UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Síntese de análogos de benznidazol por “click chemistry” e
avaliação da atividade antiparasitária**

Oswaldo Aparecido Galo

Ribeirão Preto

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Síntese de análogos de benznidazol por “click chemistry” e
avaliação da atividade antiparasitária**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do Título de
Mestre em Ciências.

Área de concentração: Produtos Naturais
e Sintéticos.

Orientado: Oswaldo Aparecido Galo

Orientadora: Ivone Carvalho

**Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 15/12/2012. A versão original
encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão
Preto/USP.**

Ribeirão Preto

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA DESDE QUE CITADA A FONTE.

Oswaldo Aparecido Galo.

Síntese de análogos de benznidazol por “click chemistry” e avaliação da atividade antiparasitária. Ribeirão Preto, 2012.

p.203 : il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Carvalho.

1. Doença de Chagas
2. *Trypanosoma cruzi*
3. Bioisosterismo
4. “Click chemistry”
5. Síntese orgânica

FOLHA DE APROVAÇÃO

Oswaldo Aparecido Galo

Síntese de análogos de benznidazol por “click chemistry” e avaliação da atividade antiparasitária.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientado: Oswaldo Aparecido Galo

Orientadora: Ivone Carvalho

Aprovado em ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura _____

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais **Oswaldo** e **Roseli** pela minha criação e sustento até os dias de hoje. Agradeço pelo amor e carinho infinitamente dedicados mesmo durante tempos de dificuldade. Saibam meu objetivo sempre foi ser um filho digno e merecedor de tudo o que me proporcionaram.*

*À minha eterna namorada **Andréia**, ou melhor, **Déia**, pelo amor e paciência durante todos esses anos ao meu lado. Por me tornar um homem mais forte e por muitas vezes me guiar em minhas importantes escolhas. Espero passar anos felizes ao seu lado.*

*Aos meus irmãos **Samara** e **Guilherme** pela alegria que trouxeram aos meus pais e também a mim. Que seus passos sejam guiados por Deus e que tenham um futuro brilhante.*

*Aos meus “filhos” **Luan** e **Kauê** pelos momentos alegres e por todas as brincadeiras. Que possamos estar juntos por muito tempo.*

*Ao meu filho **Arthur**, que apesar de apenas cinco meses e alguns dias de existência, ainda no útero da mãe já tem muito do meu amor e carinho.
Seja bem-vindo. ☺*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado à vida, por Seu amor e por estar ao meu lado em todos os momentos.

À minha orientadora Ivone Carvalho pela oportunidade de realizar minha pós-graduação. Pelos conselhos durante o projeto e pela paciência nos momentos que foram necessários.

Ao meu amigo Peterson de Andrade pela amizade e ajuda durante a realização desse projeto.

Aos técnicos Luís Otávio Zamoner, Marcelo Rodrigues de Carvalho, Vinícius Palaretti, José Carlos Tomaz e à técnica Cláudia Castania pela ajuda oferecida a todo o momento.

Aos meus amigos do laboratório de Química Farmacêutica: Ana, Carol, Prof. Dr. Daniel, Evandro, Flávio, Getúlio, Jonathan, Milena, Marcelo, Pedro, Paulo, Ricardo, Susismeire, Talita, Valquíria e Vanessa por todos os momentos de descontração e algumas poucas frustrações durante esse tempo.

Aos meus familiares por todo o apoio dedicado ao longo desses anos.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização desse trabalho.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto pela minha formação como pós-graduando.

À FAPESP pelo apoio financeiro concedido.

“A ciência sem religião é coxa, a religião sem a ciência é cega.”

Albert Einstein.

“Porque Deus amou o mundo de tal maneira que deu seu Filho unigênito, para que todo o que nele crê não pereça, mas tenha a vida eterna.”

João, 3:16.

RESUMO

GALO, O. A. **Síntese de análogos de benznidazol por “click chemistry” e avaliação da atividade antiparasitária.** 2012. 209f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A tripanossomíase sul-americana, também conhecida como Doença de Chagas é uma enfermidade endêmica da América Latina.

A doença é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, cuja transmissão em seres humanos e outros mamíferos ocorrem, principalmente, através das fezes do inseto “barbeiro” (*triatoma infestans*) infectado.

Desde a descoberta já foram realizadas inúmeras tentativas de tratamento sem obter quimioterapia eficaz. Hoje o tratamento é realizado pelo uso do fármaco nitro-heterocíclico benznidazol. Porém esse composto só é utilizado na fase aguda da doença e tem sua eficácia variada de acordo com a área geográfica, provavelmente como consequência de variação de cepas do parasita e apresenta graves efeitos colaterais.

Uma ferramenta interessante em Química Medicinal é o uso do bioisosterismo para a síntese de moléculas análogas, que por possuírem propriedades biológicas relacionáveis geralmente atuam no mesmo alvo farmacológico como agonistas ou antagonistas. Por outro lado, as reações relacionadas às condensações de cicloadição 1,3 dipolar catalisadas por Cu(I), envolvendo estratégias de “click chemistry” tem como pontos positivos o fato de geralmente não formarem subprodutos, serem de fácil execução e apresentarem rendimentos elevados.

Partindo de dois compostos comerciais (benzilamina e cloreto de cloro acetila) efetuou-se a síntese de uma biblioteca de vinte e três compostos análogos ao benznidazol através de uma rota sintética curta e de fácil execução. Foram realizados ensaios de atividade tripanocida envolvendo a cepa Tulahuen de *T. cruzi*, bem como ensaios de citotoxicidade.

Palavras-chave: 1. Doença de Chagas 2. *Trypanosoma cruzi* 3. Síntese orgânica 4. “Click chemistry” 5. Bioisosterismo

ABSTRACT

GALO, O. A. **Synthesis of analogues of benznidazole by "click chemistry" and evaluation of antiparasitic activity.** 2012. 209p. Thesis (Master). Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto - University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

The South American trypanosomiasis, also known as Chagas' disease is an endemic disease in Latin America.

The disease is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, whose transmission in humans and other mammals occur primarily through the faeces of the insect "barbeiro" (*triatoma infestans*) infection.

Since the discovery already been carried out many attempts to obtain effective chemotherapy treatment. Today's treatment is accomplished through the use of the drug nitro-heterocyclic benznidazole. However this compound is only used in the acute phase of the disease and its effectiveness is varied in accordance with the geographical area, probably as a consequence of the variation of strains of the parasite and presents serious side effects.

An interesting tool in medicinal chemistry is the use of bioisosterism for the synthesis of analogous molecules, which possess biological properties relatable generally act on the same target as pharmacological agonists or antagonists. Moreover, the reactions related to condensations of 1,3 dipolar cycloaddition catalyzed by Cu(I), involving strategies "click chemistry" has the strengths of the fact usually do not form byproducts, being easy to perform and present high yields.

Starting from two commercial compounds (benzylamine and chloro acetyl chloride) we performed the synthesis of a library of twenty-three analog compounds to benznidazole via a synthetic route short and easy to perform. Tests of trypanocidal activity involving Tulahuen strain of *T. cruzi*, and cytotoxicity assays.

Keywords: 1. Chagas Disease 2. *Trypanosoma cruzi* 3. Organic Synthesis 4. "Click chemistry" 5. Bioisosterism

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> mostrando sua passagem pelo hospedeiro vertebrado (formas amastigota e tripomastigota) e inseto vetor (formas epimastigota e tripomastigota metacíclica).....	4
Figura 2: Estrutura química dos dois quimioterápicos já usados contra a Doença de Chagas.....	7
Figura 3: Estrutura química do agente quimioprolático violeta de genciana.....	7
Figura 4: Isómeros do bioisómero guanidina substituído.....	11
Figura 5: Tipos de bioisosterismo clássico e não-clássico.....	12
Figura 6: Tipos de bioisosterismo clássico.....	12
Figura 7: Relação entre imidazol e triazol.....	13
Figura 8: Compostos obtidos recentemente com interessante atividade anti- <i>T. cruzi</i>	14
Figura 9: Compostos do tipo 3-nitro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazólicos com interessantes atividades tripanocidas.....	15
Figura 10: Composto sete vezes mais ativo que o benznidazol contra formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i>	15
Figura 11: Estrutura química dos derivados 13 , 14 e 15 desenvolvidos pelo grupo de pesquisa.....	16
Figura 12: Compostos com excelentes índices de seletividade (SI).....	17
Figura 13: Análogos 1,4- e 1,5-dissubstituídos do benznidazol de interesse no projeto.....	19
Figura 14: Estrutura química dos alcinos comercialmente disponíveis a serem utilizados para a reação de cicloadição 1,3 dipolar e formação de 1,2,3-triazóis 1,4 (18) e 1,5-dissubstituídos (19).....	28

Figura 15: Atividades tripanocidas dos compostos sintetizados **50-72**, realizados em placas de 96 poços envolvendo a forma tripomastigota, cepa Tulahuen (LacZ), incubadas a 37° C por 4 horas com células de rim de macaco e na presença dos compostos sintetizados nas concentrações de 0,5000 a 0,0039 mM e benznidazol (Bz) como controle positivo..... 46

Figura 16: Atividades citotóxicas dos compostos sintetizados **50-67 e 72**, realizados em aparelho Citômetro de Fluxo, envolvendo células de baço de camundongos e os compostos sintetizados nas concentrações de 0,625 a 0,039 mM a 37° C durante 24 horas, tendo tween 20 a 0,5% foi utilizado como controle positivo de morte celular..... 47

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Exemplo genérico da reação de ciclização de Huisgen.....	8
Esquema 2: Rota sintética proposta para obtenção dos análogos de benznidazol de interesse descritos no projeto, ou seja, derivados triazólicos 1,4- (18) e 1,5-dissubstituídos (19)	21
Esquema 3: Síntese do intermediário <i>N</i> -benzil-2-cloroacetamida (22)	23
Esquema 4: Mecanismo reacional para a formação do intermediário <i>N</i> -benzil-2-cloroacetamida (22)	24
Esquema 5: Síntese do intermediário 2-azido- <i>N</i> -benzilacetamida (23)	25
Esquema 6: Mecanismo reacional para formação do intermediário 2-azido- <i>N</i> -benzilacetamida (23)	26
Esquema 7: Esquema geral das reações de cicloadição 1,3 dipolar para formar compostos 1,4-dissubstituídos (18)	27
Esquema 8: Mecanismo reacional proposto para a reação de cicloadição 1,3 dipolar formando 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos (18)	34
Esquema 9: Tentativas de síntese do composto 1,2,3-triazólico 1,4-dissubstituído com o grupamento nitro metileno (-CH ₂ NO ₂) ligado ao anel triazólico (45)	35
Esquema 10: Esquema da tentativa de síntese dos compostos 1,2,3-triazólico 1,4-/1,5-/2,4- dissubstituído com o grupamento nitro (-NO ₂), ligado diretamente ao anel triazólico (47, 48 e 49)	37
Esquema 11: Esquema da reação de desproteção do composto <i>N</i> -benzil-2-[4-(carboxibenzil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]acetamida (50) formando o composto <i>N</i> -benzil-2-[4-(carboxi)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]acetamida (51)	39
Esquema 12: Esquema da reação de desproteção do intermediário carbamato <i>N</i> -benzil-2-[4-(<i>N</i> -terc-butoxicarbonil-(metilamina))-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il]acetamida (52)	40
Esquema 13: Esquema geral das reações de cicloadição 1,3 dipolar para formar compostos 1,5-dissubstituídos (19)	40

Esquema 14: Mecanismo reacional para a reação de cicloadição 1,3 dipolar formando 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos, sendo L= PPh ₃	43
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Condições testadas para otimização da reação de síntese do intermediário 2-azido- <i>N</i> -benzilacetamida (23).....	26
Tabela 2: Condições testadas para padronização reações de cicloadição 1,3 dipolar para a formação de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos (18).....	29
Tabela 3: Códigos, estruturas, valores medidos do ponto de fusão e rendimentos das reações de todos os compostos 1,2,3-triazóis 1,4 e 1,5-dissubstituídos sintetizados, 50-72 , durante o projeto.....	30
Tabela 4: Condições testadas para padronização reações de cicloadição 1,3 dipolar para a formação de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos (19).....	42
Tabela 5: Códigos, estruturas e dados das atividades tripanocida, citotoxicidade e índice de Segurança (SI) de todos os compostos sintetizados 50-72 durante o projeto.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ	Deslocamento químico
AcOEt	Acetato de Etila
Bnz	Benznidazol
Boc	<i>tert</i> -butiloxicarbonilamino
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CO	Monóxido de carbono
Cp	pentamethylcyclopentadienyl
CuAAC	Copper-catalysed Azide Alkyne Cycloaddition Reaction
d	duplete
DCM	Diclorometano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
ED ₅₀	Concentração do toxicante necessária para se obter uma resposta equivalente a 50% da resposta máxima (usado para ensaios de citotoxicidade)
ESI	Electrospray ionization
Et ₃ N	Trietilamina
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Hz	Hertz
IC ₅₀	Concentração do toxicante necessária para se obter uma resposta equivalente a 50% da resposta máxima
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
m	múltiplo
MeOH	Metanol
MHz	Mega-Hertz
N ₂	Nitrogênio gasoso
Nfx	nifurtimox
OMS	Organização Mundial da Saúde

p.a	Para análise
Ph	fenil
ppm	Partes por milhão
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
s	Simpleto
t	triplete
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TcTS	<i>trans</i> -sialidase de <i>Trypanosoma cruzi</i>
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE ESQUEMAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Doença de Chagas.....	2
1.2 “Click chemistry”.....	8
1.3 Bioisosterismo.....	10
1.4 Pesquisas recentes relacionadas ao tratamento da doença de Chagas.....	13
2. OBJETIVOS.....	19
3. RESULTADOS E DISCUÇÃO.....	21
3.1 Síntese.....	21
3.2 Atividade tripanocida e citotóxica.....	44
4. CONCLUSÕES.....	53
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
5.1 Materiais.....	56
5.2 Métodos.....	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
7. ANEXOS.....	91

1. INTRODUÇÃO

1.INTRODUÇÃO

1.1 Doença de Chagas

A Doença de Chagas, também conhecida por tripanossomíase é uma enfermidade causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Trypanosoma*.

A doença endêmica na América Latina foi descoberta pelo pesquisador Carlos Chagas em 1909 (CHAGAS, C. 1909). Carlos Chagas além de identificar o *T. cruzi* realizou também descobertas em muitos outros aspectos da doença como: epidemiologia, etiologia, anatomia patológica, formas clínicas, meios de transmissão, patogenia, sintomatologia, profilaxia entre outros. O pesquisador definiu também o ciclo de vida do parasita, sendo então o único a fazer um relato minucioso sobre a doença (AMATO NETO, V. 1950).

O ciclo de vida do *T. cruzi* é do tipo heteroxênico, no qual o parasita passa por uma fase de multiplicação intracelular no hospedeiro vertebrado (homem e alguns mamíferos, como por exemplo: gambás, tatus e macacos) e extracelular no inseto vetor (triatomíneos) (NEVES, D. P. et al. 1995). O ciclo é complexo tanto no inseto como no hospedeiro mamífero, podendo ser encontrado nas formas amastigota, epimastigota, tripomastigota e tripomastigota metacíclica.

A forma tripomastigota metacíclica, proveniente do inseto vetor, flagelada e altamente infecciosa, circula na corrente sanguínea e invade diversas células escapando dessa forma dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Após invasão, o parasita se diferencia na forma amastigota, aflagelada, que se prolifera por divisão binária e, eventualmente, se rediferencia na forma tripomastigota, destruindo células e alcançando novamente a corrente circulatória. As formas tripomastigotas podem invadir outros tecidos ou podem ser ingeridas pelo inseto. Neste último caso, são convertidas na forma

epimastigota não infecciosa, completando o ciclo de vida entre o parasita e o vetor (**Figura 1**) (BURLEIGH, B. A. et al. 1995).

O processo de invasão celular do parasita, após a sua diferenciação em forma tripomastigota, envolve várias enzimas específicas de superfície, como transialidase e cruzipaina. Transialidase é uma enzima de superfície capaz de remover unidades de ácido siálico de glicoconjugados do hospedeiro e, por um processo de transferência, introduzi-las em mucinas presentes na superfície do parasita. Somente após o processo de sialilação, *T. cruzi* é capaz de invadir e infectar as células do hospedeiro, como os macrófagos. Mucinas sialiladas também contribuem para os mecanismos de escape do parasita contra os mecanismos de defesa imunológica do hospedeiro (SCHENKMAN, S. et al. 1991; BUSCAGLIA, C. A. et al. 2006; de LEDERKREMER, R M; AUGUSTI, R. 2009).

Por outro lado, cruzipaina está presente nos lisossomos e bolsa flagelar da forma tripomastigota e sua função parece relacionada ao crescimento, diferenciação e sobrevivência do parasita no organismo hospedeiro. Além disso, a cruzipaina é de extrema importância na modulação da resposta imune frente à infecção crônica da Doença de Chagas (MURTA, A. C. et al. 1990).

Recentemente, foi descrito que *T. cruzi* é capaz de liberar vesículas constituídas por glicoproteínas, as quais favorecem o processo de infecção nas células hospedeiras, aumentando a resposta inflamatória do hospedeiro; por exemplo, estas vesículas podem facilitar a entrada dos parasitas nas células cardíacas e conduzir à morte do hospedeiro. Nestas vesículas foi identificada a transialidase, enzima específica de *T. cruzi*, além de outras codificadas por uma superfamília de genes (TORRECILHAS, A. C. et al. 2012).

Outros estudos têm demonstrado que *T. cruzi* usa um processo de exocitose lisossomal da própria célula para realizar invasão celular. Este processo, normalmente usado pela célula para reparar danos na membrana plasmática, envolve exocitose de lisossomos dependente de Ca^{2+} , liberação de esfingomielinase (ASM) para a camada

externa da membrana e um rápido processo de endocitose para internalizar a região da membrana danificada. Desta forma, a adição de esfingomielinase estimula o processo de endocitose e é capaz de aumentar a taxa de invasão de *T. cruzi*. Por outro lado, foi observado que a remoção ASM destas células determina alteração no processo de invasão celular pelo parasita, permitindo que as células se tornem mais resistentes ao processo de invasão parasitária (FERNANDES, M. C. et al. 2011).

Figura 1: Ciclo de vida do *T. cruzi* mostrando sua passagem pelo hospedeiro vertebrado (formas amastigota e tripomastigota) e inseto vetor (formas epimastigota e tripomastigota metacíclica).

Atualmente, existem cerca de 10-12 milhões de pessoas infectadas, com 15.000 mortes anuais, e cerca de 30 milhões de pessoas estão expostas ao risco de adquiri-la, principalmente no continente sul-americano (OMS, 2010; CLAYTON, J. 2010). No entanto, devido ao recente fluxo de imigrantes provenientes de países endêmicos, a doença tem se tornado problema de saúde na América do Norte e em muitas partes da Europa, Ásia e Oceania, onde foi identificado número crescente de indivíduos infectados. Como resultado,

tem sido reconhecido o potencial de transmissão da doença por transfusão de sangue, transplante de órgãos e via congênita nos países não endêmicos e tem havido preocupação global em identificar e prestar assistência às pessoas já infectadas (RASSI, A. JR. et al. 2009).

No Brasil a zona rural é historicamente a área mais afetada. No entanto esse panorama vem mudando com o passar dos anos e se tornando um fenômeno também urbano devido à migração da população por fatores socioeconômicos, transmissões congênitas ou transfusionais. Os dados mais recentes apontam que a Doença de Chagas segue como um problema de saúde pública, sobretudo nas grandes cidades para onde convergiram pessoas infectadas pelo parasito, sejam as assintomáticas ou oligossomáticas em busca de trabalho, ou doentes em busca de tratamento. A doença vem sendo a quarta causa de morte no Brasil entre as doenças infecto-parasitárias, sendo as faixas etárias mais atingidas acima de 45 anos; percebe-se também que é nas grandes cidades que se concentram os pacientes, principalmente na região sudeste (<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=131>).

