

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO  
ANTI-*Trypanosoma cruzi* DE HÍBRIDOS NAFTOIMIDAZÓLICOS,  
DERIVADOS DA  $\beta$ -LAPACHONA, COM  
NITROIMIDAZÓIS**

**THIAGO DE SOUZA DIAS SILVA**

**2023**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO  
ANTI-*Trypanosoma cruzi* DE HÍBRIDOS NAFTOIMIDAZÓLICOS,  
DERIVADOS DA  $\beta$ -LAPACHONA, COM  
NITROIMIDAZÓIS**

**THIAGO DE SOUZA DIAS SILVA**

*Sob orientação do Professor*

**Dr. Marco Edilson Freire de Lima**

*Professor Titular-Instituto de Química-UFRRJ*

*Co-orientação*

**Dr. Aurélio Baird Buarque Ferreira (in memoriam)**

*Professor Associado-Instituto de Química-UFRRJ*

Dissertação de mestrado submetido como  
requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Química**, no Programa de Pós-  
Graduação em Química, área de concentração  
em Química.

*Seropédica, RJ*

*Maio, 2023*

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586p Silva, Thiago de Souza Dias, 1987-  
PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO ANTI  
Trypanosoma cruzi DE HÍBRIDOS NAFTOIMIDAZÓLICOS,  
DERIVADOS DA BETA-LAPACHONA, COM NITROIMIDAZÓIS /  
Thiago de Souza Dias Silva. - Seropédica, 2023.  
143 f.

Orientador: Marco Edilson Freire de Lima.  
Coorientador: Aurélio Baird Buarque Ferreira.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em  
Química, 2023.

1. Síntese orgânica. 2. Química medicinal. 3.  
Atividade tripanocida. 4. Hibridação molecular. 5.  
Naftoimidazóis, derivados da beta-lapachona, com  
nitroimidazóis. I. Lima, Marco Edilson Freire de ,  
1965-, orient. II. Ferreira, Aurélio Baird Buarque,  
1945-, coorient. III Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Química.  
IV. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**THIAGO DE SOUZA DIAS SILVA**

Dissertação de mestrado submetido como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Química**, no Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química.

**DISSERTAÇÃO APROVADA EM 15/05/2023**

Marco Edilson Freire de Lima. Dr. UFRRJ  
(Orientador)

Otávio Augusto Chaves. Dr. UC

Debora Decote Ricardo de Lima. Dra. UFRRJ

---

*Emitido em 2023*

**TERMO N° 553/2023 - PPGQ (12.28.01.00.00.00.60)**

**(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)**

*(Assinado digitalmente em 18/05/2023 12:02 )*  
DEBORA DECOTE RICARDO DE LIMA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DMIV (12.28.01.00.00.00.54)  
Matrícula: ###227#6

*(Assinado digitalmente em 18/05/2023 10:44 )*  
MARCO EDILSON FREIRE DE LIMA  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DQO (11.39.00.23)  
Matrícula: ###587#8

*(Assinado digitalmente em 18/05/2023 12:14 )*  
OTÁVIO AUGUSTO CHAVES  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ####.###.588-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: **553**, ano: **2023**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **18/05/2023** e o código de verificação: **aea85c2926**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a Deus,  
aos meus pais, Ana Maria e Carlos Alberto,  
aos meus demais familiares e aos amigos de verdade.  
Responsáveis por tudo que há de bom em mim e minhas fontes de inspiração.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser meu refúgio, fortaleza e inspiração, tão necessários para que eu pudesse enfrentar todos os desafios que apareceram ao longo desta caminhada.

Aos meus pais, Ana Maria e Carlos Alberto, que sempre estiveram presentes, incentivando-me, ajudando-me e encorajando-me para que eu pudesse concretizar mais este sonho. Eu os amo e sinto-me orgulhoso em tê-los como pais.

À toda minha família, em especial, à tia Sandra e à prima Kelly, pelo cuidado comigo e incentivo constante; sempre presentes. Obrigado.

Ao professor Aurélio Ferreira (*in memoriam*), de quem me honro ter sido aluno, por abrir as portas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (a qual orgulho-me de ser mais um de seus filhos), por todo o saber compartilhado e pela confiança depositada em mim. Pelos cafés, jantares, histórias e amizade, obrigado. Acredito que estaria feliz com este momento.

Ao professor Marco Edilson, por ter aceitado ser meu orientador, ter confiado em mim e por compartilhar seus valiosos conhecimentos científicos e conselhos. Por estar envolvido em todas as etapas e momentos do desenvolvimento deste projeto, inclusive nos mais difíceis, sempre gentil, paciente, dedicado, amigo e extremamente competente e profissional (a quem tenho como referência). Muito obrigado, professor.

Ao amigo, Afonso Santine M. M. Velez, por sua ajuda nas diversas etapas de construção desta dissertação: desde o auxílio na parte experimental, passando pelos ensaios biológicos até o processo de escrita e correção (como um co-orientador). Por seu tempo dedicado a mim e por compartilhar seus conhecimentos e experiências, que foram muito importantes para este trabalho. Obrigado.

À professora Rosane Nora Castro, pelas várias análises e otimizações no CLAE, aulas e várias contribuições, cordialmente prestadas durante o desenvolvimento desta pesquisa. Muitíssimo obrigado.

Ao casal, Gabriela Alves e Paulo Pitasse Santos, por toda ajuda (foram várias), conselhos e ideias, tão significativas e importantes, durante a execução deste projeto. Obrigado.

Aos amigos do laboratório 51, Leonardo Araújo e Gabriel Rio, pelo acolhimento inicial na pós-graduação e por todos conhecimentos compartilhados.

Aos amigos e colegas do LaQuiMed/UFRRJ, Douglas Alcântara, Jorge Lucas e Luiz, pelo convívio, ideias compartilhadas e momentos de descontração.

À professora Débora Decotè Ricardo, pela colaboração efetiva com LaQuiMed-UFRRJ, cedendo espaço, equipamentos e insumos de seu laboratório no IV-UFRRJ para a execução dos ensaios biológicos deste trabalho. Obrigado.

Ao grande amigo, Henrique Previtali, por todo incentivo, apoio, colaboração e amizade, fundamentais, imensuráveis e impagáveis, durante estes anos de pesquisa e de vida. Muito obrigado.

Aos amigos, Suzana Pires (responsável por me apresentar ao professor Aurélio), Ângela Monken, Luiz Antônio Barbosa, Daiane Oliveira e Manoel, pelo estímulo, suporte e momentos de muita diversão, tornado o processo mais leve e agradável.

Às amigas, Susana Tourón e Maria Olga Fernandez (*in memoriam*), pelo apoio, incentivo e ajuda, inclusive material, na montagem da quitinete, próxima à UFRRJ.

Ao corpo diretivo e aos amigos professores do Colégio Estadual D. Pedro II, onde trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química da UFRRJ, que participaram e têm acompanhado o meu processo de formação.

Aos professores, membros da banca examinadora, por aceitarem o convite de ler e agregarem seus conhecimentos a este trabalho.

Aos técnicos e colaboradores do Instituto de Química da UFRRJ. Em especial, aos constituintes da Central Analítica Multusuários (CAM-IQ-UFRRJ), por realizarem as análises experimentais para a caracterização dos compostos desta dissertação.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por garantir ensino de qualidade.

À CAPES, CNPq e FAPERJ, pelos auxílios financeiros que viabilizam a execução dos projetos do nosso grupo de pesquisa.

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

## RESUMO

SILVA, Thiago de Souza Dias. **Planejamento, síntese e avaliação anti-*Trypanosoma cruzi* de híbridos naftoimidazólicos, derivados da  $\beta$ -lapachona, com nitroimidazóis.** Dissertação (Mestrado em Química, área de concentração: Química Orgânica - Química Medicinal). Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

A doença de Chagas (DC) é uma infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Esta enfermidade é classificada pela Organização Mundial da Saúde como uma das doenças tropicais mais negligenciadas do mundo e acredita-se que cerca de 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectadas com *T. cruzi*. Além disso, estima-se que menos de 1% dos pacientes portadores da DC recebe o tratamento antiparasitário, que é realizado através do uso de um dos dois fármacos nitro-heterocíclicos, que foram inseridos na terapêutica há mais de meio século, o benznidazol e o nifurtimox. Ambos são medicamentos eficazes quando administrados na fase aguda da DC, mas não apresentam atividade significativa na fase crônica da infecção. Além disso, estes dois fármacos apresentam efeitos colaterais severos e exigem um longo tempo de tratamento. Por se tratar de uma doença que afeta, primordialmente, populações vivendo em bolsões de pobreza, não há interesse por parte das grandes companhias farmacêuticas em desenvolver pesquisas buscando encontrar medicamentos com maior eficácia e menor toxicidade. Ou seja: existe demanda humanitária, mas não existe mercado. O uso de produtos naturais (PNs), em especial, os de origem vegetal, tem grande importância e contribuição na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos. Diante da diversidade observada nos PNs, uma classe de substâncias se destaca: as quinonas. O lapachol e a  $\beta$ -lapachona são duas naftoquinonas, amplamente discutidas na literatura, e têm atraído grande atenção na pesquisa em química e farmacologia de quinonas. O lapachol é encontrado como constituinte de várias plantas e sua ocorrência é maior na família Bignoniaceae, particularmente no gênero Tabebuia. No Brasil, as espécies de Tabebuia são conhecidas popularmente como ipê ou pau d'arco. A  $\beta$ -lapachona pode ser obtida através da isomerização do lapachol na presença de ácido sulfúrico concentrado. A obtenção de compostos derivados da  $\beta$ -lapachona também tem sido explorada para a síntese de novos compostos com atividade tripanocida, sendo os derivados naftoimidazólicos os mais promissores. Até o momento da elaboração do referido projeto, segundo a literatura, o 6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6-*d*]imidazol, obtido pela reação de condensação entre a  $\beta$ -lapachona, amônia e 4-metilbenzaldeído, é o naftoimidazol, derivado da  $\beta$ -lapachona, que apresentou maior atividade contra o *T. cruzi* e por esse motivo, foi escolhido para sofrer homologações de grupos farmacofóricos, de fármacos comerciais com atividade antiparasitária conhecida, como benznidazol e metronidazol, utilizando a estratégia de hibridação molecular, através da reação de cicloadição de alcino-azida, catalisada por cobre (I) (CuAAC). No planejamento molecular dos derivados obtidos neste trabalho, variou-se a posição do grupamento nitro presente nos centros imidazólicos, com o objetivo de se investigar a relação dos diferentes potenciais de redução de cada espécie 2-, 4-, 5-nitroimidazólicas, relacionando os potenciais de redução com as atividades biológicas observadas na célula do parasito, visto que o potencial de redução de cada espécie nitroimidazólica muda de acordo com a posição do grupo nitro no anel. Os resultados obtidos neste trabalho validaram o planejamento molecular utilizado, gerando moléculas híbridas otimizadas, ativas frente ao *T. cruzi* e com maior índice de seletividade (menor toxicidade frente às células do hospedeiro).

**Palavras-chave:** *Trypanosoma cruzi*, naftoimidazol, nitroimidazóis.

## ABSTRACT

SILVA, Thiago de Souza Dias. **Planning, synthesis and anti-*Trypanosoma cruzi* evaluation of naphthoimidazole hybrids, derived from  $\beta$ -lapachone, with nitroimidazoles.** Dissertation (Masters in Chemistry, concentration area: Organic Chemistry - Medicinal Chemistry). Institute of Chemistry, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

Chagas disease (CD) is an infection caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. It is classified by the World Health Organization as one of the most neglected tropical diseases in the world, and approximately 6 to 7 million people worldwide are believed to be infected with *T. cruzi*. In addition, it is estimated that less than 1% of patients with CD receive antiparasitic treatment, which is performed using two nitroheterocyclic drugs introduced more than a century ago, benznidazole and nifurtimox. Both drugs are effective drugs when administered in the acute phase of CD and do not show significant activity in the chronic phase of the infection. However, these two drugs have adverse effects and can be long-term treatments. Since it is a disease that primarily affects populations living in pockets of poverty, there is no interest on the part of large pharmaceutical companies in developing research seeking to find drugs with greater efficacy and less toxicity. In other words, there is humanitarian demand, but there is no market. The use of natural products (NPs), especially those of plant origin, is of great importance and contribution to the discovery and development of new drugs. Faced with the diversity observed in NPs, one class of substances stands out: quinones. Lapachol and  $\beta$ -lapachone are two naphthoquinones widely reported in the literature and have attracted great attention in research on quinone chemistry and pharmacology. Lapachol is found as a constituent of several plants, and its occurrence is higher in the Bignoniaceae family, particularly in the genus *Tabebuia*. In Brazil, *Tabebuia* species are popularly known as ipê or pau d'arco.  $\beta$ -lapachone can be treated by isomerizing lapachol in the presence of concentrated sulfuric acid. Obtaining compounds derived from  $\beta$ -lapachone has also been widely explored for the synthesis of new compounds with trypanocidal activity, with naphthoimidazole derivatives being the most promising. Until the moment of elaboration of the mentioned project, according to the literature, 6,6-dimethyl-2-(*p*-toluyl)-3,4,5,6-tetrahydrobenzo[7,8]chromene [5,6-*d*] imidazole, obtained by the condensation reaction between  $\beta$ -lapachone, ammonia and 4-methylbenzaldehyde, is naphthoimidazole, derived from  $\beta$ -lapachone, which showed greater activity against *T. cruzi* and, for this reason, was chosen to undergo group approvals pharmacophoric of commercial drugs with known antiparasitic activity, such as benznidazole and metronidazole, using a molecular hybridization strategy through copper (I)- catalyzed alkyne-azide cycloaddition reaction (CuAAC). In our planning, we will vary the position of the nitro group present in the imidazole centers, seeking to investigate the relationship of the different risks of reduction of each species of 2-, 4- and 5-nitroimidazole and to relate it to the observed activities against parasite cell, since the reduction potential of each nitroimidazole species changes according to the position of the nitro group in the ring. The results obtained in this work validated the molecular design used, generating improved hybrid molecules that were active against *T. cruzi* and had a higher selectivity index (lower toxicity against host cells).

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, naphthoimidazole, nitroimidazoles.

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Formas de transmissão de doença de Chagas aguda no Brasil entre 2014 e 2020...21
Tabela 2: Resultados preliminares de $CI_{50}/120h$ amastigotas, $CI_{50}/120h$ LLC-MK2 e índice de seletividade dos compostos e das misturas de híbridos. ....88

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> . Adaptado de (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018) .....	23
Figura 2: Estruturas dos fármacos benznidazol (1) e nifurtimox (2).....	24
Figura 3: Distribuição de fármacos inseridos no mercado entre 1981 e 2020. Adaptado de (NEWMAN; CRAGG, 2020).....	26
Figura 4: Classificação das quinonas quanto ao sistema aromático (SOUSA; LOPES; DE ANDRADE, 2016) .....	27
Figura 5: Estruturas do lapachol (3) e da $\beta$ -lapachona (4). .....	27
Figura 6: Ipê roxo e ipê branco (FERREIRA et al., 2010).....	28
Figura 7: Síntese da $\beta$ -lapachona a partir do lapachol, na presença de ácido sulfúrico. ....	29
Figura 8: Estrutura do 1,3-diazol (glioxalina). .....	29
Figura 9: Estruturas de ressonância do imidazol. ....	30
Figura 10: Caráter anfótero do imidazol.....	30
Figura 11: Estruturas dos derivados naftoimidazólicos da $\beta$ -lapachona N1, N2 e N3 (MENNA-BARRETO et al., 2010). .....	31
Figura 12: Estrutura molecular de um híbrido obtido por Pelozo e colaboradores. Adaptado de(PELOZO et al., 2021).....	32
Figura 13: Regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos obtidos a partir da cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen (FREITAS et al., 2011).....	33
Figura 14: Cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre(I), abreviada por CuAAC (FREITAS et al., 2011). .....	34
Figura 15: Primeira proposta mecanística para a reação de cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre(I). Adaptado de (WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013).....	38
Figura 16: Mecanismo atualmente aceito para a reação de CuAAC. Adaptado de (WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013). .....	39
Figura 17: Esquema simplificado do planejamento dos híbridos (1, 2, 3 e 4) deste projeto....	41
Figura 18: Esquema genérico para síntese dos híbridos planejados.....	43
Figura 19: Esquema para síntese dos compostos (15) e (16). .....	44
Figura 20: Síntese da $\beta$ -lapachona a partir do lapachol.....	47
Figura 21: Síntese do BLI-2-Tolu (5).....	48
Figura 22: Síntese dos intermediários regioisômeros (6) e (7).....	49
Figura 23: Síntese do intermediário (9).....	51
Figura 24: Síntese do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	52
Figura 25: Síntese do 1-(2-bromoetil)-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	53
Figura 26: Síntese da azida: 1-(2-azidaetil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (10).....	54
Figura 27: Síntese da azida: 1-(2-azidaetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (12). .....	54
Figura 28: Síntese da azida: 1-(2-azidaetil)-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14). .....	55
Figura 29: Síntese dos híbridos (1) e (2). .....	56
Figura 30: Síntese dos híbridos (3) e (4). .....	57
Figura 31: Síntese dos híbridos (5) e (6). .....	57
Figura 32: Síntese dos compostos (15) e (16). .....	59
Figura 33: Esquema ilustrativo da metodologia empregada para a extração do lapachol.....	63
Figura 34: Síntese da $\alpha$ - e da $\beta$ - lapachona a partir do lapachol.....	64
Figura 35: Proposta de mecanismo reacional, genérica e simplificada, da formação de imidazol via reação de Debus-Radziszewski (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2020).....	66

Figura 36: Prototautomerismo do BLI-2-Tolu: tautômeros 5A e 5B.....	67
Figura 37: Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do BLI-2-Tolu com ampliação da região entre δ 12,30 e 13,20 ppm.....	67
Figura 38: Síntese dos intermediários (6) e (7), demonstrando o deslocamento da carga negativa entre os átomos de nitrogênio da base conjugada do BLI-2-Tolu.....	69
Figura 39: Cromatograma (CLAE-DAD) da mistura de produtos obtida na reação de <i>N</i> -alquilação do BLI-2-Tolu com brometo de propargila.....	70
Figura 40: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 8,8 min.....	70
Figura 41: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 9,4 min.....	70
Figura 42: Protonação do nitrogênio e comportamento ácido-base do núcleo imidazólico do metronidazol.....	71
Figura 43: Mecanismo genérico para a reação de obtenção dos alquilantes (11) e (13).....	74
Figura 44: Mecanismo para a reação de obtenção das azidas (10), (12) e (14).....	76
Figura 45: Cromatograma da mistura contendo os híbridos (1) e (2).....	79
Figura 46: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 7,1 min.....	79
Figura 47: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 7,5 min.....	79
Figura 48: Cromatograma da mistura contendo os híbridos (3) e (4).....	80
Figura 49: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 7,0 min.....	80
Figura 50: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 7,4 min.....	81
Figura 51: Cromatograma da mistura contendo os híbridos (5) e (6).....	81
Figura 52: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 7,0 min.....	82
Figura 53: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 7,4 min.....	82
Figura 54: Cromatograma (CLAE analítico) da mistura contendo os híbridos (5) e (6).....	82
Figura 55: Cromatograma (CLAE Semipreparativo) da mistura contendo os híbridos (5) e (6).....	83
Figura 56: Comparação dos cromatogramas (CLAE-DAD analítico) contendo os híbridos (5) e (6), antes e depois da separação em CLAE Semipreparativo (verde - amostra antes da separação; rosa e azul - após purificação).....	83
Figura 57: Cromatograma contendo a mistura dos compostos (15) e (16).....	86
Figura 58: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 6,8 min.....	86
Figura 59: Espectro de massas (IES+) do composto com t <sub>R</sub> = 7,1 min.....	86
Figura 60: Reação de clivagem do substrato vermelho de clorofenol $\beta$ -D-galactopirano (17), promovida pela ação da enzima $\beta$ -galactosidase, levando à formação de D-galactose (18) e do vermelho de clorofenol (19). Adaptado de (DIAS et al., 2009).....	87
Figura 61: Representações gráficas das análises da atividade <i>in vitro</i> , das misturas dos híbridos e dos compostos, frente a forma amastigota de <i>T. cruzi</i> e da avaliação da citotoxicidade em relação às células LLC-MK2. 2NO <sub>2</sub> : mistura dos híbridos (3) e (4); 4NO <sub>2</sub> : mistura dos híbridos (5) e (6); 5NO <sub>2</sub> : mistura dos híbridos (1) e (2) e TRI: mistura dos compostos (15) e (16)....	89
Figura 62: Estrutura dos híbridos e dos compostos com seus respectivos resultados de CI <sub>50</sub> /120h amastigostas, CI <sub>50</sub> /120h LLC-MK2 e índice de seletividade.....	90

## ANEXO - ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do lapachol.....	100
Espectro 2: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do lapachol.....	101
Espectro 3: Espectro de massas do lapachol. ....	102
Espectro 4: Espectro de IV do lapachol.....	102
Espectro 5: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do $\beta$ -lapachona.....	103
Espectro 6: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da $\beta$ -lapachona. ....	104
Espectro 7: Espectro de massas da $\beta$ -lapachona.....	105
Espectro 8: Espectro de IV da $\beta$ -lapachona.....	105
Espectro 9: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do BLI-2-Tolu.....	106
Espectro 10: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do BLI-2-Tolu: região entre $\delta$ 7,2 e 8,6 ppm. ....	107
Espectro 11: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do BLI-2-Tolu: região entre $\delta$ 0 e 3,5 ppm. ....	107
Espectro 12: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do BLI-2-Tolu. ....	108
Espectro 13: Espectro de massas do BLI-2-Tolu. ....	109
Espectro 14: Espectro de IV do BLI-2-Tolu. ....	109
Espectro 15: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do metronidazol. ....	110
Espectro 16: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do metronidazol: região entre $\delta$ 3,5 e 5,1 ppm. ....	111
Espectro 17: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do metronidazol. ....	111
Espectro 18: Espectro de massas do metronidazol. ....	112
Espectro 19: Espectro de IV do metronidazol. ....	112
Espectro 20: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do intermediário (9). ....	113
Espectro 21: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do intermediário (9): região entre $\delta$ 4,50 e 4,75 ppm. ....	114
Espectro 22: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$ ) do intermediário (9). ....	114
Espectro 23: Espectro de massas do intermediário (9). ....	115
Espectro 24: Espectro de IV do intermediário (9). ....	115
Espectro 25: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (11). ....	116
Espectro 26: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (11): região entre $\delta$ 3,5 e 5,0 ppm. ....	117
Espectro 27: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (11). ....	117
Espectro 28: Espectro de massas do intermediário (11). ....	118
Espectro 29: Espectro de IV do intermediário (11). ....	118
Espectro 30: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (13). ....	119
Espectro 31: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (13): região entre $\delta$ 3,6 e 4,6 ppm. ....	120
Espectro 32: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (13). ....	120
Espectro 33: Espectro de IV do intermediário (13). ....	121
Espectro 34: Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{ACETONA-}d_6$ ) do intermediário (10). ....	122
Espectro 35: Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{ACETONA-}d_6$ ) do intermediário (10): região entre $\delta$ 3,8 e 4,7 ppm.....	123
Espectro 36: Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – DEPTQ (125 MHz, $\text{ACETONA-}d_6$ ) do intermediário (10). ....	123

Espectro 37: Espectro de massas do intermediário (10).....	124
Espectro 38: Espectro de IV do intermediário (10).....	124
Espectro 39: Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do intermediário (12).....	125
Espectro 40: Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPTQ (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do intermediário (12) ...	126
Espectro 41: Espectro de IV do intermediário (12).....	126
Espectro 42: Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do intermediário (14).....	127
Espectro 43: Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do intermediário (14): região entre δ 3,7 e 4,3 ppm. ....	128
Espectro 44: Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPTQ (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do intermediário (14) ...	128
Espectro 45: Espectro de IV do intermediário (14).....	129
Espectro 46: Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5.....	130
Espectro 47: Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5: região entre δ 6,5 e 8,3 ppm. ....	131
Espectro 48: Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5: região entre δ 1,4 e 6,0 ppm. ....	131
Espectro 49: Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPTQ (125 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5.....	132
Espectro 50: Espectro de <sup>1</sup> H-HOMOCOSY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5. ....	132
Espectro 51: HSQC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5. ....	133
Espectro 52: HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5. ....	133
Espectro 53: NOESY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 5. ....	134
Espectro 54: Espectro de IV do híbrido 5.....	136
Espectro 55: Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6.....	137
Espectro 56: Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6: região entre δ 6,5 e 8,5 ppm. ....	138
Espectro 57: Ampliação do espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6: região entre δ 1,38 e 5,0 ppm. ....	138
Espectro 58: Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPTQ (125 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6.....	139
Espectro 59: Espectro de <sup>1</sup> H-HOMOCOSY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6. ....	139
Espectro 60: HSQC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6. ....	140
Espectro 61: HMBC (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6. ....	140
Espectro 62: NOESY (500 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do híbrido 6. ....	141
Espectro 63: Espectro de IV do híbrido 6.....	143

## ANEXO - ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o lapachol.....	101
Tabela 2a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a $\beta$ -lapachona.....	104
Tabela 3a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o BLI-2-Tolu.....	108
Tabela 4a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o metronidazol. ....	112
Tabela 5a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o intermediário (9).....	115
Tabela 6a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o intermediário (11).....	118
Tabela 7a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o intermediário (13).....	121
Tabela 8a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o intermediário (10).....	124
Tabela 9a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o intermediário (12).....	126
Tabela 10a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o intermediário (14).....	129
Tabela 11a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ , $^1\text{H}$ -COSY, HSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ), HMBC ( $^2\text{J}_{\text{CH}}$ ; $^3\text{J}_{\text{CH}}$ ) e NOESY para o híbrido 5.....	135
Tabela 12a: Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ , $^1\text{H}$ -COSY, HSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ), HMBC ( $^2\text{J}_{\text{CH}}$ ; $^3\text{J}_{\text{CH}}$ ) e NOESY para o híbrido 6.....	142

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIAÇÕES E SÍMBOLOS

- ACETONA(*d*6) - Acetona deuterada  
CCDA - Cromatografia em camada delgada analítica  
CCDP - Cromatografia em camada delgada preparativa  
CDCl<sub>3</sub> - Clorofórmio deuterado  
CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência  
CuAAC - Cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre (I)  
*d* - Dupletos  
DC - Doença de Chagas  
DCM - Diclorometano  
DMSO - Dimetilsulfóxido  
DMSO-(*d*6) - Dimetilsulfóxido deuterado  
EM - Espectrometria de massas de baixa resolução com ionização por impacto de elétrons  
IES - Espectrometria de massa com ionização por electrospray  
IFA - Insumo farmacêutico ativo  
IV - Espectroscopia de infravermelho  
*J* - Constante de acoplamento  
*m* - Multipletos  
M<sup>+</sup> - Íon molecular  
m/z - Razão massa-carga  
MeCN - Acetonitrila  
MeOH - Metanol  
OMS - Organização Mundial da Saúde  
P.F. - Ponto de fusão  
PNs - Produtos naturais  
ppm - Parte por milhão  
Rf - Fator de retenção  
RMN <sup>1</sup>H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio  
RMN <sup>13</sup>C - Ressonância magnética nuclear de carbono  
*s* - Simpleto  
SINAN - Sistema de informação de agravos de notificação  
*t* - Tripleto  
*T. cruzi* - *Trypanosoma cruzi*  
TEA - Trietilamina  
THF - Tetrahidrofurano  
TMS - Tetrametilsilano  
UV - Ultravioleta  
 $\delta$  - Deslocamento químico  
 $\lambda$  - Comprimento de onda  
 $\nu$  - Estiramento

## SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO .....	20
1.1 - Doença de Chagas .....	20
1.2 - Produtos naturais: as quinonas, uma fonte interessante .....	25
1.2.1 - Lapachol e $\beta$ -lapachona.....	27
1.3 - Imidazóis e naftoimidazóis derivados da $\beta$ -lapachona.....	29
1.4 - Estratégia de modificação estrutural: hibridação molecular .....	32
1.5 - Reação de CuAAC: uso de “click chemistry”.....	33
1.5.1 - Catalisadores .....	35
1.5.2 - Solventes .....	36
1.5.3 - Mecanismos.....	37
1.6 - Planejamento de híbridos naftoimidazólicos, derivados da $\beta$ -lapachona, com nitroimidazóis .....	40
2 - JUSTIVICATIVA .....	42
3 - OBJETIVOS .....	42
3.1 - Objetivos gerais.....	42
3.2 - Objetivos específicos .....	42
4 - MATERIAIS E MÉTODOS .....	44
4.1 - Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas.....	44
4.2 - Nas análises, síntese e purificações.....	45
4.3 - Outros equipamentos.....	46
4.4 - Extração do lapachol (3) do cerne do ipê .....	46
4.5 - Síntese da $\beta$ -lapachona (4) .....	47
4.6 - Síntese do BLI-2-Tolu (5) .....	48
4.7 - Síntese dos intermediários <i>N</i> -propargil: 6,6-dimetil-3-(prop-2-in-1-il)-2-( <i>p</i> -toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6- <i>d</i> ] imidazol (6) e 6,6-dimetil-1-(prop-2-in-1-il)-2-( <i>p</i> -toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6- <i>d</i> ] imidazol (7) .....	49
4.8 - Síntese dos intermediários nitroimidazólicos.....	50
4.8.1 - Extração do metronidazol (8) .....	50
4.8.2 - Síntese do intermediário metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il) etila (9).....	51
4.8.3 - Síntese dos brometos intermediários.....	52
4.8.3.1 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	52
4.8.3.2 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	53
4.8.4 - Síntese das azidas intermediárias .....	53

4.8.4.1 - Síntese da azida contendo o grupo $5\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (10) .....	54
4.8.4.2 - Síntese da azida contendo o grupo $2\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (12) .....	54
4.8.4.3 - Síntese da azida contendo o grupo $4\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14) .....	55
4.9 - Reações de CuAAC: Síntese dos híbridos .....	55
4.9.1 - Síntese dos híbridos (1) e (2) .....	56
4.9.2 - Síntese dos híbridos (3) e (4) .....	57
4.9.3 - Síntese dos híbridos (5) e (6) .....	57
4.10 - Síntese do 1-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-( <i>p</i> -toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6- <i>d</i> ]imidazol (15) e 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-( <i>p</i> -toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6- <i>d</i> ]imidazol (16) .....	59
4.11 - Atividade anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	59
4.11.1 - Cultivo de linhagem células mamíferas LLC-MK2 .....	60
4.11.2 - Cultivo de <i>T. cruzi</i> na forma tripomastigota .....	60
4.11.3 - Soluções estoques das misturas .....	60
4.11.4 - Ensaios de citotoxicidade contra células LLC-MK2 .....	61
4.11.5 - Ensaios de atividade contra amastigotas de <i>T. cruzi</i> .....	61
4.11.6 - Tratamento estatístico dos dados de atividade <i>in vitro</i> .....	62
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	62
5.1 - Extração do lapachol do cerne do ipê .....	62
5.2 - Síntese da $\beta$ -lapachona .....	64
5.3 - Síntese do BLI-2-Tolu (5) .....	65
5.4 - Síntese dos intermediários <i>N</i> -propargil: 6,6-dimetil-3-(prop-2-in-1-il)-2-( <i>p</i> -toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6- <i>d</i> ] imidazol (6) e 6,6-dimetil-1-(prop-2-in-1-il)-2-( <i>p</i> -toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6- <i>d</i> ] imidazol (7) .....	68
5.5 - Síntese dos intermediários nitroimidazólicos .....	71
5.5.1 - Extração do metronidazol (8) .....	71
5.5.2 - Síntese do intermediário metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il) etila (9) .....	72
5.5.3 - Síntese dos brometos intermediários .....	73
5.5.3.1 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11) .....	74
5.5.3.2 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13) .....	75
5.5.4 - Síntese das azidas intermediárias .....	75
5.5.4.1 - Síntese da azida contendo o grupo $5\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (10) .....	76
5.5.4.2 - Síntese da azida contendo o grupo $2\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (12) .....	77
5.5.4.3 - Síntese da azida contendo o grupo $4\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14) .....	77

5.6 - Reações de CuAAC: Síntese dos híbridos .....	78
5.6.1 - Síntese dos híbridos (1) e (2). .....	78
5.6.2 - Síntese dos híbridos (3) e (4). .....	80
5.6.3 - Síntese dos híbridos (5) e (6). .....	81
5.7 - Síntese do 1-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-( <i>p</i> -toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6- <i>d</i> ]imidazol (15) e 3-((1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-( <i>p</i> -toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6- <i>d</i> ]imidazol (16).....	85
5.8 - Atividade anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	87
6 - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....	91
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	92
ANEXO .....	100

## 1- INTRODUÇÃO

### 1.1 - Doença de Chagas

A doença de Chagas (DC), também conhecida como tripanossomíase americana, é uma infecção causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), tendo insetos triatomíneos como vetores (ECHAVARRÍA et al., 2021).

Descoberta em 1909, pelo médico brasileiro Carlos Justiniano Ribeiro Chagas, essa doença é um problema social e de saúde pública não apenas na América Latina, onde é endêmica, mas também nos Estados Unidos da América, Canadá e muitos países europeus e alguns africanos, do Mediterrâneo Oriental e do Pacífico Ocidental (RASSI; RASSI; MARIN-NETO, 2010; WHO, 2022).

A DC é classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das doenças tropicais mais negligenciadas do mundo e acredita-se que cerca de 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectadas com *T. cruzi*, concentrando-se principalmente na América Latina (RASSI; RASSI; MARIN-NETO, 2010; WHO, 2022).

Projeta-se que 75 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a DC. Apenas 30% das pessoas com essa enfermidade são diagnosticadas. Além disso, morrem, anualmente, aproximadamente 12.000 pessoas na América Latina sendo a DC a infecção parasitária que mais mata pessoas, por ano, nessa região (DNDI, 2022).

A DC é transmitida aos seres humanos e a mais de 150 espécies de animais domésticos e mamíferos silvestres. A infecção pelo *T. cruzi* em humanos pode ocorrer principalmente pela sua transmissão vetorial, transfusão sanguínea, transmissão oral, placentária ou congênita, acidentes de laboratório, ingestão de carne crua de animais infectados e transplantes de órgãos de doadores infectados. Há também a possibilidade da transmissão direta do reservatório do *T. cruzi*, principalmente envolvendo marsupiais, que eliminam o *T. cruzi* por meio de glândulas odoríferas e podem transmitir o parasita diretamente a outros animais e ao homem (COURA, 2015; WHO, 2022).

A transmissão vetorial ocorre pelo contato do hospedeiro vertebrado com as excretas contaminadas dos insetos hematófagos, os triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros. Existem mais de 130 espécies de triatomíneos, embora só algumas destas foram descritas como vetores competentes para o *T. cruzi*. No Brasil, o *Triatoma infestans* era o principal vetor da doença de Chagas em humanos, porém ele foi controlado através de um

programa promovido pelo Ministério da Saúde. Recentemente outras espécies estão assumindo o nicho do *Triatoma infestans*, como *Triatoma brasiliensis*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida* (BRASIL, 2019; FERREIRA; SILVA, 2006).

Quanto à transmissão oral, também chamada de transmissão à distância, ela ocorre através da ingestão de alimentos *in natura*, como caldo de cana, suco de açaí, ou carne crua contaminados com o *T. cruzi* (RASSI; RASSI; MARIN-NETO, 2010). Geralmente os casos, de DC aguda por essa via de transmissão, são caracterizados por serem coletivos, clinicamente simultâneos e apresentarem alta morbidade e mortalidade (DÍAZ-BELLO et al., 2021).

No Brasil, atualmente, a transmissão oral é a que possui o maior número de casos notificados, conforme dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), superando a transmissão vetorial e vertical, por exemplo.

**Tabela 1:** Formas de transmissão de doença de Chagas aguda no Brasil entre 2014 e 2020.

Forma de transmissão	Ano de notificação							Total	%
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020		
<b>Oral</b>	131	209	298	270	330	341	130	1709	81,1
<b>Vetorial</b>	24	33	21	32	23	22	11	166	7,9
<b>Vertical</b>	2	0	1	3	1	-	-	7	0,3
<b>Acidental e Transplante</b>	2	0	1	1	1	2	-	7	0,3
<b>Em branco</b>	37	26	53	34	25	19	24	218	10,3
<b>Total</b>	196	268	374	340	380	384	165	2107	100

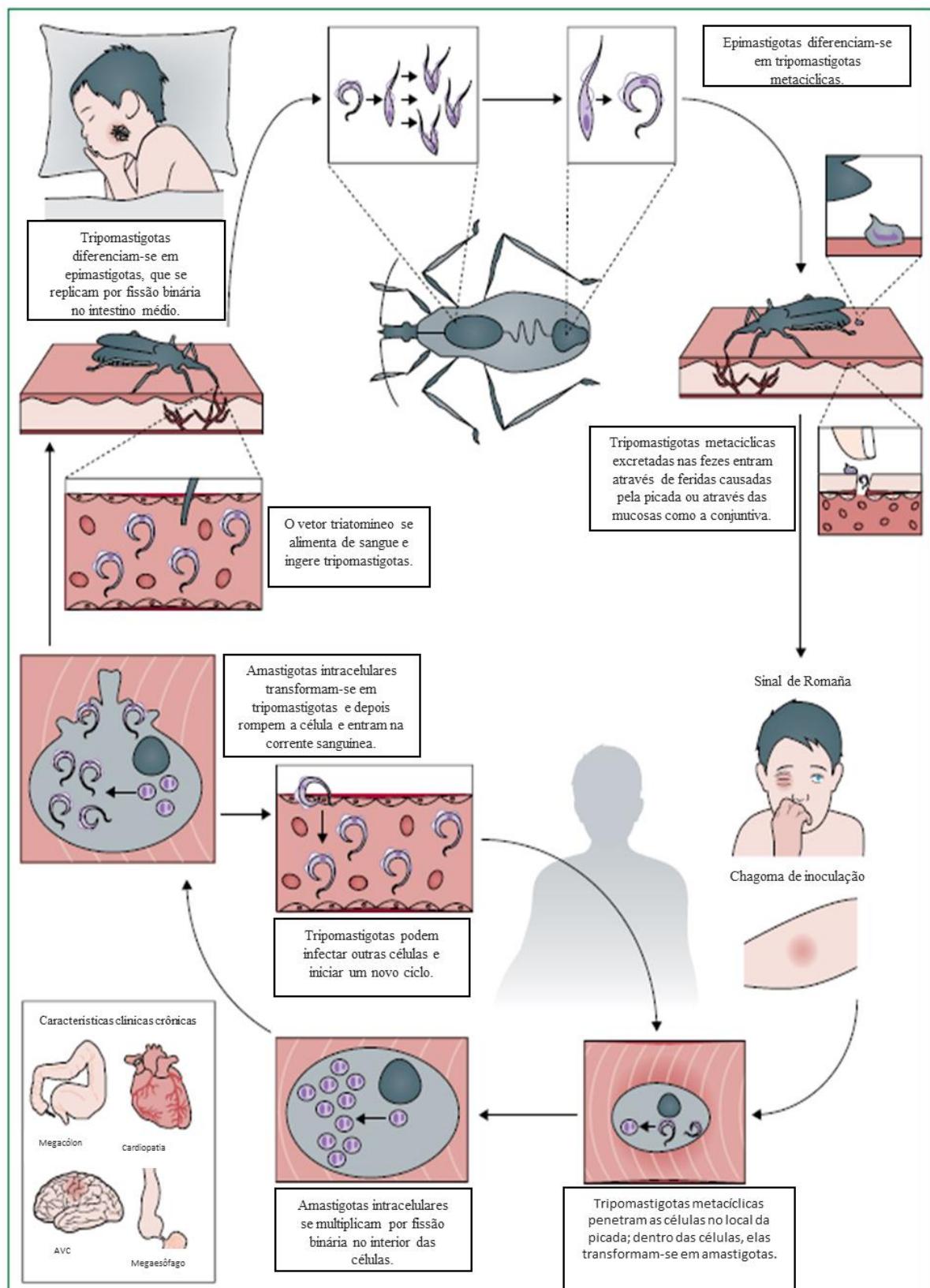
**Fonte:** Adaptado de (BRASIL, 2022).

O ciclo de vida do *T. cruzi* (Figura 1) se desenvolve parte no vetor invertebrado e parte no hospedeiro vertebrado. Durante o repasto sanguíneo, o inseto vetor infectado libera em suas fezes as formas tripomastigotas metacíclicas, próximo ao local da picada. Tais formas evolutivas podem ser introduzidas no hospedeiro por meio de rupturas na pele (ferida causada pela picada) ou através das mucosas. No hospedeiro, os parasitos na forma tripomastigota infectam as células próximas ao local da inoculação, diferenciando-se em amastigotas. As amastigotas são formas intracelulares que se replicam por divisão binária. Após a multiplicação, elas se diferenciam em tripomastigotas e rompem as células infectadas, sendo liberadas na corrente sanguínea. As tripomastigotas sanguíneas podem infectar diversos tipos celulares, em

vários tecidos, principalmente células musculares (cardíacas, lisas e esqueléticas) e células ganglionares, dentre outras (GUARNER, 2019; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; RASSI; RASSI; MARIN-NETO, 2010).

Os triatomíneos tornam-se infectados após a ingestão de sangue contendo as formas tripomastigotas sanguíneas. No intestino médio desses insetos, as tripomastigotas se diferenciam em epimastigotas e multiplicam-se onde, posteriormente, migram para a porção final do intestino e diferenciam-se novamente, assumindo a forma tripomastigota metacíclica (forma infectante) (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

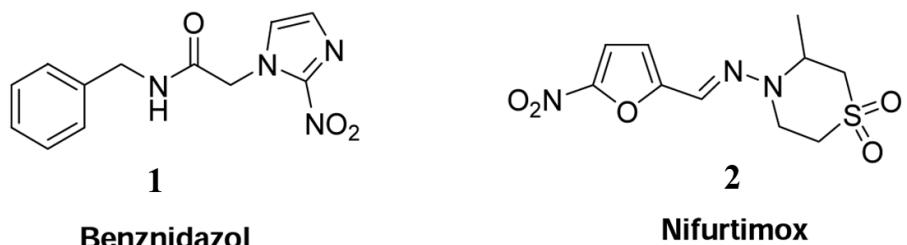
Quando a infecção por tripomastigotas metacíclicas ocorre na mucosa do olho é comum ocasionar uma reação indolor da conjuntiva, caracterizada por edema unilateral de ambas as pálpebras, conhecido como sinal de Romaña. Caso a picada aconteça em qualquer outra parte da pele, geralmente leva a uma reação no tecido subcutâneo, com o surgimento de edema e endurecimento local, congestão vascular e infiltração celular, chamado de chagoma ou chagoma de inoculação (BEUCLER; TORRICO; HIBBERT, 2020).



**Figura 1:** Ciclo de vida do *T. cruzi*. Adaptado de (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

A patogênese chagásica geralmente compreende uma fase aguda e outra crônica. A fase aguda, que ocorre durante as primeiras semanas após a infecção, pode ser assintomática e apresentar alta carga de parasitos no sangue. Quando presentes, os sintomas incluem febre, mal-estar, edema no sítio de inoculação, edema unilateral de pálpebra, náusea, vômito, cefaleia, gânglios linfáticos aumentados, dentre outros. De 3 a 10% dos pacientes, nesta fase, podem evoluir para casos graves e miocardite, levando, ocasionalmente, à óbito. Após a fase aguda, os pacientes podem evoluir para a fase crônica. Esta última, pode ser dividida em forma indeterminada, cardíaca e/ou digestiva. A forma indeterminada pode durar anos ou décadas, sendo assintomática, apresentando sorologia positiva para *T. cruzi*. Cerca de 30% a 40% dos indivíduos infectados na fase crônica progridem para forma cardíaca e/ou digestiva. Contudo, a maior parte destes pacientes sofrerá danos cardíacos (como insuficiência cardíaca, devido à cardiopatia associada à miocardite e fibrose, e tromboembolismo). Já o envolvimento gastrointestinal é menos comum e quando presente, observam-se alterações digestivas como megacôlon e/ou megaesôfago, que podem estar associadas a distúrbios gastrointestinais (CARLOS; DIAS, 1989; DNDI, 2022; FIOCRUZ, 2017).

Estima-se que menos de 1% dos pacientes portadores da DC recebe tratamento antiparasitário e, atualmente, dispõe-se de poucos agentes terapêuticos para o combate desta doença. O tratamento etiológico é realizado através do uso de dois fármacos nitro-heterocíclicos, inseridos há mais de meio século, o benznidazol e o nifurtimox (Figura 2) (DNDI, 2022; ECHEVERRIA; MORILLO, 2019; FIOCRUZ, 2017).



**Figura 2:** Estruturas dos fármacos benznidazol (1) e nifurtimox (2).

Ambos medicamentos são eficazes quando administrados na fase aguda da DC e não apresentam atividade significativa na fase crônica. Além disso, os dois fármacos apresentam efeitos colaterais severos e exigem um longo tempo de tratamento, 30 a 60 dias, que, por vezes, inviabiliza-o (COURA; DE CASTRO, 2002; FIOCRUZ, 2017).

Nos pacientes em tratamento com o nifurtimox, que teve seu uso descontinuado no Brasil, os efeitos colaterais observados são: distúrbios psiquiátricos, neurológicos, perda de peso, náuseas, diarreia e cólica intestinal. Enquanto para o benznidazol observam-se erupções cutâneas, edema generalizado, febre, polineuropatia, polineurite e complicações na medula óssea (ARRÚA et al., 2019).

Por se tratar de uma parasitose que afeta, na maior parte dos casos, indivíduos residentes em áreas mais carentes dos países endêmicos, não há muito interesse por parte das grandes companhias farmacêuticas em desenvolver pesquisas buscando encontrar medicamentos com maior eficácia e menor toxicidade (DE SOUZA, 2010).

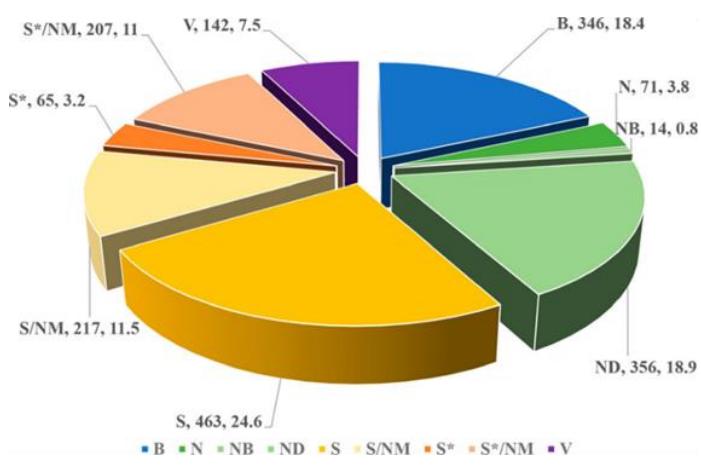
## **1.2 - Produtos naturais: as quinonas, uma fonte interessante**

Na busca da descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, a utilização de produtos naturais (PNs), em especial os de origem vegetal, acompanha a história e a evolução da humanidade por sua grande importância e contribuição (ATANASOV et al., 2015).

Acredita-se que as primeiras formas de utilização dos produtos naturais tenham sido na busca por alívio e cura de enfermidades pela ingestão de ervas e folhas. Algumas civilizações, como a egípcia, a greco-romana e a chinesa deixaram valiosos e importantes exemplos de utilização de produtos naturais na medicina, em mecanismos de defesa e no controle de pragas e, ultimamente, muitas espécies vegetais são estudadas tentando-se entender o seu mecanismo de ação e isolar os principais compostos, ainda longe de serem investigados de forma exaustiva (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Normalmente, os produtos naturais possuem mais centros estereogênicos e maior complexidade estrutural do que as moléculas sintéticas, embora exista uma gama de produtos naturais que atua com potência e especificidade em receptores biológicos e que possuem estruturas simples. Além disso, os produtos naturais contêm relativamente maior número de átomos de carbono e átomos de oxigênio, e um número menor de átomos de nitrogênio, halogênios e enxofre, e geralmente apresentam massas moleculares superiores a 500 Da (daltons), entre outras características (CLARDY; WALSH, 2004; LAHLOU, 2013).

Em uma de suas revisões mais recentes, Newman e Cragg demonstraram que aproximadamente 65% dos medicamentos introduzidos no mercado farmacêutico no período de 1981 a 2019 tiveram a participação dos PNs na sua elaboração, direta ou indiretamente (Figura 3). Este fato revela a grande importância dos produtos naturais ainda hoje na sociedade moderna (NEWMAN; CRAGG, 2020).



“B”: Biológico; geralmente um peptídeo ou proteína grande isolado de um organismo/linha celular ou produzido por meios biotecnológicos em um hospedeiro substituto;

“N”: Produto natural;

“NB”: Produto natural “botânico”;

“ND”: Derivado de um produto natural e geralmente é uma modificação semissintética;

“S”: Fármaco totalmente sintético, frequentemente encontrada por triagem/modificação aleatória de um agente existente;

“S\*”: Feito por síntese total, mas o farmacóforo é/era de um produto natural;

“V”: Vacina;

“NM”: Imitação de produto natural.

**Figura 3:** Distribuição de fármacos inseridos no mercado entre 1981 e 2020. Adaptado de (NEWMAN; CRAGG, 2020).

Diante da diversidade observada nos PN, uma classe de substâncias se destaca na busca de novos fármacos: as quinonas (DE MOURA et al., 2001).

Quinonas são dienonas cíclicas conjugadas, podendo ser classificadas como benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas e fenantraquinonas, de acordo com o sistema aromático que apresentam (Figura 4). Quinonas com as carbonilas adjacentes (sistema 1,2 dicetonas) são conhecidas como *ortho*-quinonas e com as carbonilas opostas (sistema 1,4), separadas por dois átomos de carbono, como *para*-quinonas. Compostos *meta*-quinonóides são instáveis e conhecidos apenas sob as formas radicalares (PATAI; RAPPORPORT, 1988).

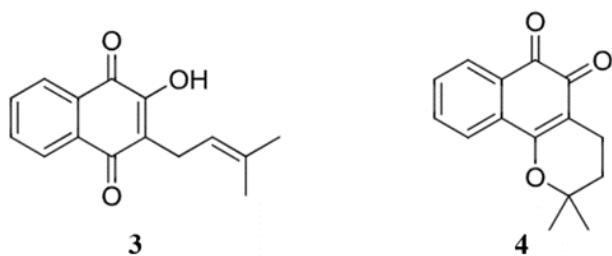
Grupo	Sistema aromático	Estruturas Básicas
1. Benzoquinonas	→ Anel benzênico	
2. Naftoquinonas	→ Anel naftalênico	
3. Antraquinonas	→ Anel antracênico	
4. Fenantraquinonas	→ Anel fenantrênico	

**Figura 4:** Classificação das quinonas quanto ao sistema aromático (SOUZA; LOPES; DE ANDRADE, 2016).

As quinonas formam um grupo extenso e diversificado de metabólitos secundários, largamente distribuídas na natureza, estando presentes em diversas famílias de vegetais superiores, artrópodes, equinodermos, fungos, líquens e bactérias (MELLO et al., 1999). Constituem uma classe de compostos que apresentam variadas atividades biológicas, como antimicrobianas, antitumorais, antiparasitárias, moluscicidas, anti-inflamatórias, antifúngicas e inibidoras da enzima transcriptase reversa do vírus HIV-1 (FERREIRA et al., 2010).

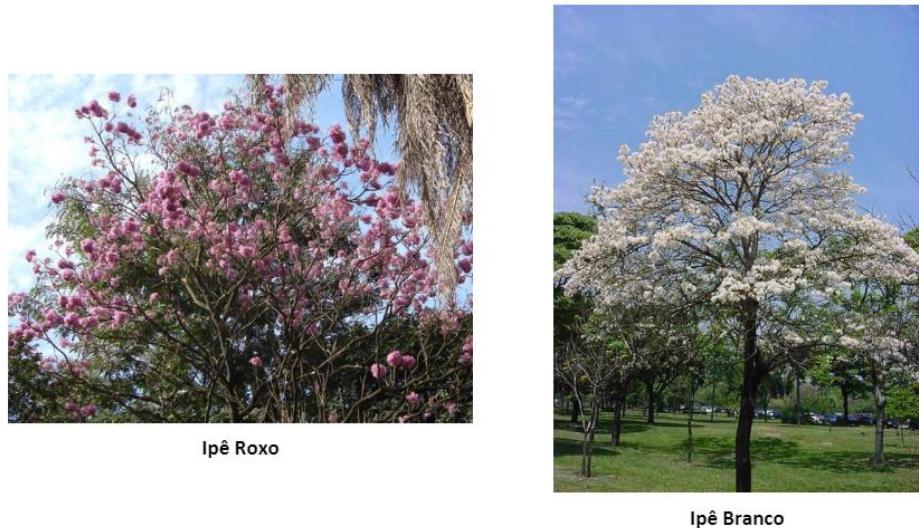
### 1.2.1 - Lapachol e $\beta$ -lapachona

O lapachol e a  $\beta$ -lapachona (Figura 5) são duas naftoquinonas, amplamente discutidas na literatura, e têm atraído grande atenção na pesquisa em química e farmacologia de quinonas.



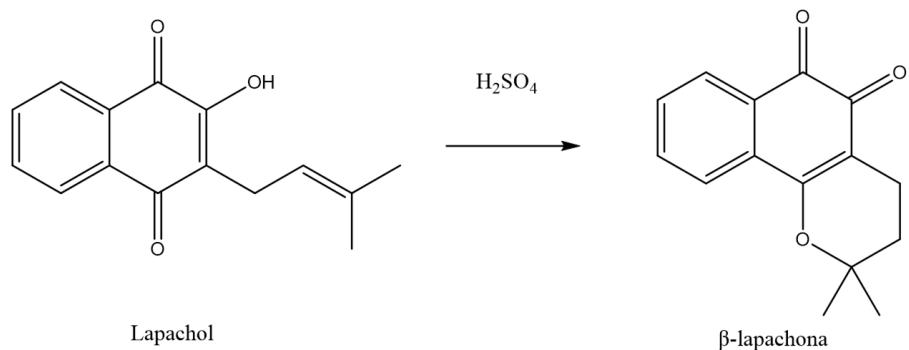
**Figura 5:** Estruturas do lapachol (3) e da  $\beta$ -lapachona (4).

O lapachol tem sido encontrado como constituinte de várias plantas das famílias Bignoniaceae, Verbenaceae e Proteaceae. No entanto, sua ocorrência é maior na família Bignoniaceae, particularmente no gênero *Tabebuia* e representa de 3 a 7% da composição do material lenhoso do vegetal, a depender da espécie; podendo ser facilmente extraído da serragem da madeira. No Brasil, as espécies de *Tabebuia* são conhecidas popularmente como ipê ou pau d'arco (FERREIRA et al., 2010; FONSECA; BRAGA; SANTANA, 2003; HUSSAIN et al., 2007).



**Figura 6:** Ipê roxo e ipê branco (FERREIRA et al., 2010).

A  $\beta$ -lapachona é uma *orto*-naftoquinona e o potencial de seus efeitos farmacológicos tem sido investigado há anos, sendo que inúmeros estudos demostram atividade antitumoral, anti-*Trypanosoma cruzi*, antibacteriana, antimarial, anti-inflamatória, antiviral entre outras, desta quinona (GONG et al., 2021). Embora a  $\beta$ -lapachona também seja um constituinte do cerne de árvores da família Bignoniaceae, ela é encontrada como constituinte minoritário e um dos métodos mais utilizados para a obtenção desta quinona, a partir do ipê, se dá através da extração do seu isômero, o lapachol, e conversão deste, na *orto*-naftoquinona. Esta conversão ocorre pela isomerização, na presença de ácido sulfúrico concentrado (Figura 7) (BARBOSA; DINIZ NETO, 2013; GOMES et al., 2021).

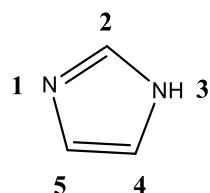


**Figura 7:** Síntese da  $\beta$ -lapachona a partir do lapachol, na presença de ácido sulfúrico.

A obtenção de compostos derivados da  $\beta$ -lapachona também tem sido amplamente explorada na síntese de novos compostos com atividade tripanocida. Dentre estes, destacam-se os derivados naftoimidazólicos, apresentando-se como uma das classes mais promissoras (DA SILVA et al., 2017; DE MOURA et al., 2001; PINTO; DE CASTRO, 2009).

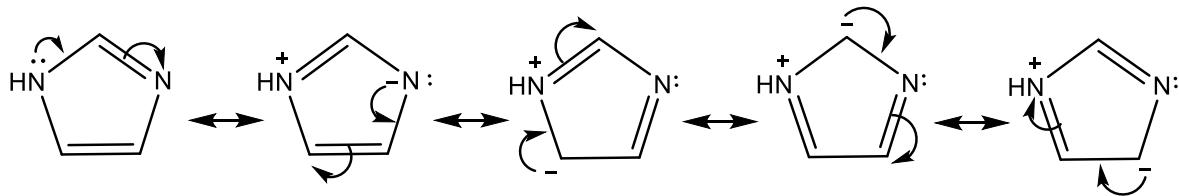
### 1.3 - Imidazóis e naftoimidazóis derivados da $\beta$ -lapachona

Classificam-se como imidazóis, os heterociclos aromáticos de cinco membros, dos quais três são carbonos e os dois restantes são nitrogênios, dispostos nas posições 1 e 3 conforme visto na Figura 8, do 1,3-diazol, o imidazol mais simples, também chamado de gioxalina (CHAWLA; SHARMA; SHARMA, 2012).



