

1 1.008 H HYDROGEN																	18 4.0026 He HELIUM
3 6.94 Li LITHIUM	4 9.0122 Be BERYLLIUM											5 10.81 B BORON	6 12.011 C CARBON	7 14.007 N NITROGEN	8 15.999 O OXYGEN	9 18.998 F FLUORINE	10 20.180 Ne NEON
11 22.990 Na SODIUM	12 24.305 Mg MAGNESIUM											13 26.982 Al ALUMINIUM	14 28.085 Si SILICON	15 30.974 P PHOSPHORUS	16 32.06 S SULPHUR	17 35.45 Cl CHLORINE	18 39.948 Ar ARGON
19 39.098 K POTASSIUM	20 40.078 Ca CALCIUM	21 44.956 Sc SCANDIUM	22 47.867 Ti TITANIUM	23 50.942 V VANADIUM	24 51.996 Cr CHROMIUM	25 54.938 Mn MANGANESE	26 55.938 Fe IRON	27 58.933 Co COBALT	28 58.933 Ni NICKEL	29 63.546 Cu COPPER	30 65.38 Zn ZINC	31 69.723 Ga GALLIUM	32 72.64 Ge GERMANIUM	33 74.922 As ARSENIC	34 78.971 Se SELENIUM	35 79.904 Br BROMINE	36 83.798 Kr KRYPTON
37 85.468 Rb RUBIDIUM	38 87.62 Sr STRONTIUM	39 88.906 Y YTRIUM	40 91.224 Zr ZIRCONIUM	41 92.906 Nb NIOBIUM	42 95.95 Mo MOLYBDENUM	43 95.95 Tc TECHNETIUM	44 97.907 Ru RUTHENIUM	45 101.07 Rh RHODIUM	46 101.07 Pd PALLADIUM	47 102.905 Ag SILVER	48 112.41 Cd CADMIUM	49 114.82 In INDIUM	50 118.71 Sn TIN	51 121.76 Sb ANTIMONY	52 127.60 Te TELLURIUM	53 126.90 I IODINE	54 131.29 Xe XENON
55 132.91 Cs CAESIUM	56 137.33 Ba BARIUM	57-71 Lanthanide	72 178.49 Hf HAFNIUM	73 180.95 Ta TANTALUM	74 183.84 W TUNGSTEN	75 186.21 Re RHENIUM	76 186.21 Os OSMIUM	77 190.23 Ir IRIDIUM	78 192.22 Pt PLATINA	79 197.04 Au GOLD	80 200.59 Hg MERCURY	81 204.38 Tl THALLIUM	82 207.2 Pb LEAD	83 208.98 Bi BISMUTH	84 (209) Po POLONIUM	85 (210) At ASTATINE	86 (222) Rn RADON
87 (223) Fr FRANCIUM	88 (226) Ra RADIUM	89-103 Actinide	104 (261) Rf RUTHENIUM	105 (263) Db DUBNIUM	106 (271) Sg SEABORGIUM	107 (277) Bh BOHRLIUM	108 (285) Hs HASSIUM	109 (289) Mt MEISSNERIUM	110 (288) Ds DUBNIUM	111 (285) Rg ROSKOPFIUM	112 (285) Cn COOPERNICIUM	113 (...) Uut UNUNTRIUM	114 (287) Fl FLEROVIUM	115 (...) Uup UNUNPENTIUM	116 (291) Lv LIVERMORIUM	117 (...) Uus UNUNSEPTIUM	118 (...) Uuo UNUNOCTIUM
LANTHANIDE 57 138.91 La LANTHANUM 58 140.12 Ce CERIUM 59 140.91 Pr PRASEODYMIUM 60 144.24 Nd NEODYMIUM 61 (145) Pm PROMETHIUM 62 150.36 Sm SAMARIUM 63 151.96 Eu EUROPIUM 64 157.25 Gd GADOLINIUM 65 158.93 Tb TERBIUM 66 162.50 Dy DYSPROSIUM 67 164.93 Ho HOLMIUM 68 167.26 Er ERBIUM 69 168.93 Tm THULIUM 70 173.05 Yb YTTERIUM 71 174.97 Lu LUTETIUM																	
ACTINIDE 89 (227) Ac ACTINIUM 90 232.04 Th THORIUM 91 231.04 Pa PROTACTINIUM 92 238.03 U URANIUM 93 (237) Np NEPTUNIUM 94 (244) Pu PLUTONIUM 95 (243) Am AMERICIUM 96 (247) Cm CURIUM 97 (247) Bk BERKELIUM 98 (251) Cf CALIFORNIUM 99 (252) Es EINSTEINIUM 100 (257) Fm FERMIUM 101 (258) Md MENDELEVIUM 102 (259) No NOBELIUM 103 (262) Lr LAWRENCIUM																	

Mónica Fernanda Freitas Serra

Síntese de Triterpenóides Fluorados

Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial, orientada pelo Professor Doutor Jorge António Ribeiro Salvador e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Janeiro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Mónica Fernanda Freitas Serra

SÍNTESE DE TRITERPENÓIDES FLUORADOS

Dissertação de Mestrado em Química Farmacêutica Industrial, orientada pelo Professor Doutor Jorge António Ribeiro Salvador e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Janeiro de 2017



Ilustração da capa:

Tabela periódica com o átomo de flúor em destaque e representação de estruturas das moléculas triterpenóides.

Ao meu pai e à minha mãe.

“Fluorine leaves nobody indifferent; it inflames emotions be that affections or aversions. As a substituent, it is rarely boring, always good for a surprise, but often completely unpredictable.”

Schlosser, 1998

AGRADECIMENTOS

Mais uma importante etapa chegou ao fim e foram várias as pessoas que contribuíram para o meu sucesso. Este espaço é dedicado a elas, neste tempo: agora. Não podia deixar de me expressar e agradecer tudo que de bom fizeram por mim. Por isso, em poucas palavras, deixo o meu eterno e infinito Obrigada.

Ao professor Dr. Jorge Salvador, por me ter acolhido no seu laboratório e por todo o apoio científico.

À Vanessa, por todo o apoio teórico e laboratorial. Por me transmitir os seus ensinamentos através da sua longa experiência científica. Por todos os sorrisos desenhados quando nem tudo corria como esperado e pela calma transmitida. Ao Bruno e à Salete, por me ajudarem sempre que foi necessário no laboratório e em toda a exigência exterior, com a sua experiência, conhecimento e disponibilidade.

À Mariana e à Patrícia, por todo o espírito de companheirismo, com a vossa companhia tudo se tornou mais fácil.

À D. Graça e à D. Anabela, por toda a alegria, apoio, interesse e dedicação.

Ao meu Pai, pela luz de todos os dias.

À minha mãe, a maior força existente na Natureza, agradeço toda motivação que me transmitiu, todas as suas lições de vida, todo o sacrifício que é desempenhar tão bem dois papéis na minha vida.

Ao meu irmão e à minha avó, por me apoiarem e não me deixarem desanimar, pelo seu constante interesse e pela calma transmitida.

Ao meu namorado, amigo, companheiro, à minha sorte grande, por tudo.

À Juliana, por me conseguir abstrair, por me descontraír, pela alegria que consegue transmitir com a sua inocência.

Aos meus amigos, por proporcionarem momentos de descontração e por me ouvirem sempre que foi preciso.

ÍNDICE

RESUMO	XIII
ABSTRACT	XV
ABREVIATURAS	XVII
ÍNDICE DE FIGURAS	XIX
ÍNDICE DE TABELAS	XXI
ÍNDICE DE ESQUEMAS	XXI
1. INTRODUÇÃO	3
1.1. Fluoração em Química Medicinal.....	3
1.1.1. A importância do flúor	3
1.1.2. Fármacos Fluorados	8
1.1.3. Estratégias de Fluoração.....	13
1.2. Compostos Naturais.....	25
1.2.1. Triterpenóides.....	26
1.3. Objetivos	29
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
2.1. Introdução.....	33
2.2. Derivados semi-sintéticos do ácido ursólico	35
2.3. Derivados semi-sintéticos do ácido glicirrízico	43
2.4. Parte experimental	47
2.4.1. Aparelhagem, solventes e reagentes utilizados	47
2.4.2. Procedimentos experimentais.....	48
3. CONCLUSÃO	55
4. BIBLIOGRAFIA	59

RESUMO

A fluoração de compostos orgânicos biologicamente ativos tem sido explorada e muito utilizada no *design* e desenvolvimento de fármacos. O átomo de flúor permite modular importantes propriedades físico-químicas que influenciam as propriedades farmacocinéticas e farmacológicas, o que tem contribuído para o aumento de fármacos fluorados autorizados no mercado. Devido ao sucesso dos fármacos fluorados, os químicos medicinais têm explorado várias estratégias de fluoração (monofluoração, difluorometilação e trifluorometilação), de modo a tornar as reações de fluoração mais seletivas, eficazes e com condições mais suaves.

No *design* e desenvolvimento de novos fármacos, os compostos naturais representam pontos de partida interessantes, devido à sua diversidade e complexidade estruturais, novos mecanismos de ação, entre outros fatores. Uma estratégia para melhorar a potência, a seletividade e o perfil farmacocinético dos compostos naturais é a modificação semi-sintética. Os triterpenóides são compostos naturais que têm sido reportados por possuírem uma grande variedade de atividades biológicas, como por exemplo os triterpenóides pentacíclicos. O ácido ursólico e o ácido glicirrízico têm demonstrado atividades anti-tumorais e hepatoprotetores, entre outras atividades.

Nesta dissertação, prepararam-se derivados semi-sintéticos dos ácidos ursólico e glicirrízico, tendo como objetivo final a obtenção de derivados fluorados. A elucidação estrutural dos compostos sintetizados foi realizada recorrendo-se à técnica de ressonância magnética nuclear (RMN).

Palavras-chave:

Flúor; Fluoração; Compostos Naturais; Triterpenóides; Ácido Ursólico; Ácido Glicirrízico; Ressonância Magnética Nuclear.

ABSTRACT

Fluorination of biologically active organic compounds has been explored and widely used in drug design and development. By modulating important physicochemical properties, the fluorine atom influences the pharmacokinetic and pharmacological properties of drugs, contributing to the increasing number of fluorinated drugs in the market. Due to the success of fluorinated drugs, medicinal chemists have explored various fluorination strategies (monofluorination, difluoromethylation and trifluoromethylation) in order to make fluorination reactions more selective, effective and with milder conditions.

Natural compounds represent interesting scaffolds for the design and development of new drugs, due to their structural diversity, complexity and new mechanisms of action, among other features. One strategy to improve the potency, selectivity and pharmacokinetic profile of natural compounds is semi-synthetic modification. Triterpenoids are natural compounds that have been reported to possess a wide range of biological activity, such as pentacyclic triterpenoids. Ursolic acid and glycyrrhizic acid have been shown to possess anti-tumor and hepatoprotective activities, among other activities.

In this dissertation, semi-synthetic derivatives of ursolic and glycyrrhizic acids were prepared, with the final aim of obtaining fluorinated derivatives. Structural elucidation of the synthesized compounds was performed using the nuclear magnetic resonance (NMR) technique.

Keywords:

Fluorine; Fluorination; Natural Compounds; Triterpenoids; Ursolic Acid; Glycyrrhizic Acid; Nuclear Magnetic Resonance.

ABREVIATURAS

5-FU	5-Fluoracil
ADME	Propriedades farmacocinéticas (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção)
AG	Ácido Glicirrízico
AU	Ácido Ursólico
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
CDDO	Ácido Ciano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-óico
CDDO-Me	Ciano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-oato de metilo
COSY	do inglês <i>2D Homonuclear correlation spectroscopy</i>
d	duplete
DCM	Diclorometano
dd	duplo duplete
DEPT	do inglês <i>Distortioneless enhancement by polarization transfer</i>
dm	duplo multiplete
DMF	Dimetilformamida
DNA	do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EGFR	do inglês <i>Epidermal growth factor receptor</i>
EGFR-TK	do inglês <i>Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase</i>
EMA	do inglês <i>European Medicines Agency</i>
FDA	do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
HIV	do inglês <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HMBC	do inglês <i>2D Heteronuclear multiple bond correlation</i>
HPA	do inglês <i>Hypothalamic–Pituitary–Adrenal axis</i>
HSQC	do inglês <i>2D Heteronuclear single quantum correlation</i>

HTS	do inglês <i>High-throughput screening</i>
J	constante de acoplamento
log P	coeficiente de partição (octanol/água)
m	multiplete
NOESY	do inglês <i>Nuclear overhauser effect spectroscopy</i>
Nu	Nucleófilo
pKa	constante de acidez
ppm	partes por milhão
r.t.	do inglês <i>room temperature</i>
RBA	do inglês <i>relative binding affinity</i>
RE	recetores de estrogénio
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	singleto
SET	do inglês <i>single-electron transfer mechanism</i>
S_N2	Substituição Nucleofílica bimolecular
t	tripleto
t_{1/2}	tempo de semi-vida
TBAF	do inglês <i>Tetra-n-butylammonium fluoride</i>
t-BuOH	<i>t</i> -butanol
THF	Tetrahidrofurano
TLC	do inglês <i>Thin-layer chromatography</i>
UV	ultra-violeta
δ	desvio químico

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1.1: Diagrama ilustrativo dos efeitos da introdução do átomo de flúor nos compostos. Adaptado da literatura. (Park, Kitteringham e O'Neill, 2001)	3
Figura 1.1.2: Representação da estrutura da fludrocortisona, substância ativa do Florinef (Casper Pharma LLC), primeiro fármaco fluorado autorizado pela FDA (1955).	8
Figura 1.1.3: Representação das estruturas da pirimidina e do 5-fluoracil, substância ativa do primeiro fármaco anti-tumoral fluorado.....	8
Figura 1.1.4: Representação da estrutura do haloperidol, substância ativa do Serenelfi (Instituto Luso-Fármaco, Lda.), dos primeiros fármacos fluorados a ser autorizado em Portugal (1960).....	9
Figura 1.1.5: Gráfico ilustrativo dos fármacos aprovados, fluorados e não fluorados, pela FDA em 2014 e 2015. (Fármacos-F: Fármacos contendo átomos de flúor; Fármacos-CF ₃ : Fármacos contendo o grupo trifluorometil – CF ₃)	9
Figura 1.1.6: Representação da estrutura do análogo não fluorado e do gefitinib, substância ativa do fármaco Iressa (AstraZeneca). Adaptado da literatura. (Bégué e Bonnet-Delpon, 2008).....	10
Figura 1.1.7: Representação da estrutura da clofarabina, substância ativa do fármaco Evoltra (Genzyme Europe, B.V.), e outros análogos da purina (Cladribina e Fludarabina).	11
Figura 1.1.8: Representação da estrutura de Fulvestrant, substância ativa do fármaco Faslodex (AstraZeneca) e do seu análogo não fluorado, ICI 164,384. Adaptado da literatura. (Wang <i>et al.</i> , 2014)	12
Figura 1.1.9: Representação da estrutura do composto análogo não fluorado e de efavirenz, substância ativa de Stocrin (Merck Sharp & Dohme, Ltd.)	13
Figura 1.1.10: Gráfico ilustrativo da percentagem de fármacos fluorados aprovados (1957-2006). Adaptado da literatura. (Hagmann, 2008)	14
Figura 1.1.11: Representação das estruturas de reagentes de fluoração eletrofílica, reagentes N-F – Selectfluor [®] e NFSI.	15
Figura 1.1.12: Representação das estruturas de reagentes de fluoração nucleofílica, reagentes S-F – DAST, Deoxofluor, Fluolead e PyFluor.	17
Figura 1.1.13: Representação esquemática do mecanismo geral dos reagentes de fluoração nucleofílica. Adaptado da literatura. (Singh e Shreeve, 2002)	18
Figura 1.1.14: Representação das estruturas dos reagentes de difluorometilação nucleofílica.....	19

Figura 1.1.15: Representação da estrutura do reagente de difluorometilação radicalar.....	19
Figura 1.1.16: Representação das estruturas dos reagentes de difluorometilação eletrofílica.....	20
Figura 1.1.17: Representação esquemática do mecanismo do difluorocarbeno do reagente N-tosil-S-difluorometil-S-fenilsulfoximina. Adaptado da literatura. (Zhang, Wang e Hu, 2009).....	20
Figura 1.1.18: Representação da estrutura do reagente de trifluorometilação nucleofílica, o TMSCF_3	21
Figura 1.1.19: Representação das estruturas dos reagentes de trifluorometilação eletrofílica.....	22
Figura 1.1.20: Representação da estrutura do reagente de trifluorometilação radicalar, o reagente de Langlois.....	23
Figura 1.1.21: Representação esquemática do mecanismo de formação do radical CF_3^\cdot a partir do reagente de Langlois na presença de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (A) ou $t\text{-BuOOH}$ (B). Adaptado da literatura. (Studer, 2012) (Lu, Y. et al., 2014).....	23
Figura 1.2.1: Esquema representativo da ciclização do 2,3-oxidoesqualeno para formação das diferentes estruturas dos triterpenóides pentacíclicos. Adaptado da literatura. (Thimmappa et al., 2014) (Schwarzbauer e Jovancicevic, 2016).....	26
Figura 2.1.1: Representação das estruturas dos derivados β -fluorolactonas dos triterpenóides.....	33
Figura 2.1.2: Representação das estruturas dos derivados α -halo-cetonas do triterpenóide alobetulina.	34
Figura 2.1.3: Representação das estruturas do ácido usólico e do ácido glicirrízico, respetivamente.....	35
Figura 2.2.1: Representação da estrutura do derivado fluorado do ácido ursólico.	35
Figura 2.2.2: Espectro RMN- ^1H do composto 3 em CDCl_3	37
Figura 2.2.3: Espectro RMN- ^{13}C do composto 3 em CDCl_3	38
Figura 2.2.4: Espectro RMN- ^1H do crude do composto 4 em CDCl_3	39
Figura 2.2.5: Espectro RMN- ^1H do composto 4 em CDCl_3	40
Figura 2.2.6: Espectro RMN- ^{13}C do composto 4 em CDCl_3	41
Figura 2.2.7: Espectro RMN- ^1H do crude 7 em CDCl_3	43
Figura 2.3.1: Espectro RMN- ^1H do composto 10 em CDCl_3	45
Figura 2.3.2: Espectro RMN- ^1H do composto 12 em CDCl_3	46

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1.1: Propriedades do átomo de flúor e da ligação C–F em comparação com outros átomos. Adaptada da literatura. (Swallow, 2015).....	4
Tabela 1.1.2: Constante de lipofilicidade para compostos aromáticos substituídos por X. Adaptado da literatura. (Swallow, 2015).....	5
Tabela 1.1.3: Energia de ligação das ligações C-S e N-S dos reagentes aril sulfetos trifluorados e amino sulfetos trifluorados, respetivamente.	17
Tabela 1.2.1: Triterpenóides pentacíclicos como agentes terapêuticos inseridos em ensaios clínicos. Adaptado da literatura. (Sheng e Sun, 2011).....	28

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 2.2.1: Síntese de derivados do ácido ursólico para obtenção dos compostos 1 a 3.....	36
Esquema 2.2.2: Síntese do derivado α -fluoro-cetona 4.	38
Esquema 2.2.3: Síntese de derivados do ácido ursólico para obtenção dos compostos 5 a 7.....	42
Esquema 2.3.1: Síntese dos derivados 8 a 10 do ácido glicirrízico.	44
Esquema 2.3.2: Síntese dos derivados 11 e 12 do ácido glicirrízico.....	45

I. INTRODUÇÃO

I.1. FLUORAÇÃO EM QUÍMICA MEDICINAL

I.1.1. A Importância do Flúor

I.1.2. Fármacos Fluorados

I.1.3. Estratégias de Fluoração

I.2. COMPOSTOS NATURAIS

I.2.1. Triterpenóides

I.3. OBJETIVOS

I. INTRODUÇÃO

I.1. Fluoração em Química Medicinal

I.1.1. A importância do flúor

As propriedades de uma molécula são intrínsecas à sua estrutura. Depois da molécula modificada (*lead*) a partir de uma molécula bioativa (*hit*), todos os estudos para se tornar um candidato a fármaco emergem principalmente da sua atividade biológica, metabolismo, farmacocinética, toxicidade e farmacodinâmica. A otimização do *lead* é importante para modular as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas de modo a obterem-se novas moléculas com um perfil adequado, e assim aumentar o sucesso de aprovação de um novo fármaco. (Meanwell, 2011a)

A fluoração de moléculas biologicamente ativas é uma estratégia de *design* de novos fármacos amplamente utilizada e validada pelos químicos medicinais. Enquanto em 1970, a percentagem de fármacos no mercado contendo flúor era 2%, este número tem vindo a aumentar significativamente (25%). (Wang *et al.*, 2014)

A introdução de átomos de flúor e de grupos fluoroalquil em compostos orgânicos biologicamente ativos tem vindo a ser explorada, pela capacidade do átomo de flúor modular importantes propriedades físico-químicas de uma molécula, que, por seu lado, influenciam importantes propriedades biológicas e farmacológicas (Figura I.1.1), como, por exemplo, a absorção, a distribuição, o metabolismo e a farmacodinâmica. (Zhou *et al.*, 2016)

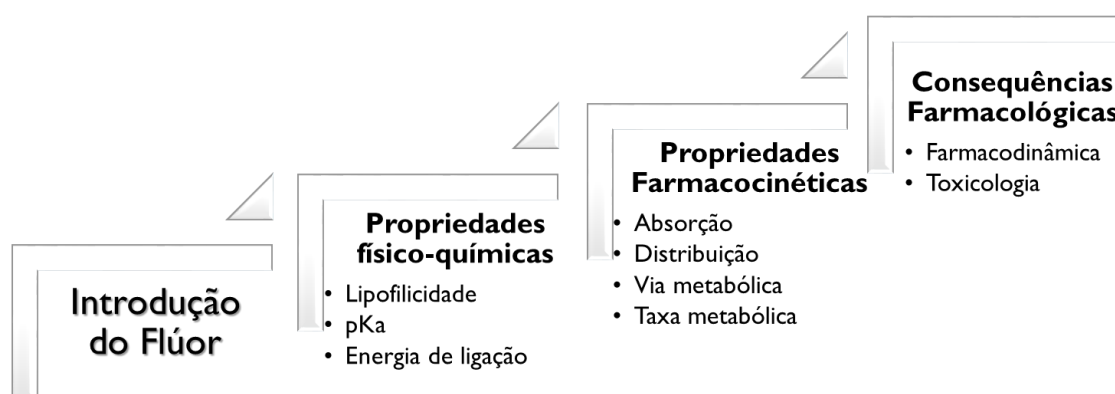


Figura I.1.1: Diagrama ilustrativo dos efeitos da introdução do átomo de flúor nos compostos. Adaptado da literatura. (Park, Kitteringham e O'Neill, 2001)

O flúor é o elemento mais eletronegativo da tabela periódica, relativamente pequeno e apresenta uma massa atômica baixa (Tabela 1.1.1). Estas características tornam a ligação Carbono-Flúor altamente polarizada (com caráter iônico) e muito forte. O átomo de flúor apresenta um diâmetro menor que outros halogéneos conhecidos (Cl, Br, I), e apenas ligeiramente maior que o átomo de hidrogênio, cerca de 20% (Tabela 1.1.1). Devido a esta propriedade, o átomo de flúor é, por vezes, considerado um bioisómero do átomo de hidrogênio. (Swallow, 2015) (Yamazaki, Taguchi e Ojima, 2009) (Meanwell, 2011b)

Tabela 1.1.1: Propriedades do átomo de flúor e da ligação C–F em comparação com outros átomos. Adaptada da literatura. (Swallow, 2015)

	H	C	N	O	F	Cl	Br	I
Massa atômica	1,01	12,01	14,01	16,00	19,00	35,45	79,90	126,90
Raio Van der Waals (pm)	120	170	155	152	147	175	185	198
Eletronegatividade	2,1	2,5	3	3,5	4	3,2	2,8	2,7
Força de ligação ao C (kcal/mol)	98	83	70	84	105	77	66	55

Efeitos do flúor na lipofilicidade

Tendo em conta as propriedades físico-químicas, a lipofilicidade é um dos critérios mais importantes para o *design* e desenvolvimento de fármacos, uma vez que influencia as suas características farmacocinéticas (ADME), com impacto na solubilidade, permeabilidade através das membranas, potência e seletividade, afetando também a farmacodinâmica e toxicidade. Segundo a regra de Lipinski, a lipofilicidade desejada está no limite de log P (coeficiente de partição) <5. (Arnott e Planey, 2012)