De acordo com o Conselho Brasileiro em Doença de Chagas, uma pessoa contaminada pelo protozoário *T. cruzi* desenvolverá três fases da doença (CONSENSO BRASILEIRO EM DOENÇA DE CHAGAS 2005), sendo elas: aguda, indeterminada e crônica.

A fase aguda dura em média oito semanas, nesse estágio geralmente não há qualquer manifestação clínica da doença, fato este que contribui para que a enfermidade passe despercebida. No local da picada pode-se desenvolver uma lesão volumosa, conhecida como chagoma. Caso a picada ocorra perto do olho é frequente o surgimento da conjuntivite com edema de pálpebra, mais conhecida como Sinal de Romaña. Quando existem sintomas mais pronunciados (como mal-estar ou febre) estes desaparecem entre quatro e oito semanas após a infecção, mesmo sem nenhum tipo de tratamento.

Entre oito e dez semanas após a infecção tem início a fase indeterminada da Doença de Chagas, a qual é assintomática e pode durar anos, os indivíduos em geral gozam de boa saúde ignorando a doença.

A última fase da doença, denominada crônica, esta ligada à reprodução sistêmica do *T. cruzi*. Ao contrário do que ocorre na fase aguda, nesta fase existem poucos parasitas no organismo. Inicia-se normalmente entre dez e quarenta semanas após a contaminação pelo protozoário. É certamente o estágio mais delicado da doença, pois atualmente existe um grande número de infectados e significativa taxa de mortalidade. Nessa fase o parasita invade muitos órgãos do corpo, como intestino, esôfago e coração, causando danos irreversíveis a esses órgãos (GUILLÉN, M. C. S. et al. 2006). Muitas vezes quando a presença do parasita é identificada nessa fase, não há mais tempo para a recuperação do indivíduo, devido aos danos causados principalmente ao sistema cardíaco causando insuficiência cardíaca.

Desde a descoberta da doença até os dias atuais, foram realizadas inúmeras tentativas de tratamento sem obter quimioterapia eficaz (MUELAS-SERRANO, S. et al. 2002). O tratamento atual tem sido realizado com o uso do fármaco nitro-heterocíclico benznidazol (Bnz, *N*-benzil-2-(2-nitroimidazol)acetamida) (**1** da **Figura 2**), o qual já foi produzido pela Roche e comercializado com o nome Rochagan[®]. Atualmente esse medicamento é produzido pelo LAFEPE (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco). O fármaco nifurtimox (Nfx, 4-[(5-nitrofurfurilideno)amino]-3-metiltiomorfolin-1,1-dióxido) (**2** da **Figura 2**), nome comercial Lampit[®], utilizado no tratamento por muito tempo, teve sua produção descontinuada em 2001 por apresentar baixa eficácia e alta toxicidade (MUELAS, S. et al. 2002).

Ambos os fármacos são usados na fase aguda da doença, sendo ativos contra as formas tripomastigotas e amastigotas do *T. cruzi*, porém suas eficácias variam de acordo com a região geográfica, provavelmente como consequência de variação de cepas do

parasita. O uso desses medicamentos deve ser contínuo, frequentemente apresentando baixa eficácia e fortes efeitos colaterais. O tratamento com nifurtimox gera como efeitos colaterais perda de peso, anorexia, excitabilidade ou sonolência, alterações psíquicas e também manifestações digestivas como náusea, vômito, diarreia e cólica intestinal. Já o uso de benznidazol para tratamento gera reações adversas como hipersensibilidade, dermatite com erupção cutânea, depressão da medula óssea, agranulocitose e púrpura trombocitopênica (MUELAS-SERRANO, S. et al. 2002).

Figura 2: Estrutura química dos dois quimioterápicos já usados contra a Doença de Chagas.

A única substância usada como agente quimioprolático é a violeta de genciana (cloreto de N-[4-bis-[[4-(dimetilamino)-fenil]metileno]-2,5-ciclo-hexadien-1-ilideno]N-metilamônio) (**Figura 3**). Entretanto, seu uso é limitado devido aos efeitos colaterais e à coloração púrpura transferida à pele e às mucosas dos pacientes que recebem a transfusão de sangue (WENDEL, S.; GONZAGA, A. L. 1993).

Figura 3: Estrutura química do agente quimioprolático violeta de genciana.

Posaconazol representa uma nova perspectiva para o tratamento das fases aguda e crônica da Doença de Chagas, uma vez que atua como inibidor potente e seletivo da enzima

esterol-C14-desmetilase, provocando a redução de esteróides fundamentais para a sobrevivência do parasita (GRAEBIN, C. S. et al 2009; CLAYTON, J. 2010). O desenvolvimento de posaconazol, da classe dos agentes antifúngicos triazóis (fase Clínica II), foi seguido por outros antifúngicos, como: E12-24 (Eisai, Japão) e Tak-187 (Takeda, Japão), além do inibidor de cruzipaina, uma cisteína protease do parasita, os quais estão em fase Clínica I (CLAYTON, J. 2010; LAZARDI, K. et. al 1990; PORCAL, W. et al. 2008; URBINA, J. A. et al. 2003).

1.2 “Click chemistry”

A reação de cicloadição 1,3-dipolar, utilizando-se um alcino terminal e um azido orgânico como materiais de partida é conhecida como “ciclização de Huisgen” (Rolf Huisgen, cientista alemão nascido em 1920), pois foi quem primeiro compreendeu a magnitude desta reação que origina produtos 1,2,3-triazóis 1,4- e 1,5-dissubstituídos (HUISGEN, R. 1961) (**Esquema 1**).

Esquema 1: Exemplo genérico da reação de ciclização de Huisgen.

O grande empecilho dessa reação é a completa falta de seletividade, pois ao final da reação se observa a formação de uma mistura 1:1 de triazóis 1,4- e 1,5-dissubstituídos (GIL,

M.V.; ARÉVALO, M. J.; LÓPEZ, O. 2007), sendo ainda necessário o uso de altas temperaturas para obtenção dos produtos.

No entanto, descobriu-se que esta reação pode ser catalisada eficientemente por sais de cobre (Cu(I)), resultando exclusivamente em triazóis 1,4-dissubstituídos (SHARPLESS, K. B.; et al. 2001; GIL, M. V.; ARÉVALO, M. J.; LÓPEZ, O. 2007. ARAGÃO-LEONETI, et al. 2010). Para a formação de Cu(I) normalmente é usado sulfato de cobre (CuSO₄) na presença de ascorbato de sódio, como agente redutor, embora outras condições já tenham sido relatadas (APPUKKUTTAN, P.; DEHAEN, W.; FOKIN, V. V.; EYCKEN, E. V. 2004).

Por outro lado, é possível também a formação preferencial de triazóis 1,5-dissubstituídos fazendo uso de complexos de rutênio. A investigação da atividade catalítica de uma série de complexos demonstrou que complexos do tipo [Cp*RuCl] (Cp: pentametilciclopentadienila) são os catalisadores regioseletivos mais eficientes. Por exemplo, uma série de azidos orgânicos reage com alcinos terminais na presença do catalisador Cp*RuCl(PPh₃)₂, resultando em 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos em elevados rendimentos (BOREN, B. C.; NARAYAN, S.; RASMUSSEN, L. K.; ZHANG, L.; ZHAO, H.; LIN, Z.; JIA, G.; FOKIN, V. V. 2008).

O conceito de “click chemistry” foi introduzido por Sharpless e colaboradores no ano de 2001 (SHARPLESS, K. B.; et al. 2001). Neste artigo de revisão os autores descrevem o que poderia ser “the revigoration of an old style of organic synthesis”. Assim, o termo “click chemistry” foi criado como uma nova abordagem para atender às novas demandas da química moderna, principalmente para a descoberta de novos fármacos (MOSES, J. E.; MOORHOUSE, A. D. 2007).

“Click chemistry”, ou reação Click, é certamente uma tendência de extrema importância na química contemporânea. As transformações químicas que fazem uso desta estratégia cumprem normalmente alguns requisitos como: serem de fácil execução,

versáteis, seletivas, não necessitem de reações de proteção/desproteção, apresentarem rendimentos elevados, além de não formarem subprodutos e serem realizadas em sua maioria em meio aquoso e poderem ser facilmente aceleradas pelo uso de microondas (LUTZ, J. F.; ZARAFSHANI, Z. 2008).

Uma grande variedade de reações químicas pode, em princípio, cumprir os requisitos citados acima, no entanto, os exemplos mais bem sucedidos geralmente se originam de cinco grandes classes de reações, ou seja: cicloadição envolvendo reações de condensação entre espécies insaturadas, como: cicloadição 1,3-dipolar (Huisgen); cicloadição [4+2] (Diels-Alder); reações tipo não aldólicas com funções carbonílicas e adição a ligações múltiplas carbono-carbono para formação de epóxidos, aziridinas, etc (NANDIVADA, H.; JIANG, X.; LAHANN, J. 2007).

Com a descoberta dos catalisadores que eliminam o problema da falta de seletividade e a aplicação do conceito de “click chemistry”, a ciclização de Huisgen passou a ter um importante papel na síntese de 1,2,3-triazóis 1,4- ou 1,5-dissubstituídos, moléculas essas que no passado eram difíceis de serem obtidas como regioisômeros puros.

1.3 Bioisosterismo

Em 1919, Langmuir elaborou o conceito de isosterismo, envolvendo a reatividade e o comportamento químico de diferentes substâncias que possuíam o mesmo número de elétrons de valência, ou seja, isoeletrônicos como N₂ e CO (LANGMUIR, I. 1919).

Anos depois em 1951, Friedman usou pela primeira vez o termo bioisosterismo para explicar o fenômeno observado entre substâncias relacionadas estruturalmente e que apresentavam propriedades biológicas similares ou antagônicas em um mesmo sítio receptor (FRIEDMAN, H. L. 1951).

Posteriormente Hinsberg e Erlenmeyer (1932) ampliaram bastante o princípio inicial do isosterismo, de forma que hoje o bioisosterismo representa uma estratégia útil na descoberta de novos compostos ativos ou novas séries congêneres de compostos-protótipos (BARREIRO, E, J.; FRAGA, C. A. M. 2008).

O conceito do bioisosterismo pode ser aplicado quando diferentes subunidades estruturais de compostos com atividade biológica apresentam formas, volumes moleculares, distribuições eletrônicas e propriedades físico-químicas semelhantes, capazes de apresentar propriedades biológicas semelhantes (<http://www.chemqmul.ac.uk/iupac/medchem/>). Esse conceito se baseia na troca de determinado(s) fragmento(s) moleculares por outro(s) que apresentem propriedades físico-químicas desejadas, incluindo os fatores eletrônicos, estéricos e hidrofóbicos.

Um exemplo pode ser visto na **Figura 4**. O fragmento molecular guanidina (**4**) é comum na estrutura de vários fármacos, sendo responsável muitas vezes pela baixa biodisponibilidade. No entanto, a introdução de substituintes retiradores de elétrons (ciano, nitro, entre outros) no átomo de nitrogênio deste bioisótero diminui a basicidade da subunidade guanidina. Essa estratégia é clássica na adequação de suas propriedades físico-químicas, resultando no aumento da biodisponibilidade dos protótipos modificados.

Figura 4: Isósteros do bióforo guanidina substituído.

Em 1970, Burger classificou e subdividiu o bioisosterismo em duas categorias: clássico e não-clássico, a **Figura 5** mostra como foram classificados os bioisósteros:

BIOISOSTERISMO

Clássico

- = Átomos e grupos monovalentes;
- = Átomos e grupos divalentes;
- = Átomos e grupos trivalentes;
- = Átomos e grupos tetravalentes;
- = Anéis equivalentes.

Não-clássico

- = Funcional (grupos funcionais);
- = Retro-isosterismo;
- = Bióforo (pontos) isostéricos;
- = Anelação e retro-anelação.

Figura 5: Tipos de bioisosterismo clássico e não-clássico.

A **Figura 6** mostra exemplos das trocas bioisostéricas do tipo clássica.

Figura 6: Tipos de bioisosterismo clássico.

A substituição bioisostérica do anel imidazólico por um anel triazólico como mostrado na **Figura 7** é um caso de bioisosterismo clássico onde um grupo $=CH-$ é substituído por $=N-$. Nesse caso, a troca bioisostérica pode ser interessante devido à presença de um

átomo adicional de nitrogênio no anel triazólico, o qual poderia, hipoteticamente, aumentar a atividade de um composto devido à maior interação com o alvo macromolecular, uma vez que esse átomo pode ser mais um aceptor de ligações de hidrogênio.

Figura 7: Relação entre imidazol e triazol.

Como pode ser observado na estrutura **1** da **Figura 2**, o fármaco benznidazol possui um anel imidazólico em sua estrutura. Sendo assim a proposta de substituição do anel imidazólico por triazól pode conduzir à formação de compostos mais ativos contra o parasita.

O bioisosterismo vem se mostrando uma estratégia satisfatória no planejamento de novos compostos protótipos. Fármacos disponíveis atualmente que apresentem propriedades físico-químicas ou biológicas indesejáveis podem sofrer transformações bioisostéricas com a finalidade de sintetizar novos compostos mais promissores, com maior potência e seletividade, paralelamente à menor toxicidade.

1.4 Pesquisas recentes relacionadas ao tratamento da doença de Chagas

Um estudo feito por da SILVA JÚNIOR e colaboradores (da SILVA JÚNIOR, E. N. et al. 2012.) relatou dois protótipos muito promissores para a obtenção de fármacos contra o parasita *T. cruzi*. São moléculas pertencentes ao grupo das naftoquinonas ligadas a outros grupos por reações de “click chemistry” usando Cu(I) como catalisador. Os compostos mais ativos estão mostrados na **Figura 8**, como pode ser observado o composto **7** apresentou IC₅₀ de 10,9 µM, já o composto **8** apresentou IC₅₀ 17,7 µM, ambos testados contra a forma

tripomastigota, cepa Y, em ensaios envolvendo contagem do parasito em câmara de Neubauer. Esses valores são muito superiores ao valor obtido para o fármaco atualmente disponível para tratamento (benznidazol IC_{50} 103.6 μ M), fato que demonstra a relevância do estudo desses compostos na busca para o tratamento da Doença de Chagas.

Figura 8: Compostos obtidos recentemente com interessante atividade anti-*T.cruzi*

Outro estudo interessante foi realizado por PAPADOPOULOU e colaboradores (PAPADOPOULOU M, V. et al. 2012.), no qual foram descritos os resultados de atividade biológica de uma biblioteca de compostos aril-3-nitro-1*H*-1,2,4-trizólicos. Esse estudo identificou pelo menos dezenove protótipos promissores com significativa atividade antichagásica com possibilidade para serem candidatos a fármacos. Desses compostos, os três mais ativos estão mostrados na **Figura 9**, sendo o composto **10** cerca de 56 vezes mais ativo que benznidazol, quando testados contra forma amastigota do parasito, cepa Tulahuen, em ensaios espectrofotométricos.

Figura 9: Compostos do tipo 3-nitro-1H-1,2,4-trizólicos com interessantes atividades tripanocidas.

Em relação à atividade contra as formas epimastigotas de *T. cruzi* pode ser citado o estudo feito por NAVARRETE-VAZQUEZ e colaboradores (NAVARRETE-VAZQUEZ, G. et al. 2011). Neste estudo, análogos nitazoxanida foram sintetizados, como por exemplo, o derivado **12** com atividade sete vezes superior ao benznidazol e com ação contra formas epimastigotas de *T. cruzi*, em ensaios envolvendo contagem do parasito em câmara de Neubauer. A estrutura da molécula **12** é mostrada na **Figura 10** e como pode ser observado possui a função nitro (-NO₂) ligada a um anel aromático. É interessante observar que esta função esta, frequentemente, presente em moléculas de fármacos tripanocidas (como benznidazol (**1**), nifurtimox (**2**) e outros protótipos mostrados na **Figura 9**). Normalmente a ação tripanocida de muitos compostos é relacionada à presença do grupamento nitro em sua estrutura, no entanto, muitas vezes é justamente esse grupo o responsável pela alta toxicidade dos fármacos existentes.

Figura 10: Composto sete vezes mais ativo que o benznidazol contra formas epimastigotas de *T. cruzi*.

A síntese de uma biblioteca de compostos 1,4 dissustituídos 1,2,3-triazólicos, a partir de unidades de galactose modificadas nas posições C-1 e C-6, foi realizada como potenciais inibidores de *trans*-sialidase de *T. cruzi* (TcTS). Assim, foram realizados ensaios de inibição da enzima *trans*-sialidase, bem como avaliação da atividade tripanocida de todos os compostos sintetizados. Apesar de estes compostos terem apresentado inibição moderada de TcTS, alguns demonstraram atividade tripanocida relevante, como por exemplo o derivado **13** (**Figura 11**), cujo valor de IC₅₀ obtido foi de 180 µM em testes contra a forma tripomastigota, cepa Y, por contagem do parasito em câmara de Neubauer (CARVALHO, I. et. al 2010). Atualmente, alguns compostos selecionados estão sendo utilizados em ensaios in vivo.

Figura 11: Estrutura química dos derivados **13**, **14** e **15** desenvolvidos pelo grupo de pesquisa.

Recentemente, o grupo descreveu a síntese de alguns neoglicoconjugados sialilmiméticos empregando reação CuAAC, envolvendo a estratégia “Click Chemistry” (ARAGÃO-LEONETI, V. et al. 2010). Os derivados 1,2,3 triazólicos contendo galactose **14** e **15** (**Figura 11**) foram testados na concentração de 1,0 mM e apresentaram inibição de TcTS de 88% e 91%, respectivamente, em ensaios envolvendo a forma tripomastigota, cepa Tulahuen. Estudos de modelagem molecular também foram realizados com o objetivo de explorar as principais interações desses compostos no sítio ativo de TcTS (CAMPO, V. L. et al. 2012).

Por ultimo, é importante demonstrar o trabalho realizado por SÁNCHEZ-MORENO e colaboradores (SÁNCHEZ-MORENO, M. et al. 2011) Nesse estudo, foi realizada a síntese e avaliação de atividade tripanocida de seis compostos, envolvendo a forma epimastigota, cepa Y, por contagem de parasitos em câmara de Neubauer, e os dois compostos mais interessantes são mostrados na **Figura 12**. O protótipo **16** apresentou SI (índice de seletividade) de 710,0 enquanto o protótipo **17** apresentou SI de 346,5. O índice de seletividade leva em conta a razão entre a toxicidade (ED_{50}) e a atividade tripanocida (IC_{50}). Quanto maior o valor desse índice, melhor é a relação entre citotoxicidade e atividade tripanocida, ou seja, concentrações bem maiores de determinada substância são necessárias para causar citotoxicidade em relação ao efeito tripanocida. Por exemplo, para comparar e confirmar a alta potencia observada para esses compostos, é interessante destacar que o benznidazol apresenta SI de apenas 0,85.

Figura 12: Compostos com excelentes índices de seletividade (SI).

Com base nestas recentes pesquisas, envolvendo a busca de um protótipo potente e eficaz para o tratamento da doença de Chagas, é evidente que uma grande variedade de compostos selecionados pode ser mais bem investigada em estudos posteriores. Esses compostos apresentam uma diversidade estrutural muito grande, apresentando as mais diferentes funções orgânicas em suas cadeias. Assim, é válido ressaltar que a presença ou ausência da função nitro (NO_2) não mostrou ser determinante para a atividade tripanocida, existindo compostos com excelentes atividades sem esse grupo em suas moléculas.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Tendo em mente o panorama atual da Doença de Chagas, a importância do bioisosterismo como técnica de modificação molecular e a grande relevância do uso da “click chemistry” na síntese de novos compostos, os objetivos desse projeto envolvem:

- A síntese de uma biblioteca de compostos 1,2,3-triazólicos 1,4 e 1,5-dissubstituídos (**Figura 13**) com diversidade estrutural e propriedades físico-químicas distintas, capazes de mimetizar o fármaco benznidazol pela aplicação do bioisosterismo usando “click chemistry” como ferramenta de síntese.

Análogo 1,4 substituído (18) Análogo 1,5 substituído (19)

Figura 13: Análogos 1,4- e 1,5-dissubstituídos do benznidazol de interesse no projeto.

