

JOÃO LUCAS BRUNO PRATES

Síntese de compostos bioativos e sondas fluorescentes contendo boro com
aplicação contra *Mycobacterium tuberculosis*

Tese apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Jean Leandro dos
Santos

Araraquara

2022

P912s	Prates, João Lucas Bruno Síntese de compostos bioativos e sondas fluorescentes contendo boro com aplicação contra Mycobacterium tuberculosis / João Lucas Bruno Prates. -- Araraquara, 2022 206 f. : il. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara Orientador: Jean Leandro dos Santos 1. Tuberculose. 2. Mycobacterium tuberculosis. 3. Química farmacêutica. 4. Corantes fluorescentes. 5. Síntese orgânica. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Síntese de compostos bioativos e sondas fluorescentes contendo boro com aplicação contra *Mycobacterium tuberculosis*"

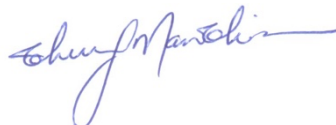
AUTOR: JOÃO LUCAS BRUNO PRATES

ORIENTADOR: JEAN LEANDRO DOS SANTOS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



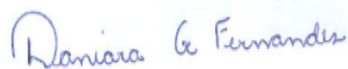
Prof. Dr. JEAN LEANDRO DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Farmacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara



Profa. Dra. CHUNG MAN CHIN (Participação Virtual)
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara



Profa. Dra. JEANINE GIAROLLA VARGAS (Participação Virtual)
Departamento de Farmácia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP - São Paulo



Profª. Drª. DANIARA CRISTINA FERNANDES (Participação Virtual)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - IFSP - Matão


Profa. Dra. Amanda Danuello Pivatto

Profa. Dra. AMANDA DANUELLO PIVATTO (Participação Virtual)
Instituto de Química - UFU - Uberlândia

Araraquara, 08 de junho de 2022

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO:

Nome: João Lucas Bruno Prates
Nome em citações bibliográficas: PRATES, J. L. B.; PRATES, JOÃO LUCAS BRUNO; BRUNO PRATES, JOÃO LUCAS; PRATES, JOÃO, J. L.
e-mail: joao.prates@unesp.br

ENDEREÇO PROFISSIONAL:

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Instituto de Química de Araraquara
Unesp – Campus Araraquara
Jardim Quitandinha
14800-900 – Araraquara, SP – Brasil
Telefone: (16) 3301-9500; Rama: 6962

FORMAÇÃO ACADÊMICA:

2017 – 2022

Doutorado em Química

Instituto de Química Unesp Araraquara, IQ/Ar, Brasil.

Título: Planejamento, síntese e avaliação anti-*M. tuberculosis* de derivados de ácidos borônicos

Orientador: Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos

Bolsa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

2015 – 2017

Mestrado em Química

Instituto de Química Unesp Araraquara, IQ/Ar, Brasil.

Título: Síntese de derivados piridínicos inspirados na (–)-espectralina na busca de *hits* para doenças negligenciadas

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vanderlan da Silva Bolzani

Coorientadora: Dr^a. Marília Valli

Bolsa: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.

2010 – 2014

Graduado em Licenciatura em Química

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba – MG, Brasil.

Título: Desenvolvimento de membranas assimétricas produzidas através do acetato de celulose oriundo do pseudocaule da bananeira

Orientador: Prof. Dr. Daniel Alves Cerqueira

Bolsa: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR:

10/2021 – 01/2022

Estágio

Faculdade de Ciências, Universidade de la República, Montevideo – Uruguai

Atividade: Síntese de moléculas BODIPY como marcadores fluorescentes, para investigação e estudo farmacocinético de compostos bioativos

Supervisor: Prof. Dr. Hugo Cerecetto Meyer

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos:

1. **PRATES, J. L. B.**; PAVAN, A. R.; SANTOS, J. L. Boron in medicinal and organic chemistry. **Current Organic Chemistry**, v. 25, n. 16, p. 1853–1867, 2021.
2. FERNANDES, G. F. S.; CAMPOS, D. L.; SILVA, I. C.; **PRATES, J. L. B.**; PAVAN, A. R.; PAVAN, F. R.; SANTOS, J. L. Benzofuroxan derivatives as potent agents against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. **ChemMedChem**, v. 16, n. 8, p. 1268–1282, 2021.
3. ASSE JUNIOR, L. R.; KRONENBERGER, T.; SERAFIM, M. S. M.; SOUSA, Y. V.; FRANCO, I. D.; VALLI, M. BOLZANI, V. S.; MONTEIRO, G. C.; **PRATES, J. L. B.**; KROON, E. M.; MOTA, B. E. F.; FERREIRA, D. S.; OLIVEIRA, R. B.; MALTAROLLO, V. G. Virtual screening of antibacterial compounds by similarity search of Enoyl-ACP reductase (FabI) inhibitors. **Future Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 51–68, 2020.

Trabalhos apresentados na forma de pôster em eventos científicos:

1. **PRATES, J. L. B.**; PIVATTO, A. D.; AGUIAR, A. C. C.; MONTEIRO, G. C.; VALLI, M.; LOTUFO, L. V. C.; GUIDO, R. V. C.; BOLZANI, V. S. Pyridine synthetic derivatives inspired in the alkaloid (–)-spectaline and their antichagasic, antimalarial, and leishmanicidal actives. *8TH Brazilian Symposium in Medicinal Chemistry (BrazMedChem)*, Armação dos Búzios, Brasil, 2016.
2. **PRATES, J. L. B.**; MORAIS, L. C.; GELAMO, R. V.; CERQUEIRA, D. A. Desenvolvimento de biobaterias produzidas a partir de membranas poliméricas obtidas pela inversão de fases. *XXII Jornada de Iniciação Científica*, Uberaba, Brasil, 2014.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS:

8TH Brazilian Symposium in Medicinal Chemistry (BrazMedChem), 2016, Armação dos Búzios – RJ.

XXII Jornada de Iniciação Científica, 2014, Uberaba – MG.

Outros:

XVI Encontro Nacional dos Grupos PET (ENAPET), 12 a 16 de julho de 2011, Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia – GO.

IV Encontro dos grupos PET de Minas Gerais (Uai PET), 23 a 25 de março de 2012, Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), Diamantina – MG.

PARTICIPAÇÃO EM BANCAS:

Trabalho de Conclusão de Curso:

1. **PRATES, J. L. B.**; PAVAN, A. R.; SANTOS, J. L. Participação em banca de Andressa Francielli Bonjorno. Síntese de novos derivados nitroimidazooxazina planejados para o tratamento da tuberculose. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara – SP, Brasil.
2. **PRATES, J. L. B.**; PAVAN, A. R.; SANTOS, J. L. Participação em banca de Ana Gabriele de Campos Godoy. Síntese de novos antivirais derivados da lamivudina direcionados ao sistema linfático para o tratamento da infecção pelo HIV. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara – SP, Brasil.
3. **PRATES, J. L. B.**; PAVAN, A. R.; SANTOS, J. L. Participação em banca de Max Gerlack. Síntese de inibidores duais como agentes reversores de latência para HIV. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas,

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara – SP, Brasil.

4. **PRATES, J. L. B.**; LOPES, J. R.; SANTOS, J. L. Participação em banca de Beatriz Silva Urias. Síntese de Inibidores seletivos HDAC 1 e 2 para o tratamento dos sintomas da anemia falciforme. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara – SP, Brasil.
5. **PRATES, J. L. B.**; ROCHA, M. C. O.; SILVA, P. B. Participação em banca de Ana Carolina Lopes Silva. Sistema lipídico nanoestruturado como carreador para derivado furoxânico aplicável no estudo frente *Mycobacterium tuberculosis*. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara – SP, Brasil.
6. **PRATES, J. L. B.**; LOPES, J. R.; SANTOS, J. L. Participação em banca de Thaís Ajonas Lavez. A atenção farmacêutica na síndrome metabólica associada a pacientes soropositivos. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara – SP, Brasil.
7. **PRATES, J. L. B.**; CHIBA, D. E.; SANTOS, J. L. Participação em banca de Mateus Greco de Oliveira. Síntese de novos derivados da pomalidomida doadores de óxido nítrico para o tratamento dos sintomas da anemia falciforme. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara – SP, Brasil.

Avaliador em eventos Científicos:

1. **PRATES, J. L. B.** Avaliador dos trabalhos apresentados no XXXII Congresso de Iniciação Científica da Unesp. 2020.

ORGANIZAÇÃO DE EVENTOS, CONGRESSOS, EXPOSIÇÕES E FEIRAS:

1. **PRATES, J. L.B.**; SILVA, L. A. Dia do Químico, Uberaba – MG, Brasil. 2012. (Exposição).
2. **PRATES, J. L.B.**; SILVA, L. A. III Encontro da Rede Mineira de Química, Uberaba – MG, Brasil. 2012. (Exposição).
3. **PRATES, J. L.B.**; SILVA, L. A. III Feira de Profissões dos Cursos de Graduação da UFTM, Uberaba – MG. 2012.

SUPERVISÃO CIENTÍFICA:

Trabalho de Conclusão de Curso:

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêutica de Araraquara, FCF/Ar, Araraquara – SP, Brasil.

Aluna: Priscilla Romano

Título: Síntese de derivados benzofuroxânicos com atividade anti-*M. tuberculosis*.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia e Bioquímica). 2021.

Coorientador: Me. João Lucas Bruno Prates

“Dedico este trabalho aos meus pais, João Luiz e Regina Lucia, as minhas irmãs Érica e Eliane, por serem meus exemplos, apoio e incentivo... e por último, mas não menos importante, aos meus lindos sobrinhos Lorenzo e Rebeca”.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus pela saúde e luz para guiar os meus passos nesta jornada tão difícil.

Ao meu orientador, prof. Dr. Jean Leandro dos Santos, pela orientação, confiança e por mostrar, de forma paciente, o lado lindo e importante da ciência, mesmo com todas suas dificuldades.

Aos Meus amigos do Lapdesf: Aline, Andressa, Beatriz Urias (Bea), Barbara, Chiba, Guilherme, Juliana e Maria, pelas discussões e esclarecimentos das nossas sínteses de cada dia, além das boas risadas e desabafos nos momentos de desespero...estou rindo de desespero, tá?

Ao Prof. Dr. Fernando Pavan pelos ensaios biológicos.

A Ma. Debora Leite pela realização dos ensaios biológicos e, também, pela amizade.

Ao Prof. Dr. Hugo Cerecetto, pela orientação e todo suporte necessário, que fez com que meu estágio em Montevideo, torna-se mais prazeroso.

Aos amigos da Faculdade de Ciências, da Universidade de la República, de Montevideo: Marcos, Gonzalo, Helena, Angel, por todo suporte na síntese das minhas moléculas e, também, dos bons momentos no almoço e nos bares da vida.

A minha amiga-irmã Brenda por todo companheirismo, assistência, dos momentos de desabafo, das cantorias no cacarejo, dos rolês aleatórios e com o copo sempre cheio e a cerveja gelada.

Aos amigos que Araraquara me deu: Laíza, Tiago, Amandinha, Mayra, Renan, Bruna, Íris, Noely, Everton, Max, Marayla e Expedito.

Aos meus velhos amigos Alana, Érika, Isabella, Karen, Max, Vitor, Luís Paulo, Mari e Vitor (Mari).

Aos meus amigos de UFTM, Ana, Andressa Joyce, Igor, Francielle (Fran), Gabrielle (Gabi), Fernando (Gali), Gáveni, Wesley, Alessandra, Dani e Samira.

Ao meu amigo-irmão Moizés Rodrigues.

Aos professores da minha graduação (UFTM) por todo auxílio e incentivo.

A minha linda família, meus pais, minhas irmãs, meus sobrinhos e meu cunhado, que, independentemente de tudo, estamos sempre unidos.

Aos meus primos Angélica, Fabrício e Danilo.

Aos meus amigos de Serrana, Sandra, Claudinei, Rodolfo.

Ao presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance code 001.

“Os químicos são uma estranha classe de mortais, impelidos pelo impulso quase insano a procurar seus prazeres em meio a fumaça e vapor, fuligem e chamas, venenos e pobreza, e, no entanto, entre todos esses males, tenho a impressão de viver tão agradavelmente que preferiria morrer a trocar de lugar com o rei da Pérsia”.

(Johann Joachim Becher – Physica Subterrânea).

RESUMO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa transmitida por micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, sendo a principal espécie a *M. tuberculosis* (*Mtb*). No ano de 2020, foram notificados cerca de 10 milhões de casos, com 1,5 milhão de óbitos, por todo mundo. O tratamento de primeira linha é realizado com os seguintes fármacos: isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida. Entretanto, com o surgimento de cepas multirresistentes a fármacos (MDR-TB) e extensivamente resistente a fármacos (XDR-TB) a busca de novos compostos mais efetivos e seguros para o tratamento da TB se tornou uma emergência de Saúde Pública. Estudos demonstram que derivados de ácidos borônicos, como benzoboroxois, se apresentam como promissores agentes anti-*Mtb*, principalmente contra cepas resistentes. Um dos exemplos, é o composto GSK656, descrito em 2017 por pesquisadores da empresa farmacêutica *GlaxoSmithKline* (GSK) que apresentou potente atividade anti-MTB contra cepas multi-resistentes. Além disso, pequenas moléculas contendo boro, denominadas como BODIPY, tem propriedades fluorescentes que são capazes de ligar-se em proteínas alvo e produzir fluorescência, se tornando uma ferramenta essencial para investigação do alvo de compostos bioativos, bem como contribuir com os estudos farmacocinéticos. Nosso grupo de pesquisa tem trabalhado na síntese de derivados benzofuroxânicos, devido sua atividade promissora anti-MTB. Dessa forma, este trabalho consiste na otimização estrutural de derivados benzofuroxanos aplicando a estratégia de substituição bioisotérica deste grupo pelo benzoboroxol e ácido borônico, além de núcleos BODIPYs. Assim, neste trabalho foram sintetizados derivados de ácidos borônicos inéditos (**30-41**), com rendimentos variando entre 22% a 62%, bem como dois derivados benzoboroxois inéditos (**45** e **46**), com rendimentos entre 31% e 15%, respectivamente. Ademais, foram sintetizados três núcleos BODIPYs (**47-49**). Os compostos finais (**30-41** e **45**) foram submetidos a ensaios para avaliar seus efeitos antimicobacterianos usando cepas de MTB H₃₇Rv. Apenas o composto **30** apresentou atividade com valor de CIM₉₀ igual a 23,79 µg/mL. Os demais apresentam CIM₉₀ superior a 25,00 µg/mL, sendo considerado inativos contra *M. tuberculosis*. Um estudo, para determinação do coeficiente de partição (clog P) foi realizado com auxílio do programa pkCSM, revelando que os derivados ácidos borônicos e benzoboroxois, apresentam menor clog P, em comparação com seus respectivos benzofuroxânicos, o que pode justificar a baixa atividade e/ou a inatividade destes compostos.

Palavras-chave: Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, Química farmacêutica, Corantes fluorescentes, Síntese orgânica.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is an infectious disease transmitted by mycobacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* complex, the main species being *M. tuberculosis* (MTB). In 2020, about 10 million cases were reported, with 1.5 million deaths, worldwide. First-line treatment is performed with the following drugs: isoniazid, rifampicin, ethambutol and pyrazinamide. However, with the emergence of multidrug-resistant (MDR-TB) and extensively drug-resistant (XDR-TB) strains, the search for new, more effective and safer compounds for the treatment of TB has become a Public Health emergency. Studies show that boronic acid derivatives, such as benzoboroxols, are promising anti-MTB agents, especially against resistant strains. One of the examples is the compound GSK656, described in 2017 by researchers from the pharmaceutical company GlaxoSmithKline (GSK) that showed potent anti-MTB activity against multi-resistant strains. Furthermore, small boron-containing molecules, termed as BODIPY, have fluorescent properties that can bind to target proteins and produce fluorescence, making them an essential tool for investigation of the target of bioactive compounds, as well as pharmacokinetic studies. Our research group has been working on the synthesis of benzofuroxane derivatives, due to their promising anti-MTB activity. Thus, this work consists of the structural optimization of benzofuroxane derivatives applying the strategy of bioisosteric substitution of this group by benzoboroxol and boronic acid, in addition to BODIPYs nuclei. Thus, in this work, unpublished boronic acid derivatives (**30-41**) were synthesized, with yields ranging from 22% to 62%, as well as two unpublished benzoboroxoyl derivatives (**45** and **46**), with yields between 31% and 15%, respectively. In addition, three BODIPY nuclei were synthesized (**47-49**). Final compounds (**30-41** and **45**) were subjected to antimycobacterial assay using MTB H₃₇Rv strains. Only compound **30** showed activity with an MIC₉₀ value equal to 23.79 µg/mL, the others showed an MIC₉₀ greater than 25.00 µg/mL, being considered inactive for *M. tuberculosis*. A study to determine the partition coefficient (clog P) was carried out with the aid of the pkCSM program, which revealed that boronic acids and benzoboroxoyls have lower clog P compared to their respective benzofuroxanes, which may explain the low activity and/or inactivity of these compounds.

Keywords: Tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, Pharmaceutical chemistry, Fluorescent dyes, Organic synthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Bacilo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	30
Figura 2 – Parede da <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	31
Figura 3 – Ciclo de infecção da <i>M. tuberculosis</i> no pulmão do hospedeiro	33
Figura 4 – Estrutura química do furoxano, benzofuroxano e dos derivados BZ8 e 1 anti-TB.38	
Figura 5 – Estrutura química dos derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois aprovados pela FDA.....	39
Figura 6 – Estrutura química do GSK656 e sua ligação com AMP.....	40
Figura 7 – Estrutura química dos ácidos borônicos e benzoboroxois di- e multiméricos	41
Figura 8 – Estrutura química do ácido borônico e sua dissociação em água.	43
Figura 9 – Estrutura química dos BODIPYS substituídos e suas propriedades espectroscópicas.....	51
Figura 10 – Interação da sonda QTF na parede celular da <i>M. tuberculosis</i>	52
Figura 11 – a) Divisão do bacilo <i>M. tuberculosis</i> e incidência de fluorescência nos polos e septos. b) Intensidade de fluorescência em função do tempo de maturação do bacilo	53
Figura 12 – Espectro de RMN ^1H do composto 14 (600 MHz) na região dos hidrogênios metilênicos (H_8 e H_9) e seus respectivos deslocamentos químicos.....	83
Figura 13 – Espectro de RMN ^1H do composto 14 (600 MHz) na região dos hidrogênios aromáticos, com seus respectivos deslocamentos químicos	84
Figura 14 – Espectro de RMN ^1H do composto 20 (600 MHz) na região dos hidrogênios aromáticos (H_3 , H_4 e H_7) e os hidrogênios da amina primária (H_1).	91
Figura 15 – Espectro de RMN ^1H do composto 30 (600 MHz) na região dos hidrogênios aromáticos (H_3 , H_5 , H_6 e H_7), o hidrogênio da amida (H_9), e os hidrogênios das hidroxilas (H_1).	100
Figura 16 – Espectro HMBC do composto 30 , em J_3 entre H_9 , C_{11} e C_{15} , e J_2 entre H_9 e C_8 101	
Figura 17 – Espectro RMN ^1H do composto biaril	113
Figura 18 – Espectro RMN ^1H do intermediário (42)	115
Figura 19 – Espectro RMN ^1H (300 MHz) dos intermediários 42 e 43	119
Figura 20 – Espectro RMN ^1H (300 MHz) do intermediário 44	123
Figura 21 – Espectro RMN ^1H (600 MHz) do derivado benzoboroxol 46	128
Figura 22 – Espectro RMN ^1H (600 MHz) do derivado benzoboroxol 46	129
Figura 23 – Valores do CIM_{90} , clog P e solubilidade dos compostos 30-41 , 45 e dos seus respectivos derivados benzofuroxãos	142

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – a) Mecanismo de ação de degradação de β -lactâmicos pela enzima β -lactamase. b) Inibição da atividade da enzima β -lactamase pela ligação com derivados de ácido borônico.....	42
Esquema 2 – a) Ciclo catalítico da reação de borilação de Miyaura, b) Esquema reacional das metodologias para obtenção do ácido borônico.....	45
Esquema 3 – Ciclo catalítico da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura	46
Esquema 4 – Estrutura química do ácido fenilborônico e benzoboroxol e a dissociação do benzoboroxol em água	47
Esquema 5 – Rota sintética para obtenção do benzoboroxol	48
Esquema 6 – Planejamento da série de derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois pela técnica do bioisosterismo.	49
Esquema 7 – Estrutura química do núcleo BODIPY e sua primeira rota sintética	51
Esquema 8 – Planejamento sintético das sondas fluorescentes BODIPYs acoplada aos derivados benzofuroxano, ácido borônico e benzoboroxol.....	55
Esquema 9 – Esquema geral de síntese das séries: 1) derivados ácidos borônicos; 2) derivados benzoboroxois e 3) sondas florescentes BODIPYs	65
Esquema 10 – Metodologia sintética para obtenção dos compostos nitro aromáticos (14-19).....	66
Esquema 11 – Metodologia sintética para obtenção dos intermediários aminas aromáticas (20-25)	67
Esquema 12 – Metodologia sintética de proteção dos ácidos borônicos comerciais	68
Esquema 13 – Metodologia sintética para obtenção dos produtos finais derivados ácidos borônicos (30-41).....	69
Esquema 14 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário éster borônico (42).....	70
Esquema 15 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário (43).....	70
Esquema 16 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário benzoboroxol (44).....	71
Esquema 17 – Metodologia sintética para obtenção dos derivados benzoboroxois (45 e 46).....	72
Esquema 18 – Metodologia sintética para obtenção do BODIPY-Cl.....	73
Esquema 19 – Metodologia sintética para obtenção do anidrido succínico (47)	74

Esquema 20 – Metodologia sintética para obtenção do anidrido ftálico (48)	75
Esquema 21 – Metodologia sintética para obtenção dos núcleos BODIPY-ácido succínico e BODIPY-ácido ftálico	76
Esquema 22 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário (49)	77
Esquema 23 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário (50)	78
Esquema 24 – Metodologia sintética para obtenção da sonda fluorescente BODIPY-GF12	79
Esquema 25 – Mecanismo da reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) de adição eliminação	80
Esquema 26 – Mecanismo da reação de redução de Béchamp	88
Esquema 27 – Mecanismo da reação de esterificação dos ácidos borônicos	85
Esquema 28 – Mecanismo da reação de acoplamento para formação da amida, dos compostos 30-41	96
Esquema 29 – Mecanismo da reação radicalar de bromação para obtenção do intermediário 43	117
Esquema 30 – Mecanismo da reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) para obtenção do hidroxibenzoato e formação do íon boronato	121
Esquema 31 – Mecanismo da reação de hidrólise e ciclização para obtenção do intermediário benzoboroxol 44	122
Esquema 32 – Mecanismo da reação de acoplamento entre intermediário 44 com as aminas aromáticas 20 e 23 , para obtenção dos compostos finais 45 e 46	126
Esquema 33 – a) Mecanismo de reação de S_EAr em cloretos ácidos e b) S_EAr em compostos anidridos	134
Esquema 34 – Metodologia de síntese via S_N2 para formação da sonda BODIPY-GF12	136
Esquema 35 – a) Mecanismo de reação de S_N2 para obtenção do intermediário 49 e b) S_N2 para formação do intermediário 50	137
Esquema 36 – Metodologia de síntese via cicloadição azida-alcino “Click Chemistry” para formação da sonda BODIPY-GF12	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estrutura química e mecanismo de ação dos fármacos de primeira linha	35
Tabela 2 – Estrutura química e mecanismo de ação dos fármacos de segunda linha	36
Tabela 3 – Estrutura química, características e rendimento global dos compostos 14-19	81
Tabela 4 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos 14 e 15	85
Tabela 5 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos 16 e 17	86
Tabela 6 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos 18 e 19	87
Tabela 7 – Estrutura química, característica e rendimento global dos compostos 20-25	89
Tabela 8 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos 20 e 21	92
Tabela 9 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos 22 e 23	93
Tabela 10 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos 24 e 25	94
Tabela 11 – Estrutura química, características, rendimento global dos compostos e as faixas de fusão dos compostos 30-41	97
Tabela 12 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais 30 e 31	102
Tabela 13 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais 32 e 33	103
Tabela 14 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais 34 e 35	104
Tabela 15 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais 36 e 37	106
Tabela 16 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais 38 e 39	107
Tabela 17 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais 40 e 41	108
Tabela 18 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos 30, 31 e 32	110
Tabela 19 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos 33, 34 e 35	110
Tabela 20 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos 36, 37 e 38	111
Tabela 21 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos 39, 40 e 41	111

Tabela 22 – Otimização das condições reacionais da síntese de borilação	114
Tabela 23 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do intermediário 42	115
Tabela 24 – Otimização das condições reacionais da síntese de bromação	118
Tabela 25 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do intermediário 43	120
Tabela 26 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do intermediário 44	123
Tabela 27 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais do composto 44	124
Tabela 28 – Estrutura química, características, rendimento global dos compostos e o ponto de fusão dos compostos 45 e 46	127
Tabela 29 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais 45 e 46	130
Tabela 30 – comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos composto 45 e 46	131
Tabela 31 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do BODIPY-Cl e BODIPY-ác. succínico	135
Tabela 32 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do BODIPY-ácido ftálico	135
Tabela 33 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H dos intermediários 49 e 50	138

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt – Acetato de etila

Ag 85C – Antígeno 85C

AIBN – 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila)

AMP – Adenosina monofosfato

BATSIs – *Boronic Acid Transition-State Inhibitors*

BEM – Etambutol

BDQ – Bedaquilina

Bfx – Benzofuroxano

BlaC – β -lactamase cromossômica

BODIPY – 4,4-difluoro-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno

BZ8 – (*E*)-6-((2-isonicotinoil hidrazona)metil)benzo[c][1,2,5]-oxadiazol-1-*N*-óxido

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CDI – 1,1'-carbonildiimidazol

CIM₉₀ – Concentração Inibitória mínima

DCM – diclorometano

DDQ – 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona

DIPEA – *N,N*-diisopropiletilamina

DMF – *N,N*-dimetilformamida

DMSO – dimetilsulfóxido

EDC – *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida hidrocloreto

Et₃N – Trietilamina

FDA – *Food and Drug Administration*

Fx – Furoxano

GSK – GlaxoSmithKline

GSK656 – (S)-3-(aminometil)-4-cloro-7-(2-hidroxietoxi)benzo[c][1,2]oxaborol-1(3*H*)-ol

Hex - Hexano

HIV – *Human Immunodeficiency Virus*

HOBt – 1-hidroxibenzotriazol

IFN- γ – Interferon- γ

INH – Isoniazida

IS – Índice de Seletividade

IV – Infravermelho

K_i – Constante de inibição

Lapdesf – Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos

LeuRS – Leucil-tRNA sintetase

LZD – Linezolida

mAG – micolil-arabinogalactano

MDR-TB – Tuberculose multirresistente à fármacos

MeOH – Metanol

MOX – Moxifloxacino

Mtb – *Mycobacterium tuberculosis*

NBS – *N*-bromossuccinimida

OMS – Organização Mundial da Saúde

PF – Proteínas fluorescentes

PZA – Pirazinamida

Q-Ter – trealose-DABCYL

QTF – *quencher*-trealose-fluoróforo

RIF – Rifampicina

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

S_EAr – Substituição Eletrofílica Aromática

S_NAr – Substituição Nucleofílica Aromática

S_N2 – Substituição Nucleofílica Bimolecular

t.a. – temperatura ambiente

t-BuOH – *terc*-butanol

TDM – Dimicolato de trealose

THF – Tetraidrofurano

TMM – trealose monomicolato

TNF- α – Fator de necrose tumoral- α

TB – Tuberculose

XDR-TB – Tuberculose extensivamente resistente à fármacos

WHO – *World Health Organization*

$\lambda_{\text{abs max}}$ – Comprimento de onda de absorção máxima

$\lambda_{\text{ems max}}$ – Comprimento de onda de emissão máxima

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	26
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	28
2.1 Tuberculose.....	28
2.1.1 Aspectos gerais.....	28
2.1.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> – Características estruturais.....	29
2.1.3 Ciclo de infecção da <i>Mycobacterium tuberculosis</i> no hospedeiro.....	31
2.1.4 Sintomas da TB.....	33
2.1.5 Tratamento.....	34
2.1.6 Novas alternativas para o tratamento da tuberculose.....	37
2.2 Ácidos borônicos e derivados.....	42
2.2.1 Benzoboroxol.....	47
2.2.2 Planejamento da síntese dos derivados ácidos borônicos e benzoboroxois....	48
2.3 Núcleo BODIPY como sondas fluorescentes para marcação de compostos anti-<i>Mycobacterium tuberculosis</i>.....	50
2.3.1 Planejamento da síntese das sondas fluorescentes BODIPYs.....	53
3. OBJETIVOS.....	55
3.1 Objetivo geral.....	55
3.2 Objetivos específicos.....	56
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	56
4.1 Reagentes e solventes.....	56
4.2 Métodos cromatográficos.....	59
4.3 Métodos espectrométricos.....	59
4.4 Determinação da faixa de fusão.....	61
4.5 Determinação das propriedades farmacocinéticas e toxicidades dos derivados ácidos borônicos e benzoboroxois.....	61
4.6 Avaliação biológica.....	61
4.6.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM ₉₀) frente a cepas de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ R _V	61

4.6.2 Ensaio de citotoxicidade (IC_{50}) e índice de seletividade (IS).....	62
4.7 Métodos sintéticos.....	63
4.7.1 Procedimento sintético da série dos compostos ácidos borônicos.....	65
4.7.1.1 Metodologia sintética para obtenção dos intermediários nitro aromáticos (14-19).....	65
4.7.1.2 Metodologia sintética para obtenção dos intermediários aminas aromáticos (20-25).....	66
4.7.1.3 Metodologia de proteção dos ácidos borônicos.....	67
4.7.1.4 Metodologia sintética para obtenção dos ácidos borônicos (30-41).....	67
4.7.2 Procedimento sintético da série dos compostos benzoboroxois.....	69
4.7.2.1 Metodologia sintética da reação de borilação de Miyaura para obtenção do intermediário éster borônico (42).....	69
4.7.2.2 Metodologia para obtenção do intermediário (43).....	70
4.7.2.3 Metodologia sintética para obtenção do intermediário benzoboroxol (44).....	71
4.7.2.4 Metodologia de síntese para obtenção dos compostos finais da série dos benzoboroxois (45 e 46).....	71
4.7.3 Procedimentos sintéticos para obtenção das sondas fluorescentes BODIPYs.....	73
4.7.3.1 Metodologia de síntese para obtenção do núcleo fluorescente BODIPY (47).....	73
4.7.3.2 Metodologia de síntese para obtenção dos núcleos fluorescentes BODIPYs (48-49).....	74
4.7.3.2.1 Metodologia sintética para obtenção do intermediário anidrido succínico	74
4.7.3.2.2 Metodologia sintética para obtenção do intermediário anidrido ftálico.....	74
4.7.3.2.3 Metodologia de síntese para obtenção dos núcleos BODIPYs (48-49).....	75
4.7.4 Metodologia sintética de acoplamento do compostos benzofuroxano GF-12 ao núcleo BODIPY (47), para obtenção da sonda fluorescente.....	76
4.7.4.1 Metodologia sintética para obtenção do intermediário (50).....	76
4.7.4.2 Metodologia sintética para obtenção do intermediário (51).....	77
4.7.4.3 Metodologia sintética para obtenção da sonda fluorescente BODIPY-GF1278	
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79

5.1 Síntese dos derivados ácidos borônicos.....	79
5.1.1 <i>Síntese dos intermediários nitro aromáticos (14-19).....</i>	79
5.1.2 <i>Síntese das aminas aromáticas (20-25).....</i>	87
5.1.3 <i>Síntese dos compostos finais ácidos borônicos (30-41).....</i>	94
5.2 Síntese dos derivados benzoboroxois.....	112
5.2.1 <i>Reação de borilação de Miyaura para obtenção do intermediário (42).....</i>	112
5.2.2 <i>Reação de bromação para obtenção do intermediário (43).....</i>	116
5.2.3 <i>Reação de substituição nucleofílica e hidrólise ácida para obtenção do intermediário benzoboroxol (44).....</i>	120
5.2.4 <i>Síntese de acoplamento para obtenção do derivados benzoboroxois (45 e 46).....</i>	125
5.3 Síntese de sonda fluorescente BODIPY-GF12.....	132
5.3.1 <i>Síntese dos núcleos BODIPYs (47-49).....</i>	132
5.3.2 <i>Síntese de acoplamento para obtenção da sonda BODIPY-GF12.....</i>	136
5.4 Ensaio de atividade anti-<i>Mycobacterium tuberculosis</i> e estudo de log P..	140
6. CONCLUSÕES.....	143
7. REFERÊNCIAS.....	145
8. ANEXOS.....	154

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa provocada por micobactérias, sendo a espécie *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) a responsável pelo maior número de mortes. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) foram registrados cerca de 10 milhões de casos da doença no ano de 2020 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). No Brasil, segundo os dados do Ministério da Saúde, foram mais de 66 mil casos com 4,5 mil mortes entre os anos de 2019 e 2020 (BRASIL, 2021).

A infecção por *Mtb* atinge principalmente os pulmões, causando a forma mais conhecida da doença, a tuberculose pulmonar. Entretanto, a infecção pode afetar outros órgãos como ossos, sistema urinário, sistema reprodutivo e sistema nervoso central, sendo assim conhecida como tuberculose extrapulmonar. A doença é transmitida quando o indivíduo com TB-pulmonar ativa expulsa, por tosse, espirro e/ou fala, os bacilos da *Mtb*. Os sintomas da TB podem ou não se manifestar clinicamente. Segundo a OMS, a maioria das pessoas infectadas são assintomáticas, e dados epidemiológicos sugerem que até um terço da população mundial esteja infectada com a micobactéria na sua forma latente. Destes indivíduos, apenas 5-10% desenvolverão sua forma ativa, sendo mais vulneráveis aqueles indivíduos com algum grau de imunossupressão (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

O tratamento da TB é realizado por um esquema de combinação de dois meses com os quatro fármacos de primeira linha: isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazidamida, seguindo mais quatro meses de manutenção com rifampicina e isoniazida. Contudo, devido a existência de cepas *Mtb* multirresistentes (MDR-TB) e extensivamente resistente (XDR-TB) à fármacos, o tratamento passa a ser empregado com fármacos de segunda linha como fluoroquinolonas, *d*-clicloserina, linezolida, bedaquilina e delamanida. Para o tratamento das formas resistentes o tratamento é mais prolongado podendo chegar a 28 meses. Além disso, inconvenientes como a maior probabilidade de efeitos adversos, custos devido ao longo tratamento e ineficácia contra micobactérias em estado de latência podem

limitar a eficácia e segurança do tratamento. Por isso, se torna necessário a busca por novos compostos bioativos (PROTOPOPOVA et al., 2007; ZUMLA; NAHID; COLE, 2013; TUBERCULOSIS, 2021).

Dentre os protótipos com atividade anti-*Mtb*, os compostos orgânicos contendo boro em suas estruturas, em especial ácidos borônicos e seus derivados, vêm ganhando destaque na Química Medicinal. O átomo de boro se comporta como ácido de Lewis, já que este dispõe de orbital *p* vazio, no qual resíduos de aminoácidos nucleofílicos se ligam de forma covalente reversível levando ao impedimento da atividade de enzimas essenciais para a funcionalidade de microrganismos. Além disso, os ácidos borônicos são moléculas estáveis, apresentam baixa toxicidade e são bem tolerados em sistemas biológicos (TRIPPIER; MCGUIGAN, 2010; HALL, 2011; DEFRANCESCO; DUDLEY; COCA, 2016).

O efeito antibacteriano dos ácidos borônicos e derivados têm sido descritos na literatura. Entre as ações, um dos derivados denominado benzoboroxol se mostrou como potente inibidor da enzima β -lactamases, responsáveis por conferir resistência às bactérias após o tratamento com antibióticos β -lactâmicos. Do ponto de vista do mecanismo de ação, os ácidos borônicos são capazes de fazer ligações covalentes com as hidroxilas dos polissacarídeos e lipídeos presentes na parede celular da *Mtb*, levando à interrupção das vias envolvidas na biossíntese da parede celular (KURZ et al., 2015; ALAM et al., 2016; GUY; GIBSON; FULLAM, 2019).

Estudos e pesquisas mostraram que os benzoboroxois também apresentam potencial antimicobacteriano por inibir a atividade da enzima leucil-tRNA, que promove o transporte sequenciado de aminoácidos para posterior síntese de proteínas. Ao formar ligação covalente com a hidroxila da ribose do nucleotídeo AMP, este impede o transporte do aminoácido e, conseqüentemente, a síntese de proteínas essenciais para a micobactéria (PALENCIA et al., 2016; LI et al., 2017).

Além das propriedades biológicas, pequenas moléculas contendo boro podem ser utilizadas como sondas fluorescentes, marcadores de proteínas alvos, e ainda na investigação da farmacocinética de novos fármacos, bem como no acompanhamento do crescimento bacteriano. O núcleo 4,4-difluoro-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno (BODIPY), é um fluoróforo formado pela junção entre dois anéis

pirróis contendo no anel central um átomo de boro. Sondas contendo boro tem ganhado destaque nos últimos anos pela suas propriedades espectroscópicas e fotoestabilidade. Recentemente, Hodges e pesquisadores (2018) desenvolveram uma sonda BODIPY acoplada a derivado de ácido micólico sintético e, através da biossíntese destes ácidos na parede celular, foi possível monitorar o crescimento e divisão micobacteriana (HODGES et al. 2018; KUMAR, NARAYAN, KAPOOR 2021).

Analisando os resultados promissores dos ácidos borônicos e benzoboroxois, bem como sondas de marcação, a presente pesquisa buscou o planejamento e síntese de novos derivados contendo o átomo de boro para serem explorados como agentes anti-*Mtb* frente a cepas MDR-TB e XDR-TB. Para aqueles compostos mais ativos foi acoplado o fluoróforo BODIPY para mapear o sítio de atuação destes na micobactéria, além de avaliar sua distribuição em modelos de animais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Tuberculose

2.1.1 Aspectos gerais

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa provocada por micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, dos quais englobam as espécies, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedi* e *Mycobacterium caprae*. Destas a *M. tuberculosis* é a mais conhecida por causar o maior número de mortes entre os indivíduos infectados (BROSCH et al., 2002; GUTIERREZ et al., 2005).

Segundo os dados da OMS foram registrados mais 10 milhões de casos da TB no mundo no ano de 2020, levando à óbito mais de 1,5 milhão de pessoas. Sendo que, cerca de 14% dos pacientes foram previamente diagnosticados com HIV/AIDS (TUBERCULOSIS, 2021). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, no ano de 2020 foram notificados mais de 68 mil casos, com cerca de 4,5 mil mortes naquele ano (BRASIL, 2021). A OMS classificou a tuberculose como a segunda

doença infecciosa que mais mata, ficando atrás apenas da COVID-19 (TUBERCULOSIS, 2021).

A infecção por *Mtb* pode ser pulmonar ou extrapulmonar. O indivíduo infectado pode ser assintomático ou sintomático, sendo que os sintomas mais comumente observados são: febre, tosse, suores noturnos e perda de peso. Em estágios mais avançados, o paciente pode ter expectoração com sangue. Apesar de ser uma doença com elevada taxa de remissão, quando mal ou não tratada apresenta altas taxas de letalidade (TUBERCULOSIS, 2021; BRASIL, 2021).

A TB é uma doença antiga, onde estudos de genética molecular, bem como sequenciamento de genoma, apontam a existência da *Mycobacterium tuberculosis* há mais de 3 milhões de anos, na África Oriental. No entanto, a micobactéria foi identificada no século XIX, mais precisamente em 1882, por Robert Koch. Durante o século XVIII, com o avanço da Revolução Industrial e a migração de pessoas do campo para as cidades, houve elevação do número de casos de TB na Europa Ocidental. Neste período, a doença ficou conhecida como a “Peste branca”. No Brasil, assim como toda América do Sul, a doença chegou junto com as navegações (CAMPOS, 1999; DONOGHE et al., 2004; DANIEL, 2006; DUCATI et al., 2006).

A relação de interação do bacilo com o homem ainda é incerta. A primeira espécie conhecida por parasitar animais foi a *Mycobacterium bovis*, contaminando bovinos e roedores. Estudos sugerem que a interação patogênica micobactéria-homem se originou da mutação de *Mycobacterium bovis*, devido à domesticação dos gados (CAMPOS, 1999).

2.1.2 *Mycobacterium tuberculosis* – Características estruturais

A *M. tuberculosis* é um bacilo em forma de bastonete com comprimento de 1,0 a 4,0 μm e largura de 0,3 a 0,6 μm (Figura 1), que pertence a classe das bactérias gram-positiva, ácido-álcool resistentes. Em outras palavras, *M. tuberculosis* é resistente a descoloração pelo corante fucsina. Apresentam crescimento lento, com divisão a cada 18 horas, são obrigatoriamente aeróbias, multiplicando-se em temperatura de 37 °C e pH neutro. Seu reservatório natural é o homem, alojando e

multiplicando nos alvéolos pulmonares, já que é um local que dispõe de altas demandas de oxigênio (CAMPOS, 1999).



Figura 1 – Bacilo *Mycobacterium tuberculosis*.

Fonte: [HISTORY OF TUBERCULOSIS]. **News Medical Life Sciences**. 16 sep. 2019. Disponível em: < <https://www.news-medical.net/health/History-of-Tuberculosis.aspx> > Acesso: 15 fev. 2022.

A micobactéria apresenta uma parede celular muito lipofílica, rica em ácidos graxos, lipídeos livres e outros compostos lipossolúveis, como: ácido *N*-glicolilmurâmico, ácidos micólicos (cadeias de 70 a 80 carbonos), os quais estão ligados ao polissacarídeo arabinogalactano. Na parede estão presentes ainda purinas que são proteínas responsáveis pelo controle da passagem de moléculas hidrofílicas através de canais iônicos (Figura 2). Estes canais são uma fonte importante de entrada de fármacos para o interior do bacilo, no entanto devido a barreira lipofílica do envoltório celular, torna-se difícil o acesso de fármacos no interior da micobactéria (CAMPOS, 1999; GOROCICA et al., 2005; BARRERA, 2007).

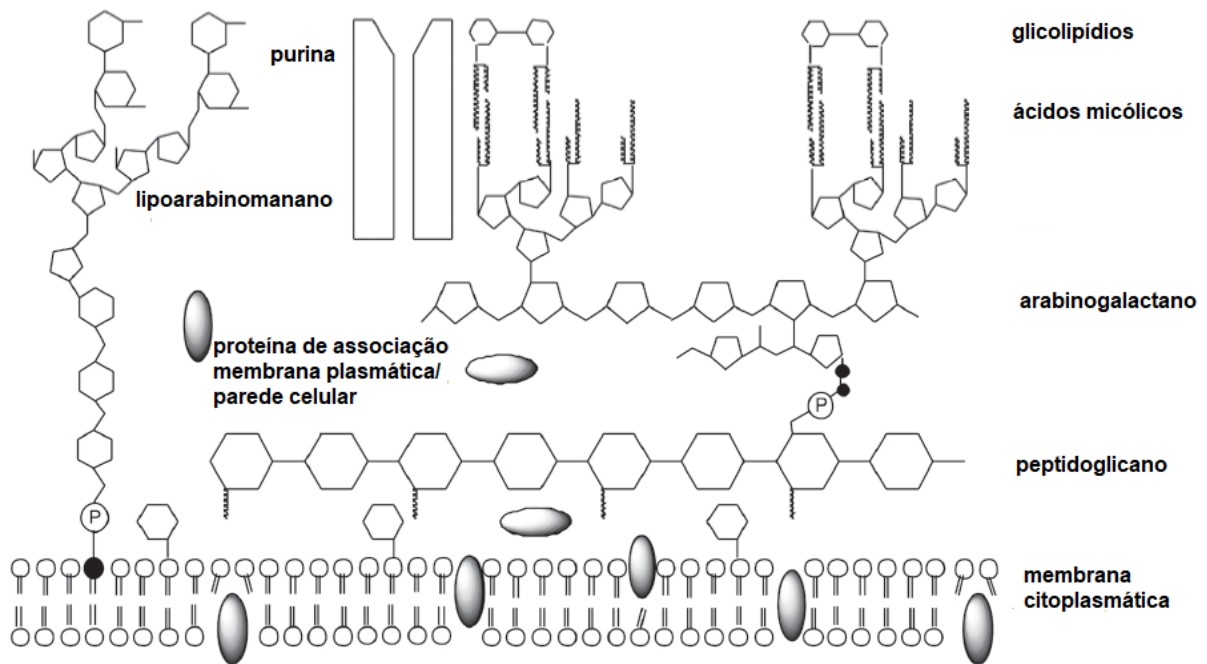


Figura 2 – Parede celular da *Mycobacterium tuberculosis*.

Fonte: Adaptado de CAMPOS (1999).

A parede celular é uma barreira física que tem por finalidade promover resistência à micobacteria, conferindo uma proteção que permite a sobrevivência do microrganismo no ambiente hostil de pH ácido e com baixa tensão de oxigênio, encontrado no interior dos macrófagos (CAMPOS, 1999). Ademais, essa barreira protege o *Mtb* contra a ação deletéria de agentes xenobióticos, a exemplo dos fármacos.

2.1.3 Ciclo de infecção da *Mycobacterium tuberculosis* no hospedeiro

Após a infecção do indivíduo com os bacilos, o *M. tuberculosis* migra para os alvéolos pulmonares e/ou para o sistema linfático. Nos alvéolos pulmonares, os bacilos alojam-se em macrófagos e induz a respostas imune nata, com a ativação de células T CD4⁺ e CD8⁺, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, como, fator de necrose tumoral (TNF- α) e interferon- γ (INF- γ) (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2017; HERNÁNDEZ-PANDO et al, 2007).

Estas citocinas pró-inflamatórias apresentam efeito citotóxico direto e induzem a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que são capazes de levar à morte uma boa parte dos bacilos; porém a outra parte consegue escapar dessa primeira linha de defesa no hospedeiro. Em uma segunda etapa, os bacilos que não foram eliminados são circundados pelas células de defesa formando um reservatório denominado de granuloma, em que o *Mtb* permanece em estágio de latência (CAMPOS, 1999; O’GARRA et al., 2013).

Além dos bacilos fagocitados, no granuloma estão presentes ainda células T CD4⁺ e CD8⁺ circundando o ambiente a fim de conter o crescimento micobacteriano. Neste estágio de latência, o ambiente é caracterizado pela baixa tensão de oxigênio, pH ácido e presença de substâncias que em altas concentrações são tóxicas, como óxido nítrico. No granuloma, a micobactéria é capaz de sobreviver ao ambiente por muito tempo, devido a existência de mecanismos de defesa, como seu próprio envoltório celular (ERNST, 2012; PAI et al., 2016; O’GARRA et al., 2013).

O desencadeamento da sua forma latente para ativa, depende do sistema imune do indivíduo. Estima-se que das pessoas TB-latente, 5-10% poderão desenvolver a forma ativa da doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). No caso de pessoas que não apresentam sistema imune comprometido, com o passar dos anos, ocorre o avanço da necrose caseosa e, por conseguinte, a morte dos bacilos resultantes com a calcificação e cicatrização do local da infecção (GROSSET, 2003).

Contudo, indivíduos com sistema imunocomprometido, as células dendríticas, bem como linfócitos e citocinas não são capazes de conter o crescimento bacilar, fazendo com que o granuloma perca sua estrutura permitindo a passagem de oxigênio. Nessa condição, os bacilos voltam a se multiplicar atingindo os brônquios e, também, podendo chegar na corrente sanguínea infectando outros órgãos. Neste estágio, o paciente torna-se sintomático. Pessoas vivendo com HIV, subnutridas e que fazem uso de fármacos imunossupressores são as mais vulneráveis (ERNST, 2012; PAI et al., 2016).

A Figura 3 ilustra a ciclo de infecção da *Mycobacterium tuberculosis* (TB pulmonar) no homem, bem como a condição da TB-latente e a reativação e o crescimento bacteriano.

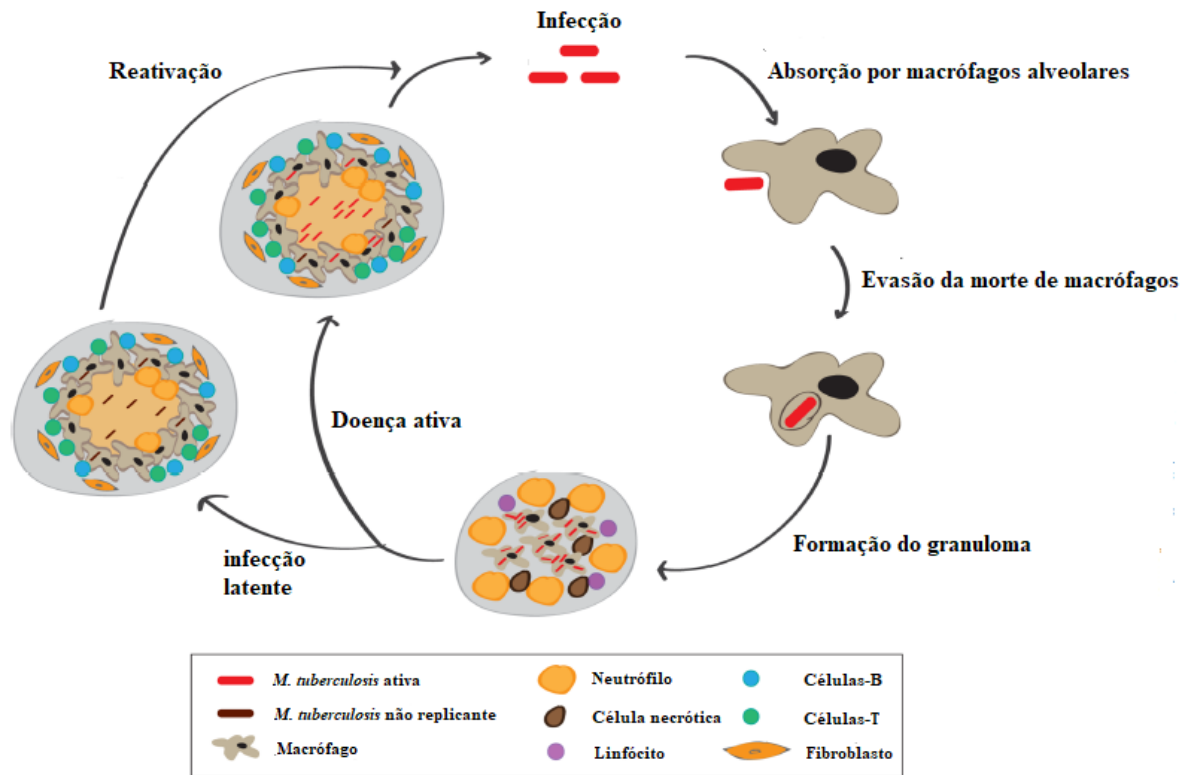


Figura 3 – Ciclo de infecção da *M. tuberculosis* no pulmão do hospedeiro.

Fonte: Adaptado de SAWYER; GRABOWSKA; CORTES (2018).

2.1.4 Sintomas da TB

A tuberculose apresenta sintomas comuns que podem ser confundidos com outras doenças, como por exemplo, gripe e resfriado. No entanto, com avanço da infecção, estes podem ser agravados. Para TB-pulmonar ativa, os sintomas são: tosse que pode persistir por mais de três semanas (com ou sem escarro), hemoptise que é a tosse acompanhada com sangue, dor no peito, perda de apetite, perda de peso, suores noturnos, febre e fadiga (KRITSKI; MELO, 2007; TUBERCULOSIS SYMPTOMS & CAUSES, 2021).

No caso da TB-extrapulmonar, alguns sintomas são semelhantes como a perda de peso, perda de apetite, suores noturnos, febre e fadiga (KRITSKI; MELO,

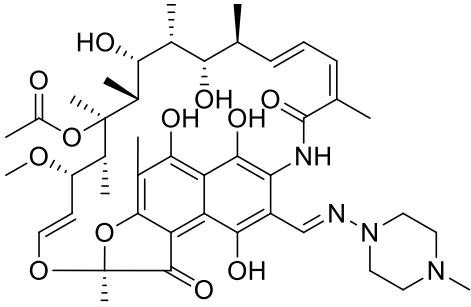
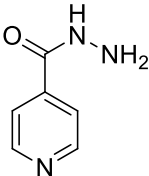
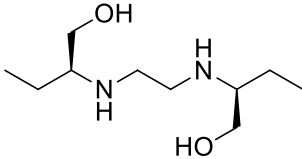
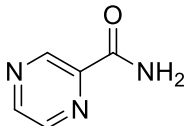
2007; TUBERCULOSIS SYMPTOMS & CAUSES, 2021). Contudo, os sintomas mais específicos dependerá do órgão afetado, como representado a seguir:

- Tuberculose renal: urina com sangue;
- Meningite tuberculosa: dores de cabeça ou confusão;
- Tuberculose da coluna vertebral: dor nas costas;
- Tuberculose da laringe: pode causar ronquidão.

2.1.5 Tratamento

A tuberculose, na maioria dos casos, é curável e seu tratamento é dividido em fármacos de primeira linha e segunda linha. Os fármacos de primeira linha são representados pela rifampicina (RIF), isoniazida (INH), pirazinamida (PZA) e etambutol (EMB). O tratamento é normalmente realizado durante seis meses, sendo os dois primeiros meses com o emprego dos quatro fármacos combinados, seguidos por mais quatro meses com RIF e INH, como fase de manutenção. No geral, estes fármacos conseguem eliminar os bacilos sensíveis (PROTOPOPOVA, et al., 2003; ZUMLA; NAHID; COLE, 2013; TIBERI, et al., 2018; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). A Tabela 1 ilustra as estruturas químicas e o mecanismo de ação dos fármacos de primeira linha.

Tabela 1 – Estrutura química e mecanismo de ação dos fármacos de primeira linha.

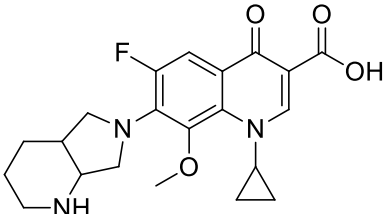
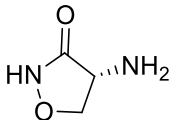
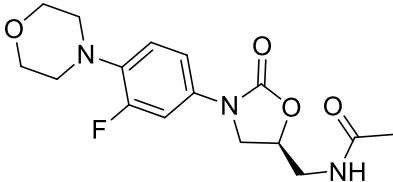
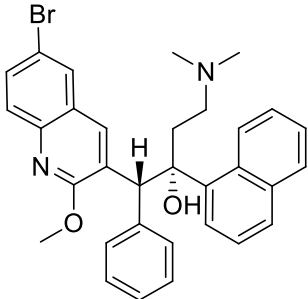
Fármaco	Mecanismo de ação
 Rifampicina	Atua na inibição da RNA polimerase
 Isoniazida	Inibição da biossíntese do ácido micólico
 Etambutol	Atua na parede celular da micobactéria (inibição da biossíntese de arabinogalactano)
 Pirazidamida	Inibição de ácidos graxos

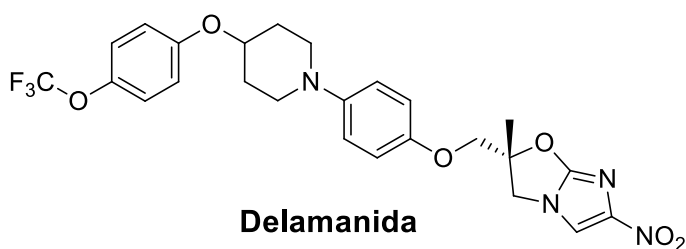
Fonte: Adaptado de ZUMLA; NAHID; COLE (2013).

A existência de cepas *M. tuberculosis* multirresistentes e extensivamente resistente aos fármacos de primeira linha demandam a terapia com medicamentos de segunda linha. Nesta classe de fármacos estão incluídos: fluoroquinolonas (moxifloxacino), *D*-cicloserina, linezolida, bedaquilina, delamanida e pretomanida. A duração do tratamento medicamentoso exige maior tempo de duração, em torno de 28 meses. Ainda, podem induzir maiores efeitos adversos, fazendo com que o

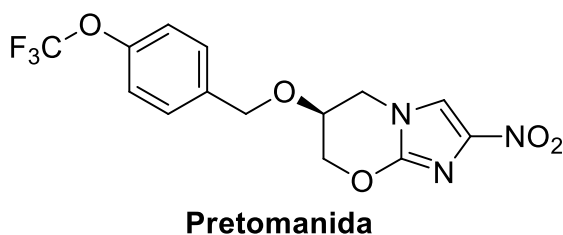
paciente abandone o tratamento, não sendo possível a cura completa da doença, o que pode levar em alguns casos ao óbito do paciente (ZUMLA; NAHID; COLE, 2013; TIBERI, et al., 2018). A Tabela 2 mostra as estruturas químicas destes fármacos, bem como seu mecanismo de ação.

Tabela 2 – Estrutura química e mecanismo de ação dos fármacos de segunda linha.

Fármaco	Mecanismo de ação
 Moxifloxacino	Inibição da síntese do DNA bacteriano
 D-cicloserina	Inibição da síntese de peptidoglicanos
 Linezolida	Atua na inibição de síntese de proteínas
 Bedaquilina	Inibição da síntese de ATP



Inibição da síntese do ácido micólico



Inibição da biossíntese do ácido micólico

Fonte: Adaptado de ZUMLA; NAHID; COLE (2013).

2.1.6 Novas alternativas para o tratamento da tuberculose

A busca por novos agentes terapêuticos mais eficazes e seguros para tratamento da TB tem se mostrado desafiador. Frente às metas estabelecidas para erradicação da doença em 2035, a identificação de novos fármacos tem sido considerado um dos pilares mais importantes para eliminar a TB nos próximos anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). Entretanto, além dos novos fármacos outros fatores devem ser levados em consideração como baixo acesso aos medicamentos, serviços de saúde, pobreza extrema e desigualdade social.

No âmbito da busca de novos protótipos anti-*Mtb* os compostos *N*-óxidos como furoxanos e benzofuroxanos (Figura 4) são conhecidos pelas propriedades de geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio o que induz ao estresse oxidativo e morte dos microrganismos invasores (CERECETTO; PORCAL, 2005; CERECETTO; GONZÁLEZ, 2007).

No Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos (Lapdesf, UNESP Araraquara), Fernandes *et al.*, (2017), planejou e sintetizou uma série de 22 compostos *N*-óxido. Destes, o composto (*E*)-6-((2-isonicotinoil hidrazona)metil)benzo[c][1,2,5]-oxadiazol-1-*N*-óxido, denominado **BZ8** (Figura 4), foi

o mais promissor da série com atividade de inibição para cepas TB-sensível com $\text{CIM}_{90} = 1,1 \mu\text{M}$, em TB-resistente a INH, RMP e BDQ, com $\text{CIM}_{90} = 8,59$; $3,78$ e $1,20 \mu\text{M}$, respectivamente. O BZ8 também foi ativo contra a forma latente ($\text{CIM}_{90} = 6,62 \mu\text{M}$). Além disso, um estudo *in vivo* em camundongos infectados por *Mtb* mostrou que BZ8 tem capacidade esterilizante, eliminando toda a bactéria dos pulmões dos animais em até 30 dias (FERNANDES et al., 2017).

Em 2020, Fernandes et al., sintetizou novos benzofuroxânos variando a cadeia lateral com derivados piperazínicos e outros heterocíclicos como, tiomorfolina e morfolina. Os compostos apresentaram boa atividade de inibição do crescimento micobacteriano apresentando valores de CIM_{90} que variaram entre $0,09$ a $31,60 \mu\text{M}$. Dessa segunda série de compostos *N*-óxidos, o derivado **1** (Figura 4) foi identificado como o mais potente anti-*M. tuberculosis* ($\text{CIM}_{90} = 0,09 \mu\text{M}$), sendo também ativo para isolados ($\text{CIM}_{90} = 0,56 \mu\text{M}$ TB-MDR [INH]; $1,84 \text{ Mm}$ TB-MDR [RIF]; $0,26 \mu\text{M}$ TB-MDR [LZD] e $2,24 \mu\text{M}$ TB-MDR [MOX]) (FERNANDES et al., 2021).

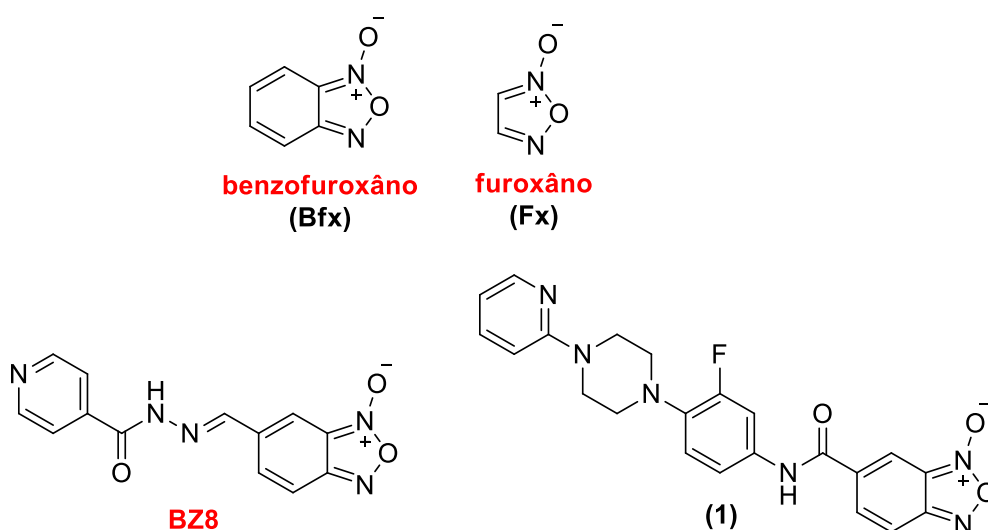


Figura 4 – Estrutura química do furoxano, benzofuroxano e dos derivados BZ8 e **1** anti-TB.

Fonte: (Bfx, Fx) CERECETTO; PORCAL (2005); CERECETTO; GONZÁLEZ (2007); (BZ8) FERNANDES et al., (2017); (1) FERNANDES et al., (2021).

Recentemente, compostos orgânicos contendo boro, mais precisamente derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois, têm ganhado destaque na Química Medicinal devido as suas propriedades antifúngicas, antiprotzoários,

antineoplásicos e, principalmente, antibacteriana, sendo muitos destes aprovados pela agência de regulação norte americana *Food and Drug Administration* (FDA) (Figura 5) (BROSS, 2004; MARKHAM, 2014; PAPIER; STROWD, 2018; MCCARTHY; WALSH, 2017).

Os estudos apontaram que um dos fatores primordiais para tal ação, está relacionada à acidez de Lewis do boro, pois permite que resíduos de aminoácidos nucleofílicos, bem como carboidratos, ligam-se de forma covalente reversível formando espécie iônica tetraédrica e, por conseguinte, levando a inibição da atividade de enzimas/proteínas. Além disso, são compostos que apresentam baixa toxicidade e são tolerados em sistemas biológicos (TRIPPIER; MCGUIGAN, 2010; NI; WANG, 2011; KAHLERT et al., 2013).

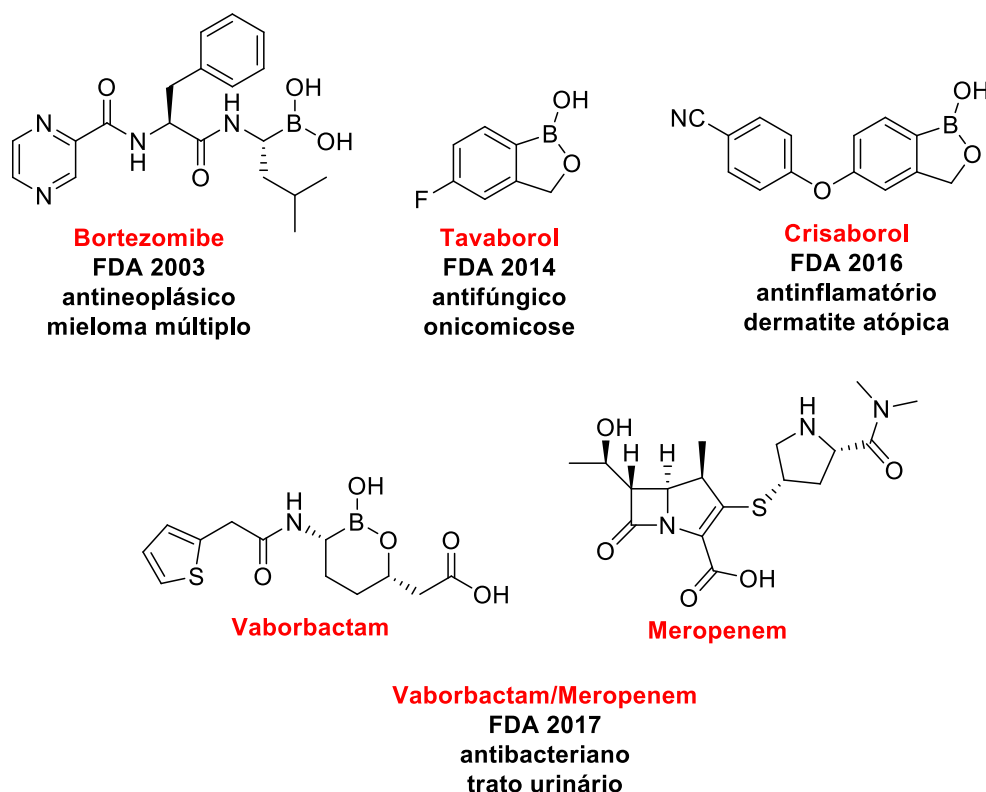


Figura 5 – Estrutura química dos derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois aprovados pela FDA.

Fonte: (Bortezomibe) ADAMS et al., (1998); (Tavaborol) BAKER et al., (2006); (Crisaborol) AKAMA et al., (2009); (Vaborbactam, Meropenem) LANGLEY et al., (2019).

Em 2017, a farmacêutica GlaxoSmithKline (GSK) desenvolveu o composto (S)-3-(aminometil)-4-cloro-7-(2-hidroxietoxi)benzo[c][1,2]oxaborol-1(3H)-ol, conhecido como GSK-3036656, ou GSK-656, um derivado benzoboroxol que atua na inibição da atividade da enzima leucil-tRNA sintetase (LeuRS) da *M. tuberculosis*. Seu mecanismo de ação ocorre quando o boro, presente no composto, liga-se covalentemente ao nucleotídeo adenosina monofosfato (AMP) Ade76 da tRNA^{Leu}, bloqueando a síntese de novas proteínas essenciais para a sobrevivência da micobactéria. Resultados publicados em 2019 mostraram que o GSK-656 vêm apresentando nos estudos clínicos de fase I e, também, nos ensaios clínicos IIa, capacidade de reduzir a carga bacilar de pacientes/voluntários (Figura 6) (LI et al., 2017).

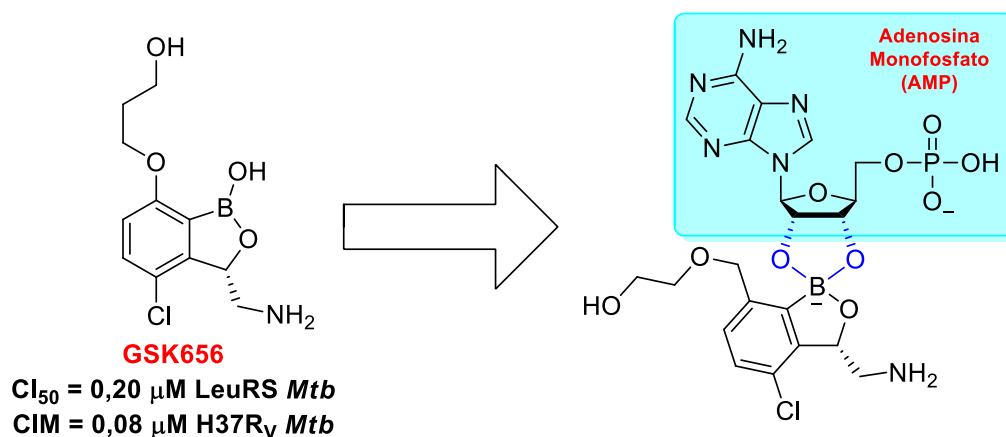


Figura 6 – Estrutura química do GSK656 e sua ligação com AMP.

Fonte: Adaptado de LI et al., (2017).

Em 2019, Guy e colaboradores descreveram a síntese de ácidos borônicos com fins de inibir a síntese da parede celular micobacteriana. Os pesquisadores prepararam uma série de oitos ácidos borônicos diméricos e multiméricos, variando o tamanho da cadeia carbônica central (espaçador). Os derivados multiméricos foram planejados para interagirem com a parede celular por meio da formação de ésteres borônicos através da reação com as hidroxilas presentes nos glicanos extracelulares, levando a interrupção das vias envolvidas na montagem da parede celular (GUY; GIBSON; FULLAM, 2019). Dos compostos sintetizados, somente três se mostraram ativos contra *Mtb* (**2-5**, Figura 7). Baseado nos resultados encontrados, os pesquisadores também sintetizaram uma série contendo cinco

benzoboroxois diméricos, dos quais dois apresentam excelentes valores de CIM₉₉ (6 e 7, Figura 7) (GUY et al., 2019).

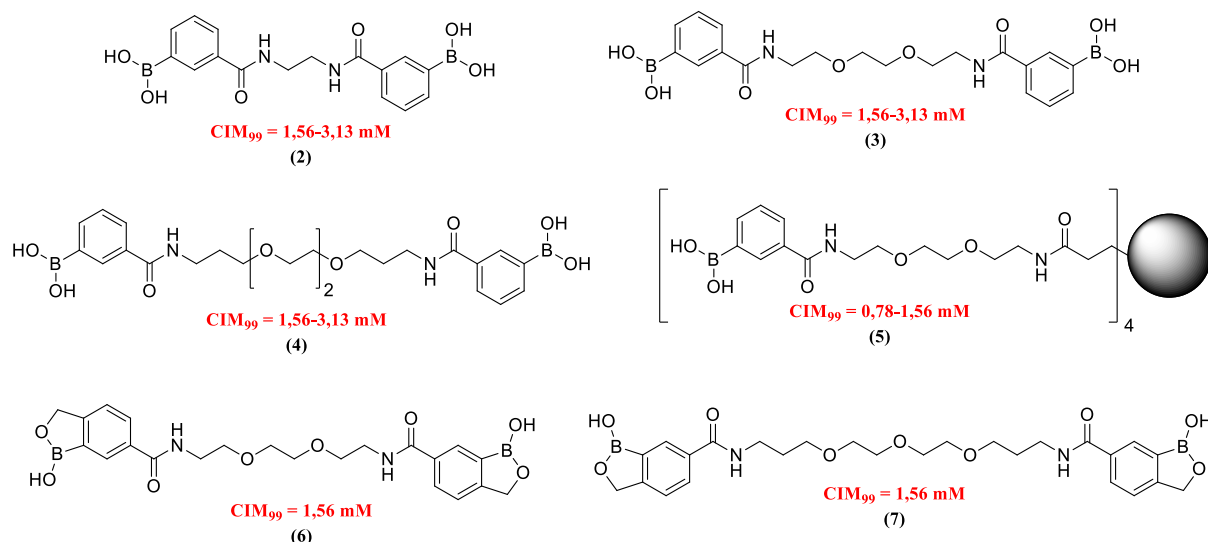


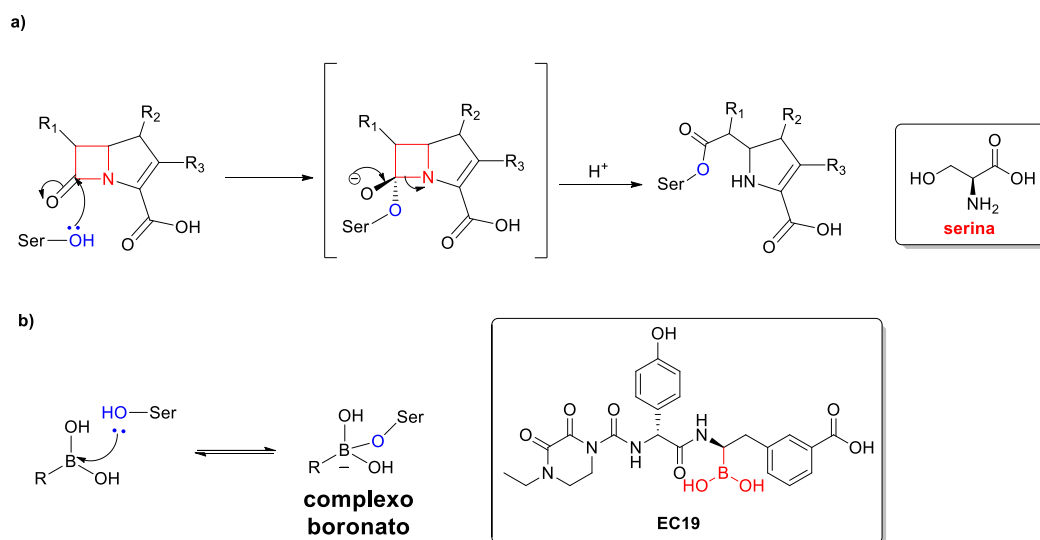
Figura 7 – Estrutura química dos ácidos borônicos e benzoboroxois di- e multiméricos.

Fonte: (2-5) GUY; GIBSON; FULLAM (2019); (6 e 7) GUY et al., (2019).

As β -lactamases são uma classe de enzimas, presentes em algumas bactérias, que são responsáveis pela degradação e consequente resistência ao tratamento de antibióticos β -lactâmicos, como, as penicilinas, as cefalosporinas, dentre outros (TONDI et al., 2010; ZHOU et al., 2018). Na *Mycobacterium tuberculosis* está presente a β -lactamase cromossômica (BlaC) e, em seu sítio ativo contém o resíduo de aminoácido serina, que se liga ao carbono carbonílico da cicloamida do β -lactâmico, levando a abertura do anel e, por conseguinte, a perda da atividade do fármaco (Esquema 1a) (KURZ et al., 2015).

Almejando novas alternativas de inibição, Kurz e colaboradores (2015), prepararam 25 derivados de ácidos borônicos, aos quais o grupo denominou como inibidores do estado de transição do ácido borônico (*Boronic Acid Transition-State Inhibitors* – BATSIs). Os compostos se ligam de forma covalente reversível à serina, formando complexo boronato estável que, consequentemente, impede a interação do antibiótico à proteína, mantendo sua atividade farmacológica (Esquema 1b). Dos

25 derivados, o EC19 (Esquema 1b) mostrou-se mais promissor com constante de inibição ($K_i = 0,65 \mu\text{M}$) (KURZ et al., 2015).



Esquema 1 – a) Mecanismo de ação de degradação de β -lactâmicos pela enzima β -lactamase. b) Inibição da atividade da enzima β -lactamase pela ligação com derivados de ácido borônico.

Fonte: a) Adaptado de LANGLEY et al., (2019); b) Adaptado de KURZ et al., (2015).

Os subcapítulos a seguir apresentarão as características dos ácidos borônicos, métodos de preparação e planejamento da síntese dos derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois, propostos para este trabalho.

2.2 Ácidos borônicos e derivados

O átomo boro pertence ao grupo 13 da tabela periódica, sendo considerado como um semi-metal, dispõe de três elétrons em sua camada mais externa, permitindo que, em sua grande maioria, forme compostos trivalentes (KREBS, 2006). Moléculas orgânicas, contendo boro em sua estrutura, tem grande aplicabilidade no ramo da química, com aplicações tanto do ponto de vista sintético quanto biológico (FERNANDES; DENNY; SANTOS, 2019).

A estrutura do ácido borônico é composta por um átomo de boro central, ligado à dois substituintes hidroxila e um grupamento orgânico, alquílico ou arílico, com geometria trigonal plana e hibridização sp^2 . Devido a presença de orbital p desocupado, a molécula comporta-se como ácido de Lewis, no qual par de elétrons de compostos nucleofílicos ligam-se de forma covalente (Figura 8). No geral são moléculas pequenas, cristalinas, de caráter polar e solúveis em meio aquoso (HALL, 2011; DEFRANCESCO; DUDLEY; COCA, 2016).

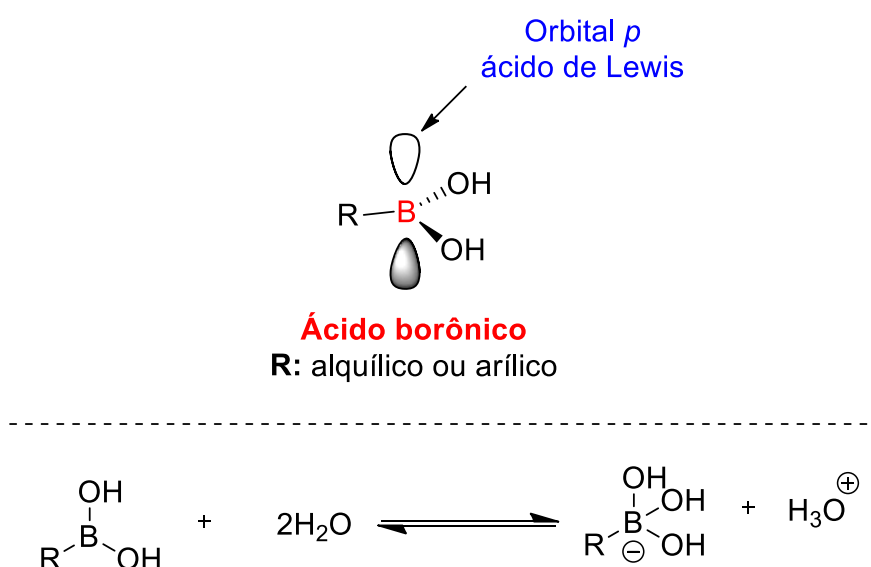


Figura 8 – Estrutura química do ácido borônico e sua dissociação em água.

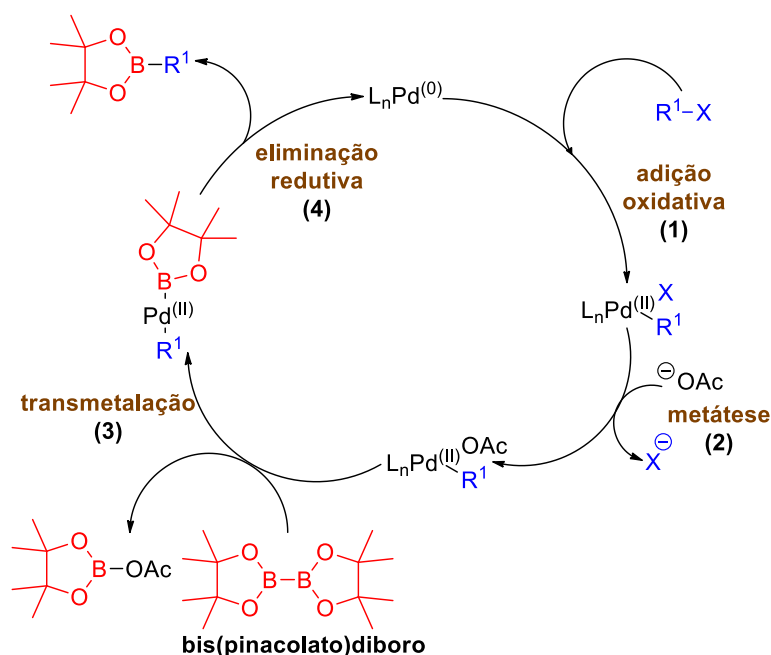
Fonte: Adaptado de HALL (2011); DEFRANCESCO; DUDLEY; COCA (2016).

