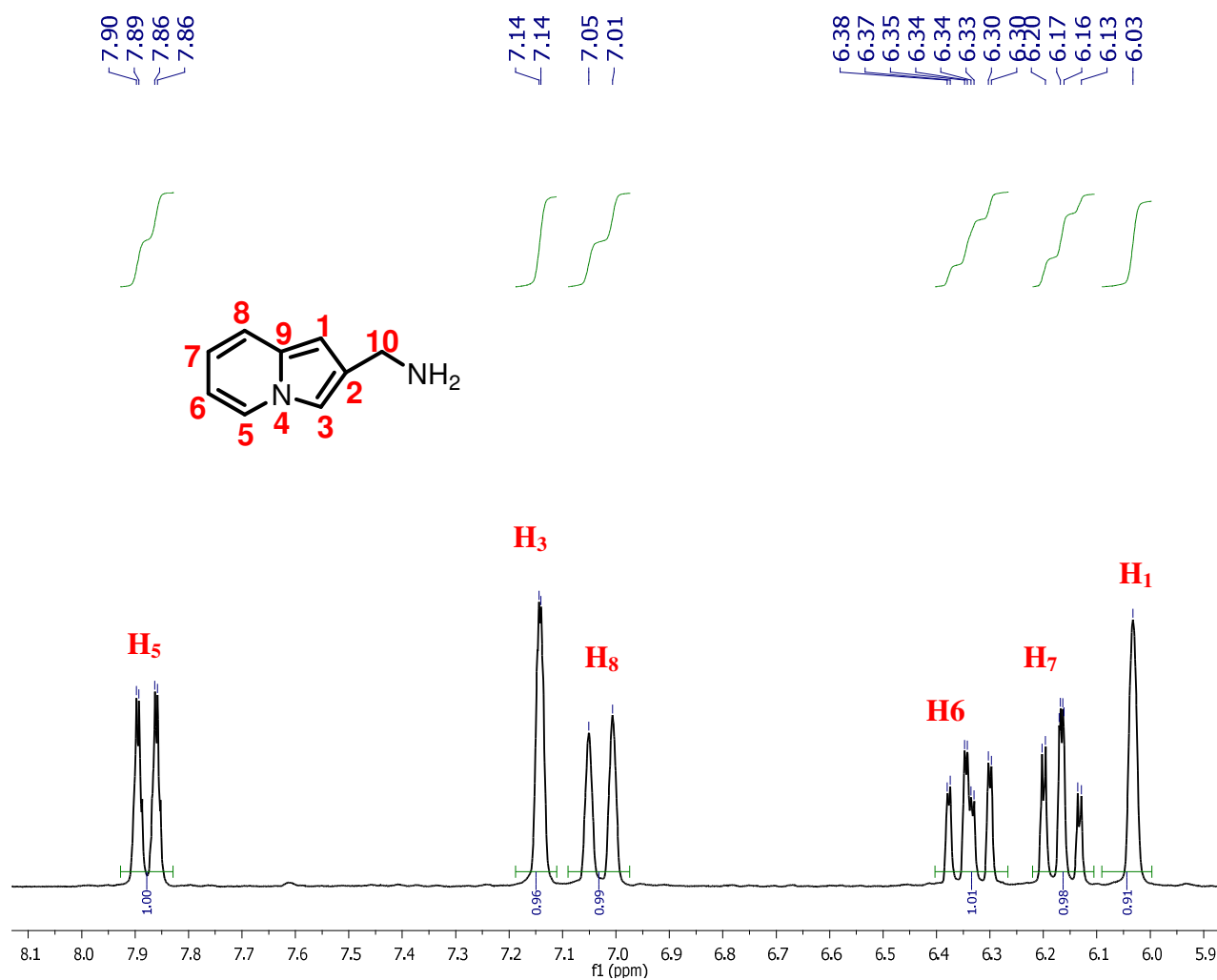
Espectro 27 Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl_3 , 50MHz) da Indolizina **2**