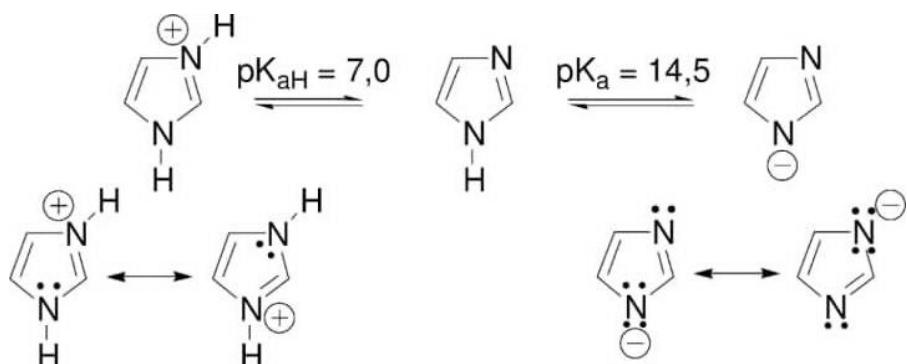
**Figura 8:** Estrutura do 1,3-diazol (glioxalina).

Existem em duas formas tautoméricas equivalentes,  $1H$ -imidazol e  $3H$ -imidazol, porque o átomo de hidrogênio pode estar localizado em qualquer um dos dois átomos de nitrogênio. Além disso, o composto é classificado como aromático, devido à presença de um sexteto de elétrons pi, formado por um par de elétrons do átomo de nitrogênio, contendo o hidrogênio e um de cada um dos quatro átomos restantes do anel (CARVALHO et al., 2004; CHAWLA; SHARMA; SHARMA, 2012).



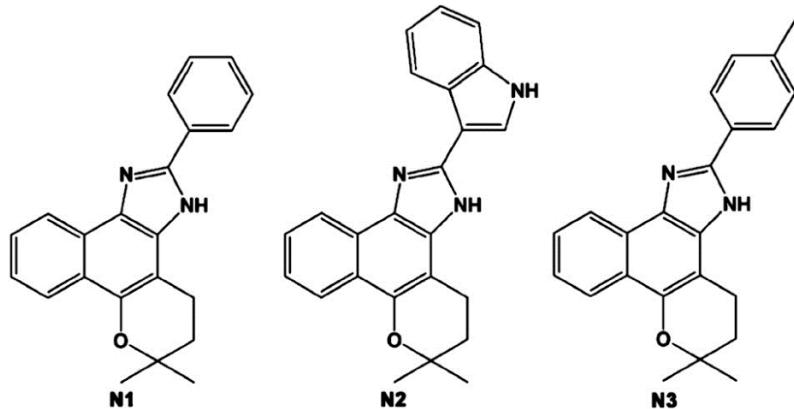
**Figura 9:** Estruturas de ressonância do imidazol.

O imidazol pode atuar tanto como ácido quanto como base, devido ao seu caráter anfótero (Figura 10). Como ácido, o  $pK_{aH}$  do imidazol é 7,0. Como base, o  $pK_a$  do ácido conjugado é aproximadamente 7, tornando o imidazol aproximadamente sessenta vezes mais básico que a piridina (CHAWLA; SHARMA; SHARMA, 2012).



**Figura 10:** Caráter anfótero do imidazol.

Nos últimos 30 anos, dezenas de derivados imidazólicos da  $\beta$ -lapachona foram sintetizados pela equipe de pesquisadores do antigo Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), coordenada pelo saudoso professor Dr. Antônio Ventura Pinto. Destes, três naftoimidazóis, sem substituintes no anel imidazólico, N1, N2 e N3 (Figura 11), intitulados assim pelos seus desenvolvedores, foram elencados como os mais ativos contra o *T. cruzi* (DE MOURA et al., 2001; PINTO et al., 1997). Além destes naftoimidazóis, outro, agora dissubstituído no anel imidazólico e sintetizado pelo grupo do professor Dr. Aurélio Baird Buarque Ferreira, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), o N4, também foi muito ativo contra o *T. cruzi* (BOMBAÇA et al., 2021).



**Figura 11:** Estruturas dos derivados naftoimidazólicos da  $\beta$ -lapachona N1, N2 e N3 (MENNA-BARRETO et al., 2010).

Os derivados N1, N2 e N3 mostraram alta atividade tripanocida e toxicidade relativamente baixa *in vitro*. Tais compostos foram avaliados frente às três formas evolutivas do parasita, onde apresentaram atividades mais relevantes contra as formas tripomastigotas e amastigotas do *T. cruzi*, que são as formas clinicamente relevantes do parasita. A análise ultraestrutural apontou a mitocôndria e a via autofágica como alvos centrais e primários desses naftoimidazóis (BOMBAÇA et al., 2021; MENNA-BARRETO et al., 2005, 2007).

Em estudo recente, realizado *in vivo*, foram administrados por via oral os naftoimidazóis N1, N2 e N3 em camundongos infectados com *T. cruzi* e foi observado, nos animais tratados com N3, uma redução de 50% do número de tripomastigotas no sangue de camundongos oito dias após a infecção, indicando maior atividade que N1 e N2 (CASCABULHO et al., 2020).

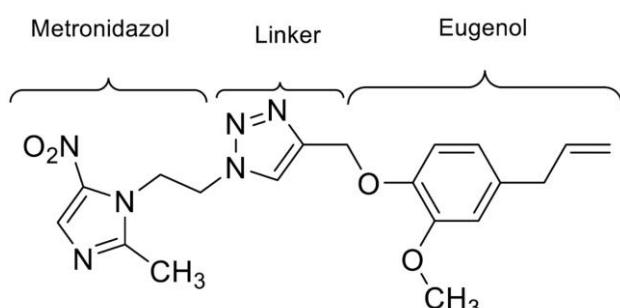
Existem diversas estratégias de síntese de imidazóis, utilizando os mais variados reagentes. A síntese de naftoimidazóis a partir da  $\beta$ -lapachona ocorre através da condensação da quinona com uma fonte de amônia, como o acetato de amônio ( $\text{AcONH}_4$ ), e um aldeído, e é conhecida, desde o século XIX, como reação de Radzewski ou reação de Debus-Radzewski (WANG, 2010). Pode ser feita tanto em solução como em fase sólida, sendo essa última promovida pela ação de radiação micro-ondas (DA SILVA et al., 2008; NEVES PINTO et al., 2000).

Neste projeto, o N3, 6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol, o qual este trabalho irá daqui em diante se referir como BLI-2-Tolu (5), derivado naftoimidazólico obtido pela reação de condensação entre a  $\beta$ -lapachona, amônia e 4-metilbenzaldeído, foi escolhido para sofrer homologações de grupos farmacofóricos por meio da estratégia de hibridação molecular.

## 1.4 - Estratégia de modificação estrutural: hibridação molecular

A hibridação molecular consiste em uma estratégia de planejamento onde ocorre a união de características estruturais de dois ou mais fragmentos de compostos diferentes e bioativos em uma nova entidade química, o híbrido molecular. Estes novos compostos poderão conjugar diferentes atividades biológicas frente ao mesmo alvo, ter perfil de seletividade modificado, modos de ação diferentes, ou duplos, e/ou efeitos colaterais indesejados reduzidos, devido à junção de grupos farmacofóricos em uma molécula (SANDHU et al., 2014).

Em um estudo realizado por Pelozo e colaboradores (2021) foi utilizada a estratégia de hibridação molecular no planejamento de um novo composto, unindo a porção do metronidazol à unidade do eugenol, por meio de um sistema triazólico (*linker*), com o objetivo de combinar suas propriedades terapêuticas em uma nova estrutura molecular (Figura 12). As novas substâncias híbridas obtidas foram avaliadas quanto a atividade antiparasitária contra as formas epimastigotas e tripomastigotas de *T. cruzi*, demonstrando melhora na ação tripanocida (PELOZO et al., 2021).



**Figura 12:** Estrutura molecular de um híbrido obtido por Pelozo e colaboradores. Adaptado de (PELOZO et al., 2021).

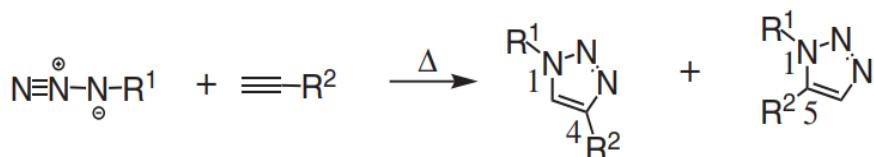
Ainda neste mesmo trabalho, Pelozo e colaboradores (2021) demonstram que os grupos farmacofóricos foram unidos por meio de uma unidade rígida 1,2,3-triazol, através de uma reação conhecida como reação de CuAAC [do inglês: *Copper catalysed azide–alkyne cycloaddition* - cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre (I)]. É uma reação eficaz, rápida e eficiente para produzir moléculas bioativas e esta estratégia é amplamente utilizada na química medicinal, como um método para conectar unidades de interesse terapêutico (PELOZO et al., 2021).

## 1.5 - Reação de CuAAC: uso de “click chemistry”

Durante o planejamento de fármacos, o uso de heterocíclicos contendo átomos de nitrogênio apresenta-se como excelente ferramenta da química medicinal. Anéis com sistemas 1,2,4-triazóis podem ser observados em diversos fármacos utilizados atualmente, entretanto, recentemente, substâncias contendo os anéis 1,2,3-triazólicos despertaram muito interesse da comunidade científica e, nesse sentido, inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas buscando a síntese de novos compostos biologicamente ativos (FOREZI et al., 2018).

Os 1,2,3-triazóis são heterocíclicos obtidos através de diversas rotas de síntese, sendo que um dos métodos clássicos para a sua preparação é a cicloadição térmica 1,3-dipolar, envolvendo azidas orgânicas e alcinos terminais ou internos (FREITAS et al., 2011; NOVAES DOS REIS et al., 2022). O uso desta abordagem foi primeiramente descrito pelo professor Rolf Huisgen, que embora não tenha sido o responsável pela descoberta da reação, foi por meio de seus estudos que ela se difundiu no ambiente de síntese orgânica, tornando-se uma importante ferramenta sintética (GONZAGA et al., 2021).

A cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen, também conhecida como “um tipo de reação click” (vale ressalvas), desenvolvida em 1967, é uma reação que ocorre entre azidas orgânicas e alcinos, e exige longos tempos reacionais e altas temperaturas. Além disso, quando alcinos não simétricos são utilizados, é obtida uma mistura de regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos (Figura 13) (FREITAS et al., 2011; GONZAGA et al., 2021).



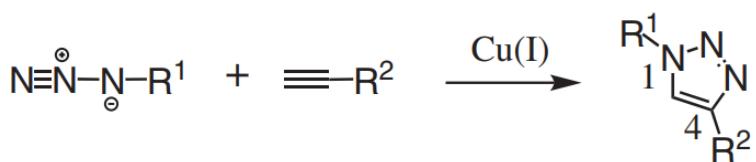
Proporção aproximada 1:1

**Figura 13:** Regioisômeros triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos obtidos a partir da cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen (FREITAS et al., 2011).

Importante ressaltar que o termo “click” ou “click chemistry” foi introduzido em 2001 pelo professor K. Barry Sharpless ao estudar reações fortemente exotérmicas (termodinamicamente favoráveis) que são capazes de unir duas moléculas, “clicar”, de maneira simples, fácil e com elevados rendimentos. Para Sharpless, as reações são classificadas como química “click” quando apresentam rapidez, estereoespecificidade (mas não necessariamente enantiosseletividade) e geram subprodutos inofensivos, capazes de serem removidos sem uso

de métodos cromatográficos. Idealmente, uma reação “click” deve ser ambientalmente amigável, e assim deve-se evitar o uso de solventes ou que estes sejam benignos e não tóxicos. Também deve-se usar materiais de partida estáveis e de simples obtenção. Por fim, o processo reacional deve ser insensível ao oxigênio e à água e o produto final estável em condições fisiológicas. O conceito de “click”, idealizado por Sharpless, é um tipo de reação simples que pode ser utilizada como estratégia de obtenção de bibliotecas de compostos a serem avaliados tanto na área de materiais quanto na farmacêutica. Para mais, o referido autor, ainda em sua publicação inicial, aponta algumas reações clássicas que se enquadriam neste cenário com destaque, por exemplo, para as adições a ligações múltiplas carbono-carbono, para reações de cicloadição e para a abertura nucleofílica de epóxidos e aziridinas (FREITAS et al., 2011; KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001).

Para contornar a falta de regiosseletividade nos produtos e outros problemas observados na cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen, em 2002, Meldal e Sharpless relataram, independentemente, o desenvolvimento da reação de cicloadição entre alcinos terminais e azidas orgânicas na presença de quantidades catalíticas de Cu(I) (Figura 14) (MANDOLI, 2016; ROSTOVTSEV et al., 2002; TORNØE; CHRISTENSEN; MELDAL, 2002). Tal reação ficou conhecida como cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre(I), abreviada por CuAAC, conforme citado anteriormente, e fornece exclusivamente os 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos como produtos (Figura 14). A CuAAC é considerada como uma das metodologias mais representativas no processo de união de duas moléculas dentro do contexto do conceito de “click chemistry” (GONZAGA et al., 2021; MANDOLI, 2016).



**Figura 14:** Cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre(I), abreviada por CuAAC (FREITAS et al., 2011).

Além da regiosseletividade, a reação de cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre(I) é modular, fácil de ser executada, possui condições reacionais brandas (não requer, por exemplo, temperaturas elevadas: 0 – 160 °C), apresenta altos rendimentos, ocorre com rapidez (um aumento na taxa de velocidade em 7 ordens de grandeza, comparada à reação sem o catalisador) e, quando gera subprodutos, estes são mínimos, podendo ser facilmente removidos

usando técnicas de purificação simples (FREITAS et al., 2011; HEIN; LIU; WANG, 2008; KAUR; SAXENA; RISHI, 2021; MELDAL; TORNØE, 2008).

### 1.5.1 - Catalisadores

Conforme mencionado anteriormente, a presença de Cu(I) aumenta fortemente a taxa de reação de CuAAC e as fontes de cobre utilizadas para este tipo de cicloadição podem variar. Trabalhos publicados pelo grupo de Meldal relatam o emprego de sais de Cu(I) (TORNØE; CHRISTENSEN; MELDAL, 2002). Frequentemente são utilizados, no meio reacional, como fonte direta de íons cuprosos, sais como iodeto de cobre(I), brometo de cobre(I), cloreto de cobre(I), trifluorometanossulfonato de cobre(I) e complexos de coordenação como  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$  e  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{OTf}$  (AUCAGNE et al., 2006; GUPTA et al., 2005; KAUR; SAXENA; RISHI, 2021). A utilização desta metodologia, usualmente, requer atmosfera inerte e uso de solvente orgânico, entretanto, não exige a adição de um agente redutor. Em meios reacionais com presença de oxigênio e água têm sido usados ligantes à base de nitrogênio e solventes orgânicos para estabilizar o cobre(I) (HEIN; LIU; WANG, 2008; TORNØE; CHRISTENSEN; MELDAL, 2002).

Sharpless, por sua vez, investigou o uso de sais de Cu(II), como sulfato penta-hidratado e o acetato de Cu(II), na presença de ascorbato de sódio, um redutor fraco, para formar a espécie catalítica *in situ* (ROSTOVTSEV et al., 2002; SPITERI; MOSES, 2010). A metodologia desenvolvida por Sharpless e colaboradores apresenta várias vantagens substanciais, como baixo custo, menor interferência do oxigênio atmosférico (a reação pode ser realizada em sistema aberto), tempos curtos de reação, tolerância ao meio aquoso e não necessidade de se utilizar ligantes (HEIN; FOKIN, 2010; KAUR; SAXENA; RISHI, 2021). Apesar de muitas reações com sais de Cu(II) serem feitas em água, visto que o sulfato de cobre e o ascorbato de sódio são hidrossolúveis, há muitos relatos na literatura de uso variado de solventes ou misturas de solventes, bem como do uso de diferentes agentes redutores, em combinação com diversos sais de cobre(II) (AUCAGNE et al., 2006; BASKIN et al., 2007; ZHONG et al., 2016).

Pode-se ainda citar, embora menos comum, o uso de cobre metálico para se obter o catalisador de cobre(I). Nestes sistemas catalíticos, os tempos de reação são longos e apresentam altos custos (ORGUEIRA et al., 2005).

Além dessas fontes de cobre apontadas, as cicloadições de azidas a alcinos terminais podem ser realizadas por meio de outros catalisadores, como por exemplo, os que contém rutênio. Boren e colaboradores (2008) sintetizaram, regiosseletivamente, 1,2,3-triazóis 1,5-

dissubstituídos por meio de complexos de cloreto de pentametilciclopentadienil rutênio. Como se não bastasse, através desta metodologia, quando aplicada a alcinos internos, é possível produzir 1,2,3-triazóis totalmente substituídos, contrastando com CuAAC (BOREN et al., 2008).

### 1.5.2 - Solventes

Além do uso de catalisadores durante a CuAAC, outro critério abordado nos trabalhos de Sharpless e Meldal é a questão do solvente. Nas publicações pioneiras de Sharples e colaboradores há o relato do uso de água como solvente, podendo ou não ser combinada com *terc*-butanol ou etanol (solventes clássicos utilizados inicialmente). Tais cientistas defendiam a utilização da água por se tratar de um solvente atóxico, capaz de solubilizar tanto os sais de cobre(II) quanto o agente redutor, e por ser importante no processo de absorção de calor gerado na reação, dentre outras características. Ainda nestes estudos, foi demonstrado que se a reação se processasse com forte agitação, não seria necessário que os reagentes estivessem dissolvidos no solvente, e a mesma acontecia com velocidade e rendimento extremamente satisfatórios. No mesmo período, o grupo liderado por Meldal descreveu reações de CuAAC com grandes rendimentos, usando solventes orgânicos que dissolviam os sais de cobre(I) e os ligantes utilizados (FREITAS et al., 2011).

Diferentemente daquilo preconizado por Sharpless pioneiramente, diversos autores constataram que a solubilidade dos reagentes é imprescindível na reação de CuAAC. Tal fato pode ser observado em trabalhos como o de Fleming et al. (2006), de Dedola et al. (2007) e de Bock et al. (2006) (BOCK et al., 2006; DEDOLA; NEPOGODIEV; FIELD, 2007; FLEMING; THODE; WILLIAMS, 2006). A escolha sobre o tipo de solvente a ser utilizado, segundo Bock e colaboradores (2006), deve ser feita levando-se em consideração a fonte de cobre empregada e as propriedades dos reagentes em questão. Além disso, outros critérios como baixo custo, biodegradabilidade, inércia frente aos reagentes e produtos formados, disponibilidade e baixa toxicidade também são apreciáveis (KAUR; SAXENA; RISHI, 2021).

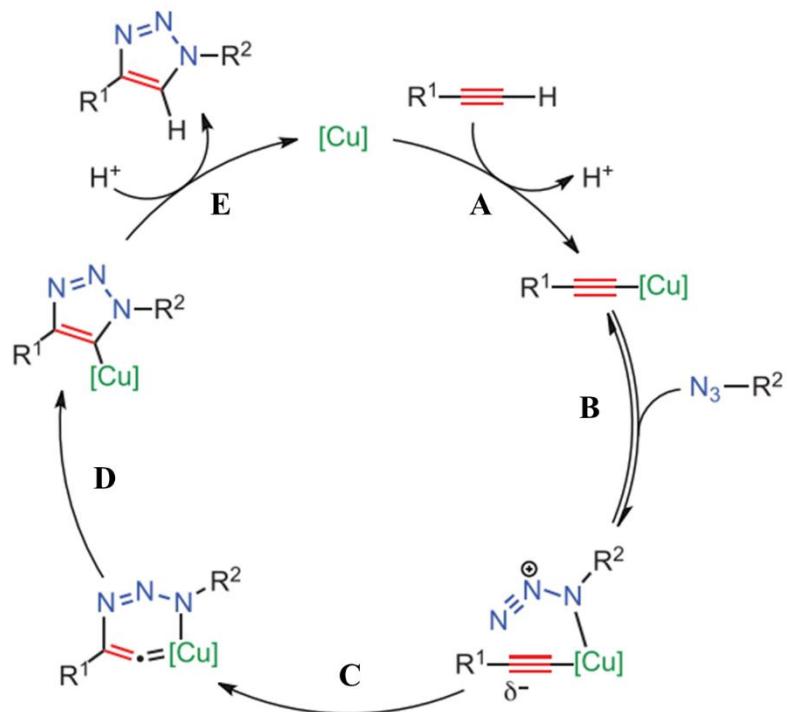
Dentre os solventes orgânicos mais observados na química “click” estão o *terc*-butanol, tetra-hidrofurano, tolueno, diclorometano, acetonitrila, dimetilformamida, dimetilsulfóxido e etanol. Contrapondo aos solventes orgânicos tradicionais, solventes verdes como água, glicerol, ácido láctico, polietilenoglicol também têm sido utilizados em CuAAC (KAUR; SAXENA; RISHI, 2021).

### 1.5.3 - Mecanismos

O estudo dos mecanismos de uma reação catalítica é fundamental para auxiliar na otimização dos parâmetros reacionais, compreender a reatividade das espécies envolvidas e permitir o desenvolvimento de novos processos catalíticos (WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013).

Um grande desafio na investigação de mecanismos de reações envolvendo o cobre baseia-se no fato deste metal apresentar baixo potencial de redução (0,159V de  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$  e 0,520V de  $\text{Cu}^+/\text{Cu}^0$ ); possibilidade de espécies de  $\text{Cu}^+$  sofrerem desproporcionamento/redução; capacidade de formarem complexos polinucleares; e, facilidade de trocas de ligantes. Ademais, outro aspecto que dificulta a determinação do entendimento do mecanismo da reação de CuAAC consiste na presença de diferentes espécies organometálicas de cobre, que se encontram em equilíbrio umas com as outras no meio reacional (FINN; FOKIN, 2010; WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013).

De maneira bem simples, a proposta mecanística pioneira para a reação CuAAC (Figura 15), sugerida por Sharpless e colaboradores em 2002, tem seu início com a formação do acetileto de cobre (A). Posteriormente, o nitrogênio nucleofílico da azida orgânica coordena-se ao metal do acetileto de cobre (B). A coordenação anterior favorece o ataque nucleofílico do carbono do tipo  $\beta$ -vinilidênico do acetileto de Cu(I) ao nitrogênio terminal eletrofílico da azida orgânica. Desta forma, tem-se a formação da ligação C-N, gerando um metalociclo pouco estável de seis membros (C). Em seguida, há uma contração do anel (rearranjo), levando à formação da triazolila de cobre (D). Por fim, a triazolila de cobre sofre protonólise, para dar origem ao 1,2,3-triazol 1,4 dissustituído (E) (ROSTOVVTSEV et al., 2002).

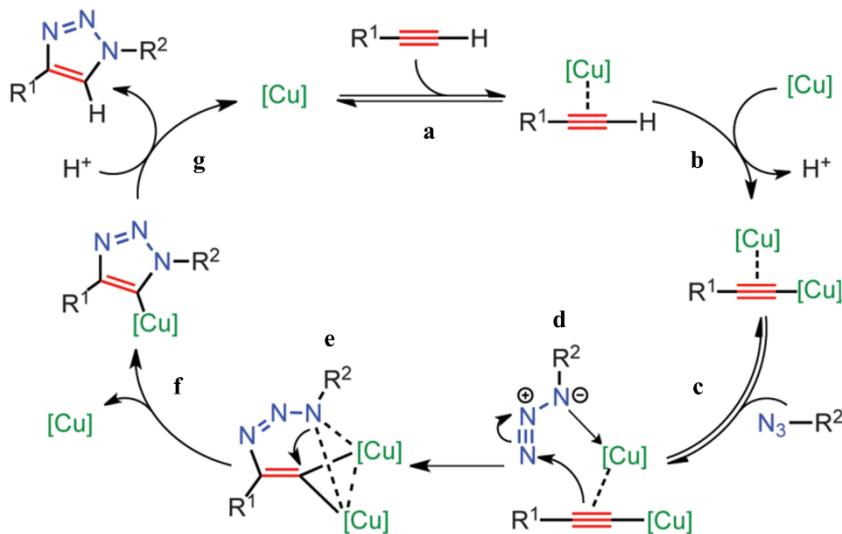


**Figura 15:** Primeira proposta mecanística para a reação de cicloadição de azida-alcino catalisada por cobre(I). Adaptado de (WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013).

O professor Fokin, juntamente com seus alunos de pós-graduação Brady T. Worrell e Jamal A. Malik (2013), através de experimentos com marcação isotópica e estudos teóricos, puderam verificar que o mecanismo catalítico envolvendo Cu(I) é mais complexo do que se imaginava. Na nova proposta mecanística, dois átomos de cobre participam do processo de cicloadição e, o metalociclo, admitido no mecanismo anterior, não é formado (WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013).

Atualmente entende-se que a catálise (Figura 16) se inicia com a coordenação  $\pi$  entre o cobre(I) e o alcino (a). Com esta coordenação, ocorre a redução de pKa do alcino terminal, em torno de 10 unidades. O pKa fica próximo de 15, com a desprotonação do hidrogênio ligado ao carbono *sp* terminal do alcino acontecendo sem a necessidade de adição de uma base. Em seguida, ocorre a formação da ligação  $\sigma$  entre o acetileto de cobre(I) e outra espécie de Cu(I), gerando o complexo catalítico ativo (b). O mecanismo prossegue com a coordenação do nitrogênio nucleofílico da azida orgânica ao complexo ativo de cobre (c), permitindo o ataque nucleofílico do carbono do tipo  $\beta$ -vinilidênico do acetileto de cobre ao nitrogênio terminal eletrofílico da azida orgânica (d), originando, desta forma, a primeira ligação C-N e produzindo o intermediário dinuclear de cobre (e). Na sequência, há uma contração do anel, por meio de uma interação transanular entre o par de elétrons não ligante presente no nitrogênio da azida e o carbono (C5), e a saída de uma espécie de Cu(I), formando a triazolila de cobre (f).

Finalmente, após a protonólise, o 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído é obtido (g) (HEIN; LIU; WANG, 2008; HEIN; FOKIN, 2010; HIMO et al., 2005; SCHULZE; SCHUBERT, 2014).



**Figura 16:** Mecanismo atualmente aceito para a reação de CuAAC. Adaptado de (WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013).

A reação de CuAAC possui variadas aplicações em inúmeras áreas como bioquímica (CASTRO; RODRÍGUEZ; ALBERICIO, 2016; DEBETS et al., 2011; HOLLAND-NELL; MELDAL, 2011), ciência dos materiais (JOHNSON; JOHN; KIM, 2013; MARROCCHI et al., 2016), nanomateriais (FU; FU, 2011), polímeros (BINDER; SACHSENHOFER, 2007; DRAIN; BECER, 2019), e na descoberta de fármacos (DAI; CHEN; ZHANG, 2019; MELDAL; TORNØE, 2008; TRON et al., 2008). Isto é possível devido aos seus inúmeros benefícios, à baixa tendência a sofrer reações colaterais e à estabilidade do sistema triazólico formado (NEUMANN et al., 2020).

Além de permitir a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos, a reação de CuAAC possibilita também modificar os já existentes, visando a melhoria das propriedades farmacológicas e farmacocinéticas. Assim sendo, o número de publicações contendo o sistema 1,2,3-triazol vem aumentando nos últimos anos.

Para a química medicinal, o anel 1,2,3-triazol é bastante importante, pois ele atua tanto como grupo farmacofórico quanto conector entre duas ou mais substâncias de interesse (amplamente utilizado na estratégia de hibridação molecular). Também atua como uma conexão rígida, como bioisóster do grupo amida, por apresentar propriedades físico-químicas semelhantes, e como fracos aceptores de ligação de hidrogênio. Além do mais, o anel triazólico não sofre hidrólise, oxidação ou redução e possui grande polaridade, aproximadamente 5 D

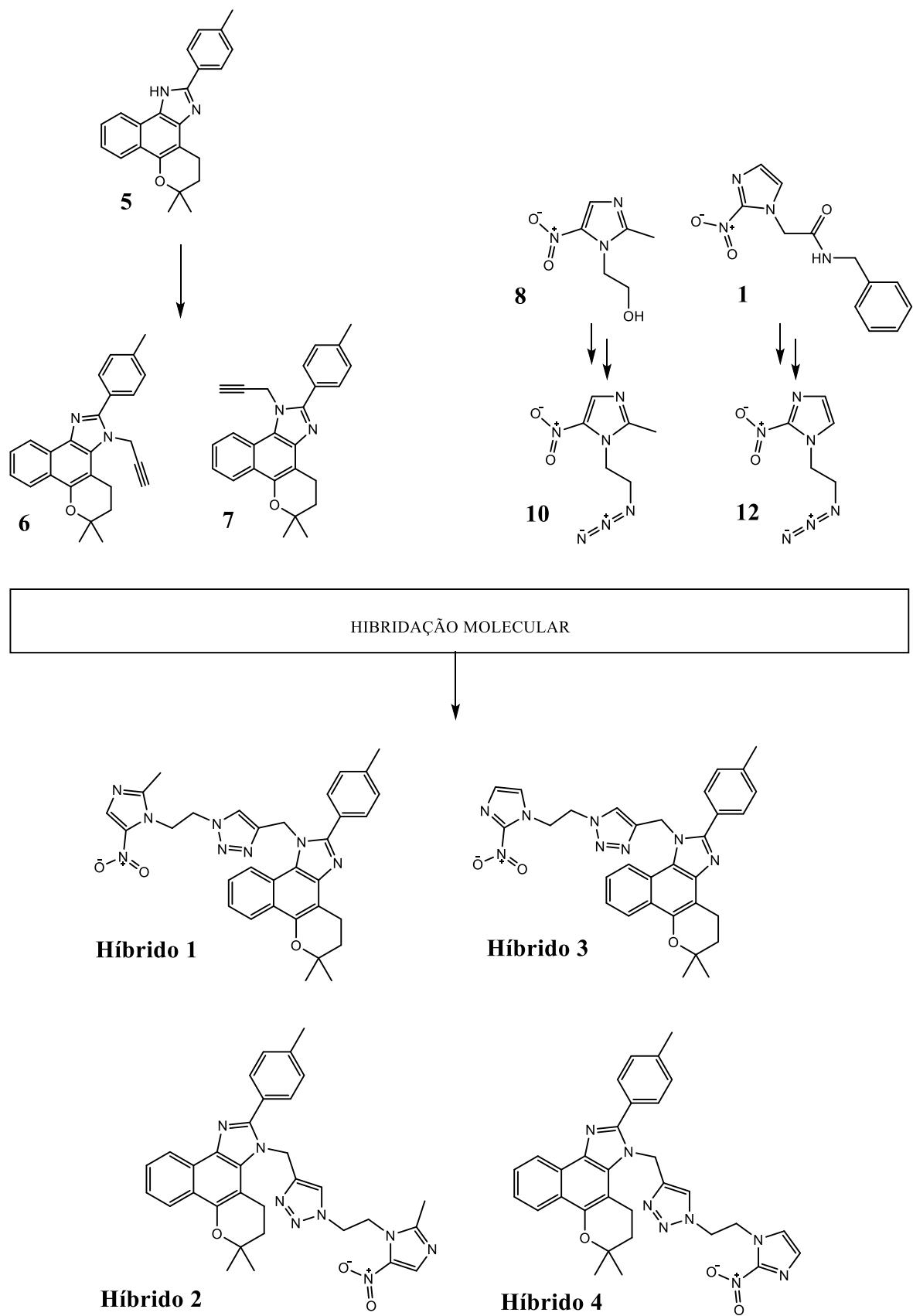
(debye) (GIL; ARÉVALO; LÓPEZ, 2007; HOLUB; KIRSHENBAUM, 2010; MANETSCH et al., 2004; WHITING et al., 2006).

Sintetizar compostos contendo um núcleo 1,2,3-triazólico em sua estrutura molecular é uma estratégia eficiente para obtenção de novas moléculas com variadas atividades biológicas, como antibacteriana, antiviral, antifúngica, antiparasitária (antileishmania, antimarial e anti-*Trypanosoma cruzi*), anticancerígena, antidepressiva, anti-inflamatória, dentre outras (LESSA, 2020; NOVAES DOS REIS et al., 2022; PELOZO et al., 2021).

### **1.6 - Planejamento de híbridos naftoimidazólicos, derivados da $\beta$ -lapachona, com nitroimidazóis**

O planejamento de nova série de compostos desenvolvido neste projeto ocorreu a partir da hibridação molecular do derivado BLI-2-Tolu, com fragmentos contendo grupos farmacofóricos de fármacos comerciais com atividade antiparasitária conhecida, benznidazol (1) e metronidazol (8) (Figura 17), através da reação de CuAAC. Variamos a posição do grupamento nitro, presente nos centros imidazólicos, a fim de investigar a relação dos diferentes potenciais de redução de cada espécie 2-nitroimidazol (-418 mV), 4-nitroimidazol (-527 mV) e 5-nitroimidazol (-486 mV) e relacionar com a atividade resultante na célula do parasito, visto que o potencial de redução de cada espécie nitroimidazólica muda de acordo com a posição do grupo nitro no anel (MORETH et al., 2010).

A ação dos nitro-heterociclos baseia-se na desestabilização do equilíbrio redox da célula do parasito, devido a sucessivas reduções intracelulares promovidas pela Tripanotiona Redutase (TR), enzima que está presente nos tripanossomatídeos, inclusive no *T. cruzi*. Os nitro-heterocíclos, quando interagem com a TR, promovem um processo de “ativação”. Como essa enzima catalisa essas nitroreduções intracelulares, são produzidas diversas espécies mutagênicas e tóxicas, e intermediários radicalares que causam severas lesões ao DNA do parasito, levando-o a um processo de apoptose (EDWARDS, 1980; EDWARDS et al., 1990; HALL; WILKINSON, 2012; PATTERSON; WYLLIE, 2014).



**Figura 17:** Esquema simplificado do planejamento dos híbridos (1, 2, 3 e 4) deste projeto.

## **2 - JUSTIFICATIVA**

Tendo em vista a ineficácia da administração dos atuais medicamentos durante a fase crônica da doença de Chagas, bem como os severos efeitos colaterais provocados pelos mesmos, somados ao surgimento de casos de DC fora das áreas consideradas endêmicas, além da ocorrência de cepas resistentes a ambos nitroderivados disponíveis, estima-se que há um potencial risco epidemiológico da DC se tornar cada vez mais prevalente. Adicionalmente, observa-se ainda o desinteresse por parte das grandes companhias farmacêuticas no desenvolvimento de pesquisas focadas na busca por novos fármacos antichagásicos, por se tratar de uma doença tropical negligenciada. Ou seja: há imensa demanda humanitária, mas não há mercado, e isso se deve a uma distorção extremamente perversa que trata saúde e medicamento como simples bens de consumo, e não como um direito de todo ser humano, como de fato são. Desta forma, faz-se necessário o desenvolvimento de trabalhos acadêmicos, buscando novas alternativas terapêuticas, que sejam capazes de apresentar maior eficácia e menor toxicidade no tratamento dos pacientes.

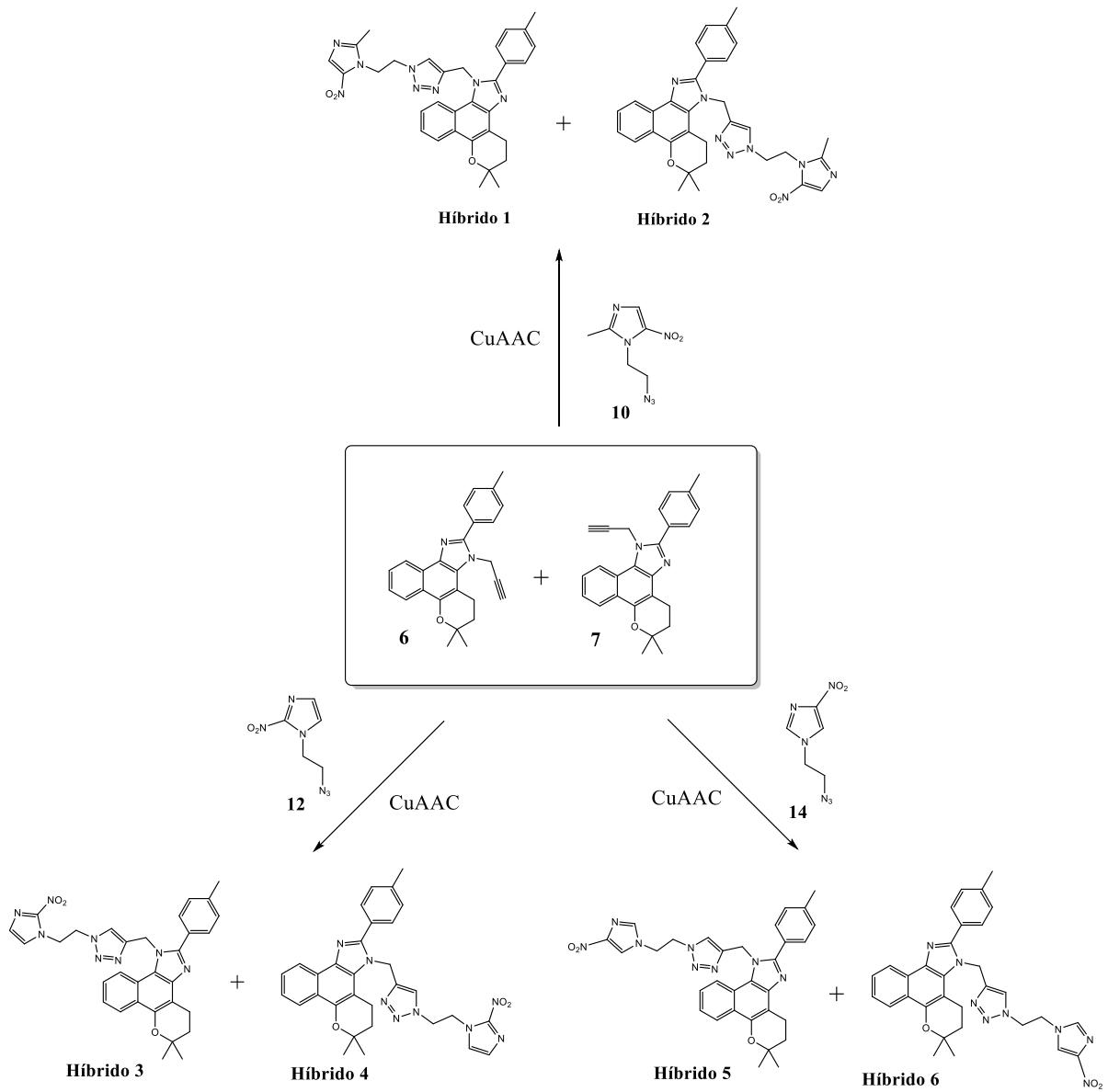
## **3 - OBJETIVOS**

### **3.1 - Objetivos gerais**

Os objetivos deste trabalho consistem em planejar, sintetizar e avaliar a atividade tripanocida de híbridos naftoimidazólicos, derivados da  $\beta$ -lapachona, com fragmentos nitroimidazólicos de fármacos com comprovada atividade antiparasitária.

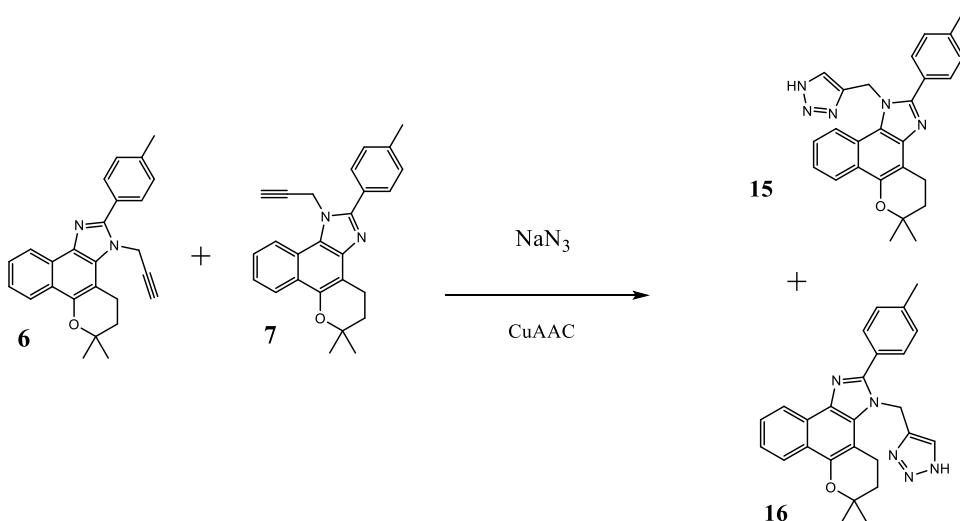
### **3.2 - Objetivos específicos**

- Obter quantidades adequadas de lapachol a partir da serragem do ipê;
- Sintetizar a  $\beta$ -lapachona a partir do lapachol, através da conversão que ocorre pela isomerização na presença de ácido sulfúrico concentrado (necessária à síntese do BLI-2-Tolu);
- Sintetizar, por meio da reação de CuAAC, híbridos do derivado BLI-2-Tolu e nitroimidazóis, contendo o grupamento nitro em diferentes posições no anel (2-nitroimidazol, 4-nitroimidazol e 5-nitroimidazol);



**Figura 18:** Esquema genérico para síntese dos híbridos planejados.

- Sintetizar os compostos: 1-((1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6-*d*]imidazol (15) e 3-((1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6-*d*]imidazol (16);



**Figura 19:** Esquema para síntese dos compostos (15) e (16).

- Realizar a elucidação estrutural de todas as moléculas sintetizadas, através das técnicas convencionais de análise orgânica: IV, RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e EM;
- Avaliar o perfil de citotoxicidade em células de mamíferos, bem como as atividades antiparasitárias de todos os híbridos planejados, além dos compostos (15) e (16), frente ao *T. cruzi* (culta Tulahuen C2C4 LacZ).

#### 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

##### 4.1 - Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas

Os espectros de ressonância magnética nuclear RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , foram obtidos em espetrômetros Bruker Advance 500 (IQ-UFRRJ). O tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como referência interna e os solventes, clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), acetona ( $\text{ACETONA-}d_6$ ), dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO-}d_6$ ), empregados para solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram medidos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ), em Hertz (Hz). As multiplicidades dos sinais foram assinaladas como: simpleto (*s*), simpleto largo (*sl*), duploto (*d*), triplete (*t*) e multipleto (*m*).

Os espectros na região do Infravermelho (IV) foram obtidos no espectrofôtometro da marca Bruker, modelo Vertex 70, utilizando a técnica de ATR. Os valores das absorções observadas foram representados em número de onda e a unidade utilizada foi o centímetro recíproco ( $\text{cm}^{-1}$ ) (IQ-UFRRJ).

Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos no cromatógrafo em fase gasosa, acoplado ao espectrômetro de massas GCMS-QP2010 Plus da Shimadzu, coluna VF-5m (30m x 0,25mm x 0,25mm), temperatura 70°C/1min; 10°C - 290°C/20 min, injetor: 270°C (IQ - UFRRJ).

Os espectros de massa com ionização por electrospray (IES) foram obtidos no espectrômetro de massas HPLCMS 2020 da Shimadzu, acoplado ao cromatógrafo em fase líquida. Nas análises utilizou-se a coluna Kromasil (150 mm x 4,6 mm x 5  $\mu$ m), C18, fase móvel: água + 0,1% HCOOH e acetonitrila + 0,1% HCOOH (em gradiente), fluxo 1,0 mL/min, ESI: modo positivo (IQ - UFRRJ).

Os cromatogramas foram obtidos no cromatógrafo HPLC Prominence Shimadzu, coluna (25 cm x 4.5 mm x 5  $\mu$ m), C18, Thermo Betasil, PDA: 200 - 400 nm, fase móvel: B - Acetonitrila + 1% AcOH (50%) e A - H<sub>2</sub>O + 1% AcOH (50%), fluxo 1 mL/min (IQ - UFRRJ).

Também foram obtidos cromatogramas no cromatógrafo HPLC Shimadzu, coluna Phenomenex, C18, semipreparativa (25 cm x 10 mm x 5 UM), fase móvel: B – Acetonitrila (50%) e A - H<sub>2</sub>O + 1% AcOH (50%), fluxo 4.0 mL/min (IQ - UFRRJ).

#### **4.2 - Nas análises, síntese e purificações**

Nas realizações de CCDA (Cromatografia de Camada Delgada Analítica) foram utilizadas cromato-folhas de sílica gel 60 F254 (camada de 0,2 mm), marca Merck.

Sílica gel flash padrão (mesh 60), para as purificações em coluna cromatográfica aberta, da marca Sorbent Technologies.

A cromatografia preparativa em camada fina foi realizada em placas de vidro com 2 mm de espessura com sílica (mesh 60) para cromatografia preparativa, com indicador de fluorescência (254 nm), marca Macherey Nagel.

Solventes: acetato de etila, diclorometano, hexano, etanol, metanol, entre outros, fornecidos pela Sigma-Aldrich, Neon e/ou Anidrol, foram previamente destilados, quando necessário.

Peneiras moleculares de 3 Å foram ativadas em mufla, a 150°C, e utilizadas para secar os solventes, quando aplicável.

#### **4.3 - Outros equipamentos**

A fonte de micro-ondas empregada para a síntese do BLI-2-Tolu (5) foi um aparelho de uso doméstico, da marca Panasonic Piccolo, modelo: NN-S42BH, frequência 2,45GHz e potência máxima 800W.

Aparelho Aaker PFM-II foi utilizado na medição dos pontos de fusão, e os valores não foram corrigidos.

Câmara de revelação CCDA da marca Entela, modelo 58 Handheld, equipada com lâmpada UV com comprimentos de onda de 254 e 365 nm.

Placas de aquecimento e agitação das marcas Corning, Fisatom ou Ika.

Evaporador rotatório RV10 Digital IKA, modelo Alfa Mare.

#### **4.4 - Extração do lapachol (3) do cerne do ipê**

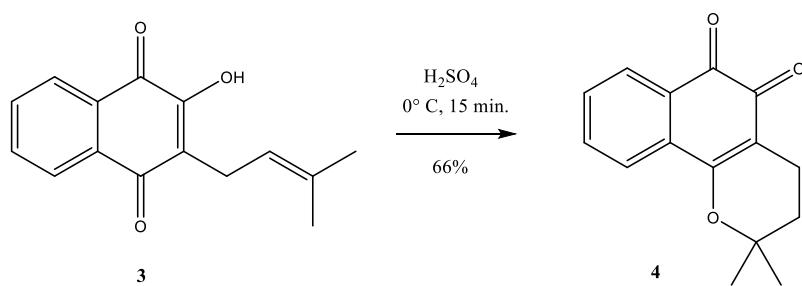
A serragem de ipê utilizada nesta pesquisa já se encontrava disponível no laboratório e, segundo informações do professor Dr. Aurélio Baird Buarque Ferreira (*in memoriam*), na ocasião, foram adquiridas tábuas do cerne do ipê em uma madeireira de região próxima a Seropédica (RJ), na qual o vendedor não soube identificar a espécie. Estas tábuas foram secas e moídas no Instituto de Floresta, da UFRRJ.

Inicialmente foram pesados 200 g da serragem de ipê, acondicionados em um “cartucho” de papel filtro, que foi inserido no interior de um extrator de Soxhlet. Paralelamente, em um balão de fundo redondo, com capacidade de 1000 mL, foram adicionados 750 mL de clorofórmio e algumas pedras de ebulição. O balão foi acoplado no extrator de Soxhlet e todo o aparato foi colocado em uma manta de aquecimento por dois períodos de 6 h, totalizando 12h. Transcorrido o período em que a serragem ficou em refluxo, observou-se uma coloração alaranjada na solução clorofórmica. Tal solução foi dividida em duas frações de volumes iguais e, cada fração, separadamente, sofreu um processo de partição utilizando uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub> (permitindo-nos obter uma fase aquosa avermelhada, devido à formação do sal sódico do lapachol). Após o recolhimento da fase aquosa, a fase orgânica foi novamente particionada com a solução de NaHCO<sub>3</sub>, por mais duas vezes. Em seguida, foram adicionados fragmentos de gelo à fase aquosa e a mistura foi neutralizada com solução de HCl 6 mol/L onde foi possível observar a precipitação do lapachol, na forma de um sólido amarelo. Todo o precipitado foi filtrado a vácuo e, posteriormente, dissolvido em acetato de etila. A solução foi aquecida, até redução de 1/3 do seu volume, e deixada em repouso para formação dos cristais

de lapachol. Foram obtidos 4 g de lapachol, correspondendo a um rendimento de 2% (BARBOSA; DINIZ NETO, 2013).

2-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)naftaleno-1,4-diona (lapachol) – C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>: P.F. 139 – 142°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 8,13 (d; 7,2; 1H); 7,76 (t; 7,2; 1H); 7,69 (t; 7,2; 1H); 8,07 (d; 7,2; 1H); 3,32 (d; 7,4; 2H); 5,22 (t; 7,4; 1H); 1,70 (s; 3H); 1,81 (s; 3H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 184,54 (C); 133,82 (C); 132,91 (C); 181,69 (C); 152,69 (C); 123,48 (C); 126,76 (CH); 134,83 (CH); 132,84 (CH); 126,04 (CH); 22,62 (CH<sub>2</sub>); 119,66 (CH); 129,44 (C); 25,74 (CH<sub>3</sub>); 17,88 (CH<sub>3</sub>); EM (IE, 70 eV): 242 (M<sup>+</sup>, 15%); 227 (100%); 199 (8%); 105 (10%); 77(15%); IV (cm<sup>-1</sup>): 3348; 2971; 2906; 2852; 1658; 1637; 1591; 1367; 1348; 1045.

#### 4.5 - Síntese da $\beta$ -lapachona (4)

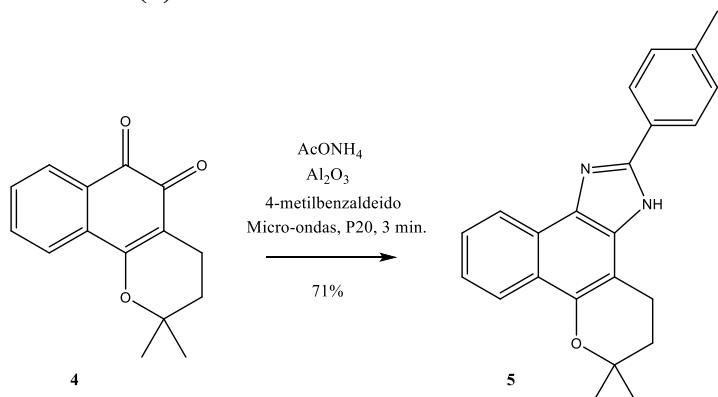


**Figura 20:** Síntese da  $\beta$ -lapachona a partir do lapachol.

Em um bêquer de 100 mL, contendo agitador magnético, colocado em banho de gelo, foram adicionados 3 g de lapachol e, na sequência, bem lentamente, 30 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. A mistura reacional foi mantida por 15 minutos no banho de gelo com agitações a cada 5 minutos. Com o término da reação, a mistura reacional foi vertida em 500 mL de água destilada gelada com cubos de gelo, quando observou-se a formação de um precipitado de cor laranja. O precipitado foi filtrado a vácuo e lavado com água. Depois de filtrado, o produto foi dissolvido em etanol e a mistura foi aquecida até redução de 1/3 do seu volume. Após a redução do volume, a mistura foi deixada em repouso para que houvesse formação dos cristais de  $\beta$ -lapachona. Mesmo após a recristalização observou-se, analisando por CCDA com hexano/acetato de etila (30%) como eluente, a contaminação com  $\alpha$ -lapachona. Com isso, a massa total de produto foi dividida em duas porções e realizou-se, para cada porção, uma coluna de cromatografia com sílica gel, isocrática, usando como eluente hexano/acetato de etila (30%). Obteve-se, ao final, 2 g de  $\beta$ -lapachona, correspondendo a um rendimento de 66%. Os cristais, obtidos foram guardados por todo o tempo ao abrigo da luz (BARBOSA; DINIZ NETO, 2013).

2,2-dimetil-3,4-di-hidro-2H-benzo[h]cromeno-5,6-diona ( $\beta$ -lapachona) - C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>: P.F. 154 – 156°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,88 (t; 6,4; 2H); 2,59 (t; 6,4; 2H); 7,84 (d; 7,3; 1H); 7,52 (t; 7,3; 1H); 7,66 (t; 7,3; 1H); 8,09 (d; 7,3; 1H); 1,49 (s; 6H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 79,29 (C); 31,62 (CH<sub>2</sub>); 16,19 (CH<sub>2</sub>); 112,74 (C); 162,06 (C); 130,16 (C); 132,65 (C); 179,89 (C); 178,60 (C); 124,09 (CH); 130,68 (CH); 134,79 (CH); 128,60 (CH); 26,79 (CH<sub>3</sub>); EM (IE, 70 eV): 242 (M<sup>+</sup>, 15%); 214 (40%); 159 (100%); 102 (25%); 76 (25%); IV (cm<sup>-1</sup>): 2977; 2931; 1589; 1566; 1693; 1114; 1093.

#### 4.6 - Síntese do BLI-2-Tolu (5)

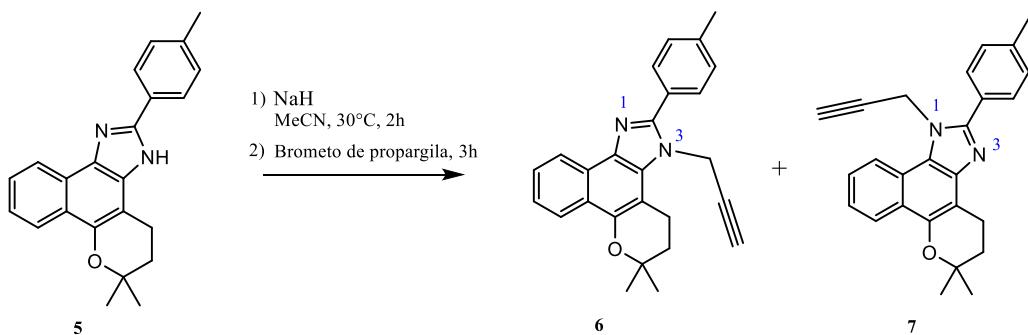


**Figura 21:** Síntese do BLI-2-Tolu (5).

Primeiramente foram pesados 0,242 g de  $\beta$ -lapachona, 3,4 g de óxido de alumínio S (Riedel-de Haën AG) e 1,6 g de acetato de amônio. Os sólidos reunidos foram, em seguida, transferidos para um almofariz onde foram macerados e homogeneizados com o auxílio de um pistilo. Posteriormente, foram adicionados 0,35 mL de 4-metilbenzaldeído e novamente a mistura foi macerada. O almofariz foi tampado com um vidro de relógio e levado ao forno de micro-ondas doméstico, sob potência 20 (162.8 W), por 3 min. Ao final do tempo de reação, uma pequena alíquota da mistura foi solubilizada em acetato de etila e analisada por CCDA, tendo como eluente a mistura hexano/acetato de etila (10%). Toda a  $\beta$ -lapachona havia sido consumida e observou-se uma mancha mais polar na análise de CCDA. Esta mancha foi sugerida como sendo o produto desejado (uma mancha azul, revelada ao irradiá-la com luz de 254 nm). A purificação do produto foi realizada por cromatografia aberta, em coluna empacotada com sílica gel, utilizando como eluente a mistura hexano/acetato de etila (10%). Ao final, foram obtidos 0,243 g de BLI-2-Tolu (5), na forma de um sólido levemente bege, correspondendo a um rendimento de 71% (DA SILVA et al., 2008).

6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol (BLI-2-Tolu) - C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O: PF 249 - 251°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 13,13 e 12,65 (s; 1H); 8,39 (d; 1H); 8,15 (dl; 3H); 7,56 (sl; 1H); 7,42 (t; 1H); 7,37 (d; 2H); 3,09 (d; 2H); 2,39 (s; 3H); 1,98 (sl; 2H); 1,43 (s; 6H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 74,75 (C); 31,91 - 32,25 (CH<sub>2</sub>); 18,79 - 19,26 (CH<sub>2</sub>); 102,85 - 144,84 (C); 121,61 - 129,84 (CH); 26,95 (CH<sub>3</sub>); 21,42 (CH<sub>3</sub>); EM (IE, 70 eV): 342 (M<sup>+</sup>, 45%); 299 (8%); 286 (100%); 140 (8%); 115 (10%); IV (cm<sup>-1</sup>): 3168; 2971; 2927; 1631; 1585; 1257; 1159; 1053.

#### 4.7 - Síntese dos intermediários *N*-propargil: 6,6-dimetil-3-(prop-2-in-1-il)-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*] imidazol (6) e 6,6-dimetil-1-(prop-2-in-1-il)-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*] imidazol (7)



**Figura 22:** Síntese dos intermediários regioisômeros (6) e (7).

Todos os solventes, reagentes e procedimentos utilizados durante esta reação foram tratados com os cuidados necessários para que as amostras não absorvessem água.

