

Cátia Filipa Oliveira Correia

Preparação de novos derivados de Esteroides através de  
reações de cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$  de aniões metil  
1,2-diazafulvénio

Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial, orientada pelo Professor Doutor Jorge António Ribeiro Salvador e pela Professora Doutora Teresa Margarida de Vasconcelos Dias de Pinho e Melo e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



Este trabalho foi realizado no Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, entre Novembro de 2013 a Junho de 2014, para a obtenção do grau de Mestre na especialidade de Química Farmacêutica Industrial pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

*“A persistência é o menor caminho do êxito”.*

*(Charles Chaplin)*

## **Agradecimentos**

Este espaço é dedicado a todas as pessoas que me deram todo o entusiasmo e conhecimento para que esta tese fosse realizada. A todos eles deixo aqui o meu sincero agradecimento.

À Professora Doutora Teresa Margarida Vasconcelos de Pinho e Melo, orientadora deste trabalho, gostaria de manifestar o meu agradecimento pela oportunidade de realizar este trabalho apresentado nesta dissertação no seu grupo de investigação, pela disponibilidade, incentivo e por todos os ensinamentos que sempre me transmitiu.

Ao Professor Doutor Jorge António Ribeiro Salvador, também orientador deste trabalho, agradeço pela orientação e disponibilidade.

À Doutora Susana Margarida Martins Lopes, gostaria de manifestar o meu agradecimento pela sua inteira disponibilidade para esclarecer todas as minhas dúvidas, mas também por toda compreensão, apoio, dedicação, motivação e amizade transmitida ao longo de todo o trabalho. Assim como pelas críticas, correções e sugestões relevantes feitas durante a escrita final desta Tese.

Quero deixar um agradecimento a todos os elementos que integram o grupo de Química Orgânica, em especial, à Doutora Isabel Soares, à Fernanda Laia à Bruna Santos com quem tive o prazer de trabalhar e que prestaram um auxílio fundamental na realização da parte prática e à D. Lurdes (funcionária), pela forma carinhosa como sempre fui tratada.

À Doutora Ana Lúcia Cardoso Lopes, agradeço pela disponibilidade, amizade e pela leitura final desta tese.

Um especial agradecimento à Dora Costa pelo apoio e conhecimento, pela partilha de todas as dúvidas, pela capacidade de ouvir, pela incansável ajuda e acima de tudo pelo grande companheirismo que se desenvolveu.

Não posso deixar de agradecer às minhas colegas, Joana Brito, Joana Virgínio, Joana Pragana, Teresa Valada, Filipa Pires e Ana Meireles, com quem passei grandes e inesquecíveis momentos, e que sem dúvida tornaram possível a realização deste percurso, devido à amizade, ao apoio incondicional nos momentos menos bons e carinho demonstrado ao longo dos últimos anos.

Por fim mas não menos importante, deixo um profundo e sincero agradecimento à minha família, em especial aos meus pais e ao meu irmão que sempre me apoiaram ao longo da vida e sempre me proporcionaram incondicionalmente todas os requisitos necessários para chegar até aqui.

# Índice

Resumo	i
Abstract	iii
Abreviaturas	v
Índice de Esquemas	vii
Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas	xi
Nomenclatura	xii
<b>Capítulo 1 - Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Biossíntese de Esteroides	2
1.2 Esteroides e presença na natureza	3
1.3 Síntese e reatividade do acetato de 16-desidropregnenolona (16-DPA)	6
1.4 Aniões metil azafulvénio e 1,2-diazafulvénio	18
1.4.1 Reações sigmatrópicas e electrociclizações	18
1.4.2 Cicloadição [8 $\pi$ + 2 $\pi$ ]	20
Referências	26
<b>Capítulo 2 - Cicloadição [8<math>\pi</math> + 2<math>\pi</math>] de aniões metil 1,2-diazafulvénio com 16-DPA: Síntese de novos esteroides hexacíclicos</b>	<b>32</b>
2.1 Introdução	33
2.2 Síntese de 2,2-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -pirazolo[1,5- <i>c</i> ]tiazóis	34
2.3 Estudo da reatividade do 16-DPA com aniões metil 1,2-diazafulvénio <i>via</i> reação de ciclo-adição [8 $\pi$ + 2 $\pi$ ]	37
2.4 Hidrólise dos novos derivados esteroides	62
Referências	67
<b>Capítulo 3</b>	<b>69</b>
3.1 Conclusão	70
<b>Capítulo 4 - Parte Experimental</b>	<b>72</b>
4.1 Aparelhagem utilizada	73
4.2 Solventes e Reagentes	74
4.3 Procedimentos experimentais	75
4.3.1 Síntese de Ácidos 1,3-Tiazolidina-4-carboxílicos	75
4.3.2 Síntese de Ácidos N-Nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílicos	76
4.3.3 Síntese de 4 <i>H</i> ,6 <i>H</i> -Tiazolo[3,4- <i>c</i> ][1,2,3]oxadiazol-7- <i>io</i> -3- <i>olatos</i>	78

4.3.4 Síntese de 1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -Pirazolo[1,5- <i>c</i> ]tiazole-6,7-dicarboxilatos de Dimetilo	79
4.3.5 Síntese de 2,2-Dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -pirazolo[1,5- <i>c</i> ]tiazóis	80
4.3.6 Síntese de novos derivados de esteroides <i>via</i> reações de cicloadição [8 $\pi$ + 2 $\pi$ ] de aniões metil 1,2- diazafulvénio	81
4.3.7 Hidrólise dos novos derivados esteroides hexacíclicos	85
Referências	87

## Resumo

O trabalho apresentado nesta dissertação teve como objetivo principal a síntese de novos esteroides hexacíclicos com possível potencial atividade biológica. Devido à sua estrutura complexa, a sua síntese ainda ocupa uma posição central nas pesquisas em química orgânica.

Esta classe de compostos compreende um vasto grupo de compostos largamente distribuídos na natureza, podendo desempenhar funções vitais na fisiologia humana. O seu núcleo tetracíclico com muitos centros quirais confere-lhes uma elevada complexidade estereoquímica.

Neste âmbito, foi explorada a reatividade no anel D do núcleo do acetato de 16-desidropregnenolona (16-DPA) com o objetivo de sintetizar moléculas que possam contribuir para os estudos de relação entre as estruturas e o seu potencial interesse em atividade antitumoral. Assim, para alcançar este objetivo, foi estudada a reação de cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$  dos aniões metil 1,2-diazafulvénio com o 16-DPA.

A primeira parte deste trabalho teve início com a síntese de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis, precursores dos aniões metil 1,2-diazafulvénio através da eliminação térmica de dióxido de enxofre. Foram preparados os ácidos 1,3-tiazolidina-4-carboxílicos substituídos na posição 2 com o grupo metilo, benzilo e *p*-nitrofenilo. Foi igualmente preparado o ácido 1,3-tiazolidina-4-carboxílico não substituído em C-2. Para a nitroação das *N*-aciltiazolidinas foram utilizadas duas metodologias diferentes gerando-se os ácidos *N*-nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílicos. Seguidamente procedeu-se à síntese das espécies mesoiónicas, 4*H*,6*H*-tiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazol-7-*io*-3-olatos, gerados por desidratação com anidrido trifluoroacético. Os 1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole-6,7-dicarboxilatos de dimetilo foram preparados *via* reação cicloadição 1,3-dipolar intermolecular de 4*H*,6*H*-tiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazol-7-*io*-3-olatos como dipolos na reação com acetilenodicarboxilato de dimetilo. A oxidação dos 1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole-6,7-dicarboxilatos de dimetilo com ácido *m*-cloroperoxibenzóico conduziu à obtenção das correspondentes sulfonas.

Os aniões metil 1,2-diazafulvénio foram gerados por eliminação térmica de dióxido de enxofre de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis em condições de irradiação de micro-ondas ou em condições de refluxo em 1,2,4-triclorobenzeno na presença de 16-DPA. Deste estudo resultou a obtenção de novos esteroides hexacíclicos com bons rendimentos.

A eliminação de dióxido de enxofre de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirrolo[1,2-*c*]tiazóis substituídos na posição 3 com o grupo metilo ou benzilo conduziu à formação competitiva de *N*-vinil-1*H*-pirazóis *via* geração do correspondente anião metil 1,2-diazafulvénio seguida de mi-

gração sigmatrópica [1,8]H. No entanto, alguns 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirrolo[1,2-*c*]tiazóis não substituídos em C-3 podem conduzir à obtenção de 1-clorometil-5-metil-1*H*-pirazóis.

Alguns dos novos esteroides hexacíclicos foram analisados através de espectros de infravermelhos (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensional, <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e, ainda, RMN bidimensional, COESY, NOESY e HMBC para confirmar-se a estrutura.

Foi igualmente efetuada a hidrólise dos derivados de esteroides transformando os grupos ésteres em ácidos, com o objetivo de modelar a sua hidrofobicidade. Atualmente estão em curso estudos para a avaliação da atividade antitumoral destes novos esteroides hexacíclicos em linhas celulares.

## Abstract

The work presented in this dissertation had the main objective of synthesising new hexacyclic steroids with possible potential biological activity. Due to this complex structure, their synthesis still occupy a central position in research in organic chemistry.

This class of compounds includes a broad group of compounds widely distributed in nature, which may play critical roles in human physiology. Their tetracyclic nucleus, with many chiral centers, gives them a high stereochemical complexity.

In this context, the reactivity was explored in the D ring of the core of 16-dehydropregnenolone acetate (16-DPA) in order to synthesize molecules that could contribute to studies of the relationship between structures and their potential interest in anti-tumor activity. Thus, to accomplish this, the  $[8\pi + 2\pi]$  cycloaddition reaction of methyl 1,2-diazafulvenium anions with 16-DPA was studied.

The first part of this study started with the synthesis of 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pyrazolo[1,5-*c*]thiazoles, precursors of methyl 1,2-diazafulvenium anions, by thermal elimination of sulfur dioxide. 1,3-Thiazolidine-4-carboxylic acids substituted in position 2 with methyl, benzyl and *p*-nitrophenyl were prepared. 1,3-Thiazolidine-4-carboxylic acid, without a substituent in C-2, was also prepared. For the nitrosation of *N*-acylthiazolidines, two different methodologies were used, generating the *N*-nitrous-1,3-thiazolidine-4-carboxylic acids. Subsequently, we synthesized the mesoionic species, 4*H*,6*H*-thiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazole-7-ium-3-olates, generated by dehydration with trifluoroacetic anhydride. The 1*H*, 3*H*pyrazolo[1,5-*c*]thiazole-6,7-dimethyl dicarboxylates were prepared through intermolecular 1,3-dipolar cycloaddition reaction using 4*H*,6*H*-thiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazole-3-7-ium-olates as dipoles, in the reaction with dimethyl acetylenedicarboxylate. The oxidation of 1*H*,3*H*pyrazolo[1,5-*c*]thiazole-6,7-dimethyl dicarboxylates with *m*-chloroperoxybenzoic acid led to the corresponding sulfones.

The methyl 1,2- diazafulvenium anions were generated by thermal elimination of sulfur dioxide from 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pyrazolo[1,5-*c*]thiazoles under conditions of microwave irradiation or reflux in 1,2,4-trichlorobenzene in the presence of 16-DPA. This study resulted in new hexacyclic steroid compounds with good yields.

The elimination of sulfur dioxide from 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pyrrolo[1,2-*c*]-substituted thiazoles, substituted in the 3-position by methyl or benzyl groups, led to the competitive formation of *N*-vinyl-1*H*-pyrazole by generating the anion of the corresponding methyl 1,2-1 diazafulvenium followed by sigmatropic migration [1,8]H. However, some 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-

pyrrolo[1,2-*c*]thiazoles, unsubstituted at C-3, can lead to 1-chloromethyl-5-methyl-1*H*-pyrazole.

Some of the new hexacyclic steroid compounds were analyzed using infrared spectra (IR), unidimensional nuclear magnetic resonance (NMR), <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C, and also two-dimensional NMR, COESY, HMBC and NOESY experiments to confirm the structure.

The hydrolysis of steroid derivatives was also carried out, transforming the ester into acid groups, with the objective of modeling their hydrophobicity. Currently studies are underway to evaluate the antitumor activity of these novel hexacyclic steroid compounds on cell lines.

## Abreviaturas

16-DPA	do inglês <i>16-dehydropregnenolone acetate</i>
16-DHP	do inglês <i>16-dehydropregnenolone</i>
aprox.	aproximadamente
BTMSA	bis(trimetilsilil)acetileno
CDCl <sub>3</sub>	clorofórmio deuterado
COSY	do inglês <i>COrelated Spectroscopy</i>
d	dubleto
dd	duplo dubleto
DEAD	dietil azodicarboxilato
DMAD	acetelinodicarboxilato de dimetilo
DME	dimetoxietano
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	dimetilsulfóxido deuterado
EM	espectrometria de massa
EMAR	espectrometria de massa de alta resolução
eq.	equivalentes
ES	do inglês <i>electrospray</i>
FPP	pirofosfato de farnesilo
FVP	pirólise rápida de vácuo (do inglês <i>Flash Vacuum Pyrolysis</i> )
GPP	difosfato de geranilo
HCl	ácido clorídrico
HMQC	do inglês <i>Heteronuclear Multiple Quantum Coherence</i>
$h \nu$	energia de cada fóton ( $h$ - constante de Planck; $\nu$ - frequência de radiação eletromagnética)
IE	impacto eletrônico
IPP	pirofosfato de isopentenilo
IV	espectroscopia de infra-vermelho
LR	reagente Lawesson's
m	múltiplo
M	ião molecular
MCPBA	ácido <i>m</i> -cloroperóxibenzóico
MW	do inglês <i>microwaves</i>
m/z	razão massa/carga
NMP	N-fenilmaleimida

NOESY	do inglês <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
NPM	<i>N</i> -fenilmaleimida
p.f.	ponto de fusão
ppm	partes por milhão
q	quarteto
RMN	espectroscopia de ressonância magnética nuclear
RMN <sup>13</sup> C	espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN <sup>1</sup> H	espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton
s	singuleto
1,2,4 TCB	1,2,4 triclorobenzeno
t	triplete
t.a.	temperatura ambiente
TFAA	anidrido trifluoroacético
TLC	cromatografia em camada fina
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
δ	desvio químico em ppm

# Índice de Esquemas

## Capítulo 1

<b>Esquema 1.1</b>	Degradação de Marker da diosgenina	8
<b>Esquema 1.2</b>	Metodologia para eliminar os resíduos inorgânicos produzidos pela degradação de Marker	9
<b>Esquema 1.3</b>	Síntese de análogos pentacíclicos da progesterona	10
<b>Esquema 1.4</b>	Reação de Diels-Alder do 16-DPA com o 1,2-dimetilenociclobutano <b>1.25</b>	10
<b>Esquema 1.5</b>	Reação de Diels-Alder entre o derivado do 16-DPA <b>1.30b</b> e o acetilenodicarboxilato de dimetilo	11
<b>Esquema 1.6</b>	Reação de adição de Michael	12
<b>Esquema 1.7</b>	Reação de adição de aza-Michael	13
<b>Esquema 1.8</b>	Reação de aminação	14
<b>Esquema 1.9</b>	Reação de cicloadição 1,3-dipolar de nitronas com alcenos	14
<b>Esquema 1.10</b>	Reação de cicloadição 1,3-dipolar	15
<b>Esquema 1.11</b>	Derivados com capacidade inibitória da enzima 5 $\alpha$ -redutase	16
<b>Esquema 1.12</b>	Reação de condensação de Claisen-Schmidt em condições de micro-ondas	17
<b>Esquema 1.13</b>	Reação de epoxidação	17
<b>Esquema 1.14</b>	Aniões metil 1-azafulvénio e 1,2-diazafulvénio	18
<b>Esquema 1.15</b>	Síntese de aniões metil azafulvénio envolvendo a eliminação quelotrópica de dióxido de enxofre de sulfonas heterocíclicas	19
<b>Esquema 1.16</b>	Obtenção do <i>N</i> -vinilpirrole <b>1.71a</b> e do <i>C</i> -vinilpirrole <b>1.72b</b>	19
<b>Esquema 1.17</b>	Reação de termólise de 2,2-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -pirrolo[1,2- <i>c</i> ]tiazole <b>1.72</b>	20
<b>Esquema 1.18</b>	Formação do <i>C</i> -vinilpirazole <b>1.77a</b> via migração sigmatrópica [1,8]H do anião metil 1,2-diazafulvénio	20
<b>Esquema 1.19</b>	Reação de cicloadição 1,7-dipolar	21
<b>Esquema 1.20</b>	Reação de um anião metil 1,2-diazafulvénio	21
<b>Esquema 1.21</b>	Formação do <i>N</i> -vinilpirazole <b>1.85</b> e do 1-clorometil-5-metil-1 <i>H</i> -pirazole ( <b>1.86</b> )	22
<b>Esquema 1.22</b>	Reação de eliminação de dióxido de enxofre SO <sub>2</sub> da sulfona <b>1.80</b>	23
<b>Esquema 1.23</b>	Reação do anião metil 1,2-diazafulvénio <b>1.91</b> com o azocarboxilato de dietil	24
<b>Esquema 1.24</b>	Reação de cicloadição [8 $\pi$ + 2 $\pi$ ]	24
<b>Esquema 1.25</b>	Estudado da reatividade de aniões metil 5- trifluorometilazafulvénio <b>1.97</b>	25

## Capítulo 2

<b>Esquema 2.1</b>	Obtenção de cinco novos derivados esteroide hexacíclicos	33
<b>Esquema 2.2</b>	Reação de hidrólise	34
<b>Esquema 2.3</b>	Síntese dos 2,2-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -pirazolo[1,5- <i>c</i> ]tiazóis	34

<b>Esquema 2.4</b>	Estratégia de síntese do cicloaducto <b>2.14</b>	36
<b>Esquema 2.5</b>	Estratégia de síntese do cicloaducto <b>2.19</b>	37
<b>Esquema 2.6</b>	Síntese de sulfonas <b>2.1a-e</b>	37
<b>Esquema 2.7</b>	Formação do <i>N</i> -vinilpirazole <b>2.21</b>	43
<b>Esquema 2.8</b>	Formação do <i>N</i> -vinilpirazole <b>2.22</b>	55
<b>Esquema 2.9</b>	Formação do composto <b>2.3d</b> e do 1-clorometil-3-fenil-5-metil-1 <i>H</i> -pirazole-4-dicarboxilato de etilo ( <b>2.23</b> )	57
<b>Esquema 2.10</b>	1-clorometil-5-metil-1 <i>H</i> -pirazole-3,4-dicarboxilato de dimetilo ( <b>2.24</b> )	59
<b>Esquema 2.11</b>	Formação do 1-clorometil-4-fenil-5-metil-1 <i>H</i> -pirazole-3-dicarboxilato de etilo ( <b>2.25</b> )	60
<b>Esquema 2.12</b>	Mecanismo explicativo para a não formação do composto <b>2.3e</b>	60
<b>Esquema 2.13</b>	Reação de hidrólise do 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- <i>a</i> ]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3a</b> )	62
<b>Esquema 2.14</b>	Reação de hidrólise do ( <i>S</i> )-7-benzil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- <i>a</i> ]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3c</b> )	63

### Capítulo 3

<b>Esquema 3.1</b>	Estudo da reatividade do 16-DPA com aniões metil 1,2-diazafulvénio, <i>via</i> reação de cicloadição [ $8\pi+2\pi$ ]	69
--------------------	--	----

# Índice de Figuras

## Capítulo 1

<b>Figura 1.1</b>	Estrutura básica do núcleo esteroide e respetiva numeração	2
<b>Figura 1.2</b>	Mecanismo de formação do esqualeno e ciclização do 2,3-epoxi-esqualeno	3
<b>Figura 1.3</b>	Estrutura química do colesterol <b>1.1</b> e do fitoesterol <b>1.2</b>	4
<b>Figura 1.4</b>	Biossíntese de hormonas esteroides a partir do colesterol	5
<b>Figura 1.5</b>	Mecanismo de ação dos inibidores da aromatase	5
<b>Figura 1.6</b>	Extrato de <i>Solanum lyratum</i> e 16-desidropregnenolona (16-DHP)	6
<b>Figura 1.7</b>	Estrutura da Solasodina <b>1.11</b> e do seu análogo oxigenado Diosgenina <b>1.12</b>	7

## Capítulo 2

<b>Figura 2.1</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.3a</b>	41
<b>Figura 2.2</b>	Expansão do espectro de COSY de 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- <i>a</i> ]piridina fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3a</b> )	41
<b>Figura 2.3</b>	Expansão do espectro de NOESY de 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- <i>a</i> ]piridina fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3a</b> )	42
<b>Figura 2.4</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.21</b>	45
<b>Figura 2.5</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do ( <i>R</i> )-7-metil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- <i>a</i> ]piridina dicarboxilato de dimetilo fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3b</b> )	46
<b>Figura 2.6</b>	Expansão do espectro COSY do ( <i>R</i> )-7-metil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- <i>a</i> ]piridina dicarboxilato de dimetilo fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3b</b> )	47
<b>Figura 2.7</b>	Expansão do espectro de NOESY do ( <i>R</i> )-7-metil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- <i>a</i> ]piridina dicarboxilato de dimetilo fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3b</b> )	48
<b>Figura 2.8</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H dos compostos <b>2.3b</b> e <b>2.20</b>	49
<b>Figura 2.9</b>	Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup> H dos compostos <b>2.3b</b> e <b>2.20</b>	50
<b>Figura 2.10</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.3c</b>	53
<b>Figura 2.11</b>	Expansão do espectro de HMQC do composto <b>2.3c</b>	54
<b>Figura 2.12</b>	Expansão do espectro de COSY do composto <b>2.3c</b>	54
<b>Figura 2.13</b>	Expansão do espectro de NOESY do composto <b>2.3c</b>	55
<b>Figura 2.14</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.22</b>	56
<b>Figura 2.15</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.3d</b>	58
<b>Figura 2.16</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.23</b>	59
<b>Figura 2.17</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.25</b>	61
<b>Figura 2.18</b>	Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.26</b>	62
<b>Figura 2.19</b>	a) Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto <b>2.26</b> ; b) Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto <b>2.3a</b>	63

<b>Figura 2.20</b>	Espectro de RMN $^1\text{H}$ dos compostos <b>2.27</b>	64
<b>Figura 2.21</b>	a) Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ dos compostos <b>2.27</b> ; b) Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ dos compostos <b>2.3c</b>	65

## Índice de Tabelas

### Capítulo 2

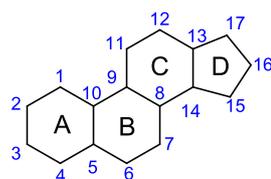
<b>Tabela 2.1</b>	Reação do anião metil 1,2-diazafulvênio <b>2.2a</b> com o 16-DPA	38
<b>Tabela 2.2</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H do 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]piridina fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona ( <b>2.3a</b> )	40
<b>Tabela 2.3</b>	Reação da sulfona <b>2.1b</b> com o 16-DPA	43
<b>Tabela 2.4</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H para o composto <b>2.21</b>	45
<b>Tabela 2.5</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H para o composto <b>2.3b</b>	46
<b>Tabela 2.6</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H para o composto <b>2.20</b>	49
<b>Tabela 2.7</b>	Reação da sulfona <b>2.1c</b> com o 16-DPA	51
<b>Tabela 2.8</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.3c</b>	52
<b>Tabela 2.9</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H para o composto <b>2.21</b>	56
<b>Tabela 2.10</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto <b>2.3d</b>	57
<b>Tabela 2.11</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H para o composto <b>2.23</b>	60
<b>Tabela 2.12</b>	Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup> H para o composto <b>2.25</b>	62

## Nomenclatura

A nomenclatura utilizada nesta dissertação segue as regras gerais da nomenclatura IUPAC.<sup>1</sup> Foi utilizado o sistema Hantzsch-Widman para a nomenclatura de anéis fundidos.<sup>2</sup>

A nomenclatura dos aniões metil diazafulvênio foi adaptada do inglês *diazafulvenium methide*, considerando o catião diazafulvênio como um substituinte do anião metilo.

Na nomenclatura dos Esteroides seguiram-se as regras gerais da nomenclatura IUPAC de acordo com a numeração apresentada na Figura 1<sup>3</sup>.



**Figura 1**

---

<sup>1</sup> FERNANDES, A. C., HEROLD B., MAIA H., RAUTER A. P., RODRIGUES J. A. R. - **Guia IUPAC para a Nomenclatura de Compostos Orgânicos** (Tradução Portuguesa nas Variantes Europeia e Brasileira), Lidel: Lisboa, 2002.

<sup>2</sup> McNAUGHT A. D., SMITH P. A. S. - **Nomenclature of Heterocyclic Compounds**. Em *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Ed. Otto Meth-Cohn; Pergamon Press: Oxford, 1984; Vol. I, p 7-45.

<sup>3</sup> CAMPOS, S. Luís; MOURATO, Miguel - **Nomenclatura dos Compostos Orgânicos**. 2ª Ed. Lisboa: Escolar Editora, 2002. ISBN 972-592-149-6.

# Capítulo I

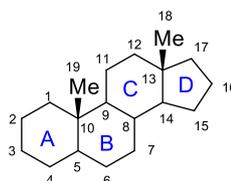
## Introdução

---

I.1	Biossíntese de Esteroides	2
I.2	Esteroides e presença na natureza	3
I.3	Síntese e reatividade do acetado de 16-desidropregnenolona (16-DPA)	6
I.4	Aniões metil azafulvénio e 1,2-diazafulvénio	18
I.4.1	Reações sigmatrópicas e electrociclizações	18
I.4.2	Cicloadição [ $8\pi + 2\pi$ ]	20
	Referências	26

## 1.1 Biossíntese de Esteroides

Os esteroides são produtos naturais tetracíclicos com atividade biológica. A sua obtenção resulta da tetraciclização de um terpeno<sup>4</sup>, sendo o seu núcleo tetracíclico, também quimicamente designado por ciclo-pentano-per-idro-fenantreno, a principal característica estrutural comum a todas as moléculas pertencentes a esta classe de compostos. Estes, por sua vez pertencem a um grupo de compostos lipossolúveis, derivados do colesterol, cuja estrutura base é composta por dezassete átomos de carbono dispostos em quatro anéis ligados entre si (designados A, B, C e D) (Figura 1.1).<sup>1</sup>



**Figura 1.1-** Estrutura básica do núcleo esteroide e respetiva numeração.

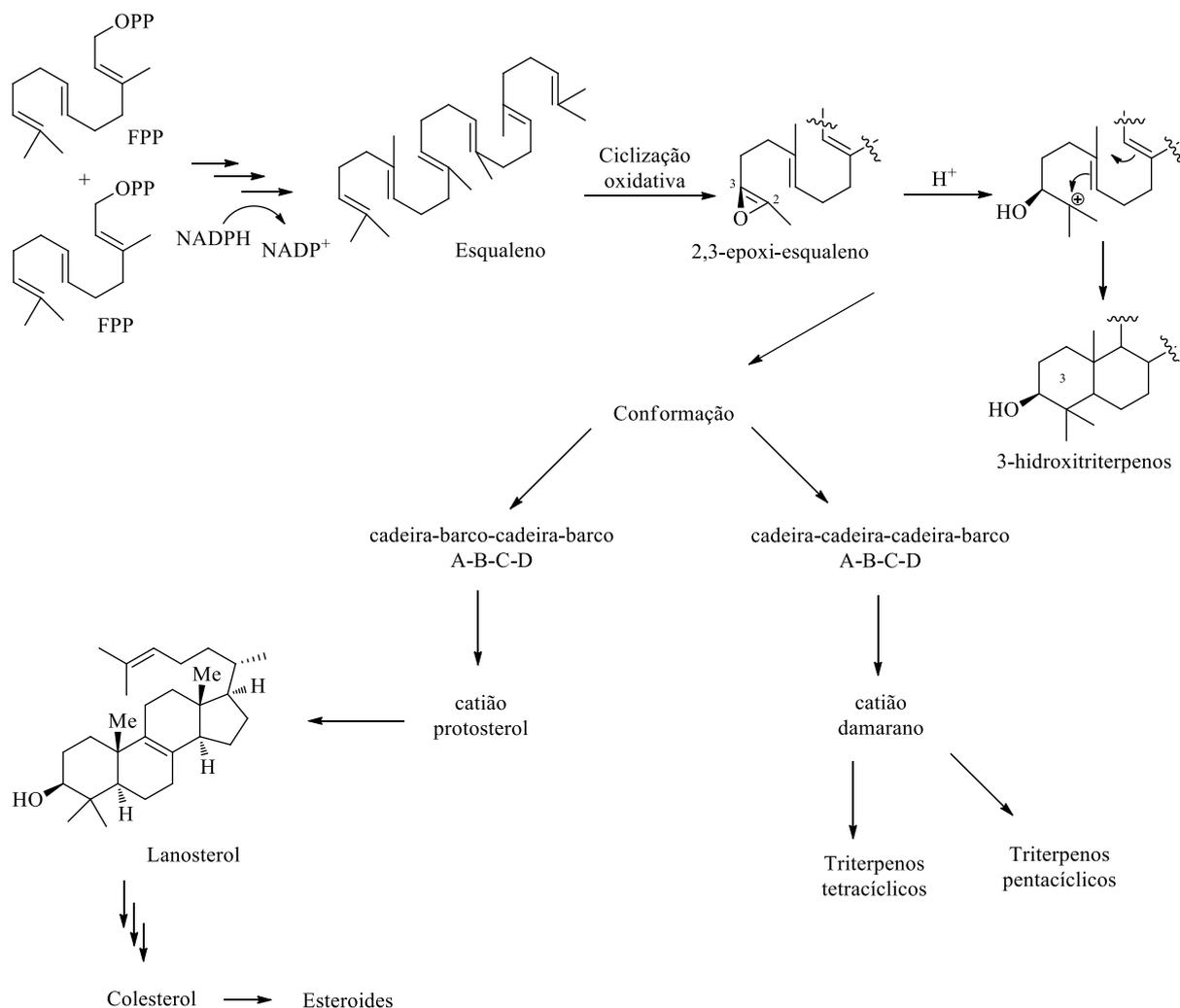
A síntese dos esteroides obtém-se a partir do pirofosfato de isopentenilo (isopreno ativo) e a sua síntese ocorre pela mesma sequência de reações presentes na biossíntese dos terpenos. Assim, dependendo da quantidade de unidades isoprénicas, os terpenos podem ser classificados como hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), sesterterpenos (C25), triterpenos (C30), tetraterpenos ou carotenóides (C40) e politerpenos (C<sub>5n</sub>).<sup>2,3</sup>

O mecanismo geral para a biossíntese dos esteroides pode ser estudado a partir da adição de uma molécula de pirofosfato de isopentenilo (IPP) ao difosfato de geranilo (GPP) produzindo o pirofosfato de farnesilo (FPP).

A condensação de duas unidades de pirofosfato de farnesilo (FPP), segundo um mecanismo “cabeça-cabeça” forma o esqualeno (C-30, esqueleto triterpénico) que sofre uma epoxidação catalisada por agentes oxidativos originando a formação seletiva de um epóxido na posição 2 e 3, o 2,3-epoxi-esqualeno. A ciclização é iniciada com a abertura do epóxido formando-se um catião terciário, que sofre adição na dupla ligação C6-C7 formando um anel de seis membros. Dependendo da abertura do epóxido a sua estrutura pode adotar diferentes conformações, tais como, conformações em cadeira ou em barco (Figura 1.2).<sup>2</sup>

No caso da estrutura dos esteroides, o sistema cíclico consiste em quatro anéis, na sua maioria, representado pelo sistema do lanosterol ou do cicloartenol, com a ausência dos grupos metilo na posição C-4 e em C-14.<sup>2</sup>

<sup>4</sup>Derivado da condensação repetida de unidades de isopreno.



**Figura 1.2** - Mecanismo de formação do esqualeno e ciclização do 2,3-epoxi-esqualeno.

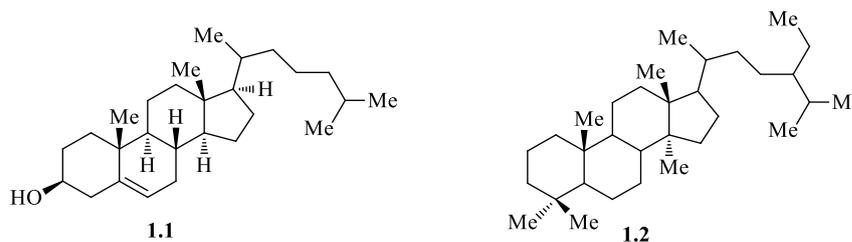
## 1.2 Esteroides e presença na natureza

A primeira elucidação da estrutura do esteroide, tal como hoje a conhecemos, surge por Wieland e Windaus em 1928, após várias décadas de estudo. Este trabalho permitiu-lhes a atribuição do prémio Nobel da Química.

Esta classe de compostos é provavelmente um dos grupos de produtos naturais mais investigados nas últimas décadas, podendo ser encontrados na natureza ou preparados em laboratório (lípidos sintéticos).<sup>4</sup> Na natureza estão espalhados tanto em animais e fungos, como em vegetais, sendo que, no reino animal, os mais abundantes são os derivados do colesterol **1.1** que se encontram nas membranas, partes da célula e no espaço extracelular, enquanto no reino vegetal é o fitoesterol **1.2** (Figura 1.3).

Num estudo realizado em 2012, já tinham sido identificados milhares de esteroides em sistemas vivos e mais de 250 encontrados em plantas (fitoesteroides, diosgenina, brassi-

nosteróides), insetos (ecdisteróides) e de eucariontes inferiores: leveduras e fungos (ergosterol, ergosteroides), entre outros.<sup>5</sup>



**Figura 1.3** - Estrutura química do colesterol **1.1** e do fitoesterol **1.2**.

Relativamente à sua estereoquímica, os anéis ciclo-hexano, da estrutura do esteroide, podem sofrer uma inversão na conformação, apresentando pelo menos um sistema de anéis fundidos, anel A e B, na conformação *cis* (H-5 na posição  $\beta$ ) ou *trans* (H-5 na posição  $\alpha$ ). Já a fusão dos anéis B/C e C/D é *trans*.

A existência de carbonos quirais faz também com que exista estereoisomeria nas posições 5, 8, 9, 10, 13 e 14, obtendo-se assim, diferentes moléculas (Figura 1.1).

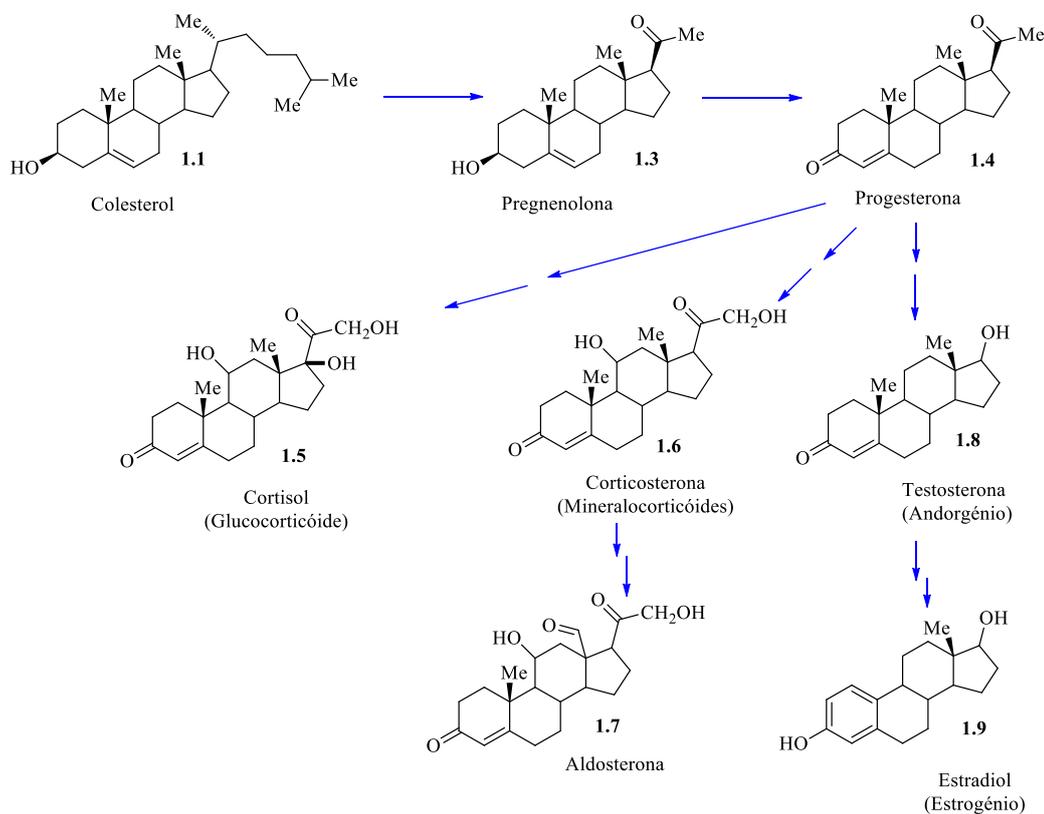
Nestes casos, adota-se a nomenclatura de  $\alpha$  (alfa) quando o grupo metilo ou um átomo ligado ao anel se encontra abaixo do plano e  $\beta$  (beta) quando se situa acima do plano, uma vez que já se encontra estabelecido as posições dos grupos metilo angulares (C-18 e C-19) como sendo  $\beta$ -axiais pois encontram-se acima do plano e são perpendiculares a este (Figura 1.1).

Como se sabe, o colesterol **1.1** é o principal precursor das cinco classes de hormonas de esteroides que existe, podendo assim, ser classificadas em progestagénios, androgénios, estrogénios, mineralocorticóides e glucocorticóides (Figura 1.4).

Esta divisão baseia-se na atividade fisiológica de cada grupo de esteroides, e esta por sua vez, depende da estrutura do derivado, ou seja, do tipo, do número, da posição, dos grupos funcionais ligados a ele e do estado de oxidação dos anéis.<sup>5</sup> Devido à sua enorme importância fisiológica, o colesterol **1.1** tem sido extensivamente investigado.

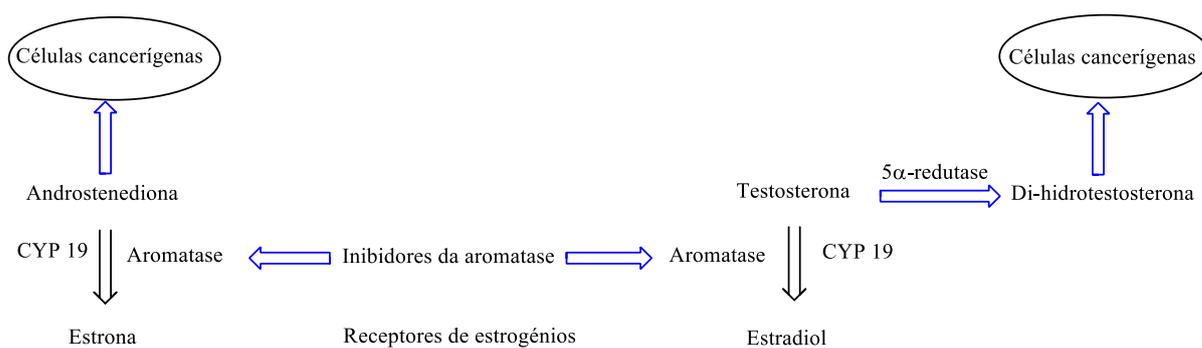
No organismo humano, os esteroides, desempenham funções muito variadas nomeadamente como reguladores fisiológicos,<sup>1,6</sup> hormonas,<sup>1</sup> provitaminas<sup>1</sup>. Como exemplo, podemos destacar, as hormonas sexuais (Ex: testosterona e progesterona),<sup>1,6</sup> as hormonas adrenocorticais (Ex: cortisona e aldosterona),<sup>1,7</sup> os glicósidos cardiotónicos (análogos derivados da 14 $\beta$ ,15 $\beta$ -epoxididitoxigenina),<sup>8</sup> os ácidos biliares,<sup>9,10</sup> os neurosteróides (alfaxalona, ganaxolona, 17PA),<sup>11</sup> a provitamina A e Vitamina D.