O ácido borônico foi sintetizado pela primeira vez em 1860 por Frankland, a partir de fontes primárias de boro como ácido bórico e borax (FRANKLAND; DUPPA, 1860; FRANKLAND; DUPPA, 1860; FRANKLAND, 1862). Atualmente, existem outros métodos sintéticos para obtenção destes ácidos, porém o mais empregado é a síntese desenvolvida por Norio Miyaura em 1993, conhecida como borilação de Miyaura, com emprego do metal platina como catalisador. Em 1995, com a busca de novos catalisadores metálicos foram demonstradas vantagens nos rendimentos e tempos reacionais com a substituição do metal platina por paládio (ISHIYAMA et al., 1993; ISHIYAMA; MURATA; MIYAUURA, 1995).

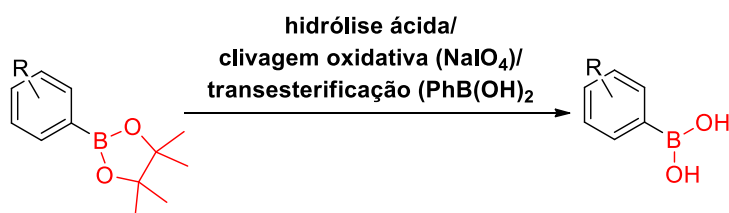
A borilação de Miyaura consiste na formação de ésteres borônicos, a partir de haletos de arila com bis(pinacolato)diboro, catalisada por paládio e auxiliada por uma base. O ciclo catalítico é dividido em quatro etapas: (1) adição oxidativa que é a clivagem da ligação R^2-X do haleto de alquila e inserção do halogênio e grupo alquila ao centro do metal, com a oxidação do paládio (Pd^0 para Pd^{II}). (2) metátese é a substituição do halogênio, ligado ao metal, pela base. (3) transmetalção, eliminação do ânion oriundo da base e inserção da porção éster borônico ao centro metálico. (4) Na última etapa, a eliminação redutiva, o grupo orgânico aproxima-se do éster borônico, como estão em um ambiente rico em elétrons, uma ligação C-B é formada, sendo este eliminado do centro metálico com a restauração do estado de oxidação inicial do paládio (Pd^0) (Esquema 2a) (ISHIYAMA; MURATA; MIYAURA, 1995; MIYAURA; SUZUKI, 1995; KÜRTI; CZAKÓ, 2006).

Após a síntese do éster borônico, a sua forma ácida pode ser obtida por clivagem oxidativa com (meta)periodato de sódio ($NaIO_4$) e/ou transesterificação com ácido fenilborônico (Esquema 2b) (COUTTS et al., 1994).

a)



b)

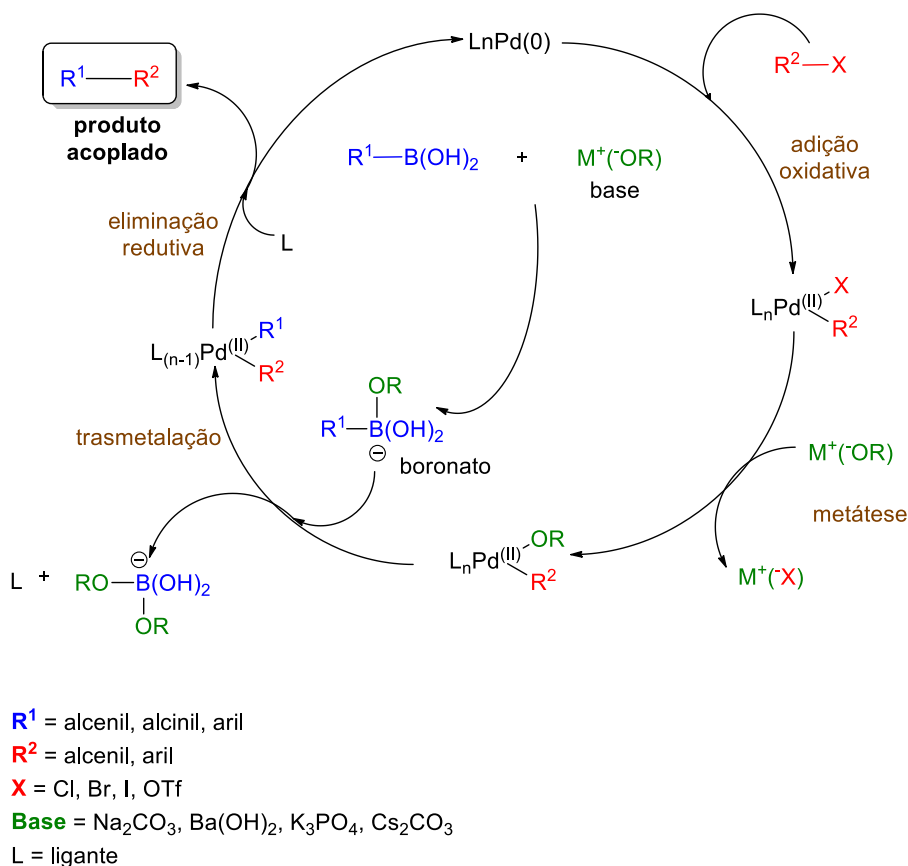


Esquema 2 – a) Ciclo catalítico da reação de borilação de Miyaura, b) Esquema reacional das metodologias para obtenção do ácido borônico.

Fonte: a) Adaptado de KÜRTI; CZAKÓ (2006); b) Adaptado de COUTTS et al., (1994).

Estes derivados de ácido borônico ganharam grande destaque, por sua aplicabilidade na reação de acoplamento cruzado conhecida como, acoplamento de Suzuki-Miyaura. A metodologia sintética desenvolvida pelos químicos Akira Suzuki e Norio Miyaura, em 1979, visa a formação da ligação direta C-C para produção de novas moléculas aril ou vinil, através de haleto orgânicos em meio básico, catalisada por paládio. As etapas reacionais processam de forma semelhante a borilação de Miyaura, no entanto, na etapa de transmetalração, o composto borônico é ativado por uma base que, neste caso, são mais bases mais fortes. Com caráter nucleofílico, a ligação C-B do ânion boronato fica polarizada transferindo o grupo orgânico para o centro do paládio e, consequentemente, o ciclo encerra pela eliminação redutiva,

sendo um novo composto formado (Esquema 3) (MIYAURA; SUZUKI, 1979; KÜRTI; CZAKÓ, 2006; SUZUKI, 2010).



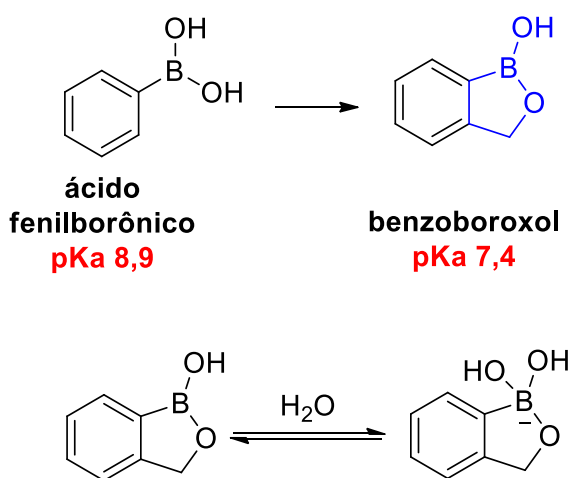
Esquema 3 – Ciclo catalítico da reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura.

Fonte: Adaptado de KÜRTI; CZAKÓ (2006).

Em 2010 o pesquisador foi laureado com parte do prêmio Nobel pelo desenvolvimento dessa metodologia sintética (THE PRIZE NOBEL CHEMISTRY, 2010). A utilização de ácidos borônicos em síntese orgânica apresenta algumas vantagens, a saber: são estáveis ao ar, tolerantes em meio aquoso e baixa toxicidade, além de apresentar disponibilidade comercial (KÜRTI; CZAKÓ, 2006).

2.2.1 Benzoboroxol

O benzoboroxol, também conhecido como benzoxaborol, é um derivado do ácido borônico, mais precisamente do ácido fenilborônico, onde o boro está ligado à um substituinte hidroxila (B-OH) e ao oxigênio que, por sua vez, está ligado ao carbono sp^3 (B-O-C) formando um sistema anelar de cinco membros. De forma similar, o composto comporta-se como ácido de Lewis (Esquema 4). No entanto, este apresenta maior acidez comparada com o seu derivado borônico. Esse fato é explicado pela tensão do anel gerada e, outro fator contribuinte, é o comprimento de ligação B-O (1,394 Å) ser ligeiramente maior que a ligação B-OH (1,350 Å), diminuindo o efeito da hiperconjugação do par de elétrons do oxigênio para o orbital p do átomo de boro (LIU; TOMSHO; BENKOVIC, 2014; ADAMCZYK-WÓZNIAK; BORYS; SPORZYNSKI, 2015; PRATES; PAVAN; SANTOS, 2021).



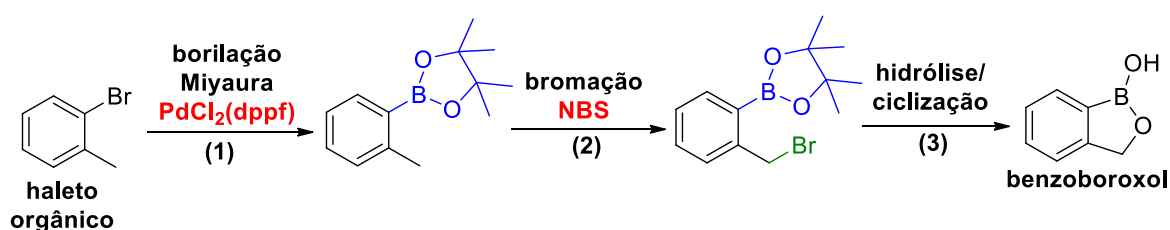
Esquema 4 – Estrutura química do ácido fenilborônico e benzoboroxol e a dissociação do benzoboroxol em água.

Fonte: Adaptado de PRATES; PAVAN; SANTOS (2021).

A primeira síntese do benzoboroxol foi realizada em 1957 por Torssel, no entanto, começou a ganhar interesse por pesquisadores, no início dos anos 2000, devido as suas propriedades medicinais (LIU; TOMSHO; BENKOVIC, 2014). Existem diversas metodologias sintéticas para obtenção deste composto, porém

uma das mais empregadas é borilação catalisada por metal (WUTTKE; GEYER, 2017; MEREDDY, 2018).

A rota sintética da borilação catalisada por metal processa-se em três etapas, (1) iniciando com a borilação de Miyaura do haleto orgânico, para formação do éster borônico, (2) seguindo para etapa de bromação, em outras palavras, inserção de átomo de bromo por via radicalar com *N*-bromosuccinimida (NBS). A síntese finaliza (3) com a hidrólise do éster borônico e subsequente ciclização e formação do benzoboroxol (Esquema 5) (MEREDDY, 2018).



Esquema 5 – Rota sintética para obtenção do benzoboroxol.

Fonte: Adaptado de MEREDDY (2018); PRATES; PAVAN; SANTOS (2021).

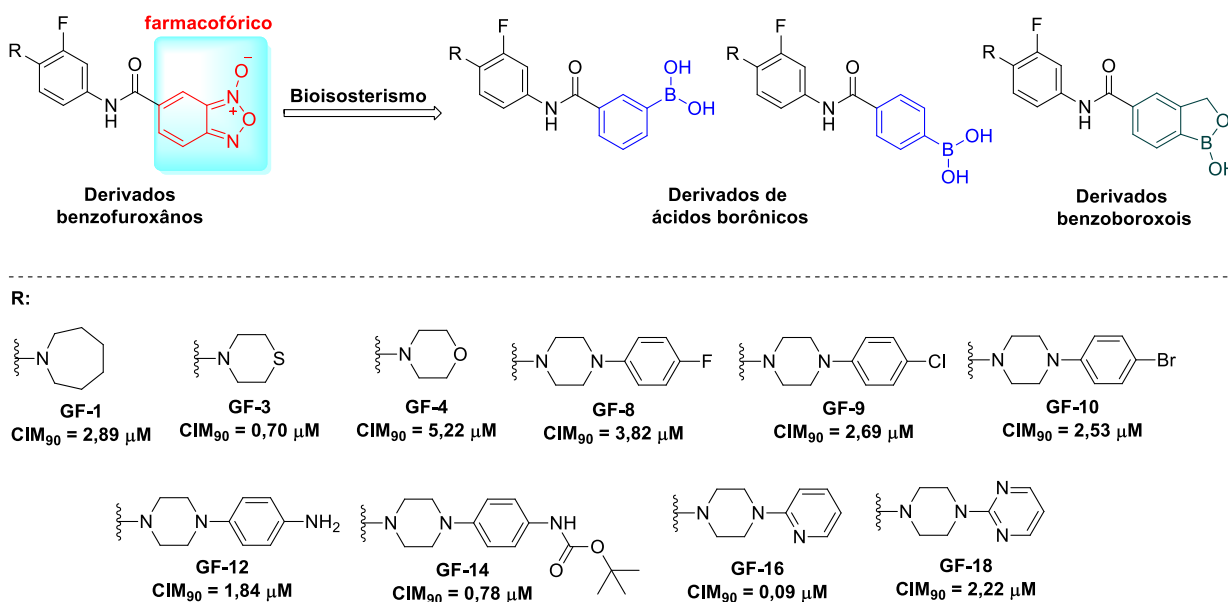
2.2.2 Planejamento da síntese dos derivados ácidos borônicos e benzoboroxois

O planejamento para a síntese dos derivados ácidos borônicos e benzoboroxois, foi baseado nos compostos benzofuroxânos, previamente obtidos pelo nosso grupo de pesquisa, ativos contra cepas *M. tuberculosis* H37Rv. Anteriormente, preparamos uma série de benzofuroxânos com promissora atividade anti-Mtb, cujos valores de CIM₉₀ variaram entre 0,09 – 18,20 µM (FERNANDES et al. 2021; FERNANDES, 2021).

Em vista dos resultados promissores dos benzofuroxânos, bem como dos ácidos borônicos e benzoboroxois, frente a inibição da atividade da micobactéria, foi planejado a síntese desta série baseando na troca bioisostérica da porção benzofuroxano por ácido fenilborônico e benzoboroxol. Portanto, foram propostos duas séries de compostos, sendo a primeira a síntese dos derivados dos ácidos borônicos e, na segunda, a rota sintética dos derivados benzoboroxois. Para todas

as séries planejadas, a cadeia lateral foi mantida, fazendo a troca apenas do grupo farmacofórico (Esquema 6).

A estratégia do bioisosterismo é uma técnica de modificação molecular que consiste na substituição racional de átomos ou subunidades estruturais, de um composto protótipo, com a finalidade de construir novos compostos bioativos com propriedades físico-químicas e/ou biológicas semelhantes (LIMA; BARREIRO, 2005). Assim, a troca do grupo benzofuroxano por ácidos fenilborônicos e benzoboroxois, visa ampliar o espectro de alternativas para o tratamento da tuberculose.



Esquema 6 – Planejamento da série de derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois pela técnica do bioisosterismo.

Fonte: Autoria própria.

Outra aplicabilidade de compostos organoboro, consiste na marcação de proteínas alvo, bem como no estudo farmacocinético de compostos bioativos, pela técnica de fluorescência. Nos tópicos abaixo, serão abordadas a aplicação de pequenas moléculas orgânicas, mais especificamente núcleos BODIPYs, como sondas fluorescentes para estudo de marcação de proteínas e biodistribuição *in vivo*. Em seguida, será discutido o planejamento de sondas fluorescentes BODIPYs acoplados aos benzofuroxânos e ácidos borônicos, para identificação do alvo na

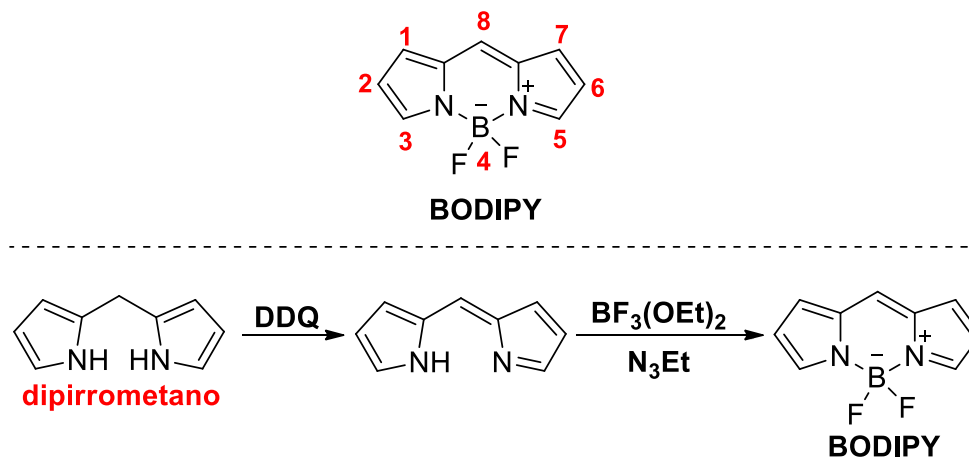
micobactérica, além do estudo de biodistribuição e quantificação destes compostos em macrófagos infectados.

2.3 Núcleo BODIPY como sondas fluorescentes para marcação de compostos anti-*Mycobacterium tuberculosis*

As sondas moleculares fluorescentes vêm ganhando espaço na área da biologia médica, pois permitem avaliar e monitorar a dinâmica de biomoléculas, biodistribuição de fármacos, bem como triagem do comportamento e/ou crescimento de microrganismos. Assim proteínas fluorescentes (PF) têm se mostrado promissoras como sondas de marcação, já que se ligam facilmente `a proteínas alvo e açúcares, não sendo dispendiosas. Contudo, a sua grande limitação é que PF grandes podem interferir na função da proteína alvo, com isto, novas sondas com moléculas fluorescentes têm sido utilizadas, a exemplo dos BODIPYs. Estes são moléculas pequenas, apresentam boa fotoestabilidade, capacidade de interação com proteínas e outras biomoléculas, alto rendimento quântico e boa fluorescência, são tolerantes a ambientes com polaridade e pH fisiológicos (LEE et al., 2011; KOWADA; MAEDA; KIKUCHI, 2015; KUMAR; NARAYAN; KAPOOR, 2020).

O núcleo 4,4-difluoro-4-boro-3a,4a-diaza-s-indaceno, conhecido como BODIPY (Esquema 7), foi descoberto por Treibs e Kreuzer em 1968. O BODIPY é formado pela junção de dois anéis pirrol unidos por uma ponte metino, dos quais os pares de elétrons dos dois nitrogênios dos aromáticos complexam com o átomo de boro, oriundo do trifluoreto de boro. O composto tem estrutura planar e devido a sua polaridade, apresenta sítios que sofrem reações eletrofílica e nucleofílica. A instabilidade em temperaturas acima de 40 °C dificulta a síntese do núcleo BODIPY não substituído (TRAM et al., 2009).

Em 2009, Schmitt e colaboradores conseguiram sintetizar o BODIPY não substituído, por oxidação, com 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), do intermediário dipirrometano, seguido de tratamento com dietil eterato de trifluoreto de boro (BF₃.OEt₂) na presença de uma base (triethylamina NEt₃) (Esquema 7) (SCHMITT et al., 2009).



Esquema 7 – Estrutura química do núcleo BODIPY e sua primeira rota sintética.

Fonte: Adaptado de SCHIMITT et al., (2009).

Outro ponto importante a se destacar sobre o núcleo BODIPY, é a sua estreita faixa de absorção/emissão (comprimento de onda abaixo de 600 nm). O composto mostra-se maleável com relação a modificação estrutural, permitindo a adição de substituintes em diversas posições provocando um deslocamento batocrômico e possibilitando imagens *in vivo* melhoradas, uma vez que pode penetrar de forma mais profunda os tecidos sem levar a danos, além de evitar interferência de autofluorescência (LIU et al., 2019). Na Figura 9, é ilustrado os valores do rendimento quântico (Φ) e os comprimentos de absorção ($\lambda_{\text{abs max}}$) e emissão ($\lambda_{\text{emiss max}}$) máximo em metanol, para o BODIPY não substituído, e etanol para os demais marcadores substituídos (LOUDET; BURGESS, 2007).

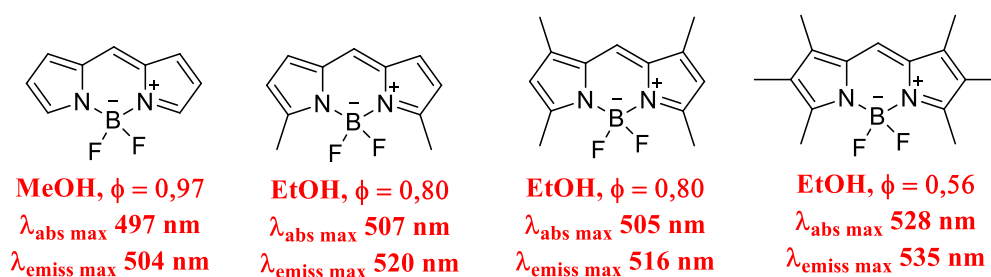


Figura 9 – Estrutura química dos BODIPYS substituídos e suas propriedades espectrocópicas.

Fonte: Adaptado de LOUDET; BURGESS (2007).

Estes compostos têm sido empregados como sonda de marcadores para fins biológicos, como por exemplo, monitoramento do crescimento bacterianos e divisão celular. Hodges e pesquisadores (2018), desenvolveram uma sonda com núcleo BODIPY com a finalidade da investigação da dinâmica da enzima Antígeno 85C (Ag 85C), sendo esta responsável pela biossíntese de ácidos micólicos presentes na parede celular da *Mycobacterium tuberculosis*. A enzima possui atividade micoliltransferase, em outras palavras, ela é responsável pela trans-esterificação de trealose monomicolato (TMM), encontrada no citoplasma, para produção de dimicolato de trealose (TDM) e micolil-arabinogalactano (mAG), sendo estes encaminhados para parte externa da membrana plasmática para constituir a parede celular da micobactéria (HODGES et al. 2018; KUMAR, NARAYAN, KAPOOR 2021).

Os pesquisadores desenvolveram o marcador BODIPY acoplado ao TMM sintético, no qual o polissacarídeo também está ligado a um inibidor de fluorescência, denominado DABCYL. A sonda *quencher-trealose-fluoróforo* (QTF) não apresenta fluorescência, devido ao inibidor; no entanto, quando esta é catalisada pela Ag 85C ocorre a hidrólise e liberação do ácido micólico-BODIPY e trealose-DABCYL (Q-Tre). Assim, a porção ácida micólico-BODIPY é direcionada para a parede celular e uma vez que o fluoróforo é ativado, ocorre o efeito de fluorescência (Figura 10) (HOUGES et al., 2018).

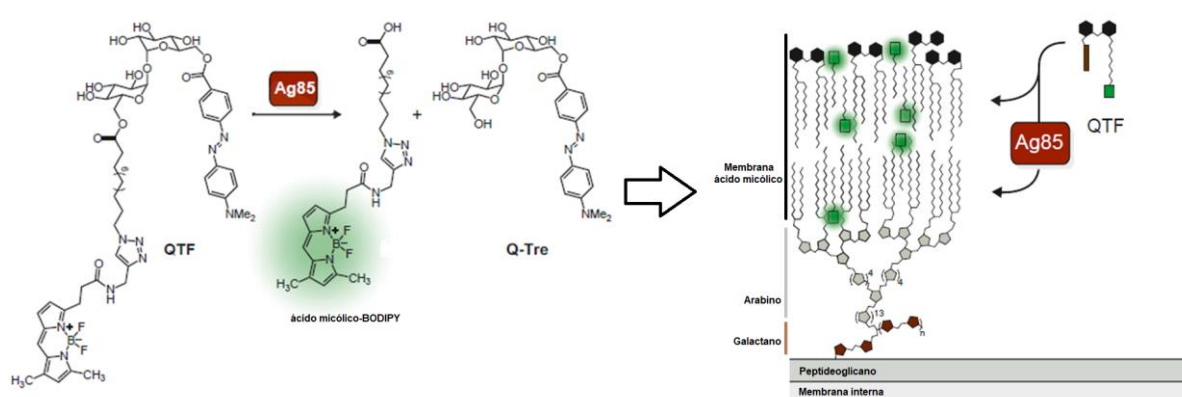


Figura 10 – Interação da sonda QTF na parede celular da *M. tuberculosis*.

Fonte: Retirado de HOUGES et al., (2018).

O estudo concluiu que a fluorescência está presente nos septos e polos no momento da divisão celular, além do que a intensidade da fluorescência tende a intensificar com o crescimento da micobactéria (Figura 11a-b). A investigação permitiu resultado detalhado sobre a biossíntese desses polissacarídeos que são essenciais para micobactéria, uma vez que são responsáveis pela resistência de antibióticos e virulência. Por isso, compreender essa dinâmica permite a busca de novas alternativas de fármacos que possibilitam a inibição do crescimento da *Mtb* envolvendo a parede celular (HOUGES et al., 2018).

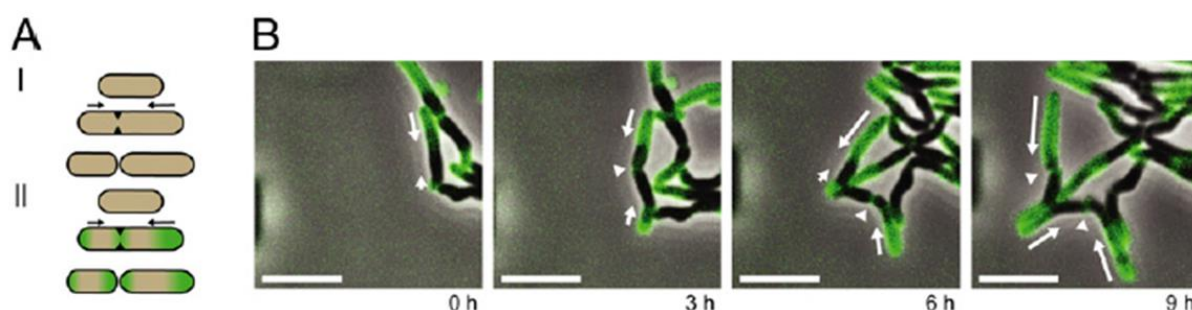


Figura 11 – a) Divisão do bacilo *M. tuberculosis* e incidência de fluorescência nos polos e septos. b) Intensidade de fluorescência em função do tempo de maturação do bacilo.

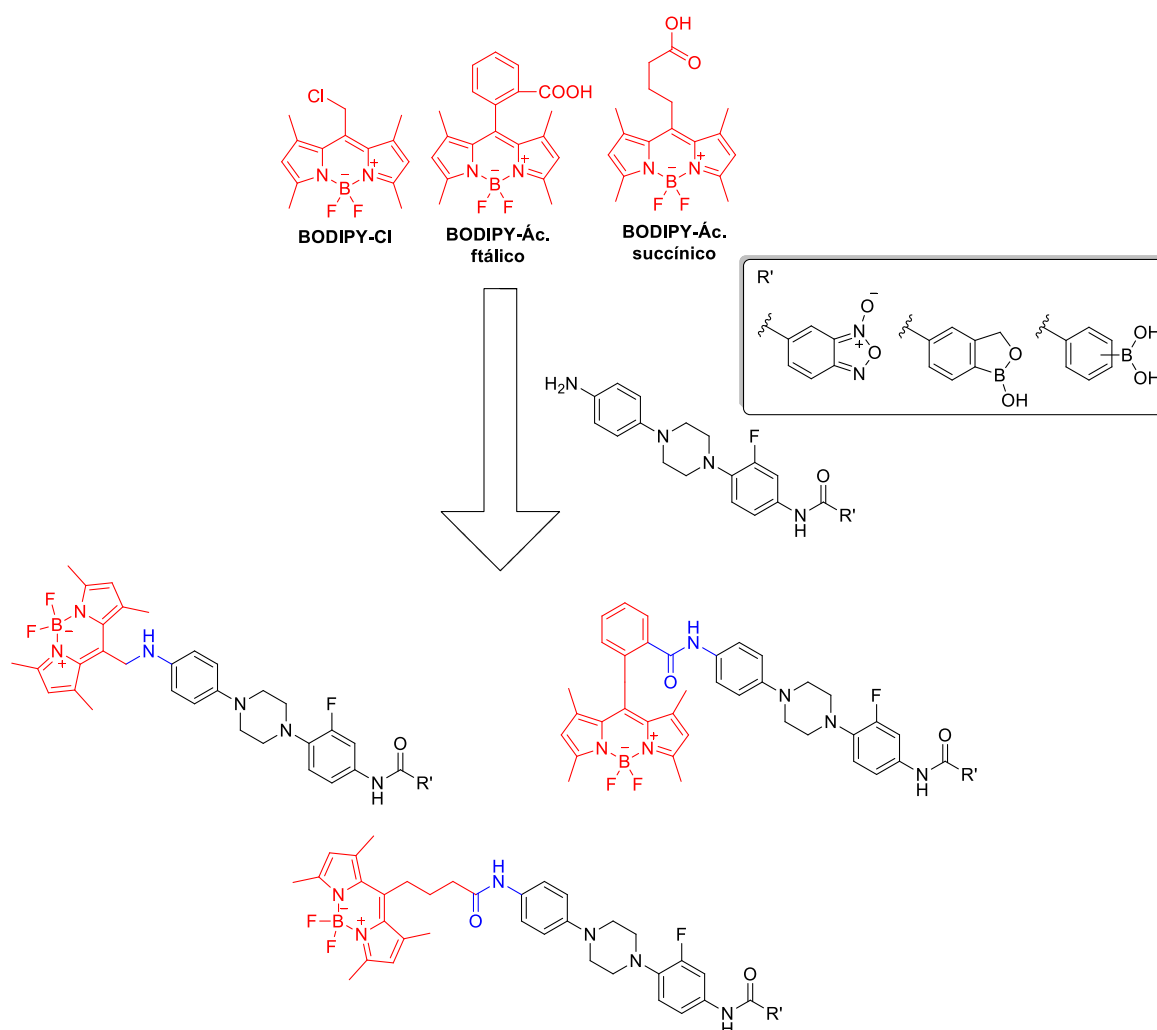
Fonte: Retirado de HOUGES et al., (2018).

2.3.1 Planejamento da síntese das sondas fluorescentes BODIPYs

Após a síntese dos derivados ácidos borônicos e benzoboroxois foi planejada a síntese de núcleos BODIPYs, em que estes foram acoplados aos derivados borônicos e benzofuroxanos. Apesar da potente atividade de inibição dos benzofuroxanos, seu alvo de atuação e o mecanismo de ação ainda não foram identificados, com isto, estas sondas fluorescentes têm por objetivo, a marcação e, por conseguinte, a investigação e monitoramento da atuação destes ao alvo da micobactéria, além de possibilitar um estudo farmacocinético em macrófagos infectados.

Os núcleos BODIPYs foram sintetizadas na Faculdade de Ciências, da Universidade de La República, Montevideo (Uruguai), durante o período de estágio, sob supervisão do professor Dr. Hugo Cerecetto Meyer. A princípio, o estudo de marcação foi realizado com o composto benzofuroxano GF-12 e seus respectivos derivados ácido borônico e benzoboroxol. Assim, foram propostos três núcleos BODIPYs (BODIPY-Cl, BODIPY-ác. ftálico e BODIPY-ác. succínico), onde estes foram ligados ao benzofuroxano GF-12 e seus respectivos derivados ácido borônico e benzoboroxol, por reação Substituição Nucleofílica Bimolecular (S_N2), entre BODIPY-Cl, e por acoplamento com formação de ligação amidica, entre BODIPY-ác. ftálico e BODIPY-ác. succínico (Esquema 8) (RODRÍGUEZ, 2015; RODRÍGUEZ et al., 2017).

Os três núcleos BODIPYs foram selecionados, uma vez que estes já foram desenvolvidos pelo grupo de pesquisa, sendo que o BODIPY-Cl se mostrou promissor na investigação da farmacocinética da biodistribuição de compostos ativos antichagásicos em estudo *in vivo* (RODRÍGUEZ et al., 2017).



Esquema 8 – Planejamento sintético das sondas fluorescentes BODIPYs acoplada aos derivados benzofuroxano, ácido borônico e benzoboroxol.

Fonte: Autoria própria.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi planejar e sintetizar derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois como agentes anti- *M. tuberculosis*. Ademais, em uma segunda etapa, foi sintetizado BODIPYs para obtenção de sondas fluorescentes que seriam acopladas com os compostos mais ativos previamente identificados, a fim de prover ferramentas para estudos de mecanismo de ação e farmacocinéticas dos novos compostos.

3.2 Objetivos específicos

- ❖ Síntese, purificação e caracterização estrutural de derivados benzoboroxóis e ácidos borônicos;
- ❖ Síntese, purificação e caracterização estrutural de BODIPYs que serão utilizados, como sondas para estudos com os compostos mais ativos;
- ❖ Avaliação da atividade antimicobacteriana e determinação da CIM₉₀ frente ao *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) dos compostos sintetizados;
- ❖ Determinação da citotoxicidade em células MRC-5 e J774A.1 dos compostos promissores;
- ❖ Avaliação da atividade antimicobacteriana e determinação da CIM₉₀ frente a isolados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* multirresistentes caracterizados fenotipicamente e genotipicamente para aqueles compostos mais promissores.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes e solventes

As reações foram realizadas em condições anidras sob atmosfera de nitrogênio. Os solventes utilizados foram previamente tratados e secos, sendo armazenados em frascos contendo peneira molecular com poros de 5 angstrons (5 Å) e 1,6 mm de diâmetro (Sigma-Aldrich). Os reagentes e solventes utilizados foram:

- ✓ 1-(2-piridil)piperazina 98%, Sigma-Aldrich, CAS: 34803-66-2;
- ✓ 1-(4-fluorfenil)piperazina 97%, Sigma-Aldrich, CAS: 2252-63-3;
- ✓ 2-(1-piperazinil)pirimidina 97%, Alfa Aesar, CAS: 20980-22-7;
- ✓ 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) solução 0,2 M em tolueno, Sigma-Aldrich, CAS: 78-67-1;

- ✓ 2,4-dimetilpirrol 97%, Sigma-Aldrich, CAS: 625-82-1;
- ✓ 3,4-difluornitrobenzeno 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 369-34-6;
- ✓ 4-(1-piperazinil)anilina 97%; Alfa Aesar, CAS: 67455-41-8;
- ✓ 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) 98%, Acros, CAS: 123333-53-9;
- ✓ 1,1'-carbonildiimidazol 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 530-62-1;
- ✓ 1,3-propanodiol 99%, Oakwood Chemical, CAS: 504-63-2;
- ✓ 1,4-dioxano P.A., Synth, CAS: 123-91-1;
- ✓ acetato de etila P.A., Synth, CAS: 141-78-6;
- ✓ acetato de potássio P.A., Synth, CAS: 127-08-2;
- ✓ acetona P.A., Synth, CAS: 67-54-1;
- ✓ acetonitrila P.A., Synth, CAS: 75-05-8;
- ✓ ácido acético glacial P.A., dinâmica, CAS: 64-19-7;
- ✓ ácido 3-carboxibenzenoborônico 98%, Oakwood Chemical, CAS: 25487-66-5;
- ✓ ácido 4-carboxibenzenoborônico 95%, Oakwood Chemical, CAS: 14047-29-1;
- ✓ ácido clorídrico 37%, Synth, CAS: 7647-01-0;
- ✓ ácido ftálico 99%, Acros, CAS: 88-99-3;
- ✓ ácido succínico 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 110-15-6;
- ✓ água destilada;
- ✓ álcool etílico absoluto P.A., Synth, CAS: 64-17-5;
- ✓ álcool metílico P.A., Synth, CAS: 67-56-1;
- ✓ anidrido acético P.A., Êxodo, CAS: 108-24-7;
- ✓ ascorbato de sódio 98%, Sigma-Aldrich, CAS: 134-03-2;
- ✓ azida de sódio P.A., Merck, CAS: 26628-22-8;
- ✓ bicarbonato de sódio P.A., Synth, CAS: 144-55-8;

- ✓ bis(pinacolato)diboro 99%, Oakwood Chemical, CAS: 73183-34-3;
- ✓ brometo de propargila solução 80% tolueno, Sigma-Aldrich, CAS: 106-96-7;
- ✓ celite 545 P.A., Synth, CAS: 68855-54-9;
- ✓ cloreto de acetila 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 75-36-5;
- ✓ cloreto de amônio P.A., Across, CAS: 12125-02-9;
- ✓ cloreto de cloroacetila 99%, Oakwood Chemical, CAS: 79-04-9;
- ✓ cloreto de sódio P.A., Synth, CAS: 7647-14-5;
- ✓ complexo de trifluoreto de boro-éter dietílico ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) 98%, TCI, CAS: 109-63-7;
- ✓ dicloreto de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(II) $[\text{PdCl}_2(\text{dppf})]$ 96%, Oakwood Chemical, CAS: 72287-26-4;
- ✓ diclorometano P.A., Synth, CAS: 75-09-2;
- ✓ dimetilsulfóxido (DMSO) P.A., Synth, CAS: 67-68-5;
- ✓ di-terc-butil dicarbonato (Boc) 99%, Oakwood Chemical, CAS: 24424-99-5;
- ✓ éter de petróleo P.A., Synth, CAS: 8032-32-4;
- ✓ éter etílico P.A., Synth, CAS: 60-29-7;
- ✓ ferro metálico pó P.A., Synth, CAS: 7439-89-6;
- ✓ hexano P.A., Synth, CAS: 110-54-3;
- ✓ hidróxido de sódio P.A., Synth, CAS: 1310-73-2;
- ✓ iodeto de potássio P.A., Sigma-Aldrich, CAS: 7681-11-0;
- ✓ metil 4-bromo-3-metilbenzoato 97%, Oakwood Chemical, CAS: 148547-19-7;
- ✓ morfolina 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 110-91-8;
- ✓ *N*-bromossuccinimida (NBS) 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 128-08-5;
- ✓ *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) 99%, Oakwood Chemical, CAS: 7087-68-5;
- ✓ *N,N*-dimetilformamida (DMF) P.A., Synth, CAS: 68-12-2;

- ✓ *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida hidrocloreto (EDC) 98%, Sigma-Aldrich, CAS: 25952-53-8;
- ✓ paládio (0) tetraquis(trifenilfosfina) 98%, Oakwood Chemical, CAS: 14221-01-3;
- ✓ sílica gel cromatografia em coluna 40-60 μm , Sigma-Aldrich, CAS: 7631-86-9;
- ✓ sílica gel cromatografia em coluna 63-200 μm , Sigma-Aldrich, CAS: 112926-00-8;
- ✓ sulfato de sódio anidro, Synth, CAS: 7757-82-6;
- ✓ sulfato de cobre pentaidratado 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 7758-99-8;
- ✓ *tert*-butanol (t-BuOH) 99%, Sigma-Aldrich, CAS: 75-65-0;
- ✓ tetraidrofurano (THF) P.A., Synth, CAS: 109-99-9;
- ✓ tiomorfolina 98%, Sigma-Aldrich, CAS: 123-90-0;
- ✓ tolueno P.A., Synth, CAS: 108-88-3;
- ✓ trietilamina P.A., Vetec, CAS: 121-44-8;

4.2 Métodos cromatográficos

Todos os compostos foram purificados por cromatografia em coluna, utilizando sílica gel (230-400 mesh, Sigma-Aldrich), como fase estacionária, e hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), para fase móvel. As reações foram monitoradas por Cromatografia de Camada Delgada (CCD), com emprego de placas cromatográficas de alumínio cobertas com sílica gel 90 Å (Sigma-Aldrich), com indicador de fluorescência UV₂₅₄.

4.3 Métodos espectrométricos

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , foram obtidos em equipamento Bruker Fourier 300 MHz (7,1 T), com sonda Easy Probe Dual 300 MHz S1 5 mmz Gradient, dispondo de dois canais para ^1H e ^{13}C , com detecção inversa e sensível para C^{13} , auto sintonizável, bobina gradiente z (55 G/cm), operando em temperatura entre 5 °C - 65°C e com softwares Windows 7 e TopSpin 3.2.

Os demais espectros, ^1H ; ^{13}C ; ATP e bidimensionais (HSQC e HMBC), foram obtidos em equipamento Bruker Avance III 600 MHz (14,1 T), acoplado com sonda *Triple Inverse TCI Cryo-probehead*, com criogênica de 5, com detecção inversa de três canais (^1H , ^{13}C e ^{15}N), bobina gradiente em z (50 G/cm), operando em temperatura de 0 a 80°C, com sistema ATMA para os três canais e softwares Windows 7, TopSpin 3.2 e IconNMR. Nos experimentos foram utilizados solventes deuterados: Acetona- d_6 , Clorofórmio- d e DMSO- d_6 , sendo seus deslocamentos químicos (δ) referenciados para ^1H em 2,05 ppm, 7,26 e 2,50 ppm, e para ^{13}C em 39,52 ppm, 77,16 e 29,84 ppm, respectivamente. A multiplicidade dos sinais do ^1H foi atribuída como: simpleto (s), duplete (d), tripleto (t), quadruplete (q), duplo duplete (dd), duplo duplo duplete (ddd) e multiplete (m).

As análises de espectroscopia na região do infravermelho (IV), foram realizadas em aparelho de modelo IR Prestige-21 Shimadzu®, operando em região do infravermelho que compreende a faixa de absorção entre 400 a 4000 cm^{-1} . As amostras foram misturadas em brometo de potássio (KBr) e, em seguida, foram preparadas as pastilhas contendo a mistura, sendo estas analisadas no equipamento para obtenção dos espectros.

4.4 Determinação da faixa de fusão

As faixas de fusão dos compostos foram adquiridas com auxílio do equipamento de ponto de fusão capilar Melting Point Apparatus SMP3 Stuart Scientific®.

4.5 Determinação das propriedades farmacocinéticas e toxicidades dos derivados ácidos borônicos e benzoboroxois

As propriedades físico-químicas e farmacocinéticas foram determinadas *in silico* usando a base de dados pkCSM (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015).

4.6 Avaliação biológica

Os ensaios biológicos foram realizados por meio da colaboração com o Profº Drº Fernando Rogério Pavan do Laboratório de Micobactérias Profº Drº Hugo David, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Unesp – Araraquara.

4.6.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM₉₀) frente a cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_V

A Concentração Inibitória Mínima (CIM₉₀) foi determinada pela metodologia REMA (*Resazurin Microtiter Assay*), elaborada por Palomino e colaboradores (2002). Para o ensaio, foram preparadas soluções estoque dos compostos em DMSO (10 mg/mL), sendo posteriormente diluídas em caldo Middlebrook 7H9 (Difco) suplementado com OADC (0,09-25 µg/mL). Rifampicina e isoniazida foram utilizadas como padrão, sendo solubilizadas em DMSO e água destilada, respectivamente, em concentrações de 0,004-1,0 µg/mL. Na cepa *M. tuberculosis* H₃₇R_V, em suspensão, foram adicionados 100 µL inóculo, em cada poço da microplaca de 96 poços e,

também, 100 µL dos compostos nas concentrações descritas acima. Em seguida, as placas foram incubadas por sete dias em estufa a 37 °C e 5% de CO₂. Após este tempo, foram adicionadas 30 µL de resazurina. Depois do período de incubação de 24 h, a fluorescência dos poços foi mensurada com auxílio de equipamento Cytation 3 (Biotek®). A CIM₉₀ foi determinada como a menor concentração dos compostos, capaz de inibir 90% do crescimento do bacilo (PALOMINO et al., 2002; CAMPOS, 2021).

4.6.2 Ensaio de citotoxicidade (IC₅₀) e índice de seletividade (IS)

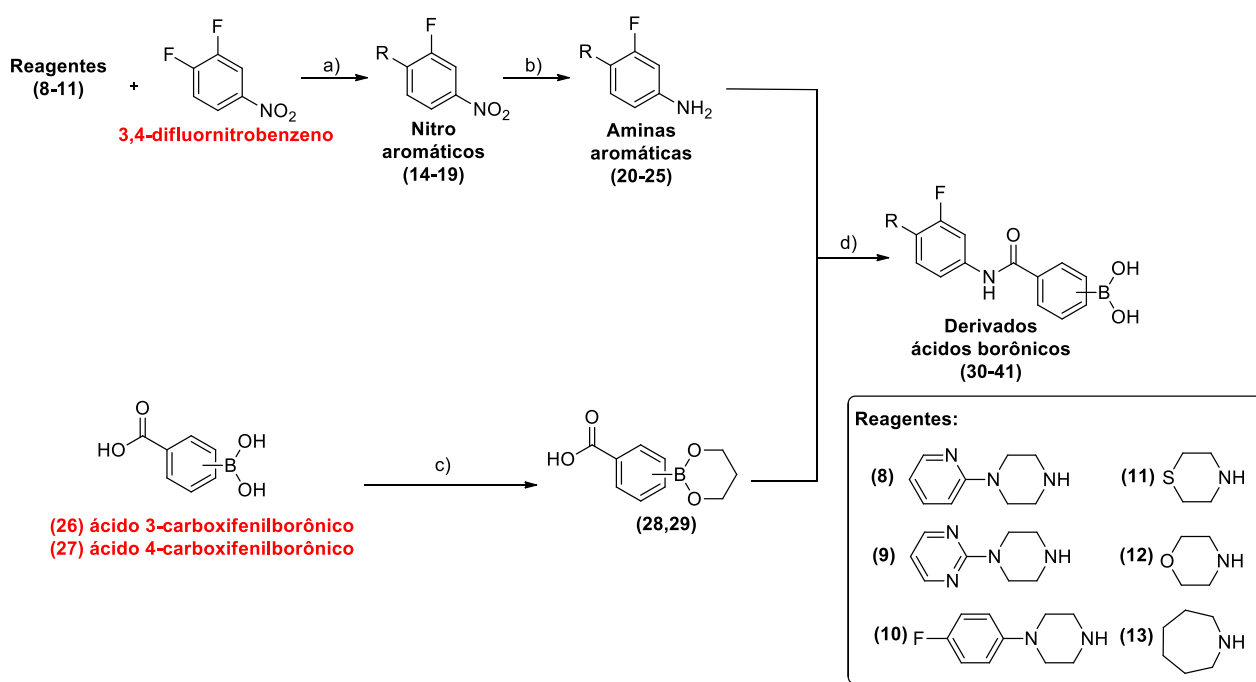
O ensaio de citotoxicidade foi realizado para os compostos mais ativos da série, ou seja, aqueles que apresentam os menores valores de CIM₉₀. Para o teste, foram utilizadas células MRC-5 (ATCC CCL-171) e J774A.1 (ATCC TIB-67), sendo estas cultivadas em meio contendo DNEM (Vitrocell®) e RPMI (Vitrocell®). Em seguida, adicionou-se 10% de soro fetal bovino, sulfato de gentamicina (50 mg/mL) e anfotericina B (2 mg/L). As células foram incubadas em estufa a 37 °C com 5% de CO₂, e uma quantidade específica de cada tipo celular (2,5 x 10⁵ células/mL para MRC-5 e 1,0 x 10⁶ para J774A.1), foi distribuída em microplaca de 96 poços, com volume total de 100 µL. Após, foram incubadas por 24 h, a 37 °C em atmosfera contendo 5% de CO₂. Os compostos foram então adicionados aos orifícios, com diluições 0,39-100 µg/mL, sendo incubadas novamente por mais 24 h. Após este intervalo, foram adicionadas 50 µL de solução de resazurina 0,01%, após 3 h a fluorescência dos poços foi mensurada com auxílio de leitor Synergy H1 (Biotek®). Para a determinação dos valores de IC₅₀ foram caracterizadas aquelas concentrações capazes de manter 50% das células viáveis (PAVAN et al., 2010; CAMPOS, 2021).

O índice de seletividade (IS) foi determinado pela razão entre os valores de IC₅₀ e a CIM₉₀ ($IS = IC_{50}/CIM_{90}$). Os compostos que apresentam IS maiores ou iguais a 10 são considerados seletivos, isto significa que o composto se mostra 10 vezes mais tóxico para a cepa *M. tuberculosis* que para as células eucarióticas (CAMPOS, 2021).

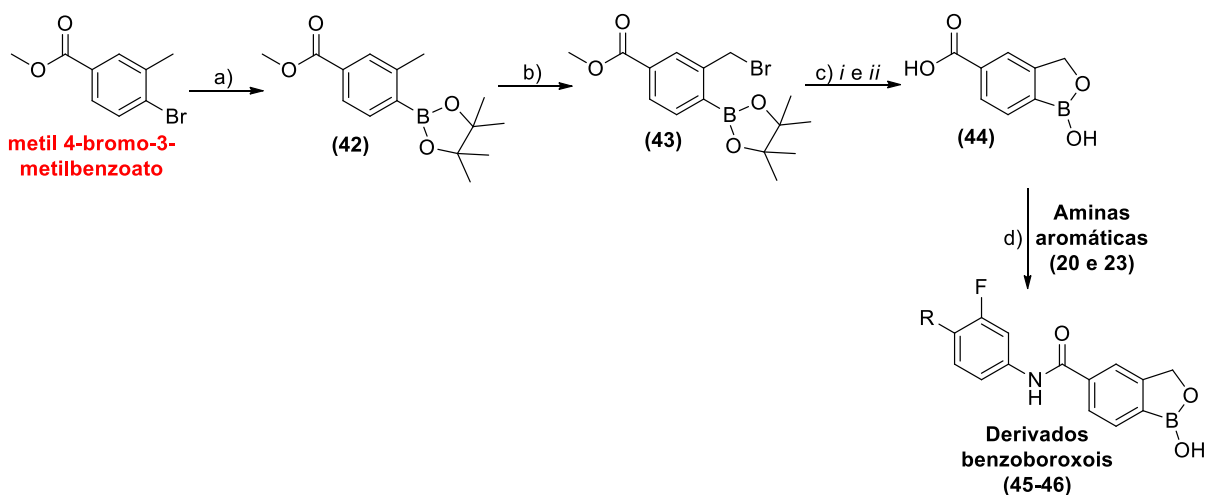
4.7 Métodos sintéticos

Duas estratégias metodológicas foram propostas nesse trabalho, a saber: i) síntese de derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois, ii) síntese de BODIPYs (Esquema 9). Na primeira estratégia, foram desenvolvidos métodos para obtenção de ácidos borônicos e benzoboroxois, bem como seus respectivos intermediários. Já na segunda série, foram abordadas as rotas sintéticas para preparação dos núcleos fluorescentes BODIPYs e o acoplamento destes com os compostos benzofuroxanos, ácidos borônicos e benzoboroxois (Esquema 9).

Série 1 - Derivados ácidos borônicos

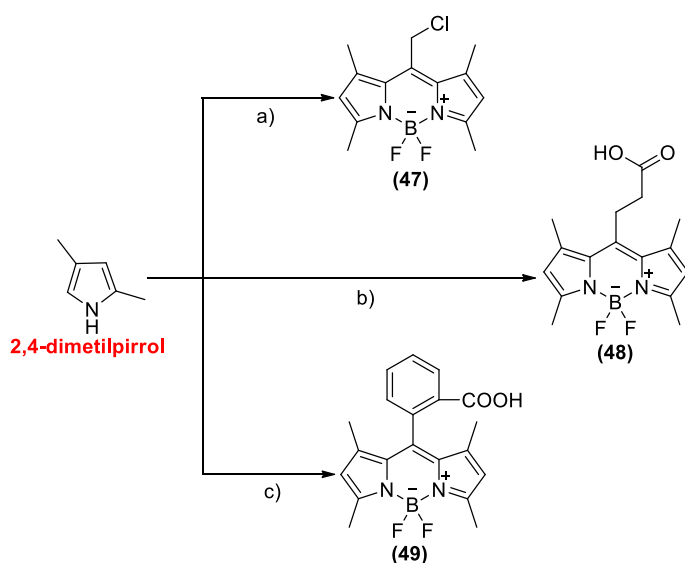


a) trietilamina (Et_3N), acetonitrila (ACN), refluxo 80 °C, 6 h, N_2 . b) cloreto de amônio, Fe^0 , etanol/água, refluxo 90 °C, 1 h. c) tolueno, 1,3-propanediol, refluxo 100 °C, 24 h, N_2 . d) *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida hidrocloreto (EDC), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA), *N,N*-dimetilformamida (DMF), N_2 , t.a., 48 h.

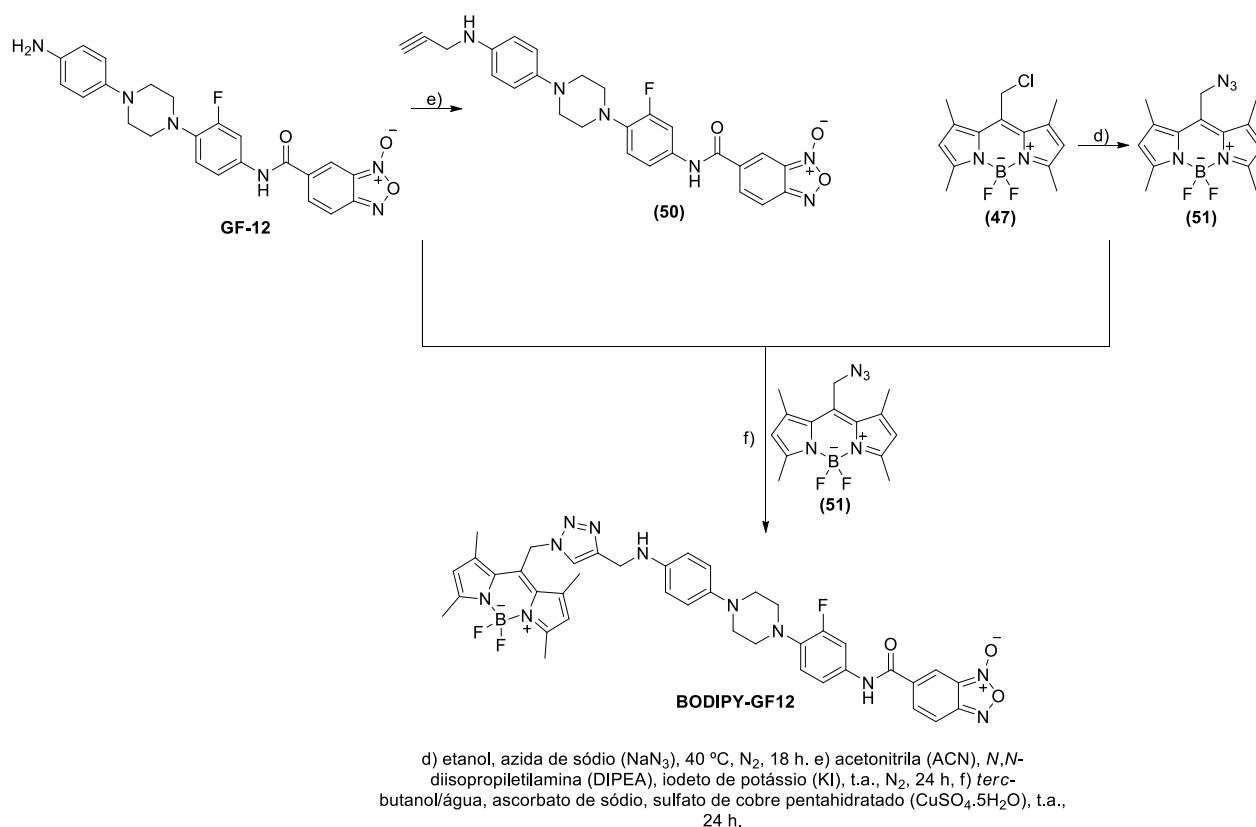


a) 1,4-dioxano, bis(pinacolato)diboro, dicloreto de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(II) [PdCl₂(dppf)], 80 °C, N₂, 12 h. b) acetonitrila (ACN), *N*-bromossuccinimida (NBS), 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) (AIBN), 80 °C, 24h. c) *i* - tetraidrofurfano/água, hidróxido de sódio, 50 °C, 2 h. *ii* - ácido clorídrico 6M (pH~2), 2h. d) *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA), HATU, t.a., N₂, 24 h.

Série 2 - Sonda fluorescente BODIPY-GF-12



a) diclorometano (DCM), cloreto de cloroacetila, trietilamina (Et₃N), eterato dietílico de trifluoreto de boro (BF₃.OEt₂), t.a., N₂, 8 h. b) diclorometano (DCM), anidrido succínico, trietilamina (Et₃N), eterato dietílico de trifluoreto de boro (BF₃.OEt₂), 40 °C, 12 h. c) diclorometano (DCM), anidrido ftálico, trietilamina (Et₃N), eterato dietílico de trifluoreto de boro (BF₃.OEt₂), 40 °C, 12 h..



Esquema 9 – Esquema geral de síntese das séries: 1) derivados ácidos borônicos; 2) derivados benzoboroxois e 3) sondas fluorescentes BODIPYs.

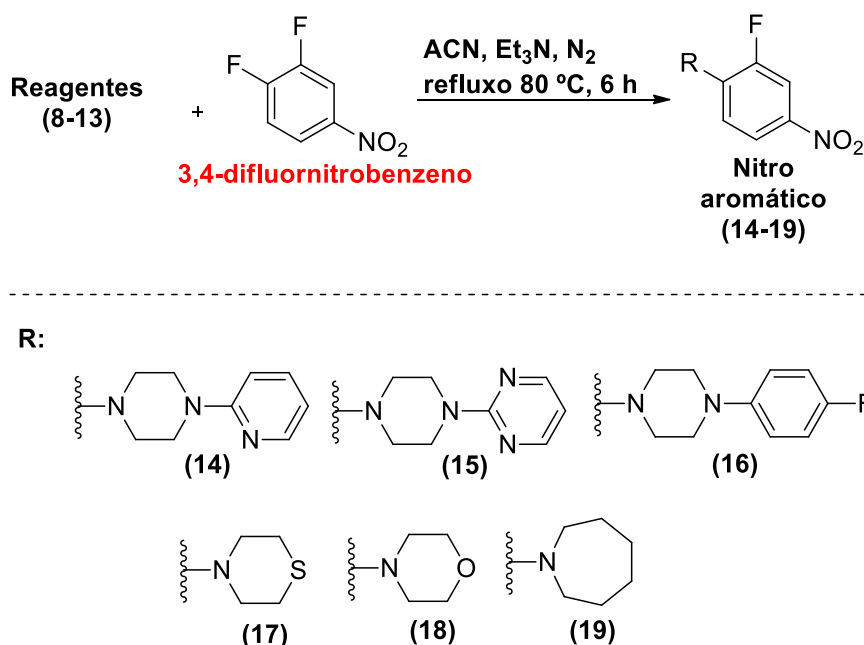
Fonte: Autoria própria.

4.7.1 Procedimento sintético da série dos derivados de ácidos borônicos

4.7.1.1 Metodologia sintética para obtenção dos intermediários nitro aromáticos (14-19)

Em um balão de 25 mL, sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados 8,0 mL de acetonitrila anidra (ACN), as aminas correspondentes (**8-13**) (1,07 mL; 7,03 mmol; 1,0 Eq.) e trietilamina (1,5 mL; 10,55 mmol; 1,5 Eq.; Et_3N). Estes foram mantidos sob agitação por 15 min. Em seguida, foi adicionado o reagente 3,4-difluornitrobenzeno (0,778 mL; 7,03 mmol; 1,0 Eq.), permanecendo sob agitação por 6 h, sob refluxo e atmosfera de nitrogênio. Após o tempo de reação, o solvente e o excesso de Et_3N , foram removidos sob pressão reduzida e os respectivos produtos foram purificados por cromatografia em coluna (coluna 5,0 cm de diâmetro e 10 cm

de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), com Hex/AcOEt 50:50 (Esquema 10) em modo isocrático (FERNANDES et al., 2021).



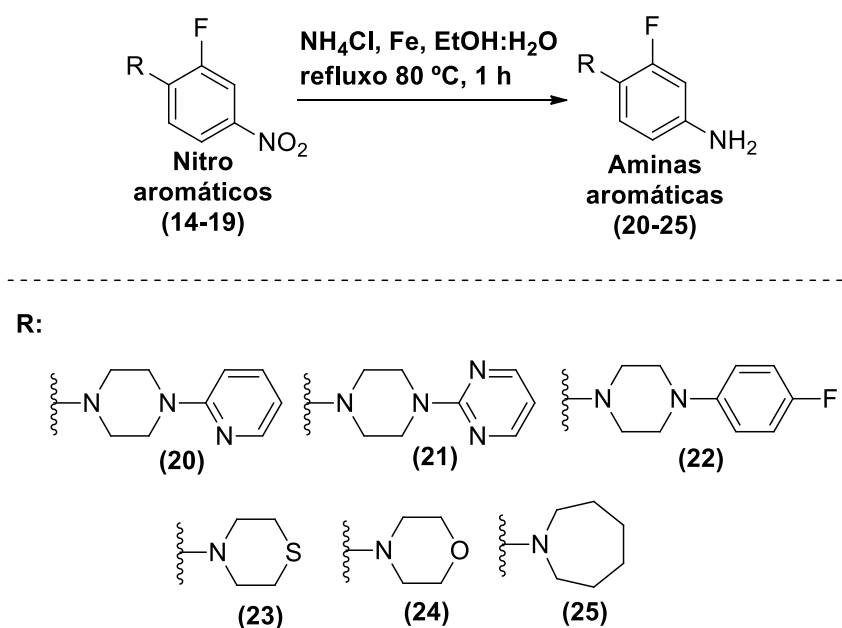
Esquema 10 – Metodologia sintética para obtenção dos compostos nitro aromáticos (14-19).

Fonte: Autoria própria.

4.7.1.2 Metodologia sintética para obtenção dos intermediários aminas aromáticas (20-25)

Em um balão de 50 mL foi adicionado os intermediários nitro aromáticos (14-19) (1,0 g; 3,31 mmol; 1,0 Eq.) em uma mistura de 15 mL de álcool etílico e 6,0 mL de água destilada, sendo logo em seguida adicionados, cloreto de amônio (NH₄Cl) (0,531g; 9,93 mmol; 3,0 Eq.) e ferro metálico (0,739 g; 13,24 mmol; 4,0 Eq.), ficando sob agitação por 1 h, em temperatura de 80 °C. Em seguida, a mistura reacional foi filtrada a vácuo com auxílio de celite 545 e lavado em metanol, sendo o solvente resultante removido sob pressão reduzida. Logo depois, a mistura resultante foi solubilizada em 50,0 mL de diclorometano (DCM), lavado três vezes com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO₃). A fase orgânica foi coletada, e nesta foi adicionada sulfato de sódio

anidro, que em seguida foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto impuro foi purificado por cromatografia em coluna (coluna 5,0 cm de diâmetro e 10 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), com Hex/AcOEt (60:40) em modo isocrático (FERNANDES et al.; 2021) (Esquema 11).



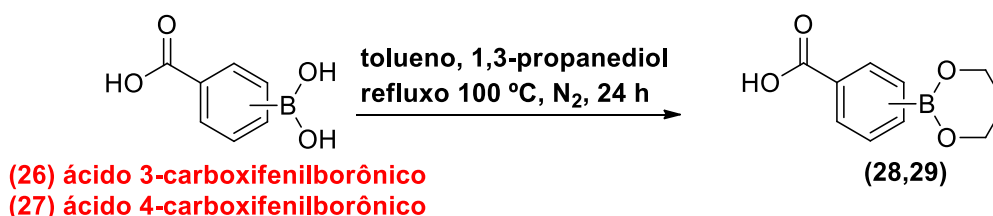
Esquema 11 – Metodologia sintética para obtenção dos intermediários aminas aromáticas (20-25).

Fonte: Autoria própria.

4.7.1.3 Metodologia de proteção dos ácidos borônicos

Em um balão de 25 mL foi adicionado 10,0 mL de tolueno anidro, os reagentes ácido 3-carboxifenilborônico (26) e ácido 4-carboxifenilborônico (27) (0,250 g; 1,55 mmol; 1,0 Eq.) e 1,3-propanodiol (0,167 mL; 2,33 mmol; 1,5 Eq.). A reação permaneceu em agitação por 24 h em refluxo a 100 °C sob atmosfera de nitrogênio. Em seguida, o solvente resultante foi removido sob pressão reduzida e o produto foi solubilizado em acetato de etila, sendo este adicionado em um funil de separação e lavado com água destilada. A fase orgânica foi coletada e seca com sulfato de sódio

anidro. Logo depois, o solvente foi removido sob pressão reduzida obtendo o produto final desejado (**28** e **29**) (Esquema 12) (SCHUMACHER, 2011).

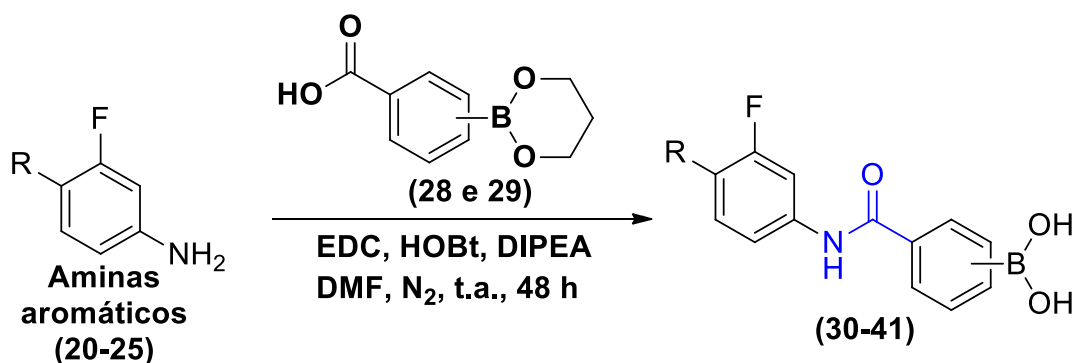


Esquema 12 – Metodologia sintética de proteção dos ácidos borônicos comerciais.

Fonte: Autoria própria.

4.7.1.4 Metodologia sintética para obtenção dos ácidos borônicos (**30-41**)

Em balão redondo de 25 mL foram adicionados 10,0 mL de *N,N*-dimetilformamida anidra (DMF), os ácidos borônicos protegidos (**28** e **29**) (0,100 g; 0,49 mmol; 1,0 Eq.), o agente acoplante *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida hidrocloreto (EDC) (0,188 g; 0,98 mmol; 2,0 Eq.) e 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) (0,132 g; 0,98 mmol; 2,0 Eq.). A reação permaneceu em agitação por 2 h sob atmosfera de nitrogênio em temperatura ambiente. Em seguida, simultaneamente, foram adicionados as aminas aromáticas (**20-25**) (0,214 g; 0,74 mmol; 1,5 Eq.) e *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) (0,129 mL; 0,74 mmol; 1,5 Eq.), permanecendo em agitação por 48 h sob temperatura ambiente em atmosfera de nitrogênio. Após esse tempo, foi adicionado 50,0 mL água no meio reacional e a solução resultante foi lavada com acetato de etila (3 x 50,0 mL) em funil de separação. A fase orgânica foi coletada, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Os produtos resultantes foram purificados por cromatografia em coluna (coluna 5,0 cm de diâmetro e 18 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), com acetato de etila, hexano e metanol (MeOH) como fase móvel. A purificação foi realizada em modo gradiente, iniciando com Hex/AcOEt (80:20) aumentando a porcentagem de AcOEt em 10%, até AcOEt/MeOH (90:10) (Esquema 13) (adaptado de CARPINO, 1993).



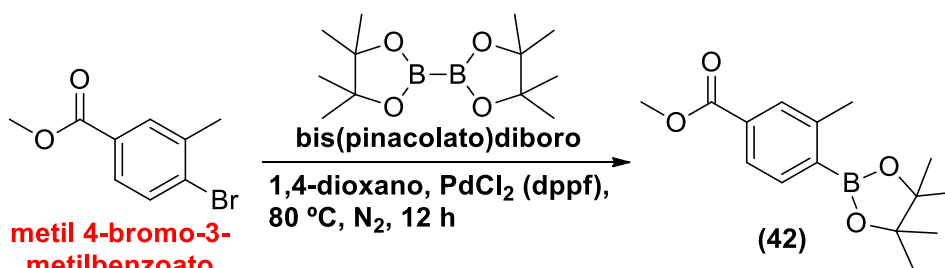
Esquema 13 – Metodologia sintética para obtenção dos produtos finais derivados ácidos borônicos (30-41).

Fonte: Autoria própria.

4.7.2 Procedimento sintético da série dos derivados benzoboroxois

4.7.2.1 Metodologia sintética da reação de borilação de Miyaura para obtenção do intermediário éster borônico (42)

A metodologia da borilação de Miyaura foi adaptada de Vontobel (2019). Em um balão de 25,0 mL foram adicionados o reagente metil 4-bromo-3-metilbenzoato (0,150 g; 0,65 mmol; 1,0 Eq.), o bis(pinacolato)diboro (0,249 g; 0,98 mmol; 1,5 Eq.), acetato de potássio (KOAc) (0,191 g; 1,95 mmol; 3,0 Eq.) e o catalisador dicloreto de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(II) [PdCl₂(dppf)] (0,048 g; 0,065 mmol; 10% mol), em 10,0 mL de 1,4-dioxano anidro e deaerado. A reação permaneceu em agitação por 12 h, em atmosfera de nitrogênio e em temperatura de 80 °C. A mistura reacional foi filtrada em celite 545 e o solvente removido sob pressão reduzida. Em seguida, o produto resultante foi solubilizado em diclorometano, sendo este levado a um funil de separação e lavado com solução saturada de cloreto de sódio (3 x 50,0 mL). A fase orgânica coletada foi seca com sulfato de sódio anidro. O produto foi purificado em cromatografia em coluna (coluna 5,0 cm de diâmetro e 15 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), em Hex/AcOEt (90;10) modo isocrático (Esquema 14) (VONTOBEL, 2019).

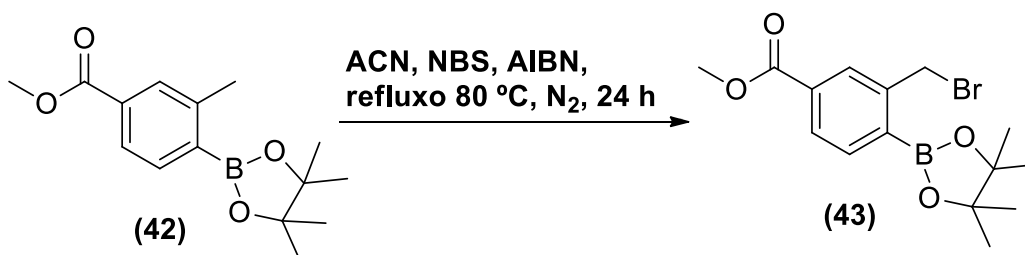


Esquema 14 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário éster borônico **(42)**.

Fonte: Autoria própria.

4.7.2.2 Metodologia para obtenção do intermediário **(43)**

A metodologia de reação de bromação foi adaptada de Vontobel (2019). Em um balão de 25,0 mL foram adicionados 6,0 mL de acetonitrila anidra e deaerada, o intermediário éster borônico **(42)** (0,100 g; 0,36 mmol; 1,0 Eq.), *N*-bromossuccinimida (NBS) (0,096 g; 0,54 mmol; 1,5 Eq.) e equivalente molar do reagente 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) (AIBN) (0,015 g; 0,09 mmol; 25% mol). A reação foi mantida sob agitação por 24 h, em temperatura de 80 °C e atmosfera de nitrogênio. Após o tempo de reação, o excesso de solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto resultante solubilizado em 50,0 mL diclorometano. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaHCO₃ (3 x 50,0 mL) e seca com sulfato de sódio anidro. Em seguida, o mesmo foi filtrado e o solvente removido sob pressão reduzida (Esquema 15).

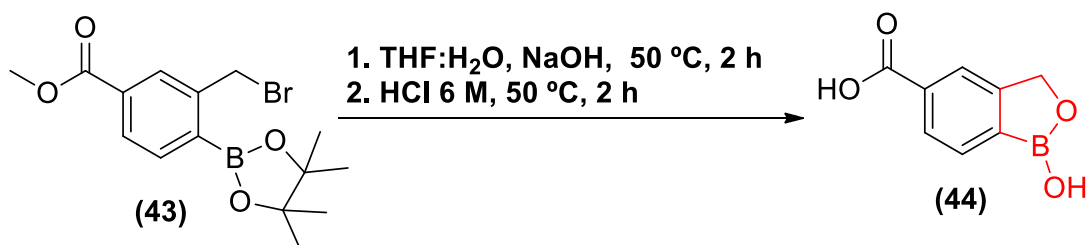


Esquema 15 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário **(43)**.

Fonte: Autoria própria.

4.7.2.3 Metodologia sintética para obtenção do intermediário benzoboroxol (**44**)

Em um balão de 25,0 mL, foram adicionados o intermediário (**43**) (0,127 g; 0,32 mmol; 1,0 Eq.) solubilizado em 2,0 mL de tetrahidrofurano (THF) e (0,146 g; 3,60 mmol; 10,0 Eq.) hidróxido de sódio (NaOH) dissolvidos em 5,0 mL de água destilada. A reação permaneceu sob agitação por 2 h a 50 °C. Após este tempo, foi adicionado gota-a-gota uma solução de ácido clorídrico (HCl) 6 M, até pH ~ 2,0, e o meio reacional ficou sob agitação por mais 2 h, em 50 °C. Em seguida, a solução foi resfriada e extraída com acetato de etila (3 x 50,0 mL). A fase orgânica foi coletada e seca com sulfato de sódio anidro, sendo esta concentrada sob pressão reduzida. O produto resultante foi purificado em cromatografia em coluna (coluna 5,0 cm de diâmetro e 15 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), em modo gradiente iniciando a fase móvel em Hex/AcOEt (20:80), até 95% de AcOEt e 5% de ácido acético glacial (Esquema 16) (VONTOBEL, 2019).



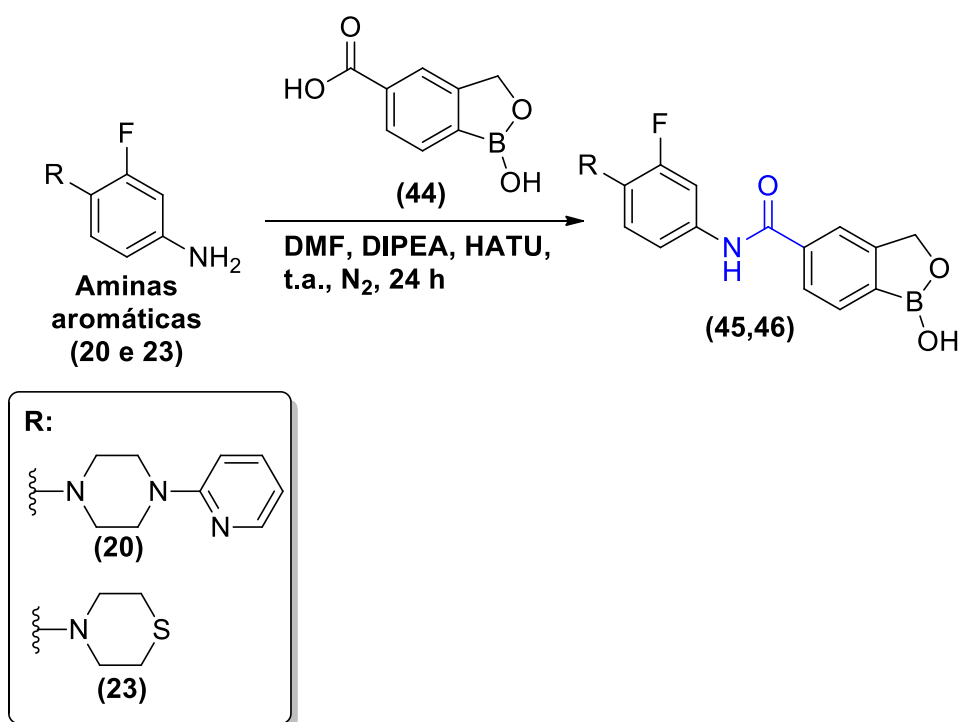
Esquema 16 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário benzoboroxol (**44**).

Fonte: Autoria própria.

4.7.2.4 Metodologia de síntese para obtenção dos compostos finais da série dos benzoboroxois (**45** e **46**)

Em um balão de 10,0 mL foram adicionados, o intermediário ácido benzoboroxol (**44**) (0,124 g; 0,68 mmol; 1,0 Eq.) e DIPEA (0,118 mL; 0,68 mmol; 1,0 Eq.), em 5,0 mL de DMF, permanecendo em agitação por 10 minutos, em atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se o agente acoplante HATU (0,285 g; 0,75 mmol; 1,1 Eq.), ficando em agitação por 2 h, em atmosfera de

nitrogênio e temperatura ambiente. Após este intervalo de tempo, foi adicionado dos intermediários da amina aromática (**21** e **23**) (0,185 g; 0,68 mmol; 1,0 Eq.), sendo a reação mantida em agitação por 24 h, em atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente. Em seguida, a reação foi finalizada adicionando água destilada no meio, sendo a solução resultante levada ao funil de separação e extraída (3 x 50,0 mL) com acetato de etila, a fase orgânica foi coletada e seca com sulfato de sódio anidro, que posteriormente foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto resultante foi purificado por cromatografia em coluna (coluna 5,0 cm de diâmetro e 15 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), com Hex/AcOEt (20:80) modo isocrático (Esquema 17) (Adaptado de WAGNER, 2016).



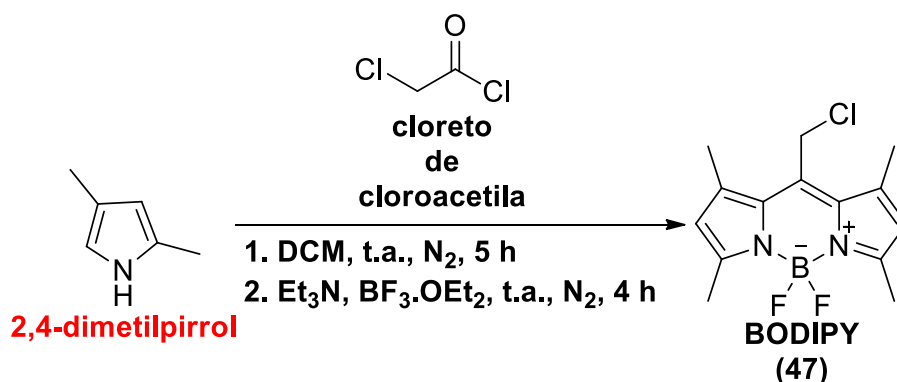
Esquema 17 – Metodologia sintética para obtenção dos derivados benzoboroxois (**45** e **46**).

Fonte: Autoria própria.

4.7.3 Procedimentos sintéticos para obtenção das sondas fluorescentes BODIPYs (47-49)

4.7.3.1 Metodologia de síntese para obtenção do núcleo fluorescente BODIPY 47

Em um balão de duas bocas, de 500 mL, foram adicionados o 2,4-dimetilpirro (0,500 mL; 4,86 mmol; 2,0 Eq) e cloreto de cloroacetila (0,19 mL; 2,43 mmol; 1,0 Eq.), em 200 mL de diclorometano anidro. A reação permaneceu em agitação por 5 h, em atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se Et₃N (1,68 mL; 12,10 mmol; 5,0 Eq.) e o complexo de trifluoreto de boro-éter dietílico (BF₃.OEt₂) (2,09 mL; 17,00 mmol; 7,0 Eq.), ficando a reação em agitação por mais 4 h, sob atmosfera de nitrogênio e temperatura ambiente. Após este tempo, a mistura reacional foi levada ao funil de separação, lavada com água destilada (3 x 50,0 mL), a fase orgânica foi coletada e o produto concentrado em pressão reduzida. O produto resultante foi purificado por cromatografia em coluna (coluna 3,0 cm de diâmetro e 15 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 63-200 µm), em modo isocrático com Hex/AcOEt (90:10) (Esquema 18) (WU et al., 2005).



