

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE DE COMPOSTOS CONTENDO N-HETEROCICLOS DE
5 MEMBROS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA
FRENTE A NS3 HELICASE DO VÍRUS ZIKA**

Hérika Danielle Almeida Vidal*

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTORA EM CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA ORGÂNICA.

Orientadora: Profa. Dra. Arlene Gonçalves Corrêa

***bolsista CAPES**

São Carlos – SP

2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Hérika Danielle Almeida Vidal, realizada em 15/03/2024.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Arlene Gonçalves Corrêa (UFSCar)

Prof. Dr. Rafael Victório Carvalho Guido (IFSC/USP)

Prof. Dr. Daniel Fábio Kawano (UNICAMP)

Prof. Dr. Antonio Carlos Bender Burtoloso (IQSC/USP)

Prof. Dr. Marco Antonio Barbosa Ferreira (UFSCar)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

*Chemists are dreamers.
We think up new molecules and bring them to life.*

Carolyn Bertozzi

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus e a todas as forças do universo que guiam e sustentam os nossos caminhos

Agradeço imensamente meus pais, Janete e Helder, que não mediram esforços para me ajudar, e mesmo diante as dificuldades estiveram me apoiando, além do amor, carinho e atenção.

Ao meu único irmão Helder Filho, pelo apoio e confiança, e mesmo não sendo grande admirador das ciências exatas me apoiando na escolha.

Minha avó Terezinha pelo amor e intercessão.

Meu tio Daniel que teve papel ímpar na minha escolha da química para a vida, e me suportou todo doutorado.

A toda minha família pelo suporte.

Ao meu namorado Benito, que apesar da distância foi meu suporte e parceiro nesses anos, sempre acreditando em mim.

Aos meus amigos da vida Edgar, Amanda, Hugo, Pedro e Flávio que mesmo trilhando caminhos diferentes e grandes momentos de ausência, não fez com que abalasse nossa cumplicidade.

A todo grupo LSPN Marcelo, Neto, Lorena, Ingrid, Jhonathan, Paulo e Ana Cláudia que compartilhamos não só laboratório, mas nossas vidas e fazem da minha história.

Ao Laboratório de Produtos Naturais e o Me. Carlos André pela disponibilidade e ajuda nas análises.

À Profa. Dra. Arlene G. Corrêa pela orientação, confiança, paciência e dedicação na orientação.

Aos laboratórios parceiros CIBFar e LaMuCrEs.

A banca pela disponibilidade e contribuições.

A CAPES (cod. 001) pela bolsa concedida e aos órgãos de fomento FAPESP e CNPq.

A todos e todas que apoiaram e ajudaram de forma direta e indireta para o êxito de tudo, o meu Muito Obrigada!!

LISTA DE ABREVIATURAS

CC₅₀: Concentração mínima necessária para reduzir a viabilidade celular em 50%

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CSA: Ácido canforsulfônico

DCM: Diclorometano

DMC: Carbonato de dimetila

DSF: *Differential Scanning Fluorimetry*

EC₅₀: concentração mínima do fármaco para induzir 50% de seu efeito máximo

FDA: *Food and Drug Administration*

HRMS: Espectrometria de massas de alta resolução

HTS: *High throughput screening*

Kb: kilobase

MO: Micro-ondas

MST: *Microscale Thermophoresis*

NS: Não estrutural

NTP: Nucleotídeo Trifosfatado

OMS: Organização Mundial da Saúde

TFA: Ácido trifluoroacético

TFE: Trifluoretanol

THF: Tetraidrofurano

TsOH: Ácido *p*-toluenossulfônico

ZIKV: Zika Vírus

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1. Otimização reação de Ugi.....	65
TABELA 3.2. Correlações observadas no HSQC, incluindo rotâmeros para 48b	67
TABELA 3.3. Testes avaliando a influência do HCl na formação do produto 48a	70
TABELA 3.4. Avaliação das condições reacionais para a adição de Michael intramolecular.....	72
TABELA 3.5. Correlações observadas no HSQC, incluindo rotâmeros para 51a	73
TABELA 3.6. Tabela mostrando os valores de T_{ms} das curvas de estabilidade térmica obtidos após o ajuste das curvas de desnaturação com equação de Boltzmann e os deslocamentos térmicos obtidos através da comparação de cada T_m com o controle do ensaio (DMSO).	81

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1. Estrutura ZIKV. Adaptada de Sadeer <i>et al.</i> ⁵	17
FIGURA 1.2. Estrutura do domínio helicase da NS3 de ZIKV mostrando os sítios de ligação do RNA e de ATP ou NTP quando sobreposta a estrutura.....	18
FIGURA 1.3. Estrutura que apresentou ligações mais efetivas no sítio de ligação de RNA da NS3 ^{Hel} , segundo Mabkhot e colaboradores.	18
FIGURA 1.4. Diarilamina testada por Jardim e colaboradores.	19
FIGURA 1.5. Compostos ativos via triagem virtual por estudos realizados por Giri e colaboradores.....	20
FIGURA 1.6. Estrutura do (-)-eipigalocatequina galato (EGCG).	20
FIGURA 1.7. Bis-cumarinas com atividade NTPase da NS3 ^{Hel}	21
FIGURA 1.8. Sobreposição dos cristais obtidos na triagem de <i>HTS</i>	22
FIGURA 1.9. Estrutura mostrando o sítio de ligação de RNA da NS3 ^{Hel} com os ligantes hidantoína e oxadiazol.	23
FIGURA 1.10. Estrutura dos fragmentos encontrados no sítio de ligação de RNA da NS3 ^{Hel} : hidantoína A e oxadiazol B	23
FIGURA 1.11. Fármacos já comercializados que contém <i>N</i> -heterociclos de cinco membros em suas estruturas.	25
FIGURA 1.12. Estrutura geral hidantoína.	25
FIGURA 1.13. Hidantoína natural derivada de espécie marinha.	26
FIGURA 1.14. Isômeros constitucionais dos oxadiazóis.	29
FIGURA 1.15. Exemplos de 1,2,4-oxadiazóis naturais.....	30
FIGURA 1.16. Estrutura geral γ -lactama.	33
FIGURA 1.17. γ -Lactama natural (função Aminal: R'-HN-C-O-R).	33
FIGURA 1.18. Estrutura geral 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila.	41
FIGURA 3.1. Compostos planejados usando fragmentos moleculares do estudo de <i>HTS</i>	45
FIGURA 3.2. Produto 47m obtido usando acetona como solvente.	64
FIGURA 3.3. Espectro de massas de alta ESI+ do composto 48a	66
FIGURA 3.4. Correlações observadas no HMBC (48b).	68
FIGURA 3.5. Raio-X do composto 48a	68
FIGURA 3.6. Espectro de HRMS-ESI+ da amina cloridrato 50	69
FIGURA 3.7. Reação realizada por Scanlan com a desproteção do Boc e adição do cloro.	69
FIGURA 3.8. Correlações observadas no HMBC para 51a	73

FIGURA 3.9. Espectro de RMN ^1H do 51b com variação de temperatura (25 – 105 °C), em DMSO- d_6	76
FIGURA 3.10. Cristalografia de Raio-X de 51d	77
FIGURA 3.11. Estudo de comportamento do desenovelamento térmico da ZIKV NS3 ^{Hel} na presença dos compostos sintetizados.	80
FIGURA 3.12. Compostos que apresentaram maior variação da Tm no DSF..	82
FIGURA 5.1. Esquema mostrando as etapas do ensaio para análise da estabilidade térmica do domínio helicase da NS3 de ZIKV.	118
FIGURA 5.2. Esquema mostrando as etapas do ensaio de atividade ATP/GTPase do domínio helicase da NS3 de ZIKV.	119

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1.1. Mecanismo formação de hidantoína via reação de Bucherer-Bergs.....	26
ESQUEMA 1.2. Reação de Biltz na síntese da Fenitoína.	27
ESQUEMA 1.3. Reação de Urech/Read partindo de aminoácidos e isocianatos.	27
ESQUEMA 1.4. Síntese de hidantoínas catalisada por Cu.	28
ESQUEMA 1.5. Síntese em fluxo de hidantoínas via reação de Bucherer-Bergs.	28
ESQUEMA 1.6. Síntese de hidantoínas 1,5-substituídas com o uso de CBX. .	29
ESQUEMA 1.7. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos no estudo de Baykov, partindo de amidoxaminas e ésteres.....	30
ESQUEMA 1.8. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de amidoxaminas e cianetos de benzoíla.....	31
ESQUEMA 1.9. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de amidoxaminas e de ácidos carboxílicos derivados de mono-peptídeos mediado por DCC.....	31
ESQUEMA 1.10. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de amidoxaminas e ácidos carboxílicos mediado por reagente de Vilsmeier.	32
ESQUEMA 1.11. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de nitroalcenos e nitrilas usando TfOH.....	32
ESQUEMA 1.12. Mecanismo clássico proposto para Ugi-RMC.....	35
ESQUEMA 1.13. Propostas de mecanismo Ugi proposta por Fleurat-Lessard e colaboradores.....	36
ESQUEMA 1.14. Proposta de mecanismo incluindo metanol como reagente proposta por Amarante e colaboradores.	37
ESQUEMA 1.15. Síntese de δ -lactamas derivadas de cotininas e iso-cotininas.	38
ESQUEMA 1.16. Síntese de δ -lactamas derivadas de indóis.....	39
ESQUEMA 1.17. Síntese de δ -lactamas derivadas de cumarinas.	40
ESQUEMA 1.18. Síntese de δ -lactamas partindo de β -lactamas.....	40
ESQUEMA 1.19. Síntese de derivados 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila mediado pelo uso de NaI.	41
ESQUEMA 1.20. Mecanismo proposto para forma 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila mediado pelo uso de NaI.....	42
ESQUEMA 1.21. Síntese de 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila através da condensação de 2-cloroacetoacetatos.....	42

ESQUEMA 1.22. Síntese de 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila catalisada por Pd (0).	43
ESQUEMA 3.1. Síntese do LSPN547	46
ESQUEMA 3.2. Síntese de derivados de hidantoína.	48
ESQUEMA 3.3. Síntese de análogos do fragmento de oxadiazol 2 via reação Ugi-split.	49
ESQUEMA 3.4. Mecanismo proposto para a RMC Ugi-split.	49
ESQUEMA 3.5. Aplicação da metodologia de RMC Ugi-split com derivado de hidantoína.....	50
ESQUEMA 3.6. Formação de amidas via cloreto de acila.	50
ESQUEMA 3.7. Obtenção de aminas livres derivadas de piperazina.	52
ESQUEMA 3.8. Compostos obtidos empregando a metodologia TBTU.	52
ESQUEMA 3.9. Compostos obtidos empregando a metodologia HATU.	53
ESQUEMA 3.10. Mecanismo proposto para formação de amidas.	54
ESQUEMA 3.11. Mecanismo de reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada com sal de cobre. ⁶⁵	55
ESQUEMA 3.12. Obtenção das azidas 24 , 26 , 28 e 30 através de substituições nucleofílicas.....	56
ESQUEMA 3.13. Obtenção de triazóis via “click”	57
ESQUEMA 3.14. Síntese da amidoxima.	57
ESQUEMA 3.15. Síntese de oxadiazóis partindo de aldeídos.	58
ESQUEMA 3.16. Síntese dos compostos híbridos empregando oxadiazóis partindo de cetoésteres.....	59
ESQUEMA 3.17. Síntese do álcool derivado de oxadiazol 30	59
ESQUEMA 3.18. Mecanismo proposto para o uso do reagente de Mukaiyama.	60
ESQUEMA 3.19. Síntese empregando o reagente de Mukaiyama.	61
ESQUEMA 3.20. Retrossíntese para obtenção de δ -lactamas.....	62
ESQUEMA 3.21. Síntese da amina 46	63
ESQUEMA 3.22. Desproteção do Boc e adição do cloro.	71
ESQUEMA 3.23. Escopo reacional para formação das δ -lactamas.	75
ESQUEMA 3.24. Mecanismo proposto para obtenção das γ -lactamas 51	78

RESUMO

SÍNTESE DE COMPOSTOS CONTENDO *N*-HETEROCICLOS DE 5 MEMBROS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA FRENTE A NS3 HELICASE DO VÍRUS ZIKA. Estudos epidemiológicos e biológicos mostraram que a infecção pelo vírus Zika (ZIKV) está fortemente associada à microcefalia neonatal e à síndrome de Guillain-Barré em adultos. Até o momento não há nenhum tipo de vacina e/ou medicamento eficiente que possa controlar esta virose. Um alvo promissor, porém pouco explorado, na descoberta de fármacos contra o ZIKV é a proteína não estrutural 3 (NS3). Neste trabalho, a descoberta de medicamentos baseados em fragmentos usando experimentos de triagem de alto rendimento (*HTS*) mostrou que um derivado de hidantoína e um derivado de oxadiazol estavam localizados no sítio RNA e, portanto, foram considerados promissores como ligantes da helicase NS3 do ZIKV. Baseando-se nestes resultados, foram sintetizados compostos contendo hidantoína e/ou oxadiazol. Dentre os diversos métodos empregados estão as reações multicomponentes (RMC), como a reação Ugi-split, que oferecem uma abordagem sustentável e permitem uma grande variabilidade estrutural. Foram ainda empregados reagentes de acoplamento, como TBTU, HATU e de Mukaiyama, para reações de formação de amida e ésteres. Também foram exploradas substituições bioisostéricas do oxadiazol por anéis de piperazina e triazol, obtido através da reação de cicloadição azido-alcino catalisada por cobre. Em paralelo, estudou-se a síntese de δ -lactamas altamente substituídas de forma *one-pot*, através de adição de Michael intramolecular de produtos de Ugi. Apesar das limitações, a metodologia apresenta uma abordagem versátil e de fácil manipulação que norteia os preceitos da Química Verde. Em relação à avaliação biológica, foi possível comprovar através de testes térmicos e *in vitro* que os derivados *N*-heterociclos propostos são promissores para futuros fármacos que possam atuar frente ao ZIKV.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF COMPOUNDS CONTAINING 5-MEMBER *N*-HETEROCYCLES AND EVALUATION OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY AGAINST THE ZIKA VIRUS NS3 HELICASE. Epidemiological and biological studies have shown that Zika virus (ZIKV) infection is strongly associated with neonatal microcephaly and Guillain-Barré syndrome in adults. To date, there is no vaccine and/or efficient drug that can control this virus. A promising, but little explored, target in drug discovery against ZIKV is the non-structural protein 3 (NS3). In this work, fragment-based drug discovery using high-throughput screening (HTS) experiments showed that a hydantoin derivative and an oxadiazole derivative were located at RNA site and therefore considered promising as ligands of the ZIKV NS3 helicase. Based on these results, compounds containing hydantoin and/or oxadiazole were synthesized. Among the various methods used are multicomponent reactions (MCR), such as the Ugi-split reaction, which offer a sustainable approach and allow for broad structural variability. Coupling reagents, such as TBTU, HATU and Mukaiyama, were also used for amide and ester formation reactions. Bioisosteric substitutions of oxadiazole with piperazine and triazole, obtained through the copper-catalyzed azido-alkyne cycloaddition reaction, were also explored. In parallel, the synthesis of highly substituted δ -lactams was studied in a one-pot reaction, through intramolecular Michael addition of Ugi products. Despite the limitations, the method presents a versatile and easy-to-manipulate approach that guides the precepts of Green Chemistry. Regarding biological evaluation, it was possible to demonstrate, through thermal and in vitro tests, that the proposed *N*-heterocycle derivatives are promising for the development of drugs that can act against ZIKV.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1. Zika Vírus.....	15
1.1.1. NS3 Helicase do ZIKV	17
1.2. N-heterociclos de cinco membros	24
1.2.1. Hidantoína	25
1.2.2. 1,2,4-Oxadiazol.....	29
1.2.3. γ -Lactamas	33
1.2.3.1. Reação de Ugi.....	34
1.2.3.2. Obtenção de γ -lactamas via reação de Ugi e pós-modificações 37	
1.2.3.3. Obtenção 3-ciano-2-pirrolidinona	41
2. OBJETIVOS.....	44
3. RESULTADOS	45
3.1. Parte I: Síntese de derivados de hidantoínas e oxadiazóis.....	45
3.1.1. Derivados de Hidantoína	46
3.1.2. Derivados de oxadiazóis	57
3.1.3. Síntese dos compostos híbridos hidantoína-oxadiazol	58
3.2. Parte II: Síntese de δ -lactamas	62
3.3. Parte III: Avaliação Biológica.....	78
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	84
5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	85
5.1. Informações gerais.....	85
5.2. Procedimentos de síntese.....	86
5.2.1. Parte I	86
5.2.1.1. Materiais de Partida	86
5.2.1.2. Síntese de oxadiazóis partindo de aldeídos ⁶⁹	91
5.2.1.3. Síntese de oxadiazóis partindo de ésteres.....	93
5.2.1.5. Reações Ugi-Split ⁵⁸	97
5.2.1.6. Síntese de derivados de hidantoína usando TBTU	98
5.2.1.7. Síntese de derivados de Hidantoína usando HATU ⁸⁸	100
5.2.1.8. Síntese de triazóis	102
5.2.1.9. Síntese de derivados de hidantoína usando Mukaiyama ⁷⁵ ...	105

5.2.2.	Parte II	107
5.2.2.1.	Materiais de partida	107
5.2.2.2.	Síntese dos Produtos de Uji.....	108
5.2.2.3.	Síntese de γ -lactamas	112
5.2.3.	Parte III – Atividade Biológica	118
5.2.3.1.	Ensaio de estabilidade térmica NS3 ^{Hel}	118
5.2.3.2.	Ensaio de atividade ATPase do domínio Helicase da NS3 de ZIKV	119
5.2.3.3.	Ensaio antivirais baseados em replicon utilizando a linhagem celular BHK-21-RepZIKV_IRES-Neo	119
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121

1. INTRODUÇÃO

As infecções virais representam uma ameaça significativa à saúde humana e são um desafio constante para a saúde pública. Estima-se que 20% de todas as mortes no mundo são causadas por doenças infecciosas, das quais 70% são atribuídas a infecções virais.¹

As viroses, infelizmente, têm resultado em milhões de mortes ao longo da história. Portanto, muitas medidas, como o desenvolvimento de vacinas para prevenção, medicamentos para tratamento e profilaxias referentes também a mudanças de hábitos, têm sido desenvolvidas para evitar essa alta mortalidade. A era dos antivirais se iniciou em 1959, com a síntese do 5-iodo-2'-desoxiuridina, para tratar a ceratite herpética, e a partir daí inúmeros antivirais foram desenvolvidos no decorrer dos anos.² Embora haja pesquisas que buscam identificar compostos antivirais via reposicionamento de fármacos empregados no tratamento de outros vírus, ainda existe uma série de doenças que carecem de vacinas ou tratamentos eficientes, sendo um exemplo a Zika.

1.1. Zika Vírus

O vírus Zika (ZIKV), do gênero *Flavivirus*, foi identificado pela primeira vez em uma amostra de sangue de um macaco Rhesus, em 1947, na floresta Zika, em Uganda, leste da África. Semelhante aos outros do gênero *Flavivirus*, como o vírus da dengue, o vírus Zika é transmitido principalmente via picada de mosquitos fêmeas de *Aedes aegypti* e geralmente provoca sintomas brandos como febre, dores de cabeça e nas articulações, levando a tratamentos sintomáticos como a administração de analgésicos e antitérmicos.³

Em 2016, foram detectados cerca de 4 milhões de casos de Zika apenas na América, dessa forma a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou estado de emergência de importância internacional.³ Esses milhões de casos foram contidos, contudo segundo dados da OMS de dezembro de 2021, um total

de 89 países possuem comprovação da transmissão viral em seus territórios, e além disso, no Brasil, foram identificados cerca de 9 mil casos, apenas em 2022.⁴

A principal preocupação relacionada à infecção pelo vírus Zika (ZIKV) é sua capacidade de atravessar as barreiras de proteção do organismo e alcançar as células do sistema nervoso central. Isso não apenas causa os sintomas clínicos da doença, mas também pode desencadear problemas neurológicos graves, como microcefalia em fetos de mulheres grávidas e a síndrome de Guillain-Barré, uma doença autoimune em que o sistema imunológico ataca componentes do sistema nervoso, resultando em sérios danos funcionais.³

Devido à inexistência de medicamentos eficazes, vários grupos de pesquisa têm se dedicado à descoberta e validação de alvos terapêuticos para combater esse vírus. O processo de identificar e validar o alvo é crucial para a formulação das propostas de fármacos, sendo para tal imprescindível uma análise detalhada da estrutura viral.

O ZIKV possui uma fita simples de RNA positiva, com RNA genômico de aproximadamente 11 kb de comprimento, onde a poliproteína flaviviral é traduzida a partir do seu RNA dentro de uma célula infectada. A poliproteína possui um arranjo comum que compreende três proteínas estruturais, capsídeo, pré-membrana e envelope, seguidas por sete proteínas não estruturais NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5. Dentre estas apenas NS3 e NS5 possuem atividades enzimáticas que são vitais para o ciclo de vida do vírus (Figura 1.1.). A compreensão dessas proteínas não estruturais é de grande relevância para o desenvolvimento de fármacos, pois permite a validação de alvos com base nos mecanismos de ação dos protótipos estudados. Um exemplo disso é o fármaco desenvolvido para a hepatite C, que tem como alvo a protease NS3.^{5,6}

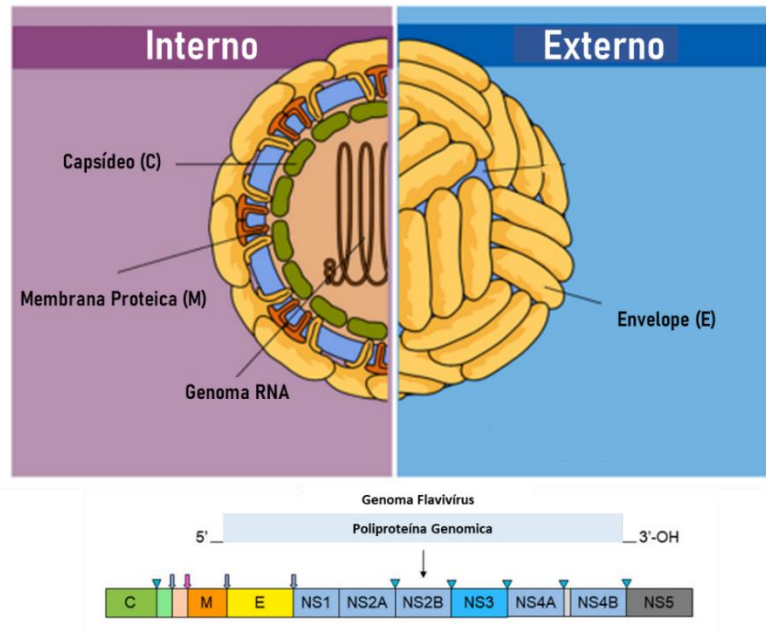


FIGURA 1.1. Estrutura ZIKV. Adaptada de Sadeer *et al.*⁵

1.1.1. NS3 Helicase do ZIKV

A proteína não estrutural 3 (NS3) é um componente crucial para o processamento de polipeptídeos virais e replicação genômica. A NS3 é constituída por dois domínios, um *N*-terminal com função de uma serino-protease e um *C*-terminal de uma helicase. A helicase da NS3 (NS3^{Hel}) de ZIKV é constituída de três subdomínios e possui dois sítios de ligação a moléculas distintas e relevantes para a sua funcionalidade em cavidades encontradas na junção dos subdomínios da helicase. A NS3^{Hel} é uma helicase dependente da ligação de NTPs (Nucleotídeo Trifosfatado), sendo responsável pela hidrólise destes e por facilitar o desdobramento de RNA viral durante o processo de replicação.⁷ O sítio de ligação a NTP localiza-se entre os subdomínios I e II.

Uma sobreposição da estrutura da NS3^{Hel} de ZIKV, determinada pelo grupo de Oliva,⁸ com a NS3 de DENV-4 (Dengue tipo 4) em complexo com ssRNA (código PDB 2JLV) e outras estruturas de helicases de ZIKV depositadas no PDB, mostrou a localização do sítio de ligação de RNA. Esse sítio aparenta ser um túnel e encontra-se entre os 3 subdomínios da proteína. A Figura 1.2 apresenta a estrutura da Helicase encontrada sobreposta a estrutura da Helicase de DENV-4, com a finalidade de identificar a localização do RNA e ATP. Assim, o

bloqueio específico de qualquer destas funções da helicase aparenta ser letal para a replicação do vírus.⁸

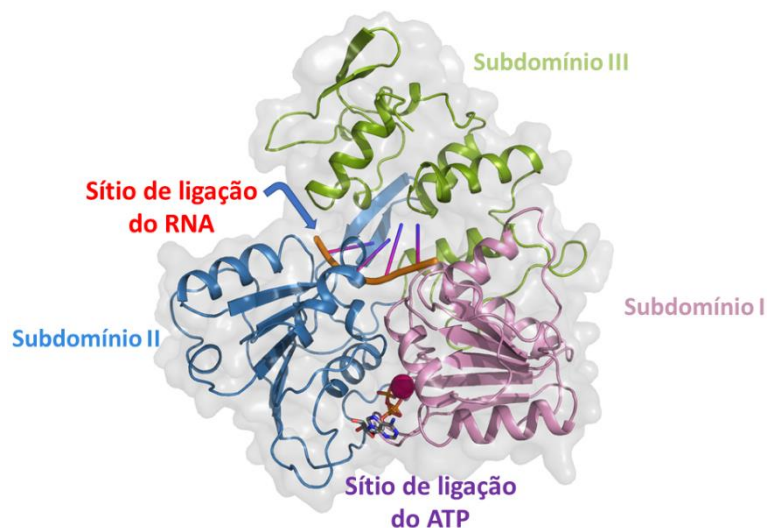


FIGURA 1.2. Estrutura do domínio helicase da NS3 de ZIKV mostrando os sítios de ligação do RNA e de ATP ou NTP quando sobreposta a estrutura.

Em relação a estudos com compostos que possam atuar frente a NS3^{Hel}, há alguns relatos na literatura, tanto de triagem virtual como experimental. Um deles foi realizado por Mabkhot e colaboradores⁹ que reportaram a busca de possíveis inibidores da enzima NS3^{Hel} empregando modelagem e *docking* com uma 1,4-benzotiazina. A Figura 1.3 demonstra a estrutura do derivado que apresentou uma interação mais efetiva com a proteína, com ligações de hidrogênio do grupo cianimida e também interações com os anéis da benzotiazina e o anel benzênico com os resíduos Thr201, Lys200, Arg462 e Arg459.

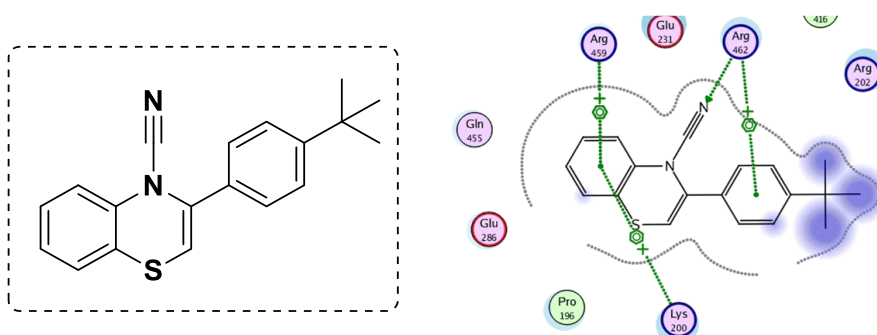


FIGURA 1.3. Estrutura que apresentou ligações mais efetivas no sítio de ligação de RNA da NS3^{Hel}, segundo Mabkhot e colaboradores.

Em um estudo conduzido por Jardim e colaboradores¹⁰ foi avaliada uma diarilamina derivada do ácido antranílico (Figura 1.4). Os primeiros testes foram realizados em células infectadas para avaliar a inibição e citotoxicidade, resultando em EC₅₀ de 2,59 µM e CC₅₀ de 8,0 µM. Através de *docking*, sugeriu-se que a inibição da atividade da NS3^{Hel} poderia ser o mecanismo de ação. Para confirmar, um teste térmico foi realizado para verificar a estabilidade da proteína na presença do composto. Este teste foi realizado através da Fluorimetria de Varredura Diferencial (*Differential Scanning Fluorimetry - DSF*), onde foi observada uma mudança na temperatura de desenovelamento (*melting temperature*, T_m) da proteína em cerca de 2 °C, indicando a possibilidade de ligação e estabilização da proteína pelo composto. Além disso, um ensaio de Termoforese em Microescala (*Microscale Thermophoresis - MST*) foi realizado para avaliar a afinidade do composto pela proteína. O resultado mostrou um K_d (constante de dissociação) de aproximadamente 0,42 mM, indicando uma baixa afinidade do composto pela proteína na ausência de ATP. Finalmente, a atividade de ATPase foi avaliada, concluindo-se que o composto não conseguiu inibir significativamente a atividade da proteína. Apesar desses resultados, os autores concluíram que o composto testado pode estabilizar a NS3^{Hel}, no entanto, são necessários mais estudos para entender melhor o processo de inibição.

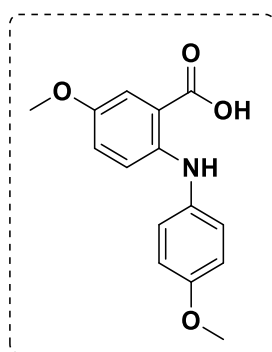


FIGURA 1.4. Diarilamina testada por Jardim e colaboradores.

Um estudo de Giri e colaboradores¹¹ realizou uma triagem virtual com alguns compostos naturais, usando metodologias como *docking* e dinâmica

molecular. Foi possível observar que os compostos descritos na Figura 1.5 foram capazes de se ligar no sítio de NTPase da NS3^{Hel} com interações significativas com a proteína.

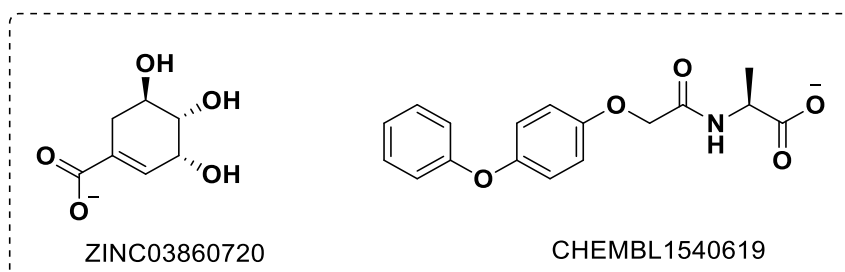


FIGURA 1.5. Compostos ativos via triagem virtual por estudos realizados por Giri e colaboradores.

Outro estudo também realizado por Giri e colaboradores¹², nesse caso de forma virtual e experimental, observou-se, através de triagem de produtos naturais, que (-)-eipigalocatequina galato (EGCG) (Figura 1.6), um polifenol do chá verde, apresentou interações significativas com a proteína NS3^{Hel}. Então foi realizado o ensaio enzimático com o composto, avaliando a inibição da atividade de ATPase, onde foi obtido um valor de IC₅₀ de 0,29 μM.

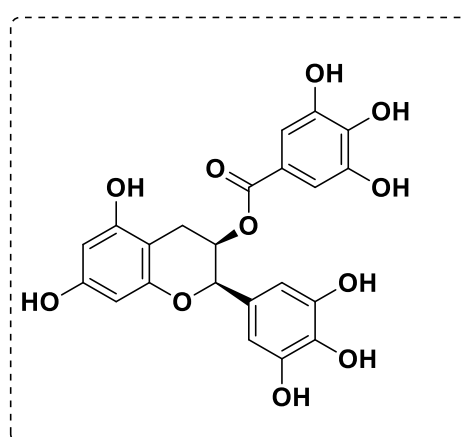


FIGURA 1.6. Estrutura do (-)-eipigalocatequina galato (EGCG).

Singh e colaboradores¹³ avaliaram o potencial de derivados de bis-cumarina na atividade NTPase da NS3^{Hel}, e as estruturas I e II (Figura 1.7) foram as que apresentaram melhores resultados nos estudos *in vitro*. Posteriormente, um estudo computacional foi realizado para avaliação e proposta de mecanismo de ação. O estudo revelou que as estruturas eram capazes de se ligar nas duas cavidades de ligação da proteína, a cavidade de ligação à NTPase onde o ATP se liga, e a cavidade de ligação ao RNA. Corroborando os dados experimentais e teóricos, os autores concluíram que os compostos I e III são potenciais inibidores de NS3^{Hel} NTPase.

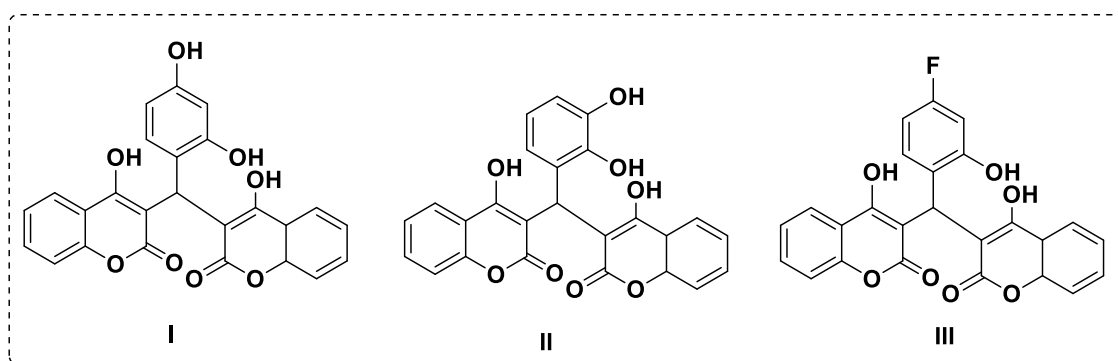


FIGURA 1.7. Bis-cumarinas com atividade NTPase da NS3^{Hel}.

O uso de triagens virtuais e experimentais na busca de compostos candidatos a fármacos tem sido bastante usada, e a eficácia destes métodos é decorrente de ser possível simular virtualmente o que ocorreria em testes *in vitro* (em termos de interação proteína-ligante), além de classificar compostos mais promissores. Esse processo acarreta em uma alta economia de tempo e gastos, consequentemente, há um estreitamento da quantidade de moléculas propensas em testes posteriores, desta forma o processo de síntese ocorre de forma mais direcionado.¹⁴

Neste sentido, um estudo de *high-throughput screening* (HTS) foi realizado pelo grupo dos Professores Glaucius Oliva e Rafael Guido do IFSC-USP, em parceria com o Instituto Diamond.⁸ O HTS é uma triagem de alto desempenho que tem como objetivo testar um grande número de compostos de forma rápida e avaliar o seu potencial. Essa triagem pode ser conduzida

virtualmente ou experimentalmente.¹⁵ Neste estudo foram avaliados experimentalmente compostos sintéticos frente ao domínio Helicase da NS3 de ZIKV.

Uma biblioteca de compostos não comerciais fornecida pelo Instituto Diamond foi submetida a um processo de cristalização com a proteína alvo individualmente. Esses compostos são chamados de fragmentos, pois possuem no máximo até 250 Da. Os cristais resultantes, complexo proteína-ligante, foram analisados por difração de raio-x para observar as possíveis interações. Vários cristais foram obtidos, com compostos alojados em diferentes regiões da proteína, e a Figura 1.8 mostra a sobreposição de todos os cristais.

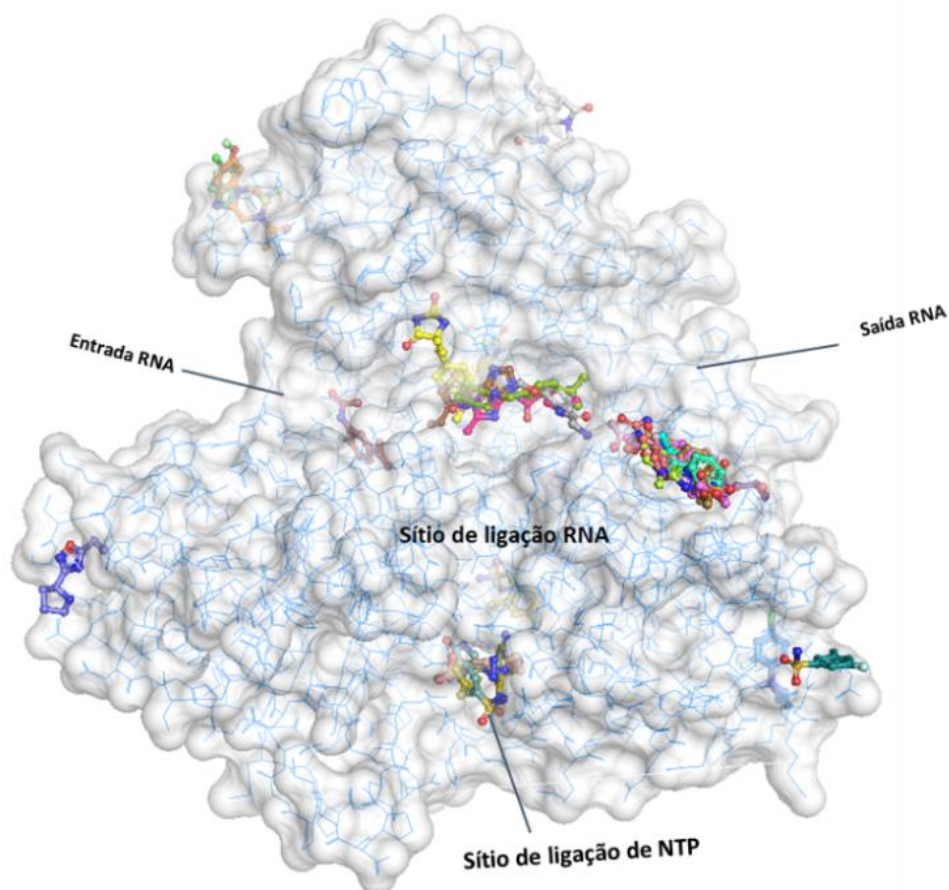


FIGURA 1.8. Sobreposição dos cristais obtidos na triagem de *HTS*.

Entre todos os complexos obtidos, os cristais com fragmentos alojados no sítio de RNA foram inicialmente escolhidos para futuros estudos e prospecção estrutural. A Figura 1.9 mostra a estrutura da proteína com os dois compostos

sobrepostos. Os compostos são derivados de hidantoína e de oxadiazol, e suas proximidades na proteína pode ser observada. Com base em planejamento de fragmentos moleculares, esses compostos podem então ser selecionados para serem testados em ensaios *in vitro* e também empregados como materiais de partida para a síntese de novos derivados, incluindo híbridos hidantoína-oxadiazol, com o objetivo de aumentar a interação entre proteína-ligante.

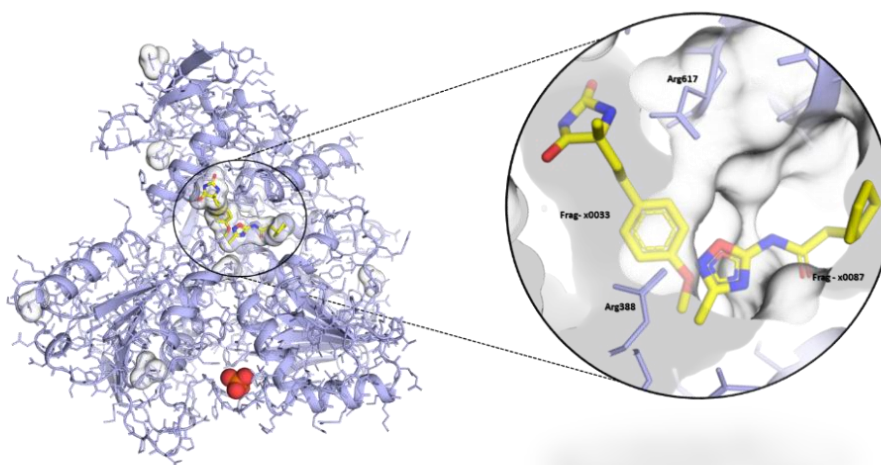


FIGURA 1.9. Estrutura mostrando o sítio de ligação de RNA da NS3^{Hel} com os ligantes hidantoína e oxadiazol.

A Figura 1.10 apresenta individualmente a estrutura dos fragmentos hidantoína **A** e oxadiazol **B** encontrados no estudo de *HTS*, e pode-se observar que ambos contêm um heterocíclicos nitrogenado de cinco membros, semelhança estrutural comum em diversos compostos bioativos.

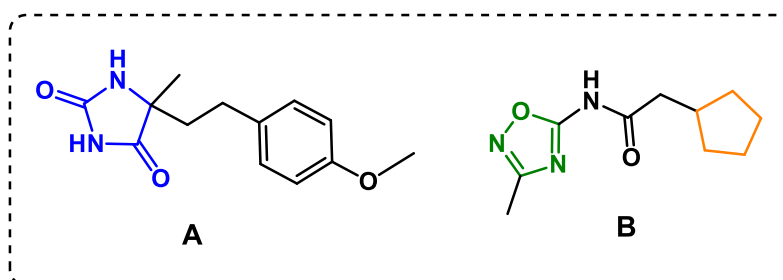


FIGURA 1.10. Estrutura dos fragmentos encontrados no sítio de ligação de RNA da NS3^{Hel}: hidantoína **A** e oxadiazol **B**.

Os *N*-heterociclos de cinco membros têm se destacado como uma classe promissora de compostos para exploração no desenvolvimento de novos fármacos devido à sua versatilidade estrutural e potencial atividade biológica.

1.2. *N*-heterociclos de cinco membros

Os *N*-heterociclos desempenham um papel essencial na estrutura de diversos compostos químicos, principalmente os direcionados para a indústria farmacêutica, em que cerca de 59% dos fármacos aprovados pelo FDA possuem *N*-heterociclos em sua estrutura.¹⁶

A presença de nitrogênio, ou outros heteroátomos como oxigênio e enxofre, implicam no aumento da polaridade e possibilitam a formação de ligações de hidrogênio, podendo aprimorar a afinidade de ligação e a seletividade do medicamento ao seu alvo. Além disso, esses heterociclos têm capacidade de substituir padrões comuns na química medicinal (substituição isostérica), permitindo então melhorias na estabilidade metabólica, solubilidade e biodisponibilidade, que são elementos cruciais para o desenvolvimento de medicamentos eficazes.¹⁷

Especificamente, os anéis de cinco membros nitrogenados são a chave de ação de diversos compostos bioativos, como em inúmeros fármacos já comercializados. A Figura 1.10 apresenta alguns fármacos com *N*-heterociclos, mais especificamente derivados de hidantoínas, oxadiazóis e δ -lactamas, que são o foco desse trabalho, com base nos estudos de *HTS* apresentados

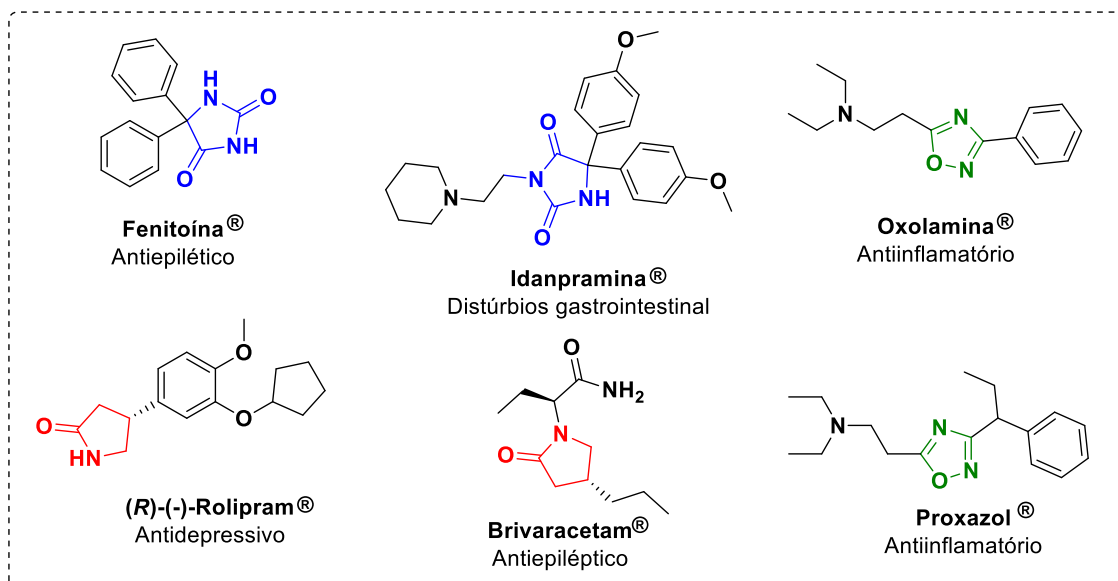


FIGURA 1.11. Fármacos já comercializados que contém *N*-heterociclos de cinco membros em suas estruturas.

1.2.1. Hidantoína

Hidantoínas (Figura 1.12) são heterociclos nitrogenados com enorme relevância na química medicinal por estarem presentes em diversos compostos com atividade biológica, como: antiepilética, anti-inflamatória, anti-HIV, analgésica, entre outras e em fármacos já comercializados, como por exemplo, a ®-Fenitoína e a ®-Idanpramina (Figura 1.11).¹⁸

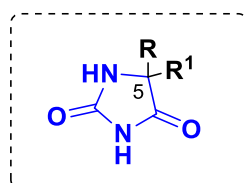


FIGURA 1.12. Estrutura geral hidantoína.

Apesar de hidantoínas naturais possam ser encontradas em espécies marinhas, como a (Z)-5-(4-hidroxibenzilidina)-hidantoína (FIGURA 1.13), isolada da esponja *Hemimycale arabica*, a sua obtenção tem sido de forma geral sintética.¹⁹

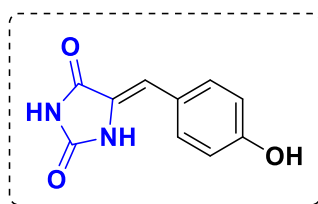
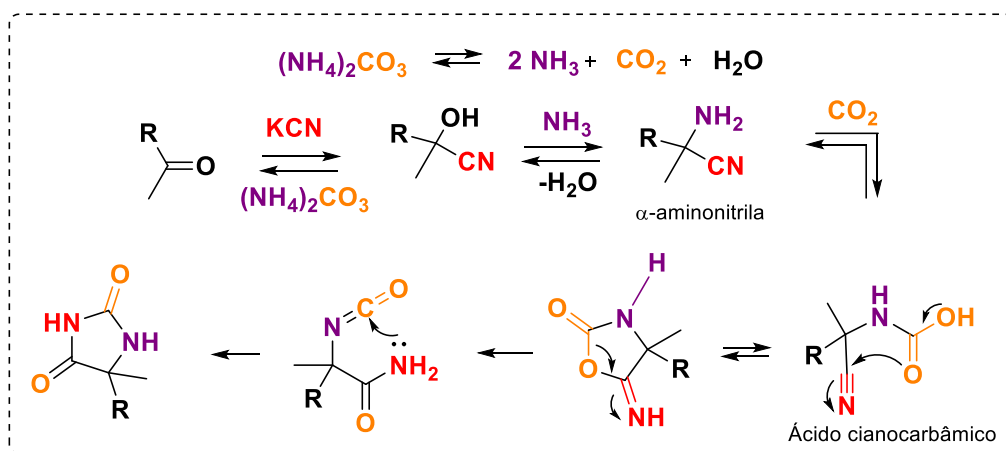


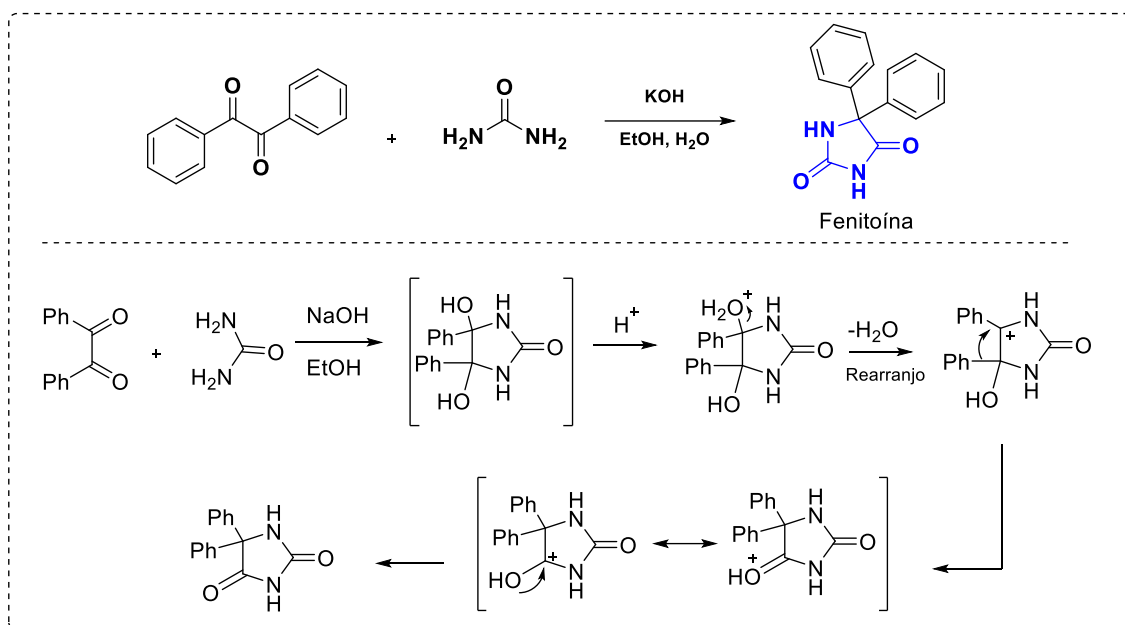
FIGURA 1.13. Hidantoína natural derivada de espécie marinha.

As hidantoínas foram descobertas por Adolf von Bayer, em 1861, através de um estudo sobre ácido úrico, em uma reação da hidrogenação da alantoína.²⁰ Desde então inúmeras metodologias foram desenvolvidas para obtenção desse *N*-heterociclo. Uma das formas mais clássicas de obtenção desse anel é por meio da reação multicomponente de Bucherer-Bergs. Essa reação parte de um composto carbonílico (cetona ou aldeído), com o uso de KCN e carbonato de amônio, em refluxo. O aquecimento é necessário para a decomposição térmica do carbonato de amônio, com a formação da amônia e o CO₂ *in situ*. A reação procede inicialmente com o composto carbonílico reagindo com a amônia e formando a imina, seguido do ataque do ânion cianeto onde ocorre a formação da α-aminonitrila. Posteriormente, ocorre uma adição nucleofílica deste intermediário ao CO₂, o que gera um ácido cianocarbâmico que passa por uma sequência de ciclização-rearranjo para finalmente resultar na estrutura de hidantoína (ESQUEMA 1.1).²¹



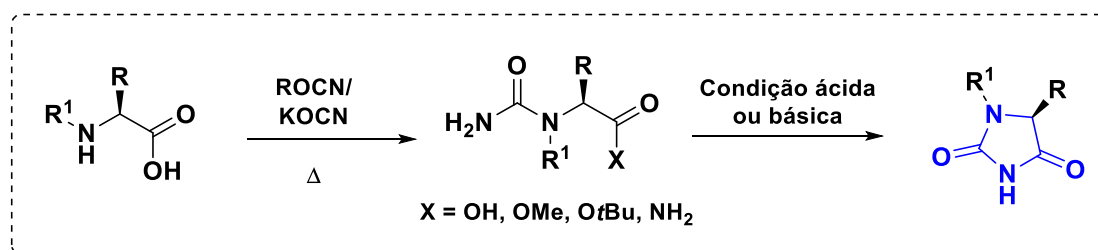
ESQUEMA 1.1. Mecanismo formação de hidantoína via reação de Bucherer-Bergs.

Outra reação clássica é a de Biltz,²² procedimento empregado na síntese do fármaco Fenitoína, partindo do benzil e da uréia (ESQUEMA 1.2). A reação consiste em uma dupla condensação da uréia em condição básica usando KOH.



ESQUEMA 1.2. Reação de Biltz na síntese da Fenitoína.

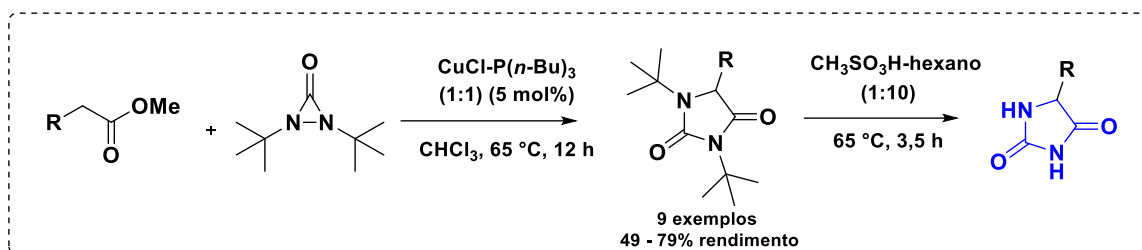
As reações de Urech e Read²³ representam outro método tradicional para a síntese de hidantoínas. Neste caso, é possível produzir hidantoínas enriquecidas enantiomericamente, pois se utilizam derivados de aminoácidos com estereoquímica definida e isocianatos como reagentes iniciais. O processo reacional ocorre em duas etapas: uma condensação seguida de uma ciclização, resultando na obtenção do anel de hidantoína 1,5-substituído (Esquema 1.3).



ESQUEMA 1.3. Reação de Urech/Read partindo de aminoácidos e isocianatos.

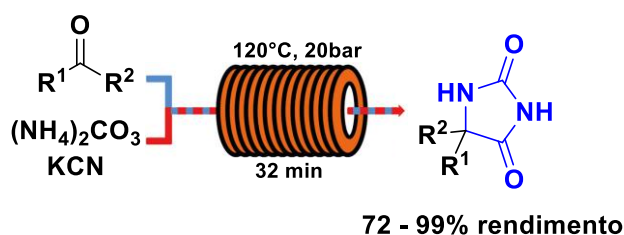
Outra alternativa para síntese de hidantoínas *N*-substituídas foi apresentada por Zhao e colaboradores²⁴. Este método envolve a reação de

ésteres com diaziridinonas, catalisada por cobre. As hidantoínas obtidas poderiam ser desprotegidas com ácido metanossulfônico.



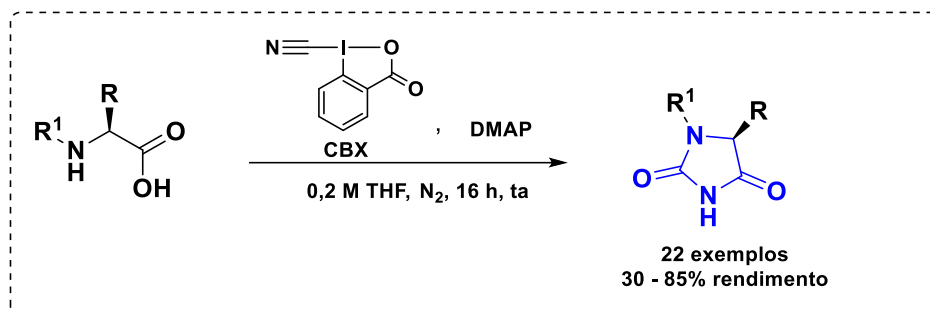
ESQUEMA 1.4. Síntese de hidantoínas catalisada por Cu.

Para a obtenção desses anéis, uma variedade de metodologias inovadoras pode ser empregada, ou até mesmo uma combinação de métodos tradicionais com instrumentos modernos. Um exemplo disso é uma metodologia desenvolvida pelo nosso grupo, que otimizou a reação de Bucherer-Bergs utilizando microrreatores em fluxo contínuo (Esquema 1.5). A síntese em fluxo apresenta diversas vantagens que a qualificam como uma abordagem inovadora e eficiente em química. Primeiramente, proporciona um controle rigoroso das condições reacionais, como temperatura e pressão, o que culmina em tempos de reação reduzidos e em uma conversão mais elevada de reagentes em produtos. Adicionalmente, a escalabilidade das reações é significativamente facilitada, permitindo ajustes precisos para produção em larga escala sem comprometer a qualidade dos produtos. A segurança é também um aspecto aprimorado, visto que as reações ocorrem em sistemas fechados, minimizando o risco de acidentes. Outro aspecto relevante é a sustentabilidade; a síntese em fluxo frequentemente requer menores volumes de solventes e possibilita a reciclagem de reagentes, contribuindo para uma prática mais ecológica.²⁵



ESQUEMA 1.5. Síntese em fluxo de hidantoínas via reação de Bucherer-Bergs.

Outra releitura de umas das reações clássicas foi o trabalho desenvolvido por Waser e colaboradores.²⁶ Empregando a reação de Urech, os autores sintetizam várias hidantoínas 1,5-substituídas partindo de aminoácidos enantiopuros protegidos com cianobenziodoxolona (CBX) (Esquema 1.6).



ESQUEMA 1.6. Síntese de hidantoínas 1,5-substituídas com o uso de CBX.

1.2.2. 1,2,4-Oxadiazol

Os oxadiazóis são heterocíclicos de 5 membros, com dois átomos de nitrogênio e um de oxigênio. Estes podem se apresentar como quatro isômeros constitucionais, sendo o foco desse trabalho são os 1,2,4-oxadiazol (Figura 1.14).

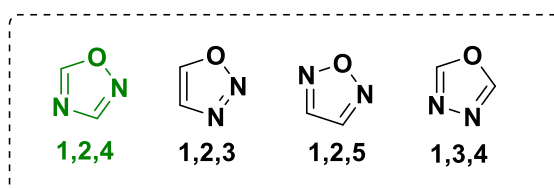


FIGURA 1.14. Isômeros constitucionais dos oxadiazóis.

Nos últimos anos, estudos apresentando compostos derivados de oxadiazol com atividades antibacteriana, anti-inflamatória, antituberculose, antifúngica, antidiabética e anticancerígena, como também em fármacos já comercializados (Figura 1.11) têm sido publicados.²⁷ Os 1,2,4-oxadiazóis são os únicos isômeros encontrados de forma natural, e exemplos são dois alcaloides

indólicos, Phidianidina A e Phidianidina B, oriundos da lesma do mar *Phidiana militaris* (Figura 1.15).²⁸

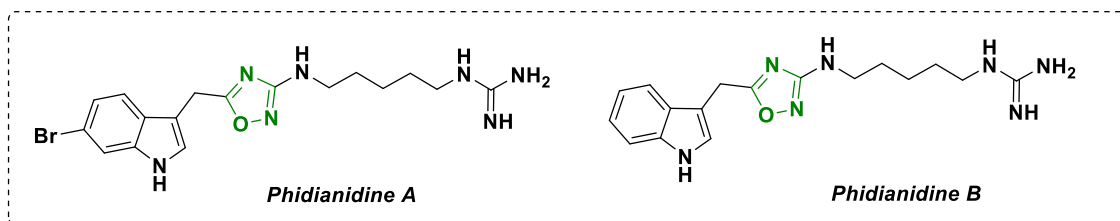
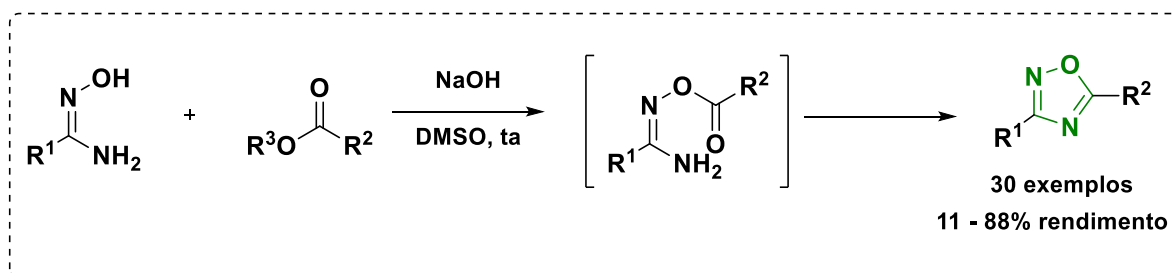


FIGURA 1.15. Exemplos de 1,2,4-oxadiazóis naturais.

Apesar desses derivados naturais, a maior parte dos compostos contendo 1,2,4-oxadiazóis são de origem sintética. Na literatura são descritas algumas metodologias de síntese, tais como através da oxidação de aldoximas²⁹, com o uso de amidoximas *N*-substituídas³⁰, ou de catálise com metais.³¹ No entanto, os métodos mais comuns são por meio de condensação de amidoxima com derivados carboxílicos ou cicloadição 1,3-dipolar de nitrila e óxido de nitrila.

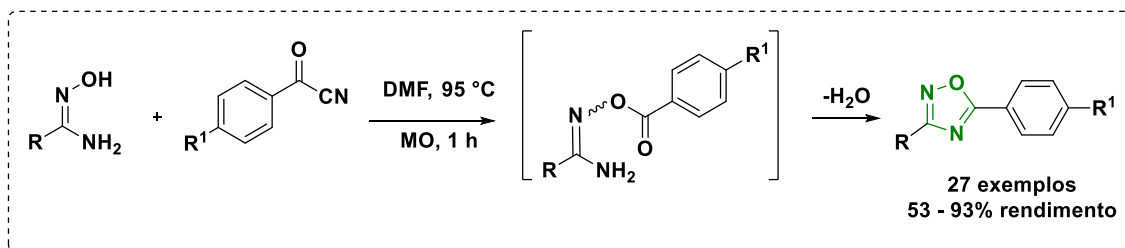
Baykov e colaboradores³² descreveram um protocolo realizado de forma *one-pot* através da condensação de amidoximas com ésteres em um meio básico. A metodologia se mostrou eficiente sendo obtidos cerca de 30 exemplos, com rendimentos de bons a moderados (Esquema 1.7).



ESQUEMA 1.7. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos no estudo de Baykov, partindo de amidoxaminas e ésteres.

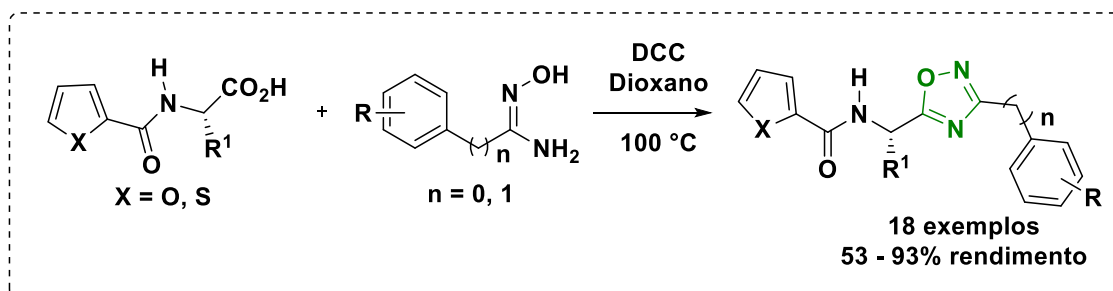
Kandre e colaboradores³³ descreveram o uso da amidoxima com cianetos de benzofila mediado pelo uso de micro-ondas (MO), e sem o uso de bases ou

outros aditivos, e em solvente DMF. O procedimento se mostrou eficaz com a obtenção de 27 exemplos (Esquema 1.8).



ESQUEMA 1.8. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de amidoximas e cianetos de benzoíla.

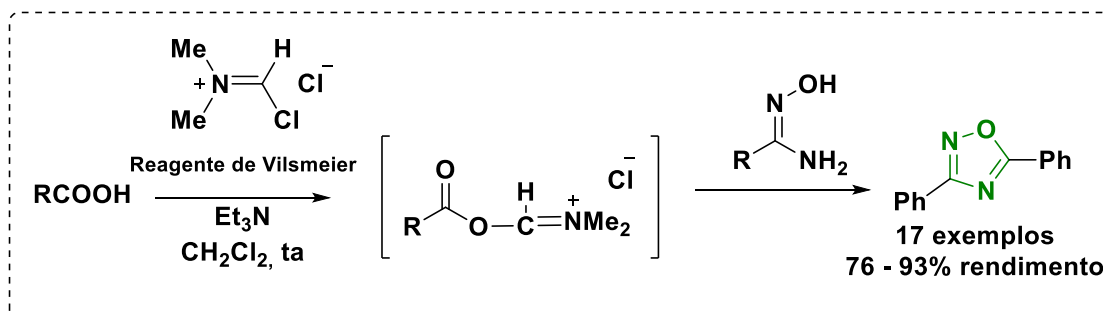
Uma estudo de acilação entre amidoximas arílicas e benzílicas, com ácidos carboxílicos derivados de mono-peptídeos, mediada pelo reagente de acoplamento *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) como ativador com grupo carboxílico, foi conduzida por Purushotham e Poojary.³⁴ A abordagem se mostrou eficaz, sendo obtidos 18 exemplos (Esquema 1.9).



ESQUEMA 1.9. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de amidoximas e de ácidos carboxílicos derivados de mono-peptídeos mediado por DCC.

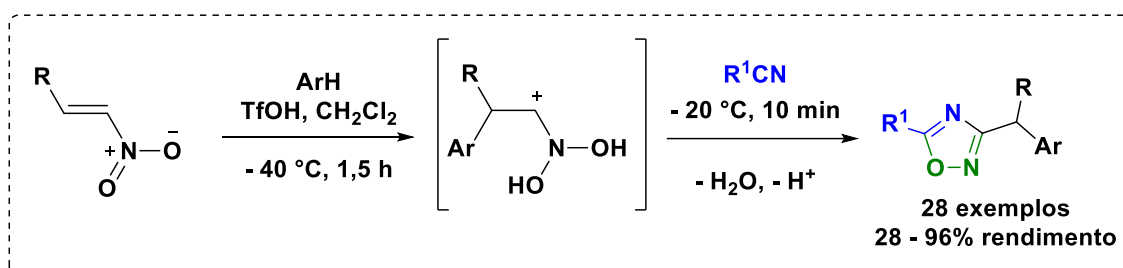
Zarei³⁵ desenvolveu uma metodologia para obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis partindo de amidoximas e ácidos carboxílicos por meio da ativação via reagente de Vilsmeier. Foram obtidos 17 exemplos com rendimentos de bons a excelentes, e o autor ainda relata que a facilidade no processo de purificação,

como o uso de materiais de partida disponíveis, torna metodologia eficiente e vantajosa (Esquema 1.10).



ESQUEMA 1.10. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de amidoximas e ácidos carboxílicos mediado por reagente de Vilsmeier.

Golushko e colaboradores³⁶ descreveram uma reação tandem partindo de nitroalcenos com nitrilas mediado pelo uso ácido trifluorometanossulfônico (TfOH). Os autores enfatizaram que a metodologia é bastante tolerante para grupos que são estáveis em condições ácidas, e que foram obtidos 28 exemplos, com rendimentos de moderados a excelentes (Esquema 1.11).



ESQUEMA 1.11. 1,2,4-Oxadiazóis obtidos partindo de nitroalcenos e nitrilas usando TfOH.

1.2.3. γ -Lactamas

A γ -lactama (Figura 1.16) é uma estrutura de destaque na química medicinal, sendo encontrada em uma variedade de compostos bioativos, tanto naturais quanto sintéticos.³⁷

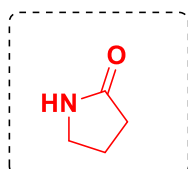


FIGURA 1.16. Estrutura geral γ -lactama.

A Salinosporamida A (Figura 1.17), um produto natural de micróbios marinhos, é um exemplo notável, pois provou ser um inibidor eficaz do proteassoma em testes clínicos para o tratamento do câncer cerebral. Além disso, existem medicamentos disponíveis no mercado contendo γ -lactamas, como o ® -Brivacetam, um antiepiléptico, e o ® -Rolipram, um antidepressivo (Figura 1.11).³⁸

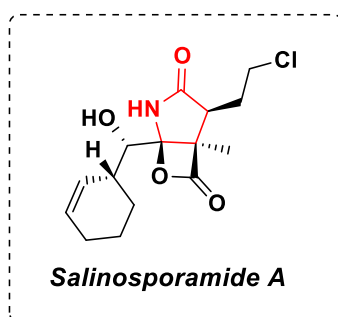


FIGURA 1.17. γ -Lactama natural (função Aminal: R'-HN-C-O-R).

Na literatura são descritos vários métodos de síntese para esse núcleo, como por exemplo reações em fase sólida³⁹ e através de ciclização radicalar.⁴⁰ Em um trabalho recente publicado pelo nosso grupo foi descrita a síntese *one-pot* diastereosseletiva de γ -lactamas a partir de cetoaziridinas.⁴¹

A busca por metodologias mais sustentáveis, quimicamente amigáveis e eficazes é uma prioridade em termos sintéticos. Neste sentido, as reações multicomponentes (RMCs) apresentam uma proposta perfeitamente alinhada aos princípios da Química Verde.

As RMCs correspondem a um conjunto de reações cujos reagentes, geralmente três ou quatro, se combinam de forma *one-pot* para obtenção do produto. O número reduzido de etapas, e consequente baixa geração de resíduos e maior eficiência de síntese, permite que elas atendam às recentes necessidades da Química Verde. Além dessas vantagens, as MCRs, do ponto de vista sintético, permitem obter compostos altamente funcionalizados e complexos.⁴²

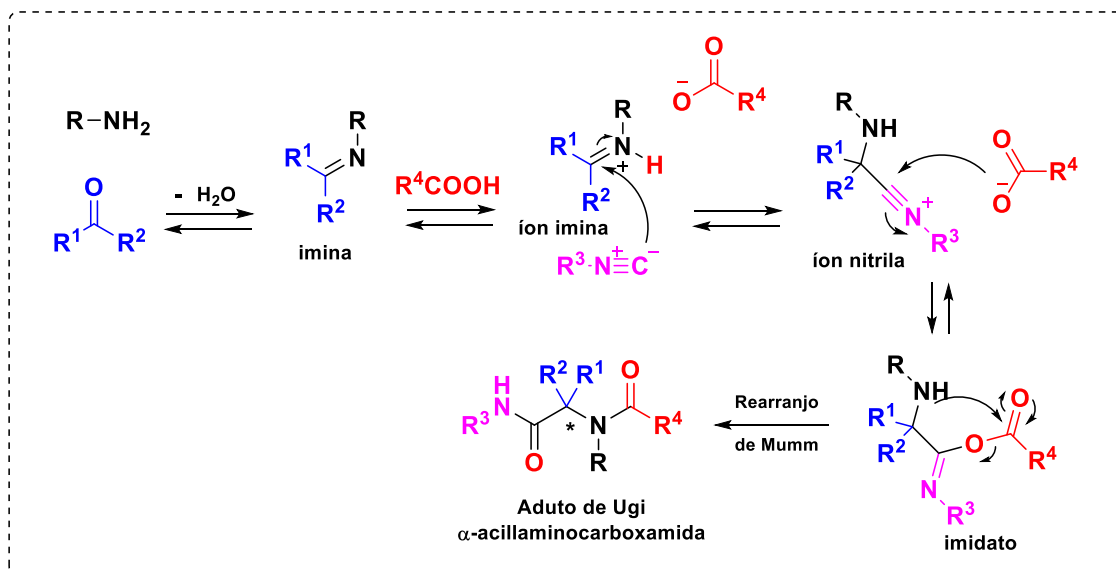
Há uma série de reações bem estabelecidas na literatura que são classificadas como Reações Multicomponentes (RMCs).⁴³ Além disso, as RMCs são categorizadas com base nas classes e no número de compostos usados como materiais de partida. Dentro dessa classificação, existem as Reações Multicomponentes Baseadas em Isonitrilas (RMCI), sendo a reação multicomponente de Ugi um exemplo notável dessa categoria.

1.2.3.1. Reação de Ugi

A reação multicomponente de Ugi, divulgada em 1959 por Ivar Ugi, é uma transformação química excepcional entre quatro componentes: aldeído ou cetona, amina, isocianeto e ácido carboxílico, fornecendo uma α -acilaminocarboxamida, um esqueleto privilegiado em química medicinal. A relevância desta valiosa ferramenta sintética é devidamente demonstrada pela maioria de publicações envolvendo este tema ao longo dos últimos anos.⁴⁴

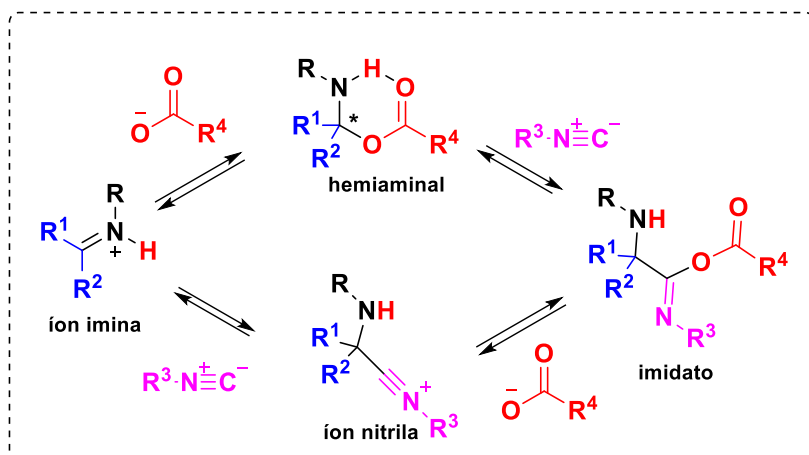
Do ponto de vista mecanístico, a proposta tradicionalmente descrita envolve formação de uma imina, seguida de uma reação ácido-base e do ataque nucleofílico da isonitrila, formando o íon nitrila. Na etapa seguinte ocorre o ataque do ácido carboxílico para a formação do intermediário imidato, e no fim é observado um rearranjo, conhecido como rearranjo de Mumm. Esse rearranjo é devido a presença do par de elétrons livres da amina, o que possibilita o ataque

intramolecular na carbonila, ou seja, uma acilação intramolecular, que é irreversível (Esquema 1.12).



ESQUEMA 1.12. Mecanismo clássico proposto para Ugi-RMC.

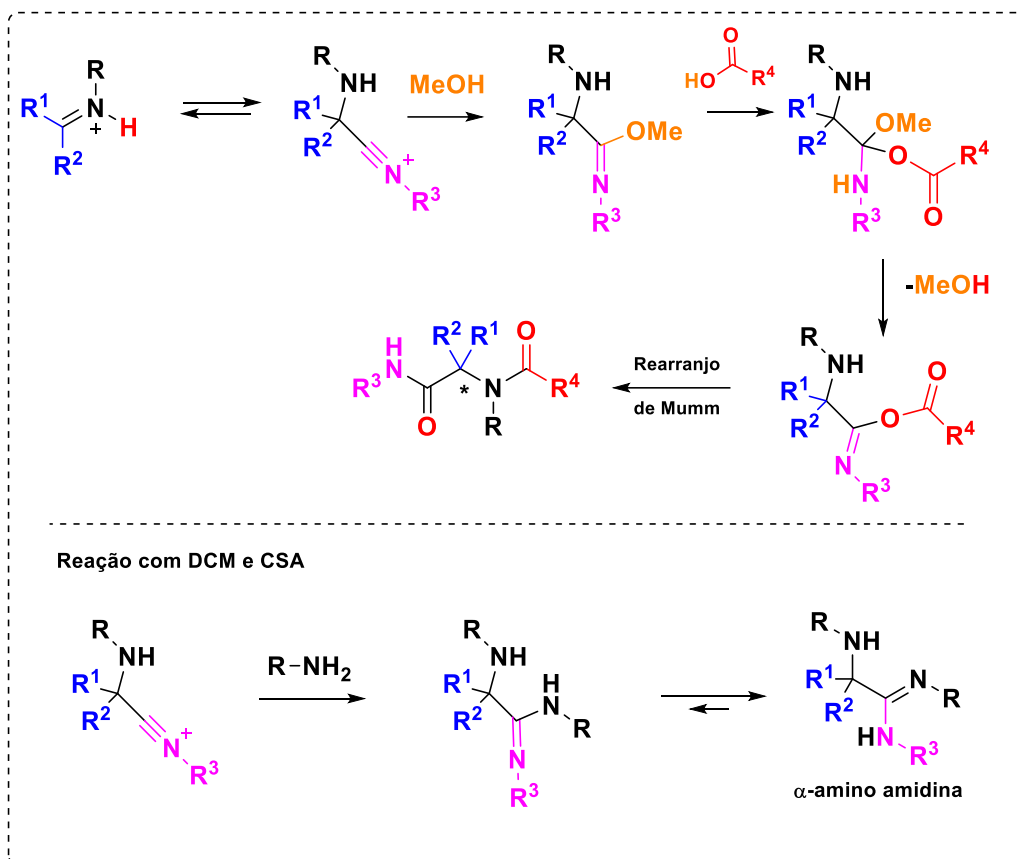
Apesar do consolidado mecanismo existem algumas propostas, fundamentadas por dados teóricos, da possibilidade de o mecanismo seguir um diferente caminho. A proposta discutida por Fleurat-Lessard e colaboradores⁴⁵ segue inicialmente com a formação da imina, e sua protonação por meio do ácido carboxílico. Na etapa seguinte ao invés de ocorrer a adição do isocianeto, é adicionado o ácido carboxílico levando a formação de um intermediário hemiaminal. Por fim a reação segue a mesma sequência, com a formação do imidato, rearranjo de Mumm e formação do produto de Ugi. Os autores fundamentam que o caminho clássico ocorre apenas no uso do solvente metanol, o que possibilita a estabilização dos intermediários, em caso de uso de solvente apróticos e apolares, não seria possível. Essa teoria não foi comprovada experimentalmente e os dados convergem para a preferência da visão clássica com a formação do íon nitrila (Esquema 1.13).



ESQUEMA 1.13. Propostas de mecanismo Ugi proposta por Fleurat-Lessard e colaboradores.

Outra proposta também relacionada ao mecanismo da Ugi, foi um estudo conduzido por Amarante e colaboradores⁴⁶, onde os autores propõem uma dependência em relação ao solvente na reação. O grupo realiza uma reação de Ugi clássica, onde apenas com o uso de metanol como solvente é observado a formação do produto de Ugi. No caso do uso de solvente diclorometano associado ao ácido canforsulfônico (CSA) como catalisador, foi observada a formação α -amino amidinas. Baseando-se nessas informações, em dados de massas de alta resolução e cálculos teóricos é proposto o mecanismo descrito no Esquema 1.14.

A rota propõe que na etapa em que se forma o íon nitrila, o metanol não age apenas como solvente, mas também como reagente, atacando o íon nitrila e formando o intermediário carboximidato. Na etapa seguinte o ácido carboxílico ataca, formando o intermediário tetraédrico, que com a saída do metanol, ocorre a formação do imidato e segue para o rearranjo e formação do produto de Ugi. Já para a formação das α -amino amidinas eles defendem a teoria que o intermediário nitrílio reage com uma segunda molécula da amina, seguida pela isomerização da amidina.



ESQUEMA 1.14. Proposta de mecanismo incluindo metanol como reagente proposta por Amarante e colaboradores.

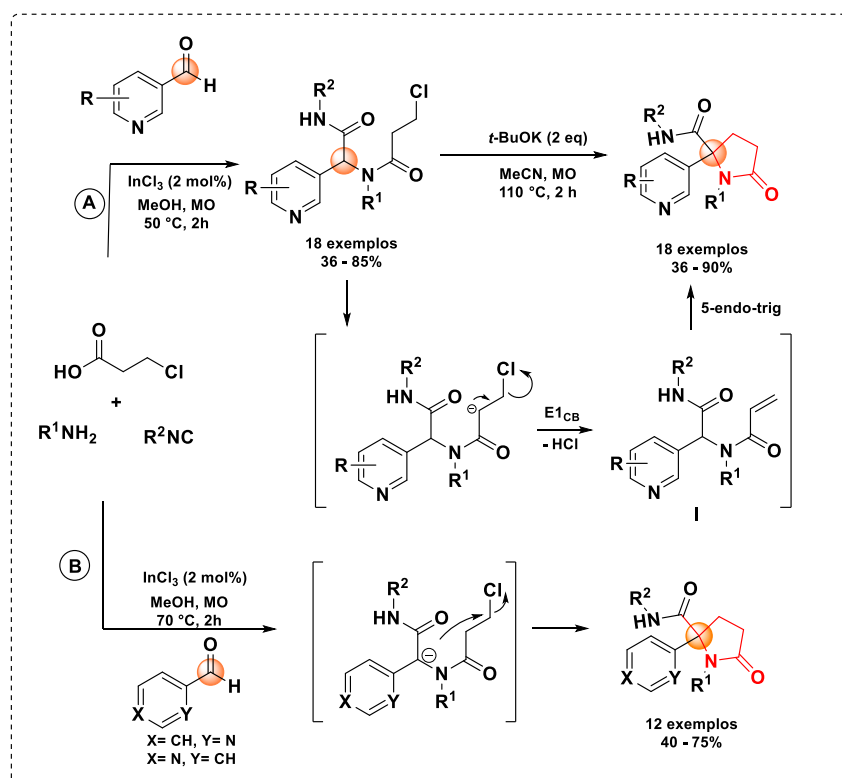
Numa etapa pós-sintética, o produto de Ugi pode ser manipulado para levar a heterociclos altamente funcionalizados, usando eficiência da transformação de Ugi isso pode ser realizado de forma *one-pot*. Neste particular, podem ser apontados alguns procedimentos sintéticos, incluindo a estratégia de ciclização via Ugi associada a outra reação química, como substituições nucleofílicas ou adição de Michael, por exemplo.

1.2.3.2. Obtenção de γ -lactamas via reação de Ugi e pós-modificações

Existem alguns estudos que exploram a obtenção de γ -lactamas utilizando o produto de Ugi e reações subsequentes. Um desses estudos foi conduzido por Vasquez e seus colaboradores⁴⁷, que obtiveram cotininas e iso-

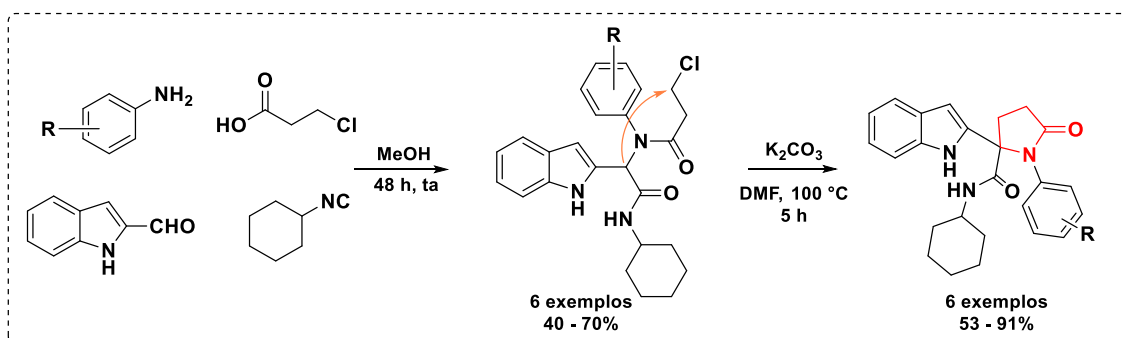
cotininas através de um processo *one-pot*, que envolve a ciclização do produto de Ugi e a formação do anel δ -lactâmico. As reações empregam ácido 3-cloro propanóico, aminas, isonitrilas e aldeídos derivados de 2- ou 4-piridina-carboxaldeídos, com InCl_3 sendo usado como catalisador. Duas rotas possíveis são propostas, sendo uma delas (Esquema 1.15A) utilizando 4-piridina-carboxaldeídos em duas etapas. A primeira etapa é a formação do produto de Ugi, seguida pela adição de uma base (*t*-BuOK) e o uso de MO para ciclização e formação do anel δ -lactâmico. Nesta proposta, os autores sugerem um mecanismo que envolve uma reação de eliminação, resultando na formação de uma amida α,β -insaturada, na qual ocorre uma adição de Michael. Esta proposta é apoiada pelo fato de que o intermediário alceno **I** foi isolado e caracterizado.

Na outra rota (Esquema 1.15B) os autores propõem que, devido à maior acidez do próton adjacente às amidas, associada à presença de uma base no meio proveniente das aminas primárias e das porções de piridina, a reação ocorra em uma única etapa através de uma substituição nucleofílica ($\text{S}_{\text{N}}2$). Em ambos os casos, as reações ocorrem de maneira eficiente, com rendimentos variando de 36 - 90%.



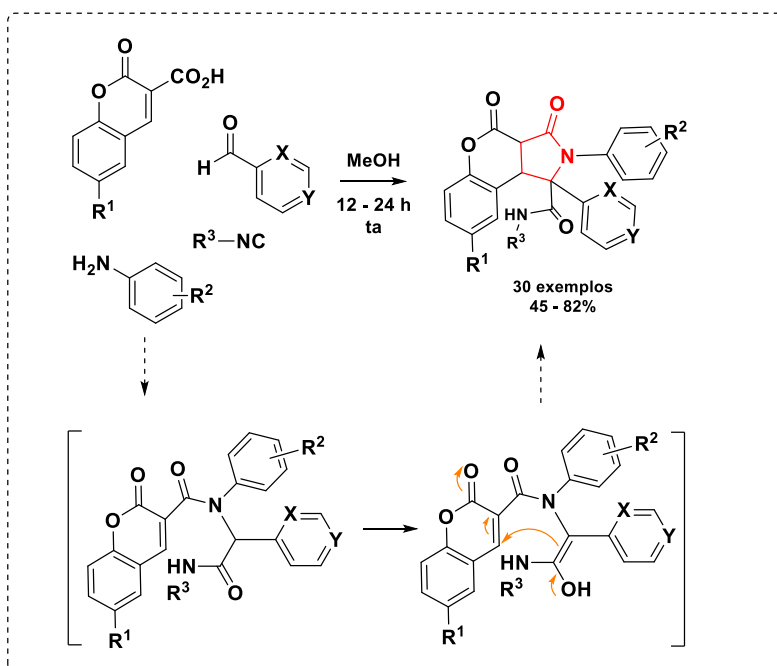
ESQUEMA 1.15. Síntese de δ -lactamas derivadas de cotininas e iso-cotininas.

Kruger e colaboradores⁴⁸ também exploraram a reação de Ugi, utilizando ácido 3-cloro propanóico, 2-formilindol, isonitrila de *terc*-butila e derivados da anilina. Os autores obtiveram 6 exemplos em condições clássicas, com rendimentos bons. Os produtos de Ugi isolados e puros foram submetidos em condições com aquecimento e uso do carbonato de potássio como base para ocorrer a ciclização e obtenção do anel de interesse (Esquema 1.16). A metodologia apresentou uma limitação, quando alterado o indol para formaldeído foi possível obter produtos de Ugi com bons rendimentos, porém a etapa de ciclização não foi concluída com sucesso.



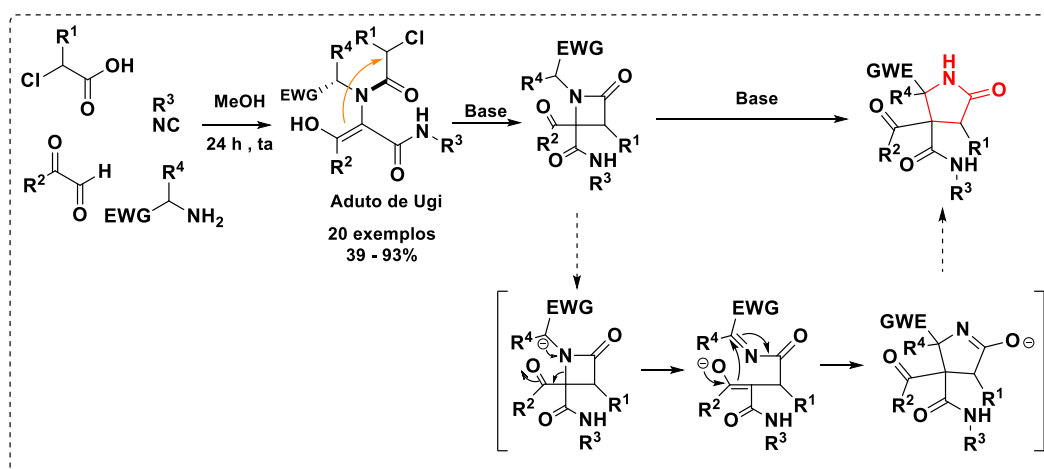
ESQUEMA 1.16. Síntese de δ -lactamas derivadas de indóis.

Em um estudo conduzido por Yang e colaboradores,⁴⁹ δ -lactamas derivadas de cumarinas foram sintetizadas, através de uma metodologia *one-pot* usando a reação de Ugi e adição intramolecular de Michael. A metodologia apresentou eficiência sendo obtidos exemplos com rendimentos de moderados a bons (Esquema 1.17).



ESQUEMA 1.17. Síntese de δ -lactamas derivadas de cumarinas.

Garcia-Valverde e colaboradores⁵⁰ descrevem um protocolo para obtenção de produtos de Ugi que em condições básicas são convertidos em derivados de anéis β -lactâmicos. Este anel submetido novamente em condições básicas se rearranja e se expande para um anel δ -lactâmico. O mecanismo proposto parte da desprotonação da posição ácida, adjacente ao grupo retirador de elétrons (EWG) onde abre o anel β -lactâmico, gerando um intermediário contendo uma imina e um enolato, que reagiria intramolecularmente produzindo o anel δ -lactâmico (Esquema 1.18).



