

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

**DISSERTAÇÃO**

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS HÍBRIDOS 1,2,4-  
TRIAZOL-3-TIOALQUIL-NITROIMIDAZÓLICOS COM  
TOXICIDADE SELETIVA CONTRA AMASTIGOTAS DE  
*Trypanosoma cruzi***

**AFONSO SANTINE MAGALHÃES MESQUITA VELEZ**

**2021**



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

**PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS HÍBRIDOS 1,2,4-  
TRIAZOL-3-TIOALQUIL-NITROIMIDAZÓLICOS COM  
TOXICIDADE SELETIVA CONTRA AMASTIGOTAS DE  
*Trypanosoma cruzi***

**AFONSO SANTINE MAGALHÃES MESQUITA VELEZ**

*Sob orientação do Professor*

**Dr. Marco Edilson Freire de Lima**

*Professor Titular-Instituto de Química-UFRRJ*

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

*Seropédica, RJ*

*Maiο, 2021*

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

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

V436p

Velez, Afonso Santine Magalhães Mesquita, 1996-  
PLANEJAMENTO E SÍNTESE DE NOVOS HÍBRIDOS 1,2,4  
TRIAZOL-3-TIOALQUIL-NITROIMIDAZÓLICOS COM TOXICIDADE  
SELETIVA CONTRA AMASTIGOTAS DE *Trypanosoma cruzi* /  
Afonso Santine Magalhães Mesquita Velez. -  
Seropédica, 2021.  
161 f.

Orientador: Marco Edilson Freire Lima.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química,  
2021.

1. Síntese orgânica. 2. Química Medicinal. 3. Terapia  
antichagásica. 4. Heterocíclcos. 5. Hibridação  
molecular. I. Lima, Marco Edilson Freire , 1965-,  
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Química III. Título.

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

**AFONSO SANTINE MAGALHÃES MESQUITA VELEZ**

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/05/2021

**Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020**, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

Membros da banca:

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

Gustavo Henrique Goulart Trossini. Dr. FCF-USP-SP

Fernando Carvalho. Dr. DQO-UFF

Arthur Eugne Kummerle. Dr. UFRRJ

Thiago Moreno. Dr. FIOCRUZ-UFRRJ



Emitido em 27/05/2021

**DELIBERAÇÃO Nº 208/2021 - PPGQ (12.28.01.00.00.60)**

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

*(Assinado digitalmente em 27/05/2021 13:47 )*

MARCO EDILSON FREIRE DE LIMA

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DQO (11.39.00.23)

Matrícula: 1058758

*(Assinado digitalmente em 27/05/2021 14:32 )*

GUSTAVO HENRIQUE GOULART TROSSINI

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 212.537.378-51

*(Assinado digitalmente em 27/05/2021 13:43 )*

FERNANDO DE CARVALHO DA SILVA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 052.029.197-27

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número:  
**208**, ano: **2021**, tipo: **DELIBERAÇÃO**, data de emissão: **27/05/2021** e o código de verificação: **618d0a6a8d**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a toda minha família, em especial, aos meus pais, Roberto e Isaura Velez, por todo amor incondicional, carinho, pelo empenho máximo em me garantir a melhor educação possível, e por sempre acreditarem nos meus sonhos e no meu potencial, sempre estando ao meu lado. Agradeço também à minha avó Patrocínia e meu avô Afonso (*in memoriam*) por todo amor e cuidado.

Agradeço à minha irmã Roberta Lucena pela amizade, carinho e apoio em todos os momentos.

Agradeço à minha namorada Bárbara, por todo amor, carinho e amizade, sempre me motivando, incentivando e acreditando no meu potencial. Você é muito especial!

Agradeço a todos os meus amigos que de alguma forma fizeram parte especial dessa caminhada, em especial Caio, Escobar, Fábio, Francisco, Gabriel, Gustavo, José Gabriel, Marcos Paulo, Marcelo, Kevin, Louback, Renato, Tiago, Max e Victor.

Agradeço ao professor Marco Edilson por toda orientação, amizade e suporte em todos os momentos, pela confiança em meu potencial. Tenho muito orgulho em tê-lo como meu orientador. Obrigado pelos ensinamentos e conhecimento compartilhado ao longo de todo meu período desde a Iniciação Científica.

Agradeço à Professora Rosane Nora Castro por todas as análises cromatográficas e, principalmente, pelos ensinamentos e suporte ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Professora Débora Decotê Ricardo por ceder espaço e material de seu laboratório para a realização da etapa de ensaios biológicos deste trabalho, que foi realizado pelo estudante de doutorado Paulo Pitasse.

Agradeço ao Paulo Pitasse Santos pela realização dos ensaios biológicos deste trabalho e, também, por toda ajuda e conselhos durante a etapa de síntese durante todo o projeto.

Agradeço aos companheiros de laboratório do LaQuiMed/UFRRJ, em especial Douglas, Paulo e Gabriela, pela ajuda, sugestões, conhecimento compartilhado e momentos de descontração.

Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química que agregaram positivamente durante minha formação.

Agradeço aos membros da banca pela atenção e solicitude em agregar seus conhecimentos a esse trabalho.

Agradeço a todos os técnicos e funcionários do IQ-UFRRJ, em especial aos membros da Central Analítica, por realizarem todos os experimentos de caracterização dos compostos desse trabalho.

Agradeço a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro por garantir ensino gratuito e de qualidade.

Agradeço à **CAPES, CNPq e FAPERJ** pelo auxílio financeiro para a execução dos projetos do nosso grupo de pesquisa.

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

## RESUMO

VELEZ, Afonso Santine Magalhães Mesquita. **Planejamento e Síntese de novos híbridos 1,2,4-triazol-3-tioalquil-nitroimidazólicos com toxicidade seletiva contra amastigotas de *Trypanosoma cruzi***, 2021, 140p. Dissertação (Mestrado em Química, área de concentração Química Orgânica - Química Medicinal). Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

A doença de Chagas (DC) é uma das principais doenças tropicais negligenciadas. A DC é endêmica em áreas rurais de países em desenvolvimento da América do Sul, e até hoje não conta com um tratamento efetivo. Face à demanda de desenvolvimento de novos compostos com potencial terapêutico para o tratamento de doenças negligenciadas, esse trabalho visa contribuir com estudo no desenvolvimento de novos fármacos com potencial atividade antiparasitária. Nossa abordagem envolveu a aplicação da estratégia de hibridação molecular, utilizando um derivado 1,2,4-triazólico-3-tiona (com atividade antiparasitária previamente descrita por nosso grupo). Este derivado triazólico foi preparado a partir da amida natural piperina, principal componente químico dos frutos secos de *Piper nigrum*, produto natural acessível e de fácil isolamento. O planejamento molecular realizado envolveu a hibridação do derivado 1,2,4-triazólico-3-tiona da piperina com diferentes núcleos nitroimidazólicos (que se destacam como importantes farmacóforos para a atividade antiparasitária pretendida). A aplicação desta estratégia de modificação molecular, somada às demais metodologias desenvolvidas nesse trabalho, permitiu a preparação de seis novas moléculas inéditas, os híbridos 1,2,4-triazol-3-tioalquil-nitroimidazólicos, que exploram diferentes posições do grupamento nitro no anel imidazólico, com diferentes tamanhos de cadeias alquílicas. Esses híbridos apresentaram atividade muito promissora contra as formas amastigotas do *Trypanosoma cruzi* (cepa Tulahuen, C2C4 LacZ), apresentando nos experimentos, de baixa a moderada toxicidade nos modelos celulares testados; além de todos os híbridos apresentarem concentração inibitória comparáveis a do fármaco de referência utilizado, benzonidazol, com destaque para um híbrido em especial que se mostrou dez vezes mais ativo, com atividade na faixa de concentração de nM .

**Palavras-chave:** Piperina, Heterocícl, Hibridação molecular.

## ABSTRACT

VELEZ, Afonso Santine Magalhães Mesquita. **Planning and Synthesis of new 1,2,4-triazole-3-thioalkyl-nitroimidazole hybrids with selective toxicity against *Trypanosoma cruzi* amastigotes**, 2021, 140p. Dissertation (Masters in Chemistry, Focused in Organic Chemistry – Medicinal Chemistry). Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

Chagas disease (CD) is one of the main neglected tropical diseases. CD is endemic in rural areas of developing countries in South America, and to date there is no effective treatment. Given the demand for the development of new compounds with therapeutic potential for the treatment of neglected diseases, this work aims to contribute to a study in the development of new drugs with potential antiparasitic activity. Our approach involved the application of a molecular hybridization strategy, using a 1,2,4-triazole-3-thione derivative (with antiparasitic activity previously described by our group). This triazole derivative was prepared from the natural amide piperine, the main chemical component of the dried fruits of *Piper nigrum*, an accessible natural product that is easy to isolate. The molecular design performed involved the hybridization of the 1,2,4-triazole-3-thione derivative of piperine with different nitroimidazole cores (which stand out as important pharmacophores for the intended antiparasitic activity). The application of this molecular modification strategy, added to the other methodologies developed in this work, allowed the preparation of six novel molecules, the 1,2,4-triazol-3-thioalkyl-nitroimidazole hybrids, which explore different positions of the nitro group in the ring imidazole, with different sizes of alkyl chains. These hybrids showed very promising activity against the amastigote forms of *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen strain, C2C4 LacZ), showing, in the experiments, low to moderate toxicity in the cell models tested; in addition to the fact that all hybrids present inhibitory concentration comparable to that of the reference drug used, benznidazole, especially one hybrid that was ten times more active, with activity in the nM concentration range.

**Key words:** Piperine, Heterocycles, Molecular hybridization.

## ÍNDICE DE ESPECTROS

<b>Espectro 1:</b> Espectro de IV do 5-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiona (4).....	60
<b>Espectro 2:</b> Espectro de massas do 5-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiona (4).....	60
<b>Espectro 3:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>D</i> 6) do 5-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiona (4).....	61
<b>Espectro 4:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (500 MHz, DMSO- <i>D</i> 6) do 5-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiona (4).....	61
<b>Espectro 5:</b> Espectro de IV do metronidazol (5).....	64
<b>Espectro 6:</b> Espectro de massas do metronidazol (5).....	64
<b>Espectro 7:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>D</i> 6) do metronidazol (5).....	65
<b>Espectro 8:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPTQ (125 MHz, DMSO- <i>D</i> 6) do metronidazol (5).....	65
<b>Espectro 9:</b> Espectro de IV do Metanossulfonato de 2-(2-methyl-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il) etila (10).....	68
<b>Espectro 10:</b> Espectro de massas do Metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il) etila (10).....	69
<b>Espectro 11:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>D</i> 6) do Metanossulfonato de 2-(2-methyl-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)etila (10).....	69
<b>Espectro 12:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C – DEPTQ (125 MHz, DMSO- <i>D</i> 6) do Metanossulfonato de 2-(2-methyl-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)etila (10).....	70
<b>Espectro 13:</b> Espectro de IV do 1-(2-iodo etil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	72
<b>Espectro 14:</b> Espectro de massas do -(2-iodo etil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	72
<b>Espectro 15:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> - <i>D</i> ) do 1-(2-iodo etil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	73
<b>Espectro 16:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> - <i>D</i> ) do 1-(2-iodo etil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	73
<b>Espectro 17:</b> Espectro de IV do híbrido1.....	74
<b>Espectro 18:</b> Espectro de massas (HRMS) do híbrido 1.....	75

<b>Espectro 19:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, DMSO- <i>D</i> <sub>6</sub> ) do híbrido 1.....	75
<b>Espectro 20:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, DMSO- <i>D</i> <sub>6</sub> ) do híbrido 1.....	78
<b>Espectro 21:</b> Espectro de IV do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	81
<b>Espectro 22:</b> Espectro de massas do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	81
<b>Espectro 23:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	82
<b>Espectro 24:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> - <i>D</i> ) do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	82
<b>Espectro 25:</b> Espectro de IV do Híbrido 2.....	85
<b>Espectro 26:</b> Espectro de massas do Híbrido 2.....	86
<b>Espectro 27:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do híbrido 2.....	86
<b>Espectro 28:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do híbrido 2.....	87
<b>Espectro 29:</b> Espectro de IV do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	90
<b>Espectro 30:</b> Espectro de massas do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	90
<b>Espectro 31:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	91
<b>Espectro 32:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	91
<b>Espectro 33:</b> Espectro de IV do Híbrido 3.....	94
<b>Espectro 34:</b> Espectro de massas do Híbrido 3.....	95
<b>Espectro 35:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 3.....	95
<b>Espectro 36:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 3.....	96
<b>Espectro 37:</b> Espectro de IV do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitroimidazol (17).....	99
<b>Espectro 38:</b> Espectro de massas do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitroimidazol (17).....	99
<b>Espectro 39:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitroimidazol (17).....	100
<b>Espectro 40:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitroimidazol (17).....	100
<b>Espectro 41:</b> Espectro bidimensional de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC ( <i>J</i> 1) (500 MHz/125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (17).....	101

<b>Espectro 42.</b> Espectro bidimensional de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HMBC ( <i>J</i> 2, <i>J</i> 3) (500 MHz/125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (17).....	102
<b>Espectro 43:</b> Espectro de IV do Híbrido 4.....	105
<b>Espectro 44:</b> Espectro de massas do Híbrido 4.....	106
<b>Espectro 45:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 4.....	106
<b>Espectro 46:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 4.....	107
<b>Espectro 47:</b> Espectro de IV do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	110
<b>Espectro 48:</b> Espectro de massas do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	110
<b>Espectro 49.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	111
<b>Espectro 50.</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	111
<b>Espectro 51:</b> Espectro de IV do Híbrido 5.....	114
<b>Espectro 52:</b> Espectro de massas do Híbrido 5.....	115
<b>Espectro 53:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 5.....	115
<b>Espectro 54:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 5.....	116
<b>Espectro 55:</b> Espectro de IV do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (18)..	119
<b>Espectro 56:</b> Espectro de massas do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitroimidazol (18)..	119
<b>Espectro 57:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitroimidazol (18).....	120
<b>Espectro 58:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitroimidazol (18).....	120
<b>Espectro 59:</b> Espectro de IV do Híbrido 6.....	123
<b>Espectro 60:</b> Espectro de massas do Híbrido 6.....	124
<b>Espectro 61:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 6.....	124
<b>Espectro 62:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do Híbrido 6.....	125

## ÍNDICE DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b> Preparação do intermediário 1,2,4-triazol-3-tiona (4), a partir da piperina .....	19
<b>Esquema 2:</b> Mecanismo simplificado para a formação de cloretos de ácido, através da reação dos respectivos ácidos carboxílicos com cloreto de oxalila.....	20
<b>Esquema 3:</b> Proposta simplificada de mecanismo para a reação de ciclização do intermediário (9) ao derivado 4-ciclo-hexil-1,2,4-triazol-3-tiona (4).....	21
<b>Esquema 4:</b> Protonação do nitrogênio do anel imidazólico e comportamento ácido-base do núcleo imidazólico.....	22
<b>Esquema 5:</b> Proposta de fragmentação para o metronidazol (5).....	23
<b>Esquema 6.</b> Preparação do metanossulfonato derivado do Metronidazol(10).....	24
<b>Esquema 7:</b> Mecanismo proposto para a obtenção do éster metanossulfonato (10), derivado do metronidazol (5).....	25
<b>Esquema 8:</b> Proposta de fragmentação para derivado metanossulfonato (10).....	26
<b>Esquema 9:</b> Reação da obtenção do iodeto derivado do metronidazol (11).....	28
<b>Esquema 10:</b> Formas Tautoméricas do derivado 1,2,4-triazol-3-tiona(4) e 1,2,4-triazol-3-tiol (4a).....	28
<b>Esquema 11:</b> Proposta de fragmentação para o iodeto do metronidazol (11).....	29
<b>Esquema 12.</b> Mecanismo proposto para a obtenção dos alquilantes derivados do 2-nitroimidazol.....	31
<b>Esquema 13.</b> Reação da obtenção do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	31
<b>Esquema 14.</b> Proposta de fragmentação para o 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	32
<b>Esquema 15.</b> Reação da obtenção do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	33
<b>Esquema 16.</b> Proposta de fragmentação do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	34
<b>Esquema 17.</b> Reação da obtenção do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	35
<b>Esquema 18.</b> Proposta de fragmentação do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	36

<b>Esquema 19.</b> Formas Tautoméricas do 2-metil-(4)5-nitroimidazol(16).....	37
<b>Esquema 20.</b> Diferentes posições na qual o grupamento nitro pode estar funcionalizado, utilizando como material de partida o 2-metil-(4)5-nitroimidazol.....	37
<b>Esquema 21.</b> Mecanismo para a obtenção dos ânions do 2-nitro-(4)5-nitroimidazol em meio básico.....	38
<b>Esquema 22. (a)</b> Mecanismo proposto para a obtenção dos alquilantes a partir do ânion mais estável do 2-metil-(4)5-nitroimidazol (16) em meio básico; <b>(b)</b> Formação do produto de dialquilação indesejado.....	39
<b>Esquema 23.</b> Reação da obtenção do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol(17)....	39
<b>Esquema 24.</b> Reação da obtenção do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (16)..	41
<b>Esquema 25.</b> Planejamento de síntese da série de híbridos 1-6, a partir dos alquilantes previamente sintetizados.....	43
<b>Esquema 26.</b> Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 1 partindo do metronidazol (5).....	44
<b>Esquema 27.</b> Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 2, partindo do 2-nitroimidazol.....	46
<b>Esquema 28.</b> Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 3, partindo do 2-nitroimidazol.....	47
<b>Esquema 29.</b> Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 4, partindo do 2-metil-5-nitroimidazol.....	48
<b>Esquema 30.</b> Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 5, partindo do 2-nitroimidazol.....	49
<b>Esquema 31.</b> Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 6, partindo do 2-metil-5-nitroimidazol.....	51
<b>Esquema 32.</b> Reação de clivagem do corante CPRG .....	52

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Percentual de viabilidade frente a macrófagos (RAW) e valores de $CI_{50}$ frente à célula LLC-MK2 calculados para os Híbridos sintetizados.....	52
<b>Tabela 2.</b> Valores de $CI_{50}$ frente às formas amastigotas de <i>T. cruzi</i> (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) calculado para os Híbridos avaliados.....	54
<b>Tabela 3.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o 5-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiona(4).....	62
<b>Tabela 4.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o Metronidazol (5).....	66
<b>Tabela 5.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o Metanossulfonato de 2-(2-methyl-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il) etila (10).....	70
<b>Tabela 6.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o 1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	74
<b>Tabela 7.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o híbrido 1.....	79
<b>Tabela 8.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o 1-(3-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	83
<b>Tabela 9.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o híbrido 2.....	88
<b>Tabela 10.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	92
<b>Tabela 11.</b> Deslocamento químico de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o Híbrido 3.....	97
<b>Tabela 12.</b> Deslocamentos químicos de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (17).....	103
<b>Tabela 13.</b> Deslocamentos químicos de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o Híbrido 4.....	108
<b>Tabela 14.</b> Deslocamentos químicos de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o 1-(4-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	112
<b>Tabela 15.</b> Deslocamentos químicos de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o Híbrido 5.....	117
<b>Tabela 16.</b> Deslocamentos químicos de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (18).....	121
<b>Tabela 17.</b> Deslocamentos químicos de RMN $^1H$ e $^{13}C$ para o Híbrido 6.....	126

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas (1879-1934).....	1
<b>Figura 2.</b> Distribuição global da Doença de Chagas (WHO, 2018).....	2
<b>Figura 3.</b> Imagem do barbeiro (inseto triatomíneo), vetor da doença de Chagas .....	3
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática do ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	4
<b>Figura 5.</b> Estrutura dos fármacos comerciais nifurtimox (1) e benzonidazol (2).....	5
<b>Figura 6.</b> Distribuição de todos os fármacos inseridos no mercado desde 1981 até 2020 .....	6
<b>Figura 7.</b> Estrutura da piperina <b>3</b> ; <i>Piper nigrum</i> (a); frutos secos moídos de <i>P. nigrum</i> (pimenta do reino) (b); cristais de piperina, após isolamento (c).....	7
<b>Figura 8.</b> Classificação de híbridos moleculares.....	10
<b>Figura 9.</b> Planejamento molecular dos híbridos 1,2,4-triazol-3-tiona derivados da piperina....	11
<b>Figura 10.</b> Estrutura cristalográfica da enzima CYP51 do <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	12
<b>Figura 11.</b> Planejamento molecular dos híbridos 1,2,4-triazol-3-tioalquil-nitroimidazólicos.....	13
<b>Figura 12.</b> Perfil de redução intracelular de nitroaromáticos envolvendo transição simples e dupla de elétrons.....	14
<b>Figura 13.</b> Via redutora do Benzonidazol, catalizada pela TR do <i>T. cruzi</i> .....	15
<b>Figura 14.</b> Série de Híbridos 1,2,4-triazol-3-tioalquil-nitroimidazólicos (1-6).....	17
<b>Figura 15.</b> Produto de eliminação (19), com seus deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de <sup>13</sup> C.....	33
<b>Figura 16.</b> Gráficos de atividade dos compostos avaliados frente às formas amastigotas do <i>T. cruzi</i> (cepa Tulahuen C2C4 LacZ).....	53
<b>Figura 17.</b> Híbridos (1 – 6), piperina (3) e o precursor 1,2,4-triazol-3-tiona (4) com suas respectivas atividade em amastigotas de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen C2C4 LacZ) .....	56

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CLAE = Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodos

CCD = Cromatografia em camada delgada

CDI = Carbonil-diimidazol

CI<sub>50</sub> = Concentração Inibitória de 50%

CPRG = Chlorophenol red β -D-galactopyranoside

d = duplete

dd = duplo duplete

DC = Doença de Chagas

DCM = Diclorometano

DMEM = *Dulbecco's Modified Eagle's Medium*

DMF = *N,N*-dimetilformamida

DMSO = Dimetilsulfóxido

DNT's = Doenças Tropicais Negligenciadas

EDTA = Ácido etilenodiamino tetra-acético

EM = Espectroscopia de massas de Baixa resolução com ionização por impacto de elétrons

ESI = Espectrometria de Massa com ionização por Eletronspray

IV = InfraVermelho

*J* = constante de acoplamento

M +• = Íon Molecular

m = multiplete

MTT = (4,5-dimetil-2-{(E)-[(Z)-fenil(2-fenilhidrazinilideno)metil]diazenil} -1,3-tiazol

m/z = razão massa-carga

NTR = Enzima nitroreductases

PBS = Solução Tampão de Fosfato

P.F. = Ponto de fusão

ppm = parte por milhão

RMN <sup>1</sup> H = Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN <sup>13</sup> C = Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

s = simpleto

SAR = Relação de Estrutura-Atividade

SFB = Soro Fetal Bovino

t = tripleto

TEA = Trietilamina

TR = Enzima Tripanotona Redutase

XTT = 2,3-Bis-(2-Metoxi-4-Nitro-5-Sulfofenil)-2H-Tetrazol-5-Carboxanilida

δ = deslocamento químico

ν = estiramento

λ = comprimento de onda

# SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. A Doença de Chagas .....	1
1.1.1. Tratamento.....	5
1.2. Produtos Naturais.....	6
1.2.1. Piperina.....	7
1.3. Estratégias de Modificações Estruturais.....	8
1.3.1. Bioisosterismo.....	8
1.3.2. Hibridização Molecular.....	9
1.4. Planejamento de Novos Híbridos com Potencial Antiparasitário.....	12
<b>2. JUSTIFICATIVAS</b> .....	15
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	16
<b>4. DISCUSSÃO DA PARTE SINTÉTICA</b> .....	18
4.1. Planejamento Molecular.....	18
4.2. Obtenção do derivado piperínico do tipo 1,2,4-triazólico-3-tiona (4).....	18
4.3. Preparação dos Alquilantes.....	22
4.3.1. Preparação do alquilante 5-nitroimidazólico, a partir do Metronidazol.....	22
4.3.1.1. Obtenção do Metronidazol (5).....	22
4.3.1.2. Preparação do Metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il) etila (10).....	24
4.3.1.3. Preparação do 1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	27
4.3.2. Preparação dos alquilantes derivados 2-nitroimidazólicos.....	30
4.3.2.1. Preparação do 1-(3-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	31
4.3.2.2. Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	33
4.3.2.3. Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	35
4.3.3. Preparação dos alquilantes derivados (4)5-nitro-1 <i>H</i> -imidazólicos...36	
4.3.3.1. Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (17).....	39
4.3.3.2. Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (18).....	40

4.4.Preparação dos Híbridos.....	42
4.4.1. Preparação do Híbrido 1.....	43
4.4.2. Preparação do Híbrido 2.....	45
4.4.3. Preparação do Híbrido 3.....	46
4.4.4. Preparação do Híbrido 4.....	47
4.4.5. Preparação do Híbrido 5.....	48
4.4.6. Preparação do Híbrido 6.....	50
<b>5. DISCUSSÃO DA AVALIAÇÃO ANTIPARASITÁRIA.....</b>	<b>51</b>
<b>6. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>57</b>
6.1.Química.....	57
6.1.1. Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas.....	57
6.1.2. Nas análises, sínteses e purificações.....	58
6.1.3. Outros equipamentos.....	58
6.1.4. Preparação do derivado 5-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiona (4).....	59
6.1.5. Extração do 2-(2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)etanol (Metronidazol 5).....	63
6.1.6. Preparação do Metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)etila (10).....	67
6.1.7. Preparação do 1-(2-iodo etil)-2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (11).....	71
6.1.8. Preparação do 3-[(1 <i>E</i> , 3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)butan-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-5-{[2-(2-metil-5-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)etil]tio}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol (Híbrido 1).....	75
6.1.9. Preparação do 1-(3-bromoetil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (13).....	80
6.1.10. Preparação do 3-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)buta-1,3-dien-1-il]-4-ciclohexil-5-{[2-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)ethyl]tio}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol (Híbrido 2).....	84
6.1.11. Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (14).....	89
6.1.12. Preparação do 3-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-5-{[3-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)propil]tio}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol(Híbrido 3).....	93
6.1.13. Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (17).....	98
6.1.14. Preparação do 3-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-5-{[3-(2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)propil]thio}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol (Híbrido 4).....	104
6.1.15. Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol (15).....	109
6.1.16. Preparação do 3-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-ciclohexil-5-{[4-(2-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)butil]tio}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol (Híbrido 5).....	113
6.1.17. Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitroimidazol (18).....	118

6.1.18. Preparação do 3-[(1 <i>E</i> ,3 <i>E</i> )-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-5-[4-(2-metil-4-nitro-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)butil]tio}-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol (Híbrido 6).....	122
6.2. Avaliação Antiparasitária dos Híbridos.....	127
6.2.1. Culturas de células e parasitos para os experimentos.....	127
6.2.2. Soluções estoque dos Híbridos.....	127
6.2.3. Citotoxicidade contra macrófagos RAW.....	127
6.2.4. Citotoxicidade contra células LLC-MK2.....	128
6.2.5. Atividade tripanocida contra amastigota de <i>T. cruzi</i> .....	128
6.2.6. Tratamento estatístico de dados.....	129
<b>7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>130</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>131</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. A Doença de Chagas

A doença de Chagas (DC), também conhecida como Tripanossomíase Americana, é uma doença endêmica em 21 países do continente Americano (MSF, 2018). Esta parasitose é causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, sendo considerada uma das mais negligenciadas dentre o grupo de doenças tropicais negligenciadas (DTNs) (HOTEZ *et al.*, 2007). As DTNs correspondem a um grupo de 20 doenças infecciosas que afetam mais de um bilhão de pessoas em todo o mundo, estando presentes, principalmente, em países em desenvolvimento; estas doenças são predominantes em bolsões de extrema de pobreza, onde a falta de saneamento básico permite a exposição destas populações vulneráveis a diferentes patógenos (OPAS-WHO, 2019). Adicionalmente, observa-se a falta de investimentos, até mesmo interesse por parte das autoridades competentes, em se colocar em prática políticas de saúde pública que mitiguem o impacto nocivo dessas enfermidades (IHMT, 2020).