- Avaliação da atividade tripanocida e citotóxica de todos os compostos sintetizados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seção de resultados e discussão desse trabalho foi dividida em duas partes principais: na primeira parte é descrita a síntese dos compostos obtidos por “click chemistry” envolvendo a reação de cicloadição 1,3-dipolar entre um alcino terminal e um azido orgânico. A segunda parte mostra os resultados obtidos nos ensaios de atividade tripanocida e citotóxica dos compostos sintetizados.

3.1 Síntese

3.1.1 Estratégia sintética

A fim de alcançar os objetivos propostos no projeto foi elaborada uma rota sintética partindo de compostos comerciais, relativamente baratos e de fácil obtenção.

Esquema 2: Rota sintética proposta para obtenção dos análogos de benzimidazol de interesse descritos no projeto, ou seja, derivados triazólicos 1,4- (18) e 1,5-dissubstituídos (19).

Como observado no **Esquema 2**, a síntese de análogos de benznidazol envolve a reação de adição-eliminação entre benzilamina (**20**) e cloreto de cloro acetila (**21**), ambos comerciais, utilizando diclorometano como solvente e trietilamina como base fraca. Posteriormente, o tratamento do intermediário **22** com azida de sódio em DMF dará origem ao segundo intermediário **23**. A partir desse intermediário, contendo a função azido, existem duas alternativas para a obtenção dos regioisômeros de interesse (1,4- e 1,5-dissubstituídos). A primeira combina o intermediário **23** com o alcino comercial (**24**) na presença do catalisador Cu(I) gerado pela combinação de CuSO₄ e ascorbato de sódio, essa combinação resultará na formação de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos (**18**), usando DMF como solvente. Já a segunda alternativa irá gerar os 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos (**19**) pela combinação do intermediário **23** com o alcino comercial (**24**) na presença do catalisador Cp*RuCl(PPh₃)₂ (cloreto de pentamentilciclopentadienilbis(trifenilfosfina) rutênio(II)), usando dioxano como solvente.

A seguir cada etapa dessa rota será detalhada para uma melhor compreensão das reações realizadas:

3.1.2 Síntese do intermediário *N*-benzil-2-cloroacetamida (**22**).

A síntese foi iniciada pela reação dos compostos comerciais benzilamina (**20**) e cloreto de cloro acetila (**21**), ambos adquiridos da Aldrich[®]. O procedimento relatado a seguir foi realizado de acordo com o trabalho de HERNÁNDEZ-NÚÑEZ e colaboradores (HERNÁNDEZ-NÚÑEZ, E. et al. 2009).

Esquema 3: Síntese do intermediário *N*-benzil-2-cloroacetamida (**22**).

A preparação do composto **22** foi realizada a partir do tratamento de cloreto de cloro acetila (**21**) em diclorometano com solução de benzilamina (**20**), trietilamina em diclorometano. Ao término do tempo reacional o solvente foi retirado, sob pressão reduzida, e o ácido presente no meio reacional foi eliminado com a lavagem do sólido com água gelada. O uso da água a baixa temperatura foi justificado por solubilizar o composto desejado em menor quantidade, arrastando quase que exclusivamente o ácido.

Para o acoplamento mostrado no **Esquema 3** foi necessária uma atenção especial durante a adição da benzilamina ao cloreto de cloro acetila, a qual teve que ser realizada lentamente, pois caso contrário, era observado o aparecimento de um precipitado verde indesejável ao invés do produto esperado (branco). Após o término da reação não foi necessário realizar a purificação, uma vez que o produto foi obtido puro após a evaporação do solvente, sob pressão reduzida. O produto foi isolado com rendimento de 95% e foi armazenado para posterior transformação.

É importante ressaltar que anteriormente a esta reação foram feitas duas tentativas com o reagente brometo de bromo acetila, também disponível em nosso laboratório de pesquisa, no lugar do cloreto de cloro acetila, porém ocorreu formação de subprodutos, bem maior do que quando usando o reagente cloreto de cloro acetila, por esse motivo o uso do brometo foi descartado.

Como pode ser mostrado na **Esquema 3**, o mecanismo dessa reação de adição-eliminação envolve o ataque do par de elétrons do nitrogênio da amina ao carbono da carbonila do cloreto de cloro acetila, e posterior eliminação de um átomo de cloro. O

nucleofilicidade do grupo amino de **20** conduz o ataque preferencial ao carbono de maior dureza, ou seja grupo carboxílico, o qual possui maior carga residual positiva e é mais fracamente polarizável, segundo o conceito de Pearson (HSAB "hard and soft (Lewis) acids and bases") (PEARSON, R. G. 1963).

Esquema 4: Mecanismo reacional para a formação do intermediário *N*-benzil-2-cloroacetamida (**22**).

Após a síntese foi feita a análise do ponto de fusão do material obtido. Para essa análise obteve-se o intervalo entre 88 e 90°C para a fusão completa do material, esse pequeno intervalo revala a ausência de impurezas na amostra. Tendo em mente que o composto não era inédito, o resultado obtido na análise do ponto de fusão foi comparado com valores obtidos por outros pesquisadores usando o site “scifinder.cas.org” como ferramenta de busca. Como resultados dessa busca encontrou-se desde intervalos entre 78 e 80°C até entre 96 e 98°C. Apesar da grande discrepância de valores, o resultado obtido por nossas análises se apresenta na média quando comparado com os dados da literatura.

A estrutura do produto **22** foi inicialmente confirmada a partir do espectro de RMN de ^1H , no qual se observou além dos cinco hidrogênios aromáticos, mais três sinais, 1H em 6,88 ppm (simpleto largo) referente ao grupamento $-\text{NH}-$ do composto, outro duplete em 4,50 ppm ($J = 5,7 \text{ Hz}$) relacionado com o grupamento metileno benzílico vizinho ao grupamento $-\text{NH}-$, e por ultimo, um sinal em 4,11 ppm (simpleto) referente ao grupamento metileno vizinho ao átomo de halogênio.

3.1.3 Síntese do intermediário 2-azido-*N*-benzilacetamida (23).

O produto obtido na reação anterior (20) foi tratado com azida de sódio (NaN_3) utilizando DMF como solvente (**Esquema 5**). Para essa reação seguiu-se a princípio o método descrito por HASEGAWA e colaboradores (HASEGAWA, T. et al. 2004). No entanto, considerando o tempo de reação prolongado e o excesso de azida de sódio utilizado, algumas modificações foram feitas com o objetivo de acelerar a reação e reduzir a quantidade de azida empregada inicialmente.

Esquema 5: Síntese do intermediário 2-azido-*N*-benzilacetamida (23).

O método cita que a transformação ocorre em um período de 90 minutos, quando realizado com aquecimento convencional. Porém, em uma das tentativas bem sucedida, o tempo de reação foi reduzido para 10 minutos, utilizando irradiação por microondas, programado com temperatura de 70°C e 150W de potência (**Tabela 1**). Outra variação importante para obtenção do intermediário **23** foi a redução da quantidade de azida de sódio. A redução do número de equivalentes deste reagente (3,0, 2,0 ou 1,5) não afetou o rendimento final de cerca de 98%, justificando o uso de menores quantidades no procedimento modificado.

Tabela 1: Condições testadas para otimização da reação de síntese do intermediário 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**).

Modo	Temperatura (°C)	Tempo	Quantidade (22)	Quantidade NaN ₃	Rendimento (%)
Clássico	T. Ambiente	24 horas	1,0 eq.	3,0 eq.	82%
Micro-ondas	70	10 minutos	1,0 eq.	2,5 eq.	Quantitativo
Micro-ondas	70	10 minutos	1,0 eq.	2,0 eq.	Quantitativo
Micro-ondas	70	10 minutos	1,0 eq.	1,5 eq.	Quantitativo
Micro-ondas	70	10 minutos	1,0 eq.	1,2 eq.	80%

O **esquema 5** mostra o mecanismo dessa reação de substituição nucleofílica de um halogênio por um grupo azido.

Esquema 6: Mecanismo reacional para formação do intermediário 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**).

Cabe ressaltar que após a reação foi necessária uma simples extração para obtenção do produto puro na forma de um líquido viscoso. A estrutura do produto **23** foi inicialmente confirmada a partir do espectro de RMN de ^1H , o qual quando comparado ao espectro do primeiro intermediário **22** mostra um sinal em 3,97 ppm (simpleto) referente ao grupamento metileno vizinho ao azido região de maior blindagem quando comparado ao precursor **22** em 4,11 ppm, vizinho a um halogênio.

3.1.4 Reações de cicloadição 1,3 dipolar para a formação de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos (18).

Esquema 7: Esquema geral das reações de cicloadição 1,3 dipolar para formar compostos 1,4-dissubstituídos (18).

Os alcinos usados (**Figura 14**) para essas transformações foram selecionados levando em conta diferentes parâmetros, como por exemplo: tamanho da cadeia carbônica, número de ramificações, funções orgânicas presentes e ausência ou presença de anéis aromáticos. Com estas variações estruturais seria possível realizar a síntese de um conjunto de moléculas com diversidade química para estudos posteriores de relação estrutura-atividade.

Figura 14: Estrutura química dos alcinos comercialmente disponíveis a serem utilizados para a reação de cicloadição 1,3 dipolar e formação de 1,2,3-triazóis 1,4- (18) e 1,5-dissubstituídos (19).

A partir da obtenção do intermediário **23**, foi realizada uma série de reações de cicloadição 1,3 dipolar com diferentes alcinos (**Esquema 7**) na presença de Cu(I), gerado a partir de CuSO₄ e ascorbato de sódio, para a obtenção de 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos. O método empregado foi estabelecido após várias tentativas de otimização das condições reacionais para aumento de rendimento, usando álcool propargílico como alcino terminal

(R= CH₂OH) com potência de 150 W (**Tabela 2**). As reações realizadas em temperatura mais elevada (100°C), condições 1-4, conduziram à formação de misturas complexas, sugerindo a degradação do material de partida. Por outro lado, o uso de menor temperatura (50 °C), condições 5 e 6, levou à recuperação do material de partida. A temperatura de 70° C foi também testada, condições 7 e 8, em tempos distintos e o melhor resultado foi obtido com tempo de 10 minutos, potência programada do aparelho de 150W.

Tabela 2: Condições testadas para padronização das reações de cicloadição 1,3 dipolar para a formação de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos, (R= CH₂OH) (**18**).

Condição	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Resultado
1	100	30	Degradação
2	100	20	Degradação
3	100	10	Degradação
4	100	5	Mat. Partida
5	50	20	Mat. Partida
6	50	30	Mat. Partida
7	70	30	Degradação
8	70	10	Ideal

No geral foram sintetizados 21 compostos 1,4-dissubstituídos, apresentado uma faixa de rendimentos entre 50 e 90%, com exceção dos compostos **55**, **57**, **69** e **71** que apresentaram rendimentos de 47%, 32%, 17% e 22% respectivamente, **tabela 3**. Em geral os rendimentos foram considerados bons devido à aplicação de uma rota de fácil execução. O motivo pela qual se obteve resultados insatisfatórios para alguns compostos foi provavelmente devido a problemas durante as extrações realizadas para purificação dos produtos, quantidades significativas de alguns deles foram perdidas devido à solubilidade dos mesmos em água. Quanto à variedade de compostos, como poderá ser observado na

tabela 3, cada composto sintetizado possui uma cadeia lateral diferente ligado ao anel triazólico, com diversas funções orgânicas, como alcoóis lineares e ramificados, aminas, ésteres, ácidos carboxílicos alifáticos, haletos, alcóxidos, nitro, aminas aromáticos, entre outros. Essa variedade estrutural poderá ser importante para estudo de relação estrutura atividade. A **Tabela 3** mostra as estruturas, resultados obtidos das análises do ponto de fusão e rendimentos das reações de cicloadição de todos os compostos sintetizados no projeto.

Tabela 3: Códigos, estruturas, valores medidos do ponto de fusão e rendimentos das reações de todos os compostos 1,2,3-triazóis 1,4 e 1,5-dissubstituídos sintetizados, **50-72**, durante o projeto.

Código	Estrutura	P. Fusão (°C)	Rend. (%)
50		184-186	92
51		204-206	49
52		129-131	91
53		Liq. T. ambiente	81
54		137-139	53

55		138-140	47
56		129-131	54
57		132-134	32
58		111-113	85
59		188-190	64
60		185-187	67
61		184-186	66
62		276-278	61
63		178-180	70

64		171-173	94
65		130-132	75
66		150-152	87
67		216-218	87
68		148-150	96
69		221-223	17
70		154-156	75
71		205-207	22

72		222-224	90
----	---	---------	----

De maneira geral, as sínteses dessas moléculas apresentaram rendimentos satisfatórios, mesmo observando valores baixos para um ou outro composto. Deve-se levar em conta a simplicidade de obtenção dos compostos na forma pura, não necessitando de nenhum método cromatográfico ou qualquer complicação adicional. Uma simples extração bastou para todos os compostos. Essa forma de isolamento deve ter interferido na obtenção de alguns compostos (como por exemplo, os compostos **57**, **69** e **71**) com baixos rendimentos devido a perdas durante a extração, fato verificado algumas vezes por cromatografia em camada delgada da parte aquosa da extração.

O cobre é um metal de transição, o qual possui configuração eletrônica $[Ar] 3d^{10} 4s^1$. Espécies de Cu(I) geradas *in situ*, a partir de ascorbato de sódio e Cu (II), formam um complexo π com a tripla ligação de um alcino terminal. Estudos têm demonstrado que a reação é de segunda ordem com relação ao Cu. Os ligantes utilizados são instáveis e fracamente coordenados. As três etapas gerais do mecanismo da reação de ciclo-adição 1,3-dipolar catalisada por Cu(I) é apresentada no **esquema 8** e envolve: ativação do alcino terminal tal como Cu-acetileno **I**, ciclização formal para fornecer um intermediário Cu-C(triazol) **II** e quebra da ligação Cu-C para dar o composto triazólico e regenerar o catalisador. Sendo que, cada etapa pode envolver espécies de cobre multinucleares (RODIONOV, V. et al. 2007). Adicionalmente, é proposto que a formação de **II** envolva, inicialmente, a substituição um dos ligantes de Cu pelo átomo de nitrogênio interno do grupo azido, ligado a R^2 e, posteriormente, o nitrogênio terminal do azido ataque o C-2 (ligado a R^1) do acetileno (HIMO, F. et al. 2005; RODIONOV, V. et al. 2005; BOCK, V. D. et al. 2006). No entanto, este mecanismo envolveria a formação de um metalociclo de 6 membros pouco

comum, o qual não é considerado na descrição mais recente para formação da espécie II (RODIONOV, V. et al. 2007).

Esquema 8: Mecanismo reacional proposto para a reação de cicloadição 1,3 dipolar formando 1,2,3-triazóis 1,4-disubstituídos (**18**).

Os espectros de RMN de 1H demonstram a formação do produto pela reação de cicloadição 1,3 dipolar principalmente pelo aparecimento de um sinal acima de 7,50 ppm, relacionado ao hidrogênio do anel triazólico. Os espectros também demonstram a presença dos sinais referentes às cadeias laterais dos alcinos, com diversidade estrutural desejada. De forma geral, o sinal referente ao grupamento metileno benzílico foi visualizado entre 4,0 e 4,5 ppm como nos precursores, já o grupo metileno vizinho ao anel triazólico foi identificado próximo a 5,0 ppm, região de maior desblindagem que o correspondente $-CH_2-$ vizinho ao grupo azido do precursor, observado em 3,97 ppm.

3.1.5 Tentativas de síntese do composto 1,2,3-triazólico 1,4-dissubstituído com o grupamento nitro metileno (-CH₂NO₂) ligada ao anel triazólico (45).

Além dos compostos listados na **tabelas 3**, foi também proposto outro derivado contendo o grupo nitro metileno ligado ao anel triazólico, para mimetizar de forma mais próxima o fármaco benznidazol, conforme o **esquema 9**.

Esquema 9: Tentativas de síntese do composto 1,2,3-triazólico 1,4-dissubstituído com o grupamento nitro metileno (-CH₂NO₂) ligado ao anel triazólico (**45**).

O ácido meta-cloroperbenzóico é um agente oxidante forte usado em síntese orgânica principalmente pela facilidade de manipulação que oferece. É usado principalmente na conversão de cetonas a ésteres (Bayer-Villager), epoxidação de alcenos e também na oxidação de aminas, reação que se mostrou interessante de ser testada para a formação de nitro-compostos.

Pelo motivo descrito acima, na primeira tentativa de síntese (**Tentativa 1** do **Esquema 9**) foi testada a oxidação do material de partida **44** contendo a função amino na presença de ácido meta-cloroperbenzóico (mCPBA) em diversas temperaturas e diferentes tempos reacionais como descrito por GILBERT e BORDEN em 1978 (GILBERT, K. E.;

BORDEN, W. T. 1978). Porém, após todos os experimentos, foi obtido apenas recuperação do material de partida, até mesmo após o uso de alta temperatura (120° C) e tempo reacional prolongado (24 horas). O material resultante foi analisado por RMN de ^1H o qual confirmou a presença do material de partida **44**.

Considerando estes resultados, outra tentativa de oxidação do material de partida **44**, usando desta vez nitrito de sódio e ácido sulfúrico concentrado (**Tentativa 2** do **Esquema 9**) foi realizada (MARCH, J. 1992). No entanto, também não foram obtidos resultados satisfatórios, obtendo-se ao final dos experimentos apenas a recuperação do material de partida mesmo após o uso de tempo e temperatura reacionais elevados.

No espectro de RMN ^1H do produto dessa reação foi observado um deslocamento significativo do sinal da cadeia lateral do anel heterocíclico, fato que fortaleceu a hipótese de formação do composto desejado **45**. No entanto, o espectro de massas do composto revelou que se tratava, na verdade, do material de partida **44**, provavelmente na sua forma protonada para justificar a diferença de deslocamento observado no espectro de RMN.

Uma nova pesquisa bibliográfica foi realizada e o reagentes permanganato de potássio (KMnO_4), um agente oxidante frequentemente usado em síntese orgânica (CALDER, A. et al. 1988) foi testado. No entanto, o acompanhamento da reação por placas cromatográficas, não foi verificada a transformação do material de partida **44**, mesmo após um tempo reacional relativamente prolongado (24 horas). Mesmo assim o material disponível no balão foi coletado e foi analisado por RMN, confirmando apenas a presença do material de partida.

Por ultimo, seguindo métodos de oxidação descritos na literatura foi testada a oxidação usando tungstato de sódio (Na_2WO_4), como agente oxidante de acordo com o método descrito por MARX L. et al. 2009. Porém, como nas tentativas anteriores só houve recuperação do material de partida **44**, confirmado por RMN.

Novos estudos devem ser feitos para a obtenção desse importante derivado. Como por exemplo, investigar outros agentes oxidantes distintos dos já testados ou efetuar a reação de cicloadição 1,3 dipolar entre o azido orgânico sintetizado e um alcino que já contenha a função nitro. Porém, não foram encontrados reagentes deste tipo disponíveis comercialmente, provavelmente devido à instabilidade e reatividade de alguns compostos contendo a função nitro.

3.1.6 Tentativas de síntese dos compostos 1,2,3-triazólico 1,4/1,5/2,4 dissustituído com o grupamento nitro (-NO₂) ligado diretamente ao anel triazólico (47, 48 e 49).

Devido à importância de se obter um composto com o grupamento nitro (-NO₂), ligado próximo ou diretamente ao anel triazólico, adquiriu-se o composto comercial 4-nitro-1,2,3-triazol (46) para a realização de uma tentativa conforme mostrada no **Esquema 10**.

Esquema 10: Esquema da tentativa de síntese dos compostos 1,2,3-triazólico 1,4-/1,5-/2,4-dissustituído com o grupamento nitro (-NO₂), ligado diretamente ao anel triazólico (47, 48 e 49).

Seguindo o método descrito por PRYDE, D. C. et al. (PRYDE, D. C. et al. 2006.), o haleto (22) e o triazol (46) foram diluídos em DMF a 0° C e posteriormente foi adicionado

hidreto de sódio (NaH). A mistura reacional foi mantida sob agitação a baixa temperatura por 3 horas, da mesma forma descrita na literatura. No entanto, com o acompanhamento das placas cromatográficas não foi observado a formação de nenhum produto, mas sim a permanência dos materiais de partida.