Nas últimas décadas demonstrou-se, que estes produtos naturais apresentam uma grande variedade de análogos biologicamente ativos<sup>12-15</sup>, com potencial interesse terapêutico de diversas patologias, nomeadamente como anti-histamínicos, antitóxicos,<sup>16</sup> anti-inflamatório,<sup>17</sup> diurético,<sup>18</sup> anabólico,<sup>18,19</sup> contraceptivos orais<sup>1</sup> e agentes no tratamento de doenças cardiovasculares<sup>19</sup>.



**Figura 1.4** - Biossíntese de hormonas esteroides a partir do colesterol.

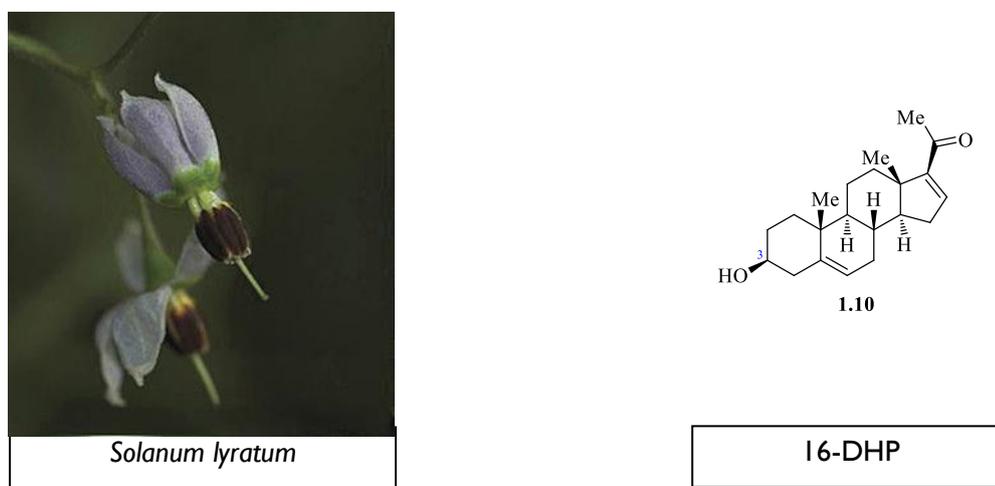
Além disso, muitos esteroides sintéticos são também utilizados no tratamento de tumores hormono-dependentes<sup>20,21</sup>, como por exemplo, os inibidores da aromatase usados no tratamento endócrino do cancro da mama<sup>22,23, 24</sup> e os inibidores da 17,20-liase e da 5 $\alpha$ -redutase usados no tratamento do cancro da próstata<sup>19,25-27</sup> (Figura 1.5).



**Figura 1.5** - Mecanismo de ação dos inibidores da aromatase.

Desde a descoberta da estrutura dos esteroides, centenas de plantas têm sido estudadas com o intuito de obter moléculas que funcionem como plataforma para a preparação de novos derivados, provenientes de reações de semissíntese.<sup>28</sup> Entre essas descobertas, encontram-se as espécies do género *Dioscorea* (*Dioscoreaceae* e inhame) e do género *Solanum*.

Neste contexto, o tema deste trabalho foi iniciado com o estudo do esteroide 16-DPA (16-dehydropregnenolone acetate), que pertence à série dos pregnanos (C21), cuja classe apresenta um elevado interesse para o desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que tem vindo a demonstrar várias atividades farmacológicas. Um exemplo, é o extrato de *Solanum lyratum*, em que revelou a presença de 16-desidropregnenolona (16-DHP) e de outros compostos análogos, nomeadamente funcionalizados na posição 3 (Figura 1.6). Neste estudo, observou-se que a 16-DHP demonstrou uma moderada potência citotóxica contra várias linhas de células tumorais A375-S2 (melanoma maligno humano), HeLa<sup>29</sup> (carcinoma uterino humano), SGC-7091 (cancro gástrico humano) e Bel-7402 (carcinoma hepatocelular humano).<sup>30</sup>



**Figura 1.6** - Extrato de *Solanum lyratum* e 16-desidropregnenolona (16-DHP).

### 1.3 Síntese e reatividade do acetato de 16-desidropregnenolona (16-DPA)

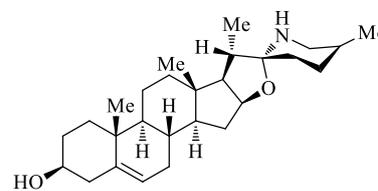
A síntese do acetato de 16-desidropregnenolona **1.15** (16-DPA) pode ser efetuada a partir de dois compostos naturais, a solasodina e o seu análogo oxigenado diosgenina.

A solasodina **1.11** pode ser encontrada em muitas plantas do género *Solanum* planta da família Solanaceae, podendo ser extraída da *Solanum laciniatum*, e a diosgenina **1.12** pode

ser extraída da raiz do inhame mexicano selvagem, *Dioscorea macrostachya*, planta da família das Dioscoreaceae (Figura 1.7).



*Solanum laciniatum*

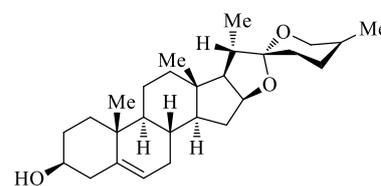


1.11

Solasodina



*Dioscorea mexicana*



1.12

Diosgenina

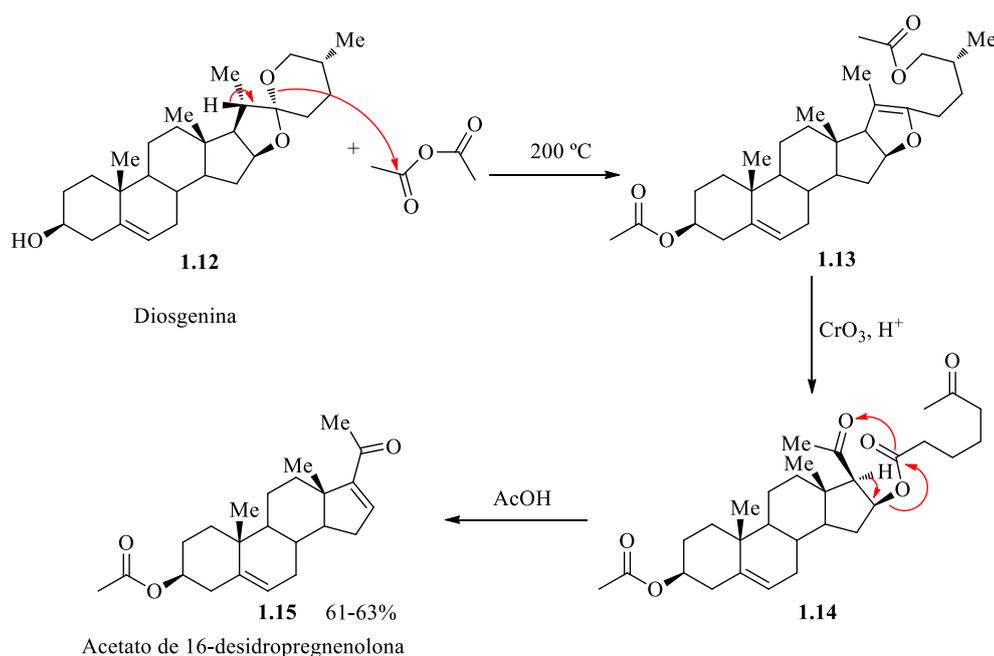
**Figura 1.7** - Estrutura da Solasodina 1.11 e do seu análogo oxigenado Diosgenina 1.12.

Apesar dos vários problemas que a síntese de esteroides apresenta, tais como, custos elevados, sínteses de várias etapas, rendimentos relativamente baixos, desperdício de recursos terrestres e esgotamento dos recursos vegetais selvagens, a diosgenina e solasodina permanecem como principais matérias-primas na produção industrial de fármacos de esteroides em muitos países.<sup>10</sup>

Assim, a maioria dos esteroides que hoje se conhecem é obtida por síntese total, sendo que, muitas dessas moléculas também se podem preparar por semissíntese a partir de matérias-primas que contenham o núcleo esteroide previamente formado.

Através do trabalho desenvolvido pelo pioneiro Russel E. Marker e colaboradores foi possível saber as vias sintéticas parciais dos esteroides. A via sintética desenvolvida por Marker gera o acetato de 16-desidropregnenolona por degradação controlada da cadeia lateral

da diosgenina.<sup>31</sup> A síntese do 16-DPA ocorre, assim, por uma via de três passos. Esta inicia-se com a abertura do anel espiroqueta através da acetólise com anidrido acético, seguindo-se a oxidação do diacetato de pseudodiosgenina (**1.13**) obtido e a hidrólise do produto oxidado, diosona (**1.14**), em ácido acético. O passo intermedio envolve a oxidação do diacetato de pseudodiosgenina que habitualmente se realiza com  $\text{CrO}_3$  como oxidante. Este procedimento designou-se por degradação de Marker e marcou o início da intensa investigação em química de esteroides que se verificou nos anos seguintes uma vez que o acetato de 16-desidropregnenolona (**1.15**) pode, por sua vez, ser modificado quimicamente, originando uma elevada variedade de esteroides, nomeadamente a progesterona (Esquema 1.1).<sup>4,13,14</sup>

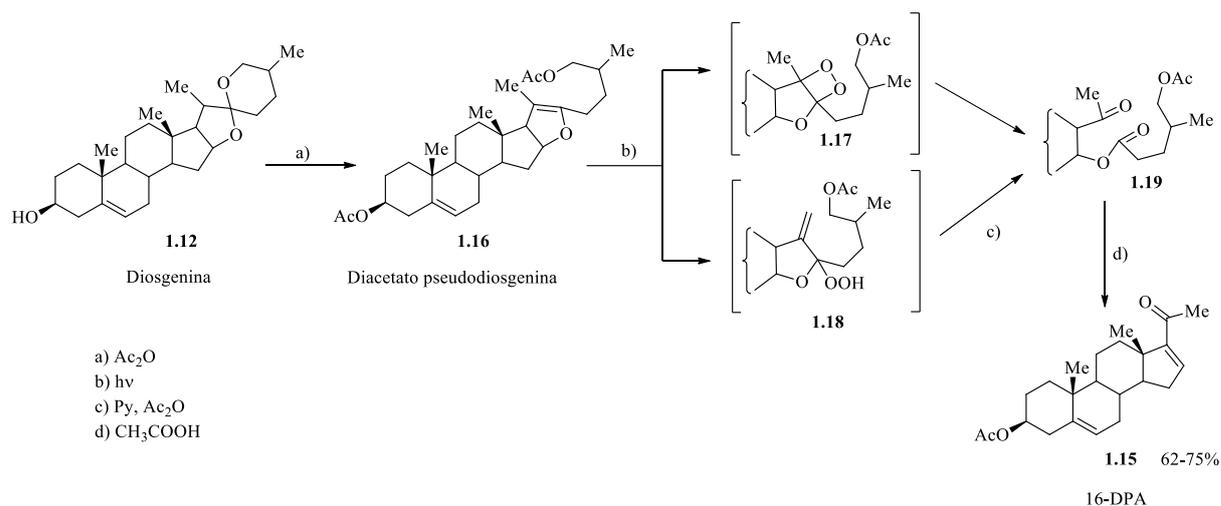


**Esquema 1.1 - Degradação de Marker da diosgenina.**

Como o impacto ambiental da indústria química-farmacêutica já é largamente conhecido ao nível mundial, existe cada vez mais uma necessidade de utilizar processos industriais mais aceitáveis em termos ambientais. Assim, seguindo o conceito de química verde, Zhang e colaboradores, em 2005, propuseram uma metodologia para eliminar os resíduos inorgânicos produzidos pela degradação de Marker na obtenção de 16-DPA. Foi, assim, proposta por estes autores a utilização de oxigénio molecular gerado *in situ* por foto-oxigenação, o que permitiu a eliminação dos oxidantes utilizados (trióxido de crómio ( $\text{CrO}_3$ ) e permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ )) (Esquema 1.2), gerando-se o composto **1.15** com bons rendimentos.<sup>32</sup>

Verificou-se um aumento significativo da investigação, na área das modificações estruturais e respetivos estudos SAR (relação estrutura-atividade), uma vez que pequenas mudan-

ças na estrutura do esteroide podem levar a alterações nas suas funções, originando assim atividades biológicas diferentes da molécula de origem.



**Esquema 1.2** - Metodologia para eliminar os resíduos inorgânicos produzidos pela degradação de Marker.

Além disso, como estas moléculas têm vários pontos suscetíveis de ataque oxidativo e de outros tipos de reações, o estudo das transformações regio- e quimiosseletivas têm vindo a ter grande relevância, suscitando o interesse da comunidade científica. Assim, diversos grupos de investigação têm tirado partido da reatividade do anel D do núcleo esteroide na síntese de novos compostos.

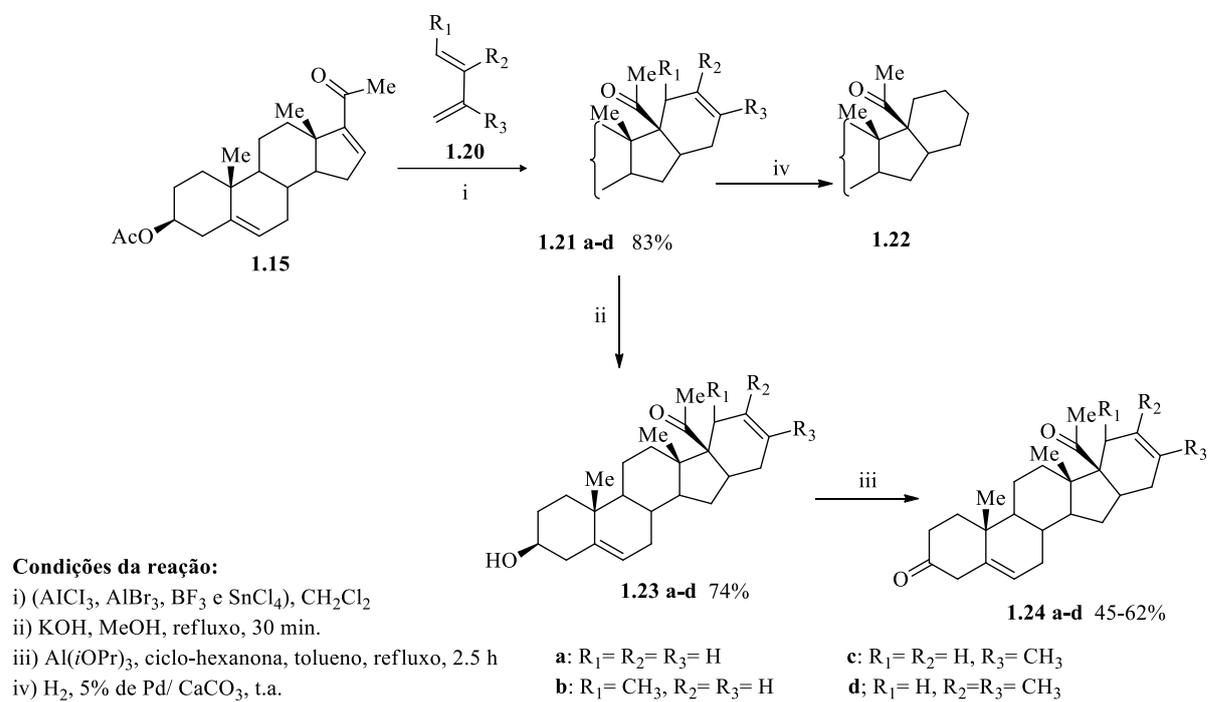
A análise das literaturas permitiu-nos perceber que além dos vários benefícios que estas estruturas trouxeram à humanidade, existe ainda algum receio das consequências deste avanço, devido principalmente à geração de resíduos produzidos pela indústria química e farmacêutica.<sup>33</sup>

Neste âmbito, a química orgânica tentou desenvolver novas estratégias sintéticas para a preparação dos esteroides.

Em 1972, Akhrem e colaboradores descreveram a síntese de análogos pentacíclicos da progesterona através da reação de Diels-Alder entre o acetato de 16-desidropregnenolone e dienos acrílicos (Esquema 1.3). A condensação do acetato de 16-desidropregnenolona **1.15** com 2,3-dimetil-butadieno **1.20** na presença de ácidos de Lewis, como o AlCl<sub>3</sub>, sob condições térmicas gera o ciclo-adiuto **1.21**, com um rendimento de 83%. A reação foi ainda expandida a outros dienos como o 1,3-pentadieno e isopreno.

A hidrogenação catalítica de **1.21a** com Pd/CaCO<sub>3</sub> de 5% reduz seletivamente a dupla ligação do anel E sem afetar a dupla ligação do anel A, para dar o ciclo-adiuto **1.22**.<sup>34</sup>

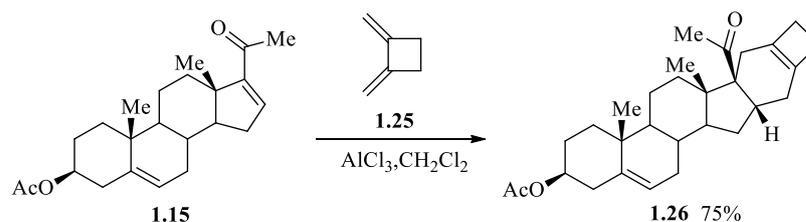
Os compostos **1.21a-d** na presença de hidróxido de potássio sofrem uma hidrólise do grupo acetilo formando os compostos **1.23a-d** com um rendimento de 74%. Por sua vez, estes, sofrem oxidação formando os compostos **1.24a-d** com rendimentos 45-62%, respectivamente.



**Esquema 1.3 - Síntese de análogos pentacíclicos da progesterona.**

Continuando com o estudo das reações de Diels-Alder, Kamernitskii *et al*, em 1986, publicaram um estudo em que utilizaram o esteroide 16-DPA como dienófilo e o 1,2-dimetilenociclobuteno como dieno.

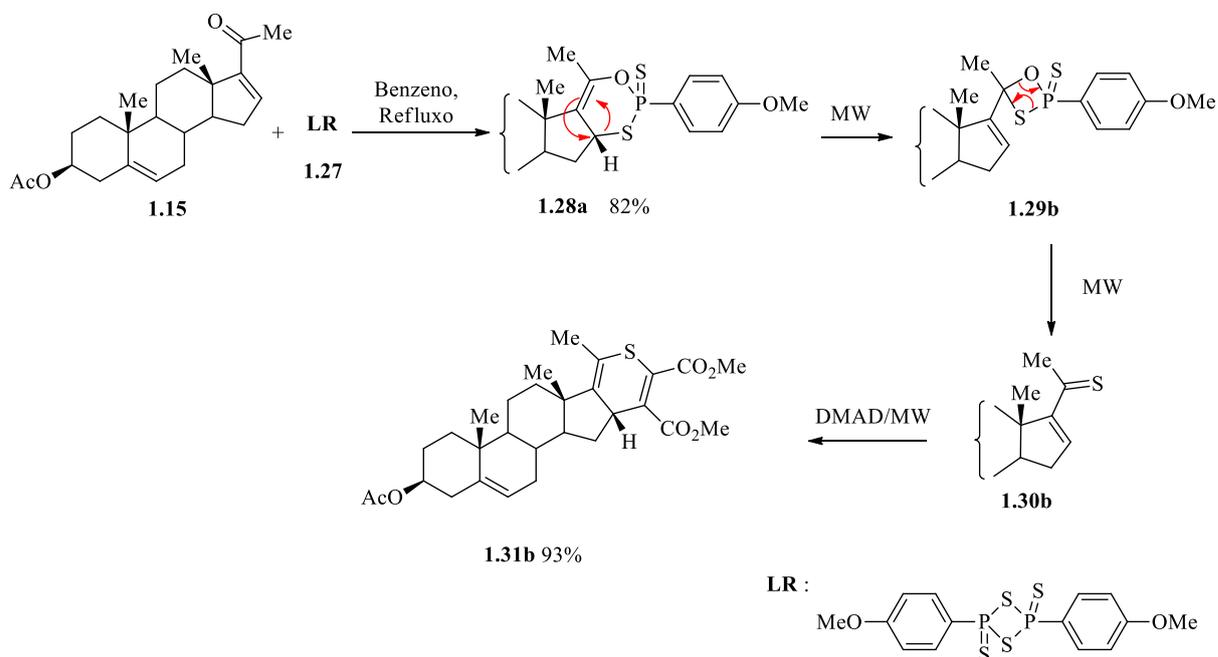
Nesta reação, o acetato de 16-desidropregnenolona **1.15** sofre uma Diels-Alder com o 1,2-dimetilenociclobutano **1.25** na presença de um ácido de Lewis para formar o aducto **1.26** (Esquema 1.4).<sup>35</sup>



**Esquema 1.4 - Reação de Diels-Alder do 16-DPA com o 1,2-dimetilenociclobutano 1.25.**

Dentro do mesmo contexto Boruah e seus colaboradores, também publicaram os seus estudos da reação de Diels-Alder entre o derivado do acetato de 16-desidropregnenolona

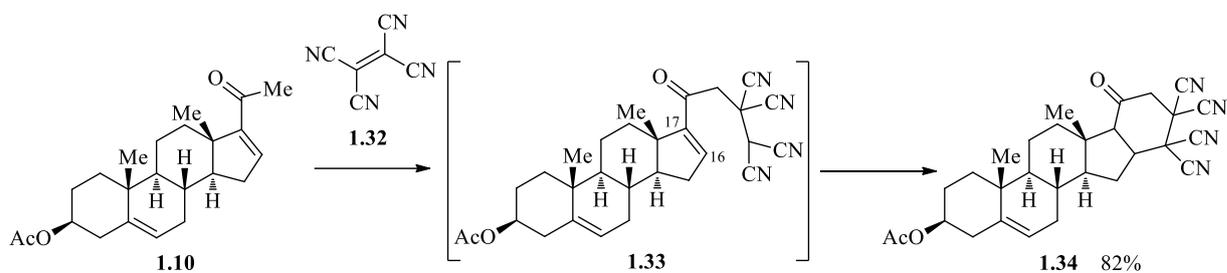
**1.30b** e o acetilenodicarboxilato de dimetilo (DMAD), sendo que, neste caso, o esteroide é o dieno e o DMAD é o dienófilo (Esquema 1.5). Verificou-se que a reação não foi completa, isto deve-se ao facto do intermediário aducto **1.28a** ser termicamente estável e não consegue participar em reações de cicloadição  $[4\pi + 2\pi]$  com o DMAD em refluxo.<sup>36</sup> No entanto, os autores tentaram outras metodologias, substituindo o método de aquecimento convencional pela irradiação de micro-ondas o que facilitou a conversão do ciclo-aducto **1.28b** para **1.30b** via arranjo concomitante e abertura do anel (Esquema 1.5).<sup>37</sup>



**Esquema 1.5** - Reação de Diels-Alder entre o derivado do 16-DPA **1.30b** e o acetilenodicarboxilato de dimetilo.

Segundo o contexto da química “verde”, as reações de adição de Michael são caracterizadas pela sua eficiência atômica de 100% e por usarem reagentes iniciais baratos e acessíveis. Devido a isto, estas reações são cada vez mais utilizadas como metodologias para a síntese de compostos orgânicos através de formação de ligações carbono-carbono ou heteroátomo-carbono (reações de adição Aza-Michael), sendo interessantes na indústria químico-farmacêutica.

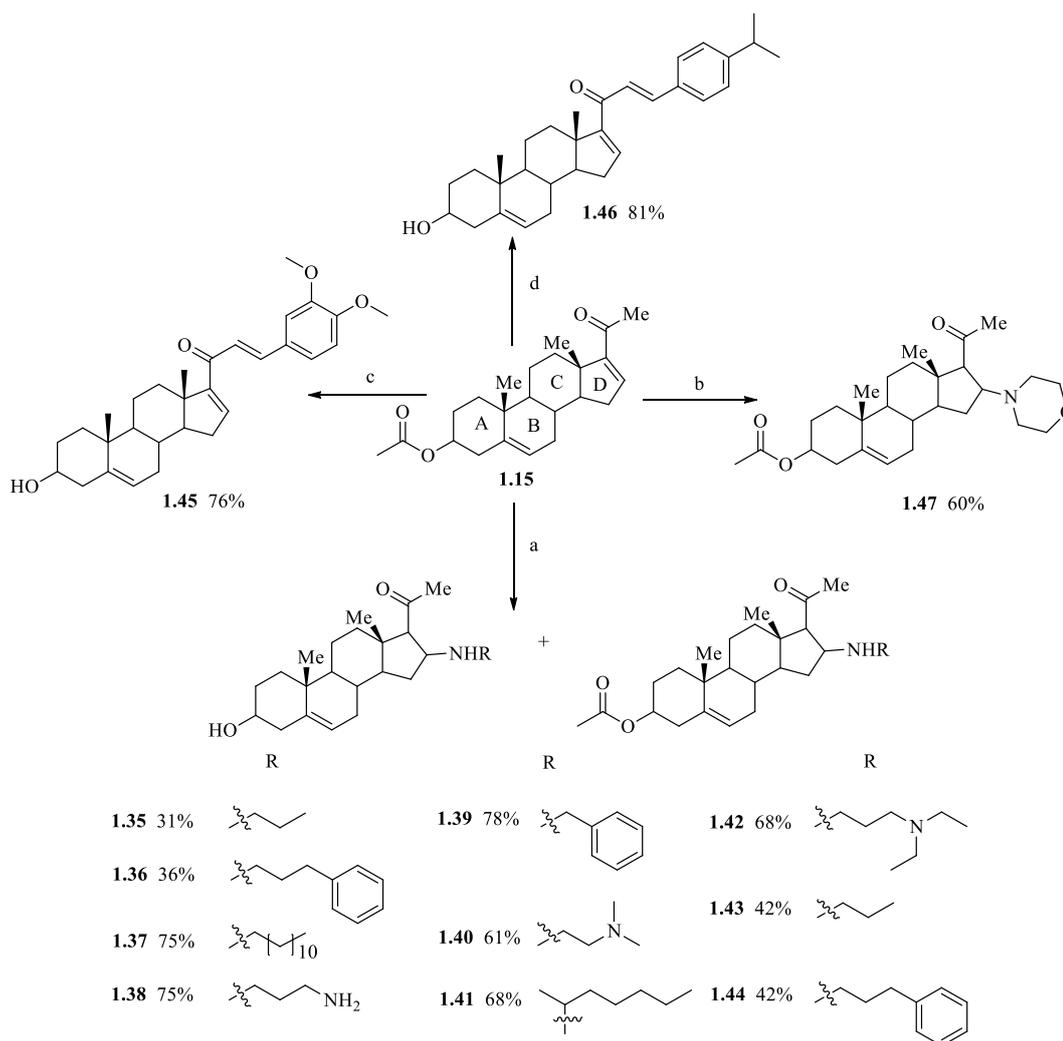
A metodologia utilizada, por estes autores, consiste na introdução de vários grupos ciano (tetracianoetileno) **1.32** na dupla ligação C-16 e C-17 do núcleo do esteroide na presença ácido clorídrico. O ciclo-aducto **1.34** formado, com rendimento superior a 80%, foi usado para obter agentes anti-tumorais (Esquema 1.6).<sup>38</sup>



**Esquema 1.6** - Reação de adição de Michael.

Outro exemplo inclui os estudos realizados por Kumar e colaboradores, em que introduziram diversas aminas na dupla ligação C-16 e C-17 do núcleo esteroide.<sup>39</sup> A síntese ocorre no carbono dezasseis devido à adição na dupla C-16 e C-17 pelos *N*-substituintes acetilo para a adição da amina pretendida, segundo um mecanismo conhecido como adição de aza-Michael, compostos **1.35** a **1.44**. Neste trabalho também foram sintetizados mais alguns derivados do acetato de 16-desidropregnenolona alterando o substituinte nas posições C-16 e C-17. As moléculas **1.45** e **1.46** foram sintetizadas por uma condensação aldólica catalisada por base a partir do 16-DPA. A utilização de morfolina levou à formação do composto **1.47** com um rendimento de 60% (Esquema 1.7).

Os compostos obtidos neste estudo foram sujeitos à avaliação da capacidade inibitória da dipeptidil - peptidase IV (DPP IV), uma enzima presente na superfície de diversas classes celulares, estando associada à regulação imune, transdução de sinal e apoptose, cuja inibição se demonstrou útil no tratamento para diabetes tipo 2.<sup>39</sup>

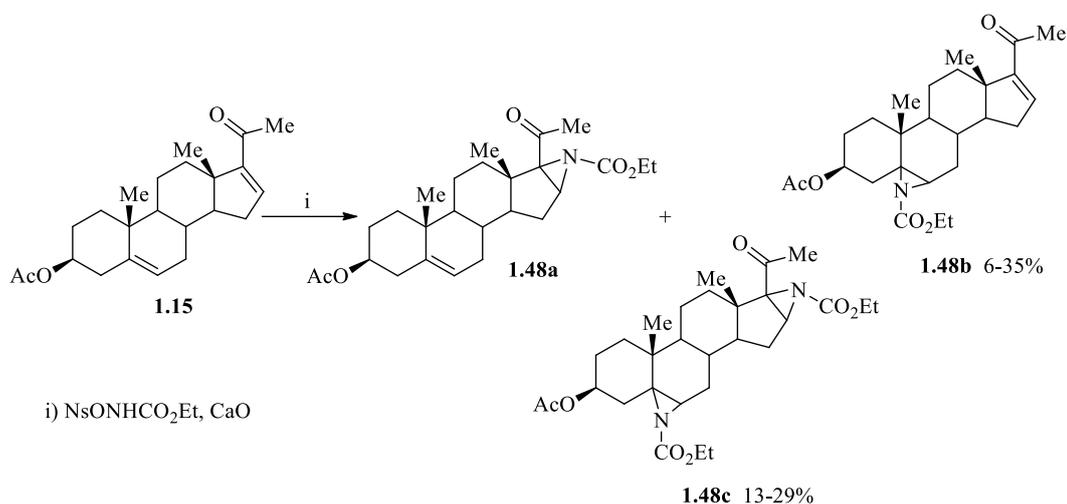


Condições da reações:

- a) RNH<sub>2</sub>, 45 °C, 4 h;      c) 3,4-dimetoxi benzaldeído, EtOH, KOH, t.a, 24 h;  
 b) Morfolina, 45 °C, 4h;      d) 4-isopropil benzaldeído, EtOH, KOH, t.a, 24 h.

### Esquema I.7 - Reação de adição de aza-Michael.

Lucio Pellaeani e colaboradores também efetuaram estudos de reações de aminação, de uma série de compostos partindo da molécula 16-DPA. Neste estudo, os autores descrevem os resultados obtidos com cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturados na presença de diferentes reagentes (NsONHCO<sub>2</sub>Et/CaO, TsONHCO<sub>2</sub>EtYCs<sub>2</sub>CO e N<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>Et). A utilização de NsONHCO<sub>2</sub>Et/CaO conduziu à formação de aziridinas mono-funcionalizadas a partir da dupla ligação conjugada (C-16 e C-17) e da dupla ligação não conjugada (C-5 e C-6) (Esquema 1.8).<sup>40</sup>

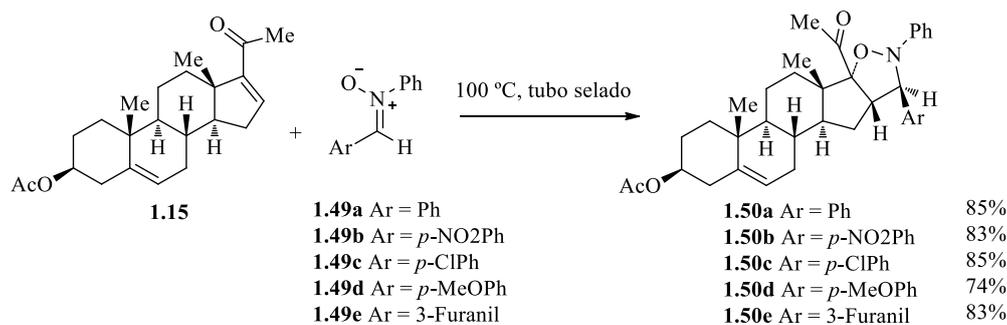


**Esquema 1.8** - Reação de aminação.

De entre as inúmeras transformações químicas aplicadas a nitronas, destaca-se a reação de cicloadição 1,3-dipolar. A cicloadição 1,3-dipolar entre nitronas e alcenos é o método mais conveniente para a síntese de isoxazolidinas. Estes heterociclos são reconhecidos como intermediários quirais na síntese de  $\alpha$ -aminoálcoois,  $\beta$ -aminoácidos,  $\beta$ -lactamas, aminoglicídios, mímicos de nucleósidos, alcaloides e esteroides.<sup>41</sup>

É de realçar, que as reações de cicloadição intermoleculares de nitronas também são de grande importância devido à sua flexibilidade para introduzir o complexo molecular em muitos produtos naturais. Esta flexibilidade pode ser melhorada com a utilização de oximas precursoras das nitronas. Os compostos **1.50**, com um heterociclos fundido, possuem propriedades como sedativas, anti-inflamatórias e analgésicas (Esquema 1.9).<sup>42</sup>

Por sua vez, a cicloadição 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo com compostos olefínicos também tem demonstrado grande interesse sintético, uma vez que as isoxazolidinas são produtos intermediários versáteis para a síntese de compostos bifuncionais.



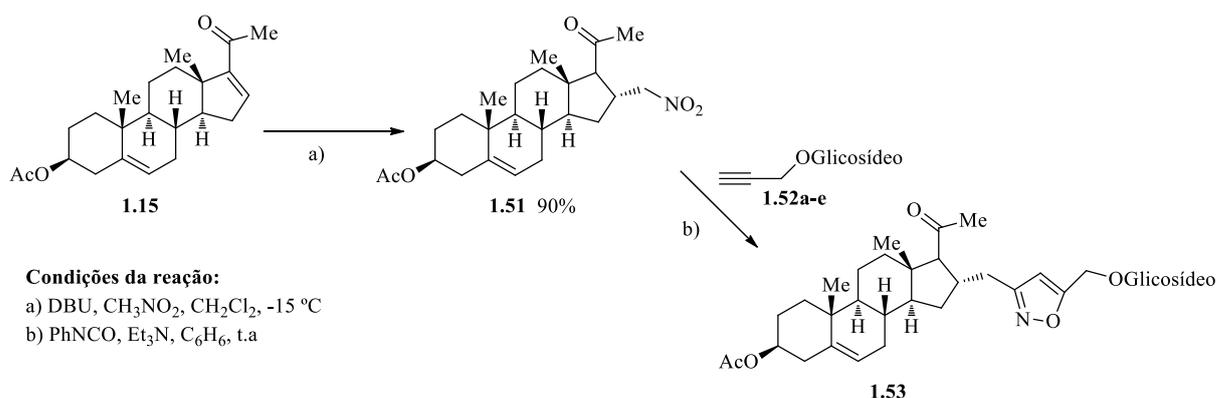
**Esquema 1.9** - Reação de cicloadição 1,3-dipolar de nitronas com alcenos.

Girish e colaboradores descreveram pela primeira vez, a preparação de esteroides glicoconjugados ligados a isoxazóis a partir de uma reação de cicloadição 1,3-dipolar. Nesta reação são gerados *in situ* óxido de nitrilo de esteroides com éteres propargílicos ligados a açúcares. Devido ao facto de os óxidos de nitrilo terem a capacidade de acoplar com muitas biomoléculas, permitem uma via para construir biologicamente novos esteroides conjugados.

Estes esteroides tornam-se sintões preferidos para o desenvolvimento de diversos bioconjugados devido à sua estrutura rígida, ao seu potencial para vários níveis de funcionalização, à sua ampla atividade biológica, à capacidade de penetrarem a membrana celular e de se ligarem a recetores hormonais específicos (Esquema 1.10).<sup>43</sup>

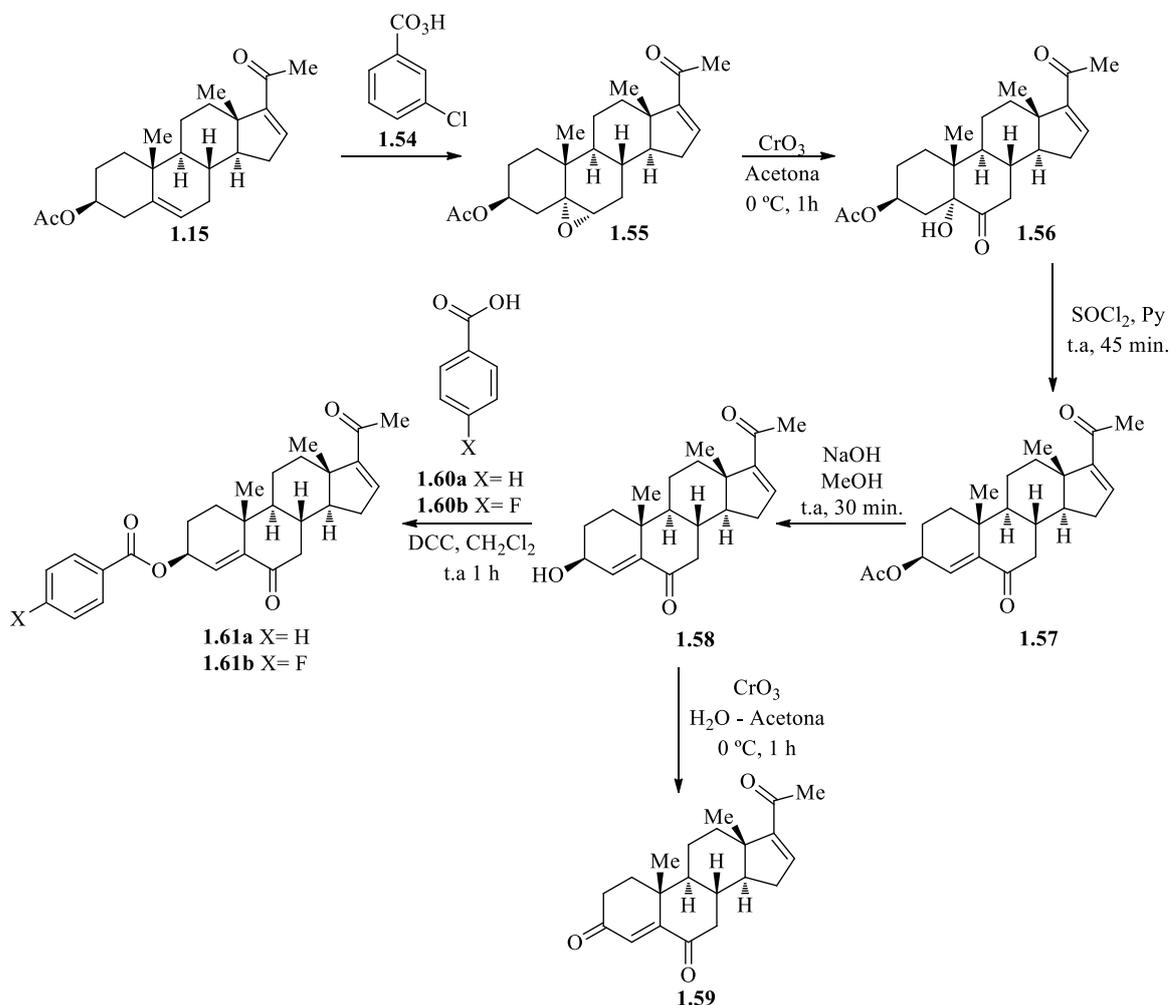
O composto **1.53** faz parte de um amplo grupo de glicosídeos de esteroides, sendo caracterizados pelas suas propriedades tensoativas em que reduzem a tensão superficial da água. A parte “não-açúcar”, a molécula de esteroide possui um carácter lipofílico, enquanto que, o açúcar (molécula hidrofílica) é responsável pela hidrofília.