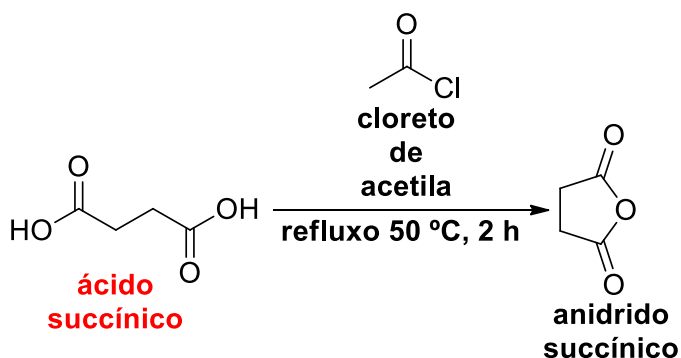
Esquema 18 – Metodologia sintética para obtenção do BODIPY 47.

Fonte: Autoria própria.

4.7.3.2 Metodologia de síntese para obtenção dos núcleos fluorescentes BODIPY 48 e 49.

4.7.3.2.1 Metodologia sintética para obtenção do intermediário anidrido succínico

Em um balão de 25,0 mL, foram adicionados o ácido succínico (1,02, g; 8,61 mmol; 1,0 Eq.) e cloreto de acetila (1,84 mL; 25,83 mmol; 3,0 Eq.). A mistura permaneceu em refluxo a 50 °C por 2 h. Em seguida, o meio reacional foi resfriado lentamente até temperatura ambiente, depois colocado em banho de gelo levando a formação de precipitado. O produto foi filtrado e lavado (3 x 20 mL) com éter etílico, obtendo produto puro cristalino (Esquema 19) (FIESER et al., 1932).

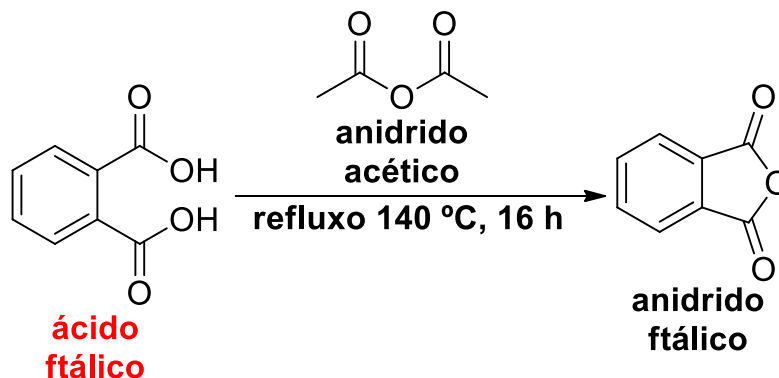


Esquema 19 – Metodologia sintética para obtenção do anidrido succínico.

Fonte: Autoria própria.

4.7.3.2.2 Metodologia sintética para obtenção do intermediário anidrido ftálico

Em um balão de 25,0 mL foram adicionados o ácido ftálico (1,5 g; 6,02 mmol; 1,0 Eq.) e anidrido acético (8,0 mL; 90,29 mmol; 15,0 Eq.), sendo a reação mantida em agitação por 16 h e em refluxo em temperatura de 140 °C. Logo em seguida, a mistura reacional foi resfriada e extraída (3 x 50,0 mL) com acetato de etila e solução saturada de NaHCO₃. A fase orgânica foi coletada e seca com sulfato de sódio anidro. Em seguida, a fase orgânica foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida, sem necessidade de purificação do produto final (Esquema 20) (OKADA JUNIOR, 2017).

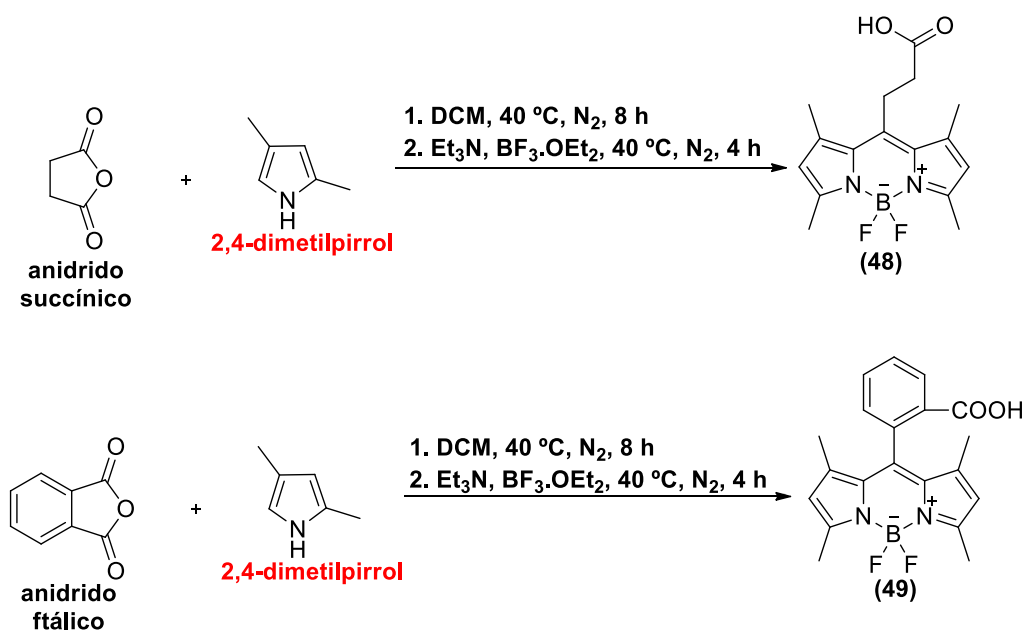


Esquema 20 – Metodologia sintética para obtenção do anidrido ftálico.

Fonte: Autoria própria.

4.7.3.2.3 Metodologia de síntese para obtenção dos núcleos BODIPYs **48** e **49**

Em um balão de duas bocas de 100 mL, contendo 30,0 mL de diclorometano, foram adicionados, anidrido succínico e/ou anidrido ftálico (0,100 g; 1,02 mmol; 1,0 Eq.), e o 2,4-dimetilpirrol (0,237 mL; 2,45 mmol; 2,4 Eq.), permanecendo em agitação por 8 h, em atmosfera de nitrogênio e temperatura de 40 °C. Em seguida, adicionou-se Et₃N (2,0 mL; 14,10 mmol; 6,0 Eq.) e BF₃.OEt₂ (1,02 mL; 8,16 mmol; 8,0 Eq.), mantendo a reação em agitação por 4 h, em atmosfera de nitrogênio a 40 °C. Logo depois, a mistura reacional foi extraída (3 x 50,0 mL) com DCM e água destilada. A fase orgânica foi coletada e seca com sulfato de sódio anidro e esta foi filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. Ambos os produtos resultantes foram purificados por cromatografia em coluna (coluna 3,0 cm de diâmetro e 15 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 63-200 µm), em modo gradiente iniciando em 100% hexano, aumentando gradativamente a polaridade em 10% com acetato de etila até alcançar a fase móvel Hex/AcOEt (80:20) (Esquema 21) (WANG et al., 2009).



Esquema 21 – Metodologia sintética para obtenção dos núcleos BODIPYs **48** e **49**.

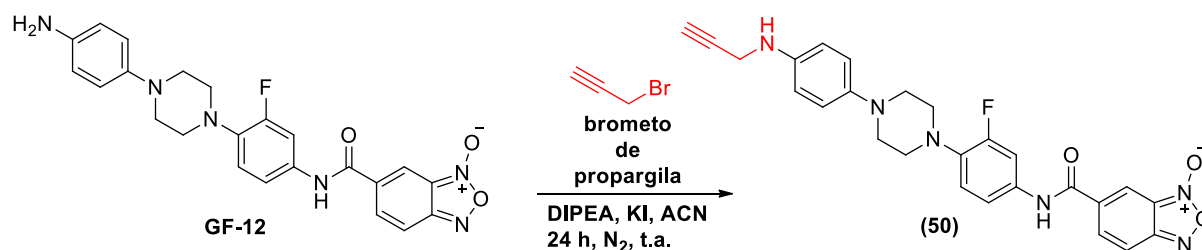
Fonte: Autoria própria.

4.7.4 Metodologia sintética de acoplamento do composto benzofuroxano GF-12 ao núcleo BODIPY 47, para obtenção da sonda fluorescente

4.7.4.1 Metodologia sintética para obtenção do intermediário (**50**)

Em um balão de 10,0 mL, contendo 5,0 mL de acetonitrila anidra, foram adicionados o composto GF-12 (0,071 g; 0,193 mmol; 1,0 Eq.) e carbonato de potássio (0,040 g; 0,29 mmol; 1,5 Eq.) (K_2CO_3). A mistura foi mantida em agitação por 3h, em atmosfera de nitrogênio e em temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se o iodeto de potássio (KI) (0,032 g; 0,193 mmol; 1,0 Eq.) e brometo de propargila (0,026 mL; 0,232 mmol; 1,2 Eq.), sob agitação por 12 h, em N_2 e temperatura ambiente. Logo após, o excesso de solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto resultante foi extraído com acetato de etila e água destilada. A fase orgânica foi coletada e seca com agente secante (sulfato de sódio anidro), filtrada e o solvente removido sob agitação em pressão reduzida. O concentrado foi purificado por cromatografia em coluna (coluna 3,0 cm de diâmetro e 15 cm de

altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 63-200 µm), com Hex/AcOEt (60:40) modo isocrático (Esquema 22) (Adaptado de SANTANA-ROMO, 2020).

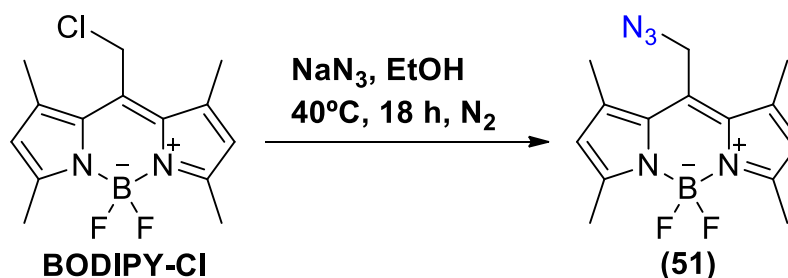


Esquema 22 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário (50).

Fonte: Autoria própria.

4.7.4.2 Metodologia sintética para obtenção do intermediário (51)

Em um balão de 100,0 mL foram adicionados o BODIPY **47** (0,081 g; 0,273 mmol; 1,0 Eq.) e azida de sódio (NaN₃) (0,178 g; 2,73 mmol; 10,0 Eq.), em 50,0 mL de etanol. A reação foi mantida em agitação por 18 h, em N₂ e 40 °C. Em seguida, o solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto resultante foi solubilizado em acetato de etila e extraído (3 x 50 mL) com água destilada. A fase orgânica foi coletada e seca com sulfato de sódio anidro, e o excesso de solvente foi removido sob agitação à pressão reduzida. A mistura foi purificada por cromatografia em coluna (coluna 3,0 cm de diâmetro e 10 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 63-200 µm), com Hex/AcOEt (95:5) modo isocrático (Esquema 23) (Adaptado de MACIAS-CONTRERAS, 2017).

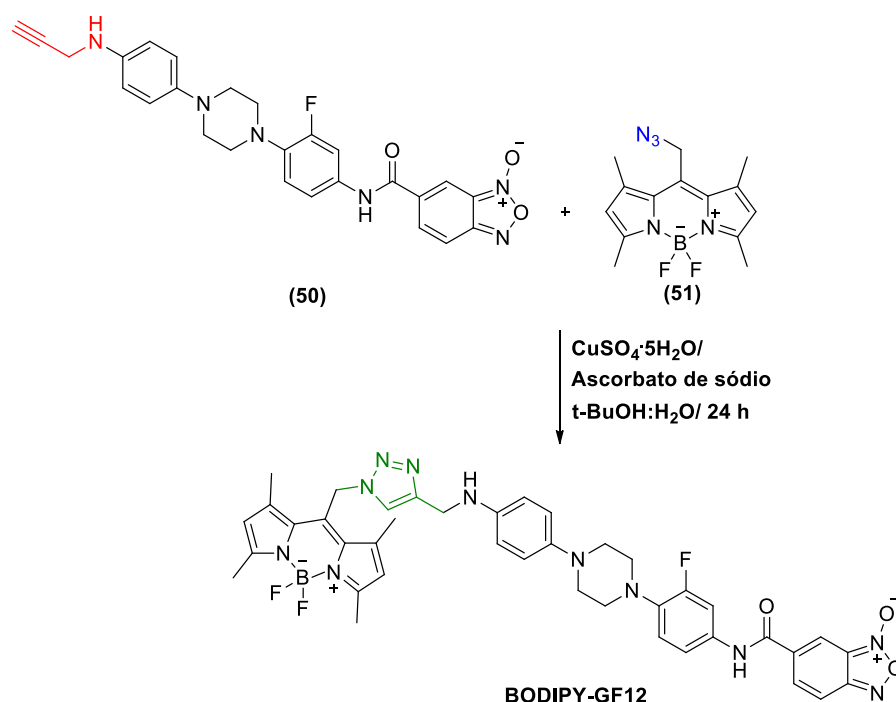


Esquema 23 – Metodologia sintética para obtenção do intermediário **(51)**.

Fonte: Autoria própria.

4.7.4.3 Metodologia sintética para obtenção da sonda fluorescente BODIPY-GF12

Em um balão de fundo redondo de 25,0 mL, foram adicionados o intermediário **(49)** (0,020 g; 0,0411 mmol, 1,0 Eq.), o intermediário **(50)** (0,015 g; 0,0493 mmol; 1,2 Eq.), sulfato de cobre pentaidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (0,010 g; 0,0411 mmol; 1,0 Eq.) e ascorbato de sódio (0,008 g; 0,0411 mmol; 1,0 Eq.), em uma mistura 1:1 de água e *tert*-butanol (*t*-BuOH). A reação permaneceu sob agitação por 24 h em temperatura ambiente. Logo depois, a solução foi extraída (3 x 50 mL) com acetato de etila, sendo a fase orgânica coletada e seca com agente secante (sulfato de sódio anidro). Em seguida, a fase orgânica foi concentrada a pressão reduzida, e a mistura foi purificada por cromatografia em coluna (coluna 3,0 cm de diâmetro e 20 cm de altura, sílica gel com poros de 60 Å e partículas de 63-200 µm), com Hex/AcOEt (70:30) modo isocrático (Esquema 24) (Adaptado de JIA; ZHU, 2010).



Esquema 24 – Metodologia sintética para obtenção da sonda fluorescente BODIPY-GF12.

Fonte: Autoria própria.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

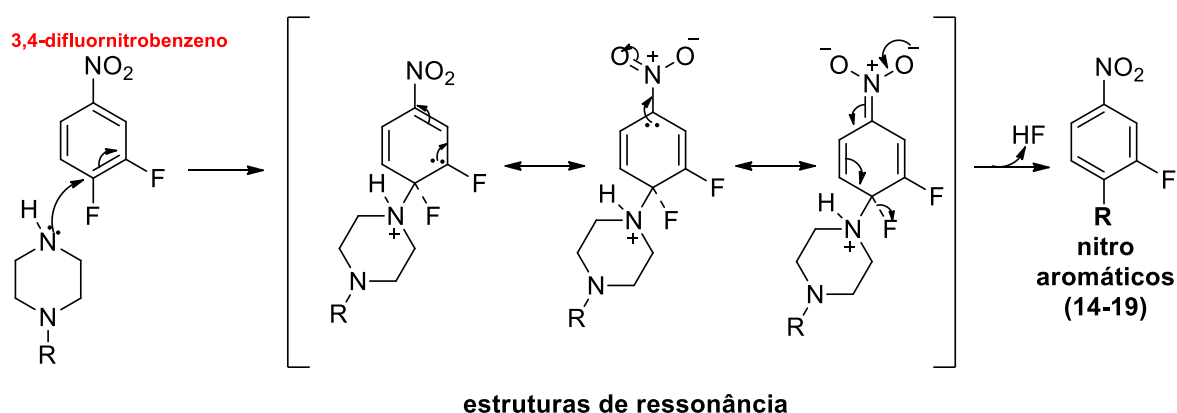
5.1 Síntese dos derivados ácidos borônicos

A rota sintética para obtenção dos derivados contendo a função ácido borônico, ocorre por três etapas: (1) síntese dos intermediários nitro aromáticos, (2) síntese dos intermediários aminas aromáticas e, por fim, (3) a síntese para obtenção dos ácidos borônicos.

5.1.1 Síntese dos intermediários nitro aromáticos (14-19)

A primeira etapa consiste em uma reação de Substituição Nucleofílica Aromática ($\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$) entre as aminas secundárias cíclicas (**8-13**), com o reagente 3,4-difluornitrobenzeno. A reação inicializa com a desprotonação da amina cíclica, com trietilamina, levando a formação da espécie aniônica. Em seguida, o par de elétrons

da amina ataca o carbono ligado ao átomo de flúor localizado na posição *para*, em relação ao substituinte nitro, uma vez que grupos retiradores de elétrons ligados nas posições *orto* e *para*, com relação ao grupo abandonador, permitem maior deslocalização da carga negativa resultante, como ilustrado no esquema 25. Por fim, a reação finaliza com a saída do átomo de flúor e a formação dos compostos nitro aromáticos (Esquema 25). Essa reação de S_NAr é facilitada pelo efeito eletroatrator do flúor vicinal, favorecendo a adição-eliminação.

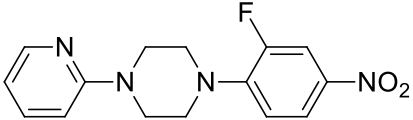
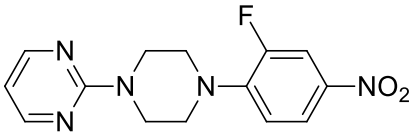
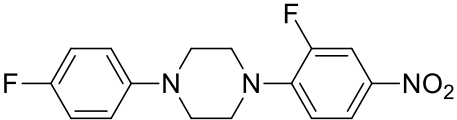
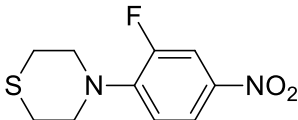


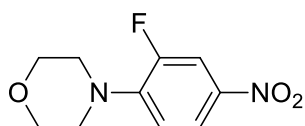
Esquema 25 – Mecanismo da reação de Substituição Nucleofílica Aromática (S_NAr) de adição-eliminação.

Fonte: Autoria própria.

Nesta primeira etapa foram obtidos seis compostos nitro aromáticos, com bons rendimentos, variando de 85% a 98%. Na tabela 3 estão apresentadas as estruturas químicas dos compostos, seus respectivos rendimentos e suas faixas de fusão.

Tabela 3 – Estrutura química, características e rendimento global dos compostos **14-19**.

Composto	Característica	Rendimento	Faixa de fusão (°C)
 1-(2-fluor-4-nitrofenil)-4-(piridin-2-il)piperazina (14)	Sólido amarelo	98%	152-154
 2-(4-(2-fluor-4-nitrofenil)piperazin-1-il)pirimidina (15)	Sólido amarelo	85%	190-192
 1-(2-fluor-4-nitrofenil)-4-(4-fluorofenil)piperazina (16)	Sólido amarelo	98%	135-137
 4-(2-fluor-4-nitrofenil)tiomorfolina (17)	Sólido laranja	98%	54-56

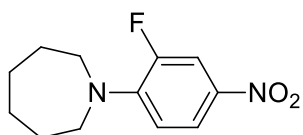


4-(2-fluor-4-nitrofenil)morfolina
(18)

Sólido laranja

98%

109-111



1-(2-fluor-4-nitrofenil)azepano
(19)

Sólido amarelo

98%

32-33

Fonte: Autoria própria.

As estruturas dos compostos foram caracterizadas por RMN ^1H e ^{13}C , operando em 600 MHz (^1H) e 150 MHz (^{13}C). Devido à similaridade da estrutura dos intermediários, foi selecionado nessa tese apenas o composto (14) para ser discutida. Os deslocamentos nos espectros de ^1H e ^{13}C estão apresentados nas tabelas 4-6 para os demais compostos (15-19).

Os hidrogênios metilênicos do anel piperazínico (H_8 e H_9) para o composto (14), apresentam seus sinais em região de campo alto do espectro, com deslocamentos químicos de δ 3,67-3,65 e δ 3,42-3,40, respectivamente (Figura 12). O H_8 se apresenta como duplo duplete, com constante de acoplamento de $J = 6,2$; 4,2 Hz, e o H_9 apresenta a mesma multiplicidade com valores de $J = 6,2$; 4,2 Hz, indicando acoplamento entre eles. Além disso, ambos integram quatro hidrogênios.

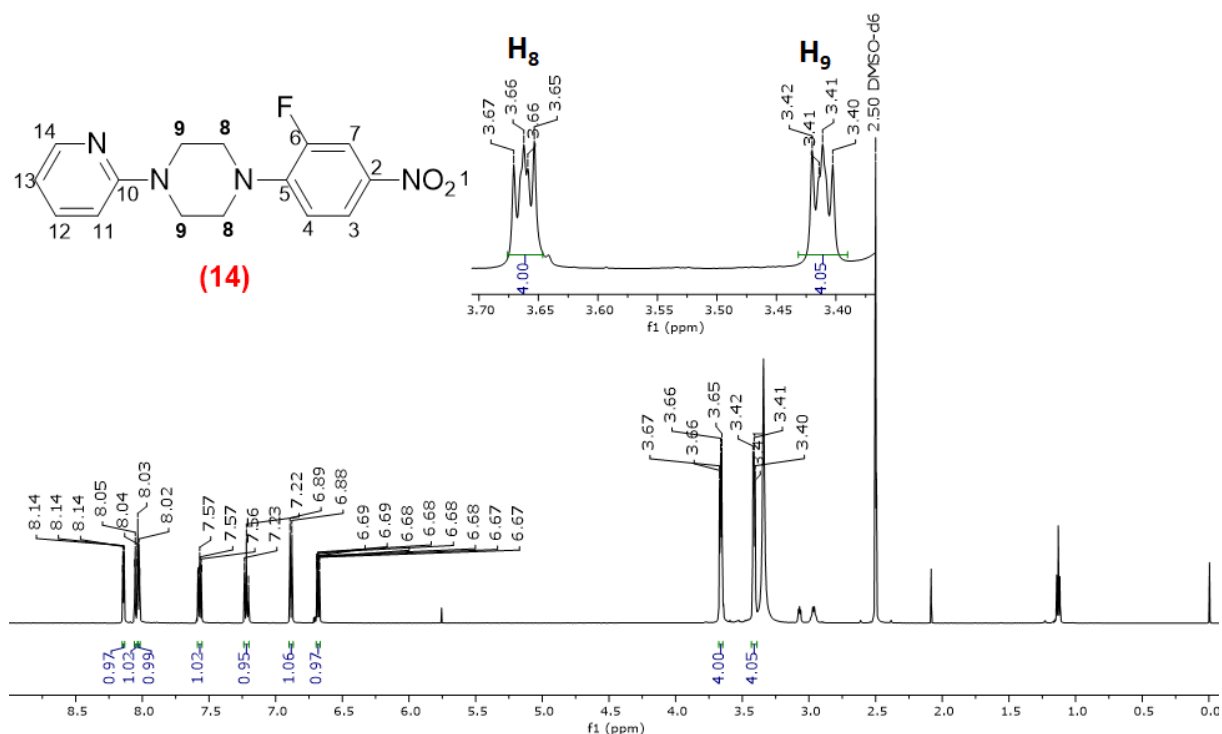


Figura 12 – Espectro de RMN ^1H do composto **14** (600 MHz) na região dos hidrogênios metilênicos (H_8 e H_9) e seus respectivos deslocamentos químicos.

Fonte: Autoria própria.

Os sinais que correspondem aos hidrogênios aromáticos, integram para o total de sete hidrogênios, sendo quatro hidrogênios pertencentes à porção do anel piridínico e três que compreendem os hidrogênios da porção nitro aromático (Figura 13). O H_{14} possui deslocamento químico (δ 8,15-8,17), com multiplicidade duplo duplo duplete e constantes de acoplamento $J = 4,9; 2,0$ Hz, que indica acoplamento em *orto* com H_{13} e *meta* com hidrogênio da posição H_{12} , respectivamente. O hidrogênio na posição H_{13} (δ 6,69-6,67), por sua vez, possui multiplicidade duplo duplo duplete e constantes de acoplamento $J = 7,1; 4,9$ Hz, fazendo apenas acoplamento em *orto* com H_{12} e H_{14} , respectivamente. O H_{12} (δ 7,58-7,55, duplo duplo duplete), apresenta dois acoplamentos *orto*: $J = 8,8$ Hz com H_{11} e 7,1 Hz com H_{13} , e um acoplamento *meta* $J = 2,0$ com H_{14} . Por fim, o H_{11} (δ 6,89-6,88) acopla-se apenas em *orto* com H_{12} ($J = 8,8$ Hz). Os hidrogênios (H_7 , H_4 e H_3) se apresentaram como mutipletos, devido a sobreposição de seus sinais no espectro, não sendo possível determinar suas constantes de acoplamento.

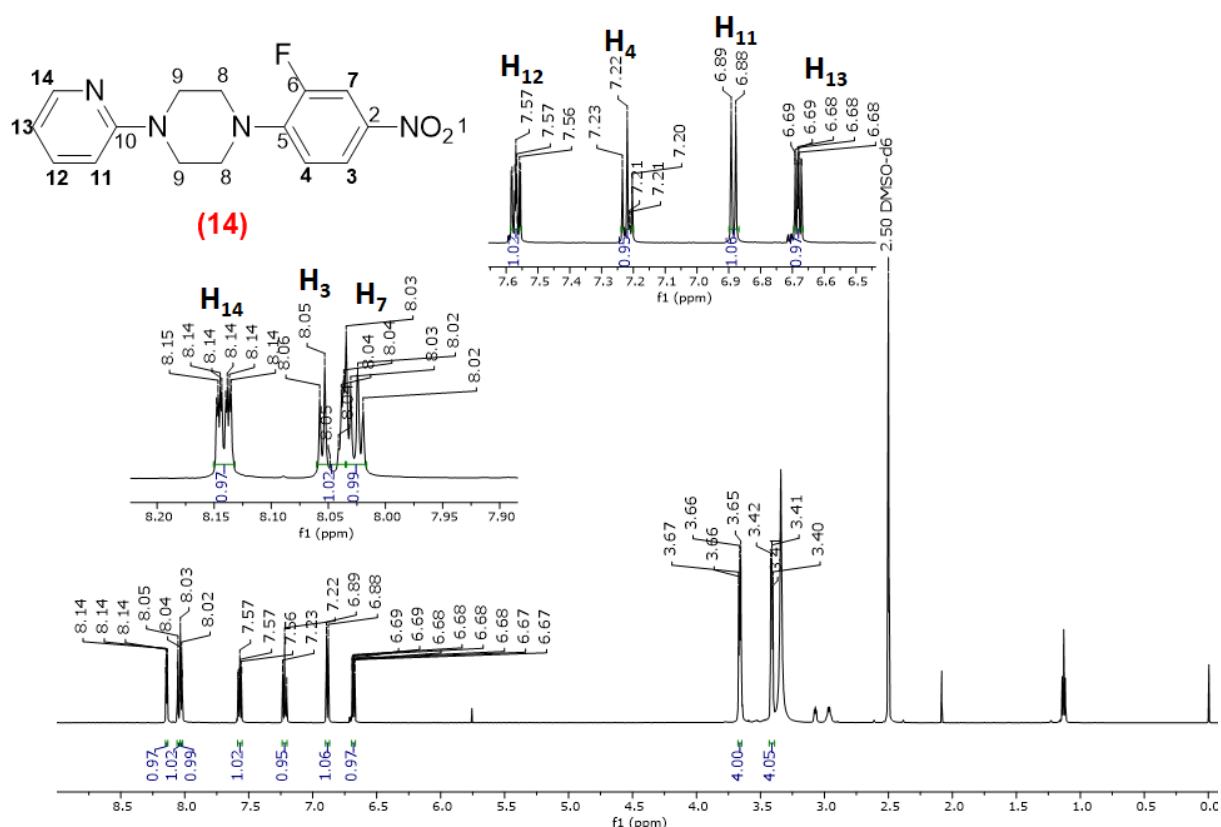


Figura 13 – Espectro de RMN ^1H do composto **14** (600 MHz) na região dos hidrogênios aromáticos, com seus respectivos deslocamentos químicos.

Fonte: Autoria própria.

Para o espectro de RMN de ^{13}C do composto (**14**), foi possível determinar todos os carbonos quaternários (C_{10} , C_6 , C_5 e C_2), os carbonos metinos (C_{14} , C_{13} , C_{12} , C_{11} , C_7 , C_4 e C_3) e os carbonos metilênicos (C_9 e C_8). Os carbonos C_6 e C_{14} apresentam os maiores deslocamentos químicos (δ 152,9 C_6 e 147,6 C_{14}), devido ao efeito indutivo, provocado pelos átomos de flúor e nitrogênio, que retiram a densidade eletrônica aumentando a desblindagem destes carbonos. Os carbonos do anel nitro aromático (C_7 , C_6 , C_5 , C_4 , C_3 e C_2) apresentam acoplamento carbono-flúor ($J_{\text{C-F}}$): 26,2; 247,3; 7,6; 4,3; 2,9 e 9,2 Hz, respectivamente (Anexo 2, p. 155).

Nas tabelas 4, 5 e 6, estão apresentados os deslocamentos químicos (^1H e ^{13}C), bem como, as constantes de acoplamento e as multiplicidades de todos os intermediários nitro aromáticos (**14-19**).

Tabela 4 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos **14** e **15**.

Composto 14			Composto 15		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	-	-	-	-	
2	-	139,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 9,2 Hz, 1C)	-	139,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 9,4 Hz, 1C)	
3	8,06-8,03 (m, 1H)	121,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,9 Hz, 1C)	8,06-8,04 (m, 1H)	121,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,1 Hz, 1C)	
4	7,23-7,20 (m, 1H)	118,0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,3 Hz, 1C)	7,23-7,20 (t, J = 9,1 Hz, 1H)	118,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,4 Hz, 1C)	
5	-	145,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 7,6 Hz, 1C)	-	145,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 8,0 Hz, 1C)	
6	-	152,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 247,4 Hz, 1C)	-	152,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 247,8 Hz, 1C)	
7	8,03-8,02 (m, 1H)	112,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 26,2 Hz, 1C)	8,04-8,02 (m, 1H)	112,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 26,4 Hz, 1C)	
8	3,67-3,65 (dd, J = 6,2; 4,2 Hz, 4H)	48,8	3,91-3,89 (m, 4H)	48,9	
9	3,42-3,40 (dd, J = 6,2; 4,2 Hz, 4H)	44,3	3,39-3,37 (m, 4H)	43,0	
10	-	158,8	-	161,1	
11	6,89-6,88 (d, J = 8,8 Hz, 1H)	107,2	8,41-8,40 (d, J = 4,7 Hz, 2H)	158,0	
12	7,58-7,55 (ddd, J = 8,8; 7,1; 2,0 Hz, 1H)	137,7	6,69-6,67 (t, J = 4,7 Hz, 2H)	110,4	
13	6,69-6,67 (ddd, J = 7,1; 4,9 Hz, 1H)	113,4	-	-	
14	8,15-517 (ddd, J = 4,9; 2,0 Hz, 1H)	147,6	-	-	

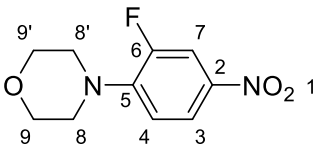
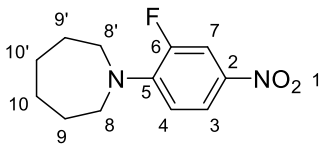
Fonte: Autoria própria.

Tabela 5 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos **16** e **17**.

Composto 16			Composto 17		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	-	-	-	-	
2	-	139,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 9,4 Hz, 1C)	-	140,7 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 8,7 Hz, 1C)	
3	8,06-8,04 (dd, J = 8,4; 2,6 Hz, 1H)	121,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,9 Hz, 1C)	8,04-8,00 (m, 1H)	121,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,6 Hz, 1C)	
4	7,23-7,22 (m, 1H)	117,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 7,9 Hz, 1C)	7,23-7,17 (t, J = 9,2 Hz 1H)	117,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,5 Hz, 1C)	
5	-	145,2 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 7,7 Hz, 1C)	-	146,0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 7,6 Hz, 1C)	
6	-	152,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 247,5 Hz, 1C)	-	153,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 249,0 Hz, 1C)	
7	8,04-8,03 (m, 1H)	112,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 26,5 Hz, 1C)	8,00-7,97 (m, 1H)	112,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 26,5 Hz, 1C)	
8	3,45-3,43 (dd, J = 4,7 Hz, 4H)	49,1	3,58-3,55 (dd, J = 5,1; 2,6 Hz, 4H)	52,5	
9	3,25-3,24 (dd, J = 4,5 Hz, 4H)	48,9	2,76-2,73 (dd, J = 5,1; 2,6 Hz, 4H)	27,5	
10	-	147,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,3 Hz, 1C)	-	-	
11	7,03-7,01 (m, 2H)	115,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 22,0 Hz, 1C)	-	-	
12	7,10-7,07 (m, 2H)	118,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,4 Hz, 1C)	-	-	
13	-	157,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 236,1 Hz, 1C)	-	-	

Fonte: Autoria própria.

Tabela 6 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos **18** e **19**.

					
Composto 18			Composto 19		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	-	-	-	-	
2	-	141,0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 8,7 Hz, 1C)	-	136,7 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 8,5 Hz, 1C)	
3	8,00-7,98 (ddd, J = 9,0; 2,6 Hz, 1H)	121,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,7 Hz, 1C)	7,92-7,90 (dd, J = 9,3; 2,7 Hz, 1H)	121,7 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 1,4 Hz, 1C)	
4	6,93-6,90 (dd, J = 8,8 Hz, 1H)	117,0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,9 Hz, 1C)	6,73-6,70 (dd, J = 9,2 Hz, 1H)	113,8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 5,5 Hz, 1C)	
5	-	145,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 7,4 Hz, 1C)	-	144,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 7,0 Hz, 1C)	
6	-	154,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 249,5 Hz, 1C)	-	150,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 245,1 Hz, 1C)	
7	7,93-7,90 (dd, J = 13,1; 2,6 Hz, 1H)	112,8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 26,3 Hz, 1C)	7,87-7,85 (dd, J = 15,0; 2,6 Hz, 1H)	113,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 27,8 Hz, 1C)	
8	3,89-3,86 (m, 4H)	66,7	3,58-3,56 (td, J = 6,3; 1,5 Hz, 4H)	52,3	
9	3,29-3,26 (m, 4H)	50,0	1,87-1,82 (m, 4H)	28,5	
10	-	-	1,63-1,56 (m, 4H)	26,9	

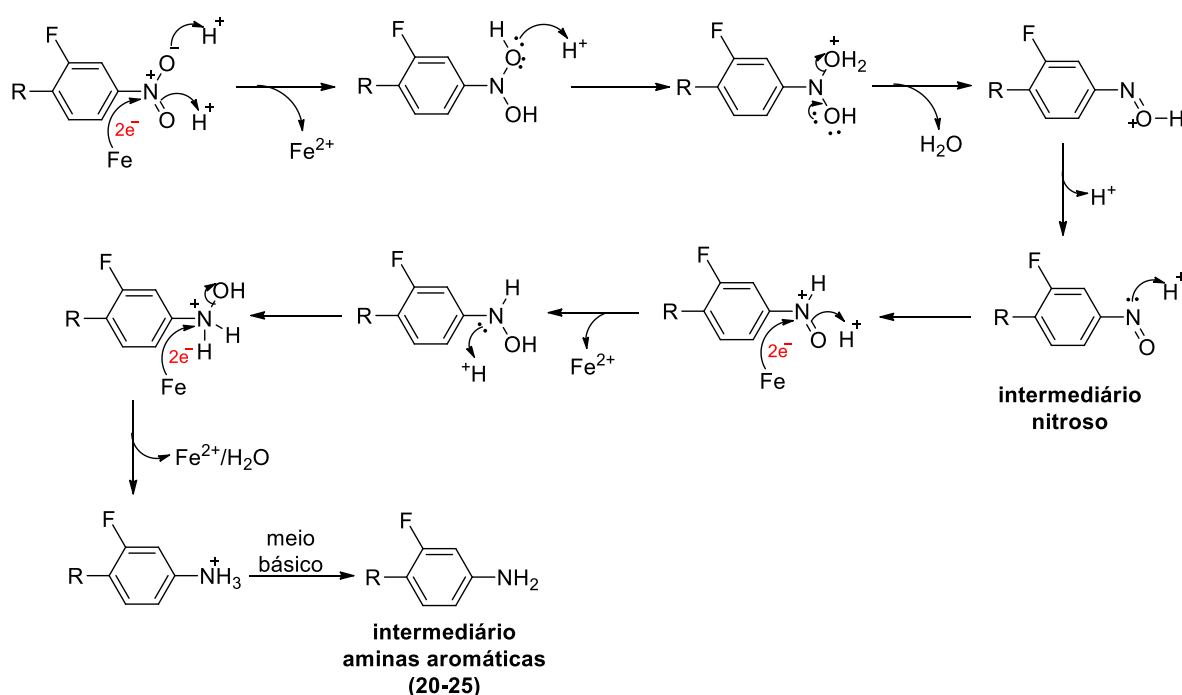
Fonte: Autoria própria.

5.1.2 Síntese das aminas aromáticas (20-25)

A segunda etapa da rota sintética consiste na interconversão do grupo funcional nitro para amina, através da reação de redução de Béchamp, onde a redução ocorre na presença de ferro metálico como agente doador de elétrons e meio ácido como fonte de hidrogênio.

O mecanismo da reação não é completamente elucidado, mas é sugerido que este inicia-se pela redução do grupo nitro para nitroso, pela transferência de elétrons

do ferro metálico ao nitrogênio, levando ao rearranjo da ligação π N=O para formação da ligação σ O–H e, de forma concertada, com a captura de próton pelo par de elétrons do oxigênio. Em seguida, a ligação π N=O é restaurada, com a saída da água como grupo abandonador, sendo o intermediário nitroso formado (Esquema 26). Na sequência, o par de elétrons do nitrogênio captura o próton, e devido a deficiência de elétrons, novamente ocorre transferência de elétrons para o átomo de nitrogênio e a ligação π N=O é desfeita com a formação da nova ligação σ O–H. A última etapa ocorre da mesma forma, com a protonação do nitrogênio, transferência de elétrons pelo ferro e saída da água, que leva a formação do íon anilínio, onde a anilina é obtida em meio básico. No esquema 26 abaixo, está ilustrado a proposta de mecanismo da redução de Béchamp.

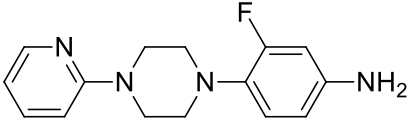
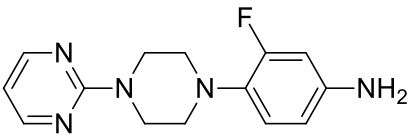
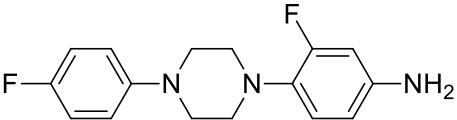
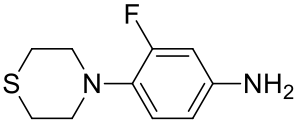


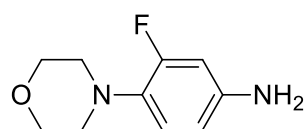
Esquema 26 – Mecanismo da reação de redução de Béchamp.

Fonte: Adaptado de WANG, 2010.

Foram obtidos seis intermediários aminas aromáticas, com rendimentos, variando entre 52% a 98%. Na tabela 7 estão ilustradas as estruturas químicas dos compostos com seus rendimentos.

Tabela 7 – Estrutura química, característica e rendimento global dos compostos **20-25**.

Composto	Característica	Rendimento	Faixa de fusão (°C)
 3-fluor-4-(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)anilina (20)	Sólido marrom	52%	92-95
 3-fluor-4-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)pirimidina (21)	Sólido marrom	98%	81-82
 3-fluor-4-(4-(4-fluorofenil)piperazin-1-il)anilina (22)	Sólido marrom	62%	161-164
 3-fluor-4-tiomorfolinanilina (23)	Sólido marrom	82%	63-66

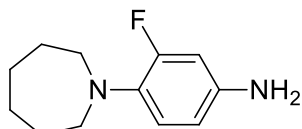


3-fluor-4-morfolinalinina
(24)

Sólido marrom

59%

119-121



4-(azepan-1-il)-3-fluoranilina
(25)

Óleo preto

62%

-

Fonte: Autoria própria.

As estruturas dos intermediários aminas aromáticas foram elucidadas por RMN ^1H e ^{13}C , operando em 600 MHz (^1H) e 150 MHz (^{13}C), devido a semelhança estrutural, nesta seção será discutida os espectros do composto (20).

No espectro de ^1H do intermediário (20), observa-se o sinal em δ 5,01, como simpleto, integrando para dois hidrogênios o que indica a formação da amina primária. Os três hidrogênios da porção arilamina (H_7 , H_4 e H_3) apresentaram menores deslocamentos químicos (δ 6,37-6,34; 6,82-6,78; 6,32-6,30, respectivamente), em comparação com seu intermediário nitro aromático (14) (H_7 , H_4 e H_3 : δ 8,03-8,02; 7,23-7,20; 8,06-8,03, respectivamente) (Figura 14). O fato é justificado pela delocalização do par de elétrons não ligantes do nitrogênio da amina que, conseqüentemente, blindam os núcleos dos hidrogênios do campo magnético aplicado. Já os hidrogênios da porção piridina (H_{14} , H_{13} , H_{12} e H_{11}), mostraram seus deslocamentos químicos, bem como as constantes de acoplamento similares ao seu intermediário nitro aromático.

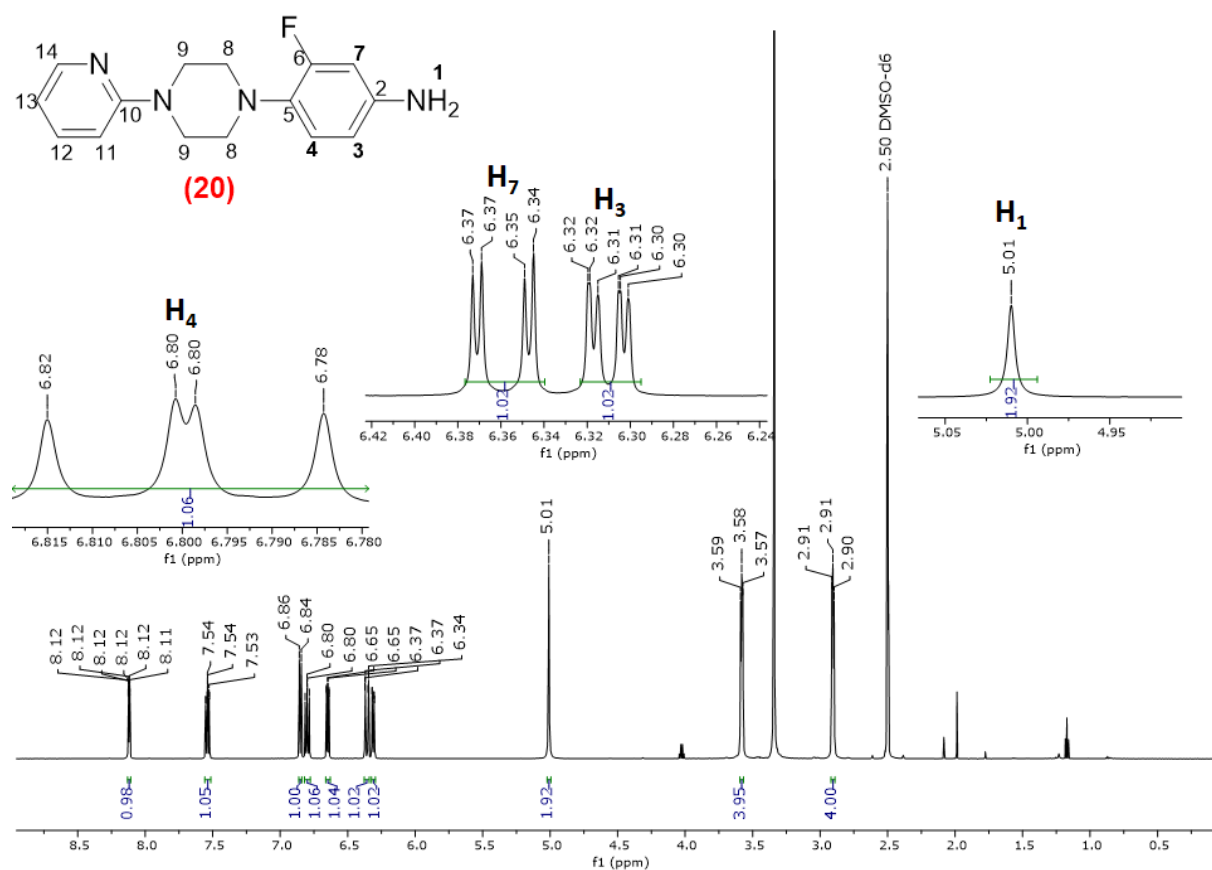
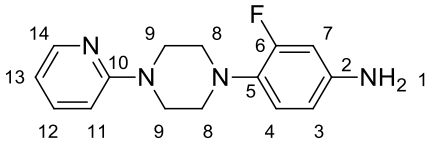
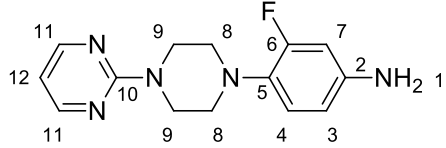


Figura 14 – Espectro de RMN ^1H do composto **20** (600 MHz) na região dos hidrogênios aromáticos (H_3 , H_4 e H_7) e os hidrogênios da amina primária (H_1).

Fonte: Autoria própria.

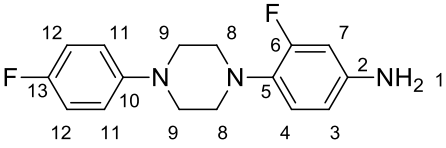
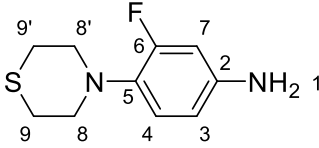
Nas tabelas 8, 9 e 10, estão apresentados os deslocamentos químicos, multiplicidade e constantes de acoplamento para cada composto.

Tabela 8 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos **20** e **21**.

					
Composto 20			Composto 21		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	5,01 (s, 1H)	-	5,01 (s, 2H)	-	
2	-	145,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 11,0 Hz, 1C)	-	145,7 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 11,2 Hz, 1C)	
3	6,32-6,30 (m, 1H)	109,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,9 Hz, 1C)	6,31-6,29 (m, 1H)	109,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,0 Hz, 1C)	
4	6,82-6,78 (dd, J = 9,9; 8,6 Hz 1H)	120,8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,9 Hz, 1C)	6,81-6,77 (dd, J = 9,9; 8,6 Hz, 1H)	120,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 5,0 Hz, 1C)	
5	-	129,0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10,3 Hz, 1C)	-	129,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10,0 Hz, 1C)	
6	-	157,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 241,6 Hz, 1C)	-	157,2 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 241,3 Hz, 1C)	
7	6,37-6,34 (dd, J = 14,4; 2,5 Hz, 4H)	101,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 23,5 Hz, 1C)	6,37-6,37 (dd, J = 14,4; 2,5 Hz, 1H)	101,8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 25,2 Hz, 1C)	
8	3,67-3,65 (dd, J = 6,2; 4,2 Hz, 4H)	49,0	3,84-3,83 (m, 4H)	43,6	
9	3,42-3,40 (dd, J = 6,2; 4,2 Hz, 4H)	51,1	2,87-2,85 (m, 4H)	51,2	
10	-	159,0	-	161,2	
11	6,84-6,86 (d, J = 8,7 Hz, 1H)	107,1	8,37-8,36 (d, J = 4,7 Hz, 2H)	157,9	
12	7,55-7,52 (ddd, J = 8,7; 7,1; 2,0 Hz, 1H)	137,6	6,64-6,63 (t, J = 4,7 Hz, 2H)	110,2	
13	6,66-6,64 (ddd, J = 7,1; 4,9 Hz, 1H)	113,1			
14	8,13-511 (ddd, J = 4,9; 2,0 Hz, 1H)	147,6			

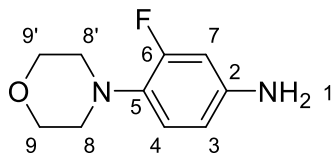
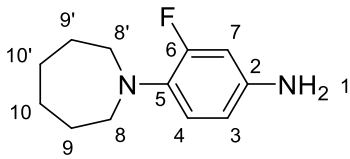
Fonte: Autoria própria.

Tabela 9 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos **22** e **23**.

					
Composto 22			Composto 23		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	5,01 (s, 1H)	-	3,56 (s, 2H)	-	
2	-	145,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 11,0 Hz, 1C)	-	143,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10,4 Hz, 1C)	
3	6,33-6,31 (dd, J = 8,4; 2,5 Hz, 1H)	109,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,8 Hz, 1C)	6,39-6,37 (dd, J = 8,3 Hz, 1H)	110,7 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,1 Hz, 1C)	
4	6,82-6,79 (dd, J = 9,9; 8,5 Hz, 1H)	120,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 5,0 Hz, 1C)	6,82-6,80 (t, J = 8,8 Hz, 1H)	122,0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,2 Hz, 1C)	
5	-	128,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10,1 Hz, 1C)	-	133,0 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 9,9 Hz, 1C)	
6	-	156,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 235,3 Hz, 1C)	-	157,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 245,3 Hz, 1C)	
7	6,37-6,34 (dd, J = 14,4; 2,5 Hz, 1H)	101,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 23,7 Hz, 1C)	6,42-6,39 (dd, J = 13,3; 2,3 Hz, 1H)	103,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 23,7 Hz, 1C)	
8	3,19-3,17 (m, 4H)	49,4	3,24-3,16 (m, 4H)	28,4	
9	2,98-2,95 (m, 4H)	51,2	2,84-2,76 (m, 4H)	54,1	
10	-	147,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,1 Hz, 1C)	-	-	
11	6,99-6,97 (dt, J = 4,5; 2,3 Hz, 2H)	117,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 8,2 Hz, 1C)	-	-	
12	7,07-7,04 (m, 2H)	115,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 22,0 Hz, 1C)	-	-	
13	-	157,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 242,1 Hz, 1C)	-	-	

Fonte: Autoria própria.

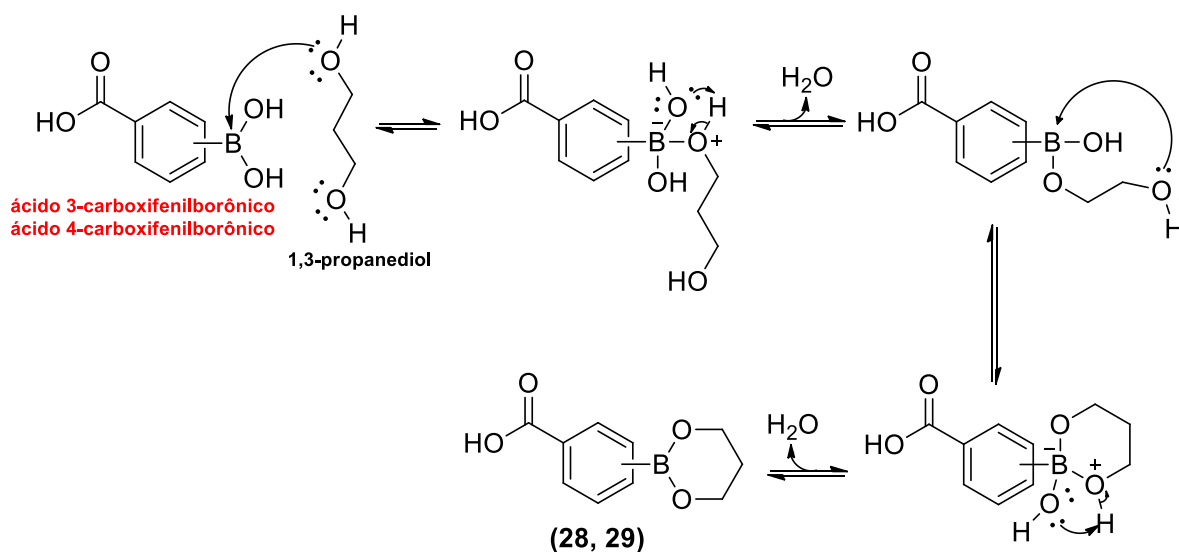
Tabela 10 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos intermediários nitro aromáticos **24** e **25**.

					
Composto 24			Composto 25		
Posição	$\delta \text{ } ^1\text{H}$	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$	$\delta \text{ } ^1\text{H}$	$\delta \text{ } ^{13}\text{C}$	
1	3,56 (s, 2H)	-	4,81 (s, 2H)	-	
2	-	142,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10,4 Hz, 1C)	-	143,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10,2 Hz, 1C)	
3	6,40-6,37 (ddd, J = 8,4; 3,1 Hz, 1H)	110,7 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,1 Hz, 1C)	6,25 (dd, J = 8,5; 2,5 Hz, 1H)	109,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,0 Hz, 1C)	
4	6,82-6,80 (dd, J = 8,8 Hz, 1H)	120,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,2 Hz, 1C)	6,71 (dd, J = 10,2; 8,6 Hz, 1H)	120,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,9 Hz, 1C)	
5	-	131,8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 9,7 Hz, 1C)	-	133,8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 9,4 Hz, 1C)	
6	-	157,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 245,2 Hz, 1C)	-	156,1 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 243,6 Hz, 1C)	
7	6,42-6,40 (dd, J = 13,5; 2,5 Hz, 1H)	103,9 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 23,9 Hz, 1C)	6,30 (dd, J = 14,9; 2,5 Hz, 1H)	100,2 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 24,4 Hz, 1C)	
8	3,20-3,18 (m, 4H)	51,8	3,07-3,03 (m, 4H)	28,8	
9	2,80-2,79 (m, 4H)	67,3	1,70-1,66 (m, 4H)	26,8	
10	-	-	1,58-1,55 (m, 4H)	53,1	

Fonte: Autoria própria.

5.1.3 Síntese dos compostos finais ácidos borônicos (**30-41**)

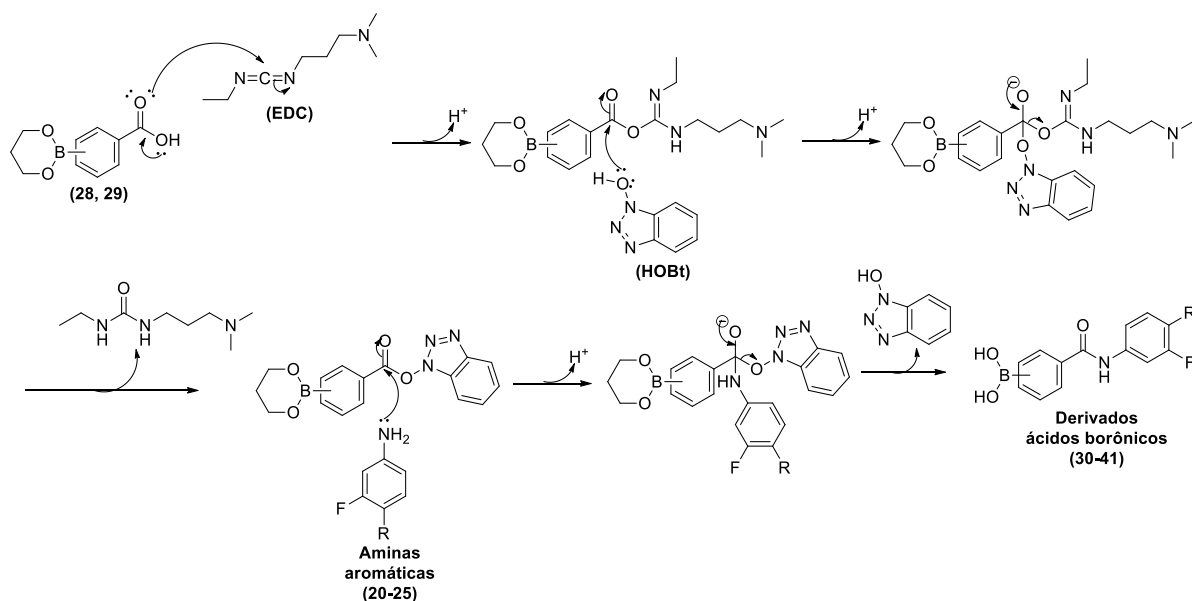
A última etapa é a reação de acoplamento entre as arilaminas (**20-25**) e os ácidos borônicos protegidos. A reação de proteção consiste na esterificação do ácido borônico, que ocorre pelo ataque dos pares de elétrons dos oxigênios do 1,3-propanodiol, ao orbital p do boro, com a saída de duas moléculas de água e a formação do éster borônico (Esquema 27).



Esquema 27 – Mecanismo da reação de esterificação dos ácidos borônicos.

Fonte: Autoria própria.

Após a proteção dos ácidos borônicos foi realizada a reação de acoplamento destes com as aminas primárias, para obtenção dos compostos finais. O acoplamento ocorre pela formação da ligação amida oriunda da reação envolvendo o ácido carboxílico dos ácidos borônicos com as aminas, auxiliada com o agente acoplante *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*'-etilcarbodiimida (EDC). O mecanismo desta reação, inicia-se pelo ataque do par de elétrons do oxigênio carbonílico (C=O) ao carbono da porção carbodiimida, com a quebra da ligação π e migração do par elétrons ao nitrogênio. Em seguida, o par de elétrons do oxigênio, do 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), ataca o carbono carbonílico, com a clivagem da ligação π C=O que na sequência é restaurada, promovendo a saída do derivado da ureia. Por fim, a reação finaliza com o ataque do par de elétrons do nitrogênio da amina aromática e saída do HOBt, como grupo abandonador, com a formação dos compostos finais derivados ácidos borônico (**30-41**, Esquema 28) (VALEUR; BRADLEY, 2009).



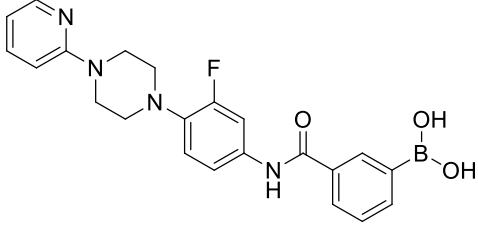
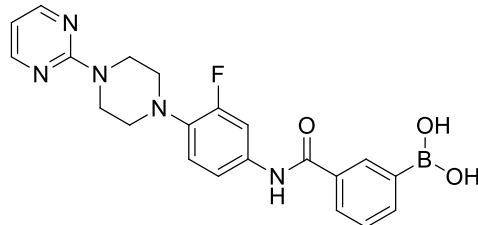
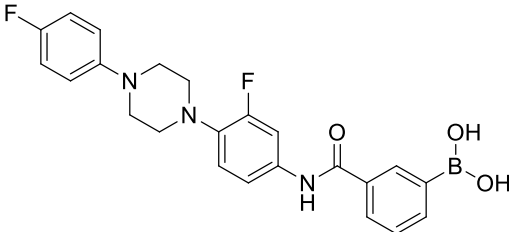
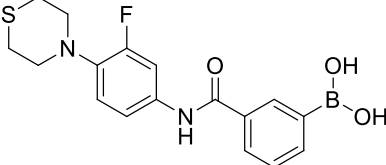
Esquema 28 – Mecanismo da reação de acoplamento para formação da amida, dos compostos **30-41**.

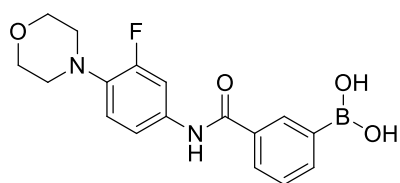
Fonte: Adaptado de VALEUR; BRADLEY, 2009.

Foram obtidos 12 derivados ácidos borônicos (**30-41**), sendo 6 ácidos borônicos substituídos na posição *meta* em relação a amida, e 6 com ácidos borônicos em posição *para*. Ao iniciar as sínteses de acoplamento, os ácidos borônicos se encontravam esterificados, no entanto, após a reação foi observado por RMN ^1H o sinal equivalente aos dois hidrogênios pertencentes as hidroxilas dos ácidos borônicos, sugerindo a remoção do grupo protetor. A desproteção pode ser justificada pelo reagente HOBt, uma vez que este pode levar a hidrólise do éster para formar o ácido borônico.

A tabela 11 ilustra as estruturas dos 12 derivados de ácidos borônicos com seus respectivos rendimentos e as faixas de fusão. Os rendimentos dos compostos (**30-41**) variaram entre 22% - 62%. Estes valores de rendimentos considerados moderados podem ser, devido a baixa reatividade da arilamina, uma vez que o par de elétrons do nitrogênio contribui para a delocalização do sistema π aromático, diminuindo o caráter nucleofílico.

Tabela 11 – Estrutura química, características, rendimento global dos compostos e as faixas de fusão dos compostos **30-41**.

Composto	Característica	Rendimento	Faixa de fusão (°C)
 ácido (3-((3-fluor-4-(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)fenil)carbamoil)fenil)borônico (30)	Sólido branco	22%	235-239
 ácido (3-((3-fluor-4-(4-(pirimidim-2-il)piperazin-1-il)fenil)carbamoil)fenil)borônico (31)	Sólido branco	41%	262-266
 Ácido (3-fluor((3-fluor-4-(4-(4-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)carbamoil)fenil)borônico (32)	Sólido branco	25%	241-246
 ácido (3-((3-fluor-4-tiomorfolinofenil)carbamoil)fenil)borônico (33)	Sólido branco	52%	116-122

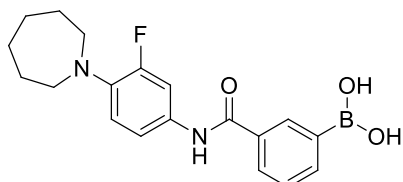


ácido 3-((3-fluor-4-morfolinofenil)carbamoil)fenil)borônico
(34)

Sólido branco

39%

248-256

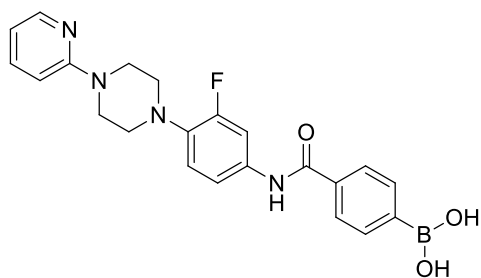


ácido 3-((4-(azepan-1-il)-3-fluorofenil)carbamoil)fenil)borônico
(35)

Sólido branco

32%

107-114

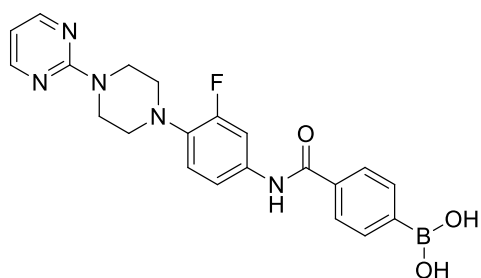


ácido 4-((3-fluor-4-(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)fenil)carbamoil)fenil)borônico
(36)

Sólido branco

53%

198-204

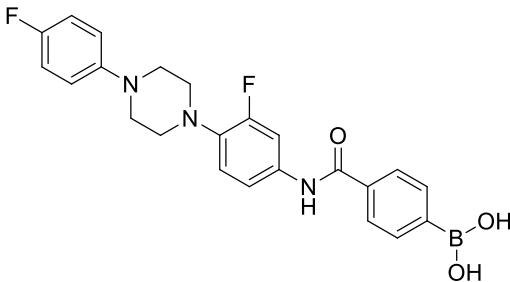
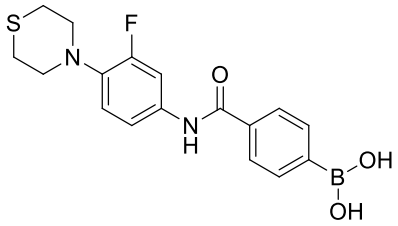
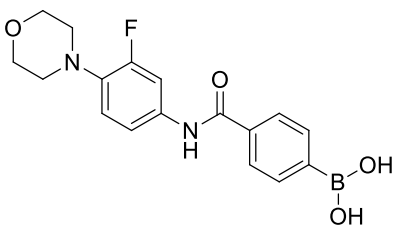
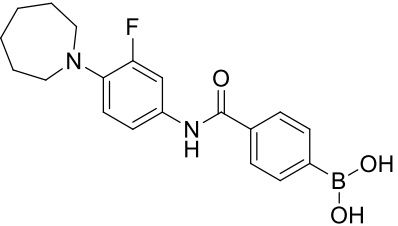


ácido 4-((3-fluor-4-(4-(pirimidim-2-il)piperazin-1-il)fenil)carbamoil)fenil)borônico
(37)

Sólido branco

53%

214-220

 ácido 4-fluor((3-fluor-4-(4-(4-fluorofenil)piperazin-1-il)fenil)carbamoil)fenil)borônico (38)	Sólido branco	51%	225-232
 ácido 4-((3-fluor-4-tiomorfolinofenil)carbamoil)fenil)borônico (39)	Sólido branco	47%	194-199
 ácido 4-((3-fluor-4-morfolinofenil)carbamoil)fenil)borônico (40)	Sólido marrom	28%	206-214
 ácido 4-((4-(azepan-1-il)-3-fluorofenil)carbamoil)fenil)borônico (41)	Sólido branco	62%	211-216

Fonte: Autoria própria.

Todos os compostos finais foram caracterizados por RMN ^1H , ^{13}C , HSQC e HMBC. Nesta seção, será discutida a elucidação estrutural do derivado ácido

borônico (**30**), já que os demais compostos apresentam semelhanças em suas estruturas.

No espectro de ^1H do derivado ácido borônico (**30**), se destaca o sinal em δ 10,30, como simpleto, referente ao hidrogênio da amida e, também, em δ 8,24 pertencente aos hidrogênios das hidroxilas do ácido borônico, o que sugere a desproteção do éster borônico durante a etapa de acoplamento. Além disso, observa-se os sinais dos hidrogênios aromáticos do anel ácido fenilborônico (H_3 , H_5 , H_6 e H_7), no qual o H_7 (δ 7,98-7,96, 1H) acopla-se em *orto* com H_6 e em *meta* com H_5 (dd, $J = 7,4$; $1,2$ Hz, respectivamente). Para os demais hidrogênios não foi possível atribuir suas multiplicidades e constantes de acoplamento devido a sobreposição de sinais. Nota-se, também, que o H_{11} (δ 7,75-7,72, 1H) apresenta acoplamento com flúor $J = 14,9$ Hz e *meta* com H_{15} $J = 2,4$ Hz (Figura 15).

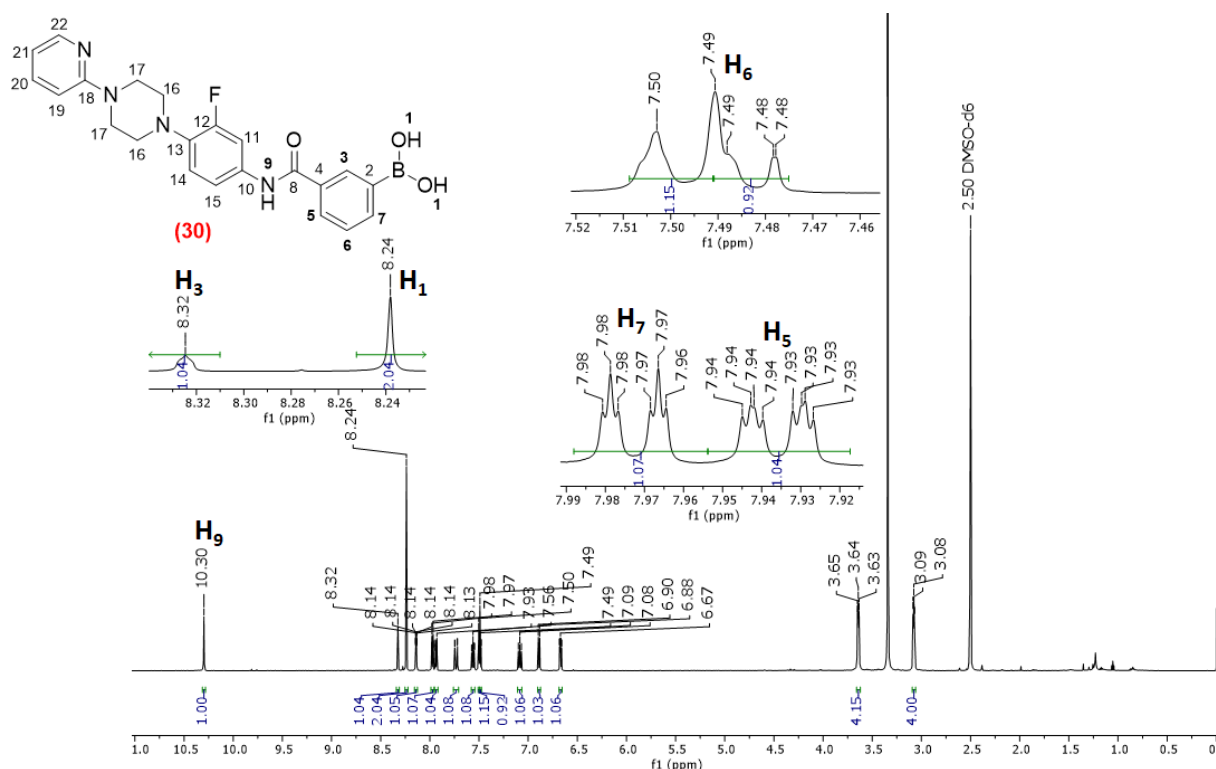


Figura 15 – Espectro de RMN ^1H do composto **30** (600 MHz) na região dos hidrogênios aromáticos (H_3 , H_5 , H_6 e H_7), o hidrogênio da amida (H_9), e os hidrogênios das hidroxilas (H_1).

Fonte: Autoria própria.

No espectro de ^{13}C , observa-se o sinal bem deslocado do carbono carbonílico da amida (C_8 , δ 166,0). Outro ponto importante a destacar é que carbono quaternário ligado diretamente ao boro (C_2), não foi possível observar o sinal em seu espectro devido ao relaxamento quadrupolar do núcleo ^{11}B , levando ao alargamento do sinal (Anexo 26, p. 166). Para o espectro $J_{\text{C-H}}$ HMBC, destaca-se o acoplamento J_3 entre o hidrogênio H_9 (δ 10,30) com os carbonos C_{11} e C_{15} (δ 108,4; 116,2, respectivamente), e J_2 com carbono carbonílico C_8 (δ 166,0) (Figura 16).

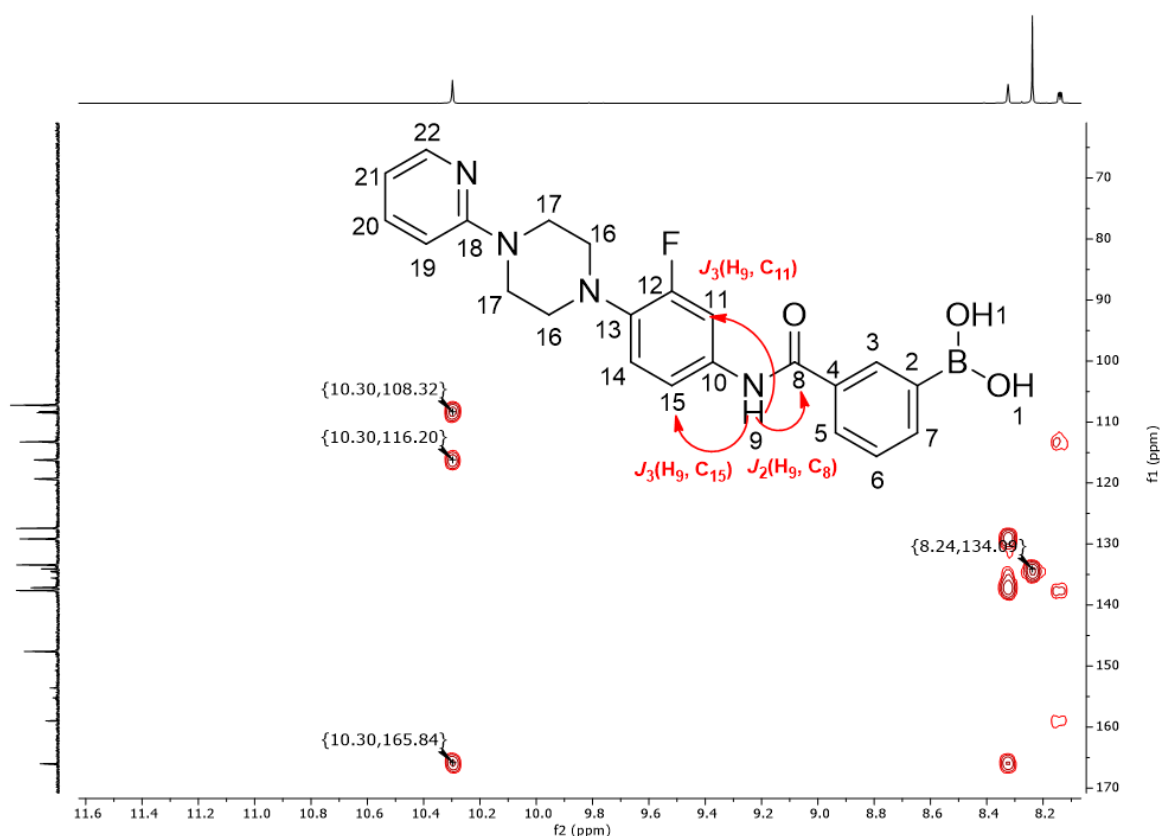


Figura 16 – Espectro HMBC do composto **30**, em J_3 entre H_9 , C_{11} e C_{15} , e J_2 entre H_9 e C_8 .

Fonte: Autoria própria.

Nas tabelas 12, 13, 14, 15, 16 e 17, estão apresentados os deslocamentos químicos, multiplicidade e constantes de acoplamento, de RMN ^1H e ^{13}C , para cada derivado ácido borônico (**30-41**).

Tabela 12 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **30** e **31**.

Composto 30			Composto 31		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	8,24 (s, 2H)	-	8,24 (s, 2H)	-	
2	-	-	-	-	
3	8,32 (m, 1H)	133,4	8,32 (m, 1H)	133,4	
4	-	134,1	-	134,1	
5	7,94-7,93 (m, 1H)	129,2	7,94-7,93 (m, 1H)	129,2	
6	7,50-7,49 (m, 1H)	127,4	7,50-7,49 (m, 1H)	127,4	
7	7,98-7,96 (dd, $J = 7,4$; 1,2 Hz, 1H)	137,1	7,98-7,97 (m, 1H)	137,2	
8	-	166,0	-	166,0	
9	10,30 (s, 1H)	-	10,30 (s, 1H)	-	
10	-	134,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 11,0$ Hz, 1C)	-	134,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 11,6$ Hz, 1C)	
11	7,75-7,72 (dd, $J = 14,9$; 2,4 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 25,7$ Hz, 1C)	7,75-7,72 (d, $J = 14,9$; 2,3 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 25,0$ Hz, 1C)	
12	-	155,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 242,7$ Hz, 1C)	-	155,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 243,4$ Hz, 1C)	
13	-	135,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,4$ Hz, 1C)	-	135,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,4$ Hz, 1C)	
14	7,10-7,07 (m, 1H)	119,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 4,6$ Hz, 1C)	7,09-7,06 (m, 1H)	119,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 4,5$ Hz, 1C)	
15	7,49-7,48 (m, 1H)	116,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,7$ Hz, 1C)	7,49-7,48 (m, 1H)	116,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,5$ Hz, 1C)	
16	3,65-3,63 (m, 4H)	44,8	3,90-3,89 (m, 4H)	49,4	
17	3,09-3,07 (m, 4H)	50,3	3,05-3,03 (m, 4H)	50,4	
18	-	158,9	-	161,2	

19	6,90-6,88 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H)	107,2	8,40-8,39 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H)	158,0
20	7,57-7,55 (ddd, $J = 9,0$; 7,1; 2,0 Hz, 1H)	137,6	6,67-6,65 (t, $J = 4,7$ Hz, 1H)	110,4
21	6,68-6,66 (ddd, $J = 7,1$; 4,9 Hz, 1H)	113,3	-	-
22	8,15-8,13 (ddd, $J = 4,9$; 2,0 Hz, 1H)	147,6	-	-

Fonte: Autoria própria.

Tabela 13 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **32** e **33**.

Composto 32			Composto 33	
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C
1	8,24 (s, 2H)	-	8,22 (s, 1H)	-
2	-	-	-	-
3	8,33 (m, 1H)	133,4	8,32 (m, 1H)	133,4
4	-	134,1	-	134,1
5	7,94-7,93 (m, 1H)	129,2	7,94-7,93 (m, 1H)	129,1
6	7,51-7,50 (m, 1H)	127,4	7,50-7,49 (m, 1H)	127,4
7	7,98-7,97 (dd, $J = 7,4$; 1,2 Hz, 1H)	137,2	7,98-7,96 (m, 1H)	137,1
8	-	166,0	-	166,0
9	10,30 (s, 1H)	-	10,28 (s, 1H)	-
10	-	134,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 11,8$ Hz, 1C)	-	134,8 (d, $J_{\text{C-F}} = 10,8$ Hz, 1C)
11	7,74-7,71 (dd, $J = 15,0$; 2,4 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 24,6$ Hz, 1C)	7,71-7,69 (d, $J = 14,6$; 2,3 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 25,8$ Hz, 1C)
12	-	155,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 241,8$ Hz,	-	155,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 244,8$ Hz, 1C)

		1C)		
13	-	135,4 (d, J_{C-F} = 9,4 Hz, 1C)	-	136,4 (d, J_{C-F} = 9,9 Hz, 1C)
14	7,11-7,09 (m, 1H)	119,3 (d, J_{C-F} = 4,5 Hz, 1C)	7,09-7,05 (t, J = 9,3 Hz, 1H)	120,4 (d, J_{C-F} = 3,8 Hz, 1C)
15	7,50-7,48 (m, 1H)	116,2 (d, J_{C-F} = 3,2 Hz, 1C)	7,48-7,47 (m, 1H)	116,2 (d, J_{C-F} = 3,5 Hz, 1C)
16	3,65-3,63 (m, 4H)	44,8	3,28-3,20 (m, 4H)	49,4
17	3,09-3,07 (m, 4H)	50,3	2,76-2,74 (m, 4H)	50,4
18	-	147,9 (d, J_{C-F} = 2,1 Hz, 1C)	-	-
19	7,03-7,00 (dt, J = 7,1; 2,3 Hz, 1H)	117,4 (d, J_{C-F} = 7,9 Hz, 1C)	-	-
20	7,07-7,05 (m, 1H)	115,3 (d, J_{C-F} = 21,7 Hz, 1C)	-	-
21	-	156,9 (d, J_{C-F} = 236,6 Hz, 1C)	-	-

Fonte: Autoria própria.

Tabela 14 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **34** e **35**.