Desta forma, foram elaboradas modificações no método inicial para uma possível tentativa de formação dos produtos desejados. Primeiramente foi retirado o banho de gelo e a mistura reacional permaneceu sob agitação por mais 3 horas, não fornecendo resultados satisfatórios. Desta forma, o tempo reacional foi modificado, deixando a mistura sob agitação a temperatura ambiente por um tempo total de 78 horas.

Após esse período reacional, foi feita placa cromatográfica, evidenciando a ausência do material de partida e a formação de duas manchas adicionais, sugerindo a possível formação de alguns dos produtos esperados inicialmente. Em uma tentativa de separar os produtos formados, a mistura reacional foi purificada em coluna cromatográfica, na qual além de um dos materiais de partida (em excesso) foi possível coletar duas frações dos possíveis produtos. A análise do espectro de RMN ^1H , de uma das frações pode ser visualizada no **Anexo 63** mostra a possível formação de um dos compostos esperados (ainda não identificado) com a presença do material de partida **22**. O sinal em 8,97 ppm é o fator que pode comprovar a formação de um dos produtos, pois se relaciona com o hidrogênio do anel triazólico. Os outros três sinais em 4,61; 4,43 e 3,98 ppm relacionam-se com os grupos $-\text{CH}_2-$ do produto e do material de partida, supõe-se que os sinais em 4,61 e 4,43 ppm são do produtos formado, enquanto os sinais em 4,43 e 3,98 ppm pertençam ao material de partida. É evidente que se supõe uma sobreposição de sinais no pico em 4,43 ppm por esse motivo a integral relativa é praticamente duas vezes o valor encontrado para os dois outros picos. Pela análise dos cromatogramas (**Anexo 64**) (fase móvel: acetonitrila/água 1:1, coluna de sílica de fase reversa C-18) observa-se que o tempo de retenção do material de partida **22** é menor que dos outros dois produtos (Cromatograma **1**), um dos produtos formados tem um tempo de retenção intermediário e em seu

cromatograma é observado a contaminação por alguma impureza (Cromatograma 2). Já o outro produto formado (Cromatograma 3) apresenta o maior tempo de retenção dos três e nessa análise observa-se também a presença de material de partida. Os espectros de massas destas frações estão sendo realizados.

3.1.7 Reação de desproteção do composto *N*-benzil-2-[4-(carboxibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (50).

Com o objetivo de aumentar o número de compostos 1,2,3 triazólicos foi feita a desproteção de um ester benzílico (50) sintetizado pela reação de cicloadição 1,3 dipolar, formando o respectivo ácido carboxílico (51) (Esquema 10)

Esquema 11: Esquema da reação de desproteção do composto *N*-benzil-2-[4-(carboxibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (50) formando o composto *N*-benzil-2-[4-(carboxi)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (51).

Foi feita uma reação de hidrogenólise ácida, partindo do material de partida (50), usando como reagentes/catalisador paládio-carvão, ácido acético glacial e gás hidrogênio e metanol como solvente. Após o termino do tempo reacional (3 horas), o solvente foi eliminado sob pressão reduzida, obtendo-se o produto desejado 51 puro com um rendimento de 53%.

Na análise do espectro de hidrogênio do produto 51 não foram observados os hidrogênios aromáticos e do grupo metileno do éster 50.

3.1.8 Reação de desproteção do intermediário carbamato *N*-benzil-2-[4-(*N*-terc-butoxicarbonil-(metilamina))-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**52**).

Esquema 12: Esquema da reação de desproteção do intermediário carbamato *N*-benzil-2-[4-(*N*-terc-butoxicarbonil-(metilamina))-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**52**).

Visando uma posterior tentativa de oxidação do grupo amino, foi feita a retirada do grupo Boc protetor (*terc*-butiloxycarbonilamino) do intermediário **52**, conforme o **esquema 12**. Essa desproteção foi realizada usando ácido trifluoroacético e diclorometano como solvente. Após o período reacional o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, eliminando também os subprodutos da reação. O produto final **53** foi obtido de forma pura, com rendimento de 89%. A principal diferença na análise do espectro de hidrogênio do produto **53** foi a ausência das três metilas eliminadas do grupo protetor Boc.

3.1.9 Reações de cicloadição 1,3 dipolar para a formação de 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos (**19**).

Esquema 13: Esquema geral das reações de cicloadição 1,3 dipolar para formar compostos 1,5-dissubstituídos (**19**), R= CH₂OH.

Posteriormente à obtenção do intermediário **23**, foi realizada uma série de reações de cicloadição 1,3 dipolar com diferentes alcinos na presença do catalisador $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ para a geração de 1,2,3-triazóis-1,5-dissubstituídos (**19**) (**Esquema 12, Tabela 4**). A grande variedade de transformações químicas envolvendo alcinos catalisadas por espécies de rutênio, o uso de $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ foi explorado por Boren e col., considerando que a reação de cicloadição 1,3-dipolar pode ser realizada na presença de ligantes ricos em elétrons, como Cp^* , o qual estabiliza o alto estado de oxidação do rutênio, diversos solventes apróticos (THF, dioxano, tolueno, DMF, 1,2-dicloetano), na presença de grupos funcionais próticos nos reagentes, ou mesmo água na mistura reacional, altas temperaturas ou mesmo presença de oxigênio atmosférico (BOREN, et al. 2008). Desta forma, o método de preparação de **19** foi padronizado empregando o álcool propargílico, como derivado alcino terminal, e envolveu várias tentativas alterando-se as condições de irradiação por microondas, mas mantendo a irradiação a uma potência de 150 W. A princípio, o tempo reacional foi testado em uma faixa de 10 a 60 minutos a uma temperatura constante de 70° C, condições 1-3; porém até 20 minutos não foi observada a formação de produto e os materiais de partida foram mantidos inalterados. No entanto, a partir de 20 minutos de reação, o produto desejado era formado paralelamente a uma grande proporção de subprodutos. A diminuição da temperatura para 60° C e aumento do tempo conduziu à formação do produto esperado, livre de subprodutos, condições 4-7. Após algumas tentativas de padronização da reação, estabeleceram-se os seguintes parâmetros: Temperatura reacional de 60°C, tempo reacional de 60 minutos e potência do aparelho de 150W, condição 7.

Tabela 4: Condições testadas para padronização reações de cicloadição 1,3 dipolar para a formação de 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos (**19**), R= CH₂OH.

Condição	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Resultado
1	70	10	Mat. Partida
2	70	30	Mat. Partida
3	70	60	Degradação
4	60	10	Mat. Partida
5	60	20	Mat. Partida
6	60	30	Mat. Partida
7	60	30	Ideal

No presente trabalho foi prevista a formação de uma biblioteca com dezenas de compostos 1,5-dissubstituídos, porém houve algumas dificuldades durante as reações usando o catalisador de Rutênio, dificuldades estas não esperadas no início do projeto. De acordo com relatos da literatura, o catalisador não necessita de cuidado especial, podendo ser mantido a temperatura ambiente e em atmosfera normal. Foi observado durante a tentativa de síntese, a permanência do material de partida (ZHANG, L, et al. 2005). Por esta razão, os resultados insatisfatórios foram relacionados à degradação do catalisador. De fato foi constatado que o catalisador de Rutênio demanda cuidados especiais, como armazenamento a baixas temperaturas e utilização de atmosfera inerte durante as reações de acoplamento, para evitar sua degradação.

Apesar de todas as dificuldades, ainda assim foi possível sintetizar dois compostos 1,5-dissubstituídos, mas a síntese de maior número de compostos não foi alcançada devido ao esgotamento de todo o catalisador disponível.

A reação parece ocorrer por um acoplamento oxidativo entre as funções azido e alcino via um ciclo intermediário contendo o rutênio, no qual liga-se o carbono interno do alcino terminal e também ao nitrogênio interno do azido orgânico. A primeira ligação carbono-nitrogênio é formada entre o carbono mais eletronegativo (terminal) do alcino e o nitrogênio mais eletrofílico terminal do grupo azido. O produto triazólico 1,5-dissubstituído é formado a partir da eliminação redutiva do complexo e regeneração do catalisador, determinante da velocidade da reação. (**Esquema 14**) (BOREN, et al. 2008).

Esquema 14: Mecanismo reacional para a reação de cicloadição 1,3 dipolar formando 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos, sendo L= PPh₃.

Os espectros de RMN de ¹H dos dois compostos sintetizados, **65** e **66**, obtidos com 75 e 87% de rendimentos (**tabela 3**), respectivamente, mostraram a formação dos produtos esperados devido à presença dos sinais em 7,7 e 7,9 ppm, ligeiramente em região de maior desblindagem quando comparados aos compostos 1,4-dissubstituídos (7,5 ppm). O espectro também revelou a presença dos sinais das cadeias laterais dos alcinos, além dos grupos metilênicos presentes nos produtos finais.

3.2. Atividade tripanocida e citotóxica

Os ensaios de atividade tripanocida e de citotoxicidade foram realizados no Laboratório do Prof. Dr. João Santana da Silva e a Pós-doutoranda Renata Sesti Costa, do Departamento de Bioquímica e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Estes ensaios foram devidamente acompanhados durante o período de Mestrado e, em período anterior, como bolsista de treinamento técnico FAPESP (Processo 2010/08158-4).

Os ensaios de atividade tripanocida foram realizados em placas de 96 poços envolvendo a forma tripomastigota, cepa Tulahuen (*LacZ*), incubadas a 37° C por 4 horas com células de rim de macaco e na presença dos compostos sintetizados nas concentrações de 0,5000 a 0,0039 mM. Nestes testes, a cepa Tulahuen expressa a enzima β -galactosidase (β -Gal, EC 3.2.1.23), oriunda da bactéria *Escherichia coli*, e realiza a hidrólise do substrato vermelho de clorofenol β -D-galactopirano para geração dos produtos D-galactose (incolor) e vermelho de clorofenol, colorido na região do vermelho do espectro visível, 570 nm (BUCKNER et al. 1996). Por outro lado, os ensaios de citotoxicidade foram realizados em aparelho Citômetro de Fluxo, envolvendo células de baço de camundongos e os compostos sintetizados foram testados nas concentrações de 0,625 a 0,039 mM a 37° C durante 24 horas, tendo tween 20 a 0,5% foi utilizado como controle positivo de morte celular. Os resultados de atividade dos compostos **50-67** e **72**, assim como do controle positivo benznidazol (Bz), podem ser visualizados na **figura 15**. Como podem ser observados, de modo geral, os compostos sintetizados apresentaram razoável atividade tripanocida, com exceção dos compostos **52**, **54**, **55**, **56**, **58**, **61**, **68**, **69**, **70** e **71**, contendo cadeias alquílicas substituídas por grupo hidroxila, amino protegido ou propil carboxílico, ou mesmo anéis aromáticos substituídos por halogênio, *p*-metoxílico ou *m,m*-dimetoxílico, os quais apresentaram baixa atividade, conforme também mostrado na **Tabela 5**. Por outro lado, resultados bastante satisfatórios foram observados para os compostos **62**, **64** e **66**. Uma atenção especial deve ser dada ao composto **62**, o qual apresentou um valor de IC₅₀ de 7 μ M, considerado excelente, quando comparado ao valor de IC₅₀ 34,0 μ M do

benznidazol, quando testado nas mesmas condições *in vitro*. O composto **62** possui um grupamento *p*-nitro aromático (Ar-NO₂) ligado ao anel triazólico, possivelmente responsável pela excelente atividade tripanocida. Já os compostos **64** e **66** são regioisômeros e possuem a função *m*-metóxi aromática (Ar-O-CH₃) ligada ao anel triazólico, porém o composto **64** contém o anel triazólico 1,4-dissubstituído, enquanto **66** possui o mesmo anel 1,5-dissubstituído. Os três compostos mais ativos possuem em comum um anel aromático, mas substituídos em posições diferentes do anel aromático (*m* e *p*). Adicionalmente, é difícil concluir sobre a influência do grupo substituinte no anel aromático, uma vez que o nitro é sacador de elétrons, enquanto metóxi é doador, n. Considerando os produtos **64** e **66**, pode ser deduzido que substituições por grupos metoxílicos na posição meta de anéis aromáticos presentes em sistemas triazólicos, tanto na posição 4 quanto na 5 levam a resultados semelhantes, enquanto o correspondente derivado contendo a função *p*-metoxi arílica, composto **71**, mostrou-se inativo.

Os compostos sintetizados apresentaram diferentes atividades citotóxicas, desde moderada, como os compostos: **54**, **56**, **62**, **50** e **51** até atividades praticamente nulas, ou seja, desprovidos de citotoxicidade, como observado para as substâncias **57**, **58**, **59**, **60**, **61**, **65**, **62**, **52** e **53**, (**Figura 16**). Com relação ao composto **62**, o qual apresentou excelente ação tripanocida, a citotoxicidade foi um pouco maior que benznidazol, no entanto, esse fato não exclui a possibilidade desse composto ser considerado um protótipo para o desenvolvimento de novo fármaco, tendo em vista que esta substância apresentou um índice de seletividade (SI) de 114, **tabela 5**.

Figura 15: Atividades tripanocidas dos compostos sintetizados **50-72**, realizados em placas de 96 poços envolvendo a forma tripomastigota, cepa Tulahuen (*LacZ*), incubadas a 37° C por 4 horas com células de rim de macaco e na presença dos compostos sintetizados nas concentrações de 0,5000 a 0,0039 mM e benznidazol (Bz) como controle positivo.

Figura 16: Atividades citotóxicas dos compostos sintetizados **50-67** e **72**, realizados em aparelho Citômetro de Fluxo, envolvendo células de baço de camundongos e os compostos sintetizados nas concentrações de 0,625 a 0,039 mM a 37° C durante 24 horas, tendo tween 20 a 0,5% foi utilizado como controle positivo de morte celular.

A **Tabela 5** mostra a estrutura dos compostos sintetizados e os resultados obtidos nos ensaios de atividade tripanocida e citotóxica. A última coluna mostra o índice de seletividade (SI), ou seja, a relação entre citotoxicidade e atividade tripanocida, fator de suma importância para a escolha de um novo candidato a fármaco. Segundo ROMANHA, A. J. et al. (ROMANHA, A. J. et al. 2010), uma substância bioativa para prosseguir nos ensaios *in vitro*, com outras cepas do parasita, e, conseqüentemente, nos ensaios *in vivo* deve possuir um índice de seletividade (SI) mínimo próximo de 50. Desta forma, até o momento, foram obtidos os compostos: **62** (IC₅₀ 7 µM, SI 114,29), o qual se enquadra neste valor, com alta atividade contra o parasita e baixa citotoxicidade, além do composto **64** (IC₅₀ 40 µM, SI 21,00) e **66** (IC₅₀ 50 µM, SI não calculado devido à ausência de citotoxicidade), também interessantes.

Tabela 5: Códigos, estruturas e dados das atividades tripanocida, citotoxicidade e índice de Segurança (SI) de todos os compostos sintetizados **50-72** durante o projeto.

Código	Estrutura	IC ₅₀ (µM)	ED ₅₀ (µM)	SI (ED ₅₀ /IC ₅₀)
50		>500	720	ND
51		>100	ND	ND
52		380	>2000	ND

53		>500	>2000	ND
54		>500	490	ND
55		420	1700	4,05
56		>500	630	ND
57		>500	1080	ND
58		400	1600	4,00
59		180	800	4,44
60		160	1240	7,75
61		>500	1420	ND

62		7	800	114,29
63		290	940	3,24
64		40	840	21,00
65		390	>2000	ND
66		50	>2000	ND
67		>100	ND	ND
68		>100	ND	ND
69		>100	ND	ND

70		>100	ND	ND
71		>100	ND	ND
72		>100	ND	ND

ND: Dado não disponível devido a ausência de citotoxicidade.

4. CONCLUSÕES

4. CONCLUSÕES

Ao final deste projeto foi obtido como resultado a síntese de 23 substâncias inéditas na literatura, usando uma rota sintética relativamente simples e de fácil execução. O uso do aparelho de microondas foi essencial no decorrer do projeto, uma vez que permitiu a redução significativa do tempo das reações de cicloadição.

Um fato importante que deve ser salientado foi a facilidade de obtenção dos compostos puros em rendimentos satisfatórios, livres de subprodutos, pois no decorrer de todo o trabalho não foi necessário o uso de nenhum método especial de purificação, usando-se frequentemente somente uma extração ao final da reação. Fato muito interessante para a obtenção de compostos e forma rápida e eficiente.

A síntese de 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos foi realizada e forneceu a grande maioria dos compostos sintetizados (21 no total), mostrando que o uso de sulfato de cobre (CuSO_4) com ascorbato de sódio é uma boa combinação para a obtenção de Cu(I) e este é um excelente catalisador para este tipo de reação.

No entanto a síntese de 1,2,3-triazóis 1,5-dissubstituídos apresentou problemas durante sua execução, devido ao armazenamento e uso incorreto do catalisador $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$. Foi suposto inicialmente, consultando dados obtidos na literatura, que o frasco contendo o catalisador poderia ser armazenado à temperatura ambiente, e que as reações poderiam ser realizadas sob atmosfera normal, no entanto, com os resultados insatisfatórios de síntese foi feita uma nova pesquisa mais aprofundada, descobrindo que o frasco contendo o catalisador deveria ser guardado sob baixa temperatura e as reações deveriam ser realizadas sob atmosfera inerte. Porém, apesar de todos os empecilhos, foram obtidos dois compostos 1,5-dissubstituídos mostrando que essa proposta de síntese é viável quando tomado os devidos cuidados.

Com relação à atividade biológica dos compostos sintetizados, três merecem uma atenção especial **62**, **64** e **66**, pois apresentaram interessantes resultados de ação tripanocida, sendo um deles, produto **62** quase cinco vezes superior ao benznidazol, fármaco disponível atualmente para o tratamento da doença de Chagas, apresentando também um bom índice de seletividade. Com respeito à estrutura desses compostos, todos eles possuem um anel aromático ligado ao anel triazólico, diferenciando-se apenas quanto à ramificação desse anel aromático. O composto **62** possui o grupo nitro ($-\text{NO}_2$) ligado na posição para. Já os compostos **64** e **66** possuem um grupamento metóxi ($-\text{OCH}_3$) ligado ao anel triazólico em meta. A diferença entre os dois compostos é relacionada à substituição no anel triazólico, enquanto o composto **64** é 1,4-dissubstituído, o composto **66** é 1,5-dissubstituído.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Materiais

5.1.1. Aparelhagem analítica

- Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹H) foram obtidos em espectrômetros Bruker Avance DPX-300, DRX-400 e DRX-500 operando na frequência do hidrogênio-1 a 300, 400 e 500 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) estão descritos em parte por milhão em relação ao tetrametilsilano (TMS) e o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa.
- Os espectros de massas foram obtidos em aparelho de alta resolução, modelo Bruker Daltonics ULTRO-Q-TOF, empregando ionização por electrospray (ESI) e analisadores de quadrupolo (Q) e tempo de voo (TOF).
- Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em aparelho Nicolet Protege 460.
- As análises em CLAE foram realizadas em aparelho CLAE Shimadzu SCL-10AVP, e o software utilizado foi o Class-VP 5.0.