ESQUEMA 1.18. Síntese de δ -lactamas partindo de β -lactamas.

1.2.3.3. Obtenção 3-ciano-2-pirrolidinona

A classe das δ -lactamas inclui os derivados 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila (Figura 1.18), que é um substrato versátil no universo da química orgânica sintética, uma vez que o grupo ciano pode ser facilmente convertido em outras funcionalidades, como ácidos carboxílicos, aminas, amidas e aldiminas.⁵¹ No entanto, poucos métodos foram descritos para obtenção deste núcleo, e são considerados pouco verdes.

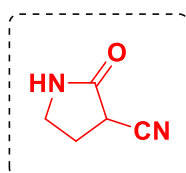
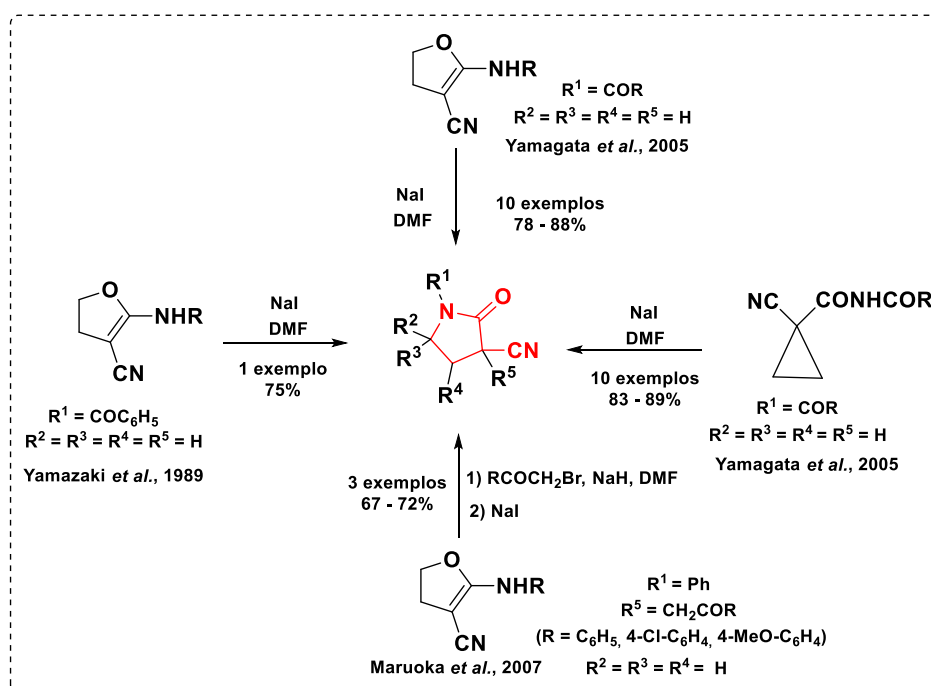


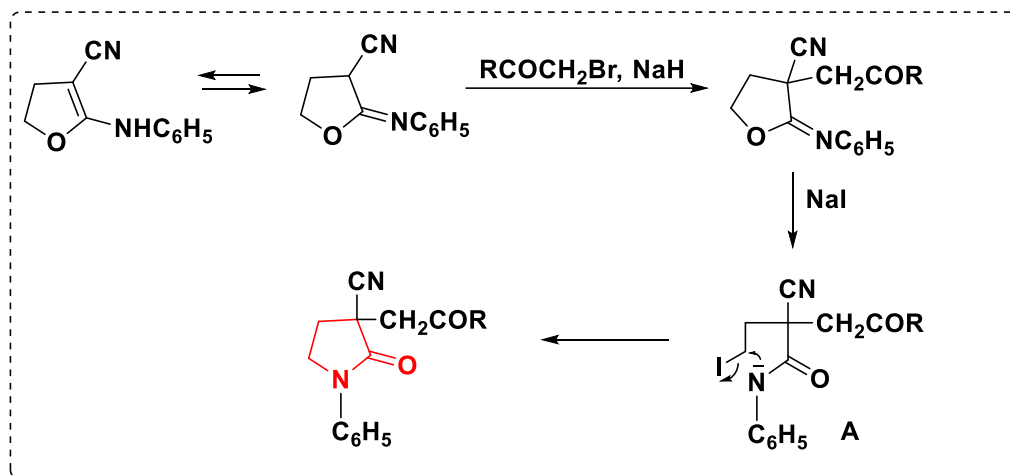
FIGURA 1.18. Estrutura geral 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila.

Dentre esses relatos, em sua grande maioria baseia-se na conversão de furanos promovida por iodeto de sódio, e o Esquema 1.19 apresenta os exemplos que utilizam esse protocolo.⁵²



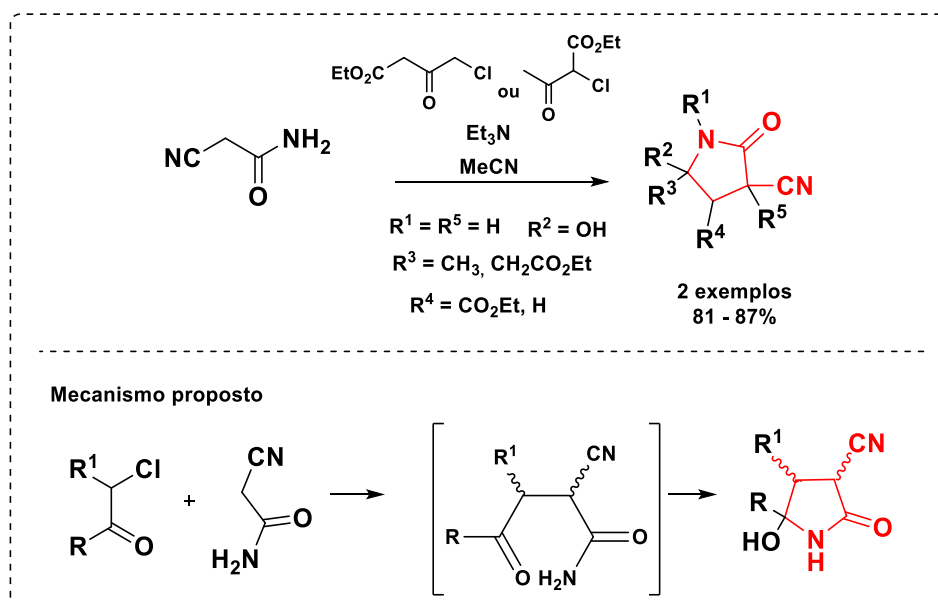
ESQUEMA 1.19. Síntese de derivados 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila mediado pelo uso de NaI.

Em termos mecanísticos é proposto que a abertura do anel seja induzida pela presença do íon iodeto, formando assim o intermediário A, subsequentemente ocorre uma ciclização intramolecular promovendo a formação do anel de interesse (Esquema 1.20).



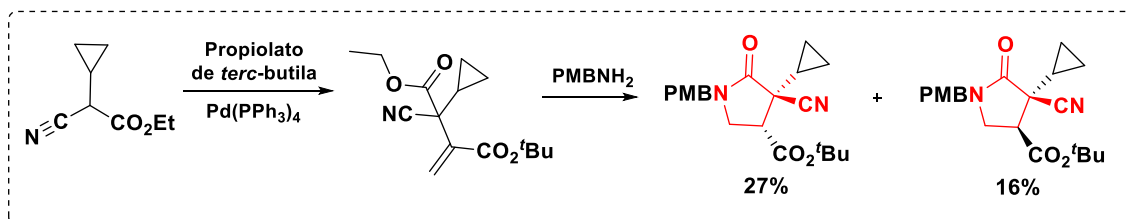
ESQUEMA 1.20. Mecanismo proposto para a síntese de 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila mediado pelo uso de NaI.

Outra proposta foi realizada por Lugtenburg e colaboradores⁵³, através da condensação de 2-cloroacetoacetato com cianoacetamida seguida de ciclização intramolecular (Esquema 1.21).



ESQUEMA 1.21. Síntese de 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila através da condensação de 2-cloroacetoacetatos

O trabalho mais recente para obtenção desse núcleo é de Yoshida e colaboradores⁵⁴, que descreveram um protocolo diastereosseletivo baseado no acoplamento entre um cianopropanoato e um alcino mediado por Pd(0) (Esquema 1.22).



ESQUEMA 1.22. Síntese de 2-oxopirrolidina-3-carbonitrila catalisada por Pd (0).

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo a síntese de *N*-heterociclos de 5 membros visando a descoberta de novos fármacos para o tratamento da doença Zika. Os objetivos específicos foram:

- síntese de derivados de hidantoína e de 1,2,4-oxadiazol assim como compostos híbridos contendo estes dois núcleos;
- síntese de δ -lactamas empregando a reação de Ugi;
- avaliação da atividade de inibição da enzima NS3 Helicase do ZIKV dos compostos obtidos.

3. RESULTADOS

3.1. Parte I: Síntese de derivados de hidantoínas e oxadiazóis

Baseando-se nos fragmentos (*hits*) hidantoína e 1,2,4-oxadiazol (Figura 1.10) encontrados no estudo de *HTS* com a NS3 helicase do ZIKV, foi feito um estudo de modelagem molecular pelo Prof. Dr. Rafael Guido do IFSC-USP. Neste estudo foram propostas algumas modificações que pudessem promover uma maior interação entre os compostos com a proteína alvo, como também a junção dos fragmentos e algumas substituições isostéricas, como mostra a Figura 3.1.

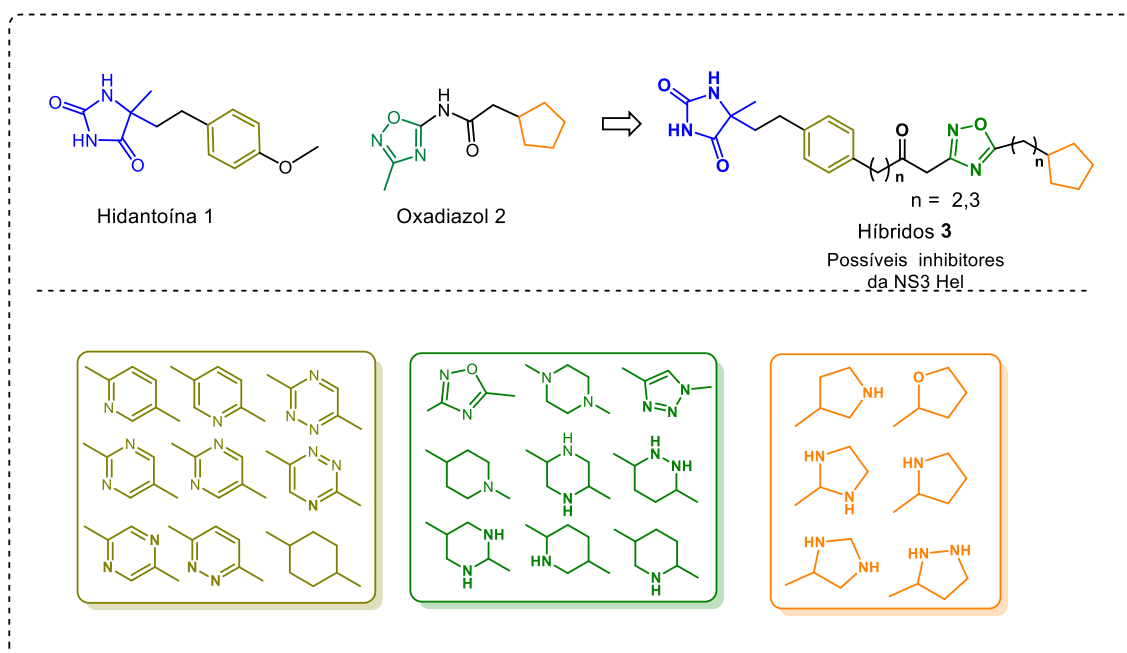


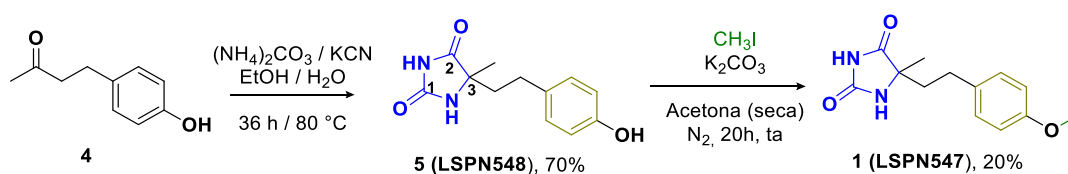
FIGURA 3.1. Compostos planejados usando fragmentos moleculares do estudo de *HTS*.

As propostas descritas na Figura 3.1 foram sugeridas pelo estudo de *docking* realizado, onde os anéis propostos pudessem aumentar a interação com a proteína, sendo assim essas propostas de anéis são sugestões para a síntese. Dessa forma, na primeira parte deste trabalho, nós nos dedicamos à síntese de compostos contendo os núcleos hidantoína e 1,2,4-oxadiazol.

3.1.1. Derivados de Hidantoína

Para a obtenção dos compostos de interesse, inicialmente, foram exploradas reações multicomponentes do tipo de Bucherer-Bergs²⁵ para síntese dos anéis de hidantoína. O primeiro composto sintetizado foi um dos fragmentos encontrados no estudo de *HTS*, isto é, a hidantoína **1** (**LSPN547**) (Figura 3.1). Para essa síntese foram usados KCN e carbonato de amônia, com uma mistura de água e etanol (1:1) como solvente a 80 °C. A metodologia se mostrou eficiente com rendimento de 70% e sem necessidade de etapa de purificação, sendo obtido o composto **5** (**LSPN548**). A comprovação estrutural da formação do anel de hidantoína foi através das análises de RMN (Figura A.19), onde foi possível observar no espectro de RMN ¹³C sinais em aproximadamente 180 e 159 ppm, que são referentes aos carbonos carboxílicos (1 e 2) no anel, e o sinal em aproximadamente 64 ppm referente ao carbono quaternário do anel (3).

Na etapa seguinte foi realizada uma reação de metilação no fenol com uso de iodeto de metila,⁵⁵ sendo obtido o composto **1** (**LSPN547**). A comprovação estrutural foi através do RMN ¹H (Figura A.28), onde o sinal da metila foi observado com deslocamento de 2,89 ppm integrando para três hidrogênios. O baixo rendimento de 20% pode ser decorrente do uso de uma base relativamente fraca como o carbonato de potássio. O uso de bases mais fortes poderia comprometer os hidrogênios do anel de hidantoína promovendo uma possível degradação do produto **1** (Esquema 3.1). Entretanto, em testes posteriores, observou-se que a utilização da mesma base pode favorecer reações semelhantes. Assim, neste caso específico, o baixo rendimento pode ser uma característica do substrato, que também não possui muitos métodos descritos na literatura.



ESQUEMA 3.1. Síntese do **LSPN547**.

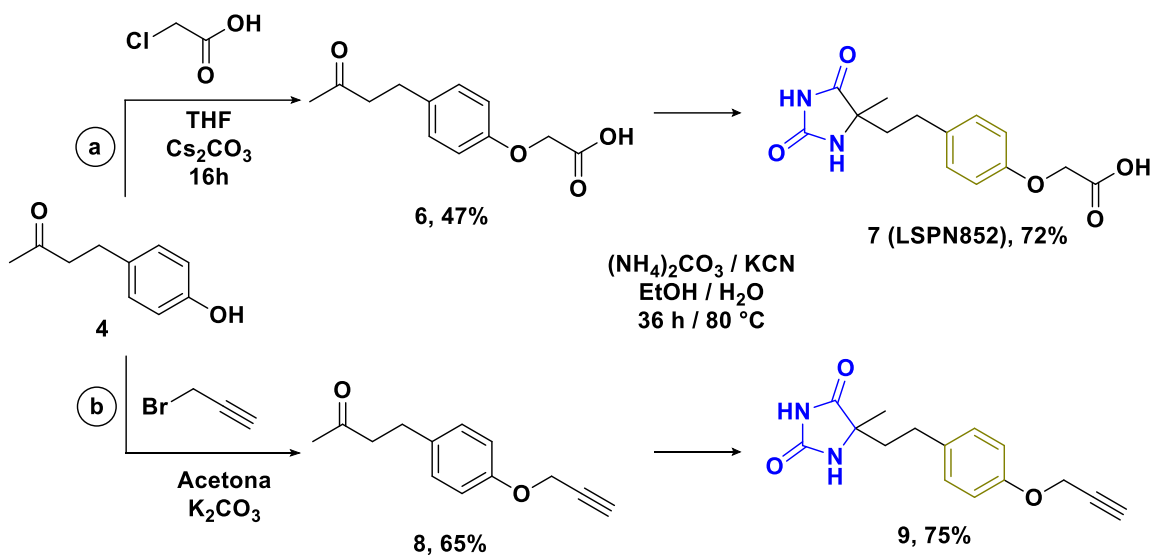
O fenol **4** ainda foi explorado para obtenção de alguns derivados de hidantoínas para uso em reações subsequentes, como: formação de amidas, ésteres e triazóis. Dessa forma, o composto **4** foi submetido em uma reação de substituição nucleofílica (S_N2) com o uso de ácido cloroacético, sendo obtido o composto **6** com 47% de rendimento (Esquema 3.2a). A caracterização estrutural do composto **6** foi feita através de RMN 1H (Figura A.2) sendo observado o aparecimento de um singleto integrando para dois hidrogênios oriundo do grupo CH_2 , com deslocamento aproximadamente 4,58 ppm.

Posteriormente, no composto **6** foi inserido o anel de hidantoína através da reação de Bucherer-Bergs para obter o composto **7 (LSPN852)**, com 72% de rendimento e sem necessidade de etapa de purificação. A caracterização estrutural do composto foi feita através de RMN 1H (Figura A.20) com o surgimento de quatro sinais com multiplicidade *td* (triplo-duplete) e constante de acoplamento *J* de aproximadamente 15 e 5 Hz, que são referentes aos hidrogênios dos $-CH_2$ adjacentes ao anel de hidantoína. Devido à presença do anel ocorre uma limitação da flexibilidade estrutural, sendo assim os hidrogênios são detectados como quimicamente diferentes. No RMN ^{13}C (Figura A.21) foram observados os sinais em 180 e 159 ppm, referentes aos carbonos carboxílicos do anel.

Em outra rota proposta, também com o composto **4**, realizou-se uma substituição nucleofílica com brometo de propargila para obter o composto **8** com 65% de rendimento⁵⁶. A estrutura de **8** foi confirmada através do espectro de RMN 1H (Figura A.3), com um tripleto ($J = 2,3$ Hz) em 2,51 ppm, integrando para um único hidrogênio do alcino terminal. Outro sinal característico da formação do composto foi um duplete ($J = 2,1$ Hz) em 4,66 ppm, integrando para dois hidrogênios, que são referentes à ligação CH_2 formada (Esquema 3.2b).

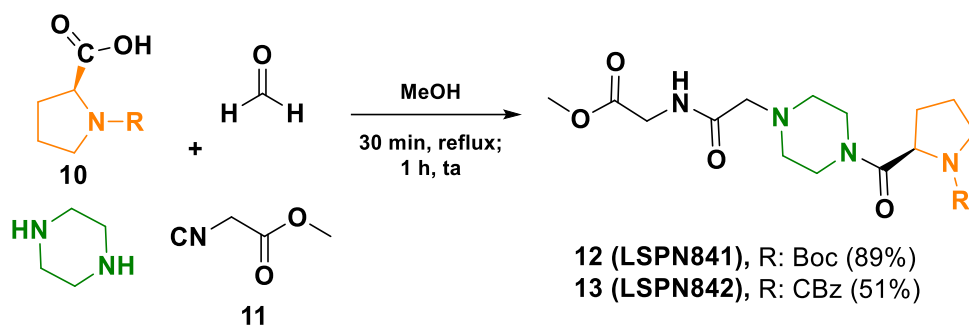
Na etapa seguinte foi realizada a inserção do anel de hidantoína através da reação de Bucherer-Bergs para obtenção do composto **9** com 75% de rendimento e sem necessidade de purificação. A confirmação estrutural do composto **9** foi realizada através de RMN 1H . Em comparação com o espectro obtido do composto **8**, no espectro do composto **9** foram observados dois singletos com integral para um hidrogênio cada, e deslocamentos químicos de 7,74 e 5,47 ppm, respectivamente. Esses dois sinais são referentes aos

hidrogênios ligados aos nitrogênios do anel de hidantoína. Um segundo dado que também evidencia a formação de **9** via RMN ^1H (Figura A.22) foram os sinais do metileno. No espectro do composto **8**, os sinais de $-\text{CH}_2$ são observados como dois tripletos, integrando para dois hidrogênios cada sinal e com $J = 7,5$ Hz, ou seja, são quimicamente iguais. No espectro de **9**, foram observados quatro multipletos, integrando para um único hidrogênio cada sinal, revelando a presença do anel de hidantoína, que limita a flexibilidade da molécula e a livre rotação das ligações C-H dos CH_2 metilenos, e por isso são detectados como quimicamente diferentes pela técnica de RMN.



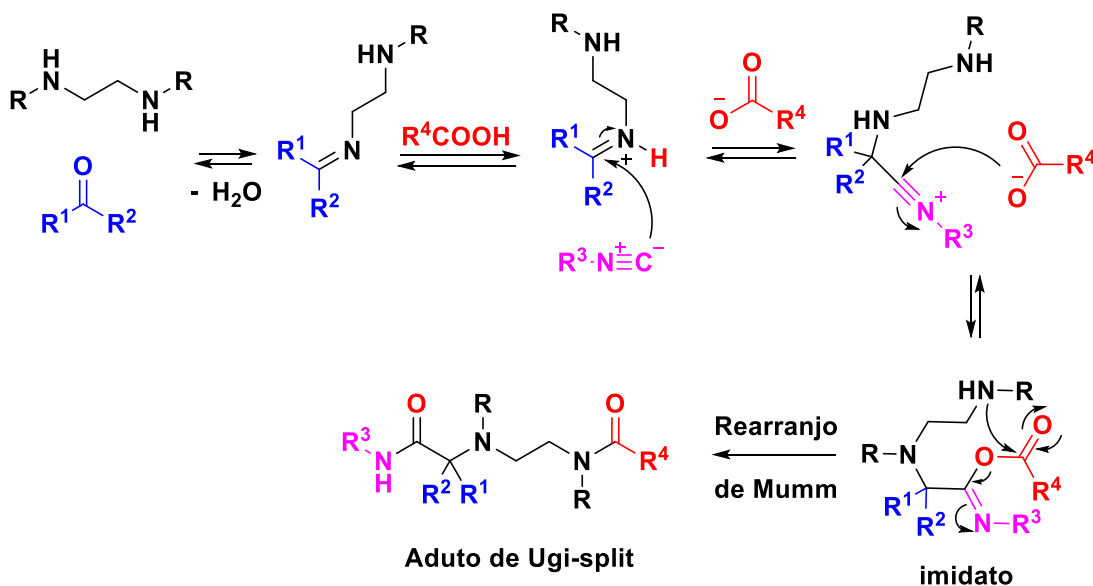
ESQUEMA 3.2. Síntese de derivados de hidantoína.

Ainda dentro das reações multicomponentes e associando a uma proposta de substituição biosstérica do anel de oxadiazol por piperazina,⁵⁷ foi explorada a reação Ugi-split, um protocolo modificado de quatro componentes adequado para diaminas bis-secundárias, desenvolvido por Giovenzana *et al.*⁵⁸ Assim, utilizando duas prolinas *N*-protegidas (Boc e CBz), piperazina, paraformaldeído e 2-isocianoacetato de metila, os compostos **12** (LSPN841) e **13** (LSPN842) foram obtidos com rendimentos moderados a bons (Esquema 3.3).



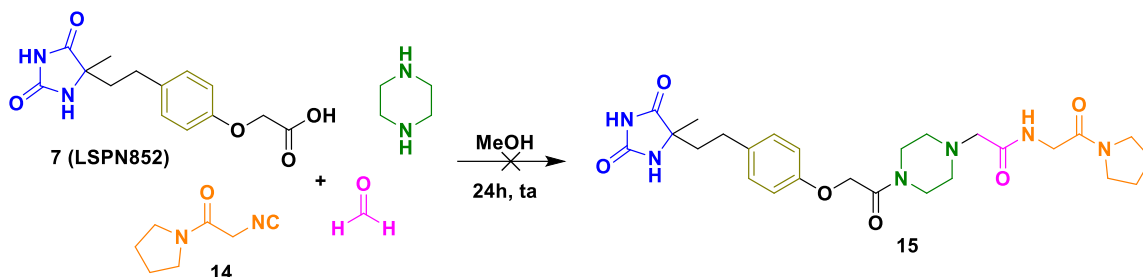
ESQUEMA 3.3. Síntese de análogos do fragmento de oxadiazol **2** via reação Ugi-split.

Diferentemente das RMC do tipo Ugi que usam aminas primárias, a Ugi-split usa aminas secundárias, onde através da condensação do aldeído/cetona com a amina ocorre a formação da imina. A imina é protonada pelo ácido carboxílico, seguido de um ataque do carbono sp da isonitrila, então o par de elétrons proveniente da hidroxila do ácido realizada um ataque no carbono da isonitrila formando o intermediário imidato para o posterior rearranjo de Mumm. Como nessa etapa da reação o nitrogênio é terciário, ele não é capaz de realizar o ataque intramolecular, assim entra em ação a segunda amina presente na estrutura, ocorrendo a formação do produto de Ugi-split (Esquema 3.4).



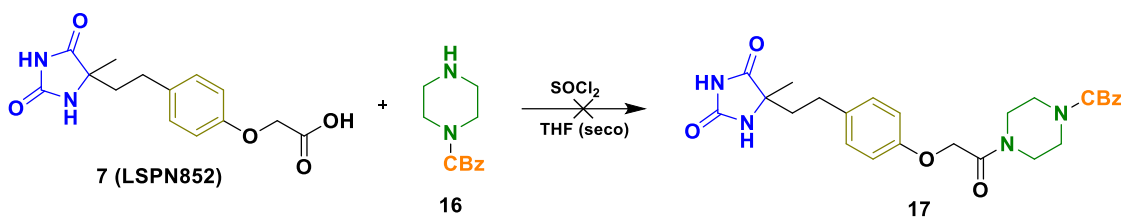
ESQUEMA 3.4. Mecanismo proposto para a RMC Ugi-split.

Essa metodologia foi aplicada para a hidantoína **7** (LSPN852), com piperazina, paraformaldeído e a isonitrila **14**. Apesar de um aumento significativo do tempo reacional para 24 horas, e a tentativa de pré-formação da imina com a amina e o aldeído, não foi possível observar a formação do produto (Esquema 3.5). Uma hipótese para a ineficiência da reação é o impedimento estérico dos substratos, pois como se trata de matérias-primas volumosas e funcionalizadas, isso pode ter interferido na reação.



ESQUEMA 3.5. Aplicação da metodologia de RMC Ugi-split com derivado de hidantoína.

Uma vez que esta RMC não forneceu o derivado de hidantoína contendo o anel piperazina, outra estratégia testada foi através da formação de amidas.⁵⁹ A formação de amidas, de forma convencional, ocorre através da condensação de ácidos carboxílicos e aminas e, em geral, é necessária a ativação do ácido carboxílico para uma posterior reação com a amina. Em condições mais robustas, o uso de cloretos de acila apresentam bons resultados, contudo a alta reatividade desses substratos tornam as reações não seletivas.⁶⁰ Essa metodologia foi testada, como apresenta o Esquema 3.6, com o uso de cloreto de tionila e em solvente THF, contudo a reação não se procedeu com sucesso.



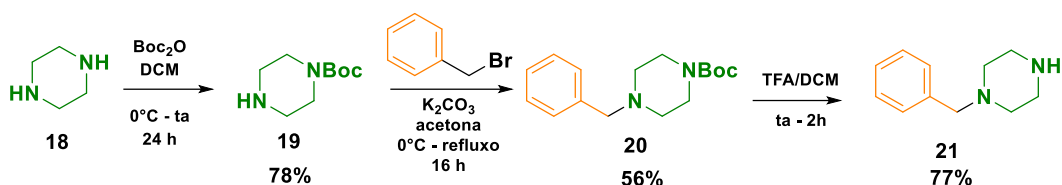
ESQUEMA 3.6. Formação de amidas via cloreto de acila.

Na literatura há inúmeros relatos do uso de reagentes de acoplamento para formação de amidas. Os primeiros descritos são os derivados de carbodiimida, por exemplo diciclohexilcarbodiimida (DCC) ou diisopropilcarbodiimida (DIC), que se mostram eficientes, mas apresentam um problema comum de racemização de aminoácidos. Além disso, o DIC é um reagente tóxico por inalação, o que limita o uso dessa classe de compostos.⁶¹ Dessa forma, buscou-se métodos alternativos.

Nos últimos anos o uso de reagentes de acoplamento derivados de sais de urônio tem ganhado destaque, principalmente na química de peptídeos, decorrente de sua alta eficiência, seletividade e baixa racemização. Alguns exemplos de sais de aminium são: 2-(1*H*-benzotriazol-1-il)-1,3,3-tetrafluoroborato de tetrametilamínio (TBTU), (1-[bis (dimetilamino) metileno] - 1*H*-1,2,3-triazolo [4,5-*b*] piridínio 3-óxido hexafluorofosfato (HATU) e hexafluorofosfato de 2-(1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio (HBTU).⁶²

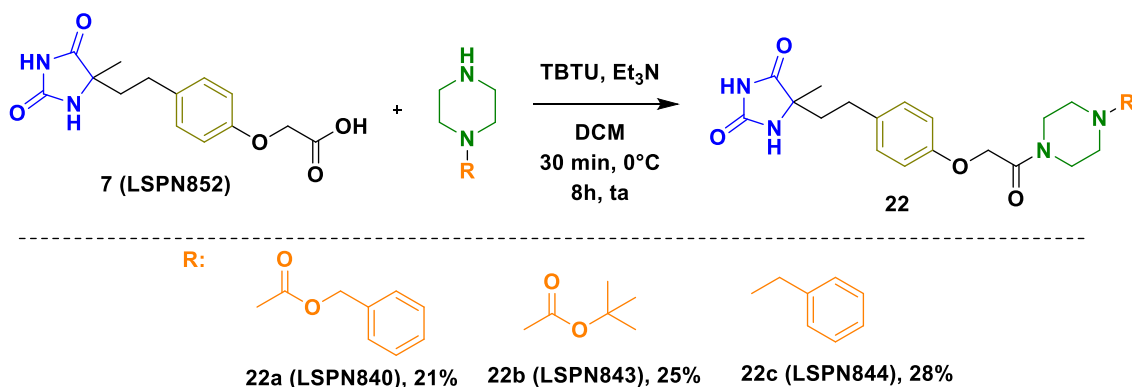
Pelo fato de ter disponível no laboratório, o primeiro reagente testado foi o TBTU, associado com trietilamina, diclorometano como solvente e um derivado de piperazina protegido com CBz, obtido comercialmente, sendo possível obter o composto **22 (LSPN840)**, com 20% de rendimento.

Basendo-se nessa metodologia, outras aminas derivadas de piperazina foram sintetizadas, como mostra o Esquema 3.7. A piperazina foi protegida por um grupo Boc de forma seletiva, em apenas um dos seus nitrogênios livres, sendo possível obter o composto **19**. A confirmação da estrutura de **19** foi através RMN ¹H (Figura A.4), com um singlete em 1,45 ppm e integral equivalente a nove hidrogênios do grupo protetor Boc. Na sequência, usando o composto **19** foi realizada uma reação de substituição nucleofílica com o brometo de benzila, seguida da desproteção do grupo protetor (Boc) para assim obter a amina livre **21** para posterior formação de amidas. A estrutura de **21**, que também teve sua estrutura confirmada por RMN ¹H (Figura A.6), apresentou dois sinais característicos, são eles: o multiplete com deslocamento químico entre 7,41 – 7,37 ppm, com integral para 5 hidrogênios referentes ao anel benzílico, e um singlete com deslocamento químico 4,00 ppm, referente ao CH₂ formado através da substituição nucleofílica.



ESQUEMA 3.7. Obtenção de aminas livres derivadas de piperazina.

Empregando as aminas livres na metodologia usando TBTU foi possível obter três derivados de hidantoína, compostos **22a-c** (**LSPN840**, **LSPN843** e **LSPN844**), sendo usadas aminas secundárias derivadas de piperazina, porém em baixo rendimento, como mostra o Esquema 3.8.

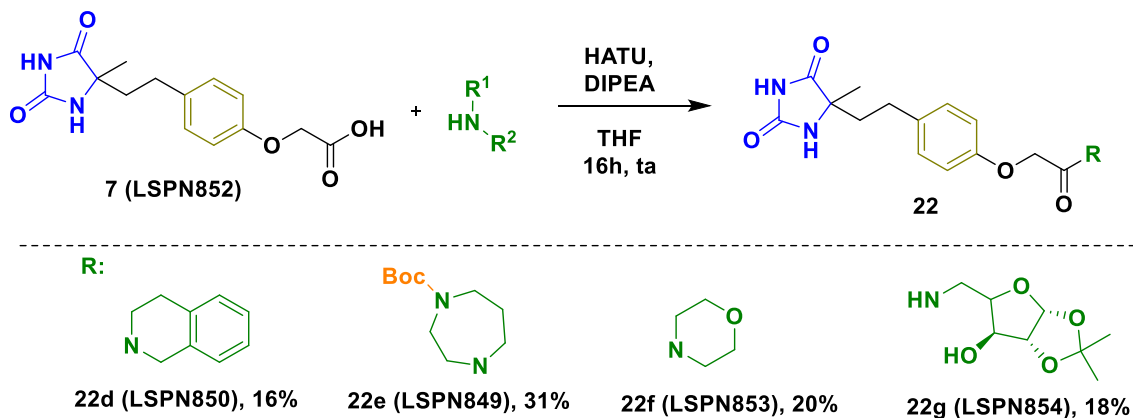


ESQUEMA 3.8. Compostos obtidos empregando a metodologia TBTU.

Contudo essa metodologia apresentou limitações, pois quando foram empregadas aminas não derivadas de piperazina, como a 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina, não foi possível observar a formação do produto de interesse. Outros reagentes de acoplamento disponíveis foram testados, como: EDC (*N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, DCC, clorofornato de isobutila e o HATU, onde apenas com o HATU a reação se procedeu de forma eficiente.

O HATU foi empregado com DIPEA, THF como solvente a temperatura ambiente.⁶³ Essa metodologia permitiu obter outros quatros derivados de hidantoína, sendo possível incorporar na estrutura isoquinolina (**22d**), homopiperazina (**22e**), moforlina (**22f**) e derivado de açúcar (**22g**). Apesar dos

baixos rendimentos, a metodologia forneceu os compostos desejados através de um processo fácil de purificação, sendo possível empregar diferentes derivados de aminas (Esquema 3.9).

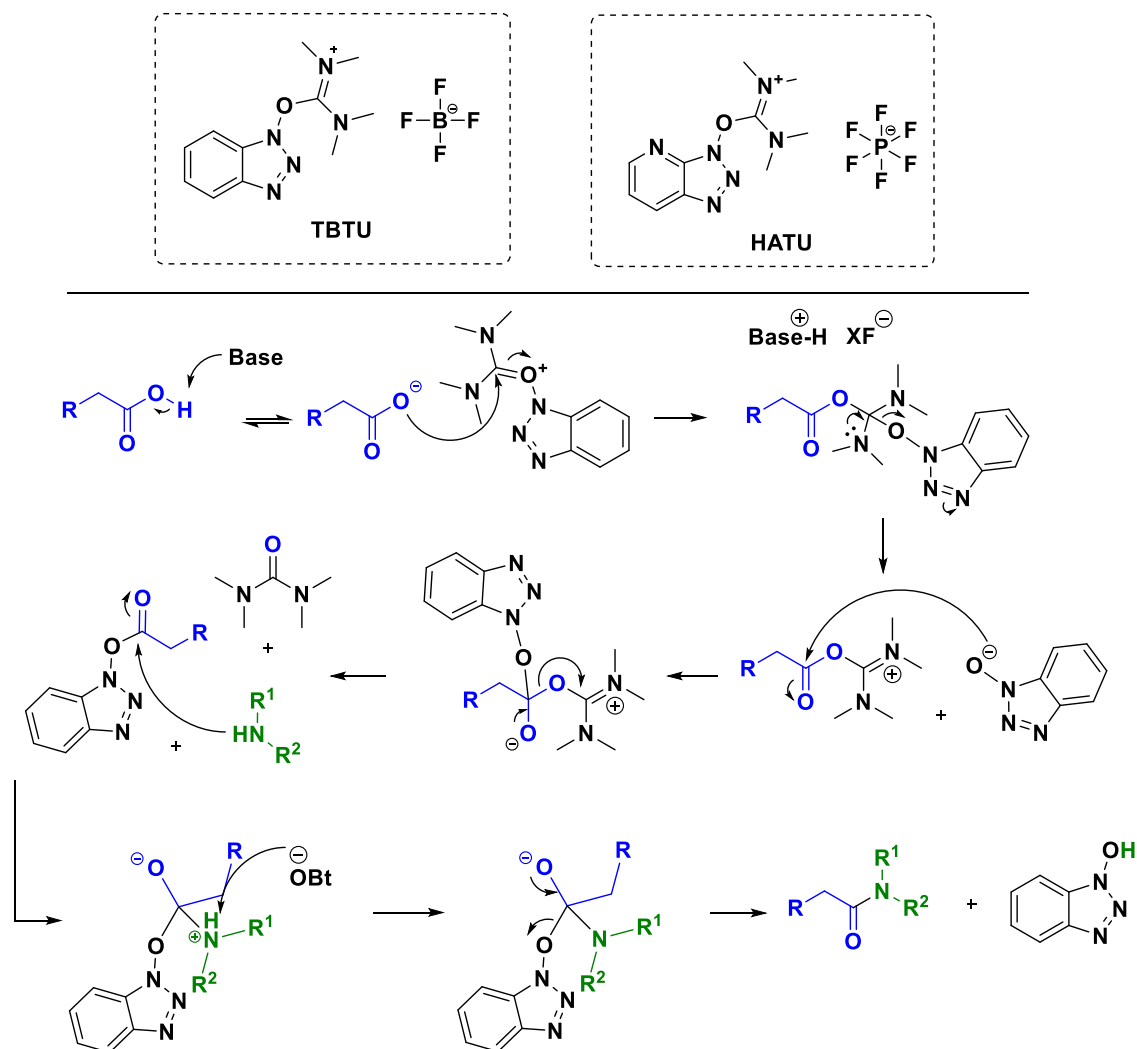


ESQUEMA 3.9. Compostos obtidos empregando a metodologia HATU.

A confirmação estrutural das amidas formadas foi através do espectro de RMN ^{13}C , com sinais 169,3; 169,3; 166,6; 166,8; 168,0; 166,9 e 171,9 ppm, referente ao carbono da amida formada dos compostos **22a-g**, respectivamente. Nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram observados os sinais característicos dos derivados de amina inseridos na estrutura, como por exemplo no **22b** um singlete em 1,49 ppm referente aos hidrogênios do grupo Boc, no **22d** um multiplete em aproximadamente 7,18 integrando para três hidrogênios referente ao anel aromático da isoquinolina e no **22f** um multiplete em 3,6 ppm referentes aos metilenos da morfolina.

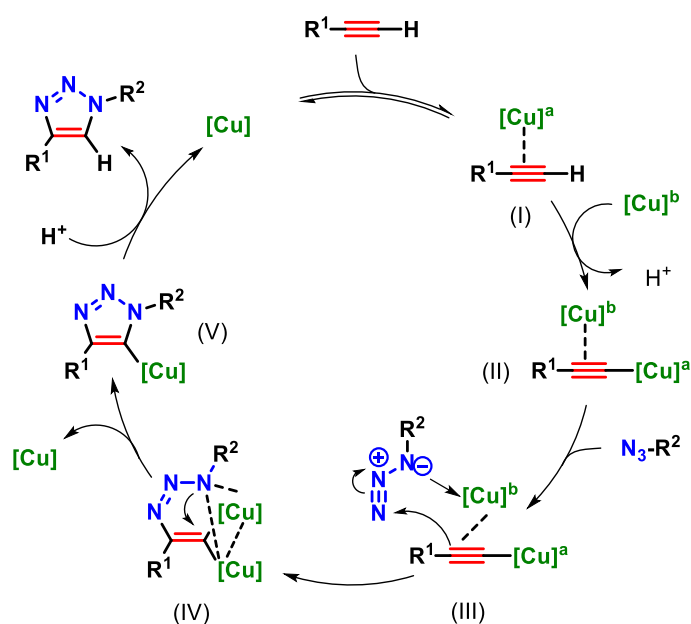
Ambos os reagentes de acoplamento usados (TBTU e HATU) possuem estruturas semelhantes, diferenciando apenas pela presença do nitrogênio no anel benzênico e o contra íon (Esquema 3.10). Devido a essa semelhança, o mecanismo proposto possui a mesma sequência reacional. Primeiramente, ocorre a desprotonação do ácido carboxílico pela base, com a formação do íon carboxilato. O carboxilato é capaz de atacar o centro eletrofílico do reagente de acoplamento, com a eliminação do grupo hidroxibenzotriazol (-OBt). Nas etapas posteriores o -OBt atua como um nucleófilo, realizando um ataque na carboxila proveniente do ácido, eliminando a úreia e formando o intermediário derivado de

éster. Nas etapas finais, a amina realiza um ataque na carboxila do intermediário de éster e então é formada a amida de interesse.



ESQUEMA 3.10. Mecanismo proposto para formação de amidas.

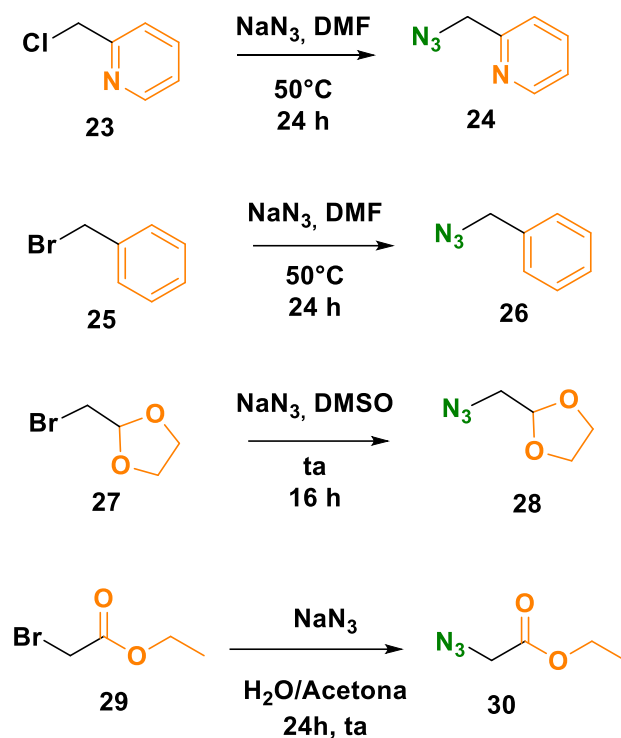
O anel triazólico é descrito na literatura em diversos compostos com atividade biológica, como também em inúmeras substituições isostéricas. Nesta proposta em específico, o anel triazólico substitui o anel de oxadiazol (Figura 3.1). Uma forma clássica de obtenção desses anéis é via cicloadição azido-alcino catalisada por cobre (CuAAC), convencionalmente chamada de reação “click”.⁶⁴ O mecanismo proposto para esta reação está descrito no Esquema 3.11.



ESQUEMA 3.11. Mecanismo de reação de cicloadição 1,3-dipolar catalisada com sal de cobre.⁶⁵

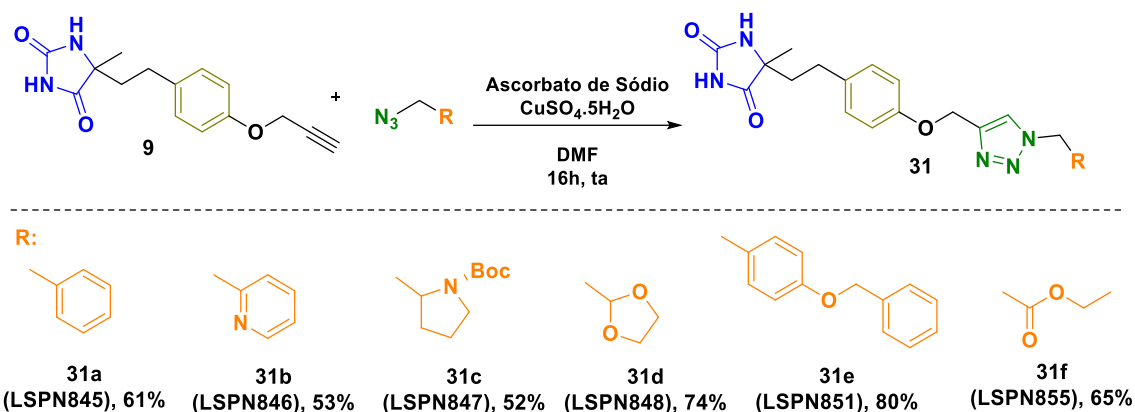
Primeiramente, o cobre se complexa com a ligação π do alcino formando o intermediário **I**, aumentando a acidez do H e possibilitando a complexação do segundo átomo de cobre com a ligação σ do alcino **II**. Ocorre então uma etapa reversível de coordenação da azida com Cu(I) formando o intermediário **III**. Com o ataque nucleofílico do carbono interno do acetileno ao nitrogênio terminal da azida, se forma a primeira ligação C-N e o metalociclo **IV**. A contração do metalociclo provoca a saída de um cobre formando o anel triazólico ligado ao cobre **V**, e a formação do 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído ocorre através de uma protonólise.⁶⁵

O derivado de hidantoína **9**, contendo o alcino terminal, explorado na reação click foi descrito anteriormente. Já as azidas foram obtidas comercialmente ou através de substituições nucleofílicas como mostra o Esquema 3.12.⁶⁶ As metodologias utilizadas são as descritas na literatura e se mostraram eficientes, simples de execução e sem necessidade de etapas de purificação. A indicação de que o produto foi formado foi apenas por CCD e revelador vanilina, e em seguida usado sem purificação cromatográfica.



ESQUEMA 3.12. Obtenção das azidas **24**, **26**, **28** e **30** através de substituições nucleofílicas.

Os anéis triazólicos são altamente estáveis, por apresentarem resistência à redução, oxidação ou hidrólise.⁶⁷ Dentre as vantagens da síntese desse tipo de anel estão: excelentes rendimentos, cinética favorável, condições brandas e a utilização de um amplo escopo de substratos. O Esquema 3.13 apresenta os derivados triazólicos obtidos, sendo que o composto **31c** (LSPN847) foi sintetizado a partir de uma azida obtida comercialmente, e o **31e** (LSPN851) de uma azida disponível no nosso laboratório.

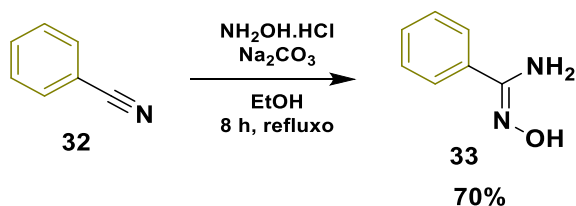


ESQUEMA 3.13. Obtenção de triazóis via “click”.

As estruturas dos compostos foram confirmadas via RMN ^1H (Figuras A.53-66). O sinal que mais evidencia a formação dos produtos foi um singlete, com deslocamentos químicos 8,89, 9,35, 9,51, 9,25, 10,66 e 10,65 para **31a**, **31b**, **31c**, **31d**, **31e** e **31f**, respectivamente, referentes ao hidrogênio do anel de triazol. Por se tratar de um anel aromático, isso promove uma maior desblindagem do hidrogênio.

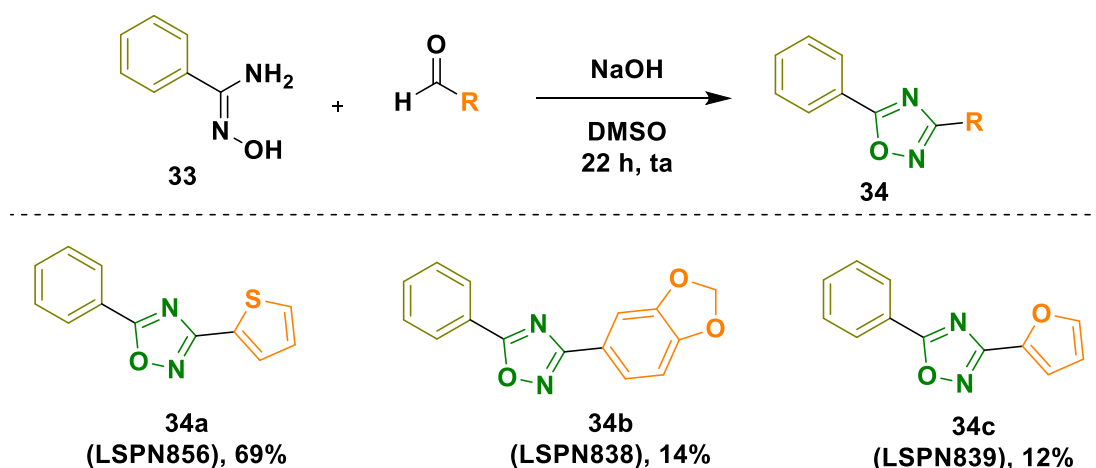
3.1.2. Derivados de oxadiazóis

A síntese dos derivados de oxadiazol foi realizada principalmente através da amidoxima **33**, obtida utilizando hidroxilamina com a nitrila **32**, como descreve o Esquema 3.14.⁶⁸ A comprovação estrutural de **33** foi realizada via RMN ^1H (Figura A.7), onde foi observado sinal característico da amina em 5,82 ppm (singlete integrando para 2 hidrogênios) e da oxima em 9,66 ppm (singlete integrando para um único hidrogênio). O composto **33** se torna o material de partida principal para síntese dos oxadiazóis.



ESQUEMA 3.14. Síntese da amidoxima.

Em buscas por metodologias consideradas mais verdes, há um estudo de Shetnev *et al.*⁶⁹ que propõe a síntese de oxadiazóis em condições básicas, partindo de amidoximas e aldeídos. Essa metodologia mostrou-se eficiente e foi possível obter três dos compostos planejados, **34a** (LSPN856), **34b** (LSPN838) e **34c** (LSPN839). A comprovação estrutural foi realizada por RMN ¹H, onde foi observado o desaparecimento dos sinais dos hidrogênios das aminas, do álcool e o hidrogênio dos aldeídos, sendo observados então apenas os hidrogênios do anel aromático proveniente da amidoxima e do aldeído. Nos espectros de (Esquema 3.15). Nos espectros de RMN ¹³C pode ser observados o dois carbonos dos anéis dos oxadiazóis em torno de 167 e 170 ppm.

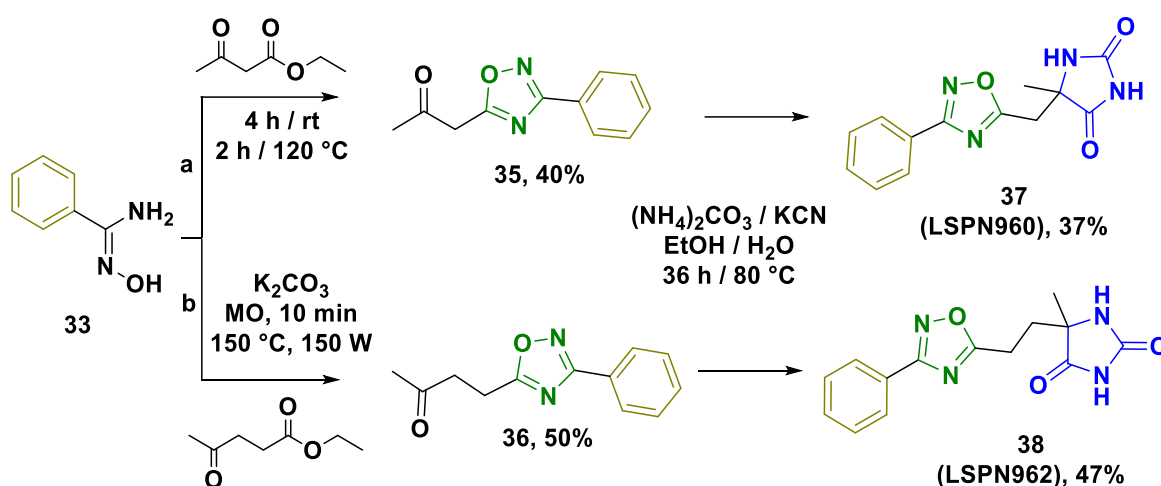


ESQUEMA 3.15. Síntese de oxadiazóis partindo de aldeídos.

3.1.3. Síntese dos compostos híbridos hidantoína-oxadiazol

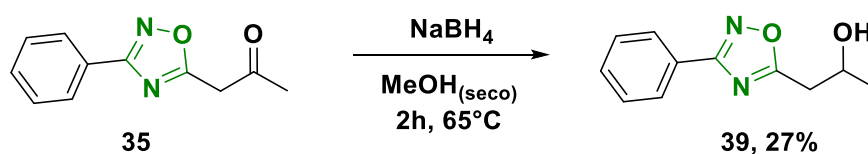
Para concluir esta parte do trabalho, nós nos dedicamos então na síntese de compostos híbridos contendo os fragmentos hidantoína e oxadiazol. Para tal, planejou-se a síntese de oxadiazóis contendo uma cetona como substituinte para que se pudesse obter o anel hidantoína através da reação de Bucherer-Bergs.

Dessa forma, a reação do composto **33** com o acetoacetato de etila permitiu a síntese do oxadiazol **35** em condições brandas e sem uso de solventes⁷⁰ (Esquema 3.16a). A comprovação estrutural foi decorrente do desaparecimento do sinal do grupo etil adjacente ao éster e o deslocamento do CH₂ para campo um pouco mais baixo (4,11 ppm) (Figura A.14). Uma segunda proposta foi realizada explorando o uso de micro-ondas com a diminuição significativa do tempo.⁷¹ Por meio desta metodologia, foi possível a formação do composto **36** com 50% de rendimento (Esquema 3.16b). Em seguida, empregando a reação de Bucherer-Bergs, os híbridos **37** (LSPN960) e **38** (LSPN962) foram obtidos, porém com rendimentos moderados.



ESQUEMA 3.16. Síntese dos compostos híbridos empregando oxadiazóis partindo de cetoésteres.

Outra rota possível para obtenção dos híbridos é via a redução da carbonila do oxadiazol **35** para o correspondente álcool **39** (Esquema 3.17), seguido de uma reação de esterificação com ácidos carboxílicos já contendo o anel hidantoína.

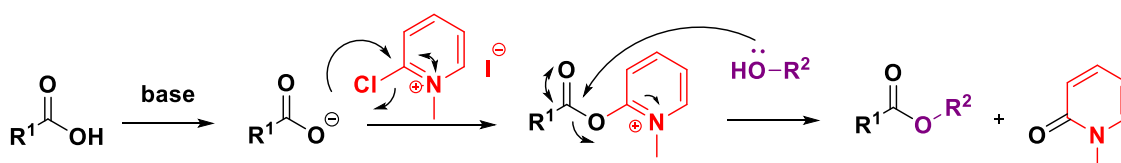


ESQUEMA 3.17. Síntese do álcool derivado de oxadiazol **30**.

Ésteres são grupos funcionais que possuem alta abrangência tanto na química orgânica quanto na química medicinal, e a forma mais comumente usada para a síntese é usando ácidos carboxílicos e álcoois em reações de esterificação. Em 1978, uma reação que ganhou grande destaque foi a esterificação de Steglich,⁷² que inicialmente foi descrita para a reação de ácidos carboxílicos com álcoois empregando reagentes de acoplamento de amida, como os derivados de carbodiimida (DCC, DIC, entre outros). Contudo, como já citado anteriormente, o uso de derivados de carbodiimidas não exploram condições consideradas verdes, além do perigo associado, sendo assim, foi necessária a busca por metodologias alternativas para a formação dos ésteres.^{73,74}

O iodeto de 2-cloro-1-metilpiridínio, também conhecido como reagente de Mukaiyama, foi primeiramente relatado em 1975. Mais recentemente, Sneddon e colaboradores⁷⁵ mostraram que este reagente, quando associado com determinados solventes, é considerado umas das metodologias mais eficazes, verdes e seguras na síntese de ésteres.

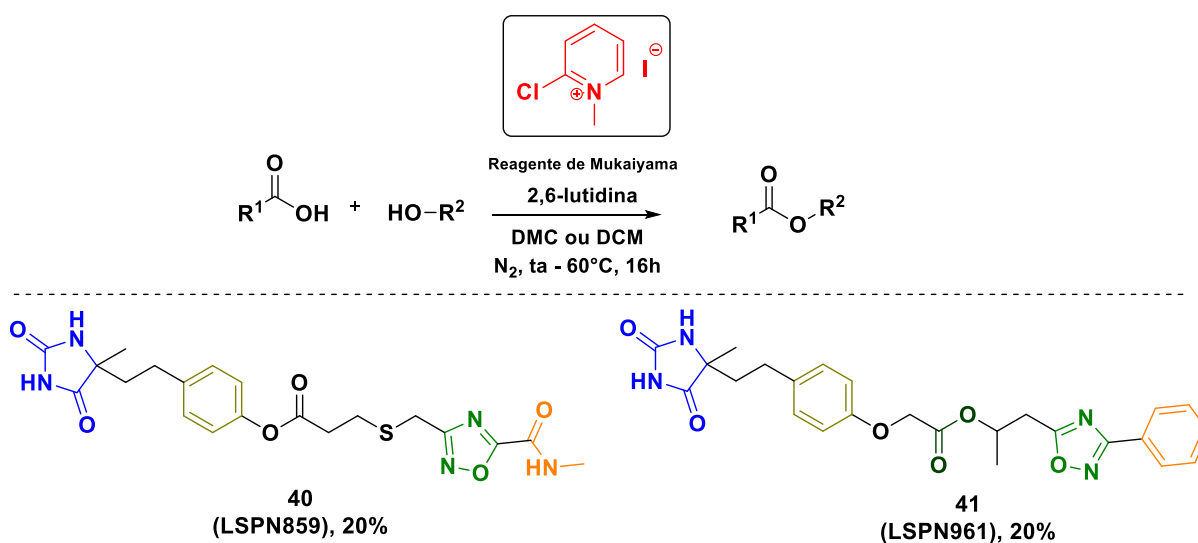
O mecanismo proposto para o reagente de Mukaiyama (Esquema 3.18) engloba o uso de uma base que irá desprotonar o ácido carboxílico, seguido do ataque do par de elétrons do oxigênio no carbono aromático ligado ao haleto, sendo substituído pelo grupo carboxílico.⁷² Na segunda etapa da reação ocorre o ataque do álcool livre no carbono carboxílico do éster, formando então o éster desejado e o derivado de peridona. O *work-up* da reação segue na solubilização do bruto reacional em acetato de etila e filtração à vácuo para remover o derivado de peridona, extrações ácidas e básicas promovem a remoção da base e ácido carboxílico que não reagiram, após isso o produto pode ser facilmente purificado.



ESQUEMA 3.18. Mecanismo proposto para o uso do reagente de Mukaiyama.

Com base nesse estudo, foi possível aplicar essa metodologia utilizando o ácido carboxílico derivado da hidantoína **7** (**LSPN852**), juntamente com o álcool **39**. O outro ácido explorado foi obtido comercialmente, sendo um derivado de oxadiazol, juntamente com um álcool derivado da hidantoína **5** (**LSPN548**).

Dessa forma, foram obtidos dois compostos híbridos planejados, **40** (**LSPN859**) e **41** (**LSPN961**) (Esquema 3.19). Há uma limitação na metodologia empregando o reagente de Mukaiyama, devido ao efeito estérico de grupos volumosos próximos ao local da reação podendo diminuir o rendimento. Esse fato pode ser uma das justificativas pelo baixo rendimento. A confirmação estrutural foi realizada principalmente por sinais observados no espectro de RMN ^{13}C (Figura A.70 e A.68), com os sinais em 170 e 168 ppm, referentes às carboxilas formadas dos ésteres **40** e **41**, respectivamente, além dos sinais dos respectivos álcoois inseridos na estrutura.

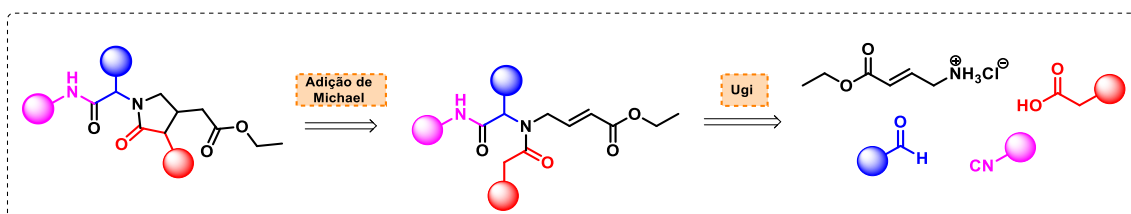


ESQUEMA 3.19. Síntese empregando o reagente de Mukaiyama.

3.2. Parte II: Síntese de δ -lactamas

Modificações estruturais após a reação de Ugi, também conhecida como *Ugi-post modification*, é uma estratégia sintética que demonstra ampla versatilidade. A escolha adequada dos componentes para a reação Ugi torna possível realizar reações ortogonais adicionais com os produtos, como acoplamentos cruzados catalisados por paládio, metátese de fechamento de anel, entre outras transformações.⁷⁶

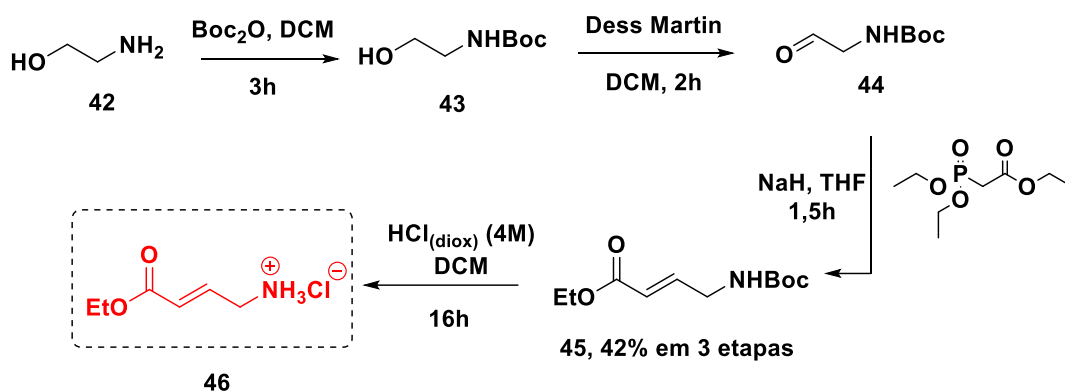
Dessa forma, nesta etapa do projeto de doutorado, estudou-se a síntese de γ -lactamas empregando produtos de Ugi seguido da reação de Michael intramolecular (Esquema 3.20).



ESQUEMA 3.20. Retrossíntese para obtenção de δ -lactamas.

Este trabalho teve como base estudos preliminares realizados no nosso grupo de pesquisa.⁷⁷ Primeiramente, foi explorada a reação de Ugi, onde foi necessária a síntese da amina de interesse **35**.

Dessa forma, inicialmente foi realizada a proteção da etanolamina (**42**) com carbamato de *tert*-butila formando o composto **43**, o qual foi oxidado ao aldeído **44** empregando a oxidação com o reagente de Dess-Martin para posterior olefinação via reação de Horner-Wadsworth-Emmons levando à amina **45**. A desproteção desta amina empregando TFA, seguida de extração ácido/base para obtenção da amina livre, levou à degradação do produto desejado, devido provavelmente à lactamização.⁷⁸ Assim, para evitar essa possível lactamização, foi realizada a desproteção do grupo Boc com HCl em dioxano (4 M) e obtido o cloridrato da amina **46** (Esquema 3.21).



ESQUEMA 3.21. Síntese da amina **46**.

A avaliação da reação de Ugi com o cloridato **46** foi conduzida empregando o uso da adição de uma solução metanólica de KOH (1 M) em quantidade equivalente no meio reacional, para a pré-formação da imina, conforme descreve Torroba e Marcaccini⁷⁹, em metanol por 48 h, onde foi obtido o produto de interesse com 5% de rendimento. A confirmação estrutural de **47a** foi realizada através de análise de RMN ¹H (Figura A.75), sendo possível observar dois tripletos (rotâmeros) em aproximadamente 8 ppm, que são referentes ao hidrogênio da amidada. Os hidrogênios do -CH₂ provenientes do paraformaldeído são observados nos multipletos em cerca de 3 ppm. No espectro de RMN ¹³C (Figura A.76) os sinais que mais evidenciaram a formação do produto foram os das amidas em aproximadamente 165 e 163 ppm e seus rotâmeros.

Em seguida foi iniciado o processo de otimização da reação de Ugi (Tabela 3.1). É importante ressaltar que em todos os testes houve a pré-formação da imina por 30 minutos. Apesar dos extensos relatos da literatura da eficiência do uso de metanol como solvente, principalmente devido a sua capacidade de solubilizar compostos polares além de estabilizar a imina, no primeiro teste realizado, como discutido acima, não foi obtido sucesso. Conforme descrito na literatura, em alguns casos o metanol pode agir como nucleofílo, competindo então com os substratos de interesse.⁴⁶ Assim, no segundo teste mudou-se o solvente para trifluoretanol (TFE), que além de possuir alto poder de solubilidade e estabilizar a imina, o aumento do volume estrutural poderia impedir o mesmo de atuar como nucleofílo, sendo obtido um rendimento de 28% do

composto **47a**. Também foi isolado o subproduto **48**, cuja estrutura será discutida ainda nesta seção.

O experimento mostrado na terceira entrada da Tabela 3.1 foi similar ao da segunda, contudo, o solvente metanol no qual era solubilizado o KOH foi substituído por TFE, para evitar problemas já descritos anteriormente, contudo não houve melhora no rendimento. Na análise por CCD foi observado um subproduto **II** com alto fator de retenção (R_f), que foi isolado e caracterizado. Na análise realizada por RMN foi possível constatar que se referia ao produto de esterificação entre o ácido cianoacético e o solvente TFE, o 2-cianoacetato de 2,2,2-trifluoroetila (**49**). Os dados obtidos foram comparados com os da literatura,⁸⁰ sendo que o espectro de RMN ^{13}C (Figura A.87) apresenta sinais característicos, principalmente dos carbonos acoplado com o flúor (C6 e C7), onde ambos se apresentaram com multiplicidade como um quarteto (q).

Baseando-se nessas informações, o uso de solventes derivados de álcoois se tornou uma limitação para a metodologia. Ainda foram feitos outros testes usando água e mistura de água com metanol como solvente e também usando uma solução aquosa de KOH (entradas 4 e 5, respectivamente), mas sem sucesso.

Os testes seguintes foram em busca de um solvente eficiente, onde foi testado o DMF (com e sem aquecimento), mas não houve aumento significativo do rendimento. Na entrada 8 foi usada a acetona como solvente e também como fonte do substrato carbonílico fornecendo o produto **47m** (Figura 3.2). A reação se procedeu de forma eficiente e houve um aumento significativo do rendimento para 55%, entretanto o uso da acetona limitaria a metodologia impossibilitando a variação dos compostos carbonílicos, por isso foi testado outro solvente.

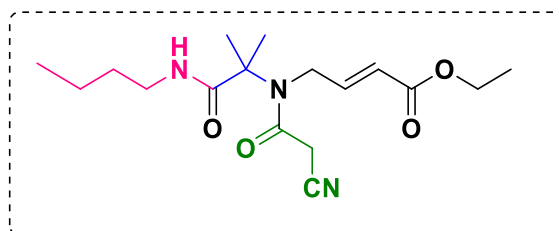
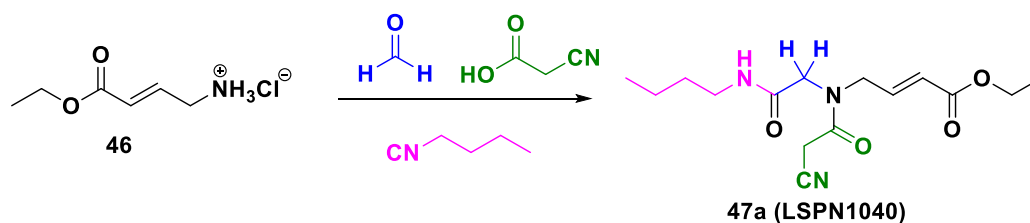


FIGURA 3.2. Produto **47m** obtido usando acetona como solvente.

TABELA 3.1. Otimização reação de Ugi.



	Solvente	Base	T (°C)	Tempo (h)	Rend. ^a (%)	
					47a	48a
1	MeOH	KOH _(MeOH) (1 M)	25	48	5	-
2	TFE	KOH _(MeOH) (1 M)	25	72	28	12
3	TFE	KOH _(TFE) (1 M)	25	72	25	14
4	H ₂ O	KOH _(aq) (1 M)	25	72	5	-
5	H ₂ O/MeOH	KOH _(aq) (1 M)	25	72	-	-
6	DMF	KOH _(aq) (1 M)	2	72	36	5
7	DMF	KOH _(aq) (1 M)	55	72	35	4
8 ^b	Acetona	KOH _(aq) (1 M)	25	72	55	-
9	THF	KOH _(aq) (1 M)	25	72	58	16
10	THF	KOH _(aq) (1 M)	25	48	65	6
11	THF	KOH _(aq) (1 M)	25	24	45	10
12	THF	KOH _(aq) (1 M)	55	24	59	11
13	THF	KOH _(aq) (1 M)	55	48	57	8
14	THF	NaOH _(aq) (1 M)	25	48	47	4
15	THF	Et ₃ N	25	48	32	13
16	THF	Cs ₂ CO ₃	25	48	-	-
17 ^c	THF	KOH _(aq) (1 M)	25	48	77	5
18 ^c	Me-THF	KOH _(aq) (1 M)	25	48	32	5

Condições Reacionais: Amina (0,2 mmol); Aldeído (0,2 mmol); Ácido (0,2 mmol); Isonitrila (0,2 mmol). Solvente (0,2 M). Todas reações houveram a pré-formação da imina por 30 min. a) Rendimento Isolado por coluna cromatográfica. b) Solvente usando como reagente, substituindo o *p*-formaldeído. c) Adição de 1,2 equiv. de Amina e Aldeído.

Na entrada 9, foi testado THF e foi obtido um rendimento de 58%. Partindo desse resultado, outros parâmetros como tempo e temperatura foram variados, onde em 48 h e a temperatura ambiente foi obtido **47a** com rendimento de 65%. Também foram avaliadas diferentes bases como: NaOH_(aq) (1M), trietilamina (Et₃N) e carbonato de césio (Cs₂CO₃), sem aumento significativo do rendimento. Na entrada 17, a reação foi realizada com excesso de 1,2 equiv. para amina e aldeído, sendo obtido um rendimento de 77% do produto de Ugi. Por fim, foi avaliada a possibilidade de alteração do solvente THF para Me-THF, por este apresentar características verdes, mas ocorreu uma diminuição drástica do rendimento. Então, a condição definida como ótima para obtenção de **47a**, foi usando THF como solvente, adição de KOH_(aq) (1 M) e excesso de 1,2 equiv. de amina e aldeído.

Pode ser observado em todos os experimentos da otimização a presença de um subproduto **48a (LSPN1041)**, cujo rendimento variava de acordo com as condições. Este subproduto então foi isolado e caracterizado e, inicialmente, através de análises de RMN foi observada certa semelhança com o produto de Ugi de interesse **47a**, contudo sem a presença da porção α,β -insaturada. Então, através da análise de espectrometria de massas de alta resolução e o padrão isotópico observado, foi comprovado se tratar de um produto de Ugi, entretanto com a presença de um átomo de cloro na posição β ao éster (Figura 3.3).

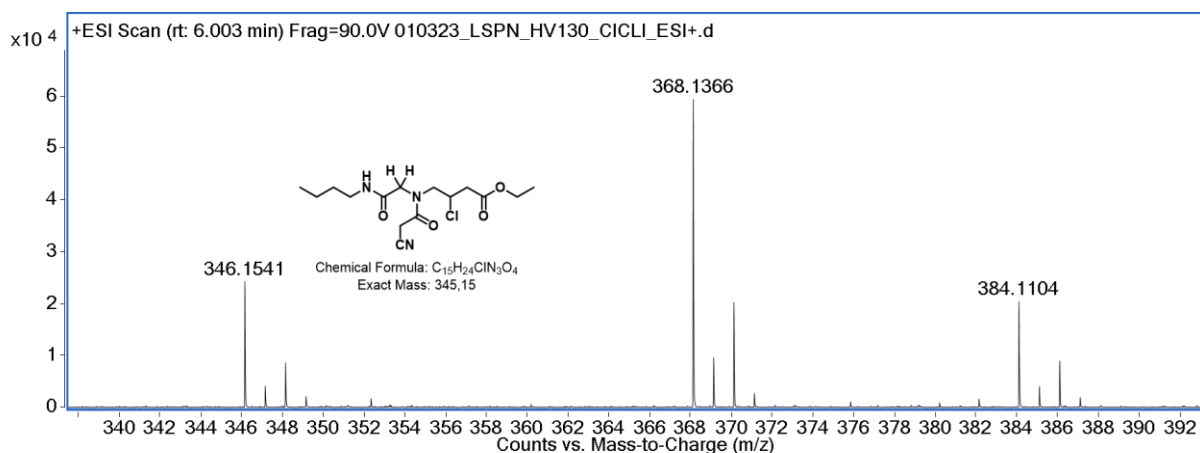
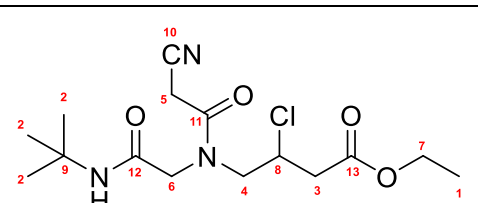


FIGURA 3.3. Espectro de massas de alta ESI+ do composto **48a**.

Foi realizado um teste com a isonitrila de *terc*-butila para verificar a reprodutibilidade do subproduto (48b). A confirmação estrutural foi através dos espectros de RMN ^{13}C e ^1H bidimensionais (2D) HSQC (Figura A.92) de correlação heteronuclear através de uma ligação (1 JCH) e HMBC (Figura A.93) de correlação através de duas e três ligações (n JCH, $n=2$ e $n=3$). A Tabela 3.2 apresenta as correlações em uma ligação da estrutura (incluindo os rotâmeros), já a Figura 3.4 mostra as correlações observadas no HMBC.

TABELA 3.2. Correlações observadas no HSQC, incluindo rotâmeros para **48b**.



Posição	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)
1	1,18 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H)	14,5
2	1,25 (s, 9H)	28,8; 29,9
3	2,6 (dd, $J = 16.5, 10.1$ Hz, 1H) 2,78 (dd, $J = 16.4, 9.0$ Hz, 1H) 3.06 – 2.94 (m, 2H)	40,6; 40,2
4	3,5; 3,6; 3,8; 4,0	49,8; 53,2
5	3,9; 4,1	25,4; 25,5
6	3,6; 4,0	52,4; 54,3
7	4.17 – 4.02 (m, 4H) 4.58 – 4.49 (m, 1H)	60,9; 60,9
8	4.43 (dtd, $J = 10.1, 6.8, 3.3$ Hz, 1H)	55,7; 56,7
9	-	50,7; 51,0
10	-	116,3; 116,4
11	-	164,2; 165,5
12	-	167,13; 167,06
13	-	170,02; 169,96

HMBC (Correlações)	
H3 – C13 2,6 – 170,0	
H4 – C11 3,6 – 165,6	
H6 – C12 4,0 – 167,1	
C11 – H5 – C10 164,2 – 4,1 – 116,3	

FIGURA 3.4. Correlações observadas no HMBC (**48b**).

Além de todos os dados de RMN e HRMS confirmarem a estrutura, também foi obtido um cristal do produto **48a**, que foi analisado por difração de Raio-X, como mostra a Figura 3.5.

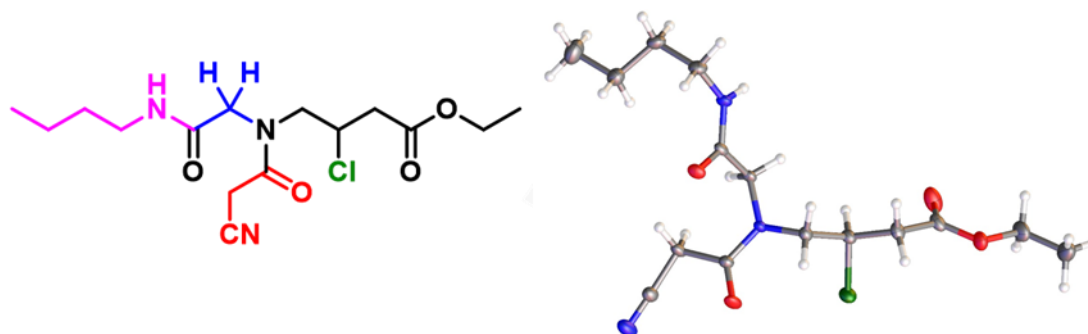


FIGURA 3.5. Raio-X do composto **48a**.

Partindo dessa confirmação estrutural, foi necessário investigar em qual etapa reacional estava ocorrendo a entrada do cloro. Analisando todo o processo reacional, o único momento que é usado cloro, é na forma de ácido clorídrico solução em dioxano (4 M), na etapa da desproteção do Boc. Então foi realizada uma análise por HRMS do sal da amina cloridrato, para atestar que nesse momento da desproteção o Cl⁻ disponível no meio era capaz de realizar uma substituição eletrolítica na insaturação (Figura 3.6).

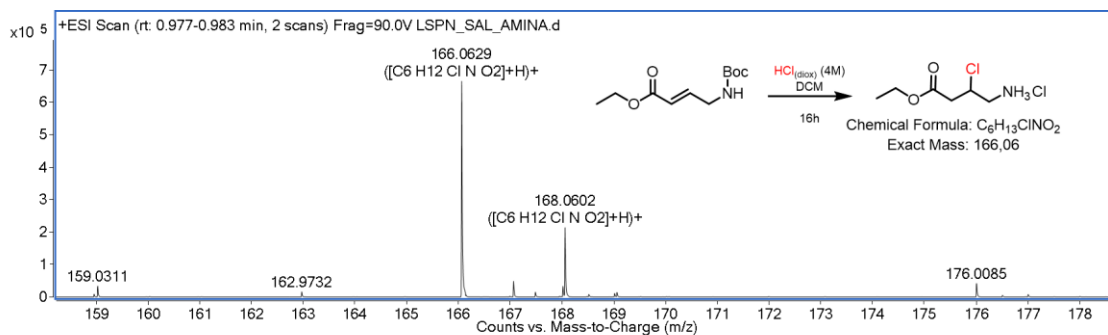


FIGURA 3.6. Espectro de HRMS-ESI+ da amina cloridrato **50**.

Essa reação colateral atípica foi descrita por Scanlan *et al.*⁸¹, quando os autores, também na etapa da desproteção do grupo Boc com HCl, constataram a adição do cloro na dupla ligação α,β -insaturada (Figura 3.7).

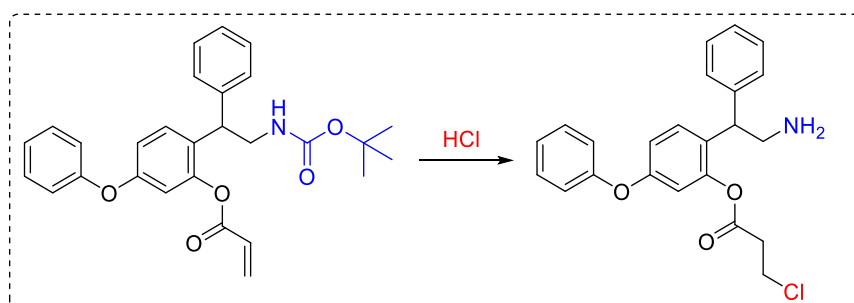


FIGURA 3.7. Reação realizada por Scanlan com a desproteção do Boc e adição do cloro.

Com base nesses dados, foram realizados alguns testes para avaliar a influência do HCl na obtenção do produto **48a**. Os testes foram realizados na etapa da desproteção variando a quantidade de equivalentes de HCl, já na etapa da Ugi variando tempo e a temperatura, mas foi quantificado apenas o produto final **48a** (Tabela 3.3).

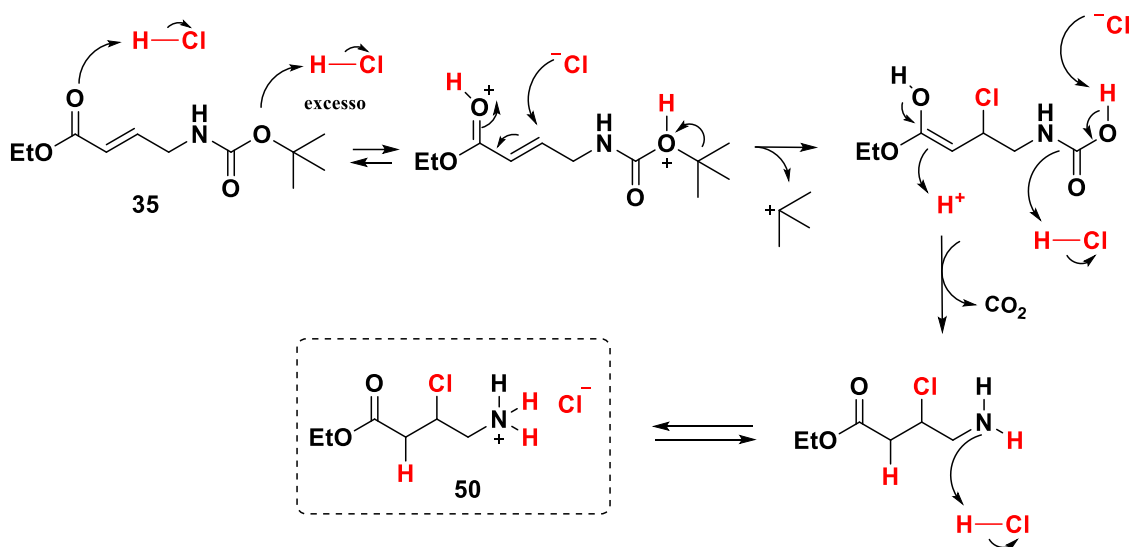
TABELA 3.3. Testes avaliando a influência do HCl na formação do produto **48a**.

Reaction scheme showing the synthesis of **48a** from **45**. **45** reacts with $\text{HCl}_{(\text{diox})}$ (4M) in DCM for 16h, ta to form intermediate **50**. Intermediate **50** then reacts with $\text{KOH}_{(\text{aq})}$ (1M) in THF to form **48a**.

	Equiv. $\text{HCl}_{(\text{diox})}$ (4 M)	T (°C)	Tempo (h)	Rend. ^a (%) 48a
1	10	55	24	40
2	20	ta	48	73
3	30	ta	48	48

Condições Reacionais: Amina (0,2 mmol); Aldeído (0,2 mmol); Ácido (0,16mmol); Isonitrila (0,16 mmol). Solvente (0,2 M). Todas reações houveram a pré-formação da imina por 30 min. a) Rendimento Isolado por coluna cromatográfica.

Foi possível concluir, com base nos testes, que a quantidade HCl disponível no meio tem influência direta no produto clorado, onde no teste realizado com 20 equivalentes de HCl houve a formação do produto **48a** com 73% de rendimento. O Esquema 3.22 apresenta uma proposta mecanística de como pode ocorrer a desproteção e adição do cloro. Inicialmente ocorre a protonação da carboxila promovendo a adição 1,4 do cloro. Paralelamente, ocorre a protonação do carbamato pelo HCl, promovendo então a saída do carbocátion terc-butila e formação do ácido carbâmico. Em seguida, há uma descarboxilação e protonação da amina.

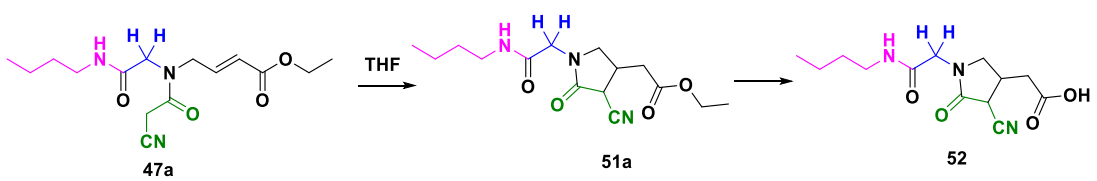


ESQUEMA 3.22. Desproteção do Boc e adição do cloro.

Tendo concluído essa parte de identificação do subproduto, voltamos ao objetivo inicial que era uma pós-modificação do produto de Ugi **47**, visando a ciclização para formação de γ -lactamas via adição 1,4 intramolecular. As adições de Michael podem ser catalisadas em condições ácidas ou básicas, como inicialmente já se tem o uso de KOH, os primeiros testes foram realizados com essa mesma base.

A Tabela 3.4 descreve os testes realizados para a ciclização de **47a**, que foram acompanhados por CCD e o produto caracterizado por RMN e sem purificação ou quantificação. Inicialmente, foi usada KOH aquosa (1 M), em quantidade equivalente por 16 h, e foi observada a ciclização e hidrólise do composto, com a formação do ácido **52**. Na entrada 2, reduziu-se a quantidade da base para 0,5 equivalentes e tempo de 2 h, sendo obtido o composto de interesse **51a**. Na entrada 3, foi alterado o solvente no qual a base foi solubilizada para metanol, afim de impedir processos de hidrólise, contudo não foi observado o produto de interesse. Já na última entrada, foi possível diminuir o tempo reacional para 1 h, sendo também obtido o composto **51a**.

TABELA 3.4. Avaliação das condições reacionais para a adição de Michael intramolecular.



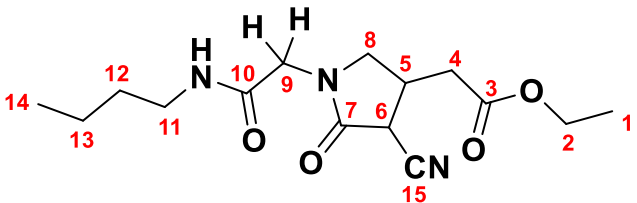
	Base (equiv.)	Tempo (h)	Produto
1	KOH _(aq) (1,0)	16	52
2	KOH _(aq) (0,5)	2	51a
3	KOH _(MeOH) (1,0)	2	NR
4	KOH _(aq) (0,5)	1	51a

Condições reacional: **47a** (0,2 mmol), base (1 M), THF anidro (1 mL) a 25°C. Todas as reações foram monitoradas por CCD e o produto bruto caracterizado por RMN sem purificação. NR = não reagiu.

A confirmação estrutural de **51a** foi realizada principalmente através de análise de RMN ¹³C DEPT 135 (Figura A.96), sendo observado o aparecimento de dois CH oriundos dos dois centros estereogênicos formados com deslocamentos aproximadamente 38,2; 37,8; 33,7 e 29,7 ppm, referente aos CH e seus rotâmeros (Figura A.97).

Além dos espectros de RMN ¹³C e ¹H, foram realizadas análises bidimensionais (2D) HSQC (Figura A.98), que mostram a correlação heteronuclear através de uma ligação (¹J_hC), e HMBC (Figura A.99), que revelam a correlação por meio de duas e três ligações (ⁿJ_hC, n=2 e n=3). A Tabela 3.5 apresenta as correlações para uma ligação da estrutura (incluindo os rotâmeros), enquanto a Figura 3.8 exibe as correlações observadas no espectro HMBC.

TABELA 3.5. Correlações observadas no HSQC, incluindo rotâmeros para **51a**.



