



Síntese de compostos heterocíclicos de N e S com potencial
atividade biológica

Ana Patrícia de Carvalho Lourenço

UMinho | 2019

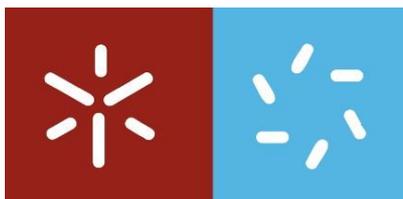


Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ana Patrícia de Carvalho Lourenço

Síntese de compostos heterocíclicos de N
e S com potencial atividade biológica

outubro 2019



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ana Patrícia de Carvalho Lourenço

Síntese de compostos heterocíclicos de N e S
com potencial atividade biológica

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Química Medicinal

Trabalho efetuado sob orientação da
Doutora Maria João R. P. Queiroz

outubro 2019

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações
CC BY-NC-ND

Agradecimentos

O trabalho desenvolvido ao longo deste ano foi apenas possível devido à contribuição e ajuda de muitas pessoas. Estou profundamente agradecida a todas as pessoas que me ajudaram na realização desta dissertação.

Em primeiro lugar, agradeço à **Doutora Maria João Queiroz** pela oportunidade, disponibilidade, apoio e condições que me foram concedidas durante este ano. Por todo o conhecimento e sabedoria que me transmitiu ao longo deste ano, contribuíram de uma forma muito positiva e enriquecedora para a minha formação académica e pessoal.

À **Juliana**, pelo grande apoio incondicional, pela partilha de conhecimentos, pela energia positiva (mesmo quando os resultados não eram os esperados, nunca me “deixou” baixar os braços), pela ajuda sempre prestada, mesmo quando os medos e receios se sobreponham a certezas. E sem dúvida que ao longo deste ano criamos uma grande amizade e uma grande cumplicidade que levarei comigo. À **Bruna** pela motivação e boa disposição.

Ao **Centro/Departamento de Química da Universidade do Minho** pelas facilidades concedidas para a realização deste trabalho.

À **Elisa Pinto** e à **Vânia Azevedo**, técnica superior e bolsreira da rede de RMN, respetivamente, pela disponibilidade para a execução dos espetros de RMN.

À **Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT)-Portugal** pelo financiamento do Centro de Química da Universidade do Minho através do projeto UID/QUI/686/2018 e 2019 e da rede nacional de RMN também financiada pelo Portugal2020 (PINFRA/22161/2016).

Ao **André**, ao **Pedro**, à **Bruna**, à **Luísa**, à **Carolina** que sempre tiveram muita paciência e prontificaram-se sempre a ajudar-me ao longo desta etapa, e por nunca me deixarem desistir nos momentos mais difíceis. Agradeço-lhes do fundo do coração, todas as atitudes, todos os gestos e toda a tranquilidade e incentivo que me transmitiram nesta fase da minha vida.

Por fim, mas não menos importante, agradeço o apoio incondicional dos meus **pais**. Nada disto seria possível sem eles. Vou vos ser eternamente grata por tudo o fizeram e ainda fazem por mim para que o meu futuro seja o mais risonho possível.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração. Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Resumo

O sistema bicíclico de anéis fundidos de N e S, tieno[2,3-*b*]pirazina e os 1,2,3-triazoles 1,4-dissubstituídos estão presentes em alguns compostos que mostraram diversas atividades biológicas, tornando-os unidades interessantes para a descoberta de novos compostos biologicamente ativos.

Neste trabalho sintetizaram-se vários 7-[4-(hetero)aril-1-*H*1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilatos de metilo num procedimento *one-pot* em duas etapas. A primeira etapa consistiu na reação do 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo com nitrito de *tert*-butilo (*t*BuONO) e trimetilsililazida (TMSN₃) formando a correspondente azida intermediária. Na segunda etapa ocorreu uma reação de cicloadição azida-alquino catalisada por Cu(I) (CuAAC) usando (hetero)arilalquinos, CuI e Et₃N em acetonitrilo à temperatura ambiente durante 30 minutos a 5h, tipo *click*. Os 1,4-di(hetero)aril-1-*H*1,2,3-triazoles foram obtidos com rendimentos bons a elevados (50-80%) depois de submetidos a coluna cromatográfica. Não foi possível estabelecer uma correlação entre os diferentes alquinos usados e os rendimentos dos 1,2,3-triazoles, mas os derivados de 2-etinilpiridina e o 3-etinilpiridina, foram obtidos com os melhores rendimentos, 70 e 80% respetivamente.

Discutiu-se o mecanismo da reação de CuAAC tendo em conta as recentes descobertas de intermediários binucleares de Cu envolvidos no ciclo catalítico.

Os compostos obtidos foram completamente caracterizados por p.f, ¹H, ¹³C, ¹⁹F-RMN, incluindo técnicas de correlações homonucleares ¹H-¹H (COSY) e correlações heteronucleares ¹H-¹³C (HMQC e HMBC) e massa de alta resolução usando ESI no [M+H]⁺.

Foram ainda levados a cabo tentativas de sintetizar os 1,2,3-triazoles 1,4-dissubstituídos, usando o mesmo processo *one-pot* em PEG-400 tornando a metodologia mais amiga do ambiente. Alguns compostos foram obtidos por precipitação e filtração com bons rendimentos, o que torna a segunda etapa uma reação *click*. Mais estudos são necessários para a generalização desta reação.

Os novos 7-[4-(hetero)aril-1-*H*1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilatos de metilo obtidos serão submetidos a ensaios de atividade biológica em colaboração com outros grupos de investigação.

Palavras-chave

Azidas; 1,4-Di(hetero)aril-1,2,3-triazoles; Tieno[2,3-*b*]pirazinas; CuAAC.

Abstract

The bicyclic fused ring system of N and S, thieno[2,3-*b*]pyrazine and the 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituted can be found in some compounds that exhibit different biological activities, making them interesting units for the discovery of new biologically active compounds.

In this work several methyl 7-[4-(hetero)aryl-1-*H*1,2,3-triazol-1-yl]thieno[2,3-*b*]pyrazine-6-carboxylates were synthesized in a *one-pot* two steps procedure. The first step consisted of reacting the methyl 7-aminothieno[2,3-*b*]pyrazine-6-carboxylate with *tert*-butyl nitrite (*t*BuONO) and trimethylsilylazide (TMSN₃) forming the corresponding intermediate azide and the second step consisted of a *click* type Cu(I)-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition (CuAAC), using (hetero)arylalkynes, CuI and Et₃N in acetonitrile at room temperature from 30 minutes to 5h. The 1,4-di(hetero)aryl-1-*H*1,2,3-triazoles were obtained in good to high yields (50-80%) after chromatographic column purification. It was not possible to establish a correlation between the different alkynes used and the yields of 1,2,3-triazoles but 2-ethynylpyridine and 3-ethynylpyridine derivatives were obtained in the best yields, 70 and 80% respectively.

The mechanism of the CuAAC reaction was discussed taking into account the recent discoveries of Cu binuclear intermediates involved in the catalytic cycle.

The new compounds obtained were completely characterized by m.p. ¹H, ¹³C, ¹⁹F NMR, including ¹H-¹H homonuclear correlation (COSY) and ¹H-¹³C heteronuclear correlations (HMQC and HMBC) and high mass resolution using ESI at the [M+H]⁺.

Furthermore synthesis attempts of the 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles were performed by the same one-pot procedure, using PEG-400 as a solvent more environmental friendly. Some of the compounds obtained after precipitation and filtration in good yields turning the second step to a click reaction. Further studies are needed for a generalization of this reaction.

The new methyl-7-[4-(hetero)aryl-1-*H*1,2,3-triazol-1-yl]thieno[2,3-*b*]pyrazine-6-carboxylates will be submitted to biological activity studies in collaboration with other research groups.

Keywords: Azides; 1,4-Di(hetero)aryl-1,2,3-triazoles; Thieno[2,3-*b*]pyrazines; CuAAC.

Índice

1. Introdução	2
1.1. Derivados de tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina	2
1.2. Derivados de 1,2,3-triazole	9
2. Discussão de Resultados	15
2.1. Síntese do reagente de partida	15
2.1.1. Síntese de 7-aminotieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (1)	15
2.2. Síntese de novos 7-[4-(Hetero)aril]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilatos de metilo (3)	16
2.2.1. Síntese <i>one-pot</i> via a azida correspondente e cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (I) 16	
2.2.2 Estudos Preliminares da reação <i>one pot</i> usando PEG-400.....	28
3. Conclusões e Perspetivas	31
4. Parte Experimental	33
4.1. Síntese - Procedimentos gerais	33
4.2. Síntese do reagente de partida	34
4.2.1. 7-aminotieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (1)	34
4.3. Síntese <i>one-pot</i> de derivados de tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina contendo 1,2,3-triazoles 1,4-dissubstituídos (3a-3m) 34	
4.3.1. Procedimento Geral	34
4.3.1.1. 7-(4-fenil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3a)	35
4.3.1.2. 7-[4-(2-metoxifenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3b)	35
4.3.1.3. 7-[4-(3-metoxifenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3c)	36
4.3.1.4. 7-[4-(4-metoxifenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3d)	37
4.3.1.5. 7-[4-(<i>m</i> -tolil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3e)	37
4.3.1.6. 7-[4-(<i>p</i> -tolil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3f)	38
4.3.1.7. 7-[4-(4-aminofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3g)	38
4.3.1.8. 7-[4-(4-bromofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3h)	39
4.3.1.9. 7-[4-(3-fluorofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3i)	40
4.3.1.10. 7-[4-(4-fluorofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3j)	41

4.3.1.11.	7-[4-(tien-3-il)-1H1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3k)	41
4.3.1.12.	7-[4-(piridin-2-il)-1H1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3l)	42
4.3.1.13.	7-[4-(piridin-3-il)-1H1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (3m)	43

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura da pirazina e da tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina.....	2
Figura 2. Estrutura do derivado de pirazino tienopirimidinas, com melhor atividade antitumoral na linha celular A2780.....	7
Figura 3. Estruturas de obtidas no nosso grupo de investigação.	8
Figura 4. Representação das analogias estruturais 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituídos e amidas.....	12
Figura 5. Espetro de ^1H -RMN do composto 3i (CDCl_3 , 400 MHz).....	22
Figura 6. Expansão da zona aromática do espetro de ^{13}C -RMN do composto 3i (CDCl_3 , 100,6 MHz) ..	23
Figura 7. Expansão da zona aromática do espetro de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C (CDCl_3 , 400 e 100,6 MHz) HMQC do composto 3i	23
Figura 8. Espetro de ^{19}F (CDCl_3 , 376,5 MHz) do composto 3i	24
Figura 9. Espetro de ^1H -RMN do composto 3I (DMSO-d_6 , 400 MHz).	25
Figura 10. Espetro de ^{13}C -RMN do composto 3I (DMSO-d_6 , 100,6 MHz).	26
Figura 11: Expansão da zona aromática do espetro bidimensional de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C (DMSO-d_6 , 400 e 100,6 MHz) do composto 3I	27

Índice de Tabelas

Tabela 1. Exemplos de derivados de tieno[2,3- <i>b</i>]pirazinas com atividade biológica, descritos em patentes.	2
Tabela 2. Exemplos de atividades biológicas de derivados de 1,2,3-triazole 1,4-disubstituidos.....	10
Tabela 3. Estrutura dos 7-[4-(Hetero)Ari]l-1H1,2,3-triazol-1-il)tieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilatos de metilo (3a-m).....	18

Índice de Esquemas

Esquema 1. Síntese de pirazinotienopirimidinonas.....	4
Esquema 2. Síntese de pirazinotienotriazolopirimidinonas.....	5
Esquema 3. Síntese de pirazinotienopirimidinas.....	6
Esquema 4. Síntese de pirazino[2',3':4,5]tieno[3,2- <i>d</i>]-1,2,3-triazinas.....	6
Esquema 5. Síntese de tienopirazinas e quinolinas por acoplamento de Sonogashira e reação com NaSH.....	7
Esquema 6. Cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alquinos terminais de Huisgen e Cu(I)AAC.....	9
Esquema 7. Síntese de 7-aminotieno[2,3- <i>b</i>]pirazina-6-carboxilato de metilo (1).....	15
Esquema 8. Mecanismo da reação da síntese do composto 1 a partir de tioglicolato de metilo e do 2-cloropirazina-2-carbonitrilo em meio básico.....	16
Esquema 9. Síntese <i>one-pot</i> de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituídos envolvendo duas etapas.....	17
Esquema 10. Ciclo catalítico de CuAAC proposto <i>Fokin et al.</i> adaptado no nosso sistema.....	21
Esquema 11: Síntese <i>one-pot</i> de 7-(hetero)aril-1- <i>H</i> -1,2,3-triazole em PEG-400.....	28

Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

[M + H] ⁺	Íon Molecular com adição de um H ⁺
A2780	Linha Celular de Carcinoma nos ovários
B-Raf	Proteína quinase serina/treonina B-Raf
COSY	¹ H- ¹ H <i>Correlated Spectroscopy</i>
COX-2	Ciclooxigenase-2
CuAAC	Cicloadição azida-alquino catalisada por Cu(I)
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo dupleto de dupletos
dt	Duplo tripleto
equiv.	Equivalente
H37Ra	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Hela 229	Linha Celular de Carcinoma cervical
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i>
HRMS (ESI)	<i>High-Resolution Mass Spectrometry (Electrospray ionization)</i>
IC ₅₀	Concentração mínima de inibição de crescimento de 50% das células tumorais às 48h de incubação
IRAK4	Inibidores seletivos do recetor de proteína quinase 4 associada ao recetor da interleucina-1.
<i>J</i>	Constante de acoplamento (Hz)
LLC-PK1	Linha Celular de Carcinoma renal
NCI-H460	Linha Celular de Carcinoma pulmonar de células não-pequenas.
NMDA	<i>N</i> -metil-D-Aspartato

p.f.	Ponto de fusão
PEG-400	PoliEtileno Glicol 400
ppm	Partes por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S _N Ar	Substituição Nucleofílica Aromática
TMSN ₃	Trimetilsililazida
TOF-MS	<i>Time-of-flight Mass Spectrometry</i>
USP25	Inibidores de ubiquitina protease 25
USP28	Inibidores de ubiquitina protease 28
δ	Desvio químico em ppm.

Capítulo I

Introdução

1. Introdução

1.1. Derivados de tieno[2,3-*b*]pirazina

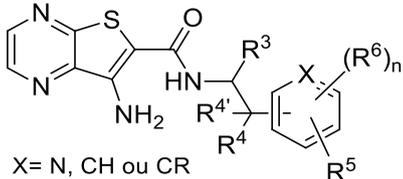
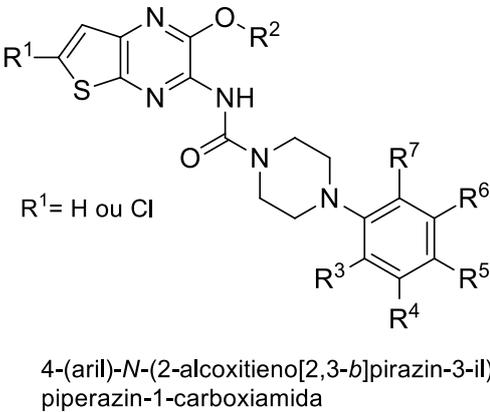
As tieno[2,3-*b*]pirazinas são uma importante classe de compostos heterocíclicos aromáticos, devido às atividades biológicas exibidas por alguns dos seus derivados. Estes compostos contêm 2 átomos de nitrogénio em posição 1,4 e um anel de tiofeno fundido como se mostra na **Figura 1**.



Figura 1. Estrutura da pirazina e da tieno[2,3-*b*]pirazina.

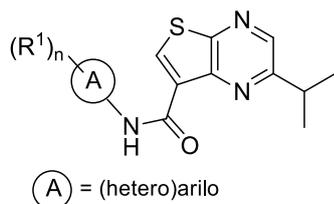
A seguir mostram-se alguns exemplos de derivados de tieno[2,3-*b*]pirazinas com a respetiva atividade biológica, referidos em patentes. (**Tabela 1**)

Tabela 1. Exemplos de derivados de tieno[2,3-*b*]pirazinas com atividade biológica, descritos em patentes.