Os efeitos da fluoração na lipofilicidade das moléculas podem ser diversos. Existem vários exemplos em que a introdução de um átomo de flúor em moléculas orgânicas levou a um aumento da lipofilicidade. Por exemplo, a introdução de um átomo de flúor em compostos aromáticos aumentou a lipofilicidade dos compostos, assim como a fluoração contígua a átomos com ligações π . (Smart, 2001) Enquanto a substituição de um átomo de hidrogênio num composto aromático por um simples átomo de flúor aumenta a

lipofilicidade, a introdução de um grupo trifluorometil (CF_3) tem um impacto ainda mais marcado no aumento da lipofilicidade, pois encontra-se entre os substituintes mais lipofílicos (Tabela 1.1.2.). (Park, Kitteringham e O'Neill, 2001)

Tabela 1.1.2: Constante de lipofilicidade para compostos aromáticos substituídos por X. Adaptado da literatura. (Swallow, 2015)

X	H	F	Cl	NO_2	CH_3	CF_3	OH
$\Pi (\log P_X - \log P_H)$	0,00	0,14	0,71	-0,27	0,56	0,88	-0,67

No entanto, a floração nem sempre leva a um aumento da lipofilicidade da molécula. Por exemplo, em algumas moléculas foi demonstrado que a monofloração e a trifluorometilação de grupos alquílicos saturados diminuem a lipofilicidade, devido à polaridade relativa desses grupos por causa dos seus dipolos fortes C-F e C- CF_3 . O efeito na lipofilicidade depende do número de átomos de flúor contidos na molécula, entre outros fatores. (Swallow, 2015) (Smart, 2001) (Bassetto, Ferla e Pertusati, 2015)

Efeitos do flúor na acidez

Devido ao efeito atrator de elétrons que o átomo de flúor exerce através das ligações σ , os substituintes fluorados geralmente diminuem o pKa dos grupos funcionais vizinhos. Os grupos funcionais protonados tornam-se mais ácidos, devido à diminuição do seu pKa, e os grupos funcionais básicos tornam-se menos básicos à medida que o pKa dos ácidos conjugados diminui. (Meanwell, Eastman e Gillis, 2014) Embora seja um grupo atrator de elétrons, o átomo de flúor é também um grupo dador de elétrons (grupo ativante) por ressonância. Este efeito é muito forte, pois a ligação C-F tem uma orbital 2p sobreposta entre os dois átomos. (Bégué e Bonnet-Delpon, 2008)

Como o átomo de flúor mostra esta oposição de forças, sendo atrator e dador de elétrons, o pKa em sistemas aromáticos depende da relação através da ressonância do substituinte flúor e do grupo funcional de interesse. Sendo assim, em posições *orto*- e *meta*- ao grupo funcional, o átomo de flúor atua como um grupo atrator de elétrons e comporta-se como um substituinte neutro em posições *para*-, pelo anulamento das forças opostas. Por outro lado, o grupo CF_3 é um grupo atrator de elétrons tanto indutivamente como através da ressonância, pelo que diminui sempre o pKa do grupo funcional vizinho (Meanwell,

Eastman e Gillis, 2014), tendo um efeito marcado na basicidade, e um efeito moderado na acidez. (Smart, 2001)

Efeitos do flúor no metabolismo

Certas propriedades, como a lipofilicidade, polaridade, estereoquímica e conformação, influenciam a suscetibilidade de uma molécula ao metabolismo. Durante a otimização de uma molécula, é importante identificar os locais suscetíveis ao ataque metabólico, e desenvolver estratégias para proteger as funções lábeis da molécula, e assim, poder melhorar o tempo de semi-vida da molécula, bem como produtos de degradação gerados, entre outros fatores importantes que influenciam a atividade da molécula *in vivo*. (Meanwell, Eastman e Gillis, 2014)

A introdução de grupos fluorados nas moléculas pode influenciar a via metabólica e a extensão do metabolismo. A substituição por grupos fluorados em locais suscetíveis ao ataque metabólico permite minimizar o efeito do metabolismo, uma vez que a ligação C-F (105 kcal/mol) é mais forte e, por isso, mais resistente ao ataque químico pelas enzimas do citocromo P450 do que a ligação C-H (98 kcal/mol). (Shah e Westwell, 2007)

Por outro lado, a introdução do átomo de flúor em posições adjacentes ou até mesmo mais distantes do local suscetível ao ataque metabólico afeta também o metabolismo por efeitos indutivo ou ressonância, assim como por efeitos eletrostáticos ou conformacionais. (Park, Kitteringham e O'Neill, 2001)

Efeitos do flúor na distribuição e permeabilidade

A permeabilidade (P_e) é a capacidade de uma molécula passar através das células ou das membranas celulares. Esta propriedade é um fator determinante para as propriedades farmacocinéticas (ADME) da molécula. (Fagerholm, 2008) A molécula atravessa a membrana celular por difusão passiva ou transporte ativo. A difusão passiva é influenciada por características da molécula, como o tamanho molecular e a lipofilicidade. (Gillis *et al.*, 2015) O equilíbrio entre a lipofilicidade, a hidrofiliabilidade e o grau de ionização das moléculas influenciam a absorção e a distribuição da molécula *in vivo*. (Yamazaki, Taguchi e Ojima, 2009)

A introdução do átomo de flúor na molécula apresenta vantagens na distribuição e permeabilidade da molécula no organismo. Os grupos funcionais fluorados melhoram a

lipofilicidade, e, por consequência, melhoram a difusão passiva da molécula através das membranas. (Park, Kitteringham e O'Neill, 2001)

Efeitos do flúor na afinidade para o alvo molecular

Para um composto ter afinidade com o seu alvo biológico, tem que primeiro interagir com o seu recetor molecular. As principais propriedades que influenciam a afinidade com o alvo molecular são os efeitos conformacionais e estereoquímicos, as interações hidrofóbicas e as ligações de hidrogénio. (Bégué e Bonnet-Delpon, 2008)

O tamanho do átomo de flúor encontra-se entre o tamanho dos átomos de hidrogénio e oxigénio, pelo que os efeitos na estereoquímica do composto são pouco relevantes. Pelo contrário, o tamanho do grupo CF_3 é maior do que um átomo de hidrogénio e do que um grupo metil, o que pode induzir algum impedimento estereoquímico na interação do composto fluorado com o seu alvo. (Biffinger, Kim e DiMugno, 2004)

Devido à sua elevada eletronegatividade e aos seus três pares de eletrões não-ligantes fortemente ligados, o átomo de flúor apresenta baixa polarização, e como consequência tem tendência a participar em interações eletrostáticas polares, favorecendo a interação com o sítio de ligação no alvo. (Dalvit, Invernizzi e Vulpetti, 2014)

Quanto às ligações de hidrogénio, estas participam em interações em muitos sistemas biológicos e químicos. Apesar de não haver consenso entre os cientistas, o átomo de flúor é considerado um átomo aceitador na ligação de hidrogénio. As ligações de hidrogénio, em que o flúor participa, caracterizam-se por terem uma energia de ligação reduzida. (Champagne, Desroches e Paquin, 2015)

1.1.2. Fármacos Fluorados

Florinef (Casper Pharma LLC), cuja substância ativa é a **fludrocortisona** (Fried e Sabo, 1954), foi o primeiro fármaco fluorado a ser aprovado pela FDA em 1955. (Zhou *et al.*, 2016) A fludrocortisona apresenta um átomo de flúor no C9 (Figura 1.1.2). Este composto é um agonista do recetor dos mineralocorticóides, que inibe o efeito no eixo HPA (Hipotálamo-Hipófise-Córtex adrenal), e é usado para tratamento da doença de Addison. (Berardelli *et al.*, 2016)

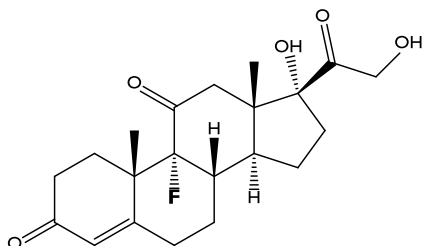


Figura 1.1.2: Representação da estrutura da fludrocortisona, substância ativa do Florinef (Casper Pharma LLC), primeiro fármaco fluorado autorizado pela FDA (1955).

Um outro fármaco responsável pelo início da aplicação do átomo de flúor em *design* e desenvolvimento de fármacos foi **5-fluoracil (5-FU)** (Spectrum Pharms). A substância ativa foi desenvolvida por Heidelberger (1957), e o fármaco foi aprovado pela FDA em 1962. (Wang *et al.*, 2014) O 5-FU apresenta um átomo de flúor na posição 5 do anel heterocíclico (Figura 1.1.3). Esta substância ativa é um antimetabolito análogo do nucleosídeo pirimidina, e é considerado um agente anti-tumoral indicado para o tratamento de tumores sólidos como o cancro do cólon e da mama. (Murray *et al.*, 2015)

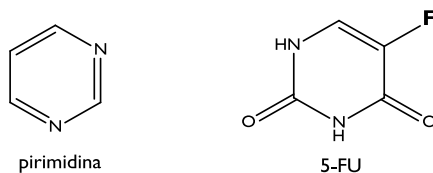


Figura 1.1.3: Representação das estruturas da pirimidina e do 5-fluoracil, substância ativa do primeiro fármaco anti-tumoral fluorado.

Em Portugal (1960), um dos primeiros fármacos fluorados a ser autorizado foi o Serenelfi (Instituto Luso-Fármaco, Lda.), em que a substância ativa é **haloperidol**. Haloperidol (Figura I.1.4) contém um átomo de flúor ligado a um anel aromático na posição 3. Serenelfi é um antipsicótico, aprovado para o tratamento da esquizofrenia. (Roh et al., 2001)

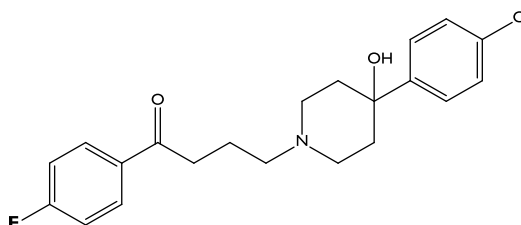


Figura I.1.4: Representação da estrutura do haloperidol, substância ativa do Serenelfi (Instituto Luso-Fármaco, Lda.), dos primeiros fármacos fluorados a ser autorizado em Portugal (1960).

A introdução de fármacos fluorados no mercado tem vindo a aumentar, pois as propriedades físicas e químicas e a relação estrutura-atividade que os compostos fluorados apresentam contribuem para o constante interesse em estratégias de introdução do átomo de flúor para a modificação e otimização dos compostos. (Dolbier, 2005)

Durante o período de 2014 a 2015, a percentagem de fármacos fluorados aprovados pela FDA foi cerca de 30%, e entre os quais cerca de 33% contêm pelo menos um grupo trifluorometil (-CF₃) (Figura I.1.5). Os fármacos fluorados têm sido maioritariamente aprovados para o uso no tratamento de vários tipos de cancro e em vários tipos de infeções.

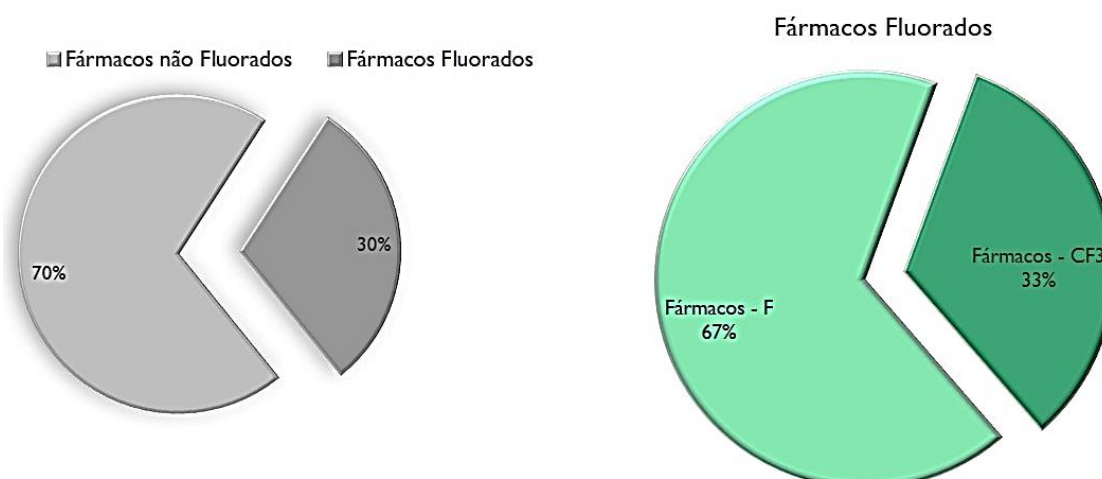


Figura I.1.5: Gráfico ilustrativo dos fármacos aprovados, fluorados e não fluorados, pela FDA em 2014 e 2015. (Fármacos-F: Fármacos contendo átomos de flúor; Fármacos-CF₃: Fármacos contendo o grupo trifluorometil – CF₃)

Um exemplo de um fármaco fluorado utilizado no tratamento de cancro é Iressa (AstraZeneca), autorizado pela FDA em 2003 e por INFARMED e EMA em 2009. A sua substância ativa é **gefitinib** (Figura 1.1.6), que contém um átomo de flúor ligado a um anel aromático. A introdução dos átomos de cloro e de flúor melhoraram o tempo de semi-vida da molécula de 30 minutos para 3 horas (Figura 1.1.6). (Barker *et al.*, 2001)

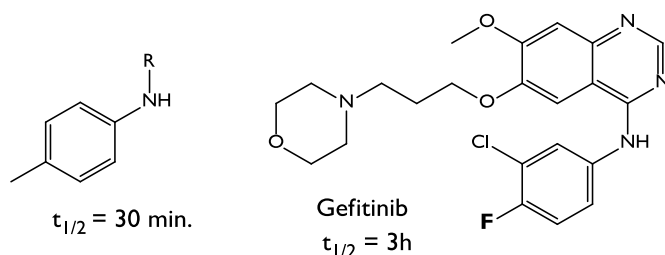


Figura 1.1.6: Representação da estrutura do análogo não fluorado e do gefitinib, substância ativa do fármaco Iressa (AstraZeneca). Adaptado da literatura. (Bégué e Bonnet-Delpon, 2008)

Gefitinib inibe a atividade do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR-TK), o que leva a uma inibição do crescimento do tumor e metástases e aumenta a apoptose das células tumorais. (D’Incecco e Cappuzzo, 2011) Iressa é indicado para o tratamento de doentes adultos com cancro do pulmão de células não pequenas localmente avançado ou metastático com mutação ativa na expressão/atividade do EGFR. (Kazandjian *et al.*, 2016)

Um outro exemplo de fármaco fluorado autorizado no mercado é Evoltra (Genzyme Europe, B.V.) que foi aprovado em 2006 por INFARMED e EMA, e em 2004 com o nome Cloral (Genzyme Corporation) pela FDA. A sua substância ativa, **clofarabina** (Figura 1.1.7), é uma molécula que apresenta um átomo de flúor ligado a um anel heterocíclico. Clofarabina é um análogo do nucleosídeo purina, que foi sintetizado para incorporar as características de duas moléculas, também análogos da purina (Figura 1.1.7). Fludarabina inibe a síntese de DNA e cladribina inibe a enzima ribonucleotídeo redutase, enquanto que o mecanismo da clofarabina envolve as duas inibições para além de induzir diretamente a apoptose. (Tran e Yang, 2012)

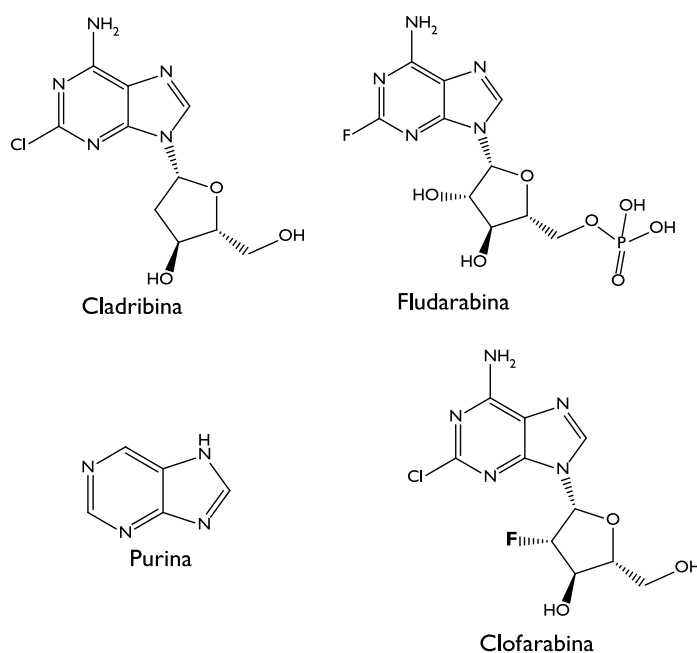


Figura 1.1.7: Representação da estrutura da clofarabina, substância ativa do fármaco Evoltra (Genzyme Europe, B.V.), e outros análogos da purina (Cladribina e Fludarabina).

A biodisponibilidade oral da clofarabina é superior comparativamente aos outros análogos, uma vez que a halogenação na posição 2 da adenina torna a molécula resistente à degradação intracelular pela enzima adenosina deaminase e a substituição com um átomo de flúor aumenta a sua estabilidade no ácido gástrico, assim como diminui a sua tendência para a clivagem fosforolítica no trato gastrointestinal (Figura 1.1.7). (Ghanem *et al.*, 2010)

Evoltra encontra-se indicado para doentes com leucemia. (Fozza, 2015)

Faslodex (AstraZeneca) é um outro de exemplo de fármaco fluorado que foi autorizado em 2004 por INFARMED e EMA, e em 2002 pela FDA. A sua substância ativa, **fulvestrant** (Figura 1.1.8), possui um grupo pentafluoroetil na extremidade da sua cadeia saturada. De acordo com os estudos iniciais desta substância ativa, comparativamente a um antiestrogénio não fluorado, ICI 164,384 (Figura 1.1.8), a introdução de átomos de flúor na molécula contribui para um aumento da sua estabilidade metabólica durante a ligação aos recetores de estrogénio (RE), e apresenta maior afinidade de ligação relativa (RBA). (Wakeling, Dukes e Bowler, 1991)

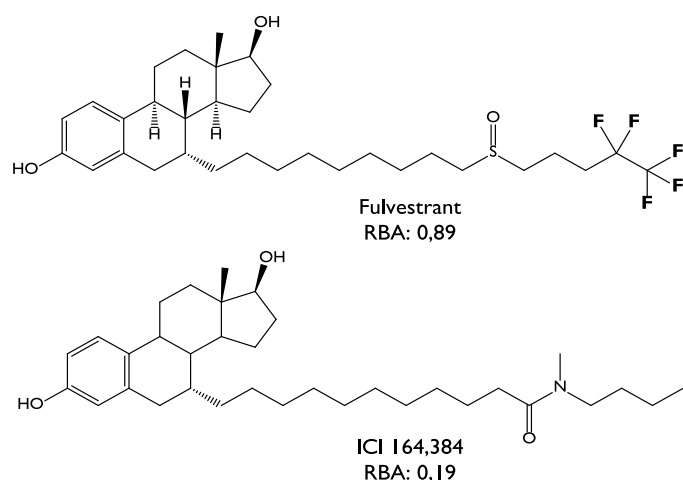


Figura 1.1.8: Representação da estrutura de Fulvestrant, substância ativa do fármaco Faslodex (AstraZeneca) e do seu análogo não fluorado, ICI 164,384. Adaptado da literatura. (Wang et al., 2014)

Este esteróide, fulvestrant, é um antagonista do recetor estrogénio (RE). Este composto tem um mecanismo de ação diferente de outros antagonistas RE, uma vez que induz uma alteração conformacional no recetor, promovendo a degradação do recetor, a infra-regulação dos níveis da proteína RE e a redução da ativação transcricional de RE. (Wakeling, 2000) O fármaco Faslodex está aprovado para o tratamento de cancro da mama em estado avançado. (Graham et al., 2016)

INFARMED e EMA autorizaram o fármaco Stocrin (Merck Sharp & Dohme, Ltd.) em 1999 e a FDA autorizou o mesmo fármaco com o nome Sustiva (Bristol Myers Squibb) em 1998. A substância ativa dos fármacos é **efavirenz** (Figura 1.1.9), o qual possui um grupo trifluorometil ligado a um anel heteroalifático. Efavirenz é um inibidor não competitivo da transcriptase reversa não-análogo dos nucleosídeos, que se liga ao local alostérico da enzima e afeta a mobilidade e flexibilidade do local ativo responsável pela formação da dupla hélice do DNA. (Shen et al., 2003) Estudos baseados na relação estrutura-atividade mostraram que a presença do grupo trifluorometil melhorou a potência do composto por diminuição do pKa do carbamato cíclico, o qual interatua por ligações de hidrogénio com a proteína recetora (Figura 1.1.9). (Rabel, Sun e Maurin, 2001) (Purser et al., 2008) (Bastos et al., 2016)

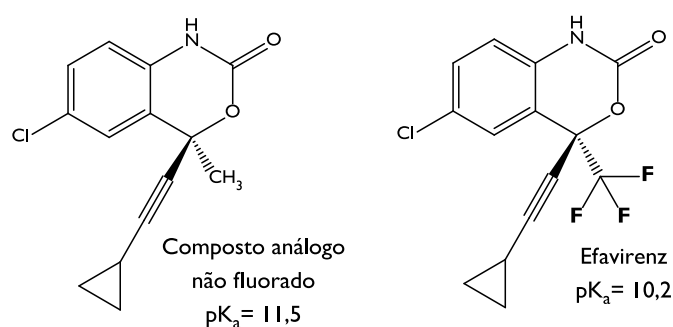


Figura 1.1.9: Representação da estrutura do composto análogo não fluorado e de efavirenz, substância ativa de Stocrin (Merck Sharp & Dohme, Ltd.).

O fármaco foi aprovado para o tratamento de doentes com HIV, sendo um dos componentes mais usados na terapia antirretroviral. (Dalwadi *et al.*, 2016)

1.1.3. Estratégias de Fluoração

Desde o último século, têm-se vindo a desenvolver novos reagentes de fluoração de compostos. Os primeiros reagentes de fluoração desenvolvidos foram derivados do gás de flúor, e o reagente XeF₂ (Difluoreto de Xénon, 1962). O gás de flúor, assim como os seus derivados são muito reativos, altamente tóxicos, fortes oxidantes com pouca especificidade; e o XeF₂, apesar de mais estável, apresenta também alguma toxicidade e um elevado potencial de oxidação, o que limita a tolerância aos grupos funcionais. (Liang, Neumann e Ritter, 2013) (Tius, 1995) Devido a estas limitações, vários reagentes de fluoração têm vindo a ser desenvolvidos para melhorar as técnicas de fluoração, nomeadamente aumentar a solubilidade, a estabilidade, assim como diminuir a toxicidade e o preço dos reagentes. (Nyffeler *et al.*, 2005) (Wilkinson, 1992) Assim, os reagentes atuais são mais eficazes, seletivos e compatíveis com grupos funcionais, e permitem a utilização simultânea de condições reacionais mais suaves. (Surya Prakash e Wang, 2012)

Os reagentes de fluoração usados atualmente começaram a ser desenvolvidos entre os anos 60 e 80, o que contribuiu para o aumento de fármacos fluorados aprovados, a partir dos anos 80 (Figura 1.1.10). (Surya Prakash e Wang, 2012) (Hagmann, 2008)

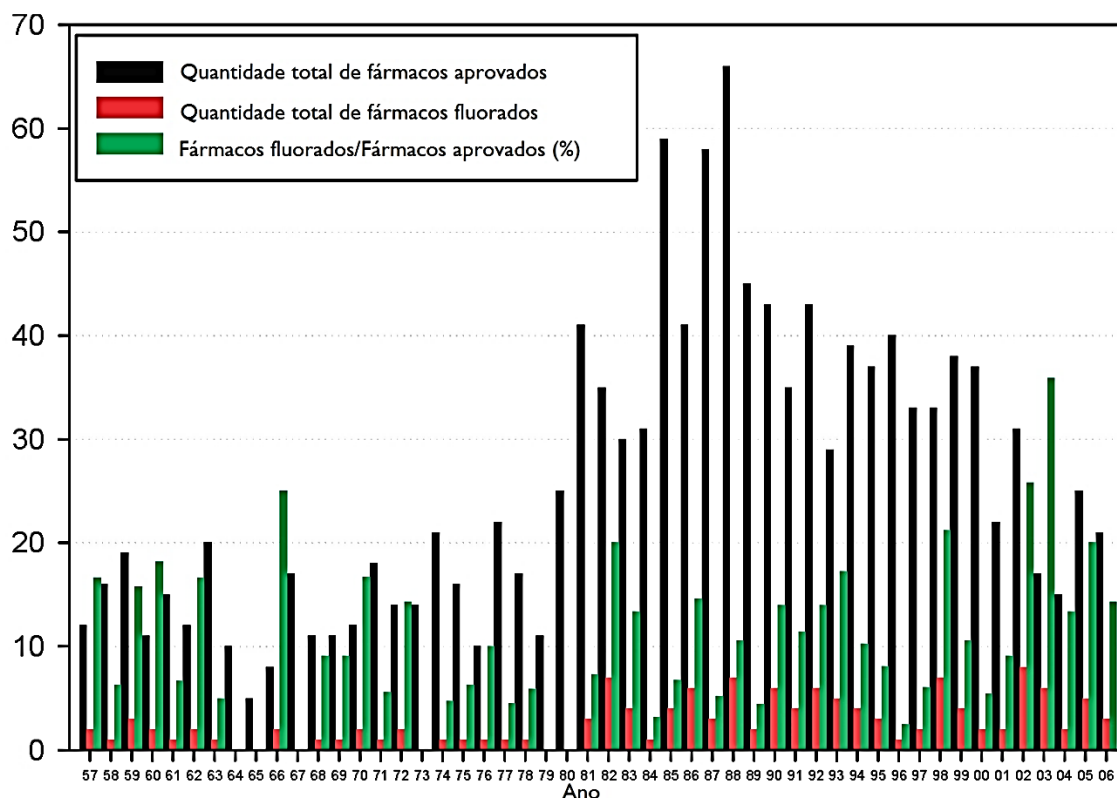


Figura 1.1.10: Gráfico ilustrativo da percentagem de fármacos fluorados aprovados (1957-2006). Adaptado da literatura. (Hagmann, 2008)

O sucesso dos fármacos fluorados tem contribuído para o contínuo interesse por parte dos químicos em desenvolver novas estratégias de fluoração de compostos, incluindo a monofluoração, a difluorometilação e a trifluorometilação. (Zhou *et al.*, 2016)

Dentro da monofluoração, difluorometilação e trifluorometilação, existem três métodos principais de fluoração – eletrofílica, nucleofílica e radicalar –, e para cada um, existem reagentes específicos, o que permite flexibilidade dependendo da natureza estrutural do substrato e das modificações estruturais que se pretendem obter. (Liang, Neumann e Ritter, 2013)

A seguir, apresenta-se uma breve introdução às várias estratégias de fluoração.

