



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

KETHULLY ALBUQUERQUE FERREIRA DE LIMA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NOVOS
HÍBRIDOS CONTENDO OS ANÉIS 1,2,4-OXADIAZOL / 1,2,3-TRIAZOL**

**Recife
2020**

KETHULLY ALBUQUERQUE FERREIRA DE LIMA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NOVOS
HÍBRIDOS CONTENDO OS ANÉIS 1,2,4-OXADIAZOL / 1,2,3-TRIAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFPE como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Nascimento de Oliveira

**Recife
2020**

Catálogo na fonte
Bibliotecária Mariana de Souza Alves CRB4-2105

L732s Lima, Kethully Albuquerque Ferreira de

Síntese e avaliação da atividade biológica de novos híbridos contendo os anéis 1,2,4-oxadiazol /1,2,3-triazol/ Kethully Albuquerque Ferreira de Lima – 2020.
124f., il., fig., tab.

Orientador: Ronaldo Nascimento de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química, Recife, 2020.

Inclui referências, apêndices e anexo.

1. Química Orgânica. 2. 1,2,4-oxadiazol. 3. 1,2,3-triazol. 4. Leishmaniose. I. Oliveira, Ronaldo Nascimento de. (orientador) II. Título.

CDD

UFPE-CCEN

KETHULLY ALBUQUERQUE FERREIRA DE LIMA

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE NOVOS
HÍBRIDOS CONTENDO OS ANÉIS 1,2,4-OXADIAZOL /1,2,3-TRIAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 09/10/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof. Ronaldo Nascimento de Oliveira (Orientador)

Universidade Federal Rural de Pernambuco
Departamento de Química

Profa. Janaína Versiani dos Anjos

Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Química Fundamental

Profa. Regina Celia Bressan Queiroz de Figueiredo

Fundação Oswaldo Cruz
Instituto Aggeu Magalhães

Dedico este trabalho a Deus, a minha família e a todos que me incentivaram e me apoiaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

À minha mãe, Luciana Albuquerque, a minha avó, Lindacy Albuquerque, por toda educação e oportunidades que me incentivaram a alcançar.

Ao meu marido, André Ribeiro, ao meu filho, Juan, que compartilharam e compreenderam os momentos dessa jornada e toda minha família por me incentivar a alcançar meus objetivos.

Ao meu orientador, o professor Dr. Ronaldo Nascimento, pela oportunidade de continuar o trabalho iniciado anteriormente, pela compreensão e por compartilhar comigo seus conhecimentos.

Aos professores do curso de Pós-Graduação da Universidade Federal de Pernambuco, que contribuíram para a minha formação e crescimento profissional.

Aos meus amigos que me acompanham desde a infância, aos que fiz nas instituições que cursei as disciplinas e desenvolvi pesquisa, UFPE e UFRPE, que me ajudaram nas conquistas realizadas durante o curso.

Ao pessoal do Laboratório de Síntese de Compostos Bioativos (LSCB-UFRPE) e Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Patógenos (Fiocruz), que me ajudaram na síntese dos compostos, atividade biológica e interpretação dos resultados. Em especial a Vanderlan Holanda e Welson Vicente, que muito contribuíram para a conclusão deste trabalho.

À Central Analítica da UFPE e UFRPE pelas análises realizadas.

RESUMO

Os heterociclos constituem uma enorme classe de compostos orgânicos com diversas aplicações industriais. Dentre estes pode-se citar os 1,2,4-oxadiazóis e 1,2,3-triazóis que apresentam diversas atividades biológicas associadas a sua estrutura. Com isso, o presente trabalho objetivou o desenvolvimento de novos híbridos que contenham os anéis citados e avaliação da atividade biológica. A estratégia sintética consistiu na adição de hidroxilamina para formar as amidoximas **9** (45%) e **11** (80%), seguida de ciclização térmica com cloretos de acila, formando os 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos **12** (85%) e **13** (67%). Na sequência, aplicou-se o protocolo *click* para a reação entre o alquino terminal **13** e a azido-alquilftalimida **2** para formar o híbrido molecular **14** (21%). O mesmo protocolo foi utilizado para a reação entre as azido-alquilftalimidas **1** e **2**, e os aquinos 4-etinil-benzonitrila e **12** para obtenção dos triazóis-ftalimidas **5** (53%) e **6** (82%), e dos bis-heterociclos **15** (74 %) e **16** (77 %). O azido-carboidrato **3** reagiu com 4-etinil-benzonitrila e o oxadiazol **12** para formar **4** (54%) e **17** (83%). Foram sintetizados os triazóis-ftalimidas **7** (97%) e **8** (76%) que posteriormente reagiram com a benzoamidoxima para a formação das carboximidamida-benzamidas **18** e **19** com rendimentos de 75 e 58%, respectivamente. Os ensaios de citotoxicidade foram realizados em macrófagos e células vero com as substâncias **4-6**, **12** e **15-17**. O composto menos tóxico foi o triazol-ftalimida-benzonitrila **6** ($Cl_{50} = 1087,5 \mu M$) seguido dos compostos **16** (495,3 μM), **12** (485,0 μM), **15** (439,5 μM) e **5** (347,2 μM). Os carboidratos-triazol-oxadiazólicos **4** e **17** apresentaram maior citotoxicidade com valores de 93,26 e 41,80 μM , respectivamente. Outro ensaio biológico realizado para os compostos **4-6**, **12** e **15-17** foi a dosagem de óxido nítrico com o objetivo de identificar um possível mecanismo de atividade leishmanicida, porém nenhum composto testado induziu a produção de óxido nítrico. O teste hemolítico foi realizado para identificar se os compostos causam algum dano a membrana plasmática, contudo todos os compostos testados apresentaram taxa de hemólise abaixo de 20%, mesmo a uma concentração de 200 μM .

Palavras-chave: 1,2,4-oxadiazol. 1,2,3-triazol. Leishmaniose.

ABSTRACT

The heterocycles constitute a huge class of organic compounds with diverse industrial applications. Among these compounds, it is worth quoting the 1,2,4-oxadiazoles and 1,2,3-triazoles that present several biological activities associated with their structure. Therefore, the present work proposed the development of news hybrids that contain its rings and assessment of biological activity. The synthetic strategy consisted of the addition of hydroxylamine to form amidoximes **9** (45%) and **11** (80%), followed by thermal cyclization with acyl chloride forming the 1,2,4-disubstituted 1,2,4-oxadiazoles **12** (85%) and **13** (67 %). Then, the click protocol was applied for the reaction between terminal alkyne **13** and azido-alkyl-phthalimide **2** to form molecular hybrid **14** (21%). The same protocol was used for the reaction between azido-alkyl-phthalimides **1** and **2**, and the 4-ethinyl-benzonitrile and **12** to obtain triazole-phthalimides **5** (53%) and **6** (82%), and bis-heterocycles **15** (74%) e **16** (77%). Azido-carbohydrate **3** reacted with 4-ethinyl-benzonitrile and oxadiazole **12** to obtain **4** (54%) e **17** (83%). Triazole-phthalimides **7** (97%) and **8** (76%) were synthesized; and then reacted with benzoamidoxime to form carboximidamide-benzamides **18** and **19** with yields of 75 and 58%, respectively. Cytotoxicity tests were performed in macrophages and vero cells for substances **4-6**, **12**, and **15-17**. The least toxic compound was triazole-phthalimide-benzonitrile **6** ($IC_{50} = 1087.5 \mu M$) followed by compounds **16** (495.3 μM), **12** (485.0 μM), **15** (439.5 μM) and **5** (347.2 μM). Carbohydrate-triazole-oxadiazoles **4** and **17** showed greater cytotoxicity with values of 93.26 and 41.80 μM , respectively. Another biological test performed for compounds **4-6**, **12**, and **15-17** was the nitric oxide dosage to identify a possible mechanism of leishmanicidal activity. However, none of the tested compounds induced the production of nitric oxide. Finally, the hemolytic test was carried out to investigate if the compounds provide any damage to the plasmatic membrane, and it was observed that all the tested compounds showed a hemolysis rate below 20%, even at a concentration of 200 μM .

Keywords: 1,2,4-oxadiazole. 1,2,3-triazole. Leishmaniasis.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AAC	Reação de Cicloadição 1,3-dipolar Azida-Alcino
CC ₅₀	Concentração Citotóxica para 50% das células
CCD	Cromatografia de Calmada Delgada
CDCl ₃	Clorofórmio Deuterado
CuAAC	Reação de cicloadição 1,3-dipolar Azida-Alcino catalisado por Cobre
RuAAC	Reação de cicloadição 1,3-dipolar Azida-Alcino catalisado por Rutênio
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
H _{ar}	Hidrogênio aromático
HOMO	Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia
H _{triaz}	Hidrogênio triazólico
CI ₅₀	Concentração da droga capaz de inibir em 50% a proliferação dos parasitas
IDRM	Intradermoreação de Montenegro
LC	Leishmaniose Cutânea
LM	Leishmaniose Mucocutânea
LUMO	Orbital Molecular Não-Ocupado de Menor Energia
LV	Leishmaniose Visceral
MET	Microscopia de Transmissão
MEV	Microscopia de Varredura
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação da Cadeia da Polimerase
R _f	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
rpm	Rotação por Minuto
S _N 2	Substituição Nucleofílica Bimolecular
UV	Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Atividade biológica dos híbridos de 1,2,4-oxadiazol-1,2,3-triazol	20
Figura 2 –	a) Formas de ressonância para o óxido de nitrila; b) Mecanismo de formação do 1,2,4-oxadiazol via cicloadição 1,3-dipolar	26
Figura 3 –	Formas isoméricas dos oxadiazóis	26
Figura 4 –	Fármacos contendo o anel oxadiazólico	27
Figura 5 –	Heterociclos 1,2,4-oxadiazol com atividades biológicas	28
Figura 6 –	Isômeros constitucionais do anel 1,2,3-triazólico	28
Figura 7 –	Formas de obtenção dos isômeros do 1 <i>H</i> -1,2,3-triazol	29
Figura 8 –	Heterociclos 1,2,3-triazólicos com atividades biológicas	30
Figura 9 –	Medicamentos contendo o anel triazol com diferentes atividades farmacológicas	31
Figura 10 –	<i>Huaco</i> apresentando lesão que sugere leishmaniose mucocutânea	32
Figura 11 –	Número de casos de leishmaniose cutânea e mucosa nas sub-regiões e em países selecionados das Américas, 2001-2016	33
Figura 12 –	Casos de leishmaniose visceral em países com maiores números de casos, Américas, 2001-2016	34
Figura 13 –	Ciclo de vida de parasitas do gênero <i>Leishmania</i>	36
Figura 14 –	Manifestação clínica da Leishmaniose Cutânea	37
Figura 15 –	Manifestação clínica da Leishmaniose Mucocutânea	37
Figura 16 –	Paciente que apresenta hepatosplenomegalia devido a Leishmaniose Visceral	38
Figura 17 –	Antimoniais pentavalentes utilizados no tratamento da Leishmaniose	40
Figura 18 –	Pentamidina comercializada no Brasil	40
Figura 19 –	Composto WR85915 com atividade contra a Leishmaniose	41
Figura 20 –	Heterociclo 1,2,4-triazol com atividade antileishmania	42
Figura 21 –	Heterociclos 1,2,3-triazólicos com atividade antileishmania contra <i>L. amazonensis</i>	43

Figura 22 –	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) e expansões do triazol-carboidrato 4	61
Figura 23 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do triazol-carboidrato 4	62
Figura 24 –	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) e expansões do triazol 5	63
Figura 25 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do triazol 5	64
Figura 26 –	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) e expansões do composto 6	65
Figura 27 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 6	66
Figura 28 –	Ordem de estabilidade dos isômeros de amidoximas	69
Figura 29 –	Estrutura das drogas comerciais utilizadas no tratamento do diabetes tipo 2	70
Figura 30 –	Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansões do Composto 13	71
Figura 31 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do oxadiazol 13	72
Figura 32 –	Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansões do Composto 14	74
Figura 33 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Composto 14	75
Figura 34 –	Espectro de RMN ^1H (90 MHz, CDCl_3) e expansões do composto 15	76
Figura 35 –	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) e expansões do composto 16	78
Figura 36 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do ftalimida-triazol-oxadiazol 16	79
Figura 37 –	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) e expansões do carboidrato-triazol-oxadiazol 17	80
Figura 38 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 17	81
Figura 39 –	Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansões do Composto 18	85
Figura 40 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Composto 18	85
Figura 41 –	Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansões do composto 19	86
Figura 42 –	Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto 19	87

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 –	Planejamento Sintético	21
Esquema 2 –	Reação de ciclo-adição 1,3-dipolar	24
Esquema 3 –	Reação de cicloadição de Huisgen (Cicloadição 1,3-dipolar Azido-Alcino - AAC)	24
Esquema 4 –	Reação de cicloadição 1,3-dipolar Azida-Alcino catalisado por Cobre (CuAAC)	25
Esquema 5 –	Obtenção do 1,2,4 oxadiazol a partir de O-acilamidoximas	27
Esquema 6 –	Síntese de obtenção das <i>N</i> -[aquil-azido]ftalimidas 1-2	58
Esquema 7 –	Síntese de obtenção dos 1,2,3-triazóis 4-8	59
Esquema 8 –	Proposta mecanística para a obtenção dos 1,2,3-triazóis utilizando sais de Cu(I)	60
Esquema 9 –	Síntese de obtenção do composto 9	66
Esquema 10 –	Mecanismo de obtenção da arilamidoxima 9	67
Esquema 11 –	Síntese de obtenção do composto 11	68
Esquema 12 –	Síntese do 1,2,4-oxadiazol-3,5-dissubstituídos 12-13	69
Esquema 13 –	Mecanismo geral de obtenção de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituído	70
Esquema 14 –	Síntese da ftalimida-triazol-oxadiazólica 14	73
Esquema 15 –	Síntese dos híbridos contendo os anéis 1,2,4-oxadiazol e 1,2,3-triazol	75
Esquema 16 –	Tentativas de reações de ftalimida com benzamidoxima	82
Esquema 17 –	Rota sintética conhecida para oxadiazolil benzamidas	82
Esquema 18 –	Síntese de obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis conjugados a 1,2,3-triazóis	83
Esquema 19 –	Mecanismo geral proposto para a obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis a partir da abertura do anel da ftalimida	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais espécies do gênero <i>Leishmania</i> encontradas no Novo e Velho Mundo e manifestação clínica associada	35
Tabela 2 – Eficácia do Composto WR85915 (Figura 19), Pentostam e Pentamidine contra <i>L. donovani</i> em BALB/c mice	41
Tabela 3 – Resultados da CC ₅₀ (μM) em Macrófago e Vero	88
Tabela 4 – Valores das Absorbâncias de Produção de Óxido Nítrico em Macrófagos	91

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	–	Equação da reta para os Compostos 4 e 13	90
Gráfico 2	–	Equação da reta para os Compostos 5-6 e 12, 15-17	90

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	19
1.1	PLANEJAMENTO SINTÉTICO.....	20
2	OBJETIVOS.....	22
2.1	OBJETIVO GERAL.....	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	23
3.1	REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO.....	23
3.2	1,2,4-OXADIAZÓIS.....	26
3.2.1	Síntese do anel 1,2,4-Oxadiazol.....	26
3.2.2	Atividades Biológicas associadas ao anel 1,2,4-Oxadiazol.....	27
3.2.3	Síntese do anel 1 <i>H</i> -1,2,3-triazólico via reação <i>click</i>	28
3.2.4	Atividades Biológicas de 1,2,3-Triazol.....	30
3.3	LEISHMANIOSE.....	31
3.3.1	Agente Etiológico e Ciclo de Vida.....	34
3.3.2	Manifestações Clínicas da Leishmaniose.....	36
3.3.2.1	Leishmaniose Cutânea.....	36
3.3.2.2	Leishmaniose Mucocutânea.....	37
3.3.2.3	Leishmaniose Visceral.....	38
3.3.3	Diagnóstico.....	38
3.3.4	Tratamento.....	39
3.3.5	Derivados de Oxadiazóis ou Triazóis com Atividade Antileishmania	41
4	METODOLOGIA.....	44
4.1	PROCEDIMENTOS GERAIS.....	44
4.2	EQUIPAMENTOS.....	44
4.3	SÍNTESE DE <i>N</i> -[ALQUIL-AZIDO]-FTALIMIDAS (1-2).....	44
4.3.1	<i>N</i> -[2-(azido)-etil]-ftalimida (1).....	45
4.3.2	<i>N</i> -[3-(azido)-propil]-ftalimida (2).....	45
4.4	SÍNTESE DE 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE ALCINOS E AZIDAS (4-8).....	45
4.4.1	4-[4-etinil-benzonitrila]-1-[azida-glicosil]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol (4).....	46

4.4.2	4-[4-etinil-benzonitrila]-1-[2-ftalimido-2-il-etil]-1H-1,2,3-triazol (5).....	46
4.4.3	4-[4-etinil-benzonitrila]-1-[2-ftalimido-3-il-propil]-1H-1,2,3-triazol (6)	47
4.4.4	4-Fenil-1-[2-ftalimido-2-il)etil]-1H-1,2,3-triazol (7).....	47
4.4.5	4-Fenil-1-[2-ftalimido-2-il)propil]-1H-1,2,3-triazol (8).....	47
4.5	SÍNTESE DA 4-ETINIL-BENZOAMIDOXIMA (9).....	48
4.6	SÍNTESE DA 4-(PROP-2-IN-1-ILÓXI)BENZONITRILA (COMPOSTO 10).....	49
4.7	SÍNTESE DA N'-HIDROXI-4-(PROP-2-IN-1-ILÓXI)BENZENOCARBOXIMIDAMIDA (COMPOSTO 11).....	49
4.8	SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZOL 3,5-DISSUBSTITUÍDOS (12-13).....	50
4.8.1	Síntese do 5-Fenil-3-[4-Etinil-Fenil]-1,2,4-Oxadiazol (12).....	50
4.8.2	Síntese do 5-adamantil-3-[4-(prop-2-in-1-ilóxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol (13).....	50
4.9	SÍNTESE DE 3-{4-[(1-(N-FTALIMIDOETIL)-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-il)METÓXI]FENIL}-5-ADAMANTIL-1,2,4-OXADIAZOL (COMPOSTO 14).....	51
4.10	SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS (15-17).....	52
4.10.1	5-fenil-[3-[4-benzil]-1-[2-ftalimido-2-il-etil]-1H-1,2,3-triazol]-1,2,4-oxadiazol (15).....	52
4.10.2	5-fenil-[3-[4-benzil]-1-[2-ftalimido-3-il-propil]-1H-1,2,3-triazol]-1,2,4-oxadiazol (16).....	53
4.10.3	55-fenil-[3-[2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glicopiranosil]-1H-1,2,3-triazol]-1,2,4-oxadiazol (17).....	53
4.11	SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE N-[ALQUIL-AZIDO]-FTALIMIDAS TRIAZOL E BENZOAMIDOXIMA (18-19).....	54
4.11.1	2-[N'-(benzoil-oxi)benzeno-carboximidamida]-N-[2-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil]benzamida (18).....	54
4.11.2	2-[N'-(benzoil-oxi)benzeno-carboximidamida]-N-[3-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil]benzamida (19).....	55
4.12	ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	56
4.12.1	Teste de Citotoxicidade.....	56

4.12.2	Dosagem de Óxido Nítrico.....	56
4.12.3	Teste Hemolítico.....	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	58
5.1	SÍNTESE DE <i>N</i> -[ALQUIL-AZIDO]-FTALIMIDAS (1-2).....	58
5.2	SÍNTESE DE 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE 4-ETINIL-BENZONITRILA E AZIDAS (4-8).....	59
5.3	SÍNTESE DA 4-ETINIL-BENZOAMIDOXIMA (9).....	66
5.4	SÍNTESE DA N'-HIDROXI-4-(PROP-2-IN-1-ILÓXI)BENZENOCARBOXIMIDAMIDA (11).....	67
5.5	SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZOL 3,5-DISSUBSTITUÍDOS (12-13).....	68
5.6	SÍNTESE DE 3-{4-[(1-(<i>N</i> -FTALIMIDOETIL)-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-il)METÓXI]FENIL}-5-ADAMANTIL-1,2,4-OXADIAZOL (14).....	72
5.7	SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS (15-17).....	75
5.8	SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE <i>N</i> -[ALQUIL-AZIDO]-FTALIMIDAS TRIAZOL E BENZOAMIDOXIMA (18-19).....	81
5.9	ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	88
5.9.1	Teste de Citotoxicidade.....	88
5.9.2	Dosagem de Óxido Nítrico.....	90
5.9.3	Teste Hemolítico.....	93
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	95
6.1	PERSPECTIVAS.....	95
	REFERÊNCIAS.....	97
	APÊNDICE A – ESPECTRO DE RMN ¹H (400 MHZ, CDCL₃) DO COMPOSTO 4.....	103
	APÊNDICE B – ESPECTRO DE RMN ¹³C (75 MHZ, CDCL₃) DO COMPOSTO 4.....	104
	APÊNDICE C – ESPECTRO DE RMN ¹H (400 MHZ, CDCL₃) DO COMPOSTO 5.....	105
	APÊNDICE D – ESPECTRO DE RMN ¹³C (75 MHZ, CDCL₃) DO COMPOSTO 5.....	106

APÊNDICE E – ESPECTRO DE RMN ^1H (400 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 6.....	107
APÊNDICE F – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 6.....	108
APÊNDICE G – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 13.....	109
APÊNDICE H – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 13.....	110
APÊNDICE I – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 14.....	111
APÊNDICE J – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 14.....	112
APÊNDICE K – ESPECTRO DE RMN ^1H (90 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 15.....	113
APÊNDICE L – ESPECTRO DE RMN ^1H (400 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 16.....	114
APÊNDICE M – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 16.....	115
APÊNDICE N – ESPECTRO DE RMN ^1H (90 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 17.....	116
APÊNDICE O – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 17.....	117
APÊNDICE P – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 18.....	118
APÊNDICE Q – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 18.....	119
APÊNDICE R – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 19.....	120
APÊNDICE S – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 19.....	121
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	122

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os heterociclos são compostos cíclicos que apresentam pelo menos um heteroátomo em sua estrutura, constituem uma classe de compostos orgânicos que apresentam diversas aplicações em inúmeros setores industriais. Algumas estruturas de grande importância biológica, como as vitaminas, enzimas, carboidratos, entre outros, são constituídas por um ou mais heterociclos. E muitos desses anéis costumam atuar como farmacóforos quando presentes na estrutura da droga. (SANTOS *et al*, 2020).

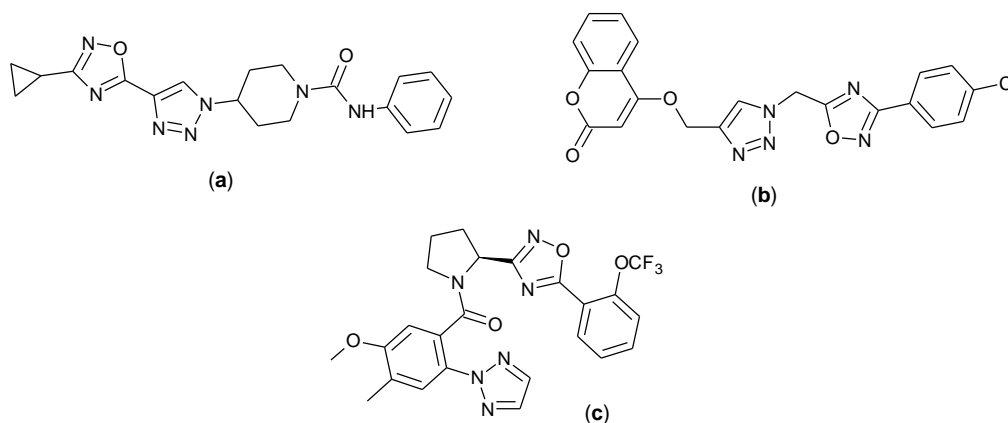
Dentre a enorme classe dos heterociclos destacam-se neste trabalho os 1,2,4-oxadiazóis e 1,2,3-triazóis. Os oxadiazóis são compostos heterocíclicos que apresentam em sua estrutura dois átomos de carbono, dois átomos de nitrogênio e um oxigênio, apresentam quatro isômeros constitucionais (DE, KHAMBETE, DEGANI, 2019), sendo de interesse neste trabalho apenas a forma 1,2,4-oxadiazol. Existem duas rotas sintéticas para obtenção destes compostos, a partir da cicloadição 1,3-dipolar entre óxidos de nitrila e nitrilas (CUNHA & AGUIAR, 2015) e o método mais utilizado, a ciclização da *O*-acilamidoxima (LI *et al*, 2018), presente neste trabalho.

Os triazóis também são compostos aromáticos que possuem em sua estrutura dois átomos de carbono e três átomos de nitrogênio, apresentam duas formas isoméricas, o 1,2,4-triazol e o 1,2,3-triazol (CHU *et al*, 2019), sendo objetivo de síntese deste trabalho apenas a última forma. A síntese deste heterociclo ocorre via reação de cicloadição 1,3-dipolar, mais conhecida como reação *click*, entre um alcino terminal e uma azida orgânica. (BOZOROV, ZHAO, AISA, 2019).

Existem diversas atividades biológicas associadas a estes heterociclos, 1,2,4-oxadiazol e 1,2,3-triazol, com isso buscou-se sintetizar novos compostos que apresentem em sua estrutura ambos os anéis para potencializar seus efeitos farmacológicos. A **Figura 1** mostra atividades biológicas de híbridos de 1,2,4-oxadiazol-1,2,3-triazol. O híbrido **(a)** apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e melhores resultados quando comparadas com os fármacos Metronidazol e Sintomicina. (KROLENKO, VLASOV, ZHURAVEL, 2016). O composto **(b)** quando comparado com a droga Etoposido mostrou melhores resultados de atividade anticâncer frente as linhagens de células

MCF-7 e MDA-MB231. (MOHAMMADI-KHANAPOSHTANI *et al*, 2019). Brotschi e colaboradores (2019) sintetizou o híbrido (c) e observou atividade inibitória dos receptores de orexina 1 e 2 que trata-se de um neurotransmissor que regula a excitação, vigília e apetite.

Figura 1 – Atividade biológica dos híbridos de 1,2,4-oxadiazol-1,2,3-triazol

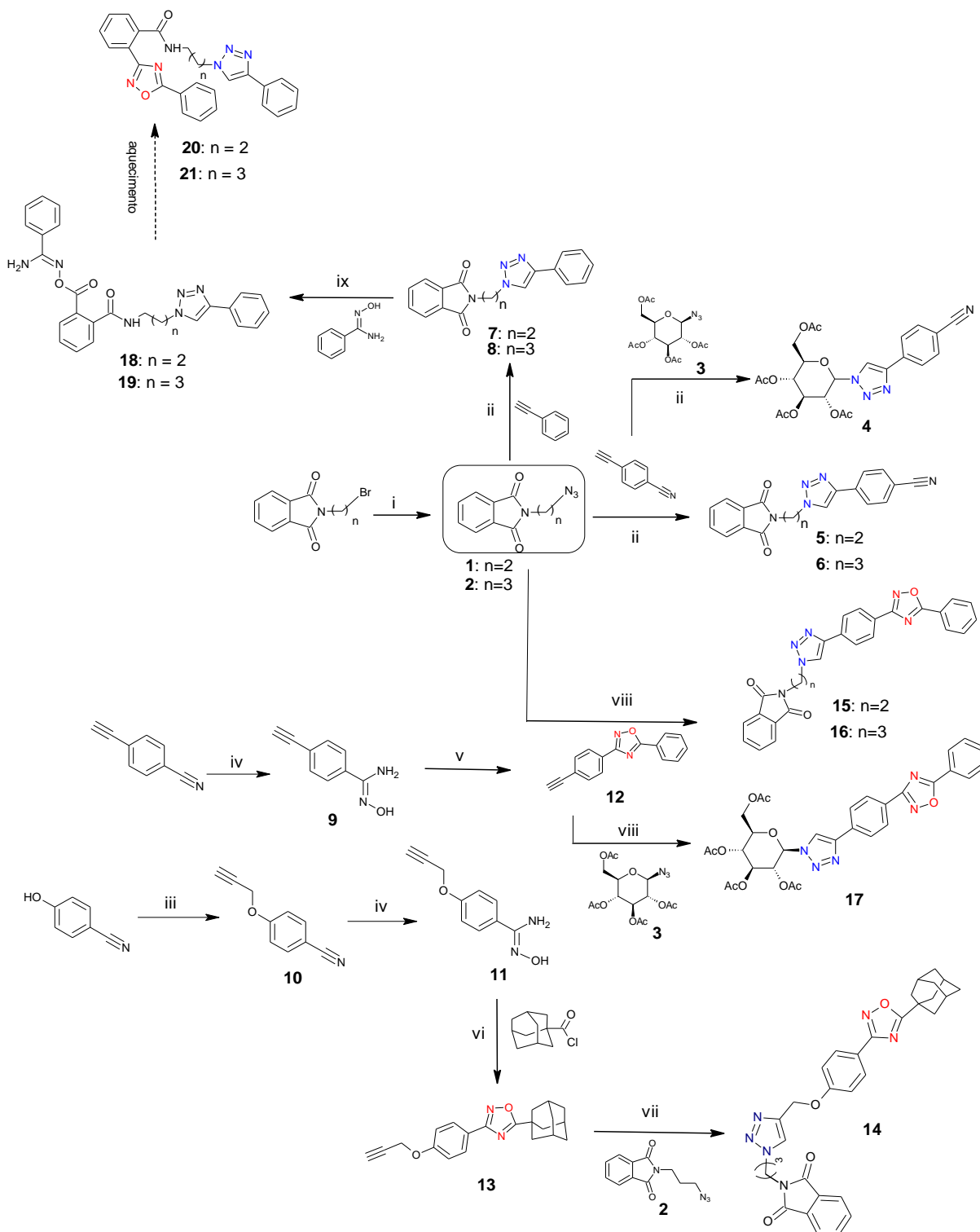


Fonte: A autora (2020)

1.1 PLANEJAMENTO SINTÉTICO

O planejamento sintético foi realizado para os compostos 1,2,3-triazólicos e os 1,2,4-oxadiazóis. A partir das alquil-azido-ftalimidas **1** e **2** através das reações de cicloadição, as quais foram utilizadas para preparar os triazóis **4-8**. Reação de 4-etinilamidoxima **9** com cloreto de benzoila forma o 1,2,4-oxadiazol **12**. Com reação subsequente de cicloadição entre as azidas orgânicas prepara-se os oxadiazóis-triazóis **15-17**. Uma nova rota sintética foi proposta para a síntese de oxadiazol-triazol-benzoamidas **18** e **19**. (Esquema 1)

Esquema 1 – Planejamento Sintético



Fonte: A autora (2020)

Reagentes e condições: i) NaN_3 , DMF-DMSO, 100 °C, 4 h, Ar (**1**, 99%; **2**, 88%); ii) CuI , Et_3N , DMF, t.a., 30 min, ultrassom (**4**, 54%; **5**, 53%; **6**, 82%; **7**, 97%; **8**, 76%); iii) brometo propargílico, K_2CO_3 , DMF (**10**, 81%); iv) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, NaHCO_3 , 48-72 h (**9**, 45%; **11**, 80%); v) cloreto de benzoíla, piridina, 200 °C, 3 h (**12**, 85%); vi) CH_2Cl_2 , t.a., 5 min (**13**, 67%); vii) CuI , CH_3CN , t.a., Ar, 5 h (**14**, 21%); viii) CuI , Et_3N , DMF, t.a., 1 h, ultrassom (**15**, 74%; **16**, 78%; **17**, 83%); ix) benzoamidoxima, DMF, K_2CO_3 , micro-ondas, 200 °C, 5 min (**18**, 75%; **19**, 58%).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar substâncias contendo os heterociclos 1,2,3-triazólicos e 1,2,4-oxadiazólicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar das alquil-azido-ftalimidas (compostos **1** e **2**) a partir da reação entre azida de sódio e alquil-bromo-ftalimidas;
- Sintetizar os compostos 1,2,3-triazólicos a partir das alquil-azido-ftalimidas e azida glicosil junto com a 4-etinil-benzonitrila através da reação de cicloadição 1,3-dipolar (compostos **4**, **5** e **6**);
- Sintetizar os compostos 1,2,3-triazólicos a partir das alquil-azido-ftalimidas e fenil acetileno através da reação de cicloadição 1,3-dipolar (compostos **7** e **8**);
- Sintetizar o 1,2,4-oxadiazol acetilênico (compostos **12** e **13**);
- Sintetizar os híbridos moleculares a partir do 1,2,4-oxadiazol acetilênico, junto com as alquil-azido-ftalimidas e azida glicosil (compostos **14**, **15**, **16** e **17**);
- Sintetizar, via reação de ciclização térmica, oxadiazolil benzamidas (compostos **18** e **19**) a partir da reação entre a benzoamidoxima e o grupo ftalimida de diversos triazóis-ftalimídicos.
- Avaliar o potencial citotóxico dos compostos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O conceito de química *click* foi introduzido em 2001 por K. Barry Sharpless, para descrever reações termodinamicamente favoráveis que, realizadas em laboratório, são capazes de conectar duas moléculas de forma muito simples e com altos rendimentos, sendo de grande aplicabilidade. (KOLB, FINN, SHARPLESS, 2001)

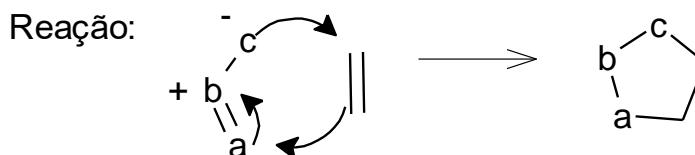
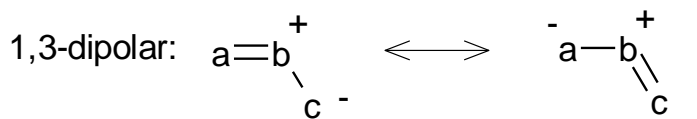
Dentre as reações de *click* pode-se citar: reações de cicloadição (1,3-dipolar e Diels-Alder), reações de abertura de anel nucleofílico, química da carbonila do tipo não-aldol e adição de ligações múltiplas carbono-carbono. (KOLB & SHARPLESS, 2003).

Segundo Kolb & Sharpless (2003) a química *click* vem sendo utilizada em diversas áreas, principalmente na área biomédica com a marcação de sistemas biológicas, como proteínas e nucleotídeos, também pode ser aplicada na bioconjugação *in vivo* e *in vitro*, como a rotulagem do DNA.

3.1 REAÇÃO DE CICLOADIÇÃO

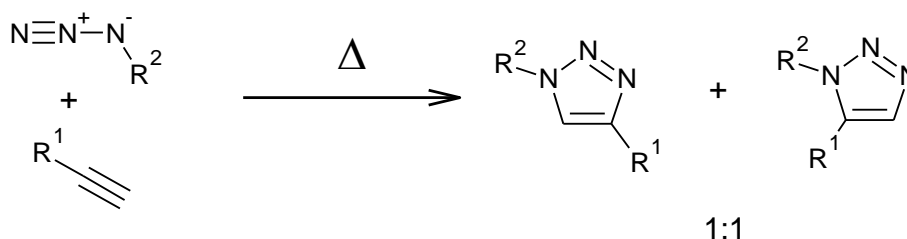
Uma forma de organizar as reações orgânicas pode ser com base em seu mecanismo: iônico, radicalar ou pericíclica, esta última constitui um mecanismo distinto, é caracterizado por processos de quebra e formações de ligações combinados com um movimento cíclico de elétrons em uma única estrutura de transição. (MANDAL, 2018).

Um exemplo de reação pericíclica é a reação 1,3-dipolar utilizada para formação de anéis de 5 membros. A mesma recebe este nome pois as duas pontas do dipolo são consideradas eletrofílicas / nucleofílicas (Esquema 2). (MANDAL, 2018).

Esquema 2 – Reação de cicloadição 1,3-dipolar

Fonte: A autora (2020)

A reação de cicloadição 1,3-dipolar entre uma azida orgânica e um alcino terminal (AAC) foi desenvolvida por Huisgen e colaboradores em 1967 com o objetivo de sintetizar 1,2,3-triazóis. Contudo apresentou dificuldades, como a necessidade de altas temperaturas e baixa regioselectividade, formando triazóis 1,4 e 1,5-dissubstituídos e isto fez com que a mesma fosse ignorada por décadas. (Esquema 3). (ROSTOVTSEV *et al*, 2002).

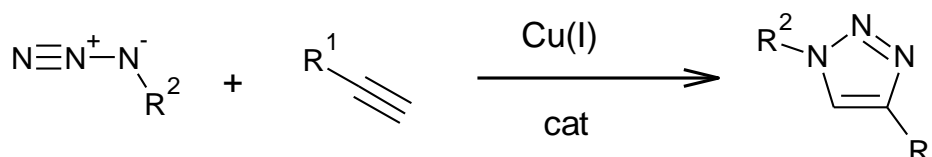
Esquema 3 – Reação de cicloadição de Huisgen (Cicloadição 1,3-dipolar Azido-Alcino - AAC)

Fonte: A autora (2020)

Em 2002 ocorreu um avanço na reação de AAC, o método proposto por Sharpless e colaboradores introduziu o cobre como catalisador, reação de *click*, que permitiu uma melhora surpreendente tanto no rendimento quanto na regioselectividade do processo, pois promove um mecanismo concertado formando apenas o triazol 1,4-dissubstituído. (ROSTOVTSEV *et al*, 2002). Tornoe e colaboradores (2002) também observou esta eficiência do cobre mesmo utilizando diferentes azidas. (Esquema 4). Esta metodologia por ser moderna e prática vem

sendo bastante utilizada na síntese orgânica e inclusive no desenvolvimento de novos fármacos. (THAKUR & KHARE, 2019)

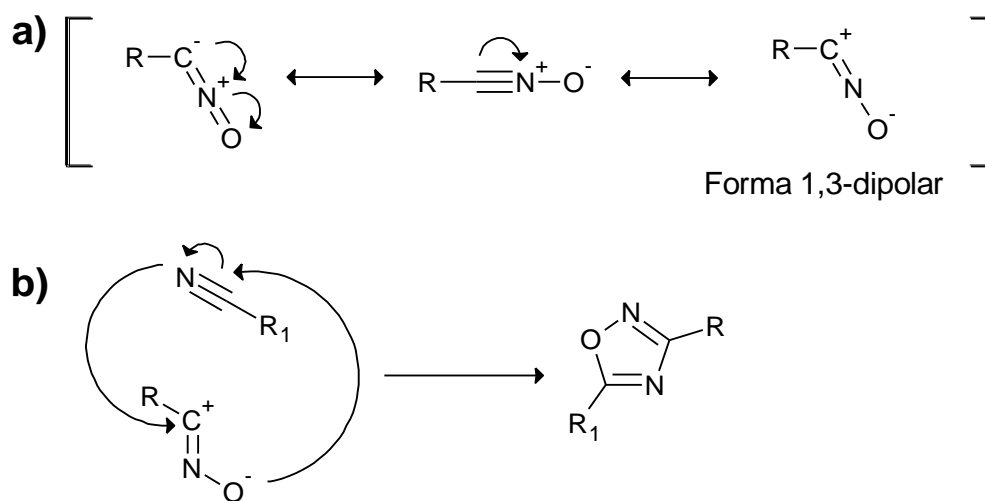
Esquema 4 – Reação de cicloadição 1,3-dipolar Azida-Alcino catalisada por Cobre (CuAAC)



Fonte: A autora (2020)

Outro exemplo de reação *click* de nosso interesse é a reação de cicloadição 1,3-dipolar entre nitrilas e óxidos de nitrila formam o anel 1,2,4-oxadiazol que ocorre pela adição do óxido de nitrila a um grupo nitrila de um dipolarófilo, a teoria que rege este mecanismo de reação é a de conservação dos orbitais de Woodward-Hoffmann. Trata-se de uma reação concertada, classificada como uma reação de cicloadição [4+2] onde o sistema 4- π (elétron) do dipolo, na sua forma 1,3-dipolar (**Figura 2**), interage com o sistema 2- π (elétron) do dipolarófilo. A regioquímica de adição é influenciada pela natureza do substituinte e a interação espacial dos reagentes, isso faz com que o oxigênio se ligue preferencialmente ao átomo de carbono mais substituído do dipolarófilo, pois o mecanismo de reação ocorre de maneira favorável entre os orbitais HOMO, orbital molecular ocupado de maior energia e o LUMO, orbital molecular desocupado de menor energia, combinando os orbitais que possuem níveis de energia próximos, ou seja, favorecendo o processo de menor diferença de energia (ΔE). (CUNHA & AGUIAR, 2015).

Figura 2 – a) Formas de ressonância para o oxido de nitrila; b) Mecanismo de formação do 1,2,4-oxadiazol via cicloadição 1,3-dipolar.

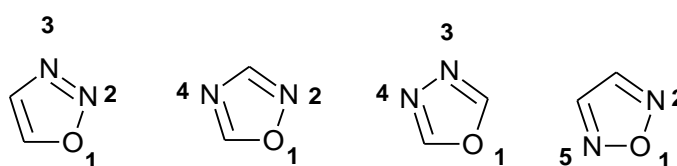


Fonte: A autora (2020)

3.2 1,2,4-OXIADIAZÓIS

Os oxadiazóis são compostos heterocíclicos aromáticos que possuem em sua estrutura dois átomos de carbono, dois átomos de nitrogênio e um átomo de oxigênio. Possuem quatro isômeros constitucionais, sendo o 1,2,4 e o 1,3,4 as formas mais conhecidas (**Figura 3**). (DE, KHAMBETE, DEGANI, 2019).

Figura 3 – Formas isoméricas dos oxadiazóis



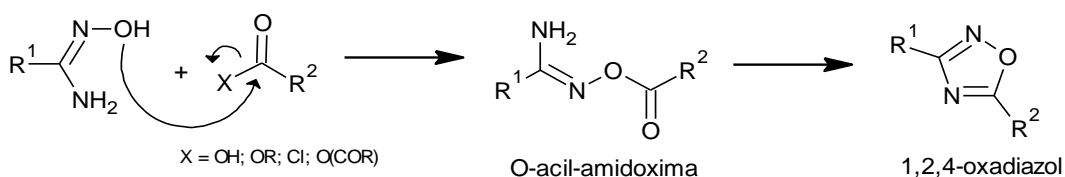
Fonte: A autora (2020)

3.2.1 Síntese do anel 1,2,4-Oxadiazol

O anel 1,2,4-oxadiazol pode ser sintetizado de duas maneiras, a partir de nitrilas ou outros precursores de amidoxima.