A complexação de moléculas de açúcar com moléculas de esteroides aumenta a permeabilidade e o movimento dos iões e água, a atividade antifúngica e antiviral e a atividade anti-inflamatória.



**Esquema 1.10** - Reação de cicloadição 1,3-dipolar.

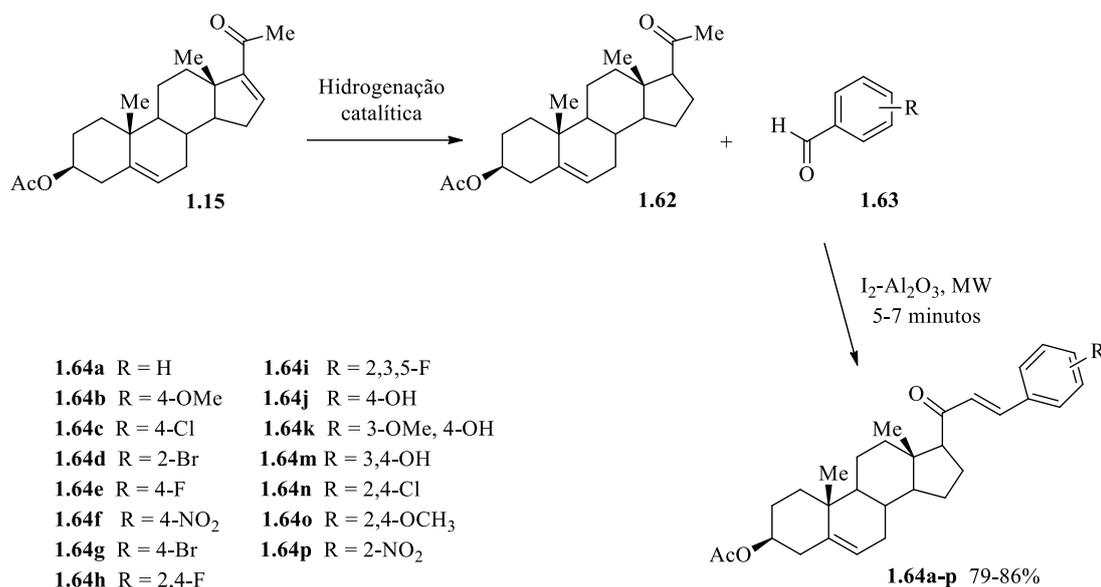
No Esquema 1.11 é descrito mais um processo de produção de esteroides com atividade biológica determinada *in vivo* e *in vitro*. Os estudos foram feitos em enzimas de hamster e em glândulas da próstata humana para avaliarem a atividade inibitória da enzima 5 $\alpha$ -redutase. Os resultados demonstraram que os compostos **1.55**, **1.57**, **1.59** e **1.61a** são bons inibidores da enzima 5 $\alpha$ -redutase.<sup>44</sup>



**Esquema 1.11**- Derivados com capacidade inibitória da enzima 5 $\alpha$ -redutase.

Em 2013, Dwipen Kakati e colaboradores desenvolveram uma nova classe de chalconas de pregnenolona preparadas *via* condensação de Claisen-Schmidt em condições de micro-ondas.<sup>45</sup> A síntese do acetato de pregnenolona **1.62** é feita partir da hidrogenação catalítica quimiosseletiva do acetato de 16-desidropregnenolona **1.15**. A condensação entre o acetato de pregnenolona e derivados do benzaldeído forma um número elevado de novos derivados de esteroides com rendimentos a variar entre 79 e 86% (Esquema 1.12). Estes derivados do benzilideno, funcionalizados no anel aromático C2, foram preparados utilizando I<sub>2</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> como catalisador sob condições de micro-ondas durante 6 minutos.

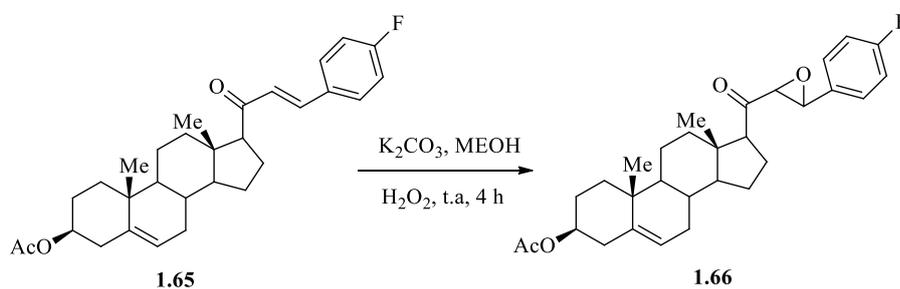
Os resultados demonstraram que os novos compostos possuem atividades antimicrobianas potentes contra alguns agentes patogênicos.



**Esquema 1.12** - Reação de condensação de Claisen-Schmidt em condições de micro-ondas.

No rastreio da atividade antimicrobiana o composto **1.65** foi o que apresentou ser o agente antimicrobiano mais potente em relação aos outros compostos, devido a presença do grupo flúor, na posição para do anel aromático, pois faz aumentar a atividade. Este composto, por sua vez, também foi convertido no seu epóxido, a fim de perceber como atua na atividade antimicrobiana mas ainda não se obtiveram resultados (Esquema 1.13).<sup>45</sup>

Todos os compostos que demonstraram ter atividade antimicrobiana foram testados contra duas estirpes bacterianas (*Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*) e em fungos (*Aspergillus niger* e *Candida albicans*).



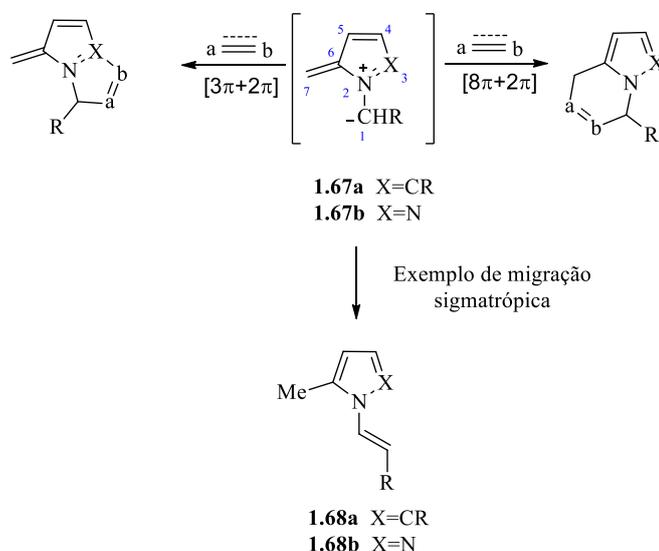
**Esquema 1.13** - Reação de epoxidação.

Durante toda a pesquisa de informação, foi possível aprofundar os conhecimentos do esteroide 16-DPA e perceber a sua interação com outras moléculas. Sendo depois mais fácil acompanhar os estudos em reações de ciclo adição [8π+2π], visto ser uma reação pouco estudada com os esteroides.

## 1.4 Aniões metil azafulvénio e 1,2-diazafulvénio

Os aniões metil 1-azafulvénio **1.67a** e 1,2-diazafulvénio **1.67b** são dipolos que possuem um sistema conjugado de oito elétrons  $\pi$  (Esquema 1.14). Estes sistemas dipolares conjugados podem ser considerados iletos azometinos conjugados e iminas azometinas conjugados, respetivamente. Estes intermediários reativos podem participar como 1,3-dipolos em reações de ciclo-adição  $[3\pi + 2\pi]$  ou como 1,7-dipolos em reações de ciclo-adição  $[8\pi + 2\pi]$ , sendo que, esta reatividade depende da natureza dos grupos substituintes (Esquema 1.14).

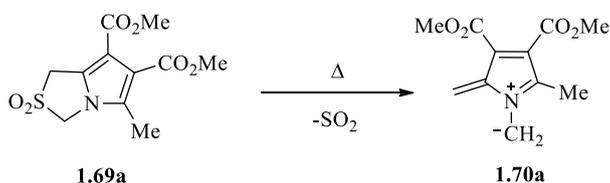
Estes aniões, metil aza- e 1,2-diazafulvénio, podem participar igualmente noutras reações pericíclicas, nomeadamente, em migrações sigmatrópicas  $[1,8]H$  e electrociclizações-1,7 obtendo-se os vinilpirróis **1.68a** e vinilpirazóis **1.68b** substituídos, respetivamente (Esquema 1.14).<sup>46-49</sup>



Esquema 1.14 - Aniões metil 1-azafulvénio e 1,2-diazafulvénio.

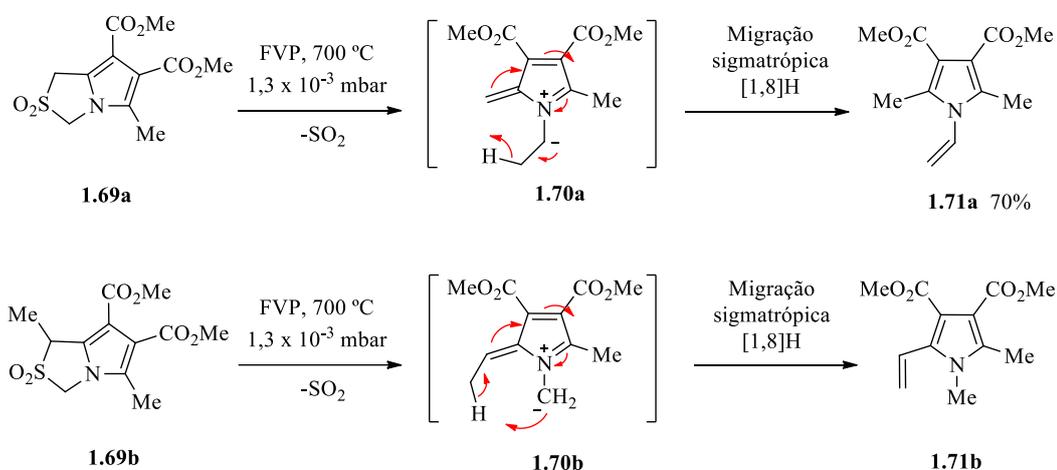
### 1.4.1 Reações sigmatrópicas e electrociclizações

Padwa e colaboradores tentaram também sintetizar aniões metil azafulvénio envolvendo a eliminação quelotrópica de dióxido de enxofre de sulfonas heterocíclicas. No entanto, a obtenção do anião metil azafulvénio, por eliminação de dióxido de enxofre do 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirrólo[1,2-*c*]tiazole **1.69a**, não foi possível quer em condições de termólise a 300 °C quer em condições de fotólise (Esquema 1.15).<sup>50</sup>



**Esquema 1.15** - Síntese de aniões metil azafulvénio envolvendo a eliminação quelotrópica de dióxido de enxofre de sulfonas heterocíclicas.

Storr e colaboradores também tentaram gerar estes sistemas dipolares conjugados via eliminação concertada de dióxido de enxofre de 2,2-dioxo-1H,3H-pirrolo[1,2-c]tiazóis com substituintes alquílicos e arílicos. Os autores estudaram a termólise das sulfonas **1.69a-b**, com o objetivo de gerar aniões metil azafulvénio que pudessem ser intercetados em reações intramoleculares durante o processo de termólise (Esquema 1.16).<sup>49</sup>

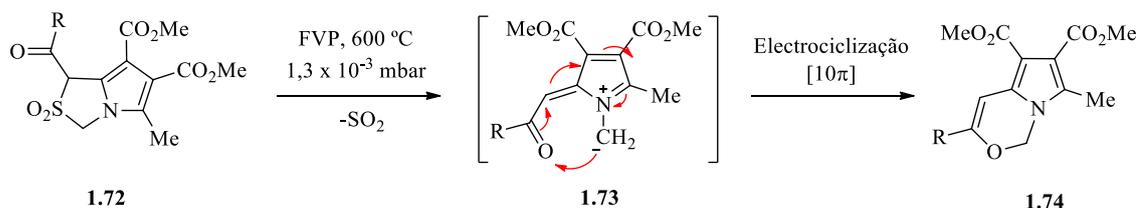


**Esquema 1.16** - Obtenção do N-vinilpirrole **1.71a** e do C-vinilpirrole **1.71b**.

Este método conduziu à obtenção do N-vinilpirrole **1.71a** e do C-vinilpirrole **1.71b**. A obtenção destes compostos é explicada considerando a eliminação concertada de dióxido de enxofre e formação dos intermediários aniões metil azafulvénio, seguida de rearranjo através de migrações sigmatrópicas [1,8]H envolvendo o sistema de oito elétrons  $\pi$  do 1,7-dipolo. Este exemplo representou a primeira evidência de formação de aniões metil azafulvénio e interceção destes em reações pericíclicas.<sup>51</sup>

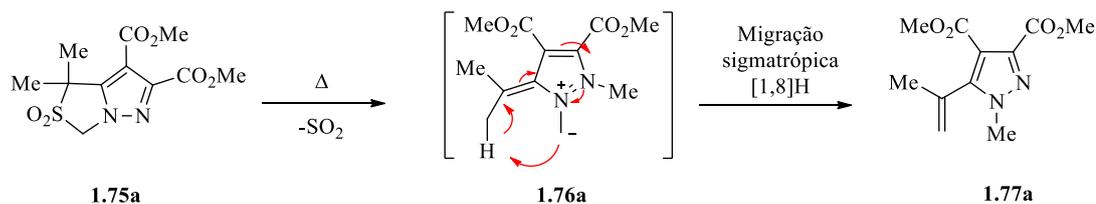
Apesar da síntese e interceção de aniões metil azafulvénio conjugados com grupos arílicos não terem resultado, os autores tentaram gerar 1,7-dipolos conjugados com grupos carbonilo, de modo a obter sistemas dipolares com dez elétrons  $\pi$  em que fosse possível a reação de electrociclização envolvendo a ligação dupla heteronuclear. A termólise de 2,2-dioxo-1H,3H-pirrolo[1,2-c]tiazole **1.72** em condições de pirólise rápida de vácuo (FVP) ge-

rou o anião metil azafulvênio **1.73** que conduziu à obtenção de 1*H*-pirrolo[1,2-*c*][1,3]oxazina **1.74** (Esquema 1.17). Este exemplo representou a primeira evidência de interceção via electrociclização envolvendo os dez elétrons  $\pi$  do ileto azometino conjugado **1.73**.



**Esquema 1.17** - Reação de termólise de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirrolo[1,2-*c*]tiazole **1.72**.

Para além dos estudos com aniões metil azafulvênio, os autores também estudaram os aniões metil 1,2-diazafulvênio contendo grupos metilo em C-1 que podem ser gerados através de termólise em solução, sob condições FVP e por irradiação de micro-ondas.<sup>47,51,53</sup> A termólise de 1-metil-2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole **1.76** conduziu à obtenção do C-vinilpirazole **1.77a** via migração sigmatrópica [1,8]H do anião metil 1,2-diazafulvênio substituído nas posições 4 e 5 com grupos metoxycarbonilo **1.79** (Esquema 1.18). Os resultados mostram que a termólise sob condições de micro-ondas e em condições FVP é uma estratégia bastante eficiente para gerar os aniões metil diazafulvênio via migração sigmatrópica [1,8]H.



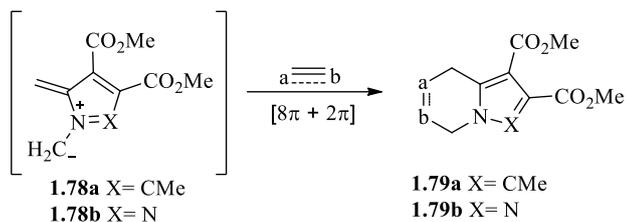
**Esquema 1.18** - Formação do C-vinilpirazole **1.77a** via migração sigmatrópica [1,8]H do anião metil 1,2-diazafulvênio.

#### 1.4.2 Cicloadição [8 $\pi$ + 2 $\pi$ ]

As reações de cicloadição 1,7-dipolar, também designadas reações de cicloadição [8 $\pi$ +2 $\pi$ ] constituem um processo importante de síntese de compostos heterocíclicos de seis membros.

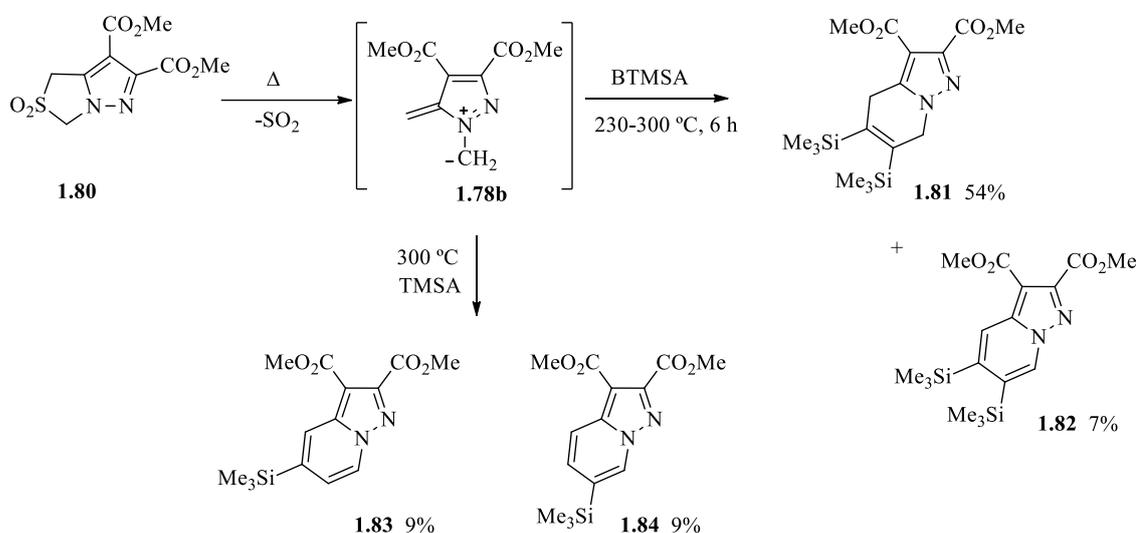
A cicloadição 1,7-dipolar é uma reação que envolve a adição de um sistema com oito elétrons  $\pi$ , denominado por 1,7-dipolo a um sistema de ligações múltiplas, o dipolarófilo, através de um arranjo de nove elétrons  $\pi$  (Esquema 1.19).

O dipolarófilo em geral pode ser qualquer composto que possua dois elétrons  $\pi$  que participe na reação de cicloadição. Os elétrons podem pertencer a ligações duplas ou triplas contendo ou não heteroátomos.



**Esquema 1.19** - Reação de cicloadição 1,7-dipolar.

Storr e colaboradores foram os primeiros a descrever a reação de um anião metil 1,2-diazafulvênio. A metodologia utilizada para gerar este sistema dipolar foi análoga à dos aniões metil azafulvênio **1.78b**, ou seja, através de eliminação térmica de dióxido de enxofre do 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirrolo[1,2-*c*]tiazole **1.80** (Esquema 1.20).<sup>51</sup>



**Esquema 1.20** - Reação de um anião metil 1,2-diazafulvênio.

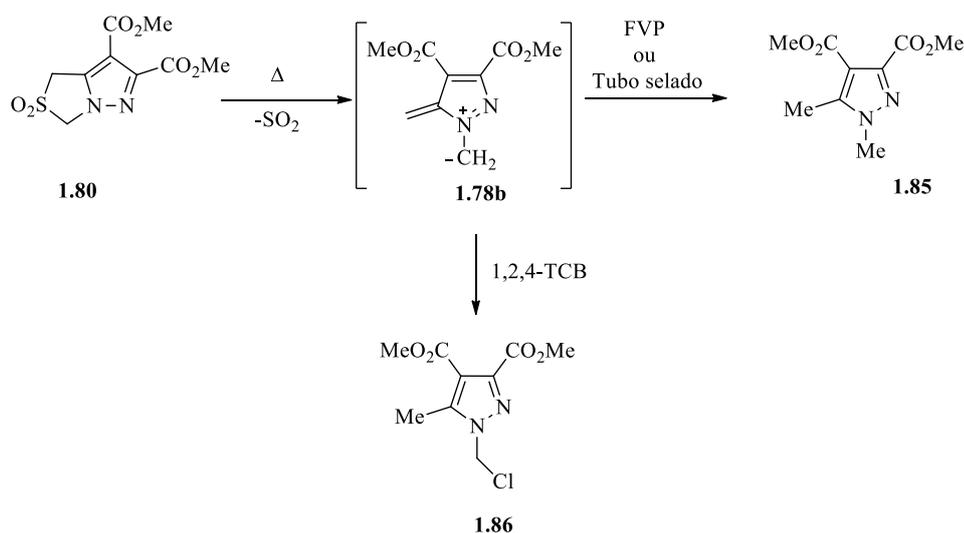
O aquecimento da sulfona **1.80** em refluxo de 1,2,4-triclorobenzeno ou em tubo selado, na presença de *N*-fenilmaleimida (NPM) ou acetilenodicarboxilato de dimetilo (DMAD), dipolarófilos deficientes em elétrons, não conduziu ao isolamento de quaisquer cicloadutos.

No entanto, quando se utilizou bis(trimetilsilil)acetileno (BTMSA), um dipolarófilo rico em elétrons, foi possível a interceção destes sistemas dipolares conjugados em cicloadições  $[8\pi + 2\pi]$ . Promovendo a reação de cicloadição 1,7-dipolo do metil 1,2-diazafulvênio **1.78b**, com BTMSA em refluxo de 1,2,4-triclorobenzeno, os autores obtiveram o cicloaduto

**1.81** com rendimento de 54% e o produto aromatizado **1.82** com apenas 7% de rendimento (Esquema 1.20).

A termólise da sulfona **1.80**, em tubo selado na presença de trimetilsililacetileno (TMSA) à temperatura de 300 °C, conduziu à obtenção de uma mistura regioisomérica dos cicloadutos aromatizados **1.83** e **1.84** com um rendimento global de 18% (Esquema 1.20).

No entanto, a termólise da sulfona **1.80**, em condições de refluxo de 1,2,4-triclorobenzeno conduziu à obtenção de um produto diferente, o 1-clorometil-5-metil-1*H*-pirazole-3,4-dicarboxilato de dimetilo (**1.86**) com rendimento moderado (Esquema 1.21). A formação do composto **1.86** pode ser explicada considerando a adição de uma molécula de HCl ao anião metil 1,2-diazafulvênio **1.78b**. A eliminação de HCl de clorobenzenos é uma reação pouco favorável devido à formação do intermediário benzino, que é bastante instável. Contudo, a reação pode ocorrer sob determinadas condições, nomeadamente com temperatura e/ou pressão elevadas e na presença de bases fortes. Assim, sob as condições de reação usadas pode ter ocorrido a eliminação de HCl do solvente e consequente reação com o anião metil 1,2-diazafulvênio **1.78b**, originando o 1-clorometil-5-metil-1*H*-pirazole (**1.86**) (Esquema 1.21).<sup>46</sup>

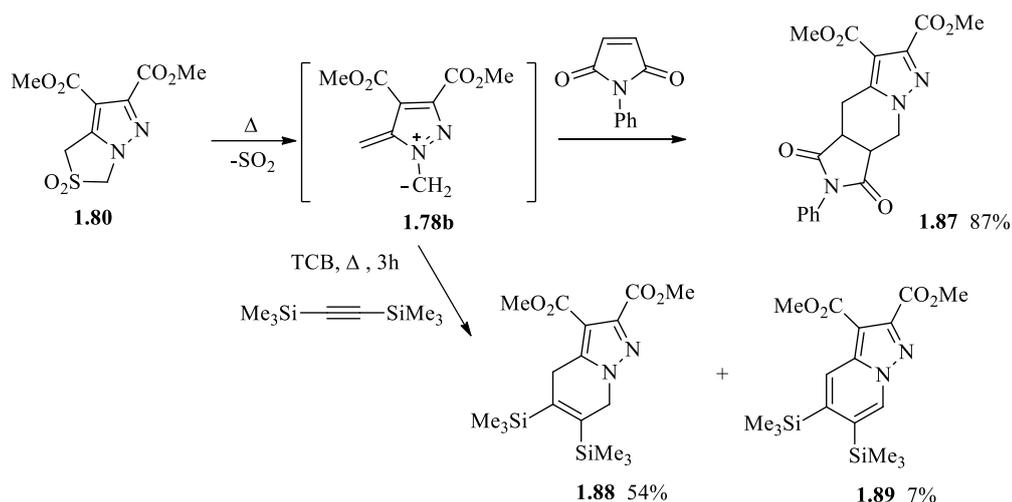


**Esquema 1.21-** Formação do *N*-vinilpirazole **1.85** e do 1-clorometil-5-metil-1*H*-pirazole (**1.86**).

O estudo deste tipo de sistemas surgiu à relativamente pouco tempo, através dos estudos dos aniões metil 1-azafulvênio e dos aniões metil 1,2-diazafulvênio. Tendo sido exploradas inicialmente por Storr e atualmente pelo grupo de investigação de Química Orgânica, que demonstraram que os aniões metil 1,2-diazafulvênio podem participar igualmente em cicloadições  $[8\pi+2\pi]$  com dipolarófilos deficientes em eletrões.<sup>48,52,53</sup>

A eliminação de dióxido de enxofre  $\text{SO}_2$  da sulfona **1.80** gera o anião metil 1,2-diazafulvenio **1.78b**, em condições de refluxo de 1,2,4-triclorobenzeno (TCB) ou sob irradiação de micro-ondas. Este, na presença de NMP participa na cicloadição 1,7-dipolar originando o cicloaduto **1.87** (Esquema 1.22).<sup>50</sup>

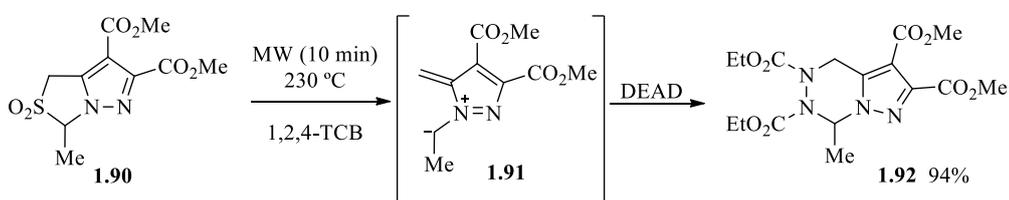
O dipolo **1.78b** é igualmente intercetado na cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$  por bis(trimetilsilil)acetileno conduzindo à obtenção de uma mistura dos cicloaductos 4,7-dihidro-pirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3,5,6-tetracarboxilato de tetrametilo (**1.88**) (54%) e 6,7-dihidro-pirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3,5,6-tetracarboxilato de tetrametilo (**1.89**) (7%) (Esquema 1.22).<sup>52</sup>



**Esquema 1.22** - Reação de eliminação de dióxido de enxofre  $\text{SO}_2$  da sulfona **1.80**.

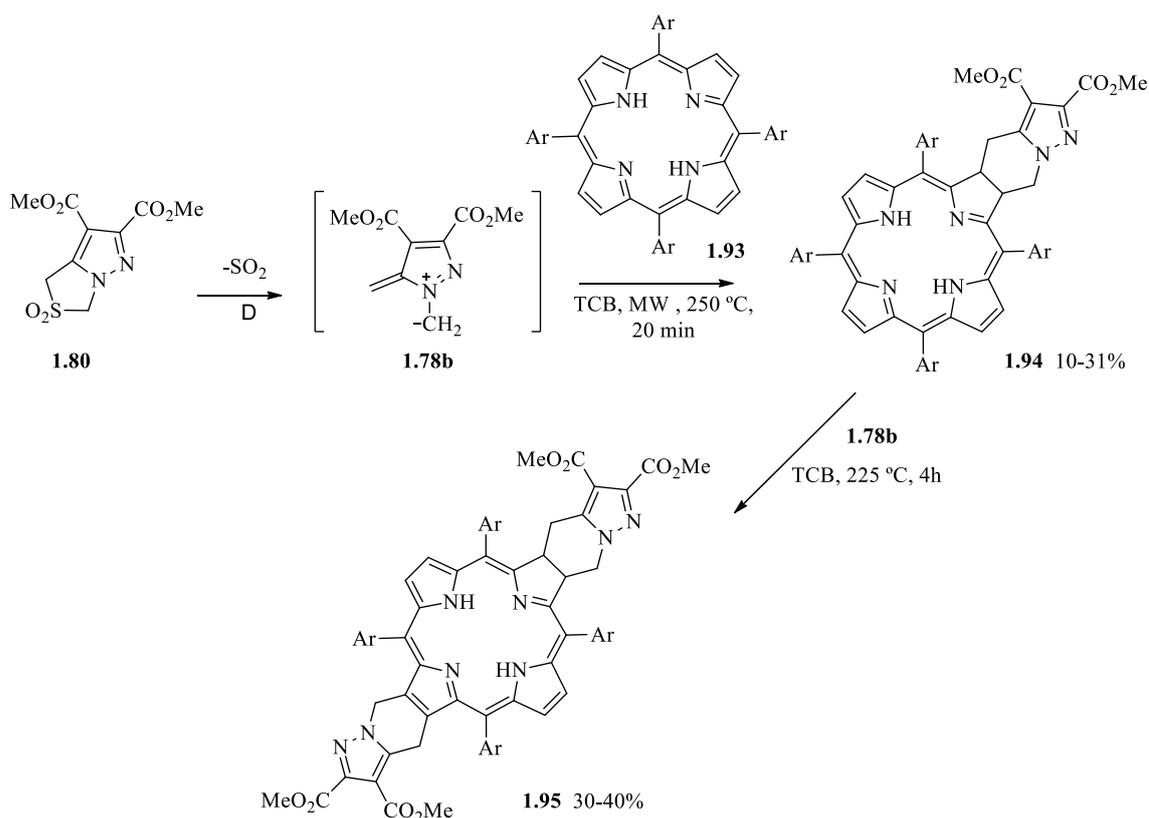
O grupo de investigação onde foi desenvolvido o projeto de investigação apresentado nesta dissertação tem dedicado particular interesse no estudo da reatividade destes aniões.

Assim, utilizando também as reações de micro-ondas, a reação da sulfona **1.90** na presença de uma gama alargada de dipolarófilos conduz à formação de vários cicloaductos com diferentes rendimentos. Por exemplo, a reação do anião metil 1,2-diazafulvénio **1.91** com o azocarboxilato de dietil (DEAD) dá origem a um único produto **1.92** com um rendimento de 94%. O anião metil 1,2-diazafulvénio **1.91** foi gerado a partir da extrusão de  $\text{SO}_2$  por irradiação de micro-ondas a 230 °C (Esquema 1.23).<sup>54</sup>



**Esquema 1.23** - Reação do anião metil 1,2-diazafulvénio **1.91** com o azocarboxilato de dietil.

Continuando com os estudos das reações de cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$ , em 2011, foram descritos os primeiros resultados utilizando este tipo de reações, para a obtenção de clorinas e bacterioclorinas fundidas com 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina.<sup>54</sup> O aquecimento da sulfona **1.80** com radiação de micro-ondas a 250 °C na presença da porfirina **1.93** gerou o anião metil 1,2-diazafulvênio **1.78b** que é interceptado na cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$  pelas porfirinas **1.93**, obtendo-se seletivamente os derivados de clorina fundidas com 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina **1.94**. Estas clorinas funcionalizadas podem participar novamente na cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$  com aniões metil 1,2-diazafulvênio originando as bacterioclorinas fundidas com 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina **1.95** (Esquema 1.24).<sup>55</sup>

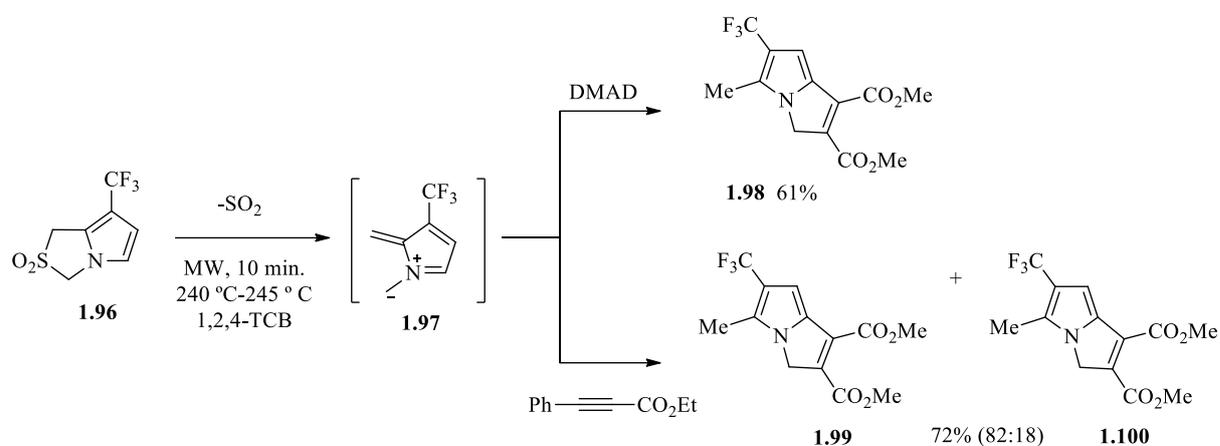


**Esquema 1.24** - Reação de cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$ .

No grupo de Química Orgânica foi também estudada a reatividade de aniões metil 5-trifluorometilazafulvênio **1.97**. Estes compostos **1.97** são gerados por extrusão térmica de dióxido de enxofre, por aquecimento convencional ou por irradiação de micro-ondas e interceptadas em reações de ciclo-adição na presença de dipolarófilos.

Por irradiação de micro-ondas em 1,2,4-triclorobenzeno, a sulfona **1.96** é convertida no anião 5-trifluorometil azafulvênio (**1.97**) (Esquema 1.25). Observou-se que este atua co-

mo 1,3-dipolo na presença de alguns dipolarófilos. O anião 5-trifluorometil azafulvênio (**1.97**) reage com DMAD levando à formação do correspondente produto de ciclo-adição 1,3-dipolar **1.98** com rendimento de 61%. A reação do anião metil azafulvênio **1.97** com 3-fenilpropiolato de etilo conduziu à obtenção de uma mistura de cicloaductos, **1.99** e **1.100**, resultantes respectivamente da ciclo-adição 1,3-dipolar e da ciclo-adição 1,7-dipolar.<sup>56</sup>



**Esquema 1.25** - Estudado da reatividade de aniões metil 5- trifluorometilazafulvênio **1.97**.

O trabalho apresentado nesta dissertação deu continuidade à pesquisa iniciada com as reações de cicloadições [8π+2π] de aniões metil diazafulvênios na preparação de novos derivados de esteroides.<sup>57</sup>

## Referências

- 1) LEMKE, Thomas L.; WILLIAMS, David A. - **Foyes: Principles of Medicinal Chemistry**. 7ªEd. North American: Lippincott Williams & Wilkins, 2012. ISBN 13: 978-1-60913-345-0.
- 2) DEWICK, Paul M. - **Medicinal Natural Products: A biosynthetic approach**. 3ª Ed. UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2009. ISBN: 978-0-470-74168-9.
- 3) BROWN, Geoffrey D. - **The biosynthesis of steroids and triterpenoids**. Nat. Prod. Rep. 15 (1998) 656-696.
- 4) BANDHORIA, Pankaj; GUPTA, Vivek K.; GUPTA, D. K.; JAIN, D. M.; VARGHESE, B. - **Crystal structure of 3 $\beta$ -acetoxy-pregna-5,16-dien-20-one (16 DPA)**. Journal of Chemical Crystallography 36 (2006) 161-166.
- 5) DONOVA, Marina V.; EGOROVA, Olga V. - **Microbial steroid transformations: current state and prospects**. Appl. Microbiol. Biotechnol. 94 (2012) 1423-1447.
- 6) SCHROEPFER Jr., George J. - **Oxysterols: modulators of cholesterol metabolism and other processes**. Physiol. Rev., 80 (2000) 361-554.
- 7) FIESER, Louis F.; FIESER, Mary - **M. Steroids**; Reinold Publishing Corporation: New York, 1959.
- 8) SCHNEIDER, Gyula; WÖLFLING, János - **Synthetic Cardenolides and Related Compounds**. Curr. Org. Chem., 8 (2004) 1381-1403.
- 9) a) HOFMANN, Alan F; HAGEY, Lee R. - **Key discoveries in bile acid chemistry and biology and their clinical applications: history of the last eight decades**. Journal of Lipid Research. 55 (2014) 1553-1595.  
b) HOFMANN, Alan F; HAGEY, Lee R. - **Bile Acids: Chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics**. Cell. Mol. Life Sci. 65 (2008) 2461-2483.
- 10) HANSON, James R. - **Steroids: Partial synthesis in medicinal chemistry**. Nat. Prod. Rep. 27 (2010) 887-899.
- 11) BELELLI, Delia; LAMBERT, Jeremy J. - **Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA<sub>A</sub> receptor**. Nature Rev. Neurosci., 6 (2005) 565-575.
- 12) SALVADOR, Jorge A. R.; SILVESTRE, Samuel M.; MOREIRA, Vânia M. - **Recent Developments in Oxidative Processes in Steroid Chemistry**. Current Organic Chemistry. 16 (2012) 1243-1276.