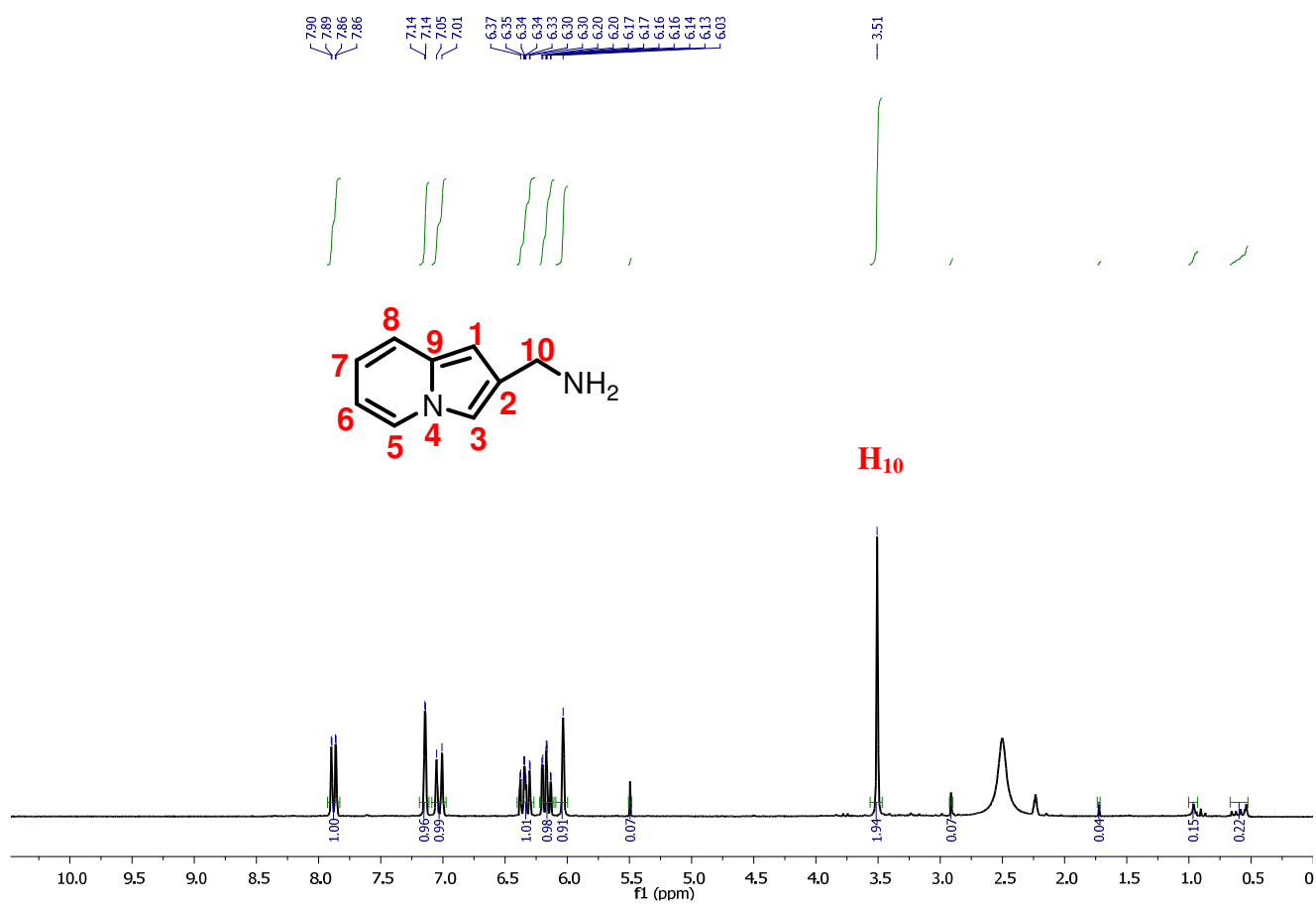
Espectro 28 Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 2

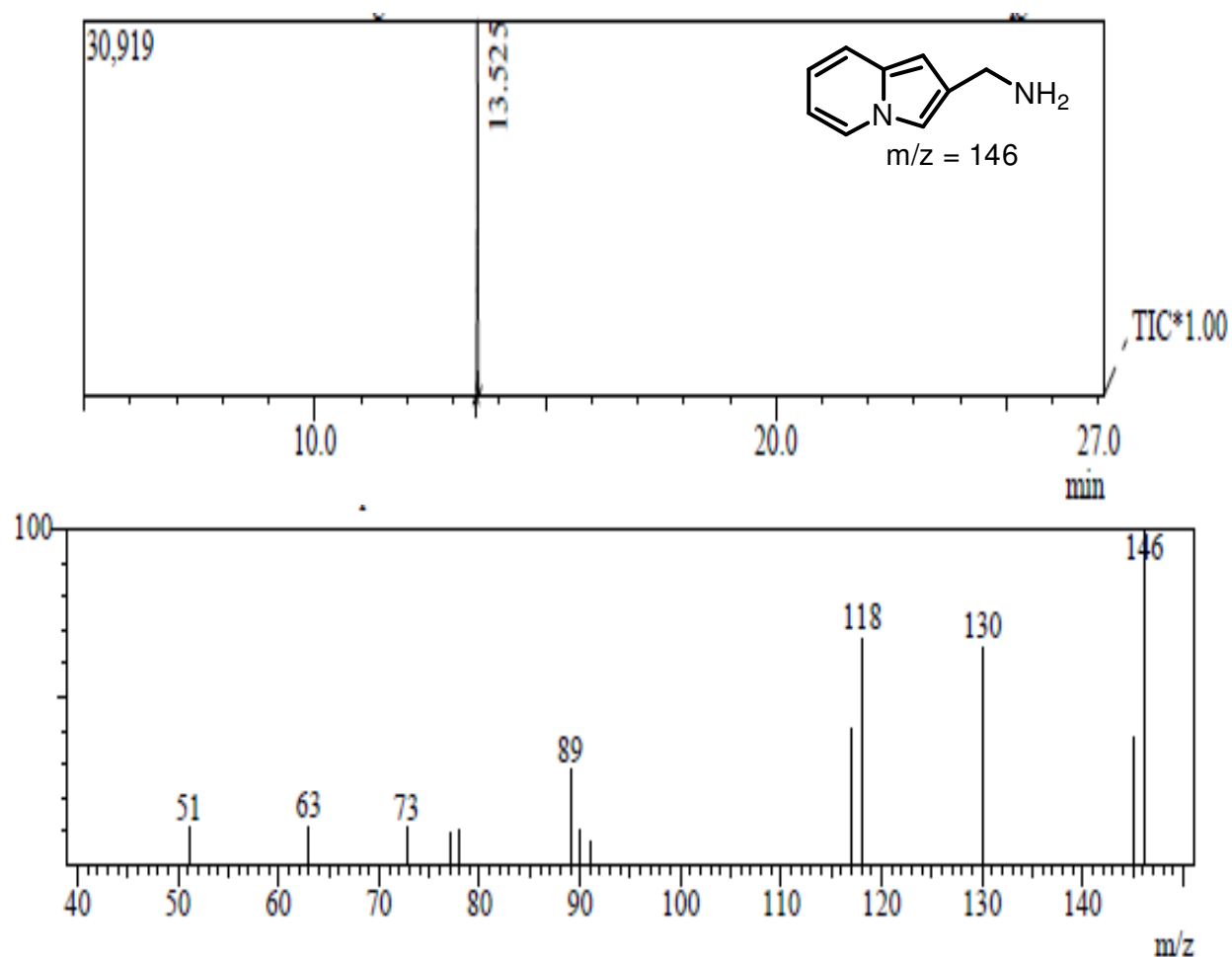
Espectro 29 Espectro de Infravermelho da Indolizina 2