Composto 34			Composto 35		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	8,23 (s, 1H)	-	8,21 (s, 1H)	-	
2	-	-	-	-	
3	8,32 (m, 1H)	133,4	8,31 (m, 1H)	133,3	
4	-	134,1	-	134,1	
5	7,94-7,92 (m, 1H)	129,1	7,93-7,91 (dt, J = 7,8; 1,1 Hz, 1H)	129,0	
6	7,50-7,49 (m, 1H)	127,4	7,49-7,46 (t, J = 7,5	127,4	

			Hz, 1H)	
7	7,98-7,96 (dt, $J = 7,4; 1,1$ Hz, 1H)	137,2	7,97-7,95 (dt, $J = 7,5; 1,1$ Hz, 1H)	137,0
8	-	166,0	-	165,7
9	10,28 (s, 1H)	-	10,14 (s, 1H)	-
10	-	134,4 (d, $J_{C-F} = 11,5$ Hz, 1C)	-	130,9 (d, $J_{C-F} = 11,2$ Hz, 1C)
11	7,72-7,69 (d, $J = 15,0; 2,3$ Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{C-F} = 24,9$ Hz, 1C)	7,63-7,60 (d, $J = 16,2; 2,2$ Hz, 1H)	108,8 (d, $J_{C-F} = 26,6$ Hz, 1C)
12	-	155,2 (d, $J_{C-F} = 243,0$ Hz, 1C)	-	152,8 (d, $J_{C-F} = 239,2$ Hz, 1C)
13	-	135,5 (d, $J_{C-F} = 9,5$ Hz, 1C)	-	135,6 (d, $J_{C-F} = 9,8$ Hz, 1C)
14	7,05-7,02 (m, 1H)	119,0 (d, $J_{C-F} = 4,2$ Hz, 1C)	6,92-6,89 (t, $J = 10,4; 9,0$ Hz, 1H)	117,1 (d, $J_{C-F} = 5,8$ Hz, 1C)
15	7,49-7,48 (m, 1H)	116,2 (d, $J_{C-F} = 3,2$ Hz, 1C)	7,39-7,37 (dd, $J = 9,0; 2,2$ Hz, 1H)	116,2 (d, $J_{C-F} = 3,2$ Hz, 1C)
16	3,75-3,73 (m, 4H)	66,2	3,30-3,28 (t, $J = 5,7$ Hz, 4H)	51,7
17	2,98-2,96 (m, 4H)	50,8	1,75 (m, 4H)	28,5
18	-	-	1,57-1,55 (t, $J = 5,8; 2,6$ Hz, 4H)	26,7

Fonte: Autoria própria.

Tabela 15 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **36** e **37**.

Composto 36			Composto 37		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	8,25 (s, 2H)	-	8,24 (s, 2H)	-	
2	-	-	-	-	
3	7,90-7,89 (m, 2H)	126,5	7,90-7,88 (m, 2H)	126,5	
4	7,93-7,91 (m, 2H)	134,0	7,92-7,91 (m, 2H)	134,0	
5	-	136,0	-	136,0	
6	-	165,5	-	165,5	
7	10,28 (s, 1H)	-	10,27 (s, 1H)	-	
8	-	135,8 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 9,3 Hz, 1C)	-	135,6 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 8,9 Hz, 1C)	
9	7,75-7,73 (dd, J = 14,9; 2,3 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 25,2 Hz, 1C)	7,75-7,72 (dd, J = 14,9; 2,0 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 25,5 Hz, 1C)	
10	-	155,2 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 248,2 Hz, 1C)	-	155,2 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 242,8 Hz, 1C)	
11	-	134,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 11,0 Hz, 1C)	-	134,5 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 10,8 Hz, 1C)	
12	7,10-7,07 (m, 1H)	119,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 4,8 Hz, 1C)	7,09-7,06 (m, 1H)	119,4 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 3,7 Hz, 1C)	
13	7,51-7,49 (dd, J = 8,7 Hz, 1H)	116,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,8 Hz, 1C)	7,50-7,48 (dd, J = 8,7 2,0 Hz, 1H)	116,3 (d, $J_{\text{C-F}}$ = 2,4 Hz, 1C)	
14	3,65-3,66 (m, 4H)	44,8	3,90-3,89 (m, 4H)	43,4	
15	3,09-3,07 (m, 4H)	50,3	3,05-3,03 (m, 4H)	50,3	
16	-	159,0	-	161,2	
17	6,89-6,88 (ddd, J = 8,6 Hz, 1H)	107,2	8,39-8,38 (ddd, J = 4,7 Hz, 1H)	158,0	

18	7,56-7,54 (ddd, $J = 8,6;$ 7,1; 2,0 Hz, 1H)	137,6	6,66-6,65 (t, $J = 4,7$ Hz, 1H)	110,3
19	6,68-6,66 (m, 1H)	113,3	-	-
20	8,14-8,13 (dd, $J = 4,6;$ 1,6 Hz, 1H)	147,6	-	-

Fonte: Autoria própria.

Tabela 16 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **38** e **39**.

Composto 38			Composto 39	
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C
1	8,24 (s, 2H)	-	8,25 (s, 2H)	-
2	-	-	-	-
3	7,90-7,88 (m, 2H)	126,5	7,89-7,88 (m, 2H)	126,5
4	7,93-7,91 (m, 2H)	134,0	7,92-7,91 (m, 2H)	134,0
5	-	136,0	-	135,9
6	-	165,5	-	165,5
7	10,28 (s, 1H)	-	10,27 (s, 1H)	-
8	-	135,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,8$ Hz, 1C)	-	136,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 10,1$ Hz, 1C)
9	7,76-7,71 (dd, $J = 15,0;$ 2,3 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 26,7$ Hz, 1C)	7,72-7,69 (dd, $J = 14,6;$ 2,2 Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 26,2$ Hz, 1C)
10	-	155,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 243,3$ Hz, 1C)	-	155,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 242,1$ Hz, 1C)
11	-	134,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 11,0$ Hz, 1C)	-	134,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 11,0$ Hz, 1C)

12	7,12-7,09 (m, 1H)	119,2 (d, J_{C-F} = 4,1 Hz, 1C)	7,09-7,06 (m, 1H)	120,4 (d, J_{C-F} = 4,2 Hz, 1C)
13	7,52-7,50 (m, 1H)	116,3 (d, J_{C-F} = 2,9 Hz, 1C)	7,49-7,47 (m, 1H)	116,3 (d, J_{C-F} = 2,8 Hz, 1C)
14	3,25-3,23 (m, 4H)	49,3	3,22-3,20 (m, 4H)	53,1
15	3,15-3,12 (m, 4H)	50,4	3,15-3,12 (m, 4H)	50,4
16	-	147,9	-	-
17	7,03-7,00 (m, 2H)	117,4 (d, J_{C-F} = 8,6 Hz, 1C)	-	-
18	7,08-7,06 (m, 2H)	115,4 (d, J_{C-F} = 22,1 Hz, 1C)	-	-
19	-	156,9 (d, J_{C-F} = 234,5 Hz, 1C)	-	-

Fonte: Autoria própria.

Tabela 17 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **40** e **41**.

Composto 40			Composto 41		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	8,24 (s, 2H)	-	8,24 (s, 2H)	-	
2	-	-	-	-	
3	7,89-7,88 (m, 2H)	126,5	7,89-7,87 (m, 2H)	126,5	
4	7,92-7,91 (m, 2H)	134,0	7,92-7,90 (m, 2H)	134,0	
5	-	136,0	-	136,1	
6	-	165,4	-	165,1	
7	10,26 (s, 1H)	-	10,14 (s, 1H)	-	
8	-	135,5 (d, J_{C-F} = 10,5 Hz,	-	135,7 (d, J_{C-F} = 9,4 Hz, 1C)	

		1C)		
9	7,73-7,70 (dd, $J = 15,0$; 2,0 Hz, 1H)	108,5 (d, $J_{C-F} = 26,1$ Hz, 1C)	7,64-7,61 (dd, $J = 16,2$; 2,1 Hz, 1H)	109,0 (d, $J_{C-F} = 26,5$ Hz, 1C)
10	-	155,1 (d, $J_{C-F} = 242,0$ Hz, 1C)	-	155,7 (d, $J_{C-F} = 240,9$ Hz, 1C)
11	-	134,3 (d, $J_{C-F} = 11,2$ Hz, 1C)	-	130,8 (d, $J_{C-F} = 11,3$ Hz, 1C)
12	7,05-7,02 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H)	118,9 (d, $J_{C-F} = 4,4$ Hz, 1C)	6,92-6,89 (dd, $J = 10,3$; 9,0 Hz, 1H)	117,0 (d, $J_{C-F} = 5,8$ Hz, 1C)
13	7,50-7,48 (dd, $J = 9,0$; 2,0 Hz, 1H)	116,3 (d, $J_{C-F} = 2,8$ Hz, 1C)	7,40-7,38 (dd, $J = 9,0$; 2,1 Hz, 1H)	116,5 (d, $J_{C-F} = 1,9$ Hz, 1C)
14	3,75-3,73 (m, 4H)	66,2	3,30-3,28 (m, 4H)	51,7
15	2,98-2,96 (m, 4H)	50,8	1,75 (m, 4H)	39,5
16	-	-	1,57-1,55 (m, 4H)	26,7

Fonte: Autoria própria.

Os compostos foram também caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (IV), destacando os principais grupos funcionais. Devido a semelhança estrutural entre os compostos, foi discutida o espectro de IV do derivado (30).

Para o espectro de IV do composto (30), destaca-se o modo vibracional característico do ácido borônico, com forte estiramento B–O em 1315 cm^{-1} , bem como a ligação B–OH em 3263 cm^{-1} . Ademais, observa-se forte estiramento na região em 1643 cm^{-1} referente a carbonila da amida, além do estiramento da ligação N–H, que sobrepõe com a banda da ligação B–OH (3263 cm^{-1}). Nota-se, também, estiramento de anel em 1600 e 1440 cm^{-1} , referente ao C=C de aromático e absorção de estiramento C–H sp^3 dos metilênicos. Por fim, há presente o estiramento em 1242 cm^{-1} da ligação C–F (fluoreto de arila).

Nas tabelas 18, 19, 20 e 21, estão destacados os comprimentos de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos derivados de ácidos borônicos (30-41).

Tabela 18 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos **30**, **31** e **32**.

	Composto (30)	Composto (31)	Compostos (32)
Tipo de vibração	cm ⁻¹		
ν B–OH (ácido borônico)	3263	3265	3304
ν B–O (ácido borônico)	1315	1311	1365
ν C=O (amida)	1643	1647	1649
ν N–H (amida secundária)	3263	3360	3304
ν C=C (aromático)	1600	1591	1589
ν C=C (aromático)	1440	1442	1423
ν C–F (fluoreto de arila)	1242	1247	1222
ν C–H (metilênico)	2848	2908	2825

Fonte: Autoria própria.

Tabela 19 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos **33**, **34** e **35**.

	Composto (33)	Composto (34)	Compostos (35)
Tipo de vibração	cm ⁻¹		
ν B–OH (ácido borônico)	3268	3298	3321
ν B–O (ácido borônico)	1319	1315	1340
ν C=O (amida)	1654	1643	1643
ν N–H (amida secundária)	3327	3533	3495
ν C=C (aromático)	1589	1589	1591
ν C=C (aromático)	1433	1409	1425
ν C–F (fluoreto de arila)	1249	1255	1271

ν C–H (metilênico)	2810	2843	2924
------------------------	------	------	------

Fonte: Autoria própria.

Tabela 20 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos **36**, **37** e **38**.

	Composto (36)	Composto (37)	Compostos (38)
Tipo de vibração	cm⁻¹		
ν B–OH (ácido borônico)	3277	3286	3304
ν B–O (ácido borônico)	1317	1317	-
ν C=O (amida)	1643	1645	1643
ν N–H (amida secundária)	3277	3460	3304
ν C=C (aromático)	1591	1591	1589
ν C=C (aromático)	1444	1442	-
ν C–F (fluoreto de arila)	1240	1251	1222
ν C–H (metilênico)	-	2852	2850

Fonte: Autoria própria.

Tabela 21 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos compostos **39**, **40** e **41**.

	Composto (39)	Composto (40)	Compostos (41)
Tipo de vibração	cm⁻¹		
ν B–OH (ácido borônico)	3302	3273	3321
ν B–O (ácido borônico)	1327	1317	1340
ν C=O (amida)	1643	1647	1643
ν N–H (amida secundária)	3302	3273	3321

ν C=C (aromático)	1589	1591	-
ν C=C (aromático)	1425	1440	1427
ν C-F (fluoreto de arila)	1284	1257	1271
ν C-H (metilênico)	2823	-	2924

Fonte: Autoria própria.

5.2 Síntese dos derivados benzoboroxois

A síntese convergente para obtenção dos derivados benzoboroxois, foi dividida em quatro etapas: (1) a etapa da borilação de Miyaura; (2) reação radicalar de bromação; (3) etapa *one pot* envolvendo a hidrólise em meio básico e ciclização intramolecular; e (4) a reação de acoplamento entre o intermediário benzoboroxol e as aminas aromáticas.

5.2.1 Reação de borilação de Miyaura para obtenção do intermediário (**42**)

A rota sintética inicia-se pela síntese de borilação de Miyaura que consiste na inserção de compostos borônicos (ácido borônico ou éster borônico) em haletos arílicos, com auxílio de catalisadores de paládio. A princípio, foi utilizada a metodologia de síntese no qual se empregou tetrakis(trifenilfosfina)-paládio (0), como catalisador, acetato de potássio (KOAc), como base, em 1,4-dioxano, a temperatura de 100 °C. A reação foi monitorada por Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e após o consumo total do material de partida (metil 4-bromo-3-metilbenzoato), o produto foi purificado e sua estrutura foi caracterizada por RMN ^1H . No entanto, a análise do espectro ^1H sugeriu que o produto formado não era o composto borilado desejado, mas o produto biaril indicando que houve reação de acoplamento de Suzuki (Figura 17).

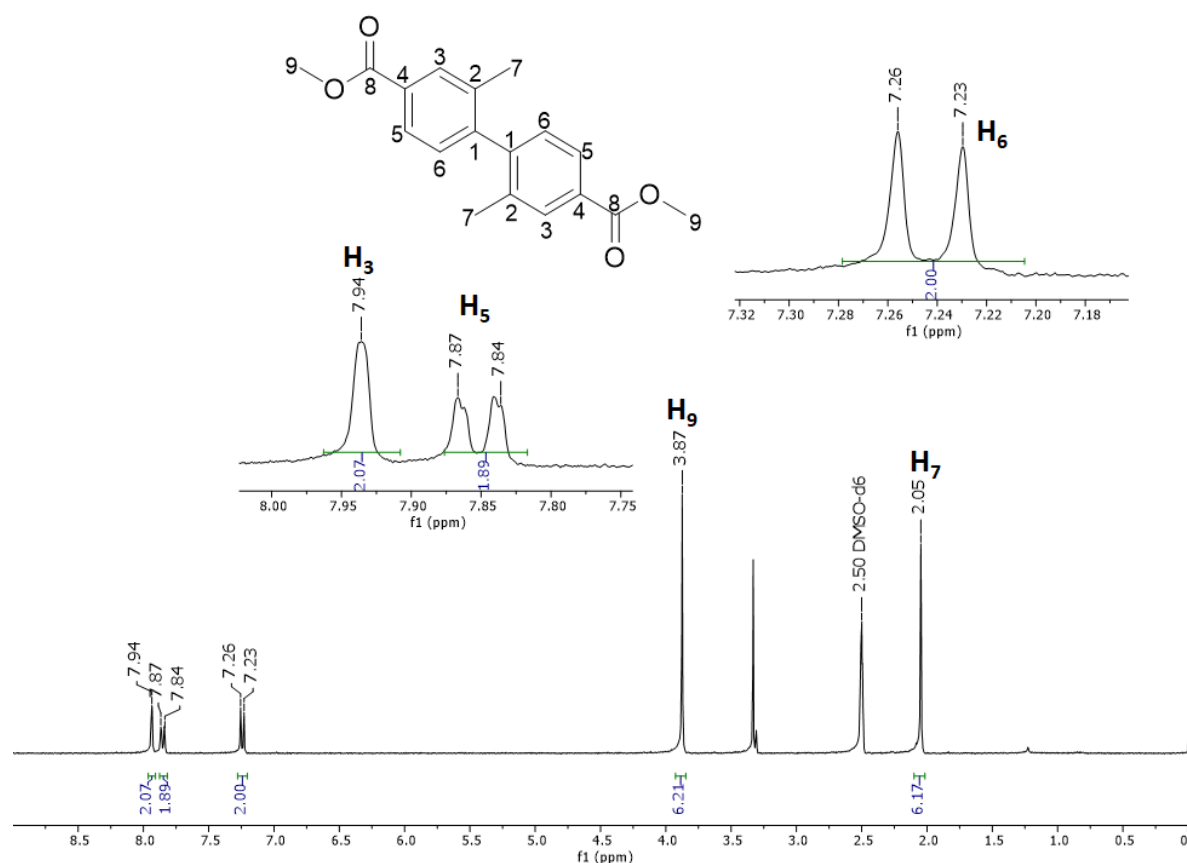


Figura 17 – Espectro RMN ^1H do composto biaril.

Fonte: Autoria própria.

Assim, o catalisador foi substituído por dicloreto de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paládio(II) [$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$], mantendo todas as condições reacionais, com isto, houve a formação do intermediário (**42**) com 42% de rendimento, porém ainda havia formação do subproduto de acoplamento de Suzuki. Então, foi proposto que a temperatura a 100 °C poderia estar favorecendo a reação de acoplamento de Suzuki, assim as reações passaram a ser a 80 °C, na qual houve conversão total do material de partida no produto borilado (**42**), sem formação do produto biaril. A borilação de Miyaura é dividida em quatro etapas: adição oxidativa, metátese, transmetalção e eliminação redutiva. O mecanismo da borilação está discutida na introdução deste documento.

Na tabela 22 estão apresentadas as otimizações das condições reacionais, para a síntese do intermediário (**42**).

Tabela 22 – Otimização das condições reacionais da síntese de borilação.

Catalisador	KOAc (Eq.)	B ₂ Pin ₂ (Eq.)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Rendimento (%)
Pd(PPh ₃) ₄ (10 % mol)	3,0	1,5	12	100	0
PdCl ₂ (dppf) (10 % mol)	3,0	1,5	12	100	42
PdCl ₂ (dppf) (10 % mol)	3,0	1,5	12	80	98

Fonte: Autoria própria.

A estrutura do intermediário **42**, foi caracterizado por RMN ¹H 300 MHz. No espectro de ¹H, observa-se os sinais na região dos hidrogênios aromáticos, com deslocamento químico δ 7,75-7,74, integrando para três hidrogênios, porém devido a sobreposição dos sinais não foi possível atribuir as multiplicidades, bem como as constantes de acoplamento. Além disso, nota-se três sinais simpletos integrando para três hidrogênios em H₁₁ (δ 3,85), três para H₉ (δ 2,51) e, por fim, H₁ (δ 1,31), referente aos hidrogênios das quatro metilas da porção do éster pinacol borônico (Figura 18).

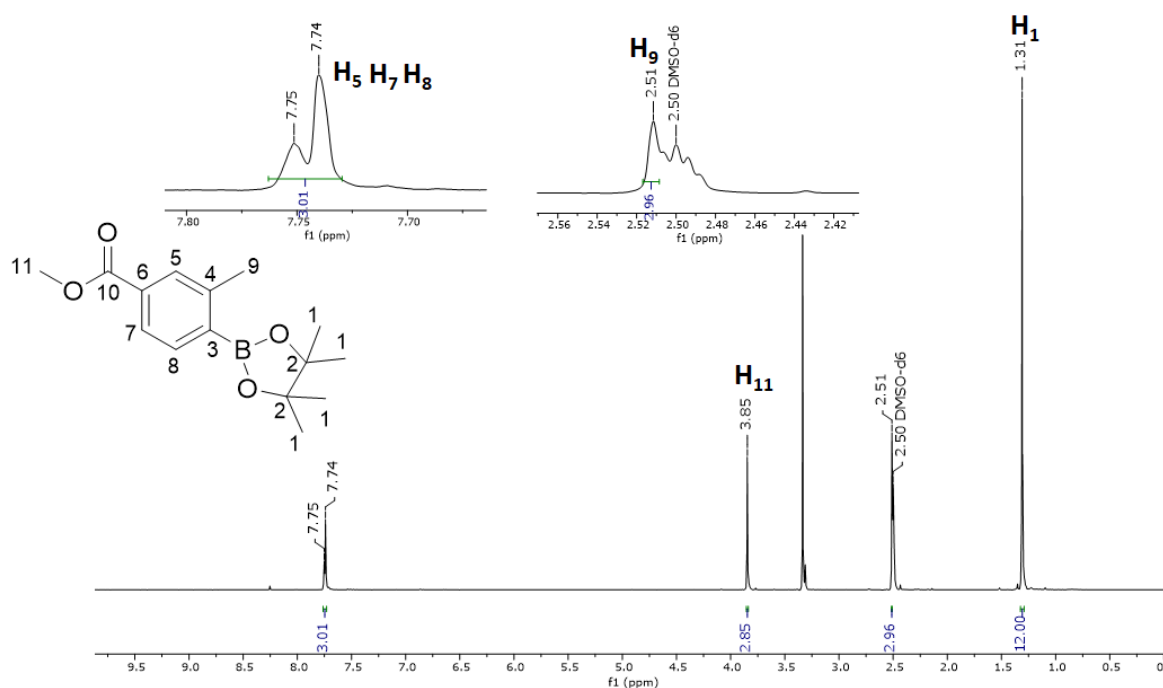
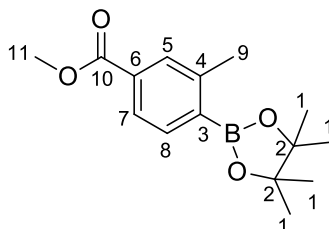


Figura 18 – Espectro RMN ^1H do intermediário (**42**).

Fonte: Autoria própria.

Na tabela 23, estão apresentados os deslocamentos químicos e multiplicidade, de RMN ^1H do intermediário **42**. O composto foi identificado como sólido amarelo, obtido com 98% de rendimento.

Tabela 23 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do intermediário **42**.



Composto 42

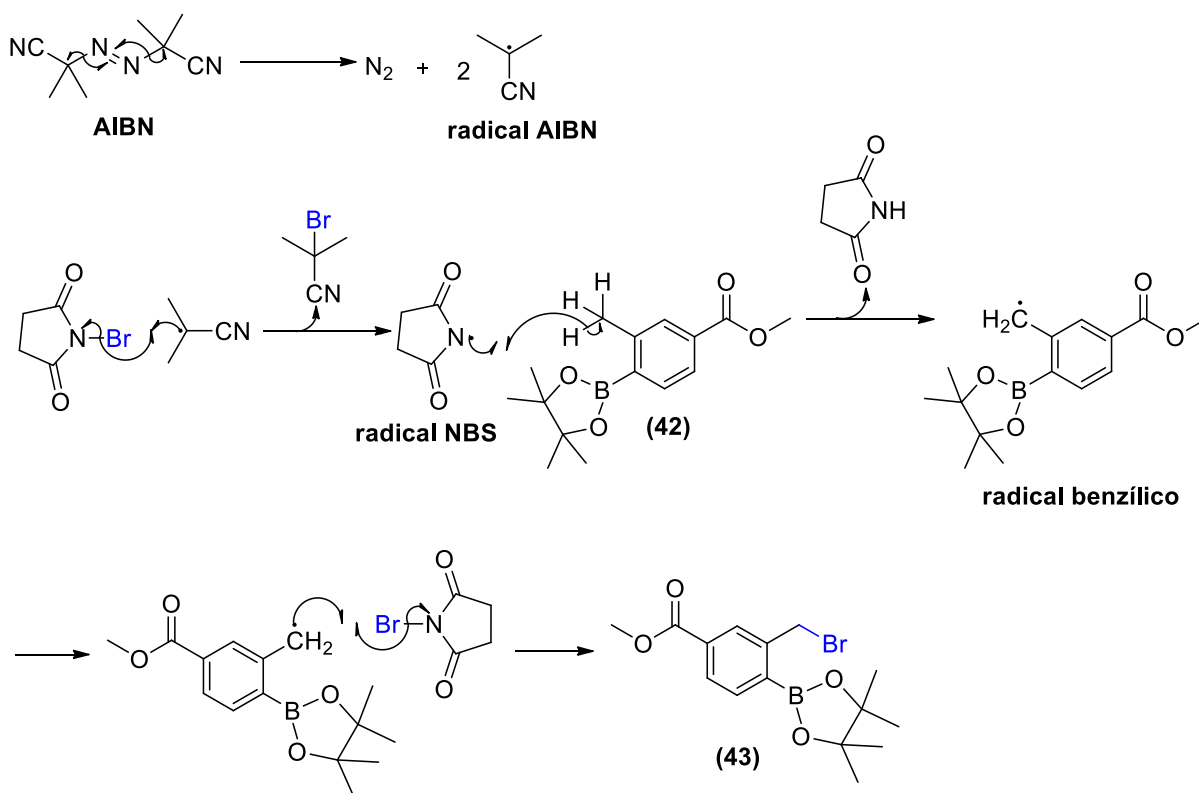
Posição	δ ^1H
1	1,31 (s, 12H)

2	-
3	-
4	-
5	7,75-7,74 (m, 1H)
6	-
7	7,75-7,74 (m, 1H)
8	7,75-7,74 (m, 1H)
9	2,51 (s, 3H)
10	-
11	3,85 (s, 3H)

Fonte: Autoria própria.

5.2.2 Reação de bromação para obtenção do intermediário **(43)**

A reação de bromação é conhecida como bromação Wohl-Ziegler. É uma síntese necessita de um iniciador radicalar, geralmente peróxidos ou 2,2'-azobis(2-metilpropionitrila) (AIBN), e *N*-bromossuccinimida (NBS) como fonte doadora de bromo. O mecanismo da reação inicia-se pela clivagem homolítica das ligações σ C–N do AIBN, levando a formação do radical AIBN. Em seguida, uma nova quebra homolítica ocorre na ligação N–Br do NBS e um novo radical é formado (radical NBS). Na etapa de propagação, o radical NBS remove um hidrogênio da metila ligado ao aromático, produzindo o radical benzílico. Importante destacar que o radical benzílico gerado é estável, devido a contribuição da delocalização dos elétrons que estabiliza a deficiência eletrônica provocada após a homólise (CAREY; SUNDBERG; WARREN, 2007). Novamente ocorre a clivagem homolítica N–Br e a formação da ligação Br–C levando ao intermediário **43** (Esquema 29).



Esquema 29 – Mecanismo da reação radicalar de bromação para obtenção do intermediário **43**.

Fonte: Autoria própria.

A metodologia sintética iniciou-se com 1,2 equivalente molar de NBS e 5% mol do iniciador AIBN, no entanto após 48 horas de reação, não foi observado a formação do produto bromado. Sendo assim, aumentou-se a quantidade de NBS para 1,5 equivalente molar, mantendo a proporção de AIBN inicial, porém o intermediário **43** não foi formado. Então, a quantidade de NBS foi mantida (1,5 equivalente molar) e foi aumentada a proporção de AIBN para 25% mol, o que levou a formação do produto em 62% de rendimento, em 24 horas de reação, sugerindo que o aumento da concentração do iniciador AIBN é determinante, pois desloca o equilíbrio para formação do produto.

Na tabela 24 estão apresentadas as condições reacionais e as otimizações realizadas, para obtenção do intermediário **43**.

Tabela 24 – Otimização das condições reacionais da síntese de bromação.

NBS (eq.)	AIBN (eq.)	Tempo (h)	Rendimento (%)
1,2	5% mol	48	0
1,5	5% mol	48	0
1,5	25% mol	24	62

Fonte: Autoria própria.

A estrutura do intermediário **43** foi elucidada por RMN ^1H . Na figura 18 podemos comparar o espectro de ^1H do composto com o intermediário **42**, em que observa-se que o sinal em δ 2,51 H_9 , referente ao simpleto da metila do composto **42**, não aparece no espectro ^1H do **43**. No entanto, nota-se um simpleto em δ 5,02 referente ao H_9 , integrando para dois hidrogênios, confirmando a inserção do bromo, com retirada de um hidrogênio, o que provocou um aumento no seu deslocamento químico (Figura 19). O intermediário **43** foi obtido como óleo incolor.

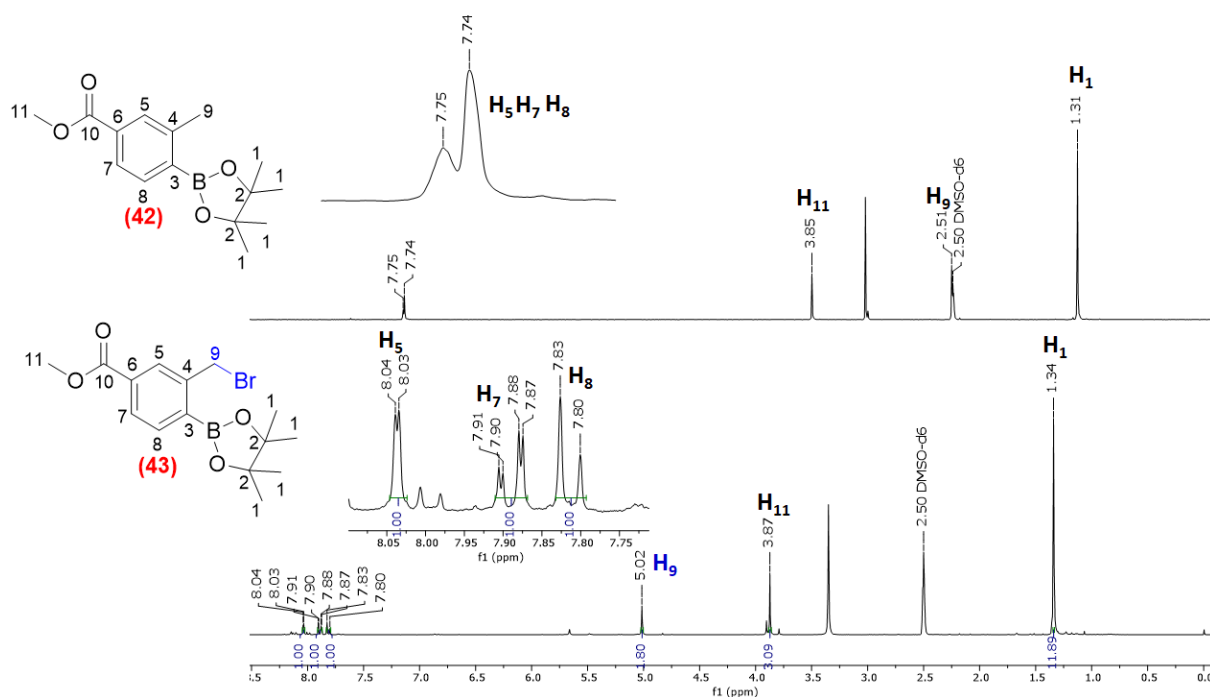
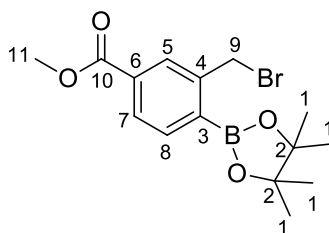


Figura 19 – Espectro RMN ^1H (300 MHz) dos intermediários **42** e **43**.

Fonte: Autoria própria.

Ademais, observa-se os sinais dos três hidrogênios aromático, na qual o H_5 mostra-se o mais deslocado, em relação ao H_7 e H_8 , entre δ 8,04-8,03, como duplete apresentando acoplamento em *meta* com H_7 ($J = 1,5$ Hz). O H_7 (δ 7,91-7,87) acopla em *meta* e *orto* com H_5 ($J = 1,5$ Hz) e H_8 ($J = 7,8$ Hz), respectivamente. Por fim, o H_8 apresenta apenas acoplamento em *orto* com o H_7 (Figura 19). Na tabela 25, estão ilustrados os deslocamentos químicos, as multiplicidades e constantes de acoplamento para cada hidrogênio.

Tabela 25 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do intermediário **43**.**Composto 43**

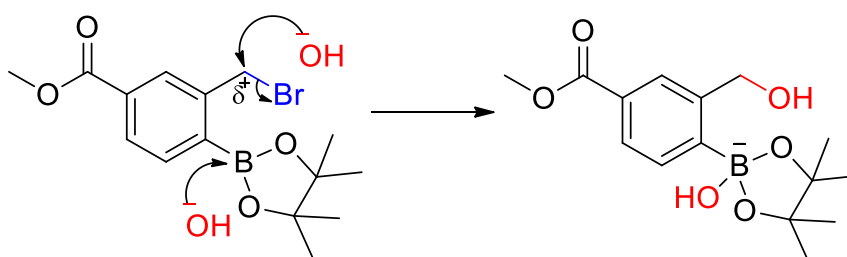
Posição	$\delta \text{ } ^1\text{H}$
1	1,34 (s, 12H)
2	-
3	-
4	-
5	8,04-8,03 (d, $J = 1,5 \text{ Hz}$, 1H)
6	-
7	7,91-7,87 (dd, $J = 7,8; 1,5 \text{ Hz}$, 1H)
8	7,80-7,83 (d, $J = 7,8 \text{ Hz}$, 1H)
9	5,02 (s, 2H)
10	-
11	3,87 (s, 3H)

Fonte: Autoria própria.

5.2.3 Reação de substituição nucleofílica e hidrólise ácida para obtenção do intermediário benzoboroxol (**44**)

A terceira etapa da rota sintética foi realizada de forma sequencial *one-pot*, sendo dividida em duas partes: a primeira consistiu na substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$), em meio alcalino, e em seguida, a hidrólise em meio ácido para remoção do éster pinacol para conversão do ácido borônico. Simultaneamente, ocorre a ciclização para formação do benzoboroxol, além da hidrólise do éster benzoato para ácido benzóico. A reação $\text{S}_{\text{N}}2$ inicia-se com o ataque do par de

elétrons do hidróxido, oriunda da base, ao carbono primário ligado ao átomo de bromo e, por conseguinte, a saída do bromo como grupo abandonador. Além disso, o oxigênio do hidróxido ataca o átomo de boro, devido a presença do orbital p desocupado, formando um aduto tetraédrico carregado negativamente, conforme representado no Esquema 30 (VONTOBEL, 2019).

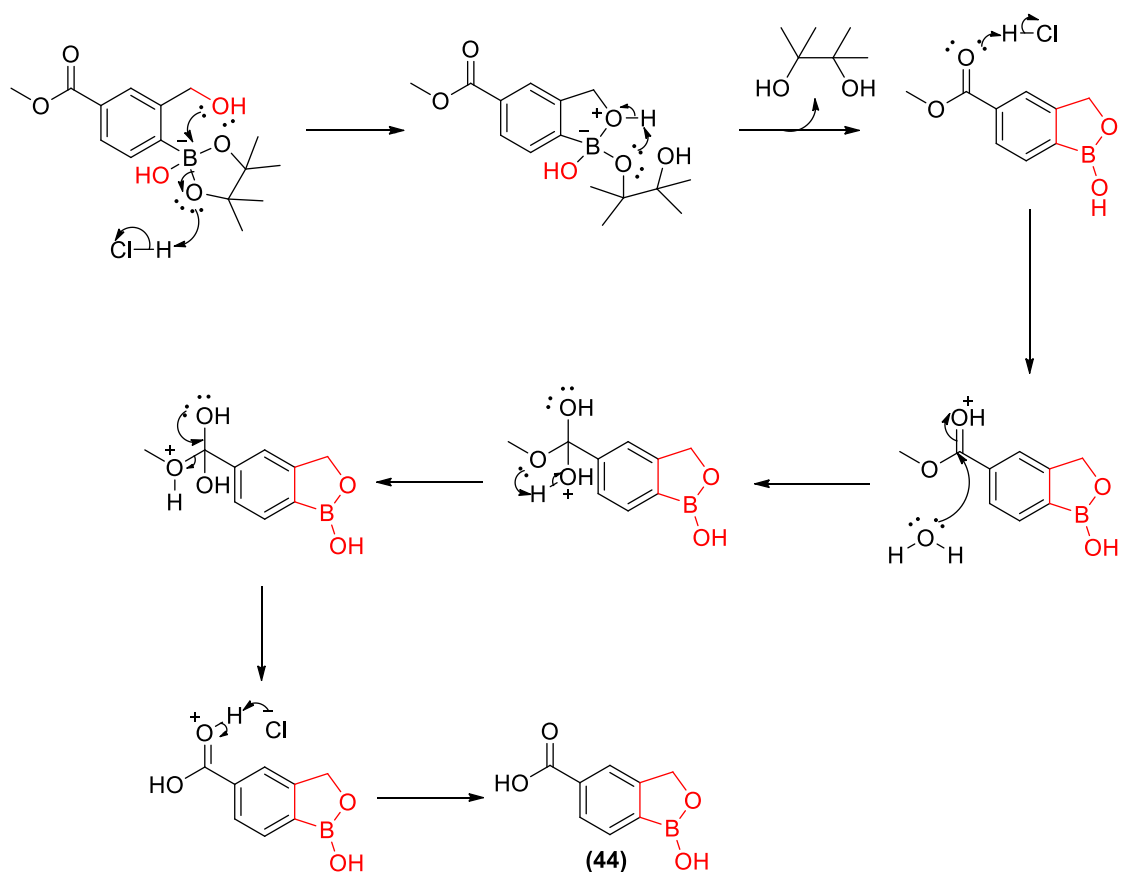


Esquema 30 – Mecanismo da reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) para obtenção do hidroxibenzoato e formação do íon boronato.

Fonte: Autoria própria.

Na sequência, o meio reacional foi acidificado até pH~2,0 para hidrólise dos ésteres e ciclização. No mecanismo proposto o par de elétrons do oxigênio pertencente ao éster borônico, captura um próton do meio seguindo, com a quebra da ligação B–O e o ataque do oxigênio da hidroxila do álcool benzílico. Em seguida, o par de elétrons do oxigênio do éster borônico captura o hidrogênio, levando a ciclização e formação do anel benzoboroxol, com a saída do éster pinacol (Esquema 31) (VONTOBEL, 2019).

De forma simultânea, a catálise ácida permite a hidrólise do éster para ácido carboxílico. O mecanismo inicia-se com a protonação do oxigênio ($C=O$) que aumenta a deficiência eletrônica do carbono carbonílico, na qual o par de elétrons do oxigênio oriunda da água ataca o carbono, com a clivagem da ligação π $C=O$. Em seguida, o oxigênio do éster benzoato captura o hidrogênio do íon hidrônio e a ligação π $C=O$ é restaurada com a saída do grupo abandonador. A hidrólise finaliza com a desprotonação do oxigênio provocada pelo íon cloreto e o intermediário **44** é formado (Esquema 31) (VONTOBEL, 2019). O composto **44** apresenta-se como sólido branco, com 65% de rendimento.



Esquema 31 – Mecanismo da reação de hidrólise e ciclização para obtenção do intermediário benzoboroxol **44**.

Fonte: Autoria própria.

A elucidação estrutural do composto foi realizada por RMN ^1H , operando em 300 MHz e, também, por espectroscopia na região do infravermelho. No espectro de ^1H é importante destacar, o simpleto mais deslocado, em δ 13,03 para H_{10} , referente ao hidrogênio da hidroxila da porção ácido carboxílico e outro em δ 9,39 H_1 , da hidroxila do anel benzoboroxol, sugerindo a hidrólise do éster benzoato e a ciclização e formação do benzoboroxol (Figura 20).

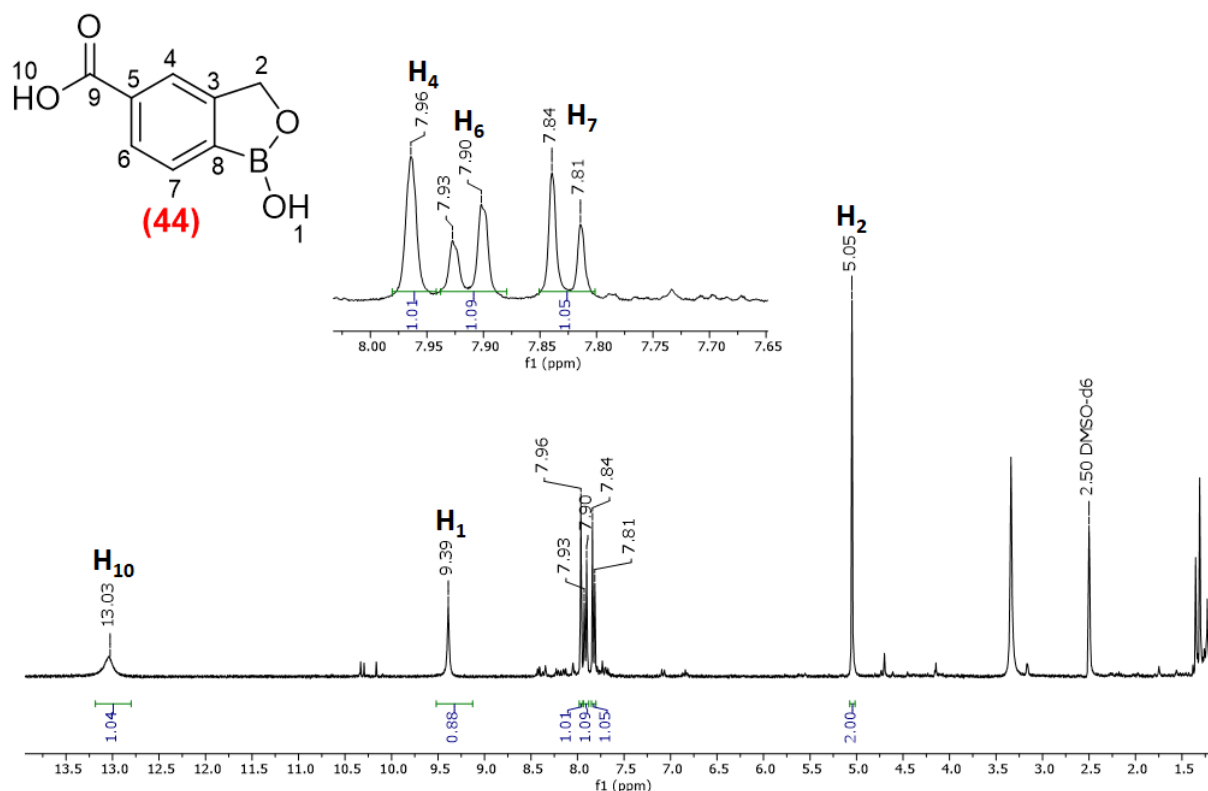
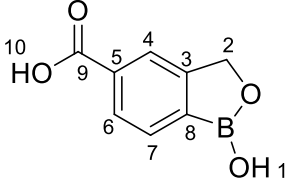


Figura 20 – Espectro RMN ^1H (300 MHz) do intermediário **44**.

Fonte: Autoria própria.

Na tabela 26, estão apresentados os deslocamentos químicos, as multiplicidades e constantes de acoplamento do intermediário **44**.

Tabela 26 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do intermediário **44**.

	
Composto 44	
Posição	δ ^1H
1	9,39 (s, 1H)
2	5,05 (s, 1H)

3	-
4	7,96 (m, 1H)
5	-
6	7,93-7,90 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H)
7	7,84-7,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H)
8	-
9	-
10	13,03 (s, 1H)

Fonte: Autoria própria.

O espectro na região do IV, para o composto (**44**), revela um forte estiramento B–O em 1367 cm^{-1} , além disso, uma banda fraca em 3068 cm^{-1} sugere o estiramento B–OH. Próximo desta região, encontra-se um estiramento forte referente ao O–H do ácido carboxílico, em 3331 cm^{-1} , bem como estiramento em 1693 cm^{-1} pertencente a C=O. Ademais, observa-se os estiramento C=C de aromático (1489 cm^{-1}) e o dobramento em 1421 cm^{-1} da ligação C–H metilênico. A tabela 27 apresenta o comprimento de onda para cada grupo funcional do composto **44**.

Tabela 27 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais do composto **44**.

Tipo de vibração	Composto (44)
	cm^{-1}
ν B–OH (benzoboroxol)	3068
ν B–O (benzoboroxol)	1367
ν C=O (ác. carboxílico)	1693
ν O–H (ác. carboxílico)	3331
ν C=C (aromático)	1489

ν C–H (metilênico)

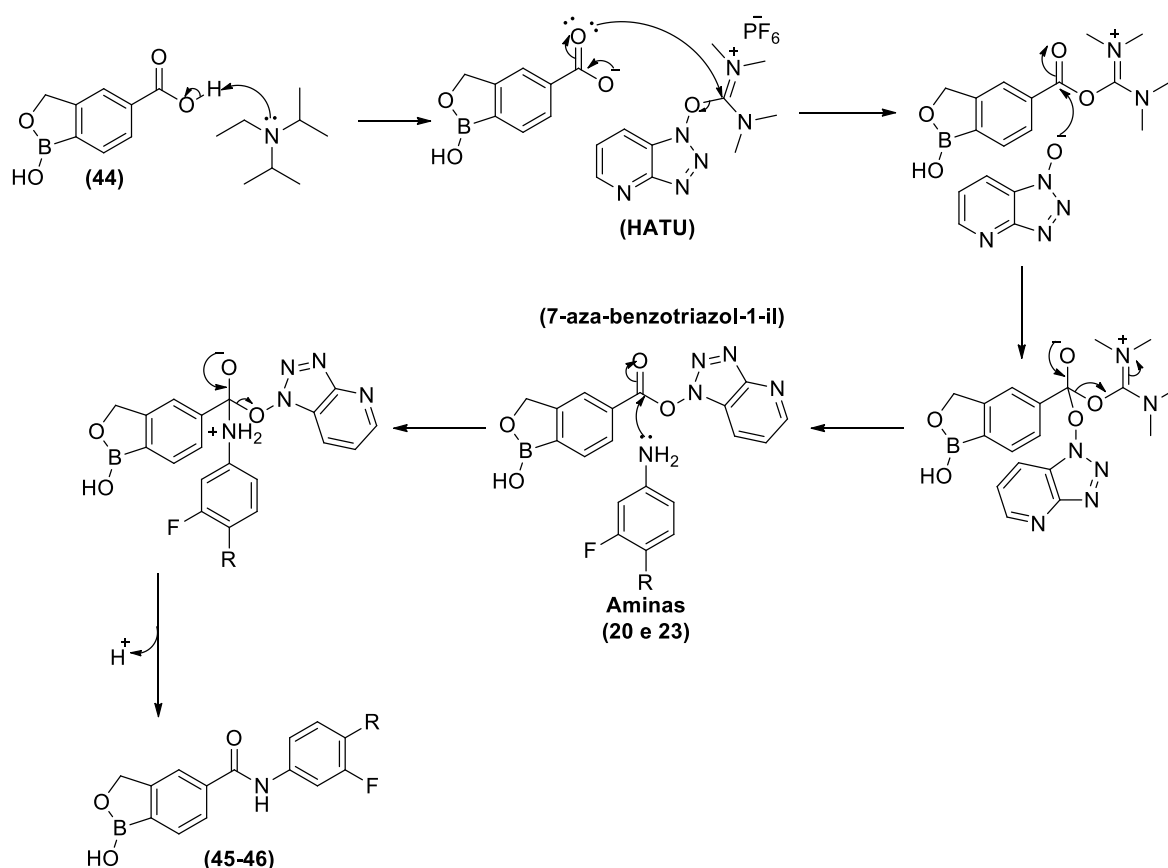
1421

Fonte: Autoria própria.

5.2.4 Síntese de acoplamento para obtenção dos derivados benzoboroxois (**45** e **46**)

A última etapa da rota sintética para obtenção dos derivados benzoboroxol, seguiu a mesma metodologia de acoplamento empregada para produção dos derivados de ácidos borônicos, na qual utilizou-se EDC como agente acoplante e HOBt como agente aditivo, no entanto, devido a hidrólise do éster borônico ocasionado pelo HOBt (o que poderia levar a abertura do anel oxaborol) a metodologia foi substituída. Assim, no procedimento sintético foi empregado o agente acoplante HATU e DIPEA, como base.

O mecanismo da reação começa com a desprotonação do ácido carboxílico, provocada pela base DIPEA formando o ânion carboxilato. Na sequência, o par de elétrons do oxigênio do carboxilato ataca o carbono do grupo ureia presente no HATU, com a saída da porção benzotriazol. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico do oxigênio do benzotriazol ao grupo éster formando o intermediário 7-aza-benzotriazol-1-il éster. Após novamente ocorre o ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio das aminas **20** e **23**, no grupo éster levando a formação da ligação amidíca e, por conseguinte, os derivados benzoboroxois **45** e **46** (Esquema 32) (VALEUR; BRADLEY, 2009).

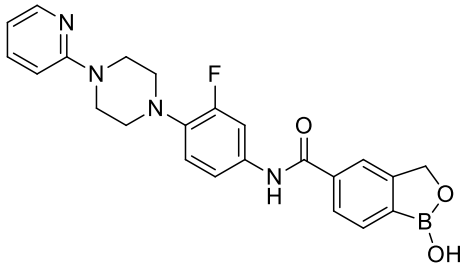
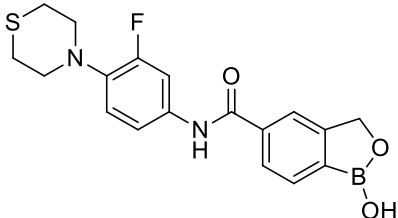


Esquema 32 – Mecanismo da reação de acoplamento entre intermediário **44** com as aminas aromáticas **20** e **23**, para obtenção dos compostos finais **45** e **46**.

Fonte: Autoria própria.

Os compostos **45** e **46** foram obtidos com rendimentos de 31% e 15%, respectivamente. Estes valores podem ser justificados: (1) pelo impedimento estérico proporcionado pelo agente acoplante e (2) pela baixa reatividade da anilina, já que o seu par de elétrons participa da ressonância no anel aromático, diminuindo seu caráter nucleofílico. Na tabela 28 estão apresentadas as características dos compostos **45** e **46**, como: aspecto, faixa de fusão e seus respectivos rendimentos.

Tabela 28 – Estrutura química, características, rendimento global dos compostos e o ponto de fusão dos compostos **45** e **46**.

Composto	Característica	Rendimento	Ponto fusão (°C)
 <i>N</i>-(3-fluor-4-(4-(piridina-2-il)piperazin-1-il)fenil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenezono[c][1,2]oxaborol-5-carboxamida (45)	Sólido marrom	31%	244-250
 <i>N</i>-(3-fluor-4-tiomorfolinofenil)-1-hidroxi-1,3-dihidrobenezono[c][1,2]oxaborol-5-carboxamida (46)	Óleo marrom	15%	-

Fonte: Autoria própria.

A estrutura química dos derivados benzoboroxois, foram caracterizadas por RMN ^1H (600 MHz) e ^{13}C (150 MHz), bem como por espectroscopia na região do infravermelho, identificando os principais grupos funcionais. Os espectros de RMN, será discutido para o composto **46**.

Para o espectro de ^1H do composto **46**, destaca-se a diminuição no deslocamento químico do hidrogênio H_{10} (δ 10,36), referente ao hidrogênio da

amida, na qual podemos comparar com seu respectivo hidrogênio do ácido carboxílico do intermediário **44** (H_{10} , δ 13,03), isto pode ser explicado devido a contribuição da ressonância entre a amida com o anel aromático, blindando o núcleo do hidrogênio. Além disso, observa-se os sinais dos hidrogênios H_4 , H_6 e H_7 do anel aromático benzoboroxol, com deslocando entre δ 7,95-7,85, porém devido a sobreposição de sinais, não foi possível atribuir as multiplicidades e as constantes de acoplamento de cada. Por fim, os hidrogênios H_{12} , H_{15} e H_{16} , onde H_{12} (δ 7,72-7,69) apresenta-se como duplo duplete, com acoplamento $J_{H-F} = 14,9$ Hz e *meta* com H_{16} ($J = 1,9$ Hz) (Figura 21).

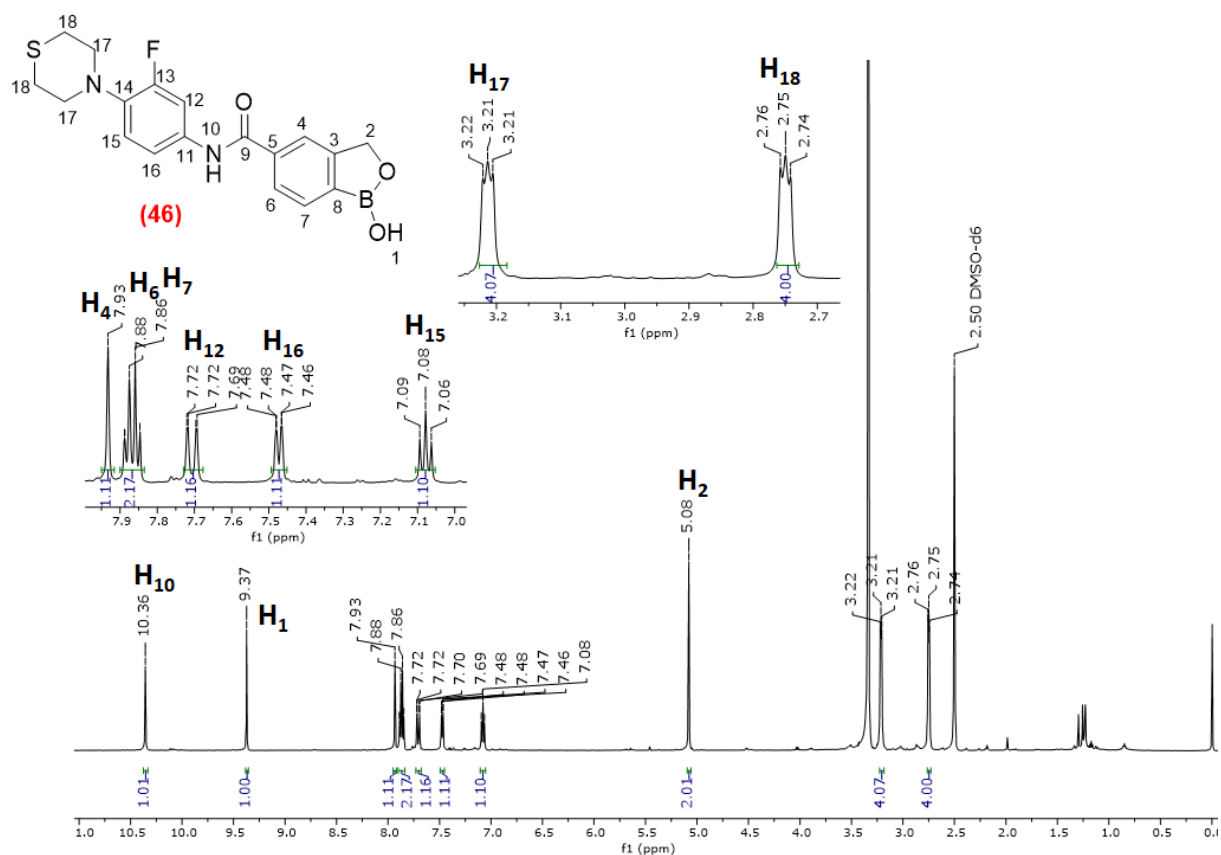


Figura 21 – Espectro RMN 1H (600 MHz) do derivado benzoboroxol **46**.

Fonte: Autoria própria.

No espectro HMBC, nota-se o acoplamento J_3 entre o hidrogênio da amida H_{10} com os carbonos C_{12} (δ 108,5) e C_{16} (δ 116,3), além do acoplamento J_2 com carbono carbonílico da amida C_9 (δ 165,6). Destaca, também, o acoplamento J_3

entre o H₄ (δ 7,93), do anel aromático benzoboroxol, com o carbono carbonílico (C₉), bem como os acoplamentos do C₂ (δ 69,9) em J₃ e J₂ com C₃ (δ 154,0) (Figura 21).

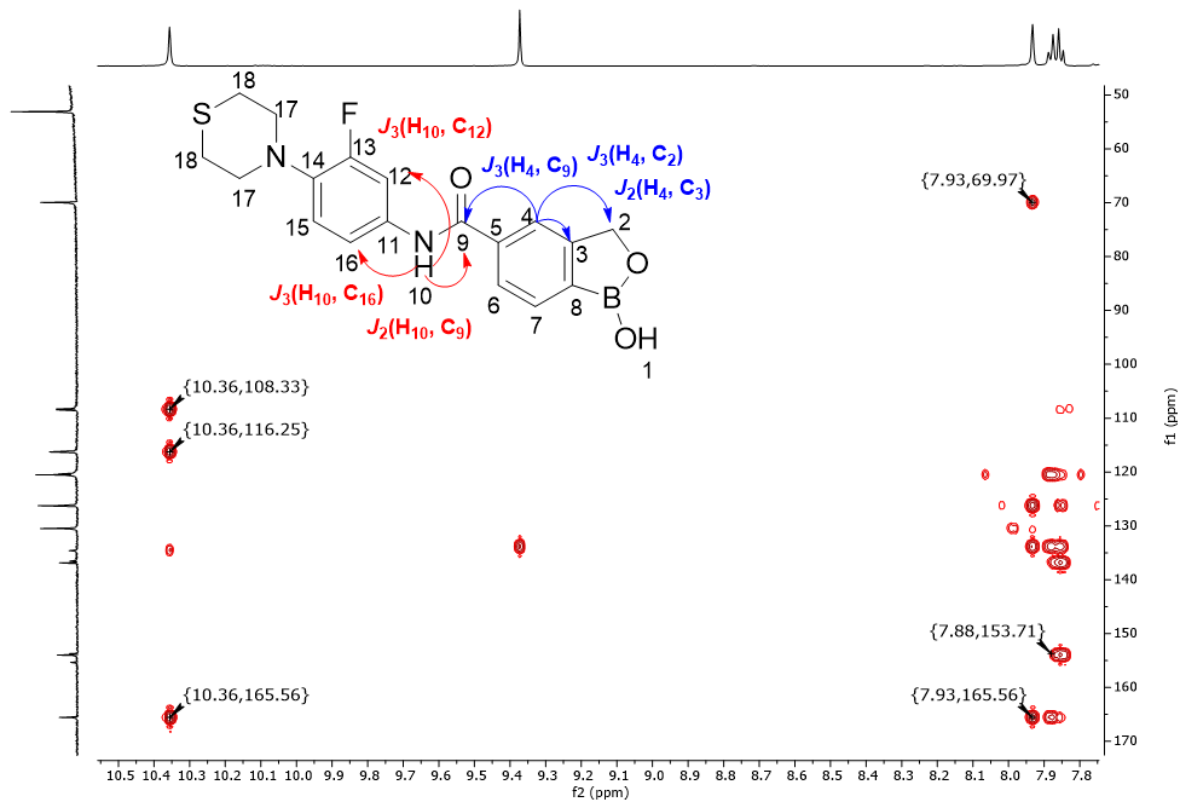


Figura 22 – Espectro RMN ^1H (600 MHz) do derivado benzoboroxol **46**.

Fonte: Autoria própria.

A tabela 29 apresenta os deslocamentos químicos, as constantes de acoplamento, bem como as multiplicidades, para os espectros de ^1H e ^{13}C .

Tabela 29 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H e ^{13}C dos compostos finais **45** e **46**.

Composto 45			Composto 46		
Posição	δ ^1H	δ ^{13}C	δ ^1H	δ ^{13}C	
1	9,39 (s, 1H)	-	9,37 (s, 1H)	-	
2	5,08 (s, 2H)	69,9	5,08 (s, 2H)	69,9	
3	-	154,0	-	154,0	
4	7,94 (m, 1H)	120,5	7,93 (m, 1H)	120,5	
5	-	137,6	-	136,9	
6	7,90-7,88 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H)	126,3	7,89-7,88 (m, 1H)	126,3	
7	7,86-7,85 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H)	130,5	7,86-7,85 (m, 1H)	130,5	
8	-	-	-	-	
9	-	165,6	-	165,6	
10	10,37 (s, 1H)	-	10,36 (s, 1H)	-	
11	-	134,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 10,9$ Hz, 1C)	-	136,6 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,7$ Hz, 1C)	
12	7,75-7,72 (dd, $J = 14,9; 2,2$ Hz, 1H)	108,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 25,7$ Hz, 1C)	7,72-7,69 (dd, $J = 14,6; 1,9$ Hz, 1H)	108,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 26,5$ Hz, 1C)	
13	-	155,2 (d, $J_{\text{C-F}} = 242,8$ Hz, 1C)	-	155,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 242,9$ Hz, 1C)	
14	-	135,7 (d, $J_{\text{C-F}} = 9,2$ Hz, 1C)	-	134,5 (d, $J_{\text{C-F}} = 11,9$ Hz, 1C)	
15	7,11-7,07 (t, $J = 9,3$ Hz, 1H)	119,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 4,5$ Hz, 1C)	7,09-7,09 (t, $J = 9,3$ Hz, 1H)	120,4 (d, $J_{\text{C-F}} = 4,0$ Hz, 1C)	
16	7,50-7,49 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H)	116,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,3$ Hz, 1C)	7,48-7,46 (m, 1H)	116,3 (d, $J_{\text{C-F}} = 2,9$ Hz, 1C)	
17	3,66-3,63 (m, 4H)	44,8	3,22-3,21 (m, 4H)	53,1	

18	3,09-3,06 (m, 4H)	50,2	2,76-2,74 (m, 4H)	27,3
19	-	159,0	-	-
20	6,89-6,88 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)	107,2	-	-
21	7,57-7,53 (td, $J = 8,0$; 7,2; 2,0 Hz, 1H)	136,9	-	-
22	6,68-6,66 (dd, $J = 7,2$; 5,0 Hz, 1H)	113,3	-	-
23	8,14-8,13 (dd, $J = 5,0$; 2,0 Hz, 1H)	147,6	-	-

Fonte: Autoria própria.

O espectro na região do IV para os compostos **45** e **46**, mostra o estiramento B–OH em 3327 e 3439 cm^{-1} , respectivamente, bem como os estiramentos em 1643 e 1647 cm^{-1} , pertencente a C=O das amidas **45** e **46**. Ademais, observa-se os dobramentos na região em 1525 e 1527 cm^{-1} da ligação N–H da amida secundária. A tabela 30 apresenta os comprimentos de onda para cada grupo funcional dos compostos **45** e **46**.

Tabela 30 – Comprimento de onda, na região do infravermelho, dos principais grupos funcionais dos composto **45** e **46**.

Tipo de vibração	Composto (45)	Composto (45)
	cm^{-1}	
ν B–OH (benzoboroxol)	3327	3439
ν B–O (benzoboroxol)	1319	-
ν C=O (amida)	1643	1647
ν N–H (amida secundária)	1525	1527
ν C=C (aromático)	1593	-
ν C=C (aromático)	1421	1423
ν C–F (fluoreto de arila)	1319	1278
ν C–H (metilênico)	-	-

Fonte: Autoria própria.

5.3 Síntese de sonda fluorescente BODIPY-GF12

Os marcadores fluorescentes BODIPYs foram sintetizados e acoplados com os compostos benzofuroxanos, bem como os derivados ácidos borônicos e os benzoboroxois, para futura investigação, *in vivo* do alvo molecular em que esses compostos atuam e permitir estudo farmacocinéticos em modelos animais. A princípio, foi selecionado o composto benzofuroxano GF-12 devido ao resultado promissor de inibição frente as cepas *M. tuberculosis* e, também, pela facilidade quanto ao acesso sintético.

A rota sintética foi dividida em três etapas: (1) síntese dos núcleos BODIPYs (47-49). (2) A segunda consiste na ativação da amina da arilamina do composto GF-12, através da substituição da amina pelo grupo propargila. (3) ativação do BODIPY (47), que consiste na troca do átomo cloro para azida e, também, na substituição da amina da arilamina do composto GF-12 por grupo propargil, para o acoplamento entre o núcleo BODIPY com o benzofuroxano por meio da formação do anel triazol.

5.3.1 Síntese dos núcleos BODIPYs (47-49)

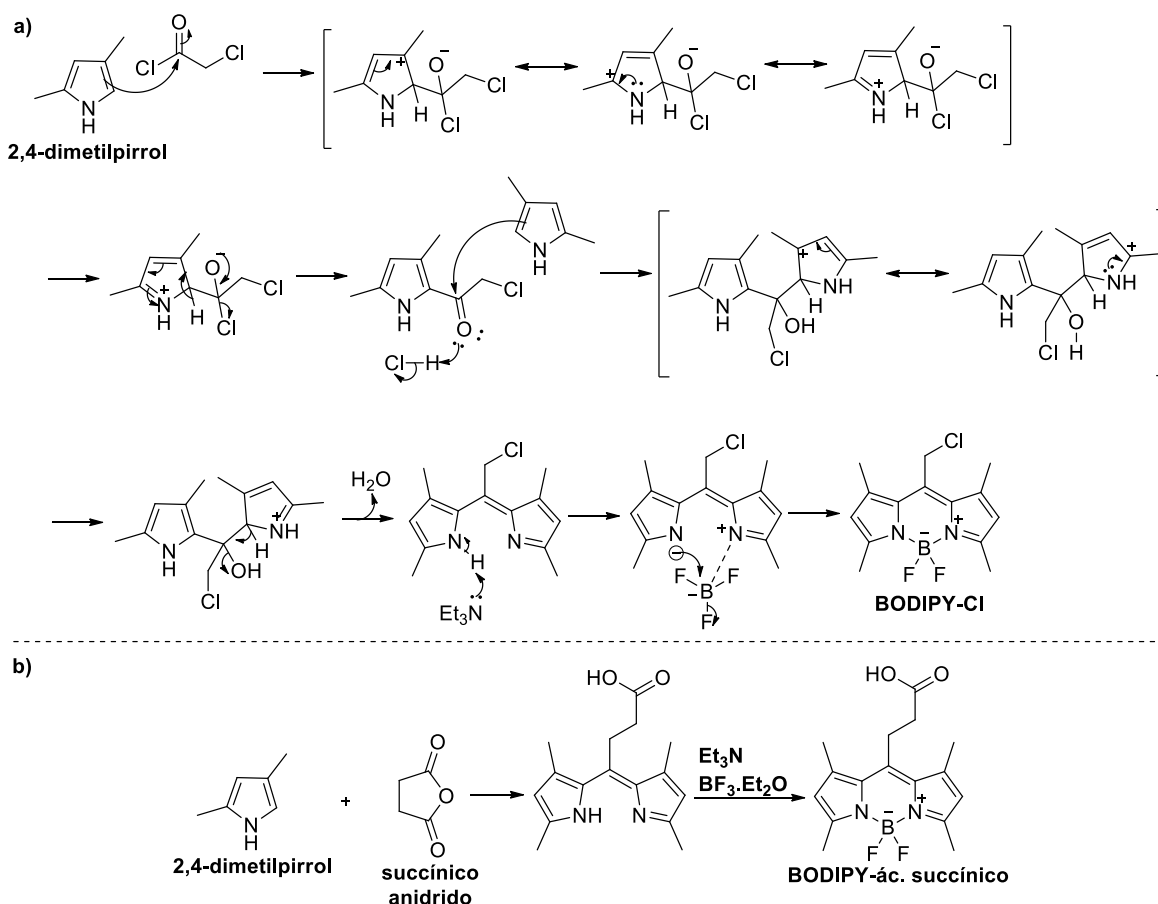
A síntese dos núcleos BODIPYs ocorreu pela reação de substituição eletrofílica aromática (S_EAr) entre o anel aromático 2,4-dimetilpirrol com cloreto de cloroacetil (BODIPY 47) e com os anidridos succínico e ftálico, para os BODIPYs 48 e 49.

A reação S_EAr para obtenção do BODIPY-Cl ocorreu pela condensação do cloreto de cloroacetila com 2,4-dimetilpirrol. O mecanismo da reação inicia-se pelo ataque nucleofílico dos elétrons da ligação π do 2,4-dimetilpirrol ao carbono do cloro, levando a clivagem da ligação π C=O. Nota-se, que a S_EAr acontece preferencialmente na posição α , devido à maior estabilização ocasionada pelas estruturas de ressonância (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012). Em seguida, a ligação C=O é restaurada com a saída do cloro. Na sequência, o oxigênio da carbonila captura um hidrogênio, aumentando a deficiência eletrônica no carbono,

na qual sofre um novo ataque nucleofílico pelo 2,4-dimetilpirrol. Logo após, o hidrogênio do pirrol é eliminado e uma nova ligação π C=C é formada, com a saída da água como grupo abandonador. Por fim, a reação finaliza com a desprotonação do nitrogênio pirrólico e complexação do BF_3 , levando a formação do BODIPY (**47**) (Esquema 33a) (REZENDE, 2016).

Para os BODIPYs **48** e **49**, o mecanismo reacional acontece de forma semelhante com o ataque da ligação dupla do 2,4-dimetilpirrol ao um dos carbonos carbonílicos dos anidridos, no qual leva abertura do anel e restauração do ácido carboxílico. Em seguida, uma nova reação $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$ ocorre com a saída de uma molécula de água. Por último, os dois nitrogênios pirrólicos complexam com o boro oriundo do BF_3 , formando os núcleos BODIPYs **48** e **49** (Esquema 33b) (WANG et al., 2009).

Todos os BODIPYs apresentaram-se como sólidos de coloração vinho, com rendimentos de 10% para o BODIPY (**47**) e de 12% e 16% para BODIPYs (**48** e **49**), respectivamente. ftálico, respectivamente. Estes valores de rendimentos podem ser atribuídos à formação de subproduto, uma vez que a posição β do pirrol também é susceptível de sofrer reação de $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$.

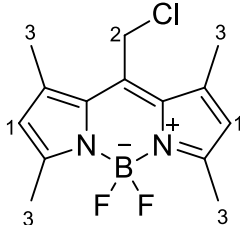
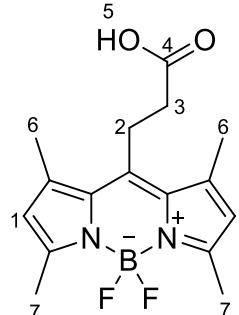


Esquema 33 – a) Mecanismo de reação de S_EAr em cloretos ácidos e b) S_EAr em compostos anidridos.

Fonte: Adaptado de REZENDE, 2016.

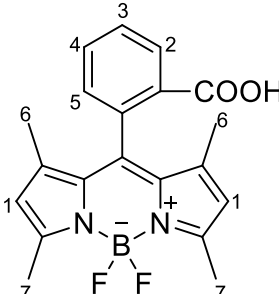
As estruturas químicas dos três núcleos BODIPYs foram caracterizadas por RMN (300 MHz) para o 1H (Anexos 98, 99 e 100; p. 204-205), no entanto foi discutida a elucidação apenas do BODIPY (**48**). Para o espectro de 1H do BODIPY-ác. succínico, destaca-se o acoplamento vicinal entre os hidrogênios metilênicos H_2 (δ 3,43-3,39) com o H_3 (δ 3,03-2,99), em $J = 9,7; 7,1$ Hz e $9,6; 7,1$ Hz, respectivamente. Ademais, observa-se o simpleto integrando para dois hidrogênios em δ 6,06, referente aos hidrogênios aromáticos dos anéis pirrol. Nas tabelas 31 e 32, estão destacados os deslocamentos químicos, as constantes de acoplamento e as multiplicidades de 1H , para cada núcleo BODIPY.

Tabela 31 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do BODIPY-Cl e BODIPY-ác. succínico.

			
BODIPY-Cl		BODIPY-ác. succínico	
Posição	δ ^1H	Posição	δ ^1H
1	6,02 (s, 2H)	1	6,06 (s, 2H)
2	4,78 (s, 2H)	2	3,43-3,39 (dd, $J = 9,7$; $7,1$ Hz, 1H)
3	2,53 (m, 12H)	3	3,03-2,99 (dd, $J = 9,6$; $7,1$ Hz, 1H)
4	-	4	-
5	-	5	9,19 (s, 1H)
6	-	6	2,38 (s, 6H)
7	-	7	2,53 (s, 6H)

Fonte: Autoria própria.

Tabela 32 – Deslocamentos químicos e RMN ^1H do BODIPY-ácido ftálico.

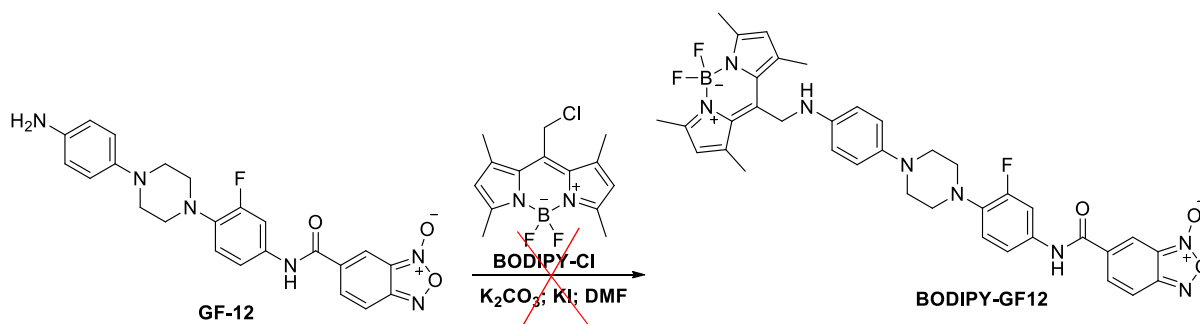
	
BODIPY-ác ftálico	
Posição	δ ^1H
1	5,95 (s, 2H)
2	8,19-8,17 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H)

3	7,36-7,34 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H)
4	7,61-7,57 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H)
5	7,71-7,67 (m, 1H)
6	1,32 (s, 6H)
7	2,53 (s, 6H)

Fonte: Autoria própria.

5.3.2 Síntese de acoplamento para obtenção da sonda BODIPY-GF12

Inicialmente, a síntese proposta para obtenção das sondas fluorescentes era o acoplamento entre o núcleo BODIPY (**47**) com o benzofuroxano GF-12. A reação empregada foi pela substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), na qual o par de elétrons da amina primária do GF-12 ataca o carbono α ao átomo de cloro do BODIPY. No entanto, a metodologia sintética não levou a formação do produto desejado, explicado pela baixa reatividade da amina, uma vez que esta está ligada diretamente no sistema aromático, onde o seu par de elétrons não-ligantes é compartilhado para a ressonância do anel (Esquema 34).



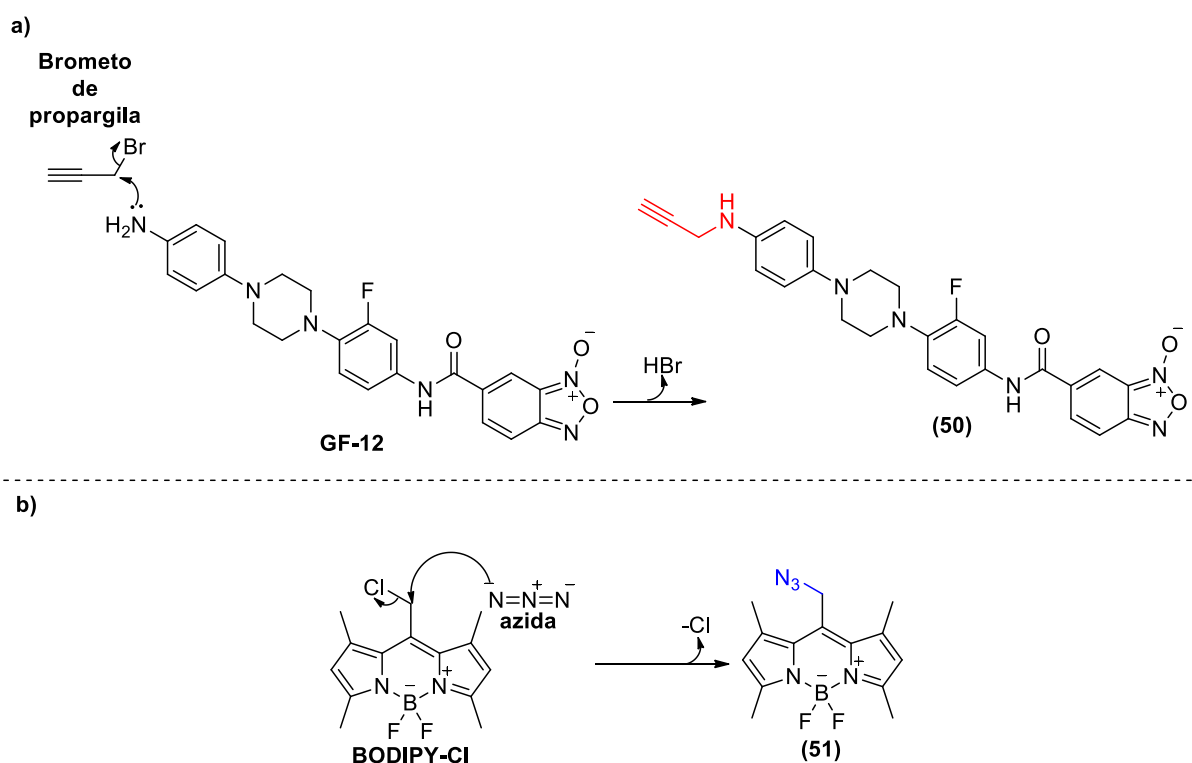
Esquema 34 – Metodologia de síntese via S_N2 para formação da sonda BODIPY-GF12.

Fonte: Autoria própria.

Assim, foi proposto a ativação do GF-12 pela troca do grupo amina para o substituinte propargil, além da troca do átomo de cloro do BODIPY (**47**) por azida (N_3) e, por conseguinte, conjugar ambas as subunidades pela formação do anel triazol. A síntese para inserção do grupo propargila aconteceu via S_N2 , pelo ataque

nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio da arilamina ao carbono α ao bromo, devido a deficiência eletrônica provocada pelo átomo de bromo (Esquema 35a). Com isto, o intermediário **50** foi obtido como sólido amarelo com 50% de rendimento.

De forma semelhante, a substituição do cloro por azida no BODIPY (**47**) ocorreu por reação S_N2 , com o ataque do par de elétrons do nitrogênio da azida ao carbono da posição α ao átomo de cloro. O BODIPY (**51**) foi obtido com 98% de rendimento, apresentando-se como sólido vermelho (Esquema 35b).



Esquema 35 – a) Mecanismo de reação de S_N2 para obtenção do intermediário **50** e b) S_N2 para formação do intermediário **51**.

Fonte: Autoria própria.

A estrutura dos intermediários **50** e **51**, foram elucidadas por RMN 1H em 300 MHz (Anexos 101 e 102, p. 205-206). No espectro de 1H para o intermediário **49**, destaca-se o sinal, como multipeto, com deslocamento químico em δ 4,03-4,02 referente ao hidrogênio (H_{21}) da amina secundária, indicando a inserção do grupo propargila, mesmo que este sobreponha com os hidrogênios metilênicos H_{22} . Nota-se, também, o hidrogênio H_{24} do acetileno que sobrepõe com os demais hidrogênios

metilênicos (H_{15} e H_{16}) em δ 3,18-3,15. Ademais, observa-se os hidrogênios aromáticos do benzofuroxano (H_3 , H_4 e H_6 em δ 8,21-8,19; 8,01-7,99, respectivamente).

No espectro do intermediário **51**, observa-se que não houve mudança significativa nos deslocamentos químicos, comparado com o BODIPY **47**. Na tabela 33 abaixo estão apresentados os deslocamentos químicos, bem como as multiplicidades e as constantes de acoplamento dos intermediários **50** e **51**.

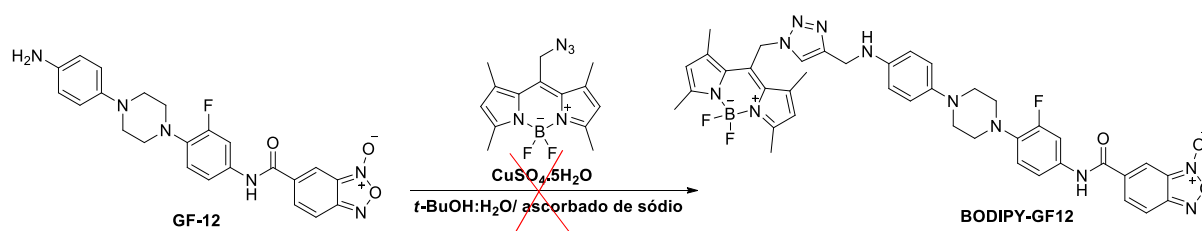
Tabela 33 – Deslocamentos químicos e RMN 1H dos intermediários **50** e **51**.

Composto 49		Composto 50
Posição	δ 1H	δ 1H
1	-	6,26 (s, 2H)
2	-	4,82 (s, 2H)
3	8,01-7,99 (m, 1H)	2,49 (s, 6H)
4	8,21-8,19 (m, 1H)	2,52 (s, 6H)
5	-	-
6	8,01-7,99 (m, 1H)	-
7	-	-
8	10,59 (s, 1H)	-
9	-	-
10	7,75-7,68 (dd, J = 14,8; 2,2 Hz, 1H)	-
11	-	-
12	-	-
13	7,15-7,10 (m, 1H)	-
14	7,49-7,47 (d, J = 8,7 Hz, 1H)	-

15	3,18-3,14 (m, 4H)	-
16	3,18-3,14 (m, 4H)	-
17	6,89-6,88 (ddd, $J = 8,6$ Hz, 1H)	-
18	6,95-6,92 (m, 2H)	-
19	6,91-6,89 (m, 2H)	-
20	-	-
21	4,03-4,02 (m, 1H)	-
22	4,03-4,02 (m, 1H)	-
23	-	-
24	3,18-3,14 (m, 1H)	-

Fonte: Autoria própria.