1.1.3.1. Monofluoração

A monofluoração consiste na introdução de um átomo de flúor nas moléculas orgânicas. A introdução do átomo de flúor pode ter naturezas diferentes, como dito anteriormente: eletrofílica, nucleofílica e radicalar.

A fluoração radicalar faz uso dos reagentes de fluoração eletrofílica para promover a formação de radicais, sendo assim não irá ser abordada detalhadamente. (Chatalova-Sazepin *et al.*, 2015)

Na **fluoração eletrofílica** é essencial a transferência de espécies “F⁺” para uma zona de maior densidade eletrônica, porém esses íões não existem isolados na Natureza, daí o desenvolvimento de reagentes N-F. Hoje em dia, os reagentes do tipo N-F são estáveis nas condições normais de pressão e temperatura. Os reagentes N-F, como o nome indica, possuem um átomo de flúor ligado a um átomo de azoto (Figura 1.1.11).

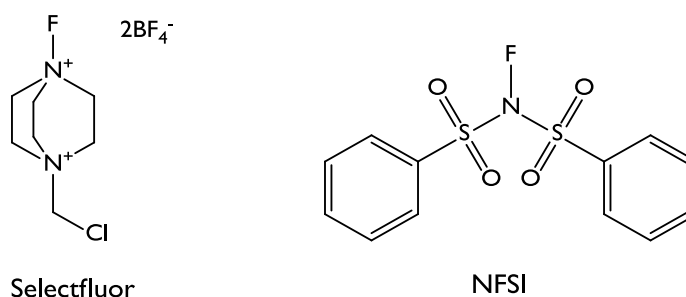


Figura 1.1.11: Representação das estruturas de reagentes de fluoração eletrofílica, reagentes N-F – Selectfluor[®] e NFSI.

Apesar de os reagentes N-F se comportarem como uma fonte de “F⁺”, as ligações N-F são polarizadas, com uma carga parcialmente negativa no átomo de flúor. A baixa eletronegatividade do átomo de azoto (N) e a força de ligação N-F tornam estes reagentes estáveis e fáceis de manusear. (Kirk, 2008) Alguns dos reagentes N-F mais utilizados são o Selectfluor[®] (F-TEDA, N-Clorometil-N-fluorotrietilendiamônio bis(tetrafluoroborato)) (1992) e o NFSI (N-Fluorodibenzenosulfonimida) (1991) (Figura 1.1.11). (Surya Prakash e Wang, 2012)

Apesar dos vários estudos efetuados, ainda não existe um consenso quanto ao mecanismo de reação do Selectfluor[®]. Enquanto alguns autores sugerem que as reações de fluoração com o Selectfluor[®] ocorrem através de uma substituição nucleofílica S_N2, outros defendem que o mecanismo ocorre por transferência de um electrão (mecanismo SET). (Liang, Neumann e Ritter, 2013)

A utilização do Selectfluor[®] para obter derivados fluorados já foi descrita em vários artigos científicos, e em diferentes tipos de estruturas químicas. O Selectfluor[®] é um reagente versátil, estando envolvido em vários tipos de mono- e difluorações, como por exemplo: síntese de fluorolactonas em compostos triterpenóides (Leal *et al.*, 2012), fluoração descarboxilativa de ácidos carboxílicos alifáticos (Yin *et al.*, 2012), hidrofluoração de alcenos (Barker e Boger, 2012), mono- e difluoração benzílica (Xia, Zhu e Chen, 2013), fluoração de derivados do ácido arilborônico (Mazzotti *et al.*, 2013), oxifluoração de alcenos para a síntese de α -fluorocetonas (Yang *et al.*, 2014), fluoração de esteróides (Bogautdinov *et al.*, 2014), difluoração de alcenos (Molnár e Gilmour, 2016) e fluoração de derivados do pirrol (Heeran e Sandford, 2016).

O reagente NFSI, também já foi descrito em várias estratégias de fluoração, nomeadamente: aminofluoração de estirenos (Qiu *et al.*, 2010), hidrofluoração de alcenos (mecanismo radicalar) (Shigehisa *et al.*, 2013), mono- e trifluoração do anel tiazol (Hatfield, Eidell e Stephens, 2013), fluoração fotocatalítica de ligações C-H (Halperin *et al.*, 2014), α -fluoração oxidativa de aldeídos alifáticos (Li, Wu e Wang, 2015) e fluoração de estirenos (Shao e Huang, 2015).

Em relação à **fluoração nucleofílica**, esta é uma estratégia muito utilizada na introdução seletiva do átomo de flúor nos compostos e é aplicável a uma grande variedade de substratos. Porém, o ião fluoreto (F⁻) não se comporta como um bom nucleófilo tanto em solventes próticos como em solventes apróticos. (Kirk, 2008) Também as barreiras cinéticas elevadas na formação das ligações C-F – a ligação simples carbono-heteroátomo mais forte conhecida – devido à eletronegatividade do átomo de flúor, é um obstáculo que necessita de ser ultrapassado na fluoração nucleofílica. (Liang, Neumann e Ritter, 2013)

Para aumentar a nucleofilicidade do átomo de flúor, vários reagentes e técnicas de fluoração nucleofílica têm sido desenvolvidos. Uma alternativa ao ião fluoreto são os reagentes S-F, em que o emparelhamento de uma base de Lewis não polarizável (F⁻) e um ácido de Lewis mais polarizável aumenta a nucleofilicidade do átomo de flúor. (Kirk, 2008)

Os reagentes nucleofílicos S-F (Figura 1.1.12) mais utilizados são o DAST ((C₂H₅)₂NSF₃, dietilamino trifluoreto de enxofre) (1975); o Deoxofluor (C₆H₁₄F₃NO₂S, bis-(2-metoxietil)-trifluoreto aminosulfeto) (1999), e mais recentemente foram desenvolvidos o Fluolead (C₁₂H₁₇F₃S, 4-*t*-butil-2,6-dimetilfenilsulfeto trifluoreto) (2010) e o PyFluor (C₅H₄FNO₂S, 2-piridinasulfonila fluoreto) (2015). Os reagentes de fluoração nucleofílica dividem-se em dois grupos: os reagentes amino sulfetos trifluorados (DAST e Deoxofluor) e

os reagentes, mais recentes, aril sulfetos trifluorados (Fluolead e Pyfluor). (Kirk, 2008) (Umemoto *et al.*, 2010) (Nielsen *et al.*, 2015)

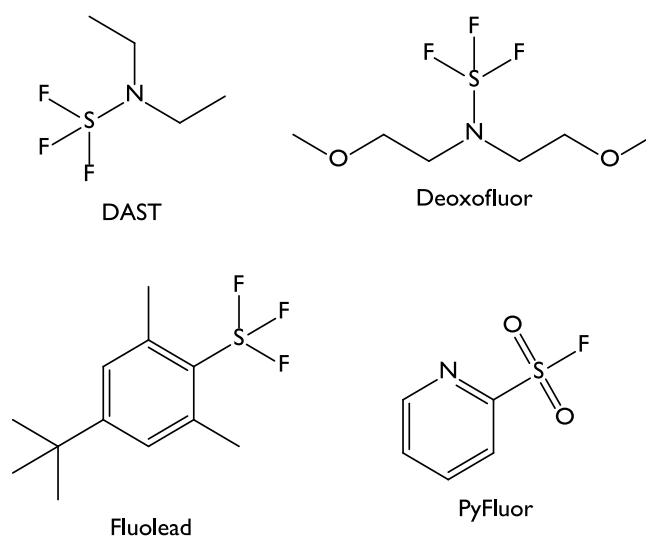


Figura 1.1.12: Representação das estruturas de reagentes de fluoração nucleofílica, reagentes S-F – DAST, Deoxofluor, Fluolead e PyFluor.

Os reagentes DAST e Deoxofluor são caracterizados por serem bons reagentes de fluoração, tendo reatividade idêntica entre si, e são relativamente económicos, porém fumegam ao ar, reagem violentamente com a água e são termicamente instáveis. Por outro lado, os reagentes mais recentes, os aril sulfetos trifluorados, são mais estáveis química e termicamente, devido à ligação C-S ser mais forte do que a ligação N-S (Tabela 1.1.3).

Tabela 1.1.3: Energia de ligação das ligações C-S e N-S dos reagentes aril sulfetos trifluorados e amino sulfetos trifluorados, respetivamente.

Ligação X-S	C-S	N-S
Energia de ligação (kJ/mol)	714 ± 1,2	464 ± 21

O Fluolead é um reagente de fluoração versátil, que permite alteração dos substituintes no anel aromático (substituintes dadores de eletrões aumentam a sua reatividade), enquanto o PyFluor, embora necessite de tempos de reação longos (entre 48 h e 72 h) e condições de reação básicas, apresenta uma elevada seletividade, segurança e apresenta um custo competitivo comparativamente ao DAST. (Umemoto *et al.*, 2010) (Nielsen *et al.*, 2015)

O mecanismo das reações de fluoração dos reagentes nucleofílicos envolve o ataque nucleófilo do átomo de oxigénio (O) do substrato ao átomo de enxofre (S) do reagente (Figura 1.1.13). Por outro lado o reagente PyFluor atua por um mecanismo idêntico, porém o mecanismo é assistido por uma base, para adição do átomo oxigénio do substrato ao átomo enxofre do reagente. (Singh e Shreeve, 2002) (Umemoto *et al.*, 2010) (Nielsen *et al.*, 2015)

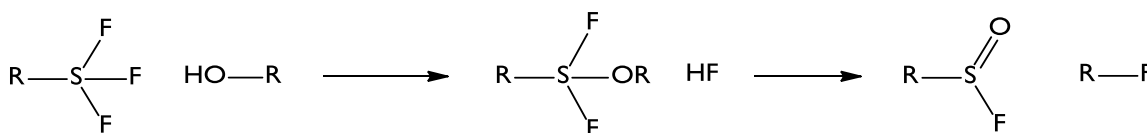


Figura 1.1.13: Representação esquemática do mecanismo geral dos reagentes de fluoração nucleofílica. Adaptado da literatura. (Singh e Shreeve, 2002)

Todos estes reagentes, particularmente o DAST e o Deoxofluor, já foram descritos na literatura como agentes de fluoração de diversos substratos com um grupo funcional álcool (Bresciani e O'Hagan, 2010) (Kazmierczak e Koroniak, 2012) (Nielsen *et al.*, 2015), cetona (Das *et al.*, 2007) (Chang *et al.*, 2008) (Ishii, Niwa e Watanabe, 2016), aldeído, ácido carboxílico ou éster (Lepri *et al.*, 2015), uma vez que, como já dito, são reagentes de desoxifluoração. (Kirk, 2008) (Koperniku, Liu e Hurley, 2016)

1.1.3.2. Difluorometilação

A difluorometilação seletiva ocorre normalmente por duas estratégias diferentes: i) transferência do grupo CF_2H para moléculas orgânicas; ou ii) transferência do grupo funcionalizado CF_2R , seguida de remoção do grupo funcional ou auxiliar para se obter o grupo CF_2H . (Hu, Zhang e Wang, 2009)

A **difluorometilação nucleofílica** é efetuada usando, principalmente, dois tipos de reagentes (Figura 1.1.14): os do grupo (difluorometil)-trimetilsilano (TMSCF_2X) (1995) e os do grupo difluorometilfenilsulfóxido ($\text{PhSO}_2\text{CF}_2\text{Y}$) (1960). (Liang, Neumann e Ritter, 2013)

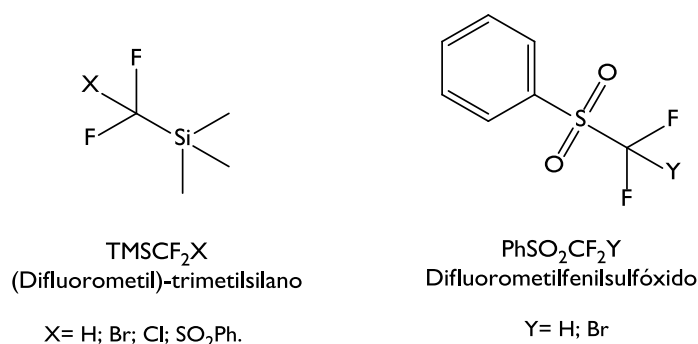


Figura 1.1.14: Representação das estruturas dos reagentes de difluorometilação nucleofílica.

Enquanto os reagentes do tipo TMSCF_2X atuam de modo direto, transferindo o grupo CF_2H para o substrato, os reagentes do tipo $\text{PhSO}_2\text{CF}_2\text{Y}$ atuam em dois passos: primeiro a adição do grupo $\text{SO}_2\text{CF}_2\text{Y}$ ao substrato, seguida pela dessulfonilação. (Liang, Neumann e Ritter, 2013)

Existem várias reações de fluoração com este tipo de reagentes descritas na literatura, nomeadamente: difluorometilação de ácidos aril borónicos (Li *et al.*, 2016), cetonas (Hu *et al.*, 2013) (Du *et al.*, 2015) (Michurin, Radchenko e Komarov, 2016), aldeídos (Ni, Wang e Hu, 2008) (Kosobokov *et al.*, 2014) (Song *et al.*, 2015) (Levin *et al.*, 2015), iminas (Zhao *et al.*, 2011), alcenos, alcinos (Zhu, Xu e Qing, 2015) e de grupos aromáticos substituídos (Li, L. *et al.*, 2013).

Na **difluorometilação radicalar**, o principal reagente usado é o DFMS (difluorometanosulfinato de zinco) (2012) (Figura 1.1.15). (Fujiwara *et al.*, 2012a) Este reagente é capaz de formar radicais CF_2^\cdot que reagem, preferencialmente, em locais com défice de eletrões em compostos aromáticos e em sistemas π (enonas na posição β). (Liang, Neumann e Ritter, 2013)

Na literatura, este reagente já foi descrito como agente de difluorometilação descarboxilativa de ácidos carboxílicos α - β insaturados (Li, Cui e Liu, 2013), difluorometilação de compostos heteroaromáticos, tióis e enonas (Fujiwara *et al.*, 2012a,b).

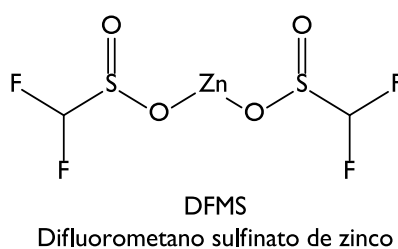


Figura 1.1.15: Representação da estrutura do reagente de difluorometilação radicalar.

Quanto à **difluorometilação eletrofílica**, esta tem sido menos explorada comparativamente às anteriores. Os primeiros reagentes de difluorometilação eletrofílica direta (Figura 1.1.16) surgiram recentemente, de que são exemplos o S-(Difluorometil)diarilsulfônio tetrafluoroborato (2007) e o N-Tosil-S-difluorometil-S-fenilsulfoximina (2009). (Prakash *et al.*, 2007) (Zhang, Wang e Hu, 2009)

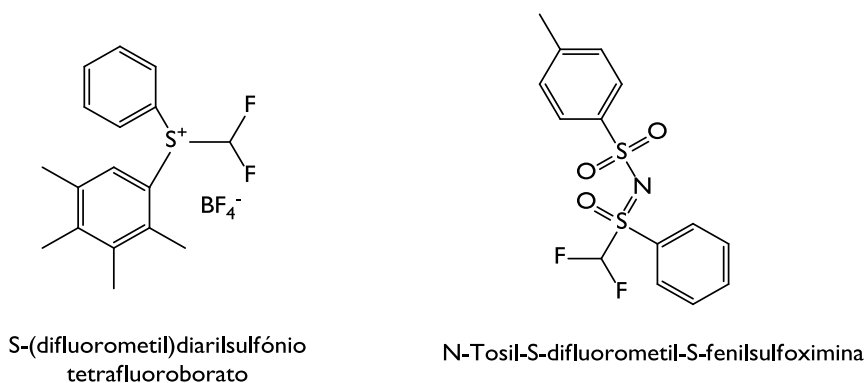


Figura 1.1.16: Representação das estruturas dos reagentes de difluorometilação eletrofílica.

A reação de difluorometilação com estes reagentes ocorre pelos mecanismos de S_N2 ou de radical livre, e ainda pelo mecanismo do difluorocarbênio, no caso do N-tosil-S-difluorometil-S-fenilsulfoximina (Figura 1.1.17). (Prakash *et al.*, 2007) (Zhang, Wang e Hu, 2009)

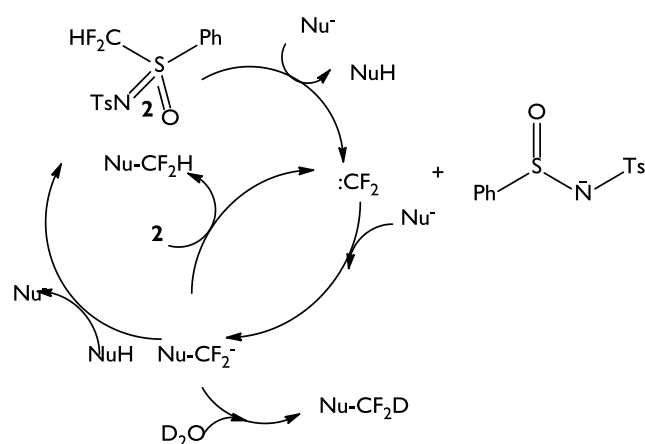


Figura 1.1.17: Representação esquemática do mecanismo do difluorocarbênio do reagente N-tosil-S-difluorometil-S-fenilsulfoximina. Adaptado da literatura. (Zhang, Wang e Hu, 2009)

O tipo de reações de fluoração descritas na literatura para estes reagentes são diferentes. No caso do reagente S-(Difluorometil)diarilsulfônio tetrafluoroborato, este já foi descrito na difluorometilação de ácidos sulfônicos, amins terciárias, derivados do imidazol e fosfinas. (Prakash *et al.*, 2007) O reagente N-tosil-S-difluorometil-S-fenilsulfoximina foi

explorado na oxidifluorometilação de alcenos (Arai *et al.*, 2016), difluorometilação de alcinos como substituintes em benzenos, difluorometilação de tióis e aminas. (Zhang, Wang e Hu, 2009)

1.1.3.3. Trifluorometilação

A trifluorometilação consiste na introdução de um grupo trifluorometil (-CF₃) nos compostos, a qual envolve a formação de uma ligação C-C, ao contrário da fluoração simples. (Ma e Cahard, 2007)

A **trifluorometilação nucleofílica** tem sido uma das estratégias de trifluorometilação direta que mais interesse tem suscitado. O reagente mais usado neste tipo de reação é o reagente de Ruppert-Prakash (trifluorometil-trimetilsilano, TMSCF₃) (1989) (Figura 1.1.18). (Liu, X. *et al.*, 2015)

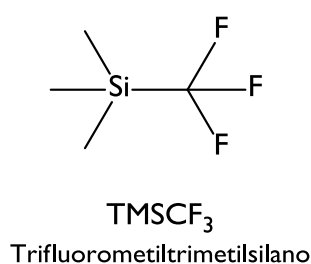


Figura 1.1.18: Representação da estrutura do reagente de trifluorometilação nucleofílica, o TMSCF₃.

As reações com o reagente TMSCF₃ ocorrem através de mecanismos oxidativos e radicalares, as quais necessitam da presença de agentes oxidantes (por exemplo, Selectfluor, PhI(OAc)₂, NaOAc, Ag₂CO₃) e/ou agentes iniciadores (por exemplo, KF, TBAF, piridina). Os mecanismos oxidativos podem ocorrer de três formas diferentes: i) oxidação do substrato, ii) oxidação do reagente de trifluorometilação, ou iii) por acoplamento com um metal de transição. (Liu, Xu e Qing, 2015) (Rubiales *et al.*, 2014) (Chu e Qing, 2014) (Wu, Chu e Qing, 2013) (Chu e Qing, 2012a,b) (Ye, Lee e Sanford, 2011)

Este reagente já se encontra descrito numa série de reações: trifluorometilação de álcoois a éteres (Liu, Xu e Qing, 2015), trifluorometilação de compostos carbonílicos (Rubiales *et al.*, 2014) (Singh e Shreeve, 2012), alcinos terminais (Chen, Chu e Qing, 2012) (Chu e Qing, 2010), aminas terciárias, arenos (Ye, Lee e Sanford, 2011), heteroarenos (Chu e Qing, 2012b), alcenos terminais (Wu, Chu e Qing, 2013) (Chu e Qing, 2012a), ácidos arilborónicos e iminas. (Liu, X. *et al.*, 2015) (Chu e Qing, 2014)

Quanto à **trifluorometilação eletrofílica**, esta é uma das mais recentes estratégias de trifluorometilação. Os reagentes desenvolvidos para esta estratégia são os reagentes de Togni (I e II) (2006) e o reagente de Umemoto (1990-2007) (Figura 1.1.19).

Enquanto o reagente de Umemoto é estável à temperatura ambiente, os reagentes de Togni, apesar de serem sólidos cristalinos estáveis ao ar e de terem uma boa reatividade, possuem propriedades explosivas e decompõe-se após algumas semanas à temperatura ambiente, tendo que ser armazenados no frio. (Charpentier, Fruh e Togni, 2015) (Fiederling, Haller e Schramm, 2013) (Wang *et al.*, 2015)

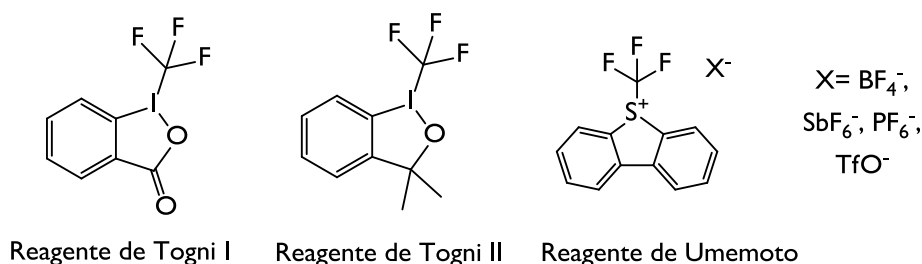


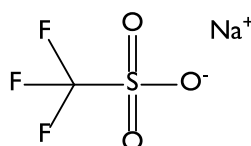
Figura 1.1.19: Representação das estruturas dos reagentes de trifluorometilação eletrofílica.