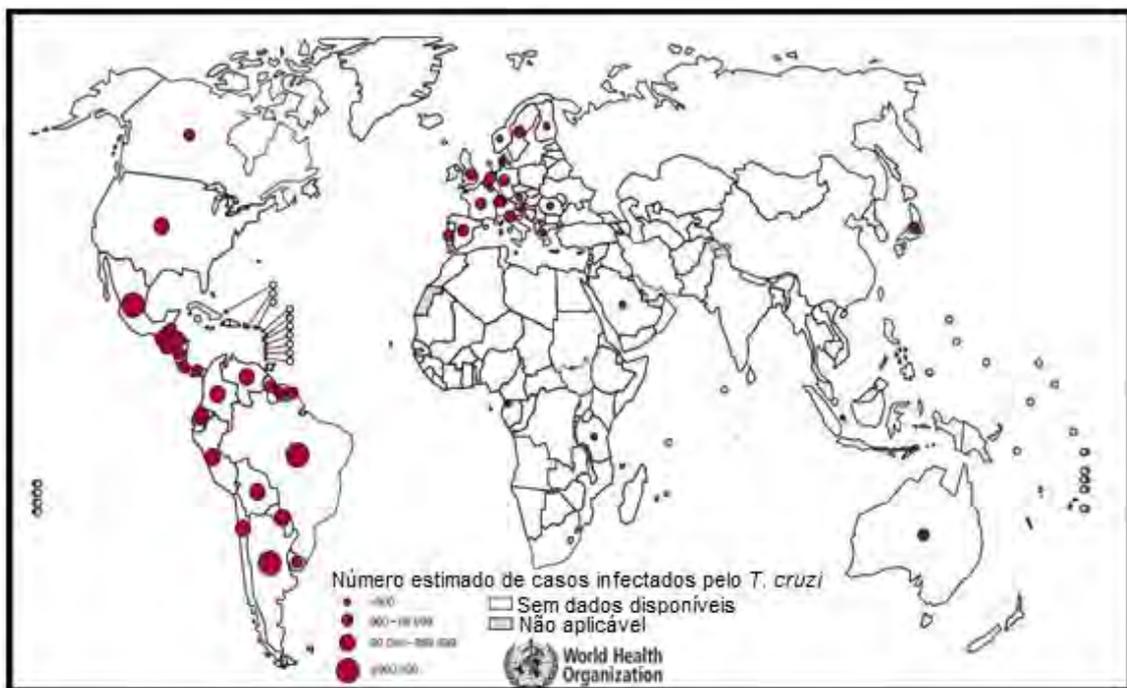
A DC foi descoberta em 1909 pelo médico e cientista brasileiro Carlos Chagas (**Figura 1**), que identificou as primeiras formas flageladas de *T. cruzi* em sangue humano de uma paciente de dois anos que apresentava sintomas de febre alta, e aumento do tamanho de órgãos vitais, como fígado e baço (CHAGAS, 1909).



**Figural.** Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas (1879-1934).

Estima-se que, no mundo, o número de pessoas infectadas pelo *T. cruzi* seja de 6 a 7 milhões, sendo que mais de 90% dos indivíduos portadores da DC não sabem que estão infectados, devido à falta de conhecimento sobre a doença e as limitadas unidades de saúde que, de fato, realizem o diagnóstico ou alertem a população para a gravidade do problema. Uma vez que a fase inicial desta doença é, praticamente, assintomática, milhares de pessoas vivem com essa doença sem o diagnóstico, alheias a qualquer tipo

de tratamento ou cuidado necessário (MSF, 2018). Estima-se ainda, que, anualmente, cerca de 28 mil novos casos de infecção ainda ocorrem por transmissão vetorial e outros 8 mil novos casos por transmissão congênita (WHO, 2012; WHO, 2020). Nas últimas décadas a doença teve uma mudança em seu padrão epidemiológico, sendo endêmica, em um primeiro momento, em áreas rurais e, hoje, sendo considerada um problema mundial de saúde pública, também em áreas urbanas, devido a fatores como: urbanização, mobilidade da população e, principalmente, emigração. Com isso, observa-se o aparecimento massivo da DC em países não-endêmicos, sejam eles países desenvolvidos ou países em desenvolvimento, como Canadá, Estados Unidos, alguns dos principais países da Europa, alguns países da África, Mediterrâneo Oriental e Pacífico Ocidental (LEE *et al.*, 2013; WHO, 2020).



**Figura 2.** Distribuição global da Doença de Chagas (Traduzido de WHO, 2018).

A transmissão vetorial do *T. cruzi* para o hospedeiro humano ocorre, geralmente, em áreas rurais, onde se concentram os mais pobres, que pela falta de serviços básicos de higiene e saneamento estão mais vulneráveis ao contato com os dejetos do “barbeiro” (**Figura 3**), nome popular que se dá ao inseto hematófago triatomíneo (*Triatoma infestanz* da família *triatomineae*). A transmissão por via oral tem se destacado, epidemiologicamente, nos últimos anos, e vem sendo chamada por “transmissão à distância” (XAVIER *et al.*, 2014); recebe esse termo, pois consiste no consumo de insumos provenientes de regiões rurais (em sua maioria, endêmicas), geralmente, polpa

de frutas contaminadas com *T. cruzi*, tendo havido algum tipo de contato com os dejetos do “barbeiro” em seu cultivo ou processamento, dando destaque para a polpa de açaí, muito popular no Brasil (BARROSO-FERREIRA *et al.*, 2014). Segundo Coura e Castro (2002), a transmissão através de transfusões sanguíneas, de doadores infectados, já teve números expressivos (5 a 20% das infecções por *T. cruzi*), tendo atualmente diminuído esse número devido à maior fiscalização e cuidado nos bancos de sangue. A transmissão vertical consiste na infecção de mãe para filho durante a gravidez, ou no momento do parto, em alguns casos pode ocorrer também através do aleitamento materno (LAMOUNIER *et al.*, 2004).

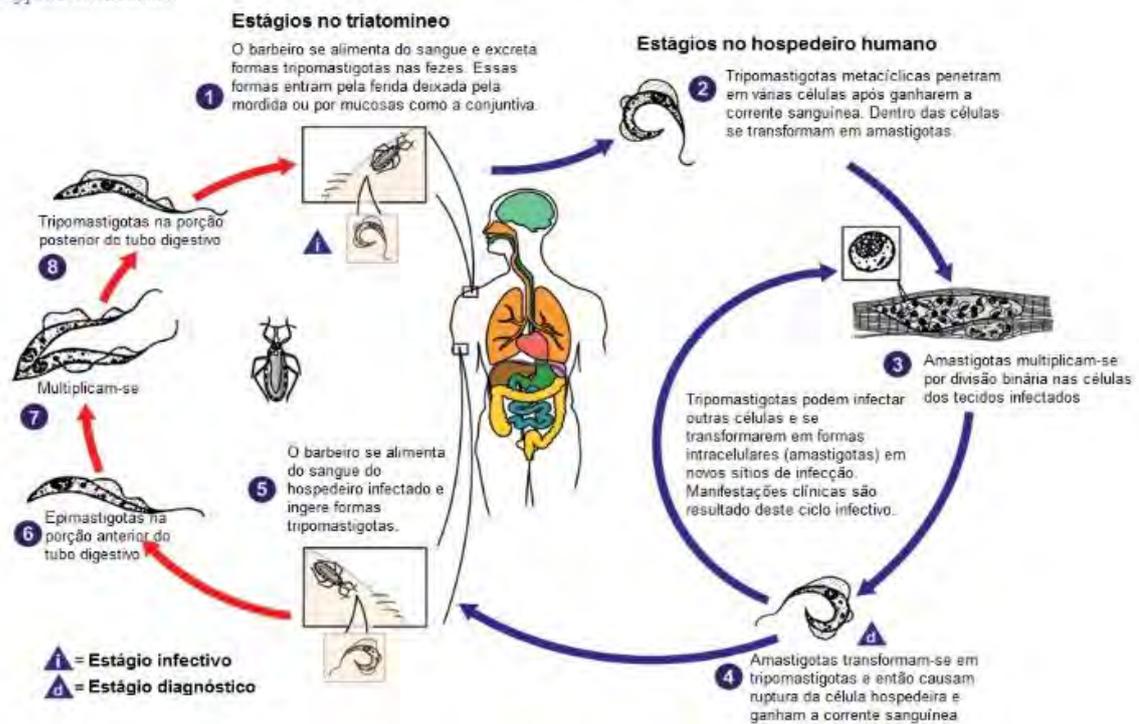


**Figura 3.** Imagem do barbeiro (inseto triatomíneo), vetor da doença de Chagas (<http://triatokokey.cpqrr.fiocruz.br/#&ui-state=dialog>).

O *T. cruzi* se apresenta em três variações morfológicas em seu ciclo evolutivo (**Figura 4**): epimastigota, forma replicativa presente no trato digestivo do inseto triatomíneo (vetor); amastigota, forma replicativa observada no interior das células de mamíferos; tripomastigota, forma infectante e não replicativa, presente na corrente sanguínea do hospedeiro mamífero e nos dejetos do inseto triatomíneo (FIOCRUZ, 2017).

## Tripanossomiase americana (doença de Chagas)

*Trypanosoma cruzi*

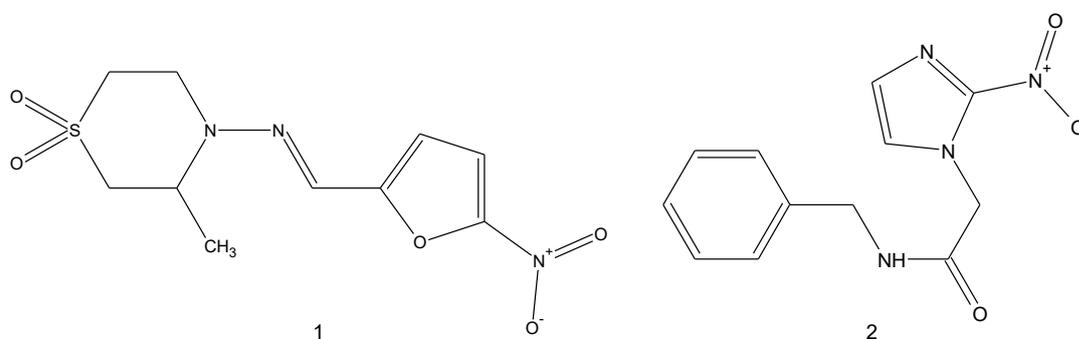


**Figura 4.** Representação esquemática do ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* (Traduzida de CDC, 2019).

Após instalada a infecção, a DC se manifesta, inicialmente, na fase aguda, que está associada à infestação e multiplicação parasitária nos tecidos, principalmente no miocárdio, no sistema nervoso e no aparelho digestivo (BATISTA *et al.*, 2008; SIMÕES *et al.*, 2018). Essa fase se inicia de 1 a 4 semanas após a exposição ao *T. cruzi*, ela é conhecida por ser assintomática, porém os pacientes podem apresentar quadros sintomáticos, com febre, adenomegalia, hepaesplenomegalia. Uma pequena parte dos pacientes mais graves pode apresentar sintomas que se assemelham à miocardite e meningoencefalite, sendo fatal em até 10% dos casos mais graves, acometendo principalmente crianças menores de dois anos (COURA, 2003; SIMÕES *et al.*, 2018). A fase crônica apresenta uma patogenia mais complexa, sendo a inflamação o determinante da progressão da doença; muitos pacientes podem levar de 10 a 30 anos, após a fase aguda, para manifestar os sintomas da fase crônica, destacando-se como o principal, e mais o severo, a cardiomiopatia decorrente das lesões no tecido cardíaco, causadas pelo parasito e pelo sistema imune do hospedeiro, podendo levar à morte súbita do paciente (PÉREZ-MOLINA & MOLINA 2018; COURA & CASTRO, 2002; COURA, 2003; SALLES-XAVIER *et al.*, 2005; SIMÕES *et al.*, 2018).

### 1.1.1. Tratamento

O tratamento quimioterápico da DC se restringe a dois fármacos nitroheterocíclicos, inseridos no mercado a mais de 50 anos, o Nifurtimox e o Benzonidazol (**Figura 5**), com índices de cura na faixa de 50 a 70% na fase aguda, em contraste com valores percentuais inferiores a 20% na fase crônica da doença (DIAS *et al.*, 2009). Esses fármacos demandam de um longo tempo de tratamento (30 a 60 dias), e muitas vezes os pacientes acabam por abandonar o tratamento por diversos fatores, sendo o principal deles os efeitos colaterais severos causados por essas substâncias, que apresentam um perfil de toxicidade bastante elevado (GARCIA *et al.*, 2005; COURA, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2020).

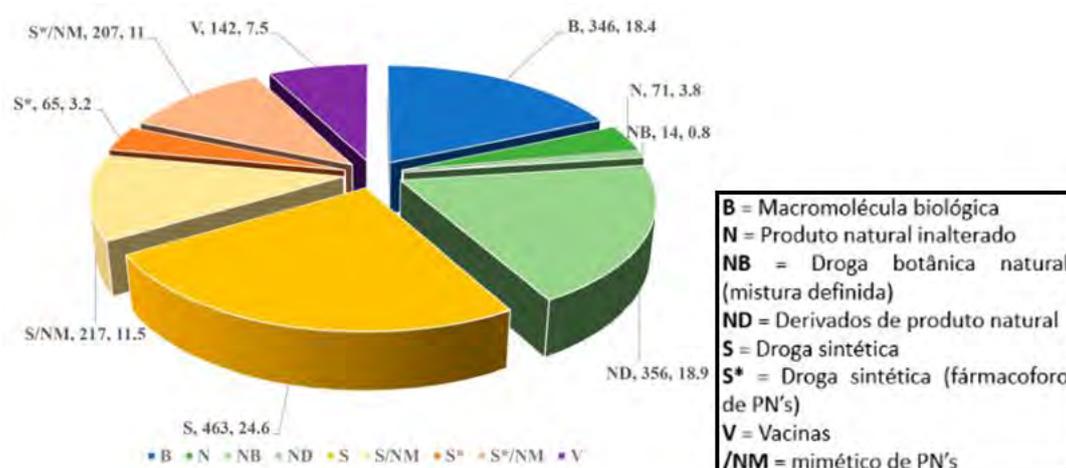


**Figura 5.** Estrutura dos fármacos comerciais nifurtimox (1) e benznidazol (2).

A falta de interesse de indústrias farmacêuticas no desenvolvimento de substâncias antiparasitárias para o tratamento de Chagas é notável; pois é uma doença que não tem potencial lucrativo para essas empresas, uma vez que a imensa maioria dos infectados não têm condições de arcar com o valor do tratamento, além de estarem nas áreas mais carentes dos países endêmicos. Segundo uma matéria publicada em 2013 pela Agência FIOCRUZ de notícias, essa negligência custa U\$ 129 milhões todos os anos à saúde pública brasileira. Para sanar esse problema da falta de tratamento, muitos trabalhos têm discutido a eficiência das estratégias de reposicionamento de fármacos, e da associação de fármacos, por serem abordagens mais rápidas e econômicas (RIBEIRO *et al.*, 2020). Porém, uma alternativa atraente é o estudo e a utilização dos produtos naturais abundantes, obtidos de fontes renováveis, como precursores na síntese de novos antiparasitários, pois os mesmos apresentam uma variedade infinita de estruturas capazes de interagir com diferentes modelos biológicos (DIAS *et al.*, 2009).

## 1.2. Produtos Naturais

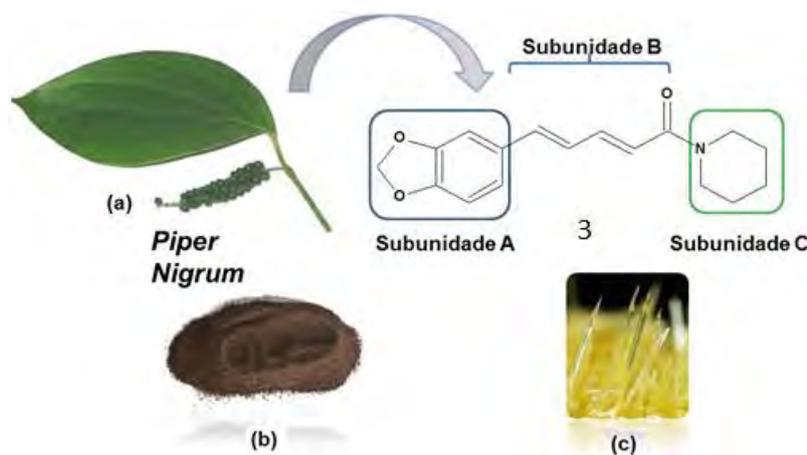
O uso das plantas medicinais como ciência empírica é utilizada até hoje por diversos povos ao redor do mundo desde a antiguidade; a ingestão de ervas, folhas e frutos, nas formas de extrato, chás ou *in-natura*, exercendo algum tipo de ação farmacológica, pode ser compreendida como o início da química dos produtos naturais (BOLZANI *et al.*, 2006; DOS-SANTOS *et al.*, 2016). A biodiversidade oferece uma rica diversidade de compostos naturais com estruturas ainda não elucidadas, que se mostram como uma das fontes mais sofisticadas de novos modelos moleculares para química medicinal, desenvolvimento de novos fármacos (VALLI & BOLZANI, 2019). No campo da química medicinal, os produtos naturais sempre se mostraram como uma importante alternativa na área de planejamento e desenvolvimento de novas substâncias com atividades em diversos alvos biológicos (DIAS *et al.*, 2009), e para a descoberta e investigação de novos grupos farmacofóricos biologicamente ativos contra diversas infecções (SALAM & QUAVE, 2018). A importância dos produtos naturais é muito bem representada no trabalho de Newman e Cragg (2020), no qual foi feito um levantamento de todos os fármacos inseridos no mercado de 1981 a 2019, e concluiu-se que cerca de 65% destes tiveram participação direta ou indireta de produtos naturais no seu desenvolvimento (**Figura 6**). A revisão descrita por Uchiyama (2009) ilustra alguns trabalhos recentemente desenvolvidos na investigação de produtos naturais aplicáveis a quimioterapia da DC. Dentre as principais classes estudadas, se destacam os alcalóides, ressaltando a amida natural piperina, que teve sua atividade antiparasitária bem descrita na literatura (RIBEIRO *et al.*, 2004).



**Figura 6.** Distribuição de todos os fármacos inseridos no mercado desde 1981 até 2020 (traduzido de NEWMAN & CRAGG, 2020).

### 1.2.1. Piperina

Diferente de outros produtos naturais, a amida natural piperina pode ser encontrada em diversas espécies do gênero *Piper*, porém, se manifesta em abundância nos frutos da *Piper nigrum* (conhecida popularmente no Brasil como “pimenta do reino”), podendo ser extraída dos frutos secos com altos rendimentos, de até 7% (SEMLER & GROSS 1988; IKAN, 1991). Apesar de, no Brasil, ser usada como condimento, a utilização da *P. nigrum* na forma de chás, na medicina popular da Índia é bastante difundida. Mesmo não sendo uma planta nativa da flora brasileira, o Brasil tem uma grande parcela na produção mundial de pimenta do reino, com um total de 51.739 toneladas, colhidas em cerca de 22.000 hectares de área cultivada no ano de 2015 (Levantamento Sistemático da Produção agrícola – IBGE/CEPAGRO). O uso de matérias primas naturais e, principalmente, renováveis no desenvolvimento de novos fármacos é uma alternativa muito promissora, pois, geralmente, é possível encontrar estruturas moleculares muito ricas e versáteis, que podem atuar como precursores fundamentais em síntese orgânica; como no caso da piperina, que pode ser dividida em três subunidades, todas elas passíveis de modificações estruturais (Figura 7): o anel benzodioxola (subunidade A), o espaçador de cinco carbonos, com duas insaturações (subunidade B), além do anel piperidínico (subunidade C) (FERREIRA *et al.*, 2012).



**Figura 7.** Estrutura da piperina **3**; *Piper nigrum* (a); frutos secos moídos de *P. nigrum* (pimenta do reino) (b); cristais de piperina, após isolamento (c) (FERREIRA *et al.*, 2012).

O trabalho de revisão de Carnevallia e Araújo (2013) descreve a atividade biológica de extratos (e óleos essenciais) da *P. nigrum* como anti-inflamatória, antioxidante, analgésica, fungicida e bactericida, ressaltando a importância do componente principal, a amida natural piperina, que é a maior responsável por essas

atividades. Uma propriedade muito interessante da piperina é a de aumentar a biodisponibilidade de outros fármacos no organismo quando combinados, graças à sua rápida absorção no organismo que, ao atravessar a barreira intestinal, forma complexo com fármacos não polares que tendem a aumentar significativamente a permeabilidade nas barreiras celulares, levando a um aumento na concentração plasmática do fármaco em associação (FERREIRA *et al.*, 2012; CARNEVALLI & ARAÚJO, 2013). Dentre as diversas atividades biológicas conhecidas, destacamos a atividade antiparasitária da piperina (RIBEIRO *et al.*, 2004) e de seus derivados (FERREIRA *et al.*, 2012), que tem sido investigado em nosso grupo de pesquisa, explorando sua versatilidade e fazendo modificações estruturais, utilizando como base o bioisosterismo da função amida, para gerar novos derivados a partir de diferentes núcleos heterocíclicos nitrogenados (LIMA & BARREIRO, 2005), como tiadiazol do trabalho de Ferreira e colaboradores (2008), o oxadiazol do trabalho de Dos Santos Filho (2009), e o triazol do trabalho de Franklyn e colaboradores (2013).

### **1.3. Estratégias de Modificações Estruturais**

Sabendo a complexidade de realizar modificações estruturais efetivas na síntese de novos fármacos, estratégias de planejamento molecular, como a hibridação molecular e o bioisosterismo, se apresentam como ferramentas fundamentais para o químico medicinal.

#### **1.3.1. Bioisosterismo**

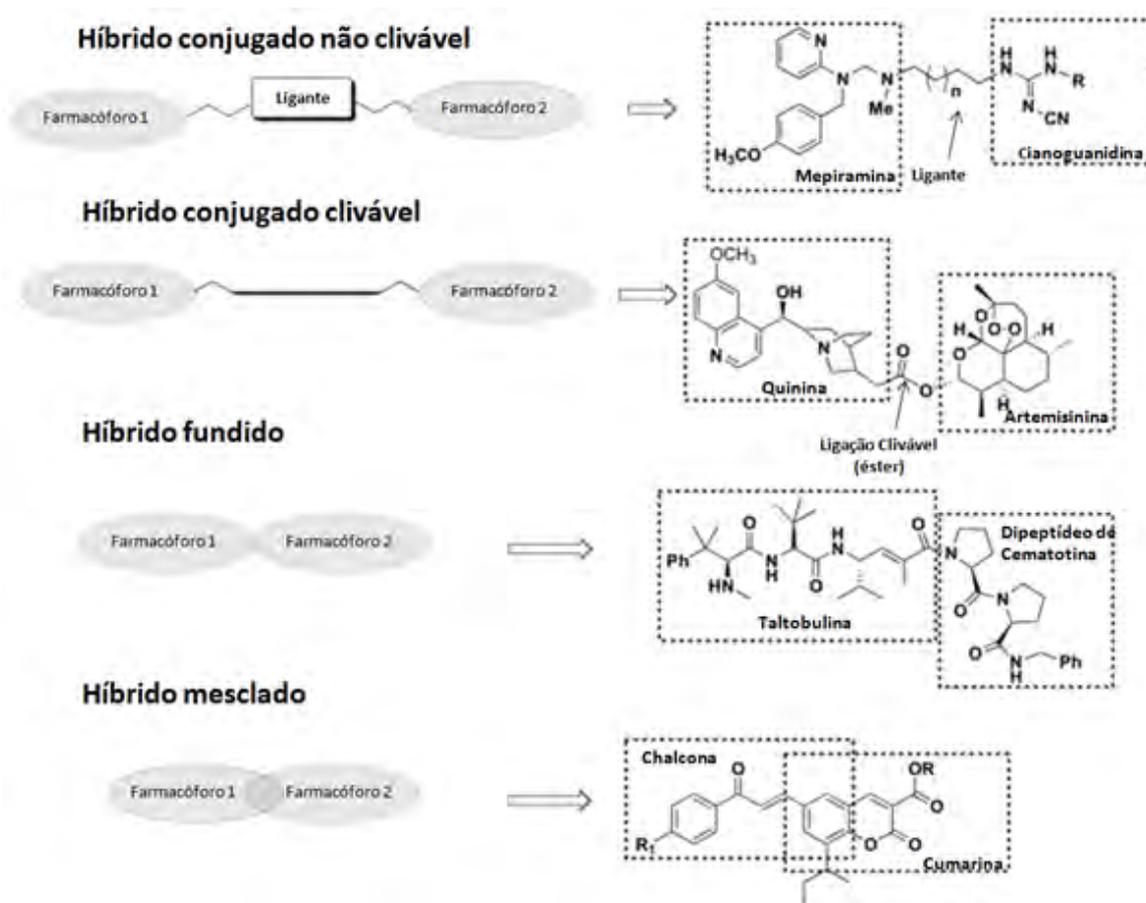
O bioisosterismo é uma estratégia de otimização molecular de um composto-protótipo, baseada na troca de determinados fragmentos moleculares, sem perda de atividade do fármaco, fazendo modulação de propriedades farmacocinéticas como o aumento da absorção do fármaco, otimização de sua distribuição no organismo, além de seu metabolismo e eliminação; podendo ocorrer também mudança nas propriedades farmacodinâmicas, se houver mudança no perfil de atividade (BARREIRO & FRAGA 2008; LESSA, 2021). O emprego desta abordagem exige um claro entendimento dos parâmetros físico-químicos, eletrônicos e químicos envolvidos na troca bioisostérica

planejada; Lima e Barreiro (2005) descrevem os principais fatores a se levar em consideração para se lograr êxito em uma proposta de otimização de fármacos utilizando o bioisosterismo: tamanho e volume molecular; grau de solubilidade dos compostos bioisostéricos; reatividade química dos grupos funcionais ou subunidades bioisostéricas, além de fatores conformacionais.