Após a obtenção dos intermediário **50** e **51**, a próxima etapa foi o acoplamento entre eles pela formação do anel triazol. Esta reação é conhecida como “Click Chemistry” e consiste em uma cicloadição azida-alcino catalisada por sais de cobre Cu^{III} , geralmente sulfato de cobre pentahidratado, na qual é reduzido a Cu^{I} com auxílio do ascorbato de sódio como agente redutor. Esse tipo de cicloadição, ocorre entre em um dipolarófilo (alcinos e alcenos) com compostos 1,3-dipolares (azidas, nitrilas) que levam a formação de compostos cíclicos, para este caso o triazol (WORREL; MALIK; FOKIN, 2013). No entanto, não houve a formação do produto esperado (Esquema 36).



Esquema 36 – Metodologia de síntese via cicloadição azida-alcino “Click Chemistry” para formação da sonda BODIPY-GF12.

Fonte: Autoria própria.

5.4 Ensaio de atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* e estudo de log P

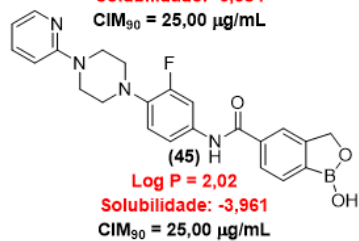
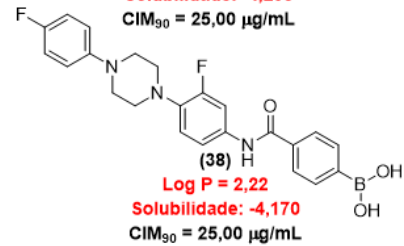
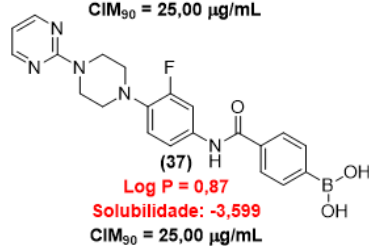
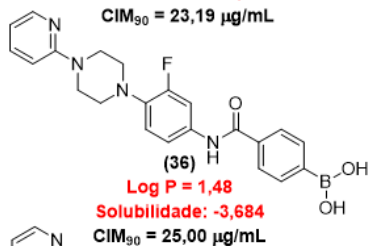
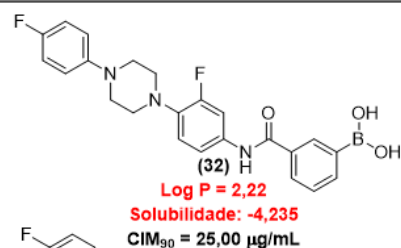
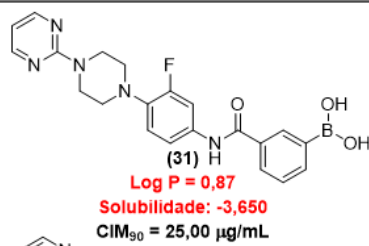
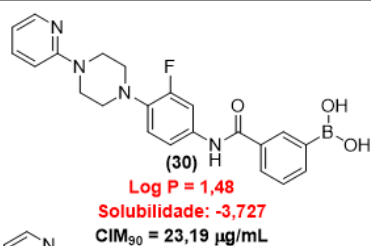
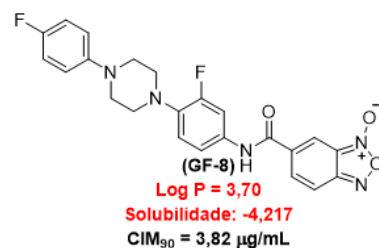
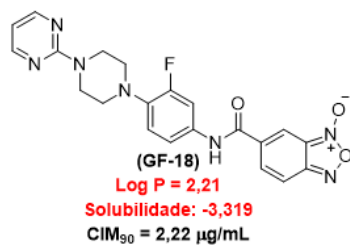
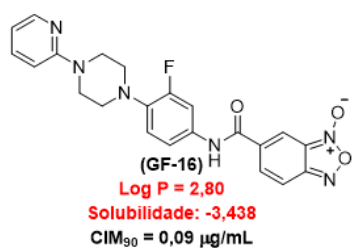
Os derivados de ácidos borônicos (**30-41**), bem como os derivados benzoboroxol (**45**) foram avaliados para atividade de inibição frente a cepas de *M. tuberculosis* H₃₇R_v. O ensaio consiste na determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM₉₀), que é definida como a menor concentração de um determinado composto, capaz de inibir 90% da multiplicação da micobactéria. A metodologia empregada foi o método REMA, na qual utiliza o corante resazurina que apresenta um potencial redox e mudança na coloração, conforme o metabolismo da *M. tuberculosis*. Em outras palavras, este funciona como um indicador da multiplicação bacteriana. Após o ensaio, os resultados são quantificados para determinar a CIM₉₀. Os compostos com CIM₉₀ <25 µg/mL são considerados ativos frente a inibição da cepa H₃₇R_v.

Dos compostos avaliados, apenas o composto **30** apresentou CIM₉₀ = 23,79 µg/mL, os demais mostraram-se inativos (CIM₉₀ >25 µg/mL). Devido à baixa atividade do composto **30**, o ensaio de citotoxicidade bem como o índice de seletividade, não foram realizados.

Para investigar a falta da atividade dos compostos, foi realizado um estudo computacional para determinar o coeficiente de partição (log P) de cada molécula e, com isto, foi comparado com seus respectivos análogos benzofuroxânos. O coeficiente de partição é um parâmetro que determina a interação de um fármaco, ou compostos bioativos, em ambiente hidrofílico ou lipofílico. Quanto maior o log P, mais lipossolúvel será o composto, em outras palavras, mais facilmente o fármaco passará pela membrana celular.

O programa computacional utilizado para o ensaio, foi o pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>), na qual utiliza a linguagem smiles, obtidas no programa ChemDraw. Para todos os compostos foram obtidos os dados *in silico* das propriedades farmacocinéticas simuladas, incluindo: absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade. Na figura 23, estão ilustrados os valores do clog P, bem como a solubilidade de cada um dos derivados de ácidos

borônicos e benzoboroxol, juntamente com seus respectivos análogos benzofuroxânos, para fins de comparação.



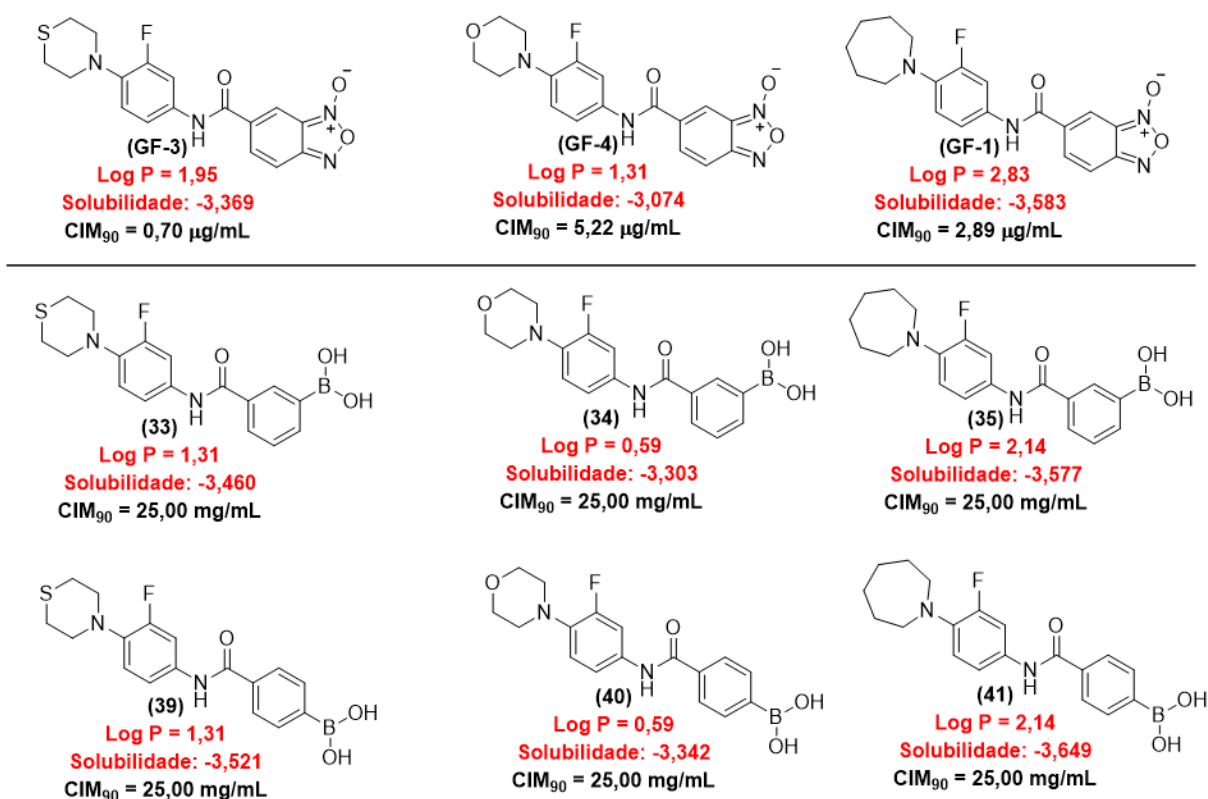


Figura 23 – Valores de CIM₉₀, clog P e solubilidade dos compostos **30-41**, **45** e dos seus respectivos derivados benzofuroxânos.

Fonte: Autoria própria.

Como ilustrado na figura 22, os compostos ácidos borônicos (**30-41**) e benzoboroxol (**45**) apresentam menores valores de clog P, em comparação com seus respectivos derivados benzofuroxânos. Isto porque a presença das hidroxilas proporciona interações de hidrogênio, o que aumentam seu caráter hidrofílico. A parede celular da *M. tuberculosis* é rica em lipídeos e ácidos graxos de cadeia longa, possivelmente a baixa lipossolubilidade destes derivados, não permite a passagem pela barreira lipofílica da membrana celular, o que pode justificar a inatividade e/ou pouca atividade de inibição dos compostos frente as cepas da micobactéria.

Uma estratégia para contornar o problema, poderia ser na esterificação destes ácidos para formação de ésteres borônicos, o que aumentaria o caráter lipossolúvel destas moléculas e, por conseguinte, aumentaria a passagem pela parede celular da micobactéria.

6. CONCLUSÕES

Neste projeto de doutorado foram planejados e sintetizados derivados de ácidos borônicos e benzoboroxois, a partir da troca bioisostérica do benzofuroxâno, com objetivo de buscar novas alternativas para o tratamento da tuberculose. Além disso, foram sintetizadas pequenas moléculas BODIPYs, para o desenvolvimento de sondas fluorescentes que visa na investigação do alvo de atuação e estudos farmacocinéticos.

Para os derivados ácidos borônicos, foram sintetizados seis intermediários nitro aromáticos (**14-19**), seis intermediários aminas aromáticas (**20-25**) e doze compostos finais ácidos borônicos (**30-41**), com rendimentos que variaram entre 22% a 62%. Os compostos finais benzoboroxois (**45** e **46**) foram obtidos com rendimento variando entre 31% e 15%, respectivamente.

Os compostos **30** a **41** e **45** foram submetidos ao ensaio de atividade de inibição frente a cepas de *M. tuberculosis* H₃₇Rv, pelo método REMA para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM₉₀), no entanto a avaliação revelou que apenas o compostos **30** apresentou baixa atividade de inibição (CIM₉₀ = 23,79 µg/mL) enquanto os demais (**31-41**, **45**) mostraram-se inativos com CIM₉₀ >25 µg/mL. Assim, um estudo computacional foi realizado para determinação do coeficiente de partição destes compostos, a pesquisa foi realizada em programa pkCSM, que revelou que os compostos apresentaram log P menores que seus respectivos derivados benzofuroxânos. Com isto, sugere que o menor caráter lipofílico destas moléculas poderia ser um dos fatores que dificultaria a passagem pela barreira lipofílica da micobactéria.

Ademais foram sintetizados os núcleos BODIPY-Cl, BODIPY-ác. succínico e BODIPY-ác. ftálico, com rendimentos de 10%, 12% e 16%, na qual o BODIPY-Cl foi submetido a síntese de acoplamento para obtenção da sonda fluorescente BODIPY-GF12, sendo empregado reações de S_N2 e Click Chemistry, entre o núcleo BODIPY-Cl e o benzofuroxâno GF-12, para formação de anel triazol, no entanto nenhuma das metodologias levaram ao produto desejado.

Assim, neste trabalho de doutorado foram sintetizados 14 compostos organoboro, sendo 12 derivados de ácidos borônicos e 2 derivados benzoboroxois,

dos quais estes são inéditos. Os resultados obtidos possibilitaram, também, investigar uma possível relação bioisotérica, que não foi confirmada experimentalmente. Ademais, o trabalho possibilitou a identificação de desenvolvimento de metodologias para preparação de conjugados com sondas fluorescentes, o que permitirá estudos futuros para determinação de modo/mecanismo de ação, bem como estudos farmacocinéticos em modelos animais.

7. REFERÊNCIAS

- ADAMCZYK-WÓZNIAK, A.; BORYS, K. M.; SPORZYNSKI, A. Recent developments in the chemistry and biological applications of benzoxaboroles. **Chemical Reviews**, v. 115, n. 11, p. 5224–5247, 2015.
- ADAMS, J.; BEHNKE, M.; CHEN, S.; CRUICKSHANK, A. A.; DICK, L. R.; GRENIER, L.; KLUNDER, J. M.; MA, Y. T.; PLAMONDON, L.; STEIN, R. L. Potent and selective inhibitors of the proteasome: Dipeptidyl boronics acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 8, n. 4, p. 333–338, 1998.
- AKAMA, T.; BAKER, S. J.; ZHANG, Y. K.; HERNANDEZ, V.; ZHOU, H.; SANDERS, V.; FREUND, Y.; KIMURA, R.; MAPLES, K. R.; PLATTNER, J. J. Discovery and structure-activity study of a novel benzoxaborole anti-inflammatory agent (AN2728) for the potential topical treatment of psoriasis and atopic dermatitis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 8, p. 2129–2132, 2009.
- ALAM, M. A.; ARORA, K.; GURRAPU, S.; JONNALAGADDA, S. K.; NELSON, G. L.; KIPROF, P.; JONNALAGADDA, S. C.; MEREDDY, V. R. Synthesis and evaluation of functionalized benzoboroxoles as potential *anti*-tuberculosis agents. **Tetrahedron**, v. 72, p. 3795–3801, 2016.
- BAKER, S. J.; ZHANG, Y. K.; AKAMA, T.; LAU, A.; ZHOU, H.; HERNANDEZ, V.; MAO, W.; ALLEY, M. R. K.; SANDERS, V.; PLATTNER, J. J. Discovery of a new boron-containing antifungal agent, 5-fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-2,1-benzoxaborole (AN2690), for the potential treatment of onychomycosis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 15, p. 4447–4450, 2006.
- BARRERA, L. The basics of clinical bacteriology. In: PALOMINO, J. C.; LEÃO, S. C.; RITACCO, V. **Tuberculosis 2007: from basic science to patient care**. 1. ed. Amedeo Challenge, 2007. p. 93–112.
- BRASIL. **Boletim epidemiológico**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/24/boletim-tuberculose-2021_24.03>.
- BROSCH, R.; GORDON, S. V.; MARMIESSE, M.; BRODIN, P.; BUCHRIESER, C.; EIGLMEIER, K.; GARNIER, T.; GUTIERREZ, C.; HEWINSON, G.; KREMER, K.; PEARSONS, L. M.; PYM, A. S.; SAMPER, S.; VAN SOOLINGEN, D.; COLE, S. T. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 6, p. 3684–3689, 2002.
- BROSS, P. F.; KANE, R.; FARRELL, A. T.; ABRAHAM, S.; BENSON, K.; BROWER, M. E.; BRADLEY, S.; GOBBURU, J. V.; GOHEER, A.; LEE, S. L.; LEIGHTON, J.; LIANG, C. Y.; LOSTRITTO, R. T.; MCGUINN, W. D.; MORSE, D. E.; RAHMAN, A.; ROSARIO, L. A.; VERBOIS, S. L.; WILLIAMS, G.; WANG, Y. C.; PAZDUR, R.

Approval summary for Bortezomib for injection in the treatment of multiple myeloma. **Clinical, Cancer Research**, v. 10, n. 12, p. 3954–3964, 2004.

CAMPOS, H. S. *Mycobacterium tuberculosis* resistente: De onde vem a resistência. **Boletim de Pneumologia Sanitária**, v. 7, n. 1, p. 51–64, 1999.

CAMPOS, D. L. **Análise da atividade *in vitro*, *in vivo* e do mecanismo de ação de compostos benzofurânos frente a *Mycobacterium tuberculosis***. Exame de Qualificação para Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Unesp/Araraquara, 2021.

CAREY, F. A; SUNDBERG, R. J. Free radical reactions. *In*: _____. (org). **Advanced Organic Chemistry. Part A: Structure and Mechanism**. 5. ed. Springer, 2007. p. 965–1072.

CARPINO, L. A. 1-Hydroxy-7-azabenzotriazole. An efficient peptide coupling additive. **Journal of the American Chemical Society**. v. 10, n. 115, p. 4397–4398, 1993.

CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M. Benzofuroxan and furoxan. Chemical and biology. *In*: KHAN, M. T. H. **Bioactive Heterocycles IV. Topics in Heterocyclic Chemical**. 10. ed. Berlin: Springer Science, 2007. p. 265–308.

CERECETTO, H.; PORCAL, W. Pharmacological properties of furoxan and benzofuroxan: Recent developments. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 57–71, 2005.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. Aromatic heterocycles 1: Reactions. *In*: _____. (org). **Organic Chemistry**. 2. ed. Oxford, 2012. p. 723–756.

COUTTS, S. J.; ADAMS, J.; KROLIKOWSKI, D.; SNOW, R. J. Two efficient methods for the cleavage of pinanediol boronate esters yielding the free boronic acids. **Tetrahedron Letters**, v. 35, n. 29, p. 5109–5112, 1994.

DANIEL, T. M. The history of tuberculosis. **Respiratory Medicine**, v. 100, n. 11, p. 1862–1870, 2006.

DEFRANCESCO, H.; DUDLEY, J.; COCA, A. Boron chemistry: An Overview. *In*: COCA, A. **Boron Reagents in Synthesis**. Washington: ACS Symposium series, 2016. p. 1–25.

DONOGUE, H. D.; SPIGELMAN, M.; GRENNBLATT, C. L.; LEV-MAOR, G.; BARGAL, G. K.; MATHESON, C.; VERNON, K.; NERLICH, A. G.; ZINK, A. R. Tuberculosis: from prehistory to Robert Koch, as revealed by ancient DNA. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 4, n. 9, p. 584–592, 2004.

DUCATI, R. G.; RUFFINO-NETO, A.; BASSO, L. A.; SANTOS, D. S. The resumption of consupation: A review on tuberculosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 7, p. 697–714, 2006.

ERNST, J. D. The immunological life cycle of tuberculosis. **Nature Reviews Immunology**, v. 12, p. 581–591, 2012.

FERNANDES, G. F. S.; SO UZA, P. C.; MORENO-VIGURI, E.; SANTIVÁÑEZ-VELIZ, M.; POUCA, R.; PÉREZ-SILANES, S.; CHEGAEV, K.; GUGLIELMO, S.; LAZZARATO, L.; FRUTTERO, R.; CHIN, C. M.; SILVA, P. B.; CHORILLI, M.; SOLCIA, M. C.; RIBEIRO, C. M.; SILVA, C. S. P.; MARIANO, M. B.; BOSQUESI, P. L.; HUNT, D. M.; CARVALHO, L. P. S.; COSTA, C. A. S.; CHO, S. H.; WANG, Y.; FRANZBLAU, S. G.; PAVAN, F. R.; SANTOS, J. L. Design, synthesis, and characterization of N-oxide-containing heterocycles with in vivo sterilizing antitubercular activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 20, p. 8647–8060, 2017.

FERNANDES, G. F. S. **Planejamento, síntese e avaliação anti-Mykobacterium tuberculosis de novos derivados benzofuroxânos e nitroimidazooxazinas úteis para o tratamento da tuberculose multirresistente**. 2021. 282 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2021.

FERNANDES, G. F. S.; CAMPOS, D. L.; SILVA, I. C.; PRATES, J. L. B.; PAVAN, A. R.; PAVAN, F. R.; SANTOS, J. L. Benzofuroxan derivatives as potent agents against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. **ChemMedChem**, v. 16, n. 8, p. 1268–1282, 2021.

FERNANDES, G. F. S.; DENNY, W. A.; SANTOS, J. L. Boron in drug design: Recent advances in the development of new therapeutic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 179, p. 791–804, 2019.

FIESER, L. F.; MARTIN, E. L.; SHRINER, R. L.; STRUCK, H. C. Succinic anhydride. Organic Syntheses. **Collective**, v. 12, p. 66, 1932.

FRANKLAND, E.; DUPPA, B. F. Vorläufige Notiz über boräthyl. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, v. 115, n. 3, p. 319–322, 1860.

FRANKLAND, E.; DUPPA, B. F. XV. Contributions to the history of the phosphorus bases. Parts I., II. and III. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 10, p. 568–570, 1860.

FRANKLAND, E. XLVI.—On a new series of organic compounds containing boron. **Journal of the Chemical Society**, v. 15, p. 363–381, 1862.

GOROCICA, P.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, M. C.; GARFIAS, Y.; SADA, I.; LASCURAIN, R. Componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis. **Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias**, v. 18, n. 2, p. 142–153, 2005.

GROSSET, J. Mycobacterium tuberculosis in the extracellular compartment: an underestimated adversary. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, n. 3, p. 833–836, 2003.

GUTIERREZ, C.; BRISSE, S.; BROSCHE, R.; FABRE, M.; OMAIS, B.; MARMIESSE, M.; SUPPLY, VINCENT, V. Ancient Origin and Gene Mosaicism of the Progenitor of *Mycobacterium tuberculosis*. **Plos Pathogens**, v. 1, n. 1, p. 0055–0061, 2005.

GUY, C. S.; GIBSON, M. I.; FULLAM, E. Targeting extracellular glycans: Tuning multimeric boronic acids for pathogen-selective killing of *Mycobacterium tuberculosis*. **Chemical Science**, v. 10, n. 23, p. 5935–5942, 2019.

GUY, C. S.; MURRAY, K.; GIBSON, M. I.; FULLAM, E. Dimeric benzoboroxoles for targeted against *Mycobacterium tuberculosis*. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 17, n. 43, p. 9524–9528, 2019.

HALL, D. G. Structure, properties, and preparation of boronic acid derivatives. Overview of their reactions and applications. In: _____. (org). **Boronic Acids: Preparation and Applications in Organic Synthesis, Medicine and Materials**. 2. ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011. p. 1–134.

HERNÁNDEZ-PANDO, R.; CHACÓN-SALINA, R.; SERAFÍN-LÓPEZ, J.; ESTRADA, I. Immunology pathogenesis, virulence. In: PALOMINO, J. C.; LEÃO, S. C.; RITACCO, V. **Tuberculosis 2007: from basic science to patient care**. 1. ed. Amedeo Challenge, 2007. p. 157–206.

[HISTORY OF TUBERCULOSIS]. **News Medical Life Sciences**. 16 sep. 2019. Disponível em: < <https://www.news-medical.net/health/History-of-Tuberculosis.aspx> > Acesso: 15 fev. 2022.

HOUGES, H. L.; BROWN, R. A.; CROOKS, J. A.; SOFUNI, T.; ISHIDATE, M. JR.; KIESSLING, L. L. Imaging mycobacterial growth and division with a fluorogenic probe. **PNAS Latest Articles**, v. 115, n. 20, p. 5271–5276, 2018

ISHIYAMA, T.; MATSUDA, N.; MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Platinum (0)-catalyzed diboration of alkynes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 23, p. 11018–11019, 1993.

ISHIYAMA, T.; MURATA, M.; MIYAURA, N. Palladium (0)-catalyzed cross-coupling reaction of alkoxydiboron with haloarene: A direct procedure for arylboronic esters. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 7508–7510, 1995.

JIA, Z.; ZHU, Q. ‘Click’ assembly of selective inhibitors for MAO-A. **Bioorganic & Medicinal Chemistry letters**, v. 20, n. 21, p. 6222–6225, 2010.

KAHLERT, J.; AUSTIN, C. J. D.; KASSIOU, M.; RENDINA, L. M. The fifth element in drug design: Boron in medicinal chemistry. **Australian Journal of Chemistry**, v. 66, n. 10, p. 1118–1123, 2013.

KOWADA, T.; MAEDA, H.; KIKUCHI, K. BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells. **Chemical Society Reviews**. v. 44, n. 15, p. 4953–4972, 2015.

KREBS, R. E. The boron group (metallics to semimetals: Periods 2 to 6, group 13 (IIIA). *In*: _____. (org). **The history and use of our earth's Chemical elements: A reference guide**. 2. ed. Westport: Greenwood Press, 2006. p. 173–188.

KRITSKI, A.; MELO, F. A. F. Tuberculosis in adults. *In*: PALOMINO, J. C.; LEÃO, S. C.; RITACCO, V. **Tuberculosis 2007: from basic science to patient care**. 1. ed. Amedeo Challenge, 2007. p. 487–524.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. Lungs. *In*: _____. (org). **Robbins Basic Pathology**. 10. ed. Philadelphia: Elsevier, 2017. p. 495–548.

KUMAR, J.; NARAYAN, R.; KAPOOR, S. Chemical tools for illumination of tuberculosis biology, virulence mechanisms, and diagnosis. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 63, n. 24, p. 15308–15382, 2020.

KÜRTI, L; CZAKÓ, B. Miyaura boration. *In*: _____. (org). **Strategic Applications of Named Reactions of Organic Synthesis: Background and Detailed Mechanisms**. 1. ed. Elsevier, 2005. p. 296–299.

KÜRTI, L; CZAKÓ, B. Suzuki cross-coupling (Suzuki-Miyaura cross-coupling). *In*: _____. (org). **Strategic Applications of Named Reactions of Organic Synthesis: Background and Detailed Mechanisms**. 1. ed. Elsevier, 2005. p. 448–450.

KURZ, S. G.; HAZRA, S.; BETHEL, C. R.; ROMAGNOLI, C.; CASELLI, E.; PRATI, F.; BLANCHARD, J. S.; BONOMO, R. A. Inhibiting the β -lactamase of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) with novel Boronic Acid Transition-State Inhibitors (BATISs). **Infectious Diseases**, v. 1, n. 6, p. 234–242, 2015.

LANGLEY, G. W.; CAIN, R.; TYRREL, J. M.; HINCHLIFFE, P. CALVOPIÑA, K.; TOOKE, C. L.; WIDLAK, E.; DOWSON, C. G.; SPENCER, J.; WALSH, T. R.; SCHOFIELD, C. J.; BREM, J. Profiling interactions of vaborbactam with metallo- β -lactamases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 15, 1981–1984, 2019.

LEE, J. J.; LEE, S. C.; ZHAI, D.; AHN, Y. H.; YEO, H. Y.; TAN, Y. L.; CHANG, Y. T. BODIPY-diacrylate imaging probes for targeted proteins inside live cells. **Chemical Communications**. v. 47, n. 15, p. 4508–4510, 2011.

LI, X.; HERNANDEZ, V.; ROCK, F. L.; CHOI, W.; MAK, Y. S. L.; MOHAN, M.; MAO, W.; ZHOU, Y.; EASOM, E. E.; PLATTNER, J. J.; ZOU, W.; PÉREZ-HERRÁN, E.; GIORDANO, I.; MENDOZA-LOSANA, A.; ALEMPARTE, C.; RULLAS, J.; ANGULO, I.; CROUCH, S.; ORTEGA, F.; BARROS, D.; ALLEY, M. R. K. Discovery of a potent and specific *M. tuberculosis* Leucyl-tRNA synthetase inhibitor (S)-3-(aminomethyl)-4-chloro-7-(2-hydroxyethoxy)benzo[c][1,2]oxaborol-1(3H)-ol. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 19, p. 8011–8026, 2017.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Biosisosterim: A useful strategy for molecular modification and drug design. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 23–49, 2005.

LIU, C. L.; TOMSHO, J. W.; BENKOVIC, S. J. The unique chemistry of benzoxaboroles: Current and emerging application in biotechnology and therapeutic treatments. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 16, p. 4462–4473, 2014.

LIU, M.; MA, S.; SHE, M.; CHEN, J.; WANG, Z.; LIU, P.; ZHANG, S.; LI, J. Structural modification of BODIPY: Improve its applicability. **Chinese Chemical Letters**, v. 30, n. 10, p. 1815-1824, 2019

LOUDET, A.; BURGESS, K. BODIPY dyes and their derivatives: Syntheses and spectroscopic properties. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 11, p. 4891–4932, 2007.

MACIA-CONTRERAS, M.; DAYKIN, K. L.; SIMMONS, J. T.; ALLEN, J. R.; HOOPER, Z. S.; DAVIDISON, M. W.; ZHU, L. Progressive structural modification to a zinc-actuated photoinduced electron transfer (PeT) switch in the context of intracellular zinc imaging. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 15, n. 43, p. 9139–9148, 2017.

MARKHAM, A. Tavaborole: First global approval. **Drugs**, v. 74, n. 13, p. 12–22, 2018.

MCCARTHY, M. W.; WALSH, T. J. Meropenem/vaborbactam fixed combination for the treatment of patients with complicated urinary tract infections. **Drugs of Today**, v. 53, n. 10, p. 521–530, 2017.

MEREDDY, G. R.; CHAKRADHAR, A.; RUTKOSKI, R. M.; JONNALAGADDA, S. C. Benzoboroxoles: Synthesis and applications in medicinal chemistry. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 865, n. 13, p. 1555–1558, 2014.

MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds. **Chemical Reviews**, v. 95, n. 7, p. 2457–2483, 1995.

MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Stereoselective synthesis of arylated (*E*)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 19, p. 866–867, 1979.

NI, N.; WANG, B. Applications of boronic acids in chemical biology and medicinal chemistry. In: HALL, D. G. **Boronic Acids: Preparation and Applications in Organic Synthesis, Medicine and Materials**. 2. ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011. p. 591–620.

O'GARRA, A.; REDFORD, P. S.; MCNAB, F. W.; BLOOM, C. I.; WILKINSON, R. J.; BERRY, M. P. R. The immune response in tuberculosis. **Annual Review of Immunology**, v. 31, p. 475–527, 2013.

OKADA JUNIOR, C. Y. **Planejamento e síntese de novos candidatos a inibidores da enzima sn-1-diacylglicerol lipase alfa (DAGL- α)**. 2017. 132 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2017.

PAI, M.; BEHR, M. A.; DOWDY, D.; DHEDA, K.; DIVANGAHI, M.; BOEHME, C. C.; GINSBERG, A.; SWAMINATHAN, S.; SPIGELMAN, M.; GETAHUN, H.; MENZIES, D.; RAVIGLIONE, M. Tuberculosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 1–23, 2016.

PALENCIA, A.; LI, X.; BU, W.; CHOI, W.; DING, C. Z.; EASOM, E. E.; FENG, L.; HERNANDEZ, V.; HOUSTON, P.; LIU, L.; MEEWAN, M.; MOHAM, M.; ROCK, F. L.; SEXTON, H.; ZHANG, S.; ZHOU, Y.; WAN, B.; WANG, Y.; FRANZBLAU, S. G.; WOOLHISER, L.; GRUPPO, V.; LENAERTS, A. J.; O'MALLEY, T.; PARISH, T.; COOPER, C. B.; WATERS, M. G.; MA, Z.; LOERGER, T. M.; SACCHETTINI, J. C.; RULLAS, J.; ÂNGULO-BARTUREN, I.; PÉREZ-HERRÁN, MENDONZA, A.; BARROS, D.; CUSACK, S.; PLATTNER, J. J.; ALLEY, M. R. K. Discovery of novel oral protein synthesis inhibitors of Mycobacterium tuberculosis that target leucyl-tRNA synthetase. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 60, n. 10, p. 6271–6280, 2016.

PALOMINO, J.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium Tuberculosis Resazurin Microtiter Assay Plate : Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in Mycobacterium Tuberculosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, p. 2720-2722, 2002.

PAPIER, A.; STROWD, L. C. Atopic dermatitis: A review of topical nonsteroid therapy. **Drugs in Context**, v. 7, p. 1–10, 2018.

PAVAN, F. R.; MAIA, P. I. D.S.; LEITE, S. R. a; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. a.; SATO, D. N.; FRANZBLAU, S. G.; LEITE, C. Q. F. Thiosemicarbazones, Semicarbazones, Dithiocarbazates and Hydrazone/hydrazones: Anti - *Mycobacterium Tuberculosis* Activity and Cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2010, v. 45, p. 1898-1905.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, 2015, v. 58, n. 9, p. 4066–4072.

PRATES, J. L. B.; PAVAN, A. R.; SANTOS, J. L. Boron in medicinal and organic chemistry. **Current Organic Chemistry**, v. 25, n. 16, p. 1853–1867, 2021.

PROTOPOPOVA, M.; BOGATCHEVA, E.; NIKONENKO, B.; HUNDERT, S.; EINCK, L.; NACY, C. A. In search of new cures for tuberculosis. **Medicinal Chemistry**, v. 3, n. 3, p. 301–316, 2007.

REZENDE, L. C. D. **Síntese, caracterização e aplicações de fluoróforos derivados do BODIPY**. 2016. 199 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

RODRÍGUEZ, G. **Desarrollo de compuestos fluorescentes derivados de agentes con actividad anti-Trypanosoma cruzi**. 2015. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Bioquímica) – Faculdade de Ciências, Universidade de la República, Montevideo, 2015.

RODRÍGUEZ, G.; NARGOLI, J.; LÓPEZ, A.; MOYNA, G.; ÁLVAREZ, G.; FERNÁNDEZ, M.; OSORIO-MARTÍNEZ, C. A.; GONZÁLEZ, M.; CERECETTO, H. Synthesis and in vivo proof of concept of a BODIPY-based fluorescent probe as a tracer for biodistribution studies of a new anti-chagas agent. **RSC Advances**, v. 7, n. 13, p. 7983–7989, 2017.

SANTANA-ROMO, F.; LAGOS, C. F.; DUARTE, Y.; CASTILLO, F.; MOGLIE, Y.; MAESTRO, M. A.; CHARBE, N.; ZACCONI, F. C. Innovative three-step microwave-promoted synthesis of N-propargyltetrahydroquinoline and 1,2,3-triazole derivatives as a potential factor Xa (FXa) inhibitors: drug design, synthesis, and biological evaluation. **Molecules**, v. 25., p. 1–39, 2020.

SAWYER, E. B.; GRABOWSKA, A. D.; CORTE, T. Translational regulation in mycobacteria and its implications for pathogenicity. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. 14, p. 6950–6991, 2018.

SUZUKI, A. Cross-coupling reactions of organoboranes: An easy way to construct C–C bonds (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 30, p. 6722–6737, 2011.

SCHMITT, A.; HINKELDEY, B.; WILD, M.; JUNG, G. Synthesis of the core compound of the BODIPY dye class: 4,4'-difluoro-4-bora-(3a,4a)-diazas-indacene. **Journal of Fluorescence**, v. 19, n. 4, p. 755–758, 2009.

SCHUMACHER, S. **Saccharide recognition – Boronic acids as receptors in polymeric networks**. 2011. 143 f. Dissertação de Grau Acadêmico (Disciplina Físico-Química) – Faculdade de Matemática e Ciências Naturais, Universidade de Postdam, Postdam, 2011.

THE PRIZE NOBEL CHEMISTRY 2010. **NobelPrize.org. Nobel Prize**, oct. 2010. Disponível em: <<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2010/summary/>>. Acesso em: 16 fev. 2022.

TIBERI, S.; PLESSIS, N. D.; WALZL, G.; VJECHA, M. J.; RAO, M.; NTOUMI, F.; MFINANGA, S.; KAPATA, N.; MWABA, P.; MCHUGH, T. D.; IPPOLITO, G.; MIGLIORI, G. B.; MAEURER, M. J.; ZUMLA, A. Tuberculosis: Progress and

advances in development of new drugs, treatment regimens, and host-directed therapies. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 7, p. e183–e198.

TONDI, D.; CALÒ, S.; SHOICHET, B. K.; COSTI, M. P. Structural study of phenyl boronic acid derivatives as AmpC β -lactamase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 11, p. 3416–3419, 2018.

TRAM, K.; YAN, H.; JENKINS, H. A.; VASSILIEV, S.; BRUCE, D. The synthesis and Crystal structure of unsubstituted 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY). **Dyes and Pigments**, v. 82, n. 3, p. 392–395, 2009.

TRIPPIER, P. C.; MCGHIGAN, C. Boronic acids in medicinal chemistry: Anticancer, antibacterial and antiviral applications. **MedChemComm**, v. 1, n. 3, p. 183–198, 2010.

[TUBERCULOSIS]. **World Health Organization**. oct. 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>> Acesso em: 15 fev. 2022.

[TUBERCULOSIS SYMPTOMS & CAUSES]. **Mayo Clinic**. 03 apr. 2021. Disponível em: <<https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/tuberculosis/symptoms-causes/syc-20351250>> Acesso em: 18 fev. 2022.

VALEUR, E.; BRADLEY, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. **Chemical Society Reviews**, v. 2, n. 38, p. 606–631, 2009.

VONTOBEL, P. H. V. **Síntese de hidróxi-metil-benzoxaboróis**. 2019. 110 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

WAGNER, F. F.; LUNDH, M.; KAYA, T.; MCCARREN, P.; ZHANG, Y. L.; CHATTOPADHYAY, S.; GALE, J. P.; GALBO, T.; FISHER, S. L.; MEIER, B. C.; VETERE, A.; RICHARDSON, S.; MORGAN, N. G.; CHRISTENSEN, D. P.; GILBERT, T. J.; HOOKER, J. M.; LEROY, M.; WALPITA, D.; MANDRUP-POULSEN, T.; WAGNER, B. K.; HOLSON, E. B. An isochemogenic set of inhibitors to define the therapeutic potential of histone deacetylases in β -cell protection. **ACS Chemical Biology**, v. 11, n. 2, p. 363–374, 2016.

WANG, D.; FAN, J.; GAO, X.; WANG, B.; SUN, S.; PENG, X. Carboxyl BODIPY dyes from bicarboxylic anhydrides: One-pot preparation, spectral properties, and biolabeling. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 20, p. 7675–7683, 2009.

WANG, Z. Béchamp Reduction. In: _____. (Ed). **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents**. 2. ed. John Wiley & Sons, 2010. p. 284–287.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2019 (WHO/CDS/TB/2019.15)**. . [S.l: s.n.], 2019

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Tuberculosis Report 2020**. [s.l: s.n.], 2020

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Tuberculosis Report 2021**. [s.l: s.n.], 2021

WORREL, B. T.; MALIK, J. A.; FOKIN, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. **Science**, v. 6131, n. 340, p. 457–460, 2013.

WU, Y.; PENG, X.; GUO, B.; FAN, J.; ZHANG, Z.; WANG, J.; CUI, A.; GAO, Y. Boron dipyrromethene fluorophore based fluorescence sensor for the selective imaging of Zn(II) in living cells. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 3, n. 8, p. 1387–1392, 2005.

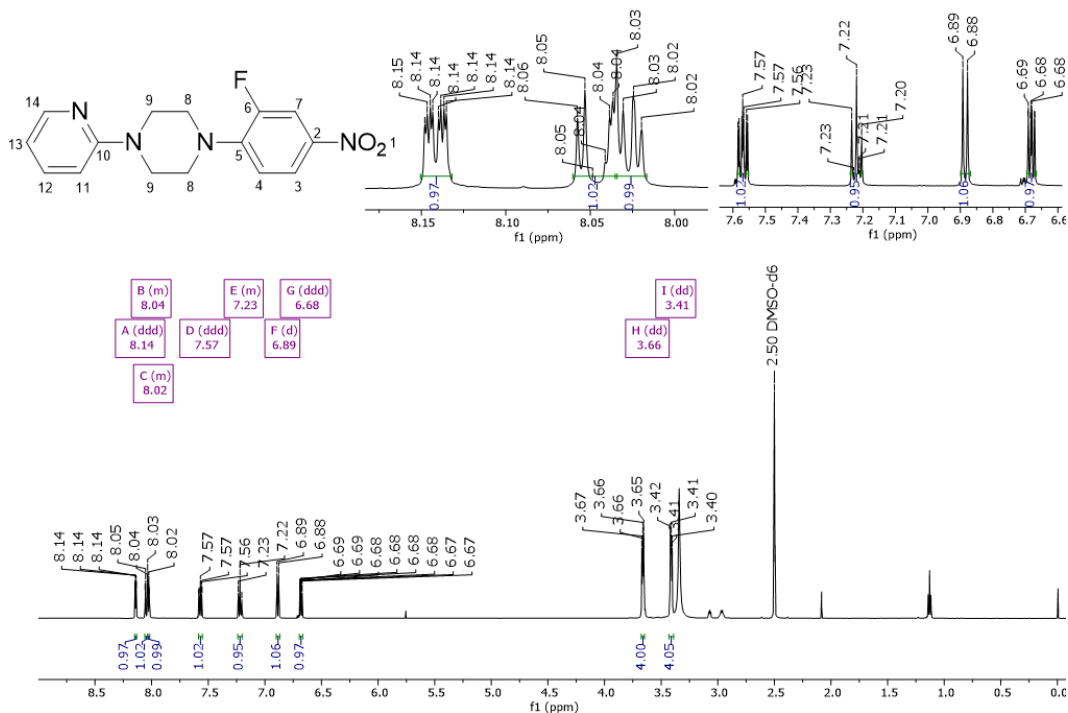
WUTTKE, A.; GEYER, A. Self-assembly of peptide boroxoles on *cis*-dihydroxylated oligoamide templates in water. **Journal of Peptide Science**, v. 23, p. 549–555, 2017.

ZHOU, J.; STAPLETON, P.; HAIDER, S.; HEALY, J. Boronic acids inhibitors of the class A β -lactamase KPC-2. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 11, p. 2921–2927, 2018.

ZUMLA, A.; NAHID, P.; COLE, S. T. Advances in the development of new tuberculosis drugs and treatment regimens. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 12, n. 5, p. 388–404, 2013.

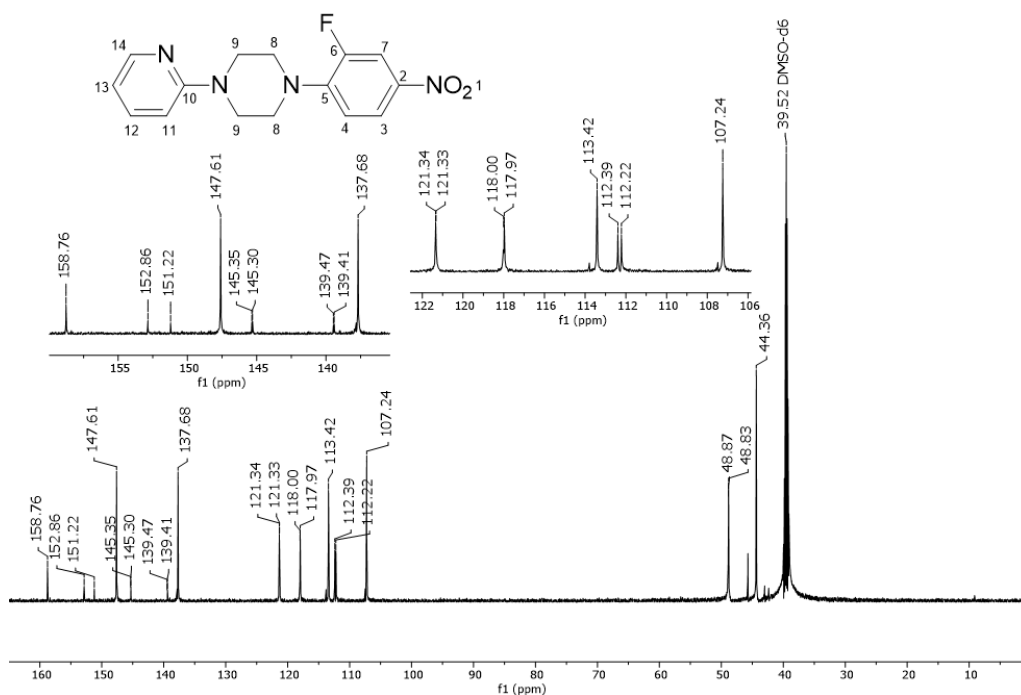
8. ANEXOS

Anexo 1: Espectro de RMN ^1H do composto **14** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



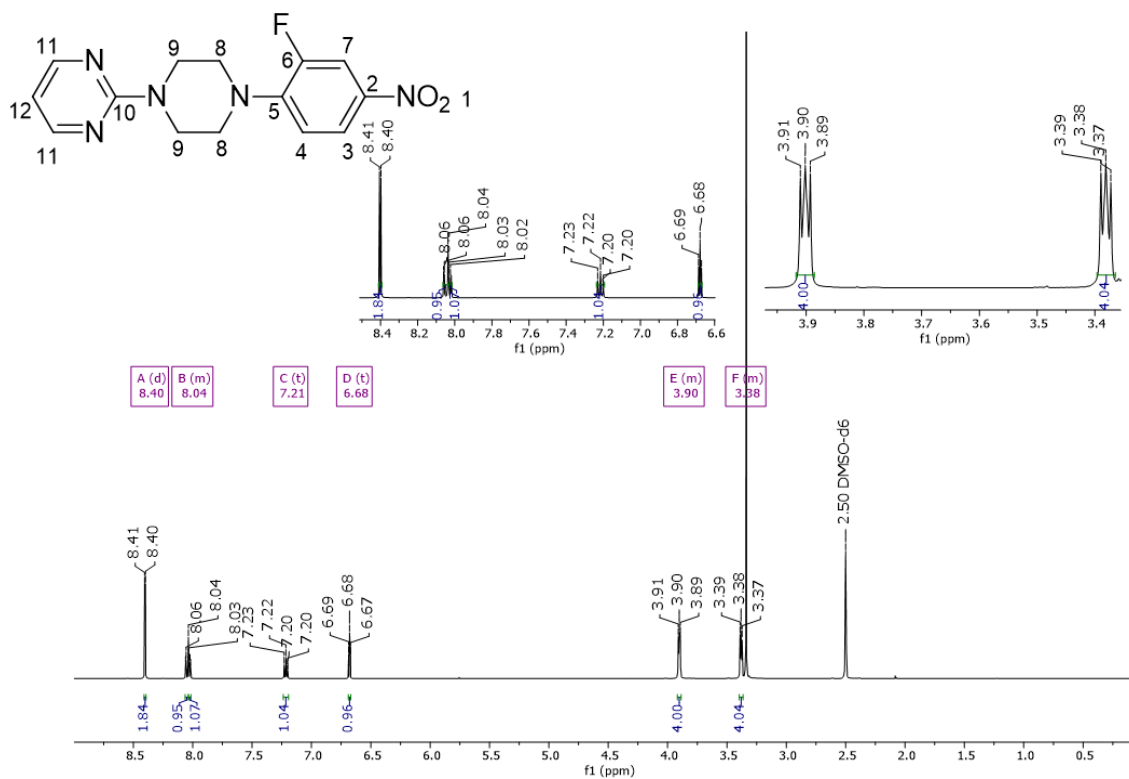
Fonte: Autoria própria.

Anexo 2: Espectro de RMN ^{13}C do composto **14** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



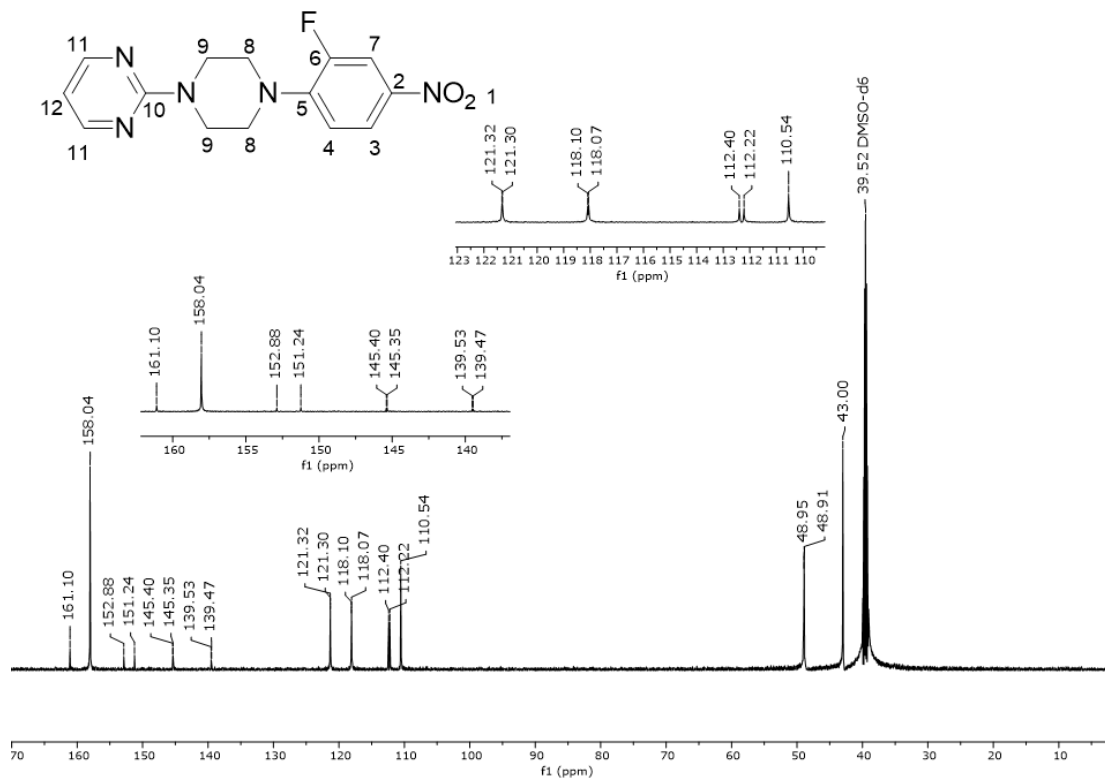
Fonte: Autoria própria.

Anexo 3: Espectro de RMN ^1H do composto **15 (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).**



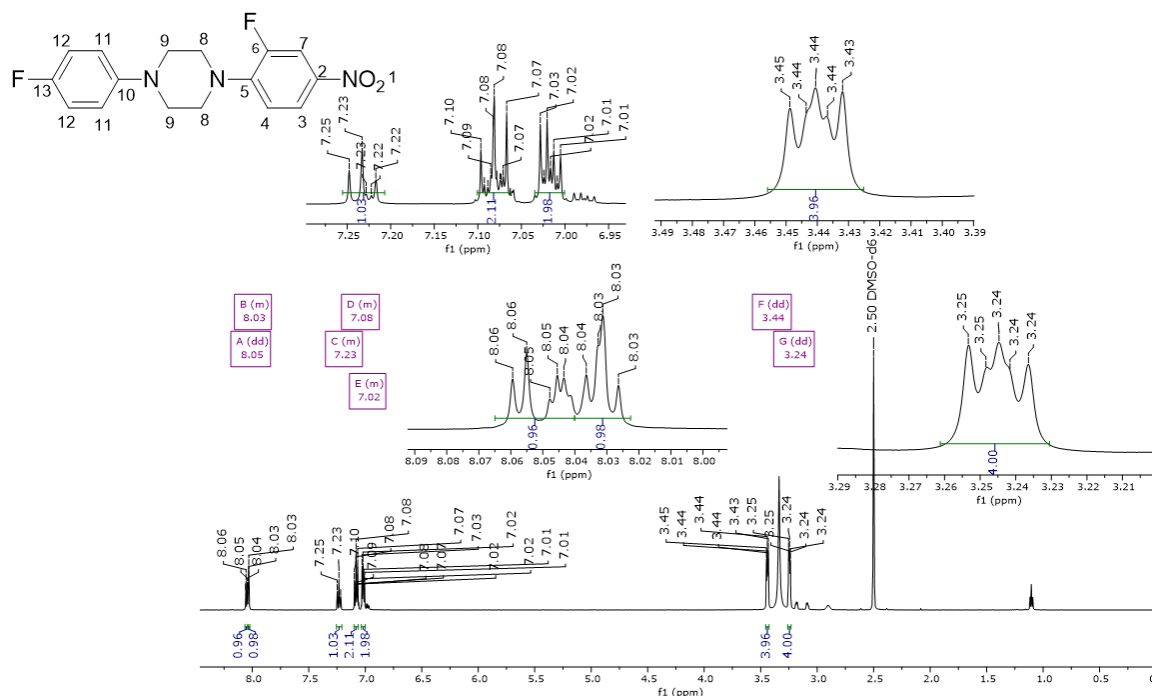
Fonte: Autoria própria.

Anexo 4: Espectro de RMN ^{13}C do composto **15 (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).**



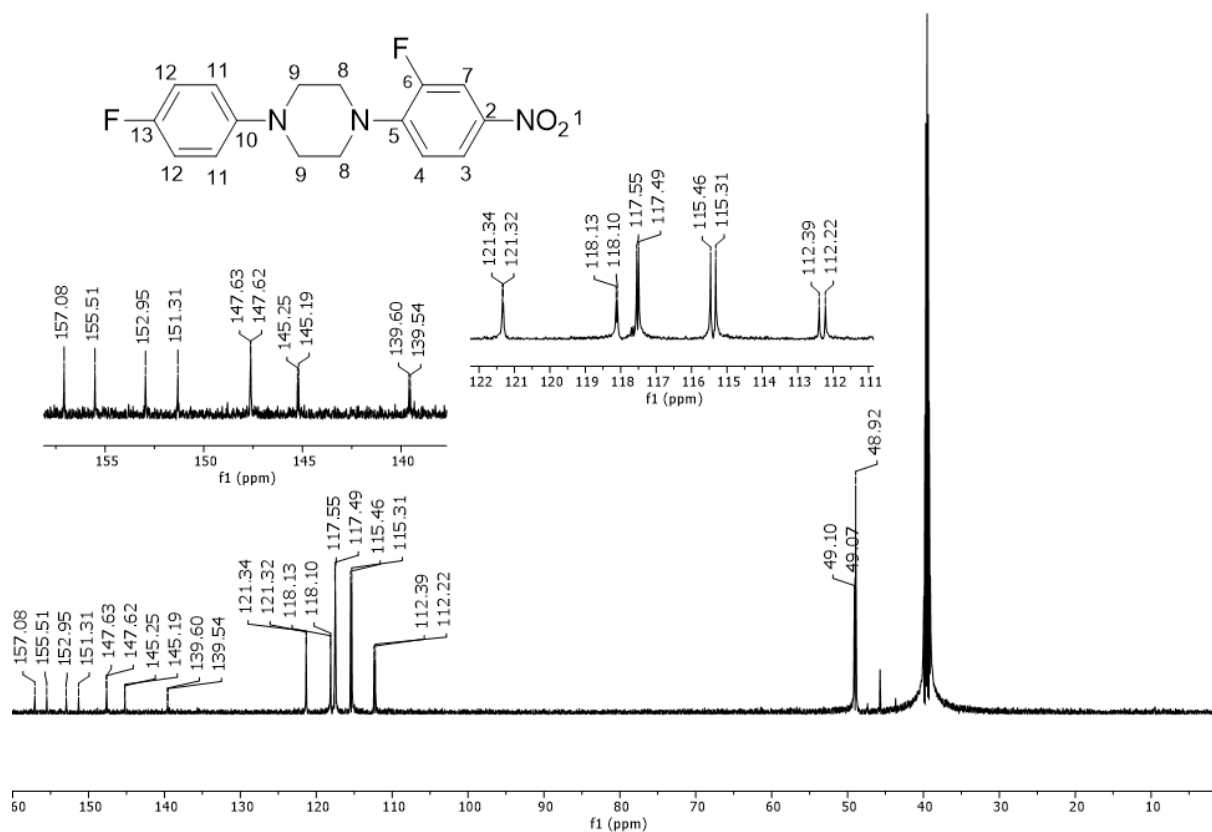
Fonte: Autoria própria.

Anexo 5: Espectro de RMN ^1H do composto **16 (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).**



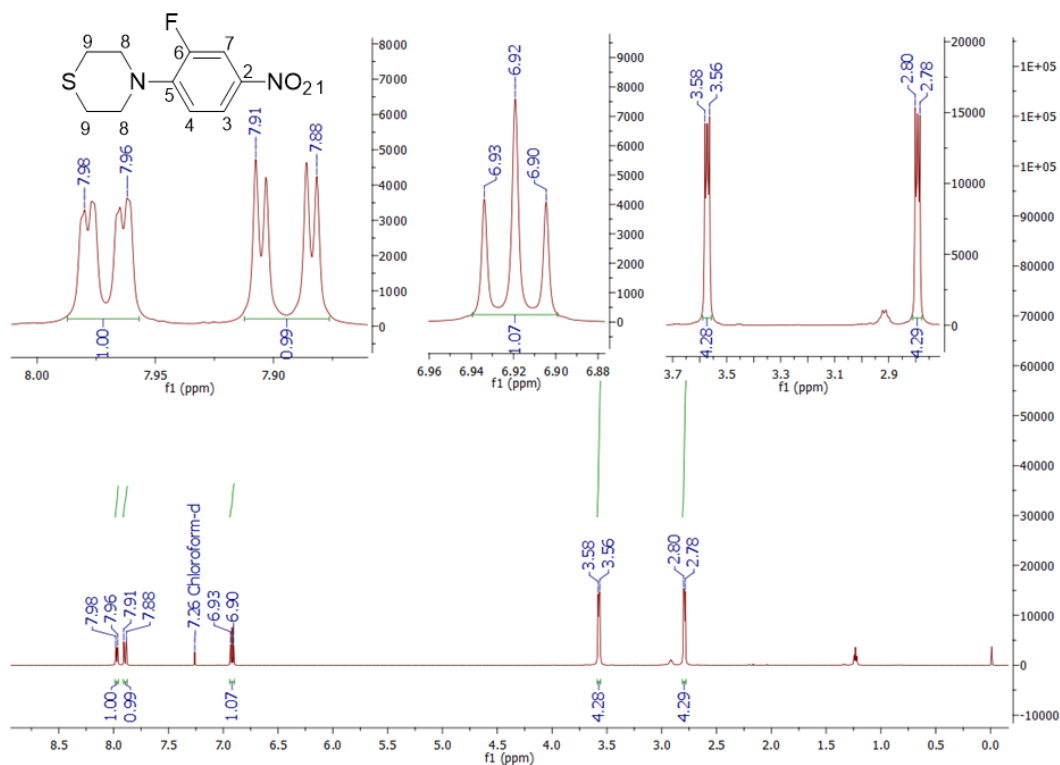
Fonte: Autoria própria.

Anexo 6: Espectro de RMN ^{13}C do composto **16 (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).**



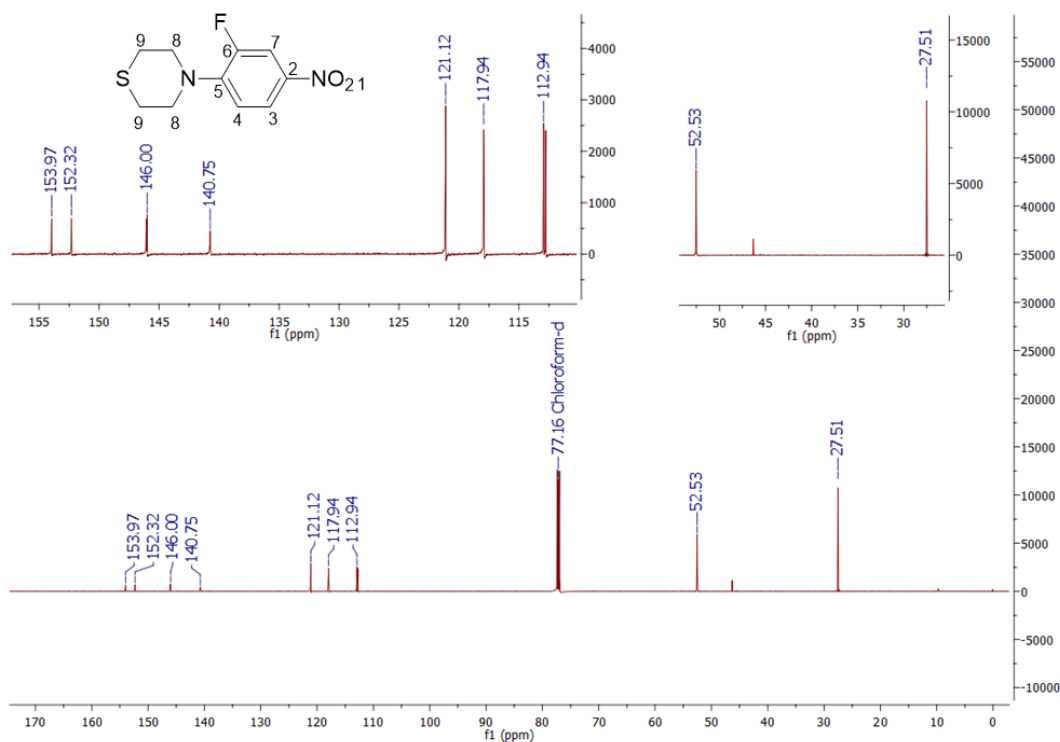
Fonte: Autoria própria.

Anexo 7: Espectro de RMN ^1H do composto **17 (300 MHz, Clorofórmio- d).**



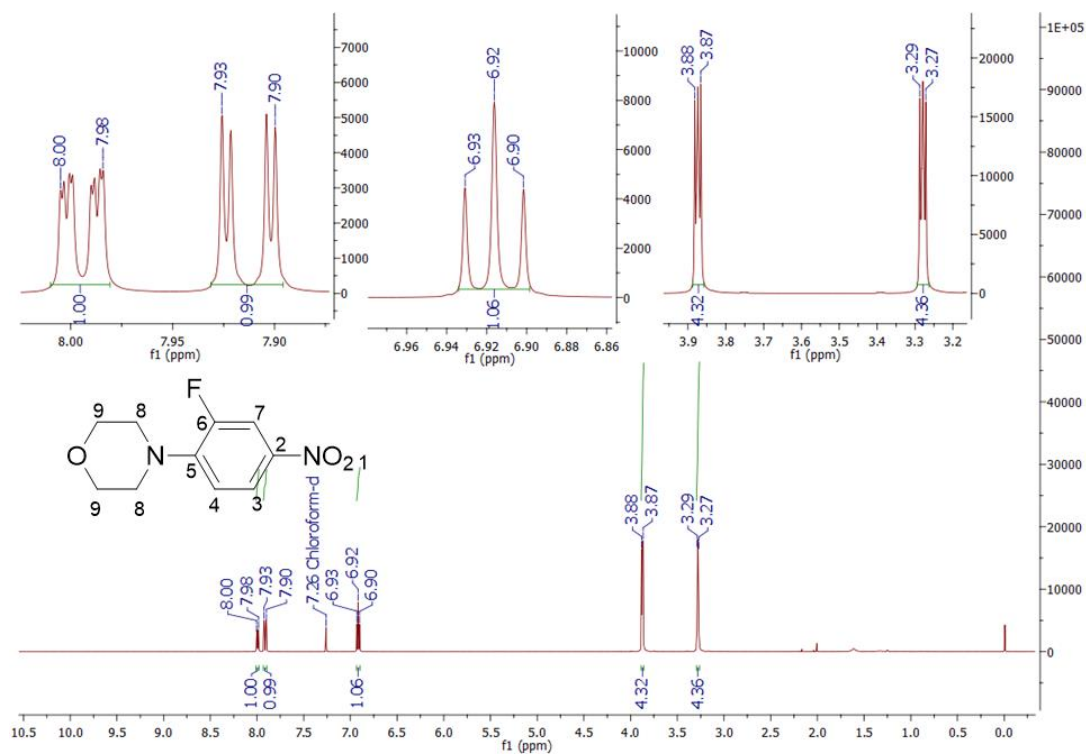
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 8: Espectro de RMN ^{13}C do composto **17 (75 MHz, Clorofórmio- d).**



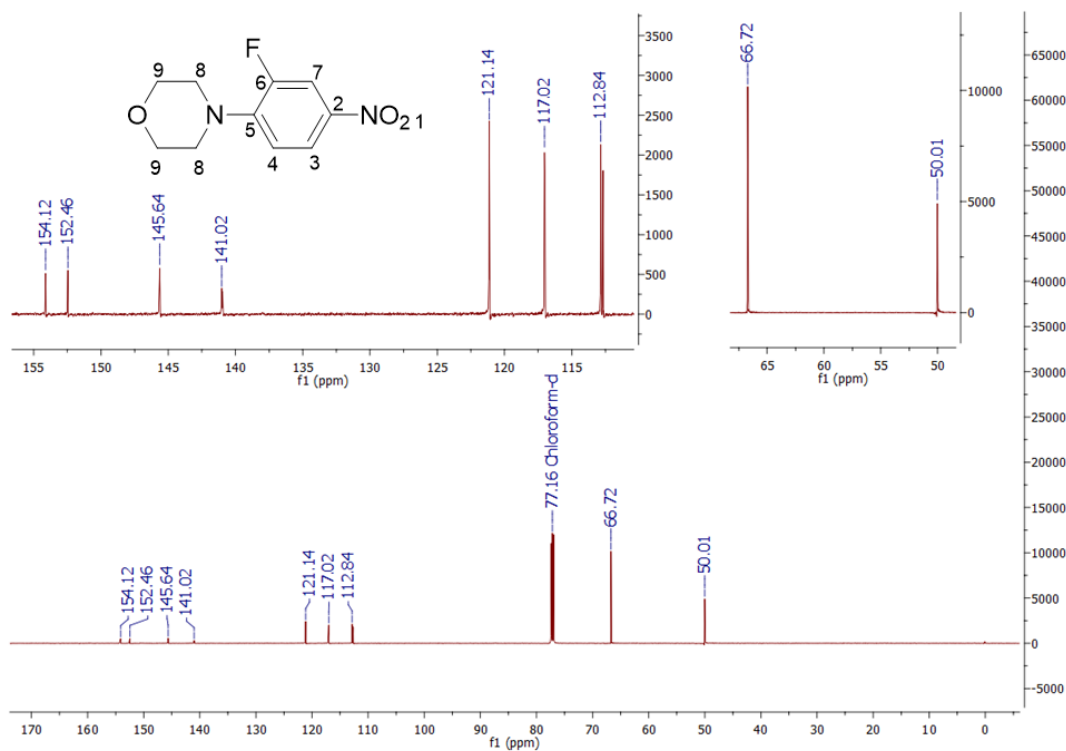
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 9: Espectro de RMN ^1H do composto **18 (300 MHz, Clorofórmio- d).**



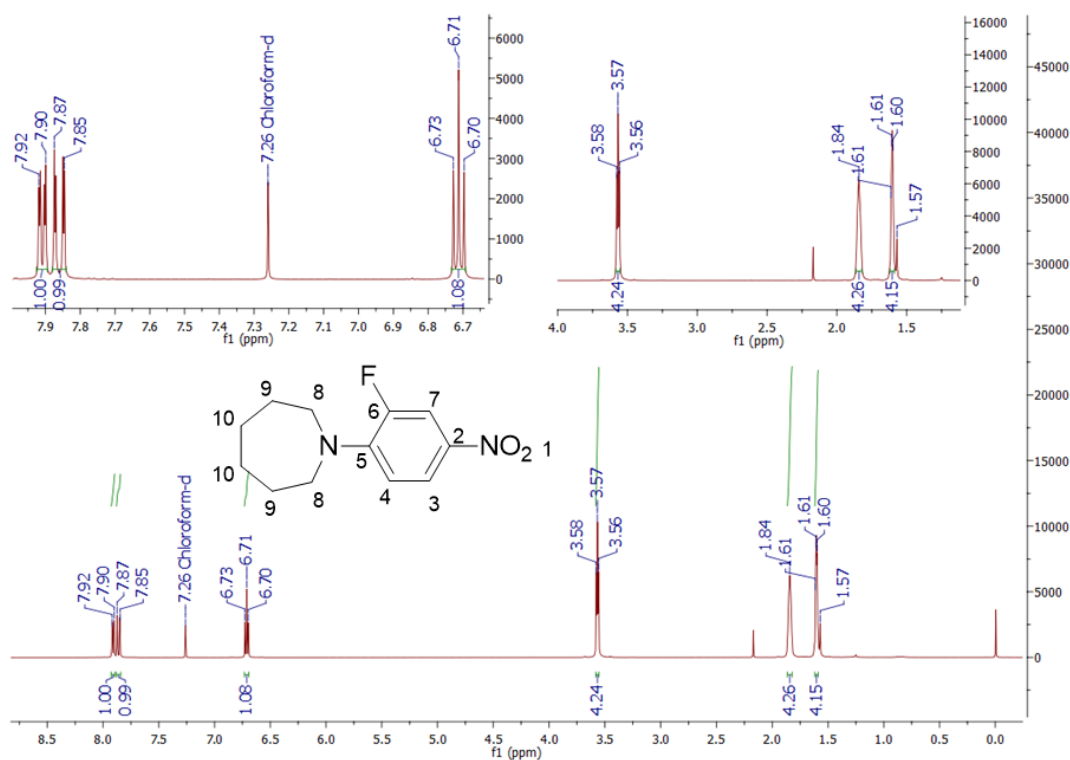
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 10: Espectro de RMN ^{13}C do composto **18 (75 MHz, Clorofórmio- d).**



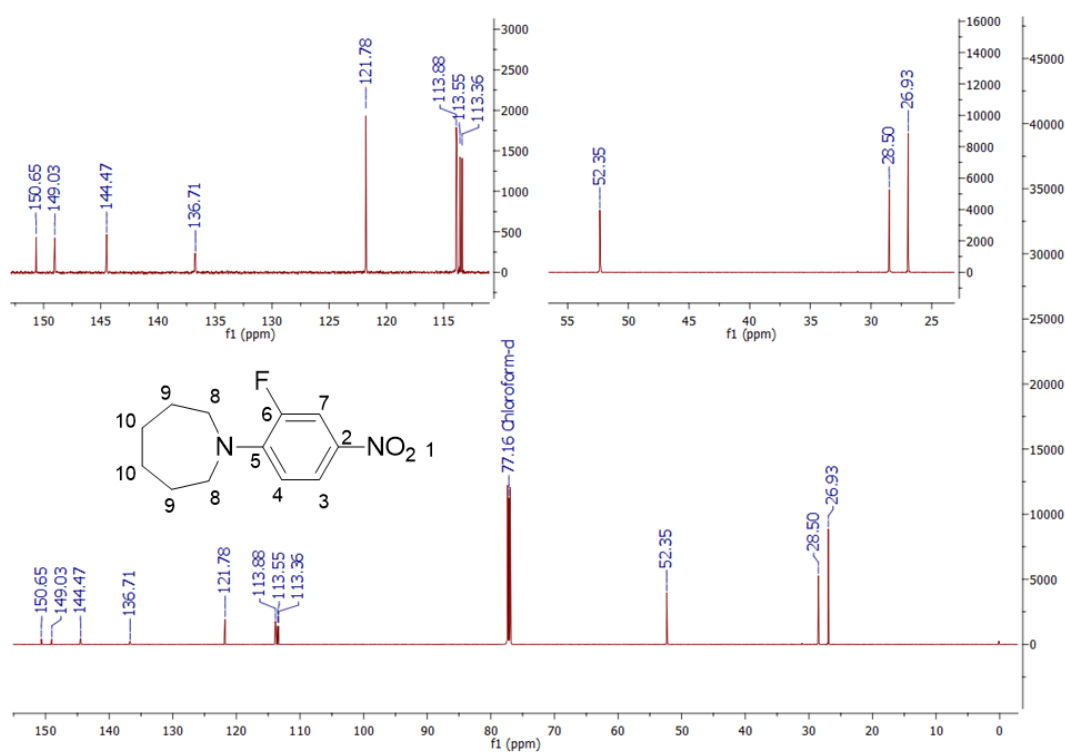
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 11: Espectro de RMN ^1H do composto **19** (300 MHz, Clorofórmio- d).



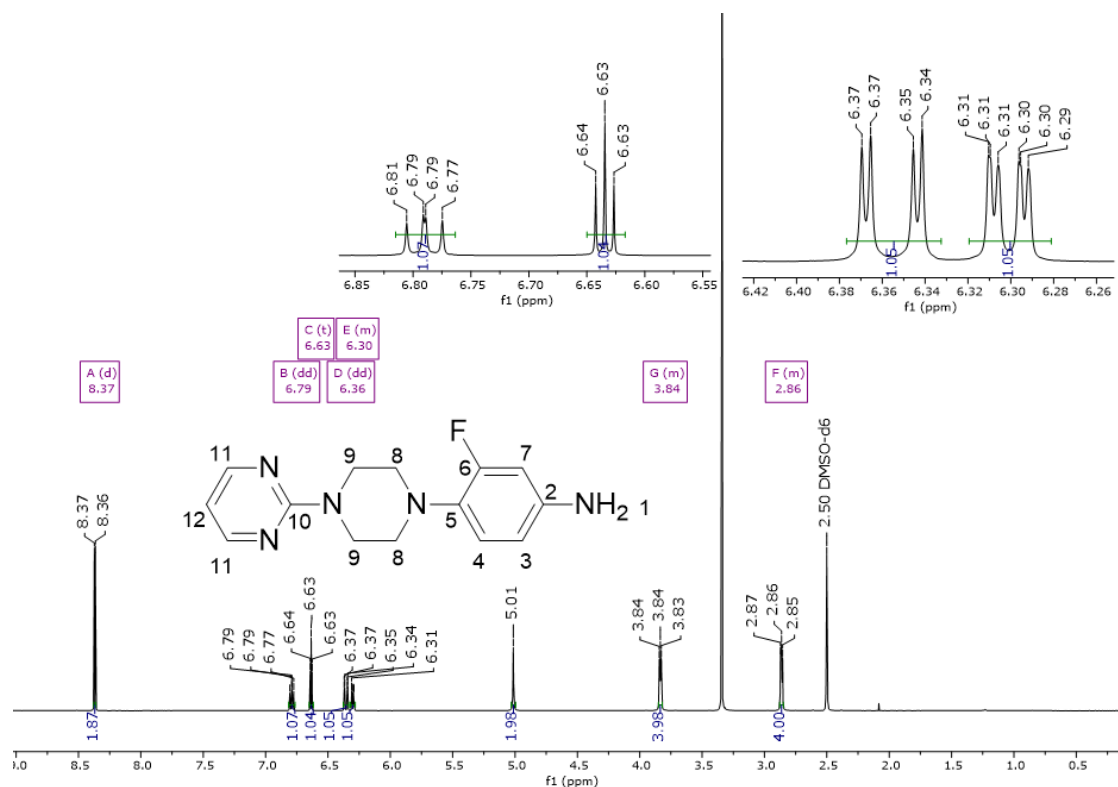
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 12: Espectro de RMN ^{13}C do composto **19** (75 MHz, Clorofórmio- d).

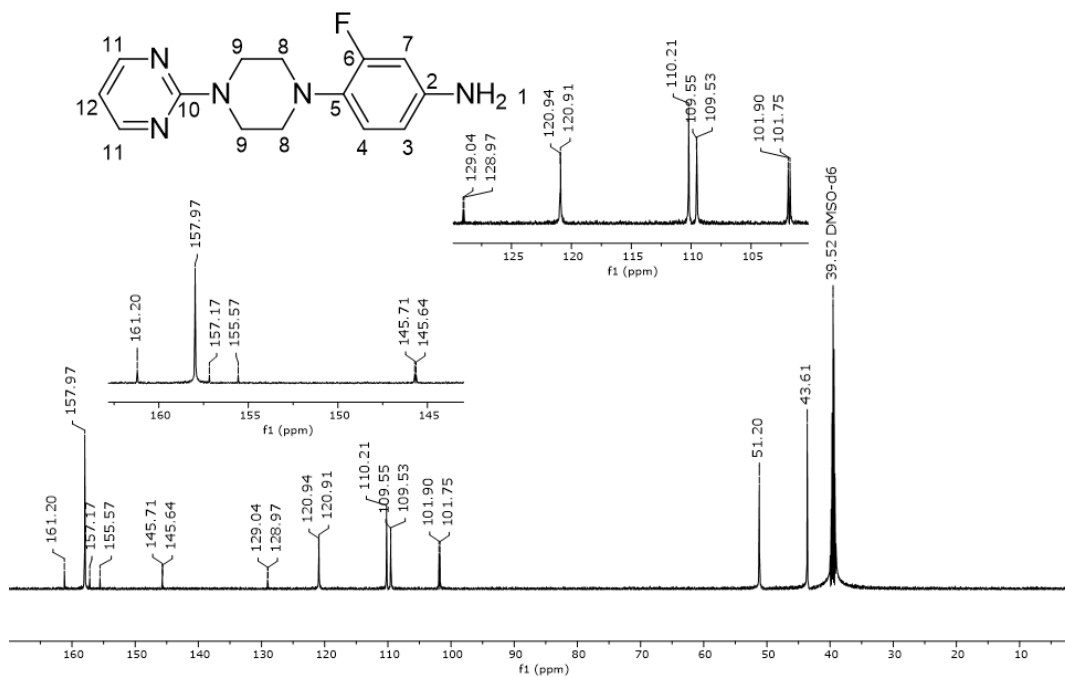


Fonte: FERNANDES, 2021.

Fonte: Autoria própria.

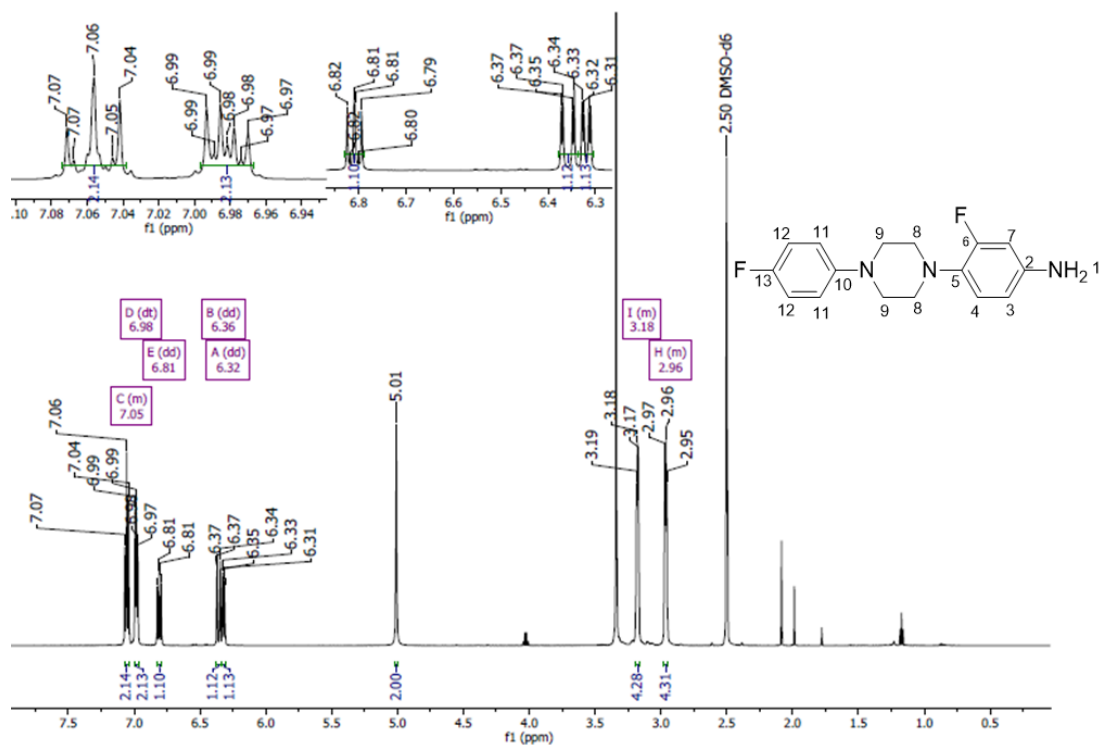
Anexo 15: Espectro de RMN ^1H do composto **21** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

Fonte: Autoria própria.