Em um balão de fundo redondo, de 25 mL de capacidade, previamente seco em estufa e equipado com barra de agitação magnética, foram adicionados 0,100 g (0,29 mmol) de BLI-2-Tolu, 5 mL de acetonitrila anidra e 0,024 g (0,60 mmol) de uma suspensão de hidreto de sódio (NaH) (60 %) em parafina. O balão de fundo redondo foi purgado com N<sub>2</sub>, fechado com septo de borracha e um balão de gás contendo N<sub>2</sub> foi mantido no sistema. Em seguida, a mistura foi submetida à agitação magnética, a 30°C, por 2 h. Transcorrido este período, foram adicionados 37 μL (0,29 mmol) de brometo de propargila (80% em tolueno), mantendo-se a temperatura em 30°C e a agitação magnética durante 3 h. Ao final do tempo de reação, uma pequena alíquota da mistura foi analisada por CCDA, tendo a mistura hexano/acetato de etila (10%) como eluente. Após 5 eluições foi detectado o consumo total do reagente de partida e observou-se duas manchas, muito próximas, sugeridas como os produtos desejados [dois alcinos regioisômeros: (6) e (7)]. Para o isolamento, foram testadas duas metodologias: coluna de

cromatografia com sílica gel, utilizando como eluente, uma mistura de hexano/DCM, em gradiente de concentração variando de 0 a 5%; e outra, utilizando cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP), com hexano/acetato de etila (10%) como eluente, onde foram realizadas cinco eluições. Não foi possível isolarmos os regioisômeros com as metodologias aplicadas e, nesse sentido, optamos em usar a mistura nas reações de cicloadição de azida-alcino catalisadas por Cu(I). Após as tentativas de isolamento, foram obtidas 0,095 g de mistura dos alcinos regioisômeros (6) e (7), rendimento de 85% para a mistura (DA SILVA et al., 2017).

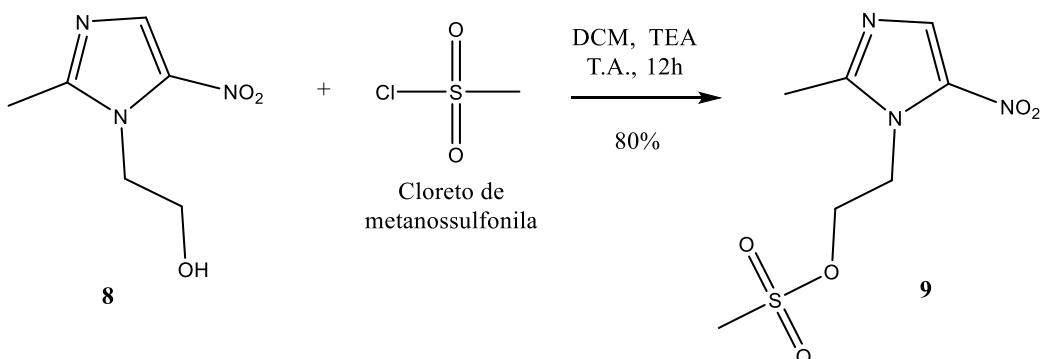
## 4.8 - Síntese dos intermediários nitroimidazólicos

### 4.8.1 - Extração do metronidazol (8)

O núcleo heterociclo 2-metil-5-nitroimidazol está presente no metronidazol, um fármaco antiparasitário e antibacteriano. Este composto pode ser extraído do medicamento comercial Flagyl®, comercializado na forma de comprimidos. Com o auxílio de um almofariz e um pistilo, 6 comprimidos de Flagyl® 400 mg foram macerados e transferidos para um bêquer de 250 mL, equipado com barra de agitação magnética. Posteriormente, ao sólido, foram adicionados 50 mL de uma solução de HCl a 10%, mantendo o sistema sob agitação constante, à temperatura ambiente, por 90 min. A suspensão obtida foi filtrada, com a finalidade de remover os componentes que permaneceram em suspensão. Após filtração, a solução ácida foi transferida para um outro bêquer de 250 mL e mantida em banho de gelo. Em seguida, foi adicionada uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub>, até o meio reacional atingir pH neutro. Após a neutralização, foi possível observar a formação de cristais de coloração branca, em forma de agulhas, do metronidazol. Os cristais foram filtrados e secos em estufa a 50°C, e ao final, obteve-se 1,98 g do metronidazol, correspondendo a um rendimento de 82%, em relação à massa do IFA presente no medicamento.

2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etan-1-ol (metronidazol) - C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: PF 162-165°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 5,05 (t; 5,4; 1H); 3,70 (q; 5,4; 2H); 4,36 (t; 5,4; 2H); 2,46 (s; 3H); 8,03 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 48,70 (CH<sub>2</sub>); 60,19 (CH<sub>2</sub>); 14,68 (CH<sub>3</sub>); 138,84 (C); 133,41 (CH); 152,42 (C); EM (IE, 70 eV): 171 (M<sup>+</sup>, 10%); 124 (60%); 81 (100%); 54 (75%); IV (cm<sup>-1</sup>): 3213; 3099; 2981; 1523; 1458; 1367; 1261; 744.

#### 4.8.2 - Síntese do intermediário metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il) etila (9)



**Figura 23:** Síntese do intermediário (9).

Em um balão de fundo redondo de 10 mL de capacidade, equipado com barra de agitação magnética e septo de borracha, mantido sob atmosfera de N<sub>2</sub>, foi preparada uma solução com 0,51 g (3,0 mmol) de metronidazol e 6 mL de diclorometano (DCM), previamente seco sob peneira molecular de 3 Å, ativada por 24 h em estufa mantida a 150°C. À solução, foram adicionados 2,1 mL (15,3 mmol) de trietilamina (TEA) seca e, lenta e cuidadosamente, 397 µL de cloreto de metanossulfonila (5,1 mmol). Observou-se, durante a adição, desprendimento de HCl e a formação de precipitado branco de cloridrato de trietilamínio. A reação transcorreu por 12 h, à temperatura ambiente, sendo acompanhada por CCDA, utilizando como eluente a mistura de solventes DCM/MeOH 5%. Após ser detectado o fim da reação, o solvente foi removido em rotaevaporador e o isolamento foi feito por partição com 30 mL de acetato de etila, lavado três vezes com 20 mL de solução aquosa de NH<sub>4</sub>Cl a 10%, e duas vezes com 20 mL de solução aquosa de NaCl a 10%. Ao final da partição, a fase orgânica foi seca sob Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada, sendo o solvente, em seguida, removido em rotaevaporador. Foram obtidos 0,59 g do produto na forma de sólido amorfó de cor amarelo claro, rendimento de 80%. O produto foi devidamente caracterizado através do ponto de fusão e dos métodos físicos de análise orgânica (CROSSLAND; SERVIS, 1970).

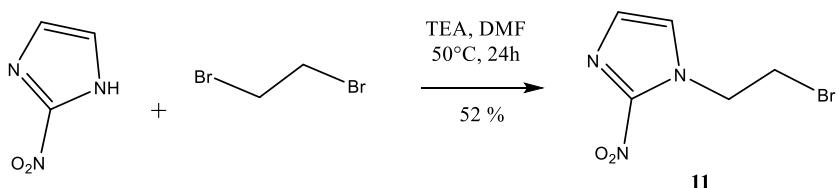
2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il) etila (9) - C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S: PF: 163-165°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 3,16 (s; 3H); 4,56 (t; 4,8; 2H); 4,66 (t; 4,8; 2H); 2,47 (s; 3H); 8,07 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*d*6), δ (ppm): 37,18 (CH<sub>3</sub>); 45,56 (CH<sub>2</sub>); 68,95 (CH<sub>2</sub>); 14,49 (CH<sub>3</sub>); 138,91 (C); 133,55 (CH); 152,21 (C); EM (IE, 70 eV): 249 (M<sup>+</sup>, 5%); 203 (30%);

170 (100%); 123 (90%); 79 (60%); IV (cm<sup>-1</sup>): 3024; 2981; 2852; 1523; 1458; 1367; 1326; 1259; 1178; 744.

#### 4.8.3 - Síntese dos brometos intermediários

Inicialmente, em um balão fundo redondo com capacidade para 10 mL, equipado com barra de agitação magnética, septo de borracha, e mantido sob atmosfera de N<sub>2</sub>, foi preparada uma solução com 0,20 g do nitroimidazol, 480  $\mu$ L de 1,2-dibromoetano (5,5 mmol), 1 mL de TEA (0,72 g, 7,1 mmol) e 4 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF), previamente seca sob peneira molecular de 3  $\text{\AA}$ , ativada por 24h em estufa mantida a 150°C. A mistura reacional foi mantida sob agitação e aquecimento, a 50 °C, por 24h. A reação foi acompanhada por CCDA, utilizando como eluente a mistura de solventes hexano/acetato de etila/DCM (5:3:2). Ao final da reação, o isolamento do produto foi feito por meio de partição com 30 mL de acetato de etila, lavado três vezes com 20 mL de solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 10%, três vezes com 20 mL de solução aquosa de NH<sub>4</sub>Cl a 10 % e uma vez com solução aquosa de NaCl a 10 %. A fase orgânica foi seca sob Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. Os produtos (11) e (13) foram obtidos na forma de óleos amarelo-claros que foram precipitados, no próprio balão, após adição de 15 mL de hexano, seguida de sonicação por 2 min, e resfriamento a – 20 °C, por 24h. Por fim, a mistura foi filtrada e sólido deixado, a temperatura ambiente para secar.

##### 4.8.3.1 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (11)



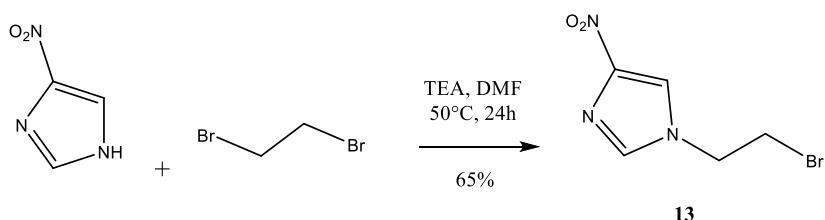
**Figura 24:** Síntese do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (11).

Foram utilizados 0,200 g de 2-nitro-1*H*-imidazol (CAS 527-73-1) (1,77 mmol) e, após secagem de (11), obteve-se 0,203 g deste intermediário, na forma de um sólido amarelo claro, correspondendo a um rendimento de 52%.

1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (11) - C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>: PF: 68 - 70°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 3,77 (t; 5,9; 2H); 4,81 (t; 5,9; 2H); 7,19 (s; 1H); 7,21 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 29,60 (CH<sub>2</sub>); 51,33 (CH<sub>2</sub>); 128,31 (CH); 126,99 (CH); EM (IE, 70 eV):

219/221 ( $M^+$ , 20%); 140 (55%); 107/109 (100%); 82 (60%); IV ( $cm^{-1}$ ): 3120; 2927; 2852; 1529; 1477; 1351; 1253; 1155; 800; 646.

#### 4.8.3.2 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-4-nitro-1*H*-imidazol (13)



**Figura 25:** Síntese do 1-(2-bromoetil)-4-nitro-1*H*-imidazol (13).

Foram utilizados 0,200 g do 4-nitro-1*H*-imidazol (CAS 3034-38-6) (1,77 mmol) e, após secagem do (13), obteve-se 0,252 g deste intermediário, na forma de um sólido branco, correspondendo a um rendimento de 65%.

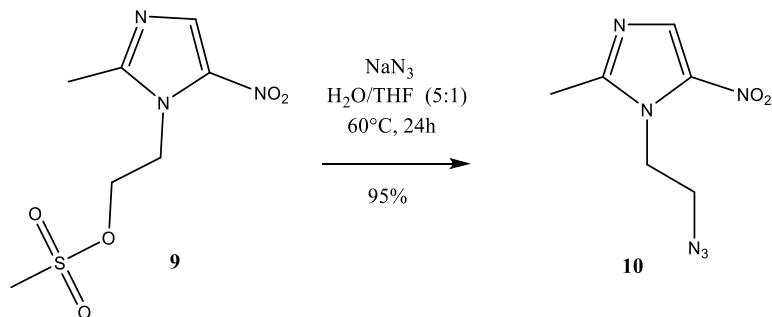
1-(2-bromoetil)-4-nitro-1*H*-imidazol (13) -  $C_5H_6BrN_3O_2$ : PF: 104-106°C; RMN  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  (ppm): 3,70 (t; 5,9; 2H); 4,49 (t; 5,9; 2H); 7,89 (s; 1H); 7,55 (s; 1H); RMN  $^{13}C$  (125 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  (ppm): 29,56 ( $CH_2$ ); 49,60 ( $CH_2$ ); 136,15 (CH); 119,00 (CH); IV ( $cm^{-1}$ ): 3118; 1544; 1486; 1338; 1265; 1159; 821; 657.

#### 4.8.4 - Síntese das azidas intermediárias

No interior de um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, equipado com barra de agitação magnética, foram solubilizados 1,0 mmol de alquilante [(intermediário (9), ou intermediário (11), ou intermediário (13)], em 1 mL de tetrahidrofurano (THF). Paralelamente, em um tubo de ensaio (15 mL de capacidade) foram solubilizados 3,0 mmol de azida de sódio ( $NaN_3$ ) em 5 mL de água destilada. A solução aquosa da azida foi adicionada, gota a gota, à solução contendo os respectivos nitroimidazóis previamente solubilizados (sob agitação). Ao final da adição, a mistura reacional foi submetida a aquecimento, a 60°C, por 24h, sendo monitorada por CCDA, utilizando como eluente a mistura de solventes hexano/acetato de etila/DCM (5:3:2). Finalizada a reação, o solvente foi removido em rotaevaporador, e o isolamento do produto formado aconteceu por meio de partição com 30 mL de acetato de etila, lavado três vezes com 20 mL de solução aquosa de  $NaCl$  a10%. A fase orgânica foi seca, sob  $Na_2SO_4$  anidro, filtrada e o solvente foi removido em rotaevaporador. Os respectivos produtos

foram obtidos na forma de óleos alaranjados, que foram purificados por cromatografia em coluna aberta, utilizando como fase estacionária, gel de sílica, e como fase móvel, uma mistura de hexano/acetato de etila em gradiente de concentração variando de 40 a 90%.

#### 4.8.4.1 - Síntese da azida contendo o grupo $5\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (10)

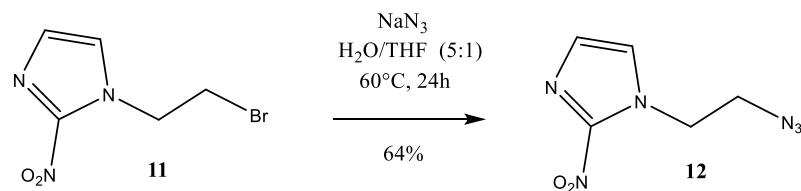


**Figura 26:** Síntese da azida: 1-(2-azidaetil)-2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (10).

Nesta reação, o alquilante utilizado foi o intermediário (9) e foram obtidos 0,186 g de (10), na forma de sólido alaranjado, que corresponde a um rendimento de 95%, com PF: 122-124°C.

1-(2-azidaetil)-2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol –  $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_6\text{O}_2$ : PF: 122-124°C; RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, ACETONA-*d*6),  $\delta$  (ppm): 3,91 (t; 5,5; 2H); 4,61 (t; 5,5; 2H); 2,55 (s; 3H); 7,94 (s; 1H); RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz, ACETONA-*d*6),  $\delta$  (ppm): 45,22 ( $\text{CH}_2$ ); 50,62 ( $\text{CH}_2$ ); 13,54 ( $\text{CH}_3$ ); 132,69 ( $\text{CH}$ ); 151,46 (C); EM (IE, 70 eV): 196 ( $\text{M}^+$  2%); 122 (79%); 80 (70%); 53 (100%); 42 (33%); IV ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3029; 2127; 1525; 1461; 1329; 1259; 742.

#### 4.8.4.2 - Síntese da azida contendo o grupo $2\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (12)

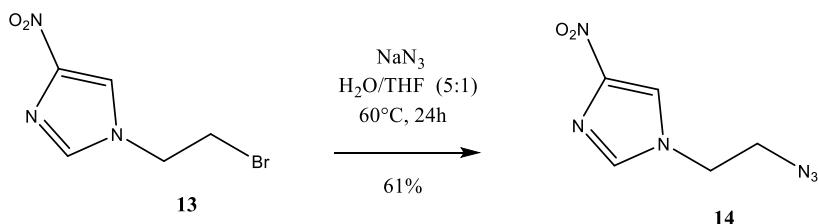


**Figura 27:** Síntese da azida: 1-(2-azidaetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (12).

A síntese de (12) ocorreu com uso do alquilante (11). Obteve-se 0,117 g de (12), sob a forma de um sólido cristalino laranja, indicando que esta reação aconteceu com um rendimento de 64%. O ponto de fusão determinado foi 55-58°C.

1-(2-azidaetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (12) – C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>: PF: 55-58°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 3,82 (t; 2H); 4,58 (t; 2H); 7,20 (s; 1H); 7,20 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 49,10 (CH<sub>2</sub>); 50,74 (CH<sub>2</sub>); 128,61 (CH); 126,99 (CH); IV (cm<sup>-1</sup>): 3101; 2925; 2109; 1529; 1348; 1288; 806.

#### 4.8.4.3 - Síntese da azida contendo o grupo 4NO<sub>2</sub>: 1-(2-azidaetil)-4-nitro-1*H*-imidazol (14)



**Figura 28:** Síntese da azida: 1-(2-azidaetil)-4-nitro-1*H*-imidazol (14).

Nesta etapa obteve-se 0,111 g de (14), na forma de um sólido ligeiramente alaranjado, utilizando 0,222 g do intermediário (13). O rendimento calculado é de 61% e o ponto de fusão determinado foi 54-57°C.

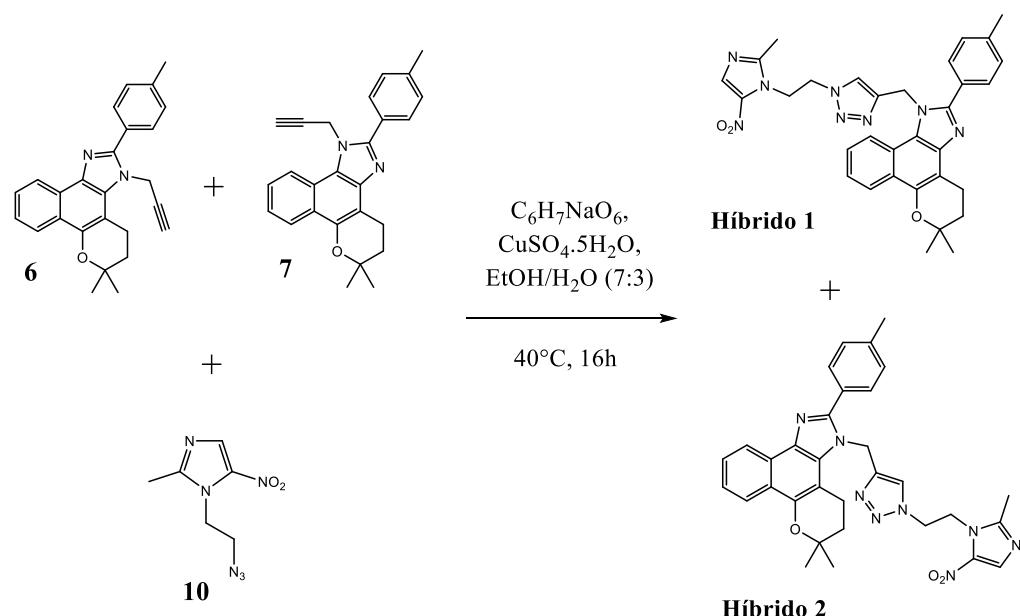
1-(2-azidaetil)-4-nitro-1*H*-imidazol (14) – C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub>: PF: 54-57°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 3,80 (t; 2H); 4,19 (t; 2H); 7,88 (s; 1H); 7,53 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 47,39 (CH<sub>2</sub>); 51,07 (CH<sub>2</sub>); 136,20 (CH); 119,35 (CH); IV (cm<sup>-1</sup>): 3126; 2931; 2125; 1519; 1338; 1286; 821.

### 4.9 - Reações de CuAAC: Síntese dos híbridos

Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, equipado com barra de agitação magnética, foram solubilizados, em 2,1 mL de etanol, 0,036 g (0,093 mmol) da mistura de alcinos/intermediários (6) e (7) e 0,093 mmol de azida orgânica. Paralelamente, em um eppendorf de 1,5 mL de capacidade, foram solubilizados, em 450  $\mu$ L água, 0,0055 g (0,0276 mmol) de ascorbato de sódio (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>). Em outro eppendorf, foram solubilizados 0,0048 g (0,0192 mmol) de sulfato de cobre penta-hidratado (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O), também em 450  $\mu$ L água.

Ao balão inicial foram adicionadas as soluções de ascorbato de sódio (primeiramente) e, na sequência, a de sulfato de cobre. Para melhorar a homogeneidade do meio reacional foram adicionados mais 600  $\mu$ L de etanol. Ao final da adição, a mistura reacional foi submetida a aquecimento, a 40°C, por 16h, sendo monitorada por CCDA, utilizando como eluente a mistura de solventes DCM/MeOH 5%. Transcorridas as 16h, foi detectado o consumo total dos reagentes de partida e observou-se, através da CCDA, uma mancha, levemente acima da origem, sugerida como a dos produtos desejados (dois híbridos formados com mesmo fator de retenção). Para a separação dos regioisômeros foram testadas duas metodologias: coluna de cromatografia com sílica gel, utilizando como eluente, uma mistura de DCM/MeOH, em gradiente de concentração variando de 0 a 4%; e outra, utilizando cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP), utilizando como eluente, a mistura de solventes DCM/MeOH 5%. Contudo, ambas as metodologias de separação não lograram êxito.

#### 4.9.1 - Síntese dos híbridos (1) e (2)



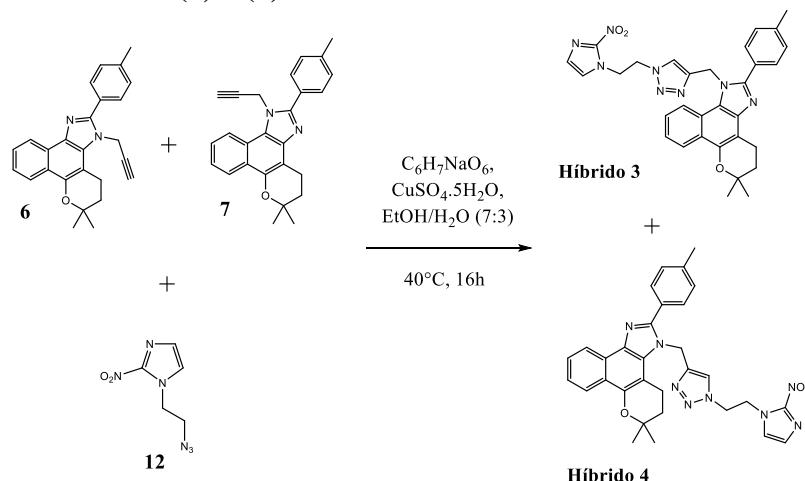
**Figura 29:** Síntese dos híbridos (1) e (2).

**Híbrido 1** - 6,6-dimetil-1-((1-(2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-*i*l)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-*i*l)methyl)-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol.

**Híbrido 2** - 6,6-dimetil-3-((1-(2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-*i*l)ethyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-*i*l)methyl)-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol.

Na síntese dos híbridos (1) e (2) foram utilizados 0,093 mmol do intermediário (10). Após as tentativas separação, obteve-se 0,0381 g de mistura de híbridos (1) e (2), correspondendo a um rendimento de 71%.

#### 4.9.2 - Síntese dos híbridos (3) e (4).



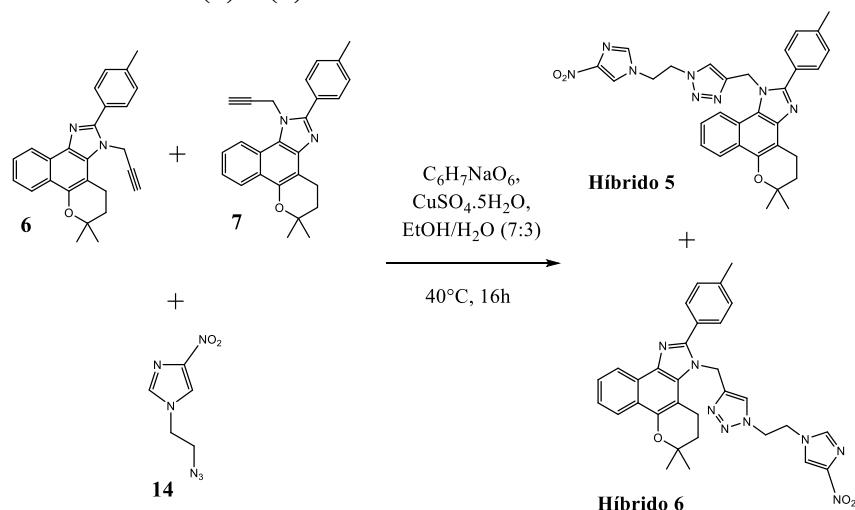
**Figura 30:** Síntese dos híbridos (3) e (4).

**Híbrido 3** - 6,6-dimetil-1-((1-(2-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol.

**Híbrido 4** - 6,6-dimetil-3-((1-(2-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol.

Nesta reação, utilizou-se 0,093 mmol do intermediário (12). Posteriormente às tentativas separação, obteve-se 0,0351 g de mistura de híbridos (3) e (4), equivalendo a um rendimento de 67%.

#### 4.9.3 - Síntese dos híbridos (5) e (6).



**Figura 31:** Síntese dos híbridos (5) e (6).

**Híbrido 5** - 6,6-dimetil-1-((1-(2-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol.

**Híbrido 6** - 6,6-dimetil-3-((1-(2-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol.

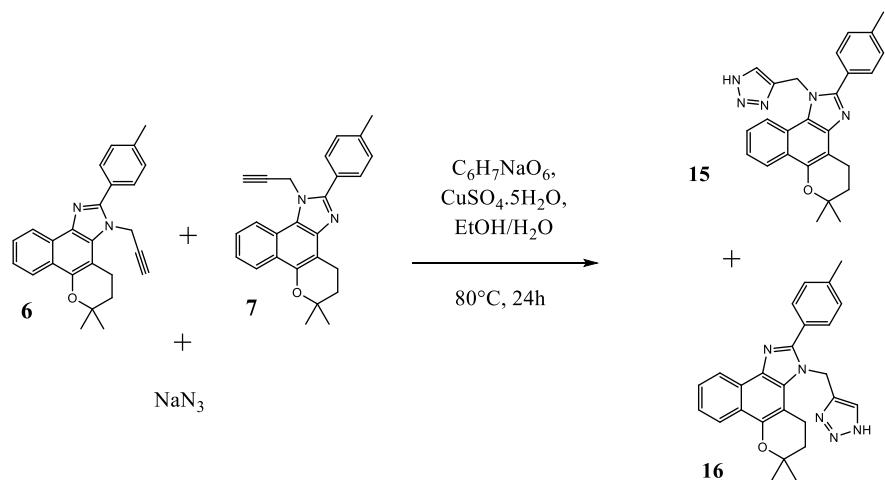
Para obtenção dos híbridos (5) e (6), utilizou-se 0,093 mmol do intermediário (14). Esta reação apresentou um rendimento de 68%, correspondendo a 0,0354 g de mistura de híbridos (5) e (6).

Através de análises no CLAE analítico e, em seguida, no CLAE semipreparativo foi desenvolvida uma metodologia onde obteve-se os híbridos (5) e (6) isolados.

6,6-dimetil-1-((1-(2-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2- (*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol (híbrido 5) – C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>: PF: 218-221°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 1,96 (t; 6,6; 2H); 3,09 (t; 6,6; 2H); 8,25 (m; 1H); 7,45 (t; 2H); 7,45 (t; 2H); 7,96 (m; 1H); 1,43 (s; 6H); 7,54 (d; 7,9; 2H); 7,37 (d; 7,9; 2H); 2,42 (s; 3H); 5,77 (s; 2H); 7,78 (s; 1H); 4,77 (d; 4H); 6,74 (s; 1H); 6,57 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 74,75 (C); 32,19 (CH<sub>2</sub>); 18,64 (CH<sub>2</sub>); 108,24 (C); 144,49 (C); 140,41 (C); 122,94 (CH); 126,22 (CH); 123,81 (CH); 120,79 (CH); 26,93 (CH<sub>3</sub>); 152,58 (C); 129,59 (CH); 129,74 (CH); 21,44 (CH<sub>3</sub>); 43,74 (CH<sub>2</sub>); 144,49 (CH); 124,28 (CH); 49,62 (CH<sub>2</sub>); 127,67 (CH); 144,90 (C); 127,86 (CH); IV (cm<sup>-1</sup>): 3126; 2975; 2927; 1531; 1355; 1278; 1153; 1053; 825.

6,6-dimetil-3-((1-(2-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2- (*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol (híbrido 6) – C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>: PF: 210-214°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 1,85 (t; 2H); 3,08 (t; 2H); 8,41 (d; 8,2; 1H); 7,57 (t; 1H); 7,45 (t; 1H); 8,15 (d; 8,2; 1H); 1,38 (s; 6H); 7,51 (d; 7,9; 2H); 7,37 (d; 7,9; 2H); 2,41 (s; 3H); 5,65 (s; 2H); 7,64 (s; 1H); 4,79 (s; 4H); 7,07 (s; 1H); 6,94 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 74,07 (C); 32,05 (CH<sub>2</sub>); 18,54 (CH<sub>2</sub>); 103,47 (C); 145,58 (C); 130,86 (C); 121,50 (CH); 126,59 (CH); 124,30 (CH); 122,53 (CH); 26,67 (CH<sub>3</sub>); 151,27 (C); 129,67 (CH); 129,59 (CH); 21,43 (CH<sub>3</sub>); 42,61 (CH<sub>2</sub>); 145,58 (C); 123,55 (CH); 49,65 (CH<sub>2</sub>); 127,97 (CH); 145,30 (C); 127,97 (CH); IV (cm<sup>-1</sup>): 3133; 2971; 2927; 1539; 1359; 1280; 1162; 1045; 827.

**4.10 - Síntese do 1-((1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6-*d*]imidazol (15) e 3-((1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6-*d*]imidazol (16).**



**Figura 32:** Síntese dos compostos (15) e (16).

Em um balão de fundo redondo, de 10 mL de capacidade, equipado com barra de agitação magnética, foram solubilizados 0,0036 g (0,093 mmol) da mistura de alcinos/intermediários (6) e (7) em 2,0 mL de etanol. Concomitantemente, em um tubo de ensaio, foram solubilizados 0,0047 g (0,72 mmol) de azida de sódio (NaN<sub>3</sub>) em 1,0 mL de água. As soluções de ascorbato de sódio e sulfato de cobre foram preparadas exatamente como citado na seção experimental anterior. Ao balão inicial, foram adicionadas as soluções de azida de sódio, de ascorbato de sódio e de sulfato de cobre, nessa sequência. A mistura reacional foi submetida a aquecimento, a 80°C, por 24h, sendo monitorada por CCDA, utilizando como eluente a mistura de solventes DCM/MeOH 5%. Os produtos (15) e (16) apresentaram perfis cromatográficos parecidos aos dos híbridos sintetizados neste trabalho e, também não foi possível separá-los com as metodologias de cromatografia com sílica gel e CCDP, citadas anteriormente. Após as tentativas de isolamento, foram obtidas 0,0216 g de mistura dos regioisômeros (15) e (16), correspondendo a um rendimento de 55%.

**4.11 - Atividade anti-*Trypanosoma cruzi***

A avaliação da atividade anti-*Trypanosoma cruzi* das moléculas obtidas neste trabalho foi realizada pelo doutorando Afonso Santine M. M. Velez, no Instituto de Veterinária - UFRRJ, Laboratório de Imunologia e Virologia, sob a supervisão da Prof<sup>a</sup> Débora Decoté-Ricardo de Lima.

#### **4.11.1 - Cultivo de linhagem LLC-MK2**

As células LLC-MK2 (ATCC) apresentam morfologia epitelial e foram isoladas do rim de macacos rhesus (*Macaca mulata*). As células foram mantidas em meio *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) completo, suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB), em estufa a 37°C com controle de umidade e sob atmosfera a 5% de CO<sub>2</sub>. O inóculo foi obtido pelo tratamento da monocamada de células com solução aquosa de 0,25% m/v de tripsina e 1 mM de ácido etileno-diamino acético (EDTA) por 5 min. Passagens na proporção de 1:6 do volume do inóculo foram realizadas a cada 4 dias.

#### **4.11.2 - Cultivo de *T. cruzi* na forma tripomastigota**

Células LLC-MK2 com 50% de confluência em garrafas de cultura de 175 cm<sup>2</sup> de área de cultivo (T-175) foram infectadas com  $5 \times 10^7$  formas tripomastigotas de *T. cruzi* da cepa Tulahuen C2C4 LacZ, transfetada com plasmídeo de *Escherichia coli* para a expressão citoplasmática da enzima *beta*-galactosidase ( $\beta$ Gal). Foi utilizado meio DMEM completo com 2% SFB. Após 24h, o meio foi removido e a monocamada de células lavada com tampão fosfato-salino (pH 7,2) (PBS). Meio DMEM completo com 2% SFB foi adicionado à cultura e renovado a cada 2 dias. Formas tripomastigotas foram recolhidas do sobrenadante entre o 5º e 10º dias após a infecção, e separadas de células não aderidas por centrifugação diferencial.

#### **4.11.3 - Soluções estoques das misturas.**

As soluções estoques das misturas de híbridos [(1) e (2); (3) e (4); e (5) e (6)], da mistura de [(15) e (16)], bem como dos outros compostos utilizados nos ensaios biológicos, foram obtidas pela solubilização destes em dimetilsulfóxido (DMSO), na concentração de 50 mg/mL, para as misturas de híbridos [(1) e (2); (3) e (4); e (5) e (6)] e mistura de [(15) e (16)] e, de 50 mM, para o lapachol,  $\beta$ -lapachona e BLI-2-Tolu. As concentrações utilizadas nos ensaios foram obtidas por meio da diluição seriada das soluções estoque preparadas para cada mistura. As diluições foram realizadas no próprio meio de cultura do experimento, de forma que a concentração máxima de DMSO presente nas culturas de células não ultrapassasse 0,3% v/v (ISHII et al., 2011).

#### **4.11.4 - Ensaios de citotoxicidade contra células LLC-MK2.**

Em uma placa transparente de 96 poços foram adicionadas células LLC-MK2 ( $2 \times 10^4$  células por/poço) em meio DMEM com 2% SFB e mantidas em incubação, por 24h a 37°C/5% CO<sub>2</sub>, para adesão. Após este período, foram lavadas com PBS para a remoção das células não aderidas. As células foram tratadas com diluições seriadas 200 µM, 80 µM, 32 µM e 12,8 µM para o lapachol, β-lapachona e BLI-2-Tolu e, 100 µg/mL, 40 µg/mL, 16 µg/mL e 6,4 µg/mL para as misturas de híbridos [(1) e (2); (3) e (4) e (5) e (6)] e para a mistura de (15) e (16), em triplicata, pré-diluídas em DMEM com 2% SFB. Controles não tratados (DMEM e 0,3% v/v DMSO) e branco (sem a presença de células) também foram incluídos no experimento. Após o tempo de incubação por 5 dias (120 h), a 37°C e 5% CO<sub>2</sub>, o meio de cultura foi removido e a monocamada de células lavada com PBS. Meio DMEM com 2% SFB foi reposto (100 µL/poço), juntamente com 20 µL/poço de solução 1,25 mg/mL de sal brometo de MTT em PBS. Após incubação, por 2h a 37°C/5% CO<sub>2</sub>, o sobrenadante foi removido e os cristais de formazana de MTT solubilizados em DMSO (120 µL/poço). A absorbância foi medida em leitor de placas em  $\lambda = 570$  nm.

#### **4.11.5 - Ensaios de atividade contra amastigotas de *T. cruzi*.**

Em uma placa de 96 poços transparente foram adicionadas células LLC-MK2 ( $2 \times 10^4$  células por poço) em meio DMEM com 2% SFB. Após incubação por 3h, a 37°C e 5% CO<sub>2</sub>, para adesão, os poços foram lavados com PBS para remoção de células não aderidas e, em seguida, foram adicionadas tripomastigotas de *T. cruzi* ( $5 \times 10^5$  parasitos por poço), da cepa Tulahuen C2C4 LacZ. Após incubação por 24h a 37°C e 5% CO<sub>2</sub> para infecção, os poços foram lavados com PBS, três vezes, para remoção dos parasitos não internalizados. As células foram tratadas com diluições seriadas 100 µM, 40 µM, 16 µM e 6,4 µM para o lapachol, β-lapachona e BLI-2-Tolu e, 50 µg/mL, 20 µg/mL, 8 µg/mL, 3,2 µg/mL para as misturas de híbridos [(1) e (2); (3) e (4) e (5) e (6)] e para a mistura de (15) e (16), em triplicata, pré-diluídas em DMEM, com 2% SFB. Controles não tratados (DMEM e 0,3% v/v DMSO) e branco (sem a presença de células) também foram incluídos no experimento. Como controle positivo, foi utilizado o benznidazol, em diluição seriada. Percorridas 120h de incubação, a 37°C e 5% CO<sub>2</sub>, adicionaram-se 30 µL de solução de vermelho de clorofenol β-D-galactopirano (CPRG) a 0,5 mM contendo 0,9% v/v Igepal CA-630 em PBS. Seguindo-se incubação por mais 2h nas mesmas condições. Após esse período, a absorbância foi medida em  $\lambda = 570$  nm, com auxílio de um leitor de placas.

#### **4.11.6 - Tratamento estatístico dos dados de atividade *in vitro*.**

Os valores de absorbância obtidos dos experimentos *in vitro* foram descontados da média do controle branco e convertidos em valores percentuais de viabilidade relativos à média da triplicata do controle sem tratamento, conforme a fórmula:

$$V(%) = \frac{Abs - M_B}{M_V - M_B}$$

V (%) = Viabilidade em %

Abs = Leitura de absorbância em determinado poço

M<sub>B</sub> = Média da absorbância da triplicata do Controle Branco

M<sub>V</sub> = Média da absorbância da triplicata do Controle Veículo

Os dados referentes aos experimentos foram inseridos no software GraphPad Prism 7.0 para tratamento estatístico, incluindo cálculo da concentração inibitória do crescimento em 50% (CI<sub>50</sub>), utilizando o modelo padrão do software de regressão não linear para cada valor de concentração de inibidor *versus* resposta normalizada, com inclinação variável. Para os testes de significância estatística foi utilizada a análise de variância simples *one-way* ANOVA.

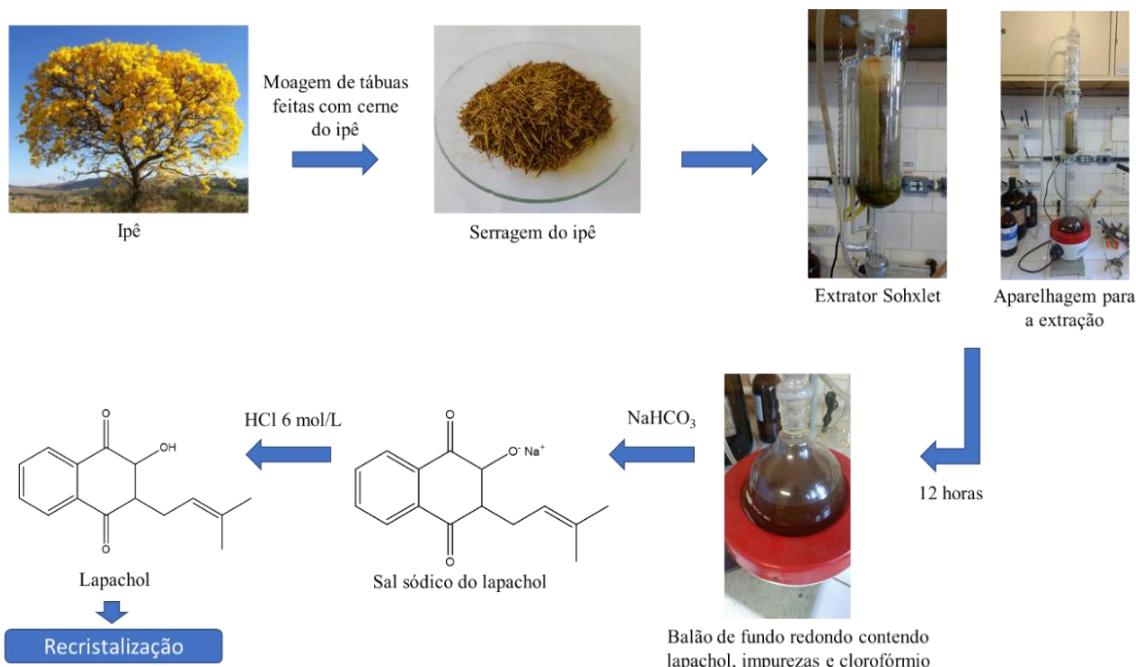
## **5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 - Extração do lapachol do cerne do ipê.**

A primeira etapa do desenvolvimento deste trabalho consistiu na obtenção do lapachol em quantidades adequadas. Duas maneiras clássicas de extração do lapachol da serragem do ipê são abordadas na literatura: uma é semelhante a utilizada neste projeto, onde se faz uso do extrator Soxhlet; e a outra é uma extração com solvente ativo, com o uso, diretamente sobre a matriz vegetal, de uma solução aquosa alcalina, explorando a acidez da hidroxila fenólica presente na estrutura do produto natural (BARBOSA; DINIZ NETO, 2013; GIRARD et al., 1988). A literatura descreve o uso de éter de petróleo como solvente no extrator de Soxhlet. Neste trabalho foi realizada uma adaptação, com o uso de clorofórmio, no tempo de refluxo de 12h (tempo quatro vezes menor do que o tempo descrito para a extração com éter de petróleo, que foi de 48h) (GIRARD et al., 1988). Nesse sentido, a extração desta naftoquinona,

desenvolvida pelo nosso grupo, apresenta-se como uma otimização da metodologia já descrita anteriormente na literatura.

Finalizado o processo de recristalização, obtivemos 4 g de lapachol, o que corresponde a um rendimento de 2% (valor que está dentro do que está descrito na literatura 2-3% mais comum) (RAO; MCBRIDE; OLESON, 1968).



**Figura 33:** Esquema ilustrativo da metodologia empregada para a extração do lapachol.

No espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 1, caderno de espectros, em anexo) foi possível observar um triplete, com integração para um hidrogênio, com  $\delta$  5,22 ppm referente ao hidrogênio do CH do grupamento prenila. Além disso, são observados dois simples, com integração para três hidrogênios, referentes aos hidrogênios das metilas 14 e 15 (estrutura numerada apresentada no caderno de espectros, em anexo); bem como os hidrogênios aromáticos na região compreendida entre  $\delta$  7,69 a 8,13 ppm (MOREIRA et al., 2006).

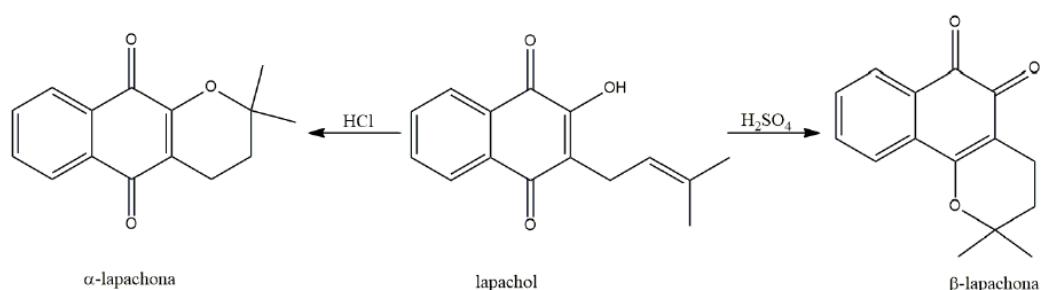
O espectro de RMN <sup>13</sup>C (Espectro 2, caderno de espectros, em anexo) apresentou um sinal em  $\delta$  129,44 ppm referente ao carbono quaternário do grupamento prenila. É possível também observar, em  $\delta$  152,69 ppm, um sinal referente ao carbono que sustenta a hidroxila alfa à carbonila. Os deslocamentos químicos em 181,69 e 184,54 ppm foram atribuídos aos carbonos das carbonilas (MOREIRA et al., 2006).

O espectro de IV (Espectro 4, caderno de espectros, em anexo) apresenta uma banda intensa, em  $3348\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformação axial da ligação O-H. Aparecem também,

deformações axiais das ligações C=O, das carbonilas, em  $1637\text{ cm}^{-1}$  e  $1658\text{ cm}^{-1}$ , típicas de cetonas conjugadas (DELARMELINA et al., 2016; FARFÁN et al., 2006). No espectro de massas (IE, 70 eV) (Espectro 3, caderno de espectros, em anexo), é observado o íon molecular com m/z igual a 242 Da ( $\text{M}^+$ , 15%) e a relação m/z calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$  é 242,0943 Da (massa monoisotópica).

## 5.2 - Síntese da $\beta$ -lapachona.

A obtenção de quantidades adequadas de  $\beta$ -lapachona também foi de suma importância nesta pesquisa. O lapachol, na presença de ácido sulfúrico concentrado, sofre protonação na dupla ligação do radical prenila, formando um carbocátion terciário, que após sofrer ataque intramolecular do par de elétrons do oxigênio da carbonila vizinha, fornece a  $\beta$ -lapachona como produto. Durante a análise por CCDA, utilizando padrões já existentes no laboratório, observou-se a presença da  $\alpha$ -lapachona junto aos cristais de  $\beta$ -lapachona. A  $\alpha$ -lapachona é uma *para*-quinona, isômero da  $\beta$ -lapachona, que também é formada pela isomerização do lapachol em meio ácido, entretanto, essa reação é catalisada por ácido clorídrico. Para reações realizadas com soluções ácidas diluídas, é comum haver uma mistura dos produtos em quantidades mais próximas. A  $\beta$ -lapachona é o produto preferencial quando se usa ácido sulfúrico concentrado (DELARMELINA et al., 2019), metodologia utilizada neste trabalho.



**Figura 34:** Síntese da  $\alpha$ - e da  $\beta$ - lapachona a partir do lapachol.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 5, caderno de espectros, em anexo) foi possível observar um triplete, com integração para dois hidrogênios, concentrado em  $\delta$  2,59 ppm referente aos hidrogênios do  $\text{CH}_2$  da posição 3 da estrutura da  $\beta$ -lapachona (estrutura numerada consta no caderno de espectros, em anexo), o que ajuda a confirmar o êxito da conversão. Observa-se também um simpleto em  $\delta$  1,49 ppm, que corresponde aos hidrogênios dos dois grupos metilênicos. Os prótons referentes ao anel aromático são encontrados entre  $\delta$  7,84 e 8,09 ppm, sendo o próton mais desblindado o mais próximo a carbonila (ALVES et al., 2008).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 6, caderno de espectros, em anexo) apresentou um sinal em  $\delta$  79,29 ppm, referente ao carbono quaternário do tipo  $\text{sp}^3$  carbinólico. Além disso, em  $\delta$  178,60 ppm, é visualizado um sinal referente ao carbono carbonílico *alfa* à carbonila (C8) (ALVES et al., 2008).

O espectro de IV da amostra de  $\beta$ -lapachona (Espectro 8, caderno de espectros, em anexo) apresentou bandas de média intensidade em 2977 e 2931  $\text{cm}^{-1}$ , características das deformações axiais assimétricas e simétricas, respectivamente, da ligação  $\text{C}(\text{sp}^3)\text{-H}$  da metila. Verificou-se a presença de bandas de combinação e harmônicas, entre 2000 e 1800  $\text{cm}^{-1}$ , comuns em compostos com sistemas aromáticos. Já, as bandas em 1589 e 1566  $\text{cm}^{-1}$ , correspondem às vibrações da ligação  $\text{C}=\text{C}$  do anel aromático. Foi observado também o sinal em 1693  $\text{cm}^{-1}$  atribuído à banda de estiramento da carbonila ( $\text{C}=\text{O}$ ). Podem ainda ser destacadas duas bandas, em 1114 e 1093  $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes às respectivas deformações axiais, assimétrica e simétrica, do grupo  $\text{C-O-C}$  (ALVES et al., 2008; DELARMELINA et al., 2016).

O espectro de massas (IE, 70 eV) (Espectro 7, caderno de espectros, em anexo) apresenta o pico do íon molecular com  $\text{m/z}$  igual a 242 Da ( $\text{M}^+$ , 15%) e a relação  $\text{m/z}$  calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$  é 242,0943 Da (massa monoisotópica) (ALVES et al., 2008).

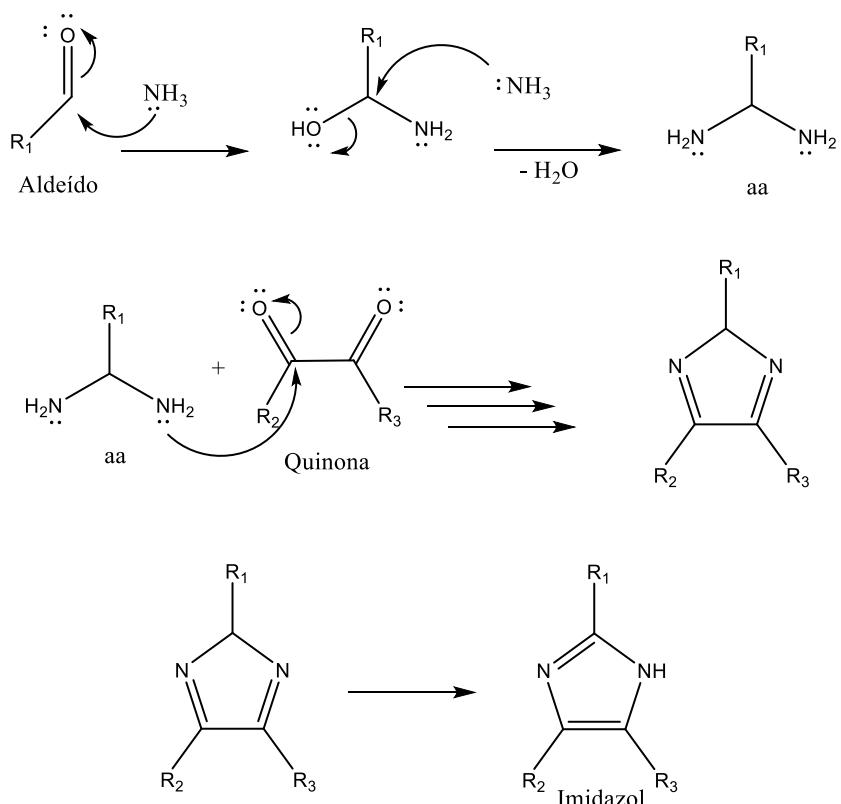
### 5.3 - Síntese do BLI-2-Tolu (5).

Muitos derivados imidazólicos de lapachona têm sido sintetizados e avaliados contra enfermidades e patógenos endêmicos e, alguns destes, apresentam-se como substâncias promissoras para quimioterapia e profilaxia da doença de Chagas (DE MOURA et al., 2001, 2004; PINTO; DE CASTRO, 2009).

Até o momento da elaboração desta dissertação, segundo a literatura, o BLI-2-Tolu é o naftoimidazol (sem substituição no anel imidazólico), derivado da  $\beta$ -lapachona, que apresentou maior atividade contra o *T. cruzi* (CASCABULHO et al., 2020; DE MOURA et al., 2004). Por este motivo, ele foi escolhido para ser modificado estruturalmente, a fim de avaliarmos uma possível potencialização de sua ação tripanocida e/ou redução da citotoxicidade. Sua síntese ocorreu através de uma reação de condensação entre a  $\beta$ -lapachona, amônia e 4-metilbenzaldeído, usando aquecimento por irradiação por micro-ondas (doméstico), durante 3 min, fornecendo o naftoimidazol desejado em rendimento de 71%. Nossa metodologia se difere da utilizada por De Moura e colaboradores (2004), que utilizaram os mesmos reagentes, em refluxo, por 45 min e obtiveram rendimento próximo (78%). Além da obtenção do produto em um intervalo de tempo menor, nossa metodologia se apresenta como uma ótima opção de síntese

no cenário de química verde devido ao não uso de solventes e menor gasto de energia (PRADO, 2003).

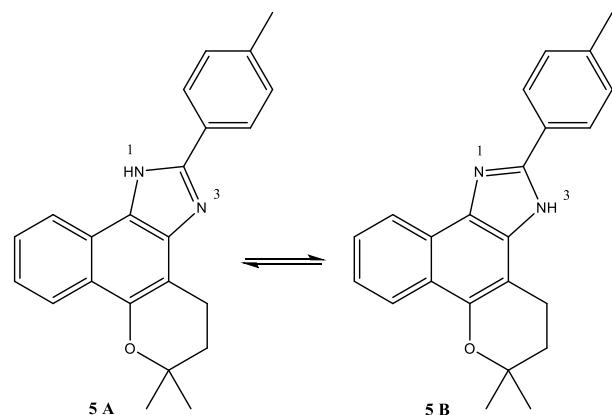
A síntese de imidazóis a partir de compostos  $\alpha$ -dicarbonílicos foi a primeira via reacional de obtenção deste núcleo heterocíclico e, apesar de ser conhecida há mais de um século, ainda existem muitas discussões sobre o mecanismo que ocorre durante a reação de Debus-Radziszewski. Uma proposta de mecanismo reacional, genérica e simplificada (Figura 35), proposto por Foerst, sugere que o carbono eletrofílico da carbonila do aldeído sofra o ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio da amônia e, em seguida, uma segunda molécula de amônia faz outro ataque, gerando um intermediário  $\alpha$ -diamina (aa). Tal intermediário reage com a quinona (dicetona vicinal), numa etapa de condensação, gerando o imidazol (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2020; TEIMOURI; CHERMAHINI, 2011).



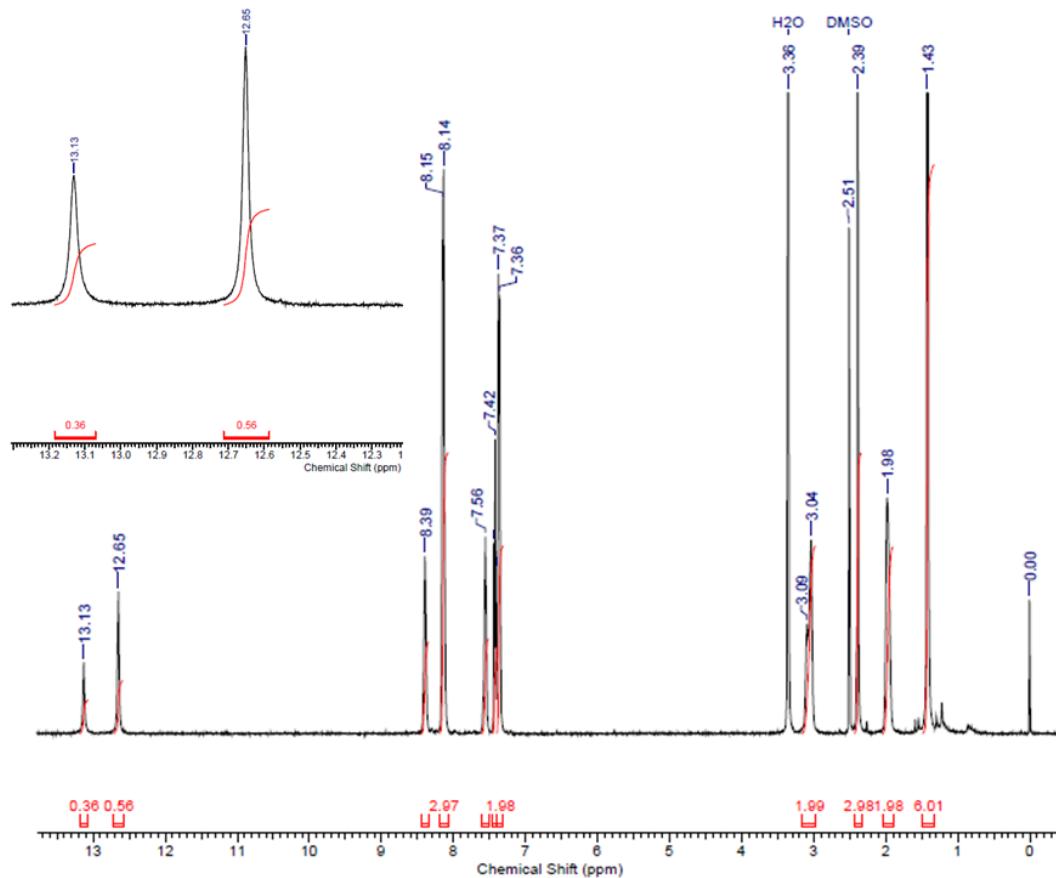
**Figura 35:** Proposta de mecanismo reacional, genérica e simplificada, da formação de imidazol via reação de Debus-Radziszewski (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2020).

Ao analisar o espectro de RMN <sup>1</sup>H do BLI-2-Tolu (Espectro 9, caderno de espectros, em anexo), em DMSO-*d*6 (solvente aprótico), realizado a 27°C, é possível visualizar dois sinais (dois simples): um em  $\delta$  12,65 ppm e o outro em  $\delta$  13,13 ppm, que são deslocamentos químicos característicos para átomos de hidrogênio “do tipo pirrólico” em naftoimidazóis. Quando as integrações para estes sinais são somadas (0,56 e 0,36, respectivamente), o valor

obtido é próximo de um hidrogênio, indicando a ocorrência de prototautomerismo (processo que se estabelece rapidamente em solução) (CARVALHO et al., 2004). Como pode ser observado nas estruturas a seguir (Figura 36) os hidrogênios ligados aos nitrogênios 1 e 3 (5A) e (5B) estão em ambientes químicos distintos.