### 1.3.2. Hibridação Molecular

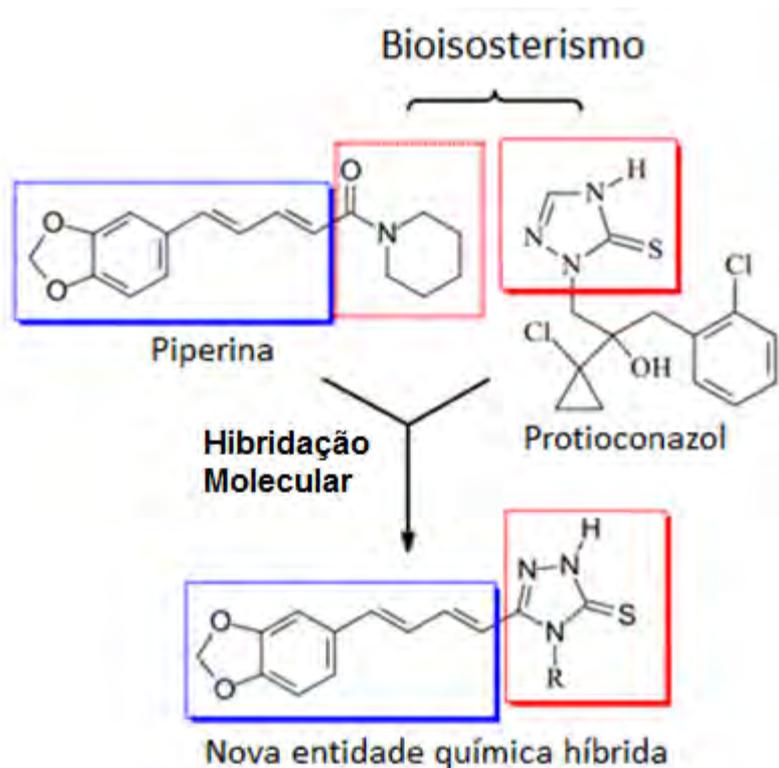
A hibridação molecular é uma estratégia que se baseia de planejamento racional de fármacos, tendo como objetivo a junção de fragmentos farmacofóricos (bioativos) de duas ou mais substâncias. A hibridação pode ser sinérgica (fármaco-fármaco), quando se unem de forma covalentes os fragmentos farmacofóricos de um determinado fármaco, ou até substâncias inteiras, que apresentem a mesma atividade farmacológica por vias distintas; já a hibridização de dupla ação ou simbiótica, consiste na junção de fármacos ou grupos farmacofóricos com atividades biológicas distintas, mas com o intuito de tratar uma mesma enfermidade (BARREIRO & FRAGA, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2015). Os resultados quanto à atividade farmacológica, potência e outros fatores relacionados aos novos híbridos gerados, podem ser diversos e até mesmo de difícil previsão, sendo que o aumento da atividade farmacológica, geralmente, é o resultado desejado de uma hibridação molecular exitosa.

Dependendo da forma com que os grupos bioativos estejam ligados, os híbridos podem receber as seguintes classificações (**Figura 8**), segundo Muregi e Ishih (2010): **a)** híbrido conjugado não clivável, cujas partes farmacofólicas estão conectadas por um ligante metabolicamente estável, que não está presente em seus fármacos individuais; **b)** híbrido conjugado clivável, cujas partes farmacofólicas estão conectadas por um ligante instável, para ser metabolizado no organismo, para que as duas partes bioativas ajam em alvos independentes, atuando como uma espécie de pró-fármacos; **c)** híbrido fundido, cujas partes farmacofólicas estão conectadas umas as outras, sem nenhum tipo de ligante ou separador entre si; **d)** híbrido mesclado, que apresenta estruturas de seus grupos farmacofóricos “mescladas”, tirando proveito de pontos em comum de ambas as estruturas dos compostos de partidas, gerando moléculas mais simples e menores.



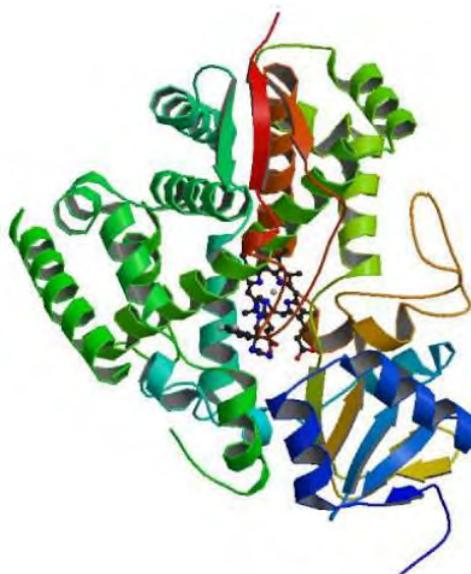
**Figura 8.** Classificação de híbridos moleculares (adaptado de CARDONA-G *et al.*, 2018).

A estratégia de hibridação molecular, somada ao conhecimento dos alvos bioquímicos, com os quais se deseja interagir, além do conhecimento do perfil celular do hospedeiro e do parasita, são ferramentas fundamentais no desenvolvimento de fármacos antiparasitários (FRANKLIM *et al.*, 2013; TYAGI *et al.*, 2013). No trabalho de Franklim e colaboradores (2013) é descrito o planejamento de uma classe de híbridos (**Figura 9**) a partir do produto natural piperina, que já possuía atividade tripanocida descrita.



**Figura 9.** Planejamento molecular dos híbridos 1,2,4-triazol-3-tiona derivados da piperina (adaptado de FRANKLIM *et al.*, 2013).

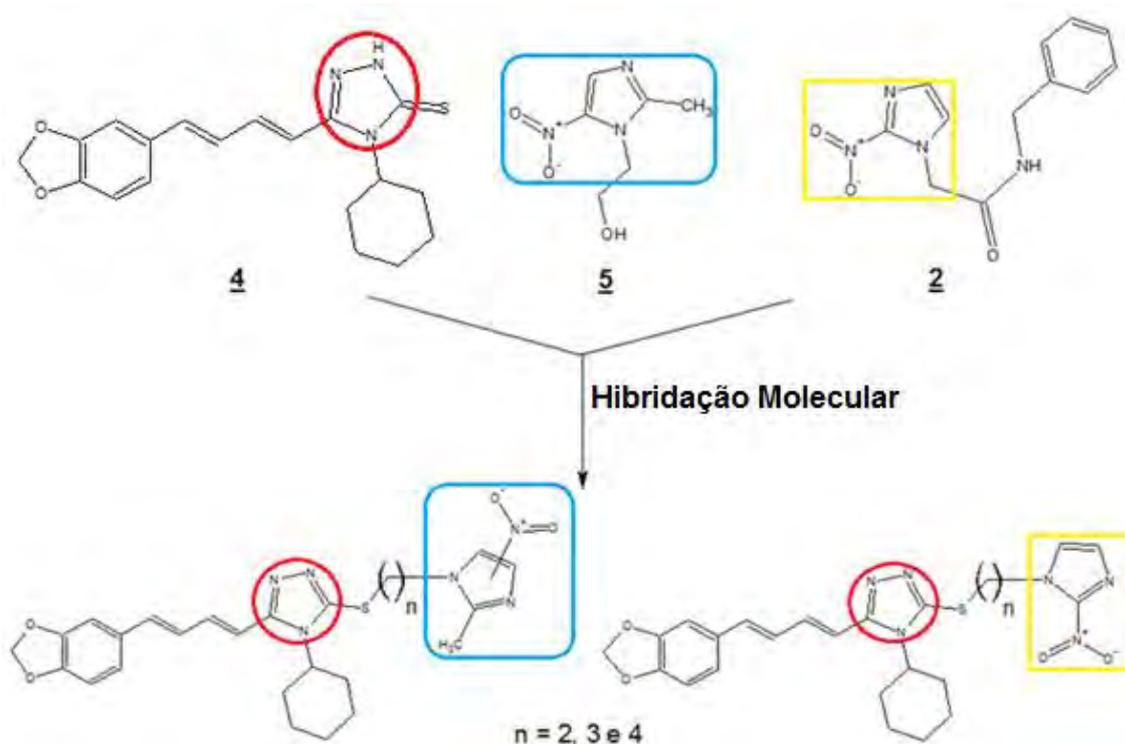
Essa estratégia explorou o bioisosterismo da função amida da piperina com anéis azólicos (KUMARI *et al.*, 2020), gerando um núcleo 1,2,4-triazol-3-tiona, presente na molécula do Protioconazol, fármaco comercial disponível para infecções fúngicas, que age inibindo a enzima CYP51, presente em fungos e nos tripanossomatídeos. Os azóis dessa classe são conhecidos inibidores da enzima esteroide 14 $\alpha$ -desmetilase (CYP51) (**Figura 10**), que participa diretamente da biossíntese do ergosterol. O bloqueio desta enzima impossibilita a síntese de precursores fundamentais, levando ao acúmulo de lipídios tóxicos na membrana celular do parasito, comprometendo sua integridade, e impedindo a formação do ergosterol, que é um esteróide fundamental para garantir as características físicas da membrana celular do *T. cruzi*. Devido a isso, a etapa de biossíntese do ergosterol é considerada um alvo bioquímico potencial muito importante para o desenvolvimento de novos fármacos para a DC (SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015).



**Figura 10.** Estrutura cristalográfica da enzima CYP51 do *Trypanosoma cruzi* – código PDB (Protein Data Bank): 2WX2. (SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015).

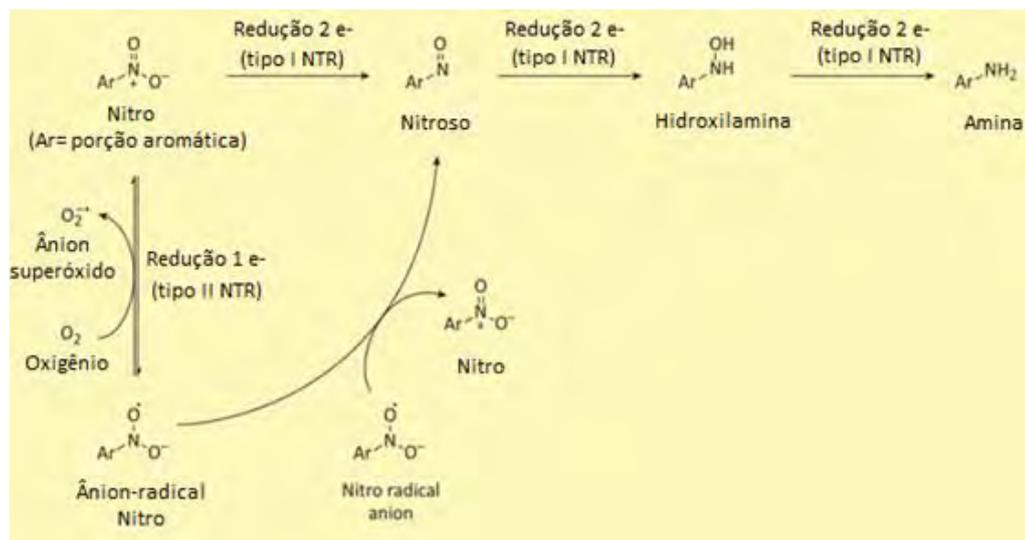
#### 1.4. Planejamento de Novos Híbridos com Potencial Antiparasitário

Dando continuidade ao planejamento de novos fármacos antiparasitários derivados da piperina, decidimos aprofundar os estudos nos híbridos piperina-triazol do trabalho de Franklim e colaboradores (2013), no qual a estrutura que apresenta no substituinte “R” um grupo cicloexil demonstrou melhor perfil de atividade contra as formas proliferativas do *T. cruzi*, dentre as treze avaliadas; bem como, em seu trabalho posterior, Franklim e colaboradores (2019) exploraram a síntese de derivados *S*-alquilados do derivado piperina-triazol mais ativo de seu trabalho anterior (**4**), e os resultados apresentaram um perfil de atividade promissor quando testado nas principais formas evolutivas do *T. cruzi*. Esses resultados motivaram o planejamento de uma nova série de compostos a partir da hibridação do 1,2,4-triazol-3-tiona (**4**) (**Figura 11**), derivado da piperina, com fragmentos contendo grupos farmacofóricos de medicamentos comerciais com atividade antiparasitária conhecida, como benzonidazol e metronidazol (SAADEH *et al.*, 2009).



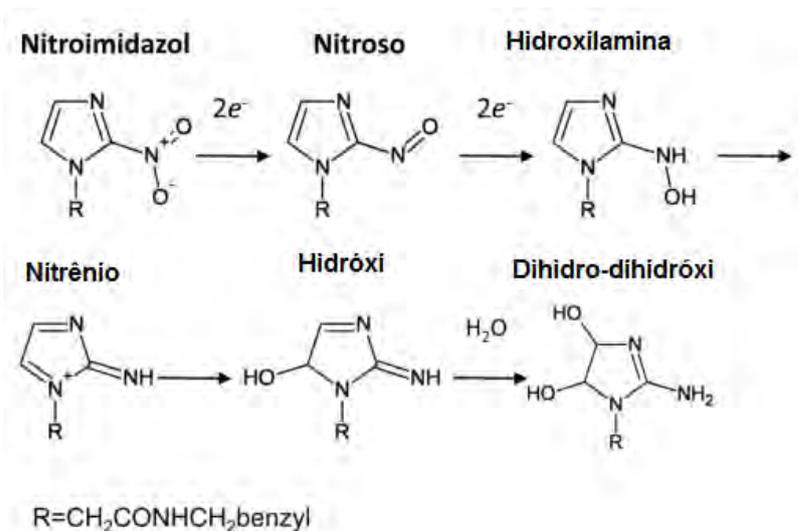
**Figura 11.** Planejamento molecular dos híbridos triazol-nitroimidazóis (com seus respectivos grupos farmacofóricos destacados).

A escolha de centros imidazólicos com posições distintas do grupamento nitro servirá para se investigar a relação dos diferentes potenciais de redução de cada espécie 2-nitroimidazol (-418 mV), 4-nitroimidazol (-527 mV) e 5-nitroimidazol (-486 mV) e relacionar com a atividade resultante na célula do parasito, visto que o potencial de redução de cada espécie nitroimidazólica muda de acordo com a posição do grupo nitro no anel (CHURC *et al.*, 1990; MAYA *et al.*, 2003; KNOX *et al.*, 1983; MORETH *et al.*, 2010; SMITH & EDWARDS, 1995). Os nitro-heterocícos atuam desestabilizando o equilíbrio redox da célula do parasito, devido a sucessivas reduções intracelulares (**Figura 12**), pela ação da enzima Tripanotona Redutase (TR), enzima que está presente nos tripanossomatídeos, como é o caso do *T. cruzi*. Ocorre um processo de “ativação” desses nitroheterocícos quando interagem com a TR, uma vez que essa enzima catalisa essas nitroreduções intracelulares, que geram diversas espécies mutagênicas e tóxicas, e intermediários radiculares que acarretam severas lesões ao DNA do parasito, levando-o a um processo de apoptose (EDWARDS, 1980; EDWARDS *et al.*, 1990; HALL & WILKINSON, 2012; PATTERSON & WILLIE, 2014).



**Figura 12.** Perfil de redução intracelular de nitroaromáticos envolvendo transição simples e dupla de elétrons (PATTERSON & WILLIE, 2014).

Segundo Hall e Wilkinson (2011), o mecanismo de ação do fármaco benzonidazol dentro da célula do parasito passa por essas reduções intracelulares, na qual seu grupo farmacofórico (2-nitroimidazol) sofre uma espécie de “ativação” pelas enzimas nitroredutazes (NTR) (**Figura 13**), atuando como um pró-fármaco, gerando intermediários que apresentam uma toxicidade elevada. O benzonidazol com o grupamento nitroso é a espécie mais reativa deste ciclo, podendo causar, diretamente, danos celulares ao parasito, ou seguir com o desequilíbrio redox, sendo convertido em hidroxilamina para continuar o ciclo de reduções, que são prejudiciais ao parasito. Edwards (1980) também discute o efeito tóxico ao DNA desses intermediários reativos, e destaca seu curto tempo de meia-vida, menor do que um segundo. Esse processo ilustra, de forma clara, um possível mecanismo de ação de toxicidade seletiva do fármaco benzonidazol, bem como outros fármacos nitroimidazólicos.



**Figura 13.** Via redutora do Benzonidazol, catalisada pela TR do *T. cruzi*. (HALL & WILKINSON, 2012).

Um dos papeis mais importantes da hibridação molecular é a possibilidade de explorar mais de um alvo bioquímico com um só fármaco, aumentando seu potencial terapêutico, além de diminuirmos a possibilidade do desenvolvimento de resistência, no caso de quimioterápicos.

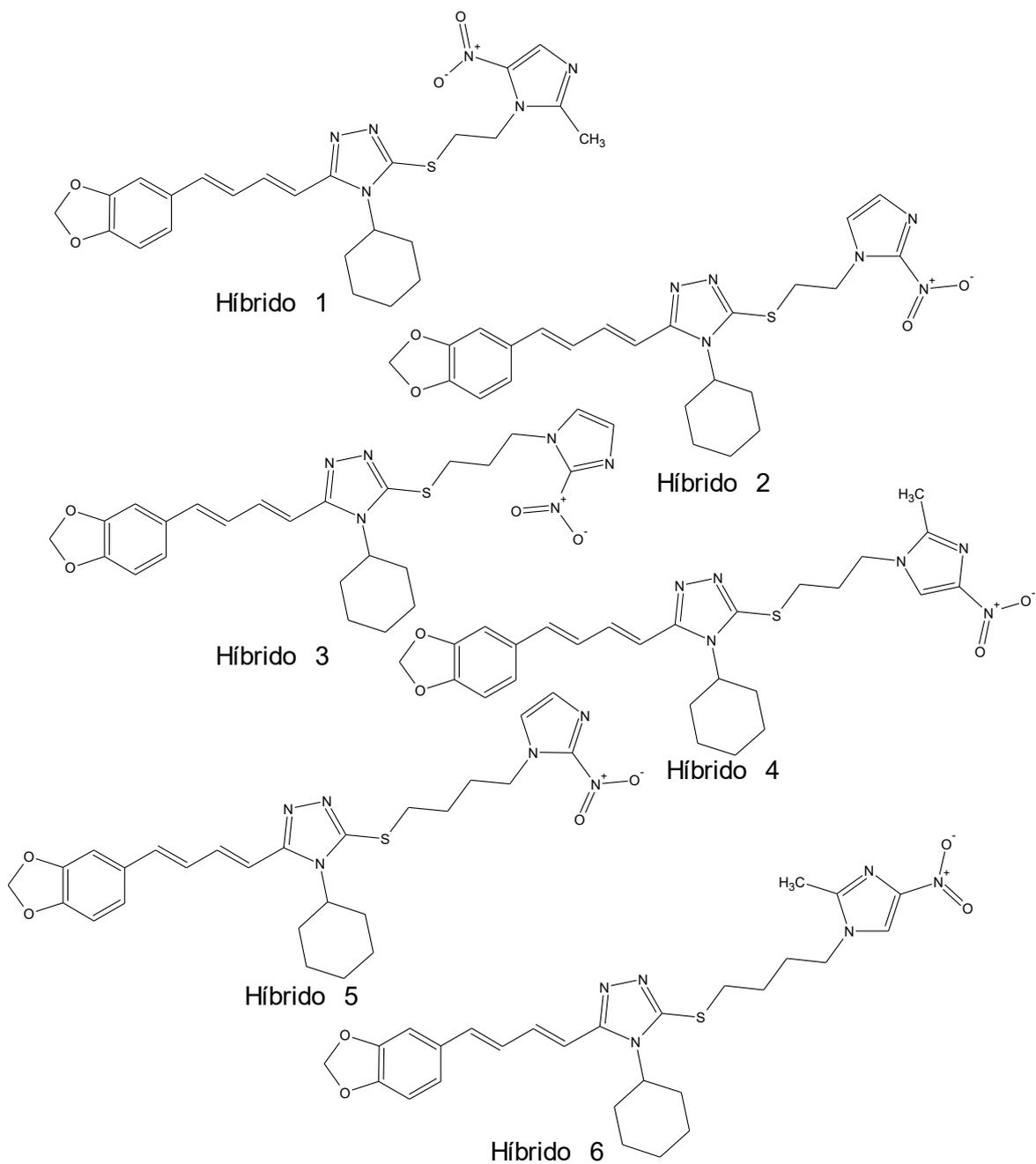
## 2. JUSTIFICATIVAS

Motivados pela clara necessidade de se desenvolver novas alternativas para o tratamento da doença de Chagas, buscou-se investigar a atividade anti-*T. cruzi* de uma série de compostos planejados, utilizando a hibridação molecular como estratégia de modificação estrutural (VIEGAS-JUNIOR *et al.*, 2004). Nesse planejamento foi idealizado o acoplamento de um derivado da piperina com fragmentos nitroimidazólicos presentes em fármacos com atividade antiparasitária, uma vez que essa amida natural teve sua atividade antiparasitária anteriormente descrita, interferindo no mecanismo de citocinese do parasito (FREIRE-DE-LIMA *et al.*, 2008). A partir do planejamento molecular preconizado, novas estruturas híbridas são desenhadas, tendo o derivado heterociclo 1,2,4-triazol-3-tiona (FRANKLIM *et al.*, 2013) como precursor e diferentes núcleos nitroimidazolicos que, segundo Patterson e Wyllie (2014), atuam desestabilizando o equilíbrio redox do *T. cruzi*, devido a suas sucessivas reduções intracelulares, que geram espécies tóxicas, que acumulam-se no interior da célula do

parasito. Os efeitos deletérios causados pelos nitroimidazóis envolvem danos ao DNA, levando a célula do parasito a um processo de apoptose. Desta forma, os derivados planejados poderão conjugar diferentes mecanismos de ação, sendo potencialmente ativos contra o *T. cruzi*.

### 3. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo o planejamento racional de novas moléculas híbridas, potencialmente ativas contra o *T. cruzi*. A estratégia sintética de planejamento molecular (**Figura 11**) envolve o acoplamento do derivado piperínico contendo o núcleo 1,2,4-triazol-3-iona **4**, desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa (FRANKLIM *et al.*, 2013); esse acoplamento ocorrerá através da estratégia de *S*-alquilações no núcleo 1,2,4-triazol-3-iona, que se mostrou como uma alternativa promissora para o aumento da atividade antichagásica, no trabalho desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa (FRANKLIM *et al.*, 2019). Esse acoplamento vai se proceder por alquilantes com porções nitroimidazólicas presentes em fármacos comerciais que apresentam comprovada atividade antiparasitária, variando a posição do grupamento nitro do anel imidazólicos e a quantidade de carbonos metilênicos, separadores entre esses farmacóforos. Pretende-se com isso relacionar essas alterações estruturais na atividade tripanocida, permitindo um estudo de SAR para esta nova série de derivados. Entre nossos objetivos, está a síntese da nova série de híbridos (**Figura 14**), suas caracterizações (IV, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e EM), bem como a avaliação do perfil de toxicidade e atividade antiparasitária dos mesmos frente a amastigotas do *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ).



**Figura 14.** Série de Híbridos triazol-nitroimidazólicos (1-6).

## 4. DISCUSSÃO DA PARTE SINTÉTICA

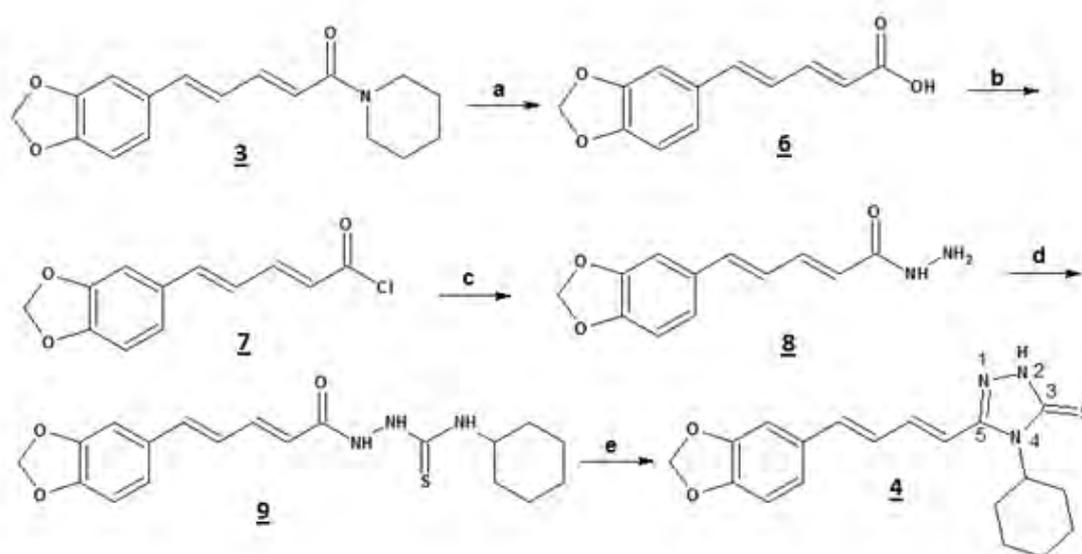
### 4.1. Planejamento Molecular

Motivados pela ideia do aumento da eficiência de um protótipo frente à célula do parasita, à luz da proposta de hibridação molecular descrita anteriormente, destaca-se que a amida natural, piperina, teve sua atividade antiparasitária anteriormente estudada, tendo sido demonstrada a sua interferência no mecanismo de citocinese da célula do parasito (FREIRE-DE-LIMA *et al.*, 2008). A atividade antiparasitária observada para a amida natural foi potencializada no trabalho de Franklym (2013), onde foi explorada a estratégia do bioisosterismo da função amida da piperina (KUMARI *et al.*, 2020), conjugando sua estrutura ao núcleo 1,2,4-triazol-3-tiona, que possui comprovada atividade sobre a CYP51 do *T. cruzi* (SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015). Com o objetivo de ampliar a disponibilidade de alvos bioquímicos na célula do parasito, escolheu-se acoplar o átomo de enxofre presente no derivado triazólico a núcleos nitroimidazólicos que, segundo Patterson e Wyllie (2014), atuam desestabilizando o equilíbrio redox da célula. A escolha de núcleos imidazólicos com o grupamento nitro em posições distintas, servirá para se investigar a possível relação do potencial de redução de cada espécie (2-nitroimidazol, 4-nitroimidazol e 5-nitroimidazol) com a atividade tóxica frente à célula do parasito, visto que o potencial de redução de cada espécie nitroimidazólica muda de acordo com a posição do grupo nitro no anel heterocíclico (MORETH *et al.*, 2010).