Posição	¹ H (ppm)	¹³ C (ppm)
1	1,33 – 1,12 (m, 3H)	14,0
2	4,09 (q, <i>J</i> = 7,1 Hz, 2H)	60,30; 60,32
3	-	170,8; 170,7
4	2,75 – 2,56 (m, 2H)	36,0; 35,2
5	3,21 – 2,89 (m, 1H)	33,7; 29,7
6	4,27 (d, <i>J</i> = 8,7 Hz, 1H) 3,98 (d, <i>J</i> = 10,1 Hz, 1H)	37,8; 38,2
7	-	166,20; 165,90
8	3,21 – 2,89 (m, 1H) 3,65 – 3,48 (m, 1H)	51,2; 51,0
9	3,86 – 3,77 (m, 2H)	45,5; 45,2
10	-	166,5; 166,4
11	3,21 – 2,89 (m, 2H)	38,2
12	1,45 – 1,31 (m, 2H)	31,2; 31,1
13	1,33 – 1,13 (m, 2H)	19,5
14	0,86 (t, <i>J</i> = 7,3 Hz, 3H)	13,66; 13,64
15	-	117,7; 116,0

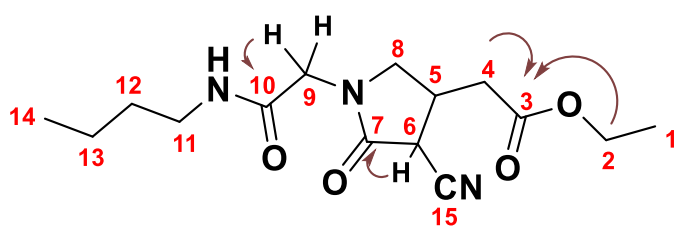
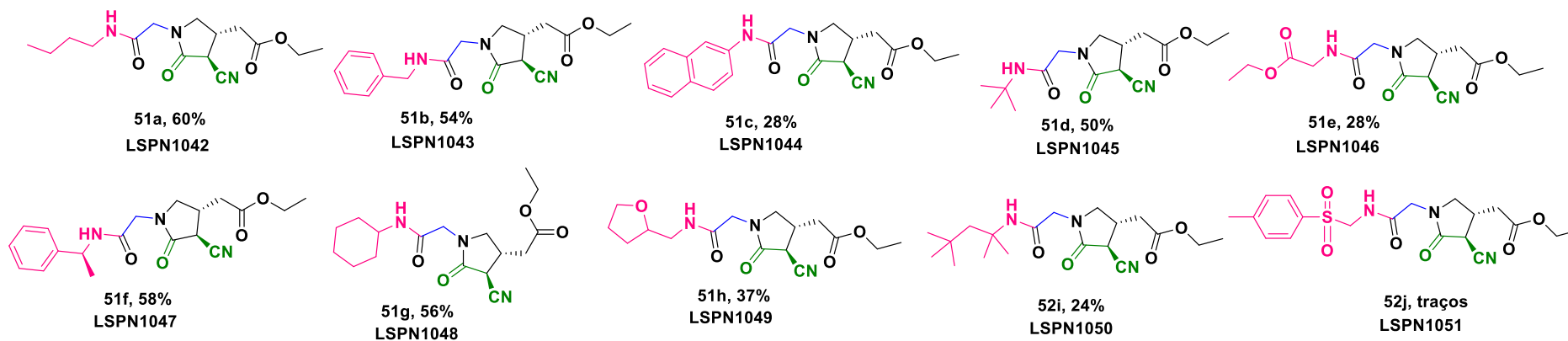
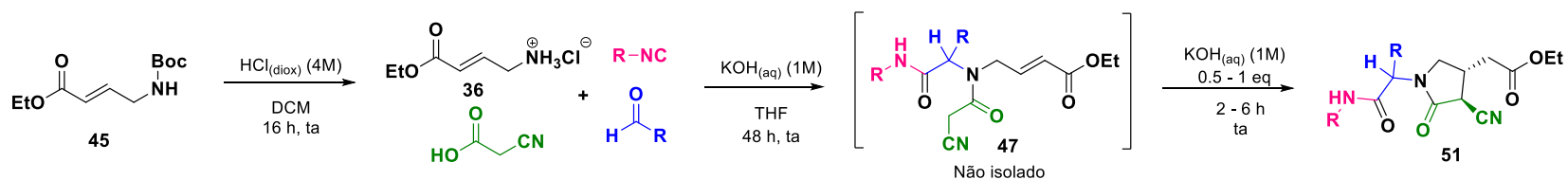
HMBC (Correlações)	
H2 – C3 - H4 4,09 – 170,8 – 2,75	
H6 – C7 4,7 – 166,2	
H9 – C10 3,86 – 166,5	

FIGURA 3.8. Correlações observadas no HMBC para **51a**.

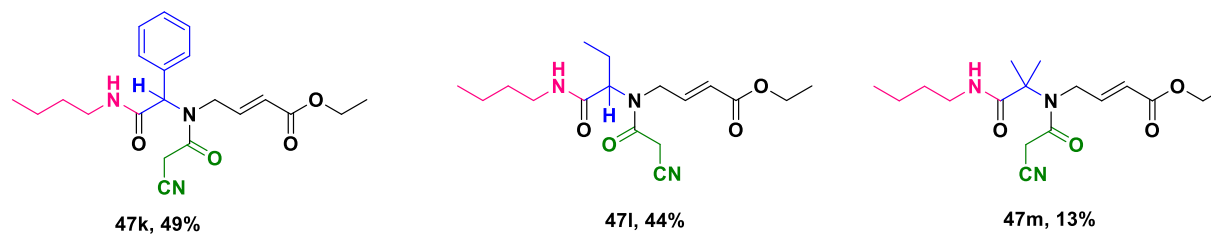
Com base em todas as otimizações realizadas, o estudo do escopo se iniciou, primeiramente, avaliando a reatividade das isonitrilas. É importante ressaltar que a sequência de reações desde a desproteção até a ciclização é realizada de forma *one-pot*, e apenas o produto final é purificado e quantificado, ou seja, o rendimento obtido refere-se ao rendimento global em três etapas (Esquema 3.23). A primeira isonitrila testada foi a *n*-butil e o produto desejado **51a (LSPN1042)** foi obtido com sucesso em 60% de rendimento. Para avaliar a robustez do método, foi realizado o escalonamento desta reação, utilizando 1,6 mmol da amina **45**, sendo o composto **51a** obtido com 40% de rendimento. Provavelmente, um maior tempo reacional seria necessário para se conseguir um melhor rendimento.

Em seguida, foram avaliadas as isonitrilas contendo cadeias ramificadas/volumosas e foi possível obter os compostos **51d** e **51i** com rendimentos de 50% e 24%, respectivamente, enquanto que com o grupo ciclohexil o produto correspondente **51g** foi obtido com rendimento de 56%. Quando foram utilizadas isonitrilas possuindo anéis aromáticos, os produtos **51b** e **51f** foram obtidos com bons rendimentos. Contudo, o aumento do volume, como no caso do **51c** contendo o grupo naftil, provocou uma diminuição do rendimento para 28%. Além disso, a presença de heteroátomos na isonitrila levou à formação dos produtos **51e** e **51h** com rendimentos moderados, mas **51j** foi observado apenas em traços. Quando comparado aos demais exemplos, para obter os compostos **51c**, **51h**, **51i** e **51j**, foi necessário utilizar maior quantidade de base e maior tempo de ciclização, devido provavelmente ao impedimento estérico.

Também foi avaliado o uso de diferentes compostos carbonílicos em vez de paraformaldeído, como benzaldeído, propanal e acetona. Embora os produtos de Ugi **47k-m** correspondentes tenham sido obtidos, os produtos de ciclização não foram observados. Acredita-se, que seja devido ao impedimento estérico dos substituintes, apresentando assim uma limitação do método. Cabe ressaltar que **47m** já havia sido obtido com 55% de rendimento na otimização da reação de Ugi (TABELA 3.1), usando acetona como solvente.



Aduto de Ugi:



ESQUEMA 3.23. Escopo reacional para formação das δ -lactamas.

Nos espectros de RMN das δ -lactamas obtidas a maioria dos sinais apresentaram-se duplicados, o que pode ser devido à presença de diastereoisômeros e/ou rotâmeros. Para confirmação desse dado, foi realizado um experimento de RMN de ^1H com variação de temperatura (25 - 105 °C) utilizando o composto **51b** (LSPN1043). Este apresentou sinais no espectro de RMN ^1H duplicados e sem multiplicidade definida, como os sinais em aproximadamente 4,3 ppm, 4,11 ppm, 4,01 ppm e 3,94 ppm, que são dos H1, H2, H3 e H4, respectivamente (Figura 3.9). À temperatura de 105 °C foi observada a coalescência dos sinais de hidrogênio mencionados com a definição das multiplicidades esperadas, como no caso de H1 um duplete, H2 um quarteto, H3 um singlete e H4 um duplete.

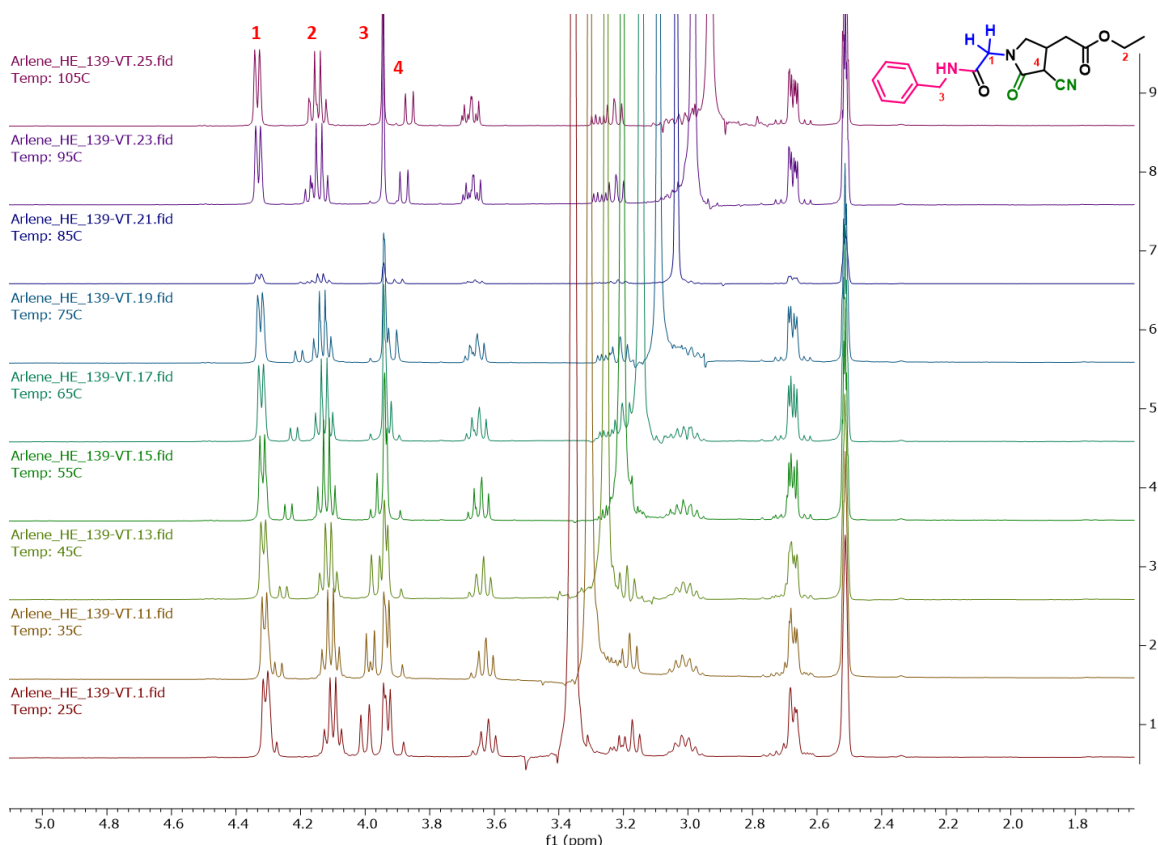


FIGURA 3.9. Espectro de RMN ^1H do **51b** com variação de temperatura (25 – 105 °C), em $\text{DMSO-}d_6$.

Outra dúvida também referente à caracterização estrutural foi em relação à estereoquímica relativa. Como se trata de um anel de cinco membros, a determinação via constante de acoplamento e experimentos 2D não são conclusivos. Então, comparando com um estudo da literatura, onde os autores conseguem isolar e caracterizar separadamente anéis semelhantes aos aqui descritos, foi possível constatar através da constante de acoplamento ($J = 10$ Hz) para o sinal do H adjacente do grupo nitrila, que se trata provavelmente de estereoquímica relativa *anti*.⁸² Para confirmar esta atribuição, o composto **51d** foi cristalizado e analisado por difração de Raio-X (Figura 3.10).

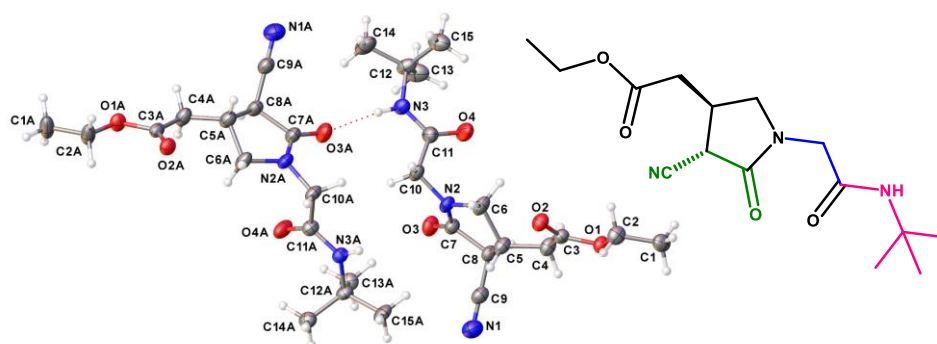
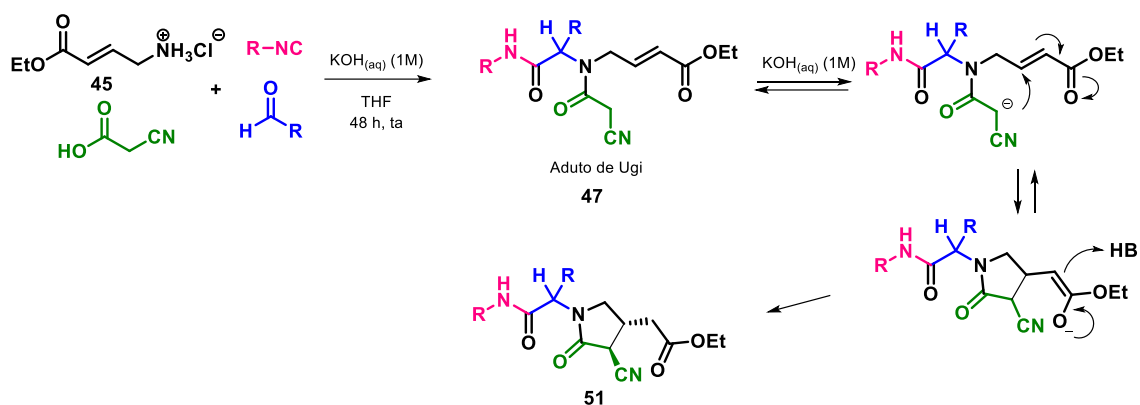


FIGURA 3.10. Cristalografia de Raio-X de **51d**.

Em termos mecanísticos, propomos que inicialmente há a formação do produto de Ugi, e em seguida, com a adição de mais base, o produto é desprotonado, na porção adjacente à nitrila, ocorrendo então um ataque intramolecular na dupla α,β -insaturada através de uma adição de Michael (Esquema 3.24). É importante salientar que a definição inicial da geometria em *E* da insaturação propícia o fechamento do anel, fato que não ocorreria com a configuração em *Z* decorrente do impedimento estérico, de acordo com as regras de Baldwin se refere a um fechamento de anel do tipo 5-exo-trig.



ESQUEMA 3.24. Mecanismo proposto para obtenção das γ -lactamas **51**.

Todos os compostos sintetizados neste trabalho foram encaminhados para os ensaios biológicos visando a obtenção de fármacos para o tratamento da doença zika.

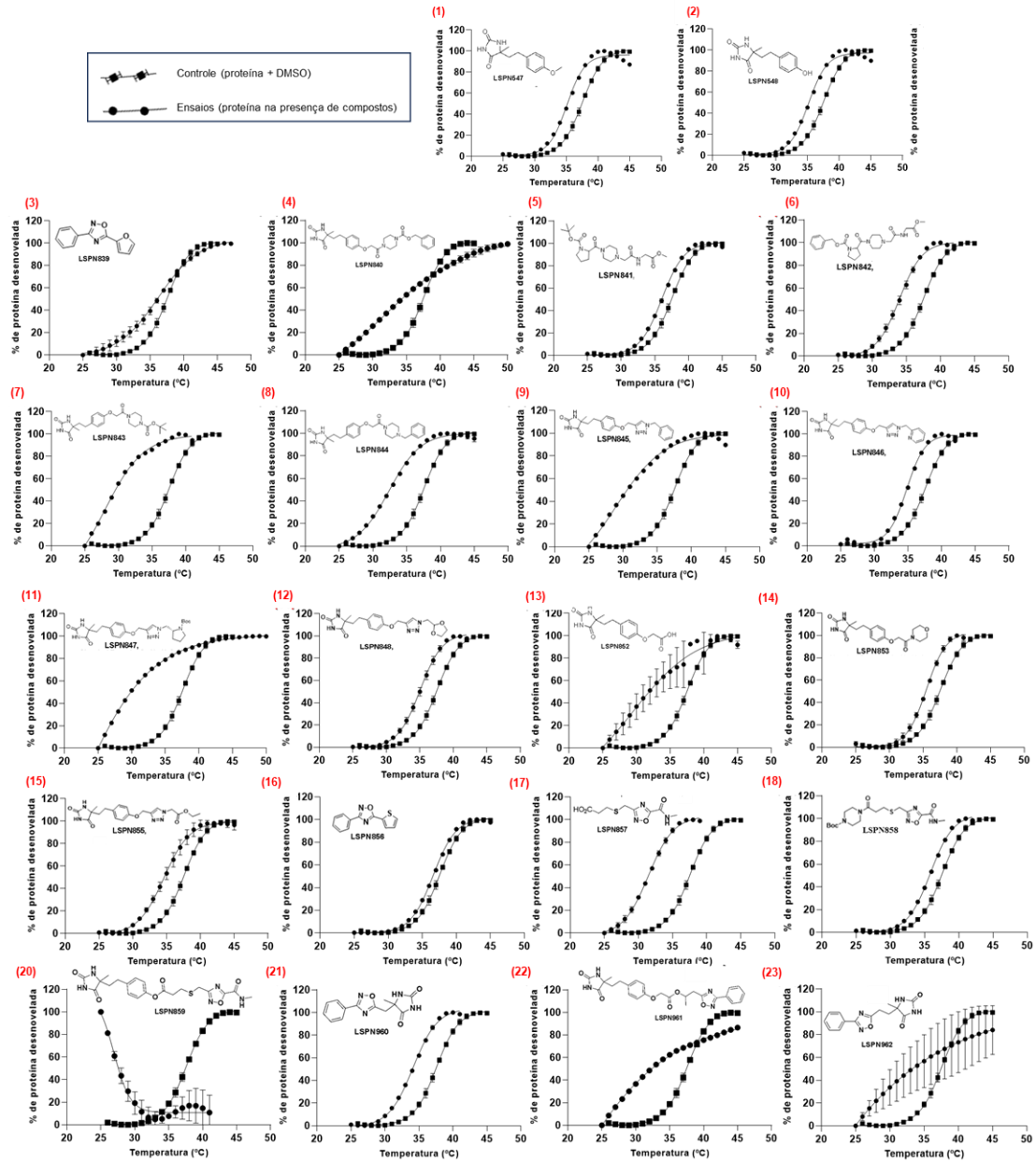
3.3. Parte III: Avaliação Biológica

Os compostos sintetizados neste trabalho, assim como outros que já haviam sido sintetizados anteriormente no nosso grupo, foram avaliados frente à NS3^{Hel}, em parceria com Centro de Pesquisa e Inovação em Biodiversidade e Fármacos (CIBFar), coordenado pelo Prof. Dr. Glaucius Oliva no Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (IFSC-USP).

O primeiro teste realizado foi o *Differential Scanning Fluorimetry* (DSF), que consiste em investigar a estabilidade térmica da Helicase de ZIKV (NS3^{Hel}) através da variação da temperatura de desenovelamento (*melting temperature*, T_m). Após expressão e purificação da proteína em questão, de acordo com protocolo já estabelecido,⁸³ foi utilizada a proteína congelada para realizar ensaios de estabilidade térmica da proteína na presença de uma concentração única (10 mM).

As curvas provenientes do ensaio de desnaturação térmica podem ser visualizadas na Figura 3.11, onde a curva de cada composto em questão é comparada individualmente com o controle de desnaturação térmica da proteína na presença apenas de DMSO 100%, o qual usamos como solvente.

O teste funciona que à medida que a proteína se desnatura, suas regiões hidrofóbicas internas se tornam acessíveis ao corante, resultando em um aumento da fluorescência. O ponto em que ocorre o maior aumento na fluorescência corresponde à temperatura de transição (T_m).



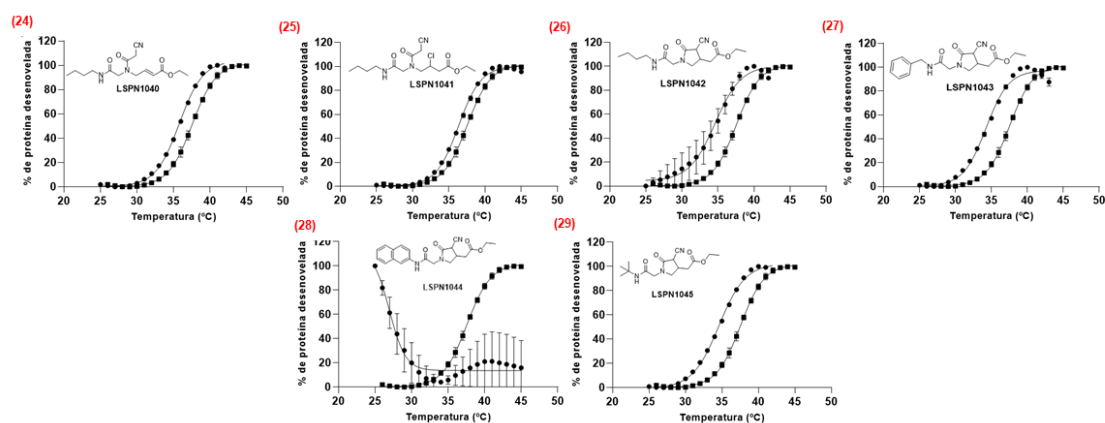


FIGURA 3.11. Estudo de comportamento do desenovelamento térmico da ZIKV NS3^{Hel} na presença dos compostos sintetizados.

A partir do ajuste não linear através da função de Boltzmann, obteve-se as temperaturas de *melting* para cada curva cada curva de desnaturação térmica da ZIKV NS3^{Hel} na presença de putativos inibidores (Tabela 3.6). Ao comparar a temperatura de *melting* (T_m) de cada curva de desnaturação térmica da ZIKV NS3^{Hel} na presença de putativos inibidores com a curva controle pode-se mensurar o deslocamento de estabilidade térmica ocasionado pela presença de cada composto e identificar, assim, compostos que possuem a capacidade de se ligar a ZIKV NS3^{Hel}, estabilizando-a ou desestabilizando-a.

As linhas em destaque apresentam os compostos que alteraram a estabilidade térmica da proteína além de duas vezes do erro associado às medidas (sinal negativo indica diminuição da temperatura de desenovelamento térmico e sinal positivo indica aumento na temperatura de desenovelamento térmico).

Através de cada duplicata de ensaio, pode-se inferir que 11 compostos são capazes de ocasionar alguma alteração (provavelmente ligação do mesmo) na proteína, desestabilizando a mesma, uma vez que diminui o T_m e os valores mostraram-se significativos (maiores de que duas vezes o erro do controle) de acordo com dados da literatura.⁸⁴ Esses compostos são: **LSPN840, LSPN842, LSPN843, LSPN844, LSPN845, LSPN847, LSPN852, LSPN857, LSPN960, LSPN1043 e LSPN1045**. Os demais compostos não alteram significativamente a temperatura de desnaturação da ZIKV NS3^{Hel}.

TABELA 3.6. Tabela mostrando os valores de T_{ms} das curvas de estabilidade térmica obtidos após o ajuste das curvas de desnaturação com equação de Boltzmann e os deslocamentos térmicos obtidos através da comparação de cada T_m com o controle do ensaio (DMSO).

Código do composto	$T_m \pm \Delta T_m$ (°C)	Variação de T_m (°C)	Código do composto	$T_m \pm \Delta T_m$ (°C)	Variação de T_m (°C)
Controle	$37,5 \pm 0,8$	-	LSPN852	$28,0 \pm 1,0$	- 9,5
LSPN547	$35,1 \pm 0,9$	- 2,4	LSPN853	$35,5 \pm 0,5$	- 2
LSPN548	$35,2 \pm 1,0$	- 2,3	LSPN854	*	*
LSPN838	$34,5 \pm 0,9$	- 3,0	LSPN855	$34,7 \pm 0,8$	- 2,8
LSPN839	$36,2 \pm 1,0$	- 1,3	LSPN856	$36,6 \pm 1,0$	- 0,9
LSPN840	$31,7 \pm 1,0$	- 5,8	LSPN857	$31,5 \pm 0,9$	- 6,0
LSPN841	$36,1 \pm 1,0$	- 1,4	LSPN858	$35,8 \pm 1,0$	- 1,7
LSPN842	$33,7 \pm 1,0$	- 3,8	LSPN859	Curva não possui dois estados definidos	----
LSPN843	$28,0 \pm 1,0$	- 9,5	LSPN960	$34,1 \pm 1,0$	- 3,4
LSPN844	$32,4 \pm 0,9$	- 5,1	LSPN961	Curva não possui dois estados definidos	----
LSPN845	$29,0 \pm 1,0$	- 8,5	LSPN962	Curva não possui dois estados definidos	----
LSPN846	$34,5 \pm 1,0$	- 3,0	LSPN1040	$35,5 \pm 0,8$	- 2,0
LSPN847	$21,2 \pm 1,0$	- 16,3	LSPN1041	$36,4 \pm 0,9$	- 1,1
LSPN848	$34,8 \pm 0,9$	- 2,7	LSPN1042	$35,2 \pm 0,7$	- 2,3
LSPN849	*	*	LSPN1043	$34,1 \pm 0,9$	- 3,4
LSPN850	*	*	LSPN1044	Curva não possui dois estados definidos	----
LSPN851	*	*	LSPN1045	$34,3 \pm 0,9$	- 3,2

*Resultados ainda não obtidos

Avaliando a estrutura dos cinco compostos que apresentaram maior variação da T_m (Figura 3.12), podemos observar que o **LSPN847** promoveu uma variação de aproximadamente 16 °C, e essa estrutura refere-se a proposta inicial de junção dos fragmentos encontrados no *HTS*, se tornando um potencial candidato de inibição da atividade abertura de dupla fita de RNA da proteína. Além disso, com exceção do **LSPN857**, todos compostos possuem hidantoína na estrutura, inferindo então que esse núcleo possui alta influencia na atividade contra o alvo. E por fim, as propostas de substituição isostéricas se apresentaram promissoras, onde os compostos com piperazina e triazol foram capazes de estabilizar a proteína de alguma forma substituindo o oxadiazol.

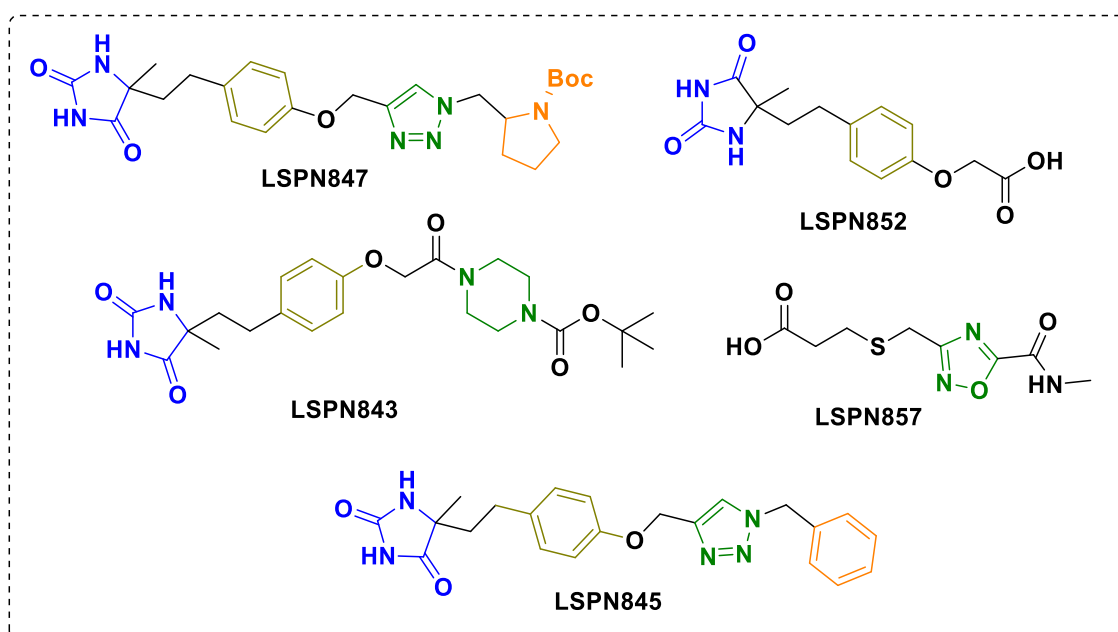


FIGURA 3.12. Compostos que apresentaram maior variação da T_m no DSF.

Os compostos que apresentaram um bom desempenho na alteração de estabilidade térmica da helicase foram submetidos ao ensaio de ponto único frente a atividade ATPase da ZIKV NS3^{Hel}, com concentração fixa de 2,5 mM, em duplicata, para verificarmos a possibilidade de inibição.⁷ Esse teste está relacionado a primeira função da proteína, que é realizar a hidrólise do ATP, sendo que o objetivo é que o composto consiga impedir essa hidrólise. Os resultados são apresentados no Gráfico 3.1.

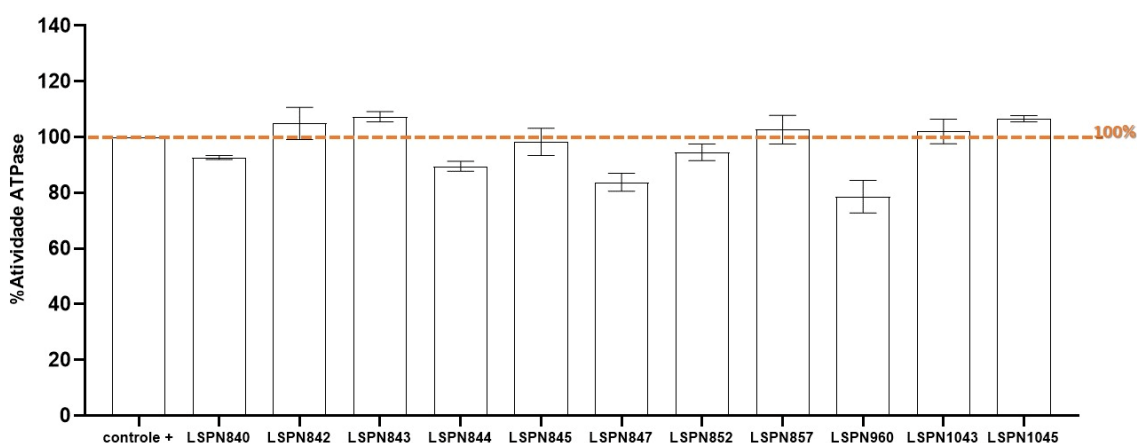


GRÁFICO 3.1. Gráfico de barras representando a porcentagem de atividade ATPase da ZIKV_NS3^{Hel} na presença de cada composto que altera sua estabilidade térmica. A linha laranja pontilhada indica 100% de atividade da proteína. Compostos que reduzem mais que 80% da atividade são considerados promissores.

Os compostos também foram testados em ensaios celulares para avaliar a atividade em relação à replicação do vírus Zika utilizando sistema replicon subgenômico. Foram testados os compostos: **LSPN840, LSPN841, LSPN842, LSPN843, LSPN844, LSPN845, LSPN846, LSPN847, LSPN848, LSPN1040, LSPN1041, LSPN1042, LSPN1043, LSPN1044** e **LSPN1045** em uma concentração fixa de 10µM, dentre estes testados nenhum foi capaz de inibir a atividade da Rluc em ≥80%, também não apresentaram toxicidade contra as células BHK-21-RepZIKV_IRES-Neo. Já os compostos: **LSPN853, LSPN855, LSPN856, LSPN857, LSPN858, LSPN839, LSPN849, LSPN851, LSPN852, LSPN853, LSPN854, LSPN855 e LSPN857** foram testados em uma concentração fixa de 100µM, os compostos **LSPN856** e **LSPN850** foram capazes de inibir a atividade da Rluc em ≥ 80%, porém ambos foram tóxicos para as células BHK-21-RepZIKV_IRES-Neo. Já o composto **LSPN852** apresentou inibição de 76% da atividade da Rluc e não foi tóxico para as células.

Através de cada duplicata de dois ensaios independentes, pode-se inferir que apesar dos compostos sintetizados possuírem hidantoínas e/ou oxadiazóis, não foram capazes de se ligarem ao sítio de ligação a NTP da ZIKV NS3^{Hel} e

efetuarem diminuição de sua atividade ATPase. Este resultado corrobora com a hipótese inicial deste trabalho, porque os compostos sintetizados são baseados nos fragmentos identificados através da triagem cristalográfica, que foram identificados em uma região do sítio de ligação do RNA. Assim, o esperado é que os mesmos, se tiverem capacidade de ligação com a proteína, o façam no sítio de RNA, impedindo a função de abertura de dupla fita de RNA da helicase.

Para a finalizar essa parte do trabalho, se faz necessário testar os compostos que ainda não foram testados, como também realizar o teste de abertura de dupla fita de RNA da helicase. Com base nesses resultados poderemos realizar estudos teóricos de relação estrutura-atividade, obtenção de cristais (complexos proteína-ligante) via *soaking* para identificar as interações e também propostas de otimização de síntese para os compostos mais ativos.

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Com base nos resultados aqui apresentados podemos concluir, em relação a primeira parte do trabalho, que foram sintetizados 25 compostos, onde 22 são inéditos na literatura. Apesar de alguns compostos tenham sido obtidos com baixo rendimento, a busca por metodologias que pudessem fornecer as estruturas de interesse foi eficiente, além disso as metodologias não passaram por etapas de otimização, o que poderia promover um aumento dos rendimentos.

Em relação à segunda parte do trabalho, foi descrito um protocolo diastereosseletivo eficiente para a síntese de δ -lactamas altamente substituídos de forma *one-pot*. Ao empregar as condições otimizadas, a preparação de um escopo de reação representativo foi realizada com diferentes isocianetos. Porém, a metodologia apresenta limitação na utilização de compostos carbonílicos diferentes do paraformaldeído, sendo isolados apenas os produtos de Ugi. Apesar disso, o protocolo descrito apresenta uma abordagem versátil e de fácil manipulação que norteia os preceitos da Química Verde.

Em relação à avaliação biológica, foi possível comprovar que derivados de hidantoína e oxadiazol são potenciais ligantes para a NS3^{Hel}, baseado no

estudo de *HTS*, isso devido a 11 compostos terem alterado a *T_m* da proteína. Contudo nenhum foi capaz de interagir com o sítio de ligação de NTP da ZIKV NS3^{Hel}. Espera-se, no entanto, que estes compostos sejam capazes de se ligar no sítio de RNA.

Como perspectiva para este trabalho está a conclusão dos testes biológicos com a avaliação da função de abertura de dupla fita de RNA da helicase e realização de estudos teóricos para determinar relação estrutura-atividade. Baseados nestes resultados, será possível planejar novos compostos e otimizar a síntese dos compostos mais ativos.

5. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

5.1. Informações gerais

Todos os reagentes comercialmente disponíveis foram adquiridos pela Sigma-Aldrich ou Alfa Aesar e, quando necessário, tratados de acordo com os procedimentos descritos na literatura.⁸⁵

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H e ¹³C) foram registrados em um espectrômetro Bruker ARX 400 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Para indicar a multiplicidade dos sinais utilizou-se a seguinte abreviação: s (singleto), sl (singleto largo), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (tripleto), dt (duplo tripleto) e m (multiplete).

As análises de ponto de fusão foram realizadas em um equipamento Büchi, modelo M-560.

Os dados de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) foram adquiridos em equipamento tandem de cromatografia líquida de ultra-alto desempenho – ionização por eletrospray (UHPLC-ESI-MS/MS) usando um sistema Agilent 6545 LC/Q-TOF MS.

As reações utilizando micro-ondas foram realizadas utilizando um equipamento CEM Discovery fazendo uso do sistema de resfriamento do equipamento em todas as reações.

O excesso de solvente foi evaporado em evaporadores Büchi Rotavapor R-114 com banho BüchiWatherbath B-490.

A purificação dos produtos foi realizada por coluna cromatográfica flash, em que se utilizou sílica gel 60, 230-400 mesh ASTM Merck e sílica gel 60 A, 70-230 mesh AldrichCo.

As análises de cromatografia em camada delgada foram realizadas em placas de sílica gel 60 F254 suportada em folhas de alumínio e reveladas sobre luz ultravioleta e/ou coradas em reveladores vanilina ácida e permanganato de potássio.

A análise de difração de raios X de cristal único de foi realizada em um difratômetro Rigaku XtaLAB Synergy-S equipado com um detector Hypix-6000HE, usando fonte Cu K α (1,54184 Å).

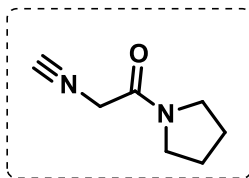
5.2. Procedimentos de síntese

5.2.1. Parte I

5.2.1.1. Materiais de Partida

2-Isociano-1-(pirrolidin-1-il) etan-1-ona⁸⁶ (14)

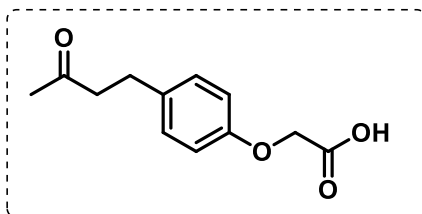
Em um balão de 5 mL foi adicionados pirrolidina (355,2 mg; 4,99 mmol), 2-isocianoacetato de metila (500 mg; 4,99 mmol) em DMC (5 mL). A reação ocorreu em temperatura ambiente por 16 horas, no fim desse período a mistura foi lavada com acetato de etila (4 x 20 mL) e concentrada. Não foi necessário processo de purificação.



O produto **14** foi obtido como um sólido branco com rendimento de 89% (620 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 4,21 (s, 2H), 3,52 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,40 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H), 2,06 – 1,93 (m, 2H), 1,94 - 1,89 (m, 2H).

Ácido 2-(4-(3-oxobutil) fenoxi) acético (**6**)

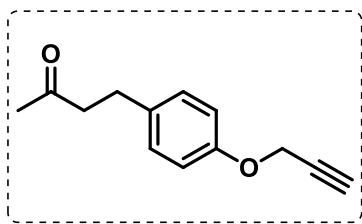
A 4-(4-hidroxifenil) butan-2-ona (250 mg; 1,52 mmol) foi diluída em THF (2 mL) e a mistura foi deixada sob agitação por 5 minutos, após foi adicionado carbonato de céσιο (1,190 g; 3,65 mmol) e em seguida o ácido cloroacético (143,9 mg; 1,52 mmol), e a reação foi deixada sob agitação por 24 horas a temperatura ambiente. A mistura foi acidificada com solução aquosa de HCl (5%) até pH menor que 4 e extraída com acetato de etila (5 x 5 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl (5 mL), seca com Na₂SO₄ e concentrada. Foi realizada purificação com coluna cromatográfica em sílica flash primeiro com eluente Hex:AcOEt (8:2) até que todo fenol de partida fosse desprezado e depois com AcOEt-MeOH (9:1).



O produto **6** foi obtido como um sólido claro 47% de rendimento (105 g). **RMN ¹H** (400 MHz, MeOD) δ 7,13 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,86 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,63 (d, *J* = 1,1 Hz, 2H), 2,95 – 2,64 (m, 4H), 2,13 (s, 3H).

4-(4-(Prop-2-in-1-iloxi) fenil) butan-2-ona⁵⁶ (**8**)

A 4-(4-hidroxifenil) butan-2-ona (2 g; 12 mmol) foi solubilizada em acetona (6 mL) e depois adicionado o K₂CO₃ (6,73 g; 48,7 mmol) em temperatura ambiente. A mistura reacional foi aquecida a 70 °C durante 30 min, e então o brometo de propargila (1,57 mL; 14,62 mmol) foi adicionado gota a gota, em seguida, a mistura foi mantida a 70 °C por mais 8 h. Após esse tempo, a mistura foi filtrada com auxílio de um funil de Büchner e o bruto reacional foi lavado com DCM (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.

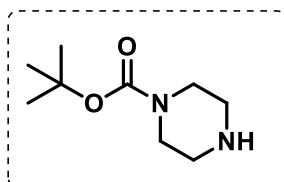


O produto **8** foi obtido sem purificação cromatográfica como um óleo amarelado com rendimento de 87% (2,15 g). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,11 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 6.89 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,66 (d, *J* = 2,1 Hz, 2H), 2,84 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H),

2,72 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 2,51 (t, *J* = 2,3 Hz, 1H), 2,13 (s, 3H).

piperazina-1-carboxilato de *terc*-butila (19)

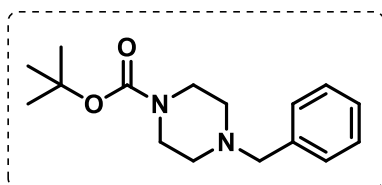
A uma solução de piperazina (2,0 g; 23,2 mmol) em DCM (60 mL) a 0 °C foi adicionada uma solução de Boc₂O (2,66 mL; 11,6 mmol) diluído em DCM (30 mL) via funil de adição (gota a gota) e a reação foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. O sólido formado foi retirado por filtração (sal de piperazina), lavado com DCM (10 mL) e o meio reacional foi concentrado sob vácuo para adição de água (5 mL). Na sequência, o sólido formado foi retirado por filtração e lavado com água 10 mL) e o filtrado foi saturado com K₂CO₃ sólido (500 mg) e extraído com DCM (3 x 25 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.



O produto **19** foi obtido sem purificação cromatográfica como um sólido branco com rendimento de 78% (1,69 g). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 3,33 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 2,75 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 1,83 (s, 1H), 1,45 (s, 9H).

4-benzilpiperazina-1-carboxilato de *terc*-butila (20)

A uma solução do composto **19** (200 mg; 1,07 mmol) e K₂CO₃ (445 mg; 3,22 mmol) em DCM (5 mL), foi adicionado BnBr (0,272 mL; 22,5 mmol) gota a gota a 0 °C. A mistura reacional foi deixada sob refluxo por 16 horas. Depois de esfriar à temperatura ambiente foi adicionada água (5 mL), e em seguida a mistura foi extraída com DCM (3 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada. O produto bruto foi purificado em uma coluna cromatográfica Flash com eluente Hex:AcOEt (7:3).

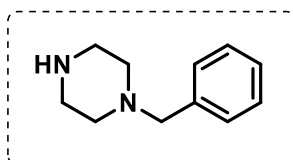


(s, 9H).

O produto **20** foi obtido como um sólido amarelo com rendimento de 56% (165 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,40 – 7,11 (m, 5H), 3,47 (s, 2H), 3,38 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H), 2,35 (t, *J* = 5,0 Hz, 4H), 1,40

1-Benzil piperazina (**21**)

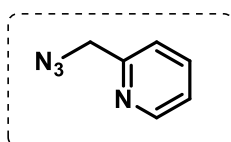
O composto **20** (100 mg; 0,36 mmol) foi submetido à agitação em temperatura ambiente com uma solução de TFA/DCM (1:1) (2 mL) por 2 horas. Em seguida, a mistura foi neutralizada com auxílio de solução de NaOH_(aq) (1 M), e então foi realizada extração com DCM (2 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.



O produto **20** foi obtido sem purificação cromatográfica como um sólido marrom com rendimento de 77% (50 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.41 – 7.37 (m, 5H), 4.00 (s, 2H), 3.35 (t, *J* = 5.3 Hz, 4H), 3.08 (t, *J* = 5.2 Hz, 4H).

2-Azido metil piridina (**24**)^{66a}

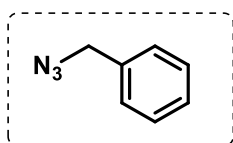
O cloridrato de 2-clorometilpiridina (100 mg; 0,78 mmol) e NaN₃ (203 mg; 3,14 mmol) foram adicionados em um balão reacional contendo DMF (4 mL). A mistura resultante foi aquecida a 50 °C e deixada sob agitação por 24 h. No fim desse tempo foi adicionada água (10 mL) e extraída com acetato de etila (3 x 15 mL). A fase orgânica foi lavada com NaCl saturado (7 mL), seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.



O produto **24** foi obtido sem purificação cromatográfica como um óleo amarelo claro com rendimento de 80% (85 mg). A confirmação estrutural foi realizada apenas por CCD e revelador vanilina, sendo assim o produto já usado nas etapas sequenciais de interesse.

2-Azido benzil (26)^{66a}

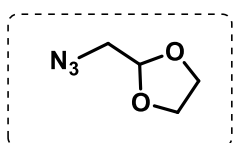
O brometo de benzila (100 mg; 0,58 mmol) e NaN₃ (152 mg; 2,34 mmol) foram adicionados a um balão reacional contendo DMF (4 mL). A mistura resultante foi aquecida a 50 °C e deixada sob agitação por 24 h. No fim desse tempo foi adicionada água (10 mL) e extraída com acetato de etila (3 × 15 mL). A fase orgânica foi lavada com NaCl saturado, seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.



O produto **26** foi obtido sem purificação cromatográfica como um óleo transparente com rendimento de 72% (56 mg). A confirmação estrutural foi realizada apenas por CCD e revelador vanilina, sendo assim o produto foi usado nas etapas sequenciais.

2-Azido metil 1,3-dioxolano (28)^{66b}

O 2-bromo metil 1,3-dioxolano (215 mg; 1,29 mmol) e NaN₃ (207 µL; 5,15 mmol) foram adicionados em um balão reacional contendo DMSO (7 mL) e deixada sob agitação por 16 horas em temperatura ambiente. No fim desse tempo foi adicionada água (10 mL) e extraída com acetato de etila (3 × 15 mL). A fase orgânica foi lavada com NaCl saturado (10 mL), seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.

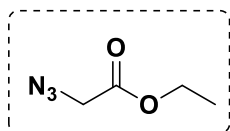


O produto **28** foi obtido sem purificação cromatográfica como um óleo alaranjado com rendimento de 37% (60 mg). A confirmação estrutural foi realizada apenas por CCD e revelador vanilina, sendo assim o produto usado nas etapas sequenciais.

2-Azido etil acetato (30)^{66c}

O 2-bromo etil acetato (483 µL; 3,25 mmol) em um balão reacional contendo uma mistura de água:acetona (1:4, 8,7 mL), em seguida foi adicionado NaN₃ (422 mg; 4,9 mmol) e deixada sob agitação por 24 horas em temperatura ambiente. No fim desse tempo a mistura foi suspensa em DCM (3 mL), a fase

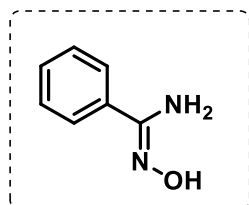
aquosa extraída com DCM (3 × 3 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.



O produto **30** foi obtido sem purificação cromatográfica como um óleo alaranjado com rendimento de 80% (337 mg). A confirmação estrutural foi realizada apenas por CCD e revelador vanilina, sendo assim o produto usado nas etapas sequenciais.

(Z)-N-Hidroxibenzamida⁶⁸ (**33**)

Em um frasco selado diluiu-se carbonato de sódio (1,33 g; 12,5 mmol) em uma solução de água:etanol (1:1) (3,5 mL), em seguida adicionou-se o cloridrato de hidroxilamina (0,831 g; 12,5 mmol). Em um outro recipiente, a benzonitrila (1,03 mL, 10 mmol) foi solubilizada em etanol (10 mL) e adicionada à solução inicial. A reação foi deixada sob agitação por 8 h em refluxo (80°C). Após esse tempo, adicionou-se água (20 mL) até a dissolução completa do carbonato de sódio remanescente, a mistura foi extraída com DCM (3 x 15 mL) e a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada, concentrada e purificada em coluna cromatográfica em sílica flash com eluente Hex:AcOEt (1:1).

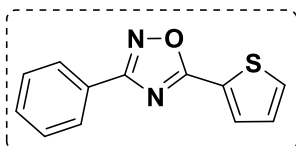


O produto **33** foi obtido como um sólido branco com rendimento de 70% (1,19 g). **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9,66 (s, 1H), 7,80 – 7,61 (m, 2H), 7,45 – 7,25 (m, 3H), 5,82 (s, 2H).

5.2.1.2. Síntese de oxadiazóis partindo de aldeídos⁶⁹

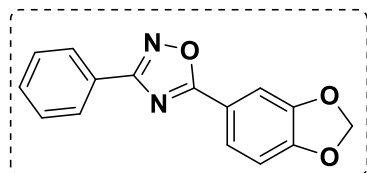
Em um tubo de ensaio com tampa a (Z)-N-hidroxibenzamida (**33**) (68,4 mg, 0,5 mmol) foi dissolvida em DMSO (0,75 mL). Em seguida, adicionou-se o aldeído (1,1 mmol) e NaOH (1,0 mg, 0,02 mmol). A mistura reacional foi deixada sob agitação em temperatura ambiente por 1 h e posteriormente adicionou-se mais uma porção de NaOH (35,0 mg, 0,88 mmol) e agitou-se por 21 h. A

suspensão formada foi diluída em diclorometano (2,1 mL), lavado com água (3 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada, concentrada e purificada.



3-fenil-5-(tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol (34a) (LSPN856):

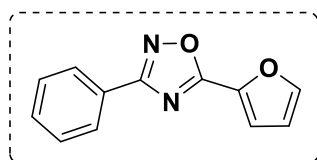
o filtrado foi purificado em uma placa preparativa com uma solução EtOAc:Hex (2:8) para obtenção de um sólido branco **LSPN856** com rendimento de 69% (78 mg). **PF:** 110.4 – 111.0 °C. **RMN** ¹H: (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8,12 (dd, *J* = 5,0, 1,2 Hz, 1H), 8,09 (dd, *J* = 3,8, 1,2 Hz, 1H), 8,07 – 8,04 (m, 2H), 7,65 – 7,56 (m, 3H), 7,37 (dd, *J* = 5,0, 3,8 Hz, 1H). **RMN** ¹³C (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 171,6; 168,6; 134,6; 133,4; 132,2; 129,8; 127,6; 126,3; 124,9.



5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-fenil-1,2,4-

oxadiazol (34b) (LSPN838): o filtrado foi purificado em uma placa preparativa com uma solução EtOAc:Hex (0,5:9,5) para obtenção de um sólido

branco **LSPN838** com rendimento de 14% (18 mg). **PF:** 144 – 145 °C. **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,11 – 8,06 (m, 2H), 7,79 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H), 7,65 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 7,63 – 7,57 (m, 3H), 7,19 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,21 (s, 2H). **RMN** ¹³C (101 MHz, DMSO) δ 175,2; 168,2; 151,7; 148,3; 131,7; 129,3; 127,1; 126,2; 123,9; 117,0; 109,3; 107,4; 102,5. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₁₅H₁₀N₂O₃ [M+H]⁺ 267.0764, encontrado 267.0760.



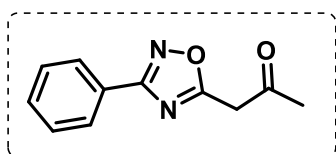
3-(furan-2-il)-5-fenil-1,2,4-oxadiazol (34c) (LSPN839)

: o filtrado foi purificado em uma placa preparativa com uma solução EtOAc:Hex (1:9) para obtenção de um sólido branco **LSPN839** com rendimento de 12% (12 mg). **RMN** ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,19 (dd, *J* = 1,8, 0,8 Hz, 1H), 8,11 – 8,03 (m, 2H), 7,66 (dd, *J* = 3,6, 0,7 Hz, 1H), 7,64 – 7,57 (m, 3H), 6,89 (dd, *J* = 3,6, 1,7 Hz, 1H). **RMN** ¹³C (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 168,5; 167,8; 148,9; 139,5; 132,3; 129,8; 127,6; 126,3; 118,2; 113,6.

5.2.1.3. Síntese de oxadiazóis partindo de ésteres

1-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-2-ona (35)⁷⁰

A (Z)-N-hidroxibenzamida (**33**) (44,1 mg; 0,5 mmol) e o acetoacetato de etila (0,128 mL, 1,0 mmol) foram adicionados a um tubo selado. O sistema foi mantido sob agitação em temperatura ambiente por 4 horas e posteriormente aquecido à 120° C por 2 horas. A mistura reacional foi deixada por 2 horas em uma bomba de vácuo para retirar o excesso de acetoacetato de etila e purificada em coluna cromatográfica em sílica flash com DCM como eluente.

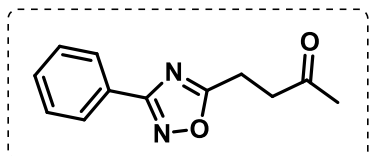


(s, 2H), 2,28 (s, 3H).

O produto **35** foi obtido como um sólido amarelado com rendimento de 40% (40 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 8,03 – 7,97 (m, 2H), 7,47 – 7,38 (m, 3H), 4,05

4-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)butan-2-ona (36)⁷¹

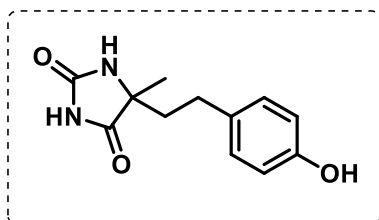
Foram adicionados em um tubo de micro-ondas, o levulinato de etila (32,6 µL, 0,23 mmol), (Z)-N-hidroxibenzamida (**33**) (50,0 mg, 0,37 mmol) e carbonato de potássio (27,2 mg, 0,20 mmol) e submetidos à irradiação a 150 W, 150 °C por 10 minutos. O composto formado foi deixado em uma bomba de vácuo por 2 horas para retirar o excesso de levulinato de etila e purificado por placa preparativa com solução EtOAc:Hex (3:7) como eluente para a



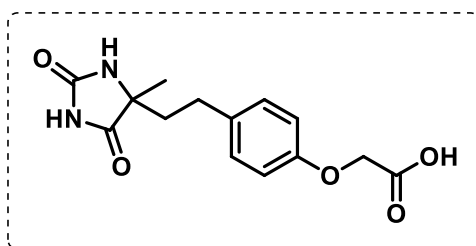
O produto **36** foi obtido como um óleo amarelado com rendimento de 50% (29,0 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,08 – 8,00 (m, 1H), 7,52 – 7,42 (m, 2H), 3,19 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 3,07 (t, J = 7,0 Hz, 1H), 2,25 (s, 1H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ: 205,5; 179,0; 168,3; 131,2; 128,9; 127,5; 126,9; 39,4; 30,0; 20,8. **RMN¹³C DEPT** (101 MHz, CDCl₃) δ: 131,2; 128,8; 127,4; 39,3; 29,9; 20,7.

5.2.1.4. Síntese de Hidantoínas²⁵

Em um frasco selado foi adicionado o derivado de cetona (1 equiv.), que foi solubilizado em uma mistura de água:etanol (1:1) (0,5 M), em seguida foi adicionado $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (3,4 equiv.) e deixado sob agitação por 5 minutos. Então foi adicionado o KCN (1,5 equiv.), e a reação foi deixada sob agitação por 36 horas a 80°C. Após esse tempo a reação foi concentrada e o sólido solubilizado em acetato de etila (5 mL) e ajustado pH para 7 com auxílio de solução aquosa de HCl (10%). A mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 5 mL) e NaCl saturado. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e o filtrado concentrado.



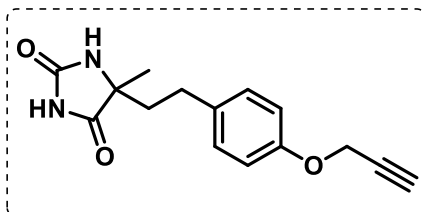
5-(4-hydroxyphenethyl)-5-methylimidazolidine-2,4-dione (5) (LSPN548): O composto **LSPN548** foi obtido como um sólido branco sem purificação cromatográfica com rendimento de 70% (198 mg, 1,22 mmol). **RMN ¹H** (400 MHz, MeOD) δ : 7,00 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,70 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 2,59 (td, $J = 12,6, 4,8$ Hz, 1H), 2,39 (td, $J = 12,7, 5,2$ Hz, 1H), 2,11 – 1,95 (m, 1H), 1,94 – 1,79 (m, 1H), 1,41 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, MeOD) δ : 180,8; 159,0; 156,7; 132,9; 130,2; 116,3; 64,3; 40,9; 30,2; 24,3.



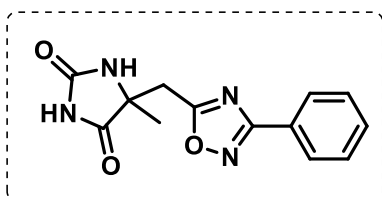
Ácido 2-(4-(2-(4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-4-il) etil) fenoxi) acético (7) (LSPN852): O pH foi ajustado para 5, assim o produto **LSPN852** foi obtido sem purificação cromatográfica como um sólido

branco com 72% de rendimento (159 mg, 0,75 mmol). **PF:** 186 – 188 °C. **RMN ¹H** (400 MHz, MeOD) δ : 7,07 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 4,59 (s, 2H), 2,60 (td, $J = 12,6, 4,7$ Hz, 1H), 2,39 (td, $J = 12,99, 5,2$ Hz, 1H), 1,99 (td, $J = 12,7, 5,2$ Hz 1H), 1,83 (td, $J = 12,9, 4,5$ Hz, 1H), 1,38 (s, 3H). **RMN ¹³C** (100 MHz, MeOD) δ : 180,7; 172,8; 158,9; 157,8; 135,1; 130,3; 115,7; 65,9; 64,3; 40,7; 30,2;

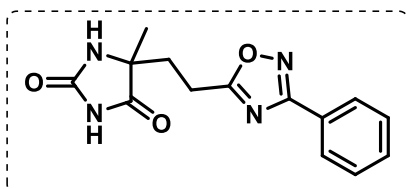
24,3. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $C_{14}H_{16}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 293.1132, encontrado 293.1130.



5-metil-5-(4-(prop-2-inoxi)fenetil)imidazolidina-2,4-diona (9): O composto **9** foi obtido sem purificação cromatográfica como um sólido branco com 74% de rendimento (295 mg, 1,48 mmol). **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,74 (s, 1H), 7,09 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 6,90 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 5,47 (s, 1H), 4,67 (d, $J = 1,5$ Hz, 2H), 2,68 (td, $J = 12,6, 11,9, 4,7$ Hz, 1H), 2,57 – 2,45 (m, 2H), 2,27 – 2,01 (m, 1H), 1,97 – 1,89 (m, 1H), 1,49 (s, 3H).



5-metil-5-((3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)metil)imidazolidina-2,4-diona (37) (LSPN960): O filtrado foi purificado em coluna cromatográfica em sílica flash com solução Hex:EtOAc (1:1) como eluente para a obtenção do **LSPN960** como um sólido branco com rendimento de 37% (50 mg, 0,5 mmol). **PF**: 198 – 200 °C. **RMN 1H** (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10,83 (s, 1H), 8,12 (sl, 1H), 7,99 (dd, $J = 7,9, 1,7$ Hz, 2H), 7,61 – 7,54 (m, 3H), 3,46 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H), 3,32 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H), 1,45 (s, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, $DMSO$) δ : 177,0; 176,0; 167,6; 156,2; 131,7; 129,3; 127,0; 126,0; 60,5; 33,9; 23,9. **RMN ^{13}C DEPT** (101 MHz, $DMSO$) δ : 132,2; 129,8; 127,5; 34,3; 24,3. **HRMS** (ESI) m/z : para for $C_{13}H_{12}N_4O_3$ $[M+H]^+$ 273.0982, encontrado 273.0979.

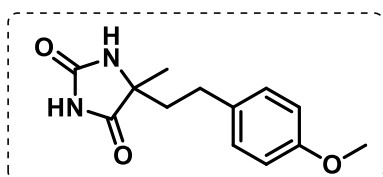


5-Metil-5-(2-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etil)imidazolidina-2,4-diona (38) (LSPN962): O filtrado foi purificado através de recristalização com solvente MeOH: Hex (1:10) para a obtenção de **LSPN962** como um sólido branco com rendimento de 47% (65,1 mg, 0,5 mmol). **PF**: 192 – 194 °C. **RMN 1H** (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10,77 (sl, 1H), 8,04 (s, 1H), 8,03 – 7,96 (m, 2H), 7,63 – 7,51 (m, 3H), 3,01 (ddd, $J = 16,1, 10,0, 6,3$ Hz, 1H),

2,89 (ddd, $J = 16,0, 10,2, 5,8$ Hz, 1H), 2,12 (qdd, $J = 14,0, 10,1, 6,0$ Hz, 2H), 1,32 (s, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, DMSO) δ : 179,5; 177,9; 167,5; 156,3; 131,6; 129,3; 127,0; 126,3; 61,4; 33,6; 23,3; 21,1. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 287.1139, encontrado 287.1140

5-(4-metoxifenetil)-5-metilimidazolidina-2,4-diona (1) (LSPN547)⁵⁵

Em um frasco de Schlenk flambado e sob atmosfera de N_2 , foi adicionado o 4-(2-(2,5-diimino-4-metilimidazolidin-4-il)etil)fenol (**5**) (30 mg; 0,13 mmol) e solubilizado em acetona seca (1 mL). Em seguida foram adicionados o iodometano (10,36 μL ; 0,17 mmol) e o K_2CO_3 (35,40 mg; 0,26 mmol), e a reação foi deixada sob agitação por 16 horas em temperatura ambiente. Após esse tempo a reação foi filtrada, concentrada e realizada purificação com eluente Hex:EtOAc (1:1).

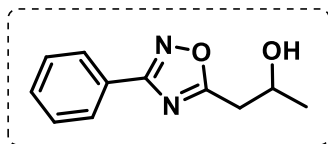


O produto **LSPN547** foi obtido como um sólido branco com rendimento de 20% (6,4 mg). **PF**: 125 – 128 °C. **RMN ^1H** (400 MHz, MeOD) δ : 6,97 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,69 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 2,89 (s, 3H), 2,63 – 2,51 (m, 1H), 2,43 – 2,28 (m, 1H), 2,14 – 2,03 (m, 1H), 1,97 – 1,82 (m, 1H), 1,39 (s, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, MeOD) δ : 179,2; 158,6; 156,7; 132,5; 130,3; 116,2; 62,9; 40,6; 30,3; 24,5; 24,4. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 249.1234, encontrado 249.1234.

1-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) propan-2-ol⁸⁷ (39)

Em um balão, diluiu-se 1-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il) propan-2-ona (**35**) (200 mg; 0,1 mmol) em metanol seco (5 mL). Em seguida, adicionou-se boroidreto de sódio (76,0 mg; 0,2 mmol), foi adaptado um condensador ao balão e a mistura reacional foi deixada em refluxo (65°C) por 2 horas sob agitação. Posteriormente, a reação foi concentrada, adicionou-se água (5 mL) e extraiu com AcOEt (3 x 5 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 , filtrada,

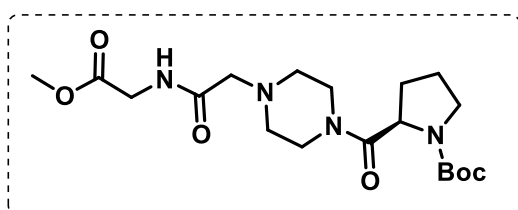
concentrada e purificada em coluna cromatográfica em sílica flash com DCM como eluente.



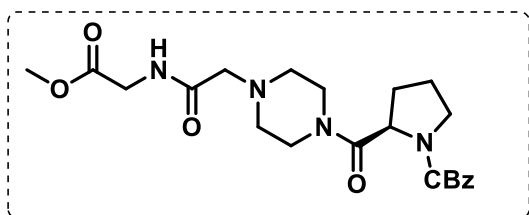
O produto **39** foi obtido como um óleo amarelado com rendimento de 74% (151 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,06 (dd, J = 7,6, 1,8 Hz, 2H), 7,67 – 7,40 (m, 3H), 4,57 – 4,25 (m, 1H), 3,24 – 2,87 (m, 2H), 2,80 (sl, 1H), 1,37 (d, J = 6,3 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ: 177,9; 168,1; 131,4; 129,0; 127,5; 126,5; 65,2; 35,8; 22,9.

5.2.1.5. Reações Ugi-Split⁵⁸

Em um balão com metanol (0,5 mL) foram adicionados piperazina (50 mg, 0,58 mmol); paraformaldeído (144,68 mg, 0,58 mmol), prolinas protegidas (Boc e CBz) (124,7 mg e 134 mg; 0,58 mmol) e 2-isocianoacetato de metila (57,51 mg, 0,58 mmol) nessa ordem de adição. A mistura reacional foi deixada sob refluxo por 30 minutos, e em seguida foi resfriada e deixada sob agitação por mais 1 hora a temperatura ambiente. No fim da reação o produto foi concentrado sob vácuo e purificado em uma coluna cromatográfica Flash.⁵⁸



((R)-2-(4-(2-((2-metoxi-2-oxoetil) amino) -2-oxoetil) piperazina-1-carbonil) pirrolidina-1-carboxilato de terc-butil) (12) (LSPN841): a purificação foi realizada com solução DCM:MeOH (9,0:1,0) como eluente, foi obtido um óleo amarelo com rendimento de 89% (110 mg;). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7,53 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,57 (ddd, J = 8,4, 5,3, 2,6 Hz, 1H), 4,06 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,69 – 3,34 (m, 6H), 3,07 (d, J = 2,1 Hz, 3H), 2,78 – 2,39 (m, 5H), 2,25 – 1,72 (m, 5H), 1,47 (s, 9H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃) δ 170,9; 170,9; 170,5; 170,4; 170,2; 170,0; 154,5; 153,9; 79,6 61,3; 61,3; 56,8; 56,3; 53,5; 53,4; 53,2; 52,4; 46,8; 46,5; 45,4; 45,1; 42,1; 40,6; 30,6; 29,9; 24,2; 23,5.

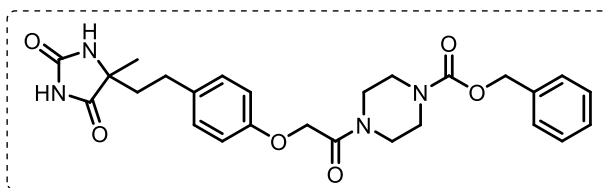


((R)-2-(4-(2-((2-metoxi-2-oxoetil) amino) -2-oxoetil) piperazina-1-carbonil) pirrolidina-1-carboxilato de benzila) (13) (LSPN842): O produto foi purificado com solução DCM:MeOH (9,5:0,5) como

eluyente, sendo obtido um sólido amarelo com rendimento de 51% (130 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.47 (dt, *J* = 28.8, 5.8 Hz, 1H), 7.33 – 7.15 (m, 5H), 5.17 – 4.88 (m, 2H), 4.69 – 4.47 (m, 1H), 4.05 – 3.96 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.67 – 3.25 (m, 6H), 3.03 (s, 1H), 2.89 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 2.69 – 2.36 (m, 4H), 2.21 – 1.73 (m, 4H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ: 170.7, 170.7, 170.6, 170.5, 170.2, 170.1, 155.0, 154.3, 136.9, 136.8, 128.6, 128.5, 128.3, 128.2, 128.0, 127.9, 67.2, 67.1, 61.3, 61.2, 56.8, 56.4, 53.4, 53.2, 53.2, 53.1, 52.5, 47.2, 46.7, 45.5, 45.3, 42.3, 42.2, 40.7, 30.7, 29.9, 24.4, 23.6. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₂H₃₀N₄O₆ [M+H]⁺ 447.2238, encontrado 447.2230.

5.2.1.6. Síntese de derivados de hidantoína usando TBTU⁸⁸

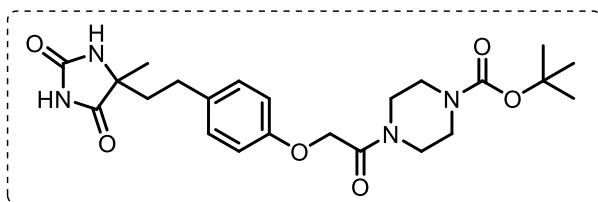
O composto **7** (20 mg, 0,068 mmol) foi solubilizado em DCM (0,5 mL) e Et₃N (9,47 μL, 0,068 mmol), TBTU (21,8 mg, 0,068 mmol) foram adicionados e a mistura foi resfriada a 0°C sob agitação durante cerca de 30 minutos. Em seguida, adicionou-se a amina (0,068 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 12 horas. A mistura foi concentrada sob vácuo, acidificada com solução aquosa de HCl a 10% até pH 5. Esta mistura foi lavada com acetato de etila (3 x 2 mL) e a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO₃ (5 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada.



4-(2-(4-(2-(4-metil-2,5-dioxoimi dazolidin-4-il)etil)fenoxi)acetil) pi perazina-1-carboxilato de benzil (22a) (LSPN840): O produto bruto

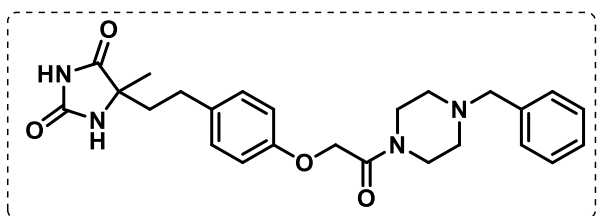
foi purificado por cromatografia em placa preparativa eluindo com DCM:MeOH (90:10) para obter o composto **LSPN840** (7 mg) com rendimento de 21% como

um óleo amarelado. **RMN ¹H** (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.39 – 7.24 (m, 5H), 7.07 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.75 (s, 2H), 3.62 – 3.39 (m, 8H), 2.59 (td, *J* = 12.6, 4.8 Hz, 1H), 2.38 (td, *J* = 12.7, 5.2 Hz, 1H), 2.03 – 1.93 (m, 1H), 1.88 – 1.75 (m, 1H), 1.37 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CD₃OD) δ: 180.7, 169.3, 158.9, 157.9, 156.8, 137.9, 135.2, 130.4, 129.6, 129.2, 129.0, 115.8, 68.6, 67.7, 64.3, 45.8, 42.8, 40.7, 30.2, 24.3. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, CD₃OD) δ: 130.3, 129.5, 129.2, 129.0, 115.7, 68.5, 67.6, 45.7, 42.7, 40.6, 30.1, 24.2. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. for C₂₆H₃₀N₄O₆ [M+H]⁺ 495.2238, encontrado 495.2227.



terc-butil 4-(2-(4-(2-(4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-4-il)etil)fenoxi)acetil)piperazina-1-carboxilato (22b) (LSPN843): O produto bruto

foi purificado por cromatografia preparativa eluindo com EtOAc para obter o composto **LSPN843** (8 mg) com rendimento de 25% como um sólido branco. **PF:** 177 – 181 °C. **RMN ¹H** (400 MHz, CD₃OD) δ 7.12 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.80 (s, 2H), 3.63 – 3.39 (m, 8H), 2.72 – 2.56 (m, 1H), 2.43 (td, *J* = 13.2, 5.3 Hz, 1H), 2.13 – 1.94 (m, 1H), 1.90 – 1.79 (m, 1H), 1.49 (s, 9H), 1.41 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CD₃OD) δ 180.7, 169.3, 158.9, 157.9, 156.2, 135.3, 130.4, 115.8, 81.7, 67.8, 64.3, 45.9, 42.9, 40.7, 30.2, 28.6, 24.3. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₂H₃₀N₄O₆ [M+Na]⁺ 483.2214, encontrado 483.2210.



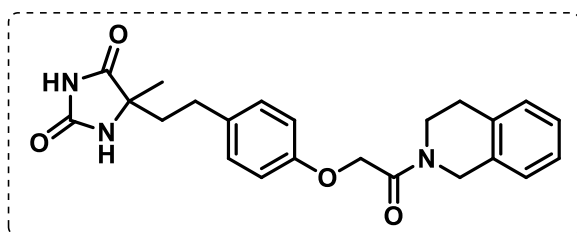
5-(4-(2-(4-benzilpiperazin-1-il)-2-oxoetoxi)fenetil)-5-metilimidazolidina-2,4-diona (22c) (LSPN844): O produto bruto foi purificado por

cromatografia preparativa eluindo com EtOAc para obter o composto **LSPN844** (8,5 mg) com rendimento de 28% como um óleo amarelado. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.10 – 7.91 (m, 1H), 7.31 (dd, *J* = 6.4, 1.3 Hz, 5H), 7.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.84 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.62 (s, 1H), 4.65 (s, 2H), 3.63 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H), 3.56 (t, *J* = 5.0 Hz, 2H), 3.51 (s, 2H), 2.73 – 2.59 (m, 1H), 2.53 – 2.47 (m, 1H),

2.47 – 2.41 (m, 4H), 2.23 – 2.07 (m, 1H), 1.96 – 1.82 (m, 1H), 1.47 (s, 3H). **RMN**¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ: 177.0, 166.6, 156.6, 155.9, 133.4, 133.4, 129.6, 129.3, 128.5, 127.5, 115.0, 67.8, 63.7, 62.9, 53.2, 52.8, 45.4, 42.3, 39.6, 29.3, 24.3. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₅H₃₀N₄O₄ [M+H]⁺ 451.2340, encontrado 451.2332.

5.2.1.7. Síntese de derivados de Hidantoína usando HATU⁸⁸

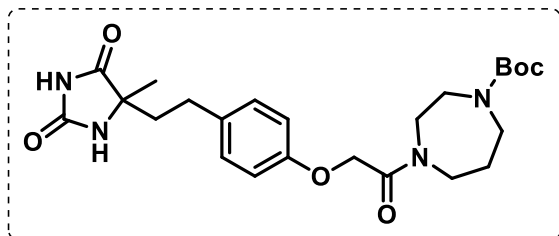
O composto **7** (50 mg, 0,17 mmol) foi dissolvido em THF (2 mL) e agitado durante 10 minutos à temperatura ambiente, depois foi adicionado HATU (77,85 mg, 0,20 mmol), seguido por DIPEA (0,06 mL, 0,34 mmol) e agitou-se durante 20 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi arrefecida (0°C) para adicionar a amina apropriada (0,17 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 16 horas. Ao final desse tempo, a mistura foi concentrada, o produto bruto foi solubilizado em acetato de etila (5 mL) e lavado com solução aquosa a 10% de bicarbonato de sódio (3 mL), solução aquosa 1,5 M de HCl (3 mL), água (3 mL) e solução saturada de NaCl (3 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄. O produto foi concentrado e purificado.



5-(4-(2-(3,4-Diidroisoquinolin-2 (1H)-il)-2-oxoetoxi)fenetil)-5-metili midazolidina-2,4-diona (22d) (LSPN850): O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em

coluna eluindo com EtOAc para obter o composto **LSPN850** (11 mg) com 16% de rendimento como um sólido branco. **PF**: 205 – 208 °C. **RMN**¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.63 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.18 (d, *J* = 3.5 Hz, 4H), 7.06 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.96 – 4.76 (m, 2H), 4.69 (s, 1H), 4.60 (s, 1H), 3.74 – 3.58 (m, 2H), 2.89 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 2.78 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 2.58 – 2.42 (m, 1H), 2.30 (td, *J* = 12.9, 4.9 Hz, 1H), 1.83 (td, *J* = 12.9, 5.0 Hz, 1H), 1.73 (td, *J* = 13.0, 4.8 Hz, 1H), 1.28 (s, 3H). **RMN**¹³C (101 MHz, DMSO) δ: 178.9, 166.8, 156.8, 156.6, 134.9, 134.7, 133.5, 133.4, 129.3, 128.8, 128.7, 126.8, 126.5,

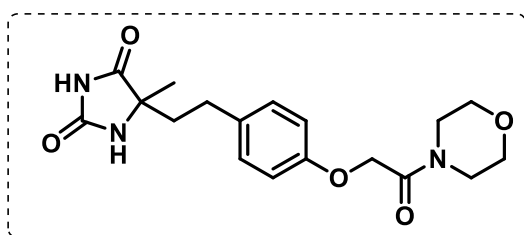
114.8, 66.4, 62.3, 43.9, 42.2, 28.9, 28.7, 28.1, 23.9. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $C_{23}H_{25}N_3O_4$ $[M+H]^+$ 408.1918, encontrado 408.1920.



terc-Butil 4-(2-(4-(2-(4-metil-2,5-dioximidazolidin-4-il)etil)fenoxi)acetil)-1,4-diazepano-1-carboxilato (22e)

(LSPN849): O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em

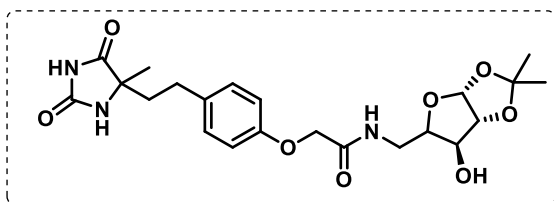
coluna eluindo com EtOAc para obter o composto **LSPN849** (25 mg) com 31% de rendimento como um sólido branco. **RMN 1H** (400 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.11 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.90 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 4.78 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.79 – 3.55 (m, 8H), 2.64 (td, $J = 12.6, 4.7$ Hz, 1H), 2.43 (td, $J = 12.8, 5.2$ Hz, 1H), 2.09 – 1.94 (m, 1H), 1.93 – 1.72 (m, 3H), 1.46 (d, $J = 3.0$ Hz, 9H), 1.41 (s, 3H). **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $C_{24}H_{34}N_4O_6$ $[M+Na]^+$ 497.2371, encontrado 497.2373.



5-Metil-5-(4-(2-morfolino-2-oxoetoxi)fenetil)imidazolidina-2,4-dione (22f)

(LSPN853): O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em coluna eluindo com EtOAc para obter o

composto **LSPN853** (12,5 mg) com 20% de rendimento como um óleo amarelado. **RMN 1H** (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.30 (s, 1H), 7.06 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 5.86 (s, 1H), 4.67 (s, 2H), 3.63 (ddt, $J = 18.1, 9.3, 4.0$ Hz, 8H), 2.74 – 2.61 (m, 1H), 2.57 – 2.41 (m, 1H), 2.21 – 2.05 (m, 1H), 1.95 – 1.83 (m, 1H), 1.47 (s, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 177.2, 166.9, 156.4, 156.3, 133.6, 129.6, 114.9, 67.8, 66.9, 66.9, 63.6, 46.1, 42.6, 39.6, 29.3, 24.3. **^{13}C DEPT135 RMN** (101 MHz, $CDCl_3$) δ : 129.5, 114.8, 67.7, 66.8, 66.7, 45.9, 42.5, 39.4, 29.2, 24.1. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $C_{18}H_{23}N_3O_5$ $[M+H]^+$ 362.1710, encontrado 362.1702.

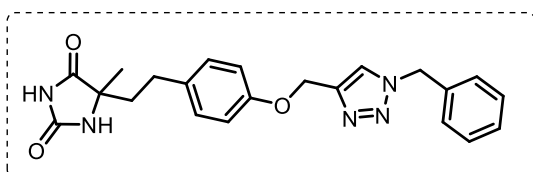


N-(((3aR,6S,6aR)-6-Hidroxi-2,2-dimetiltetrahidrofuro[2,3-d][1,3]dioxol-5-il)metil)-2-(4-(2-(4-metil-2,5-dioxiimidazolidin-4-il)etil)fenoxi)acetamida

da (22g) (LSPN854): O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em coluna eluindo com hexano:EtOAc (10:90) para obter o composto **LSPN854** (14,5 mg) com 18% de rendimento como um óleo amarelado. **RMN ¹H** (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.62 (dd, 1H), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.86 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 4.49 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 4.20 (td, *J* = 6.3, 2.6 Hz, 1H), 4.00 (t, *J* = 2.9 Hz, 1H), 3.67 (ddd, *J* = 13.8, 6.2, 1.1 Hz, 1H), 3.46 (ddd, *J* = 13.8, 6.5, 1.2 Hz, 1H), 2.76 – 2.55 (m, 1H), 2.44 (td, *J* = 12.7, 5.2 Hz, 1H), 2.10 – 2.00 (m, 1H), 1.93 – 1.82 (m, 1H), 1.45 (s, 3H), 1.42 (s, 3H), 1.31 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CD₃OD) δ: 180.7, 171.9, 158.9, 157.5, 135.6, 130.5, 116.0, 112.7, 106.2, 86.7, 80.2, 75.7, 68.3, 64.3, 40.7, 38.7, 30.2, 27.1, 26.4, 24.3. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, CD₃OD) δ: 129.1, 114.6, 104.8, 85.3, 78.8, 74.3, 66.9, 39.3, 37.3, 28.8, 25.7, 25.0, 22.9. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₂H₂₉N₃O₈ [M+Na]⁺ 486.1847, encontrado 486.1836.

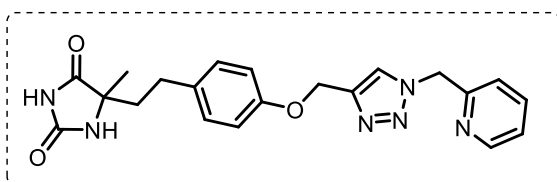
5.2.1.8. Síntese de triazóis⁸⁹

A uma solução do ascorbato de sódio (0,2 equiv.) diluído com DMF (100 µL) foi adicionada uma solução aquosa de CuSO₄ 1 M (0,05 equiv.). A mistura reacional foi agitada durante 5 min e depois foram adicionados o alcino **9** (1,1 equiv.) e o derivado da azida (1 equiv.), ambos diluídos em DMF (100 µL). A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente durante 16 horas. A reação bruta foi vertida em EtOAc (3 mL) e lavada com solução saturada de NaCl (1 mL). A fase orgânica foi concentrada e purificada por cromatografia flash.



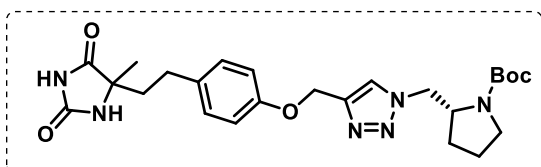
5-(4-((1-benzil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenetil)-5-metilimidazolidina-2,4-diona (31a) (LSPN845): O bruto

reacional foi purificado por cromatografia flash em coluna eluindo com hexano:EtOAc (20:80) para obter o composto **LSPN845** (45 mg) com 61% de rendimento como um sólido amarelado. **PF**: 188.4 – 190.9 °C. **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.64 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.43 – 7.26 (m, 5H), 7.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 5.60 (s, 2H), 5.08 (s, 2H), 2.58 – 2.52 (m, 1H), 2.31 (td, *J* = 12.9, 4.9 Hz, 1H), 1.90 – 1.77 (m, 1H), 1.78 – 1.67 (m, 1H), 1.28 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 178.4, 156.4, 156.3, 143.1, 136.0, 133.2, 129.1, 128.8, 128.2, 128.0, 124.6, 114.7, 62.0, 61.1, 52.8, 28.5, 23.7. **DEPT135 RMN** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 129.0, 128.7, 128.1, 127.9, 124.6, 114.6, 61.0, 52.8, 39.2, 28.4, 23.6. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₂H₂₃N₅O₃ [M+H]⁺ 406.1874, encontrado 406.1874.



5-Metil-5-(4-((1-(piridin-2-ilmetil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi) fenetil)imidazolidina-2,4-diona (31b) (LSPN846):

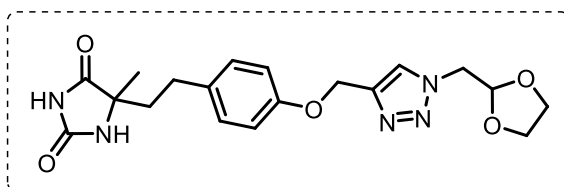
O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em coluna eluindo com hexano:EtOAc (20:80) para obter o composto **LSPN846** (40 mg) com 53% de rendimento como um óleo amarelado. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.92 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.74 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.36 – 7.26 (m, 2H), 7.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.05 (s, 1H), 5.67 (s, 2H), 5.17 (s, 2H), 2.77 – 2.64 (m, 1H), 2.57 – 2.47 (m, 1H), 2.25 – 2.11 (m, 1H), 1.96 – 1.84 (m, 1H), 1.46 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ: 177.5, 156.8, 156.6, 154.1, 149.4, 144.6, 138.2, 133.0, 129.6, 123.7, 115.3, 63.6, 62.3, 55.3, 39.3, 29.4, 24.5. **DEPT135 RMN** (101 MHz, CDCl₃) δ: 149.26, 138.04, 129.44, 123.61, 115.20, 62.16, 55.21, 39.20, 29.27, 24.42. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₁H₂₂N₆O₃ [M+H]⁺ 407.1826, encontrado 407.1829.



(2R)-2-((4-((4-(2-(4-metil-2,5-dioximidazolidin-4-il)etil)fenoxi) metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)metil)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butila (31c)

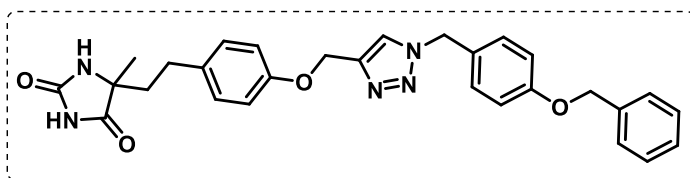
(LSPN847): O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em coluna

eluinto com hexano:EtOAc (20:80) para obter o composto **LSPN847** (48 mg) com 52% de rendimento como um óleo laranja. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.98 (s, 1H), 7.69 – 7.43 (m, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.56 – 6.25 (m, 1H), 5.17 (s, 2H), 4.68 – 4.34 (m, 2H), 4.19 – 3.99 (m, 1H), 3.40 – 2.84 (m, 2H), 2.76 – 2.55 (m, 1H), 2.53 – 2.45 (m, 1H), 2.17 – 2.09 (m, 1H), 2.00 – 1.83 (m, 5H), 1.47 (s, 9H), 1.45 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ: 177.7, 157.0, 156.7, 154.9, 144.5, 133.0, 129.5, 123.7, 115.1, 80.6, 80.2, 63.6, 62.1, 57.2, 52.8, 51.7, 47.1, 46.8, 39.5, 29.3, 28.6, 24.2, 23.4. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₅H₃₄N₆O₅ [M+H]⁺ 499.2663, encontrado 499.2664.



5-(4-((1-((1,3-dioxolan-2-il)metil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenetil)-5-metilimidazolidina-2,4-diona (31d) (LSPN848): O bruto reacional

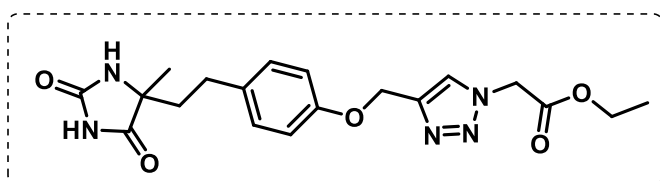
foi purificado por cromatografia flash em coluna eluinto com hexano:EtOAc (20:80) para obter o composto **LSPN848** (55 mg) com 74% de rendimento como um sólido branco. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.25 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.02 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.77 (s, 1H), 5.21 (t, *J* = 3.7 Hz, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.54 (d, *J* = 3.4 Hz, 2H), 3.93 – 3.71 (m, 4H), 2.76 – 2.59 (m, 1H), 2.51 – 2.36 (m, 1H), 2.21 – 2.03 (m, 1H), 1.98 – 1.82 (m, 1H), 1.44 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ: 177.9, 157.2, 156.6, 144.0, 133.1, 129.4, 124.6, 115.0, 100.9, 65.5, 63.5, 61.8, 52.6, 39.4, 29.2, 24.1. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₁₉H₂₃N₅O₅ [M+H]⁺ 402.1772, encontrado 402.1762.



5-(4-((1-(4-(benziloxi)benzil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenetil)-5-metilimidazolidina-2,4-diona (31e)

(LSPN851): O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em coluna eluinto com hexano:EtOAc (20:80) para obter o composto **LSPN851** (75 mg) com 80% de rendimento como um sólido esverdeado. **PF:** 115 – 117 °C. **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.66 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.45 – 7.35 (m,

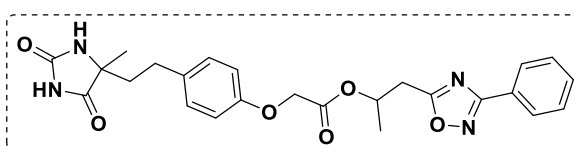
4H), 7.35 – 7.26 (m, 3H), 7.07 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.92 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 5.51 (s, 2H), 5.07 (d, $J = 10.4$ Hz, 4H), 2.58 – 2.51 (m, 1H), 2.30 (td, $J = 12.9, 5.0$ Hz, 1H), 1.83 (td, $J = 12.8, 5.0$ Hz, 1H), 1.73 (td, $J = 13.0, 4.8$ Hz, 1H), 1.27 (s, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.4, 158.3, 156.5, 156.4, 143.1, 137.0, 133.2, 129.7, 129.1, 128.5, 127.9, 127.7, 124.3, 115.0, 114.7, 69.2, 62.0, 61.0, 52.4, 28.5, 23.7. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 512.2292, encontrado 512.2288.