- 13) LEDNICER, Daniel; MITSCHER, A. L. - **The Organic Chemistry of Drug Synthesis**. New York, Chichester, Brisbane, Toronto: John Wiley and Sons, 1977. ISBN 0-471-52141-8.
- 14) LEDNICER, Daniel - **Strategies for Organic Drug Synthesis and Design**. 2<sup>a</sup> Ed. Hoboken / New Jersey / Canada: John Wiley & Sons, Inc., 2008. ISBN: 978-0-470-19039-5.
- 15) IVANCHINA, Natalia V.; *et al.*, - **Polar Steroidal Compounds from the Far Eastern Starfish *Henricia leviuscula***. *J. Nat. Prod.* 69 (2006) 224-228.
- 16) WILLIAMS-ASHMAN, G. H.; REDDE, H. A. - **Actions of Vertebrate Sex Hormones**. *Annual Review of Physiology.* 33 (1971) 31-82.
- 17) VOJINOVIC, Jelena - **Vitamin D receptor agonists' anti-inflammatory properties**. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1317 (2014) 47-56.
- 18) BRUNTON, Laurence L.; KNOLLMANN, Bjorn C.; CHABNER, Bruce A. - **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 12<sup>a</sup> Ed. New York: McGraw-Hill, 2011. ISBN: 978-0-071-6442-8.
- 19) SALVADOR, Jorge A. R.; *et al.*; - **Anticancer steroids: linking natural and semi-synthetic compounds**. *Nat. Prod. Rep.* 30 (2013) 324-374.
- 20) DAY, Joanna M; FOSTER, Paul A. *et al.*, - **STX2171, a 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 inhibitor, is efficacious in vivo in a novel hormone-dependent prostate cancer model**. *Endocrine-Related Cancer.* 20 (2013) 53-64.
- 21) ZHOU, Ning; HAN, Shu-Yan *et al.*, - **Anti-tumor effect of Shu-gan-Liang-Xue decoction in breast cancer is related to the inhibition of aromatase and steroid sulfatase expression**. *Journal of Ethnopharmacology.* 3 (2014) 687-695.
- 22) AMARAL, Cristina; TEIXEIRA, Natércia *et al.*, - **Effects of steroidal aromatase inhibitors on sensitive and resistant breast cancer cells: Aromatase inhibition and autophagy**. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 135 (2013) 51-59.
- 23) MASSARWEH, Suleiman; *et al.*, - **A phase II study of combined fulvestrant and everolimus in patients with metastatic estrogen receptor (ER)-positive breast cancer after aromatase inhibitor (AI) failure**. *Breast Cancer Res Treat.* 143 (2014) 325-332
- 24) GAO, Qiong; *et al.*, - **Effect of Aromatase Inhibition on Functional Gene Modules in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer and Their Rela-**

- tionship with Antiproliferative Response.** *Clinical Cancer Research.* 20 (2014) 2485-2494.
- 25) KAHN, Barbara; COLLAZO, Joanne; KYPRIANOU, Natasha - **Androgen receptor as a driver of therapeutic resistance in advanced prostate cancer.** *Int. J. Biol. Sci.* 10 (2014) 588-595.
- 26) SHAFI, Ayesha A.; YEN, Aihua E.; WEIGEL, Nancy L. - **Androgen receptors in hormone-dependent and castration-resistant prostate cancer.** *Pharmacology & Therapeutics.* 140 (2013) 223-238.
- 27) SALVADOR, A. R. Jorge; PINTO, Rui M. A.; SILVESTRE, M. Samuel - **Steroidal 5 $\alpha$ -reductase and 17  $\alpha$ -hydroxylase/17,20-lyase (CYP17) inhibitors useful in the treatment of prostatic diseases.** *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 137 (2013) 199-222.
- 28) SALVADOR, A. R. Jorge; SILVESTRE, Samuel M.; MOREIRA, Vânia M. - **Catalytic oxidative processes in steroid chemistry: Allylic oxidation, beta-selective epoxidation, alcohol oxidation and remote functionalization reactions.** *Current Organic Chemistry.* 10 (2006) 2227-2257.
- 29) MASHRAI, Ashraf; AHMAD, Anis; *et al.*, - **Synthesis, evaluation and docking studies on steroidal pyrazolones as anticancer and antimicrobial agents.** 1 (2014) 348-362.
- 30) SUN, Li-Xin; FU, Wen-wei. *et al.*, - **Cytotoxic Constituents from *Solanum Lycium*.** *Arch Pharm Res.* 29 (2006) 135-139.
- 31) CHOWDHURY, Pritih; BORAH, Moni Juri *et al.*, - **A Simple efficient process for the synthesis of 16-dehydropregnenolone acetate (16-DPA) – A key steroid drug intermediate from diosgenin.** *Journal of Chemical Engineering & Process Technology.* 5 (2011) doi:10.4172/2157-7048.1000117.
- 32) ZHANG, Yan; LIU, Yong-Yong *et al.*, - **An environmentally friendly process for the preparation of 16-dehydropregnenolone acetate.** *Chin. J. Chem.* 23 (2005) 753-756;
- 33) POLIAKOFF, Marty; *et al.*, - **Green Chemistry: Science and Politics of Change.** *Science and Politics of Change.* 297 (2002) 807-810;
- 34) AKHREM, A.A.; *et al.*, **Transformed steroids: Communication 43 synthesis of pentacyclic analogs of progesterone with an additional ring the 16, 17 positions.** N. D. Zelinskii Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences of

- the USSR. Translated from *Izvestiya Akademii Nauk SSSR, Seriya Khimicheskaya*. 6 (1972) 1358-1363.
- 35) KAMERNITSKII, A. V.; *et al.*, - **Diels-Alder reaction of 16-dehydropregnenolone acetate with 1,2-dimethylenecyclobutane**. Plenum Publishing Corporation. (1986) 2221-2222.
- 36) CHETIA, Apurba; *et al.*, - **Preparation of a novel 16-DPA-P<sub>2</sub>S<sub>5</sub> adduct and its application as a masked  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone in [4+2] cycloaddition reactions**. *Tetrahedron Letters*. 44 (2003) 2741-2744.
- 37) BARTHAKUR, Madan G.; CHETIA, Apurba; BORUAH, Romesh C. - **Microwave-promoted one-pot synthesis of 4H-thiopyrans from  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketones via a three-component reaction**. *Tetrahedron Letters*. 47 (2006) 4925-4927.
- 38) BELIKOV, Yu. M.; *et al.*, - **Reactions of pregnenolone and 16-dehydropregnenolone acetate with tetracyanoethylene**. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 46 (2010) 1090-1091.
- 39) KUMAR, Manmeet; *et al.*, - **Aza-annulation on the 16-dehydropregnenolone, via tandem intermolecular Aldol process and intramolecular Michael addition**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 21 (2011) 2232-2237.
- 40) FIORAVANTI, Stefania; *et al.*, - **Aziridination of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones**. *Tetrahedron Letters*. 54 (1998) 14105-14112.
- 41) GOTHELF, Kurt V.; JØRGENSEN, Karl Anker - **Asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition reactions**. *Chem Rev.*, 98 (1998), 863-909.
- 42) a) GIRGHAR, Navdeep K.; ISHAR, S. P. M. - **Regio- and stereoselective thermal cycloaddition of  $\alpha$ -aryl-N-phenylnitrones to 16-dehydropregnenolone acetate:  $\pi$ -facial selective addition of the minor rotamers of the nitrones**. *Tetrahedron Letters*. 41 (2000) 7551-7554.  
b) CHOWDHURY, Pritish; DAS, Archana Moni; GOSWAMI, Paponi - **Synthesis of some new steroidal [16 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -d]-isoxazolines**. *Steroids*. 70 (2005) 494-498.
- 43) WANKHEDE, Karuna S.; *et al.*, - **Synthesis of novel isoxazole-linked steroidal glycoconjugates - an application of a novel steroidal nitrile oxide**. *Tetrahedron Letters*. 49 (2008) 2069-2073.
- 44) PÉREZ-ORNELAS, Víctor; *et al.*, - **New 5 $\alpha$ -reductase inhibitors: In vitro and in vivo effects**. *Steroids* 70 (2005) 217-224.

- 45) KAKATI, Dwipen; *et al.*, - **Rapid microwave assisted synthesis and antimicrobial bioevaluation of novelsteroidal chalcones**. *Steroids*. 78 (2013) 321-326
- 46) SOARES, Maria I. L. - **A química de dipolos conjugados na síntese de pirróis e pirazóis**. Tese de Doutorado. (2007) 38-45.
- 47) PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; SOARES, Maria I. L.; *et al.*, - **N-Vinyl- and C-Vinylpyrroles from Azafulvenium Methides. Flash Vacuum Pyrolysis Route to 5-Oxo-5H-pyrrolizines and 1-Azabenzofazulenes**. *The Journal of Organic Chemistry*. 70 (2005) 6629-6638.
- 48) PINHO E MELO, M. V. D. Teresa; NUNES, Cláudio M.; *et al.*, - **Chemistry of Diazafulvenium Methides in the Synthesis of Functionalized Pyrazoles**. *The Journal of Organic Chemistry*, 72 (2007) 4406-4415.
- 49) SOARES, Maria I. L.; NUNES, Cláudio M.; GOMES, Clara B. S.; PINHO E MELO, Teresa M. V. D. - **Thiazolo[3,4-b]indazole-2,2-dioxides as Masked Extended Dipoles: Pericyclic Reactions of Benzodiazafulvenium Methides**. *The Journal of Organic Chemistry*, 78 (2013) 628-637.
- 50) PADWA, Albert; *et al.*, - **A dipolar cycloaddition approach to pyrrolo[1,2-a]indoles using N-[(trimethylsilyl)methyl]-substituted indoles**. *Org. Chem.* 54 (1989) 644-653.
- 51) a) SUTCLIFFE, B. Oliver; STORR, C. Richard; GILCHRIST, L. Thomas; RAFFERTY, Paul - **Azafulvenium methides: new extended dipolar systems**. *Chem. Commun.* (2000) 675-676.  
b) SUTCLIFFE, B. Oliver; STORR, C. Richard; GILCHRIST, L. Thomas; RAFFERTY, Paul - **Azafulvenium methides: new extended dipolar systems**. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* (2001) 1795-1806.
- 52) a) SOARES, Maria I. L.; PINHO E MELO, Teresa M. V. D. - **Microwave-induced Pericyclic reactions of Aza- and Diazafulvenium methides**. *Current Microwave Chemistry*. 1(2014) 22-32.  
b) SOARES, Maria I. L.; PINHO E MELO, M. V. D. Teresa - **Microwave-assisted generation and reactivity of aza- and diazafulvenium methides: heterocycles via pericyclic reactions**. *Tetrahedron Letters*. 49 (2008) 4889-4893.
- 53) PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; SOARES, Maria I. L.; ROCHA GONSALVES, António d'A. M. - **New chemistry of diazafulvenium methide: one way to pyrazoles**. *Tetrahedron Letters*. 47 (2006) 791-794.

- 54) PEREIRA, Nelson M. A.; *et al.*, - **[8 $\pi$ +2 $\pi$ ] Cycloaddition of meso-Tetra- and 5,15-Diarylporphyrins: Synthesis and Photophysical Characterization of Stable Chlorins and Bacteriochlorins.** European Journal of Organic Chemistry. 20 (2011) 3970-3979.
- 55) PELÁEZ, Walter Jose; PINHO E MELO, Teresa M. V. D. - **Synthesis and thermal reactivity of 3-benzyl-7-trifluoromethyl-1*H*,3*H*-pyrrolo[1,2-*c*]thiazole-2,2-dioxide.** Tetrahedron Letters. 69 (2013) 3646-3655.
- 56) NUNES, Cláudio M.; *et al.*, - **Cycloaddition of trifluoromethyl azafulvenium methides: synthesis of new trifluoromethylpyrroleannulated derivatives.** Tetrahedron Letters. 51 (2010) 411-414.
- 57) CATELA, Isabelle Cardoso - **Preparação de novos derivados esteroides via reações de ciclo-adições dipolares.** Tese de Mestrado. (2013).

## Capítulo 2

### Cicloadição $[8\pi + 2\pi]$ de aniões metil 1,2-diazafulvénio com I6-DPA: Síntese de novos esteroides hexacíclicos

---

2.1	Introdução	33
2.2	Síntese de 2,2-dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -pirazolo[1,5- <i>c</i> ]tiazóis	34
2.3	Estudo da reatividade do I6-DPA com aniões metil diazafulvénio via reação de cicloadição $[8\pi+2\pi]$	37
2.4	Hidrólise dos novos derivados esteroides	62
	Referências	67

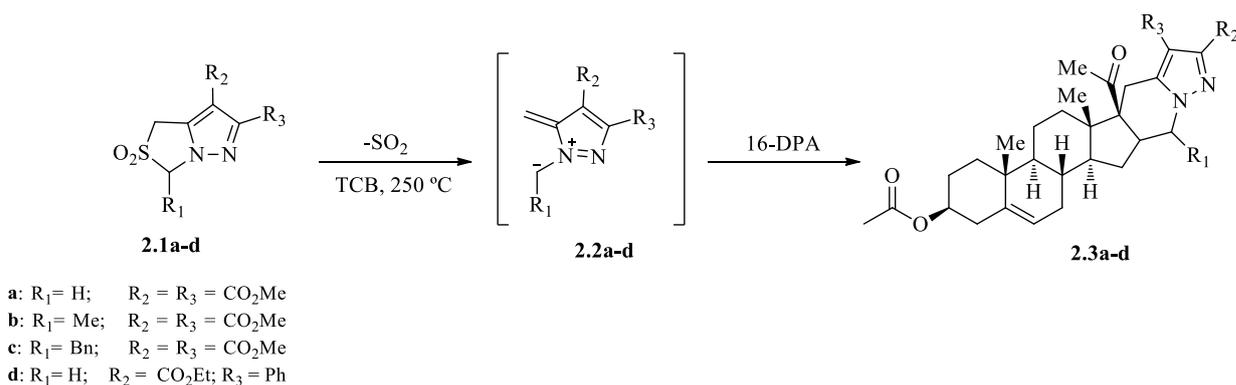
## 2.1 Introdução

Neste capítulo são apresentados três sub-capítulos, em que se apresentam todas as sínteses e estudos efetuados para a funcionalização seletiva do anel D do 16-DPA na preparação de novos esteroides hexacíclicos, possíveis fármacos com potenciais quimioterapêuticos.

Devido ao seu alto potencial terapêutico, e ao fato de pequenas mudanças na sua estrutura poderem levar a alterações dramáticas nas suas funções, os esteroides são um promissor alvo de estudos na área da química farmacêutica. A sua síntese sido usada para demonstrar e testar novas metodologias e estratégias sintéticas, no entanto, os métodos de síntese que se conhecem são ainda limitados face ao elevado número de etapas e poucos permitem a preparação de análogos.

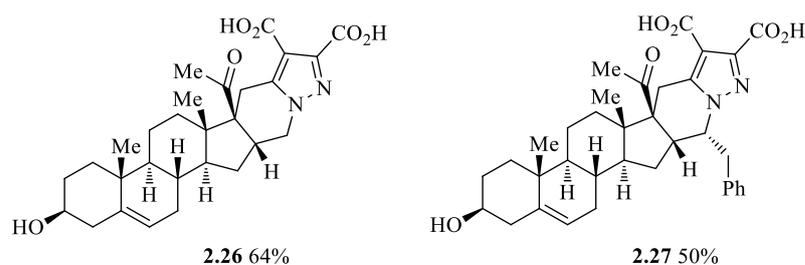
Assim, a primeira parte deste trabalho foi dedicado à síntese dos precursores de aniões metil 1,2-diazafulvênio, gerados por eliminação quelotrópica de dióxido de enxofre de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole-6,7-dicarboxilatos.<sup>1-9</sup>

No presente trabalho, explorou-se e estudou-se a reatividade do 16-DPA com os aniões metil 1,2-diazafulvênio **2.2**, via reação de cicloadição [8 $\pi$  + 2 $\pi$ ], obtendo-se assim cinco novos derivados esteroide hexacíclicos **2.3** (Esquema 2.1).



**Esquema 2.1** - Obtenção de cinco novos derivados esteroide hexacíclicos.

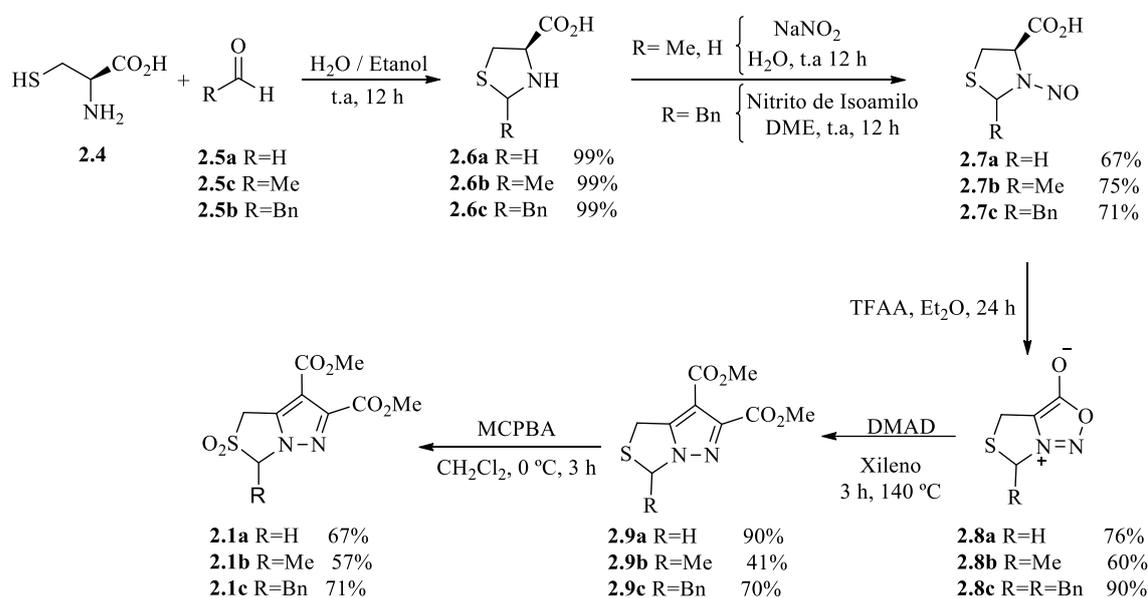
A partir dos compostos obtidos **2.3a** e **2.3c** efetuou-se a hidrólise transformando os grupos ésteres em ácidos (Esquema 2.2). Isto porque os compostos polares são mais facilmente excretados do organismo, pois possuem baixa permeabilidade tubular e não são lipossolúveis, assim, não são reabsorvidos, sendo facilmente eliminados.



**Esquema 2.2** - Reação de hidrólise.

## 2.2 Síntese de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis

Iniciamos este trabalho de investigação com a síntese dos 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis (**2.1a-c**) precursores dos aniões metil 1,2-diazafulvénio. Duas destas sulfonas são compostos conhecidos na literatura.<sup>5-6</sup> Assim, reproduziu-se a sequência sintética anteriormente descrita (Esquema 2.3).



**Esquema 2.3** - Síntese dos 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis.

A reação da *L*-cisteína **2.4** com aldeídos **2.5** permite a obtenção das tiazolidinas **2.6** com rendimentos elevados (99%). Para a obtenção dos ácidos *N*-nitroso-tiazolidina-4-carboxílicos foram utilizadas duas metodologias diferentes. A síntese dos compostos **2.7a** e **2.7b** foram preparados por nitroação das respetivas tiazolidinas **2.6** com nitrito de sódio em meio ácido, através de um procedimento clássico de *N*-nitroação de aminoácidos.<sup>10,11</sup>

Desta forma, obtiveram-se os compostos **2.7a** e **2.7b** com rendimentos de 67% e 75%, respetivamente.

O novo derivado **2.7c** foi preparado utilizando um método de nitrosação, em meio neutro.<sup>12</sup> Assim, a uma solução de tiazolidina **2.6c** em dimetoxietano foi adicionado nitrito de isoamilo. A reação fica em agitação à temperatura ambiente durante 12 horas, obtendo-se o produto pretendido com rendimento de 71% (Esquema 2.3).

Seguidamente procedeu-se à síntese das espécies mesoiónicas **2.8**, geradas por desidratação com anidrido trifluoroacético.<sup>11,13</sup> Este tipo de sistema mesoiónico, também conhecido como sydnone, são espécies muito reativas e podem atuar como iminas azometinas cíclicas em reações de cicloadição 1,3-dipolar. Assim, os 1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo **2.9a-c** foram obtidos por cicloadição 1,3-dipolar das espécies mesoiónicas **2.8** com o dipolarófilo acetilindodicarboxilato de dimetilo (DMAD) com rendimentos a variar entre 41-90% (Esquema 2.3).

Por fim, foi efetuada a oxidação dos pirazolo-tiazóis **2.9a-c** com MCPBA, obtendo-se as sulfonas **2.11** com bons rendimentos (57-71%) (Esquema 2.3).<sup>13</sup>

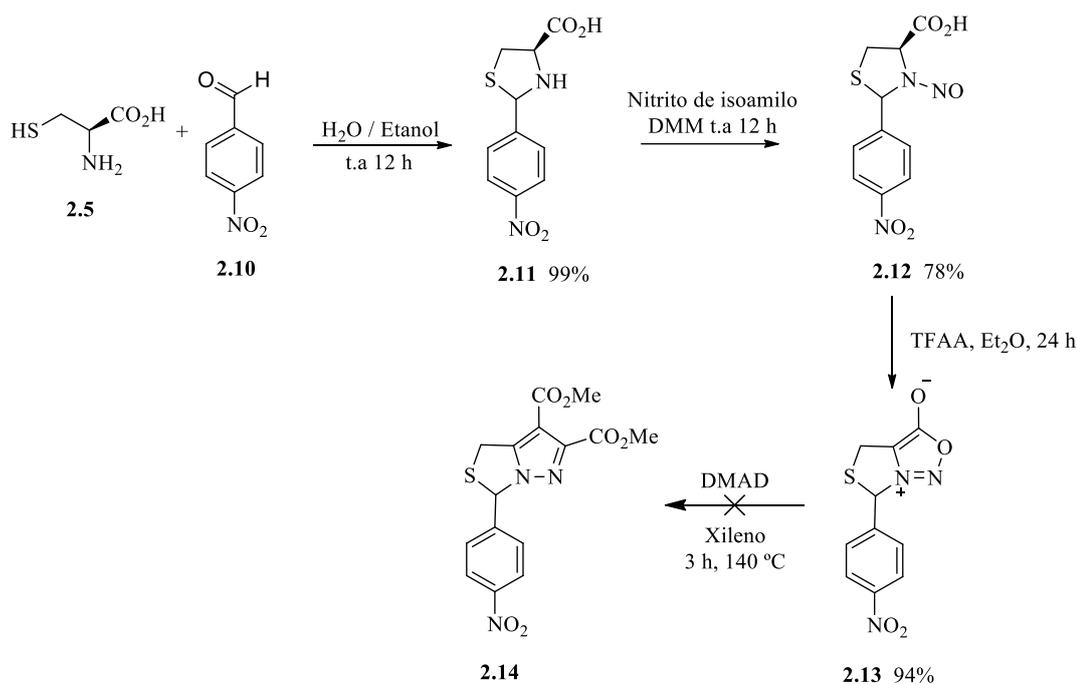
Neste trabalho, também expandimos o estudo para a síntese de novos derivados de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis contendo um grupo arilo na posição 3. Partindo de outras tiazolidinas foi possível obter os compostos ácido 2-(4-nitrofenil)-3-nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílico (**2.12**) e o ácido 2-fenil-3-nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílico (**2.17**).

Desta forma, a tiazolidina **2.11** foi sintetizada através da reação da *L*-cisteína com o *p*-nitrobenzaldeído e obtida com um rendimento de 99%. Utilizando a metodologia descrita anteriormente no Esquema 2.3 para a síntese do composto **2.7c**, obtém-se o ácido *N*-nitroso-tiazolidina-4-carboxílico **2.12** com um rendimento de 78% (Esquema 2.4). A síntese da espécie mesoiónica **2.13** também foi efetuada por desidratação com anidrido trifluoroacético, esta precipita no meio reacional sendo filtrada e lavada com solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> e éter etílico.<sup>11,13</sup>

As tentativas para sintetizar o cicloadducto **2.14**, *via* reação de cicloadição 1,3-dipolar, não tiveram sucesso. A reação com DMAD nas condições reacionais descritas anteriormente para a síntese dos 1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole-6,7-dicarboxilatos **2.9** (refluxo de xileno), não conduziram à obtenção dos correspondentes cicloadductos, apenas foi possível isolar o aldeído de partida. Face a esta dificuldade, decidiu-se optar por outras estratégias de síntese do cicloadducto **2.14** (Esquema 2.4).

Alternativamente, optou-se por preparar a espécie mesoiónica **2.13** evitando o seu isolamento, e utilizando-a logo na reação seguinte, isto, porque verificou-se que a espécie

mesoiónica **2.13** era um intermediário instável e isso poderia afetar a formação do cicloaducto **2.14**.



**Esquema 2.4 - Estratégia de síntese do cicloaducto 2.14.**

Contudo, não obtivemos qualquer sucesso, apenas se isolou novamente o aldeído de partida. Alternativamente foram propostas outras condições e a utilização de outro solvente. Foi efetuado a tentativa de síntese do pirazolo-tiazolo **2.14** em tolueno à temperatura ambiente e a refluxo na presença de DMAD. No entanto, nenhuma das condições levou à obtenção do cicloaducto pretendido.

Numa outra tentativa, foi efetuada a geração da espécie mesoiónica em tolueno na presença de anidrido trifluoroacético, e depois tentativa de intercetá-la com DMAD. Apesar de se ter observado a formação da espécie mesoiónica **2.13**, após a adição do dipolarófilo não foi observado a formação de qualquer cicloaduto.

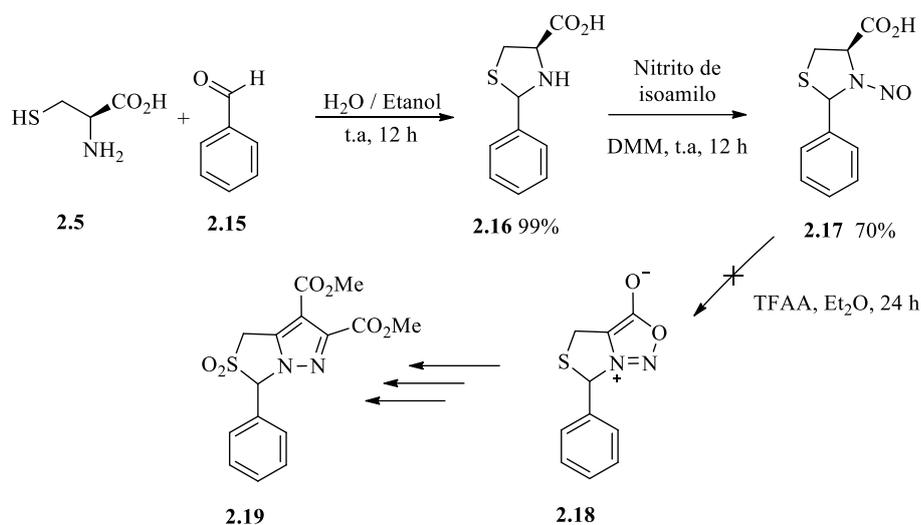
Tendo em conta que todas as tentativas efetuadas para a obtenção do pirazolo-tiazolo **2.14** foram infrutíferas, resolvemos deixar este composto para um estudo posterior.

O facto de não se formar o cicloaducto **2.14** pode ser explicado atendendo que o grupo nitro NO<sub>2</sub> (deficiente de eletrões) é um desactivador do anel.

Em face das dificuldades que surgiram decidimos optar por outro derivado também com um grupo arílico em C-3.

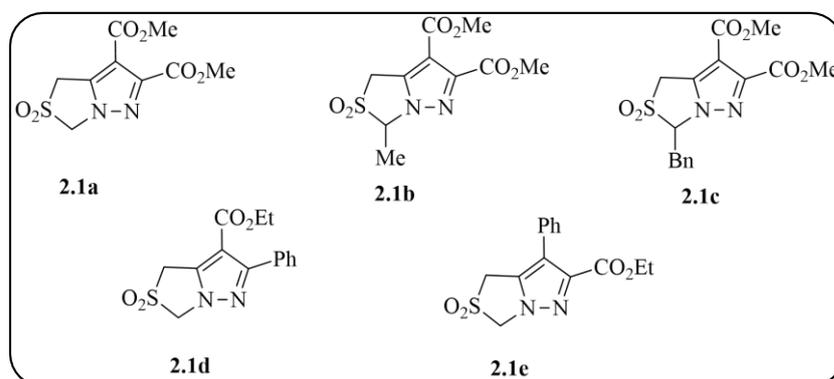
Sintetizamos a tiazolidina **2.16**, com o objetivo de obter a sulfona **2.19** (Esquema 2.5). Assim, foi preparado o ácido *N*-nitroso-tiazolidina-4-carboxílico **2.17**, através da reação de tiazolidina **2.16** com nitrito de isoamilo, com 70% de rendimento (Esquema 2.5).

O passo seguinte seria a preparação da espécie mesoiónica **2.18**, utilizando o procedimento anteriormente descrito, no entanto, não conseguimos obter este composto. Assim, mais uma vez deixamos este composto para um trabalho futuro.



**Esquema 2.5** - Estratégia de síntese do cicloadducto **2.19**.

Para o estudo da cicloadição  $[8\pi+2\pi]$  com o esteroide 16-DPA, foram utilizadas as sulfonas **2.1a-e** como precursores dos respetivos aniões metil 1,2-diazafulvénio (Esquema 2.6). As sulfonas **2.1a-c** foram preparadas como descrito no Esquema 2.3 e as sulfonas **2.1d** e **2.1e** estavam disponíveis no laboratório.



**Esquema 2.6** - Síntese de sulfonas **2.1a-e**.

### 2.3 Estudo da reatividade do 16-DPA com aniões metil 1,2-diazafulvénio via reação de ciclo-adição $[8\pi + 2\pi]$

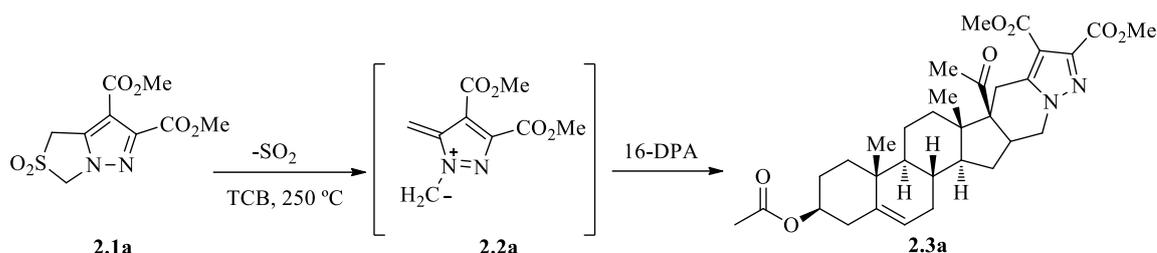
O estudo das reações foi feito em condições de termólise convencional (refluxo) e em condições de irradiação de micro-ondas, sendo esta, uma técnica que atualmente encon-

tra grande aplicação em síntese orgânica, sucesso que está associado às vantagens de aumentar a velocidade, eficiência e seletividade de muitas reações.<sup>14</sup>

Assim, o trabalho foi iniciado pelo estudo da reatividade do 16-DPA com os diferentes aniões metil 1,2-diazafulvênio, gerados a partir das respectivas sulfonas **2.1a-e** (Esquema 2.6).

Iniciamos o trabalho experimental pela reação  $[8\pi + 2\pi]$  do anião metil 1,2-diazafulvênio **2.2a**, gerado por extrusão térmica de dióxido de enxofre, com o 16-DPA para dar o novo derivado esteroide **2.3a** (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1-** Reação do anião metil 1,2-diazafulvênio **2.2a** com o 16-DPA.



Reação	Condições da reação <sup>a</sup>	Produto <b>2.3a</b> ( $\eta$ )	16-DPA recuperado
1	1 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 10 min	59%	34%
2	1 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 15 min	44%	30%
3	1 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 20 min	62%	31%
4	1.5 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 10 min	68%	14%
5	1.5 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 15min	64%	14%
6	1.5 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 20 min	57%	12%
7	2 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 10 min	67%	0.8%
8	2 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 15 min	66%	---
9	2.5 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , Micro-ondas, 10 min	73%	---
10	2 equiv. sulfona <b>2.1a</b> , refluxo, 4 h	76%	19%

<sup>a</sup>Solvente: 1,2,4-triclorobenzeno

O primeiro ensaio foi efetuado com quantidades equimolares de sulfona **2.1a** e 16-DPA, sob irradiação de micro-ondas a 250 °C durante 10 minutos, obtendo-se o produto pretendido com 59% de rendimento (Reação 1). No entanto, desta reação foram recuperadas 34% de esteroide. Assim, resolvemos aumentar o tempo de reação para 15 minutos, no entanto, apesar de ter sido consumido mais esteroide, o rendimento do produto diminuiu (44%) (Reação 2). Ao Aumentarmos o tempo de reação para 20 minutos verificou-se um

ligeiro aumento de rendimento no produto (62%), mas novamente com recuperação de 16-DPA (31%) (Reação 3).

Uma vez que em nenhum dos casos o 16-DPA foi completamente consumido pensou-se que um aumento de quantidade de sulfona **2.1a**, e conseqüentemente um aumento de quantidade do anião metil 1,2-diazafulvênio, conduziu a uma melhoria de rendimento da reação.

Desta forma, utilizando 1.5 equivalentes de sulfona **2.1a** obtiveram-se rendimentos superiores (57-68%) mas novamente com recuperação de esteroide (12-14%) (Reação 4-6). O resultado da reação 6 sugere que existe a possibilidade de degradação do produto com o aumento do tempo de reação para 20 minutos a temperaturas elevadas (250 °C), uma vez que foi consumido o esteroide e o rendimento do diminuiu (57%), face ao obtido com 15 minutos de reação (Reação 5).

Resolveu-se, mais uma vez, aumentar a quantidade de sulfona **2.1a** para 2 equivalentes (Reação 7 e 8). A irradiação de micro-ondas a 250 °C durante 10 minutos de sulfona **2.1a** na presença de 16-DPA originou o composto **2.3a** com um rendimento de 67% e recuperação de esteroide inferior a 1% (Reação 7). O aumento do tempo de irradiação para 15 minutos deu origem ao consumo completo do esteroide, no entanto, com uma ligeira diminuição do rendimento (66%) do composto **2.3a** (Reação 8). A utilização de 2.5 equivalentes de sulfona **2.1a** a 250 °C durante 10 minutos na presença de 16-DPA originou o cicloaduto **2.3a** com 73% e consumo completo do esteroide (Reação 9). Sendo estas as melhores condições para a obtenção do produto pretendido **2.3a** em condições de micro-ondas.

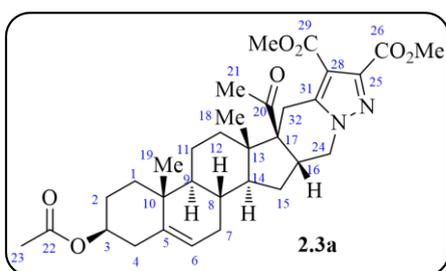
Com o objetivo de comparar as condições utilizando irradiação de micro-ondas com o aquecimento convencional, foi efetuado um ensaio usando o aquecimento a refluxo. Assim, uma solução de 2 equivalentes de sulfona **2.1a** e 16-DPA, em 1,2,4-triclorobenzeno, foi colocada a refluxo durante 4 h (Reação 10). Obtendo-se o composto **2.3a** com rendimento de 76%, superior ao obtido para as mesmas quantidades de sulfona **2.1a** com irradiação de micro-ondas (66%, Reação 8). No entanto, foram recuperados 19% de esteroide.

A elucidação estrutural do produto **2.3a**, identificado como sendo o 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona, foi conseguida com recurso a técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear protónica e bidimensional.

O novo derivado esteroide **2.3a** apresenta um espectro de RMN de <sup>1</sup>H bastante complexo (Figura 2.1). No entanto, foi possível através de espectros bidimensionais (NOESY

e COSY) identificar os desvios químicos dos prótons mais relevantes (Figuras 2.2 e 2.3). Na Tabela 2.2 estão identificados esses prótons com os correspondentes desvios químicos.

**Tabela 2.2** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]piridina fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3a**).



Posição	$\delta$ (ppm) RMN $^1\text{H}$
18	0.75 (3H,s)
19	1.01 (3H,s)
23	2.02 (3H,s)
21	2.20 (3H,s)
32	3.28 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)
32	3.34 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)
16	3.68-3.72 (1H, m)
24	3.80 (1H, dd, $J_1 = 13.2$ Hz, $J_2 = 7.2$ )
24	4.32 (1H, dd, $J_2 = 13.2$ Hz, $J_2 = 6.4$ Hz)
27	3.86 (3H, s)
30	3.90 (3H, s)
3	4.57-4.61 (1H, m)
6	5.33 (1H, d, $J = 4.0$ Hz)

Com base no espectro de RMN  $^1\text{H}$  do 16-DPA, identificaram-se os sinais mais característicos de determinados prótons. Assim, foram identificados os singletos correspondentes aos grupos metilo (H-18, H-19, H-23 e H-21), bem como o multiplete a 4.55-4.61 ppm como pertencente ao próton H-3 e o dubleto largo a 5.31 ppm como sendo o próton H-6 (Figura 2.1).

Nas Figuras 2.2 e 2.3 estão representados os espectros de COSY e NOESY, respectivamente.

É visível no espectro de COSY que os dois dubletos a 3.28 e 3.34 ppm apenas têm acoplamento entre si, concluindo tratar-se dos prótons H-32. A identificação dos sinais correspondentes aos prótons H-16 (3.68-3.72 ppm) e H-24 (3.80 e 4.32 ppm) foi possível através da observação do acoplamento dos prótons H-24 entre si e com o próton H-16 (Figura 2.2).

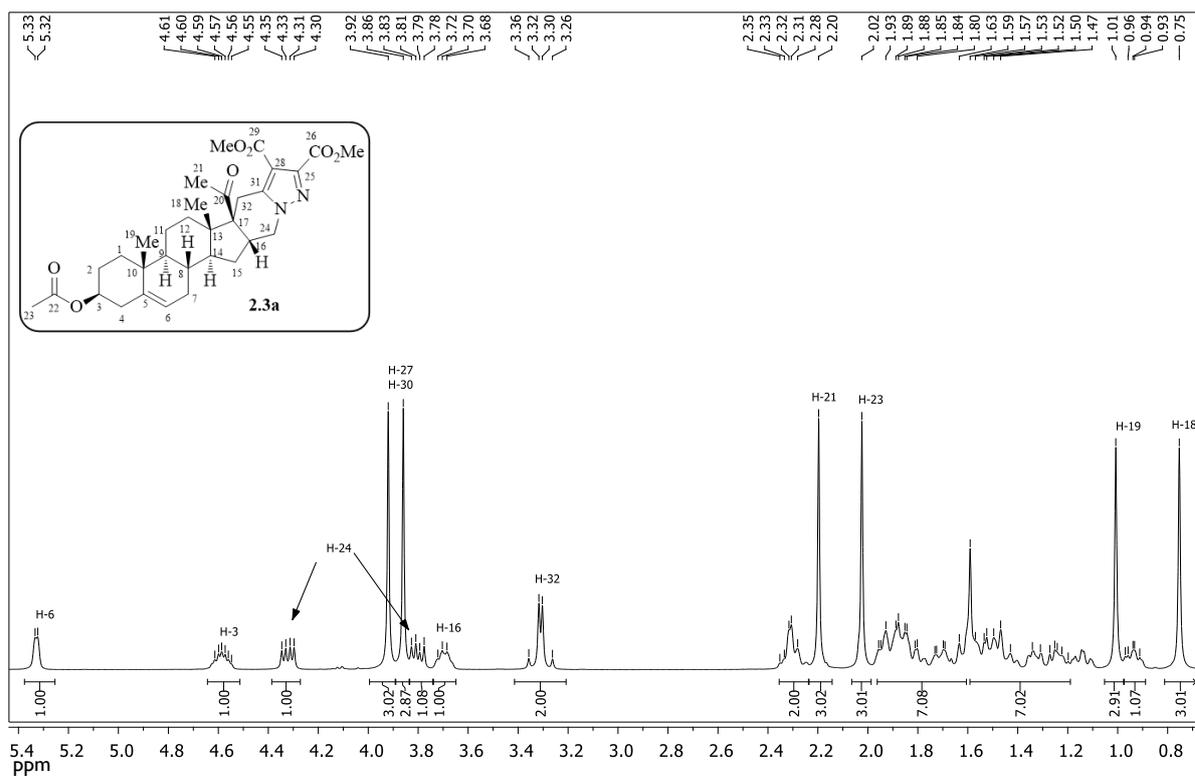


Figura 2.1 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.3a**.