5.1.2. Aparelhagem laboratorial

- Agitador magnético: IKA RCT Basic
- Balanças: Mettler PE 400/ Sartorius BP 121S
- Banho termostaticado: Tecnal TE-184

- Bomba de alto vácuo: Precision Model D 150
- Cromatógrafo Flash Biotage®
- Evaporador rotatório: Büchi RE-121
- Evaporador rotatório com controlador de vácuo: Büchi R-215
- Luz ultravioleta: Spectroline CM-10
- Reator para irradiação de microondas CEM® Discover

5.1.3. Solventes, Reagentes e outros materiais

- Os solventes e reagentes comerciais foram convenientemente purificados, conforme métodos usuais descritos (ARMEGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. 2003).
- As Cromatografias em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram realizadas utilizando placas de sílica-gel 60 GF254 da MERCK®. A revelação das placas foi efetuada empregando irradiações de UV de 245 e 366nm e também vapores de sublimação de iodo.
- Acetato de etila grau HPLC (AcOEt) - Mallinckrodt
- Acetona, grau HPLC – Mallinckrodt
- Ácido acético glacial – Mallinckrodt
- Ácido Clorídrico 37% – F. Maia
- Água deionizada
- Água deuterada (D₂O) – Mallinckrodt
- Anidrido trifluoroacético >99% - Sigma-Aldrich
- Clorofórmio (CHCl₃) - Mallinckrodt
- Clorofórmio deuterado 99,8% (CDCl₃) - Acrós Organics

- Diclorometano (DCM) – Mallinckrodt
- N,N-dimetilformamida 99,9% (DMF) - Alfa Aesar
- Dimetil sulfóxido 99,5% – Aldrich
- Dimetil sulfóxido d-6 99,9% – Aldrich
- Hexano grau HPLC – Mallinckrodt
- Hidróxido de sódio 99% - Merck
- Metanol p.a. (MeOH) - Mallinckrodt
- Metanol deuterado 99,8% (CD₃OD) - Acrós Organics
- Peneira Molecular 3Å, pó - Aldrich
- Tolueno – Mallinckrodt

5.2. Métodos

5.2.1. Síntese

5.2.1.1. Síntese do intermediário *N*-benzil-2-cloroacetamida (22).

Em um funil de adição foram adicionados benzilamina (1,4700 g, 13,7 mmol), trietilamina (1,4529 g, 14,4 mmol) e 17 mL de diclorometano. Em um balão com capacidade para 50 mL foram adicionados o cloreto de cloro acetila (1,6255 g, 14,4 mmol) e 6 mL de diclorometano. A solução do funil de adição foi adicionada à solução do balão gota a gota sob agitação a 0° C. Após a adição a solução resultante permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por mais 24 horas. Ao termino desse período o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o sólido resultante foi lavado com água destilada gelada, e posteriormente seco sob pressão reduzida Apresentando-se ao final como um sólido de coloração branca. **Rendimento:** 95%. **Ponto de fusão:** 88-90°C.

Dados espectrais do composto: δ H (500 MHz): 7,44 a 7,19 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 6,88 (1H, sl, H-8); 4,50 (2H, d, H-7, J= 5,8Hz); 4,11 (2H, s, H-10).

Íon molecular (Espectrometria de massas): $H^+C_9H_{10}ClNO = 184,0532$

5.2.1.2. Síntese do intermediário 2-azido-*N*-benzilacetamida (23).

Em um tubo apropriado para reações no aparelho de microondas foram adicionados os sólidos *N*-benzil-2-cloroacetamida (0,3041 g, 1,6572 mmol) e azida de sódio (0,1616 g, 2,4858 mmol) juntamente com 3 mL de DMF. E então o tubo foi colocado no aparelho com a seguinte programação: Tempo reacional: 15 minutos, temperatura reacional: 70 ° C, potência de irradiação: 150 W, modo benchmate, agitação máxima e 1 minuto para elevação da temperatura. Após o termino da irradiação o DMF foi corrotaevaporado com tolueno sob pressão reduzida e então a mistura resultante foi extraída com diclorometano (3 porções de 12 mL) e água (1 porção de 12 mL). A parte orgânica da extração foi seca com MgSO₄ e concentrada sob pressão reduzida. Se apresentado ao final como um líquido viscoso incolor.

Rendimento: 98%.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 7,40 a 7,22 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 6,75 (1H, sl, H-8); 4,44 (2H, d, H-7, J= 5,8Hz); 3,97 (2H, s, H-10).

5.2.1.3. Síntese do composto tert-butil prop-2-inilcarbamato (25).

Em um balão de 20 mL foi pesado o cloridrato de propargilamina (1,0000 g, 1,0900.10⁻² mol) e adicionado 3,0 mL de trietilamina. Em um funil de adição foi adicionado o

grupo protetor (2,8514 g, $1,308 \cdot 10^{-2}$ mol) diluído em 12 mL de CH_2Cl_2 . A adição do grupo protetor ao cloridrato foi feita gota a gota a 0°C . Após a adição a mistura reacional foi agitada por 18 horas mantida a temperatura ambiente. Ao término desse período foi feita uma extração usando HCl 1mol.L^{-1} (20 mL) e acetato de etila (30 mL). Após a extração a parte orgânica foi seca com MgSO_4 e concentrada sob pressão reduzida. **Rendimento:** 81%.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 3,78 (2H, s, H-3); 2,51 (1H, s, H-1); 1,43 (9H, s, H-7a – H-7b – H-7c).

Procedimento geral de síntese de derivados 1,2,3-triazólicos, 1,4-dissubstituídos, compostos 50, 52, 54-64 e 67-72

Em um tubo apropriado para reações no aparelho de micro-ondas, foram adicionados na seguinte ordem: 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**), DMF, ascorbato de sódio, CuSO_4 1mol.L^{-1} e o reagente comercial, contendo a função alcino terminal. Após a adição dos reagentes o tubo foi fechado e colocado no aparelho programado com os seguintes parâmetros: Tempo reacional de 10 minutos, temperatura reacional de 70°C , Potência de irradiação de 150W, agitação máxima, modo de operação Benchmate e um minuto para elevação da temperatura. Após o término da irradiação o tubo foi retirado do aparelho e à mistura reacional foram adicionados 20 mL de tolueno. A mistura foi concentrada sob pressão reduzida a fim de se eliminar o solvente (DMF). Após essa etapa foi feita uma extração usando acetato de etila (3 porções de 20 mL cada) e água (1 porção de 20 mL), eliminando dessa maneira os sais presentes no meio reacional. Após a extração foi adicionado MgSO_4 à porção orgânica a fim de eliminar resquícios de água presentes. Após breve agitação e posterior filtração a solução foi seca sob pressão reduzida obtendo-se o produto desejado.

5.2.1.4. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(oxibenzilcarbonil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (50).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,2057 g, 1,0826 mmol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0214 g, 1,0826.10⁻⁴ mol), propiolato de benzila (**37**) (0,2252 g, 1,4074 mmol) e CuSO₄ 1mol.L⁻¹ (0,032 mL). **Rendimento:** 92%.

Ponto de fusão: 184-186°C.

Dados espectrais do composto: δ H (500 MHz): 8,84 (1H, t, H-8, J = 5,4Hz); 8,78 (1H, s, H-11); 7,50 a 7,20 (10H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-16 a H-20); 5,35 (2H, s, H-14); 5,24 (2H, s, H-10); 4,32 (2H, d, H-7, J = 5,8Hz). δ C (500 MHz): 165,84 C-9; 160,97 C-13; 139,52 C-12; 139,22 C-6 (Aromático); 136,71 C-15; 131,76 C-11; 129,38 C-Aromático; 129,23 C-Aromático; 129,09 C-18 (Aromático); 129,03 C-Aromático; 128,26 C-Aromático; 127,89 C-3 Aromático; 66,77 C-14; 52,61 C-10; 43,33 C-7.

Íon molecular (Espectrometria de massas): H⁺C₁₉H₁₈N₄O₃ = 351,1453

5.2.1.5. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(carboxi)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (51).

(51)

Em um balão de 10 mL foi pesado o material de partida (0,0500 g, $1,4286 \cdot 10^{-4}$ mol) e diluído em 5,50 mL de metanol. Sob agitação foi adicionado paládio (0,0652 g, $4,4529 \cdot 10^{-4}$ mol) e posteriormente 0,5 mL de ácido acético glacial. A mistura permaneceu sob agitação sob atmosfera de hidrogênio (escape por bexiga) à temperatura ambiente durante 3 horas. Após o término do período reacional a mistura teve o solvente e os produtos indesejáveis eliminados por evaporação sob pressão reduzida resultando no produto esperado puro na forma de um sólido branco. **Rendimento:** 53%. **Ponto de fusão:** 204-206°C.

Dados espectrais do composto: δ H (500 MHz): 8,85 (1H, t, H-8, $J = 5,7$ Hz); 8,61 (1H, s, H-11); 7,36 a 7,21 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,21 (2H, s, H-10); 4,31 (2H, d, H-7, $J = 5,8$ Hz). δ C (500 MHz): 165,07 C-9; 161,66 C-13; 160,54 C-12; 138,55 C-6 (Aromático); 130,42 C-11; 128,31 C-Aromático; 127,40 C-Aromático; 126,94 C-3 (Aromático); 51,61 C-10; 42,36 C-7.

5.2.1.6. Síntese do composto carbamato *N*-benzil-2-[4-(*N*-terc-butoxicarbonil-(metilamina))-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (52).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1249 g, $6,5737 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0130 g, $6,5737 \cdot 10^{-5}$ mol), carbamato de *t*-butil prop-2-inila (**25**) (0,1349 g, $7,8884 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L^{-1} (0,019 mL). **Rendimento:** 91%. **Ponto de fusão:** 129-131°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 7,89 (1H, s, H-11); 7,34 a 7,22 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,17 (2H, s, H-10); 4,40 (2H, s, H-7); 4,31 (2H, s, H-13); 1,43 (9H, s, H-17a – H-17b – H-17c). δC (500 MHz): 165,51 C-9; 155,58 C-12; 138,69 C-6 (Aromático); 128,34 C-Aromático; 127,34 C-Aromático; 126,98 C-3 (Aromático); 124,11 C-11; 77,93 C-16; 51,47 C-10; 42,29 C-7; 35,59 C-13; 28,31 C-17a/17b/17c.

5.2.1.7. Síntese do composto 2-[4-(aminometil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]-*N*-benzilacetamida (53).

Em um balão de 10 mL o material de partida (0,1401 g, $4,0609 \cdot 10^{-4}$ mol) foi diluído em 2,5 mL de CH_2Cl_2 a -9°C (banho de gelo e álcool). Foram então adicionados 2,0 mL de TFA e a mistura reacional permaneceu sob agitação por 3 horas a temperatura ambiente.

Após esse período o solvente e o ácido foram evaporados sob pressão reduzida restando no balão o produto desejado. **Rendimento:** 89%.

Dados espectrais do composto: δ H (500 MHz): 8,11 (1H, s, H-11); 7,35 a 7,24 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,25 (2H, s, H-10); 4,42 (2H, s, H-7); 4,26 (2H, s, H-13). δ C (500 MHz): 166,57 C-9; 138,30 C-6 (Aromático); 128,63 C-Aromático; 127,69 C-Aromático; 127,44 C-3 (Aromático); 126,09 C-12; 52,11 C-10; 43,49 C-7; 34,49 C-13.

5.2.1.8. *N*-benzil-2-[4-(hidroximetil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (54).

(54)

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1750 g, $9,2105 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0182 g, $9,2105 \cdot 10^{-5}$ mol), CuSO_4 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (0,027 mL) álcool propargílico (**29**) (0,0567 g, 1,0131 mmol) **Rendimento:** 64%. **Ponto de fusão:** 137-139°C.

Dados espectrais do composto: δ H (500 MHz): 7,85 (1H, s, H-11); 7,26 a 7,14 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,09 (2H, s, H-10); 4,60 (2H, s, H-13); 4,32 (2H, s, H-7). δ C (500 MHz): 166,74 C-9; 148,12 C-12; 138,35 C-6 (Aromático); 128,63 C-Aromático; 127,69 C-Aromático; 127,43 C-3 Aromático; 124,72 C-11; 55,51 C-13; 52,08 C-10; 43,37 C-7.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 = 247,1212$

5.2.1.9. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(4-hidroxibutil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**55**).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,072 g, $3,7895 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3), ascorbato de sódio (0,0075 g, $3,7895 \cdot 10^{-5}$ mol), CuSO_4 1mol.L^{-1} (0,011 mL) e 5-hexin-1-ol (**31**) (0,0408 g, $4,1684 \cdot 10^{-4}$ mol). **Rendimento:** 67%. **Ponto de fusão:** 138-140°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 7,78 (1H, s, H-11); 7,35 a 7,22 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,14 (2H, s, H-10); 4,41 (2H, s, H-7); 3,58 (2H, t, H-13 ou H-16, $J=6,5\text{Hz}$); 2,74 (2H, t, H-16 ou H-13, $J=7,6\text{Hz}$); 1,75 (2H, q, H-14 ou H-15, $J_1=7,6\text{Hz}$, $J_2=7,4\text{Hz}$); 1,59 (2H, q, H-15 ou H-14, $J_1=6,5\text{Hz}$, $J_2=7,4\text{Hz}$). δC (500 MHz): 166,82 C-9; 148,13 C-12; 138,29 C-6 (Aromático); 128,58 C-Aromático; 127,70 C-Aromático; 127,39 C-3 Aromático; 123,90 C-11; 61,51 C-16; 52,07 C-10; 43,31 C-7; 32,00 C-15; 25,77 C-14; 25,06 C-13.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2 = 289,1651$

5.2.1.10. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(2-hidroxibutil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (56).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,0999 g, $5,2579 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0104 g, $5,2579 \cdot 10^{-5}$ mol), hex-5-in-3-ol (0,0568 g, $5,7837 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (0,0157 mL). **Rendimento:** 54%. **Ponto de fusão:** 129-131°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 7,80 (1H, s, H-11); 7,35 a 7,20 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,15 (2H, s, H-10); 4,40 (2H, s, H-7); 3,75 (1H, H-14); 2,82 (2H, t, H-13); 1,48 (2H, dq, H-15); 0,98 (3H, t, H-16, $J = 7,4\text{Hz}$). δC (500 MHz): 166,60 C-9; 137,95 C-6 (Aromático); 128,22 C-Aromático; 127,26 C-Aromático; 127,04 C-3 Aromático; 124,63 C-11; 71,94 C-14; 51,59 C-10; 42,92 C-7; 32,70 C-13; 29,10 C-15; 8,93 C-16.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_2 = 289,1666$

5.2.1.11. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(carboxibutil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (57).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,0983 g, $5,1737 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0102 g, $5,1737 \cdot 10^{-5}$ mol), ácido 6-

heptinóico (**33**) (0,0717 g, $5,6911 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L^{-1} (0,015 mL). **Rendimento:** 32%. **Ponto de fusão:** 132-134°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 12,01 (1H, sl, H-18); 8,79 (1H, t, $J=5,6$ Hz, H-8); 7,81 (1H, s, H-11); 7,40 a 7,17 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,09 (2H, s, H-10); 4,31 (2H, d, $J=5,8$ Hz, H-7); 2,61 (2H, t, H-13 ou H-16); 2,24 (2H, s, H-16 ou H-13); 1,56 (4H, s, H-14 e H-15). δC (500 MHz): 174,42 C-18; 165,58 C-9; 146,32 C-12; 138,65 C-6 (Aromático); 128,33 C-Aromático; 127,33 C-Aromático; 126,96 C-3 Aromático; 123,35 C-11; 51,46 C-10; 42,26 C-7; 33,35 C-16; 28,37 C-14 ou C-15; 24,60 C-13; 24,00 C-15 ou C-14.

5.2.1.12. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(2-hidroxiopropan-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**58**).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1044 g, $5,4947 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0109 g, $5,4947 \cdot 10^{-5}$ mol), 2-metil-3-butin-2-ol (**32**) (0,0508 g, $6,0442 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L^{-1} (0,016 mL). **Rendimento:** 85%. **Ponto de fusão:** 111-113°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 7,86 (1H, s, H-11); 7,36 a 7,20 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,15 (2H, s, H-10); 4,41 (2H, s, H-7); 1,58 (6H, H-14a e H-14b). δC (500 MHz): 166,40 C-9; 137,91 C-6 (Aromático); 128,27 C-Aromático; 127,29 C-Aromático; 127,03 C-3 Aromático; 122,03 C-11; 67,66 C-13; 51,72 C-10; 42,91 C-7; 29,24 C-14a e C-14b.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2 = 275,1512$

5.2.1.13. Síntese do composto 2-[4-(3-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]-*N*-benzilacetamida (**59**).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1141 g, $6,0053 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0019 g, $6,0053 \cdot 10^{-5}$ mol), 3-etinilfenilamina (**26**) (0,0773 g, $6,6058 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L⁻¹ (0,018 mL). **Rendimento:** 64%. **Ponto de fusão:** 188-190°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,80 (1H, t, H-8, $J = 3,4\text{Hz}$); 8,29 (1H, s, H-11); 7,31 a 6,44 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 – H-14 a H-16 e H-18); 5,12 (2H, s, H-10); 4,26 (2H, d, H-7, $J = 3,4\text{Hz}$). δC (500 MHz): 166,44 C-9; 149,81 C-17 (Aromático); 147,73 C-12; 139,50 C-6 (Aromático); 131,96 C-13 (Aromático); 130,29 C-Aromático; 129,25 C-Aromático; 128,23 C-Aromático; 127,89 C-3 Aromático; 123,39 C-11; 114,55 C-Aromático; 114,01 C-Aromático; 111,37 C-Aromático; 52,58 C-10; 43,29 C-7.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O} = 308,1513$

5.2.1.14. Síntese do composto 2-[4-(4-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]-*N*-benzilacetamida (60).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1084 g, $5,7053 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0113 g, $5,7053 \cdot 10^{-5}$ mol), 4-etinilanilina (**27**) (0,0734 g, $6,2700 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L^{-1} (0,017 mL). **Rendimento:** 67%. **Ponto de fusão:** 185-187°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,82 (1H, t, H-8, $J = 5,6\text{Hz}$); 8,22 (1H, s, H-11); 7,53 a 6,57 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 – H-14 – H-15 – H-17 e H-18); 5,14 (2H, s, H-10); 4,33 (2H, d, H-7, $J = 5,8\text{Hz}$). δC (500 MHz): 166,46 C-9; 149,43 C-16 (Aromático); 147,97 C-12; 139,60 C-6 (Aromático); 129,23 C-Aromático; 128,25 C-Aromático; 127,87 C-Aromático; 127,03 C-3 Aromático; 121,57 C-11; 119,30 C-13 (Aromático); 114,84 C-Aromático; 52,55 C-10; 43,26 C-7.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O} = 308,1526$

5.2.1.15. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(carboxietil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**61**).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**): 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1104 g, $5,8105 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0115 g, $5,8105 \cdot 10^{-5}$ mol), ácido 4-pentinóico (**34**) (0,0626 g, $6,3916 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L⁻¹ (0,017 mL). **Rendimento:** 66%. **Ponto de fusão:** 184-186°C.

Dados espectrais do composto: δ H (500 MHz): 8,82 (1H, sl, H-8); 7,83 (1H, sl, H-11); 7,38 a 7,19 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,08 (2H, s, H-10); 4,30 (2H, s, H-7); 2,85 (2H, sl, H-13); 2,61 (2H, sl, H-14). δ C (500 MHz): 174,12 C-15; 166,42 C-9; 145,87 C-12; 139,57 C-6 (Aromático); 129,22 C-Aromático; 128,22 C-Aromático; 127,86 C-3 Aromático; 123,95 C-11; 52,44 C-10; 43,21 C-7; 33,69 C-14; 21,06 C-13.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3 = 289,1294$

5.2.1.16. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**62**).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,0948 g, $4,9895 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0099 g, $4,9895 \cdot 10^{-5}$ mol), 1-etinil-4-

nitrobenzeno (**36**) (0,0807 g, $5,4884 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L⁻¹ (0,0150 mL). **Rendimento:** 61%. **Ponto de fusão:** 276-278°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,89 (1H, t, H-8, $J = 5,4\text{Hz}$); 8,82 (1H, s, H-11); 8,36 a 7,20 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 – H-14 – H-15 – H-17 e H-18); 5,27 (2H, s, H-10); 4,34 (2H, d, H-7, $J = 5,8\text{Hz}$). δC (500 MHz): 166,13 C-9; 147,52 C-16 (Aromático); 145,13 C-12; 139,49 C-6 (Aromático); 137,95 C-13 (Aromático); 129,24 C-Aromático; 128,27 C-Aromático; 127,92 C-3 Aromático; 126,80 C-Aromático; 125,94 C-11; 125,27 C-Aromático; 52,78 C-10; 43,33 C-7.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_3 = 338,1257$

5.2.1.17. Síntese do composto *N*-benzil-2-(4-*o*-tolil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)acetamida (**63**).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1074 g, $5,6526 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0112 g, $5,6526 \cdot 10^{-5}$ mol), 1-etinil-2-metilbenzeno (**35**) (0,0721 g, $6,2179 \cdot 10^{-3}$ mol) e CuSO_4 1mol.L⁻¹ (0,017 mL). **Rendimento:** 70%. **Ponto de fusão:** 178-180°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,85 (1H, t, H-8, $J = 5,4\text{Hz}$); 8,37 (1H, s, H-11); 7,79 a 7,22 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-14 a H-17); 5,23 (2H, s, H-10); 4,35 (2H, d, H-7, $J = 5,8\text{Hz}$); 2,44 (3H, s, H-19). δC (500 MHz): 166,35 C-9; 146,22 C-12; 139,61 C-6 (Aromático); 135,72 C-13 (Aromático); 131,78 C-Aromático; 130,89 C-18 (Aromático);

129,25 C-Aromático; 128,99 C-Aromático; 128,62 C-Aromático; 128,26 C-Aromático; 127,89 C-3 Aromático; 126,89 C-Aromático; 125,68 C-11; 52,58 C-10; 43,32 C-7; 21,96 C-19.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O} = 307,1555$

5.2.1.18. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(3-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**64**).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1019 g, $5,3632 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0106 g, $5,3636 \cdot 10^{-5}$ mol), 1-etinil-3-metoxibenzeno (**28**) (0,0779 g, $5,8995 \cdot 10^{-3}$ mol) e CuSO_4 1mol.L⁻¹ (0,0161 mL).