### 4.2. Obtenção do derivado piperínico do tipo 1,2,4-triazólico-3-tiona (4)

Para a síntese da série de híbridos planejada neste trabalho (**Figura 13**), fez-se necessária a preparação de quantidades adequadas do derivado 1,2,4-triazol-3-tiona da piperina (**4**). Este intermediário foi preparado através da metodologia desenvolvida por Franklim e colaboradores (2013; 2019), já bem estabelecida em nosso grupo de pesquisa. A preparação do derivado triazólico (**4**) pôde ser realizada de forma rápida, visto haver disponibilidade de padrões analíticos de todos os intermediários da sequência sintética, além da disponibilidade em quantidades adequadas da piperina, produto natural de partida. A disponibilidade dos padrões analíticos permitiu a análise imediata de todas as etapas reacionais mostradas no **Esquema 1**, através de

cromatografia em camada delgada (CCD). A amida natural é isolada em nosso laboratório através de extração contínua, utilizando equipamento de Soxhlet, tendo etanol como solvente, apresentando ótimos rendimentos. A metodologia utilizada é uma adaptação do procedimento descrito originalmente por Ikan (1991). Como o laboratório já dispunha de grande quantidade do produto natural isolado, foi realizada a hidrólise da amida natural, conforme descrito por Ribeiro e colaboradores (2004), em seu trabalho original de avaliação da atividade tripanocida da piperina e alguns derivados de modificação estrutural simples. A mesma metodologia foi empregada por Franklim (2013), somente utilizando irradiação por micro-ondas no lugar de aquecimento convencional (banho de óleo). Os rendimentos descritos por Ribeiro e por Franklim foram comparáveis, contudo o tempo de reação foi drasticamente diminuído quando a reação foi realizada sob irradiação de micro-ondas, passando de 12h para cerca de 1h de refluxo.

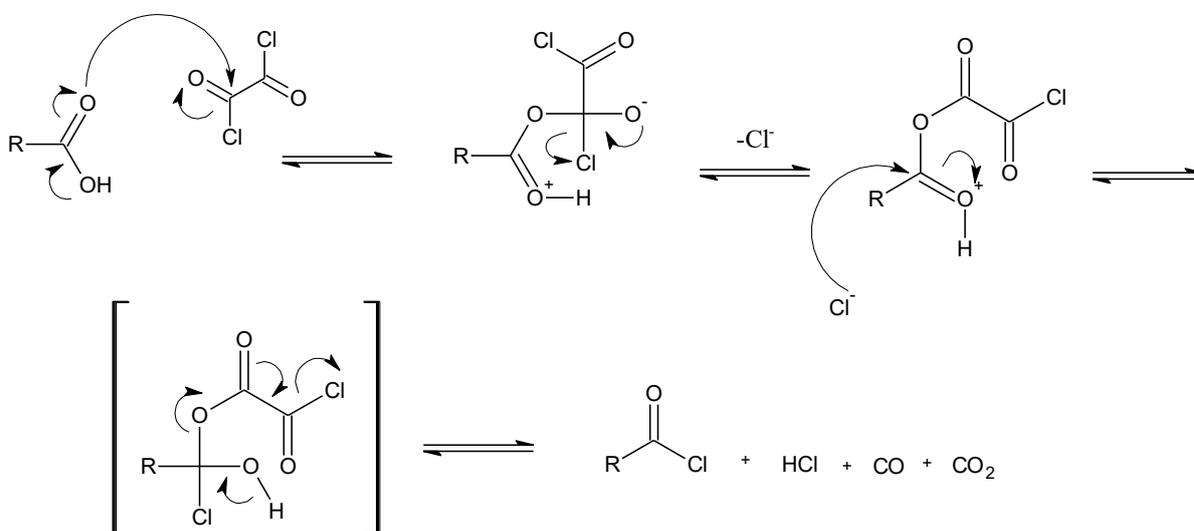


*Condições reacionais:* (a) KOH, etanol, MO, 1h (80%); (b) (COCl)<sub>2</sub>, 30 min, t.a.; (c) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0°C até t.a. (71%); (d) Isotiocianato de ciclo-hexila, etanol, MO, 30 min (91%); (e) NaOH aq., MO, 30 min.; então, acidificação com HCl aq. até pH 3.0 (91%).

**Esquema 1.** Preparação do intermediário 1,2,4-triazol-3-tiona (4), a partir da piperina (3) (FRANKLIM *et al.*, 2013).

A partir do ácido piperínico (6) foi preparada a hidrazida (8) (Esquema 1), tendo o respectivo cloreto de ácido (7) como intermediário. A preparação do cloreto de acila (7) foi realizada através da reação do ácido piperínico (6) com cloreto de oxalila, que gerou quantitativamente o cloreto de acila (7), à temperatura ambiente e em

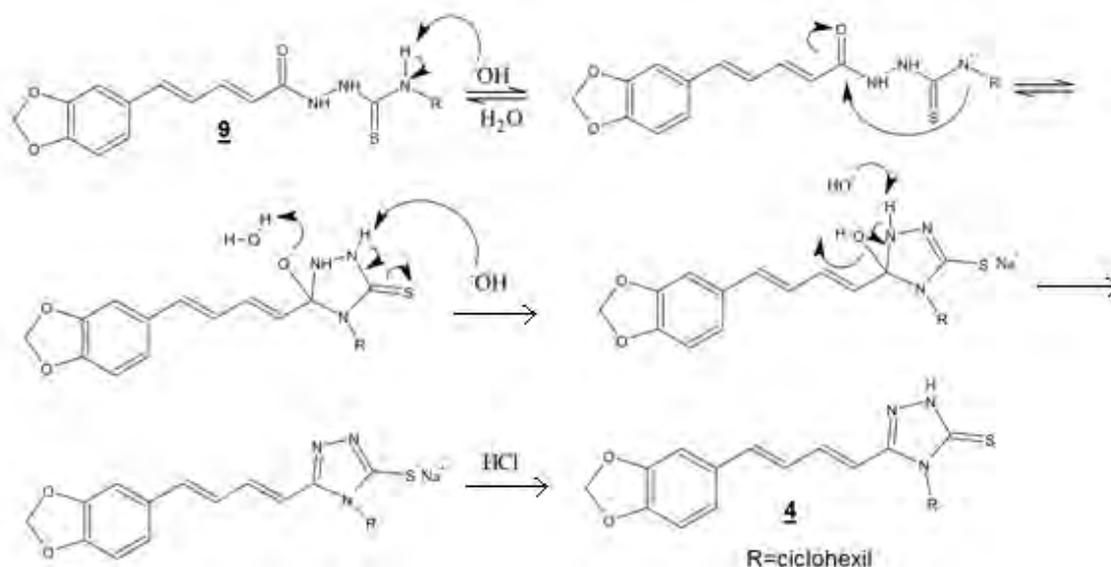
ausência de solvente. No **Esquema 2** mostramos uma proposta de mecanismo simplificado para a formação de cloretos de ácido pela reação entre ácidos carboxílicos e cloreto de oxalila.



**Esquema 2.** Mecanismo simplificado para a formação de cloretos de ácido, através da reação dos respectivos ácidos carboxílicos com cloreto de oxalila (Adaptado de MARCH, 1985).

A ativação da carboxila do ácido (**6**) (**Esquema 2**) se fez necessária, pois a carboxila do mesmo não possuía a eletrofilicidade necessária para sofrer o ataque nucleofílico de um dos nitrogênios da hidrazina. Nessa etapa, Franklim (2013) descreve a adição inversa de uma solução do cloreto de acila em DCM anidro, sobre um excesso (10-20x) da hidrazina mono-hidratada. Este procedimento se faz necessário devido à possibilidade de formação de um dímero, através das reações de cada um dos Nitrogênios de uma mesma molécula de hidrazina com duas moléculas do cloreto de acila. A formação deste tipo de dímero foi observada por Franklim (2013), tendo sido caracterizado em seu trabalho de tese de doutorado (FRANKLIM *et al.*, 2013). A hidrazida (**8**), em seguida, reage com o isotiocianato de cicloexila, em meio básico, gerando o intermediário (**9**), o qual sofre ciclização em refluxo sob micro-ondas em meio básico. Todas estas etapas encontram-se detalhadamente descritas no trabalho publicado por Franklim e colaboradores (2013), além da tese de doutorado de Franklim (2013). No **Esquema 3** encontra-se descrita uma proposta simplificada de mecanismo para a formação do derivado piperínico com o núcleo 1,2,4-triazol-3-tiona (**4**), pela

reação de ciclização de seu respectivo intermediário acíclico (**9**) (FRANKIM *et al.*, 2013).



**Esquema 3.** Proposta simplificada de mecanismo para a reação de ciclização do intermediário (**9**) ao derivado 4-cicloexil-1,2,4-triazol-3-tiona (**4**) (adaptado de FRANKIM *et al.*, 2013).

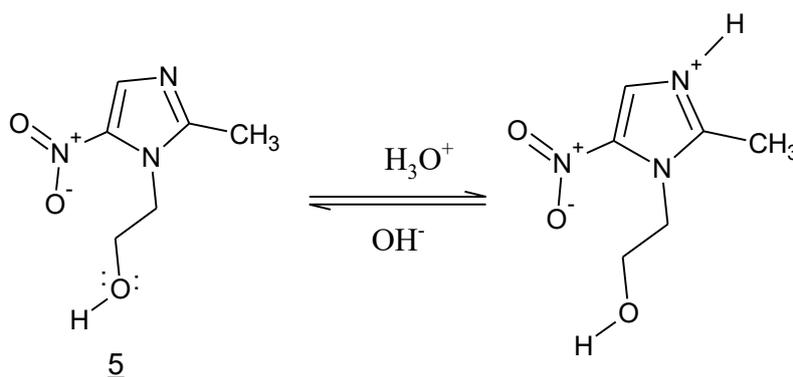
Uma vez que todas as etapas acima já se encontram descritas em publicações de nosso grupo, além de estarem detalhadas na tese de Franklim (2013), optamos por unicamente descrever aqui a caracterização do derivado piperínico com o centro 1,2,4-triazol-3-tiona (**4**). Outro ponto que merece destaque é o fato de todas as etapas terem sido acompanhadas por CCD analítica, possibilitando a confirmação da formação dos intermediários (**6**), (**8**) e (**9**), bem como do derivado triazólico (**4**), através de comparações de seus perfis cromatográficos com os padrões analíticos disponíveis, em grau de pureza e quantidades adequadas em nosso laboratório. Na análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  da molécula (**4**) (**Espectro 3**, página 60), o simpleto a  $\delta$  13,7 ppm, com integração para 1 átomo de Hidrogênio, foi característico para o átomo de Hidrogênio ligado ao N-2 do núcleo 1,2,4-triazolo-3-tiona. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 4**, página 60) os sinais mais importantes, utilizados na caracterização do intermediário (**4**), foram os sinais a  $\delta$  166,63 ppm e  $\delta$  149,63 ppm, referentes aos dois carbonos quaternários presentes no núcleo triazólico (carbonos 3 e 5, respectivamente). Na parte experimental (página 61), encontram-se os dados completos de caracterização espectrométrica do derivado 1,2,4-triazol-3-tiona (**4**).

## 4.3 Preparação dos Alquilantes

### 4.3.1. Preparação do alquilante 5-nitroimidazólico, a partir do Metronidazol

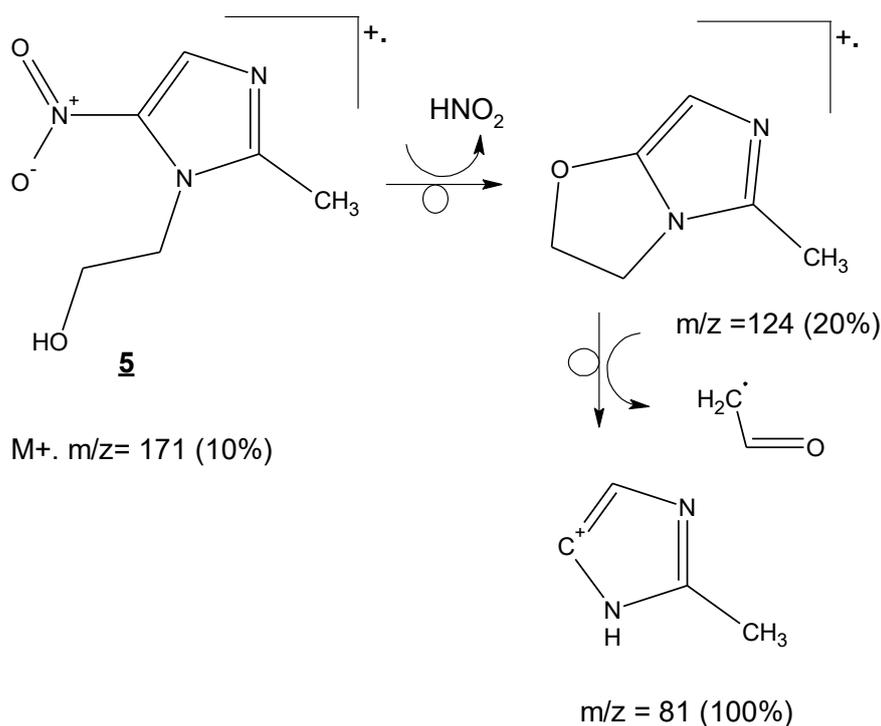
#### 4.3.1.1 Obtenção do Metronidazol (5)

O núcleo 2-metil-5-nitroimidazol de interesse para a realização de algumas etapas de alquilação planejadas neste trabalho, está presente no metronidazol (5) (fármaco antiparasitário e antibacteriano comercial). Este princípio ativo pode ser obtido em quantidades adequadas a partir de sua extração do medicamento Flagyl®, comercializado na forma de comprimidos. Para isolamento do metronidazol, foi explorada a basicidade do nitrogênio terciário *N*-3, presente no núcleo imidazólico, que apresenta seu par de elétrons disponível para abstrair prótons. Apesar de, em meio aquoso, ser uma base fraca (pK 2,7) (ALSTON & ABELES, 1987), os autores descrevem a ocorrência da forma protonada do derivado heterocíclico em soluções aquosas de ácidos minerais, além do mesmo poder agir como doador de elétrons na formação de compostos de coordenação (CHEN, 2016). Desta forma, foi conduzido um processo de extração ácido-base para isolamento do metronidazol, o que permitiu a sua obtenção em grau de pureza adequado (**Esquema 4**). Os comprimidos pulverizados do medicamento foram suspensos em solução ácida, ocorrendo dissolução do princípio ativo. Após filtração e neutralização do meio com solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub>, o metronidazol foi obtido em grau de pureza adequado, sendo então caracterizado através dos métodos convencionais de análise.



**Esquema 4.** Protonação do nitrogênio *N*-3 e comportamento ácido-base do núcleo imidazólico do metronidazol (5).

Para o metronidazol isolado, foi determinado seu ponto de fusão, que se mostrou bastante semelhante ao descrito na literatura [PF: 162-163°C (Lit.: 160,5°C, [drugbank.ca](http://drugbank.ca))]. Através do espectro de infravermelho (**Espectro 5**, página 63) pode ser confirmada a presença de uma hidroxila, que apresenta uma banda de baixa intensidade, e em alta frequência 3213  $\text{cm}^{-1}$ . Esta absorção se refere à deformação axial da ligação O-H, em ligação hidrogênio intramolecular com o grupamento nitro do anel imidazólico (SILVERSTEIN *et al.*, 1994). A absorção na região de 3099  $\text{cm}^{-1}$ , observada no espectro de IV, é referente à deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico; e aquela em 1458  $\text{cm}^{-1}$ , foi atribuída à deformação angular da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ . No espectro de massas (**Espectro 6**, página 63) encontram-se fragmentos, como o íon molecular  $m/z = 171$  ( $M^+$ , 10%), além do fragmento  $m/z = 124$  (20%) e o pico base  $m/z = 81$  (100%), que ajudaram a confirmar a estrutura do metronidazol (**5**). O **Esquema 5** descreve uma proposta de formação de alguns dos principais fragmentos observados no espectro de massas do metronidazol.



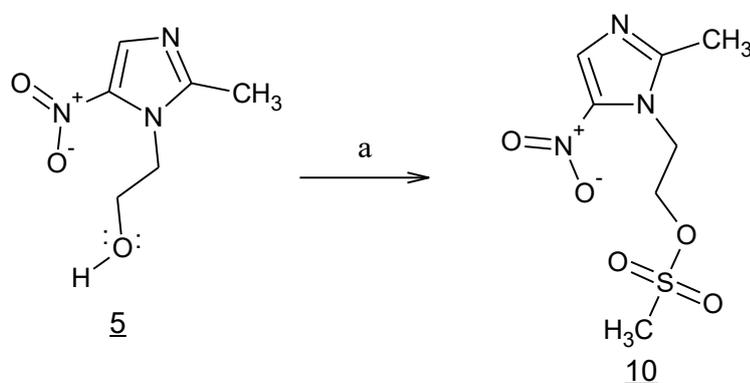
**Esquema 5.** Proposta de fragmentação para o metronidazol (**5**).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 7**, página 64), notou-se um simpleto largo, em  $\delta$  8,03 ppm, indicando o hidrogênio do anel imidazólico, além de um tripleto em  $\delta$  5,0 ppm ( $J = 5,4$  Hz), com integração para 1 hidrogênio, característico da função hidroxila, vizinha a um grupo  $\text{CH}_2$ . No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 8**, página 64)

observou-se um sinal em  $\delta$  152,4 ppm, indicando a absorção do carbono do anel imidazólico, ligado ao grupamento nitro. Adicionalmente, observa-se outro sinal, em  $\delta$  60,2 ppm, indicando a absorção do metileno carbinólico.

#### 4.3.1.2. Preparação do metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etila (10).

Uma vez obtidas quantidades adequadas do metronidazol (2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etanol) e determinado o seu grau de pureza, a próxima etapa deste trabalho consistiu na transformação da hidroxila primária, presente na cadeia ligada ao *N*-1 do núcleo imidazólico, num bom grupo abandonador, de modo a transformar o metronidazol numa espécie eletrofílica, adequada à reação de *S*-alquilação. Crossland e Servis (1970) descreveram a preparação do metilssulfonato derivado do metronidazol, através do tratamento do álcool com cloreto de metanossulfonila, em DCM, em presença de trietilamina. Foi decidida a preparação deste metanossulfonato, visto que ele é um intermediário interessante, que poderia ser diretamente avaliado na etapa de *S*-alquilação, além de possuir a versatilidade necessária para ser explorado na preparação de outros intermediários e agentes alquilantes (**Esquema 6**).

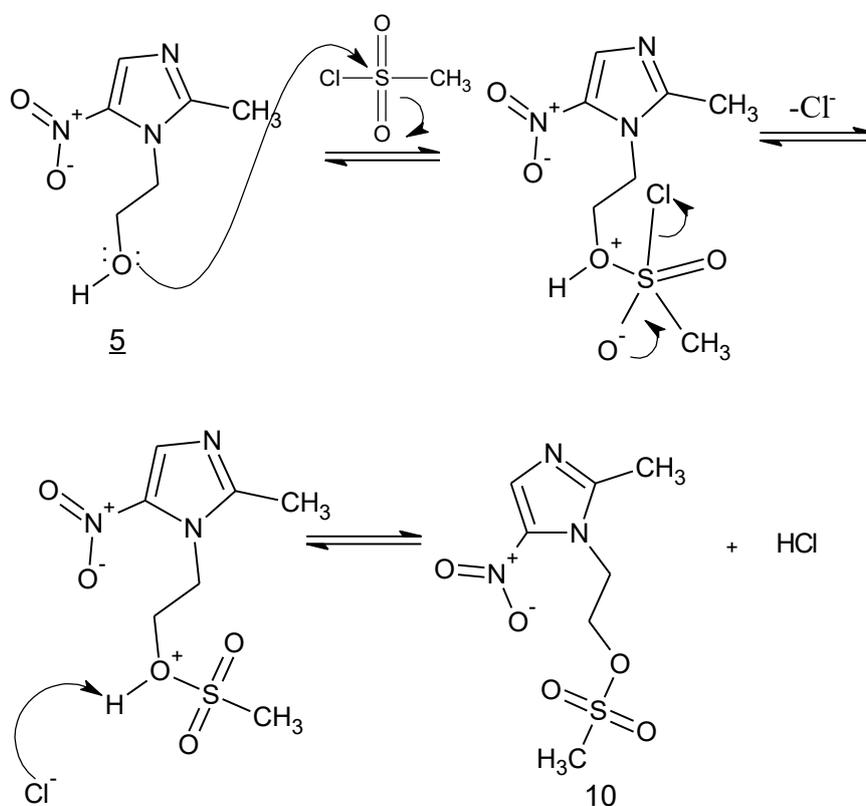


*Condições reacionais:* (a) AcOEt, TEA, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>Cl, t.a. por 4h (66%).

#### **Esquema 6.** Preparação do metanossulfonato (10) derivado do Metronidazol (5).

A reação se procedeu conforme descrito por Crossland e Servis (1970), porém, demandando um tempo maior de reação, passando dos 15 minutos descrito pelos autores para 2 horas. O solvente de escolha para essa reação foi o acetato de etila, solvente no qual o metronidazol mostrou maior solubilidade, apresentando rendimentos superiores na reação, quando na sua forma anidra; uma vez que a água residual presente

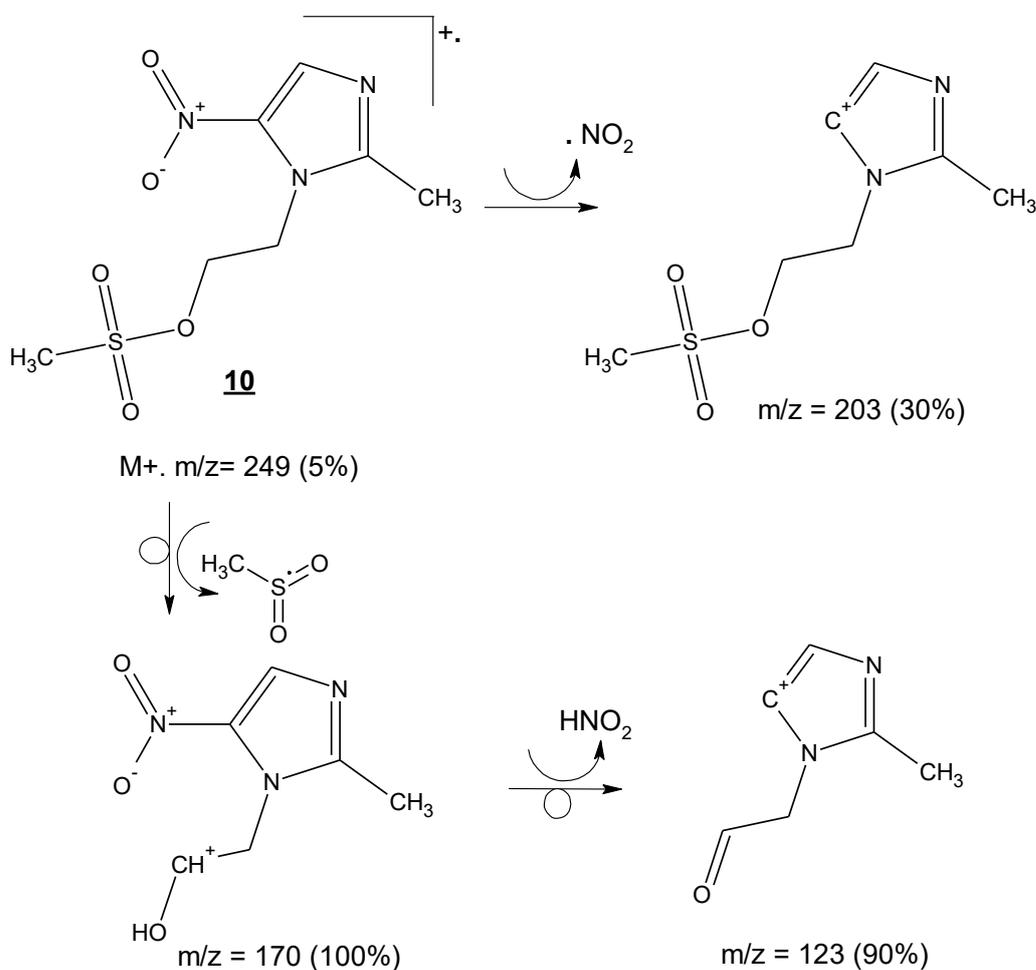
no meio irá interferir no andamento reacional, hidrolisando o éster metanossulfonato formado, gerando novamente o metronidazol e o ácido metanossulfônico. A trietilamina no meio reacional atua como base de Lewis, neutralizando o HCl formado no processo (**Esquema 7**). Após o ataque dos elétrons livres do oxigênio da hidroxila alcoólica ao átomo de enxofre do cloreto de mesila, haverá a liberação de HCl em solução, que rapidamente reage com a trietilamina presente na solução, gerando o cloreto de trietilamônio, que se apresenta como sólido branco, insolúvel no meio reacional. Após o término da reação, o isolamento do metanossulfonato (**10**) se procedeu seguindo a metodologia de proposta por Crossland e Servis (1970), gerando o produto desejado em grau de pureza adequado e rendimento isolado de 66%, em média.