**Figura 36:** Prototautomerismo do BLI-2-Tolu: tautômeros 5A e 5B.



**Figura 37:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO-*d*6) do BLI-2-Tolu com ampliação da região entre  $\delta$  12,30 e 13,20 ppm.

O sinal em  $\delta$  13,13 ppm possivelmente corresponde ao hidrogênio (N-H) do tautômero 5A, pois este está mais sujeito ao efeito anisotrópico de desproteção promovido pelo sistema aromático (anel naftalênico), acoplado ao núcleo imidazólico. Ao analisarmos as intensidades dos sinais, há uma maior estabilidade, em 27°C, para o tautômero 5B, cujo átomo de hidrogênio “do tipo pirrólico” é mais blindado,  $\delta$  12,65 ppm.

Ainda no espectro de RMN  $^1\text{H}$  do BLI-2-Tolu são observados os 22 hidrogênios, como o previsto, conforme a fórmula molecular  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$ . Na região de deslocamentos químicos entre  $\delta$  7,37 e 8,39 ppm podem ser observados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 12, caderno de espectros, em anexo) pode-se destacar o sinal em  $\delta$  26,95 ppm, referente ao carbono das metilas pertencentes ao anel cromeno, oriundo da  $\beta$ -lapachona. Em  $\delta$  21,42 ppm, aparece o sinal atribuído ao carbono da metila ligada ao anel aromático. Os sinais de carbonos quaternários e aromáticos, mais desblindados, estão relacionados aos carbonos vizinhos aos heteroátomos (O e N).

O espectro no infravermelho (Espectro 14, caderno de espectros, em anexo) apresenta uma banda larga, em  $3168\text{ cm}^{-1}$ , que foi atribuída ao estiramento assimétrico da ligação N-H. Na região de baixa energia, verificou-se bandas devidas aos estiramentos  $\text{vC}=\text{C}$ ,  $\text{vC}=\text{N}$  e  $\text{vC}-\text{N}$  do anel aromático que representam, respectivamente, absorções em 1631, 1585 e  $1257\text{ cm}^{-1}$ . Também são observadas duas bandas em 1159 e  $1053\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas, respectivamente, às deformações axiais, assimétrica e simétrica, do grupo C–O–C.

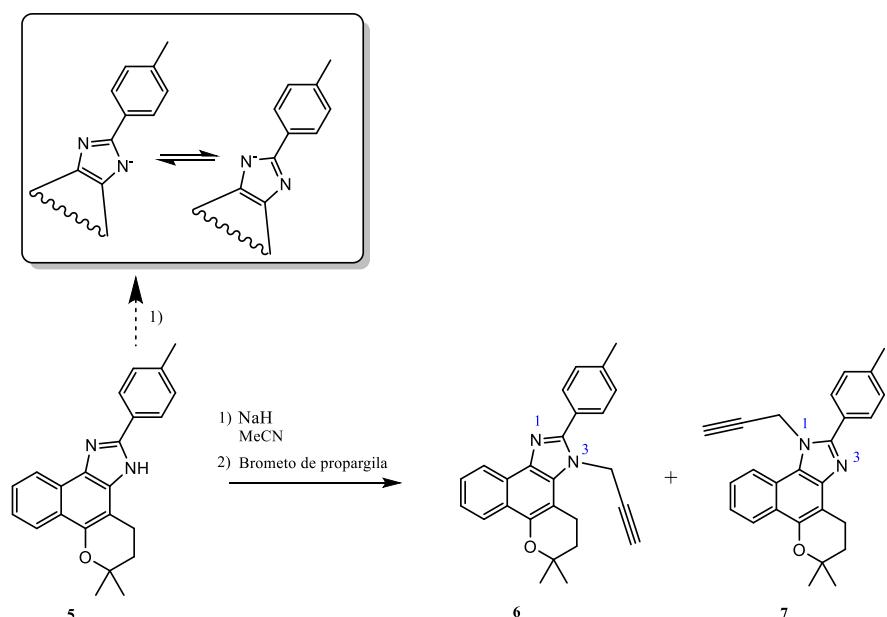
O espectro de massas (IE, 70 eV) (Espectro 13, caderno de espectros, em anexo) revela o pico do íon molecular com  $\text{m/z}$  igual a 342 Da ( $\text{M}^+$ , 45%) e a relação  $\text{m/z}$  calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$  é 342,1732 Da (massa monoisotópica). O pico de base, com  $\text{m/z}$  286, refere-se ao fragmento gerado pela reação de retro Diels-Alder no anel pirânico do BLI-2-Tolu.

#### 5.4 - Síntese dos intermediários *N*-propargil: 6,6-dimetil-3-(prop-2-in-1-il)-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*] imidazol (6) e 6,6-dimetil-1-(prop-2-in-1-il)-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*] imidazol (7).

Intermediários reacionais e/ou moléculas que apresentam o grupamento propargila em sua estrutura são caracterizados como vultuosos precursores para a síntese de heterociclos. Uma das aplicações se dá nas reações de cicloadição de azida-alcino catalisadas por Cu(I) para obtenção de 1,2,3 triazóis (HALDÓN; NICASIO; PÉREZ, 2015).

Quando um naftoimidazol, sem substituintes nos átomos de nitrogênio, é posto para reagir com uma base adequada e, posteriormente, com haletos de alquila, há a formação de *N*-alquil naftoimidazóis (DA SILVA et al., 2017).

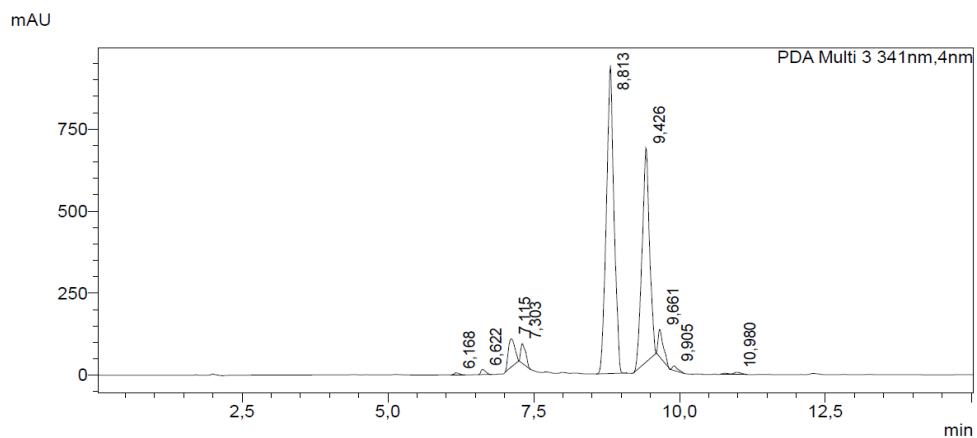
Para a síntese dos intermediários (6) e (7) foi utilizado o hidreto de sódio como base para promover a desprotonação H-N, seguido da reação de *N*-alquilação do BLI-2-Tolu, tendo o brometo de propargila como eletrófilo. Esta reação produziu dois regioisômeros, devido ao deslocamento da carga negativa entre os átomos de nitrogênio da base conjugada do BLI-2-Tolu (Figura 38). Mesmo que não houvesse a deslocalização da carga negativa entre os átomos de nitrogênio, seria esperada a formação do par de isômeros de posição, pois o BLI-2-Tolu, em solução, sofre tautomerismo. Os rendimentos relativos de cada regioisômero dependem da proporção de cada tautômero alcançada no equilíbrio.



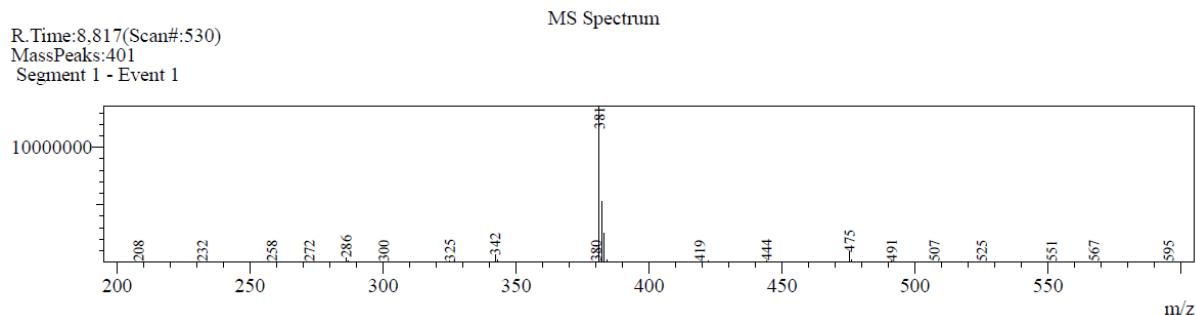
**Figura 38:** Síntese dos intermediários (6) e (7), demonstrando o deslocamento da carga negativa entre os átomos de nitrogênio da base conjugada do BLI-2-Tolu.

Os dois regioisômeros, (6) e (7), puderam ser observados nas placas de CCDA, com o aparecimento de duas manchas azuladas intensas, semelhantes às do BLI-Tolu, quando a placa é irradiada com lâmpadas de 254 nm. Assim, como ocorre com o reagente de partida, os compostos (6) e (7) absorvem fracamente a radiação ultravioleta de 365 nm. Além disso, estes compostos apresentam fatores de retenção (Rf) maiores que o do BLI-2-Tolu, indicando sua menor polaridade em comparação ao mesmo, visto que a fase estacionária era de fase normal (DA SILVA et al., 2017). Os fatores de retenção dos regioisômeros (6) e (7) são muitíssimos próximos, ao ponto de não termos obtido êxito com as tentativas de isolamento apontadas na seção 4.7. Com isso, utilizamos a mistura destes isômeros de posição na próxima etapa, ou seja, nas reações do tipo CuAAC.

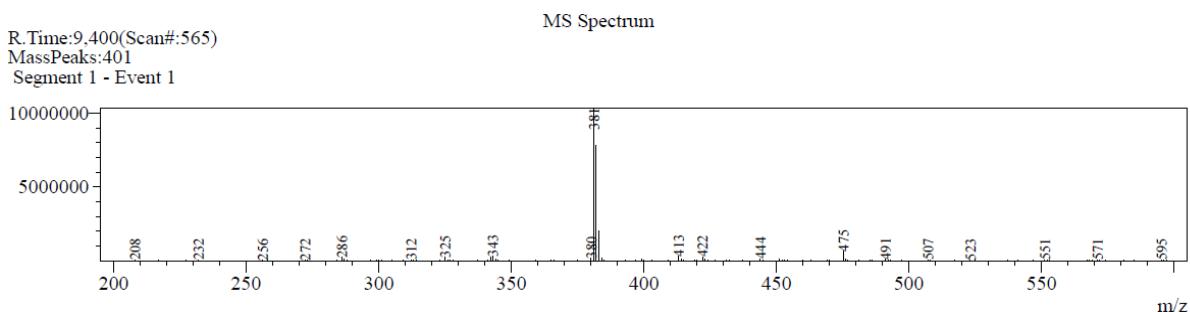
Uma pequena alíquota da mistura de produtos obtida na reação de *N*-alquilação do BLI-2-Tolu com brometo de propargila foi analisada por CLAE-EM. No cromatograma (Figura 39), obtido por detector DAD (341 nm), destacam-se dois picos: um com  $t_R = 8,8$  min e outro, com  $t_R = 9,4$  min. Nos espectros de massa (IES+), tanto do composto com  $t_R = 8,8$  min quanto do com  $t_R = 9,4$  min (Figuras 40 e 41), são observados picos com  $m/z$  ( $C_{26}H_{24}N_2O+H$ ): 381 Da. A relação  $m/z$  calculada para  $C_{26}H_{24}N_2O$  é 380,1888 Da (massa monoisotópica). Tais dados confirmam o êxito da reação de *N*-alquilação, gerando os compostos (6) e (7).



**Figura 39:** Cromatograma (CLAE-DAD) da mistura de produtos obtida na reação de *N*-alquilação do BLI-2-Tolu com brometo de propargila.



**Figura 40:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 8,8$  min.

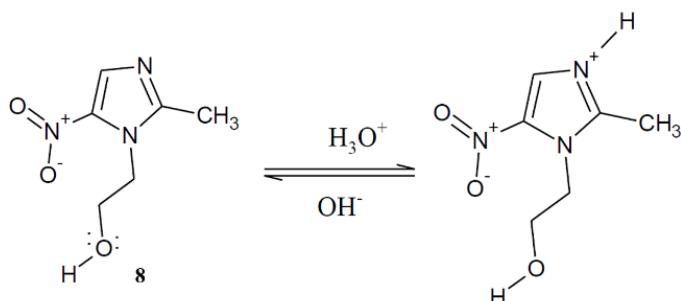


**Figura 41:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 9,4$  min.

## 5.5 - Síntese dos intermediários nitroimidazólicos.

### 5.5.1 - Extração do metronidazol (8).

Para o isolamento do metronidazol, foi explorada a basicidade do nitrogênio do núcleo imidazólico, que apresenta seu par de elétrons disponível ortogonalmente ao sistema pi, capaz de abstrair prótons. Segundo ALSTON & ABELES (1987), em meio aquoso, este composto se comporta como uma base fraca ( $pK 2,7$ ). No entanto, observa-se sua forma protonada em soluções aquosas de ácidos minerais (ALSTON; ABELES, 1987).



**Figura 42:** Protonação do nitrogênio e comportamento ácido-base do núcleo imidazólico do metronidazol.

Após o isolamento do metronidazol e determinação de seu ponto de fusão, sua caracterização foi feita através das técnicas convencionais de análise: RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , EM e IV, estando coerentes com os dados descritos na literatura (CROSSLAND; SERVIS, 1970). É possível identificarmos, através do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 15, caderno de espectros, em anexo), hidrogênios de metila com deslocamento em  $\delta$  2,46 ppm, na forma de um simpleto, com integração para três hidrogênios. Além disso, há um simpleto, em  $\delta$  8,03 ppm, que indica o hidrogênio do anel imidazólico. Também pode ser observado um triploto em  $\delta$  5,0 ppm ( $J=5,4$  Hz), com integração para um hidrogênio, condizente à hidrogênio de hidroxila vizinha a um metileno.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 17, caderno de espectros, em anexo), observa-se um sinal em  $\delta$  152,42 ppm, característico de carbono do anel imidazólico, ligado ao grupamento nitro. Adicionalmente, observa-se outro sinal, em região mais blindada,  $\delta$  14,68 ppm, indicando a presença de metila ligada a carbono insaturado do tipo  $\text{sp}^2$ .

Por meio do espectro de infravermelho (Espectro 19, caderno de espectros, em anexo) pôde ser confirmada a presença de uma hidroxila, que apresenta uma banda de baixa intensidade e alta frequência  $3213\text{ cm}^{-1}$ , sugestiva de deformação axial da ligação O-H em ligação de

hidrogênio intramolecular com o grupamento nitro do anel imidazólico. A banda na região de  $3099\text{ cm}^{-1}$  refere-se à deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico e, aquela em  $1458\text{ cm}^{-1}$ , à deformação angular assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ .

No espectro de massas (Espectro 18, caderno de espectros, em anexo) encontra-se o íon molecular  $m/z = 171$  ( $\text{M}^+$ , 10%) e a relação  $m/z$  calculada para  $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$  é 171,0643 Da (massa monoisotópica).

### 5.5.2 - Síntese do intermediário metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il) etila (9).

A etapa posterior à obtenção do metronidazol compreendeu a transformação da hidroxila primária, presente na cadeia ligada ao nitrogênio do núcleo imidazólico, em um bom grupo abandonador, de modo a transformar o composto numa espécie eletrofílica adequada à reação de substituição nucleofílica bimolecular ( $SN^2$ ). Em todo o tempo evitou-se a presença de água no meio reacional, para que não houvesse a hidrólise do composto (9) formado. O uso da trietilamina permitiu a neutralização do ácido clorídrico, formado durante a reação, gerando o cloreto de trietilamínio, insolúvel no meio reacional. Após a purificação, o ponto de fusão foi determinado e a caracterização do composto foi feita por meio das técnicas convencionais de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , EM e IV.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 20, caderno de espectros, em anexo), observa-se, em  $\delta$  2,47 ppm, um sinal simples, com integração para três hidrogênios, característico de hidrogênios de metila ligada ao anel imidazólico (semelhantemente ao metronidazol). Foi observado também outro simpleto, no entanto, agora, em  $\delta$  3,16 ppm, com integração para três hidrogênios, típico de hidrogênios de metila ligada ao átomo de enxofre da porção mesilato. Além disso, não foi observado o sinal referente ao hidrogênio da hidroxila de álcool, presente no espectro do metronidazol, demonstrando que houve interconversão de grupos funcionais.

Já no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 22, caderno de espectros, em anexo), observou-se um sinal em  $\delta$  37,18 ppm referente ao carbono de metila ligada ao átomo de enxofre. Os deslocamentos  $\delta$  45,56 e 68,45 ppm foram atribuídos aos carbonos metilênicos da cadeia lateral do núcleo imidazólico. Também pôde ser observado os carbonos quaternários pertencentes ao núcleo do heterociclo, em  $\delta$  138,91 e 152,21 ppm.

Por sua vez, no espectro de infravermelho (Espectro 24, caderno de espectros, em anexo) foi possível visualizar uma banda, de moderada intensidade, em  $1326\text{ cm}^{-1}$ , que indica a

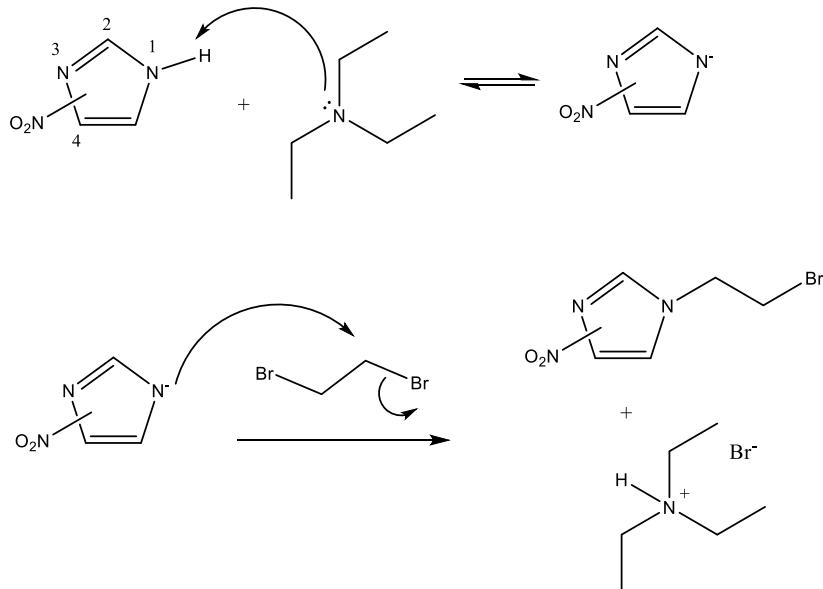
deformação axial assimétrica do grupo S=O. Além disso, não se observou a absorção na região compreendida entre 3200-3300 cm<sup>-1</sup> (deformação axial da ligação O-H).

No espectro de massas (Espectro 23, caderno de espectros, em anexo) observa-se o pico referente ao íon molecular m/z = 249 (M<sup>+</sup>, 5%) e a relação m/z calculada para C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S é 249,0419 Da (massa monoisotópica).

### **5.5.3 - Síntese dos brometos intermediários.**

Dentre os objetivos estabelecidos neste projeto, um deles consiste na investigação da influência do grupamento nitro no anel imidazólico e sua possível atividade antiparasitária dos híbridos planejados frente ao *T. cruzi*. Para tal, além de preparamos o metanossulfonato derivado do metronidazol, foram sintetizados dois alquilantes intermediários: um com o grupamento nitro na posição 2 (11) e outro, com o grupo nitro na posição 4 do anel imidazólico (13); sendo o nitro na posição 2 do anel imidazólico, análogo a uma porção da estrutura do fármaco benznidazol.

Foram utilizados o 2-nitro-1*H*-imidazol (CAS 527-73-1) e o 4-nitro-1*H*-imidazol (CAS 3034-38-6) com 1,2-dibromoetano em presença de trietilamina, tendo a *N,N*-dimetilformamida como solvente, para se efetuar a *N*-alquilação do heterociclo. A trietilamina abstrai o próton “do tipo pirrólico”, produzindo o nucleófilo que realizará a substituição nucleofílica bimolecular (*SN*<sup>2</sup>) no substrato em questão (1,2-dibromoetano) (Figura 43). O ânion gerado, atua como um bom nucleófilo, realizando o ataque sobre o carbono eletrofílico ligado ao átomo de bromo. Com a aproximação do nucleófilo ao carbono eletrofílico, a ligação *N*-carbono vai se estabelecendo, enquanto a ligação C-Br vai se rompendo, de forma concertada. Desse modo, devido ao bromo ser um bom grupo de saída, este é eliminado, dando origem ao brometo derivado do nitroimidazol. A estratégia do uso de 1,2-dibromoetano em excesso foi utilizada para evitar a formação de produtos indesejáveis (como, por exemplo, a formação de dímeros) (SMITH; MARCH, 2019).



**Figura 43:** Mecanismo genérico para a reação de obtenção dos alquilantes (11) e (13).

#### 5.5.3.1 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1H-imidazol (11).

Na análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 25, caderno de espectros, em anexo) de (11) são observados dois sinais, em  $\delta$  3,77 e 4,81 ppm, na forma de triplétos ( $J$  5,9 Hz) com integração para 2H, atribuídos aos hidrogênios metilênicos da cadeia lateral do núcleo imidazólico, sendo os hidrogênios mais desblindados os ligados diretamente ao nitrogênio do heterociclo. Também podem ser visualizados os hidrogênios pertencentes ao anel imidazólico, aparecendo com deslocamentos químicos iguais a 7,19 e 7,21 ppm.

Através do espectro de RMN <sup>13</sup>C (Espectro 27, caderno de espectros, em anexo) foi possível observar dois sinais referentes a dois carbonos CH e, outros dois sinais, referentes a dois carbonos CH<sub>2</sub>. Não foi possível observar o carbono quaternário ligado diretamente ao grupo nitro (esperado como carbono com maior deslocamento químico).

Quando se analisa o espectro de IV (Espectro 29, caderno de espectros, em anexo) observam-se bandas na região de alta e baixa energia. A banda em 3120 cm<sup>-1</sup> foi atribuída a deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico. Já as bandas em 1529 cm<sup>-1</sup> e 1351 cm<sup>-1</sup> foram atribuídas às deformações axiais, assimétrica e simétrica, respectivamente, da ligação N-O. Em 646 cm<sup>-1</sup> pôde ser observada a deformação axial da ligação C-Br.

Por fim, no espectro de massas (Espectro 28, caderno de espectros, em anexo) é possível observar o íon molecular com m/z igual a 219/221 (M<sup>+</sup>, 20%) e a relação m/z calculada para C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>2</sub> é 218,9643 Da (massa monoisotópica).

### 5.5.3.2 - Síntese do brometo: 1-(2-bromoetil)-4-nitro-1*H*-imidazol (13).

A confirmação do sucesso na obtenção de (13) se deu a partir das análises de alguns espectros. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 30, caderno de espectros, em anexo) há dois sinais, em  $\delta$  3,70 e 4,49 ppm, que, semelhantemente à discussão da seção anterior (5.5.3.1), foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos da cadeia lateral do núcleo imidazólico sendo, os hidrogênios mais desblindados, os ligados diretamente ao nitrogênio do núcleo. No mesmo contexto, também podem ser visualizados os hidrogênios pertencentes ao anel imidazólico, aparecendo com deslocamentos químicos iguais a  $\delta$  7,55 e 7,89 ppm.

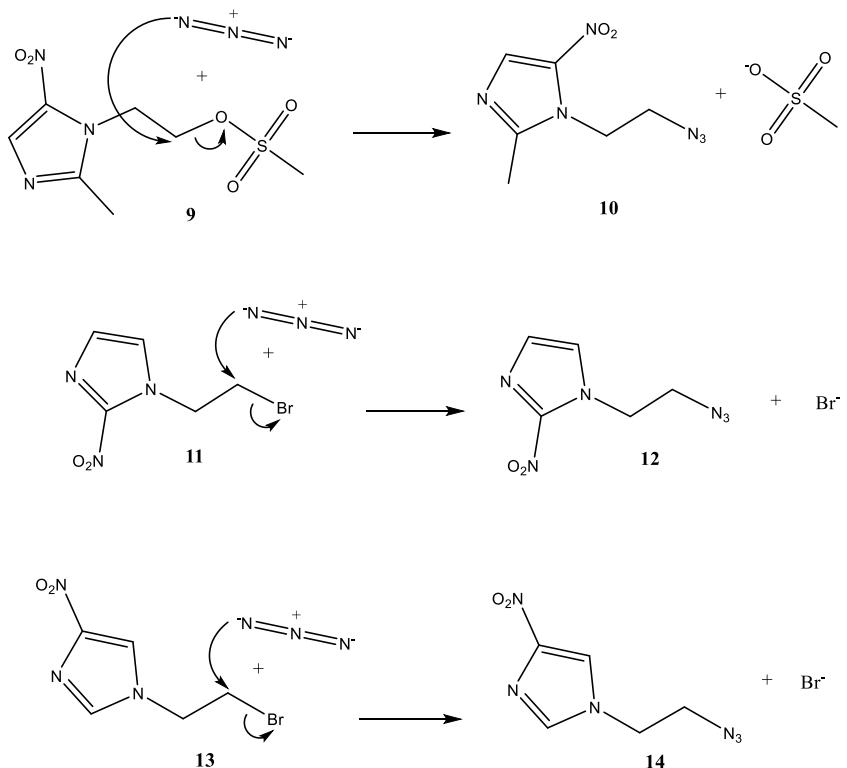
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 32, caderno de espectros, em anexo) apresentou dois sinais referentes a dois carbonos  $\text{CH}_2$ , em  $\delta$  49,60 e 29,56 ppm. O sinal em  $\delta$  49,60 ppm foi atribuído ao carbono ( $\text{CH}_2$ ) ligado diretamente ao átomo de nitrogênio do anel imidazólico, a desproteção observada para este núcleo é devida ao efeito retirador de densidade eletrônica promovido pelo heterociclo.

O espectro de IV (Espectro 33, caderno de espectros, em anexo) apresenta diversas bandas, em centímetros recíprocos: 3118; 1544; 1486; 1338; 1265; 1159; 821; 657. As três, de menor número de onda (1159; 821 e 657  $\text{cm}^{-1}$ ), foram atribuídas, respectivamente à: deformação axial simétrica de ligação C-H de  $\text{CH}_2\text{-Br}$ ; deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico; e, deformação axial da ligação C-Br.

### 5.5.4 - Síntese das azidas intermediárias.

Nesta etapa foi realizada a funcionalização dos intermediários (9), (11) e (13) com o grupamento  $-\text{N}_3$ , que são reagentes na reação de CuAAC, juntamente com os intermediários (6) e (7), semelhante ao trabalho realizado por Pelozo e colaboradores (PELOZO et al., 2021), afinal, a intenção é preparamos híbridos que apresentem um conector do tipo 1,2,3-triazol (Figura 12).

A obtenção das azidas (10), (12) e (14) ocorreu por meio da reação de substituição nucleofílica entre a azida de sódio e os intermediários (9), (11) e (13), respectivamente. O mecanismo proposto para a síntese destas azidas ocorre também por meio de uma substituição nucleofílica bimolecular  $SN^2$  (de modo semelhante ao discutido na seção 5.5.3).



**Figura 44:** Mecanismo para a reação de obtenção das azidas (10), (12) e (14).

#### 5.5.4.1 - Síntese da azida contendo o grupo $5\text{NO}_2$ : 1-(2-azidaetil)-2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (10).

Por meio do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 34, caderno de espectros, em anexo) é possível identificarmos dois sinais, na forma de triplets, ambos com integração para dois hidrogênios: um, em  $\delta$  4,61 ppm, atribuído aos hidrogênios do grupo metíleno ligado diretamente ao núcleo nitroimidazólico e outro, em  $\delta$  3,91 ppm, atribuído aos hidrogênios de metíleno ligado ao grupo  $-\text{N}_3$ . Além disso, observou-se o desaparecimento do simpleto, em  $\delta$  3,16 ppm, referente aos hidrogênios de metila do grupamento metanossulfonato (confirmando o êxito da reação de interconversão de grupos funcionais).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 36, caderno de espectros, em anexo), apresenta o sinal em  $\delta$  151,46 ppm, atribuído ao carbono quaternário diretamente ligado ao grupo nitro. No entanto, o outro carbono quaternário, presente na estrutura do nitroimidazol, não aparece no espectro. Os carbonos metilênicos, da cadeia lateral ligada ao núcleo imidazólico, são observados com deslocamentos químicos em  $\delta$  50,62 e 45,22 ppm.

Através da análise do espectro de IV (Espectro 38, caderno de espectros, em anexo) podem ser destacadas as bandas em: 3029; 2127; 1525; 1461; 1329; 1259 e  $742\text{ cm}^{-1}$  que foram

atribuídas, respectivamente, à: deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico; deformação axial da ligação -N=N=N; deformação axial assimétrica da ligação N-O; deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub>; deformação axial simétrica da ligação N-O; deformação axial da ligação C-N e deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico.

No espectro de massas (Espectro 37, caderno de espectros, em anexo), é observado o íon molecular m/z = 196 (M<sup>+</sup>, 2%) e a relação m/z calculada para C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>6</sub>O<sub>2</sub> é 196,0708 Da (massa monoisotópica).

#### **5.5.4.2 - Síntese da azida contendo o grupo 2NO<sub>2</sub>: 1-(2-azidaetil)-2-nitro-1H-imidazol (12).**

No espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 39, caderno de espectros, em anexo) de (12), foram observados os dois hidrogênios pertencentes ao anel imidazólico, na forma de um simpleto, em δ 7,20 ppm, com integração para 2H. Analogamente ao espectro de RMN <sup>1</sup>H de (10), também são observados os hidrogênios metilênicos em δ 3,82 e δ 4,58 ppm, na forma de tripletos.

Quanto à análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C (Espectro 40, caderno de espectros, em anexo), podem ser observados dois sinais, em δ 126,99 e δ 128,61 ppm, atribuídos aos carbonos metínicos do heterociclo. Outros dois sinais, de carbonos metilênicos, em δ 49,19 e δ 50,74 ppm, também são observados.

No espectro de IV (Espectro 41, caderno de espectros, em anexo) destacam-se algumas bandas. Em 2109 cm<sup>-1</sup>, atribuída à deformação axial da ligação -N=N=N; em 1529 cm<sup>-1</sup>, à deformação axial assimétrica da ligação N-O; e, em 1288 cm<sup>-1</sup>, à deformação axial da ligação C-N.

#### **5.5.4.3 - Síntese da azida contendo o grupo 4NO<sub>2</sub>: 1-(2-azidaetil)-4-nitro-1H-imidazol (14).**

A confirmação do sucesso da obtenção de (14), foi feita por meio das análises dos espectros a seguir. No espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 42, caderno de espectros, em anexo), há dois sinais (dois tripletos), em δ 3,80 e δ 4,19 ppm, que, semelhantemente à discussão da seção anterior (5.5.4.2), foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos. Ainda no espectro de RMN <sup>1</sup>H, podem ser visualizados os hidrogênios pertencentes ao anel imidazólico, aparecendo com deslocamentos químicos iguais a δ 7,53 e δ 7,88 ppm, na forma de simpletos, com integração para 1H, cada.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 44, caderno de espectros, em anexo), dentre outros sinais, podem ser observados dois, referentes a dois carbonos CH, em  $\delta$  136,20 e  $\delta$  119,35 ppm. O sinal em  $\delta$  136,20 ppm, foi atribuído ao carbono metínico localizado entre os átomos de nitrogênio do anel imidazólico.

O espectro no IV (Espectro 45, caderno de espectros, em anexo) apresenta uma banda larga, em  $3126\text{ cm}^{-1}$ , que foi atribuída à deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico. Também pode ser vista uma banda intensa em  $2125\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial da ligação  $-\text{N}=\text{N}=\text{N}$ . A banda de deformação axial assimétrica da ligação N-O, bem como a banda de deformação axial da ligação C-N, podem ser observadas em 1519 e  $1286\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

## 5.6 - Reações de CuAAC: Síntese dos híbridos.

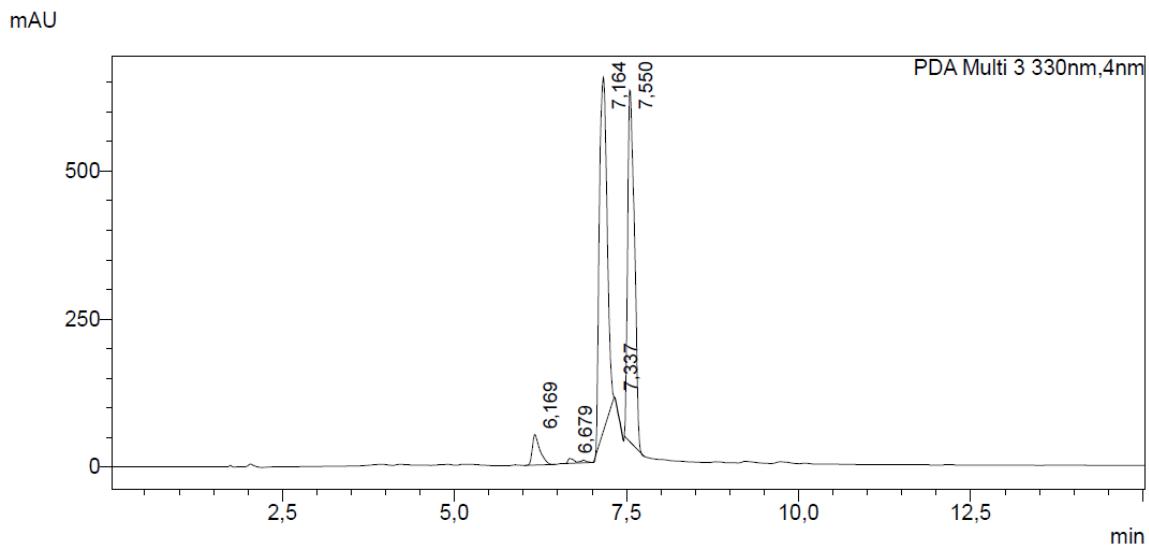
A reação de cicloadição entre alcinos terminais e azidas orgânicas na presença de quantidades catalíticas de Cu(I), relatada em 2002 por Meldal e Sharpless, é considerada como uma metodologia importantíssima no processo de união de duas moléculas dentro do conceito de “click chemistry”. A união destas moléculas é realizada por meio de uma unidade rígida, 1,2,3-triazólica, fornecendo exclusivamente os 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos como produtos (GONZAGA et al., 2021; MANDOLI, 2016; ROSTOVTSEV et al., 2002; TORNØE; CHRISTENSEN; MELDAL, 2002).

Os híbridos sintetizados neste trabalho apresentam o derivado do BLI-2-Tolu ligado, por meio do conector 1,2,3-triazol, às porções contendo o grupamento nitro, presente nos centros imidazólicos, em diferentes posições (2-nitroimidazol, 4-nitroimidazol e 5-nitroimidazol) e ocorreram por meio das reações de CuAAC. Tais reações, cujos mecanismos foram discutidos na seção 1.5.3 (introdução), foram fáceis de serem executadas, não exigiram condições extremas de temperatura (sendo conduzidas a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), apresentaram bons rendimentos e ocorreram, em média, num período de 16h.

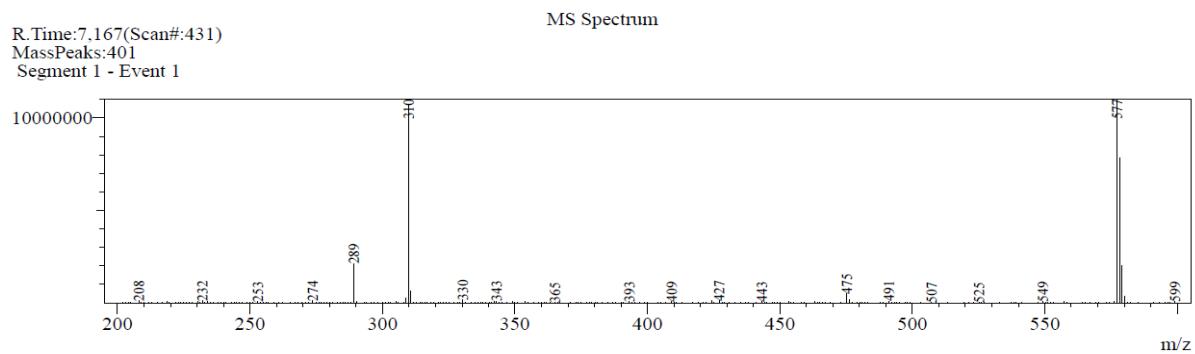
### 5.6.1 - Síntese dos híbridos (1) e (2).

Uma pequena alíquota da mistura de produtos obtida nesta reação de CuAAC foi analisada por CLAE-EM. No cromatograma (Figura 45), obtido por detector DAD (330 nm), são destacados dois picos: um, com  $t_R = 7,1\text{ min}$  e outro, com  $t_R = 7,5\text{ min}$ . Nos espectros de massa (IES+), tanto do composto com  $t_R = 7,1\text{ min}$  quanto do com  $t_R = 7,5\text{ min}$  (Figuras 46 e

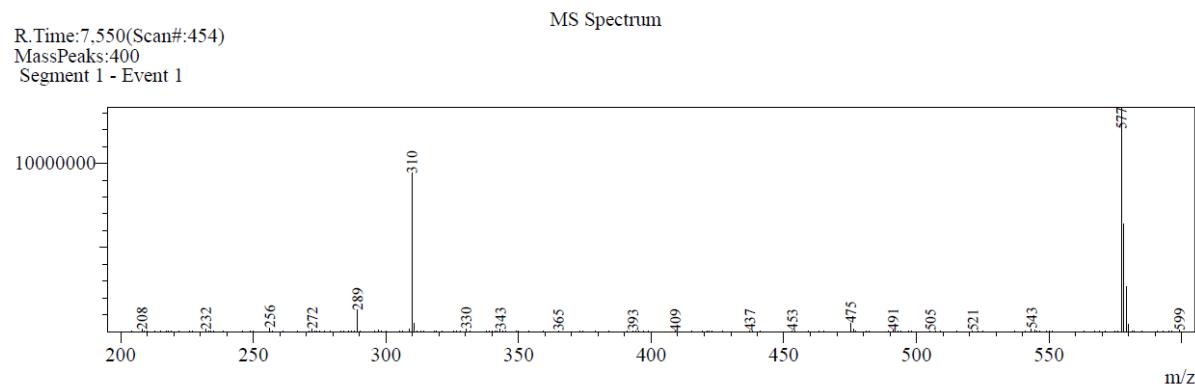
47), foram observados picos com  $m/z$  ( $C_{32}H_{32}N_8O_3+H$ ): 577 Da. A relação  $m/z$  calculada para  $C_{32}H_{32}N_8O_3$  é 576,2597 Da (massa monoisotópica). PM: 576,65g/mol. Tais dados indicam a obtenção dos híbridos regioisômeros (1) e (2).



**Figura 45:** Cromatograma da mistura contendo os híbridos (1) e (2).



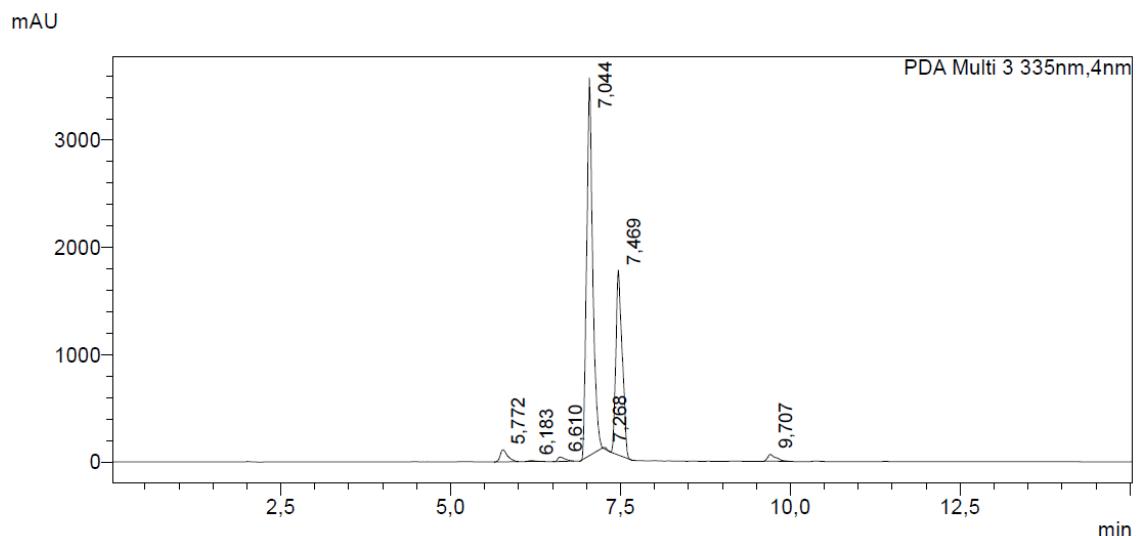
**Figura 46:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 7,1$  min.



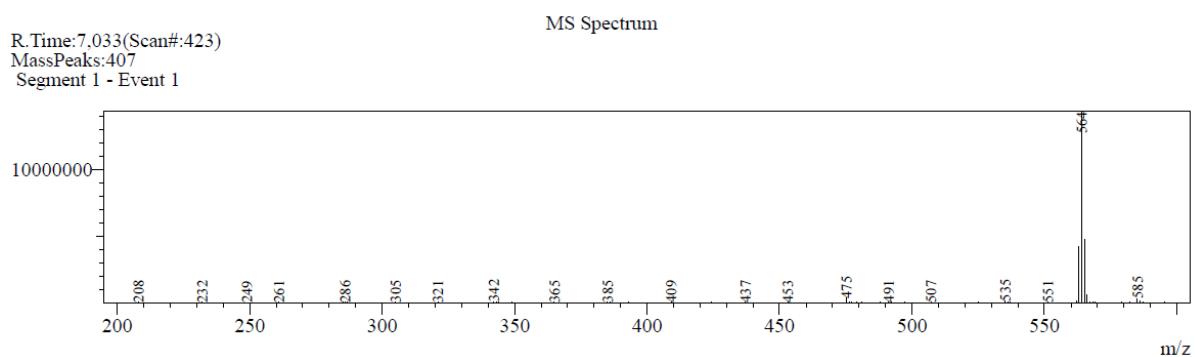
**Figura 47:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 7,5$  min.

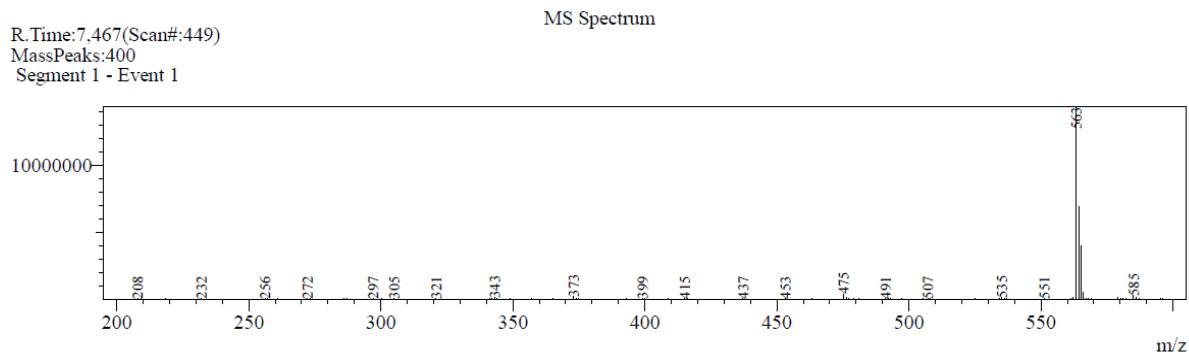
### 5.6.2 - Síntese dos híbridos (3) e (4).

Uma pequena alíquota da mistura de produtos obtida nesta reação de CuAAC também foi analisada por CLAE-EM. No cromatograma (Figura 48), obtido por detector DAD (335 nm), destacam-se dois picos: um, com  $t_R = 7,0$  min e outro, com  $t_R = 7,4$  min. No espectro de massa (IES+) do composto com  $t_R = 7,0$  min (Figura 49), foi observado pico com  $m/z$  ( $C_{31}H_{30}N_8O_3+2H$ ): 564 Da. No espectro de massa (IES+) do composto com  $t_R = 7,4$  min (Figura 50), foi observado pico com  $m/z$  ( $C_{31}H_{30}N_8O_3+H$ ): 563 Da. A relação  $m/z$  calculada para  $C_{31}H_{30}N_8O_3$  é 562,2441 Da (massa monoisotópica). PM:562,62 g/mol. Tais dados indicam a obtenção dos híbridos regioisômeros (3) e (4).



**Figura 48:** Cromatograma da mistura contendo os híbridos (3) e (4).

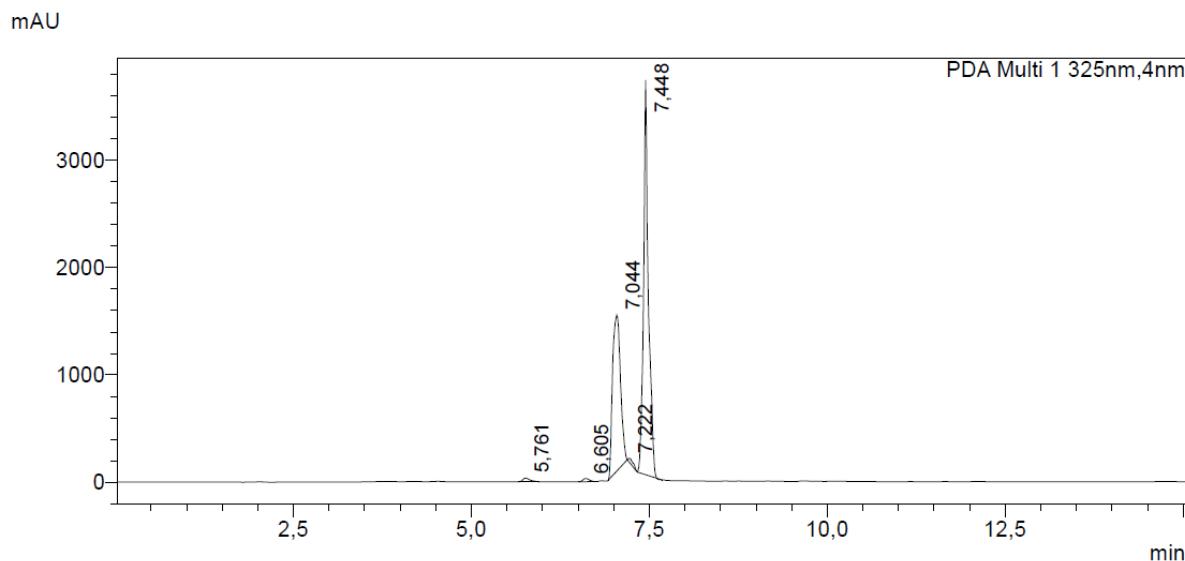




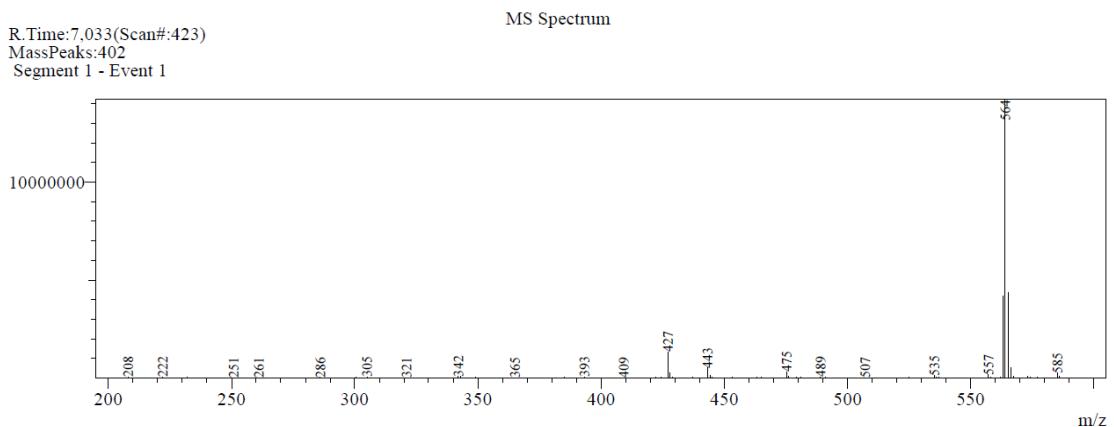
**Figura 50:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 7,4$  min.

### 5.6.3 - Síntese dos híbridos (5) e (6).

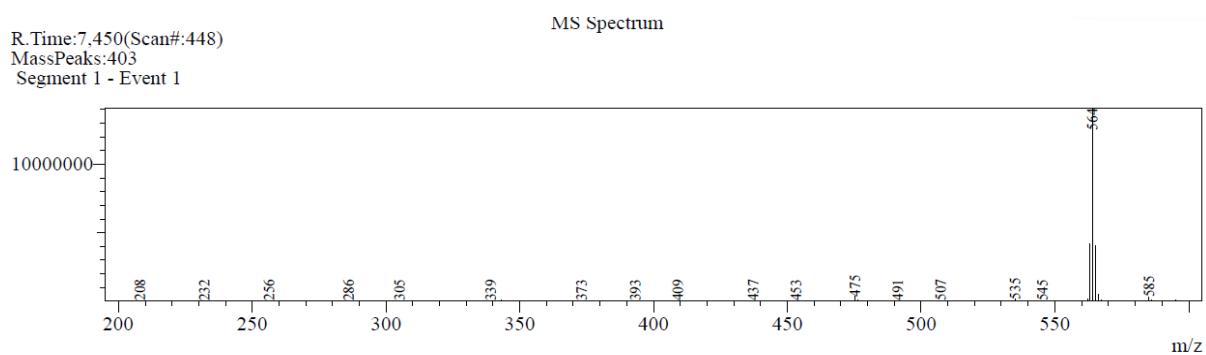
Semelhantemente às seções 5.6.1 e 5.6.2, uma pequena alíquota da mistura de produtos obtida nesta reação de CuAAC foi analisada por CLAE-EM. No cromatograma (Figura 51), obtido por detector DAD (325 nm), destacam-se dois picos: um, com  $t_R = 7,0$  min e outro, com  $t_R = 7,4$  min. Nos espectros de massa (IES+), tanto do composto com  $t_R = 7,0$  min quanto do com  $t_R = 7,4$  min (Figuras 52 e 53), foram observados picos com  $m/z$  ( $C_{31}H_{30}N_8O_3+2H$ ): 564 Da. A relação  $m/z$  calculada para  $C_{31}H_{30}N_8O_3$  é 562,2441 Da (massa monoisotópica). PM:562,62 g/mol. Tais dados indicam a obtenção dos híbridos regioisômeros (5) e (6).



**Figura 51:** Cromatograma da mistura contendo os híbridos (5) e (6).

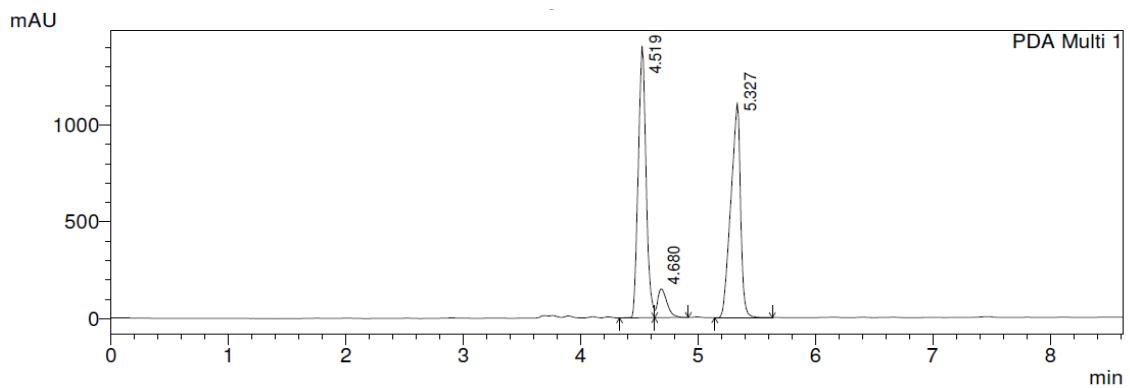


**Figura 52:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 7,0$  min.

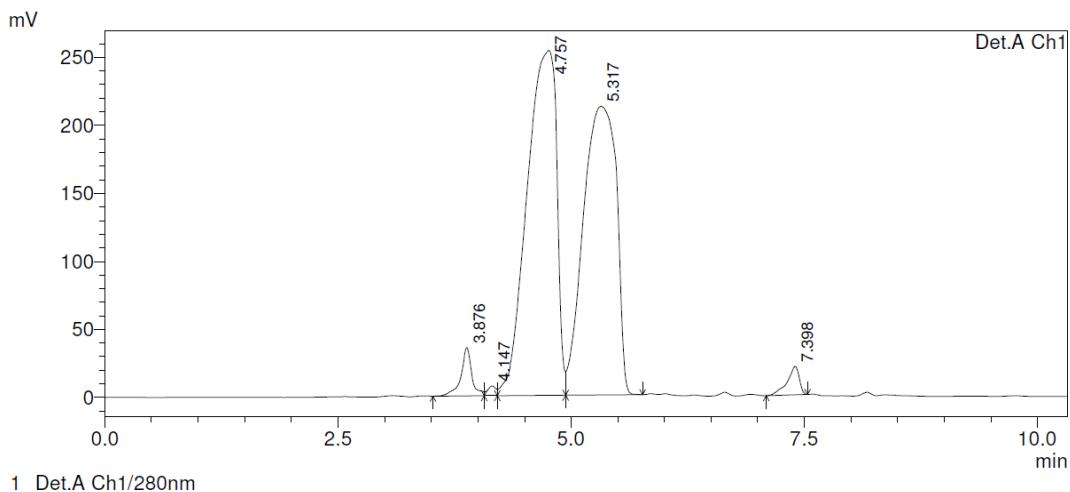


**Figura 53:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 7,4$  min.

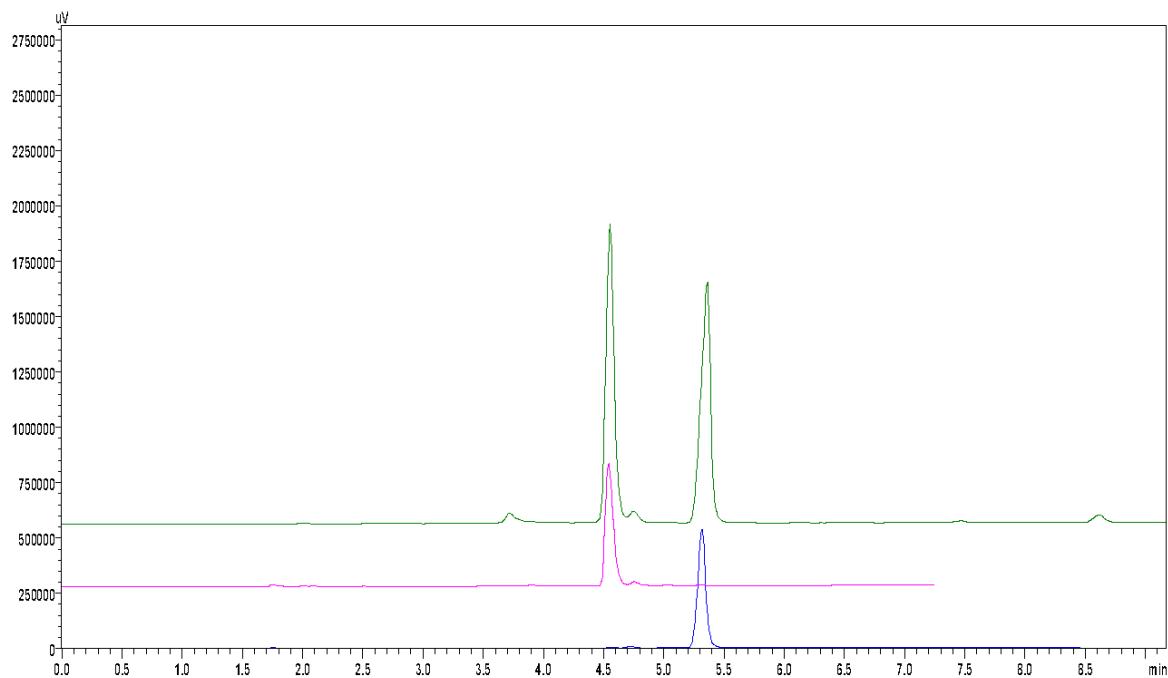
Durante o período em que ocorreram os ensaios biológicos, com as misturas dos híbridos regioisômeros, foi realizada, pela professora Dra. Rosane Nora Castro, na Central Analítica Multiusuário do Instituto de Química da UFRRJ, uma otimização para o isolamento dos híbridos (5) e (6), através de análises no CLAE analítico (Figura 54) e, posteriormente, no CLAE semipreparativo (Figura 55). Através da metodologia desenvolvida, foi possível a obtenção dos híbridos (5) e (6) separados (Figura 56), que foram caracterizados por RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e IV.