O método mais utilizado para a formação do 1,2,4-oxadiazol é a ciclização da O-acilamidoxima, que ocorre através da acilação entre amidoximas e ácidos carboxílicos e seus derivados (amidas, éster, cloretos ácidos e anidridos), seguido pela ciclodesidratação térmica da O-acilamidoxima, formando o heterociclo 1,2,4-oxadiazol (Esquema 5). (LI *et al*, 2018).

Esquema 5 – Obtenção do 1,2,4 oxadiazol a partir de O-acilamidoximas



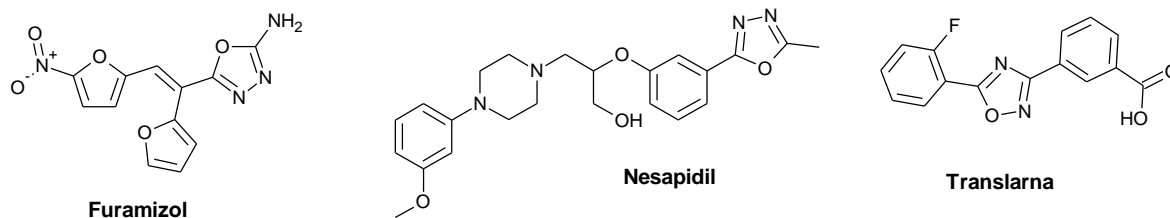
Fonte: A autora (2020)

3.2.2 Atividades Biológicas de 1,2,4-Oxadiazol

O heterociclo 1,2,4-oxadiazólico apresentam diversas aplicações biológicas. Um destaque para este heterociclo é ser considerado como bioisótero de amidas, ésteres e ácidos carboxílicos. (DE, KHAMBETE, DEGANI, 2019)

Na década de 70 foi introduzido o furamizol, antibiótico, e o nesapidil, antirrítmico, em seguida aprovou-se a comercialização do translarna, um fármaco aplicado nos casos de distrofia muscular. (**Figura 4**). Isto fez com que desde então o número de artigos e patentes relacionadas ao anel oxadiazólico venha progredindo com o passar do tempo (DE, KHAMBETE, DEGANI, 2019).

Figura 4 – Fármacos contendo o anel oxadiazólico

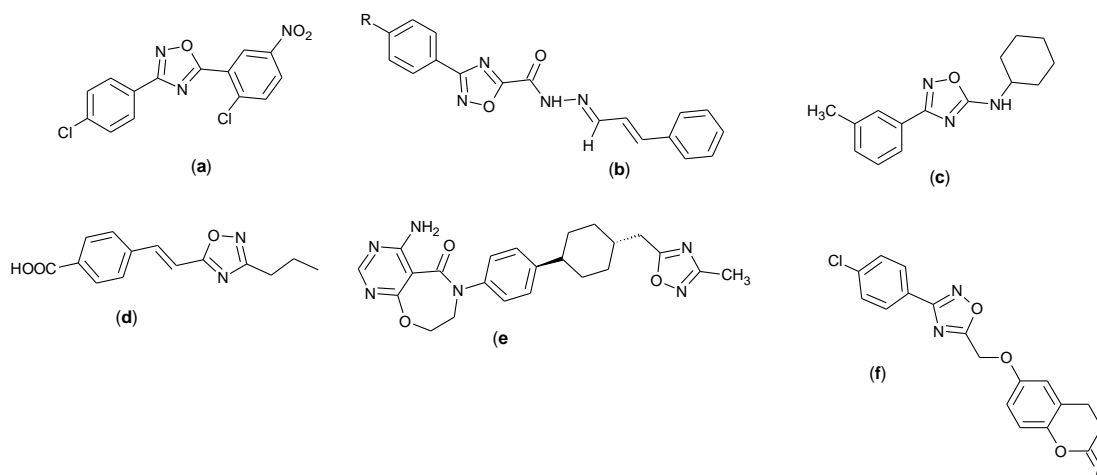


Fonte: A autora (2020)

Dentre outras atividades biológicas associadas aos heterociclos 1,2,4-oxadiazólicos pode-se citar: antibactéria (**a**) (CUNHA, NOGUEIRA, AGUIAR, 2018),

antimalárica **(b)** (FILHO *et al*, 2016), antitumoral **(c)** (OLIVEIRA *et al*, 2018), antitubercular **(d)** (UPARE *et al*, 2019), anti-obesidade **(e)** (ZHANG, ZHAO, ZHOU, 2018), anticonvulsiva **(f)** (MOHAMMADI-KHANAPOSHTANI *et al*, 2019). **(Figura 5)**

Figura 5 – Heterociclos 1,2,4-oxadiazol com atividades biológicas



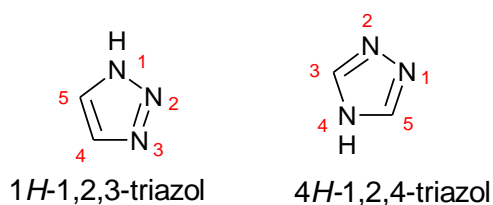
Fonte: A autora (2020)

3.2.3 Síntese do anel 1*H*-1,2,3-triazólico via reação *click*

O heterociclo 1,2,3-triazol é uma classe de compostos puramente sintéticos, ou seja, não ocorrem na natureza, é preparado através de uma reação de cicloadição 1,3-dipolar entre um alcino terminal ou interno e uma azida orgânica. (BOZOROV, ZHAO, AISA, 2019).

Os triazóis são compostos heterocíclicos que possuem uma estrutura de um anel de cinco membros com dois átomos de carbono e três átomos de nitrogênio. Existem dois isômeros constitucionais do anel triazol, o 1,2,3-triazol e o 1,2,4-triazol. **(Figura 6)** (CHU *et al*, 2019).

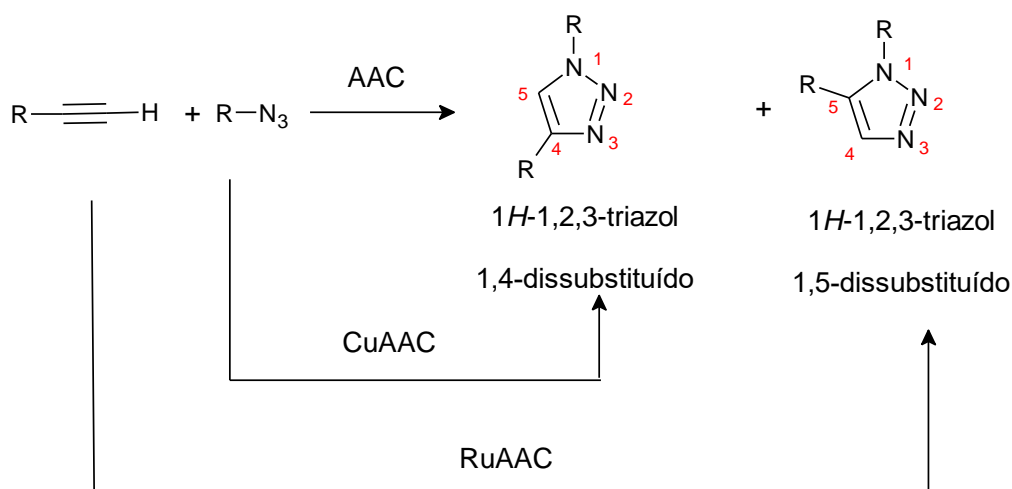
Figura 6 – Isômeros constitucionais do anel triazólico



Fonte: A autora (2020)

O 1*H*-1,2,3-triazol apresenta duas formas isoméricas (**Figura 7**), o 1,4-dissubstituído e o 1,5-dissubstituído, a estrutura do composto final depende da metodologia aplicada na síntese do anel. Para a síntese do 1*H*-1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído utiliza-se o cobre como catalisador (CuAAC), pois este promove uma condição de regioseletividade favorável para este isômero. Já para a forma 1,5-dissubstituído utilizam-se os complexos de rutênio (RuAAC).

Figura 7 – Formas de obtenção dos isômeros do 1*H*-1,2,3-triazol



Fonte: A autora (2020)

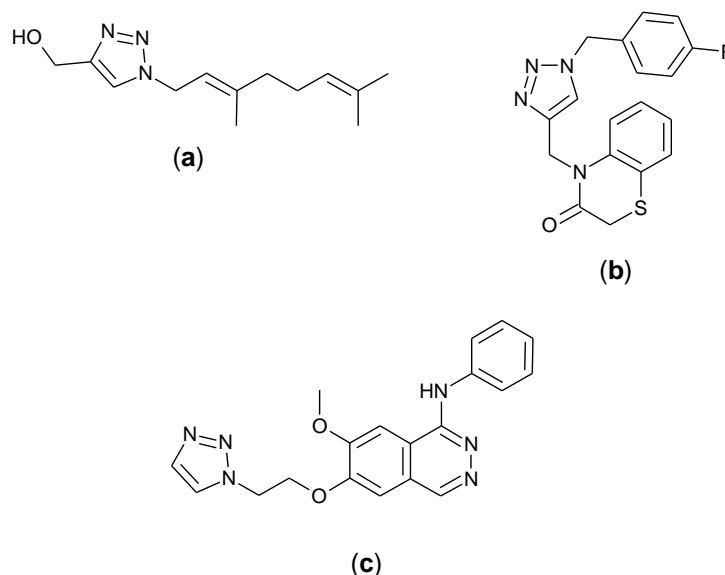
A regioseletividade, promovida pela catálise do Cu^+ , na síntese dos 1,2,3-triazóis 1,4-dissubstituídos disseminou a utilização desta reação nas mais diversas áreas de pesquisa, incluindo química medicinal, bioconjugação, química de materiais, química supramolecular, síntese de catalisadores, dentre outras. (FREITAS *et al*, 2011).

Os triazóis apresentam diversificações em suas atividades farmacológicas, seja ligado a outras estruturas ou não, gerando com isso um grande interesse no estudo e no aprimoramento desta classe, para que assim haja uma ampliação, expandindo a gama de potenciais benéficos oferecidos por estes heterocíclicos, diferentes dos já conhecidos atualmente. (AHER *et al*, 2009; DAI *et al*, 2015; RAO *et al*, 2014; ANGAJALA *et al*, 2016; MUTHUKRISHNAN *et al*, 2011; POKHODYLO, SHYYKA, MATLYCHUCK, 2013; ZHOU *et al*, 2005).

3.2.4 Atividades Biológicas de 1,2,3-Triazol

Os triazóis são considerado bioisótero das amidas, ou seja, estes compostos possuem propriedades químicas e biológicas similares, contudo sua estrutura é mais estável do que as amidas, pois não sofrem hidrólise, oxidação ou redução. (MELO *et al*, 2015). Dentre as atividades biológicas associadas a esta classe de compostos destacam-se: antibacteriana (a), antitubercular (b), anticâncer (c) e antimalárica (Figura 8). (CHU *et al*, 2019)

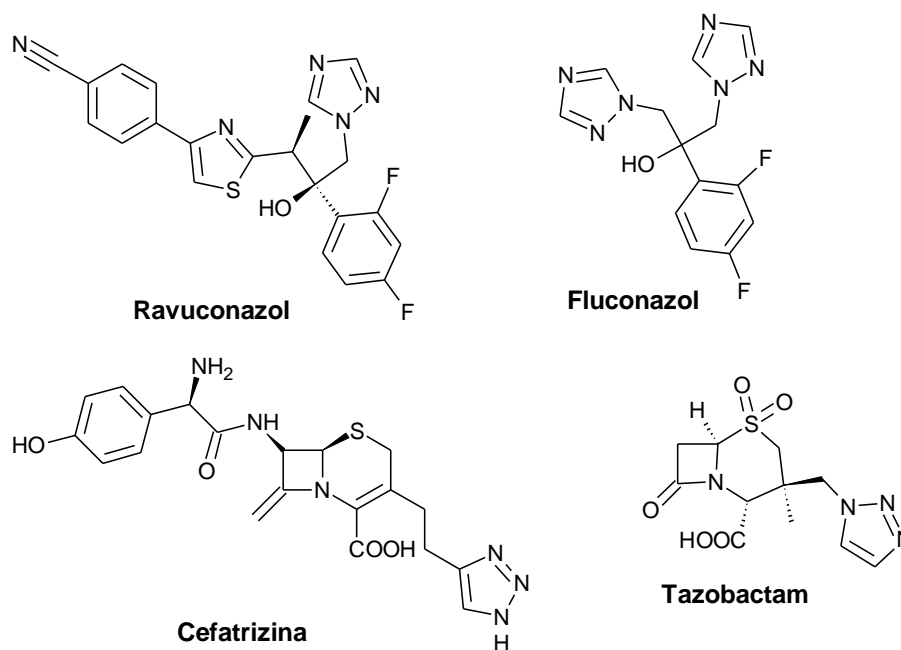
Figura 8 – Heterociclo 1,2,3-triazólico com atividades biológicas



Fonte: A autora (2020)

Existem drogas comerciais que possuem em sua estrutura o anel triazol, dentre elas pode-se destacar os seguintes com sua respectiva funcionalidade biológica: antifúngica (Fluconazol e Ravuconazol) e antibiótica (Cefatrizina e Tazobactam). (Figura 9). (DHEER, SHING, SHANKAR, 2017)

Figura 9 – Medicamentos contendo o anel triazol com diferentes atividades farmacológicas



Fonte: A autora (2020)

Diante da diversidade estrutural e biológica dos derivados de oxadiazóis e triazóis um potencial biológico a ser explorada e de nosso interesse é a atividade leishmanicida. Desta forma, a seguir descreveremos um pouco sobre esta doença e mostraremos alguns exemplos de heterociclos oxadiazol/triazol que demonstraram este potencial contra leishmanias.

3.3 LEISHMANIOSE

As leishmanioses são doenças prevalentes e negligenciadas, causadas por protozoários de pelo menos 20 espécies do gênero *Leishmania*. Esta doença existe em três formas clínicas: visceral, cutânea e mucocutânea. O modo de transmissão ocorre através da picada de fêmeas de flebotomíneos em mamíferos. (BURZA, CROFT e BOELAERT, 2018).

Existem relatos sobre esta doença confirmando que esta acompanha o homem desde a antiguidade, por volta do século I d.C. Cerâmicas pré-colombianas encontradas nas Américas datadas de 400 a 900 anos d.C., denominadas de *huacos* (**Figura 10**), confeccionadas por índios do Peru apresentam deformações na região

facial se assemelhando ao que hoje se conhece como leishmaniose mucocutânea. (BASANO e CAMARGO, 2004).

Figura 10 – *Huaco* apresentando lesão que sugere leishmaniose muco-cutânea



Fonte: FIOCRUZ (1997)

Em 1885, na Índia, Cunninghamham foi o primeiro a observar o parasita do gênero *Leishmania*. No Brasil, em 1855, Cerqueira observou a existência da enfermidade da pele e classificou-a clinicamente como botão de Briska. Os casos de leishmanioses só vieram a ser confirmados no Brasil em 1909, por Lindenberg, que encontrou formas de *Leishmania* idênticos a *Leishmania tropica* identificado por Wright em 1903. (BASANO e CAMARGO, 2004).

A leishmaniose é uma doença relacionada à pobreza, estima-se que em cerca de 100 países endêmicos novos casos de leishmaniose crescem em 0,7 a 1 milhão por ano. Na Ásia, o número relacionado à leishmaniose visceral vem diminuindo na última década devido ao melhor acesso ao diagnóstico e controle vetorial. Entretanto, na África o número de casos fatais relacionados a esta doença se mantém. (BURZA, CROFT e BOELAERT, 2018).

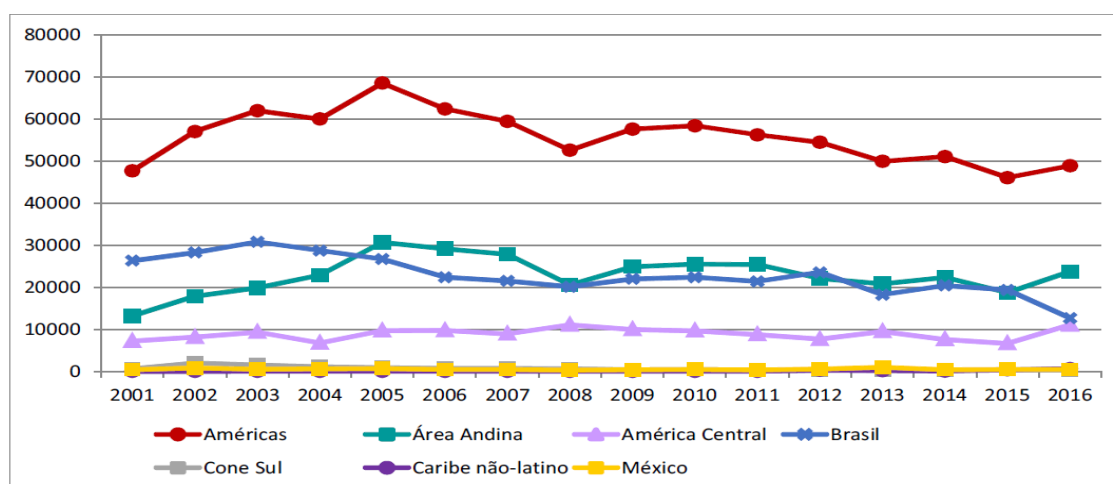
Devido à dimensão do continente americano e a ampla distribuição de vetores, é possível notar a existência das três formas clínicas da leishmaniose, sendo a leishmaniose tegumentar constituída pela leishmaniose cutânea e mucosa, um problema de saúde pública. (ROCHA *et al*, 2019).

O continente americano é a região que apresenta maior distribuição geográfica relacionada a esta doença e isto vem desafiando os programas nacionais e regionais. Em 2017, foi aprovado o Plano de Ação de Leishmanioses nas Américas 2017-2022, o qual visa reduzir a morbidade e mortalidade através do fortalecimento do

diagnóstico, tratamento, reabilitação, prevenção, vigilância e controle. (OPAS/OMS, 2018).

A leishmaniose cutânea (LC) e a mucocutânea (LM) ocorre de forma endêmica em 18 países das Américas. Foram notificados 892.846 novos casos de LC no período de 2001-2016 distribuídos em 17 países endêmicos. Apesar de ocorrer uma redução entre os anos de 2009 a 2015, no ano de 2016 foi registrado um aumento de 6,15 % com relação ao ano anterior (**Figura 11**). Isto foi devido ao acréscimo do número de casos nos países: Colômbia (31,3%), Peru (33%) e Nicarágua (181,8%). (OPAS/OMS, 2018). Assim como a LC e a LM, a leishmaniose visceral (LV) também apresenta alta incidência nas Américas.

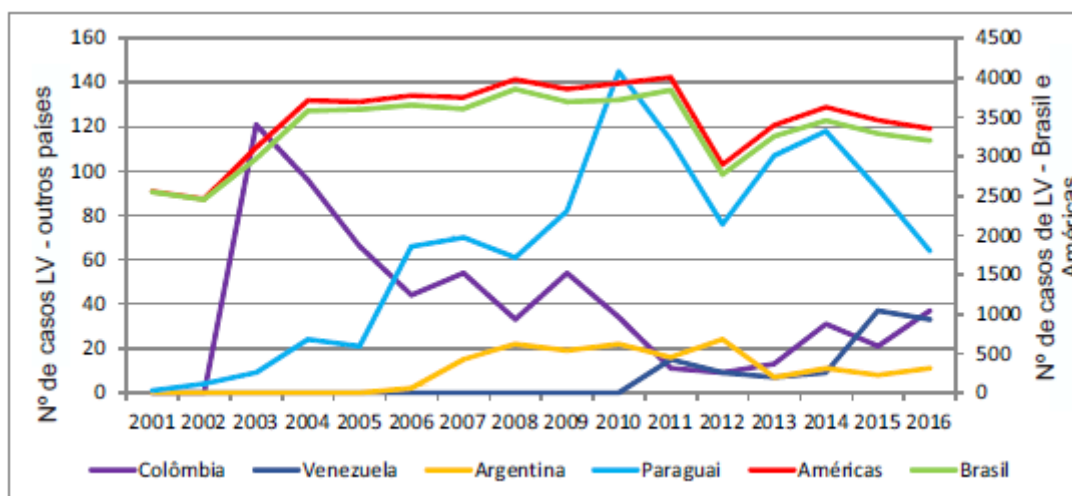
Figura 11 – Número de casos de leishmaniose cutânea e mucosa nas sub-regiões e em países selecionados das Américas, 2001-2016



Fonte: OPAS/OMS (2018)

A leishmaniose visceral (LV) está distribuída mundialmente em 76 países, sendo endêmica em 12 países das Américas e é considerada uma doença potencialmente fatal. A maior incidência dos casos ocorre no Brasil (96%). Contudo observa-se uma expansão geográfica na: Argentina, Colômbia, Paraguai e Venezuela (**Figura 12**). (OPAS/OMS, 2018).

Figura 12 – Casos de leishmaniose visceral em países com maiores números de casos, Américas, 2001-2016.



Fonte: OPAS/OMS (2018)

Devido a aspectos como: falta de saneamento básico, diagnóstico precário, entre outros a Organização Mundial de Saúde (OMS) lista a leishmaniose como uma doença tropical negligenciada cujo o desenvolvimento de novos tratamentos é uma questão de prioridade e que muitas lacunas ainda precisam ser preenchidas para que esta doença venha a ser considerada como totalmente controlada. (BURZA, CROFT e BOELAERT, 2018).

3.3.1 Agente Etiológico e Ciclo de Vida

O gênero *Leishmania* é constituído por protozoários tripanossomatídeos que são parasitos intracelulares obrigatórios, que abrangem mais de 20 espécies diferentes. A *Leishmania* é classificada em dois subgêneros: *Leishmania*, encontrada no Novo Mundo (Américas) e Velho Mundo (Europa, Ásia e África) e *Viannia*, encontrada no Velho Mundo. (PACE, 2014). Na **Tabela 1** é possível observar as espécies do gênero *Leishmania*, região onde são encontrados e as manifestações da doença.

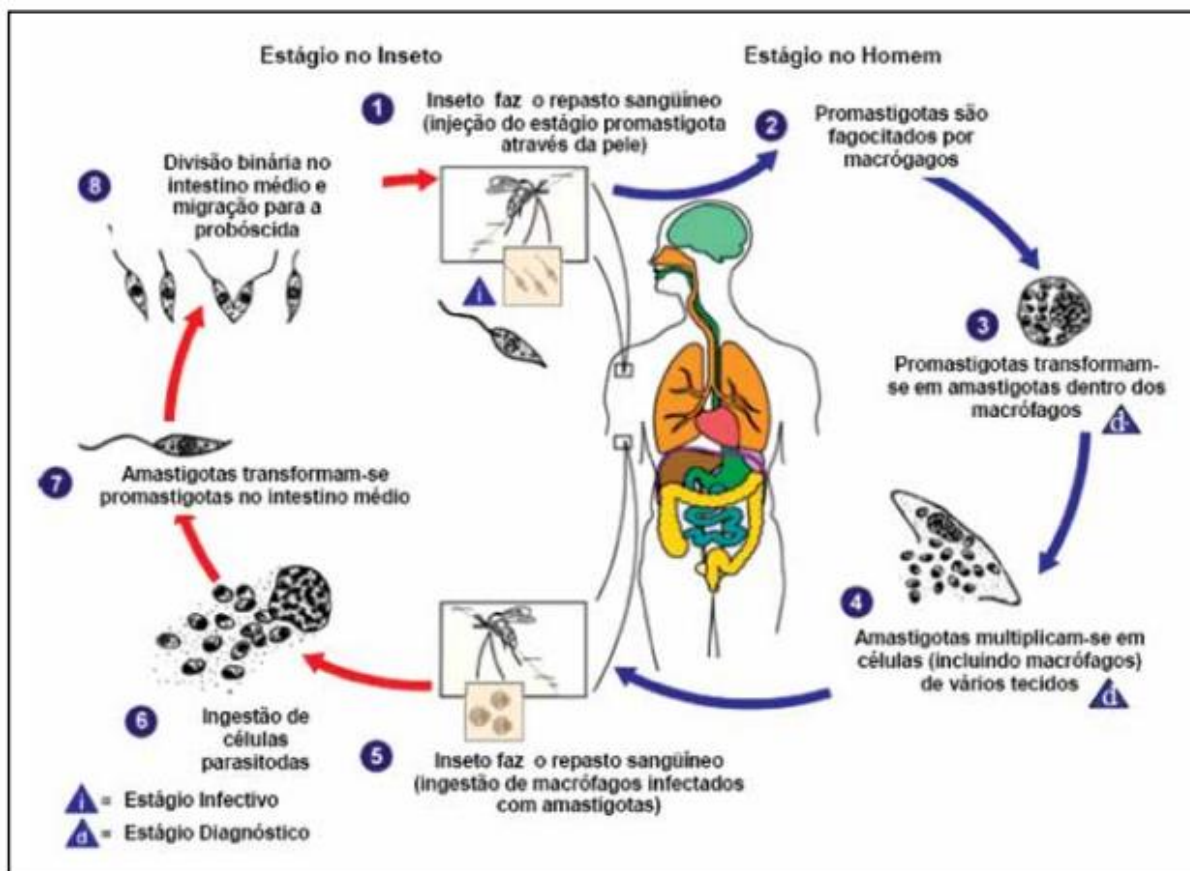
Tabela 1 – Principais espécies do gênero *Leishmania* encontradas no Novo e Velho Mundo e manifestação clínica associada

	Espécie	Principais áreas afetadas	Manifestação Clínica
Velho Mundo	<i>L. aethiopica</i>	Etiopia, Kenia	Cutânea, difusa, mucosa
	<i>L. donovani</i>	Índia, Bangladesh	Visceral
	<i>L. tropica</i>	África do Norte, Irã	Cutânea
Novo Mundo	<i>L. amazonensis</i>	Costa Leste	Cutânea
	<i>L. braziliensis</i>	Costa Leste e Oeste	Cutânea, mucosa
	<i>L. guyanensis</i>	Costa Leste	Cutânea, mucosa
	<i>L. mexicana</i>	Costa Oeste	Cutânea, difusa, mucosa
	<i>L. panamensis</i>	Costa Oeste	Cutânea, mucosa
	<i>L. peruviana</i>	Peru	Cutânea, mucosa

Fonte: Pace, 2014 (adaptado)

O ciclo de vida das espécies *Leishmania* pode ter início quando a fêmea do flebotomíneo, durante a picada, introduz as formas promastigotas na pele. Estas são fagocitadas por leucócitos, inicialmente neutrófilos e posteriormente por macrófagos localizados no tecido dérmico. Dentro dos macrófagos, a forma promastigota, que é flagelada e extracelular, estabelece uma residência intracelular e se transforma em amastigota com flagelo internalizado na bolsa flagelar, que é uma forma intracelular e sem movimentos, estes se multiplicam e são liberados por lise celular. Essa proliferação também pode ocorrer em células de diferentes tecidos, como os gânglios linfáticos e o fígado. O ciclo se reinicia quando as fêmeas dos flebotomíneos realizam novamente o repasto sanguíneo e ingerem essas células infectadas. Dentro dos vetores, a forma amastigota se diferencia em promastigota metacíclica quando atinge a região do intestino grosso ou intestino médio, depende do subgênero de *Leishmania*. Estes então proliferam para migrar novamente para as glândulas salivares dos vetores, perpetuando seu ciclo de vida (**Figura 13**). (BORGHI *et al.*, 2017).

Figura 13 – Ciclo de vida de parasitas do gênero *Leishmania*



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (2017) (Adaptado)

3.3.2 Manifestações Clínicas da Leishmaniose

3.3.2.1 Leishmaniose Cutânea

A Leishmaniose Cutânea (LC) é a forma clínica mais comum da doença e 90% dos seus casos ocorre em 7 países: Afeganistão, Argélia, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria (VRIES, REEDIJK, SCHALLIG, 2015). Suas lesões se iniciam como uma pápula indolor, que progride para uma lesão ulcerativa com o passar dos meses (BURZA, CROFT e BOELAERT, 2018). (**Figura 14**)

Figura 14 – Manifestação clínica da Leishmaniose Cutânea



Fonte: BURZA, CROFT e BOELAERT (2018)

3.3.2.2 Leishmaniose Mucocutânea

A Leishmaniose Mucocutânea (LM) é uma forma da leishmaniose tegumentar associada às espécies *L. braziliensis*, *L. panamensis* e a menos frequente, *L. amazonensis*. (DINIZ, COSTA, GONÇALVES, 2011). As espécies prevalentes do Novo Mundo (Américas) causam nódulos na cartilagem nasal que levam ao bloqueio do septo ou a destruição total do mesmo. Também podem envolver a faringe, o palato, lábio superior e a laringe, causando destruição severa dos tecidos levando a uma desfiguração grosseira (**Figura 15**) (PACE, 2014).

Figura 15 – Manifestação clínica da Leishmaniose Mucocutânea

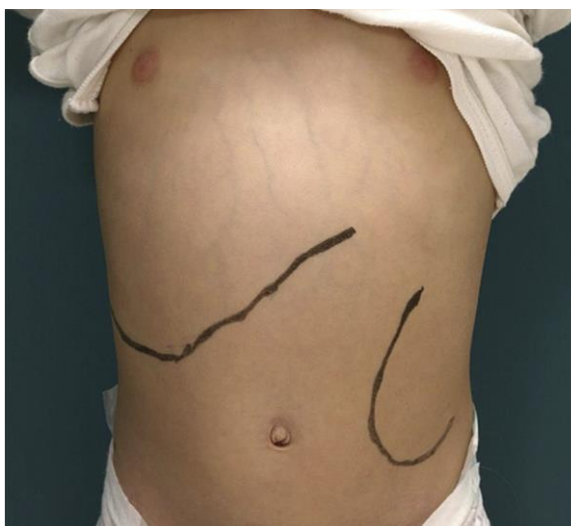


Fonte: BURZA, CROFT e BOELAERT (2018)

3.3.2.3 Leishmaniose Visceral

A Leishmaniose Visceral (LV) é a forma mais severa da doença, considerada fatal, causada comumente por *L. donovani* e *L. infantum*. As manifestações da doença podem ocorrer entre 10 dias a menos de 1 ano após o contato com o parasita. Os sintomas mais comuns são febre, perda de peso, distensão abdominal e fraqueza, sintomas estes que progridem com o decorrer da doença (**Figura 16**). Apesar do tratamento, a LV pode reincidir no paciente em um intervalo de 6 a 12 meses. Caso não haja tratamento, a doença pode progredir levando o paciente a óbito em um período de 2 a 3 anos. (PACE, 2014).

Figura 16 – Paciente apresentando hepatosplenomegalia devido a Leishmaniose Visceral



Fonte: PACE (2014)

3.3.3 Diagnóstico

Nos casos que ocorrem lesões típicas de leishmaniose o diagnóstico clínico e epidemiológico deve ser realizado, principalmente se o paciente procede de áreas endêmicas ou estiveram presentes em lugares com casos de leishmaniose. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Apenas o diagnóstico clínico não é suficiente para confirmar a leishmaniose, pois esta doença pode apresentar sinais e sintomas que são comuns a outras patologias,

como por exemplo: doença de Chagas, malária, esquistossomose, febre tifoide, tuberculose e hanseníase. (GONTIJO & MELO, 2004).

Portanto, o diagnóstico laboratorial serve tanto para a confirmação da doença como também para fornecer informações epidemiológicas, como a identificação da espécie causadora da doença. Os testes laboratoriais são divididos em três grupos: parasitológicos, imunológicos e moleculares. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

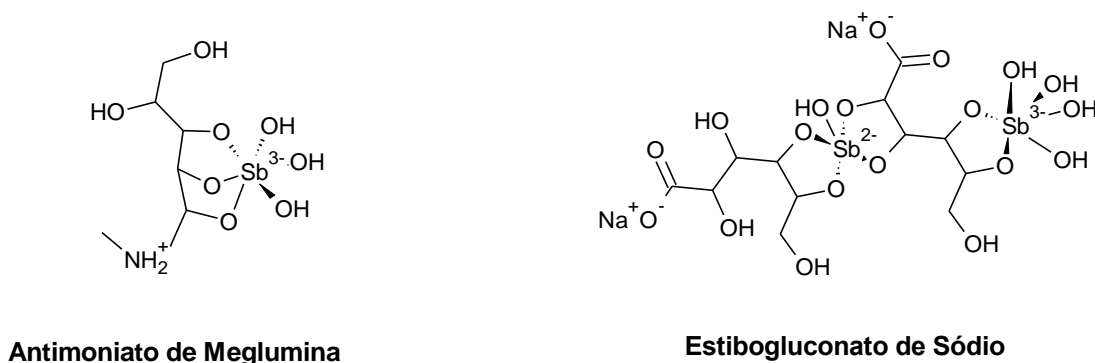
- Exames parasitológicos: Consistem na pesquisa pelo parasito, a partir das amostras biológicas de indivíduos infectados. Existe a forma direta e indireta, a primeira forma é um procedimento mais rápido e de menor custo, consiste dos seguintes procedimentos: escarificação, biópsia com impressão por aposição e punção aspirativa. A forma indireta pode se dá *in vitro*, na qual o material coletado é inoculado em um meio de cultura para posterior identificação da espécie *Leishmania* envolvida.

- Exames imunológicos: Duas formas são encontradas, o Teste Intradérmico (Intradermoreação de Montenegro (IDRM) ou da *Leishmania*) e os Testes Sorológicos. A primeira forma se baseia na visualização da resposta de hipersensibilidade retardada, contudo pode apresentar resultado positivo mesmo após o tratamento da doença, cicatrização ou cura espontânea. Os testes sorológicos detectam anticorpos anti-*Leishmania* circulantes no soro do paciente.

- Exames moleculares: Baseiam-se na análise do DNA do parasito por meio da técnica de amplificação pela Reação da Cadeia da Polimerase (PCR), vem sendo muito utilizado para fins de pesquisa e acrescenta sensibilidade quando realizado junto aos exames parasitológicos. Atualmente estão disponíveis quatro tipos de técnicas: PCR por hibridização, PCR-RLP, PCR (G6PhD) e PCR Real Time.

3.3.4 Tratamento

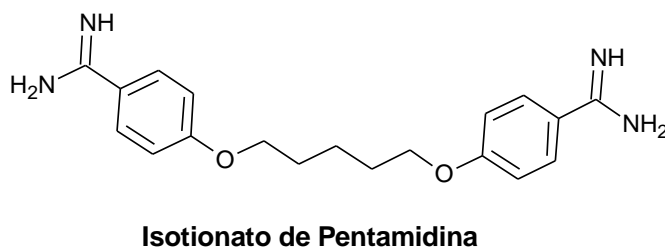
As drogas utilizadas para o tratamento da Leishmaniose, em ordem de prioridade, iniciam-se com os antimoniais pentavalentes (Sb^{+5}). Para padronizar as dosagens a OMS recomenda que seja utilizado $Sb^{+5}/kg/dia$ das drogas antimoniato de meglucamina e o estibogluconato de sódio (**Figura 17**), este último não é comercializado no Brasil. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Figura 17 – Antimoniais pentavalentes utilizados no tratamento da Leishmaniose

Fonte: A autora (2020)

A partir da década de 1940, os antimoniais pentavalentes constituíram o tratamento padrão para a leishmaniose visceral, contudo como forma de completar tem-se os medicamentos alternativos, como anfotericina B e seus derivados lipossomais, pois o medicamento de referência apresentou elevado potencial tóxico e crescentes taxas de resistência observadas na Europa, Ásia e América do Sul. (PACE, 2014).

As pentamidinas também são consideradas drogas de segunda escolha, tratam-se de diamidinas aromáticas, utilizadas no tratamento da leishmaniose tegumentar em áreas endêmicas dos continentes americano, asiático e africano. Sua forma comercial para uso em humanos é encontrada nas seguintes formulações: Isotionato (Di-B-Hidroxietano Sulfonato) e Mesilato (Di-B-Hidroximetil-Sulfonato), no Brasil é comercializado apenas a primeira formulação. (**Figura 18**). (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Contudo, estes medicamentos trazem diversos efeitos adversos, como: arritmia cardíaca, pancreatite, disfunção renal, entre outros. E ainda, na maioria das vezes, apresenta a desvantagem de desenvolver resistência à doença. (PACE, 2014).

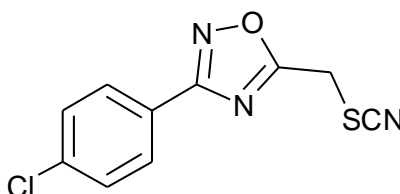
Figura 18 – Pentamidina comercializada no Brasil

Fonte: A autora (2020)

3.3.5 Derivados de Oxadiazóis ou Triazóis com Atividade Antileishmania

Em um trabalho realizado por Havens *et al* (2000) comprovou-se a eficácia dos compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazólico contra a atividade parasitária da doença Leishmaniose. O composto WR85915 (**Figura 19**) confirmou sua atividade contra o protozoário ($CI_{50} = 4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, amastigotas axênicos de *L. donovani*) e mostrou baixo perfil de citotoxicidade contra linhagens de células de mamíferos. Seu mecanismo de ação se deu por agir em diferentes alvos da tubulina, proteína abundante em *Leishmania*.

Figura 19 – Composto WR85915 com atividade contra a Leishmaniose



Fonte: A autora (2020)

Havens e colaboradores (2000), também comparou a eficácia do composto WR85915 (**Figura 19**) frente a medicamentos utilizados no tratamento da doença, Pentostam e Pentamidine. O grupo realizou testes em roedores, BALB/c mice, e comprovou que o composto (**Figura 19**) apresentou bons valores de inibição da parasitemia hepática, conforme **Tabela 2**.

Tabela 2 – Eficácia do Composto WR85915 (**Figura 19**), Pentostam e Pentamidina contra *L. donovani* em BALB/c

Composto	Regime de Dosagem	Dose Atual Recebida / mg	Inibição \pm E.P.M. / %
Experimento 1			
WR85915	5 mg kg ⁻¹ i.v. x 5	2,5	48 \pm 8
Pentostam	15 mg kg ⁻¹ s.c. x 5	7,5	60 \pm 5
Pentamidine	5 mg kg ⁻¹ i.v. x 5 ^a	1,5 ^a	41 \pm 14

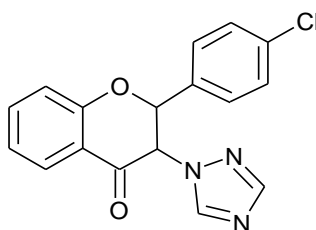
Experimento 2			
WR85915	5 mg kg ⁻¹ i.v. x 5 ^b	25 ^b	61 ± 8
Pentostam	15 mg kg ⁻¹ s.c. x 5	7,5	47 ± 5

Fonte: Pitasse-Santos, Sueht-Santiago e Lima (2018), 2018 (adaptado)

^aA pentamidina produziu irritação na administração da dose total no dia 1. A dose foi reduzida em 50% para todos os ratos para os 4 dias seguintes; ^bFoi observada uma ligeira perda de peso neste grupo de ratos. i.v. : intravenosa; s.c. : subcutâneo; E.P.M. = Erro Padrão da Média

Existem na literatura diversos derivados triazólicos que possuem atividade leishmanicida. Em um trabalho realizado por Keighobadi *et al* (2019) verificaram-se que o composto representado na **Figura 20** apresentou atividade antiparasitária mais potente contra formas amastigotas e promastigotas de *L. Major* em comparação com a droga de referência glucantime e o fármaco azólico de referência, fluconazol, sendo o composto 13 vezes mais potente, e ainda apresentou um alto índice de seletividade (IS = 30,21) o que comprova sua eficácia contra as formas amastigotas.

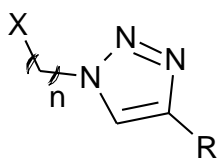
Figura 20 – Heterociclo 1,2,4-triazol com atividade antileishmania



Fonte: A autora (2020)

Dheer, Singh e Shankar (2017) observaram-se que os compostos representados na **Figura 21** foram mais eficazes contra as formas amastigotas e promastigotas de *L. amazonensis* quando comparados com as drogas comumente utilizadas no tratamento da doença, pentamidina e anfotericina B.

Figura 21 – Heterociclos 1,2,3-triazólicos com atividade antileishmania contra *L. amazonensis*



(a) $n = 12$, $X = \text{OMs}$, $R = -(\text{CH}_2)_3\text{OH}$

(b) $n = 9$, $X = \text{OMs}$, $R = -\text{COOCH}_2\text{CH}_3$

Fonte: A autora (2020)

4 METODOLOGIA

4.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

Os reagentes comerciais e solventes utilizados na pesquisa foram adquiridos pela Dinâmica e Sigma-Aldrich. As reações foram acompanhadas por meio de cromatografia em camada delgada (CCD). Para a revelação das azidas orgânicas foi utilizada uma solução 10% (v/v) de ácido sulfúrico em etanol. O azido-carboidrato (**3**) foi sintetizado de acordo com a literatura (da Silva *et al*, 2013).

4.2 EQUIPAMENTOS

Os espectros de RMN foram realizados no aparelho Varian Mercury (400 MHz para ^1H e 75 MHz para ^{13}C), localizado na Central Analítica DQF-UFPE, utilizando como solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3), e no aparelho Anasazi, Modelo: EFT90 (90 MHz para ^1H), localizado no CENAPESQ-UFRPE, utilizando clorofórmio deuterado (CDCl_3) como solvente. Os pontos de fusão dos compostos foram medidos em aparelho BioSan, modelo PFM-II. Algumas reações foram realizadas em banho de ultrassom UltraCleaner 1400A (40 kHz), localizado no Laboratório de Síntese de Compostos Bioativos DQ-UFRPE.