2-(4-((4-(2-(4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-4-il)etil)fenoxi)metil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)acetato de etila (31f)

(LSPN855): O bruto reacional foi purificado por cromatografia flash em coluna eluindo com hexano:EtOAc (10:90) para obter o composto **LSPN855** (48 mg) com 65% de rendimento como um sólido amarelado. **PF**: 133 – 135 °C. **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.65 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.18 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.58 – 2.51 (m, 1H), 2.31 (td, $J = 12.9, 5.0$ Hz, 1H), 1.90 – 1.79 (m, 1H), 1.79 – 1.68 (m, 1H), 1.28 (s, 3H), 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.7, 168.3, 159.0, 158.2, 145.3, 134.9, 130.4, 126.8, 116.0, 64.3, 63.2, 62.4, 51.8, 40.7, 30.2, 24.3, 14.4. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 402.1772, encontrado 402.1772.

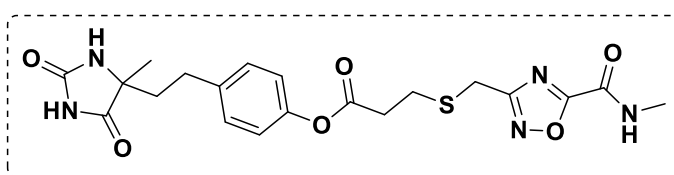
5.2.1.9. Síntese de derivados de hidantoína usando Mukaiyama⁷⁵



1-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-2-il 2-(4-(2-(4-metil-2,5-dioxoimidazolidin-4-il)etil)fenoxi)acetato (41)

(LSPN961): Em um tubo de Schlenk, sob atmosfera de N_2 , 1-(3-fenil-1,2,4-oxadiazol-5-il)propan-2-ol (**39**) (0,26 mmol; 53,0 mg), iodeto de 2-cloro-1-metilpiridínio (reagente de Mukaiyama) (0,27 mmol; 67,0 mg), ácido **7** (0,26 mmol; 77,9 mg) e diclorometano seco (520 μL) foram adicionados. A

mistura foi deixada sob agitação durante 5 minutos, depois foi adicionada 2,6-lutidina (0,62 mmol; 75,9 μ L) e deixada sob agitação durante 16 horas a 60°C. Após este período, foi adicionado o AcOEt (2 mL) e o produto bruto da reação foi lavado com água (2 mL), solução saturada de NaCl (2 mL), solução aquosa de HCl (1 mol/L) (2 mL) e solução saturada de NaHCO₃ (2 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada, concentrada e purificada em uma placa preparativa com solução EtOAc:Hex (1:1) como eluente para obter **LSPN961** (21,3 mg) com 20% de rendimento um óleo. **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.84 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.55 – 7.43 (m, 3H), 6.97 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 6.74 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 6.25 (s, 1H), 5.56 (q, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.57 (s, 2H), 3.32 – 3.19 (m, 2H), 2.66 – 2.54 (m, 1H), 2.49 – 2.37 (m, 1H), 2.14 – 2.03 (m, 1H), 1.93 – 1.78 (m, 1H), 1.45 (s, 3H), 1.44 (s, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ 177.5, 176.0, 168.52, 168.47, 156.8, 156.3, 133.5, 131.5, 129.5, 129.1, 127.6, 126.6, 114.7, 68.8, 65.4, 63.6, 39.5, 33.0, 29.2, 24.2, 19.9. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. para C₂₅H₂₆N₄O₆ [M+H]⁺ 479.1925, encontrado 479.1931.



4-(2-(4-metil-2,5-dioxoimi da zolidin-4-il)etil)fenil 3-(((5-(metilcarbamoil)-1,2,4-oxa

diazol-3-il)metil) tio)propanoato (40) (LSPN859): Em um tudo de Schlenk, sob atmosfera de N₂, o 5-(4-hidroxifenetil)-5-metilimidazolidina-2,4-diona (**5**) (0,26 mmol; 60,0 mg), iodeto de 2-cloro-1-metilpiridínio (reagente de Mukaiyama) (0,27 mmol; 67,0 mg), ácido 3-(((5-(metilcarbamoil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)metil)tio)propanóico (0,26 mmol; 62,82 mg) e carbonato de dimetila (520 μ L) foram adicionados. A mistura foi deixada sob agitação durante 5 minutos, depois foi adicionada 2,6-lutidina (0,62 mmol; 75,9 μ L) e deixada sob agitação durante 16 horas a 60°C. Após este período, foi adicionado AcOEt (2 mL) e o produto bruto da reação foi lavado com água (2 mL), solução saturada de NaCl (2 mL), solução aquosa de HCl (1 mol/L) (2 mL) e solução saturada de NaHCO₃ (2 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada, concentrada e purificada em uma placa preparativa com solução EtOAc:Hex (1:1) como eluente para obter **LSPN859** (24,1 mg) com 20% de rendimento um sólido branco. **PF**: 225 – 226 °C. **RMN ¹H** (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ : 7.16 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 8.5

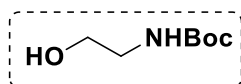
Hz, 2H), 4.60 (s, 1H), 3.90 (s, 1H), 3.02 – 2.82 (m, 7H), 2.64 (td, $J = 12.6, 4.8$ Hz, 1H), 2.44 (td, $J = 12.8, 5.2$ Hz, 1H), 2.07 – 1.93 (m, 1H), 1.91 – 1.80 (m, 1H), 1.37 (s, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.8, 170.7, 169.4, 169.2, 156.8, 153.5, 148.8, 138.9, 129.4, 121.9, 62.3, 34.0, 29.3, 29.0, 26.7, 26.5, 25.1, 23.8. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 462.1442, encontrado 462.1443.

5.2.2. Parte II

5.2.2.1. Materiais de partida

***N*-(2-hidroxietil)carbamato de *terc*-butila (**43**)⁹⁰**

A uma solução de etanolamina (**42**) (0,99 mL; 16,37 mmol) em DCM anidro (5 mL) foi adicionado dicarbonato de di-*terc*-butila (3,76 mL; 16,37 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação a temperatura ambiente por 3 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida.

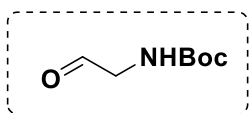


O produto **43** foi obtido sem purificação cromatográfica como um óleo amarelado com rendimento quantitativo (2,639 g).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 3,65 (t; $J = 5,0$ Hz; 2H); 3,25 (t; $J = 4,7$ Hz; 2H); 1,42 (s; 9H). Dados de acordo com a literatura.

***N*-(2-oxoetil)carbamato de *terc*-butila (**44**)⁹¹**

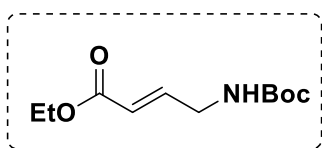
Em uma solução de *N*-(2-hidroxietil)carbamato de *terc*-butila (**43**) (409 mg; 2,54 mmol) em DCM (20 mL) foi adicionada a periodinana de Dess-Martin (1,324 g; 3,12 mmol) em uma porção. A suspensão foi mantida sob agitação por 2 h para posterior adição de solução aquosa saturada de NaHCO_3 - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (1:1) (20 mL) e agitação por adicionais 20 min. Foi realizada a extração da mistura bifásica com DCM (10 mL), lavado com solução saturada de NaCl (10 mL), e a fase orgânica seca com NaSO_4 . A solução foi em seguida filtrada em Celite lavada com DCM e concentrada.



O produto **44** foi obtido como um sólido amarelo com rendimento quantitativo (400 mg). **RMN ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 9,65 (s; 1H); 5,19 (s; 1H); 4,08 (d; *J* = 4,9 Hz; 2H); 1,45 (s; 9H). Dados de acordo com a literatura.

(2E)-4-[[*tert*-butoxi]carbonil]amino}but-2-enoato de etila (45**)⁹²**

A uma suspensão de NaH (60% dispersão em óleo mineral) (100,5 mg; 2,51 mmol) em THF (15 mL) à 0 °C foi gotejado fosfonoacetato de trietila (0,574 mL; 2,84 mmol) em THF (2 mL). A mistura reacional foi agitada a 0 °C por 20 min e logo após *N*-(2-oxoetil)carbamato de *tert*-butila (**44**) (400 mg; 2,51 mmol) diluído em THF (3 mL) foi adicionado e a reação foi mantida a 23 °C por 1 h. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o resíduo foi diluído em AcOEt (10 mL) e água (10 mL). As fases foram separadas e a fase aquosa foi extraída com AcOEt (3 x 5 mL). A fase orgânica foi secas com NaSO₄, filtrada e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia *flash* [solvente: Hex/AcOEt, gradiente: 20-50% (v/v)].



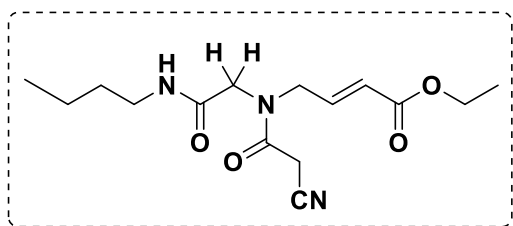
O produto **45** foi obtido como um óleo incolor com rendimento de 40% (230 mg). **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7,07 – 6,77 (m; 1H); 5,90 (d; *J* = 15,7 Hz; 1H); 4,97 (s; 1H); 4,16 (q; *J* = 7,1 Hz; 2H); 3,88 (s; 2H); 1,42 (s; 9H); 1,25 (t; *J* = 7,1 Hz; 3H). **RMN de ¹³C** (101 MHz, CDCl₃) δ 166,2; 155,7; 145,0; 121,2; 79,8; 60,5; 41,3; 28,4; 14,2. Dados de acordo com a literatura.

5.2.2.2. Síntese dos Produtos de Ugi

Procedimento A (Procedimento geral Ugi)

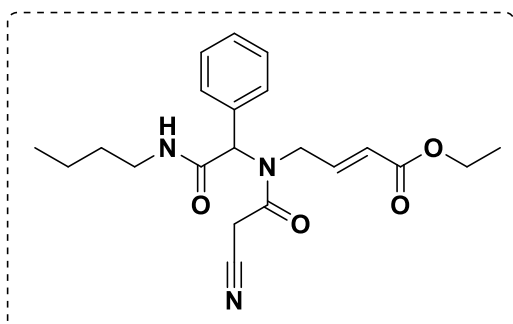
Em um frasco selado contendo uma solução de (2E)-4-[[*tert*-butoxi]carbonil] amino}but-2-enoato de etila (**45**) (0,20 mmol) em DCM (1 mL) à 0 °C foi adicionado uma solução de HCl em dioxano 4,0 M (0,5 mL; 2 mmol) e a solução foi agitada por 10 min a 0 °C e posteriormente 16 h à temperatura ambiente. O solvente foi removido sob pressão reduzida e foi obtido o composto **46**. No mesmo frasco reacional foi adicionado o aldeído (0,2 mmol) e solubilizado

em THF seco (1 mL) e a mistura foi agitada por 5 minutos. Foi então adicionada uma solução de KOH aquoso (1M) (0,2 mL; 0,2 mmol) e a mistura ficou sob agitação por 30 minutos, e em seguida foi adicionado o ácido cianoacético (0,16 mmol) e a isonitrila (0,16 mmol). Deixou-se sob agitação por 48 horas em temperatura ambiente. No fim da reação o produto foi concentrado sob vácuo e purificado.



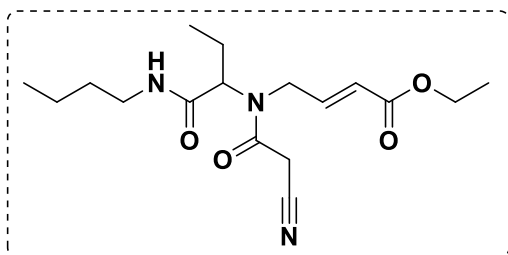
(E)-4-(N-(2-(butilamino)-2-oxoetil)-2-cianoacetamido)but-2-enoato de etila (47a) (LSPN1040): O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (AcOEt/Hexano 1:1). O composto

37a foi obtido como um sólido branco com rendimento de 77% (47,5 mg). O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (AcOEt/Hexano 1:1). **PF:** 113.6 – 114.5 °C. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.10 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.87 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 6.85 (dt, *J* = 15.7, 5.3 Hz, 1H), 6.73 (dt, *J* = 15.8, 4.9 Hz, 1H), 6.01 – 5.88 (m, 1H), 4.16 – 4.08 (m, 3H), 4.05 – 3.97 (m, 3H), 3.86 (d, *J* = 23.1 Hz, 2H), 3.05 (qd, *J* = 7.1, 5.5 Hz, 2H), 1.42 – 1.32 (m, 2H), 1.31 – 1.18 (m, 5H), 0.86 (td, *J* = 7.2, 1.1 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 167.4, 167.3, 165.5, 165.3, 164.3, 163.8, 143.4, 143.2, 122.4, 121.5, 116.1, 116.0, 60.2, 60.1, 50.7, 49.9, 49.3, 48.0, 38.6, 38.3, 31.3, 31.1, 25.0, 19.6, 14.2, 13.8, 13.7. **HRMS** (ESI) *m/z*: cal. for C₁₅H₂₄N₃O₄ [M+H]⁺ 310.1767, encontrado 310.1775; *m/z*: cal. para C₁₅H₂₃N₃O₄Na [M+Na]⁺ 332.1586, encontrado 332.1598; *m/z*: cal. para C₁₅H₂₃N₃O₄K [M+K]⁺ 348.1323, encontrado 310.1337.



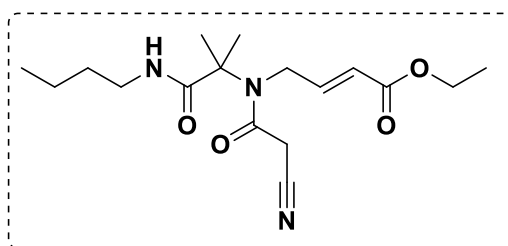
(E)-4-(N-(2-(butilamino)-2-oxo-1-fenil etil)-2-cianoacetamido)but-2-enoato de etila (47k): O bruto foi purificado por cromatografia flash em coluna (AcOEt/Hexano 3:7) e o produto foi obtido como um óleo amarelo (30,0 mg) com

rendimento de 49%. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.28 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.48 – 7.14 (m, 5H), 6.55 – 6.29 (m, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.79 – 5.33 (m, 1H), 4.19 – 3.83 (m, 6H), 3.20 – 2.95 (m, 2H), 1.45 – 1.31 (m, 2H), 1.32 – 1.03 (m, 5H), 0.86 (td, *J* = 7.3, 4.8 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 168.4, 165.0, 164.3, 144.2, 143.9, 135.5, 129.1, 128.8, 128.5, 128.3, 121.5, 115.9, 63.0, 60.5, 59.8, 46.2, 38.3, 30.9, 25.5, 19.5, 19.5, 14.1, 13.6. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₂₁H₂₈N₃O₄ [M+H]⁺ 386.2074, encontrado 386.2070.



(E)-4-(N-(1-(butilamino)-1-oxobutan-2-il)-2-cianoacetamido)but-2-enoato de etila (47l): O bruto foi purificado por cromatografia flash em coluna (AcOEt/Hexano 3:7) e o produto foi obtido

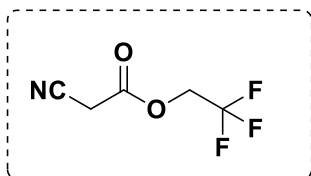
como um óleo amarelo (24,0 mg) com rendimento de 44%. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.11 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 6.76 (dt, *J* = 15.7, 5.1 Hz, 1H), 5.87 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 4.40 – 3.73 (m, 7H), 3.12 – 2.85 (m, 2H), 1.85 – 1.48 (m, 2H), 1.45 – 1.31 (m, 2H), 1.30 – 1.05 (m, 5H), 0.96 – 0.64 (m, 6H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 169.0, 168.1, 165.5, 165.2, 164.2, 163.5, 144.7, 144.6, 121.8, 120.8, 116.1, 61.0, 60.0, 59.9, 58.2, 45.2, 43.6, 38.4, 38.3, 30.9, 30.9, 25.7, 25.5, 22.6, 22.1, 19.6, 19.6, 14.1, 14.1, 13.7, 13.6, 10.5, 10.2. **DEPT135 RMN{¹H}** ¹³C (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 144.6, 144.5, 121.8, 120.7, 61.0, 60.0, 59.8, 58.2, 45.1, 43.6, 38.4, 38.3, 30.9, 30.8, 25.6, 25.4, 22.5, 22.0, 19.6, 19.5, 14.1, 14.1, 13.6, 13.6, 10.5, 10.1. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₇H₂₈N₃O₄ [M+H]⁺ 338.2074, encontrado 338.2069.



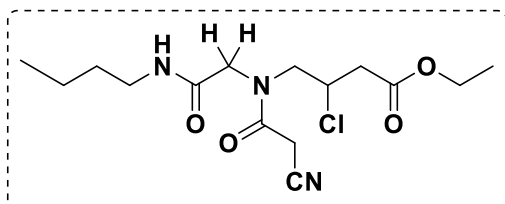
(E)-4-(N-(1-(butilamino)-2-metil-1-oxopropan-2-il)-2-cianoacetamido)but-2-enoato de etila (47m): O bruto foi purificado por cromatografia flash em coluna (AcOEt/Hexano 1:1) e o produto

foi obtido como um óleo amarelo (7 mg) com rendimento de 13%. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.33 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 6.93 (dt, *J* =

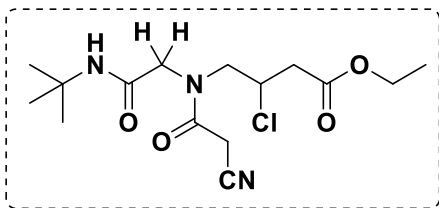
15.8, 4.6 Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 4.13 (td, $J = 12.8, 11.8, 5.1$ Hz, 4H), 3.90 (s, 2H), 3.09 – 2.90 (m, 2H), 1.40 – 1.27 (m, 8H), 1.26 – 1.19 (m, 5H), 0.90 – 0.81 (m, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, DMSO- d_6): δ 173.2, 173.1, 172.2, 170.8, 165.4, 163.3, 161.6, 145.9, 121.9, 117.9, 116.0, 62.4, 60.3, 60.0, 59.5, 48.1, 45.2, 38.7, 38.5, 31.3, 31.2, 26.4, 25.9, 25.1, 24.6, 24.0, 22.2, 19.6, 19.5, 19.5, 14.2, 14.0, 13.8, 13.8. **DEPT135 RMN $\{^1\text{H}\} ^{13}\text{C}$** (101 MHz, DMSO- d_6): δ 145.8, 121.9, 60.3, 60.0, 48.1, 45.1, 38.6, 38.5, 31.2, 31.1, 26.3, 25.9, 25.0, 24.5, 24.0, 22.2, 19.6, 19.5, 19.4, 14.1, 14.0, 13.8, 13.7. **HRMS** (ESI) m/z : calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 338.2074, encontrado 338.2071.



2-cianoacetato de 2,2,2-trifluoroetila (49)⁸⁰: O composto **49** foi obtido como um óleo incolor. **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6): δ 4.85 (q, $J = 9.0$ Hz, 2H), 4.22 (s, 2H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, DMSO- d_6): δ 163.5, 123.2 (q, $J = 277.1$ Hz), 114.6, 61.1 (q, $J = 35.5$ Hz), 24.3.



4-(*N*-(1-(butilamino)-2-metil-1-oxopropan-2-il)-2-cianoacetamido)-3-cloro-butanoato de etila (48a) (LSPN1042): O composto **48a** foi obtido como um sólido branco. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (AcOEt/Hexano 1:1) e o produto foi obtido em 5% de rendimento (3 mg). **PF:** 118.4 – 119.5 °C. Mistura de rotâmeros: **RMN ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.27 – 7.67 (m, 1H), 4.61 – 4.52 (m, 1H), 4.50 – 4.41 (m, 1H), 4.18 – 3.80 (m, 5H), 3.68 – 3.57 (m, 1H), 3.10 – 2.91 (m, 3H), 2.79 (dd, $J = 16.4, 8.9$ Hz, 1H), 2.61 (dd, $J = 16.5, 10.1$ Hz, 1H), 1.43 – 1.33 (m, 2H), 1.31 – 1.21 (m, 2H), 1.19 (td, $J = 7.1, 1.8$ Hz, 3H), 0.86 (td, $J = 7.3, 2.1$ Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, DMSO- d_6): δ 169.7, 169.6, 167.3, 165.2, 164.0, 161.1, 116.0, 115.9, 60.6, 60.6, 56.3, 55.5, 53.9, 52.8, 51.7, 49.3, 40.3, 39.8, 38.6, 38.4, 36.9, 31.3, 31.2, 31.1, 25.2, 19.7, 19.6, 14.2, 13.8, 13.8, 13.7. **HRMS** (ESI) m/z : calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{ClN}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 346.1534, encontrado 346.1541.



4-(*N*-(2-(*tert*-butilamino)-2-oxoetil)-2-cianoacetamido)-3-clorobutanoato de etila (**48b**):

O composto **48b** foi obtido como um óleo incolor. O material bruto foi purificado por cromatografia em coluna flash (AcOEt/Hexano 1:1) e o

produto foi obtido em 7% de rendimento (4 mg). Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.80 (s, 1H), 7.54 (s, 0H), 4.58 – 4.49 (m, 1H), 4.43 (dtd, *J* = 10.1, 6.8, 3.3 Hz, 1H), 4.17 – 4.02 (m, 4H), 4.00 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.98 – 3.93 (m, 2H), 3.91 (s, 2H), 3.82 (d, *J* = 16.0 Hz, 1H), 3.69 – 3.58 (m, 1H), 3.06 – 2.94 (m, 2H), 2.78 (dd, *J* = 16.4, 9.0 Hz, 1H), 2.60 (dd, *J* = 16.5, 10.1 Hz, 1H), 1.25 (s, 9H), 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO) δ 170.02, 169.96, 167.13, 167.06, 165.55, 164.20, 116.37, 116.25, 60.94, 60.88, 56.69, 55.74, 54.22, 53.17, 52.35, 51.06, 50.72, 49.76, 40.62, 40.16, 28.97, 28.80, 25.45, 25.42, 14.50. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₅H₂₅ClN₃O₄ [M+H]⁺ 346.1534, encontrado 346.1540.

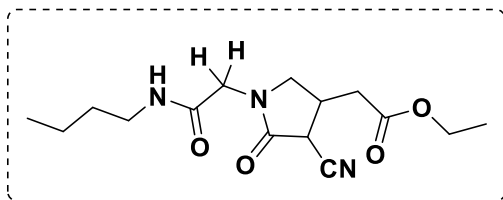
5.2.2.3. Síntese de γ -lactamas

Em um frasco selado contendo uma solução do (2*E*)-4-[[(*tert*-butoxi)carbonil]amino]but-2-enoato de etila (**45**) (0,20 mmol) em DCM (1 mL) à 0 °C foi adicionada uma solução de HCl em dioxano 4,0 M (0,5 mL; 2 mmol) e a mistura foi agitada por 10 min a 0 °C e posteriormente 16 h a temperatura ambiente. O solvente foi removido sob pressão reduzida e foi obtido o composto **46**.

No mesmo frasco reacional foi adicionado o aldeído (0,2 mmol) solubilizado em THF seco (1 mL), a mistura foi agitada por alguns minutos e então foi adicionada uma solução aquosa de KOH (1M) (0,2 mL; 0,2 mmol). A mistura ficou sob agitação por 30 minutos, e em seguida foi adicionado o ácido cianoacético (0,16 mmol) e a isonitrila (0,16 mmol). A mistura ficou sob agitação por 48 horas em temperatura ambiente.

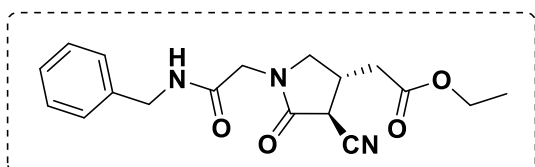
Após esse tempo foi adicionada uma solução aquosa de KOH 1 M (0,8 – 0,16 mmol) e reação foi acompanhado por CCD até completa ciclização (2 - 6 h). A

mistura foi concentrada sob vácuo e purificada em uma coluna cromatográfica Flash.



2-(1-(2-(butilamino)-2-oxoetil)-4-ciano-5-oxopirrolidin-3-il) acetato de etila (51a) (LSPN1042): O material bruto foi purificado em cromatografia em coluna

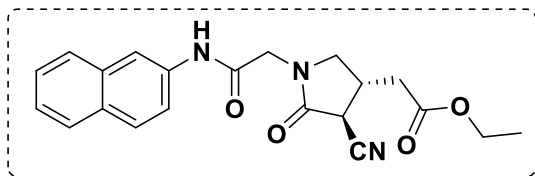
flash (AcOEt/Hexano 1:1). O composto **LSPN1042** foi obtido como um óleo transparente com rendimento de 60% (30,0 mg). Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.08 – 7.92 (m, 1H), 4.27 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.09 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.98 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 3.86 – 3.77 (m, 2H), 3.65 – 3.48 (m, 1H), 3.21 – 2.89 (m, 4H), 2.75 – 2.56 (m, 2H), 1.45 – 1.31 (m, 2H), 1.33 – 1.12 (m, 5H), 0.86 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 170.8, 170.7, 166.5, 166.4, 166.2, 165.9, 117.7, 116.0, 60.32, 60.30, 51.2, 51.1, 45.5, 45.2, 38.3, 38.2, 37.8, 36.1, 35.3, 33.7, 31.2, 31.1, 29.8, 19.5, 14.0, 13.7, 13.6. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 60.3, 60.3, 51.2, 51.0, 45.5, 45.2, 38.2, 38.2, 37.8, 36.0, 35.2, 33.7, 31.2, 31.1, 29.7, 19.5, 14.0, 13.66, 13.64. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₅H₂₄N₃O₄ [M+H]⁺ 310.1761, encontrado 310.1764.



2-(1-(2-(benzilamino)-2-oxoetil)-4-ciano-5-oxopirrolidin-3-il)acetato de etila (51b) (LSPN1043): O bruto foi

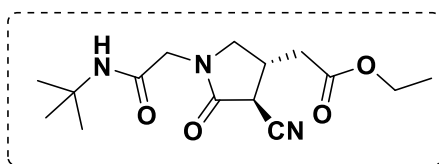
purificado em cromatografia em coluna flash (AcOEt/Hexano 1:1) e o produto foi obtido como um óleo amarelado (30,0 mg) com 54% de rendimento. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.59 – 8.49 (m, 1H), 7.37 – 7.20 (m, 5H), 4.33 – 4.25 (m, 2H), 4.09 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.00 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 3.96 – 3.89 (m, 2H), 3.68 – 3.56 (m, 1H), 3.25 – 3.11 (m, 1H), 3.07 – 2.95 (m, 1H), 2.76 – 2.58 (m, 2H), 1.24 – 1.15 (m, 3H). **RMN {¹H} ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): 170.8, 170.7, 166.8, 166.3, 166.0, 139.1, 139.1, 128.3, 127.2, 127.1, 126.9, 126.9, 117.7, 116.0, 60.3, 60.3, 51.3, 51.2, 45.6, 45.3, 42.1, 42.0, 38.2, 37.8, 36.1, 35.3, 33.7, 29.8, 14.0. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 128.3, 127.2, 127.1, 126.9, 126.8, 60.3, 60.3, 51.3, 51.2, 45.6, 45.3, 42.1, 42.0, 42.0, 38.2,

37.8, 36.0, 35.3, 33.7, 29.8, 14.0. **HRMS** (ESI) m/z : cal. para $C_{18}H_{22}N_3O_4$ $[M+H]^+$ 344.1605, encontrado 344.1605.



2-(4-ciano-1-(2-(naftalen-2-ilamino)-2-oxoetil)-5-oxopirrolidin-3-il)acetato de etila (51c) (LSPN1044): 2 equiv. de base KOH_{aq} (1 M) foram adicionados. O

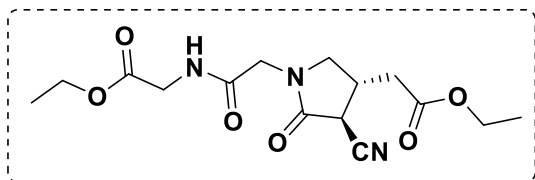
bruto foi purificado em cromatografia em coluna flash (AcOEt/Hexano 6:4) e o produto foi obtido como um óleo laranja (17,0 mg) com 28% de rendimento. Mistura de rotâmeros: **RMN 1H** (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 10.35 (s, 1H), 8.28 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.89 – 7.78 (m, 3H), 7.59 – 7.53 (m, 1H), 7.50 – 7.45 (m, 1H), 7.44 – 7.38 (m, 1H), 4.35 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 4.22 – 4.02 (m, 5H), 3.79 – 3.62 (m, 1H), 3.30 – 3.18 (m, 1H), 3.11 – 2.96 (m, 1H), 2.81 – 2.62 (m, 2H), 1.21 (dt, $J = 7.1$, 2.6 Hz, 3H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, $DMSO-d_6$): 170.8, 170.7, 166.4, 166.2, 166.0, 166.0, 136.1, 136.1, 133.4, 129.9, 129.9, 128.5, 127.5, 127.3, 126.5, 124.8, 119.9, 119.8, 117.7, 116.0, 115.5, 115.4, 60.4, 60.3, 51.4, 51.3, 46.0, 45.8, 38.2, 37.9, 36.1, 35.3, 34.0, 30.1, 14.0. **DEPT135 RMN ^{13}C** (101 MHz, $DMSO-d_6$): δ 128.5, 127.5, 127.3, 126.5, 124.7, 119.8, 119.8, 115.5, 115.3, 60.3, 51.4, 51.2, 46.0, 45.8, 38.2, 37.8, 36.0, 35.3, 34.0, 30.1, 14.0. **HRMS** (ESI) m/z : calc. para $C_{21}H_{22}N_3O_4$ $[M+H]^+$ 380.1605, encontrado 380.1607.



2-(1-(2-(terc-butilamino)-2-oxoetil)-4-ciano-5-oxopirrolidin-3-il)acetato de etila (51d) (LSPN 1045): . O bruto foi purificado em cromatografia em coluna flash (AcOEt/Hexano

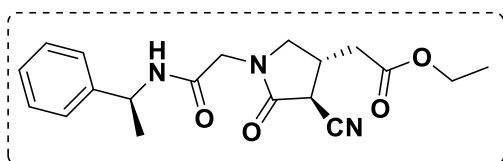
1:1) e o produto foi obtido como um sólido branco (25,0 mg) com 50% de rendimento. **PF**: 111.7 – 114.0 °C. Mistura de rotâmeros: **RMN 1H** (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.69 – 7.64 (m, 1H), 4.27 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.08 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.00 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H), 3.86 – 3.71 (m, 2H), 3.58 (dd, $J = 11.7$, 6.0 Hz, 1H), 3.20 – 3.10 (m, 1H), 2.94 (ddt, $J = 25.1$, 9.9, 7.6 Hz, 1H), 2.74 – 2.56 (m, 2H), 1.24 (s, 9H), 1.24 – 1.15 (m, 5H). **RMN ^{13}C** (101 MHz, $DMSO-d_6$): δ 170.8, 170.7, 166.0, 165.9, 165.8, 117.7, 116.1, 60.3, 60.3, 51.1, 51.1, 50.4, 45.5, 45.4,

38.2, 37.9, 36.0, 35.2, 33.9, 30.0, 28.5, 14.0. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 60.3, 60.3, 51.1, 51.0, 45.5, 45.3, 38.2, 37.8, 36.0, 35.2, 33.9, 29.9, 28.4, 14.0. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₅H₂₄N₃O₄ [M+H]⁺ 310,1761, encontrado 310.1764.



2-(4-ciano-1-(2-((2-etoxi-2-oxoetil)-amino)-2-oxoetil)-5-oxopirrolidin-3-il)acetato de etila (51e) (LSPN1046): O bruto foi purificado em cromatografia em

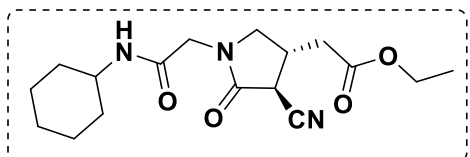
coluna flash (AcOEt/Hexano 9:1) e o produto foi obtido como um óleo incolor (15,2 mg) com 28% de rendimento. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.50 (q, *J* = 6.9, 6.4 Hz, 1H), 4.28 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 4.09 (dq, *J* = 7.1, 2.5 Hz, 4H), 4.01 – 3.73 (m, 5H), 3.66 – 3.55 (m, 1H), 3.23 – 3.09 (m, 1H), 3.05 – 2.91 (m, 1H), 2.72 – 2.59 (m, 2H), 1.23 – 1.15 (m, 6H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 170.8, 170.8, 170.7, 169.6, 167.5, 167.3, 166.7, 166.3, 166.0, 117.7, 116.8, 116.0, 62.8, 60.5, 60.4, 60.3, 51.1, 51.1, 50.9, 50.4, 45.4, 45.1, 40.6, 38.2, 37.8, 36.1, 35.7, 35.3, 33.6, 32.5, 29.7, 14.1, 14.0. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 62.8, 60.5, 60.3, 60.3, 51.0, 50.8, 50.3, 45.3, 45.0, 40.6, 38.2, 37.7, 36.0, 35.7, 35.2, 33.6, 32.5, 29.6, 14.0, 14.0. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₅H₂₂N₃O₆ [M+H]⁺ 340.1503, encontrado 340.1505.



2-(4-ciano-5-oxo-1-(2-oxo-2-(((S)-1-fenil etil)-amino)etil)pirroli-din-3-il) acetato de etila (51f) (LSPN1047): O bruto foi purificado em cromatografia em coluna

flash (AcOEt/Hexano 6,5:3,5) e o produto foi obtido como um óleo amarelado (33,3 mg) com 58% de rendimento. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.53 – 8.46 (m, 1H), 7.35 – 7.28 (m, 4H), 7.26 – 7.18 (m, 1H), 4.92 (p, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.27 (dd, *J* = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.99 (dd, *J* = 10.1, 3.3 Hz, 1H), 3.94 – 3.82 (m, 2H), 3.64 – 3.53 (m, 1H), 3.21 – 3.08 (m, 1H), 1.36 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.19 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 170.8, 170.7, 166.2, 165.9, 165.9, 144.3, 144.2, 128.3, 126.8,

126.0, 126.0, 117.7, 116.0, 60.3, 60.3, 51.2, 51.1, 48.0, 48.0, 45.3, 45.1, 39.9, 38.2, 37.8, 36.1, 35.3, 33.8, 29.9, 22.4, 22.3, 14.0. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 128.3, 126.7, 125.9, 60.3, 51.2, 51.1, 48.0, 47.9, 45.3, 45.1, 38.2, 37.8, 36.0, 35.2, 33.8, 29.9, 22.4, 22.3, 14.0. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₉H₂₄N₃O₄ [M+H]⁺ 358.1761, encontrado 358.1456.

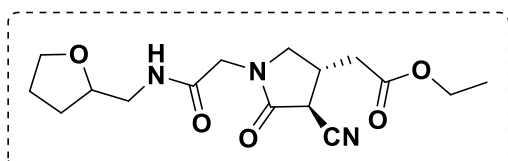


2-(4-ciano-1-(2-(ciclohexilamino)-2-oxoetil)-5-oxopirrolidin-3-il)acetato de etila (51g) (LSPN1048): O bruto foi purificado em

cromatografia em coluna flash (AcOEt) e o

produto foi obtido como um óleo incolor (30,7 mg) com 56% de rendimento.

Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.27 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.99 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 3.82 (s, 2H), 3.63 – 3.49 (m, 1H), 3.20 – 3.08 (m, 1H), 3.02 – 2.85 (m, 1H), 2.73 – 2.55 (m, 2H), 1.69 (t, *J* = 15.1 Hz, 4H), 1.54 (dt, *J* = 12.5, 4.0 Hz, 1H), 1.19 (qt, *J* = 12.0, 7.6 Hz, 7H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 170.8, 170.7, 166.1, 165.8, 165.6, 165.6, 117.7, 116.0, 60.3, 60.3, 51.1, 51.0, 47.7, 45.4, 45.2, 38.2, 37.9, 36.0, 35.2, 33.8, 32.4, 29.9, 25.2, 24.6, 14.0. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 60.3, 60.3, 51.1, 51.0, 47.7, 45.3, 45.1, 38.2, 37.8, 36.0, 35.2, 33.8, 32.3, 29.8, 25.1, 24.5, 14.0. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₇H₂₆N₃O₄ [M+H]⁺ 336.1918, encontrado 336.1915.



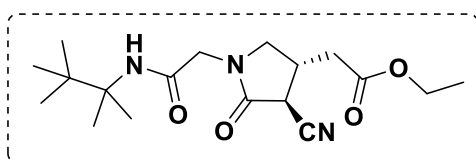
2-(4-ciano-5-oxo-1-(2-oxo-2-(((tetrahydrofuran-2-il)metil)amino)etil)pirrolidin-3-il)acetato de etila (51h)

(LSPN1049): 2 equiv. de base KOH_{aq} (1

M) foram adicionados. O bruto foi purificado em cromatografia em coluna flash (AcOEt) e o produto foi obtido como um óleo incolor (20,0 mg) com 37% de

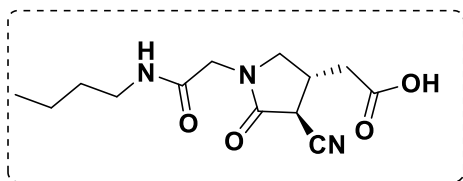
rendimento. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.54 – 7.83 (m, 1H), 4.27 (dd, *J* = 8.7, 1.5 Hz, 1H), 4.14 – 3.94 (m, 3H), 3.91 – 3.67 (m, 3H), 3.64 – 3.43 (m, 2H), 3.22 – 3.05 (m, 3H), 3.01 – 2.91 (m, 1H), 2.73 – 2.56 (m, 2H), 1.92 – 1.66 (m, 3H), 1.55 – 1.39 (m, 1H), 1.27 – 1.10 (m, 3H). **RMN ¹³C** (101

MHz, DMSO-*d*₆): δ 170.8, 170.7, 166.9, 166.2, 165.9, 117.7, 116.1, 77.1, 77.0, 67.2, 60.3, 60.3, 51.2, 51.1, 45.4, 45.2, 42.7, 42.7, 38.3, 37.8, 36.1, 35.3, 33.7, 29.8, 28.5, 25.2, 25.0, 14.1, 14.0. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 77.0, 77.0, 67.1, 60.3, 59.9, 51.2, 51.0, 45.4, 45.1, 42.7, 42.6, 38.2, 37.8, 36.0, 35.2, 33.7, 29.8, 28.4, 25.1, 25.0, 14.1, 14.0. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₆H₂₄N₃O₅ [M+H]⁺ 338.1710, encontrado 338.1716.



2-(4-ciano-5-oxo-1-(2-oxo-2-((2,3,3-trimetilbutan-2-il)amino)etil)pirrolidin-3-il)acetato de etila (51i) (LSPN1050): 2

equiv. de base KOH_{aq} (1 M) foram adicionados. O bruto foi purificado em cromatografia em coluna flash (AcOEt:Hexano 7:3) e o produto foi obtido como um óleo incolor (14,0 mg) com 24% de rendimento. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7.66 (d, *J* = 79.2 Hz, 1H), 4.28 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 4.08 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H), 4.01 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 3.84 – 3.66 (m, 2H), 3.64 – 3.46 (m, 1H), 3.19 – 3.10 (m, 1H), 3.02 (s, 1H), 2.90 (dt, *J* = 10.1, 7.8 Hz, 1H), 2.75 – 2.57 (m, 2H), 1.29 (d, *J* = 8.8 Hz, 9H), 1.23 – 1.12 (m, 3H), 0.93 (s, 8H). **RMN ¹³C** (100 MHz, MEOD): δ 172.6, 168.8, 168.2, 117.9, 62.2, 56.4, 56.4, 52.9, 52.9, 51.2, 47.2, 40.0, 39.4, 37.3, 35.8, 32.4, 31.9, 31.8, 29.9, 14.4. **DEPT135 RMN ¹³C** (101 MHz, MEOD): δ 62.1, 52.9, 52.8, 51.1, 47.2, 39.9, 39.4, 37.3, 35.7, 31.8, 31.7, 29.8, 14.4. **HRMS** (ESI) *m/z*: calc. para C₁₉H₃₂N₃O₅ [M+H]⁺ 366.2387, encontrado 366.2384.



Ácido 2-(1-(2-(butilamino)-2-oxoetil)-4-ciano-5-oxopirrolidin-3-il)acético (52): O bruto reacional foi obtido como um óleo amarelado. Mistura de rotâmeros: **RMN ¹H**

(400 MHz, MeOD): δ 4.13 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.96 (d, *J* = 4.3 Hz, 2H), 3.83 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H), 3.78 – 3.67 (m, 1H), 3.30 – 3.14 (m, 3H), 3.15 – 3.05 (m, 1H), 2.80 – 2.55 (m, 2H), 1.55 – 1.42 (m, 2H), 1.42 – 1.26 (m, 2H), 0.94 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H). **RMN ¹³C** (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 174.4, 174.2, 169.3, 169.2, 168.9, 168.9, 117.9, 116.3, 53.0, 52.9, 46.8, 46.7, 40.2, 39.9, 39.4, 37.0, 36.1, 35.7, 32.5, 31.5,

21.0, 14.1. **DEPT135 RMN ^{13}C** (101 MHz, MeOD): δ 53.0, 52.9, 46.8, 46.7, 40.2, 39.9, 39.4, 37.0, 36.1, 35.7, 32.5, 31.5, 21.0, 14.1. **HRMS** (ESI) m/z : calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282.1448, encontrado 282.1442.

5.2.3. Parte III – Atividade Biológica

5.2.3.1. Ensaio de estabilidade térmica NS3^{Hel}

Para investigar a estabilidade térmica da Helicase de ZIKV (NS3^{Hel}), os compostos foram diluídos a 100 mM em 100% DMSO (Synth) e a proteína em tampão 20 mM Bis-Tris (Sigma), pH7, 250 mM NaCl (Sigma), 5% Glicerol. Montamos uma solução contendo 20 μM de proteína e SyproOrange 5x (Sigma) - solução 1 – e adicionamos 23 μL da solução 1 a todos os poços de uma microplaca de 96-poços (Axygen). Adicionamos a cada poço da microplaca 2,5 μL dos compostos a 100 mM em 100% DMSO (Synth). Um adesivo óptico (Hampton) foi utilizado para selar a placa. As medidas de estabilidade térmica foram realizadas monitorando-se a fluorescência do SyproOrange ($\lambda_{\text{excitação}} = 490 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 575 \text{ nm}$) enquanto as amostras eram aquecidas de 25 a 74 $^{\circ}\text{C}$ incrementando-se 1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ em um instrumento de PCR quantitativo convencional Mx3005P. As curvas de desnaturação térmica foram obtidas utilizando o programa GraphPad Prisma 5.0 e uma aproximação através da equação de Boltzmann como descrito por Huynh & Partch.⁸¹ Ensaio contendo DMSO puro (1% vol/vol) foi utilizado como referência. Os experimentos foram realizados em duplicata técnica.



FIGURA 5.1. Esquema mostrando as etapas do ensaio para análise da estabilidade térmica do domínio helicase da NS3 de ZIKV.

5.2.3.2. Ensaio de atividade ATPase do domínio Helicase da NS3 de ZIKV

Os ensaios para avaliação da atividade ATPase do domínio Helicase da NS3 de ZIKV (ZIKV_NS3^{Hel}) foi realizado utilizando o kit comercial Phosphate Assay Kit (Sigma-Aldrich) como descrito por Cao *et al.*⁷ 200 nmol.L⁻¹ de proteína foi incubado em 20 µL de tampão 20 mM Bis-Tris, pH7, 500 mM NaCl, 10% Glicerol previamente suplementado com 8.0 mM MgCl₂ (Sigma), em um placa de 96 poços (Greiner Crystal Clear). Adicionou-se 1 µL de cada composto a 100 mM em tampão 20 mM Bis-Tris, pH7, 500 mM NaCl, 10% Glicerol, para ficar a uma concentração final de 2.5 mM na reação. A reação foi iniciada com 20 µL ATP (Sigma – dissolvido em água ultrapura) a 1.0 mM e incubada por 30 min a 24 °C (Figura 5.2). As reações foram terminadas com a adição de 200 µL de *reagent buffer* do próprio kit e incubadas novamente por 30 minutos a temperatura ambiente antes de se medir a absorbância em $\lambda = 620$ nm, a qual é associada a quantidade de fosfato liberada devido a hidrólise do ATP. Os ensaios foram realizados em duplicata técnica. Ensaio contendo DMSO puro (1% vol/vol) foi utilizado como referência. Os resultados foram analisados e plotados utilizando o programa GraphPad Prisma 5.0.

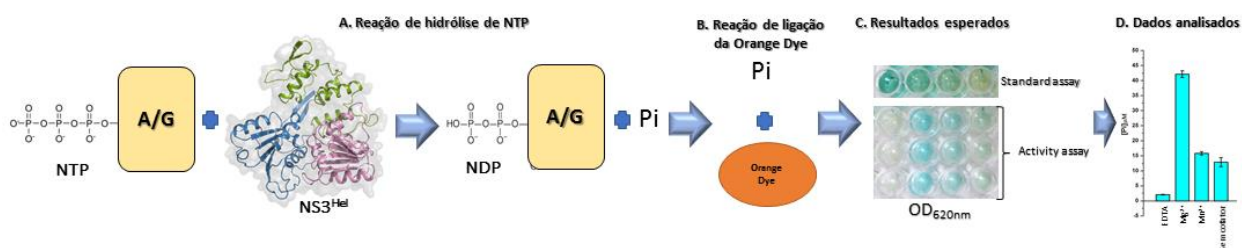


FIGURA 5.2. Esquema mostrando as etapas do ensaio de atividade ATP/GTPase do domínio helicase da NS3 de ZIKV.

5.2.3.3. Ensaios antivirais baseados em replicon utilizando a linhagem celular BHK-21-RepZIKV_IRES-Neo

As células BHK-21-RepZIKV_IRES-Neo foram mantidas em meio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, GIBCO) contendo 10% soro

fetal bovino (SFB) e G418 a 500 µg/mL. Os compostos testados em 100% DMSO a 100 mM, foram posteriormente diluídas em meio de cultura para uma concentração final de 100 µM ou 10 µM DMSO. NITD008, um potente inibidor da replicação de flavivírus (Yin *et al.*, 2009)⁹³, foi utilizado como controle positivo dos ensaios.

O ensaio foi feito com base no protocolo descrito em (Li *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2016)⁹⁴. Aproximadamente 2 x 10⁴ células por poço foram semeadas em meio DMEM 10% SFB em placas de 96 poços. Após 16 h de incubação, o sobrenadante foi descartado, foi adicionado meio DMEM 2% SFB e os compostos a 100 µM. Após 48 h de incubação, as células foram lisadas em 15 µL de tampão de lise Renilla luciferase Lysis Reagent (Promega) por 15 min a temperatura ambiente sob agitação. Em seguida, 12 µL do lisado foram transferidos para uma placa de 96 poços branca opaca contendo 50 µL de tampão substrato da Renilla luciferase (Rluc) (kit Renilla luciferase Assay System – Promega) e a leitura da atividade da enzima (luminescência) foi realizada no equipamento SpectraMax i3 Multi-mode Detection Platform (Molecular Devices). O composto NITD008 a 10 µM foi usado como controle positivo e o ensaio foi realizado em duplicata.

Foi realizado o ensaio de proliferação baseado em WST-8, utilizando o Cell Counting kit-8 (CCK8 – Sigma Aldrich). Após a incubação com os compostos, foi adicionada solução CCK8 a 1/10 do volume dos poços (10 µL/poço) e as placas foram incubadas na estufa de CO₂ a 37 °C por 2 h. Em seguida a absorbância foi medida a 450 nm no SpectraMax 384 Plate Reader (Molecular Devices). Células em 1% DMSO foram utilizadas como controle negativo do ensaio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Xu, S.; Ding, D.; Zhang, X.; Sun, L.; Kang, D.; Huang, B.; Miu, X.; Zhan, P. Newly Emerging Strategies in Antiviral Drug Discovery: Dedicated to Prof. Dr. Erik De Clercq on Occasion of His 80th Anniversary. *Molecules*, **2022**, *27*, 850.
- ² (a) Clercq, E. Antivirals: Past, present and future. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *85*, 727. (b) Ma, Y.; Frutos-Beltrán, E.; Kang, D.; Pannecouque, C.; Clercq, E.; Menéndez-Arias, L.; Liu, X.; Zhan, P. Medicinal chemistry strategies for discovering antivirals effective against drug-resistant viruses. *Chem. Soc. Rev.* **2021**, *50*, 4514.
- ³ Bouef, P.; Drummer, H. E.; Richards, J. S.; Scoullar, M. J. L.; Beeson, J. G. The global threat of Zika virus to pregnancy: epidemiology, clinical perspectives, mechanisms, and impact. *BMC Med.* **2016**, *14*, 1.
- ⁴ WHO. World Health Organization. Zika epidemiology update - February 2022. Disponível em: < <https://www.who.int/publications/m/item/zika-epidemiology-update---february-2022> > acessado em: 18/12/2023.
- ⁵ Sadeer, N. B.; Kalamouni, C. E.; Khalid, A.; Abdalla, A. N.; Zengin, G.; Bao, L. V. K.; Mahomoodally, M. F.; J. Secondary metabolites as potential drug candidates against Zika virus, an emerging looming human threat: Current landscape, molecular mechanism and challenges ahead. *Infect. Public Health.*, **2023**, *16*, 754.
- ⁶ Xu, S.; Ci, Y.; Wang, L.; Yang, Y.; Zhang, L.; Xu, C.; Qin, C.; Shi, L. Zika virus NS3 is a canonical RNA helicase stimulated by NS5 RNA polymerase. *Nucleic Acid Res.* **2019**, *47*, 8693.
- ⁷ (a) Tian, H.; Ji, X.; Yang, X.; Zhang, Z.; Lu, Z.; Yang, K.; Chen, C.; Zhao, Q.; Chi, H.; Mu, Z.; Xie, W.; Wang, Z.; Lou, H.; Yang, H.; Rao, Z. Structural basis of Zika virus helicase in recognizing its substrates. *Protein Cell.* **2016**, *7*, 562. (b) Cao, X.; Li, Y.; Jin, X.; Guo, F.; Jin, T. Molecular mechanism of divalent-metal-induced activation of NS3 helicase and insights into Zika virus inhibitor design. *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44*, 10505. (c) Tian, H.; Ji, X.; Yang, X.; Xie, W.; Yang, K.; Chen, C.; Wu, C.; Chi, H.; Mu, Z.; Wang, Z.; Yang, H. The crystal structure of Zika virus helicase: basis for antiviral drug design. *Protein Cell.* **2016**, *7*, 450.
- ⁸ Mesquita, N. C. M. R.; Guido, R. V. C., Oliva, G., resultados não publicados.
- ⁹ Badshah, S.L.; Ahmad, N.; Rehman, A. U.; Khan, K.; Ullah, A.; Alsayari, A.; Muhsinah, A. B.; Mabkhot, Y. N. Molecular docking and simulation of Zika virus NS3 helicase. *BMC Chem.* **2019**, *13*, 67.
- ¹⁰ Silva, S.; Shimizu, J. F.; Oliveira, D. M.; Assis, L. R.; Bittar, C.; Mottin, M.; Sousa, B. K. P.; Mesquita, N. C. M. R.; Regasini, L. O.; Rahal, P.; Oliva, G.; Perryman, A. L.; Ekins, S.; Andrade, C. H.; Goulart, L. R.; Sabino-Silva, R.; Merits, A.; Harris, M.; Jardim, A. C. G. A diarylamine derived from anthranilic acid inhibits ZIKV replication. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 1.

-
- ¹¹ Kumar, D.; Aarthy, M.; Kumar, P.; Singh, S. K.; Uversky, V. N.; Giri, R. Targeting the NTPase site of Zika virus NS3 helicase for inhibitor Discovery. *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2020**, *38*, 4827.
- ¹² Kumar, D.; Sharma, N.; Aarthy, M.; Singh, S. K.; Giri, R. Mechanistic Insights into Zika Virus NS3 Helicase Inhibition by Epigallocatechin-3-Gallate. *ACS Omega*, **2020**, *5*, 11217.
- ¹³ Mayank; Kumar, D.; Kaur, D.; Giri, R.; Singh, N. Biscoumarin scaffold as an efficient anti-Zika virus lead with NS3-Helicase inhibitory potential: in-vitro and in-silico Investigation. *New J. Chem.*, **2020**, *44*, 1872.
- ¹⁴ Hajduk, P. J.; Greer, J. A. A decade of fragment-based drug design: strategic advances and lessons learned. *Nat. Rev. Drug Discover.* **2007**, *6*, 211.
- ¹⁵ Armstrong, J. W. A review of high-throughput screening approaches for drug discovery. *Am. Biotechnol. Lab.* **1999**, *17*, 26.
- ¹⁶ Hevari, M. M.; Zadsirjan, V. Prescribed drugs containing nitrogen heterocycles: an overview. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 44247.
- ¹⁷ (a) Fruhauf, A.; Behringer, M.; Meyer-Almes, F.; Significance of Five-Membered Heterocycles in Human Histone Deacetylase Inhibitors. *Molecules*, **2023**, *28*, 5686. (b) Rusu, A.; Moga, I.; Uncu, L. Hancu, G. The Role of Five-Membered Heterocycles in the Molecular Structure of Antibacterial Drugs Used in Therapy. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 2554.
- ¹⁸ Konnert, L.; Lamaty, F.; Martinez, J. Colacino, E. Recent Advances in the Synthesis of Hydantoins: The State of the Art of a Valuable Scaffold. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 13757.
- ¹⁹ Mudit, M.; Khanfar, M.; Muralidharan, A.; Thomas, S.; Shah, G.V.; SoesT, R.W.M.; Sayed, K.A. Discovery, design, and synthesis of anti-metastatic lead phenylmethylene hydantoins inspired by marine natural products. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1731.
- ²⁰ Ware, E. The chemistry of the Hydantoins. *Chem. Rev.* **1950**, *46*, 403.
- ²¹ (a) Bucherer, H. T.; Lieb, V. A. Über die Bildung substituierter Hydantoine aus Aldehyden und Ketonen. Synthese von Hydantoinen. *J. Prakt. Chem.* **1934**, *141*, 5. (b) Kalník, M.; Gakbo, P.; Bella, M.; Koos, M. The Bucherer-Bergs Multicomponent Synthesis of Hydantoins-Excellence in Simplicity. *Molecules*, **2021**, *26*, 4024.
- ²² Biltz, H. Constitution of the Products of the Interaction of Substituted Carbamides on Benzil and Certain New Methods for the Preparation of 5,5-Diphenylhydantoin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1908**, *41*, 1379.
- ²³ Read, W. T. Researches on Hydantoins. Synthesis of the Soporific 4,4-Phenylethyl-hydantoin (Nirvanol). *J. Am. Chem. Soc.*, **1922**, *44*, 1746.
- ²⁴ Zhao, B.; Du, H.; Shi, Y. A Cu(I)-Catalyzed C-H α -Amination of Esters. Direct Synthesis of Hydantoins. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7220.
- ²⁵ Monteiro, J.; Pieber, B.; Correa, A. G.; Kappe, C. O. Continuous Synthesis of Hydantoins: Intensifying the Bucherer Bergs Reaction. *Synlett*, **2016**, *27*, 83.

-
- ²⁶ Declas, N.; Vaillant, F. L.; Waer, J. Revisiting the Urech Synthesis of Hydantoins: Direct Access to Enantiopure 1,5-Substituted Hydantoins Using Cyanobenziodoxolone. *Org. Lett.* **2019**, 21, 524.
- ²⁷ Biernacki, K.; Dasko, M.; Ciupah, O.; Kunbinski, K. Rachon, J.; Demkowecz, S. Novel 1,2,4-Oxadiazole Derivatives in Drug Discovery. *Pharmaceutics* **2020**, 13, 111.
- ²⁸ Wang, J.; Sun, W.; Jila, W.; Bian, M.; Yu, L. Research progress on the synthesis and pharmacology of 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-oxadiazole derivatives: a mini review. *J Enzyme Inhib Chem.* **2022**, 37, 2304.
- ²⁹ Parker, P. D.; Pierce, J. G. Synthesis of 1,2,4-Oxadiazoles via DDQ-Mediated Oxidative Cyclization of Amidoximes. *Synthesis* **2016**, 48, 1902.
- ³⁰ Zhang, F.; Wang, Y.; Chiba, S. Orthogonal aerobic conversion of N-benzyl amidoximes to 1,2,4-oxadiazoles or quinazolinones. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 6003.
- ³¹ Kuram, M. R.; Kim, W. G.; Myung, K.; Hong, S. Y. Copper-Catalyzed Direct Synthesis of 1,2,4-Oxadiazoles from Amides and Organic Nitriles by Oxidative N–O Bond Formation. *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 2016, 438.
- ³² Baykov, S.; Sharonova, T.; Shetnev, A.; Rozhkov, S.; Kalinin, S.; Smirnov, A. The first one-pot ambient-temperature synthesis of 1,2,4-oxadiazoles from amidoximes and carboxylic acid esters. *Tetrahedron*, **2017**, 73, 945.
- ³³ Kandre, S.; Bhagat, P. R.; Sharma, R.; Gupte, A. Microwave assisted synthesis of 3,5-disubstituted 1,2,4-oxadiazoles from substituted amidoximes and benzoyl cyanides. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 3526.
- ³⁴ Purushotham, N.; Poojary, B. An Expeditious Synthesis of Chiral 1,2,4-Oxadiazole Peptidomimetics from Heteroaroyl Mono-peptides. *ChemistrySelect.* **2018**, 3, 10996.
- ³⁵ Zarei, M. A Mild and Efficient One-Pot Preparation of 1,2,4-Oxadiazoles from Nitriles and Carboxylic Acids Using Vilsmeier Reagent. *ChemistrySelect*, **2018**, 3, 11273.
- ³⁶ Golushko, A. A.; Khoroshilova, O. V.; Vasilyev, A. V. Synthesis of 1,2,4-Oxadiazoles by Tandem Reaction of Nitroalkenes with Arenes and Nitriles in the Superacid TfOH. *J. Org. Chem.* **2019**, 84, 7495.
- ³⁷ Pharande, S. G. Synthesis of Lactams via Isocyanide-Based Multicomponent Reactions. *Synth.* **2021**, 53, 418.
- ³⁸ Caruano, J.; Muccioli, G. G.; Robiette, R. Biologically active γ -lactams: synthesis and natural sources. *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, 14, 10134.
- ³⁹ Liu, Z.; Nefsi, A. Solid-phase synthesis of N-substituted pyrrolidinone-tethered N-substituted piperidines via Ugi reaction. *J. Comb. Chem.* **2010**, 12, 566.
- ⁴⁰ El Kaim, L.; Grimaud, L.; Miranda, L. D.; Vieu, E. Ugi/xanthate cyclizations as a radical route to lactam scaffolds. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 8259.

- ⁴¹ Martelli, L. S. R.; da Silva, O. A. M.; Zukerman-Schpector, J.; Correa, A. G. One-pot synthesis of γ -lactams from ketoaziridines *Org. Biomol. Chem.*, **2023**, 21, 9128.
- ⁴² Cioc, R. C.; Ruijter, E.; Orru, R. V. A. Multicomponent reactions: advanced tools for sustainable organic synthesis. *Green Chem.* **2014**, 16, 2958.
- ⁴³ (a) Nenajdenko, V. G. Access to molecular complexity. Multicomponent reactions involving five or more components. *Russ. Chem. Rev.* **2020**, 89, 1274. (b) Ganem, B. Strategies for Innovation in Multicomponent Reaction Design. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 463.
- ⁴⁴ (a) Wang, Q.; Wang, D.-X.; Wang, M.-X.; Zhu, J. Still Unconquered: Enantioselective Passerini and Ugi Multicomponent Reactions. *Acc. Chem. Res.* **2018**, 51, 1290. (b) Riva, R. Enantioselective four-component Ugi reactions. *Science* **2018**, 361, 1072.
- ⁴⁵ Cheron, N.; Ramozzi, R.; El Kaim, L.; Grimaud, L.; Fleurat-Lessar, P. Challenging 50 Years of Established Views on Ugi Reaction: A Theoretical Approach. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 3, 1361.
- ⁴⁶ Carvalho, M. H. R.; Ribeiro, J. P. R.; Castro, P. P.; Passos, S. T. A.; Neto, B. A. D.; Santos, H. F.; Amarante, G. W. Solvent Dependent Competitive Mechanisms for the Ugi Multicomponent Reaction: A Joint Theoretical and Experimental Study in the α -Acyl Aminocarboxamides vs α -Amino Amidines Formation. *J. Org. Chem.* **2022**, 87, 11007.
- ⁴⁷ Polindara-Garcia, L. A.; Montesinos-Miguel, D.; Vasquez, A. An efficient microwave-assisted synthesis of cotinine and iso-cotinine analogs from an Ugi-4CR approach. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13, 9065.
- ⁴⁸ Shiri, M.; Mirpour-Marzoni, S. Z.; Bozorgpour-Savadjani, Z.; Soleymanifard, B.; Kruger, H. G. Base-catalyzed cyclization of Ugi-adducts to substituted indolyl based γ -lactams. *Monatsh. Chem.*, **2014**, 145, 1947.
- ⁴⁹ Che, C.; Li, S.; Jiang, X.; Quan, J.; Lin, S.; Yang, Z. One-Pot Syntheses of Chromeno[3,4-c]pyrrole-3,4-diones via Ugi-4CR and Intramolecular Michael Addition. *Org. Lett.*, **2010**, 12, 4682.
- ⁵⁰ González-Saiz, B.; Pertejo, P.; Pena-Calleja, P.; Mielczarek, M.; Hermosilla, T.; Carreira-Barral, I.; Miguel, O.; Rodriguez-Vidal, F.; Quesada, R.; Garcia-Valverde, M. Base-selective access to highly functionalized heterocycles from multicomponent Ugi adducts. *Green Chem.* **2022**, 24, 7988.
- ⁵¹ (a) Kumar, S.; Dixit, K. S.; Awasthi, K. S. An efficient one pot method for synthesis of carboxylic acids from nitriles using recyclable ionic liquid [bmim]HSO₄. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 3802. (b) Liu, Z.-Q.; Li, Z. Radical-promoted site-specific cross dehydrogenative coupling of heterocycles with nitriles. *Chem. Commun.* **2016**, 52, 14278. (c) Amundsen, H. L.; Nelson, S. L. Reduction of Nitriles to Primary Amines with Lithium Aluminum Hydride. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, 73, 242. (d) Huang, Y.; Sachtler, H. M. W. On the mechanism of catalytic hydrogenation of nitriles to amines over supported metal catalysts. *General, Appl. Catal., A.* **1999**, 182, 365. (e) Caddick, S.; Duncan Judd, B. D.; Lewis, K. de K. A.; Williams, V. R. M. A generic approach for the catalytic reduction of nitriles. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 5417. (f) Lu, Q.; J.; Jianguo Liu. Ma, L. Recent advances in selective catalytic hydrogenation of nitriles to primary

amines. *J. Catal.* **2021**, 404, 475. (g) Moorthy, N. J.; Nidhi Singhal, N. Facile and Highly Selective Conversion of Nitriles to Amides via Indirect Acid-Catalyzed Hydration Using TFA or AcOH–H₂SO₄. *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 1926. (h) Atom-Economical and Tandem Conversion of Nitriles to *N*-Methylated Amides Using Methanol and Water. Paul, B.; Maji, M.; Kundu, S. *ACS Catal.*, **2019**, 9, 10469. (i) Gudun, A. K.; Slamova, A.; Hayrapetyan, D.; Khalimon, Y. A. Efficient Co-Catalyzed Double Hydroboration of Nitriles: Application to One-Pot Conversion of Nitriles to Aldimines. *Chem. Eur. J.*, **2020**, 26, 4963.

⁵² (a) Yamagata, K.; Maruoka, H.; Hashimoto, Y.; Yamazaki, M. Ring Conversion of 2-Amino-4,5-dihydro-3-furancarbonitriles Catalyzed by Halide Ions. *Heterocycles*, **1989**, 29, 5. (b) Yamagata, K.; Okabe, F.; Maruoka, H.; Tagawa, Y. Synthesis of 1-Acyl-2-oxo-3-pyrrolidinecarbonitriles by the Reaction of 2-Acylamino-4,5-dihydro-3-furancarbonitriles with Sodium Iodide. *J. Heterocycl. Chem.* **2005**, 42, 543. (c) Maruoka, H.; Okabe, F.; Yamagata, K. A Novel Sodium Iodide-Promoted Ring Transformation of 2-Amino-4,5-dihydro-3-furancarbonitriles to 2-Pyrrolidinones and Dihydropyrans. *Heterocycles*, **2007**, 74, 383.

⁵³ Dawadi, S. B. P.; Lugtenburg, J. Efficient syntheses of ethyl 4-cyano-5-hydroxy-2-methyl-1H-pyrrole-3-carboxylate and ethyl (2Z)-(4-cyano-5-oxopyrrolidin-2-ylidene)ethanoate. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 2508.

⁵⁴ Sasaki, Y.; Tokuhara, H.; Ohba, Y.; Okabe, A.; Nakayama, M.; Nakagawa, H.; Skene, R.; Hoffman, I.; Zou, H.; Yoshida, M. Efficient synthesis of *tert*-butyl 3-cyano-3-cyclopropyl-2-oxopyrrolidine-4-carboxylates: Highly functionalized 2-pyrrolidinone enabling access to novel macrocyclic Tyk2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, 30, 126963.

⁵⁵ You, A.; Zhou, J.; Song, S.; Zhu, G.; Song, H.; Yi, W. Rational design, synthesis and structure–activity relationships of 4-alkoxy- and 4-acyloxy-phenylethylenethiosemicarbazone analogues as novel tyrosinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23, 924.

⁵⁶ Li, J.; Yang, F.; Ma, Y.; Ji, K. Gold (III)-Catalyzed Intermolecular Oxidation-Cyclization of Yrones: Access to 4-Substituted Chroman-3-ones. *Adv. Synth. Catal.* **2019**, 361, 2148.

⁵⁷ Romanelli, M. N.; Braconi, L.; Gabellini, A.; Manetti, D.; Marotta, G. Teodori, E. Synthetic Approaches to Piperazine-Containing Drugs Approved by FDA in the Period of 2011–2023. *Molecules*, **2024**, 9, 68.

⁵⁸ (a) La Spisa, F.; Feo, A.; Mossetti, R.; Tron, G. C. Acid-Free, Aminoborane-Mediated Ugi-Type Reaction Leading to General Utilization of Secondary Amines. *Org. Lett.* **2012**, 14, 6044. (b) Stucchi, M.; Gmeiner, H. H.; Rainoldi, G.; Sacchetti, A.; Silvani, A.; Lesma, G. Multicomponent Synthesis and Biological Evaluation of a Piperazine-Based Dopamine Receptor Ligand Library. *ACS Med. Chem. Lett.* **2015**, 6, 882.

⁵⁹ Brown, D. G.; Bostrom, J. Analysis of Past and Present Synthetic Methodologies on Medicinal Chemistry: Where Have All the New Reactions Gone? *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 4443.

- ⁶⁰ Dunetz, J. R.; Magano, J.; Weisenburger, G. A. Large-Scale Applications of Amide Coupling Reagents for the Synthesis of Pharmaceuticals. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 140.
- ⁶¹ Valeur, E.; Bradley, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 606.
- ⁶² Sturabotti, E.; Vetica, F.; Toscano, G.; Calcaterra, A.; Matinelli, A.; Migneco, L. M.; Leonelli, F. N-Acetyl-L-phenylalanine Racemization during TBTU Amidation: An In-Depth Study for the Synthesis of Anti-Inflammatory 2-(N-Acetyl)-L-phenylalanyl-amido-2-deoxy-D-glucose (NAPA). *Molecules*, **2023**, *28*, 581.
- ⁶³ Le, T. G.; Kindu, A.; Ghoshal, A.; Nguyen, N. H.; Preston, S.; Jiao, Y.; Ruan, B.; Xue, L.; Huang, F.; Keiser, J.; Hofmann, A.; Chang, B. C. H.; Garcia-Bustos, J.; Wells, T. N. C.; Palmer, M. J.; Jabbar, A.; Gasser, R. B.; Baell, J. B. Novel 1-Methyl-1H-pyrazole-5-carboxamide Derivatives with Potent Anthelmintic Activity. *J. Med. Chem.* **2019**, *62*, 3367.
- ⁶⁴ a) Massarotti, A.; Aprile, S.; Mercalli, V.; Grosso, E. D.; Grosa, G.; Sorba, G. e Tron, G. C. Are 1,4- and 1,5-Disubstituted 1,2,3-Triazoles Good Pharmacophoric Groups? *ChemMedChem.* **2014**, *9*, 11, 2497. b) Martínez-Bailén, M.; Carmona, A. T.; Moreno-Clavijo, E.; Ide, I. R. D.; Kato, A.; Moreno-Vargas, A. J. Tuning of β -glucosidase and α -galactosidase inhibition by generation and in situ screening of a library of pyrrolidine-triazole hybrid molecules, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *138*, 532.
- ⁶⁵ Worrel, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science* **2013**, *340*, 457.
- ⁶⁶ (a) Gu, L.; Renault, K.; Romieu, A.; Richard, J. A.; Srinivasan, R. Synthesis and spectral properties of 6'-triazolyl-dihydroxanthene-hemicyanine fused near-infrared dyes. *New J. Chem.* **2020**, *44*, 12208. (b) Campbell-Verduyn, L.; Mirfeizi, L.; Dierckx, R. A.; Elsing, P. H.; Fering, B. L. Phosphoramidite accelerated copper(i)-catalyzed [3 + 2] cycloadditions of azides and alkynes. *Chem. Commun.* **2009**, *16*, 2139.
- ⁶⁷ Holub, J. M.; Kirshenbaum, K. Tricks with clicks: modification of peptidomimetic oligomers via copper-catalyzed azide-alkyne [3 + 2] cycloaddition. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1325.
- ⁶⁸ Du, W.; Qi, Q.T.H.; Guo, Y. Chobanian, H. R.; Hagmann, W. K.; Hale, J. J. A one-pot synthesis of 3-substituted-5-carbonylmethyl-1,2,4-oxadiazoles from β -keto esters and amidoximes under solvent-free conditions. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2231
- ⁶⁹ Shetneva, A. A.; Pankratiev, V. E.; Kunichkin, A. S.; Vlasova, A. S.; Proskurin, I. K.; Kotov, A. D.; Korsakova, M. K. Synthesis of 3,5-Disubstituted 1,2,4-Oxadiazoles from Amidoximes and Aldehydes in the Superbasic System NaOH/DMSO. *Russ. J. Org. Chem.* **2020**, *56*, 1064.
- ⁷⁰ Du, W.; Truong, Q.; Qi, H.; Guo, Y.; Chobanian, H. R.; Hagmann, W. K.; Hale, J. J. A one-pot synthesis of 3-substituted-5-carbonylmethyl-1,2,4-oxadiazoles from β -keto esters and amidoximes under solvent-free conditions. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2231.

- ⁷¹ De Freitas, J. J. R.; De Freitas, J. C. R.; Da Silva, L. P.; De Freitas Filho, J. R.; Kimura, G. Y. V.; Srivastava, R. M. Microwave-induced one-pot synthesis of 4-[3-(aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-butan-2-ones under solvent free conditions. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 6195.
- ⁷² Neises, B.; Steglich, W. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, 17, 522.
- ⁷³ Mukaiyama, T.; Usui, M.; Shimada, E.; Saigo, K. A convenient method for the synthesis of carboxylic esters. *Chem. Lett.* **1975**, 1045.
- ⁷⁴ Saigo, K.; Usui, M. Kiruchi, K. Shimada, E. Mukaiyama, T. New Method for preparation of carboxylic esters. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1977**, 50, 1863.
- ⁷⁵ Jordan, A.; Whymark, K. D.; Sydenham, J.; Sneddon, H. F. A Solvent-Reagent Selection Guide for Steglich-type Esterification of Carboxylic Acids. *Green Chem.*, 2021, 23, 6405.
- ⁷⁶ Li, Z., et al. A domino Ugi/Michael approach for the synthesis of α,β -unsaturated γ -lactams. *Tetrahedron Lett.* **2016**, 57, 754-756.
- ⁷⁷ Nunes, P. S. G.; Vidal, D. A. V.; Correa, A. G. Recent advances in catalytic enantioselective multicomponent reactions. *Org. Biomol. Chem.*, **2020**, 18, 7751.
- ⁷⁸ Grison, C.; Genève, S.; Coutrot, P. Enantioselective synthesis of α,β -unsaturated γ - and δ -lactams. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 3831.
- ⁷⁹ Marcaccini, S.; Torroba, T. The use of the Ugi four-component condensation. *Nat. Protoc.* **2007**, 2, 632.
- ⁸⁰ (a) Lei, Y. X.; Casarini, D.; Cerione, G.; Rappoport, Z. Stable enols of amides $\text{ArNHC(OH)=C(CN)CO(2)R}$. E/Z enols, equilibria with the amides, solvent effects, and hydrogen bonding. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 947. (b) Ochoa-Torres, R. O., Buyck, T., Wang, Q.; Zhu, J. Heteroannulation of Arynes with α -Amino Imides: Synthesis of 2,2-Disubstituted Indolin-3-ones and Application to the Enantioselective Total Synthesis of (+)-Hinckdentine A. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, 57, 5679.
- ⁸¹ Tan, E. S.; Groban, E. S.; Jacobson, M. P.; Scanlan, T. S. Toward Deciphering the Code to Aminergic G Protein-Coupled Receptor Drug Design. *Chem. Biol.* **2008**, 15, 343.
- ⁸² Shrestha-Dawadi, P. B.; Lugtenburg, J. Efficient Preparation of [2-¹³C]- and [3-¹³C]-3-Cyano-4-methyl-3-pyrrolin-2-one. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 2007, 1294.
- ⁸³ Silva, S.; Shimizu, J. F.; Oliveira, D. M.; Assis, L. R.; Bittar, C.; Mottin, M.; Sousa, B. K. P.; Mesquita, N. C. M. R.; Regasini, L. O.; Rahal, P.; Oliva, G.; Perryman, A. L.; Ekins, S.; Andrade, C. H.; Goulart, L. R.; Sabino-silva, R.; Merits, A.; Harris, M.; Jardim, A. C. G. A diarylamine derived from anthranilic acid inhibits ZIKV replication. *Sci. Rep.*, **2019**, 9, 17703.
- ⁸⁴ (a) Huynh, K.; Partch, C. L. Analysis of protein stability and ligand interactions by thermal shift assay. *Curr Protoc Protein Sci.*, **2016**, 79, 1. (b) Niesen F. H.; Berglund, H.; Vedadi, M. The use of differential scanning fluorimetry to detect ligand interactions that promote protein stability. *Nat. Protoc.* **2007**, 2, 2212.

-
- ⁸⁵ Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F. Purification of Laboratory Chemicals. 4^o Edição. 1988. Editora Pergamon.
- ⁸⁶ Mossetti, R.; Caprioglio, D.; Colombano, G.; Tron, G. C.; Pirali, T. A novel a-isocyanoacetamide-based three-component reaction for the synthesis of dialkyl 2-acyl-5-aminofuran-3,4-dicarboxylates, *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9, 1627.
- ⁸⁷ Palumbo, A. P.; Guarcello, A.; Pace, A.; Buscemi, S. Synthesis of Isoxazoline Derivatives through Boulton-Katritzky Rearrangement of 1,2,4-Oxadiazoles. *Eur. J. Org. Chem.*, **2013**, 2013, 1986.
- ⁸⁸ El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide coupling reagents, more than a letter soup. *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6567.
- ⁸⁹ Nunes, P. S. G.; da Silva, G.; Nascimento, S.; Mantoani, S. P.; de Andrade, P.; Bernardes, E. S.; Kawano, D. F.; Leopoldino, A. M.; Carvalho, I. *Bioorg. Chem.* **2021**, 113, 104982.
- ⁹⁰ Brai, A.; Boccuto, A.; Monti, M.; Marchi, S.; Vicenti, I.; Saladini, F.; Trivisani, C. I.; Pollutri, A.; Trombetta, C. M.; Montomoli, E.; Riva, V.; Garbelli, A.; Nola, E. M.; Zazzi, M.; Maga, G.; Dreassi, E.; Botta, M. Exploring the Implication of DDX3X in DENV Infection: Discovery of the First-in-Class DDX3X Fluorescent Inhibitor. *ACS Med. Chem. Lett.* **2020**, 11, 956-962.
- ⁹¹ White, J. D.; Hansen, J. D. Total synthesis of (-)-7-epicyclindrospermopsin, a toxic metabolite of the freshwater cyanobacterium aphanizomenonovaleisporum, and assignment of its absolute configuration. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1963.
- ⁹² Kathman, S. G.; Span, I.; Smith, A. T.; Xu, Z.; Zhan, J.; Rosenzweig, A. C.; Statsyuk, A. V. A Small Molecule That Switches a Ubiquitin Ligase from a Processive to a Distributive Enzymatic Mechanism. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, 137, 12442.
- ⁹³ Yin, Z.; Chen, Y.-L.; Schul, W.; Wang, Q.-Y.; Gu, F.; Duraiswamy, J.; Kondreddi, R. R.; Niyomrattanakit, P.; Lakshminarayana, S. B.; Goh, A.; Xu, H. Y.; Liu, W.; Liu, B.; Lim, J. Y. H.; Ng, C. Y.; Qing, M.; Lim, C. C.; Yip, A.; Wang, G.; Chan, W. L.; Tan, H. P.; Lin, K.; Zhang, B.; Zou, G.; Bernard, K. A.; Garrett, C.; Beltz, K.; Dong, M.; Weaver, M.; He, H.; Pichota, A.; Dartois, V.; Keller, T. H.; Shi, P.-Y. An adenosine nucleoside inhibitor of dengue virus. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2009**, 106, 20435.
- ⁹⁴ Li, J.Q., Deng, C.L., Gu, D., Li, X., Shi, L., He, J., Zhang, Q.Y., Zhang, B., and Ye, H.Q. (2018). Development of a replicon cell line-based high throughput antiviral assay for screening inhibitors of Zika virus. *Antivir. Res*, **2018**, 150, 148. Xie, X., Zou, J., Shan, C., Yang, Y., Kum, D.B., Dallmeier, K., Neyts, J., and Shi, P.Y. Zika Virus Replicons for Drug Discovery. *EBioMedicine*, **2016**, 12, 156.

ANEXOS

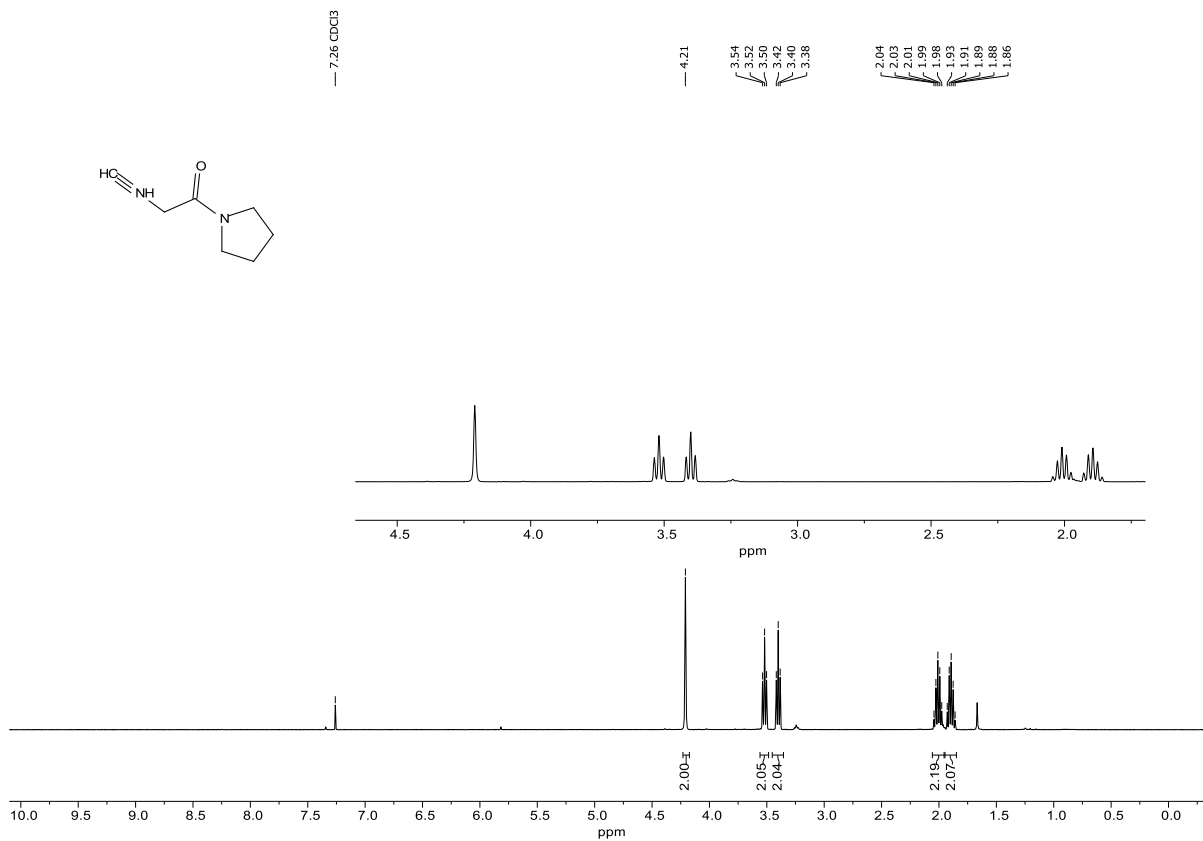


FIGURA A.1. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **14**.

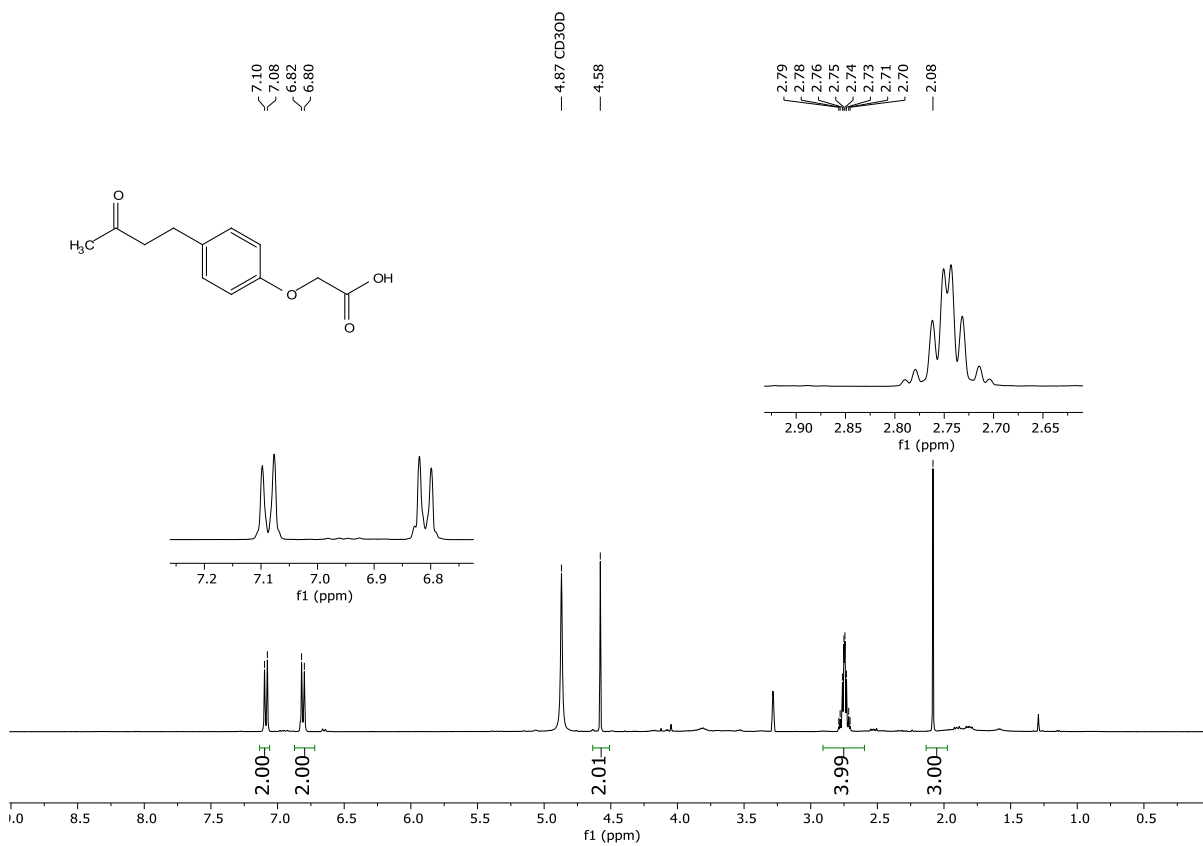


FIGURA A. 2. RMN ¹H (MeOD, 400 MHz) do composto **6**.

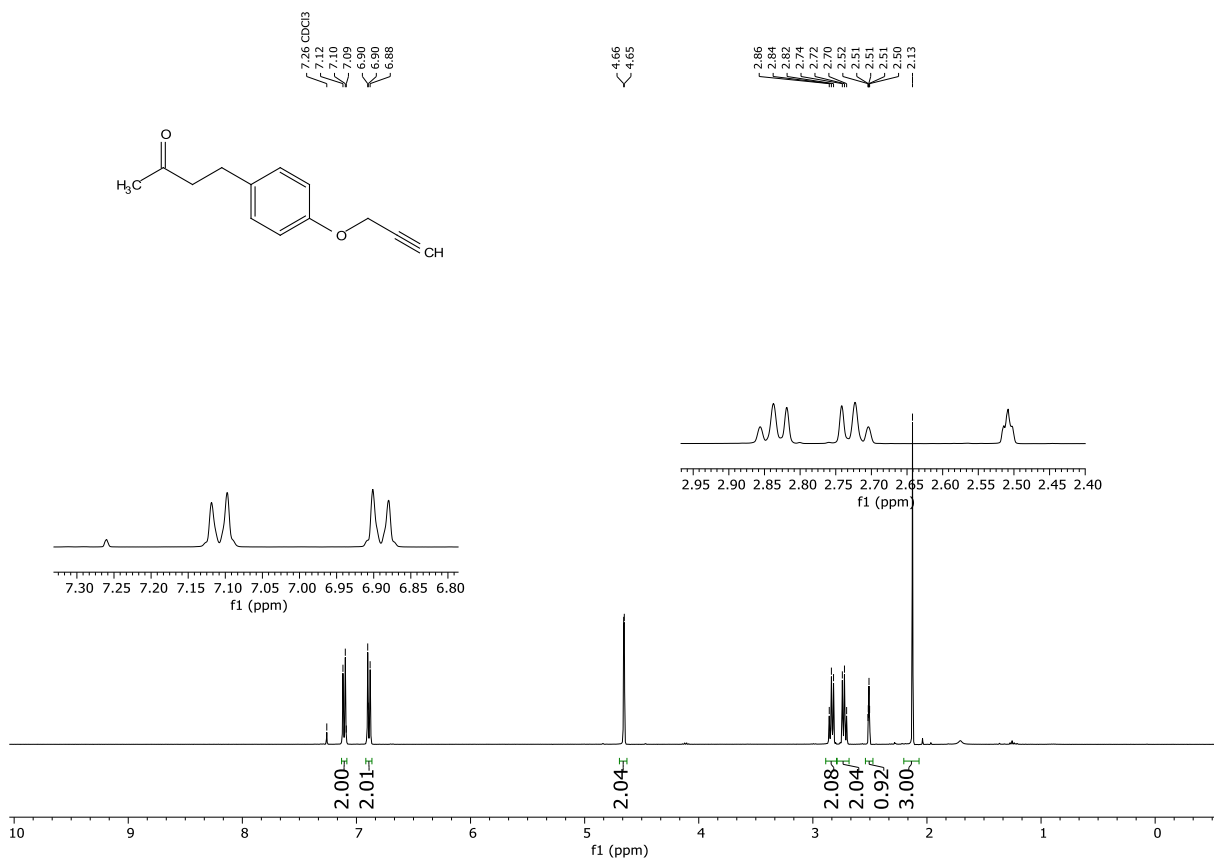


FIGURA A. 3. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **8**.

