

Iris Paula dos Santos Cruz

**Síntese e avaliação biológica de novos derivados 1,2,3-triazólicos,
candidatos a fármacos úteis para o tratamento da Doença de Chagas**

OURO PRETO

2022

Iris Paula dos Santos Cruz

Síntese e avaliação biológica de novos derivados 1,2,3-triazólicos, candidatos a fármacos úteis para o tratamento da doença de chagas.

*Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte dos requisitos
para obtenção do título de Bacharel em
Farmácia pela Escola de Farmácia da
Universidade Federal de Ouro Preto,
Minas Gerais, Brasil.*

*Orientador: Prof. Dr. Thiago Belarmino
de Souza.*

OURO PRETO

2022

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

C957s Cruz, Iris Paula dos Santos.

Síntese e avaliação biológica de novos derivados 1,2,3-triazólicos candidatos a novos fármacos úteis para o tratamento da Doença de Chagas. [manuscrito] / Iris Paula dos Santos Cruz. - 2022.
82 f.: il.: , tab..

Orientador: Prof. Dr. Thiago Belarmino de Souza.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Química farmacêutica. 2. Doença de Chagas. 3. Eugenol. 4. Enzimas - Cruzaína. 5. Citotoxicidade. I. Souza, Thiago Belarmino de. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 616.937

Bibliotecário(a) Responsável: Sione Galvão Rodrigues - CRB6 / 2526



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Iris Paula dos Santos Cruz

Síntese e avaliação biológica de novos derivados 1,2,3-triazólicos, candidatos a novos fármacos úteis para o tratamento da Doença de Chagas

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico

Aprovada em 23 de Junho de 2022

Membros da banca

Dr. Thiago Belarmino de Souza - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Ma. Rúbia Castro Fernandes Melo Reis - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr. Saulo Fehelberg Pinto Braga - Universidade Federal de Ouro Preto

Thiago Belarmino de Souza, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 20/07/2022



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Belarmino de Souza, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 20/07/2022, às 12:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0365037** e o código CRC **F4339799**.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço imensamente à minha família pelo apoio e incentivo. Aos meus amigos um muitíssimo obrigada pelos momentos de descontração que tornaram os dias corridos um pouco mais leve.

Agradeço ao melhor laboratório, o famigerado G33 pelos diversos momentos de aprendizado e amizade, Péret, Vívian, Rúbia, Adriana, Fito, Nakao e Talita vocês foram os melhores presentes que a UFOP me deu! Amo vocês de verdade. Aos professores Celinho e Saulo, muito obrigada por sempre serem extremamente receptivos e amigos quando mais precisei. Agradeço, em especial, ao meu orientador, Thiago, muito obrigada por todos ensinamentos e paciência.

Agradeço as lambisgoias Karine e Fábria por sempre me apoiarem e me ouvirem nos momentos de surtos, saudades de morar com vocês. Obrigada a minha amiga Marina, por sempre me apoiar nos piores e melhores momentos do curso.

Agradeço à UFOP pela concessão da bolsa de iniciação científica e à FAPEMIG pelo suporte financeiro (APQ-00820-19).

Agradeço ao Laboratório Multiusuário de Caracterização de Moléculas (LMCM) do PPG CiPharma da UFOP, em especial à Amanda e Hygor, pelas análises de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear. Agradeço também ao Laboratório Multiusuário da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) pelas análises de espectroscopia de Infravermelho.

Lista de figuras

Figura 1: Estrutura química do eugenol (I)	22
Figura 2: Estrutura geral de um 1,2,3-triazol dissustituído (I)	23
Figura 3: Derivados 1,2,3-triazólicos III, IV e V ativos contra o <i>T. cruzi</i>	23
Figura 4: Derivados 1,2,3 triazólicos VI a XI.....	23
Figura 5: Derivados 1,2,3 triazólicos recentemente sintetizados por nosso grupo de pesquisa.....	25
Figura 6: Estrutura geral dos novos derivados 1,2,3-triazólicos propostos.....	26
Figura 7: Rota sintética para a obtenção dos novos derivados 1,2,3-triazólicos propostos.....	28
Figura 8: Proposta de mecanismo para formação dos derivados nitrados 3 e 4.....	44
Figura 9: Estrutura do 2-methoxy-5-nitro-4-propylphenol.....	44
Figura 10: Proposta de mecanismo para formação dos derivados oxiranos 7-10.....	46
Figura 11: Estrutura do 2-((2-metoxi-5-nitro-4-propilfenoxi) metil) oxirano (7)	46
Figura 12: Proposta de mecanismo para formação alquilazidas 11-14.....	47
Figura 13: Estrutura do 1-azido-3-(2-metoxi-5-nitro-4-fenilfenoxi) propan-2-ol (11)	48
Figura 14: Proposta de mecanismo para formação dos derivados 1,2,3-triazólicos 15-18.....	49
Figura 15: Estrutura química geral dos triazóis obtidos.....	50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Doença de Chagas.....	14
2.1.1. Vetor da doença	14
2.1.2 Transmissão da doença	15
2.1.3 Epidemiologia	15
2.1.4 Fase Aguda e Fase Crônica	16
2.1.5 Formas evolutivas	16
2.2 Tratamento da doença de Chagas	18
2.2.1 Fármacos aprovados	18
2.2.2 Limitações	19
2.3 Cruzaína	21
2.4 Eugenol	21
2.5 Derivados 1,2,3 triazólicos	22
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 OBJETIVO GERAL	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 Procedimentos gerais	26
4.2 Síntese das substâncias propostas.....	27
4.2.1 Procedimento geral para a síntese dos derivados nitrados do dihidroeugenol (1) e eugenol (2)	29
4.2.1.1 Dados de caracterização de 2-methoxy-5-nitro-4-propilfenol (3)	30
4.2.1.2 Dados de caracterização de 4-alil-2-metoxi-5-nitrofenol (4)	30
4.2.2 Procedimento geral para a síntese dos derivados oxiranos (7-10) do nitrodihidroeugenol (3), nitroeugenol (4), nitrofenol (5) e fenol (6)	31
4.2.2.1 Dados de caracterização 2-((2-metoxi-5-nitro-4-propilfenoxi) metil) oxirano (7)	32

4.2.2.2 Dados de caracterização 2-((4-alil-2-metoxi-5-nitrofenoxi) metil) oxirano (8)	32
4.2.2.3 Dados de caracterização 2-((3-nitrofenoxi) metoxi) oxirano (9)	33
4.2.2.4 Dados de caracterização 2-(fenoximetil) oxirano (10)	33
4.2.3 Procedimento geral para a obtenção das alquilazidas (11-14)	34
4.2.3.1 Dados de caracterização 1-azido-3-(2-metoxi-5-nitro-4-fenilfenoxi) propan-2-ol (11)	35
4.2.3.2 Dados de caracterização 1-(4-alil-2-metoxi-5-nitrofenoxi) -3-azidopropan-2-ol (12)	35
4.2.3.3 Dados de caracterização 1-azido-3-(3-nitrofenoxi) propan-2-ol (13)	36
4.2.3.4 Dados de caracterização 1-azido-3-fenoxipropan-2-ol (14)	37
4.2.4 Procedimento geral para a obtenção dos triazóis (15-18)	37
4.2.4.1 Dados de caracterização de 1- (2- metoxi-5 nitro-4-propilfenoxi) -3- (4-fenil-1H- 1,2,3- triazol-1-il) propan-2-ol (15)	39
4.2.4.2 Dados de caracterização de 1-(4-alil-2-metoxi-5-nitrofenoxi) -3-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-yl) propan-2-ol (16)	39
4.2.4.3 Dados de caracterização de 1-(3-nitrofenoxi) -3-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il) propan-2-ol (17)	40
4.2.4.4 Dados de caracterização de 1- fenoxi- 3 – (4-fenil-1H- 1,2,3- triazol-1-il) propan-2-ol (18)	41
4.3 Avaliações biológicas	41
4.3.1 Avaliação do potencial anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> in vitro	41

4.3.2 Avaliação da citotoxicidade das substâncias	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1 Síntese dos derivados nitrados 3 e 4	43
5.2 Síntese dos derivados oxiranos 7-10	45
5.3 Síntese das alquilazidas 11-14	47
5.4 Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos 15 – 18	48
5.5 Avaliação in vitro da citotoxicidade e da atividade anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> das substâncias sintetizadas	52
6. CONCLUSÃO.....	53
7. REFERÊNCIAS	54
ANEXO 1: Espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT-135 das substâncias	59

RESUMO

A doença de Chagas é uma condição infecciosa (com fase aguda e crônica) classificada como enfermidade negligenciada que acomete mais de 7 milhões de pessoas mundialmente. Trata-se de uma antroponose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, tendo como principal vetor o triatomíneo hematófago, mais conhecido como barbeiro. Atualmente, os únicos medicamentos eficazes para o tratamento dessa doença são: benznidazol e nifurtimox, contudo são mais eficazes apenas na fase aguda. Nos últimos anos produtos naturais como o eugenol e seus derivados têm atraído a atenção de muitos pesquisadores devido aos efeitos biológicos, destaca-se o potencial antiparasitário. Aliado a isso diversos trabalhos têm relatado a atividade de substâncias contendo o núcleo 1,2,3-triazólico a atividade tripanocida. Dentre eles um derivado 1,2,3-triazólico do di-hidroeugenol recentemente descoberto por nosso grupo de pesquisas, apresentou resultados tripanocidas promissores *in vitro* e *in vivo*. Estudos de “docking” molecular realizados no trabalho mostraram uma afinidade desse derivado pela cruzaina, importante enzima do *T. cruzi* que atua tanto na defesa quanto nutrição do parasito. Sendo assim, esses resultados tornam o derivado supracitado um importante alvo para possíveis modificações moleculares, tendo a cruzaina como um valioso alvo molecular do *T. cruzi*. Diante deste contexto, neste trabalho é proposta a síntese de novos análogos estruturais desse derivado 1,2,3 triazólico. Isso ocorreu via reação click a partir de uma reação entre diferentes alquilazidas derivadas do eugenol (e seus análogos) com alquilfenóis contendo um alcino terminal. Além disso, outras modificações foram realizadas na estrutura desses derivados, tendo então 4 substâncias 1,2,3-triazólicas inéditas. A atividade tripanocida destes triazóis foi investigada contra formas epimastigotas de cepas Y de *T. cruzi*, e os derivados 15 e 17 apresentaram os melhores resultados, com valores de CI₅₀ de 112,14 e 134,22 μ M, respectivamente.

Palavras-chave: di-hidroeugenol; 1,2,3-triazólico; doença de Chagas; tripanocida; eugenol; cruzaina; CYP51; citotoxicidade

ABSTRACT

Chagas disease is an infectious condition (with acute and chronic phase) classified as a neglected disease that affects more than 7 million people worldwide. It is an anthroponosis caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, having as main vector the triatomine, better known as barbeiro. Currently, the only effective drugs for the treatment of this disease are: benznidazole and nifurtimox, however they are more effective only in the acute phase. In recent years natural products such as eugenol and its derivatives have attracted the attention of many researchers due to biological effects, the antiparasitic potential stands out. Allied to this several studies have reported the activity of substances containing the nucleus 1,2,3-triazole the tripanocidal activity. Among them, a 1,2,3-triazole derivative of dihydroeugenol recently discovered by our research group showed promising trypanocidal results in vitro and in vivo. Molecular docking studies carried out in the work showed an affinity of this derivative for cruzain, an important enzyme of *T. cruzi* that acts both in the defense and nutrition of the parasite. Thus, these results make the aforementioned derivative a target import for possible molecular modifications, with cruzain as a valuable molecular target of *T. cruzi*. In this context, this work is proposed the synthesis of new structural analogues of this triazole derivative 1,2,3. This occurred via click reaction from a reaction between different alkylazides derived from eugenol (and its analogues) with alkylphenols containing a terminal alkyne. In addition, other modifications were made to the structure of these derivatives, with 4 substances 1,2,3-triazoles unpublished. The trypanocidal activity of these triazoles was investigated against epimastigote forms of Y strains of *T. cruzi*, and the derivatives 15 and 17 presented the best results, with CI₅₀ values of 112.14 and 134.22 μ M, respectively.

Keywords: di-hydroeugenol; 1,2,3-triazole; Chagas disease; trypanocidal; eugenol; cruzain; CYP51; cytotoxicity

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) representa uma condição infecciosa (com fase aguda ou crônica) classificada como enfermidade negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A DC trata-se de uma antroponose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, tendo como principal vetor o triatomíneo hematófago, mais conhecido como barbeiro (Baliza et al., 2018; Ferreira et al., 2014; G. G. et al., 2020). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2021) há mundialmente, aproximadamente, 7 milhões de pessoas infectadas com *T. cruzi*, ainda de acordo com essa organização a doença de Chagas pode ser encontrada em áreas endêmicas de 21 países da América Latina. No Brasil, em 2019, foram registrados 4.287 óbitos causados por essa doença, sendo que 1.937 óbitos ocorridos na Região Sudeste. A doença de Chagas é dividida em duas fases: fase aguda (FA) com alta parasitemia, e fase crônica (FC) (Prata A et al.; 2001).

A FA pode durar de 6 a 8 semanas tendo como principais sintomas febre, taquicardia e inflamação no local da picada. O diagnóstico acontece, primordialmente, em crianças; o tratamento inadequado acomete a morte de cerca de 10% dos pacientes sintomático. Já na fase crônica, tem-se a fase indeterminada na qual os pacientes assintomáticos mesmo apresentando sorologia positiva para *T. cruzi*, podem passar décadas nesse estado. De acordo com a literatura, cerca de 40% desses pacientes têm agravamento no quadro clínico e podem evoluir para a forma cardíaca da doença. A forma cardíaca ainda pode levar a eventos tromboembólicos sistêmicos, bem como acidente vascular encefálico e, em casos mais graves até mesmo a morte (FERREIRA, A et al., 2019).

Nos dias atuais, os medicamentos mais comumente destinados para o tratamento para a doença de Chagas são benznidazol (BZN) e nifurtimox (CALDAS, et al., 2008; CUNHA et al. 2013). Ambos têm uma atuação de curta duração e são mais efetivos na fase aguda da doença (FILARDI, L. et al., 1986).

Dentro do contexto da busca de novos protótipos naturais tripanocidas para otimização estrutural, nosso grupo de pesquisa tem investido esforços na manipulação química do eugenol e análogos, com vistas à obtenção de novas substâncias biologicamente ativas, candidatas a novos fármacos terapeuticamente úteis. O eugenol é

um alilfenol natural extraído principalmente do cravo da Índia, e há diversos relatos na literatura quanto à sua gama de efeitos biológicos, dentre eles, destaca-se seu potencial antiparasitário (MACHADO, M. et al., 2011).

Por outro lado, diversos trabalhos têm relatado a atividade de substâncias contendo o núcleo 1,2,3-triazólico contra diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*. Tais estudos têm relacionado a atividade dessas substâncias quanto ao seu potencial de inibição da enzima cruzaina, uma cisteína protease essencial para a sobrevivência do parasito, já que está envolvida na aquisição de nutrientes, degradação de proteínas do hospedeiro e evasão do sistema imune (Rocha, D. A. et al., 2018; STEERT, K. et al., 2010; FERREIRA, L. G., et al 2017).

Neste sentido, este trabalho teve como foco principal a síntese de novas substâncias 1,2,3-triazólicas derivadas do eugenol e a avaliação de seu potencial tripanocida contra o *T. cruzi*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Doença de Chagas

Descoberta em 1909 por Carlos Chagas, médico e pesquisador do Instituto Oswaldo Cruz, a doença de Chagas foi descrita por ele em seus vários aspectos, relativos à transmissão, ao parasita e às características clínicas (Kropf et al., 2005). O ciclo de transmissão da Doença de Chagas apoia-se no vetor triatomíneo hematófago como principal transmissor. No Brasil, foram identificadas 65 espécies de triatomíneos (Gardim et al., 2014), contudo relacionadas à transmissão da DC, destaca-se: *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis* e *Triatoma sordida*, (Dias e Schofield et al., 1998; Silistino-Souza et al., 2013). A evolução clínica da doença se dá a partir de uma fase aguda e uma fase crônica, podendo se manifestar nas formas indeterminada, cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva (Simões, Marcus Vinicius, et al. 2018).

2.1.1 Vetor da doença

Os triatomíneos, mais conhecidos popularmente, como barbeiro, bicudo e chupança, são os vetores da doença de Chagas. Por possuírem o primeiro par de asas com

uma parte membranosa e a outra parte coriácea (dura), são classificados como pertencentes a ordem hemíptera (GALVÃO, et al., 2014). Esses e demais hemípteros apresentam um aparelho bucal do tipo “picador-sugador”, em geral, têm tamanho entre 2 e 3 cm (GALVÃO, et al., 2014). Segundo dados disponibilizados pela Fiocruz, em 2018, espécie *Panstrongylus megistus* é o vetor mais importante, atualmente, nas regiões sul e sudeste do Brasil, já no nordeste brasileiro o *Triatoma brasiliensis*, que ocupa tanto ambientes domiciliares (peridomicílio e intradomicílio) como ambientes silvestres, é a espécie com maior relevância epidemiológica.

2.1.2 Transmissão da doença

A DC trata-se de uma antroponose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, sua transmissão pode ocorrer ao homem via vetorial; via transfusional; via vertical ou congênita; acidentes laboratoriais; e, por fim, menos comum, por via oral (Baliza et al., 2018; Ferreira et al., 2014; G. G. et al., 2020). A transmissão pela via oral pode ocorrer por ingestão de material contaminado com triatomíneos infectados ou suas fezes, ingestão de carne crua ou mal cozida ou ainda pelas secreções de alguns mamíferos infectados (Ferreira et al., 2014).

2.1.3 Epidemiologia

Segundo informações apresentadas pela OMS, em 2021, a DC acarreta cerca de 10 mil mortes por ano mundialmente. Dados disponibilizados pelo Ministério da Saúde, em 2019, de 2012 a 2016, foram notificados 1.190 casos agudos da doença de Chagas, com a Região Norte apresentando a maior quantidade de casos, 97,1%. Farias ADSC e colaboradores, em 2019, afirmaram que devido aos grandes focos de transmissão a região nordeste brasileira apresenta importância epidemiológica. Isso porque possui regiões fisiográficas diversas que englobam uma diversidade de 29 espécies de triatomíneos (Silva MBA, et al., 2017; Farias ADSC, et al., 2019), sendo *Triatoma brasiliensis* e *Triatoma pseudomaculata* consideradas espécies nativas da região (Silva MBA et al., 2019).

Foram notificados cerca de 5.184 casos de doença de chagas (fase aguda) em todos o território brasileiro, entre os anos de 2001 e 2018 (de Souza Macedo et al., 2021).

As maiores prevalências da doença de chagas, verificadas em estudos, já publicados, foram observadas em mulheres acima de 60 anos, residentes das regiões

Nordeste e Sudeste e em áreas mistas, urbana/rural (Martins-Melo FR et al., 2014). Contudo estudos mais recentes mostram a presença de uma variação do perfil anteriormente tido como padrão, prova disso é o estudo conduzido por Souza Macedo e colaboradores publicado em 2021, apontou que a ao contrário do que se observava até então na literatura, a maior prevalência, nos brasileiros infectados ao longo dessas duas últimas décadas, foi, na verdade, em indivíduos do sexo masculino, entre 40 a 59 anos, pardos e residentes das regiões norte e nordeste do país. (Cardoso LP et al., 2020)

2.1.4 Fase aguda e fase crônica

O quadro clínico dos pacientes que se encontram na fase aguda da DC geralmente assintomático ou oligossintomático, apresentando sintomas como: febre, anorexia e taquicardia (Prata A et al., 2001). Ademais, em casos de maior gravidade, pode levar a dilatação cardíaca e derrame pericárdico (Brasil et al., 2020; Lima et al., 2019). Os sintomas mais comuns, normalmente, desaparecem espontaneamente, durando entre 6 e 8 semanas pode ocorrer de 60-70% dos indivíduos chagásicos nunca desenvolver sinais ou sintomas que os liguem à doença, o que determina a forma indeterminada da mesma (Brasil et al.; 2020; Lima et al., 2019).

Enquanto isso, a forma crônica da doença pode ocorrer em cerca de 30-40% dos pacientes, pode levar o indivíduo a desenvolver sérias complicações cardíacas e neurológicas, gastrointestinais (megacólon ou megaesôfago) ou cardiodigestiva, após passar por um longo período latente (Brasil et al., 2017). A cardiomiopatia crônica, na qual afeta cerca de um terço dos pacientes chagásicos (Marin-Neto et al., 1999), é uma das complicações cardíacas graves, bem como arritmias e morte súbita. Já na forma digestiva, pode ocorrer o acometimento do esôfago e intestino grosso, levando ao surgimento de megaesôfago e megacólon (Dias et al., 2015). A forma crônica da doença de chagas é considerada a com maior taxa de morbimortalidade entre as doenças parasitárias, chegando a gerar 627,5 milhões de dólares por ano de gastos em saúde (Lee, Bruce Y. et al., 2013).

2.1.5 Formas evolutivas

O parasita *T. cruzi* possui variações morfológicas e funcionais, de modo que há formas não-replicativas, replicativas e infectantes, sendo elas as formas: amastigota, epimastigota e tripomastigota. As formas replicativas são as epimastigotas, podendo ser

encontradas no tubo digestivo do triatomíneo, já as formas amastigotas são encontradas na forma intracelular em mamíferos. A forma não-replicativa e infectante é a tripomastigota, essa possui distinção entre duas etapas: metacíclica, presente em fezes e urina do inseto vetor (Patino, et al., 2017). A segunda é a tripomastigota circulante, observada no sangue de mamíferos, experimentalmente também conhecida como tripomastigotas de cultura celular (Patino, et al., 2017). A forma tripomastigota sanguínea pode ser encontrada nos hospedeiros vertebrados ou demais reservatórios naturais em duas morfologias básicas, delgada e larga. Ao passo que no hospedeiro invertebrado, o triatomíneo, ao ingerir o sangue infectado de mamíferos, adquire tanto as formas tripomastigotas sanguíneas, como algumas formas amastigotas. Após passarem por processos de diferenciação, intestino médio do inseto, essas formas dão origem as epimastigotas, ocorrendo, assim, aumento da parasitemia. As epimastigotas após atingirem a última porção do intestino do vetor, se aderem a parede do tubo digestivo do inseto, acredita-se esse processo ocorra através de ligações hidrofóbicas entre o flagelo e o substrato presente nessa região (Bonaldo et al., 1988). Sendo assim, após diferenciação as epimastigotas se transformam em tripomastigotas metacíclicas, processo esse denominado de metaciclogênese (Bourguignon et al., 2006).

As formas tripomastigotas metacíclicas, desprendem-se do intestino do vetor, tornando-se, dessa forma, parte das suas excretas. O processo de infecção do hospedeiro vertebrado se dá após a picada e consequentemente liberação das formas tripomastigotas metacíclicas, contidas nas excretas do triatomíneo, entrarem em contato com mucosas ou regiões que apresentam alguma lesão (Bourguignon et al., 2006).

Essas formas têm capacidade de infectar um grande número de células nucleadas dos mamíferos (Burleigh et al., 1995), sendo que uma vez que no citoplasma das células do hospedeiro, as formas tripomastigotas passam por um processo de diferenciação e transformam-se em amastigotas, essas por sua vez podem multiplicar-se. Após atingir certa densidade parasitária essas formas passam por uma nova diferenciação, agora para tripomastigotas sanguíneas, e culminam na lise da célula infectada. Em seguida caem na corrente sanguínea e posteriormente podem infectar novas células do hospedeiro. Ocasionalmente, formas amastigotas podem ser encontradas no sangue periférico, na FA da doença, isso ocorre devido a lise precoce das células (Ley et al., 1988). Por fim, o barbeiro suga o sangue periférico de um indivíduo infectado com as formas tripomastigotas sanguíneas e amastigotas completando, assim, seu o ciclo celular.

2.2 Tratamento da doença de Chagas

2.2.1 Fármacos aprovados

Para o tratamento da doença de Chagas se tem como objetivo a eliminação do parasita durante a FA, aliado à declinação dos sintomas ocorrentes na fase crônica. Isso ocorre por meio do uso de cardiotônicos e antiarrítmicos, ou em casos de maior gravidade, através de cirurgias corretivas do esôfago e do cólon (Kirchhoff et al., 1996). Sabe-se que os primeiros compostos desenvolvidos experimentalmente para o tratamento direcionado a doença de Chagas, foram o Atoxyl (arsênico), a tintura de fucsina, o tártaro emético (antimônio trivalente) e o cloreto de mercúrio, contudo foram ineficazes para essa finalidade (Croft et al., 1999; Coura et al., 2002).

Nos dias atuais, os medicamentos mais comumente destinados para o tratamento para a doença de Chagas são benznidazol (BZN) e nifurtimox (Caldas et al., 2008; Cunha et al., 2013). O benznidazol, por via oral, é de rápida absorção, sendo capaz de atingir concentrações plasmáticas entre 3 e 4 horas (Garcia et al., 2005). Esse fármaco possui como efeitos colaterais, mais frequentes, erupção cutânea, edema generalizado, artralgia, distúrbios gastrointestinais, aumento do apetite, dor articular, fraqueza muscular e neuropatia periférica (Pontes et al., 2010). No ano de 1952, o protozoologista Packchanian foi o primeiro a retratar experimentalmente que os compostos nitrofuranos, poderiam ser úteis no tratamento da doença de Chagas (Packchanian et al., 1952). Anos mais tarde, em 1961, Brener fez uso de nitrofurazona para tratar camundongos infectados na fase crônica da doença (Brener et al., 1961). Apenas no final da década de 60 o nifurtimox (NFX) foi incluído no tratamento da doença de chagas (Cançado et al., 1968), esse teve sua comercialização cessada no Brasil e em outros países da América do Latina, na década de 1980, em decorrência dos seus efeitos colaterais e ao alto índice de toxicidade (Almeida et al; 2013). No Brasil, atualmente, o BZN é o único fármaco destinado ao tratamento específico da DC, já o nifurtimox é disponibilizado pelo Ministério da Saúde (MS) em casos específicos em que há resistência por parte do parasito ou graves efeitos adversos associados ao uso do BZN (Pontes VM et al., 2010; Oliveira MF et al., 2008). O NFX possui atividade contra as formas evolutivas tripomastigotas e amastigotas do parasita (Coura et al., 2002), apresenta mecanismo de ação através da produção de espécies reativas de oxigênio; o *T. cruzi* é deficiente em mecanismos de desintoxicação metabólica para o oxigênio, sendo assim o torna mais

propício aos processos de oxidação do que as células do hospedeiro (Docampo et al., 1986; Docampo et al., 1990). O mecanismo de ação do BZN ainda não é bem elucidado, acredita-se que o mesmo possa agir devido à formação de radicais livres e metabólitos eletrofílicos que são gerados, quando ocorre a redução do grupo nitro a um grupo amino pela ação das enzimas nitroredutases (Maya et al., 2007; Wilkinson et al., 2008). Assim, é hipotetizado que o efeito tripanocida do BZN ocorre devido a ligações covalentes de seus metabólitos reduzidos a macromoléculas do parasita e não produzindo espécies reativas de oxigênio, como o nifurtimox (Maya et al., 2004; Moreno et al., 1982; Docampo et al., 1984; Docampo et al., 1990).

O tratamento de pacientes chagásicos congênitos durante o primeiro ano de vida tem cura sorológica é de 100% (Schijman AG. et al., 2003; Russomando G, et al., 1998), já o tratamento da doença na fase aguda tem eficiência próxima de 76% (Cancado JR et al., 1999; Cancado JR et al., 2002).

2.2.2 Limitações

Acredita-se que os metabólitos gerados durante a nitrorredução anaeróbica do BZN possam formar complexos com moléculas de DNA, proteínas, lipídeos ou outros componentes celulares importantes do hospedeiro, assim esse fato poderia ser uma das causas da toxicidade do fármaco (Castro JA et al., 2006). Em relação às reações adversas causadas pelo BZN, essas ocorrem em cerca de 44,1% dos pacientes, sendo possível observar com maior frequência em adultos (51,6%) do que em crianças (24,5%). Em decorrência disso, cerca de 11,4% desses pacientes abandonam o tratamento, contudo, em geral, a toxicidade apresenta-se moderada e reversível, com reações graves ocorrentes em apenas 3% dos casos (Crespillo-Andújar C et al., 2018).