Rendimento: 94%. **Ponto de fusão:** 171-173°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,87 (1H, t, H-8, $J = 5,5\text{Hz}$); 8,57 (1H, s, H-11); 7,47 a 6,87 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-14 - H-15 - H-16 e H-18); 5,21 (2H, s, H-10); 4,34 (2H, d, H-7, $J = 5,8\text{Hz}$); 3,81 (3H, s, H-20). δC (500 MHz): 166,34 C-9; 160,57 C-17; 146,97 C-12; 139,44 C-6 (Aromático); 132,76 C-13 (Aromático); 131,05 C-Aromático; 129,29 C-Aromático; 128,19 C-Aromático; 127,96 C-3 Aromático; 124,10 C-11; 118,41 C-Aromático; 114,55 C-18 (Aromático); 111,19 C-Aromático; 56,01 C-20; 52,64 C-10; 43,31 C-7.

Íon molecular (Espectrometria de massas): $\text{H}^+\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2 = 323,1515$.

5.2.1.19. Síntese do composto *N*-benzil-2-{4-[3-(trifluorometil)fenil]-1H-1,2,3-triazol-1-il}acetamida (67).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1126 g, $5,9263 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0117 g, $5,9263 \cdot 10^{-5}$ mol), 1-etinil-3-(trifluorometil)benzeno (0,01109 g, $6,5189 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L^{-1} (0,018 mL).

Rendimento: 87%. **Ponto de fusão:** 216-218°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,90 (1H, t, H-8, $J = 5,5\text{Hz}$); 8,79 (1H, s, H-11); 8,26 a 7,24 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-14 - H-15 - H-16 e H-18); 5,27 (2H, s, H-10); 4,36 (2H, d, H-7, $J = 5,8\text{Hz}$). δC (500 MHz): 165,82 C-9; 145,31 C-12; 139,19 C-6 (Aromático); 132,31 C-19; 130,67 C-Aromático; 130,47 C-17 (Aromático); 130,22 C-13 (Aromático); 129,49 C-Aromático; 128,89 C-Aromático; 127,94 C-Aromático; 127,55 C-3 (Aromático); 124,83 C-Aromático; 124,47 C-11; 121,94 C-Aromático; 52,45 C-10; 42,95 C-7.

5.2.1.20. Síntese do composto *N*-benzil-2-{4-[2-(trifluorometil)fenil]-1*H*-1,2,3-triazol-1-il}acetamida (68).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1139 g, $5,9947 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0119 g, $5,9947 \cdot 10^{-5}$ mol), 1-etinil-2-(trifluorometil)benzeno (**39**) (0,1122 g, $6,5942 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L^{-1} (0,0180 mL).

Rendimento: 96%. **Ponto de fusão:** 148-150°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,89 (1H, t, H-8, $J= 5,5\text{Hz}$); 8,32 (1H, s, H-11); 7,90 a 7,24 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-14 - H-15 – H-16 e H-17); 5,27 (2H, s, H-10); 4,36 (2H, d, H-7, $J= 5,8\text{Hz}$). δC (500 MHz): 165,84 C-9; 143,44 C-12; 139,20 C-6 (Aromático); 133,19 C-Aromático; 132,16 C-18 (Aromático); 131,79 C-Aromático; 130,00 C-19; 129,27 C-Aromático; 128,90 C-Aromático; 127,90 C-Aromático; 127,55 C-3 (Aromático); 126,62 C-Aromático; 125,98 C-11; 123,48 C-13 (Aromático); 52,23 C-10; 42,94 C-7.

5.2.1.21. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(3-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (69).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1399 g, 7,3631.10⁻⁴ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0146 g, 7,3631.10⁻⁵ mol), 1-etinil-3-fluorobenzeno (**40**) (0,0973 g, 8,0995.10⁻⁴ mol) e CuSO₄ 1mol.L⁻¹ (0,022 mL). **Rendimento:** 17%. **Ponto de fusão:** 221-223°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,90 (1H, t, H-8, *J*= 5,6Hz); 8,63 (1H, s, H-11); 7,76 a 7,15 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-14 - H-15 – H-16 e H-18); 5,24 (2H, s, H-10); 4,35 (2H, d, H-7, *J*= 5,8Hz). δC (500 MHz): 165,72 C-9; 162,16 C-17; 145,57 C-12; 139,21 C-6 (Aromático); 133,61 C-13; 131,58 C-Aromático; 128,89 C-Aromático; 127,91 C-Aromático; 127,55 C-3 (Aromático); 124,19 C-11; 121,66 C-Aromático; 114,99 C-Aromático; 112,19 C-Aromático; 52,42 C-10; 42,97 C-7.

5.2.1.22. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(3,5-dimetoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (70).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1197 g, $6,3000 \cdot 10^{-4}$ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0125 g, $6,3000 \cdot 10^{-5}$ mol), 1-etinil-3,5-dimetoxibenzeno (41) (0,1124 g, $6,9300 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (0,019 mL).

Rendimento: 75%. **Ponto de fusão:** 154-156°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,89 (1H, t, H-8, $J = 5,7\text{Hz}$); 8,60 (1H, s, H-11); 7,40 a 6,46 (8H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-14 - H-16 e H-18); 5,22 (2H, s, H-10); 4,36 (2H, d, H-7, $J = 5,8\text{Hz}$); 3,80 (6H, s, H-19a e H-19b). δC (500 MHz): 165,90 C-9; 161,43 C-15/17 (Aromático); 146,58 C-12; 139,21 C-6 (Aromático); 133,08 C-13 (Aromático); 128,88 C-Aromático; 127,94 C-Aromático; 127,55 C-3 (Aromático); 123,93 C-11; 103,62 C-Aromático; 100,44 C-16 (Aromático); 55,80 C-19a/19b; 52,33 C-10; 42,93 C-7.

5.2.1.23. Síntese do composto *N*-benzil-2-[4-(4-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (71).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1152 g, 6,0632.10⁻⁴ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0121 g, 6,0632.10⁻⁵ mol), 1-etinil-4-metoxibenzeno (**42**) (0,0881 g, 6,6695.10⁻⁴ mol) e CuSO₄ 1mol.L⁻¹ (0,018 mL). **Rendimento:** 22%. **Ponto de fusão:** 205-207°C.

Dados espectrais do composto: δ H (500 MHz): 8,87 (1H, t, H-8, J = 5,6Hz); 8,43 (1H, s, H-11); 7,82 a 6,98 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 - H-14 - H-15 – H-17 e H-18); 5,20 (2H, s, H-10); 4,35 (2H, d, H-7, J = 5,7Hz); 3,79 (3H, s, H-19). δ C (500 MHz): 166,05 C-9; 159,49 C-16; 146,59 C-12; 139,14 C-6 (Aromático); 128,93 C-Aromático; 127,88 C-Aromático; 127,47 C-3 (Aromático); 127,07 C-Aromático; 123,82 C-13 (Aromático); 122,53 C-11; 114,83 C-Aromático; 55,65 C-19; 52,29 C-10; 42,94 C-7.

5.2.1.24. Síntese do composto *N*-benzil-2-(4-*p*-tolil-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)acetamida (72).

Seguindo o procedimento geral, empregando 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,1115 g, 5,8684.10⁻⁴ mol), DMF (0,3 mL), ascorbato de sódio (0,0116 g, 5,8684.10⁻⁵ mol), 1-etinil-4-

metilbenzeno (**43**) (0,0750 g, $6,4553 \cdot 10^{-4}$ mol) e CuSO_4 1mol.L⁻¹ (0,018 mL). **Rendimento:** 90%. **Ponto de fusão:** 222-224°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,88 (1H, t, H-8, $J = 5,8\text{Hz}$); 8,49 (1H, s, H-11); 7,78 a 7,23 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,21 (2H, s, H-10); 4,34 (2H, d, H-7, $J = 5,8\text{Hz}$). δC (500 MHz): 165,43 C-9; 146,12 C-12; 138,68 C-6 (Aromático); 137,08 C-16; 129,43 C-Aromático; 128,34 C-Aromático; 127,93 C-13; 127,36 C-Aromático; 126,98 C-3 (Aromático); 125,02 C-Aromático; 122,54 C-11; 51,68 C-10; 42,34 C-7; 20,82 C-19.

5.2.1.25. Síntese do composto *N*-benzil-2-[5-(hidroximetil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**65**).

Em um tubo apropriado para a realização de reações no aparelho de microondas foi pesado o catalisador $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ (0,0072 g, 9,0452 μmol) e posteriormente adicionado ao tubo 1,5 mL de dioxano. Em um tubo de ensaio foram adicionados: 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,0859 g, $4,5211 \cdot 10^{-4}$ mol), álcool propargílico (**29**) (0,0279 g, $4,9732 \cdot 10^{-4}$ mol) e 0,5 mL de dioxano. Com o auxílio de uma seringa os materiais do segundo tubo foram adicionados ao primeiro. Após a adição dos reagentes o tubo foi fechado e colocado no aparelho programado com os seguintes parâmetros: Tempo reacional de 60 minutos, temperatura reacional de 60°C, Potência de irradiação de 150W, agitação máxima, modo de operação Benchmate e um minuto para elevação da temperatura. Após o término da irradiação o tubo foi retirado do aparelho e à mistura

reacional foram adicionados 20 mL de tolueno. Então essa mistura foi evaporada sob pressão reduzida a fim de se eliminar o solvente (dioxano). Após essa etapa foi feita uma extração usando acetato de etila (3 porções de 20 mL cada) e água (1 porção de 20 mL) eliminando dessa maneira os sais presentes no meio reacional. Após a extração foi adicionado MgSO_4 à porção orgânica a fim de eliminar resquícios de água dessa parte. Após breve agitação e posterior filtração a solução foi seca sob pressão reduzida obtendo-se o produto desejado. **Rendimento:** 75%. **Ponto de fusão:** 130-132°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 7,67 (1H, s, H-12); 7,36 a 7,22 (5H, m (Aromáticos), H-1 a H-5); 5,25 (2H, s, H-10); 4,74 (2H, s, H-13); 4,41 (2H, s, H-7). δC (500 MHz): 165,55 C-9; 138,67 C-6 (Aromático); 138,42 C-11; 132,00 C-11; 128,35 C-Aromático; 127,30 C-Aromático; 127,00 C-3 (Aromático); 52,26 C-13; 49,92 C-10; 42,32 C-7.

5.2.1.26. Síntese do composto *N*-benzil-2-[5-(3-metoxifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il]acetamida (**66**).

Semelhante ao experimento anterior 5.2.1.25, empregando o catalisador $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ (0,0064 g, 8,0402 μmol), 2-azido-*N*-benzilacetamida (**23**) (0,0733 g, $3,8579 \cdot 10^{-4}$ mol), 1-etinil-3-metoxi-benzeno (**28**) (0,0581 g, $4,4015 \cdot 10^{-4}$ mol) e 0,5 mL de dioxano. **Rendimento:** 87%. **Ponto de fusão:** 150-152°C.

Dados espectrais do composto: δH (500 MHz): 8,87 (1H, t, H-8, $J = 5,9\text{Hz}$); 7,92 (1H, s, H-12); 7,44 a 7,04 (9H, m (Aromáticos), H-1 a H-5 – H-14 – H-15 – H-16 e H-18); 5,19 (2H, s, H-10); 4,29 (2H, d, H-7, $J = 5,9\text{Hz}$); 3,76 (3H, s, H-19). δC (500 MHz): 165,71 C-9; 159,42 C-

17 (Aromático); 138,65 C-6 (Aromático); 138,20 C-11; 132,61 C-12; 130,16 C-Aromático; 128,27 C-Aromático; 127,82 C-13 (Aromático); 127,16 C-Aromático; 126,90 C-3 Aromático; 120,58 C-Aromático; 115,08 C-Aromático; 113,71 C-Aromático; 55,18 C-19; 50,33 C-10; 42,26 C-7.

5.2.2. Ensaios de atividade tripanocida *in vitro* e citotoxicidade.

Células de rim de macaco (LLC-MK2-strain ATCC) foram ressuspensas em meio RPMI na ausência de vermelho fenol (Gibco-BRL Life Technologies, Grand Island, NY) contendo 10% de soro fetal bovino (Life Technologies Inc., Bethesda, MD) e antibióticos (Sigma Chemical Co., St. Louis). Em placas de 96 poços foram cultivadas 2×10^3 células por poço por 24 horas. As células foram infectadas com 1×10^4 de parasitas da forma *T. cruzi* cepa *tulahuen*, constantemente expressando o gene β -galactosidase de *E. coli* e após 24 horas os compostos foram adicionados nas concentrações indicadas (0,5 mM a 0,0039 mM). Após quatro dias de cultura, 50 μ L de PBS contendo 0,5% de Triton X-100 e 100 mM Clorofenol Red- β -D-galactoside (CPRG-Sigma) foram adicionados. As placas foram incubadas a 37° C por 4 horas e a absorbância foi lida a 570 nm. (BUCKNER et al. 1996)

A citotoxicidade dos compostos sobre células de mamíferos foi avaliada da seguinte forma: Células de baço de camundongo C57BL/6 (SILVA, J. J. N. et al., 2008) foram isoladas por dissociação e incubadas por 5 minutos com o tampão red blood cell lysis (uma parte de 0,17 M Tris-HCl [pH 7,5] e nove partes de 0,16 M de cloreto de amônio). As células foram suspensas em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino e cultivadas em placas de 96 poços com fundo chato em uma concentração de 5×10^5 células/poço com diferentes concentrações dos compostos 2,5 mM a 0,19 mM a 37° C durante 24 horas. Tween 20 a 0,5% foi utilizado como controle positivo de morte celular. As células foram colhidas, incubadas com 10 mg/ mL de iodeto de propídio (Sigma) e os resultados adquiridos usando um FACSCantoll (Becton-Dickinson Immunocytometry System Inc., San

Jose, CA, EUA). A análise dos dados foi realizada utilizando o programa FlowJo (Ashland, Oregon, EUA).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO NETO, V. A vida e a obra de Carlos Chagas. **Imprensa Médica**, n.442, p.82-91. 1950.

APPUKKUTTAN, P.; DEHAEN, W.; FOKIN, V. V.; EYCKEN, E. V. A Microwave-Assisted Click Chemistry Synthesis of 1,4-Disubstituted 1,2,3-Triazoles via Copper(I)-Catalyzed Three-Component Reaction. **Organic Letters**, v. 6, n. 23, p.4223-4225, 2004.

ARAGÃO-LEONETI, V.; CAMPO, V. L.; GOMES, A. S.; FIELD, R. A.; CARVALHO, I. Application of copper(I)-catalysed azide/alkyne cycloaddition (CuAAC) 'click chemistry' in carbohydrate drug and neoglycopolymer synthesis. **Tetrahedron**, v. 66, p.9475-9492, 2010.

ARMEGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. Purification of Laboratory Chemicals. **Elsevier**. 5th Edition, 2003.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos. 2ª Edição, Porto Alegre, **Editora Artmed**, 2008.

BOCK, V. D.; HIEMSTRA, H.; VAN MAARSEVEEN, J. H. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 1, p. 51-68, 2006.

BOREN, B. C.; NARAYAN, S.; RASMUSSEN, L. K.; ZHANG, L.; ZHAO, H.; LIN, Z.; JIA, G.; FOKIN, V. V. Ruthenium-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition: Scope and Mechanism. **Journal of American Chemical Society**, v. 130, p.8923–8930, 2008.

BUCKNER, F. S.; VERLINDE, C. L.; LA FLAMME, A. C.; VAN VOORHIS, W. C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing β -galactoside. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, n. 11, p.2592 - 2597, 1996.

BURLEIGH, B. A.; ANDREWS, N. W. The Mechanism of *Trypanosoma cruzi* Invasion of Mammalian Cells. **Annual Review Microbiology**, v.49, p.175-200, 1995.

BUSCAGLIA, C. A.; CAMPO, V. A.; FRASCH, A. C. C.; DI NOIA, J. M. *Trypanosoma cruzi* surface mucins: host-dependent coat diversity. **Natural Reviews Microbiology** v. 4, p. 229-236, 2006.

CALDER, A.; FORRESTER, A. R.; HEPBURN, S. P. 2-Methyl-2-Nitrosopropane and its dimer. **Organic Syntheses**, v.6, p.803- 1988.

CAMPO, V. L.; SESTI-COSTA, R.; CARNEIRO, Z. A.; SILVA, J. S.; CARVALHO, I. Design, synthesis and the effect of 1,2,3-triazole sialymimetic neoglycoconjugates on *Trypanosoma cruzi* and its cell surface *trans*-sialidase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.20, p.145-156, 2012.

CARVALHO, I.; ANDRADE, P.; CAMPO, V. L.; GUEDES, P. M.; SESTI-COSTA, R.; SILVA, J. S.; SCHENKMAN, S.; DEDOLA, S.; COLINA, L.; REJZEK, M.; NEPOGODIEV, S. A.; CAMPO, R. A.. "Click chemistry" synthesis of a library of 1,2,3-triazole-substituted galactose derivatives and their evaluation against *Trypanosoma cruzi* and its surface *trans*-sialidase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.18, p.2412-2427, 2010.

CHAGAS, C. Nova tripanossomíase humana. Estudos sobre a morfologia e ciclo evolutivo do *Schizotripanum cruzi*, N. Gen, N. SP., o agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, p.159-218, 1909.

CLAYTON, J. Outlook: Chagas disease. **Nature**, v.465, p.S4-S5, 2010.

CONSENSO BRASILEIRO EM DOENÇA DE CHAGAS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38. p.1-29. Suplemento 3, 2005.

da SILVA JÚNIOR, E. N; de MELO, I. M.; DIOGO, E. B.; COSTA, V. A.; de SOUZA FILHO, J. D.; VALENÇA, W. O.; CAMARA, C. A.; de OLIVEIRA, R. N.; de ARAUJO, A. S.; EMERY, F. S.; dos SANTOS, M. R.; de SIMONE, C. A.; MENNA-BARRETO, R. F.; de CASTRO, S. L. On the search for potential anti-*Trypanosoma cruzi* drugs: Synthesis and biological evaluation of 2-hydroxy-3-methylamino and 1,2,3-triazolic naphthoquinoidal compounds obtained by click chemistry reactions. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, p.304-312, 2012.

de LEDERKREMER, R. M.; AGUSTI, R. Glycobiology of *Trypanosoma cruzi* **Advanced Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v. 62, p. 311-366, 2009.

FERNANDES, M. C.; CORTEZ, M.; FLANNERY, A. R.; TAM, C.; MORTARA, R. A.; NORMA W. ANDREWS, N. W. *Trypanosoma cruzi* subverts the sphingomyelinase-mediated plasma membrane repair pathway for cell invasion **The Journal of Experimental Medicine**, v. 208, p. 5 909-921, 2011.