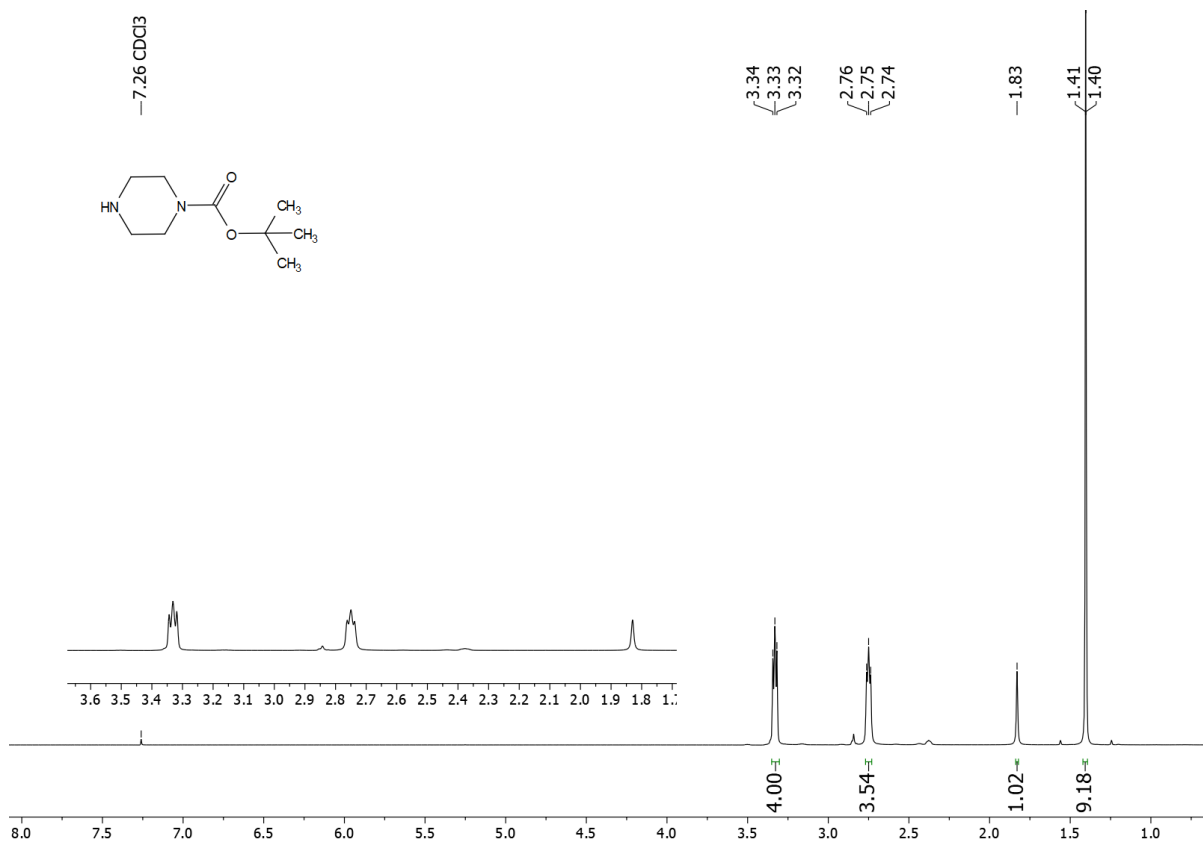


FIGURA A. 4. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **19**.

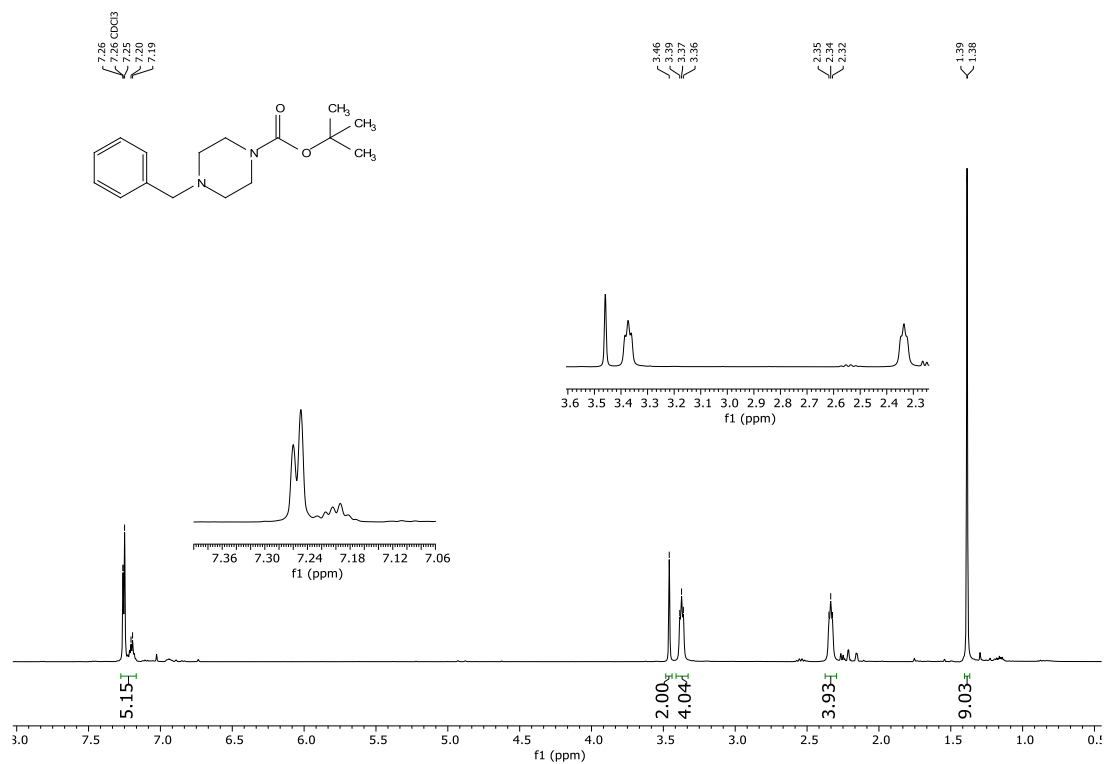


FIGURA A. 5. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 20.

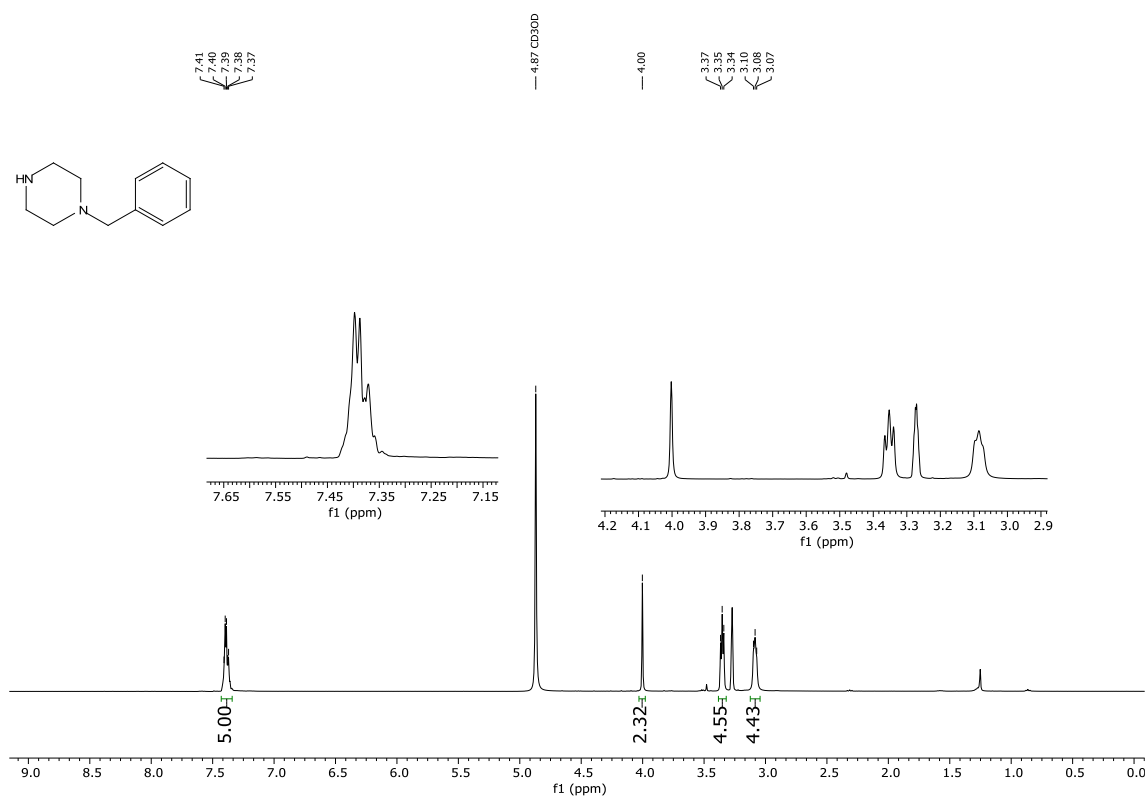


FIGURA A. 6. RMN ¹H (MeOD, 400 MHz) do composto 21.

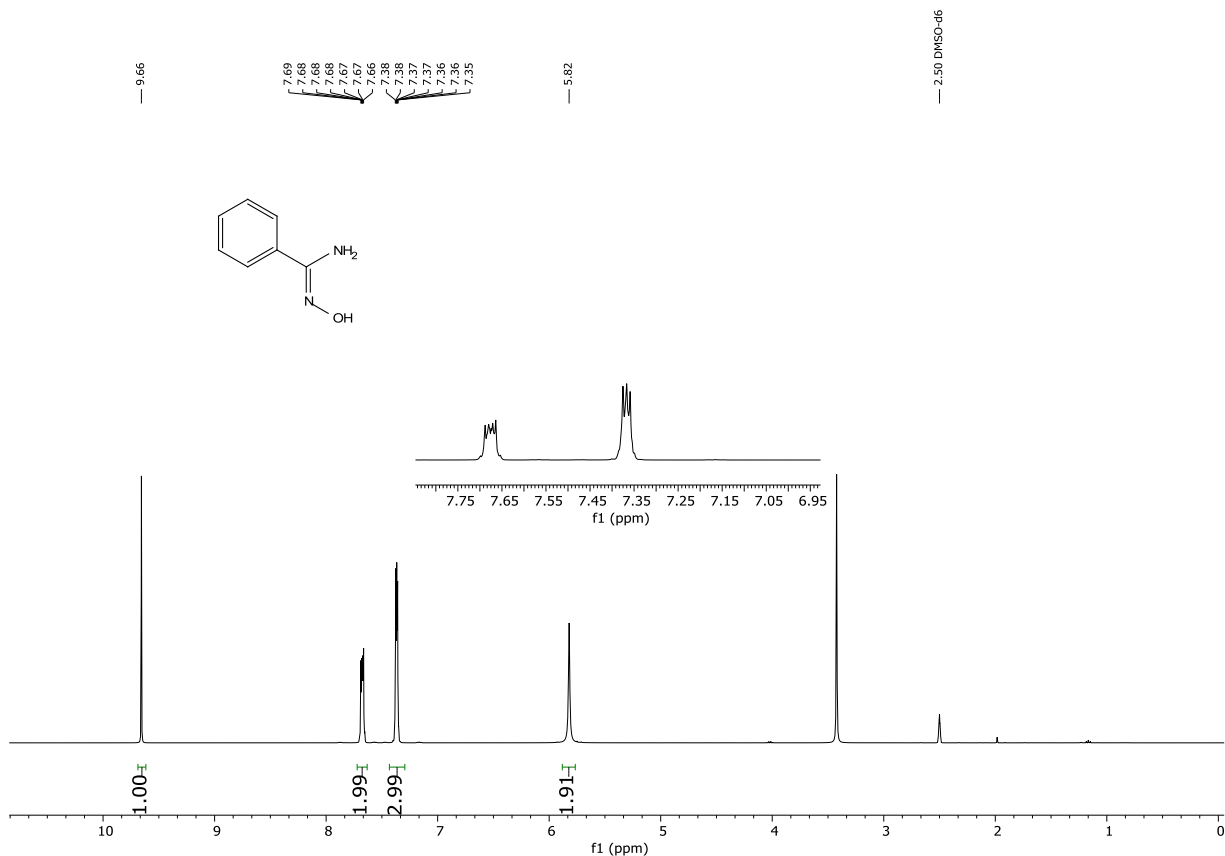


FIGURA A. 7. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do composto **33**.

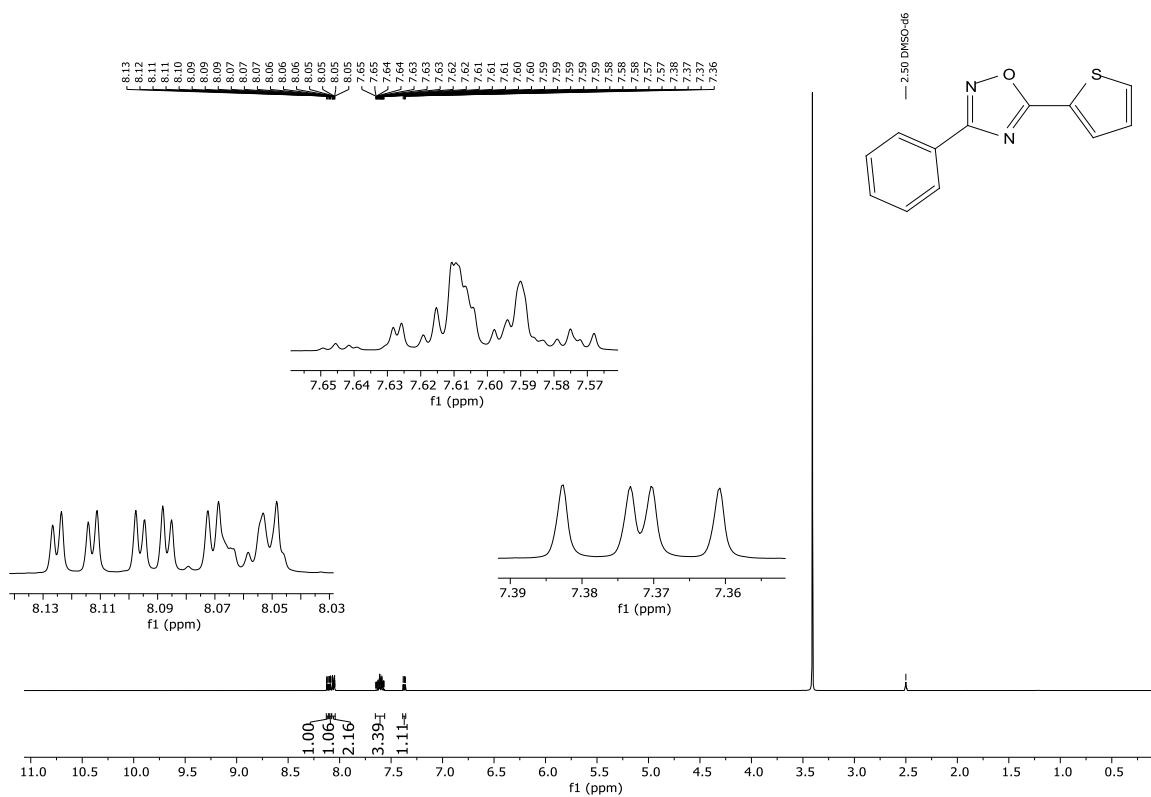


FIGURA A. 8. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do composto **34a (LSPN856)**.

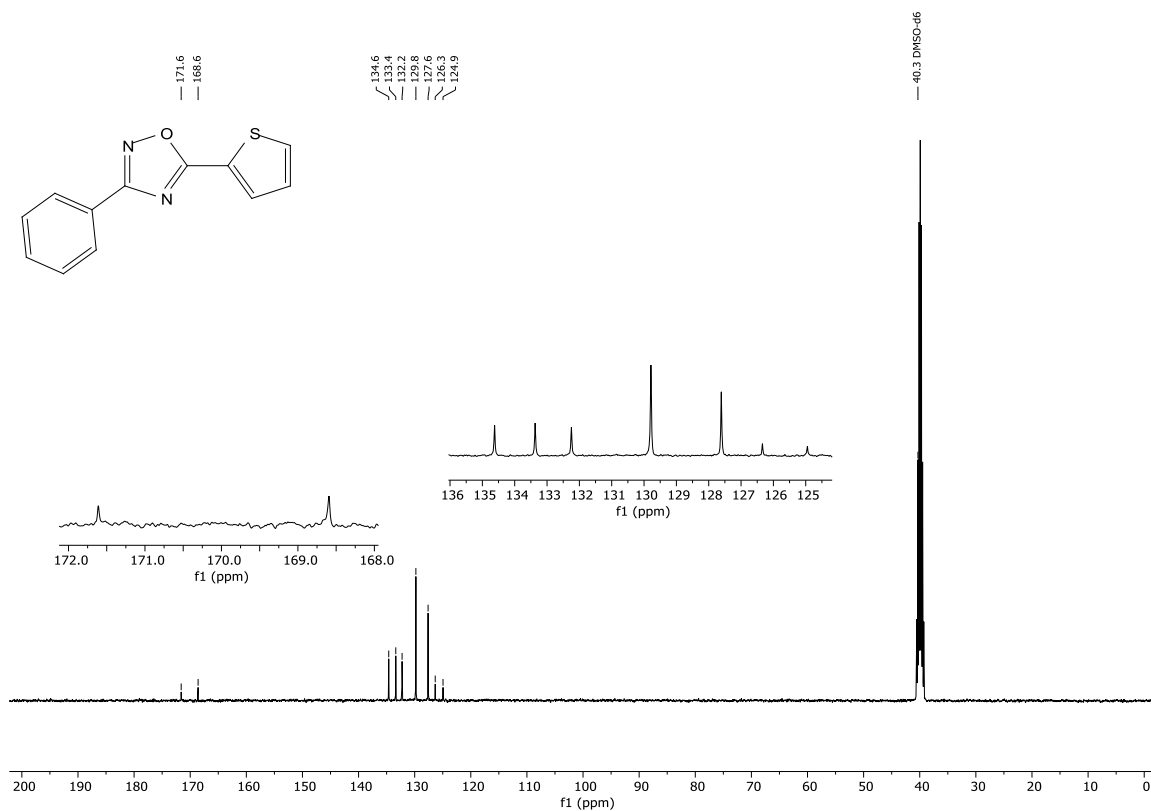


FIGURA A. 9. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **34a** (LSPN856).

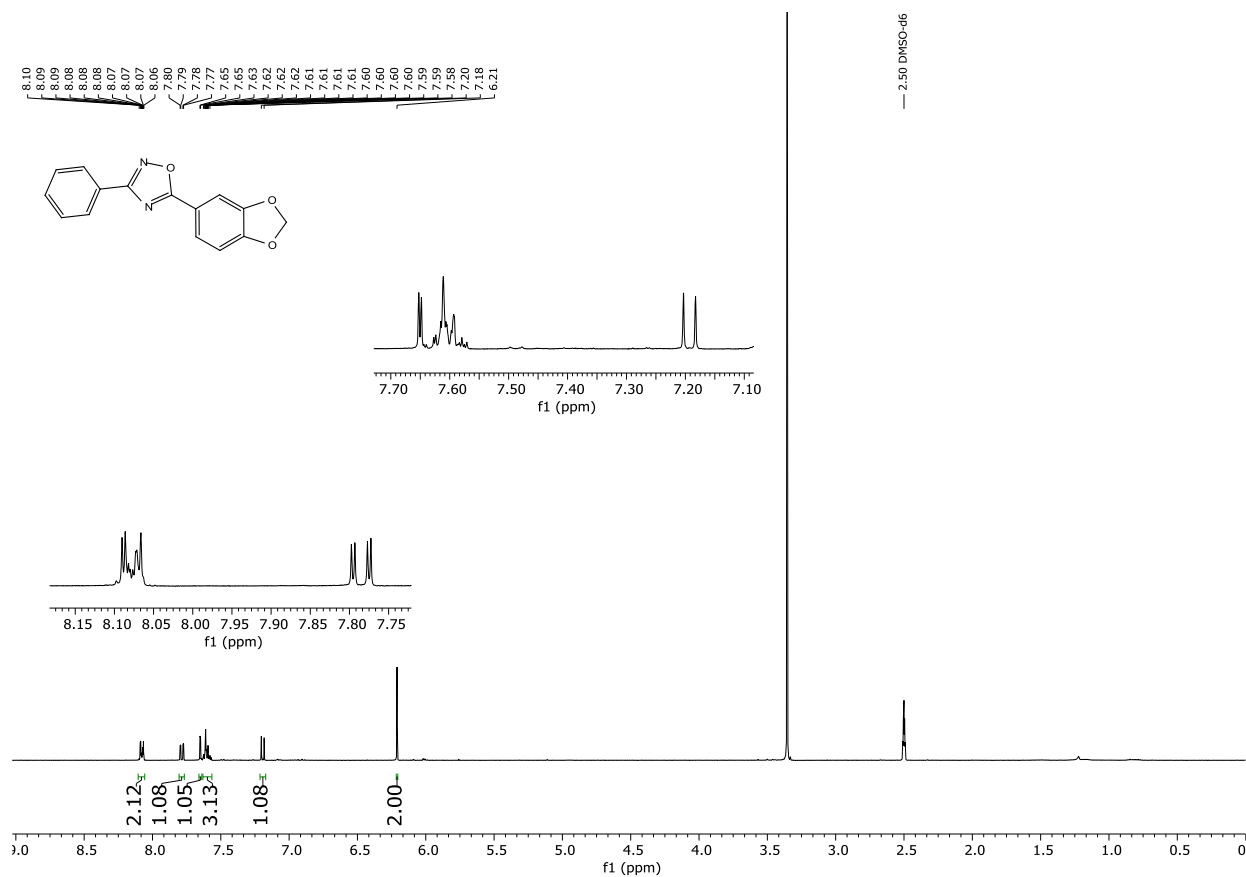


FIGURA A. 10. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **34b** (LSPN838).

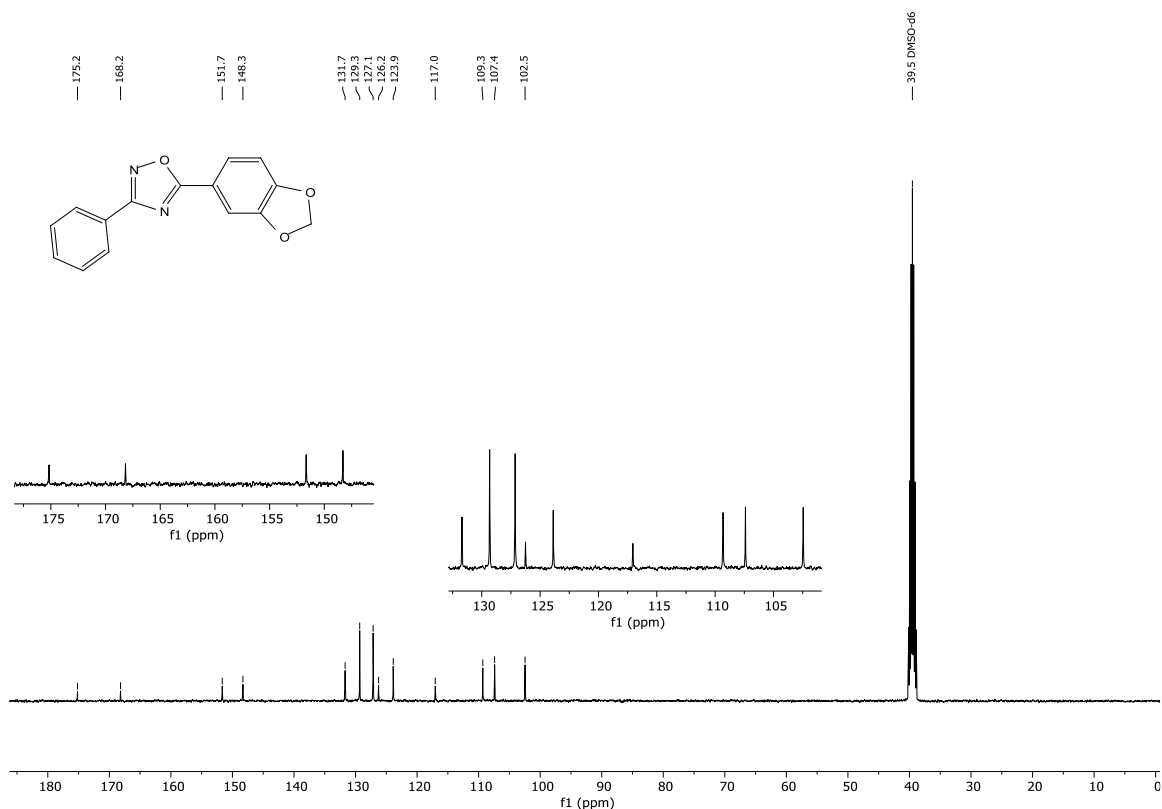


FIGURA A. 11. RMN ^{13}C { ^1H } (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **34b** (LSPN838).

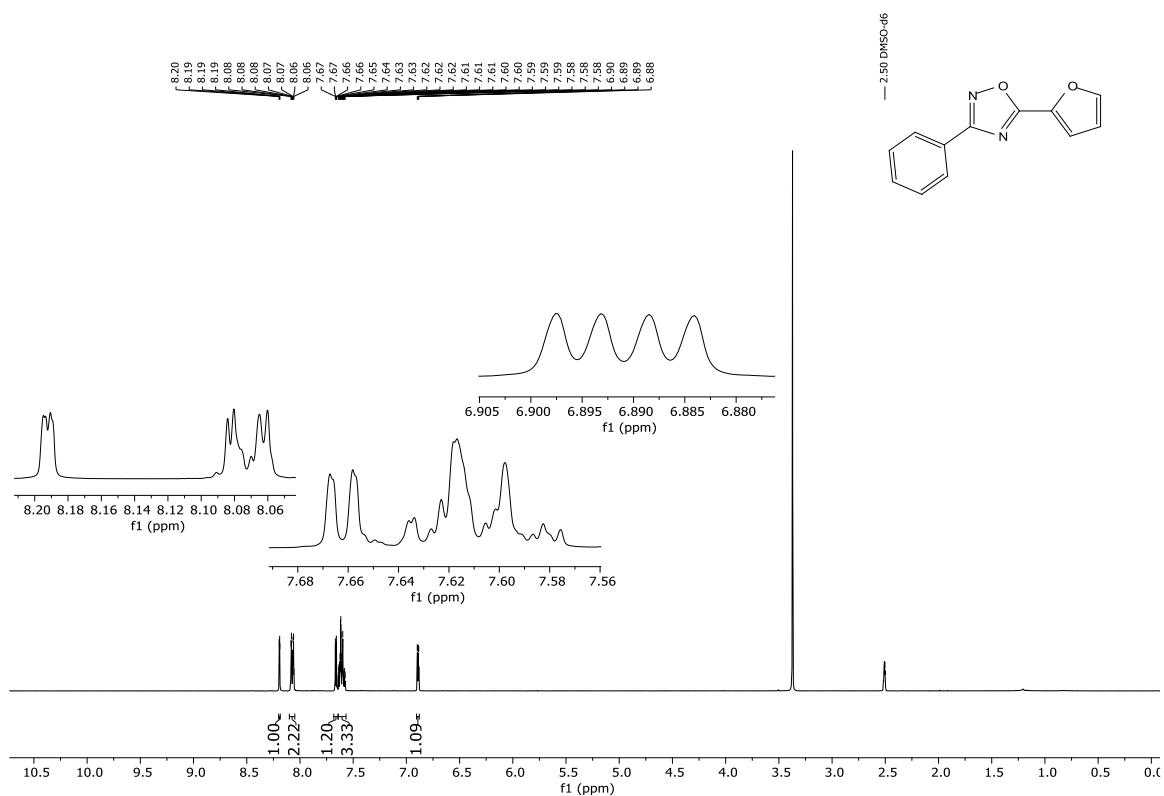


FIGURA A. 12. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **34c** (LSPN839).

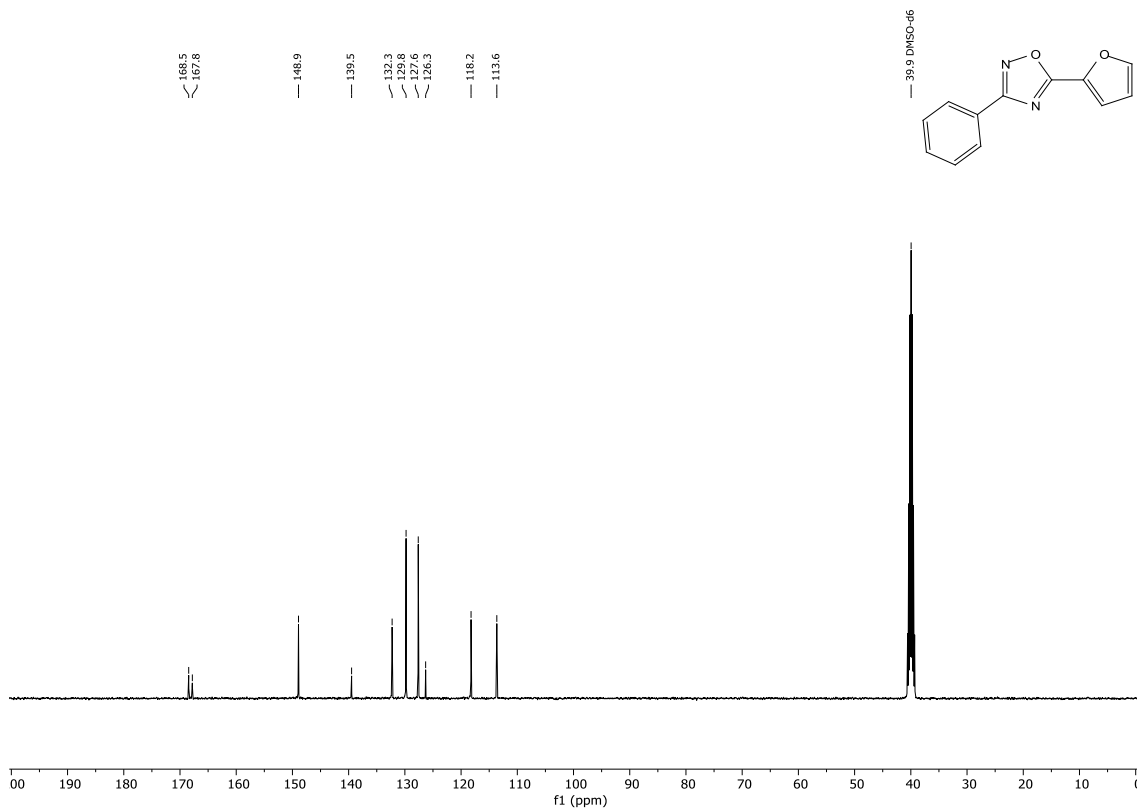


FIGURA A. 13. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **34c** (LSPN839).

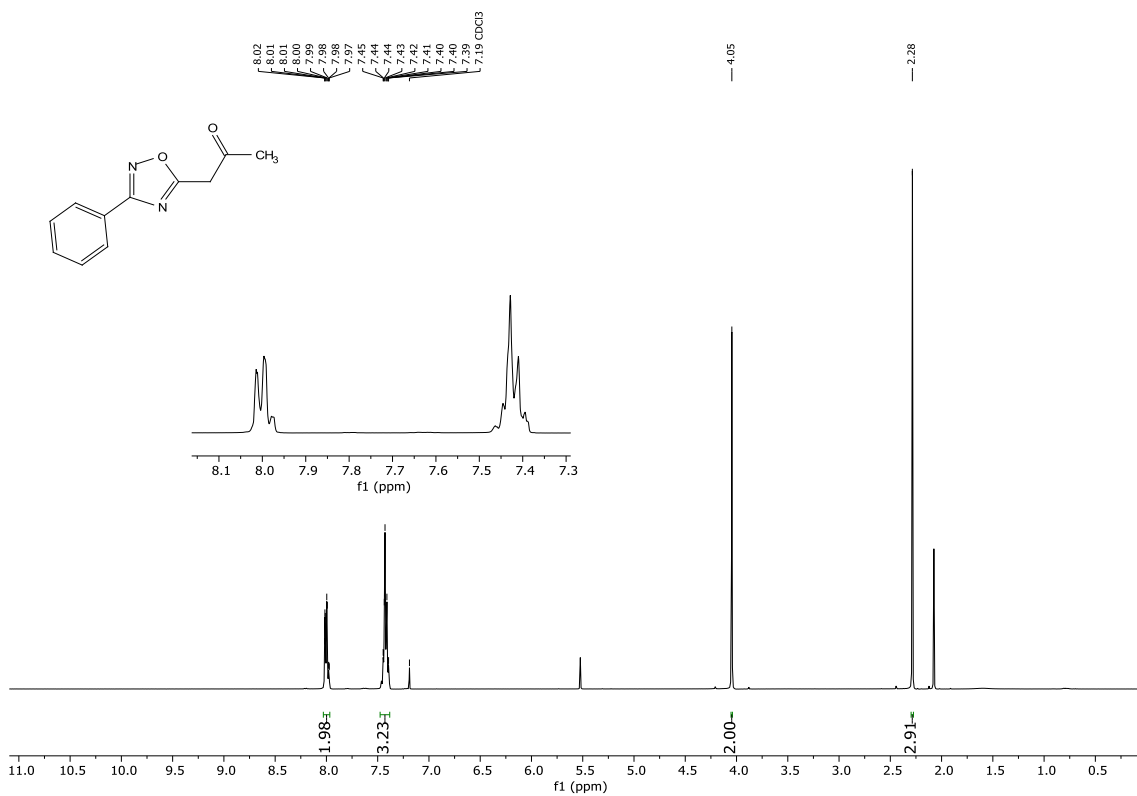


FIGURA A. 14. RMN ^1H (CDCl $_3$, 400 MHz) do composto **35**.

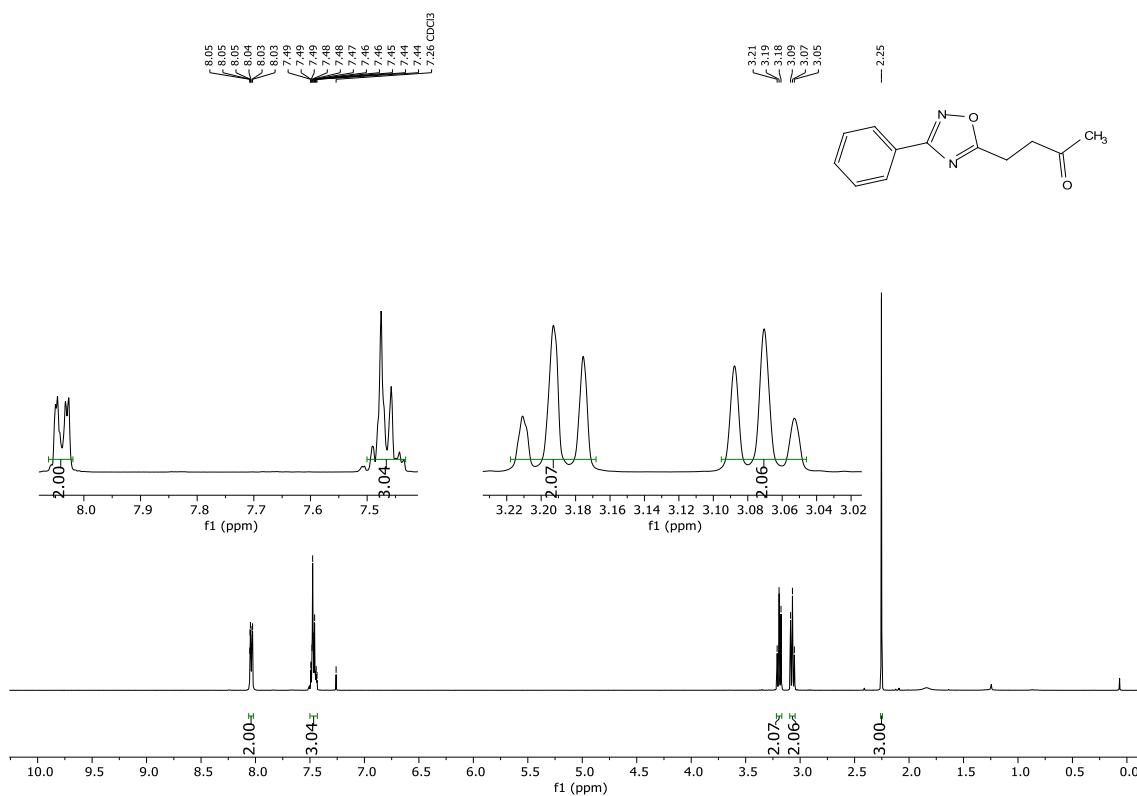


FIGURA A. 15. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 36.

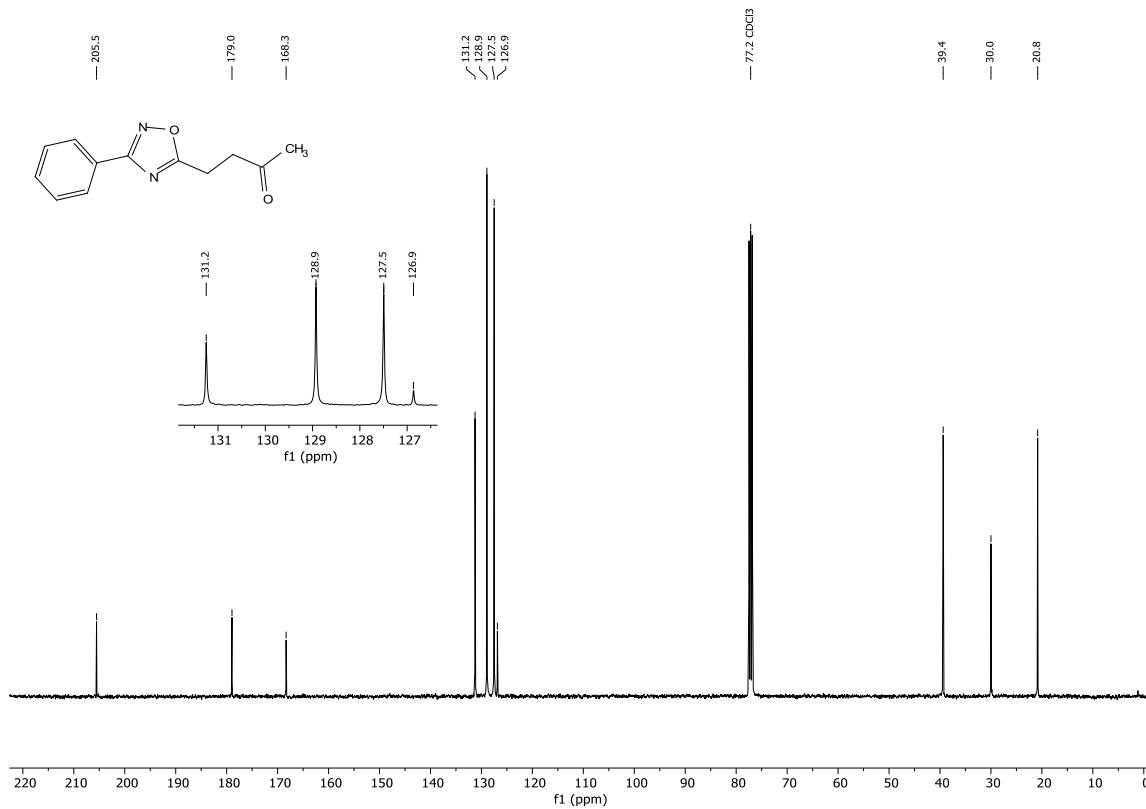


FIGURA A. 16. RMN ¹³C {¹H} (CDCl₃, 101 MHz) do composto 36.

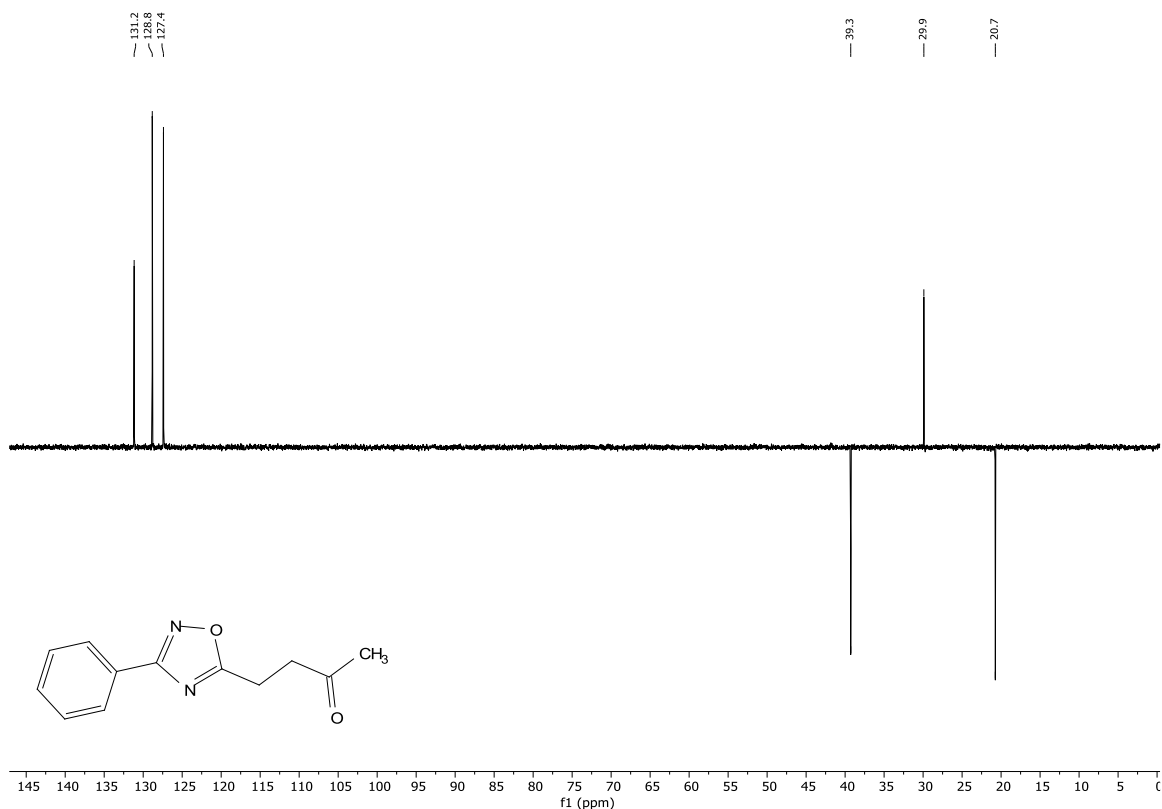


FIGURA A. 17. RMN DEPT135 ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 101 MHz) do composto **36**.

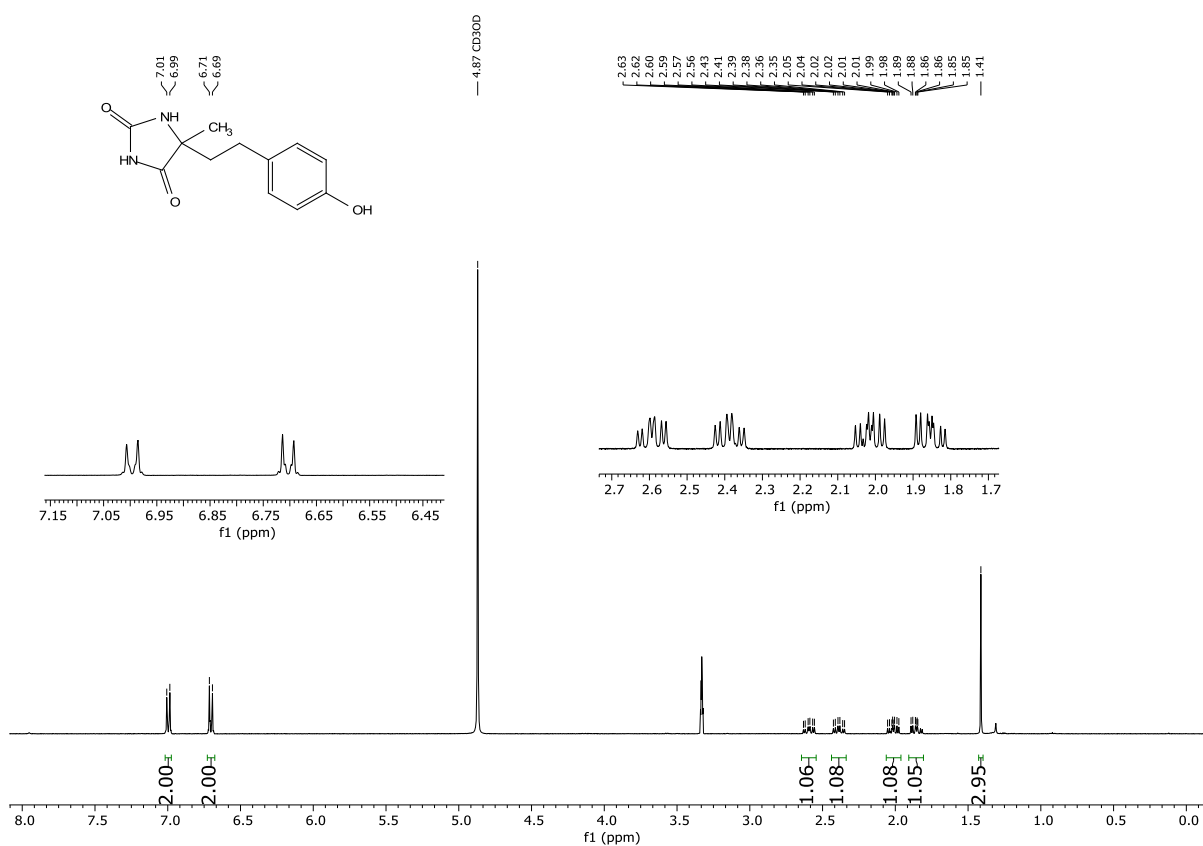


FIGURA A. 18. RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) do composto **5 (LSPN548)**.

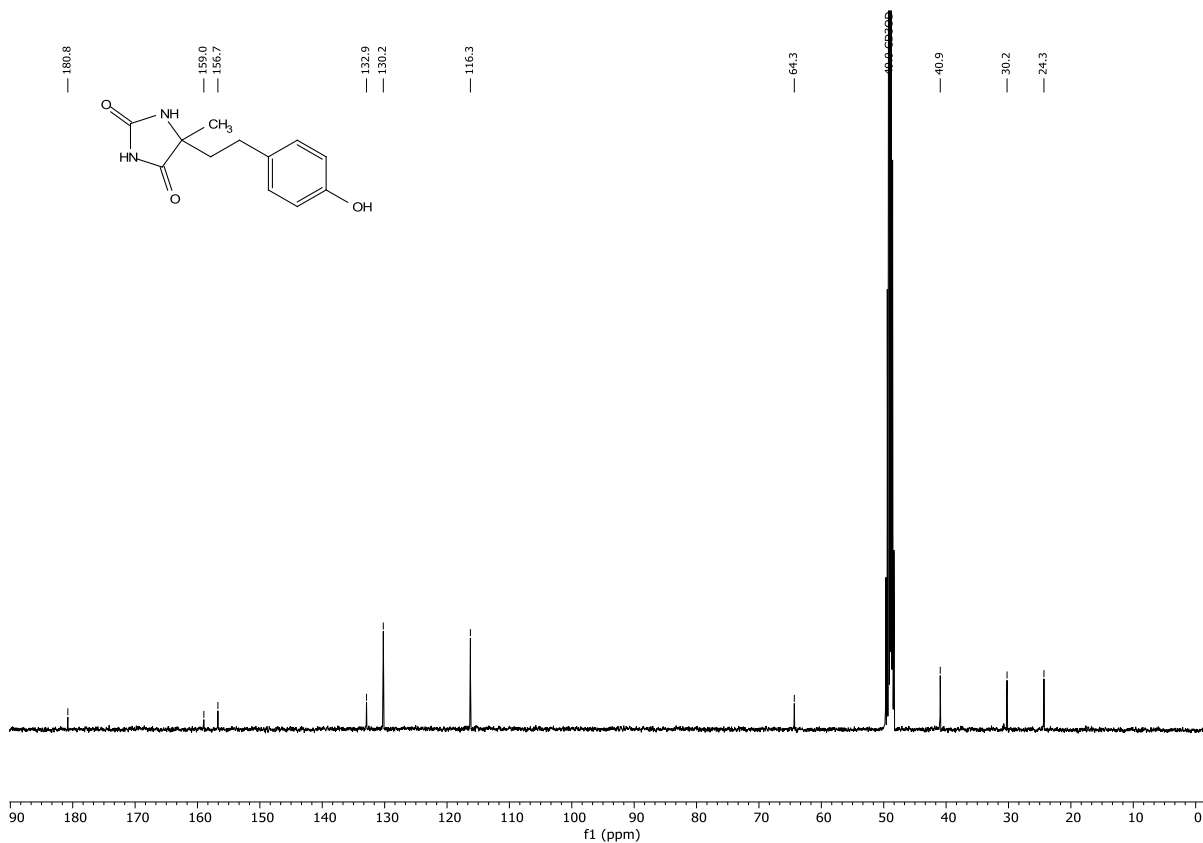


FIGURA A. 19. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (MeOD, 101 MHz) do composto **5** (LSPN548).

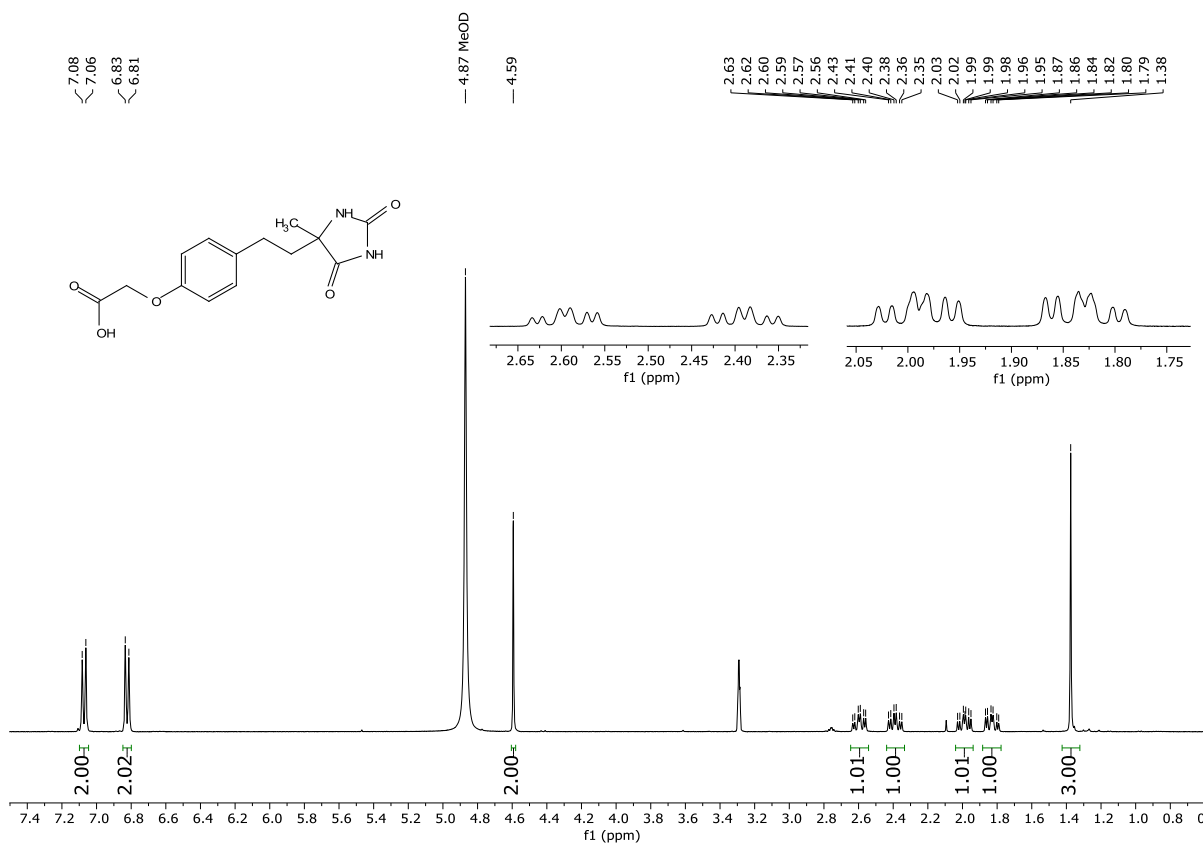


FIGURA A. 20. RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) do composto **7** (LSPN852).

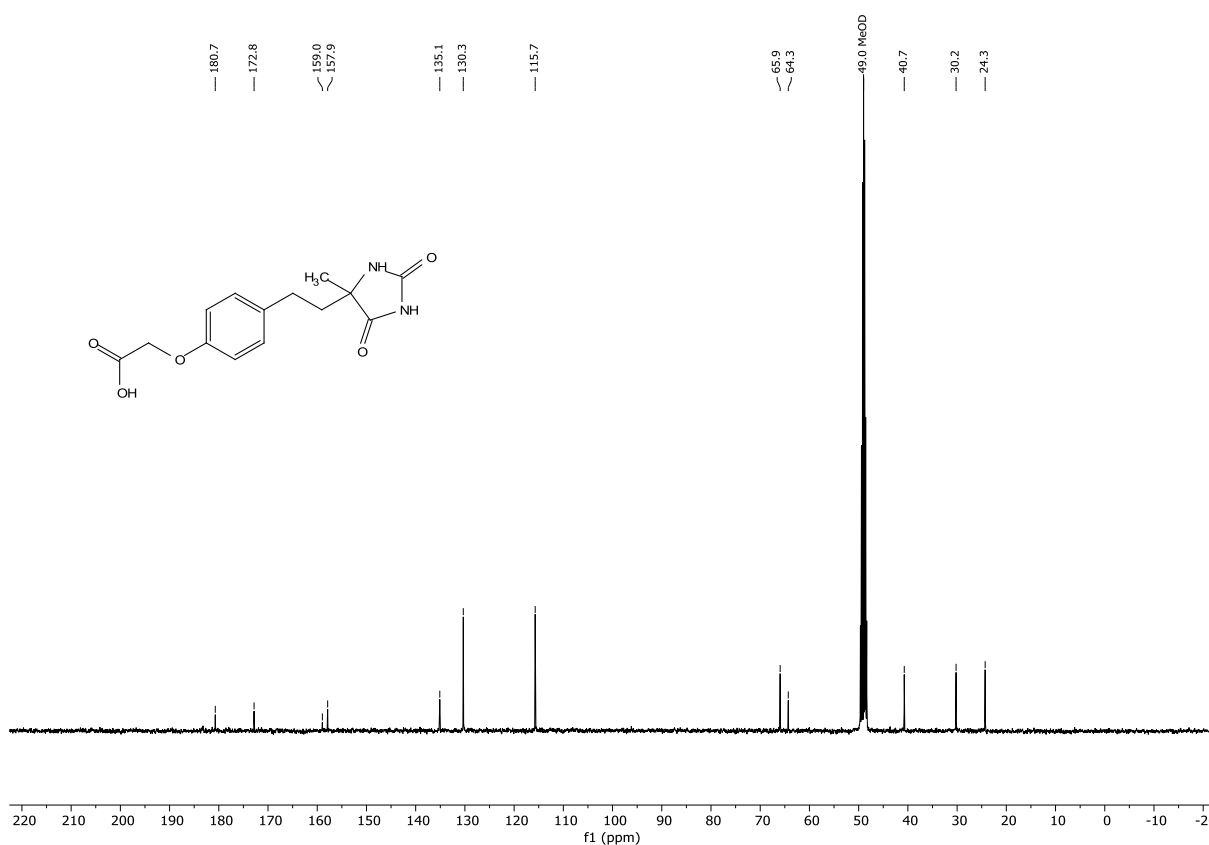


FIGURA A. 21. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (MeOD, 101 MHz) do composto **7** (LSPN852).

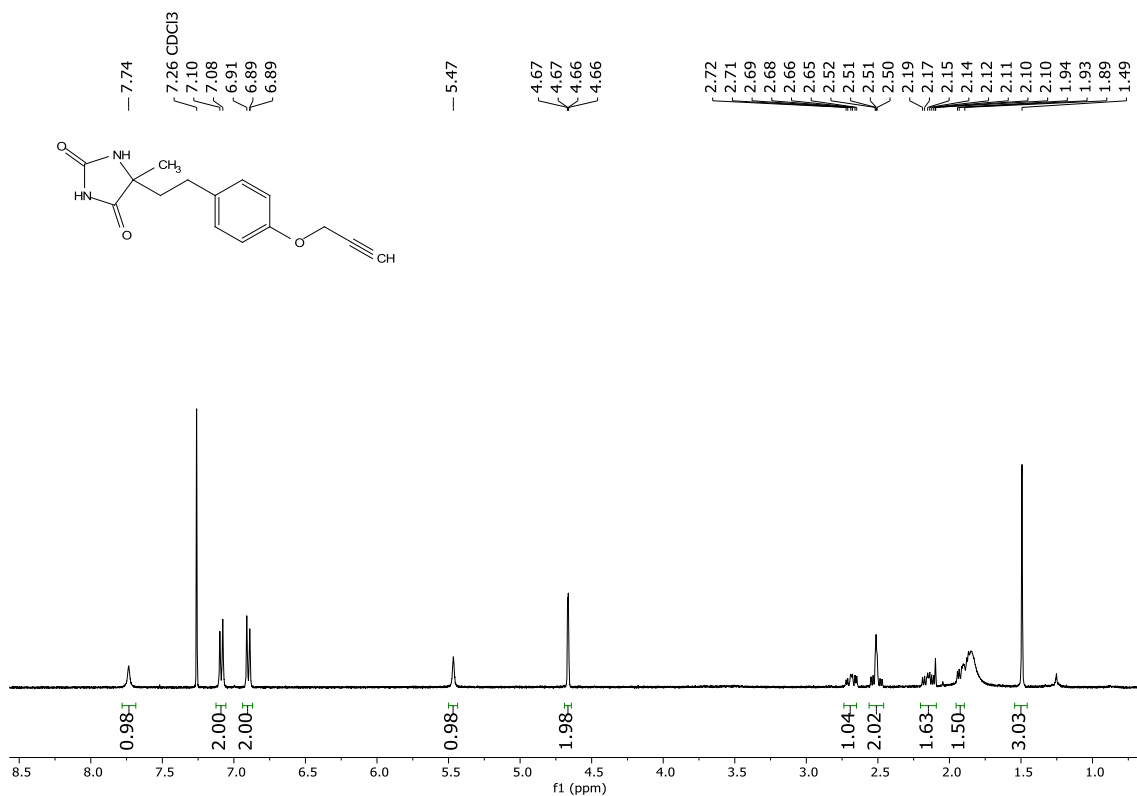


FIGURA A. 22. RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **9**.

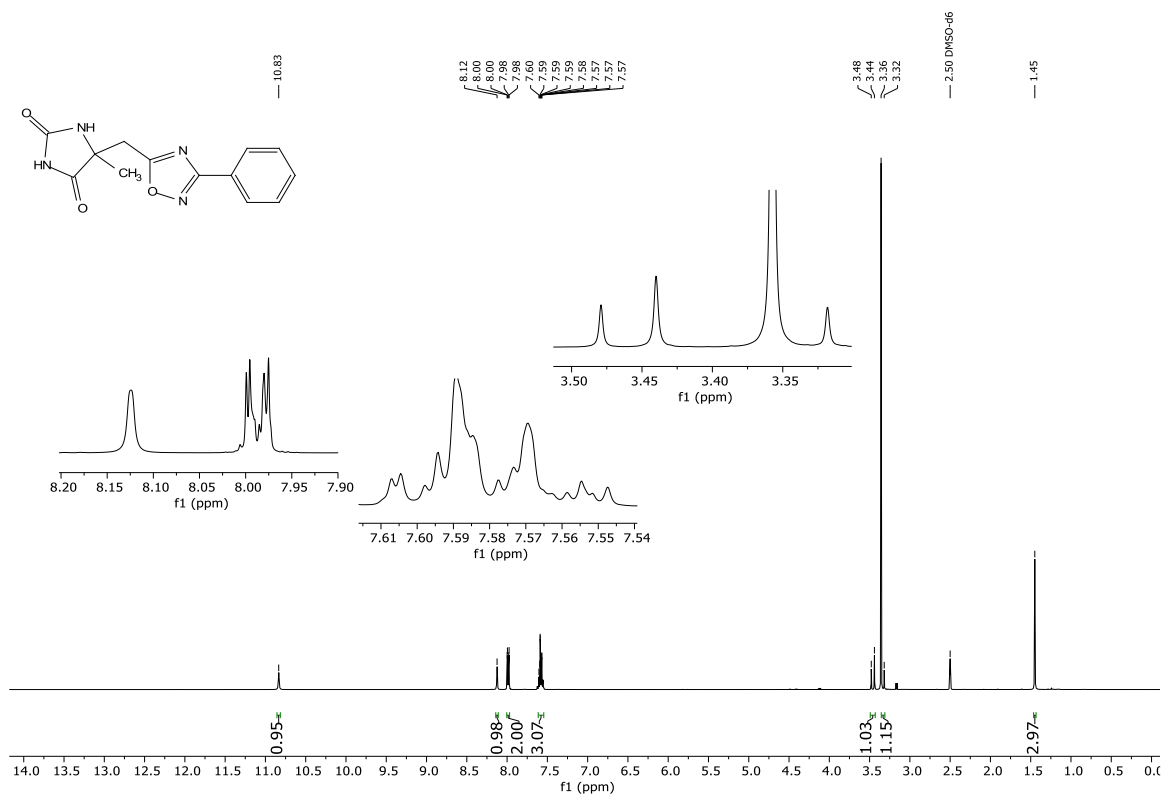


FIGURA A. 23. RMN ¹³C {¹H} (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do composto **37** (LSPN960).

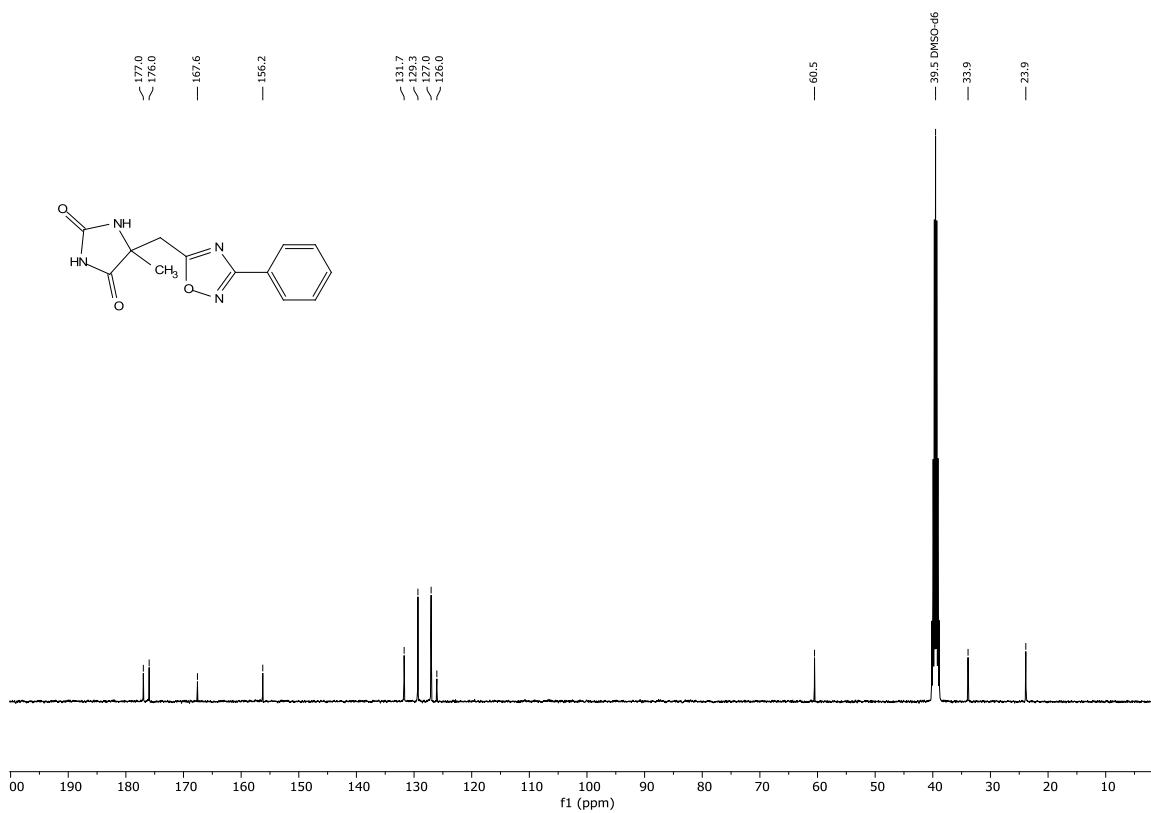


FIGURA A. 24. RMN ¹³C {¹H} (DMSO-*d*₆, 101 MHz) do composto **37** (LSPN960).

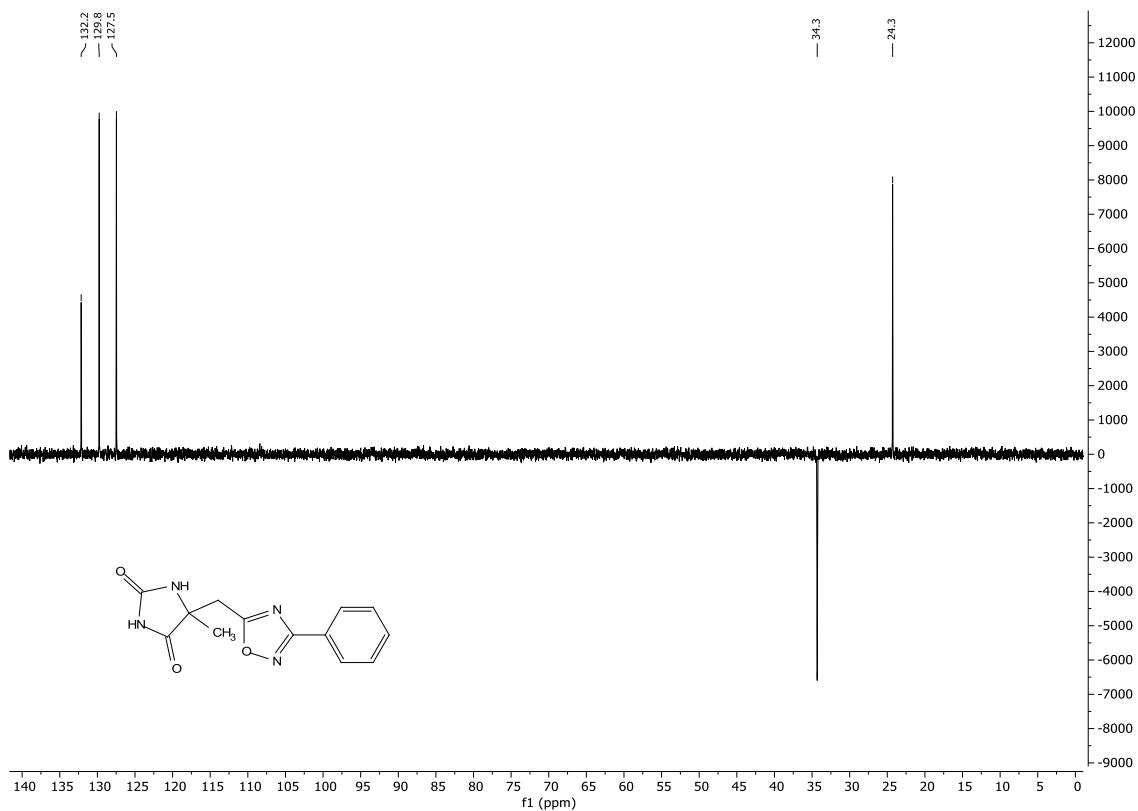


FIGURA A. 25. RMN DEPT135 ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **37** (LSPN960).

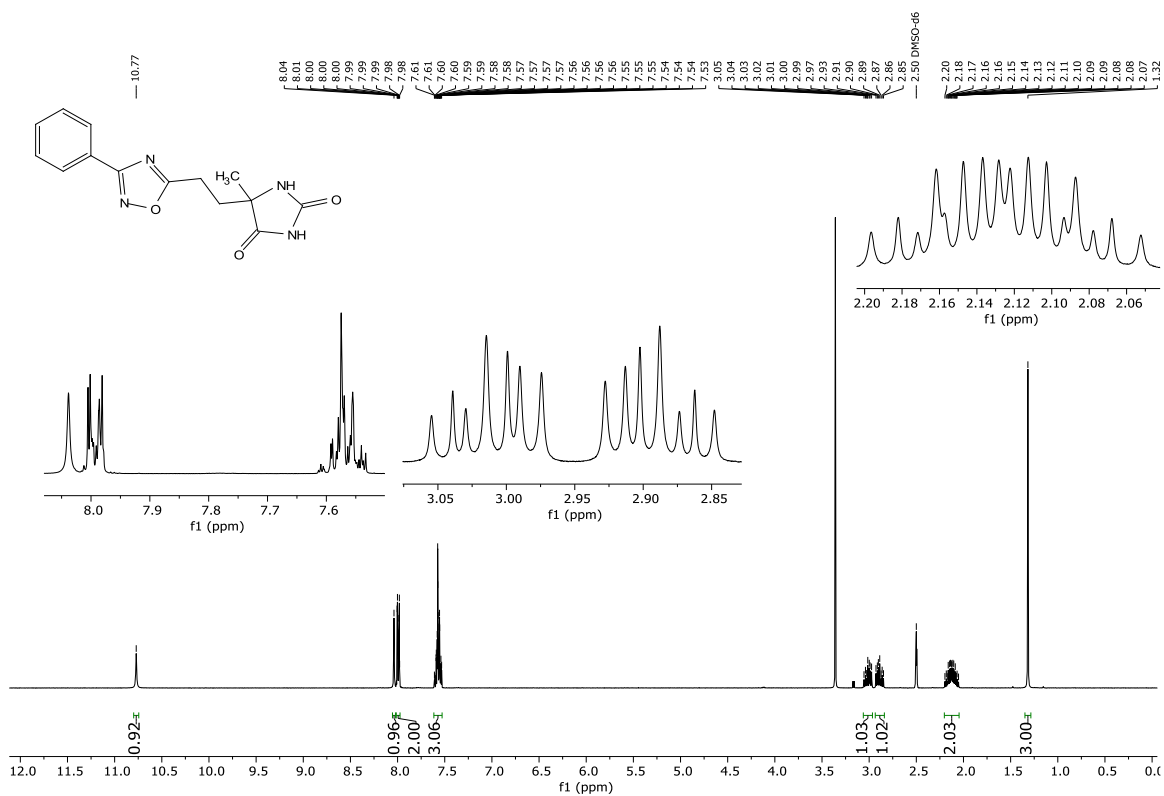


FIGURA A. 26. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **38** (LSPN962).

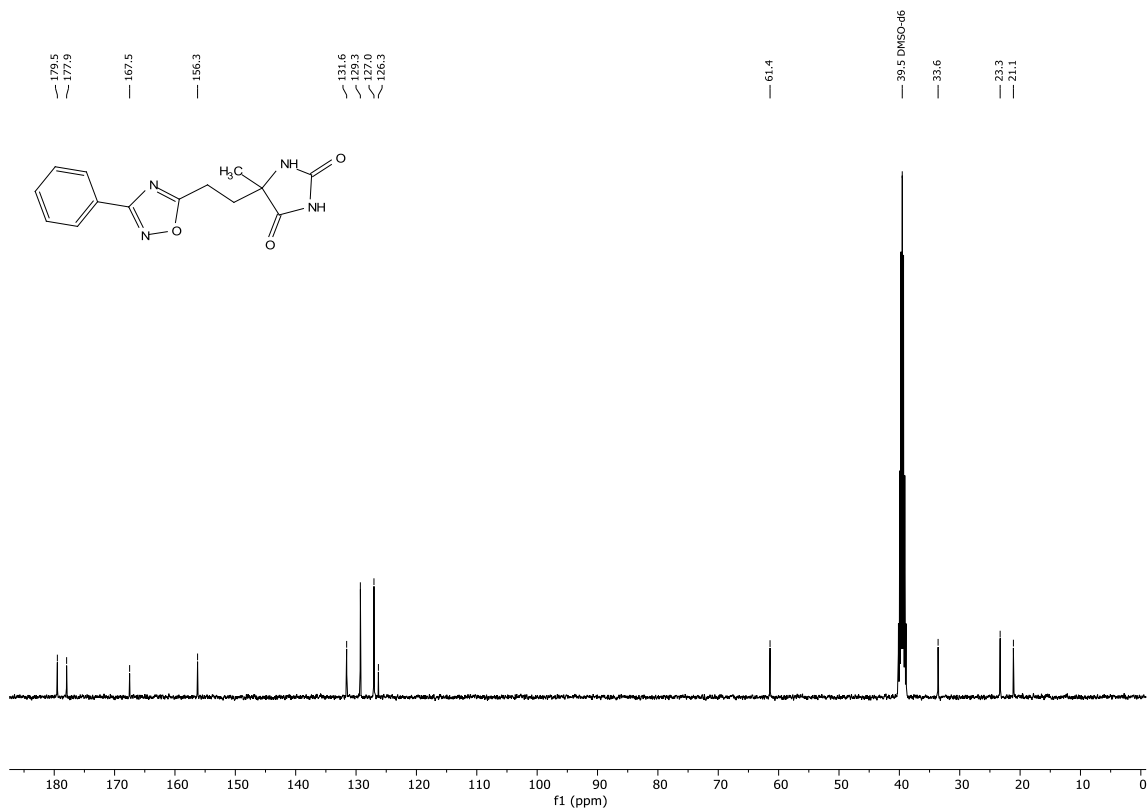


FIGURA A. 27. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **38** (LSPN962).

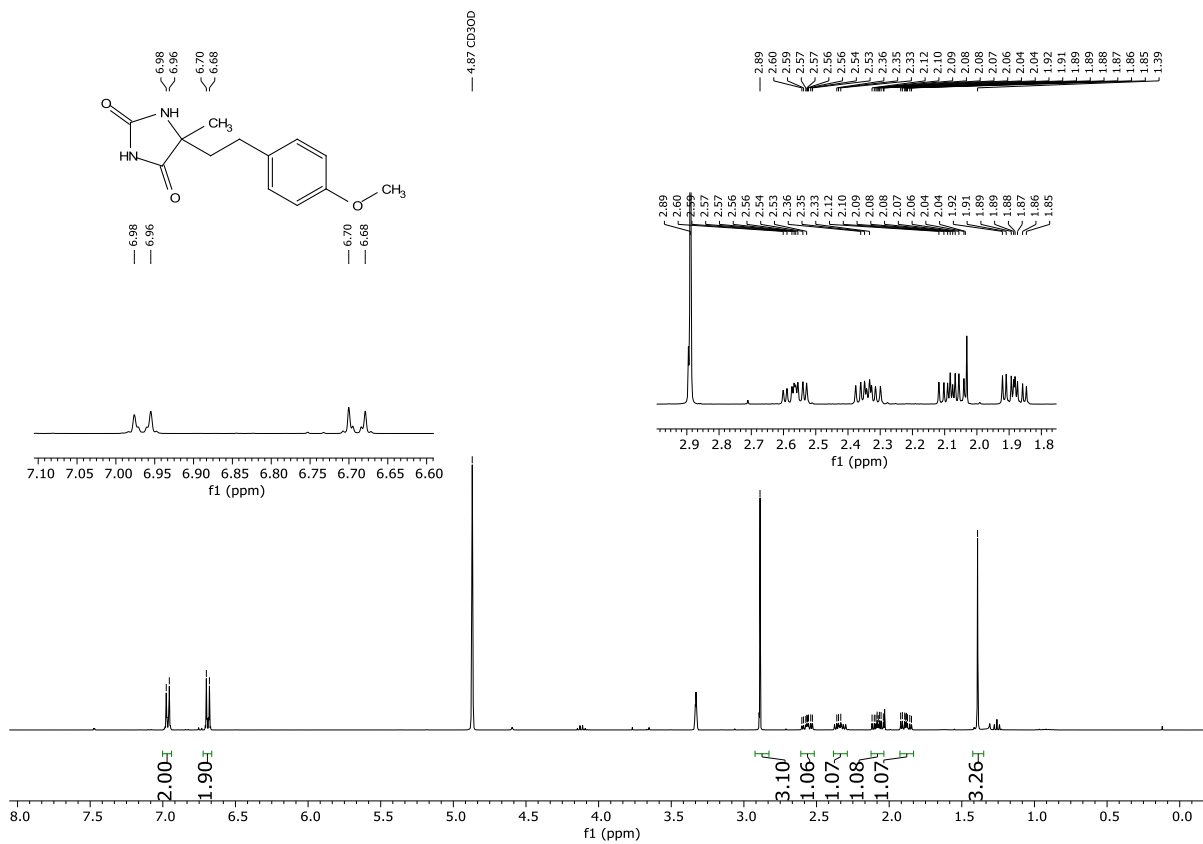


FIGURA A. 28. RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) do composto **1** (LSPN547).

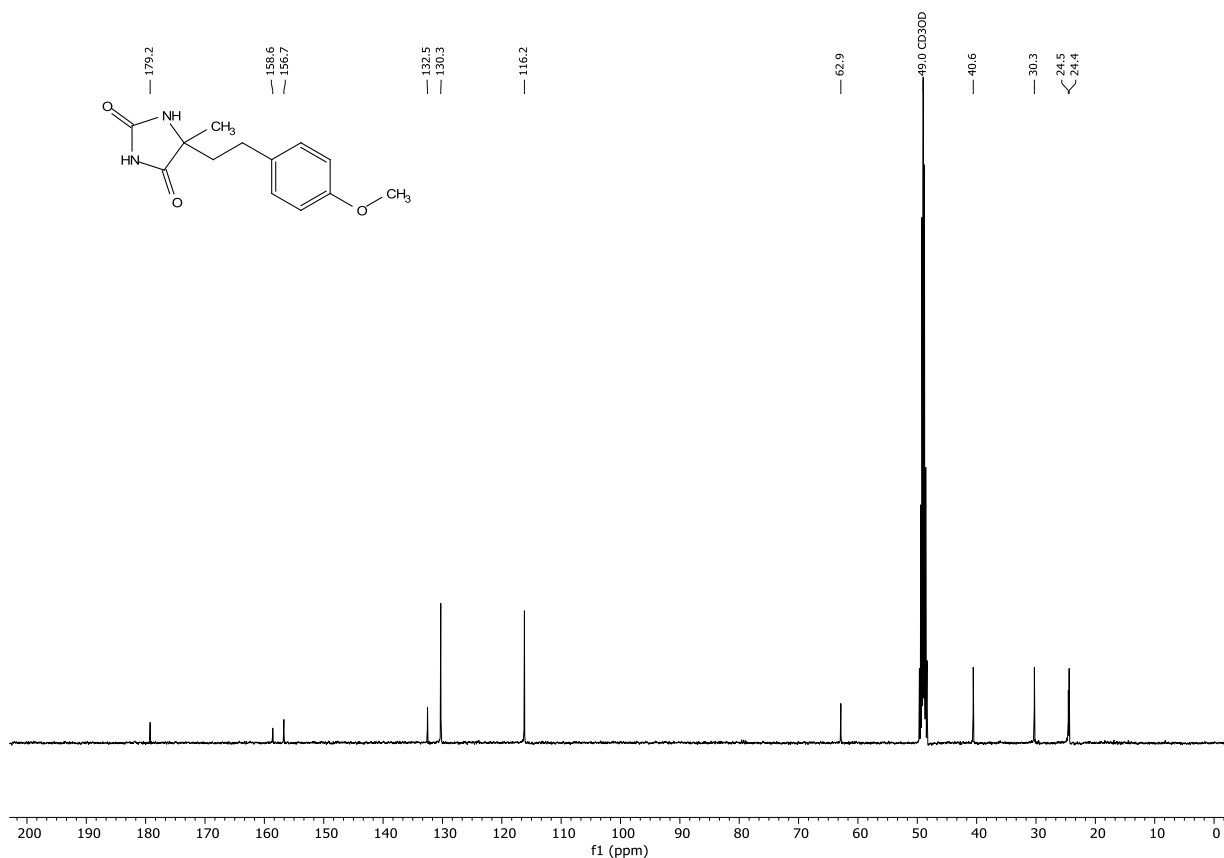


FIGURA A. 29. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (MeOD, 101 MHz) do composto 1 (LSPN547).

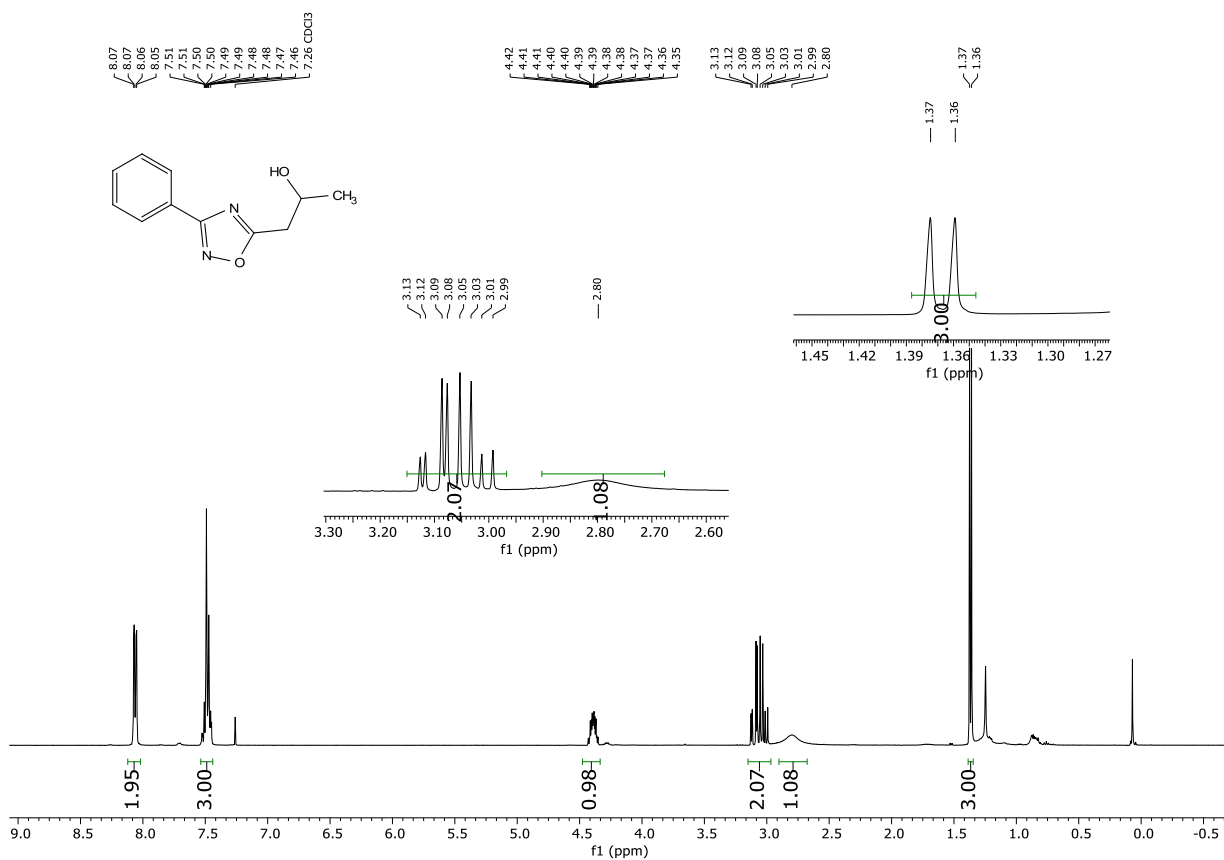


FIGURA A. 30. RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 39.

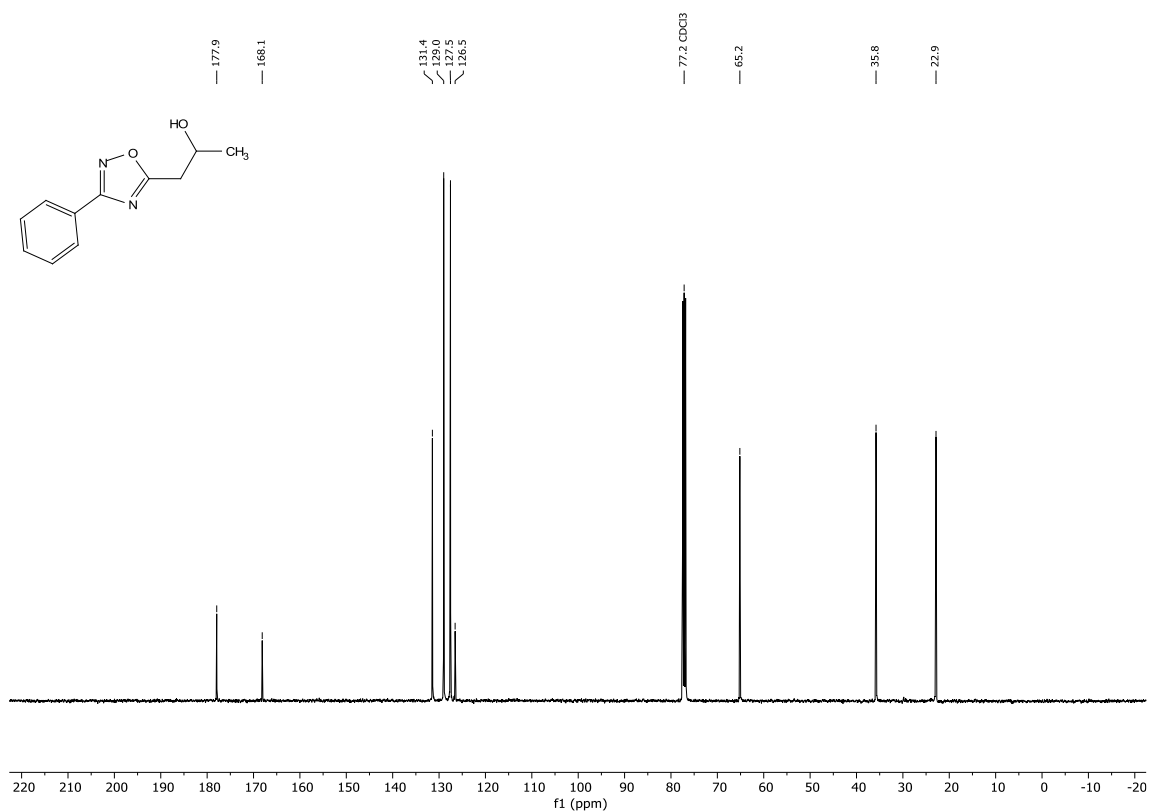


FIGURA A. 31. RMN ¹³C {¹H} (CDCl₃, 101 MHz) do composto **39**.

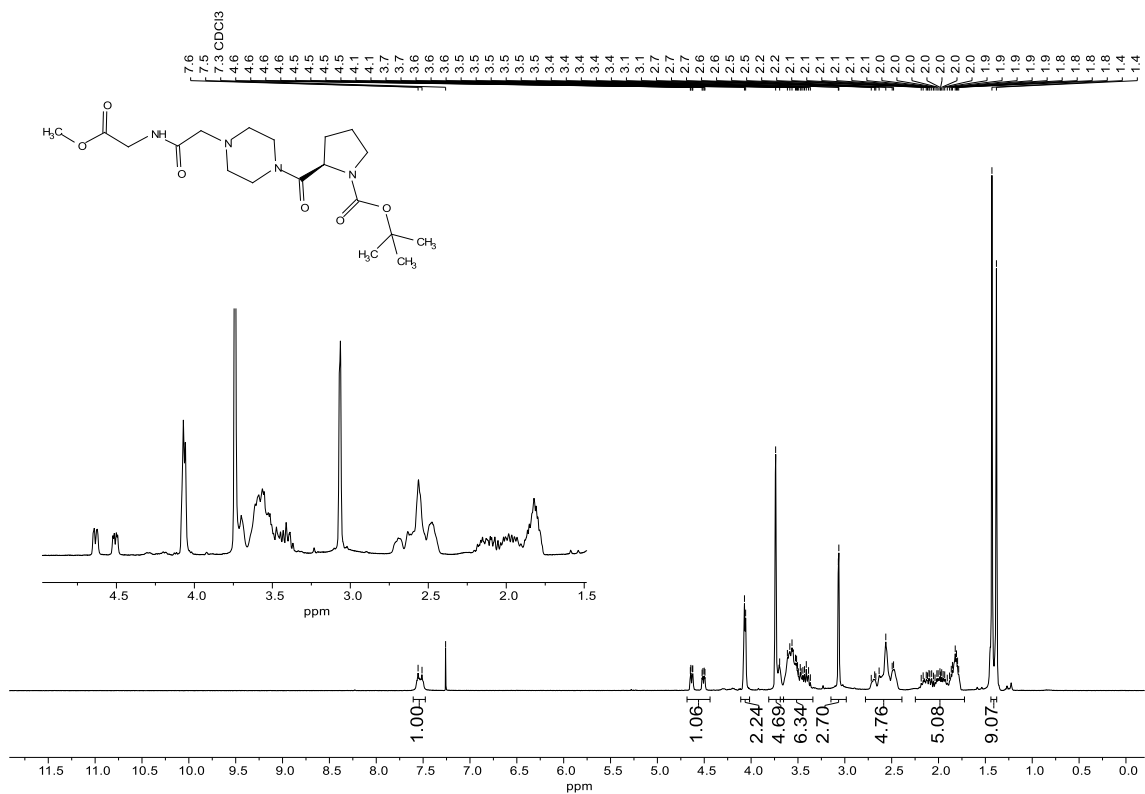


FIGURA A. 32. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **12 (LSPN841)**.