Grande parte dos pacientes que, durante a fase aguda da doença, não passaram por tratamento adequado, pode progredir para a fase crônica da infecção. Contudo a maioria desses pacientes perduram na fase crônica indeterminada, com prognóstico bom e inexistência de sintomas (Dias JCP et al., 1989). O tratamento com nifurtimox, na fase crônica, tem eficácia que varia de 86% em crianças menores de 14 anos, a 7-8% em adultos (Rodrigues Coura J, et al., 2002; Streiger ML, et al., 2004). Já para o benznidazol, essa eficiência varia de 60 a 94% em crianças menores de 13 anos, e 2 a 40% em adultos na fase crônica tardia (Sgambatti de Andrade ALS, et al., 1996; Sosa Estani S, et al., 1998).

Recentemente, Cardoso e colaboradores demonstraram que ao iniciar o tratamento da DC com BNZ em pacientes na fase crônica, com idade inferior a 50 anos e com alterações no eletrocardiograma. Foi observada uma redução significativa tanto a taxa de mortalidade quanto a carga parasitária e grau de insuficiência cardíaca, quando comparados ao grupo controle que não havia recebido BNZ, após dois anos de acompanhamento (Cardoso et al., 2018).

Alguns estudos em modelos experimentais sugerem que o tropismo por determinados tecidos por parte do *T. cruzi* é influenciado tanto pelas características genéticas do parasita, quanto pela imunocompetência do hospedeiro (Zingales et al., 2017). Na fase crônica, o parasita pode se alojar em órgãos como coração, músculos, esôfago e tecido adiposo do hospedeiro.

Em decorrência da efetividade insatisfatória do tratamento na fase crônica, tem-se hipotetizado que o parasito possa sobreviver em órgãos e/ou tecidos onde o acesso dos fármacos é limitado. Sendo assim, sugere-se que os processos de farmacocinética e farmacodinâmica entre os fármacos e os tecidos nos quais o parasito se encontra está diretamente ligada a essa falha no tratamento (Urbina, J et al.; 2002). Especula-se que o tecido adiposo possa ser um possível reservatório para esse parasito, portanto seria o principal responsável por uma reincidência da infecção após o tratamento, dado que o *T. cruzi* pode migrar desse tecido e recolonizar o sangue do hospedeiro.

A resistência natural de algumas cepas do *T. cruzi* a esses medicamentos é sabida, existindo diversos mecanismos de se adquirir essa resistência, o que poderia explicar a baixa taxa de efetividade do tratamento da doença (Filardi et al., 1987; Campos et al., 2014). Tanto o BZN quanto o NFX são pró-fármacos que precisam passar por reações enzimáticas para assim serem ativados, a nitrorredutase do tipo I (NTR-1) ou prostaglandina F₂alfa sintase (PGFS) são exemplos de enzimas presentes no *T. cruzi* que são essenciais nesse processo (Murta et al., 2006; Wilkinson et al., 2008; Mejia et al., 2012). Estudos apontam que ao analisar algumas linhagens do *T. cruzi* que apresentaram resistência induzida *in vitro*, ao BZN, possuíam perda de cópias de uma dessas nitrorredutases supracitadas (Murta et al., 2006; Wilkinson et al., 2008; Mejia et al., 2012).

O mecanismo de resistência a esses fármacos é supostamente multifatorial, incluindo aumento da atividade da bomba de efluxo, aliado à mutação e/ou modulação da expressão genética do parasito (de Toranzo EG, et al., 1984; Villarreal D, et al., 2005; Zingales B, et al., 2015). Um recente estudo conduzido por Campos e colaboradores sobre

sequenciamento gênico, mostrou que os efeitos mutagênicos dos metabólitos reativos do BZN somados a mecanismos ineficientes de reparação da molécula de DNA, possivelmente geram amplas alterações no material genético do *T. cruzi*, ocasionando o desenvolvimento não só de resistência ao BZN, como também outras mudanças fenotípicas no parasito (Campos MC, et al., 2017).

2.3 Cruzaína

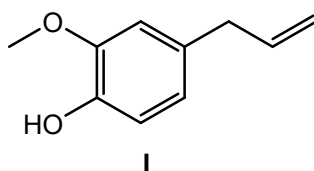
A enzima cruzaína é tida como a principal cisteíno protease do *T. cruzi*, sendo assim um importante alvo molecular para a terapia da doença de Chagas (Mckerrrow et al., 1999; Brak et al, 2008; Fricker et al, 2008). Atua efetivamente nos mecanismos de nutrição do parasito, penetração das formas tripomastigotas nas células do hospedeiro, é importante para a defesa do parasito frente ao sistema imunológico dos mamíferos, e além disso participa nos processos de diferenciação das formas evolutivas (Bermudez, et al., 2015). O desenvolvimento de fármacos que atuem como inibidores seletivos dessa enzima representa uma estratégia importante para busca de novos fármacos antichagásicos. Isso porque a inibição da enzima cruzaína pode acarretar impedimento da proliferação do parasito nas formas epimastigotas extracelulares e amastigotas intracelulares. Consequentemente, cessando a metaciclogênese, de modo a restringir a evolução de epimastigotas para tripomastigotas, formas evolutivas inerentes do estágio infeccioso da doença. Ademais, estudos recentes destacam de que muitos inibidores da cruzaína que têm atividade contra o *T. cruzi* possuem toxicidade desprezível para mamíferos. Dessa forma fundamenta o interesse nesse alvo molecular a fim de buscar novos candidatos a fármacos para tratamento da doença de chagas (Doyle et al., 2011).

2.4 Eugenol

Nos últimos anos, o eugenol, um alilfenol natural cuja estrutura química é apresentada na Figura 1 a seguir, tem atraído a atenção de muitos pesquisadores por causa de seus efeitos anti-inflamatórios e quimio-preventivos, bem como sua atividade antioxidante devido à presença do seu grupo fenólico (Yogalakshmi et al., 2010). É um alilfenol natural extraído principalmente do cravo da Índia, e há diversos relatos na literatura quanto à sua gama de efeitos biológicos, dentre eles, destaca-se seu potencial antiparasitário (MACHADO, M. et al., 2011). Além disso, possui atividade antimicrobiana (Das et al., 2016; Devi et al., 2010; Di Pasqua et al., 2006; XU et al., 2016),

anticarcinogênica, antimultagênica (Atsumi et al., 2005; Júnior et al., 2016; Nam et al., 2013), repelente e anti-fumigante (Ogendo et al., 2008) descritas na literatura. Quanto ao potencial tripanocida, o eugenol apresenta maior atividade contra as formas amastigotas intracelulares do *T. cruzi* (Clemente CM, et al., 2022).

Figura 1: Estrutura química do eugenol



Em um estudo publicado em 2021, foi possível constatar que após submeter cepas de *T. cruzi* ao tratamento com óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), as formas epimastigotas se mostraram mais susceptíveis ao tratamento do que as formas amastigotas intracelulares. A atividade desse óleo pode ser atribuída a presença do eugenol, que representa mais 50% da sua composição. Ao analisar apenas o eugenol, foi constatado que o mesmo apresenta atividade tripanocida, contudo apresentava citotoxicidade contra macrófagos, o que o torna menos seletivo do que o óleo essencial de *S. aromaticum*. Ainda nesse estudo foi demonstrado que a atividade do eugenol foi superior ao *S. aromaticum* para as formas amastigotas intracelulares (Teles et al., 2021).

Dentro do contexto da busca de novos protótipos naturais para otimização estrutural, nosso grupo de pesquisa tem investido esforços na manipulação química do eugenol e análogos, com vistas à obtenção de novas substâncias biologicamente ativas, candidatas a novos fármacos terapeuticamente úteis.

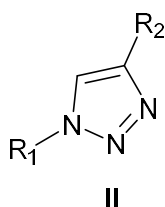
2.5 Derivados 1,2,3 triazólicos

Compostos heterocíclicos contendo átomos de nitrogênio são abundantes na natureza e são parte integrante de estruturas de fármacos, por exemplo, devido à grande atividade biológica que eles apresentam (Pholshettiwar et al., 2008). No entanto, devido às recentes descobertas de métodos de obtenção mais eficientes, os 1,2,3-triazóis estão entre os heterociclos mais investigados (Hein et al., 2010). Na literatura, relata-se atividade antibacteriana (Thomas et al., 2010; Gallardo et al., 2007; Boechat et al., 2011),

antitumoral (Cafici et al., 2008; Kamal et al., 2008), tripanocida (Silva et al., 2008), antimalárica (Guantai et al., 2010), dentre outras, destas substâncias triazólicas.

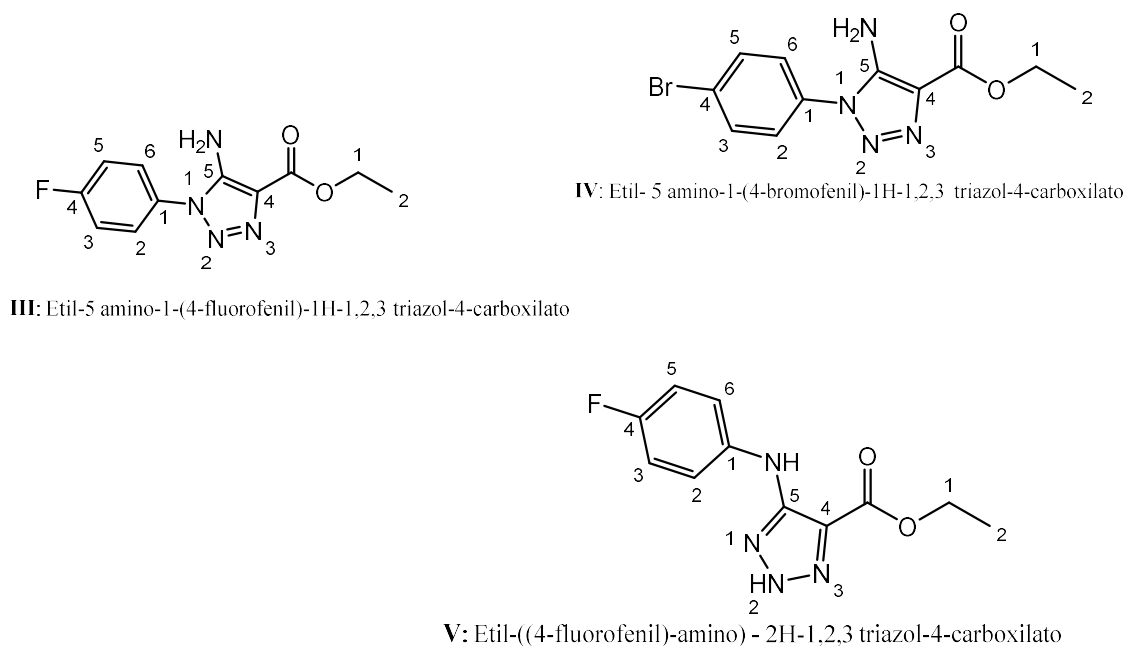
Ainda dentro do contexto de substâncias tripanocidas, diversos trabalhos têm relatado a atividade de substâncias contendo o núcleo 1,2,3-triazólico (Figura 2) contra diferentes formas do *T. cruzi*. Tais estudos têm relacionado a atividade dessas substâncias quanto ao seu potencial de inibição da enzima cruzaina, uma cisteína protease essencial para a sobrevivência do parasito, já que está envolvida na aquisição de nutrientes, degradação de proteínas do hospedeiro e evasão do sistema imune (Rocha, D. A. et al., 2018; Steert, K. et al., 2010; Ferreira, L. G., et al 2017).

Figura 2: estrutura química de um 1,2,3-triazol dissustituído



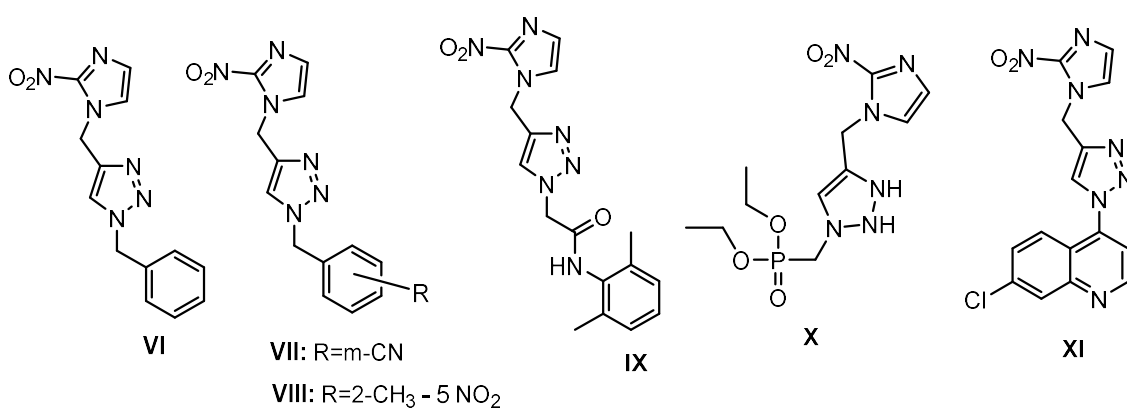
Em um estudo conduzido por Silva e colaboradores (2021), foram sintetizadas duas séries de triazóis, uma obtida por uma reação de cicloadição entre cianoacetato de etila e várias fenil azidas, dando origem a 1H-1,2,3- triazol e a segunda série por rearranjo de Dimroth, formando 2H-1,2,3 triazóis. Ambos foram ativos contra as formas epimastigotas do *T. cruzi*. Os 1,2,3 triazóis **III**, **IV** e **V** (Figura 3) foram os que apresentaram maior atividade, similar ao benznidazol, apresentando capacidade de romper a membrana plasmática das formas tripomastigotas, agindo na enzima CYP51 e inibindo a síntese de ergosterol (Silva et al., 2021).

Figura 3: Derivados 1,2,3 triazólicos III, IV e V ativos contra o *T. cruzi*



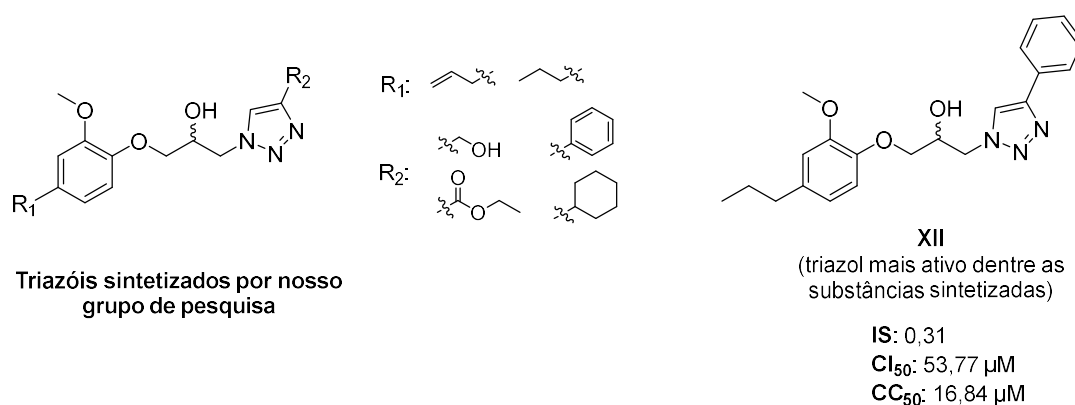
Em 2018, Leite e colaboradores realizaram a síntese e avaliação da atividade tripanocida *in vitro* e *in vivo* de seis novos análogos do benznidazol (**VI-XI**; Figura 4), explorando a substituição bioisostérica entre o grupo amida do benznidazol e o anel 1,2,3 triazol. *In vitro*, os compostos **VII** e **VIII** apresentaram atividade superior ao BZN contra as formas tripomastigotas. Já nas avaliações *in vivo*, todos os seis compostos apresentaram menor potência e maior toxicidade que o BZN (Leite, et al., 2018).

Figura 4: Derivados 1,2,3-triazólicos sintetizados por Leite e colaboradores (2018)



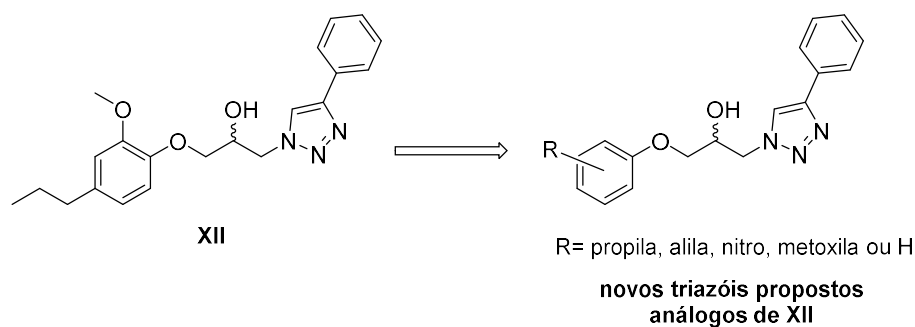
Recentemente nosso grupo de pesquisa relatou a síntese de uma série de derivados 1,2,3-triazólicos derivados do eugenol e de seu análogo dihidroeugenol, dos quais um deles, a substância **XII** (Figura 5) apresentou potencial tripanocida *in vitro* (similar ao benznidazol) e *in vivo* contra diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*. Estudos de “docking” molecular indicaram a enzima cruzaina como um possível alvo de ação desta substância (Souza, T. B. et al., 2020). Embora esse composto não tenha sido mais ativo que o benznidazol, ele representa um potencial candidato para novas modificações estruturais com vistas à otimização do seu potencial tripanocida, para que este possa vir a representar uma nova alternativa para o tratamento da doença de Chagas.

Figura 5: Derivados 1,2,3-triazólicos recentemente sintetizados por nosso grupo de pesquisa



Diante deste contexto, neste trabalho é proposta a síntese de novos análogos estruturais do derivado **XII** (Figura 5), recentemente descoberto por nosso grupo de pesquisa, com vistas à obtenção de novas substâncias mais potentes e menos tóxicas, que possam representar novas alternativas para o tratamento da doença de Chagas. Essas novas substâncias apresentarão variações no núcleo proveniente do dihidroeugenol (conforme estrutura geral apresentada na Figura 6 a seguir), contendo grupos propila, alila, metoxila, nitro (presente nos fármacos disponíveis clinicamente) ou nenhum substituinte.

Figura 6: Estrutura geral dos novos derivados 1,2,3-triazólicos propostos



3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Síntese, caracterização química e a avaliação das atividades tripanocida e citotóxica de novos derivados 1,2,3-triazólicos análogos do protótipo XII.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar, purificar e caracterizar a estrutura química de novos derivados 1,2,3-triazólicos derivados do dihidroeugenol, eugenol, fenol e nitrofenol, análogos do protótipo **XII**, recentemente descoberto por nosso grupo de pesquisa;
- Avaliar a atividade tripanocida *in vitro* das substâncias sintetizadas, em parceria com o Prof. Dr. Ivo Santana Caldas, da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).
- Estabelecer relações entre a estrutura química e a atividade tripanocida das substâncias sintetizadas;
- Avaliar a citotoxicidade das substâncias em células saudáveis e determinar o índice de seletividade das substâncias ativas, em parceria com o Prof. Dr. Ivo Santana Caldas, da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Procedimentos gerais

As reações químicas foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (CCD), contendo sílica gel 60 G sobre lâmina de vidro, tendo a camada de sílica, uma

espessura de 0,25 mm e, como reveladores, foram utilizados vapores de iodo, solução aquosa ácida de molibdato cérico de amônio (CAM; 15%) e luz ultravioleta, quando necessário.

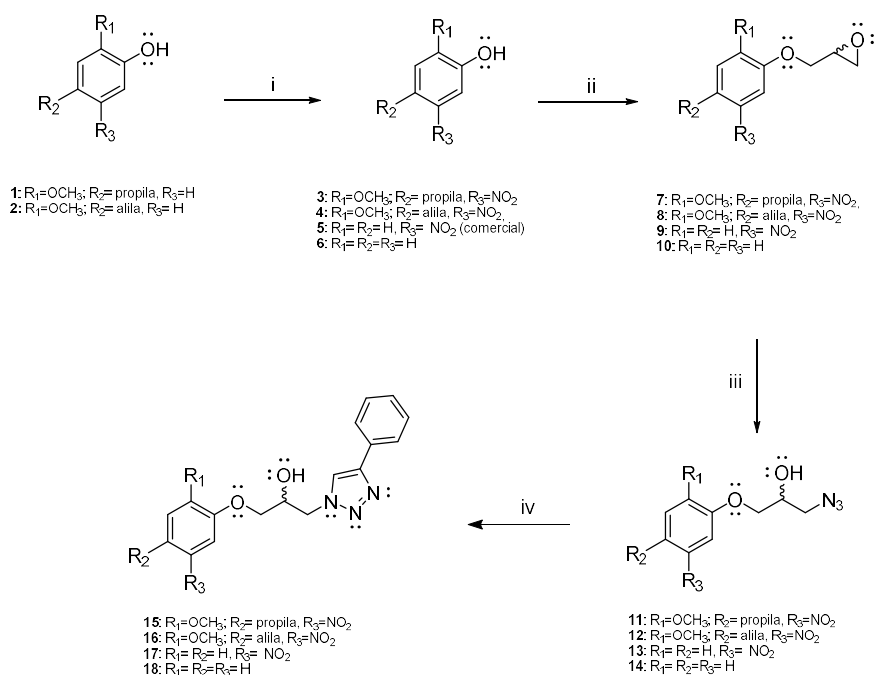
As substâncias sintetizadas foram purificadas por cromatografia em camada de sílica (CCS), quando necessário, utilizando-se sílica gel 60, e posteriormente foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização de Moléculas (LMCM) da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP-MG), obtidas em espectrômetro Bruker AC-400 MHz. Foi utilizado como padrão interno o tetrametilsilano (TMS) e como solventes clorofórmio deuterado (CDCl_3), e os sinais descritos em deslocamento químico (δ , ppm). Os valores dos deslocamentos químicos (δ) foram descritos em ppm relativamente aos sinais de ^1H e ^{13}C e os valores de constante de acoplamento (J), em Hz.

4.2 Síntese das substâncias propostas

A síntese das substâncias propostas foi realizada no Laboratório de Química Medicinal e Bioensaios da UFOP-MG, conforme a rota sintética apresentada na Figura 7 a seguir. Foram empregadas técnicas clássicas de química orgânica ou adaptações dessas nas etapas de síntese.

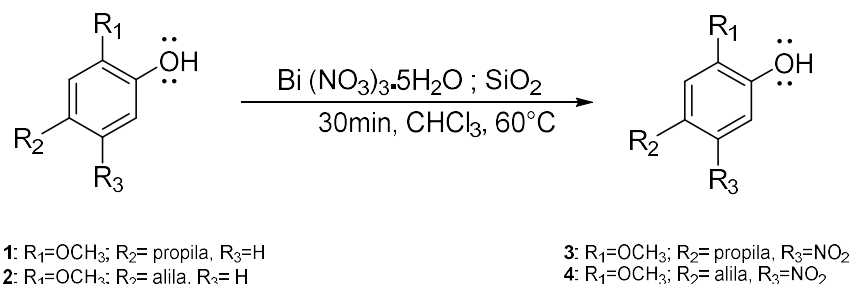
Figura 7: rota sintética para a obtenção dos novos derivados 1,2,3-triazólicos propostos



i: nitrato de bismuto III pentahidratado, sílica gel, clorofórmio, 60°C; ii: epicloridrina, hidróxido de potássio, etanol; 70°C.; iii: azida de sódio, água, acetonitrila, 70°C iv: fenilacetileno, ascorbato de sódio, acetato de cobre, tetrahydrofurano, água, t.a.;

Rota inicialmente proposta, os materiais de partida (1-3) foram levados aos respectivos oxiranos (4-6) a partir de reações com a epicloridrina (JIN et al., 2004). Posteriormente, estes derivados foram convertidos em alquilazidas na presença de azida de sódio e solução aquosa de acetonitrila 10%, originando os derivados 7-9 (CARVALHO et al., 2010). Os alquilfenóis (15-19) foram sintetizados em paralelo, utilizando diferentes fenóis (10-14) e cloreto de propargila, na presença de DMF e carbonato de potássio (HIDALGO et al., 2009). Então, as alquilazidas foram submetidas a reações click com os alquilfenóis sintetizados e sintéticos, gerando os derivados finais (20-37) a partir de uma síntese convergente (FREITAS et al., 2011).

4.2.1 Procedimento geral para a síntese dos derivados nitrados (3) e (4).



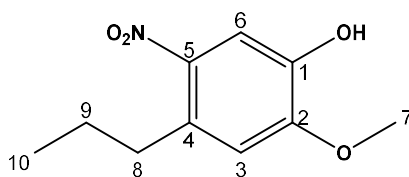
Em um balão de fundo redondo contendo 1 equivalente (eq.) do fenol correspondente (**1** e **2**, Tabela 1) foram adicionados 1 eq. de Bi (NO₃)₃.5H₂O, 8 eq. de sílica gel, e em seguida adicionou-se 30 mL de clorofórmio ao balão de reação. A mistura permaneceu sob agitação magnética em sistema de refluxo, por 30 minutos. Por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) de sílica gel foi possível observar o fim da reação (fase móvel: hexano/acetato de etila (95:5) e revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM)). Em seguida, a mistura reacional foi filtrada à vácuo em papel de filtro, após isso, o mesmo foi lavado com clorofórmio (3 x 20 mL) até que todo o material tenha sido coletado. As frações orgânicas resultantes foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro e em seguida filtradas. Por fim, o solvente foi retirado com o auxílio de um evaporador rotatório, resultando em um óleo marrom escuro referente aos derivados **3** e **4**. O produto **4** foi purificado por coluna cromatográfica de sílica, utilizando como fase móvel uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 95:5 v/v, levando a obtenção de 0,41 g do produto puro (36%). A purificação do produto **3** (57%) não foi necessária, uma vez que o mesmo, apresentou-se puro após análise de CCD.

Tabela 1: Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos derivados **3** e **4**.

Fenol (1 eq)	Bi (NO ₃) ₃ .5H ₂ O (1 eq)	SiO ₂ (8 eq)	Produto obtido (g; rendimento)
1 (1,0g; 6,02 mmol)	2,92 g; 6,02 mmol	2,89 g; 48,16 mmol	3 (0,72 g; 57%)
2 (1,0g; 6,09 mmol)	2,95 g; 6,09 mmol	2,93 g; 48,72 mmol	4 (0,41 g ;36%)

Fonte: Autora, 2022.

4.2.1.1 Dados de caracterização de 2-metoxi-5-nitro-4-propilfenol (3)



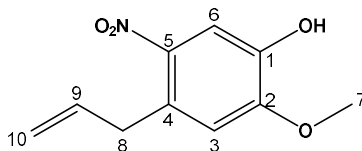
Massa obtida: 720 mg (3,4088 mmol; 57%; óleo marrom escuro)

F.M.: C₁₀H₁₃NO₄ **M.M.:** 211,2170 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,47 (s; 1H; H-6); 6,94 (s; 1H; H-3); 3,91 (s; 3H; H-7); 2,54 (t; 2H; ³J 7,6 Hz; H-8); 1,62 (sext; 2H; ³J 7,5 Hz; H-9); 0,92 (t; 3H; ³J 7,3 Hz; H-10).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 149,8 (1C; C-2); 144,8 (1C; C-5); 135,9 (1C; C-9); 133,6 (1C; C-1); 131,2 (1C; C-4); 118,5 (1C; C-3); 117,2 (1C; C-10); 115,1 (1C; C-6); 56,7 (1C; C-7); 39,4 (1C; C-8).

4.2.1.2 Dados de caracterização de 4-alil-2-metoxi-5-nitrofenol (4)



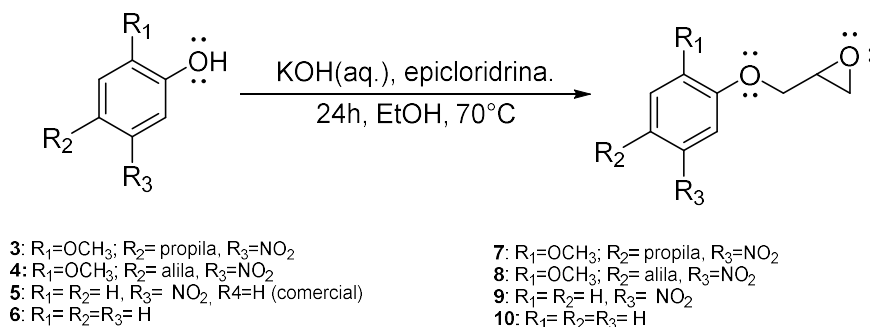
Massa obtida: 410 mg (1,9598 mmol; 37%; óleo marrom escuro)

F.M.: C₁₀H₁₁NO₄ **M.M.:** 209,2010 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,49 (d; 1H; ⁵J 1,1 Hz; H-6); 6,94 (d; 1H; ⁵J 1,1 Hz; H-3); 5,94 – 5,84 (m; 1H; H-9); 5,13 – 5,07 (m; 2H; H-10); 3,91 (s; 3H; H-7); 3,33 (d; 2H; ³J 6,7 Hz; H-8).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 149,8 (1C; C-2); 144,9 (1C; C-5); 135,9 (1C; C-9); 133,6 (1C; C-1); 131,2 (1C; C-4); 118,5 (1C; C-3); 117,2 (1C; C-10); 115,1 (1C; C-6); 56,7 (1C; C-7); 39,4 (1C; C-8).