Estes reagentes apresentam um mecanismo de ação semelhante. O mecanismo da reação com o reagente de Umemoto ocorre por transferência de espécies CF_3^+ ou CF_3^\cdot para o substrato por ataque nucleófilo, ou por uma oxidação seguida de uma eliminação redutiva, sempre na presença de metais ou catalisadores fotoredox. (Zhang, 2014a) O mecanismo de reação dos reagentes Togni pode ser um mecanismo $\text{S}_{\text{N}}2$ ou SET, e também pode ocorrer por um mecanismo radicalar. (Barata-Vallejo, Lantano e Postigo, 2014) (Ling *et al.*, 2015) As reações com os reagentes Togni precisam de um agente ativante, nomeadamente um ácido ou metal. (Charpentier, Fruh e Togni, 2015)

Já foram publicados vários artigos científicos descrevendo várias reações com estes reagentes. O reagente de Umemoto já foi descrito para a trifluorometilação de β -ceto ésteres (Noritake *et al.*, 2009), alcinos terminais (Luo *et al.*, 2012), compostos aromáticos, ácidos arilborônicos e também na oxi-, amino- e hidrox-trifluorometilação de alcenos. (Zhang, 2014a) Também muitas reações foram exploradas para a trifluorometilação com os reagentes Togni: halo- (Fu *et al.*, 2016) (An *et al.*, 2015), oxi- (Yang *et al.*, 2016), hidro- (Egami *et al.*, 2015) (Mizuta *et al.*, 2013), ciano- (Zhang, 2014b) (Ilchenko, Janson e Szabó, 2013) e amino-trifluorometilação de alcenos (Shen e Wang, 2016), trifluorometilação de alcinos (Janson *et al.*, 2012), compostos aromáticos e heteroaromáticos (Mejía e Togni, 2012), álcoois (Koller *et al.*, 2009), β -ceto-ésteres (Deng, Wadepohl e Gade, 2012),

trifluorometilação descarboxilativa de ácidos carboxílicos (He, Tan e Hu, 2016) e compostos carbonílicos α - β insaturados (Fang *et al.*, 2014).

Na **trifluorometilação radicalar**, o radical $\text{CF}_3\cdot$ é formado sob condições oxidativas, redutivas, fotoquímicas, térmicas ou eletroquímicas, e o precursor destes radicais mais utilizado é o reagente de Langlois (NaSO_2CF_3 , trifluorometanosulfinato de sódio) (1980) (Figura I.1.20). (Ma e Cahard, 2007) (Zhang, 2014c)



Reagente de Langlois
Trifluorometanosulfinato de sódio

Figura I.1.20: Representação da estrutura do reagente de trifluorometilação radicalar, o reagente de Langlois.

Normalmente a reação de trifluorometilação com o reagente de Langlois ocorre na presença de sais metálicos (como, por exemplo, sais de ferro, prata, cobre) e na presença de um agente oxidante (como por exemplo, o *t*-BuOOH (TBHP, *tert*-butilhidroperóxido) ou $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (persulfato de potássio)), necessários para a sua ativação e formação do radical $\text{CF}_3\cdot$. (Zhang, 2014c) O mecanismo de formação do radical (Figura I.1.21) envolve a ativação do reagente de Langlois na presença de um reagente oxidante (*t*-BuOOH ou $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), seguida pela formação do radical $\text{CF}_3\text{SO}_2\cdot$, eliminação e formação do radical $\text{CF}_3\cdot$. (Studer, 2012) (Lu, Q. *et al.*, 2014) (Lu, Y. *et al.*, 2014)

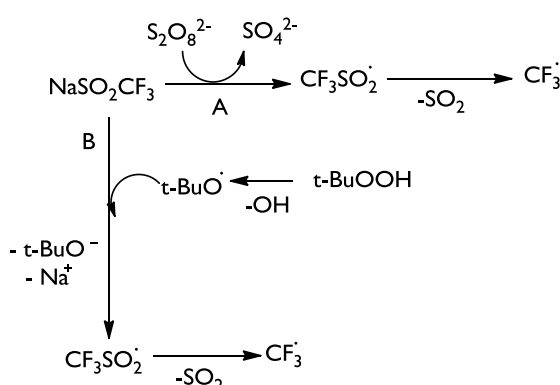


Figura I.1.21: Representação esquemática do mecanismo de formação do radical $\text{CF}_3\cdot$ a partir do reagente de Langlois na presença de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (A) ou *t*-BuOOH (B). Adaptado da literatura. (Studer, 2012) (Lu, Y. *et al.*, 2014)

O reagente de Langlois tem sido usado com sucesso em várias reações de trifluorometilação de vários tipos de substratos. Este reagente de trifluorometilação foi explorado em trifluorometilações de enol-acetatos (Lu, Y. *et al.*, 2014), acetanilidos (Wu *et al.*, 2014), ácidos vinil- e aril-borônicos (Li, Y. *et al.*, 2013), cumarinas (Cao *et al.*, 2014), arenos e heteroarenos (Besset, Schneider e Cahard, 2012), heterocíclicos (Ji *et al.*, 2011) (Fennewald e Lipshutz, 2014). Além do mencionado, este reagente é capaz de difuncionalizar alcenos e alcinos via oxitri-fluorometilação (Lu, Q. *et al.*, 2014) (Yang *et al.*, 2015) (Liu, C. *et al.*, 2015) (Jiang e Qing, 2013) (Luo *et al.*, 2014), hidrotri-fluorometilação (Wilger, Gesmundo e Nicewicz, 2013), clortri-fluorometilação (Yang, Xu e Qing, 2015a), iodotri-fluorometilação (Hang, Li e Liu, 2014), bis-tri-fluorometilação (Yang, Xu e Qing, 2015b) e trifluorometilação descarboxilativa de ácidos carboxílicos α - β insaturados (Li, Cui e Liu, 2013).

1.2. Compostos Naturais

As plantas medicinais têm sido uma fonte muito importante de agentes terapêuticos. Hoje em dia, muitos fármacos são compostos naturais ou seus derivados. Newman e Cragg têm publicado, desde 1997, uma série de artigos em que analisaram a origem de novas entidades químicas aprovadas mundialmente, na qual é possível verificar que os compostos naturais têm um papel significativo na descoberta e desenvolvimento de fármacos. De todos os fármacos aprovados no intervalo de tempo 1981-2014, cerca de 42% são compostos naturais ou seus derivados. (Newman e Cragg, 2016)

Apesar do grande interesse pelos compostos naturais, entre os anos 70 e 90, verificou-se uma redução de novas entidades químicas de origem natural aprovadas. Este declínio tem sido apontado aos avanços no *screening HTS (High Throughput Screening)* e na síntese combinatorial que ocorreu no final do século 20. Porém, estas técnicas mostraram uma série de obstáculos para o *screening* com os compostos naturais, sendo os compostos incompatíveis com a técnica, devido nomeadamente à sua complexidade química, à dificuldade do *screening* de misturas de compostos em extractos, pouca reprodutibilidade entre diferentes lotes do mesmo extracto, uma vez que os compostos naturais são metabolitos secundários e o metabolismo pode ser influenciado por efeitos sazonais, entre outros obstáculos. (Shen, 2015) (Patridge *et al.*, 2016) (Henrich e Beutler, 2013) (Harvey, 2002)

Apesar disso, o interesse pelos compostos naturais prolongou-se. Comparando os compostos naturais com as moléculas sintéticas obtidas por síntese combinatorial, concluiu-se que diferenças estruturais, como o baixo número de centros quirais, o tamanho pequeno e a elevada flexibilidade, resultam numa fraca e inespecífica atividade das moléculas sintéticas. (Atanasov *et al.*, 2015) Deste modo, os compostos naturais têm demonstrado ser ótimos pontos de partida para a pesquisa de novos fármacos, devido à diversidade e complexidade das suas estruturas químicas bem organizadas e multidimensionais, às suas propriedades estereoquímicas e à capacidade de se ligarem a alvos biológicos que, por vezes, permitem o estudo de novos mecanismos de ação. (Hong, 2011) (Atanasov *et al.*, 2015) No entanto, os compostos naturais não foram selecionados pela Natureza para o tratamento de doenças humanas, pelo que a seletividade, a potência e as propriedades farmacocinéticas necessitam de ser melhoradas, o que pode ser alcançado por modificações semi-sintéticas. (Garg *et al.*, 2017) (Wermuth, 2008)

Aqui falaremos detalhadamente de uma família de compostos naturais: os triterpenóides.

1.2.1. Triterpenóides

Triterpenóides são derivados terpenóides que contêm seis unidades de isopreno, a sua unidade básica, e na sua constituição apresentam trinta carbonos. (Vickers e Sabri, 2015) Os compostos naturais triterpenóides estão amplamente distribuídos na Natureza, nomeadamente em plantas, incluindo plantas medicinais, algas, frutos como, por exemplo, maçãs, mirtilos, figos, azeitonas, alfazema, orégãos, alecrim e tomilho, pelo que estão presentes na dieta humana. (Bishayee *et al.*, 2011)

Os triterpenóides, triterpenos oxo-funcionalizados, resultam da condensação intramolecular do 2,3-oxidoesqualeno. Depois de sucessivas reações de condensação originam-se diferentes classes de triterpenóides, as quais dão origem a diferentes triterpenóides cíclicos. De acordo com o tipo de estrutura, os triterpenóides podem ser classificados em triterpenóides acíclicos, mono-, bi-, tri-, tetra- e pentacíclicos. (Talapatra, S. e Talapatra, B., 2015) (Kumari *et al.*, 2013) Os principais triterpenóides pentacíclicos com interesse biológico são das classes dos triterpenóides do tipo-oleanano, tipo-ursano e tipo-lupano (Figura 1.2.1). Estes triterpenóides apresentam variações no tamanho do anel E, e na natureza e posição dos substituintes. (Thimmappa *et al.*, 2014) (Schwarzbauer e Jovancevic, 2016)

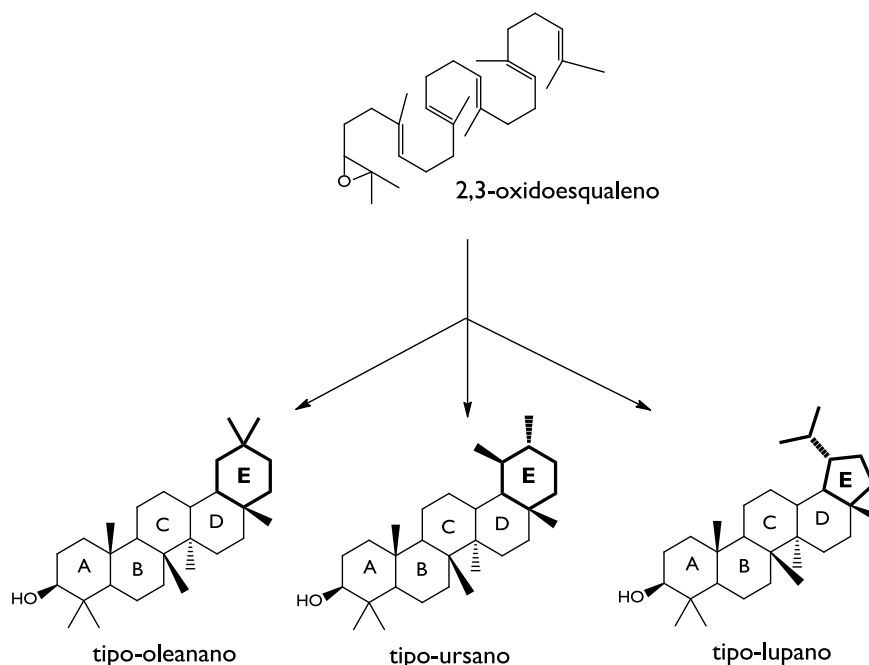


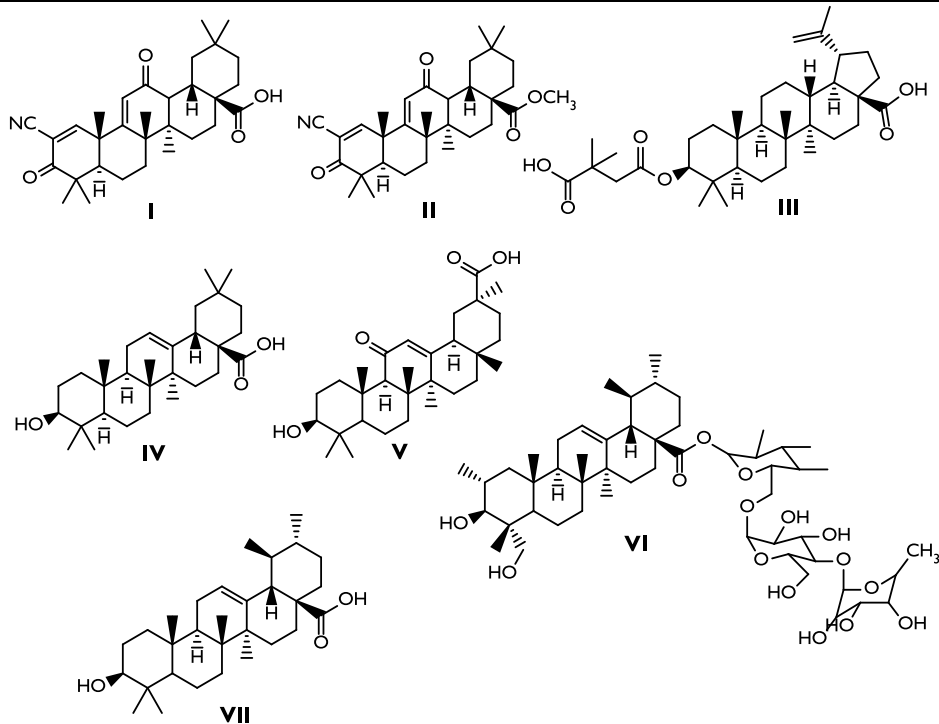
Figura 1.2.1: Esquema representativo da ciclização do 2,3-oxidoesqualeno para formação das diferentes estruturas dos triterpenóides pentacíclicos. Adaptado da literatura. (Thimmappa *et al.*, 2014) (Schwarzbauer e Jovancevic, 2016)

O ácido betulínico foi isolado e identificado em 1788, e foi um dos primeiros triterpenóides pentacíclicos isolados de plantas medicinais. Desde 1834, vários estudos têm sido publicados quanto à sua atividade biológica (Yogeeswari e Sriram, 2005), e, desde então, a atividade dos diferentes triterpenóides pentacíclicos tem despertado interesse por parte da comunidade científica. (Dash *et al.*, 2014) (Moghaddam, Ahmad e Samzadeh-Kermani, 2012) Alguns triterpenóides pentacíclicos, como, por exemplo: o ácido ursólico (tipo-ursano), o ácido asiático (tipo-ursano), o ácido oleanólico (tipo-oleanano), o ácido glicirrízico (tipo-oleanano) e o ácido betulínico (tipo-lupano), apresentam atividade biológica e farmacológica, nomeadamente: anti-tumoral (Salvador *et al.*, 2012) (Bishayee *et al.*, 2011), anti-hipertensiva (Sheng e Sun, 2011), anti-inflamatória (Rao *et al.*, 2008) (Ikeda, Murakami e Ohigashi, 2008), hepatoprotetora (Pollier e Goossens, 2012), anti-fúngica e anti-bacteriana (Shai *et al.*, 2008), anti-viral e anti-diabética, entre outras atividades. (Sun *et al.*, 2006) (Petronelli, Pannitteri e Testa, 2009)

Devido às atividades biológicas demonstradas, alguns triterpenóides pentacíclicos encontravam-se em ensaios clínicos em 2011 e 2013 (Tabela **1.2.1**). (Sheng e Sun, 2011) (Zhu *et al.*, 2013)

Tabela 1.2.1: Triterpenóides pentacíclicos como agentes terapêuticos inseridos em ensaios clínicos. Adaptado da literatura. (Sheng e Sun, 2011)

Composto ativo	Tipo de triterpenóide	Indicação terapêutica	Fase do ensaio clínico
CDDO (I)	Oleanano	Cancro	Fase I
CDDO-Me (II)	Oleanano	Cancro, Doenças renais	Fase II
Bevirimat (III)	Lupano	Infeção por HIV	Fase II
Ácido Oleanólico (IV)	Oleanano	Doenças hepáticas	Registado
Ácido Glicirrízico (V)	Oleanano	Doenças hepáticas	Registado
Asiaticosídeo (VI)	Ursano	Cicatrização de feridas	Registado
Ácido Ursólico (VII)	Ursano	Tumor	Fase I



1.3. Objetivos

A introdução do átomo de flúor em moléculas orgânicas é uma estratégia de *design* de fármacos muito usada pelos químicos medicinais. Devido às suas características (nomeadamente, tamanho e eletronegatividade), a introdução do átomo de flúor permite modular importantes propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e farmacodinâmicas, e assim otimizar uma molécula para desenvolvimento clínico.

O desenvolvimento de fármacos a partir de compostos naturais também é uma estratégia utilizada pelos químicos medicinais, que permite tirar vantagens das suas estruturas complexas e multi-dimensionais, da sua diversidade estrutural e da capacidade do seu esqueleto estrutural se ligar a alvos biológicos. Os triterpenóides são compostos naturais que apresentam diversas atividades biológicas, são ubíquos na Natureza, e são parte integral da dieta humana. No entanto, estes compostos, por vezes, apresentam uma atividade apenas modesta e com um perfil farmacocinético limitado. Estas propriedades podem ser melhoradas por modificações semi-sintéticas que têm vindo a ser exploradas ao longo dos anos, e assim alguns derivados obtidos já se encontram em ensaios clínicos.

Deste modo, o principal objetivo desta tese científica consiste:

- 1) na preparação de novos derivados semi-sintéticos fluorados de compostos triterpenóides (ácido ursólico e ácido 18 β -glicirrízico);
- 2) e na elucidação estrutural dos novos derivados semi-sintéticos preparados.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1. INTRODUÇÃO

2.2. DERIVADOS SEMI-SINTÉTICOS DO ÁCIDO URSÓLICO

2.3. DERIVADOS SEMI-SINTÉTICOS DO ÁCIDO GLICIRRÍZICO

2.4. PARTE EXPERIMENTAL

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1. Introdução

Como mencionado, o principal objetivo apresentado para esta tese é a síntese de derivados fluorados dos compostos triterpenóides ácido ursólico (AU) e ácido 18 β -glicirrízico (AG).

A estratégia de fluoração selecionada para a síntese dos derivados fluorados é a monofluoração eletrofílica, usando, como reagente, o Selectfluor[®]. O Selectfluor[®] é um sólido cristalino branco, estável, não higroscópico e com ponto de ebulição elevado (190 °C). (Banks, 1998) A utilização deste reagente já foi explorada em compostos naturais triterpenóides (ácido ursólico, ácido oleanólico e ácido asiático), tendo sido obtidos derivados triterpenóides com uma função β -fluorolactona (Figura 2.1.1). (Leal *et al.*, 2012) (Leal, 2012) (Gonçalves *et al.*, 2016)

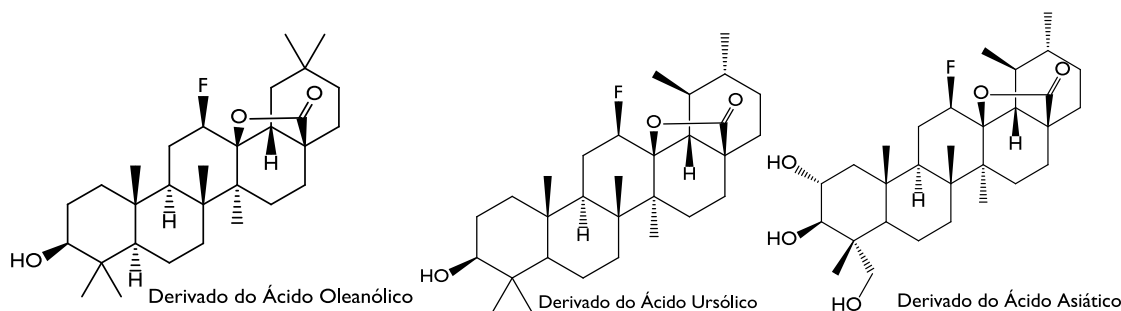


Figura 2.1.1: Representação das estruturas dos derivados β -fluorolactonas dos triterpenóides.

As condições otimizadas para a síntese deste tipo de triterpenóides fluorados com Selectfluor[®] incluem uma mistura de dois solventes inertes, dioxano e nitrometano (2:3), a uma temperatura de 80 °C.

Durante a obtenção de derivados fluorados do ácido ursólico (AU), Salvador *et al.* descreveram a formação de um produto α -halogenado em relação ao grupo cetona na posição 3, secundário e minoritário. (Leal, 2012)

Reações de bromação têm sido exploradas em triterpenóides para a preparação de derivados α -bromo-cetonas. Dračinský *et al.* (2006) publicaram um artigo científico no qual descreveram a preparação de derivados 2-bromo-3-cetona do triterpenóide alobetulina, da qual obtiveram dois isômeros (α e β), sendo que o isômero α (A.1) (Figura 2.1.2) foi obtido numa maior percentagem (85-90%). (Dracinsky *et al.*, 2006) Mais tarde, em 2014, Ngoc e Dehaen descreveram também a síntese de derivados da alobetulina, α -halogenados em

relação a uma cetona no C2 (Figura 2.1.2), da qual se verificou a formação de dois produtos isômeros $\alpha:\beta$ (A.2 e A.3) numa proporção 1:2. (Ngoc e Dehaen, 2014)

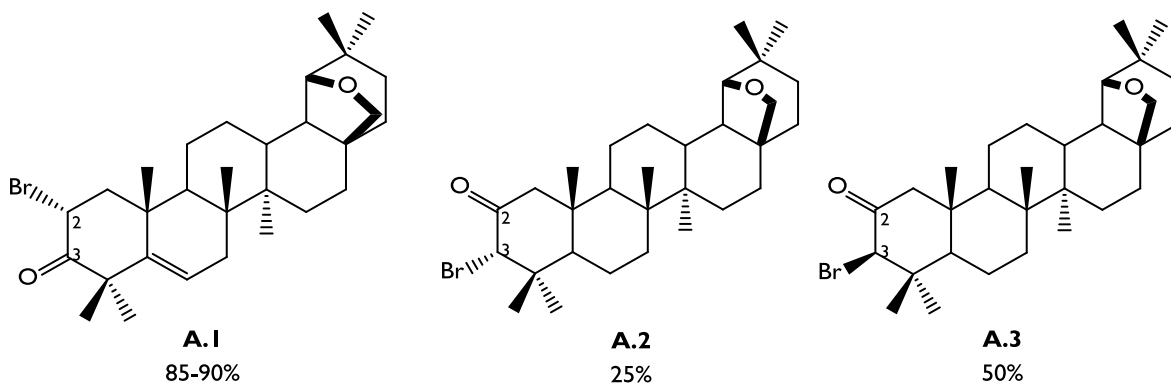


Figura 2.1.2: Representação das estruturas dos derivados α -halo-cetonas do triterpenóide alobetulina.

No entanto, os reagentes de bromação, nomeadamente o bromo molecular (Br_2), apresentam algumas desvantagens, são perigosos, altamente inflamáveis, necessitando de precauções especiais no seu manuseamento, e muitas vezes necessitam de condições ácidas de reação. (Saikia, Borah e Phukan, 2016)

Os triterpenóides usados como ponto de partida para a síntese de derivados fluorados foram os ácidos ursólico e 18β -glicirrízico. As estruturas químicas do ácido ursólico (AU) e do ácido glicirrízico (AG) apresentam funções químicas que permitem efetuar modificações semi-sintéticas de modo a obterem-se novos derivados com um perfil farmacocinético e potência otimizados, entre outras propriedades. Os triterpenóides referidos (Figura 2.1.3) apresentam um grupo hidroxilo na posição 3, uma insaturação em C12(13) e um ácido carboxílico na posição 28 no AU, e na posição 30 no AG; adicionalmente o AG apresenta uma cetona no C11.

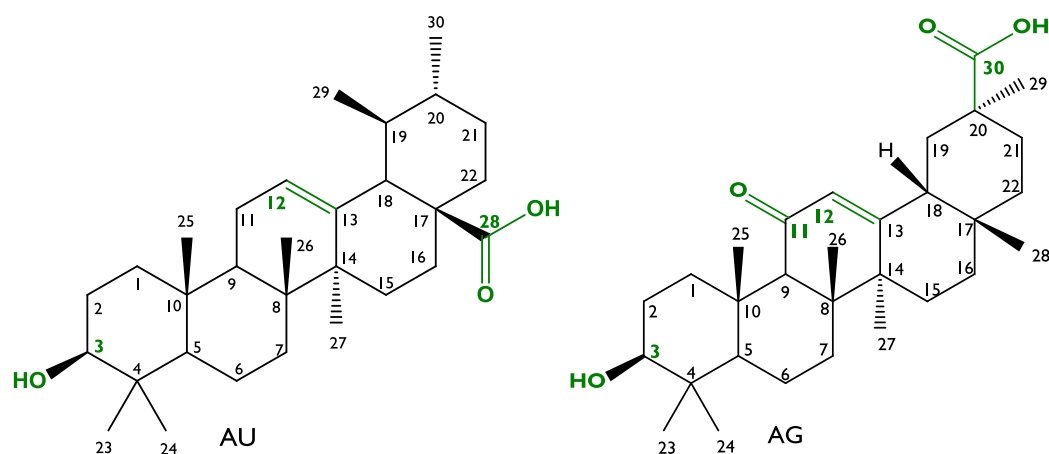


Figura 2.1.3: Representação das estruturas do ácido ursólico e do ácido glicirrízico, respetivamente.