**Esquema 7.** Mecanismo proposto para a obtenção do éster metanossulfonato (**10**), derivado do metronidazol (**5**).

O mesilato (**10**) teve seu ponto de fusão determinado, sendo também caracterizado pelos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM e IV). O éster metanossulfonato (**10**), derivado do metronidazol, se apresentou como um sólido amorfo branco levemente azulado, apresentando ponto de fusão entre 163 e 165°C. Através do espectro de infravermelho (**Espectro 9**, página 67) pode ser confirmada a presença da ligação S=O devido a absorção em 1326  $\text{cm}^{-1}$ , referente a deformação axial

assimétrica do grupo  $S(=O)_2$ . Além de ser possível também confirmar, pela ausência da absorção em  $3200-3300\text{ cm}^{-1}$ , que houve a interconversão de grupos funcionais, com o desaparecimento da ligação O-H presente no metronidazol. No espectro de massas (**Espectro 10**, página 68) encontram-se fragmentos como o íon molecular  $m/z = 249$  ( $M^+$ , 5%), além dos  $m/z = 203$  (30%), pico base 170 (100%) e 123 (90%), que ajudaram a confirmar a estrutura do éster metanossulfonato, derivado do metronidazol. O **Esquema 8** descreve uma proposta de fragmentação de alguns dos principais picos detectados no EM do produto sintetizado.



**Esquema 8.** Proposta de fragmentação para o derivado metanossulfonato (10).

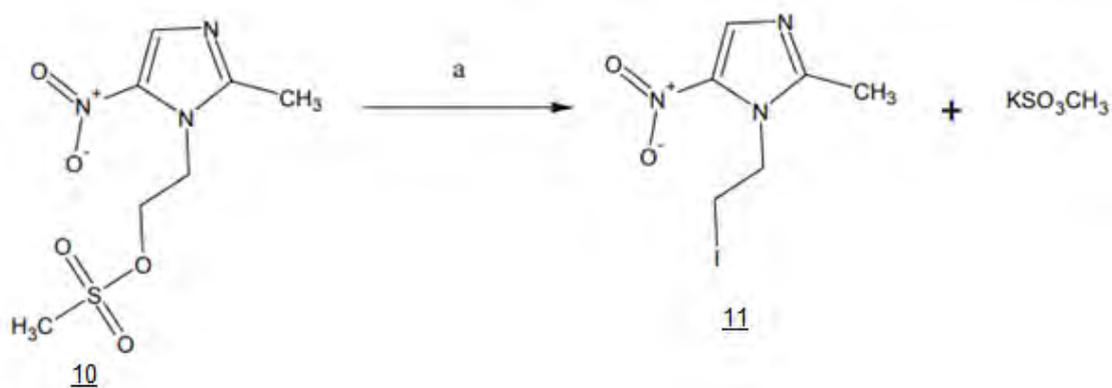
No espectro de RMN  $^1H$  (**Espectro 11**, página 68), notou-se a ocorrência de um simpleto, com integração para 3 hidrogênios, em  $\delta 2,47$  ppm, característica da metila ligada ao anel imidazólico. Adicionalmente, observou-se o aparecimento de um simpleto, com integração também para 3 hidrogênios, em campo mais baixo ( $\delta 3,16$  ppm), característico da metila ligada ao átomo de enxofre do grupo mesilato. Foi

possível ainda observar o desaparecimento do tripleto referente ao Hidrogênio da hidroxila da função álcool, presente no metronidazol. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 12**, página 69) observou-se um sinal em  $\delta$  37,18 ppm, característica do carbono de metila ligada ao átomo de Enxofre, além do sinal da metila ligada ao anel imidazólico, em  $\delta$  14,49 ppm.

O mesilato (**10**), uma vez obtido, foi diretamente utilizado como alquilante na reação de preparação do Híbrido 1, através da reação do ânion gerado a partir do 1,2,4-triazolo-3-tiona (**4**), em meio básico. Contudo, a reação se apresentou lenta, gerando uma mistura de produtos e restando grande quantidade do produto de partida. A tentativa de se preparar um iodeto *in situ*, através da adição de iodeto de potássio ao meio reacional (SAADEH *et al.*, 2010) também não logrou êxito, gerando mistura de produtos, quando a reação foi acompanhada por CCD. Devido aos resultados negativos obtidos, optamos pela preparação prévia de um iodeto (**11**) a partir do mesilato (**10**), para e, seguida utilizá-lo na reação de *S*-alquilação.

#### 4.3.1.3. Preparação do 1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1H-imidazol (**11**)

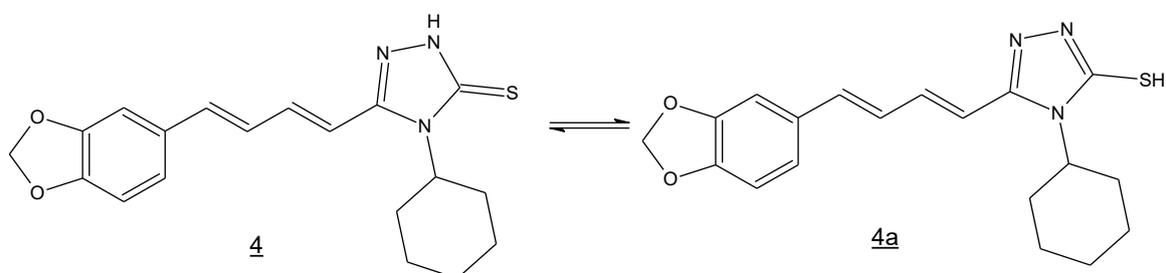
A fim de aperfeiçoar a etapa de alquilação, optou-se por preparar um iodeto a partir do metanossulfonato do metronidazol, seguindo a metodologia descrita por Busatti e colaboradores (2007). O iodeto se apresenta como um melhor grupo de saída, quando comparado com o grupamento metanossulfonato, sendo assim preferível em uma reação de  $\text{S}_{\text{N}}2$ ; além de ser mais polarizável, comportando melhor os elétrons da ligação C-I, deixando o carbono com carga parcial positiva, e mais suscetível ao ataque nucleofílico do átomo de enxofre do que do átomo de nitrogênio-2. Uma vez que o núcleo 1,2,4-triazol-3-tiona pode se comportar como um nucleófilo bidentado, devido a suas formas tautoméricas (**Esquema 9**), porém, apresentando como mais estável a conformação com a tiona em sua estrutura (SAYED *et al.*, 2017), possibilitando que o ataque nucleofílico seja através do enxofre e/ou do nitrogênio (SAADEH *et al.*, 2010). Assim, as características dos grupos de saída desses eletrófilos irão influenciar diretamente na regioselectividade da alquilação.



Condições reacionais: (a) DMF, KI, 65°C em 4h (53%).

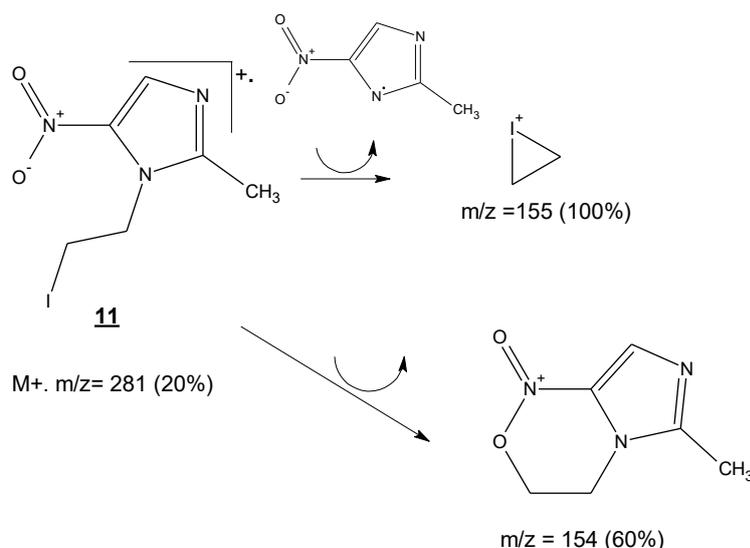
**Esquema 9.** Reação da obtenção do iodeto derivado do metronidazol (**11**).

A reação transcorreu conforme a metodologia descrita por Busatti e colaboradores (2007), utilizando *N,N*-dimetilformamida como solvente, o que possibilitou o emprego de um meio reacional com volume menor, garantindo uma maior interação entre as moléculas, devido à grande solubilidade do metanossulfonato (**10**) em *N,N*-dimetilformamida. O meio anidro é fundamental nessa reação, uma vez que a água, estando presente no meio, realizará a hidrólise do metanossulfonato, gerando o ácido metanossulfônico e o metronidazol. O iodeto de potássio, adicionado ao meio reacional, em excesso, promove a troca do grupo metanossulfonato pelo átomo de iodo, através de uma reação de  $S_N2$ , gerando o iodeto (**11**) (**Esquema 10**). A reação foi conduzida ao abrigo da luz, uma vez que os iodetos de alquila, geralmente, são fotossensíveis, gerando intermediários radicalares (KROPP, 1984). O produto foi purificado através de uma filtração em coluna cromatográfica. Após purificação, o produto foi obtido em grau pureza adequado, em rendimentos compatíveis com os descritos na literatura (BUSATTI *et al.*, 2007).



**Esquema 10.** Formas tautoméricas do derivado 1,2,4-triazol-3-tiona (**4**) e 1,2,4-triazol-3-tiol (**4a**).

O iodeto (**11**) teve o seu ponto de fusão determinado, sendo caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM e IV). O iodeto, derivado do metronidazol, se apresentou como um sólido amorfo branco, levemente azulado, apresentando ponto de fusão entre 101 e 104°C. Através do espectro de infravermelho (**Espectro 13**, página 71) pode ser confirmada a presença da ligação C-I, devida à absorção em  $555\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial da ligação C-I. Observou-se ainda a absorção em  $1176\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial simétrica da ligação C-H do metileno ligado ao Iodo. No espectro de massas (**Espectro 14**, página 71) encontram-se fragmentos como o íon molecular  $m/z = 281$  ( $M^+$ , 20%), além do pico base  $m/z = 155$  (100%) e 154 (60%), que auxiliaram na confirmação da estrutura do iodeto (**11**), derivado do metronidazol. O **Esquema 11** descreve uma proposta de formação de alguns dos principais fragmentos observados no espectro de massas do produto sintetizado.



**Esquema 11.** Proposta de fragmentação para o iodeto do metronidazol (**11**).

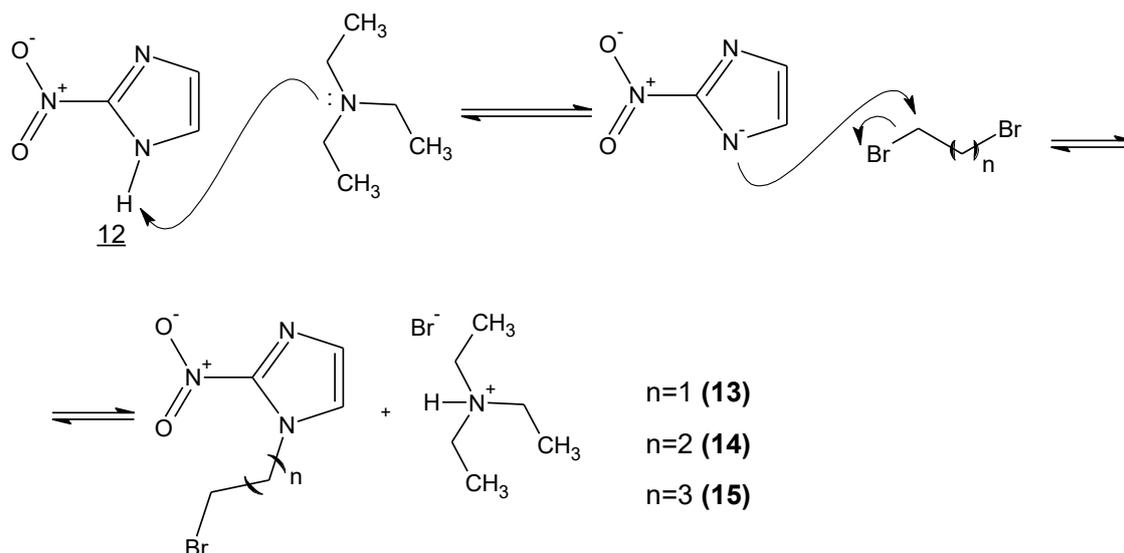
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 15**, página 72), notou-se a presença de um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta$  4,6 ppm ( $J = 7,0$  Hz), que representa o metileno ligado ao iodo, além de também evidenciar o desaparecimento do simpleto, com integração para 3 hidrogênios, em  $\delta$  3,16 ppm, correspondente à metila ligada ao enxofre (presente na estrutura do precursor metanossulfonato). No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 16**, página 72) observou-se um sinal em  $\delta$  0,03 ppm indicando a absorção do  $\text{CH}_2$  ligado ao iodo, esse valor em campo alto se explica pelo “efeito do

átomo pesado” que, devido ao tamanho elevado do átomo de iodo, aumenta significativamente a blindagem (SILVERSTEIN *et al.*,1994). Pôde-se, também, comprovar o desaparecimento do sinal em  $\delta$  37,18 ppm, indicando a absorção de CH<sub>3</sub> ligado ao enxofre (presente na estrutura do precursor metanossulfonato).

#### 4.3.2. Preparação dos alquilantes derivados 2-nitroimidazólicos

Tendo como objetivo a investigação da influência da posição do grupamento nitro no anel imidazólico na atividade antiparasitária dos híbridos planejados, vislumbramos preparar uma série de alquilantes que possuíssem o grupamento nitro na posição 2 do anel imidazólico, sendo estes análogos a uma porção da estrutura do fármaco benzonidazol. Os alquilantes propostos foram planejados a partir do precursor 2-nitroimidazol (**12**), variando apenas o número de carbonos espaçadores (sp<sup>3</sup>), ligados na posição 1 do anel imidazólico, para se obter híbridos com estruturas semelhantes, com as modificações principais na posição do grupamento nitro no anel imidazólico.

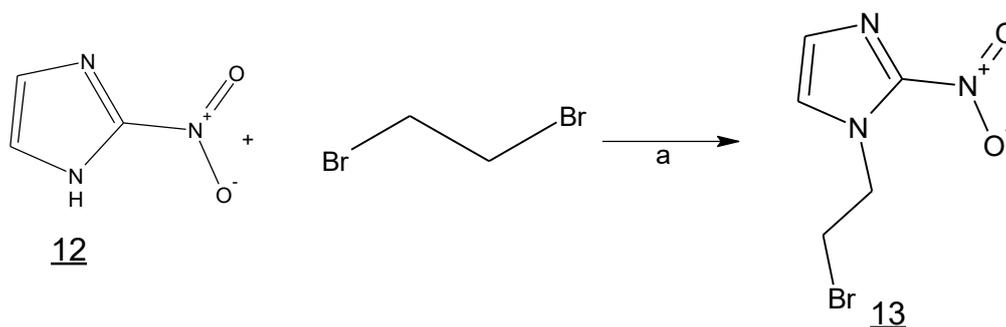
Na preparação destes alquilantes (**13**), (**14**) e (**15**) (**Esquema 12**) utilizaram-se o 2-nitroimidazol comercial como material de partida, tendo como solvente a *N,N*-dimetilformamida, em presença de trietilamina (TEA). A TEA exerce um papel fundamental nesta reação, uma vez que atua como base de Lewis, abstraindo o próton da posição 1 do anel imidazólico (que por sua vez, apresenta pKa = 8,72, segundo CHEMICALBOOK), gerando o nucleófilo necessário, que irá realizar uma reação SN<sub>2</sub> sobre o 1,2-dibromoetano, no caso de (**13**), e 1,3-dibromopropano, no caso de (**14**), e 1,4-dibromobutano, no caso de (**15**) (**Esquema 12**); O alquilante bidentado deve estar presente no meio reacional em excesso, evitando assim a formação de produtos indesejáveis como a formação de dímeros, ocasionados pelo ataque nucleofílico em ambos os lados dos bis-eletrófilos.



**Esquema 12.** Mecanismo proposto para a obtenção dos alquilantes **13-15**, derivados do 2-nitroimidazol.

#### 4.3.2.1 Preparação do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**)

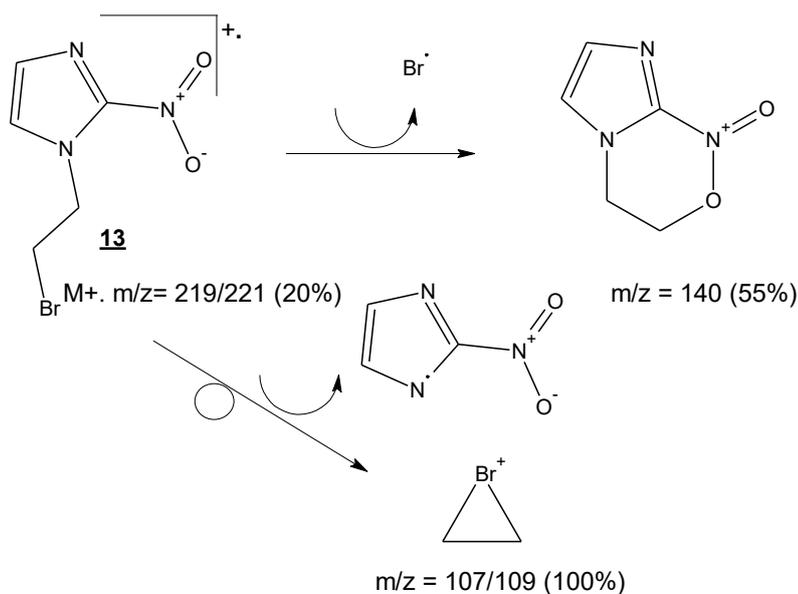
A reação aconteceu por 24 horas, não sendo possível observar o consumo total do reagente de partida (reação acompanhada por CCD), mesmo após a adição de um equivalente adicional de TEA. Com isso, foi decidido realizar a purificação do produto por filtração em coluna cromatográfica. Após filtração em coluna cromatográfica, o produto foi obtido, com pureza adequada (por TLC), na forma de um de coloração amarelo claro em rendimento isolado de 50%.



*Condições reacionais:* (a) DMF, TEA, 70°C em 24h (50%).

**Esquema 13.** Reação da obtenção do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**).

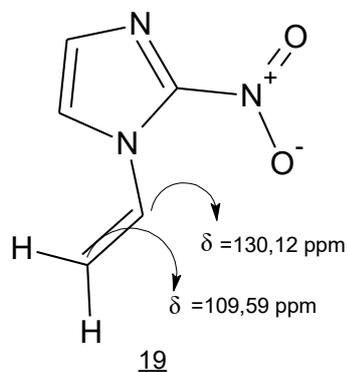
O alquilante **13** teve o seu ponto de fusão determinado, sendo caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM). Este haleto se apresentou como um sólido amorfo amarelado, apresentando ponto de fusão entre 68-70°C. Através do espectro de infravermelho (**Espectro 21**, página 80) pode ser confirmada a presença da ligação C-Br, através da absorção em  $646\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial da ligação C-Br. Observou-se ainda a absorção em  $1155\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial simétrica da ligação C-H do metileno ligado ao bromo; em  $1253\text{ cm}^{-1}$  observa-se a banda de deformação axial da ligação C-N formada. No espectro de massas (**Espectro 22**, página 80), o íon molecular foi detectado,  $m/z = 220$  ( $\text{M}^+$ , 0%), tendo como pico base  $m/z = 107/109$  (100%) e 140 (55%), que auxiliaram na confirmação da estrutura deste alquilante. O **Esquema 14** descreve uma proposta de formação de alguns dos principais fragmentos observados no espectro de massas do produto sintetizado.



**Esquema 14.** Proposta de fragmentação para o 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1H-imidazol (**13**).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 23**, página 81), notou-se a presença de um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta 3,78\text{ ppm}$  ( $J = 7,0\text{ Hz}$ ), que representa o metileno ligado ao átomo bromo, além da presença de um outro sinal, triplo, com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta 4,83\text{ ppm}$  ( $J = 7,0\text{ Hz}$ ), que representa o metileno ligado ao nitrogênio do anel imidazólico. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 24**, página 81) observou-se um sinal em  $\delta 51,33\text{ ppm}$ , indicando a absorção do  $\text{CH}_2$  ligado ao nitrogênio, confirmando a presença da ligação formada. Nos

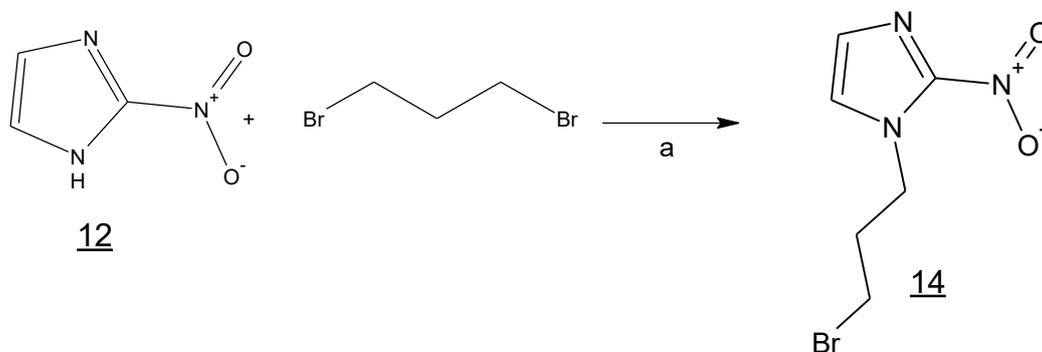
espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , foi possível observar alguns sinais referentes à formação de um produto de eliminação, indesejado (**Figura 15**). Também no espectro de  $^1\text{H}$  foi observado dois sinais duplos em, aproximadamente,  $\delta$  5,5 ppm, referentes a H ligados a  $\text{Csp}^2$ , fora do anel. A formação deste produto (**19**, **Figura 15**) pode ter sido favorecida pelas altas temperaturas nas quais a reação de eliminação ocorreu.



**Figura 15.** Produto de eliminação (**19**), com seus deslocamentos químicos observados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

#### 4.3.2.2 Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1H-imidazol (**14**)

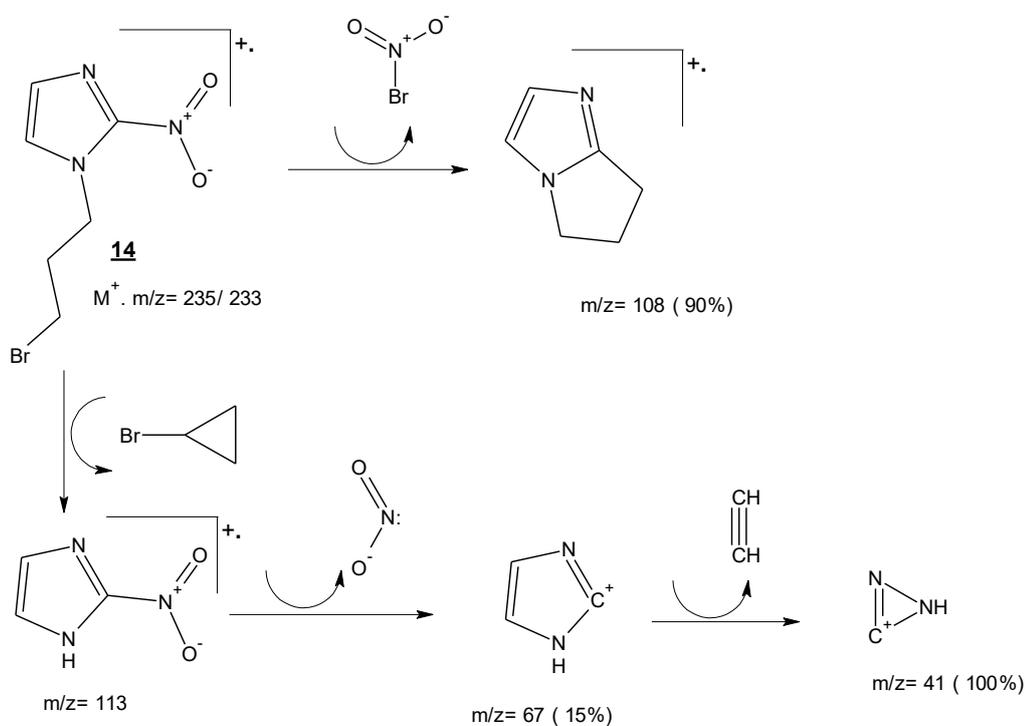
A reação aconteceu por 24 horas, não sendo possível observar o consumo total do reagente de partida (reação acompanhada por CCD), mesmo após a adição de um equivalente adicional de TEA. Com isso, foi decidido realizar a purificação do produto por filtração em coluna cromatográfica. Após filtração em coluna cromatográfica, o produto foi obtido, com pureza adequada (por TLC), na forma de um de coloração amarelo claro em rendimento isolado de 55%.



*Condições reacionais:* (a) DMF, TEA,  $60^\circ\text{C}$  em 6h (55%).

**Esquema 15.** Reação da obtenção do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1H-imidazol (**14**).

O alquilante teve o seu ponto de fusão determinado, sendo caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM). Este alquilante se apresentou como um sólido amorfo amarelado, apresentando ponto de fusão entre 65 e 68°C. Através do espectro de infravermelho (**Espectro 29**, página 89) pode ser confirmada a presença da ligação C-Br, devida à absorção em  $648\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial da ligação C-Br. Observou-se ainda em  $1253\text{ cm}^{-1}$  a banda de deformação axial da ligação C-N formada. No espectro de massas (**Espectro 30**, página 89) o íon molecular não foi detectado,  $m/z = 235/233$  ( $M^+$ , 0%), tendo como pico base  $m/z = 41$  (100%) e 108 (90%), que auxiliaram na confirmação da estrutura deste alquilante. O **Esquema 16** descreve uma proposta de formação de alguns dos principais fragmentos observados no espectro de massas do produto sintetizado.