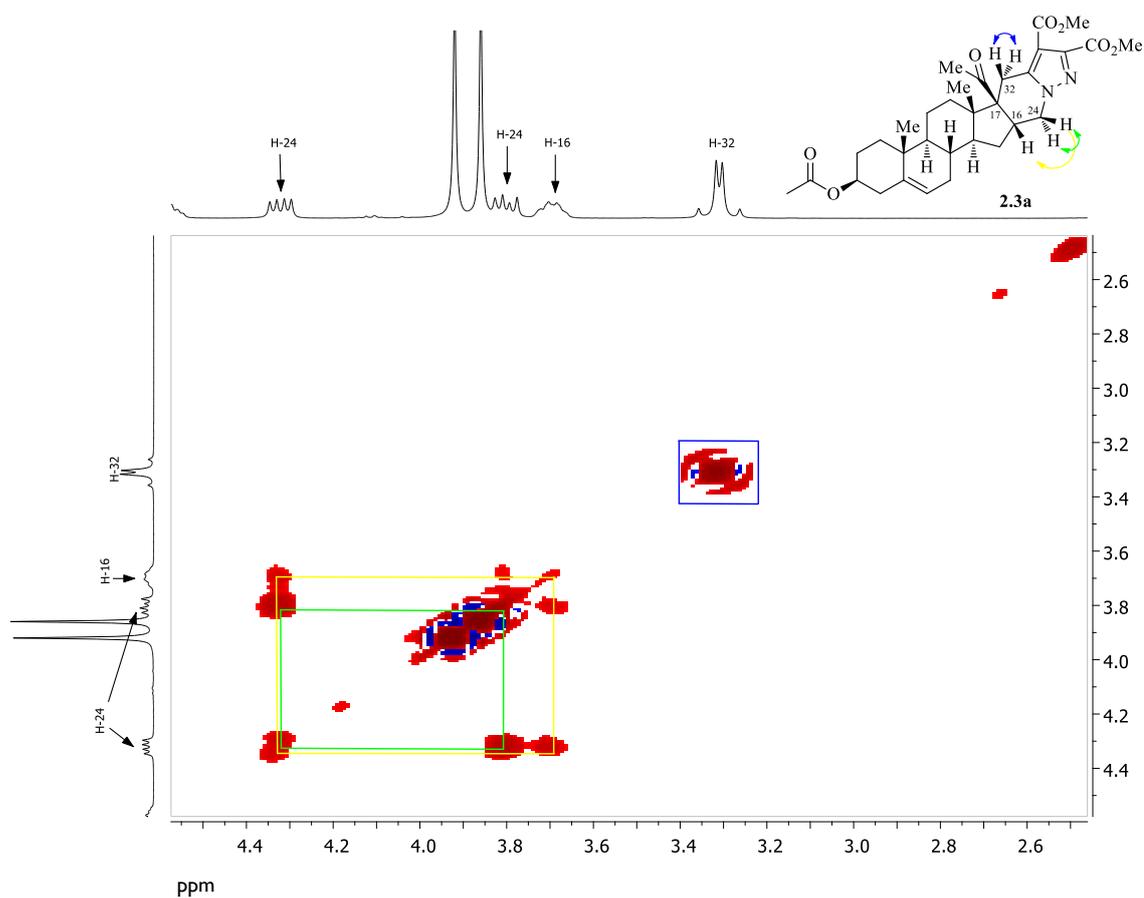
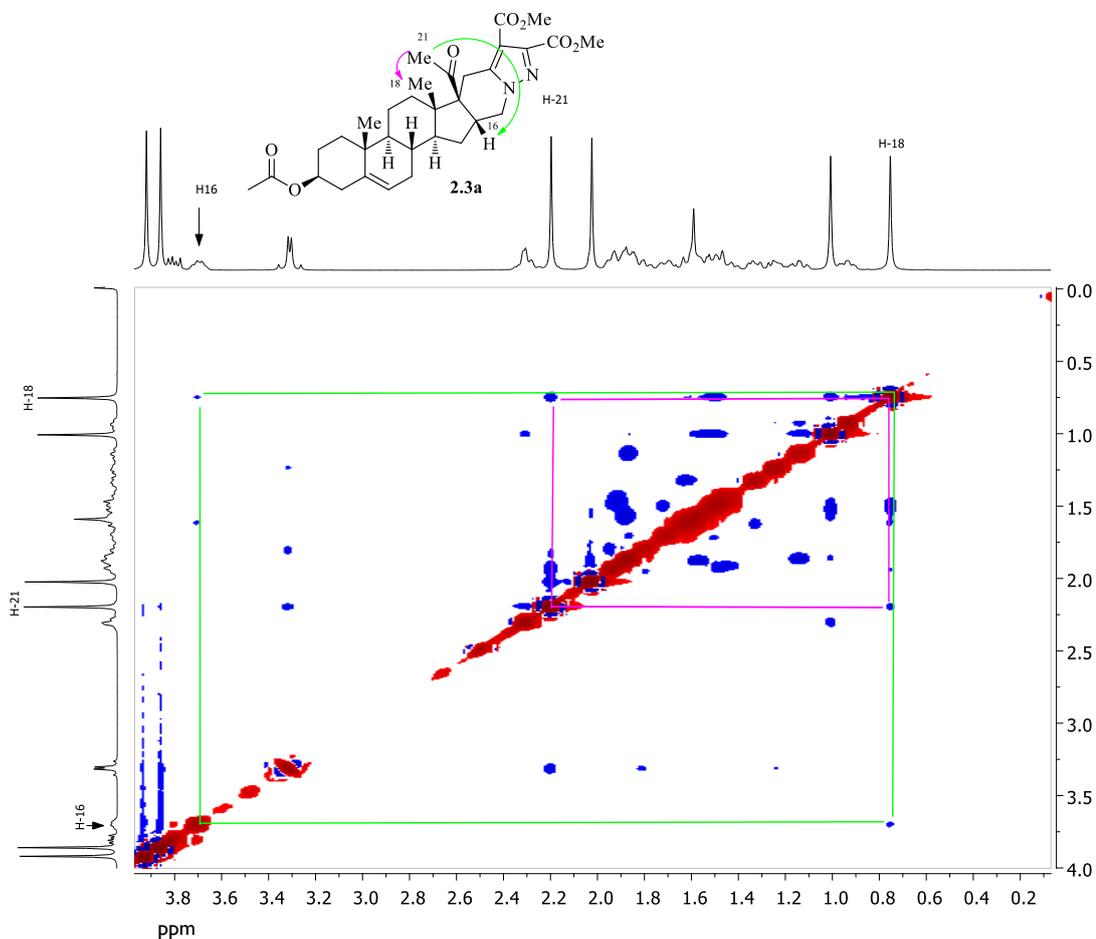


Figura 2.2 - Expansão do espectro de COSY de 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3a**).

Para estabelecer a configuração dos novos centros quirais criados em C-16 e C-17, realizou-se a análise do espectro bidimensional NOESY (Figura 2.3).

Assim, podemos observar a existência de correlação entre o próton H-16 (3.68 ppm) com os prótons H-18 (0.75 ppm) e a correlação destes com os prótons H-21 (2.20 ppm). Através desta análise concluímos que os prótons H-18, H-21 e H-16 se encontram em posição *cis*, ou seja, todos orientados para o mesmo lado do anel (Figura 2.3).

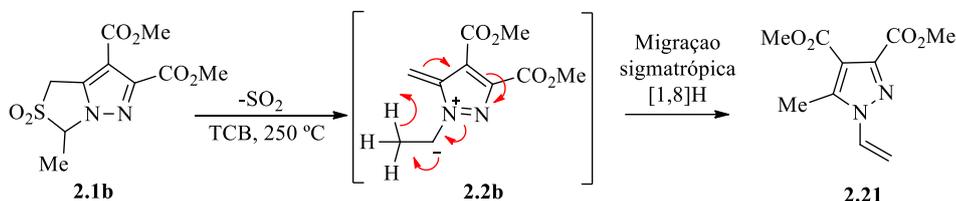


**Figura 2.3** - Expansão do espectro de NOESY de 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]piridina fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3a**).

Seguidamente fomos estudar a reatividade do anião metil 1,2-diazafulvênio **2.2b**, gerado por extrusão térmica de SO<sub>2</sub> da sulfona **2.1b**, com o 16-DPA (Tabela 2.3). Foram exploradas a termólise em condições de refluxo e sob irradiação de micro-ondas.

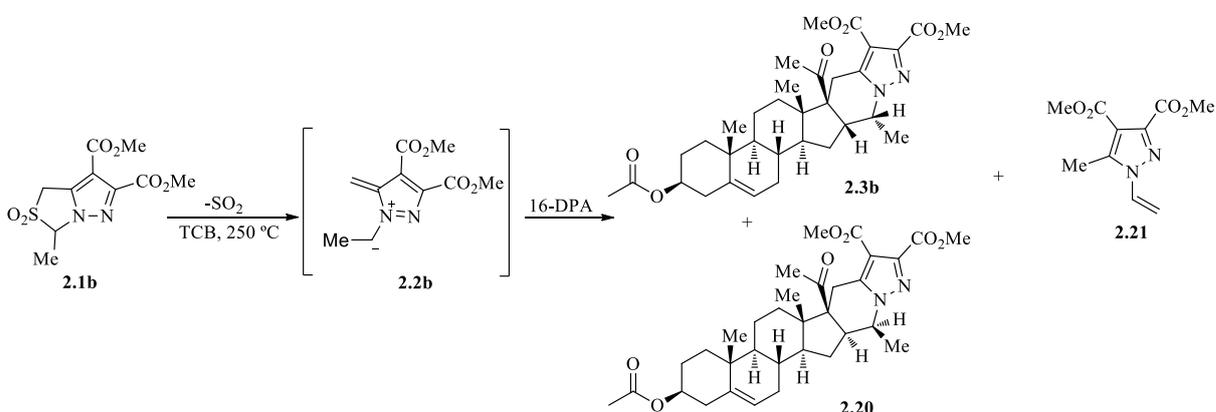
A primeira reação foi realizada sob condições de irradiação de micro-ondas, tendo-se utilizado 1 equivalente molar de sulfona **2.1b** e esteroide, a 250 °C durante 10 minutos. Obteve-se uma mistura inseparável de diastereoisómeros (**2.3b** e **2.20**) com rendimento global de 37% (razão 75:25) e recuperação de esteroide (27%) (Reação 1). Com esta sulfona também se verificou a formação de *N*-vinilpirazole **2.2i** com 21% de rendimento (Reação 1).

A formação do *N*-vinilpirazole **2.21** pode ser explicada através da migração sigma-tropic [1,8]H que ocorre a migração de um protão da posição 1 para a posição 8 (Esquema 2.7). Em trabalhos já desenvolvidos no grupo de investigação de Química Orgânica (Departamento de Química da FCTUC) a formação deste *N*-vinilpirazole **2.21** já tinha sido observada na termólise desta sulfona **2.1b** em condições de pirólise rápida de vácuo (FVP).



**Esquema 2.7** - Formação do *N*-vinilpirazole **2.21**.

**Tabela 2.3** - Reação da sulfona **2.1b** com o 16-DPA.



Reação	Condições da reação <sup>a</sup>	<b>2.3b:2.20</b>	<b>2.21<sup>b</sup></b>	16-DPA recuperado
1	1 eq. sulfona <b>2.1b</b> , Micro-ondas, 10 min	37%(75:25)	11%	27%
2	1 eq. sulfona <b>2.1b</b> , Micro-ondas, 15 min	34%(91:9)	13%	24%
3	1.5 eq. sulfona <b>2.1b</b> , Micro-ondas, 15min	29%(95:5)	19%	36%
4	2 eq. sulfona <b>2.1b</b> , Micro-ondas, 15 min	32%(89:11)	19%	33%
5	3 eq. sulfona <b>2.1b</b> , Micro-ondas, 15 min	31%(83:17)	20%	29%
6	1 eq. sulfona <b>2.1b</b> , refluxo, 4 h	41%(98:2)	7%	20%

<sup>a</sup> Solvente: 1,2,4-triclorobenzeno; <sup>b</sup> Rendimento calculado com base na quantidade de sulfona **2.1b**

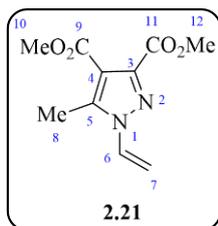
Ao aumentar-se o tempo de reação para 15 minutos, com as mesmas quantidades equimolares de sulfona **2.1b** e 16-DPA, verificou-se um ligeiro consumo de esteroide (24%),

no entanto, o rendimento global dos cicloaductos **2.3b** e **2.20** diminuiu para 34% tendo-se verificado um aumento da quantidade do estereoisómero **2.3b** (91:9). Voltámos a observar a formação do *N*-vinilpirazole **2.21** com um rendimento ligeiramente superior (13%) (Reação 2). Não se tendo consumido completamente o 16-DPA, resolvemos aumentar a quantidade de sulfona **2.1b** para 1.5 equivalente o tempo de reação para 15 minutos. Verificou-se uma diminuição do rendimento dos cicloaductos **2.3b** e **2.20** (29%, razão 95:5), tendo-se recuperado 36% de esteroide e isolado o *N*-vinilpirazole **2.21** com 19% de rendimento (Reação 3). Utilizando 2 equivalentes de sulfona **2.1b** obtiveram-se rendimentos superiores para os cicloaductos **2.3b** e **2.20** (32%, razão 89:11), mas novamente recuperou-se esteroide (33%) não se alterando o rendimento de *N*-vinilpirazole **2.21** (19%) (Reação 4). Resolveu-se, mais uma vez, aumentar a quantidade de sulfona **2.1b** para 3 equivalentes (Reação 5). A irradiação de micro-ondas a 250 °C na presença do esteroide originou os compostos **2.3b** e **2.20** com uma ligeira diminuição dos rendimentos (31%, razão 83:17) e recuperação de esteroide 29%, em relação aos resultados obtidos na reação anterior. Na formação do *N*-vinilpirazole **2.21** verificou-se um aumento ligeiro no rendimento (20%) (Reação 5). Por fim, resolveu-se comparar as condições de micro-ondas com o aquecimento convencional sendo efetuado um ensaio usando o aquecimento a refluxo de 1,2,4-triclorobenzeno. Assim, utilizando as melhores condições obtidas em micro-ondas, 1 equivalente de sulfona **2.1b**, na presença de 16-DPA foi colocado a refluxo durante 4 h (Reação 6). Obteve-se novamente uma mistura de diastereoisómeros **2.3b** e **2.20** com um rendimento de 41% e razão 98:2, além do *N*-vinilpirazole **2.21** com 7% de rendimento. Comparando com a Reação 1, obtivemos o cicloaducto **2.3b** em maior quantidade e houve uma redução significativa na formação do *N*-vinilpirazole **2.21**.

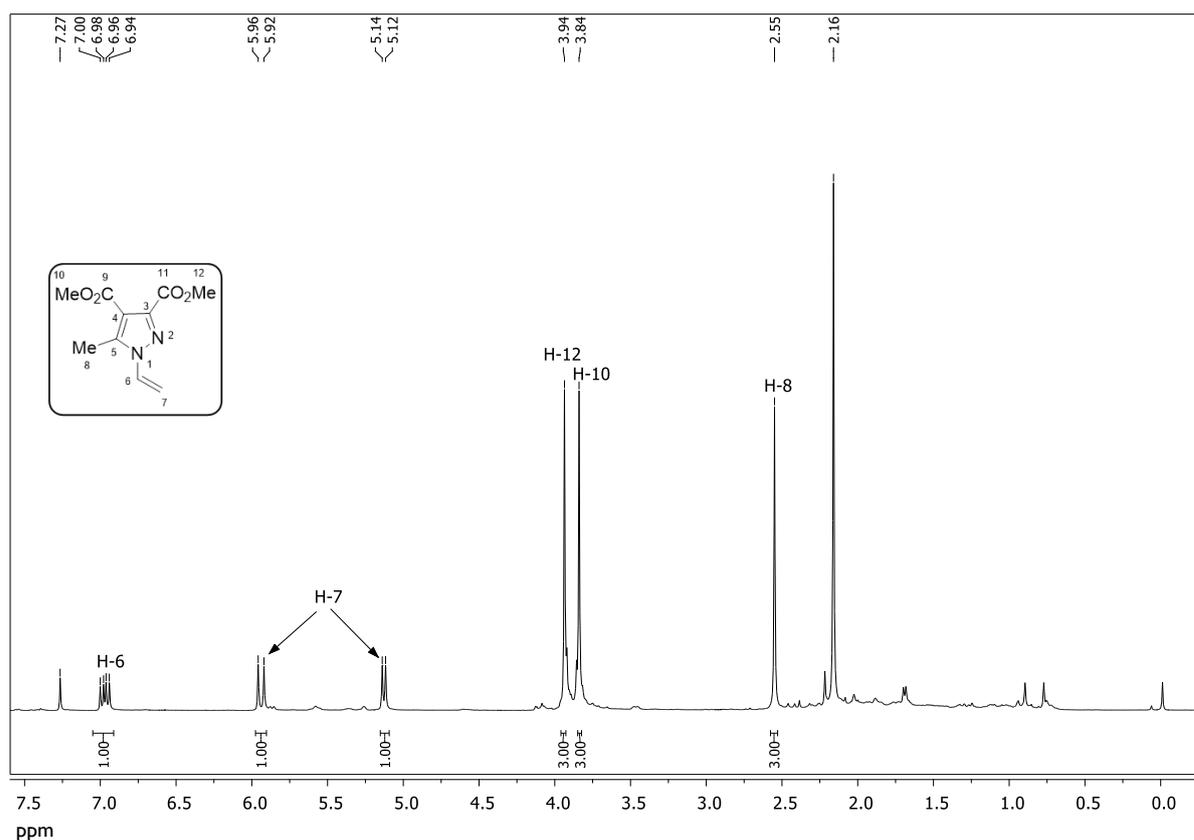
A identificação do *N*-vinilpirazole **2.21** foi efetuada por comparação do espectro de RMN <sup>1</sup>H obtido com o descrito na literatura<sup>4-5</sup> (Figura 2.4). Na Tabela 2.4 estão identificados os desvios químicos dos respetivos protões.

O espectro do *N*-vinilpirazole **2.21** é de fácil interpretação, conseguindo-se distinguir o singlete do grupo metilo em C-5 a 2.54 ppm, os dois singletos dos grupos ésteres a 3.83 ppm e a 3.93 ppm, os dois aproximadamente dubletos correspondentes aos protões H-7 com desvios químicos de 5.11 ppm e 5.95 ppm, e por último o duplo duplete do protão H-6 (6.97 ppm) (Figura 2.4).

**Tabela 2.4** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o composto **2.21**.



Posição	$\delta$ (ppm) RMN $^1\text{H}$
8	2.55 (3H,s)
10 e 12	3.84 (3H,s) e 3.94 (3H,s)
7	5.13 (1H, aprox. d, $J = 8.0$ Hz) 5.94 (1H, aprox. d, $J = 16.0$ Hz)
6	6.97 (1H, dd, $J_1 = 16.0$ Hz e $J_2 = 10$ Hz)



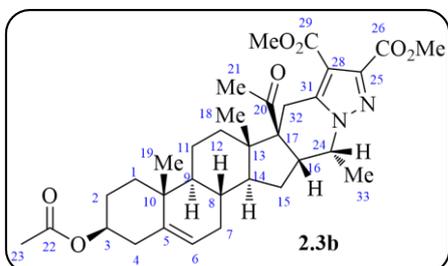
**Figura 2.4** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.21**.

O isolamento do diastereoisómero maioritário **2.3b** foi conseguido por evaporação do sobrenadante da recristalização dos dois diastereoisómeros, sendo a determinação estrutural confirmada por RMN protónico (Tabela 2.5, Figura 2.5).

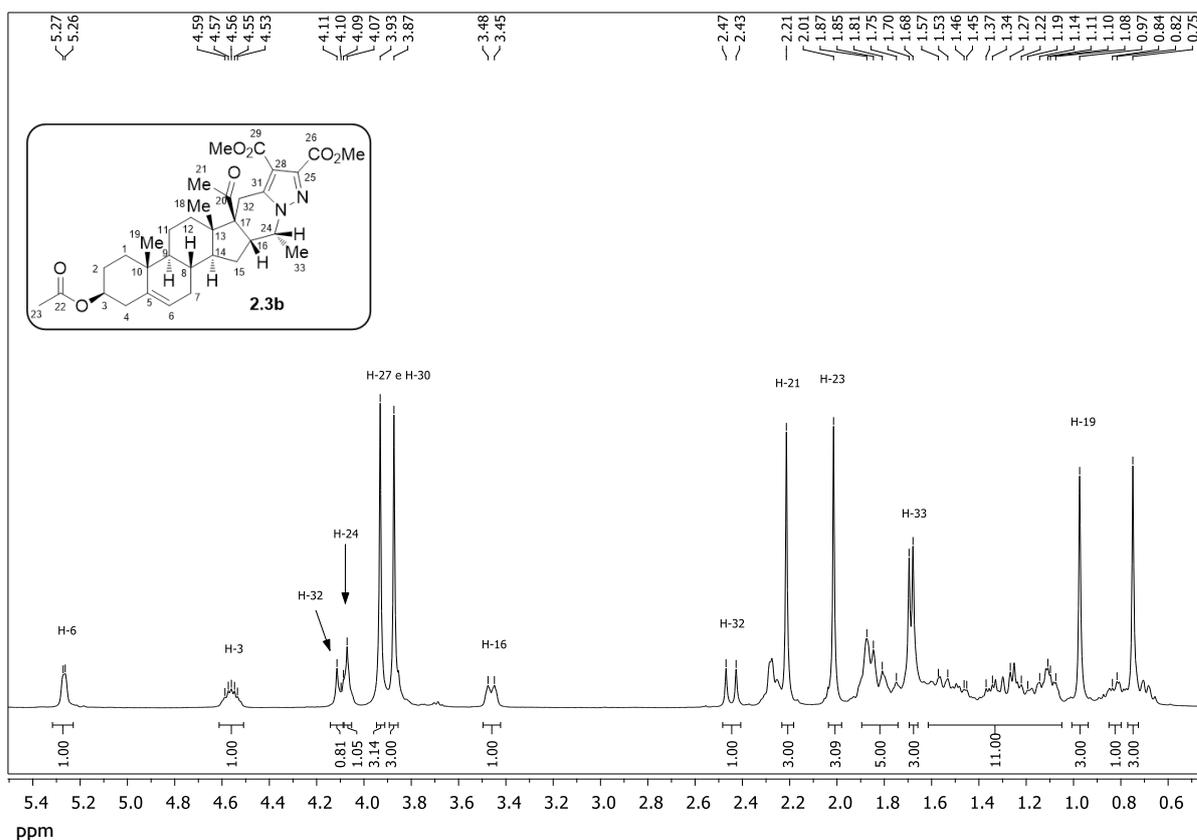
Pelo espectro de RMN  $^1\text{H}$  consegue-se identificar os prótons do grupo metilo H-18 e H-19 (0.75 e 0.97 ppm) e do grupo metilo do grupo cetona H-21 (2.21 ppm), assim como os prótons relativamente aos grupos ésteres a 3.87 ppm e a 3.93 ppm e também os prótons H-6 e H-3.

**Tabela 2.5** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup>H para o composto

**2.3b.**



Posição	δ (ppm) RMN <sup>1</sup> H
18	0.75 (3H,s)
19	0.97 (3H,s)
33	1.69 (3H, d, J = 6.4 Hz)
23	2.01 (3H,s)
21	2.21 (3H,s)
16	3.47 (1H, d, J = 10.8 Hz)
32	2.45 (1H, d, J = 16.8 Hz) 4.07-4.09 (1H, m)
30	3.87 (3H, s)
27	3.93 (3H, s)
24	4.10-4.11 (1H, m)
3	4.53-4.59 (1H, m)
6	5.27 (1H, d, J = 3.6 Hz)



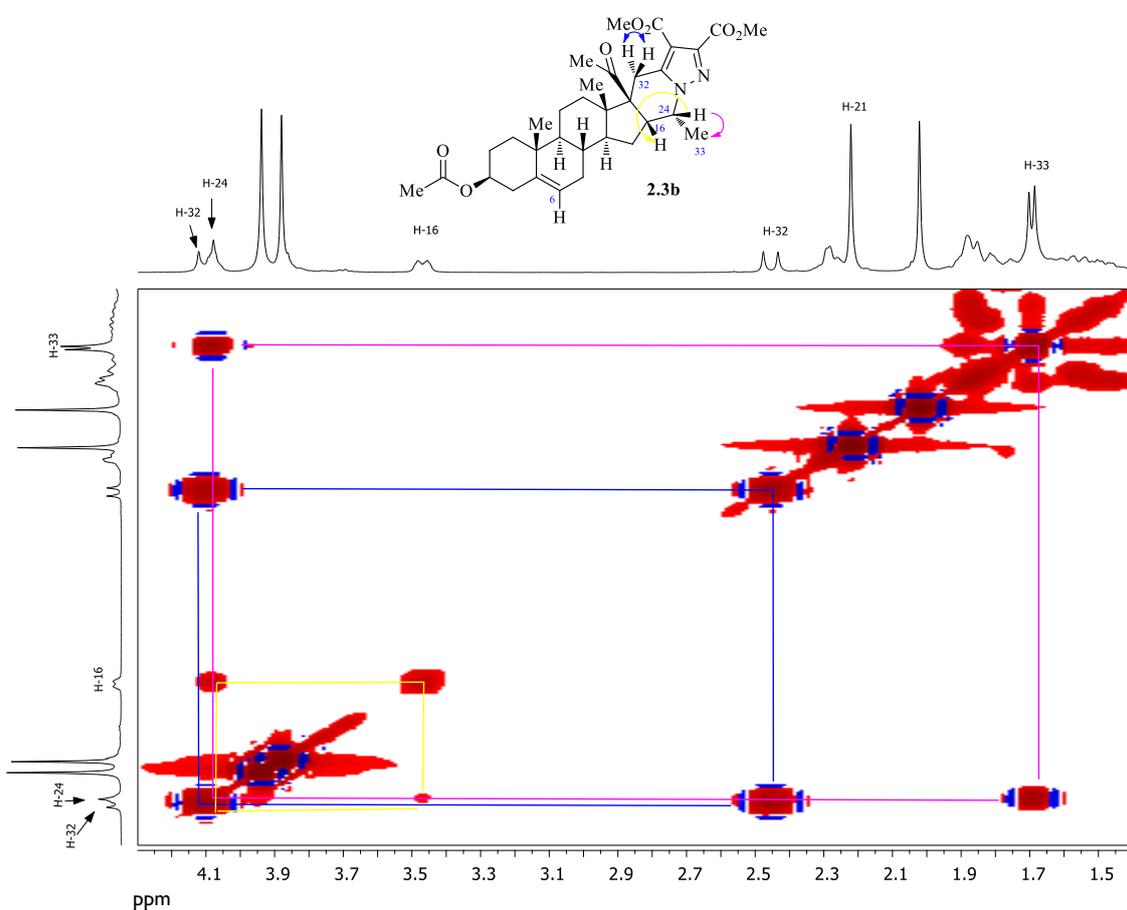
**Figura 2.5** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H do (R)-7-metil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]piridina dicarboxilato de dimetilo fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3b**).

Nas Figura 2.6 e 2.7 estão representadas as principais interações observadas nos espectros bidimensionais, COSY e NOESY, respetivamente.

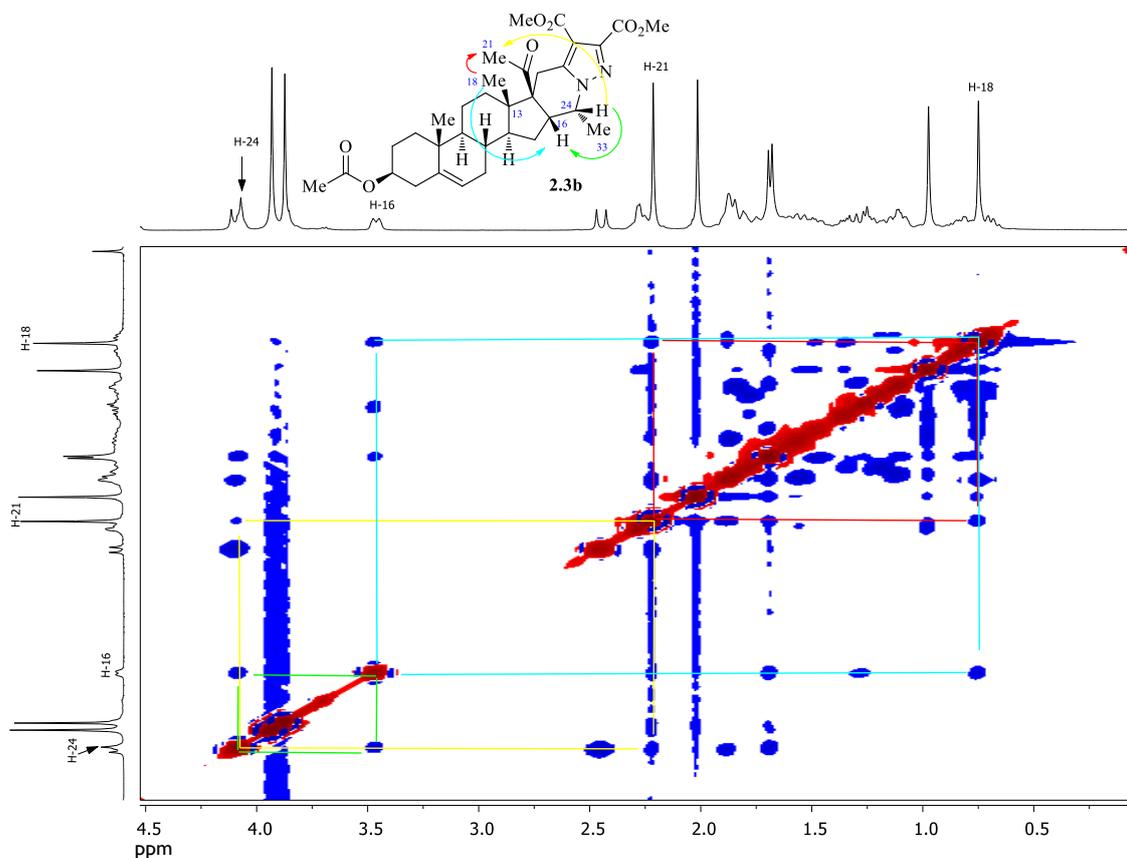
É visível no espectro de COSY o acoplamento do protão H-32 com o outro protão H-32, bem como o acoplamento do protão H-24 com o protão H-33 e com o protão H-16 (Figura 2.6).

Através do espectro bidimensional de NOESY foi possível identificar a correlação dos protões H-24 com H-16 e com H-21. Pode verificar-se também que existe correlação entre os protões H-18 e os protões H-16 e H-21 (Figura 2.7).

Por comparação do espectro de RMN protónico do 16-DPA com o obtido para o cicloducto **2.3b** podemos verificar algumas semelhanças e identificar alguns protões, visto a molécula ser muito complexa. Assim, a partir da análise feita, podemos destacar os protões H-18, H-19, H-21 e H-23 correspondentes aos grupos metilo.



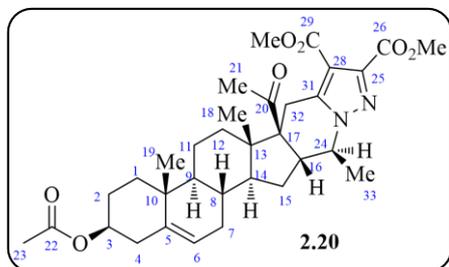
**Figura 2.6** - Expansão do espectro COSY do (R)-7-metil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5- $\alpha$ ]piridina dicarboxilato de dimetilo fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3b**).



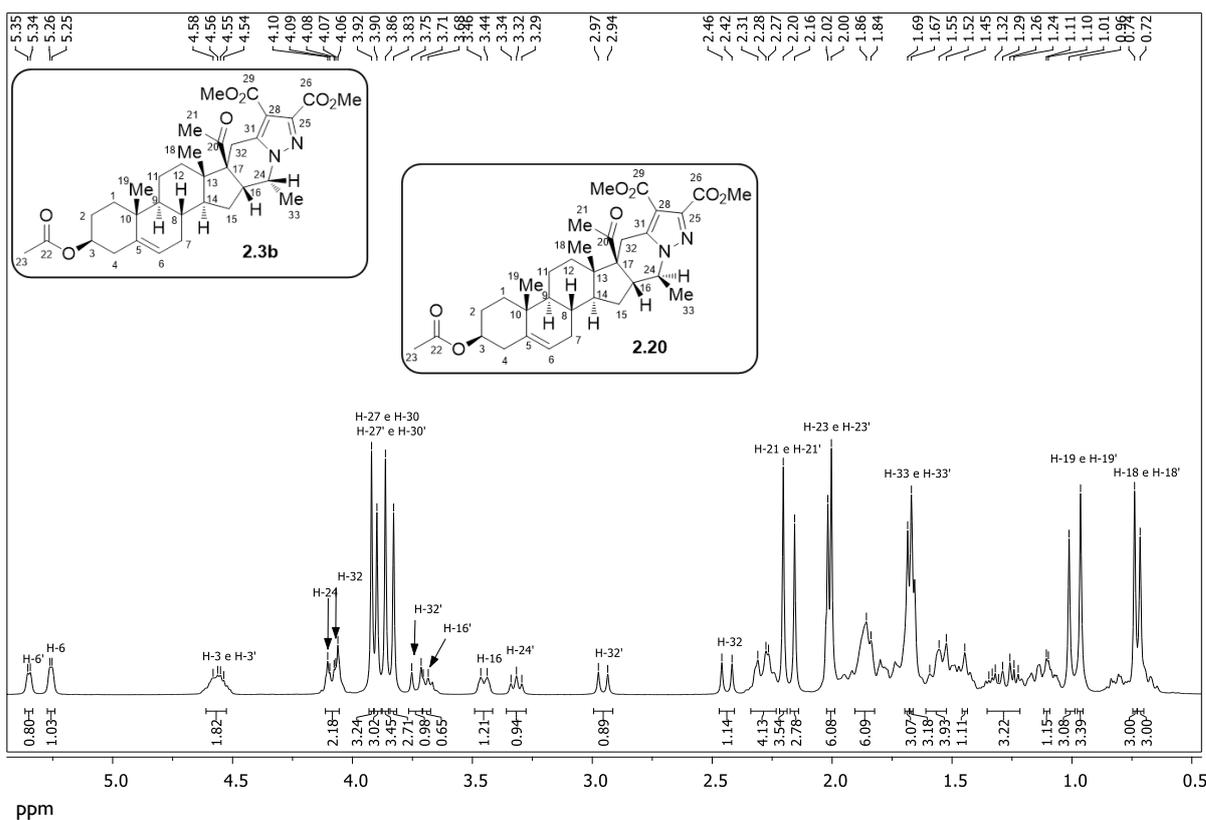
**Figura 2.7** - Expansão do espectro de NOESY do (*R*)-7-metil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina dicarboxilato de dimetilo fundido com o acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3b**).

Através da análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto puro **2.3b** (Figura 2.5) foi possível identificar os sinais de determinados prótons em comparação com o espectro de RMN prótonico da mistura dos diastereoisómeros. Com base nesta informação conseguimos verificar a duplicação de sinais, sendo facilmente identificados os correspondentes aos prótons dos grupos ésteres H-27' e H-30', do grupo cetona H-21', do grupo acetato H-23 e dos dois grupos metilo (H-18' e H-19') (Tabela 2.6, Figura 2.8). A análise do espectro bidimensional NOESY da mistura dos diastereoisómeros permitiu-nos observar que para o cicloducto **2.20** existe correlação entre os prótons H-16' e H-33', o que não se observa no espectro de RMN  $^1\text{H}$  do cicloducto **2.3b** (Figura 2.7). Daqui podemos concluir que ambos os prótons (H-16' e H-33') encontram-se para o mesmo lado do anel, conclusão reforçada pelo facto de não existir correlação entre os prótons H-16' e H-24' (Figura 2.9).

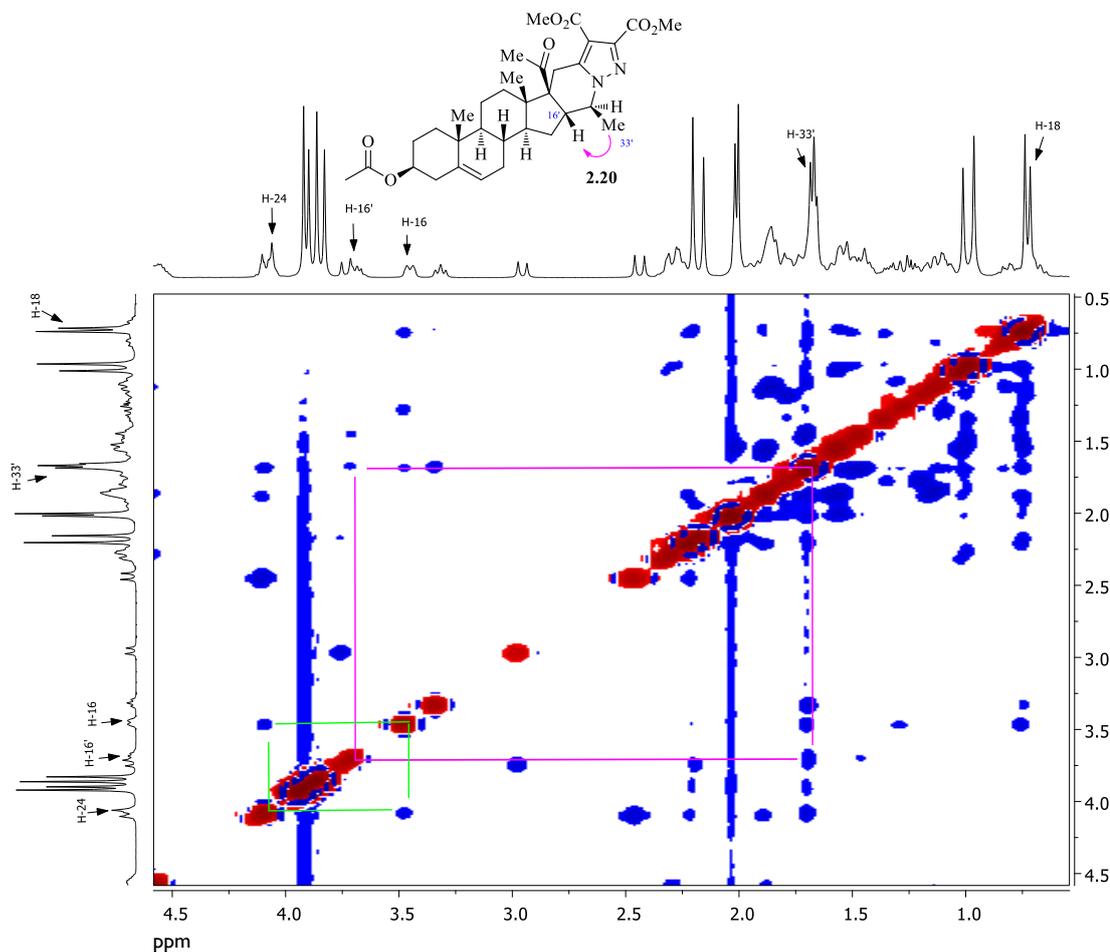
**Tabela 2.6** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup>H para o composto **2.20**.