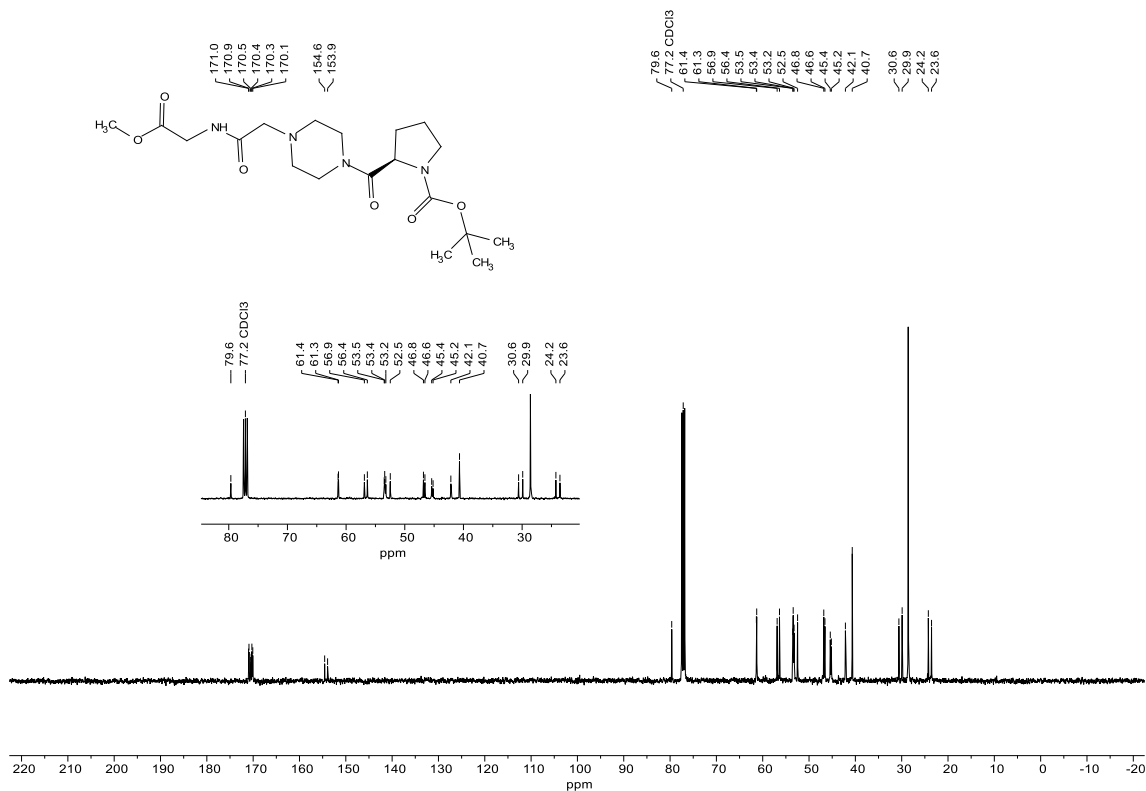


FIGURA A. 33. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl₃, 101 MHz) do composto 12 (LSPN841).

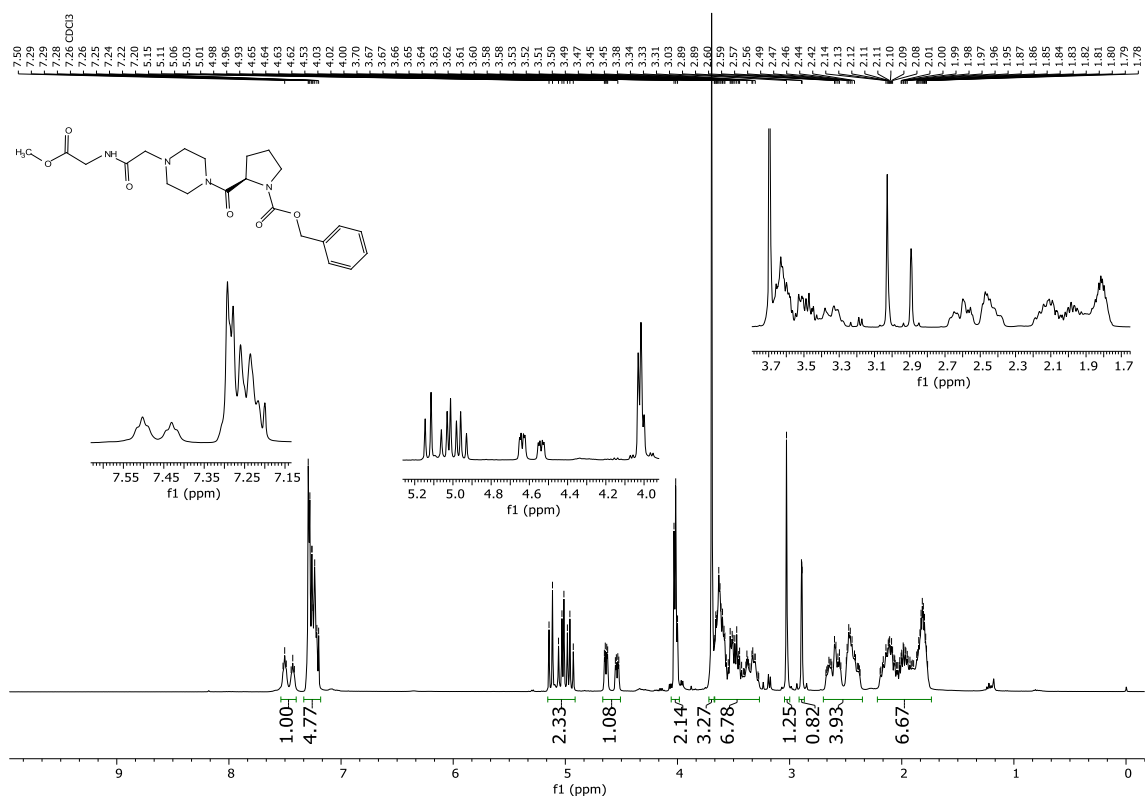


FIGURA A. 34. RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 13 (LSPN842).

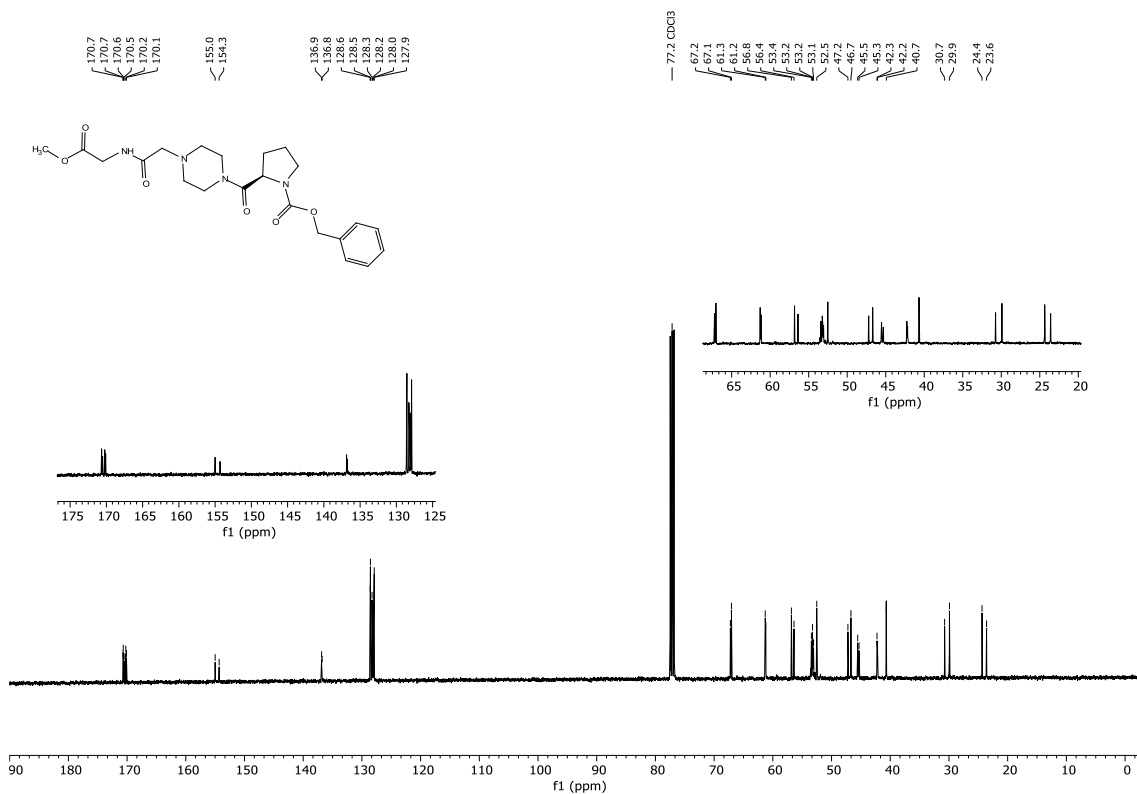


FIGURA A. 35. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl₃, 101 MHz) do composto **13** (LSPN842).

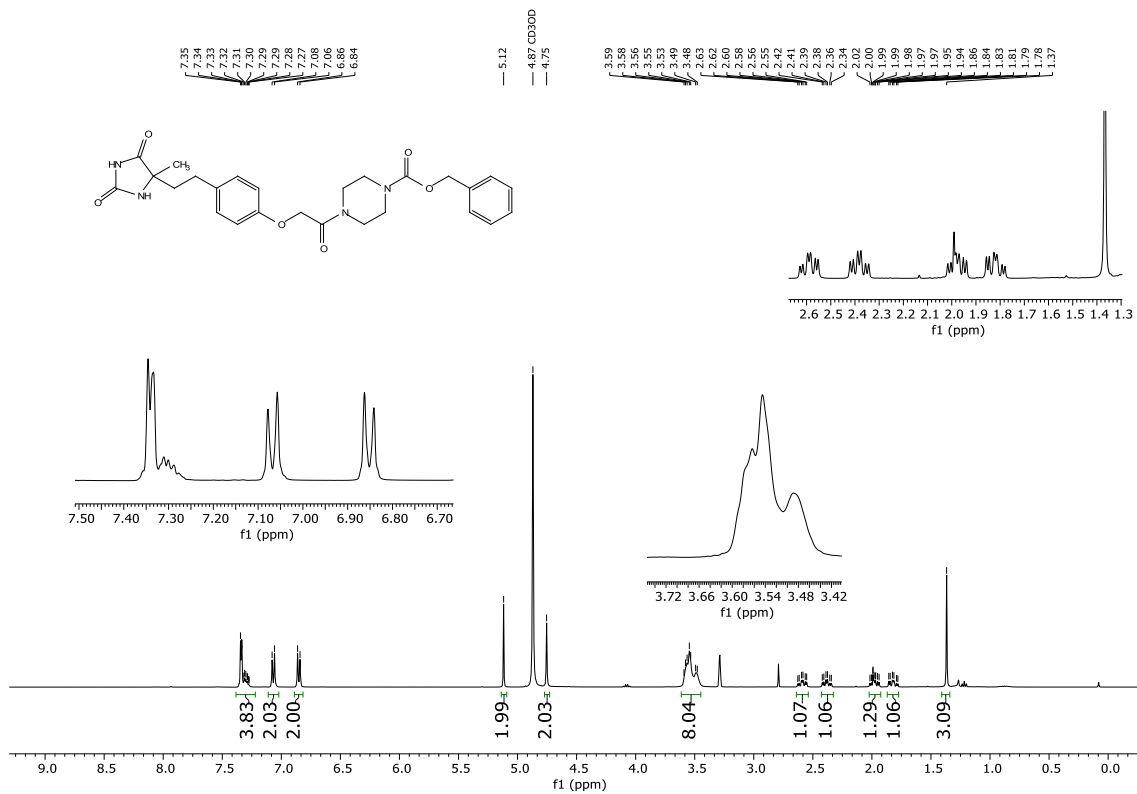


FIGURA A. 36. RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) do composto **22a** (LSPN840).

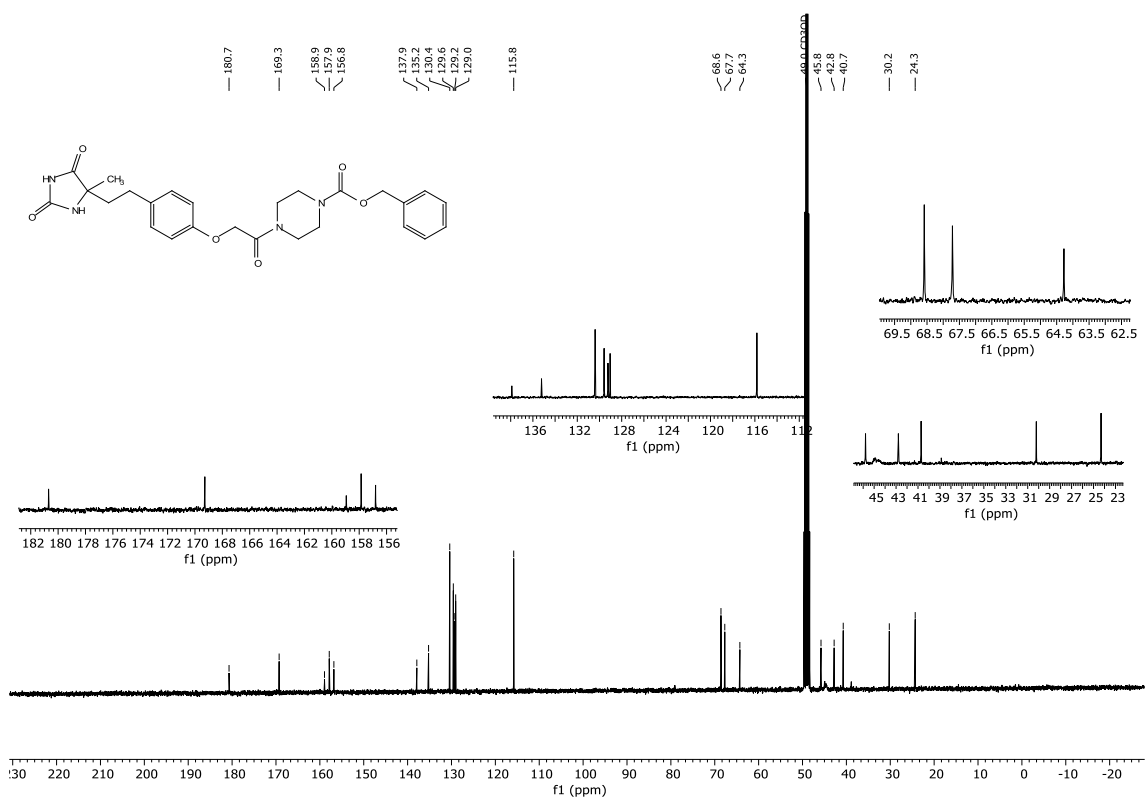


FIGURA A. 37. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (MeOD, 101 MHz) do composto **22a** (LSPN840).

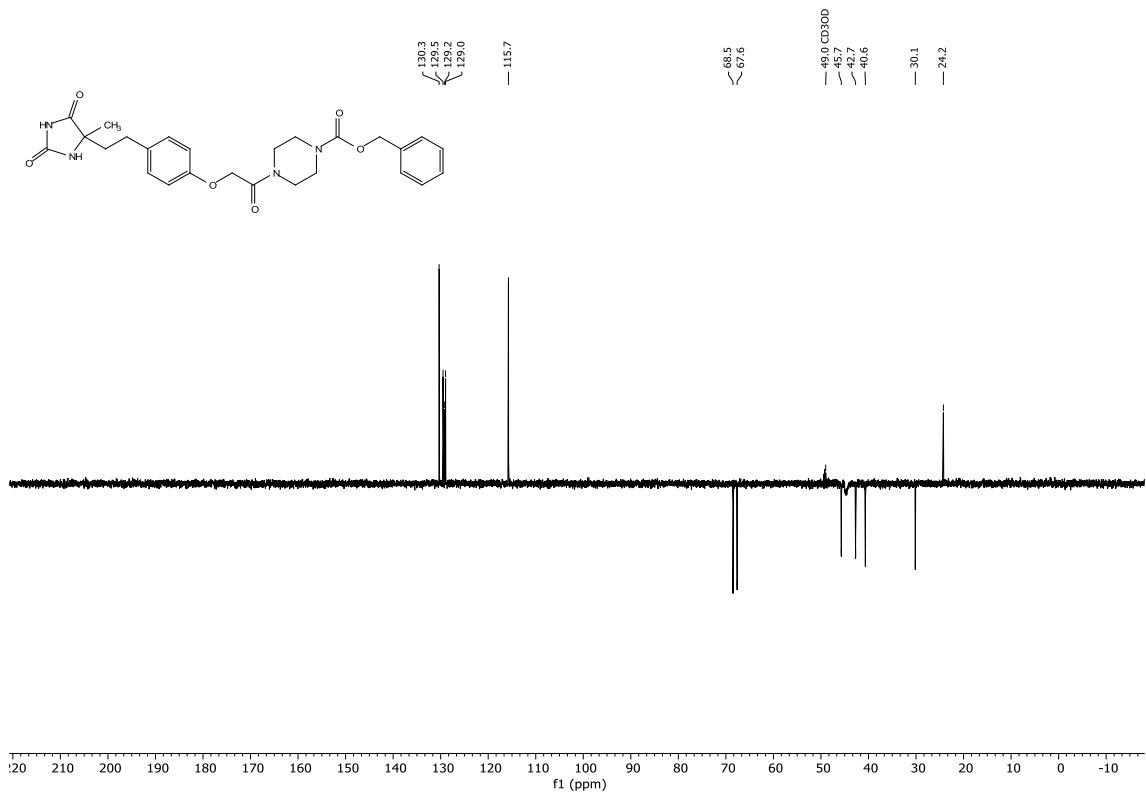


FIGURA A. 38. RMN DEPT135 ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (MeOD, 101 MHz) do composto **22a** (LSPN840).

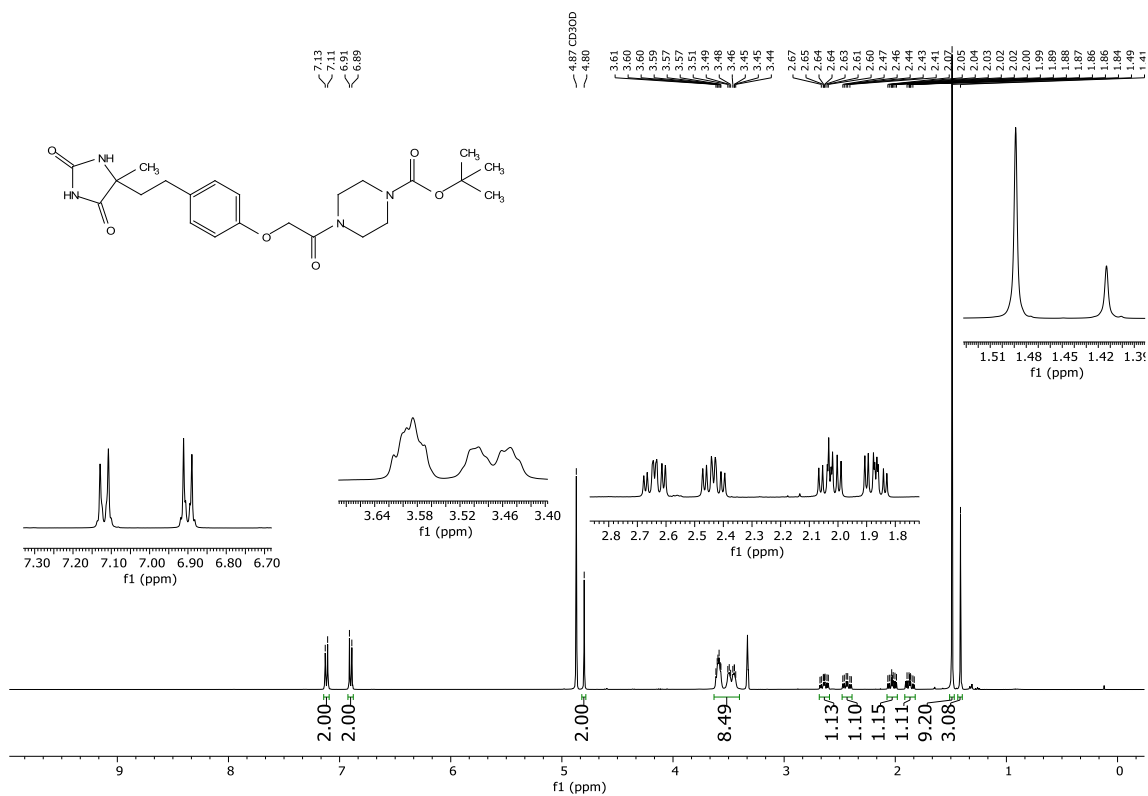


FIGURA A. 39. RMN ¹H (MeOD, 400 MHz) do composto **22b** (LSPN843).

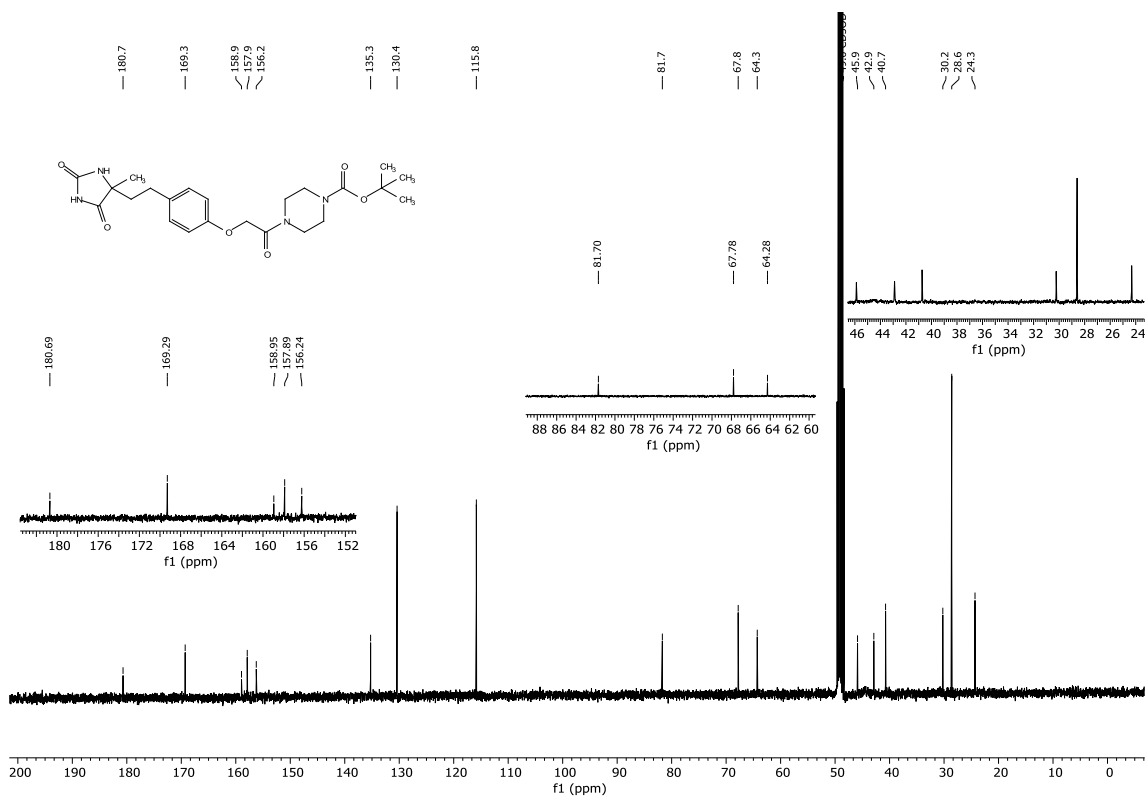


FIGURA A. 40. RMN ¹³C {¹H} (MeOD, 101 MHz) do composto **22b** (LSPN843).

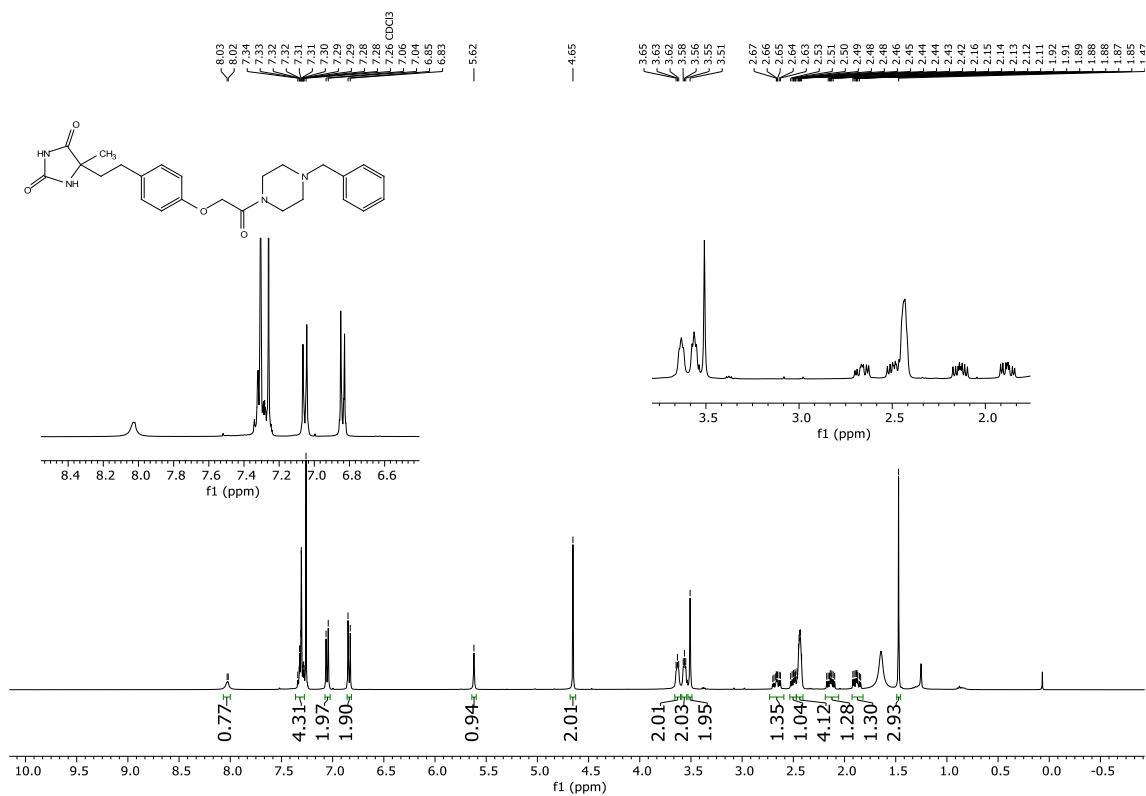


FIGURA A. 41. RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **22c** (LSPN844).

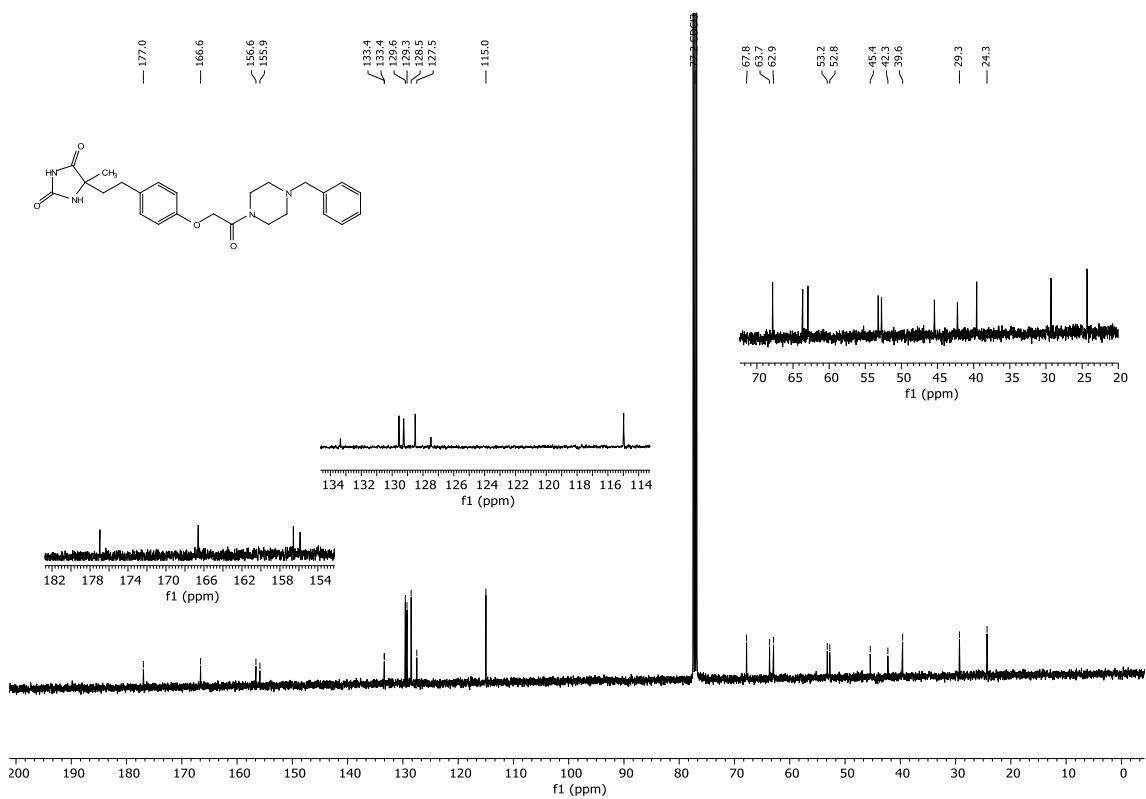


FIGURA A. 42. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl₃, 101 MHz) do composto **22c** (LSPN844).

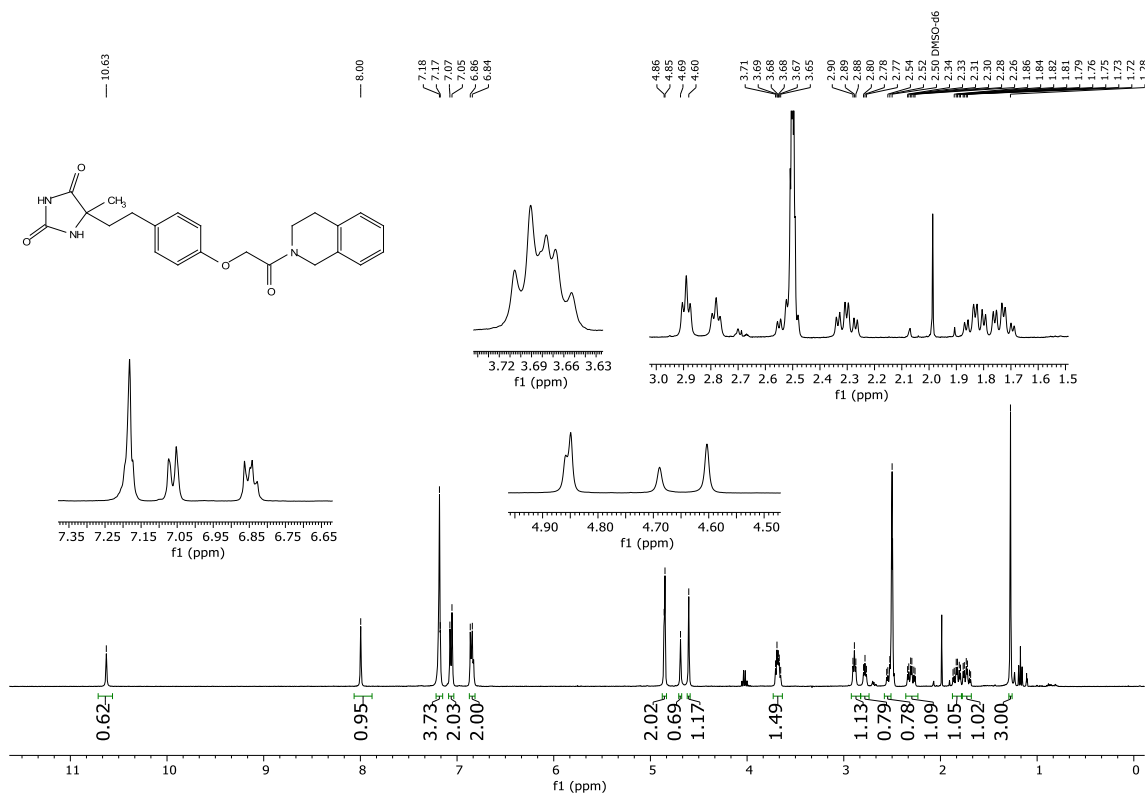


FIGURA A. 43. RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do composto 22d (LSPN850).

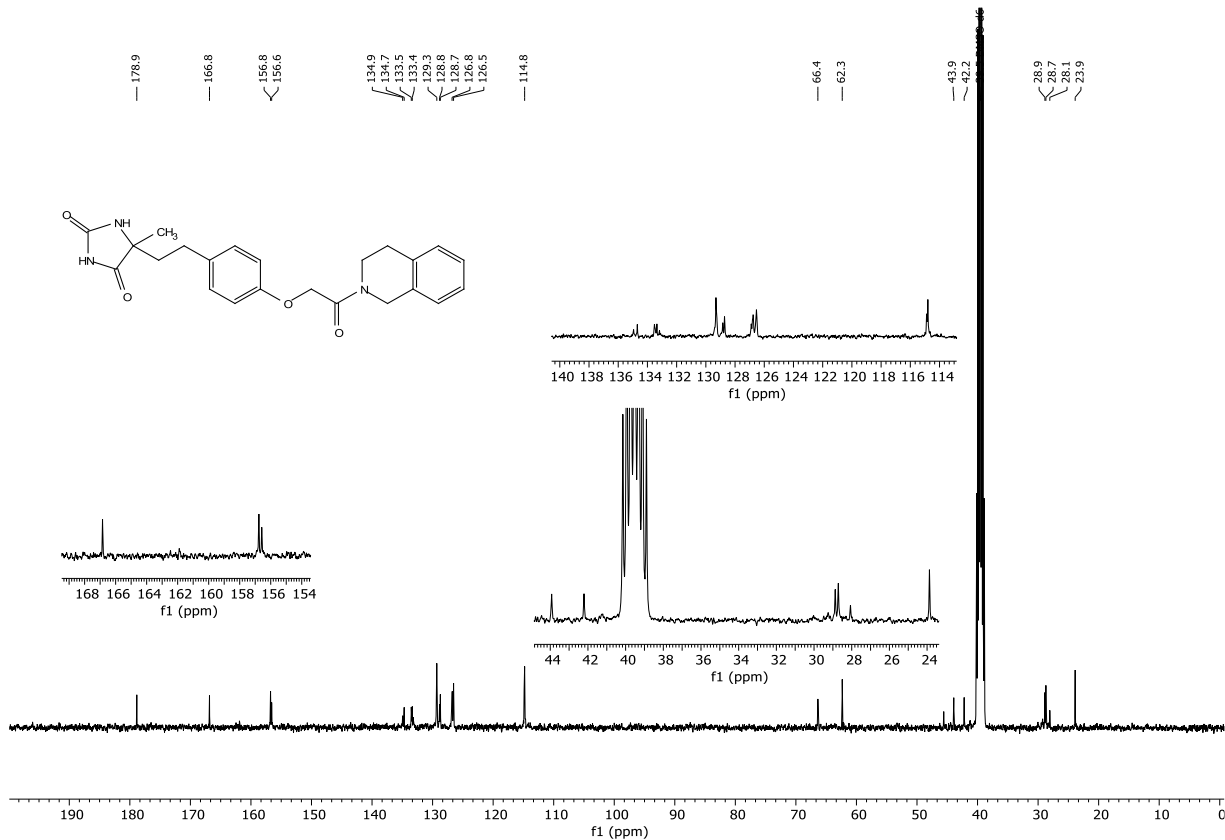


FIGURA A. 44. RMN ¹³C {¹H} (DMSO-d₆, 101 MHz) do composto 22d (LSPN850).

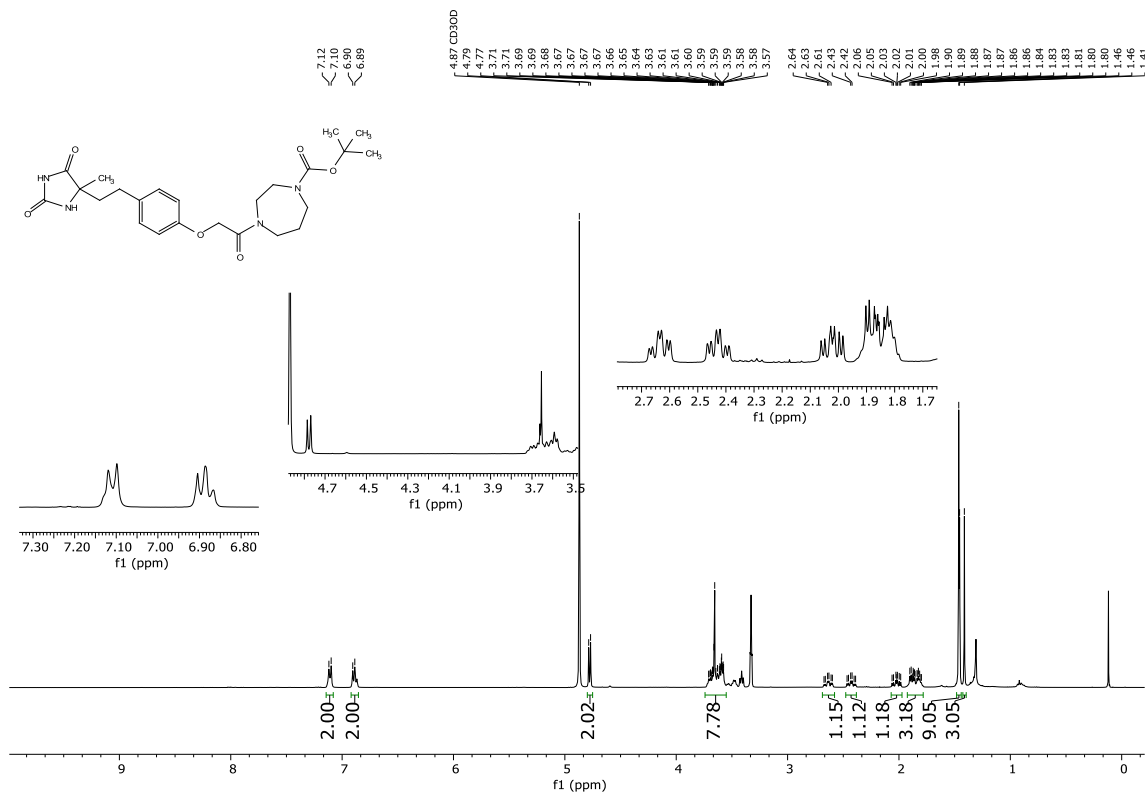


FIGURA A. 45. RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) do composto **22e** (LSPN849).

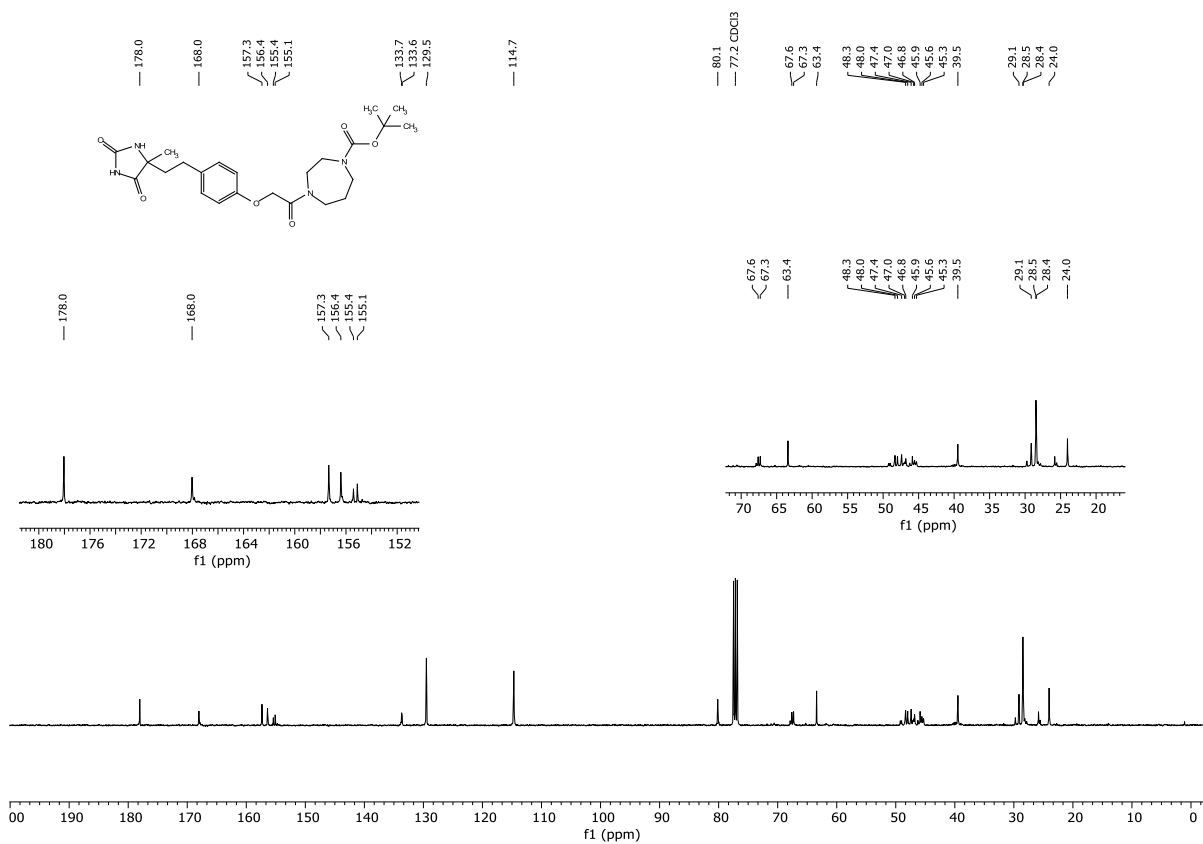


FIGURA A. 46. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 101 MHz) do composto **22e** (LSPN849).

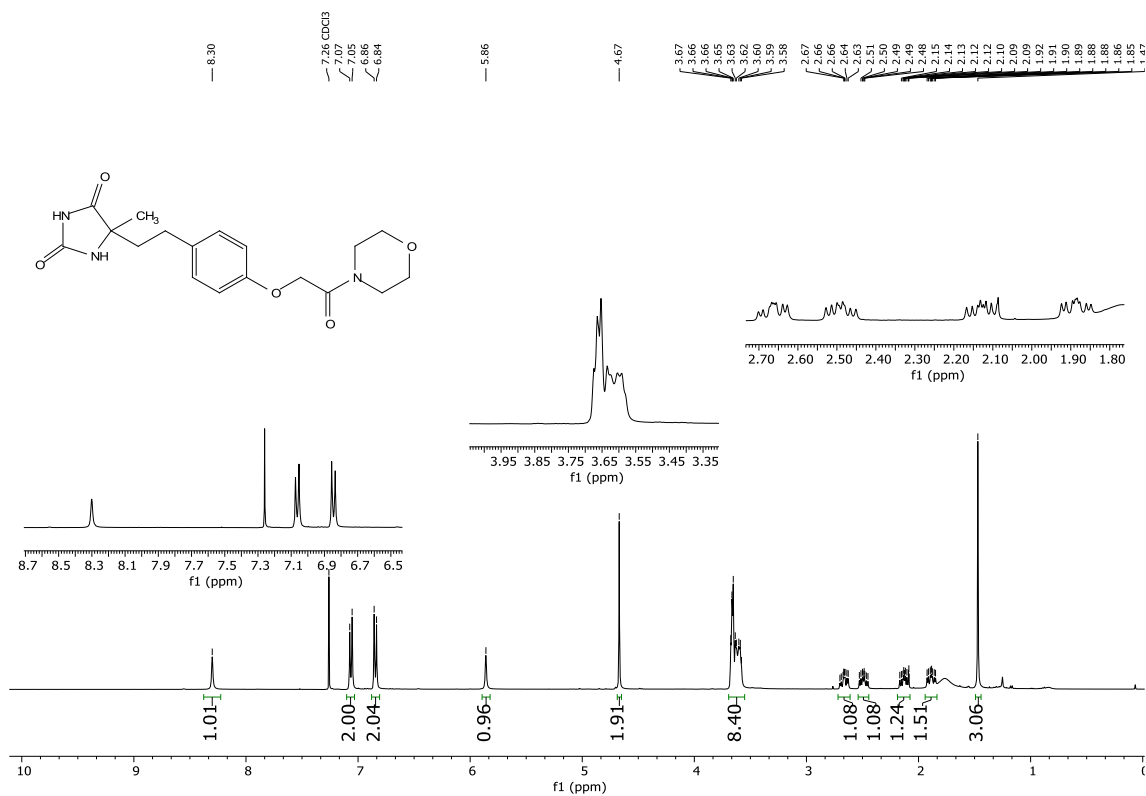


FIGURA A. 47. RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **22f** (LSPN853).

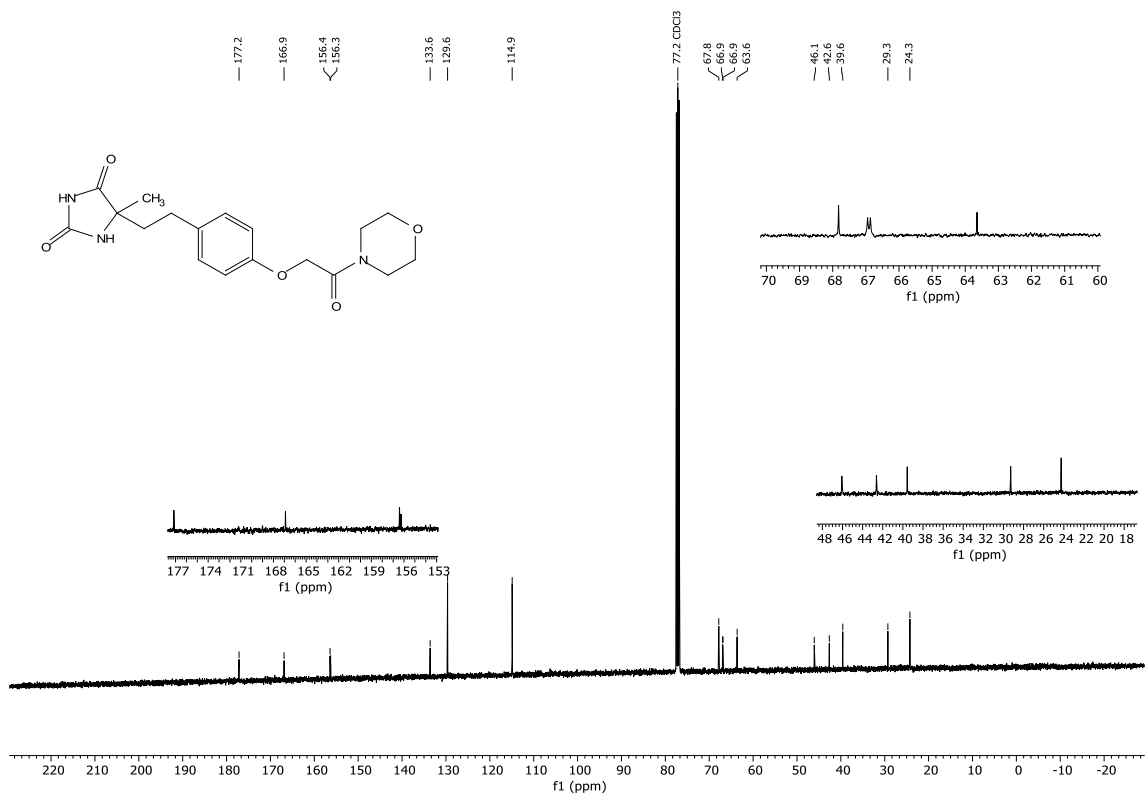


FIGURA A. 48. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl₃, 101 MHz) do composto **22f** (LSPN853).

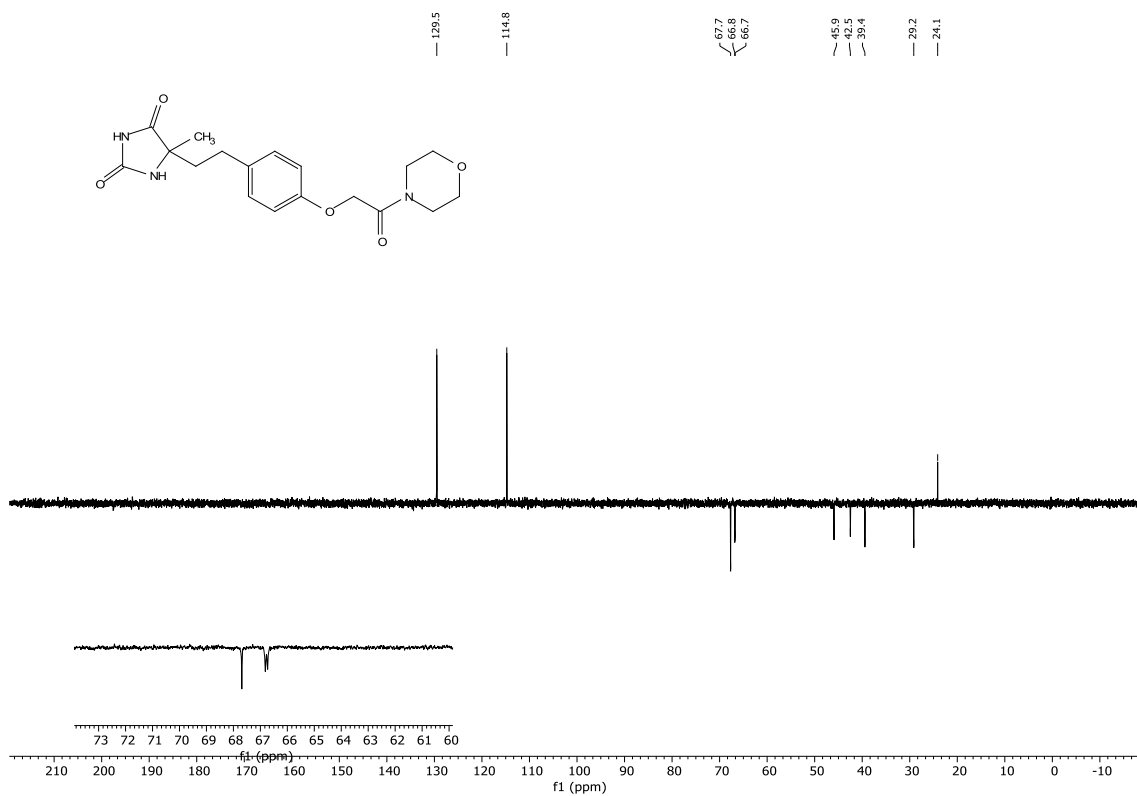


FIGURA A. 49. RMN DEPT135 ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl₃, 101 MHz) do composto **22f** (LSPN853).

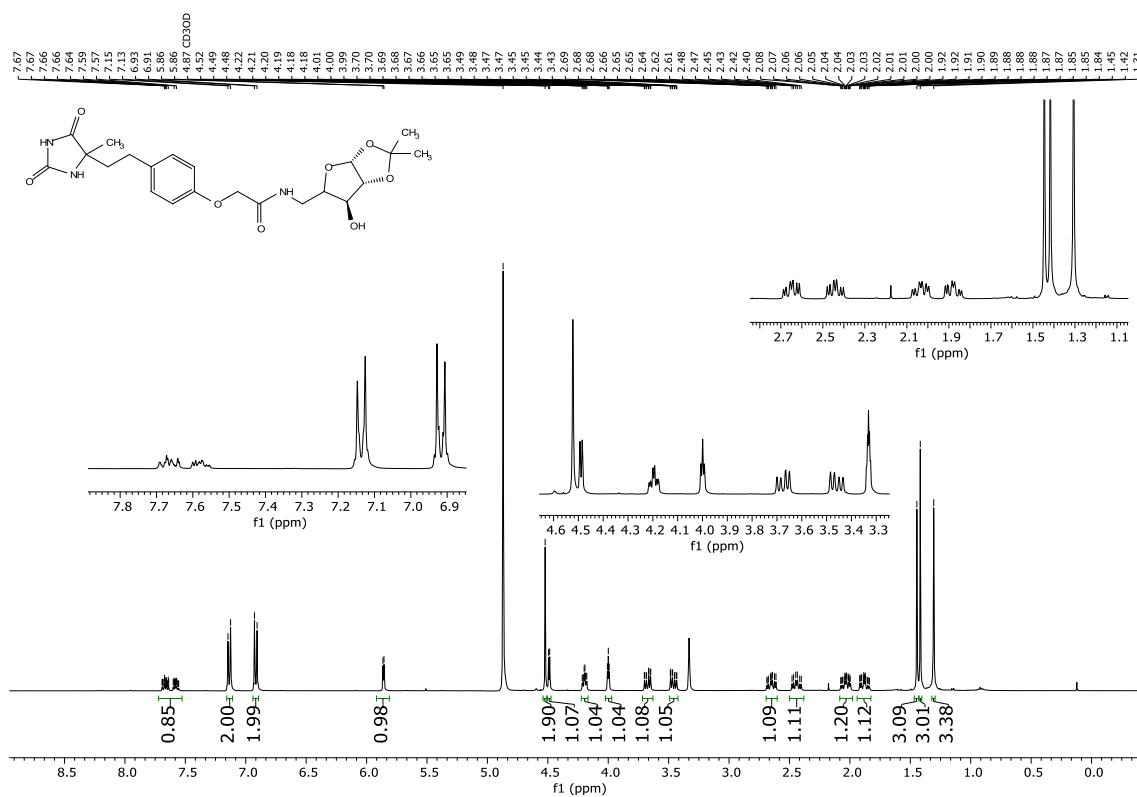


FIGURA A. 50. RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) do composto **22g** (LSPN854).

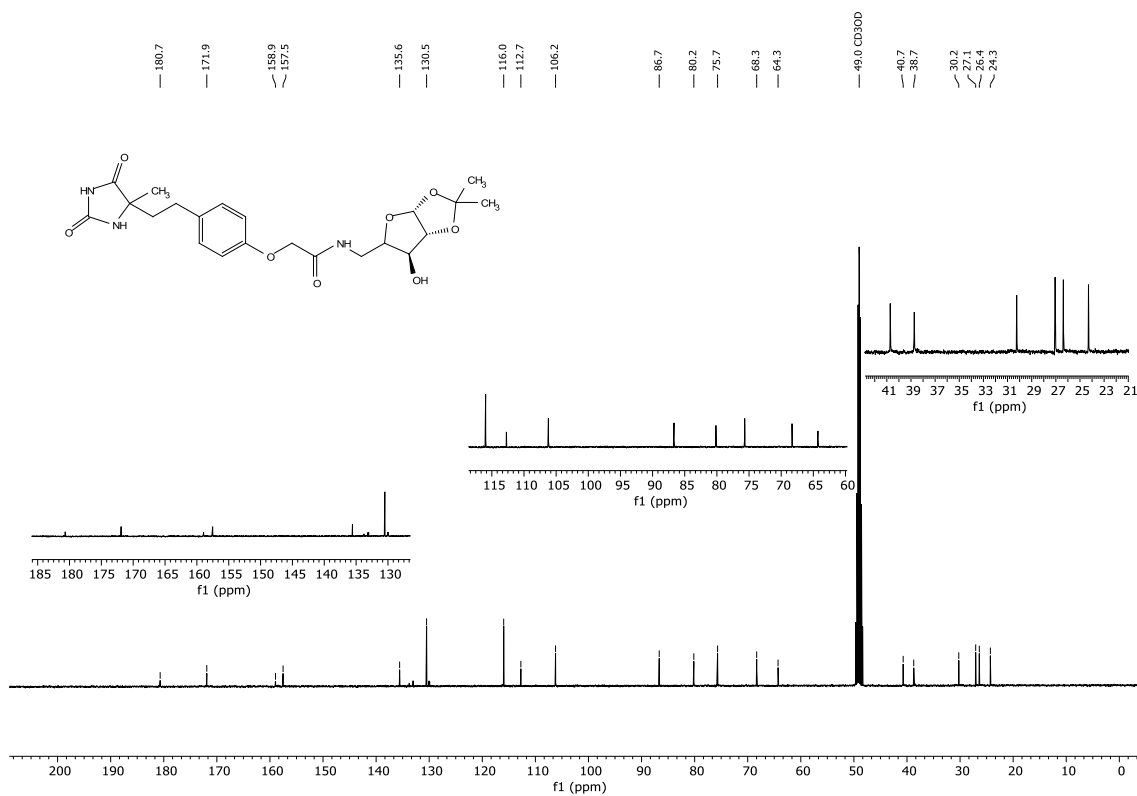


FIGURA A. 51. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (MeOD, 101 MHz) do composto **22g** (LSPN854).

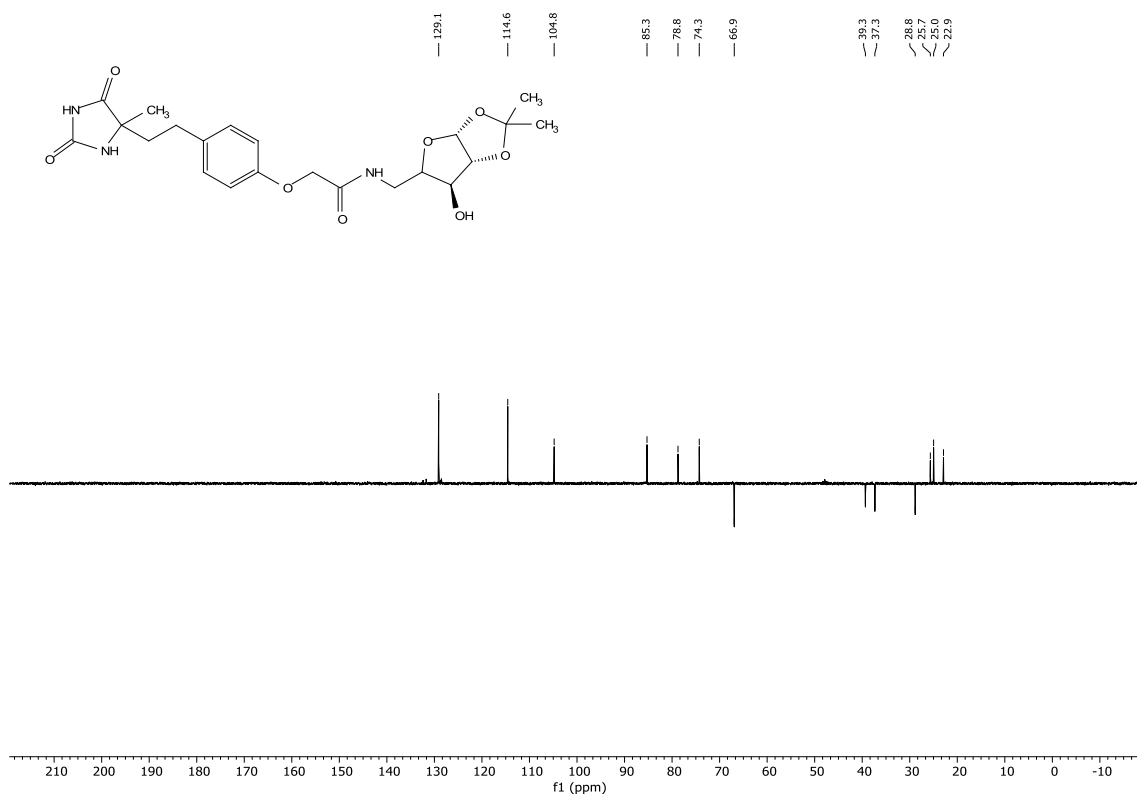


FIGURA A. 52. RMN DEPT135 ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (MeOD, 101 MHz) do composto **22g** (LSPN854).

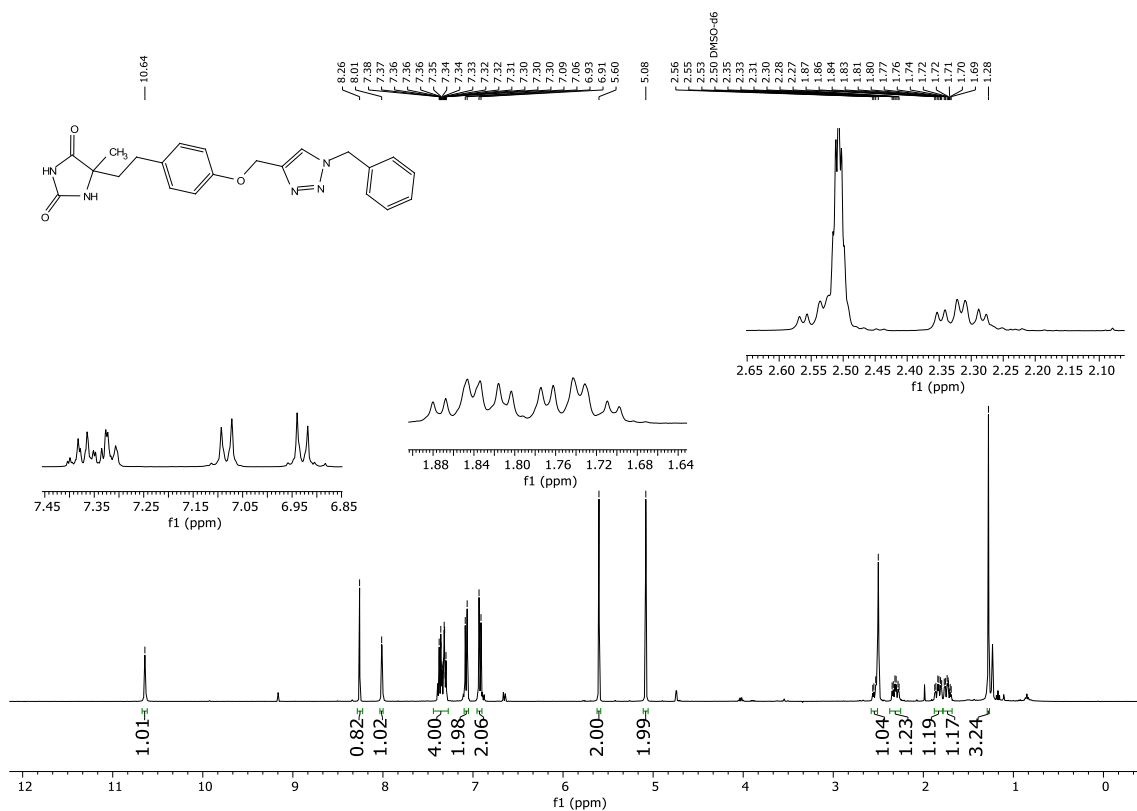


FIGURA A. 53. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **31a** (LSPN845).

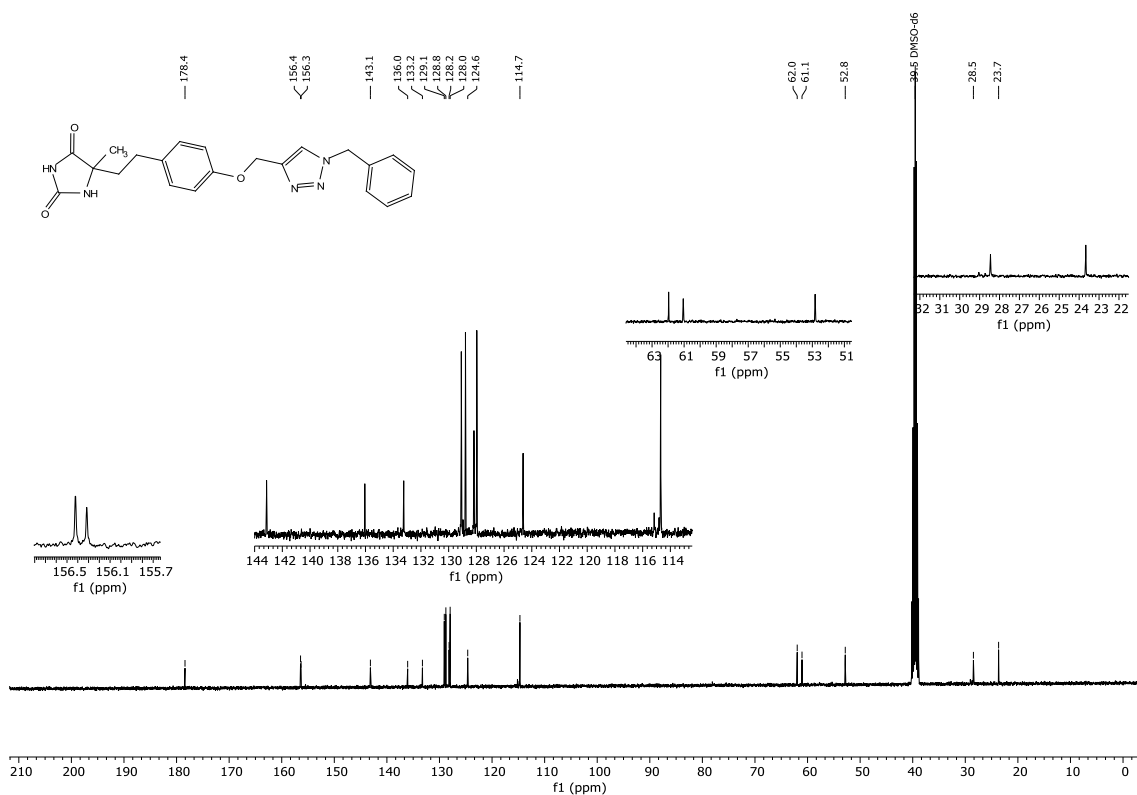


FIGURA A. 54. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **31a** (LSPN845).

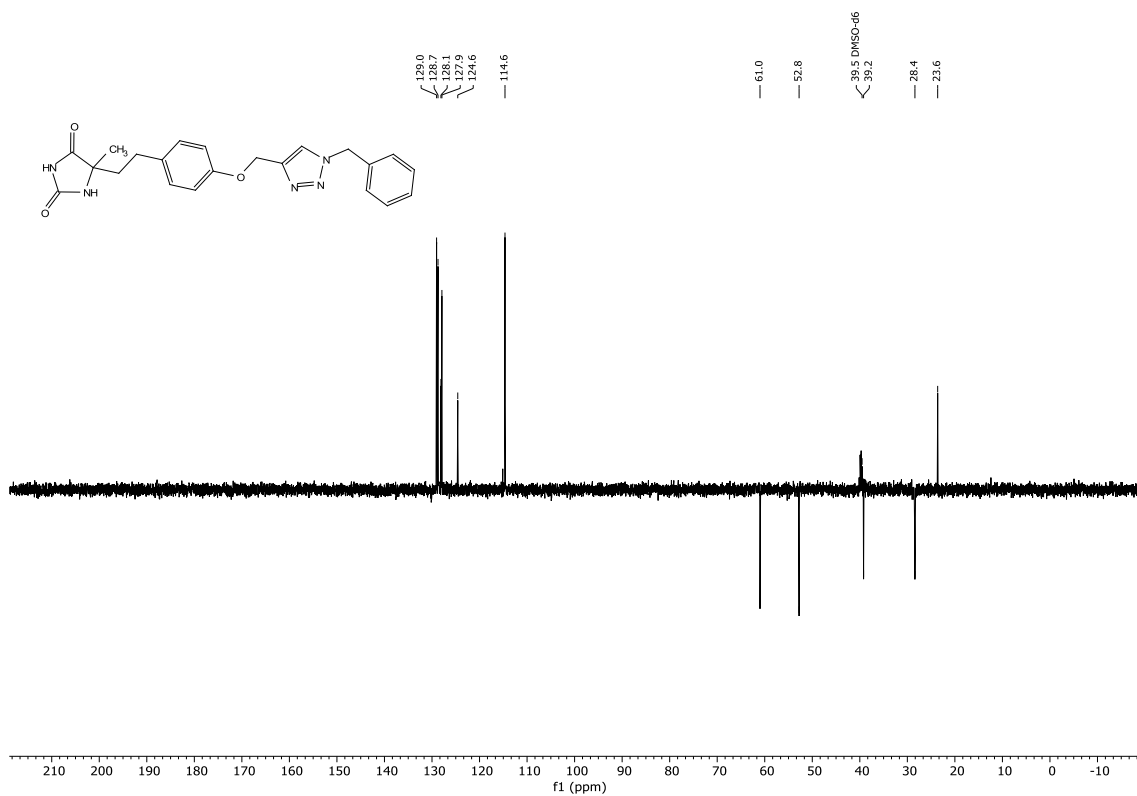


FIGURA A. 55. RMN DEPT135 ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **31a** (LSPN845).

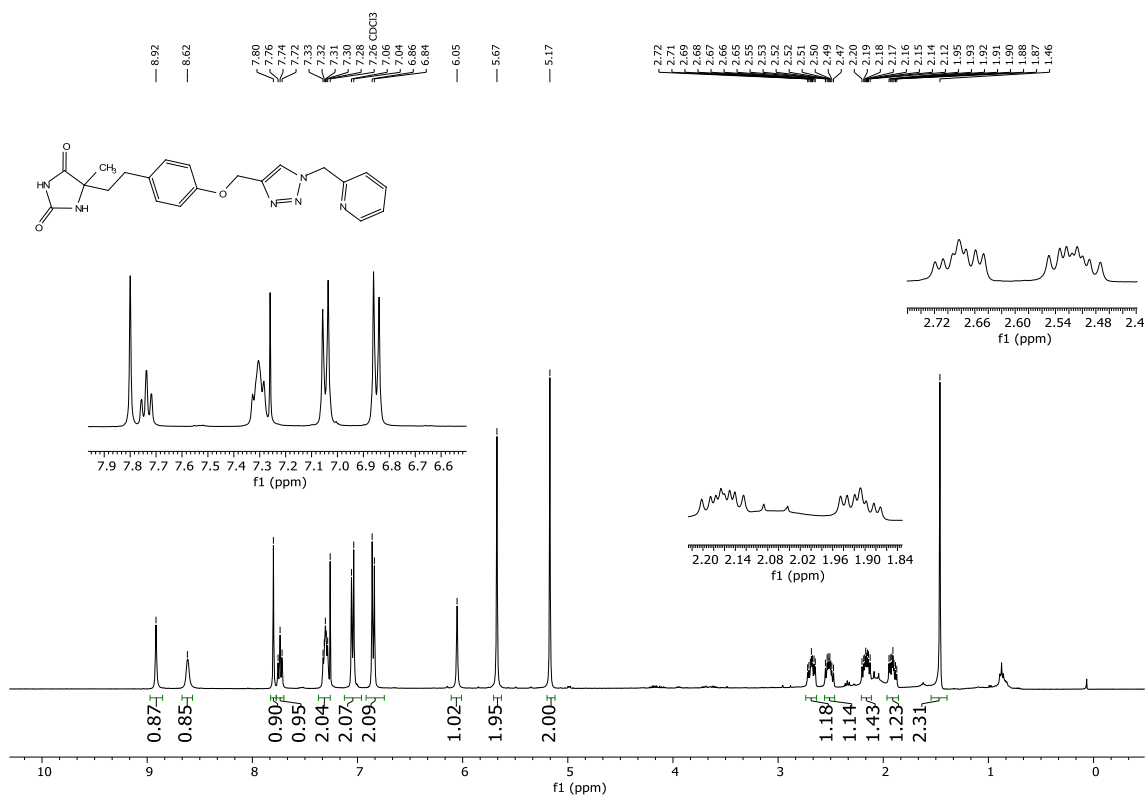


FIGURA A. 56. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **31b** (LSPN846).

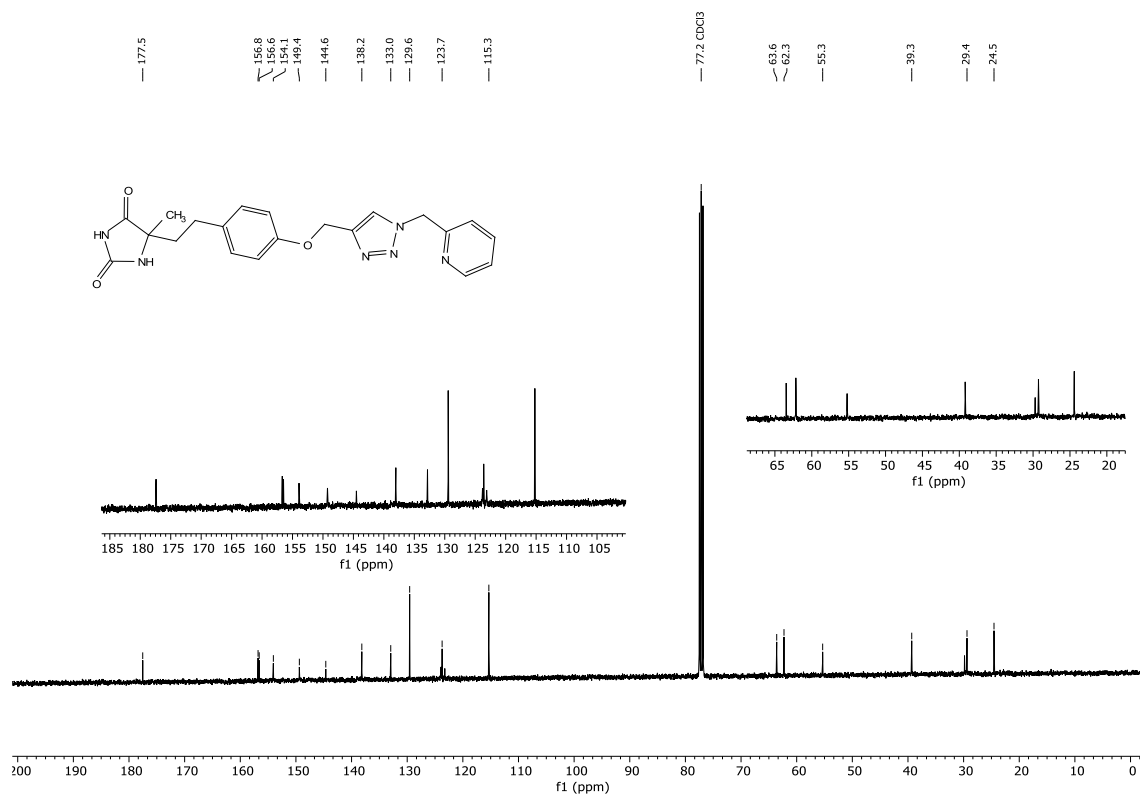


FIGURA A. 57. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl₃, 101 MHz) do composto **31b** (LSPN846).

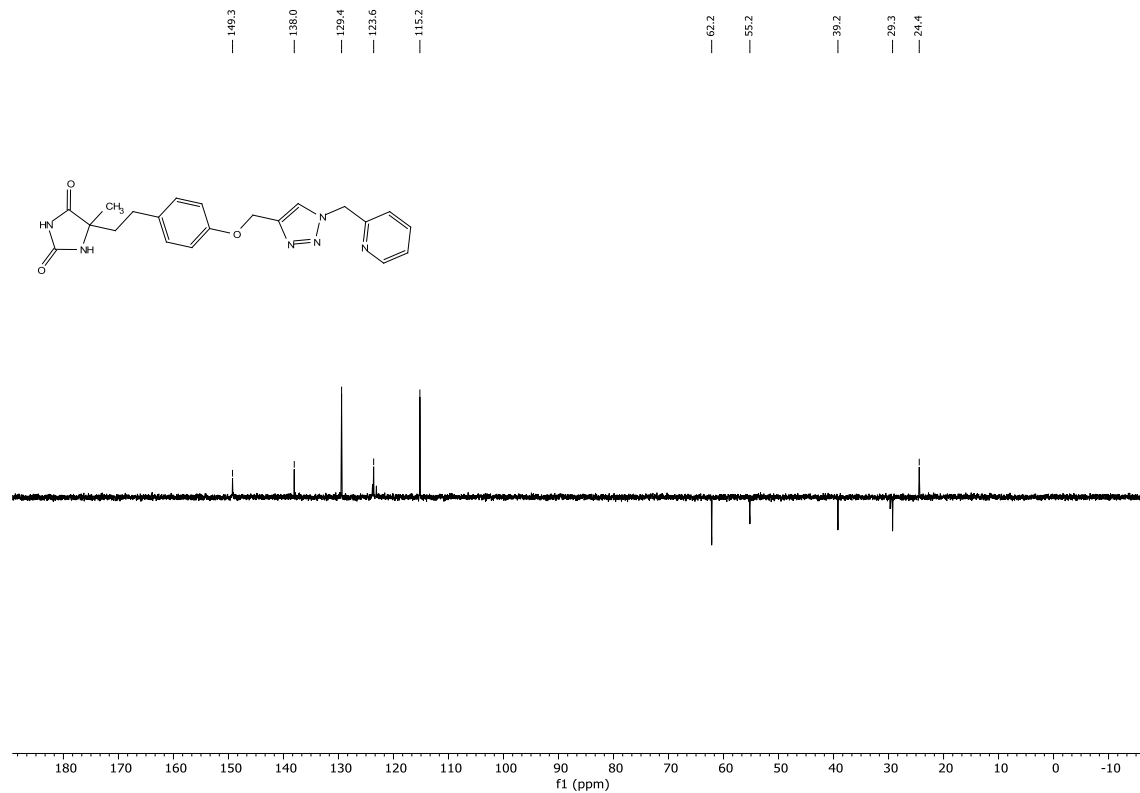


FIGURA A. 58. RMN DEPT135 ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl₃, 101 MHz) do composto **31b** (LSPN846).

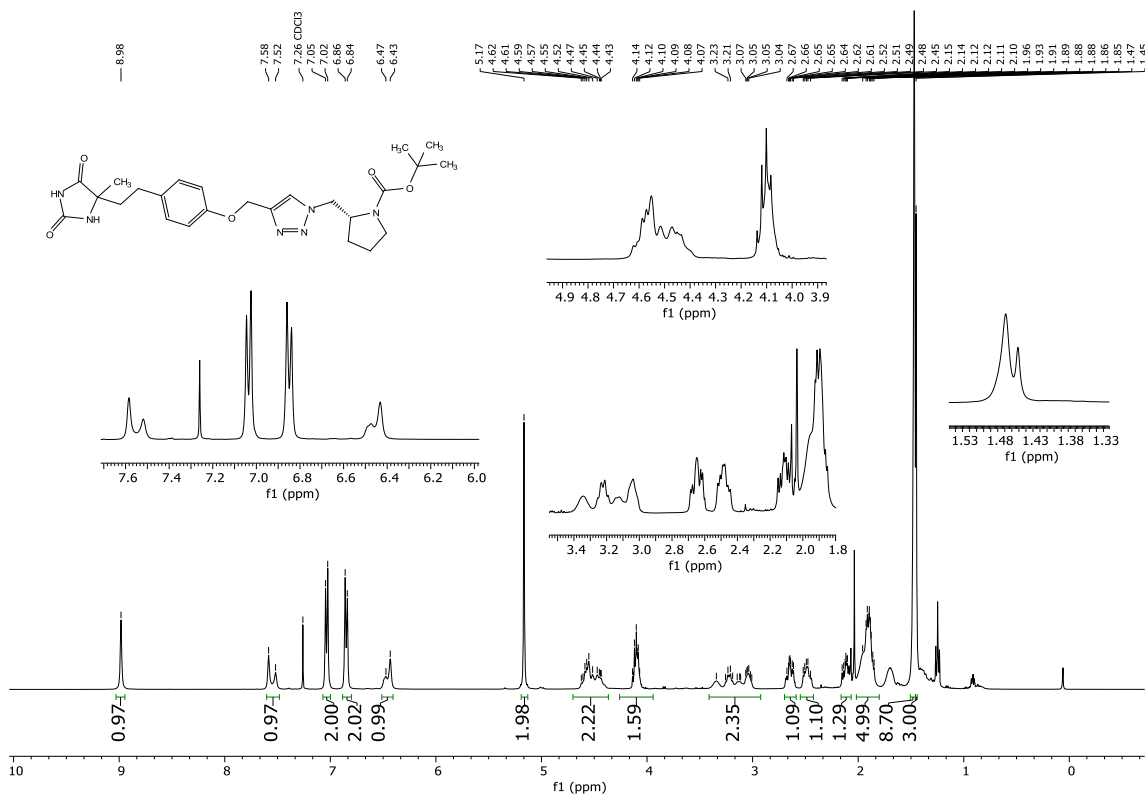


FIGURA A. 59. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **31c** (LSPN847).

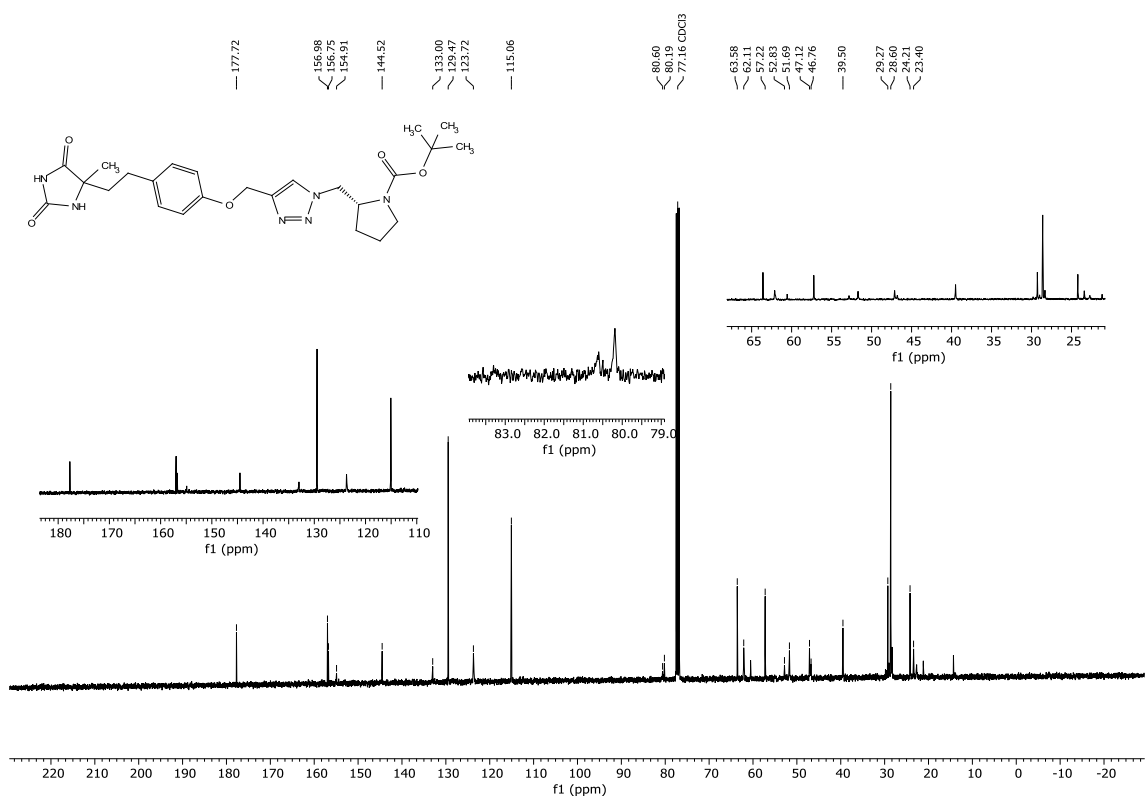


FIGURA A. 60. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 101 MHz) do composto **31c** (LSPN847).

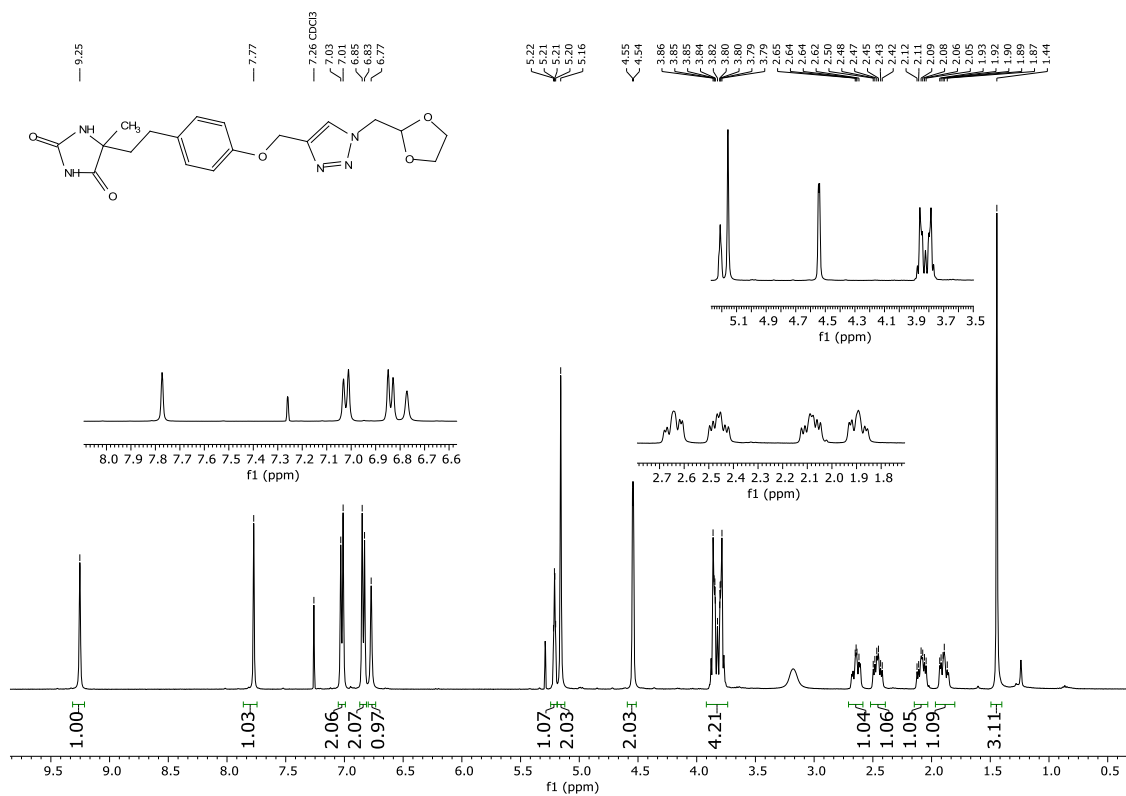


FIGURA A. 61. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 31d (LSPN848).

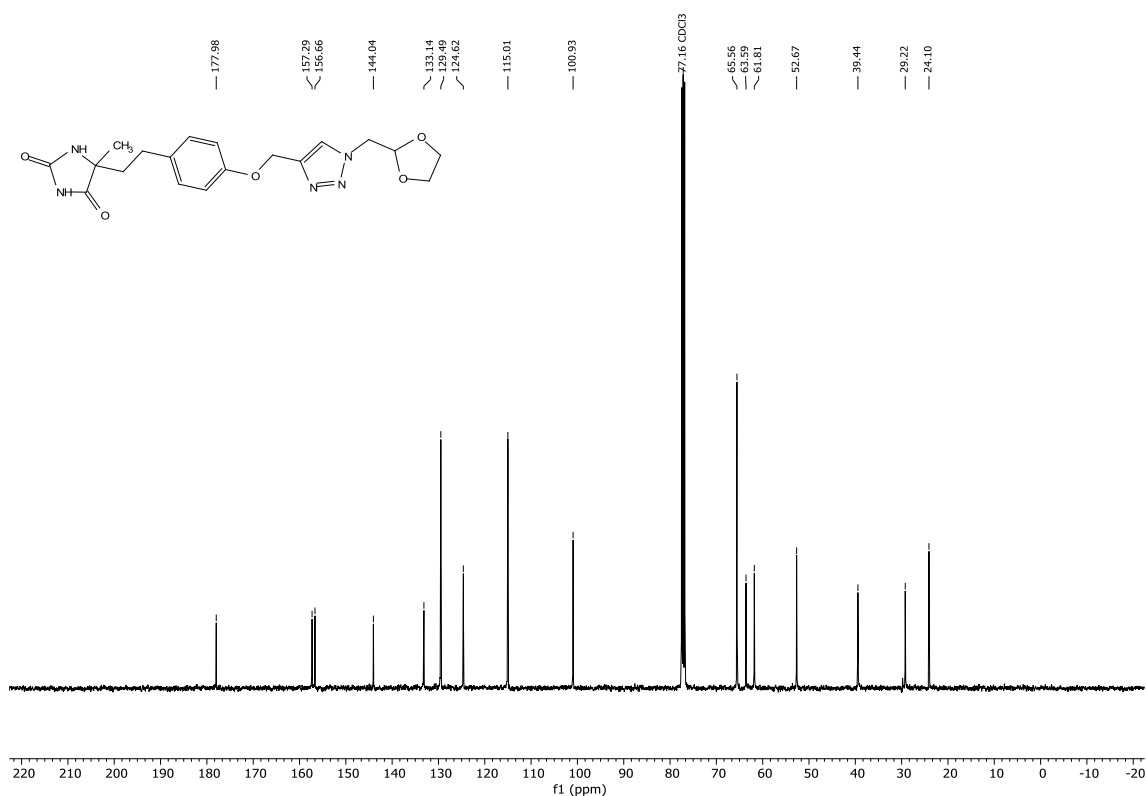


FIGURA A. 62. RMN ¹³C {¹H} (CDCl₃, 101 MHz) do composto 31d (LSPN848).