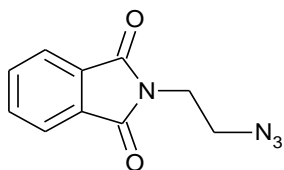
4.3 SÍNTESE DE *N*-[ALQUIL-AZIDO]-FTALIMIDAS (**1-2**)

Em um balão de 100 mL foram dissolvidos *N*-alquilbromo-ftalimida em 2,5 mL de DMF, em seguida foram adicionados 1,5 equivalentes de azida de sódio (NaN_3), e então adicionou-se 0,5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). A reação ficou em agitação por 4 h à temperatura de 100°C sob atmosfera inerte de argônio. O final da reação foi verificado por CCD em sistema hexano / acetato de etila e revelação em solução 10% ácido sulfúrico / etanol. Após o término da reação o material foi extraído com

diclorometano-água. Após a separação, o solvente orgânico foi evaporado a baixa pressão e o sólido obtido foi cristalizado em diclorometano-hexano.

4.3.1 N-[2-(azido)-etil]-ftalimida (1)

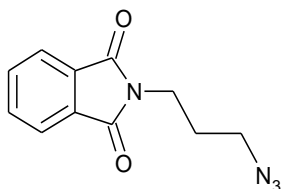
A uma solução de 3,94 mmol (1 g) de *N*-2-bromoetil-ftalimida em DMF-DMSO, foram adicionados 5,91 mmol (384,15 mg) de azida de sódio.



Rendimento 99% (845,8 mg), cristal incolor, P.F. 60-61 °C, $R_f = 0,5$ (hexano-acetato de etila, 7:3).

4.3.2 N-[3-(azido)-propil]-ftalimida (2)

A uma solução de 7,46 mmol (2 g) de *N*-3-bromopropil-ftalimida em DMF:DMSO, foram adicionados 11,2 mmol (727 mg) de azida de sódio.



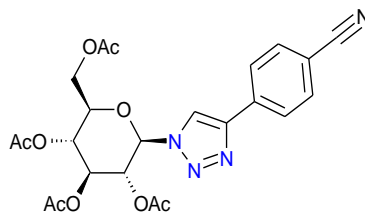
Rendimento 88% (1,41 g), sólido branco, P.F. 40-42°C, $R_f = 0,5$ (hexano/acetato de etila, 7:3).

4.4 SÍNTESE DE 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE ALCINOS E AZIDAS (4-8)

Adicionou-se ao tubo de ensaio 1 equivalente da azida orgânica (Compostos **1**, **2** ou **3**), em seguida adicionou-se 1,5 equivalente do alcino dissolvido em 0,5 mL de DMF. Adicionou-se CuI (10 mol% com relação ao alcino) e logo após foi adicionado 1 gota de trietilamina. A mistura ficou sob energia de ultrassom por 30 minutos. O final da reação foi verificado por CCD em sistema hexano-acetato de etila (1:1). O produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente o sistema hexano-acetato de etila.

4.4.1 4-[4-etinil-benzonitrila]-1-[2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glicopiranosil]-1H-1,2,3-triazol (4)

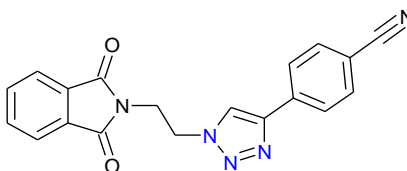
Azido 2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glicopiranosil (**3**) (100 mg, 0,2 mmol) foi adicionada a uma solução de 0,4 mmol (51 mg) 4-etinil-benzonitrila, 7,6 mg Cul (0,04 mmol), DMF (0,5 mL) e Et₃N (1 gota).



Rendimento 54% (73 mg), sólido branco, P.F. = 219-220°C, R_f = 0,5 (hexano-acetato de etila 4:6). RMN ¹H (400 MHz): δ 1,89 (s, 3H, CH₃), 2,04 (s, 3H, CH₃), 2,09 (s, 6H, 2x CH₃), 4,06 (ddd, 1H, J = 2,0, 5,1 e 10,2 Hz, H-5), 4,17 (dd, 1H, J = 2,0 e 12,9 Hz, H-6), 4,34 (dd, 1H, J = 5,1 e 12,5 Hz, H-6'), 5,27 (dd, J = 9,4 e 9,4 Hz, 1H, H-4), 5,44-5,52 (m, 2H, H-2 e H-3), 5,95 (d, J = 9,0 Hz, 1H, H-1), 7,73 (d, 2H, J = 8,8 Hz, H_{ar}), 7,96 (d, 2H, J = 8,8 Hz, H_{ar}), 8,12 (s, 1H, H_{triaz}). RMN ¹³C (75 MHz): δ 20,1; 20,4; 20,5; 20,6; 61,5; 67,5; 70,3; 72,5; 75,3; 85,9; 111,9; 118,6; 119,0; 126,3; 132,7; 134,4; 146,6; 169,0; 169,3; 169,8; 170,4.

4.4.2 4-[4-etinil-benzonitrila]-1-[2-ftalimido-2-il-etil]-1H-1,2,3-triazol (5)

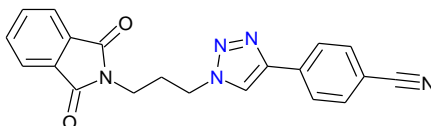
0,5 mmol (100mg) de *N*-2-azidoetil-ftalimida **1** foi adicionada a uma solução de 0,7mmol (88,12 mg) 4-etinil-benzonitrila, 12,17 mg Cul (0,07 mmol), DMF (0,5 mL) e Et₃N (1 gota).



Rendimento 53% (83,6mg), sólido branco, P.F. = 230-231°C, R_f = 0,4 (hexano-acetato de etila, 4:6). RMN ¹H (400 MHz): δ 4,24 (t, 2H, J = 6 Hz, CH₂), 4,78 (t, 2H, J = 6 Hz, CH₂), 7,63-7,75 (m, 4H, H_{ar}), 7,80-7,85 (m, 2H, H_{ar}), 7,91-7,93 (m, 2H, H_{ar}), 7,96 (s, 1H, H_{triaz}). RMN ¹³C (75 MHz): δ 37,6; 48,2; 111,6; 118,0; 118,7; 120,9; 123,6; 126,1 (2C); 126,5; 131,6; 132,1; 133,0; 134,4; 146,3; 167,67.

4.4.3 4-[4-etinil-benzonitrila]-1-[2-ftalimido-3-il-propil]-1H-1,2,3-triazol (6)

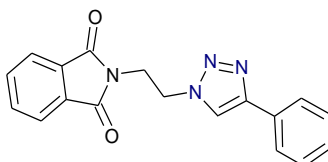
0,4 mmol (100 mg) de *N*-3-azidopropil-ftalimida **2** foi adicionada a uma solução de 0,6 mmol (82,75 mg) 4-etinil-benzonitrila, 12,41 mg CuI (0,06 mmol), DMF (0,5 mL) e Et₃N (1 gota).



Rendimento 82% (127,7 mg), sólido amarelo, P.F. = 153-154°C, R_f = 0,6 (hexano-acetato de etila 4:6). RMN ¹H (400 MHz): δ 2,40 (q, 2H, J = 6,4 Hz, CH₂), 3,78 (t, 2H, J = 6,4 Hz, CH₂), 4,48 (t, 2H, J = 6,8 Hz, CH₂), 7,69-7,75 (m, 4H, H_{ftal}), 7,84-7,86 (m, 2H, H_{ar}), 7,93-7,95 (m, 2H, H_{ar}), 8,14 (s, 1H, H_{triaz}). RMN ¹³C (75 MHz): δ 29,3; 34,9; 47,9; 111,4; 118,7; 121,6; 123,4; 126,0; 131,8; 132,6; 134,3; 145,8; 168,4.

4.4.4 4-Fenil-1-[2-ftalimido-2-il)etil]-1H-1,2,3-triazol (7)

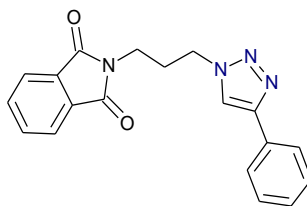
1 mmol (216,18 mg) de *N*-2-azidoetil-ftalimida **1** foi adicionada a uma solução de 1,5 mmol (153,2 mg) fenilacetileno, 28,57 mg CuI (0,15 mmol), DMF (0,5 mL) e Et₃N (1 gota).



Rendimento 97% (308,1 mg), sólido branco, P.F. = 182 °C, R_f = 0,4 (hexano-acetato de etila 1:1). RMN ¹H (300 MHz): δ 4,06 (t, 2H, J = 5,6 Hz, CH₂), 4,69 (t, 2H, J = 6 Hz, CH₂), 7,32 (t, 1H, H_{ar}), 7,43 (t, 2H, J = 7,6 Hz, H_{ar}), 7,77 (d, 2H, J = 8,0 Hz, H_{ar}), 7,82-7,87 (m, 4H, H_{ftal}), 8,64 (s, 1H, H_{triaz}) (Assis *et al.*, 2019).

4.4.5 4-Fenil-1-[3-ftalimido-3-il)propil]-1H-1,2,3-triazol (Composto 8)

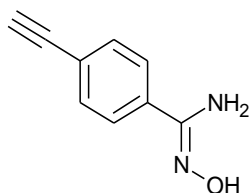
0,43 mmol (98 mg) de *N*-3-azidopropil-ftalimida **2** foi adicionada a uma solução de 0,65 mmol (66,4 mg) de fenilacetileno, CuI (10 mol%, 12,4 mg, 0,065 mmol), DMF (0,5 mL) e Et₃N (1 gota).



Rendimento 76% (107,5 mg), sólido branco, P.F. = 134 °C, R_f = 0,4 (hexano-acetato de etila 1:1). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 2,39 (q, 2H, J = 6 Hz, CH_2), 3,79 (t, 2H, J = 6 Hz, CH_2), 4,46 (t, 2H, J = 8 Hz, CH_2), 7,33 (t, 1H, J = 8 Hz, H_{ar}), 7,42 (t, 2H, J = 8 Hz, H_{ar}), 7,42 (d, 2H, J = 8 Hz, H_{ar}), 7,75-7,71 (m, 2H, H_{ftal}), 7,81-7,86 (m, 3H, $\text{H}_{\text{ftal}}-\text{H}_{\text{ar}}$), 8,00 (s, 1H, H_{triaz}). RMN ^{13}C (75 MHz): δ 29,4; 35,0; 47,8; 120,3; 123,4; 125,7; 128,1; 128,8; 130,5; 131,8; 134,2; 147,7; 168,4. (Assis *et al.*, 2019).

4.5 SÍNTESE DA 4-ETINIL-BENZOAMIDOXIMA (9)

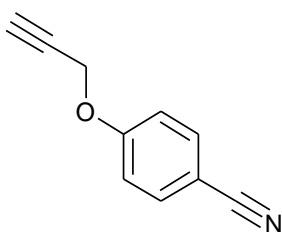
Adicionou-se em um balão 0,008 mol (1 g) da 4-etinil-benzonitrila e solubilizou em 50 mL de etanol. Em seguida adicionou-se em um béquer 0,064 mol (4,45 g) de $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ e 0,064 mol (5,38 g) de NaHCO_3 e solubilizou a mistura em 50 mL de água destilada, logo após foi adicionado esta mistura ao balão reacional. A reação ficou sob agitação por 72 horas. O final da reação foi verificado por CCD em sistema 7:3 (hexano / acetato de etila). O produto foi purificado em coluna utilizando como eluente um sistema de hexano/acetato de etila. Foi obtido 574,6mg de um sólido branco.



Rendimento 45% (574,6 mg), sólido branco, P.F. = 140-141°C, R_f = 0,71 (hexano / acetato de etila 1:1). RMN ^1H (400 MHz): δ 1,63 (s, 1H, OH), 3,16 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 4,86 (br s, 2H, NH_2), 7,52 (br d, 2H, J = 7,8 Hz, H_{ar}), 7,60 (br d, 2H, J = 7,8 Hz, H_{ar}). (dos Anjos *et al.*, 2007).

4.6 SÍNTESE DA 4-(PROP-2-IN-1-ILÓXI)BENZONITRILA (**10**)

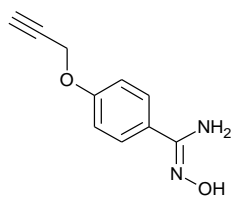
Adicionou-se em um balão 0,9844 g (8,26 mmol) da 4-hidroxibenzonitrila em 10 mL de dimetilformamida (DMF) seco. Em seguida adicionou-se 5,14 g (37,17 mmol) de K_2CO_3 e agitou-se por 5 minutos. Logo após foi adicionado 3,31 mL (37,17 mmol) de brometo propargílico e agitou-se durante noite. O final da reação foi verificado por CCD em sistema eluente 7:3 (hexano-acetato de etila). Após verificar o término da reação foi adicionado gelo ao balão para a precipitação do produto. Em seguida realizou-se filtração a vácuo e o produto foi recristalizado utilizando metanol/hexano. Foi obtido 1,0589 g de um cristal incolor.



Rendimento 81% (1,0589 g), cristal incolor, P.F. 110-112°C, $R_f = 0,6$ (hexano/acetato de etila, 7:3). (LYKAKIS *et al*, 2011).

4.7 SÍNTESE DA N'-HIDROXI-4-(PROP-2-IN-1-ILÓXI)BENZENOCARBOXIMIDAMIDA (**11**)

Em um balão foi dissolvido 1,0363 g (0,06 mol) do composto **10** em 50 mL de etanol. Em um béquer foi dissolvido 2,016 g (0,024 mol) de bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) e 1,668 g (0,024 mol) de cloridrato de hidroxilamina em 50 mL de água. Esta solução foi adicionada ao balão contendo o composto **10** e agitou-se por 48 horas. O final da reação foi verificado por CCD em sistema eluente 7:3 (hexano-acetato de etila). Após verificar o término da reação, o etanol foi evaporado a baixa pressão. Em seguida o produto foi extraído da fase aquosa utilizando acetato de etila (3 x 20 mL). Após a evaporação do solvente o produto foi cristalizado utilizando metanol / diclorometano (CH_2Cl_2). Foi obtido 1 g de um cristal incolor.

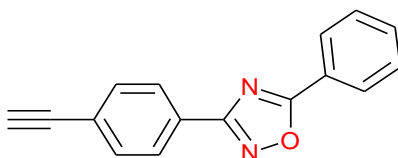


Rendimento 80% (1,0 g), cristal incolor, P.F. 160-162°C, $R_f = 0,31$ (hexano/acetato de etila, 1:1). (NARO *et al*, 2018).

4.8 SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZOL 3,5-DISSUBSTITUÍDOS (12-13)

4.8.1 Síntese do 5-Fenil-3-[4-Etinil-Fenil]-1,2,4-Oxadiazol (12)

Foram adicionados em um balão 260 mg (1,6 mmol) do composto **9**, 0,28 mL (2,4 mmol) de cloreto de benzoila e 10 mL de piridina seca. Esta mistura foi agitada por 3 horas a 200°C. O final da reação foi verificado por CCD em sistema 7:3 (hexano / acetato de etila). Após verificar o término da reação verteu-se a mistura em um béquer contendo gelo e adicionou-se ácido clorídrico (HCl) 37% para neutralizar a piridina. Após a precipitação do produto realizou-se filtração a vácuo. Foi obtido 337,6mg de um sólido marrom.

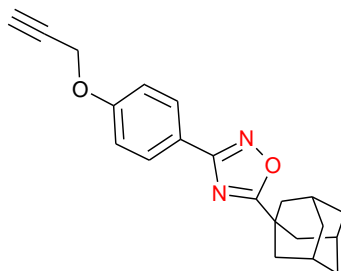


Rendimento 85% (337,6 mg), sólido marrom, P.F. = 119°C, $R_f = 0,7$ (hexano-acetato de etila 7:3). RMN ^1H (400 MHz): δ 3,21 (s, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 7,51-7,63 (m, 5H, H_{ar}), 8,13 (br d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H_{ar}), 8,21 (br d, 2H, $J = 6,7$ Hz, H_{ar}). RMN ^{13}C (75 MHz): δ 79,7; 83,5; 124,5; 125,3; 127,5; 127,8; 128,6; 129,5; 133,0; 133,2; 168,7; 176,3. (dos Anjos *et al*, 2007).

4.8.2 Síntese do 5-adamantil-3-[4-(prop-2-in-1-ilóxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol (13)

Foram adicionados a um tubo apropriado para micro-ondas 57,6 mg (0,3 mmol) do composto **11**, 50 mg (0,25 mmol) do cloreto de adamantano carbonila e 5 mL de CH_2Cl_2 . A reação ocorreu em atmosfera inerte de argônio e temperatura ambiente sob agitação por 5 minutos. A formação do intermediário foi verificada por CCD em sistema

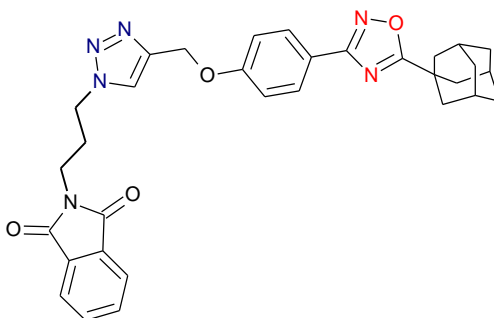
7:3 (hexano / acetato de etila). Em seguida foi evaporado o diclorometano e solubilizou-se em DMF. Logo após a reação foi colocada em reator de micro-ondas à temperatura de 110°C e 5 minutos de reação. O final da reação foi verificado por CCD em sistema 1:1 (hexano-acetato de etila). O produto foi purificado em coluna utilizado hexano-acetato de etila. Foi obtido 56,6 mg de um sólido branco.



Rendimento 67% (56,6 mg), sólido branco, P.F. 108-109°C, $R_f = 0,75$ (hexano-acetato, 7:3). RMN ^1H (300 MHz): δ 1,81 (s, 6H), 2,13 (s, 9H), 2,54 (t, 1H, $J = 2,4$ Hz, CH), 4,75 (d, 2H, $J = 2,1$ Hz, CH_2), 7,05 (dd, 2H, $J = 8,7$ e 2,4 Hz, H_{Ar}), 8,05 (dd, 2H, $J = 9$ e 2,7 Hz, H_{Ar}). RMN ^{13}C (75 MHz): δ 27,8; 35,5; 36,2; 40,0; 55,8; 75,9; 78,0; 115,1; 120,6; 129,0; 159,6; 167,8; 185,2.

4.9 SÍNTESE DE 3-{4-[(1-(N-FTALIMIDOETIL)-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-IL)METÓXI]FENIL}-5-ADAMANTIL-1,2,4-OXADIAZOL (**14**)

A uma solução do alcino **13** (1,2 equivalentes, 34,1 mg, 0,1 mmol), contendo iodeto de cobre (3 mg, 0,016 mmol, 16 mol% com relação ao alcino **13**), em acetonitrila (0,5 mL), sob atmosfera de argônio. Foi adicionada de azido-ftalimida **2** (1 equivalente, 19,1 mg, 0,083 mmol) dissolvida em CH_3CN (0,5 mL). A reação foi mantida sob agitação por 5 horas a temperatura ambiente. O final da reação foi verificado por CCD em eluente hexano-acetato de etila (1:1). Após purificação em coluna cromatográfica, foi obtido 12 mg de um óleo viscoso.



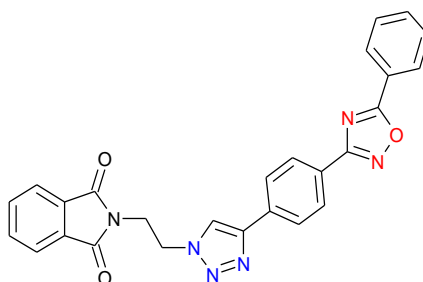
Rendimento 21% (12 mg), óleo viscoso, $R_f = 0,34$ (hexano/acetato de etila, 1:1). RMN ^1H (300 MHz): δ 1,70 (sl, 4H), 1,89 (sl, 3H), 2,14 (sl, 8H), 2,30-2,41 (m, 2H, CH_2), 3,77 (t, 2H, $J = 6,3$ Hz, CH_2), 4,43 (t, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH_2), 5,26 (s, 2H, CH_2), 7,08 (dd, 2H, $J = 9,0$ e $1,8$ Hz, H_{Ar}), 7,73-7,77 (m, 2H, H_{ftal}), 7,85-7,88 [(m, 2H, H_{ftal}); 7,85 (s, 1H, H_{triaz})], 8,03 (dd, 2H, $J = 9,0$ e $1,8$ Hz, H_{Ar}). RMN ^{13}C (75 MHz): δ 19,1; 27,8; 29,4; 35,0; 36,2; 36,4; 38,7; 40,0; 40,7; 47,9; 62,0; 71,7; 115,0; 123,4; 129,1; 130,9; 131,9; 134,2; 143,0; 160,0; 167,7.

4.10 SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS (15-17)

Adicionou-se ao tubo de ensaio 1 equivalente da azida orgânica, em seguida adicionou-se 1,5 equivalente do 5-fenil-3-[4-etinil-fenil]-1,2,4-oxadiazol **10**. Em seguida adicionou-se CuI, 10 mol% com relação ao alcino dissolvido em DMF (0,5 mL) e logo após foi adicionado 1 gota de trietilamina (Et_3N). A reação ocorreu em ultrassom por 1 hora. O final da reação foi verificado por CCD em sistema 1:1 (hexano-acetato de etila). O produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente o sistema hexano-acetato de etila.

4.10.1 5-fenil-[3-[4-benzil]-1-[2-ftalimido-2-il-etil]-1H-1,2,3-triazol]-1,2,4-oxadiazol (15)

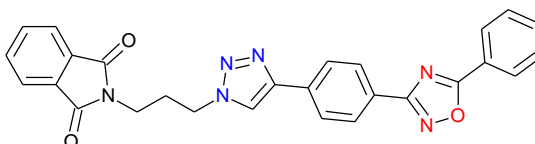
0,2 mmol (58 mg) de *N*-2-azidoetil-ftalimida **1** foi adicionada a uma solução de 0,4 mmol (100 mg) 5-fenil-3-[4-etinil-fenil]-1,2,4-oxadiazol **12**, CuI (7,6 mg, 0,04 mmol), DMF (0,5 mL) e 1 gota de trietilamina (Et_3N).



Rendimento 74% (46,4 mg), sólido branco, P.F. = 254-255°C, R_f = 0,5 (hexano-acetato de etila 1:1). RMN ^1H (90 MHz): δ 4,28 (t, 2H, J = 5,4 Hz, CH_2), 4,82 (t, 2H, J = 6,2 Hz, CH_2), 7,32 (m, 1H, H_{triaz}), 7,71-8,01 (m, 13H, H_{ar}). RMN ^{13}C : em andamento.

4.10.2 5-fenil-[3-[4-benzil]-1-[2-ftalimido-3-il-propil]-1H-1,2,3-triazol]-1,2,4-oxadiazol (16)

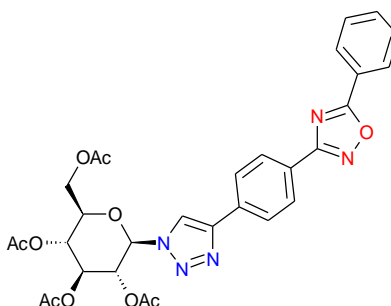
0,1 mmol (30 mg) de *N*-3-azidopropil-ftalimida **2** foi adicionada a uma solução de 0,2 mmol (50 mg) 5-fenil-3-[4-etinil-fenil]-1,2,4-oxadiazol **12**, Cul (3,81 mg, 0,02 mmol), DMF (0,5 mL) e 1 gota de trietilamina (Et_3N).



Rendimento 78% (48,1 mg), cristal amarelo, P.F. = 200-201°C, R_f = 0,4 (hexano-acetato de etila, 1:1). RMN ^1H (400 MHz): δ 2,43 (q, 2H, J = 6,4 Hz, CH_2), 3,83 (t, 2H, J = 6 Hz, CH_2), 4,50 (t, 2H, J = 6,4 Hz, CH_2), 7,55-7,65 (m, 3H, H_{ar}), 7,72-7,75 (m, 2H, H_{ar}), 7,86-7,88 (m, 2H, H_{ar}), 7,98-8,00 (m, 2H, H_{ar}), 8,11 (s, 1H, H_{triaz}), 8,24-8,26 (m, 4H, H_{ar}). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 29,4; 35,0; 47,9; 120,9; 123,4; 124,3; 126,0; 126,5; 128,0; 128,2; 129,1; 131,8; 132,8; 133,3; 134,2; 146,9; 160,5; 168,4; 168,7.

4.10.3 5-fenil-[3-[2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glicopiranosil]-1H-1,2,3-triazol]-1,2,4-oxadiazol (17)

0,2 mmol (101 mg) de azido 2,3,4,6-tetra-O-acetil- β -D-glicopiranosil **3** foi adicionada a uma solução de 0,4 mmol (100 mg) 5-fenil-3-[4-etinil-fenil]-1,2,4-oxadiazol **12**, Cul (7,6 mg, 0,04 mmol), DMF (0,5 mL) e 1 gota de trietilamina (Et_3N).



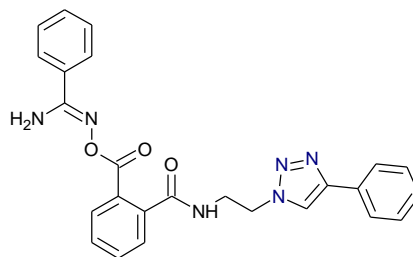
Rendimento 83% (140 mg), sólido branco, P.F. = 231-232°C, R_f = 0,5 (hexano-acetato de etila, 1:1). RMN ^1H (400 MHz): δ 1,92 (s, 3H, CH_3), 2,06 (s, 3H, CH_3), 2,10 (s 3H, CH_3), 2,11 (s 3H, CH_3), 4,06 (ddd, J = 2,9; 5,1 e 10,1 Hz, 1H, H-5), 4,18 (dd, J = 2,3 e 12,9 Hz, 1H, H-6), 4,35 (dd, J = 5,0 e 13,0 Hz, 1H, H-6'), 5,29 (dd, J = 9,4 e 9,4 Hz, 1H, H-4), 5,44-5,57 (m, 2H, H-2, H-3), 5,97 (d, J = 9,4 Hz, 1H, H-1), 7,55-7,63 (m, 3H, H_{ar}), 7,99-8,02 (m, 2H, H_{ar}), 8,12 (s, 1H, H_{triaz}), 8,23-8,27 (m, 4H, H_{ar}). RMN ^{13}C (75 MHz): δ 20,2; 20,5 (2C); 20,7; 61,6; 67,7; 70,2; 72,7; 75,2; 85,9; 118,4; 124,2; 126,2; 128,1; 129,1; 132,5; 132,8; 168,5; 169,0; 169,3; 169,4; 169,9; 170,5; 175,8.

4.11 SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE *N*-[ALQUIL-AZIDO]-FTALIMIDAS TRIAZOL E BENZOAMIDOXIMA (**18-19**)

Em tubo de ensaio apropriado para micro-ondas, foi transferido 1 equivalente do composto (**7-8**), em seguida foi adicionado 1,2 equivalentes da benzoamidoxima, 1,2 equivalentes de K_2CO_3 e 0,5 mL de DMF. A reação foi realizada em micro-ondas a 200 °C, 150 W por 5 min. O final da reação foi verificado em CCD aumentando a polaridade do sistema eluente de 7:3-4:6 (hexano-acetato de etila). Em seguida a mistura foi rotaevaporada em baixa pressão. O produto foi purificado em coluna utilizando hexano-acetato de etila.

4.11.1 2-[*N'*-(benzoil-oxi)benzeno-carboximidamida]-*N*-[2-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil]benzamida (**18**)

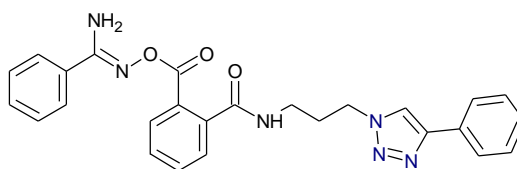
100 mg (0,31 mmol) de alquil-triazol-ftalimida **7** foram misturados a 50,32 mg (0,37 mmol) de benzoamidoxima, 51,13 mg (0,37 mmol) de K_2CO_3 e 0,5 mL de DMF em forno de micro-ondas a 200 °C, 150 W por 5 min.



Rendimento 75% (107,7 mg), sólido branco, P.F. 195 °C, R_f = 0,4 hexano / acetato de etila (4:6). RMN ^1H (300 MHz): δ 4,04 (t, 2H, J = 6,0 Hz, CH_2), 4,65 (qt, 2H, J = 5,1 Hz, CH_2), 4,71 (sl, 3H, NH e NH_2), 7,16-7,19 (m, 2H, H_{ar}), 7,43-7,49 (m, 5H, H_{ar}), 7,57-7,62 (m, 4H, H_{ar}), 7,93 (s, 1H, H_{triaz}), 8,07-8,13 (m, 3H, H_{ar}). RMN ^{13}C (75 MHz): δ 40,1; 49,3; 121,3; 125,2; 127,4; 128,6; 128,8; 130,2; 132,34; 137,2; 147,2; 168,7; 169,1.

4.11.2 2-[N'-(benzoil-oxi)benzeno-carboximidamida]-N-[3-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)propil]benzamida (19)

90 mg (0,27 mmol) de alquil-triazol-ftalimida **8** foram misturados a 43,52 mg (0,32 mmol) de benzoamidoxima, 44,22 mg (0,32 mmol) de K_2CO_3 e 0,5 mL de DMF em forno de micro-ondas a 200 °C, 150 W por 5 min.



Rendimento 58% (73,7 mg), sólido branco, P.F. = 181 °C, R_f = 0,25 (hexano-acetato de etila, 4:6). RMN ^1H (300 MHz): δ 2,03 (s, 2H, NH_2), 2,32 (qt, 2H, J = 5,7 Hz, CH_2), 3,53 (q, 2H, J = 5,9 Hz, CH_2), 4,57 (t, 2H, J = 6,3 Hz, CH_2), 6,47 (t, 1H, J = 5,9 Hz, NH), 7,30-7,51 (m, 6H, H_{ar}), 7,59-7,64 (m, 3H, H_{ar}), 7,76-7,79 (m, 2H, H_{ar}), 7,95 (s, 1H, H_{triaz}), 8,08-8,13 (m, 3H, H_{ar}). RMN ^{13}C (75 MHz): δ 14,1; 37,1; 47,8; 120,4; 121,8; 125,7; 127,5; 128,8; 130,4; 131,4; 132,4; 137,3; 147,9; 164,4; 168,89.

4.12 ATIVIDADE BIOLÓGICA

As atividades biológicas foram desenvolvidas no Laboratório de Biologia Celular localizado na Fundação Oswaldo Cruz (FioCruz): Instituto Aggeu Magalhães, em parceria com a Dra. Regina Bressan e o aluno de doutorado Vanderlan Holanda.

Os compostos (**4-6; 12, 15-17**) foram inicialmente diluídos na concentração de 50 mg/mL em DMSO. As soluções estoques foram diluídas em diferentes concentrações para os experimentos.

4.12.1 Teste de Citotoxicidade

Foram utilizadas células da linhagem J774A.1 ATCC® TIB-67™ e Vero para os testes de citotoxicidade. Foi realizada contagem direta em câmara de Neubauer e procedimento de diluição para que as culturas contivessem 5×10^5 células / mL. Após isso, utilizaram-se placas de 96 poços para incubar as células na presença ou ausência, que se denomina controle, de várias concentrações dos compostos mencionados por 48 horas. Após a incubação com as drogas as células foram submetidas à técnica de MTT. As amostras foram lidas por espectrofotometria 570 nm. A concentração citotóxica para 50% das células (CC_{50}) foi determinada através de regressão linear dos dados obtidos pelo software SPSS 8.0 para Windows.

4.12.2 Dosagem de Óxido Nítrico

Para a dosagem de óxido nítrico utilizou-se a reação colorimétrica de Griess, que consiste na detecção de nitrito (NO^2-), resultante da oxidação do NO nos sobrenadantes de cultura previamente coletados. Adicionou-se à uma placa de 96 poços 50 μ L do sobrenadante de cultura, seguido do mesmo volume do reagente de Griess. Este é composto de sulfanilamida 1% diluída em H_3PO_4 2,5% (solução A) e de N-1-naphtylethtylenodiamina, também diluído em solução de H_3PO_4 a 2,5% (solução B). Para a confecção de uma curva-padrão, uma solução de nitrito de sódio na concentração inicial de 1 mM passou por diluições seriadas em RPMI. As amostras foram lidas no espectrofotômetro a 570 nm. A absorbância das diferentes amostras foram comparadas com a curva-padrão.

4.12.3 Teste Hemolítico

O teste hemolítico foi realizado através da incubação de 500 µL dos compostos (4-6; 12, 15-17) diluídos em solução salina (HBSS) nas concentrações de 200 a 12,5 µg / mL com 500 µL de suspensão de hemácias a 5%, de cada tipo sanguíneo (A, B, O e AB), por 1 hora a 37°C em microtubos. Após o tempo decorrido, os microtubos foram centrifugados por 5 min a 10.000 rpm. A lise celular foi medida por espectrofotometria 570 nm. Foram utilizadas como controles positivos e negativos os resultados das hemácias em suspensão de Triton X-100 e em solução salina (HBSS), respectivamente. O resultado foi obtido como porcentagem de hemólise em relação ao controle positivo (100% de hemólise) e o controle negativo (0% de hemólise). O programa SPSS (statistics 25) foi utilizado para realizar uma regressão linear para obter a taxa de hemólise de 50%. O percentual de hemólise será obtido através do cálculo percentual considerando o Triton X-100 como agente causador de 100% de hemólise. Todos os ensaios foram realizados em sextuplicata.

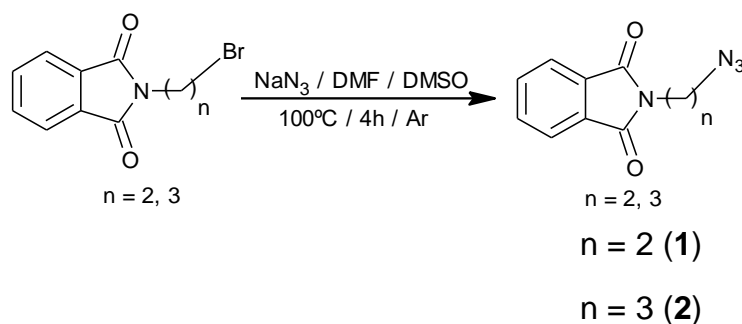
Todos os protomedicamentos envolvendo amostras biológicas que envolveram a participação direta ou indireta de seres humanos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CAAE: 38726620.6.0000.5048).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE DE *N*-[ALQUIL-AZIDO]-FTALIMIDAS (**1-2**)

A síntese das *N*-[alquil-azido]-ftalimidas, foram realizadas a partir de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) entre as bromo *N*-alquil-ftalimida junto com a azida de sódio formando as azido-ftalimidas com rendimento entre 88-99% (Esquema 6).

Esquema 6 – Síntese de obtenção das *N*-[alquil-azido]ftalimidas **1-2**



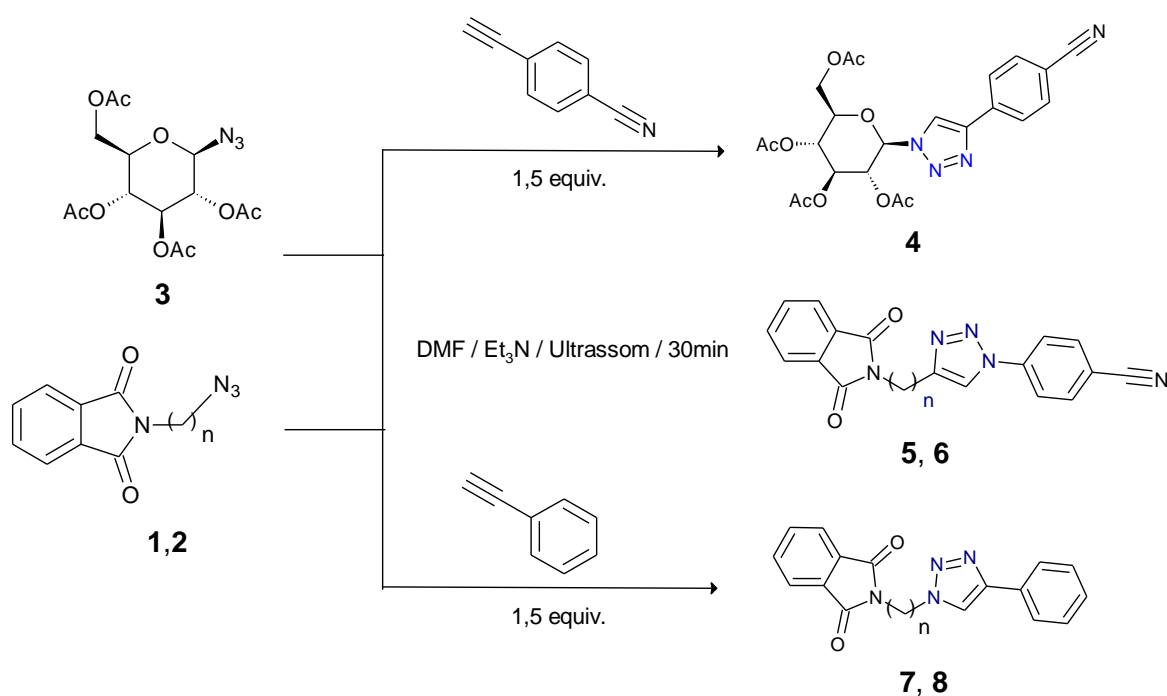
Fonte: A autora (2020)

As azido-ftalimidas **1** e **2** foram sintetizadas utilizando inicialmente DMF como solvente a temperatura de 60°C (Barbosa, Oliveira, 2011; Assis *et al*, 2019), em rendimentos moderados (60-93%). Contudo neste trabalho introduziram-se duas modificações. Uma mistura binária de solventes (DMF:DMSO, 5:1) e aumento na temperatura de reação de 60°C para 100°C, assim melhorou-se os rendimentos e diminuiu-se o tempo de reação de 22-24h para 4 horas. Os dados espectroscópicos destes compostos condizem com o que consta na literatura. (Barbosa & Oliveira, 2011).

5.2 SÍNTESE DE 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE ALCINOS E AZIDAS (4-8)

As ftalimidas-triazólicas **5**, **6**, **7** e **8** foram obtidas a partir da reação do alcino (4-etinil-benzonitrila e fenilacetileno) com as azido-ftalimidas **1**, **2** fornecendo os respectivos produtos em rendimento de 53%, 82%, 97% e 76%. O carboidrato triazólico **4** foi obtido pela reação entre 4-etinil-benzonitrila e o azido carboidrato **3** com rendimento de 54% (Esquema 7).

Esquema 7 – Síntese de obtenção dos 1,2,3-triazóis 4-8



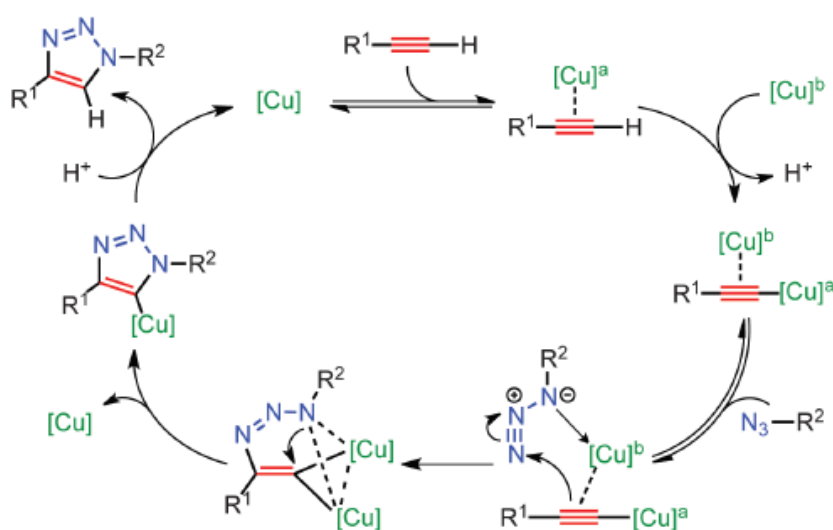
Fonte: A autora (2020)

A síntese dos compostos **5-8** foi baseada na metodologia de Assis *et al* (2019). Os compostos **5-6** houve modificação no alcino que neste trabalho trata-se da 4-etinilbenzonitrila. O composto **4** se distancia da estrutura vista no trabalho acima citado, mas por se tratar do mesmo protocolo de síntese, utilizou-se a mesma metodologia, obtendo-se resultados satisfatórios.

O mecanismo proposto para a obtenção dos 1,2,3-triazóis acima citados se baseia em uma proposta que comprova através de cálculos teóricos que a diminuição do pKa do hidrogênio em 9,8 unidades ocorre através da complexação entre o sal de

cobre e o alcino terminal, favorecendo a formação do acetileto de cobre. Que em seguida complexa com azida, formando um complexo azida-acetileno. No intermediário formado o cobre tem um efeito sinérgico nos sítios reativos que faz com que o nitrogênio terminal da azida torne-se mais eletrofílico e o carbono nucleofílico, favorecendo o ataque para a formação do metalociclo. Logo após, por uma associação transanular do par de elétrons não ligantes do N-1 com o orbital antiligante de C-5, ocorre à contração do anel, fornecendo o triazolila de cobre. Por último, ocorre a protonação do intermediário com a formação do produto final e regeneração do catalisador. (WORRELL, MALIK, FOKIN, 2013) (Esquema 8).