**Figura 54:** Cromatograma (CLAE analítico) da mistura contendo os híbridos (5) e (6).



**Figura 55:** Cromatograma (CLAE Semipreparativo) da mistura contendo os híbridos (5) e (6).



**Figura 56:** Comparação dos chromatogramas (CLAE-DAD analítico) contendo os híbridos (5) e (6), antes e depois da separação em CLAE Semipreparativo (verde - amostra antes da separação; rosa e azul - após purificação).

6,6-dimetil-1-((1-(2-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2- (*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol (híbrido 5) – C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>: PF: 218-221°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 1,96 (t; 6,6; 2H); 3,09 (t; 6,6; 2H); 8,25 (m; 1H); 7,45 (t; 2H); 7,45 (t; 2H); 7,96 (m; 1H); 1,43 (s; 6H); 7,54 (d; 7,9; 2H); 7,37 (d; 7,9; 2H); 2,42 (s; 3H); 5,77 (s; 2H); 7,78 (s; 1H); 4,77 (d; 4H); 6,74 (s; 1H); 6,57 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 74,75 (C); 32,19 (CH<sub>2</sub>); 18,64 (CH<sub>2</sub>); 108,24 (C); 144,49 (C); 140,41 (C); 122,94 (CH); 126,22 (CH); 123,81 (CH); 120,79 (CH); 26,93 (CH<sub>3</sub>); 152,58 (C); 129,59 (CH);

129,74 (CH); 21,44 (CH<sub>3</sub>); 43,74 (CH<sub>2</sub>); 144,49 (CH); 124,28 (CH); 49,62 (CH<sub>2</sub>); 127,67 (CH); 144,90 (C); 127,86 (CH); IV (cm<sup>-1</sup>): 3126; 2975; 2927; 1531; 1355; 1278; 1153; 1053; 825.

No espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 46, caderno de espectros, em anexo), podem ser observados todos os 30 prótons, conforme previstos na fórmula molecular (C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) para o híbrido 5. É possível notar os sinais semelhantes aos vistos no RMN <sup>1</sup>H do BLI-2-Tolu como, por exemplo, os sinais de CH do anel naftalênico, os sinais de CH do anel 4-metilbenzeno, os sinais de CH<sub>2</sub> do anel pirânico e das metilas ligadas a ele. Além disso, observa-se um simpleto, com integração para dois hidrogênios, em  $\delta$  5,77 ppm, atribuído aos hidrogênios do CH<sub>2</sub> localizado entre o anel 1,2,3-triazólico e o anel naftoimidazólico. Também podem ser observados os outros hidrogênios de CH<sub>2</sub>, entretanto, agora, na forma de um duplet, com integração para 4H, em  $\delta$  4,77 ppm, correspondendo aos dois metilenos presentes entre o núcleo nitroimidazólico e o anel 1,2,3-triazólico. Os dois hidrogênios do núcleo nitroimidazólico, assim como, o hidrogênio do anel 1,2,3-triazólico, aparecem, na forma de simpletos, com integração para 1H cada, em  $\delta$  6,57,  $\delta$  6,74 e  $\delta$  7,78 ppm, respectivamente.

Na análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C (Espectro 49, caderno de espectros, em anexo), dentre vários sinais, podem ser observados, aqueles referentes aos carbonos quaternários, tanto do núcleo nitroimidazólico, em  $\delta$  144,90 ppm, quanto do anel 1,2,3-triazólico, em  $\delta$  144,49 ppm.

Também foram realizados experimentos de análises de: <sup>1</sup>H-COSY (Espectro 50, caderno de espectros, em anexo), HSQC (<sup>1</sup>J<sub>CH</sub>) (Espectro 51, caderno de espectros, em anexo), HMBC (<sup>2</sup>J<sub>CH</sub>; <sup>3</sup>J<sub>CH</sub>) (Espectro 52, caderno de espectros, em anexo) e, os principais resultados observados, fundamentais para a elucidação do híbrido 5, estão apresentados na tabela 11a (Tabela 11a, caderno de espectros, em anexo), e confirmam a obtenção deste híbrido, conforme planejado.

O acoplamento observado entre os hidrogênios com deslocamentos químicos  $\delta$  7,96 e  $\delta$  5,77 ppm, visto no espectro de NOESY (Espectro 53, caderno de espectros, em anexo), foi usado para distinguir o híbrido 5 do híbrido 6.

No espectro de infravermelho (Espectro 54, caderno de espectros, em anexo), destacam-se algumas bandas. Em 3126 cm<sup>-1</sup>, referente à deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico; em 1531 cm<sup>-1</sup>, atribuída à deformação axial assimétrica da ligação N-O; em 1355 cm<sup>-1</sup>, relativa à deformação axial simétrica da ligação N-O; e, em 1153 e 1053 cm<sup>-1</sup>, relacionadas às deformações axiais, assimétrica e simétrica, da ligação C-O-C, respectivamente.

6,6-dimetil-3-((1-(2-(4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2- (*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno[5,6-*d*]imidazol (híbrido 6) – C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>8</sub>O<sub>3</sub>: PF: 210-214°C; RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 1,85 (t; 2H); 3,08 (t; 2H); 8,41 (d; 8,2; 1H); 7,57 (t; 1H); 7,45 (t; 1H); 8,15 (d; 8,2; 1H); 1,38 (s; 6H); 7,51 (d; 7,9; 2H); 7,37 (d; 7,9; 2H); 2,41 (s; 3H); 5,65 (s; 2H); 7,64 (s; 1H); 4,79 (s; 4H); 7,07 (s; 1H); 6,94 (s; 1H); RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 74,07 (C); 32,05 (CH<sub>2</sub>); 18,54 (CH<sub>2</sub>); 103,47 (C); 145,58 (C); 130,86 (C); 121,50 (CH); 126,59 (CH); 124,30 (CH); 122,53 (CH); 26,67 (CH<sub>3</sub>); 151,27 (C); 129,67 (CH); 129,59 (CH); 21,43 (CH<sub>3</sub>); 42,61 (CH<sub>2</sub>); 145,58 (C); 123,55 (CH); 49,65 (CH<sub>2</sub>); 127,97 (CH); 145,30 (C); 127,97 (CH); IV (cm<sup>-1</sup>): 3133; 2971; 2927; 1539; 1359; 1280; 1162; 1045; 827.

Toda a discussão estabelecida na elucidação do híbrido 5 pode ser aplicada para o híbrido 6. Destacando-se, somente, o fato de haver ligeiras diferenças nos valores de deslocamentos químicos dos sinais, bem como das bandas de absorção (IV).

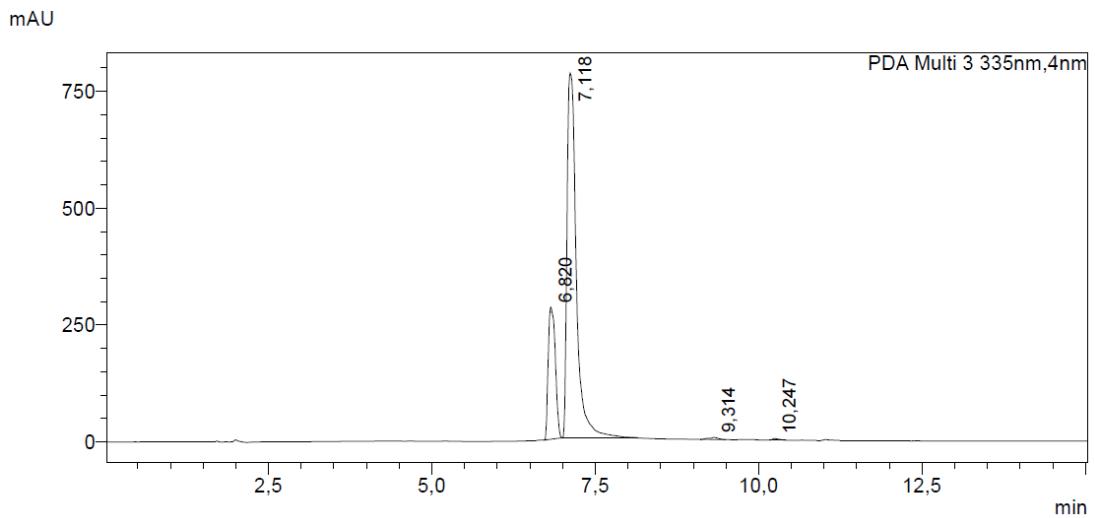
O acoplamento observado entre os hidrogênios com deslocamentos químicos δ 5,65 e δ 3,08 ppm, visto no espectro de NOESY (Espectro 62, caderno de espectros, em anexo), foi usado para distinguir o híbrido 6 do híbrido 5.

### 5.7 - Síntese do 1-((1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-1,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6-*d*]imidazol (15) e 3-((1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-6,6-dimetil-2-(*p*-toluil)-3,4,5,6-tetrahidrobenzo[7,8]cromeno [5,6-*d*]imidazol (16).

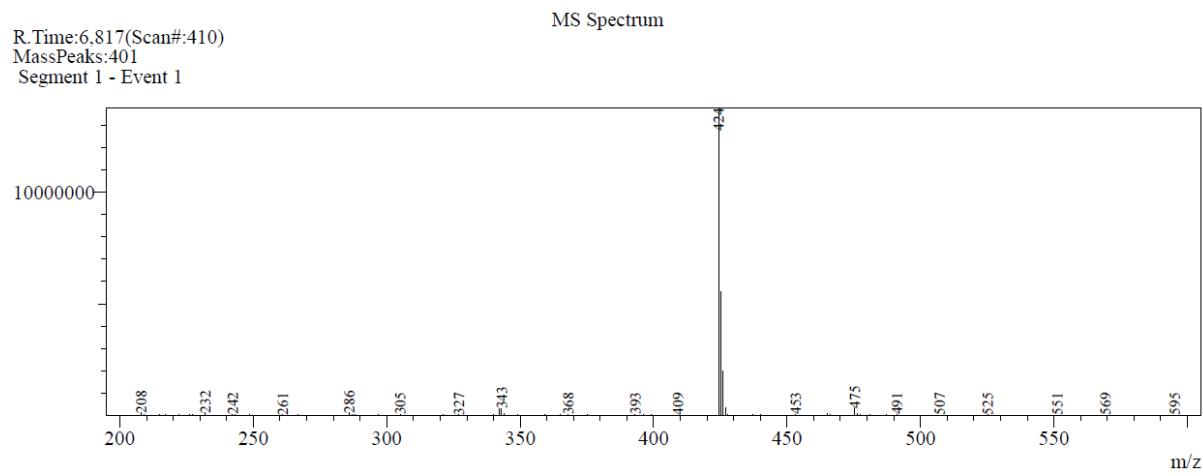
Também foi planejado neste projeto a síntese de dois regioisômeros que apresentam o grupo 1,2,3-triazol homologado ao derivado do BLI-2-Tolu. A reação ocorreu entre os intermediários (6) e (7) com a azida de sódio. Esta reação, apesar da facilidade de execução, ocorreu com rendimento modesto (55%) e exigiu, temperatura (80°C) e tempo de reação (24h), maiores.

Os compostos regioisômeros (15) e (16) também não foram isolados com as metodologias cromatográficas apontadas na seção 4.10 e os ensaios biológicos foram realizados com a mistura destes regioisômeros.

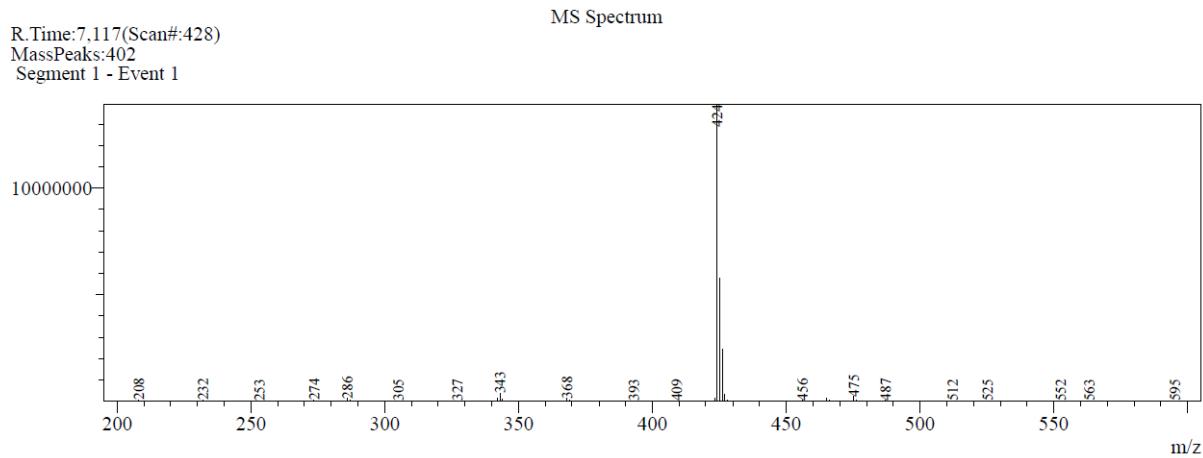
A mistura de produtos obtida nesta reação foi analisada por CLAE-EM. No cromatograma (Figura 57), obtido por detector DAD (335 nm), destacam-se dois picos: um, com t<sub>R</sub> = 6,8 min e outro, com t<sub>R</sub> = 7,1 min. Nos espectros de massa (IES+), tanto do composto com t<sub>R</sub> = 6,8 min quanto do com t<sub>R</sub> = 7,1 min (Figuras 58 e 59), foram observados picos com m/z (C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O+H): 424 Da. A relação m/z calculada para C<sub>26</sub>H<sub>25</sub>N<sub>5</sub>O é 423,2059 Da. PM:423,51 g/mol. Tais dados indicam a obtenção dos compostos regioisômeros (15) e (16).



**Figura 57:** Cromatograma contendo a mistura dos compostos (15) e (16).



**Figura 58:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 6,8$  min.

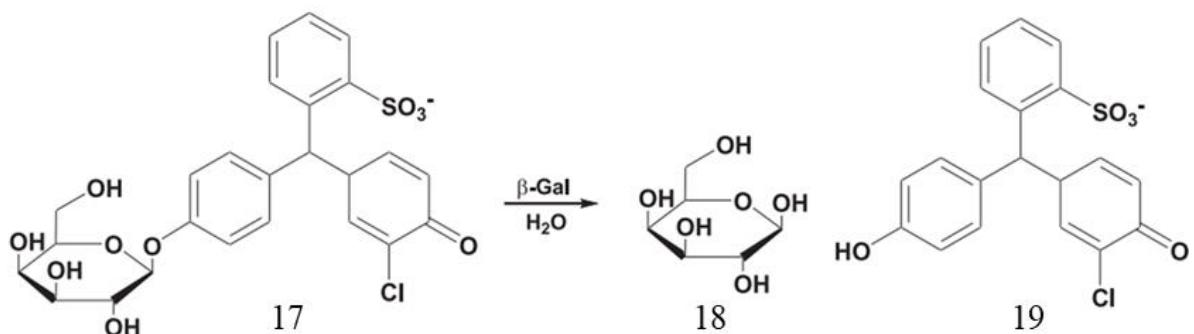


**Figura 59:** Espectro de massas (IES+) do composto com  $t_R = 7,1$  min.

## 5.8 - Atividade anti-*Trypanosoma cruzi*

As misturas de híbridos regioisômeros [(1) e (2); (3) e (4); (5) e (6)], a mistura dos compostos (15) e (16) e os compostos (lapachol,  $\beta$ -lapachona e BLI-2-Tolu) foram avaliados quanto ao perfil de citotoxicidade contra células LLC-MK2 e quanto a atividade antiparasitária frente ao *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ). Todas as misturas de híbridos e todos os compostos encaminhados para ensaios biológicos tiveram seus graus de pureza previamente avaliados por CLAE-DAD ou CG-DAD, apresentando valores iguais ou superiores a 95%.

No estudo de atividade contra o *T. cruzi*, foi utilizada a cepa Tulahuen C2C4 LacZ, capaz de expressar a enzima  $\beta$ -galactosidase, transfetada da bactéria *Escherichia coli*. A  $\beta$ -galactosidase promove a clivagem do substrato vermelho de clorofenol  $\beta$ -D-galactopirano (17), que apresenta cor amarela, gerando os produtos D-galactose (18, incolor) e vermelho de clorofenol (19, vermelho) conforme visto no esquema a seguir (Figura 60) (BUCKNER et al., 1996; DIAS et al., 2009).



**Figura 60:** Reação de clivagem do substrato vermelho de clorofenol  $\beta$ -D-galactopirano (17), promovida pela ação da enzima  $\beta$ -galactosidase, levando à formação de D-galactose (18) e do vermelho de clorofenol (19). Adaptado de (DIAS et al., 2009).

Durante o ensaio experimental, os parasitas presentes no meio reacional expressam a referida enzima, que converte o substrato (17) nos produtos (18) e (19) fazendo com que a atividade anti-*Trypanosoma cruzi* *in vitro* possa ser determinada através de reação colorimétrica pela medida direta da absorbância do produto (19) em 570 nm. Este protocolo de análise é bastante consistente e fornece resultados confiáveis e reproduutíveis. Além disso, o tempo de execução do experimento é reduzido (10 vezes menor em comparação com outros métodos convencionais que realizam contagem manual de parasitas em microscópio) (BUCKNER et al., 1996; DIAS et al., 2009).

A importância da realização de ensaios biológicos avaliando a atividade antitripanossônica de compostos contra formas epimastigotas e tripomastigotas é

inquestionável, entretanto, o principal alvo é a forma intracelular, apresentada pelos pacientes durante o curso da DC. No trabalho de Martín-Escolano e colaboradores, em 2022, é relatado que as formas amastigotas podem se tornar metabolicamente quiescentes, chamadas amastigotas “dormentes”, residindo por longos períodos em tecidos infectados cronicamente em hospedeiros mamíferos e são capazes de retomar o ciclo celular espontaneamente e restabelecer a infecção, mesmo após o tratamento. Tais formas estão, possivelmente, relacionadas à resistência a medicamentos na DC. Assim, a triagem de novos compostos que sejam capazes de inibir amastigotas intracelulares de *T. cruzi* é fundamental para a descoberta de potenciais fármacos para o tratamento da doença de Chagas (CANÇADO, 1999; MARTÍN-ESCOLANO et al., 2022).

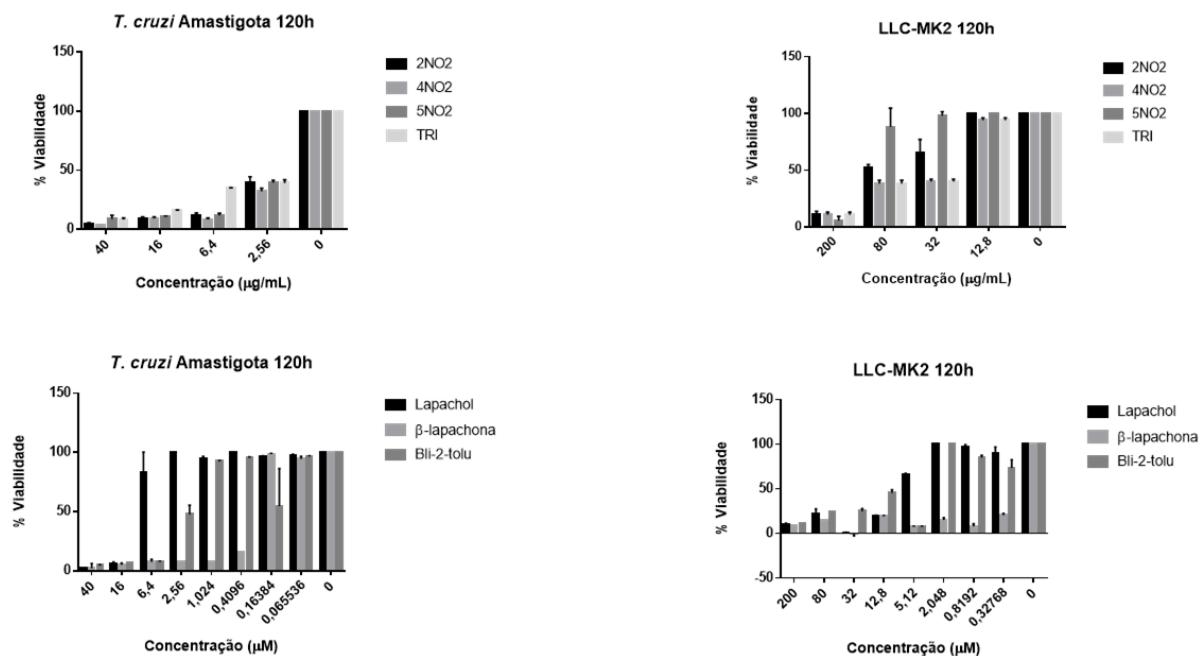
Os resultados obtidos preliminarmente da atividade dos compostos e das misturas de híbridos que foram submetidos aos ensaios de avaliação do potencial *in vitro* frente a forma amastigota (intracelular) de *T. cruzi*, bem como da avaliação da citotoxicidade (CI<sub>50</sub>) em relação às células LLC-MK2 e a determinação do índice de seletividade (IS), são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Resultados preliminares de CI<sub>50</sub>/120h amastigotas, CI<sub>50</sub>/120h LLC-MK2 e índice de seletividade dos compostos e das misturas de híbridos.

Amostra	CI <sub>50</sub> /120h amastigotas μM	CI <sub>50</sub> /120h LLC-MK2 μM	IS
Lapachol	11,11	6,91	0,62
β-lapachona	0,31	< 12,8	---
BLI-2-Tolu	2,48	12,36	4,98
Mistura (1) e (2) [5NO <sub>2</sub> ]	8,20	202,90	24,74
Mistura (3) e (4) [2NO <sub>2</sub> ]	7,71	119,99	15,56
Mistura (5) e (6) [4NO <sub>2</sub> ]	8,02	98,68	12,30
Mistura (15) e (16)	9,26	91,85	9,92
Benznidazol	1,50	> 200	---

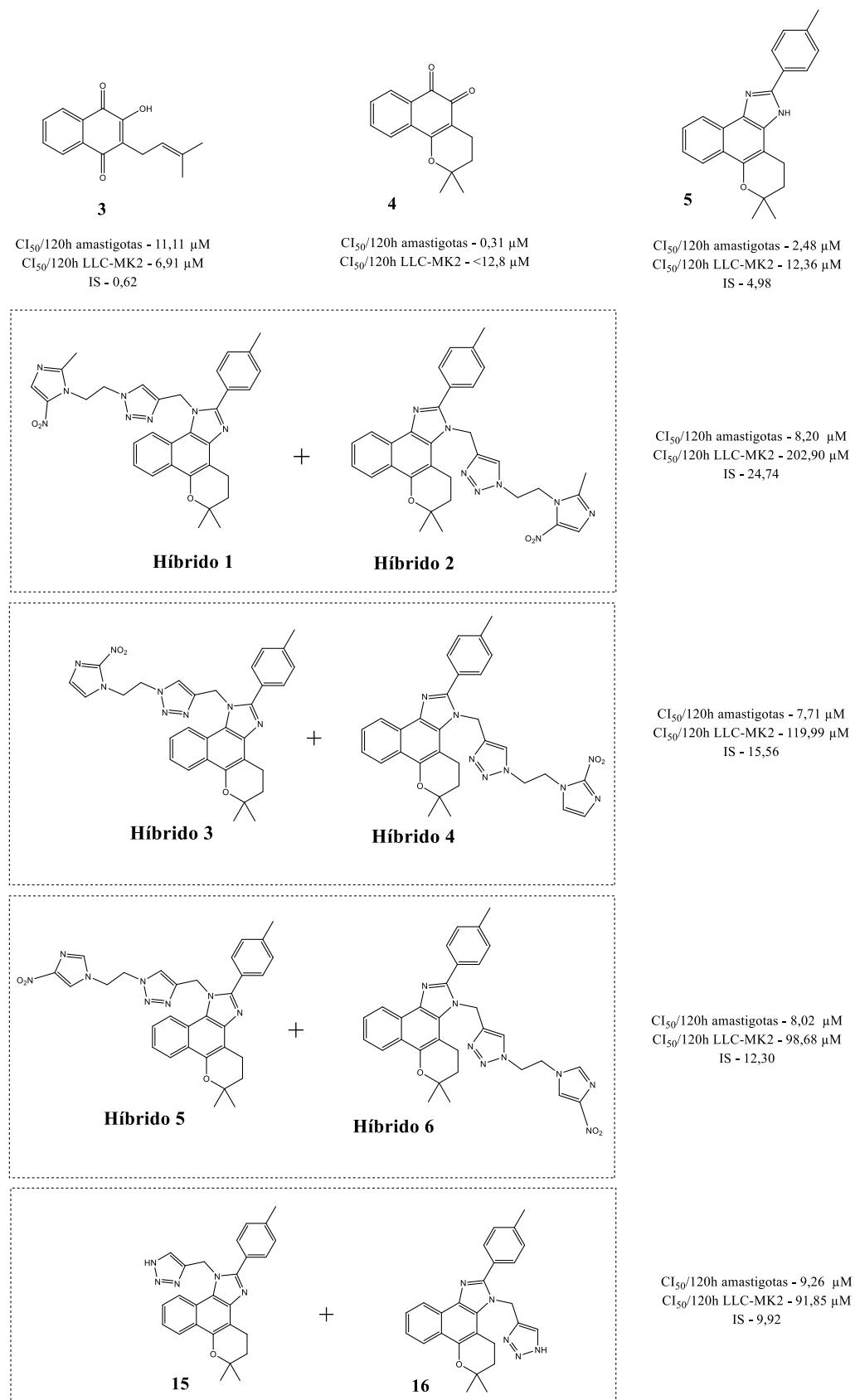
CI<sub>50</sub>: Concentração Inibitória em 50% amastigotas; CI<sub>50</sub>: Concentração Inibitória em 50% LLC-MK2; IS (Índice de seletividade) = CI<sub>50</sub>/120h LLC-MK2 pela CI<sub>50</sub>/120h amastigota; Benznidazol: fármaco padrão.

Os resultados observados, ainda que preliminares, indicam que todas as misturas de híbridos, assim como a mistura dos compostos (15) e (16) mantiveram uma atividade tóxica relevante sobre as amastigotas intracelulares do *T. cruzi*, ressaltando o aumento dos índices de seletividade, quando comparados com o observado para o seu precursor, BLI-2-Tolu (Tabela 2). Além disso, observa-se que tais misturas apresentam um perfil dose dependente frente as amastigotas de *T. cruzi*, como pode ser visto na figura 61. Estes dados indicam uma otimização da atividade tripanocida observada, validando o planejamento molecular realizado, através da estratégia de hibridação molecular.



**Figura 61:** Representações gráficas das análises da atividade in vitro, das misturas dos híbridos e dos compostos, frente a forma amastigota de *T. cruzi* e da avaliação da citotoxicidade em relação às células LLC-MK2. **2NO2**: mistura dos híbridos (3) e (4); **4NO2**: mistura dos híbridos (5) e (6); **5NO2**: mistura dos híbridos (1) e (2) e **TRI**: mistura dos compostos (15) e (16).

A Figura 62, a seguir, dá uma visão geral do que foi executado neste trabalho, com destaque para as estruturas dos precursores e híbridos moleculares planejados, bem como os dados obtidos para as suas atividades antiparasitárias, contra amastigotas de *T. cruzi*; e suas atividades citotóxicas, frente a células de mamífero (linhagem LLC-MK2).



**Figura 62:** Estrutura dos híbridos e dos compostos com seus respectivos resultados de  $IC_{50}/120h$  amastigotas,  $IC_{50}/120h$  LLC-MK2 e índice de seletividade.

## 6 - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Foi possível obter quantidades adequadas de lapachol a partir da serragem do ipê, e a metodologia desenvolvida pelo nosso grupo apresentou-se como uma otimização da metodologia descrita na literatura.

Também foi possível sintetizar o BLI-2-Tolu com a metodologia descrita neste trabalho destacando a sua otimização, com diminuição expressiva do tempo de reação e sem a utilização de solventes orgânicos (potencialmente tóxicos).

A preparação de todos os intermediários, híbridos [(1), (2); (3), (4); (5) e (6)] e compostos [(15) e (16)], planejados neste projeto, foi realizada com rendimentos acima de 50%.

A mistura de híbridos e a mistura dos compostos (15) e (16) tiveram o perfil de citotoxicidade em células de mamíferos melhorado, em relação ao BLI-2-Tolu e mantiveram importante atividade antiparasitária frente as amastigotas de *T. cruzi*, resultando no aumento do índice de seletividade, validando a estratégia de hibridação proposta neste trabalho. Contudo, é importante ressaltar que os resultados de atividade antiparasitária obtidos são preliminares, necessitando de repetições para se chegar a dados mais robustos e confiáveis. Estas avaliações encontram-se em andamento no laboratório.

As perspectivas para este trabalho envolvem ainda o isolamento dos híbridos, obtidos como misturas de regioisômeros, derivados do 2NO<sub>2</sub> e 5NO<sub>2</sub>, através de CLAE semipreparativo, bem como as caracterizações totais destes híbridos, através de técnicas convencionais de análise: RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, EM e IV. Planejamos ainda realizar as avaliações dos seus perfis de citotoxicidade frente às células de mamíferos, bem como de suas atividades antiparasitárias frente a amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ).

## 7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALSTON, T. A.; ABELES, R. H. Enzymatic conversion of the antibiotic metronidazole to an analog of thiamine. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 257, n. 2, p. 357–362, 1987.
- ALVES, G. M. C. et al. Purificação e caracterização da beta-lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, v. 31, 2008.
- ARRÚA, E. C. et al. **Nanocarriers for effective delivery of benznidazole and nifurtimox in the treatment of chagas disease: A review**. *Acta Tropica* Elsevier B.V., 1 out. 2019.
- ATANASOV, A. G. et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 8, p. 1582–1614, 1 dez. 2015.
- AUCAGNE, V. et al. Catalytic “Click” Rotaxanes: A Substoichiometric Metal-Template Pathway to Mechanically Interlocked Architectures. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 7, p. 2186–2187, 1 fev. 2006.
- BARBOSA, T. P.; DINIZ NETO, H. Preparação de derivados do lapachol em meio ácido e em meio básico: uma proposta de experimentos para a disciplina de Química Orgânica Experimental. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 331–334, 2013.
- BASKIN, J. M. et al. Copper-free click chemistry for dynamic in vivo imaging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 43, p. 16793–16797, 23 out. 2007.
- BEUCLER, N.; TORRICO, F.; HIBBERT, D. **A tribute to cecilio romaña: Romaña’s sign in chagas disease**. *PLoS Neglected Tropical Diseases* Public Library of Science, 1 nov. 2020.
- BINDER, W. H.; SACHSENHOFER, R. ‘Click’ Chemistry in Polymer and Materials Science. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 28, n. 1, p. 15–54, 5 jan. 2007.
- BOCK, V. D. et al. Click Chemistry as a Route to Cyclic Tetrapeptide Analogues: Synthesis of cyclo-[Pro-Val- $\psi$ (triazole)-Pro-Tyr]. **Organic Letters**, v. 8, n. 5, p. 919–922, 2 mar. 2006.
- BOMBAÇA, A. C. S. et al. Novel N,N-di-alkylnaphthoimidazolium derivative of  $\beta$ -lapachone impaired Trypanosoma cruzi mitochondrial electron transport system. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 135, p. 111186, 2021.
- BOREN, B. C. et al. Ruthenium-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition: Scope and Mechanism. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 28, p. 8923–8930, 1 jul. 2008.
- BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde Ministério da Saúde 4<sup>a</sup> edição**. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_4ed.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_4ed.pdf)>.
- BRASIL. **Doença de Chagas aguda - casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Brasil**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/Chagasbr.def>>.
- BUCKNER, F. S. et al. Efficient technique for screening drugs for activity against Trypanosoma cruzi using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, n. 11, p. 2592–2597, 1 nov. 1996.

- CANÇADO, J. R. Criteria of Chagas disease cure. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, 1999.
- CARVALHO, C. E. M. et al. Tautomerization in the ground and first excited singlet states of phenyl-lapimidazole. **Journal of Luminescence**, v. 109, n. 3, p. 207–214, 2004.
- CASCABULHO, C. M. et al. Antiparasitic and anti-inflammatory activities of  $\beta$ -lapachone-derived naphthoimidazoles in experimental acute trypanosoma cruzi infection. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, 2020.
- CASTRO, V.; RODRÍGUEZ, H.; ALBERICIO, F. CuAAC: An Efficient Click Chemistry Reaction on Solid Phase. **ACS Combinatorial Science**, v. 18, n. 1, p. 1–14, 11 jan. 2016.
- CHAWLA, A.; SHARMA, A.; SHARMA, A. K. review-a-convenient-approach-for-the-synthesis-of-imidazolederivatives-using-microwaves. **Der Pharma Chemica**, v. 4, n. 1, p. 116–140, 2012.
- CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature** 2004 432:7019, v. 432, n. 7019, p. 829–837, 15 dez. 2004.
- COURA, J. R. The main sceneries of chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - A comprehensive review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 277–282, 2015.
- COURA, J. R.; DE CASTRO, S. L. **A Critical Review on Chagas Disease Chemotherapy** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. [s.l: s.n.].
- CROSSLAND, R. K.; SERVIS, K. L. Facile synthesis of methanesulfonate esters. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 35, n. 9, p. 3195–3196, 1 set. 1970.
- DA SILVA, A. M. et al. Synthesis and biological evaluation of N-alkyl naphthoimidazoles derived from  $\beta$ -lapachone against Trypanosoma cruzi bloodstream trypomastigotes. **MedChemComm**, v. 8, n. 5, p. 952–959, 2017.
- DA SILVA, A. R. et al. Synthesis of imidazole derivatives from  $\beta$ -lapachone and related compounds using microwave and supported reagents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 6, p. 1230–1233, 2008.
- DAI, Y.; CHEN, X.; ZHANG, X. Recent advances in stimuli-responsive polymeric micelles via click chemistry. **Polymer Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 34–44, 2019.
- DE MOURA, K. C. G. et al. Trypanocidal activity of isolated naphthoquinones from Tabebuia and some heterocyclic derivatives: a review from an interdisciplinary study. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 3, p. 325–338, jun. 2001.
- DE MOURA, K. C. G. et al. Studies on the trypanocidal activity of semi-synthetic pyran[b-4,3]naphtho[1,2-d]imidazoles from  $\beta$ -lapachone. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 7, p. 639–645, jul. 2004.
- DE SOUZA, W. Doenças negligenciadas. **Academia Brasileira de Ciências**, 2010.
- DEBETS, M. F. et al. Bioconjugation with Strained Alkenes and Alkynes. **Accounts of Chemical Research**, v. 44, n. 9, p. 805–815, 20 set. 2011.

DEDOLA, S.; NEPOGODIEV, S. A.; FIELD, R. A. Recent applications of the CuI-catalysed Huisgen azide–alkyne 1,3-dipolar cycloaddition reaction in carbohydrate chemistry. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 5, n. 7, p. 1006–1017, 2007.

DELARMELINA, M. et al. Vibrational spectroscopy of lapachol,  $\alpha$ - and  $\beta$ -lapachone: Theoretical and experimental elucidation of the Raman and infrared spectra. **Vibrational Spectroscopy**, v. 86, p. 311–323, 2016.

DELARMELINA, M. et al.  $\alpha$ - and  $\beta$ -Lapachone Isomerization in Acidic Media: Insights from Experimental and Implicit/Explicit Solvation Approaches. **ChemPlusChem**, v. 84, n. 1, p. 52–61, 1 jan. 2019.

DIAS, L. C. et al. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, 2009.

DIAS P C J. The indeterminate form of human chronic Chagas' disease a clinical epidemiological review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, n. 3, p. 147–156, 1989.

DÍAZ-BELLO, Z. et al. Ten-year follow-up of the largest oral Chagas disease outbreak. Laboratory biomarkers of infection as indicators of therapeutic failure. **Acta Tropica**, v. 222, 1 out. 2021.

DNDI. **Doença de Chagas**. Disponível em: <<https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>>.

DRAIN, B. A.; BECER, C. R. Synthetic approaches on conjugation of poly(2-oxazoline)s with vinyl based polymers. **European Polymer Journal**, v. 119, p. 344–351, 2019.

ECHAVERRÍA, N. G. et al. **Chagas Disease: Chronic Chagas Cardiomyopathy**. **Current Problems in Cardiology** Mosby Inc., 1 mar. 2021.

ECHEVERRIA, L. E.; MORILLO, C. A. **American Trypanosomiasis (Chagas Disease)**. **Infectious Disease Clinics of North America** W.B. Saunders, 1 mar. 2019.

EDWARDS, D. I. Mechanisms of selective toxicity of metronidazole and other nitroimidazole drugs. **The British Journal of Venereal Diseases**, v. 56, n. 5, p. 285, 1 out. 1980.

EDWARDS, D. I. et al. Effects on DNA of Bioreducible Nitroimidazole and Benzotriazine Drugs. Em: ADAMS, G. E. et al. (Eds.). **Selective Activation of Drugs by Redox Processes**. Boston, MA: Springer US, 1990. p. 275–283.

FARFÁN, R. A. et al. Asignación de Bandas de Infrarrojo del Lapachol mediante Estudios Comparativos Teóricos y Experimentales. **Información tecnológica**, v. 17, n. 5, p. 63–66, 2006.

FERREIRA, I. DE L. M.; SILVA, T. P. T. E. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo Triatoma infestans no Brasil: um fato histórico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2006.

FERREIRA, S. B. et al.  $\beta$ -Lapachone: Medicinal chemistry significance and structural modifications. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 2, 2010.

FINN, M. G.; FOKIN, V. V. Click chemistry: function follows form. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 4, p. 1231–1232, 2010.

FIOCRUZ. **Propostas para explicar a fisiopatogenia da doença de Chagas**. Disponível em: <<http://chagas.fiocruz.br/doenca/patogenia/>>.

FLEMING, D. A.; THODE, C. J.; WILLIAMS, M. E. Triazole Cycloaddition as a General Route for Functionalization of Au Nanoparticles. **Chemistry of Materials**, v. 18, n. 9, p. 2327–2334, 1 maio 2006.

FONSECA, S. G. C.; BRAGA, R. M. C.; SANTANA, D. P. Lapachol – química farmacologia e métodos de dosagem. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 84, n. 1, p. 9–16, 2003.

FOREZI, L. DA S. M. et al. Alternative Routes to the Click Method for the Synthesis of 1,2,3-Triazoles, an Important Heterocycle in Medicinal Chemistry. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 17, p. 1428–1453, 26 nov. 2018.

FREITAS, L. B. DE O. et al. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791–1804, 2011.

FU, R.; FU, G.-D. Polymeric nanomaterials from combined click chemistry and controlled radical polymerization. **Polymer Chemistry**, v. 2, n. 3, p. 465–475, 2011.

GIL, M. V.; ARÉVALO, M. J.; LÓPEZ, Ó. Click Chemistry - What’s in a Name? Triazole Synthesis and Beyond. **Synthesis**, v. 2007, n. 11, p. 1589–1620, 2007.

GIRARD, M. et al. **Mass spectral characterization of naphthoquinones related to lapachol**. **Journal of natural products (USA)**, 1988.

GOMES, C. L. et al. Beta-lapachone: Natural occurrence, physicochemical properties, biological activities, toxicity and synthesis. **Phytochemistry**, v. 186, p. 112713, 2021.

GONZAGA, D. T. G. et al. HUISGEN AND HIS ADVENTURES IN A PLAYGROUND OF MECHANISMS AND NOVEL REACTIONS. **Química Nova**, v. 44, 2021.

GUARNER, J. **Chagas disease as example of a reemerging parasite**. **Seminars in Diagnostic Pathology** W.B. Saunders, 1 maio 2019.

GUPTA, S. SEN et al. Accelerated Bioorthogonal Conjugation: A Practical Method for the Ligation of Diverse Functional Molecules to a Polyvalent Virus Scaffold. **Bioconjugate Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 1572–1579, 1 nov. 2005.

HALDÓN, E.; NICASIO, M. C.; PÉREZ, P. J. Copper-catalysed azide–alkyne cycloadditions (CuAAC): an update. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 37, p. 9528–9550, 2015.

HALL, B. S.; WILKINSON, S. R. Activation of Benznidazole by Trypanosomal Type I Nitroreductases Results in Glyoxal Formation. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 1, p. 115–123, 2012.

HEIN, C. D.; LIU, X.-M.; WANG, D. Click Chemistry, A Powerful Tool for Pharmaceutical Sciences. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 10, p. 2216–2230, 2008.

HEIN, J. E.; FOKIN, V. V. Copper-catalyzed azide–alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: new reactivity of copper(i) acetylides. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 4, p. 1302–1315, 2010.

HIMO, F. et al. Copper(I)-Catalyzed Synthesis of Azoles. DFT Study Predicts Unprecedented Reactivity and Intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 1, p. 210–216, 1 jan. 2005.

HOLLAND-NELL, K.; MELDAL, M. Maintaining Biological Activity by Using Triazoles as Disulfide Bond Mimetics. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 22, p. 5204–5206, 23 maio 2011.

HOLUB, J. M.; KIRSHENBAUM, K. Tricks with clicks: modification of peptidomimetic oligomers via copper-catalyzed azide-alkyne [3 + 2] cycloaddition. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 4, p. 1325–1337, 2010.

HUSSAIN, H. et al. Lapachol: an overview. **Arkivoc**, p. 145–172, 2007.

ISHII, M. et al. Synthesis, molecular modeling and preliminary biological evaluation of a set of 3-acetyl-2,5-disubstituted-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole as potential antibacterial, anti-Trypanosoma cruzi and antifungal agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 21, p. 6292–6301, 2011.

JOHNSON, R. P.; JOHN, J. V; KIM, I. Recent developments in polymer–block–polypeptide and protein–polymer bioconjugate hybrid materials. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 10, p. 2925–2948, 2013.

KAUR, J.; SAXENA, M.; RISHI, N. An Overview of Recent Advances in Biomedical Applications of Click Chemistry. **Bioconjugate Chemistry**, v. 32, n. 8, p. 1455–1471, 18 ago. 2021.

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. **Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions**. **Angewandte Chemie - International Edition**, 1 jun. 2001.

LAHLOU, M. The Success of Natural Products in Drug Discovery. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 2013, n. 03, p. 17–31, 24 jun. 2013.

LESSA, R. 1,2,3-Triazole Nucleus as a Versatile Tool for the Obtainment of Novel Biologically Active Compounds: an Overview. **Revista Virtual de Quimica**, v. 13, 11 nov. 2020.

MANDOLI, A. Recent Advances in Recoverable Systems for the Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Reaction (CuAAC). **Molecules**, v. 21, n. 9, 2016.

MANETSCH, R. et al. In Situ Click Chemistry: Enzyme Inhibitors Made to Their Own Specifications. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, n. 40, p. 12809–12818, 1 out. 2004.

MARROCCHI, A. et al. Click-chemistry approaches to  $\pi$ -conjugated polymers for organic electronics applications. **Chemical Science**, v. 7, n. 10, p. 6298–6308, 2016.

MARTÍN-ESCOLANO, J. et al. An Updated View of the *Trypanosoma cruzi* Life Cycle: Intervention Points for an Effective Treatment. **ACS Infectious Diseases**, v. 8, n. 6, p. 1107–1115, 10 jun. 2022.

MELDAL, M.; TORNØE, C. W. Cu-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 8, p. 2952–3015, 1 ago. 2008.

MELLO, J. et al. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 6th. ed. [s.l.] Editors of the UFSC and UFRGS, 1999.

MENNA-BARRETO, R. F. S. et al. Effect of a  $\beta$ -lapachone-derived naphthoimidazole on *Trypanosoma cruzi*: identification of target organelles. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, n. 6, p. 1034–1041, 1 dez. 2005.

MENNA-BARRETO, R. F. S. et al. Mitochondrial disruption and DNA fragmentation in *Trypanosoma cruzi* induced by naphthoimidazoles synthesized from  $\beta$ -lapachone. **Parasitology Research**, v. 101, n. 4, p. 895–905, set. 2007.

MENNA-BARRETO, R. F. S. et al. A proteomic analysis of the mechanism of action of naphthoimidazoles in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes in vitro. **Journal of Proteomics**, v. 73, n. 12, p. 2306–2315, 2010.

MOREIRA, R. Y. O. et al. Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandi* (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, 2006.

MORETH, M. et al. Nitroimidazoles - a promising class of compounds for the treatment of Tuberculosis. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 2, 2010.

NEUMANN, S. et al. The CuAAC: Principles, Homogeneous and Heterogeneous Catalysts, and Novel Developments and Applications. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 41, n. 1, p. 1900359, 1 jan. 2020.

NEVES PINTO, C. et al. **Chemical Reactivity Studies with Naphthoquinones from *Tabebuia* with Anti-trypanosomal Efficacy**. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* [s.l: s.n.].

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770–803, 27 mar. 2020.

NOVAES DOS REIS, R. C. et al. Potenciais aplicações medicinais de compostos 1,2,3-triazólicos: uma revisão. **HU Revista**, v. 48, p. 1–15, 11 ago. 2022.

ORGUEIRA, H. A. et al. Regioselective synthesis of [1,2,3]-triazoles catalyzed by Cu(I) generated in situ from Cu(0) nanosize activated powder and amine hydrochloride salts. **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 16, p. 2911–2914, 2005.

PATAI, S.; RAPPOPORT, Z. **The chemistry of the quinonoid compounds**. [s.l.] Wiley, 1988. v. 2

PATTERSON, S.; WYLLIE, S. Nitro drugs for the treatment of trypanosomatid diseases: past, present, and future prospects. **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 6, p. 289–298, 2014.

PELOZO, M. F. et al. Synthesis of New Hybrid Derivatives from Metronidazole and Eugenol Analogues as Trypanocidal Agents. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 24, p. 421–434, 16 ago. 2021.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. **Chagas disease**. The Lancet Publishing Group, 6 jan. 2018.

PINTO, A. V.; DE CASTRO, S. L. **The trypanocidal activity of naphthoquinones: A review**. **Molecules**, nov. 2009.

PINTO, A. V. et al. Trypanocidal activity of synthetic heterocyclic derivatives of active quinones from *Tabebuia* sp. **Arzneimittel-Forschung**, v. 47, n. 1, p. 74–79, 1997.

PRADO, A. G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, v. 26, 2003.

RAO, K. V; MCBRIDE, T. J.; OLESON, J. J. Recognition and Evaluation of Lapachol as an Antitumor Agent1,2. **Cancer Research**, v. 28, n. 10, p. 1952–1954, 1 out. 1968.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. **Chagas disease**. The Lancet Elsevier B.V., 2010.

ROSTOVSEV, V. V et al. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 14, p. 2596–2599, 15 jul. 2002.

SANDHU, S. et al. Coumarin hybrids as novel therapeutic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 15, p. 3806–3814, 2014.

SANTOS, V. L. DOS A.; GONSALVES, A. DE A.; ARAÚJO, C. R. M. Resgate da reação de Debus-Radziszewski: ensino prático de reações multicomponentes na síntese da lofina. **Química Nova**, v. 43, 2020.

SCHULZE, B.; SCHUBERT, U. S. Beyond click chemistry – supramolecular interactions of 1,2,3-triazoles. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 8, p. 2522–2571, 2014.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **March's advanced organic chemistry: reactions, mechanisms, and structure**. [s.l.] John Wiley & Sons, 2019. v. 8a Ed.

SOUZA, E. T.; LOPES, W. A.; DE ANDRADE, J. B. Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera. **Química Nova**, v. 39, n. 4, p. 486–495, 1 maio 2016.

SPITERI, C.; MOSES, J. E. Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition: Regioselective Synthesis of 1,4,5-Trisubstituted 1,2,3-Triazoles. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 49, n. 1, p. 31–33, 4 jan. 2010.

TEIMOURI, A.; CHERMAHINI, A. N. An efficient and one-pot synthesis of 2,4,5-trisubstituted and 1,2,4,5-tetrasubstituted imidazoles catalyzed via solid acid nano-catalyst. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 346, n. 1, p. 39–45, 2011.

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. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 67, n. 9, p. 3057–3064, 1 maio 2002.

TRON, G. C. et al. Click chemistry reactions in medicinal chemistry: Applications of the 1,3-dipolar cycloaddition between azides and alkynes. **Medicinal Research Reviews**, v. 28, n. 2, p. 278–308, 1 mar. 2008.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. DA S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, abr. 2006.

WHITING, M. et al. Rapid Discovery and Structure–Activity Profiling of Novel Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Enabled by the Copper(I)-Catalyzed Synthesis of 1,2,3-Triazoles and Their Further Functionalization. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 26, p. 7697–7710, 1 dez. 2006.

WHO. **Chagas disease (also known as American trypanosomiasis)**. Disponível em: <[>](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).

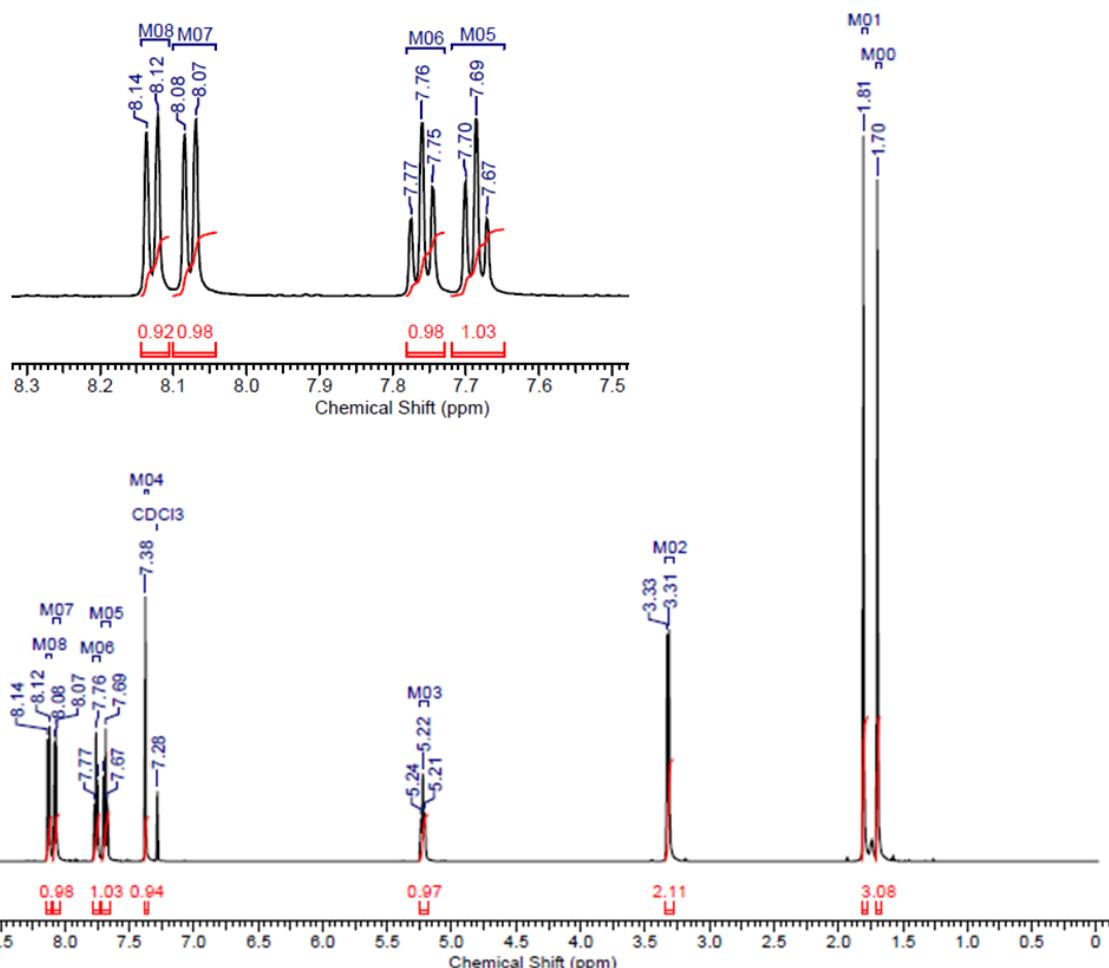
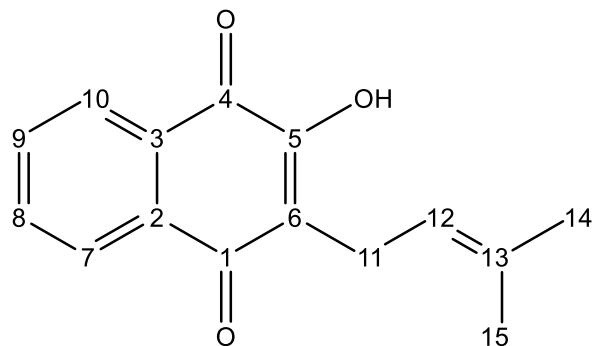
WORRELL, B. T.; MALIK, J. A.; FOKIN, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. **Science**, v. 340, n. 6131, p. 457–460, 26 abr. 2013.

ZHONG, W. et al. Problems and Solutions in Click Chemistry Applied to Drug Probes. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 35579, 2016.