Deste modo, uma vez que a α -halogenação tem sido pouco estudada nos compostos triterpenóides, nesta tese pretendeu-se explorar a síntese de derivados α -fluoro-cetonas dos compostos triterpenóides ácido ursólico e ácido 18 β -glicirrízico.

2.2. Derivados semi-sintéticos do ácido ursólico

Como referido anteriormente, o produto secundário obtido a partir da reação do ácido ursólico (AU) com o reagente de floração eletrofílica, Selectfluor[®], foi um derivado fluorado na posição α em relação à cetona (Figura 2.2.1), além do produto principal (derivado β -fluorolactona). (Leal, 2012)

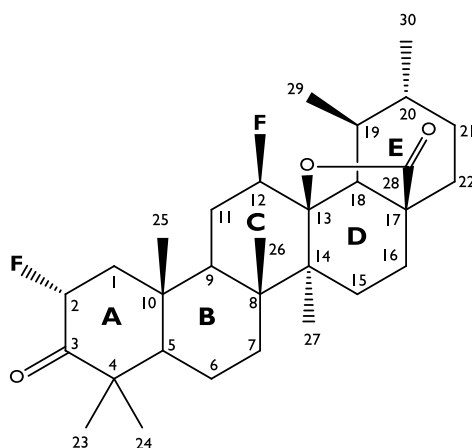
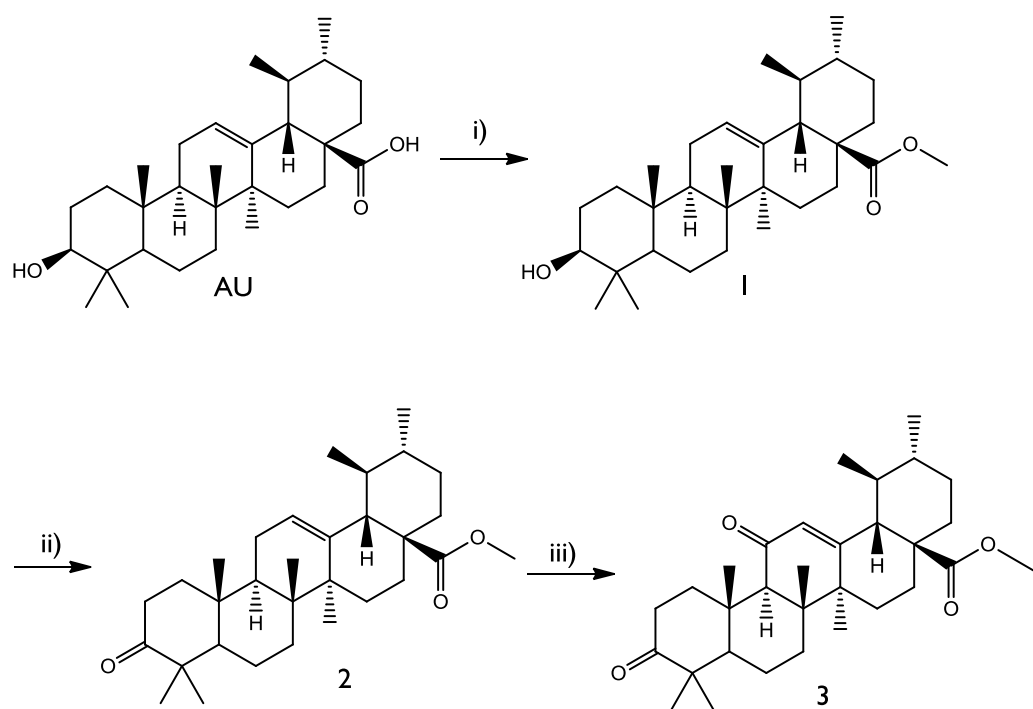


Figura 2.2.1: Representação da estrutura do derivado fluorado do ácido ursólico.

Deste modo, para evitar a formação da β -fluorolactona e obter-se o produto monofluorado na posição 2, foram delineadas reações para alterar a natureza do ácido carboxílico (C28) e da insaturação na posição 12(13), uma vez que sendo o reagente

Selectfluor[®] um reagente eletrofílico tem reatividade para ligações duplas, e o ácido carboxílico comporta-se como um nucleófilo interno.

Assim, do tratamento do ácido ursólico com iodometano (CH_3I), carbonato de potássio (K_2CO_3), usando como solvente dimetilformamida (DMF) à temperatura ambiente, obteve-se um derivado carboxilato de metilo (**1**). O grupo hidroxilo no C3 do composto **1** foi oxidado utilizando o reagente de Jones, com formação do composto **2**. Para alterar a reatividade da insaturação na posição 12(13), oxidou-se a posição α (C11) em relação à ligação dupla, usando para tal o permanganato de potássio (KMnO_4) e sulfato de ferro hidratado ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), com obtenção do composto **3** (Esquema 2.2.1). Esta modificação do anel C (Figura 2.2.1) foi planeada para prevenir a possível introdução do átomo de flúor na posição 12 da insaturação.



Esquema 2.2.1: Síntese de derivados do ácido ursólico para obtenção dos compostos **1** a **3**.

Reagentes e condições: **i)** CH_3I , K_2CO_3 , DMF, r.t, 4 h; **ii)** reagente de Jones, acetona, gelo; **iii)** KMnO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, H_2O , $t\text{-BuOH}$, DCM, r.t, 18 h.

Através da análise do espectro de RMN-¹H do composto **3**, verificou-se a presença de um sinal singlete com um desvio químico a 3,60 ppm, que integra três prótons e que corresponde aos prótons do grupo metilo do carboxilato de metilo. O sinal do próton ligado ao C12 da insaturação C12(13) foi confirmada pela presença de um sinal singlete a 5,62 ppm (Figura 2.2.2).

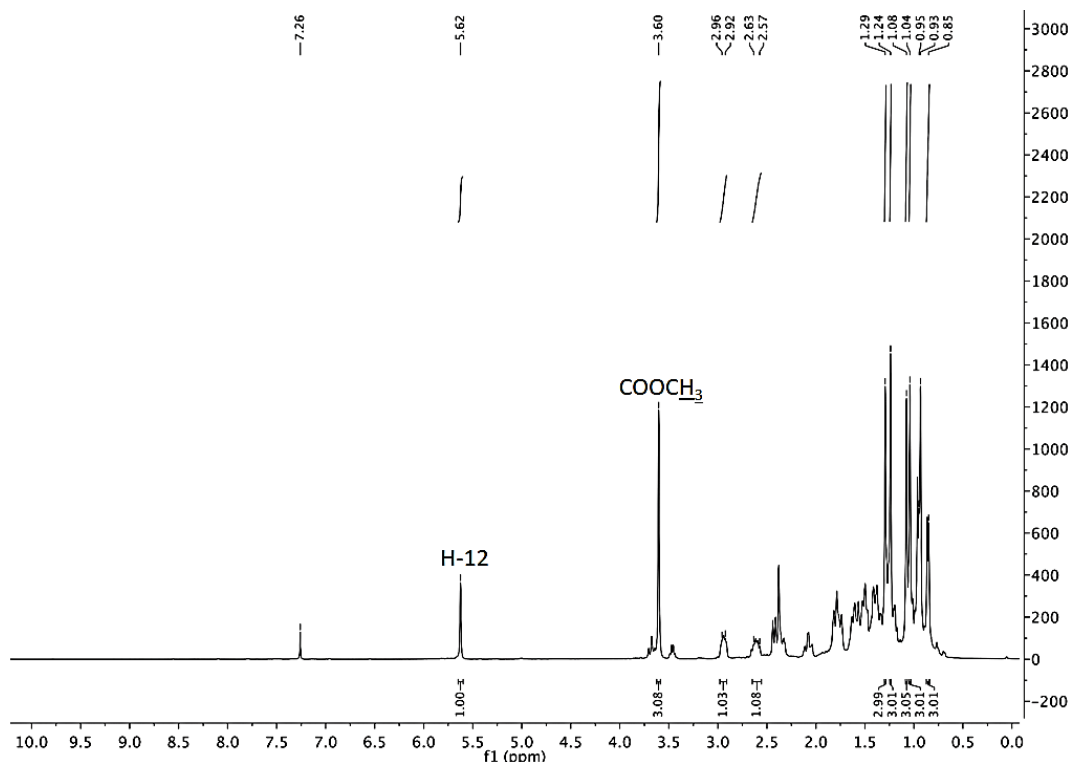


Figura 2.2.2: Espectro RMN- ^1H do composto 3 em CDCl_3 .

A presença dos carbonos das duas cetonas (C3 e C11) e do carbono carbonílico (C28) do carboxilato de metilo do composto 3 foi confirmada pela análise do espectro RMN- ^{13}C , pela presença de três sinais a 217,27 ppm, 199,21 ppm e 177,28 ppm, respectivamente (Figura 2.2.3). Por outro lado, os sinais da insaturação C12(13) foram identificados com os desvios químicos a 163,41 ppm e 130,71 ppm, que correspondem a um carbono quaternário (C13) e a um carbono terciário (C12), respectivamente, pela análise do espectro DEPT-135. A espectroscopia DEPT-135 é uma técnica de RMN que permite distinguir os carbonos terciários e primários dos carbonos secundários.

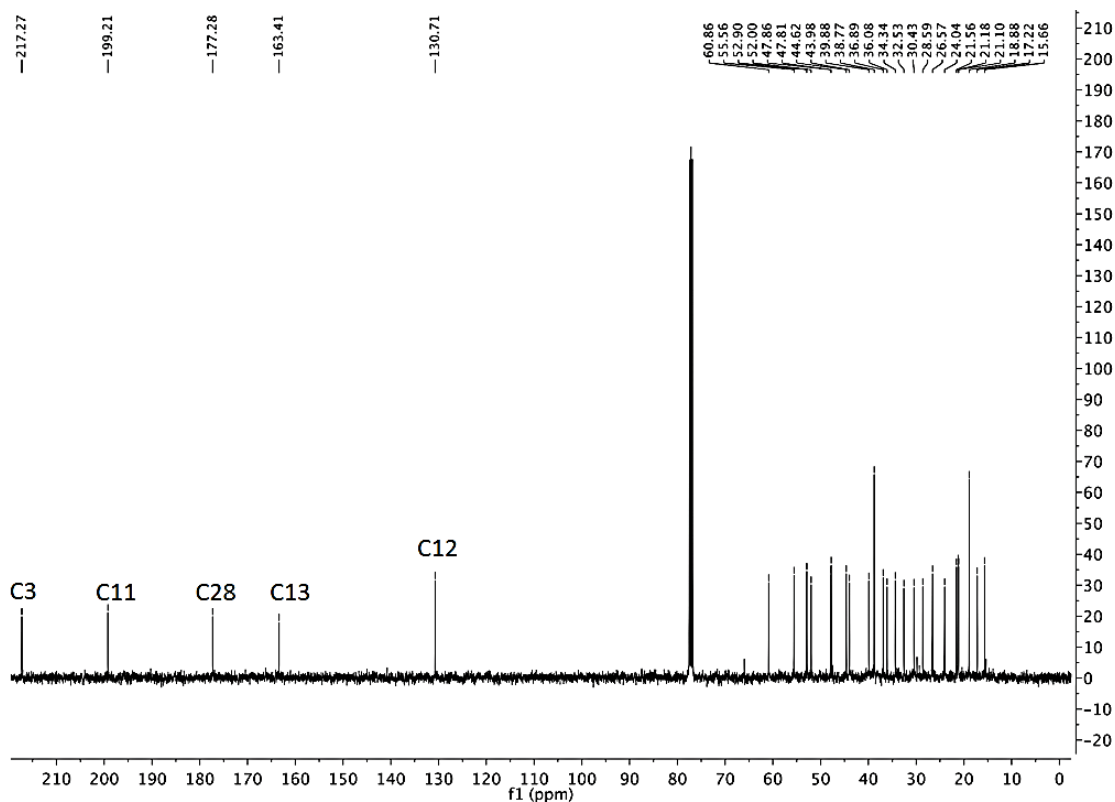
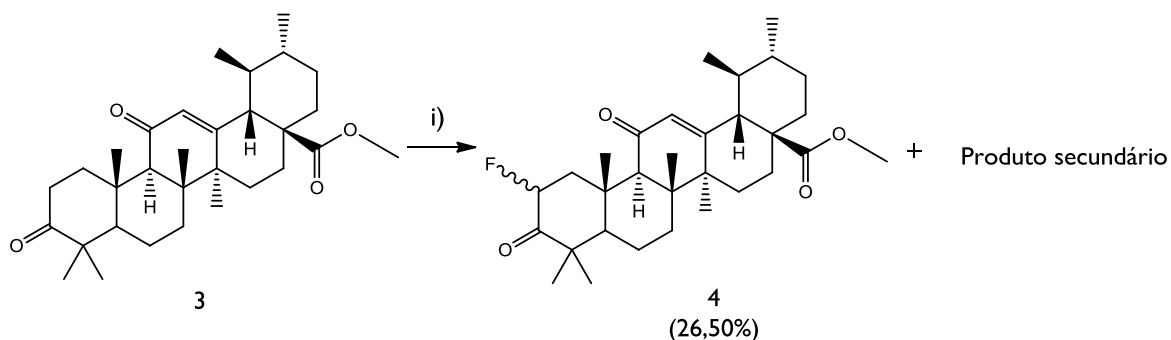


Figura 2.2.3: Espectro RMN-¹³C do composto 3 em CDCl₃.

Depois da formação do derivado carboxilato de metilo e de promover a oxidação na posição 11 do anel C, a reação de fluoracção foi realizada. O composto 3, com uma cetona na posição 3, foi utilizado para obter o composto fluorado, através da sua reação com Selectfluor[®] em dioxano e nitrometano (2:3), a 80 °C sob atmosfera de azoto, para a síntese do derivado α -fluoro-cetona 4 (Esquema 2.2.2).



Esquema 2.2.2: Síntese do derivado α -fluoro-cetona 4.

Reagentes e condições: i) Selectfluor[®]; dioxano e nitrometano secos; 80 °C; N₂; 45,5 h.

A Figura 2.2.4 representa o espectro RMN-¹H do crude obtido a partir da reação do composto 3 com Selectfluor[®] para a síntese do composto 4, descrita acima. Como é possível observar nesta figura, obteve-se um produto principal fluorado e um produto secundário, os quais apresentam um sinal singleto a 5,64 ppm e 5,67 ppm pertencentes aos prótons olefínicos (H-12), respectivamente. Além disso, verifica-se uma sobreposição de sinais na zona do sinal do duplo multipletos, o qual corresponde ao próton geminal ao átomo de flúor. Pela integração dos prótons ligados ao C12, verificou-se um composto maioritário em relação ao outro (1:3,5).

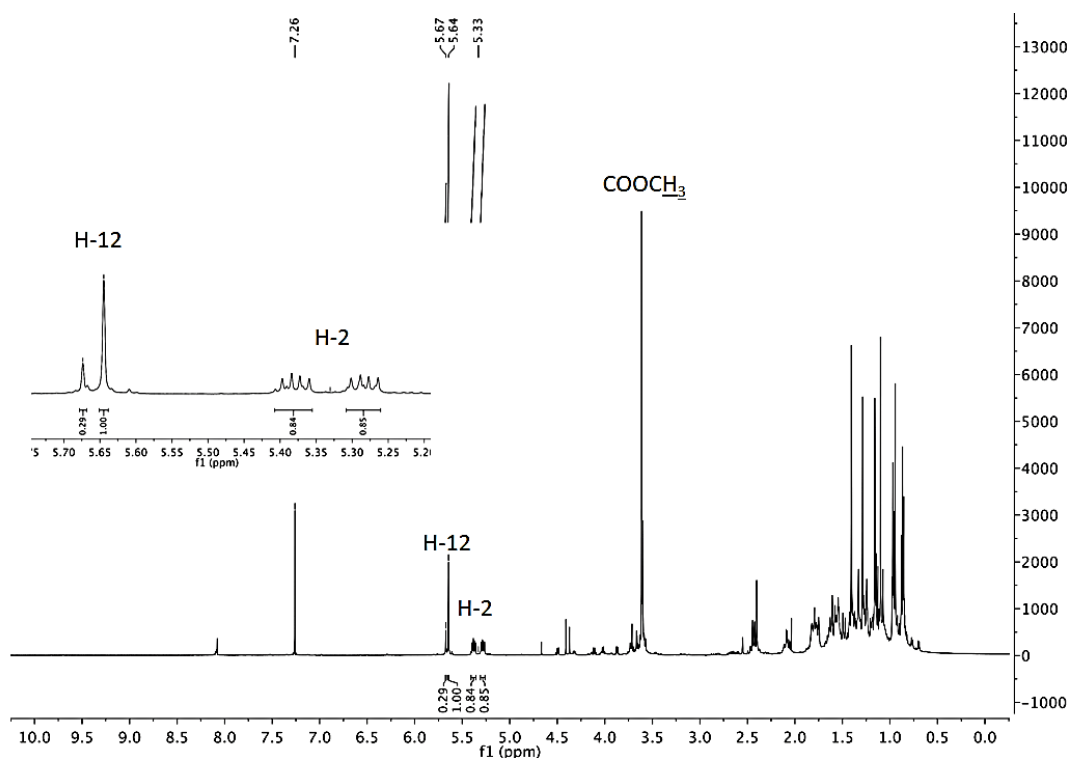


Figura 2.2.4: Espectro RMN-¹H do crude do composto 4 em CDCl₃.

O composto 4 foi purificado através de cromatografia em camada fina preparativa, e foi caracterizado. No espectro RMN-¹H é possível visualizar-se um sinal singleto a 5,65 ppm característico do próton olefínico (H-12), assim como um sinal duplo multipletos a 5,33 ppm com constante de acoplamento (HF) de 47,90 Hz, característico do próton (H-2) geminal ao átomo de flúor, pelo que é possível verificar-se a introdução do átomo de flúor na posição 2, α ao grupo cetona (Figura 2.2.5).

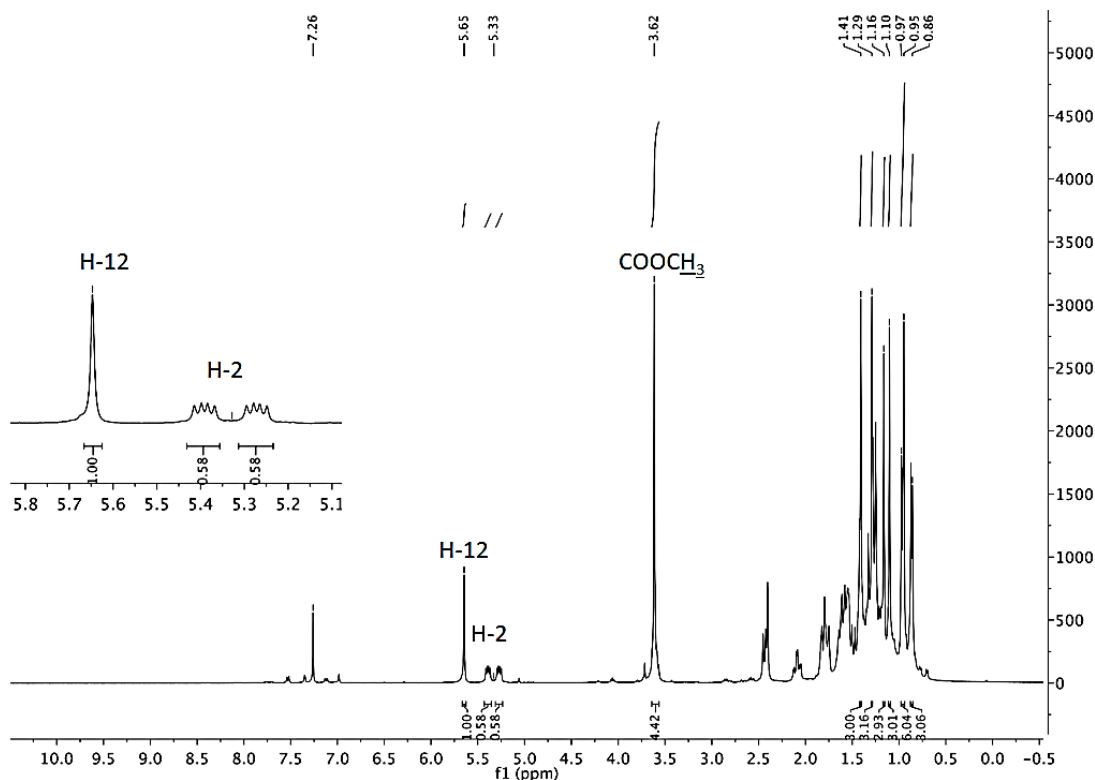


Figura 2.2.5: Espectro RMN- ^1H do composto 4 em CDCl_3 .

No espectro de RMN- ^{13}C (Figura 2.2.6) foi possível a observação da introdução do átomo de flúor na posição α em relação à cetona em C3, pela presença de um sinal duplete a 88,92 ppm com uma constante de acoplamento de 185,00 Hz, a magnitude desta constante de acoplamento é característica de carbonos diretamente ligados a um átomo de flúor. (Leal *et al.*, 2012) Em relação aos carbonos nas posições 3 e 1, estes foram identificados no RMN- ^{13}C como dois sinais dupletos a 210,03 ppm ($J = 12,46$ Hz) e a 47,07 ppm ($J = 177,52$ Hz), respetivamente; o valor das constantes de acoplamento está relacionado com o efeito do átomo de flúor nos átomos vizinhos.

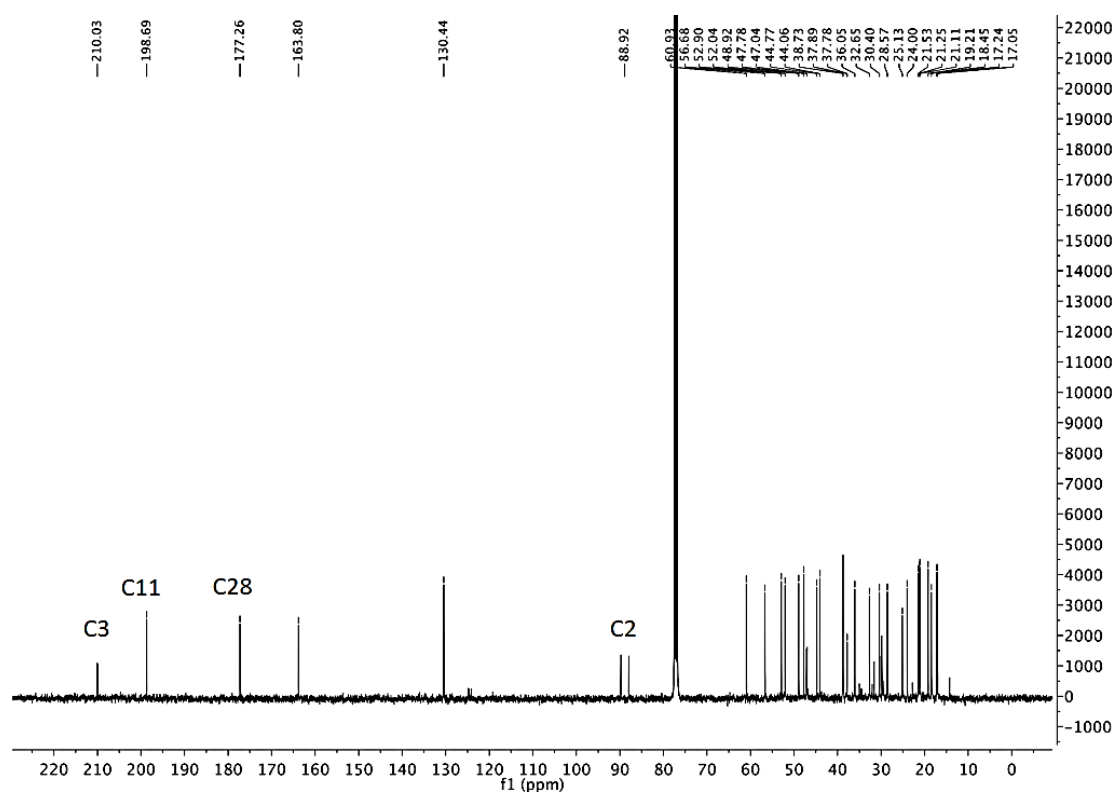
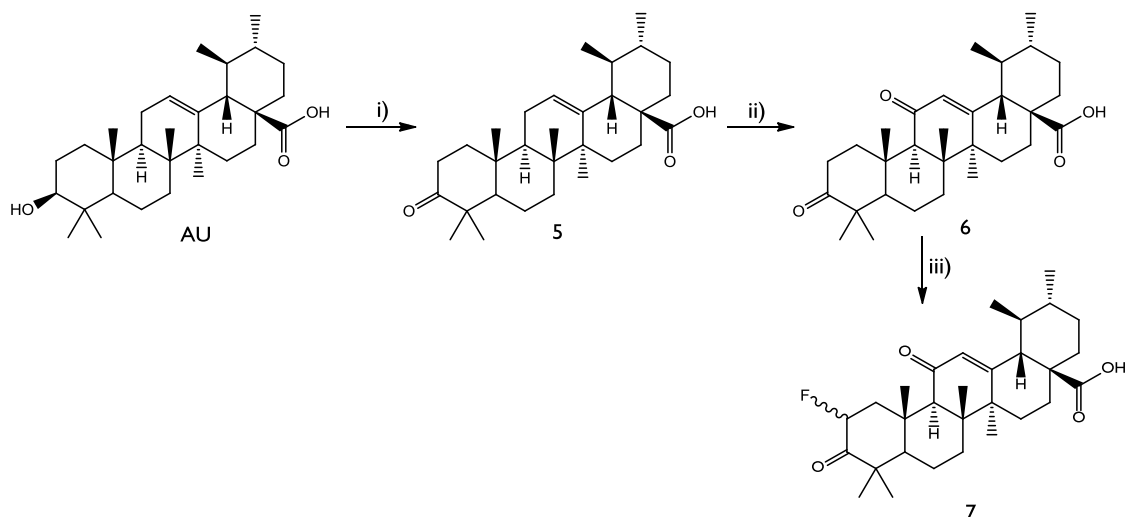


Figura 2.2.6: Espectro RMN-¹³C do composto 4 em CDCl₃.