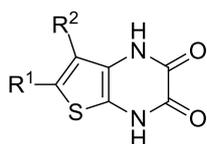
Estrutura geral	Atividade biológica
 <p>X= N, CH ou CR</p>	<p>Inibidores de ubiquitina protease 28 específicas (USP28) e/ ou da USP25 utilizados no tratamento do cancro, doenças inflamatórias, doenças auto-imunes e doenças infecciosas.¹</p>
 <p>R¹= H ou Cl</p> <p>4-(<i>aryl</i>)-<i>N</i>-(2-<i>alcoxitieno</i>[2,3-<i>b</i>]pirazin-3-<i>il</i>) piperazin-1-carboxiamida</p>	<p>Estes compostos inibem o crescimento e a proliferação de células cancerosas, induzindo apoptose, tendo sido também testados <i>in vivo</i> para o tratamento de vários tipos de cancro em vários animais e em humanos.²</p>

¹ Guerin, D. J.; Bair, K. W.; Caravella, J. A.; Ioannidis, S.; Lancia, Jr. D. R.; Li, H.; Mischke, S.; Ng, P. Y.; Richard, D.; Sciller, S. E. R.; Shelekhin, T.; Wang, Z. *Thienopyridazine carboxamides as ubiquitin-specific proteases inhibitors*. Aug 17, 2017, WO 2017139779, A1.

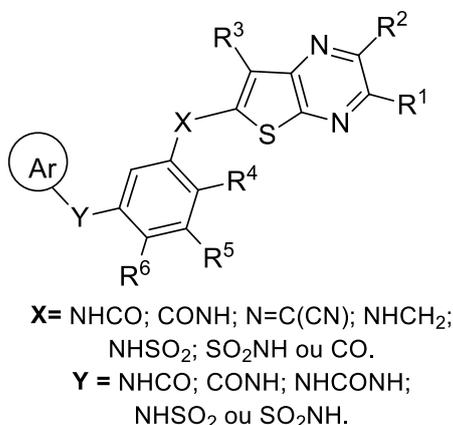
² Gong, Y. D.; Kwak, S.; Lee, E. S. *Substituted thieno[3,2-*b*]pyridazines for inhibiting cancer cell proliferation and inducing cancer cell apoptosis*. Jun 16, 2016, WO 2016093554, A1.



Inibidores seletivos do recetor proteína quinase (serina/treonina) 4 associada ao recetor da interleucina-1 (IRAK4), que se encontra envolvida na sinalização de respostas imunes.³



Compostos úteis para o tratamento de doenças neurológicas e psiquiátricas sendo potentes antagonistas seletivos para o local de ligação da glicina no recetor *N*-metil-D-aspartato (NMDAR) glutaminérgico.⁴



Compostos inibidores de proteína quinases (serina/treonina) B-RAF que fazem parte de uma via de sinalização de ativação do crescimento celular, sendo úteis no tratamento do cancro.⁵

Na literatura têm surgido algumas publicações com algumas sínteses de derivados de tieno[2,3-*b*]pirazinas e alguns destes com atividade biológica.

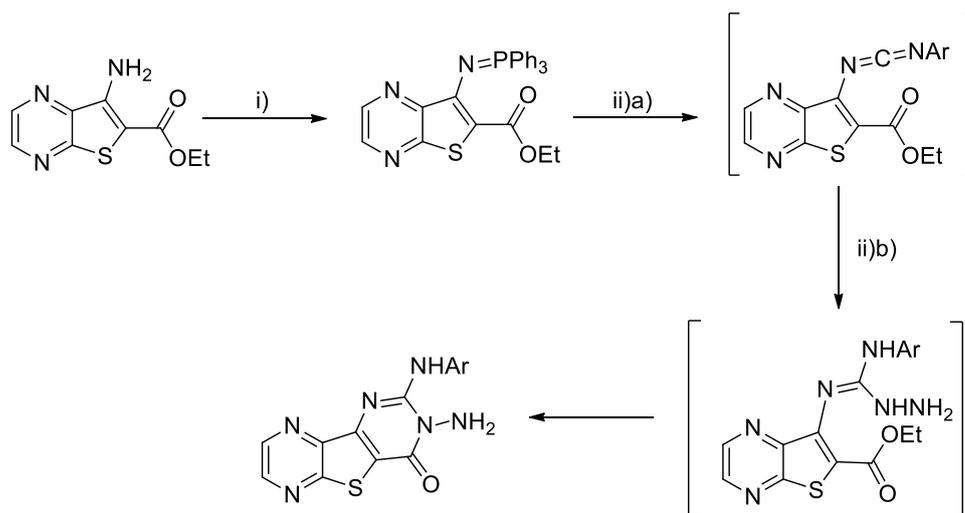
Em 2008 Quintela, Peinador *et al.* descreveram um eficiente método *one-pot* para a síntese de várias pirazinothienopirimidinonas por um processo dominó envolvendo aza-Wittig/adição nucleofílica intermolecular/ciclização intramolecular, a partir do precursor 7-amino-tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de etilo, semelhante ao usado nesta dissertação (Esquema 1).⁶

³ Lim, J.; Altman, M. D.; Gibeau, C. R. *Thienopyrazine inhibitors of IRAK4 activity*. Sep 15, 2016, WO 2016144849, A1.

⁴ Joergensen, A. S.; Faarup, P.; Guddal, E.; Jeppesen, L. *Thienopyrazine-2,3-diones as NMDA antagonists*. Apr 29, 1993, WO9308197, A1.

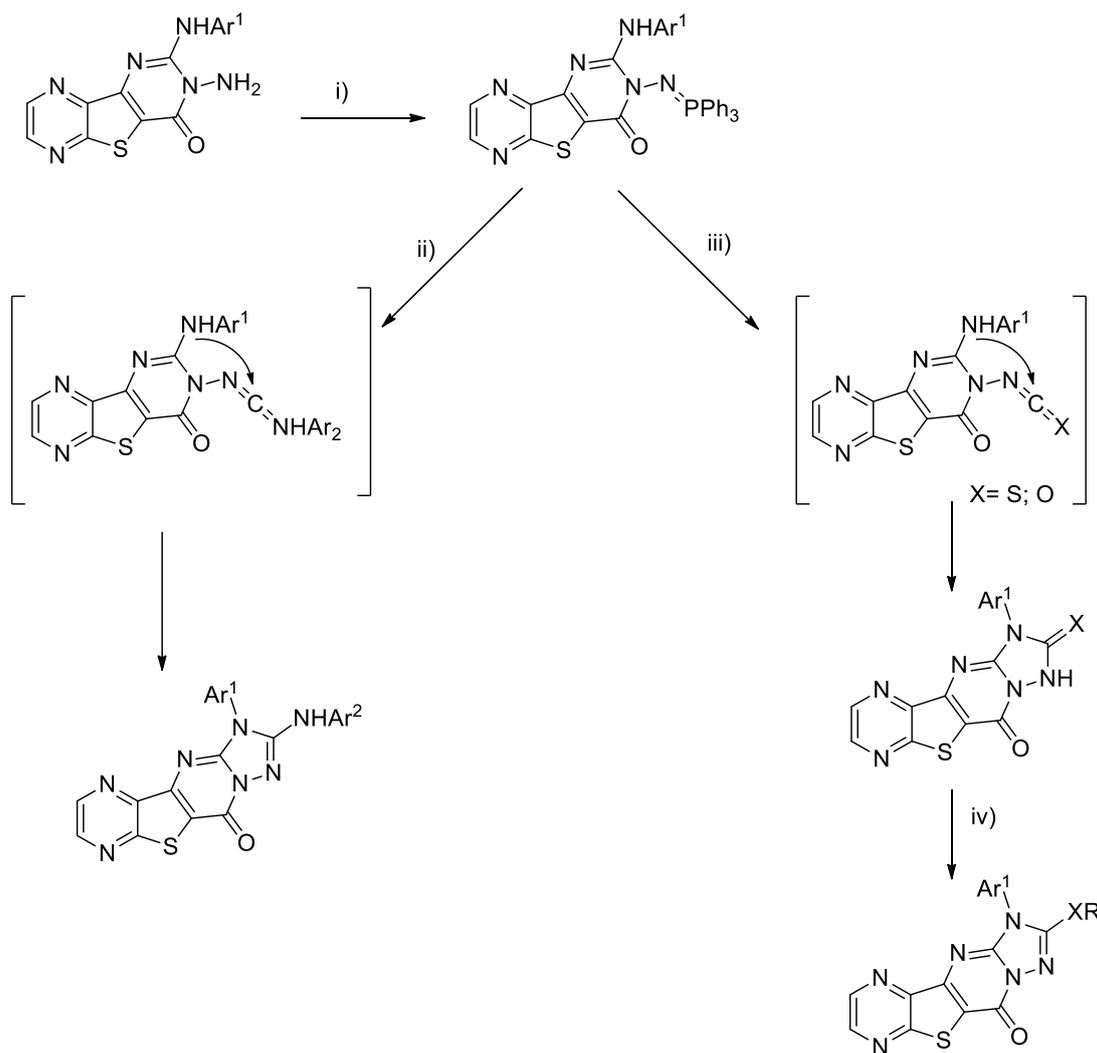
⁵ Folmer, B. J. B.; de Man, A. P. A.; Gernette, E. S.; Azevedo, R. C. R. G.; Ibrahim, H. *Thieno[2,3-*b*]pyrazine compounds as B-RAF inhibitors*. Dec 01, 2011, WO 2011147764, A1.

⁶ Blanco, G.; Quintela, J. M.; Peinador, C.; Application of the aza-Wittig reaction to the synthesis of pyrazinothienotriazolopyrimidinones: a new tetracyclic ring system. *Tetrahedron*, 2008, 64, 1333-1344.



Esquema 1. Síntese de pirazintienopirimidinonas. Reagentes e condições: i) C_2Cl_6 , $(C_6H_5)_3P$, Et_3N , THF, tubo selado; ii) (a) $Ar-N=C=O$, THF, t.a., 3 h; (b) NH_2NH_2 .

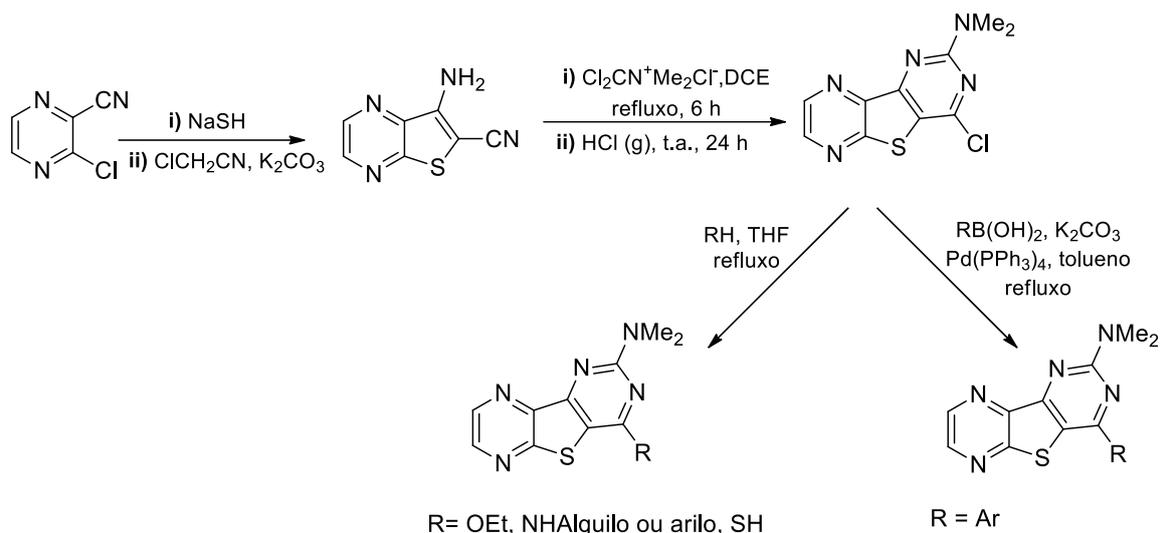
No mesmo trabalho, os autores sintetizaram ainda fosfazenos, a partir dos últimos compostos apresentados no **Esquema 1**, por um processo *tandem* aza-Wittig e reação com isocianatos, dissulfureto de carbono e dióxido de carbono originando diferentes pirazintienotriazolopirimidinonas (**Esquema 2 ii** e **iii**), respetivamente).



Esquema 2. Síntese de pirazinotienotriazolopyrimidinonas. Reagentes e condições: i) $\text{C}\cdot\text{Cl}_4$, $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}$, Et_3N , tolueno, 100°C ; ii) $\text{Ar}^2\text{N}=\text{C}=\text{O}$, THF, t.a., 3-4 h; iii), THF, 100°C , 3 h (CS_2), 8h (CO_2); iv) RY (haleto de alquilo), CH_3CN , K_2CO_3 , 60°C , 30 min.- 2 h.

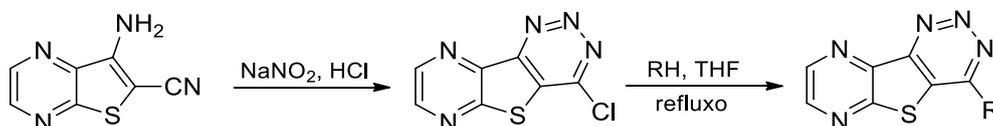
Em 2011, o mesmo grupo de investigação sintetizou várias pirazino[2',3':4,5]tieno[3,2-*b*]pirimidinas, iniciando o processo com o precursor 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carbonitrilo, também preparado, obtendo-se numa reação *one-pot* usando *N,N*-dimetildiclorometileneiminium (*sal de Viehe*) em 1,2-dicloroetano em refluxo e subsequente tratamento com $\text{HCl}(\text{g})$, uma pirazinotienopirimidina clorada. Esta originou derivados com várias substituições na posição do átomo de Cl por reação $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$ ou acoplamento de Suzuki-Miyaura (**Esquema 3**).⁷

⁷ Fernández-Mato, A.; Peinador, C.; Quintela, J. M. Synthesis and Characterization of Substituted Pyrazino[2',3':4,5]thieno[3,2-*d*]pyrimidines and Related Molecules. *Synthesis*, **2011**, *6*, 943-953.



Esquema 3. Síntese de pirazinotienopirimidinas.

Partindo do mesmo precursor, prepararam ainda o sal de diazônio correspondente com nitrito de sódio e HCl, tendo sintetizado várias pirazino[2',3':4,5]tieno[3,2-*d*]-1,2,3-triazinas, depois de várias substituições nucleofílicas do átomo de Cl (**Esquema 4**).



Esquema 4. Síntese de pirazino[2',3':4,5]tieno[3,2-*d*]-1,2,3-triazinas.

As pirazinotienopirimidinas e as pirazinotienotriazinas sintetizadas obtidas, foram testadas *in vitro* para atividade antitumoral contra diversas linhas celulares, tais como, LLC-PK1 (carcinoma nos rins), NCI-H460 (carcinoma nos pulmões), Hela 229 (carcinoma no cérvix) e A2780 (carcinoma nos ovários). Estes compostos não revelaram, em geral, atividade antitumoral exceto o derivado de pirazinotienopirimidina representado na figura 2 na linha celular A2780 ($IC_{50} = 8,6 \mu M$), sendo, no entanto menos ativo do que a cis-platina ($IC_{50} = 0,47 \mu M$).

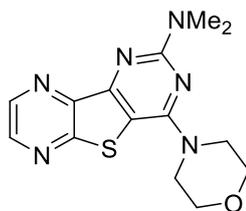
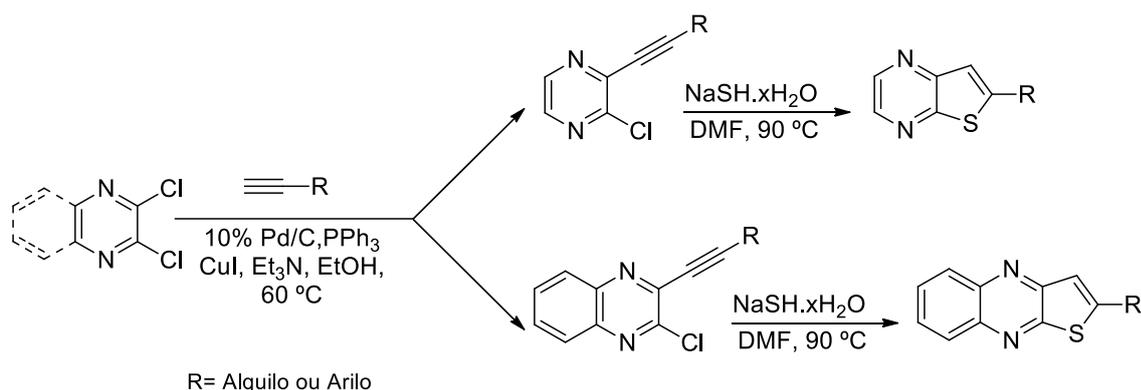


Figura 2. Estrutura do derivado de pirazintienopirimidinas, com melhor atividade antitumoral na linha celular A2780.