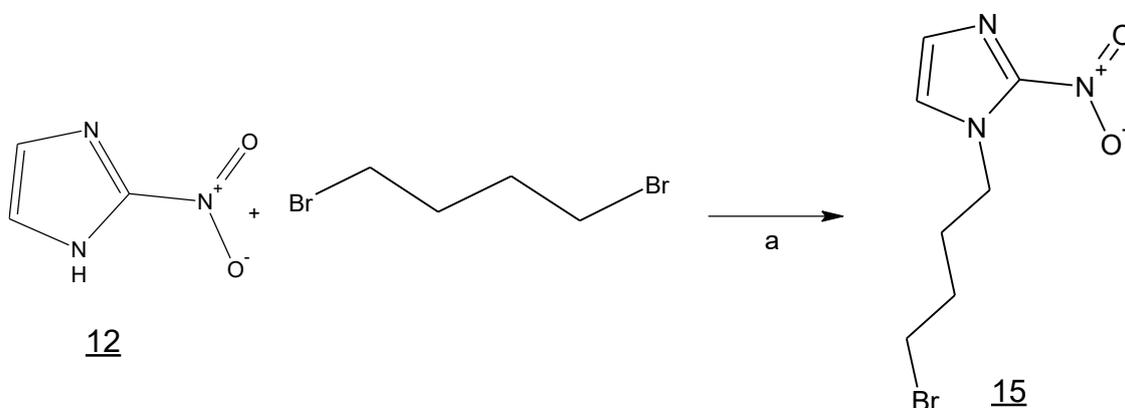
**Esquema 16.** Proposta de fragmentação do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1H-imidazol (**14**).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 31**, página 90), notou-se a presença de um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta 3,40\text{ ppm}$  ( $J = 7,0\text{ Hz}$ ), que representa o metileno ligado ao bromo, e a presença de um outro tripleto com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta 4,64\text{ ppm}$  ( $J = 7,0\text{ Hz}$ ), que representa o metileno ligado ao nitrogênio do anel imidazólico, e centrado em  $\delta 2,43\text{ ppm}$  ( $J = 7,0\text{ Hz}$ ), um sinal de quinteto com integração para 2 hidrogênios. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$

(**Espectro 32**, página 90) observou-se um sinal em  $\delta$  48,20 ppm indicando a absorção do CH<sub>2</sub> ligado ao nitrogênio, indicando a ligação formada.

#### 4.3.2.3 Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1H-imidazol (**15**)

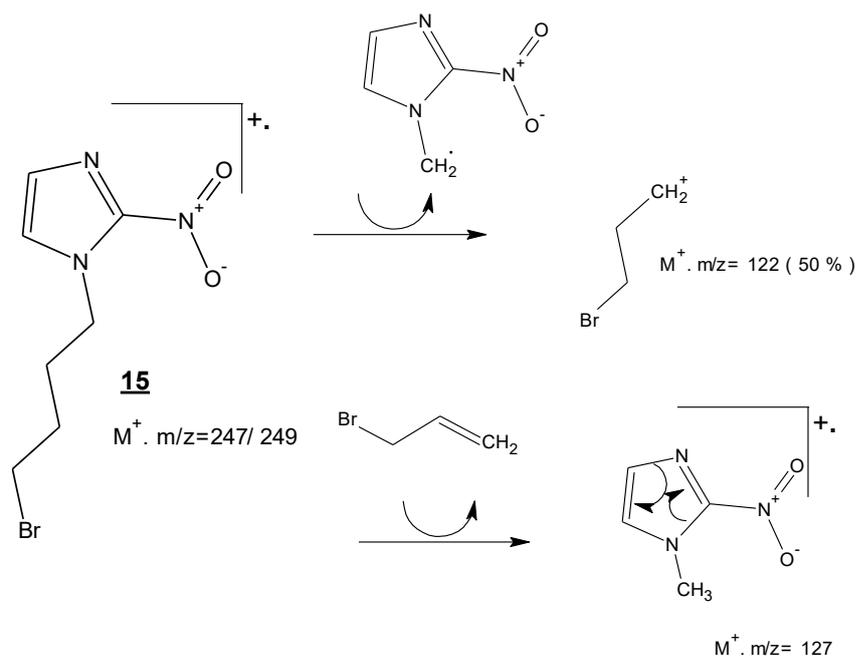
A reação aconteceu por 6 horas, não sendo possível observar o consumo total do reagente de partida (reação acompanhada por CCD). Com isso, foi decidido realizar a purificação do produto por filtração em coluna cromatográfica. Após filtração em coluna, o produto foi obtido, com pureza adequada (avaliada por TLC), na forma de um óleo de coloração amarelada, em rendimento isolado de 45%.



*Condições reacionais:* (a) DMF, TEA, 60°C em 6h (45%).

**Esquema 17.** Reação da obtenção do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1H-imidazol (**15**).

O alquilante **15** se apresentou como um óleo amarelado, e foi caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, EM). Através do espectro de infravermelho (**Espectro 47**, página 109) pode ser confirmada a presença da ligação C-Br, devido a absorção em 649 cm<sup>-1</sup>, referente à deformação axial da ligação C-Br. Observou-se ainda, a em 1276cm<sup>-1</sup>, a banda de deformação axial da ligação C-N formada. No espectro de massas (**Espectro 48**, página 109) o íon molecular não foi detectado, m/z = 247/249 (M<sup>+</sup>, 0%), tendo como pico base m/z= 55 (100%) e 122 (50%), que auxiliaram na confirmação da estrutura deste alquilante. O **Esquema 18** descreve uma proposta de formação de alguns dos principais fragmentos observados no espectro de massas do produto sintetizado.



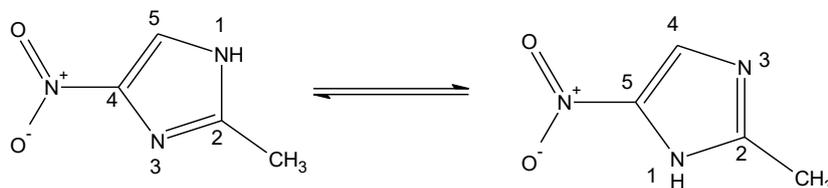
**Esquema 18.** Proposta de fragmentação do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**).

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **15** (**Espectro 49**, página 110), notou-se a presença de um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta$  3,45 ppm ( $J = 7,0$  Hz), que representa o metileno ligado ao bromo, e a presença de um outro tripleto com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta$  4,48 ppm ( $J = 7,0$  Hz), que representa o metileno ligado ao nitrogênio do anel imidazólico. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 50**, página 110) observou-se um sinal em  $\delta$  48,20 ppm, característica para o  $\text{CH}_2$  ligado ao átomo de nitrogênio, indicando a presença da ligação formada.

#### 4.3.3. Preparação dos alquilantes derivados (4)5-nitro-1*H*-imidazólicos

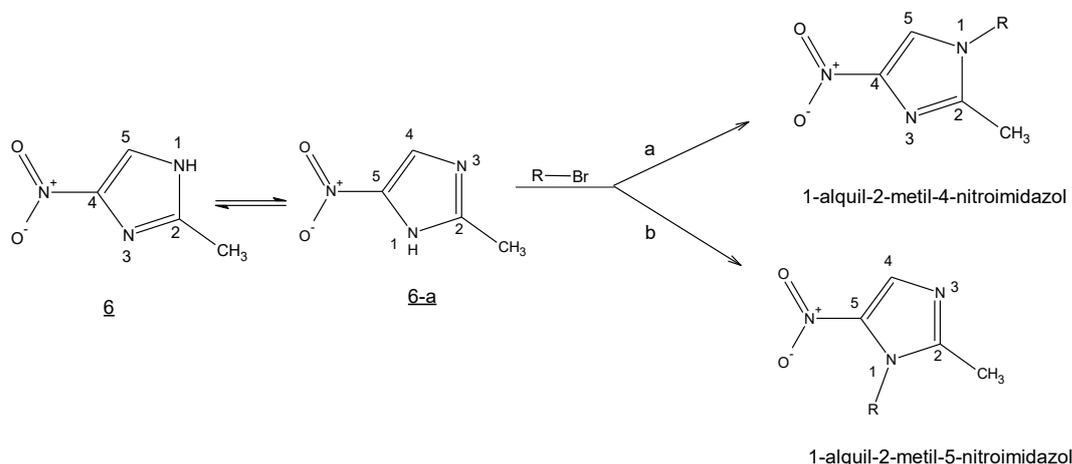
Com o objetivo de se investigar com maior clareza a influência da posição do grupamento nitro no anel imidazólico na atividade antiparasitária dos híbridos planejados, foi decidido preparar novos alquilantes que possuísem o grupamento nitro em outras posições distintas do anel imidazólico. Os alquilantes propostos foram planejados a partir do precursor 2-metil-(4)5-nitro-1*H*-imidazol (**16**), diferindo-se entre si no número de carbonos metilênicos espaçadores ( $\text{Csp}^3$ ). A interpretação da atividade relacionada à variação na posição do grupo nitro no anel imidazólico fornecerá dados para que seja possível discutir a interferência da posição deste substituinte nas respectivas atividades antiparasitárias dos híbridos preparados a partir desses alquilantes.

É importante ressaltar as possíveis formas tautoméricas do precursor 2-metil-(4)-5-nitro-1*H*-imidazol (**16**) apresenta (**Esquema 19**), o que caracteriza esta molécula como um nucleófilo bidentado.



**Esquema 19.** Formas Tautoméricas do 2-metil-(4)5-nitroimidazol (**16**).

O controle do pH é fundamental nesta etapa em que ocorre a *N*-alquilação. Dependendo do pH do meio reacional, é possível realizar uma alquilação regioseletiva no anel imidazólico. Em condições reacionais de pH ácido, é favorecida a formação do composto com o grupo nitro na posição 5 do anel imidazólico; enquanto em condições básicas é favorecida a formação do regiosisômero com o grupo nitro na posição 4 do anel imidazólico. Exemplos de variação na regioseletividade da alquilação de imidazóis, dependendo das condições reacionais e de pH do meio, encontram-se amplamente exemplificadas na literatura (CAPLAR *et al.*, 1974; MANDALAPU *et al.*, 2016; MILLER *et al.*, 1970; SKUPIN *et al.*, 1997). No **esquema 20** encontram-se descritas ambas as metodologias de alquilação para o núcleo 2-metil-(4)5-nitroimidazol.

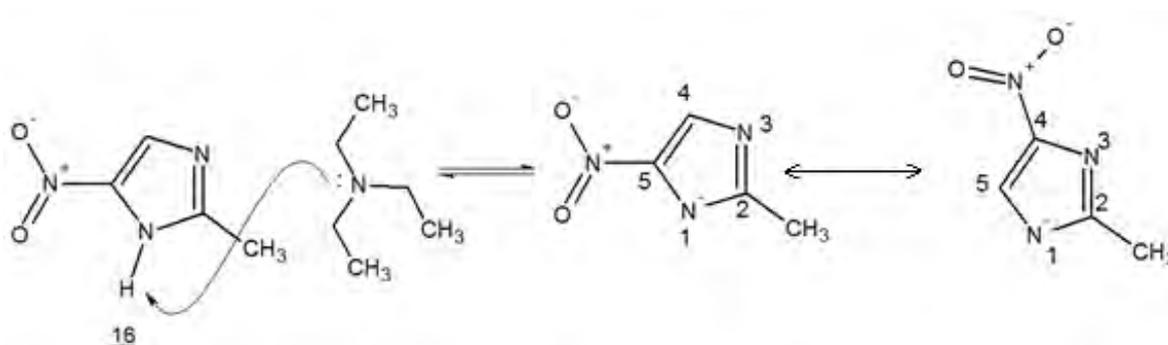


*Condições reacionais:* (a) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 110°C (30 min.); (b) AlCl<sub>3</sub>, EtOAc, 0 °C (24h)

**Esquema 20.** Metodologias descritas de *N*-alquilação, utilizando como material de partida o 2-metil-(4)5-nitroimidazol (**6**) (MANDALAPU *et al.*, 2016; SKUPIN *et al.*, 1997).

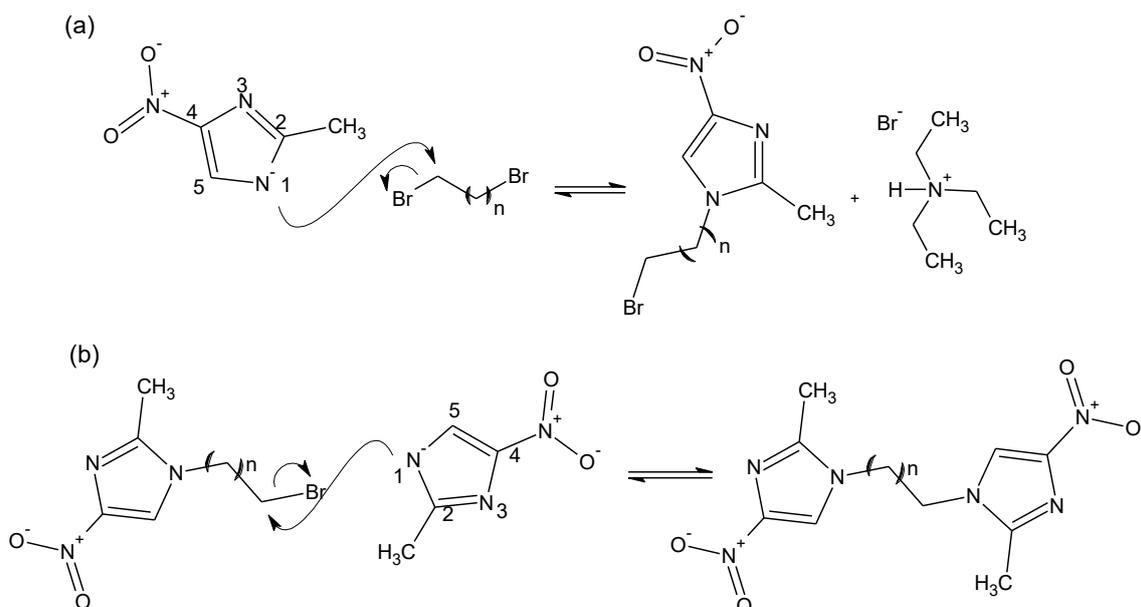
Na preparação destes alquilantes (**17**) e (**18**) utilizaram-se o 2-metil-(4)5-nitroimidazol (**16**) comercial como material de partida, em meio básico, para se obter o

produto 4-nitroimidazólico, o solvente escolhido para essa metodologia foi a *N,N*-dimetilformamida, em meio básico utilizando trietilamina (TEA). A TEA exerce um papel fundamental nesta reação, uma vez que atua como base de Lewis, abstraindo o próton da posição 1 do anel imidazólico, gerando um sítio nucleofílico preferencial (**Esquema 21**). Miller (1970) descreve que *N*-alquilação do 2-metil-(4)5-nitroimidazol em meio alcalino tende a formar apenas o produto com o grupamento nitro na posição 4 do anel imidazólico, devido a maior estabilidade de seu ânion correspondente (base conjugada).



**Esquema 21.** Mecanismo para a obtenção dos ânions do 2-nitro-(4)5-nitroimidazol (**16**) em meio básico.

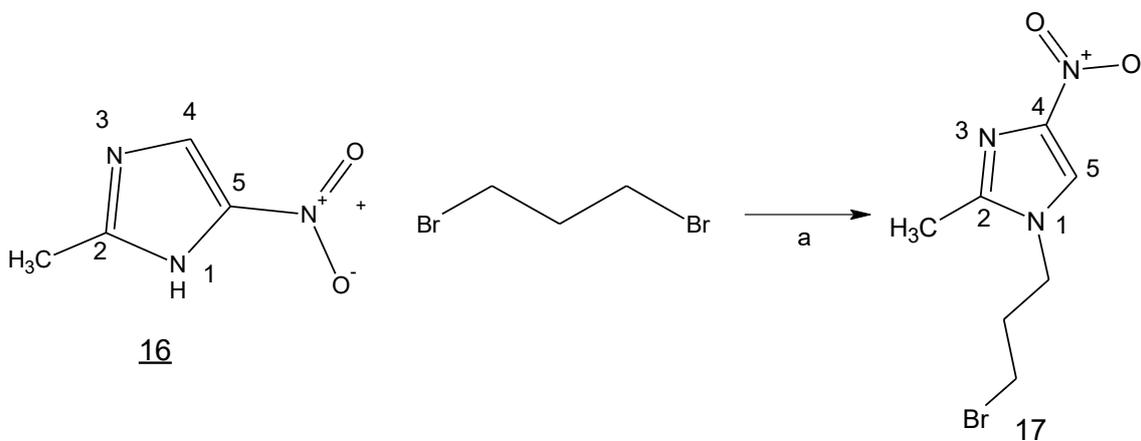
Dessa forma, o sítio nucleofílico mais estável em meio básico irá realizar uma reação  $S_N2$  sobre o 1,3-dibromopropano, no caso de (**17**), e 1,4-dibromobutano, no caso de (**18**) (**Esquema 22-a**). É importante ressaltar, que ao trabalhar com alquilantes bidentados, estes devem estar presentes no meio reacional em excesso, a fim de ser evitada a formação de produtos indesejáveis de dialquilação (**Esquema 22-b**).



**Esquema 22.** (a) Mecanismo proposto para a obtenção dos alquilantes a partir do ânion mais estável do 2-metil-(4)5-nitroimidazol (**16**) em meio básico; (b) Formação do produto de dialquilação indesejado.

#### 4.3.3.1 Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**)

A reação aconteceu durante 24 horas, não sendo possível observar o consumo total do reagente de partida (reação acompanhada por CCD), mesmo após a adição de um equivalente adicional de TEA. Com isso, foi decidido realizar a purificação do produto por filtração em coluna cromatográfica. Após filtração em coluna, o produto foi obtido, com pureza adequada (por TLC), na forma de um de coloração amarelo claro, em rendimento isolado de 45%.



Condições reacionais: (a) DMF, TEA, 60°C em 6h (45%).

**Esquema 23.** Reação da obtenção do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**).

O alquilante teve o seu ponto de fusão determinado, sendo caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM). Este alquilante se apresentou como um sólido, levemente amarelado, amorfo, apresentando ponto de fusão entre 78 e 80°C. Através do espectro de infravermelho (**Espectro 37**, página 98) pode ser confirmada a presença da ligação C-Br, devida à absorção em 675  $\text{cm}^{-1}$ , referente à deformação axial da ligação C-Br. Observou-se ainda em 1255  $\text{cm}^{-1}$  a banda de deformação axial da ligação C-N formada. No espectro de massas (**Espectro 38**, página 98) o íon molecular foi detectado, como pico base,  $m/z = 250/248$  [(M+H)+.] (100%), que auxiliaram na confirmação da estrutura deste alquilante.

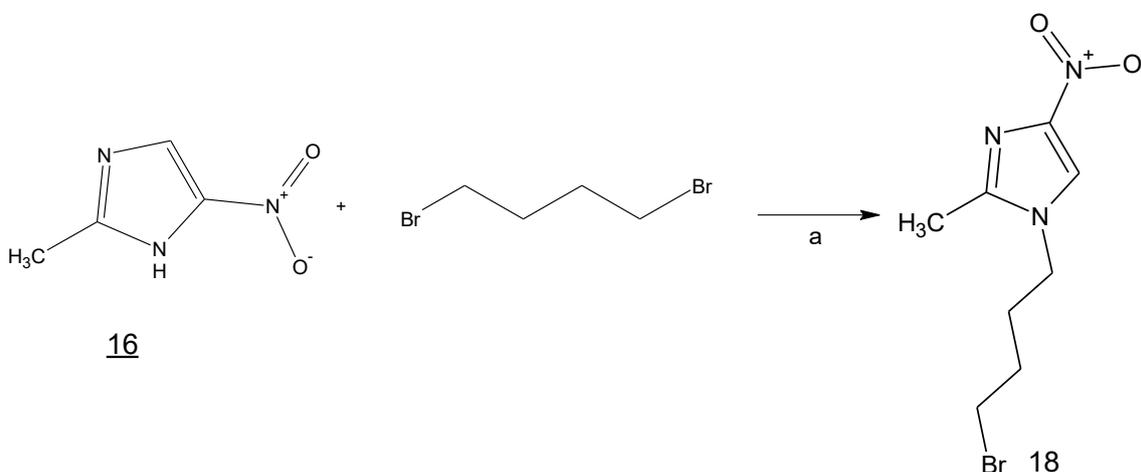
No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 39**, página 99), notou-se a presença de um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta$  3,41 ppm ( $J = 7,0$  Hz), que representa o metileno ligado ao bromo, e a presença de um outro tripleto com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta$  4,17 ppm ( $J = 7,0$  Hz), que representa o metileno ligado ao nitrogênio do anel imidazólico, e centrado em  $\delta$  2,34 ppm ( $J = 7,0$  Hz), um sinal de quinteto com integração para 2 hidrogênios. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 40**, página 99) observou-se um sinal em  $\delta$  44,89 ppm indicando a absorção do  $\text{CH}_2$  ligado ao nitrogênio, indicando a ligação formada.

A validação da metodologia descrita acima, para a alquilação em meio básico, formando o derivado 4-nitroimidazólico pôde ser confirmada pelos espectros bidimensionais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC ( $J$  1) (**Espectro 41**, página 100) e  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC ( $J$  2,  $J$  3) (**Espectro 42**, página 101), que nos deram suporte para confirmar a estrutura do alquilante formado. No espectro de HSQC é possível observar o acoplamento de C-H ( $J$  1), o que nos fornece a correlação de cada hidrogênio ligado ao seu carbono correspondente. Já no espectro de HMBC nos fornece as informações do acoplamento a longa distância C-H ( $J$  2,  $J$  3), o que nos permite correlacionar a posição de cada carbono em relação aos hidrogênios vizinhos (de até três ligações de distância).

#### 4.3.3.2 Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**18**)

A reação aconteceu por 6 horas, não sendo possível observar o consumo total do reagente de partida (reação acompanhada por CCD), mesmo após a adição de um

equivalente adicional de TEA. Com isso, foi decidido realizar a purificação do produto por filtração em coluna cromatográfica. Após filtração em coluna cromatográfica, o produto foi obtido, com pureza adequada (por TLC), na forma de um de coloração amarelo claro, em rendimento isolado de 45%.



*Condições reacionais:* (a) DMF, TEA, 60°C em 6h (45%).

**Esquema 24.** Reação da obtenção do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**18**).

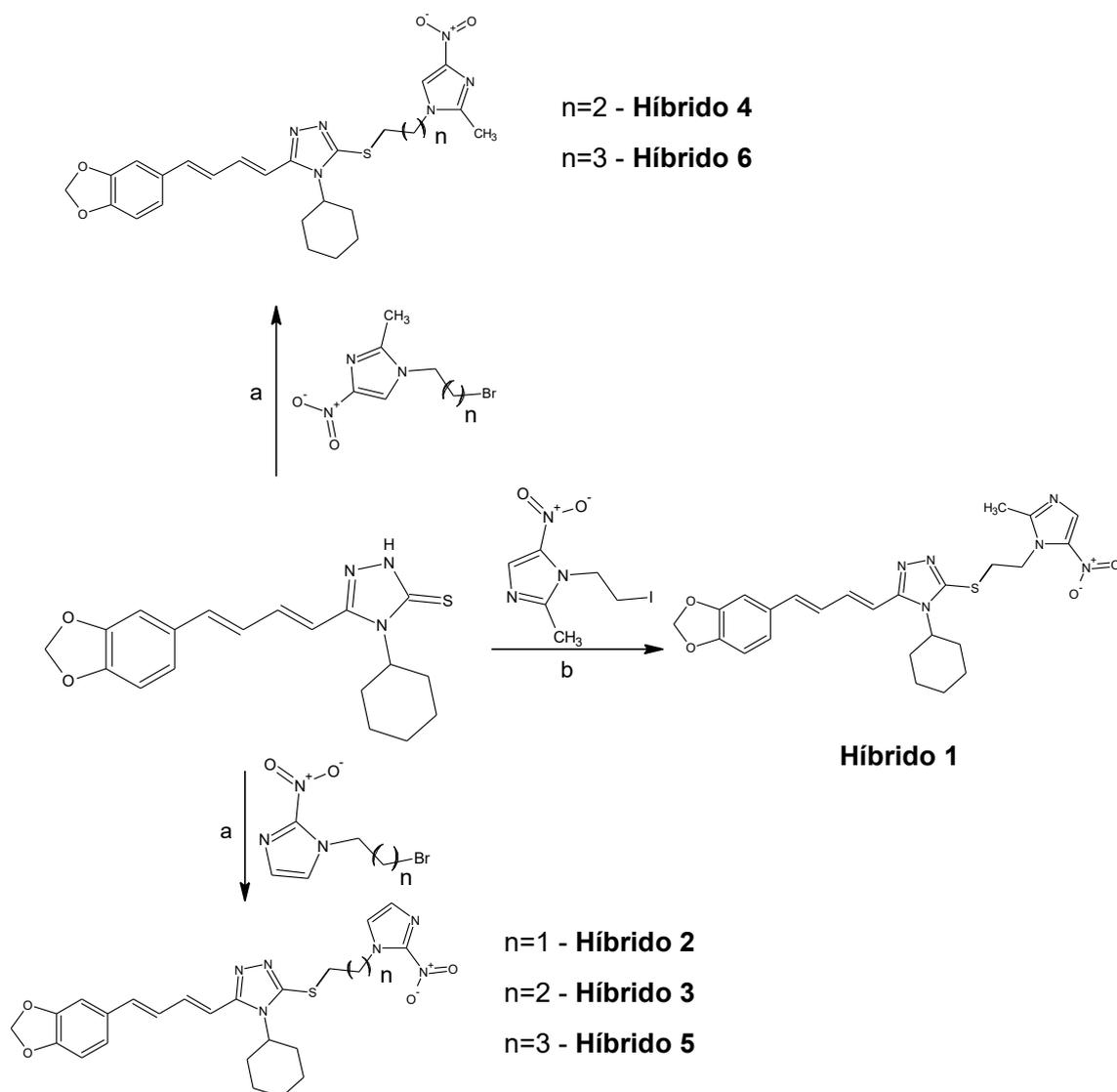
O alquilante **18** teve o seu ponto de fusão determinado, sendo caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM). Este alquilante se apresentou como um sólido, levemente amarelado, amorfo, apresentando ponto de fusão entre 780 e 72°C. Através do espectro de infravermelho (**Espectro 55**, página 118) pode ser confirmada a presença da ligação C-Br, devida à absorção em  $680\text{ cm}^{-1}$ , referente à deformação axial da ligação C-Br. Observou-se ainda em  $1290\text{ cm}^{-1}$  a banda de deformação axial da ligação C-N formada. No espectro de massas (**Espectro 56**, página 118) o íon molecular foi detectado, como pico base,  $m/z = 261/263$  [ $\text{M}^+$ ] (100%), que auxiliaram na confirmação da estrutura deste alquilante.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 57**, página 119), notou-se a presença de um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta 3,46\text{ ppm}$  ( $J = 7,0\text{ Hz}$ ), que representa o metileno ligado ao bromo, e a presença de um outro tripleto com integração para 2 hidrogênios, centrado em  $\delta 3,98\text{ ppm}$  ( $J = 7,0\text{ Hz}$ ), que representa o metileno ligado ao nitrogênio do anel imidazólico. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 58**, página 119) observou-se um sinal em  $\delta 46,40\text{ ppm}$  indicando a absorção do  $\text{CH}_2$  ligado ao nitrogênio, indicando a ligação formada.