Esquema 8 – Proposta mecanística para a obtenção dos 1,2,3-triazóis utilizando sais de Cu(I)

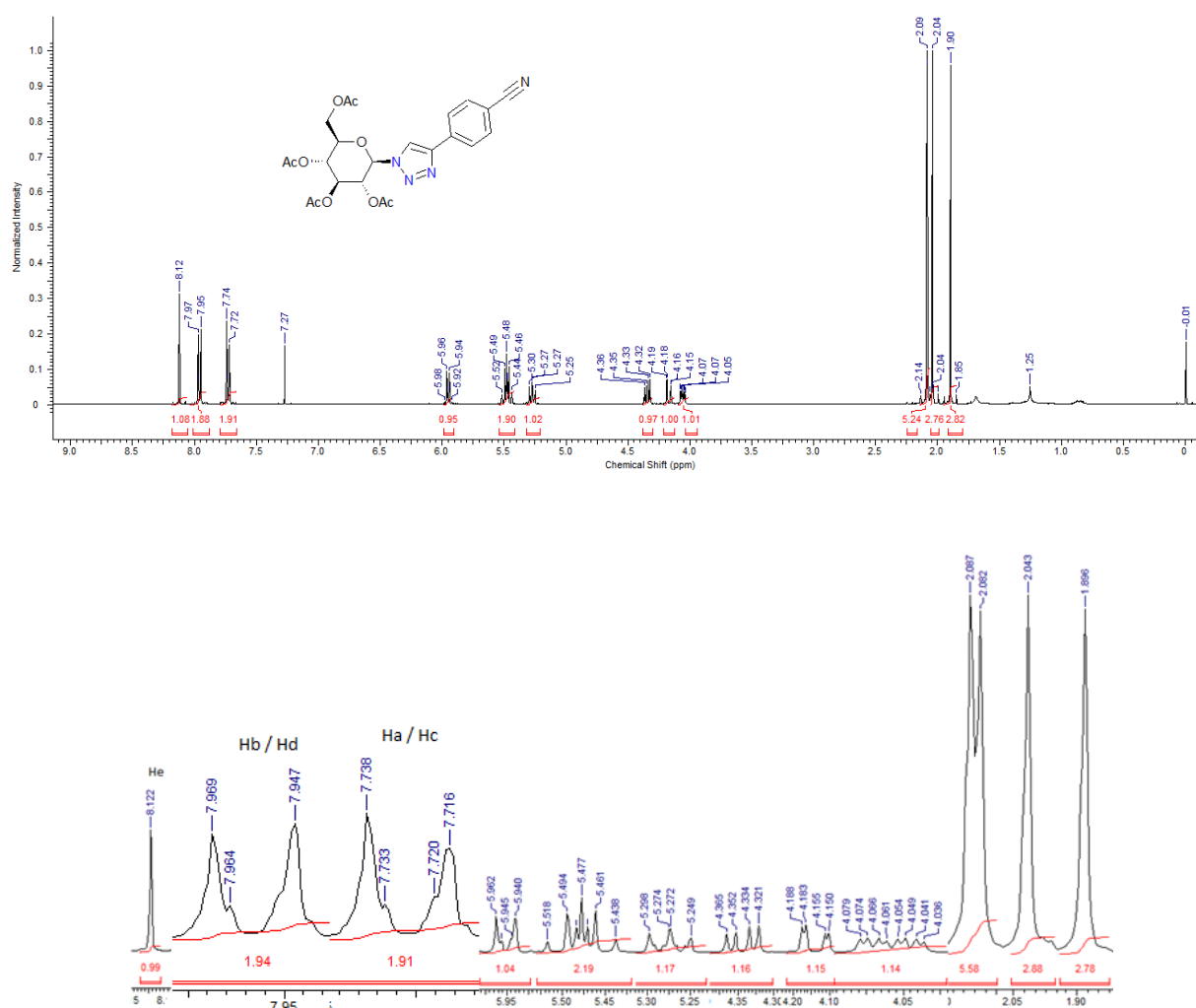


Fonte: Worrell, Malik, Fokin (2013)

Na **Figura 22**, foi possível observar na região de 0 a 2 ppm, faixa que corresponde aos hidrogênios ligados a carbono sp^3 . Na região de 1,89 e 2,04 ppm, foi observado dois simpletos com integração de 3 hidrogênios cada. Na região de 2,09 ppm, tem-se uma integração de 6 hidrogênios, referentes aos outros dois grupos CH_3 do grupo acetil. Na região entre 4,0 e 4,5 ppm foi possível observar 3 hidrogênios (H-5 e H-6/H-6') com as multiplicidades esperadas. Na região entre 5 e 6 ppm foi possível observar 4 hidrogênios referente aos H-1, H-2, H-3 e H-4 do anel glucosil. Na região de 5,44-5,52 ppm foi possível observar um multiplete com integração de 2 hidrogênios referente aos hidrogênios H-2/H-3. Estes se encontram mais deslocados devido ao

efeito de desblindagem do anel triazólico ligado ao carbono C-1. O sinal de hidrogênio anomérico (ligado ao C-1) encontra-se em 5,95 ppm e acoplamento 3J de 9 Hz. A região entre 7,5 a 8 ppm corresponde aos hidrogênios ligados diretamente ao anel aromático. (PAVIA, 2010). Os sinais em 7,73 e 7,96 ppm, foi possível observar que ambos os sinais apresentaram multiplicidade de duplete de duplete, característico de anéis para-substituídos. Estes sinais são referentes aos hidrogênios do anel benzênico que apresentaram constante de acoplamento orto (J_{H_a,H_b} e $J_{H_c,H_d} = 8,8$ Hz) Estes acoplamentos estão de acordo com a faixa prevista $^3J_{orto} = 7-10$ Hz. O sinal em 8,12 ppm observou-se um simpleto com integração de 1 hidrogênio, referente a (H_e) do anel triazólico, este encontra-se nesta região devido ao efeito de alto momento de dipolo do anel triazólico.

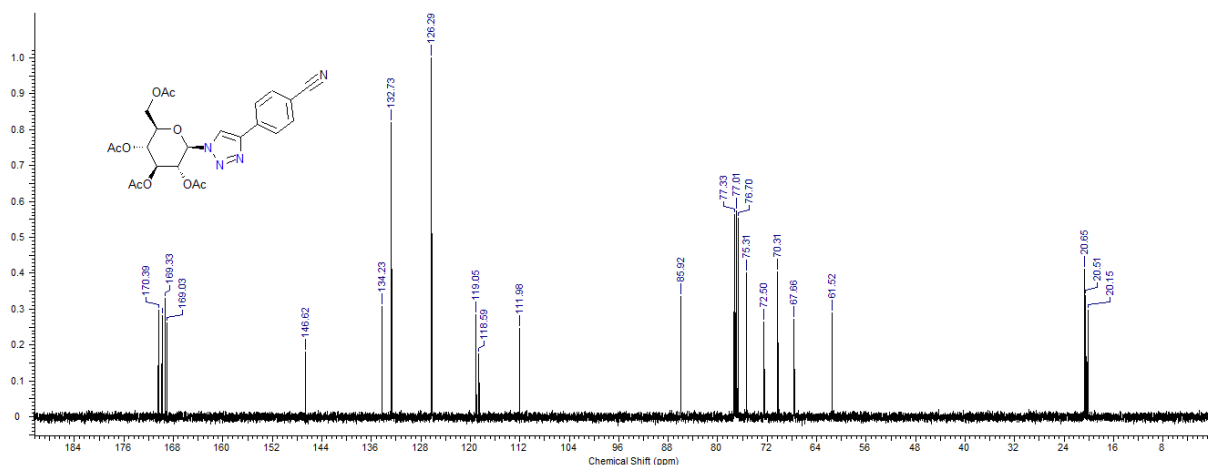
Figura 22 – Espectro de RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) e expansões do triazol-carboidrato **4**



Fonte: A autora (2020)

Na **Figura 23** referente ao espectro de ^{13}C (75 MHz) para o composto **4**, observou-se em 20,14, 20,46, 20,49, 20,64, 61,50, 67,46, 70,30, 72,48 e 75,29 ppm encontram-se os picos referentes aos carbonos alquílicos do anel glicosil. O carbono anomérico C-1 aparece em 85,91 ppm. O pico 111,97 ppm corresponde ao carbono da nitrila. Os picos 118,58, 119,04, 126,28, 132,72 ppm correspondem aos carbonos do anel aromático. Em 134,22 e 146,61 ppm observam-se os picos referentes aos carbonos do anel triazólico. Os picos 169,02, 169,31, 169,79 e 170,38 correspondem as carbonilas do anel glicosil.

Figura 23 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do triazol-carboidrato **4**

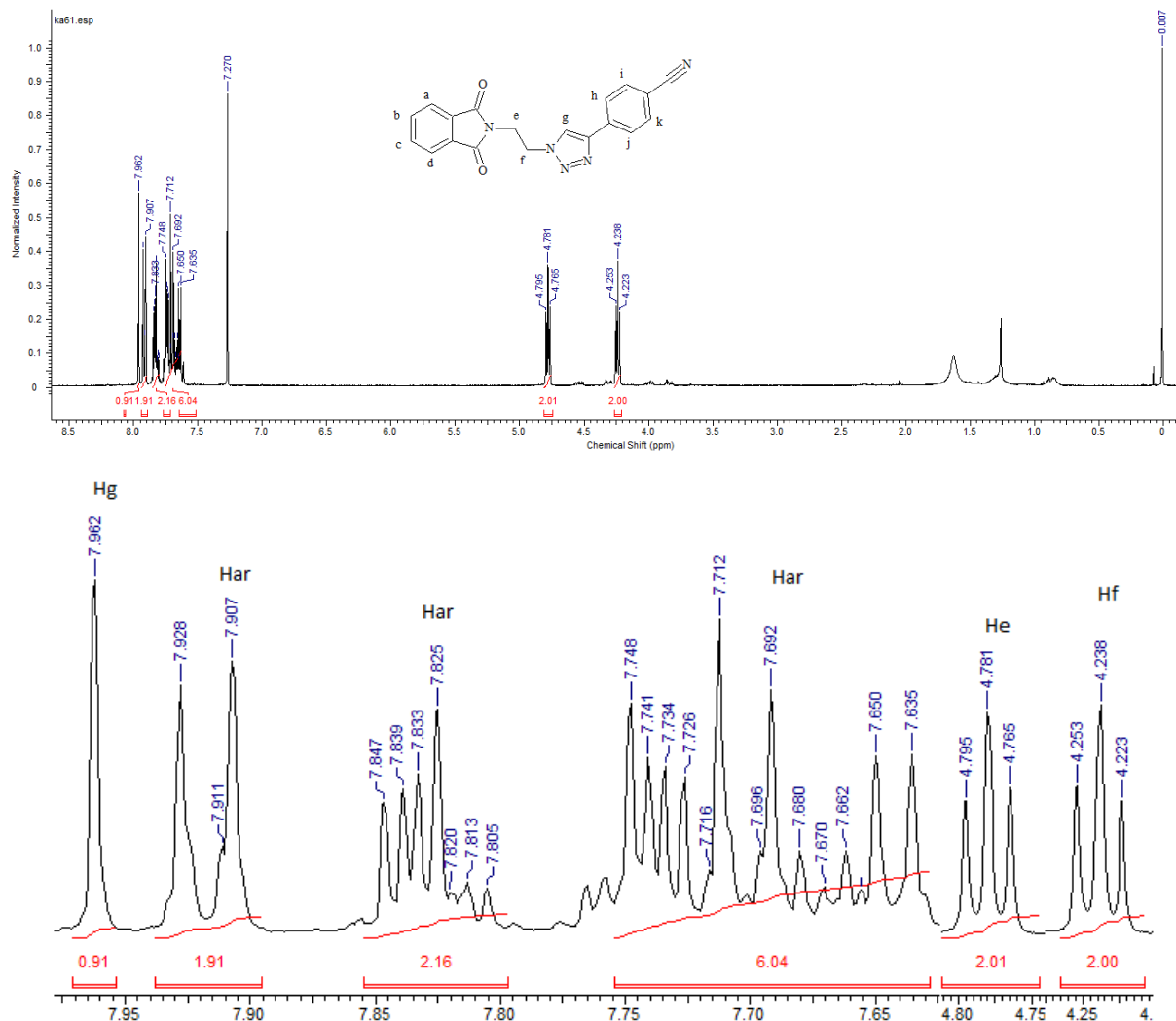


Fonte: A autora (2020)

No espectro de ^1H do composto **5** foi possível observar na região de 4,24 ppm, um tripleto com constante de acoplamento de 6 Hz e integração de 2 hidrogênios, referente ao CH_2 (H_f) que acopla com o CH_2 (H_e). Este se encontra mais deslocado devido ao efeito de blindagem do anel triazólico, a região de 0 a 2 ppm apresentam-se os hidrogênios ligados a carbono sp^3 . Na região de 4,78 ppm, observou-se um tripleto com constante de acoplamento de 6 Hz e integração de 2 hidrogênios, referente ao CH_2 (H_e) que acopla com o CH_2 (H_f), devido ao efeito de desblindagem do anel ftalimida, o CH_2 (H_e) encontra-se em deslocamento químico maior. As regiões descritas a seguir apresentam os hidrogênios ligados diretamente a carbono aromático que correspondem a faixa de 6,5 a 8 ppm. (PAVIA, 2010). Nas regiões de 7,63 – 7,75 ppm, 7,80 – 7,85 ppm, 7,91 – 7,93 ppm, foram possível observar multipletos com integrações de 6, 2 e 2 hidrogênios, respectivamente, totalizando 10 hidrogênios referentes aos hidrogênios aromáticos (H_a , H_b , H_c , H_d , H_h , H_i , H_j , H_k). Na

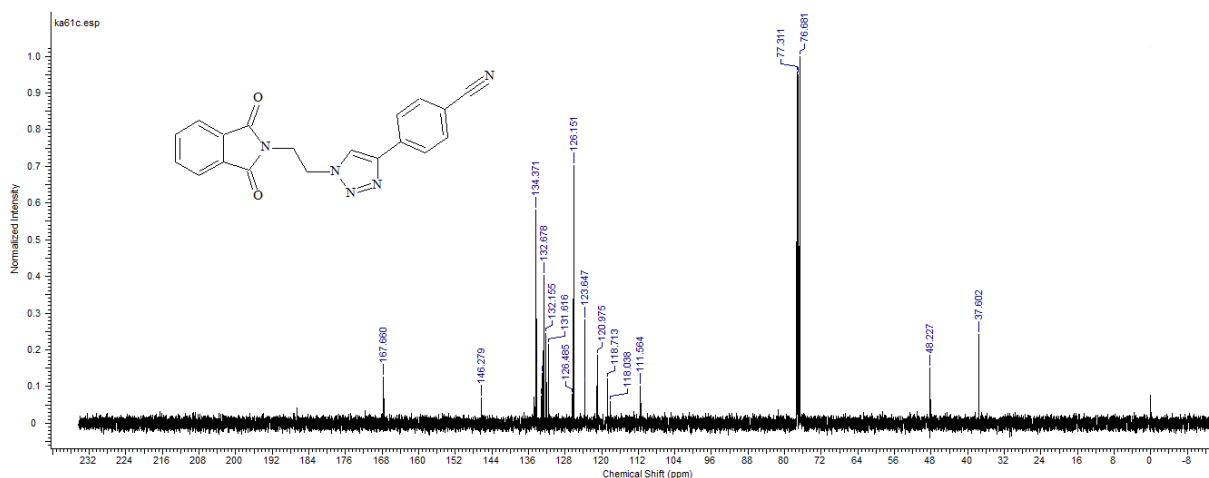
região de 7,96 ppm, foi possível observar um simpleto com integração de 1 hidrogênio, referente ao CH (H_g) do anel triazólico.

Figura 24 – Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) e expansões do triazol **5**



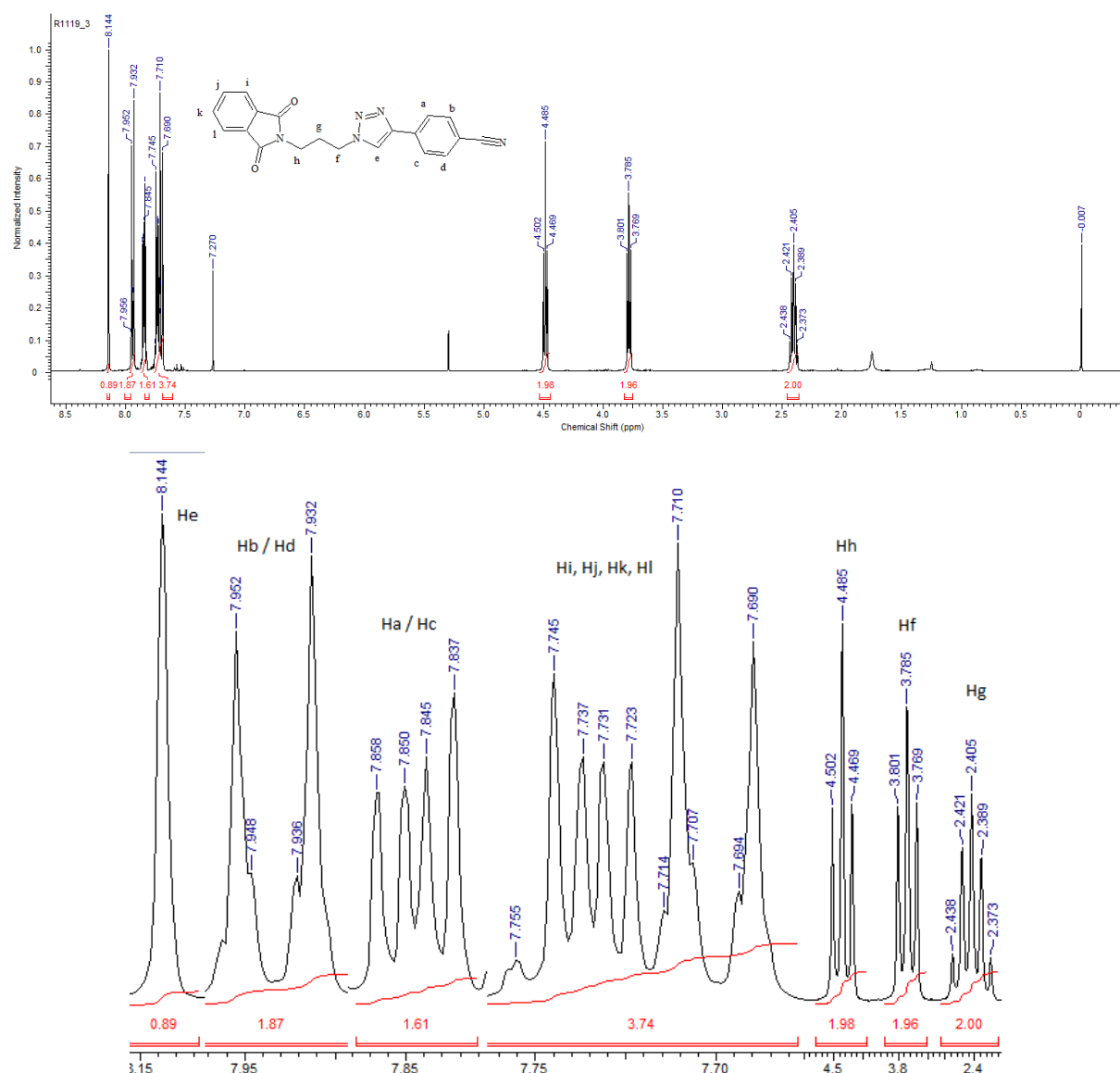
Fonte: A autora (2020)

No espectro de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) para o composto **5**, **Figura 25**, observou-se em 37,6 e 48,2 ppm encontram-se os picos referentes aos carbonos alquílicos. O pico 111,6 ppm corresponde ao carbono da nitrila. Os picos 118,0, 118,7, 120,9, 123,7, 126,1, 126,2, 126,5, 131,6, 132,2, 133,0 ppm correspondem aos carbonos do anel aromático. Em 134,4 e 146,3 ppm observam-se os picos referentes aos carbonos do anel triazólico. O pico referente às carbonilas foi observado em 167,7 ppm.

Figura 25 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do triazol **5**

Fonte: A autora (2020)

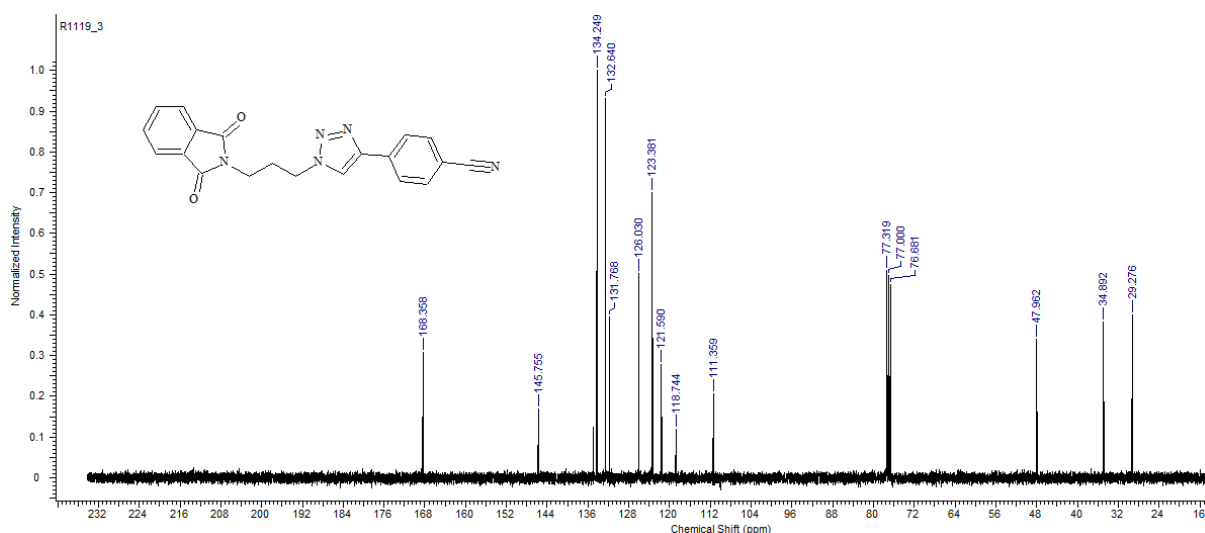
No espectro do composto **6** (**Figura 26**) foi possível observar um quinteto de integração 2 na região de 2,40 ppm com constante de acoplamento de 6,4 Hz, referente ao CH_2 (H_g) que acopla com o CH_2 (H_h) e CH_2 (H_f). Essa região corresponde aos hidrogênios ligados a carbono sp^3 que apresentam deslocamento químico na região de 0 a 2 ppm. Na região de 3,78 ppm observou-se um tripleto de integração 2 e constante de acoplamento de 6,4 Hz, referente ao CH_2 (H_f) que acopla com o CH_2 (H_g), o mesmo foi observado nesta região devido ao efeito de blindagem do anel triazólico. Na região de 4,48 ppm foi possível observar um tripleto de integração 2 e constante de acoplamento 6,8 Hz, referente ao CH_2 (H_h) que acopla com o CH_2 (H_g), este encontra-se nesta região devido ao efeito de desblindagem do anel ftalimida. Na região de 6,5 a 8 ppm encontram-se os hidrogênios ligados diretamente ao anel aromático. (PAVIA, 2010). Na região de 7,69 – 7,75 ppm foi possível observar um multipletto de integração 4 referente aos hidrogênios do anel benzênico ftalimida (H_j , H_k , H_l e H_m). Na região de 7,8 e 7,9 ppm, foi possível observar dois dupletos de dupletos, sinais característicos de anéis para-substituídos, ambos com integração de 2 hidrogênios e identificado constantes de acoplamento orto ($J_{\text{H}_c, \text{H}_d} = 8,8 \text{ Hz}$). Estes acoplamentos estão de acordo com a faixa prevista $^3J_{\text{orto}} = 7\text{-}10 \text{ Hz}$. Na região de 8,14 ppm observou-se um simpleto com integração de 1 hidrogênio, referente a (H_e) do anel triazólico, este encontra-se mais deslocado devido ao efeito de blindagem do anel triazólico.

Figura 26 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) e expansões do composto **6**

Fonte: A autora (2020)

A **Figura 27** referente ao espectro de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **6**, observou-se em 29,3, 34,9 e 47,9 ppm encontram-se os picos referentes aos carbonos alquílicos. O pico 111,4 ppm corresponde ao carbono da nitrila. Os picos 118,7, 121,6, 123,4, 126,0, 131,8, 132,6 ppm correspondem aos carbonos do anel aromático. Em 134,2 e 145,8 ppm observam-se os picos referentes aos carbonos do anel triazólico. O pico referente às carbonilas foi observado em 168,4 ppm.

Figura 27 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Composto **6**

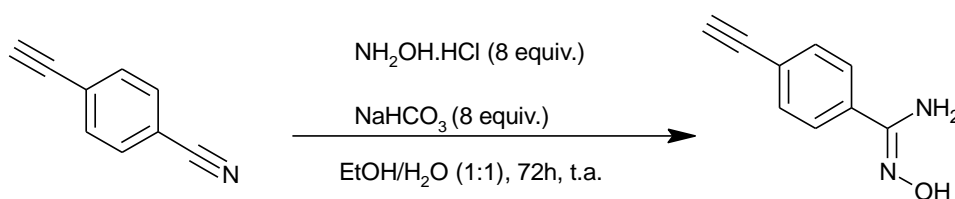


Fonte: A autora (2020)

5.3 SÍNTESE DA 4-ETINIL-BENZOAMIDOXIMA (**9**)

O composto **9** foi obtido a partir da 4-etinil-benzonitrila, onde foi realizada a conversão do grupo nitrila em grupo amidoxima, reagindo o produto comercial com $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ e NaHCO_3 em etanol e água (1:1), em temperatura ambiente por 72 horas com rendimento de 45%. (Esquema 9).

Esquema 9 – Síntese do composto **9**

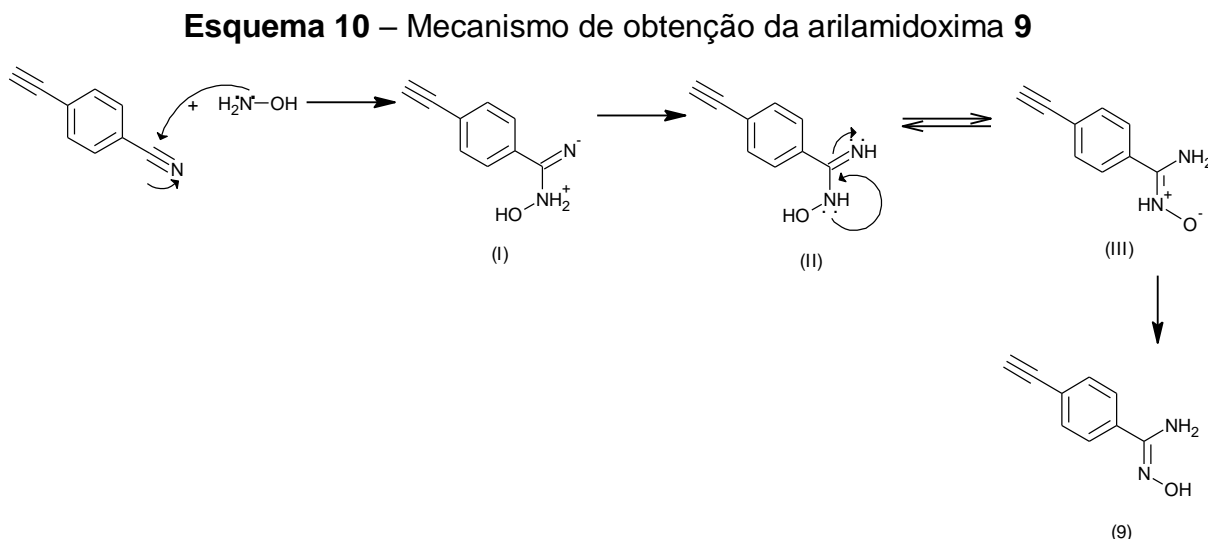


Fonte: A autora (2020)

A arilamidoxima **9** foi sintetizada anteriormente por dos Anjos *et al* (2007) utilizando o mesmo procedimento adotado neste trabalho, contudo obteve-se um rendimento de 93 %. Os dados espectroscópicos destes compostos condizem com o que consta na literatura.

A proposta mecanística para obtenção do composto **9** baseia-se no ataque nucleofílico do nitrogênio ao carbono polarizado positivamente da nitrila, formando um

intermediário **I** que após sofrer rearranjos intramoleculares forma a arilamidoxima **9** (Esquema 10).



Supõem-se que o composto **9** apresente conformação de geometria *Z* devido a ordem de estabilidade das amidoximas. Estudos comprovam que três formas de amidoximas podem coexistir, *E*-amidoxima, *Z*-aminonitrona, *Z*-amidoxima, sendo esta última a forma mais estável tanto em solventes próticos quanto apróticos. (**Figura 28**). (Sahyoun, Arrault, Schneider, 2019).

Figura 28 – Ordem de estabilidade dos isômeros de amidoximas



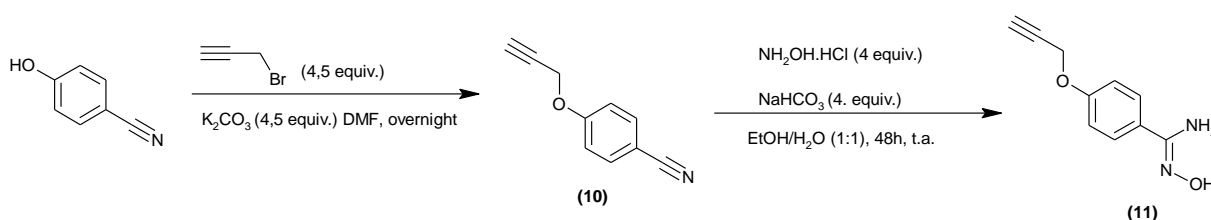
Fonte: A autora (2020)

5.4 SÍNTESE DA N'-HIDROXI-4-(PROP-2-INO-1-ILÓXI)BENZENOCARBOXIMIDAMIDA (**11**)

O composto **11** foi obtido através de uma reação de *O*-alquilação da *p*-hidroxibenzonitrila, utilizando K_2CO_3 como base e brometo propargílico, em DMF durante

uma noite. Após o tratamento da pós-reação foi obtido o alcino nitrila **10** com características de cristal incolor e rendimento de 81 %. Após a obtenção do composto **10** foi realizada a conversão do grupo nitrila em grupo amidoxima, reagindo o composto **10** com $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ e NaHCO_3 em etanol e água (1:1), em temperatura ambiente por 48 horas com rendimento de 80%. (Esquema 11)

Esquema 11 – Síntese de obtenção do composto 11



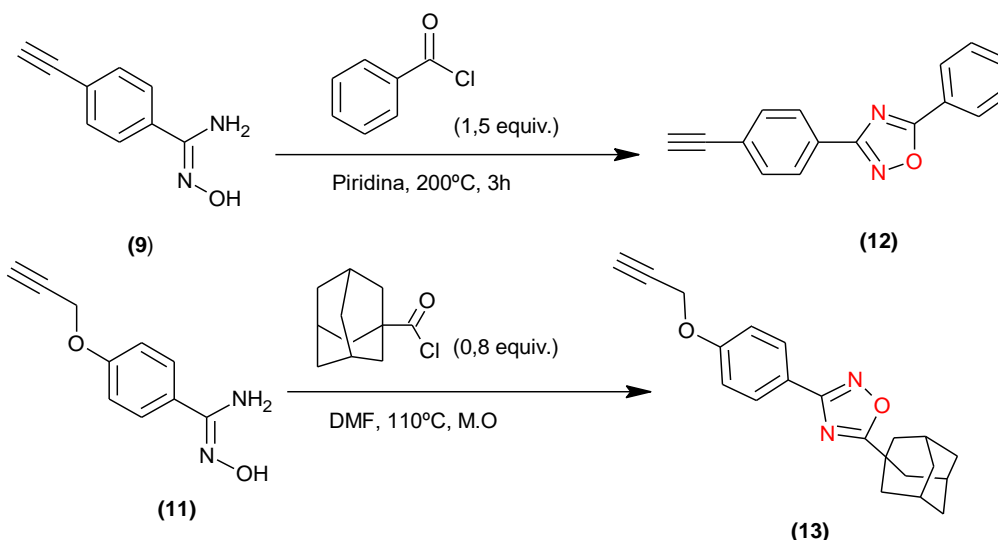
Fonte: A autora (2020)

O oxadiazol acetilênico **11** foi sintetizado anteriormente por Naro *et al* (2018) utilizando hidroxalamina, etanol 60% e N,N-diisopropiletilamina sob refluxo por 14 horas, obtendo um rendimento de 60%. Neste trabalho realizou-se algumas modificações como o uso do bicarbonato de sódio como base, etanol-água 1:1, não utilizou-se o refluxo e houve um aumento no tempo de reação para 72 horas, contudo o rendimento final foi de 80%.

5.5 SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZOL 3,5-DISSUBSTITUÍDOS (**12-13**)

Os 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituídos foram obtidos a partir da reação de ciclização térmica. O composto **12** foi sintetizado a partir da arilamidoxima **9** e cloreto de benzoíla, utilizando piridina seca, a 200 °C por 3 horas e rendimento de 85%. O composto **13** foi obtido a partir da arilamidoxima **11**, cloreto de adamantila, DMF, em micro-ondas à 110°C, com rendimento de 67%. (Esquema 12)

Esquema 12 – Síntese do 1,2,4-oxadiazol-3,5-dissubstituídos 12-13

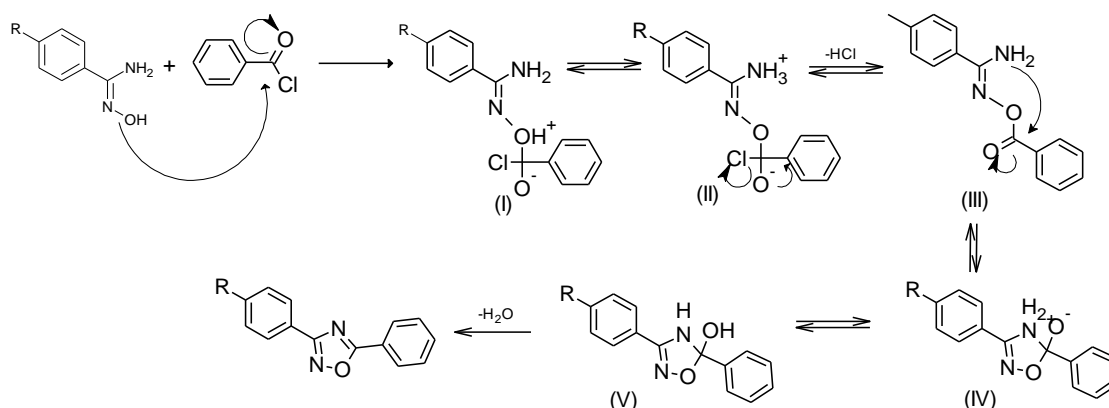


Fonte: A autora (2020)

O 1,2,4-oxadiazol **12** foi sintetizado anteriormente por dos Anjos *et al* (2007) utilizando diclorometano, ácido benzoico e *N,N'*-díciclohexilcarbodiimida, a temperatura de 110-120°C por 4 horas, onde obteve-se o rendimento de 54%. Contudo neste trabalho propôs-se a modificação da metodologia utilizando cloreto de benzoíla e piridina, a temperatura foi elevada para 200°C, assim alcançou-se melhor rendimento e o tempo de reação reduziu para 3 horas. Os dados espectroscópicos destes compostos condizem com o que consta na literatura (dos Anjos *et al*, 2007).

O mecanismo proposto para a obtenção do compostos acima citado inicia-se com o ataque nucleofílico a carbonila formando o intermediário **I**, em seguida ocorre uma transferência de prótons formando o intermediário **II**, que após a saída de uma molécula de ácido, forma o intermediário **III**. Neste intermediário o grupo amino ataca a carbonila para formar o anel de cinco membros, intermediário **IV**, que sofre uma nova transferência de prótons, formando o intermediário **V**, que após a saída de uma molécula água forma o anel 1,2,4-oxadiazólico esperado. (Esquema 13)

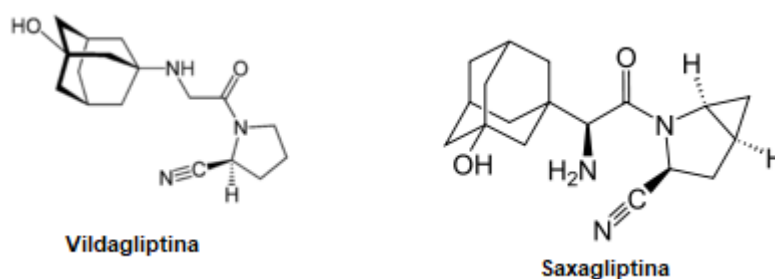
Esquema 13 – Mecanismo geral de obtenção de 1,2,4-oxadiazóis 3,5-dissubstituído



Fonte: A autora (2020)

A ideia de utilizar o adamantano como radical surgiu através de pesquisas na literatura que demonstram que o uso deste biciclo aumenta a lipofilicidade do composto, podendo modificar a disponibilidade biológica da molécula. Através disto vários derivados do adamantano vêm ganhando destaque por seu potencial biológico contra a malária (CHINNAPATTU; SATHIYANARAYANAN; IYER, 2015), anti-bactericida, anti-fungicida, atividade inibitória contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Observa-se também seu uso em drogas comerciais que são utilizadas para o tratamento do diabetes tipo 2, Vildagliptina e Saxagliptina (**Figura 29**). E recentemente foi desenvolvido um derivado capaz de induzir a apoptose humana em células de carcinoma escamoso de cabeça e pescoço (ALI *et al*, 2017).

Figura 29 – Estrutura das drogas comerciais utilizadas no tratamento do diabetes tipo 2

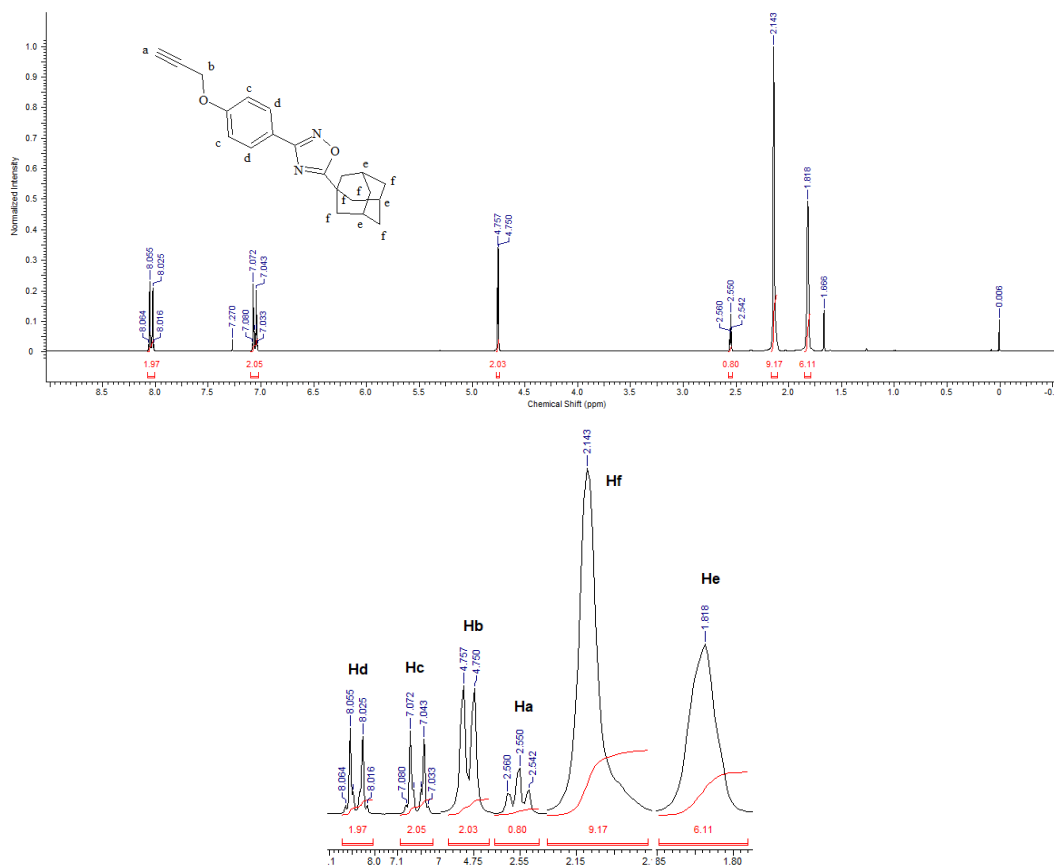


Fonte: A autora (2020)

No espectro do composto **13** (**Figura 30**), inédito na literatura, foi possível observar em 1,81 e em 2,14 ppm os sinais referentes aos hidrogênios da região do

adamantano, CH (H_e) e CH_2 (H_f), totalizando 15 hidrogênios. Esta região corresponde aos hidrogênios ligados a carbono sp^3 que apresentam deslocamento químico na faixa de 0-2ppm. Em 2,54 ppm, observou-se o tripleto correspondente ao hidrogênio do alcino (H_a) que acopla com um CH_2 (H_b), o deslocamento coincide com a faixa esperada de 2-3 ppm, devido ao efeito anisotrópico, o mesmo apresentou uma constante de acoplamento de 2,4 Hz. Em 4,75 ppm, foi observado um duplete com integração de dois hidrogênios e $J_{H_b,H_a} = 2,1\text{Hz}$ referente ao CH_2 (H_b) que acopla com o hidrogênio acetilênico (H_a), o mesmo apresentou-se mais deslocado devido a eletronegatividade do oxigênio. Na região de 7,05 e 8,05 ppm, deslocamento esperado para a região dos aromáticos (PAVIA, 2010), foi possível observar que ambos os sinais apresentaram multiplicidade de duplete de duplete, característico de anéis para-substituídos. Estes sinais são referentes aos hidrogênios do anel benzênico que apresentaram constante de acoplamento orto ($J_{H_c,H_d} = 8,7\text{ Hz}$ e $J_{H_c,H_d} = 9\text{ Hz}$) e acoplamento meta ($J_{H_c,H_c} = 2,4\text{ Hz}$ e $J_{H_c,H_c} = 2,7\text{ Hz}$). Estes acoplamentos estão de acordo com a faixa prevista $^3J_{\text{orto}} = 7\text{-}10\text{ Hz}$ e $^4J_{\text{meta}} = 1\text{-}3\text{ Hz}$.