Em 2014 Raju, Pal *et al.* descreveram a síntese de tieno[2,3-*b*]pirazinas/ quinoxalinas a partir de 2-cloro-3-alcinilpirazinas/quinoxalinas usando acoplamento de Sonogashira C-C catalisado por Pd/Cu seguido de reação com NaSH (**Esquema 5**). Alguns dos compostos obtidos mostraram indução de apoptose em embriões de *zebrafish*, sem hepatotoxicidade e teratogenicidade no mesmo modelo, o que os torna promissores para serem usados em medicina.⁸



Esquema 5. Síntese de tienopirazinas e quinolinas por acoplamento de Sonogashira e reação com NaSH.

Esta metodologia já tinha sido aplicada em 2012 no nosso grupo de investigação à síntese de 2-(hetero)ariltieno[2,3-*b*]piridinas e 2-(hetero)ariltieno[3,2-*b*]piridinas (**Figura 3**) a partir de 2-cloro-3-bromopiridina e 2-bromo-3-cloropiridina, respetivamente e (hetero)arilalquinos no acoplamento de Sonogashira e usando a seguir Na₂S, num procedimento *one-pot*.⁹ Em 2017 foram obtidos o mesmo tipo de compostos usando as mesmas condições a partir dos mesmos precursores e também da 2,3-

⁸ Kolli, S. K.; Nakhi, A.; Medishetti, R.; Yellanki, S.; Kulkarni, P.; Raju, R. R.; Pal, M. NaSH in the construction of thiophene ring fused with *N*-heterocycles: A rapid and inexpensive synthesis of novel small molecules as potential inducers of apoptosis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4460-4465.

⁹ Peixoto, D.; Begouin, A.; Queiroz, M.-J. R. P. Synthesis of 2-(hetero)arylthieno[2,3-*b*] or [3,2-*b*]pyridines from 2,3-dihalopyridines, (hetero)arylalkynes, and Na₂S. Further functionalizations. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 7082-7094.

dicloropirazina e fenilacetileno, que originaram, depois de bromação e acoplamento de Suzuki na posição 3, 3-(hetero)aril-2-fenil[3,2-*b*] e [2,3-*b*]piridinas ou na posição 7, 7-(hetero)aril-6-feniltieno[2,3-*b*]pirazinas

Figura 3.¹⁰

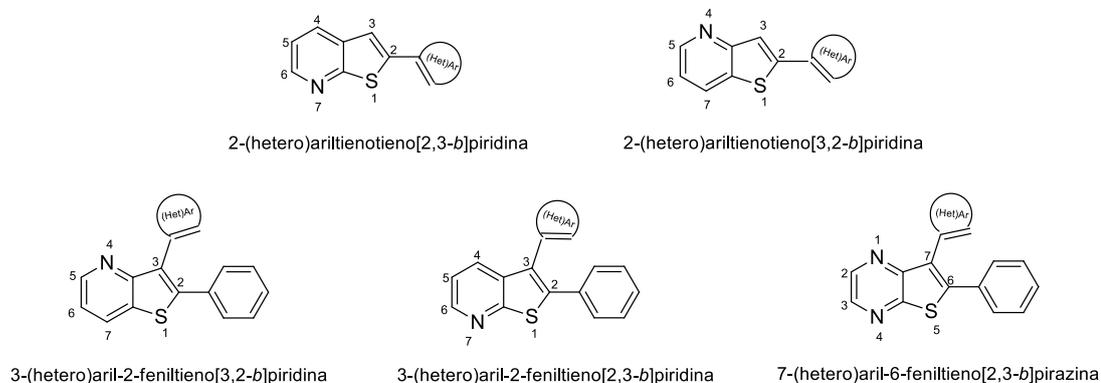


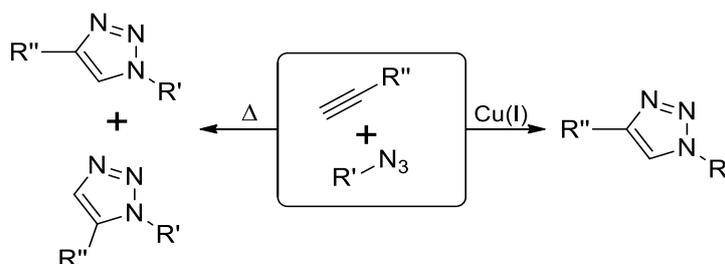
Figura 3. Estruturas obtidas no nosso grupo de investigação.^{9,10}

¹⁰ Campos, J. F.; Queiroz, M.-J. R. P.; Berteina-Raboin, S. Synthesis of New Thieno[3,2-*b*] pyridines and Thieno[2,3-*b*]pyrazines by Palladium Cross-Coupling *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 6945-6948.

1.2. Derivados de 1,2,3-triazole

Nas últimas décadas, a síntese de compostos heterocíclicos contendo a unidade de 1,2,3-triazole tem mostrado uma grande relevância na área da química medicinal devido às suas diversas atividades biológicas, desempenhando também um papel importante na pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos.¹¹

A síntese da unidade de 1,2,3-triazole foi inicialmente desenvolvida por Huisgen¹² por cicloadição 1,3-dipolar térmica entre azidas e alquinos terminais, obtendo-se os dois isômeros 1,4 e 1,5-dissubstituídos. No entanto, só depois da descoberta independente pelos grupos de Fokin and Sharpless¹³ e pelo grupo de Meldal¹⁴ em 2002, da catálise de Cu(I) nesta reação em que se obtinha só o produto 1,4-dissubstituído veio tornar a sua síntese muito útil (**Esquema 6**).



Esquema 6. Cicloadição 1,3-dipolar entre azidas e alquinos terminais de Huisgen e Cu(I)AAC.

A reação *Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloaddition* (CuAAC) foi considerada uma reação click, já que seguia os critérios estabelecidos por Sharpless *et al.* em 2001, para este tipo de reações:¹⁵

- Reação modular;
- Reagentes de partida de fácil aquisição ou obtenção;
- Extensa aplicação;
- Originar só um produto principal com alto rendimento;
- Purificação preferencialmente por cristalização ou destilação:

¹¹ Aisa, H. A.; Zhao, J.; Bozorov, K. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 3511-3531 e referências citadas.

¹² Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and future. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-598.

¹³ Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K.B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper (I)-Catalyzed Regioselective "Ligation" of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

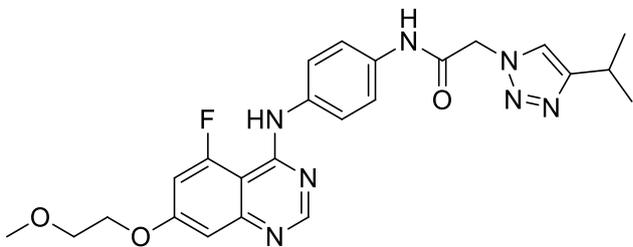
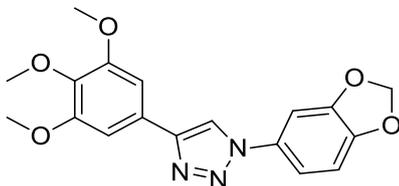
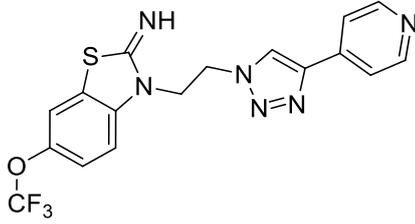
¹⁴ Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.

¹⁵ Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.

- Produtos secundários fáceis de remover por métodos não-cromatográficos;

Compostos contendo a unidade 1,2,3-triazole 1,4-disubstituído têm apresentado várias atividades biológicas como por exemplo: agentes antitumorais, antimicrobianos, antituberculosos, antimaláricos, antileishmaniose, antivirais, antidiabéticos, anti-inflamatórios, antifúngicos e neuroprotetores.¹⁶ Na Tabela 2 apresentam-se exemplos deste tipo de compostos.

Tabela 2. Exemplos de atividades biológicas de derivados de 1,2,3-triazole 1,4-disubstituídos.

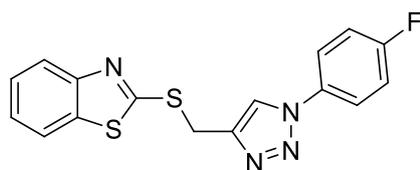
Estrutura	Atividade biológica
	<p style="text-align: center;">Antitumoral¹⁷</p> <p>Inibidor da tirosina quinase envolvidos no cancro estomacal gastrointestinal.</p>
	<p style="text-align: center;">Anti-leishmania¹⁸</p> <p>Apresentam boa atividade contra <i>L. amazonensis</i> e <i>L. infantum</i>. Além disso, são potenciais candidatos para estudos <i>in vivo</i> devido a apresentarem uma baixa citotoxicidade, com grandes níveis de seletividade.</p>
	<p style="text-align: center;">Neuroprotetor¹⁹</p> <p>Apresenta uma boa atividade contra degeneração neurológica, tendo sido estudada para tratamento de esclerose lateral amiotrófica.</p>

¹⁶ Bozorov, K.; Zhao, J.; Aisa, H. A. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recente overview. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2019**, *27*, 3511–353.

¹⁷ Kettle, J. G.; Anjum, R.; Barry, E.; Bhavsar, D.; Brown, C.; Boyd, S.; Campbell, A.; Goldberg, K.; Grondine, M.; Guichard, S.; Hardy, C.; Hunt, T.; Jones, R.; Li, X.; Moleva, O.; Ogg, D.; Overman, R.; Packer, M. J.; Pearson, S.; Schimpl, M.; Shao, W.; Smith, A.; Smith, J.; Stead, D.; Stokes, S.; Tucker, M.; Ye, Y. Discovery of N-[4-dimethoxyquinazolin-4-yl]oxy]phenyl]-2-[4-(propano-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]acetamide (AZD3229), a potent pan-KIT mutant inhibitor for the treatment of gastrointestinal stromal tumors. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 8797-8810.

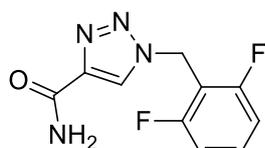
¹⁸ Cassamale, T. B.; Costa, E. C.; Carvalho, D. B.; Cassemiro, N. S.; Tomazela, C. C.; Marques, M. C. S.; Ojeda, M.; Matos, M. F. C.; Albuquerque, S.; Arruda, C. C. P.; Baroni, A. C. M. Synthesis and Antitrypanosomastid Activity of 1,4-Diaryl-1,2,3-triazole Analogues of Neolignans Veraguensin, Grandisin and Machilin G. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 1217-1228.

¹⁹ Sweeney, J. B.; Rattray, M.; Pugh, V.; Powell, L. A. Riluzole-Triazole Hybrids as Novel Chemical Probes for Neuroprotection in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 552-556.



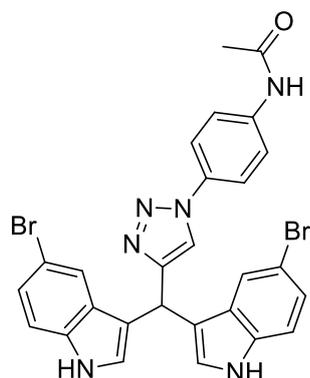
Anti-inflamatório²⁰

Este composto mostrou ser inibidor seletivo da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) com atividade comparável ao ibuprofeno, sem causar ulceração gástrica.



Anti-convulsivante e Antipiléptico²¹

A rufinamida é um composto anticonvulsivante e antipiléptico capaz de tratar, por exemplo, a síndrome de *Lennox-Gastuat*. Esta atua nos canais de sódio estabilizando as membranas, impedindo a disseminação da atividade parcial das crises.



Anti-tuberculose²²

Este composto foi sintetizado e testado *in vitro* e apresentou uma inibição considerável contra *M. Tuberculosis* H37Ra, em relação ao fármaco de referência, a rifampicina.

Os compostos que contêm a unidade de 1,2,3-triazole são relevantes a nível farmacológico uma vez que são estáveis em condições de oxidação e redução assim como à hidrólise tanto em meio ácido ou básico, refletindo uma elevada estabilização aromática e uma resistência relevante à degradação metabólica. Ao mesmo tempo, possuem um elevado momento dipolar, cerca de 5D, participando

²⁰ Shafi, S.; Alam, M. M.; Mulakayala, N.; Mulakayala, C.; Vanaja, G.; Kalle, A. M.; Pallu, R.; Alam, M. S. Synthesis of novel 2-mercapto benzothiazole and 1,2,3-triazole based bis-heterocycles: Their anti-inflammatory and anti-nociceptive activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *49*, 324-333.

²¹ Gilchrist, J.; Dutton, S.; Diaz-Bustamante, M.; McPherson, A.; Olivares, N.; Kalia, J.; Escayg, A.; Bosmans, F. Na.1.1 Modulation by a Novel Triazole Compound Attenuates Epileptic Seizures in Rodents. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 1204-1212.

²² Danne, A. B.; Choudhari, A. S.; Chakraborty, S.; Sarkar, D.; Khedkar, V. M.; Shingate, B. B. Triazole-diindolymethane conjugates as new antitubercular agents: synthesis, bioevaluation, and molecular docking. *Med.Chem.Commun.*, **2018**, *9*, 1114-1130.

ativamente na formação de ligações de hidrogénio, bem como interações de empilhamento π - π e dipolo-dipolo o que melhora a sua solubilidade e facilita a sua interação com os alvos biológicos.^{23,24}

Em 2006 van Maarseveen *et al.*,²⁵ evidenciaram analogias estruturais entre a unidade de 1,2,3-triazole 1,4-dissubstituída e a ligação amida. Estes sistemas aromáticos agem como unidades de ligação rígidas que podem mimetizar a posição dos átomos assim como as propriedades eletrónicas da ligação peptídica, com a vantagem de não serem tão suscetíveis à clivagem hidrolítica. Uma diferença encontrada entre a unidade 1,2,3-triazole 1,4-dissubstituída e a ligação peptídica é o facto de que na estrutura do triazole existe um átomo extra, o que conseqüentemente leva ao aumento da distância entre os substituintes R^1 e R^2 . No caso da unidade do triazole as propriedades de dador ou aceitador de hidrogénio são mais marcantes do que na ligação amida, uma vez que o momento dipolar do triazole (5D) é superior do que o da ligação amida (3,6D) (**Figura 4**).

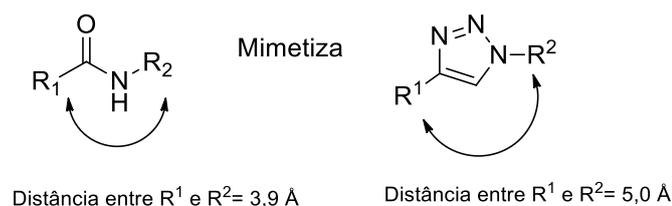


Figura 4. Representação das analogias estruturais 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituídos e amidas.

Pensa-se que muitos derivados de 1,2,3-triazole possuem atividade biológica variada devido ao facto de possuírem a capacidade de mimetizar certos aspetos da ligação peptídica.

²³ Ferreira, S. B.; Sodero A. C.; Cardoso, M. F.; Lima, E. S.; R. Kaiser, C.; Silva, F. P.; Ferreira, V. F. Synthesis, Biological Activity, and Molecular Modeling Studies of 1*H*-1,2,3-Triazole Derivatives of Carbohydrates as α -Glucosidases Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2364-2375.

²⁴ Haider, S.; Alam, S. M.; Hamid, H. 1, 2, 3-Triazoles: Scaffold with Medicinal Significance. *Inflamm. Cell Signal.* **2014**, *1*, 1-12.

²⁵ Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. Cu^I-Catalyzed Alkyne-Azide "Click" Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *1*, 51-68.

Neste trabalho sintetizaram-se novos 1,4-di(hetero)aril-1,2,3-triazoles numa reação *one-pot*, a partir 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo, *via* a azida correspondente e (hetero)arilalquinos numa reação de cicloadição azida-alquino catalisada por Cu(I), tipo *click*.

Os compostos contendo as unidades de tieno[2,3-*b*]pirazina e de 1,2,3- triazole 1,4-disubstituída possuem potencial atividade biológica, que será avaliada posteriormente.

Capítulo II

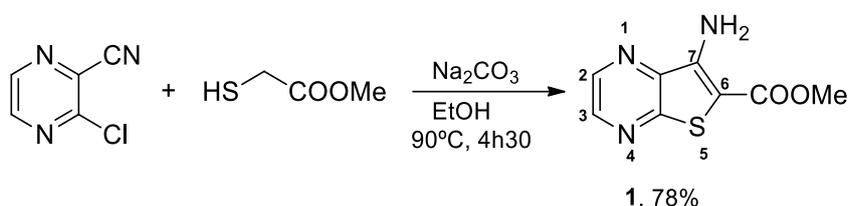
Discussão de Resultados

2. Discussão de Resultados

2.1. Síntese do reagente de partida

2.1.1. Síntese de 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (1)

Sintetizou-se o 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (**1**) com alto rendimento (78%) por reação do 3-cloropirazina-2-carbonitrilo com tioglicolato de metilo, utilizando um excesso de base (1,3 equiv. de Na₂CO₃) (Esquema 7).



