

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

ANDRÉ VICTOR PEREIRA

Aprimoramento de Quimioteca de substâncias bioativas candidatas a fármacos por meio do uso de estratégias de Prospecção Tecnológica.

ALFENAS/MG

2019

ANDRÉ VICTOR PEREIRA

Aprimoramento de quimioteca de substâncias bioativas candidatas a fármacos por meio do uso de estratégias de prospecção tecnológica.

Defesa de dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas,
no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Universidade Federal de Alfenas
Area de Concentração: Química Medicinal
Mestrando: André Victor Pereira
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marcia Paranho Veloso (UNIFAL-MG)
Coorientador: Prof. Dr. Eliezer J. Barreiro (UFRJ)

ALFENAS – MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

Pereira, André Victor.

P436a Aprimoramento de quimioteca de substâncias bioativas candidatas a fármacos por meio do uso de estratégias de prospecção tecnológica / André Victor Pereira – Alfenas/MG, 2019.

81 f.: il. –

Orientadora: Marcia Paranho Veloso.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, 2019.

Bibliografia.

1. Propriedade Intelectual de Produtos e Processos Farmacêuticos. 2. Compostos bioativos. 3. Química Farmacêutica. I. Veloso, Marcia Paranho. II. Título.

CDD-615.19

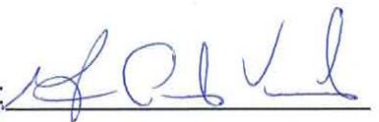
ANDRÉ VICTOR PEREIRA

**“APRIMORAMENTO DE QUIMIOTECA DE SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS
CANDIDATAS A FÁRMACOS POR MEIO DO USO DE ESTRATÉGIAS DE
PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA”**

A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovado em: 24/05/2019

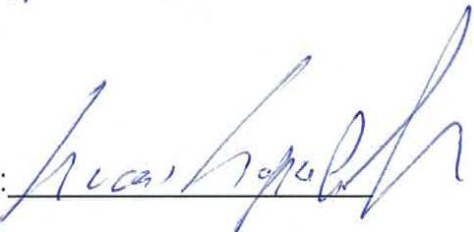
Profa. Dra. Márcia Paranho Veloso
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Denilson Ferreira de Oliveira
Instituição: UFLA

Assinatura: 

Prof. Dr. Lucas Lopardi Franco
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

A professora Marcia Paranho Veloso, pela orientação, pelos ensinamentos e conselhos, por ter dado sempre a oportunidade de aprender em desde o início como aluno de iniciação científica e principalmente pela amizade.

Ao professor Eliezer J. Barreiro, pela orientação, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pela oportunidade de aprender, experiência única e essencial para o meu amadurecimento profissional e pessoal.

Aos professores do LASSBio®, Carlos Alberto Manssour Fraga, Lídia Moreira Lima, Carlos Maurício R. Sant'Anna, pelos ensinamentos, críticas e sugestões.

Aos amigos do LASSBio®, Daniel Alencar, Daniela Rodrigues, Diego Nunes, Fernanda Sagrillo, Gisele Barbosa, Harold Fokoue, Heber Victor, Isabel Porto, Júlia Galvez, Lorrane Chaves, Lucas Silva Franco, Luis Eduardo Gamba, Luis Gabriel Valdivieso, Pedro de Sena, Rodolfo do Couto Maia, Thayssa Tavares, Victor Ropke, pela amizade, sugestões, críticas e ajudas.

Aos amigos que fiz no Rio de Janeiro, Jéssica Santos, Samuel Horita, Bárbara Mascarenhas, Lucas C. A. Bezerra, Ayrton Breder, Josiane Sabbadini, Jorge Tributino, Patricia Lima, por todo apoio durante minha estadia.

Aos amigos da I9UNIFAL, Sheyla e Natália Assunção, pela amizade.

Ao amigos do PPGCF, Monalisa Bitencourt, Mariana Azevedo, Matheus Araújo, Carolina Almeida, pela amizade, críticas, ajudas e principalmente pela paciência em suportar meus dramas.

Ao PPGCF, principalmente a Fabiana, por sempre estar me alertando do prazos e pela paciência Já.

Aos meus amigos, Ana Maria Santana Amaral, Fernanda Roseno, Amanda Pessôa, Tatieska de Paula Maia, Gabriel Augusto Pires, Rafael Geonmonond, Sueli Perpétua, Renata Sugai, pela parceria.

E especialmente aos meus pais, Geraldo e Maria, por todos os ensinamentos e apoio.

Muito obrigado a todos!

RESUMO

Uma quimioteca pode ser definida como uma coleção de substâncias que foram bioensaiadas *in vitro* e que estão dispostas em uma base de dados, e organizadas de acordo com vários parâmetros, como, por exemplo, suas propriedades estruturais ou físico-químicas específicas. O Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas – LASSBio[®] possui uma quimioteca de substâncias bioativas, candidatas a fármacos, públicas e sigilosas, de interesse acadêmico e empresarial. Tal quimioteca foi objeto de estudo desta dissertação de mestrado acadêmico que visa aprimorar esta coleção de substâncias, utilizando as estratégias da Prospecção Tecnológica, como a busca de anterioridades e a mineração de dados, visando a confirmação de ineditibilidade, principalmente das substâncias sigilosas e de algo valor agregado para o setor industrial e a otimização desta coleção, por meio da síntese química e avaliação farmacológica de uma série de derivados inéditos, resultantes deste processo de prospecção. Os estudos de Prospecção Tecnológica das 117 substâncias sigilosas da Quimioteca do LASSBio foram realizados, utilizando bases de patentes (USPTO, ESPACENET, WIPO, INPI, SIPO, KIPO, DERWENT, dentre outras) e banco de dados de estruturas químicas (SCIFINDER) que também foram utilizadas nesta parte do projeto de modo assegurar a total ineditibilidade das substâncias sigilosas, por meio do uso da estratégia de mineração de dados e para verificar o perfil de atividade inventiva de cada uma. A partir dos resultados dos estudos de Prospecção Tecnológica foi selecionada uma série de análogos que apresentou uma promissora modificação estrutural. O planejamento da nova série de derivados dos compostos baseado nas séries LASSBio 1783 à 1790 e LASSBio 1984 à 1988 (que apresentaram menores perfis de similaridades nos estudos de Prospecção Tecnológica) foi realizado utilizando as estratégias da Química Farmacêutica Medicinal, visando uma rota de acesso sintético relativamente simples, de poucas etapas e que possa produzir os compostos finais em bons rendimentos totais. A rota sintética desenvolvida para obtenção dos análogos, consistiu na síntese de intermediários hidrazídicos (intermediário-chave) para a obtenção de *N*-acil-hidrazonas a partir do ácido quínico, na qual foram sintetizados quatro novos compostos, caracterizados por meio de técnicas analíticas (infra-vermelho, RMN de ¹H e ¹³C, ponto de fusão) e após a certificação do grau de pureza por HPLC foram cadastrados e depositados na quimioteca do LASSBio.

PALAVRAS CHAVE: Prospecção Tecnológica, Quimioteca, Química Medicinal.

ABSTRACT

A chemistry library may be defined as a collection of substances which have been bioassayed *in vitro* and also are arranged in a database, and organized according to various parameters, such as their specific structural or physicochemical properties. The Laboratory for Evaluation and Synthesis of Bioactive Substances - LASSBio® has a chemistry library of bioactive substances, drug candidates, public and confidential, of academic and business interest. This chemistry library was the subject of a study of this academic master's thesis that aims to improve this collection of substances, using Technological Prospecting strategies, such as the search for antecedents and data mining, aiming at confirming unmanageability, especially of stealth substances and something added value for the industrial sector and the optimization of this collection, through the chemical synthesis and pharmacological evaluation of a series of unpublished derivatives, resulting from this prospecting process. The Technological Prospecting studies of the 117 classified substances of LASSBio chemistry library were done through the use of patent bases (USPTO, ESPACENET, WIPO, INPI, SIPO, KIPO, DERWENT, among others) and chemical structures database (SCIFINDER). In addition, these substances were used in this part of the project in order to ensure the total unmanageability of the stealthy substances, through the use of the data mining strategy and to verify the profile of the inventive activity of each one. From the results of the studies of Technological Prospection a series of analogues was selected which presented a promising structural modification. The planning of the new series of compounds derived from the series LASSBio 1783 to 1790 and LASSBio 1984 to 1988 (which presented lower profiles of similarities in the studies of Technological Prospecting) was carried out using the strategies of the Chemistry of Pharmaceutical Medicine, aiming at a route of synthetic access relatively simple, few steps and also can produce the final compounds in high total yields. The synthetic route developed to obtain the analogues consisted of the synthesis of hydrazide intermediates (key intermediary) to obtain *N*-acylhydrazones from quinic acid, in which four new compounds were synthesized, characterized by analytical techniques (infrared, ¹H and ¹³C NMR, melting point) and after HPLC grade of purity certification were recorded and deposited at LASSBio chemistry library.

KEY WORDS: Technological Prospecting, Chemistry library, Medicinal Chemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Derivado <i>N</i> -fenilpirazólico, primeira substância sintetizada no LASSBio®.....	17
FIGURA 2. Fórmula estrutural da substância da Atorvastatina.....	18
GRÁFICO 1. Levantamento dos grupos funcionais das 117 substâncias sigilosas....	21
FIGURA 3. Proposta de síntese a partir do ácido quínico para obtenção de novas <i>N</i> -acilidrazonasda.....	23
FIGURA 4. Esquema de síntese da lactona (2).....	25
FIGURA 5. Esquema de síntese da hidrazida (3).....	25
FIGURA 6. Esquema de síntese das <i>N</i> -acilidrazonas.....	26
FIGURA 7. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2049.....	27
FIGURA 8. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2037.....	28
FIGURA 9. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2035.....	28
FIGURA 10. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2011.....	29
FIGURA 11. Fórmulas estruturais das substâncias comercializadas por indústrias químicas.....	29
FIGURA 12. Série de análogos <i>N</i> -acilhidrazônicos patenteados pelo LASSBio.....	30
FIGURA 13. Similaridade de 99% de similaridade com LASSBio 2047.....	31
FIGURA 14. Similaridade de 99% de similaridade com LASSBio 2042.....	31
FIGURA 15. Similaridade de 99% de similaridade com LASSBio 2005.....	32
FIGURA 16. Similaridade de 99% de similaridade com LASSBio 2004.....	33
FIGURA 17. Similaridade de 99% de similaridade com LASSBio 2003.....	33
GRÁFICO 2. Representação gráfica do mapeamento do grau de similaridade das substâncias da Quimioteca classificadas como inéditas.....	35
FIGURA 18. Rota sintética proposta.....	36
FIGURA 19. Esquema de síntese da lactona (2).....	37
FIGURA 20. Imagem da CCD da reação da síntese da lactona (2) com eluente acetato de etila/hexano (50%/50%).....	37
FIGURA 21. Espectro de RMN de ¹ H da substância lactona (2) (CDCl ₃ ; 400 MHz)	39
FIGURA 22. Espectro de RMN de ¹³ C da substância lactona (2) (CDCl ₃ ; 100 MHz).....	40
FIGURA 23. Esquema de síntese da hidrazida (3).....	41
FIGURA 24. Imagem da CCD da reação da síntese da hidrazida (3) com eluente acetato de etila/hexano (50%/50%).....	41
FIGURA 25. Espectro de infravermelho da substância hidrazida (3).....	43
FIGURA 26. Espectro de RMN de ¹ H da substância hidrazida (3), (DMSO- <i>d</i> ₆ , 500 MHz).....	44
FIGURA 27. Espectro de RMN de ¹³ C da substância hidrazida (2), (DMSO- <i>d</i> ₆ , 125MHz).....	45
FIGURA 28. DEPT 135 da substância hidrazida (3) (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 125 MHz).....	46
FIGURA 29. Esquema da reação de condensação com 4-bifenilbenzaldeído.....	47
FIGURA 30. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2204.	49
FIGURA 31. Espectro de RMN de ¹ H da substância com código LASSBio 2204 (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 500 MHz).....	50
FIGURA 32. Espectro de RMN de ¹³ C da substância com código LASSBio 2204 (DMSO- <i>d</i> ₆ ; 125 MHz).....	51
FIGURA 33. Esquema da reação de condensação com 4-cianobenzaldeído.....	52
FIGURA 34. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2205.....	54

FIGURA 35. Espectro de RMN de ^1H da substância com código LASSBio 2205 (DMSO- d_6 ; 500 MHz).....	55
FIGURA 36. Espectro de RMN de ^{13}C da substância com código LASSBio 2205 (DMSO- d_6 ; 125 MHz).....	56
FIGURA 37. Esquema da reação de condensação com 4-trifluorobenzaldeído.....	57
FIGURA 38. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2206.....	59
FIGURA 39. Espectro de RMN de ^1H da substância com código LASSBio 2206 (DMSO- d_6 ; 500 MHz).....	60
FIGURA 40. Espectro de RMN de ^{13}C da substância com código LASSBio 2206 (DMSO- d_6 ; 125 MHz).....	61
FIGURA 41. Esquema da reação de condensação com 4-nitrobenzaldeído.....	62
FIGURA 42. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2207.....	64
FIGURA 43. Espectro de RMN de ^1H da substância com código LASSBio 2207 (DMSO- d_6 ; 500 MHz).....	65
FIGURA 44. Espectro de RMN de ^{13}C da substância com código LASSBio 2207 (DMSO- d_6 ; 125 MHz).....	66

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1. Palavras chaves utilizadas na busca de anterioridade.....	22
TABELA 1. Aldeídos de interesse selecionados para síntese de NAH.....	26
TABELA 2. Resultado das buscas de anterioridade e similaridade, com as substâncias de maior percentual de semelhança.....	27
TABELA 3. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C da lactona (2).....	38
TABELA 4. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C da Hidrazida (3).....	42
TABELA 5. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2204.....	48
TABELA 6. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2205.....	53
TABELA 7. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2206.....	58
TABELA 8. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2207.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

CAS	Chemical American Society
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<i>CombChem</i>	Química Combinatória (<i>Combinatorial Chemistry</i>)
C T & I	Ciência, Tecnologia e Inovação
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DEPT	Intensificação sem distorção via transferência de polarização (<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>)
DMSO-d ₆	Dimetil sulfóxido deuterado
ESPACENET	Instituto Europeu de Patente (<i>European Patent Office</i>)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HTS	Triagem de Alta Produtividade (<i>High Throughput Screening</i>)
INCT	Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia
INCT- INOFAR	Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos
IPC	Classificação Internacional de Patentes
IPPN	Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais
IV	Infravermelho
JPO	Escritório Japonês de Patentes (<i>Japan Patent Office</i>)
KIPO	Escritório Coreano de Propriedade Intelectual (<i>Korean Intellectual Property Office</i>)
LABRMN-2	Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear em Solução
LAMAR	Laboratório Multiusuário de Análises por RMN
LASSBio	Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas
m	Multiplete
MHz	MegaHertz
NAH	<i>N</i> -acilidrazona
P & D	Pesquisa e Desenvolvimento
P.F.	Ponto de fusão
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
RF	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Singleto
t	Triplete
td	Triplodupleto
TFA	Análise Futura Tecnológica
TMS	Tetrametilsilano
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro

UNIFAL-MG Universidade Federal de Alfenas
USPTO Escritório de Patentes e Marcas dos Estados Unidos
(*United States Patent and Trademark Office*)
WIPO Organização Mundial da Propriedade Intelectual
(*World Intellectual Property Organization*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Quimioteca	15
2.2. Patente	15
2.3. Prospecção Tecnológica	16
2.4. Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas – LASSBio®	17
2.5. Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos – INCT – INOFAR	18
2.6. Estruturas Privilegiadas	18
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivo Geral	20
3.2. Objetivos Específicos	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. Estudos de Prospecção Tecnológica	21
4.1.1. Busca de anterioridades em bases de patentes.....	21
4.1.2. Estudos de similaridade estrutural.....	22
4.2. Planejamento da nova série de derivados e caracterização estrutural	22
4.2.1. Métodos de Síntese.....	23
4.2.2. Síntese da Lactona.....	24
4.2.3. Síntese da Hidrazida.....	25
4.2.4. Síntese da N-acil-hidrazona (NAH).....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
5.1. Estudos de prospecção tecnológica	27
5.2. Planejamento da nova série de derivados, Síntese Química e Caracterização Estrutural	34
5.3. Síntese dos novos derivados do ácido quínico	36
5.3.1. Síntese da lactona (2).....	36
5.3.2. Síntese da hidrazida (3).....	41
5.3.3. Síntese da N-acilidrazona com 4-bifenilbenzaldeído (LASSBio 2204).....	47
5.3.4. Síntese da N-acilidrazona com 4-cianobenzaldeído (LASSBio 2205).....	52
5.3.5. Síntese da N-acilidrazona com 4-trifluorobenzaldeído (LASSBio 2206).....	57
5.3.6. Síntese da N-acilidrazona com 4-nitrobenzaldeído (LASSBio 2207).....	62
6. CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS	69
ANEXOS	73

1. INTRODUÇÃO

Uma quimioteca pode ser definida como uma coleção de substâncias que estão dispostas em uma base de dados e organizada de acordo com vários parâmetros, como, por exemplo, suas propriedades estruturais ou físico-químicas das substâncias, podendo terem sido bioensaiadas *in vitro* ou não. Tais quimiotecas, que podem ser públicas ou não, são utilizadas para vários tipos de estudos acadêmicos, econômicos e mercadológicos, ou quando inseridas em um processo de inovação de fármacos e medicamentos, podem gerar informações tecnológicas de grande valor tanto para as universidades e institutos de pesquisa quanto para o setor industrial (BARREIRO; FRAGA, 2008). Quimiotecas de substâncias bioativas candidatas a fármacos, inseridas na grande área da química farmacêutica e medicinal, podem ser utilizadas como parte de estratégias de prospecção tecnológica, de mineração de dados, de buscas de anterioridades e de perfis de biodisponibilidade, o que eleva seus valores agregados e suas importâncias técnico-científicas.

Como a Química Medicinal se caracteriza pela interdisciplinaridade, pois tem como objetivo central o estudo das bases moleculares da ação dos fármacos, a relação entre estrutura química e a atividade farmacológica, o planejamento e o desenho estrutural de novos compostos que apresentem propriedades farmacoterapêuticas úteis (BARREIRO; FRAGA, 2015), é uma área na qual a proposição de quimiotecas pode gerar resultados para o processo de inovação em fármacos e medicamentos.

Dentre as subáreas da Química Medicinal, o estudo de planejamento racional fármacos que compreende o desenho de novas estruturas químicas e o desenvolvimento de novas rotas sintéticas de substâncias biologicamente ativas, são de grande importância, pois os fármacos de origem sintética representam cerca de 75% do mercado farmacêutico (MENEGATTI; FRAGA; BARREIRO, 2001). Para a descoberta de um novo fármaco é necessário um investimento elevado de recursos, pois envolve um total domínio científico e tecnológico em todos os níveis de um processo acadêmico e industrial químico-farmacêutico. O sistema de patentes de fármacos é a principal ferramenta para garantir o retorno do investimento empregado durante o processo de desenvolvimento (BARREIRO; PINTO, 2013).

No Brasil, a maioria das empresas farmacêuticas não possuem o setor de desenvolvimento de novos fármacos, conseqüentemente suas inovações são realizadas por meio da aquisição de conhecimentos e tecnologias externas, principalmente aquelas resultantes de pesquisas em universidades e institutos de pesquisa (BARREIRO; PINTO, 2013; PINTO,

2010). Tais resultados técnico-científicos podem ser transferidos para as empresas por meio do sistema de patentes, através da qual a universidade licencia o direito de exploração de um determinado fármaco ou seu protótipo para uma empresa poder produzir e explorá-lo comercialmente (PINTO, 2016).

Um laboratório é tido como uma importante referência nacional e internacional na área de química medicinal, no desenvolvimento de pesquisa de novos candidatos a fármacos é o Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio[®]), da Universidade Federal de Rio de Janeiro. Há vinte e cinco anos, vem formando novos pesquisadores, inovando e desenvolvendo novas substâncias com atividade biológica sob a coordenação do Prof. Dr. Eliezer Jesus Barreio (BARREIRO, 2013).

O LASSBio é o laboratório sede do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos (INCT-INOVAR), também coordenado pelo Prof. Eliezer J. Barreiro que desenvolve pesquisas dedicadas à inovação radical e incremental em fármacos e medicamentos. O LASSBio possui uma Quimioteca de substâncias bioativas, candidatas a fármacos, públicas e sigilosas, de interesse acadêmico e empresarial.

Tal quimioteca foi objeto de estudo desta dissertação de mestrado acadêmico que visa aprimorar esta coleção de substâncias, utilizando as estratégias da prospecção tecnológica, como a busca de anterioridades e a mineração de dados, visando a confirmação de ineditibilidade, principalmente das substâncias sigilosas e de algo valor agregado para o setor industrial e a otimização desta coleção, por meio da síntese química e avaliação farmacológica de uma série de derivados inéditos, resultantes deste processo de prospecção.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Quimioteca

O uso da quimioteca pode ser feito por meio de técnica da química combinatória (*comchem*). Esta técnica acoplada a um *screening* robotizado de alta eficiência (*high throughput screening* – HTS) permite que possa realizar ensaios em milhares de compostos por dia, acumulando um grande volume de dados (BARREIRO; FRAGA, 2015; BARREIRO; PINTO, 2013). O resultado obtido pelo uso da técnica *comchem*-HTS, produz na maioria das vezes, substâncias com afinidade farmacológica para o alvo estudado, encontrando um ligante que é reconhecido pelo alvo no limite de concentração adotada. Este ligante descoberto é denominado composto-*hit*, no qual passa a ser estudado por meio de um planejamento racional, formas eficazes de tornar a substância ativa em modelos animais (BARREIRO; FRAGA, 2015).

2.2. Patente

Por definição, patente é um direito exclusivo em relação a um invento, podendo ser um produto ou um processo, que possibilite um novo e inventivo modo de fazer algo ou ofereça uma nova e inventiva solução técnica a um problema (WIPO, 2017). A patente é um documento público com valor territorial, que dá ao titular a exclusividade de explorar comercialmente a sua invenção, permitindo realizar a exclusão de terceiros em fabricar, usar, vender e importar a sua invenção (SOUZA; LOPES-PIRES, 2015).

Mas para se obter uma patente é necessário atender a alguns requisitos, tais como a novidade, em outras palavras, o objeto a ser patenteado deve ser novo ou ter alguma característica que não seja conhecida em sua área técnica. A atividade inventiva, não deve ser óbvio e que possa ser deduzido por alguém com conhecimento na área técnica. Também é necessária a existência de potencial aplicação industrial. Além disto, não podem ser patenteados as teorias científicas, os métodos matemáticos, as variedades vegetais e animais, a descoberta de substâncias naturais, os métodos comerciais e os métodos para tratamentos médicos. A patente dá ao seu titular o direito de explorar, por vinte anos, a partir da data de depósito (data de prioridade), sendo regulamento no Brasil pela lei que regula direitos e obrigações à propriedade industrial (Lei 9.279/96).

O setor químico-farmacêutico é um dos mais dependentes de proteção patentária, devido à dificuldade de se manter todo o processo de desenvolvimento sob sigilo para evitar o risco de ter suas substâncias copiadas. No desenvolvimento de um novo fármaco necessariamente passa por estudos pré-clínicos e clínicos, no qual pode ocorrer a divulgação de resultados,

possibilitando que outras indústrias utilizem com facilidade estas informações e podendo obter uma vantagem sobre a outra, como um menor gasto de tempo e investimentos na produção de novos medicamentos (GUIMARÃES; CORRÊA, 2012).

Logo a patente garante que o inventor possa ter um retorno de seus investimentos. Para as indústrias farmacêuticas, vale destacar o gasto em pesquisa e desenvolvimento, que atualmente ultrapassam a média de 1 bilhão de reais (SOUZA; LOPES-PIRES, 2015). Esta garantia de retorno lucrativo devido a concessão da patente funciona como um incentivo para a inovação tecnológica (PAULA, 2001).

2.3. Prospecção tecnológica

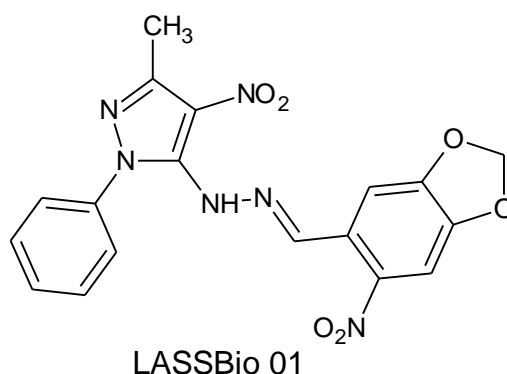
Prospecção tecnológica é uma forma sistemática de mapear o desenvolvimento científico e tecnológico futuro com a possibilidade de influenciar significativamente setores industriais, econômicos e sociais (KUPFER; TIGRE, 2004). Os estudos de prospecção tecnológica no conjunto de ciência, tecnologia e inovação (CT&I), são considerados de suma importância para se criar um sistema estruturado de inovação que respondam aos interesses da sociedade. Por meio de intervenções planejadas em sistemas de inovação, os estudos prospectivos têm o papel de identificar as oportunidades e necessidades mais importantes para o futuro da pesquisa e desenvolvimento (P&D) (SANTOS, 2004).

Os estudos prospectivos no campo de CT&I têm alguns resultados benéficos de acordo com Santos (2004), como a promoção de canais e linguagens comuns para a circulação de informações e conhecimento com caráter estratégico para a inovação, possibilitando uma maior inteligência antecipatória durante o processo de tomada de decisão em CT&I. A incorporação dessas ações auxilia nas tomadas de decisões prioritárias para P&D, na gestão de risco das inovações tecnológicas, melhorando a competitividade tecnológica de produtos, processos e serviços. Segundo Santos (2004), a análise de processos sistemáticos, sobre características de tecnologias emergentes, rotas de desenvolvimento e o potencial impacto de uma tecnologia no futuro encontram-se atualmente, inseridos no conceito de análise futura tecnológica (*technology future analysis* – TFA). Integram a TFA os conceitos de *technology foresight and assessment studies*, voltados para o setor público, e conceitos como o *technology forecasting and intelligence*, que são mais voltados para o setor privado. Os estudos de prospecção tecnológica usualmente são realizados com mais de um método ou técnica, quantitativos e qualitativos, para contemplar a maior gama de características e consequentemente suprir as possíveis deficiências de um método ou técnica executada isoladamente (SANTOS, 2004).