4.2.2 Procedimento geral para a síntese dos oxiranos (7-10) derivados do nitrodihidroeugenol (3), nitroeugenol (4), 3-nitrofenol (5) e fenol (6)



Em um balão de fundo redondo contendo 1 eq. do fenol correspondente (3 - 6, Tabela 2) foram adicionados 1,05 eq. de KOH solubilizados em 5 ml de água destilada, a mistura permaneceu sob agitação magnética por 5 minutos à 70°C, em seguida verteu-se 15 mL de etanol ao balão de reação. Após 15 min, 6 eq. de epichloridrina foram adicionados a mistura reacional. A mistura permaneceu sob agitação por 24h, sob refluxo, quando, por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) de sílica gel foi possível observar o fim da reação (fase móvel: hexano/acetato de etila (9:1) e revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM). Em seguida o balão contendo a mistura reacional foi levado ao evaporador rotatório para a remoção do etanol. Após isso, adicionou-se 20 ml de água ao resíduo obtido, e esta mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). As frações orgânicas resultantes foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro, que foi removido por filtração. Por fim, o solvente foi retirado com o auxílio de um evaporador rotatório, resultando em produtos oleosos referentes aos derivados 7-10. Os produtos foram purificados por coluna cromatográfica de sílica, utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 93:7 v/v, levando a obtenção dos derivados 7 - 10, todos com aspecto oleoso de coloração amarelo/marrom claro, com rendimentos variando de 42-72%.

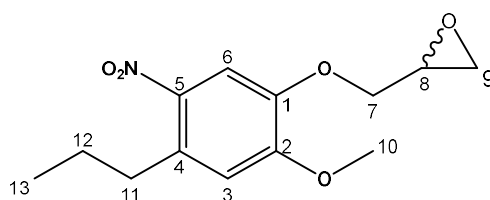
Tabela 2: Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos derivados 7 - 10.

Fenol (1 eq)	KOH (1,05 eq)	Epichloridrina (6 eq)	Produto obtido (g; rendimento)
3 (0,70g; 3,33 mmol)	0,196 g; 3,497 mmol	1,849 g; 19,98 mmol	7 (0,37 g; 42%)

4 (0,38g; 1,82 mmol)	0,107 g; 1,911 mmol	1,009 g; 10,92 mmol	8 (0,35 g ;72%)
5 (0,50g; 3,59 mmol)	0,212 g; 3,769 mmol	1,995 g; 21,54 mmol	9 (0,33 g; 46%)
6 (1,0g; 10,62 mmol)	0,626 g; 11,151 mmol	5,895 g; 63,72 mmol	10 (0,73 g; 46%)

Fonte: Autora, 2022.

4.2.2.1 Dados de caracterização 2-((2-metoxi-5-nitro-4-propilfenoxi) metil) oxirano (7)



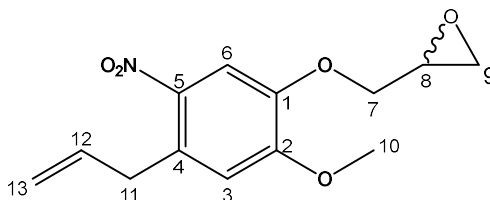
Massa obtida: 370 mg (1,3843 mmol; 42%; óleo amarelo/marrom claro)

F.M.: C₁₃H₁₇NO₅ **M.M.:** 267,2810 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,14 (s; 1H; H-6); 6,89 (s; 1H; H-3); 4,23(dd; 1H; ²J 10,8 Hz ³J 3,8 Hz; H-7); 4,23 (dd; 1H; ²J 10,8 Hz; ³J 5,7 Hz; H-7'); 3,87 (s; 3H; H-10); 3,38 (sl; 1H; H-9); 2,85 (t; 1H; ³J 4,5 Hz; H-8); 2,68 (sl; 1H; H-9); 2,57 (t; 2H; ³J 7,6 Hz; H-11); 1,65 – 1,60 (m; 2H; H-12); 2,85 (t; 3H; ³J 7,4 Hz; H-13).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 153,6 (1C; C-2); 144,5 (1C; C-1); 139,4 (1C; C-5); 139,3 (1C; C-4); 116,4 (1C; C-6); 115,5 (1C; C-3); 74,9 (1C; C-7); 56,4 (1C; C-10); 50,1 (1C; C-8); 44,7 (1C; C-9); 37,6 (1C; C-11); 24,2 (1C; C-12); 13,6 (1C; C-13).

4.2.2.2 Dados de caracterização 2-((4-alil-2-metoxi-5-nitrofenoxi) metil) oxirano (8)



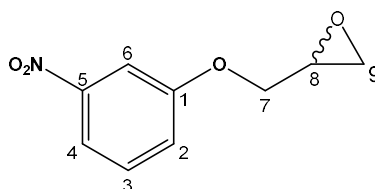
Massa obtida: 350 mg (1,3194 mmol; 72%; óleo amarelo/marrom claro)

F.M.: C₁₃H₁₅NO₅ **M.M.:** 265,2650 g/mol

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz): δ 7,15 (d; 1H; 5J 1,7 Hz; H-6); 6,90 (d; 1H; 5J 1,8 Hz; H-3); 5,94 – 5,84 (m; 1H; H-12); 5,14 – 5,08 (m; 2H; H-13); 4,23 (dd; 1H; 2J 10,7 Hz 3J 3,8 Hz; H-7); 4,14 (dd; 1H; 2J 10,7 Hz 3J 5,8 Hz; H-7'); 3,81 (s; 1H; H-10); 3,40 – 3,35 (m; 3H; H-9 e H-13); 2,84 (t; 1H; 3J 4,6 Hz; H-8); 2,67 (dd; 1H; 2J 4,9 Hz 3J 2,6 Hz; H-9').

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 100 MHz): δ 153,7 (1C; C-2); 144,6 (1C; C-1); 139,7 (1C; C-5); 136,7 (1C; C-4); 135,6 (1C; C-12); 117,4 (1C; C-13); 116,4 (1C; C-6); 115,7 (1C; C-3); 75,0 (1C; C-7); 56,4 (1C; C-10); 50,1 (1C; C-8); 44,7 (1C; C-9); 39,6 (1C; C-11).

4.2.2.3 Dados de caracterização 2-((3-nitrofenoxi) metoxi) oxiranos (9)



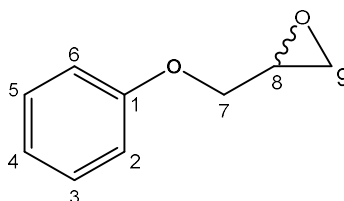
Massa obtida: 325 mg (1,6662 mmol; 46%; óleo amarelo/marrom claro)

F.M.: $\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_4$ **M.M.:** 195,0532 g/mol

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz): δ 7,34 (d; 1H; 3J 8,0 Hz; H-4); 6,95 (t; 1H; 3J 8,2 Hz; H-3); 6,74 – 6,72 (m; 2H; H-6 e H-2); 3,75 (quint; 1H; H-8); 3,65 (d; 2H; 3J 5,3 Hz; H-9); 3,29 (dd; 1H; 2J 11,4 Hz 3J 5,2; H-7); 3,24 (dd; 1H; 2J 11,4 Hz 3J 5,6; H-7').

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 100 MHz): δ 158,7 (1C; C-1); 149,2 (1C; C-5); 130,2 (1C; C-3); 121,5 (1C; C-4); 116,5 (1C; C-2); 109,0 (1C; C-6); 69,6 (1C; C-8); 69,1 (1C; C-7); 45,8 (1C; C-9).

4.2.2.4 Dados de caracterização 2-(fenoximetil) oxirano (10)



Massa obtida: 731 mg (4,8676mmol; 46%; óleo amarelo/marrom claro)

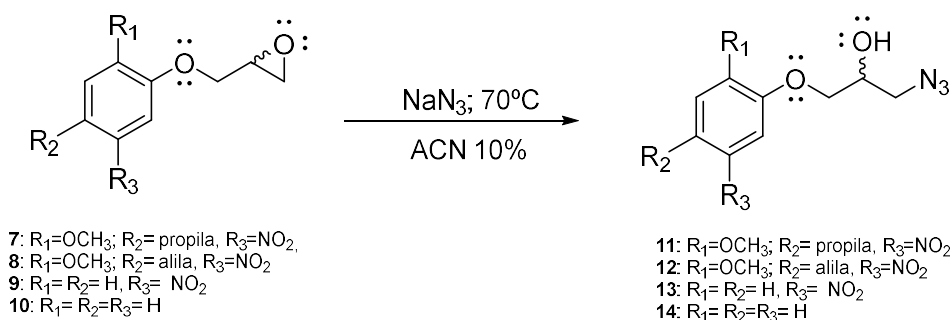
F.M.: C₉H₁₀O₂

M.M.: 150,1770 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,30 – 7,25 (m; 2H; H-5 e H-3); 6,97 – 6,89 (m; 3H; H-6, H-4 e H-2); 4,20 (dd; 1H; ²J 11,0 Hz ³J 3,2 Hz; H-7); 3,94 (dd; 1H; ²J 11,0 Hz ³J 5,7 Hz; H-7'); 3,37 – 3,33 (m; 1H; H-8); 2,90 (t; 1H; ³J 4,6 Hz; H-9); 2,75 (dd; 1H; ²J 4,9 Hz ³J 2,7 Hz; H-9').

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 158,4 (1C; C-1); 129,5 (2C; C-5 e C-3); 121,2 (1C; C-6); 114,6 (2C; C-6 e C-2); 68,6 (1C; C-7); 50,2 (1C; C-8); 44,8 (1C; C-9).

4.2.3 Procedimento geral para a obtenção das alquilazidas 11-14.



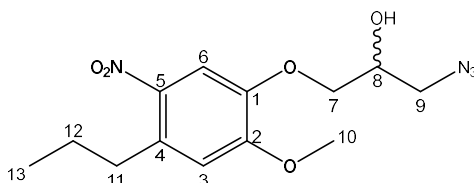
Em um balão de fundo redondo contendo 1 eq. do epóxido correspondente (7 – 10, Tabela 3), foram adicionados 5 eq. de NaN₃, em seguida adicionou-se 6,0 mL de solução aquosa de acetonitrila 10% (v/v). A mistura permaneceu sob agitação magnética à 70°C por 2,5 h quando, por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) de sílica gel, foi possível observar o fim da reação (fase móvel: hexano/acetato de etila (7:3) e revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM). Em seguida foram adicionados 20 mL de água gelada à mistura, que foi extraída com acetato de etila (4 x 25 mL). As frações orgânicas resultantes foram reunidas e secas com sulfato de sódio anidro, que em seguida foi removido por filtração. Por fim, o solvente foi retirado com o auxílio de um evaporador rotatório, resultando nos derivados **11-14**, todos com coloração amarelo-escuro. Os produtos foram purificados por coluna cromatográfica de sílica, utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 92:8 v/v, levando à obtenção dos derivados **11 - 14**, com rendimentos variando de 69- 82%. A purificação do produto **13** (74%) não foi necessária, uma vez que o mesmo se mostrou puro após análise de CCD.

Tabela 3: Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos derivados **11** - **14**.

Oxirano (1 eq)	NaN (5 eq)	Produto obtido (g; rendimento)
7 (0,35g; 1,30 mmol)	0,42 g; 6,50 mmol	11 (0,23 g; 73%)
8 (0,32g; 1,20 mmol)	0,39 g; 6,00 mmol	12 (0,16 g ;69%)
9 (0,31g; 1,61 mmol)	0,52 g; 8,05 mmol	13 (0,28 g; 74%)
10 (0,50g; 3,33 mmol)	1,08 g; 16,65 mmol	14 (0,53 g; 82%)

Fonte: Autora, 2022.

4.2.3.1 Dados de caracterização de 1-azido-3-(2-metoxi-5-nitro-4-fenilfenoxi)propan-2-ol (**11**).



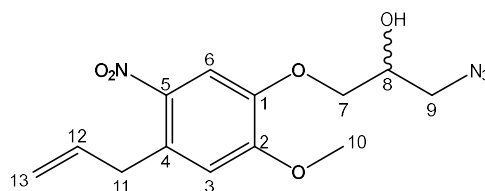
Massa obtida: 231 mg (0,7444mmol; 73%; óleo amarelo escuro)

F.M.: C₁₃H₁₈N₄O₅ **M.M.:** 310,3100 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,24 (s; 1H; H-6); 6,96 (s; 1H; H-3); 4,29 (dd; 1H; ²J 9,3 Hz ³J 2,5 Hz; H-7); 4,1-20 – 4,12 (m; 2H; H-8 e H-7'); 3,94 (s; 3H; H-10); 3,53 (dd; 1H; ²J 12,7 Hz ³J 4,5 Hz; H-9); 3,47 (dd; 1H; ²J 12,8 Hz ³J 5,7 Hz; H-9'); 2,62 (t; 2H; ³J 7,7 Hz; H-11); 1,71 (sext; 2H; ³J 7,6 Hz; H-12); 0,97 (t; 3H; ³J 7,3 Hz; H-13).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 153,2 (1C; C-2); 147,2 (1C; C-1); 139,5 (2C; C-5 e C-4); 116,7 (1C; C-6); 116,0 (1C; C-3); 76,2 (1C; C-7); 69,9 (1C; C-8); 56,5 (1C; C-10); 52,9 (1C; C-9); 37,6 (1C; C-11); 24,2 (1C; C-12); 13,6 (1C; C-13).

4.2.3.2 Dados de caracterização 1-(4-alil-2-metoxi-5-nitrofenoxi) -3-azidopropan-2-ol (**12**).



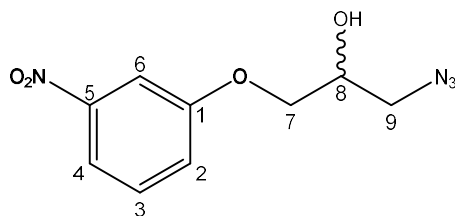
Massa obtida: 160 mg (0,5190 mmol; 69%; óleo amarelo escuro)

F.M.: C₁₃H₁₆N₄O₅ **M.M.:** 308,2940 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,22 (d; 1H; ⁵J 1,9 Hz; H-6); 6,94 (d; 1H; ⁵J 1,9 Hz; H-3); 5,95 – 5,85 (m; 1H; H-12); 5,16 – 5,09 (m; 2H; H-13); 4,25 (dd; 1H; ²J 9,5 Hz ³J 3,0 Hz; H-7); 4,17 – 4,08 (m; 2H; H-8 e H-7'); 3,90 (s; 3H; H-10); 3,49 (dd; 1H; ²J 12,6 Hz ³J 4,6 Hz; H-9); 3,43 (dd; 1H; ²J 12,7 Hz ³J 5,8 Hz; H-9'); 3,37 (d; 2H; ³J 6,7 Hz; H-11).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 153,3 (1C; C-2); 144,0 (1C; C-1); 139,8 (1C; C-5); 136,8 (1C; C-6); 135,5 (1C; C-12); 117,5 (1C; C-13); 116,7 (1C; C-6); 116,2 (1C; C-3); 76,2 (1C; C-7); 69,8 (1C; C-8); 56,5 (1C; C-10); 52,9 (1C; C-9); 39,6 (1C; C-11).

4.2.3.3 Dados de caracterização 1-azido-3-(3-nitrofenoxi) propan-2-ol (13).



Massa obtida: 282 mg (1,1839 mmol; 74%; óleo amarelo escuro)

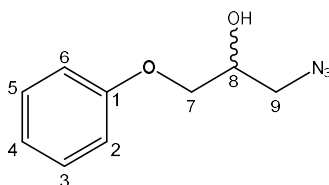
F.M.: C₉H₁₀N₄O₄ **M.M.:** 238,2030 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,86 (d; 1H; ³J 8,1 Hz; H-2); 7,75 (s; 1H; H-6); 7,45 (t; 1H; ³J 8,0 Hz; H-3); 7,25 (d; 1H; ³J 6,4 Hz; H-4); 4,24 – 4,19 (m; 1H; H-8); 4,10 (d;

1H; 3J 5,2 Hz; H-7); 3,59 (dd; 1H; 2J 12,6 3J 4,6 Hz; H-9); 3,54 (dd; 1H; 2J 12,6 Hz; 3J 8,1 Hz; H-9').

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 100 MHz): δ 158,7 (1C; C-1); 149,2 (1C; C-5); 130,2 (1C; C-3); 121,5 (1C; C-4); 116,51 (1C; C-6); 108,9 (1C; C-2); 69,6 (1C; C-7); 69,0 (1C; C-8); 53,2 (1C; C-9).

4.2.3.4 Dados de caracterização 1-azido-3-fenoxipropan-2-ol (14).



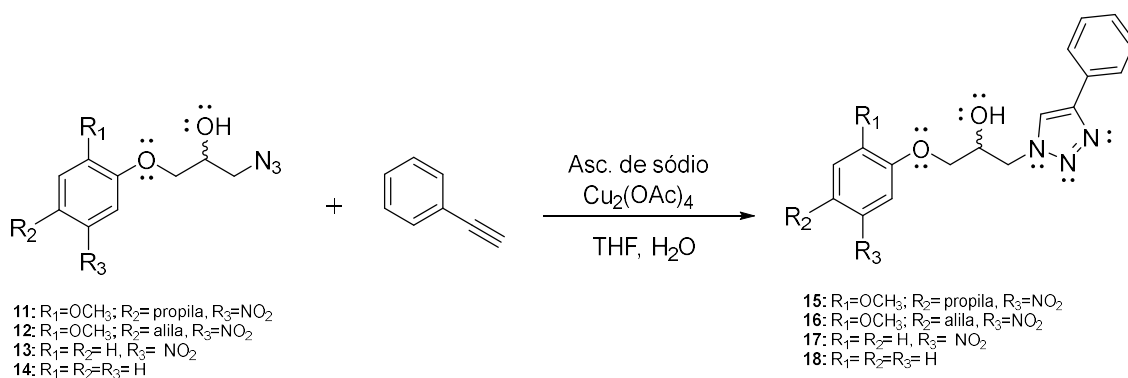
Massa obtida: 527 mg (2,7277 mmol; 82%; óleo amarelo escuro)

F.M.: $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2$ **M.M.:** 193,2060 g/mol

RMN de ^1H (CDCl_3 ; 400 MHz): δ 7,31 – 7,26 (m; 2H; H-5 e H-3); 6,97 (t; 1H; 3J 7,4 Hz; H-4); 6,90 (d; 2H; 3J 8,1 Hz; H-6 e H-2); 4,185 – 4,132 (m; 1H; H-5); 4,00 (s; 1H; H-7); 3,99 (d; 1H; 3J 1,2 Hz; H-7'); 3,54 (dd; 1H; 2J 12,7 3J 4,6 Hz; H-9); 3,49 (dd; 1H; 2J 12,7; 3J 6,1 Hz; H-9').

RMN de ^{13}C (CDCl_3 ; 100 MHz): δ 158,1 (1C; C-1); 129,6 (2C; C-5 e C-3); 121,5 (1C; C-4); 114,5 (2C; C-6 e C-2); 69,3 (1C; C-7); 68,9 (1C; C-8); 53,4 (1C; C-9).

4.2.4 Procedimento geral para a obtenção dos triazóis 15-18.



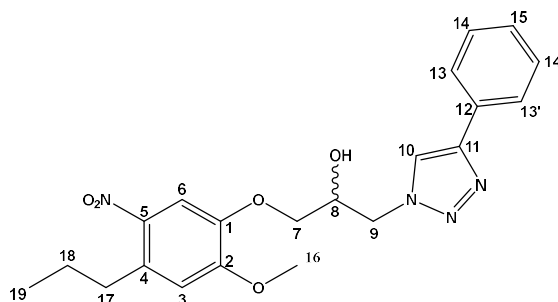
Em um balão de fundo redondo contendo 1 eq. da alquilazida correspondente (**11-14**, Tabela 4) foram adicionados 1,0 eq. de fenilacetileno, em seguida adicionou-se 1,0 mL de tetrahydrofurano (THF) e 0,5 mL de água destilada ao balão. A mistura permaneceu sob agitação magnética a 25°C. Paralelo a isso, em um vidro de penicilina foi adicionado 0,6 eq. de NaOH, 0,6 eq. de ácido ascórbico e 0,5 mL de água destilada. Após 5 minutos de agitação manual adicionou-se 0,5 eq. de acetato de cobre, e após a mudança de cor, o conteúdo foi rapidamente vertido no balão contendo a alquilazida e o alcino. A reação foi mantida sob agitação magnética por 30 minutos, a 25°C, quando, por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) de sílica gel, foi possível observar o fim da reação (fase móvel: hexano/acetato de etila (6:4) e revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM). Em seguida, foram adicionados 20 mL de água à mistura, que foi extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). As frações orgânicas resultantes foram reunidas e lavadas com solução de ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA) a 2% (m/v), e posteriormente, lavou-se a fase orgânica resultante com água destilada (1x25 mL). Por fim, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi retirado com o auxílio de um evaporador rotatório, resultando nos derivados **15-18**. O produto **17** foi purificado por coluna cromatográfica de sílica, utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 7:3 v/v, levando à obtenção do produto **17** com 70% de rendimento. A purificação dos produtos **15**, **16** e **18** não foi necessária, uma vez que os mesmos se mostraram puros após análises de CCD, com rendimentos variando de 58-98%.

Tabela 4: Quantidades de reagentes utilizados para a síntese dos derivados **15- 18**.

Alquilazida (1 eq)	Fenilacetileno (1 eq)	NaOH (0,6 eq)	Cu₂(OAc)₄ (0,5 eq)	C₆H₈O₆ (0,6 eq)	Produto obtido (g; rendimento)
11 (0,22g; 0,70 mmol)	77 µL; 0,70 mmol	0,0169 g; 0,42 mmol	0,0640 g; 0,35 mmol	0,0742 g; 0,42 mmol	15 (0,242 g; 84%)
12 (0,15g; 0,49 mmol)	54 µL; 0,49 mmol	0,0117 g; 0,29 mmol	0,0442 g; 0,25 mmol	0,0514 g; 0,29 mmol	16 (0,115 g ; 58%)
13 (0,15g; 0,65 mmol)	71 µL; 0,65 mmol	0,0155 g; 21,54 mmol	0,0572 g	0,0683 g	17 (0,207 g; 70%)
14 (0,15g; 0,78 mmol)	85 µL; 0,78 mmol	0,0186 g; 0,47 mmol	0,0705 g; 0,39 mmol	0,0820 g; 0,47 mmol	18 (0,224 g; 98%)

Fonte: Autora, 2022.

4.2.4.1 Dados de caracterização de 1-(2- metoxi-5-nitro-4-propilfenoxi) -3-(4-fenil-1H- 1,2,3- triazol-1-il) propan-2-ol (15)



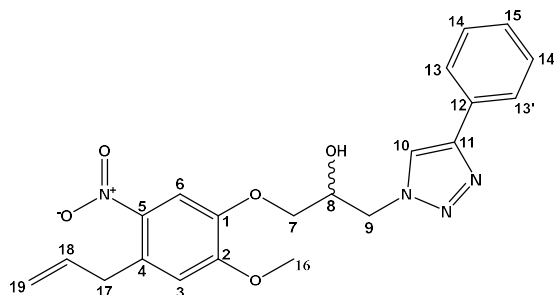
Massa obtida: 242 mg (0,5867 mmol; 84%; sólido amarelo claro)

F.M.: C₂₁H₂₄N₄O₅ **M.M.:** 412,4460 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 8,06 (s; 1H; H-10); 7,86 (d; 2H; ³J 6,3 Hz; H-13 e H-13'); 7,44 (t; 2H; ³J 6,8 Hz; H-14 e H-14'); 7,35 (t; 1H; ³J 7,2 Hz; H-15); 7,28 (s; 1H; H-6); 6,95 (s; 1H; H-3); 4,73 (d; 1H; ²J 13,2 Hz; H-7); 4,65-4,60 (m; 1H; H-7'); 4,45 (s; 1H; H-8); 4,33 (d; 1H; ³J 9,9 Hz; H-9); 4,12 – 4,08 (m; 1H; H-9'); 3,89 (s; 3H; H-16); 2,60 (t; 2H; ³J 7,6 Hz; H-17); 1,69-1,63 (m; 2H; H-18); 0,97 (t; 3H; ³J 7,2 Hz; H-19).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 153,176 (1C; C-2); 143,783 (1C; C-11); 139,657 (1C; C-1); 139,156 (1C; C-5); 128,905 (3C; C-14, C-14' e C-15); 128,330 (3C; C-13, C-13' e C-10); 125,796 (2C; C-4 e C-12); 116,779 (1C; C-6); 116,035 (1C; C-3); 75,226 (1C; C-7); 69,341 (1C; C-8); 56,463 (1C; C-16); 52,627 (1C; C-9); 37,589 (1C; C-17); 24,180 (1C; C-18); 13,642 (1C; 19).

4.2.4.2 Dados de caracterização de 1-(4-alil-2-metoxi-5-nitrofenoxi) -3-(4-fenil-1H- 1,2,3-triazol-1-il) propan-2-ol (16)



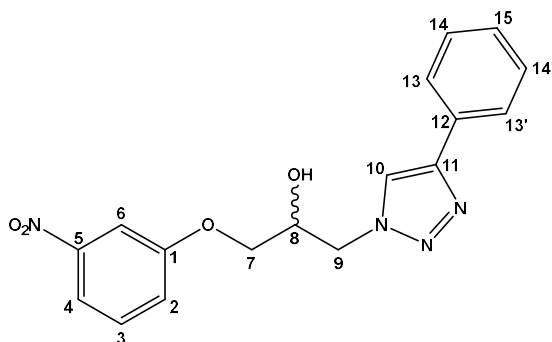
Massa obtida: 115 mg (0,2802 mmol; 58 %; sólido amarelo claro)

F.M.: C₂₁H₂₂N₄O₅ **M.M.:** 410,4300 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 8,01 (s; 1H; H-10); 7,84 (d; 2H; ³J 7,6 Hz; H-13 e H-13'); 7,43 (t; 2H; ³J 7,5 Hz; H-14 e H-14'); 7,33 (t; 1H; ³J 7,2 Hz; H-15); 7,24 (s; 1H; H-6); 6,94 (s; 1H; H-3); 5,96-5,86 (m; 1H; H-18); 5,17-5,11 (m; 2H; H-19); 4,71 (dd; 1H; ²J 14,1 Hz e ³J 3,9 Hz; H-7); 4,60 (dd; 1H; ²J 14,1 Hz e ³J 6,5 Hz; H-7'); 4,31 (dd; 1H; ²J 10,0 Hz e ³J 3,8 Hz; H-9); 4,11 – 4,07 (m; 1H; H-9'); 4,44 (m; 1H; H-8); 3,87 (s; 3H; H-16); 3,72 (d; 1H; ³J 4,8 Hz; OH); 3,39 (d; 2H; ³J 6,6 Hz; H-17).

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 153,3 (1C; C-2); 143,9 (1C; C-11); 139,5 (1C; C-1); 137,0 (1C; C-5); 135,5 (1C; C-18); 132,5 (1C; C-12); 132,1 (1C; C-10); 128,9 (3C; C-14, C-14' e C-15); 128,2 (1C; C-6); 125,7 (2C; C-13 e C-13'); 117,6 (1C; C-19); 116,8 (1C; C-4); 116,2 (1C; C-3); 75,2 (1C; C-7); 69,4 (1C; C-8); 56,5 (1C; C-16); 52,4 (1C; C-9); 39,6 (1C; C-17).