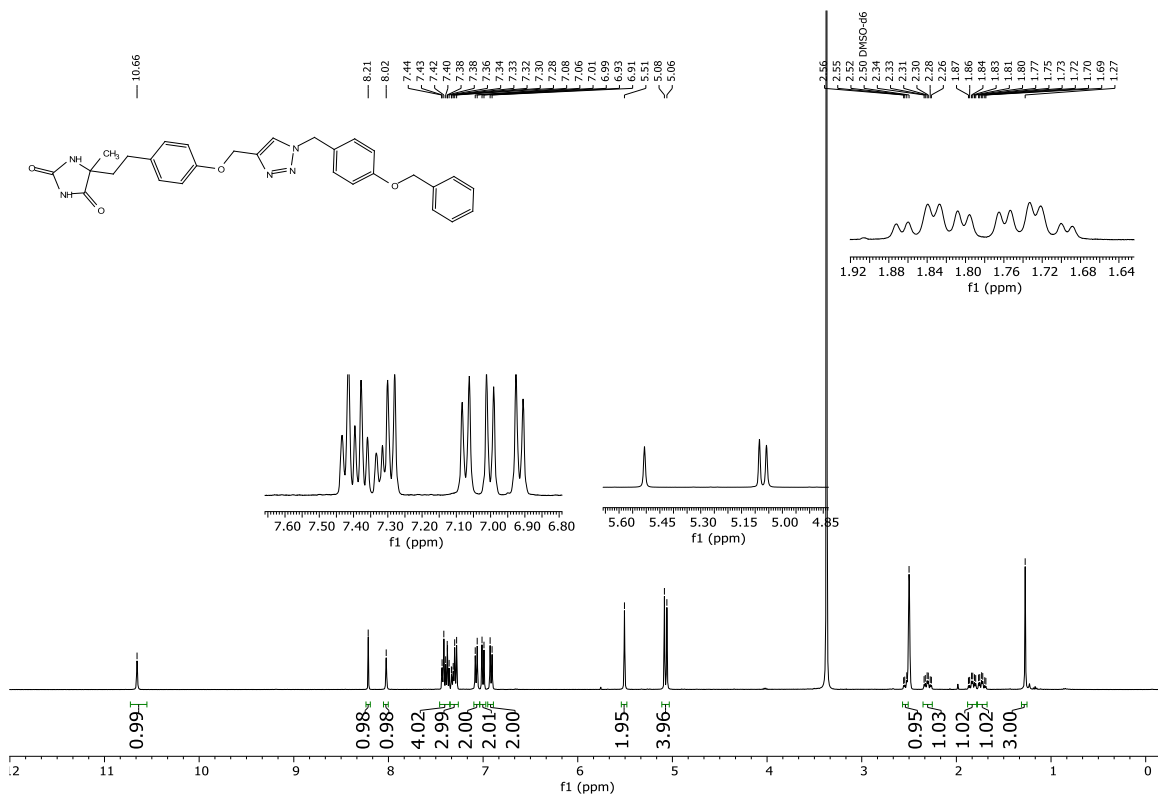


FIGURA A. 63. RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do composto 31e (LSPN851).

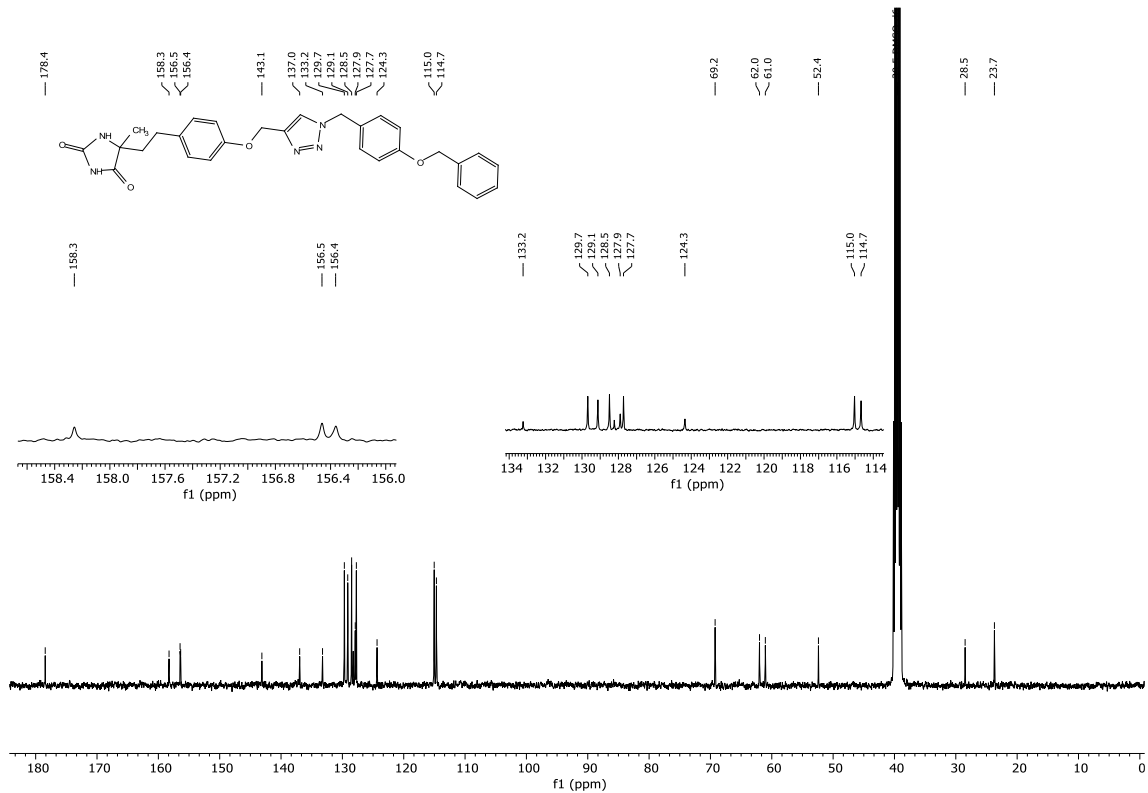


FIGURA A. 64. RMN ¹³C {¹H} (DMSO-d₆, 101 MHz) do composto 31e (LSPN851).

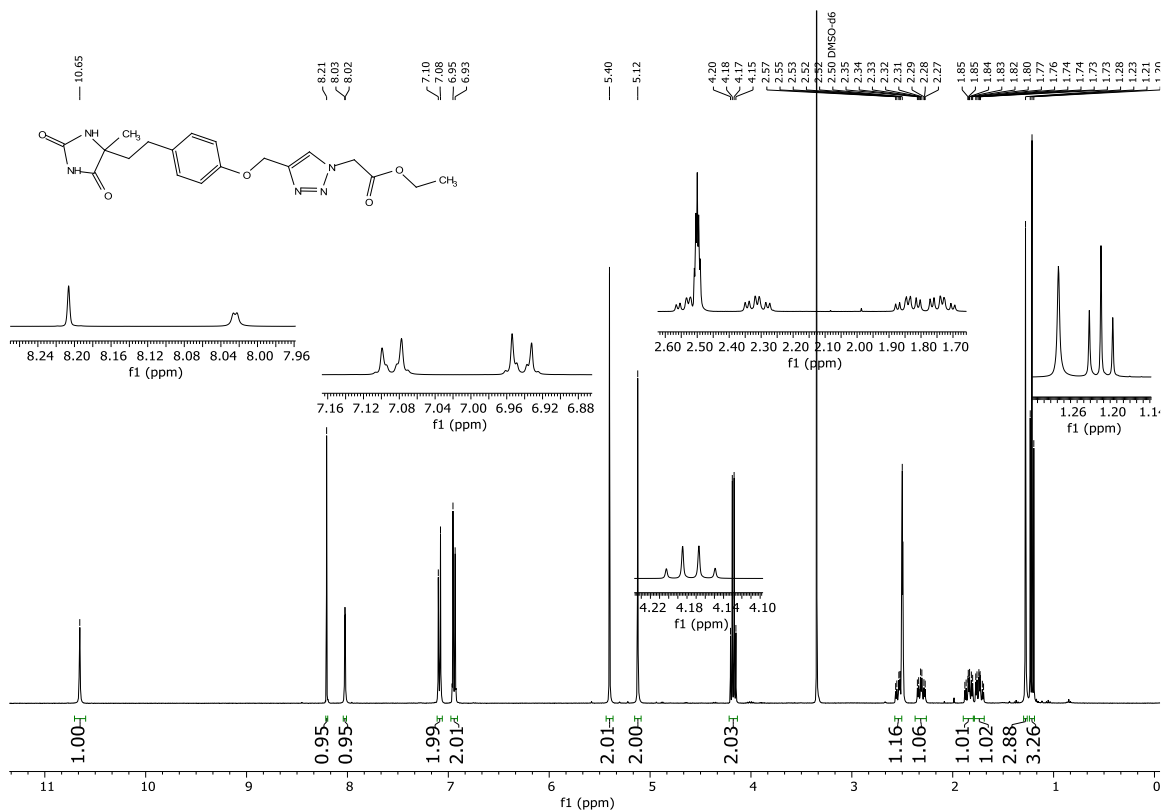


FIGURA A. 65. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto 31f (LSPN855).

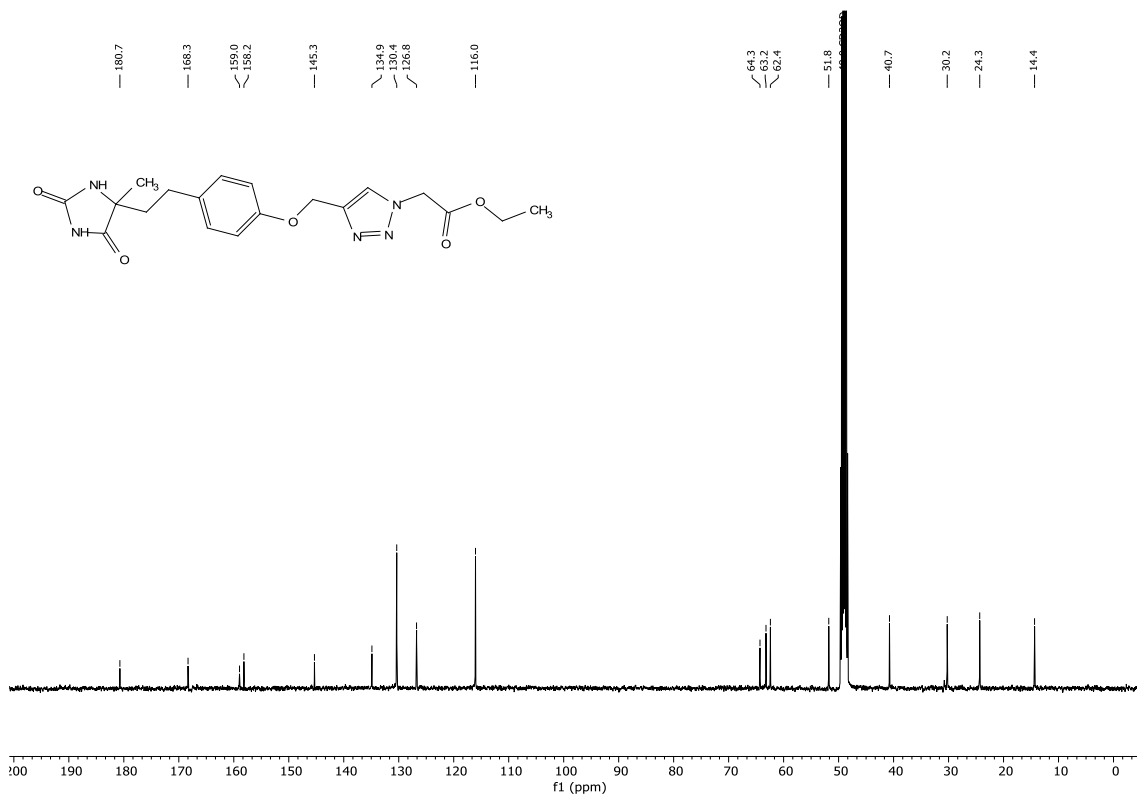


FIGURA A. 66. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto 31f (LSPN855).

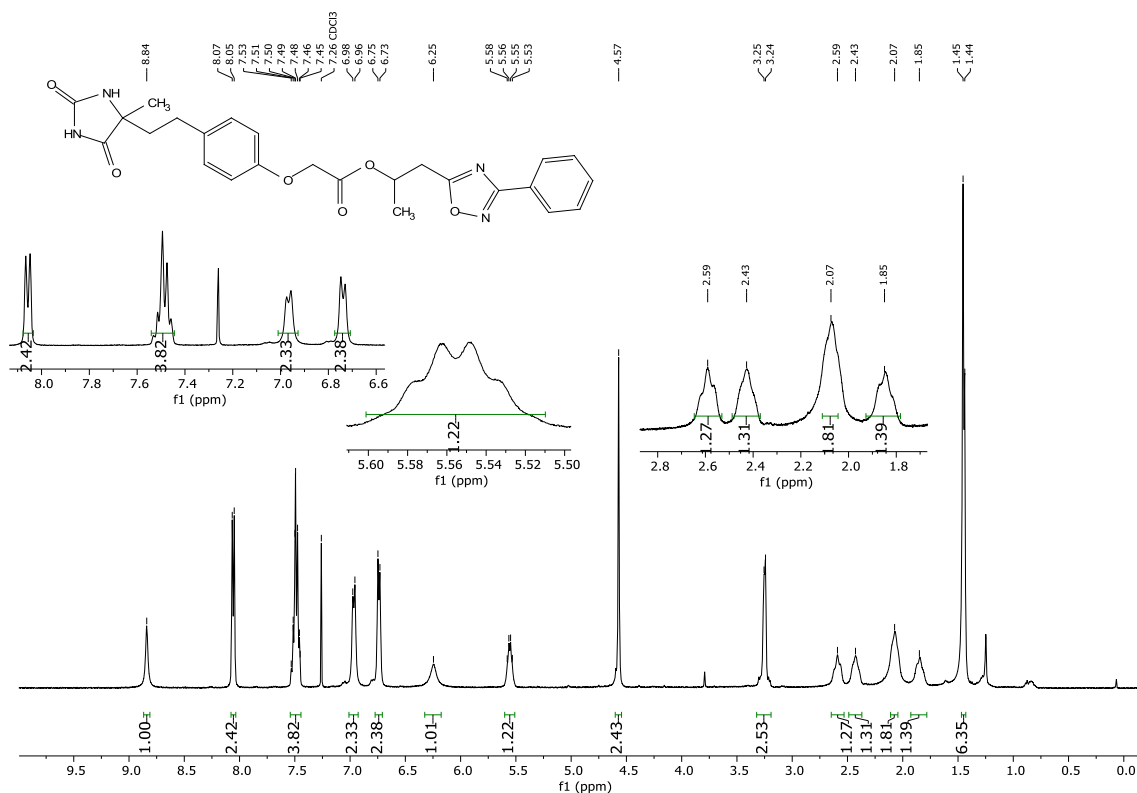


FIGURA A. 67. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 41 (LSPN961).

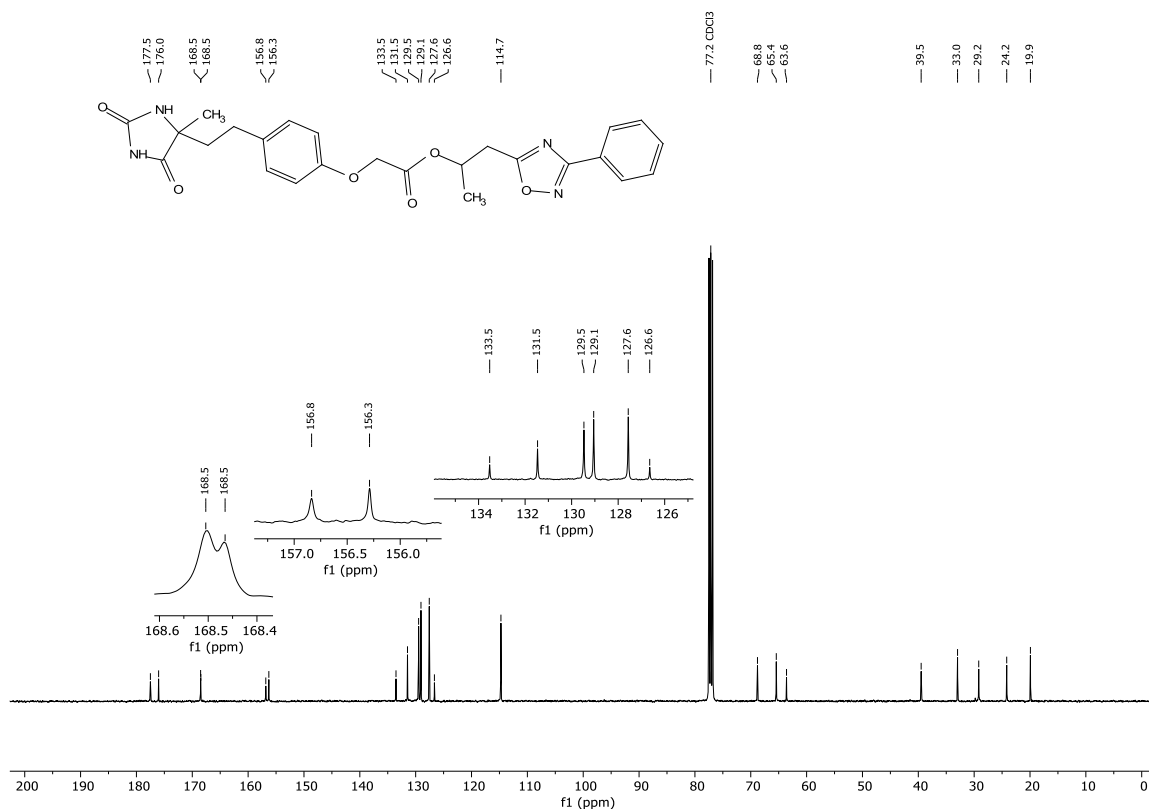


FIGURA A. 68. RMN ¹³C {¹H} (CDCl₃, 101 MHz) do composto 41 (LSPN961).

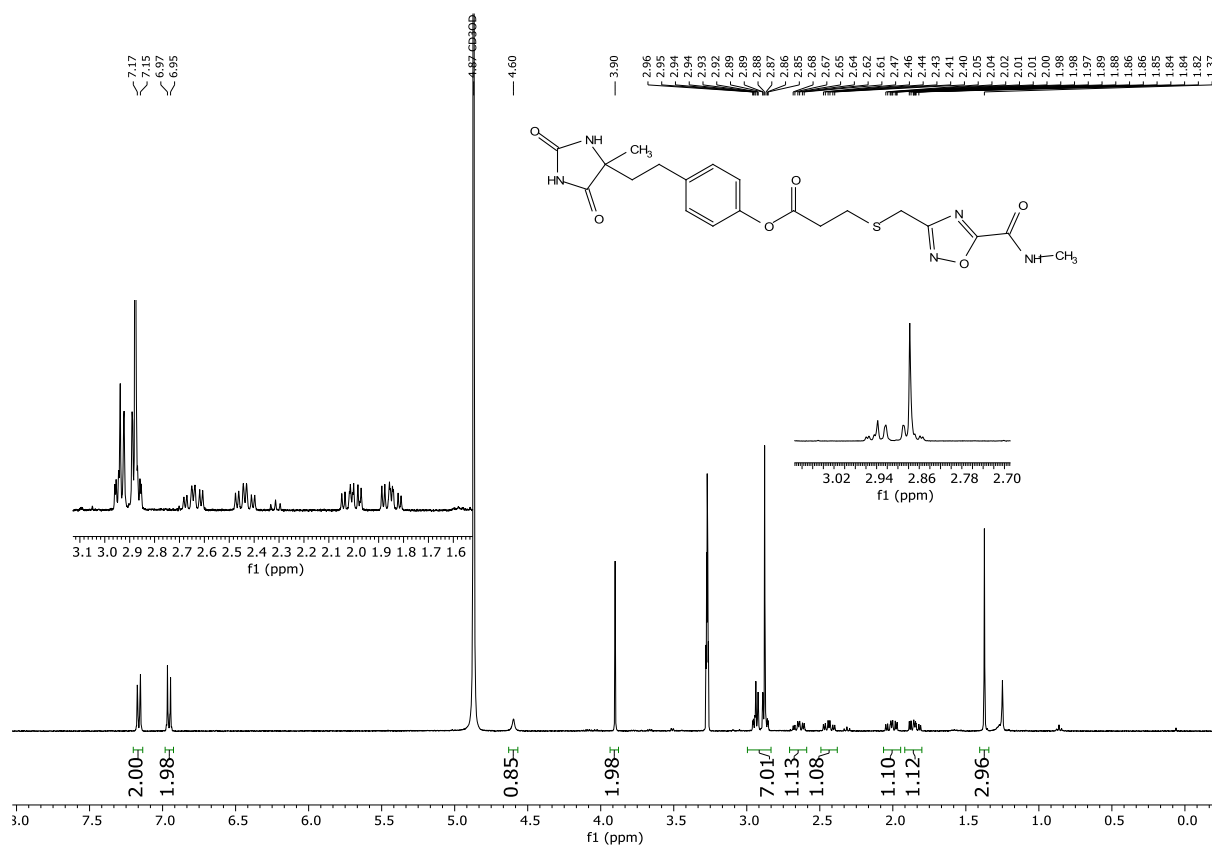


FIGURA A. 69. RMN ^1H (MeOD, 400 MHz) do composto **40** (LSPN859).

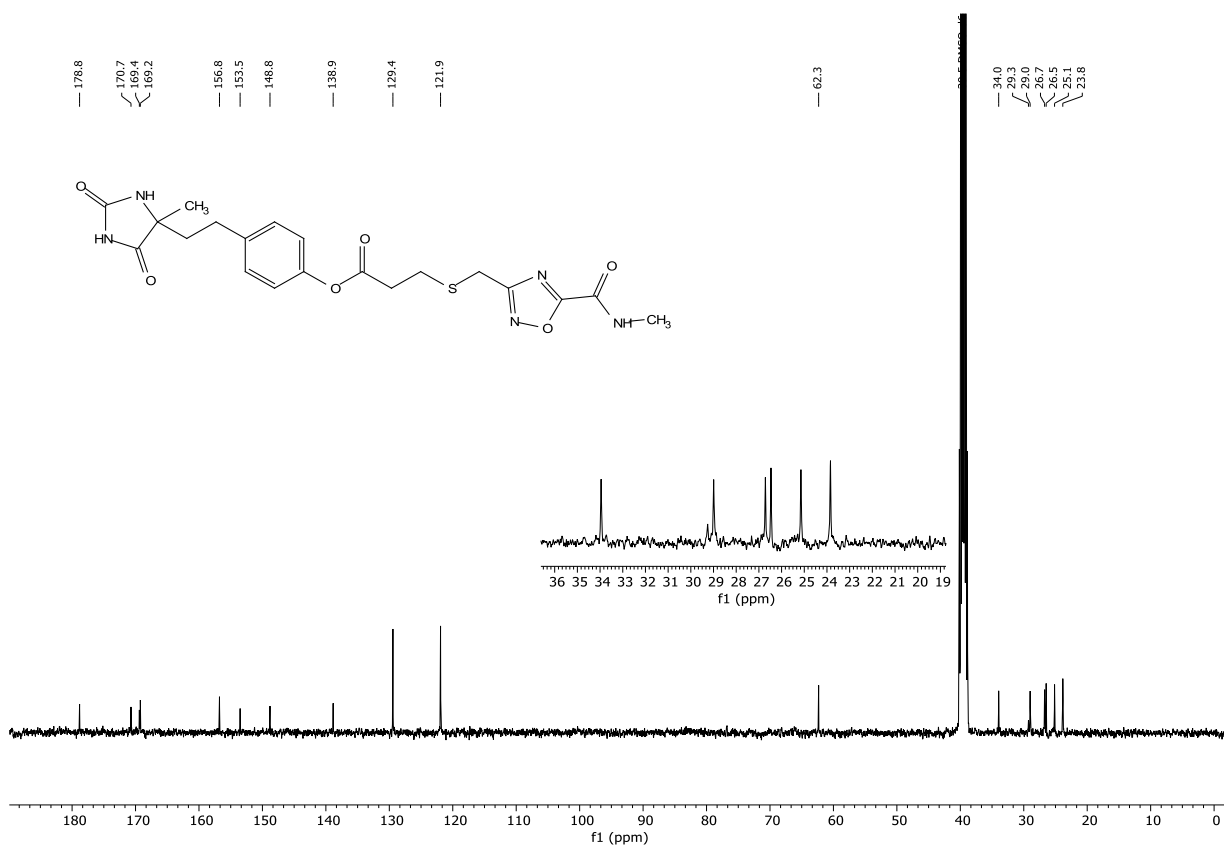


FIGURA A. 70. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (DMSO- d_6 , 101 MHz) do composto **40** (LSPN859).

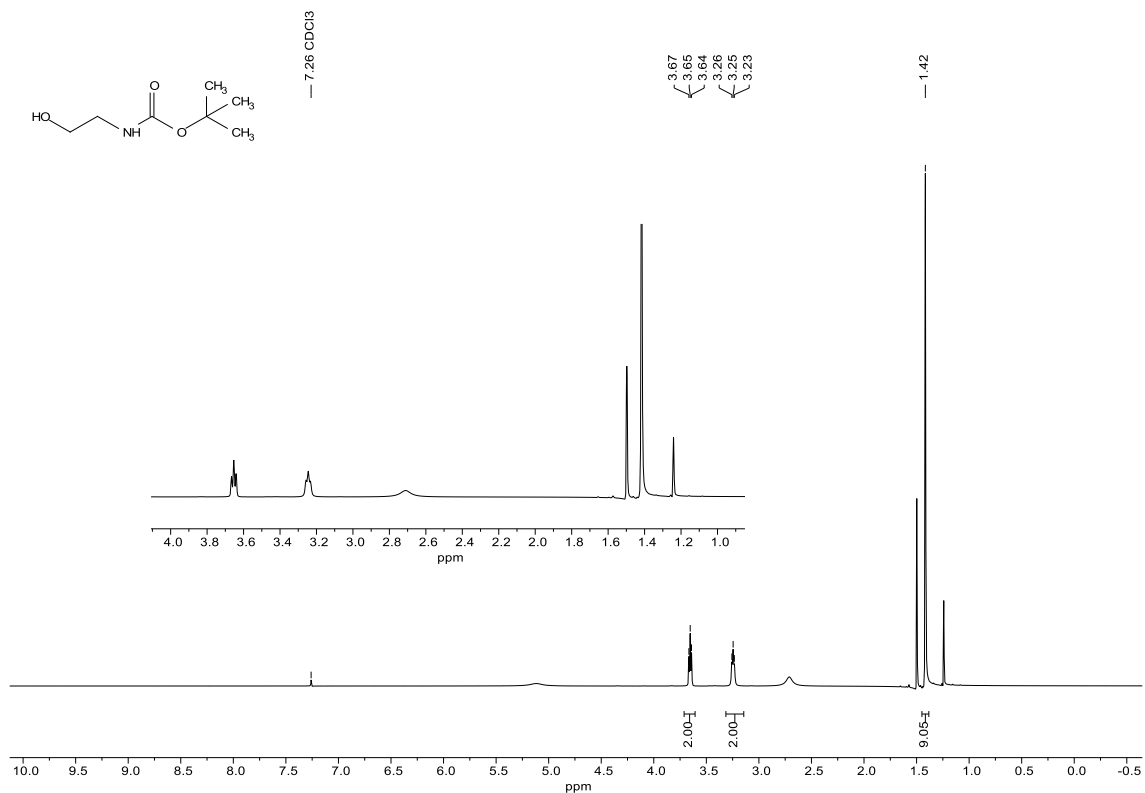


FIGURA A. 71. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **43**.

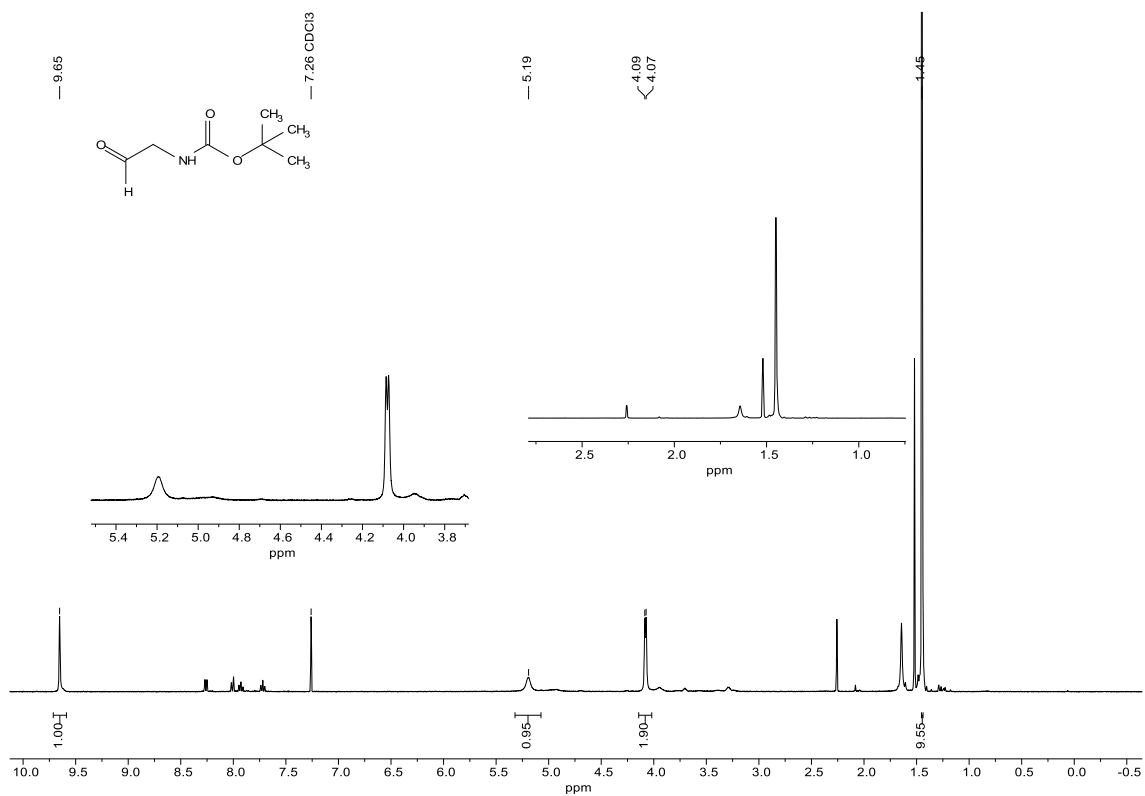


FIGURA A. 72. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto **44**.

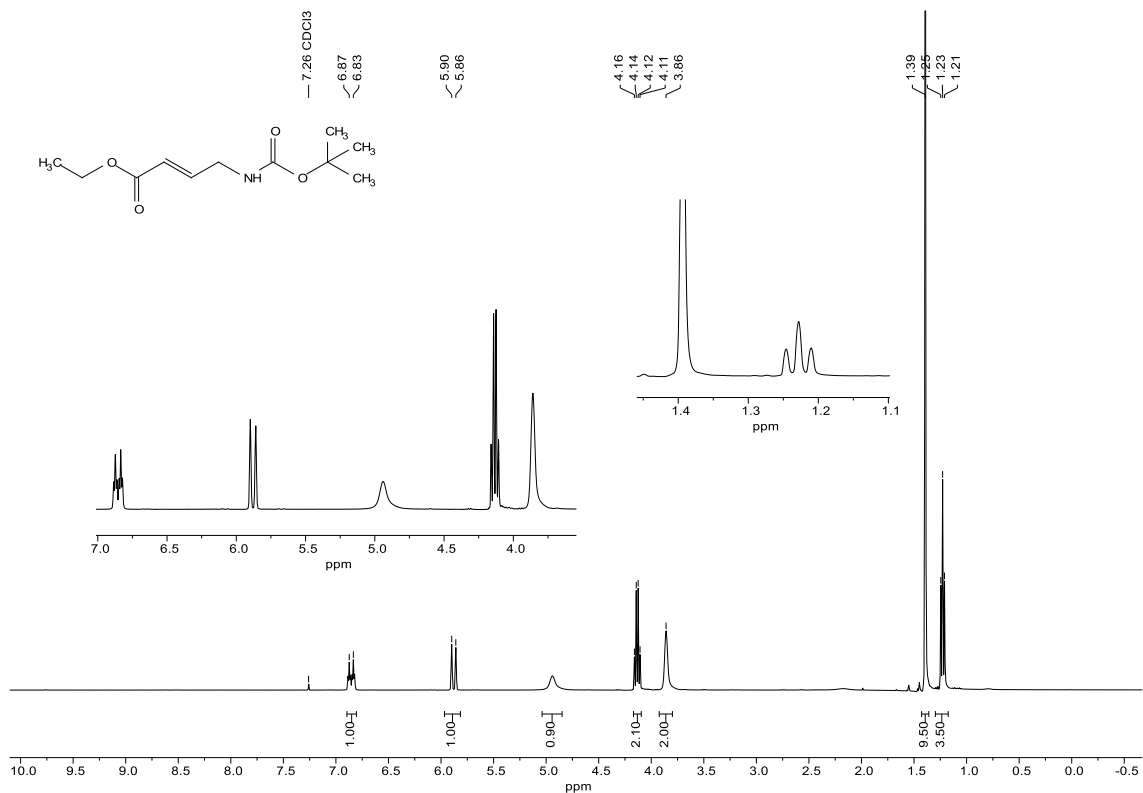


FIGURA A. 73. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do composto 45.

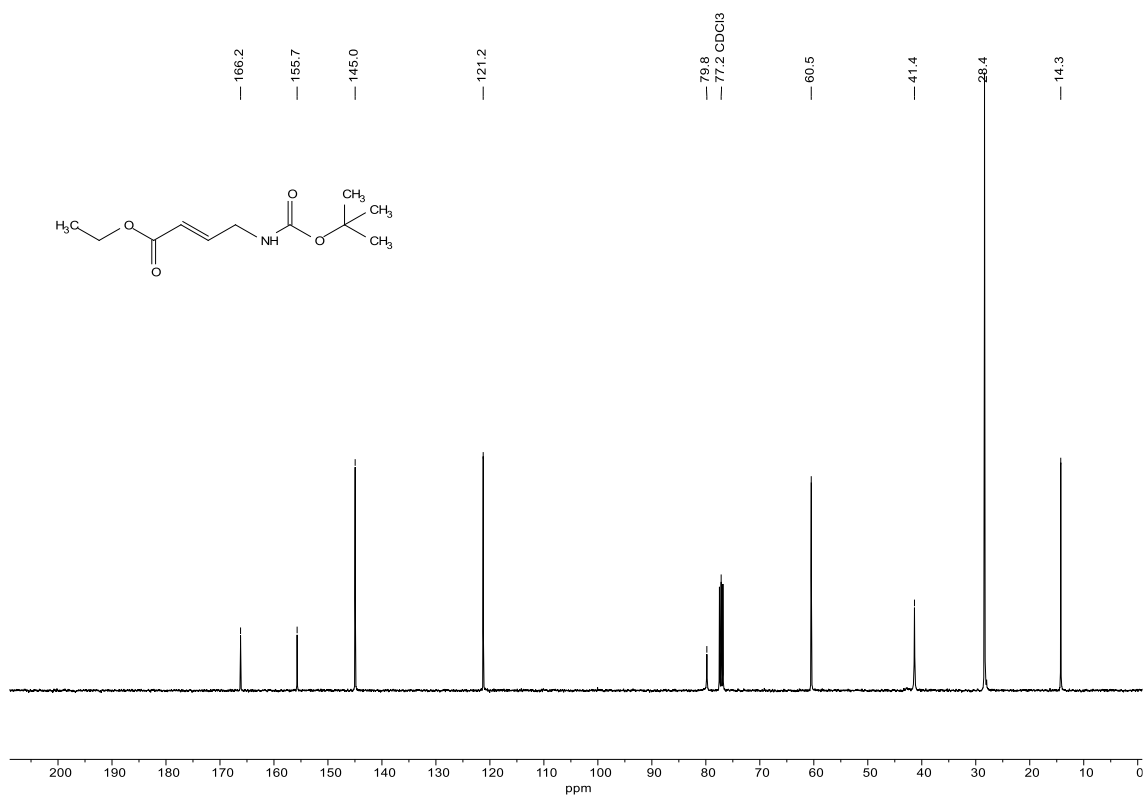


FIGURA A. 74. RMN ¹³C {¹H} (101 MHz, CDCl₃) do composto 45.

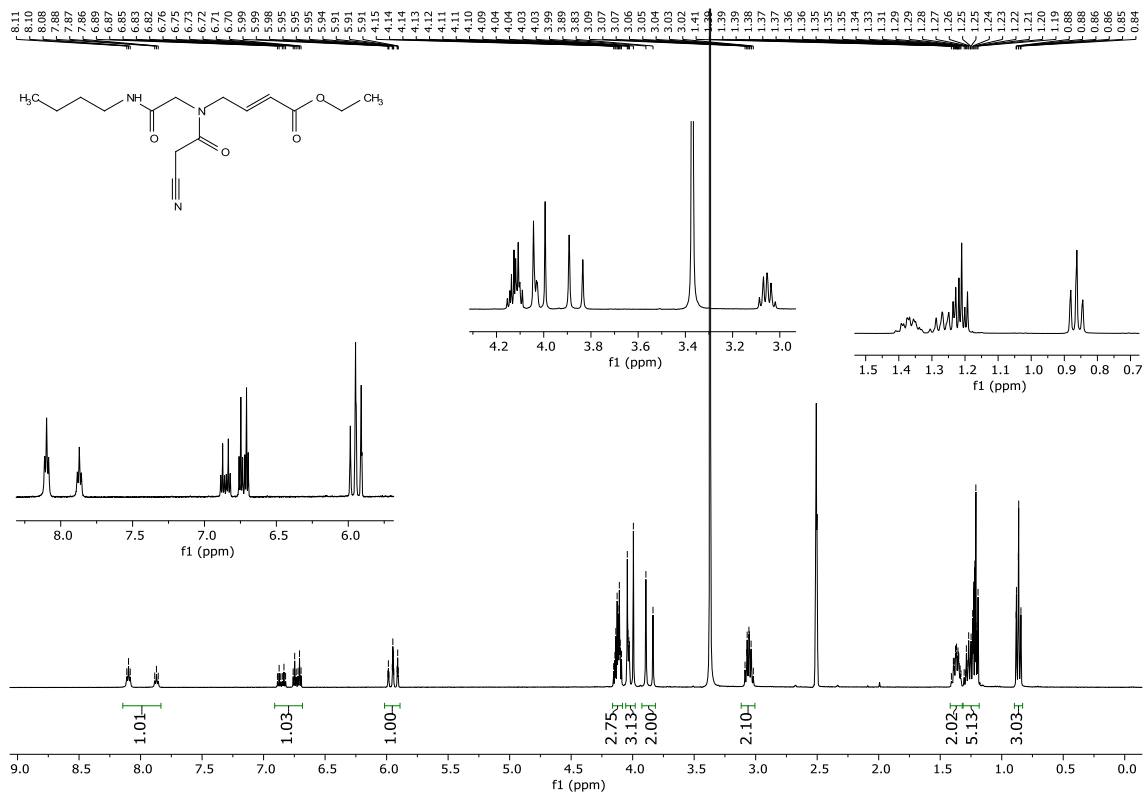


FIGURA A. 75. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto 47a (LSPN1040).

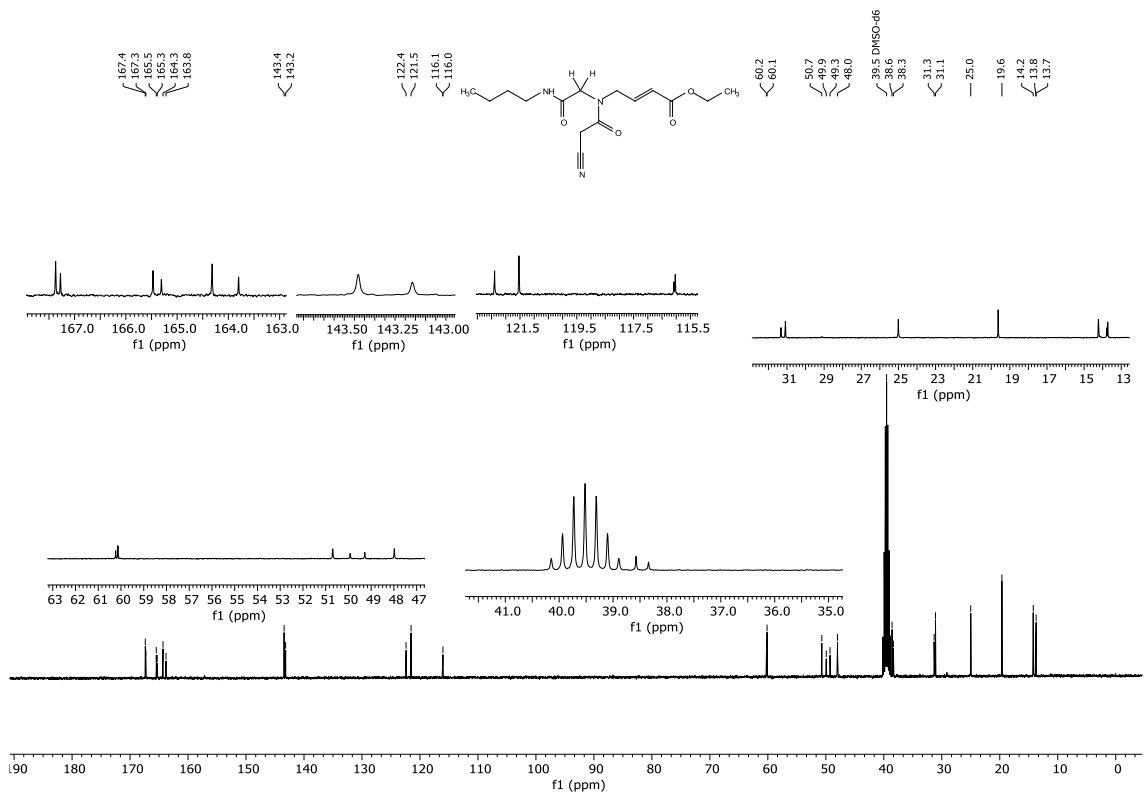


FIGURA A. 76. RMN ¹³C {¹H} (101 MHz, DMSO-d₆) do composto 47a (LSPN1040).

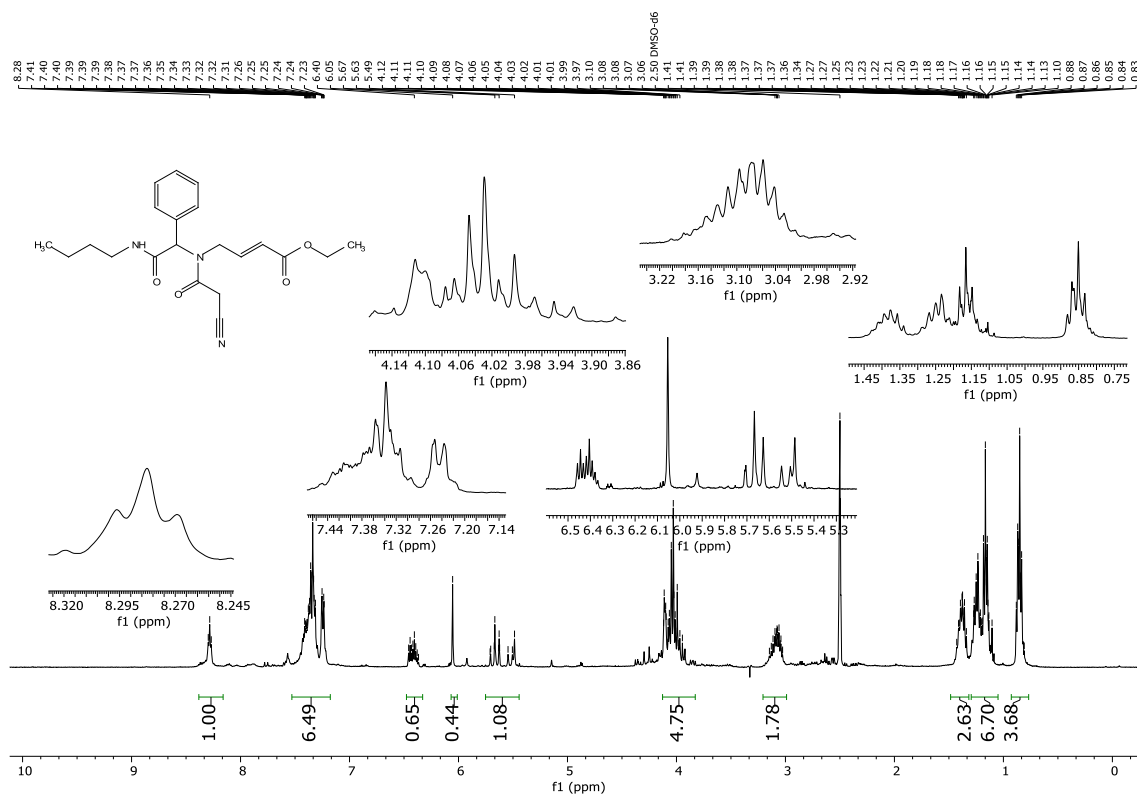


FIGURA A. 77. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 47k.

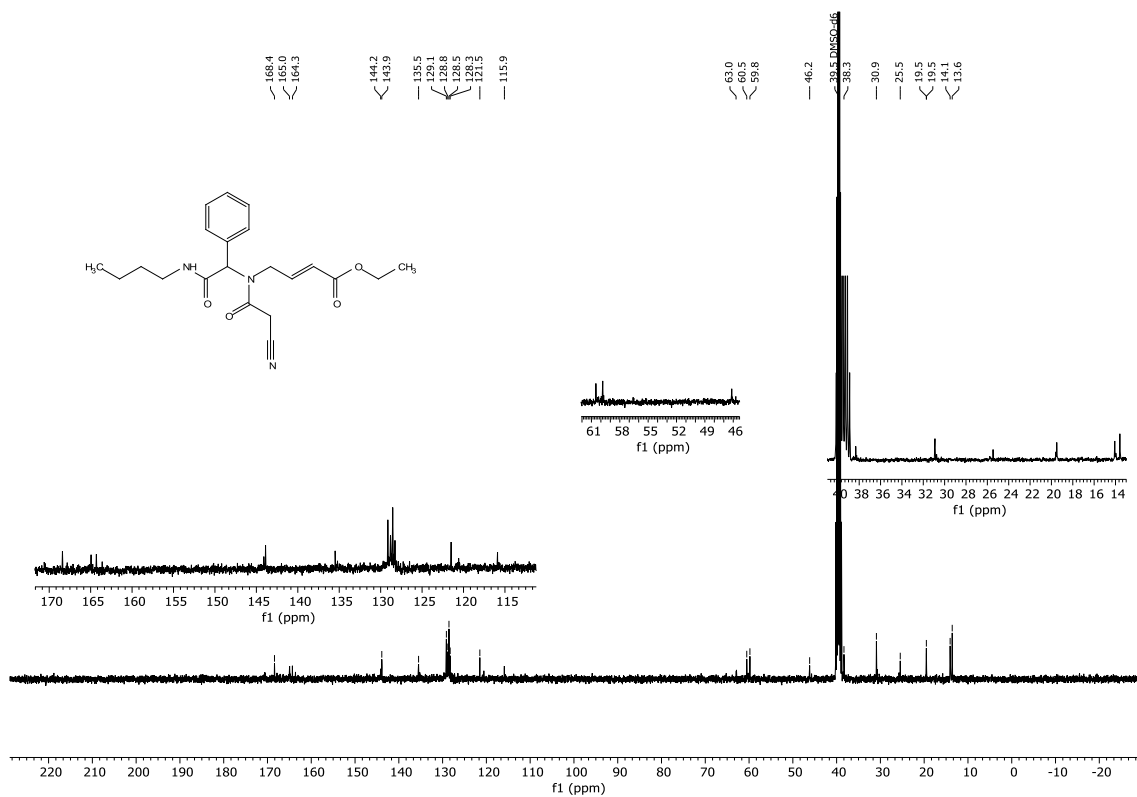


FIGURA A. 78. RMN ¹³C {¹H} (101 MHz, DMSO-*d*₆) do composto 47k.

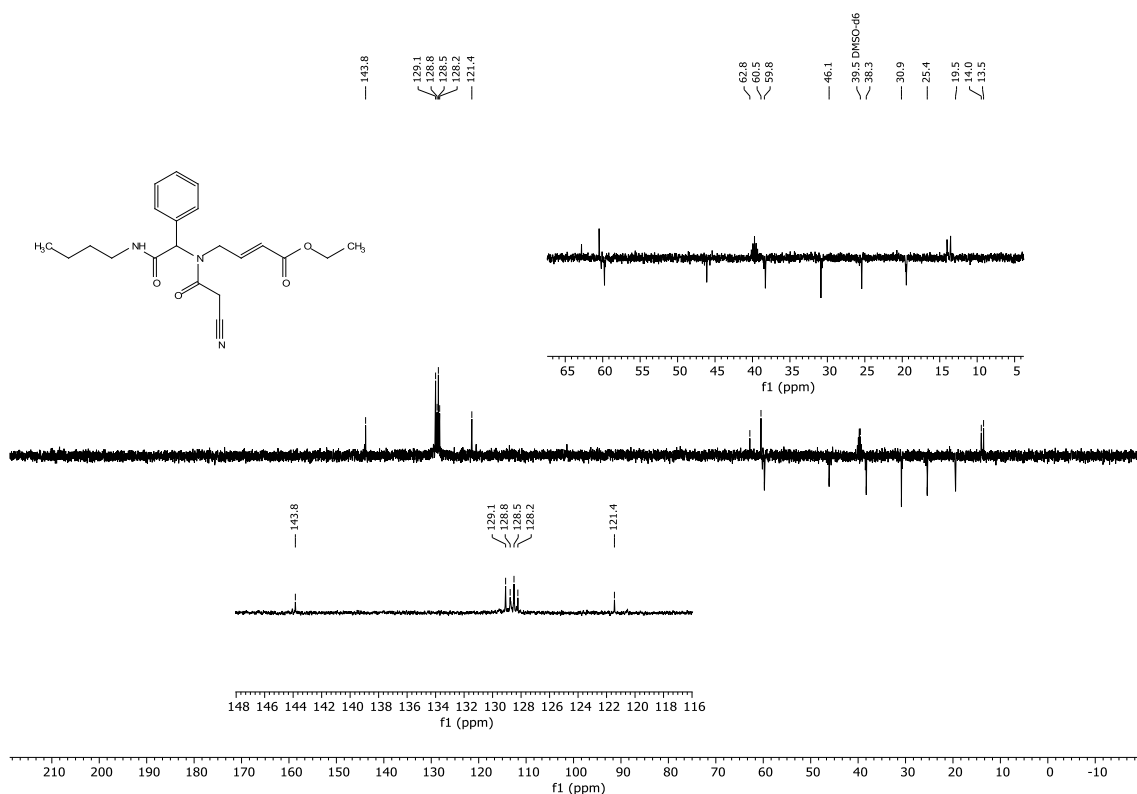


FIGURA A. 79. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **47k**.

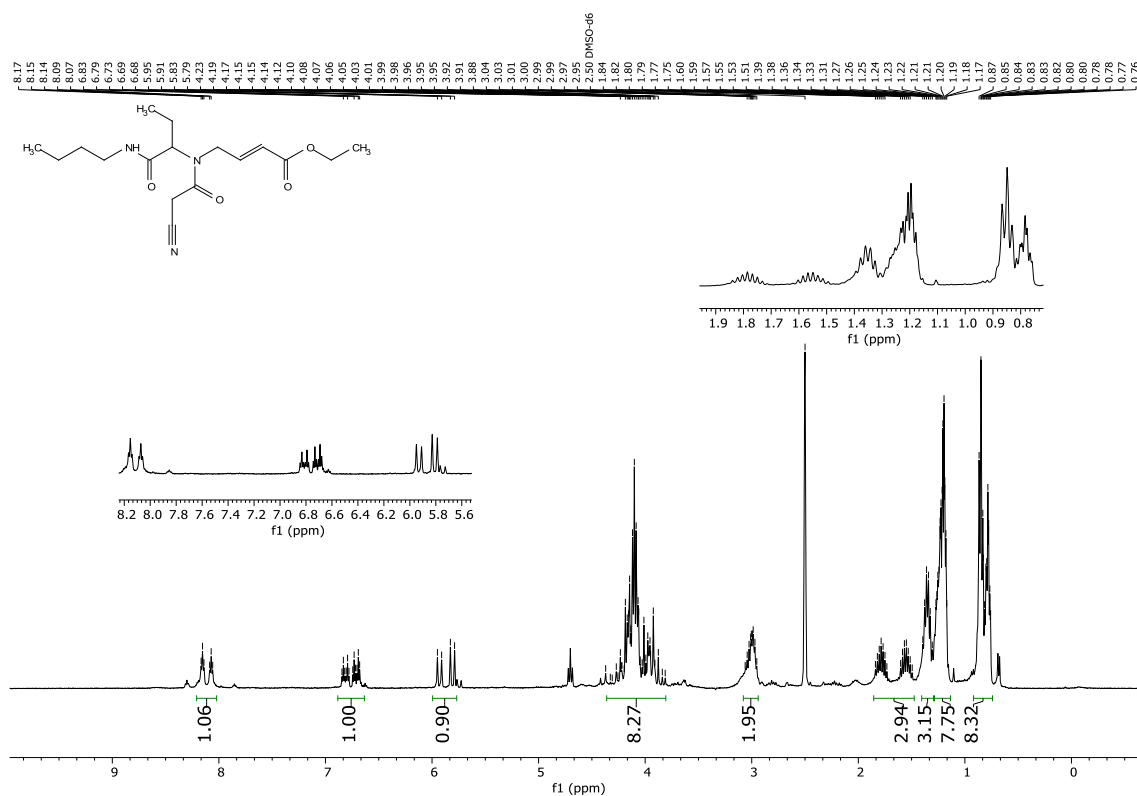


FIGURA A. 80. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **47l**.

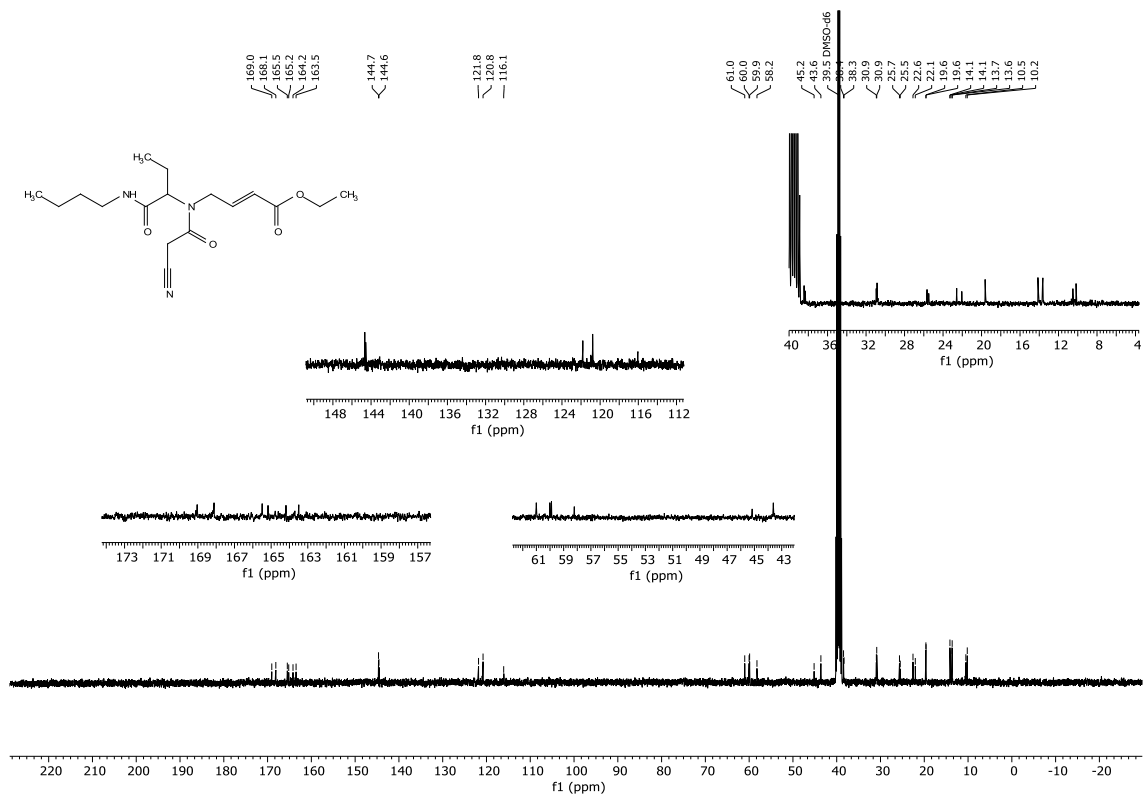


FIGURA A. 81. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto 471.

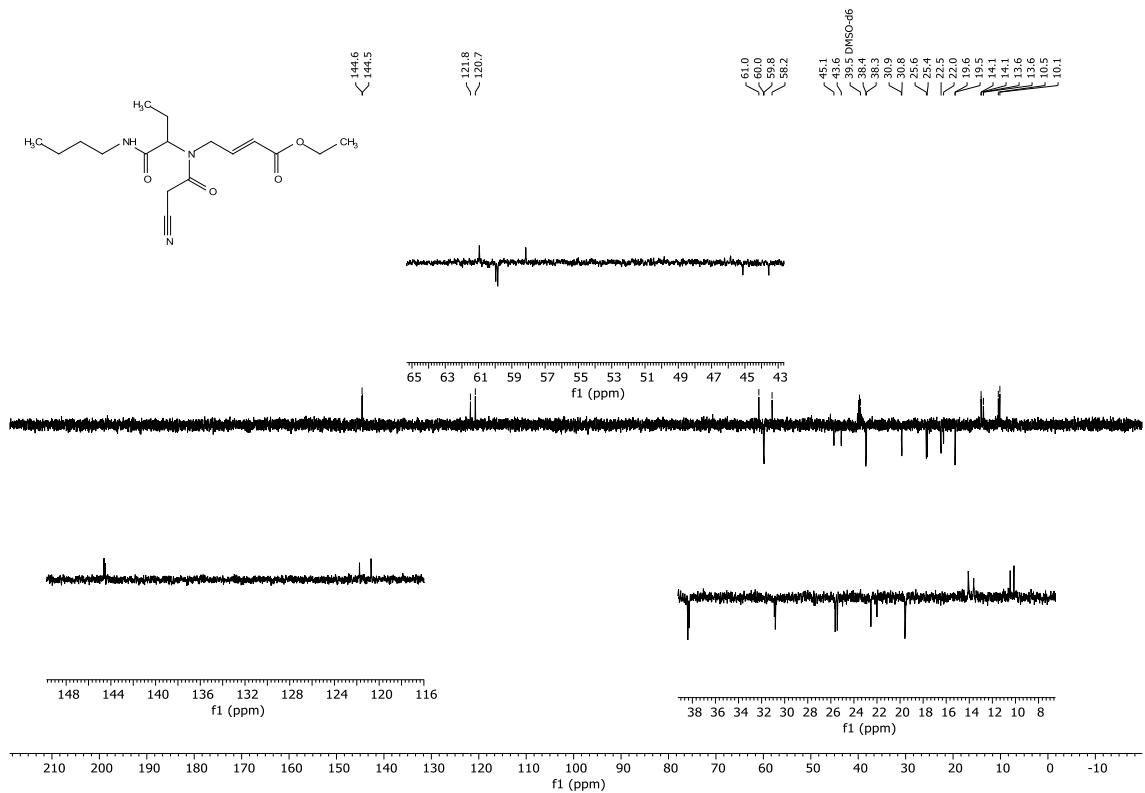


FIGURA A. 82. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto 471.

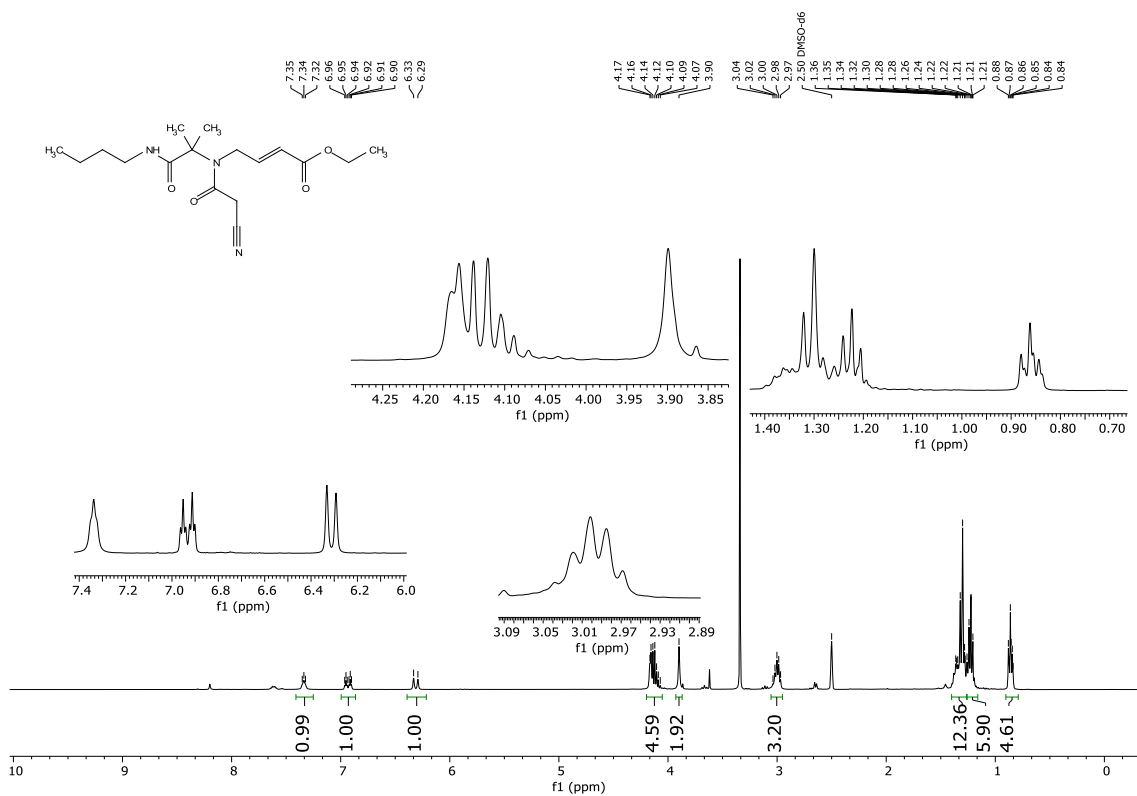


FIGURA A. 83. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **47m**.

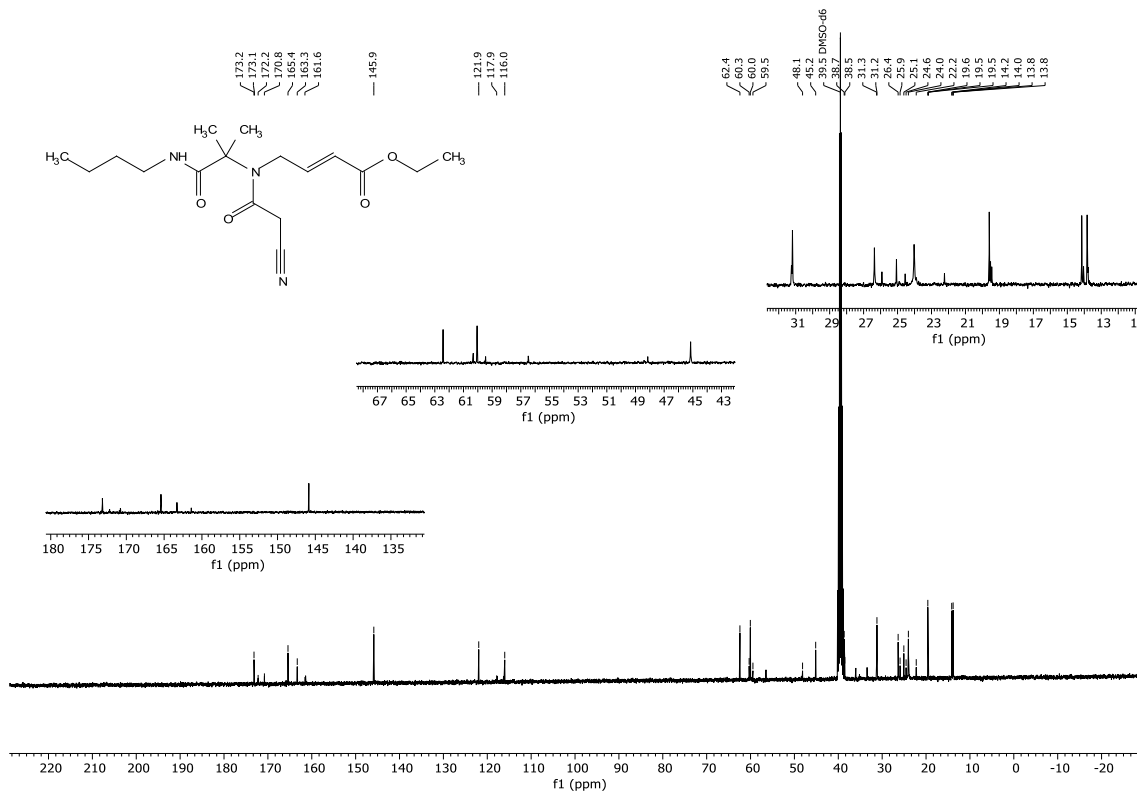


FIGURA A. 84. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **47m**.

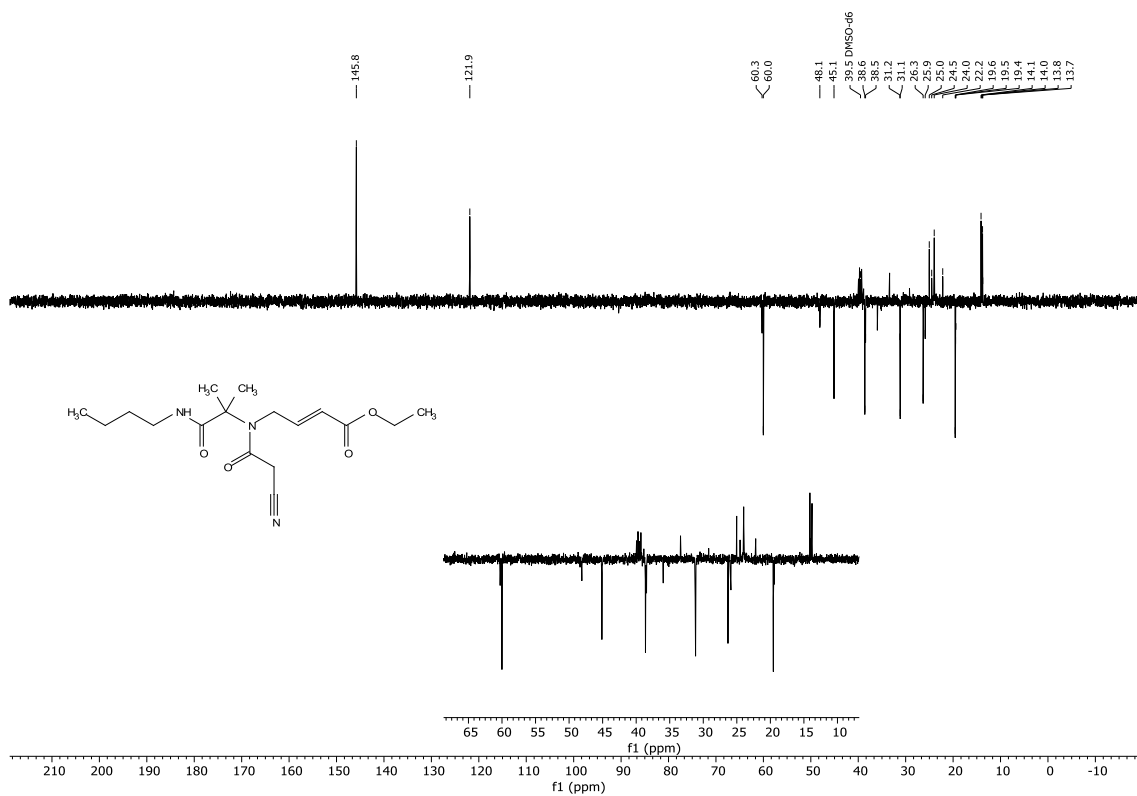


FIGURA A. 85. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **47m**.

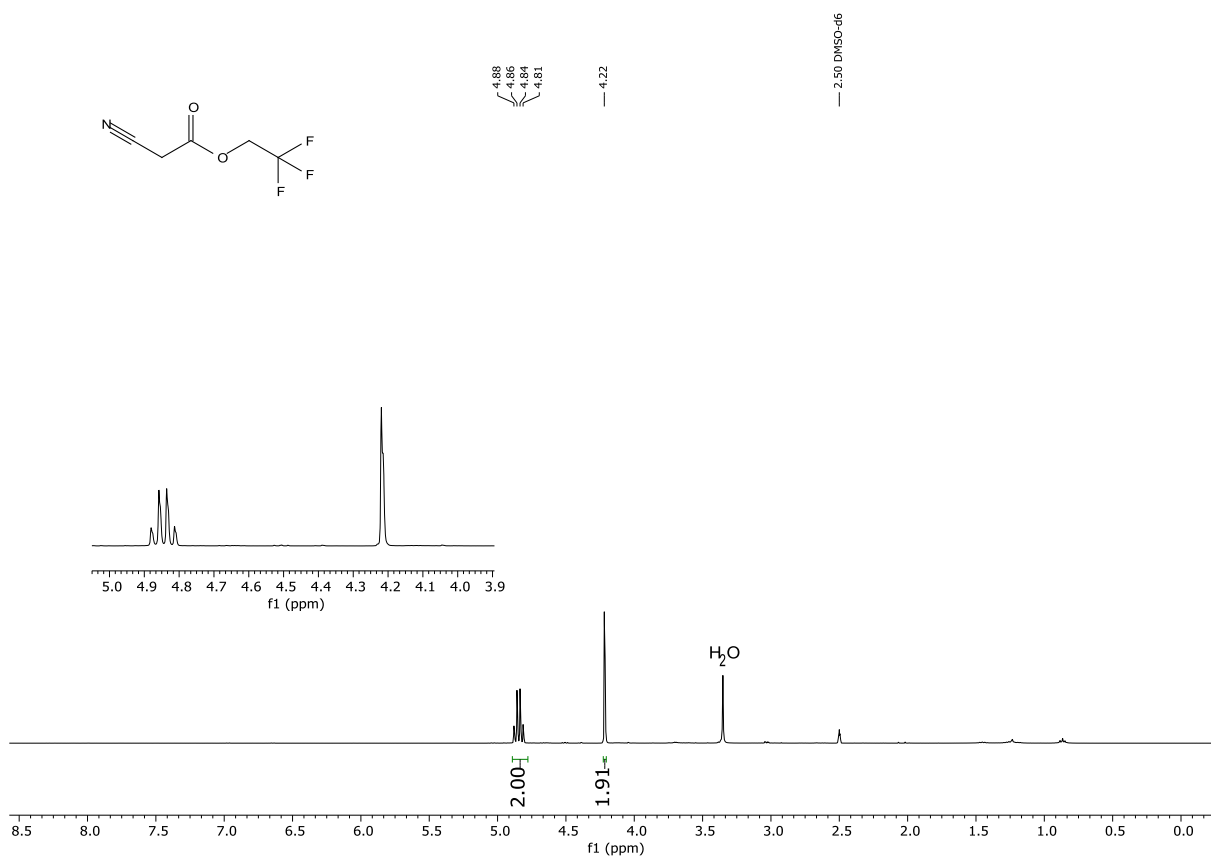


FIGURA A. 86. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **49**.

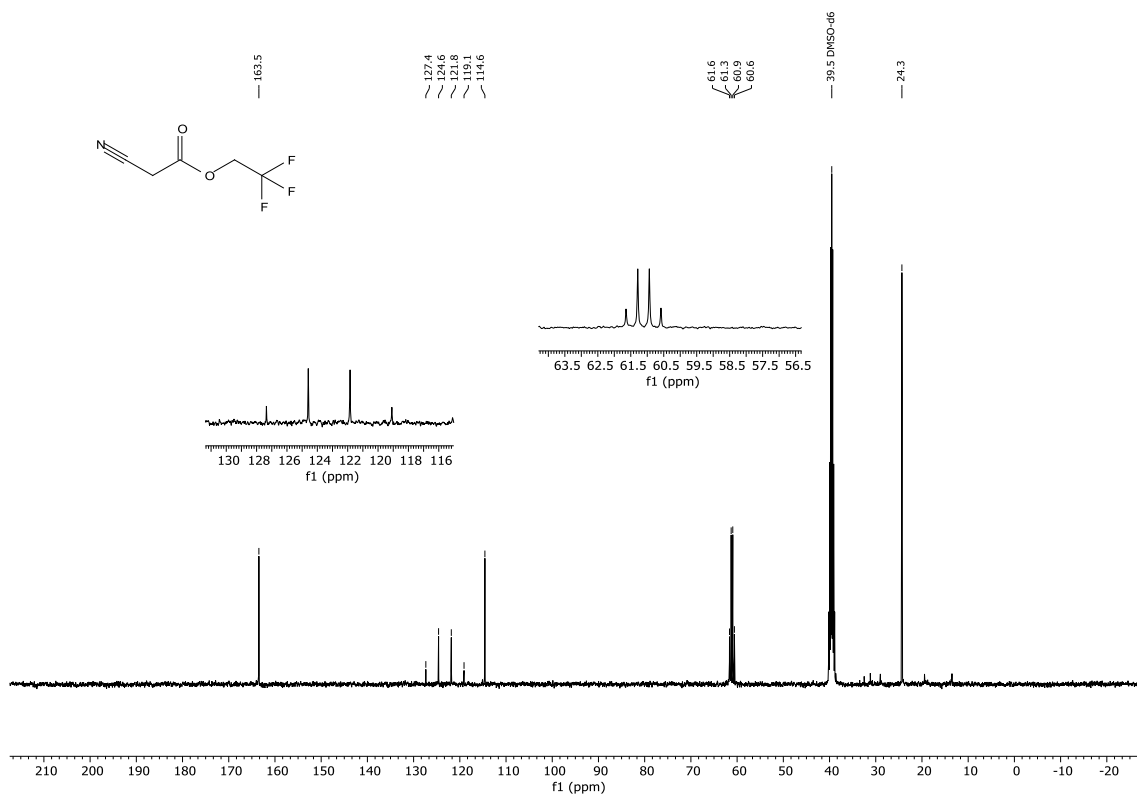


FIGURA A. 87. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **49**.

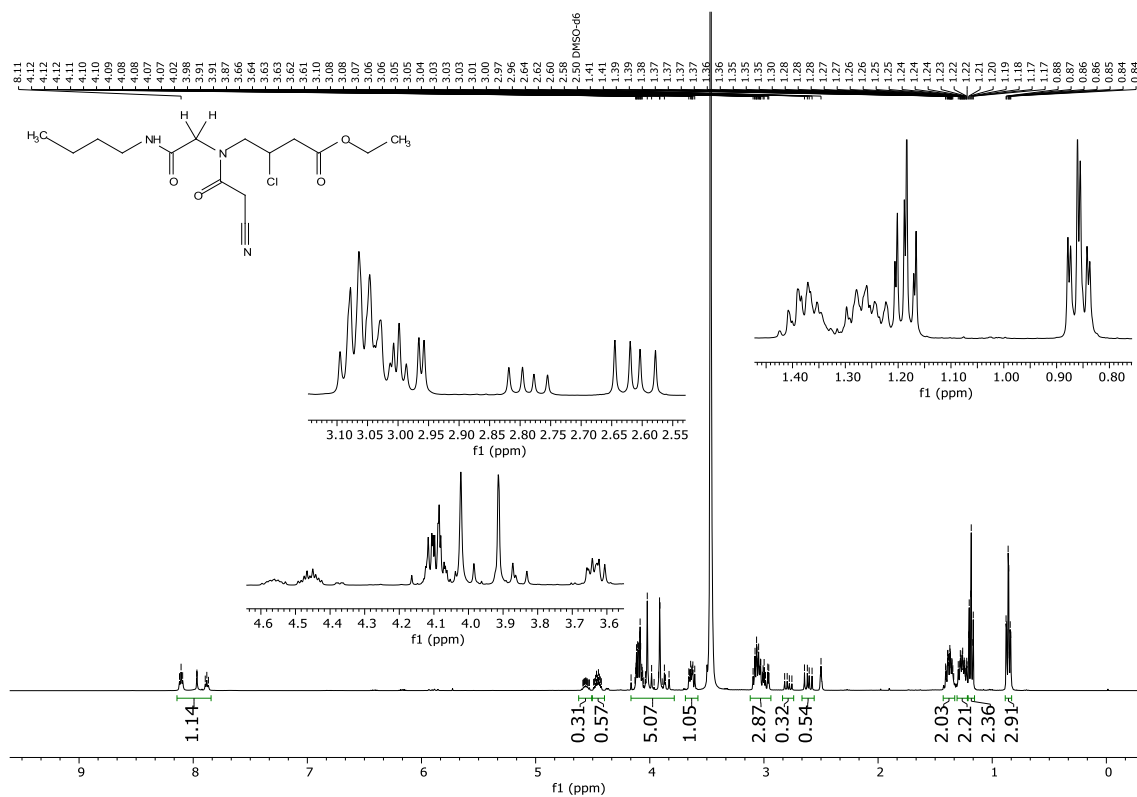


FIGURA A. 88. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **48a** (LSPN1042).

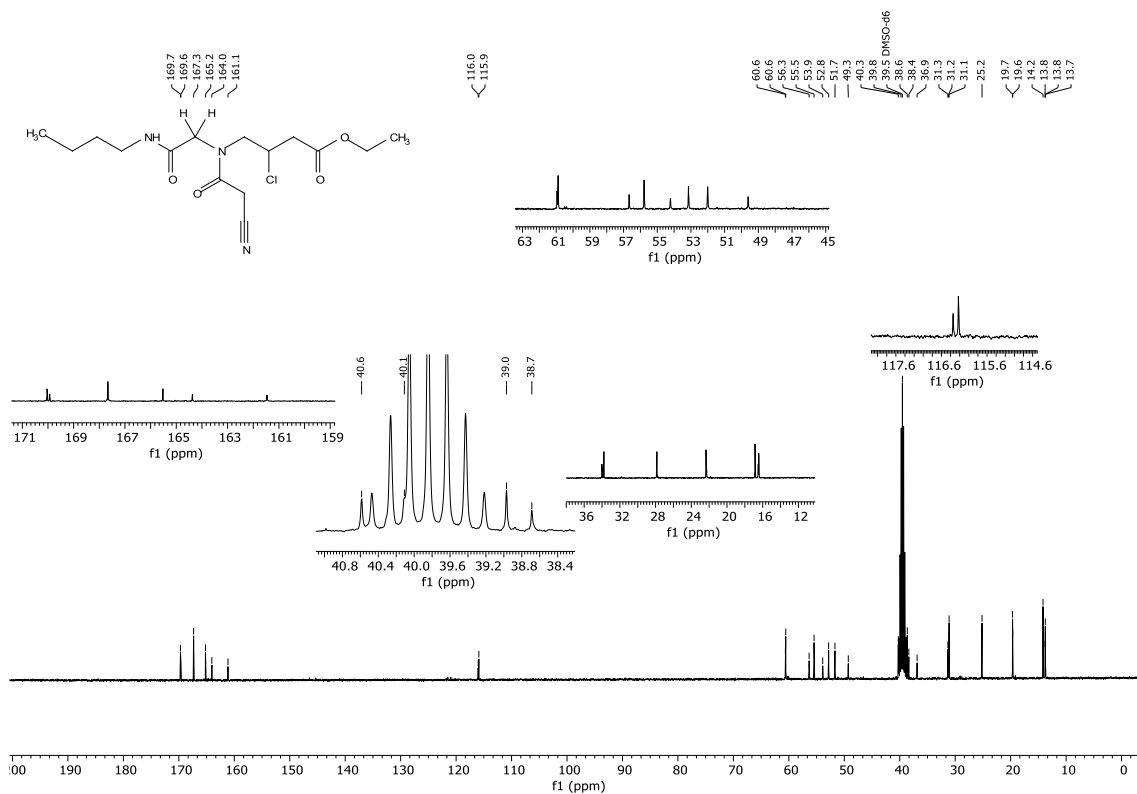


FIGURA A. 89. RMN ¹³C {¹H} (101 MHz, DMSO-d₆) do composto **48a** (LSPN1042).

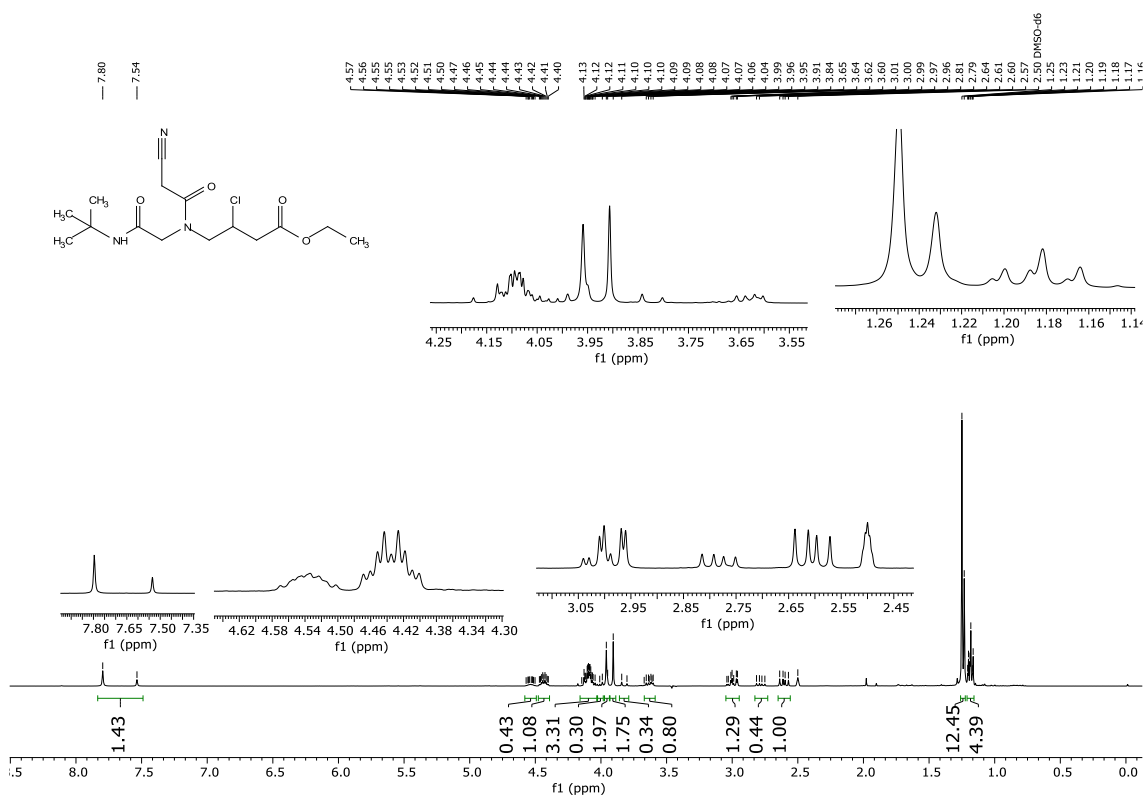


FIGURA A. 90. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto **48b**.

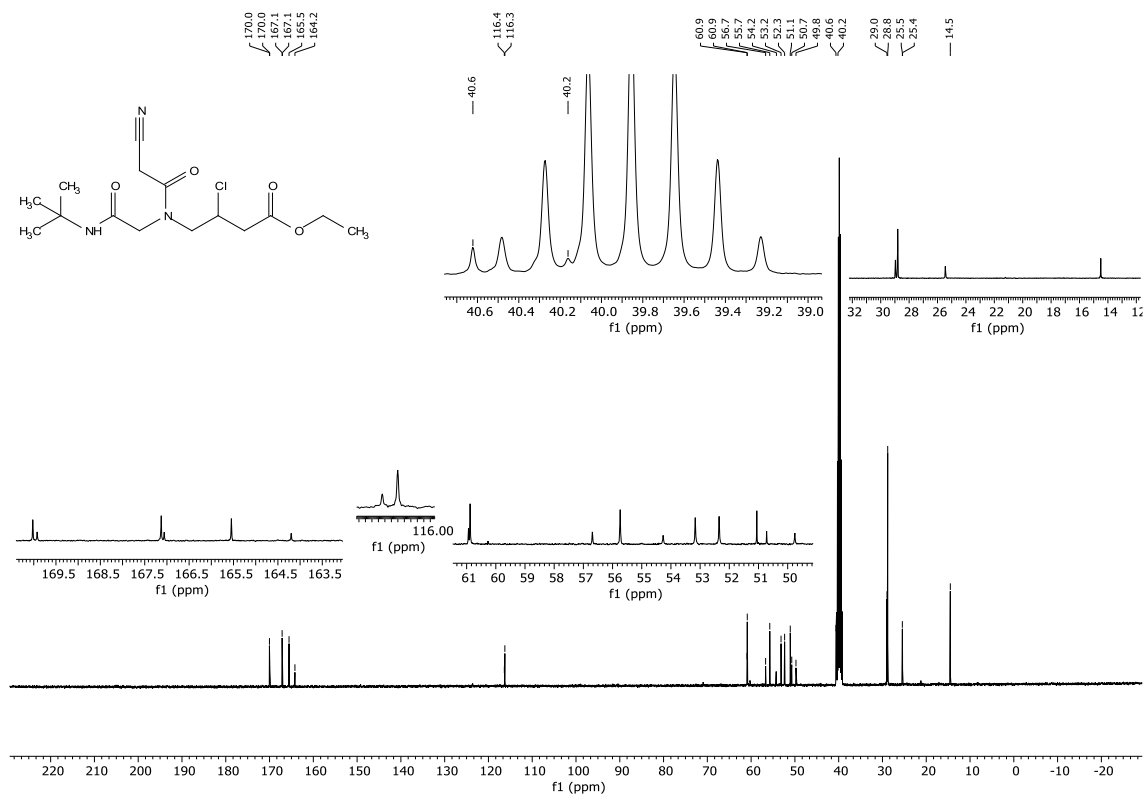


FIGURA A. 91. RMN ¹³C {¹H} (101 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **48b**.

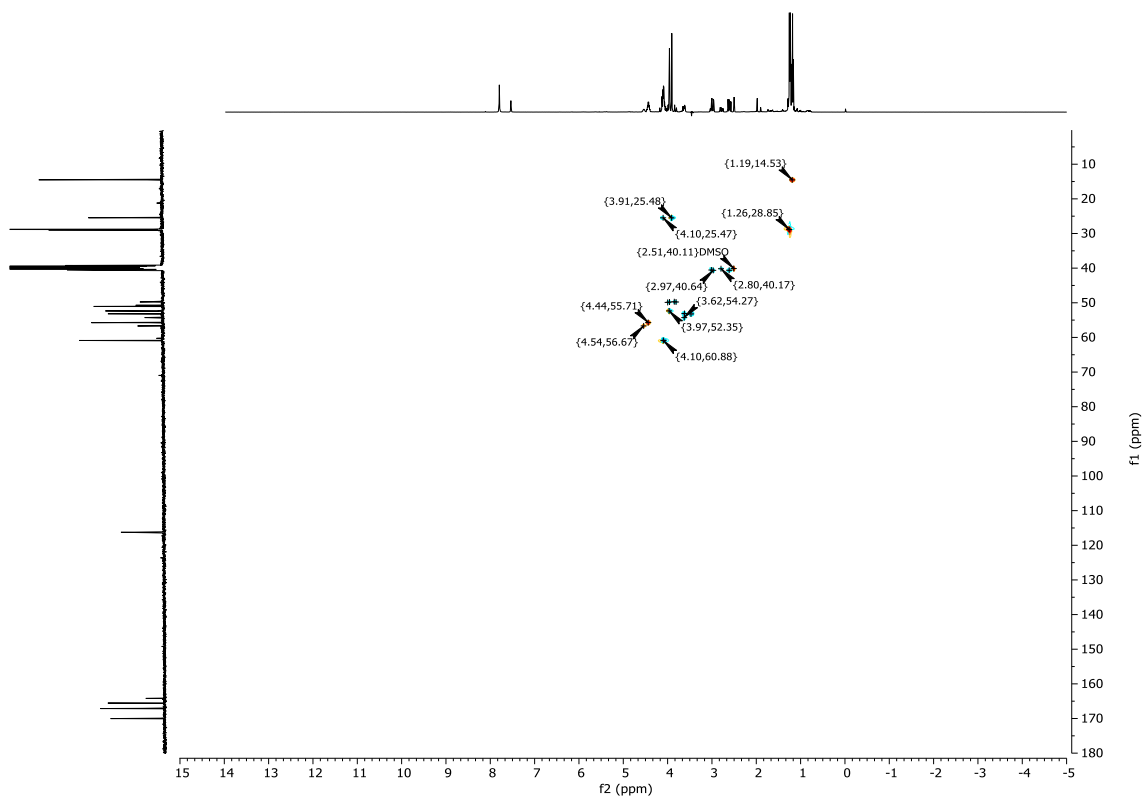


FIGURA A. 92. RMN HSQC (400 MHz, DMSO-*d*₆) do composto **48b**.