2.4. Laboratório de Avaliação e Síntese de Substancias Bioativas - LASSBio

Na década de 80, o Prof. Dr. Eliezer J. Barreiro, ao retornar para o Brasil após, a conclusão de seu doutorado na França, já idealizava a criação de um centro de pesquisa de excelência em química medicinal. Com essa ideia em mente, há 25 anos, foi criado Laboratório de Avaliação e Síntese de Substancias Bioativas (LASSBio[®]), o que é hoje um dos laboratórios de referência nacional e internacional nos estudos da área de química medicinal (BARREIRO, 2013). As primeiras substâncias sintetizadas no LASSBio[®], compunham série de derivados *N*-fenilpirazólicos hidrazônicos, dentre as quais se encontra primeira substância a ser catalogada na quimioteca do LASSBio[®], está representada na (Figura 1, BARREIRO, 2013). De acordo com o coordenador do LASSBio[®], atualmente o laboratório possui em sua quimioteca mais de 2200 substâncias catalogadas, que apresentam interesse acadêmico e industrial, sendo 117 substâncias em estado de total sigilo.

FIGURA 1. Derivado *N*-fenilpirazólico: produto final sintetizado no LASSBio[®].



Fonte: BARREIRO, 2013

As pesquisas no LASSBio[®] são voltadas para o planejamento racional de novos ligantes de alvos biológicos de interesse, planejamento de síntese de compostos inéditos e avaliação farmacológica, com o intuito de selecionar novos candidatos a fármacos com atuação em um ou mais alvos terapêuticos para o tratamento de doenças crônicas não transmissíveis. Também são pesquisados novos protótipos candidatos a fármacos analgésicos para o controle de dores neuropáticas, e a fármacos antiprotozoários para o tratamento de doenças negligenciadas (LASSBio[®], 2016).

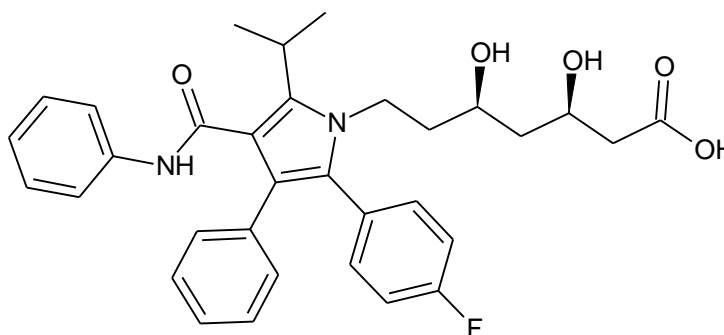
O LASSBio[®] possui uma rede extensa de colaboradores interinstitucionais atuando em consonância com o caráter interdisciplinar da química medicinal com o objetivo de descobrir novos candidatos a fármacos. O LASSBio[®] também é o laboratório sede do Instituto Nacional em Ciência e Tecnologia de Inovação em Fármacos e Medicamentos (INCT-INOFAR).

2.5. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos – INCT INOFAR

Os Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia (INCT) e tem o objetivo de contribuir para o desenvolvimento nacional por meio de pesquisas científicas e desenvolvimento tecnológico. Todo o conhecimento gerado deve ser transferido para a sociedade por meio do sistema de Inovação e de Patentes, promovendo melhorias na qualidade de vida da população, e o aumento do índice de desenvolvimento humano (IDH) e do produto interno bruto (PIB) (QUINTELA, 2011).

O Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fármacos e Medicamentos (INCT-INOVAR), que é coordenado pelo Professor Eliezer Jesus Barreiro, tem sede situada na cidade do Rio de Janeiro, na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), no Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio®). Ele tem como proposta contribuir para a inovação radical e incremental em fármacos e medicamentos, a formação e qualificação de recursos humanos e a transferência de conhecimento e tecnologia. Os estudos desenvolvidos nos grupos de pesquisas inseridos no INCT-INOVAR envolverem por exemplo, a síntese de substâncias líderes de mercado, como o caso da atorvastatina, princípio ativo mais vendido em todo o mundo (Figura 2.) (BARREIRO; PINTO, 2013). Com o monitoramento da data de prioridade da patente da atorvastatina, que expirou em julho de 2010, o grupo do Prof. Dr. Luiz Carlos Dias do Instituto de Química da UNICAMP, conseguiu desenvolver e concluir a síntese desta substância em dezembro de 2010 (BARREIRO; PINTO, 2013).

FIGURA 2 - Fórmula estrutural da substância da Atorvastatina



Fonte: DIAS; VIEIRA; BARREIRO, 2016

2.6. Estruturas Privilegiadas

Segundo Evans (1988) “estruturas privilegiadas” são estruturas moleculares com propriedades versáteis de interação intermolecular de forma potente e seletiva com diferentes alvos biomacromoleculares, através da modificação de grupos funcionais.

De acordo com esta estratégia baseada em esqueletos químicos de algumas classes de “estruturas privilegiadas”, foi descoberto por Duarte e colaboradores que a *N*-acilidrazona (NAH), com caráter híbrido de amida e imina, também é uma estrutura privilegiada, pois são capazes de atuar como ligantes para diversos receptores biológicos, devido às suas propriedades físico-químicas favoráveis (DUARTE, BARREIRO, FRAGA, 2007). Esse caráter de estruturas privilegiadas das NAH ajuda a compreender o porquê das NAH corresponder cerca de 47% dos compostos depositados na Quimioteca do LASSBio.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

No âmbito do INCT-INOVAR, que busca a inovação tecnológica na área de fármacos e medicamentos e, inserido no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UNIFAL-MG, este projeto teve como objetivo central a otimização de uma quimioteca de substâncias biologicamente ativas, candidatas a fármacos, pertencente ao LASSBio[®], por meio do uso de estratégias de prospecção tecnológica, e a síntese química.

3.2. Objetivos Específicos

Para realizar os estudos de otimização da quimioteca do LASSBio foram planejados os seguintes objetivos específicos:

- a) selecionaram as 117 substâncias de caráter totalmente sigiloso e de algum valor agregado para os estudos de otimização da quimioteca;
- b) realizar os estudos de prospecção tecnológica dessas substâncias, compreendendo as etapas de:
 - busca de anterioridades em bases de patentes;
 - estudos de similaridade estrutural.
- c) avaliar os resultados da prospecção tecnológica e selecionar uma substância com o melhor perfil de interesse acadêmico e industrial para ser o protótipo de uma nova série de derivados inéditos;
- d) planejar e executar as etapas sintéticas dessa nova série de derivados, por meio das estratégias da química orgânica medicinal;
- e) incluir as novas substâncias na quimioteca, visando ao aprimoramento dos resultados da prospecção tecnológica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Estudos de prospecção tecnológica

Os estudos de prospecção tecnológica das 117 substâncias sigilosas da quimioteca do LASSBio foram realizados, utilizando bases de patentes (USPTO, ESPACENET, LATIPAT, WIPO, INPI, SIPO, KIPO, JPO, DERWENT, GOOGLE patentes) e o banco de dados de estruturas químicas (SCIFINDER) que também foi utilizado nesta parte do projeto.

Os estudos de prospecção tecnológica desta quimioteca compreenderam:

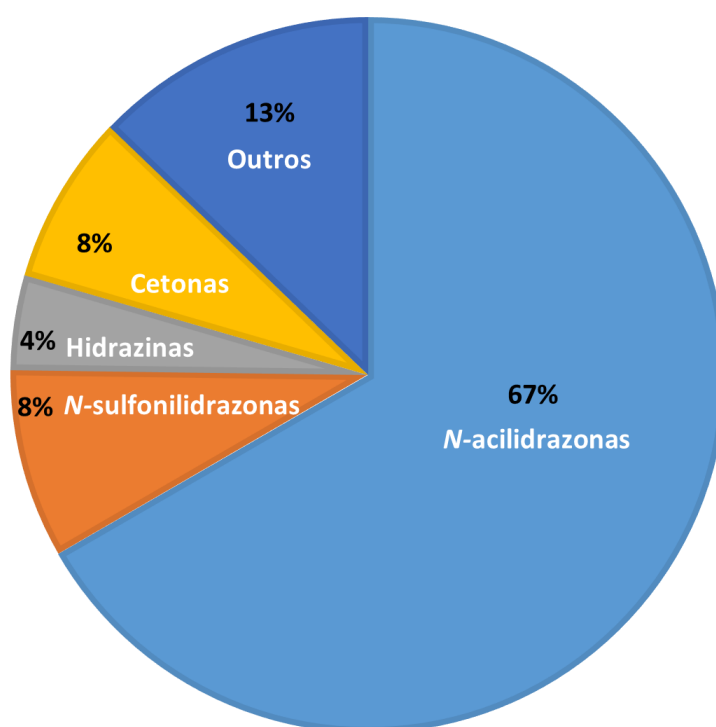
1) Busca de anterioridades em bases de patentes - para assegurar a total ineditibilidade das substâncias sigilosas, utilizando as estratégias de mineração de dados;

2) Estudos de similaridade estrutural - visando verificar o perfil de atividade inventiva de cada substância sigilosa.

4.1.1. Busca de anterioridades em bases de patentes

Para elaboração do quadro de palavras-chaves, foi realizado um levantamento dos grupos funcionais das 117 substâncias sigilosas, apresentadas no gráfico 2.

GRÁFICO 1. Levantamento dos grupos funcionais das 117 substâncias sigilosas



Fonte: Do autor.

A busca de anterioridade foi realizada utilizando a combinação de palavras-chaves (Quadro 1) com operadores booleanos (*and* e *or*), nas bases de patentes e utilizou o código IPC para filtrar as buscas.

QUADRO 1- Palavras chaves utilizadas na busca de anterioridade

IPC ^a	Termo 1 ^b	Termo 2 ^b	Termo 3 ^b	Termo 4 ^b	Termo 5 ^b	Termo 6 ^b	Termo 7 ^b
A61K 31/00	Synthesis	Getting	Drug	Hydrazone	Antitumor	Anti-inflammatory	Neglected Disease
A61K 31/15	Synthesize	Attainment	Medicine	Acylhydrazone	Anti cancer	Inflammation	Orphans Disease
A61P 35/00	Synthetic	Obtainment	Medication	Acylhydrazide	Antigens		
A61P 33/00	Synthetical	Making	Treatment	Hydrazyde			
C07C 251/86	Synthetized	Procurement	Therapy				
C07C		Achievement	Bioactive compound				
C07D							

Legenda: ^aIPC = Classificação internacional de patentes (A61P = Atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais, 33/00 = Agentes antiparasíticos e 35/00 = Agentes antineoplásticos); (A61K = Preparações para finalidade médicas, odontológicas ou higiênicas, 31/00 = preparações medicamentosas medicinais potencialmente biológicas e 31/15 = Oximas; hidrazinas; hidrazonas); (C07C = Compostos acíclicos ou carbocíclicos, 251/00 = compostos com átomos de nitrogênio a partir de um duplo esqueleto de carbono, 251/86 = tendo átomos de carbonos tendo átomos de carbono, unidos por ligação dupla, de grupos hidrazona ligados a átomos de carbono de anéis aromáticos de seis membros); (C07D = Compostos heterocíclicos).

^bTermos = São sinônimos das palavras chaves para buscas das patentes nos bancos de dados (Os termos estão em inglês pois a maioria das bases de patentes só aceitam termos em inglês, com exceção da base de patente do INPI).

Fonte: Do autor.

Também foi realizada a busca pelas fórmulas estruturais das 117 substâncias, utilizando a função do SciFinder que permite o desenho das fórmulas estruturais e/ou fragmentos destas, buscando por estrutura exata ou subestrutura, além disto, empregou-se, também à fórmula Markush.

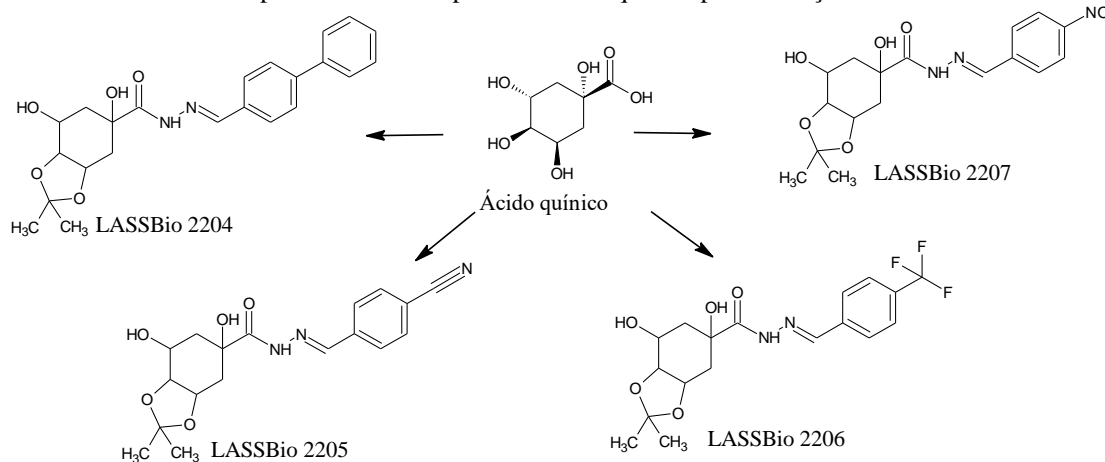
4.1.2. Estudo de similaridade estrutural

O estudo de similaridade estrutural foi realizado utilizando a função do SciFinder que permite o desenho da fórmula estrutural. Foi realizada a busca das 117 substâncias, sendo consideradas apenas os resultados com graus de similaridade superiores à 85%.

4.2. Planejamento da nova série de derivados, síntese química e caracterização estrutural

A partir dos resultados dos estudos de prospecção tecnológica, foi selecionada uma série substâncias que apresentaram promissora modificação estrutural, partindo do ácido quínico para obtenção de novas *N*-acilidrazonas. O planejamento da nova série de derivados foi realizado de acordo com as estratégias da química farmacêutica e medicinal, que visa o desenvolvimento de rotas de acesso sintético relativamente simples, de poucas etapas, com processo de purificação simples, de baixo custo e que possa produzir as substâncias finais em bons rendimentos totais.

FIGURA 3. Proposta de síntese a partir do ácido quínico para obtenção de novas *N*-acilidrazonas.



Fonte: Do autor.

As etapas de síntese química e caracterização estrutural foram realizadas no LASSBio[®], por meio de acordo firmado entre a orientadora deste projeto e o coordenador do mesmo e coorientador deste projeto, visando o intercâmbio e a capacitação do mestrando em um laboratório de excelência em química medicinal.

4.2.1. Métodos de Síntese

A evolução das reações foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas de sílica gel em suporte de alumínio com detector de fluorescência e uso de uma solução como revelador (Preparo do revelador: 90mL de H₂O, 2,5g de mobilidato de amônio, 1g de sulfato de amônio cérico e 10mL de H₂SO₄), pois o ácido quínico não tem cromóforos (BARBOSA, LIMA, resultados não publicados).

Os espectros no infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro IR Thermo Scientific Nicolet iS10 módulo Smart ITR no LASSBio. As amostras foram examinadas sob a forma sólida colocadas diretamente no cristal do equipamento. Os valores de absorção foram registrados em número de onda, utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm⁻¹).

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas no Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais (IPPN) no Laboratório Multiusuários de Análise por RMN (LAMAR) e no Instituto de Química no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear em Solução (LABRMN-2) ambos da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Foram utilizados clorofórmio deuterado (CDCl₃) e dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆) como

solventes das amostras, analisadas em tubos de 5 mm. Os deslocamentos químicos (δ) são referidos em partes por milhão (ppm) a partir do padrão interno tetrametil-silano (TMS). As áreas dos picos foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades são descritas do seguinte modo: s – simpleto; d – duplete; t – tripleto; q – quarteto; m – multiplete. Foi utilizado o software MestreNova[®] versão 6.1.0-6224 (Mestrelab Research L.S[®]) para o processamento dos espectros e obtenção dos valores de deslocamento químico (δ , ppm).

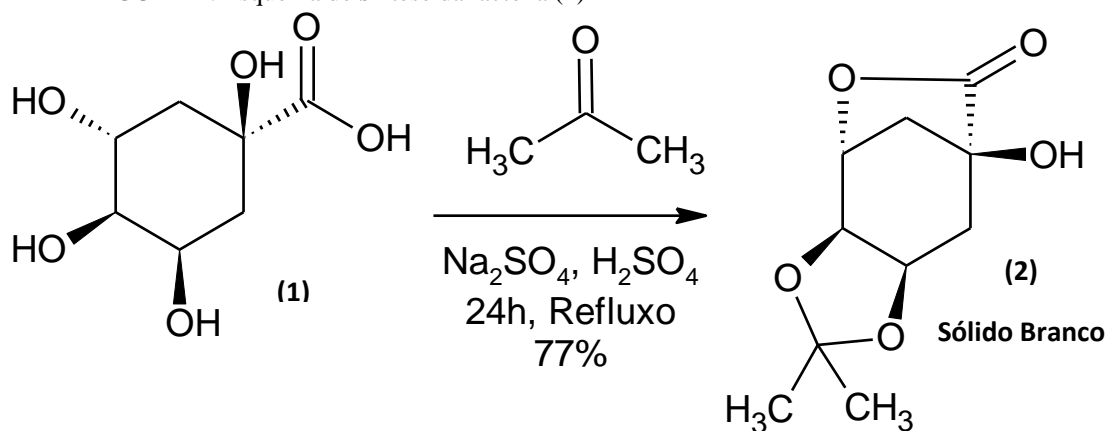
O grau de pureza dos produtos finais foi determinado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por arranjo de fotodiodos (CLAE-PDA) entre 230 – 265nm, que foi realizada em aparelho Shimadzu – LC20AD no LASSBio, com a utilização da coluna Kromasil 100-5C18 (4,6 mm x 250 mm), com fluxo constante de 1 mL/minuto. A programação do injetor automático foi realizada de modo que o volume de amostra injetada por análise correspondesse a 20 μ L. A fase móvel utilizada consistiu em uma mistura de acetonitrila e água 60:40 v/v, sem correção de pH. Os solventes utilizados para as análises por CLAE-PDA apresentavam grau de pureza CLAE.

Os esquemas reacionais e os mecanismos de reação propostos foram desenhados utilizando o programa ACD/CHEMSKETCH versão C30E41 (ADVANCED CHEMISTRY DEVELOPMENT, 2016).

4.2.2. Síntese da Lactona

Uma suspensão de ácido quínico (6,5 g; 33,8494 mmol), Na₂SO₄ anidro (33g; 231 mmol), H₂SO₄ conc. (0,2 mL) e acetona anidra (300 mL) foi agitada e aquecida sob refluxo por 24 h. Após resfriar, NaHCO₃ sólido foi adicionado até o pH ficar entre 6-7. A mistura foi filtrada e o solvente foi removido em evaporador rotatório. O resíduo foi colocado na água e extraído com diclorometano. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e concentrada em evaporador rotatório para obter um produto sólido branco, com rendimento de 77% e ponto de fusão 132 – 135°C (Figura 4).

FIGURA 4. Esquema de síntese da lactona (2)

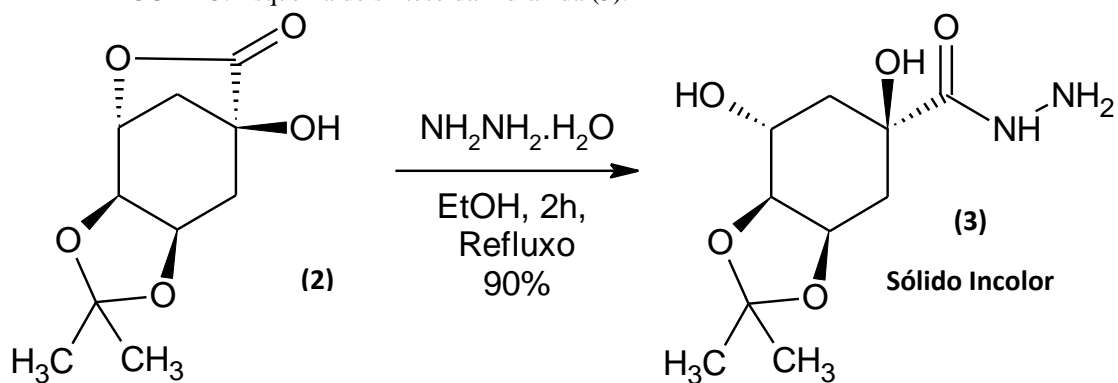


Fonte: Do autor.

4.2.3. Síntese da Hidrazida

Uma solução da lactona (2) (5,013 g; 23,43 mmol) e hidrato de hidrazina 100% (1,5 mL; 1 eq) em 100 mL de etanol foi aquecida sob refluxo durante 2 h. Após este tempo foi observado por CCD o consumo do material de partida, o que indicou o fim da reação. Deixou-se a mistura atingir a temperatura ambiente e a mesma foi secada em evaporador rotatório. Adicionou-se metanol ao óleo obtido e a mistura foi secada novamente em evaporador rotatório (este procedimento foi repetido três vezes, de modo a retirar o excesso de hidrazina remanescente, que poderia interferir na etapa seguinte, formando dímero com o aldeído). No final deste processo a hidrazida foi obtida como um óleo de cor caramelo, que cristalizou após secagem em bomba de vácuo resultando em um sólido incolor, com rendimento de 90% e ponto de fusão igual a 146,6°C (Figura 5).

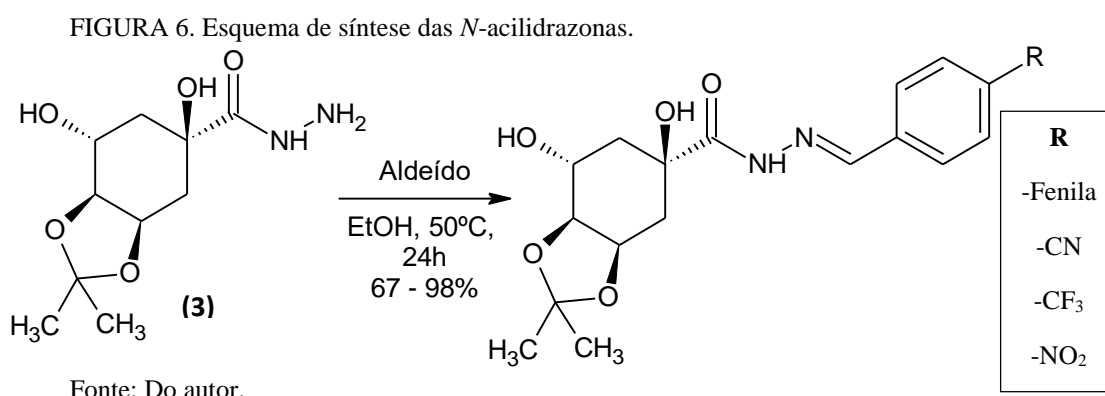
FIGURA 5. Esquema de síntese da hidrazida (3).



Fonte: Do autor.

4.2.4. Síntese das *N*-acilidrazonas (NAH)

Em um balão de fundo redondo foram colocadas a hidrazida (3) (300 mg, 1,218 mmol) e etanol (50 ml) absoluto até a solubilização a 45 à 50 °C. Após esta etapa, adicionou-se 1 equivalente do aldeído de interesse (4-bifenilbenzaldeído, 4-cianobenzaldeído, 4-fluorobenzaldeído ou 4-nitrobenzaldeído) à solução reacional e se manteve agitação magnética por 24 h a 45 à 50 °C (Figura 6).



Após esse período, observou a formação de precipitado. O balão foi imerso em banho de gelo para aumentar a quantidade de precipitado formado e em seguida, filtrou-se a mistura obtida e se lavou o material sólido com etanol gelado (Tabela 1).

Tabela 1. Aldeídos de interesse selecionados para síntese de NAH.

Aldeído	Código	Propriedades físicas	P.F (°C)
4-bifenilbenzaldeído	LASSBio 2204	Sólido branco	231 – 232
4-cianobenzaldeído	LASSBio 2205	Sólido branco	245 – 246
4-trifluorobenzaldeído	LASSBio 2206	Sólido branco	238 – 240
4-nitrobenzaldeído	LASSBio 2207	Sólido amarelo	268 – 269

Fonte: Do autor.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Estudos de prospecção tecnológica

Dentre essas 117 substâncias, 10 apresentaram alguma forma de divulgação, perdendo o ineditismo. Sendo assim, não podendo ser patenteada devido a legislação brasileira de acordo com a Lei de Propriedade Industrial (Lei nº 9.279/96) que impede proteger uma tecnologia (nesse caso substâncias) que não seja novidade no mundo e 12 foram divulgadas pelos coordenadores do LASSBio em um pedido de patente e que no início deste trabalho estavam no período de sigilo patentário. As substâncias que possuem anterioridade estão expressas na tabela 2.

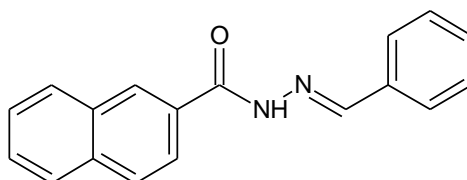
TABELA 2. Resultado das buscas de anterioridade e similaridade, com as substâncias de maior percentual de semelhança.

Código	Similaridade	Código	Similaridade
LASSBio 2049	100 %	LASSBio 1935	100%
LASSBio 2047	99 %	LASSBio 1913	100%
LASSBio 2042	99 %	LASSBio 1912	100%
LASSBio 2041	100 %	LASSBio 1911	100%
LASSBio 2040	100 %	LASSBio 1910	100%
LASSBio 2037	100 %	LASSBio 1909	100%
LASSBio 2035	100 %	LASSBio 1908	100%
LASSBio 2011	100 %	LASSBio 1907	100%
LASSBio 2007	100 %	LASSBio 1906	100%
LASSBio 2005	99 %	LASSBio 1905	100%
LASSBio 2004	99%	LASSBio 1902	100%
LASSBio 2003	99%	LASSBio 657	100%
LASSBio 2002	100%	LASSBio 562	100%
LASSBio 1936	100%		

Fonte: Do autor.