A reação de fluoração também foi testada com o ácido carboxílico da posição 28 livre. O ácido ursólico (AU) foi oxidado na posição C3 para obtenção de um grupo cetona, através da reação de Jones (5), e procedeu-se à oxidação alílica na posição 11, obtendo-se o composto 6, usando condições semelhantes às descritas anteriormente. Para a síntese do derivado fluorado, o composto 6 reagiu com Selectfluor[®] em dioxano e nitrometano a 80 °C sob atmosfera de azoto para a síntese de um derivado fluorado 7 (Esquema 2.2.3).



Esquema 2.2.3: Síntese de derivados do ácido ursólico para obtenção dos compostos 5 a 7.

Reagentes e condições: **i)** reagente de Jones, acetona, gelo; **ii)** KMnO_4 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, H_2O , $t\text{-BuOH}$, DCM , r.t., 18 h; **iii)** Selectfluor[®], dioxano, nitrometano, 80 °C, N_2 , 98 h.

O espectro RMN-¹H do crude do composto 7 apresenta um perfil semelhante ao espectro do crude da reação de obtenção do composto 4 (Figura 2.2.4), pelo que se verifica uma reatividade semelhante à descrita para a obtenção do derivado α -fluoro-cetona do derivado carboxilato de metilo. O espectro apresenta dois sinais singletos a 5,64 e 5,67 ppm, que correspondem ao sinal do próton H-12 dos produtos principal fluorado e secundário, e da sua integração verifica-se uma relação de 2,5:1 entres estes compostos; também se verificou a sobreposição de sinais na área do sinal duplo multipeto correspondente ao sinal do próton geminal ao átomo de flúor (H-2) (Figura 2.2.7).

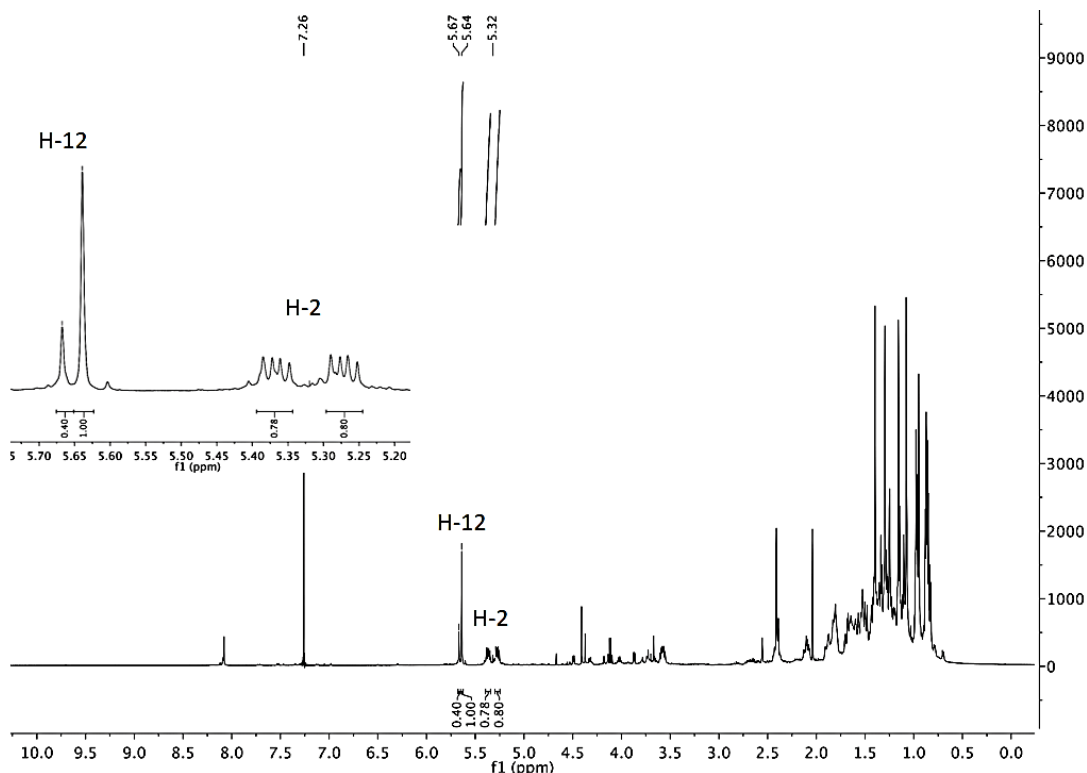


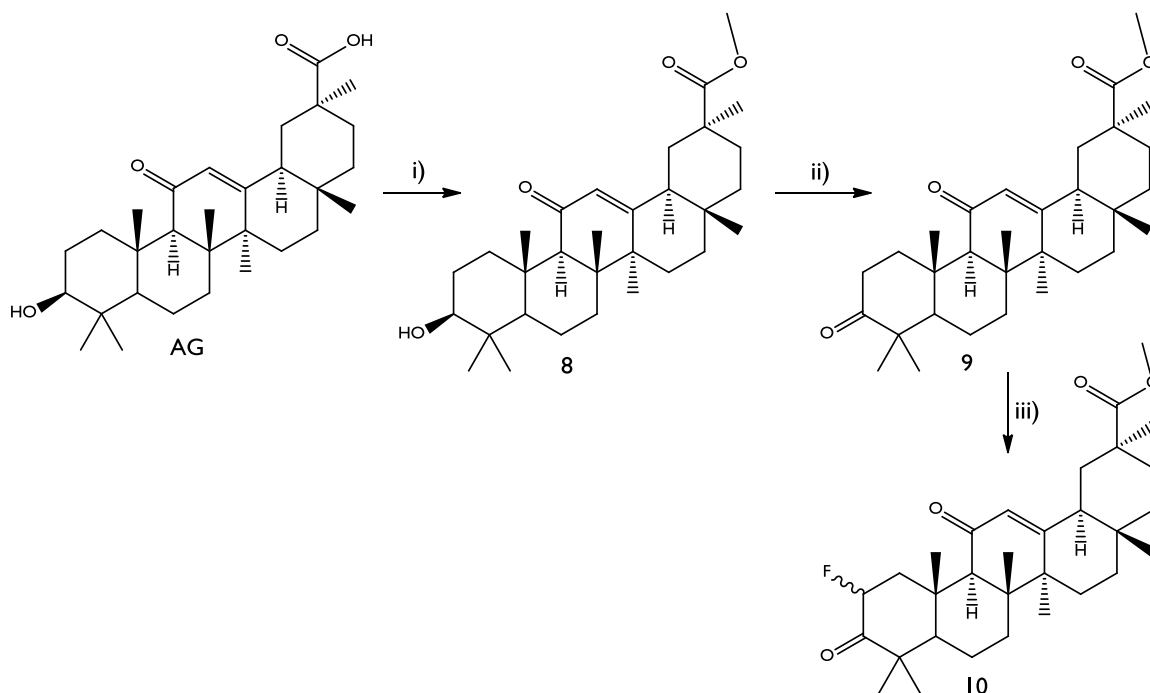
Figura 2.2.7: Espectro RMN-¹H do crude 7 em CDCl₃.

2.3. Derivados semi-sintéticos do ácido glicirrízico

O ácido 18 β -glicirrízico (AG) tem, na sua estrutura, grupos funcionais semelhantes aos presentes no ácido ursólico, porém os dois compostos pertencem a séries diferentes: enquanto o AU é um triterpenóide do tipo-ursano, o AG é do tipo-oleanano. Deste modo, explorou-se a reação de α -fluoração a grupos cetonas também neste tipo de compostos.

O ácido glicirrízico (AG) apresenta um grupo cetona na posição α em relação à dupla C12(13), pelo que a natureza desta insaturação permite evitar a reatividade da insaturação ao reagente Selectfluor[®], como o verificado através da oxidação alílica do C11 do AU.

Primeiro, começou-se pela formação de um derivado carboxilato de metilo do AG. A reação utilizada foi a de metilação de ácidos carboxílicos, da qual se obteve o composto **8**. Para a oxidação do grupo hidroxilo, o composto **8** reagiu com o reagente de Jones, obtendo-se uma cetona no C3 no composto **9**. Após a obtenção do intermediário **9**, a reação de α -fluoração de cetonas foi explorada (Esquema 2.3.1). Sendo assim, o composto **9** reagiu com Selectfluor[®] em dioxano e nitrometano a 80 °C, sob atmosfera de azoto, e obteve-se um derivado fluorado **10**.



Esquema 2.3.1: Síntese dos derivados 8 a 10 do ácido glicirrízico.

Reagentes e condições: **i)** CH_3I , K_2CO_3 , DMF, r.t, 7 h; **ii)** reagente de Jones, acetona, THF, gelo; **iii)** Selectfluor[®], dioxano, nitrometano, 80 °C, N_2 , 30 h.

No espectro RMN-¹H do crude do composto 10 visualizou-se um perfil semelhante aos espectros de compostos fluorados anteriores. Pode concluir-se que houve reatividade neste tipo de compostos pelo sinal característico do próton geminal ao átomo de flúor (sinal duplo multipletto) e formação de dois produtos na reação, sendo um deles maioritário (Figura 2.3.1).

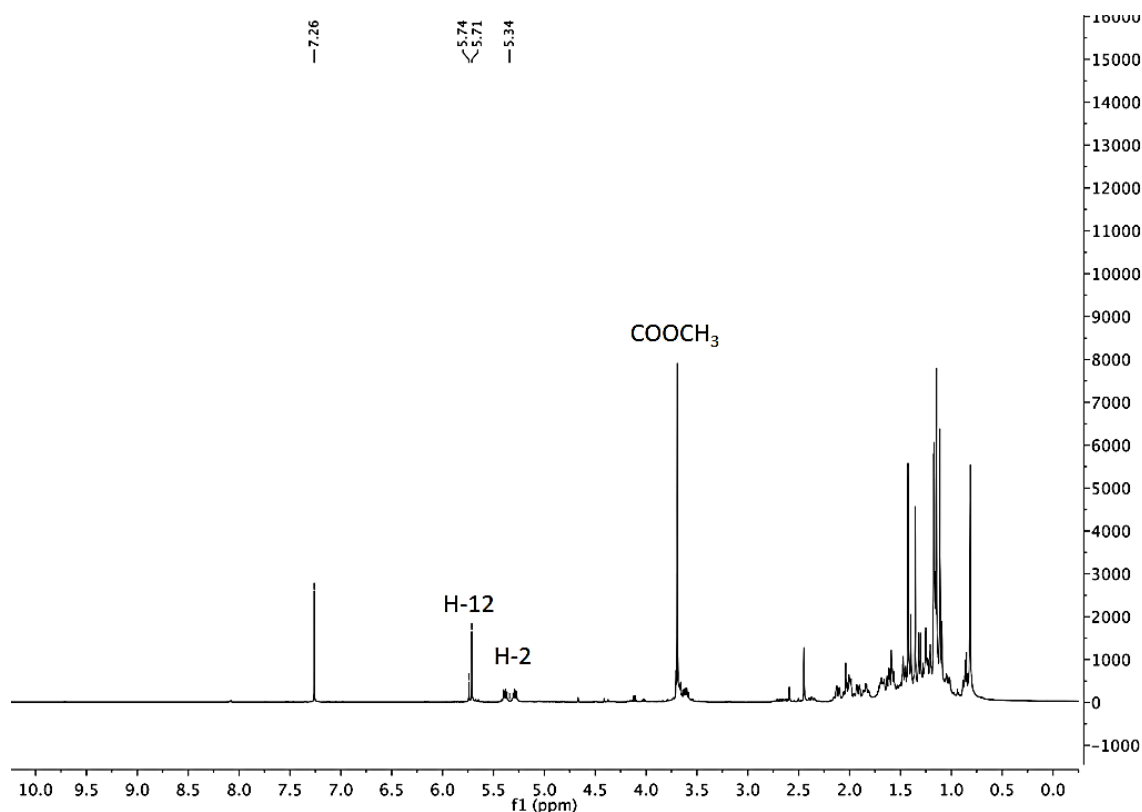
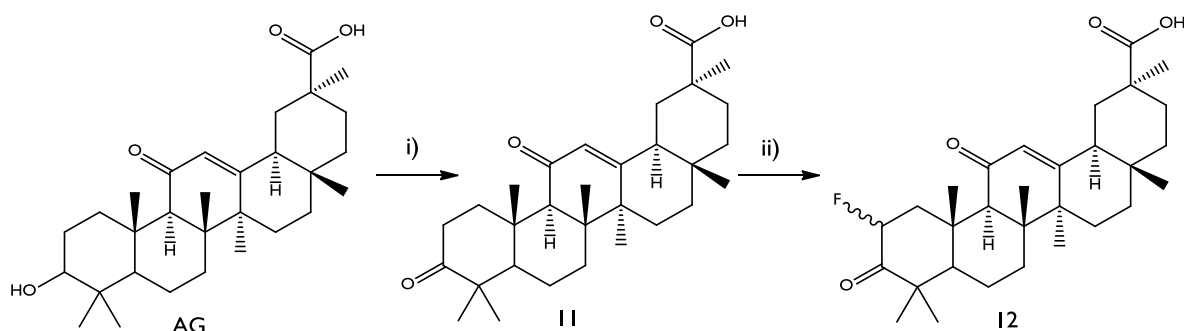


Figura 2.3.1: Espectro RMN-¹H do composto 10 em CDCl₃.

Visto que o derivado carboxilato de metilo do AG reagiu com Selectfluor[®] para a formação de derivados fluorados, o mesmo tipo de reação foi igualmente testada no AG com o ácido carboxílico livre. Sendo assim, o AG reagiu com o reagente de Jones, para a obtenção do composto 11. O composto 11 foi fluorado (Esquema 2.3.2), através da reação de monofluoração com o Selectfluor[®], usando as mesmas condições reacionais utilizadas anteriormente para os outros derivados fluorados, obtendo-se o composto 12.



Esquema 2.3.2: Síntese dos derivados 11 e 12 do ácido glicirrízico.

Reagentes e condições: i) reagente de Jones, acetona, metanol, THF, gelo; ii) Selectfluor[®], dioxano, nitrometano, 80 °C, N₂, 24,5 h.

O composto 12 representa uma mistura de dois compostos, sendo um deles fluorado e maioritário, como observado no espectro RMN-¹H (Figura 2.3.2), o qual exibe um perfil semelhante aos espectros anteriores dos crudes dos compostos fluorados.

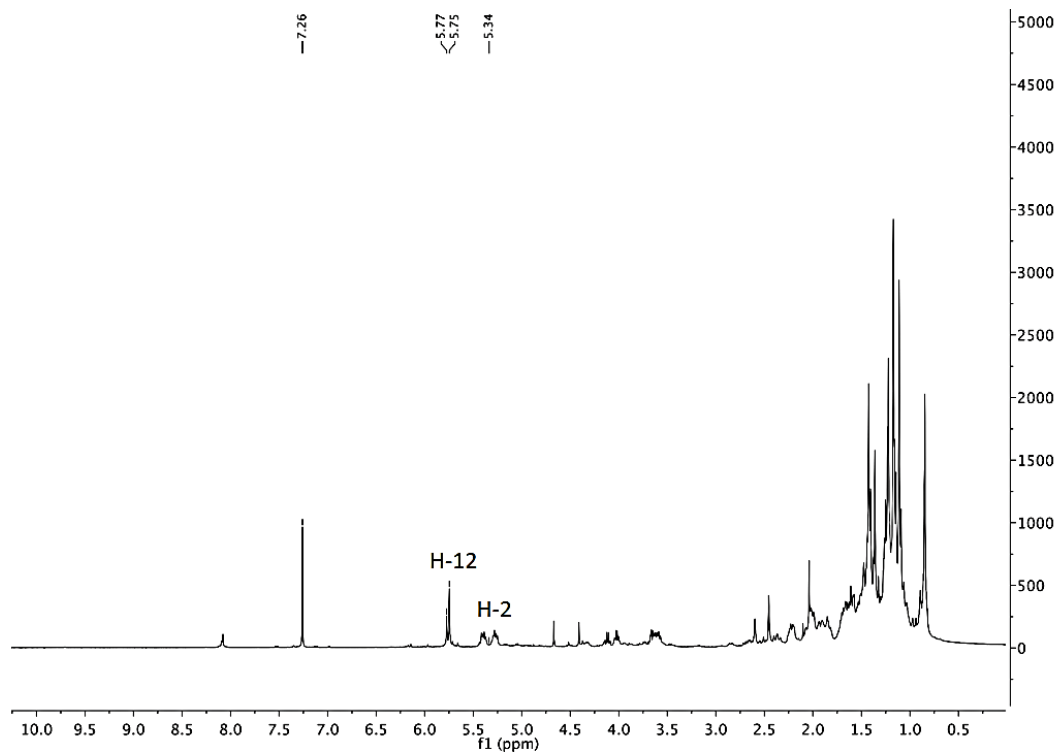


Figura 2.3.2: Espectro RMN-¹H do composto 12 em CDCl₃.

2.4. Parte experimental

2.4.1. Aparelhagem, solventes e reagentes utilizados

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros RMN- ^1H , ^{13}C , DEPT-135, COSY, NOESY, HSQC e HMBC foram obtidos nos espectrómetros Bruker Digital NMR-Avance 400. Na preparação das amostras utilizou-se clorofórmio deuterado (CDCl_3), em que o seu desvio químico (δ) serviu como padrão interno nos espectros de RMN- ^1H e ^{13}C – 7,26 e $77,16 \pm 0,06$ ppm, respetivamente. Os valores dos desvios químicos (δ) são apresentados em ppm, e os valores das constantes de acoplamento (J) em hertz (Hz).

Cromatografia

As reações foram monitorizadas através de cromatografia em camada fina (TLC). Para tal, utilizaram-se placas sílica gel 60 F_{254} da Merck, podendo estas ser observadas em lâmpadas ultravioletas (UV) a 254 nm e reveladas numa solução de 5% ácido sulfúrico (H_2SO_4) em etanol.

Os compostos foram purificados através de cromatografia em camada fina preparativa, na qual se usaram sílica gel 60 HF_{254} e sílica gel 60 (0,040-0,063 mm) da Merck.

Solventes

Os solventes usados nas reações foram comprados à Merck Co e os usados nos *work-ups* foram obtidos da VWR Portugal. O CDCl_3 foi comprado à Sigma-Aldrich Co.

Os solventes dioxano e nitrometano foram usados depois de secos de acordo com os procedimentos habituais. (Armarego e Chai, 2003)

Substratos e Reagentes

Os substratos e os reagentes utilizados foram comprados à Sigma-Aldrich Co.

2.4.2. Procedimentos experimentais

3- β -Hidroxi-urs-12-en-28-oato de metilo (1): O ácido ursólico (1,00 g; 2,20 mmol) foi dissolvido em DMF (15 mL) e adicionou-se K_2CO_3 (755,5 mg; 5,47 mmol) e CH_3I (0,20 mL; 3,21 mmol). Após 4 h, a extração foi feita com acetato de etilo (3 x 100 mL) e água (50 mL). A fase orgânica foi lavada com soluções aquosas de HCl (5% m/v; 100 mL), $NaHCO_3$ (10% m/v, 100 mL) e Na_2SO_3 (10% m/v, 100 mL), água (100 mL) e solução aquosa de NaCl (10% m/v, 100 mL), seca com Na_2SO_4 anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e obteve-se um crude sólido branco (1,033 g). RMN- 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 5,23 (t; J = 7,32 Hz; 1H; H-12), 3,59 (s, 3H, COOCH₃); 3,20 (dd; J = 15,83 Hz; 1H; H-3); 1,07 (s, 3H); 0,98 (s, 3H); 0,93 (s, 3H); 0,91 (s, 3H); 0,85 (d, J = 6,48 Hz, 3H); 0,77 (s, 3H); 0,73 (s, 3H).

3-Oxours-12-en-28-oato de metilo (2): A uma solução do composto 1 (500,0 mg; 1,06 mmol) em acetona (15 mL), sob um banho de gelo, adicionou-se reagente de Jones gota-a-gota. Após a reação terminar adicionou-se metanol (15 mL). Os solventes da reação foram evaporados a pressão reduzida e a mistura reacional extraiu-se com acetato de etilo (3 x 80 mL) e água (50 mL). A fase orgânica foi lavada com água (3 x 100 mL), seca com Na_2SO_4 anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e obteve-se um crude sólido branco (434,6 mg). RMN- 1H (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 5,26 (s, 1H); 3,61 (s, 3H); 1,08 (s, 6H); 1,04 (s, 6H); 0,94 (d; J = 5,73 Hz; 3H); 0,86 (d; J = 6,33 Hz; 3H); 0,79 (s, 3H).

3,11-Dioxours-12-en-28-oato de metilo (3): Ao composto 2 (300,0 mg; 0,64 mmol) dissolvido em diclorometano (4 mL), adicionou-se uma mistura de $KMnO_4$ (1,381 g; 8,74 mmol) e $Fe_2(SO_4)_3 \cdot nH_2O$ (686,7 mg; 1,72 mmol) depois de reduzida a massa fina, água (0,06 mL) e *t*-BuOH (0,30 mL). Depois de mantida à temperatura ambiente por 18 h, adicionou-se éter dietílico (175 mL) à reação e filtrou-se a mistura reacional através de uma placa de celite. A fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa de $NaHCO_3$ (10% m/v, 2 x 60 mL) e água (2 x 60 mL), seca com Na_2SO_4 anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e obteve-se um crude sólido branco (264,4 mg). RMN- 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 5,63 (s, 1H, H-12); 3,61 (s, 3H, COOCH₃); 2,98 – 2,92 (m, 1H); 2,67 – 2,58 (m, 1H); 1,30 (s, 3H); 1,25 (s, 3H); 1,08 (s, 3H); 1,05 (s, 3H); 0,96 (d; J = 6,24 Hz; 3H); 0,94 (s, 3H); 0,86 (d; J = 6,36 Hz; 3H). RMN- ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) δ = 217,27 (C3); 199,21 (C11); 177,28 (C28); 163,41 (C13); 130,71 (C12); 60,86; 55,56; 52,90; 52,00; 47,86; 47,81; 44,62;

43,98; 39,88; 38,77 (2C); 36,89; 36,08; 34,34; 32,53; 30,43; 28,59; 26,57; 24,04; 21,56; 21,18; 21,10; 18,88 (2C); 17,22; 15,66.