Anexo 16: Espectro de RMN ^{13}C do composto **21** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

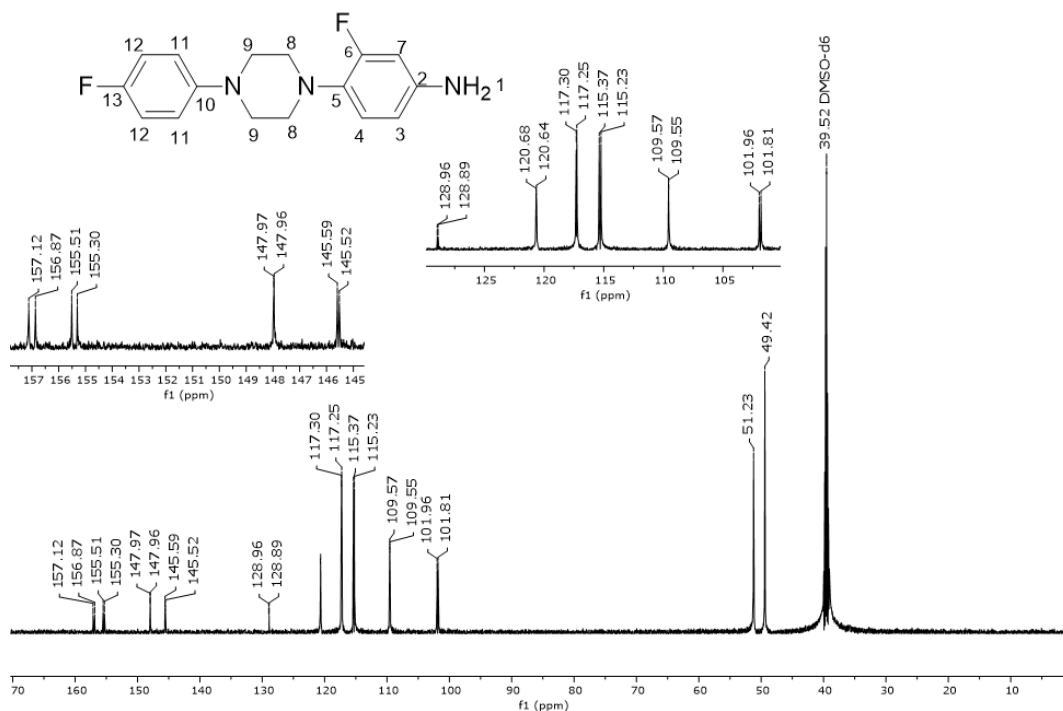
Fonte: Autoria própria.

Anexo 17: Espectro de RMN ^1H do composto **22** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



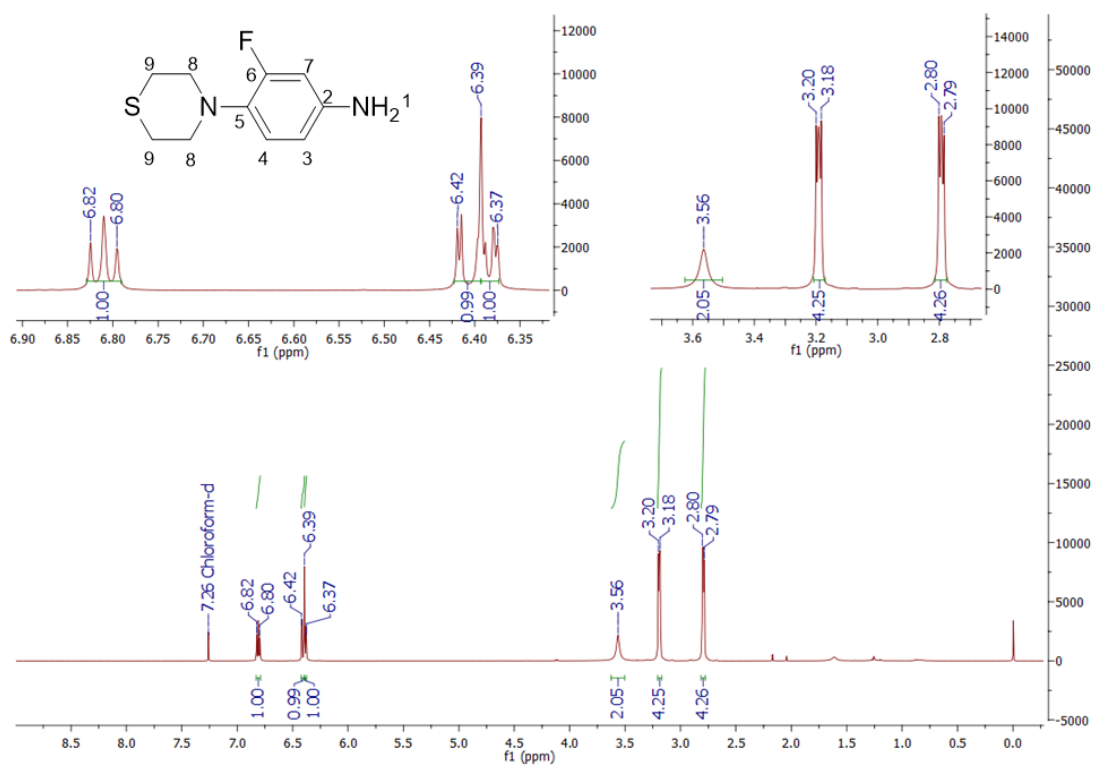
Fonte: Autoria própria.

Anexo 18: Espectro de RMN ^{13}C do composto **22** (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



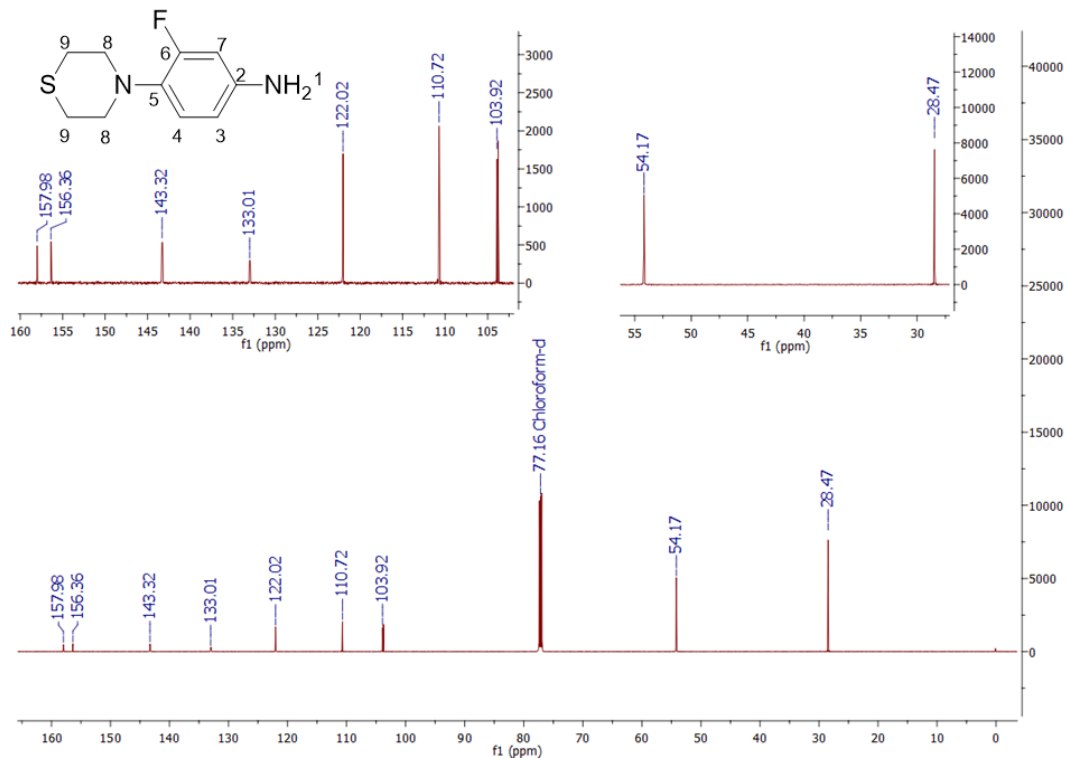
Fonte: Autoria própria.

Anexo 19: Espectro de RMN ^1H do composto **23** (300 MHz, Clorofórmio- d).

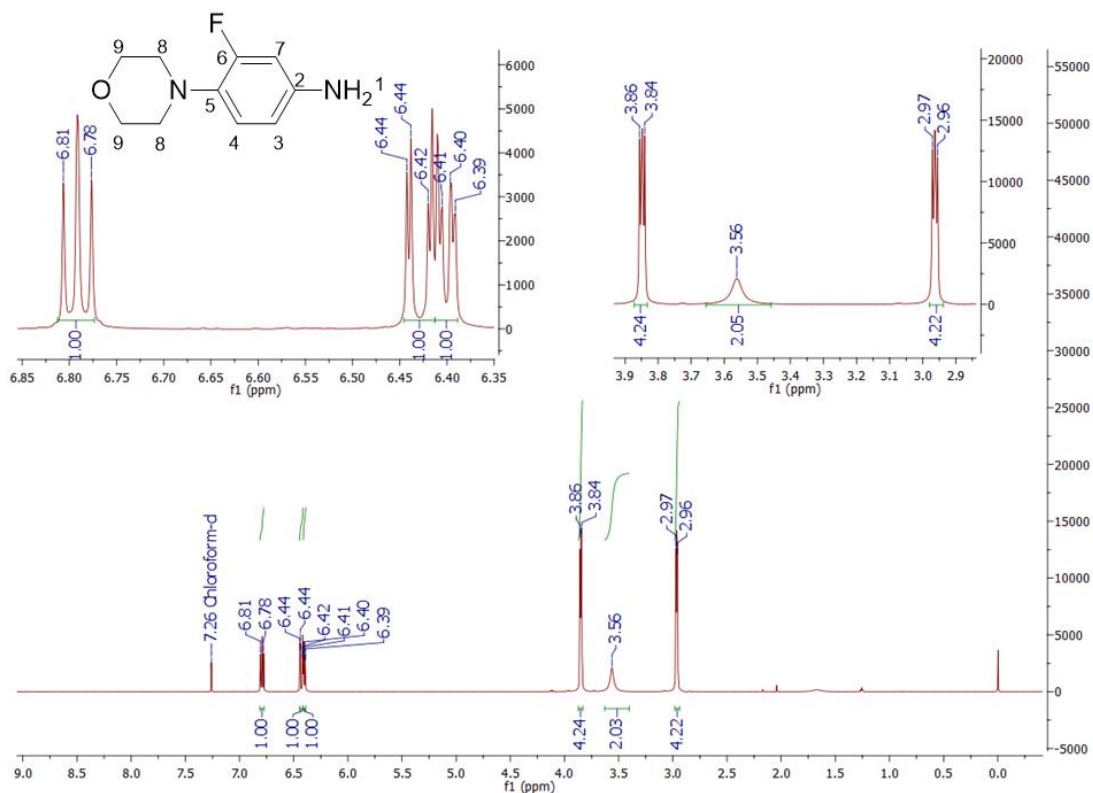


Fonte: FERNANDES, 2021.

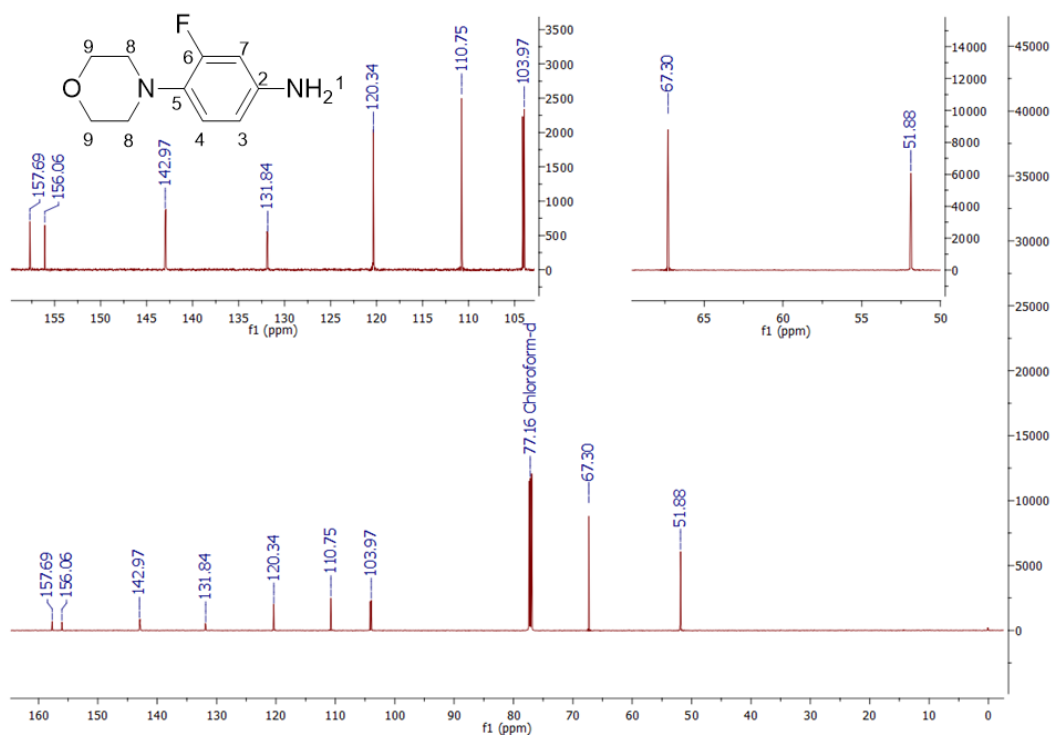
Anexo 20: Espectro de RMN ^{13}C do composto **23** (75 MHz, Clorofórmio- d).



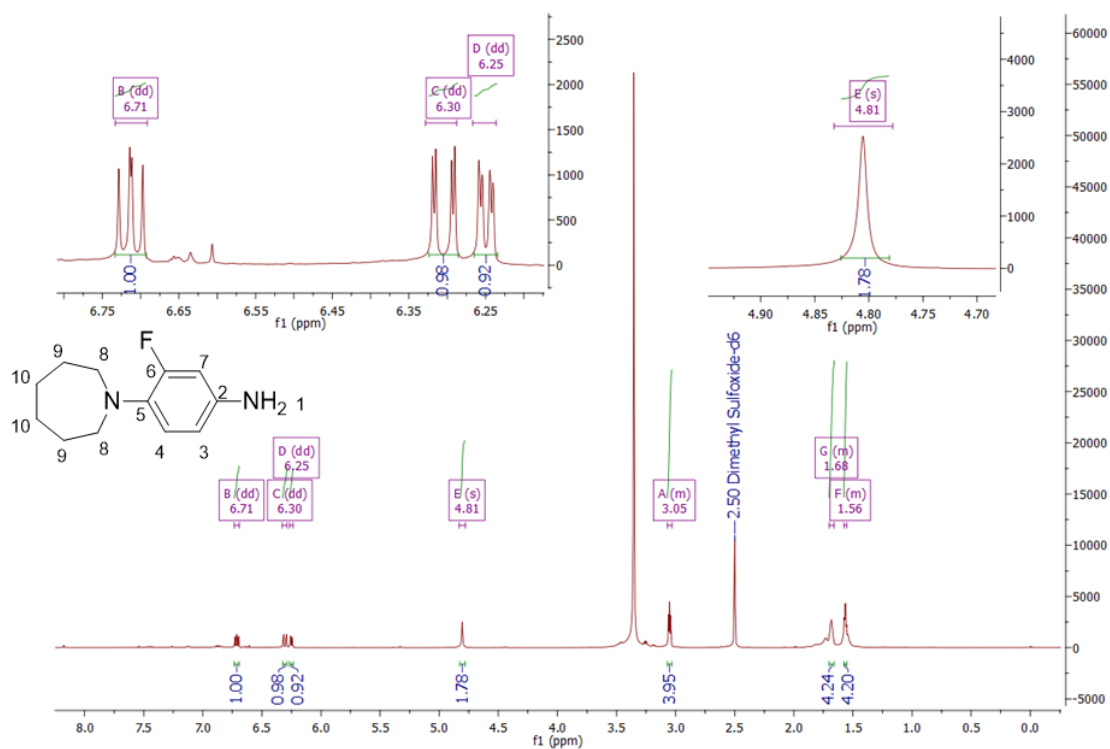
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 21: Espectro de RMN ^1H do composto **24** (300 MHz, Clorofórmio-*d*).

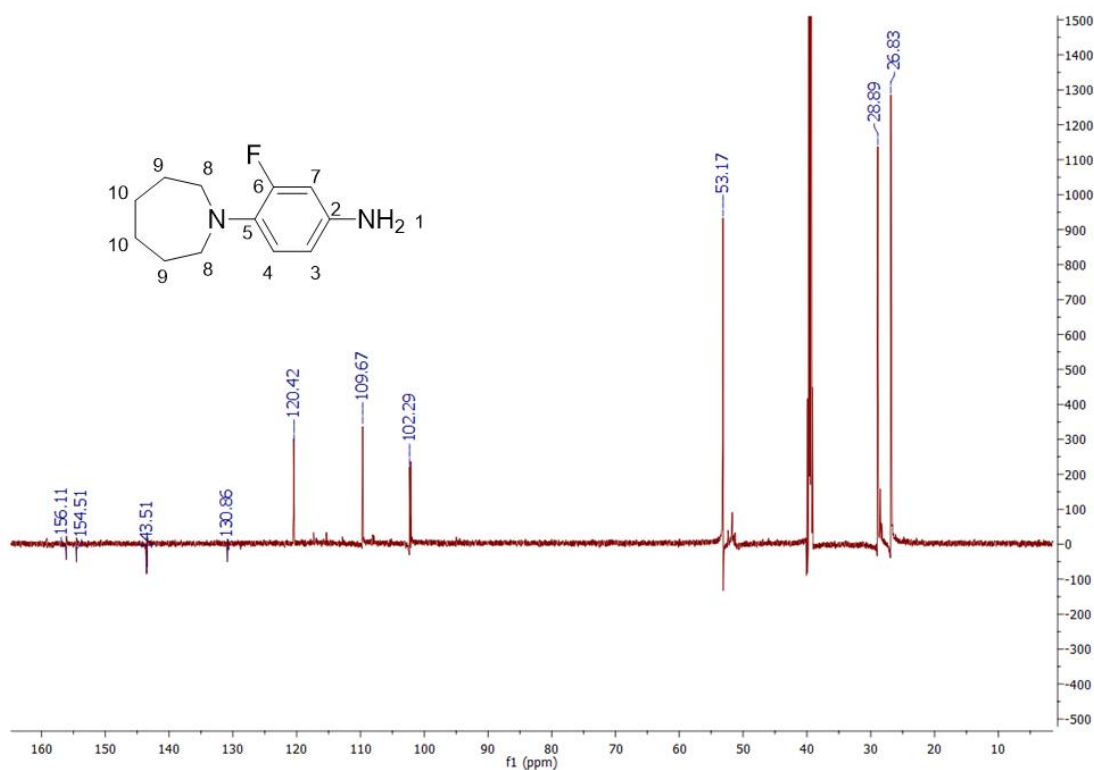
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 22: Espectro de RMN ^{13}C do composto **24** (75 MHz, Clorofórmio-*d*).

Fonte: FERNANDES, 2021.

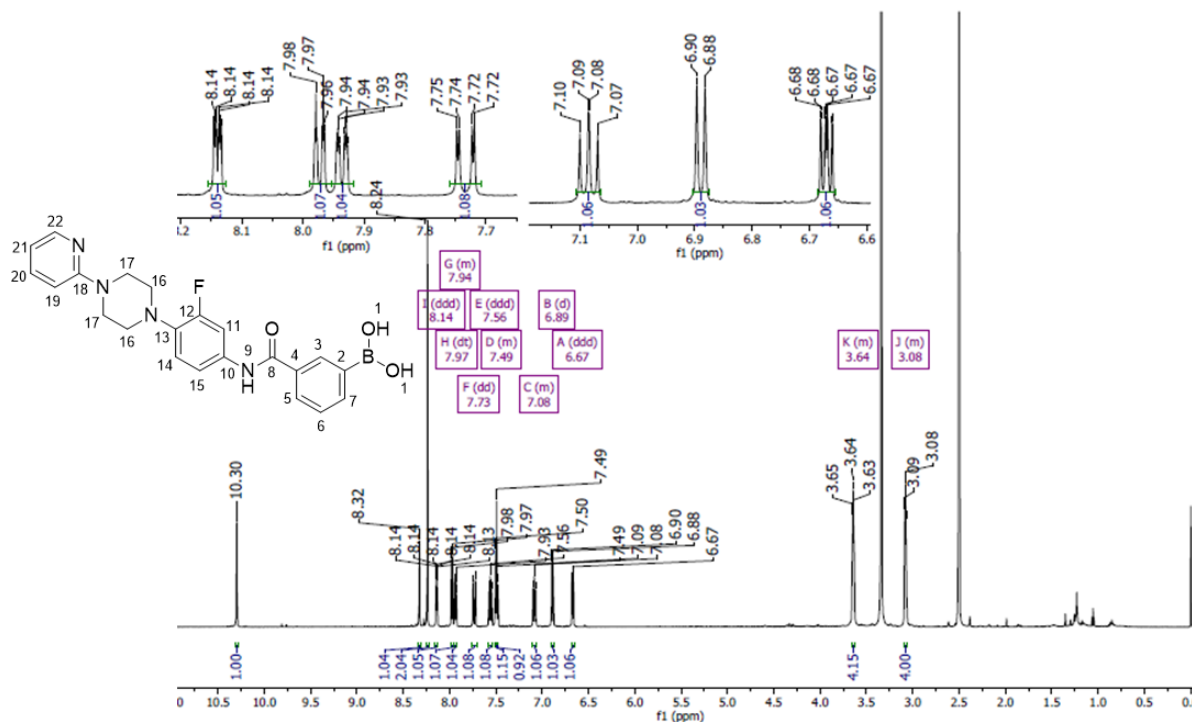
Anexo 23: Espectro de RMN ^1H do composto **25** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 24: Espectro de RMN ^{13}C do composto **25** (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

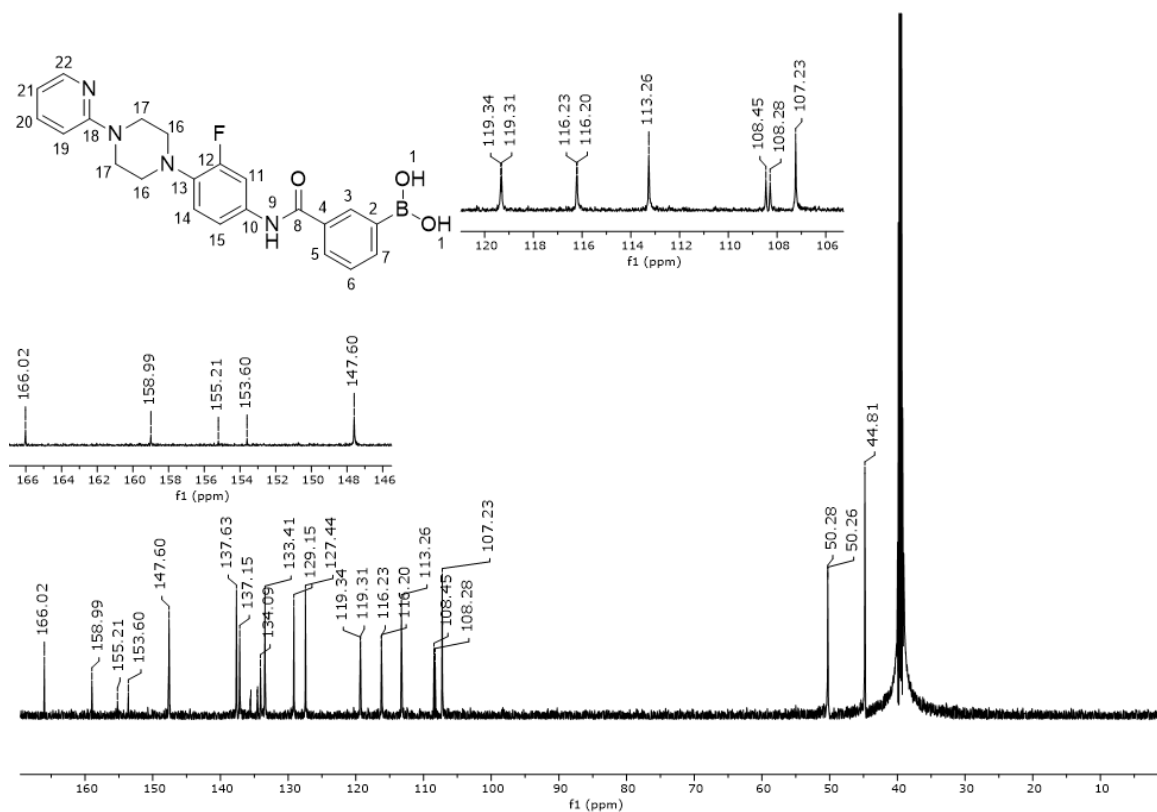
Fonte: FERNANDES, 2021.

Anexo 25: Espectro de RMN ^1H do composto **30** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

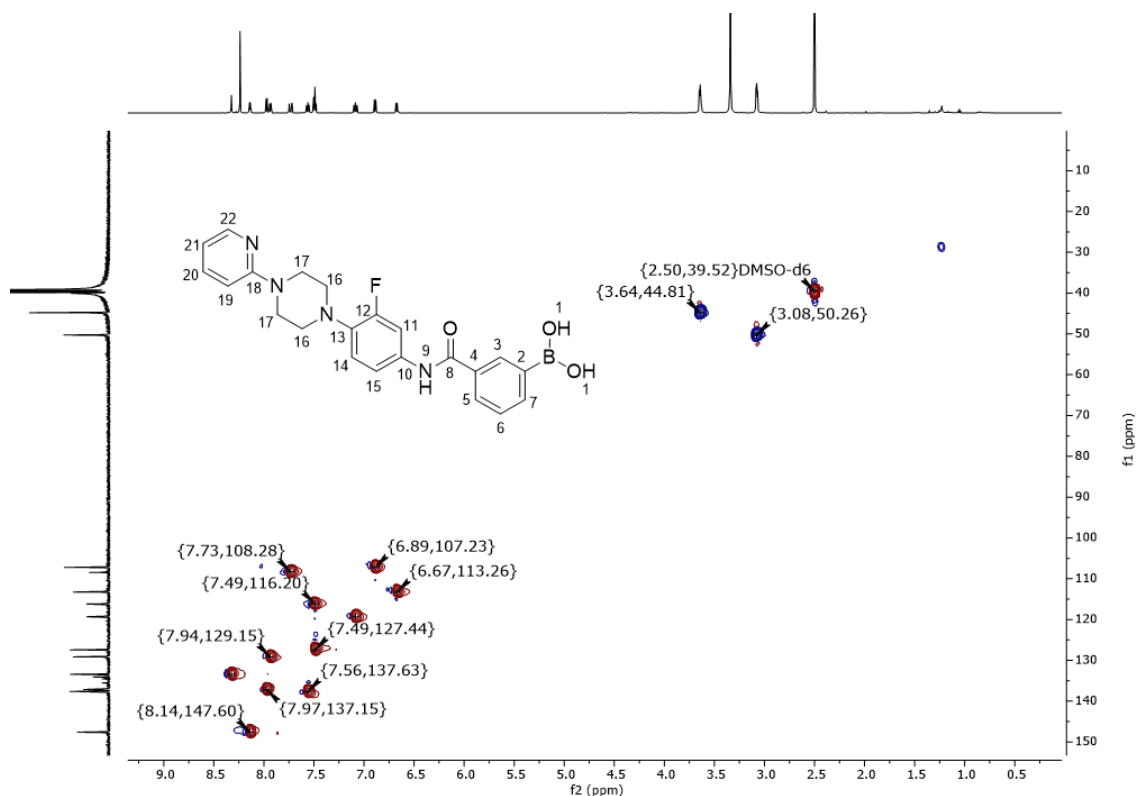


Fonte: Autoria própria.

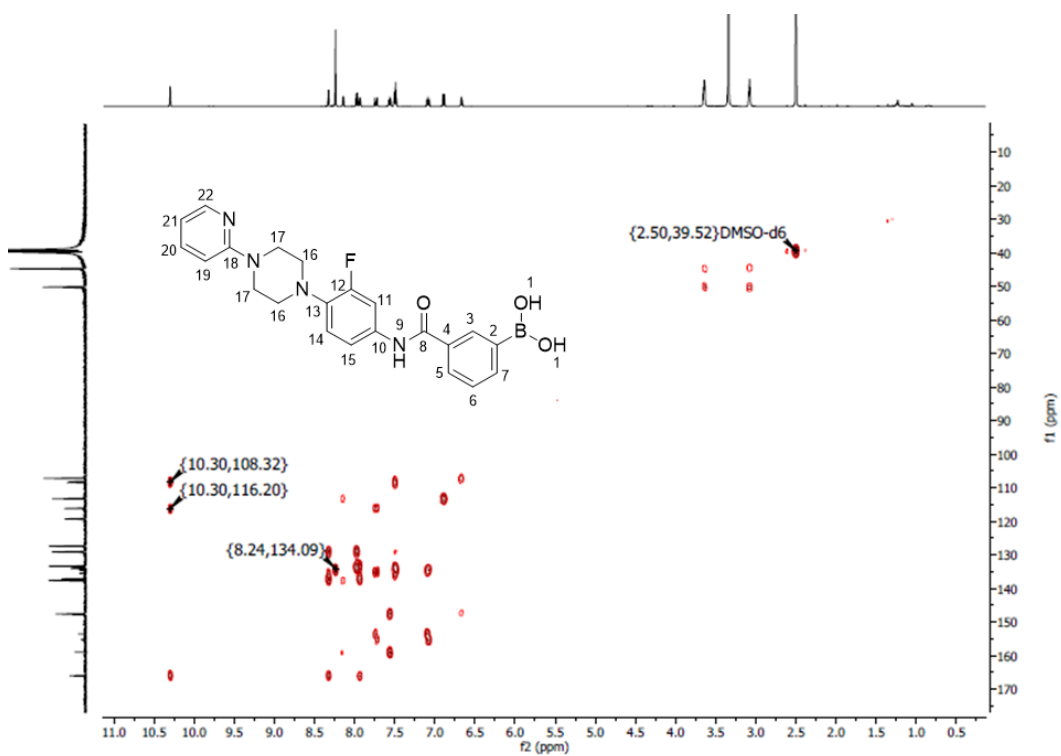
Anexo 26: Espectro de RMN ^{13}C do composto **30** (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



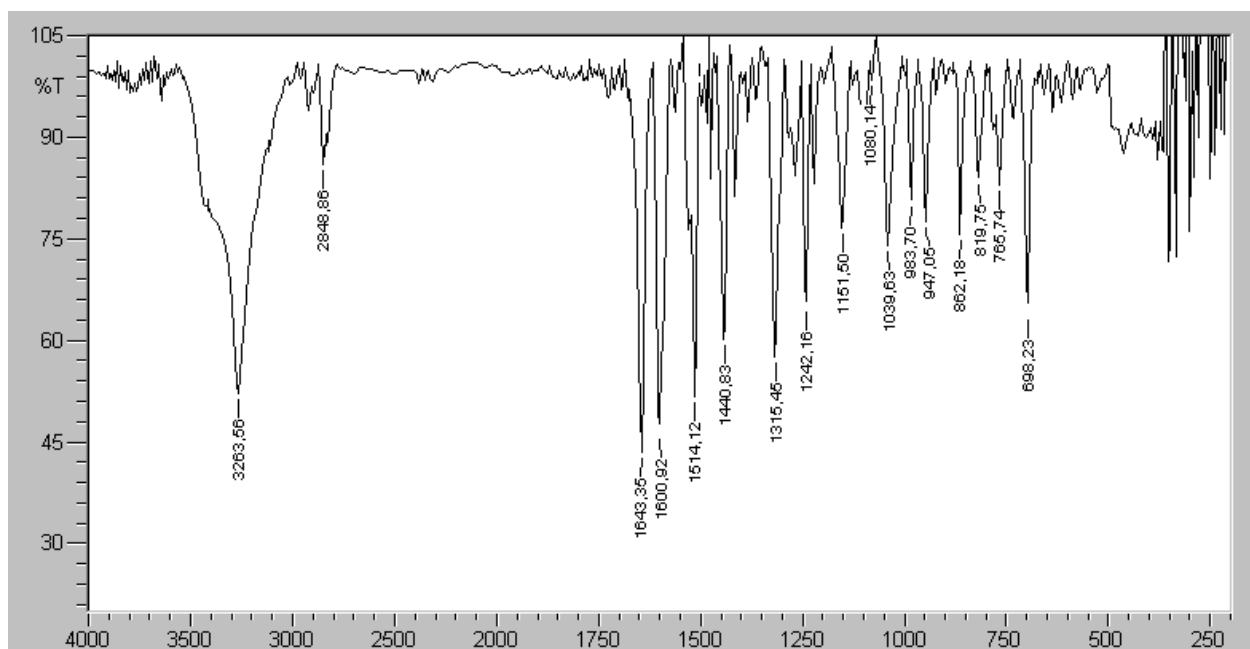
Fonte: Autoria própria.

Anexo 27: Espectro de RMN HSQC do composto **30** (600 MHz, DMSO- d_6).

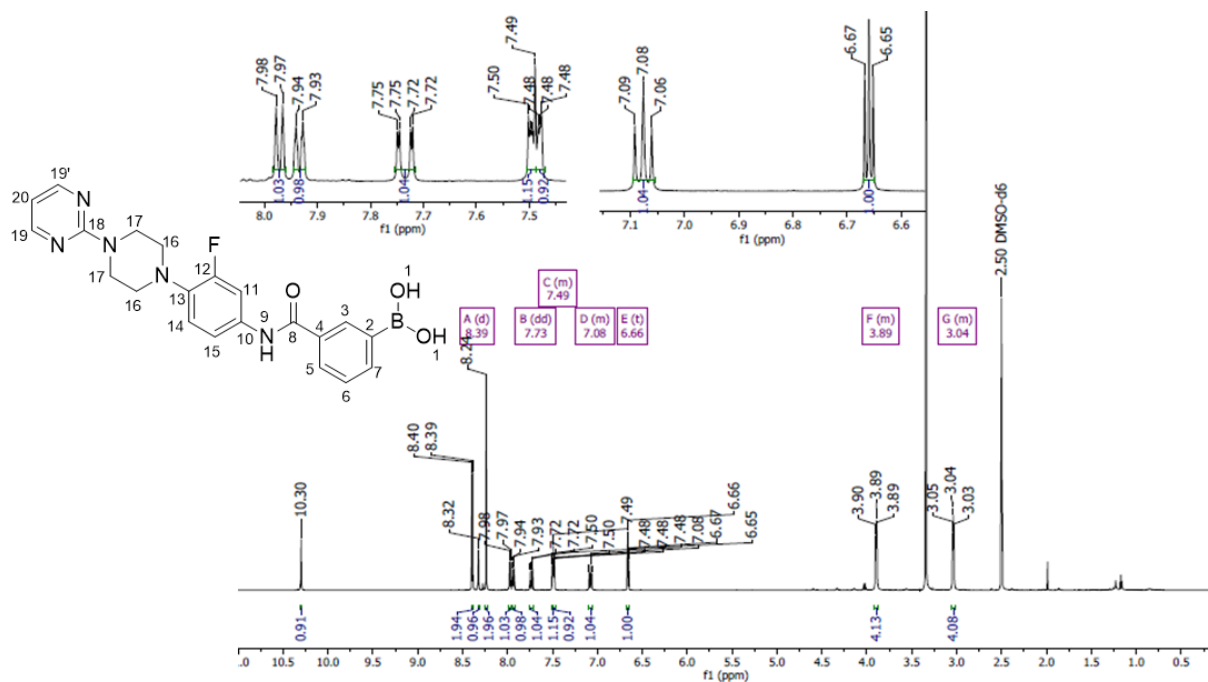
Fonte: Autoria própria.

Anexo 28: Espectro de RMN HMBC do composto **30** (600 MHz, DMSO- d_6).

Fonte: Autoria própria.

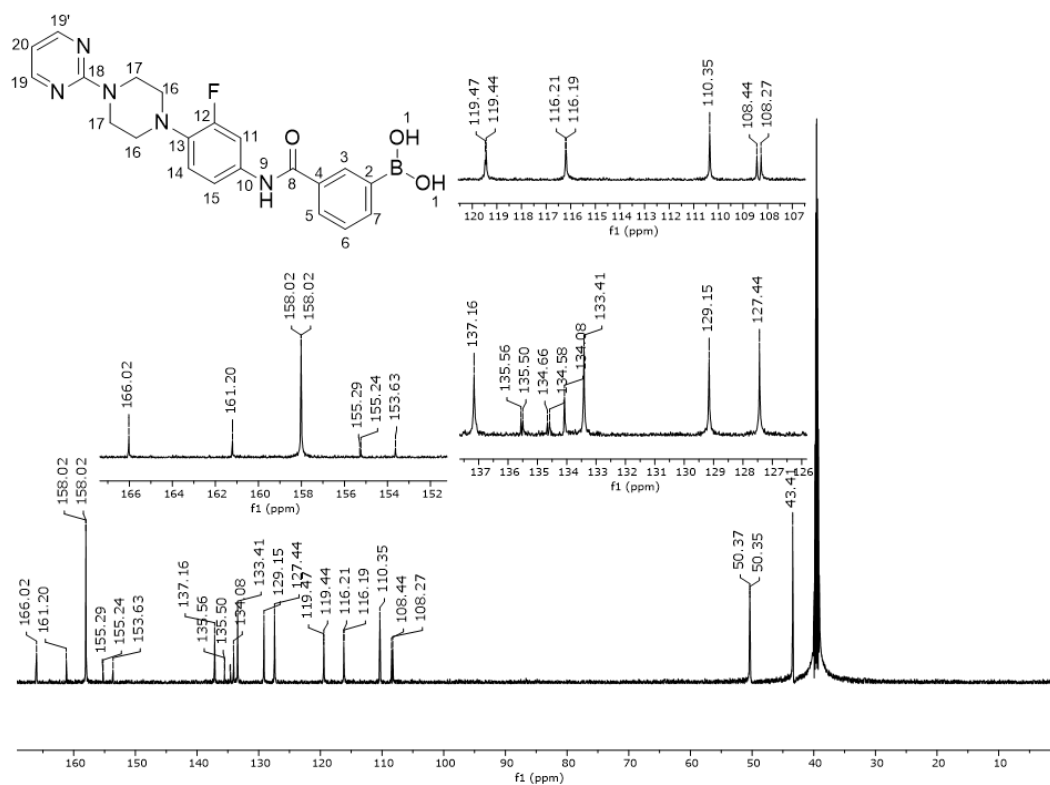
Anexo 29: Espectro na região o IV do composto **30**.

Fonte: Autoria própria.

Anexo 30: Espectro de RMN ^1H do composto **31** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

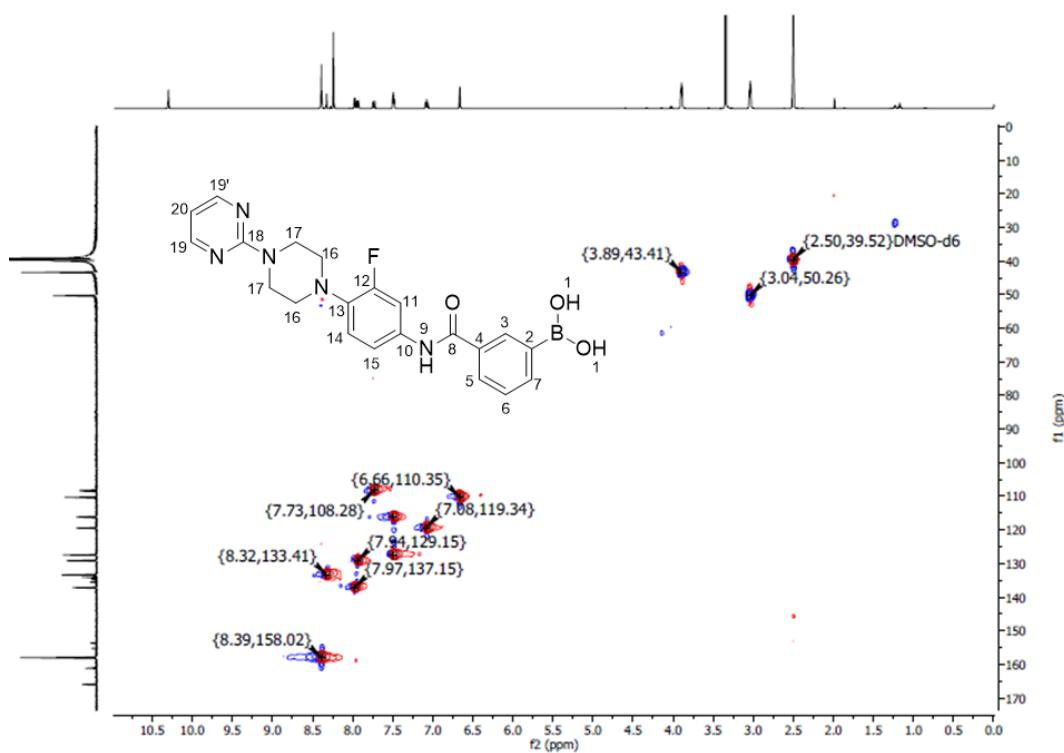
Fonte: Autoria própria.

Anexo 31: Espectro de RMN ^{13}C do composto **31** (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

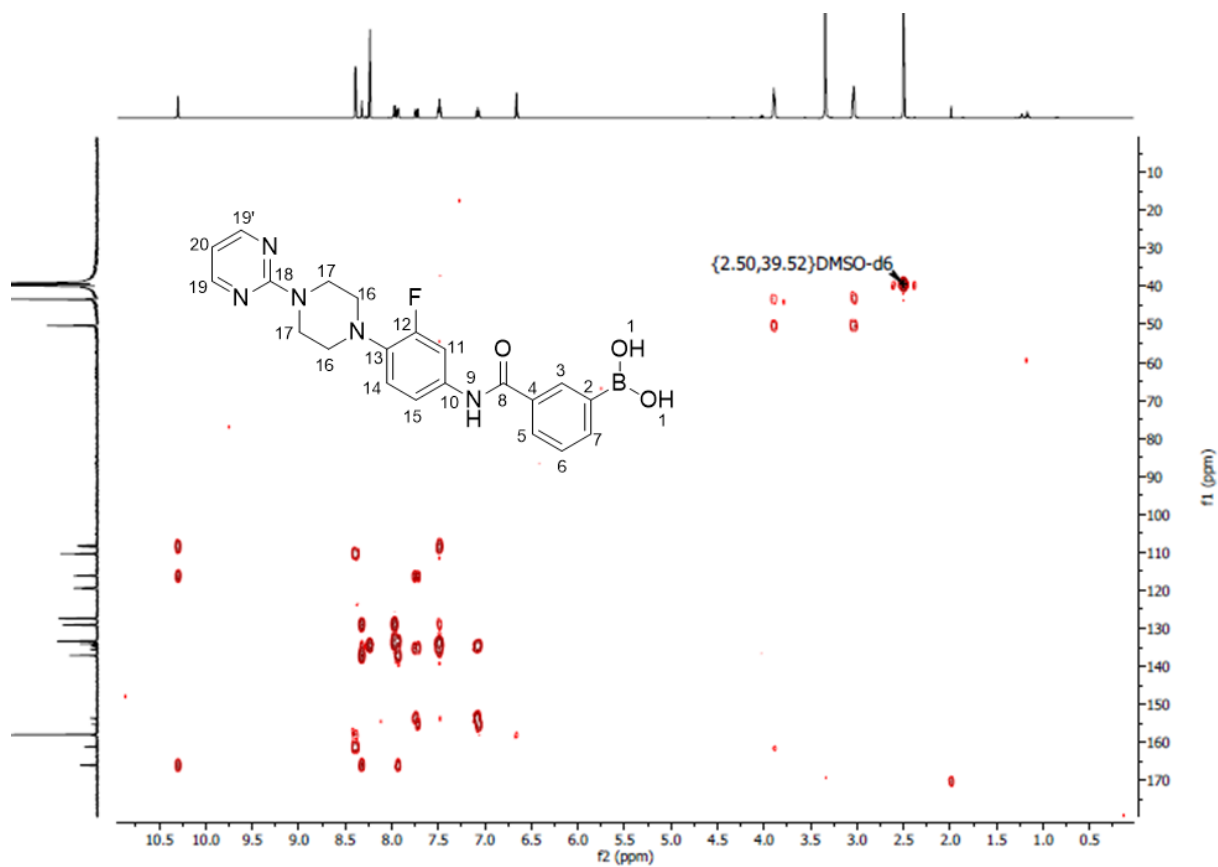


Fonte: Autoria própria.

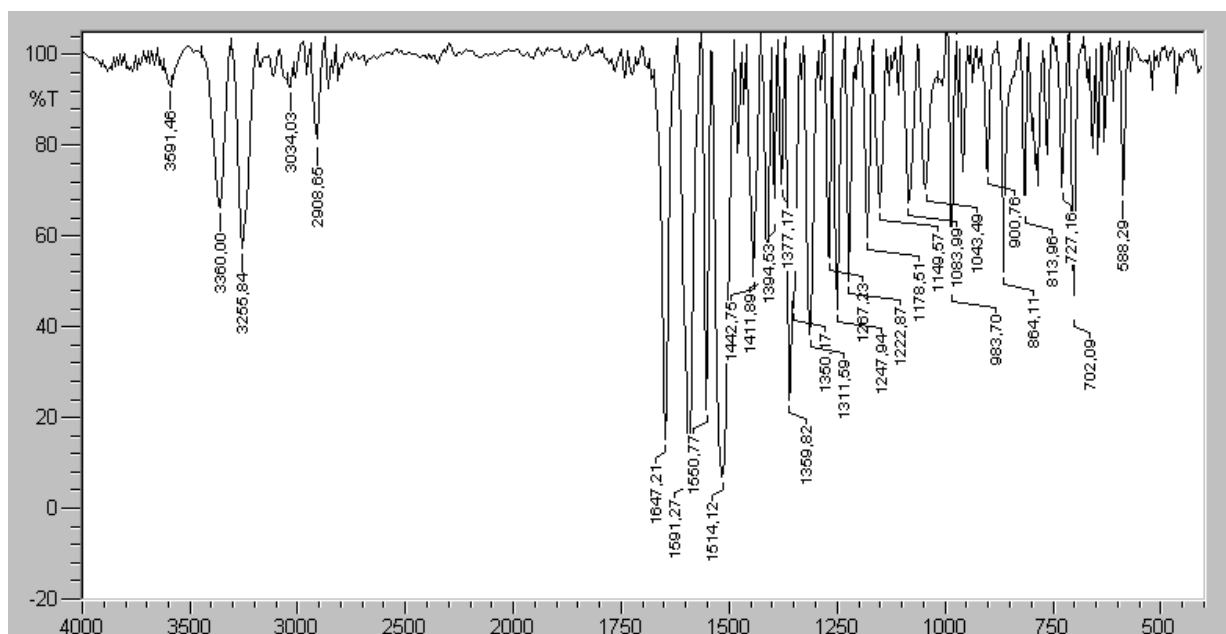
Anexo 32: Espectro de RMN HSQC do composto **31** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



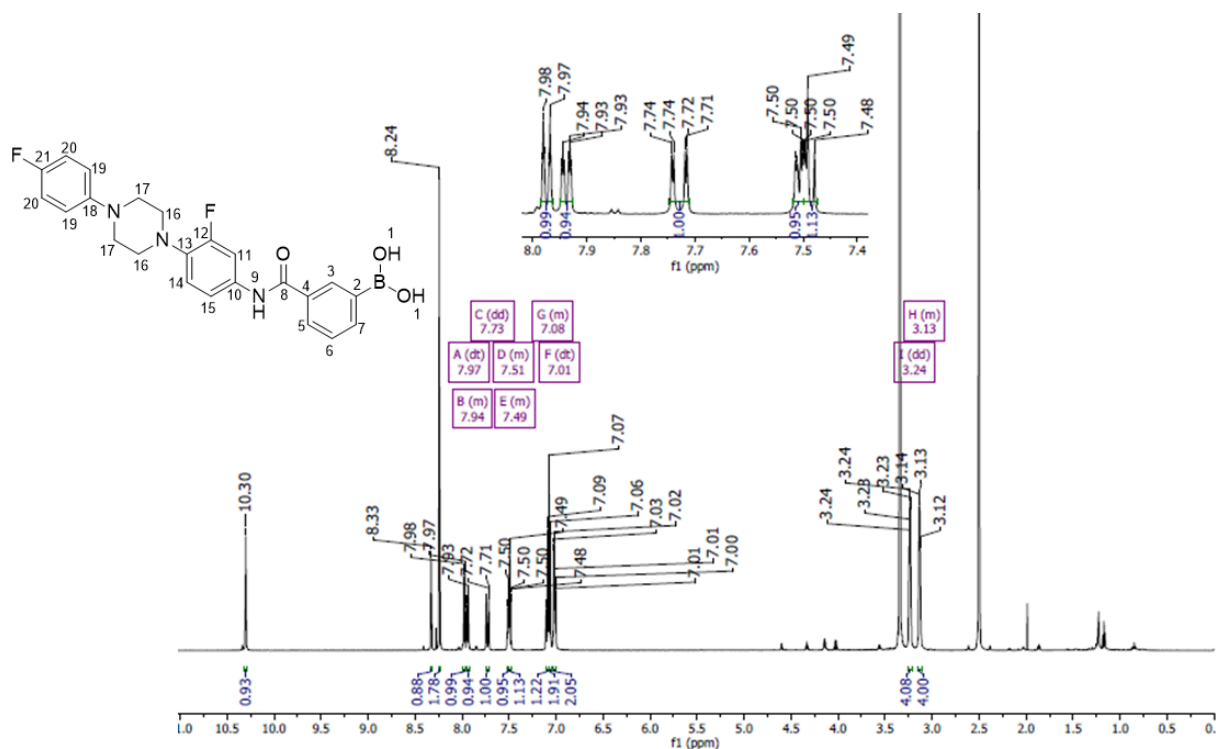
Fonte: Autoria própria.

Anexo 33: Espectro de RMN HBMC do composto **31** (600 MHz, DMSO- d_6).

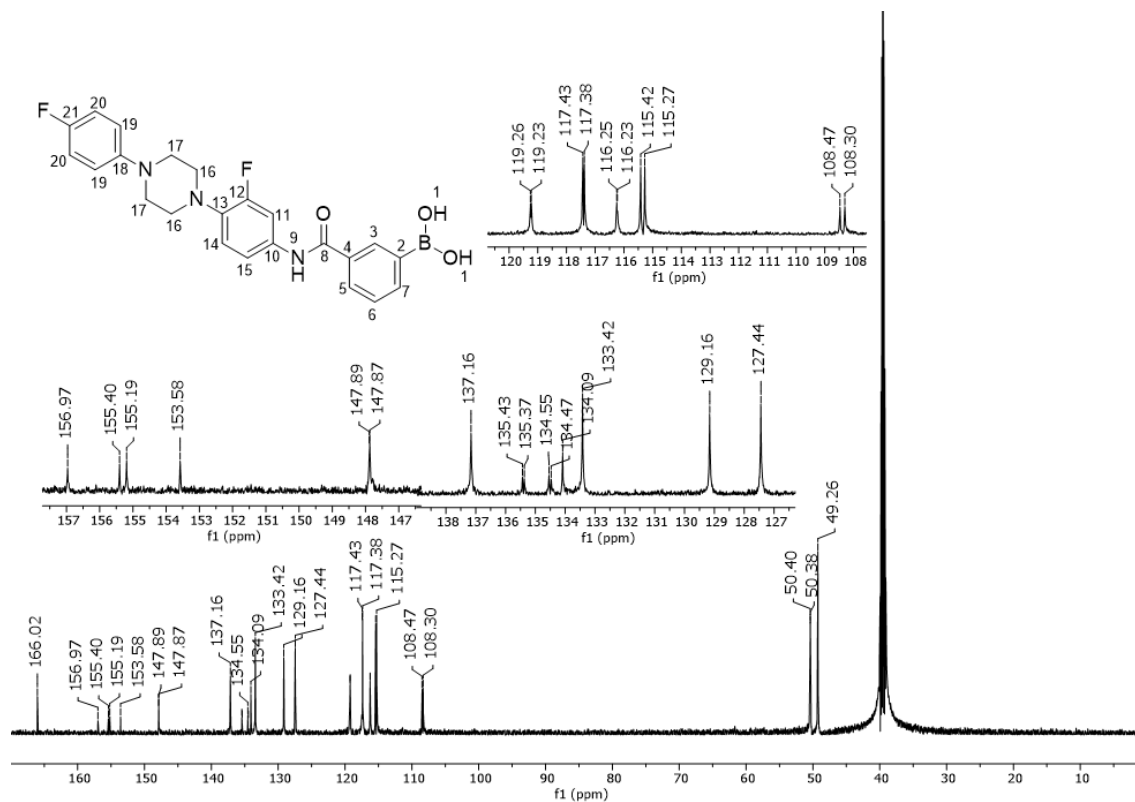
Fonte: Autoria própria.

Anexo 34: Espectro na região o IV do composto **31**.

Fonte: Autoria própria.

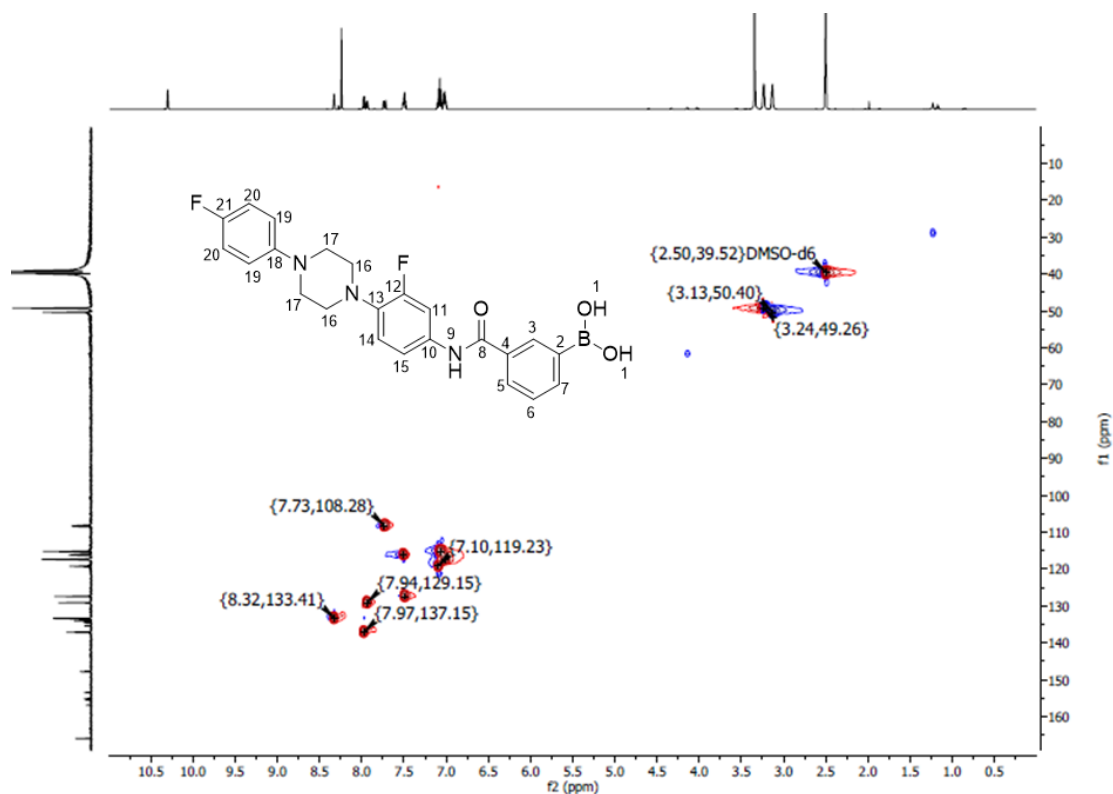
Anexo 35: Espectro de RMN ^1H do composto **32** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

Fonte: Autoria própria.

Anexo 36: Espectro de RMN ^{13}C do composto **32** (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

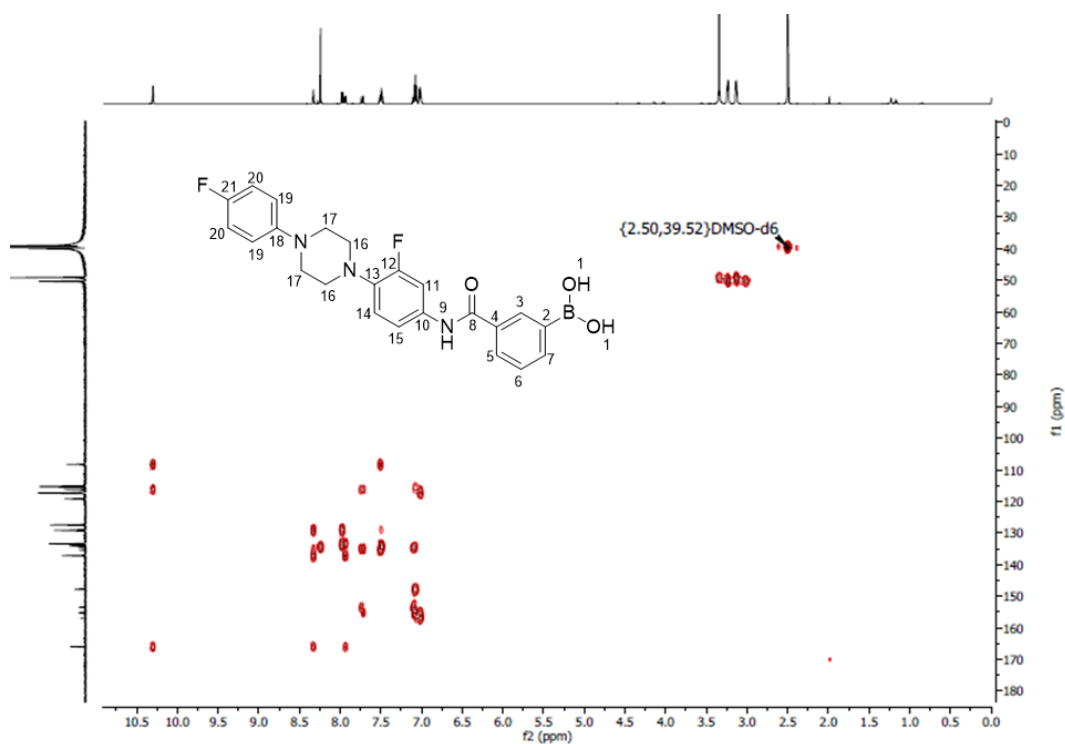
Fonte: Autoria própria.

Anexo 37: Espectro de RMN HSQC do composto **32** (600 MHz, DMSO- d_6).

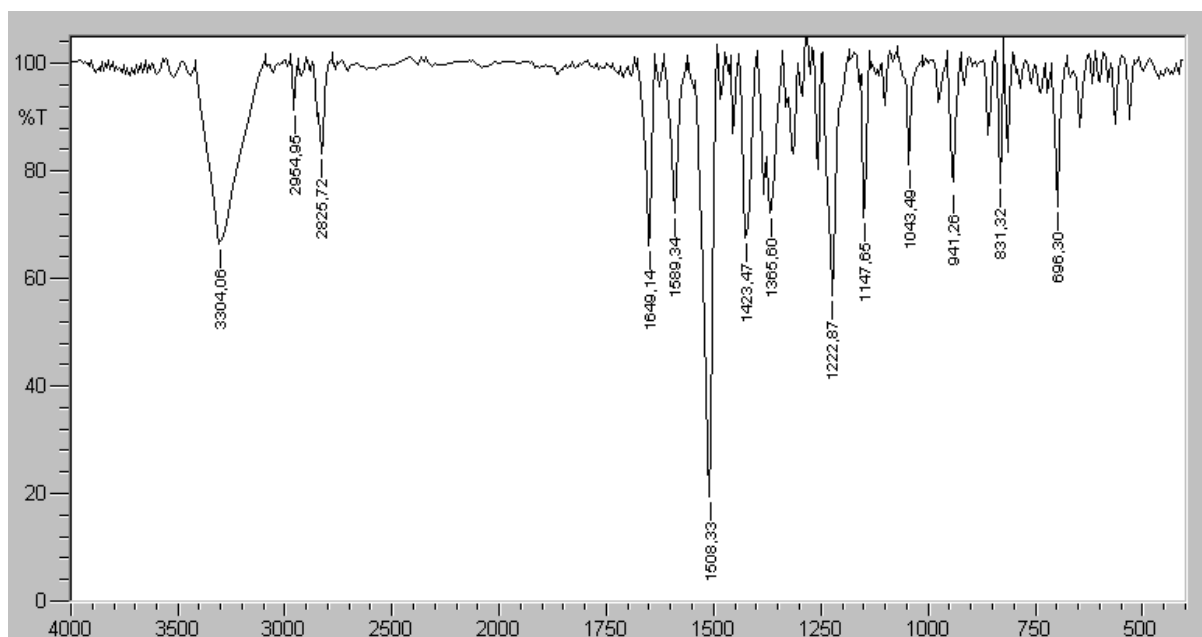


Fonte: Autoria própria.

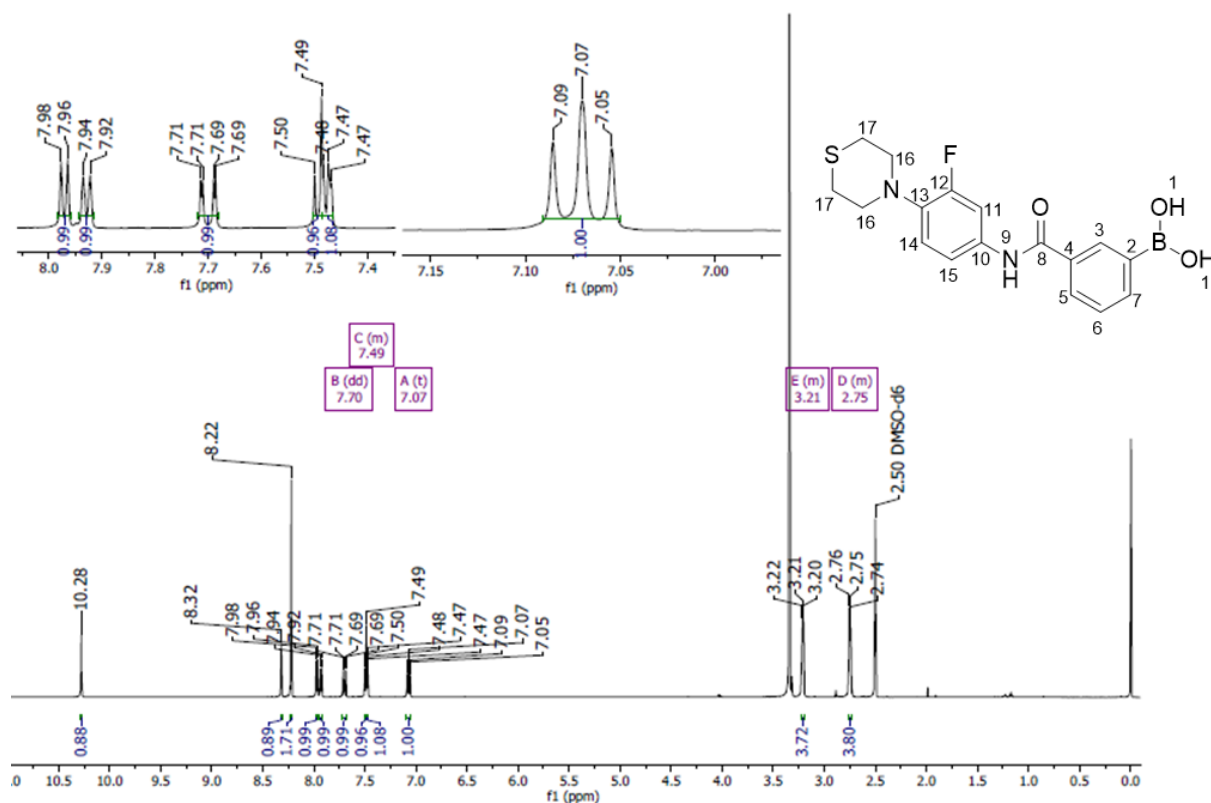
Anexo 38: Espectro de RMN HMBC do composto **32** (600 MHz, DMSO- d_6).



Fonte: Autoria própria.

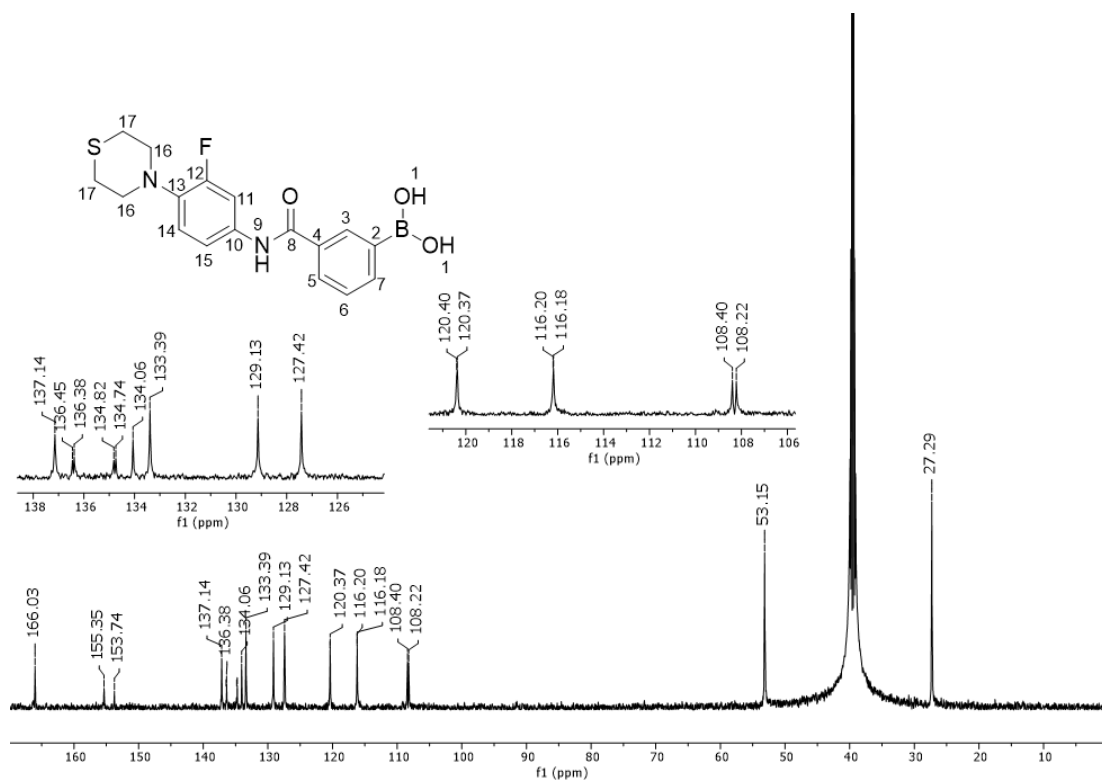
Anexo 39: Espectro na região o IV do composto **32**.

Fonte: Autoria própria.

Anexo 40: Espectro de RMN ^1H do composto **33** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

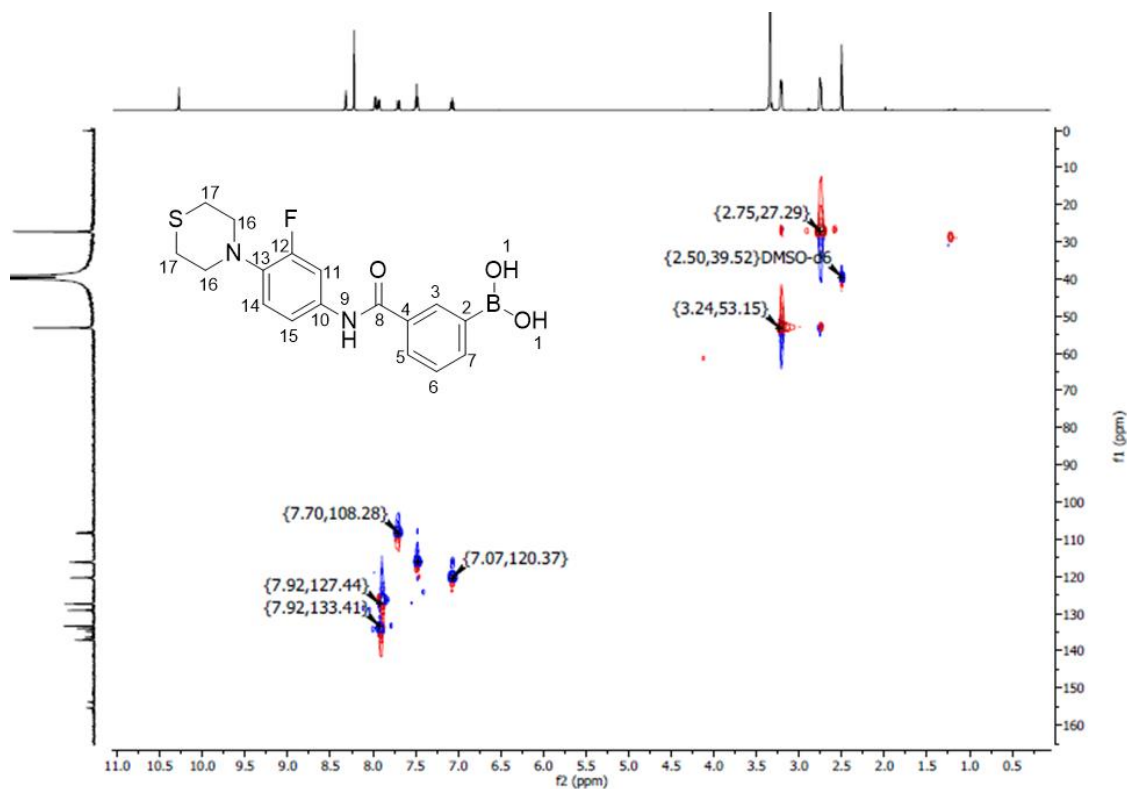
Fonte: Autoria própria.

Anexo 41: Espectro de RMN ^{13}C do composto **33** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

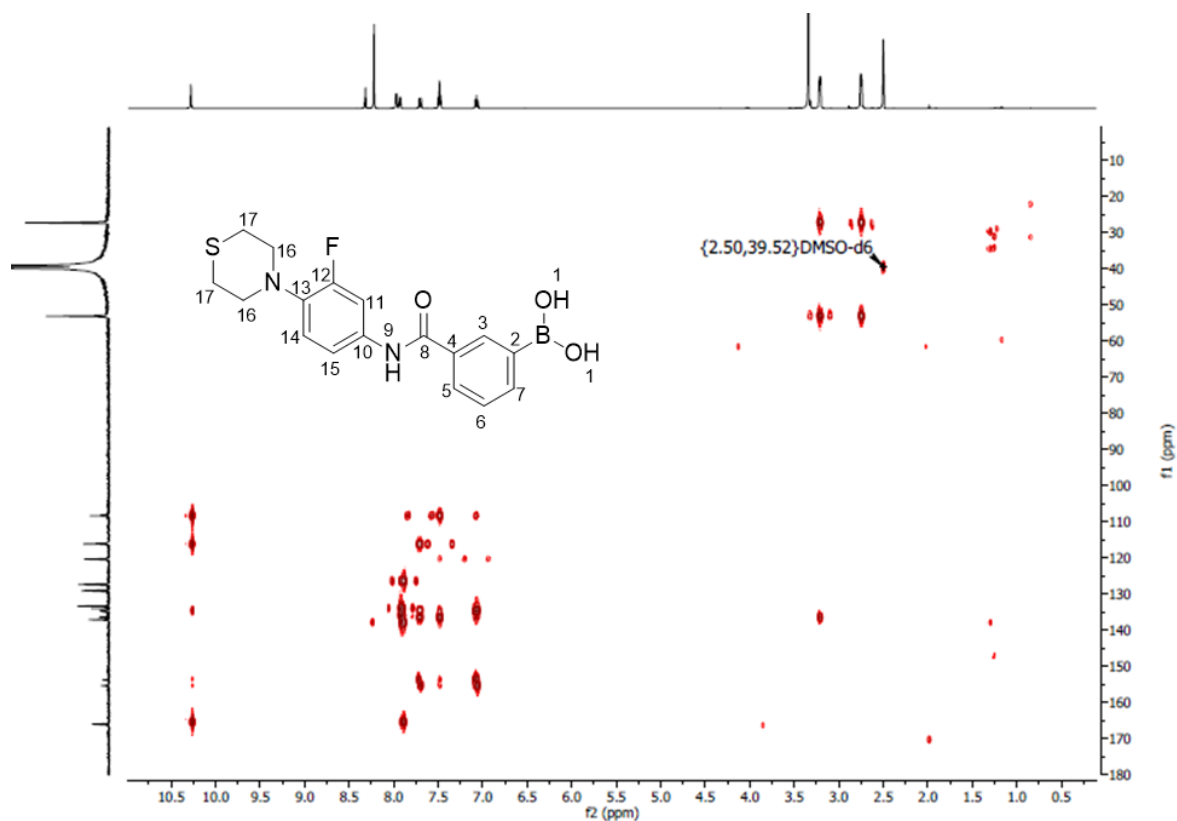


Fonte: Autoria própria.

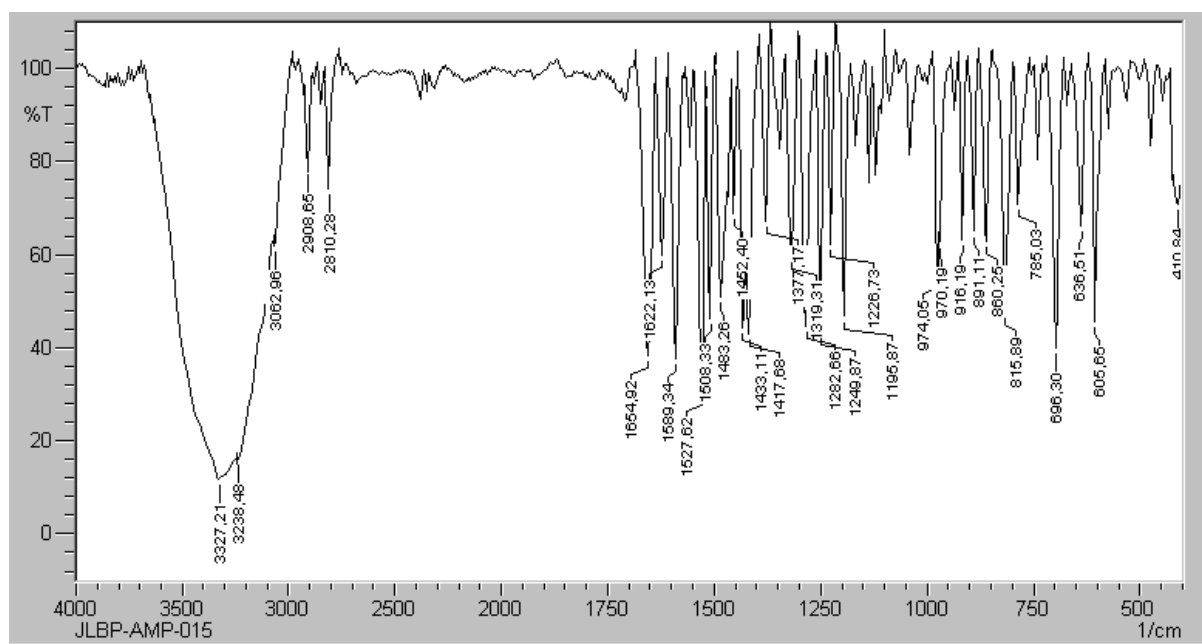
Anexo 42: Espectro de RMN HSQC do composto **33** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



Fonte: Autoria própria.

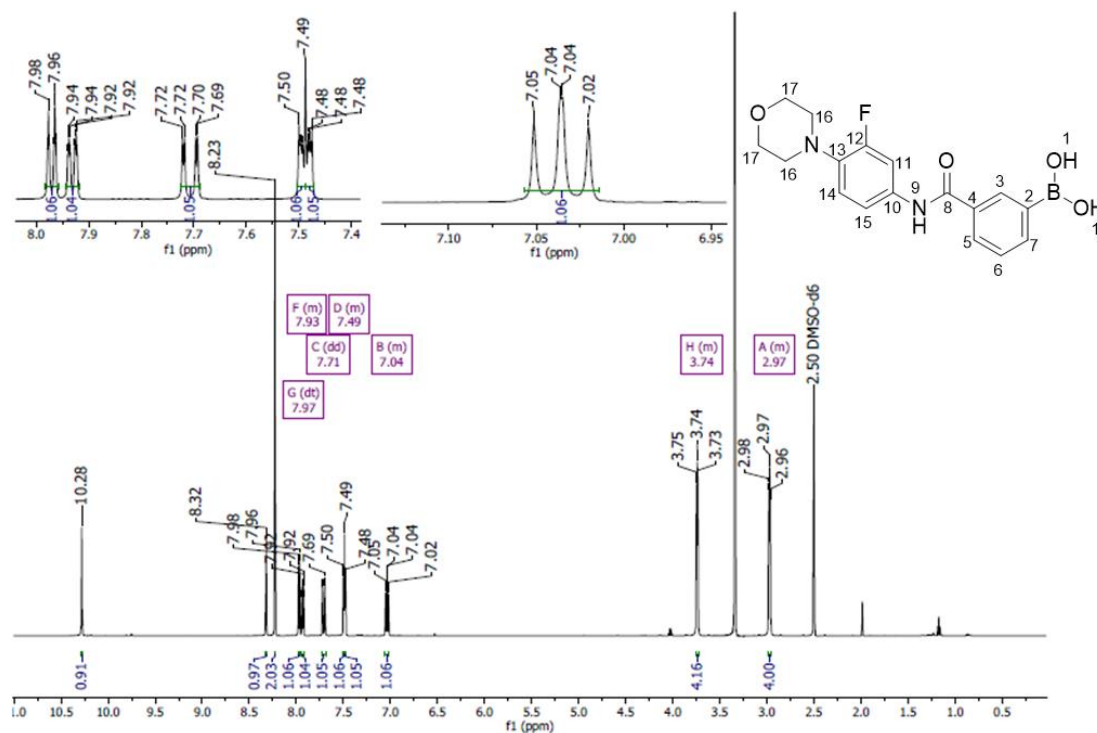
Anexo 43: Espectro de RMN HMBC do composto **33** (600 MHz, DMSO- d_6).

Fonte: Autoria própria.

Anexo 44: Espectro na região o IV do composto **33**.