A substância apresentada na figura 7, que corresponde a LASSBio 2049, foi divulgada em um pedido de patente americano em 2012 com o código US2013344165 A1, apresentando um registro CAS 344938-39-2. De acordo com os autores apresenta atividade antitumoral.

FIGURA 7. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2049.

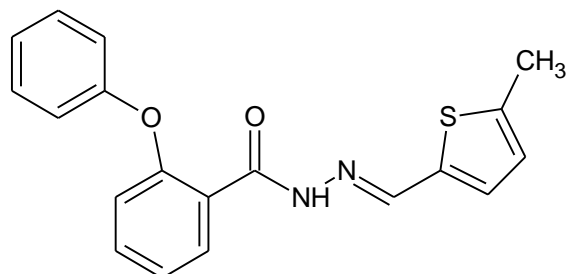


CAS 344938-39-2

Fonte: Do autor.

A substância LASSBio 2037 (CAS 113874-06-9) foi divulgada em uma patente de origem americana com data de prioridade 07/04/1986, com o código WO8706127 A1. Ela apresenta uma atividade antiparasitária para uso veterinário (Figura 8).

FIGURA 8. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2037.

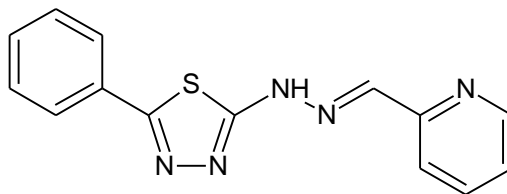


CAS 113874-06-9

Fonte: Do autor.

A substância LASSBio 2035 foi divulgada em um artigo científico (SHAWALI, 2006), que descreveu a realização de estudos sobre a regioseletividade de vários compostos (Figura 9).

FIGURA 9. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2035.

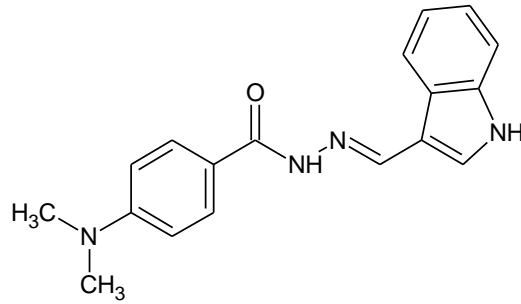


CAS 917101-15-6

Fonte: Do autor.

Quanto a substância LASSBio 2011, foi divulgada em dois artigos científicos (RAO, 2011 e HUANG, 2017). Ela pode ser usada como marcador biológico fluorescente por meio de complexação com Cu^{+2} (Figura 10).

FIGURA 10. Fórmula estrutural da substância com o código LASSBio 2011.

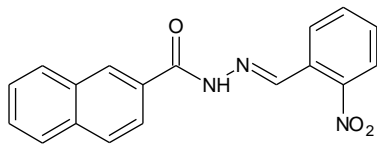


CAS 540789-01-3

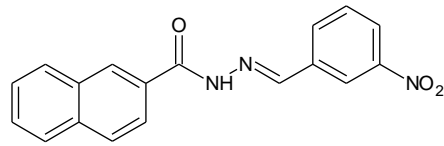
Fonte: Do autor.

As substâncias referentes aos códigos LASSBio 2041, LASSBio 2040, LASSBio 2007, LASSBio 2002, LASSBio 657 e LASSBio 562, são comercializadas por empresas de insumos químicos e possuem os registros CAS (Figura 11).

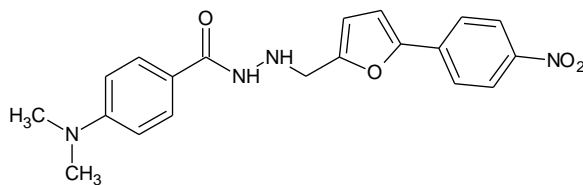
FIGURA 11. Fórmulas estruturais das substâncias comercializadas por indústrias químicas.



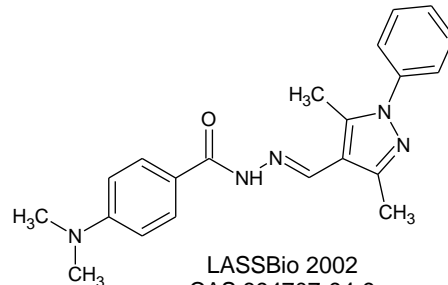
LASSBio 2041
CAS 344938-48-3



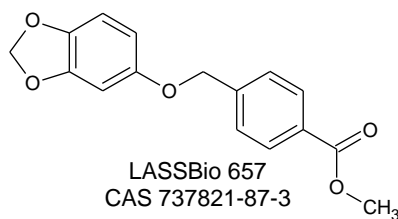
LASSBio 2040
CAS 344938-47-2



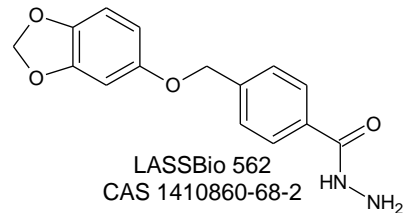
LASSBio 2007
CAS 678555-46-9



LASSBio 2002
CAS 894707-94-9



LASSBio 657
CAS 737821-87-3



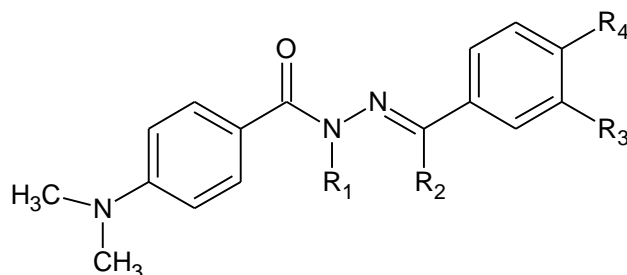
LASSBio 562
CAS 1410860-68-2

Fonte: Do autor.

O resultado desta prospecção tecnológica serviu para evidenciar a importância da realização de uma revisão bibliográfica completa, envolvendo os documentos de patentes, e não apenas artigos científicos, pois há uma estimativa de que 70% das informações tecnológicas encontram-se apenas em patentes (INPI, 2018), o que ficou evidenciado por algumas duplicidades de pesquisas desenvolvidas em alguns projetos no LASSBio.

A série referente aos códigos LASSBio 1936, LASSBio 1935, LASSBio 1913, LASSBio 1912, LASSBio 1911, LASSBio 1910, LASSBio 1909, LASSBio 1908, LASSBio 1907, LASSBio 1906, LASSBio 1905, LASSBio 1904, LASSBio 1903 e LASSBio 1902 (Figura 12), que estava classificada como sigilosa pela coordenação do LASSBio, foram publicadas no pedido de patente BR102015007034 A2, com data de prioridade de 30/03/2015, pelos coordenadores INCT-INOVAR tendo a Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ como titular (Figura 12).

FIGURA 12. Série de *N*-acilhidrazônicos patenteados pelo LASSBio.

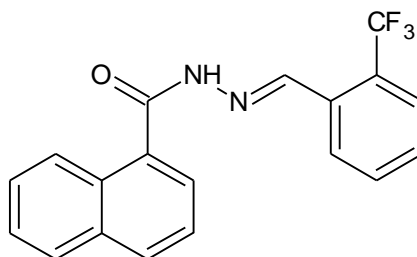


R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
-H, -CH ₃	-H, -CH ₃	-H, -COOH, -CONHOH, -COOCH ₃	-H, -COOH, -CONHOH, -COOCH ₃

Fonte: Do autor.

As substâncias com o código LASSBio 2047, LASSBio 2042, LASSBio 2005, LASSBio 2004 e LASSBio 2003, que estão sob sigilo, apresentam 99% de similaridade estrutural. A substância com o número de registro CAS 351368-75-7 é um isômero com ligação do carbono na posição α do naftaleno enquanto na substância com código LASSBio 2047 a referida ligação ocorre na posição β do naftaleno (Figura 13).

FIGURA 13. Similaridade de 99% com LASSBio 2047.

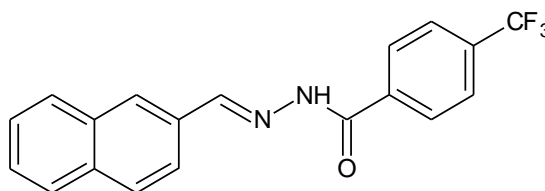


CAS 351368-75-7

Fonte: Do autor.

A substância com o número de registro CAS 1255639-66-7 (Figura 14), que é um regioisômero da substância com o código LASSBio 2042. Foi publicado em artigo científico que aborda estudos de enantioseletividade de reações aza-Diels-Alder (LEE, 2010).

FIGURA 14. Similaridade de 99% com LASSBio 2042.

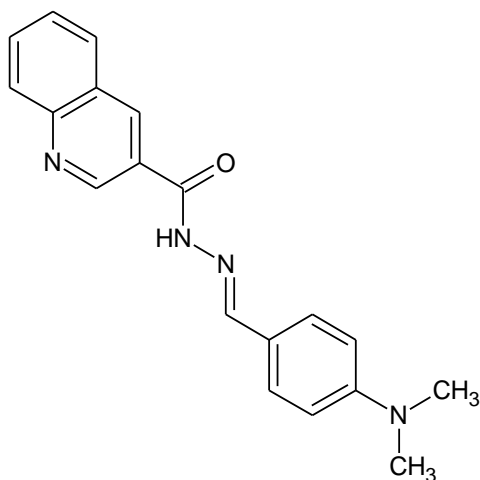


CAS 1255639-66-7

Fonte: Do autor.

LASSBio 2005 é um regioisômero da substância com o número de registro CAS 903632-51-9, havendo apenas a inversão da hidrazona no centro da substância (Figura 15). Esta substância possui atividade inibidora de RNA, que pode ser empregado para o tratamento de doenças parasitárias e inflamação, de acordo com o a descrição publicada no pedido de uma patente americana (US 20110077250 A1).

FIGURA 15. Similaridade de 99% com LASSBio 2005.

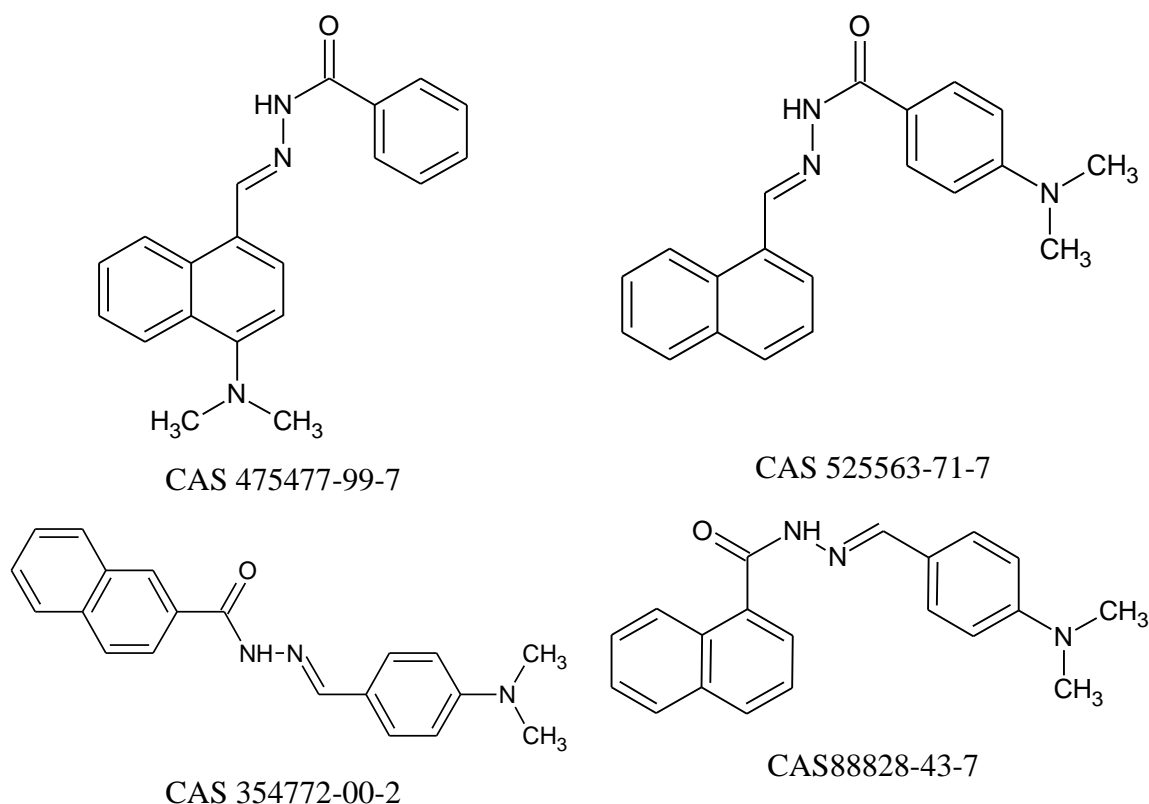


CAS 903632-51-9

Fonte: Do autor.

A LASSBio 2004 é a que apresenta a maior quantidade de isômeros já publicados (Figura 16). Dentre estes, cabe citar o isômero CAS 354772-00-2, que apresenta uma inversão na NAH ligada no meio da cadeia alifática. Há também o CAS 88828-43-7, no qual a NAH está ligada na posição α do naftaleno, enquanto na substância com código LASSBio 2004 a NAH está ligada ao carbono β do naftaleno.

FIGURA 16. Similaridade de 99% com LASSBio 2004.

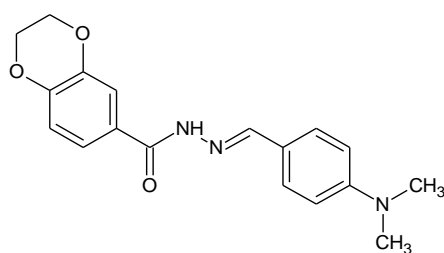


Fonte: Do autor.

A substância com registro CAS 475477-99-7 apresenta uma constituição diferente, com duas substituições em um dos anéis do naftaleno (Bellera, 2013). Já na substância com o registro CAS 88828-43-7, que foi patenteada como um reagente para revelar eletrofotografias de acordo com a descrição da patente DE1101145-B, há inversão da NAH no meio da cadeia.

A similaridade entre LASSBio 2003 e a substância com registro CAS 349556-47-4 se dá por regioisomeria, com a inversão da NAH no meio da cadeia (Figura 17).

FIGURA 17. Similaridade de 99% com LASSBio 2003.



CAS 349556-47-4

Fonte: Do autor.

O resultado desse elevado grau de similaridade de todas essas substâncias bioativas, pode comprometer a tentativa de proteger as substâncias por meio de um depósito de pedido de patente, pois podem ser consideradas sem atividade inventiva que é um dos critérios analisados pelos examinadores de patentes do INPI. Quando um pedido de patente é negado pelo critério de obviedade, cabe recurso por parte dos inventores, logo cada caso é analisado individualmente não podendo utilizar de uma afirmação nela.

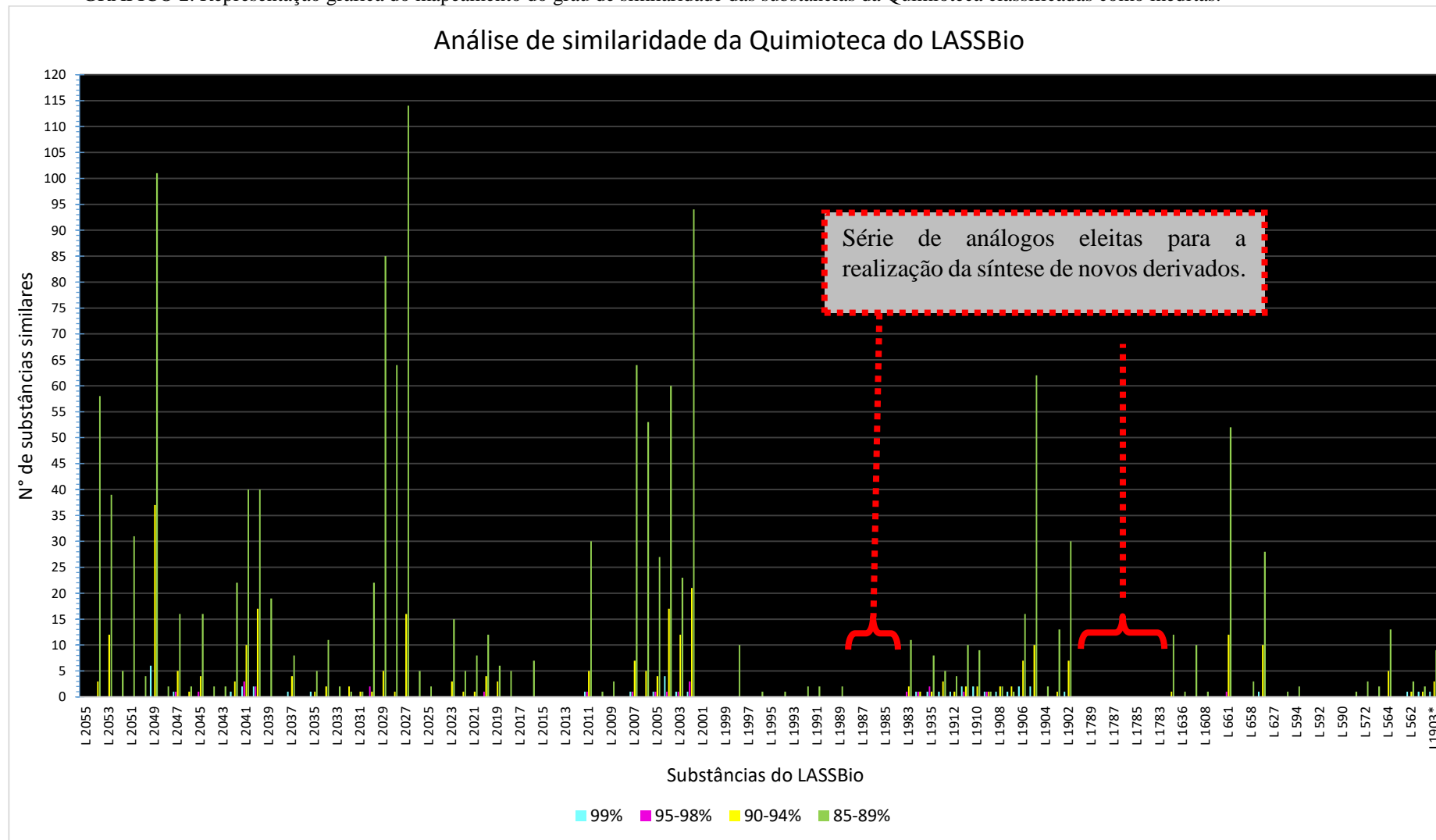
5.2. Planejamento da nova série de derivados, síntese química e caracterização estrutural

Com os resultados dos estudos de prospecção tecnológica, foi criado um gráfico para indicar a série de análogos que poderiam ser exploradas para a realização da segunda etapa do mestrado, que correspondeu à síntese (Figura 18).

Neste gráfico, pode-se perceber e correlacionar a quantidade de substâncias com similaridade com as substâncias desenvolvidas nas séries de análogos e com base nisso conseguimos observar que umas séries apresentam alguns valores elevados de substâncias similares e outras séries com nenhuma ou quase nenhuma substância similar.

Em uma reunião realizada com a coordenação do LASSBio e do INCT-INOVAR ficou estabelecido que a melhor série de análogos a ser explorada é a que apresenta no gráfico com os códigos L 1783 à L 1790 e L 1984 à L 1988 por fazerem parte de uma série de análogos derivados do ácido quínico sem nenhuma substância com similaridade.

GRÁFICO 2. Representação gráfica do mapeamento do grau de similaridade das substâncias da Quimioteca classificadas como inéditas.



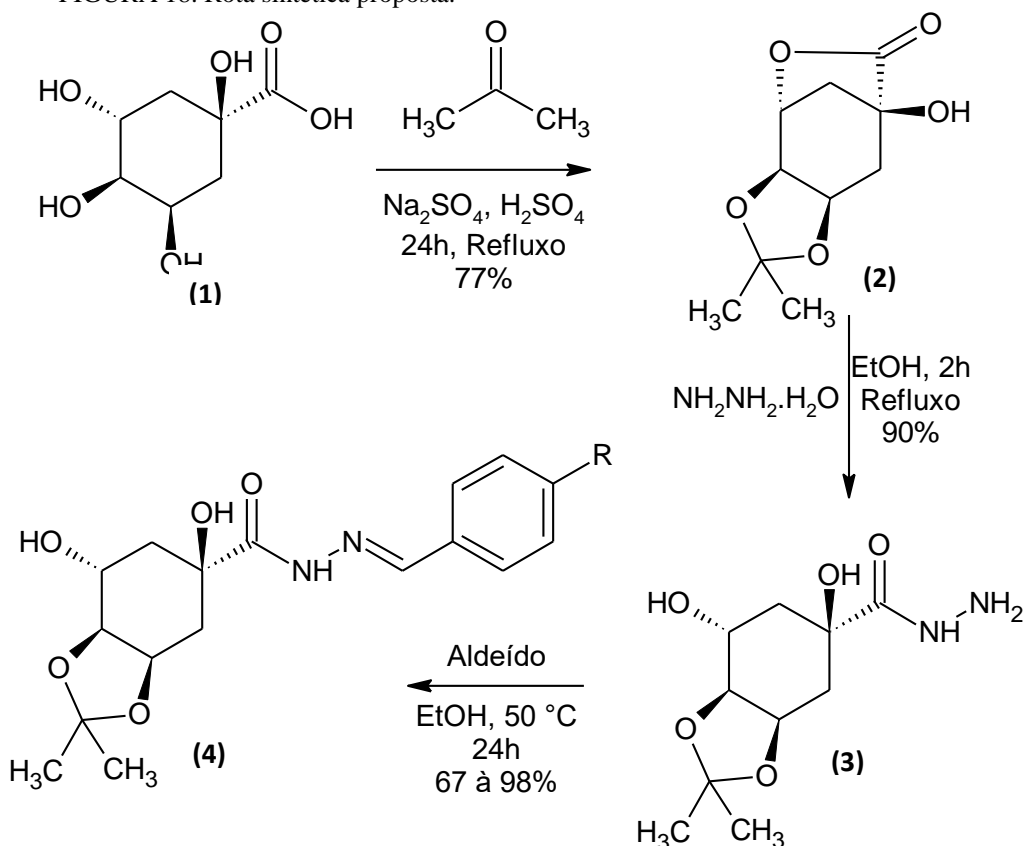
Fonte: Do autor.

5.3. Síntese dos novos derivados do ácido quínico

A metodologia para a síntese de novos derivados do ácido quínico, foi desenvolvida para ter o menor número de etapas, custo dos reagentes, complexidade de síntese e rendimento, foi a metodologia descrita na figura 19, que é realizada pela proteção das hidroxilas do ácido quínico (1) por um grupo cetal e a formação de uma lactona (2).

A segunda etapa é a reação de hidrazinólise, na qual se abre o anel da lactona (2), formando a hidrazida (3). A terceira e última etapa é a reação de condensação do aldeído de interesse a hidrazida (3) mantendo o grupo protetor das hidroxilas, obtendo assim as *N*-acilhidrazonas (4).

FIGURA 18. Rota sintética proposta.

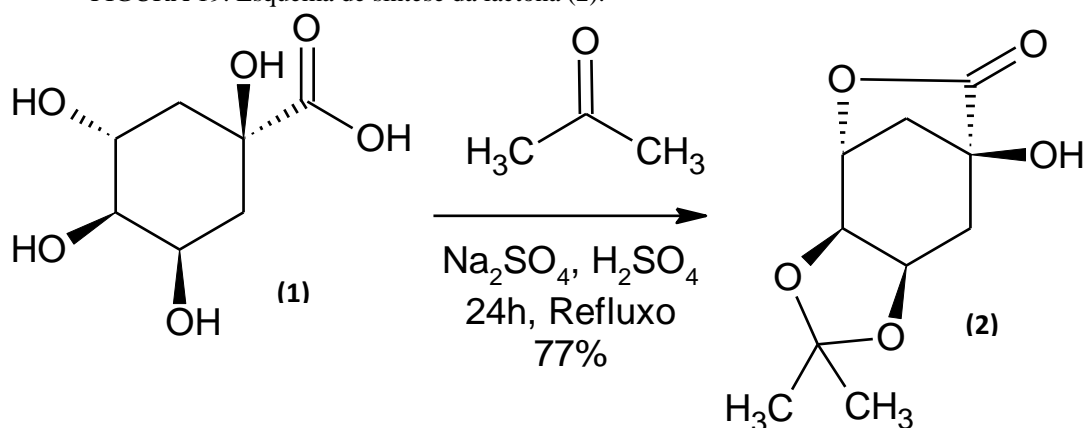


Fonte: Do autor.

5.3.1. Síntese da lactona (2)

Partindo-se do ácido quínico (1), este foi submetido a uma reação com acetona em meio ácido para a proteção das duas hidroxilas em cis e formação da lactona, fornecendo o produto lactona cetal (2) (Figura 20). Utilizou-se a acetona anidra de modo a evitar interferência da água no meio reacional, junto com a adição do sulfato de sódio para absorver alguma substância de H₂O formada nesta reação com o uso ácido sulfúrico como catalisador.

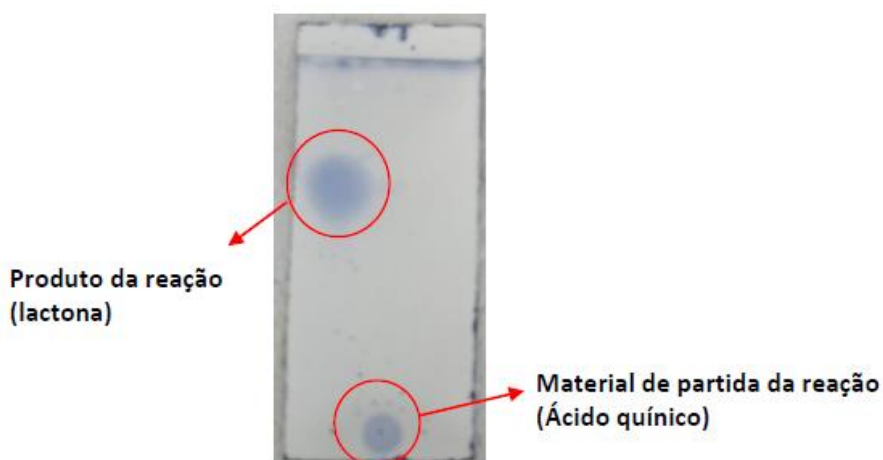
FIGURA 19. Esquema de síntese da lactona (2).