Posição	$\delta$ (ppm) RMN <sup>1</sup> H
18'	0.72 (3H,s)
19'	1.01 (3H,s)
33'	1.69 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)
23'	2.02 (3H,s)
21'	2.16 (3H,s)
32'	2.44 (1H, d, $J = 17.2$ Hz)
32'	3.73 (1H, d, $J = 15.6$ Hz)
24'	3.29-3.34 (1H, m)
16'	3.69 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)
30'	3.83 (1H, s)
27'	3.90 (1H, s)
3'	4.54-4.58 (1H, m)
6'	5.35 (1H, d, $J = 4.4$ Hz)



**Figura 2.8** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H dos compostos **2.3b** e **2.20**.



**Figura 2.9** - Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  dos compostos **2.3b** e **2.20**.

Prosseguindo com o estudo experimental, a sulfona **2.1c** foi igualmente submetida à extrusão de dióxido de enxofre para gerar o anião metil 1,2-diazafulvenio **2.2c** que participou na cicloadição  $[8\pi+2\pi]$  com o 16-DPA, dando origem ao composto **2.3c** de forma estereosseletiva. O anião metil 1,2-diazafulvênio **2.2c** participa também na migração sigmatrópica  $[1,8]H$  para dar *N*-vinilpirazole **2.22** (Tabela 2.7).

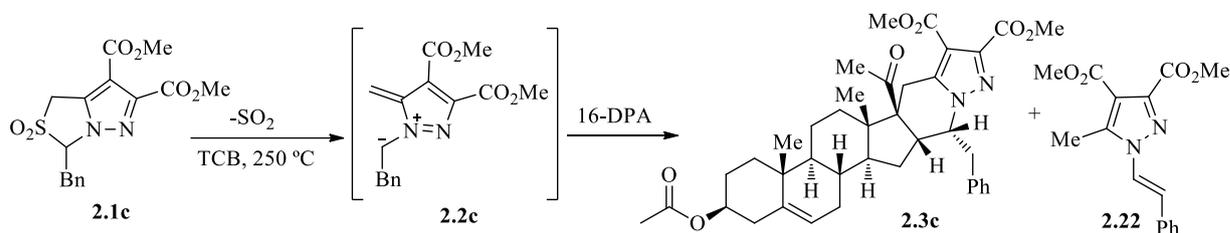
A reação assistida por micro-ondas de quantidades equimolares de sulfona **2.1c** e de 16-DPA em 1,2,4-triclorobenzeno a 250 °C durante 10 minutos permitiu obter o cicloaducto **2.3c** estereosseletivamente com um rendimento muito baixo (10%) e com recuperação de 62% de esteroide. Foi igualmente obtido o *N*-vinilpirazole **2.22** com um rendimento de 12% (Reação 1).

Quando se aumenta o tempo de reação para 15 minutos, verifica-se um aumento de consumo de esteroide e consequentemente melhoria no rendimento do cicloaducto **2.3c** (29%). Da mesma reação foi o isolado *N*-vinilpirazole **2.22** com um rendimento de 22% (Reação 2).

Uma vez que o aumento do tempo de reação levou à melhoria do rendimento do cicloaducto pretendido (**2.3c**), resolvemos aumentar o tempo para 20 minutos. No entanto,

constatou-se que este aumento provoca a possível degradação do produto **2.3c** tendo-se verificado uma diminuição do rendimento (20%), alterando-se apenas ligeiramente a quantidade recuperada de esteroide (45%). No entanto, o rendimento de *N*-vinilpirazole **2.22** melhorou significativamente (32%) (Reação 3). Quando se utiliza 1.5 equivalentes de sulfona **2.1c** durante 10 minutos, verifica-se um aumento significativo do consumo de esteroide e consequentemente um aumento do rendimento de **2.3c** e do *N*-vinilpirazole **2.22** para 28% e 29%, respetivamente (Reação 4). Utilizando os mesmos 1.5 equivalentes de sulfona **2.1c** mas durante 15 minutos obtém-se um rendimento global de 70% do composto **2.3c** e do *N*-vinilpirazole **2.22**, conjuntamente com a diminuição da quantidade de esteroide recuperado (23%-25%) (Reação 5), sendo estas as melhores condições da reação. Assim, resolveu utilizar-se o mesmo tempo de reação (15 minutos) mas com um aumento de quantidade de sulfona **2.1c** (2 equivalentes), verificando-se uma ligeira diminuição do rendimento do produto **2.3c** (32%) e do *N*-vinilpirazole **2.22** (30%) em comparação com a Reação 5 (Reação 6).

**Tabela 2.7** - Reação da sulfona **2.1c** com o 16-DPA.



Reação	Condições da reação <sup>a</sup>	Produto (η) <b>2.3c</b>	<b>2.22<sup>b</sup></b>	16-DPA recuperado
1	1 eq. sulfona <b>2.1c</b> , Micro-ondas, 10 min	10%	12%	62%
2	1 eq. sulfona <b>2.1c</b> , Micro-ondas, 15 min	29%	22%	48%
3	1 eq. sulfona <b>2.1c</b> , Micro-ondas, 20 min	20%	32%	45%
4	1.5 eq. sulfona <b>2.1c</b> , Micro-ondas, 10 min	28%	29%	25%
5	1.5 eq. sulfona <b>2.1c</b> , Micro-ondas, 15 min	35%	35%	23%
6	2 eq. sulfona <b>2.1c</b> , Micro-ondas, 15 min	32%	30%	22%
7	3 eq. sulfona <b>2.1c</b> , Micro-ondas, 15 min	28%	36%	32%
8	1,5 eq. sulfona <b>2.1c</b> , refluxo, 4 h	34%	18%	19%

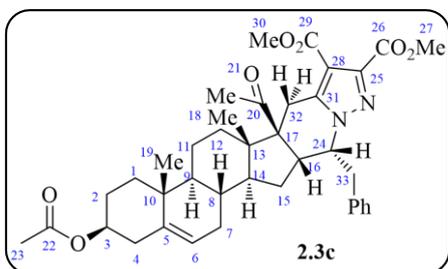
<sup>a</sup> Solvente: 1,2,4-triclorobenzeno; <sup>b</sup> Rendimento calculado com base na quantidade de sulfona **2.1c**.

Continuando o mesmo objetivo, tentou perceber-se se o aumento da quantidade de sulfona **2.1c** para 3 equivalentes iria aumentar o rendimento de cicloaducto **2.3c**. No entanto, a reação a 250°C durante 15 minutos levou a uma diminuição de rendimento do cicloaducto **2.3c** (28%) e aumento de esteroide por reagir (32%). Por outro lado, a formação de *N*-vinilpirazole **2.22** aumentou (36%) (Reação 7). Utilizando a quantidade óptima de sulfona **2.1c** (1.5 equivalentes) efetuou-se a reação a refluxo de 1,2,4-triclorobenzeno durante 4h (Reação 8). Neste caso, houve um maior consumo de esteroide e uma ligeira diminuição de rendimento do cicloaducto **2.3c** (34%). O rendimento do *N*-vinilpirazole **2.22** sofreu uma diminuição para 18%.

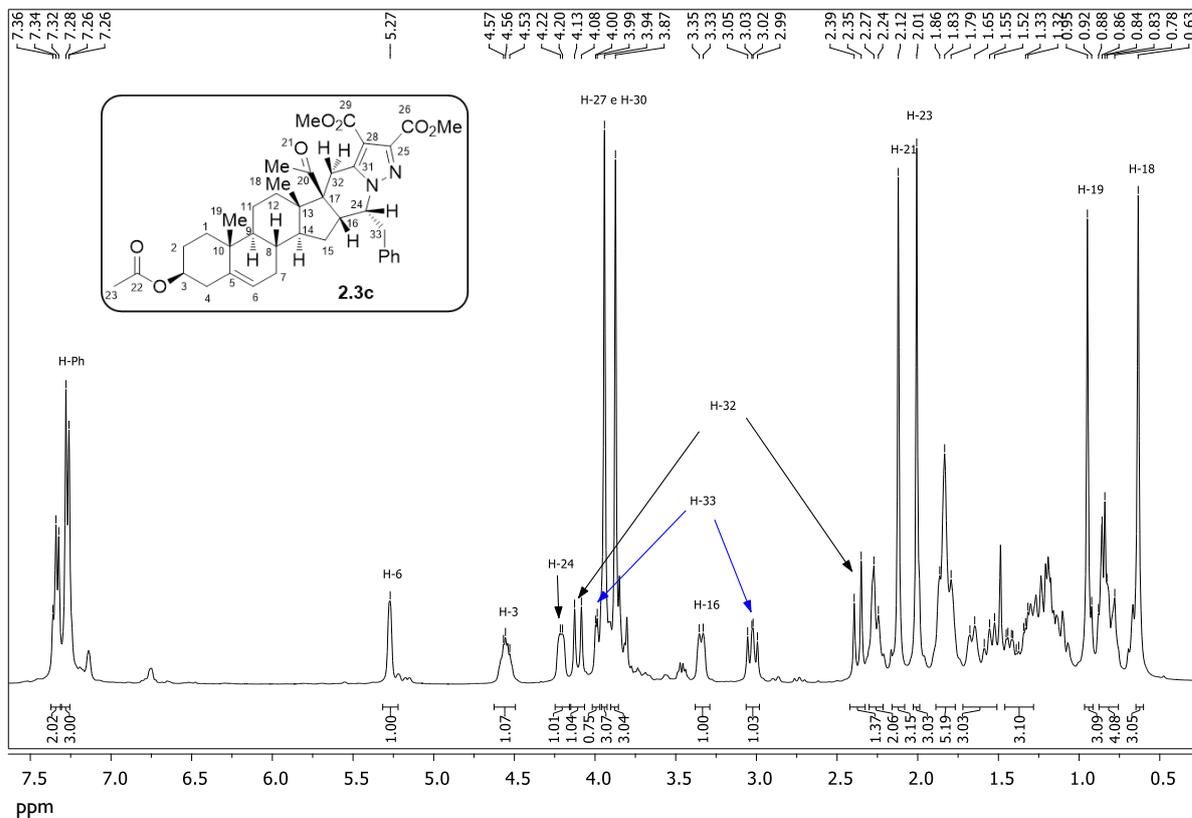
A determinação da estrutura do composto **2.3c** foi conseguida recorrendo à espectroscopia de ressonância magnética nuclear, protónico e bidimensionais (HMQC, COSY e NOESY).

Na Figura 2.10 está apresentado o espectro de RMN protónico do composto **2.3c** e na Tabela 2.8 estão apresentados os desvios químicos dos protões mais relevantes. E nas Figuras 2.10, 2.11 e 2.12 os espectros de HMQC, COSY e NOESY, respetivamente.

**Tabela 2.8** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **2.3c**.



Posição	$\delta$ (ppm) RMN <sup>1</sup> H
18	0.63 (3H, s)
19	0.95 (3H, s)
23	2.01 (3H, s)
21	2.12 (3H, s)
32	2.37 (1H, d, $J = 17.6$ Hz)
	4.11 (1H, d, $J = 17.2$ Hz)
33	3.02 (1H, dd, $J_1 = 13.2$ Hz, $J_2 = 10.8$ Hz)
	4.00 (1H, d, $J = 4.0$ Hz)
16	3.34 (1H, d, $J = 9.6$ Hz)
27	3.87 (3H, s)
30	3.94 (3H, s)
24	4.21 (1H, d, $J = 5.2$ Hz)
3	4.53-4.57 (1H, m)
6	5.27 (1H, s)



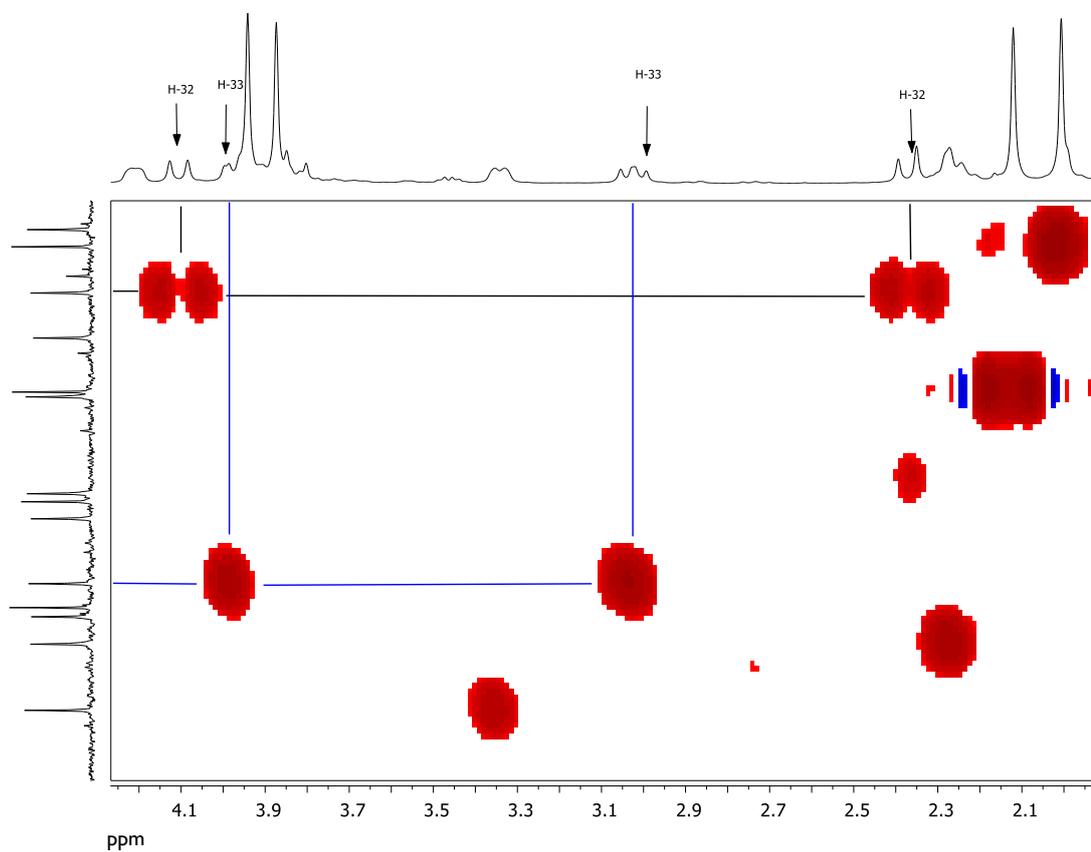
**Figura 2.10** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.3c**.

Mais uma vez, com base no espectro de RMN  $^1\text{H}$  do esteroide 16-DPA podemos constatar algumas semelhanças nos sinais apresentados. Assim, podemos identificar os singletos dos grupos metilo (H-18, H-19, H-21 e H-23), e também o multipletto do próton H-3.

Foi possível identificar os dois grupos metileno H-32 e H-33 através da observação do espectro bidimensional HMQC (Figura 2.11), uma vez que os dubletos a 2.37 ppm e 4.11 ppm têm  $J_1$  com o carbono a 23.3 ppm. Da mesma forma que o carbono a 35.4 ppm está ligado a dois prótons com os sinais a 3.02 ppm e 3.99-4.00 ppm.

A distinção de H-32 foi possível porque estes dois prótons apenas têm acoplamento com o próton geminal. Este tipo de acoplamento apenas é visível no espectro de COSY para os sinais a 2.37 ppm e 4.11 ppm. Por outro lado, no espectro COSY também se observa o acoplamento dos prótons H-33 (3.02 ppm e 3.99-4.00 ppm) com o próton H-24 (4.21 ppm) (Figura 2.12).

No espectro bidimensional de NOESY identifica-se a correlação do próton H-16 com H-18 e com H-24 (Figura 2.13). Pode identificar-se também a correlação do próton H-18 com o próton H-21. Estas observações levam-nos a concluir que os prótons H-16, H-18, H-24 e H-21 se encontram todos para o mesmo lado do anel.



**Figura 2.11** - Expansão do espectro de HMQC do composto **2.3c**.

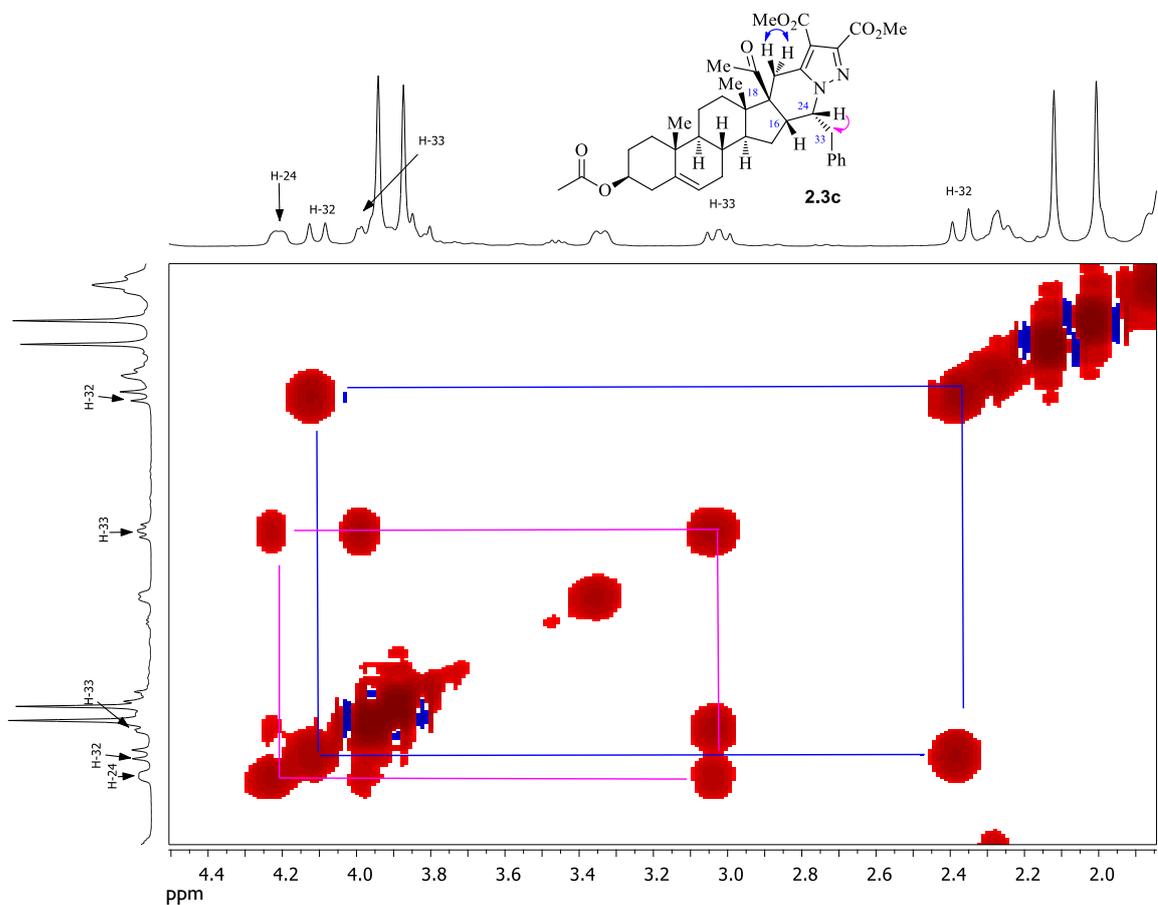


Figura 2.12 - Expansão do espectro de COSY do composto **2.3c**.

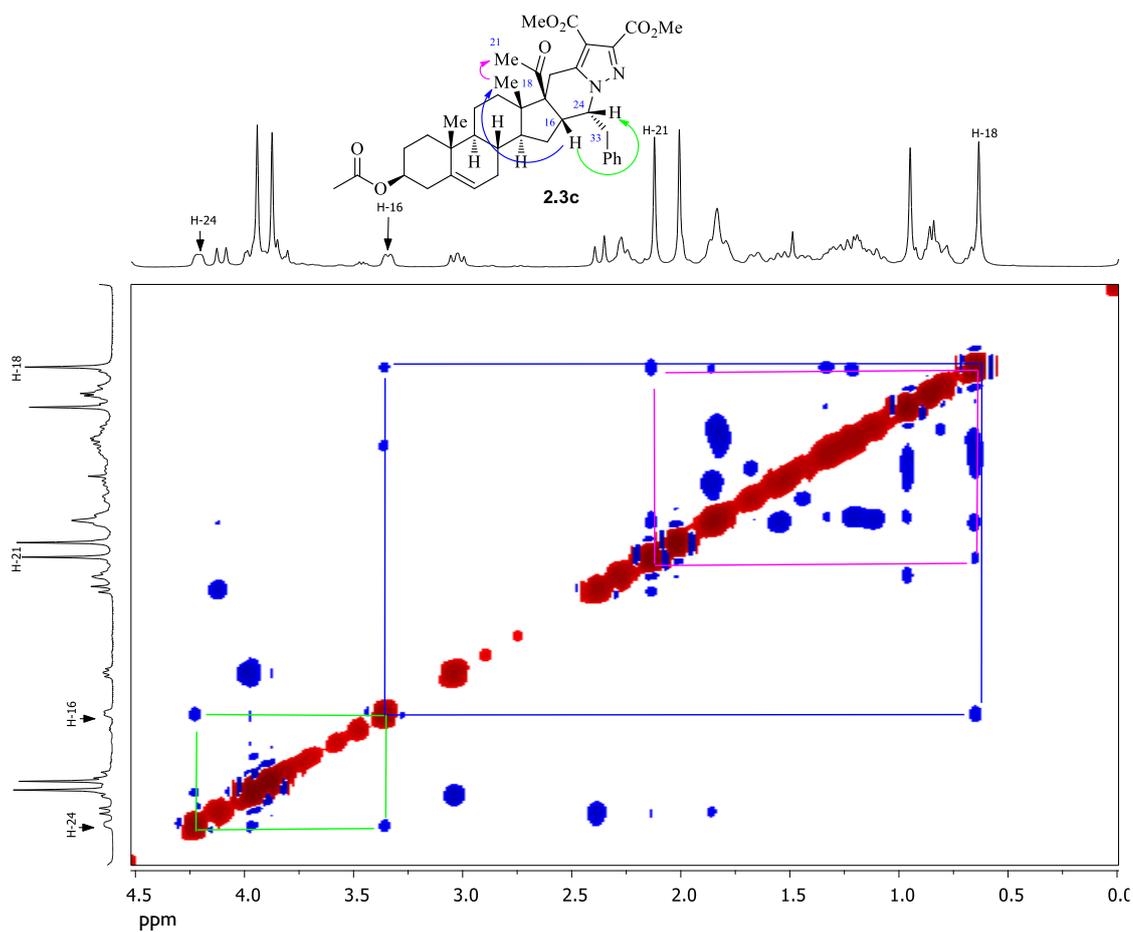
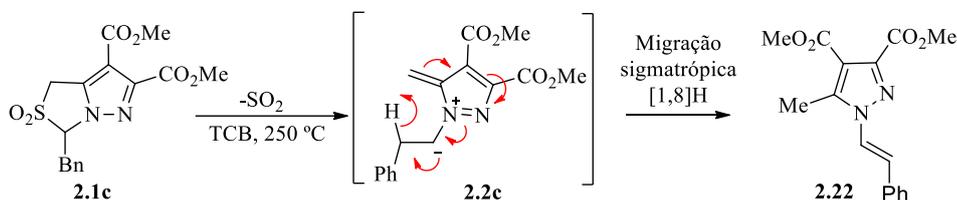


Figura 2.13 - Expansão do espectro de NOESY do composto **2.3c**.

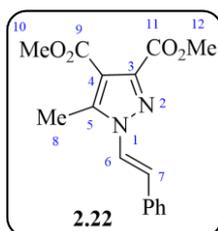
A obtenção do *N*-vinilpirazole **2.22** resulta da eliminação concertada de dióxido de enxofre de **2.1c** e concomitante formação do intermediário anião metil 1,2-diazafulvênio **2.2c**, seguida de rearranjo através de migração sigmatrópica [1,8]H suprafacial envolvendo o sistema de oito elétrons π do 1,7-dipolo (Esquema 2.8).



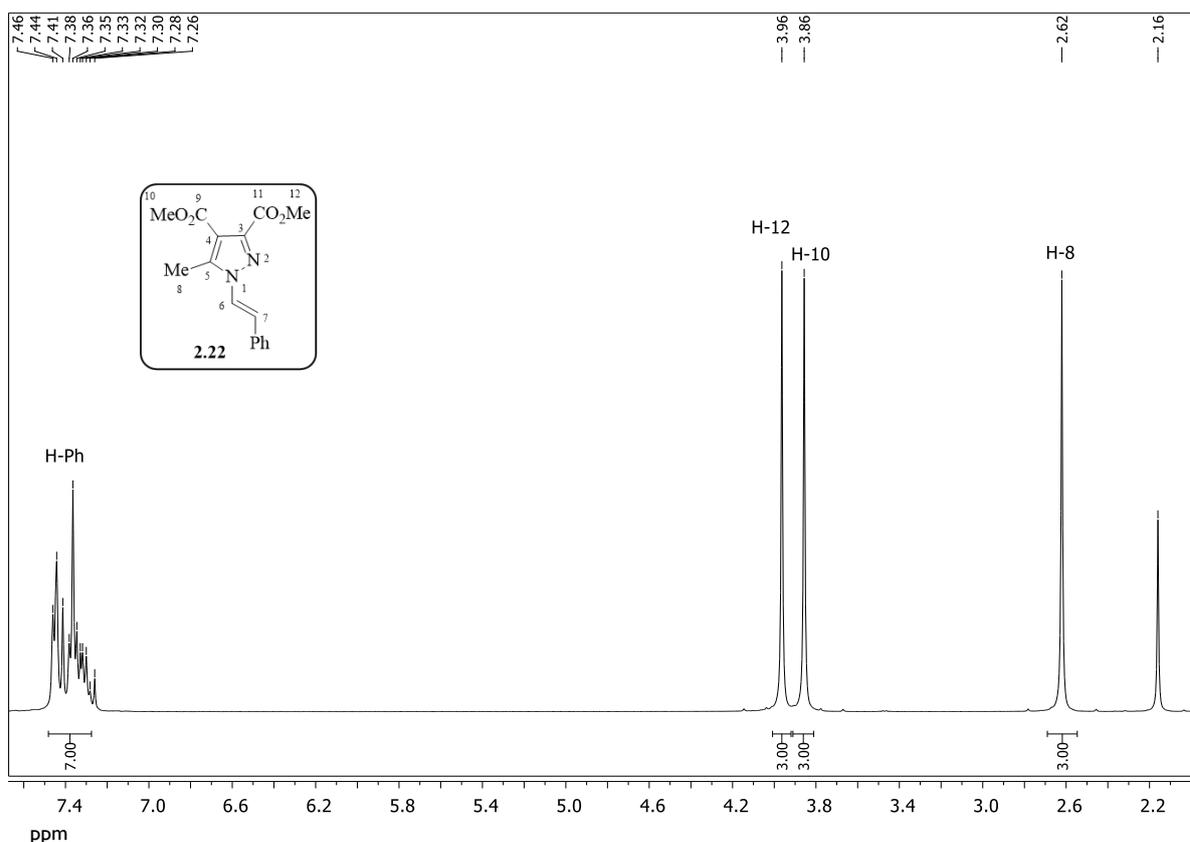
**Esquema 2.8** - Formação do *N*-vinilpirazole **2.22**.

A identificação do *N*-vinilpirazole **2.22** foi efetuada com recurso a RMN <sup>1</sup>H (Figura 2.14). Na Tabela 2.9 estão identificados os desvios químicos dos prótons do composto **2.22**.

**Tabela 2.9** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup>H para o composto **2.21**.



Posição	δ (ppm) RMN <sup>1</sup> H
8	2.62 (3H,s)
10 e 12	3.86 (3H,s) e 3.96 (3H,s)
Ph, 6 e 7	7.28-7.46 (7H, m)



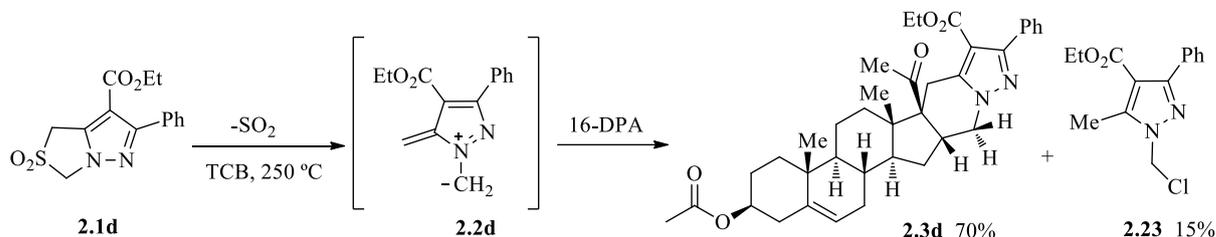
**Figura 2.14** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.22**.

O espectro protónico do composto **2.22** é bastante simples, sendo facilmente identificados os prótons dos grupos metilo dos ésteres, H-10 a 3.86 ppm e H-12 a 3.96 ppm bem como o grupo metilo H-8 a 2.62 ppm. Os dois prótons vinílicos H-6 e H-7 encontram-se num desvio químico muito próximo dos prótons aromáticos (Figura 2.14).

Analisando os resultados obtidos, para as três sulfonas estudadas, verificou-se que o 1,7-dipolo que originou melhores rendimentos de cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$  foi o anião metil 1,2-diazafulvénio **2.2a**, sem substituintes em C-3. Tendo-se observado o consumo completo do esteroide e a não formação de *N*-vinilpirazóis, visto não existir a possibilidade de substituição na posição 3.

Neste contexto, decidimos continuar a estudar a reatividade do 16-DPA com outros aniões metil 1,2-diazafulvénio **2.2d** e **2.2e** não substituídos em C-3, gerados por extrusão de dióxido de enxofre das sulfonas **2.1d** e **2.1e**, disponíveis no laboratório.

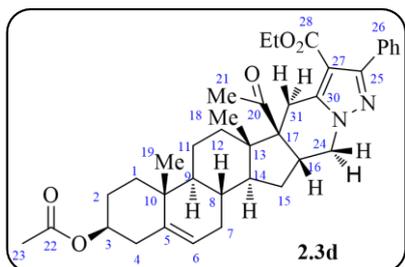
O estudo foi iniciado com sulfona **2.1d**, que gera o anião metil 1,2-diazafulvénio **2.2d** por extrusão térmica de  $\text{SO}_2$ . O anião metil 1,2-diazafulvénio **2.2d** é intercetado na cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$  pelo 16-DPA, levando ao isolamento do composto **2.3d** juntamente com o 1-clorometil-3-fenil-5-metil-1*H*-pirazole-4-dicarboxilato de etilo (**2.23**) (Esquema 2.9).



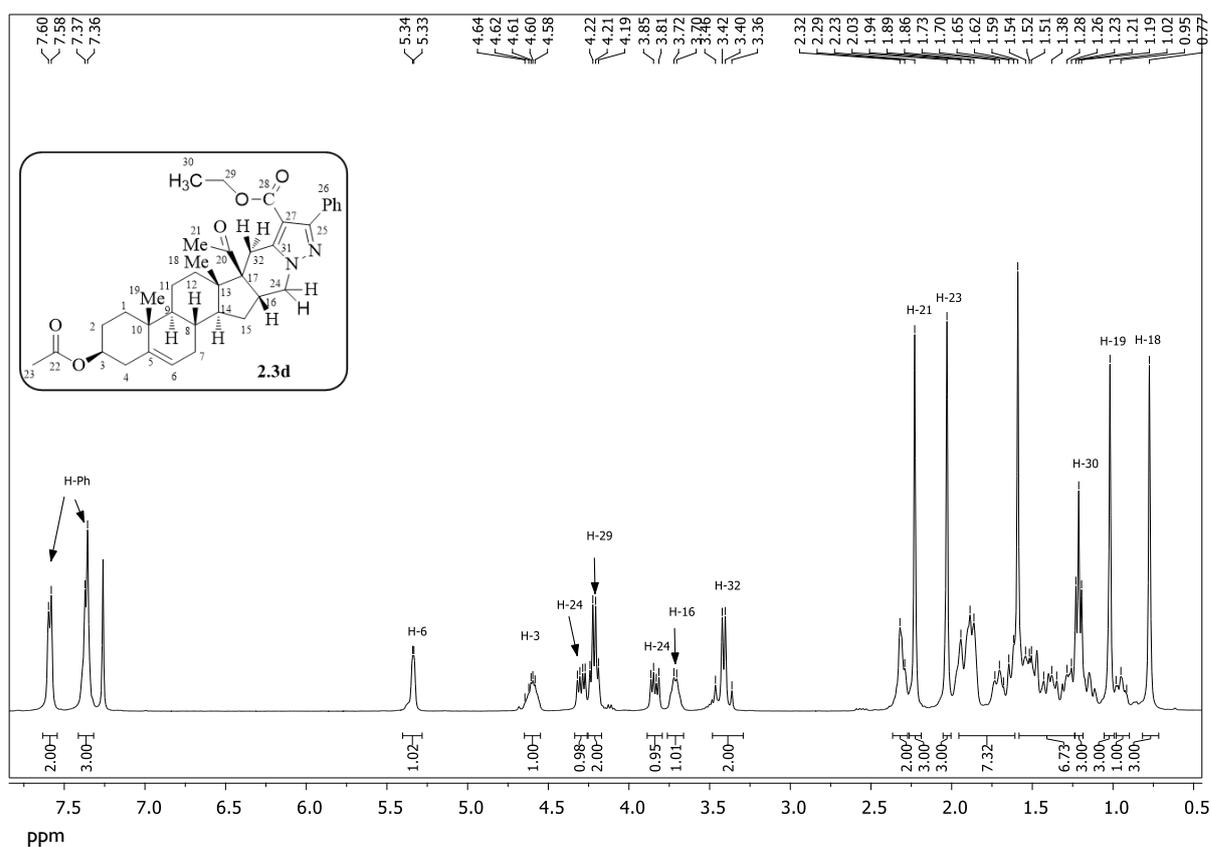
**Esquema 2.9** - Formação do composto **2.3d** e do 1-clorometil-3-fenil-5-metil-1H-pirazole-4-dicarboxilato de etilo (**2.23**).

Realizando a reação com 2,5 equivalentes de sulfona **2.1d** sob irradiação de micro-ondas a 250 °C durante apenas 10 minutos, observou-se a formação do composto **2.3d** com um rendimento de 70% e o 1-clorometil-3-fenil-5-metil-1H-pirazole-4-dicarboxilato de etilo (**2.23**) com um rendimento de 15%, tendo-se consumido por completo o esteroide (Esquema 2.9). O espectro de RMN protónico confirma a obtenção do cicloaducto **2.3d** (Figura 2.15). Na Tabela 2.10 encontram-se descritas as atribuições dos desvios químicos dos prótons mais facilmente identificados.

**Tabela 2.10** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **2.3d**.



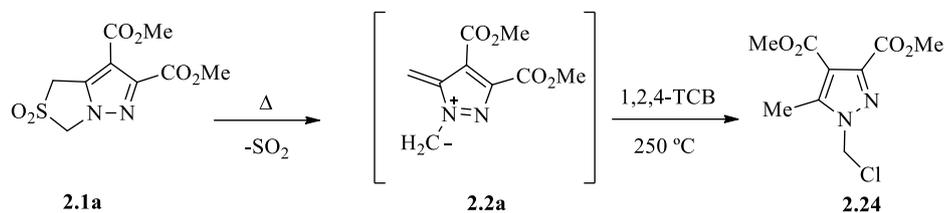
Posição	δ (ppm) RMN <sup>1</sup> H
18	0.77 (3H, s)
19	1.02 (3H, s)
23	2.03 (3H, s)
21	2.23 (3H, s)
32	3.44 (2H, dd, J <sub>1</sub> = 24.0 Hz e J <sub>2</sub> = 24.2 Hz)
30	1.21 (3H, t, J = 7.2 Hz)
16	3.72 (1H, d, J = 6.8 Hz)
29	4.27-4.32 (1H, q, )
24	3.81-3.86 (1H, m)
3	4.58-4.61 (1H, m)
6	5.34 (1H, d, J = 3.2 Hz)
H-Ph	7.36-7.60 (5H, m)



**Figura 2.15** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.3d**.

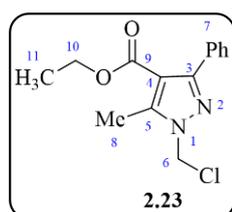
No espectro de RMN protónico do composto **2.3d** (Figura 2.15) podemos identificar facilmente os sinais correspondentes aos prótons do grupo metilo do éster H-30 a 1.21 ppm, os dois singletos dos grupos metilo H-18 e H-19 a 2.03 ppm e a 2.23 ppm, bem como os sinais dos prótons aromáticos a 7.36-7.60 ppm. Sendo os restantes sinais identificados por comparação com o espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.3a** (Figura 2.1). Também por comparação com o composto **2.3a** e por todo o estudo espectroscópico realizado para os novos derivados esteroides, deduzimos que a estereoquímica do composto seja a apresentada na figura da Tabela 1.9.

A obtenção do 1-clorometil-3-fenil-5-metil-1*H*-pirazole-4-dicarboxilato de etilo (**2.23**) pode ser explicada considerando a adição de uma molécula de HCl ao anião metil 1,2-diazafulvénio **2.2d**, sendo este composto semelhante ao que já tinha sido obtido no obtido grupo de Química Orgânica a partir da sulfona **2.1a** (Esquema 2.10).<sup>14</sup> Na Tabela 2.11 estão descritos os desvios químicos para o composto **2.23**. Podemos identificar os singletos correspondentes aos prótons H-8 e H-6, o tripleto do próton H-11 e os sinais do próton aromático a 7.39-7.62 ppm (Figura 2.16).