#### 4.4. Preparação dos Híbridos

Em trabalho recente de nosso grupo de pesquisa, Franklim e colaboradores (2019) reportaram o aumento significativo da atividade tripanocida dos derivados *S*-alquilados do *N*<sub>4</sub>-cicloexil 1,2,4-triazol (**4**). Os derivados preparados por Franklim foram avaliados contra epi- e amastigotas de *T. cruzi* (cepa Y), bem como quanto ao seu perfil de citotoxicidade frente a macrófagos murinos. Os resultados descritos no trabalho de Franklim nos estimularam a propor a preparação de um novo derivado *S*-alquilado, ao qual estivesse incorporado outro fármaco, buscando incrementar o perfil de atividade tripanocida, visto que, neste caso, haveria a possibilidade desta molécula agir através de dois mecanismos de ação complementares. Os híbridos propostos conjugam propriedades do derivado da piperina com centros nitroimidazólicos presentes em fármacos comerciais utilizados no tratamento de diversas parasitoses.

A reação de *S*-alquilação planejada neste trabalho se baseou nas metodologias descritas por Al-Abdullah e colaboradores (2014) e El-Ashry e colaboradores (2006), onde ambos se utilizam de solvente polar e meio básico (**Esquema 25**). Sob condições reacionais mais brandas, o produto de *S*-alquilação é o único formado. O uso de uma base se faz necessário, uma vez que o próton ligado ao nitrogênio deve ser abstraído, levando à formação do nucleófilo necessário à etapa de alquilação.



*Condições reacionais:* (a) TEA, etanol, refluxo; (b) DMF, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 55°C.

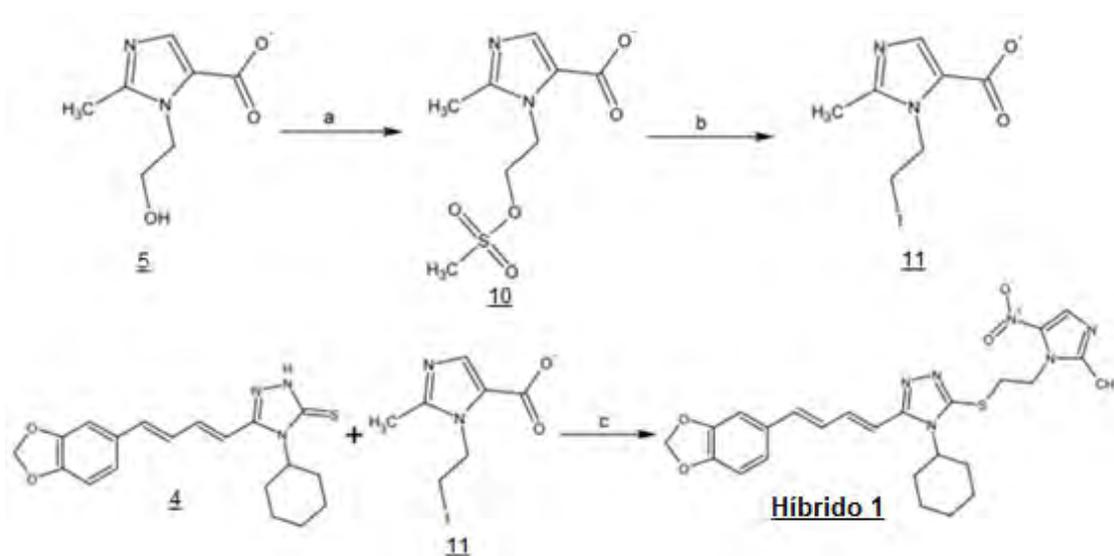
**Esquema 25.** Planejamento de síntese da série de híbridos (1-6), a partir dos alquilantes previamente sintetizados.

#### 4.4.1. Preparação do Híbrido 1

A reação de *S*-alquilação do iodeto **11**, derivado do metronidazol foi bem-sucedida, realizada de acordo com a metodologia de Al-Abdullah e colaboradores (2014). Após o término da reação, a etapa de purificação do produto obtido foi conseguida pela precipitação dele através da adição de água gelada ao meio reacional. O híbrido planejado (**1**) foi obtido, na forma de um sólido amorfo, de coloração amarela, em rendimento isolado de 63%, além de apresentar pureza adequada (determinada por CLAE).

O híbrido preparado foi caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM e IV), além de ter seu ponto de fusão determinado (207-209°C). Através do espectro de infravermelho (**Espectro 17**, página 75) pode ser confirmada a presença da ligação C-S, responsável pela absorção em  $1180\text{ cm}^{-1}$ , referente a deformação axial simétrica da ligação C-S, indicativo da formação do produto de *S*-alquilação. No espectro de massas (**Espectro 18**, página 76) HRMS pode ser observado o pico  $m/z = 509,1956[\text{M}+\text{H}]$ ; e  $m/z = 531,1775 [\text{M}+\text{Na}]$ , referentes ao íon molecular em adutos com hidrogênio e sódio, respectivamente. Adicionalmente, no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 19**, página 76) é possível observar um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, em  $\delta 3,62\text{ ppm}$  ( $J = 6,3\text{ Hz}$ ), referente ao  $\text{CH}_2$  ligado ao enxofre. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 20**, página 77) observou-se um sinal em  $\delta 45,22\text{ ppm}$ , indicando a presença de carbono metilênico, ligado ao átomo de Enxofre. Esses sinais, relacionados à estrutura da molécula sintetizada, pontuados anteriormente, suportam a tese de que a *S*-alquilação foi realizada com êxito, formando o híbrido 1.

No Esquema a seguir (**Esquema 26**), mostramos toda a sequência sintética desenvolvida para a preparação do híbrido 1.



*Condições reacionais:* (a) AcOEt, TEA,  $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ , 2h (66%); (b) DMF, KI,  $65^\circ\text{C}$  por 4h (53%); (c) DMF,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $55^\circ\text{C}$  por 24h (63%).

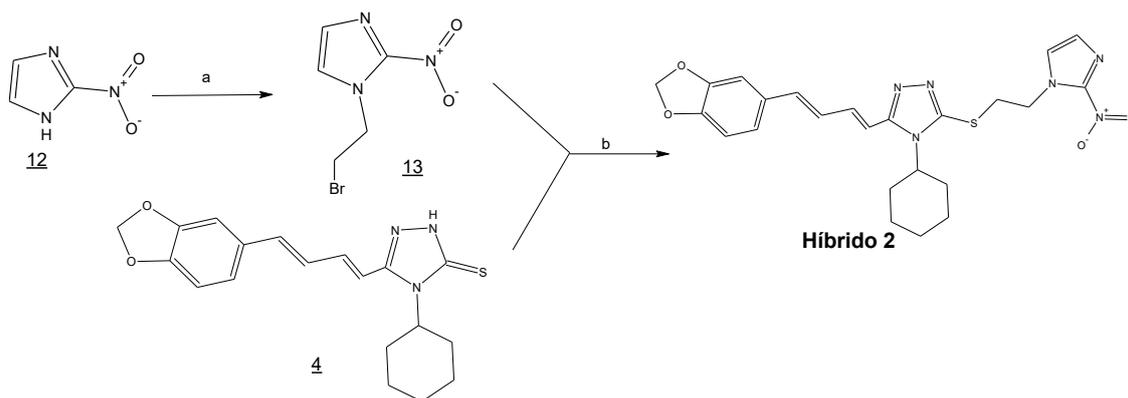
**Esquema 26.** Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 1, partindo do metronidazol (5).

#### 4.4.2. Preparação do Híbrido 2

A reação de *S*-alquilação de (4) com o 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (13), derivado do 2-nitroimidazol (12) foi bem sucedida, realizada sob a metodologia de El-Ashry e colaboradores (2006). Após o término da reação, a etapa de purificação do produto obtido foi realizada por filtração em coluna cromatográfica. O híbrido planejado foi obtido, na forma de um sólido amorfo de coloração amarela, em rendimento isolado de 50%, além de apresentar pureza adequada (determinada por CLAE).

O híbrido 2 foi caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e EM), além de ter seu ponto de fusão determinado (170-174°C). No espectro de infravermelho (**Espectro 25**, página 84) pode ser observada uma absorção em 1197 cm<sup>-1</sup>, referente a deformação axial simétrica da ligação C-S, indicativo da formação do produto de *S*-alquilação. No espectro de massas (ESI, **Espectro 26**, página 85) pode ser observado o pico do íon molecular *m/z*= 495,15 [M<sup>+</sup>.]; além do íon *m/z* = 989,35 [M+M], referente à formação do aduto entre dois íons moleculares. Adicionalmente, no espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 27**, página 85) é possível observar um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, em δ 3,63 ppm (*J*= 6,3 Hz), referente ao CH<sub>2</sub> ligado ao enxofre. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 28**, página 86) observou-se um sinal em δ 48,59 ppm, indicando a presença de carbono metilênico, ligado ao átomo de enxofre. Esses sinais, relacionados à estrutura da molécula sintetizada, pontuados anteriormente, suportam a tese de que a *S*-alquilação foi realizada com êxito, formando o híbrido 2 planejado.

No Esquema a seguir (**Esquema 27**), mostramos toda a sequência sintética desenvolvida para a preparação do híbrido 2.



Condições reacionais: (a) DMF, TEA, 1,2-dibromoetano, 4h (50%); (b) Etanol, TEA, refluxo, 6h (50%).

**Esquema 27.** Sequência sintética completa para a obtenção do híbrido 2, partindo do 2-nitroimidazol (12) e da triazolotiofona (4).

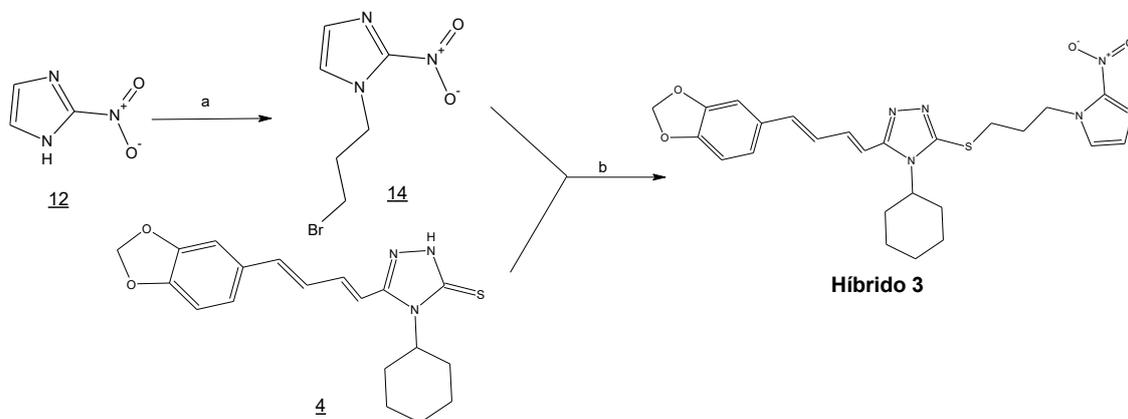
#### 4.4.3. Preparação do Híbrido 3

A reação de *S*-alquilação de (4) com o 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (14), derivado do 2-nitroimidazol (12) foi bem sucedida, realizada sob a metodologia de El-Ashry e colaboradores (2006). Após o término da reação, a etapa de purificação do produto obtido foi realizada por filtração em coluna cromatográfica. O híbrido 3 planejado foi obtido, na forma de um sólido amorfo de coloração amarela, em rendimento isolado de 50%, além de apresentar pureza adequada (determinada por cromatografia líquida).

O híbrido preparado foi caracterizado através dos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e EM), além de ter seu ponto de fusão determinado (150-153°C). Através do espectro de infravermelho (**Espectro 33**, página 93) pode ser confirmada a presença da ligação C-S, responsável pela absorção em  $1197\text{ cm}^{-1}$ , referente a deformação axial simétrica da ligação C-S, indicativo da formação do produto de *S*-alquilação. No espectro de massas (ESI, **Espectro 34**, página 94) pode ser observado o pico do íon molecular  $m/z= 509,15[\text{M}^+]$ ; além do íon  $m/z= 1017,30 [\text{M}+\text{M}]$ , referente à formação do aduto entre dois íons moleculares. Adicionalmente, no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 35**, página 94), é possível observar um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, em  $\delta 3,27\text{ ppm}$  ( $J= 6,3\text{ Hz}$ ), referente ao  $\text{CH}_2$  ligado ao átomo enxofre. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 36**, página 95) observou-se um sinal em  $\delta 25,97\text{ ppm}$ , indicando a presença de carbono metilênico, ligado ao átomo de enxofre. Esses sinais,

relacionados à estrutura da molécula sintetizada, pontuados anteriormente, suportam que a *S*-alquilação foi realizada com êxito, formando o híbrido 3, conforme planejado.

No Esquema a seguir (**Esquema 28**), mostramos toda a sequência sintética desenvolvida para a preparação do híbrido 3.



*Condições reacionais:* (a) DMF, TEA, 1,3-dibromopropano, 6h (55%); (b) Etanol, TEA, refluxo por 6h (50%).

**Esquema 28.** Sequência sintética completa para a obtenção do híbrido 3, partindo do 2-nitroimidazol (12).

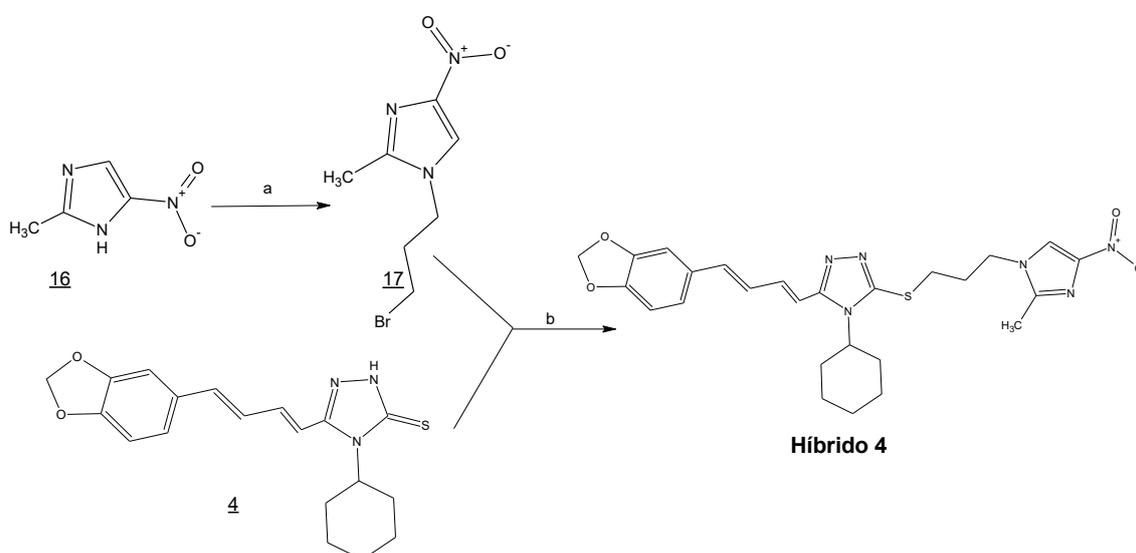
#### 4.4.4. Preparação do Híbrido 4

A reação de *S*-alquilação de (4) com o 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (17), derivado do 2-metil-(4)5-nitroimidazol (16) foi bem sucedida, realizada sob a metodologia de El-Ashry e colaboradores (2006). Após o término da reação, a etapa de purificação do produto obtido foi realizada por filtração em coluna cromatográfica. O híbrido planejado foi obtido, na forma de um sólido amorfo de coloração amarela, em rendimento isolado de 30%, além de apresentar grau de pureza adequado (determinado por CLAE).

O híbrido 4, preparado conforme mostrado no **Esquema 28**, foi caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e EM), além de ter seu ponto de fusão determinado (175-177°C). No espectro de infravermelho (**Espectro 43**, página 104) pode ser observada uma absorção em  $1193\text{ cm}^{-1}$ , referente a deformação axial simétrica da ligação C-S, indicativo da formação do produto de *S*-alquilação. No espectro de massas (**Espectro 44**, página 105) pode ser observado o pico do íon molecular  $m/z = 523,15[(M+H)^+]$ ; além do íon  $m/z = 1045,40 [(M+M)^+]$ , referente à

formação do aduto entre dois íons moleculares. Adicionalmente, no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 45**, página 105) é possível observar um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, em  $\delta$  3,25 ppm ( $J= 6,3$  Hz), referente ao  $\text{CH}_2$  ligado ao enxofre. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 46**, página 106) observou-se um sinal em  $\delta$  25,96 ppm, indicando a presença de carbono metilênico, ligado ao átomo de enxofre. Esses sinais, relacionados à estrutura da molécula sintetizada, pontuados anteriormente, suportam a formação do produto de *S*-alquilação, gerando o híbrido 4, conforme planejado

No Esquema a seguir (**Esquema 29**), mostramos toda a sequência sintética desenvolvida para a preparação do híbrido 4.



*Condições reacionais:* (a) DMF, TEA, 1,3-dibromopropano, 6h (45%); (b) Etanol, TEA, refluxo por 6h (30%).

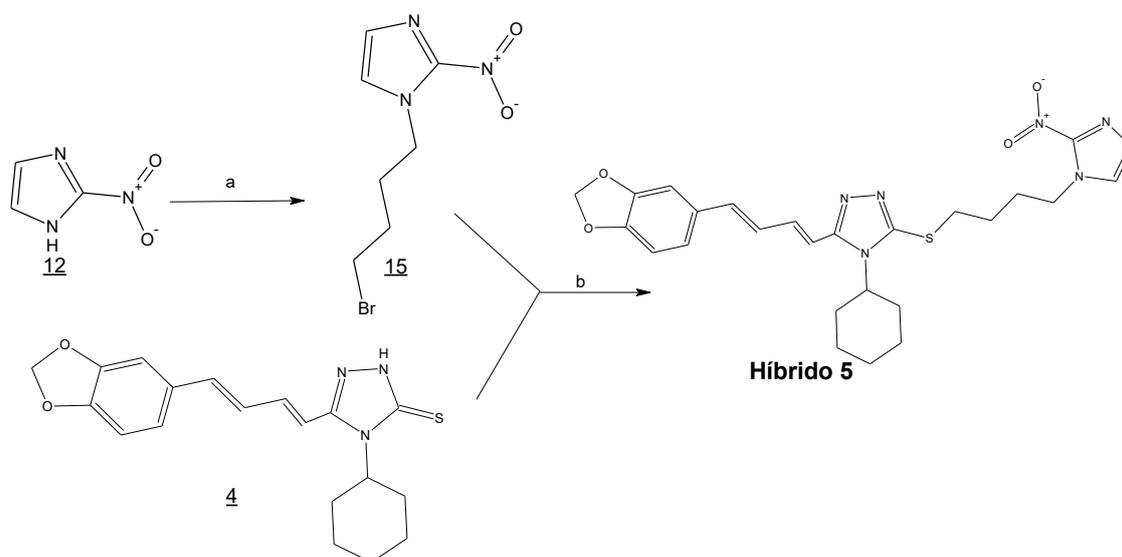
**Esquema 29.** Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 4, partindo do 2-metil-5-nitroimidazol (16).

#### 4.4.5. Preparação do Híbrido 5

A reação de *S*-alquilação de (4) com o 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (15), derivado do 2-nitroimidazol (12) foi bem sucedida, realizada sob a metodologia de El-Ashry e colaboradores (2006). Após o término da reação, a etapa de purificação do produto obtido foi realizada por filtração em coluna cromatográfica. O híbrido planejado foi obtido, na forma de um sólido amorfo de coloração amarela, em rendimento isolado de 50%, além de apresentar pureza adequada (determinada por CLAE).

O híbrido preparado foi caracterizado pelos convencionais de análise (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e EM), além de ter seu ponto de fusão determinado (129-131°C). Através do espectro de infravermelho (**Espectro 51**, página 113) pode ser confirmada a presença da ligação C-S, responsável pela absorção em  $1199\text{ cm}^{-1}$ , referente a deformação axial simétrica da ligação C-S, indicativo da formação do produto de *S*-alquilação. No espectro de massas (**Espectro52**, página 114) pode ser observado o pico do íon molecular  $m/z= 523[(M+H)^+]$ . Adicionalmente, no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 53**, página 114) é possível observar um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, em  $\delta$  3,30 ppm ( $J= 6,3\text{ Hz}$ ), referente ao  $\text{CH}_2$  ligado ao enxofre. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 54**, página 115) observou-se um sinal em  $\delta$  32,33 ppm, indicando a presença de carbono metilênico, ligado ao átomo de Enxofre. Esses sinais, somados os demias, todos relacionados à estrutura da molécula sintetizada, confurrmam que a reação de *S*-alquilação foi realizada com êxito, formando o híbrido 5 conforme planejado.

No Esquema a seguir (**Esquema 30**), mostramos toda a sequência sintética desenvolvida para a preparação do híbrido 5.



*Condições reacionais:* (a) DMF, TEA, 1,4-dibromobutano, 6h (45%); (b) Etanol, TEA, refluxo por 6h (50%).

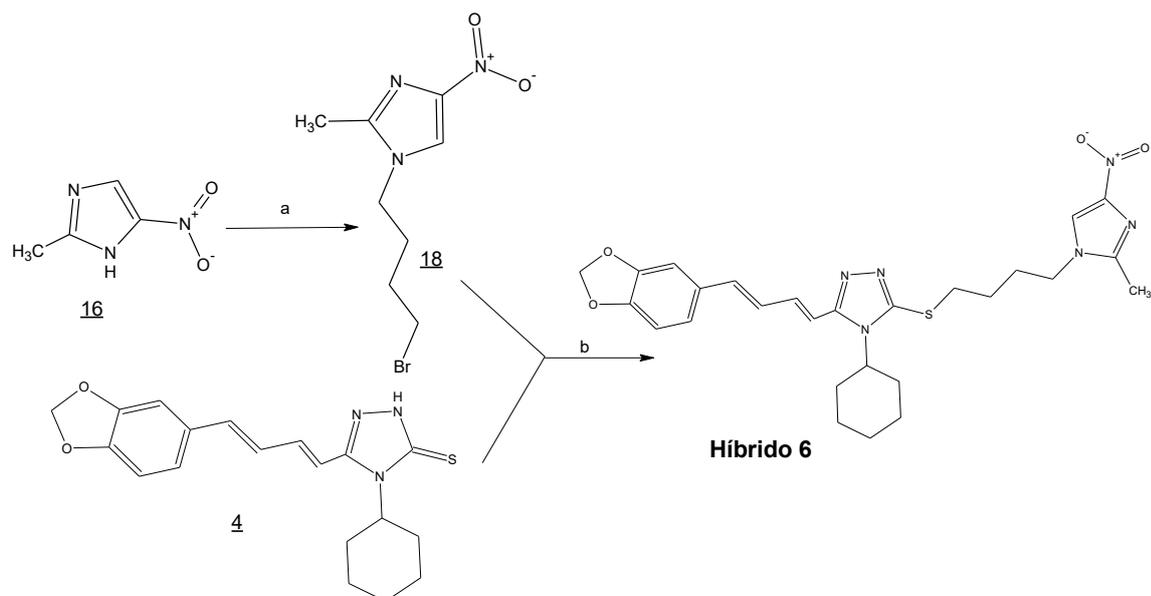
**Esquema 30.** Sequência sintética completa para a obtenção do Híbrido 5, partindo do 2-nitroimidazol (12).

#### 4.4.6. Preparação do Híbrido 6

A reação de *S*-alquilação de (4) com o 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (18), derivado do 2-metil-(4)5-nitroimidazol (16) foi bem sucedida, realizada sob a metodologia de El-Ashry e colaboradores (2006). Após o término da reação, a etapa de purificação do produto obtido foi realizada por filtração em coluna cromatográfica. O híbrido planejado foi obtido, na forma de um sólido amorfo de coloração amarela, em rendimento isolado de 45%, além de apresentar pureza adequada (determinada por CLAE).

O híbrido preparado foi caracterizado através dos métodos convencionais de análise (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e EM), além de ter seu ponto de fusão determinado (97-99°C). Através do espectro de infravermelho (**Espectro 59**, página 122) pode ser confirmada a presença da ligação C-S, responsável pela absorção em 1193 cm<sup>-1</sup>, referente a deformação axial simétrica da ligação C-S, indicativo da formação do produto de *S*-alquilação. No espectro de massas (**Espectro 60**, página 123) pode ser observado o pico do íon molecular *m/z*= 537 [(M+H)<sup>+</sup>]. Adicionalmente, no espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 61**, página 123) é possível observar um tripleto, com integração para 2 hidrogênios, em δ 3,32 ppm (*J*= 6,3 Hz), referente ao CH<sub>2</sub> ligado ao enxofre. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 62**, página 124) observou-se um sinal em δ 32,11 ppm, indicando a presença de carbono metilênico ligado ao átomo de enxofre. Esses sinais, somados aos demais observados nos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, suportam a tese de que a *S*-alquilação foi realizada com êxito, formando o híbrido 6, conforme o planejamento molecular descrito.

No Esquema a seguir (**Esquema 31**), mostramos toda a sequência sintética desenvolvida para a preparação do híbrido 6.

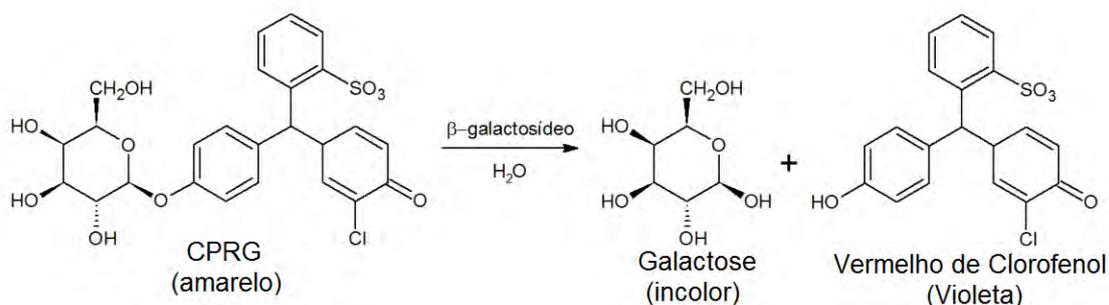


Condições reacionais: (a) DMF, TEA, 1,4-dibromobutano, 5h (45%); (b) Etanol, TEA, refluxo por 6h (45%).