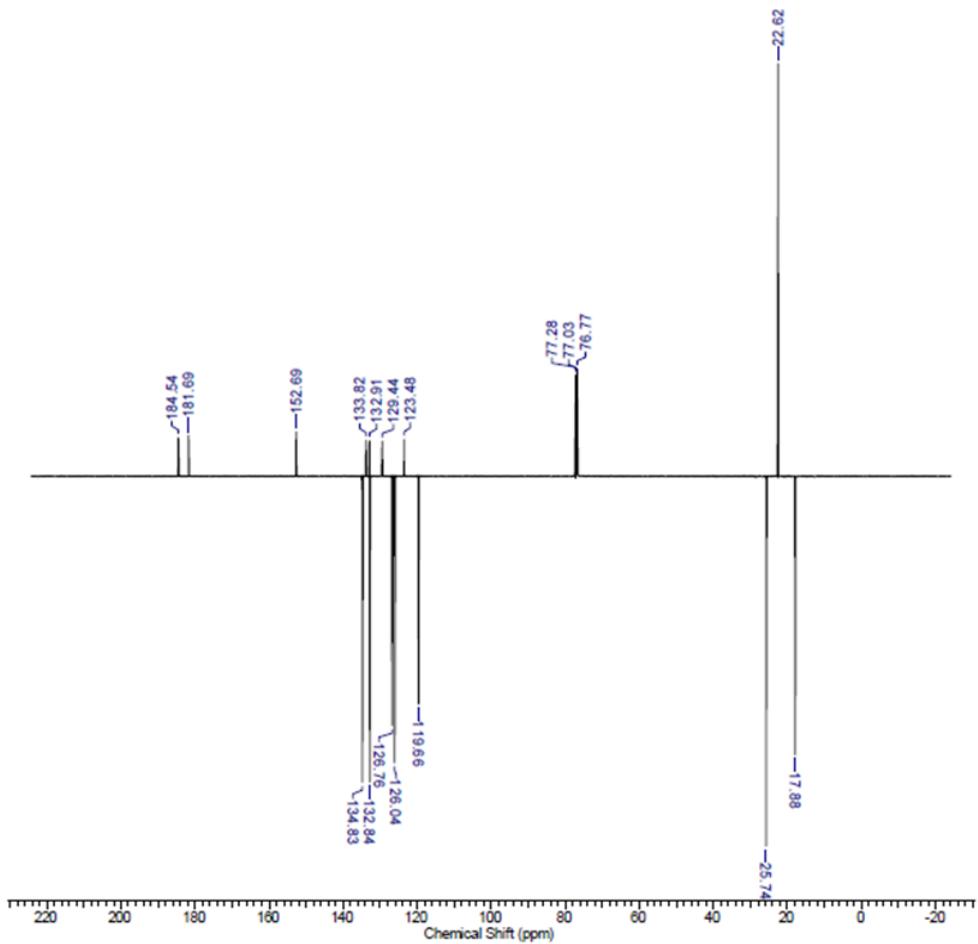
## ANEXO

### Anexo A - Caderno de espectros

#### Lapachol (3)



**Espectro 1:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do lapachol.

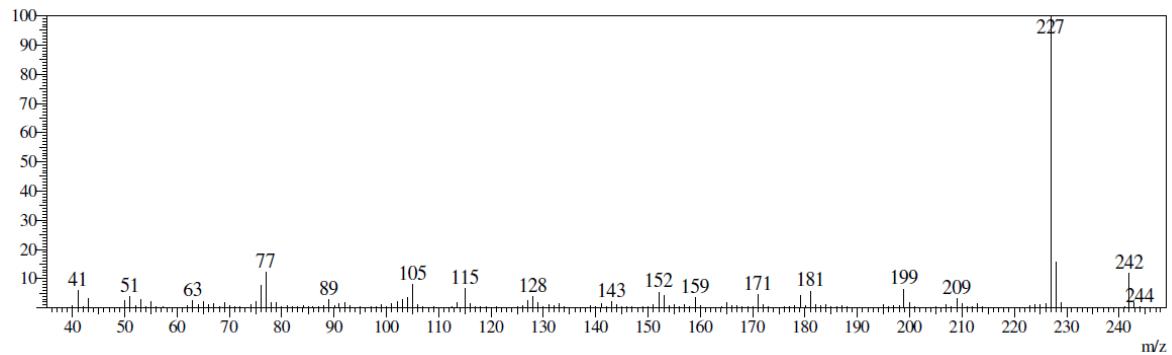


**Espectro 2:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do lapachol.

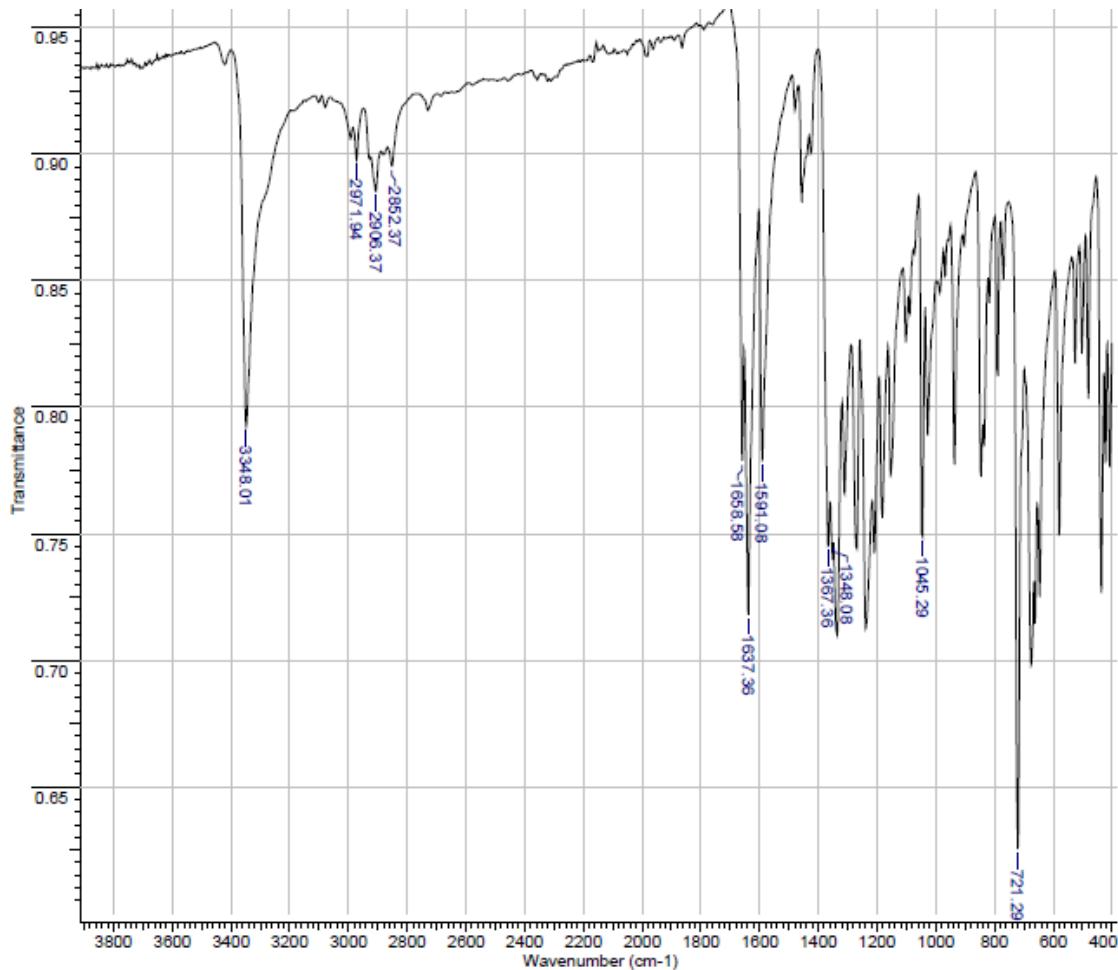
**Tabela 3a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o lapachol.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	---	184,54 (C)
2	---	133,82 (C)
3	---	132,91 (C)
4	---	181,69 (C)
5	---	152,69 (C)
6	---	123,48 (C)
7	8,13 ( <i>d</i> ; 7,2 ; 1H)	126,76 (CH)
8	7,76 ( <i>t</i> ; 7,2 ; 1H)	134,83 (CH)
9	7,69 ( <i>t</i> ; 7,2 ; 1H)	132,84 (CH)
10	8,07 ( <i>d</i> ; 7,2 ; 1H)	126,04 (CH)
11	3,32 ( <i>d</i> ; 7,4 ; 2H)	22,62 (CH <sub>2</sub> )
12	5,22 ( <i>t</i> ; 7,4 ; 1H)	119,66 (CH)
13	---	129,44 (C)
14	1,70 ( <i>s</i> ; 3H)	25,74 (CH <sub>3</sub> )
15	1,81 ( <i>s</i> ; 3H)	17,88 (CH <sub>3</sub> )

**EM (IE, 70 eV):** 242 ( $M^+$ , 15%); 227 (100%); 199 (8%); 105 (10%) e 77(15%).



**Espectro 3:** Espectro de massas do lapachol.



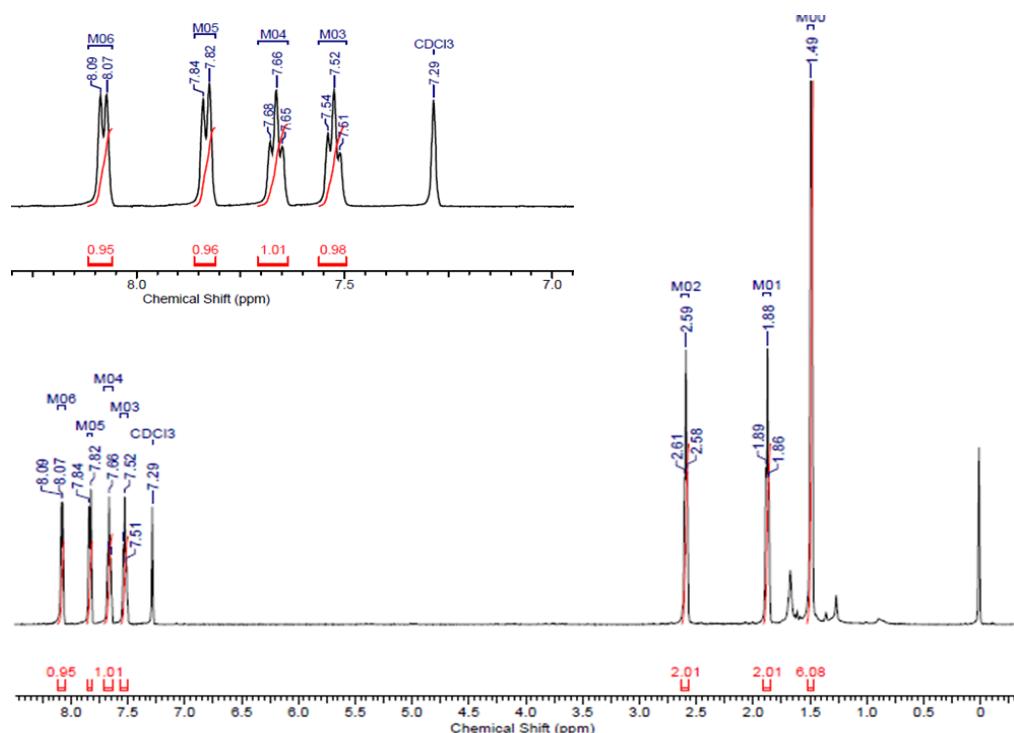
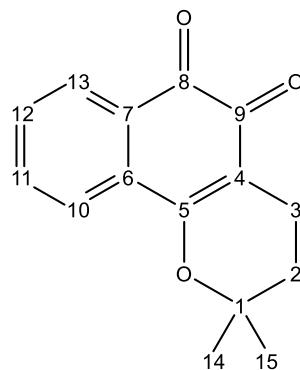
**Espectro 4:** Espectro de IV do lapachol.

Dados do infravermelho:

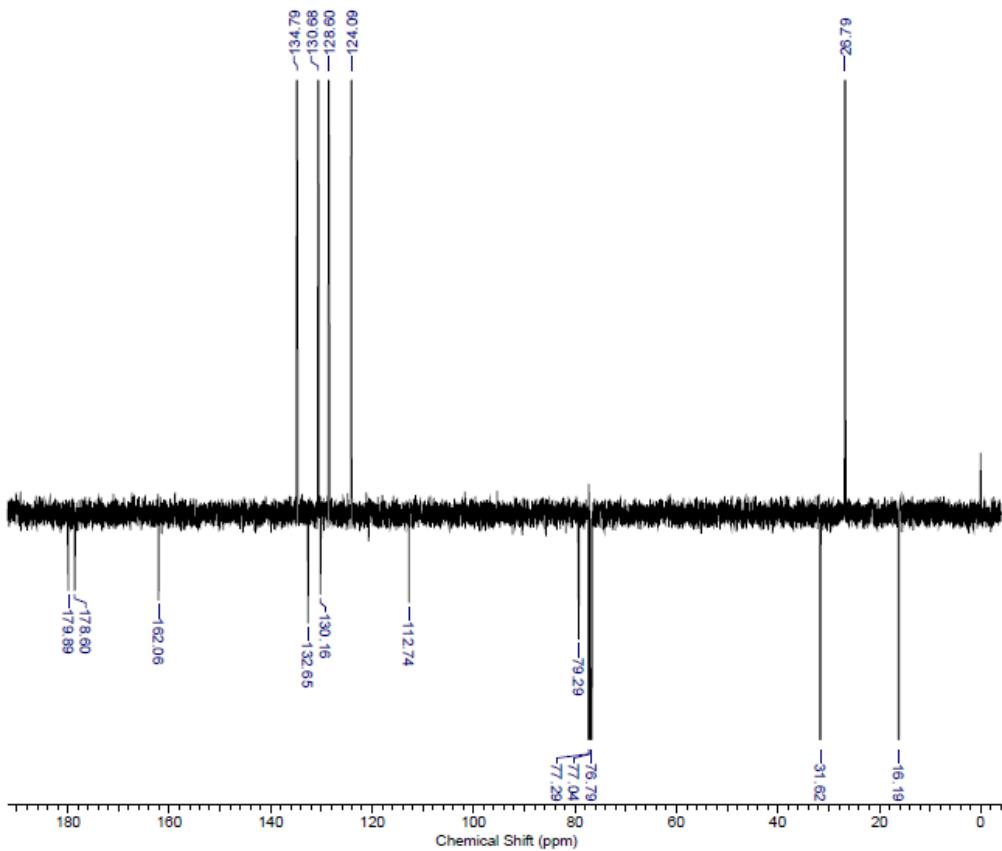
$\nu$ O-H - 3348 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação O-H);

vC-H - 2971 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-H);  
 vC=O - 1637 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C=O);  
 vC=O - 1658 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C=O);  
 vC=C - 1591 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C=C);  
 vC-O - 1045 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-O);  
 vC-H - 2906 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação assimétrico C-H);  
 vC-H - 2852 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação simétrico C-H);  
 vC-CH<sub>3</sub> - 1367 cm<sup>-1</sup> (Estiramento C-CH<sub>3</sub> geminal);  
 vC-CH<sub>3</sub> - 1348 cm<sup>-1</sup> (Estiramento C-CH<sub>3</sub> geminal);  
 2000 -1800 cm<sup>-1</sup> - Bandas de combinação e de harmônicas, características das estruturas aromáticas.

### β-lapachona (4)



**Espectro 5:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do β-lapachona.

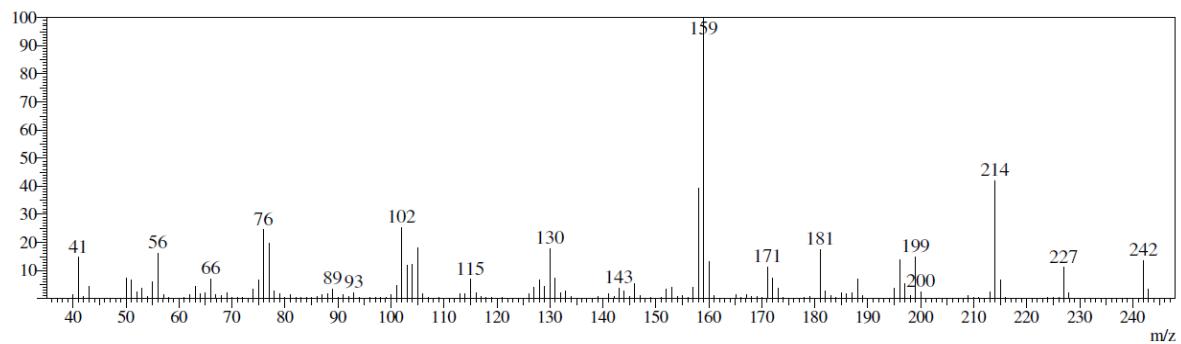


**Espectro 6:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da  $\beta$ -lapachona.

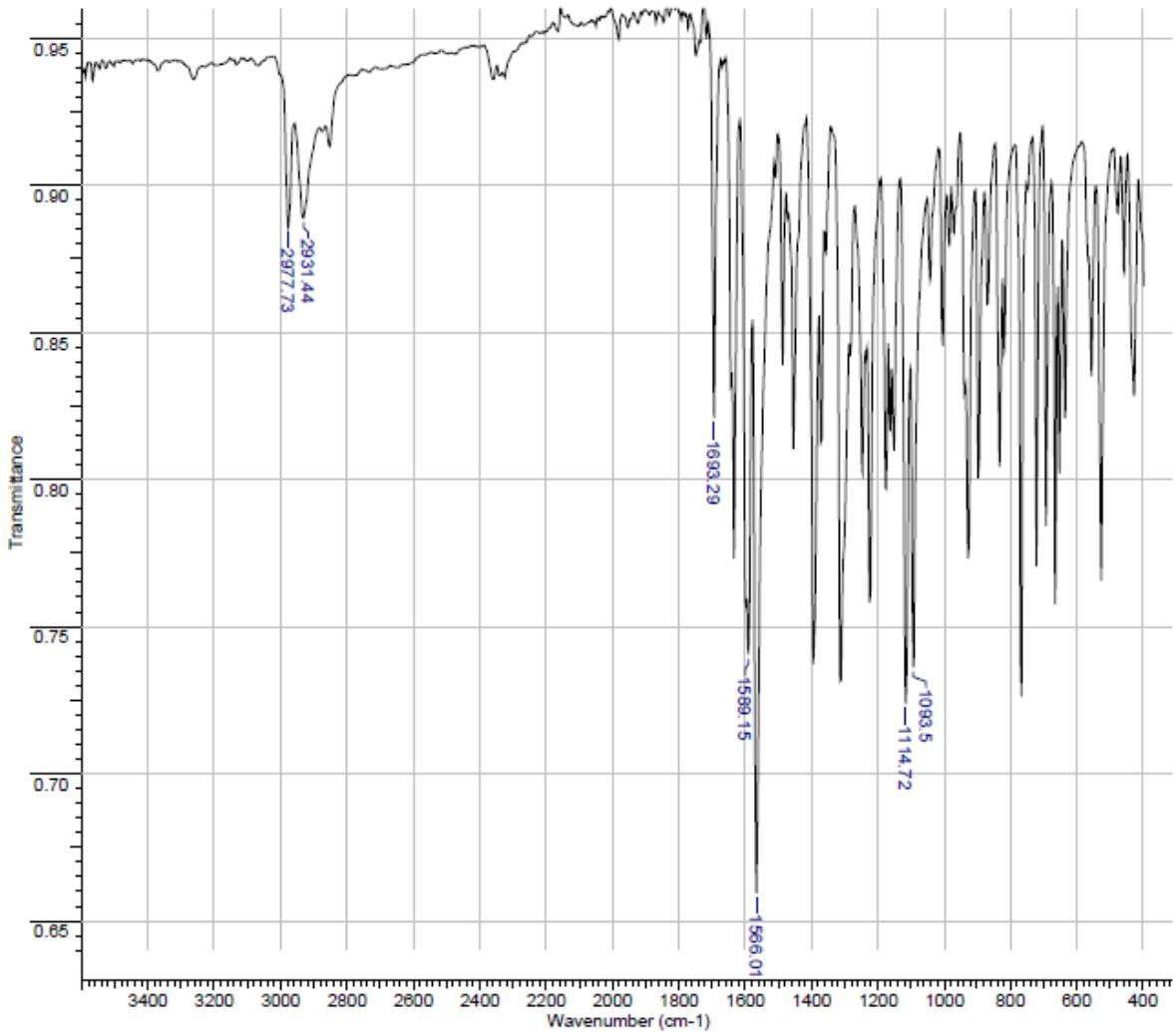
**Tabela 4a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para a  $\beta$ -lapachona.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	---	79,29 (C)
2	1,88 ( $t$ ; 6,4 ; 2H )	31,62 ( $\text{CH}_2$ )
3	2,59 ( $t$ ; 6,4 ; 2H )	16,19 ( $\text{CH}_2$ )
4	---	112,74 (C)
5	---	162,06 (C)
6	---	130,16 (C)
7	---	132,65 (C)
8	---	179,89 (C)
9	---	178,60 (C)
10	7,84 ( $d$ ; 7,3 ; 1H )	124,09 (CH)
11	7,52 ( $t$ ; 7,3 ; 1H )	130,68 (CH)
12	7,66 ( $t$ ; 7,3 ; 1H )	134,79 (CH)
13	8,09 ( $d$ ; 7,3 ; 1H )	128,60 (CH)
14 e 15	1,49 ( s ; 6H )	26,79 ( $\text{CH}_3$ )

**EM (IE, 70 eV):** 242 ( $M^+$ , 15%); 214 (40%); 159 (100%); 102 (25%) e 76 (25%).



**Espectro 7:** Espectro de massas da  $\beta$ -lapachona.

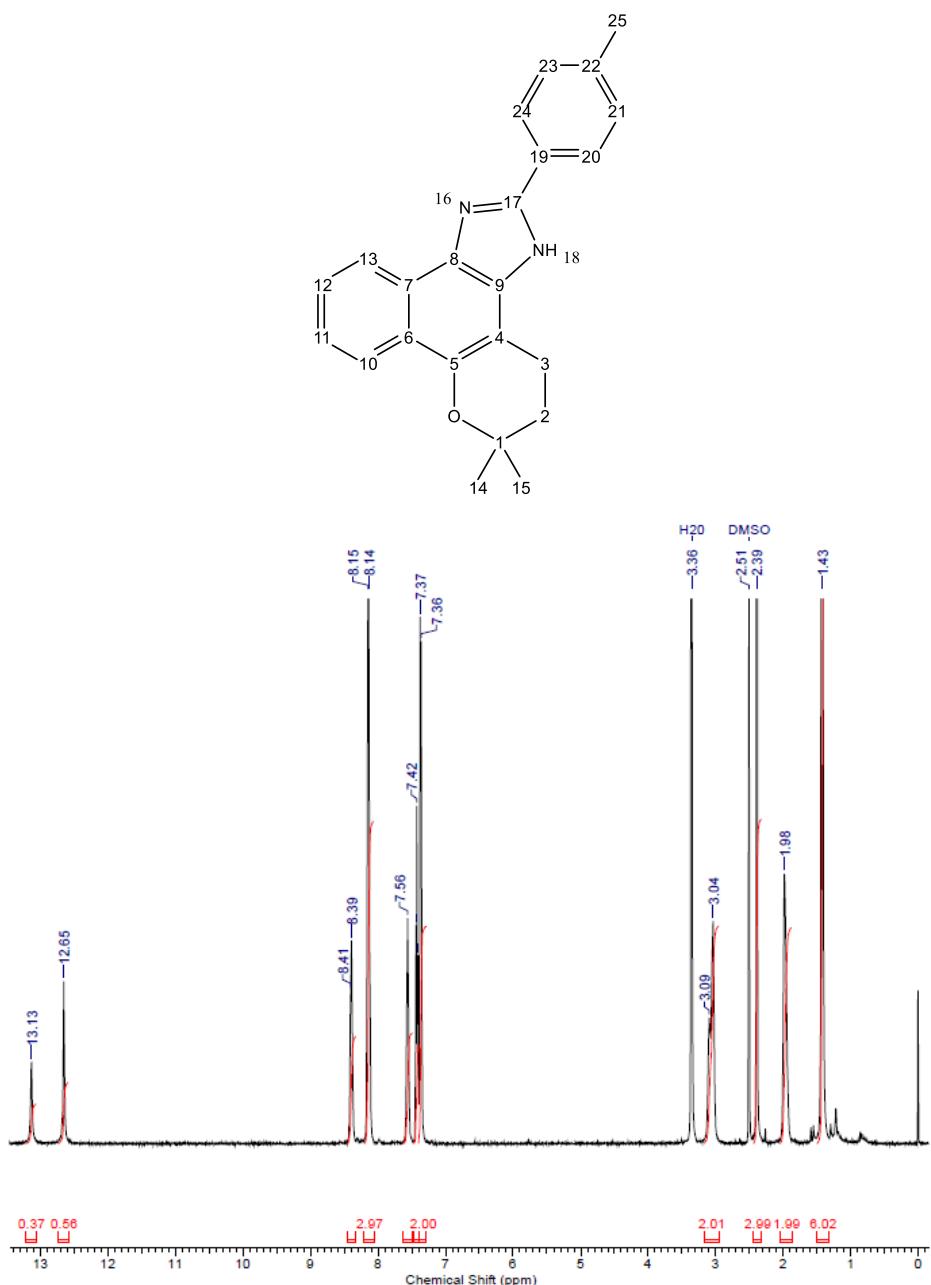


**Espectro 8:** Espectro de IV da  $\beta$ -lapachona.

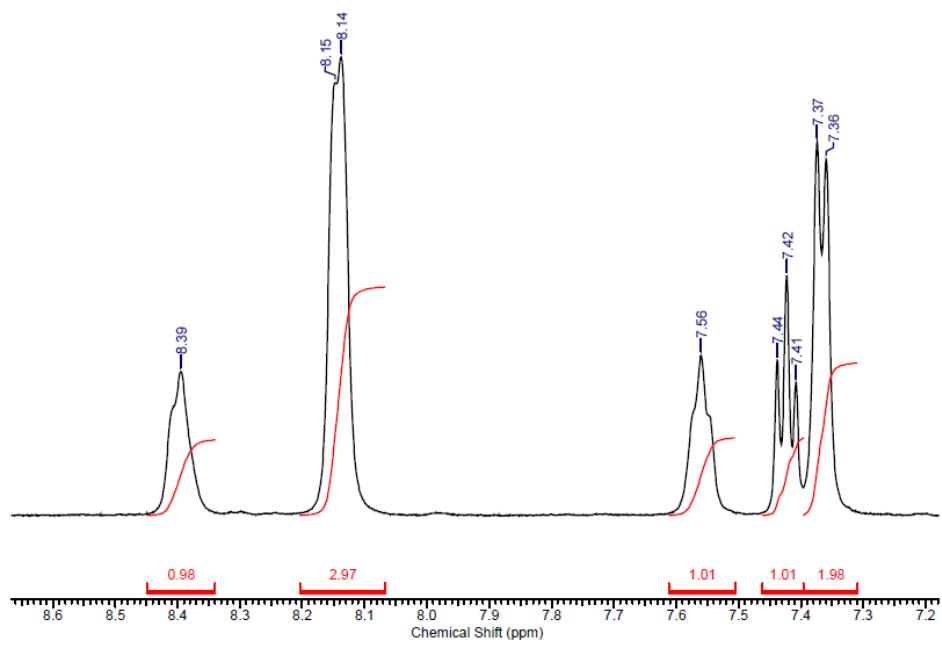
Dados do infravermelho:

$\nu$ C-H - 2977 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação C-H);  
 $\nu$ C-H - 2931 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação C-H);  
 $\nu$ C=C - 1589 e 1566 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C=C, do anel aromático);  
 $\nu$ C=O - 1693 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C=O);  
 $\nu$ C-O-C - 1114 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação C-O-C);  
 $\nu$ C-O-C - 1093 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação C-O-C);  
2000 - 1800 cm<sup>-1</sup> - Bandas de combinação e de harmônicas, características das estruturas aromáticas.

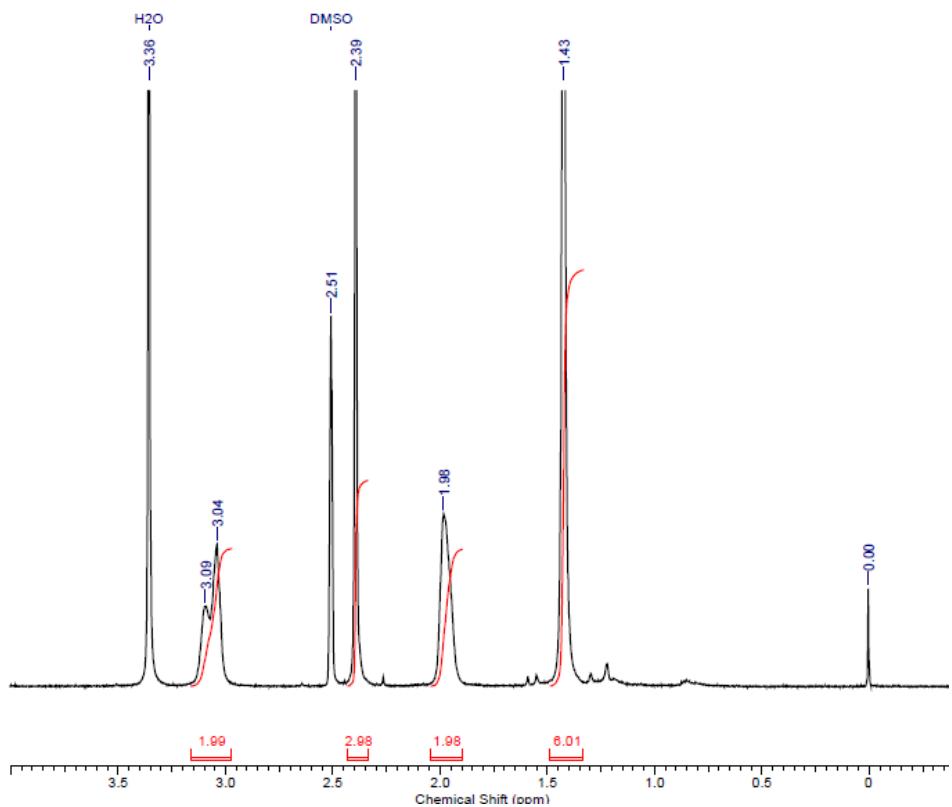
### BLI-2-Tolu (5)



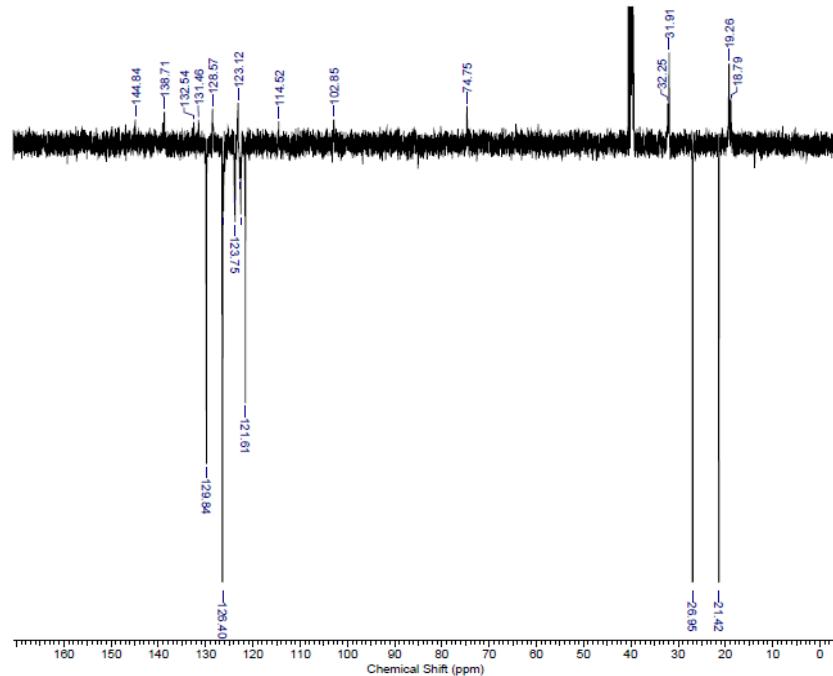
**Espectro 9:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*6) do BLI-2-Tolu.



**Espectro 10:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do BLI-2-Tolu: região entre  $\delta$  7,2 e 8,6 ppm.



**Espectro 11:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do BLI-2-Tolu: região entre  $\delta$  0 e 3,5 ppm.

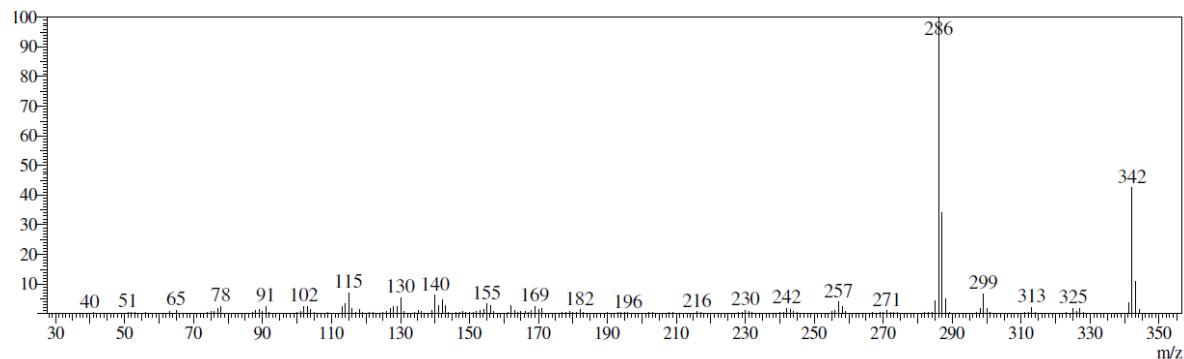


**Espectro 12:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz, DMSO-*d*6) do BLI-2-Tolu.

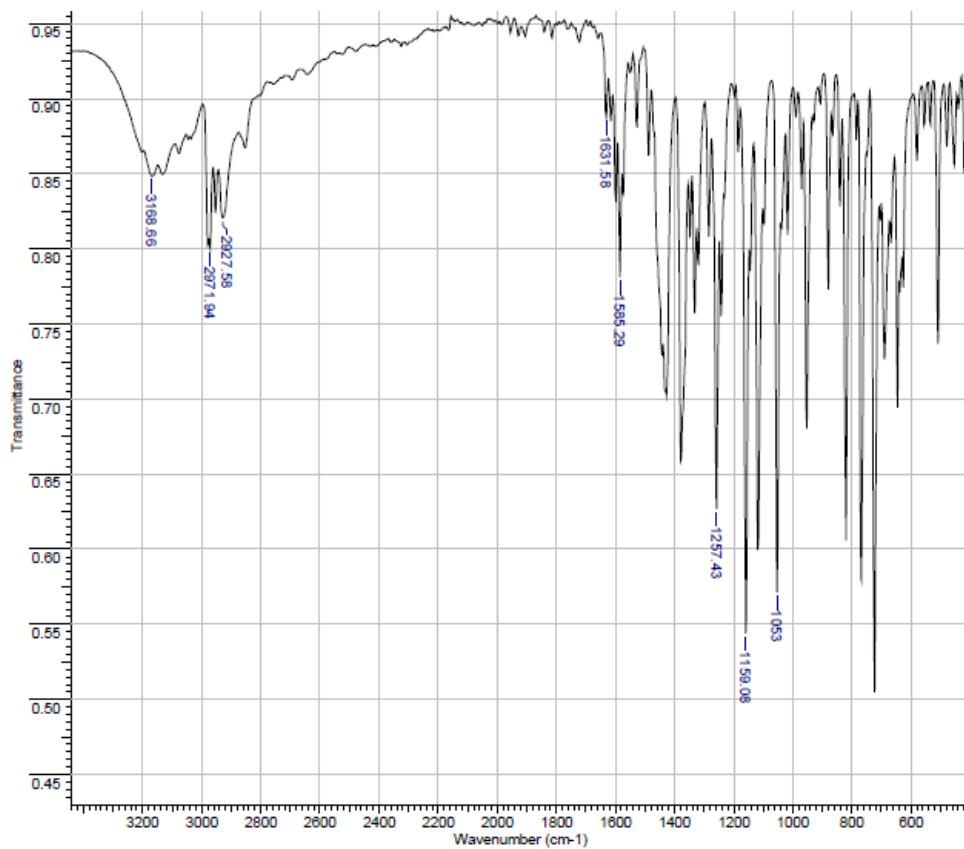
**Tabela 5a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o BLI-2-Tolu.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	---	74,75 (C)
2	1,98 ( sl ; 2H )	31,91 - 32,25 (CH <sub>2</sub> )
3	3,09 ( d ; 2H )	18,79 - 19,26 (CH <sub>2</sub> )
4	---	102,85 - 144,84 (C)
5	---	102,85 - 144,84 (C)
6	---	102,85 - 144,84 (C)
7	---	102,85 - 144,84 (C)
8	---	102,85 - 144,84 (C)
9	---	102,85 - 144,84 (C)
10	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
11	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
12	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
13	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
14 e 15	1,43 ( s ; 6H )	26,95 (CH <sub>3</sub> )
16 e 18	13,13 e 12,65 ( s ; 1H )	---
17	---	---
19	---	102,85 - 144,84 (C)
20	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
21	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
22	---	102,85 - 144,84 (C)
23	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
24	7,37 - 8,39	121,61 - 129,84 (CH)
25	2,39 ( s ; 3H )	21,42 (CH <sub>3</sub> )

**EM (IE, 70 eV):** 342 ( $M^+$ , 45%); 299 (8%); 286 (100%); 140 (8%) e 115 (10%).



**Espectro 13:** Espectro de massas do BLI-2-Tolu.



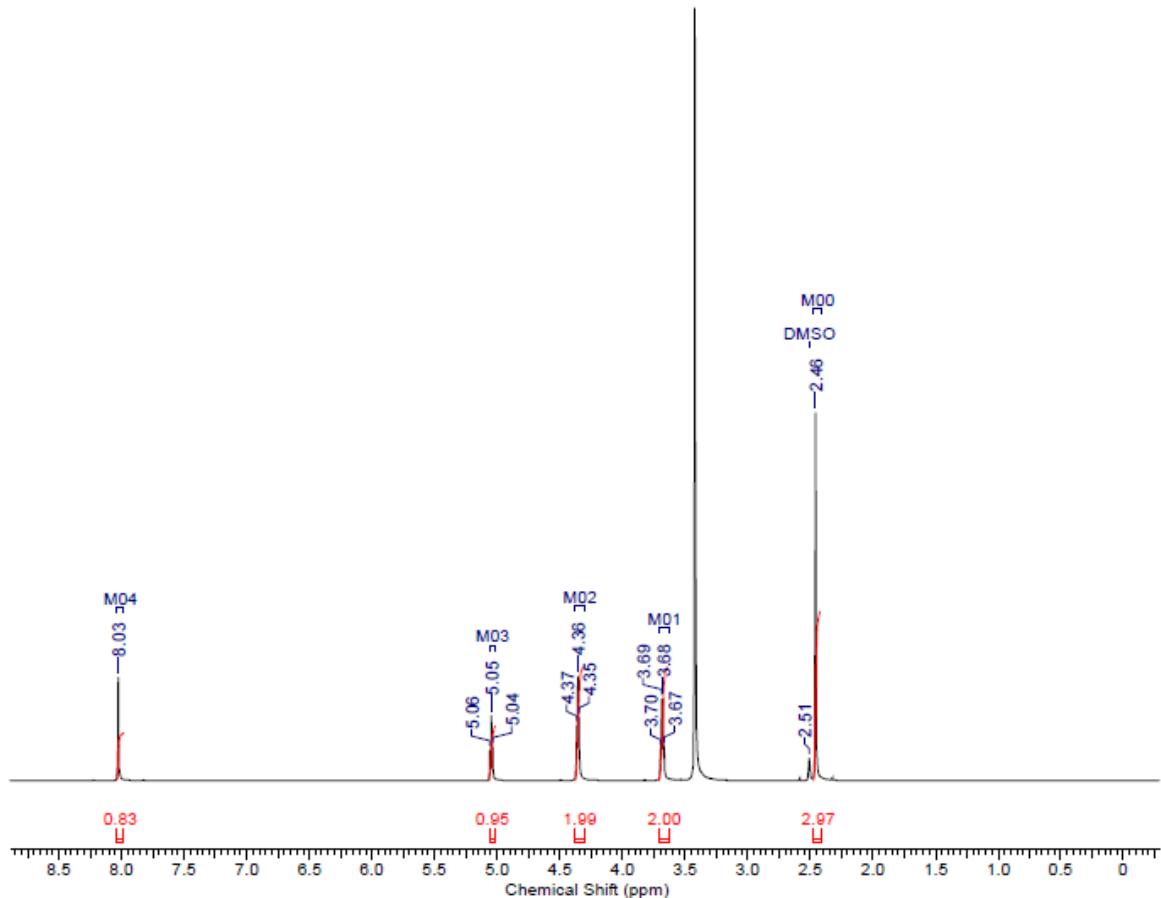
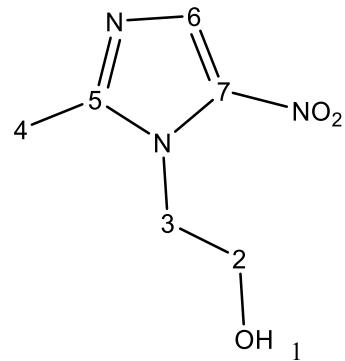
**Espectro 14:** Espectro de IV do BLI-2-Tolu.

Dados do infravermelho:

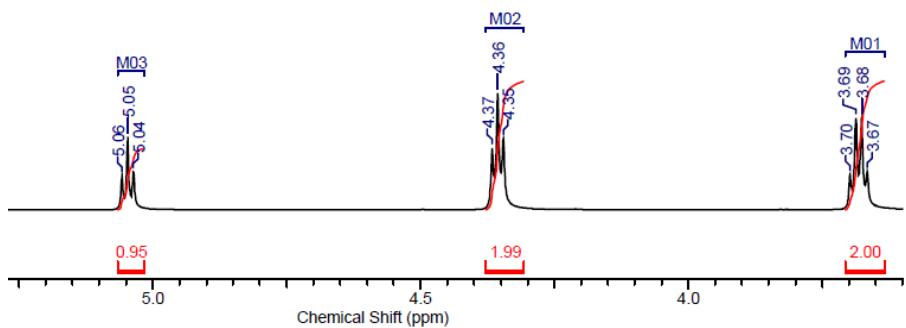
$\nu_{\text{N-H}}$  - 3168  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-H);  
 $\nu_{\text{C-H}}$  - 2971  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H);  
 $\nu_{\text{C-H}}$  - 2927  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H);  
 $\nu_{\text{C=C}}$  - 1631  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C=C);

$\nu$ C=N - 1585 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C=N);  
 $\nu$ C-N - 1257 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\nu$ C-O-C - 1159 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação C-O-C);  
 $\nu$ C-O-C - 1053 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação C-O-C).

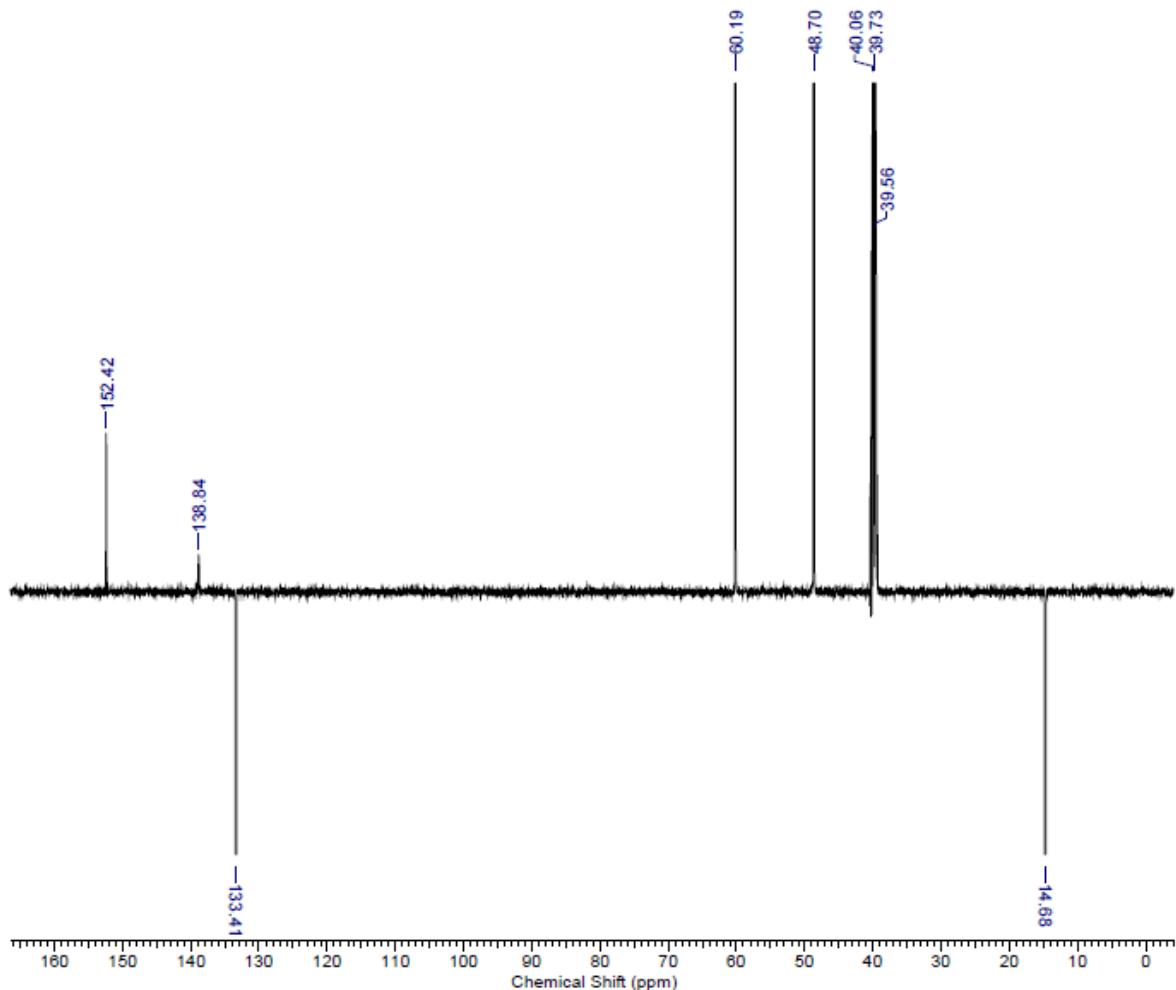
### Metronidazol (8)



**Espectro 15:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*d*6) do metronidazol.



**Espectro 16:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do metronidazol: região entre  $\delta$  3,5 e 5,1 ppm.

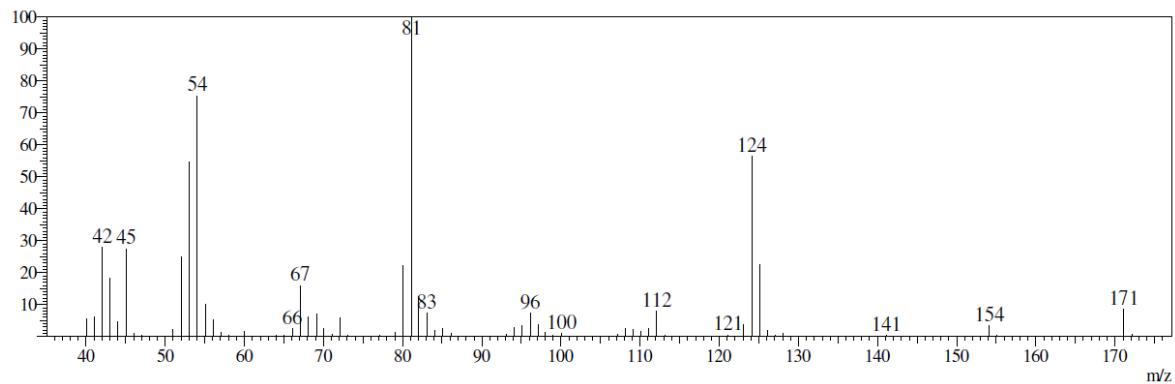


**Espectro 17:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do metronidazol.

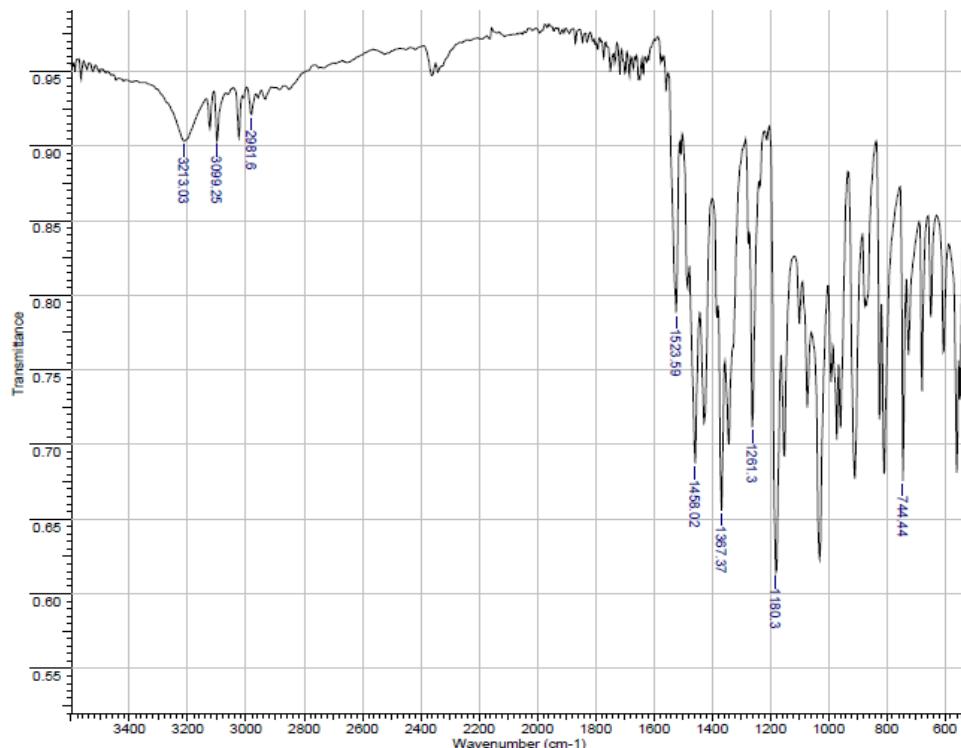
**Tabela 6a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o metronidazol.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); J (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	5,05 ( t ; 5,4 ; 1H )	---
2	3,70 ( q ; 5,4 ; 2H )	48,70 (CH2)
3	4,36 ( t ; 5,4 ; 2H )	60,19 (CH2)
4	2,46 ( s ; 3H )	14,68 (CH3)
5	---	138,84 (C)
6	8,03 ( s ; 1H )	133,41 (CH)
7	---	152,42 (C)

**EM (IE, 70 eV):** 171 ( $\text{M}^+$ , 10%); 124 (60%); 81 (100%) e 54 (75%).



**Espectro 18:** Espectro de massas do metronidazol.

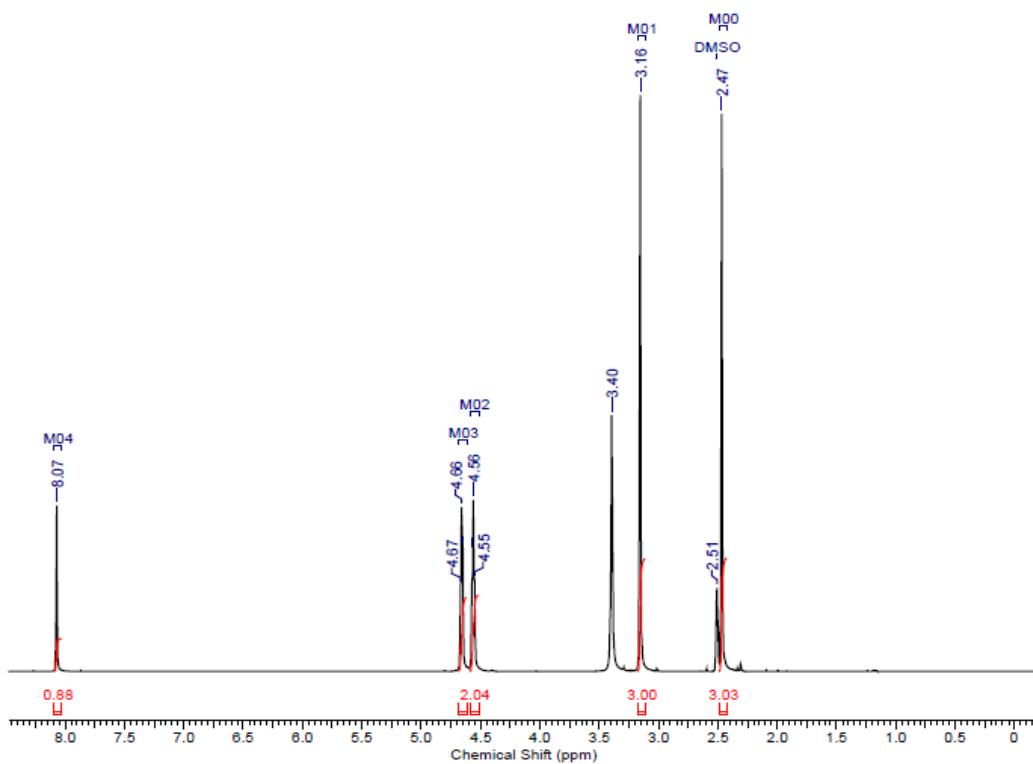
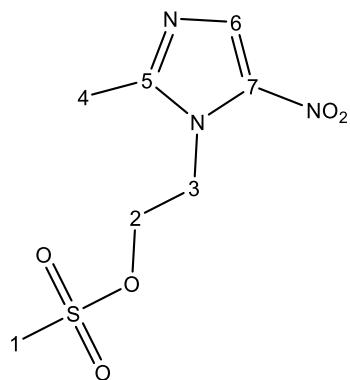


**Espectro 19:** Espectro de IV do metronidazol.

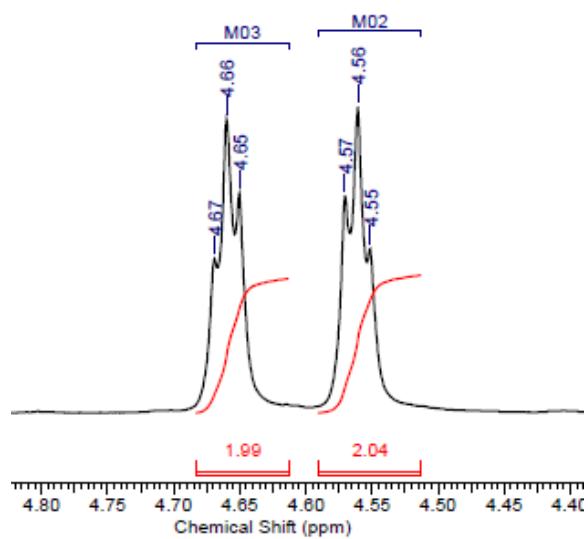
Dados de Infravermelho:

$\nu$ O-H - 3213  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação O-H);  
 $\nu$ C-H - 3099  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu$ C-H - 2981  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H de  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ );  
 $\nu$ N-O - 1523  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\delta$ C-H - 1458  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ );  
 $\nu$ N-O - 1367  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\nu$ C-N - 1261  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta$ C-H - 744  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

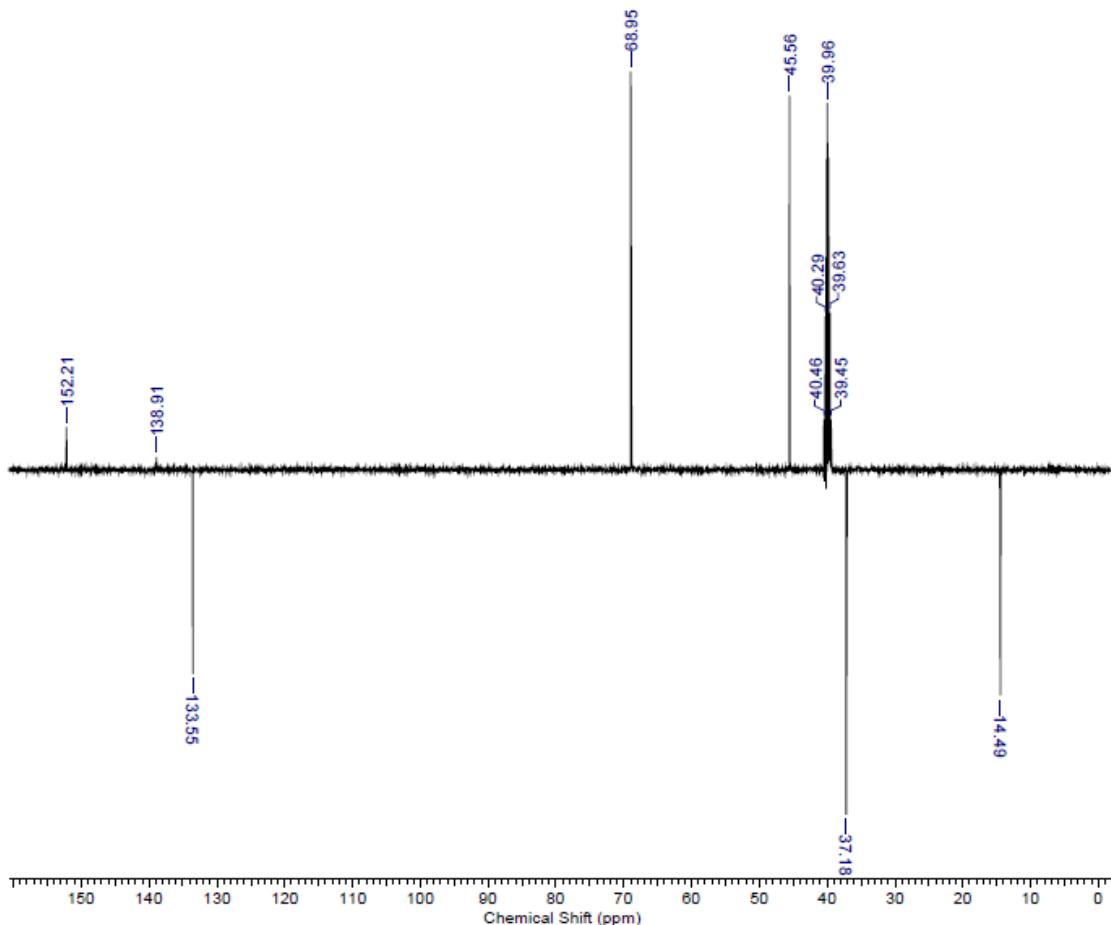
### Intermediário (9)



**Espectro 20:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do intermediário (9).



**Espectro 21:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO-*d*6) do intermediário (9): região entre  $\delta$  4,50 e 4,75 ppm.