2-Fluor-3,11-dioxours-12-en-28-oato de metilo (4): A uma solução do composto 3 (170,0 mg; 0,35 mmol) em dioxano (4 mL) e nitrometano (6 mL) secos, adicionou-se Selectfluor® (383,5 mg; 1,08 mmol). A reação foi mantida a uma temperatura de 80 °C sob atmosfera de azoto (N₂) durante 45,5 h. Os solventes da reação foram evaporados a pressão reduzida e a mistura reacional extraiu-se com acetato de etilo (3 x 60 mL) e água (30 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com água (100 mL) e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 3 x 100 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida, e obteve-se um crude sólido amarelado (178,7 mg). O produto foi purificado por cromatografia em camada fina preparativa (acetato de etilo:éter petróleo 1:4, e éter dietílico:éter petróleo 1:1), tendo sido obtidos dois produtos sólidos brancos: o composto 4 (46,80 mg; η=26,50%) e um produto secundário (13,10 mg; η=7,43%). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ = 5,65 (s, 1H, H-12); 5,33 (dm; J_{HF} = 47,90 Hz; 1H; H-2); 3,62 (4H, COOCH₃ e HH-1); 1,41 (s, 3H); 1,29 (s, 3H); 1,16 (s, 3H); 1,10 (s, 3H); 0,97 – 0,95 (m, 6H); 0,86 (d; J = 6,20 Hz; 3H). RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ = 210,03 (d, J = 12,46 Hz, C3); 198,69 (C11); 177,26 (C28); 163,80 (C13); 130,44 (C12); 88,92 (d; J = 185,00 Hz; C2); 60,93; 56,68; 52,90; 52,04; 48,92; 47,78; 47,07 (d; J = 17,52 Hz; C1); 44,77; 44,06; 38,75 (d; J = 4,14 Hz); 37,89; 37,78; 36,05; 32,65; 30,40; 28,57; 25,15 (d; J = 1,27 Hz); 24,00; 21,53; 21,25; 21,11; 19,21; 18,45; 17,24; 17,05.

Ácido 3-oxours-12-en-28-óico (5): O ácido ursólico (260,0 mg; 0,57 mmol) foi dissolvido em acetona (12 mL), sob um banho de gelo e adicionou-se o reagente de Jones gota-a-gota à reação. Após a reação concluída adicionou-se metanol (15 mL). Os solventes da reação foram evaporados a pressão reduzida e a extração foi realizada com acetato de etilo (3 x 70,0 mL) e água (40 mL). A fase orgânica foi lavada com água (3 x 80 mL) e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 80 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e obteve-se um crude sólido branco (206,7 mg). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,26 (t, 1H); 1,08 (s, 3H); 1,08 (s, 3H); 1,05 (s, 3H); 1,02 (s, 3H); 0,95 (s, 3H); 0,87 (s, 3H); 0,82 (s, 3H).

Ácido 3,11-dioxours-12-en-28-óico (6): A uma solução do composto 5 (200,0 mg; 0,44 mmol) em diclorometano (4 mL), adicionou-se uma mistura de KMnO₄ (1,540 g; 9,74 mmol) e Fe₂(SO₄)₃·nH₂O (773,1 mg; 1,93 mmol) depois de reduzida a massa fina, água

(0,08 mL) e *t*-BuOH (0,30 mL). Após ter sido mantida à temperatura ambiente por 18 h, à mistura reacional adicionou-se éter dietílico (175 mL), e filtrou-se através de uma placa de celite. A fase orgânica resultante foi lavada com uma solução aquosa de NaHCO₃ (10% m/v, 80 mL), água (80 mL) e uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 80 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o crude foi obtido na forma de sólido branco (139,9 mg). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ = 5,63 (s, 1H, H-12); 2,97– 2,90 (m, 1H); 2,64 – 2,58 (m, 1H); 1,31 (s, 3H); 1,24 (s, 3H); 1,08 (s, 3H); 1,02 (s, 3H); 0,97 (d; J = 6,23 Hz; 3H); 0,95 (s, 3H); 0,86 (d; J = 6,23 Hz, 3H).

Ácido 2-fluor-3,11-dioxours-12-en-28-óico (7): Ao composto 6 (140,0 mg; 0,30 mmol) dissolvido numa mistura de solventes secos, dioxano (5 mL) e nitrometano (7 mL) adicionou-se Selectfluor[®] (324,0 mg; 0,91 mmol). A reação foi mantida a 80 °C sob atmosfera de azoto (N₂). Após 29,5 h, adicionaram-se Selectfluor[®] (6,30 mg; 0,02 mmol), dioxano (1,20 mL) e nitrometano (1,80 mL) à reação. Às 98 h de reação, os solventes reacionais foram evaporados a pressão reduzida e a mistura reacional extraiu-se com acetato de etilo (3 x 60 mL) e água (30 mL). A fase orgânica foi lavada com água (90 mL) e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 3 x 90 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. Os solventes foram evaporados a pressão reduzida e obteve-se um crude sólido amarelado (148,8 mg).

11-Oxoolean-12-en-30-oato de metilo (8): Ao ácido 18β-glicirrízico (400 mg; 0,85 mmol) dissolvido em DMF (10 mL) adicionou-se K₂CO₃ (298,0 mg; 2,16 mmol) e CH₃I (0,10 mL; 1,61 mmol). Após 7 h, a extração foi realizada com acetato de etilo (3 x 80 mL) e água (40 mL), a fase orgânica resultante foi lavada com soluções aquosas de HCl (5% m/v, 100 mL), NaHCO₃ (10% m/v, 100 mL), Na₂SO₃ (10% m/v, 100 mL) e água e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 100 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e obteve-se um crude sólido branco (406,5 mg). RMN de acordo com a literatura. (Zhao *et al.*, 2014)

3,11-Dioxoolean-12-en-30-oato de metilo (9): Ao composto 8 (400,0 mg; 0,83 mmol) dissolvido em acetona (10 mL) e THF (1,5 mL), sob um banho de gelo, adicionou-se o reagente de Jones gota-a-gota. Após a reação concluída adicionou-se metanol (10 mL). Os solventes da reação foram evaporados a pressão reduzida e a mistura reacional extraiu-se com acetato de etilo (3 x 70 mL) e água (40 mL). A fase orgânica foi lavada com água (3 x 80 mL) e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 80 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e

filtrada. Os solventes foram evaporados a pressão reduzida e obteve-se um crude sólido branco (373,8 mg). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ = 5,68 (s, 1H, H-12); 3,67 (s, 3H); 2,97 – 2,91 (m, 1H); 2,65 – 2,57 (m, 1H); 2,42 (s, 1H); 2,37 – 2,31 (m, 1H); 1,35 (s, 3H); 1,25 (s, 3H); 1,14 (s, 3H); 1,13 (s, 3H); 1,08 (s, 3H); 1,06 (s, 3H); 0,80 (s, 3H).

2-Fluor-3,11-dioxolean-12-en-30-oato de metilo (10): A uma solução do composto 9 (250,0 mg; 0,52 mmol) em dioxano (6 mL) e nitrometano (9 mL) secos, adicionou-se Selectfluor[®] (564,6 mg; 1,59 mmol). A reação foi mantida a uma temperatura de 80 °C, sob atmosfera de azoto. Após 21 h de reação adicionou-se Selectfluor[®] (286,7 mg; 0,81 mmol), e às 30 h de reação, os solventes foram evaporados a pressão reduzida e a extração foi realizada com acetato de etilo (3 x 60 mL) e água (30 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com água (100 mL) e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 3 x 100 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida, e obteve-se um crude sólido amarelado (263,3 mg).

Ácido 3,11-dioxolean-12-en-30-óico (11): Ao ácido 18β-glicirrízico (350,0 mg; 0,74 mmol) dissolvido em acetona (10 mL) e THF (1 mL), sob um banho de gelo, adicionou-se o reagente de Jones gota-a-gota. Após a reação concluída, adicionou-se metanol (10 mL). Os solventes reacionais foram evaporados a pressão reduzida, a extração foi realizada com acetato de etilo (3 x 80 mL) e água (40 mL), e a fase orgânica resultante foi lavada com água (2 x 100 mL) e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 100 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e um crude sólido branco foi obtido (328,6 mg). RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ = 5,74 (s, 1H, H-12); 2,98 – 2,92 (m, 1H); 2,67 – 2,58 (m, 1H); 2,44 (s, 1H); 2,37 – 2,32 (m, 1H); 1,37 (s, 3H); 1,26 (s, 3H); 1,22 (s, 3H); 1,16 (s, 3H); 1,10 (s, 3H); 1,06 (s, 3H); 0,85 (s, 3H).

Ácido 2-fluor-3,11-dioxolean-12-en-30-óico (12): Ao composto 11 (220,8 mg; 0,47 mmol) dissolvido em dioxano (6 mL) e nitrometano (9 mL) secos, adicionou-se Selectfluor[®] (507,3 mg; 1,43 mmol). Após 24,5 h mantida a 80 °C sob atmosfera de azoto (N₂), os solventes foram evaporados sob pressão reduzida e extraiu-se a mistura reacional com acetato de etilo (3 x 80,0 mL) e água (40 mL). A fase orgânica resultante foi lavada com água (100 mL) e com uma solução aquosa de NaCl (10% m/v, 3 x 100 mL), seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o crude foi obtido na forma de um sólido amarelado (208,7 mg)

3. CONCLUSÃO

3. CONCLUSÃO

A introdução de átomos de flúor nas moléculas orgânicas tem suscitado interesse por parte dos químicos medicinais, uma vez que devido às suas características (tamanho e eletronegatividade), o átomo de flúor permite modular importantes propriedades nas moléculas biologicamente ativas. Assim, os químicos medicinais têm desenvolvido cada vez mais estratégias de fluoração.

Devido às suas propriedades únicas, os compostos naturais têm sido usados ao longo dos anos como pontos de partida para o desenvolvimento de novos fármacos. Os compostos naturais, nomeadamente os triterpenóides, apresentam atividades biológicas promissoras; no entanto a sua potência é, por vezes, modesta e com um perfil farmacocinético limitado. Contudo, certas modificações semi-sintéticas da estrutura destes compostos têm demonstrado melhorar as suas atividades e propriedades farmacocinéticas.

Nesta dissertação pretendeu-se sintetizar derivados fluorados a partir dos triterpenóides ácidos ursólico e glicirrízico. Deste modo, foram planeadas modificações estratégicas para a introdução do átomo de flúor na posição α à cetona no C3, de modo a obterem-se derivados 2-fluor-3-cetona.

Assim, da reação do derivado carboxilato de metilo do AU (3) com o Selectfluor[®], verificou-se a formação de dois produtos. O composto 4, produto maioritário obtido na reação, é um derivado α -fluorado (C2) relativamente à cetona no C3. Quanto à sua estereoquímica, os dados de espectroscopia bidimensional não foram conclusivos quanto à configuração do átomo de flúor, podendo esta ser de natureza α ou β . Deste modo, serão necessárias outras técnicas de elucidação estrutural para concluir a sua estereoquímica, como a cristalografia por raios-X.

O produto secundário minoritário sintetizado é também um produto fluorado, que foi obtido numa proporção de aproximadamente 20%. Este produto não se conseguiu caracterizar na sua totalidade, pelo que este pode consistir ou não num isómero do composto 4; para elucidação da sua estrutura será necessário recorrer a técnicas de RMN específicas.

A reação de fluoração também foi testada noutro derivado do AU e em derivados do AG, um triterpenóide do tipo-oleanano. Através da análise dos espectros dos crudes dos compostos obtidos, foi possível verificar que estes reagem de uma forma semelhante ao composto 4, com formação de um produto principal fluorado (2-fluoro-3-cetona), com um perfil do espectro de RMN-¹H semelhante.

3. CONCLUSÃO

Deste modo, o objetivo principal desta dissertação foi alcançado, tendo sido sintetizados compostos α -fluoro-cetonas, através de reações de fluoração, de derivados dos triterpenóides AU e AG, dois triterpenóides de séries diferentes.

4. BIBLIOGRAFIA

4. BIBLIOGRAFIA

AN, Won *et al.* - Copper-Mediated Halotrifluoromethylation of Unactivated Alkenes. **Advanced Synthesis and Catalysis**. 357:18 (2015) 3949–3960.

ARAI, Yusuke *et al.* - Oxydifluoromethylation of Alkenes by Photoredox Catalysis: Simple Synthesis of CF₂H-Containing Alcohols. **Chemistry - A European Journal**. 22:4 (2016) 1262–1265.

ARMAREGO, Wilfred; CHAI, Christina - **Purification of Laboratory Chemicals**. ISBN 0-7506-7571-3.

ARNOTT, John A.; PLANEY, Sonia L. - The influence of lipophilicity in drug discovery and design. **Expert Opin. Drug Discov.** 7:10 (2012) 863–875.

ATANASOV, Atanas G. *et al.* - Discovery and resupply of pharmacologically active plant derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**. 33:8 (2015) 1582–1614.

BANKS, Ronald Eric - Selectfluor[®] reagent F-TEDA-BF₄ in action: tamed fluorine at your service. **Journal of Fluorine Chemistry**. 87:1998) 1–17.

BARATA-VALLEJO, Sebastián; LANTANO, Beatriz; POSTIGO, AI - Recent advances in trifluoromethylation reactions with electrophilic trifluoromethylating reagents. **Chemistry - A European Journal**. 20:51 (2014) 16806–16829.

BARKER, Andrew J. *et al.* - Studies leading to the identification of ZD1839 (Iressa): An orally active, selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor targeted to the treatment of cancer. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**. 11:14 (2001) 1911–1914.

BARKER, Timothy J.; BOGER, Dale L. - Fe(III)/NaBH₄-Mediated Free Radical Hydrofluorination of Unactivated Alkenes. **Journal of the American Chemical Society**. 134:33 (2012) 13588–13591.

BASSETTO, Marcella; FERLA, Salvatore; PERTUSATI, Fabrizio - Polyfluorinated groups in medicinal chemistry. **Future Medicinal Chemistry**. 7:4 (2015) 527–546.

BASTOS, M. *et al.* - Efavirenz a nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of first-generation: Approaches based on its medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 108:2016) 455–465.

BÉGUÉ, J. P.; BONNET-DELPON, D. - **Bioorganic and Medicinal Chemistry of Fluorine**. ISBN 9780470281895 (2008).

BERARDELLI, R. *et al.* - The acute effect of a mineralocorticoid receptor agonist on corticotrope secretion in Addison's disease. **Journal of Endocrinological Investigation**. 39:5 (2016) 537–542.

BESSET, Tatiana; SCHNEIDER, Cédric; CAHARD, Dominique - Tamed arene and heteroarene trifluoromethylation. **Angewandte Chemie - International Edition**. 51:21 (2012) 2–5.

BIFFINGER, Justin C.; KIM, Hong Woo; DIMAGNO, Stephen G. - The Polar Hydrophobicity of Fluorinated Compounds. **ChemBioChem**. 5:5 (2004) 622–627.

BISHAYEE, Anupam *et al.* - Triterpenoids as potencial agents for the chemoprevention and

therapy of breast cancer. **Frontiers in Bioscience**. 16:3 (2011) 980–996.

BOGAUTDINOV, Roman P. *et al.* - Fluorination of steroid estrogens with Selectfluor®: Elucidation of regio- and stereoselectivity. **Journal of Fluorine Chemistry**. 168:2014) 218–222.

BRESCIANI, Stefano; O&APOS;HAGAN, David - Stereospecific benzylic dehydroxyfluorination reactions using Bio's TMS-amine additive approach with challenging substrates. **Tetrahedron Letters**. 51:44 (2010) 5795–5797.

CAO, Xiao-Hui *et al.* - Manganese(III)-mediated direct Csp²-H radical trifluoromethylation of coumarins with sodium trifluoromethanesulfinate. **Chemical communications**. 50:2014) 3359–3362.

CHAMPAGNE, Pier Alexandre; DESROCHES, Justine; PAQUIN, Jean François - Organic Fluorine as a Hydrogen-Bond Acceptor: Recent Examples and Applications. **Synthesis**. 47:3 (2015) 306–322.

CHANG, Ying *et al.* - Direct nucleophilic fluorination of carbonyl groups of benzophenones and benzils with Deoxofluor. **Tetrahedron**. 64:42 (2008) 9837–9842.

CHARPENTIER, Julie; FRUH, Natalja; TOGNI, Antonio - Electrophilic trifluoromethylation by use of hypervalent iodine reagents. **Chemical Reviews**. 115:2 (2015) 650–682.

CHATALOVA-SAZEPIN, Claire *et al.* - Recent Advances in Radical Fluorination. **Synthesis**. 47:17 (2015) 2554–2569.

CHEN, Chao; CHU, Lingling; QING, Feng-ling - Metal-Free Oxidative Trifluoromethylthiolation of Terminal Alkynes with CF₃SiMe₃ and Elemental Sulfur. **Journal of the American Chemical Society**. 134:30 (2012) 12454–12457.

CHU, Lingling; QING, Feng-ling - Copper-Mediated Aerobic Oxidative Trifluoromethylation of Terminal Alkynes with Me₃SiCF₃. **JACS**. 132:2010) 7262–7263.

CHU, Lingling; QING, Feng-ling - Oxidative Trifluoromethylation and Trifluoromethylthiolation Reactions Using (Trifluoromethyl)trimethylsilane as a Nucleophilic CF₃ Source. **Accounts of chemical research**. 47:5 (2014) 1513–1522.

CHU, Lingling; QING, Feng-Ling - Copper-catalyzed oxidative trifluoromethylation of terminal alkenes using nucleophilic CF₃SiMe₃: efficient C(sp³)-CF₃ bond formation. **Organic letters**. 14:8 (2012a) 2106–2109.

CHU, Lingling; QING, Feng Ling - Copper-catalyzed direct C-H oxidative trifluoromethylation of heteroarenes. **Journal of the American Chemical Society**. . ISSN 00027863. 134:2 (2012b) 1298–1304.

D'INCECCO, Armida; CAPPUZZO, Federico - Gefitinib for non-small-cell lung cancer treatment. **Expert opinion on drug safety**. 10:6 (2011) 987–996.

DALVIT, Claudio; INVERNIZZI, Christian; VULPETTI, Anna - Fluorine as a Hydrogen-Bond Acceptor: Experimental Evidence and Computational Calculations. **Chemistry - A European Journal**. 20:35 (2014) 11058–11068.

DALWADI, Dhwanil A. *et al.* - Molecular mechanisms of serotonergic action of the HIV-1 antiretroviral efavirenz. **Pharmacological Research**. 110:2016) 10–24.

DAS, Saibal *et al.* - Ionic liquids as recyclable solvents for diethylaminosulfur trifluoride (DAST) mediated fluorination of alcohols and carbonyl compounds. **Tetrahedron Letters**. 48:30 (2007) 5305–5307.

DASH, Sandeep *et al.* - Betulinic acid, a natural Bio-active Compound: proficient to induce programmed cell death in human myeloid leukemia. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. 3:12 (2014) 1348–1374.

DENG, Qing-hai; WADEPOHL, Hubert; GADE, Lutz H. - Highly Enantioselective Copper-Catalyzed Electrophilic Trifluoromethylation of β -Ketoesters. **J. Am. Chem. Soc.** 134:2012) 10769–10772.

DOLBIER, William R. - Fluorine chemistry at the millennium. **Journal of Fluorine Chemistry**. 126:2 (2005) 157–163.

DRACINSKY, Martin *et al.* - Preparation and conformational study of 19b-28-epoxy-18a-olean-5ene derivatives. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**. 71:3 (2006) 387–410.

DU, Guang-Fen *et al.* - Organocatalytic direct difluoromethylation of aldehydes and ketones with TMSCF₂H. **RSC Adv**. 5:45 (2015) 35421–35424.

EGAMI, Hiromichi *et al.* - Product Control in Alkene Trifluoromethylation: Hydrotrifluoromethylation, Vinylic Trifluoromethylation, and Iodotrifluoromethylation using Togni Reagent. **Chemistry - An Asian Journal**. 10:10 (2015) 2190–2199.

FAGERHOLM, Urban - The Role of Permeability in Drug ADME/PK, Interactions and Toxicity - Presentation of a Permeability-Based Classification System (PCS) for Prediction of ADME/PK in Humans. **Pharmaceutical Research**. 25:3 (2008) 625–638.

FANG, Zhongxue *et al.* - Catalytic C – H α -Trifluoromethylation of α , β - Unsaturated Carbonyl Compounds. **Organic letters**. 16:5 (2014) 1522–1525.

FENNEWALD, James C.; LIPSHUTZ, Bruce H. - Trifluoromethylation of Heterocycles in Water at Room Temperature. **Green chemistry**. 16:3 (2014) 1097–1100.

FIEDERLING, Nikolaus; HALLER, Jan; SCHRAMM, Heiko - Notification about the Explosive Properties of Togni's Reagent II and One of Its Precursors. **Org. Process Res. Dev.** 17:3 (2013) 318–319.

FOZZA, Claudio - The role of Clofarabine in the treatment of adults with acute myeloid leukemia. **Critical Reviews in Oncology / Hematology**. 93:3 (2015) 237–245.

FRIED, Josef; SABO, Emily F. - 9 α -Fluoro derivatives of cortisone and hydrocortisone. **Journal of the American Chemical Society**. 76:2 (1954) 1455–1456.

FU, Mingyang *et al.* - Copper-catalyzed intermolecular chloro- and bromotrifluoromethylation of alkenes. **Organic Letters**. 18:3 (2016) 348–351.

FUJIWARA, Yuta *et al.* - A New Reagent for Direct Difluoromethylation. **Journal of the American Chemical Society**. 134:3 (2012a) 1494–1497.

FUJIWARA, Yuta *et al.* - Practical and innate carbon-hydrogen functionalization of heterocycles. **Nature**. 492:7427 (2012b) 95–99.

GARG, Neha *et al.* - Natural products as mediators of disease. **Natural Product Reports**.

2017). doi: 10.1039/C6NP00063K.

GHANEM, Hady *et al.* - Clofarabine in leukemia. **Expert review of hematology**. 3:1 (2010) 15–22.

GILLIS, Eric P. *et al.* - Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. **Journal of Medicinal Chemistry**. 58:21 (2015) 8315–8359.

GONÇALVES, Bruno M. F. *et al.* - Synthesis and anticancer activity of novel fluorinated asiatic acid derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 114:2016) 101–103.

GRAHAM, Jeffrey *et al.* - Clinical predictors of benefit from fulvestrant in advanced breast cancer: A Meta-analysis of randomized controlled trials. **Cancer Treatment Reviews**. 45:2016) 1–6.

HAGMANN, William K. - The Many Roles for Fluorine in Medicinal Chemistry. **Journal of Medicinal Chemistry**. 51:15 (2008) 4359–4369.

HALPERIN, Shira D. *et al.* - A Convenient Photocatalytic Fluorination of Unactivated C-H Bonds. **Angewandte Chemie - International Edition**. 53:18 (2014) 4690–4693.

HANG, Zhaojia; LI, Zejiang; LIU, Zhong-Quan - Iodotrifluoromethylation of Alkenes and Alkynes with Sodium Trifluoromethanesulfinate and Iodine Pentoxide. **Organic Letters**. 16:2014) 3648–3651.

HARVEY, Alan L. - Natural products for high-throughput screening. Em IWU, M. M.; WOOTTON, J. (Eds.) - **Ethnomedicine and Drug Discovery**. 1^a ed. ISBN 9780444508522. (2002) p. 39–44.

HATFIELD, Julie M.; EIDELL, Cheryl K.; STEPHENS, Chad E. - Mono- and trifluorination of the thiazole ring of 2,5-diarylthiazoles using N-fluorobenzenesulfonimide (NFSI). **Tetrahedron Letters**. 54:8 (2013) 1025–1028.

HE, Zhengbiao; TAN, Ping; HU, Jinbo - Copper-Catalyzed Trifluoromethylation of Polysubstituted Alkenes Assisted by Decarboxylation. **Organic Letters**. 18:1 (2016) 72–75.

HEERAN, Darren; SANDFORD, Graham - Fluorination of pyrrole derivatives by Selectfluor[®]. **Tetrahedron**. 72:19 (2016) 2456–2463.

HENRICH, Curtis J.; BEUTLER, John A. - Matching the power of high throughput screening to the chemical diversity of natural products. **Natural Product Reports**. 30:10 (2013) 1284–1298.

HONG, Jiyong - Role of natural product diversity in chemical biology. **Current Opinion in Chemical Biology**. 15:3 (2011) 350–354.

HU, Jinbo; ZHANG, Wei; WANG, Fei - Selective difluoromethylation and monofluoromethylation reactions. **Chemical communications**. 48 (2009) 7465–7478.

HU, Mingyou *et al.* - Nucleophilic difluoro(phenylsulfonyl)methylation of carbonyls with PhSO₂CF₂H reagent in the presence of in situ generated substoichiometric amount of base Dedicated to Professor Iwao Ojima on the occasion of his receipt of the ACS Award for Creative Work. **Journal of Fluorine Chemistry**. 155:2013) 52–58.