Esquema 7. Síntese de 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (**1**).

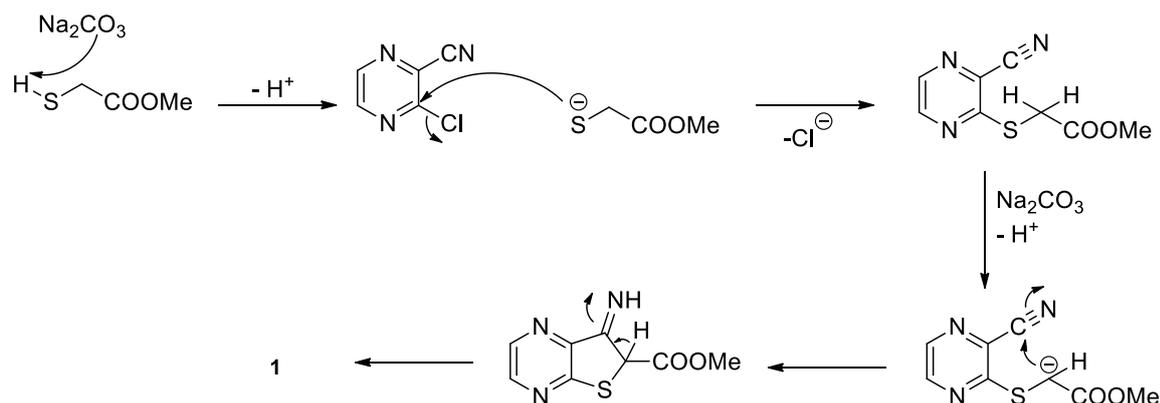
O método de síntese do composto **1** foi descrito em 2014 por *Herdewijn et al.* usando o 3-cloropirazina-2-carbonitrilo, tioglicolato de metilo e Et₃N na presença de MeOH, em refluxo durante a noite e apenas foi caracterizado só por ¹H-RMN.²⁶ Em 2018 o nosso grupo de investigação caracterizou o composto **1** por ¹H e ¹³C-RMN.²⁷

O mecanismo da reação em meio básico ocorre por substituição nucleofílica aromática (S_NAr) do átomo de cloro pelo átomo de enxofre do tioglicolato de metilo, e pela formação de um carbanião, no átomo de carbono adjacente ao átomo de enxofre e ao éster metílico, que vai atacar o grupo nitrilo. Segue-se a captação de um átomo de hidrogénio pelo nitrogénio e posterior aromatização originando a amina livre na posição 7, (Esquema 8) conforme descrito anteriormente para tienopiridinas.²⁸

²⁶ Leonczack, P.; Gao, L.-J.; Ramadori, A.T.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Jonghe, S.; Herdewijn, P. Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies of 2-(1,3,4-Oxadiazole-2(3H)-thione)-3-amino-5-arylthieno[2,3-*b*]pyridines as Inhibitors of DRAK2. *ChemMedChem* **2014**, *9*, 2587-2601.

²⁷ Campos, J.F.; Queiroz, M.-J.R.P.; Berteina-Raboin, S. Synthesis of New Annulated Pyrazinotrienotriazolopyrimidinones and Triazolothienopyrazines. *Synthesis* **2018**, *50*, 1159-1165.

²⁸ Litvinov, V. P.; Dotsenko, V. V.; Krivokolysko, S. G. The Chemistry of Thienopyridines. *Adv. Heterocycl. Chem.* **2007**, *93*, 117-178.



Esquema 8. Mecanismo da reação da síntese do composto **1** a partir de tioglicolato de metilo e do 2-cloropirazina-2-carbonitrilo em meio básico.

O composto **1** apresentou o espectro de $^1\text{H-RMN}$ em CDCl_3 idêntico ao da literatura^{26,27} e foi usado como reagente de partida para as reações *one-pot* de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ originando a azida correspondente, seguida da reação de CuAAC.

2.2. Síntese de novos 7-[4-(Hetero)aril]-1*H*,1,2,3-triazol-1-il)tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilatos de metilo (**3**)

2.2.1. Síntese *one-pot* via a azida correspondente e cicloadição azida-alquino catalisada por cobre (I)

Das et al. reportaram em 2005 o uso de nitrito de *tert*-butilo ($t\text{-BuONO}$) com azida sódica (NaN_3) na síntese de arilazidas a partir de arilaminas. Este processo envolvia o uso de um grande excesso de reagentes, 12 equiv. de $t\text{-BuONO}$ e 3 equiv. de NaN_3 , o que torna a reação desvantajosa. Para além disso, existem problemas associados à azida sódica visto que este reagente é considerado explosivo.²⁹ Mais tarde, em 2007 *Moses et al.* substituíram NaN_3 por TMSN_3 para a síntese das azidas aromáticas a partir das aminas correspondentes em condições reacionais suaves (1,5 equiv. de $t\text{-BuONO}$ e 1,2 equiv. de TMSN_3 a $0\text{ }^\circ\text{C-t.a}$).³⁰ Estas reações podem ser utilizadas tanto em meios aquosos como em meios orgânicos o que as torna bastante interessantes no ponto de vista sintético.

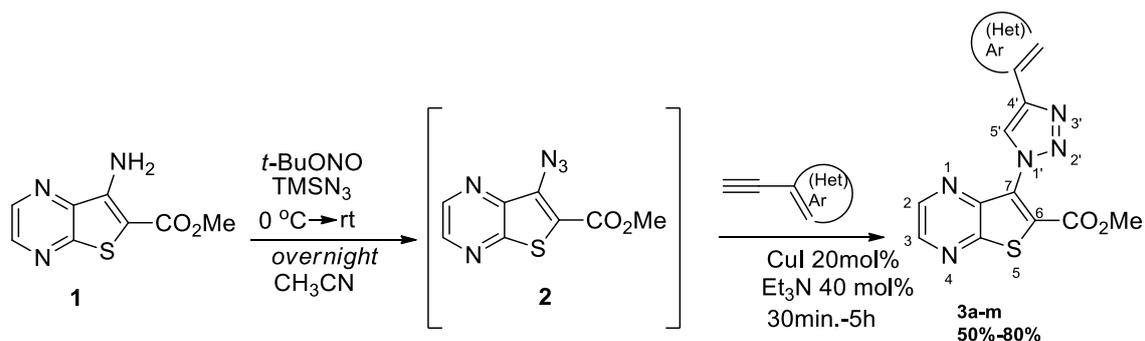
²⁹ Das, J.; Patil, S. N.; Awasthi, R.; Narasimhulu, C. P.; Trehan, S. An Easy Access to Aryl Azides from Aryl Amines under Neutral Conditions. *Synthesis*. **2005**, *11*, 1801-1806.

³⁰ Barral, K.; Moorhouse, A. D.; Moses, J. E. Efficient Conversion of Aromatic Amines into Azides: A *One-Pot* Synthesis of Triazole Linkages. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809-1811.

Neste trabalho, usaram-se as condições reportadas por *Moses et al.* para sintetizar a azida intermediária **2** (Esquema 9), tendo em conta as vantagens referidas anteriormente. Apesar de não se ter isolado a azida, visto que esta já se encontra descrita na literatura,²⁷ a obtenção de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituídos é a evidência da sua formação e, para além disso, a conversão da amina **1** em azida **2** foi acompanhada por TLC até desaparecimento da primeira.

Embora *Fokin, Sharpless et al.*,¹³ *Medal et al.*¹³ e *Moses et al.*²⁹ tenham usado CuSO_4 e um agente redutor (ascorbato de sódio) para se formar Cu(I) *in situ* para a reação de CuAAC, no nosso sistema somente o uso de CuI diretamente se mostrou efetivo para a formação dos triazoles correspondentes, por reação da azida **2** com diversos (hetero)arilalquinos. Queiroz e Rodrigues em 2016 já tinham reportado o mesmo para o sistema tieno[3,2-*b*]piridina, visto que quando usavam CuSO_4 e ascorbato de sódio, a azida formada revertia à amina inicial.³¹ Em 2009 *Liang et al.*³² já tinham usado CuI e Et_3N , baseados na estabilização da espécie catalítica pela base orgânica, promovendo além disso a formação de um complexo ativo de acetileno de cobre e deste modo a reação *click*.

Neste trabalho os 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituídos **3a-m** foram obtidos nas condições apresentadas no esquema 9, com rendimentos bons a altos após purificação cromatográfica, não obedecendo assim ao critério da química de *click* relativamente à purificação.



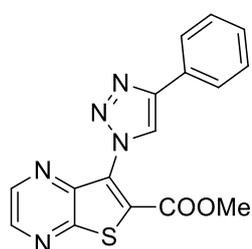
Esquema 9. Síntese *one-pot* de 1,2,3-triazoles 1,4-disubstituídos envolvendo duas etapas.

³¹ Rodrigues, J. & Queiroz, M.-J. R. P. Efficient *One-Pot* Synthesis of Alkyl 3-[4-(Aryl or Heteroaryl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl]thieno[3,2-*b*]pyridine-2-carboxylates by 'Click' Cu(I) -Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition. *Synthesis*, **2016**, 48, 2904–2910.

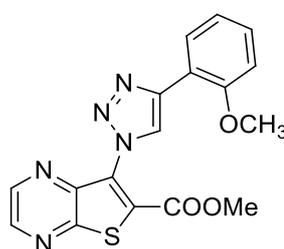
³² Wu, L.-Y.; Xie, Y.-X.; Chen, Z.-S.; Niu, Y.-N.; Liang, Y.-M. A Convenient Synthesis of 1-Substituted 1,2,3-Triazoles via $\text{CuI}/\text{Et}_3\text{N}$ Catalyzed 'Click Chemistry' from Azides and Acetylene Gas. *Synlett*, **2009**, 9, 1453-1456.

Na tabela 3 apresentam-se os novos 7-[4-(hetero)aryl-1*H*,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilatos de metilo (**3a-m**) que foram completamente caracterizados por p.f.; ¹H e ¹³C-RMN incluindo a técnica diferencial de DEPT θ 135° e correlações bidimensionais homo ¹H-¹H (COSY) e heteronucleares ¹H-¹³C (HSQC e HMBC) para atribuir sinais, ¹⁹F-RMN, HRMS (ESI): [M+H]⁺.

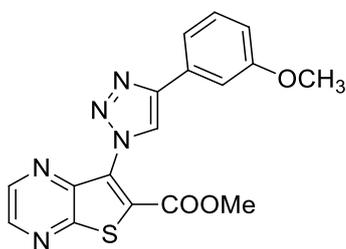
Tabela 3. Estrutura dos 7-[4-(hetero)aryl-1*H*,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilatos de metilo (**3a-m**), tempo de reação e rendimentos após coluna cromatográfica.



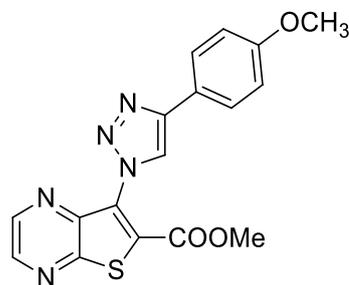
3a, 30min., 50%



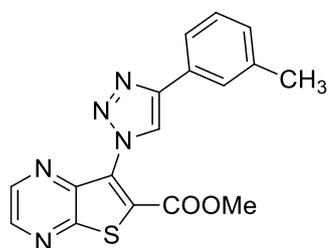
3b, 50min., 60%



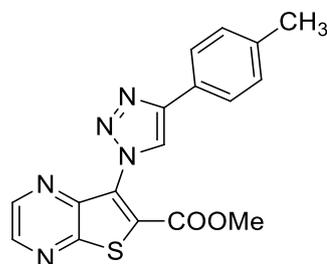
3c, 2h, 55%



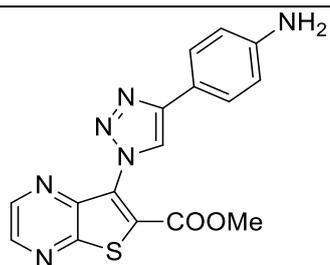
3d, 1h, 62%



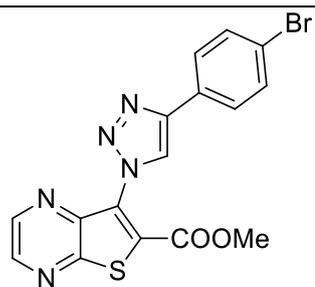
3e, 30min., 50%



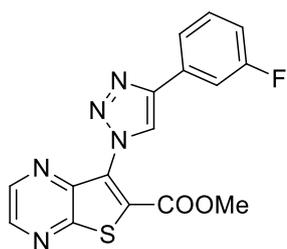
3f, 2h, 50%



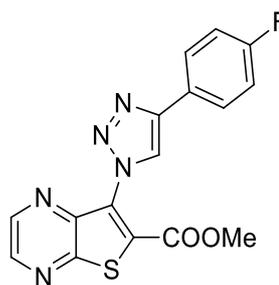
3g, 5h, 60%



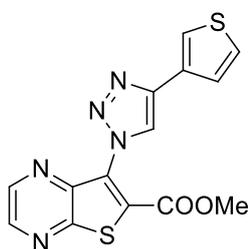
3h, 4h, 55%



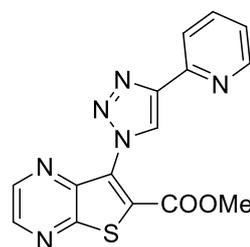
3i, 3h, 50%



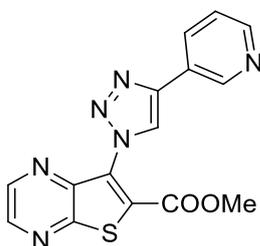
3j, 2h, 60%



3k, 2h30min., 63%



3l, 5h, 75%

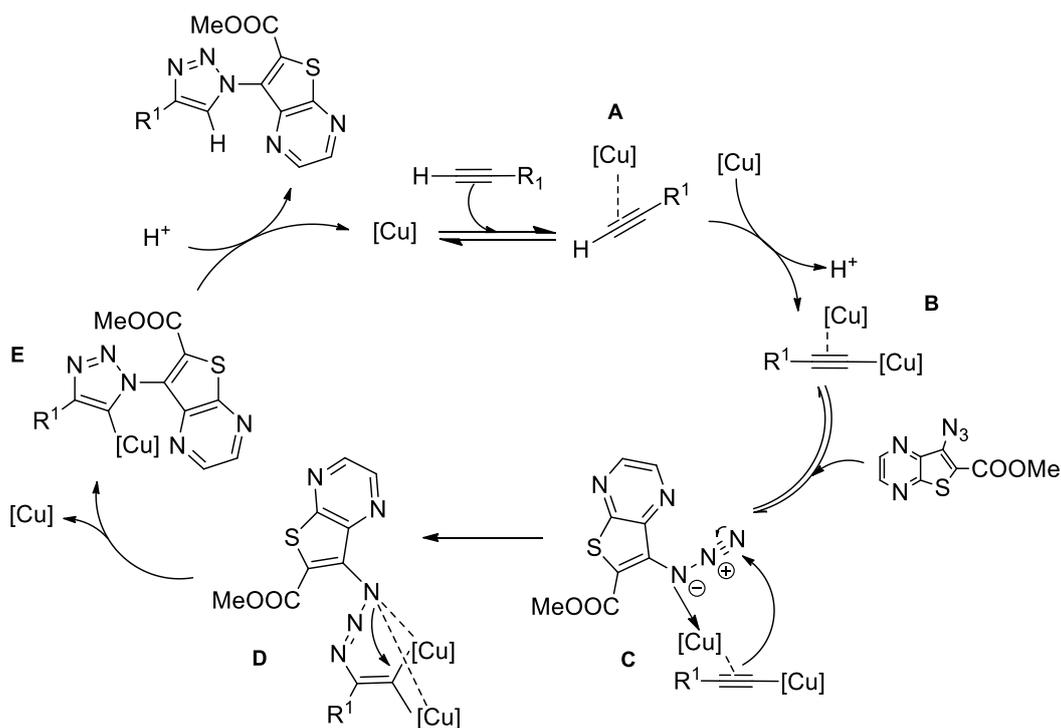


3m, 5h, 80%

Pela análise da tabela 3, os compostos foram obtidos com rendimentos bons a elevados (50%-80%) no processo *one-pot*. Os (hetero)arilalquinos, derivados de 2-piridina e 3-piridina, anéis deficientes em elétrons, permitiram a obtenção dos compostos **3l** e **3m** com os maiores rendimentos (75 e 80% respectivamente). No entanto, o (hetero)arilalquino derivado do 3-tiofeno, anel rico em elétrons, originou o 1,2,3-triazole correspondente **3k**, também com bom rendimento (63%). Os compostos resultantes da reação com arilalquinos com substituintes na posição *para* tanto dadores como retiradores de elétrons, foram obtidos com bom rendimento, sendo o derivado *p*-CH₃, **3f** sido obtido com menor rendimento (50%). As substituições na posição *meta* com dadores e retiradores de elétrons, originaram os 1,2,3-triazoles correspondentes, apenas com bons rendimentos, comparáveis ao composto **3a** derivado do fenilacetileno (50-55%). O composto derivado do arilalquino com *o*-OMe, **3b**, foi obtido com um rendimento de 60%. Pelo exposto, não é possível estabelecer uma relação entre a estrutura do arilalquino e o rendimento da reação.