Espectro 30 Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl_3 , 50MHz) da Indolizina **5**

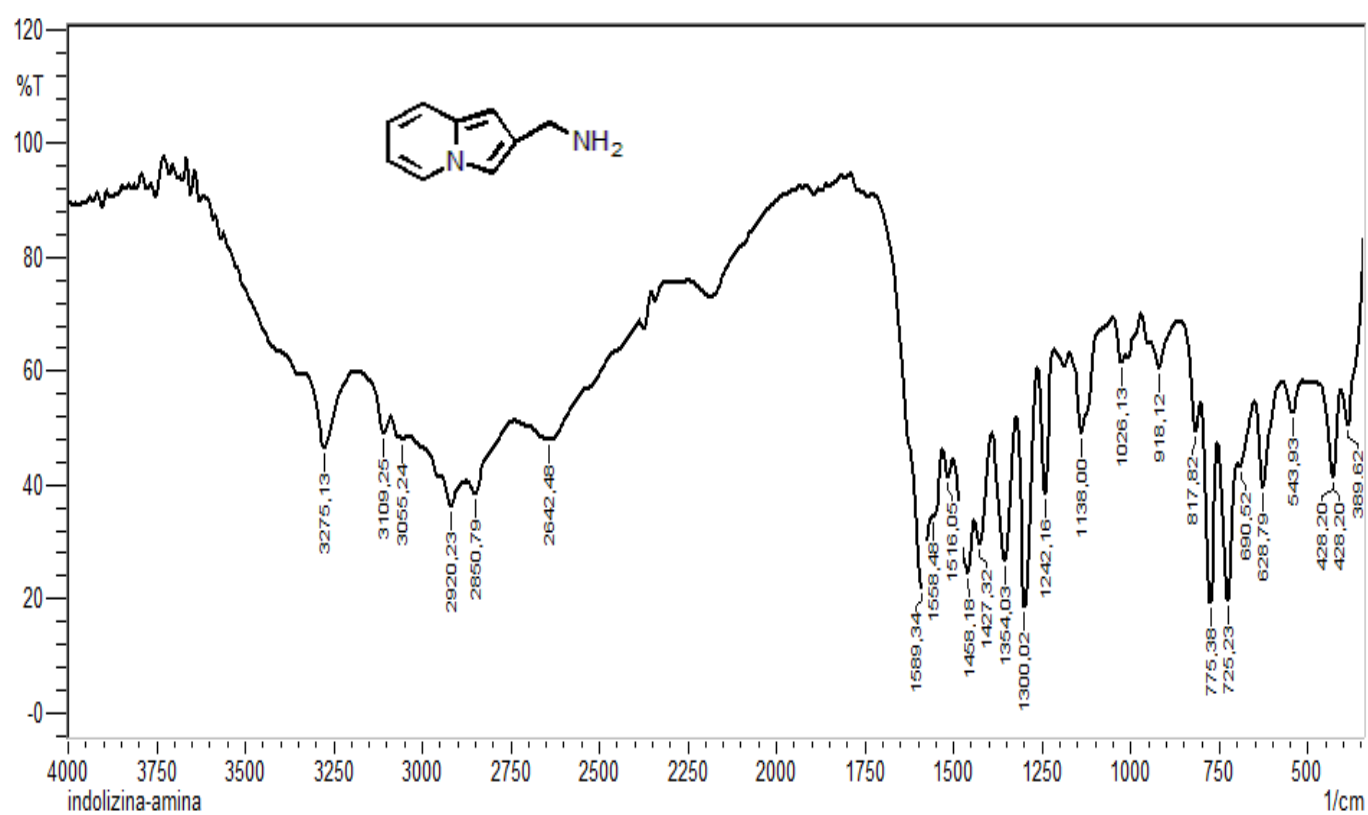
Espectro 31 Expansão do Espectro de RMN¹H(CDCl₃, 200 MHz) da Indolizina **5** na região de 5.9 a 8.1 ppm