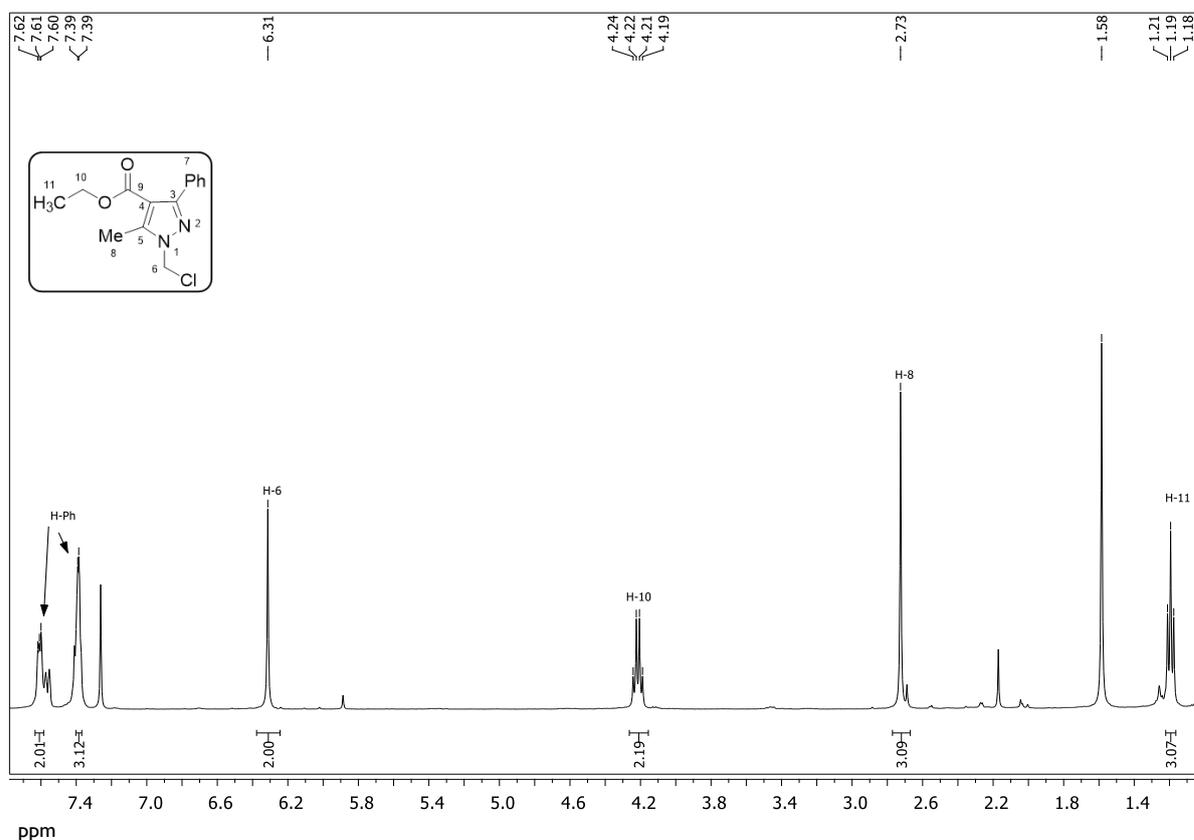


**Esquema 2.10** - 1-clorometil-5-metil-1*H*-pirazole-3,4-dicarboxilato de dimetilo (**2.24**).

**Tabela 2.11** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN <sup>1</sup>H para o composto **2.23**.



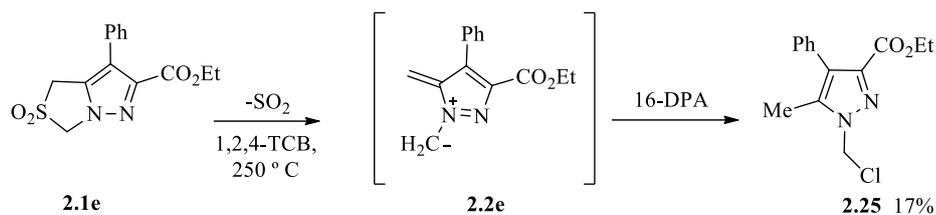
Posição	δ (ppm) RMN <sup>1</sup> H
11	1.19 (3H, t, <i>J</i> = 7.2 Hz)
8	2.73 (3H, s)
10	4.22 (2H, q, <i>J</i> = 12 Hz)
6	6.31 (2H, s)
H-Ph	7.39-7.62 (5H, m)



**Figura 2.16** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **2.23**.

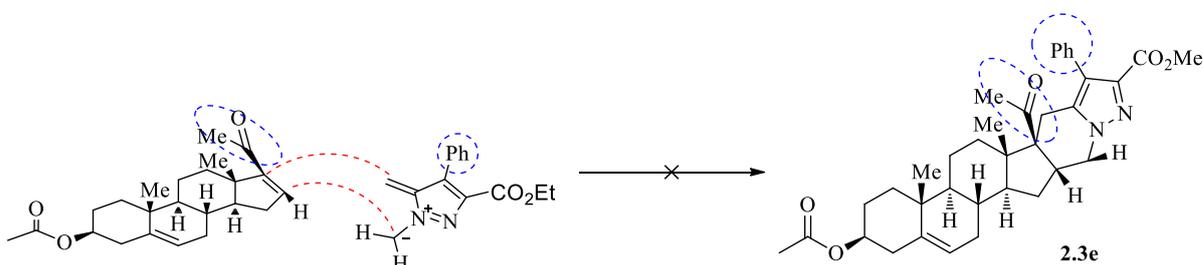
A utilização de 2.5 equivalentes de sulfona **2.1e** na presença do 16-DPA sob condições de irradiação de micro-ondas a 250 °C durante apenas 10 minutos, conduziu apenas à

formação do 1-clorometil-4-fenil-5-metil-1H-pirazole-3-dicarboxilato de etilo (**2.25**) com rendimento de 17% (Esquema 2.11).



**Esquema 2.11** - Formação do 1-clorometil-4-fenil-5-metil-1H-pirazole-3-dicarboxilato de etilo (**2.25**).

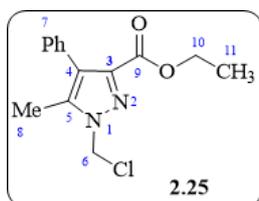
Uma possível explicação para que não tenha ocorrido a reação de cicloadição [ $8\pi + 2\pi$ ] pode ser associada ao impedimento estérico provocado pelo grupo fenilo do anião metil 1,2-diazafulvenio **2.2e** durante a aproximação endo (Esquema 2.12), com o grupo cetona do esteroide, uma vez que com os outros aniões a reação funcionava.



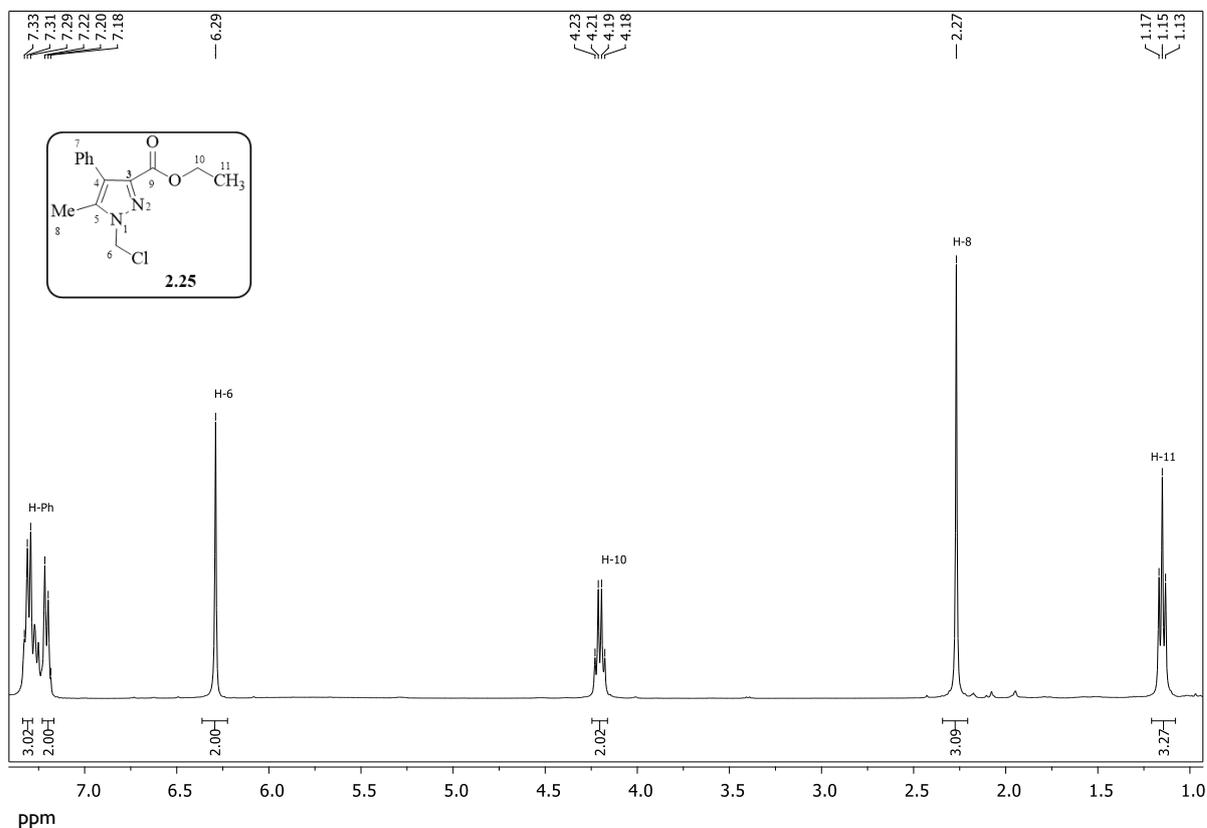
**Esquema 2.12** - Mecanismo explicativo para a não formação do composto **2.3e**.

O espectro de RMN prótonico (Figura 2.17) é muito semelhante ao do regioisômero **2.23** (Figura 2.16), diferindo apenas nos valores de desvios químicos (Tabela 2.12).

**Tabela 2.12** - Valores de desvios químicos (ppm) do espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o composto **2.25**.



Posição	$\delta$ (ppm) RMN $^1\text{H}$
11	1.54 (3H, t, $J = 7.2$ Hz)
8	2.27 (3H,s)
10	4.20 (2H, q, $J = 14.0$ Hz)
6	6.29 (3H, s)
H-Ph	7.18-7.33 (5H, m)



**Figura 2.17** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.25**.

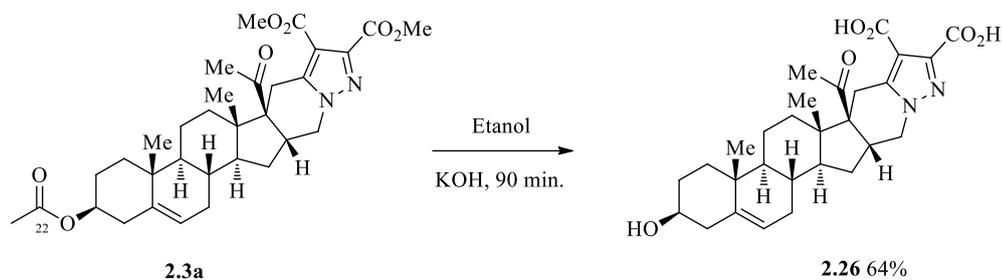
## 2.4 Hidrólise dos novos derivados esteroides

Foi também efetuada a hidrólise dos grupos ésteres a ácidos dos compostos **2.3a** e **2.3c**, isto porque, os ácidos geralmente são mais solúveis em meios biológicos, permitindo assim atravessar melhor as membranas celulares.

A hidrólise dos grupos ésteres foi feita com hidróxido de potássio aquoso durante 90 minutos e 3 horas.

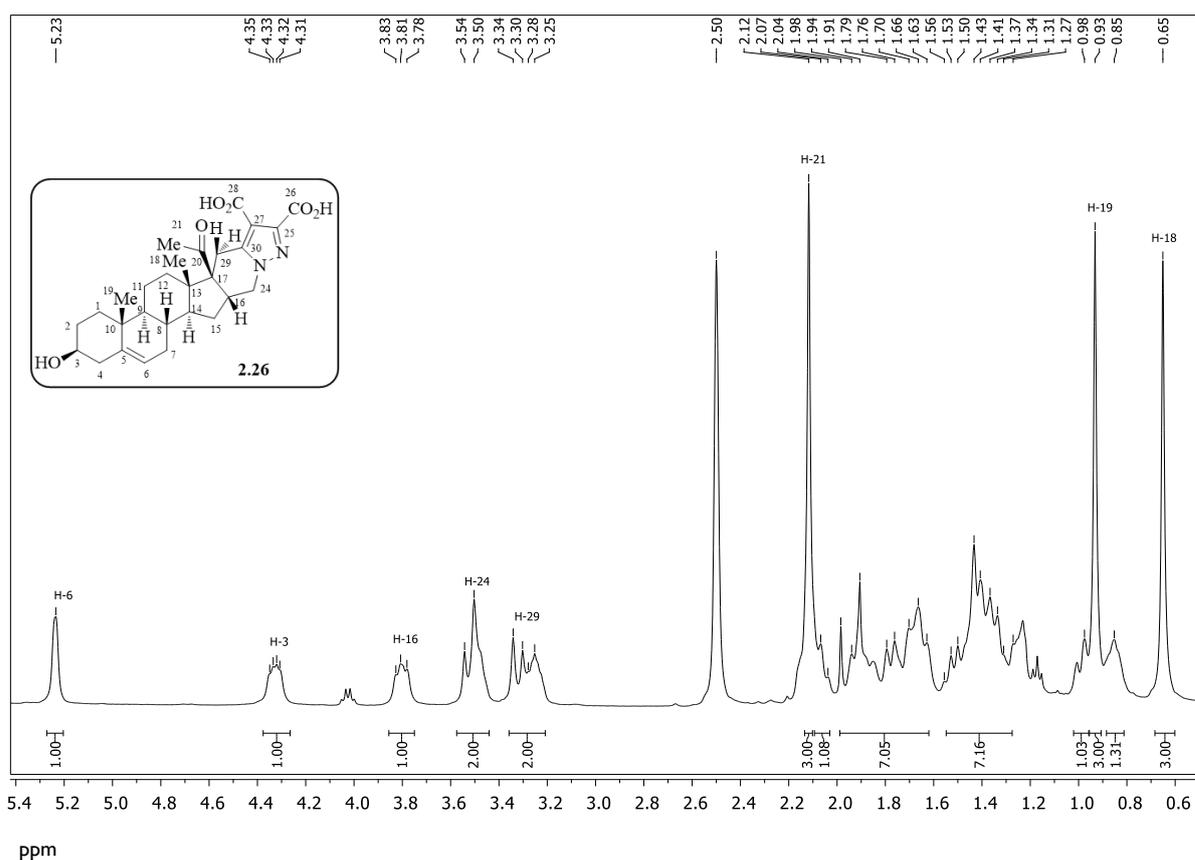
A uma solução de **2.3a** em etanol é adicionado lentamente uma solução saturada de KOH. A reação é controlada por TLC e fica em agitação à temperatura ambiente durante 90 minutos.

Desta forma, obtém-se o composto **2.26** com 64% de rendimento. Para além de hidrólise dos grupos ésteres substituintes do anel pirazole, ocorre também a clivagem do grupo acetilo (Esquema 2.13).

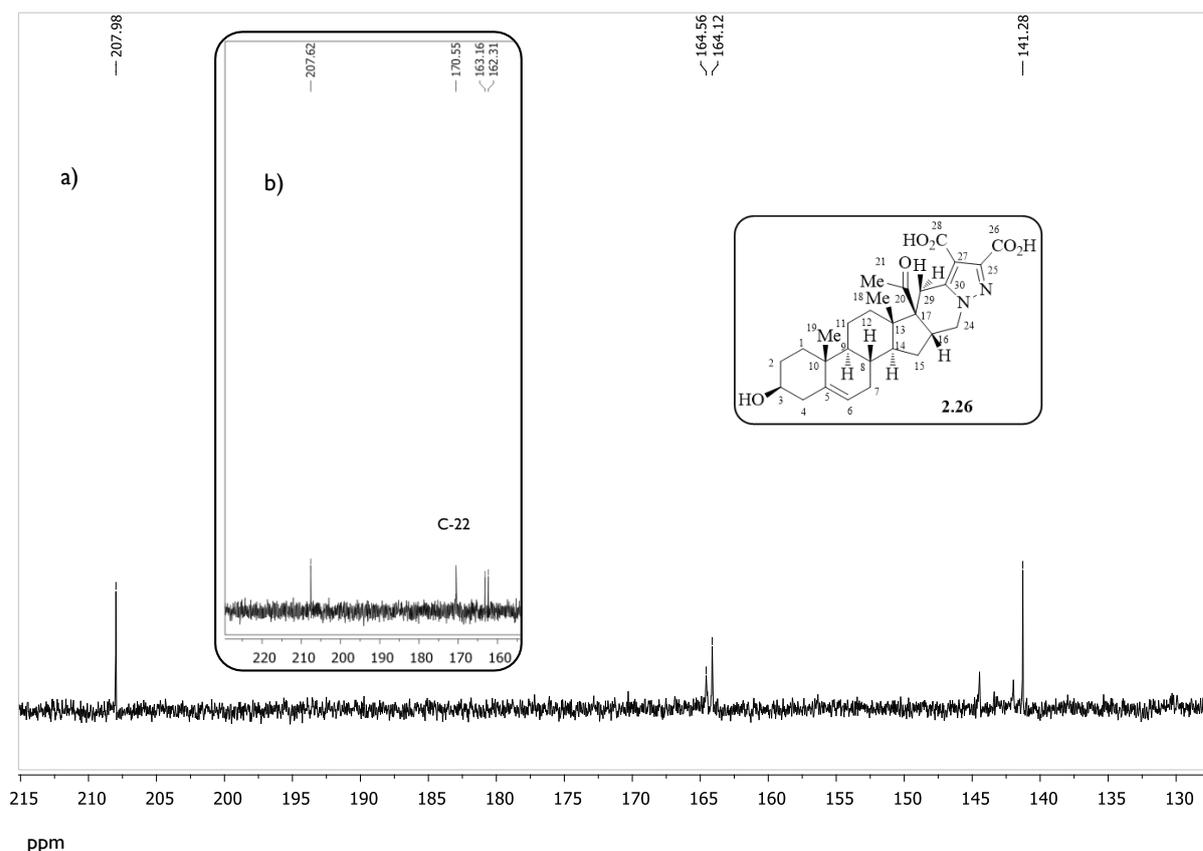


**Esquema 2.13** - Reação de hidrólise do 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3a**).

Através da análise e comparação dos espectros de RMN protónico do composto **2.3a** (Figura 2.1) e do composto **2.26** (Figura 2.18) foi possível confirmar a redução dos grupos ésteres. Assim, os singletos a 3.86 ppm e 3.92 ppm corresponderam aos grupos metilo dos ésteres desapareceram. Neste espectro verificou-se o desaparecimento do singletto a 2.02 ppm. Concluímos tratar-se do singletto correspondente ao metilo do grupo acetilo, uma vez que no RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **2.26** (Figura 2.19) verifica-se o desaparecimento do carbono a 170.5 ppm. O sinal a 170.5 ppm corresponderia ao carbono C-22 do composto **2.3a**.

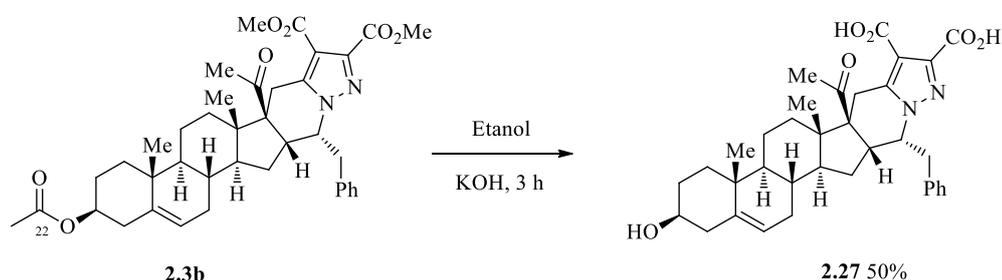


**Figura 2.18** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **2.26**.



**Figura 2.19** - a) Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **2.26**; b) Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **2.3a**.

O composto **2.27** é obtido com um rendimento de 50%, utilizando as condições reacionais anteriormente descritas, com apenas 3 horas de agitação (Esquema 2.14).

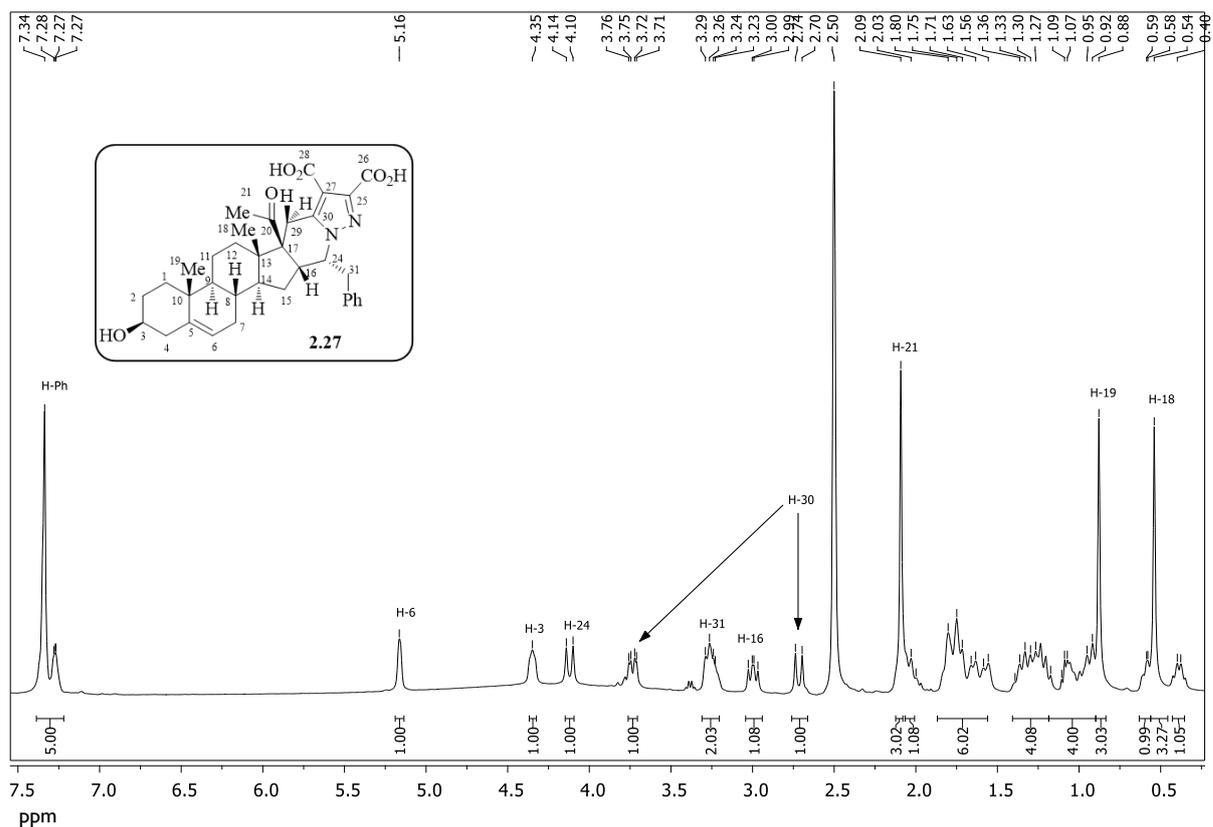


**Esquema 2.14** - Reação de hidrólise do (*S*)-7-benzil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona (**2.3c**).

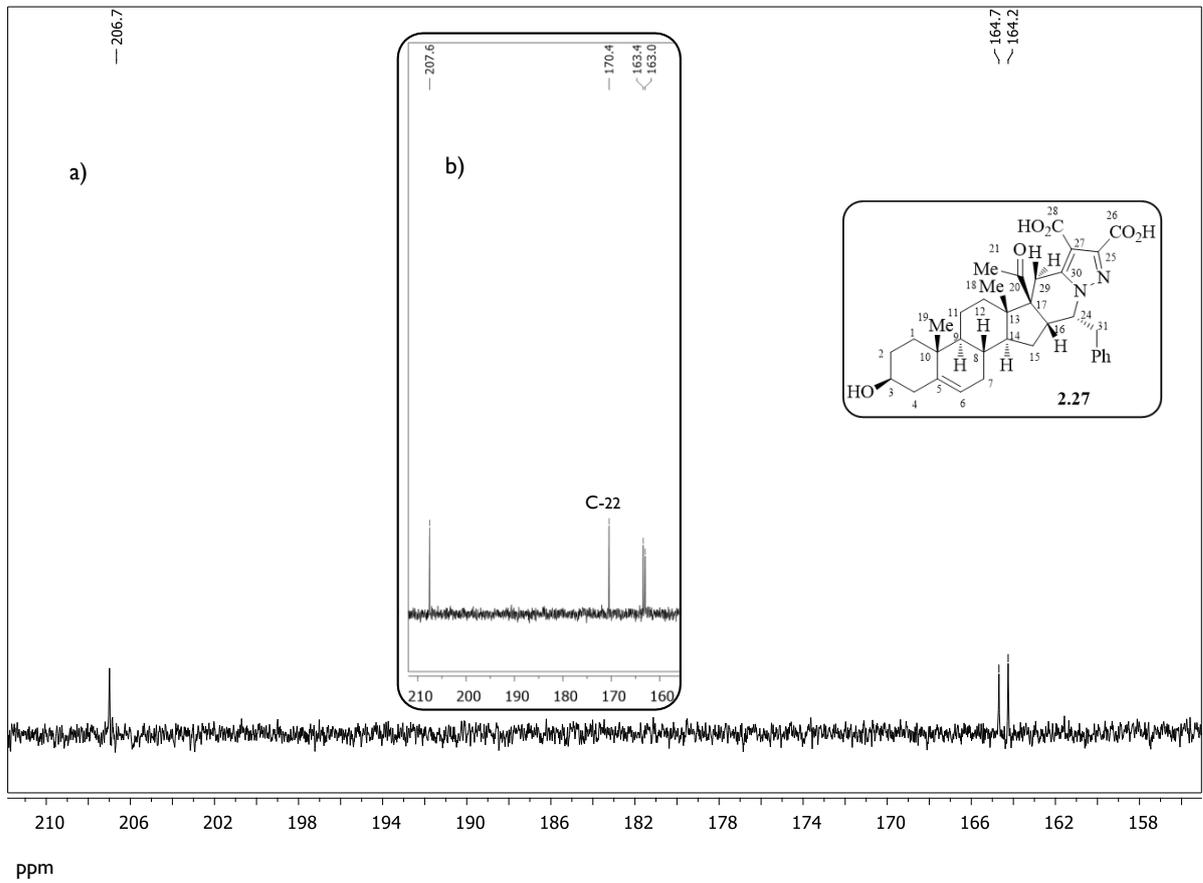
A confirmação da hidrólise dos grupos ésteres do composto **2.27** foi efetuada por comparação dos espectros do RMN protônico.

Assim, os singletos a 3.86 ppm e a 3.90 ppm correspondentes aos grupos metilo dos ésteres (Figura 2.9) desapareceram, confirmando assim a hidrólise destes. Tal como aconte-

ce com o composto **2.26**, também no composto **2.27** se verificou a clivagem do grupo acetilo. Uma vez que se observou o desaparecimento do singlete (Figura 2.9) e do carbono a 170.4 ppm (Figuras 2.20 e 2.21).



**Figura 2.20** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  dos compostos **2.27**.



**Figura 2.21** - a) Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  dos compostos **2.27**; b) Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  dos compostos **2.3c**.

## Referências

- 1) PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; SOARES, Maria I. L.; *et al.* - **Intermolecular Dipolar Cycloaddition Reactions of 5H,7H-Thiazolo[3,4-c]oxazol-4-ium-1-olates**. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I (1999) 1219-1223.
- 2) PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; SOARES, Maria I. L.; *et al.*, - **Synthesis of Chiral Pyrrolo[1,2-c]thiazoles via Intramolecular Dipolar Cycloaddition of Münchnones: An Interesting Rearrangement to Pyrrolo[1,2-c]thiazines**. J. Org. Chem. 67, (2002)4045-4054.
- 3) PINHO E MELO, M. V. D. Teresa; Maria SOARES, I. L.; ROCHA GONSALVES, d'A. António M.; McNAB, Hamish - **Reactivity of azafulvenium methides derived from pyrrolo-[1,2-c]thiazole-2,2-dioxides: synthesis of functionalised pyrroles**. Tetrahedron Letters 45 (2004) 3889-3893
- 4) PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; SOARES, Maria I. L.; ROCHA GONSALVES, d'A. António M. - **New chemistry of diazafulvenium methides : one way to pyrazole**. Tetrahedron Letters 47 (2006) 791-794.
- 5) PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; NUNES, Cláudio M.; *et al.*, - **Chemistry of Diazafulvenium Methides in the Synthesis of Functionalized Pyrazoles**. J. Org. Chem., 72 (2007) 4406-4415.
- 6) NUNES, Cláudio M.; LOPES, Susy; PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; FAUSTO, Rui - **Spectroscopic and theoretical investigation of the conformational space of a pyrazolo-thiazole precursor of extended dipole diazafulvenium methide intermediates**. Journal of Molecular Structure. 921 (2009) 101-108.
- 7) PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; BARBOSA, M. D.; RAMOS, S. R. J. P.; ROCHA GONSALVES, António d'A. M. *et al.*, - **Synthesis and biological evaluation of new naphthoquinone- containing pyrrolo-thiazoles as anticancer agents**. J. Heterocyclic Chem., 47, (2010) 960-966.
- 8) SOARES, Maria I. L.; NUNES, Cláudio M.; GOMES, Clara B. S.; PINHO E MELO, Teresa M. V. D. - **Thiazolo[3,4-b]indazole-2,2-dioxides as Masked Extended Dipoles: Pericyclic Reactions of Benzodiazafulvenium Methides**. J. Org. Chem., 78 (2013) 628-637.
- 9) SOARES, Maria I. L.; PINHO E MELO, Teresa M. V. D. - **Microwave-induced Pericyclic Reactions of Aza- and Diazafulvenium Methides**. Current Microwave Chemistry. I (2014) 22-32.

- 10) LIJINSKY, W.; KEEFER, L.; LOO, J. - **The preparation and properties of some nitrosamino acids**. Tetrahedron Letters. 26 (1970) 5137-5153.
- 11) RANGANATHAN, D.; BAMEZAI, S. - **A novel proline derived meso-ionic synthon**. Tetrahedron Letters. 24 (1983) 1067-1070.
- 12) APPLEGATE, Jacqueline; TURNBULL, Kenneth - **The eficiente Synthesis of 3-arylsydnonones under neutral conditions**. Synthesis. 12 (1988) 1011-1012.
- 13) a) SUTCLIFFEA, Oliver B.; STORR, Richard C.; GILCHRIST, Thomas L.; RAFFERTY, Paul - **Cycloadditions to Pyrrolo[1,2-c]thiazoles and Pyrazolo[1,5-c]thiazoles**. Tetrahedron Letters. 56 (2000) 10011-10021.
- b) SUTCLIFFEA, Oliver B., STORR, Richard C.; GILCHRIST, Thomas L.; ; RAFFERTY, Paul - **Azafulvenium methides: new extended dipolar systems**. J. Chem. Soc., Perkin Trans. I (2001) 1795-1806.
- 14) SOARES, Maria I. L. - **A química de dipolos conjugados na síntese de pirróis e pirazóis**. Tese de Doutorado. (2007) 38-45.

## **Capítulo 3**

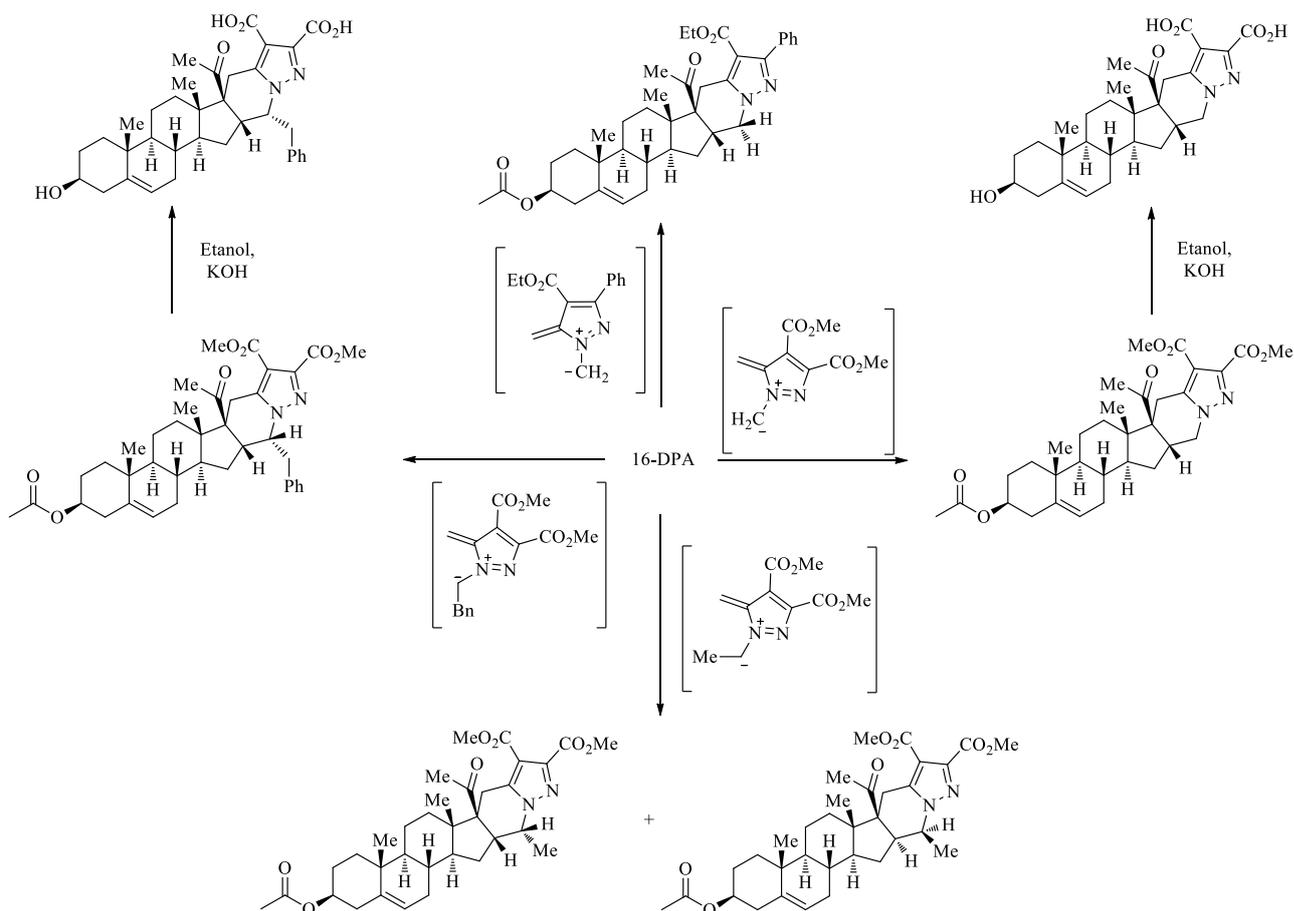
### **Conclusão**

---

### 3.1 Conclusão

Neste trabalho pretendeu-se explorar a reatividade do 16-DPA com aniões metil 1,2-diazafulvênio, *via* reação de cicloadição  $[8\pi+2\pi]$ , como estratégia para a preparação de novos derivados de esteroides hexacíclicos (Esquema 3.1). Demonstrámos que os aniões metil 1,2-diazafulvênio podem ser gerados por eliminação térmica de dióxido de enxofre de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis e que participam em reações de cicloadição com o 16-DPA para formar ou originar as moléculas alvo.

Foram preparados 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis não substituídos na posição 2 e derivados contendo o grupo metilo e benzilo em C-2, sendo estudado o seu comportamento na presença do 16-DPA.



**Esquema 3.1** - Estudo da reatividade do 16-DPA com aniões metil 1,2-diazafulvênio, *via* reação de cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$ .

A partir dos aniões metil 1,2-diazafulvênio intercetados com o 16-DPA, *via* reações de cicloadição  $[8\pi + 2\pi]$ , foi possível promover a formação de novos derivados de esteroide hexacíclicos. As reações foram feitas utilizando duas condições experimentais: a irradiação

de micro-ondas ou alternativamente a termólise convencional em refluxo de 1,2,4-triclorobenzeno. Da análise dos resultados, observámos que os rendimentos dos cicloaductos eram superiores quando se utilizava a termólise convencional, apesar ainda ter-se recuperado esteroide por reagir.

Novos derivados de esteroides hexacíclicos foram obtidos de forma estereosseletiva nomeadamente o 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona, o (S)-7-benzil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona e 2-fenil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-3-dicarboxilato de etilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona com rendimentos moderados e bons.

Verificamos também que os 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis com substituintes metilo ou benzilo em C-3 participam igualmente em reações de migração sigmatrópica [1,8]H envolvendo o sistema de oito eletrões  $\pi$  do 1,7-dipolo, formando assim os correspondentes *N*-vinilpirazóis.

Através do trabalho realizado alargou-se o estudo de reatividade para outras duas sulfonas de 2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazóis em condições de irradiação de micro-ondas. Foi possível observar a reação de cicloadição [ $8\pi + 2\pi$ ] do anião metil 1,2-diazafulvénio, por eliminação de dióxido de enxofre do 6-fenil-2,2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole-7-dicarboxilato de etilo formando-se assim o 2-fenil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-3-dicarboxilato de etilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona e o 1-clorometil-3-fenil-5-metil-1*H*-pirazole-4-dicarboxilato de etilo como composto secundário com rendimentos de 70% e 15%, respetivamente. No entanto, as mesmas condições para a reação do 7-fenil-2-dioxo-1*H*,3*H*-pirazolo[1,5-*c*]tiazole-6-dicarboxilato de etilo, apenas se formou o 1-clorometil-4-fenilo-5-metil-1*H*-pirazole-3-dicarboxilato de etilo com um rendimento de 17%, possivelmente devido ao impedimento estéreo.

A hidrólise de alguns destes novos esteroides hexacíclicos foi igualmente efetuada de forma a modelar a hidrofobicidade destes compostos.

Presentemente, está a ser estudado o potencial efeito dos novos esteroides hexacíclicos em linhas de células tumorais.

## Capítulo 4

### Parte Experimental

---

4.1	Aparelhagem Utilizada	73
4.2	Solventes e Reagentes	74
4.3	Procedimentos experimentais	75
4.3.1	Síntese de Ácidos 1,3-Tiazolidina-4-carboxílicos	75
4.3.2	Síntese de Ácidos <i>N</i> -Nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílicos	76
4.3.3	Síntese de 4 <i>H</i> ,6 <i>H</i> -Tiazolo[3,4- <i>c</i> ][1,2,3]oxadiazol-7- <i>io</i> -3- <i>olatos</i>	78
4.3.4	Síntese de 1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -Pirazolo[1,5- <i>c</i> ]tiazole-6,7-dicarboxilatos de Dimetilo	79
4.3.5	Síntese de 2,2-Dioxo-1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> -pirazolo[1,5- <i>c</i> ]tiazóis	80
4.3.6	Síntese de novos derivados de esteroides via reações de cicloadição [8 $\pi$ + 2 $\pi$ ] de metil 1,2- diazafulvénios	81
4.3.7	Hidrólise de novos derivados esteroides hexacíclicos	85
	Referências	87

Neste capítulo encontram-se descritos os vários procedimentos experimentais das sínteses efetuadas ao longo deste trabalho. A caracterização dos compostos foi efetuada através de ponto de fusão, espectroscopia de ressonância magnética nuclear protónica (RMN  $^1\text{H}$ ) e de carbono 13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), espectroscopia de infra-vermelho (IV) e espectrometria de massa de alta resolução (EMAR).

#### **4.1 Aparelhagem utilizada**

##### **Pontos de Fusão**

Os pontos de fusão foram determinados num microscópio de placa aquecida Falc modelo Melting Point série n.º R132467, pelo método de capilar aberto.

##### **Espectroscopia de Infra-Vermelho**

Os espectros de infra-vermelho foram obtidos num espectrómetro Nicolet 6700 FTIR. Foram utilizadas pastilhas de KBr para os sólidos e os líquidos foram analisados utilizando pastilhas de KBr como suporte.

##### **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos nos espectrómetros Bruker Avance III, operando a 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) e a 100 MHz ( $^{13}\text{C}$ ).

O solvente utilizado foi clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), exceto nos casos indicados; os valores dos desvios químicos são apresentados em ppm relativamente ao padrão interno tetrametilsilano (TMS) e os valores das constantes de acoplamento ( $J$ ) são expressos em Hz.

##### **Espectrometria de Massa de Alta Resolução**

Os espectros de massa foram obtidos num espectrómetro de massa Bruker FTMS APEXIII com ionização por *electrospray* (ESI) ou HP 6890 Plus com ionização por impacto eletrónico (EI). Alguns espectros de massa foram também obtidos num espectrómetro de massa VG Micromass 7070E com o método de ionização por impacto eletrónico (IE).

##### **Micro-ondas**

As reações realizadas com irradiação por micro-ondas foram efetuadas num aparelho da marca Discover S-Class da CEM Focused Synthesis System.

## **Cromatografia**

Nas reações cuja evolução foi acompanhada por cromatografia em camada fina, utilizaram-se placas de sílica 60 F<sub>254</sub> em suporte de alumínio fornecidas pela Merck.

A maior parte dos compostos foi purificada por cromatografia em coluna de sílica, usando gel de sílica 60 (0.040-0.063 mm) fornecida pela Merck.

## **4.2 Solventes e Reagentes**

### **Acetato de Etilo**

Foi refluxado durante 3 horas na presença de carbonato de potássio e de seguida destilado.