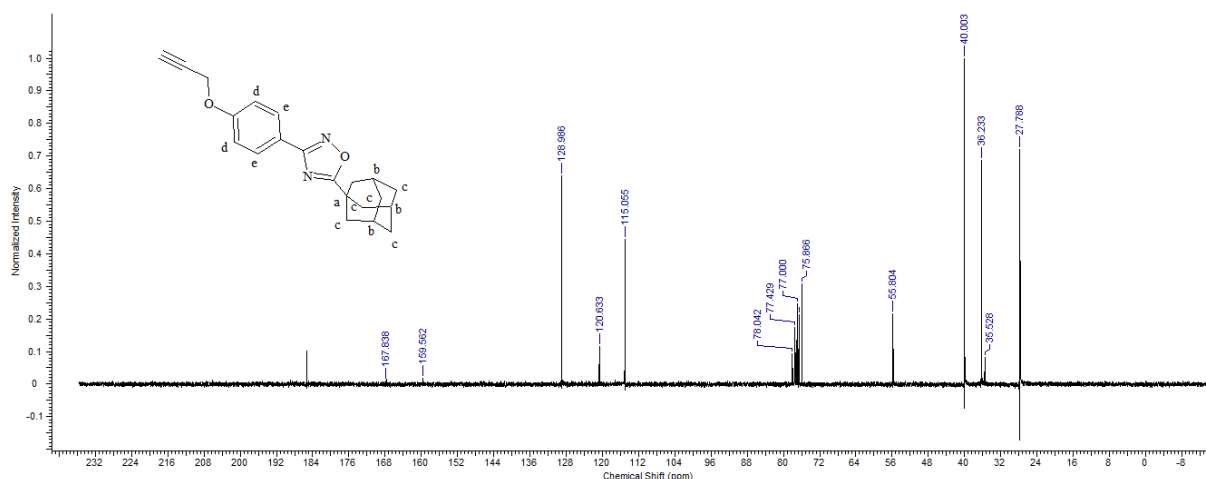
Figura 30 – Espectro de RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) e expansões do Composto 13



Fonte: A autora (2020)

O composto **13** apresentou o espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), Figura 13. Em 27,8 ppm pode ser observado o sinal do CH. Em 35,5 ppm observa-se o sinal do CH (C_a), em 36,2 ppm observa-se o sinal do CH (C_b) e 40,0 ppm pode ser observado o sinal do CH_2 (C_c), todos eles referentes ao anel do adamantano. Em 55,8 ppm observa-se o sinal do CH_2 acetilênico. Em 75,9 e 78,0 ppm é possível observar os sinais referentes aos carbonos acetilênicos. Em 115,1 ppm observa-se o carbono do anel aromático ligado ao oxigênio. Em 120,6 é possível observar os sinais referentes aos carbonos do anel aromático (C_e). Em 129,0 ppm é representado os sinais dos carbonos do anel aromático (C_d). Em 159,6 e 167,8 ppm é possível observar os sinais do carbono do anel oxadiazólico. E em 185,2 ppm é possível observar o sinal da carbonila.

Figura 31 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do oxadiazol **13**

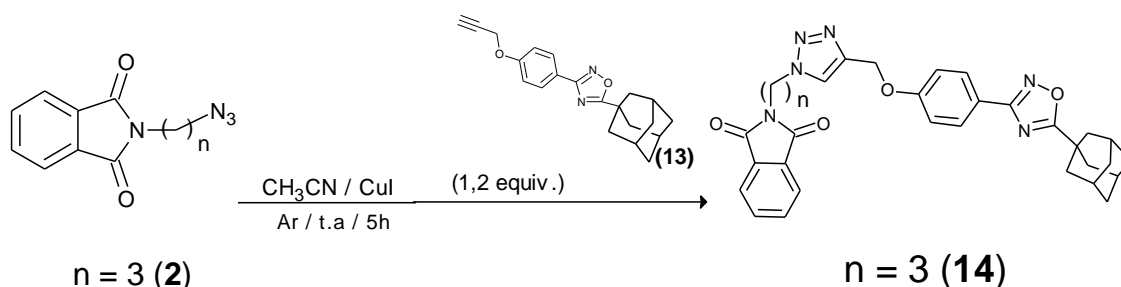


Fonte: A autora (2020)

5.6 SÍNTESE DE 3-{4-[(1-(N-FTALIMIDOETIL)-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-il)METÓXI]FENIL}-5-ADAMANTIL-1,2,4-OXADIAZOL (**14**)

O triazol foi sintetizado a partir do alcino oxadiazólico **13**, com a azida ftalimida **2**. Este composto foi obtido via reação de cicloadição 1,3-dipolar, utilizando CH_3CN como solvente e CuI como catalisador, a reação foi realizada em atmosfera inerte de argônio durante 5 horas. O oxadiazol-triazol **14** foi obtido como um óleo viscoso com rendimento de 21% (Esquema 14). Esta reação será repetida modificando solvente, um possível problema deve ter sido a baixa solubilidade do reagente **13**.

Esquema 14 – Síntese da ftalimida-triazol-oxadiazólica **14**

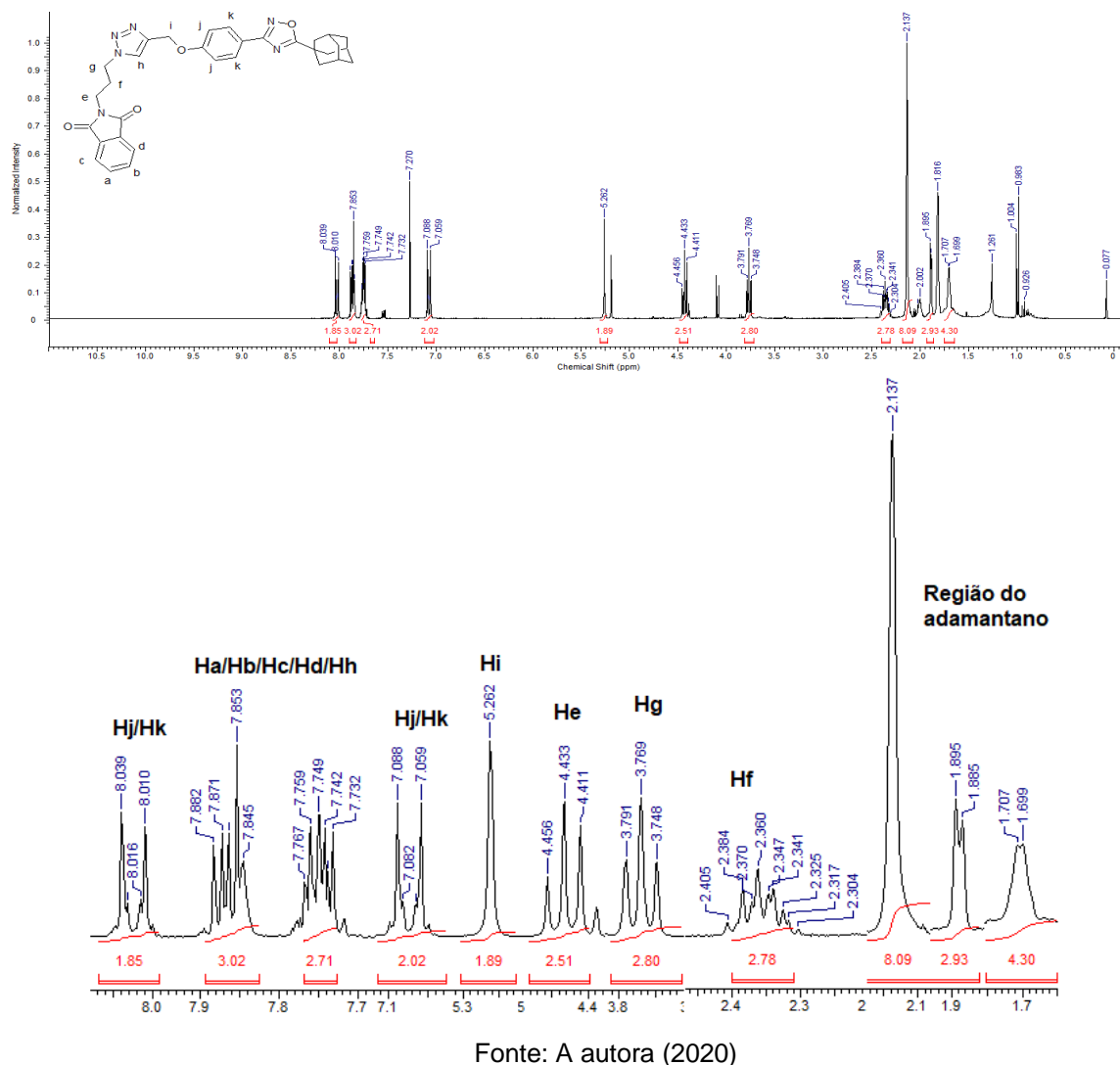


Fonte: A autora (2020)

No espectro do composto **14** (**Figura 32**), foi possível observar nas regiões 1,70, 1,89 e 2,14 ppm simpletos largos referentes aos hidrogênios da região do adamantano, totalizando 15 hidrogênios. Na região de 2,30 - 2,41 ppm observou-se um multipeto de integração de 2, referente ao CH₂ (H_f) que acopla com outros dois CH₂ (H_e e H_g). Esta região corresponde aos hidrogênios ligados a carbono sp³ que apresentam deslocamento químico na faixa de 0 - 2 ppm. Na região de 3,77 ppm observa-se um tripleto de integração 2 e constante de acoplamento de 6,3 Hz, referente ao CH₂ (H_g) que acopla com o CH₂ (H_f), este encontra-se nesta região pois sofre efeito de desblindagem do anel triazólico. Na região de 4,43 ppm também se observa um tripleto de integração 2 e constante de acoplamento de 6,9 Hz, referente ao CH₂ (H_e) que acopla com o CH₂ (H_f), este encontra-se nesta região pois sofre efeito do anel ftalimida. Na região de 5,26 ppm observa-se um simpleto de integração de 2 hidrogênios referente ao CH₂ (H_i), o mesmo encontra-se nesta região pois sofre influência direto do oxigênio, deixando-o mais desblindado. As descrições a seguir compreendem as faixas dos hidrogênios dos anéis aromáticos (6,5 - 8,0 ppm) (PAVIA, 2010), onde na região de 7,08 ppm foi possível observar um dupeto de dupeto, com integração de 2 hidrogênios e constante de acoplamento orto ($J_{H_j, H_k} = 9$ Hz) e acoplamento meta ($J_{H_j, H_j} = 1,8$ Hz). Estes acoplamentos estão de acordo com a faixa prevista $^3J_{\text{orto}} = 7 - 10$ Hz e $^4J_{\text{meta}} = 1 - 3$ Hz. Na região entre 7,73 - 7,77 e 7,85 - 7,88 ppm foi possível observar os multipletos ambos com integração de 2 hidrogênios, referentes aos hidrogênios do anel benzênico (H_a, H_b, H_c e H_d) da ftalimida. Na região de 7,85 ppm foi possível observar um simpleto de integração 1, referente ao hidrogênio (H_h) do anel triazólico, o mesmo encontra-se nesta região, pois sofre desblindagem do anel triazólico. E na região de 8,03 ppm foi possível observar um

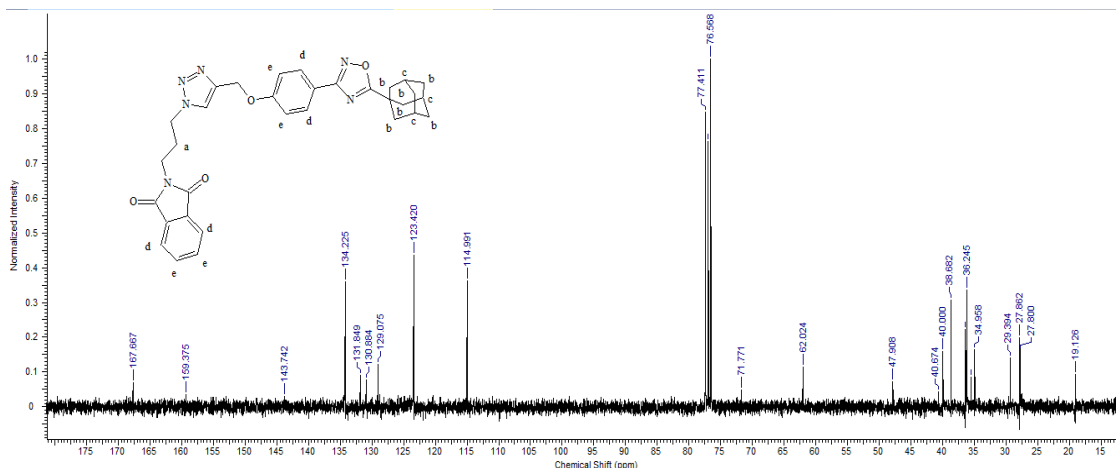
dupleto de dupleto, com integração de 2 hidrogênios e constante de acoplamento orto ($J_{Hj,Hk} = 9$ Hz) e acoplamento meta ($J_{Hk,Hk} = 1,8$ Hz).

Figura 32 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansões do Composto **14**



Fonte: A autora (2020)

No espectro de ^{13}C da ftalimida-triazol-oxadiazol **14**, **Figura 33**, foi possível observar em 19,1, 27,8, 29,4, 35,0, 36,2, 36,4, 38,7, 40,0, 47,9, 62,0 e 72,0 ppm os sinais referentes aos carbonos da cadeia alquílica (C_a), da região da adamantano (C_b , C_c), os carbonos ligados diretamente ao nitrogênio da ftalimida e anel triazol, o carbono ligado diretamente ao oxigênio e o carbono do anel adamantano ligado ao anel 1,2,4-oxadiazólico. Em 115,0, 123,4, 129,1, 130,9, 131,9, 134,2, 143,0, 160,0 e 167,7 foi possível observar os sinais referentes aos carbonos dos anéis aromáticos (C_d e C_e), os carbonos do anel triazólico e oxadiazólico e as as carbonilas do anel ftalimida.

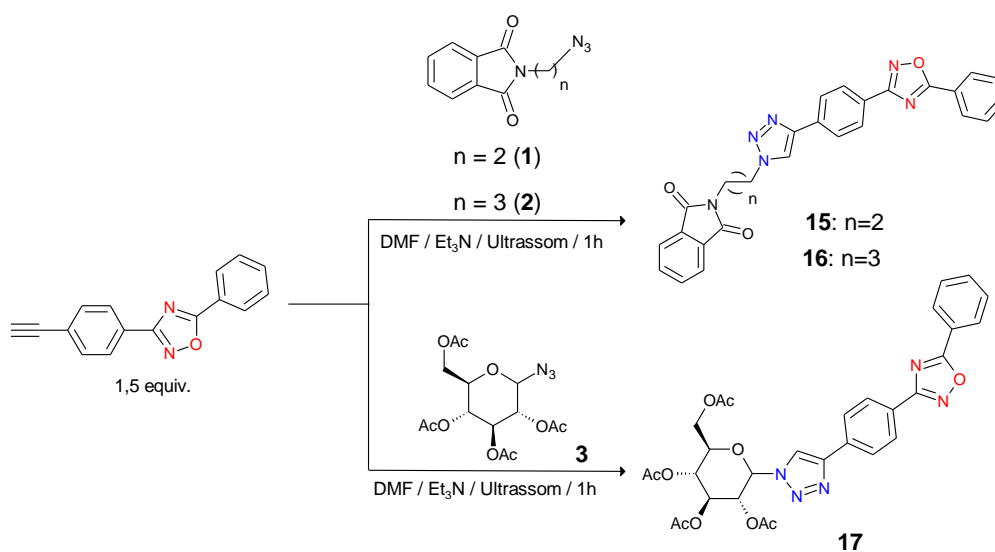
Figura 33 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Composto **14**

Fonte: A autora (2020)

5.7 SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS (**15-17**)

Os compostos **15-17** foram obtidos a partir do composto **12**, 1,2,4-oxadiazol acetilênico e as azidas orgânicas **1-3**, através de reação de cicloadição 1,3-dipolar, utilizando DMF e Et_3N como solvente e CuI como catalisador, a reação foi realizada em ultrassom por 1 hora, com rendimentos de 74 % (**15**), 78 % (**16**) e 83 % (**17**). (Esquema 15)

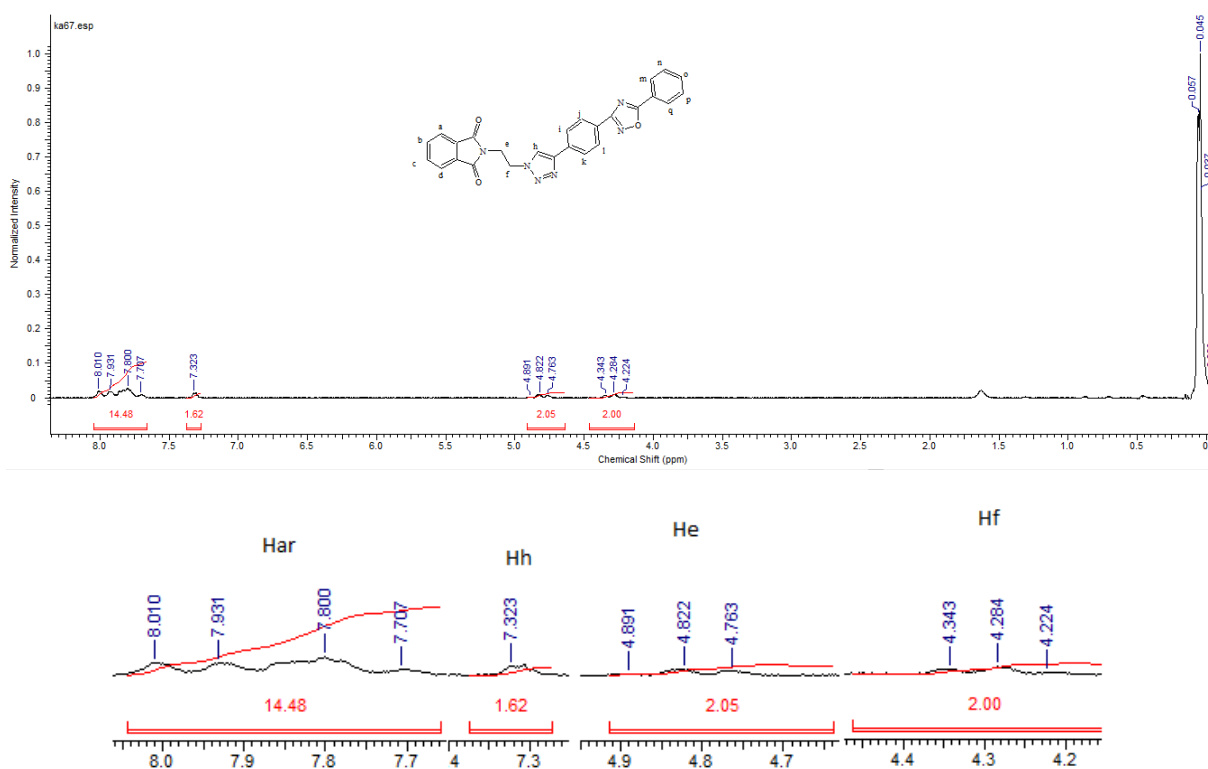
Esquema 15 – Síntese dos híbridos contendo os anéis 1,2,4-oxadiazol e 1,2,3-triazol



Fonte: A autora (2020)

Na **Figura 34** do espectro do composto **15** (realizado em aparelho de 90 MHz) foi possível observar na região de 4,28 ppm um tripleto com integração de 2 hidrogênios e constante de acoplamento de 5,4 Hz referente ao CH₂ (H_f) que acopla com o CH₂ (H_e), o mesmo encontra-se mais deslocado devido ao efeito de blindagem do anel triazólico. Na região de 4,82 ppm observou-se um tripleto com constante de acoplamento de 6,2 Hz e integração de 2 hidrogênios referente ao CH₂ (H_e) que acopla com o CH₂ (H_f) este sofre efeito de blindagem do anel ftalimida, por isso encontra-se mais deslocado. A região que corresponde aos hidrogênios ligados diretamente a carbonos sp³ varia de 0 a 2 ppm (PAVIA, 2010). Na região de 7,32 ppm foi possível observar um simpleto com integração de 1 hidrogênio referente ao CH (H_h) do anel triazólico. Na região de 7,71 – 8,01 ppm foi possível observar um multipeto com integração de 13 hidrogênios referentes aos CH aromáticos (H_a, H_b, H_c, H_d, H_i, H_j, H_k, H_l, H_m, H_n, H_o, H_p e H_q). Essas regiões compreendem os hidrogênios ligados diretamente ao anel benzênico que se encontram na faixa de 6,5 a 8 ppm.

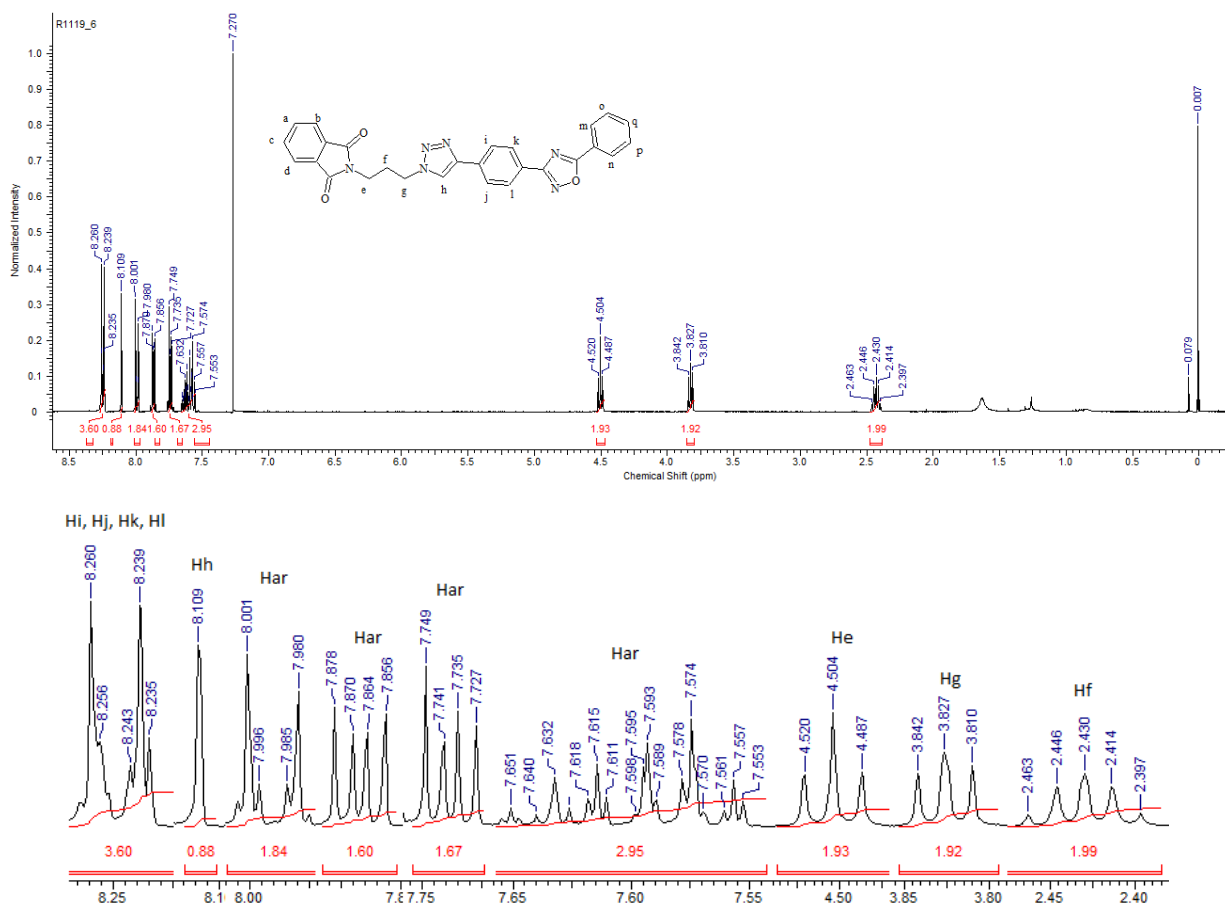
Figura 34 – Espectro de RMN ¹H (90 MHz, CDCl₃) e expansões do composto **15**



Fonte: A autora (2020)

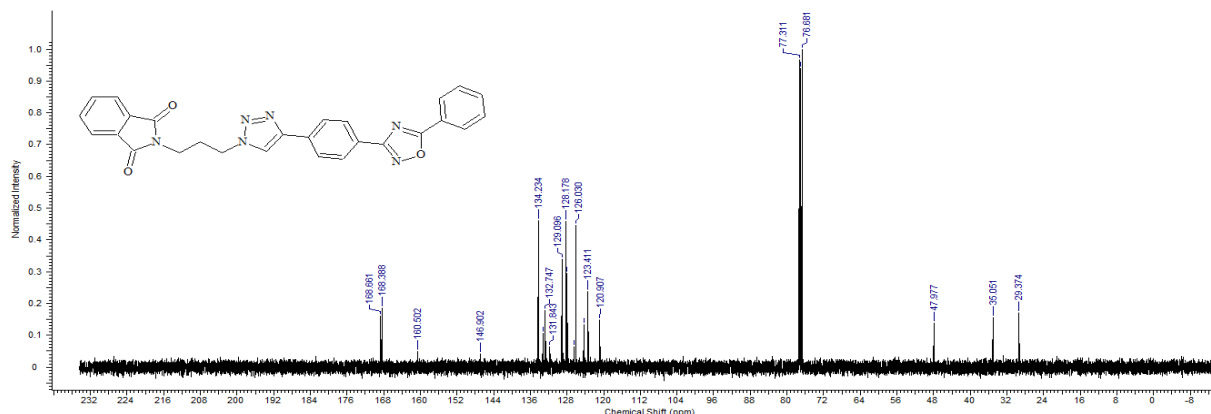
No espectro da ftalimida-triazol-oxadiazólica **16**, **Figura 35**, foi possível observar na região dos hidrogênios ligados a carbono sp³ que varia 0 a 2 ppm, na região de

2,43 ppm um quinteto com constante de acoplamento de 6,4 Hz e integração de 2 hidrogênios referente ao CH₂ (H_f) que acopla com outros dois CH₂ (H_e e H_g). Na região de 3,83 ppm foi possível um tripleto com integração de 2 hidrogênios e constante de acoplamento de 6 Hz referente ao CH₂ (H_g) que acopla com o CH₂ (H_f), o mesmo encontra-se mais deslocado devido ao efeito de blindagem do anel triazólico. Na região de 4,50 ppm observou-se um tripleto com constante de acoplamento de 6,4 Hz e integração de 2 hidrogênios referente ao CH₂ (H_e) que acopla com o CH₂ (H_f) este sofre efeito de blindagem do anel ftalimida, por isso encontra-se mais deslocado. A descrição a seguir tratam-se dos hidrogênios ligados diretamente ao anel benzênico que se encontram na faixa de 6,5 a 8 ppm. Na região de 7,55 – 7,65 ppm foi possível observar um multipeto com integração de 3 hidrogênios. Na região de 7,72 – 7,75 ppm e 7,86 – 7,88 ppm foi possível observar que ambos sinais apresentavam um duplo tripleto com constante de acoplamento de 3,2 e 5,6 Hz e integração de 2 hidrogênios cada. Na região de 7,98 – 8,00 ppm foi possível observar um duplo dupeto com constante de acoplamento de 2 e 8,4 Hz e integração de 2 hidrogênios. Fazendo um total de 9 hidrogênios referentes aos hidrogênios (H_a, H_b, H_c, H_d, H_m, H_n, H_o, H_p e H_q). Na região de 8,11 ppm observou-se um simpleto com integração de 1 hidrogênio, referente ao H_h do anel triazólico. Na região de 8,2 foi possível observar um dupeto de dupeto, característico de anéis para-substituídos, com integração de 4 hidrogênios. Estes sinais são referentes aos hidrogênios do anel benzênico que apresentaram constante de acoplamento orto (J_{H_i,H_k} e $J_{H_j,H_l} = 8,4$ Hz) e acoplamento meta (J_{H_i,H_j} e $J_{H_k,H_l} = 1,6$ Hz). Estes acoplamentos estão de acordo com a faixa prevista $^3J_{orto} = 7-10$ Hz e $^4J_{meta} = 1-3$ Hz.

Figura 35 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) e expansões do composto **16**

Fonte: A autora (2020)

Na **Figura 36** referente ao espectro de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto **16**, observou-se em 29,37, 35,1 e 47,9 ppm os picos referentes aos carbonos alquílicos. Em 120,9, 123,4, 124,5, 126,0, 126,5, 128,0, 128,2, 129,1, 131,8, 132,7, 133,3 ppm encontram-se os picos referentes aos carbonos dos anéis aromáticos. Em 134,2 e 146,9 ppm os picos do anel triazólico. Os picos referentes aos carbonos do anel oxadiazólico foi observado em 160,5 e 168,4 ppm. E em 168,7 foi observado o pico referente às carbonilas.

Figura 36 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do ftalimida-triazol-oxadiazol **16**

Fonte: A autora (2020)

Na **Figura 37** foi possível observar na região de 1,92 e 2,06 ppm, dois simples com integração de 3 hidrogênios cada, referente ao CH_3 do grupo acetil. Na região de 2,10 ppm, observou-se um duplete com constante de acoplamento de 5,2 Hz e integração de 6 hidrogênios, referente aos CH_3 do grupo acetil. Nesta região foi possível observar um total de 12 hidrogênios e encontram-se dentro da faixa esperada para os hidrogênios ligados a carbonos sp^3 que varia de 0 a 2 ppm. Nas regiões de 4,0, 4,1 e 4,3 ppm foram possíveis observar dupletos de dupletos com constantes de acoplamento de 2 e 3,2 Hz, 1,6 e 10,8 Hz e 5,2 e 8 Hz, respectivamente e integrações de 1 hidrogênio. Na região de 5,2 ppm foi possível observar um tripleto com constante de acoplamento de 10 Hz e integração de 1 hidrogênio. E na região de 5,9 ppm foi possível observar um duplete com constante de acoplamento de 9,6 Hz e integração de 1 hidrogênio. Nestas regiões descritas foram observados um total de 5 hidrogênios, referentes aos CH do anel glicosil. Na região de 5,45 – 5,57 ppm foi possível observar um duplo tripleto com constante de acoplamento de 9,2 e 11,6 Hz e integração de 2 hidrogênios referente ao CH_2 ligado diretamente ao anel glicosil. Estes se encontram mais deslocados devido ao efeito de blindagem dos anéis glicosil e triazol. A região de 6,5 a 8 ppm encontram-se os hidrogênios ligados diretamente a carbonos aromáticos. (PAVIA, 2010). Na região de 7,56 – 7,63 ppm observou-se um multiplete com integração de 3 hidrogênios. Na região de 7,99 – 8,02 ppm observou-se um duplete de duplete com constante de acoplamento de 2 e 4,8 Hz e integração de 2 hidrogênios. Nesta região observou-se um total de 5 hidrogênios referentes aos hidrogênios aromáticos (H_a , H_b , H_c , H_d , H_e). Na região de 8,10 ppm, observou-se um simpleto com integração de 1 hidrogênio referente ao H_i do anel triazólico. Na região

de 8,2 ppm observou-se um multipeto com integração de 4 hidrogênios referentes aos hidrogênios aromáticos (H_f , H_g , H_h , H_i).

Figura 37 – Espectro de RMN 1H (90 MHz, $CDCl_3$) e expansões do carboidrato-triazol-oxadiazol **17**

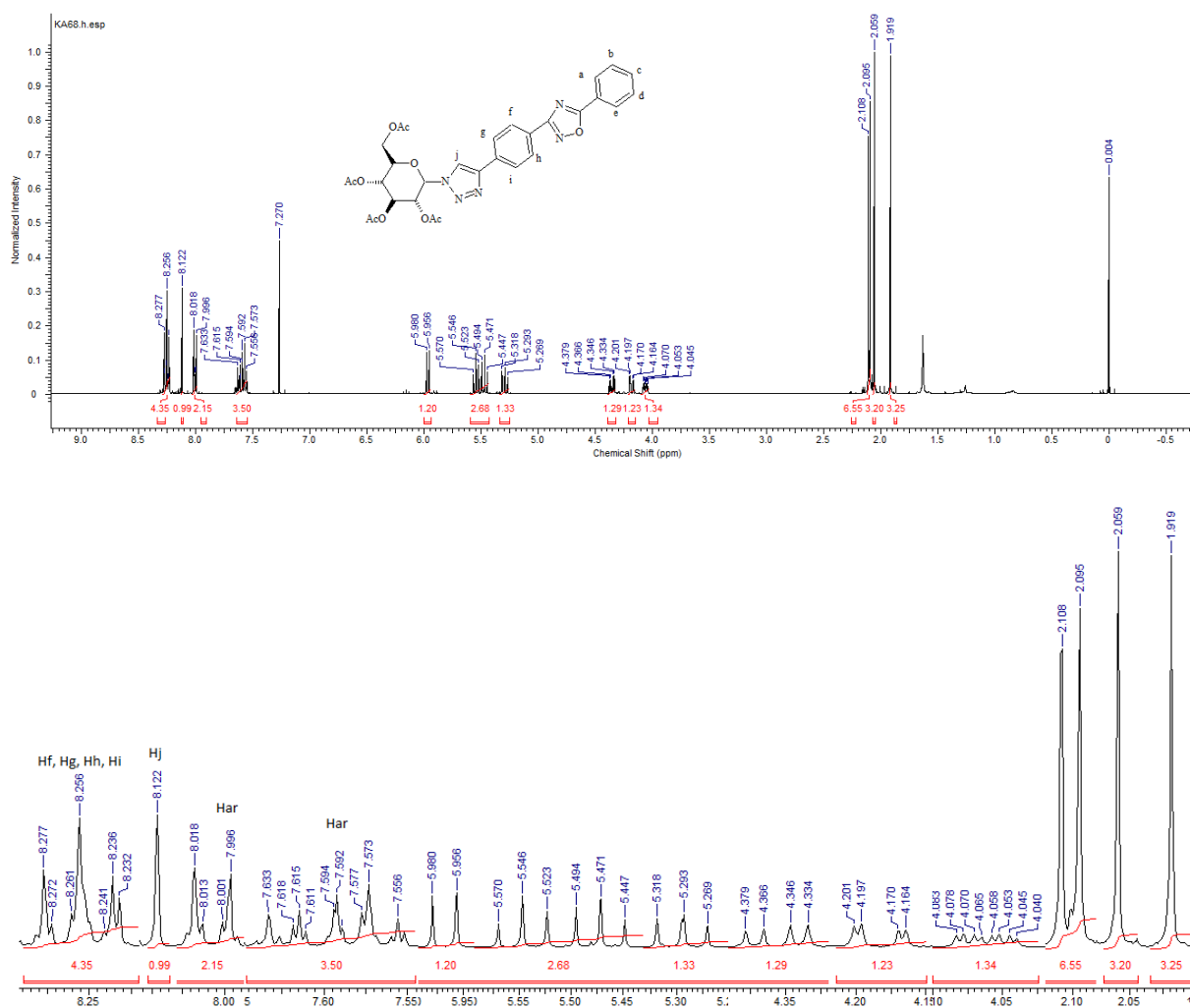
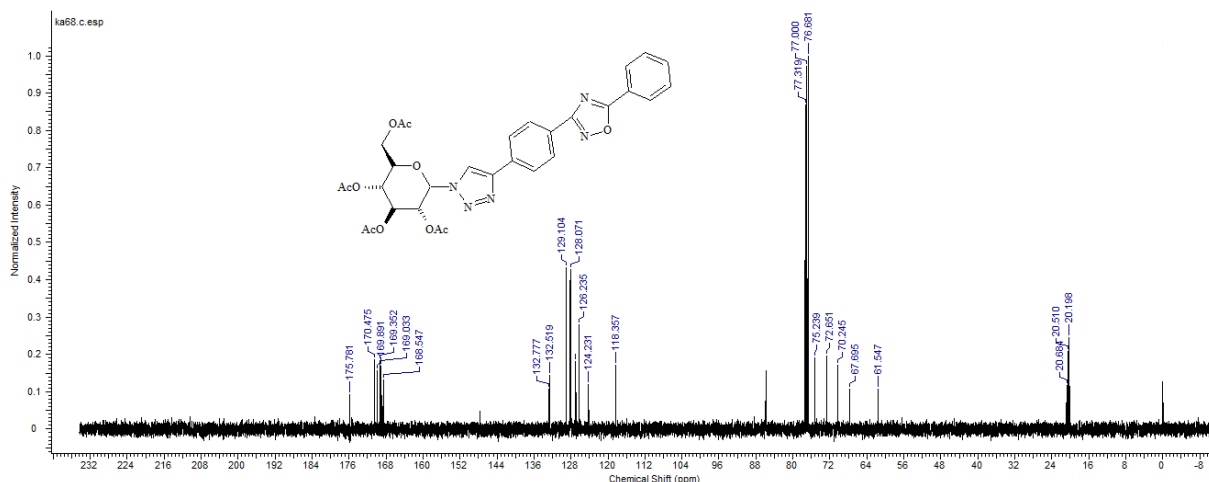


Figura 38 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Composto **17**

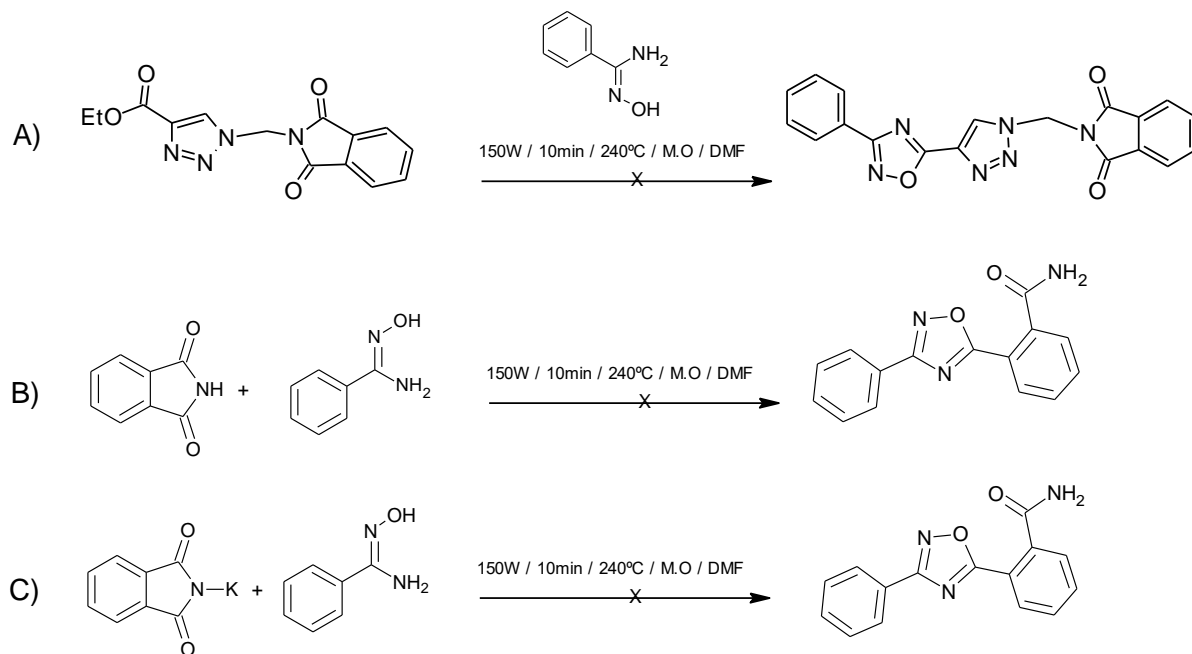


Fonte: A autora (2020)

5.8 SÍNTESE DE 1,2,4-OXADIAZÓIS CONJUGADOS A 1,2,3-TRIAZÓIS A PARTIR DA REAÇÃO ENTRE *N*-[ALQUIL]-FTALIMIDAS TRIAZOL E BENZOAMIDOXIMA (**18-19**)

Inicialmente a estratégia de síntese era realizar a reação entre a ftalimida-triazol-éster e a benzoamidoxima para formar o triazol conjugado diretamente ao oxadiazol (Reação A, Esquema 16). Acompanhamento em CCD mostrou uma mistura complexa de produtos, sendo o principal produto isolado resultado da abertura do anel ftalimida. Para comprovar esta hipótese, foram feitas tentativas de abertura do anel ftalimida reagindo ftalimida/ftalimida potássica com a benzoamidoxima (Reações B e C, Esquema 14), utilizando o forno de micro-ondas a uma potência de 150 W, 240 °C por 10 min e DMF como solvente para obter o 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído. Contudo, não houve êxito nos resultados. Desta forma, nossos estudos mostraram que foram sintetizadas as carboximidamida-benzamida-triazólicas **18** e **19**.

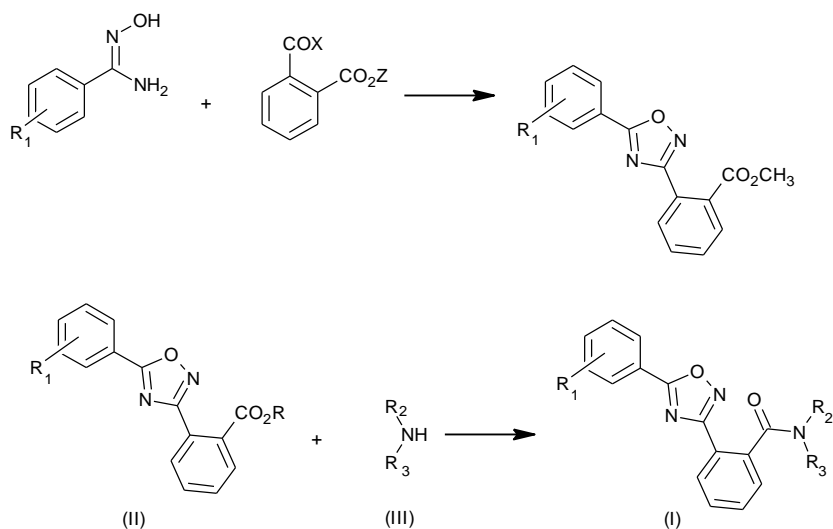
Esquema 16 – Tentativas de reações de ftalimida com benzamidoxima



Fonte: A autora (2020)

A síntese de oxadiazolil benzamidas tem relato na literatura (NADELSON, 1975), com uma rota sintética proposta como mostra o Esquema 15. Esta rota exige maior esforço sintético, pois precisamos ter um cloreto ácido, orto-substituído por um grupo éster; o primeiro reagiria com a benzoamidoxima, e o grupo éster com as aminas, exigindo-se manobras com os grupos funcionais.