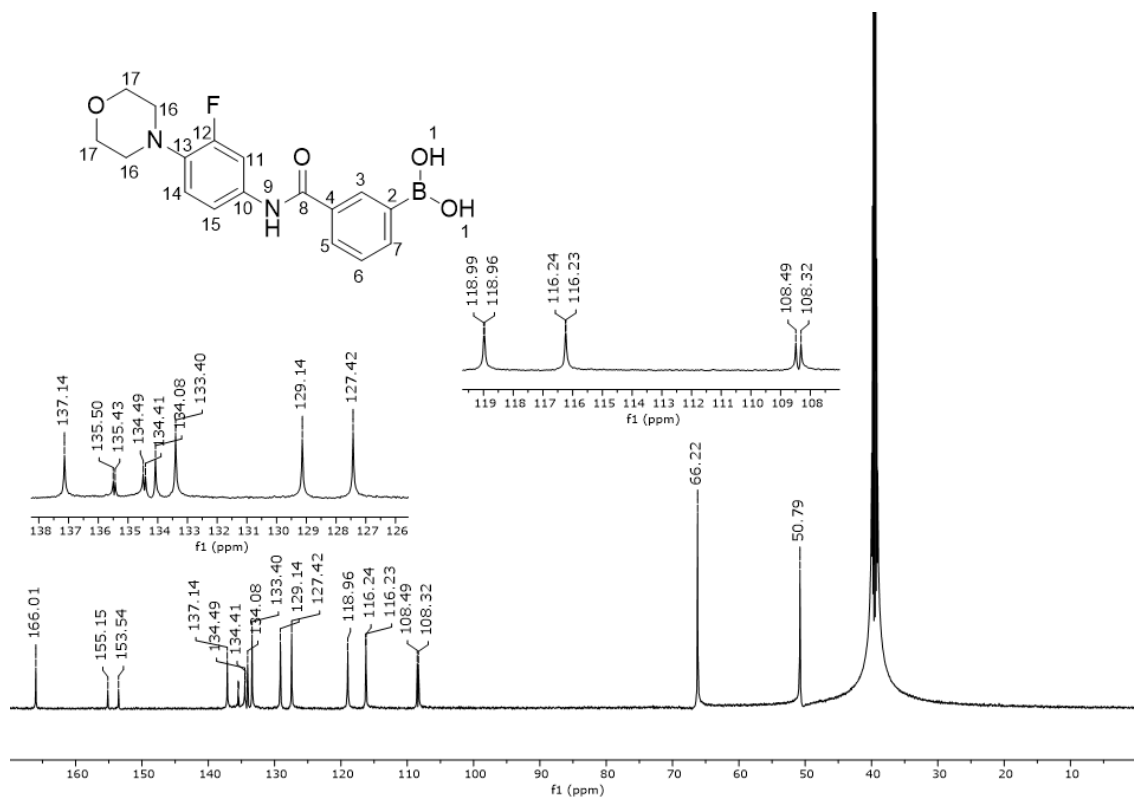
Fonte: Autoria própria.

Anexo 44: Espectro de RMN ^1H do composto **34** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



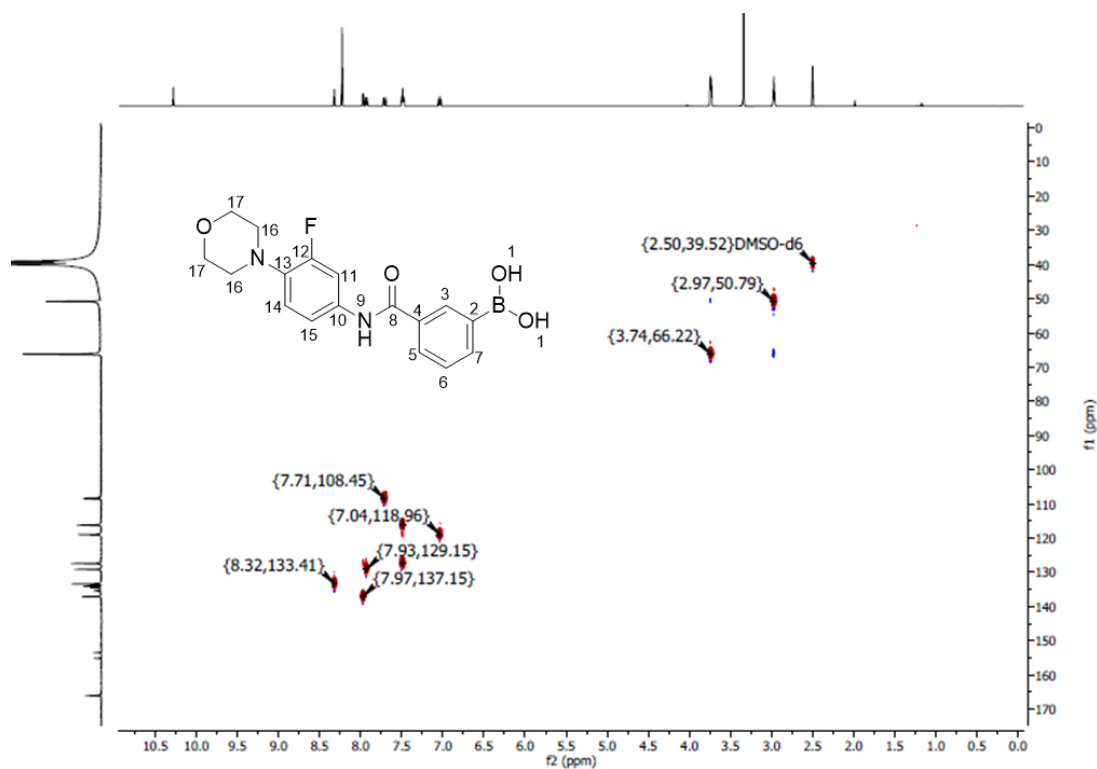
Fonte: Autoria própria.

Anexo 45: Espectro de RMN ^{13}C do composto **34** (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



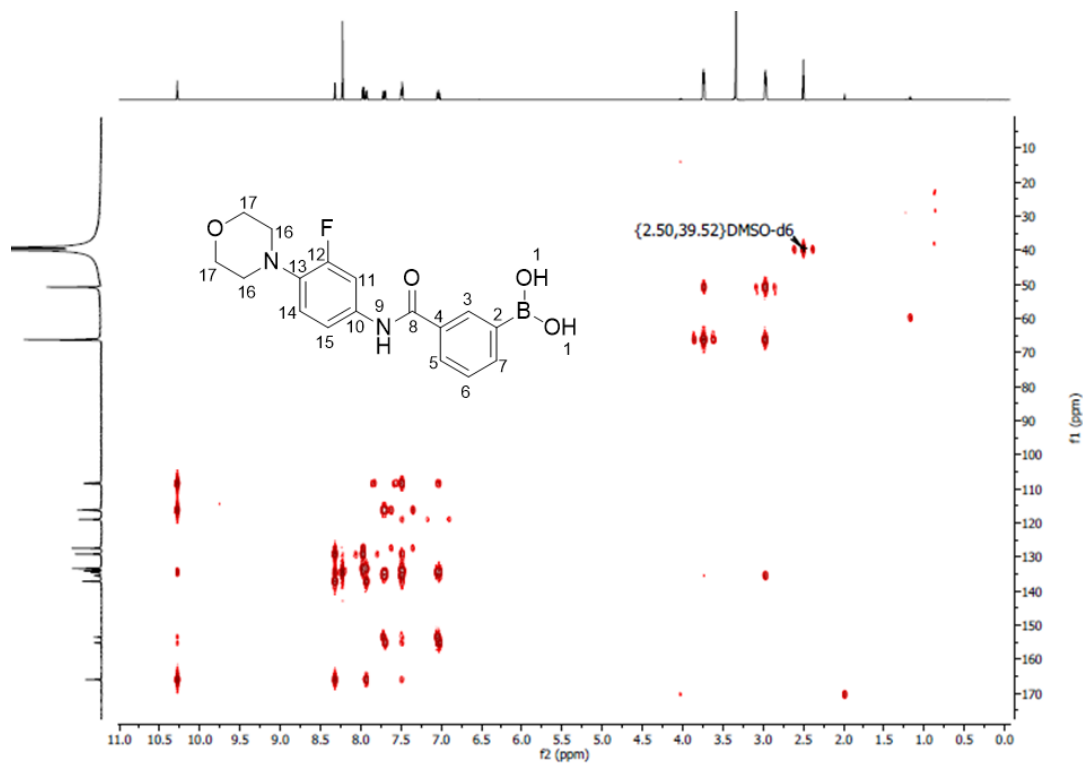
Fonte: Autoria própria.

Anexo 46: Espectro de RMN HSQC do composto **34** (600 MHz, DMSO- d_6).

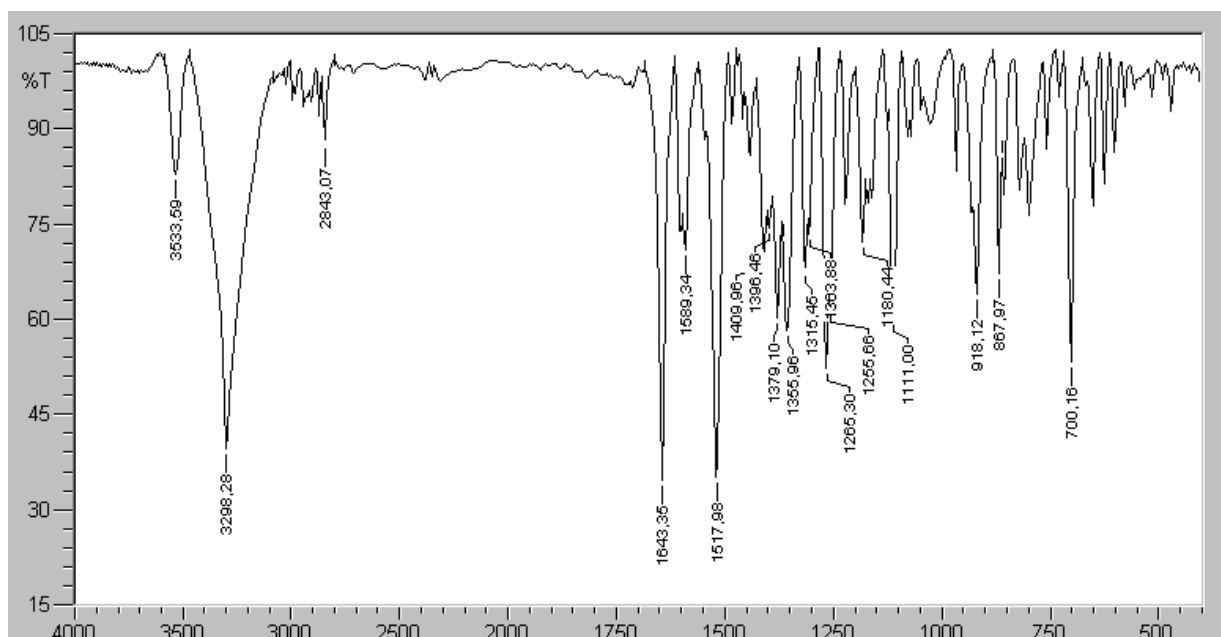


Fonte: Autoria própria.

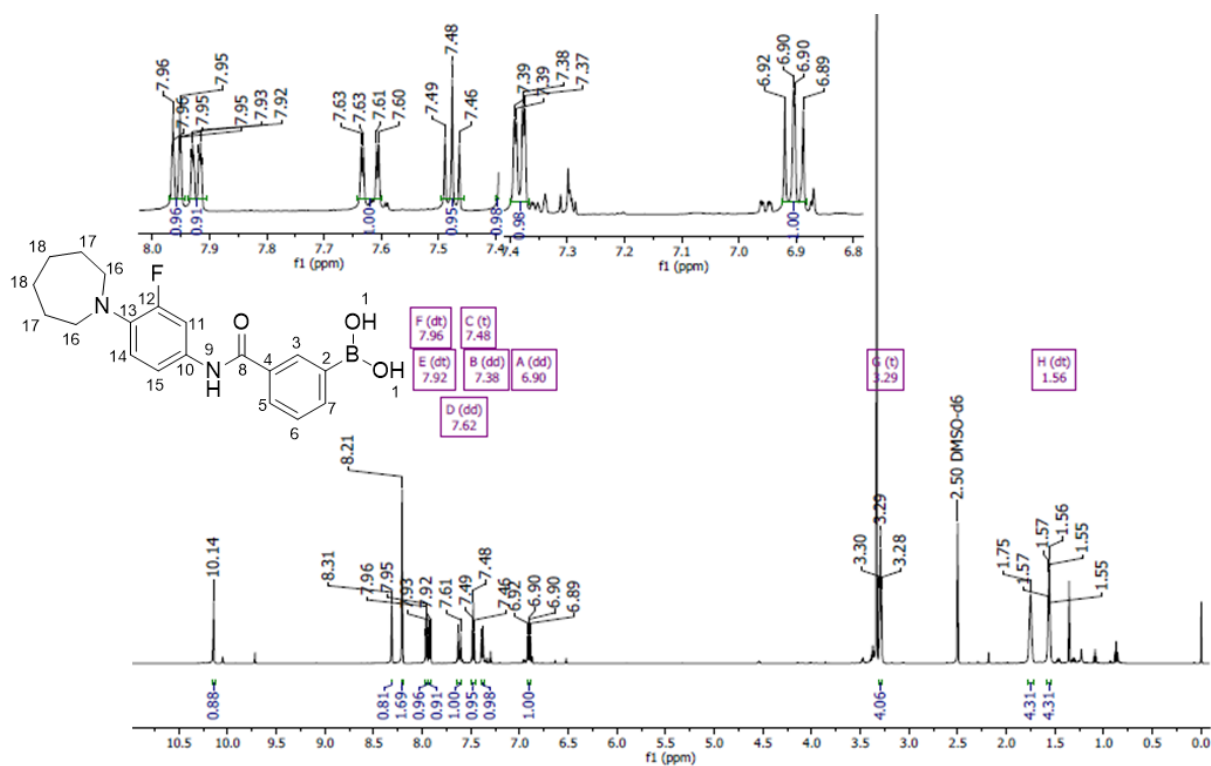
Anexo 47: Espectro de RMN HMBC do composto **34** (600 MHz, DMSO- d_6).



Fonte: Autoria própria.

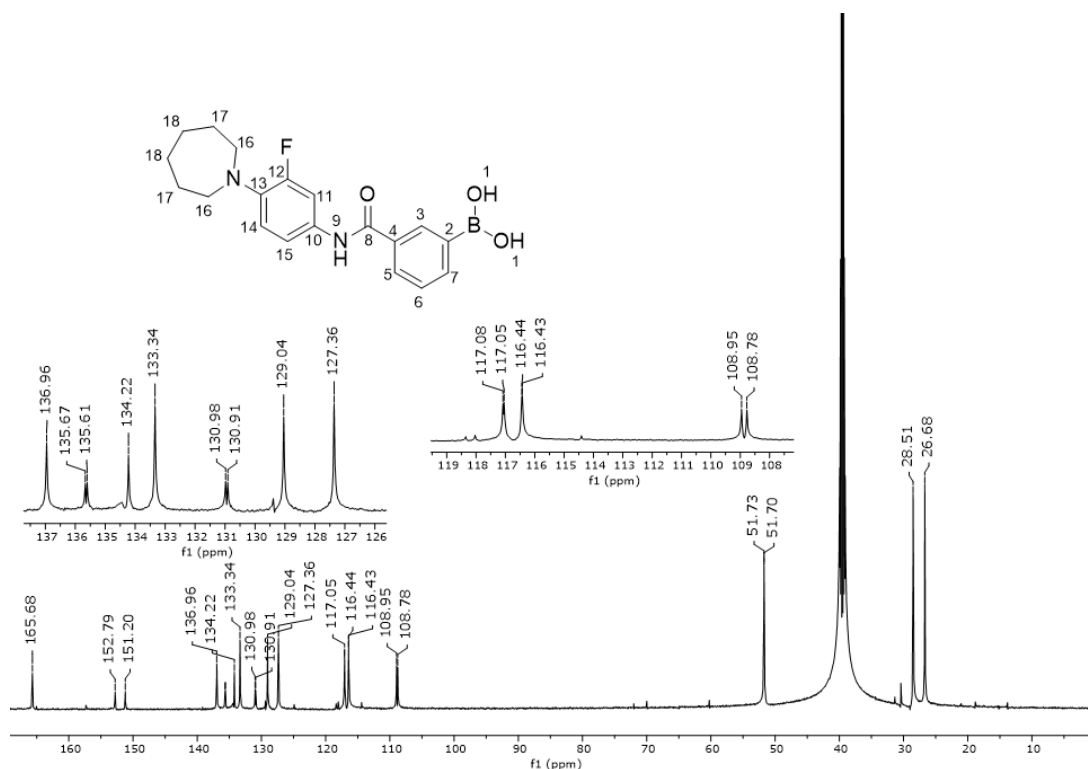
Anexo 48: Espectro na região o IV do composto **34**.

Fonte: Autoria própria.

Anexo 49: Espectro de RMN ^1H do composto **35** (600 MHz, DMSO- d_6).

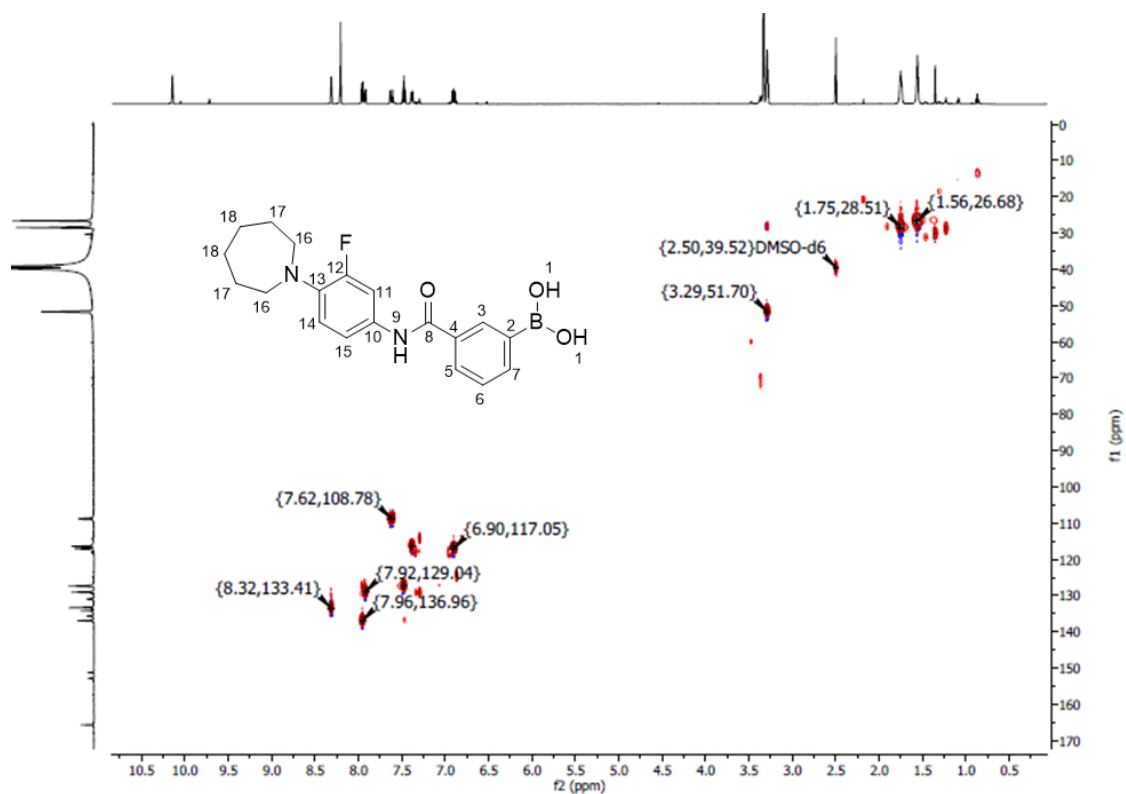
Fonte: Autoria própria.

Anexo 50: Espectro de RMN ^{13}C do composto **35** (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

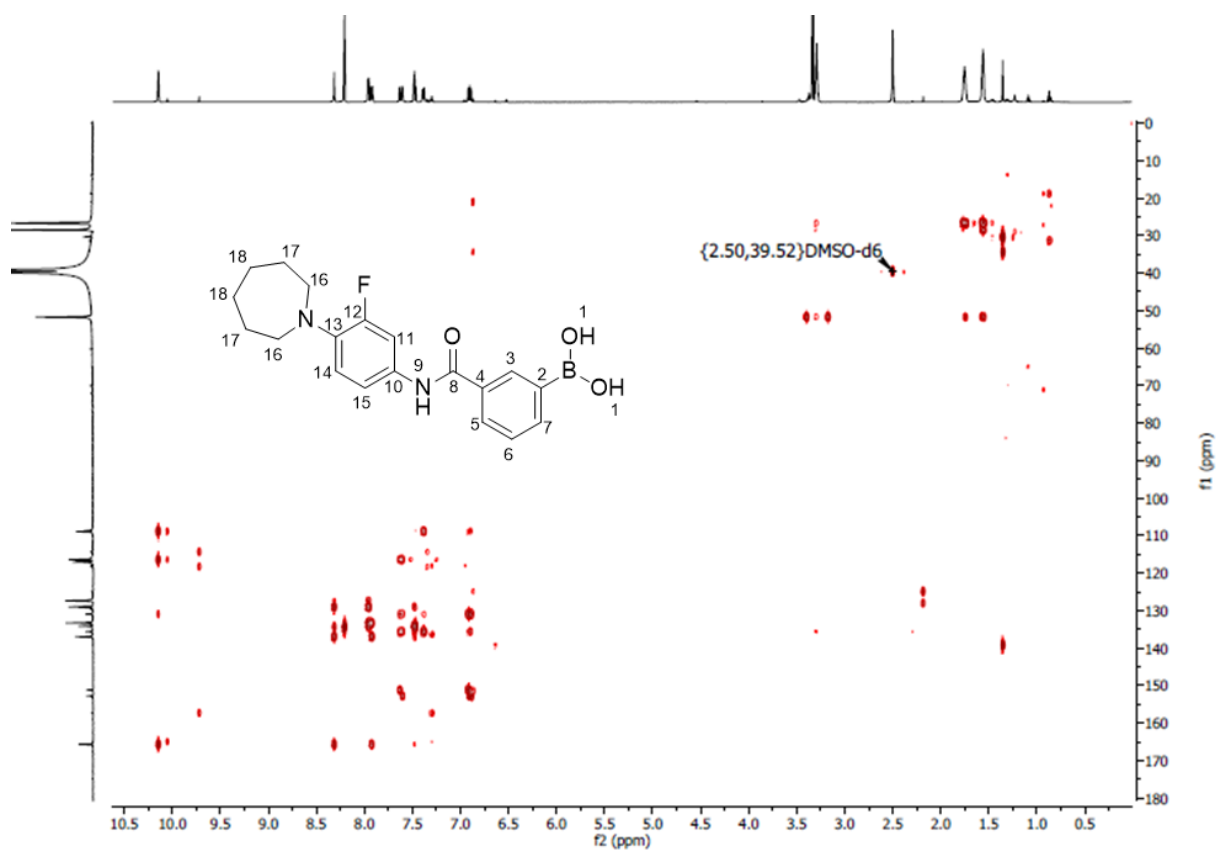


Fonte: Autoria própria.

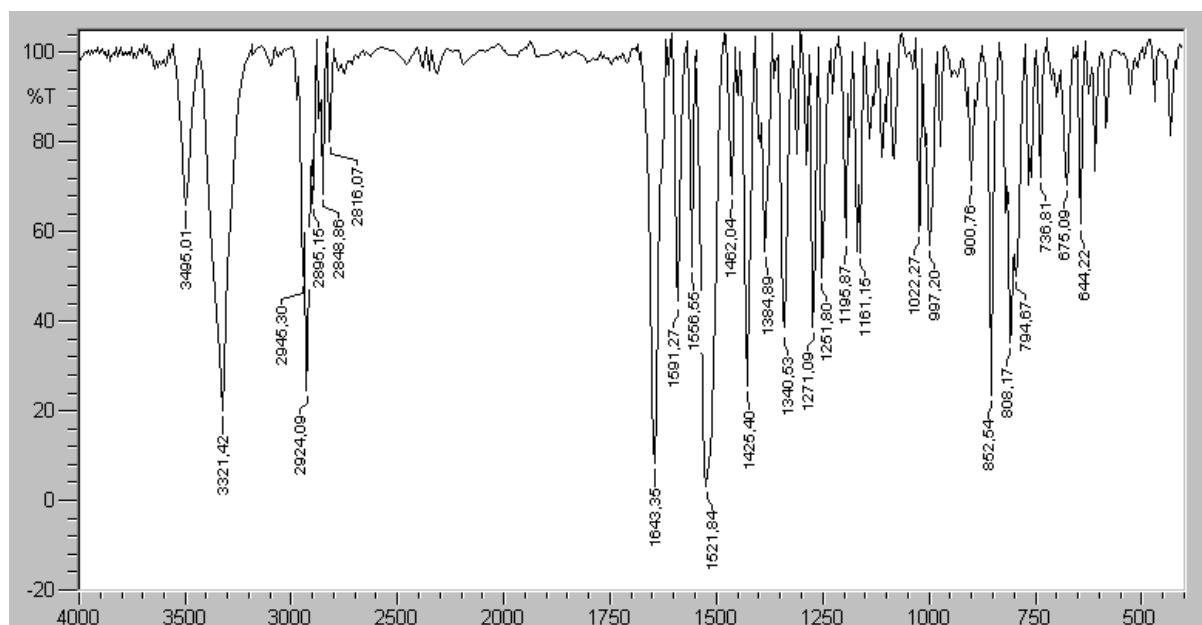
Anexo 51: Espectro de RMN HSQC do composto **35** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).



Fonte: Autoria própria.

Anexo 52: Espectro de RMN HMBC do composto **35** (600 MHz, DMSO- d_6).

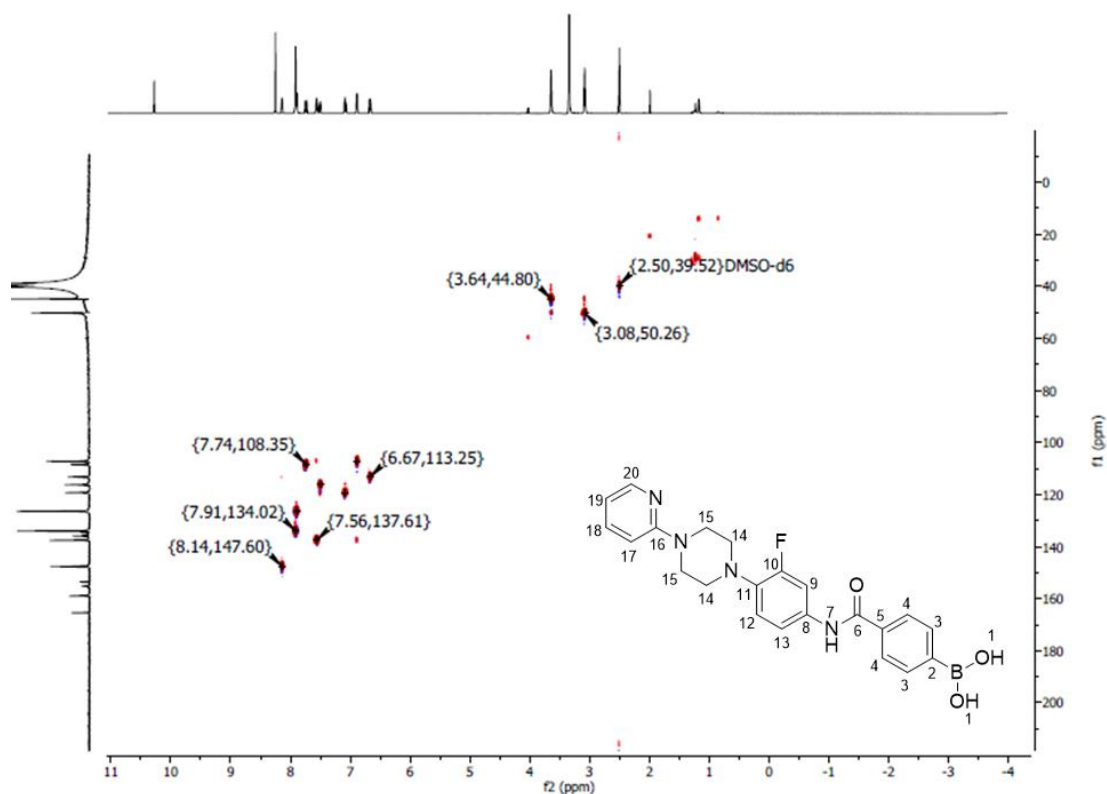
Fonte: Autoria própria.

Anexo 53: Espectro na região o IV do composto **35**.

Fonte: Autoria própria.

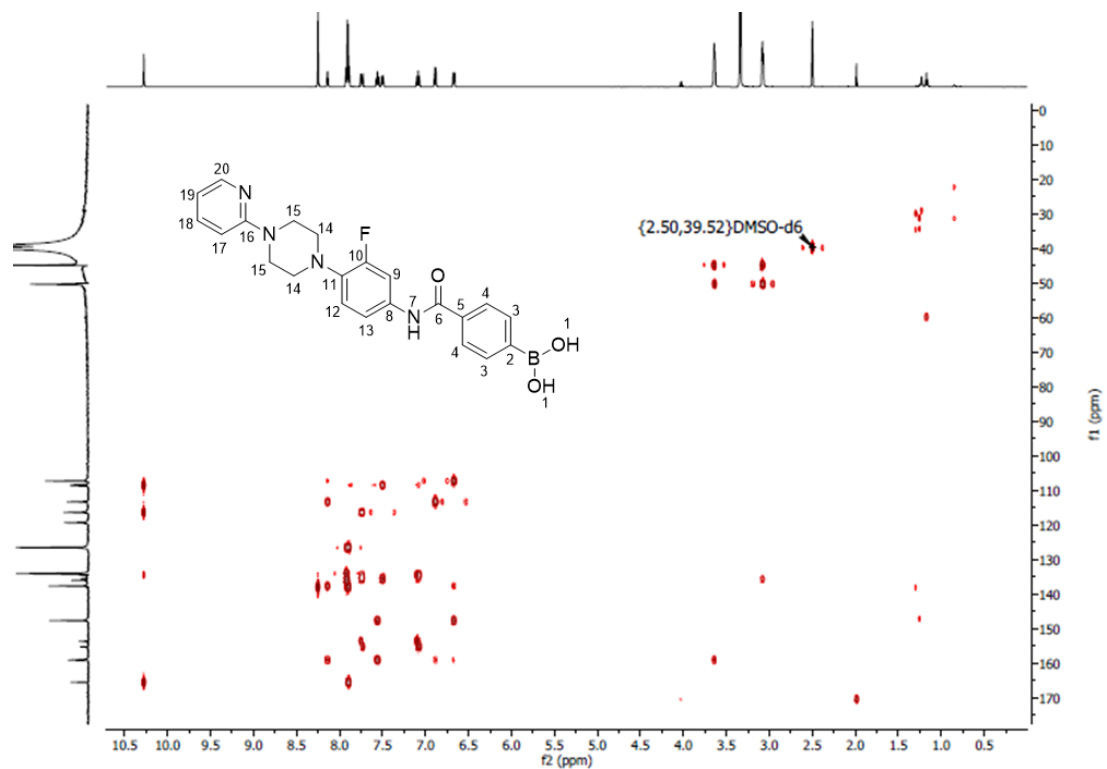
Fonte: Autoria própria.

Anexo 56: Espectro de RMN HSQC do composto **36** (600 MHz, DMSO- d_6).

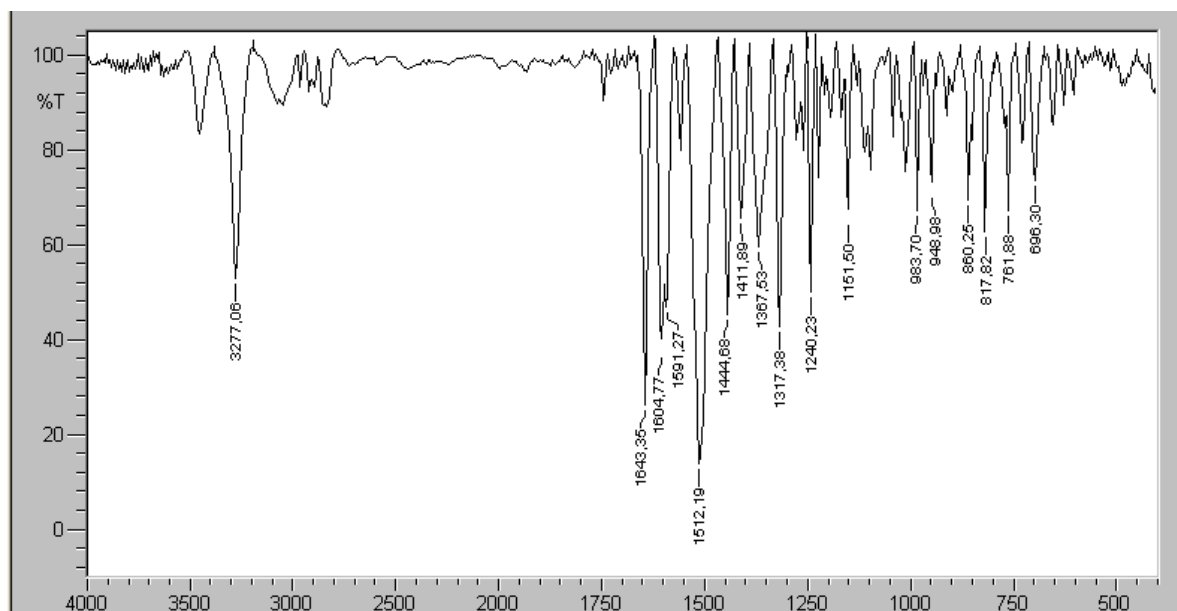


Fonte: Autoria própria.

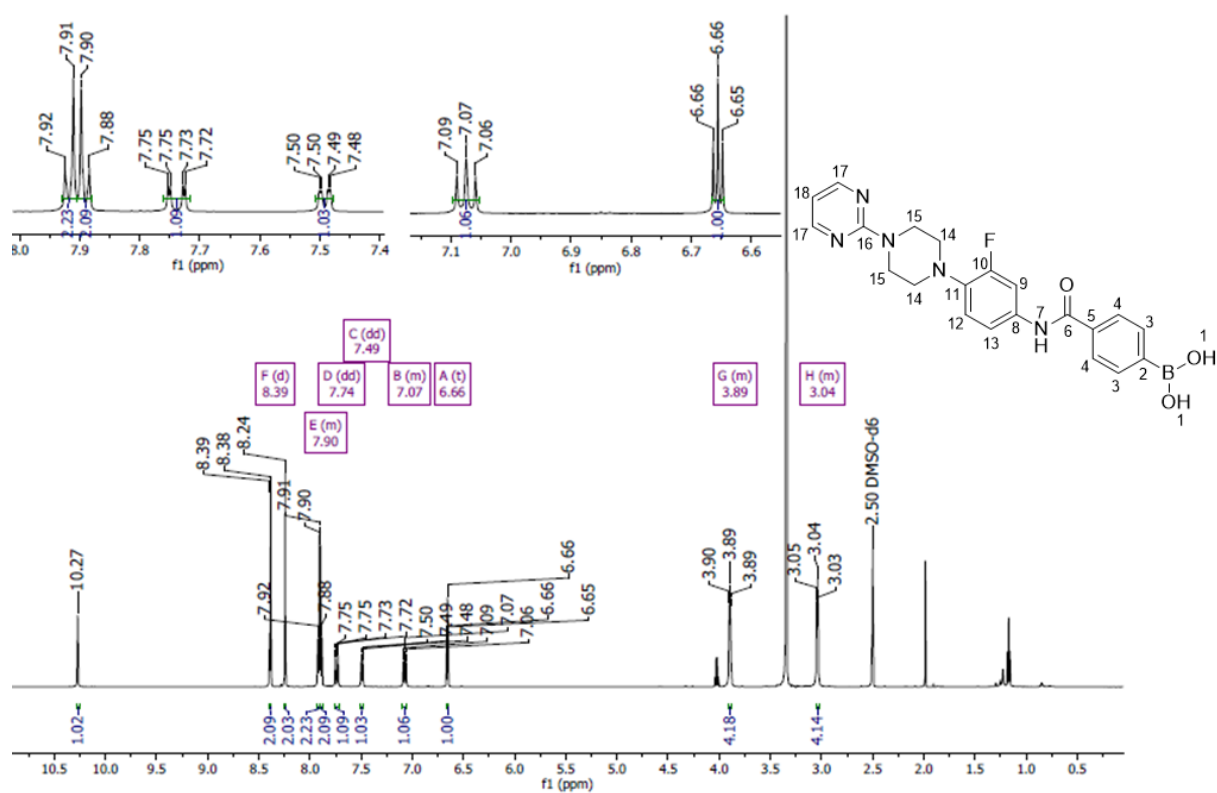
Anexo 57: Espectro de RMN HMBC do composto **36** (600 MHz, DMSO- d_6)



Fonte: Autoria própria.

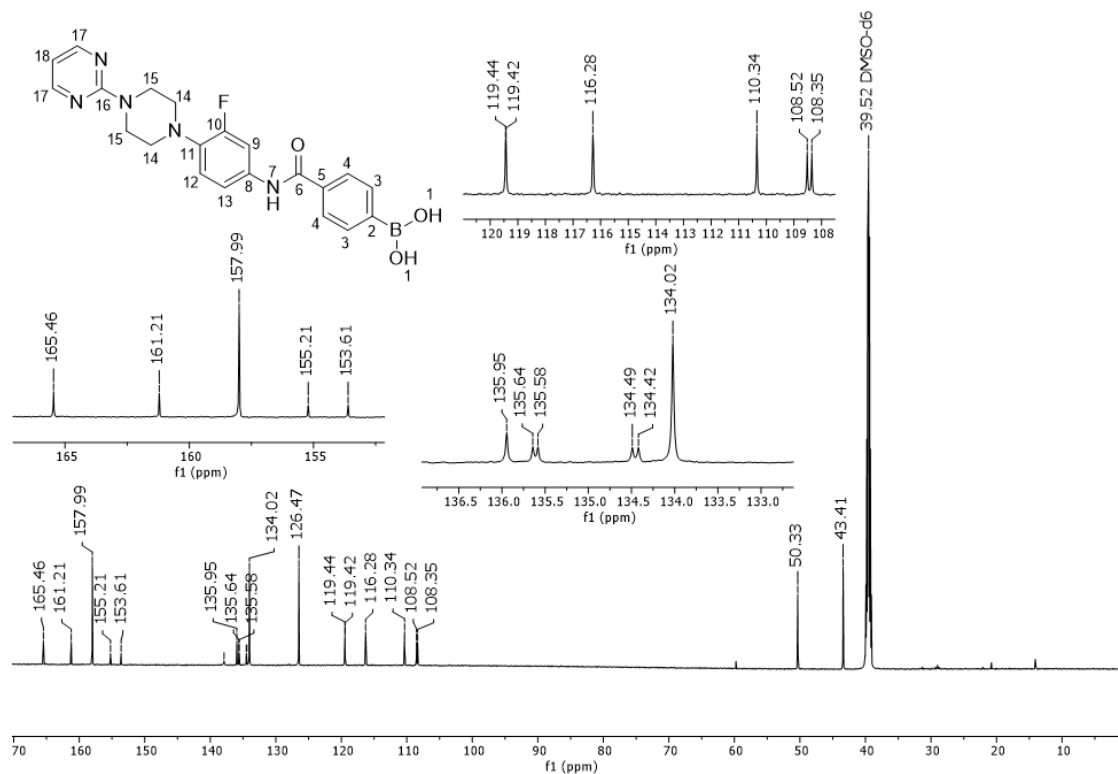
Anexo 58: Espectro na região o IV do composto **36**.

Fonte: Autoria própria.

Anexo 59: Espectro de RMN ^1H do composto **37** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

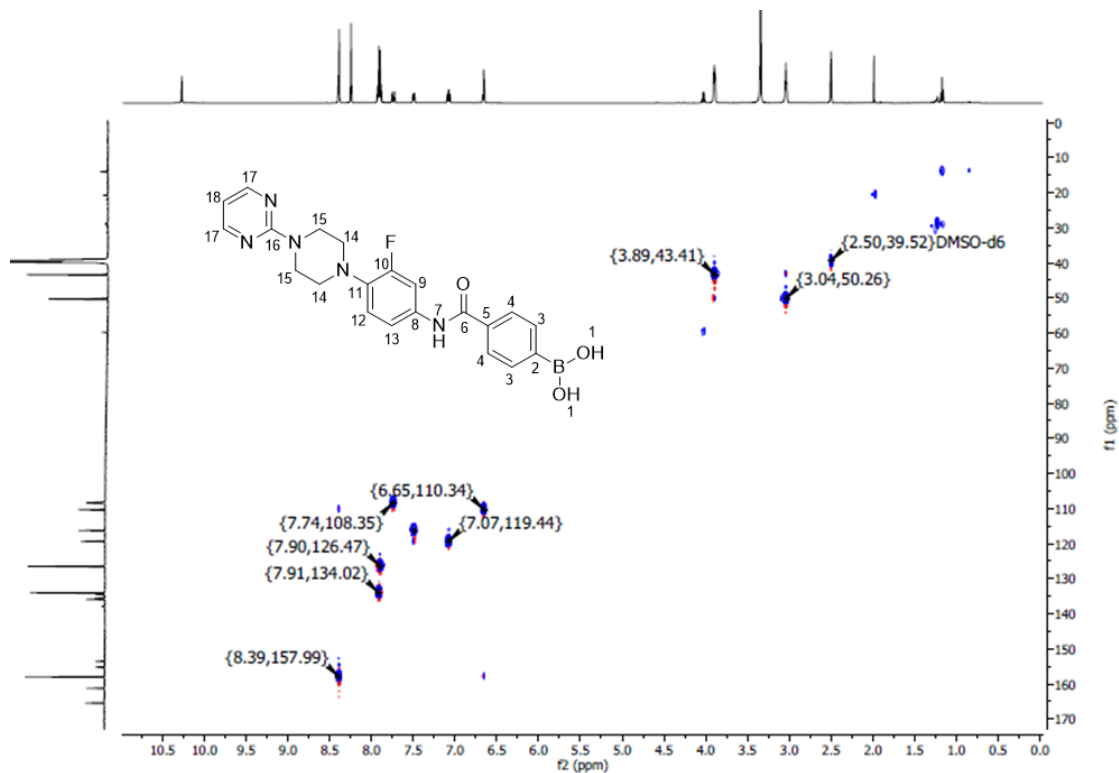
Fonte: Autoria própria.

Anexo 60: Espectro de RMN ^{13}C do composto **37** (150 MHz, DMSO-d_6).

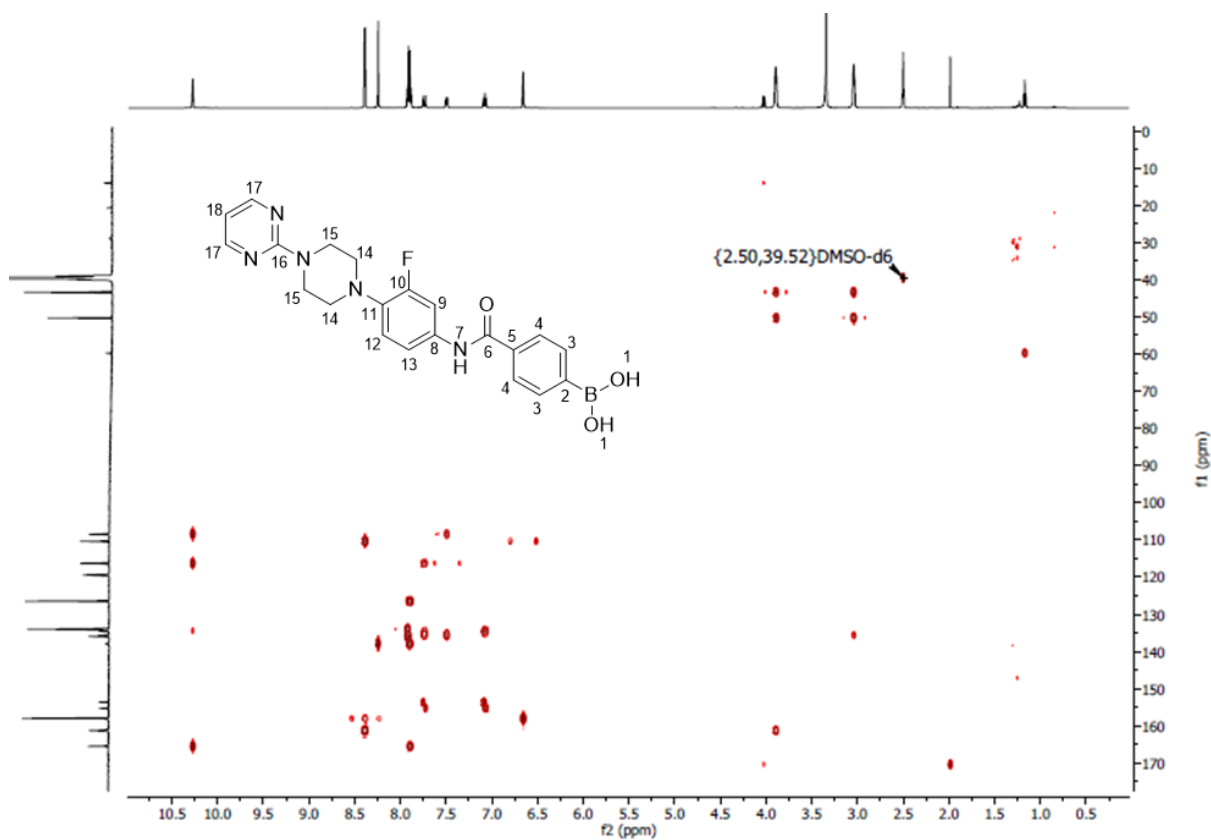


Fonte: Autoria própria.

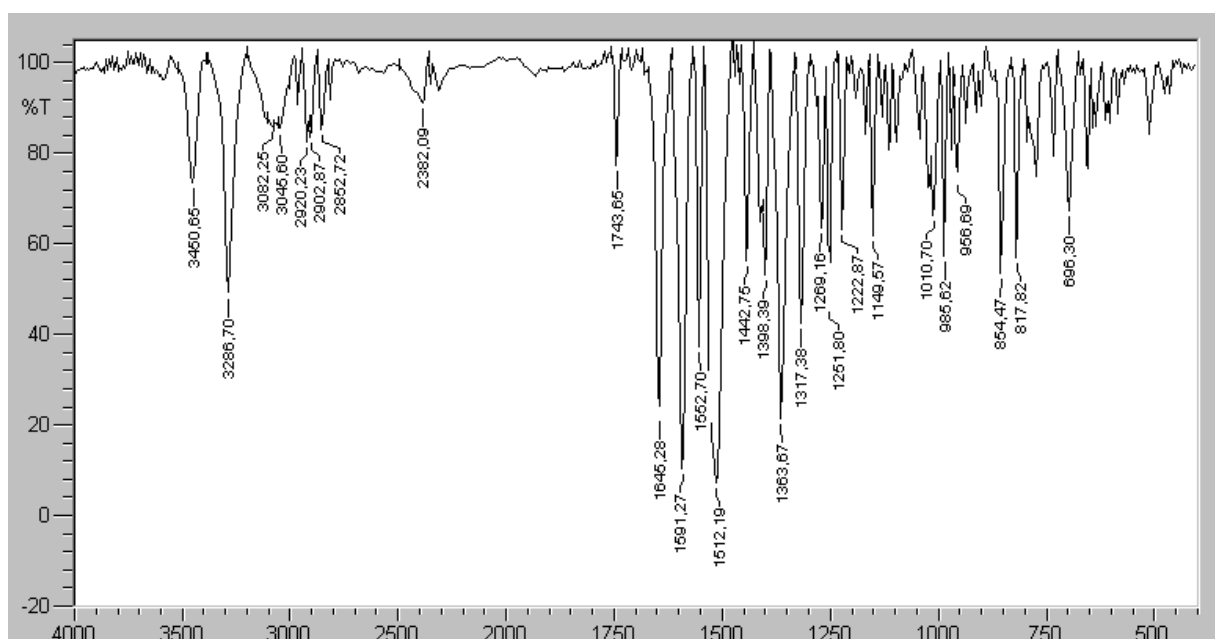
Anexo 61: Espectro de RMN HSQC do composto **37** (600 MHz, DMSO-d_6).



Fonte: Autoria própria.

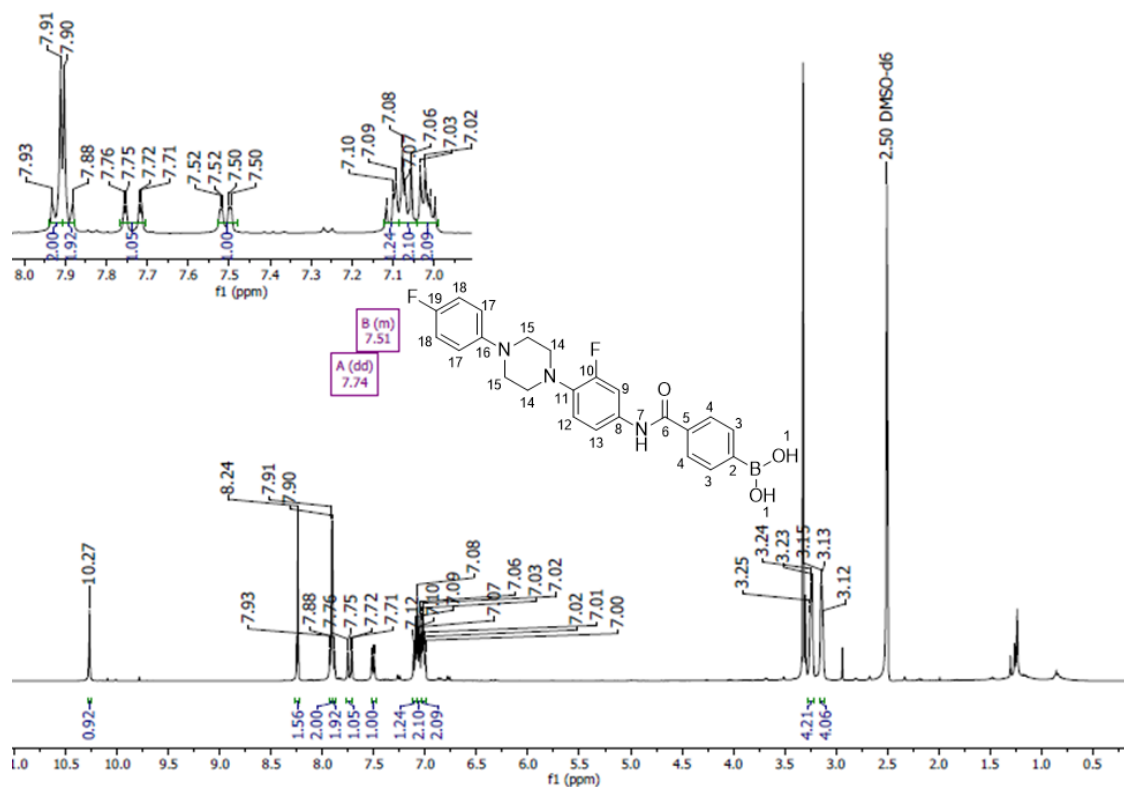
Anexo 62: Espectro de RMN HMBC do composto **37** (600 MHz, DMSO- d_6).

Fonte: Autoria própria.

Anexo 63: Espectro na região o IV do composto **37**.

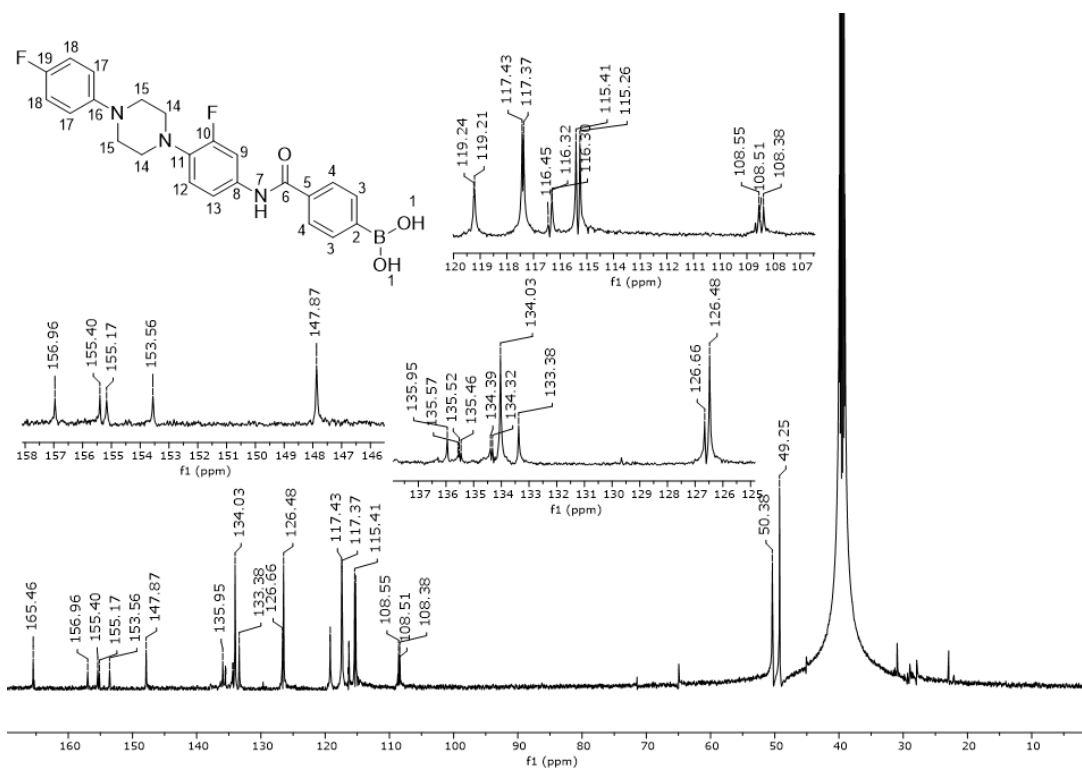
Fonte: Autoria própria.

Anexo 64: Espectro de RMN ^1H do composto **38** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



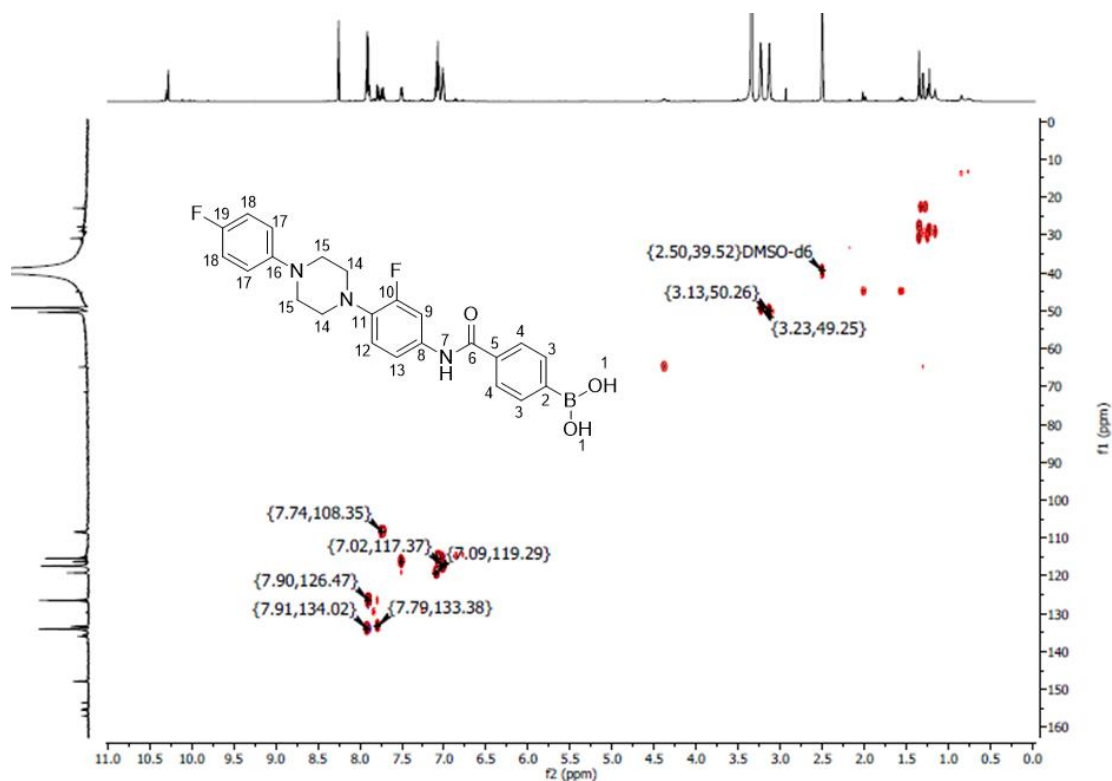
Fonte: Autoria própria.

Anexo 65: Espectro de RMN ^{13}C do composto **38** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



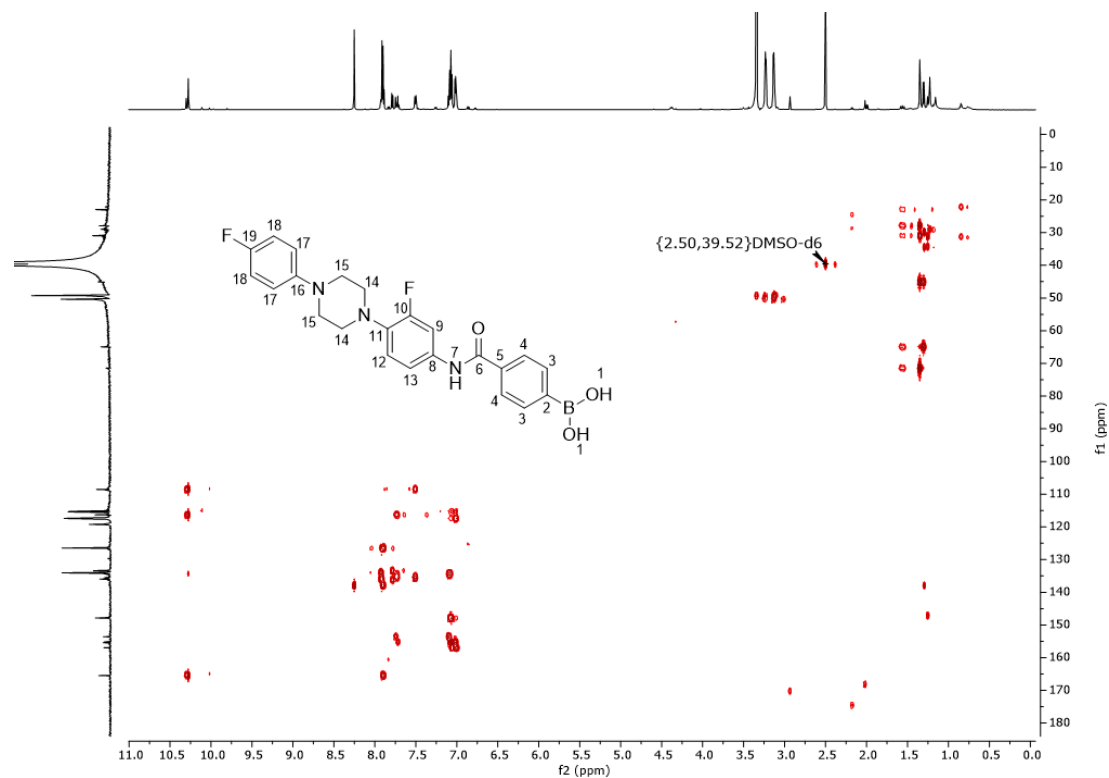
Fonte: Autoria própria.

Anexo 66: Espectro de RMN HSQC do composto **38** (600 MHz, DMSO- d_6).

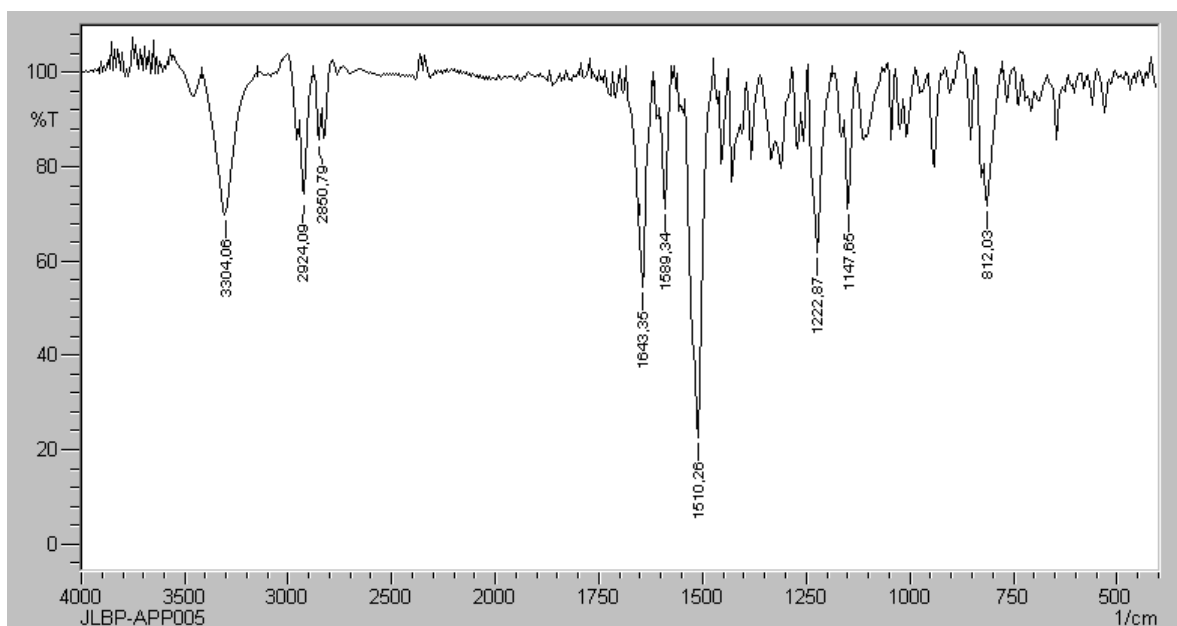


Fonte: Autoria própria.

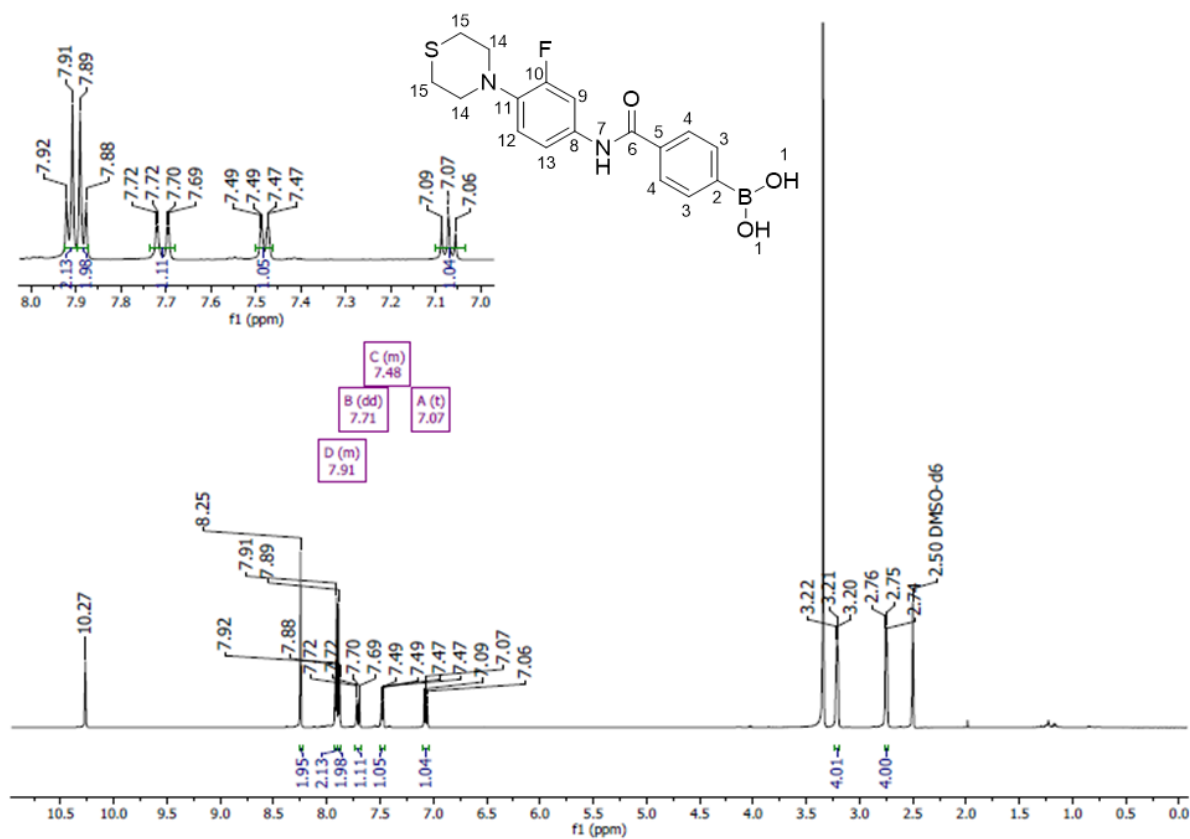
Anexo 67: Espectro de RMN HMBC do composto **38** (600 MHz, DMSO- d_6).



Fonte: Autoria própria.

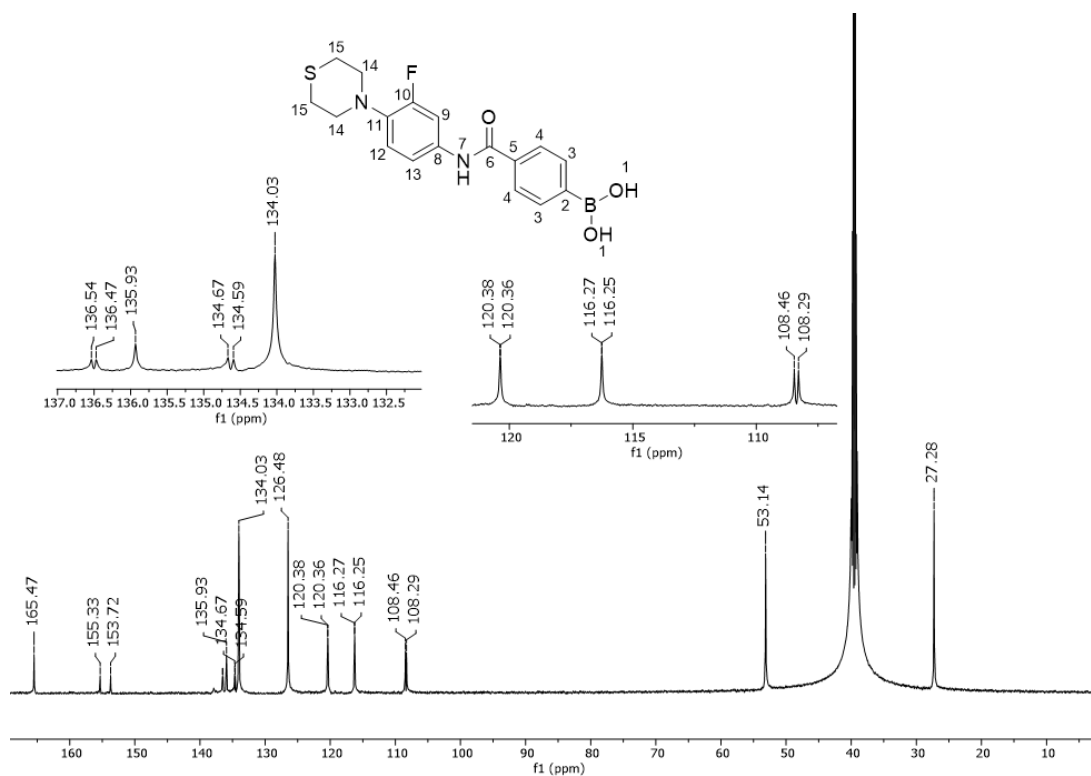
Anexo 68: Espectro na região o IV do composto **38**.

Fonte: Autoria própria.

Anexo 69: Espectro de RMN ^1H do composto **39** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

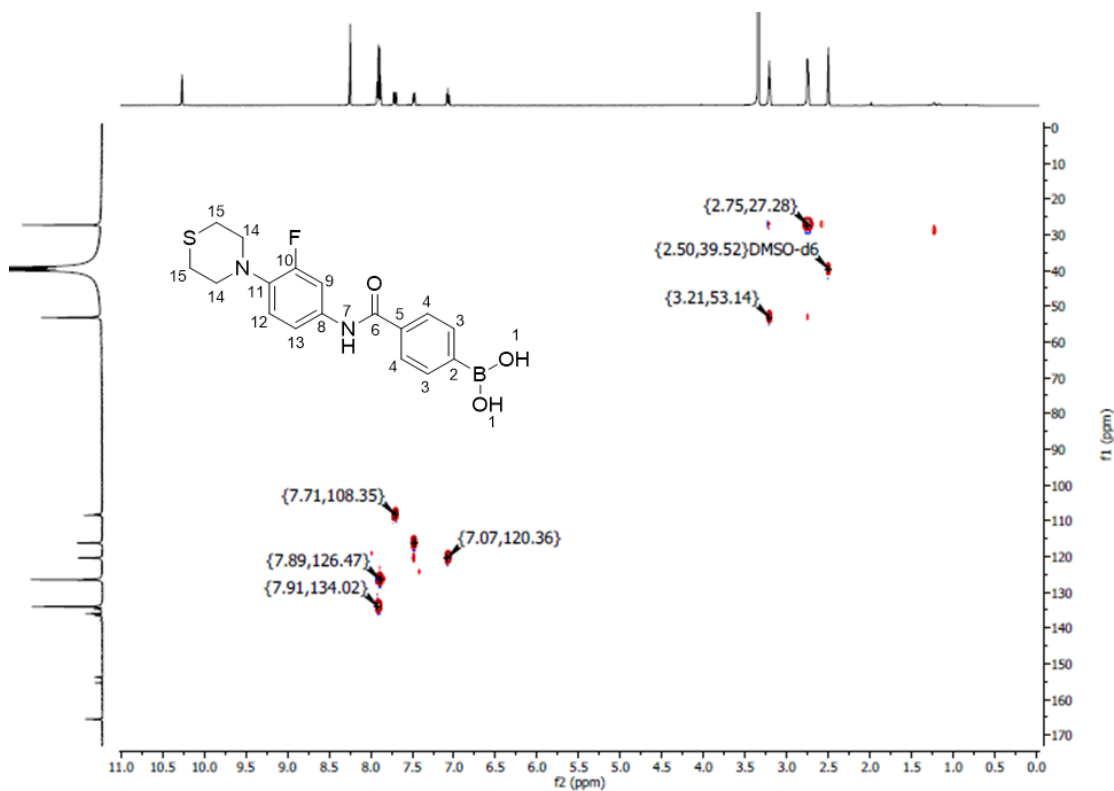
Fonte: Autoria própria.

Anexo 70: Espectro de RMN ^{13}C do composto **39** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



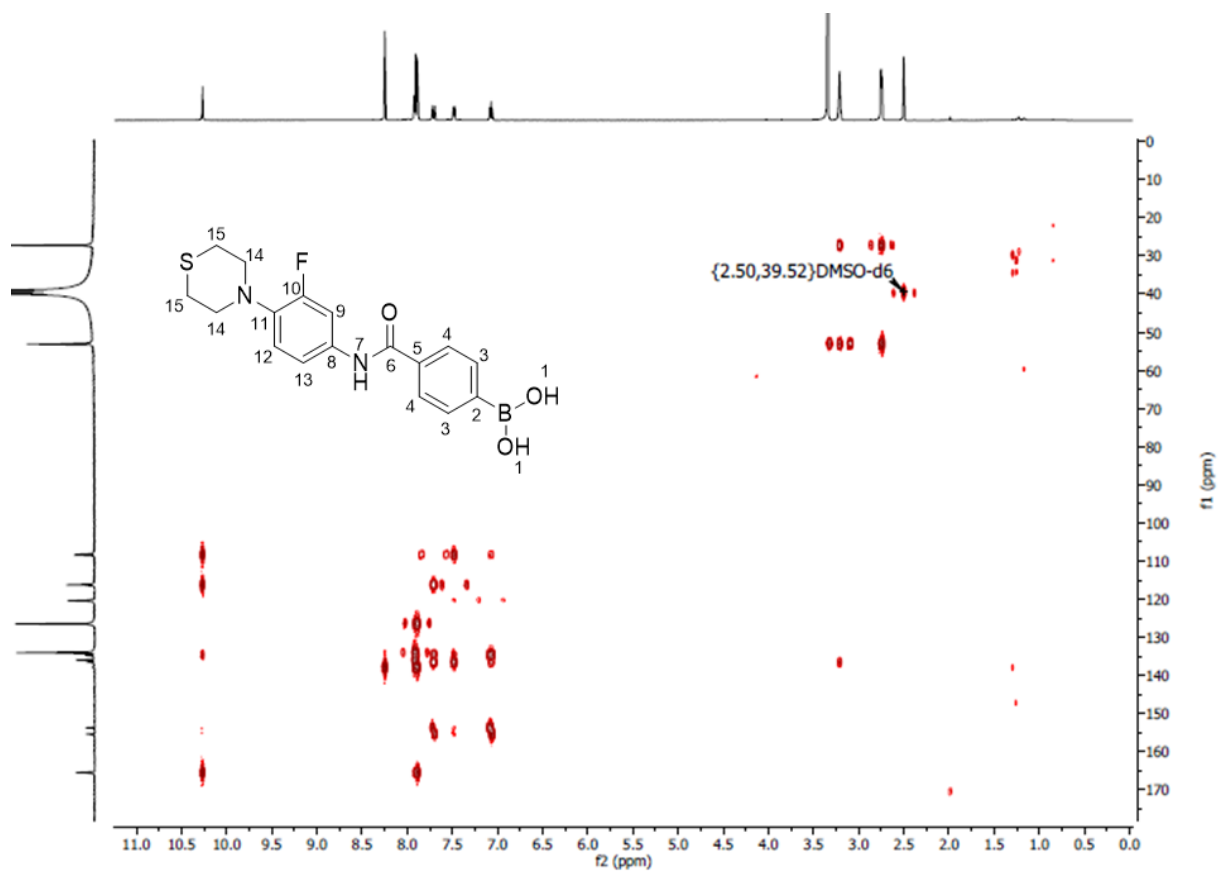
Fonte: Autoria própria.

Anexo 71: Espectro de RMN HSQC do composto **39** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



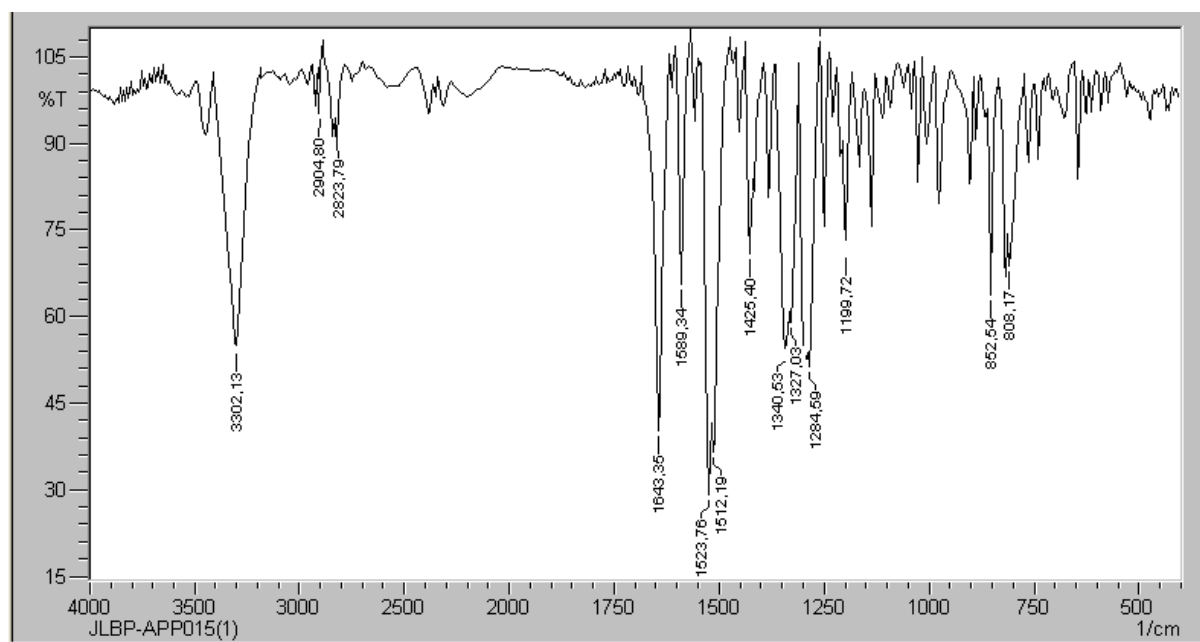
Fonte: Autoria própria.

Anexo 72: Espectro de RMN HMBC do composto **39** (600 MHz, DMSO- d_6).

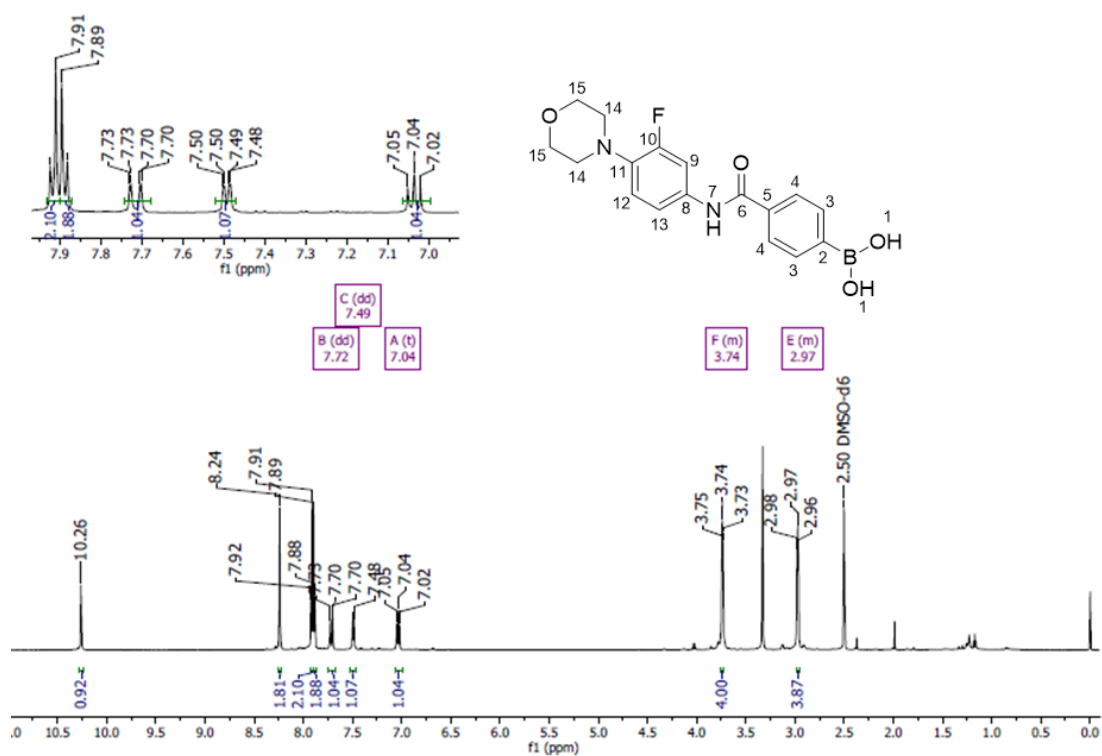


Fonte: Autoria própria.