Fonte: Do autor.

A reação foi monitorada por cromatografia de camada delgada (CCD) para indicar o fim da reação (Figura 21). Como o ácido quínico (1) é muito mais polar do que o produto formado, o *spot* do material de partida ficou retido na base da CCD, enquanto o produto da reação correu com o eluente de 50%/50% hexano/acetato de etila.

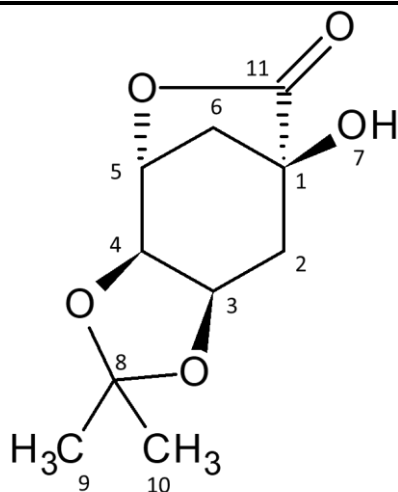
FIGURA 20. Imagem da CCD da reação da síntese da lactona (2) com eluente acetato de etila/hexano (50%/50%).



Fonte: Do autor.

O composto foi caracterizado pela técnica de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (Figuras 22 e 23) nos quais os sinais de deslocamento químicos de RMN de ^1H e de ^{13}C estão atribuídos na tabelas 3.

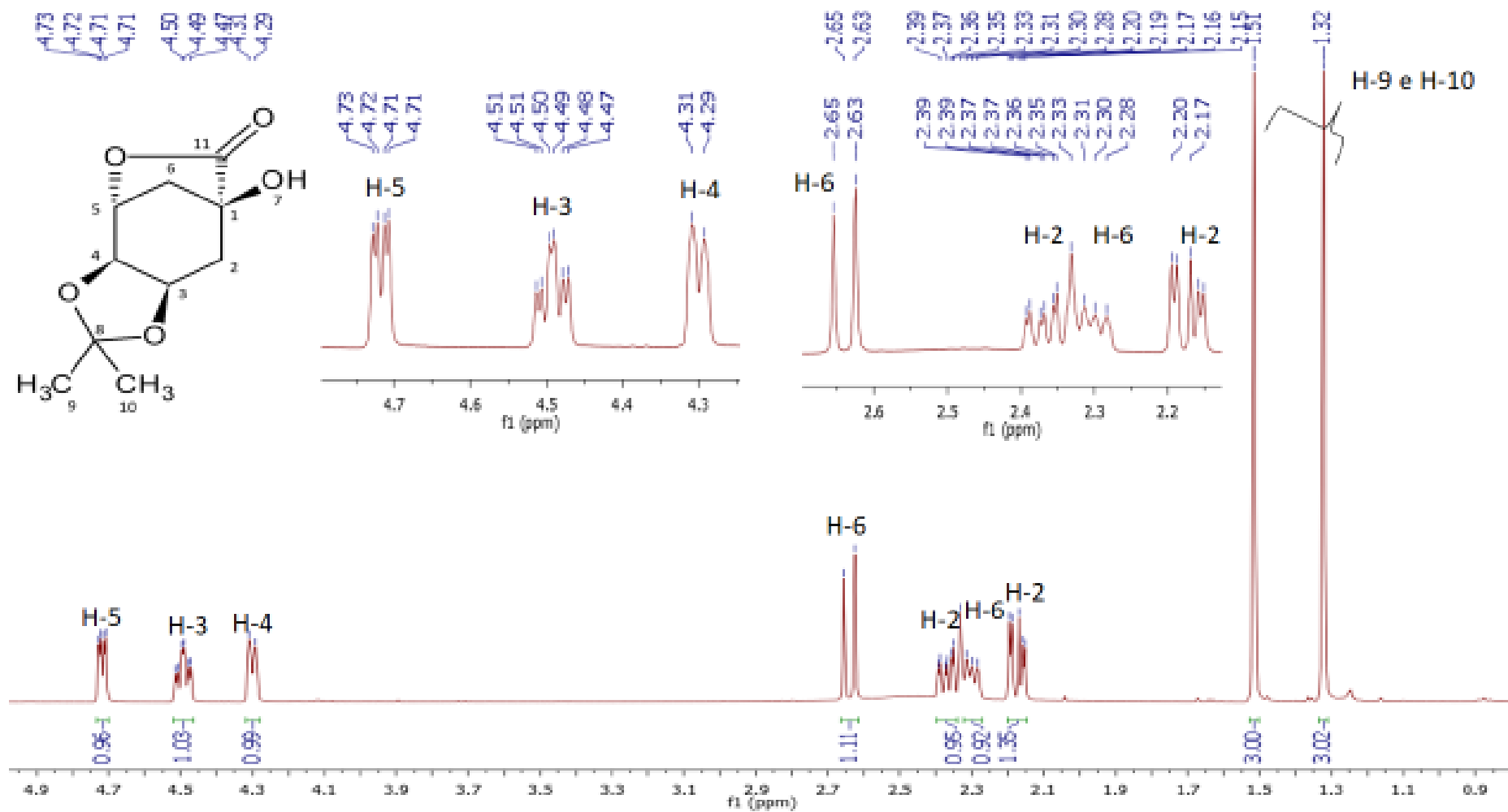
TABELA 3. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C da lactona (2).



Hidrogênios	δ (ppm)	Carbonos	δ (ppm)
H-2	2,17 (m) e 2,37 (m)	C-1	71,66
H-3	4,49 (td)	C-2	38,29
H-4	4,30 (d)	C-3	71,63
H-5	4,72 (dd)	C-4	72,22
H-6	2,30 (m) e 2,64 (d)	C-5	75,96
H-9 e H-10	1,31 (s) e 1,51 (s)	C-6	34,41
		C-8	109,92
		C-9 e C-10	24,42 e 27,09
		C-11	179,03

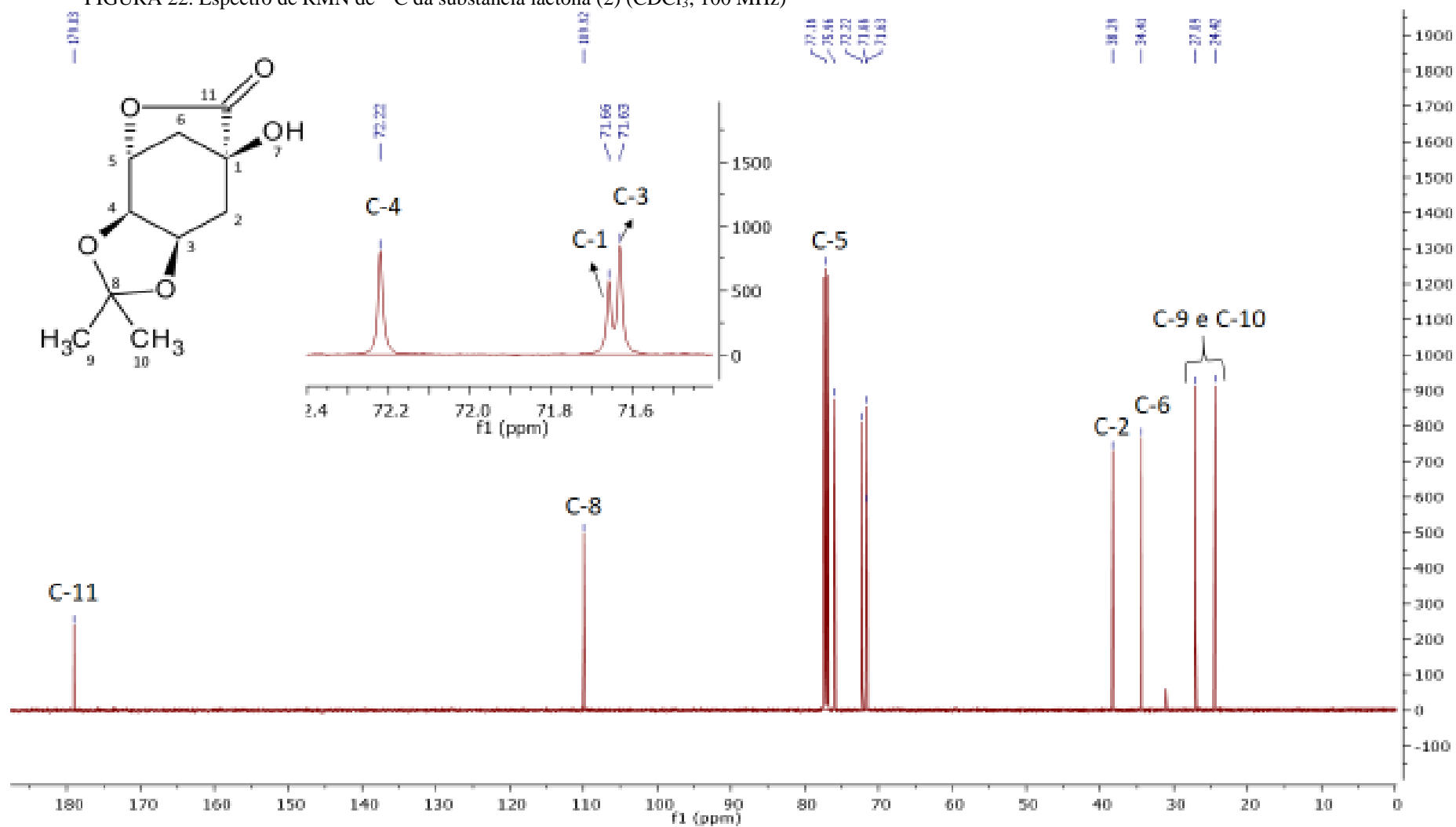
Fonte: Do autor.

FIGURA 21. Espectro de RMN de ^1H da substância lactona (2) (CDCl_3 ; 400 MHz)



Fonte: Do autor.

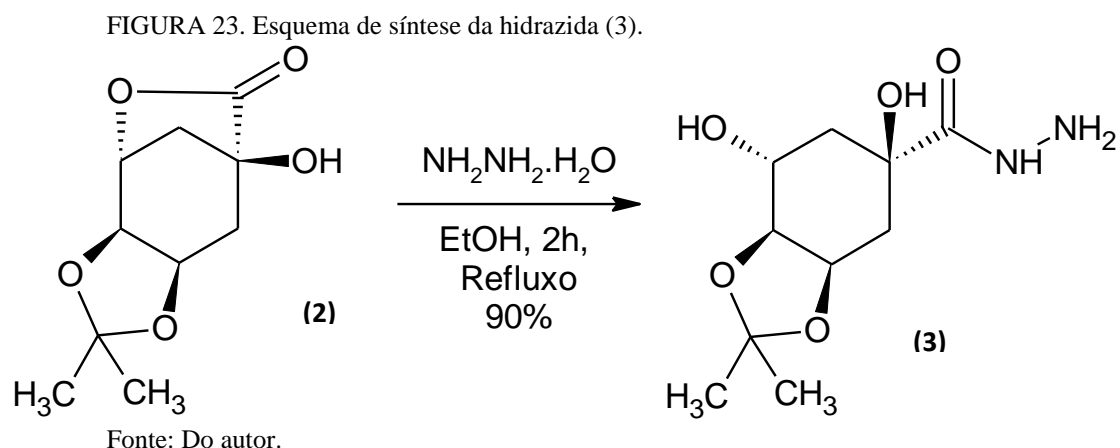
FIGURA 22. Espectro de RMN de ^{13}C da substância lactona (2) (CDCl_3 ; 100 MHz)



Fonte: Do autor.

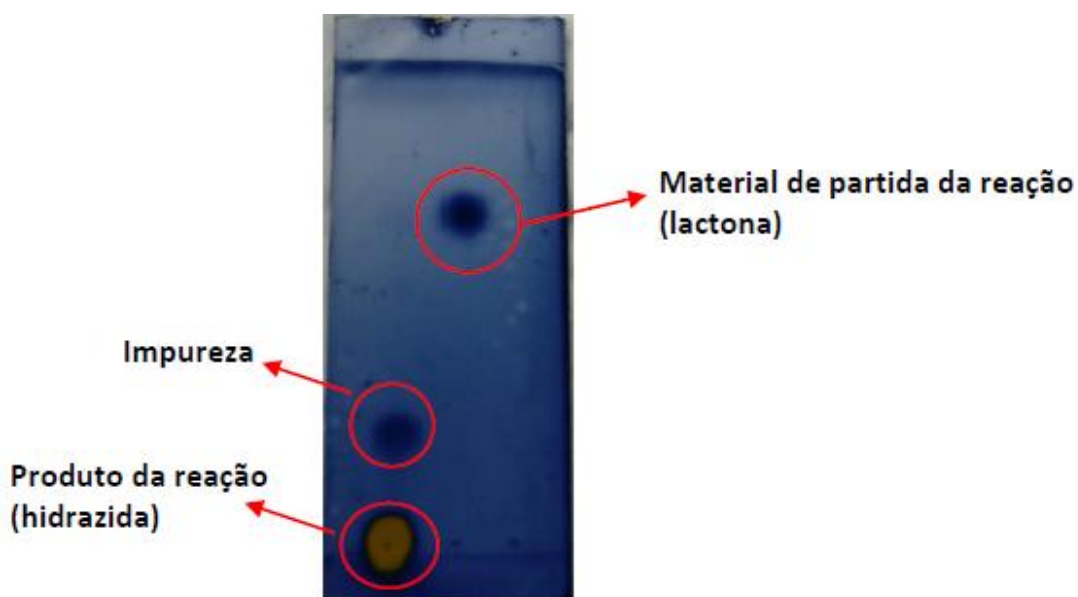
5.3.2. Síntese da hidrazida (3)

O produto foi submetido à reação de hidrazinólise para abertura da lactona (2) e formação do intermediário-chave hidrazídico (3) correspondente. Em razão da alta reatividade da lactona (2) de partida esta reação pode ser realizada na presença de apenas um equivalente de hidrato de hidrazina em etanol sob refluxo para obter a hidrazida (3) (Figura 24) (LIMA, et al. 2000).



O monitoramento da reação foi realizado com uso da CCD, e após as duas horas de reação, a ausência da mancha no mesmo Rf do padrão indicou o fim da reação (Figura 25).

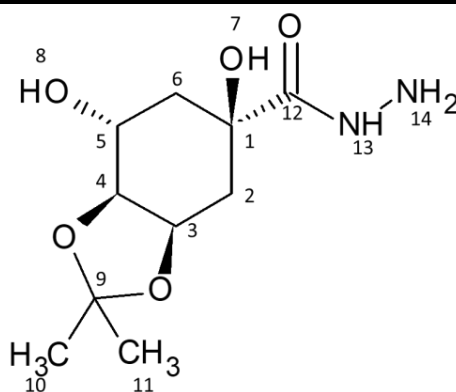
FIGURA 24. Imagem da CCD da reação da síntese da hidrazida (3) com eluente acetato de etila/hexano (50%/50%).



A hidrazida foi caracterizada pelas técnicas de Infravermelho (IV) e RMN de ^1H e RMN de ^{13}C . A análise do espectro de IV (Figura 26) sugeriu a presença do grupo funcional amida através da presença das bandas de estiramento assimétrico e simétrico características de ligações N-H. Estas bandas apresentam número de onda de 3480,70; 3287,09 e 3171,60 cm^{-1} , já a banda de estiramento à 1671,59 cm^{-1} sugere a presença de ligações C=O, de amidas N,N substituídas.

Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C (Figura 27 e 28) teve seus sinais atribuídos e apresentados na tabela 4. Os sinais característicos deste composto são os de hidrogênios ligados nos nitrogênios H-13 e H-14 com deslocamento químico 8,82 e 4,23 ppm respectivamente.

TABELA 4. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C da hidrazida (3).

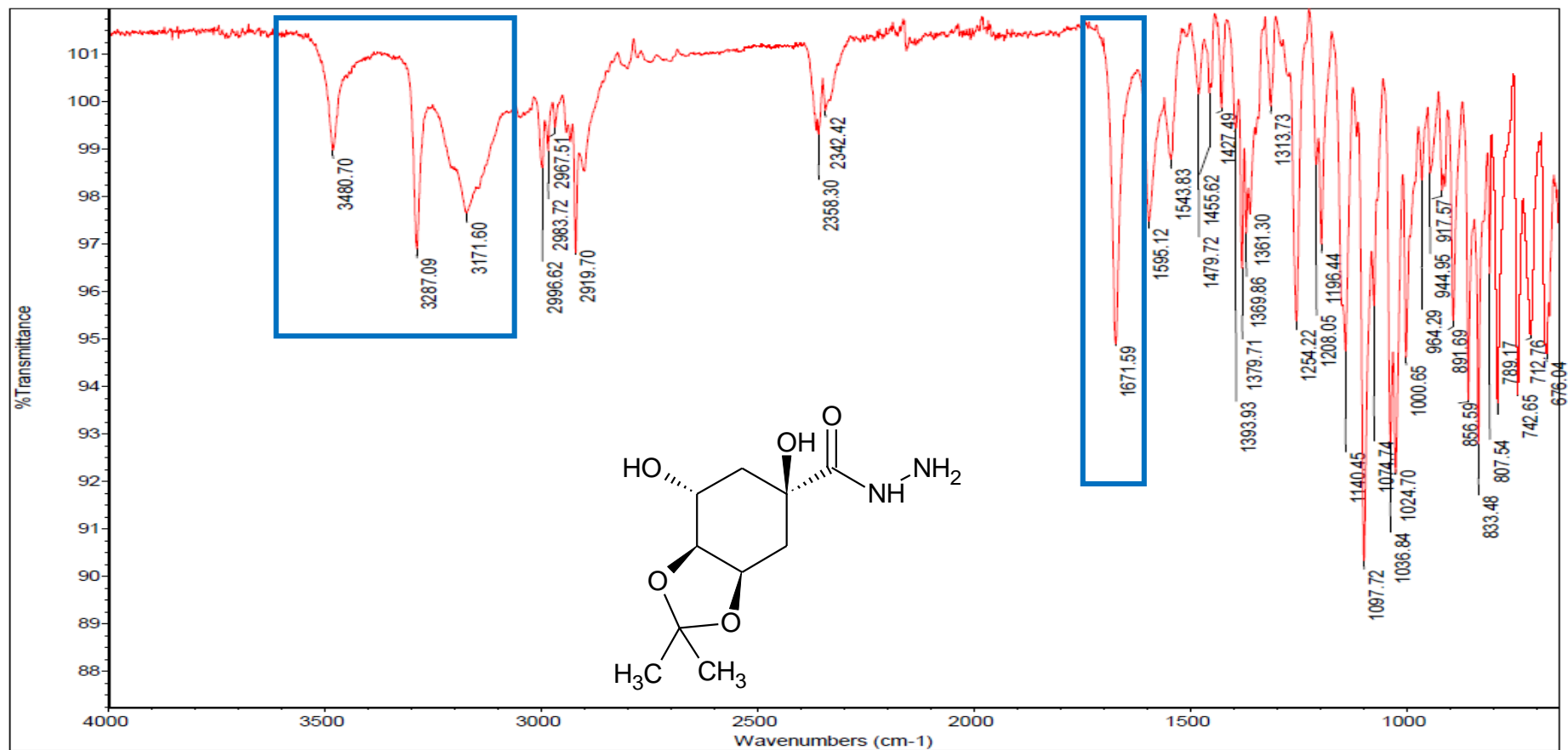


Hidrogênios	δ (ppm)	Carbonos	δ (ppm)
H-2	1,77 (m) e 2,05 (m)	C-1	73,41
H-3	4,33 (q)	C-2	35,87
H-5 e H-4	3,80 (m)	C-3	72,99
H-6	1,63 (m)	C-4	80,33
H-7	5,17 (s)	C-5	66,85
H-8	5,01 (d)	C-6	40,01
H-10 e H-11	1,25 (s) e 1,39 (s)	C-9	107,38
H-13	8,82 (s)	C-10 e C-11	25,63 e 28,14
H-14	4,23(d)	C-12	174,63

Fonte: Do autor.

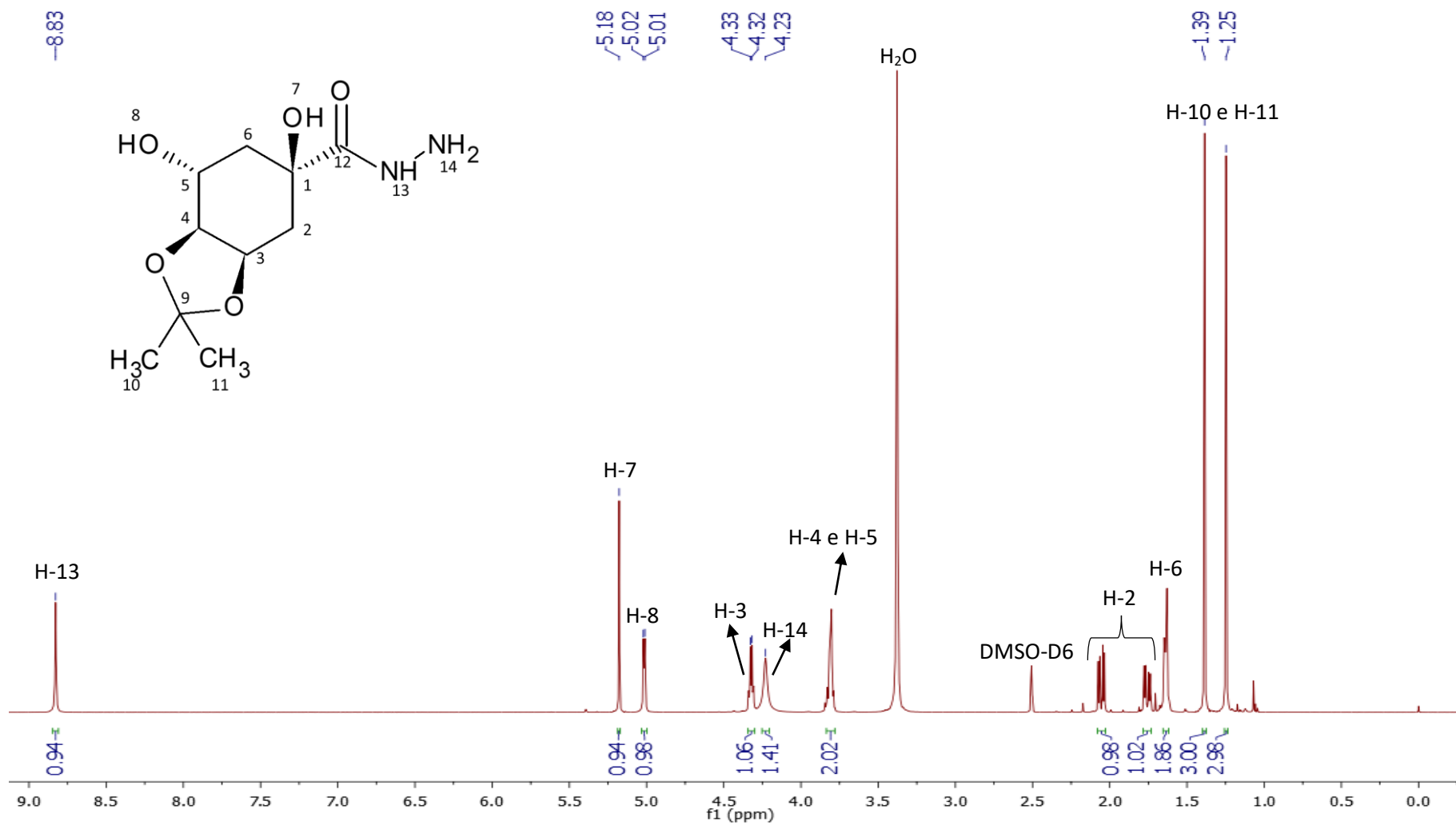
O sinal referente ao C-6 com deslocamento 40,01 ppm observado no RMN de ^{13}C está sobreposto pelo sinal do solvente utilizado o DMSO- d_6 , que apresenta um deslocamento 39,52 ppm e forma de hepteto. Este sinal do C-6 foi observado devido a uma maior intensidade em um dos picos do hepteto e confirmado com espectro DEPT 135 (Figura 29), no qual os carbonos com dois hidrogênios apresentam em modo negativo no espectro (Gottfried, 1997).

FIGURA 25. Espectro de infravermelho da substância hidrazida (3).