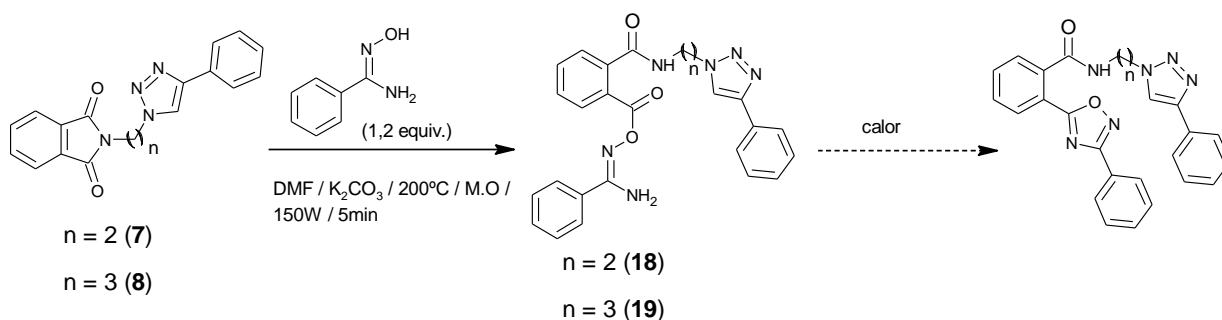
Esquema 17 – Rota sintética conhecida para oxadiazolil benzamidas



Fonte: Nadelson (1975)

No Esquema 18, traz um planejamento sintético é mais simples, do que o proposto por Nadelson (1975), cuja intenção é preparar os oxadiazolil benzamidas (Compostos **20** e **21**) a partir da reação entre os triazol-ftalimidas (**7-8**) com a benzoamidoxima formando intermediários **18** e **19**, que após ciclização fornecerão os produtos desejados.

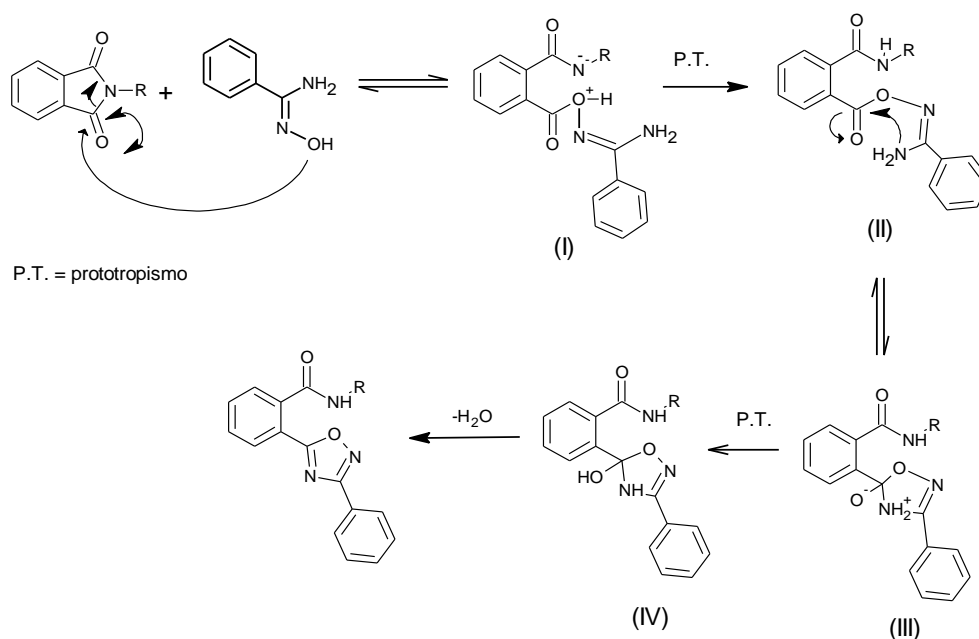
Esquema 18 – Síntese de obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis conjugados a 1,2,3-triazóis



Fonte: A autora (2020)

O mecanismo proposto para a obtenção dos compostos **20** e **21** inicia-se com o ataque nucleofílico a carbonila formando o intermediário I, onde ocorre a abertura do anel da ftalimida. Em seguida há uma transferência de prótons, formando o intermediário II (**18** ou **19**). Posterior reação de ciclização intramolecular leva a formação dos intermediários **III** e **IV**, que após desidratação leva a formação dos compostos oxadiazólicos (Esquema 19).

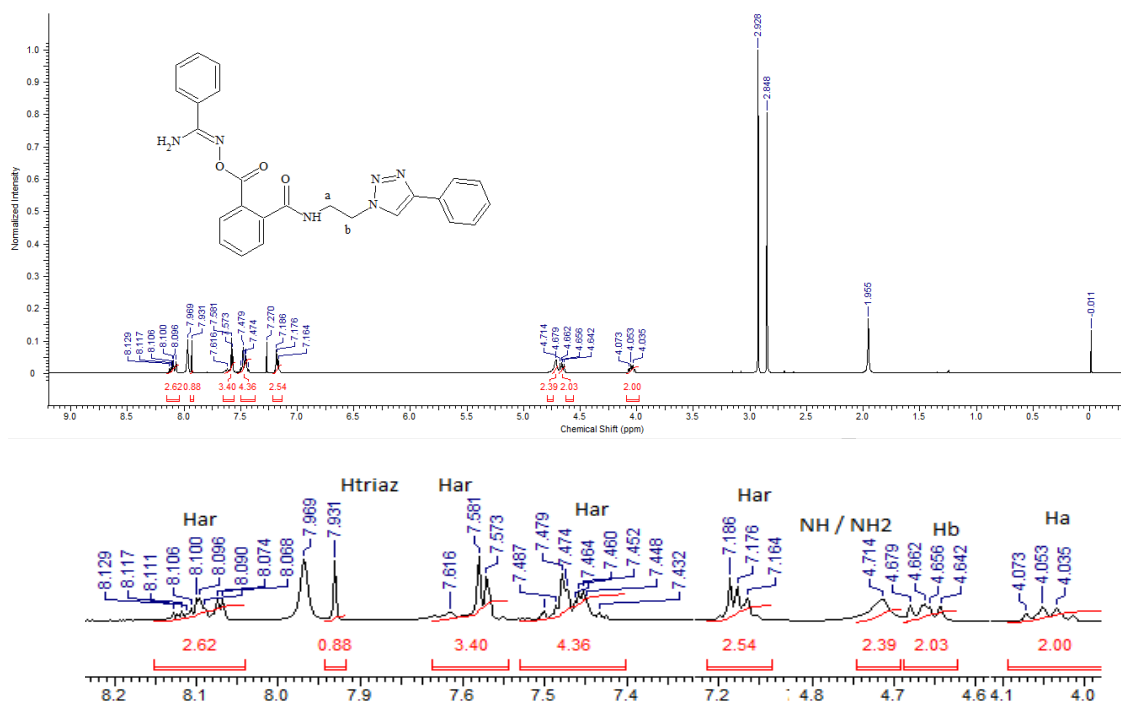
Esquema 19 – Mecanismo geral proposto para a obtenção dos 1,2,4-oxadiazóis a partir da abertura do anel da ftalimida



Fonte: A autora (2020)

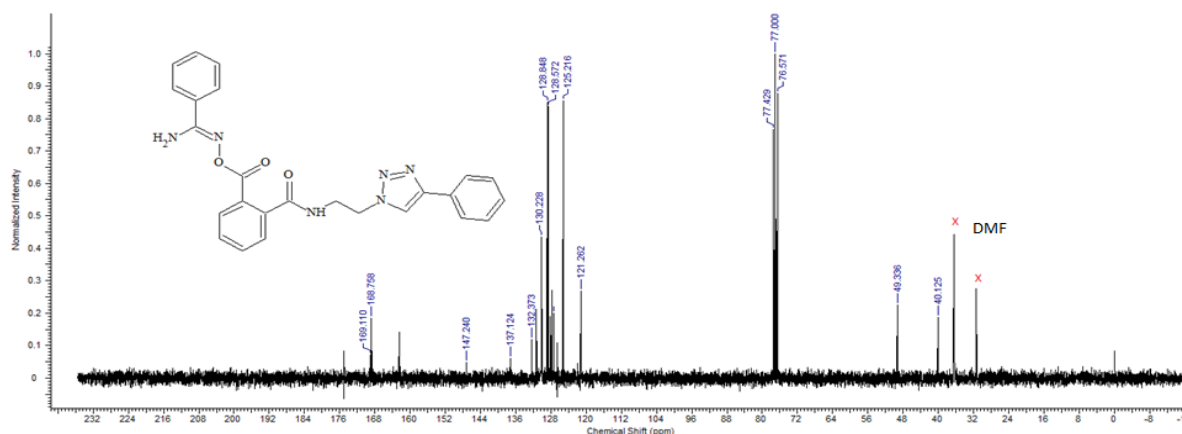
Como será discutido a seguir, foram obtidos os intermediários **18** e **19**. Os compostos obtidos apresentaram os rendimentos de 75% e 58%.

No espectro de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para o composto **18**, **Figura 39**, observou-se na região de 4,04 ppm um tripleto com integração de 2H e constante de acoplamento de $J = 6$ Hz, referente ao CH_2 (H_a) que acopla com o CH_2 (H_b). Na região de 4,65 ppm foi possível observar um quarteto de integração de 2H, com constante de acoplamento de $J = 5,1$ Hz, referente ao CH_2 (H_b) que acopla com o CH_2 (H_a) e o NH_2 . Em 4,71 ppm foi possível observar um simpleto largo com integração de 3H referentes ao NH_2 e NH . Na região que compreende a faixa dos aromáticos entre 6,5 a 8,0 ppm foi possível observar em 7,18, 7,46, 7,58 e 8,10 ppm multipletos referentes aos hidrogênios dos anéis benzênicos com um total de 14 hidrogênios. Em 7,93 ppm foi possível observar um simpleto de integração de 1H referente ao CH do anel triazólico. Observa-se resíduo de DMF no espectro (δ , ppm = 2,85; 2,92; 7,97).

Figura 39 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansões do Composto **18**

Fonte: A autora (2020)

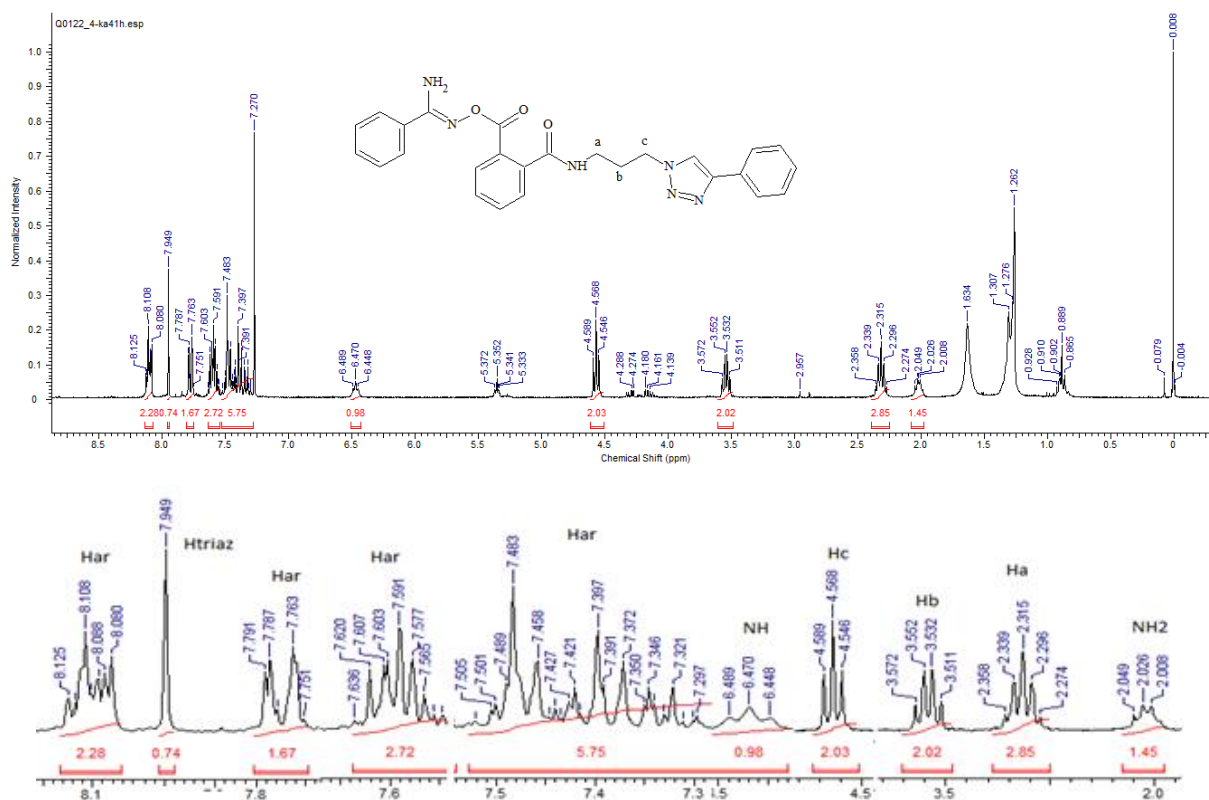
No espectro de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para o composto **18**, **Figura 40**, observou-se em 40,12 e 49,33 ppm encontram-se os picos referentes aos carbonos alquílicos. Os picos 121,26, 125,21, 127,42, 128,57, 128,85, 130,22, 132,39 ppm correspondem aos carbonos do anel aromático. Em 137,12 e 147,24 ppm observam-se os picos referentes aos carbonos do anel triazólico. Os picos referentes as carbonilas foram observados em 168,75 e 169,11 ppm.

Figura 40 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do Composto **18**

Fonte: A autora (2020)

No espectro de ^1H (300 MHz, CDCl_3) do intermediário **19**, **Figura 41**, observa-se na região de 2,03 ppm um simpleto com integração de 2 hidrogênios referente ao NH_2 , o mesmo encontra-se dentro faixa esperada de 0,5 a 4,0 ppm. Na região de 2,32 ppm foi possível observar um quinteto de integração de 2 hidrogênios, com constante de acoplamento de $J = 5,7$ Hz, referente ao CH_2 (H_a) que acopla com os CH_2 (H_b e H_c). Em 3,53 ppm foi possível observar um quarteto com integração de 2 hidrogênios e constante de acoplamento de $J = 6$ Hz, referente ao CH_2 (H_b) que acopla com o NH e o CH_2 (H_a). Na região de 4,57 ppm observou-se um tripleto de integração de 2 hidrogênios e constante de acoplamento de $J = 6,3$ Hz referente ao CH_2 (H_c) que acopla com o CH_2 (H_a). Na região de 6,47 ppm observou-se um tripleto com integração de 1 hidrogênio e constante de acoplamento de $J = 5,7$ Hz referente ao NH que acopla com o CH_2 (H_b), este encontra-se dentro da faixa de deslocamento esperada que varia entre 5,0 a 9,0 ppm. Na região que compreende a faixa dos aromáticos entre 6,5 a 8,0 ppm foi possível observar em 7,40, 7,59, 7,78 e 8,09 ppm multipletos referentes aos hidrogênios dos anéis benzênicos com um total de 14 hidrogênios. Em 7,95 ppm foi possível observar um simpleto de integração de 1H referente ao CH do anel triazólico.

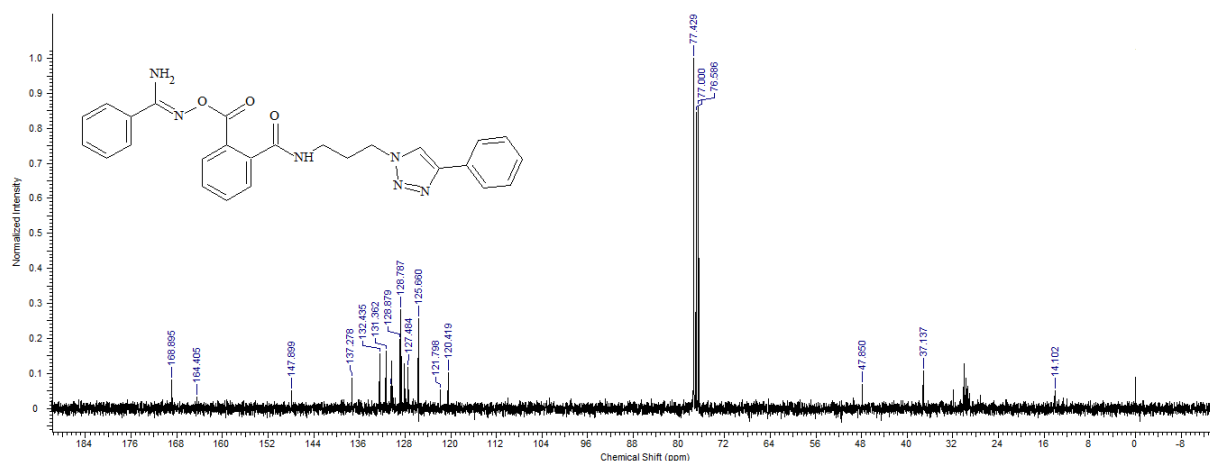
Figura 41 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) e expansões do composto **19**



Fonte: A autora (2020)

O composto **19**, apresentou no espectro de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3), **Figura 42**. Em 14,10, 37,13 e 47,85 ppm encontram-se os picos referentes aos carbonos alquílicos. Os picos 120,42, 121,80, 125,66, 127,48, 128,76, 130,45, 131,36 e 132,43 ppm correspondem aos carbonos do anel aromático. Em 137,27 e 147,90 ppm observam-se os picos referentes aos carbonos do anel triazólico. Os picos referentes às carbonilas foram observados em 164,40 e 168,89 ppm.

Figura 42 – Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) do composto **19**



Fonte: A autora (2020)

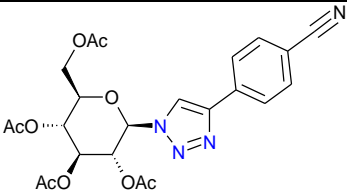
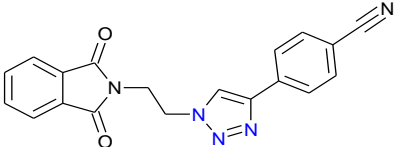
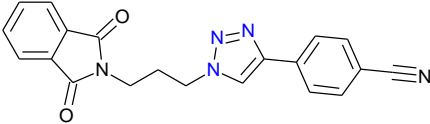
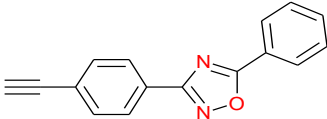
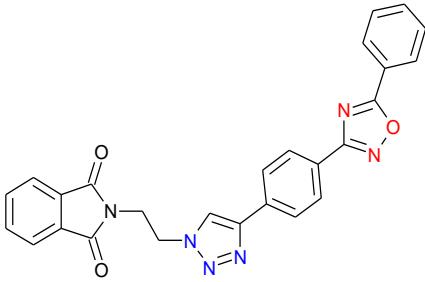
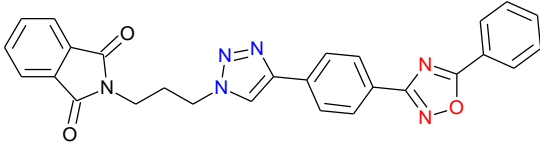
Com base nos resultados espectroscópicos para hidrogênio (RMN ^1H) e carbono (RMN ^{13}C) acredita-se que os compostos formados são os não-ciclizados **18** e **19**. Pois no espectro de hidrogênio observa-se as integrações referentes aos grupos NH e NH_2 e no espectro de carbono observou-se à ausência dos picos 170 e 175 ppm no espectro de carbono que ocorre na formação do anel oxadiazólico.

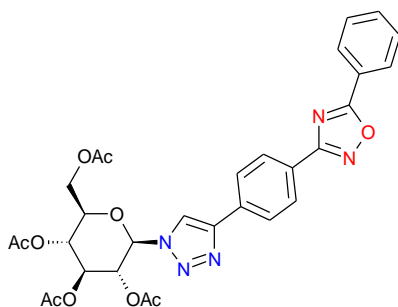
5.9 ATIVIDADE BIOLÓGICA

5.9.1 Teste de Citotoxicidade

Os resultados obtidos da CC₅₀ podem ser observados na **Tabela 3**.

Tabela 3 – Resultados da CC₅₀ (μM) em Macrófago e Vero

COMPOSTO	ESTRUTURA	logP ^(a)	CC ₅₀ ^(b)	Vero (μM)
4		1,34	93,2	>200
5		2,49	347,1	>200
6		2,76	1087,5	>200
12		3,49	485,0	>200
15		4,53	439,5	>200
16		4,80	495,3	>200

17

3,37

41,8

>200

Fonte: A autora (2020)

^(a) logP calculado com Molinspiration property engine v2018.10; ^(b) linhagem J774A.1

De acordo com os resultados acima, o azido-ftalimida **6** contendo um grupo aril-nitrila foi o menos tóxico apresentando CC₅₀ de 1087,54 µM; o composto **5**, também uma aril-nitrila com menos um grupo CH₂, apresentou CC₅₀ de 347,2 µM. Estudos realizados por Junior *et al* (2019) afirmam que a baixa citotoxicidade desses compostos pode estar relacionada com a presença do grupo ftalimida.

Substituindo o grupo nitrila pelo grupo oxadiazol (compostos **15** e **16**) a CC₅₀ em macrófagos manteve-se entre 400 e 500 µM. O composto **12** apresentou CC₅₀ de 485,0 µM. Observa-se que estes compostos apresentam CC₅₀ próximas, isto pode estar ligado ao fato da presença do anel 1,2,4-oxadiazol em sua estrutura. Luo *et al* (2016) investigando uma série de 1,3,4-oxadiazóis, isômeros do 1,2,4-oxadiazol, ligados a 1,2,3-triazol observaram que a citotoxicidade destes compostos em macrófagos foram todas superiores a 100 µM, o que corrobora com os resultados obtidos.

Os compostos **4** e **17** foram os mais tóxicos apresentando CC₅₀ de 93,26 e 41,80 µM, respectivamente. Esses compostos contêm em sua estrutura um carboidrato, podendo isto estar relacionado a sua biodisponibilidade. Aparentemente a propriedade logP não interferiu nos resultados.

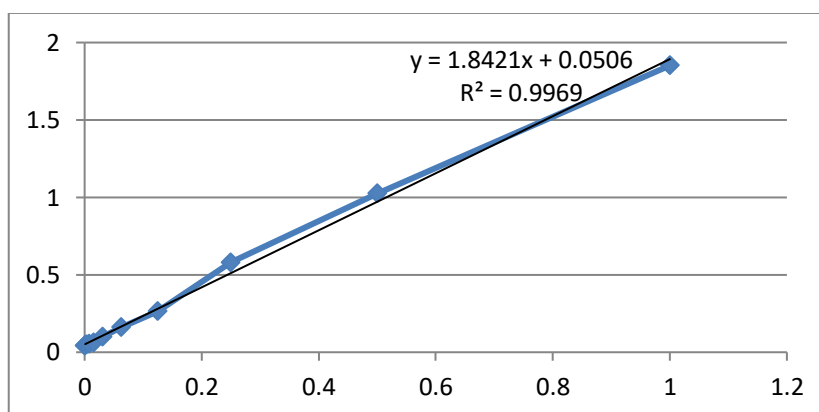
O teste de citotoxicidade realizado em células em Vero mostrou que todos os compostos apresentaram valores de CC₅₀ superiores a 200 µM, isto indica que para as células epiteliais renais todos os grupos testados, ftalimida, 1,2,4-oxadiazol e 1,2,3-triazol, não apresentaram citotoxicidade nos modelos testados. A Anfotericina B, fármaco utilizado no tratamento do leishmaniose, apresenta CC₅₀ de 37,6 e 105,7 µM, em macrófago e Vero, respectivamente. (Aliança *et al*, 2017). Estes resultados mostram que todos os compostos apresentaram CC₅₀ maior do que o fármaco de referência em ambas as células testadas.

5.9.2 Dosagem de Óxido Nítrico

A dosagem de óxido nítrico é um teste utilizado para avaliar um dos mecanismos de ação dos compostos testados. As células fagocíticas produzem óxido nítrico como uma forma de combater ao parasita da leishmania. (GHOSH, ROY & ROY, 2013).

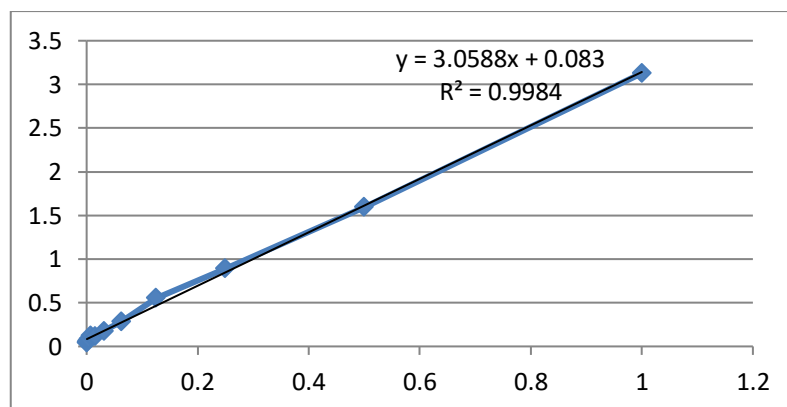
Os compostos testados (**4-6 e 12, 15-17**) não induziram a produção de óxido nítrico no macrófago, conforme resultados apresentados nos **Gráficos 1 e 2 e Tabela 4**. Com isso, constatou-se que a atividade leishmanicida dos compostos, caso exista, não deverá ocorrer pelo aumento na produção de óxido nítrico. A ausência de alterações na produção de NO em macrófagos tratados com os compostos pode ser devido aos grupos ftalimida, os quais foram relatados em inibir a produção do NO. (BACH *et al* 2017).

Gráfico 1 – Equação da reta para os Compostos 4 e 13



Fonte: A autora (2020)

Gráfico 2 – Equação da reta para os Compostos 5-6 e 12, 15-17



Fonte: A autora (2020)

Tabela 4 – Valores das Absorbâncias de Produção de Óxido Nítrico em Macrófagos

	Concentrações (µM)					
	Controle	200	100	50	25	12,5
Composto 4	0,074	0,062	0,054	0,065	0,067	0,069
	0,074	0,055	0,049	0,055	0,054	0,063
	0,078	0,078	0,051	0,058	0,055	0,055
	0,074	0,056	0,052	0,055	0,055	0,054
	0,069	0,053	0,053	0,054	0,053	0,053
	0,070	0,051	0,058	0,054	0,055	0,052
	0,071	0,055	0,056	0,057	0,057	0,057
	0,088	0,066	0,069	0,062	0,074	0,073
Composto 5	0,075	0,058	0,062	0,067	0,069	0,071
	0,062	0,054	0,055	0,056	0,055	0,054
	0,065	0,058	0,05	0,053	0,056	0,068
	0,064	0,053	0,05	0,052	0,053	0,055
	0,063	0,053	0,054	0,057	0,049	0,056
	0,058	-	0,057	0,057	0,057	0,054
	0,058	-	0,057	0,059	0,059	0,057
	0,088	-	0,063	0,063	0,063	0,067
Composto 6	0,067	0,055	0,06	0,064	0,066	0,091
	0,054	0,054	0,054	0,056	0,063	0,084
	0,056	0,057	0,055	0,054	0,055	0,085
	0,055	0,05	0,054	0,05	0,055	0,081
	0,057	0,053	0,052	0,051	0,053	0,075
	0,055	0,055	0,053	0,051	0,055	0,097
	0,061	0,055	0,053	0,054	0,059	0,076
	0,068	0,061	0,061	0,061	0,071	0,076
Composto 12	0,101	0,068	0,064	0,066	0,074	0,068
	0,076	0,056	0,058	0,062	0,067	0,057
	0,070	0,06	0,055	0,057	0,061	0,065
	0,069	0,065	0,058	0,058	0,053	0,058
	0,067	0,052	0,058	0,067	0,053	0,062
	0,071	-	0,074	0,065	0,066	0,059

	0,071	-	0,075	0,060	0,065	0,061
	0,104	-	0,094	0,070	0,067	0,067
Composto 15	0,076	0,141	0,068	0,063	0,060	0,070
	0,072	0,067	0,065	0,053	0,054	0,064
	0,064	0,061	0,051	0,059	0,053	0,063
	0,058	0,057	0,055	0,056	0,052	0,058
	0,058	0,072	0,06	0,057	0,073	0,055
	0,058	0,053	0,054	0,051	0,051	0,073
	0,072	0,059	0,051	0,053	0,057	0,065
	0,079	0,093	0,069	0,060	0,066	0,074
	0,078	0,064	0,071	0,066	0,109	0,134
Composto 16	0,063	0,058	0,07	0,059	0,060	0,08
	0,059	0,056	0,059	0,059	0,058	0,068
	0,058	0,061	0,057	0,06	0,059	0,074
	0,066	0,052	0,058	0,055	0,057	0,076
	0,083	0,084	0,069	0,059	0,118	0,077
	0,066	0,06	0,062	0,056	0,058	0,156
	0,089	0,062	0,063	0,062	0,068	0,087
	0,074	0,068	0,063	0,062	0,074	0,086
Composto 17	0,057	0,064	0,057	0,09	0,058	0,085
	0,057	0,073	0,058	0,054	0,058	0,089
	0,053	0,061	0,056	0,055	0,057	0,076
	0,053	0,075	0,056	0,055	0,055	0,081
	0,053	0,06	0,053	0,055	0,058	0,085
	0,052	0,069	0,061	0,065	0,060	0,083
	0,073	0,068	0,071	0,069	0,083	0,084

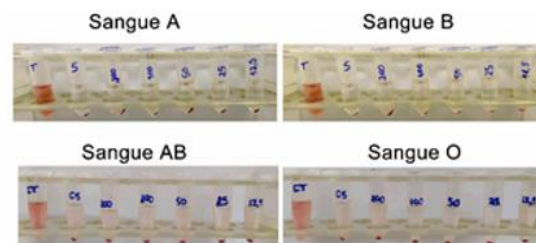
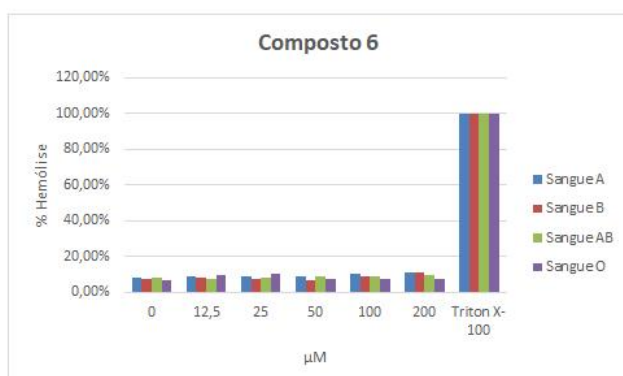
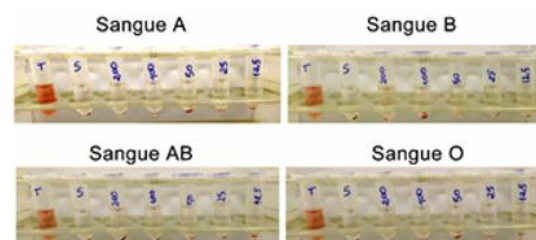
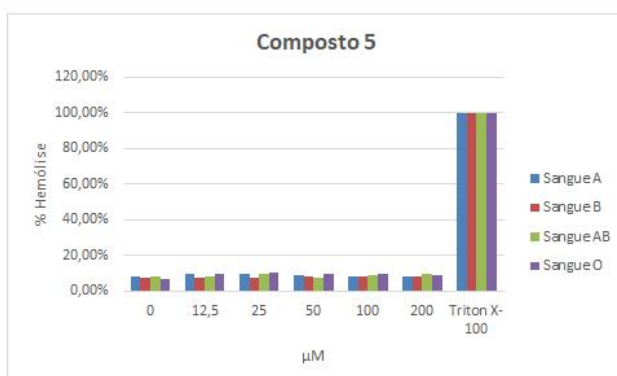
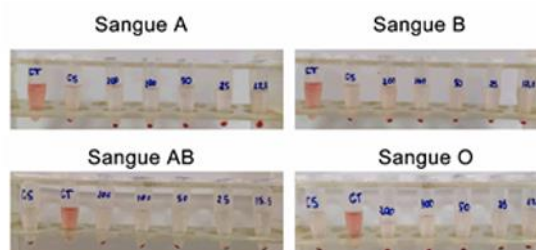
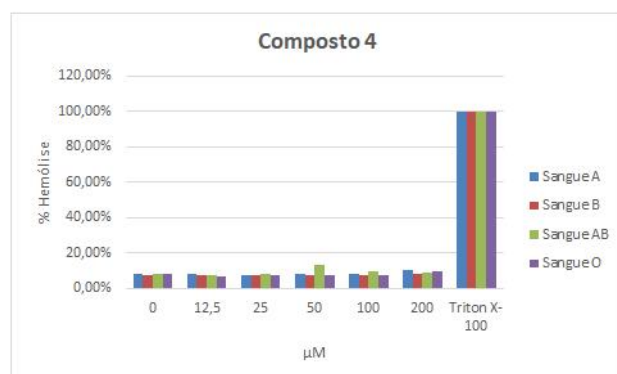
Fonte: A autora (2020)

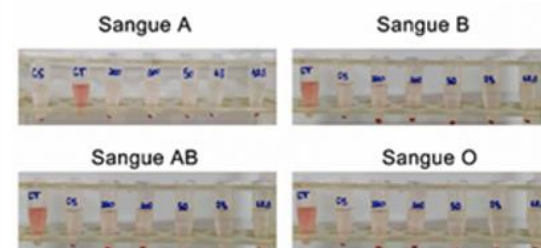
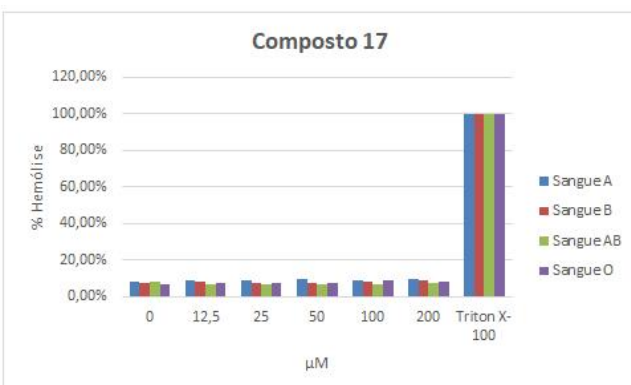
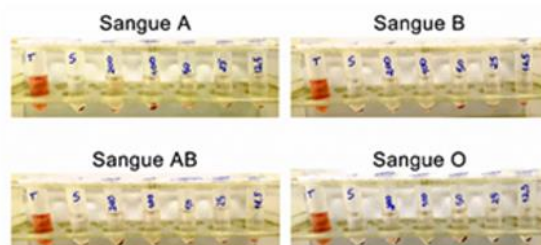
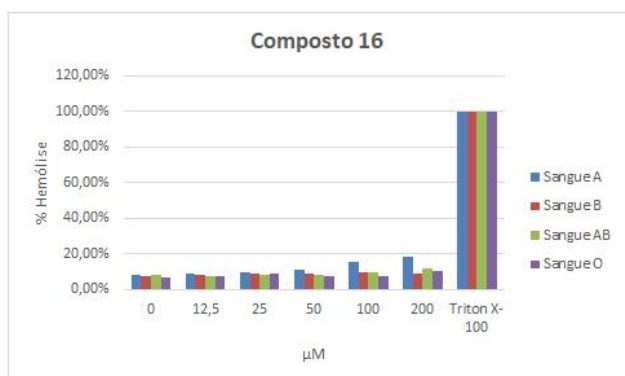
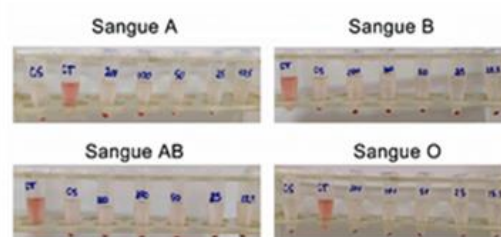
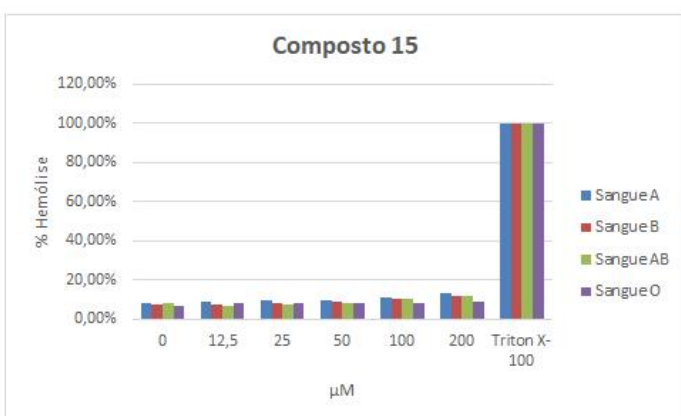
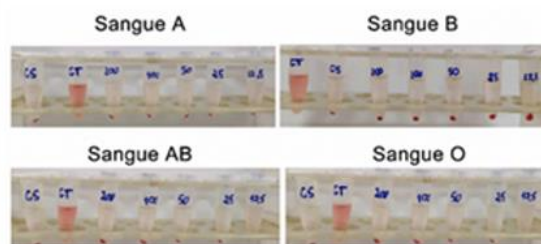
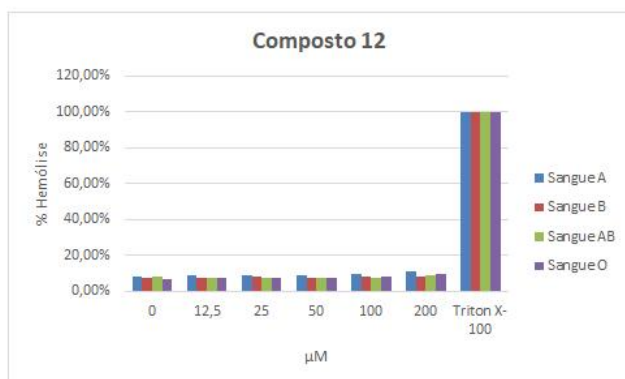
5.9.3 Teste Hemolítico

O teste hemolítico é utilizado em diversos estudos para avaliar o potencial do medicamento em causar danos a membrana plasmática das células. Além disso, seu resultado contribui para a avaliação da citotoxicidade de alguns medicamentos em células de mamífero. (SOUZA *et al*, 2017).

A anfotericina B, composto usado no tratamento da leishmaniasis, induz 50% de hemólise a uma concentração de 50,8 μM (SOUZA *et al*, 2017), os compostos **4-6** e **12, 15-17** apresentaram taxa de hemólise abaixo de 20%, mesmo na maior concentração testada de 200 μM para todos os tipos de sangue analisados, conforme **Figura 43**.

Figura 43 – Resultados do Teste Hemolítico nos Sangues A, B, AB e O





Fonte: A autora (2020)

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Este trabalho teve como principal objetivo sintetizar novos bis-heterocíclicos 1,2,3-triazol e 1,2,4-oxadiazol candidatos a agentes leishmanicidas, utilizando protocolos usuais, realizando modificações para otimização do método sintético.

Os *N*-alquil-triazol-ftalimidas **5-8**, e o triazol-carboidrato **4** foram sintetizados através da reação de *click* onde obteve-se os seguintes rendimentos: 54% (**4**), 53% (**5**), 82% (**6**), 97% (**7**) e 76% (**8**). Os 1,2,4-oxadiazóis 3,5-disubstituído foram sintetizados através de ciclização térmica obtendo os seguintes rendimentos: 84% (**12**) e 67% (**13**). Os bis-heterociclos **14**, **15**, **16** e **17** também foram obtidos a partir do protocolo de *click*, onde obteve-se os rendimentos de 21, 74, 77 e 83%, respectivamente. Os triazóis-ftalimidas (**7-8**) com posterior reação de ciclização térmica com a benzoamidoxima, resultou nos compostos intermediários **18** e **19**, com rendimentos de 75% e 58%, respectivamente. As substâncias (**4-6**) e (**13-17**) são inéditas na literatura.

Os testes biológicos realizados nas substâncias (**4-6**) e (**12**, **15-17**), foram os ensaios de citotoxicidade, dosagem de óxido nítrico e teste hemolítico. O composto menos tóxico da série proposta foi o **6** (1087,54 μ M), seguido dos compostos **16** (495,31 μ M), **12** (485,04 μ M), **15** (439,52 μ M) e **5** (347,17 μ M). Já as substâncias **4** e **17** apresentaram 93,26 e 41,80 μ M, respectivamente, sendo estes considerados os mais tóxicos da série.

Todas as substâncias **4-6** e **12**, **15-17** sintetizadas estão aptas para testes de atividade leishmanicida uma vez que apresentam baixa citotoxicidade, incluindo baixa taxa de hemólise.

6.1 PERSPECTIVAS

Como perspectiva para este trabalho pretende-se dar continuidade dos testes biológicos para verificar a eficácia destes compostos frente ao parasita. Realizando o teste *in vitro* das formas promastigotas e amastigotas do parasita, para então obter o

IC₅₀, concentração da droga capaz de inibir em 50% a proliferação dos parasitas, e poder determinar o IS (índice de seletividade) das moléculas.

Em seguida, investigar o mecanismo de ação através de:

- Análise de ultraestrutura: Microscopia de Varredura (MEV) e Microscopia de Transmissão (MET);

- Função celular:

- a) análise da função mitocondrial dos parasitos, através da marcação com Rhodamina 123 em microscopia de fluorescência e citometria de fluxo;

- b) análise da integridade de membrana plasmática, através da marcação com iodeto de propídio e calceína AM, utilizando a técnica de citometria de fluxo e microscopia de fluorescência;

- c) análise do efeito no material genético (fragmentação do DNA), através da marcação com TUNEL, utilizando a técnica de citometria de fluxo e microscopia de fluorescência.

Após determinar as melhores moléculas realizar o teste *in vivo* para comprovar sua eficácia como possível fármaco.