Inicialmente o mecanismo proposto para a reação de CuAAC envolvia intermediários mononucleares de Cu, no entanto somente a partir de uma publicação de *Fokin et al.* em 2013,³³ se inferiu a existência de intermediários dinucleares por medidas de calorimetria da reação *in situ* e ensaios de cruzamento de isótopos de Cu, usando Cu com a distribuição isotópica natural ^{63/65}Cu 69:31 para formar o acetileno de cobre na presença da azida e preparando o isótopo puro ⁶³Cu, que foi usado noutro complexo de cobre que promoveu a ciclização a um intermediário triazolil-Cu do tipo **E** (**Esquema 10**), tendo sido detetado em espectrometria de massa (TOF-MS) um enriquecimento de ^{63/65}Cu 85:15 neste intermediário. Baseados neste estudo os autores propuseram um mecanismo que foi aqui adaptado ao nosso sistema (**Esquema 10**).

³³ Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science*, **2013**, *340*, 457-460.



Esquema 10. Ciclo catalítico de CuAAC proposto *Fokin et al.*³³ adaptado no nosso sistema.

O intermediário **B** é um acetileno de Cu que contém outro átomo de Cu a complexar com o sistema π . Este complexo, coordena de forma reversível com a azida orgânica formando o complexo **C**. Após este passo dá-se o ataque nucleofílico do nitrogénio-3 da azida ao carbono- β do acetileno originando a ligação covalente C-N, produzindo o intermediário dinuclear de Cu, **D**. Esta espécie evolui para o triazolileno-Cu **E** por ciclização. Por sua vez, a captação de um protão pelo anel de triazolileno-Cu origina o produto 1,2,3-triazole 1,4-dissubstituído com saída de Cu para um novo ciclo catalítico. Os autores referem ainda que estes estudos suportam que os dois átomos de Cu são quimicamente equivalentes e participam de forma concertada para a formação regioseletiva de 1,2,3-triazoles 1,4-dissubstituídos. **(Esquema 10)**

Apesar destes estudos e dados mecanísticos, a deteção direta dos intermediários dinucleares de Cu em CuAAC só foi possível em 2015 por *De Angelis et al.* usando espectrometria de massa ESI.³⁴

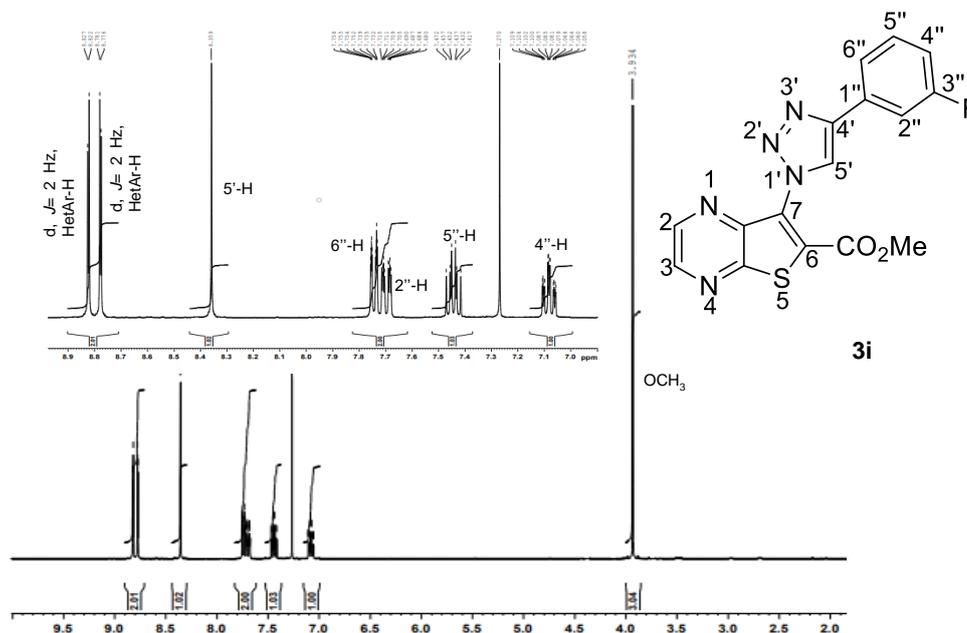
Os compostos **3a-m** foram caracterizados por p.f., espectroscopia de ^1H , ^{13}C , ^{19}F , incluindo correlações homo ^1H - ^1H COSY e heteronucleares ^1H - ^{13}C HMQC e espectrometria de massa de HRMS (ESI). Apresentam-se a seguir exemplos da caracterização.

Nas figuras 5, 6, 7 e 8 apresentam-se espetros de ^1H , ^{13}C RMN, correlações heteronucleares ^1H -

³⁴ Iacobucci, C.; Reale, S.; Gal, J.-F.; Angelis, F. Dinuclear Copper Intermediates in Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Directly Observed by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 3065-3068.

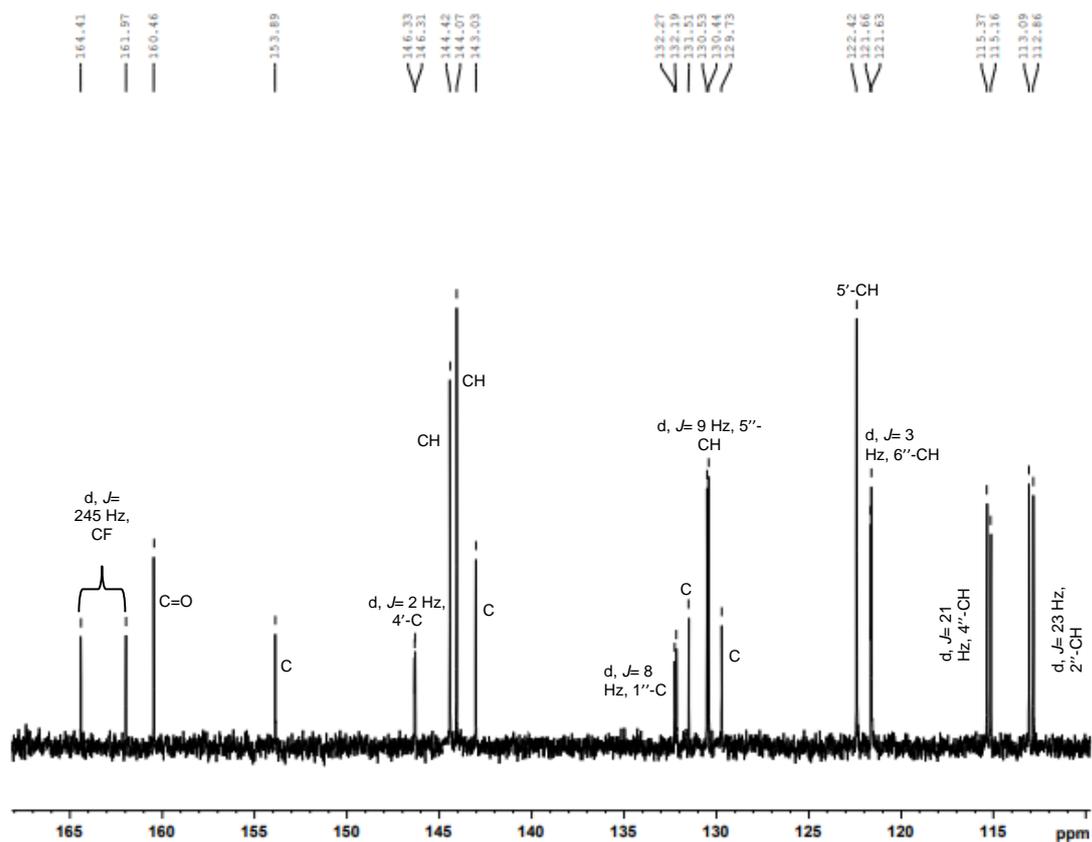
^{13}C (HMQC) e espectro ^{19}F RMN para o composto **3i**.

Na figura 5 observam-se o singlete dos prótons do grupo OMe a 3,93 ppm os sinais do anel que contém o F como multipletos devido ao seu acoplamento com os prótons, para além do singlete 5'-H do anel de triazole a 8,36 ppm e os dois dupletos do anel de pirazina centrados a 8,78 e 8,82 com $J = 2,0$ Hz.

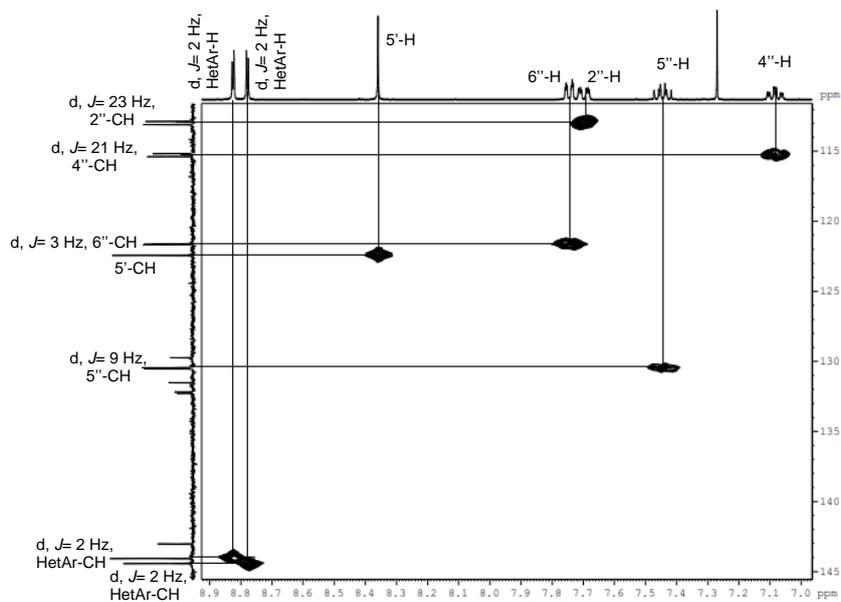


Na expansão da zona aromática do espectro de ^{13}C -RMN do composto **3i** (Figura 6) observam-se os dupletos característicos resultantes dos acoplamentos do átomo de F com diversos carbonos, com as respetivas constantes de acoplamento. O sinal relativo ao C-F aparece como um duplete centrado a 163,2 ppm com $J = 245$ Hz. Os carbonos em *orto* relativamente ao F aparecem como dupletos centrados a 115,3 ppm com $J = 21,0$ Hz (4''-CH) e a 113,0 ppm com $J = 23,0$ Hz (2''-CH) e foram identificados pelas correlações heteronucleares a uma ligação no espetro de HMQC (Figura 7). Os carbonos em *meta* 5''-CH e 1''-C aparecem como dupletos centrados a 130,5 ppm com $J = 9,0$ Hz e a 132,2 ppm com $J = 8,0$ Hz, respetivamente. O carbono em *para*, 6''-CH aparece como um duplete centrado a 122,0 ppm com $J = 3,0$ Hz. Pode ainda observar-se um duplete centrado a 146,3 ppm com $J = 2,0$ Hz correspondente ao carbono 4'-C, do anel de triazole.

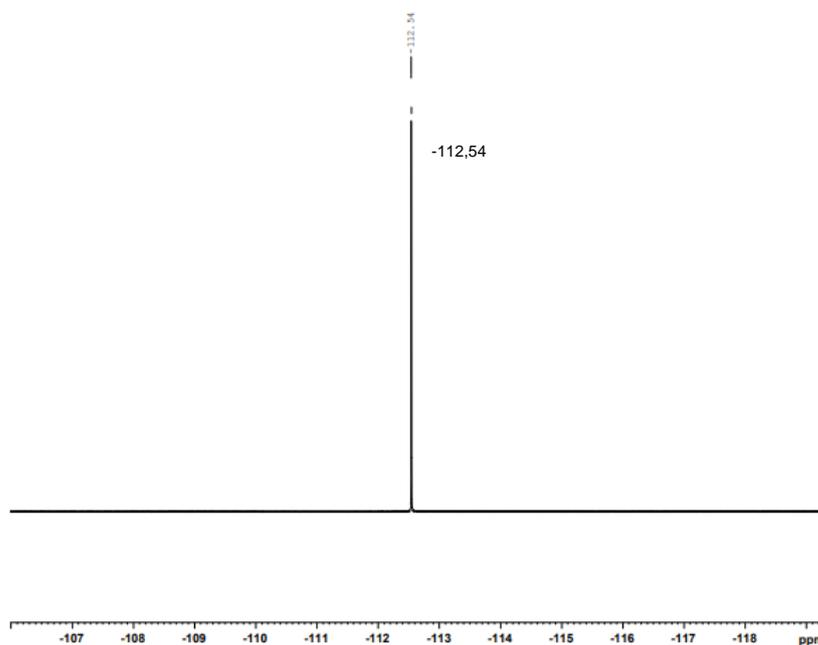
O singlete do 5'-CH do anel de triazole aparece a 122,4 ppm e correlaciona no HMQC com o singlete do próton a 8,36 ppm (Figura 7) o singlete do carbono do grupo carbonilo aparece a 160,5 ppm (Figura 6).



Para além das correlações descritas anteriormente, observam-se as correlações dos prótons do anel de pirazina com os respectivos carbonos (Figura 7).



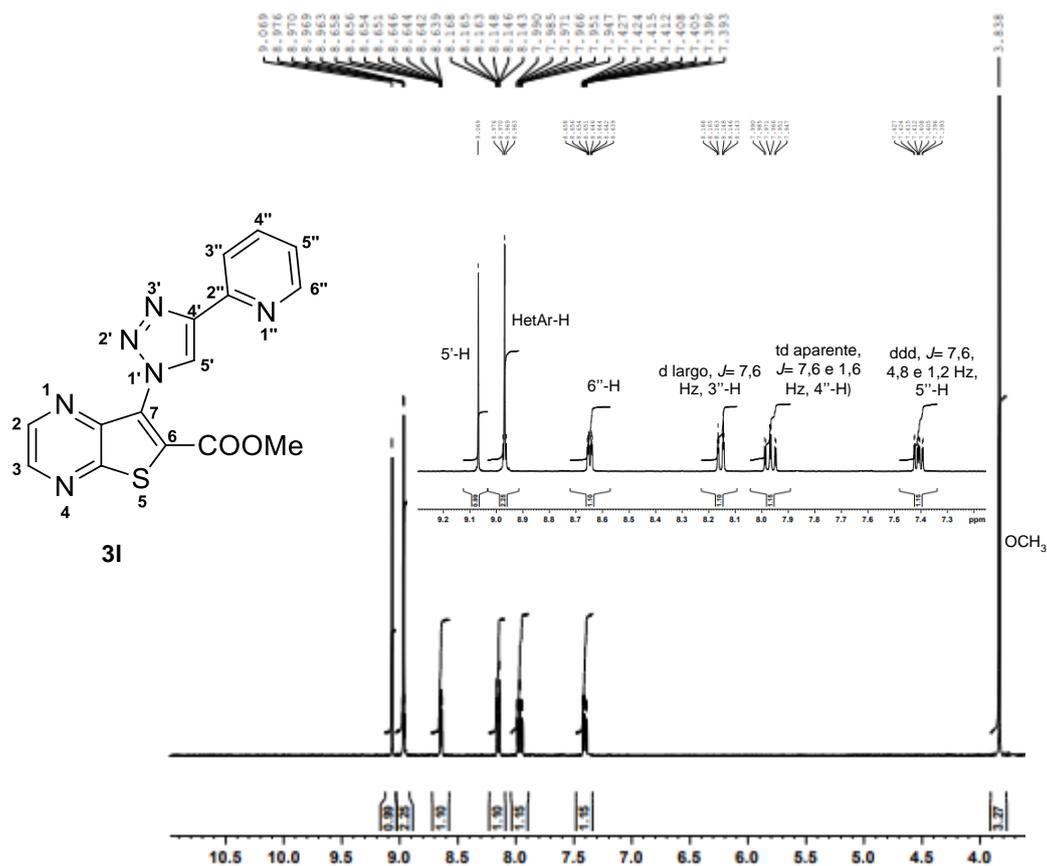
No espectro de ^{19}F observa-se só um sinal de F a -112,54 ppm.