4.2.4.3 Dados de caracterização de 1-(3-nitrofenoxi)-3-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (17)



Massa obtida: 142 mg (0,4172 mmol; 70%; sólido amarelo claro)

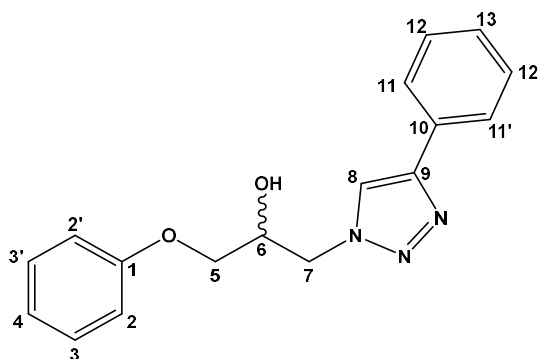
F.M.: C₁₇H₁₆N₄O₄ **M.M.:** 340,3390 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,84 (d; 2H; ³J 5,9 Hz; H-4 e H-8); 7,76 (s; 1H; H-6); 7,60 (d; 2H; ³J 7,2 Hz; H-13 e H-13'); 7,43 (t; 1H; ³J 8,1 Hz; H-3); 7,34 – 7,26 (m; 4H; H-2, H-14, H-14' e H-15); 4,72 (d; 1H; ²J 13,2 Hz; H-7); 4,61 (s; 1H; H-7'); 4,53 (q; 1H; ³J 7,3 Hz; H-8); 4,17 – 4,12 (m; 2H; H-9 e H-9').

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 158,7 (1C; C-1); 149,2 (1C; C-5); 130,2 (1C; C-11); 128,9 (3C; C-3, C-10 e C-12); 128,4 (1C; C-15); 125,6 (2C; C-14 e C-14'); 121,4 (2C;

C-13 e C-13'); 116,5 (2C; C-4 e C-2); 109,2 (1C; C-6); 69,7 (1C; C-7); 68,6 (1C; C-8); 53,4 (1C; C-9).

4.2.4.4 Dados de caracterização de 1-fenoxi-3-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il) propan-2-ol (18)



Massa obtida: 224 mg (0,7584 mmol; 98%; sólido amarelo claro)

F.M.: C₁₇H₁₇N₃O₂ **M.M.:** 295,3420 g/mol

RMN de ¹H (CDCl₃; 400 MHz): δ 7,88 (s; 1H; H-8); 7,68 (d; 2H; ³J 6,7 Hz; H-11); 7,37-7,26 (m; 5H; H-3, H-3', H-12, H-12' e H-13); 6,97 (t; 1H; ³J 7,3 Hz; H-4); 6,90 (d; 2H; ³J 8,2 Hz; H-2 e H-2'); 4,74 (m; 1H; H-6); 4,54 – 4,50 (m; 2H; H-5); 4,06 – 3,99 (m; 2H; H-7 e H-7').

RMN de ¹³C (CDCl₃; 100 MHz): δ 158,1 (1C; C-1); 129,7 (3C; C-8, C-9 e C-10); 128,9 (4C; C-3, C-3', C-12 e C-12'); 128,3 (1C; C-13); 125,6 (2C; C-11 e C-11'); 121,6 (1C; C-4); 114,5 (2C; C-2 e C-2'); 68,8 (2C; C-5 e C-6); 53,4 (1C; C-7).

4.3 Avaliações biológicas

4.3.1 Avaliação do potencial anti-*Trypanosoma cruzi* in vitro

Foi utilizada a cepa Y de *T. cruzi* (DTU II), caracterizada como sendo parcialmente sensível à quimioterapia com benznidazol (FILARDI; BRENER, 1987). As formas epimastigotas foram mantidas a 28 °C em cultura em meio LIT (Liver Infusion Triptose) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). Soluções de reserva (10mg/mL para compostos e benznidazol) foram preparadas em dimetilsulfóxido

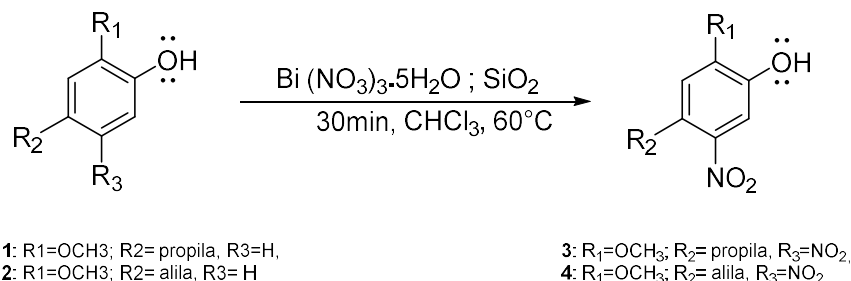
(DMSO). Para análise dos efeitos contra as formas epimastigotas, a concentração máxima foi de 200 µg/mL para cada composto e benznidazol, e um perfil de sete pontos com diluições em série de duas vezes foi utilizado em triplicata. Em seguida, as formas epimastigotas foram adicionadas à placa ($1,5 \times 10^6$ /mL) em um ensaio de 72 horas. A concentração final de DMSO não deve ter efeito deletério no crescimento do parasita. Após a incubação em estufa BOD a 28 °C por 72 horas, a resazurina (1 mM) foi adicionada. Após incubação por 12 horas, as leituras espectrofotométricas foram realizadas a 570 nm e 600 nm. A partir da inibição percentual dos compostos, o valor de CI_{50} foi calculado usando o software Graph Pad Prism 5. Este ensaio foi realizado pelo Prof. Dr. Ivo Santana Caldas, da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

4.3.2 Avaliação da citotoxicidade das substâncias

A linhagem H9c2 (American Type Culture Collection, ATCC: CRL 1446) de cardiomioblastos de ratos neonatais foi cultivada em meio DMEM (suplementado com 10% de SFB, 1% de glutamina 2 mM e 0,2% de gentamicina 200 µg/mL). 1×10^3 células H9c2 foram semeadas e incubadas a 37 °C, CO₂ a 5% por 24 horas. O meio de cultura foi substituído para análise dos efeitos tóxicos. A concentração máxima foi de 200 µg/mL para cada composto e benznidazol, e um perfil de sete pontos com diluições em série 2 vezes foi utilizado em triplicata por 72 horas. Após a incubação, a resazurina (1 mM) foi adicionada e a leitura espectrofotométrica foi realizada a 570 nm e 600 nm após 12 horas. A partir da porcentagem de inibição dos compostos, o CC_{50} foi calculado utilizando o Graph Pad Prism 5. Este ensaio foi realizado pelo Prof. Dr. Ivo Santana Caldas, da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese dos derivados nitrados 3 e 4



Para a síntese dos derivados nitrados **3** e **4**, a metodologia utilizada foi proposta no trabalho de Canales, Bandyopadhyay e Banik (2011). O mecanismo (Figura 8) de reação trata-se de uma Substituição Eletrofílica Aromática (SEA), na qual os grupos silanóis (Si-OH), que compõem a estrutura da sílica gel (SiO_2), reagem com o nitrato de bismuto penta-hidratado ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), levando a formação da espécie eletrofílica da reação, o íon nitrônio (NO_2^+). A ligação $\pi \text{C}=\text{C}$ do anel aromático do dihidroeugenol (**1**) ou eugenol (**2**) propicia o ataque nucleofílico ao íon nitrônio, em decorrência da alta reatividade do mesmo, ocorrendo, então, a perda da aromaticidade e formação do íon arênio, sendo este estabilizado pelo sistema de ressonância do anel. Por último, uma base de Lewis, possivelmente a água formada durante a reação, age captando um próton do íon arênio, de modo a reestabelecer a aromaticidade, formando os derivados nitrados **3** e **4**, obtidos a partir do dihidroeugenol e eugenol, respectivamente (BADGUJAR et al., 2008; CANALES et al., 2011; HUGHES et al., 1950; SHI et al., 2003). Os derivados **3** e **4** foram obtidos na forma de produtos oleosos marrom escuro, com rendimentos de 57% (0,72 g) e 88 % (1,12 g), respectivamente.

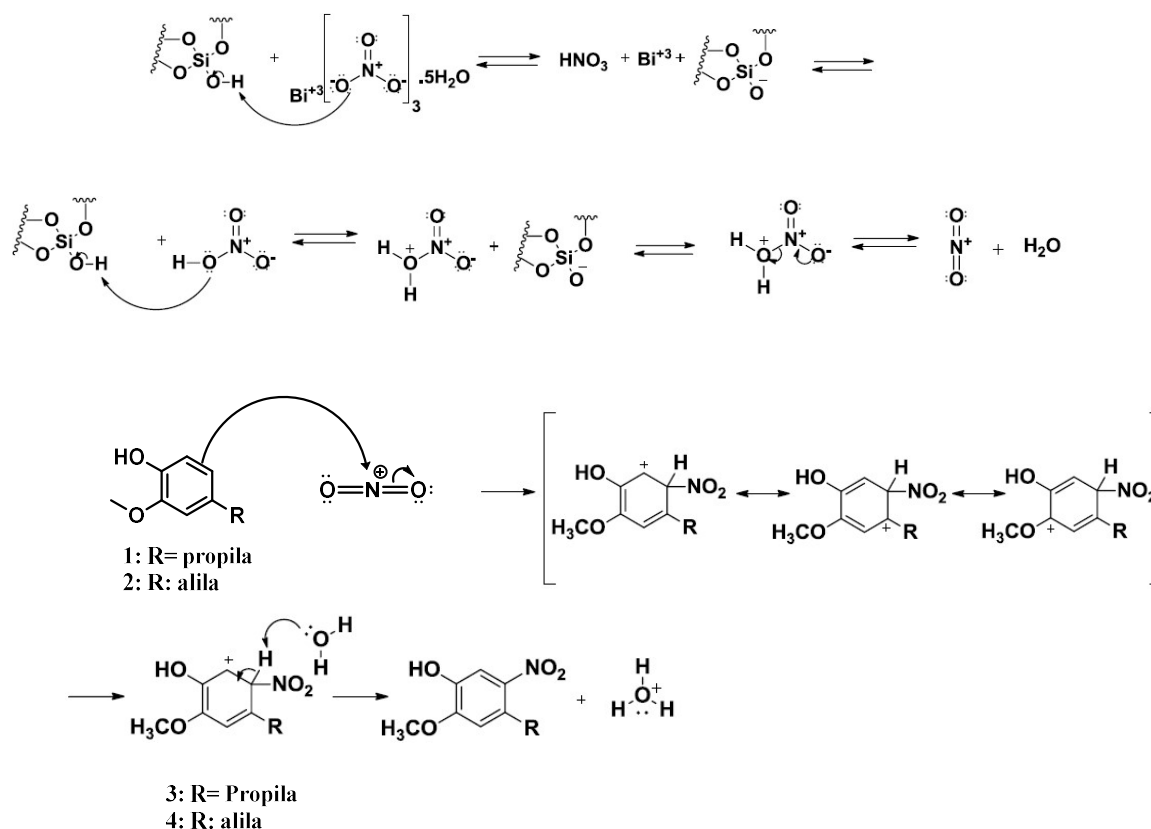


Figura 8: Proposta de mecanismo para formação dos derivados nitrados **3** e **4**.

Dentre os agentes de nitração o nitrato de bismuto penta-hidratado é considerado mais eficiente. Quando usado em sistema de refluxo em aquecimento, leva à formação de produtos meta nitrados.

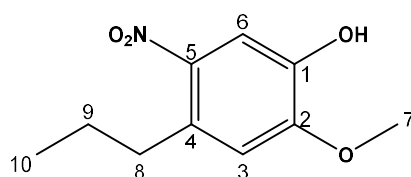
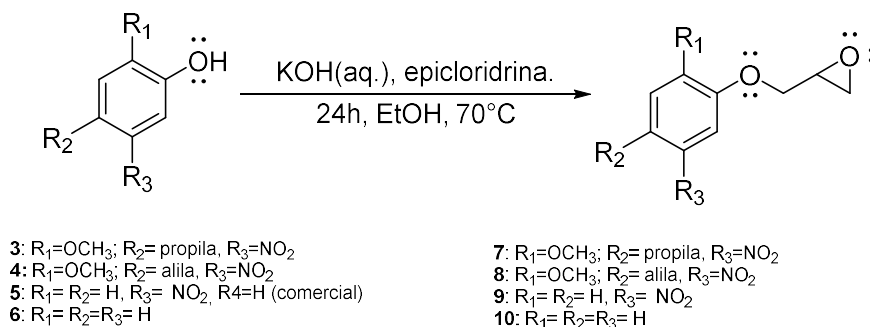


Figura 9: Estrutura do 2-metoxi-5-nitro-4-propilfenol

Nos espectros de RMN de ^1H das substâncias **3** e **4** foi possível observar dois sinais de hidrogênios aromáticos na região entre 7,47-6,94 ppm, em que H-6 e H-3 (Figura **8**) foram registrados como simpletos. A ausência de acoplamento entre estes dois hidrogênios se deve ao fato destes se encontrarem em posição *para*, condizente com a nitração na posição meta em relação à hidroxila, em C-5. Ao avaliar os espectros de ^{13}C , nota-se que há seis sinais de carbonos aromáticos, ao passo que quando comparados com

o subespectro DEPT-135, verifica-se que há a presença de apenas dois carbonos hidrogenados aromáticos, o que comprova, mais uma vez, a nitração do anel.

5.2 Síntese dos derivados oxiranos 7-10.



Os derivados oxiranos **7-10** foram obtidos em um meio básico contendo os íons fenóxido (gerados a partir da desprotonação dos fenóis correspondentes) e a epicloridrina (RAMÍREZ-VILLALVA et al., 2015). A presença de um núcleo óxido de etileno ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) em uma molécula confere a ela algumas vantagens sintéticas, isso porque concede à estrutura sítios reativos eletrofílicos, que pode ser atacada por diferentes nucleófilos, bem como um centro nucleofílico representado pelo álcool secundário formado após a abertura do anel. Para esta reação, os fenóis precisam estar desprotonados para que então ocorra a adição da epicloridrina, uma vez que ânions hidróxidos provenientes do hidróxido de potássio poderiam proporcionar ataques nucleofílicos à epicloridrina, reduzindo assim o rendimento da reação.

O mecanismo da reação (**Figura 10**) trata-se de uma substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_\text{N}2$), em que o íon fenóxido ataca o carbono eletrofílico ligado diretamente ao oxigênio do anel, em detrimento ao carbono ligado ao haleto. O ataque ocorre seletivamente nesta posição uma vez que devido a tensão do anel e ao efeito indutivo retirador de densidade eletrônica feita pelo átomo de oxigênio, esse carbono encontra-se mais reativo, sendo assim mais propenso ao ataque nucleofílico. Contudo, nota-se que há dois carbonos do anel ligados ao oxigênio, o ataque ocorrerá naquele menos impedido estericamente, devido as condições do meio. Posteriormente, a ligação carbono-oxigênio é rompida, deixando então o oxigênio com uma carga negativa (região nucleofílica), que em seguida, promove um ataque intramolecular ao carbono eletrofílico ligado ao halogênio. Sendo assim, com a saída do cloro, o anel de três membros do epóxido é restaurado. (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012). Os derivados **7-10**, obtidos na

forma de produtos oleosos com coloração marrom foram purificados por cromatografia em coluna de sílica, forneceram massas com rendimentos de 42% (0,37 g), 72% (0,35 g), 46% (0,33g), 46% (0,73g), respectivamente.

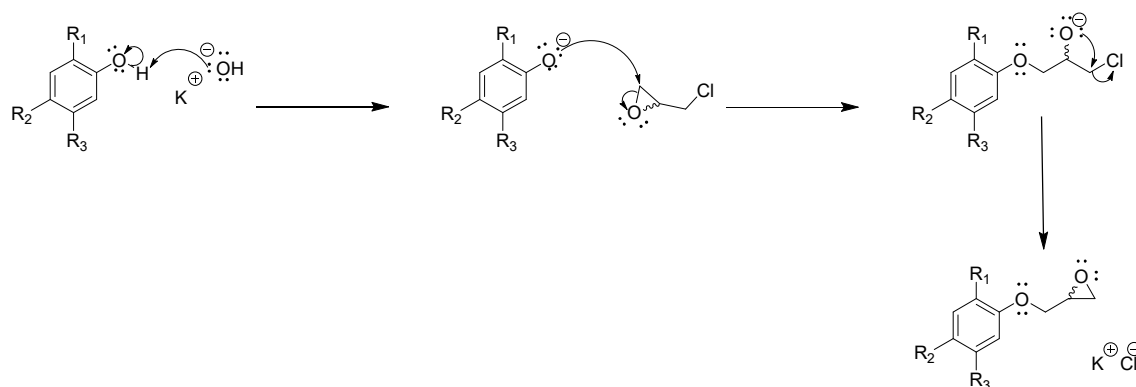


Figura 10: Proposta de mecanismo para formação dos derivados oxiranos **7-10**.

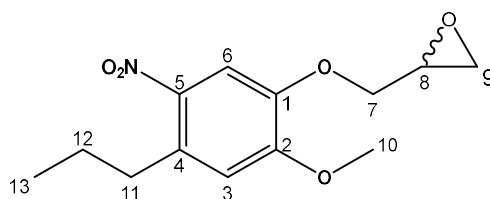
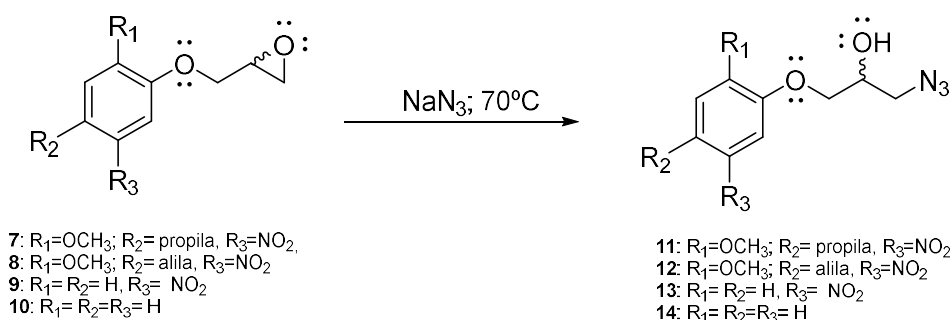


Figura 11: Estrutura do 2-((2-metoxi-5-nitro-4-propilfenoxi) metil) oxirano (**7**)

Em todos os espectros de RMN de ^1H das substâncias **7-10** foram observados sinais referentes aos hidrogênios aromáticos, registrados entre 7,88-6,89 ppm. Foram observados também, dois dupletos duplos entre 4,22-4,14 e 4,24-4,13 ppm, referentes aos hidrogênios diastereotópicos H-7 e H-7' em **7** e **8** respectivamente. Esse comportamento diastereotópico pode ser observado devido a diferença entre hidrogênios geminais H-7, apresentando, assim, deslocamentos químicos diferentes. Este efeito ocorre em substâncias contendo um centro estereogênico (C-8) ou em moléculas pró-quirais (LAVORATO et al., 2015; PAVIA et al., 2015).

5.3 Síntese das alquilazidas 11-14



As alquilazidas **11-14** foram obtidas a partir dos precursores oxiranos **7-10**, o mecanismo de reação (Figura 12) trata-se, também, de uma substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) entre os epóxidos obtidos com azida de sódio (NaN_3), em solução aquosa de acetonitrila 10% (v/v) (CARVALHO et al., 2010). Primeiramente, o carbono eletrofílico menos impedido estericamente do epóxido sofre um ataque do nucleofílico do nitrogênio da azida de sódio, rompendo a ligação σ C-O, e o alcoóxido formado é neutralizado após captar um hidrogênio da molécula de água presente no meio.

As alquilazidas **11-14** foram obtidos na forma de produtos oleosos com coloração amarela, e foram purificadas por cromatografia em coluna de sílica, fornecendo massas correspondentes a rendimentos de 73% (0,23 g para **11**), 69% (0,16 g para **12**), 82% (0,53g para **14**). A purificação do produto **13** (74%; 0,28g) não foi necessária.

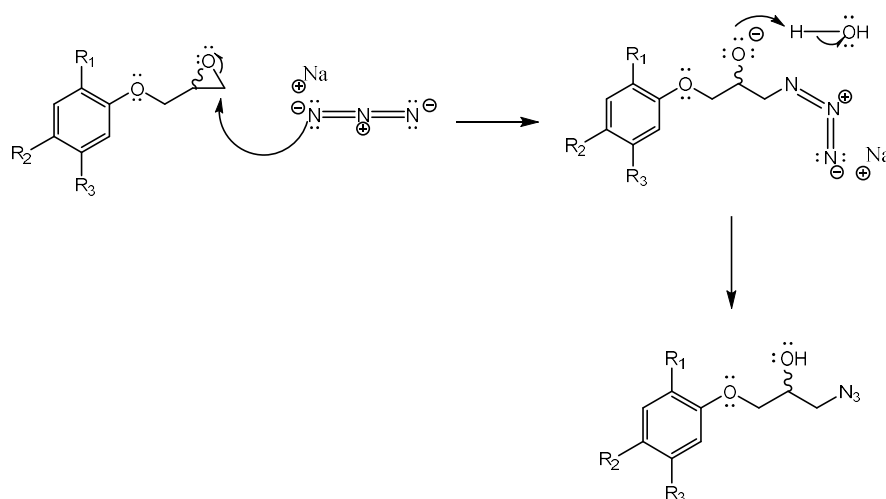


Figura 12: Proposta de mecanismo para formação alquilazidas **11-14**.

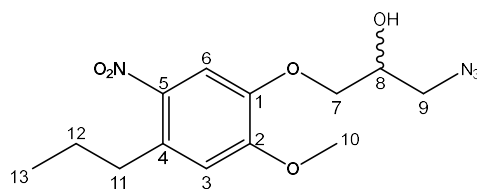
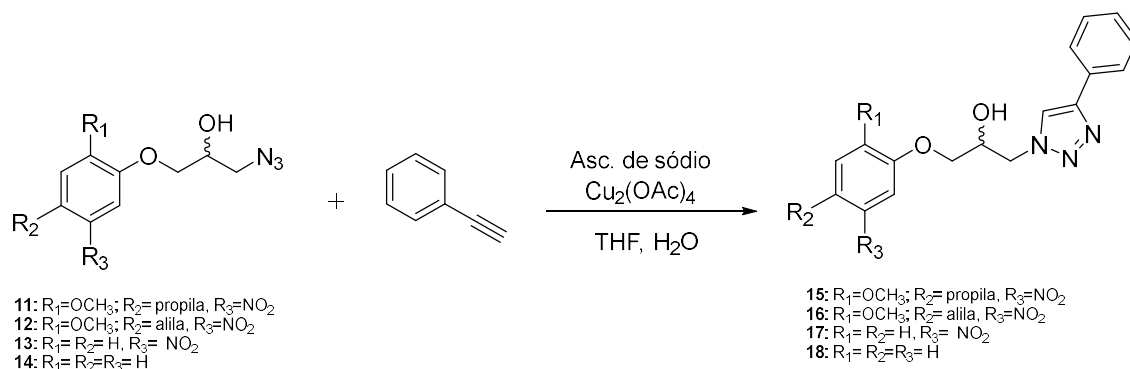


Figura 13: Estrutura do 1-azido-3-(2-metoxi-5-nitro-4-fenilfenoxi) propan-2-ol (**11**)

Nos espectros de RMN de ^1H das substâncias **11-14** observou-se os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos entre 7,23- 6,96 ppm. Já em relação aos hidrogênios diastereotópicos C-7 e C-9, foram observados entre e nos espectros de RMN de ^1H foram observados entre 4,285- 3,990 para C-7 e 3,593 -3,428 para C-9; já no espectro de ^{13}C constatou-se a presença dos carbonos ligados aos hidrogênios diastereotópicos C-7 e C-9 entre 76,2-69,3 e 53,2-53,4, respectivamente. Com auxílio do subespectro DEPT-135 as atribuições foram confirmadas, e as alterações observadas tanto nos espectros de RMN ^1H quanto nos de ^{13}C , em relação aos espectros de seus precursores, confirmaram a formação das substâncias propostas.

5.4 Síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos 15-18



Os derivados 1,2,3-triazólicos **15-18** foram obtidos via reação *click* (uma reação de cicloadição), na qual as alquilazidas correspondentes (**11-14**) reagem com o alcino, tendo como catalizador o cobre (I), gerado por meio da reação entre o ascorbato de sódio e acetato de cobre II presentes no meio, conforme mecanismo apresentado na Figura 14 (DE SOUZA et al., 2015; DEOBALD et al., 2011; FREITAS et al., 2011).

Primeiramente, o cobre forma um complexo com o carbono terminal do alcino (fenilacetileno, adquirido comercialmente), formando um acetileto do metal. Após isso o nitrogênio nucleofílico da alquilazida ataca o cobre complexado com o alcino, em seguida os elétrons da ligação $\pi \text{C}\equiv\text{C}$ atacam o nitrogênio eletrofílico terminal (mais desimpedido

estericamente) da azida, desfazendo a ligação π $N\equiv N$ e gerando, assim, um intermediário instável que, com a contração do anel, gera o triazolídeo de cobre, que sofre protonólise para a formação do 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído, favorecido pela presença do cobre I. Os triazóis **15-18** foram obtidos na forma de produtos sólidos amarelos, com rendimentos brutos de 84% (0,24 g), 58 % (0,12 g), 94% (0,21g) e 98% (0,22), respectivamente. Apenas o produto **17** necessitou de purificação por coluna cromatográfica de sílica, o que forneceu 0,142 g deste produto puro (70%). A purificação dos demais triazóis não foi necessária, uma vez que estes se mostraram puros após análises de CCD.

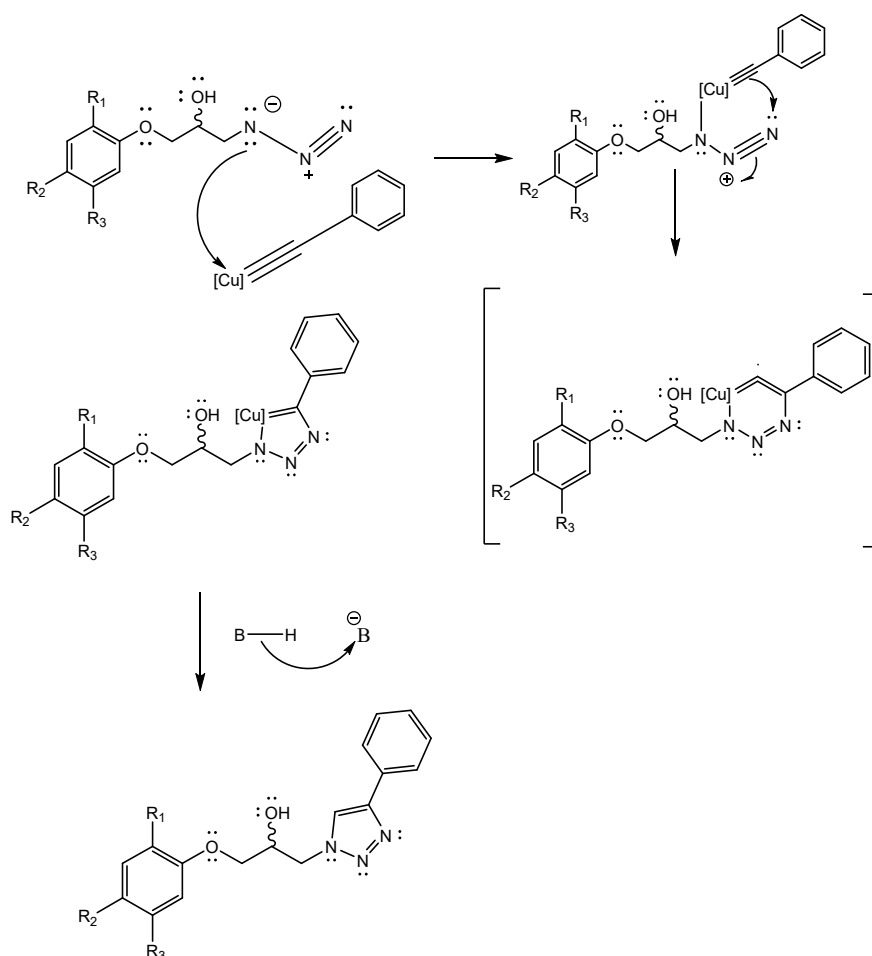


Figura 14: Proposta de mecanismo para formação dos derivados 1,2,3-triazólicos **15-18**

Todas as substâncias sintetizadas foram caracterizadas por ressonância magnética nuclear de 1H e ^{13}C e os espectros estão apresentados no ANEXO 1. Na Figura **15** a seguir é apresentada a estrutura geral dos triazóis contendo seus átomos de carbono enumerados,

a fim de facilitar a compreensão sobre a discussão dos sinais registrados em seus espectros de RMN.