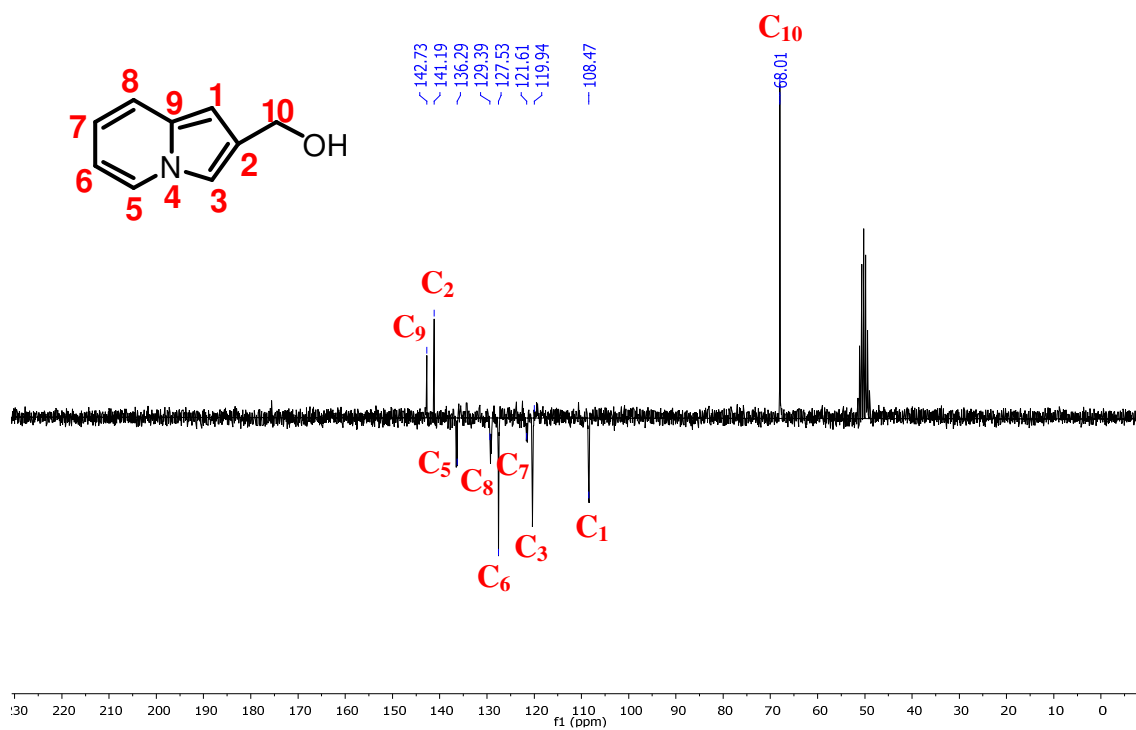


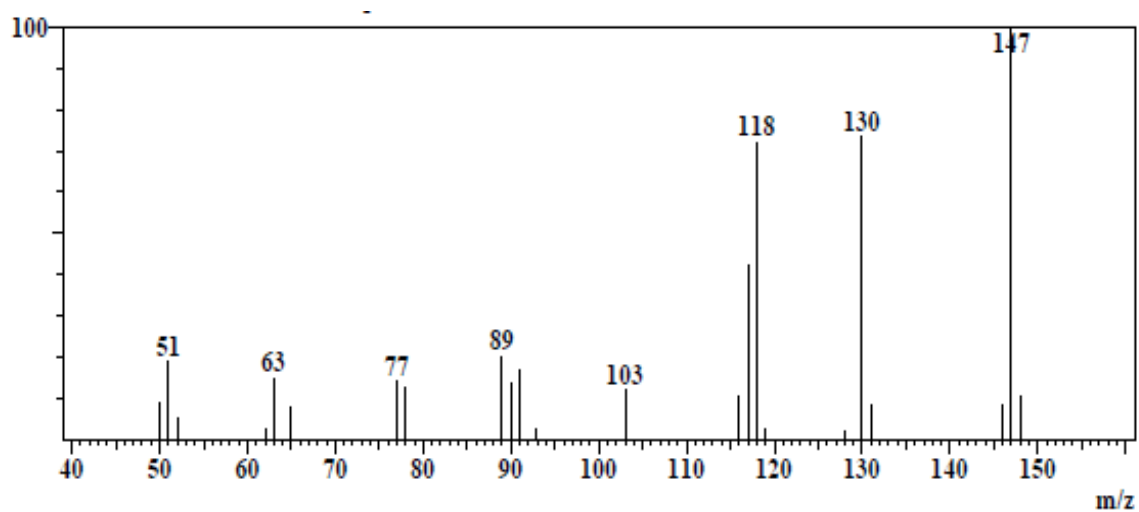
Espectro 32 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina **5**