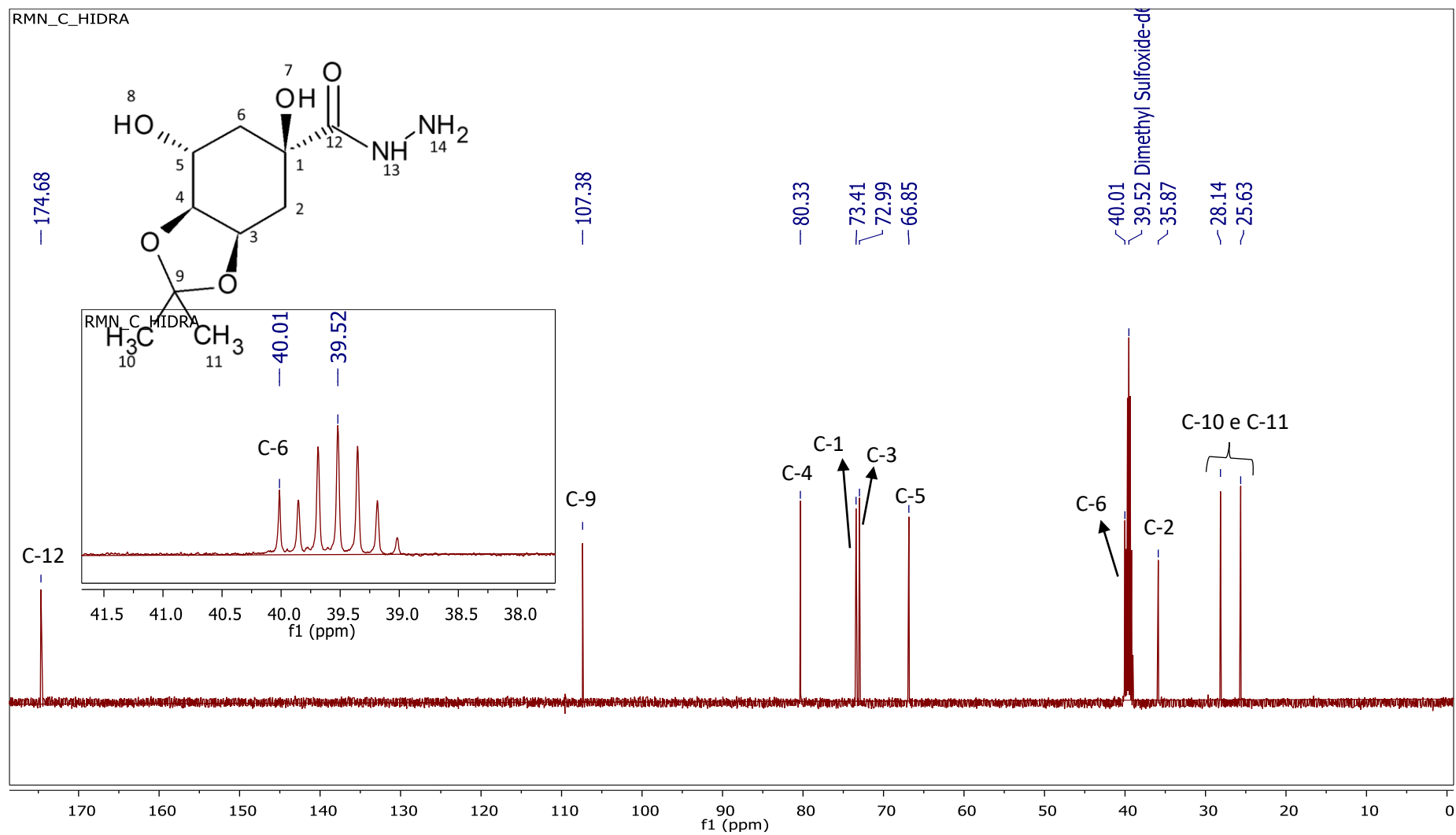


Fonte: Do autor.

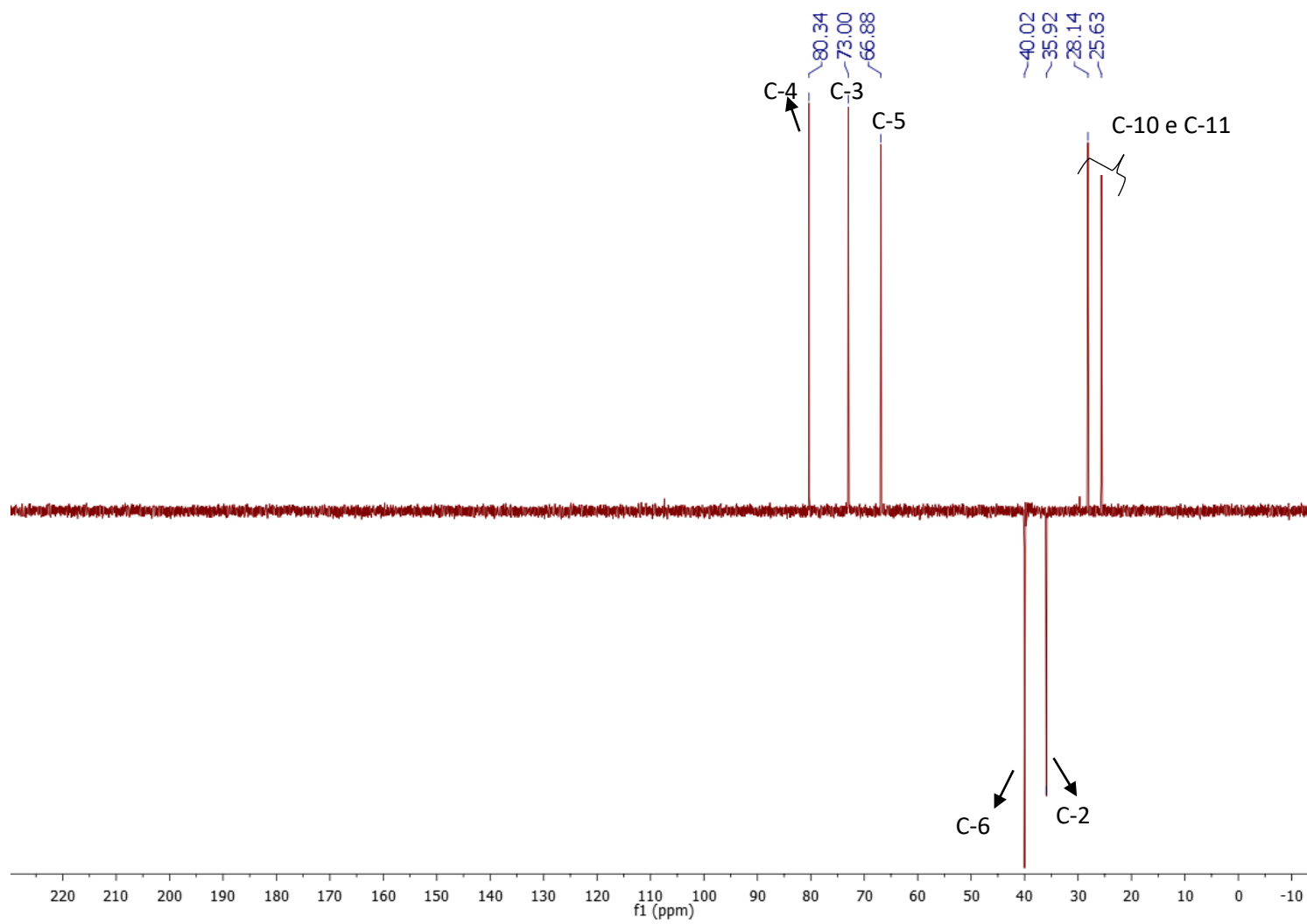
FIGURA 26. Espectro de RMN de ^1H da substância hidrazida (3) (DMSO-d_6 , 500 MHz).



Fonte: Do autor.

FIGURA 27. Espectro de RMN de ^{13}C da substância hidrazida (2) (DMSO- d_6 , 125MHz).

Fonte: Do autor.

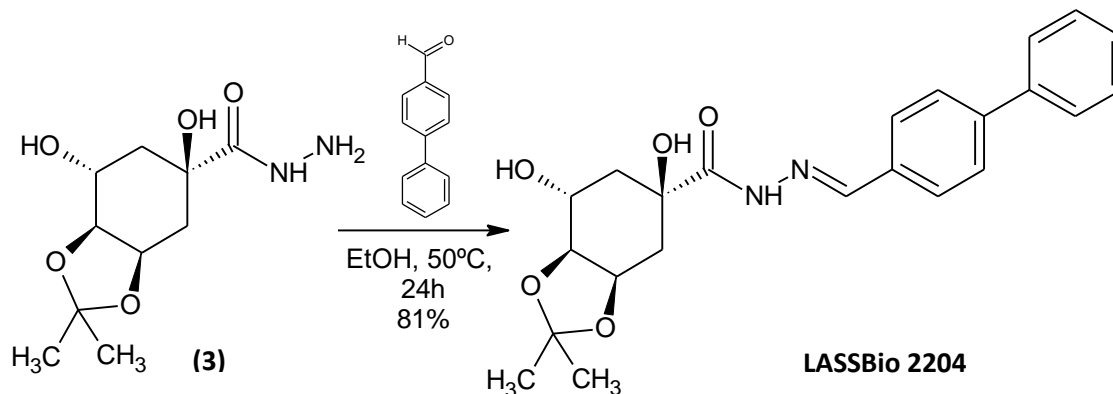
FIGURA 28. DEPT 135 da substância hidrazida (3) (DMSO-d₆; 125 MHz).

Fonte: Do autor.

5.3.3. Síntese da *N*-acilidrazona com 4-bifenilbenzaldeído (LASSBio 2204)

A hidrazida (3) foi colocada em um balão e solubilizada com uma pequena quantidade de etanol absoluto sob aquecimento de modo que solução não fique muito diluída dificultando a interação das moléculas no meio reacional. Na sequência foi adicionado o aldeído de interesse (4-bifenilbenzaldeído) sólido direto no balão (Figura 30).

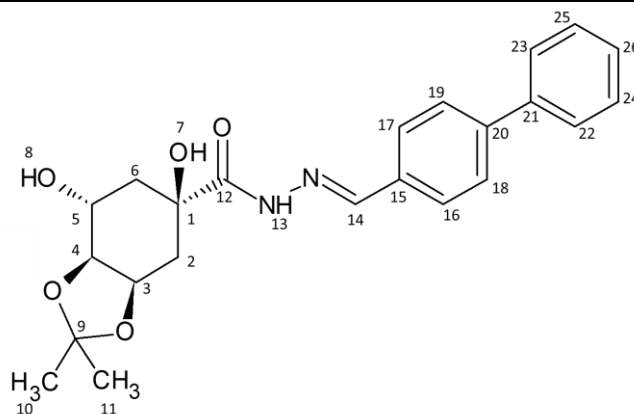
FIGURA 29. Esquema da reação de condensação com 4-bifenilbenzaldeído



Fonte: Do autor.

Um precipitado branco foi formado, no qual foi filtrado e lavado com etanol absoluto gelado. Como sólido branco apresentava o mesmo R_f do aldeído (4-bifenilbenzaldeído), foram realizadas outras técnicas de identificação como IV (Figura 31), RMN de ¹H e RMN de ¹³C de modo a confirmar a evolução da reação (Figura 32 e 33) com todos os sinais atribuídos na tabela 6 com o auxílio dos espectros dos COSY e HMBC (ANEXO C)..

O espectro de IV indicou presença ligações C=O, de amidas N,N substituídas com uma banda de sinal forte com comprimento de onda de 1668,22 cm⁻¹(Figura 31). Já nos sinais atribuídos no espectro de RMN de ¹H destaca-se os dois sinais característicos das NAH referentes aos H-13 e H-14, com δ em 11,28 e 8,51 respectivamente, sendo ambos simpletos (Tabela 5).

TABELA 5. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2204.

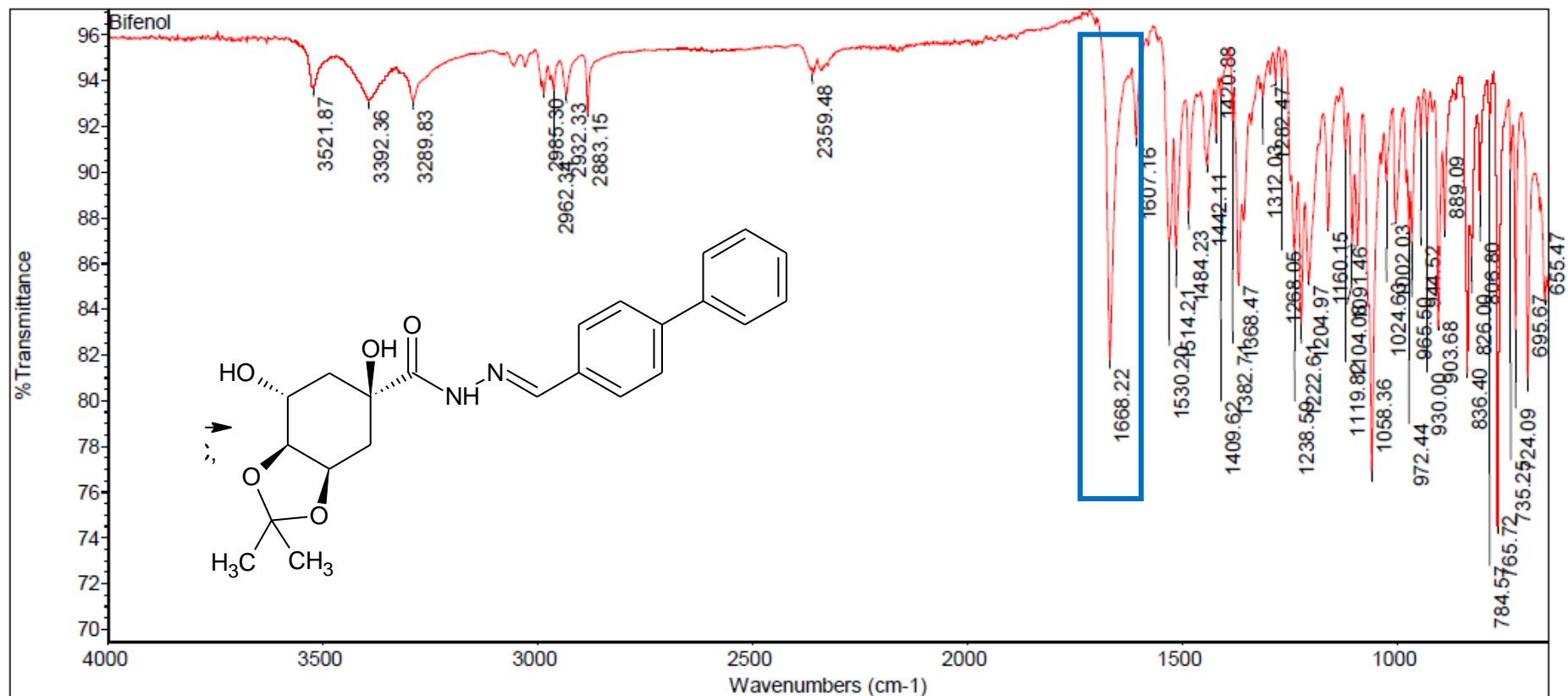
Hidrogênios	δ (ppm)	Carbonos	δ (ppm)
H-2	1,88 (m) e 2,19 (m)	C-1	73,75
H-3	4,37 (q)	C-2	35,74
H-4 e H-5	3,86 (m) e 3,91 (m)	C-3	72,98
H-6	1,78 (m)	C-4	80,52
H-7	5,58 (s)	C-5	66,94
H-8	4,99 (s)	C-6	40,05
H-10 e H-11	1,28 (s) e 1,42 (s)	C-9	107,40
H-13	11,28 (s)	C-10 e C-11	25,61 e 28,11
H-14	8,51 (s)	C-12	172,36
H-16 e H-17	7,76 (d)	C-14	147,65
H-18 e H-19	7,72 (d)	C-15	141,45
H-22 e H-23	7,49 (t)	C-16 e C-17	128,97
H-24 e H-25	7,40 (t)	C-18 e C-19	127,97
H-26		C-20	139,30
		C-21	133,48
		C-22 e C-23	126,99
		C-24 e C-25	126,62
		C-26	127,82

Fonte: Do autor.

Pode-se observar que houve sobreposição dos sinais de hidrogênio 20, 21, 22 e 23 foi influenciado pela presença do segundo anel aromático conjugado.

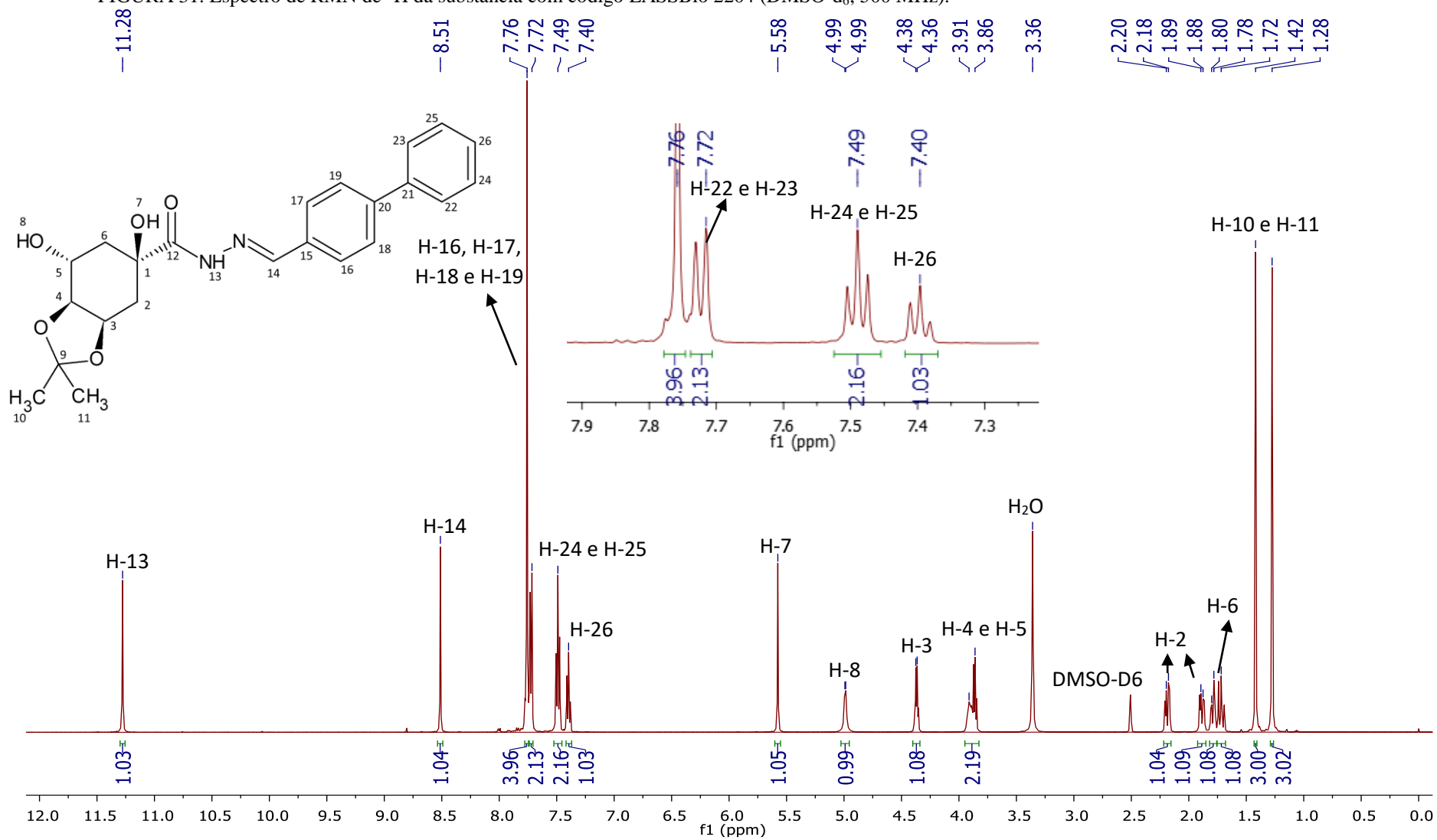
O espectro de RMN de ^{13}C do LASSBio 2204 (Figura 33) destaca-se os sinais referentes ao C-6 com δ de 40,57 sobreposto pelo sinal do solvente DMSO e pelo sinal C-14 com δ de 148,17, que caracteriza que houve a condensação do aldeído à hidrazida (3).

FIGURA 30. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2204.



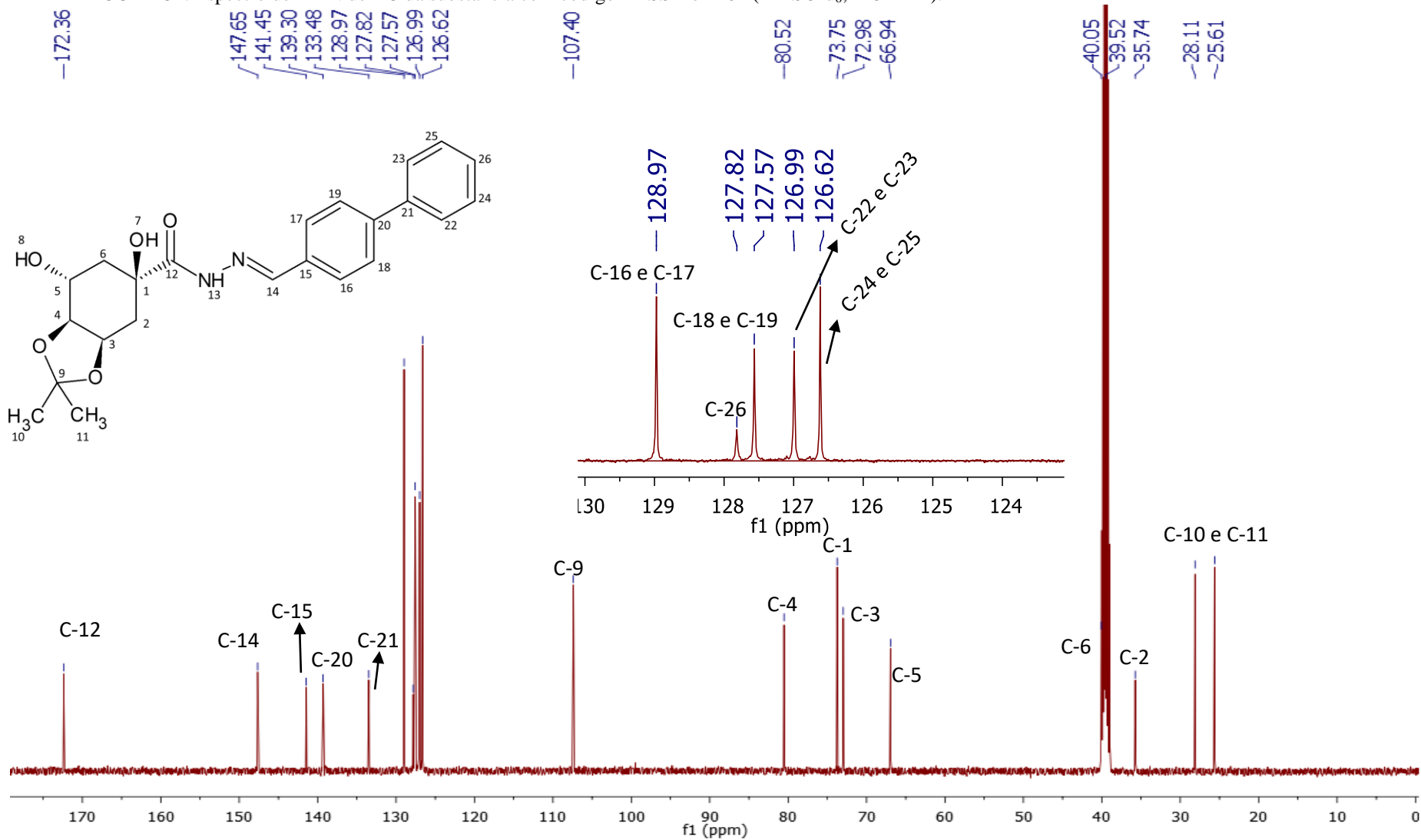
Fonte: Do autor.

FIGURA 31. Espectro de RMN de ^1H da substância com código LASSBio 2204 (DMSO- d_6 ; 500 MHz).



Fonte: Do autor.

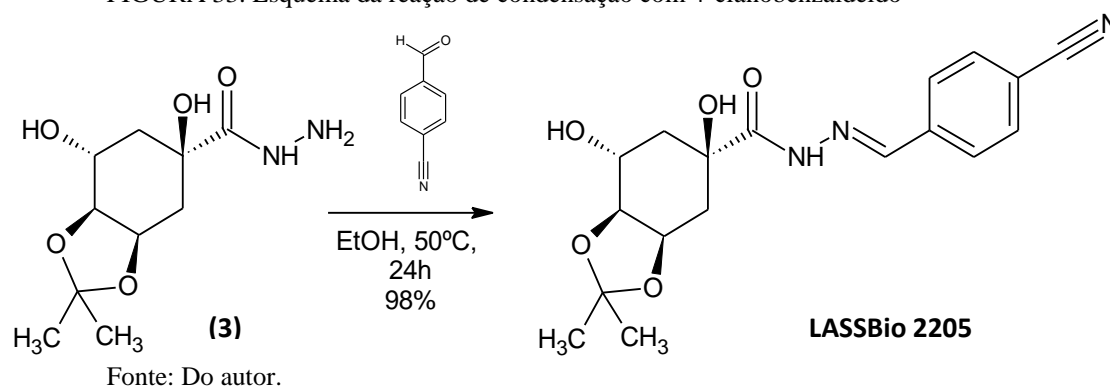
FIGURA 32. Espectro de RMN de ^{13}C da substância com código LASSBio 2204 (DMSO- d_6 ; 125 MHz).



5.3.4. Síntese da *N*-acilidrazona com 4-cianobenzaldeído (LASSBio 2205)

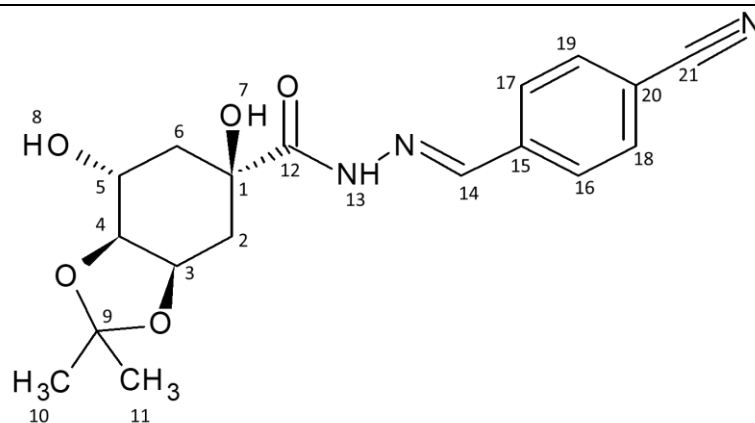
A hidrazida (3) foi colocada em um balão e solubilizada com uma pequena quantidade de etanol absoluto sob aquecimento de modo que solução não fique muito diluída dificultando a interação das moléculas no meio reacional. Na sequência foi adicionado o aldeído de interesse (4-cianobenzaldeído) sólido direto no balão (Figura 34).