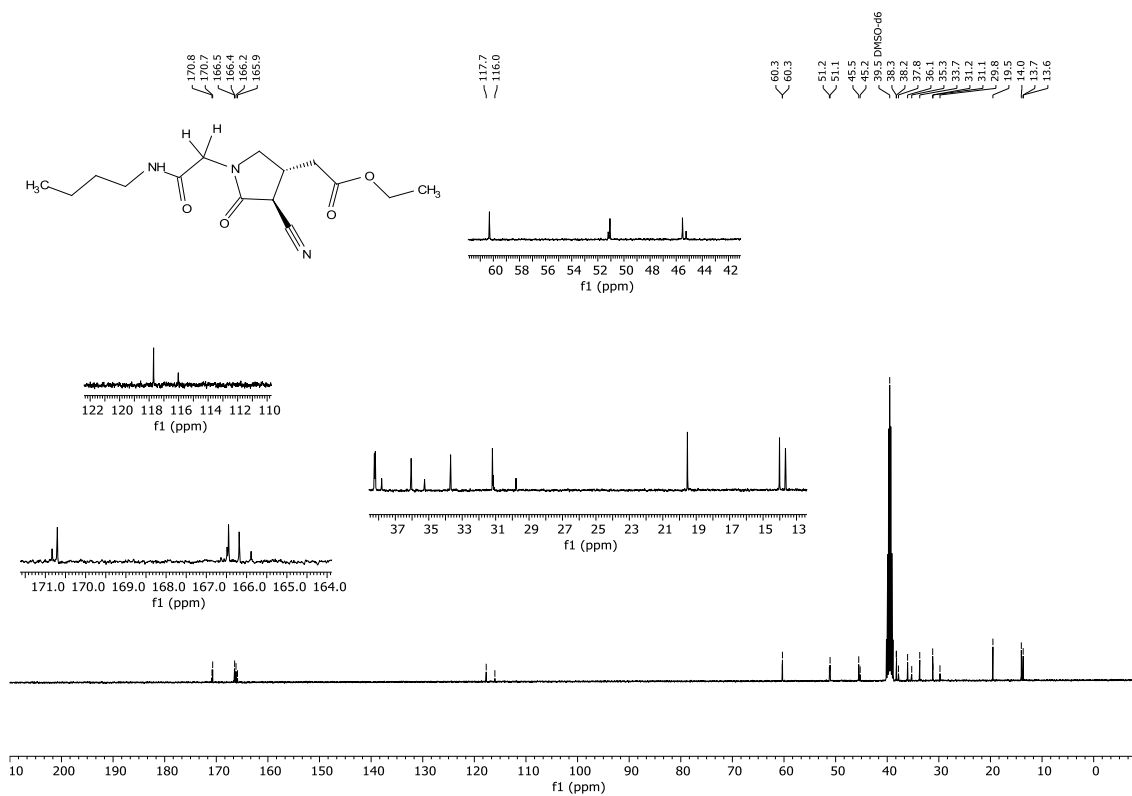


FIGURA A. 95. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51a** (LSPN1042).

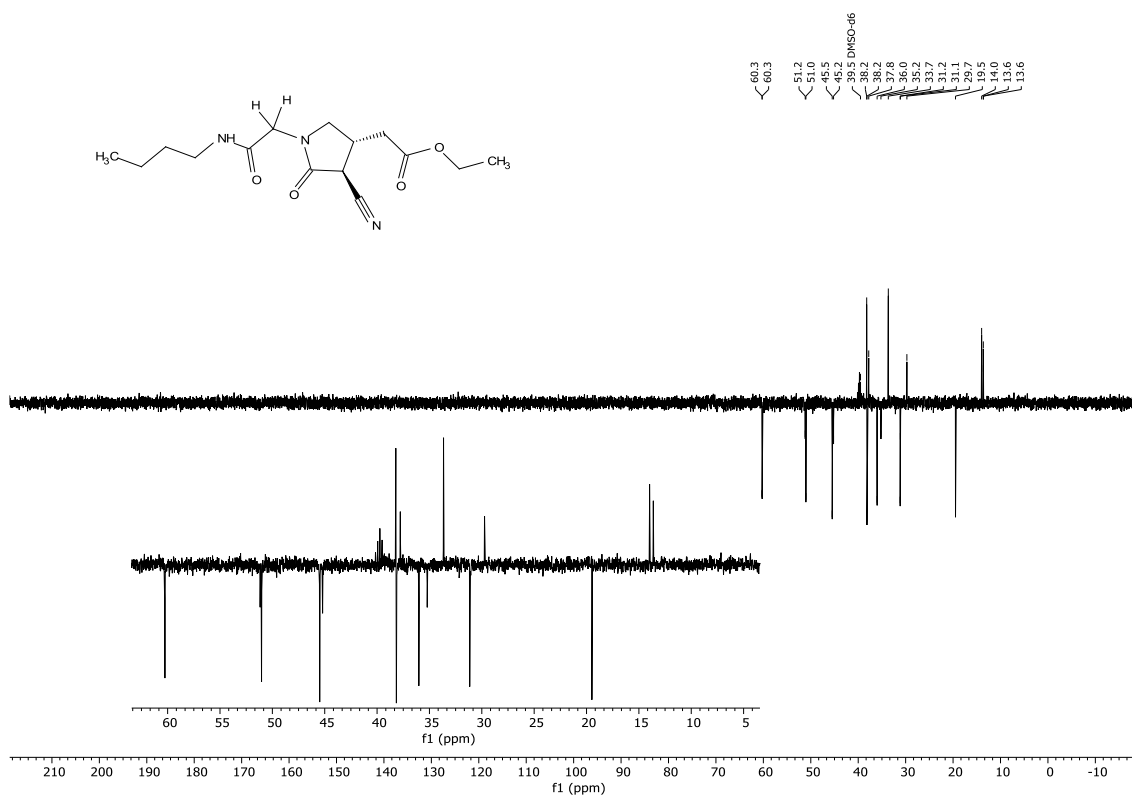


FIGURA A. 96. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51a** (LSPN1042).

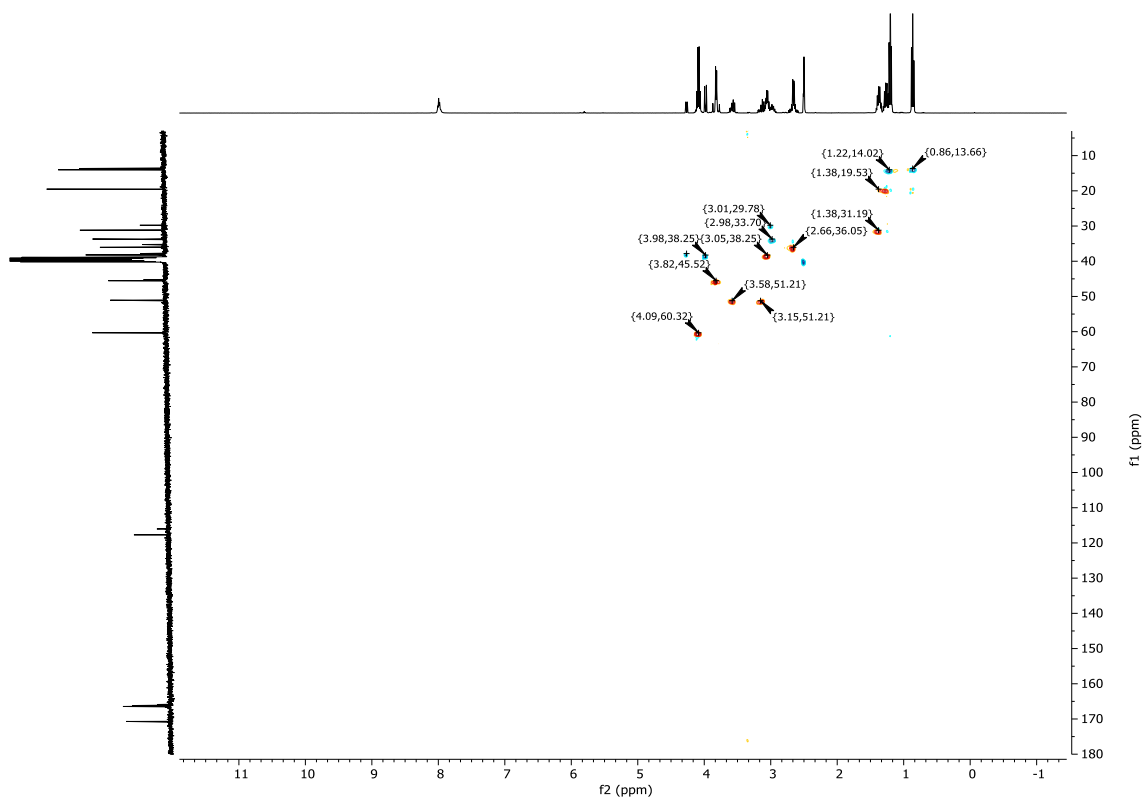


FIGURA A. 97. RMN HSQC (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **51a**.

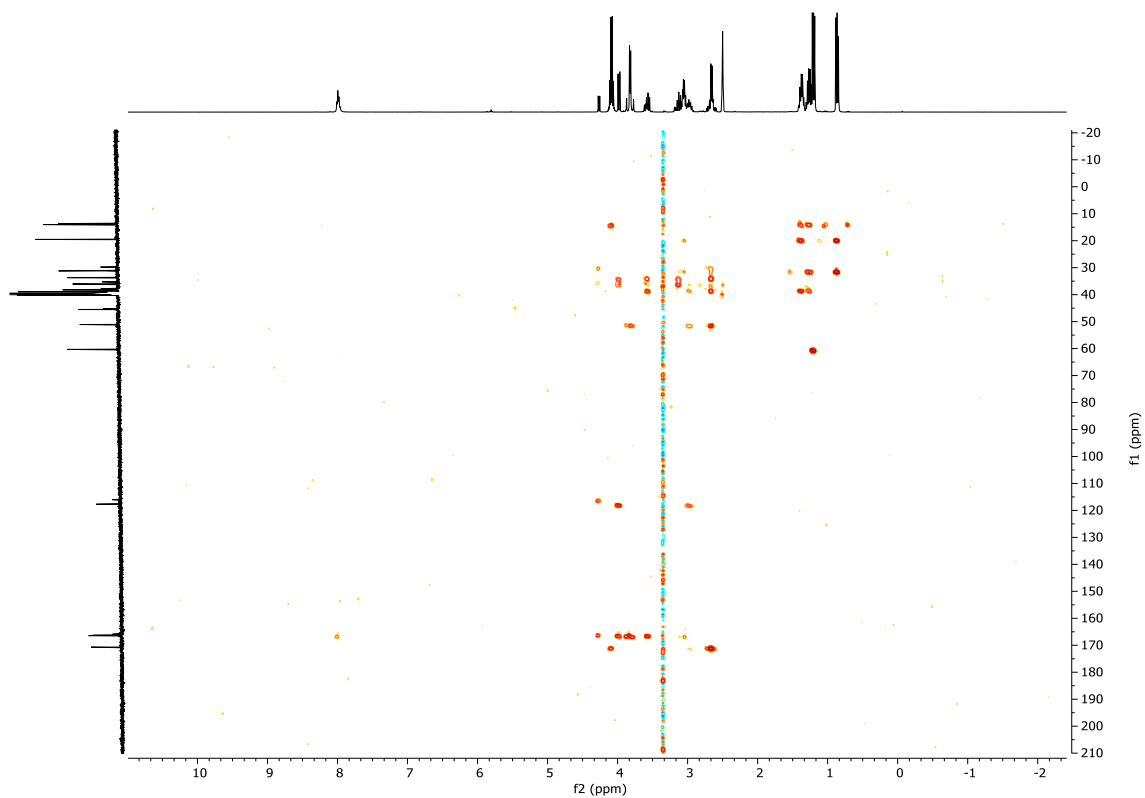


FIGURA A. 98. RMN HMBC (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **51a**.

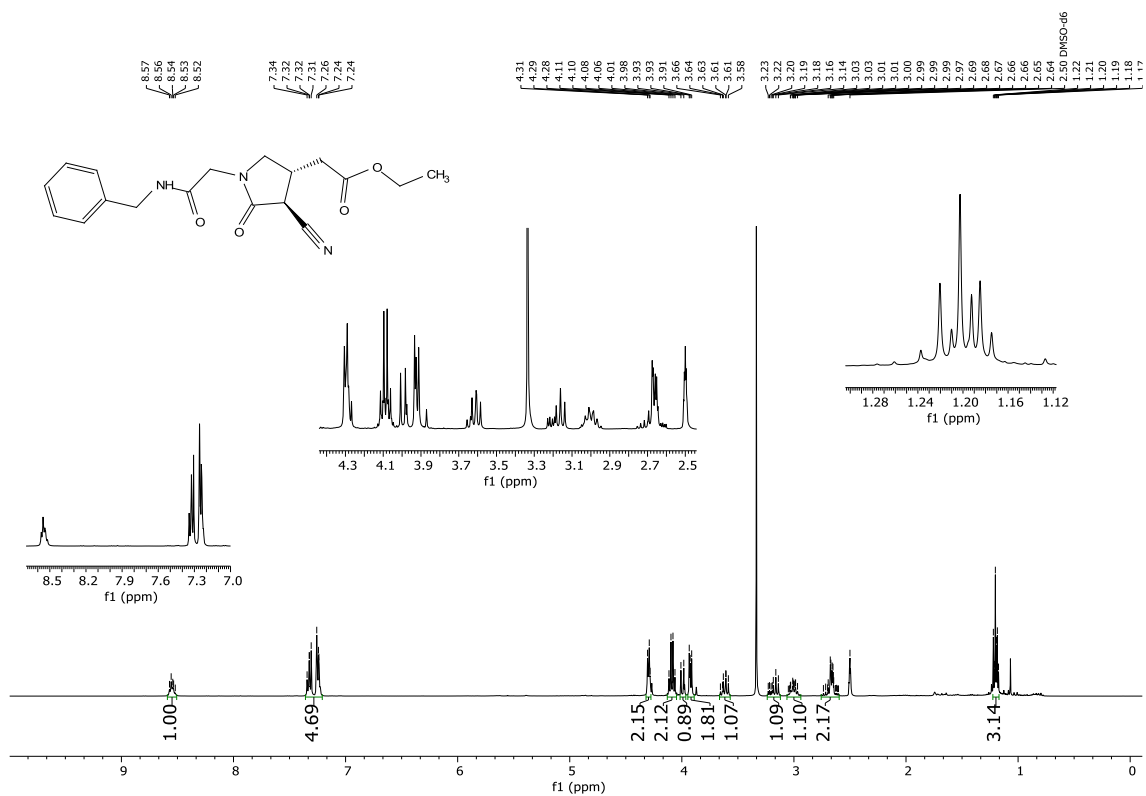


FIGURA A. 99. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **51b** (LSPN1043).

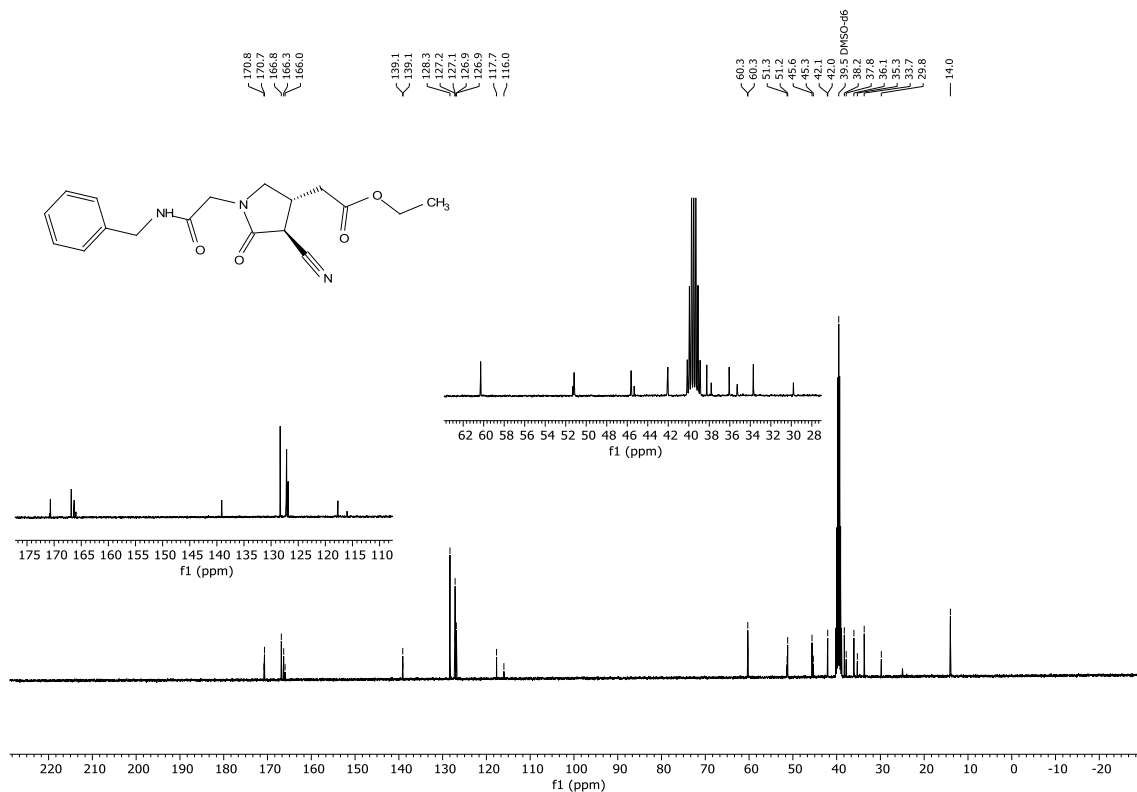


FIGURA A. 100. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51b** (LSPN1043).

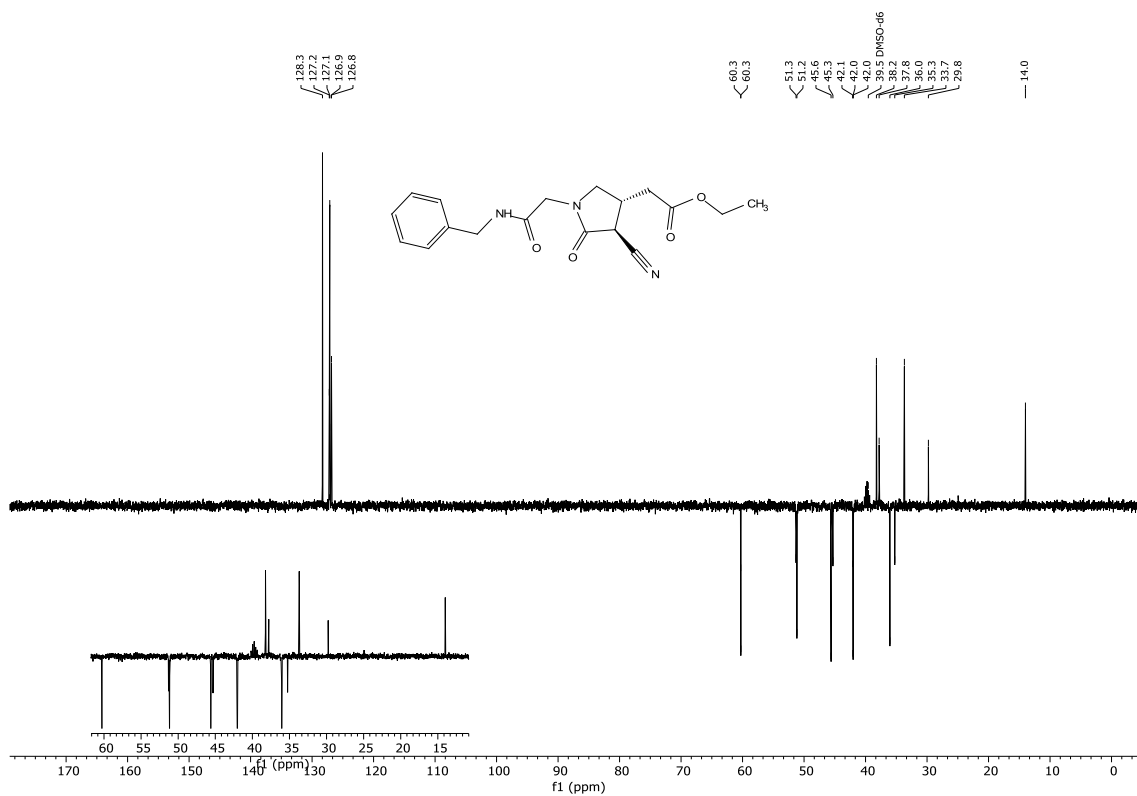


FIGURA A. 101. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51b** (LSPN1043).

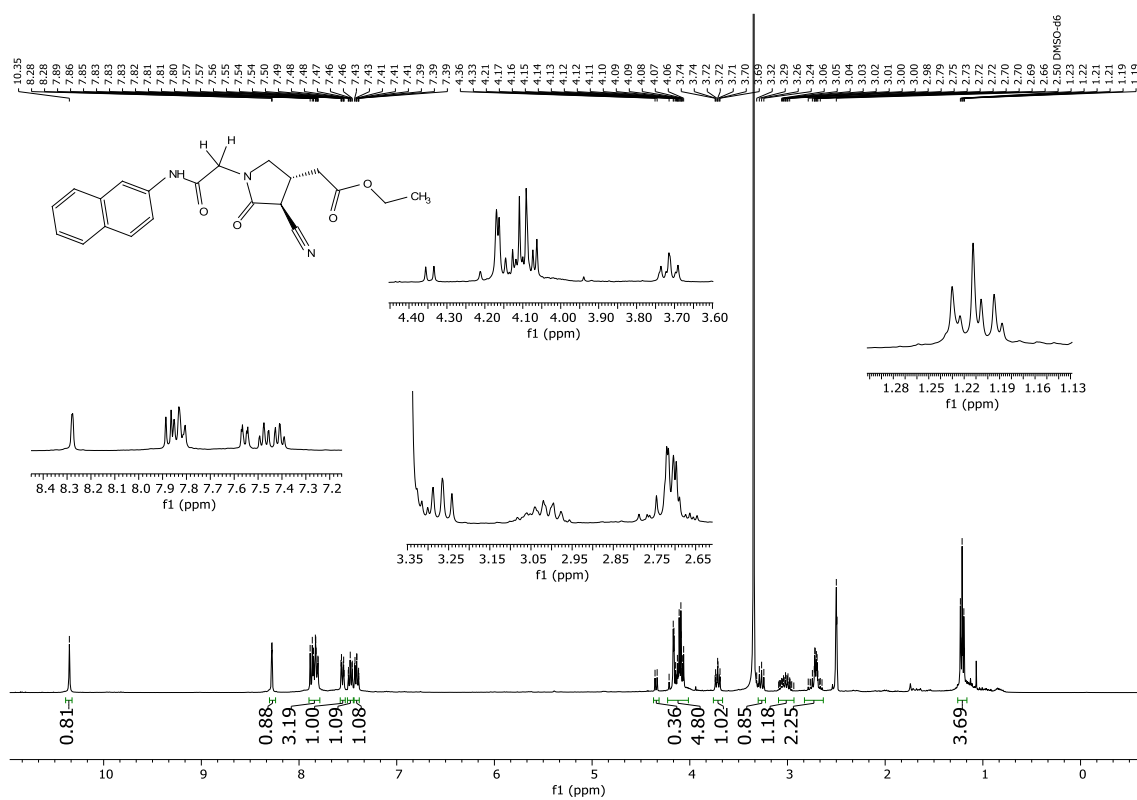


FIGURA A. 102. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **51c** (LSPN1044).

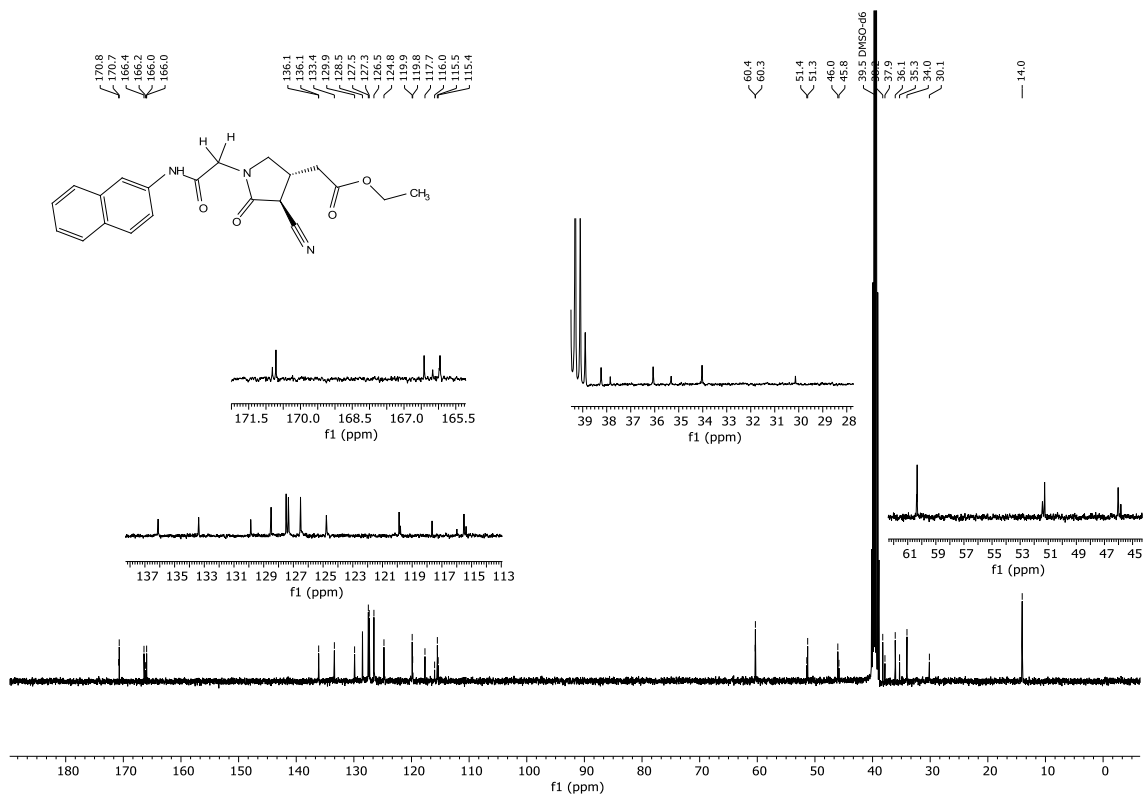


FIGURA A. 103. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51c** (LSPN1044).

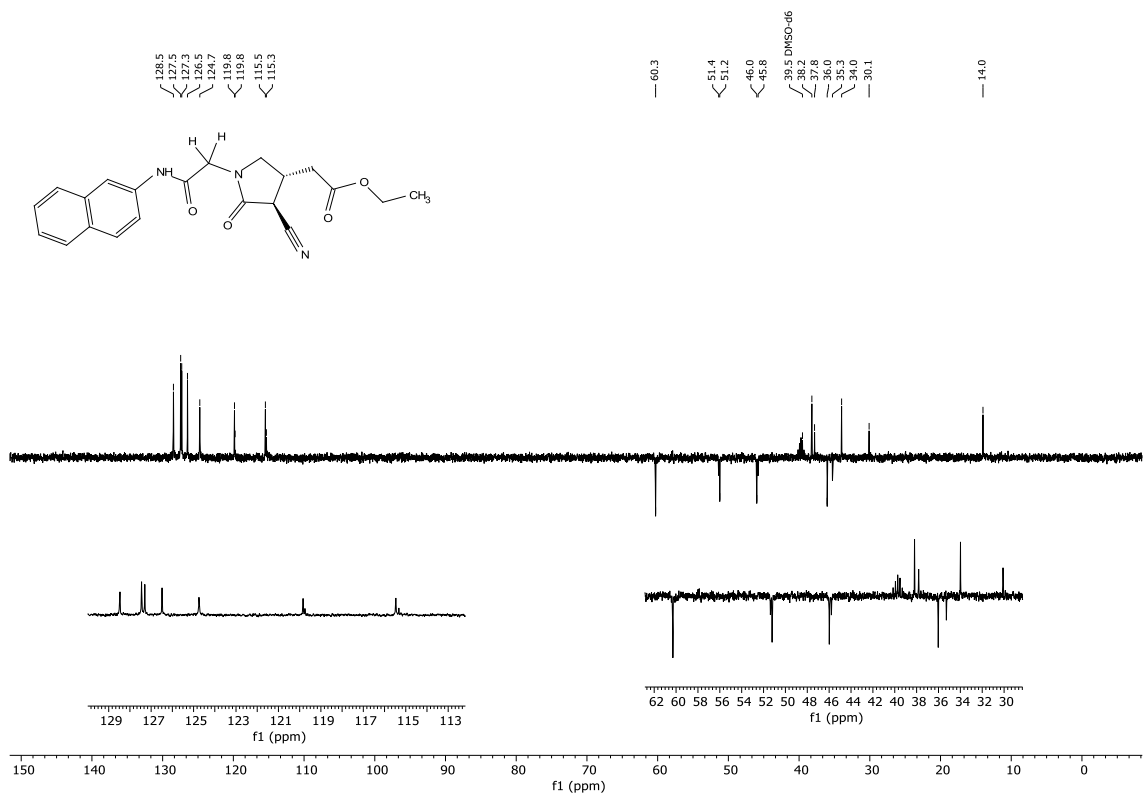


FIGURA A. 104. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51c** (LSPN1044).

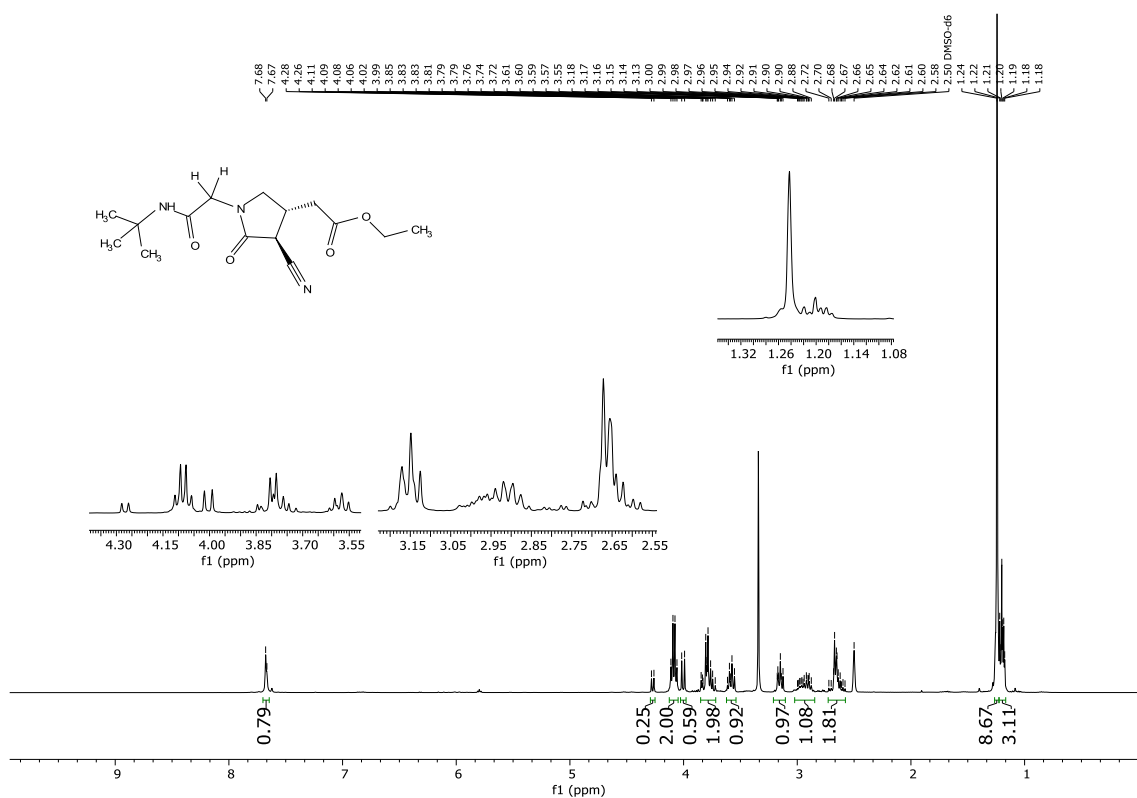


FIGURA A. 105. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **51d** (LSPN 1045).

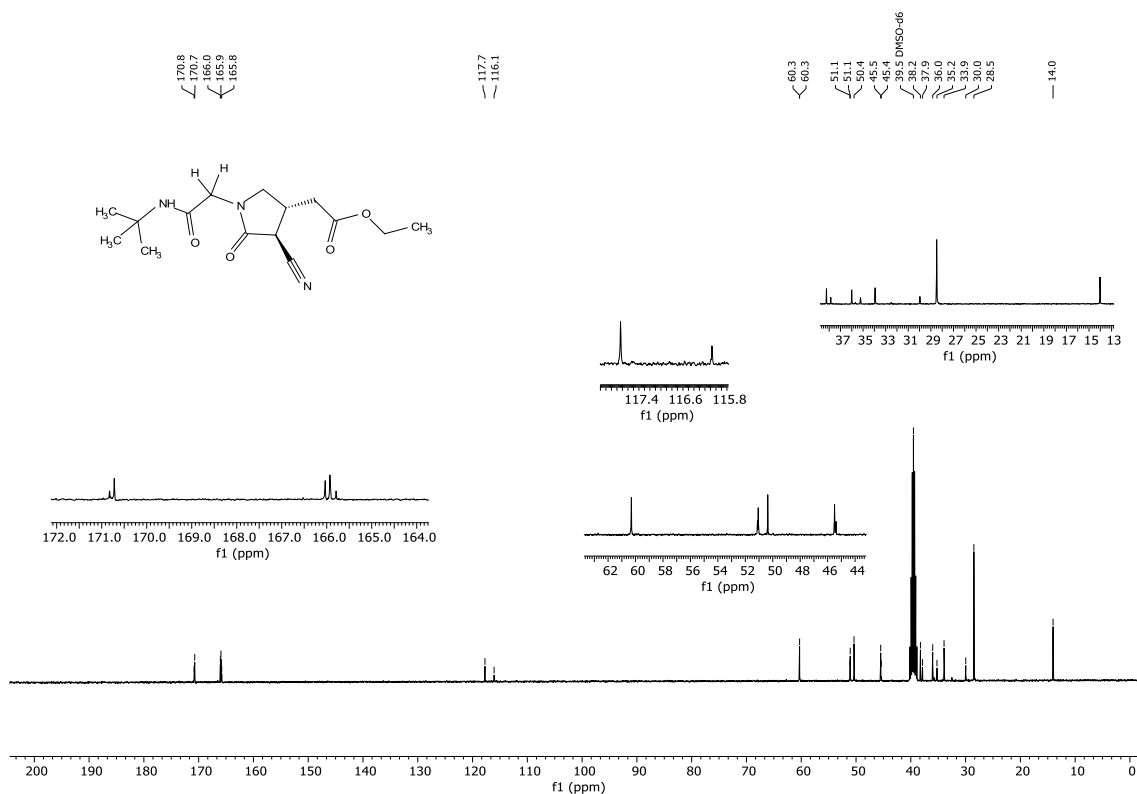


FIGURA A. 106. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51d** (LSPN 1045).

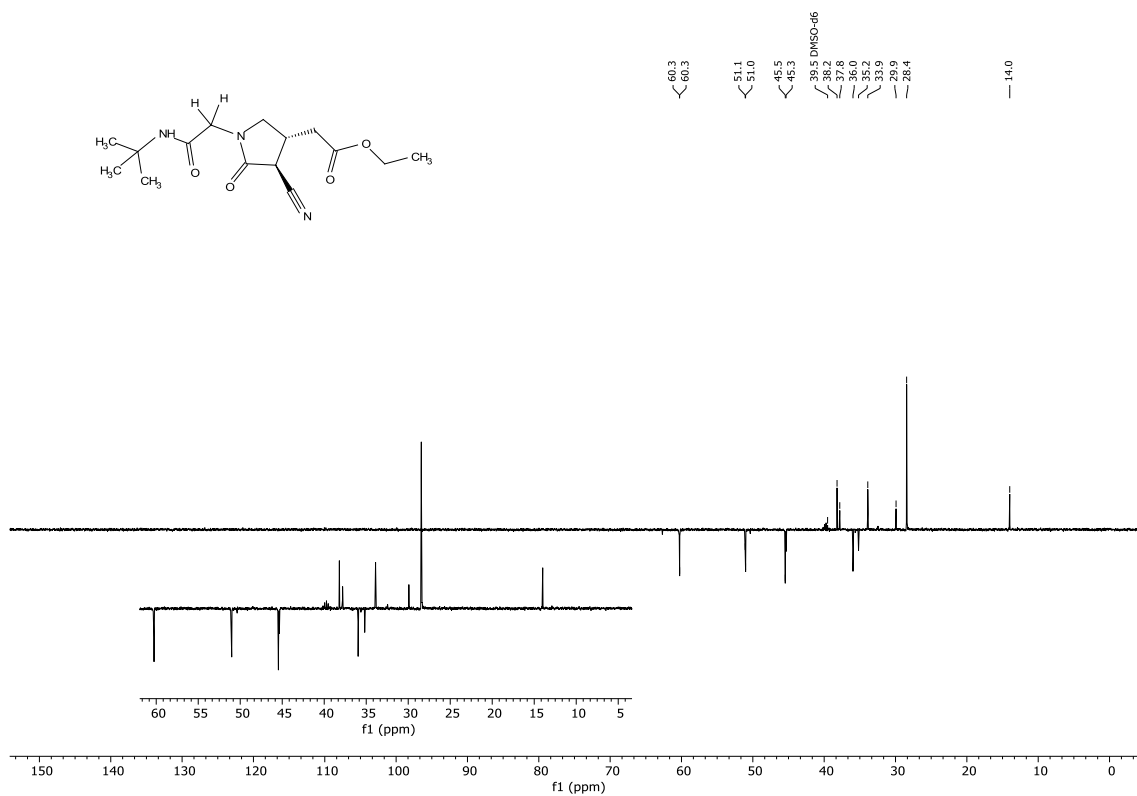


FIGURA A. 107. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51d** (LSPN 1045).

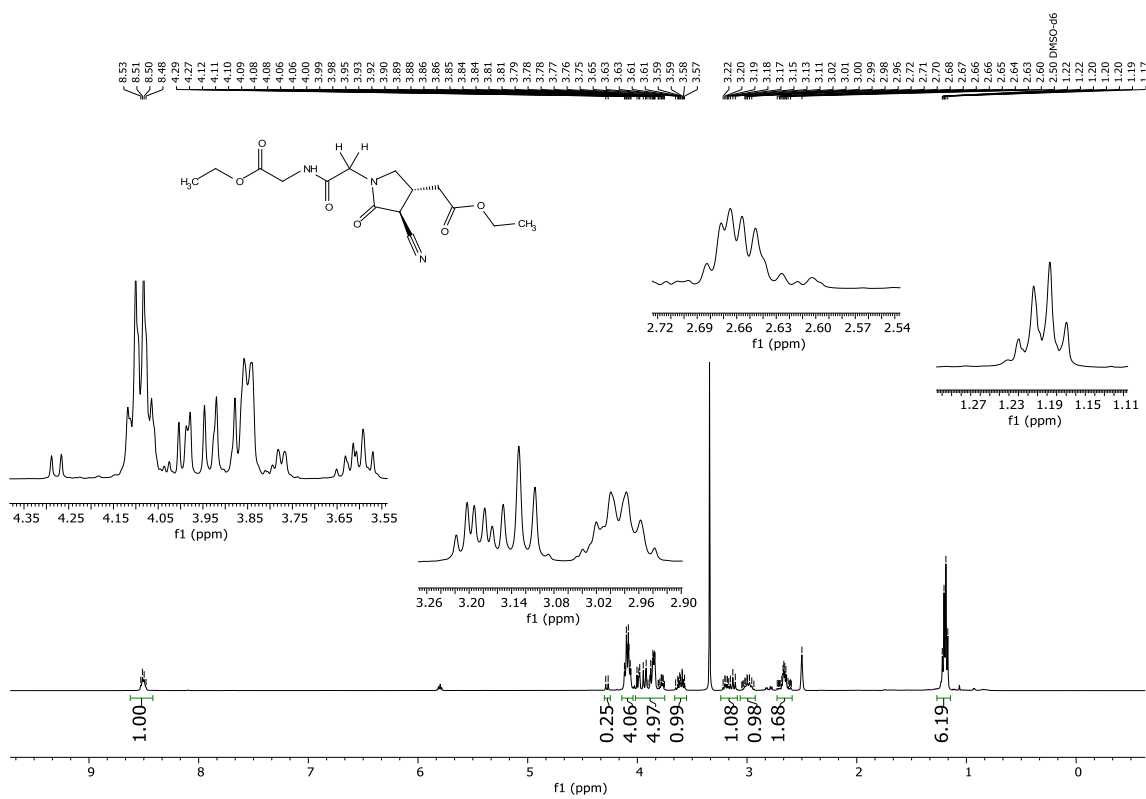


FIGURA A. 108. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **51e** (LSPN 1046).

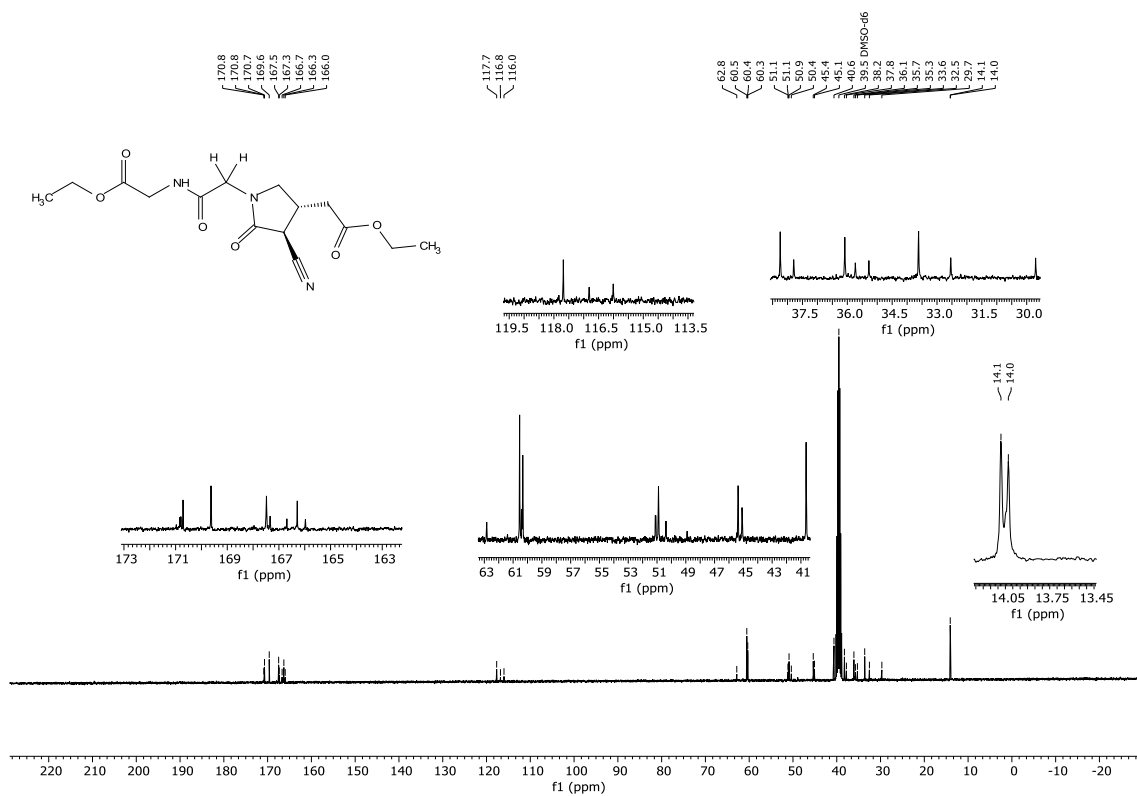


FIGURA A. 109. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **51e** (LSPN **1046**).

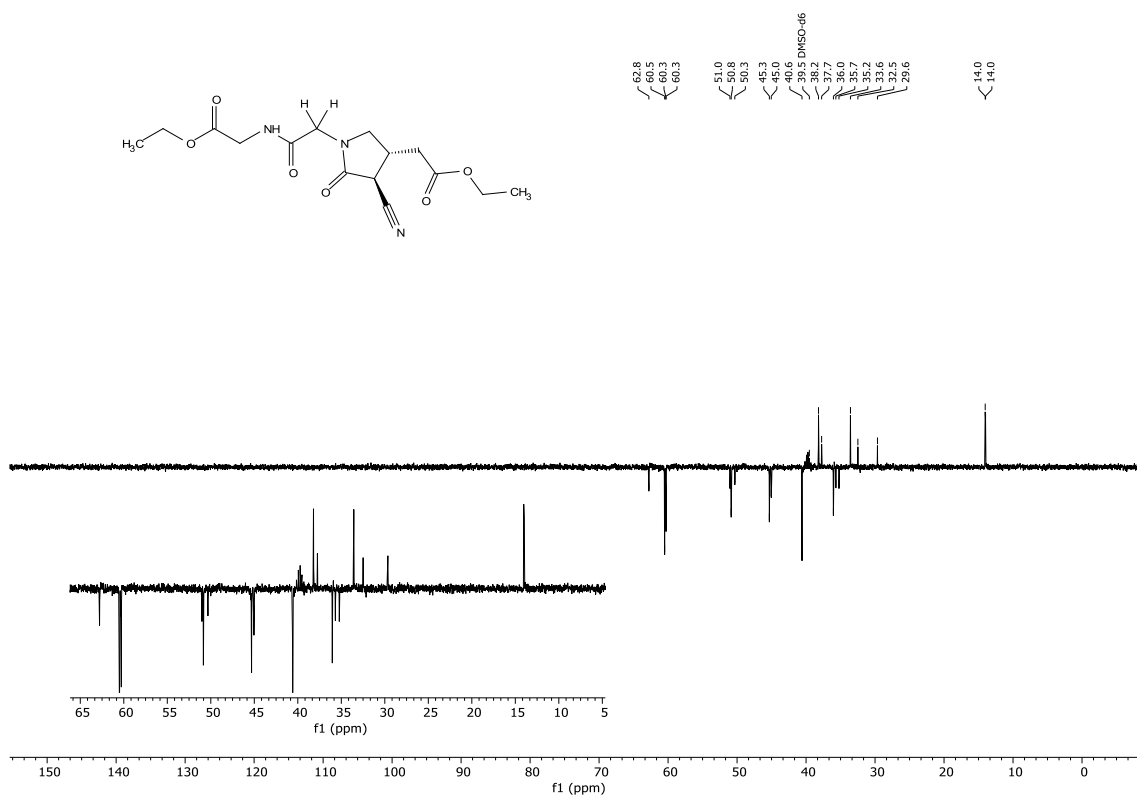


FIGURA A. 110. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **51e** (LSPN **1046**).

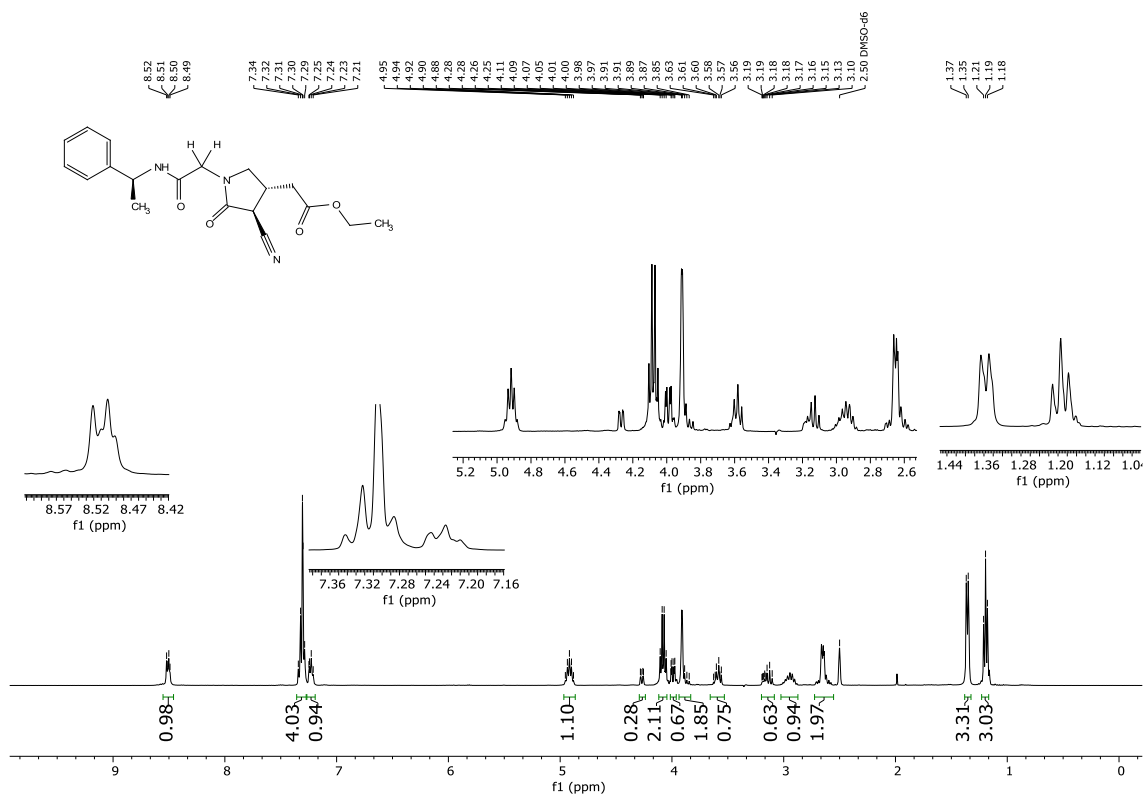


FIGURA A. 111. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **51f** (LSPN 1047).

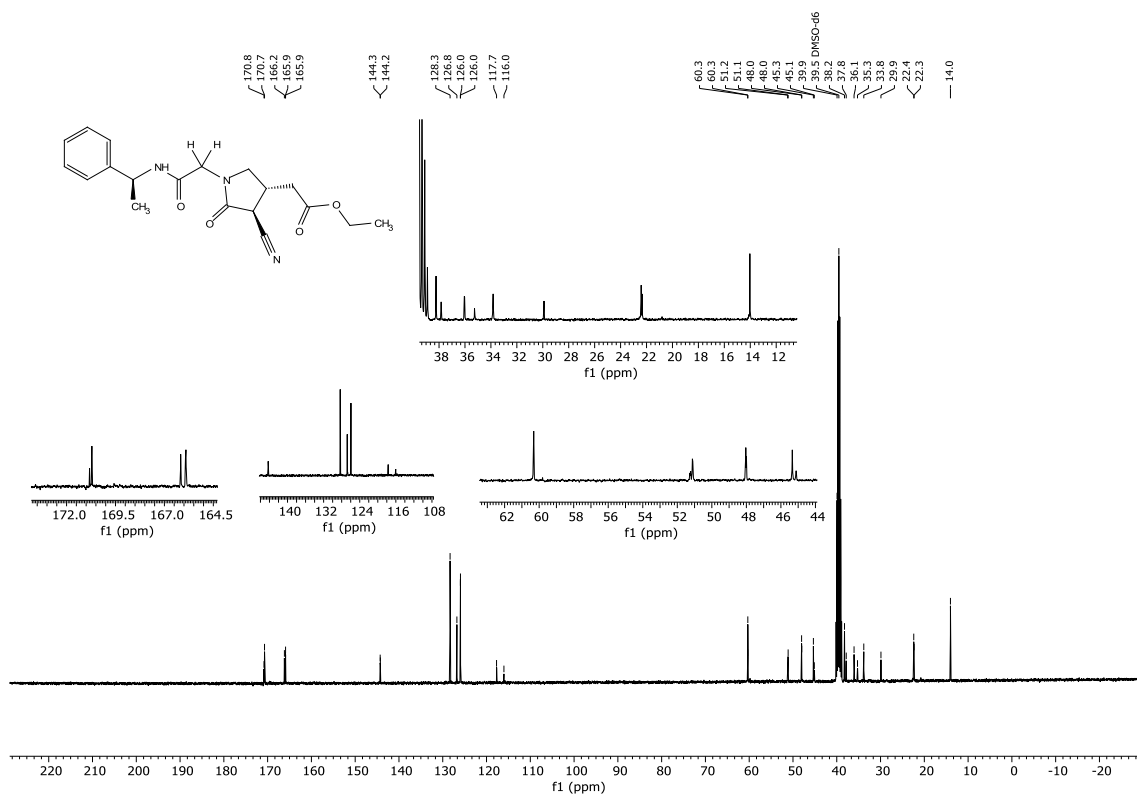


FIGURA A. 112. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **51f** (LSPN 1047).

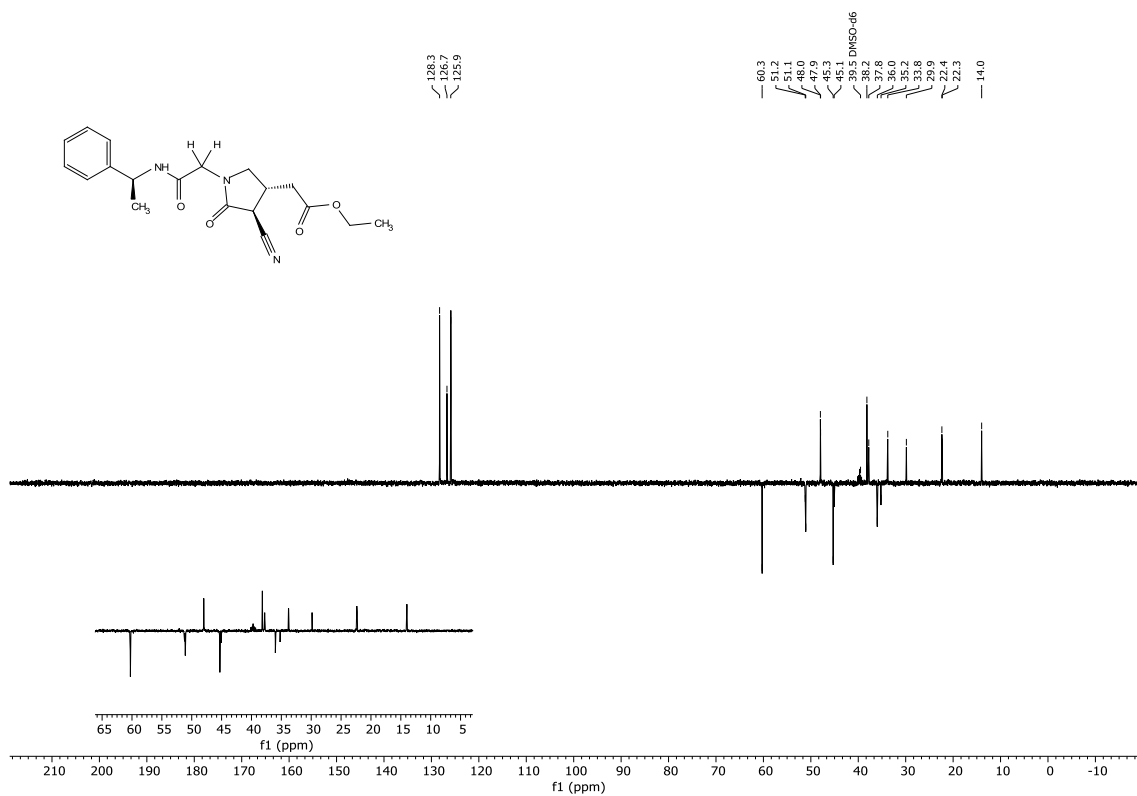


FIGURA A. 113. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51f** (LSPN 1047).

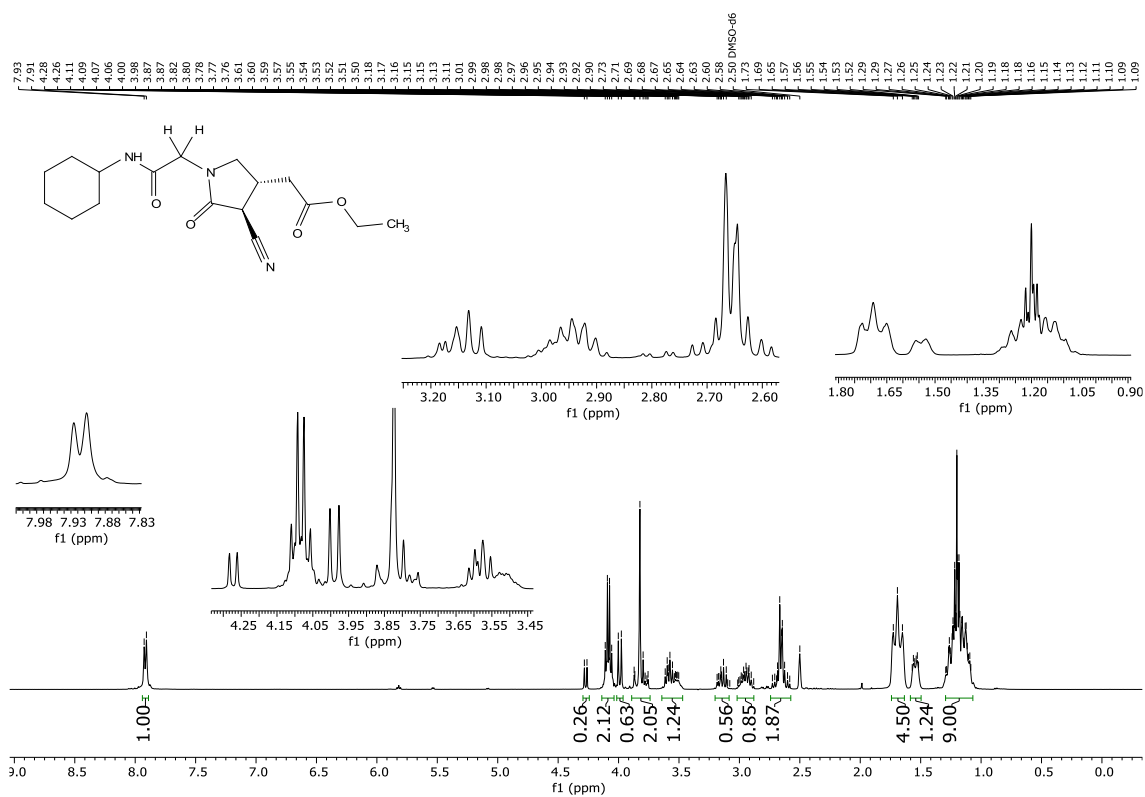


FIGURA A. 114. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto **51g** (LSPN 1048).

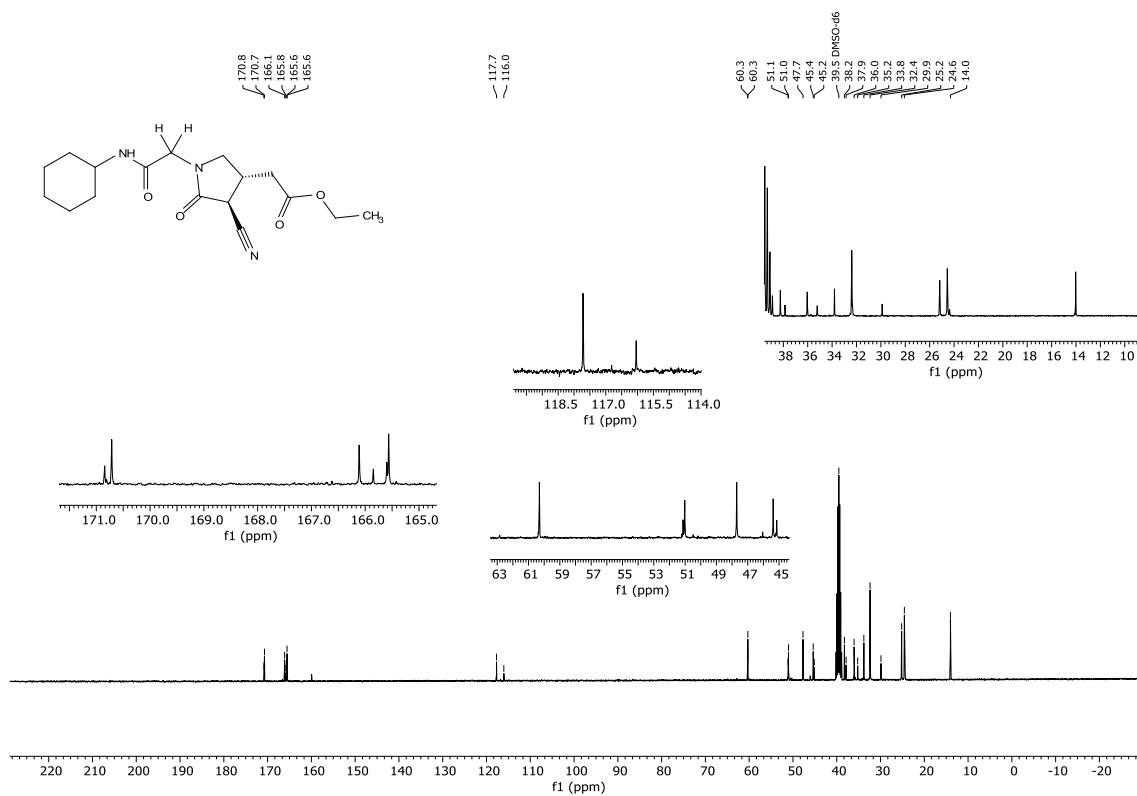


FIGURA A. 115. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51g (LSPN 1048)**.

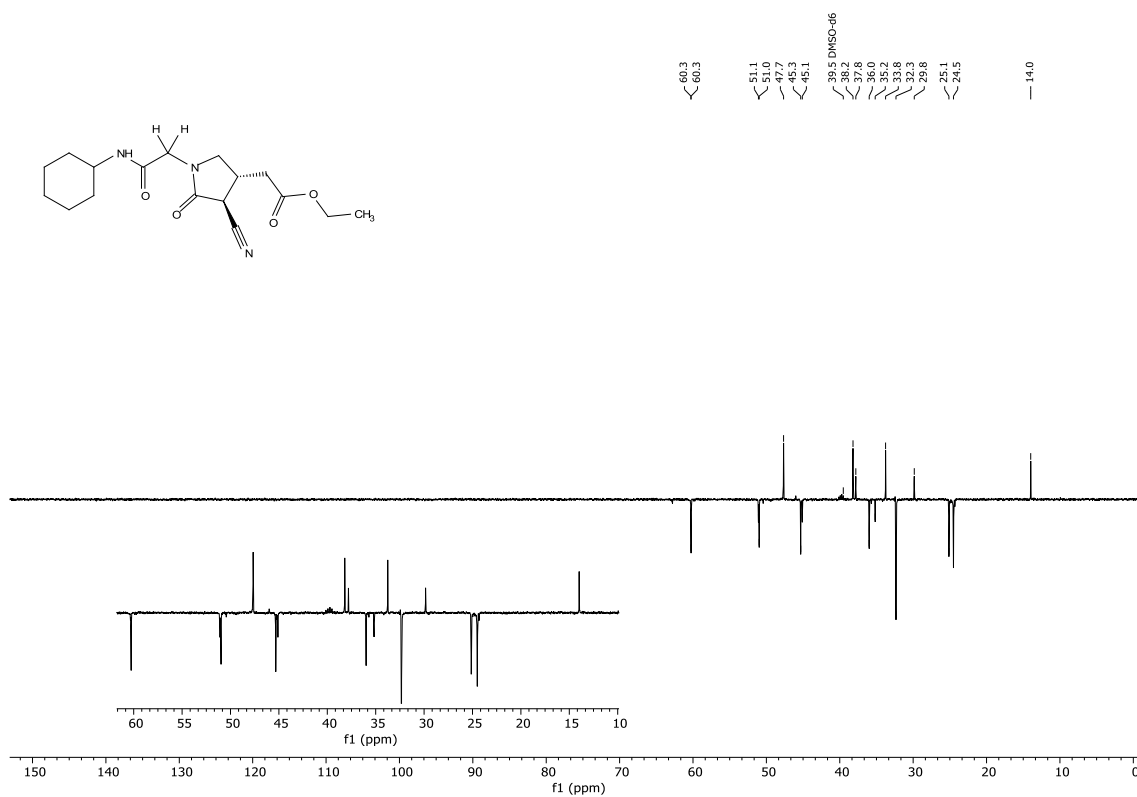


FIGURA A. 116. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, DMSO- d_6) do composto **51g (LSPN 1048)**.

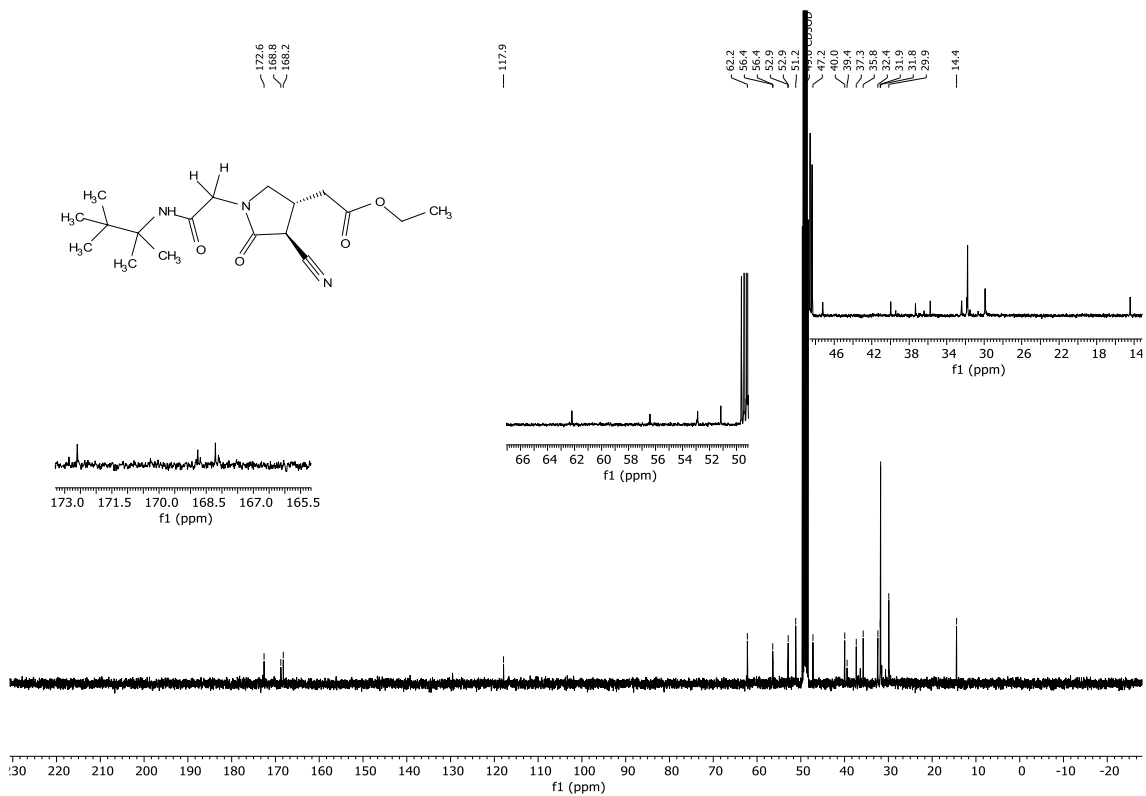


FIGURA A. 121. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, MeOD) do composto **51i** (LSPN **1050**).

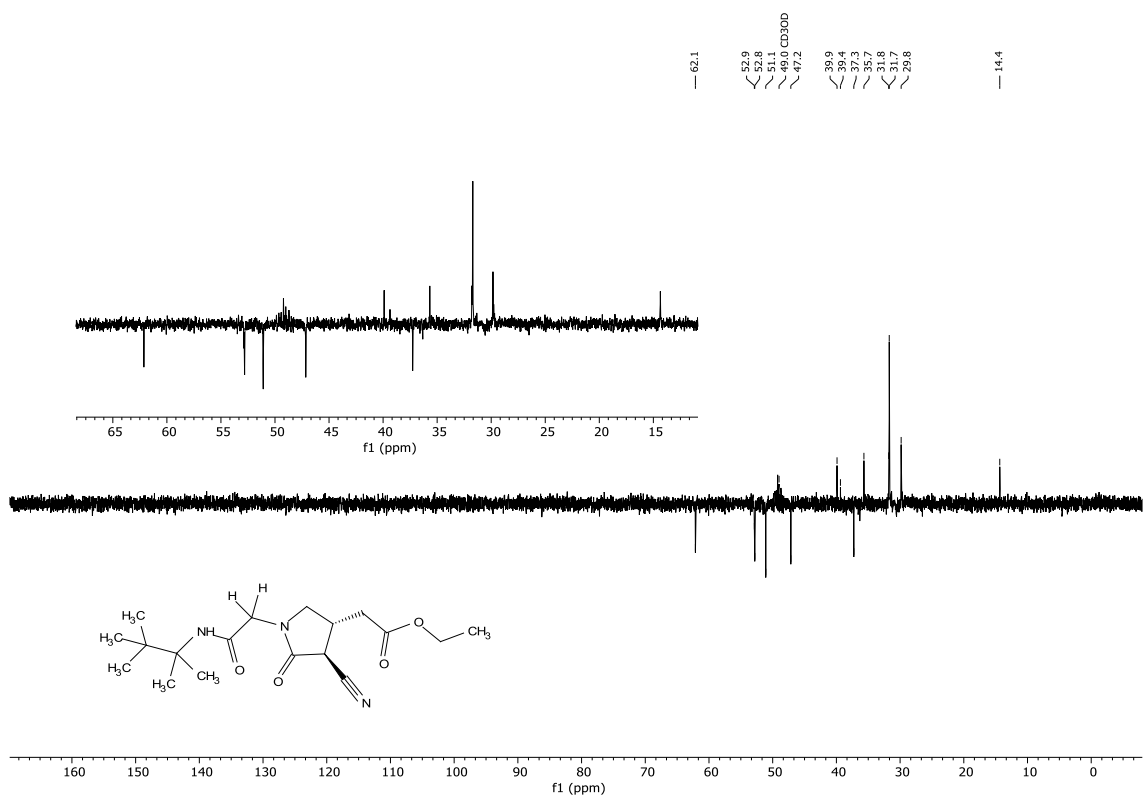


FIGURA A. 122. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, MeOD) do composto **51i** (LSPN **1050**).

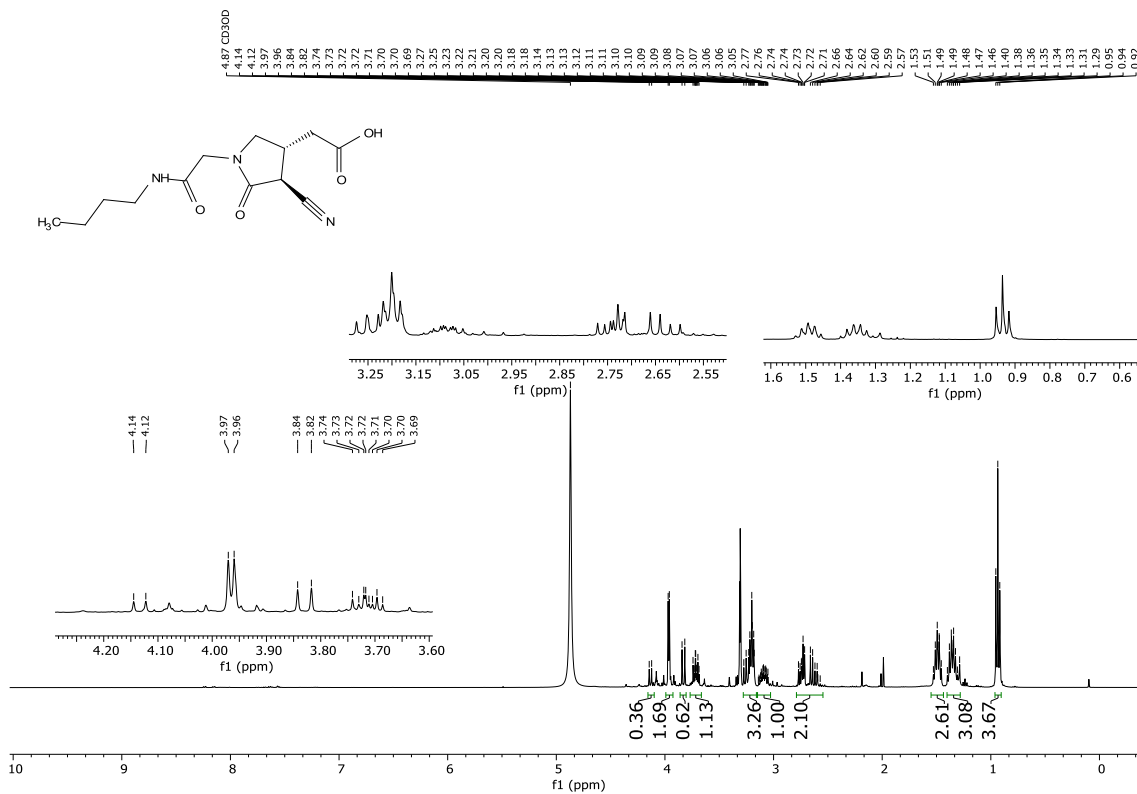


FIGURA A. 123. RMN ¹H (400 MHz, MeOD) do bruto reacional do composto **52**.

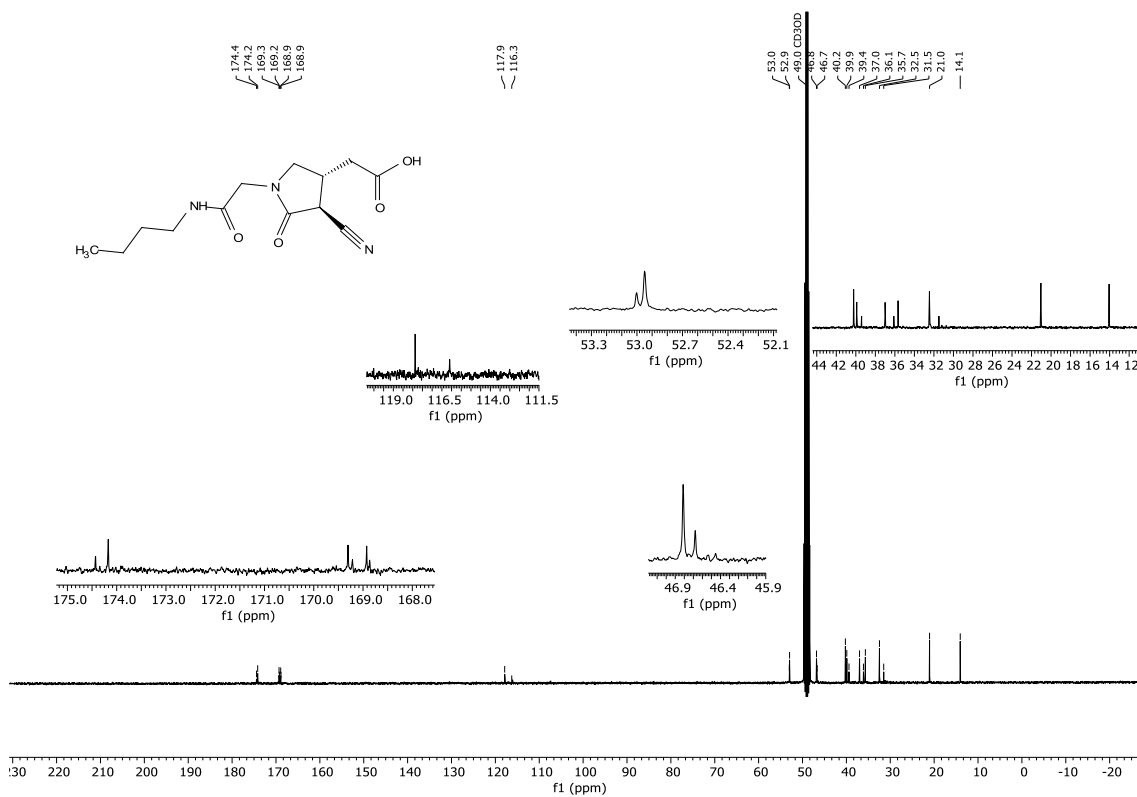


FIGURA A. 124. RMN ¹³C {¹H} (101 MHz, MeOD) do bruto reacional do composto **52**.

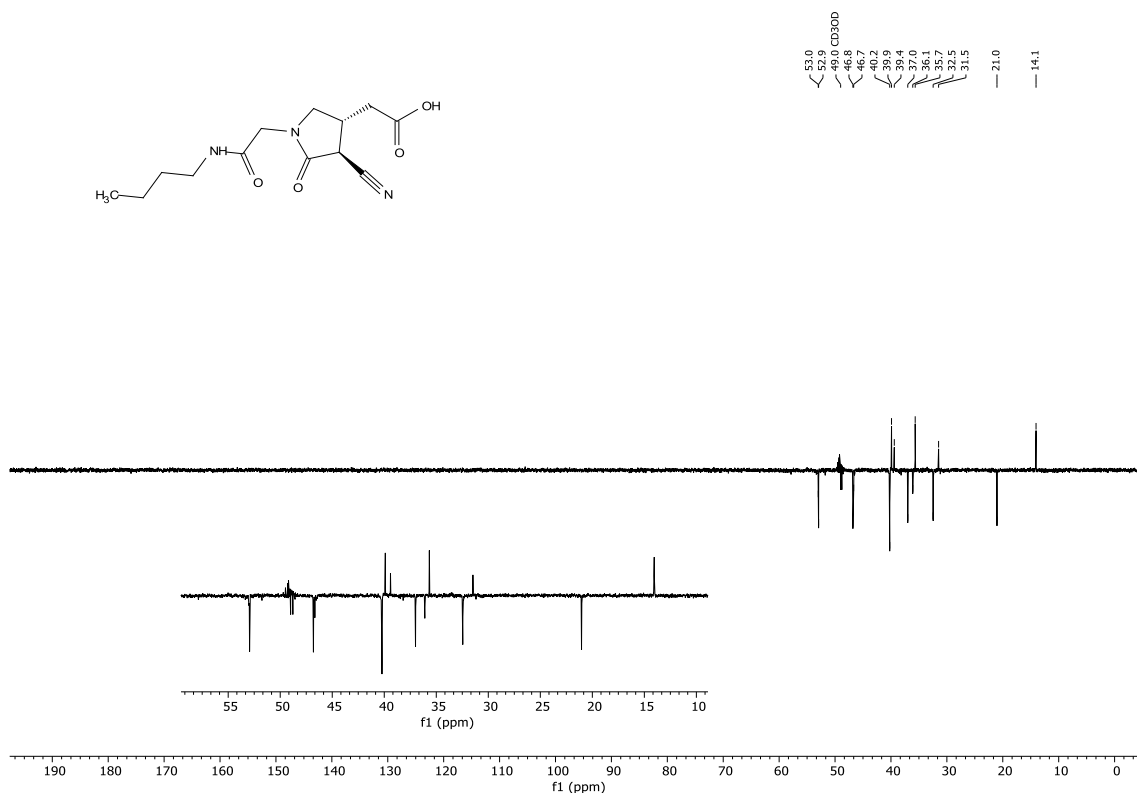


FIGURA A. 125. RMN DEPT135 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (101 MHz, MeOD) do bruto reacional do composto **52**.

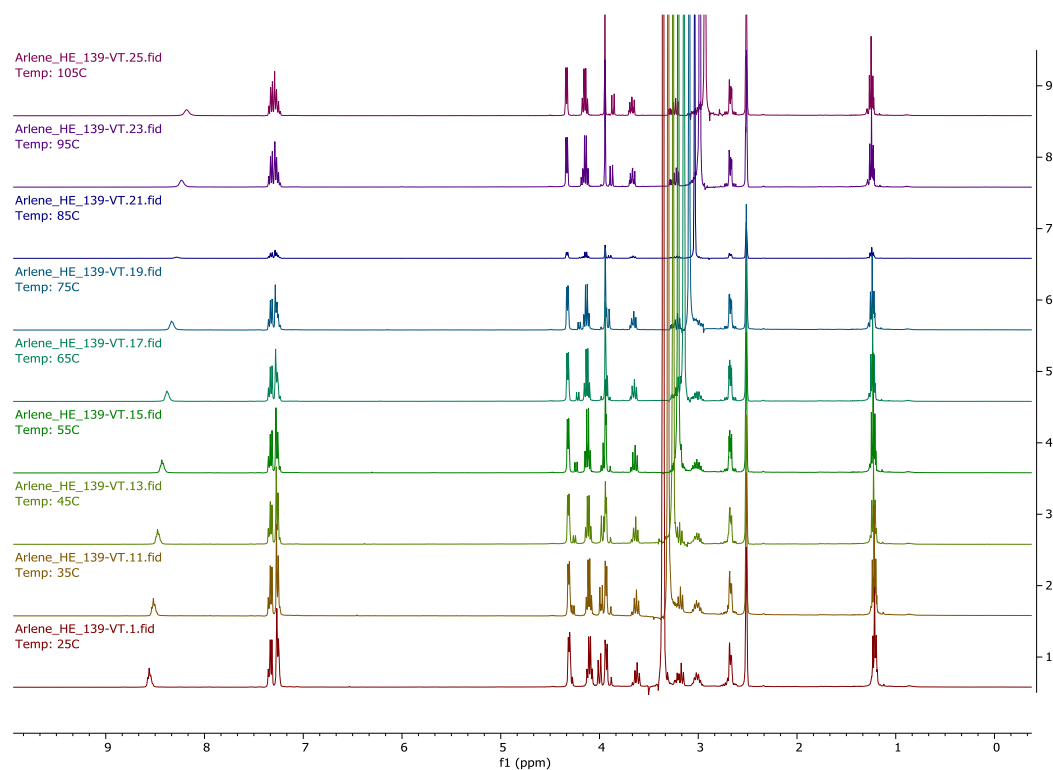


FIGURA A. 126. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) com variação de temperatura (25 - 105 °C) do composto **51b** (LSPN 1043).

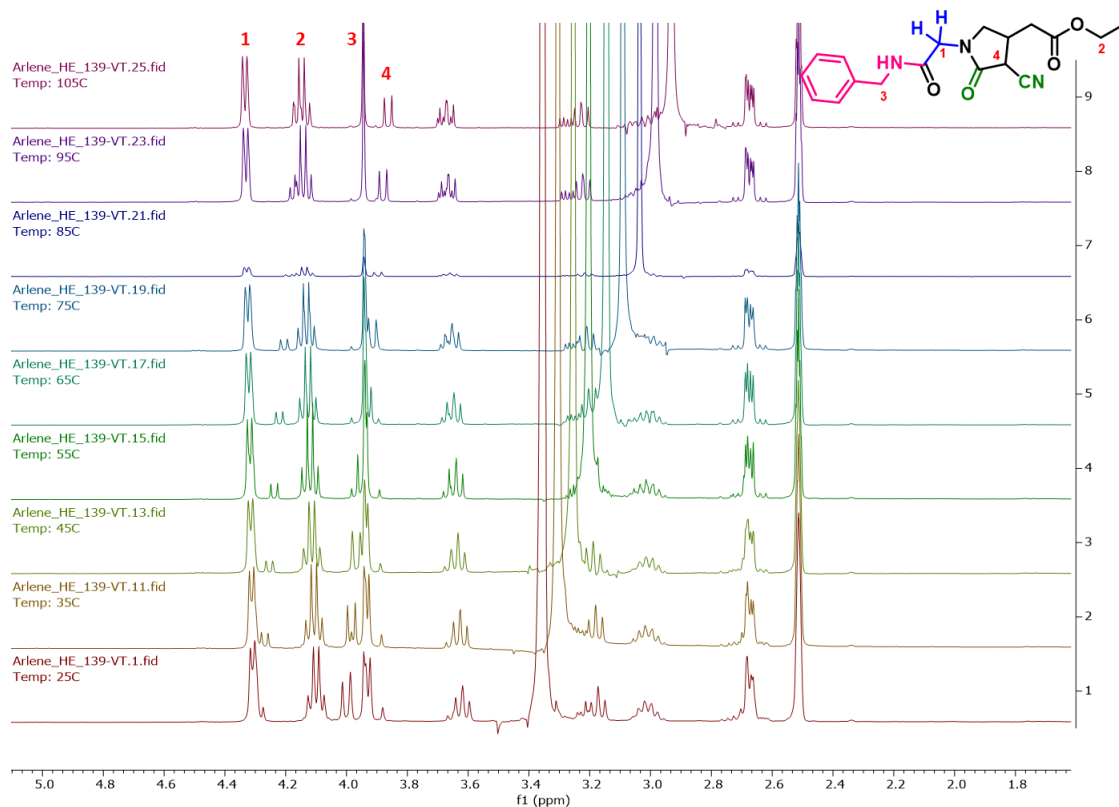


FIGURA A. 127. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) com variação de temperatura (25 - 105 °C) do composto **51b** (LSPN 1043) (expansão).

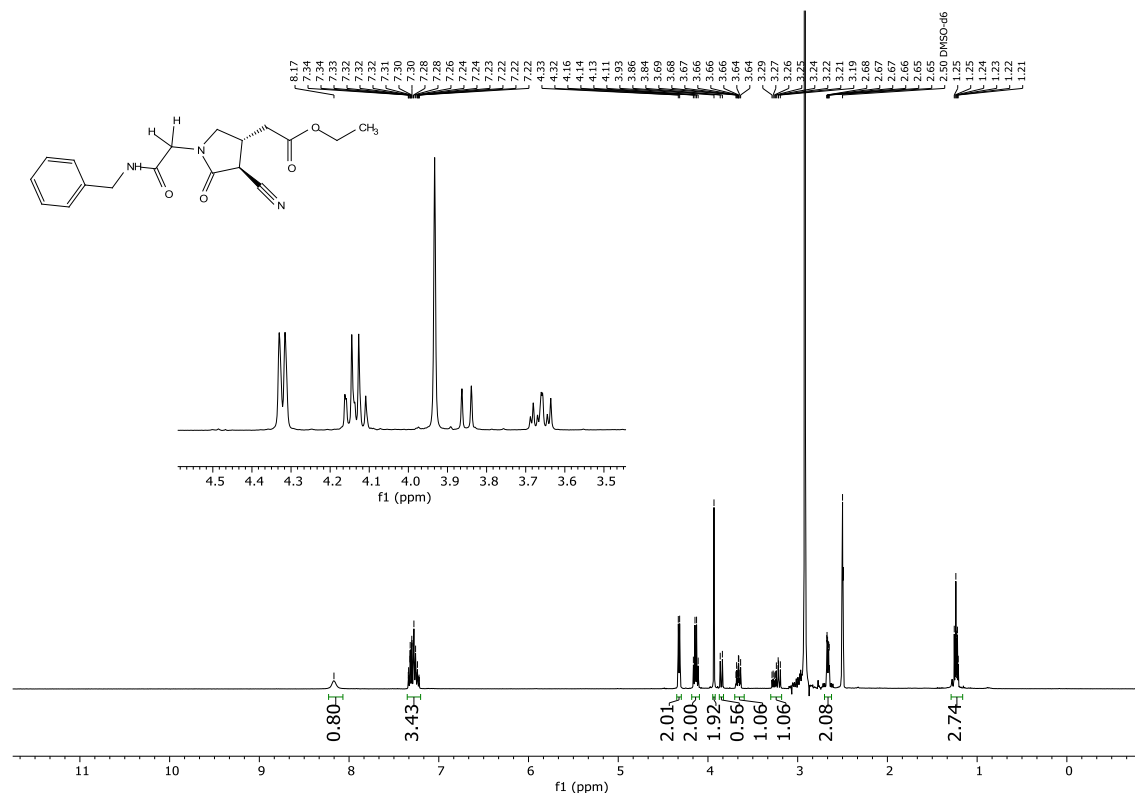


FIGURA A. 128. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) do composto **51b** (LSPN 1043) a 105 °C.