Espectro 33 Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 5

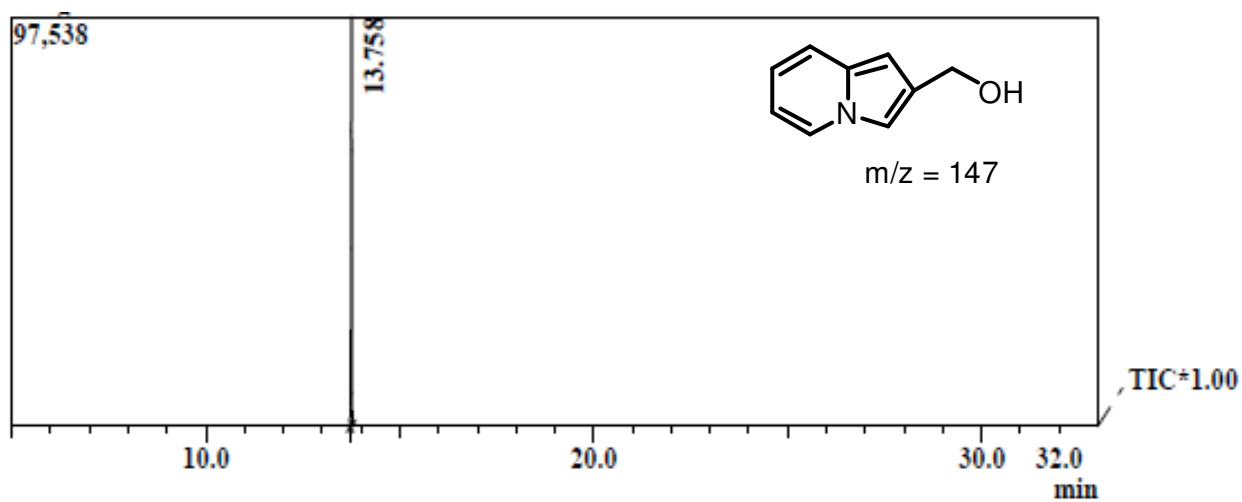
Peak Report TIC							
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height% A/H
1	13.525	13.492	13.550	34843	100.00	30919	100.00
				34843	100.00	30919	100.00

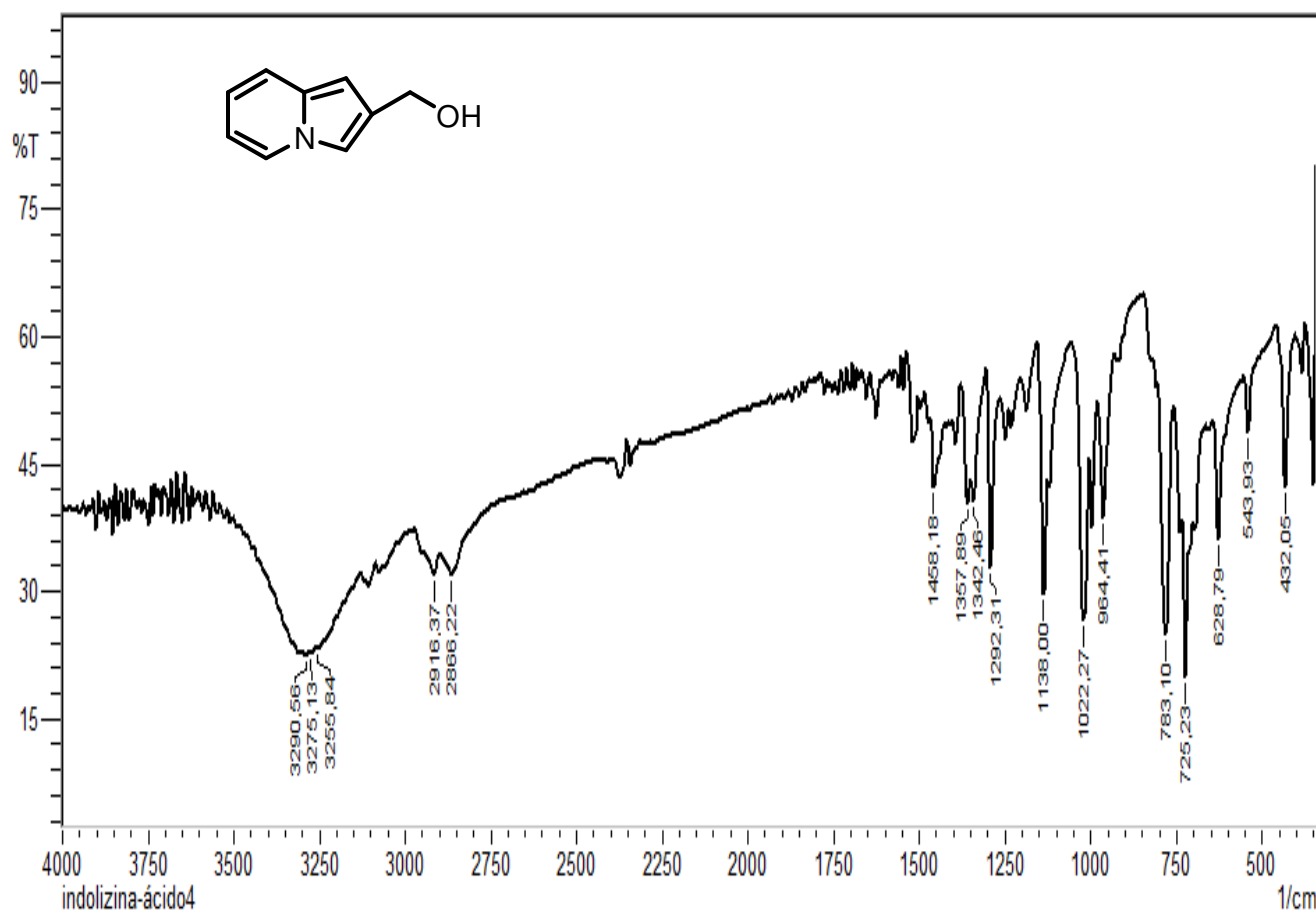
Espectro 34 Espectro de Infravermelho da Indolizina 5