FIGURA 33. Esquema da reação de condensação com 4-cianobenzaldeído



Um precipitado branco foi formado, no qual foi filtrado e lavado com etanol absoluto gelado. Como sólido branco apresentava o mesmo R_f do aldeído (4-cianobenzaldeído), foram realizadas outras técnicas de identificação como IV (Figura 35), RMN de ^1H e RMN de ^{13}C de modo a confirmar a evolução da reação (Figura 36 e 37) com todos os sinais atribuídos na tabela 6 com o auxílio dos espectros dos COSY e HMBC (ANEXO B)..

O espectro em IV indicou presença de nitrilas com o estiramento da banda com comprimento de onda $2225,56\text{ cm}^{-1}$ e de $\text{C}=\text{O}$, de amidas N,N substituídas com uma com comprimento de onda de $1669,22\text{ cm}^{-1}$ (Figura 35). Destaca-se na atribuição dos sinais no espectro de RMN de ^1H os dois sinais característicos da obtenção das NAH, que são referentes aos H-13 e H-14, com δ em 11,52 e 8,52 respectivamente, sendo ambos simpletos.

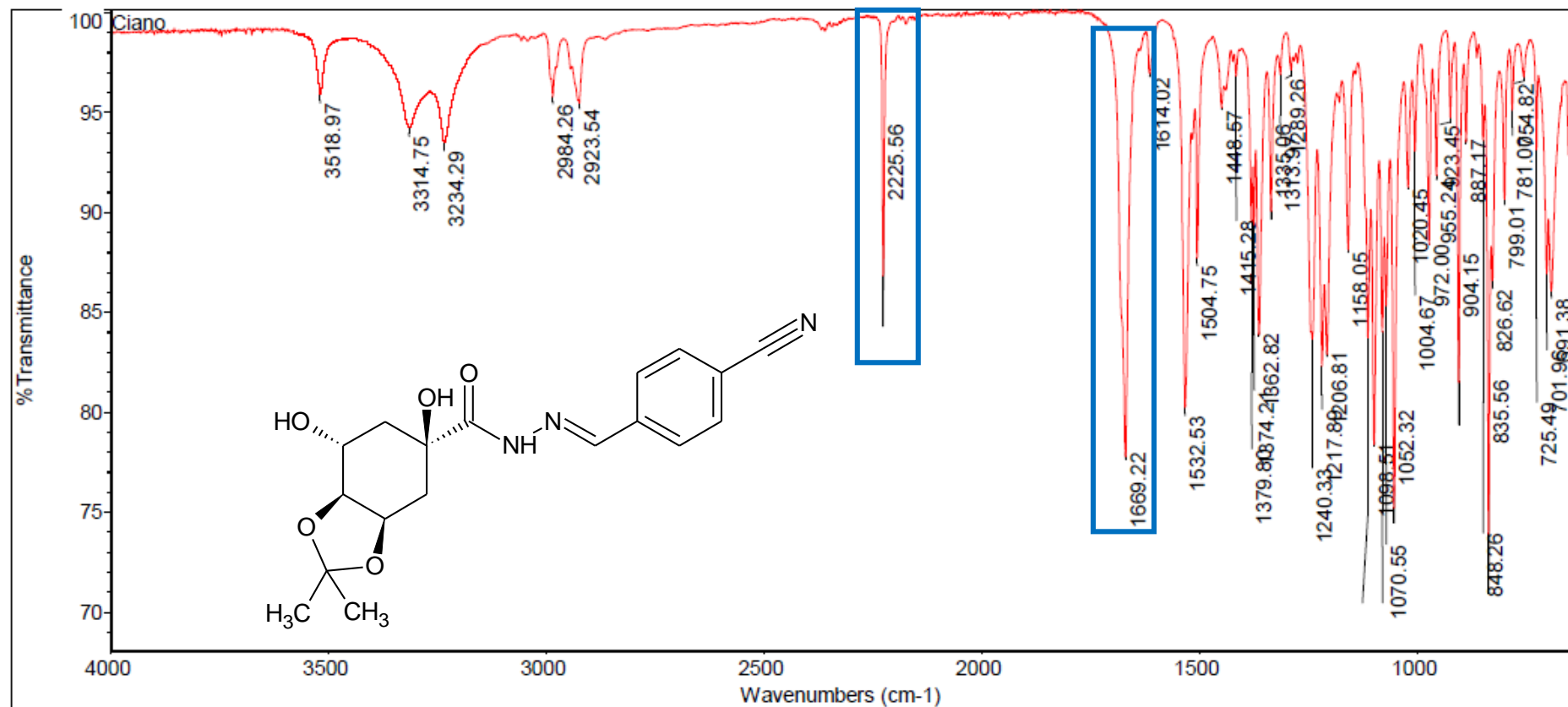
TABELA 6. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2205.

Hidrogênios	δ (ppm)	Carbonos	δ (ppm)
H-2	1,87 (dd) e 2,16 (dd)	C-1	74,28
H-3	4,35 (m)	C-2	36,15
H-4 e H-5	3,85 (m)	C-3	73,45
H-6	1,78 (m)	C-4	81,02
H-7	5,62 (s)	C-5	67,39
H-8	4,98 (d)	C-6	40,52
H-10 e H-11	1,27 (s) e 1,41 (s)	C-9	107,92
H-13	11,52 (s)	C-10 e C-11	26,14 e 28,63
H-14	8,52 (s)	C-12	175,12
H-16 e H-17	7,90 (d)	C-14	146,58
H-18 e H-19	7,83 (d)	C-15	139,37
		C-16 e C-17	133,22
		C-18 e C-19	128,02
		C-20	112,31
		C-21	173,21

Fonte: Do autor.

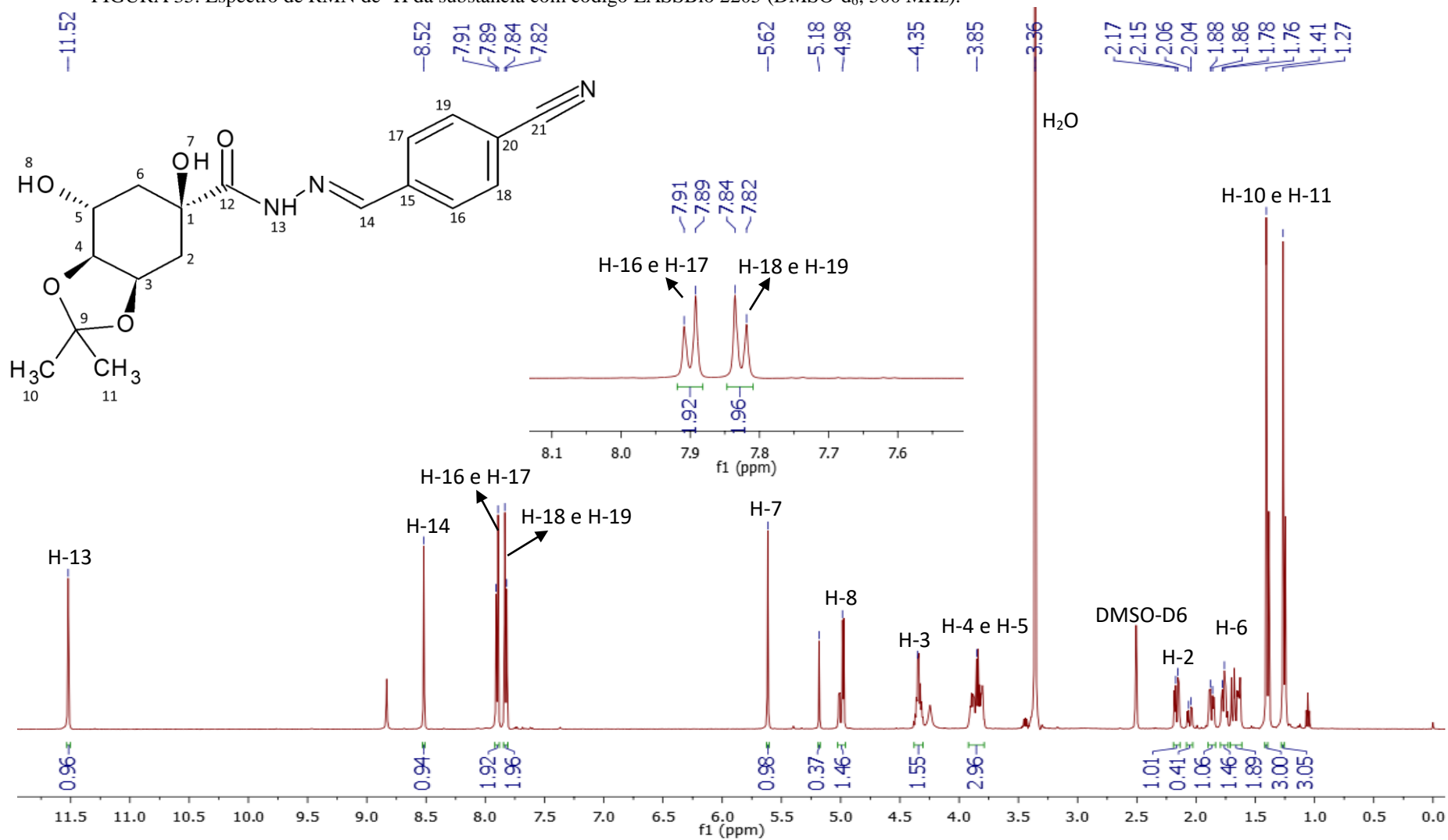
No espectro de RMN de ^{13}C do LASSBio 2205 (Figura 37), destaca-se o sinal do C-14 com δ 146,58 ppm, característico da condensação do 4-cianobenzaldeído à hidrazida.

FIGURA 34. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2205.



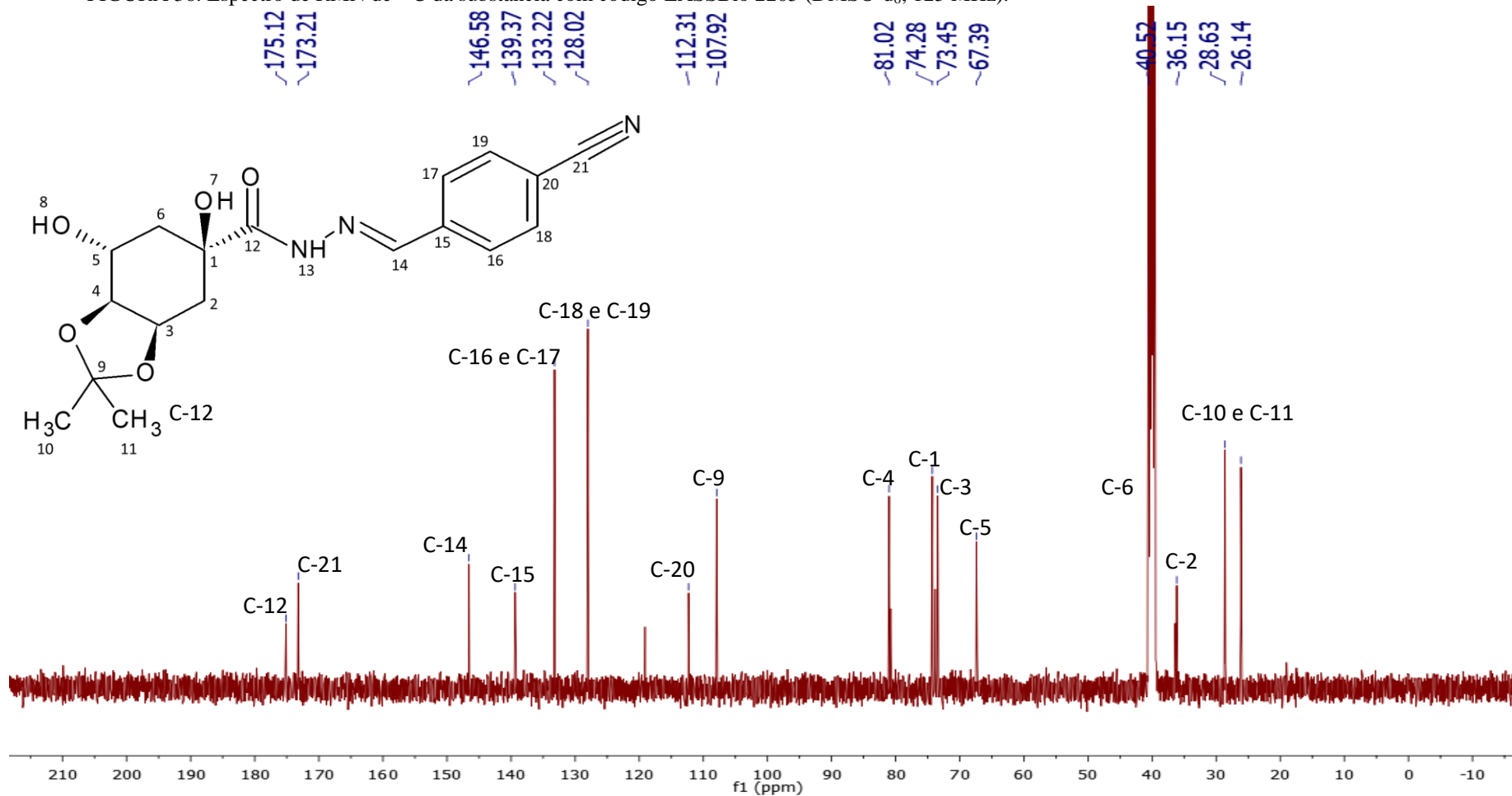
Fonte: Do autor.

FIGURA 35. Espectro de RMN de ^1H da substância com código LASSBio 2205 (DMSO- d_6 ; 500 MHz).



Fonte: Do autor

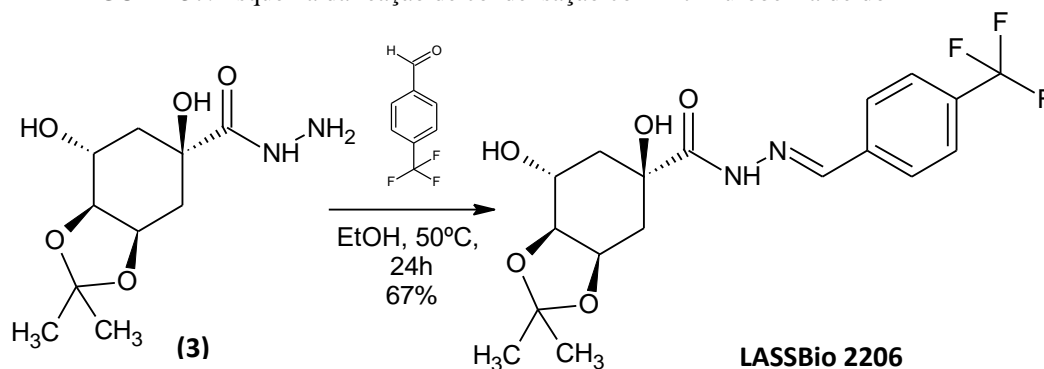
FIGURA 36. Espectro de RMN de ^{13}C da substância com código LASSBio 2205 (DMSO- d_6 ; 125 MHz).



5.3.5. Síntese da *N*-acilidrazona com 4-trifluorobenzaldeído (LASSBio 2206)

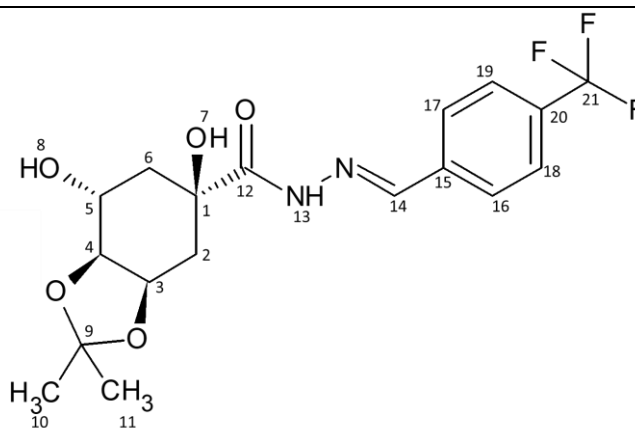
A hidrazida (3) foi colocada em um balão e solubilizada com uma pequena quantidade de etanol absoluto sob aquecimento de modo que solução não fique diluída dificultando a interação das moléculas no meio reacional. Na sequência foi adicionado o aldeído de interesse (4-trifluorobenzaldeído) sólido direto no balão (Figura 38).

FIGURA 37. Esquema da reação de condensação com 4-trifluorobenzaldeído



Fonte: Do autor.

Um precipitado branco foi formado, no qual foi filtrado e lavado com etanol absoluto gelado. Como sólido branco apresentava o mesmo R_f do aldeído (4-trifluorobenzaldeído), foram realizadas outras técnicas de identificação como IV (Figura 39), RMN de ^1H e RMN de ^{13}C de modo a confirmar a evolução da reação (Figura 40 e 41) com todos os sinais atribuídos na tabela 7 com o auxílio dos espectros dos COSY e HMBC (ANEXO C).

TABELA 7. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2206.

Hidrogênios	δ (ppm)	Carbonos	δ (ppm)
H-2	1,86 (dd) e 2,16 (dd)	C-1	73,71
H-3	4,35 (q)	C-2	35,72
H-4 e H-5	3,86 (m)	C-3	72,96
H-6	1,69 (m) e 1,76 (m)	C-4	80,51
H-7	5,56 (s)	C-5	66,92
H-8	4,97 (d)	C-6	40,03
H-10 e H-11	1,27 (s) e 1,41 (s)	C-9	107,39
H-13	11,24 (s)	C-10 e C-11	25,60 e 28,10
H-14	8,46 (s)	C-12	172,36
H-16 e H-17	7,71 (q)	C-14	146,00
H-18 e H-19	7,28 (t)	C-15	130,96
		C-16 e C-17	129,07 e 129,14
		C-18 e C-19	115,74 e 115,92
		C-20	162,04

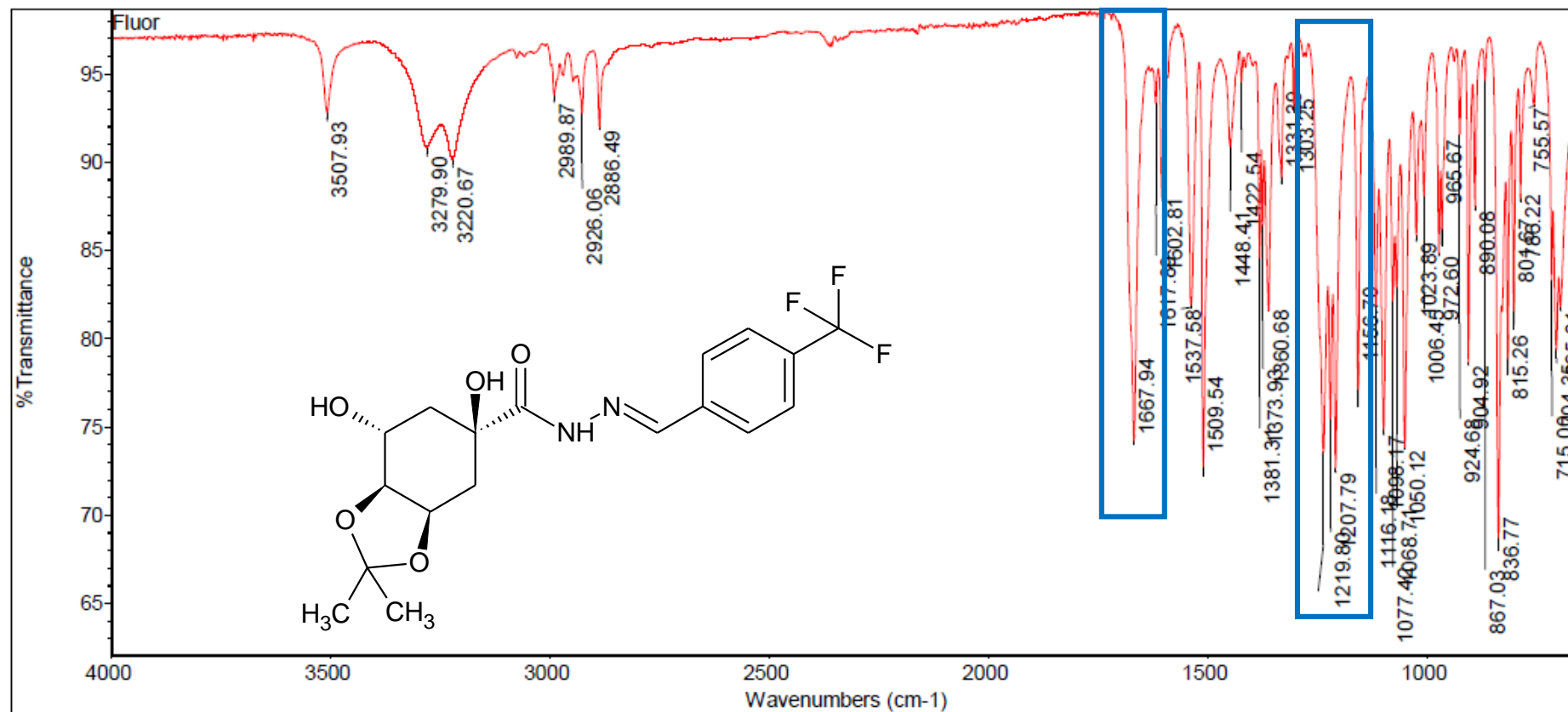
Fonte: Do autor.

No espectro de IV foi possível observar os dois grupos funcionais de característicos do LASSBio 2206, que apresentou as bandas com comprimento de onda de $1667,94\text{ cm}^{-1}$ referente a $\text{C}=\text{O}$, N,N substituído e as bandas com comprimento de onda de $1219,80\text{ cm}^{-1}$ e $1207,79\text{ cm}^{-1}$ referentes as ligações $\text{C}-\text{F}$.

Os sinais característicos no espectro de RMN de ^1H da formação da NAH, são referentes aos H-13 e H-14, δ em 11,24 e 8,46 respectivamente, sendo ambos singletos. Já os sinais referentes aos H-16 e H-17 apresentam quarteto e o H-18 e H-19 tripleto, apresentaram esses desdobramentos devido ao acoplamento com os átomos de flúor.

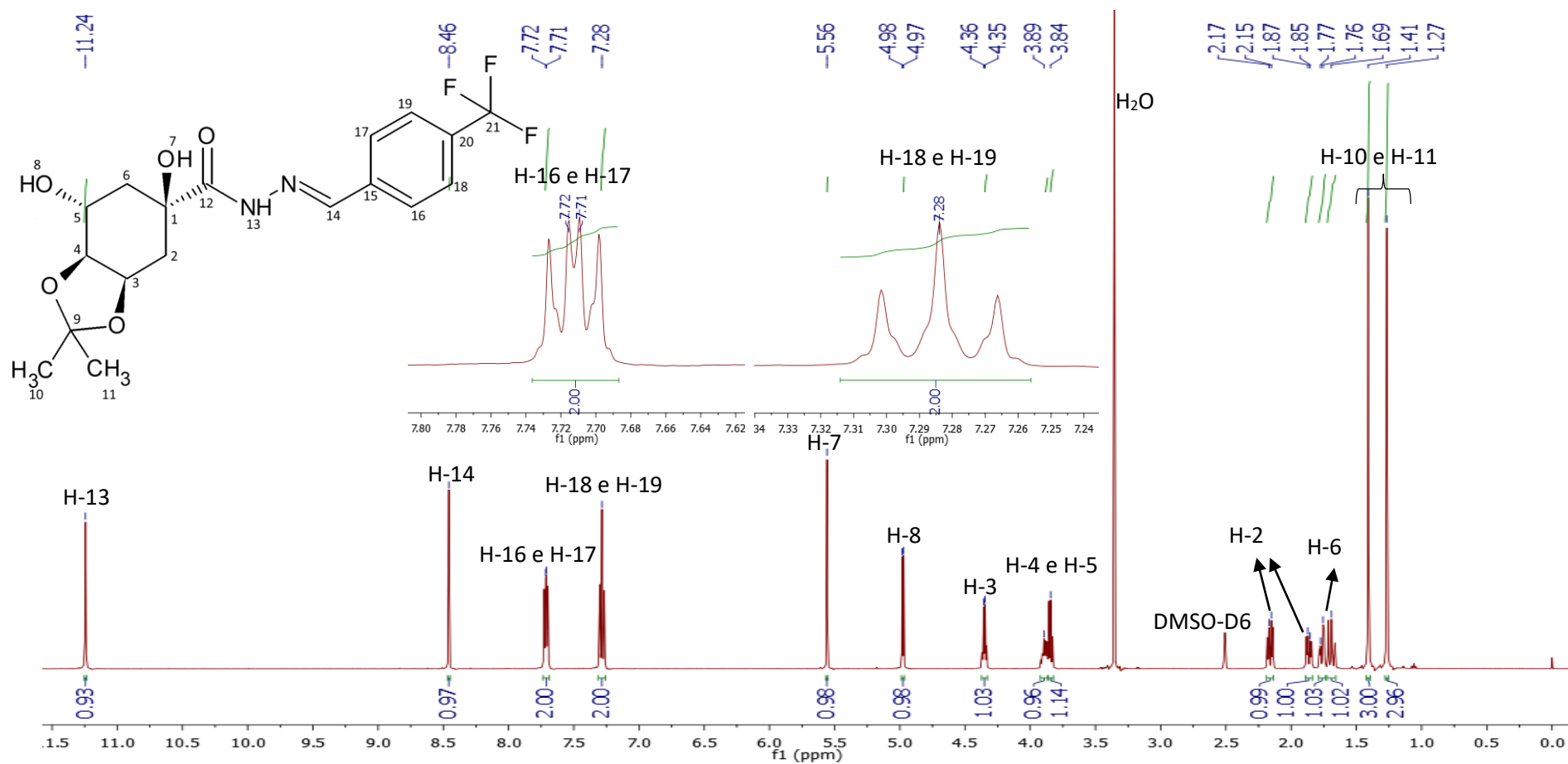
O espectro de RMN de ^{13}C do LASSBio 2206 (Figura 41) tem seus sinais atribuídos na tabela 13, dos quais se destacam os sinais referentes aos C-16, C-17 e C-18, C-19 que também apresentaram um desdobramento de sinal devido ao acoplamento com os átomos de flúor próximos ao anel aromático.

FIGURA 38. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2206.