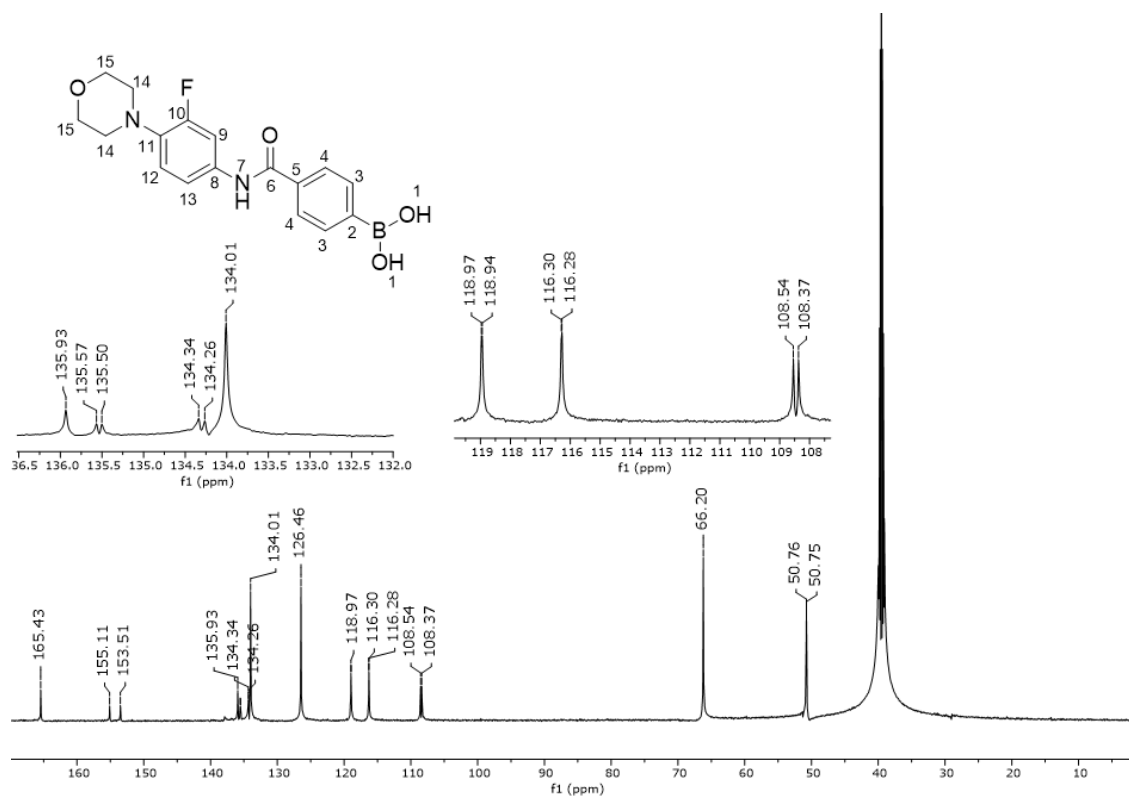
Anexo 73: Espectro na região o IV do composto **39**.



Fonte: Autoria própria.

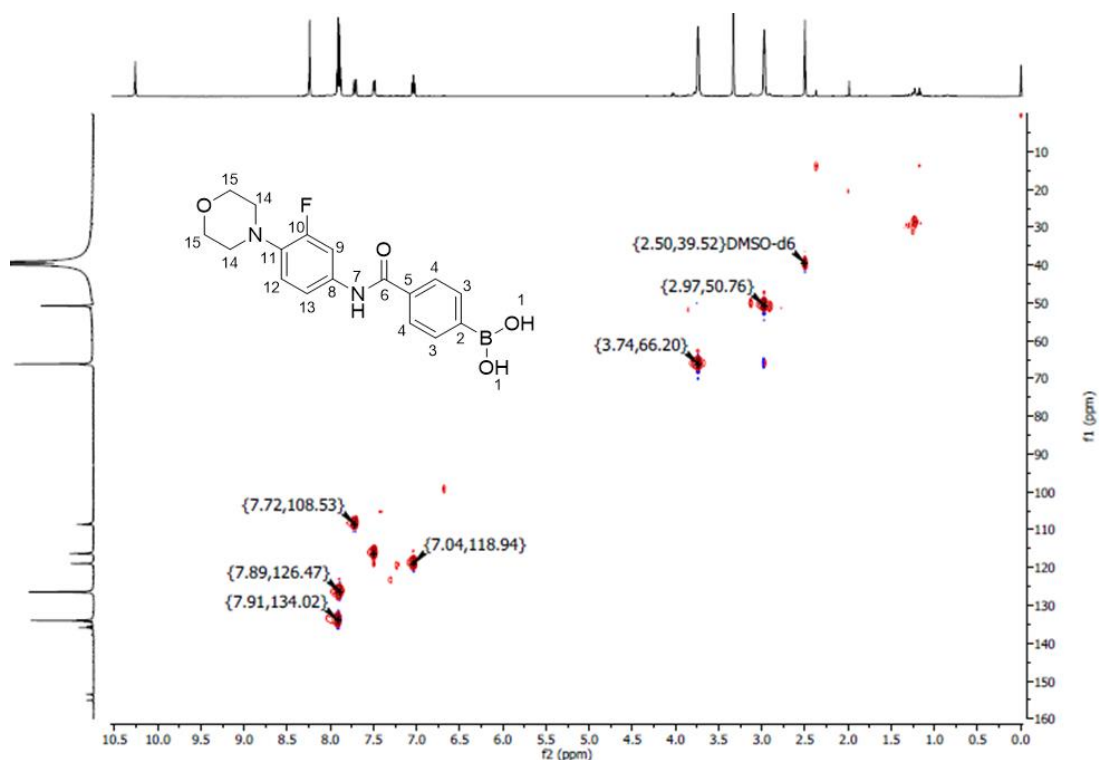
Anexo 74: Espectro de RMN ^1H do composto **40** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

Fonte: Autoria própria.

Anexo 75: Espectro de RMN ^{13}C do composto **40** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

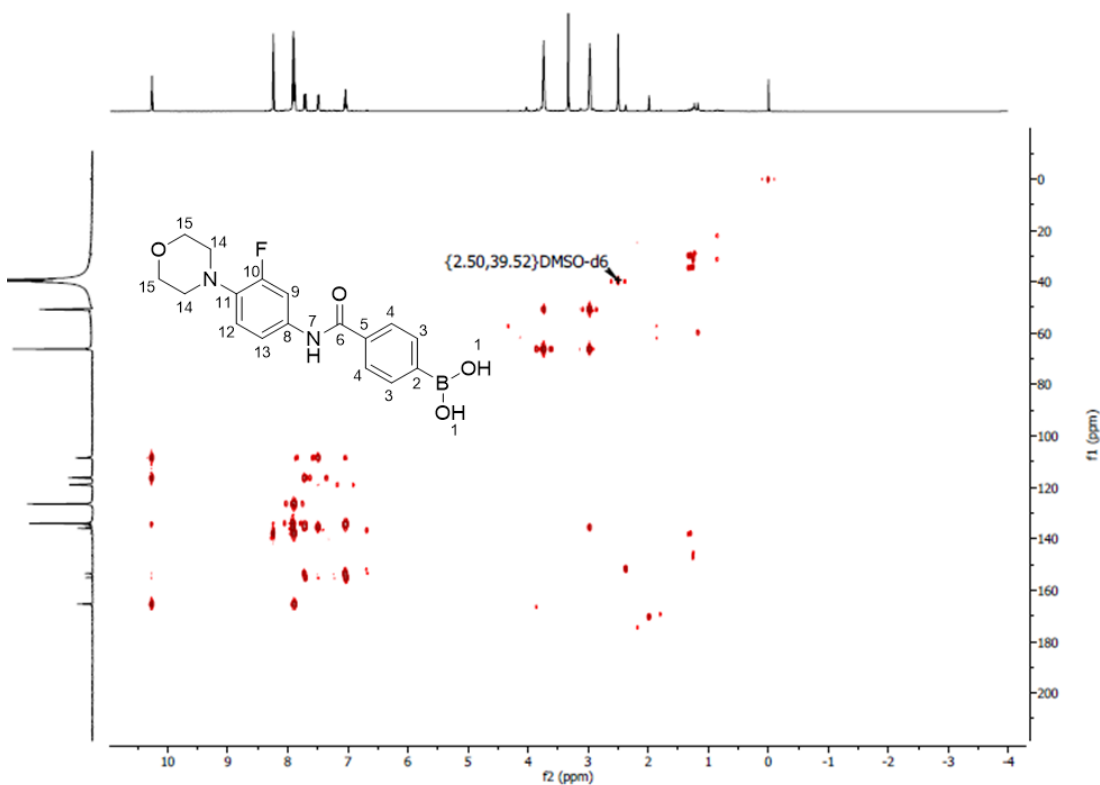
Fonte: Autoria própria.

Anexo 76: Espectro de RMN HSQC do composto **40** (600 MHz, DMSO- d_6).

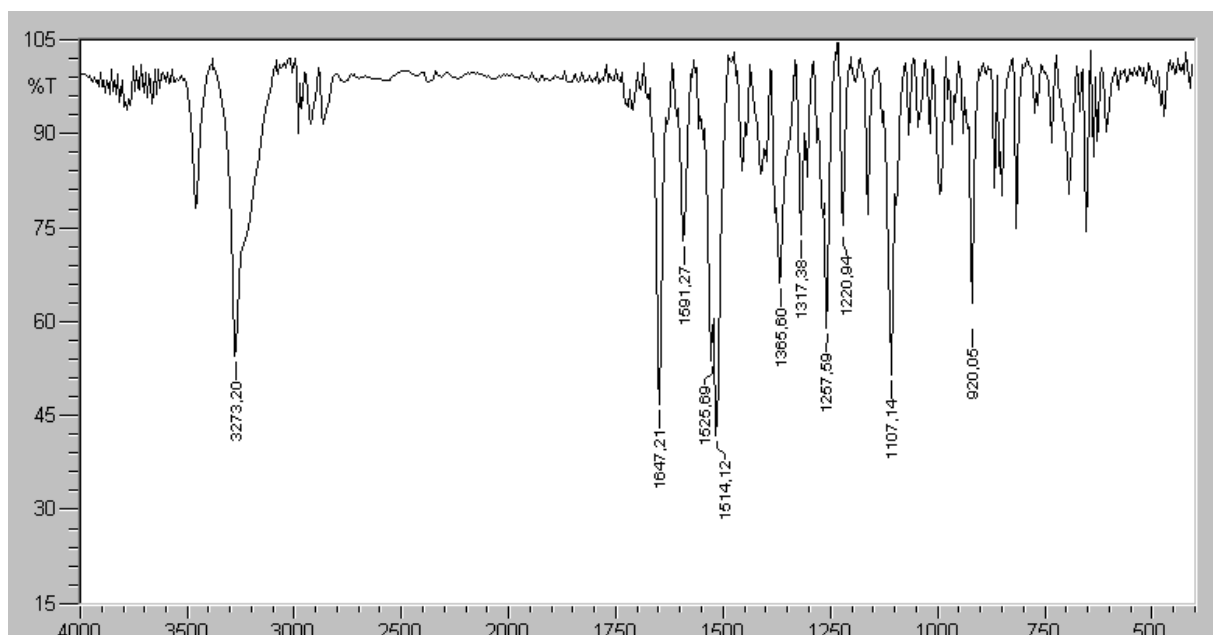


Fonte: Autoria própria.

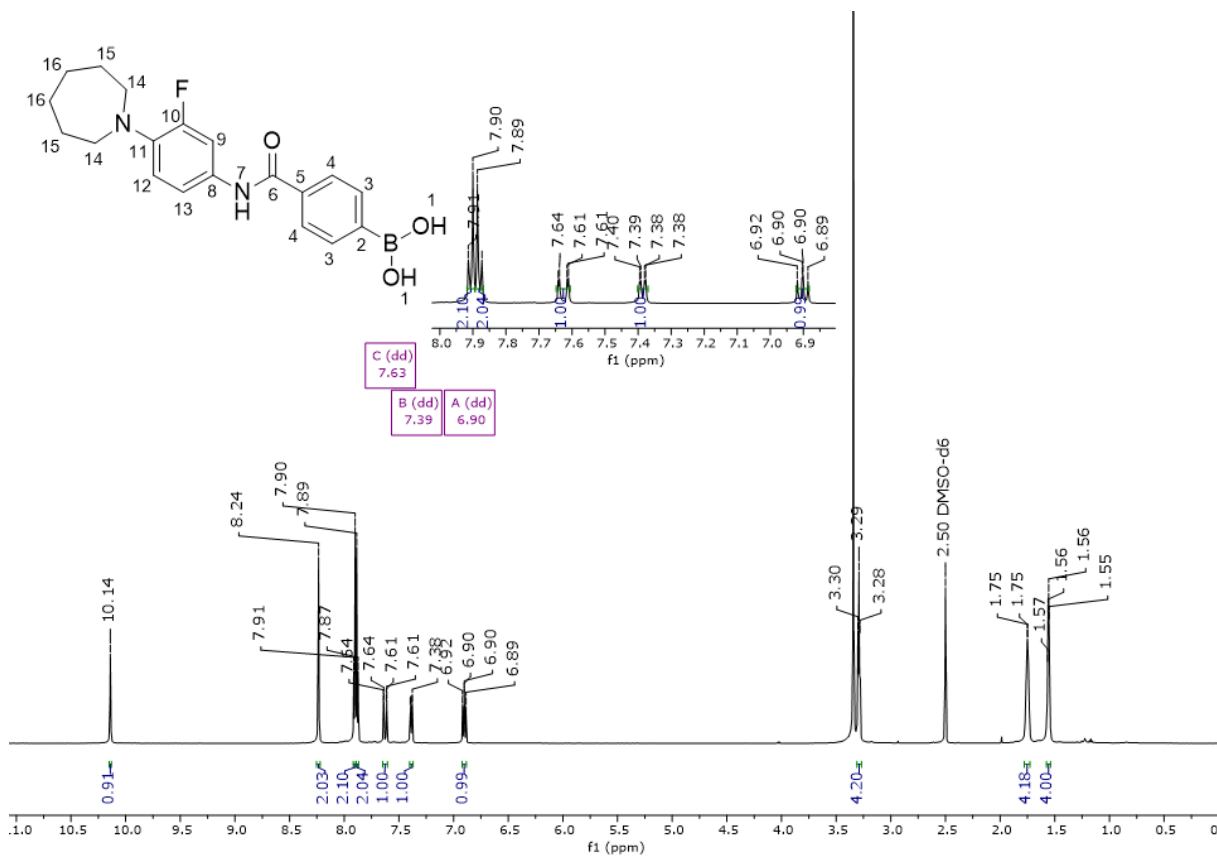
Anexo 77: Espectro de RMN HMBC do composto **40** (600 MHz, DMSO- d_6).



Fonte: Autoria própria.

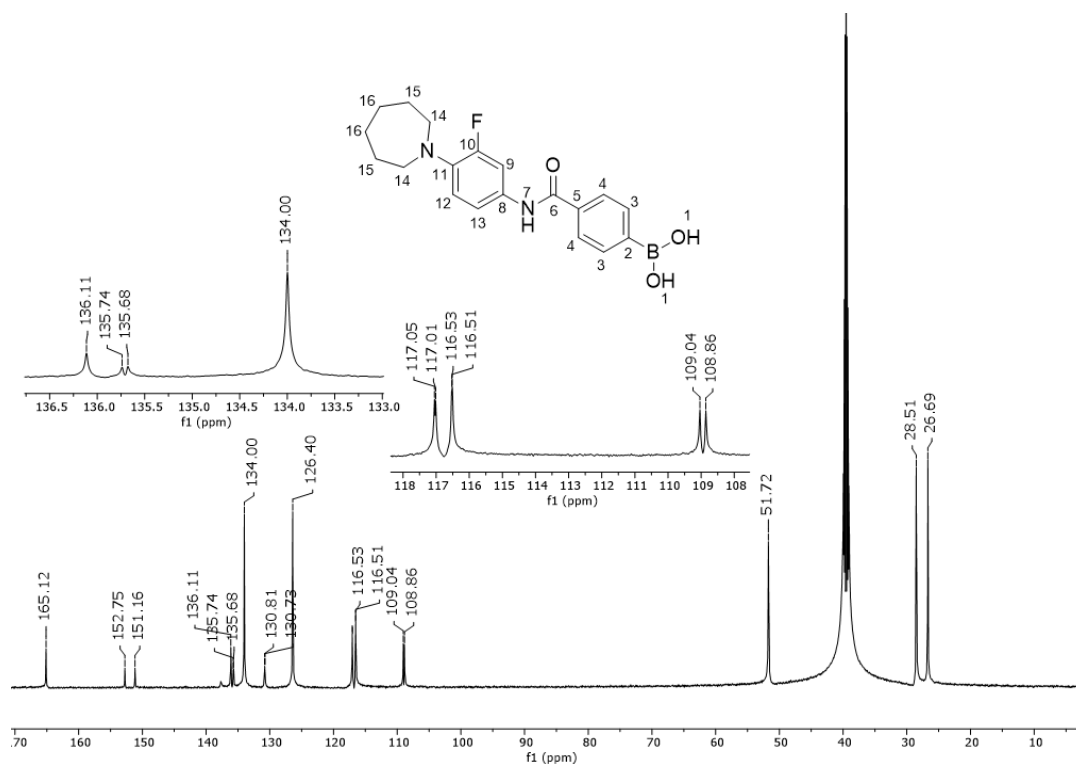
Anexo 78: Espectro na região o IV do composto **40**.

Fonte: Autoria própria.

Anexo 79: Espectro de RMN ^1H do composto **41** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

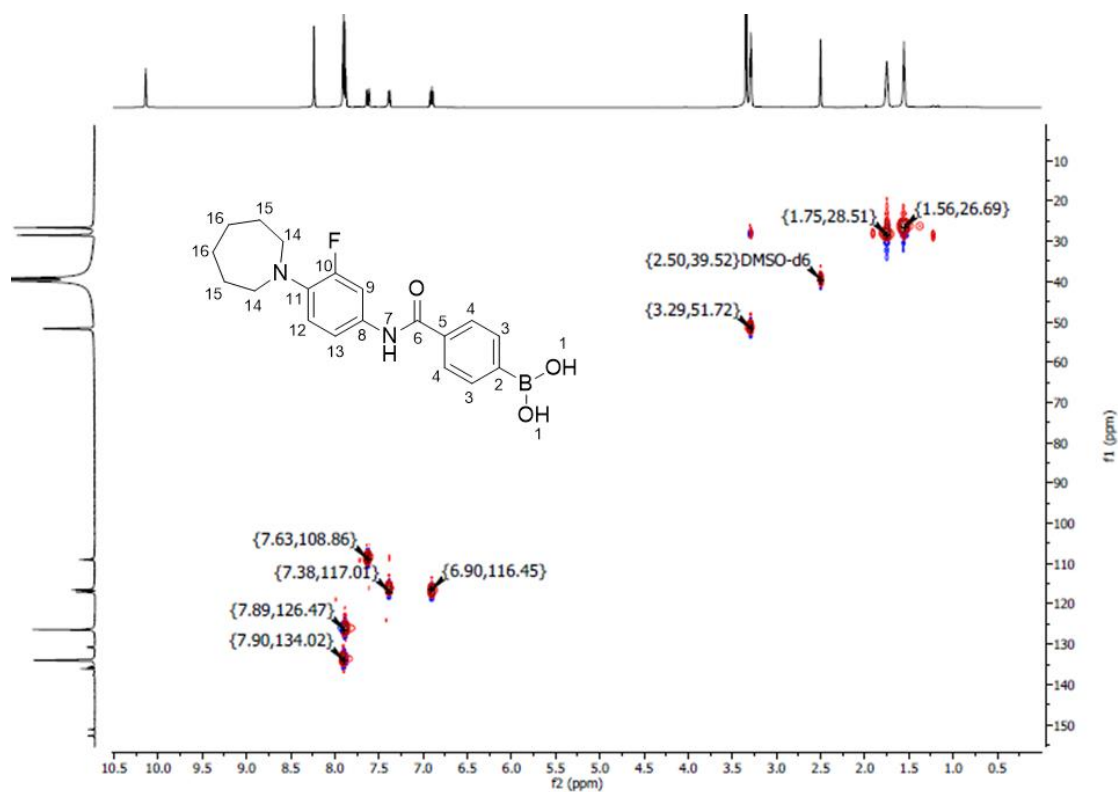
Fonte: Autoria própria.

Anexo 80: Espectro de RMN ^{13}C do composto **41** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



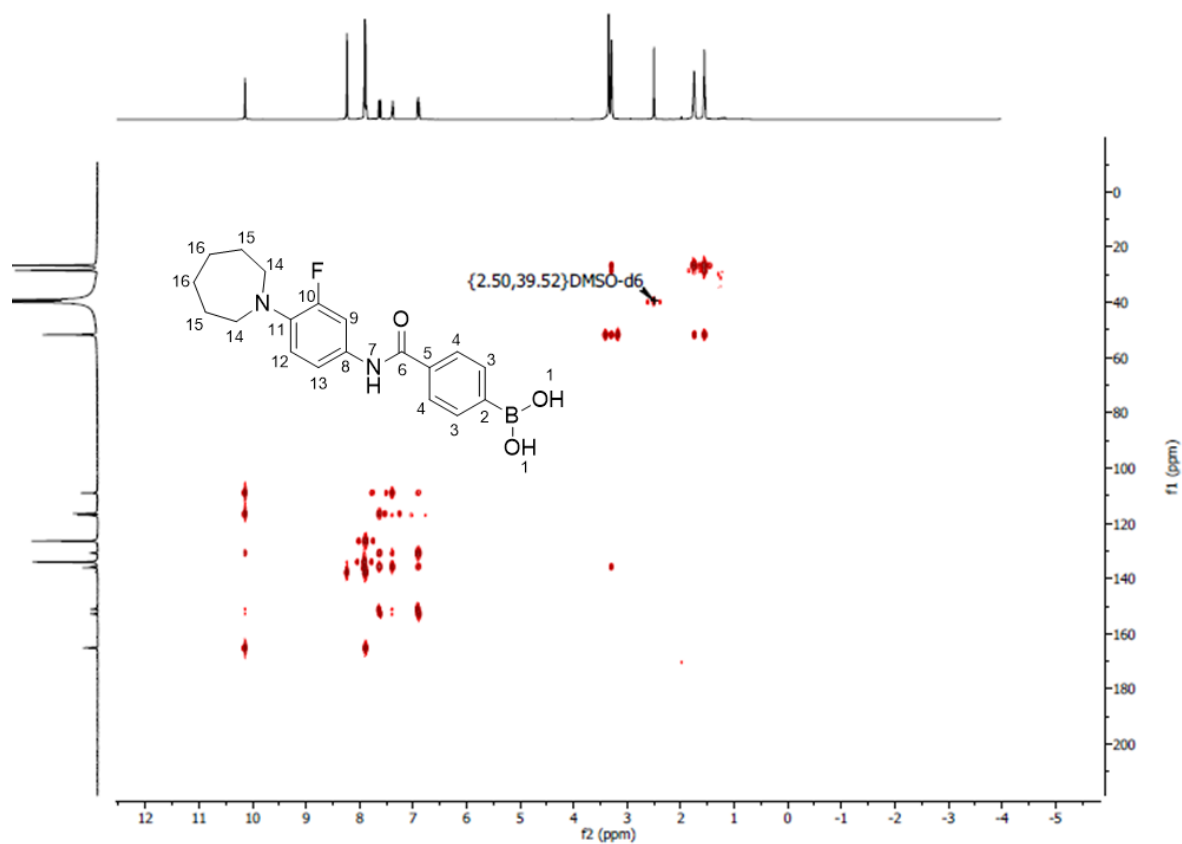
Fonte: Autoria própria.

Anexo 81: Espectro de RMN HSQC do composto **41** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



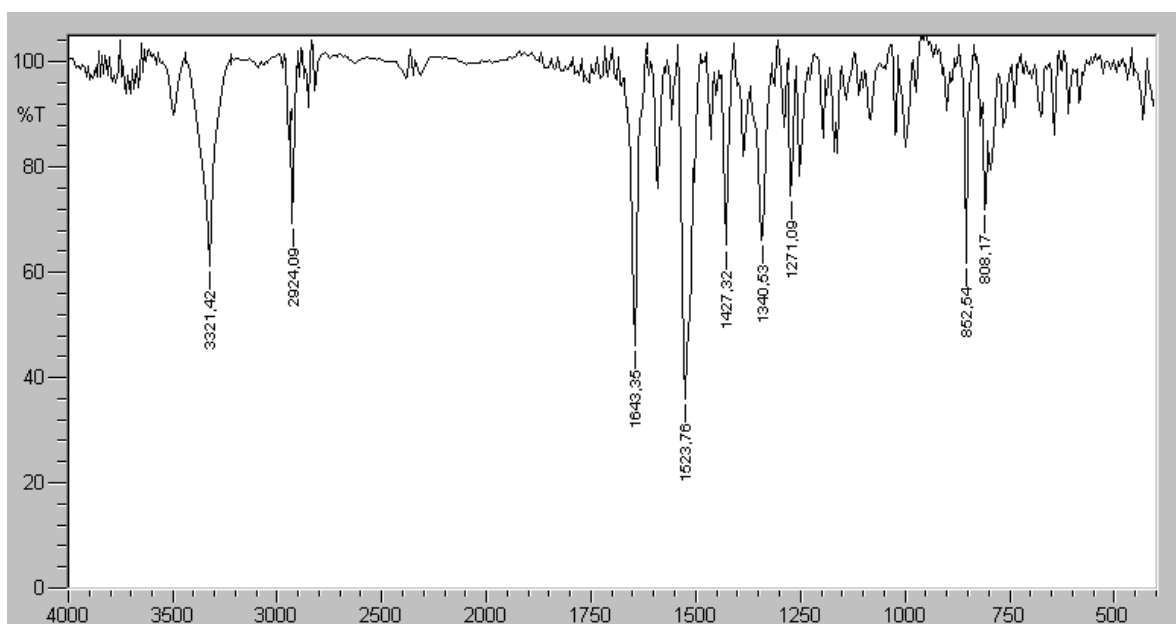
Fonte: Autoria própria.

Anexo 82: Espectro de RMN HMBC do composto **41** (600 MHz, DMSO- d_6).

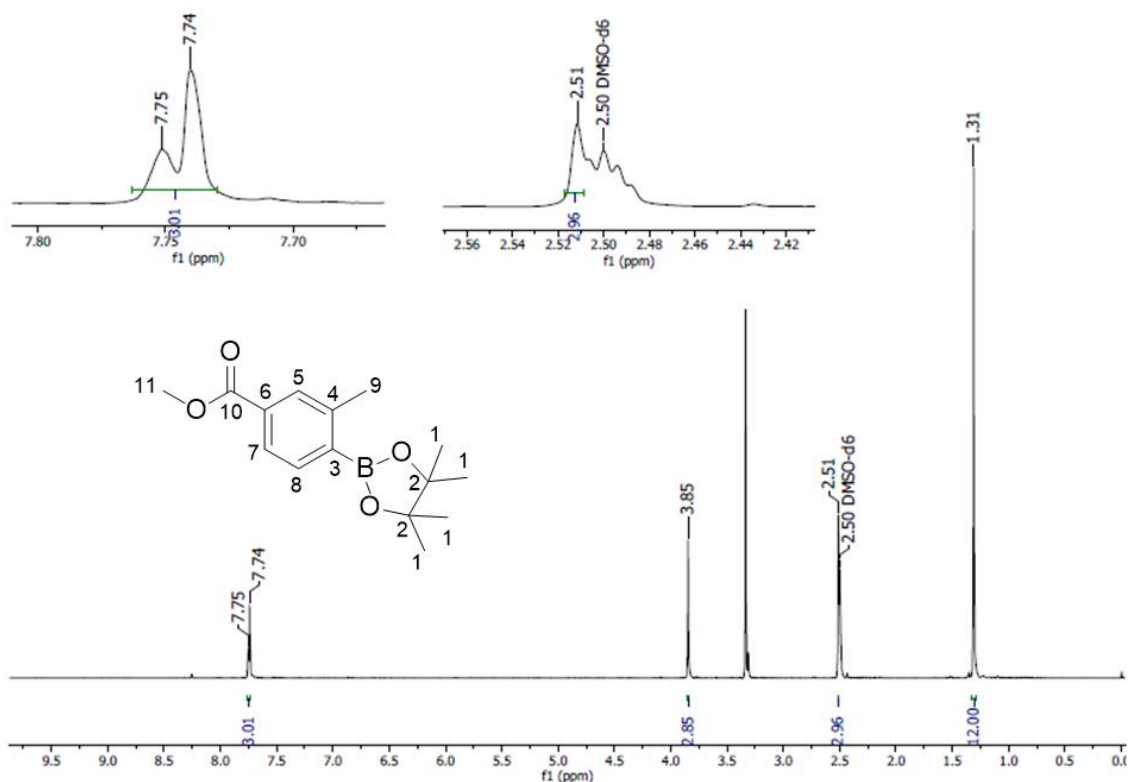


Fonte: Autoria própria.

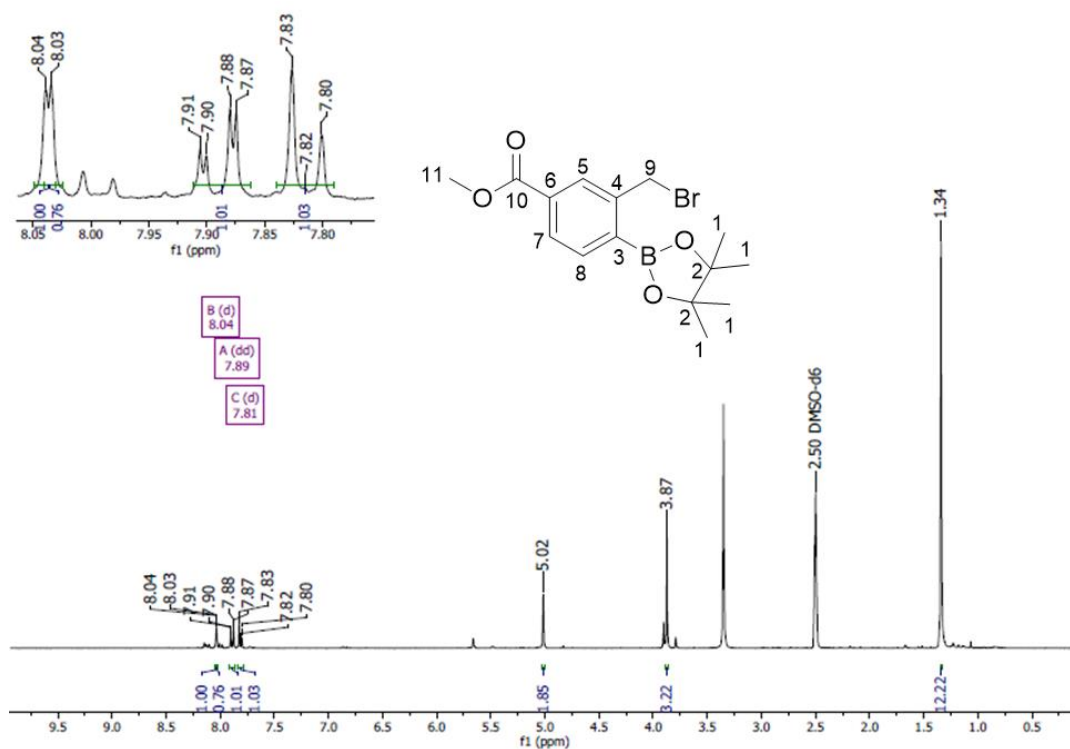
Anexo 83: Espectro na região o IV do composto **41**.



Fonte: Autoria própria.

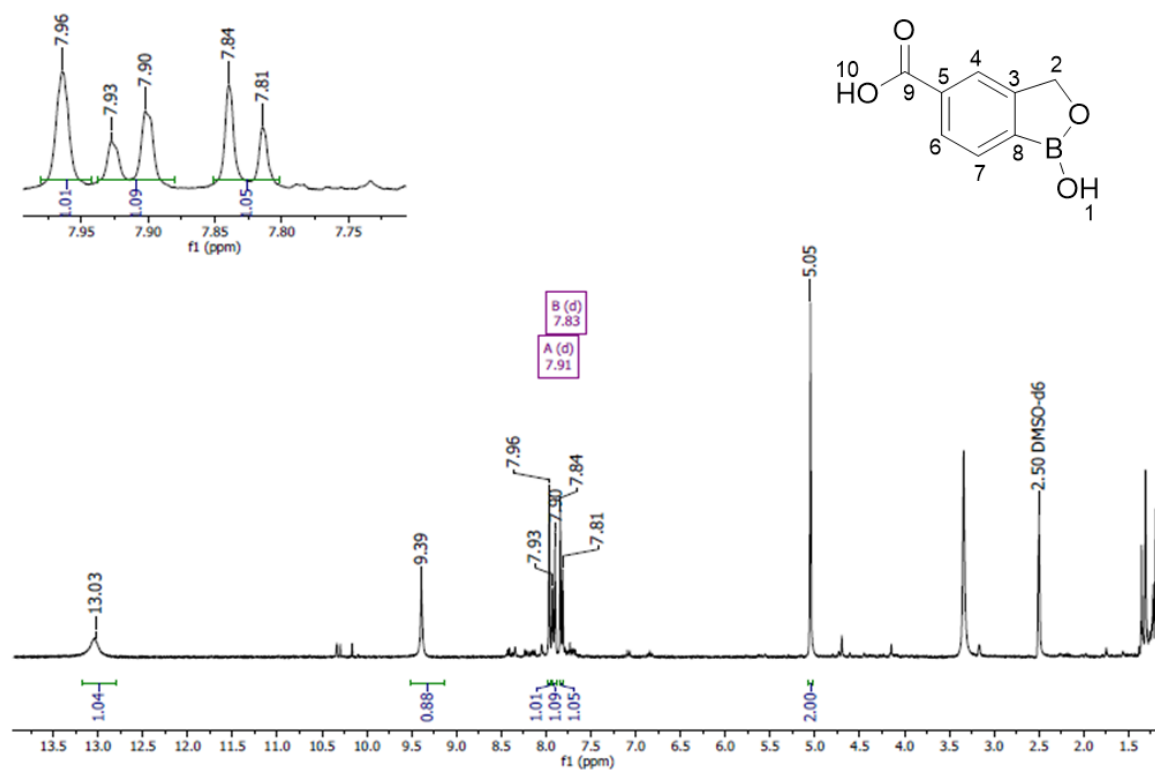
Anexo 84: Espectro de RMN ^1H do composto **42** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

Fonte: Autoria própria.

Anexo 85: Espectro de RMN ^1H do composto **43** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

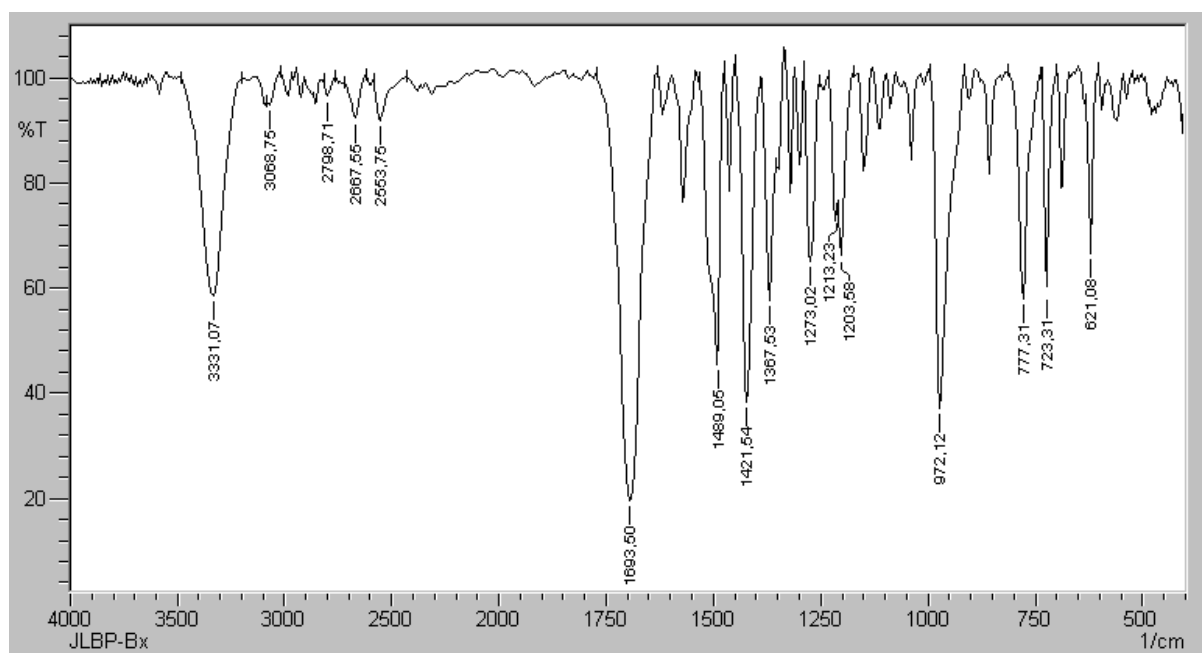
Fonte: Autoria própria.

Anexo 86: Espectro de RMN ^1H do composto **44** (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

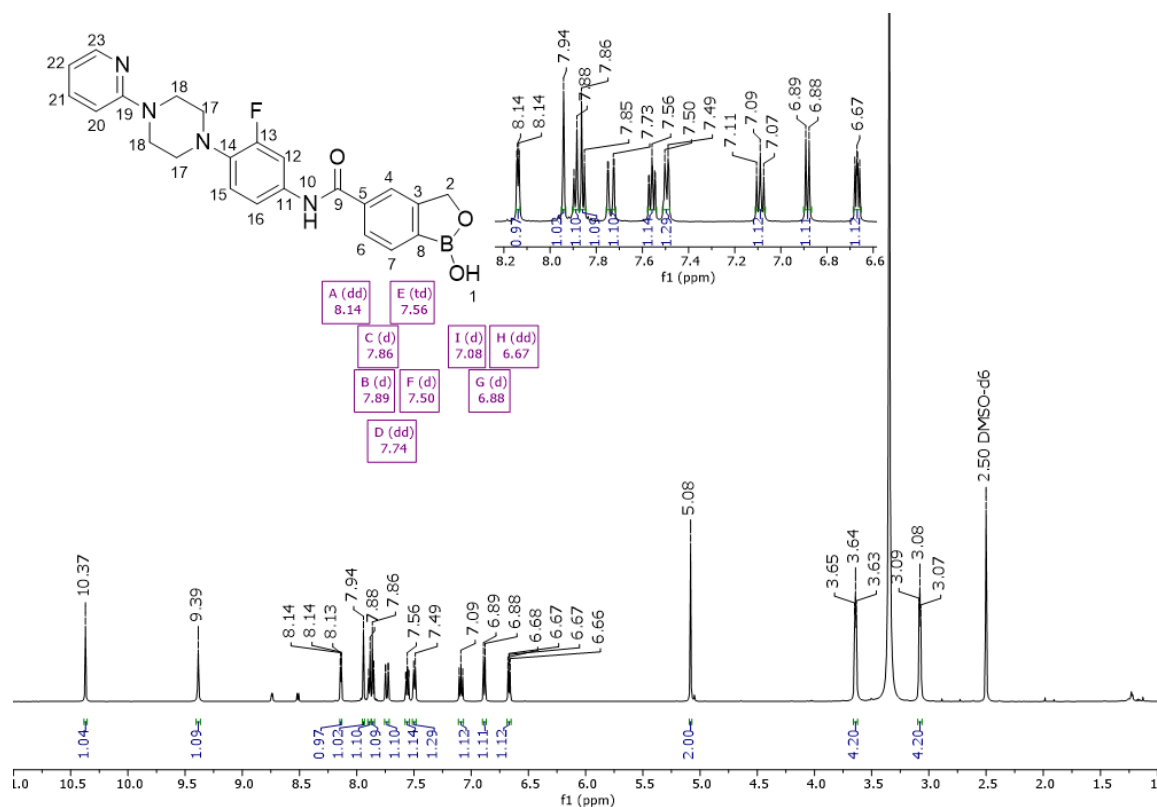


Fonte: Autoria própria.

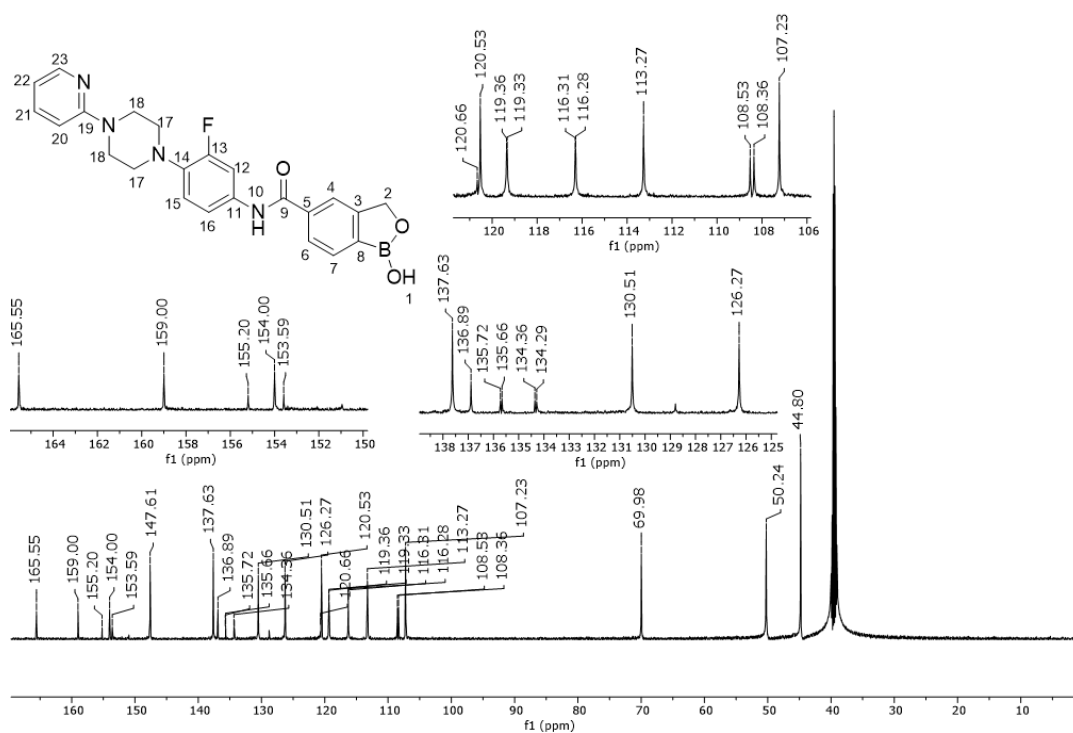
Anexo 87: Espectro na região o IV do composto **44**.



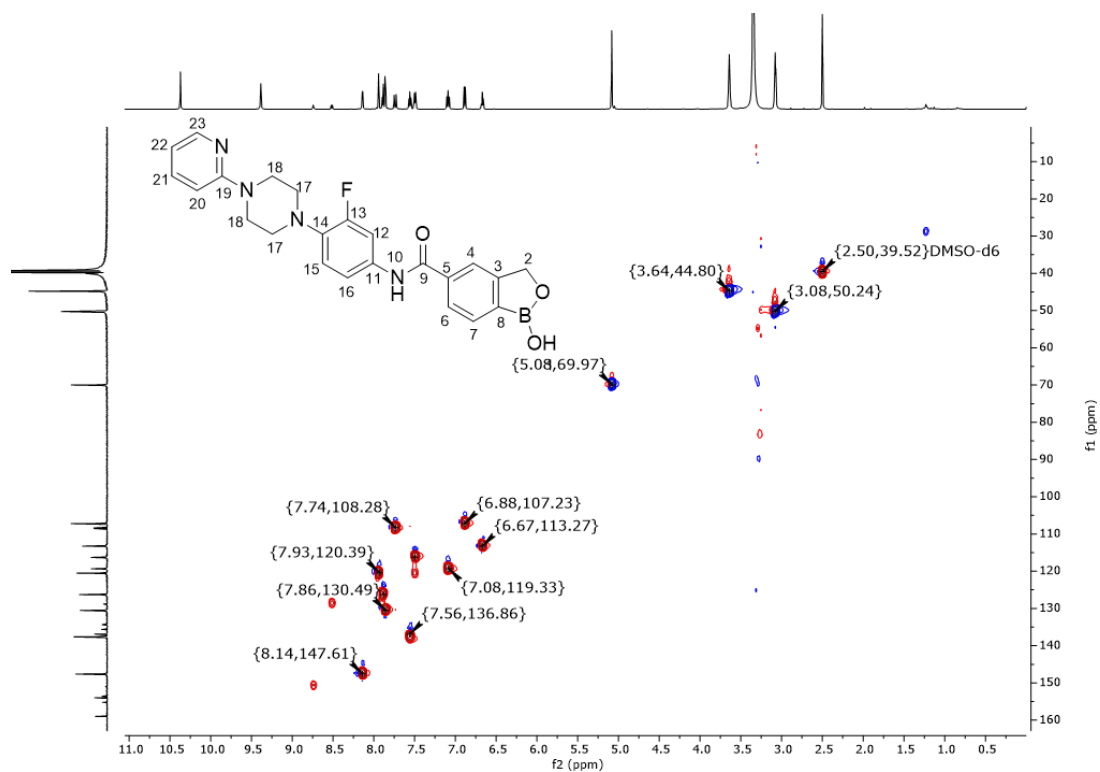
Fonte: Autoria própria.

Anexo 88: Espectro de RMN ^1H do composto **45** (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

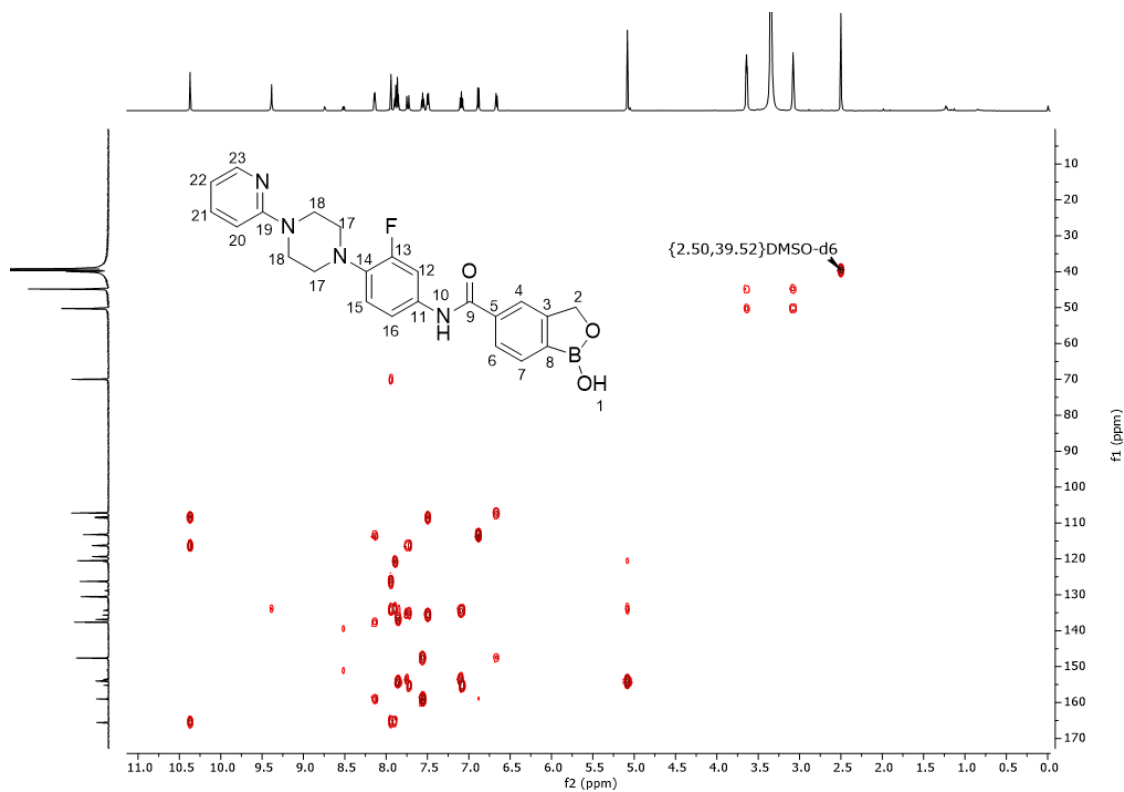
Fonte: Autoria própria.

Anexo 89: Espectro de RMN ^{13}C do composto **45** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).

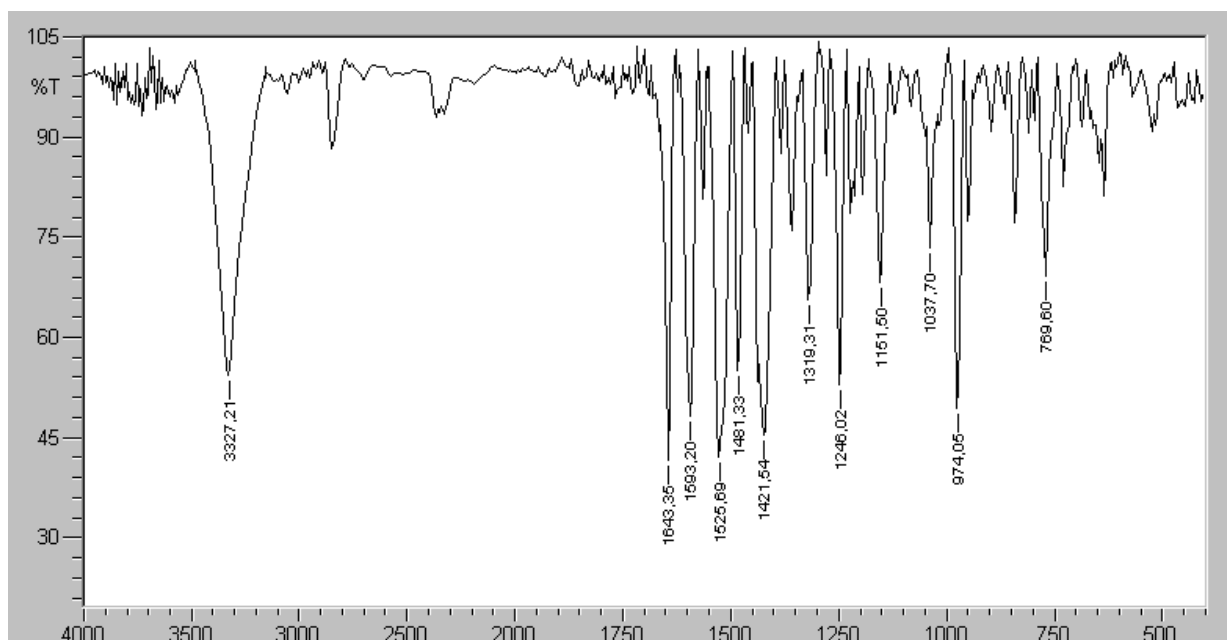
Fonte: Autoria própria.

Anexo 90: Espectro de RMN HSQC do composto **45** (600 MHz, DMSO- d_6).

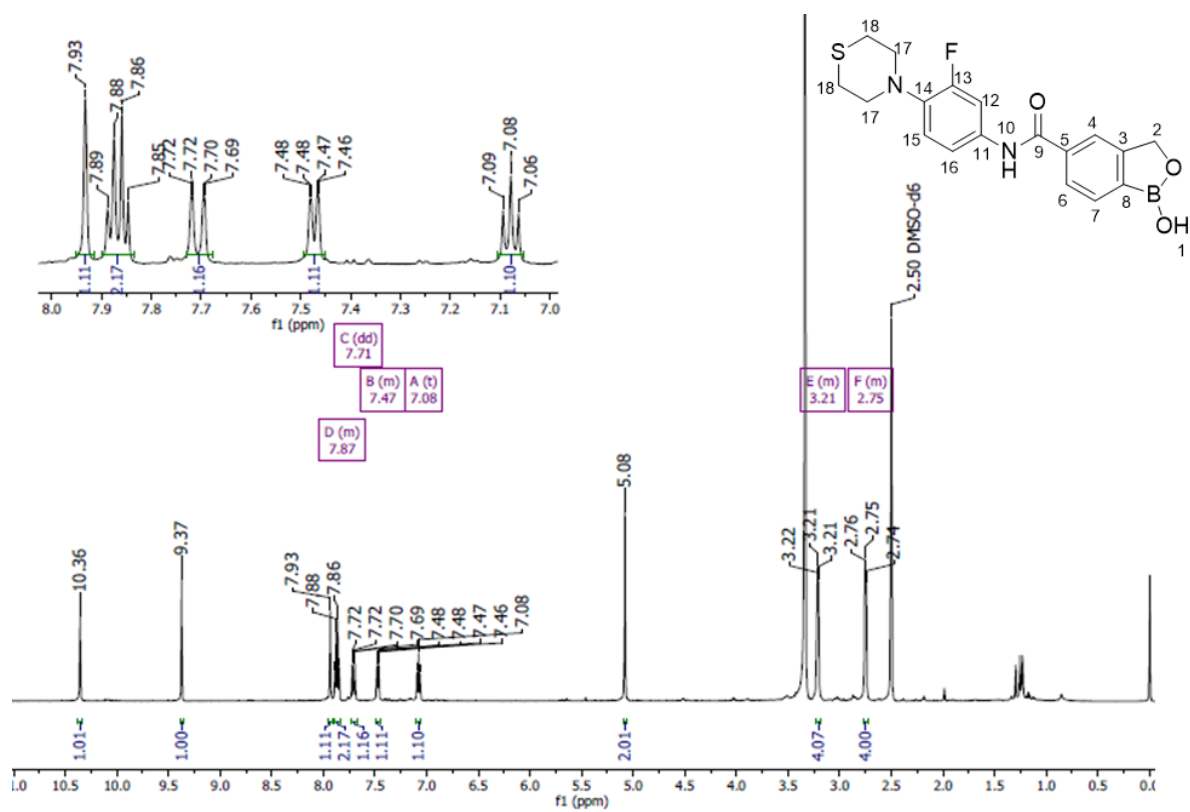
Fonte: Autoria própria.

Anexo 91: Espectro de RMN HMBC do composto **45** (600 MHz, DMSO- d_6).

Fonte: Autoria própria.

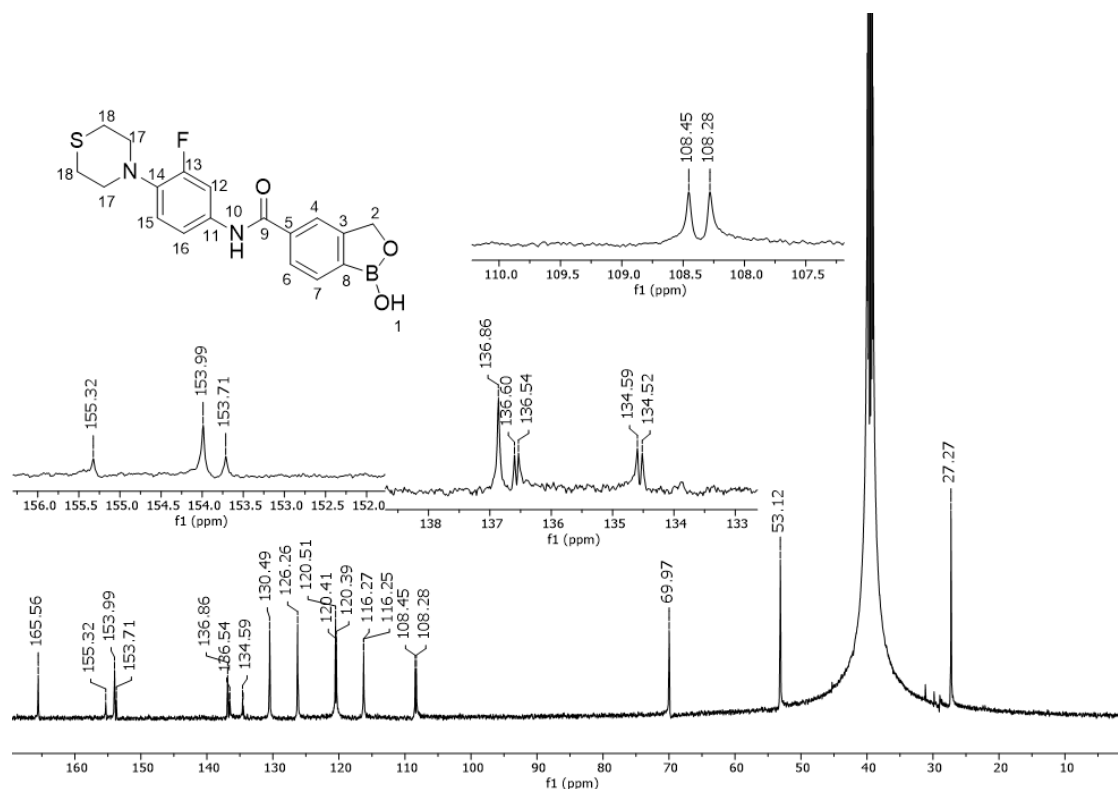
Anexo 92: Espectro na região o IV do composto **45**.

Fonte: Autoria própria.

Anexo 93: Espectro de RMN ^1H do composto **46** (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

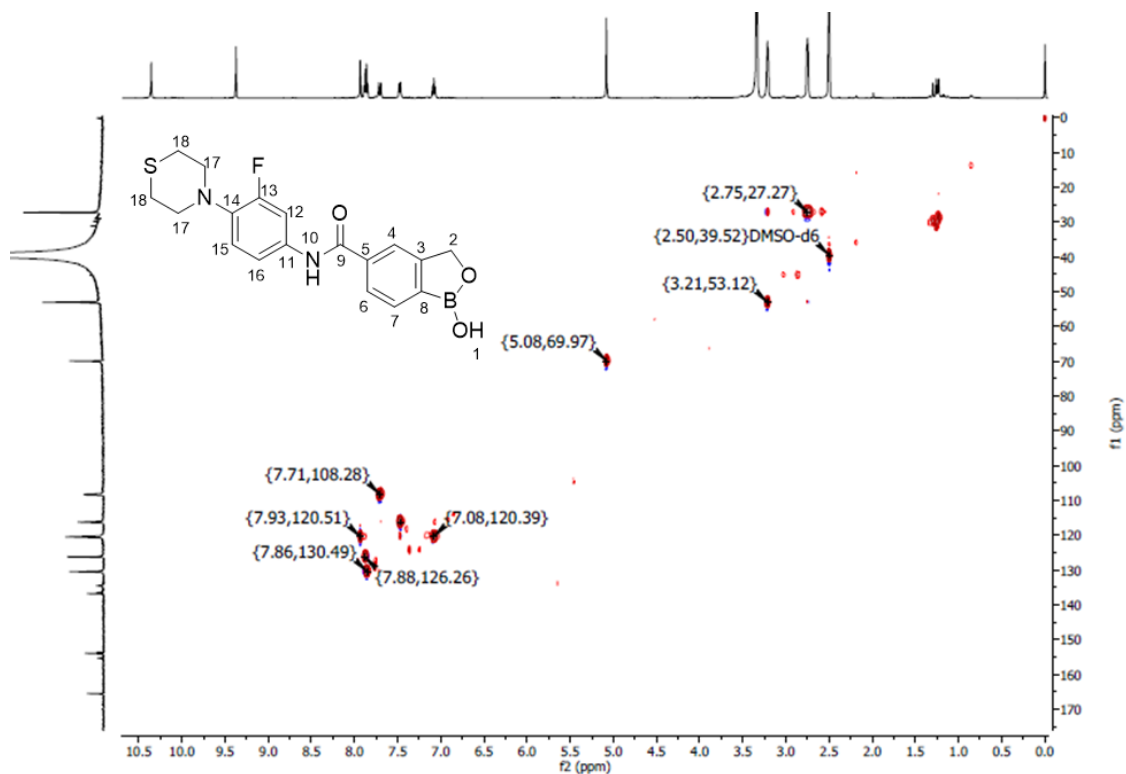
Fonte: Autoria própria.

Anexo 94: Espectro de RMN ^{13}C do composto **46** (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



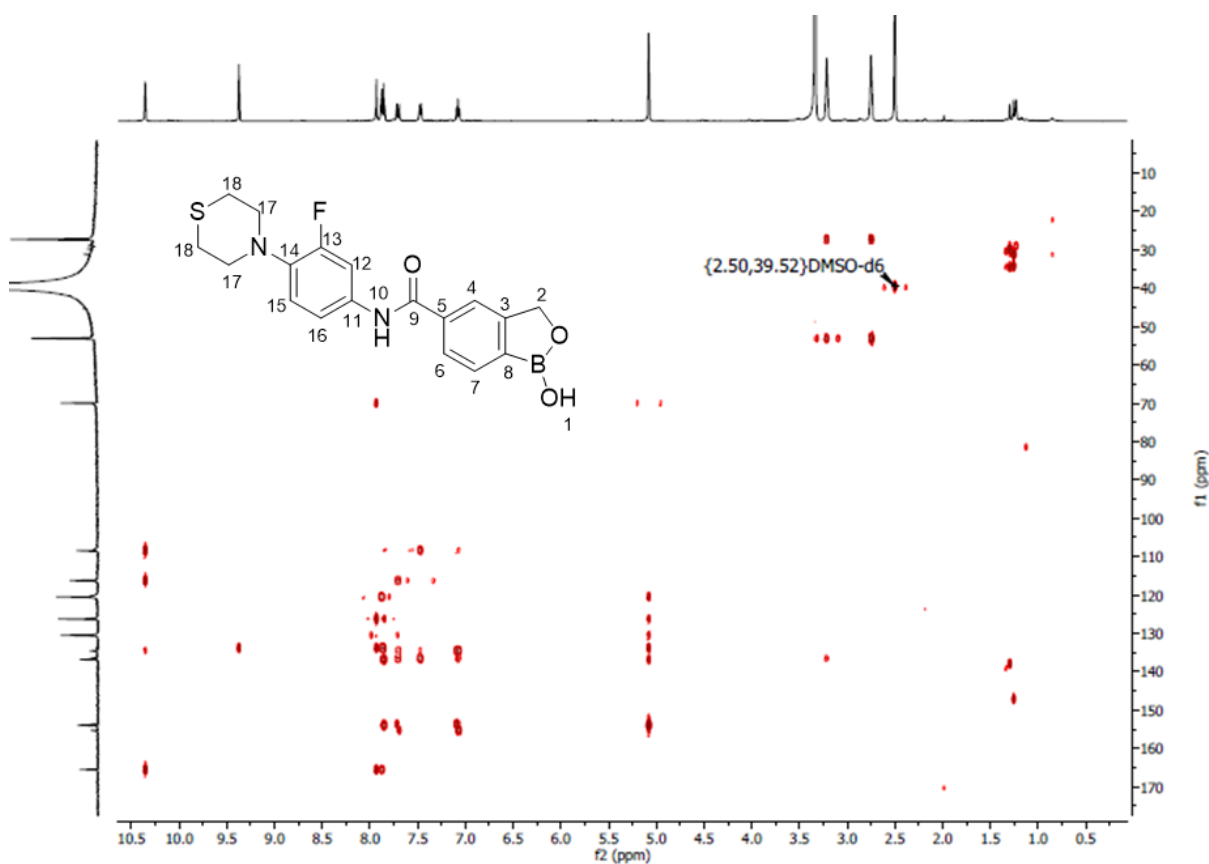
Fonte: Autoria própria.

Anexo 95: Espectro de RMN HSQC do composto **46** (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



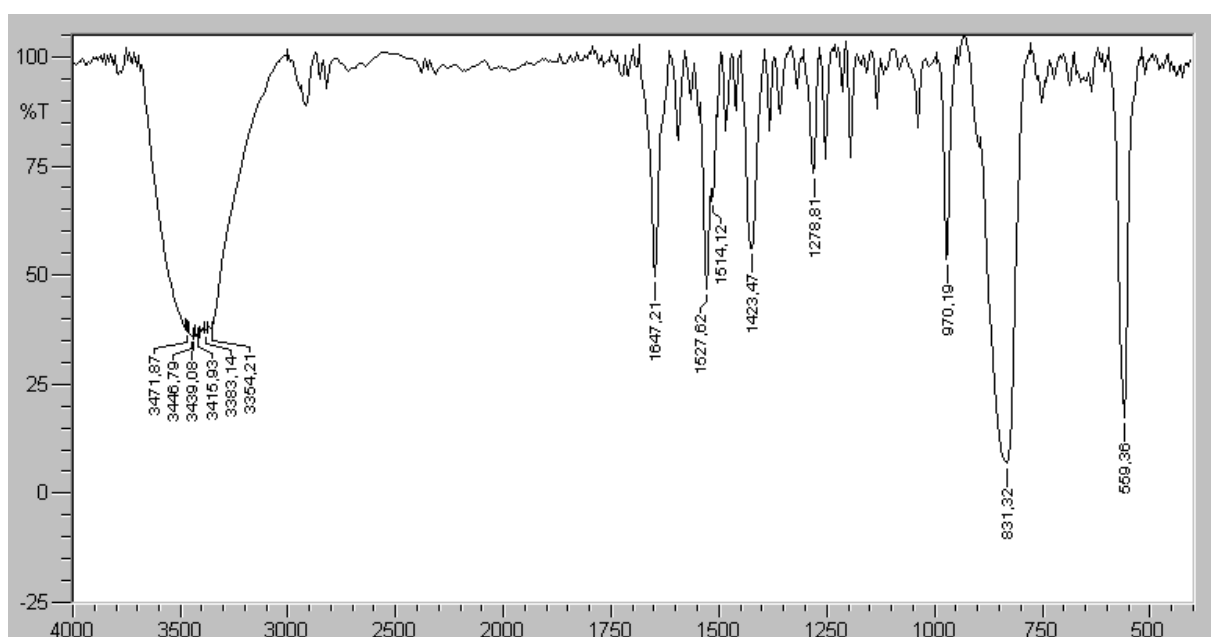
Fonte: Autoria própria.

Anexo 96: Espectro de RMN HMBC do composto **46** (150 MHz, DMSO- d_6).



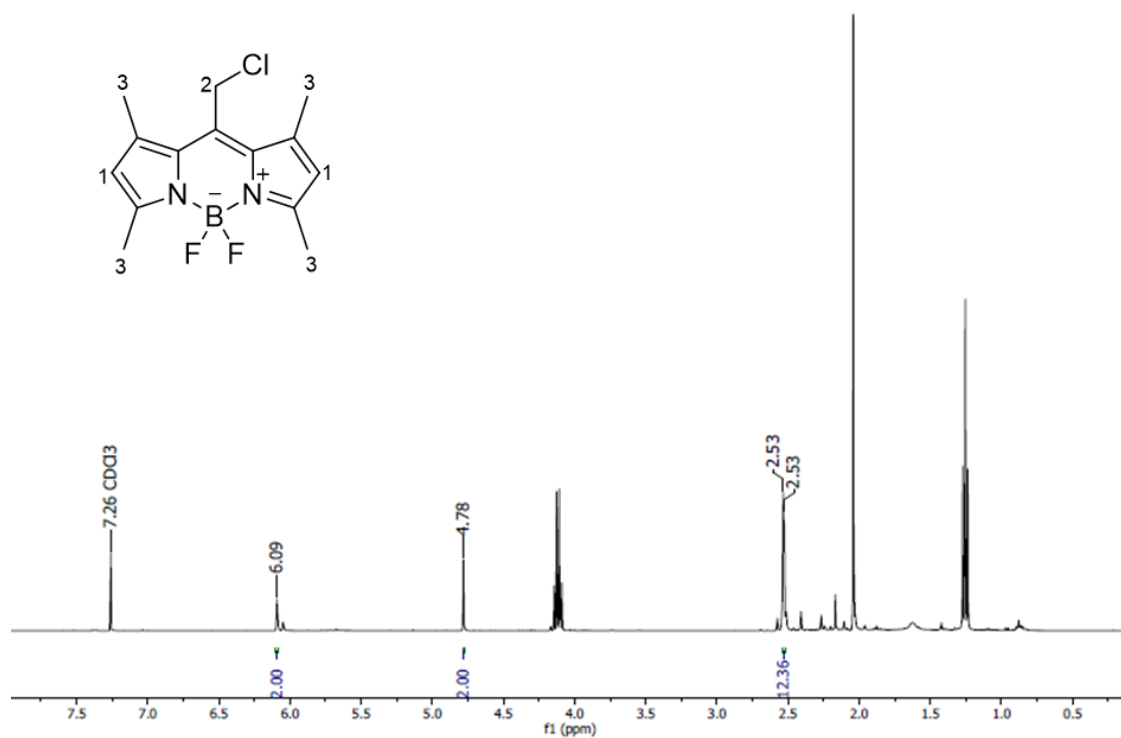
Fonte: Autoria própria.

Anexo 97: Espectro na região o IV do composto **46**.



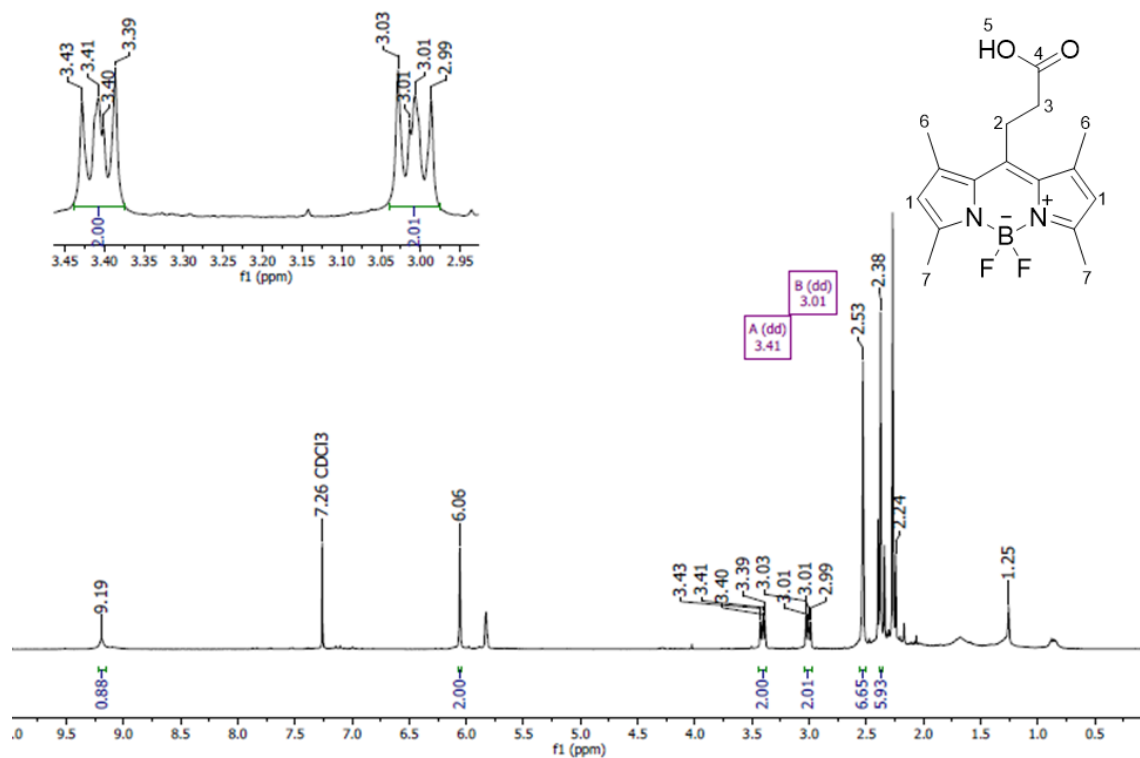
Fonte: Autoria própria.

Anexo 98: Espectro de RMN ^1H do composto **BODIPY 47** (300 MHz, Clorofórmio- d).



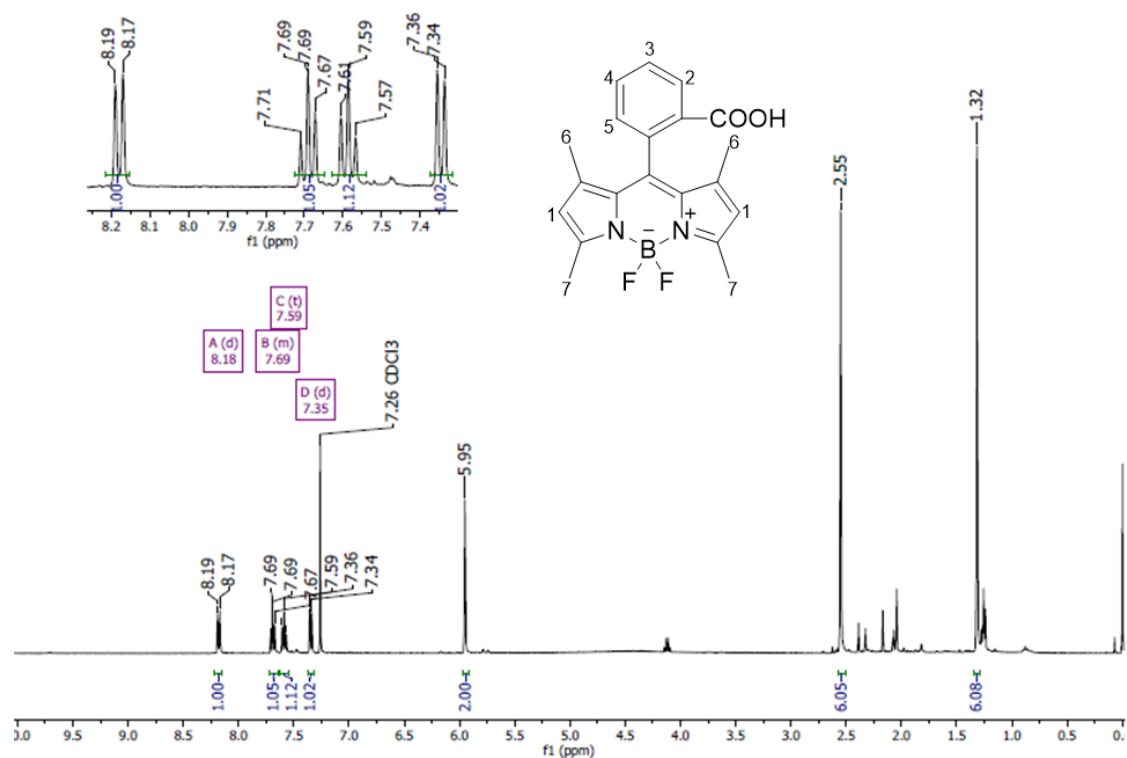
Fonte: Autoria própria.

Anexo 99: Espectro de RMN ^1H do composto **BODIPY 48** (300 MHz, Clorofórmio- d).



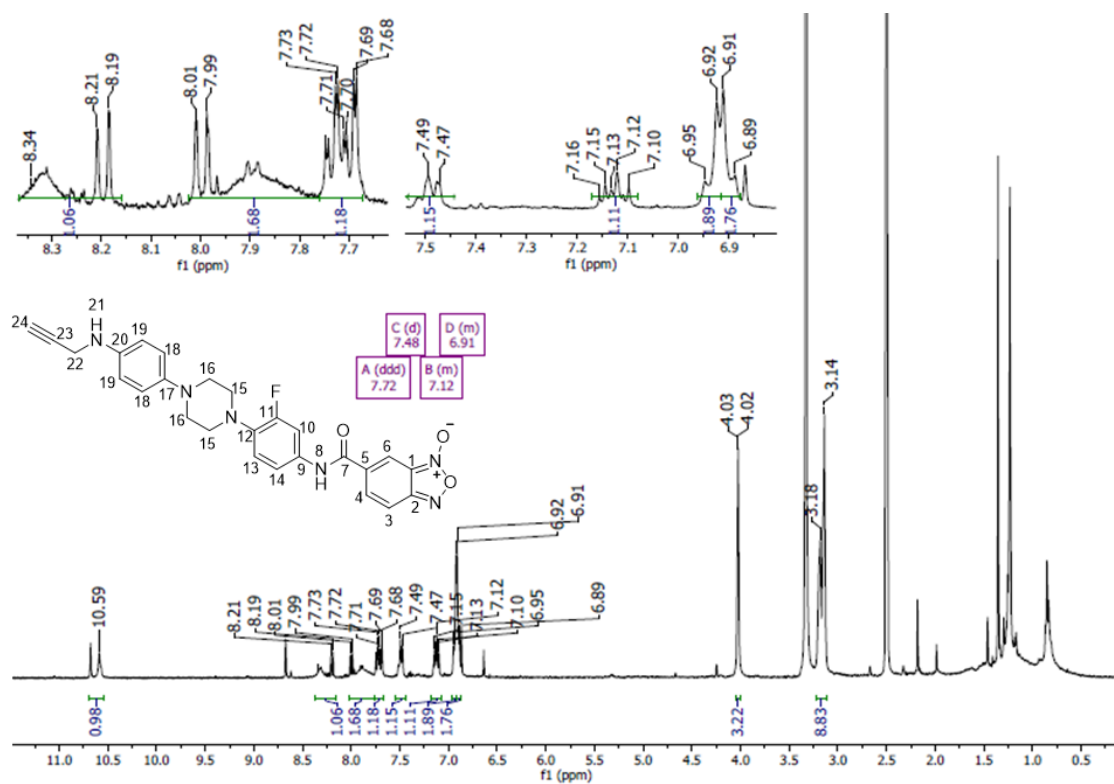
Fonte: Autoria própria.

Anexo 100: Espectro de RMN ^1H do composto **BODIPY 49** (300 MHz, Clorofórmio- d).



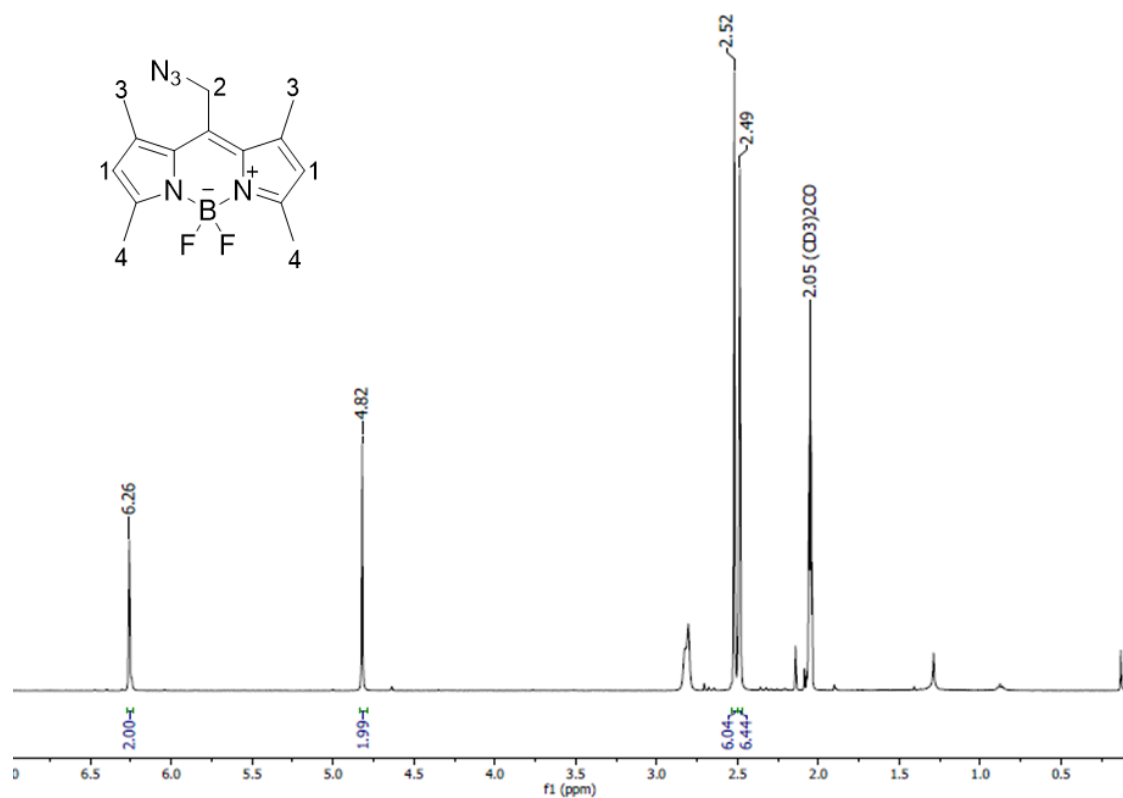
Fonte: Autoria própria.

Anexo 101: Espectro de RMN ^1H do composto **50** (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$).



Fonte: Autoria própria.

Anexo 102: Espectro de RMN ^1H do composto **51** (300 MHz, Acetona- d_6).



Fonte: Autoria própria.