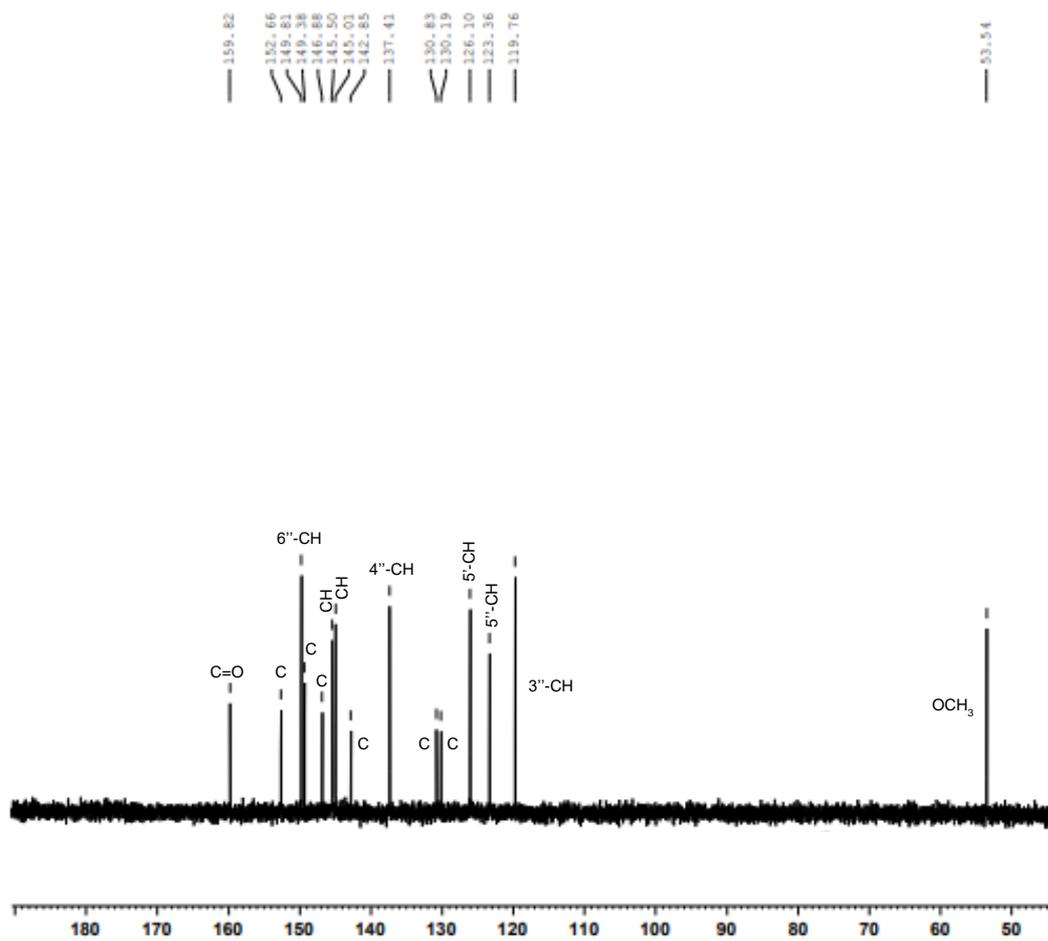
Em HRMS (ESI) o valor calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$ foi de 356,0612, tendo o valor encontrado sido 356,0619.

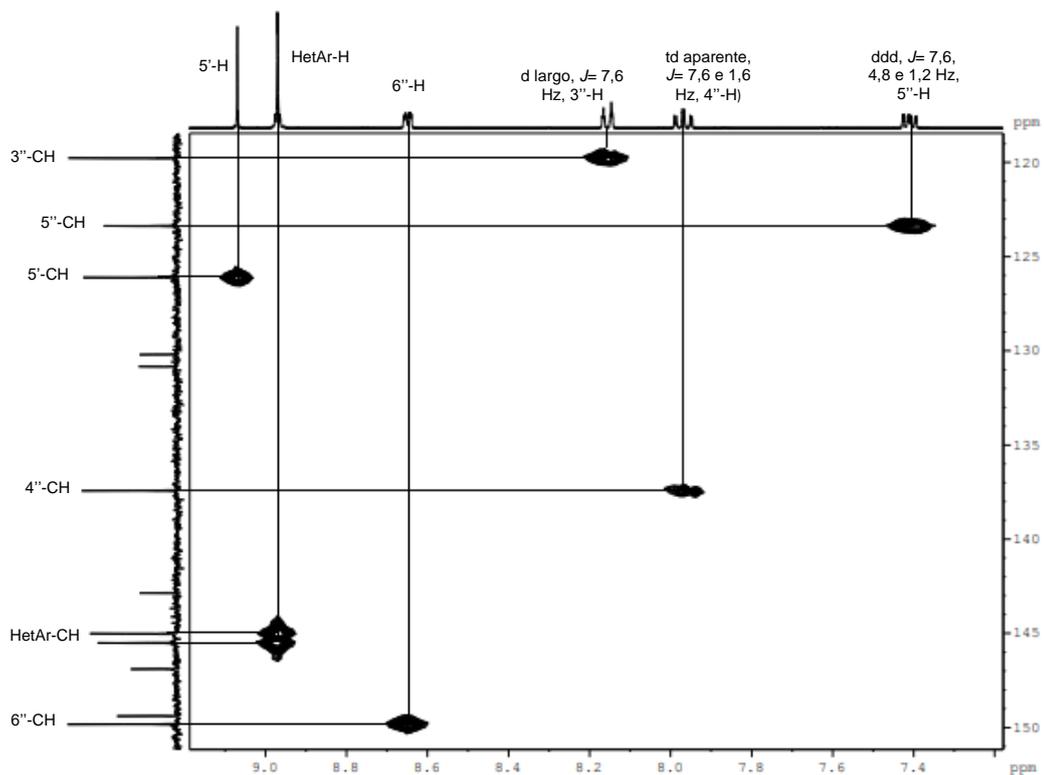
Nas figuras 9, 10 e 11 apresentam-se espectros de ^1H , ^{13}C RMN, correlações heteronucleares ^1H - ^{13}C (HMQC), respetivamente, para o composto **3I**.

Na figura 9, observam-se os sinais e acoplamentos característicos de um anel de piridina devido ao efeito electro-retirador do N neste anel. São disso exemplo os sinais e as constantes de acoplamento com o próton adjacente ao N, aparecendo o 5''-H como um duplo duplete de dupletos entre 7,39-7,43 ppm com $J = 7,6, 4,8$ e $1,2$ Hz, resultante dos acoplamentos com os prótons 4''-H e 6''-H. O multipletto correspondente ao 6''-H aparece desprotegido entre 8,64-8,66 ppm. O sinal do 4''-H aparece como um triplo duplete aparente a 7,97 ppm com $J = 7,6$ e $1,6$ Hz. O singletto do triazole 5'-H aparece a 9,07 ppm. Observa-se ainda um sinal coalescido num singletto para os dois H do anel de pirazina a 8,97 ppm.



Na figura 10 apresentam-se todos os carbonos do composto **3I** que foram correlacionados com os respectivos CH na expansão da zona aromática do HMQC deste composto (**Figura 11**).





Este composto foi também caracterizado por **HRMS (ESI)**: Valor calculado **[M+H]⁺**: para $C_{15}H_{11}N_6O_2S$ 339,0659, valor encontrado 339,0653.

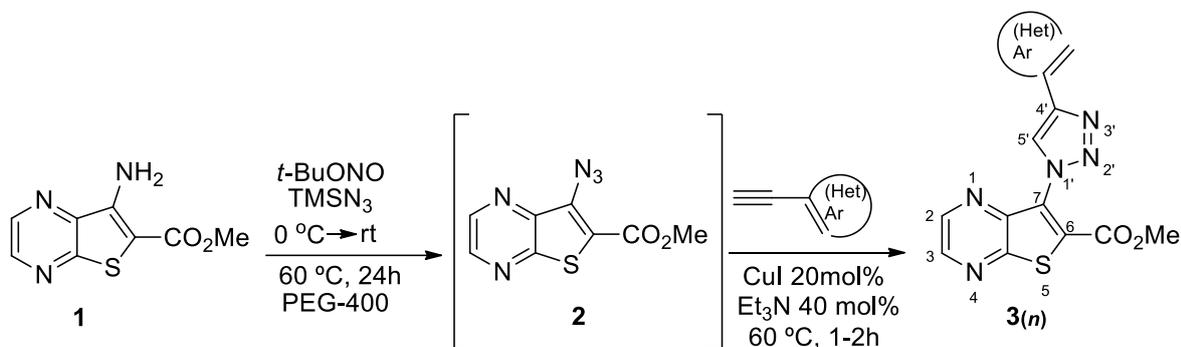
Os restantes compostos foram caracterizados usando as técnicas referidas. (Ver Capítulo IV- Parte Experimental).

2.2.2 Estudos Preliminares da reação *one pot* usando PEG-400

Há já alguns anos, foram desenvolvidas metodologias “verdes” para sintetizar compostos orgânicos. Uma destas metodologias consiste no uso de solventes menos prejudiciais para o ambiente, solventes verdes, em vez dos solventes orgânicos convencionais. Os polietilenoglicóis (PEGs) emergiram como um meio reacional verde para vários tipos de reações devido ao seu baixo custo, estabilidade térmica e biodegradabilidade.^{35,36}

Para tornar o trabalho desta dissertação numa metodologia mais amiga do ambiente, foram feitas tentativas de realizar a reação *one-pot* a partir da amina **1** para a obtenção dos compostos **3**.

Inicialmente, tentou-se que a primeira etapa da reação ocorresse em PEG-400, em vez de acetonitrilo, à temperatura ambiente. No entanto, verificou-se que apenas ocorria conversão da amina **1** na azida **2** quando a temperatura era aumentada para 60 °C e ao fim de 24h. Desta forma, decidiu-se testar também a formação dos compostos **3**, em PEG-400, adicionando diferentes (hetero)arilalquinos, CuI e Et₃N (sem adição desta a reação não ocorria) e deixando-se em agitação a 60 °C durante 1-2h, controlando as reações por TLC (**Esquema 11**). Para esta reação *one-pot* a partir da amina **1** foi utilizado um aparelho de síntese paralela (Carousel Reaction Station, *Radleys Discovery Technologies*), o que facilitou o acompanhamento das reações, usando as mesmas condições e traduzindo-se numa economia de tempo.



Esquema 11: Síntese *one-pot* de 7-(hetero)aril-1H-1,2,3-triazole em PEG-400.

³⁵ Chen, J.; Spear S. K.; Huddleston, J. G.; Rogers, R. D. Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media *Green Chem.* **2005**; *7*, 64-82.

³⁶ Colacino, E.; Martinez, J.; Lamaty, F.; Patrikeeva, L. S.; Khemchyan, L. L.; Ananikov, V. P.; Beletskaya, I. P. PEG as an alternative reaction medium in metal-mediated transformations. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 2893-2920.

Após o término das reações controlando por TLC adicionou-se gelo às várias misturas reacionais tendo os triazoles **3d** (*p*-OMe), **3j** (*p*-F) e **3k** (3-tiofeno), precipitado, tendo sido isolados por filtração sob vácuo e lavado com éter etílico com rendimentos entre 60-70%, numa reação *click* uma vez que não foi necessária purificação por coluna cromatográfica. Os espectros de ¹H-RMN mostraram-se idênticos aos obtidos anteriormente. No entanto, na síntese dos compostos **3g** (*p*-NH₂) e **3l** (2-piridina) não ocorreu precipitação quando se adicionou gelo e as tentativas de isolar os produtos por extração com acetato de etilo, por serem muito polares, não foram bem sucedidas, uma vez que os produtos continham muito PEG-400 (verificado por ¹H-RMN). Este passo de isolamento precisa de ser estudado e melhorado talvez com lavagens com soluções aquosas de sais que sejam capazes de retirar o PEG-400.

Com base na pesquisa bibliográfica efetuada, verificou-se que este tipo de reação *one-pot* ainda não foi descrita em PEG-400 o que tornará esta metodologia nova e amiga do ambiente.

Capítulo III

Conclusão e Perspetivas

3. Conclusões e Perspetivas

Neste trabalho obtiveram-se novos 7-[4-(hetero)aril-1*H*1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilatos de metilo com bons a altos rendimentos num processo *one-pot* em duas etapas, partindo da 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo, através da azida intermediária correspondente, que reagiu com diversos (hetero)arilalquinos na presença de CuI, Et₃N em acetonitrilo à temperatura ambiente. Apesar da segunda etapa ser uma reação de CuAAC tipo *click*, o facto de os produtos obtidos terem sido purificados por coluna cromatográfica faz com que não obedeça a todos os critérios das reações *click*. Os novos compostos obtidos foram completamente caracterizados por p.f, ¹H, ¹³C RMN usando DEPT θ 135° e correlações homo ¹H-¹H (COSY) e heteronucleares ¹H-¹³C bidimensionais (HMQC e HMBC), ¹⁹F RMN e Espetrometria de Massa de Alta Resolução no [M+H]⁺.

Estudos preliminares deste processo *one-pot* usando PEG-400 como um solvente “verde” conduziram em alguns casos à obtenção de 1,2,3-triazoles 1,4-dissubstituídos por uma verdadeira reação de *click*, tendo precipitado no meio reacional e tendo sido isolados por filtração com bons rendimentos. Noutros casos, não foi possível isolar os compostos sem PEG-400, depois de extração com acetato de etilo. Serão levados a cabo mais estudos que possibilitem o isolamento dos compostos puros, uma vez que este tipo de processo *one-pot* usando PEG-400 não está ainda descrito na literatura, tanto quanto nos foi possível saber depois de pesquisa bibliográfica, sendo uma metodologia nova e “verde”.

Os 7-[4-(hetero)aril-1*H*1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilatos de metilo obtidos neste trabalho serão ainda submetidos a estudos de atividade biológica em colaboração com outros grupos de investigação.

Capítulo IV

Parte Experimental

4. Parte Experimental

4.1. Síntese - Procedimentos gerais

As reações efetuadas ao longo deste trabalho, foram controladas por cromatografia em camada fina (TLC), em placas de alumínio recobertas com uma camada de 0,2 mm de sílica gel (*Machedrey-Nage*) com indicador de fluorescência (UV254).

Os pontos de fusão foram determinados num aparelho Stuart MP3 e não foram corrigidos.

Os espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN foram efetuados 400 e 100,6 MHz, respetivamente, num espectrómetro Bruker Avance III, usando os sinais dos solventes não deuterados CHCl_3 (7,27 ppm) do CDCl_3 ou do DMSO (2,49 ppm) do DMSO-d_6 como referências internas, relativa ao TMS (0 ppm).

Utilizou-se DEPT θ 135° (técnica diferencial de ^{13}C) e técnicas bidimensionais de correlação ^1H - ^1H (COSY), correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma (HMQC) ou a mais ligações (HMBC) para a atribuição de alguns sinais.

Os resultados de HRMS foram obtidos por ESI no serviço de espectrometria de massa do CACTI da Universidade de Vigo.

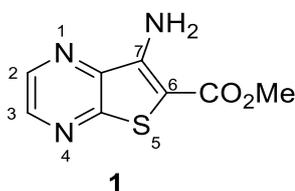
As purificações por cromatografia em coluna foram efetuadas utilizando sílica gel 0,060-0,200 mm, 60A ou PLC, placas de vidro recobertas com uma camada de 2 mm de sílica gel (*Macherey-Nagel*) com indicador de fluorescência (UV254).

O éter de petróleo refere-se à fração de intervalo de ebulição do 40-60°C do petróleo. O éter etílico refere-se ao éter dietílico.

Quando foi usado um gradiente de solvente, o aumento da polaridade foi feito de éter de petróleo para misturas de éter etílico/éter de petróleo e acetato de etilo/éter de petróleo, aumentando a proporção de éter/ acetato em 10%.

4.2. Síntese do reagente de partida

4.2.1. 7-aminotieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (**1**)



Dissolveu-se a 2-cloro-3-cianopirazina (0,800 g, 5,73 mmol) em etanol (7,0 mL), adicionou-se K_2CO_3 (1,3 equiv.) e tioglicolato de metilo (1,3 equiv.) à temperatura ambiente e deixou-se em agitação durante 4h30 a 90 °C. A reação foi controlada por TLC, e após todo o reagente de partida ter sido consumido, arrefeceu-se e adicionou-se 15mL de água, tendo-se deixado a mistura em agitação durante 30 min à temperatura ambiente. Após este período, filtrou-se sob vácuo tendo-se obtido um sólido castanho ao qual depois de seco se adicionou éter etílico (\approx 150 mL) e foi-se filtrando por gravidade e adicionando mais éter etílico (\approx 150 mL), até a solução deixar de ficar amarela. Foi-se removendo o solvente, a pressão reduzida das frações filtradas, tendo-se obtido o composto **1** como um sólido amarelo (0,928 g, 78%).