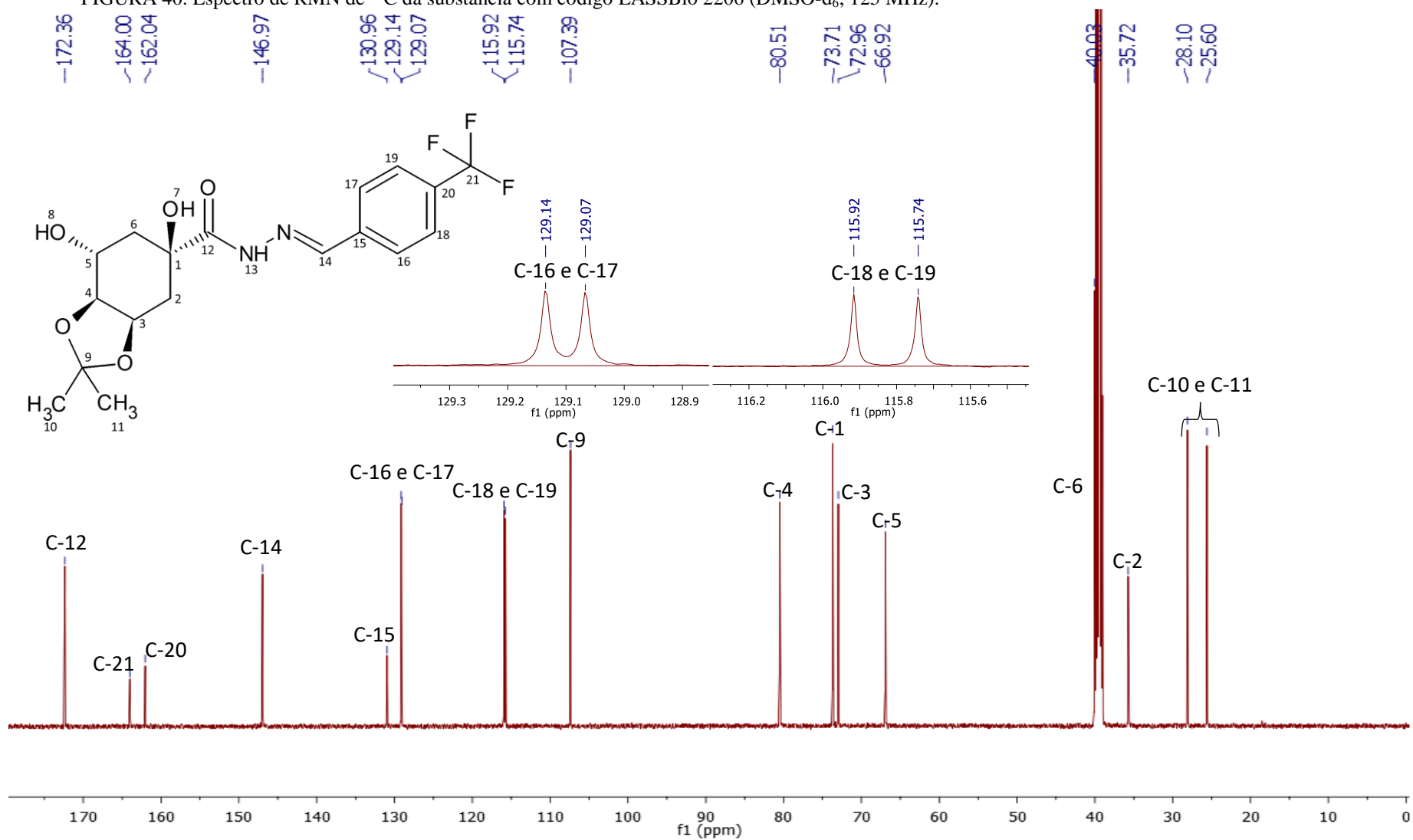
Fonte: Do autor.

FIGURA 38. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2206.



Fonte: Do autor

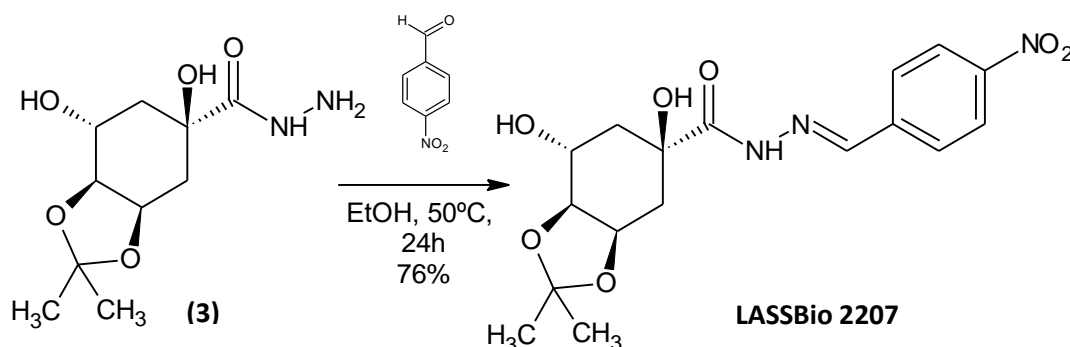
FIGURA 40. Espectro de RMN de ^{13}C da substância com código LASSBio 2206 (DMSO- d_6 ; 125 MHz).



5.3.6. Síntese da *N*-acilidrazona com 4-nitrobenzaldeído (LASSBio 2207)

A hidrazida (3) foi colocada em um balão e solubilizada com uma pequena quantidade de etanol absoluto sob aquecimento de modo que solução não fique muito diluída dificultando a interação das moléculas no meio reacional. Na sequência foi adicionado o aldeído de interesse (4-nitrobenzaldeído) sólido direto no balão (Figura 42).

FIGURA 41. Esquema da reação de condensação com 4-nitrobenzaldeído

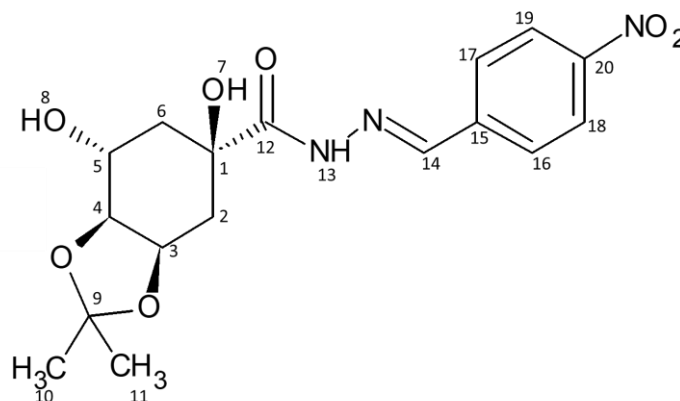


Fonte: Do autor

Um precipitado amarelo foi formado, no qual foi filtrado e lavado com etanol absoluto gelado. Como sólido amarelo apresentava o mesmo Rf do aldeído (4-nitrobenzaldeído), foram realizadas outras técnicas de identificação como IV (Figura 43), RMN de ^1H e RMN de ^{13}C de modo a confirmar a evolução da reação (Figura 44 e 45) com todos os sinais atribuídos na tabela 8 com o auxílio dos espectros dos COSY e HMBC (ANEXO D)..

No espectro de IV foi possível observar bandas referentes a dois grupos funcionais característicos, uma banda com comprimento de onda de $1674,36\text{ cm}^{-1}$ referente a C=O, N,N substituído e duas bandas fortes com deformação axial simétrica e assimétrica de comprimento de onda de $1513,33\text{ cm}^{-1}$ e $1341,76\text{ cm}^{-1}$ referentes as ligações NO_2 .

Os sinais característicos no espectro de RMN de ^1H da formação da NAH, são referentes aos H-13 e H-14, δ em 11,59 e 8,58 respectivamente, sendo ambos simpletos.

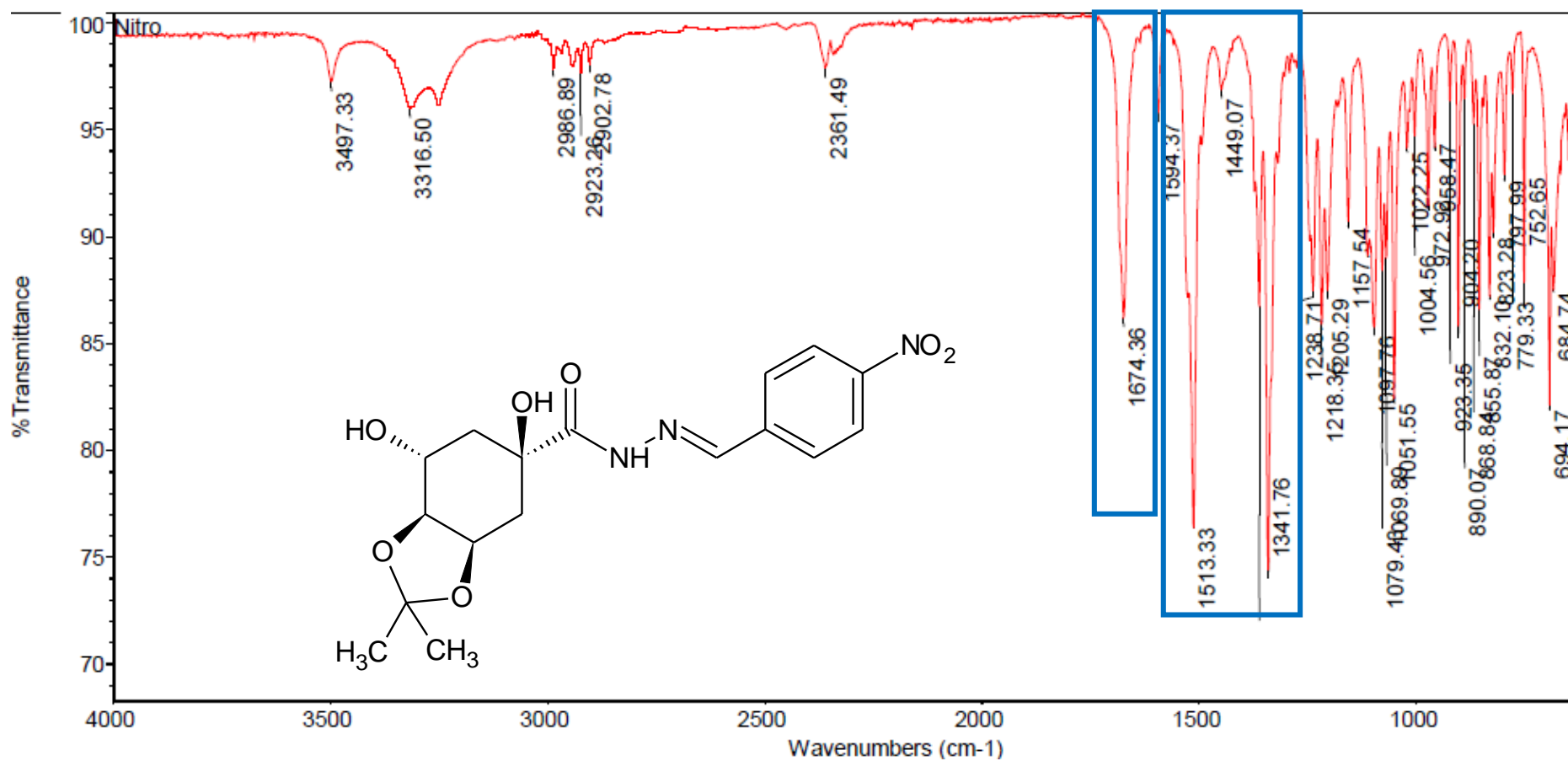
TABELA 8. Atribuição dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do LASSBio 2207.

Hidrogênios	δ (ppm)	Carbonos	δ (ppm)
H-2 e H-6	1,70 (m); 1,79 (m); 1,89 (m) e 2,19 (m)	C-1	73,83
H-3	4,35 (q)	C-2	35,64
H-4 e H-5	3,88 (m)	C-3	72,97
H-7	5,63 (s)	C-4	80,53
H-8	4,98 (d)	C-5	66,91
H-10 e H-11	1,27 (s) e 1,42 (s)	C-6	40,03
H-13	11,59 (s)	C-9	107,45
H-14	8,58 (s)	C-10 e C-11	25,65 e 28,14
H-16 e H-17	7,92 (d)	C-12	172,83
H-18 e H-19	8,29 (d)	C-14	145,60
		C-15	140,71
		C-16 e C-17	124,05
		C-18 e C-19	127,89
		C-20	147,82

Fonte: Do autor.

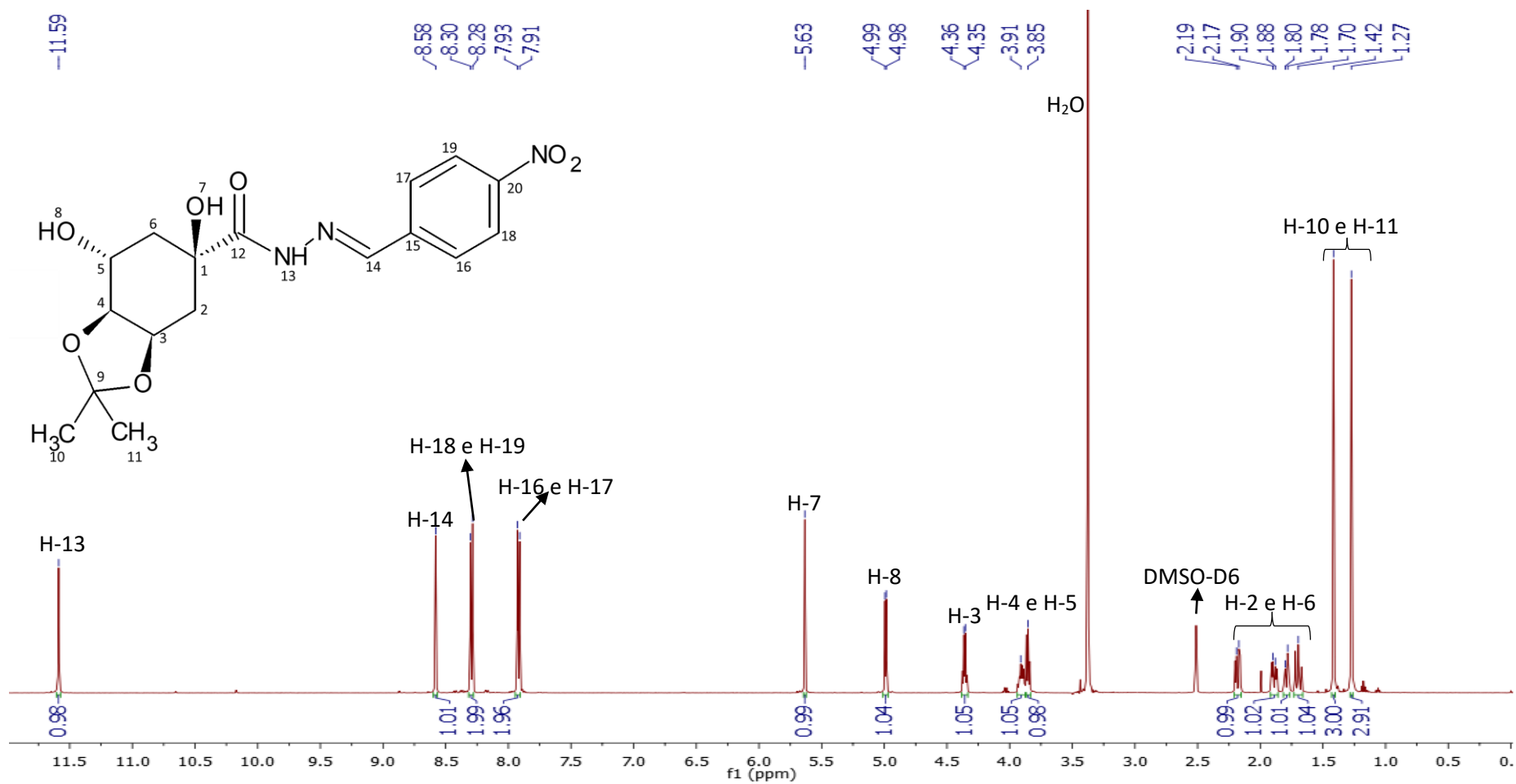
O espectro de RMN de ^{13}C do LASSBio 2207 (Figura 45) tem como sinal característico da formação da NAH o C-14 apresenta um δ 145,60.

FIGURA 42. Espectro de infravermelho da substância com código LASSBio 2207.



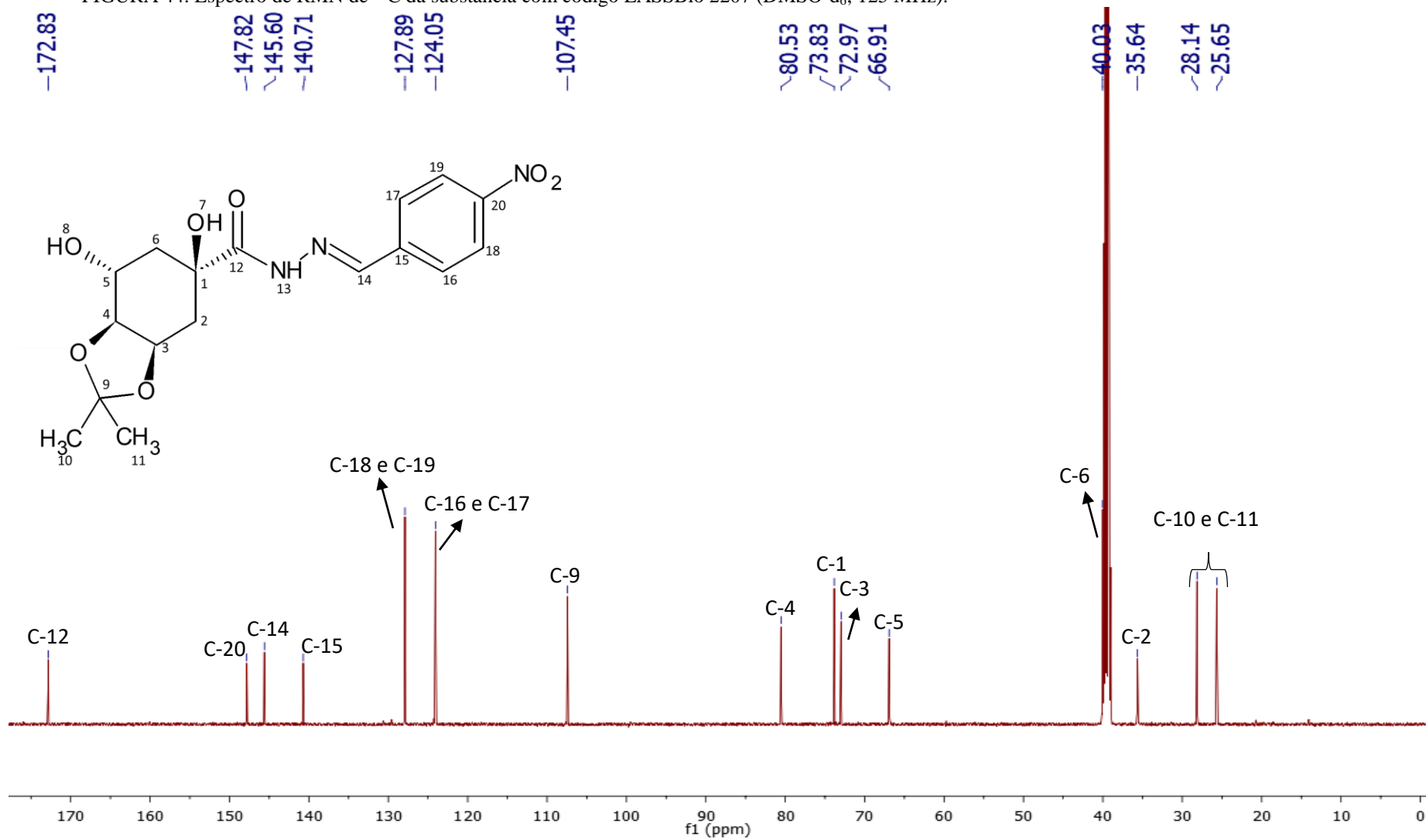
Fonte: Do autor.

FIGURA 43. Espectro de RMN de ^1H da substância com código LASSBio 2207 (DMSO- d_6 ; 500 MHz).



Fonte: Do autor.

FIGURA 44. Espectro de RMN de ^{13}C da substância com código LASSBio 2207 (DMSO- d_6 ; 125 MHz).



O processo da síntese dos novos compostos NAH derivados do ácido quínico, apresentou algumas dificuldades devido a quantidade de hidroxilas presentes que necessitou utilizar grupo protetor, para reduzir a reatividade e para facilitar no processo de purificação.

Outra dificuldade enfrentada foi a formação de dímeros pelo excesso de hidrazina que não reagiu no meio reacional, sequestrando o aldeído adicionado na etapa seguinte. Esses dímeros por apresentar propriedades semelhantes aos aldeídos, dificultando o acompanhamento da reação devido a formação de precipitado e a purificação da mesma.

Após a caracterizações dos 4 compostos, com uso das técnicas de ponto de fusão, RMN de ^1H e ^{13}C e infravermelho, foi realizado cadastro e o depósito de 100 mg dos novos compostos na quimioteca do LASSBio com pureza superior a 95% grau HPLC.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

As buscas em bases de patentes demonstrou a importância em se fazer uma revisão bibliográfica corretamente para desenvolver algo com expectativas de que seja inédito, evitando a duplicidade na pesquisa.

Também foi possível observar uma lacuna de substâncias que não foram desenvolvidas, permitindo que a equipe do LASSBio possa explorar e obter mais compostos bioativos.

Já a síntese das novas NAH derivadas do ácido quínico contribuiu para o aprimoramento da quimioteca, devido as informações acrescentadas sobre a rota sintética desenvolvida, principalmente com relação ao uso do hidrato de hidrazina, que em excesso pode gerar a formação de dímeros, impedindo a formação da NAH.

Também houve o aprimoramento da quimioteca com o cadastramento e depósito de quatro novos compostos na quimioteca do LASSBio.

Vale ressaltar que ainda serão realizadas ensaios biológicos dessas quatro substâncias, de modo a verificar o perfil de atividade biológica desses compostos. Esses ensaios deverão ser definidos pela coordenação do LASSBio, delineando o perfil de interesse do laboratório.

REFERÊNCIAS

- ARIOKA, S. et al. Potent inhibitor scaffold against Trypanosoma cruzi trans-sialidase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, p. 1633-1640, 2010.
- BARREIRO, Eliezer J. L. Rio de Janeiro, 27 abr. 2017. Entrevista concedida a André Victor Pereira e Marcia Paranho Veloso.
- BARREIRO, E. J. As longas pernas do Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio®; <http://www.farmacia.ufrj.br/lassbio>): histórico e perspectivas. **Revista Virtual de Química**, v. 5, 2013.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal**: as bases moleculares da ação dos fármacos. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2015
- BARREIRO, E. J.; PINTO, A. C. Oportunidades e desafios para a inovação em fármacos: agora ou nunca!, **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 6, p. 1059-1074, 2013.
- BELLERA, C. L. et al. Application of computer-aided drug repurposing in the search of new cruzipain inhibitors: discovery of amiodarone and bromocriptine inhibitory effects. **Journal of Chemical Information and Modeling**, p. 2042-2408, 2013.
- BRASIL [Código da propriedade industrial (1996)]. Brasília, 1996. Lei de Propriedade Industrial Lei nº 9.279/96, 14 de maio de 1996.
- BRENER, Z. Present status of chemotherapy and chemoprophylaxis of human trypanosomiasis in the Western Hemisphere. **Pharmacology & Therapeutics**, p. 71-90. 1979.
- BUSCHIAZZO, A. et al. The crystal structure and mode of action of trans-sialidase, a key enzyme in Trypanosoma Cruzi pathogenesis. **Molecular Cell**, p. 757-768, 2002.
- CARVALHO, I. et al. "Click chemistry" synthesis of a library of 1,2,3-triazole-substituted galactose derivatives and their evaluation against Trypanosoma Cruzi and its cell surface trans-sialidase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, p. 2412-2427. 2010.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). American Trypanosomiasis. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisAmerican/index.html>. Acesso em: 19 July 2018.

DIAS, L. C.; VIEIRA, A. S.; BARREIRO, E. J. The total synthesis of calcium atorvastatin. **Organic & Biomolecular Chemistry, The Royal Society of Chemistry**, p. 2291-2296, 2016.

DUARTE, C. M.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Privileged structures: a useful concept for the rational design of new lead drugs candidates. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 7, p. 1108-1119, 2007.

EVANS, B. E. et al. Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 31, p. 2235-2246, 1988.

FÁTIMA, A. et al. Ácidos Siálicos – Da compreensão do seu envolvimento em processo biológico ao desenvolvimento de fármacos contra o agente etiológico da gripe. **Química Nova**, p. 306-316, 2005.

FERREIRA, E. I. Planejamento de Fármacos na Área de Doença de Chagas: Avanços e Desafios. **Revista Virtual de Química**, p. 225-246, 2012.

FERREIRA, J. J. G. **Quantificação da carga parasitária do Trypanosoma Cruzi pela PCR em tempo real em portadores da doença de chagas submetidos ao transplante renal atendidos no hospital de clínicas da UNICAMP**. 2018. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas - Faculdade de Ciências Médicas), UNICAMP, Campinas, 2018.

GIORGI, M. E.; LEDERKREMER, R. M. Trans-sialidase and mucins of Trypanosoma Cruzi: Na importan interplay for the parasite. **Carbohydrate Research**, p. 1389-1393, 2011.

GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A. NMR Chemical shifts of common laboratory solvents as trace impurities. **Journal Organic Chemistry**, v. 62, p. 7512 – 7515, 1997.

GUIMARÃES, E.; CORRÊA; A. M. Propriedade intelectual e saúde pública: o papel da Agência Nacional de Vigilância Sanitária no patenteamento farmacêutico no Brasil. **RECIIS: Revista Eletrônica de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde**. Rio de Janeiro, v. 6, n. 3, 2012.

KIM, J. H. et al. Development of new and selective Trypanosoma Cruzi trans-sialidase inhibitors from sulfonamide chalcones and their derivatives. **ChemBioChem**, p. 2475-2479, 2009.