IKEDA, Yasutaka; MURAKAMI, Akira; OHIGASHI, Hajime - Ursolic acid: An anti- and pro-inflammatory triterpenoid. **Mol. Nutr. Food Res**. 52:2008) 26–42.

ILCHENKO, Nadia O.; JANSON, Pär G.; SZABÓ, Kálmán J. - Copper-mediated cyanotrifluoromethylation of styrenes using the Togni reagent. **Journal of Organic Chemistry**. 78:21 (2013) 11087–11091.

ISHII, Satoe; NIWA, Yasutaka; WATANABE, Soichiro - Deoxyfluorination of α -N-phthaloyl cycloalkanones with bis(2-methoxyethyl)aminosulfur trifluoride (Deoxo-Fluor). **Journal of Fluorine Chemistry**. 182:2016) 41–46.

JANSON, Pär G. *et al.* - Electrophilic trifluoromethylation by copper-catalyzed addition of CF₃-transfer reagents to alkenes and alkynes. **Organic Letters**. 14:11 (2012) 2882–2885.

Ji, Yining *et al.* - Innate C-H trifluoromethylation of heterocycles. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 108:35 (2011) 14411–14415.

JIANG, Xin Yi; QING, Feng Ling - Copper-Catalyzed three-component oxytrifluoromethylation of alkenes with sodium trifluoromethanesulfinate and hydroxamic acid. **Angewandte Chemie - International Edition**. 52:2013) 14177–14180.

KAZANDJIAN, Dickran *et al.* - FDA Approval of Gefitinib for the Treatment of Patients with Metastatic EGFR Mutation – Positive Non – Small Cell Lung Cancer. **Clinical Cancer Research**. 22:6 (2016) 1307–1313.

KAŹMIERCZAK, Marcin; KORONIAK, Henryk - DAST mediated preparation of β -fluoro- α -aminophosphonates. **Journal of Fluorine Chemistry**. 139:2012) 23–27.

KIRK, Kenneth L. - Fluorination in Medicinal Chemistry: Methods, Strategies, and Recent Developments. **Organic Process Research & Development**. 12:2 (2008) 305–321.

KOLLER, Raffael *et al.* - Zinc-mediated formation of trifluoromethyl ethers from alcohols and hypervalent iodine trifluoromethylation reagents. **Angewandte Chemie - International Edition**. 48:24 (2009) 4332–4336.

KOPERNIKU, Ana; LIU, Hongqiang; HURLEY, Paul B. - Mono-and Difluorination of Benzylic Carbon Atoms. **European Journal of Organic Chemistry**. 5 (2016) 871–886.

KOSOBOKOV, Mikhail D. *et al.* - Nucleophilic Bromo- and Iododifluoromethylation of Aldehydes. **Organic Letters**. 16:14 (2014) 3784–3787.

KUMARI, Sangita *et al.* - Structural and biochemical perspectives in plant isoprenoid biosynthesis. **Phytochemistry Reviews**. 12:2 (2013) 255–291.

LEAL, Ana - **Preparation and biological evaluation of new triterpene derivatives of ursolic and oleanolic acids**. [S.l.] : Universidade de Coimbra, 2012.

LEAL, Ana S. *et al.* - Semisynthetic Ursolic Acid Fluorolactone Derivatives Inhibit Growth with Induction of p21 waf1 and Induce Apoptosis with Upregulation of NOXA and Downregulation of c-FLIP in Cancer Cells. **ChemMedChem**. 7:2012) 1635–1646.

LEPRI, Susan *et al.* - Are carboxylic esters really refractory to DAST? On the fluorination of α -hydroxyesters with DAST. **Journal of Fluorine Chemistry**. 171:2015) 82–91.

LEVIN, Vitalij V. *et al.* - Nucleophilic Iododifluoromethylation of Aldehydes Using Bromine/Iodine Exchange. **The Journal of Organic Chemistry**. 80:18 (2015) 9349–9353.

LI, Fangyi; WU, Zijun; WANG, Jian - Oxidative Enantioselective α -Fluorination of Aliphatic

- Aldehydes Enabled by N-Heterocyclic Carbene Catalysis. **Angewandte Chemie - International Edition**. 54:2 (2015) 656–659.
- LI, Lingchun *et al.* - Synthesis of gem -Difluorocyclopropa(e)nes and O-, S-, N-, and P-Difluoromethylated Compounds with TMSCF₂Br. **Angewandte Chemie**. 125:47 (2013) 12616–12620.
- LI, Xinjin *et al.* - Copper-mediated aerobic (phenylsulfonyl)difluoromethylation of arylboronic acids with difluoromethyl phenyl sulfone. **Chem. Commun.** 52:18 (2016) 3657–3660.
- LI, Yang *et al.* - Copper-catalyzed trifluoromethylation of aryl- and vinylboronic acids with generation of CF₃-radicals. **Chem. Commun.** 49:2013) 2628–2630.
- LI, Zejiang; CUI, Zili; LIU, Zhong-Quan - Copper- and iron-catalyzed decarboxylative tri- and difluoromethylation of α,β -unsaturated carboxylic acids with CF₃SO₂Na and (CF₂H₂SO₂)₂Zn via a radical process. **Organic letters**. 15:2 (2013) 406–409.
- LIANG, Theresa; NEUMANN, Constanze N.; RITTER, Tobias - Introduction of fluorine and fluorine-containing functional groups. **Angewandte Chemie - International Edition**. 52:32 (2013) 8214–8264.
- LING, Lin *et al.* - General Reaction Mode of Hypervalent Iodine Trifluoromethylation Reagent: A Density Functional Theory Study. **ACS Catalysis**. 5:4 (2015) 2458–2468.
- LIU, Chao *et al.* - NMP and O₂ as Radical Initiator: Trifluoromethylation of Alkenes to Tertiary β -Trifluoromethyl Alcohols at Room Temperature. **Organic Letters**. 17:24 (2015) 6034–6037.
- LIU, Jian Bo; XU, Xiu Hua; QING, Feng Ling - Silver-Mediated Oxidative Trifluoromethylation of Alcohols to Alkyl Trifluoromethyl Ethers. **Organic Letters**. 17:20 (2015) 5048–5051.
- LIU, Xiao *et al.* - Trifluoromethyltrimethylsilane: Nucleophilic Trifluoromethylation and Beyond. **Chemical Reviews**. 115:2015) 683–730.
- LU, Qingquan *et al.* - Relay cooperation of K₂S₂O₈ and O₂ in oxytrifluoromethylation of alkenes using CF₃SO₂Na. **Chemical communications (Cambridge, England)**. 50:91 (2014) 14101–14104.
- LU, Yang *et al.* - Highly efficient Cu(I)-catalyzed trifluoromethylation of aryl(heteroaryl) enol acetates with CF₃ radicals derived from CF₃SO₂Na and TBHP at room temperature. **Journal of Fluorine Chemistry**. 161:2014) 128–133.
- LUO, Dong Fen *et al.* - Copper-catalyzed trifluoromethylation of terminal alkynes using Umemoto's reagent. **Tetrahedron Letters**. 53:22 (2012) 2769–2772.
- LUO, Hai Qing *et al.* - A practical method for metal-free radical trifluoromethylation of styrenes with NaSO₂CF₃. **Synlett**. 25:9 (2014) 1307–1311.
- MA, Jun An; CAHARD, Dominique - Strategies for nucleophilic, electrophilic, and radical trifluoromethylations. **Journal of Fluorine Chemistry**. 128:9 (2007) 975–996.
- MAZZOTTI, Anthony R. *et al.* - Palladium(III)-Catalyzed Fluorination of Arylboronic Acid Derivatives. **Journal of the American Chemical Society**. 135:38 (2013) 14012–14015.
- MEANWELL, Nicholas A. - Improving Drug Candidates by Design: A Focus on

- Physicochemical Properties As a Means of Improving Compound Disposition and Safety. **Chemical Research in Toxicology**. 24:9 (2011a) 1420–1456.
- MEANWELL, Nicholas A. - Synopsis of Some Recent Tactical Application of Bioisosteres in Drug Design. **Journal of Medicinal Chemistry**. 54:8 (2011b) 2529–2591.
- MEANWELL, Nicholas A.; EASTMAN, Kyle; GILLIS, Eric P. - Tactical Applications of Fluorine in Drug Design and Development. Em NENAJDENKO, V. (Ed.) - **Fluorine in Heterocyclic Chemistry**. ISBN 978-3-319-04346-3v. I. (2014) p. 1–54.
- MEJÍA, Esteban; TOGNI, Antonio - Rhenium-catalyzed trifluoromethylation of arenes and heteroarenes by hypervalent iodine reagents. **ACS Catalysis**. 2:4 (2012) 521–527.
- MICHURIN, Oleg M.; RADCHENKO, Dmytro S.; KOMAROV, Igor V. - Direct nucleophilic difluoromethylation of enolizable ketones with CHF₂TMS/HMPA. **Tetrahedron**. 72:10 (2016) 1351–1356.
- MIZUTA, Satoshi *et al.* - Catalytic Hydrotrifluoromethylation of Unactivated Alkenes. **Journal of American Chemical Society**. 135:2013) 2505–2508.
- MOGHADDAM, Mansour; AHMAD, Faujan; SAMZADEH-KERMANI, Alireza - Biological Activity of Betulinic Acid : A Review. **Pharmacology & Pharmacy**. 3:2012) 119–123.
- MOLNÁR, István Gábor; GILMOUR, Ryan - Catalytic Difluorination of Olefins. **Journal of the American Chemical Society**. . ISSN 1520-5126. 138:15 (2016) 5004–5007.
- MURRAY, Vincent *et al.* - The influence of p53 status on the cytotoxicity of fluorinated pyrimidine L-nucleosides. **Chemico-Biological Interactions**. 240:2015) 102–109.
- NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. - Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**. 79:3 (2016) 629–661.
- NGOC, Thuc Dinh; DEHAEN, Wim - Selective functionalization of 2-oxoallobetulin derivatives. **Tetrahedron**. 70:2014) 1836–1840.
- NI, Chuanfa; WANG, Fang; HU, Jinbo - Enantioselective nucleophilic difluoromethylation of aromatic aldehydes with Me₃SiCF₂SO₂Ph and PhSO₂CF₂H reagents catalyzed by chiral quaternary ammonium salts. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**. 4:21 (2008) 1–6.
- NIELSEN, M. K. *et al.* - PyFluor: A Low-Cost, Stable, and Selective Deoxyfluorination Reagent. **JACS**. 137:30 (2015) 9571–9574.
- NORITAKE, Shun *et al.* - Enantioselective electrophilic trifluoromethylation of beta-keto esters with Umemoto reagents induced by chiral nonracemic guanidines. **Organic & biomolecular chemistry**. 7:17 (2009) 3599–604.
- NYFFELER, Paul T. *et al.* - Selectfluor®: Mechanistic insight and applications. **Angewandte Chemie - International Edition**. 44:2 (2005) 192–212.
- PARK, B. Kevin; KITTERINGHAM, Neil R.; O'NEILL, Paul M. - Metabolism of Fluorine-Containing Drugs. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 41:1 (2001) 443–470.
- PATRIDGE, Eric *et al.* - An analysis of FDA-approved drugs: natural products and their derivatives. **Drug Discovery Today**. 21:2 (2016) 204–207.
- PETRONELLI, Alessia; PANNITTERI, Gaetano; TESTA, Ugo - Triterpenoids as new promising anticancer drugs. **Anti-cancer Drugs**. 20:2009) 880–892.

- POLLIER, Jacob; GOOSSENS, Alain - Oleanolic acid. **Phytochemistry**. 77:2012) 10–15.
- PRAKASH, G. K. S. *et al.* - New electrophilic difluoromethylation. **Org. Lett.** 9:10 (2007) 1863–1866.
- PURSER, Sophie *et al.* - Fluorine in medicinal chemistry. **Chemical Society reviews**. 37:2 (2008) 320–330.
- QIU, Shuifa *et al.* - Palladium-Catalyzed Intermolecular Aminofluorination of Styrenes. **Journal of the American Chemical Society**. 132:9 (2010) 2856–2857.
- RABEL, S. R.; SUN, S.; MAURIN, M. B. - Electronic and resonance effects on the ionization of structural analogues of efavirenz. **AAPS PharmSci**. 3:4 (2001) 1–4.
- RAO, G. S. R. Subba *et al.* - Chemical modifications of natural triterpenes d glycyrrhetic and boswellic acids : evaluation of their biological activity. **Tetrahedron**. 64:2008) 11541–11548.
- ROH, H. K. *et al.* - Plasma concentrations of haloperidol are related to CYP2D6 genotype at low, but not high doses of haloperidol in Korean schizophrenic patients. **British journal of clinical pharmacology**. 52:3 (2001) 265–71.
- RUBIALES, Gloria *et al.* - Nucleophilic trifluoromethylation of carbonyl compounds and derivatives. **Arkivoc**. 2 (2014) 362–405.
- SAIKIA, Indranirekha; BORAH, Arun Jyoti; PHUKAN, Prodeep - Use of Bromine and Bromo-Organic Compounds in Organic Synthesis. **Chemical Reviews**. 116:2016) 6837–7042.
- SALVADOR, Jorge A. R. *et al.* - Ursane-type pentacyclic triterpenoids as useful platforms to discover anticancer drugs. **Natural Product Reports**. 29:2012) 1463–1479.
- SCHWARZBAUER, Jan; JOVANCICEVIC, Branimir - Isoprenoids. Em **From Biomolecules to Chemofossils**. [S.l.] : Springer International Publishing, 2016. p. 27–76.
- SHAH, Poonam; WESTWELL, Andrew D. - The role of fluorine in medicinal chemistry. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**. 22:5 (2007) 527–540.
- SHAI, L. J. *et al.* - Four pentacyclic triterpenoids with antifungal and antibacterial activity from *Curtisia dentata* (Burm.f) C.A.Sm. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**. 119:2008) 238–244.
- SHAO, Qian; HUANG, Yong - Direct fluorination of styrenes. **Chemical Communications**. 51:30 (2015) 6584–6586.
- SHEN, Ben - A New Golden Age of Natural Products Drug Discovery. **Cell**. 163:6 (2015) 1297–1300.
- SHEN, Kun; WANG, Qiu - Copper-catalyzed aminotrifluoromethylation of alkenes: a facile synthesis of CF₃-containing lactams. **Org. Chem. Front.** 3:2016) 222–226.
- SHEN, Lingling *et al.* - Steered molecular dynamics simulation on the binding of NNRTI to HIV-1 RT. **Biophysical journal**. 84:6 (2003) 3547–3563.
- SHENG, Huaming; SUN, Hongbin - Synthesis, biology and clinical significance of pentacyclic triterpenes. **Natural Product Reports**. 28:2011) 543–593.
- SHIGEHISA, Hiroki *et al.* - Cobalt-Catalyzed Hydrofluorination of Unactivated Olefins: A

- radical approach of fluorine transfer. **Organic Letters**. 15:20 (2013) 5158–5161.
- SINGH, Rajendra P.; SHREEVE, Jean'ne M. - Recent Advances in Nucleophilic Fluorination Reactions of Organic Compounds- Using Deoxofluor and DAST. **Synthesis**. 17 (2002) 2561–2578.
- SINGH, Rajendra P.; SHREEVE, Jean'ne M. - Synthesis and characterization of novel trifluoromethyl-containing alcohols with Ruppert's reagent. **Journal of Fluorine Chemistry**. 133:2012) 20–26.
- SMART, B. E. - Fluorine substituent effects (on bioactivity). **Journal of Fluorine Chemistry**. 109:1 (2001) 3–11.
- SONG, Xiaoning *et al.* - Catalytic Domino Reaction of Ketones/Aldehydes with Me₃SiCF₂Br for the Synthesis of α -Fluoroenones/ α -Fluoroenals. **Organic Letters**. 17:7 (2015) 1712–1715.
- STUDER, Armido - A «renaissance» in radical trifluoromethylation. **Angewandte Chemie - International Edition**. . ISSN 14337851. 51:36 (2012) 2–11.
- SUN, Hua *et al.* - Structure-activity relationships of oleanane- and ursane- type triterpenoids. **Botanical Studies**. 47:2006) 339–368.
- SURYA PRAKASH, G. K.; WANG, Fang - Fluorine: The new kingpin of drug discovery. **Chimica Oggi/Chemistry Today**. 30:5 (2012) 30–36.
- SWALLOW, Steve - Fluorine in medicinal chemistry. Em LAWTON, GEOFF; WITTY, DAVID (Eds.) - **Progress in Medicinal Chemistry**. ISBN 978-0-444-63480-1v. 54. (2015) p. 93–164.
- TALAPATRA, Sunil Kumar; TALAPATRA, Bani - Biosynthesis of Terpenoids: The Oldest Natural Products. Em TALAPATRA, SUNIL KUMAR; TALAPATRA, BANI (Eds.) - **Chemistry of Plant Natural Products**. I. ed. [S.I.] : Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (2015). ISBN 978-3-642-45409-7. p. 317–334.
- THIMMAPPA, Ramesha *et al.* - Triterpene biosynthesis in plants. **Annual review of plant biology**. 65:2014) 225–257.
- TIUS, Marcus A. - Xenon Difluoride in Synthesis. **Tetrahedron**. 51:24 (1995) 6605–6634.
- TRAN, Huyentran; YANG, Daisy - Clofarabine in the treatment of newly diagnosed acute myeloid leukemia in older adults. **The Annals of pharmacotherapy**. 46:1 (2012) 89–96.
- UMEMOTO, Teruo *et al.* - Discovery of 4-tert-Butyl-2,6-dimethylphenylsulfur Trifluoride as a Deoxofluorinating Agent with High Thermal Stability as Well as Unusual Resistance to Aqueous Hydrolysis, and Its Diverse Fluorination Capabilities Including Deoxofluoro-Arylsulfonylation . **Journal of the American Chemical Society**. 132:51 (2010) 18199–18205.
- VICKERS, Claudia; SABRI, Suriana - Isoprene. Em SCHRADER, JENS; BOHLMANN, JORG (Eds.) - **Biotechnology of Isoprenoids**. Switzerland : Springer International Publishing, 2015. ISBN 978-3-319-20106-1v. 148. p. 289–317.
- WAKELING, A. E. - Similarities and distinctions in the mode of action of different classes of antioestrogens. **Endocrine-Related Cancer**. 7:1 (2000) 17–28.

- WAKELING, Alan E.; DUKES, Michael; BOWLER, Jean - A Potent Specific Pure Antiestrogen with Clinical Potential. **Cancer Research**. 51:15 (1991) 3867–3873.
- WANG, Jiang *et al.* - Fluorine in Pharmaceutical Industry: Fluorine-Containing Drugs Introduced to the Market in the Last Decade (2001–2011). **Chemical Reviews**. 114:4 (2014) 2432–2506.
- WANG, Shi Meng *et al.* - An overview of reductive trifluoromethylation reactions using electrophilic «+CF₃» reagents. **Tetrahedron**. 71:42 (2015) 7949–7976.
- WERMUTH, Camille - Substituents and Functions: Qualitative and Quantitative Aspects of Structure–Activity Relationships. Em **The Practice of Medicinal Chemistry**. (2008) ISBN 978-0-12-374194-3
- WILGER, Dale J.; GESMUNDO, Nathan J.; NICEWICZ, David A. - Catalytic hydrotrifluoromethylation of styrenes and unactivated aliphatic alkenes via an organic photoredox system. **Chemical Science**. (2013) doi: 10.1039/C3SC51209F.
- WILKINSON, John A. - Recent Advances in the Selective Formation of the C-F Bond. **Chemical Reviews**. 92:1992) 505–519.
- WU, Mingxi *et al.* - Copper-Free Direct C – H Trifluoromethylation of Acetanilides with Sodium Trifluoromethanesulfinate. **The Journal of Organic Chemistry**. 79:2014) 8984–8989.
- WU, Xinyue; CHU, Lingling; QING, Feng-Ling - Silver-Catalyzed Hydrotrifluoromethylation of Unactivated Alkenes with CF₃SiMe₃. **Angewandte Chemie**. 125:8 (2013) 2254–2258.
- XIA, Ji-bao; ZHU, Chen; CHEN, Chuo - Visible Light-Promoted Metal-Free C – H Activation: Diarylketone- Catalyzed Selective Benzylic Mono- and Difluorination. **Journal of the American Chemical Society**. 135:46 (2013) 17494–17500.
- YAMAZAKI, Takashi; TAGUCHI, Takeo; OJIMA, Iwao - Unique Properties of Fluorine and Their Relevance to Medicinal Chemistry and Chemical Biology. Em OJIMA, IWAO (Ed.) - **Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology**. ISBN 978-1-405-16720-8. (2009) p. 3–46.
- YANG, Bin; XU, Xiu-Hua; QING, Feng-Ling - Iron-Mediated Chlorotrifluoromethylation of Alkenes with Sodium Trifluoromethanesulfinate. **Chinese Journal of Chemistry**. 2015a) 1–4. doi: 10.1002/cjoc.201500641.
- YANG, Bin; XU, Xiu Hua; QING, Feng Ling - Copper-Mediated Radical 1,2-Bis(trifluoromethylation) of Alkenes with Sodium Trifluoromethanesulfinate. **Organic Letters**. 17:2015b) 1906–1909.
- YANG, Ning-Yuan *et al.* - Organic base-catalysed solvent-tuned chemoselective carbotrifluoromethylation and oxytrifluoromethylation of unactivated alkenes. **Chemical communications**. 2016).
- YANG, Qiang *et al.* - Metal-Free, Efficient Oxyfluorination of Olefins for the Synthesis of α -Fluoroketones. **Organic letters**. 16:2014) 3460–3463.
- YANG, Yi *et al.* - Manganese-Catalyzed Aerobic Oxytrifluoromethylation of Styrene Derivatives Using CF₃SO₂Na as the Trifluoromethyl Source. **Journal of Organic Chemistry**. 80:2015) 6639–6648.

- YE, Yingda; LEE, Shin Lee; SANFORD, Melanie S. - Silver-Mediated Trifluoromethylation of Arenes using TMSCF₃. **Organic Letters**. 23:20 (2011) 5464–5467.
- YIN, Feng *et al.* - Silver-Catalyzed Decarboxylative Fluorination of Aliphatic Carboxylic Acids in Aqueous Solution. **Journal of the American Chemical Society**. 134:25 (2012) 10401–10404.
- YOGEE SWARI, Perumal; SRIRAM, Dharmarajan - Betulinic Acid and Its Derivatives: A Review on their Biological Properties. **Current Medicinal Chemistry**. 12:2005) 657–666.
- ZHANG, Cai - Recent advances in trifluoromethylation of organic compounds using Umemoto's reagents. **Organic & biomolecular chemistry**. 12:34 (2014a) 6580–6589.
- ZHANG, Cai - Recent progress in the trifluoromethylation of alkenes with Togni's reagents. **Arkivoc**. 1 (2014b) 453–469.
- ZHANG, Cai - Application of Langlois' Reagent in Trifluoromethylation Reactions. **Advanced Synthesis and Catalysis**, 356:2014c) 2895-2906.
- ZHANG, Wei; WANG, Fei; HU, Jinbo - N-tosyl-S-difluoromethyl-S-phenylsulfoximine: A new difluoromethylation reagent for S-, N-, and C-nucleophiles. **Organic Letters**. 11:10 (2009) 2109–2112.
- ZHAO, Chun-hui *et al.* - Inhibition of Human Enterovirus 71 Replication by Pentacyclic Triterpenes and Their Novel Synthetic Derivatives. **Chem. Pharm. Bull.** 62:8 (2014) 764–771.
- ZHAO, Yanchuan *et al.* - Efficient and direct nucleophilic difluoromethylation of carbonyl compounds and imines with Me₃SiCF₂H at ambient or low temperature. **Organic Letters**. 13:19 (2011) 5342–5345.
- ZHOU, Yu *et al.* - Next Generation of Fluorine-Containing Pharmaceuticals, Compounds Currently in Phase II–III Clinical Trials of Major Pharmaceutical Companies: New Structural Trends and Therapeutic Areas. **Chemical Reviews**. 116:2 (2016) 422–518.
- ZHU, Sheng-Qing; XU, Xiu-Hua; QING, Feng-Ling - Copper-mediated oxidative difluoromethylation of terminal alkynes with TMSCF₂H. **Org. Chem. Front.** 2:9 (2015) 1022–1025.
- ZHU, Zhongling *et al.* - A phase I pharmacokinetic study of ursolic acid nanoliposomes in healthy volunteers and patients with advanced solid tumors. **International Journal of Nanomedicine**. 8:2013) 129–136.