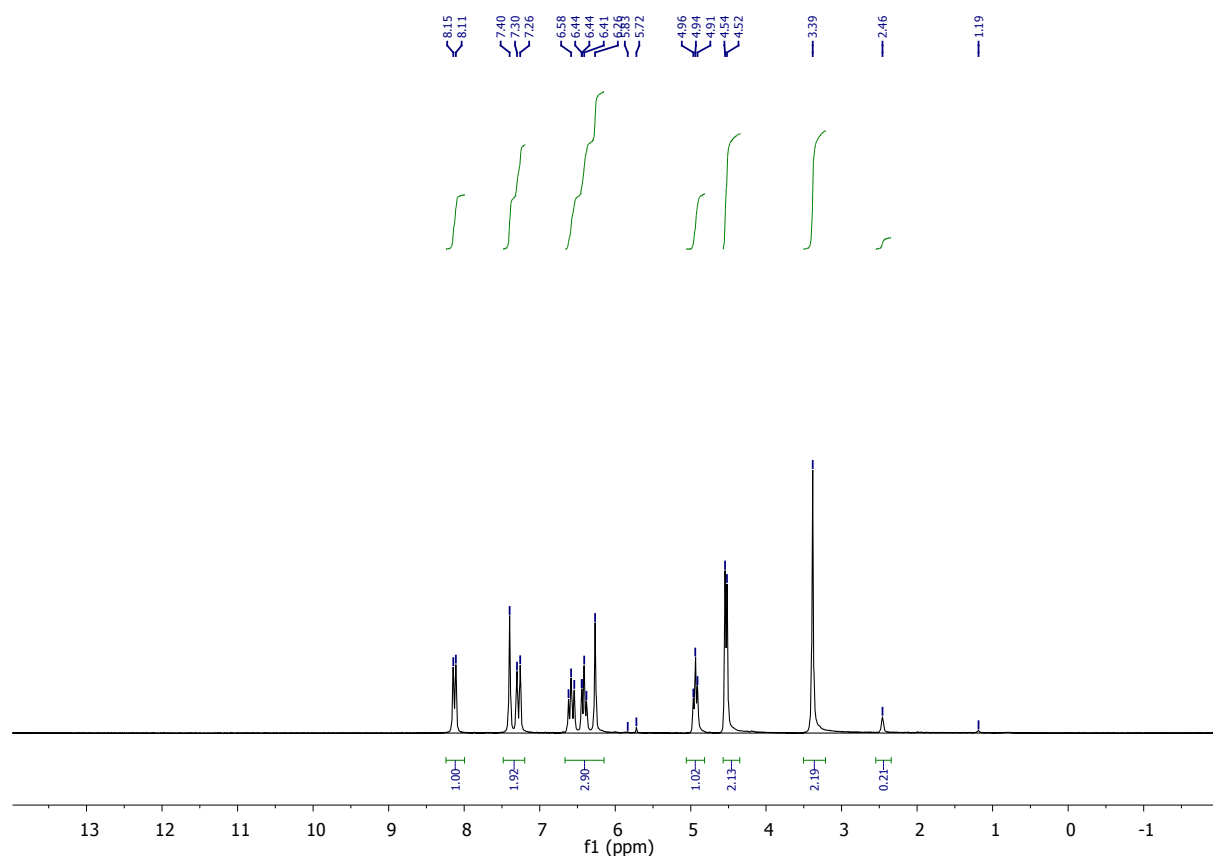
Espectro 35 Espectro de RMN ^{13}C -APT(CDCl_3 , 50MHz) da Indolizina **6**