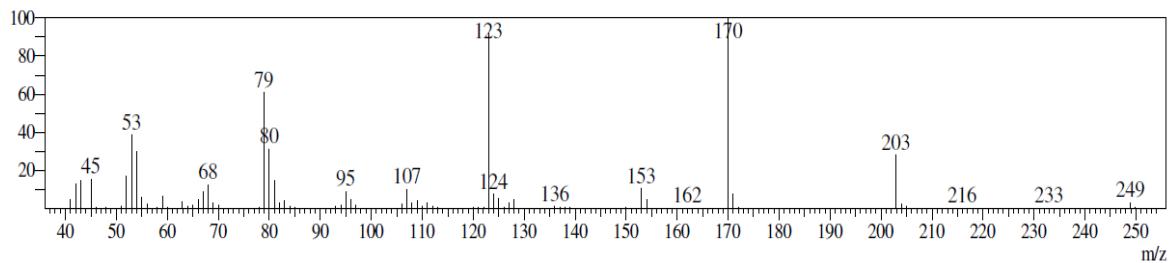


**Espectro 22:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz, DMSO-*d*6) do intermediário (9).

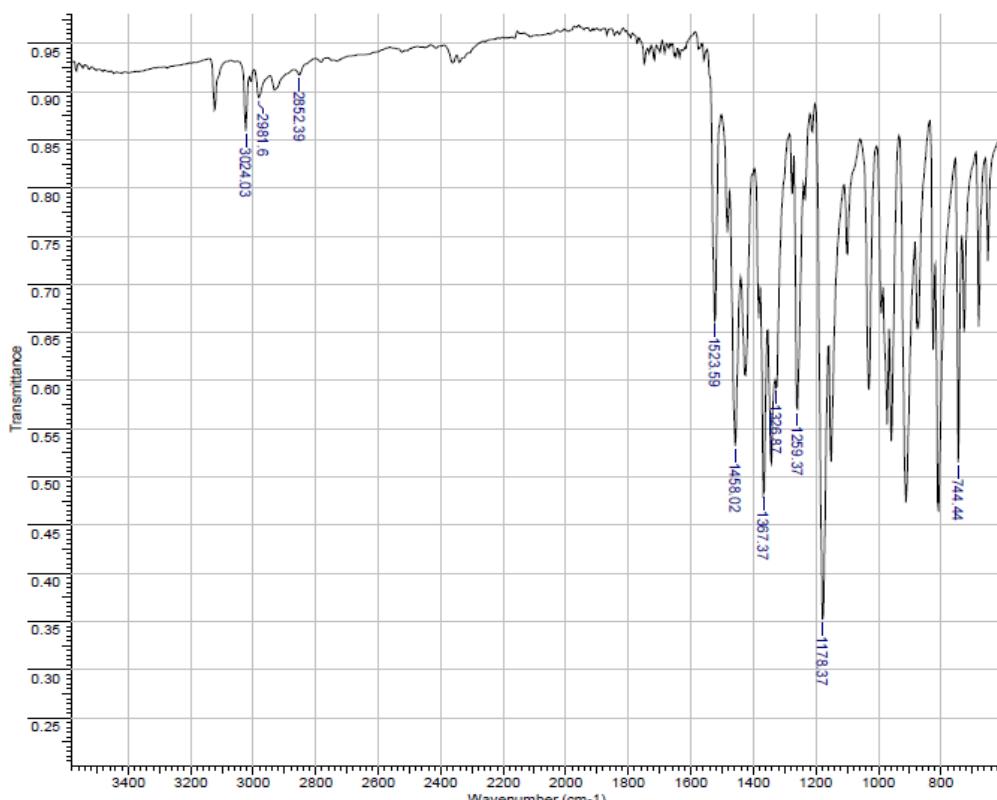
**Tabela 7a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o intermediário (9).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	3,16 ( s ; 3H )	37,18 (CH <sub>3</sub> )
2	4,56 ( t ; 4,8 ; 2H )	45,56 (CH <sub>2</sub> )
3	4,66 ( t ; 4,8 ; 2H )	68,95 (CH <sub>2</sub> )
4	2,47 ( s ; 3H )	14,49 (CH <sub>3</sub> )
5	---	138,91 (C)
6	8,07 ( s ; 1H )	133,55 (CH)
7	---	152,21 (C)

**EM (IE, 70 eV):** 249 (M<sup>+</sup> 5%); 203 (30%); 170 (100%); 123 (90%) e 79 (60%).



**Espectro 23:** Espectro de massas do intermediário (9).

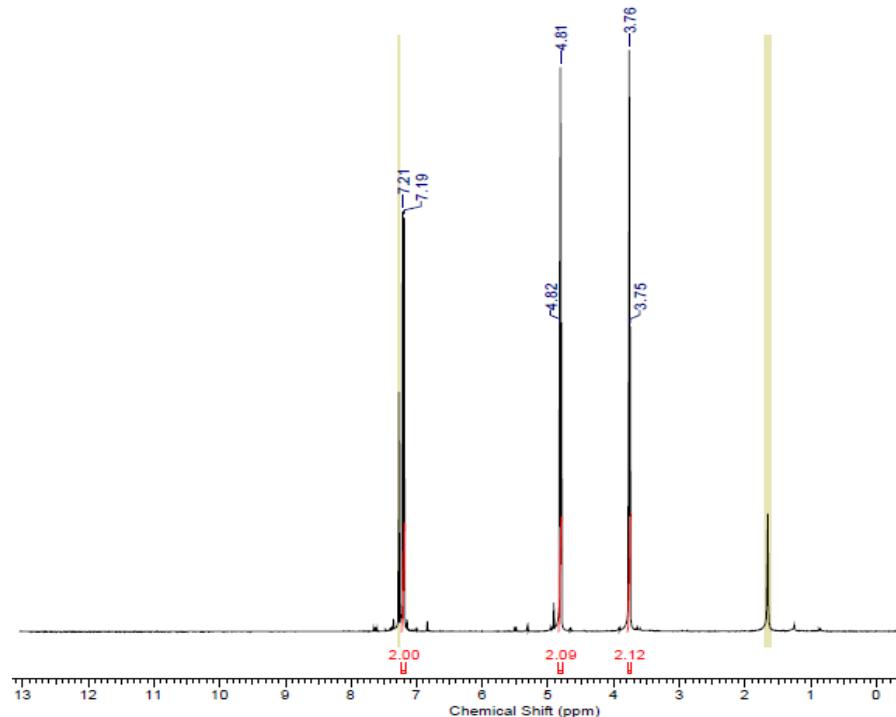
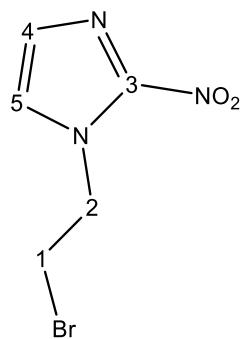


**Espectro 24:** Espectro de IV do intermediário (9).

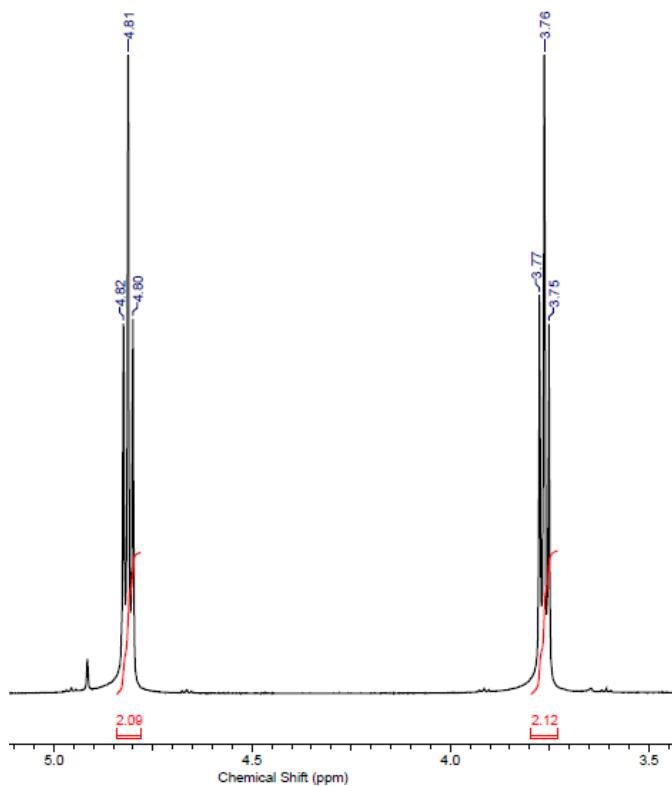
Dados de infravermelho:

$\nu$ C-H - 3024 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu$ C-H - 2981 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>);  
 $\nu$ C-H - 2852 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação C-H de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>);  
 $\nu$ N-O - 1523 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\delta$ C-H - 1458 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>);  
 $\nu$ N-O - 1367 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\delta$ S(=O)<sub>2</sub> - 1326 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica do grupo S(=O)<sub>2</sub>);  
 $\nu$ C-N - 1259 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta$ S(=O)<sub>2</sub> - 1178 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica do grupo S(=O)<sub>2</sub>);  
 $\delta$ C-H - 744 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

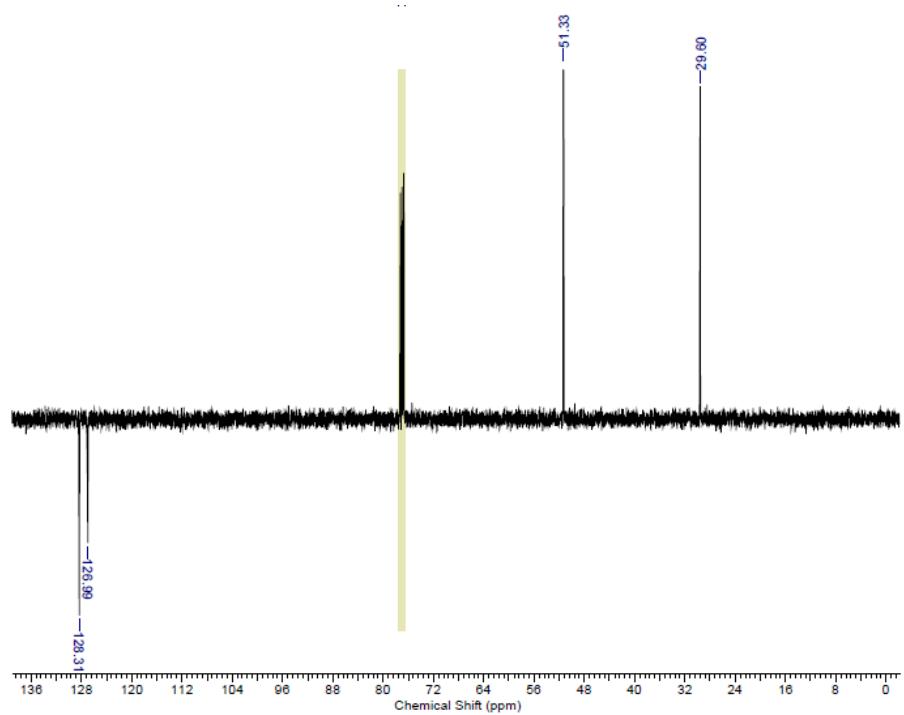
### Intermediário (11)



**Espectro 25:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do intermediário (11).



**Espectro 26:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (11): região entre  $\delta$  3,5 e 5,0 ppm.

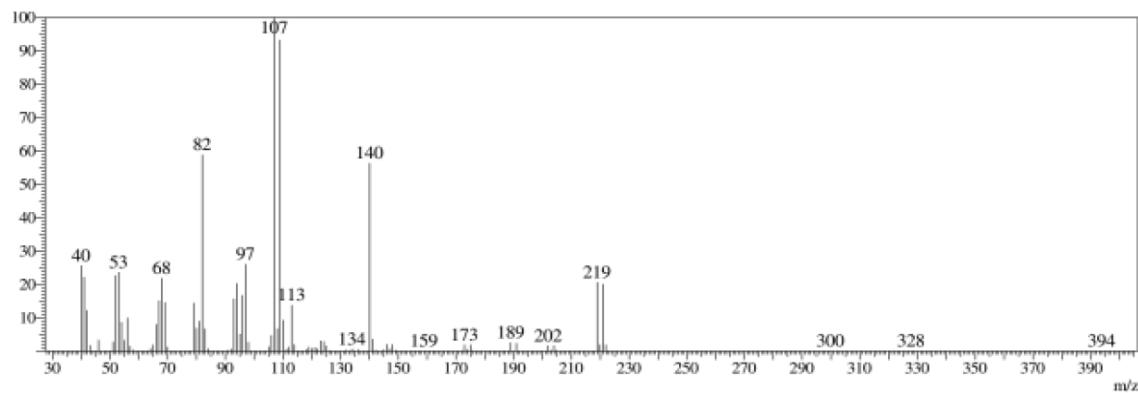


**Espectro 27:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (11).

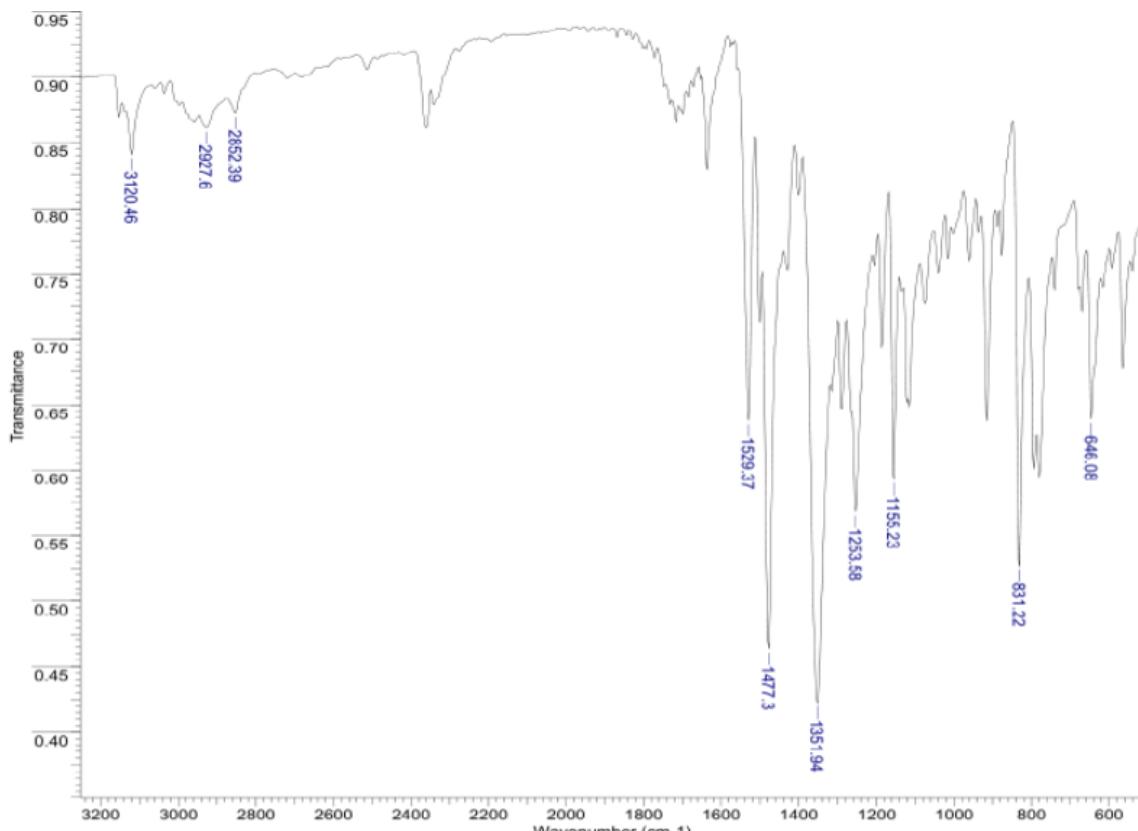
**Tabela 8a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o intermediário (11).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	3,77 ( $t$ ; 5,9 ; 2H )	29,60 (CH <sub>2</sub> )
2	4,81 ( $t$ ; 5,9 ; 2H )	51,33 (CH <sub>2</sub> )
3	---	---
4	7,21 ( $s$ ; 1H )	128,31 (CH)
5	7,19 ( $s$ ; 1H )	126,99 (CH)

**EM (IE, 70 eV):** 219/221 (M $^+$ , 20%); 140 (55%); 107/109 (100%); 82 (60%).



**Espectro 28:** Espectro de massas do intermediário (11).

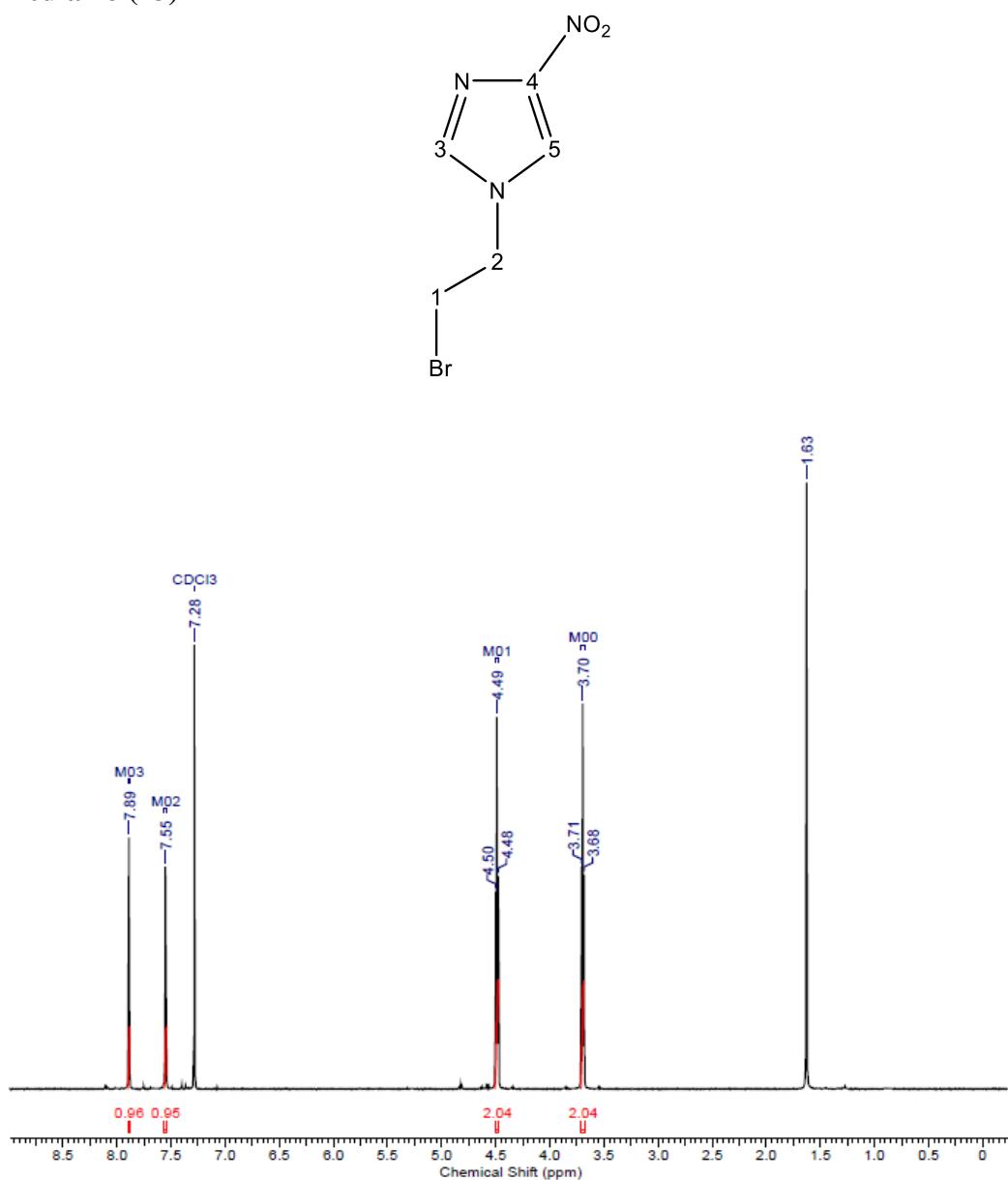


**Espectro 29:** Espectro de IV do intermediário (11).

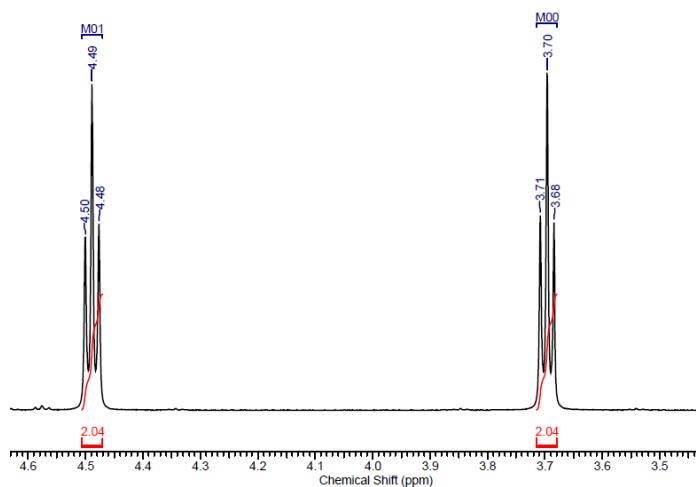
Dados de infravermelho:

$\nu$ C-H - 3120 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu$ C-H - 2927 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);  
 $\nu$ C-H - 2852 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>);  
 $\nu$ N-O - 1529 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\delta$ C-H - 1477 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);  
 $\nu$ N-O - 1351 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\nu$ C-N - 1253 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta$ C-H - 1155 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular simétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>-Br);  
 $\delta$ C-H - 800 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);  
 $\nu$ C-Br - 646 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-Br).

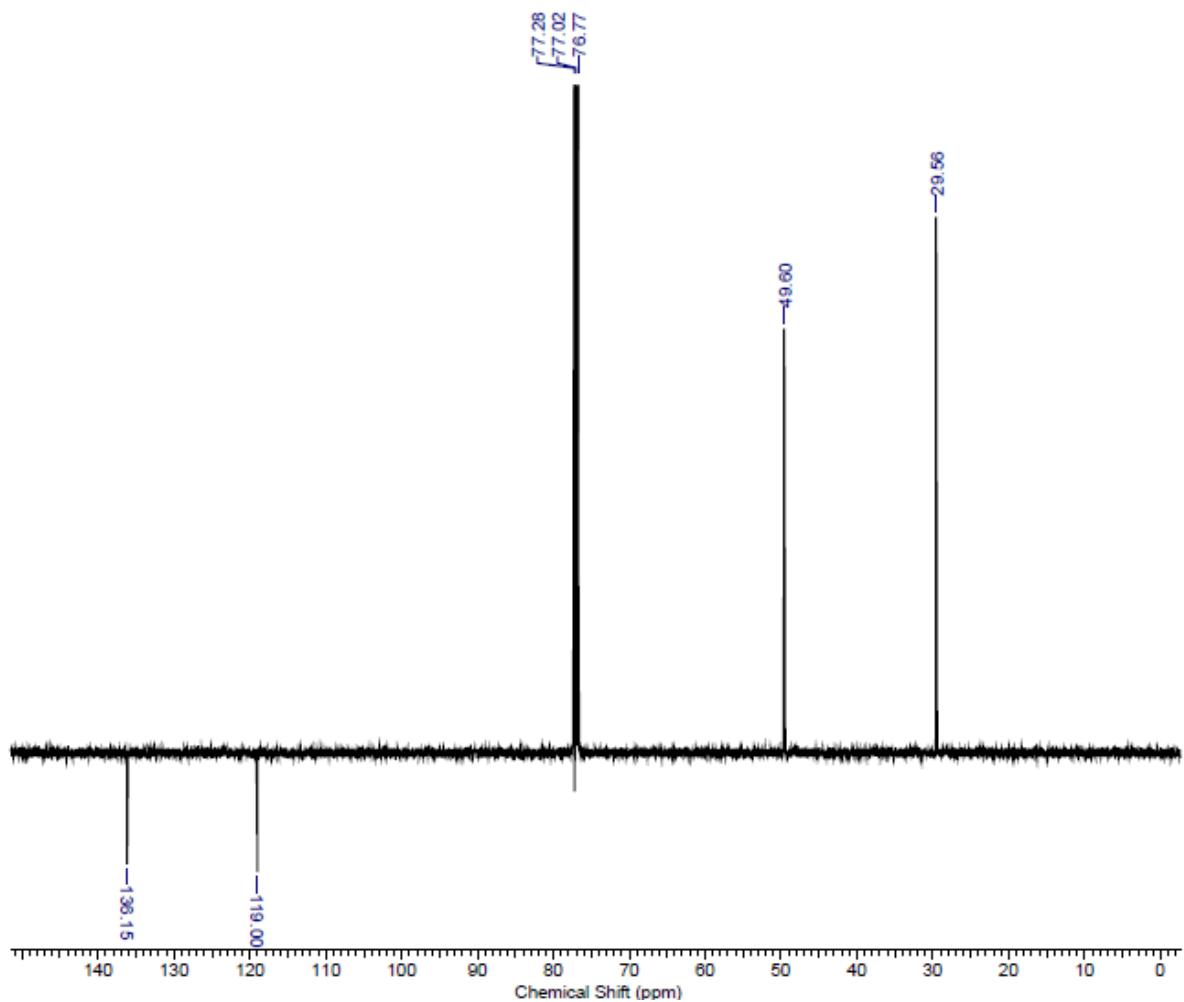
### Intermediário (13)



**Espectro 30:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do intermediário (13).



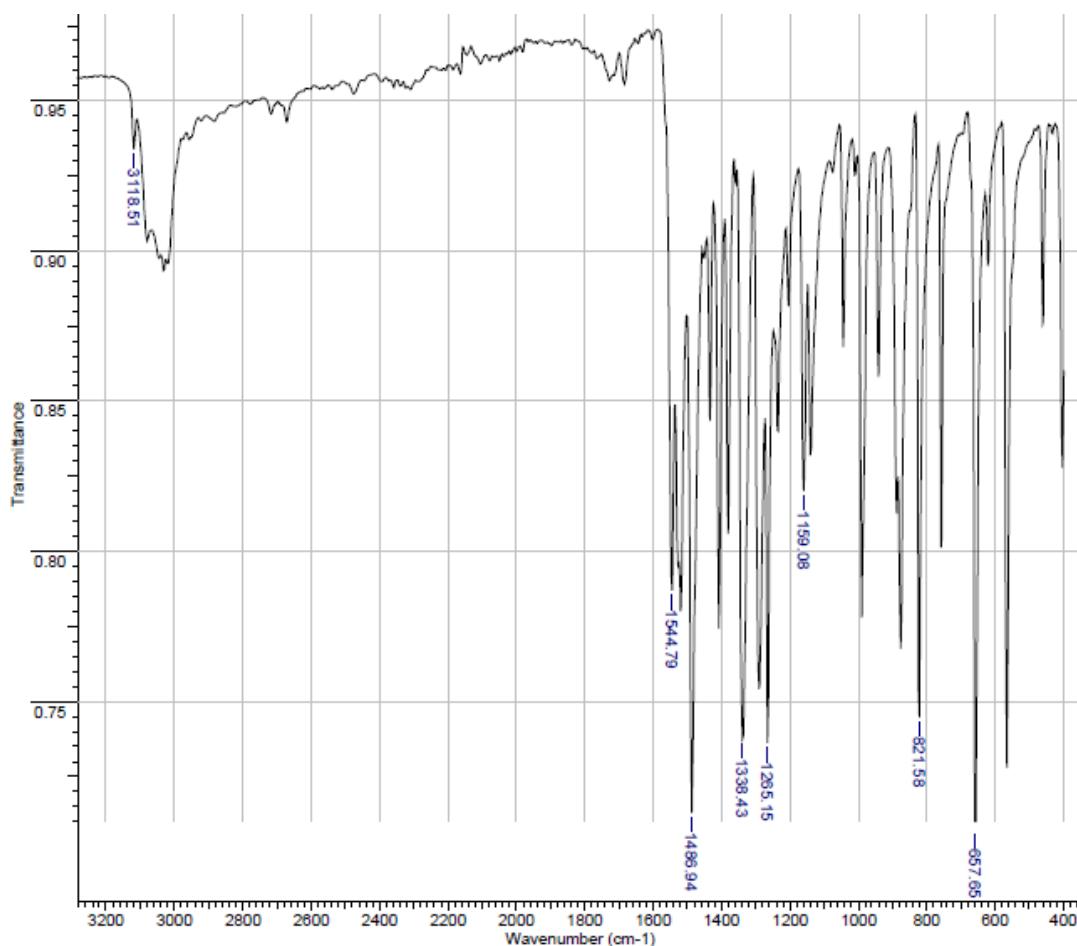
**Espectro 31:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (13): região entre  $\delta$  3,6 e 4,6 ppm.



**Espectro 32:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (13).

**Tabela 9a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o intermediário (13).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	3,70 ( $t$ ; 5,9 ; 2H )	29,56 (CH <sub>2</sub> )
2	4,49 ( $t$ ; 5,9 ; 2H )	49,60 (CH <sub>2</sub> )
3	7,89 ( $s$ ; 1H )	136,15 (CH)
4	---	---
5	7,55 ( $s$ ; 1H )	119,00 (CH)

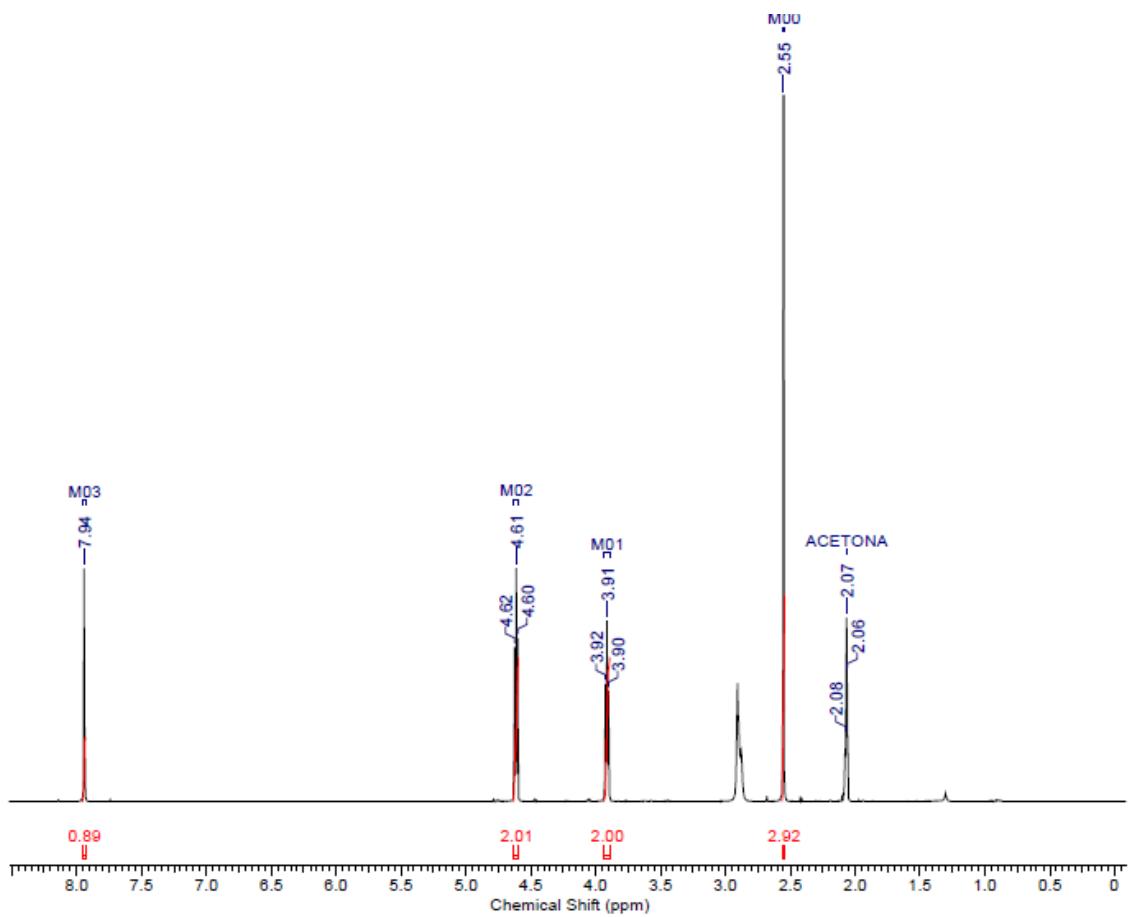
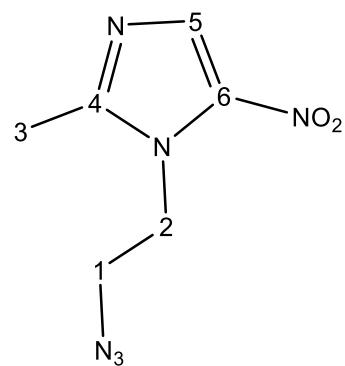


**Espectro 33:** Espectro de IV do intermediário (13).

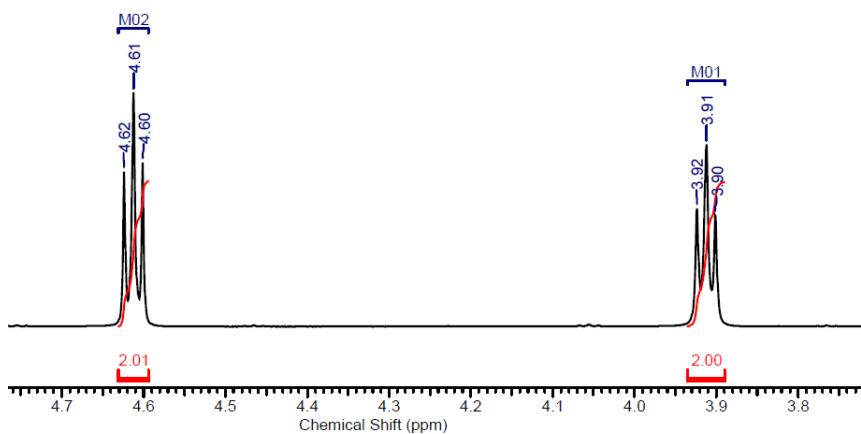
Dados de infravermelho:

$\nu\text{C-H}$  - 3118  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu\text{N-O}$  - 1544  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\delta\text{C-H}$  - 1486  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);  
 $\nu\text{N-O}$  - 1338  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\nu\text{C-N}$  - 1265  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta\text{C-H}$  - 1159  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-H de CH<sub>2</sub>-Br);  
 $\delta\text{C-H}$  - 821  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);  
 $\nu\text{C-Br}$  - 657  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-Br).

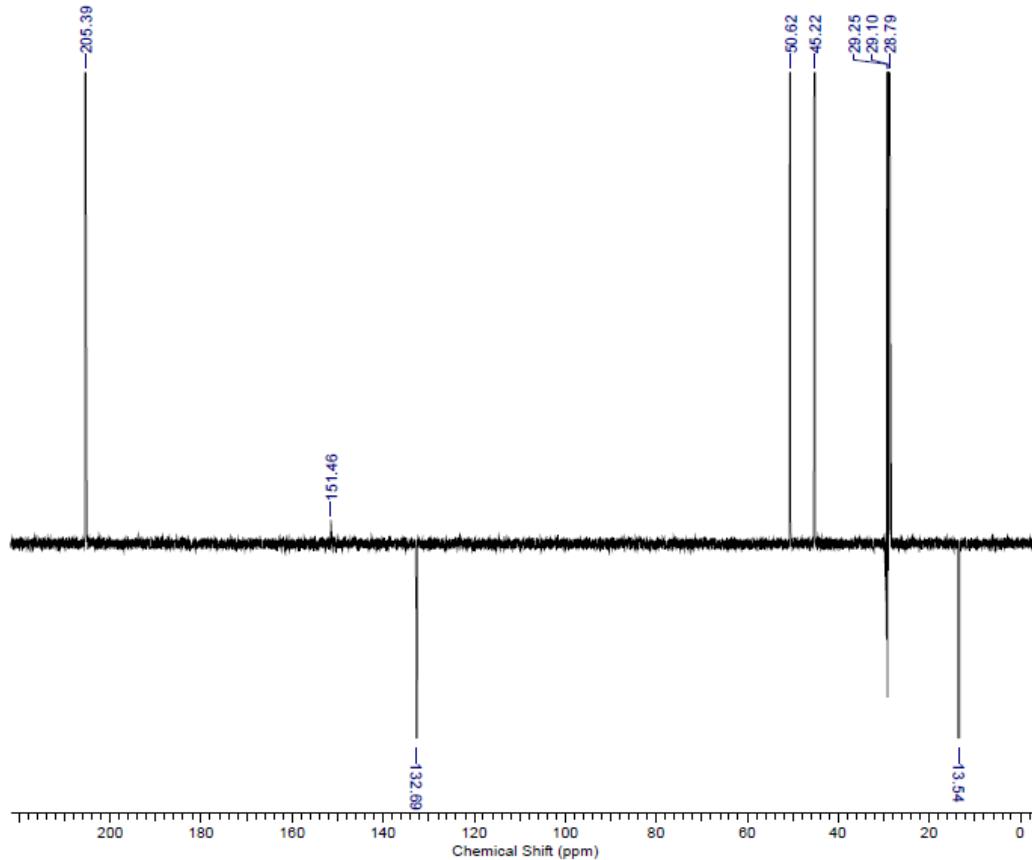
### Intermediário (10)



**Espectro 34:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, ACETONA- $d_6$ ) do intermediário (10).



**Espectro 35:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, ACETONA-*d*6) do intermediário (10): região entre  $\delta$  3,8 e 4,7 ppm.

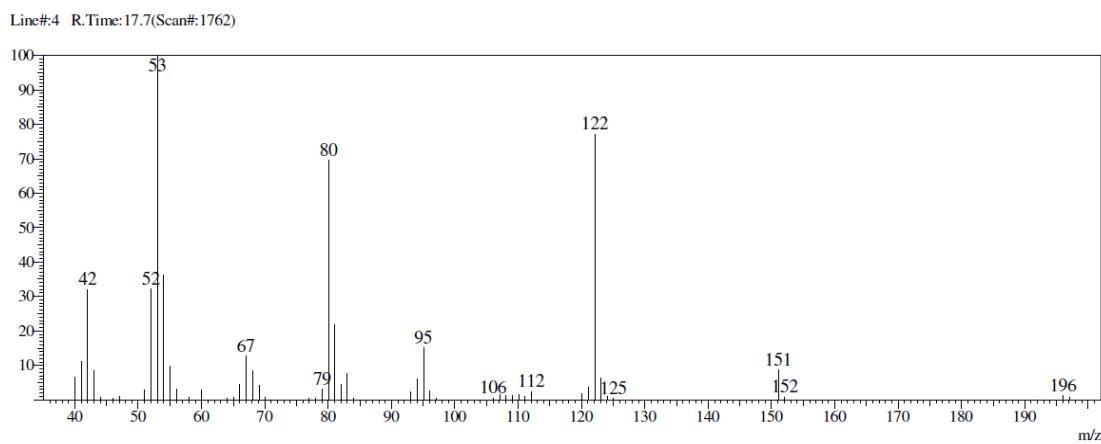


**Espectro 36:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz, ACETONA-*d*6) do intermediário (10).

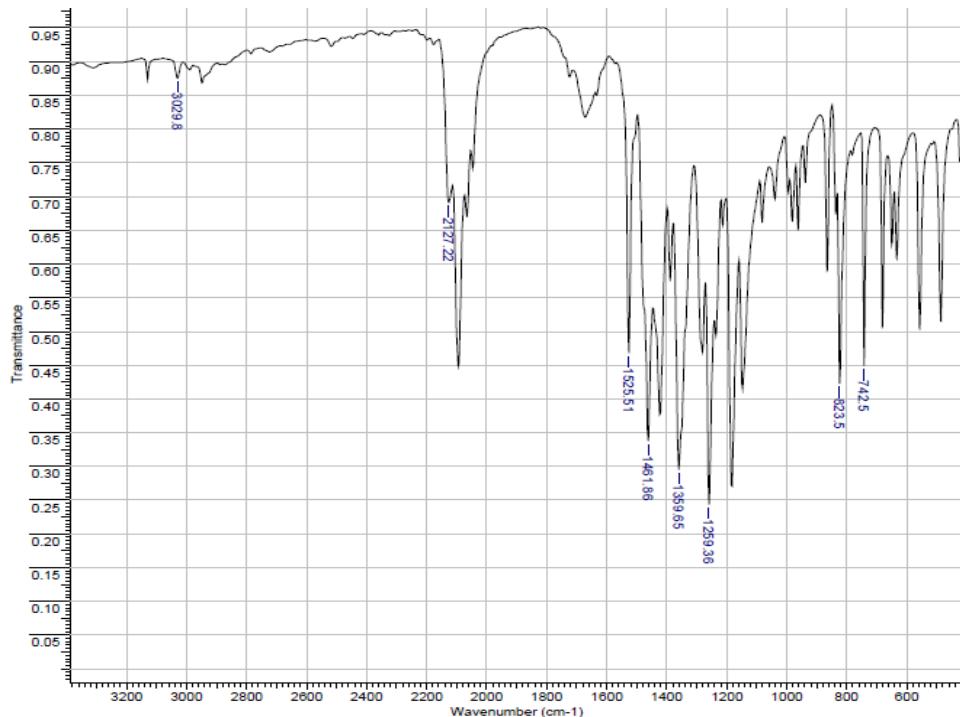
**Tabela 10a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o intermediário (10).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	3,91 ( $t$ ; 5,5 ; 2H )	45,22 (CH <sub>2</sub> )
2	4,61 ( $t$ ; 5,5 ; 2H )	50,62 (CH <sub>2</sub> )
3	2,55 ( s ; 3H )	13,54 (CH <sub>3</sub> )
4	---	---
5	7,94 ( s ; 1H )	132,69 (CH)
6	---	151,46 (C)

**EM (IE, 70 eV):** 196 (M $^{+}$  2%); 42 (33%); 53 (100%); 80 (70%) e 122 (79%).



**Espectro 37:** Espectro de massas do intermediário (10).

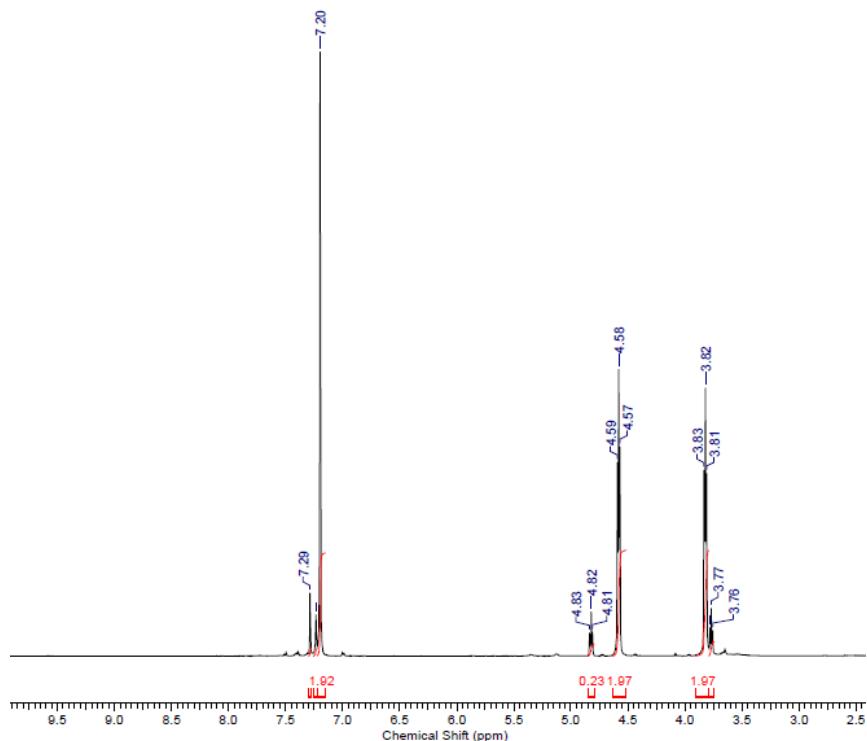
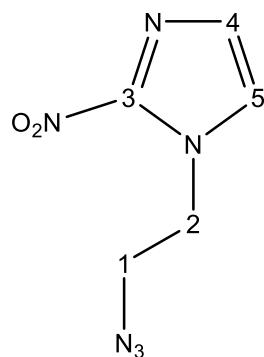


**Espectro 38:** Espectro de IV do intermediário (10).

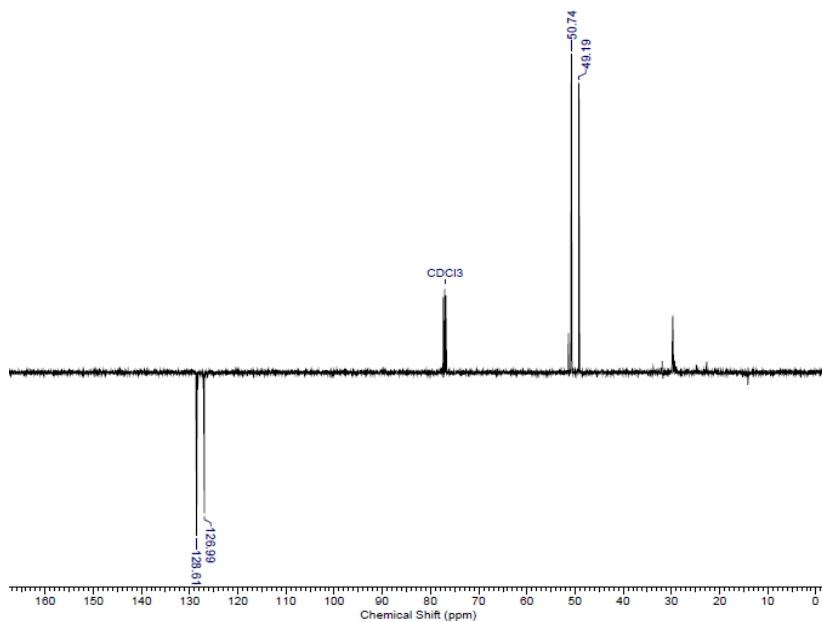
Dados de infravermelho:

$\nu$ C-H - 3029 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu$ N=N=N - 2127 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação -N=N=N);  
 $\nu$ N-O - 1525 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\delta$ C-H - 1461 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>);  
 $\nu$ N-O - 1329 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\nu$ C-N - 1259 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta$ C-H - 742 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

### Intermediário (12)



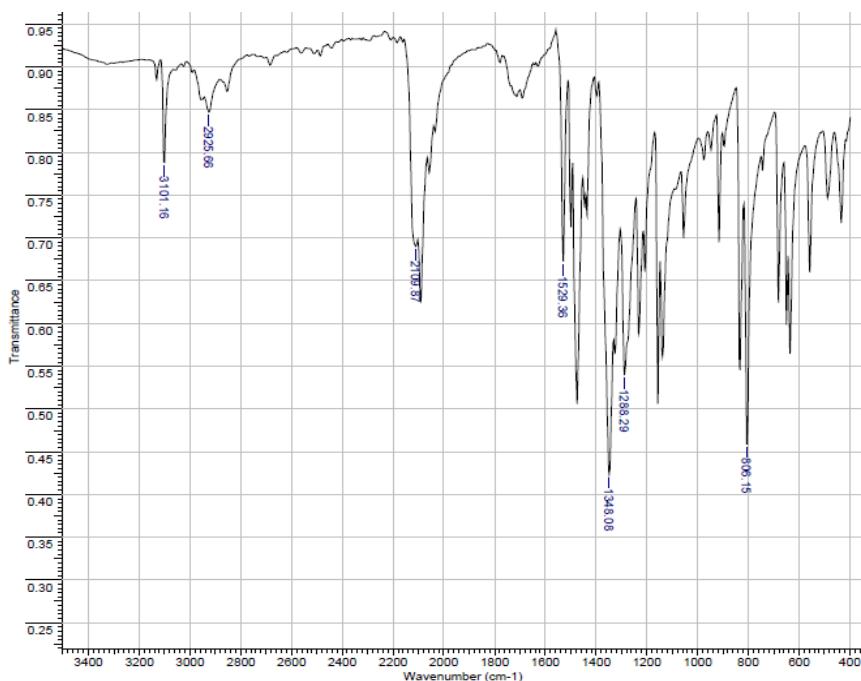
**Espectro 39:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do intermediário (12).



**Espectro 40:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (12).

**Tabela 11a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o intermediário (12).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	3,82 ( $t$ ; 2H )	49,10 (CH <sub>2</sub> )
2	4,58 ( $t$ ; 2H )	50,74 (CH <sub>2</sub> )
3	---	---
4	7,20 ( $s$ ; 1H )	128,61 (CH)
5	7,20 ( $s$ ; 1H )	126,99 (CH)

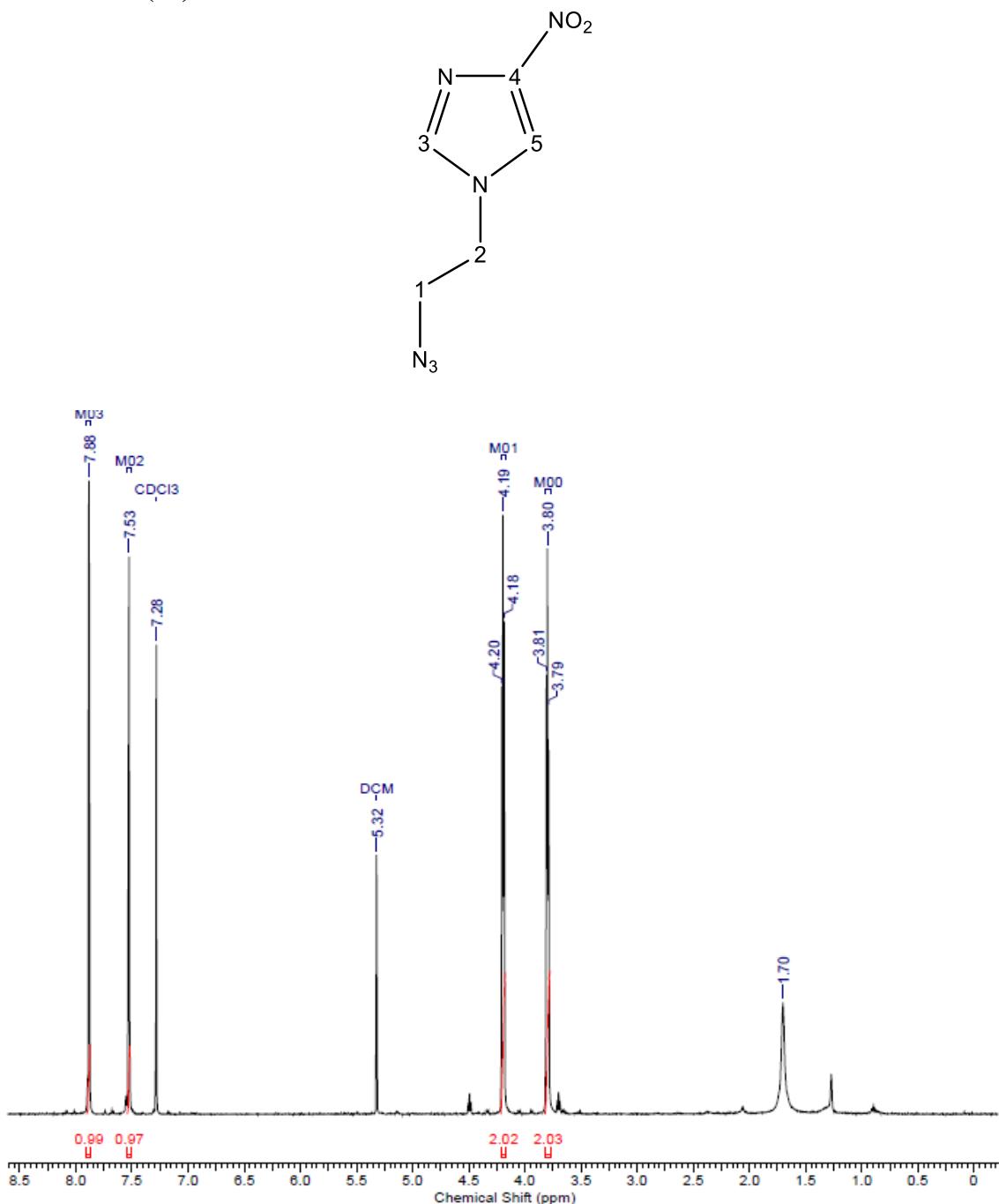


**Espectro 41:** Espectro de IV do intermediário (12).

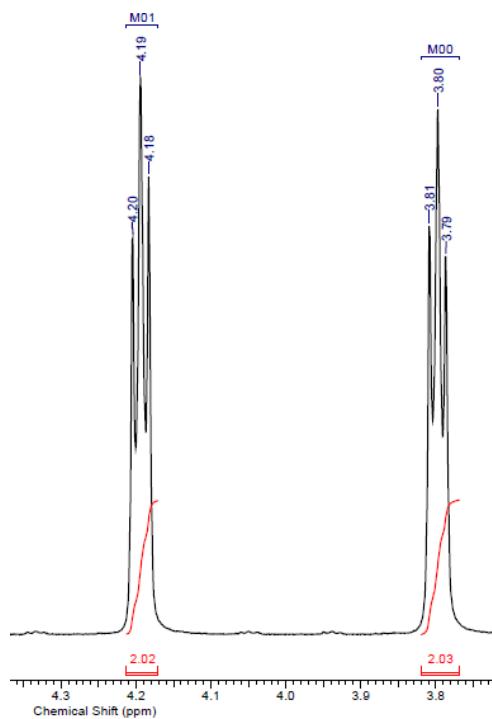
Dados de infravermelho:

$\nu$ C-H - 3101 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu$ C-H - 2925 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);  
 $\nu$ N=N=N - 2109 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação -N=N=N);  
 $\nu$ N-O - 1529 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\nu$ N-O - 1348 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\nu$ C-N - 1288 cm<sup>-1</sup> (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta$ C-H - 806 cm<sup>-1</sup> (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

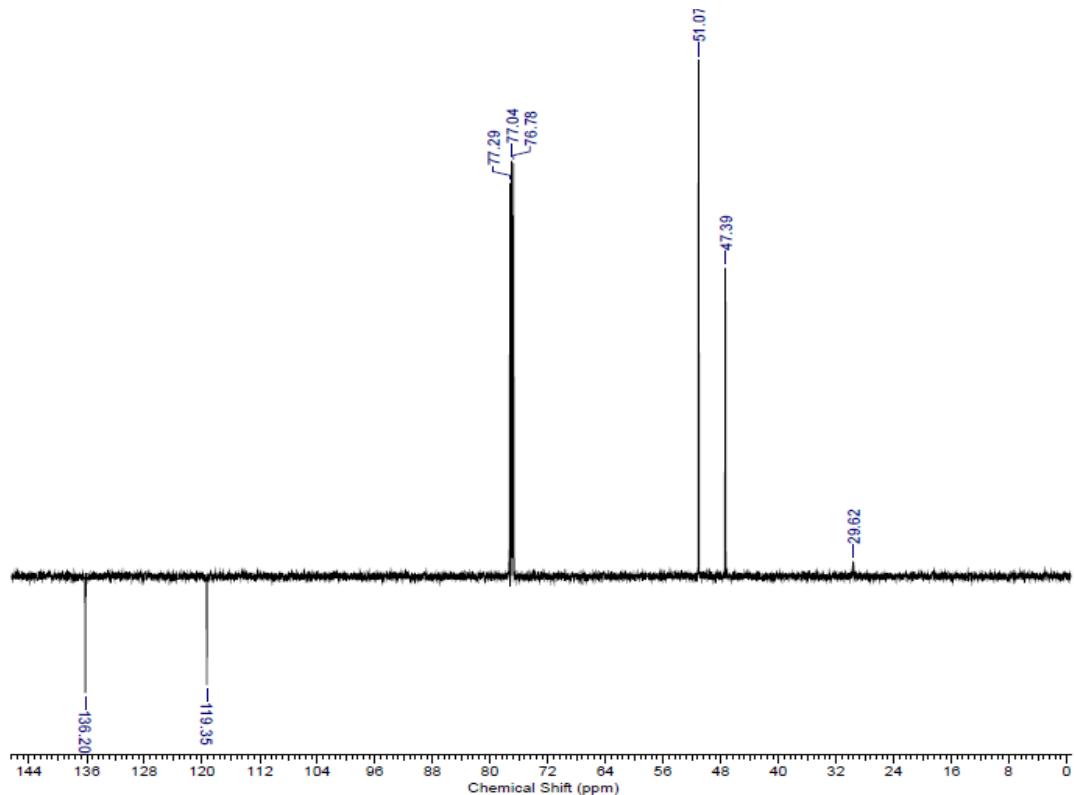
### Intermediário (14)



**Espectro 42:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do intermediário (14).



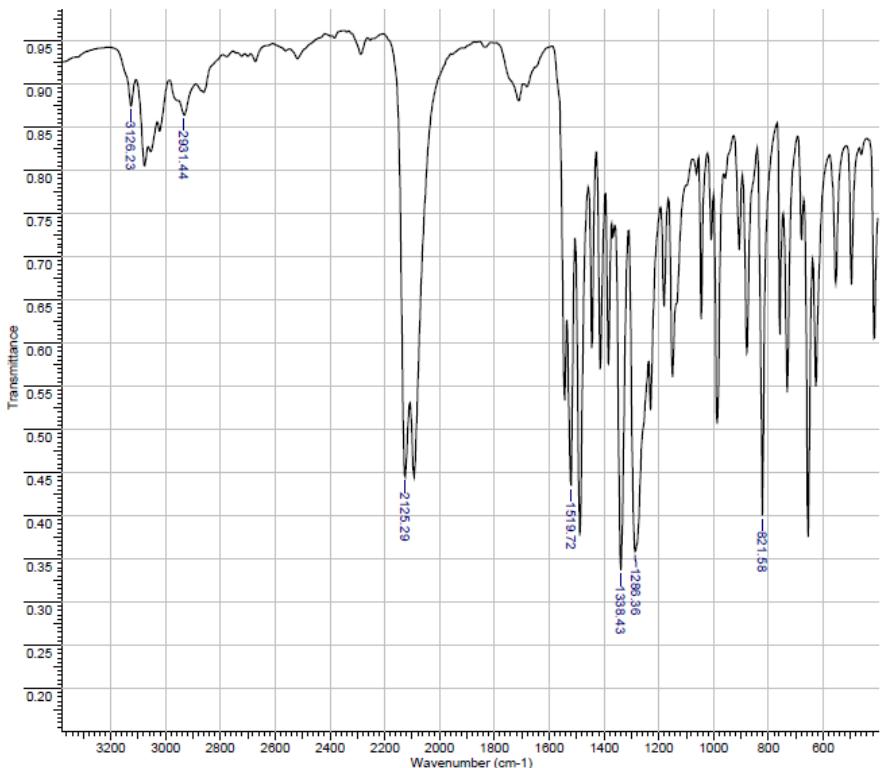
**Espectro 43:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (14): região entre  $\delta$  3,7 e 4,3 ppm.