1H RMN ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 3.94 (3H, s, OCH_3), 6.21 (2H, s largo, NH_2), 8.59 (1H, d, $J=2.4$ Hz, 6-H), 8,64 (1H, d, $J=2.4$ Hz, 7-H) ppm. Este espectro é idêntico ao apresentado na literatura.²⁶

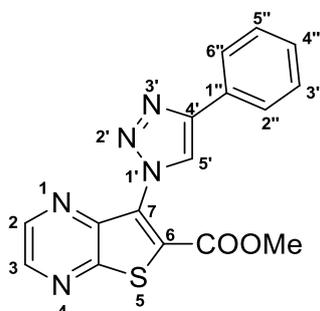
4.3. Síntese *one-pot* de derivados de tieno[2,3-*b*]pirazina contendo 1,2,3-triazoles 1,4-dissubstituídos (3a-3m)

4.3.1. Procedimento Geral

Num balão de fundo redondo de 50 mL adicionou-se CH_3CN (5 mL), a amina **1** e a 0 °C o t -BuONO (1,5 equiv.) e a $TMSN_3$ (1,5 equiv.). Deixou-se a mistura em agitação à temperatura ambiente, durante a noite. A conversão do composto **1** na azida intermediária **2** foi verificada por TLC, tendo-se adicionado depois o CuI (20 mol%), Et_3N (40 mol%) e o (hetero)arilalquino (1 equiv.) e deixado a mistura em agitação à t.a. durante 30 min-2h (controlando por TLC). No final da reação adicionou-se H_2O (10 mL) e CH_2Cl_2 (10 mL) e separaram-se as fases. A fase aquosa foi extraída com mais CH_2Cl_2 (10 mL) e secou-se a fase orgânica com $MgSO_4$ anidro. Filtrou-se e evaporou-se à *secura* tendo-se obtido sólidos

que posteriormente foram purificados por coluna cromatográfica usando gradientes de solventes, éter etílico/ éter de petróleo começando com 10% e aumentando 10% progressivamente.

4.3.1.1. 7-(4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3a)



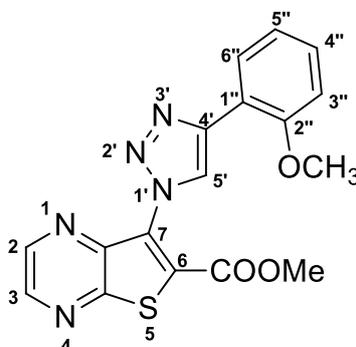
A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 30 min. em agitação na segunda etapa, o composto **3a** foi isolado por coluna cromatográfica usando 60% éter etílico /éter de petróleo, como um sólido bege (0,080 g, 50%), p.f. 175–176 °C.

¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 3,93 (3H, s, OCH₃), 7,38-7,42 (1H, m, 4''-H), 7,45-7,51 (2H, m, Ar-H), 7,96- 8,00 (2H, m, Ar-H), 8,35 (1H, s, 5'-H), 8,77 (1H, d, *J* = 2Hz, HetAr-H), 8,82 (1H, d, *J* = 2 Hz, HetAr-H) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,6 MHz): δ 53,5 (OCH₃), 122,0 (5'-CH), 126,0 (2xCH), 128,4 (4''-CH), 129,0 (2xCH), 129,9 (C), 130,1 (C), 131,5 (C), 143,1 (C), 144,0 (CH), 144,4 (CH), 147,4 (C), 154,0 (C), 161,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para C₁₆H₁₂N₅O₂S [M+H]⁺: 338,0706, valor encontrado 338,0708.

4.3.1.2. 7-[4-(2-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3b)



A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 50 min.

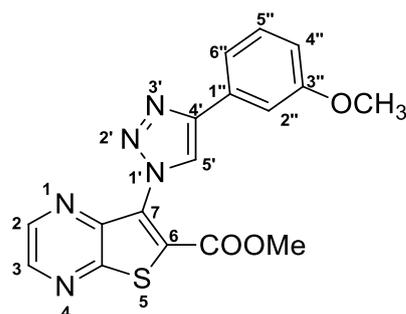
em agitação na segunda etapa, o composto **3b** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 70% éter etílico / éter de petróleo, como um sólido branco (0.106 g, 60%), p.f. 190-191 ° C.

¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 3,90 (3H, s, OCH₃), 3,96 (3H, s, COOCH₃), 7,02 (1H, d largo, J = 8,4 Hz, 3''-H), 7,12-7,16 (1H, m, Ar-H), 7,36-7,39 (1H, m, Ar-H), 8,49 (1H, dd, J = 8,0 e 1,6 Hz, 6''-H), 8,58 (1H, s, 5'-H), 8,76 (1H, s, HetAr-H), 8,82 (1H, s, HetAr-H) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,6 MHz): δ 53,5 (COOCH₃), 55,41 (OCH₃), 110,8 (3''-CH), 119,0 (C), 121,0 (CH), 125,4 (5'-CH), 128,0 (6''-CH), 129,1 (CH), 130,4 (C), 132,0 (C), 143,0 (C), 143,5 (C), 144,1 (CH), 144,2 (CH), 154,0 (C), 156,0 (C), 161,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para [M+H]⁺: C₁₇H₁₄N₅O₃S 368,0812, valor encontrado 368,0818.

4.3.1.3. 7-[4-(3-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (**3c**)



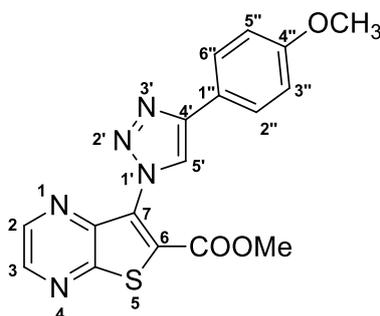
A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 2h em agitação na segunda etapa, o composto **3c** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 70% éter etílico / éter de petróleo, como um sólido branco (0,0920 g, 55%), p.f. 189-191 ° C.

¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): 3,92 (3H, s, COOCH₃), 3,93 (3H, s, OCH₃), 6,92-6,96 (1H, m, 4''-H), 7,37-7,41 (1H, m, 5''-H), 7,49-7,52 (1H, d largo, 6''-H), 7,60 (1H, s largo, 2''-H), 8,34 (1H, s, 5'-H), 8,75 (1H, s largo, HetAr-H), 8,2 (1H, s largo, HetAr-H) ppm.

¹³C RMN (CDCl₃, 100,6 MHz): 53,5 (COOCH₃), 55,4 (OCH₃), 111,1 (2''-CH), 115,0 (4''-CH), 118,5 (6''-CH), 122,2 (5'-CH), 129,8 (C), 129,9 (CH), 130,0 (5''-CH), 131,4 (C), 131,5 (C), 143,1 (C), 144,1 (CH), 144,4 (CH), 147,3 (C), 154,0 (C), 160,1 (C), 161,0 (C) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para [M+H]⁺: C₁₇H₁₄N₅O₃S 368,0812, valor encontrado 368,0810.

4.3.1.4. 7-[4-(4-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3d)



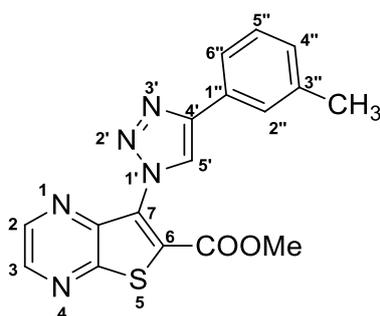
A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 1h em agitação na segunda etapa, o composto **3d** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 100% de éter etílico, como um sólido branco (0,109 g, 62%), p.f. 163-164 °C.

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 3,87 (3H, s, OCH₃), 3,92 (3H, s, COOCH₃), 7,01 (d, *J* = 8,8 Hz, 3''-H e 5''-H), 7,89 (d, *J* = 8,8 Hz, 2''-H e 6''-H), 8,26 (1H, s, 5'-H), 8,76 (1H, s largo, HetAr-H), 8,81 (1H, s largo, HetAr-H) ppm.

¹³C RMN (CDCl₃, 100.6 MHz): δ 54,0 (OCH₃), 55,3 (OCH₃), 114,3 (3''-CH e 5''-CH), 121,1 (5'-CH), 123,0 (C), 127,3 (2''-CH e 6''-CH), 130,0 (C), 131,3 (C), 143,1 (C), 144,0 (CH), 144,3 (CH), 147,3 (C), 154,0 (C), 160,0 (C), 161,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para C₁₇H₁₃N₅O₃S [M+H]⁺: 368,0812, valor encontrado 368,0805.

4.3.1.5. 7-[4-(*m*-tolil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3e)



A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 30 min. em agitação na segunda etapa, o composto **3e** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 70% éter etílico /éter de petróleo, como um sólido bege (0.0840 g, 50%), p.f. 137–138 °C.

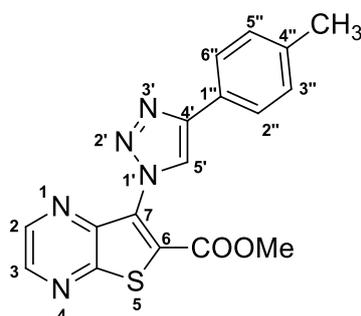
¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 2,45 (3H, s, CH₃), 3,92 (3H, s, COOCH₃), 7,21 (1H, d largo, *J* = 7,6 Hz, 4''-H), 7,37 (1H, t aparente, *J* = 7,6 Hz, 5''-H), 7,75 (1H, d largo, *J* = 7,6 Hz, 6''-H), 7,83 (1H, s largo,

2''-H), 8,33 (1H, s, 5'-H), 8,77 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, HetAr-H), 8,82 (1H, d, $J = 2,4$ Hz, HetAr-H) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): δ 21,4 (CH_3), 53,5 (COOCH_3), 122,0 (5'-CH), 123,1 (6''-CH), 127,0 (2''-CH), 129,0 (5''-CH), 129,2 (4''-CH), 129,91 (C), 129,93 (C), 131,5 (C), 139,0 (C), 143,1 (C), 144,0 (CH), 144,3 (CH), 148,0 (C), 154,0 (C), 161,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ 352,0863, valor encontrado 352,0870.

4.3.1.6. 7-[4-(*p*-tolil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3f)



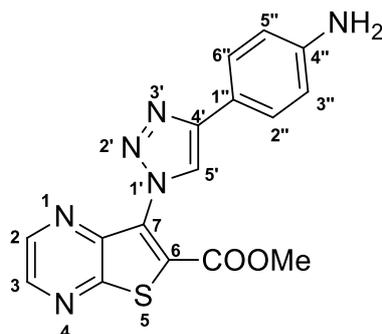
A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 2h em agitação na segunda etapa, o composto **3f** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando uma fração 70% éter etílico / éter de petróleo, como um sólido branco (0,0844 g, 50%), p.f. 166–167 °C.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2,42 (3H, s, CH_3), 3,92 (3H, s, COOCH_3), 7,29 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, 3''-H e 5''-H), 7,86 (2H, d, $J = 8,0$ Hz, 2''-H e 6''-H), 8,31 (1H, s, 5'-H), 8,77 (1H, s largo, HetAr-H), 8,82 (1H, s largo, HetAr-H) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): δ 21,3 (CH_3), 53,5 (COOCH_3), 122,0 (5'-CH), 126,0 (2''-CH e 6''-CH), 127,3 (C), 129,6 (3''-CH e 5''-CH), 130,0 (C), 131,4 (C), 138,3 (C), 143,2 (C), 144,0 (CH), 144,3 (CH), 147,5 (C), 154,0 (C), 161,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ 352,0863, valor encontrado 352,0866.

4.3.1.7. 7-[4-(4-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3g).



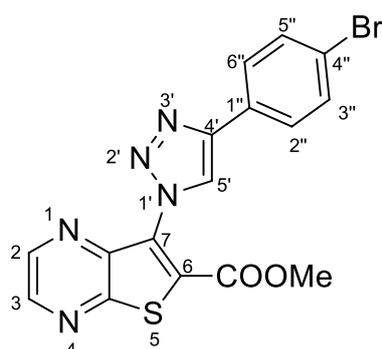
A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 5h em agitação na segunda etapa, o composto **3g** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 100% de éter etílico, como um sólido amarelo (0,101 g, 60%), p.f. 209–211 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 3,83 (3H, s, COOCH₃), 5,31 (2H, s largo, NH₂), 6,66 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, 3''-H e 5''-H), 7,59 (2H, d, *J* = 8,4 Hz, 2''-H e 6''-H), 8,73 (1H, s, 5'-H), 8,96 (2H, s largo, HetAr-H) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, 100,6 MHz): δ 54,0 (OCH₃), 114,0 (3''-CH e 5''-CH), 117,4 (C), 122,0 (5'-CH), 126,4 (2''-CH e 6''-CH), 130,4 (C), 131,0 (C), 143,0 (C), 145,0 (CH), 145,5 (CH), 147,1 (C), 149,1 (C), 153,0 (C), 160,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para [M+H]⁺: C₁₆H₁₃N₆O₂S 353,0815, valor encontrado 353,0819.

4.3.1.8. 7-[4-(4-bromofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (**3h**).



A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 4h em agitação na segunda etapa, o composto **3h** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 80% éter etílico /éter de petróleo, como um sólido bege (0,109 g, 55%), p.f. 171–172 °C.

¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 3,94 (3H, s, COOCH₃), 7,61 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, 2''-H e 6''-H), 7,86 (2H, d, *J* = 8,8 Hz, 3''-H e 5''-H), 8,35 (1H, s, 5'-H), 8,78 (1H, d, *J* = 2,0 Hz, HetAr-H), 8,83 (1H, d, *J*

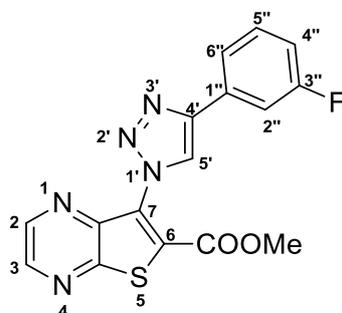
2,0 Hz, HetAr-H) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): δ 54,0 (COOCH_3), 122,1 (5'-CH), 122,4 (C), 128,0 (3''-CH e 5''-CH), 129,1 (C), 130,0 (C), 131,5 (C), 132,1 (2''-CH e 6''-CH), 143,0 (C), 144,1 (CH), 144,4 (CH), 146,4 (C), 154,0 (C), 160,5 (C=O) ppm.

HRMS(ESI): Valor calculado para $[\text{M}+\text{H},^{79}\text{Br}]^+$: $\text{C}_{16}\text{H}_{11}^{79}\text{BrN}_5\text{O}_2\text{S}$ 415,9811, valor encontrado 415,9810.

HRMS(ESI): Valor calculado para $[\text{M}+\text{H},^{81}\text{Br}]^+$: $\text{C}_{16}\text{H}_{11}^{81}\text{BrN}_5\text{O}_2\text{S}$ 417,9791, valor encontrado 417,9794.

4.3.1.9. 7-[4-(3-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3i)



A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 3h em agitação na segunda etapa, o composto **3i** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 60% éter etílico /éter de petróleo, como um sólido branco (0.0850 g, 50%), p.f. 131–132 °C.

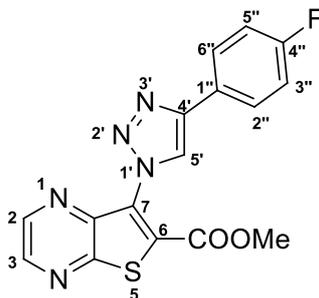
$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 3,93 (3H, s, COOCH_3), 7,06-7,11 (1H, m, 4''-H), 7,42-7,47 (1H, m, 5''-H), 7,68-7,72 (1H, m, 2''-H), 7,73-7,76 (1H, m, 6''-H), 8,36 (1H, s, 5'-H), 8,78 (1H, d, $J=2,0$ Hz, HetAr-H), 8,82 (1H, d, $J=2,0$ Hz, HetAr-H) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): δ 54,0 (COOCH_3), 113,0 (d, $J=23,0$ Hz, 2''-CH), 115,3 (d, $J=21,0$ Hz, 4''-CH), 122,0 (d, $J=3$ Hz, 6''-CH), 122,4 (5'-CH), 130,0 (C), 130,5 (d, $J=9,0$ Hz, 5''-CH), 132,0 (C), 132,2 (d, $J=8,0$ Hz, 1''-C), 143,0 (C), 144,1 (CH), 144,4 (CH), 146,3 (d, $J=2$ Hz, 4'-C), 154,0 (C), 160,5 (C=O), 163,2 (d, $J=245$ Hz, CF) ppm.