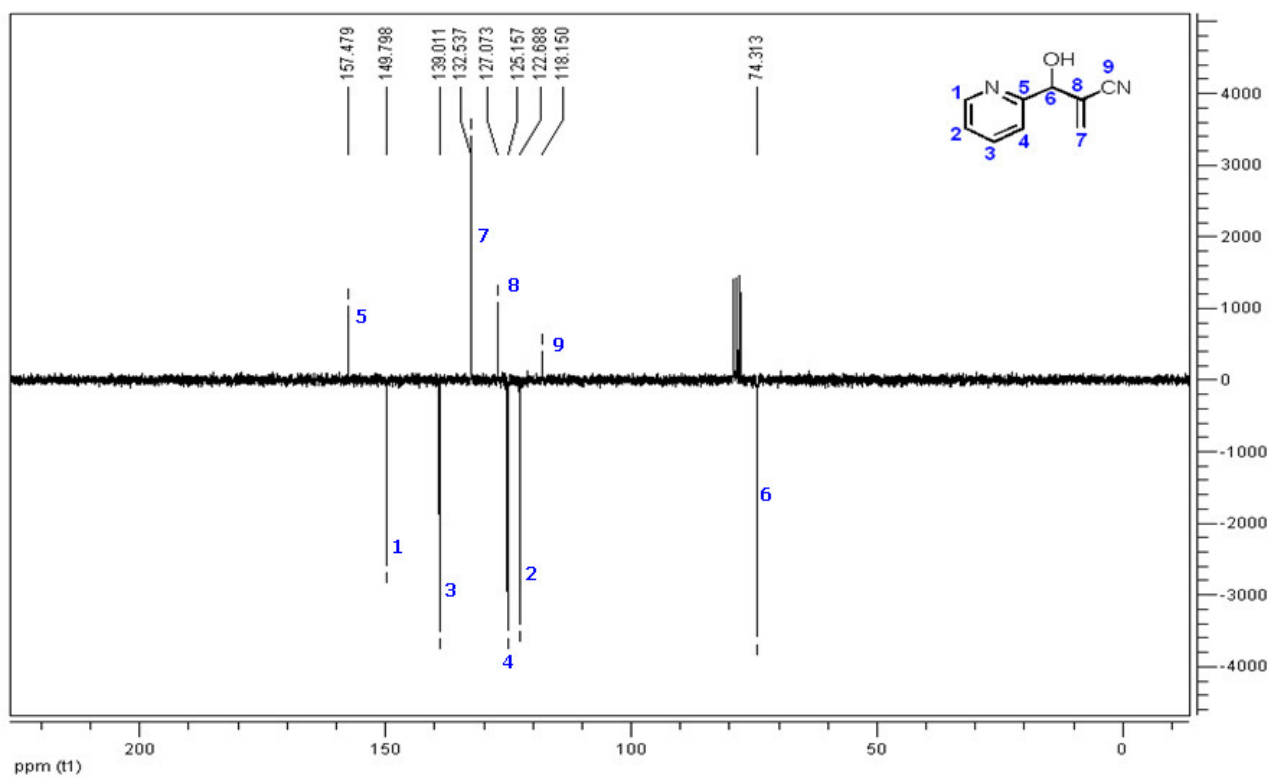
Espectro 36 Cromatograma e Espectro de massas da Indolizina 6

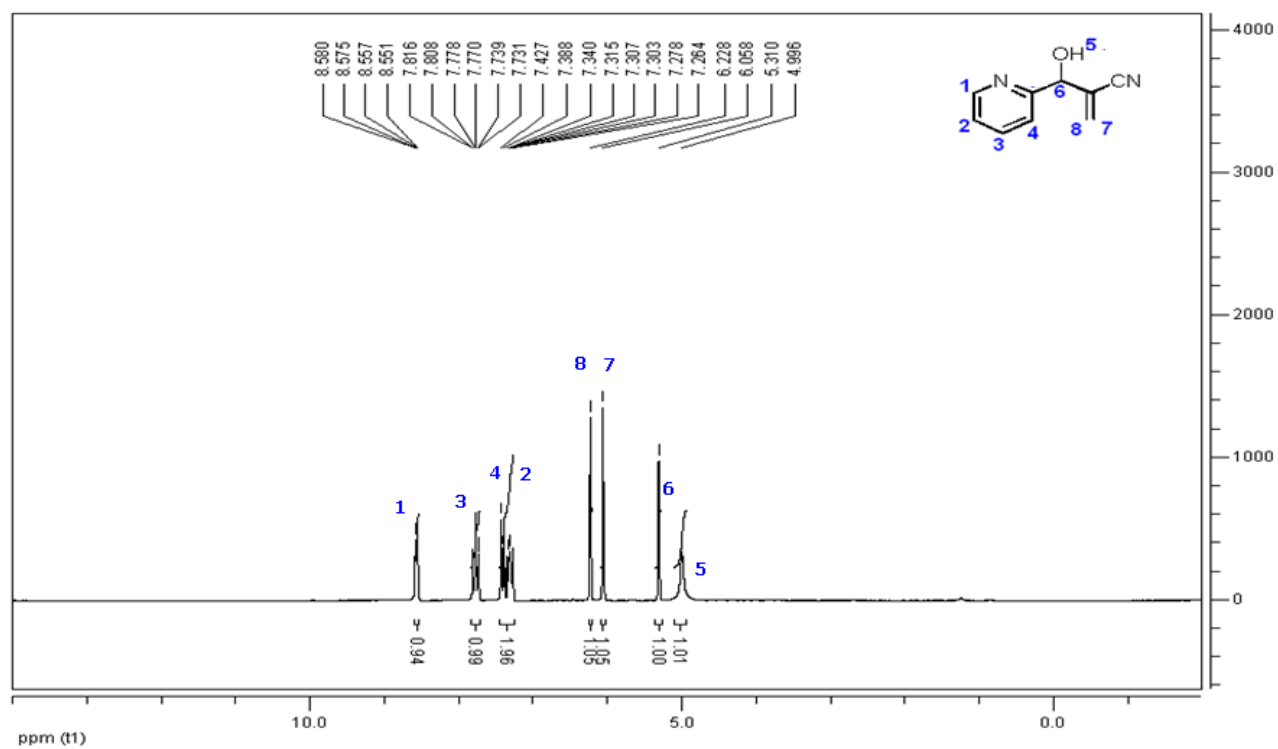
Peak Report TIC							
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height% V/H
1	13.758	13.717	13.783	152178	100.00	97538	100.00 .56
				152178	100.00	97538	100.00