### **Acetona**

Foi refluxada durante 3 horas na presença de carbonato de potássio, destilada e armazenada sobre peneiros moleculares 3 Å.

### **Diclorometano e clorofórmio**

Foram refluxados na presença de cloreto de cálcio durante 3 horas, destilados e guardados sobre peneiros moleculares 4 Å.

### **Etanol e metanol**

Foram aquecidos a refluxo durante 2 horas com magnésio (5 g/l) na presença de pastilhas de iodo (0.5 g/l), seguindo-se a destilação a partir do alcóxido de sódio, e guardados sobre peneiros moleculares 3 Å.

### **Éter etílico, hexano, tolueno**

Foram refluxados na presença de fios de sódio, utilizando benzofenona como indicador, destilados e guardados sobre peneiros moleculares 4 Å.

Todos os outros solventes e reagentes foram fornecidos pela Aldrich, Merck ou Fluka e utilizados diretamente, sem qualquer tipo de purificação adicional.

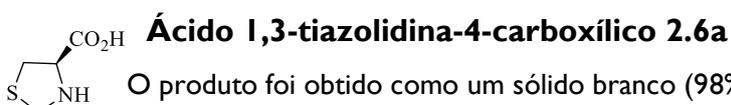
## 4.3 Procedimentos experimentais

### 4.3.1 Síntese de Ácidos 1,3-Tiazolidina-4-carboxílicos

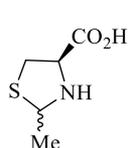
#### Procedimento geral

A síntese dos compostos **2.6a-c** e **2.11** foi efetuada com base num procedimento da literatura, com pequenas alterações.<sup>1</sup> A uma solução de *L*-cisteína (4.8 g, 40 mmol) em água (40 mL) adicionar uma solução de aldeído (40 mmol) em etanol (30 mL). A mistura ficou em agitação reacional durante a noite à temperatura ambiente. Filtrar o sólido obtido e lavar com éter etílico.

Se o produto não precipitar durante a reação, evaporar à secura e recrystalizar com etanol e éter etílico.

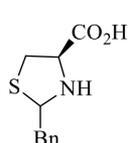


O produto foi obtido como um sólido branco (98%). RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) 2.99-3.02 (2H, m), 3.72-3.75 (1H, m), 4.22 (1H, d, *J* = 9.6 Hz), 4.38 (1H, d, *J* = 9.6 Hz).<sup>2</sup>



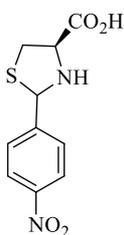
#### **Ácido 2-metil-1,3-tiazolidina-4-carboxílico 2.6b**

O produto foi isolado por filtração e o composto foi obtido como um sólido branco (99%). O espectro de RMN <sup>1</sup>H mostra a presença de dois diastereoisómeros (razão 10:90): (isómero minoritário) RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 1.36 (3H, d, *J* = 4 Hz), 3.13-3.16 (2H, m), 4.12 (1H, q, *J* = 8.0 Hz), 4.64 (1H, q, *J* = 8.0 Hz); (isómero maioritário) RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>) 1.48 (3H, d, *J* = 4 Hz), 3.21-3.25 (2H, m), 3.82 (1H, q, *J* = 8.3 Hz), 4.47 (1H, q, *J* = 4.0 Hz).



#### **Ácido 2-benzil-1,3-tiazolidina-4-carboxílico 2.6c**

O produto foi obtido como um sólido amarelo pálido (99%).



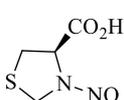
### Ácido 2-(4-nitrofenil)-1,3-tiazolidina-4-carboxílico 2.11

O produto foi obtido como um sólido branco (99%) (lavagem com éter etílico); o espectro de RMN  $^1\text{H}$  mostra a presença de dois diastereoisômeros (razão 76:24): (isômero minoritário) RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) 3.32-3.38 (2H, m), 4.12 (1H, t,  $J = 6.4$  Hz), 5.67 (1H, s), 7.68 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz), 8.19 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz); (isômero maioritário) RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ) 3.11 (2H, t,  $J = 9.6$  Hz), 3.97 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz), 5.67 (1H, s), 7.84 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz), 8.22 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz).

## 4.3.2 Síntese de Ácidos N-Nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílicos

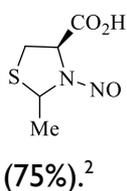
### Procedimento I

A síntese dos compostos **2.6a** e **2.6b** foi efetuada com base num procedimento da literatura, com pequenas alterações.<sup>2</sup> Adicionar lentamente ácido clorídrico concentrado a uma suspensão de ácido 3-tiazolidina-4-carboxílico (**2.6a** ou **2.6b**) (123.7 mmol) em água (126 mL) até a dissolução completa da suspensão. Manter a mistura reacional com agitação vigorosa e adicionar lentamente, com funil de adição, uma solução de nitrito de sódio (17.0 g, 2 eq., 247.4 mmol) em água (63 mL). Imediatamente após a adição da solução observa-se a libertação vigorosa de  $\text{N}_2\text{O}_4$  e a diminuição da intensidade da cor vermelha da solução inicial. A mistura reacional é agitada durante 12 h à temperatura ambiente. No final da reação extrair com acetato de etilo (3 x 80 mL), juntar os extratos orgânicos, lavar com água (80 mL) e com solução saturada de cloreto de sódio (80 mL). Secar a fase orgânica com sulfato de magnésio anidro e evaporar.



### Ácido N-nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílico 2.7a

O produto foi purificado por cristalização com éter de petróleo e obtido como um sólido amarelo (67%). O espectro de RMN  $^1\text{H}$  mostra a presença de dois isômeros rotacionais (razão 53:47): RMN  $^1\text{H}$  (isômero maioritário) 3.30-3.48 (2H, m), 4.49 (1H, d,  $J = 11.7$  Hz), 4.88 (1H, d,  $J = 11.7$  Hz), 4.95 (1H, aprox. t,  $J = 7.1$  Hz); RMN  $^1\text{H}$  (isômero minoritário) 3.30-3.48 (2H, m), 5.28 (1H, d,  $J = 10.4$  Hz), 5.67 (1H, d,  $J = 10.4$  Hz), 5.85 (1H, aprox. t,  $J = 4.4$  Hz).

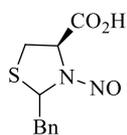


### Ácido 2-metil-3-nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílico 2.7b

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:1), acetato de etilo-hexano (3:1)] e obtido como um óleo cor de laranja (75%).<sup>2</sup>

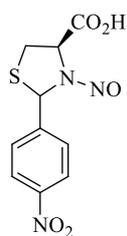
#### Procedimento 2

A síntese dos compostos **2.7c** e **2.12** foi efetuada com base num procedimento da literatura, com pequenas alterações.<sup>3</sup> A uma solução de ácido 3-tiazolidina-4-carboxílico (**2.7c** ou **2.12**) (45 mmol) em DME (400 mL) adicionar uma solução nitrito de isoamilo (67 mmol) foram preparados por adaptação de um procedimento descrito na literatura. Agitar a mistura reacional durante a noite à temperatura ambiente. Evaporar o solvente. Lavar a fase orgânica com solução de HCl 1M (3 x 10 mL) e extrair a fase orgânica com acetato de etilo (3 x 20 mL). Secar a fase orgânica com sulfato de sódio anidro e evaporar. Purificar os produtos por cromatografia em coluna.



### Ácido 2-benzil-N-nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílico 2.7c

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:3), acetato de etilo-hexano (1:2), acetato de etilo-hexano (1:1)] e obtido como um óleo cor de laranja (71%). IV (filme de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 700, 1234, 1438, 1452, 1737, 2940 e 3446 cm<sup>-1</sup>. RMN <sup>1</sup>H: 2.75-2.80 (1H, m), 2.99 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 12.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3.8 Hz), 3.42-3.50 (1H, m), 3.73 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 13.6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3.4 Hz), 4.13 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 14.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7.0 Hz) 4.91-4.93 (1H,m), 5.93-5.96 (1H,m), 7.28-7.33 (6H, m). EMAR (ESI-TOF) *m/z*: calculado para C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S [M+H<sup>+</sup>] 253.06414, encontrado 253.06293.



### Ácido 2-(4-nitrofenil)-N-nitroso-1,3-tiazolidina-4-carboxílico 2.12

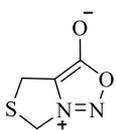
O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:2), acetato de etilo-hexano (1:1)] e obtido como um sólido cor de laranja (78%). p.f.: 135.1-137.6 °C (recristalização com éter de petróleo-éter etílico); IV (KBr) 809, 1207, 1346, 1463, 1600, 1687, 1729, 2948 e 3172 cm<sup>-1</sup>. RMN <sup>1</sup>H mostra a presença de dois diastereoisómeros (razão 56:44): (isómero minoritário) (DMSO) 3.63-3.68 (1H, m), 6.16-6.18 (1H, m), 6.46 (1H, s), 7.68 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.19 (2H, d, *J* = 8.8 Hz); isómero maioritário (DMSO) 3.29-3.32 (1H, m), 3.52-3.56 (1H, m), 5.02 (1H, t, *J* = 6.4 Hz), 7.30 (1H,s), 7.97 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 8.30 (2H, d, *J* = 8.8 Hz); RMN <sup>13</sup>C (isómero minoritário) 32.2; 64.7, 66.6, 124.1, 128.0, 145.2, 147.5, 171.1; (isómero maioritário) 31.3;

62.4, 67.5, 124.3, 129.3, 146.7, 148.0, 168.5. EMAR (ESI-TOF)  $m/z$ : calculado para  $C_{10}H_9N_3O_5S$   $[M+H^+]$  284.03357, encontrado 284.03441.

### 4.3.3 Síntese de 4*H*,6*H*-Tiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazol-7-*io*-3-olatos

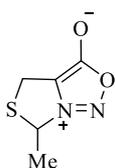
#### Procedimento geral

Os 4*H*,6*H*-tiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazol-7-*io*-3-olatos foram preparados por adaptação de um procedimento descrito na literatura.<sup>2</sup> A uma suspensão de ácido *N*-nitroso-tiazolidina-4-carboxílico (**2.7a-c**) (21.65 mmol) em éter etílico (230 mL) a 0 °C adicionar lentamente anidrido trifluoroacético (3.1 mL, 21.65 mmol). Agitar a mistura reacional durante 6 h a 0 °C. Aquecer à temperatura ambiente e agitar durante 24 h. Evaporar o solvente, adicionar H<sub>2</sub>O (20ml) e hidrogenocarbonato de sódio (NaHCO<sub>3</sub>) até atingir o pH neutro. Extrair a fase orgânica com acetato de etilo, secar com sulfato de magnésio anidro e evaporar o solvente.



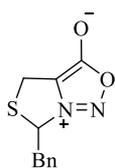
#### 4*H*,6*H*-Tiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazol-7-*io*-3-olato **2.8a**

O produto precipitou no meio reacional. Foi filtrado e lavado com éter etílico frio (76%).



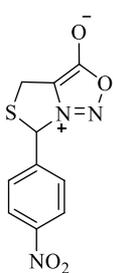
#### 6-Metil-4*H*,6*H*-tiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazol-7-*io*-3-olato **2.8b**

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:1), 1), acetato de etilo-hexano (2:1)] para dar um sólido (60%). RMN <sup>1</sup>H 1.97 (3H, d, *J* = 6.4), 4.02 (2H, d, *J* = 1.7), 5.81-5.87 (1H, m). RMN <sup>13</sup>C 21.8, 24.6, 63.2, 108.4, 163.5.



#### 6-Benzil-4*H*,6*H*-tiazolo[3,4-*c*][1,2,3]oxadiazol-7-*io*-3-olato **2.8c**

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:2)] para dar um sólido branco (90%). p.f.: 63.2-64.8 °C (recristalização com éter etílico); IV (KBr) 705, 1025, 1309, 1511, 1739 e 2965 cm<sup>-1</sup>. RMN <sup>1</sup>H 3.40 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 13.6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2 Hz), 3.49 (2H, d, *J* = 4.8 Hz), 3.70 (1H, d, *J* = 13.6 Hz), 5.96-5.99 (1H,m), 7.21-7.22 (2H, m), 7.33-7.34 (5H,m). EMAR (ESI-TOF)  $m/z$ : calculado para  $C_{11}H_{10}N_2O_2S$   $[M+H^+]$  235.08996 encontrado 235.09095.



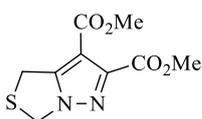
### 6-(4-nitrofenil)-4H,6H-tiazolo[3,4-c][1,2,3]oxadiazol-7-ilo-3-olato 2.13

O produto precipitou no meio reacional. Foi filtrado e lavado com éter etílico frio (94%). p.f.: 63.2-65.5 °C (recristalização com éter etílico); IV (KBr) 736, 1029, 1307, 1527, 1747 e 2967  $\text{cm}^{-1}$ . RMN  $^1\text{H}$  4.23 (1H, d,  $J = 13.6$  Hz), 4.37 (2H, dd,  $J_1 = 14$  Hz,  $J_2 = 1.8$  Hz), 7.49 (1H, s), 7.90 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz), 8.30 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz). RMN  $^{13}\text{C}$  25.3, 66.7, 110.7, 124.2, 129.3, 142.2, 148.4, 162.6

## 4.3.4 Síntese de 1H,3H-Pirazolo[1,5-c]tiazole-6,7-dicarboxilatos de Dimetilo

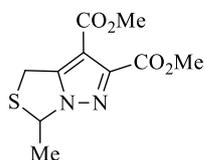
### Procedimento geral

Preparar uma solução do 4H,6H-tiazolo[3,4-c][1,2,3]oxadiazol-7-ilo-3-olato (2.8a-c) (9.00 mmol) e acetilendicarboxilato de dimetilo (1.7 mL, 1.6 eq., 14.50 mmol) em xileno (7.5 mL). Refluxar sob atmosfera inerte durante 3 h. Arrefecer à temperatura ambiente, evaporar o solvente e isolar os produtos por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano].<sup>2</sup>



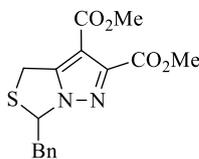
### 1H,3H-Pirazolo[1,5-c]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo 2.19a

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:2), acetato de etilo-hexano (1:1) e acetato de etilo] e foi obtido como um sólido branco (90%). RMN  $^1\text{H}$  3.86 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.31 (2H, aprox. t,  $J = 2.0$ ), 5.25 (2H, aprox. t,  $J = 2.0$ ).



### 3-Metil-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo 2.9b

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:1) e acetato de etilo-hexano (2:1)] e foi obtido como um sólido branco (41%). RMN  $^1\text{H}$  1.88 (3H, d,  $J = 4.0\text{Hz}$ ), 3.85 (3H, s), 3.96 (3H, s), 4.24 (1H, dd,  $J_1 = 1.3$  e  $J_2 = 15.3$ ), 4.32 (1H, dd,  $J_1 = 2.4$  e  $J_2 = 15.3$ ), 5.62 (1H, d,  $J = 4.0\text{Hz}$ ).



### 3-Benzil-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo 2.9c

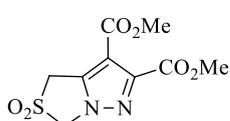
O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (2:1)] e foi obtido como um sólido branco (70%). p.f.: 119.7-121.1 °C (recristalização com éter etílico). IV (KBr) 696, 1074, 1141, 1228, 1436, 1693 e 1741  $\text{cm}^{-1}$

<sup>1</sup>. RMN <sup>1</sup>H 3.36 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 13.6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 7.2 Hz), 3.54 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 14.0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2.8 Hz), 3.70 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 15.2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2.4 Hz), 3.81 (3H, s), 3.99 (3H, s), 5.78-5.80 (1H, m), 7.09-7.26 (6H, m). RMN <sup>13</sup>C 27.4, 42.6, 51.9, 52.7, 66.7, 76.7, 77.0, 77.2, 77.3, 108.2, 127.6, 128.5, 129.8, 134.0, 148.0, 149.3, 161.7, 161.8. EMAR (EI-TOF) *m/z*: calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S [M+H<sup>+</sup>] 332.0831 encontrado 332.0833.

#### 4.3.5 Síntese de 2,2-Dioxo-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazóis

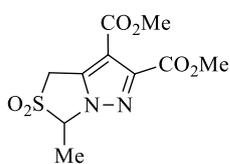
##### Procedimento da Oxidação com MCPBA

A uma solução do 1H,3H-pirrolo[1,2-c]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo (**2.9a-c**) apropriado (1.23 mmol) em diclorometano (8.6 mL), sob atmosfera inerte e à temperatura de 0 °C, adicionar lentamente ácido 3-cloroperoxibenzóico (3 eq., 3.60 mmol). Aquecer à temperatura ambiente e agitar a mistura reacional durante 3 h. No final da reação lavar a mistura com uma solução aquosa de bissulfito de sódio a 10% (m/v) (2 x 20 mL) e com uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio a 10% (m/v) (2 x 20 mL). Secar a fase orgânica com sulfato de magnésio anidro e evaporar o solvente. Purificar os produtos por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano] quando necessário. As alterações das condições experimentais para algumas sínteses, no que se refere a quantidade de oxidante e tempo de reação, estão devidamente assinaladas.<sup>2</sup>



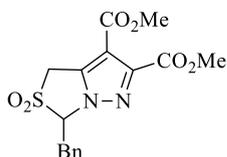
##### 2,2-Dioxo-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo **2.1a**

Este composto foi preparado através do procedimento geral descrito, exceto que foram utilizados 3 equivalentes de MCPBA e a mistura reacional foi agitada durante 4 h. O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:1), acetato de etilo-hexano (2:1) e acetato de etilo] e foi obtido como um sólido branco (67%). RMN <sup>1</sup>H 3.88 (3H, s), 3.98 (3H, s), 4.70 (2H, s), 5.25 (2H, s).



##### 3-Metil-2,2-dioxo-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo **2.1b**

O produto foi purificado cristalização com éter etílico e foi obtido como um sólido branco (57%). RMN <sup>1</sup>H 1.89 (3H, d, *J* = 6.6), 3.87 (3H, s), 3.98 (3H, s), 4.65 (2H, s), 5.22 (1H, q, *J* = 6.6).



### 3-Benzil-2,2-dioxo-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazole-6,7-dicarboxilato de dimetilo 2.1c

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [acetato de etilo-hexano (1:1), acetato de etilo-hexano (2:1)] e foi obtido como um sólido branco (71%). p.f.: 148.6-150.1 °C (recristalização com éter etílico). IV (KBr) 557, 1145, 1253, 1349, 1575, 1727 e 2952  $\text{cm}^{-1}$ . RMN  $^1\text{H}$  3.56-3.60 (1H,m), 3.78 (1H, dd,  $J_1 = 14.8$  Hz,  $J_2 = 2.4$  Hz), 3.84 (3H,s), 3.97 (1H, d,  $J = 16.4$  Hz), 4.01 (1H, s), 4.47 (1H, d,  $J = 16.4$  Hz), 5.36 (1H, dd,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 2.8$  Hz), 7.19-7.20 (2H, m), 7.28-7.30 (3H, m). RMN  $^{13}\text{C}$  35.2, 52.1, 52.3, 111.7, 128.2, 128.9, 130.0, 131.5, 139.0, 146.2, 160.8, 161.4. EMAR (ESI)  $m/z$ : calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$  [M+H $^+$ ] 365.08018 encontrado 365.08023.

#### 4.3.6 Síntese de novos derivados de esteroides *via* reações de cicloadição [ $8\pi + 2\pi$ ] de aniões metil 1,2- diazafulvénio

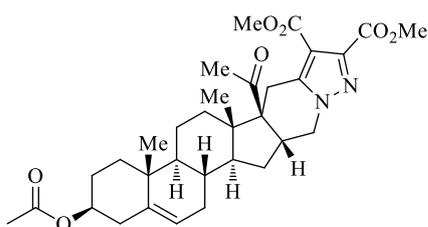
##### Procedimentos para a cicloadição [ $8\pi + 2\pi$ ]

##### Método a: Procedimento geral para a síntese assistida por micro-ondas

Preparar uma suspensão do 2,2-dioxo-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazole (**2.1a-c**) (1 eq., 0.28 mmol) e do dipolarófilo (16-DPA) (1 eq., 0.28 mmol) em 1,2,4-triclorobenzeno (1 mL). A reação é irradiada num aparelho de micro-ondas durante 10 – 20 minutos a 250 °C. Arrefecer à temperatura ambiente. Os produtos são purificados por cromatografia.<sup>4</sup>

##### Método b: Procedimento geral para as condições convencionais

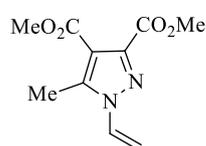
Preparar uma suspensão do 2,2-dioxo-1H,3H-pirazolo[1,5-c]tiazole (**2.1a-c**) (1 eq., 0.28 mmol) e do dipolarófilo (16-DPA) (1 eq., 0.28 mmol) em 1,2,4-triclorobenzeno (1 mL). Colocar a mistura reacional a refluxo durante 4 horas. Arrefecer à temperatura ambiente.



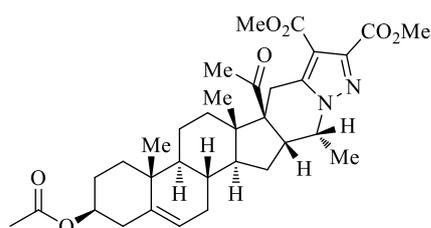
### 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona 2.3a

O produto foi purificado por cromatografia em coluna [hexano, acetato de etilo-hexano (1:1) e acetato de etilo-hexano (1:2)] e foi obtido como um sólido branco: **Método a** 68% e **Método b** 73%. p.f.: 258.1-260.2 °C (recristalização com éter etílico). IV (KBr) 1084, 1221, 1249, 1493, 1693, 1728, 1740 e 2943  $\text{cm}^{-1}$ . RMN  $^1\text{H}$  0.75 (3H, s), 0.91-0.97 (1H, m), 1.01 (3H, s), 1.12-1.59 (7H,

m), 1.63-1.96 (7H, m), 2.02 (3H, s), 2.20 (3H, s), 2.28-2.35 (2H, m), 3.28 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 3.34 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 3.78-3.79 (1H, m), 3.80 (1H, dd,  $J_1 = 13.2$  Hz,  $J_2 = 7.2$  Hz), 3.86 (3H, s), 3.92 (3H, s), 4.32 (1H, dd,  $J_1 = 13.2$  Hz,  $J_2 = 6.4$  Hz), 4.55-4.61 (1H, m), 5.33 (1H, d,  $J = 4.0$  Hz). RMN  $^{13}\text{C}$  16.6, 19.3, 20.7, 21.4, 24.8, 27.6, 27.7, 31.1, 31.8, 33.0, 36.1, 36.5, 36.9, 38.0, 46.1, 49.3, 51.4, 51.8, 52.3, 66.4, 73.7, 110.5, 121.9, 139.7, 142.4, 143.4, 162.3, 170.5, 207.6. EMAR (ESI)  $m/z$ : calculado para  $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_7$   $[\text{M}+\text{H}^+]$  567.30648 encontrado 567.30492.



**2-Metil-1-vinil-1H-pirrole-3,4-dicarboxilato de dimetilo 2.21 e mistura de 7-metil-4,5,6,7-tetratahidropirazolo[1,5- $\alpha$ ]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona 2.3b**

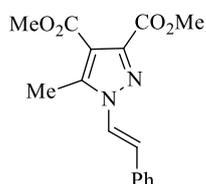


Os produtos foram separados por cromatografia em coluna [hexano, acetato de etilo-hexano (1:1) e acetato de etilo-hexano (1:2)] para dar, por ordem de eluição, o 2-metil-1-vinil-1H-pirrole-3,4-dicarboxilato de dimetilo **2.21** (20%) como um sólido branco e uma mistura de diastereoisômeros 7-metil-4,5,6,7-tetratahidropirazolo[1,5- $\alpha$ ]piridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona **2.3b** (**Método a** 37% (75:25) e **Método b** 41% (98:2), como um óleo.

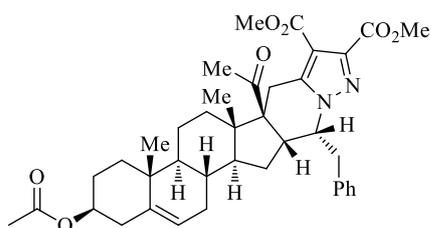
2-metil-1-vinil-1H-pirrole-3,4-dicarboxilato de dimetilo **2.21**: RMN  $^1\text{H}$  2.54 (3H, s), 3.83 (3H, s), 3.93 (3H, s), 5.12 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz), 5.93 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz), 6.94 (1H, dd,  $J_1 = 16.0$  Hz e  $J_2 = 10\text{Hz}$ ).

Diastereoisômero maioritário (*R*)-7-metil-4,5,6,7-tetratahidropirazolo[1,5- $\alpha$ ]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona **2.3b**: IV (KBr) 1029, 1184, 1477, 1700, 1729, 1741 e 2946  $\text{cm}^{-1}$ . RMN  $^1\text{H}$  0.75 (3H, s), 0.81-0.85 (1H, m), 0.97 (3H, s), 1.08-1.60 (11H, m), 1.69 (11H, d,  $J = 6.4$  Hz), 2.01 (3H, s), 2.21 (3H, s), 2.45 (1H, d,  $J = 16.8$  Hz), 3.46 (1H, d,  $J = 10.8$  Hz), 3.87 (3H, s), 3.93 (3H, s) 4.07-4.11 (2H, m) 4.53-4.59 (1H, m) 5.27 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz). RMN  $^{13}\text{C}$  14.02, 16.4, 19.0, 20.8, 21.1, 23.1, 27.3, 27.5, 31.5, 31.9, 36.2, 36.6, 37.8, 43.6, 46.3, 49.0, 51.5, 52.2, 52.2, 54.9, 60.1, 65.4, 73.5, 109.6, 121.9, 139.3, 142.4, 143.8, 162.8, 163.1, 170.1, 170.8, 207.4. EMAR (ESI)  $m/z$ : calculado para  $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_7$   $[\text{M}+\text{H}^+]$  581.3213 encontrado 581.32062.

Diastereoisómero minoritário (*S*)-7-metil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona **2.20**: RMN <sup>1</sup>H 0.72 (3H, s), 0.81-0.85 (1H, m), 1.01 (3H, s), 1.08-1.60 (11H, m), 1.69 (11H, d, *J* = 6.4 Hz), 2.02 (3H, s), 2.16 (3H, s), 2.44 (1H, d, *J* = 17.2 Hz), 3.29-3.44 (1H, m), 3.69 (1H, d, *J* = 8.4 Hz) 3.83 (3H, s), 3.90 (3H, s) 4.54-4.58 (1H, m), 5.35 (1H, d, *J* = 4.4 Hz).



**1-Estiril-1H-pirazole-3,4-dicarboxilato de dimetilo 2.22 e o (S)-7-benzil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona 2.3c**



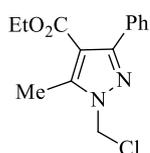
Os produtos foram separados por cromatografia em coluna [hexano, acetato de etilo-hexano (1:1) e acetato de etilo-hexano (1:2)] para dar, por ordem de eluição, o 1-estiril-1H-pirazole-3,4-dicarboxilato de dimetilo **2.22**

(35%) e o (*S*)-7-benzil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona **2.3c** (**Método a** 35% e **Método b** 34%), ambos como sólidos brancos.

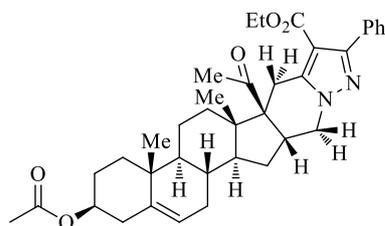
1-estiril-1H-pirazole-3,4-dicarboxilato de dimetilo **2.22**.p.f.: 126.0-128.2 °C literatura<sup>6</sup>; IV (KBr) 757, 937, 1087, 1216, 1392, 1556, 1718 e 1739 cm<sup>-1</sup>; RMN <sup>1</sup>H 2.62 (3H,s), 3.86 (3H, s), 3.96 (3H, s), 7.26-7.46 (7H, m); RMN <sup>13</sup>C 10.6, 30.9, 52.7, 113.0, 123.1, 126.7, 128.5, 128.9, 134.2, 143.0, 144.5, 162.8, 163.1, 207.0. EMAR (EI) *m/z*: calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>] 300.1110 encontrado 300.1111.

(*S*)-7-benzil-4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-*a*]piridina-2,3-dicarboxilato dimetilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona **2.3c**: p.f.: 110.1-111.9 °C (recristalização com éter etílico). IV (KBr) 1176, 1213, 1243, 1454, 1704, 1761 e 2948 cm<sup>-1</sup>. RMN <sup>1</sup>H 0.63 (3H,s), 0.78-0.88 (4H, m), 0.95 (3H, s), 1.52-1.68 (3H, m), 1.79-1.86 (5H, m), 2.01 (3H, s), 2.12 (3H, s), 2.53 (2H, d, *J* = 11.2 Hz), 2.37 (1H, d *J* = 17.2 Hz), 3.02 (1H, dd, *J*<sub>1</sub> = 13.2 Hz, *J*<sub>2</sub> = 12.8 Hz), 3.34 (1H, d, *J* = 9.6Hz), 3.87 (3H, s), 3.94 (3H, s), 3.99 (1H, d, *J* = 4.4 Hz), 4.11 (1H, d, *J* = 17.2 Hz), 4.21 (1H, d, *J* = 5.6 Hz), 4.53-4.57 (1H, m), 5.27 (1H, s), 7.26-7.28 (3H, m), 7.32-7.36 (2H,m). RMN <sup>13</sup>C 16.6, 19.2, 20.7, 21.4, 22.6, 23.3, 25.2, 25.8, 27.4, 27.6, 29.0, 31.7,

32.0, 32.7, 35.4, 36.4, 36.8, 37.9, 40.7, 46.6, 49.1, 51.8, 52.4, 52.6, 60.7, 65.4, 110.0, 122.0, 126.9, 128.7, 129.1, 136.9, 139.5, 142.5, 144.3, 163.0, 163.4, 170.4, 207.6. EMAR (ESI)  $m/z$ : calculado para  $C_{39}H_{48}N_2O_7$   $[M+H^+]$  657.35343 encontrado 657.35192.



**1-Clorometil-3-fenil-5-metil-1H-pirazole-4-dicarboxilato de etilo 2.23 e o 2-fenil-4,5,6,7-tetratahidropirazolo[1,5- $\alpha$ ]piridina-3-dicarboxilato de etilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona 2.3d**

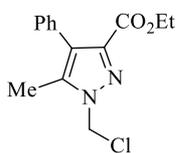


Os produtos foram separados por cromatografia em coluna [hexano, acetato de etilo-hexano (1:1) e acetato de etilo-hexano (1:2)] para dar, por ordem de eluição, o 1-clorometil-3-fenil-5-metil-1H-pirazole-4-dicarboxilato de

etilo- **2.23** (15%) como sólido branco e o fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona **2.3d** (70%) como sólido branco.

1-clorometil-3-fenil-5-metil-1H-pirazole-4-dicarboxilato de etilo **2.23**: IV (KBr) 1070, 1236, 1249, 1708 e 1731  $cm^{-1}$ ; RMN  $^1H$  1.19 (3H, t,  $J = 7.0$  Hz), 2.73 (3H, s), 4.22 (2H, q,  $J = 4.0$  Hz), 6.31 (3H, s), 7.39-7.62 (5H, m); EMAR (EI)  $m/z$ : calculado para  $C_{14}H_{15}ClN_2O_2$   $[M+H^+]$  278.0822 encontrado 278.0817.

2-fenil-4,5,6,7-tetratahidropirazolo[1,5- $\alpha$ ]piridina-3-carboxilato etilo fundido ao acetato de 16-desidropregnenolona **2.3d**: .p.f.: 113.7-115.9  $^{\circ}C$  (recristalização com éter etílico). IV (KBr) 1031, 1130, 1247, 1452, 1700, 1716, 1729 e 2940  $cm^{-1}$ ; RMN  $^1H$  0.77 (3H, s), 0.92-0.98 (1H, m), 1.02 (3H, s), 1.26-1.54 (7H, m), 1.59 (3H, s), 1.62-1.94 (7H, m), 2.03 (3H, s), 2.23 (3H, s), 2.29-2.32 (2H, m); 3.41 (2H, dd,  $J_1 = 24.2$  Hz,  $J_2 = 24.4$  Hz), 3.81-3.86 (1H, m), 4.27-4.32 (1H, m), 4.58-4.61 (1H, m), 5.34 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz), 7.36-7.37 (3H, m), 7.58-7.60 (2H, m). RMN  $^{13}C$  9.80, 14.1, 16.6, 19.3, 20.7, 21.4, 25.3, 27.7, 27.9, 31.2, 31.8, 31.9, 33.0, 36.3, 36.5, 37.0, 46.2, 49.4, 51.0, 60.0, 61.5, 63.8, 66.3, 73.7, 86.1, 107.5, 122.0, 127.6, 128.1, 129.5, 133.1, 139.6, 143.7, 163.9, 166.3, 170.5, 208.2. EMAR (ESI)  $m/z$ : calculado para  $C_{37}H_{46}N_2O_5$   $[M+H^+]$  599.34795 encontrado 599.34715.

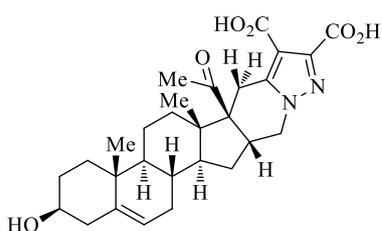


## 1-clorometil-4-fenil-5-metil-1H-pirazole-3-dicarboxilato de etilo

### 2.24

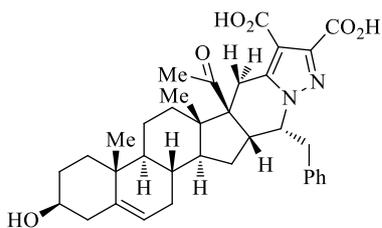
Depois de arrefecer à temperatura ambiente purificar a mistura reacional por cromatografia em coluna [hexano] para remover o 1,2,4-triclorobenzeno e seguidamente eluir com [acetato de etilo-hexano (1:1) e acetato de etilo-hexano (2:1)]. O produto foi obtido como um sólido branco (17%); IV (KBr) 1184, 1249, 1295, 1727  $\text{cm}^{-1}$ . RMN  $^1\text{H}$  1.50 (3H, t,  $J = 7.2\text{Hz}$ ), 2.27 (3H, s), 4.20 (2H, dd,  $J_1 = 14.0\text{ Hz}$ ,  $J_2 = 14.2\text{ Hz}$ ), 6.29 (3H, s), 7.18-7.33 (5H, m).

### 4.3.7 Hidrólise dos novos derivados esteroides hexacíclicos



#### Ácido 4,5,6,7-tetrahidropirazolo[1,5-a]piridina-2,3-dicarboxílico fundido ao 16-dehidropregnenolona

Preparar uma solução do composto derivado de esteroide (**2.3a**) (1 eq., 0.176 mmol) em etanol (5 mL). Adicionar lentamente uma solução saturada de KOH, deixar agitar a mistura reacional à temperatura ambiente durante 90 minutos e controlar por TLC. Acidificar com solução de ácido clorídrico (1M) e extrair com acetato de etilo. Após a evaporação formou-se um sólido branco que foi lavado com éter etílico (64%). p.f.: 260.2- 262.5 (recristalização com éter etílico); IV (KBr) 1051, 1207, 1238, 1498, 1600, 1702, 1720, 2933 e 3424  $\text{cm}^{-1}$ . RMN  $^1\text{H}$  0.65 (3H, s), 0.85 (1H, s), 0.93 (3H, s), 1.27-1.56 (7H, m), 1.63-1.98 (7H, m), 2.04- 2.07 (1H, m), 2.12 (3H, s), 3.25-3.34 (2H, m), 3.50-3.54 (2H, m), 3.78-3.83 (1H, m), 4.31-4.35 (1H, m) 5.23 (1H, s); RMN  $^{13}\text{C}$  14.0, 16.0, 19.1, 20.3, 24.6, 27.6, 30.7, 31.2, 31.3, 32.2, 35.8, 36.0, 36.9, 42.1, 45.3, 48.9, 50.7, 51.1, 55.0, 59.7, 66.5, 66.9, 110.7, 120.0, 141.3, 164.1, 164.6, 208.0; EMAR (ESI)  $m/z$ : calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{H}^+]$  497.26461 encontrado 497.26374.



#### Ácido (S)-7-benzil-4,5,6,7-tetratahidropirazolo[1,5-a]piridina-2,3-dicarboxílico fundido ao 16-dehidropregnenolona

Preparar uma solução do composto derivado de esteroide (**2.3a**) (1 eq., 0.176 mmol) em etanol (5 mL). Adicionar lentamente uma solução saturada de KOH, deixar agitar a mistura reacional à temperatura ambiente durante 3 h e controlar por TLC. Acidificar com solução de ácido clorídrico (1M) e extrair com acetato de etilo. Secar com sulfato de magnésio anidro, evaporar o solvente.

Após a evaporação formou-se um sólido branco que foi lavado com éter etílico (50%).pf.: 241.7-245.3 °C; IV (KBr) 1432, 1496, 1637, 1716, 2937, 3446  $\text{cm}^{-1}$ .RMN  $^1\text{H}$  0.39 (1H, dd,  $J_1 = 4.8 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 10.6 \text{ Hz}$ ), 0.58-0.59 (1H, m), 0.88 (1H, s), 0.92-0.95 (3H, m), 1.07-1.01 (4H, m), 1.17-1.39 (4H, m), 1.56-1.80 (6H, m), 2.00-2.03 (1H, m), 2.09 (3H, s), 2.72 (1H,  $J_1 = 16.4 \text{ Hz}$ ), 3.00 (1H, dd,  $J_1 = 13.6 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 10 \text{ Hz}$ ), 3.24-3.29 (2H,m), 3.74 (1H, dd,  $J_1 = 14 \text{ Hz}$ ,  $J_2 = 4.6 \text{ Hz}$ ), 5.16 (1H, s), 7.27-7.34 (5H, m); RMN  $^{13}\text{C}$  16.3,19.0, 27.4, 31.3, 31.4, 34.7, 35.9, 35.7, 38.9, 39.1, 39.9, 40.1, 40.4, 46.0, 49.1, 52.4, 59.9, 65.6, 69.8, 110.4, 119.9, 126.5, 128.4, 129.2, 137.3, 141.2, 142.1,145.6, 164.2, 164.7, 207.0 EMAR (ESI)  $m/z$ : calculado para  $\text{C}_{35}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{H}^+]$  587.31156 encontrado 587.3117.

## Referências

1. SOARES, Maria I.L.; PINHO E MELO, Teresa M. V. D.; *et al.*, - **Chiral 6,7-bis(hydroxymethyl)-1H,3H-pyrrolo[1,2-c]thiazoles with anti-breast cancer properties**. Eur. J. of Medicinal Chem. 60 (2013) 254-262.
2. SOARES, Maria I. L. - **A química de dipolos conjugados na síntese de pirróis e pirazóis**. Tese de Doutorado. (2007) 38-45.
3. APPLEGATE, Jacqueline; TURNBULL, Kenneth - **The eficiente Synthesis of 3-arylsydnonones under neutral conditions**. Synthesis. 12 (1988) 1011-1012.
4. SOARES, Maria I. L.; PINHO E MELO, Teresa M. V. D. - **Microwave-induced Pericyclic Reactions of Aza- and Diazafulvenium Methides**. Current Microwave Chemistry. 1 (2014) 22-32.