REFERÊNCIAS

- AHER, N. G.; PORE, V. S.; MISHRA, N. N.; KUMAR, A.; SHUKLA, P. K.; SHARMA, A.; BHAT, M. K.; Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole containing fluconazole analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 2009, vol. 19, 3, 759-763.
- ALIANÇA, A. S. S.; OLIVEIRA, A. R.; FEITOSA, A. P. S.; RIBEIRO, K. R. C.; CASTRO, M. C. A. B.; LEITE, A. C. L.; ALVES, L. C.; BRAYNER, F. A. In vitro evaluation of cytotoxicity and leishmanicidal activity of phthalimido-thiazole derivatives. **Eur. J. Pharm. Sci.** Vol. 105, 1-10, 2017.
- ALI, A. G.; MOHAMED, M. F.; ABDELHAMID, A. O.; MOHAMED, M. S. A novel adamantane thiadiazole derivative induces mitochondriamediatedapoptosis in lung carcinoma cell line. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 2017, vol. 25, 241-253.
- ANGAJALA, K. K.; VIANALA, S.; MACHA, R.; RAGHAVENDER, M.; THUPURANI, M. K.; PATHI, P. J.; Synthesis, anti-inflammatory, bactericidal activity and docking studies os novel 1,2,3-triazoles derived from ibuprofen using click chemistry. **Springerplus**. 2016, vol. 5:423 (DOI: 10.1186/s40064-016-2052-5).
- ASSIS, S. P. O.; SILVA, M. T.; SILVA, F. T.; SANT'ANNA, M. P.; TENÓRIO, C. M. B. A.; SANTOS, C. F. B.; FONSECA, C. S. M.; SEABRA, G.; LIMA, V. L. M.; OLIVEIRA, R. N. Design and Synthesis of Triazole-Phthalimide Hybrids with Antiinflammatory Activity. **Chem. Pharm. Bull.** Vol. 67, nº 2, 96–105, 2019.
- BACH, D.; LIU, J.; KIM, W. K.; HONG, J.; PARK, S. H.; KIM, D.; Q. S.; LUU, T.; PARK, H. J.; XU, Y.; LEE, S. K. Synthesis and biological activity of new phthalimides as potential anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 25, 2017, 3396–3405.
- BARBOSA, F. C. G.; OLIVEIRA, R. N. Synthesis of a New Class of Triazole-Linked Benzoheterocycles via 1,3-Dipolar Cycloaddition. **J. Braz. Chem. Soc.** Vol. 22, nº 3, 592-597, 2011.
- BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Rev. Bras. Epidemiol.** Vol. 7, nº 3, 2004.
- BORGHI, S. M.; FATTORI, V.; CONCHON-COSTA, I.; PINGE-FILHO, P.; PAVANELLI, W. R.; VERRI JR, W. A. Leishmania infection: pain ful or painless? **Parasitol Res.** 2017, vol. 116, 465-475.
- BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 2019, vol. 27, 3511-3531.

BROTSCHI, C.; ROCH, C.; GATFIELD, J.; TREIBER, A.; WILLIAMS, J. T.; SIFFERLEN, T.; HEIDMANN, B.; JENCK, F.; BOLLI, M. H.; BOSS, C. Oxadiazole Derivatives as Dual Orexin Receptor Antagonists: Synthesis, Structure–Activity Relationships, and Sleep-Promoting Properties in Rats. **Chem. Med. Chem.** 2019, 14, 1257-1270.

BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**. 2018, vol. 392, 951-970.

CHINNAPATTU, M.; SATHIYANARAYANAN, K. I.; IYER, P. S. Synthesis and biological evaluation of adamantane-based aminophenols as a novel class of antiparasitic agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 2015, vol. 25, 952-955.

Centers for Disease Control and Prevention, 2017. <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acessado em 15/10/2020.

CHU, X-M.; WANG, C.; WANG, W-L.; LIANG, L-L.; LIU, W.; GONG, K-K.; SUN, K-L. Triazole derivatives and their antiparasitic and antimalarial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 166, 2019, 206-223.

CUNHA, F. S.; AGUIAR, A. P. Síntese e Bioatividade de 1,2,4-Oxadiazóis. **Rev. Virtual Quim.** 2015, vol. 7, 6, 2509-2530.

CUNHA, F. S.; NOGUEIRA, J. M. R.; AGUIAR, A. P. Synthesis and Antibacterial Evaluation of 3,5-Diaryl-1,2,4-oxadiazole Derivatives. **J. Braz. Chem. Soc.** Vol.29, Nº 11, São Paulo, Nov, 2018.

DA SILVA, G. B.; GUIMARÃES, B. M.; ASSIS, S. P. O.; LIMA, V. L. M.; OLIVEIRA, R. N. Ultrasound-Assisted Synthesis of 1-*N*-β-D-Glucopyranosyl-1*H*-1,2,3-triazole Benzoheterocycles and their Anti-Inflammatory Activities. **J. Braz. Chem. Soc.** Vol. 24, p. 914-921, 2013.

DAI, Z. C.; CHEN, Y. F.; ZHANG, M.; LI, S. K.; YANG, T. T.; SHEN, L.; WANG, J. X.; QIAN, S. S.; ZHU, H. L.; YE, Y. H.; Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole phenylhydrazones derivatives. **Organic Biomolecular Chemistry**, 2015, vol. 13, 2, 477-486.

DE, S. S.; KHAMBEDE, M. P.; DEGANI, M. S. Oxadiazole scaffolds in anti-tuberculosis drug discovery. **Bioorg. Med. Chem. Lett.** 2019, vol. 29, 1999-2007.

DHEER, D.; SINGH, V.; SHANKAR, R. Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: Current developments. **Bioorganic Chemistry**, 71, 2017, 30-54.

DINIZ, J. L. C. P.; COSTA, M. O. R.; GONÇALVES, D. U. Mucocutaneous Leishmaniasis: clinical markers in presumptive diagnosis. **Braz. J. Otorhinolaryngol.** Vol. 77, nº 3, São Paulo, May/June, 2011.

DOS ANJOS, J. V.; SINOUE, D.; MELO, S. J.; SRIVASTAVA, R. M. Synthesis of glycosyl-triazole linked 1,2,4-oxadiazoles. **Carbohydrate Research**. 342, 2440-2449, 2007.

FREITAS, L. B. O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P.; SANTOS, L. J. A reação "click" na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, 2011, vol. 34, 1791-1804.

FILHO, J. M. S.; SILVA, D. M. A. Q.; MACEDO, T. S.; TEIXEIRA, H. M. P.; MOREIRA, D. R. M.; CHALLAL, S.; WOLFENDER, J.-L.; QUEIROZ, E. F.; SOARES, M. B. P. Conjugation of N-acylhydrazones and 1,2,4-oxadiazole leads to the identification of active antimalarial agents. **Bioorg. Med. Chem.** 2016, vol. 24, 5693–5701.

FIOCRUZ. As Leishmanioses – Laboratório de Imunomodulação – Depto. de Protozoologia/IOC. 1997. Disponível em: http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/hist_rico.htm. Acessado em: 15/01/2019.

GHOSH, M.; ROY, K.; ROY, S. Immunomodulatory effects of antileishmanial drugs. **J Antimicrob Chemother.** 2013; 68: 2834 –2838.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev. Bras. Epidemiol.** Vol. 7, Nº 3, 2004.

HAVENS, C. G.; BRYANT, N.; ASHER, L.; LAMOREAUX, L.; PERFETTO, S.; BRENDLE, J. J.; WERBOVETZ, K. A. Cellular effects of leishmanial tubulin inhibitors on *L. donovani*. **Molecular and Biochemical Parasitology**. 110, 223-236, 2000.

JUNIOR, J. G. S.; HOLANDA, V. N.; GAMBÔA, D. S. R.; MONTE, T. V. S.; ARAÚJO, H. D. A.; JUNIOR, J. A. A. N.; ARAÚJO, V. F. S.; CALLÔU, M. A. M.; ASSIS, S. P. O.; LIMA, V. L. M. Therapeutic Potential of Phthalimide Derivatives: A Review. **Am J Biomed Sci & Res.** 2019 - 3(4). AJBSR. MS.ID.000699. DOI: 10.34297/AJBSR.2019.03.000699

KEIGHOBADI, M.; EMAMI, S.; FAKHAR, M.; SHOKRI, A.; MIRZAEI, H.; TESHNIZI, S.H. Repurposing azole antifungals into antileishmanials: Novel 3-triazolylflavanones with promising in vitro antileishmanial activity against *Leishmania major*. **Parasitology International**. 69 (2019) 103-109.

KROLENKO, K. Y.; VLASOV, S. V.; ZHURAVEL, I. A. Synthesis and antimicrobial activity of 5-(1H-1,2,3-triazol-4-yl)-1,2,4-oxadiazole derivatives. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**. 2016, 52 (10), 823-830.

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angew. Chem. Int. Ed.** 2001, vol. 40, 2004-2021.

KOLB, H. C.; SHARPLESS, K. B. The growing impact of click chemistry on drug discovery. **Research Focus**. 2003, vol. 8, nº 24, 1128-1137.

LI, E.; WANG, M.; WANG, Z.; YU, W.; CHANG, J. NBS-mediated practical cyclization of N-acyl amidines to 1,2,4-oxadiazoles via oxidative N–O bond formation. **Tetrahedron**. 2018, 74, 4613-4618.

LYKAKIS, I. N.; EFE, C.; GRYPARIS, C.; Stratakis, M. $\text{PH}_3\text{PauNTf}_2$ as a superior catalyst for the selective synthesis of 2H-Chromenes: Application to the concise synthesis of benzopyran natural products. **European Journal of Organic Chemistry**, 2011, 2334-2338.

LUO, Y.; LIU, Z.; CHEN, G.; SHI, J.; LI, J.; ZHU, H. 1,3,4-Oxadiazole derivatives as potential antitumor agents: discovery, optimization and biological activity valuation. **Med. Chem. Commun.** 2016, 7, 263-271.

MANDAL, D. K. Pericyclic Reactions: Introduction, Classification and the Woodward–Hoffmann Rules. **Pericyclic Chemistry**. 63-106, 2018.

MELO, V. N.; DANTAS, W. M.; CAMARA, C. A.; OLIVEIRA, R. N. Synthesis of 2,3-Unsaturated Alkynyl O-Glucosides from Tri-Oacetyl-D-glucal by Using Montmorillonite K-10/Iron(III) Chloride Hexahydrate with Subsequent Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloaddition. **Synthesis**, 2015, vol. 47, 3529-3541.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Secretaria de Vigilância em Saúde. – 2. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

MOHAMMADI-KHANAPOSHTANIA, M.; AHANGARB, N.; SOBHANIC, S.; MASIHID, P. H.; SHAKIBAD, A.; SAEEDIE, M.; AKBARZADEH, T. Design, synthesis, *in vivo*, and *in silico* evaluation of new coumarin-1,2,4-oxadiazole hybrids as anticonvulsant agents. **Bioorganic Chemistry**. 89, 2019, 102989.

MOTTA, A. P.; VALVERDE-SOARES, S. S.; RAMALHO, R. C.; SOARES, T. V.; CARVALHO, E. M. Panorama Científico da Busca para o Tratamento da Leishmaniose. *Revista Fitos*. Vol. 5, nº 02, 21-34, 2010.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**. v. 65, p. 55-63, 1983.

MUTHUKRISHNAN, M.; MUJAHID, M.; YOGESWARI, P.; SRIRAM, D.; Synthesis and biological evaluation of new triazole-spirochromone conjugates as inhibitors of Mycobacterium tuberculosis. **Tetrahedron Letters**. 2011, 52, 2387-2389.

NADELSON, J. Sandoz, Inc., E. Hanover, N.J. **Oxadiazolyl benzamides**. US n. 4016170, 18 nov. 1975, 5 abr. 1977.

NARO, Y.; ANKENBRUCK, N.; THOMAS, M.; TIVON, Y.; CONNELLY, C. M.; GARDNER, L.; DEITERS, A. Small Molecule Inhibition of MicroRNA miR-21 Rescues Chemosensitivity of Renal-Cell Carcinoma to Topotecan. **J. Med. Chem.** vol. 61, 5900-5909, 2018.

OLIVEIRA, V. N. M.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, V. P. G.; ARAÚJO, H. M.; PESSOA, C. O.; NICOLETE, R.; OLIVEIRA, R. N. Focused microwave irradiation-assisted synthesis of *N*-cyclohexyl-1,2,4-oxadiazole derivatives with antitumor activity. **Synthetic Communication**. v. 48, p. 1-11, 2018.

OPAS/OMS, Organização Pan-Americana da Saúde. **Leishmanioses**. Informe de Leishmanioses, nº 6 – Fev/2018.

PACE, D. Leishmaniasis. **Journal of Infection**. Vol.69, S-10-S-18, 2014.

PAVIA, D.L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J.R., Introdução à Espectroscopia, **Cengage Learning**, 2010.

POKHODYLO, N.; SHYYKA, O.; MATLYCHUCK, V.; Synthesis of 1,2,3-triazole derivatives and evaluation of their anticancer activity. **Scientia Pharmaceutica**. 2013, 81, 663-676.

RAO, S. P.; KURUMURTHY, C.; VEERASWAMY, B.; KUMAR, S. G.; POORNACHANDRA, Y.; KUMAR, G. C.; VASAMSETTI, S. B.; KOTAMRAJU, S.; NARSAIAH, B.; Synthesis of novel 1,2,3-triazole substituted-*N*-alkyl/aryl nitron derivatives, their anti-inflammatory and anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 2014, vol. 80, 184-191.

ROCHA, T. M. D. D.; SILVEIRA, M. B.; QUIXABEIRA, V. B. L. Leishmaniose Tegumentar Americana em Humanos: Uma Revisão dos Aspectos Envolvidos na Doença. **Saúde & Ciência em Ação**, vol. 5, nº 1, 1-13, 2019.

ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B.; Cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. **Angewandte Chemie**. 2002, 41, 2596-2599.

SAHYOUN, T.; ARRAULT, A.; SCHNEIDER, R. Amidoximes and Oximes: Synthesis, Structure, and Their Key Role as NO Donors. **Molecules**. 24, 2470, 2019.

SANTOS, C. S.; OLIVEIRA, R. J.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS, J. C. R. 1,2,3-Triazoles: general and key synthetic strategies. **Arkivoc**. 1, 219-271, 2020.

SOUZA, L. I. O.; BEZERRA-SILVA, P. C.; NAVARRO, D. M. A. F.; SILVA, A. G.; CORREIA, M. T. S.; SILVA, M. V.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. The chemical composition and trypanocidal activity of volatile oils from Brazilian Caatinga plants. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 96, 2017, 1055-1064.

THAKUR, K.; KHARE, N. K. Synthesis of glycoconjugate mimics by ‘click chemistry’. **Carbohydrate Research**. 2019, vol. 484, 10775.

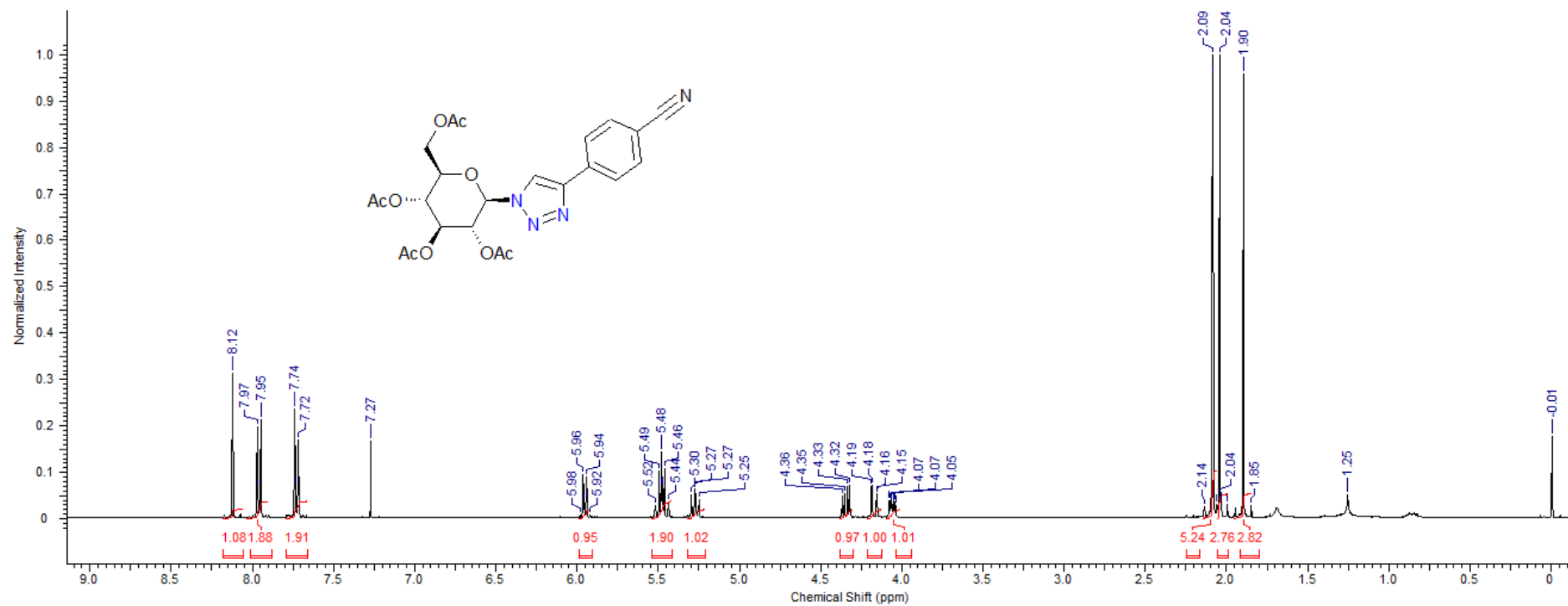
UPARE, A. A.; GADEKAR, P. K.; SIVARAMAKRISHNAN, H.; NAIK, N.; KHEDKAR, V. M.; SARKAR, D.; CHOUDHARI, A.; ROOPAN, S. M. Design, Synthesis and Biological Evaluation of (E)-3-Styryl-1,2,4-oxadiazoles as Anti-tubercular Agents. **Bioorg Chem**. 2019, 86, 507-512.

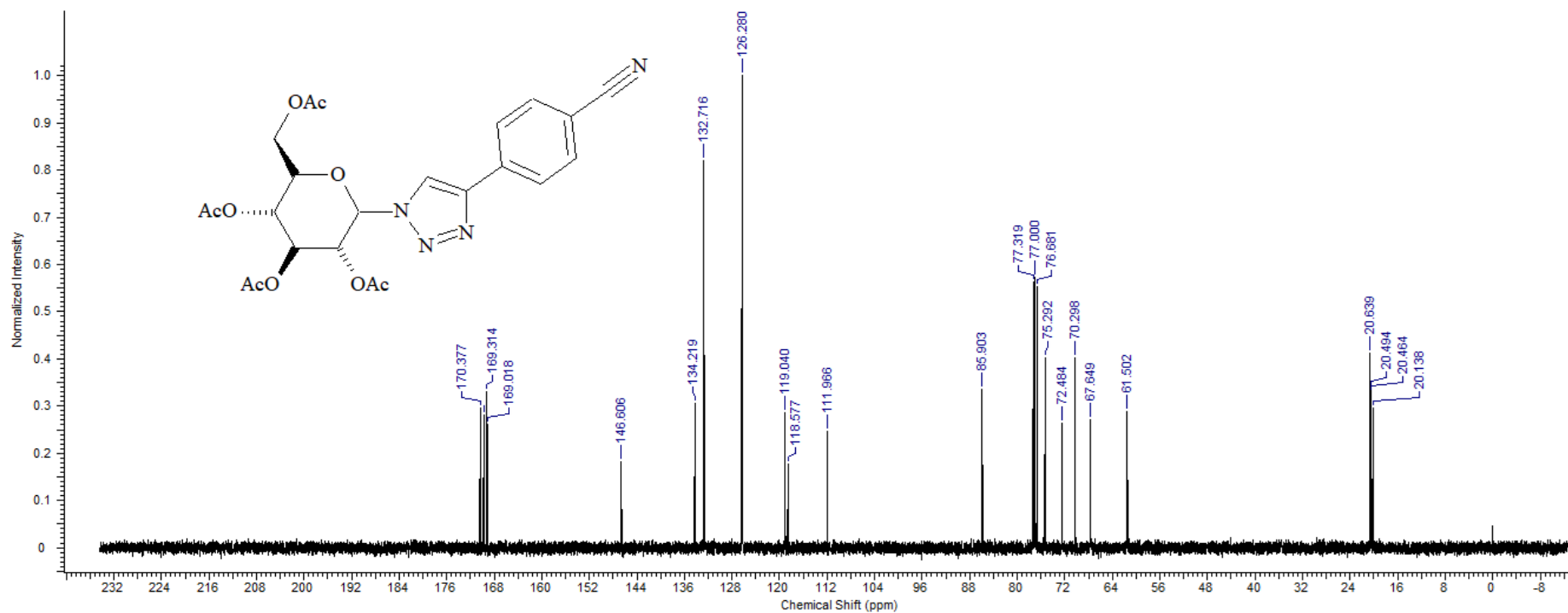
VRIES, H. J. C.; REEDIJK, S. H.; SCHALLIG, H. D. F. H. Cutaneous Leishmaniasis: Recent Developments in Diagnosis and Management. **Am J Clin Dermatol**.2015; 16(2): 99-109.

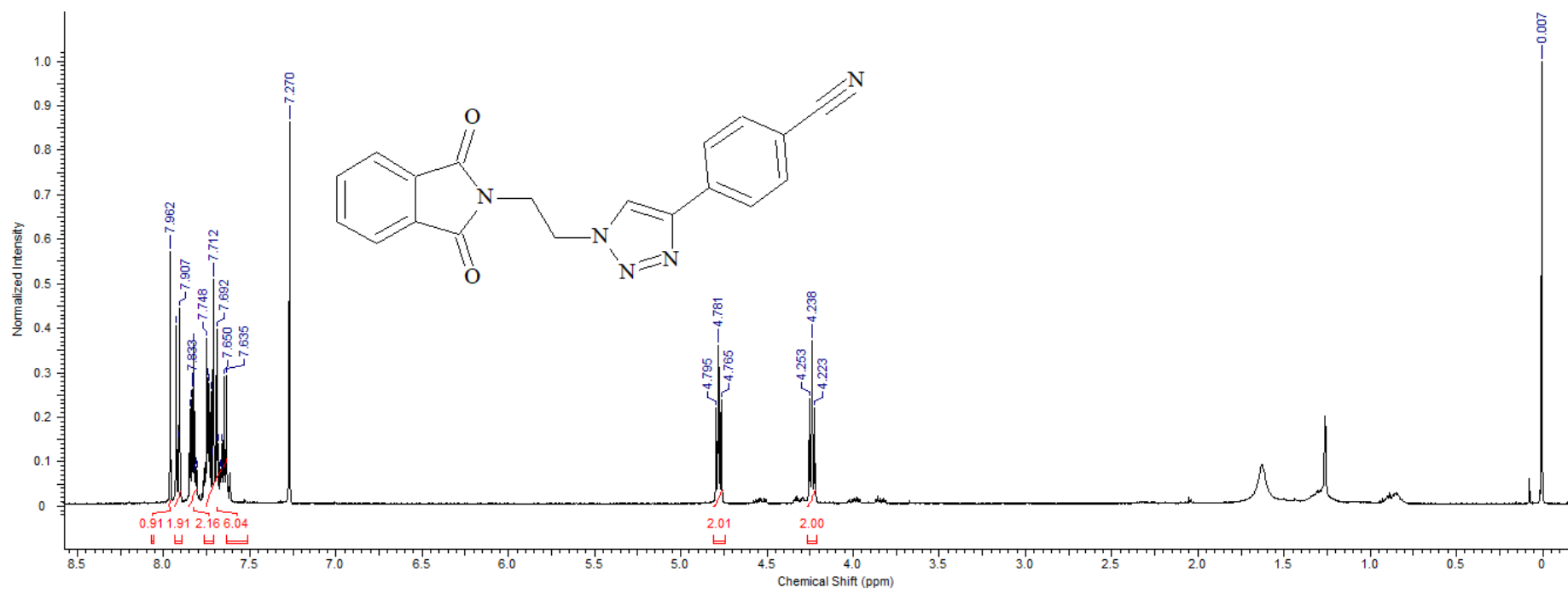
WORREL, B. T.; MALIK, J. A.; FOKIN, V. V. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)- Catalyzed Azide–Alkyne Cycloadditions. **Science**. 2013, 457-460.

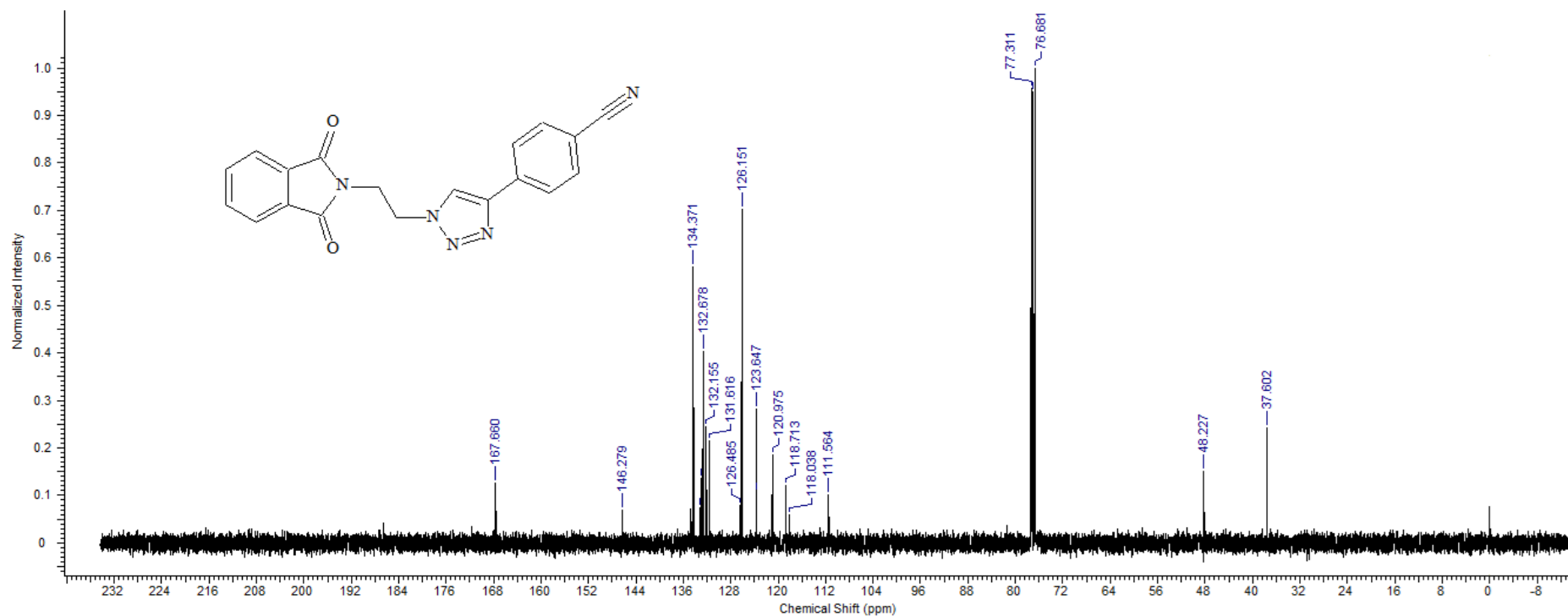
ZHANG, H-Z.; ZHAO, Z-L.; ZHOU, C-H. Recent advance in oxazole-based medicinal chemistry. **Eur J Med Chem**. 2018, 144, 444-492.

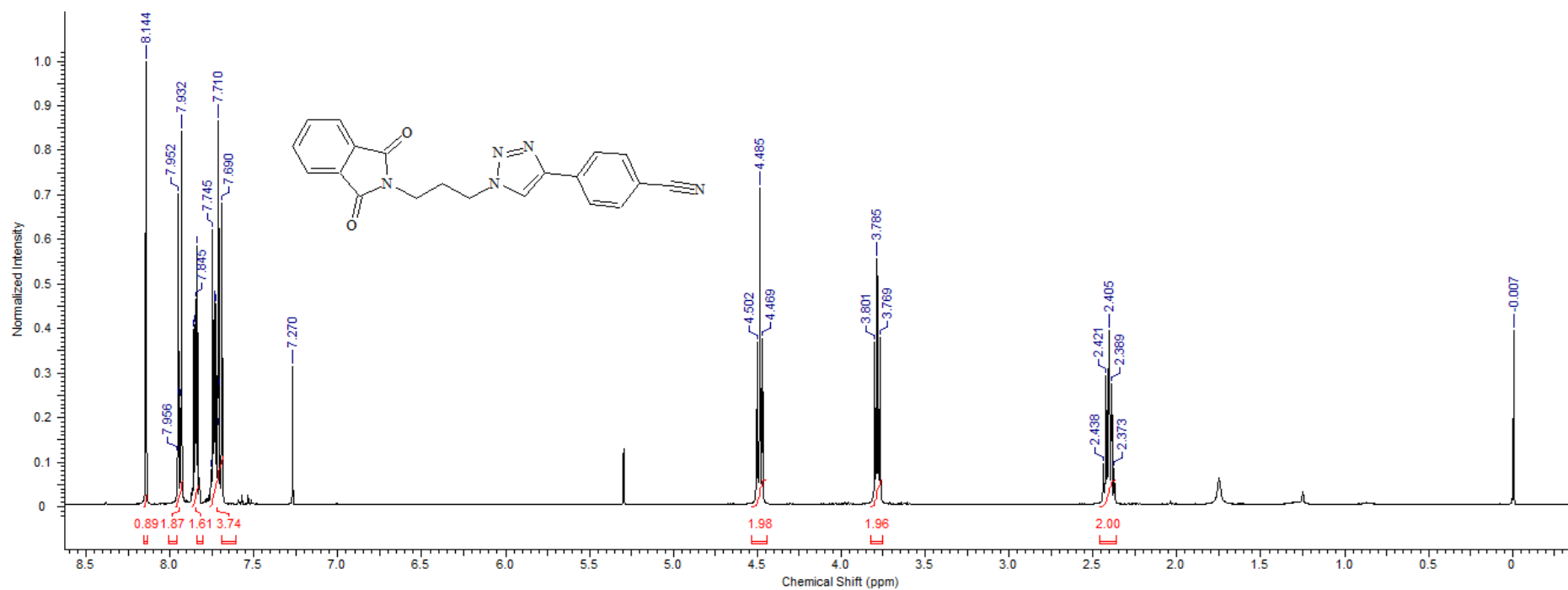
ZHOU, L.; AMER, A.; KORN, M.; BURDA, R.; BALZARINI, J.; DE CLERCQ, E.; KERN, E. R.; TORRENCE, P. F.; Synthesis and antiviral activities of 1,2,3-triazole functionalized thymidines: 1,3-dipolar cycloaddition for efficient regioselective diversity generation. **Antiviral Chemistry & Chemotherapy**, 2005, 16, 375-383.

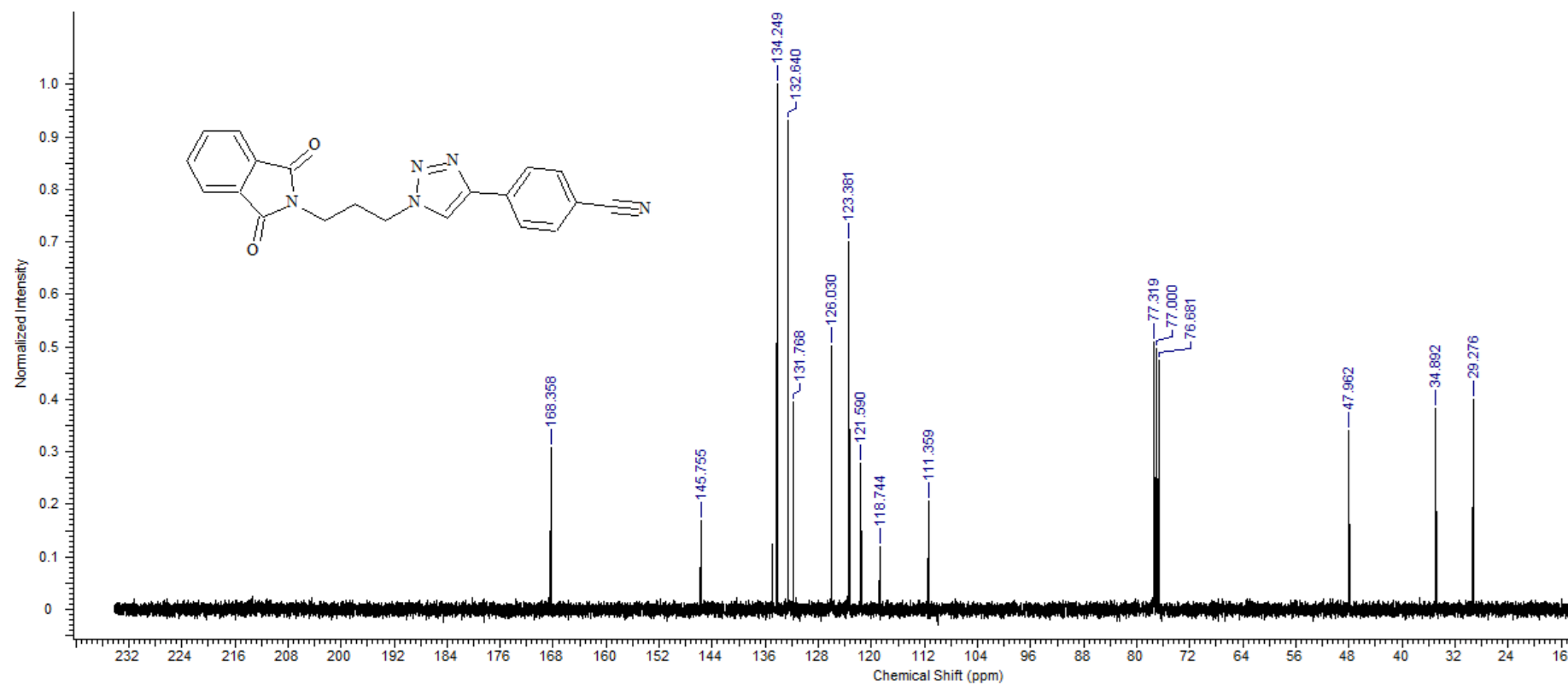
APÊNDICE A – ESPECTRO DE RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 4

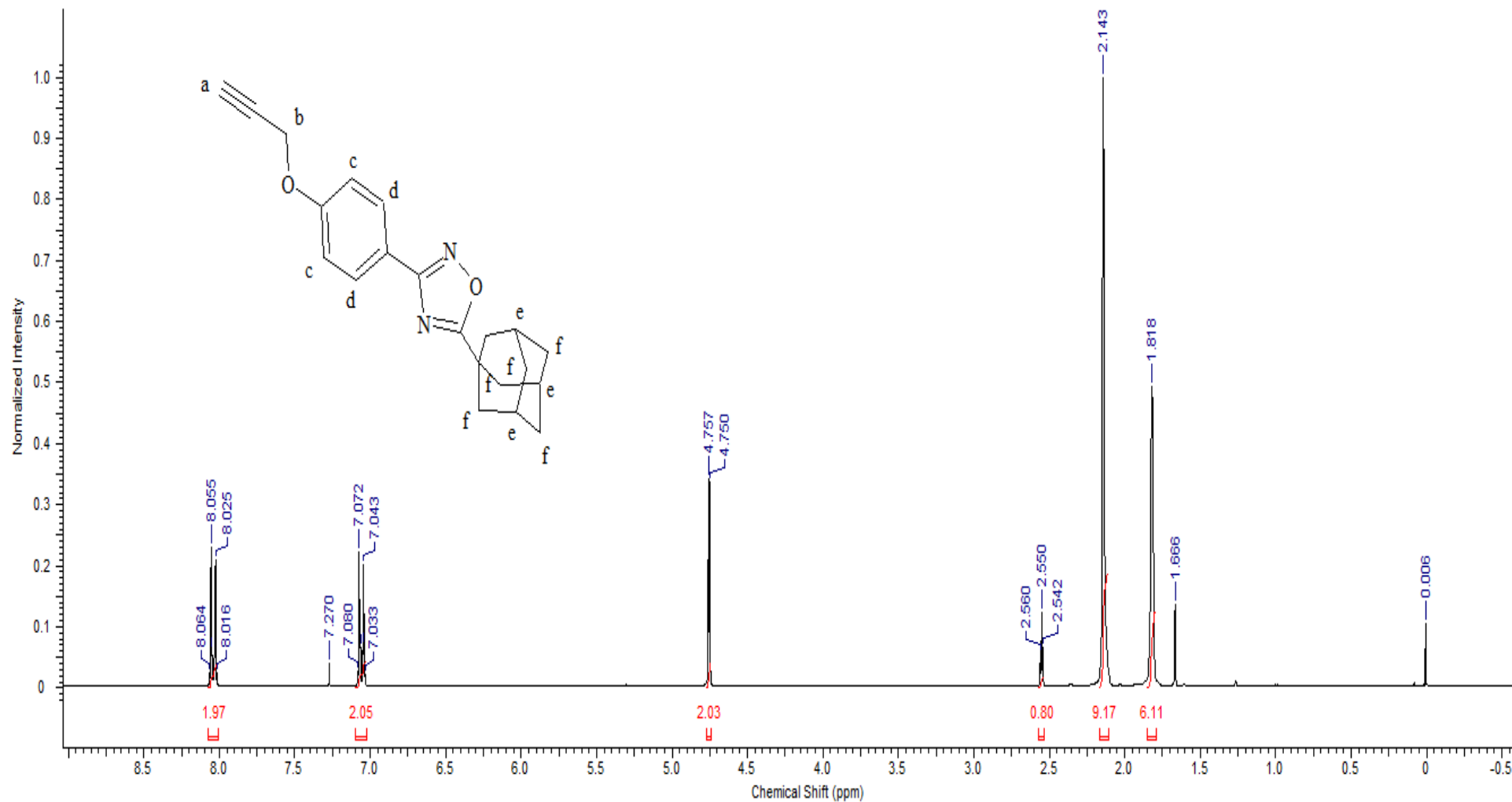
APÊNDICE B – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 4

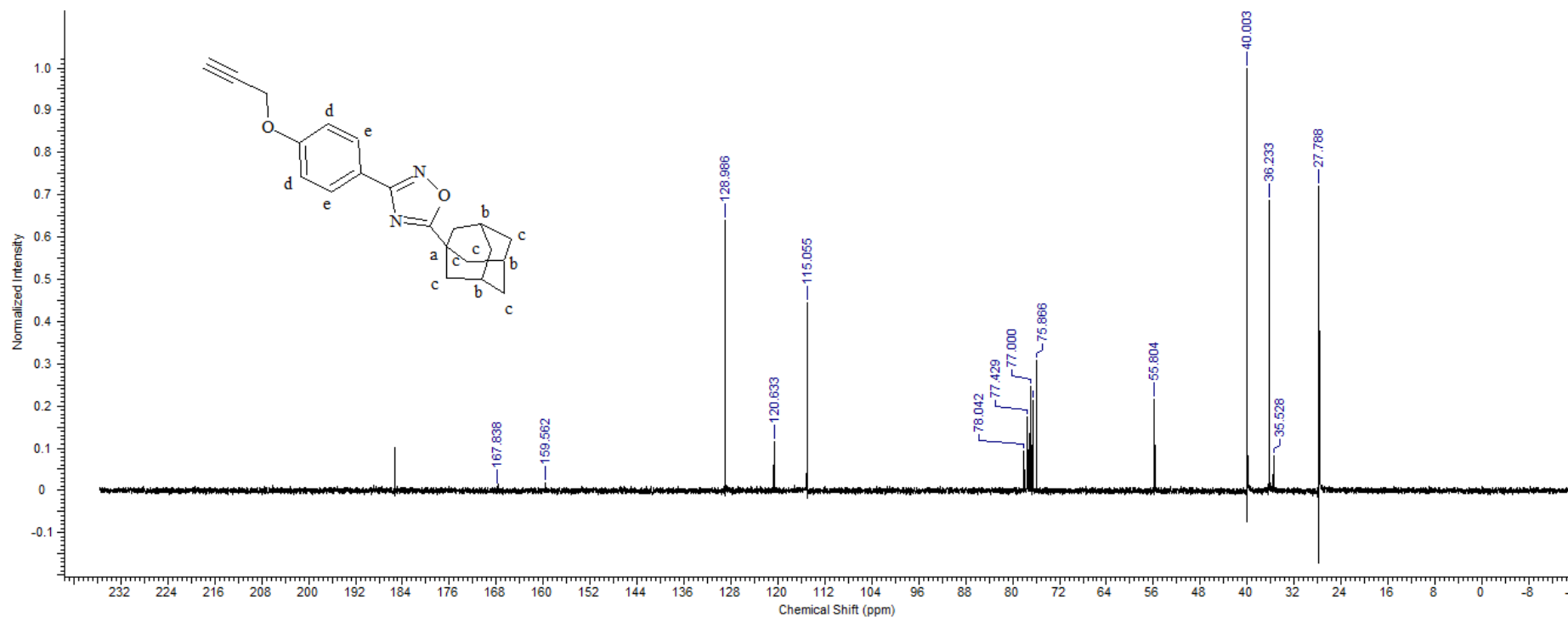
APÊNDICE C – ESPECTRO DE RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 5