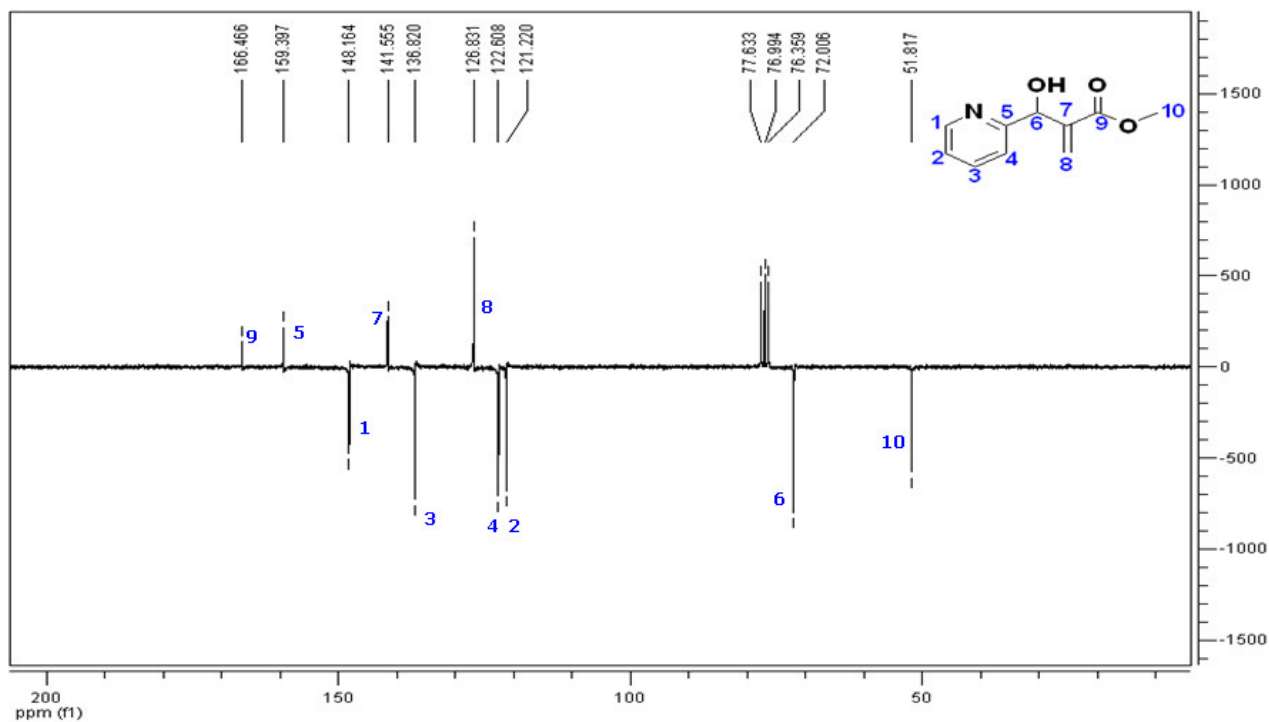


Espectro 37 Espectro de Infravermelho da Indolizina 6

Espectro 38 Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200MHz) da Indolizina **6**

Espectro 39 Espectro de RMN¹³C-APT do Aduto **10** (CDCl₃, 50 MHz)

Espectro 40 Espectro de RMN¹H do Aduto **10** (CDCl₃, 200 MHz)

Espectro 41 Espectro de RMN¹³C - APT do Aduto **9** (CDCl₃, 50 MHz)**Espectro 42** Espectro de RMN¹H do Aduto **9** (CDCl₃, 200 MHz)