$^{19}\text{F-RMN}$ (CDCl_3 , 376,5 MHz): δ -112,54 ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$ 356,0612, valor encontrado 356,0619.

4.3.1.10. 7-[4-(4-fluorofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-b]pirazina-6-carboxilato de metilo (3j)



A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 2h em agitação na segunda etapa o composto **3j** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 70% éter etílico /éter de petróleo, como um sólido branco (0.101 g, 55%), p.f. 184–186 °C.

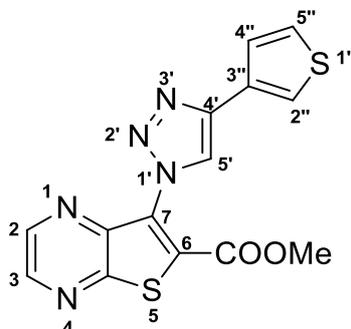
¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 3,93 (3H,s, COOCH₃), 7,14-7,19 (2H, m, 3''-H e 5''-H), 7,94- 7,98 (2H, m, 2''-H e 6''-H), 8,32 (1H, s, 5'-H), 8,77 (1H, d, J=2,0 Hz, HetAr-H), 8,82 (1H, d, J=2,0 Hz, HetAr-H) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,6 MHz): δ 53,5 (OCH₃), 115,9 (d, J= 21,1 Hz, 3''-CH e 5''- CH), 122,0 (5'-CH), 126,3 (d, J= 3,0 Hz, 1''-C), 128,0 (d, J= 8,0 Hz, 2''-CH e 6''- CH), 130,0 (C), 131,4 (C), 143,0 (C), 144,0 (CH), 144,4 (CH), 146,5 (C), 154,0 (C), 160,5 (C=O), 163,0 (d, J= 248,5 Hz, CF) ppm.

¹⁹F-RMN (CDCl₃, 376,5 MHz): δ -113,08 ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para [M+H]⁺: C₁₆H₁₁FN₅O₂S 356,0612, valor encontrado 356,0614.

4.3.1.11. 7-[4-(tien-3-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-b]pirazina-6-carboxilato de metilo (3k)



A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 2h30 min. em agitação na segunda etapa, o composto **3k** foi isolado através de uma coluna cromatográfica

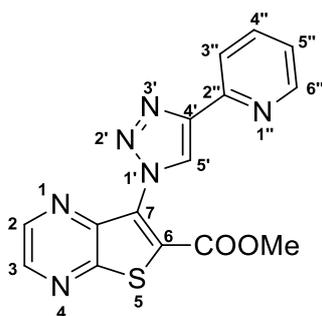
usando 70% éter etílico /éter de petróleo, como um sólido branco (0,103 g, 63%), p.f. 170–171 °C.

¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 3,92 (3H, s, OCH₃), 7,44 (1H, dd, *J* = 5,2 e 3,2 Hz, 5''-H), 7,57 (1H, dd, *J* = 5,2 e 1,2 Hz, 4''-H), 7,83 (1H, dd, *J* = 3,2 e 1,2 Hz, 2''-H), 8,24 (1H, s, 5'-H), 8,76 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, HetAr-H), 8,81 (1H, d, *J* = 2,4 Hz, HetAr-H) ppm.

¹³C-RMN (CDCl₃, 100,6 MHz): δ 53,5 (COOCH₃), 121,7 (5'-CH), 121,8 (2''-CH), 126,0 (4''-CH), 126,4 (5''-CH), 130,0 (C), 131,2 (C), 131,5 (C), 143,1 (C), 143,6(C), 144,0 (CH), 144,3 (CH), 154,0 (C), 160,5 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para [M+H]⁺: C₁₄H₁₀N₅O₂S₂ 344,0270, valor encontrado 344,0267.

4.3.1.12. 7-[4-(piridin-2-il)-1*H*,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3I)



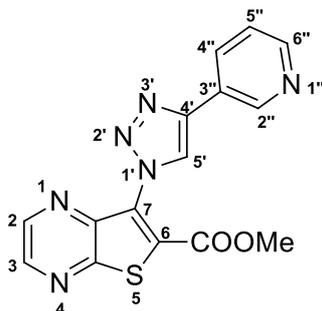
A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 5h em agitação na segunda etapa, o composto **3I** foi isolado através de uma coluna cromatográfica usando 70% acetato de etilo /éter de petróleo, como um sólido bege (0,122 g, 75%), p.f. 197–199 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 3,84 (3H, s, COOCH₃), 7,39-7,43 (1H, ddd, *J* = 7,6, 4,8 e 1,2 Hz, 5''-H), 7,97 (1H, td aparente, *J* = 7,6 e 1,6 Hz, 4''-H), 8,16 (1H, d largo, *J* = 7,6 Hz, 3''-H), 8,64-8,66 (1H, m, 6''-H), 8,97 (2H, s, HetAr-H), 9,07 (1H, s, 5'-H) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, 100,6 MHz): δ 53,5 (COOCH₃), 120,0 (3''-CH), 123,4 (5''-CH), 126,1 (5'-CH), 130,2 (C), 131,0 (C), 137,4 (4''-CH), 143,0 (C), 145,0 (CH), 145,5 (CH), 147,0 (C), 149,4 (C), 150,0 (6''-CH), 153,0 (C), 160,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado [M+H]⁺: para C₁₅H₁₁N₆O₂S 339,0659, valor encontrado 339,0653.

4.3.1.13. 7-[4-(piridin-3-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]tieno[2,3-*b*]pirazina-6-carboxilato de metilo (3m)



A partir da amina **1** (100 mg, 0,478 mmol) e seguindo o procedimento geral, deixando 5h em agitação na segunda etapa, o composto **3m** foi isolado através de uma coluna cromatográfica 70% acetato de etilo /éter de petróleo, como um sólido bege (0,129 g, 80%), p.f. 149–150 °C.

¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 3,84 (3H, s, COOCH₃), 7,55 (1H, dd largo, *J* = 8,0 e 4,8 Hz, 5''-H), 8,33 (1H, dt aparente, *J* = 8,0 e 2,0 Hz, 4''-H), 8,61 (1H, d largo, 6''-H), 8,98 (2H, s largo, HetAr-H), 9,16 (1H, s largo, 2''-H), 9,20 (1H, s, 5'-H) ppm.

¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, 100,6 MHz): δ 54,0 (COOCH₃), 124,2 (5''-CH), 125,0 (5'-CH), 126,1 (C), 130,0 (C), 131,1 (C), 133,0 (4''-CH), 143,0 (C), 143,4 (C), 145,1 (CH), 146,0 (CH), 146,5 (2''-CH), 149,3 (6''-CH), 153,0 (C), 160,0 (C=O) ppm.

HRMS (ESI): Valor calculado para [M+H]⁺: C₁₅H₁₁N₆O₂S 339,0659, valor encontrado 339,0656.

Capítulo V

Referências Bibliográficas

- ¹ Guerin, D. J.; Bair, K. W.; Caravella, J. A.; Ioannidis, S.; Lancia, Jr. D. R.; Li, H.; Mischke, S.; Ng, P. Y.; Richard, D.; Sciller, S. E. R.; Shelekhin, T.; Wang, Z. *Thienopyrazine carboxamides as ubiquitin-specific proteases inhibitors*. Aug 17, **2017**, WO 2017139779, A1.
- ² Gong, Y. D.; Kwak, S.; Lee, E. S. *Substituted thieno[3,2-*b*]pyrazines for inhibiting cancer cell proliferation and inducing cancer cell apoptosis*. Jun 16, **2016**, WO 2016093554, A1
- ³ Lim, J.; Altman, M. D.; Gibeau, C. R. *Thienopyrazine inhibitors of IRAK4 activity*. Sep 15, **2016**, WO 2016144849, A1.
- ⁴ Joergensen, A. S.; Faarup, P.; Guddal, E.; Jeppesen, L. *Thienopyrazine-2,3-diones as NMDA antagonists*. Apr 29, **1993**, WO9308197, A1.
- ⁵ Folmer, B. J. B.; de Man, A. P. A.; Gernette, E. S.; Azevedo, R. C. R. G.; Ibrahim, H. *Thieno[2,3-*b*]pyrazine compounds as B-RAF inhibitors*. Dec 01, **2011**, WO 2011147764, A1.
- ⁶ Blanco, G.; Quintela, J. M.; Peinador, C.; Application of the aza-Wittig reaction to the synthesis of pyrazinothienotriazolopyrimidinones: a new tetracyclic ring system. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 1333-1344.
- ⁷ Fernández-Mato, A.; Peinador, C.; Quintela, J. M. Synthesis and Characterization of Substituted Pyrazino[2',3':4,5]thieno[3,2-*d*]pyrimidines and Related Molecules. *Synthesis*, **2011**, *6*, 943-953.
- ⁸ Kolli, S. K.; Nakhi, A.; Medishetti, R.; Yellanki, S.; Kulkarni, P.; Raju, R. R.; Pal, M. NaSH in the construction of thiophene ring fused with *N*-heterocycles: A rapid and inexpensive synthesis of novel small molecules as potential inducers of apoptosis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4460-4465.
- ⁹ Peixoto, D.; Begouin, A.; Queiroz, M.-J. R. P. Synthesis of 2-(hetero)arylthieno[2,3-*b*] or [3,2-*b*]pyridines from 2,3-dihalopyridines, (hetero)arylalkynes, and Na₂S. Further functionalizations. *Tetrahedron*. **2012**, *68*, 7082-7094.
- ¹⁰ Campos, J. F.; Queiroz, M.-J. R. P.; Berteina-Raboin, S. Synthesis of New Thieno[3,2-*b*] pyridines and Thieno[2,3-*b*]pyrazines by Palladium Cross-Coupling *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 6945-6948.

- ¹¹ Aisa, H. A.; Zhao, J.; Bozorov, K. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 3511-3531 e referências citadas.
- ¹² Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and future. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-598.
- ¹³ Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K.B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper (I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- ¹⁴ Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.
- ¹⁵ Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- ¹⁶ Bozorov, K.; Zhao, J.; Aisa, H. A. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recente overview. *Bioorg. Med. Chem.*, **2019**, *27*, 3511–353.
- ¹⁷ Kettle, J. G.; Anjum, R.; Barry, E.; Bhavsar, D.; Brown, C.; Boyd, S.; Campbell, A.; Goldberg, K; Grondine, M.; Guichard, S.; Hardy, C.; Hunt, T.; Jones, R.; Li, X.; Moleva, O.; Ogg, D.; Overman, R.; Packer, M. J.; Pearson, S; Schimpl, M.; Shao, W.; Smith, A.; Smith, J.; Stead, D.; Stokes, S.; Tucker, M.; Ye, Y. Discovery of N-{4-dimethoxyquinazolin-4-yl}oxyphenyl-2-[4-(propano-2-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]acetamide (AZD3229), a potent pan-KIT mutant inhibitor for the treatment of gastrointestinal stromal tumors. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 8797-8810.
- ¹⁸ Cassamale, T. B.; Costa, E. C.; Carvalho, D. B.; Cassemiro, N. S.; Tomazela, C. C.; Marques, M. C. S.; Ojeda, M.; Matos, M. F. C.; Albuquerque, S.; Arruda, C. C. P.; Baroni, A. C. M. Synthesis and Antitrypanosomastid Activity of 1,4-Diaryl-1,2,3-triazole Analogues of Neolignans Veraguensin, Grandisin and Machilin G. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**, *27*, 1217-1228.

- ¹⁹ Sweeney, J. B.; Rattray, M.; Pugh, V.; Powell, L. A. Riluzole-Triazole Hybrids as Novel Chemical Probes for Neuroprotection in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *ACS Med.Chem. Lett.* **2018**, *9*, 552-556.
- ²⁰ Shafi, S.; Alam, M. M.; Mulakayala, N.; Mulakayala, C.; Vanaja, G.; Kalle, A. M.; Pallu, R.; Alam, M. S. Synthesis of novel 2-mercapto benzothiazole and 1,2,3-triazole based bis-heterocycles: Their anti-inflammatory and anti-nociceptive activities. *Eur.J.Med.Chem*, **2012**, *49*, 324-333.
- ²¹ Gilchrist, J.; Dutton, S.; Diaz-Bustamante, M.; McPherson, A.; Olivares, N.; Kalia, J; Escayg, A.; Bosmans, F. Na.1.1 Modulation by a Novel Triazole Compound Attenuates Epileptic Seizures in Rodents. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *95*, 1204-1212.
- ²² Danne, A. B.; Choudhari, A. S.; Chakraborty, S.; Sarkar, D.; Khedkar, V. M.; Shingate, B. B. Triazole-diindolymethane conjugates as new antitubercular agents: synthesis, bioevaluation, and molecular docking. *Med.Chem.Commun.*, **2018**, *9*, 1114-1130.
- ²³ Ferreira, S. B.; Sodero A. C.; Cardoso, M. F.; Lima, E. S.; R.Kaiser, C.; Silva, F. P.; Ferreira, V. F. Synthesis, Biological Activity, and Molecular Modeling Studies of 1-*H*-1,2,3-Triazole Derivatives of Carbohydrates as α -Glucosidases Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2364-2375.
- ²⁴ Haider, S.; Alam, S. M.; Hamid, H. 1, 2, 3-Triazoles: Scaffold with Medicinal Significance. *Inflamm. Cell Signal.* **2014**, *1*, 1–12.
- ²⁵ Bock, V. D.; Hiemstra, H.; van Maarseveen, J. H. Cu^I-Catalyzed Alkyne–Azide “Click” Cycloadditions from a Mechanistic and Synthetic Perspective. *Eur. J. Org. Chem.* **2006**, *1*, 51–68.
- ²⁶ Leonczack, P.; Gao, L.-J.; Ramadori, A.T.; Lescrinier, E.; Rozenski, J.; Jonghe, S.; Herdewijn, P. Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies of 2-(1,3,4-Oxadiazole-2(3H)-thione)-3-amino-5-arylthieno[2,3-*b*]pyridines as Inhibitors of DRAK2. *ChemMedChem* **2014**, *9*, 2587-2601.
- ²⁷ Campos, J.F.; Queiroz, M.-J.R.P.; Berteina-Raboin, S. Synthesis of New Annulated Pyrazinotriazolopyrimidinones and Triazolothienopyrazines. *Synthesis* **2018**, *50*, 1159-1165.

- ²⁸ Litvinov, V. P.; Dotsenko, V. V.; Krivokolysko, S. G. The Chemistry of Thienopyridines. *Adv. Heterocycl. Chem.* **2007**, *93*, 117-178.
- ²⁹ Das, J.; Patil, S. N.; Awasthi, R.; Narasimhulu, C. P.; Trehan, S. An Easy Access to Aryl Azides from Aryl Amines under Neutral Conditions. *Synthesis.* **2005**, *11*, 1801-1806.
- ³⁰ Barral, K.; Moorhouse, A. D.; Moses, J. E. Efficient Conversion of Aromatic Amines into Azides: A *One-Pot* Synthesis of Triazole Linkages. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809-1811.
- ³¹ Rodrigues, J. & Queiroz, M.-J. R. P. Efficient *One-Pot* Synthesis of Alkyl 3-[4-(Aryl or Heteroaryl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl]thieno[3,2-*b*]pyridine-2-carboxylates by 'Click' Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition. *Synthesis (Stuttg).* **2016**, *48*, 2904-2910.
- ³² Wu, L.-Y.; Xie, Y.-X.; Chen, Z.-S.; Niu, Y.-N.; Liang, Y.-M. A Convenient Synthesis of 1-Substituted 1,2,3-Triazoles via CuI/Et₃N Catalyzed 'Click Chemistry' from Azides and Acetylene Gas. *Synlett*, **2009**, *9*, 1453-1456.
- ³³ Worrell, B. T.; Malik, J. A.; Fokin, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science*, **2013**, *340*, 457-460.
- ³⁴ Iacobucci, C.; Reale, S.; Gal, J.-F.; Angelis, F. Dinuclear Copper Intermediates in Copper(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Directly Observed by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 3065-3068.
- ³⁵ Chen, J.; Spear, S. K.; Huddleston, J. G.; Rogers, R. D. Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media *Green Chem.* **2005**; *7*, 64-82.
- ³⁶ Colacino, E.; Martinez, J.; Lamaty, F.; Patrikeeva, L. S.; Khemchyan, L. L.; Ananikov, V. P.; Beletskaya, I. P. PEG as an alternative reaction medium in metal-mediated transformations. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 2893-2920.