LIMA, P. C. et al. Synthesis and analgesic activity of novel N-acylarylhydrazones and isosters, derived from natural safrole. **European Journal of Medicinal Chemistry**, p. 187-203, 2000.

LEE, S. K. et al. Highly enantioselective formal aza-Diels-Alder reactions with acylhydrazones and Danishefsky's diene promoted by a silicone Lewis acid. **Tetrahedron**, v. 66, p. 4769-4774, 2010.

MENEGATTI, R; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. A importância da síntese de fármacos. **Química Nova na Escola**, n. 3, p.16-22, 2001.

NERES, J. et al. Discovery of novel inhibitors of Trypanosoma Cruzi trans-sialidase from in silico screening. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, p. 589-596, 2009.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Chagas disease. Disponível em: <https://www.paho.org/chagasdisease>. Acesso em: 28 July 2018.

PAULA, G. N. Os desafios da indústria farmacêutica global e o redesenho do negócio pela Merck. **Revista de Administração de Empresas-ERA**, 2001.

PINTO, J. P. M. **Interação entre empresas e instituições de ciência e tecnologia no sistema farmacêutico de inovação brasileiro: estrutura, conteúdo e dinâmica**. 2010. 343f. Tese (Doutorado em Economia) – Instituto de Economia, UFRJ, Rio de Janeiro, 2010.

PINTO, M. M. A. **Proposta de framework de uma cadeia de suprimentos verde a partir da transferência de tecnologia**. 2016. 138f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção, UTFPR, Ponta Grossa, 2016.

QUINTELA, C. M. et al. Prospecção tecnológica como uma ferramenta aplicada em ciência e tecnologia para se chegar à inovação. **Revista Virtual de Química**, p. 406-415. 2011.

SANTOS, M. M. et al. Prospecção de tecnologias de futuro: métodos, técnicas e abordagens, **Parcerias Estratégicas**, p. 189-229. 2004. Disponível em: <http://www.cgee.org.br/parcerias/p19.php>. Acesso em: 29 abr. 2017.

SANTOS, V. R. C. et al. Acute chagas disease in the state of Pará, Amazon Region: Is it increasing?. **Memorias Instituto Oswaldo Cruz**, 2018.

SHAWALI, A. S; SAYED, A. R. Tandem regioselective 1,5-electrocyclizations of bis-nitrilimines – a new convenient synthesis of 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles. **Journal of Sulfur Chemistry**, v. 27, n. 3, p. 233-244, 2006.

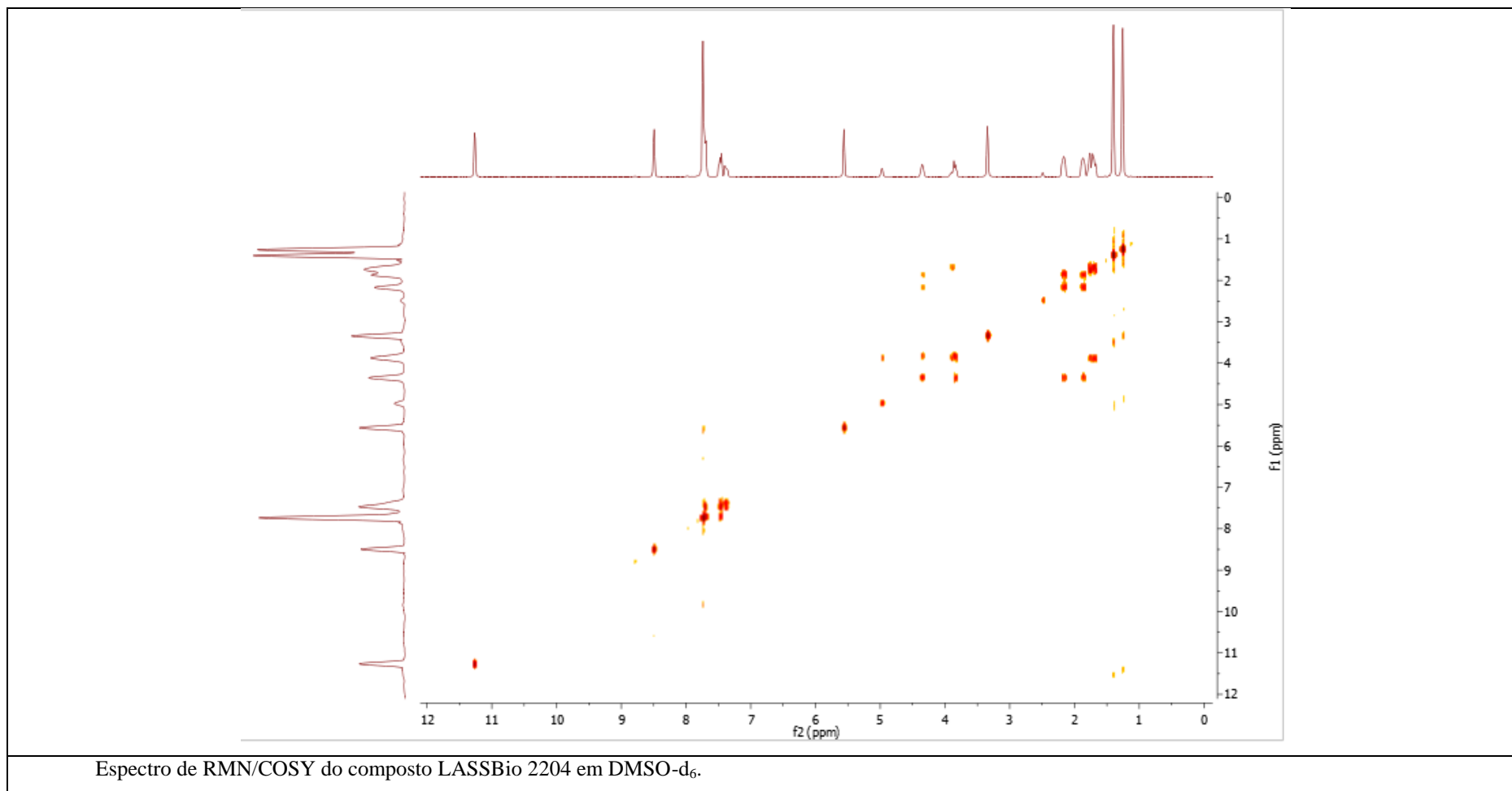
SHAUER, R.; KAMERLING, J. P. The Chemistry and Biology of trypanosomal trans-sialidases: Virulence factors in Chagas Disease and sleeping sickness. **ChemBioChem**, p. 2246-2264, 2011.

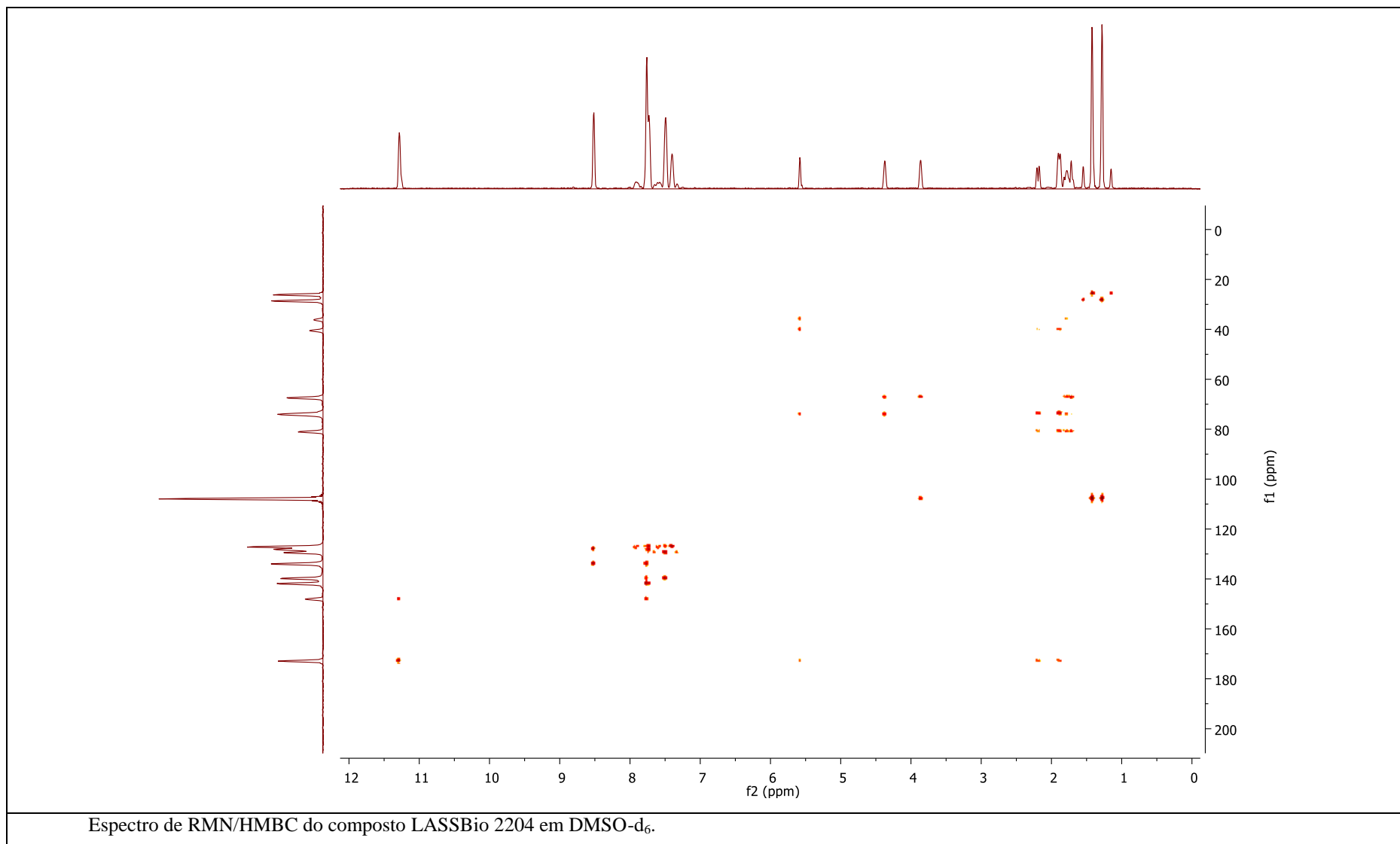
SOUZA, A. M.; LOPES-PIRES, M. E. Análise histórica do desenvolvimento de patentes no Brasil e avaliação do número de patentes produzidas por indústria farmacêutica da região de Itapira-SP, **Foco**, n. 8, p. 89-104, 2015.

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION (WIPO), Curso inicial de propriedade intelectual DL001, Disponível em: <http://www.wipo.int/academy/en/>. Acesso em: 02 maio 2017.

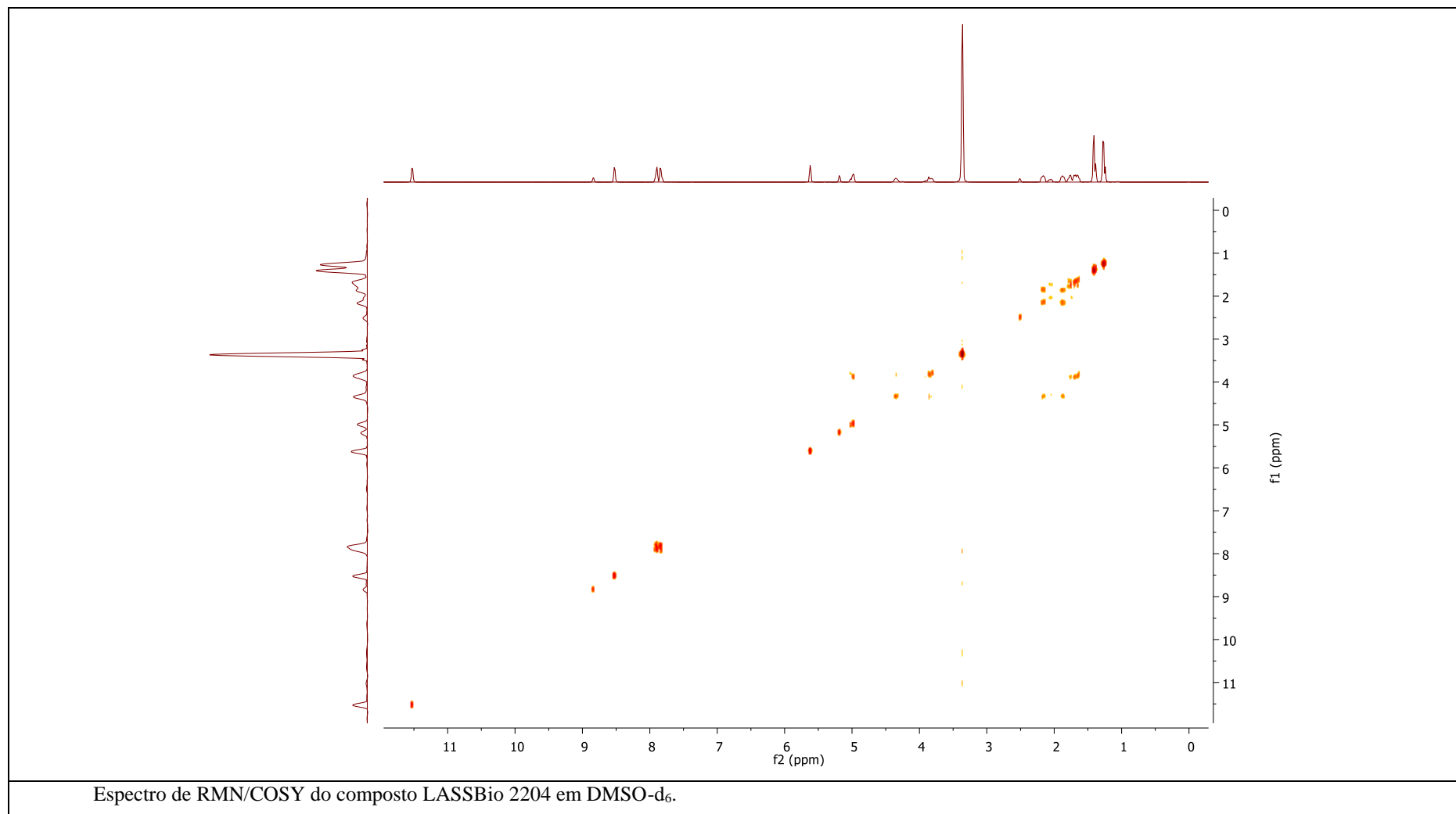
ANEXOS

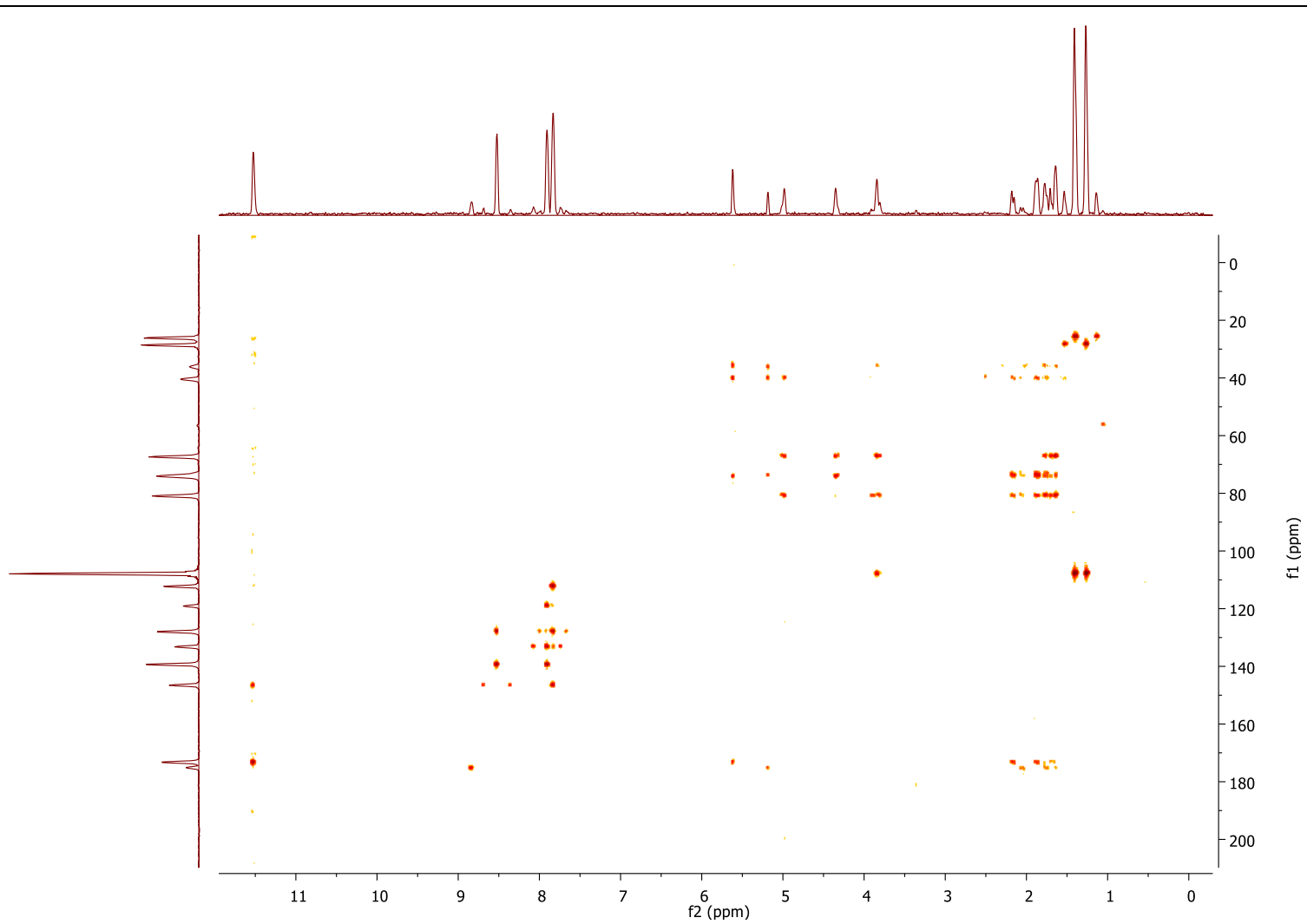
ANEXO A – Espectros de correlação de RMN do composto LASSBio 2204.





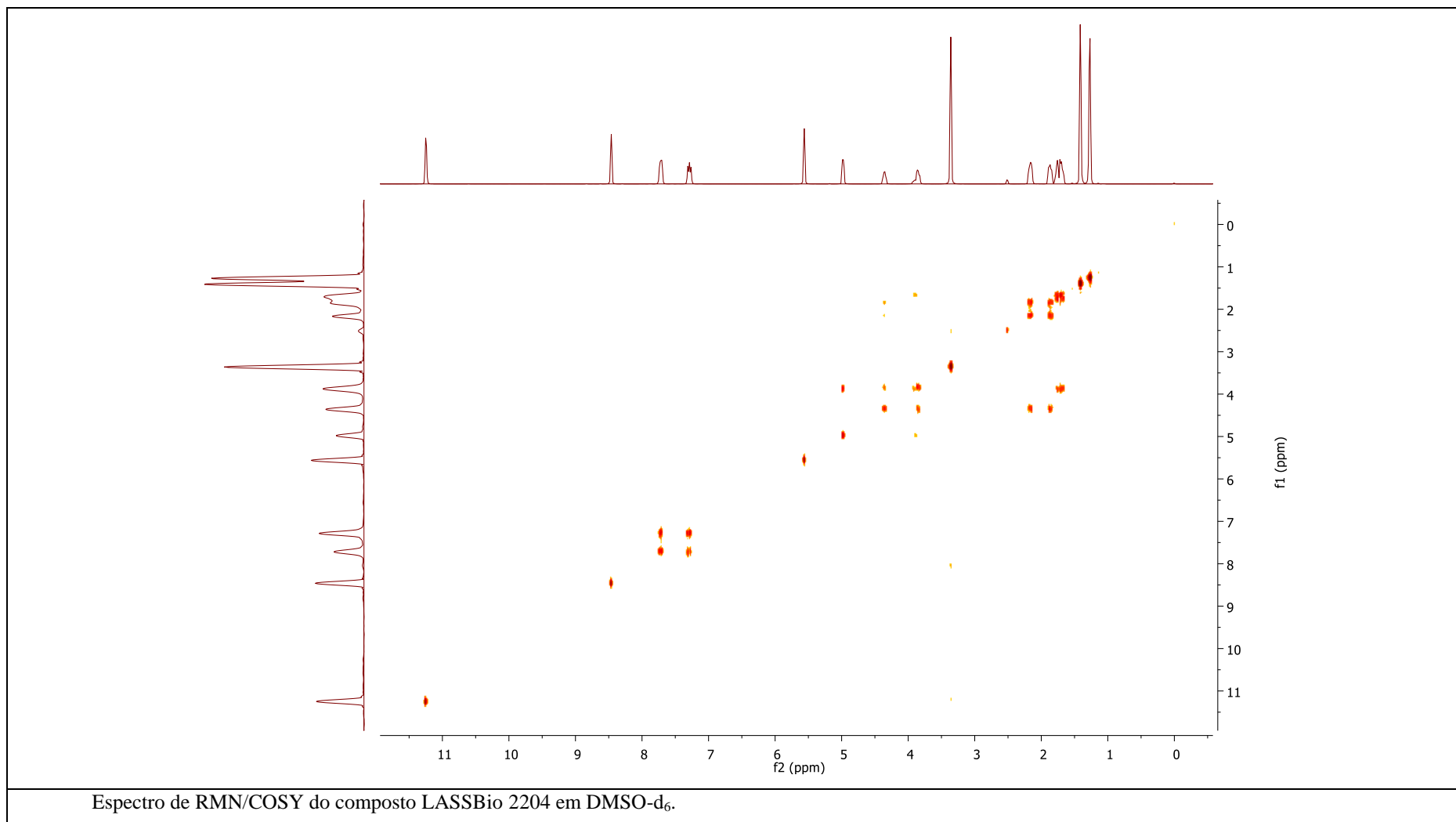
ANEXO B – Espectros de correlação de RMN do composto LASSBio 2205.

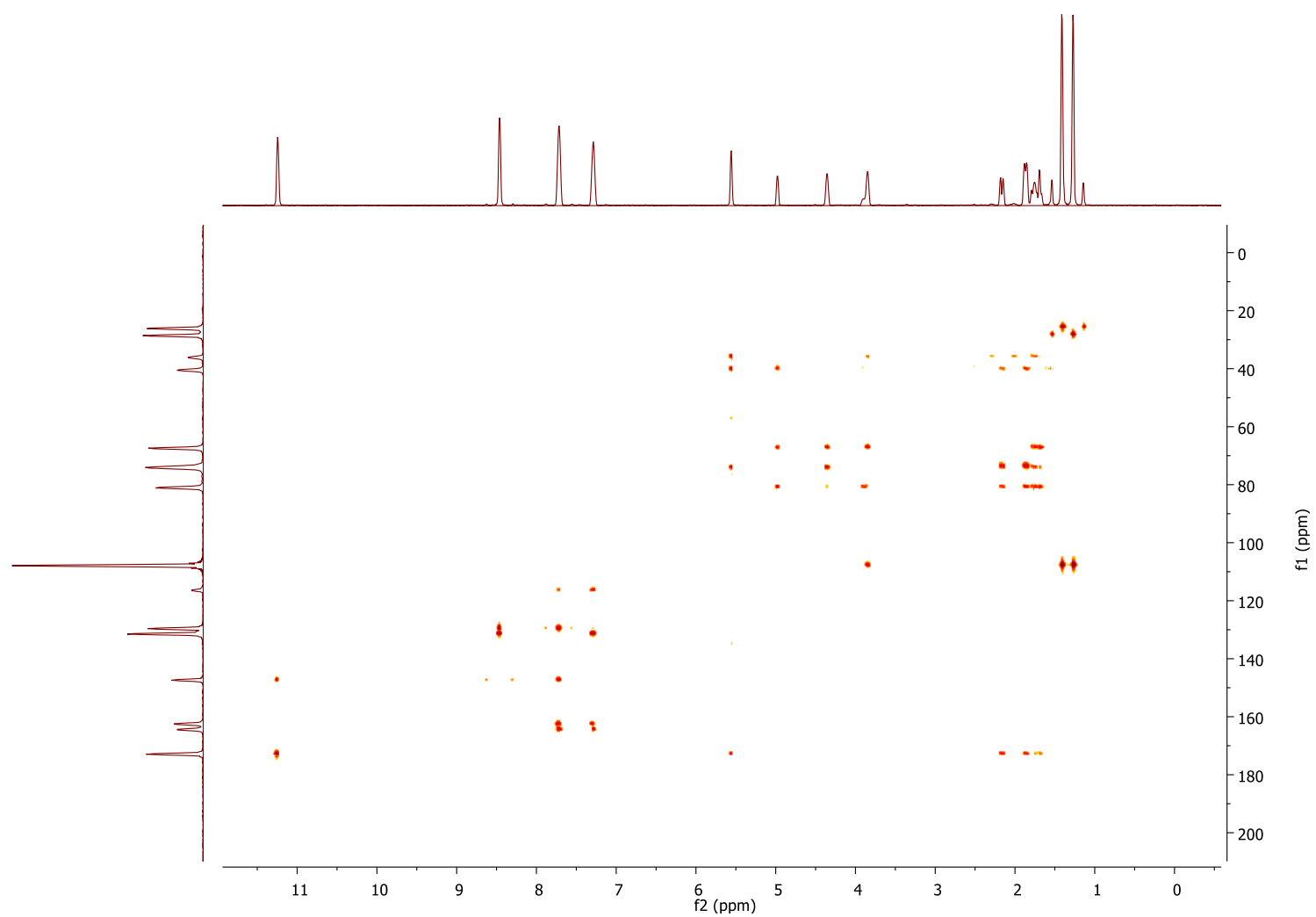




Espectro de RMN/HMBC do composto LASSBio 2205 em DMSO-d₆.

ANEXO C – Espectros de correlação de RMN do composto LASSBio 2206.





Espectro de RMN/HMBC do composto LASSBio 2206 em DMSO-d₆.

ANEXO D – Espectros de correlação de RMN do composto LASSBio 2207.