**Espectro 44:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do intermediário (14).

**Tabela 12a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o intermediário (14).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	3,80 ( $t$ ; 2H )	47,39 (CH <sub>2</sub> )
2	4,19 ( $t$ ; 2H )	51,07 (CH <sub>2</sub> )
3	7,88 ( s ; 1H )	136,20 (CH)
4	---	---
5	7,53 ( s ; 1H )	119,35 (CH)

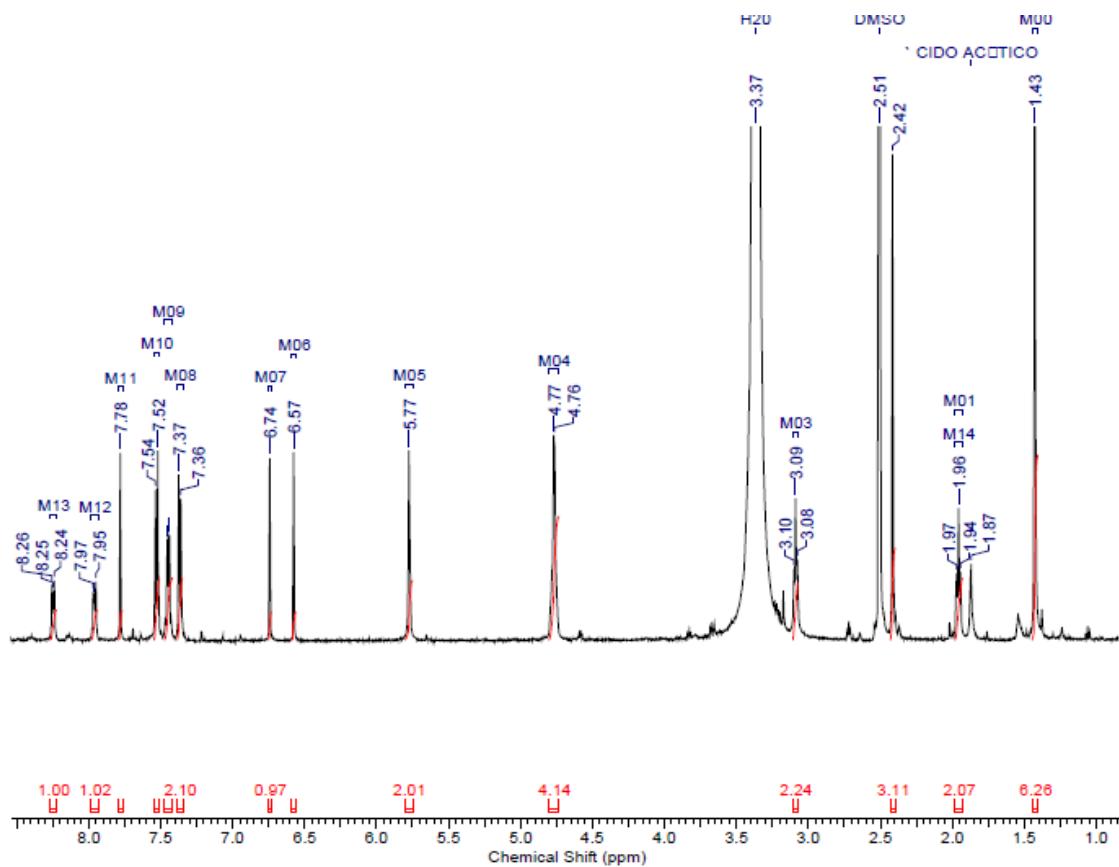
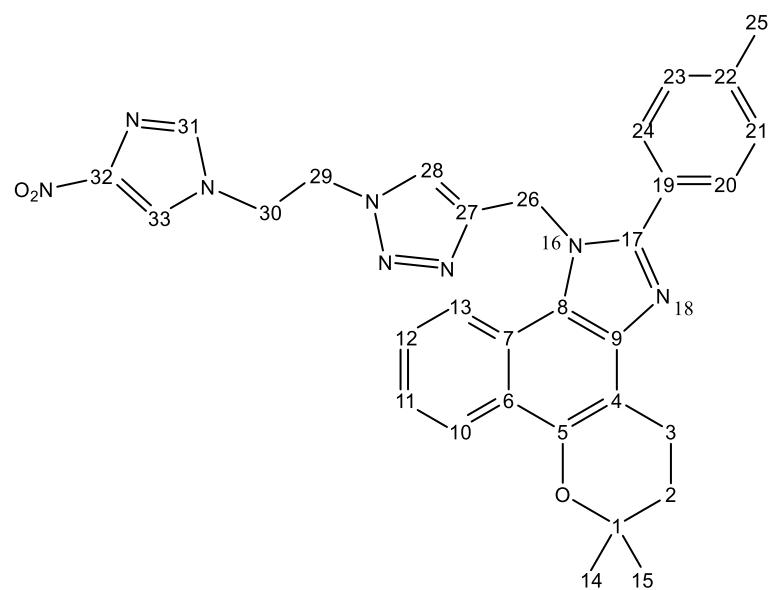


**Espectro 45:** Espectro de IV do intermediário (14).

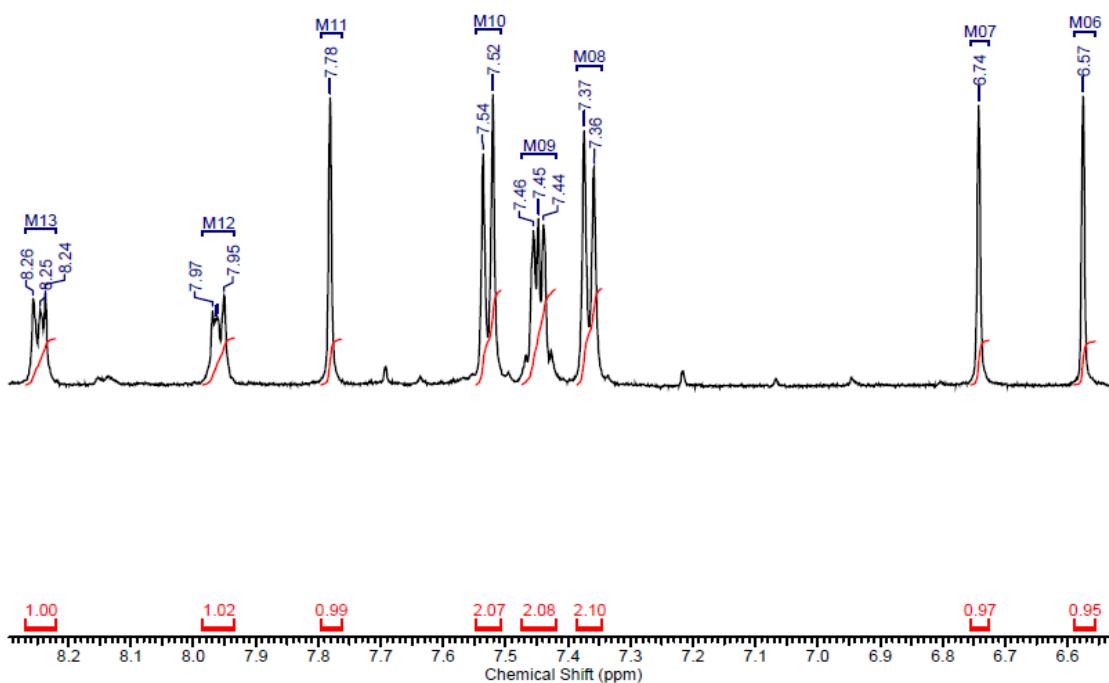
Dados de infravermelho:

$\nu\text{C-H}$  - 3126  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu\text{C-H}$  - 2931  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);  
 $\nu\text{N=N=N}$  - 2125  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação -N=N=N);  
 $\nu\text{N-O}$  - 1519  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\nu\text{N-O}$  - 1338  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\nu\text{C-N}$  - 1286  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta\text{C-H}$  - 821  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

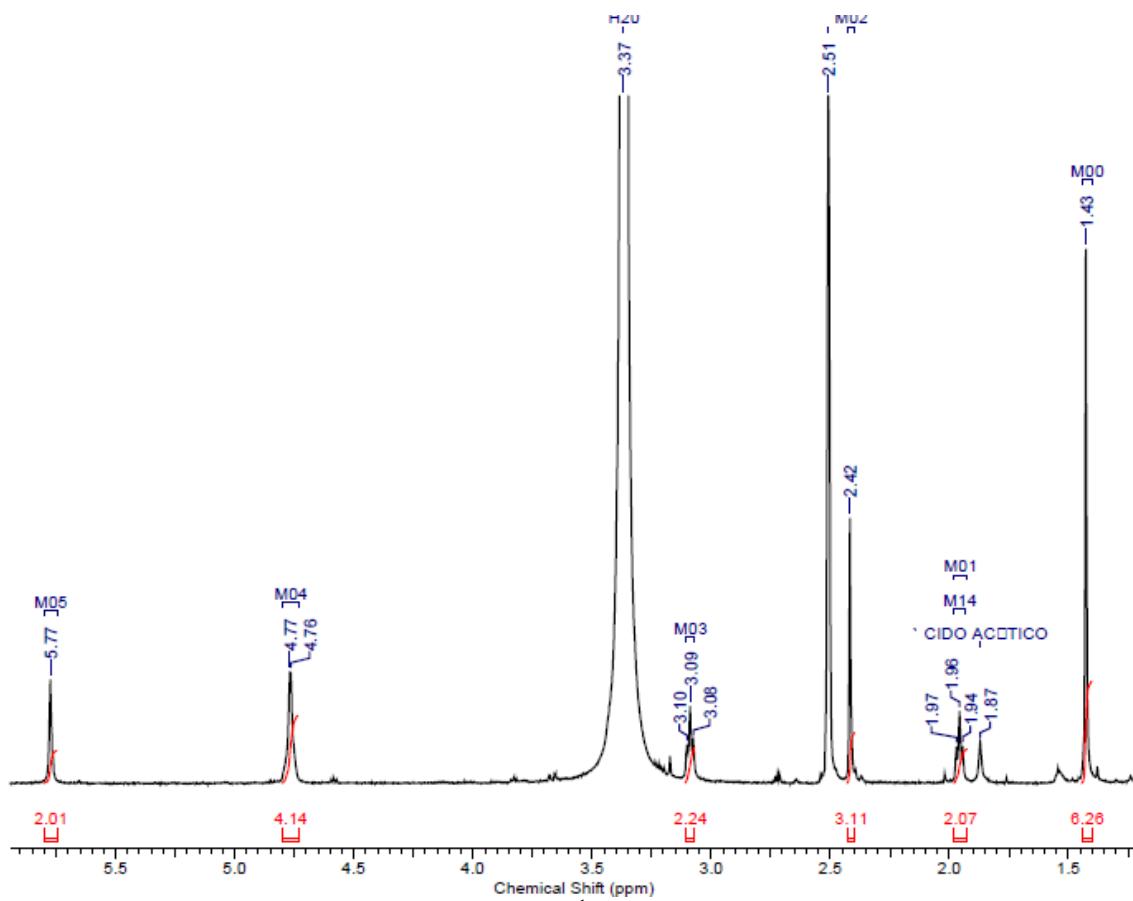
## Híbrido 5



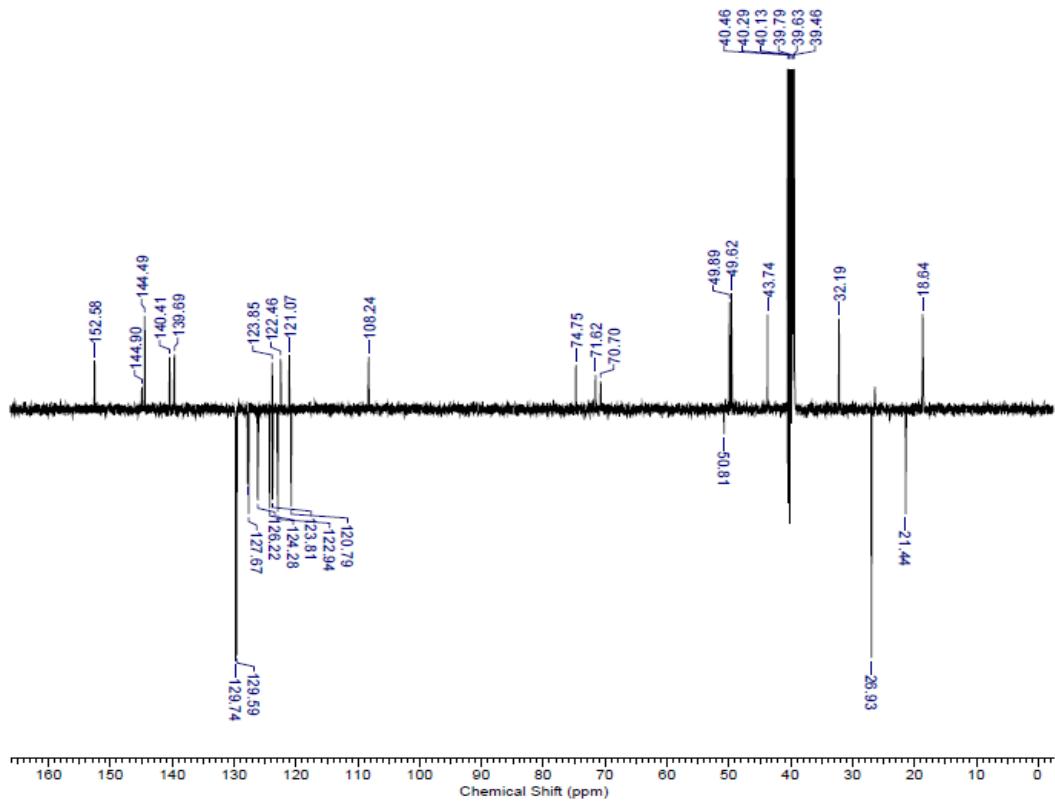
**Espectro 46:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do híbrido 5.



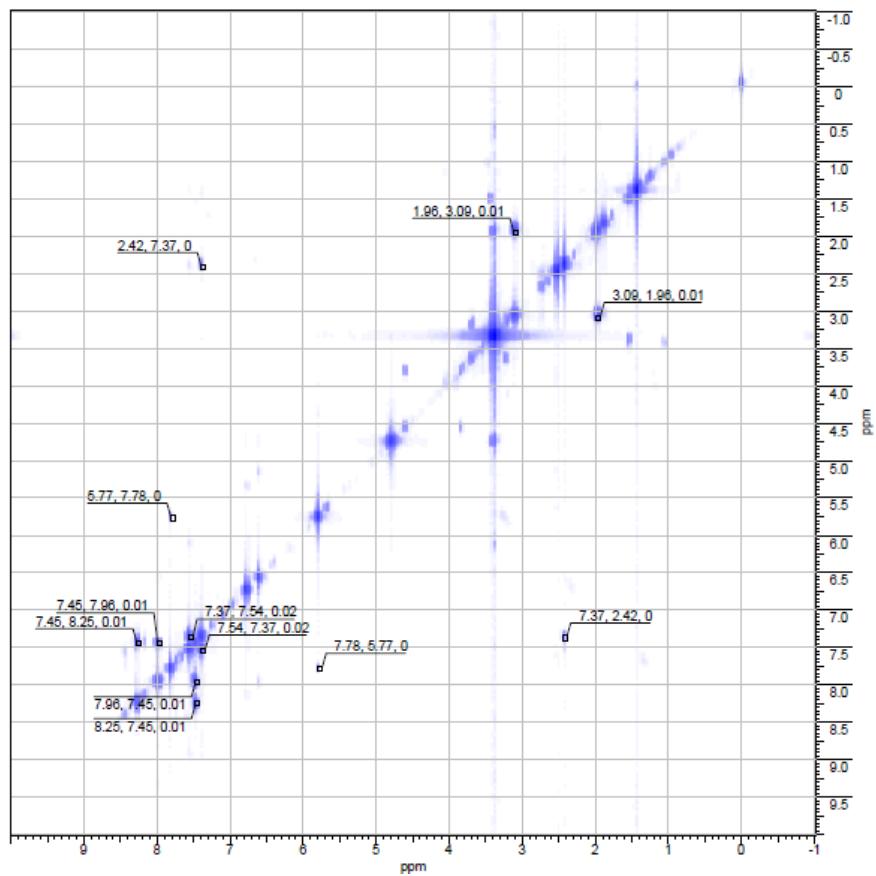
**Espectro 47:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do híbrido 5: região entre  $\delta$  6,5 e 8,3 ppm.



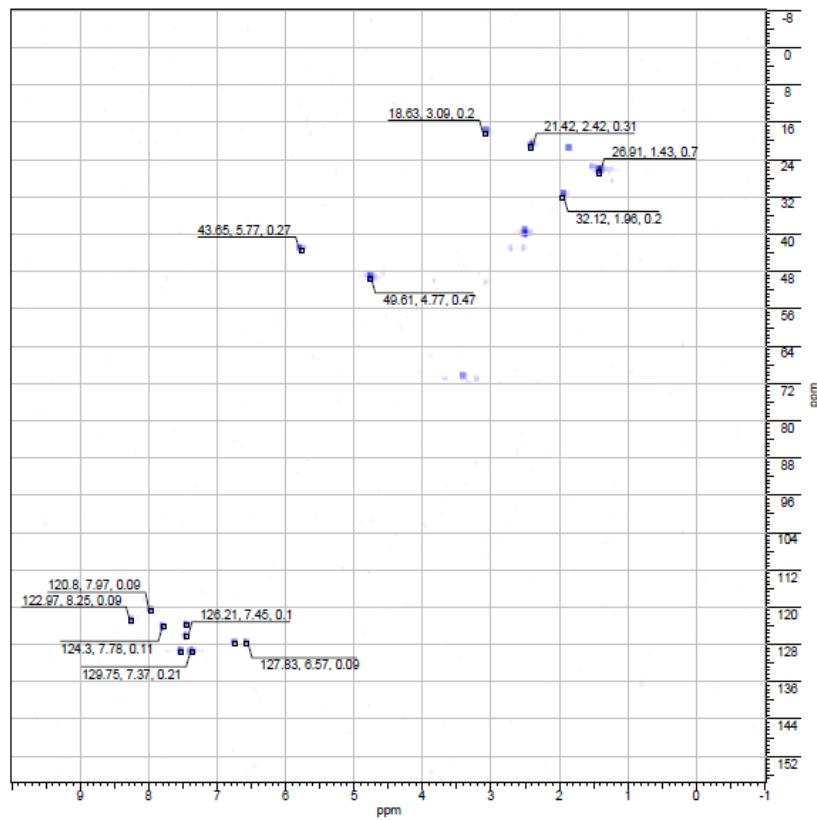
**Espectro 48:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do híbrido 5: região entre  $\delta$  1,4 e 6,0 ppm.



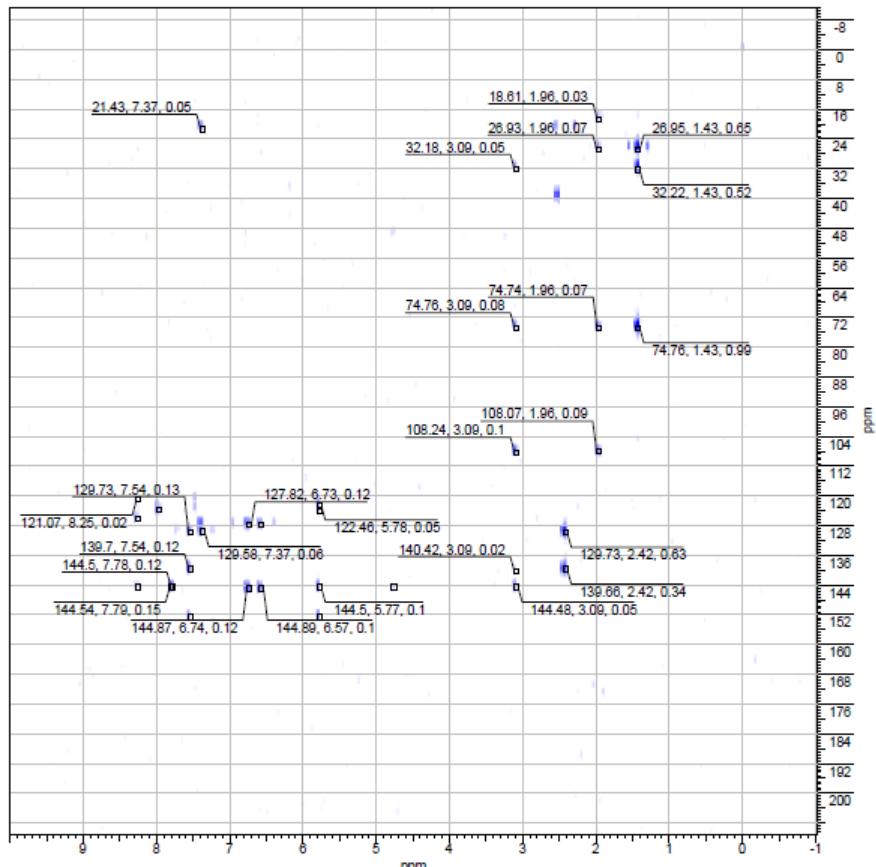
**Espectro 49:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz, DMSO-*d*6) do híbrido 5.



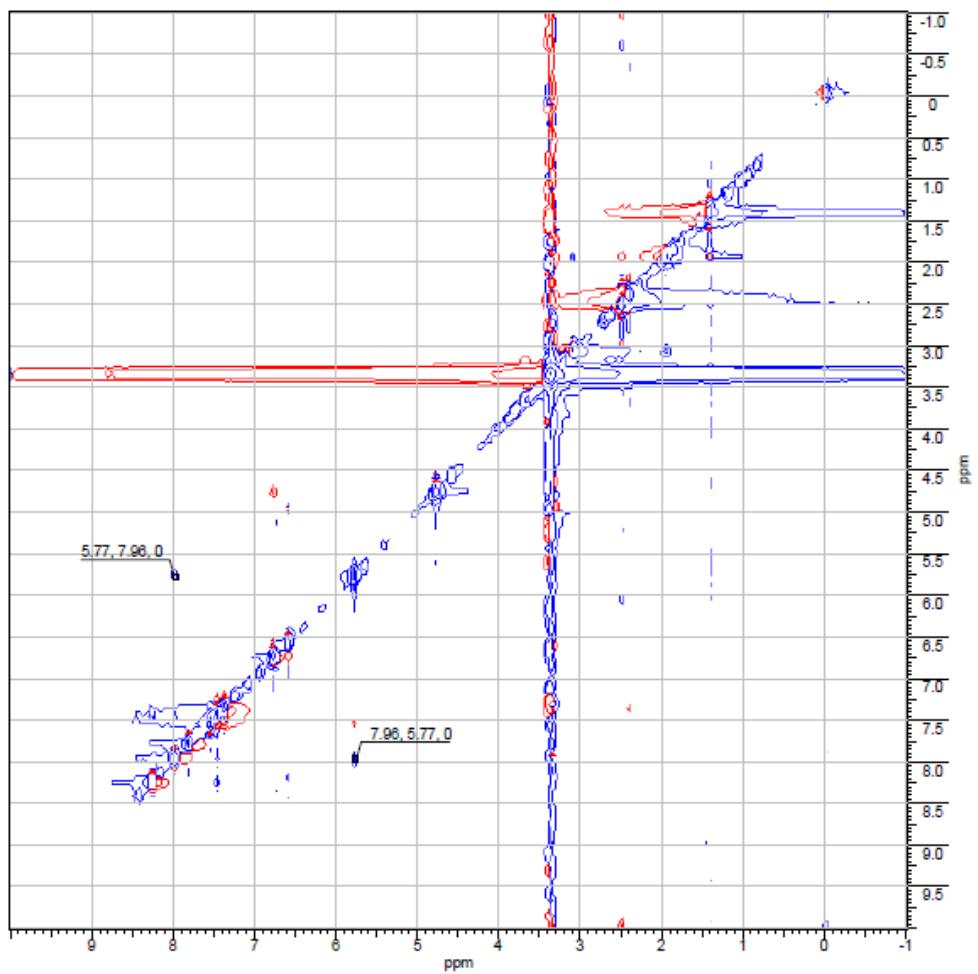
**Espectro 50:** Espectro de  $^1\text{H}$ -HOMOCOSY (500 MHz, DMSO-*d*6) do híbrido 5.



**Espectro 51:** HSQC (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do híbrido 5.



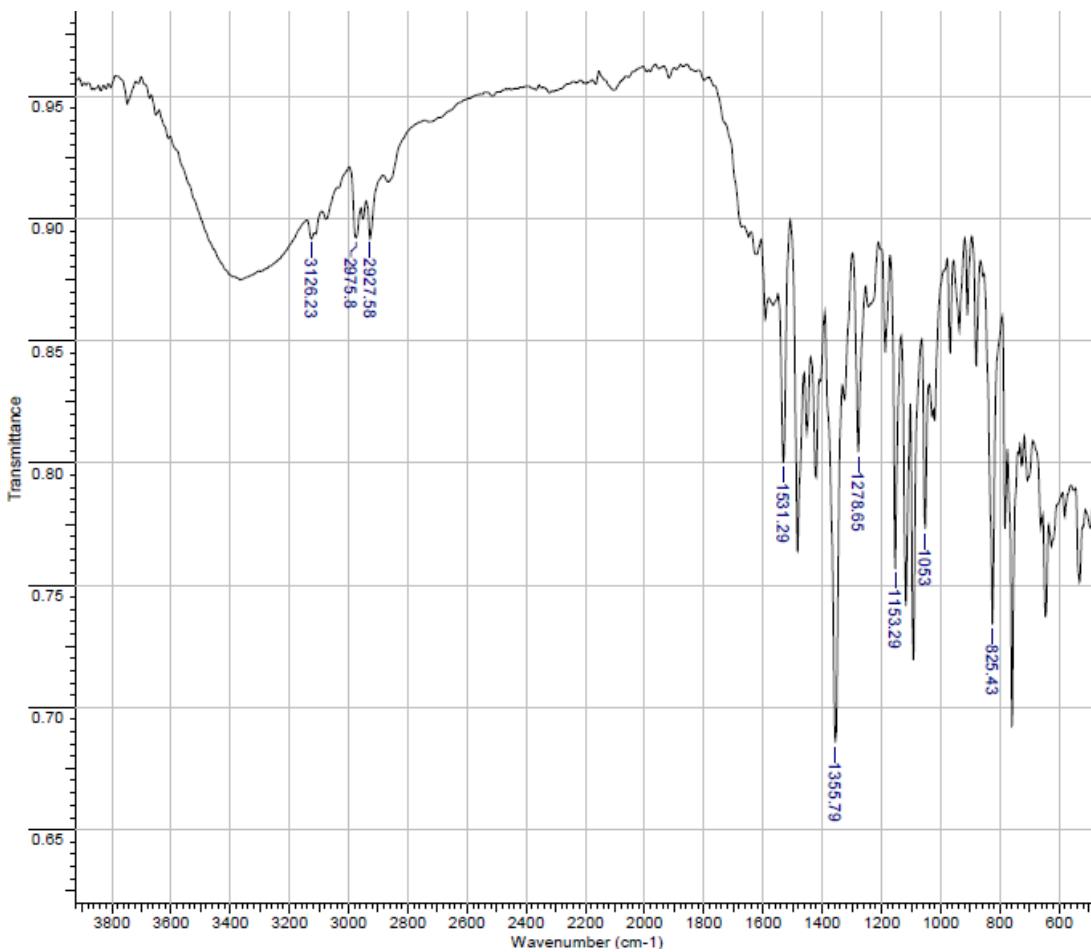
**Espectro 52:** HMBC (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do híbrido 5.



**Espectro 53:** NOESY (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) do híbrido 5.

**Tabela 13a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , 1H-COSY, HSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ), HMBC ( $^2\text{J}_{\text{CH}}$ ;  $^3\text{J}_{\text{CH}}$ ) e NOESY para o híbrido 5.

C	$\delta\text{H}$	$\delta\text{C}$	$^1\text{H}$ - COSY	HSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ )	HMBC		NOESY
					$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
1		74,75(C)			H2, H14 e H15		H3
2	1,96(t; 6,6; 2H)	32,19(CH <sub>2</sub> )	H3	X	H3		H14 e H15
3	3,09(t; 6,6; 2H)	18,64(CH <sub>2</sub> )	H2	X	H2		
4		108,24(C)				H3	
5		144,49(C)					H10, H3
6							
7							
8							
9		140,41(C)					H3
10	8,25(m; 1H)	122,94(CH)	H11	X			
11	7,45(t; 2H)	126,22(CH)	H10	X	H10		
12	7,45(t; 2H)	123,81(CH)	H13	X	H13		
13	7,96(m; 1H)	120,79(CH)	H12	X			H26
14							
e	1,43(s; 6H)	26,93(CH <sub>3</sub> )		X			H2
15							
17		152,58(C)				H20 e H24, H26	
19							
20							
e	7,54(d; 7,9; 2H)	129,59(CH)	H21 e H23	X	H21 e H23		
24							
21			H20 e				
e	7,37(d; 7,9; 2H)	129,74(CH)	H24, H25	X	H20 e H24	H25	
23							
22							
25	2,42(s; 3H)	21,44(CH <sub>3</sub> )	H23	X		H21 e H23	
26	5,77(s; 2H)	43,74(CH <sub>2</sub> )	H28	X			H13
27		144,49(CH)			H28, H26		
28	7,78(s; 1H)	124,28(CH)	H26	X		H26	
29							
e	4,77(d; 4H)	49,62(CH <sub>2</sub> )		X			
30							
31	6,74(s; 1H)	127,67(CH)		X		H33	
32		144,90(C)			H33	H31	
33	6,57(s; 1H)	127,86(CH)		X		H31	

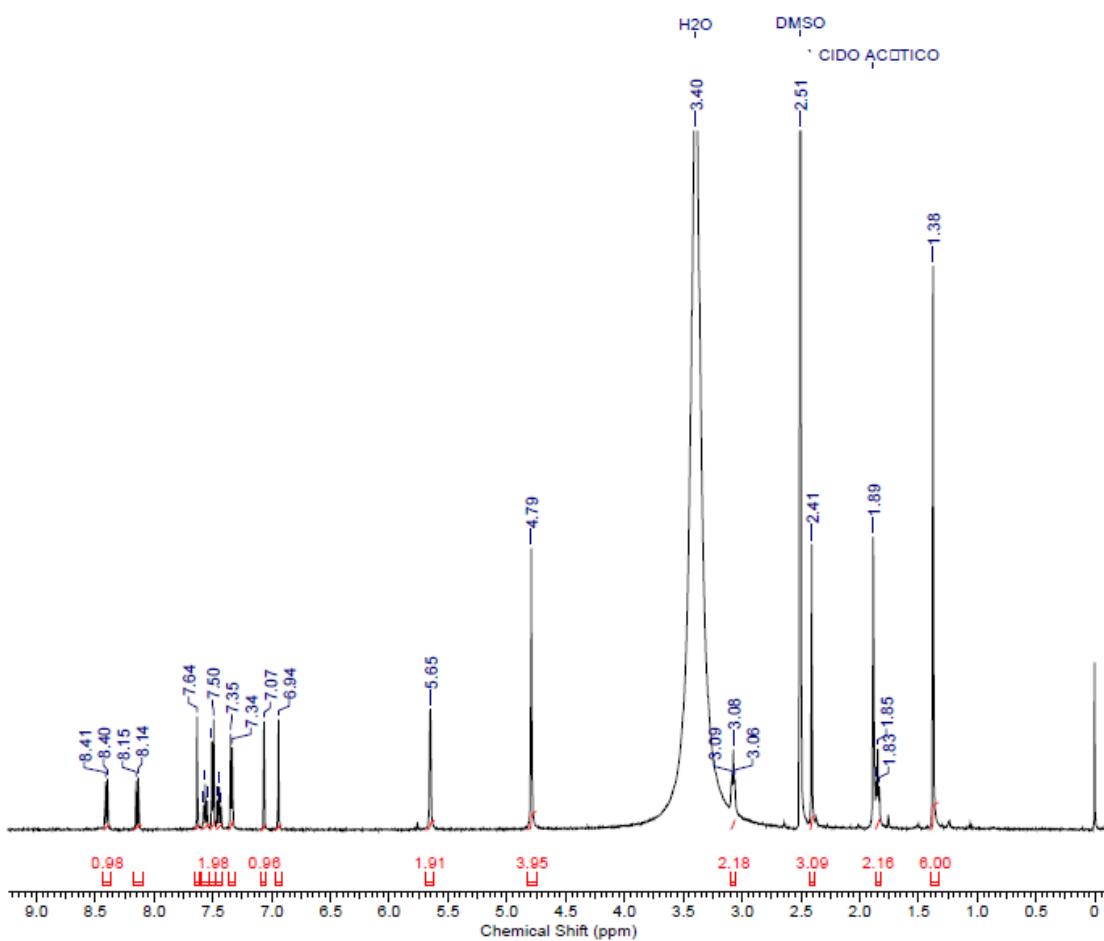
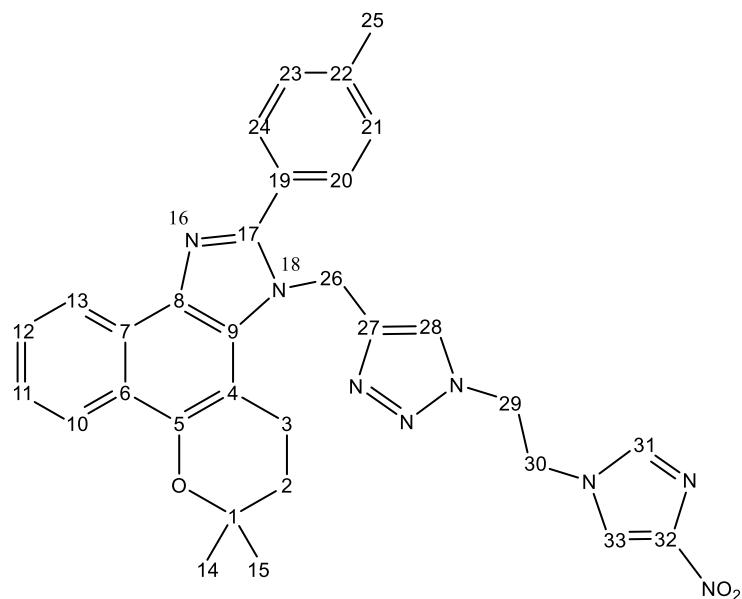


**Espectro 54:** Espectro de IV do híbrido 5.

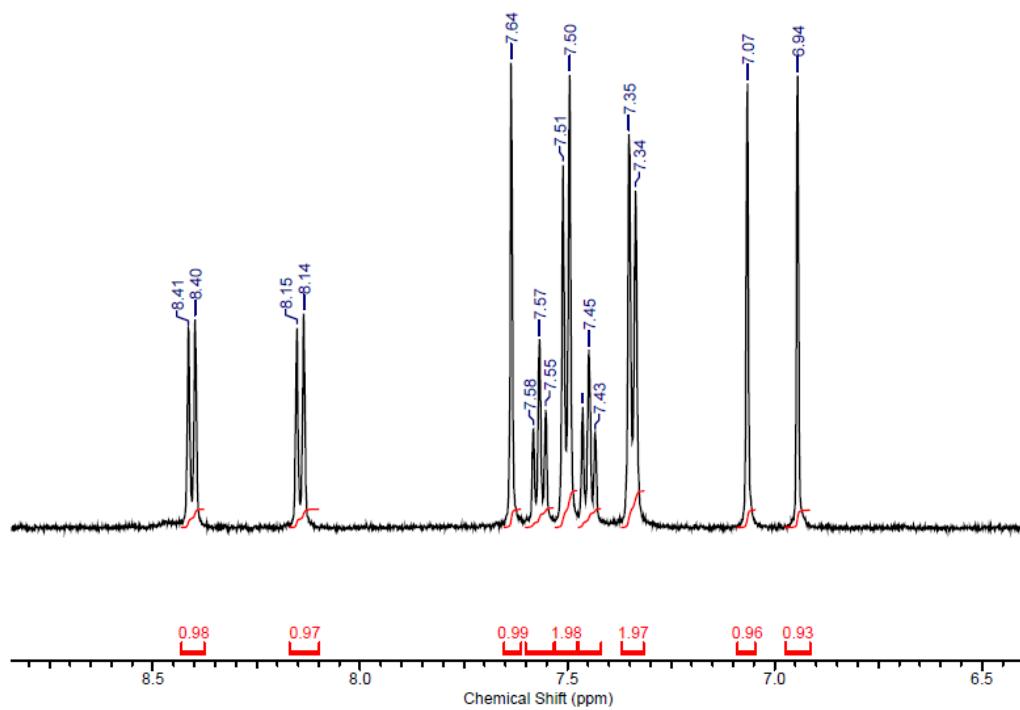
Dados do infravermelho:

$\nu$ C-H - 3126  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 $\nu$ C-H - 2975  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H);  
 $\nu$ C-H - 2927  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H);  
 $\nu$ N-O - 1531  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\nu$ N-O - 1355  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\nu$ C-N - 1278  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\nu$ C-O-C - 1153  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-O-C);  
 $\nu$ C-O-C - 1053  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-O-C);  
 $\delta$ C-H - 825  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

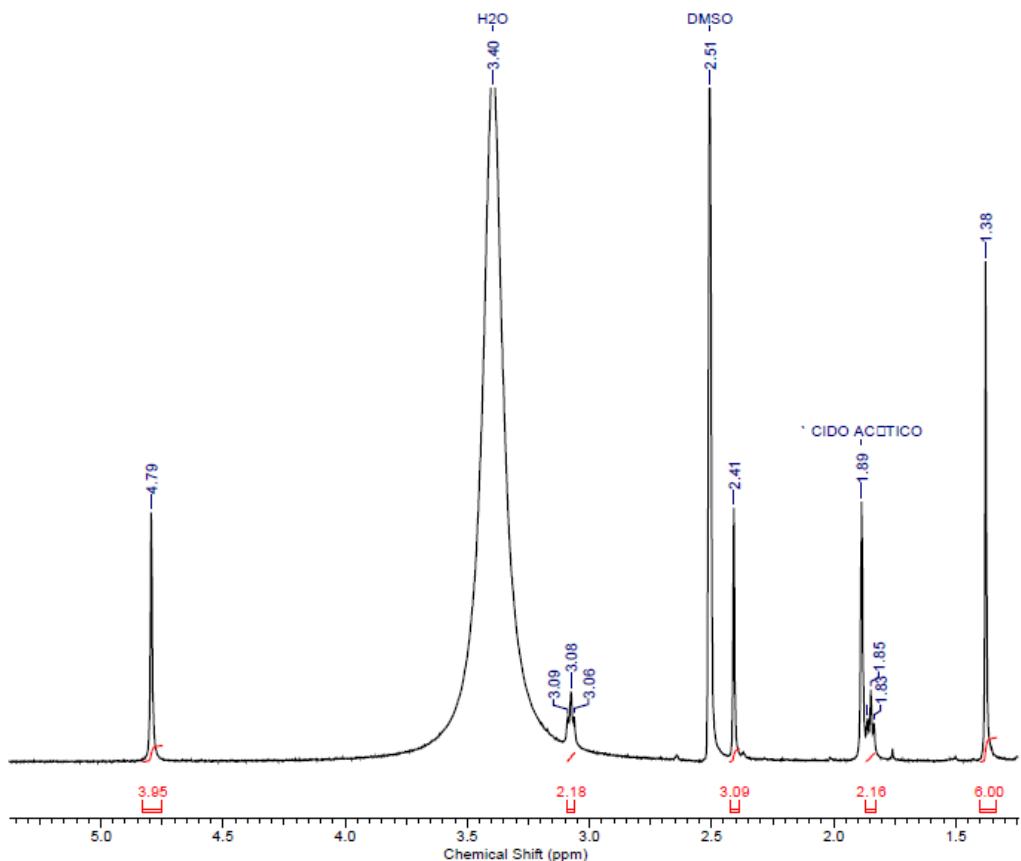
## Híbrido 6



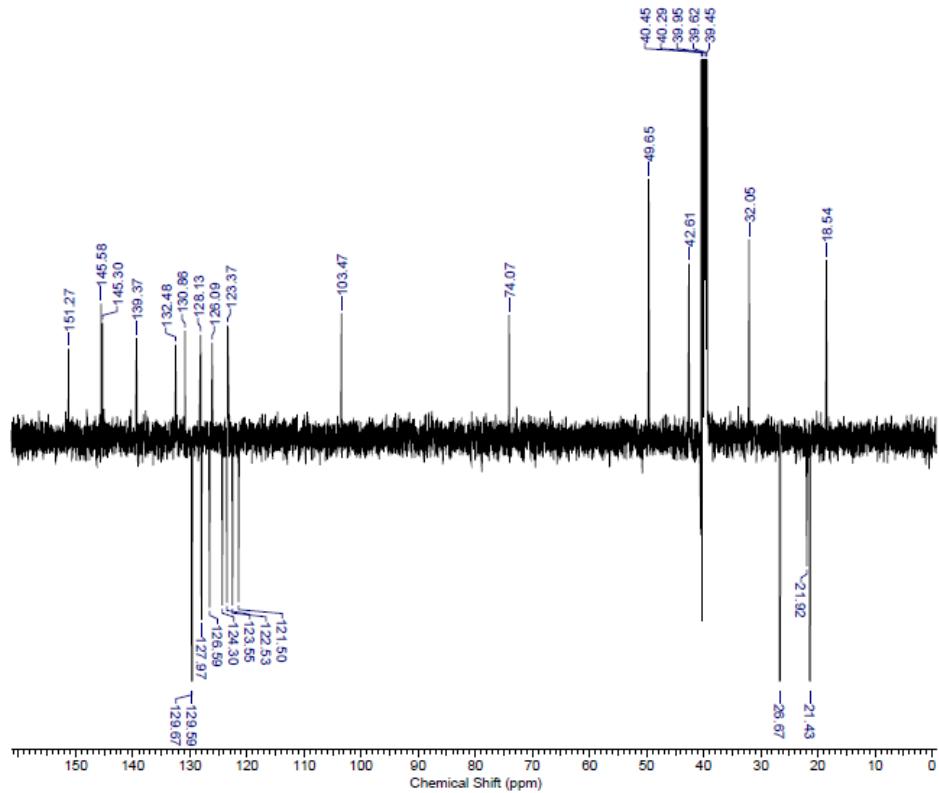
**Espectro 55:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO-*d*6) do híbrido 6.



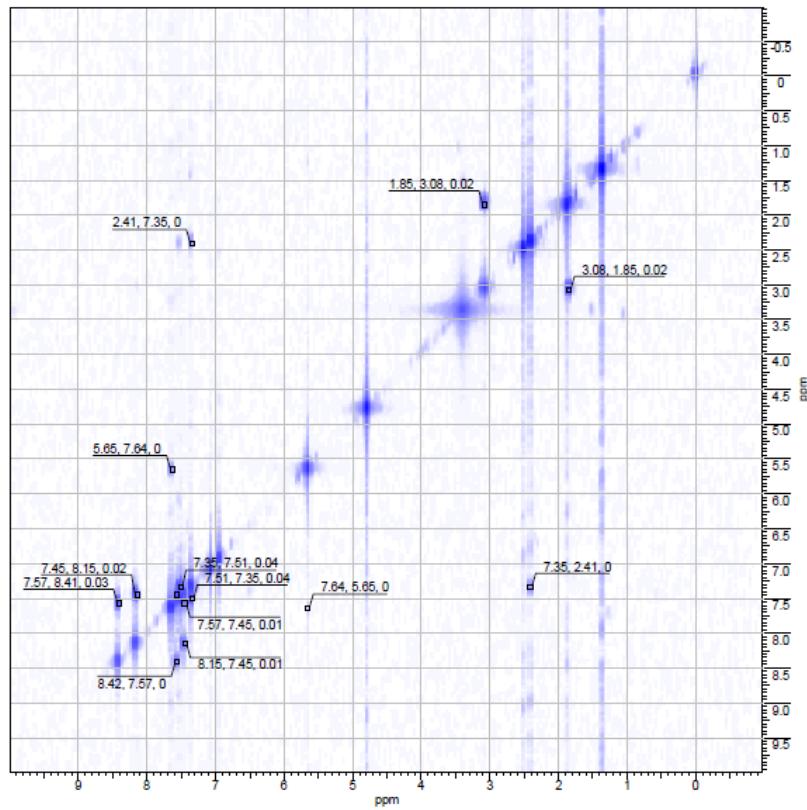
**Espectro 56:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do híbrido 6: região entre  $\delta$  6,5 e 8,5 ppm.



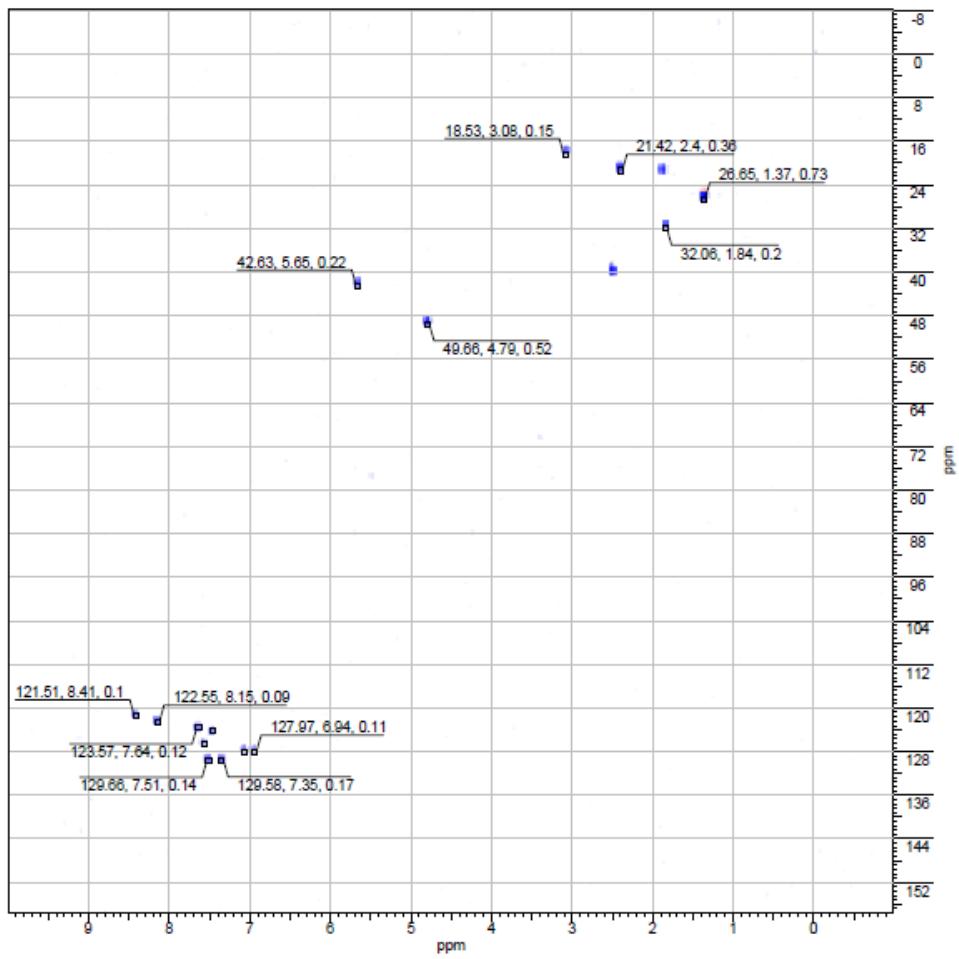
**Espectro 57:** Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do híbrido 6: região entre  $\delta$  1,38 e 5,0 ppm.



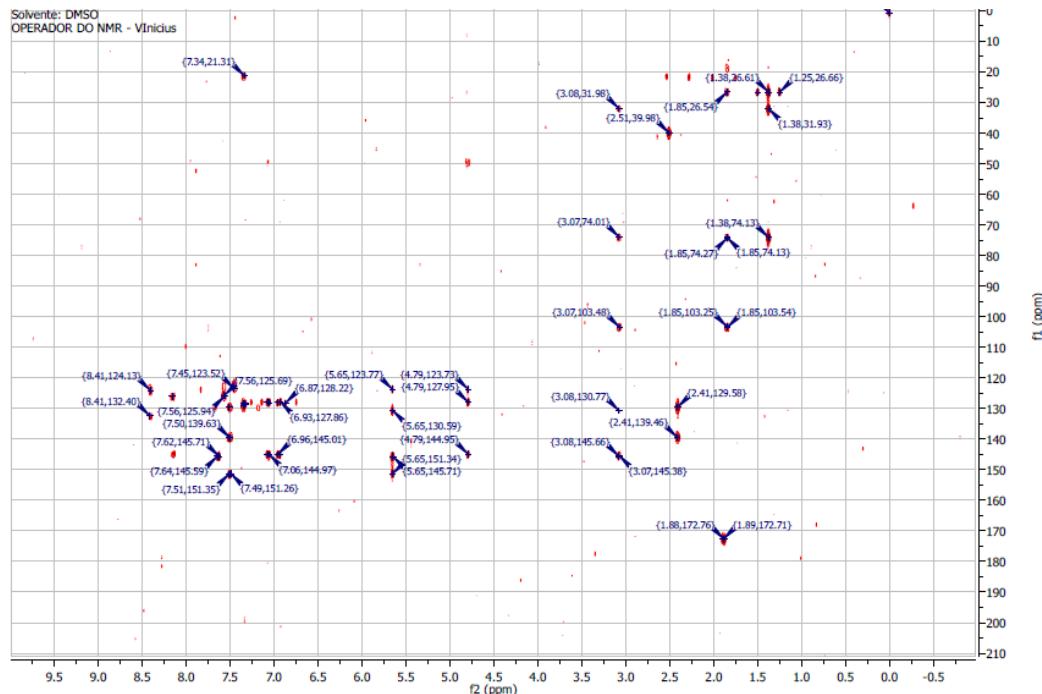
**Espectro 58:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (125 MHz, DMSO-*d*6) do híbrido 6.



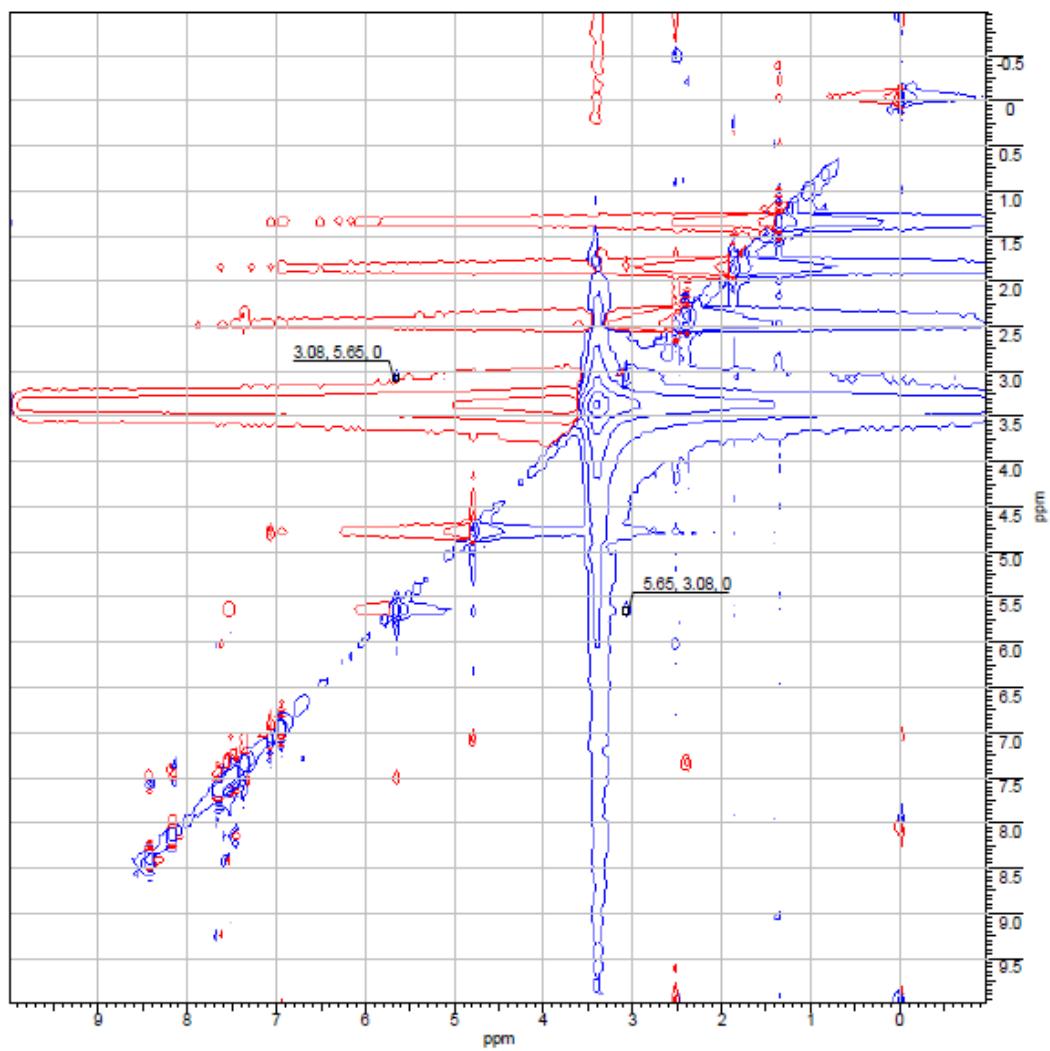
**Espectro 59:** Espectro de  $^1\text{H}$ -HOMOCOSY (500 MHz, DMSO-*d*6) do híbrido 6.



**Espectro 60:** HSQC (500 MHz, DMSO-*d*6) do híbrido 6.



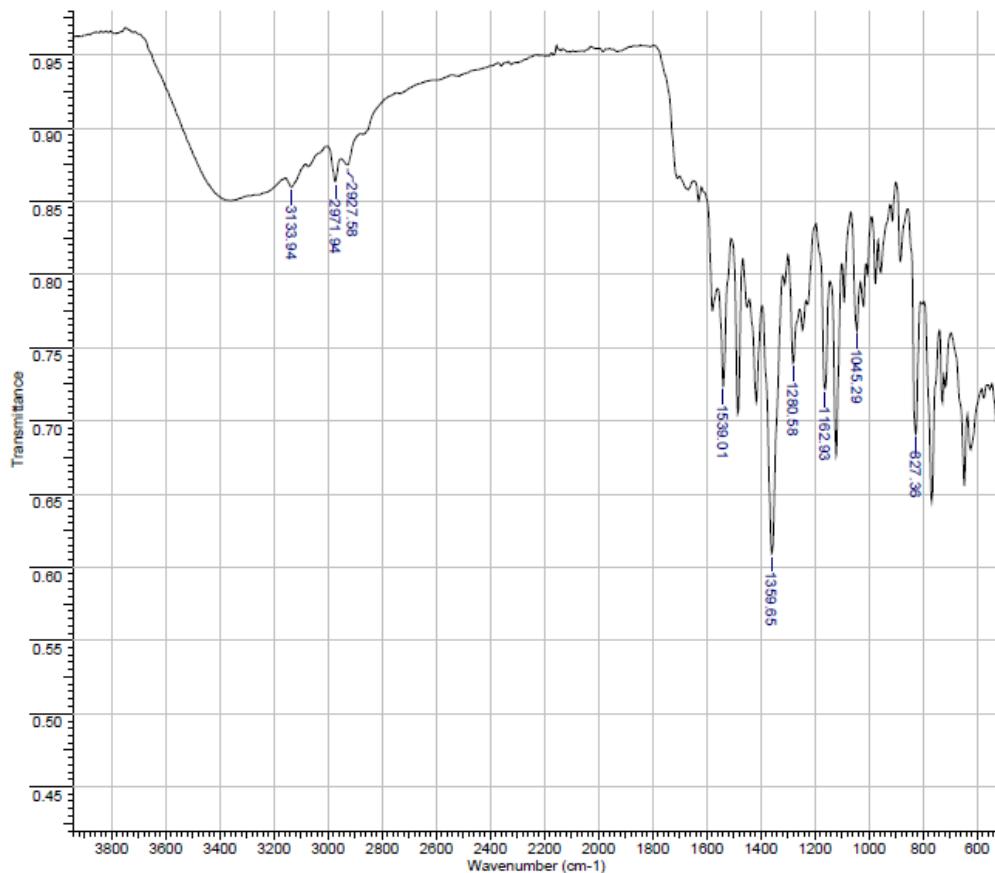
**Espectro 61:** HMBC (500 MHz, DMSO-*d*6) do híbrido 6.



**Espectro 62:** NOESY (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) do híbrido 6.

**Tabela 14a:** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY, HSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ ), HMBC ( $^2\text{J}_{\text{CH}}$ ;  $^3\text{J}_{\text{CH}}$ ) e NOESY para o híbrido 6.

C	$\delta\text{H}$	$\delta\text{C}$	$^1\text{H}$ -COSY	HSQC ( $^1\text{J}_{\text{CH}}$ )	HMBC		NOESY
					$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$	
1		74,07(C)			H14 e H15, H2		H3
2	1,85(t; 2H)	32,05(CH <sub>2</sub> )	H3	X		H3	
3	3,08(t; 2H)	18,54(CH <sub>2</sub> )	H2	X		H2	
4		103,47(C)					
5		145,58(C)					H3
6							
7							
8							
9		130,86(C)					H26
10	8,41(d; 8,2; 1H)	121,50(CH)	H11				
11	7,57(t; 1H)	126,59(CH)	H10, H12				
12	7,45(t; 1H)	124,30(CH)	H11, H13				
13	8,15(d; 8,2; 1H)	122,53(CH)	H12				
14							
e	1,38(s; 6H)	26,67(CH <sub>3</sub> )		X			H2
15							
17		151,27(C)					H26, H20 e H24 H24
19							
20							
e	7,51(d; 7,9; 2H)	129,67(CH)	H21 e H23	X		H21 e H23	
24							
21							
e	7,37(d; 7,9; 2H)	129,59(CH)	H25, H20 e H24	X		H20 e H24	H25
23							
22							
25	2,41(s; 3H)	21,43(CH <sub>3</sub> )	H21 e H23	X			H21 e H23
26	5,65(s; 2H)	42,61(CH <sub>2</sub> )	H28	X			
27		145,58(C)				H28	
28	7,64(s; 1H)	123,55(CH)	H26	X			H26, H29
29							
e	4,79(s; 4H)	49,65(CH <sub>2</sub> )		X			H31, H33, H28
30							
31	7,07(s; 1H)	127,97(CH)		X			
32		145,30(C)					
33	6,94(s; 1H)	127,97(CH)		X			H31



**Espectro 63:** Espectro de IV do híbrido 6.

Dados do infravermelho:

vC-H - 3133  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);  
 vC-H - 2971  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H);  
 vC-H - 2927  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H);  
 vN-O - 1539  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 vN-O - 1359  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 vC-N - 1280  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);  
 vC-O-C - 1162  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-O-C);  
 vC-O-C - 1045  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-O-C);  
 δC-H - 827  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).