FRIEDMAN, H.L. Influence of isosteric replacements upon biological activity. **National Academy of Science**. Washigton, DC, n.206, p.295-395, 1951.

GIL, M. V.; ARÉVALO, M. J.; LÓPEZ, O. Click Chemistry – What's in a Name? Triazole Synthesis and Beyond. **ChemInformation**, v.38, i.35, 2007.

GILBERT, K. E.; BORDEN, W. T. Peracid Oxidation of Aliphatic Amines: General Synthesis of Nitroalkanes. **Journal of Organic Chemistry**, v.44, n.4, 659-661, 1978.

GRAEBIN, C. S.; UCHOA, F. D.; BERNARDES, L. S. C.; CAMPO, V. L.; CARVALHO, I.; EIFLER-LIMA, V. L. **Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry** v. 8, p. 345-366, 2009,.

GUILLÉN, M. C. S.; COLOMBO, A. L.; TOQUERO, G. O.; ALBINO, I. G.; JIMENEZ, J. R; RASGADO, E. T.; ROSAS, H. S.; DÍAZ, M. R.; PÉREZ, P. P.; FUENTES, R. P. Clinical forms of *Trypanosoma cruzi* infected individuals in the chronic phase of Chagas disease in Puebla, Mexico. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, p.733-740. 2006.

HASEGAWA, T.; FUJISAWA, T.; NUMATA, M.; MATSUMOTO, T.; UMEDA, M.; KARINAGA, R.; MIZU, M.; KOUMOTO, K.; KIMURA, T.; OKUMURA, S.; SAKURAI, K.; SHINKAI, S. Schizophyllans carrying oligosaccharide appendages as potential candidates for cell-targeted antisense carrier. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 2, p.3091-3098, 2004.

HERNÁNDEZ-NÚÑEZ, E.; TLAHUEXT, H.; MOO-PUC, R.; TORRES-GÓMEZ, H.; REYES-MARTÍNEZ, R.; CEDILLO-RIVERA, R.; NAVA-ZUAZO, C.; NAVARRETE-VAZQUEZ, G. Synthesis and in vitro trichomonocidal, giardicidal and amebicidal activity of N-acetamide(sulfonamide)-2-methyl-4-nitro-1H-imidazoles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p.2975-2984, 2009.

HIMO, F.; LOVELL, T.; HILGRAF, R.; ROSTOVTSEV, V. V.; NOODLEMAN, L.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V. **Journal of American Chemical Society**, v. 127, p. 210-216, 2005.

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, p. 2004–2021, 2001.

LANGMUIR, I. Isomorphism, isosterism and covalence. **Journal of American Chemical Society**, v. 41, p.1543-1559, 1919.

LAZARDI, K.; URBINA, J. A.; SOUZA, W. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** v. 34, p. 2097-2105, 1990.

LUTZ, J. F.; ZARAFSHANI, Z. Efficient construction of therapeutics, bioconjugates, biomaterials and bioactive surfaces using azide-alkyne “click” chemistry. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 958-970, 2008.

MARCH, J.; *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure*. Fourth Edition. **John Wiley & Sons**, 1992.

MARX L.; ESKANDANI, Z.; HEMERY, P. Synthesis of versatile TIPNO-based alkoxyamines. **Reactive & Funcional Polymers**, v.69, p.306-318, 2009.

MOSES, J. E.; MOORHOUSE, A. D. The growing applications of click chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 36, p.1249-1262, 2007.

MUELAS, S.; SUÁREZ, M.; PÉREZ, R.; RODRÍGUEZ, H.; OCHOA, C.; ESCARIO, J. A.; GÓMEZ-BARRIO, A. In vitro and in vivo assays of 3,5-disubstituted-tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazin-2-thione derivatives against *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 269-272, 2002.

MUELAS-SERRANO, S.; LE-SENNE, A.; FERNÁNDEZ-PORTILLO, C.; NOGAL, J. J.; OCHOA, C.; GÓMEZ-BARRIO, A. In vitro and in vivo anti-*Trypanosoma cruzi* activity of a novel nitro-derivative. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 553-557, 2002.

MURTA, A. C.; PERSECHINI, P. M.; PADRON, T. S.; DE SOUZA, W.; GUIMARAES, J. A.; SCHARFSTEIN, J. Structural and functional identification of GP57/51 antigen of *Trypanosoma cruzi* as a cysteine proteinase. **Molecular Biochemistry and Parasitology**, v. 43, p. 27–38, 1990.

NANDIVADA, H.; JIANG, X.; LAHANN, J. Click Chemistry: Versatility and Control in the Hands of Materials Scientists. **Advanced Materials**, v. 19, p. 2197–2208, 2007.

NAVARRETE-VAZQUEZ, G.; CHÁVEZ-SILVA, F.; ARGOTTE-RAMOS, R.; RODRIGUEZ-GUITIERREZ MDEL, C.; CHAN-BACAB, M. J.; CEDILLO-RIVERA, R.; MOO-PUC, R.; HERNANDEZ-NUÑEZ, E. Synthesis of benzologues of Nitazoxanide and Tizoxanide: A comparative study of their in vitro broad-spectrum antiprotozoal activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 3168-3171, 2011.

NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, U.; LINARDI, P. M. *Parasitologia Humana*. 9ª. edição, **Ed. Atheneu, Belo Horizonte**, p. 82, 1995.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **First WHO report on neglected tropical diseases**. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Genebra, Suíça: OMS, p. 75-78, 2010.

PAPADOPOULOU, M. V.; BLOOMER, W. D.; ROSENZWEIG, H. S.; CHATELAIN, E.; KAISER, M.; WILKINSON, S. R.; McKENZIE, C.; IOSET, J. R. Novel 3-Nitro-1*H*-1,2,4-triazole-Based Amides and Sulfonamides as Potential Antitrypanosomal Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 5554-5565, 2012.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases **Journal of American Chemical Society**, v. 85, p. 3533–3539, 1963.

PORCAL, W.; HERNANDEZ, P.; BOIANI, L.; BOIANI, M.; FERREIRA, A.; CHIDICHIMO, A.; CAZZULO, J. J.; OLEA-AZAR, C.; GONZALEZ, M.; CERECETTO, H. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 6995-7004, 2008.

PRYDE, D. C.; MAW, G. N.; PLANKEN, S.; PLATTS, M. Y.; SANDERSON, V.; CORLESS, M.; STOBIE, A.; BARBER, C. G.; RUSSEL, R.; FOSTER, L.; BARKER, L.; WAYMAN, C.; VAN DER GRAAF, P.; STACEY, P.; MORREN, D.; KOHL, C.; BEAUMONT, K.; COGGON, S.; TUTE, M. Novel Selective Inhibitors of Neutral Endopeptidase for the Treatment of Female Sexual Arousal Disorder. Synthesis and Activity of Functionalized Glutaramides. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 4409-4424, 2006.

RASSI, A. JR.; DIAS, J. C.; MARIN-NETO, J. A.; RASSI, A. Challenges and opportunities for primary, secondary, and tertiary prevention of Chagas' disease. **Heart**, v. 95, p. 524-534, 2009.

RODIONOV, V. O.; FOKIN, V. V.; FINN, M. G. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, p. 2215-2220, 2005.

RODIONOV, V. O.; PRESOLSKI, S. I.; DÍAZ, D. D.; FOKIN, V. V.; FINN, M. G. **Journal of American Chemical Society**, v. 129, p. 12705-12712, 2007.

ROMANHA, A. J.; de CASTRO, S. L.; SOEIRO, M. N. C.; LANNES-VIEIRA, J.; RIBEIRO, I.; TALVANI, A.; BOURDIN, B.; BLUM, B.; OLIVIERI, B.; ZANI, C.; SPADAFORA, C.; CHIARI, E.; CHATELAIN, E.; CHAVES, G.; CALZADA, C. E.; BUSTAMANTE, J. M.; FREITAS-JUNIOR, L. H.; ROMERO, L. I.; BAHIA, M. T.; LOTROWSKA, M.; SOARES, M.; ANDRADE, S. G.; ARMSTRONG, T.; DEGRAVE, W.; ANDRADE, Z. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v.105, p. 233-238, 2010.

SÁNCHEZ-MORENO, M.; SANZ, A. M.; GÓMEZ-CONTRERAS, F.; NAVARRO, P.; MARÍN, C.; RAMÍREZ-MACIAS, I.; ROSALES, M. J.; OLMO, F.; GARCIA-ARANDA, I.; CAMPAYO, L.; CANO, C.; ARREBOLA, F.; YUNTA M. J. R. *In Vivo* Trypanosomicidal Activity of Imidazole- or Pyrazole-Based Benzo[g]phthalazine Derivatives against Acute and Chronic Phases of Chagas Disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p 970–979, 2011.

SCHENKMAN, S.; JIANG, M. S.; HART, G. W.; NUSSENZWEIG, V. A novel cell surface trans-sialidase of *Trypanosoma cruzi* generates a stage-specific epitope required for invasion of mammalian cells. **Cell**, v. 65, p. 1117-1125, 1991.

SILVA, J. J. N.; PAVANELLI, W. R.; GUTIERREZ, F. R. S.; LIMA, F. C. A.; SILVA, A. B. F.; SILVA, J. S.; FRANCO, D. W. Complexation of the anti-*Trypanosoma cruzi* Drug Benznidazole Improves Solubility and Efficacy. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, p.4104 - 4114, 2008.

Site FIOCRUZ: <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=131>; último acesso 25/10/2012.

Site MEDCHEM: <http://www.chemqmul.ac.uk/iupac/medchem/>; último acesso 25/10/2012.

TORRECILHAS A. C.; SCHUMACHER, R. I.; ARIA JÚLIA M. ALVES, M. J. M.; COLLI, W. Vesicles as carriers of virulence factors in parasitic protozoan diseases **Microbes and Infection**, v. 14, p. 1465–1474, 2012.

URBINA, J. A.; PAYARES, G.; SANOJA, C.; MOLINA, J.; LIRA, R.; BRENER, Z.; ROMANHA, A. J. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 21, p. 39-48, 2003.

WENDEL, S.; GONZAGA, A. L. Chaga's Disease and Blood Transfusion: a new world problem? **Vox Sanguinis**, v.64, p.1-12, 1993.

ZHANG, L.; CHEN, X.; XUE, P.; SUN, H. H. Y.; WILLIAMS, I. D.; SHARPLESS, K. B.; FOKIN, V. V.; JIA, G. Ruthenium-Catalyzed Cycloaddition of Alkynes and Organic Azides. **Journal of American Chemical Society**, v. 127, p.15998-15999, 2005.

7. ANEXOS

7. ANEXOS

Tabela 3: Dados espectroscópicos do composto **22**.

Número	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
1 a 5	7,44 a 7,19	5	m	-
8	6,88	1	sl	-
7	4,50	2	d	$J= 5,8$
10	4,11	2	s	-

Anexo 1: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **22**.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\007_POS.d
 Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
 Sample Name 007_POS
 Comment

Acquisition Date 6/5/2012 1:13:13 PM

Operator BDAL@DE
 Instrument / Ser# micrOTOF-C II 10219

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1200 m/z	Set Collision Cell RF	200.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

#	RT [min]	Area	Int. Type	Intens.	S/N	Chromatogram	Max. m/z
n.a.	16.4	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	184.0532
n.a.	17.3	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	184.0531

+MS, 16.4min #977

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	184.0532	5835	25756.5	626863	0.0315
2	185.0563	6463	2584.5	62901	0.0286
3	186.0504	5877	8339.0	202955	0.0317
4	187.0532	6945	811.6	19753	0.0269
5	206.0354	6769	2350.2	57200	0.0304
6	208.0323	7228	732.8	17834	0.0288
7	224.0481	7316	916.9	22315	0.0306
8	294.5490	8344	802.2	19525	0.0353
9	295.5477	7676	794.6	19338	0.0385
10	361.1906	8425	486.9	11849	0.0429

Compound Spectrum List Report

+MS, 17.3min #1031

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	184.0531	5832	49992.1	509510	0.0316
2	185.0561	6511	5014.9	51111	0.0284
3	186.0503	5944	16381.4	166956	0.0313
4	187.0531	6964	1617.3	16483	0.0269
5	206.0352	6813	2958.3	30150	0.0302
6	208.0323	7148	956.7	9751	0.0291
7	224.0479	7421	803.3	8187	0.0302
8	294.5489	8376	1966.1	20038	0.0352
9	295.5479	7609	1899.9	19363	0.0388
10	387.0690	9151	766.0	7807	0.0423

Tabela 4: Dados espectroscópicos do composto **23**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
1 a 5	7,40 a 7,22	5	m	-
8	6,75	1	sl	-
7	4,44	2	d	$J= 5,8$
10	3,97	2	s	-

Anexo 3: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **23**.

Tabela 5: Dados espectroscópicos (^1H) do composto **54**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
11	7,85	1	s	-
1 a 5	7,26 a 7,14	5	m	-
10	5,09	2	s	-
13	4,60	2	s	-
7	4,32	2	s	-

Anexo 4: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **54**.

Tabela 6: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **54**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,74	3	127,43
		Aromático	
12	148,12	11	124,72
6	138,35	13	55,51
Aromático			
Aromático	128,63	10	52,08
Aromático	127,69	7	43,37

Anexo 5: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **54**.

Anexo 6: Espectro de massas do composto **54**.

Tabela 7: Dados espectroscópicos do composto **55**.

Número	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
11	7,78	1	s	-
1 a 5	7,35 a 7,22	5	m	-
10	5,14	2	s	-
7	4,41	2	s	-
16	3,58	2	t	$J= 6,5$
13	2,74	2	t	$J= 7,6$
14	1,75	2	q	$J_1= 7,6; J_2= 7,4$
15	1,59	2	q	$J_1= 6,5; J_2= 7,4$

Anexo 7: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **55**.

Tabela 8: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **55**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,82	16	61,51
12	148,13	10	52,07
6	138,29	7	43,31
Aromático			
Aromático	128,58	15	32,00
Aromático	127,70	14	25,77
3	127,39	13	25,06
Aromático			
11	123,90

Anexo 8: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **55**.

Anexo 9: Espectro de massas do composto 55.

Tabela 9: Dados espectroscópicos do composto **56**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
11	7,80	1	s	-
1 a 5	7,35 a 7,20	5	m	-
10	5,15	2	s	-
7	4,40	2	s	-
14	3,75	1		
13	2,82	2		$J_1 = 4,7; J_2 = 7,7$
15	1,48	2	dq	
16	0,98	3	t	$J = 7,4$

Anexo 10: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **56**.

Tabela 10: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **56**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,60	14	71,94
6	137,95	10	51,59
Aromático			
Aromático	128,22	7	42,92
Aromático	127,26	13	32,70
3	127,04	15	29,10
Aromático			
11	124,63	16	8,93

Anexo 11: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **56**.

Anexo 12: Espectro de massas do composto 56.

Tabela 11: Dados espectroscópicos do composto **57**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
18	12,01	Próximo de 1	sl	-
8	8,79	1	t	5,6
11	7,81	1	s	-
1 a 5	7,40 a 7,17	5	m (Aromáticos)	-
10	5,09	2	s	-
7	4,31	2	d	5,8
13	2,61	2	t	-
16	2,24	2	s	-
14 e 15	1,56	4	s	-

Tabela 12: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **57**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
18	174,42	11	123,35
9	165,58	10	51,46
12	146,32	7	42,26
6	138,65	16	33,35
Aromático			
Aromático	128,33	14 ou 15	28,37
Aromático	127,33	13	24,60
3	126,96	15 ou 14	24,00
Aromático

Anexo 14: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **57**.

Tabela 13: Dados espectroscópicos do composto **58**.

Número	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
11	7,86	1	s	-
1 a 5	7,36 a 7,20	5	m	-
10	5,15	2	s	-
7	4,41	2	s	-
14a/14b	1,58	6	s	-

Anexo 15: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **58**.

Tabela 14: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **58**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,40	11	122,03
6	137,91	13	67,66
Aromático	128,27	10	51,72
Aromático	127,29	7	42,91
3	127,03	14a/14b	29,24
Aromático

Anexo 16: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **58**.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\027_POS.d
Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
Sample Name 027_POS
Comment

Acquisition Date 6/5/2012 3:25:02 PM

Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF-Q II 10219

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1200 m/z	Set Collision Cell RF	200.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

#	RT [min]	Area	Int. Type	Intens.	S/N	Chromatogram	Max. m/z
n.a.	11.4	n.a.	Average spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	430.9142
n.a.	11.2	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	297.1333
n.a.	8.8	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	275.1512

+MS, 11.3-11.5min # (676-687)

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	158.9641	5944	11288.3	80067	0.0267
2	297.1333	7546	10021.4	71081	0.0394
3	298.1352	8232	1505.6	10679	0.0362
4	311.1485	8182	2582.0	18314	0.0380
5	430.9142	7844	15308.8	108585	0.0549
6	566.8881	9140	1866.1	13236	0.0620
7	702.8629	9713	2706.9	19200	0.0724
8	838.8394	9663	5034.5	35709	0.0868
9	974.8137	10082	3167.1	22464	0.0967
10	1110.7871	10519	1331.7	9446	0.1056

Compound Spectrum List Report

+MS, 11.2min #667

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	158.9640	5977	7182.6	69580	0.0266
2	297.1333	7268	12243.8	118610	0.0409
3	298.1355	7981	1825.1	17680	0.0374
4	311.1482	8067	2394.7	23198	0.0386
5	430.9140	7918	9519.8	92221	0.0544
6	433.1062	8740	2002.7	19401	0.0496
7	566.8880	9184	1196.5	11591	0.0617
8	702.8624	9668	1660.7	16088	0.0727
9	838.8391	9834	3068.9	29729	0.0853
10	974.8136	10047	1891.8	18326	0.0970

+MS, 8.8min #525

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	148.0752	5321	8238.4	85185	0.0278
2	175.0864	6207	3888.0	40202	0.0282
3	229.1341	6482	24311.7	251384	0.0353
4	230.1370	7061	3637.9	37616	0.0326
5	275.1512	6417	38928.9	402526	0.0429
6	276.1537	7230	6566.4	67897	0.0382
7	297.1330	7324	11319.4	117043	0.0406
8	568.2644	9535	4603.9	47604	0.0596
9	568.7655	9581	3097.4	32027	0.0594
10	571.2739	8539	5512.1	56995	0.0669

Tabela 15: Dados espectroscópicos do composto **59**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,80	1	t	$J= 3,4$
11	8,29	1	s	-
1 a 5, 14 a 16 e 18	7,31 a 6,44	9	Aromáticos	-
10	5,12	2	s	-
7	4,26	2	d	$J= 3,4$

Anexo 18: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **59**.

Tabela 16: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **59**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,44	3	127,89
		Aromático	
17	149,81	11	123,39
Aromático			
12	147,73	Aromático	114,55
6	139,50	Aromático	114,01
Aromático			
13	131,96	Aromático	111,37
Aromático			
Aromático	130,29	10	52,58
Aromático	129,25	7	43,29
Aromático	128,23

Anexo 19: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **59**.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\031_POS.d
Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
Sample Name 031_POS
Comment

Acquisition Date 6/5/2012 9:25:48 AM

Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF-Q II 10219

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1200 m/z	Set Collision Cell RF	200.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

#	RT [min]	Area	Int. Type	Intens.	S/N	Chromatogram	Max. m/z
n.a.	16.0	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	308.1514
n.a.	15.9	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	308.1513

+MS, 16.0min #956

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	288.2900	7511	3578.6	50444	0.0384
2	308.1514	6793	48824.5	688239	0.0454
3	309.1543	6871	9309.3	131225	0.0450
4	330.1333	7278	8989.7	126720	0.0454
5	331.1359	8218	1708.3	24081	0.0403
6	615.2947	8858	3459.2	48761	0.0695
7	616.2971	9335	1283.3	18089	0.0660
8	637.2770	8259	13186.0	185872	0.0772
9	638.2793	8562	5270.6	74295	0.0745
10	944.4212	9733	1807.4	25477	0.0970

Compound Spectrum List Report

+MS, 15.9min #951

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	288.2899	7480	3982.7	52097	0.0385
2	308.1513	6780	55014.4	719639	0.0455
3	309.1543	6863	10509.2	137470	0.0450
4	316.3203	8305	1160.3	15178	0.0381
5	330.1331	7565	5776.4	75560	0.0436
6	615.2946	8816	4307.6	56348	0.0698
7	616.2971	9272	1586.5	20753	0.0665
8	637.2770	8452	9067.6	118612	0.0754
9	638.2788	8962	3551.9	46462	0.0712
10	944.4202	10289	1121.4	14669	0.0918

Tabela 17: Dados espectroscópicos do composto **60**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,82	1	t	$J= 5,6$
11	8,22	1	s	-
1 a 5, 14,15, 17 e 18	7,53 a 6,57	9	Aromáticos	-
10	5,14	2	s	-
7	4,33	2	d	$J= 5,8$

Anexo 21: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **60**.