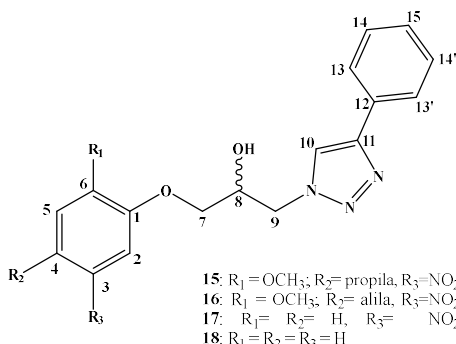


Figura 15: Estrutura química geral dos triazóis obtidos

Em todos os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos derivados 1,2,3-triazólicos **15** – **18** foram identificados os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos como simpletos observados entre 8,05 e 7,84 ppm e aos carbonos do anel triazólico entre 128,3-132,1 ppm para C-10 – triazóis **15** ao **17** e C-8 para o triazol **18**, e 143,8-129,6 ppm para C-11 triazóis **15** ao **17** e C-9 para o triazol **18**, sinalizando a principal evidência que confirma a obtenção dos triazóis propostos. Após análise de todos os espectros de RMN de ^1H foi possível observar que os sinais dos hidrogênios pertencentes aos heterociclos são os mais desblindados dos espectros (simpletos entre 8,05-7,84 ppm para os H-10 - triazóis **15** ao **17**- e H-8 para o triazol **18**). Todos os hidrogênios aromáticos foram observados entre 8,05 e 7,84 ppm nos quatro espectros, com integrais compatíveis com o número de hidrogênios das moléculas.

Os hidrogênios H-7, H-8 e H-9 (H-5, H-6 e H-7 para o derivado **18**) foram encontrados na região entre 4,74 ppm e 3,99 ppm, o H-8 (triazóis **15-17**) H-6 (triazol **18**) está ligado a um carbono quiral, sendo assim e os H-7 (triazóis **15-17**) H-5 (triazol **18**) e H-9(triazóis **15-17**) H-7 (triazol **18**) possuem característica de hidrogênios diastereotópicos.

Os hidrogênios diastereotópicos H-7 dos derivados **15-17** foram registrados como duplete, duplete duplo, duplete em cada espectro, respectivamente, entre 4,73 e 4,71 ppm, com integrais igual a 1. Em relação a constante de acoplamento, foi observado 2J de 13,2 Hz (**15**), 2J de 14,1 Hz e 3J de 3,9 Hz (**16**), e 2J de 13,1 Hz (**17**). O H-7' desses mesmos derivados foram observados como multipletos, duplete duplo e simpleto, respectivamente, com deslocamentos químicos entre 4,64-4,59 ppm, integral igual a 1, e 2J de 14,1 Hz e 3J de 6,5 Hz para o derivado **16**. Já para o derivado **18**, os dois hidrogênios

diastereotópicos H-5 e H-5' foram identificados como multipletos entre 4,53-4,49 ppm, com integral igual a 2.

Os hidrogênios diastereotópicos H-9 dos derivados **15-17** foram observados como duplete, duplo duplete e multiplete, com deslocamento químico variando de 4,32-4,12 ppm, integral igual a 1, com 3J 10,0 Hz (**15**), 2J 10,0 Hz e 3J 3,8 Hz (**16**). Já o H-9', como multiplete nos três espectros, deslocamento químico entre 4,16-4,06 ppm e integral igual a 1. Para o derivado **18**, os dois hidrogênios diastereotópicos H-7 e H-7' foram identificados como multipletos entre 4,06-3,99 ppm, com integral igual a 2.

Os hidrogênios da cadeia propílica do derivado **15** foram observados como triplete de integral 2, próximo de 2,6 ppm para H-17 (3J 7,6 Hz), multiplete de integral 3 na região 1,68-1,63 ppm para H-18 (sinal da hidroxila apareceu na mesma região) e um triplete, integral igual a 3 com de 3J 7,2 Hz. Já os hidrogênios da metoxila foram observados como simpletos de integral 3 próximos de 3,8 ppm. Para o derivado **16** os hidrogênios da cadeia alílica foram encontrados na região de 5,95-5,85 ppm (H-18), multiplete com integral igual a 1, multiplete com integral 2 entre 5,17-5,11 ppm, e duplete com integral 2 próximo de 3,38 ppm e 3J 6,6 Hz. Os hidrogênios da metoxila foram observados como simpletos de integral 3 em 3,86 ppm para este triazol.

No que se refere ao espectro de RMN de ^{13}C destes derivados, foram observados sinais referentes aos carbonos aromáticos entre 158,6-109,1 ppm. Com o auxílio do sub espectro DEPT-135 foi possível observar os sinais de carbonos hidrogenados em fase normal e fase inversa, distinguindo assim os carbonos CH_3 , CH_2 e CH . Para o derivado **15** foi possível verificar os três carbonos do grupo propila na região de 37,5-13,6 ppm, sendo que os carbonos C-17 e C-18 apresentam-se em fase inversa. Os demais carbonos registraram deslocamentos químicos abaixo de 80 ppm. Para o derivado **16**, os carbonos C-17, C-18 e C-19 pertencentes ao grupo alila também foram encontrados em 135,4 (C-18, fase normal), 117,5 (C-19, fase inversa) e 39,6 ppm (C-17, em fase inversa). Os carbonos ligados aos hidrogênios diastereotópicos foram observados em deslocamentos químicos menores que 80 ppm e em fase inversa, como esperado.

De modo geral todos os derivados triazólicos seguiram um mesmo padrão de sinais de ^1H e ^{13}C , salvo algumas diferenças de deslocamento químico de alguns sinais em virtude da presença dos grupos doadores ou retirados de densidade eletrônica em cada estrutura, bem como o padrão de multiplicidade de alguns hidrogênios aromáticos, como consequência dos diferentes padrões de substituição do anel proveniente dos fenóis.

5.5 Avaliação in vitro da citotoxicidade e da atividade anti-*Trypanosoma cruzi* das substâncias sintetizadas

A atividade tripanocida dos triazóis obtidos foi investigada contra formas epimastigotas de cepas Y de *T. cruzi* e a citotoxicidade das substâncias foi avaliada contra células saudáveis derivadas de cardiomioblastos de ratos neonatais (células H9c2). Os resultados foram apresentados na forma de CI_{50} (concentração inibitória de 50% do crescimento dos parasitos) e CC_{50} (concentração citotóxica para 50% das células), conforme demonstrado na **Tabela 1** a seguir. O índice de seletividade das substâncias foi calculado pela razão CC_{50}/CI_{50} , indicando a seletividade dos triazóis avaliados.

Tabela 5 – Resultados da atividade tripanocida e citotóxica das substâncias sintetizadas

Substância	IC_{50} (μM)	CC_{50} (μM)	IS (CC_{50}/CI_{50})
15	112,14	42,07	0,38
16	262,16	84,06	0,32
17	134,22	123,05	0,92
18	382,95	403,94	1,05
XII (protótipo)	53,77	16,84	0,31
BZN	21,59	1694,53	78,49

H9c2: células saudáveis derivadas de cardiomioblastos de ratos neonatais; IS: índice de seletividade; BZN: benznidazol; Fonte: Autora, 2022.

Ao observar os resultados apresentados na **Tabela 1**, percebe-se que os triazóis sintetizados apresentaram valores de CC_{50} e CI_{50} próximos (triazóis **17** e **18**) ou valores de CI_{50} maiores que o valor de CC_{50} (triazóis **15** e **16**). Isso significa que seria necessária uma grande concentração das substâncias para inibir 50% do crescimento dos parasitos, e para isso apresentariam alta citotoxicidade para células saudáveis. Desse modo, pode-se inferir que as modificações químicas realizadas no protótipo XII não foram promissoras, considerando a linhagem H9c2. Os baixos valores de índices de seletividade indicam uma alta citotoxicidade dos triazóis obtidos.

Ainda conforme os resultados apresentados na Tabela 1, nota-se que as substâncias que possuíam o grupo nitro (eletroretirador) como substituinte na posição *meta*, substância **15**, **16** e **17** foram as mais ativas contra as formas epimastigotas do

parasito, dentre os novos triazóis sintetizados, entretanto não foram mais potentes que o protótipo (XII) o que o benzimidazol.

Os triazóis **15** e **17** apresentaram os melhores resultados, com valores de CI_{50} de 112,14 e 134,22 μM , respectivamente. A maior atividade do derivado **15** pode estar associada à presença do grupo propila, grupo este ausente nos triazóis 16 e 17. De Souza e colaboradores (2020) já haviam observado uma maior atividade tripanocida em triazóis contendo o grupo propila em relação a análogos contendo o grupo alila, em estudo em que foram sintetizadas substâncias com este mesmo padrão estrutural.

6 CONCLUSÃO

Foram sintetizadas nesse trabalho 4 substâncias inéditas 1,2,3-triazólicas derivadas do dihidroeugenol, eugenol, nitrofenol e fenol, análogas ao protótipo **XII**, recentemente descoberto por nosso grupo de pesquisa. As substâncias foram sintetizadas, purificadas e devidamente caracterizadas por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de 1H e ^{13}C , o que permitiu confirmar suas estruturas químicas. A atividade tripanocida destes triazóis foi investigada contra formas epimastigotas de cepas Y de *T. cruzi*, e os derivados **15** e **17** apresentaram os melhores resultados, com valores de CI_{50} de 112,14 e 134,22 μM , respectivamente. As modificações químicas realizadas considerando o protótipo XII não levaram a substâncias mais ativas ou seletivas, considerando a linhagem de células H9c2 avaliadas.

7 REFERÊNCIAS

- Alencar, Marjory Mayara Freire et al. Epidemiologia da Doença de Chagas aguda no Brasil de 2007 a 2018. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 10, p. e8449109120-e8449109120, 2020.
- Alves, Francisca das Chagas de Sousa. Uso de microscopia de força atômica como modelo de estudo em atividades parasitárias e efeito do ácido anacárdico em formas epimastigota e tripomastigota de *Trypanosoma cruzi*. 2018.
- Alexandre, João Pedro de oliveira; Teston, Ana Paula Margioto; Júnior, Gerson Zanusso. Tratamento etiológico da doença de Chagas: um antigo problema de saúde pública. *Uningá Review Journal*, v. 20, n. 2, 2014.
- Barbosa, Helloana Azevedo et al. Síntese e avaliação in vitro do potencial antimicrobiano, antiproliferativo e tripanocida de derivados sulfonamídicos do eugenol e dihidroeugenol. 2017.
- Bermudez, José et al. Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. *Acta tropica*, v. 156, p. 1-16, 2016.
- Brener, Z., Dias, J.C.P. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 79 (1984) - Suppl.: 139-147.
- Brito, Andrielly et al. Um Doenças Negligenciadas: Doença de Chagas e os aspectos atuais do tratamento. *Revista de Ensino, Ciência e Inovação em Saúde*, v. 2, n. 1, p. 9-17, 2021.
- Carvalho, Gabriela Loyane Batista et al. Doença e Chagas: Sua transmissão através do consumo de açaí. *Acta de Ciências e Saúde*, v. 1, n. 1, p. 1-13, 2018.
- Carvalho L.I.S., et al., *Journal of Chemistry*. (2017) 2017: 1-8.
- Carvalho, Ivone et al. 'Click chemistry' synthesis of a library of 1, 2, 3-triazole-substituted galactose derivatives and their evaluation against *Trypanosoma cruzi* and its cell surface trans-sialidase. *Bioorganic & medicinal chemistry*, v. 18, n. 7, p. 2412-2427, 2010.
- Correia, Jennifer Rodrigues et al. Doença de Chagas: aspectos clínicos, epidemiológicos e fisiopatológicos. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 13, n. 3, p. e6502-e6502, 2021.

Crespillo-Andújar, Clara et al. Safety profile of benznidazole in the treatment of chronic Chagas disease: experience of a referral centre and systematic literature review with meta-analysis. *Drug Safety*, v. 41, n. 11, p. 1035-1048, 2018.

Da Silva, Luís Ricardo Soares et al. Vigilância entomológica dos vetores da doença de Chagas nos municípios da VIII Gerência Regional de Saúde do estado de Pernambuco, Brasil, de 2012 a 2017. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 12, p. 9-9, 2021.

De Almeida Carvalho, Tiago Patricio et al. A importância do diagnóstico precoce da doença de Chagas congênita. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 4, p. e15111427077-e15111427077, 2022.

De Abreu Pedra, Renata et al. Desafio em saúde pública: tratamento etiológico da Doença de Chagas na fase crônica. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba*, v. 13, n. 2, p. 5-9, 2011.

De Souza, Sabrinna Barbosa et al. Perfil epidemiológico da doença de Chagas aguda na região norte do Brasil no ano de 2015-2019. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, v. 13, n. 7, p. e8200-e8200, 2021.

De Souza Macedo, Thaís Lemos et al. Análise do perfil epidemiológico da Doença de Chagas no Brasil. Período entre 2001 e 2018. *Revista de Saúde*, v. 12, n. 3, p. 42-49, 2021.

Dias, João Carlos Pinto et al. II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 25, p. 7-86, 2016.

Ferreira, Daiane Dias. Estudos Farmacológicos de Novos Compostos Semissintéticos com Potencial Terapêutico na Doença de Chagas. 2018. Tese de Doutorado. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

Ferreira, Ariela Mota et al. Reações adversas ao benzonidazol no tratamento da Doença de Chagas: revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e controlados. *Cadernos Saúde Coletiva*, v. 27, p. 354-362, 2019.

Ferreira, A et al., *Cadernos de saúde coletiva*. (2019), 27 (3): 354-362, Rio de Janeiro.

Ferreira, H. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* (1990), 23(4): 209-211.

Ferreira, L. G.; Andricopulo, A. D., *Pharmacology & Therapeutics* (2017), 180: 49-61.

Filardi, L. S.; Brener, Z. Transactions Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene, (1986), 81:755-759.

Filardi, L. S.; Brener, Z., Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, (1987), 81 (5): 755–759.

Galvão, Cleber. Vetores da doença de Chagas no Brasil. 2014.

Guerra, Thamila Menezes. Estudos de docking molecular de derivados da tiazolidina como potenciais inibidores da enzima cruzaina de trypanosoma cruz. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Brasil.

Guilherme, F.D. et al., Journal of Molecular Structure (2019), 1: 349-356.

Hilgert, Sabrina Sehn et al. Para uma doença tão antiga, o vislumbre de novos tratamentos promissores na doença de chagas. Uningá Journal, v. 58, p. eUJ4087-eUJ4087, 2021.

Lechuga, Guilherme Curty. Estudo da atividade de derivados semissintéticos e sintéticos nas formas evolutivas de Trypanosoma cruzi e linhagem celular. 2017.

Leite, Débora Inácio et al. New 1, 2, 3-triazole-based analogues of benznidazole for use against Trypanosoma cruzi infection: In vitro and in vivo evaluations. Chemical Biology & Drug Design, v. 92, n. 3, p. 1670-1682, 2018.

Lidani, Kárita Cláudia Freitas et al. Chagas disease: from discovery to a worldwide health problem. Frontiers in public health, v. 7, p. 166, 2019.

Losada Galvan, Irene et al. Benznidazole for the treatment of Chagas disease. Expert Review of Anti-infective Therapy, v. 19, n. 5, p. 547-556, 2021.

Machado, M. et al., Experimental Parasitology (2011), 127 (4): 732–739.

Maguire, Brittany J. et al. The Chagas disease study landscape: A systematic review of clinical and observational antiparasitic treatment studies to assess the potential for establishing an individual participant-level data platform. PLoS neglected tropical diseases, v. 15, n. 8, p. e0009697, 2021.

Martin-Escolano, Javier; Medina-Carmona, Encarnacion; Martin-Escolano, Ruben. Chagas disease: current view of an ancient and global chemotherapy challenge. ACS Infectious Diseases, v. 6, n. 11, p. 2830-2843, 2020.

Mendonça, Rafael Mota et al. Doença de Chagas: serviço de referência e epidemiologia. Revista Brasileira em Promoção da Saúde, v. 33, 2020.

Mills, Roger M. Chagas disease: epidemiology and barriers to treatment. *The American Journal of Medicine*, v. 133, n. 11, p. 1262-1265, 2020.

Moncayo, Álvaro; Silveira, Antonio Carlos. Current epidemiological trends of Chagas disease in Latin America and future challenges: Epidemiology, surveillance, and health policies. In: *American Trypanosomiasis Chagas Disease*. Elsevier, 2017. p. 59-88.

Moraes, Cicílio Alves de et al. Mortalidade por doença de chagas no estado de Goiás, Brasil, no período de 2006 a 2011. 2017.

Müller Kratz, Jadel et al. Clinical and pharmacological profile of benznidazole for treatment of Chagas disease. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, v. 11, n. 10, p. 943-957, 2018.

Neves, D. P. et al., *Parasitologia Humana* (2005), 11 ed., Atheneu, 11: 85-108.

Nascimento, Letícia Pâmela Garcia Ribeiro do et al. Prevalência da doença de chagas associada ao modo de infecção. *Cogitare Enfermagem*, v. 26, 2021.

Patino, Luz Helena; Ramírez, Juan David. RNA-seq in kinetoplastids: A powerful tool for the understanding of the biology and host-pathogen interactions. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 49, p. 273-282, 2017.

Pérez-Molina, Jose A. et al. Trypanocidal treatment of Chagas disease. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica (English ed.)*, v. 39, n. 9, p. 458-470, 2021.

Resende, Juliana Alves et al. *Tópicos especiais em ciência animal* x. 2021.

Rocha, D. A. et al., *European Journal of Medicinal Chemistry* (2018), 157: 1426-1459.

Rosenthal, Luciane d'Avila et al. Conhecimentos sobre a doença de Chagas e seus vetores em habitantes de área endêmica do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cadernos Saúde Coletiva*, v. 28, p. 345-352, 2020.

Santos, Isabella Fernandes Martins et al. Desenho in silico de sgRNAs e donor DNAs para deleção de enzimas relacionadas ao fenótipo de resistência do *Trypanosoma cruzi* ao benzonidazol. *e-Scientia*, v. 14, n. 2, p. 1-37, 2021.

Silva, Whesley Tanor et al. Determinantes da Capacidade Funcional em Pacientes com Doença de Chagas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 117, p. 934-941, 2021.

Silva, Ghabriel Honório da et al. Moléculas envolvidas na invasão de células de mamíferos por *Trypanosoma cruzi*: uma revisão de literatura. 2019.

Silva, Thais B. et al. Synthesis and in vitro and in silico studies of 1H-and 2H-1, 2, 3-triazoles as antichagasic agents. *Bioorganic Chemistry*, v. 116, p. 105250, 2021.

Simioni, Patricia Ucelli et al. Métodos de Prevenção e Tratamento para a Doença de Chagas. *Ciência & Inovação*, v. 4, n. 1, 2019.

Souza, T. B. et al., *Chemical Biology & Drug Design* (2020), 95: 124-129.

Simões, Marcus Vinicius et al. Cardiomiopatia da doença de Chagas. *International Journal of Cardiovascular Sciences*, v. 31, p. 173-189, 2018.

Steert, K. et al., *ChemMedChem* (2010), 5: 1734-1748.

Teles, Amanda Mara et al. GC-MS Characterization of Antibacterial, Antioxidant, and Antitrypanosomal Activity of *Syzygium aromaticum* Essential Oil and Eugenol. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2021, 2021.

Urbina, Julio A. Recent clinical trials for the etiological treatment of chronic Chagas disease: advances, challenges and perspectives. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 62, n. 1, p. 149-156, 2015.

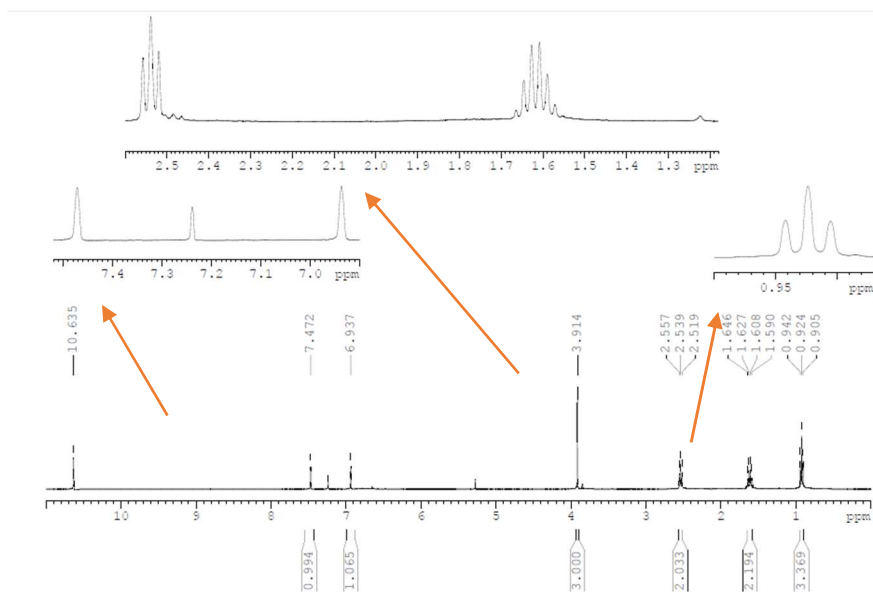
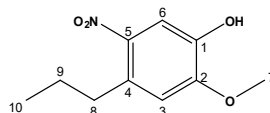
Young, V. et al., *Molecular and Biochemical Parasitology* (2000), 109 (1): 47-59.

ANEXO 1

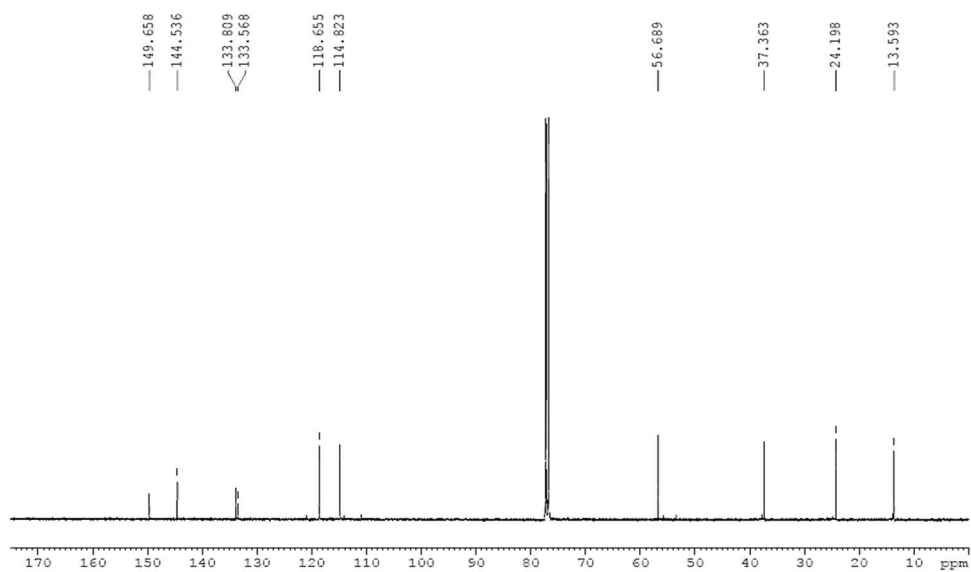
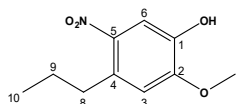
Espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e Dept-135 das substâncias

Substância 3:

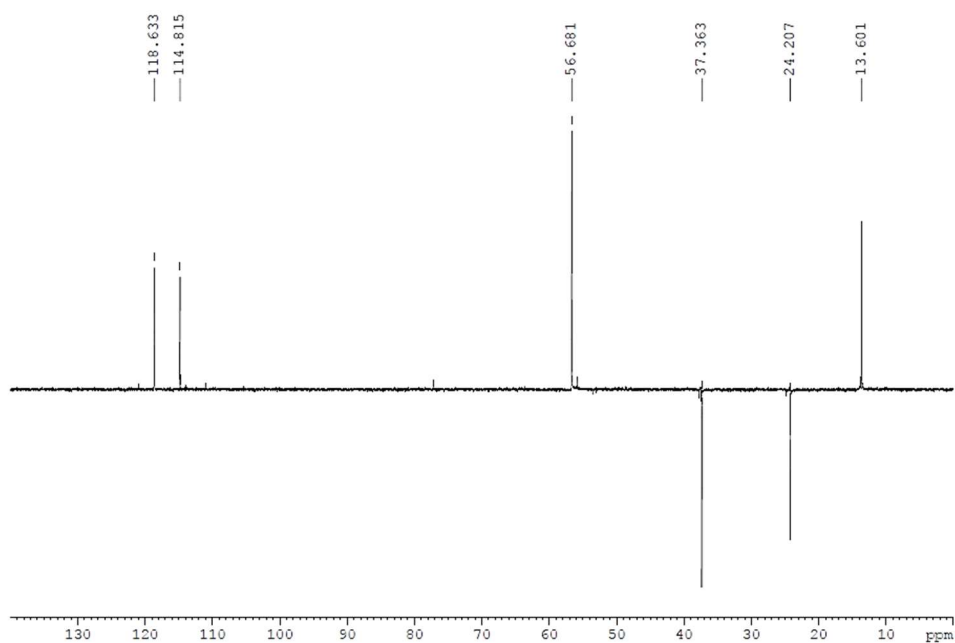
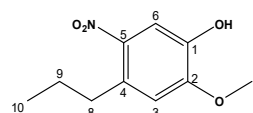
3.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



3.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)

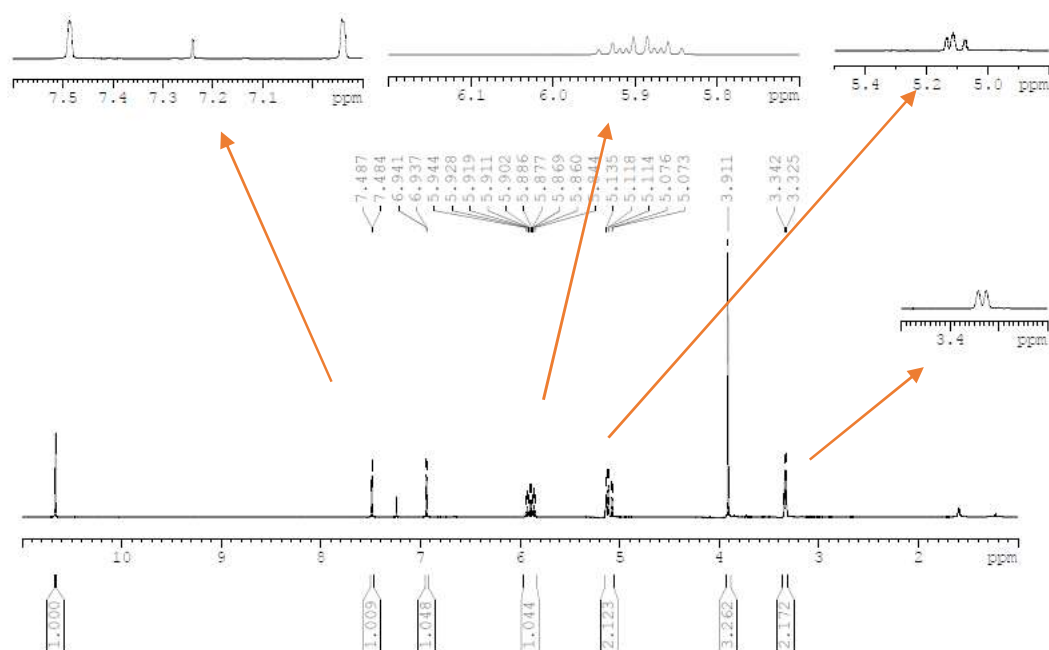
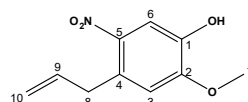


3.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)