APÊNDICE D – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 5

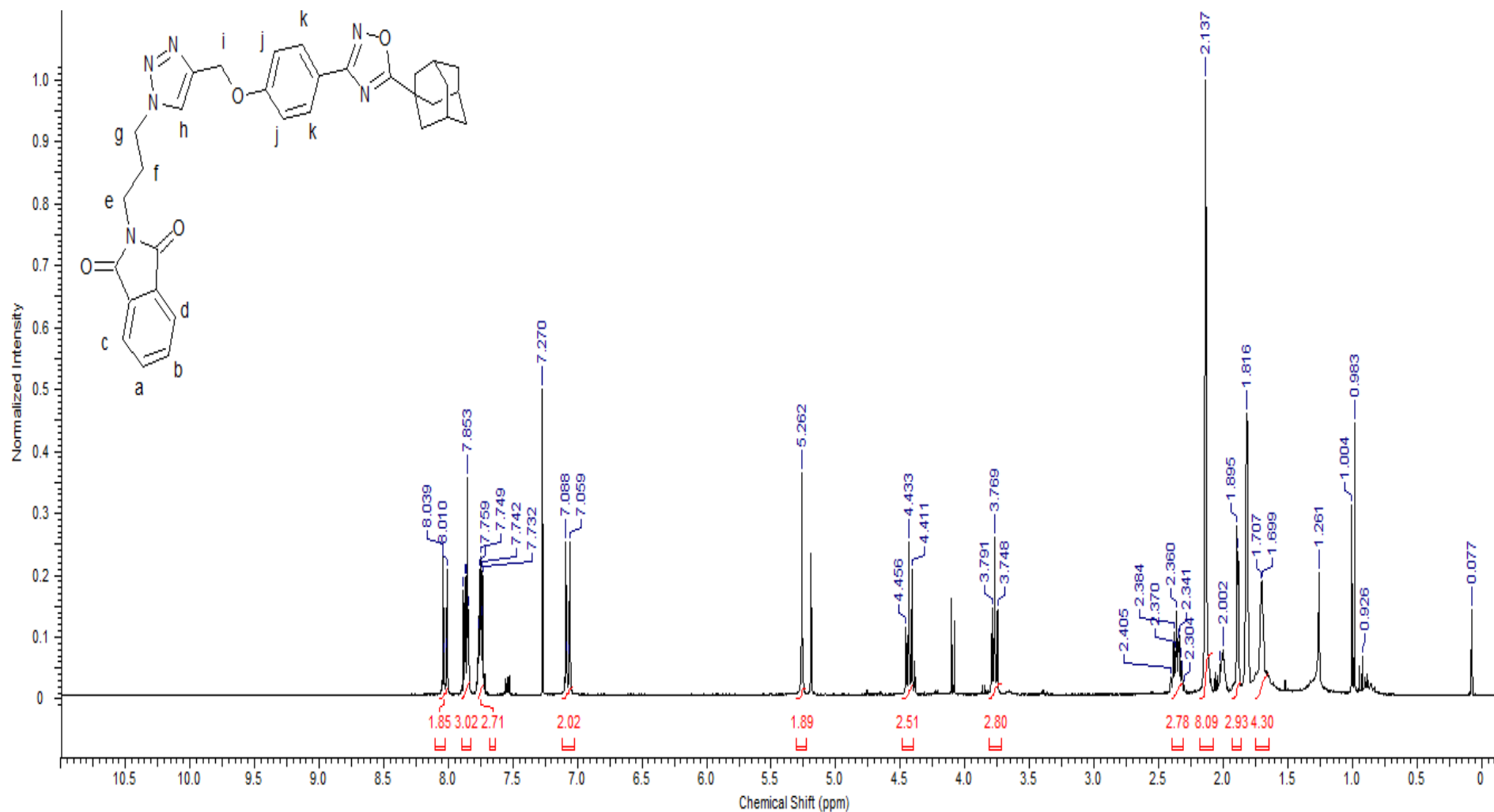
APÊNDICE E – ESPECTRO DE RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 6

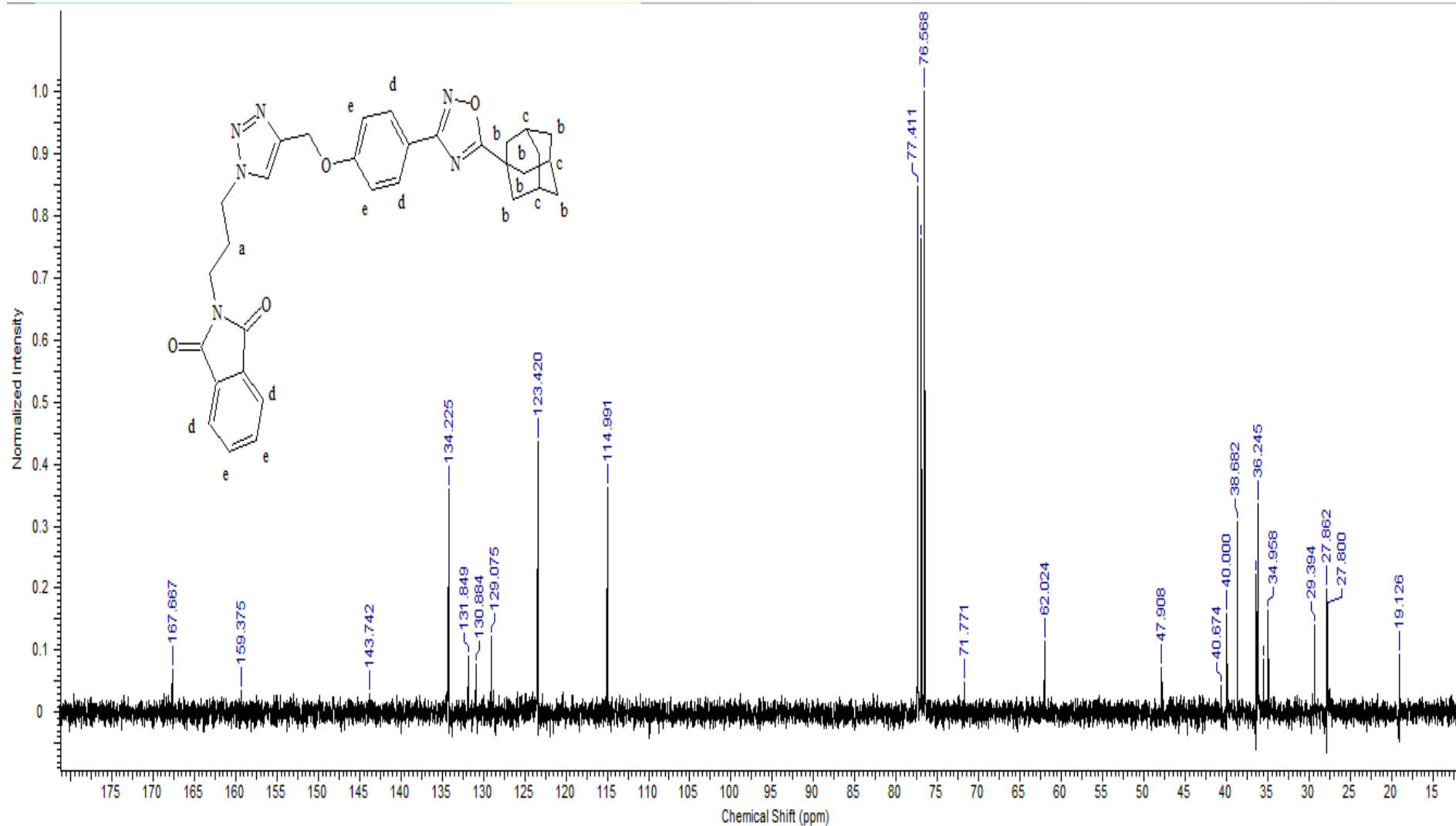
APÊNDICE F – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 6

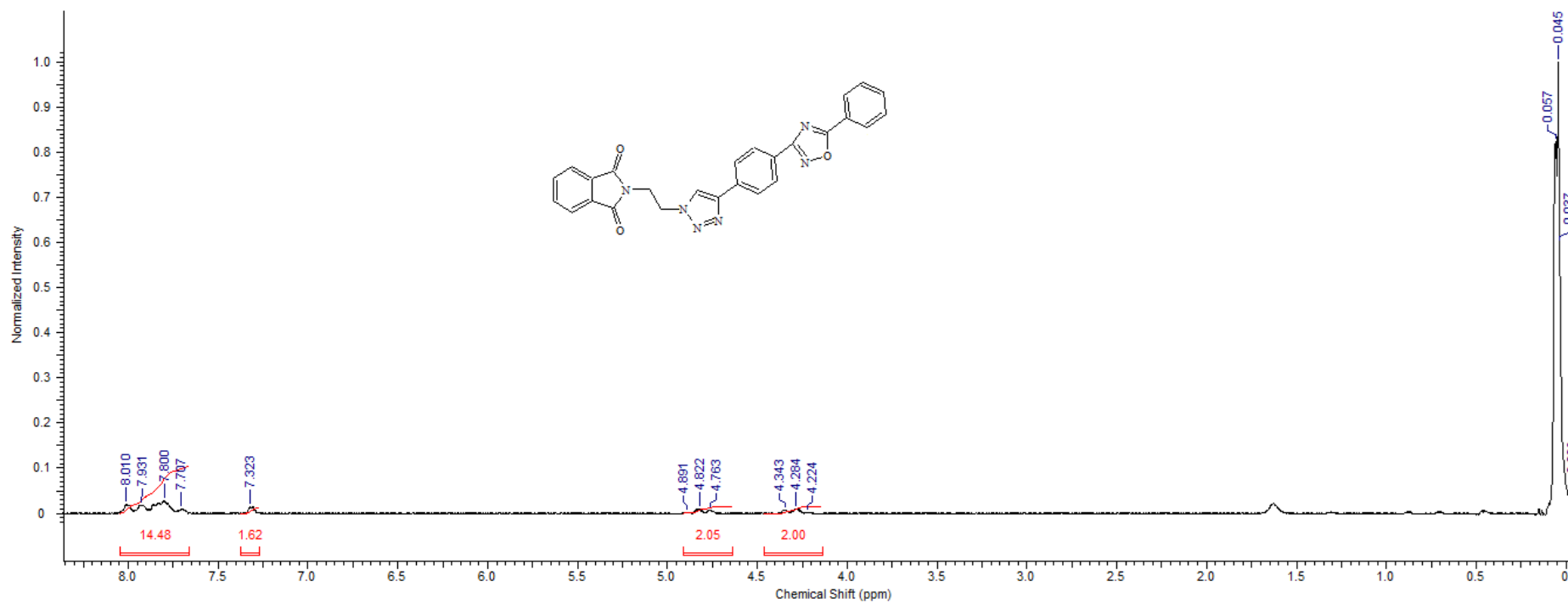
APÊNDICE G – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 13

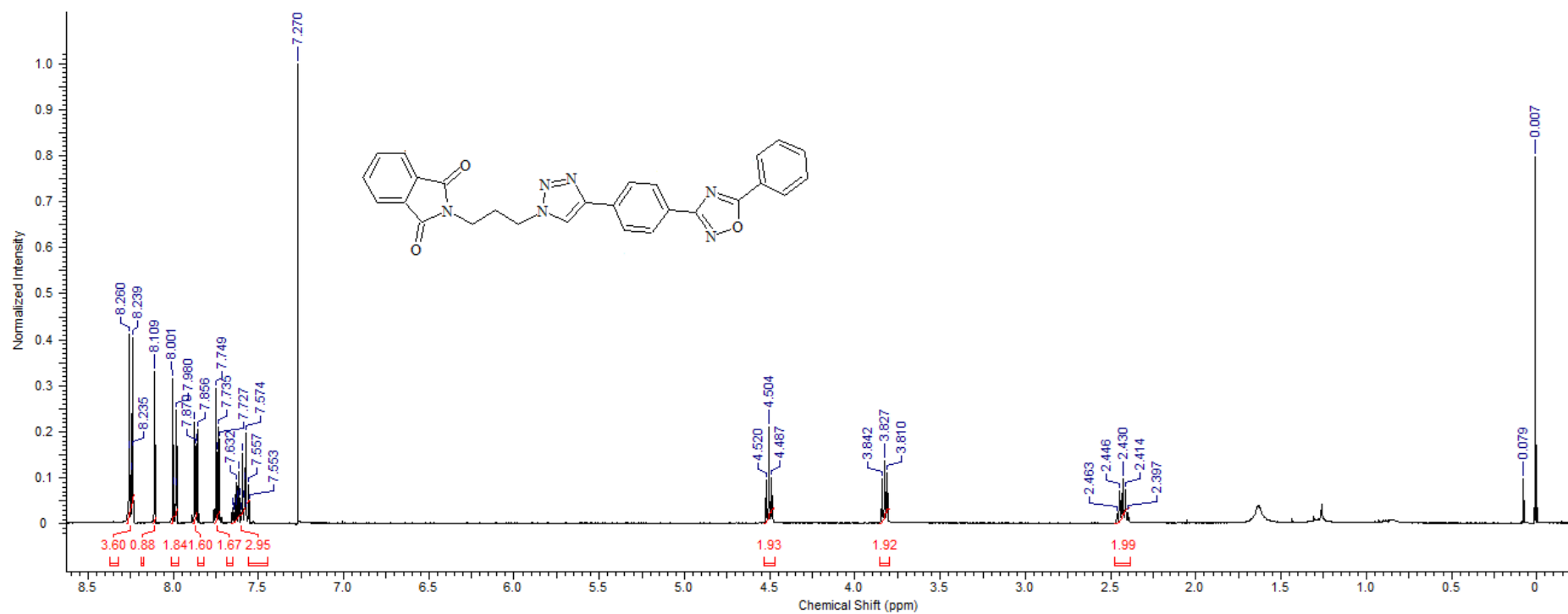
APÊNDICE H – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 13

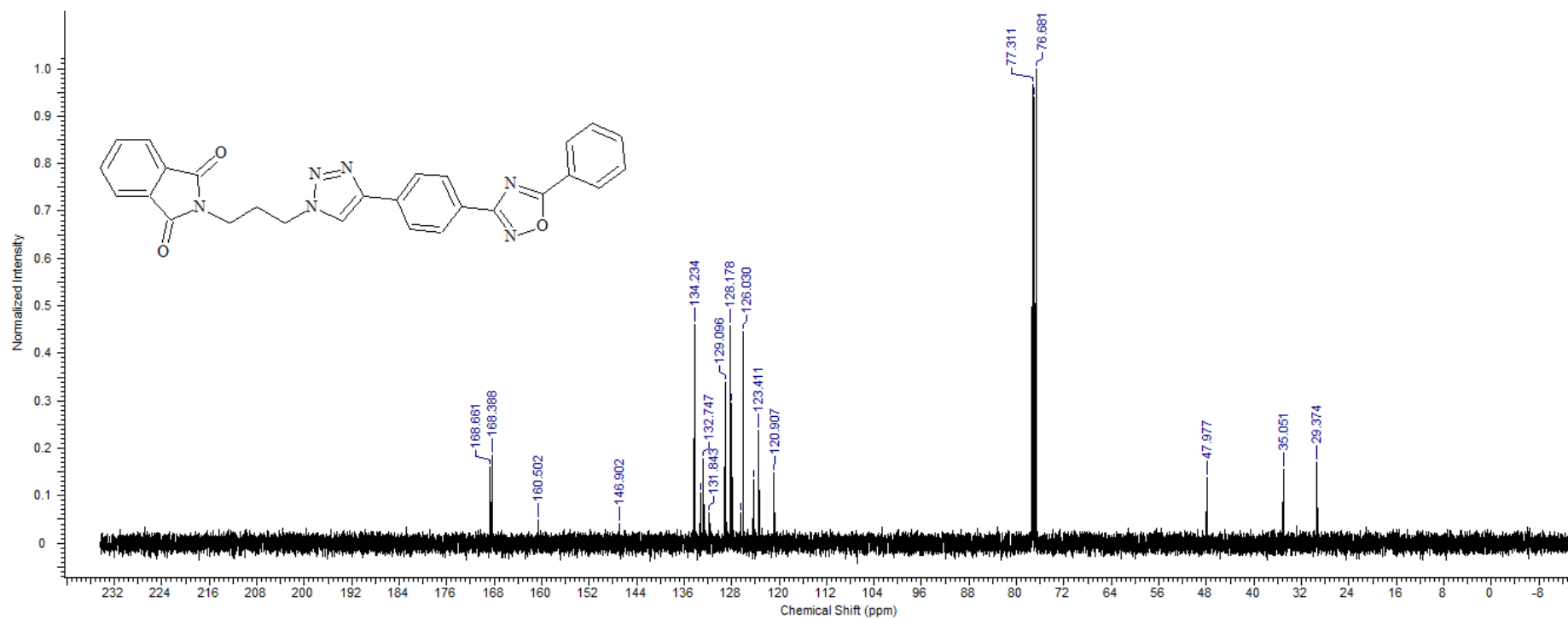
APÊNDICE I – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 14

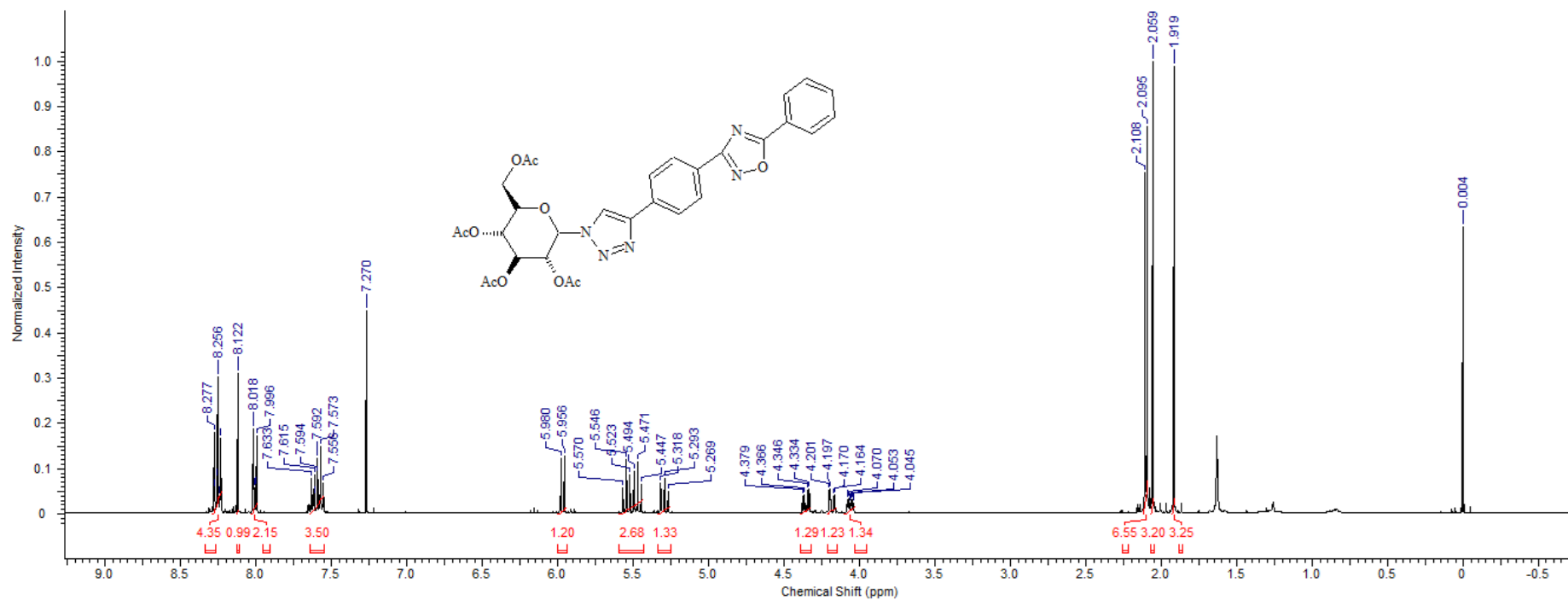


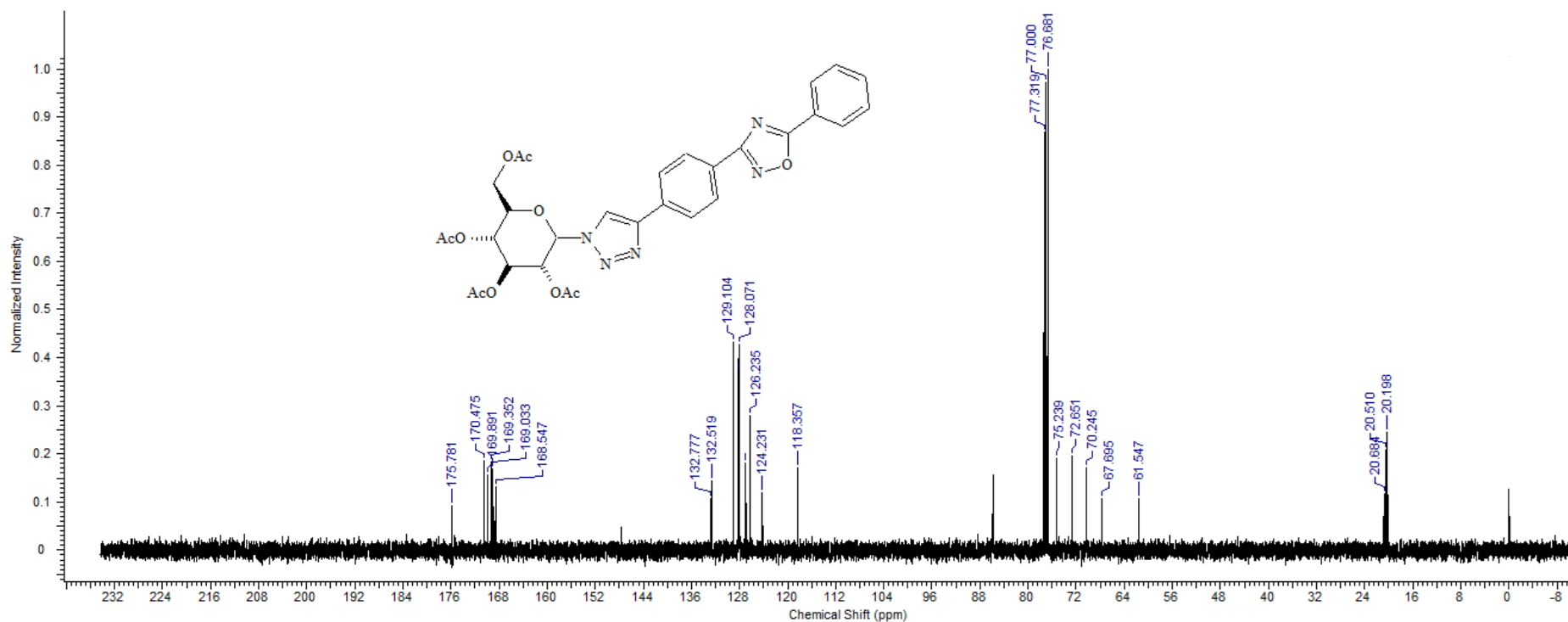
APÊNDICE J – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 14

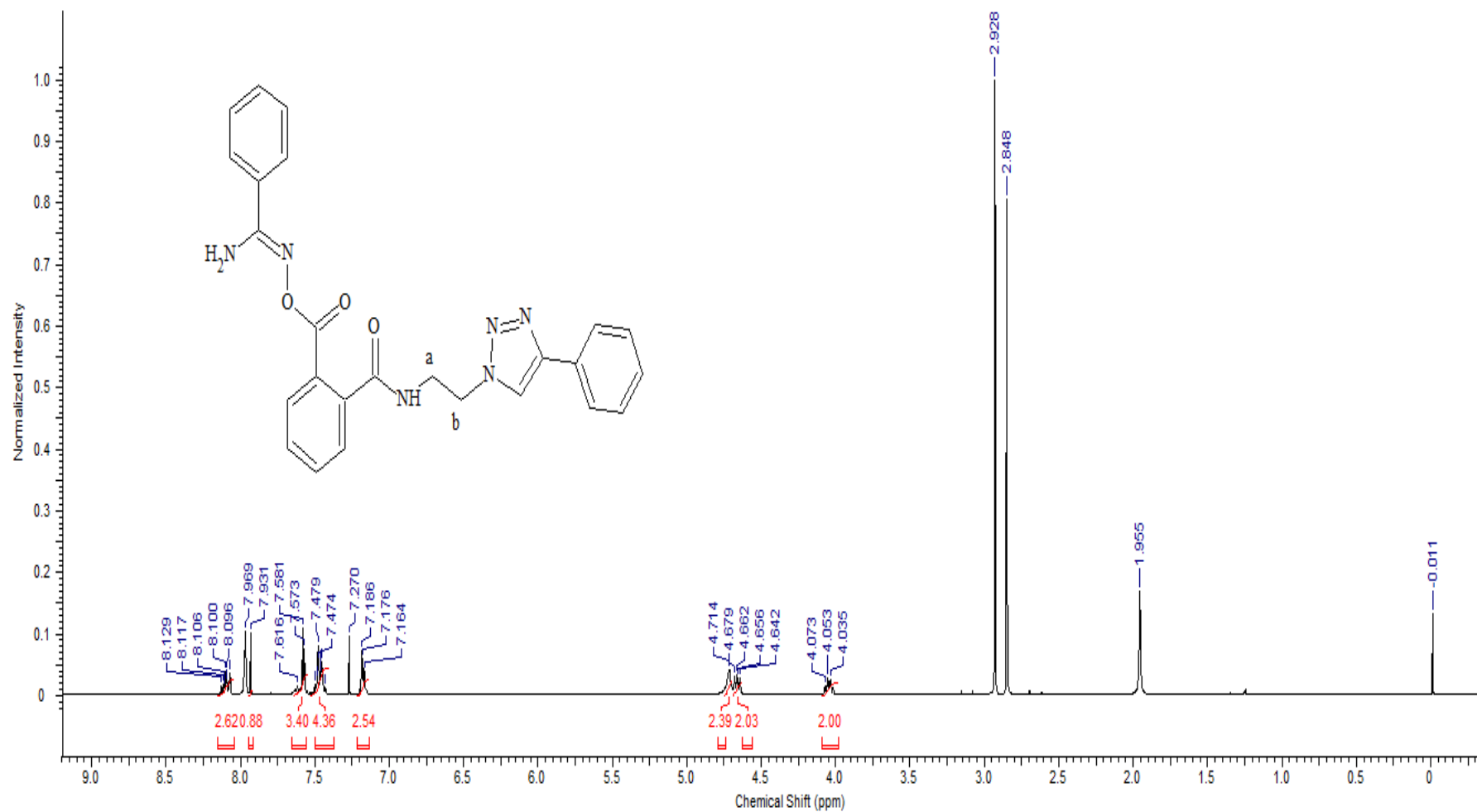
APÊNDICE K – ESPECTRO DE RMN ^1H (90 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 15

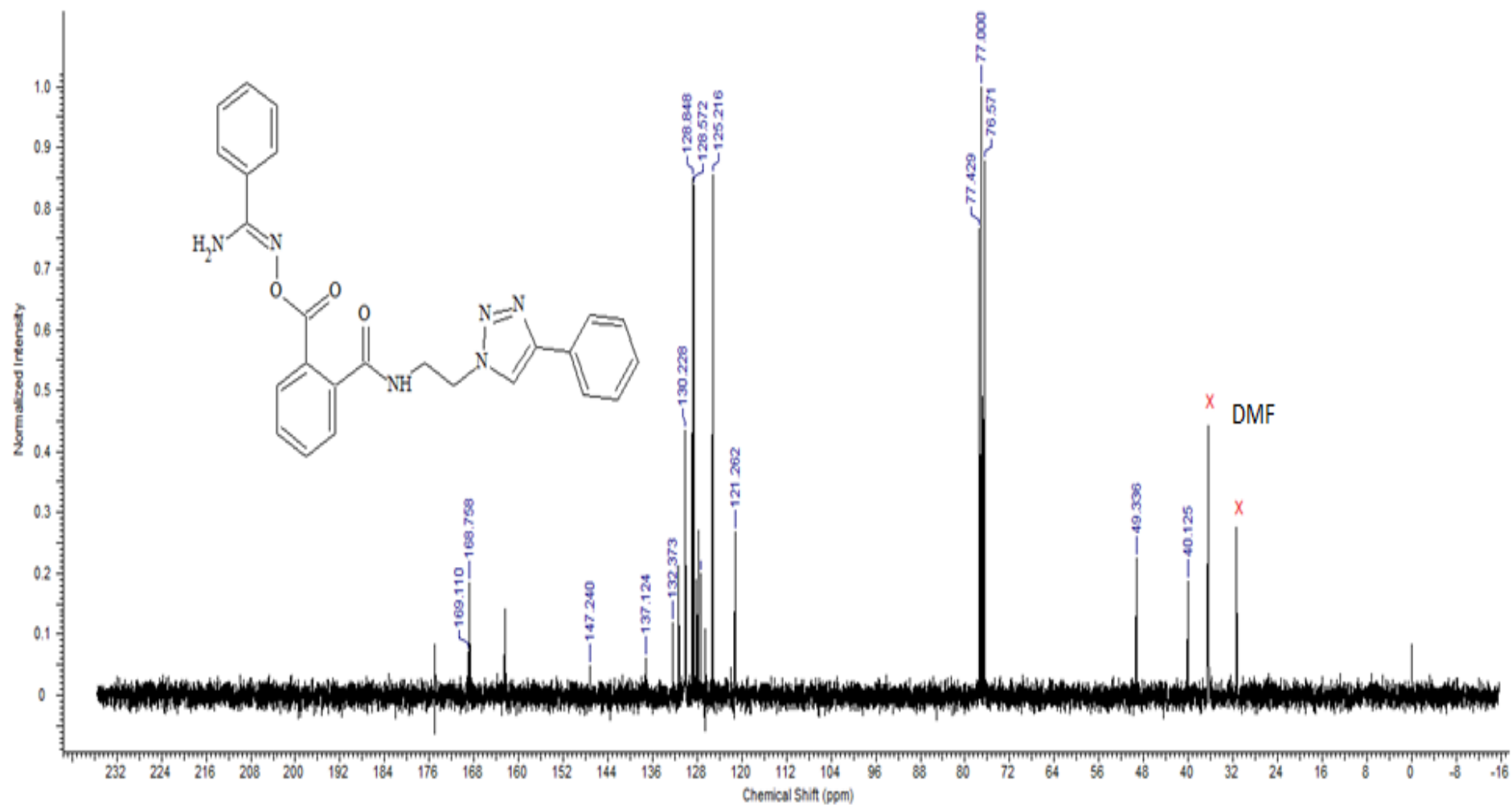
APÊNDICE L – ESPECTRO DE RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 16

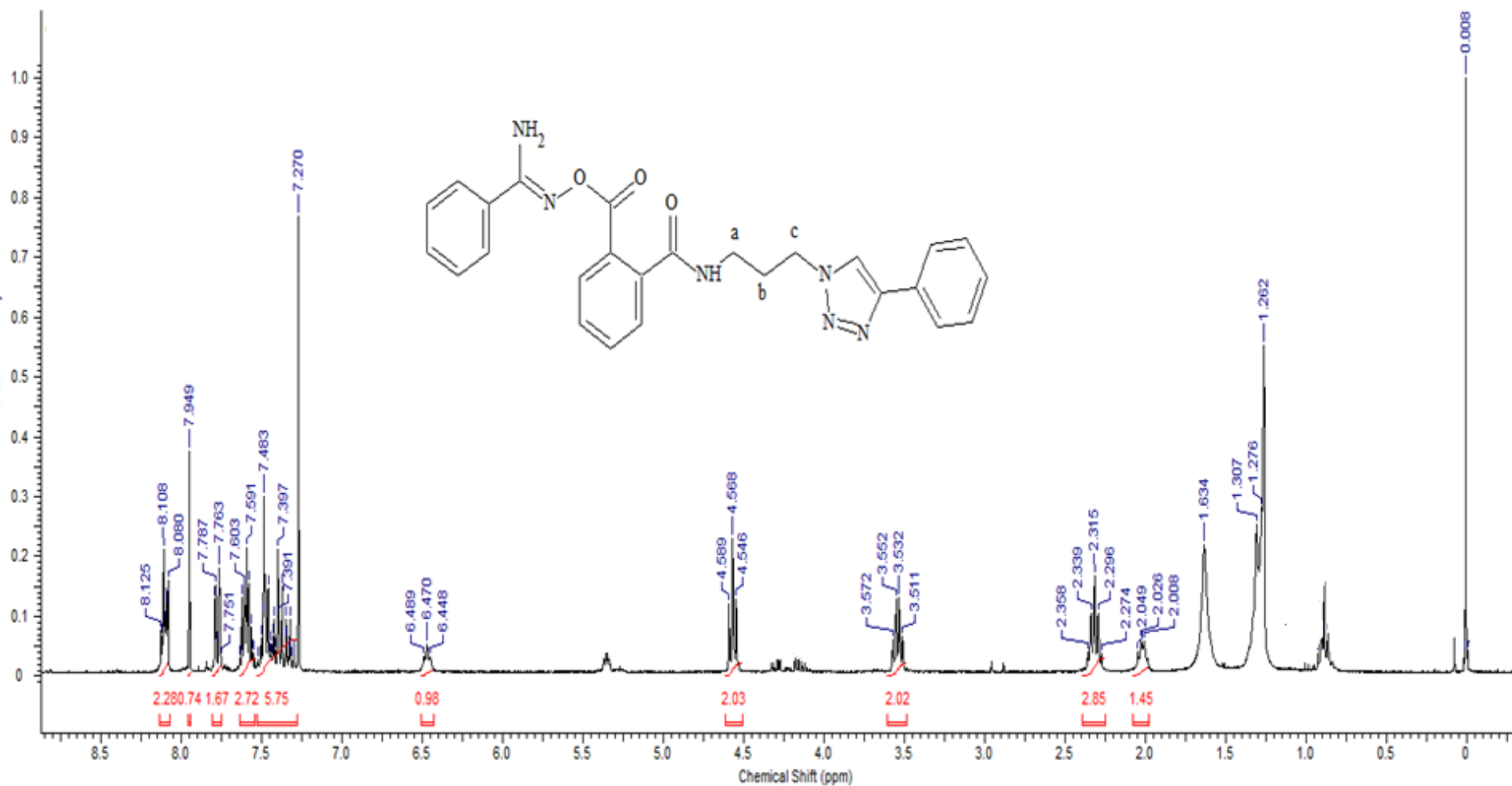
APÊNDICE M – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 16

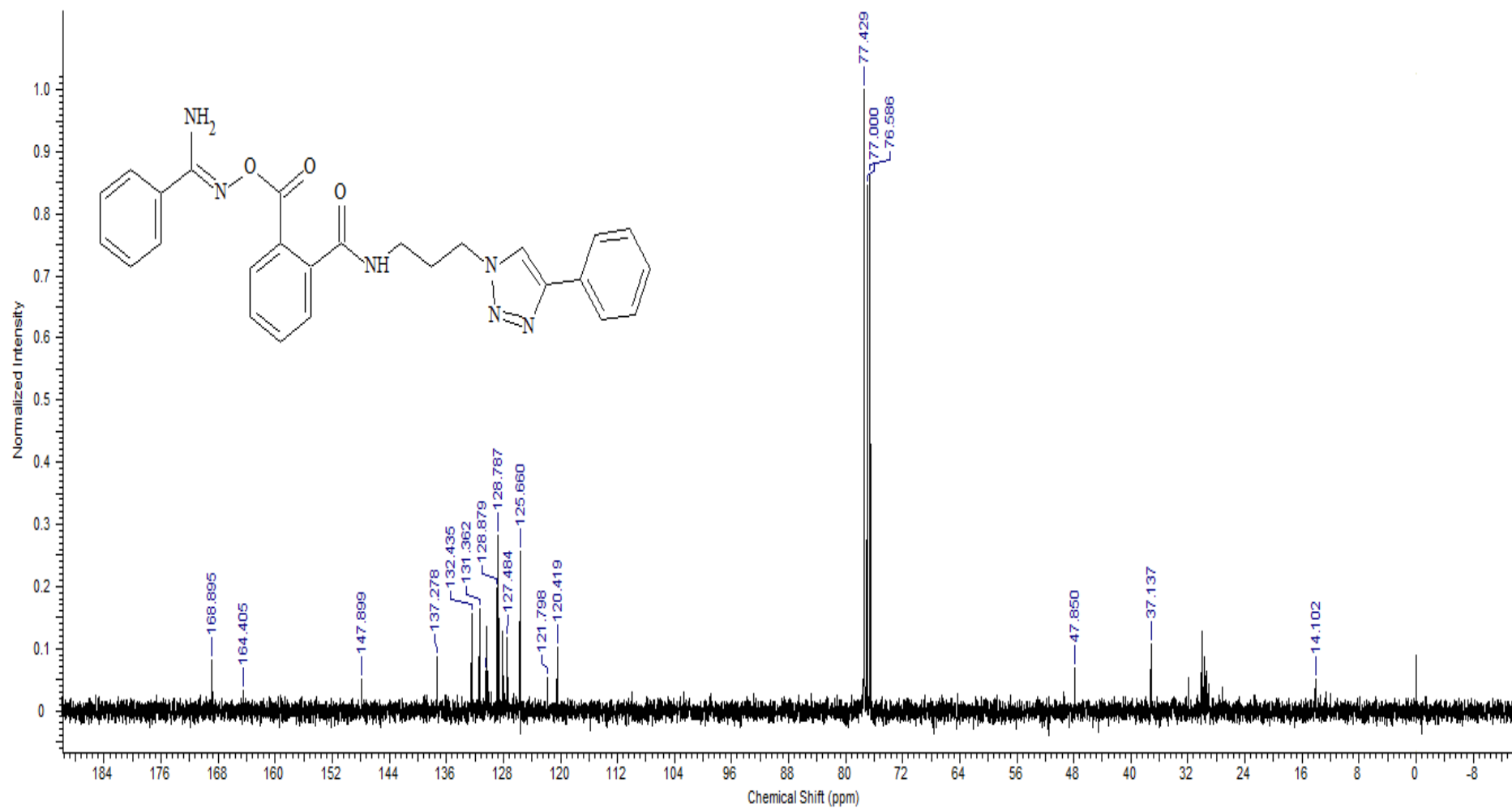
APÊNDICE N – ESPECTRO DE RMN ^1H (90 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 17

APÊNDICE O – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHZ, CDCl_3) DO COMPOSTO 17

APÊNDICE P – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 18

APÊNDICE Q – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 18

APÊNDICE R – ESPECTRO DE RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 19

APÊNDICE S – ESPECTRO DE RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) DO COMPOSTO 19

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

CENTRO UNIVERSITÁRIO DR.
LEAO SAMPAIO - UNILEAO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DO EFEITO DE HETEROCÍCLICOS 1,2,3-TRIAZÓLICOS E 1,2,4- OXADIAZÓLICOS SOBRE CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO (PBMC) E HEMÁCIAS HUMANAS

Pesquisador: VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 38726620.6.0000.5048

Instituição Proponente: INSTITUTO LEAO SAMPAIO DE ENSINO UNIVERSITARIO LTDA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.323.854

Apresentação do Projeto:

O projeto trata sobre os efeitos dos derivados de 1,2,3-triazol e 1,2,4-oxadiazol sobre células do sangue periférico humano e seus possíveis efeitos adversos em sistemas biológicos, com objetivo de diminuir a quantidade de fármacos com alto potencial tóxico no tratamento de patologias humanas ou até mesmo corrigi-las ainda na fase de experimentação pré-clínica. Dentre as possibilidades de testes *in vitro*, a avaliação do efeito de candidatos a fármacos em amostras humanas, fornece informações que se aproximam dos testes clínicos, possibilitando traçar de maneira mais fidedigna o perfil toxicológico dessas substâncias.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito dos derivados de 1,2,3-triazol e 1,2,4-oxadiazol sobre células do sangue periférico humano. **Objetivo Secundário:**

Determinar o percentual hemolítico dos derivados de 1,2,3-triazol e 1,2,4-oxadiazol em hemácias de fenótipos A, B, AB e O e o efeito sobre PBMC humano

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos relacionados a coleta de sangue venoso são:

Endereço: Av. Maria Lúcia Leão Pereira, s/n

Cidade: Paraíba

CEP: 53.010-676

UF: CE

Município: JUAZEIRO DO NORTE

Telefone: (88)2101-1833

Fax: (88)2101-1833

E-mail: cep@leaosampaio@leaosampaio.edu.br

CENTRO UNIVERSITÁRIO DR. LEAO SAMPAIO - UNILEAO



Continuação do Parecer: 4.325.054

- a) ocorrência de dor no local da punção;
- b) formação de hematoma;
- c) ardência;

Benefícios:

Os benefícios relacionados a participação na pesquisa são:

- a) identificação do grupo sanguíneo;
- b) contribuição para a elucidação do efeito de candidatos a fármacos contra a leishmaniose sobre células do sangue;

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta-se como de grande importância no âmbito dos estudos bioquímicos e farmacológicos. Com o avanço da ciência é possível desenvolver novos compostos que possuam potencial para combater as Leishmanioses e dentre eles pode-se citar heterocidos já conhecidos, como os oxadiazóis e triazóis.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador apresentou:

1. Projeto na plataforma Brasil;
2. Folha de rosto devidamente assinada;
3. Instrumento para coleta dos dados;
4. Termo de Consentimento Livre Esclarecido;
5. Termo de Consentimento Pós - Esclarecido;
6. Projeto detalhado em Pdf;
7. Cronograma de Execução;
8. Carta de Anuência.

Recomendações:

Recomenda-se que após a realização do projeto seja enviado para este CEP o relatório final da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram sanadas e elucidadas

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Av. Maria Lúcia Leão Passos, s/n
 Bairro: Planalto CEP: 83.010-876
 UF: CE Município: JUAZEIRO DO NORTE
 Telefone: (88)2101-1833 Fax: (88)2101-1833 E-mail: cep.leao.sampaio@leao.sampaio.edu.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DR.
LEAO SAMPAIO - UNILEAO**



Continuação do Parecer: 4.323.054

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	FB_INFORMACOES_BASICAS_DO_P	06/10/2020		Aceito
Projeto Detalhado	0001.pdf	17/02/22		
Brochura Investigador		06/10/2020	VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	0002.pdf	17/02/22	VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA	Aceito
Outros	0003.pdf	06/10/2020	VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA	Aceito
Formulário RDC	0004.pdf	23/09/2020	VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA	Aceito
Outros	0004.pdf	20/09/2020	VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA	Aceito
Outros	0003.pdf	20/09/2020	VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA	Aceito
Cronograma	0005.pdf	20/09/2020	VANDERLAN NOGUEIRA HOLANDA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUAZEIRO DO NORTE, 06 de Outubro de 2020

Assinado por:

JOSE LEANDRO DE ALMEIDA NETO
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Maria Lúcia Leão Passos, s/n

Cidade: Piratuba

CEP: 83.010-070

UF: SC

Município: JUAZEIRO DO NORTE

Telefone: (48) 2101-1833

Fax: (48) 2101-1833

E-mail: conp.leaosampaio@leaosampaio.edu.br