Tabela 18: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **60**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,46	3	127,03
		Aromático	
16	149,43	11	121,57
Aromático			
12	147,97	13	119,30
		Aromático	
6	139,60	Aromático	114,84
Aromático			
Aromático	129,23	10	52,55
Aromático	128,25	7	43,26
Aromático	127,87

Anexo 22: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **60**.

Generic Display Report

Faculdade de Ciencias Farmaceuticas de Ribeirao Preto-USP

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\033_POS.d
Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
Sample Name 033_POS
Comment

Acquisition Date 6/2/2012 4:13:35 PM

Operator BDAL@DE
Instrument micrOTOF-Q II

Bruker Compass DataAnalysis 4.0

printed: 6/2/2012 4:35:20 PM

Page 1 of 1

Anexo 23: Espectro de massas do composto **60**.

Tabela 19: Dados espectroscópicos do composto **61**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,82	1	sl	-
11	7,83	1	sl	-
1 a 5	7,38 a 7,19	5	m (Aromáticos)	-
10	5,08	2	s	-
7	4,30	2	s	-
13	2,85	2	sl	-
14	2,61	2	sl	-

Anexo 24: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **61**.

Tabela 20: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **61**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
15	174,12	3	127,86
		Aromático	
9	166,42	11	123,95
12	145,87	10	52,44
6	139,57	7	43,21
Aromático			
Aromático	129,22	14	33,69
Aromático	128,22	13	21,06

Anexo 25: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **61**.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\035_POS.d
 Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
 Sample Name 035_POS
 Comment

Acquisition Date 6/5/2012 2:39:39 PM

Operator BDAL@DE
 Instrument / Ser# micrOTOF-Q II 10219

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1200 m/z	Set Collision Cell RF	200.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

#	RT [min]	Area	Int. Type	Intens.	S/N	Chroma:ogram	Max. m/z
n.a.	9.7	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	289.1294

+MS, 9.7min #581

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	261.1205	7458	1717.6	31515	0.0350
2	271.1159	6589	12958.0	237761	0.0411
3	272.1184	7494	2023.9	37136	0.0363
4	289.1294	4327	69485.3	1274953	0.0668
5	290.1285	6819	19372.9	355465	0.0425
6	291.1303	7992	2028.0	37211	0.0364
7	311.1067	7050	14920.7	273773	0.0441
8	312.1093	8007	2258.4	41439	0.0390
9	577.2409	8931	2078.8	38143	0.0646
10	599.2231	9017	2860.1	52478	0.0665

Tabela 21: Dados espectroscópicos do composto **62**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,89	1	t	$J= 5,4$
11	8,82	1	s	-
1 a 5, 14,15, 17 e 18	8,36 a 7,20	9	m (Aromáticos)	-
10	5,27	2	s	-
7	4,34	2	d	$J= 5,8$

Anexo 27: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **62**.

Tabela 22: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **62**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,13	3	127,92
		Aromático	
16	147,52	Aromático	126,80
Aromático			
12	145,13	11	125,94
6	139,49	Aromático	125,27
Aromático			
13	137,95	10	52,78
Aromático			
Aromático	129,24	7	43,33
Aromático	128,27

Anexo 28: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **62**.

Generic Display Report

Faculdade de Ciencias Farmaceuticas de Ribeirao Preto-USP

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\036_POS.d
Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
Sample Name 036_POS
Comment

Acquisition Date 6/2/2012 2:46:24 PM

Operator BDAL@DE
Instrument micrOTOF-Q II

Bruker Compass DataAnalysis 4.0

printed: 6/2/2012 3:09:23 PM

Page 1 of 1

Anexo 29: Espectro de massas do composto 62.

Tabela 23: Dados espectroscópicos do composto **50**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,84	1	t	$J= 5,4$
11	8,78	1	s	-
1 a 5, 16 a 20	7,50 a 7,20	10	m (Aromáticos)	-
14	5,35	2	s	-
10	5,24	2	s	-
7	4,32	2	d	$J= 5,8$

Anexo 30: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **50**.

Tabela 24: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **50**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,84	18	129,09
		Aromático	
13	160,97	Aromático	129,03
12	139,52	Aromático	128,26
6	139,22	3	127,89
		Aromático	
15	136,71	14	66,77
11	131,76	10	52,61
Aromático	129,38	7	43,33
Aromático	129,23

Anexo 31: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **50**.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF038_POS.d
Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
Sample Name 038_POS
Comment

Acquisition Date 6/5/2012 11:02:10 AM

Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF-Q II 10219

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1200 m/z	Set Collision Cell RF	200.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

#	RT [min]	Area	Int. Type	Intens.	S/N	Chromatogram	Max. m/z
n.a.	4.7	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	351.1453
n.a.	4.0	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	351.1453

+MS, 4.7min #282

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	351.1453	6919	27787.9	346143	0.0508
2	352.1481	7313	5734.0	71426	0.0482
3	373.1268	7942	3712.3	46243	0.0470
4	441.1913	8640	2427.8	30242	0.0511
5	553.1724	9627	2247.5	27996	0.0575
6	701.2840	8532	12171.1	151611	0.0822
7	702.2869	8912	5263.0	65559	0.0788
8	723.2659	8264	19742.3	245922	0.0875
9	724.2695	8733	8886.6	110697	0.0829
10	1073.4053	10082	2522.4	31421	0.1065

Compound Spectrum List Report

+MS, 4.0min #241

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	323.1498	7884	1161.4	7315	0.0410
2	351.1453	6904	22181.4	139711	0.0509
3	352.1480	7240	4584.4	28875	0.0486
4	373.1264	8296	856.4	5394	0.0450
5	701.2838	8640	9290.5	58517	0.0812
6	702.2868	9048	4041.9	25458	0.0776
7	720.2555	10193	988.8	6228	0.0707
8	720.7567	11049	902.9	5687	0.0652
9	723.2656	8680	5452.0	34340	0.0833
10	724.2686	9452	2363.2	14885	0.0766

Tabela 25: Dados espectroscópicos do composto **63**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,85	1	t	$J= 5,4$
11	8,37	1	s	-
1 a 5, 14 a 17	7,79 a 7,22	9	m (Aromáticos)	-
10	5,23	2	s	-
7	4,35	2	d	$J= 5,8$
19	2,44	3	s	-

Anexo 33: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **63**.

Tabela 26: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **63**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,35	Aromático	128,62
12	146,22	Aromático	128,26
6	139,61	3	127,89
Aromático		Aromático	
13	135,72	Aromático	126,89
Aromático			
Aromático	131,78	11	125,68
18	130,89	10	52,58
Aromático			
Aromático	129,25	7	43,32
Aromático	128,99	19	21,96

Anexo 34: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **63**.

Generic Display Report

Faculdade de Ciencias Farmaceuticas de Ribeirao Preto-USP

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\040_POS.d
Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
Sample Name 040_POS
Comment

Acquisition Date 6/2/2012 3:14:43 PM

Operator BDAL@DE
Instrument mic-OTOF-Q II

Bruker Compass DataAnalysis 4.0

printed: 6/2/2012 3:41:11 PM

Page 1 of 1

Anexo 35: Espectro de massas do composto 63.

Tabela 27: Dados espectroscópicos do composto **64**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,87	1	t	$J= 5,5$
11	8,57	1	s	-
1 a 5, 14, 15, 16 e 18	7,47 a 6,87	9	m (Aromáticos)	-
10	5,21	2	s	-
7	4,34	2	d	$J= 5,8$
20	3,81	3	s	-

Anexo 36: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **64**.

Tabela 28: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **64**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,34	3	127,96
		Aromático	
17	160,57	11	124,10
12	146,97	Aromático	118,41
6	139,44	18	114,55
Aromático		Aromático	
13	132,76	Aromático	111,19
Aromático			
Aromático	131,05	20	56,01
Aromático	129,29	10	52,64
Aromático	128,19	7	43,31

Anexo 37: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **64**.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Profa IVONE_QF\041_POS.d
Method tune_low_Tomaz1200_POS_HPLC.m
Sample Name 041_POS
Comment

Acquisition Date 6/5/2012 10:04:33 AM

Operator BDAL@DE
Instrument / Ser# micrOTOF-Q II 10219

Acquisition Parameter

Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Not active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	4.0 l/min
Scan End	1200 m/z	Set Collision Cell RF	200.0 Vpp	Set Divert Valve	Source

#	RT [min]	Area	Int. Type	Intens.	S/N	Chromatogram	Max. m/z
n.a.	17.3	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	323.1525
n.a.	17.1	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	323.1515
n.a.	2.8	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	430.9137
n.a.	17.7	n.a.	Single spectrum	n.a.	n.a.	n.a.	323.1515

+MS, 17.3min #1034

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	323.1525	4400	66124.6	1274971	0.0734
2	324.1533	6885	31247.0	602485	0.0471
3	325.1553	7929	3247.3	62612	0.0410
4	345.1313	8330	1799.9	34704	0.0414
5	645.2923	8902	2569.9	49552	0.0725
6	646.2939	9436	993.0	19147	0.0685
7	667.2735	9244	2178.0	41994	0.0722
8	668.2761	9805	849.2	16373	0.0682
9	833.8221	11114	835.0	16100	0.0750
10	967.4342	10697	1155.7	22283	0.0904

Compound Spectrum List Report

+MS, 17.1min #1022

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	323.1515	4393	57703.1	1274127	0.0736
2	324.1534	6808	34541.4	762701	0.0476
3	325.1554	7911	3646.8	80525	0.0411
4	345.1311	8548	1391.4	30724	0.0404
5	645.2922	8831	2243.5	49538	0.0731
6	667.2732	9394	1512.4	33395	0.0710
7	836.8194	10829	956.4	21117	0.0773
8	837.3200	10648	1026.7	22670	0.0786
9	837.8204	10679	997.1	22017	0.0785
10	967.4337	10695	924.3	20409	0.0905

+MS, 2.8min #169

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	158.9636	5858	9576.4	81426	0.0271
2	308.1503	7485	4736.9	40277	0.0412
3	383.1091	8121	4210.3	35799	0.0472
4	413.2650	8598	1520.1	12925	0.0481
5	430.9137	7907	12087.0	102773	0.0545
6	566.8876	9449	1290.9	10976	0.0600
7	702.8634	10123	2056.7	17488	0.0694
8	838.8403	9669	4279.2	36385	0.0868
9	974.8145	9970	2598.0	22090	0.0978
10	1110.7874	10285	1145.2	9737	0.1080

Compound Spectrum List Report

+MS, 17.7min #1058

#	m/z	Res.	S/N	I	FWHM
1	322.1672	5059	633.9	12816	0.0637
2	323.1515	4382	63062.6	1274997	0.0737
3	324.1537	6785	38741.8	783280	0.0478
4	325.1558	7900	4069.1	82268	0.0412
5	345.1315	8553	1279.5	25868	0.0404
6	361.1100	7155	616.0	12454	0.0505
7	645.2929	8922	2477.7	50094	0.0723
8	646.2942	9524	961.0	19429	0.0679
9	667.2737	9398	1434.8	29008	0.0710
10	967.4349	10637	992.0	20056	0.0910

Anexo 39: Continuação do espectro de massas do composto **64**.

Tabela 29: Dados espectroscópicos do composto **65**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
12	7,67	1	s	-
1 a 5	7,36 a 7,22	5	m (Aromáticos)	-
10	5,25	2	s	-
13	4,74	2	s	-
7	4,41	2	s	-

Anexo 40: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **65**.

Tabela 30: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **65**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,55	Aromático	127,30
6	138,67	3 Aromático	127,00
		Aromático	
11	138,42	13	52,26
12	132,00	10	49,92
Aromático	128,35	7	42,32

Anexo 41: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **65**.

Tabela 31: Dados espectroscópicos do composto **66**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,87	1	t	$J= 5,9$
12	7,92	1	s	-
1 a 5, 14, 15, 16 e 18	7,44 a 7,04	9	m (Aromáticos)	-
10	5,19	2	s	-
7	4,29	2	d	$J= 5,9$
19	3,76	3	s	-

Anexo 42: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **66**.

Tabela 32: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **66**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,71	Aromático	127,16
17	159,42	3	126,90
Aromático		Aromático	
6	138,65	Aromático	120,58
Aromático			
11	138,20	Aromático	115,08
12	132,61	Aromático	113,71
Aromático	130,16	19	55,18
Aromático	128,27	10	50,33
13	127,82	7	42,26
Aromático

Anexo 43: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **66**.

Tabela 33: Dados espectroscópicos do composto **25**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
3	3,78	2	s	-
1	2,51	1	s	-
7a, 7b e 7c	1,43	9	s	-

Anexo 44: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **25**.

Tabela 34: Dados espectroscópicos do composto **52**.

Número	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
11	7,89	1	s	-
1 a 5	7,34 a 7,22	5	m (Aromáticos)	-
10	5,17	2	s	-
7	4,40	2	s	-
13	4,31	2	s	-
17a/ 17b/ 17c	1,43	9	s	-

Anexo 45: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **52**.

Tabela 35: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **52**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,51	11	124,10
12	155,58	16	77,93
6	138,69	10	51,47
Aromático			
Aromático	128,34	7	42,29
Aromático	127,34	13	35,59
3	126,98	17a/17b/17c	28,31
Aromático

Anexo 46: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **52**.

Tabela 36: Dados espectroscópicos do composto **53**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
11	8,11	1	s	-
1 a 5	7,35 a 7,24	5	m (Aromáticos)	-
10	5,25	2	s	-
7	4,42	2	s	-
13	4,26	2	s	-

Anexo 47: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **53**.

Tabela 37: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **53**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,57	12	126,09
6	138,30	10	52,11
Aromático			
Aromático	128,63	7	43,49
Aromático	127,69	13	34,49
3	127,44		
Aromático

Anexo 48: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **53**

Tabela 38: Dados espectroscópicos do composto **67**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,90	1	t	$J= 5,5$
11	8,79	1	s	-
1 a 5, 14, 15, 16 e 18	8,26 a 7,24	9	m (Aromáticos)	-
10	5,27	2	s	-
7	4,36	2	d	$J= 5,8$

Anexo 49: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) do composto **67**.

Tabela 39: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **67**

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,82	Aromático	128,89
12	145,31	Aromático	127,94
6	139,19	3	127,55
Aromático		Aromático	
19	132,31	Aromático	124,83
Aromático	130,67	11	124,47
17	130,47	Aromático	121,94
Aromático			
13	130,22	10	52,45
Aromático			
Aromático	129,49	7	42,95

Anexo 50: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **67**.

Tabela 40: Dados espectroscópicos do composto **68**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,89	1	t	$J= 5,5$
11	8,32	1	s	-
1 a 5, 14, 15, 16 e 17	7,90 a 7,24	9	m (Aromáticos)	-
10	5,27	2	s	-
7	4,36	2	d	$J= 5,8$

Anexo 51: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **68**.

Tabela 41: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **68**

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,84	Aromático	128,90
12	143,44	Aromático	127,90
6	139,20	3	127,55
Aromático		Aromático	
Aromático	133,19	Aromático	126,62
18	132,16	11	125,98
Aromático			
Aromático	131,79	13	123,48
		Aromático	
19	130,00	10	52,23
Aromático	129,27	7	42,94

Anexo 52: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **68**.

Tabela 42: Dados espectroscópicos do composto **69**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,90	1	t	$J= 5,6$
11	8,63	1	s	-
1 a 5, 14, 15, 16 e 18	7,76 a 7,15	9	m (Aromáticos)	-
10	5,24	2	s	-
7	4,35	2	d	$J= 5,8$

Anexo 53: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **69**.

Tabela 43: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **69**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,72	3	127,55
		Aromático	
17	162,16	11	124,19
12	145,57	Aromático	121,66
6	139,21	Aromático	114,99
Aromático			
13	133,61	Aromático	112,19
Aromático	131,58	10	52,42
Aromático	128,89	7	42,97
Aromático	127,91

Anexo 54: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **69**.

Tabela 44: Dados espectroscópicos do composto **70**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,89	1	t	$J= 5,7$
11	8,60	1	s	-
1 a 5, 14, 16 e 18	7,40 a 6,46	8	m (Aromáticos)	-
10	5,22	2	s	-
7	4,36	2	d	$J= 5,8$
19a/19b	3,80	6	s	-

Anexo 55: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **70**.

Tabela 45: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **70**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,90	3	127,55
		Aromático	
15/17	161,43	11	123,93
Aromático			
12	146,58	Aromático	103,62
6	139,21	16	100,44
Aromático		Aromático	
13	133,08	19a/19b	55,80
Aromático			
Aromático	128,88	10	52,33
Aromático	127,94	7	42,93

Anexo 56: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **70**.

Tabela 46: Dados espectroscópicos do composto **71**.

Número	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,87	1	t	$J= 5,6$
11	8,43	1	s	-
1 a 5, 14, 15, 17 e 18	7,82 a 6,98	9	m (Aromáticos)	-
10	5,20	2	s	-
7	4,35	2	d	$J= 5,8$
19	3,79	3	s	-

Anexo 57: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) do composto **71**.

Tabela 47: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **71**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	166,05	Aromático	127,07
16	159,49	13	123,82
		Aromático	
12	146,59	11	122,53
6	139,14	Aromático	114,83
Aromático			
Aromático	128,93	19	55,65
Aromático	127,88	10	52,29
3	127,47	7	42,94
Aromático

Anexo 58: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **71**.

Tabela 48: Dados espectroscópicos do composto **72**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,88	1	t	$J= 5,8$
11	8,49	1	s	-
1 a 5	7,78 a 7,23	5	m (Aromáticos)	-
10	5,21	2	s	-
7	4,34	2	d	$J= 5,8$
19	2,33	3	s	-

Anexo 59: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **72**.

Tabela 49: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **72**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,43	Aromático	127,36
12	146,12	3	126,98
		Aromático	
6	138,68	Aromático	125,02
Aromático			
16	137,08	11	122,54
Aromático	129,43	10	51,68
Aromático	128,34	7	42,34
13	127,93	19	20,82

Anexo 60: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **72**.

Tabela 50: Dados espectroscópicos do composto **51**.

Número	δ ^1H (ppm)	Integral relativa	Multiplicidade	Constante de acoplamento (Hz)
8	8,85	1	t	$J= 5,7$
11	8,61	1	s	-
1 a 5	7,36 a 7,21	5	m (Aromáticos)	-
10	5,21	2	s	-
7	4,31	2	d	$J= 5,8$

Anexo 61: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) do composto **51**.

Tabela 51: Dados espectroscópicos (^{13}C) do composto **51**.

Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Número	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
9	165,07	Aromático	128,31
13	161,66	Aromático	127,40
12	160,54	3	126,94
6	138,55	Aromático	
Aromático		10	51,61
11	130,42	7	42,36

Anexo 62: Espectro de RMN ^{13}C (500 MHz) do composto **51**.

Anexo 63: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) da tentativa de síntese dos compostos **47**, **48** e **49**.

1

2

3

Anexo 64: Cromatogramas do material de partida **22** (1) e dois dos possíveis produtos **47**, **48** ou **49** (2 e 3).

No cromatograma **2** é possível identificar além do produto formado algum tipo de impureza.

No cromatograma **3** é possível perceber que além de um produto existe também material de partida.