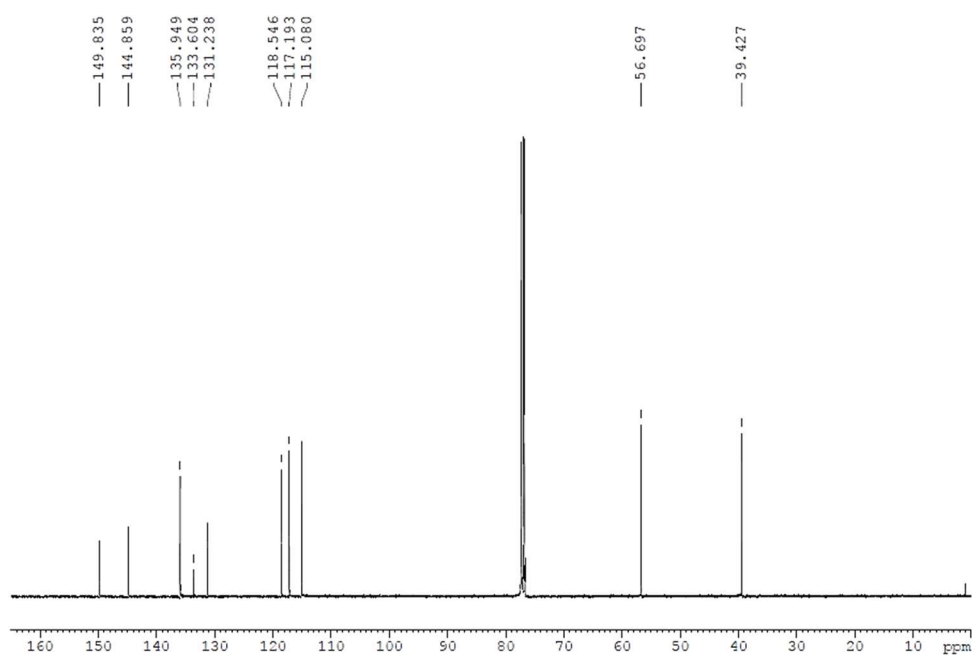
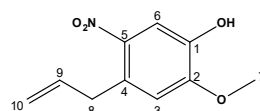


Substância 4:

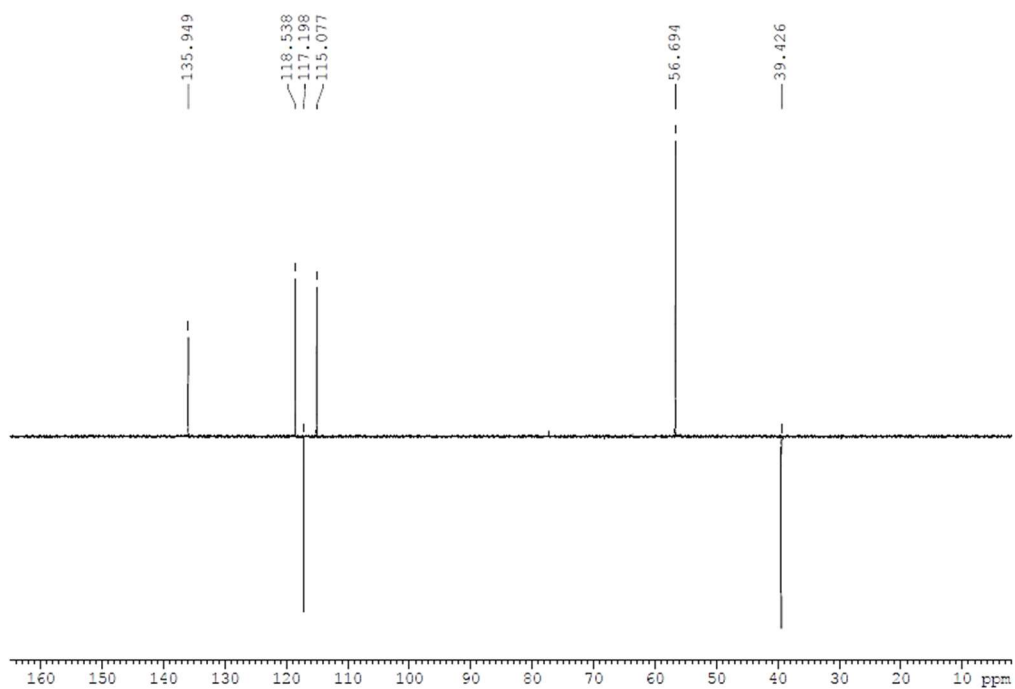
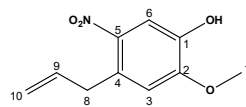
4.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



4.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)

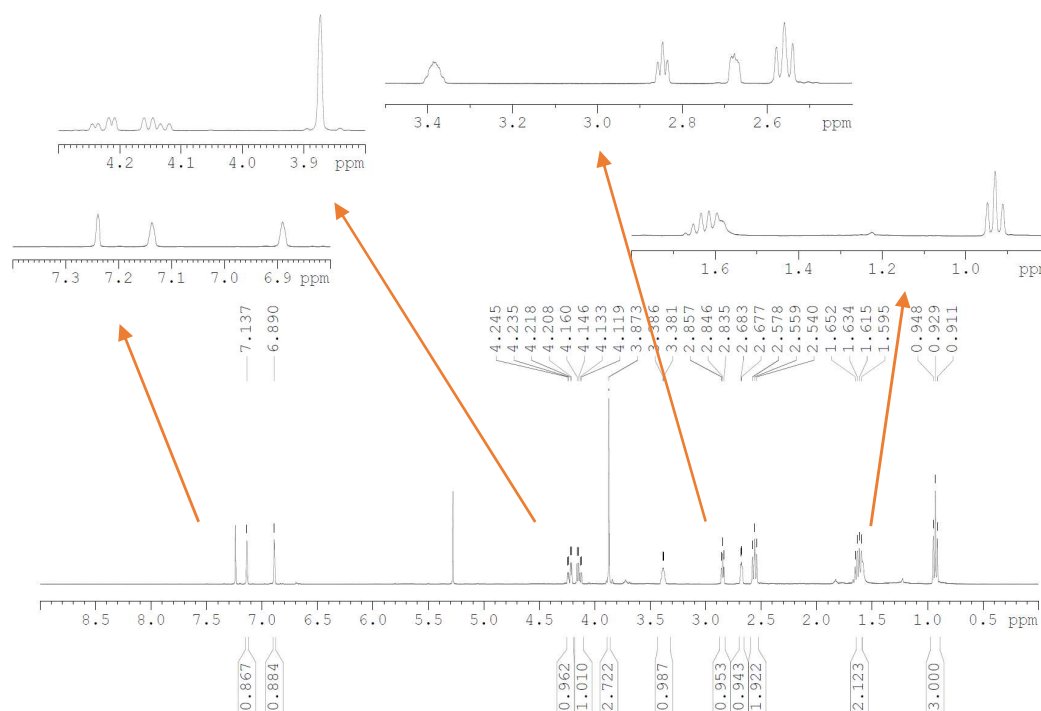
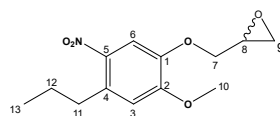


4.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)

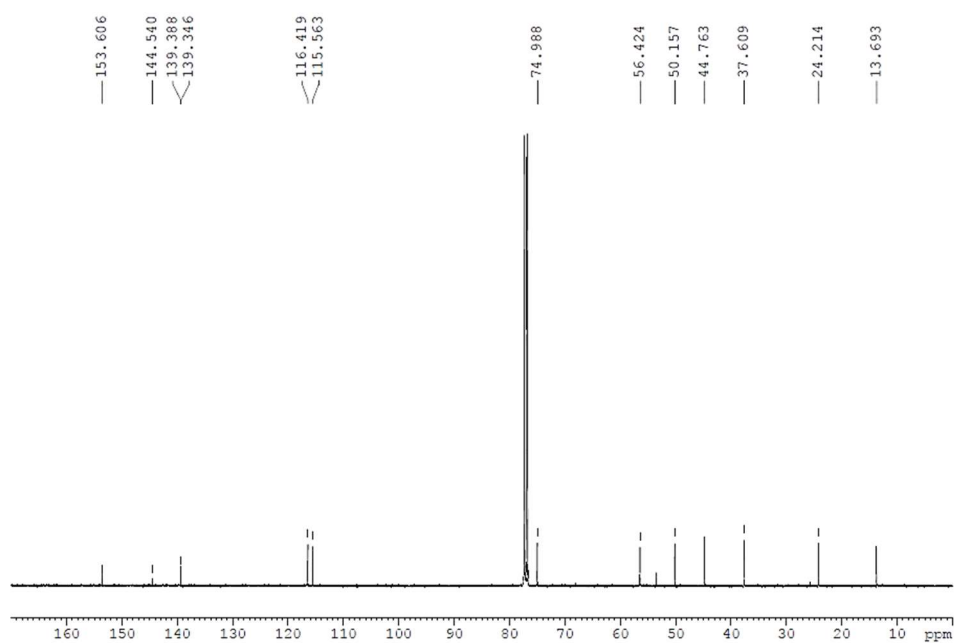
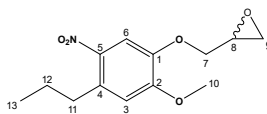


Substância 7:

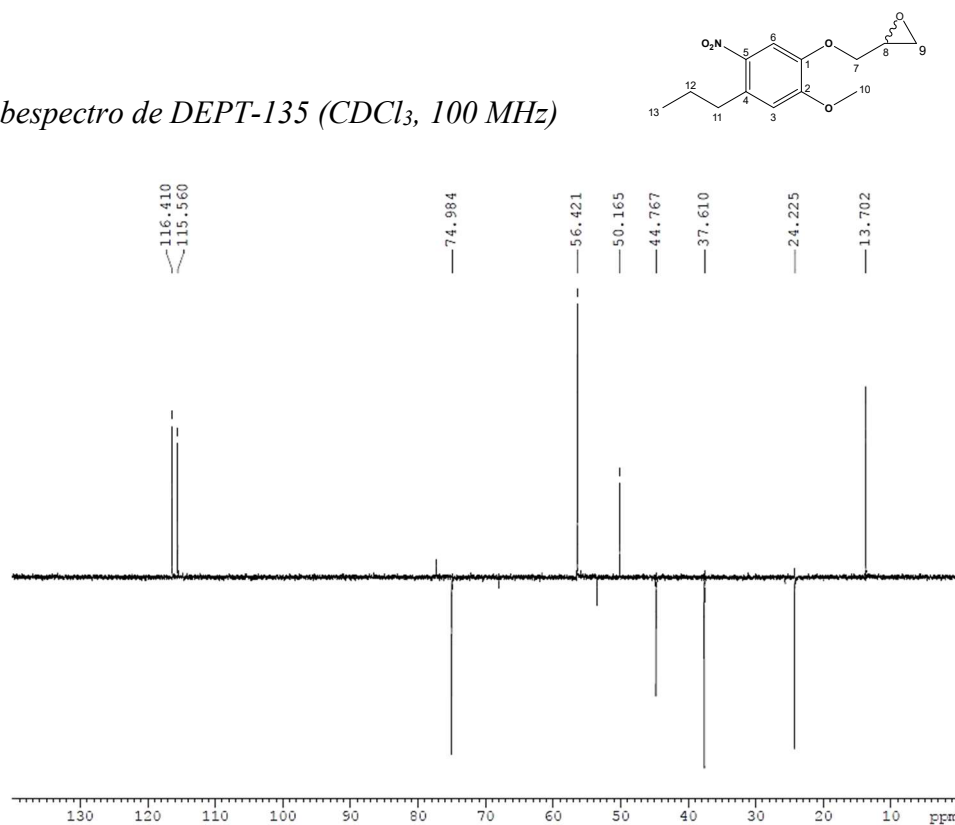
7.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



7.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)

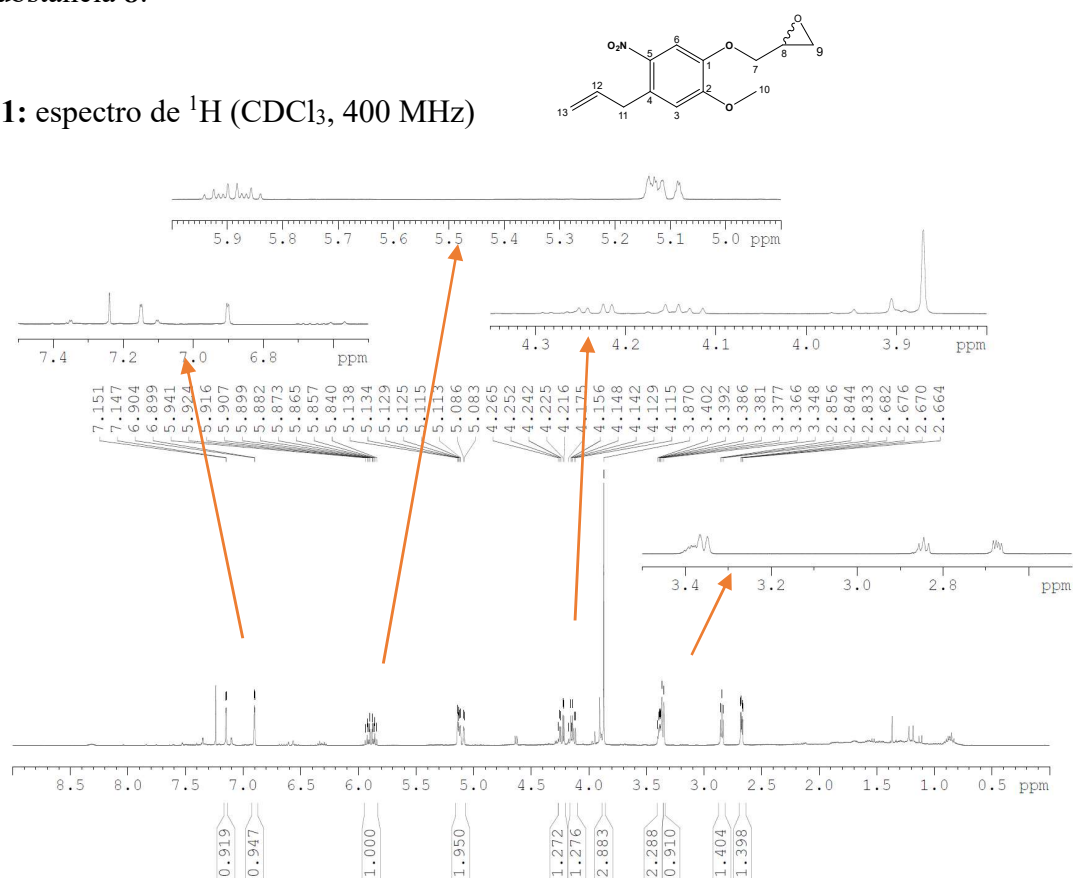


7.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)

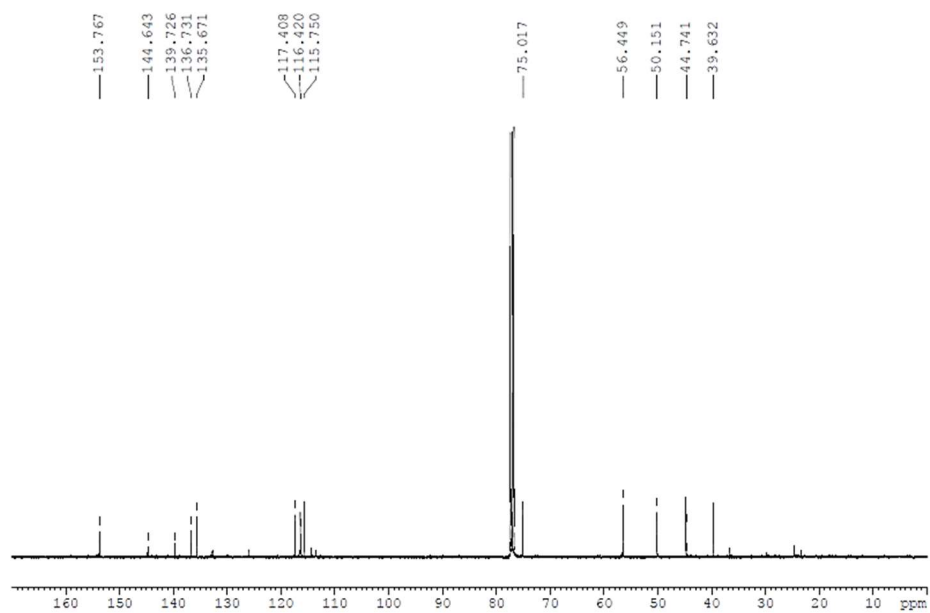
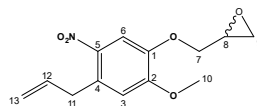


Substância 8:

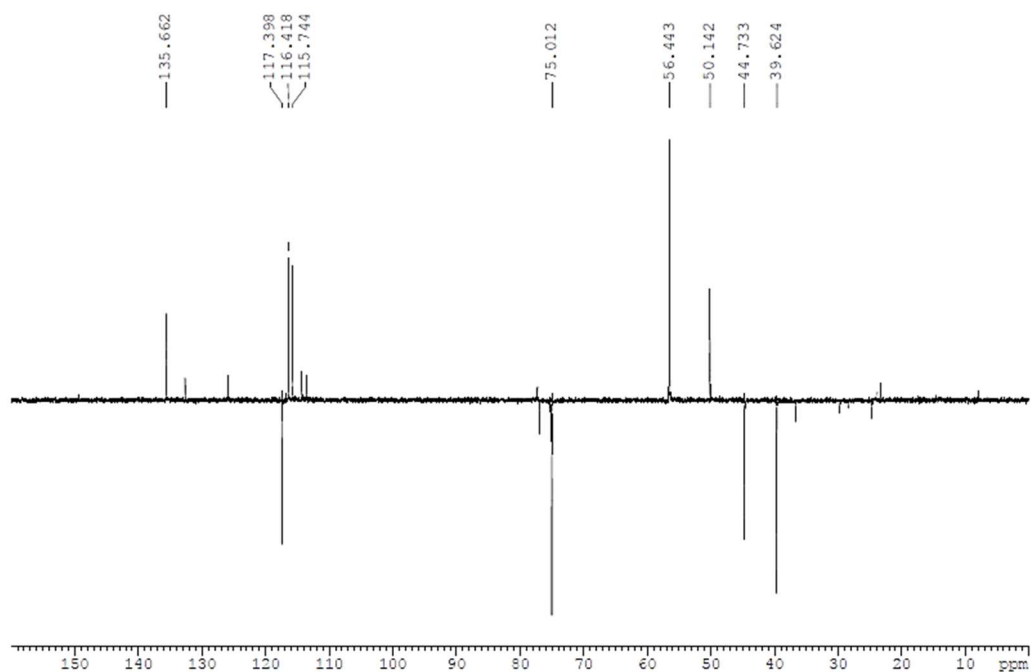
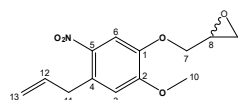
8.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



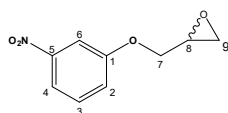
8.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



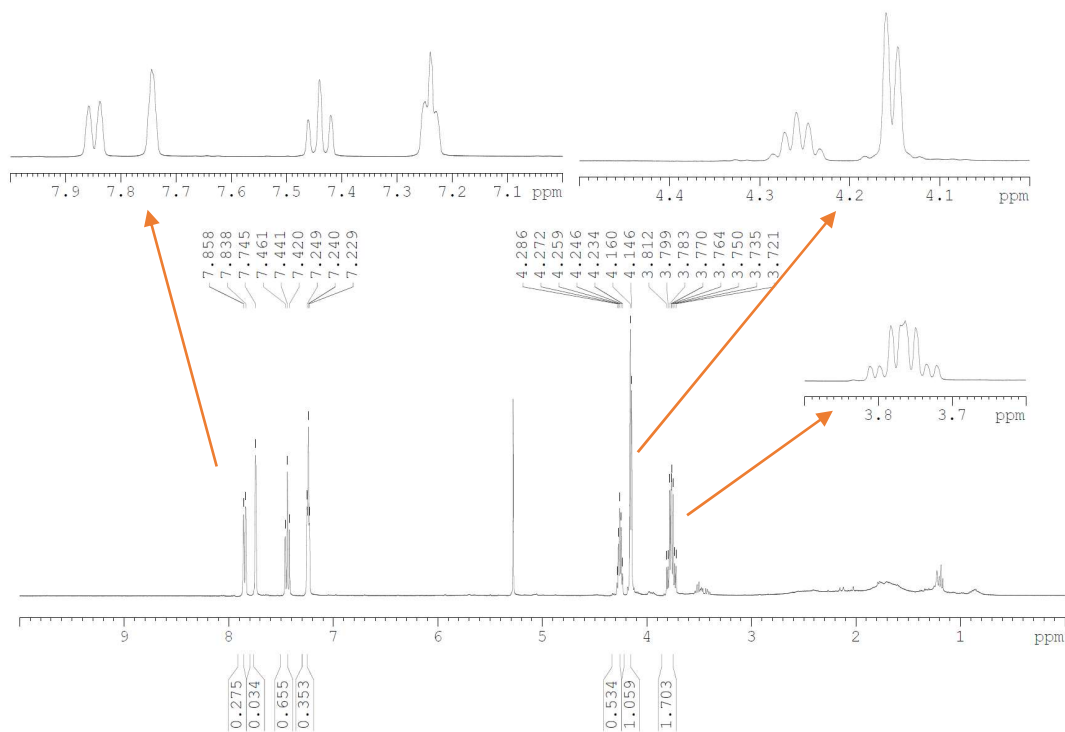
8.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



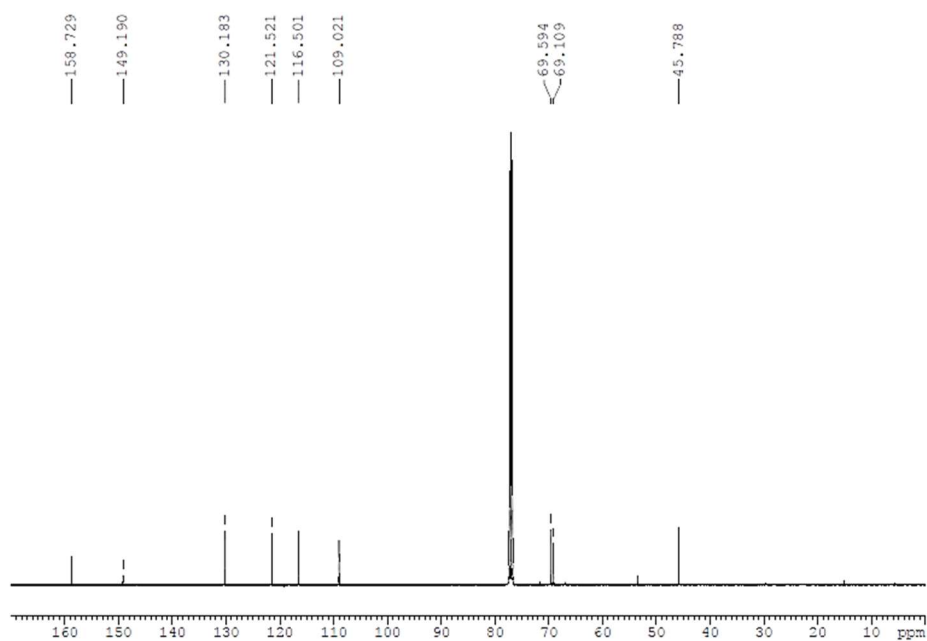
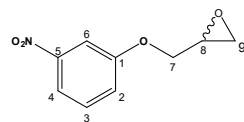
Substância 9:

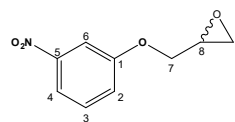


9.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)

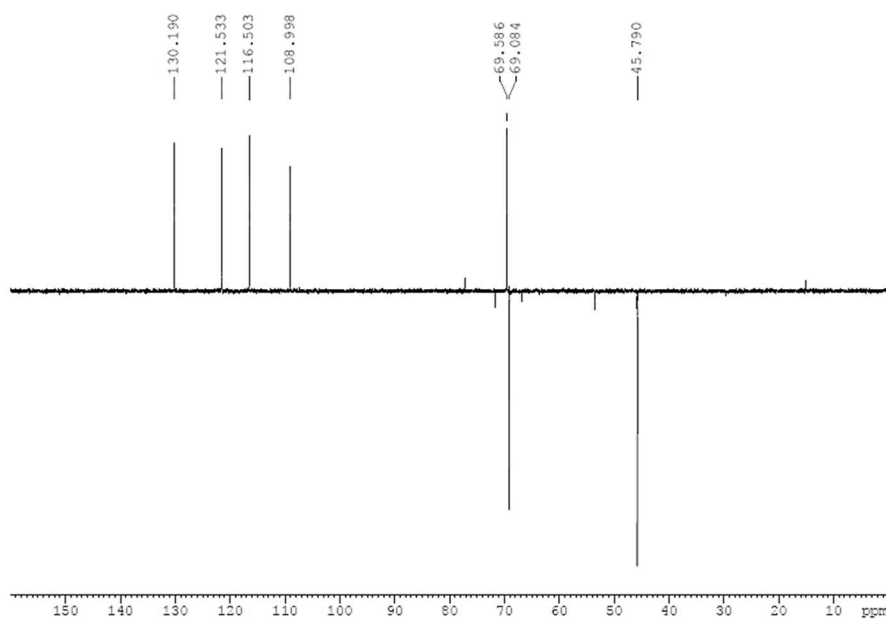


9.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)

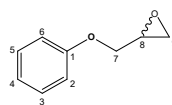




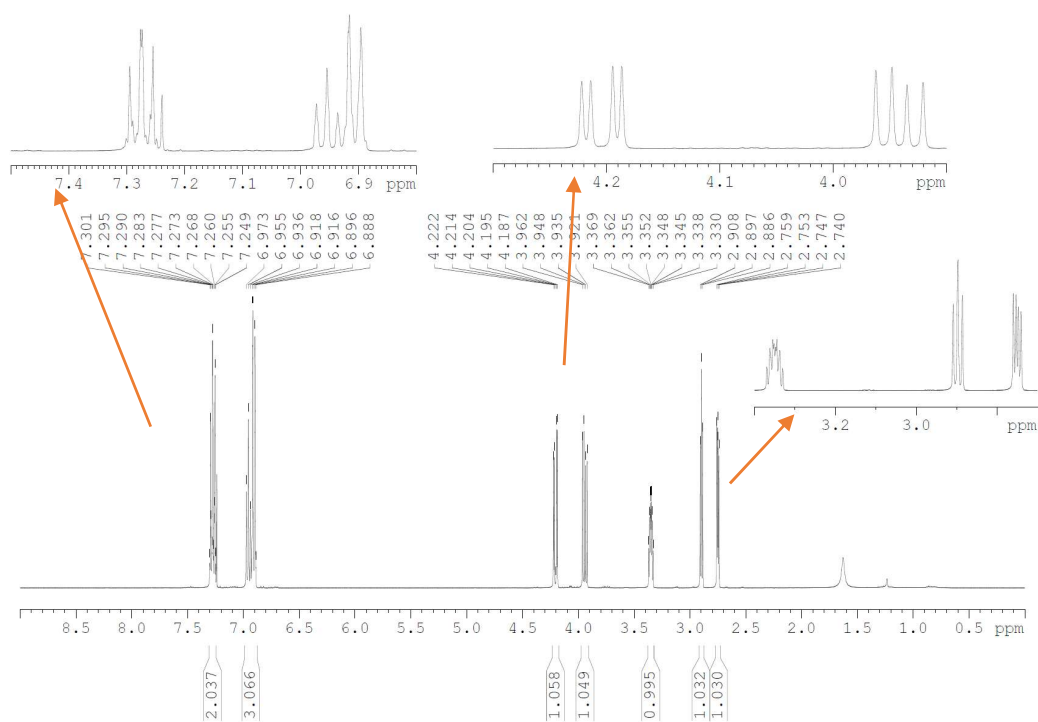
9.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



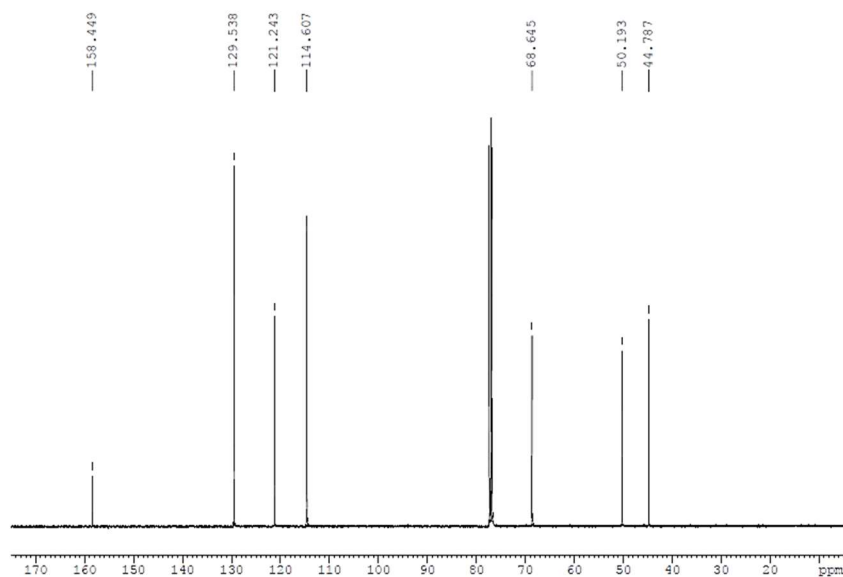
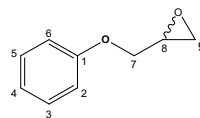
Substância 10:



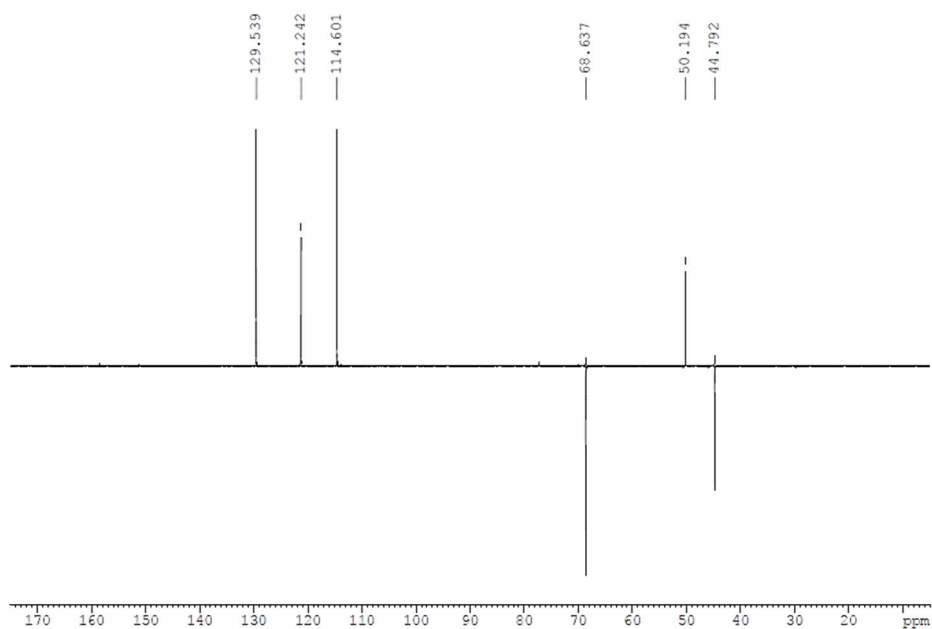
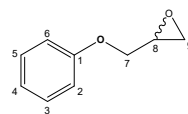
10.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



10.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)

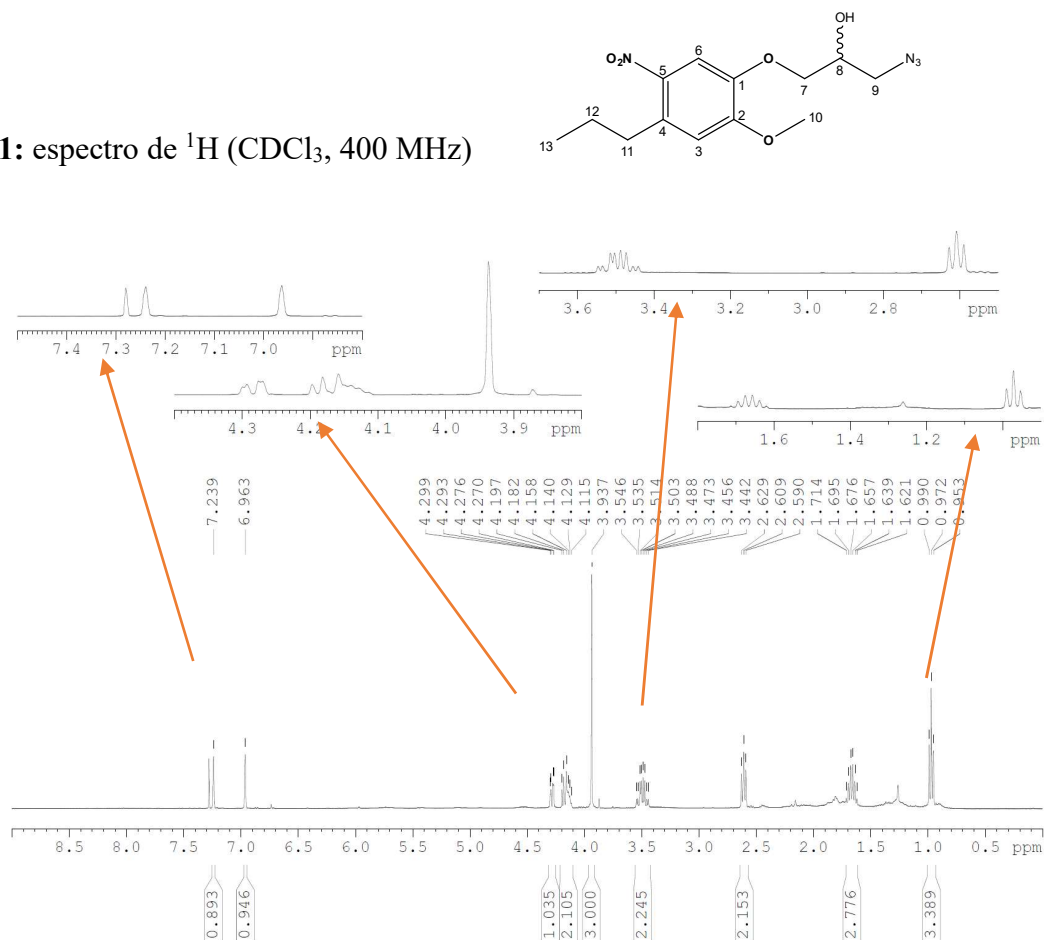


10.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)

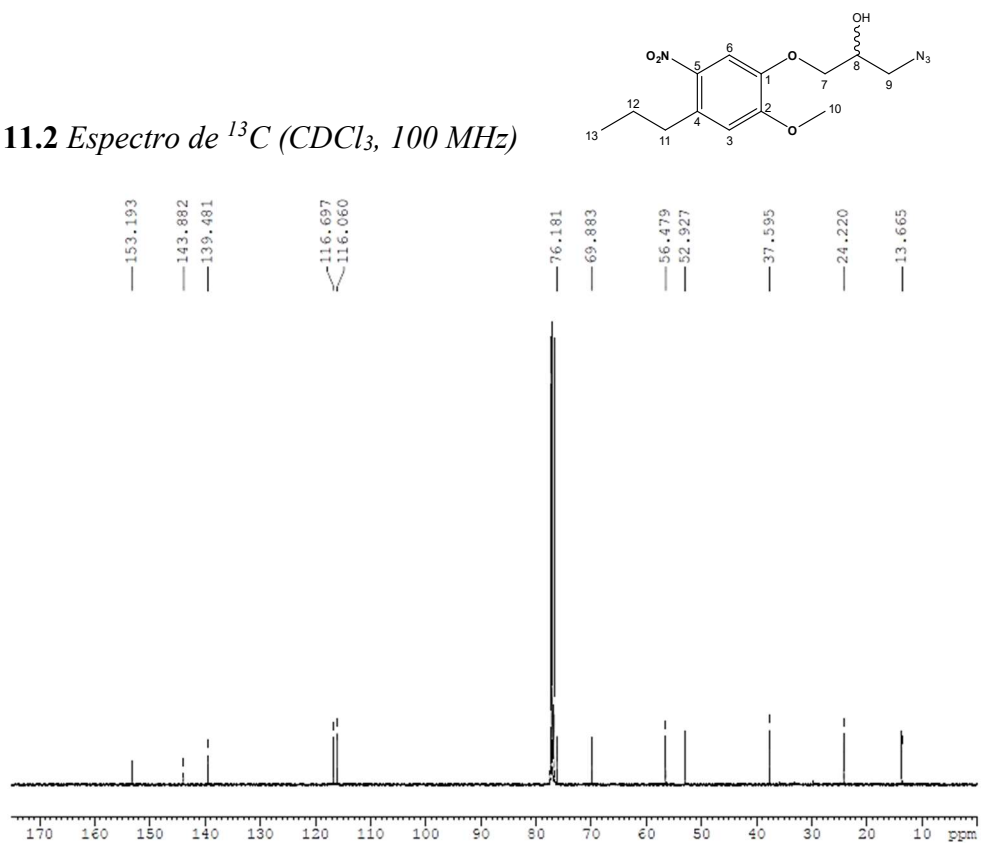


Substância 11:

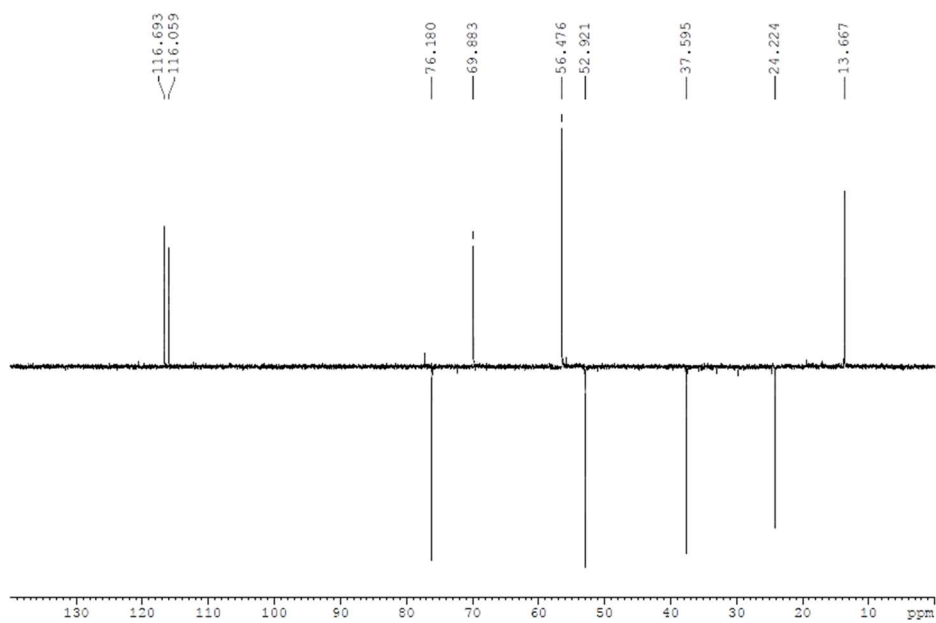
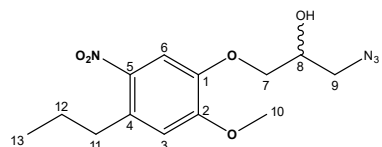
11.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



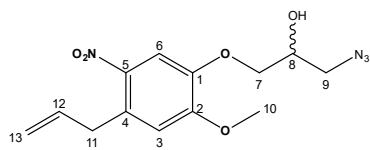
11.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



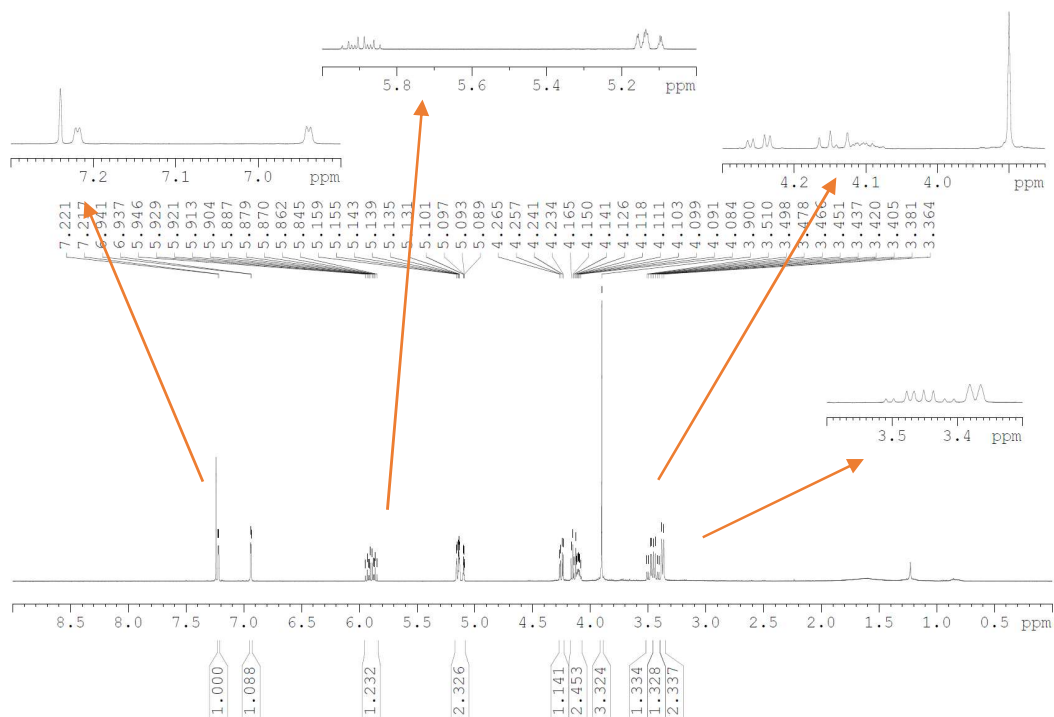
11.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



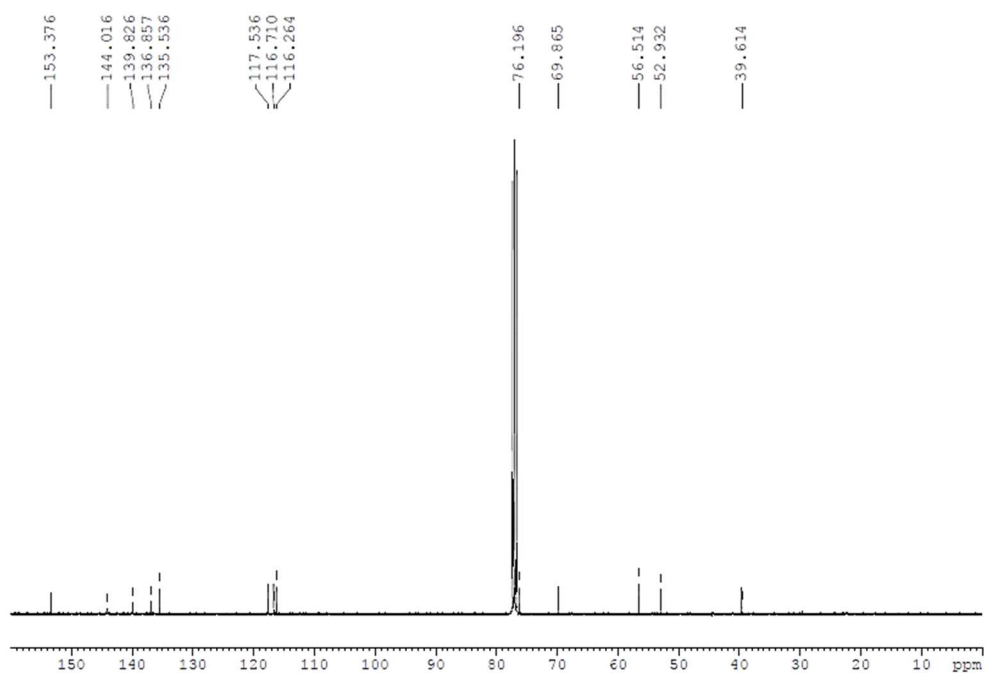
Substância 12:



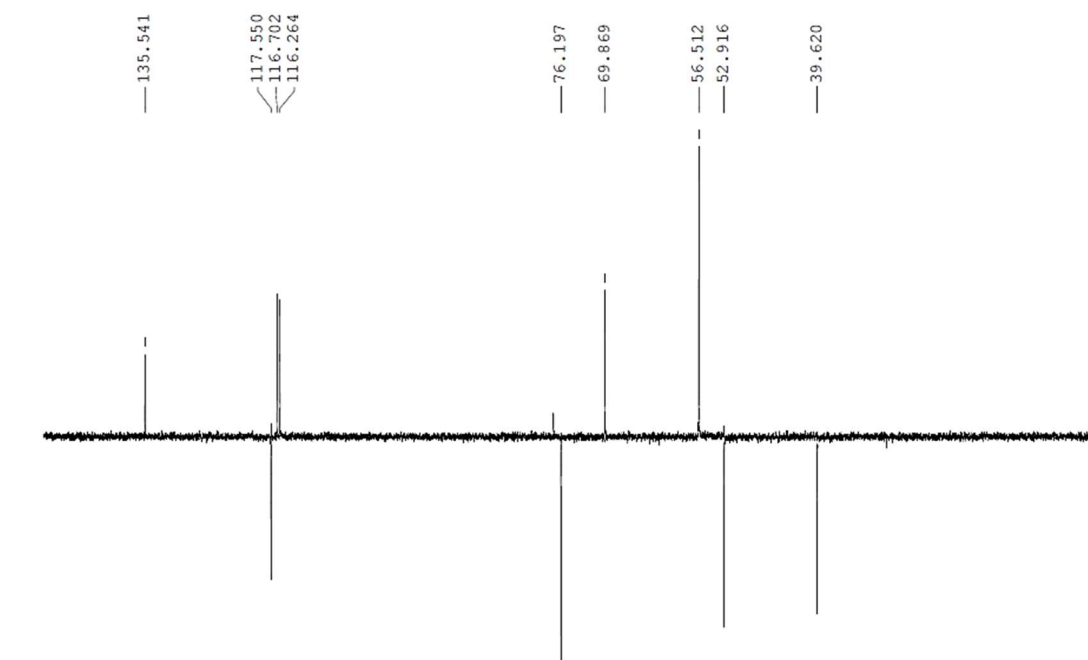
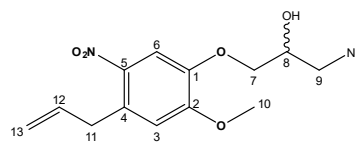
12.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



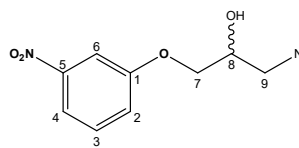
12.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



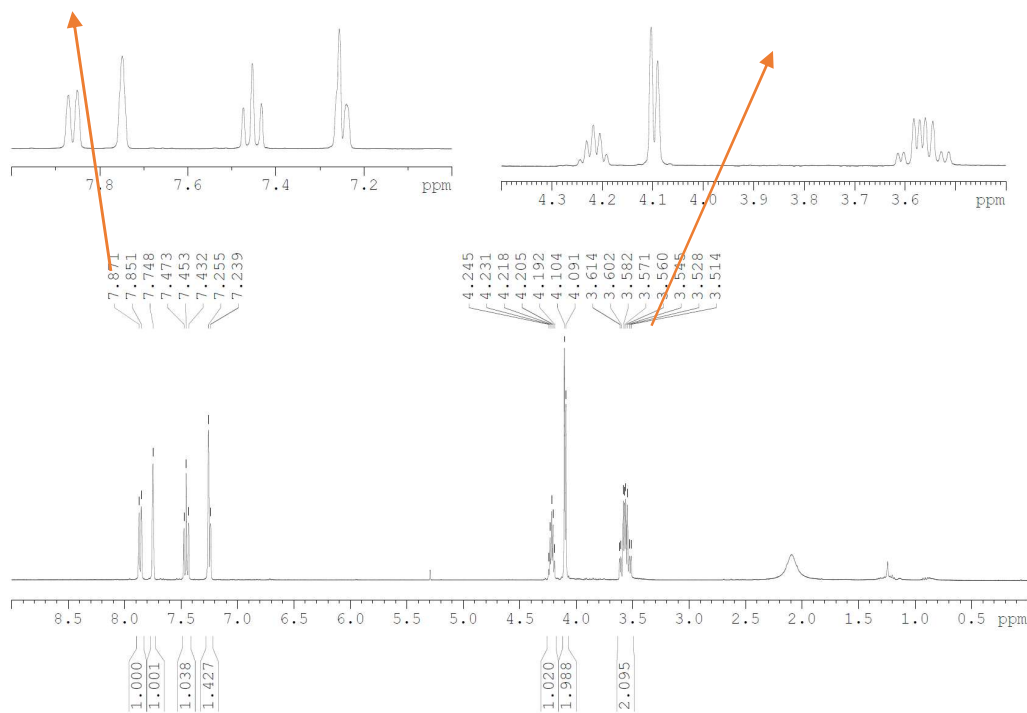
12.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



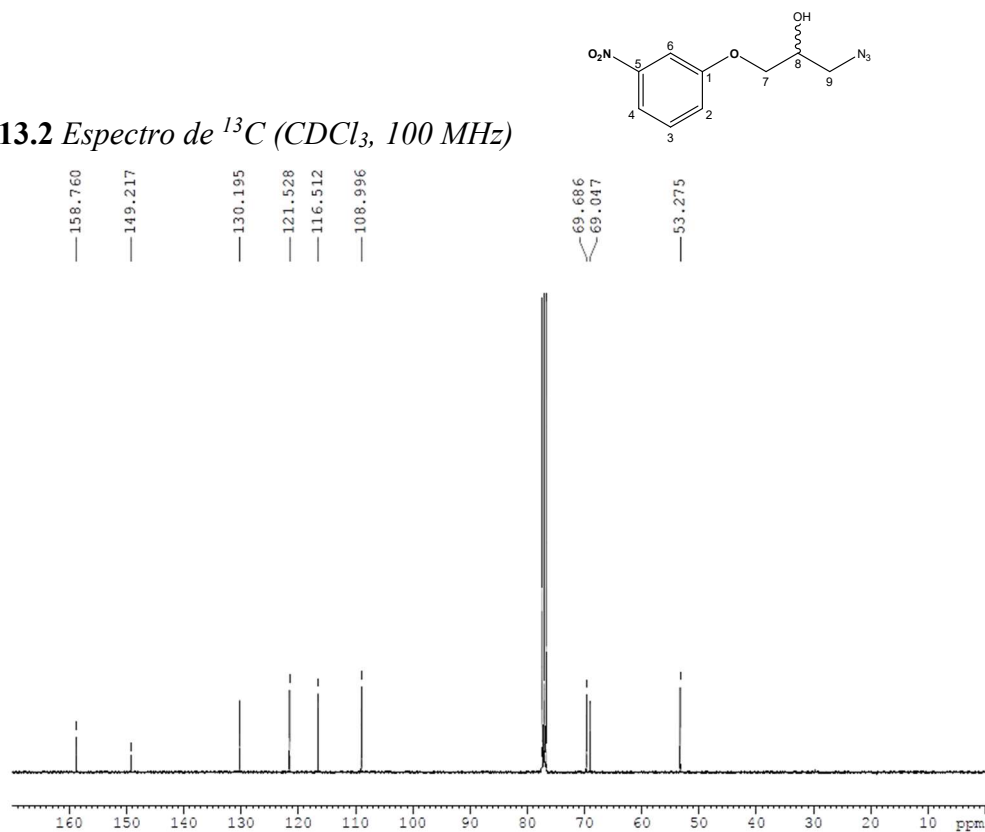
Substância 13:



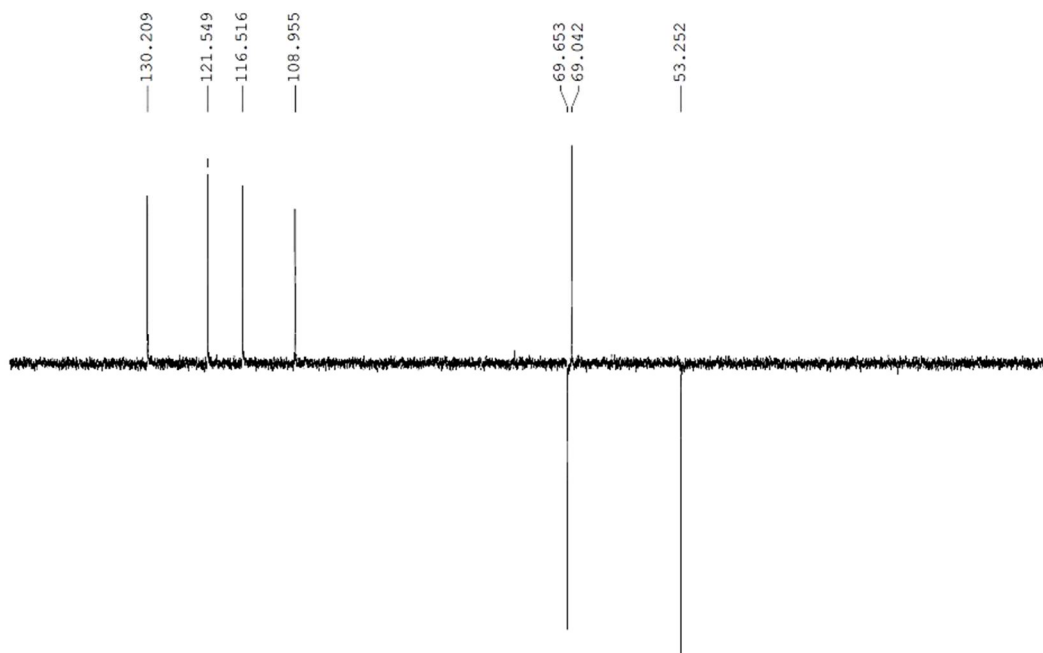
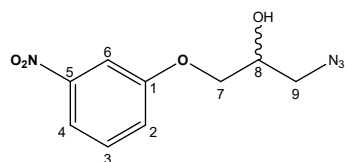
13.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



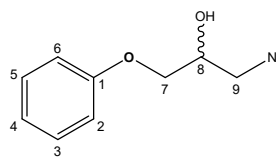
13.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



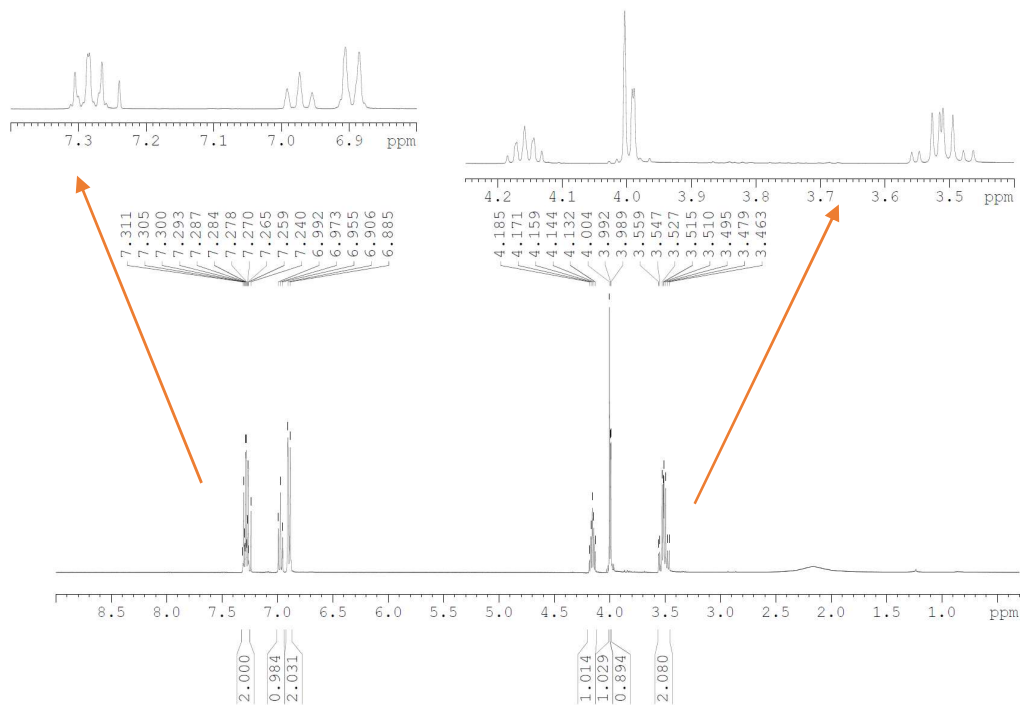
13.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



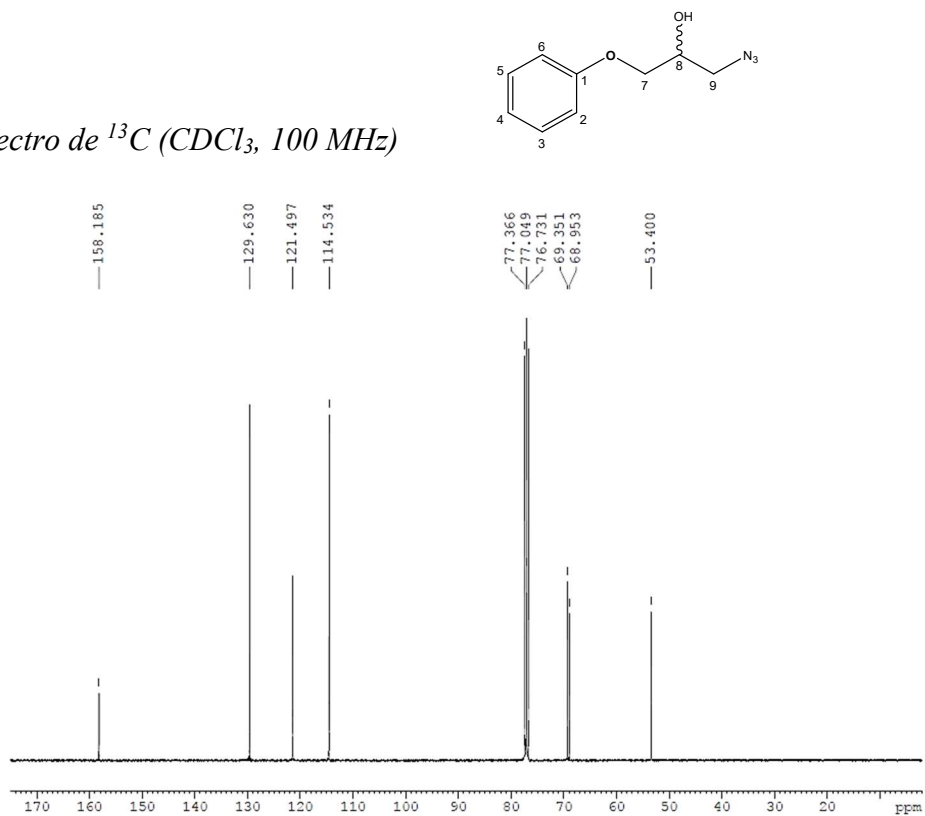
Substância 14:



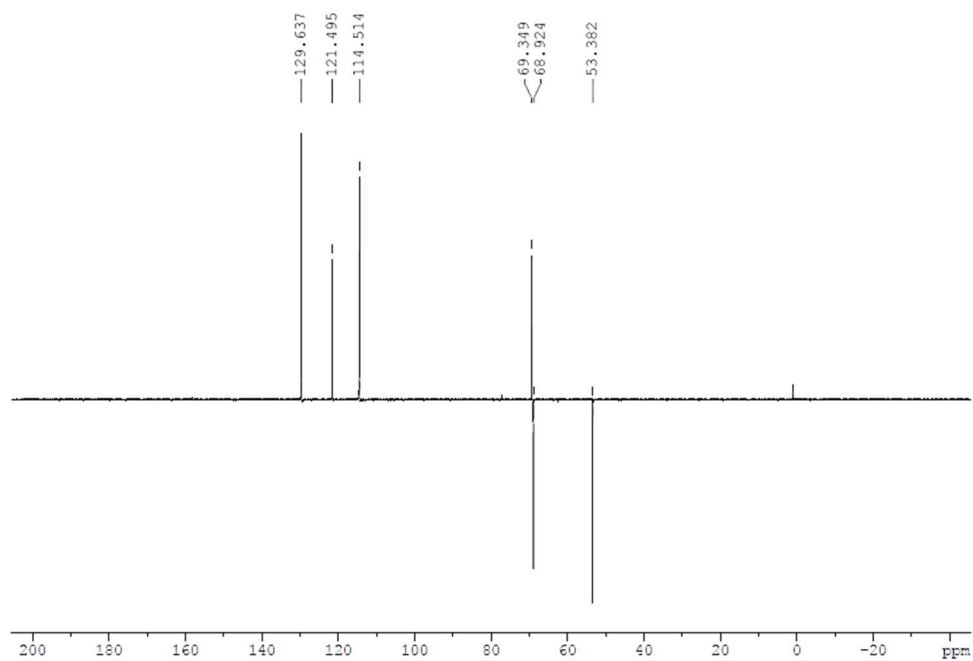
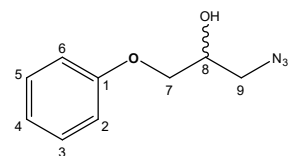
14.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



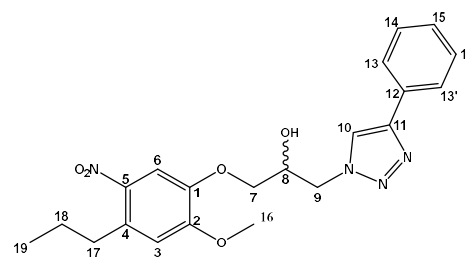
14.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



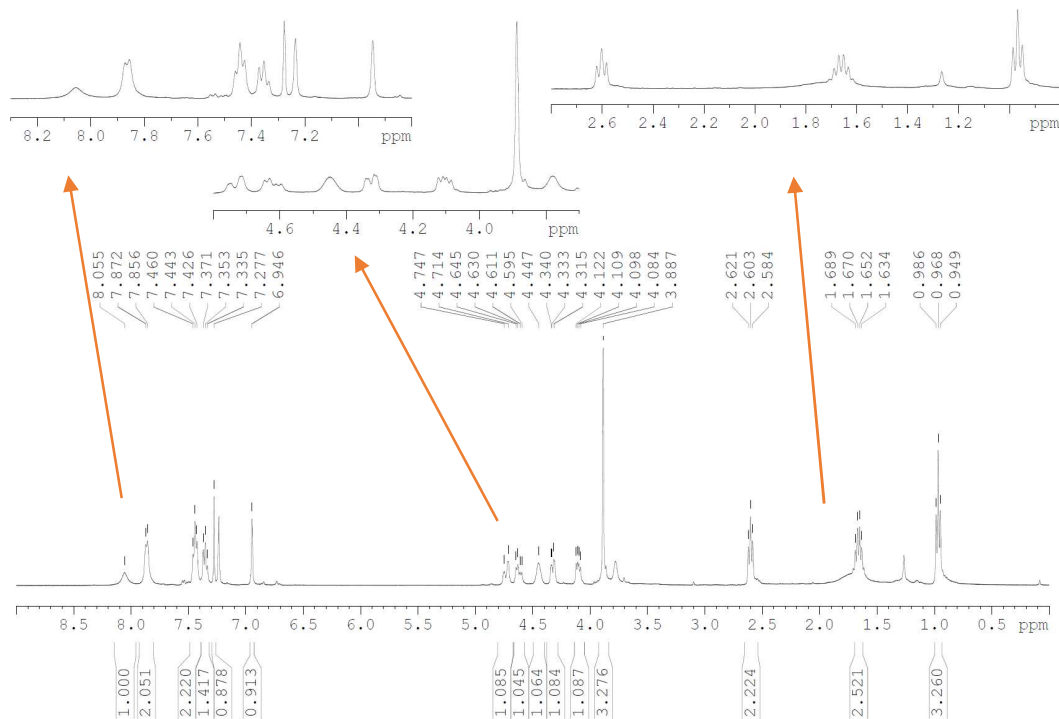
14.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



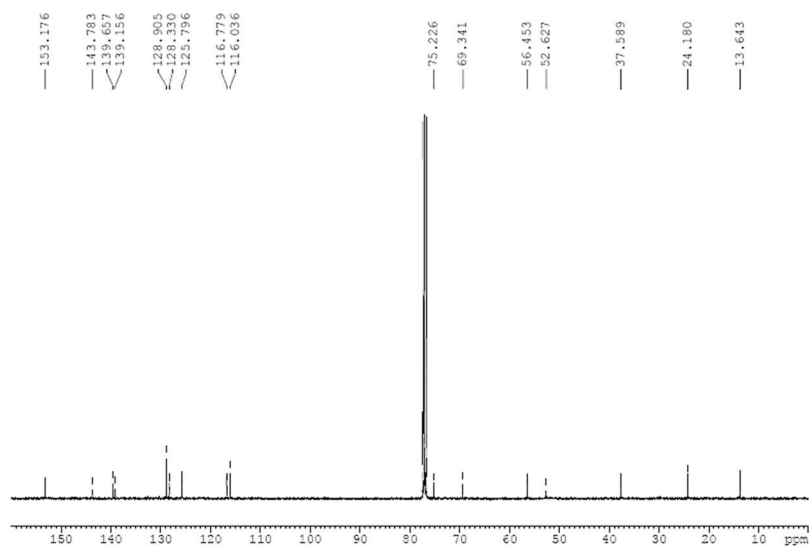
Substância **15**:



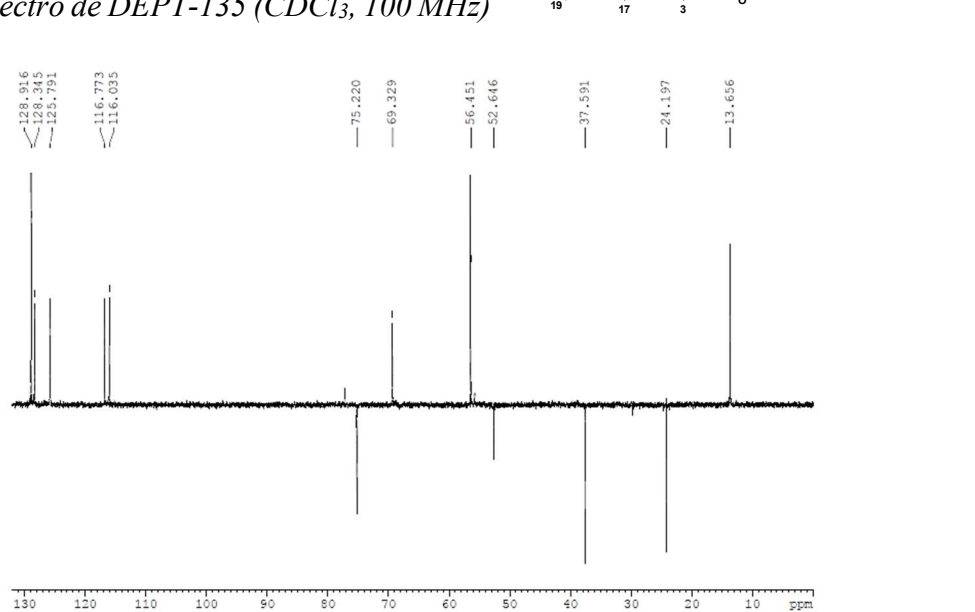
15.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



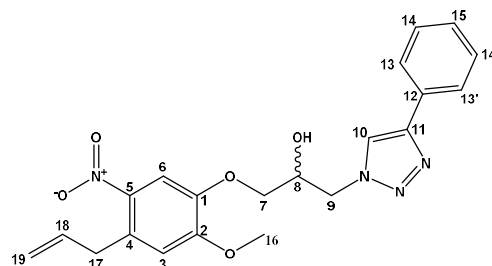
15.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



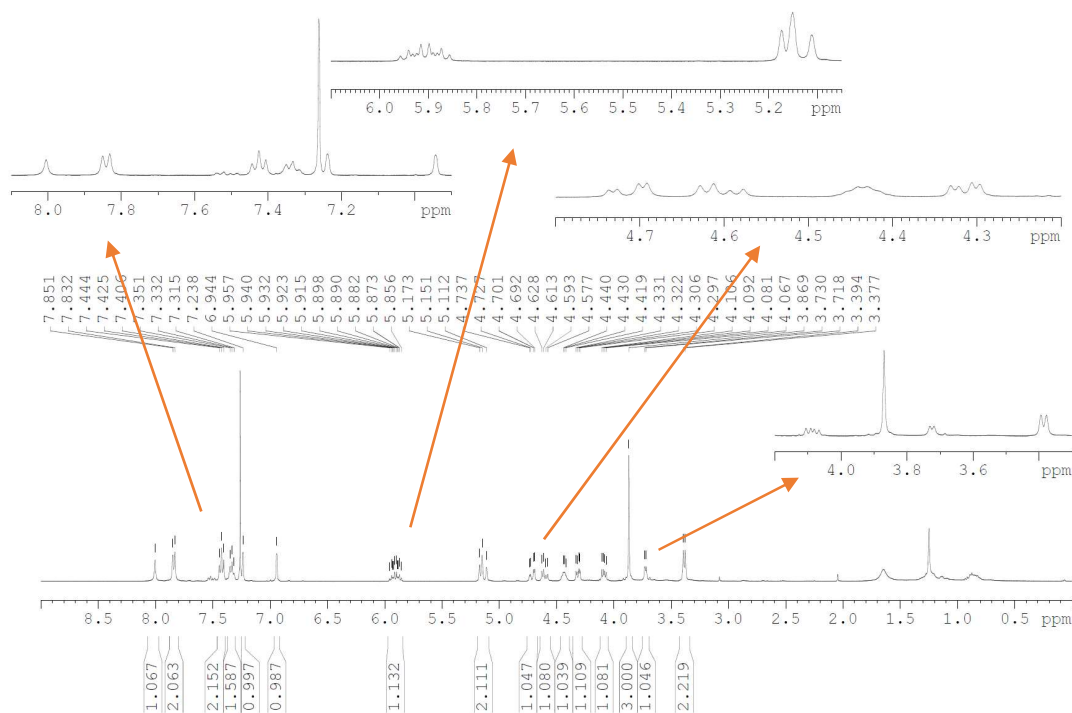
15.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



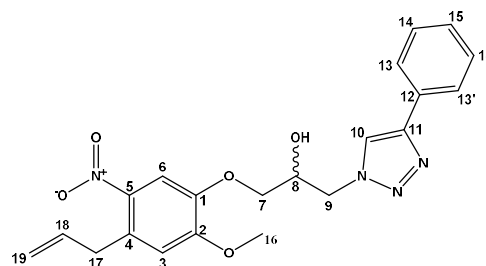
Substância 16:

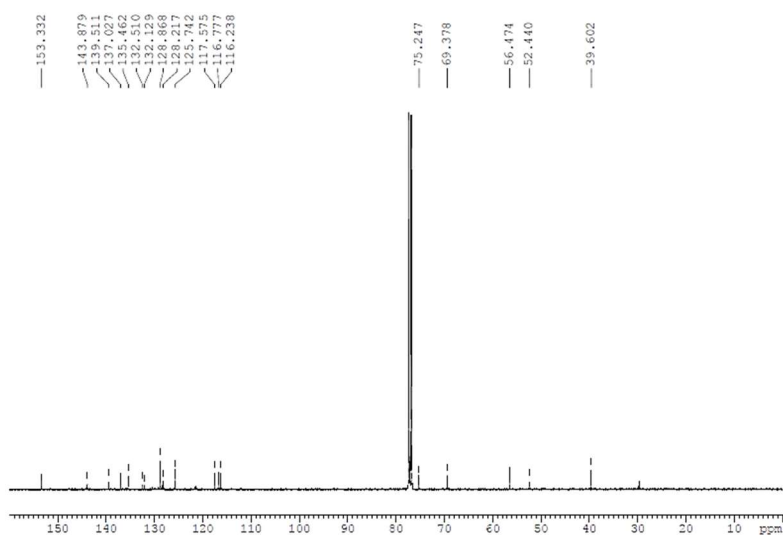


16.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)

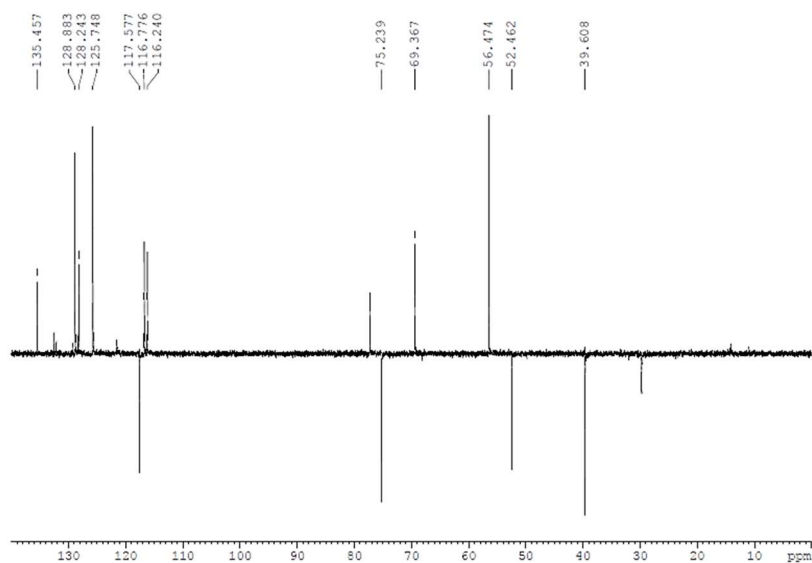
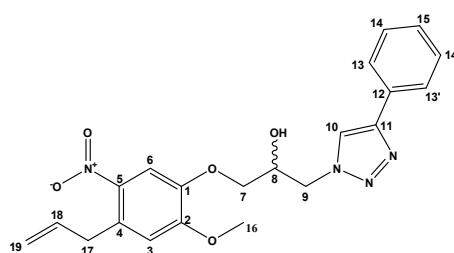


16.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)

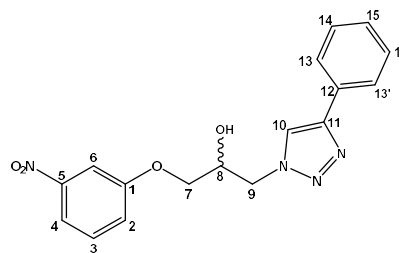




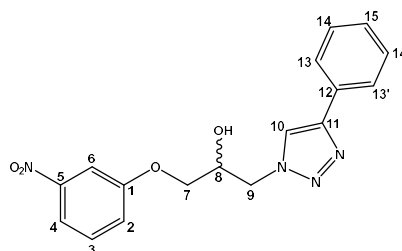
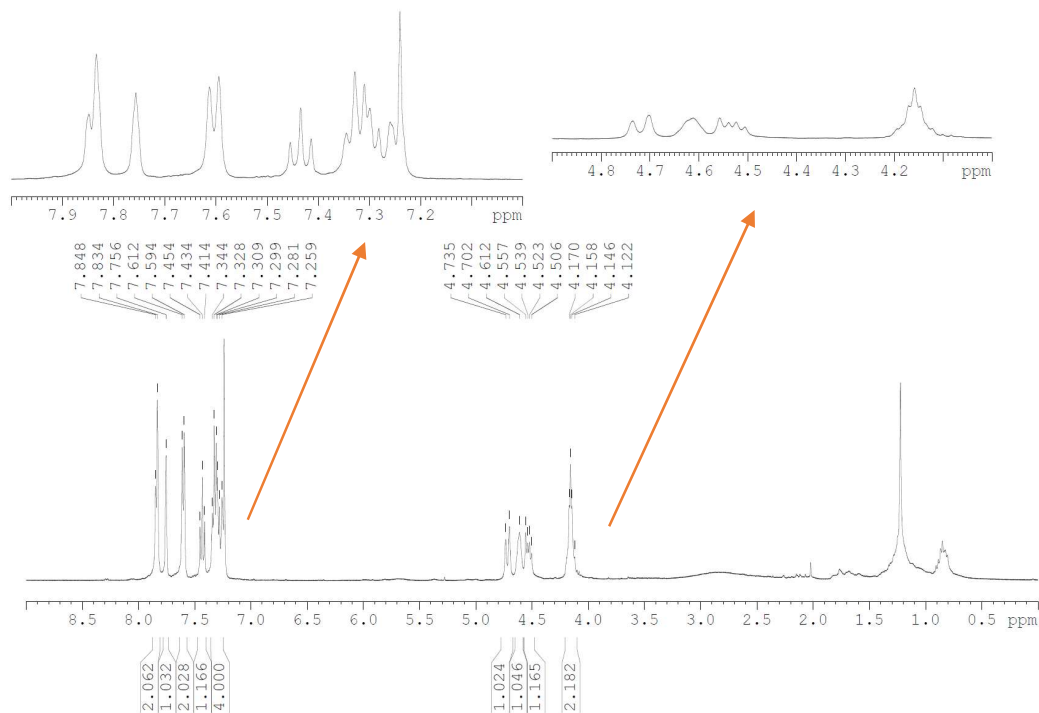
16.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



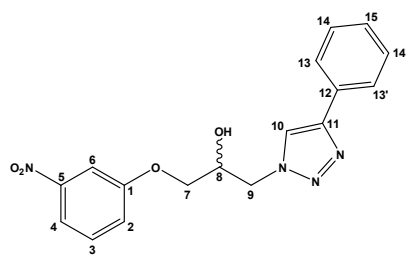
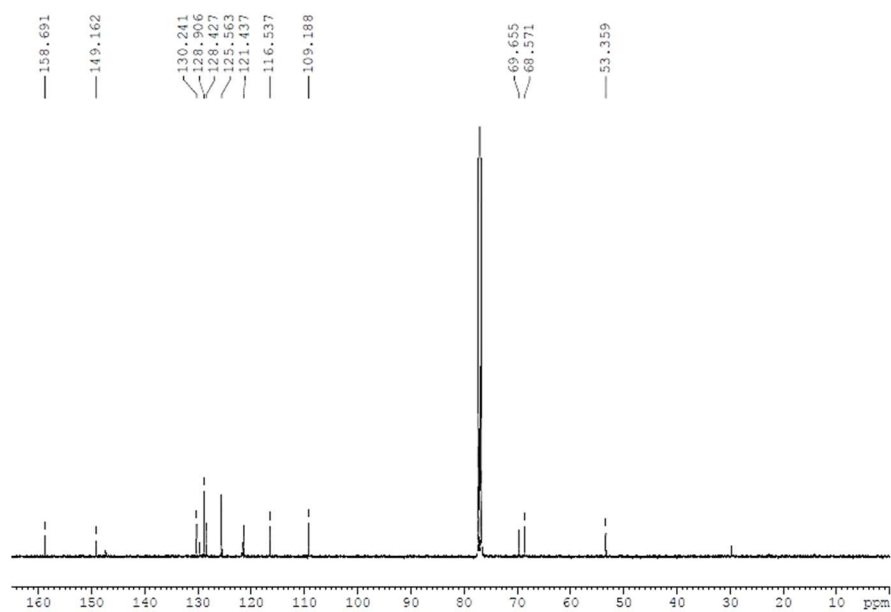
Substância 17:



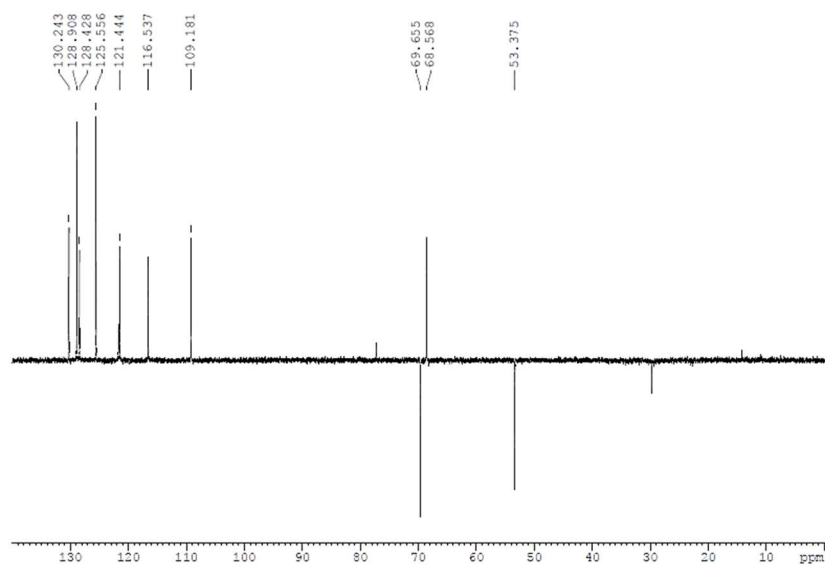
17.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



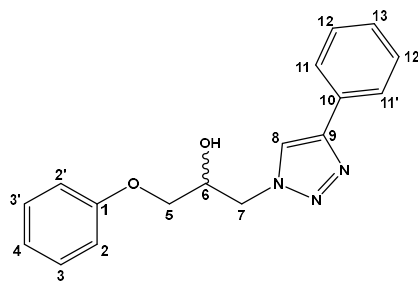
17.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)



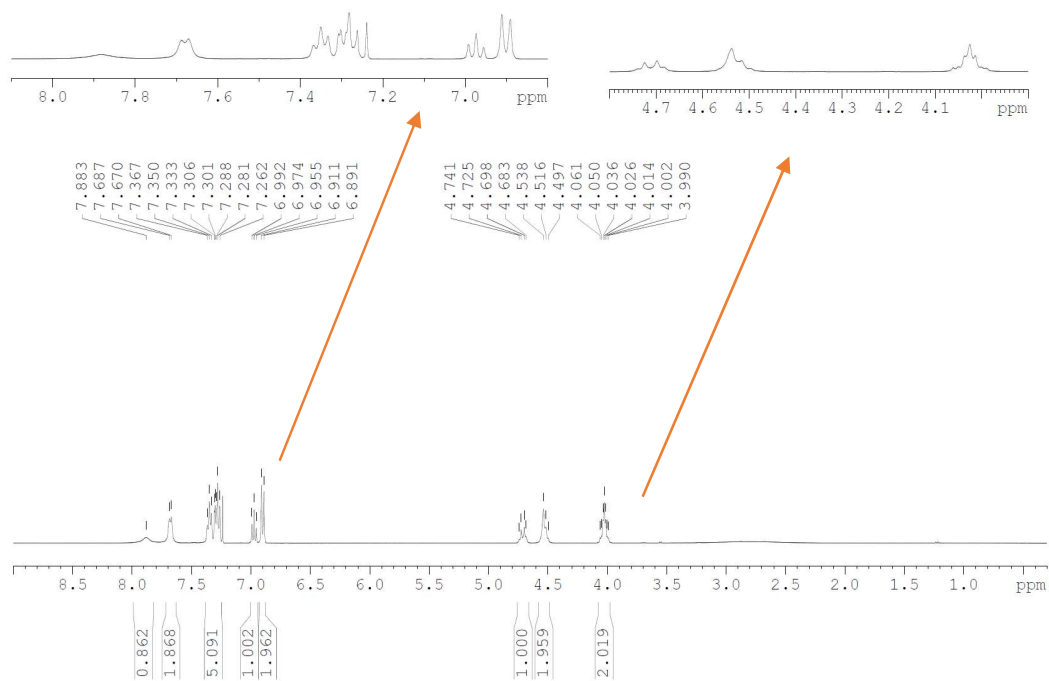
17.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)



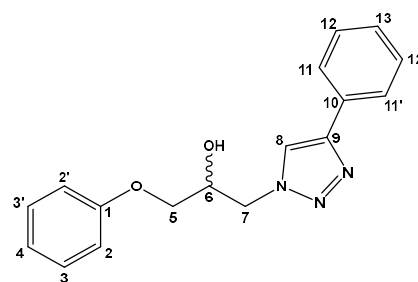
Substância 18:

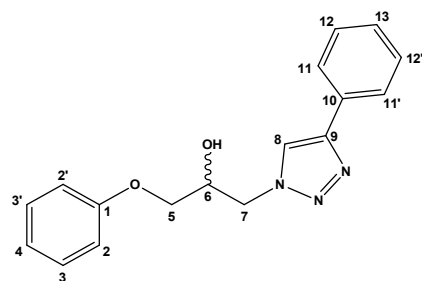
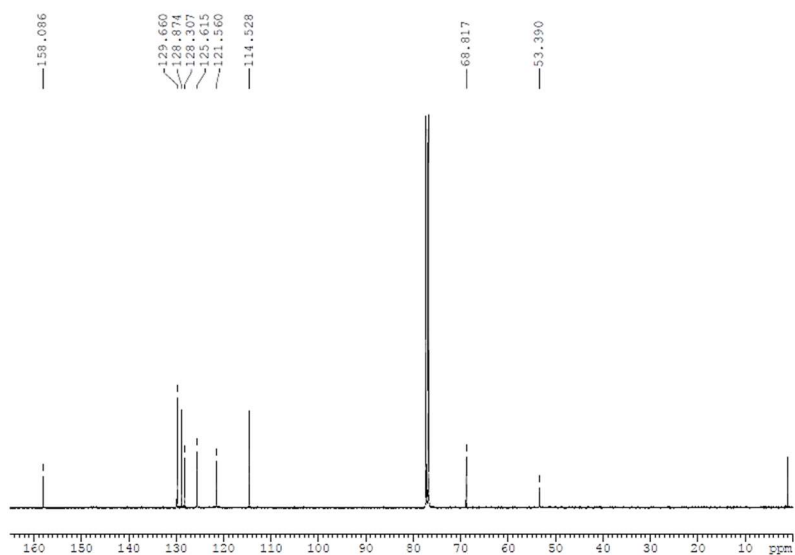


18.1: espectro de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)



18.2 Espectro de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz)





18.3 Subespectro de DEPT-135 (CDCl_3 , 100 MHz)