**Esquema 31.** Sequência sintética completa para a obtenção do híbrido 6, partindo do 2-metil-5-nitroimidazol (16)

## 5. DISCUSSÃO DA AVALIAÇÃO ANTIPARASITÁRIA

A avaliação da atividade tripanocida *in vitro* dos híbridos sintetizados neste trabalho foi realizada de acordo com a sequência de procedimentos descritos no **item 6.2 (Parte experimental, página 126)**. Inicialmente foi avaliado a citotoxicidade desses híbridos e posteriormente sua atividade tóxica frente à forma amastigota do *T. cruzi* da cepa Tulahuen C2C4 LacZ, que é uma cepa que sofreu uma modificação genética de modo a ser capaz de expressar a enzima  $\beta$ -galactosidase (gene LacZ de *Escherichia coli*) (BUCKNER *et al.*, 1996). Essa enzima, liberada no meio após a ruptura da membrana celular das amastigotas, é responsável pela clivagem do vermelho de clorofenol  $\beta$ -galactopiranosídeo (CPRG), de coloração amarela, dando origem a uma molécula de galactose (incolor) e uma molécula de vermelho de clorofenol (**Esquema 32**), de coloração violeta ( $\lambda = 562\text{nm}$ ) (SEEBER & BOOTHROYD, 1996).



**Esquema 32.** Reação de clivagem do corante CPRG (adaptado de BUCKNER *et al.*, 1996).

A avaliação da citotoxicidade frente a macrófagos (RAW) foi realizada frente a concentração de 100  $\mu$ M dos híbridos sintetizados, após o período de incubação observou-se um alto percentual de viabilidade dessas células (**Tabela 1**). A avaliação da citotoxicidade frente à célula de linhagem LLC-MK2 foi realizada com o tratamento em diluição seriada dos híbridos sintetizados (híbrido 1-6), em diferentes concentrações, após o período de incubação foi aferido a concentração inibitória referente a cada híbrido (**Tabela 1**).

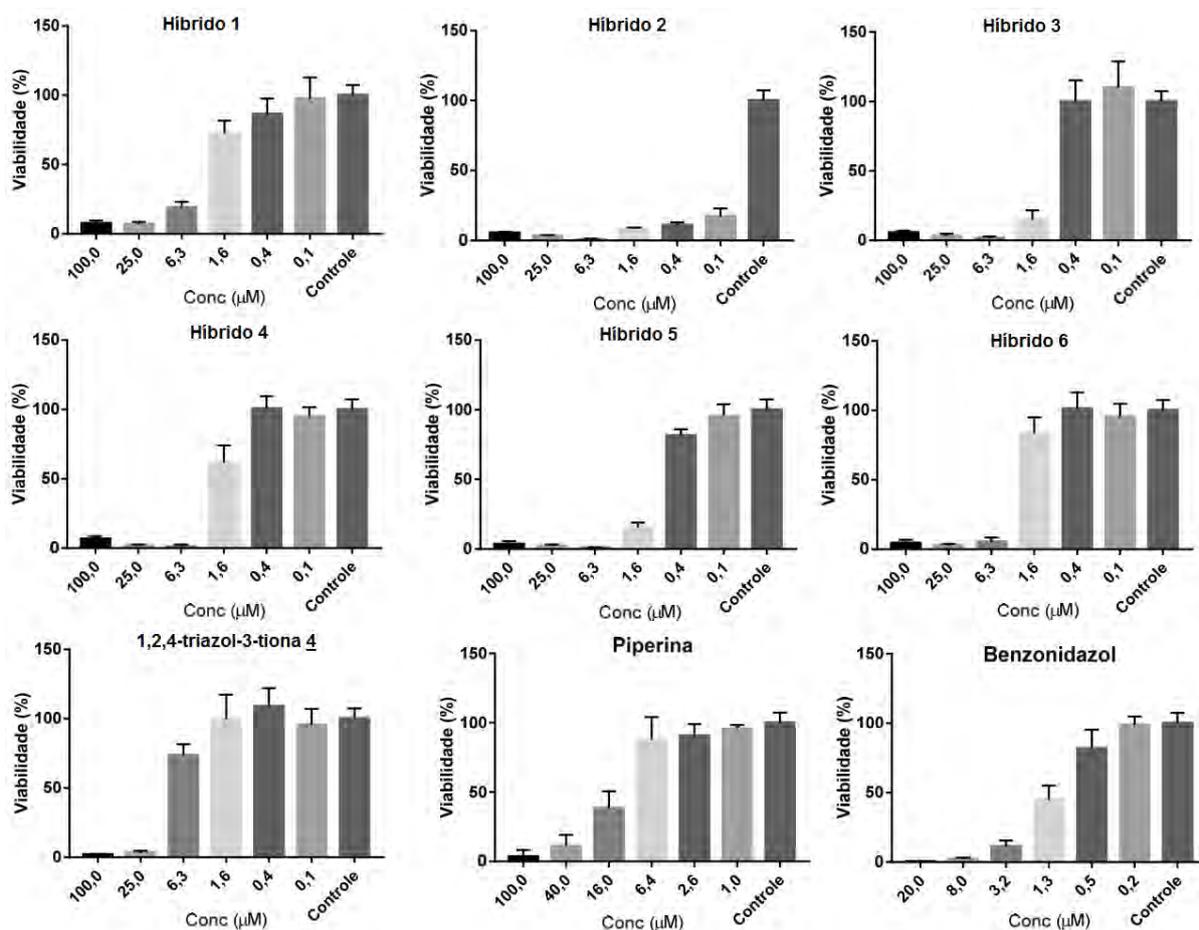
**Tabela 1.** Percentual de viabilidade frente a macrófagos (RAW) e valores de  $CI_{50}$  frente à célula LLC-MK2 calculados para os híbridos sintetizados.

	<b>Viabilidade em macrófagos (RAW)</b> <b>% Viabilidade (<math>\pm\sigma^*</math>)</b>	<b>Citotoxicidade em LLC-MK2</b> <b><math>CI_{50}</math> (<math>\mu</math>M)</b>
<b>Piperina (3)</b>	<b>78</b>	<b>117,1</b>
<b>4</b>	<b>2 (<math>\pm 1</math>)</b>	<b>18,94</b>
<b>Híbrido 1</b>	<b>84 (<math>\pm 8</math>)</b>	<b>100,7</b>
<b>Híbrido 2</b>	<b>88 (<math>\pm 7</math>)</b>	<b>39,39</b>
<b>Híbrido 3</b>	<b>79 (<math>\pm 2</math>)</b>	<b>99,79</b>
<b>Híbrido 4</b>	<b>77 (<math>\pm 10</math>)</b>	<b>126,4</b>
<b>Híbrido 5</b>	-	<b>60,18</b>
<b>Híbrido 6</b>	-	<b>89,11</b>
<b>DMSO (0,3%)**</b>	<b>100 (<math>\pm 4</math>)</b>	-

\*Desvio padrão;

\*\*Branco.

A avaliação da citotoxicidade frente às formas amastigota de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) foi realizada com o tratamento em diluição seriada dos híbridos sintetizados em diferentes concentrações (100  $\mu$ M, 25  $\mu$ M, 6,3  $\mu$ M, 1,6  $\mu$ M, 0,4  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M), após o período de incubação de 120 h foi aferido a concentração inibitória referente a cada híbrido, através da metodologia que utiliza o reagente colorimétrico CPRG. . O percentual de DMSO, nos experimentos realizados (0,3% de DMSO) encontra-se abaixo do valor máximo recomendado para que o crescimento parasitário seja afetado, que é de 1% para *T. cruzi* (GERPE *et al.*, 2010; ISHII *et al.*, 2011). Na **Figura 17**, abaixo, se encontram os gráficos de atividade antiparasitária dos híbridos, de seus precursores, piperina e seu derivado 1,2,4-triazol-3-tiona **4**, e do fármaco de referência, benzonidazol **2**, frente às formas amastigotas do *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ).



**Figura 16.** Gráficos de atividade dos compostos avaliados frente às formas amastigotas do *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ).

A partir dos gráficos de atividade, foram determinados os valores de concentração inibitória frente às formas amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) para os compostos avaliados. Esses dados foram calculados utilizando o software GraphPad Prism 7, organizados e dispostos, abaixo, na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Valores de  $CI_{50}$  frente às formas amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) calculado para os híbridos avaliados.

	Atividade em amastigota de <i>T. cruzi</i>
	$CI_{50} \pm \sigma^*$ ( $\mu\text{M}$ )
<b>Piperina (3)</b>	<b><math>18,07 \pm 1,24</math></b>
<b>4</b>	<b><math>5,89 \pm 3,98</math></b>
<b>Híbrido 1</b>	<b><math>2,66 \pm 0,22</math></b>
<b>Híbrido 2</b>	<b>&lt;0,1</b>
<b>Híbrido 3</b>	<b><math>1,15 \pm 0,21</math></b>
<b>Híbrido 4</b>	<b><math>1,37 \pm 0,65</math></b>
<b>Híbrido 5</b>	<b><math>0,74 \pm 0,01</math></b>
<b>Híbrido 6</b>	<b><math>2,67 \pm 0,66</math></b>
<b>Benzonidazol**</b>	<b><math>1,12 \pm 0,10</math></b>

\*Desvio padrão;

\*\*Fármaco de referência;

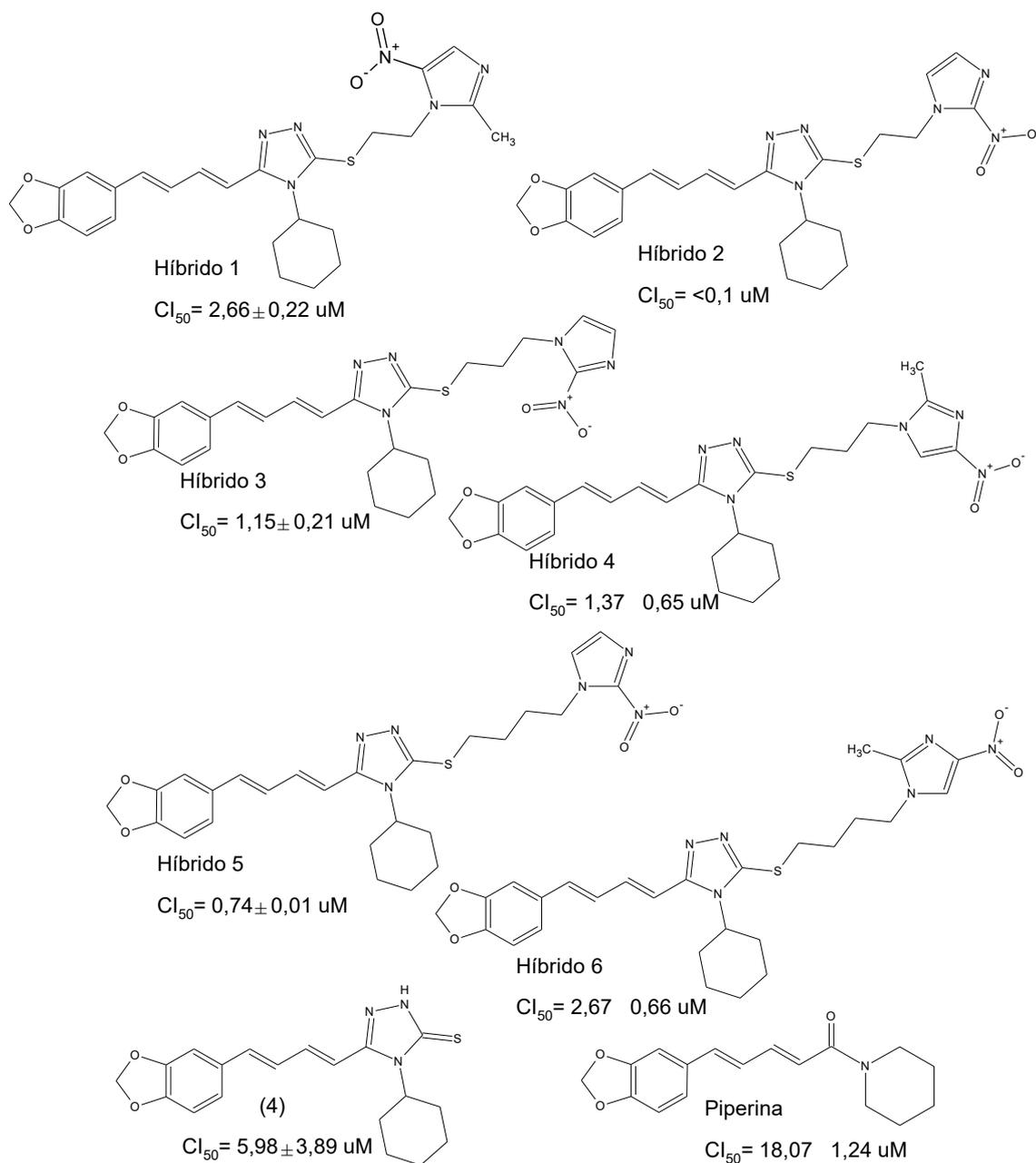
As atividades dos híbridos planejados, frente às amastigotas de *T. cruzi*, se mostraram muito promissoras, comparáveis à atividade do benzonidazol, fármaco de referência utilizado. Destaca-se o **híbrido 2**, que mostrou melhor atividade dentre todos os híbridos avaliados (**Figura 16**); ressaltando que ainda não foi possível obter seu valor exato de  $CI_{50}$  (concentração inibitória de 50%), pois ainda não foi possível repetir este procedimento em concentrações seriadas abaixo de  $0,1 \mu\text{M}$ , mas com os dados obtidos nessa avaliação parcial, é razoável esperar, certamente, um valor de concentração inibitória abaixo de  $0,1 \mu\text{M}$  (ou  $100 \text{ nM}$ ).

Com esses resultados é possível correlacionar, de forma preliminar, as atividades promissoras desses híbridos com o potencial de redução referente a cada porção nitroimidazólica presente na estrutura dos híbridos de forma comparativa; visto que é

um importante grupo farmacofórico, presente nos principais fármacos antiparasitários, que, possivelmente, está agindo através de nitroreduções intracelulares. Com isso, é esperado, que haja influência da posição do grupamento nitro no perfil de atividade, uma vez que apresentam diferentes potenciais de redução, e, conseqüentemente, reatividade, o que interfere diretamente no mecanismo de nitroreduções intracelulares, que são as principais vias de ação na qual esse grupo farmacofórico nitroheterocíclico age (CHURC *et al.*, 1990; KNOX *et al.*, 1983; MAYA *et al.*, 2003; MORENO & DOCAMPO, 1985; MORETH *et al.*, 2010; PATTERSON & WILLIE, 2014; SMITH & EDWARDS, 1995). Dessa forma, observa-se uma tendência da série de híbridos sintetizada, na qual as estruturas de melhor atividade apresentam o farmacóforo nitroimidazólico com o grupamento nitro na posição 2, em comparação ao híbrido referente com o grupamento nitro na posição 4 e 5 do anel imidazólico. Smith e Edwards (1995) discutem esta tendência em seu trabalho, no qual relaciona os maiores potenciais de redução da porção 2-nitroimidazólica (-418 mV) à sua maior atividade em *Helicobacter pylori*, e menores atividades em potenciais de redução menores, como o 4 e 5 nitroimidazóis (-527 mV e -486 mV, respectivamente). Ao comparar as atividades dos híbridos 1 e 2, observa-se que há uma grande disparidade, na qual o **híbrido 2** apresenta uma atividade consideravelmente maior do que o **híbrido 1**, ambos se diferem entre si apenas no grupo nitroimidazólico; essa maior atividade pode estar diretamente relacionada ao maior potencial de redução, como explicitado anteriormente. Essa mesma tendência se observa quando se compara as atividades dos pares de híbridos 3 e 4, e híbridos 5 e 6 (que diferem apenas na posição do grupo nitro no núcleo imidazólico), porém em menor proporção. Outro aspecto relevante, observado na influência da estrutura na atividade antiparasitária exibida pelos derivados planejados, está no tamanho da cadeia espaçadora entre o átomo de enxofre, ligado ao núcleo triazólico e o núcleo imidazólico. Observa-se que o número de dois átomos de carbono parece ser o distanciamento ótimo, na série 2-nitro, visto que os homólogos com 3 e 4 carbonos foram menos ativos, não apresentando entre si diferenças significativas na atividade anti-amastigota exibida.

O perfil de atividade promissor apresentado por essa série de híbridos sugere que estes compostos estejam agindo por mais de um mecanismo de ação frente ao parasito, como discutido no planejamento dessa série. O que caracteriza como exitosa a estratégia de hibridação molecular, ao homologar mais um grupo farmacofórico, este, por sua vez,

presente em fármacos com conhecida atividade antiparasitária, a um composto protótipo de atividade promissora, desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa, derivado de modificações estruturais na estrutura da amida natural piperina.



**Figura 17.** Híbridos (1 – 6), piperina (3) e o precursor 1,2,4-triazol-3-tiona (4) com suas respectivas atividades contra amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen C2C4 LacZ).

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

### 6.1. QUÍMICA

#### 6.1.1. Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas

- Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (400 e 500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 e 125 MHz) foram obtidos em espectrômetros de marca Bruker, modelo Ultrashield Plus (PPGQ – UFRRJ). Foi utilizado como referência interna o tetrametilsilano (TMS) e os solventes: clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO- $D_6$ ) na solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram medidos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz);
- Os espectros na região do Infravermelho (IV) foram obtidos no espectrofotômetro da marca Bruker, modelo Vertex 70 (PPGQ-UFRRJ), utilizando a técnica de ATR. Os valores das absorções observadas foram representados em número de onda, e a unidade utilizada foi o centímetro recíproco ( $\text{cm}^{-1}$ ).
- Os espectros de massa de baixa resolução foram obtidos no cromatógrafo em fase gasosa, acoplado ao espectrofotômetro de massas GCMS-QP2010 da Shimadzu (PPGQ - UFRRJ). Condições de análise: Coluna vf575MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 mm); Temperatura 200 °C/1”- 10 °C – 290 °C/40 min.; Injetor: 270 °C.
- Os espectros de massa com ionização por electrospray (ESI) foram obtidos no cromatógrafo em fase líquida acoplado ao espectrofotômetro de massas HPLCMS 2020 da Shimadzu (PPGQ – UFRRJ). Condições de análise: Coluna Kromasil, C18 (150 mm x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ ); Fase móvel: água + 0,1% HCOOH e acetonitrila+0,1% HCOOH (em gradiente); Fluxo 1,0 mL/min; ESI: modo positivo.

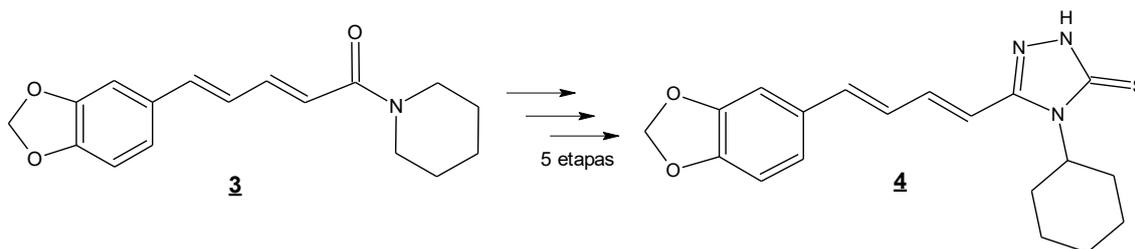
### **6.1.2. Nas análises, sínteses e purificações**

- Cromatofolhas de sílica gel 60 F254 (camada de 0,2 mm), da marca Merck para o acompanhamento por CCD (Cromatografia de Camada Delgada) das reações;
- Solventes: acetato de etila, *N,N*-dimetilformamida, diclorometano, etanol e metanol, entre outros, fornecidos pela Sigma-Aldrich e/ou Neon;
- Sílica gel flash padrão (mesh 60), para as purificações em coluna cromatográfica, da marca Sorbent Technologies.

### **6.1.3. Outros equipamentos**

- Reator de microondas - Modelo Discover - CEM *Inc*;
- Aparelho Aaker para medição dos pontos de fusão PFM-II;
- Câmara de revelação CCDA da marca Entela, modelo 58 Handheld, equipada com lâmpada UV com comprimento de onda de 254 e 365 nm;
- Placas de aquecimento e agitação das marcas Corning, Fisatom ou Ika;

#### 6.1.4. Preparação do derivado 5-[(1E,3E)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona (4)



*Condições reacionais:* (1) KOH, etanol, mw, 1h (80%); (2) (COCl)<sub>2</sub>, 30 min, t.a.; (3) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0°C até t.a. (71%); (4) Isotiocianato de ciclo-hexila, etanol, mw, 30 min. (91%); (5) NaOH aq., mw, 30 min.; então, neutralização com HCl aq. até pH 3.0 (91%).

A síntese do derivado 5-[(1E,3E)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-ciclo-hexil-2,4-diidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona (4) foi realizada seguindo a metodologia descrita na tese de doutorado de Franklim, 2013. Nesse trabalho é descrito desde a extração da piperina da pimenta preta até a preparação do cicloexil triazol. O produto obtido foi caracterizado por seu ponto de fusão e pelos demais métodos de análise.

PF: 218–220°C (Lit.: 218-220°C; FRANKLIM *et al.*, 2013).

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{N-H}} = 3425$  (Estiramento NH do triazol);

$\nu_{\text{C-H}} = 2931$  (Estiramento de metilenos);

$\nu_{\text{C=C}} = 1614 - 1492 - 1444$  (Vibração da ligação C=C do esqueleto aromático);

$\nu_{\text{N-H}} = 1539$  (Banda de confirmação da ligação N-H);

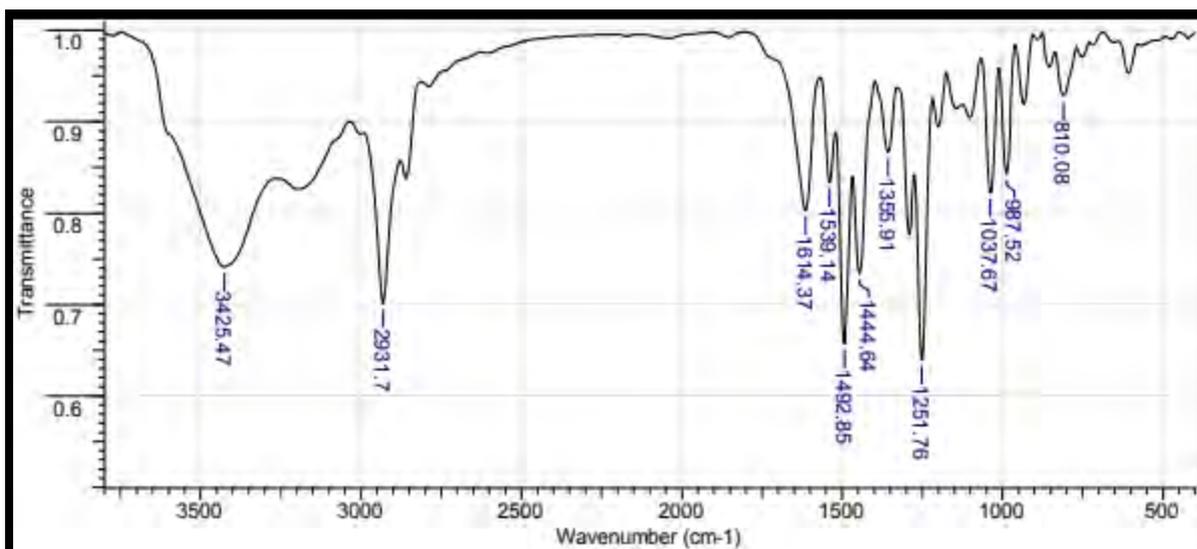
$\nu_{\text{C-N}} = 1355$  (Vibração da ligação C-N do anel heterocíclico);

$\nu_{\text{C-O-C}} = 1251$  (Estiramento de éter);

$\nu_{\text{C=S}} = 1037$  (Estiramento da tiocarbonila do anel heterocíclico);

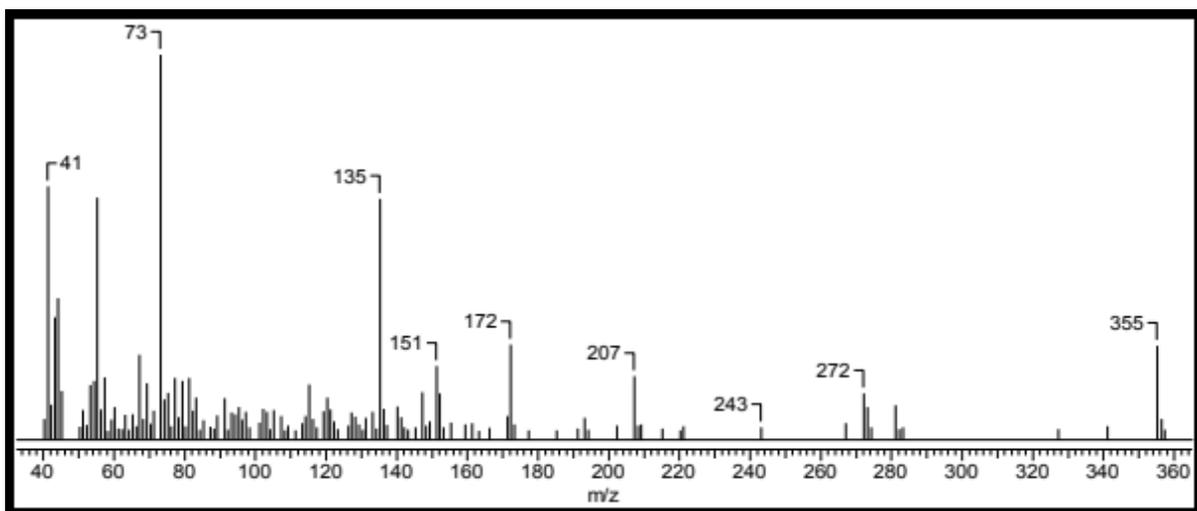
$\delta_{\text{C-H}} = 987$  (Deformação angular fora do plano de C-H para H isolado no sistema aromático);

$\delta_{\text{C-H}} = 810$  (Deformação angular fora do plano de C-H para 2H no sistema aromático).

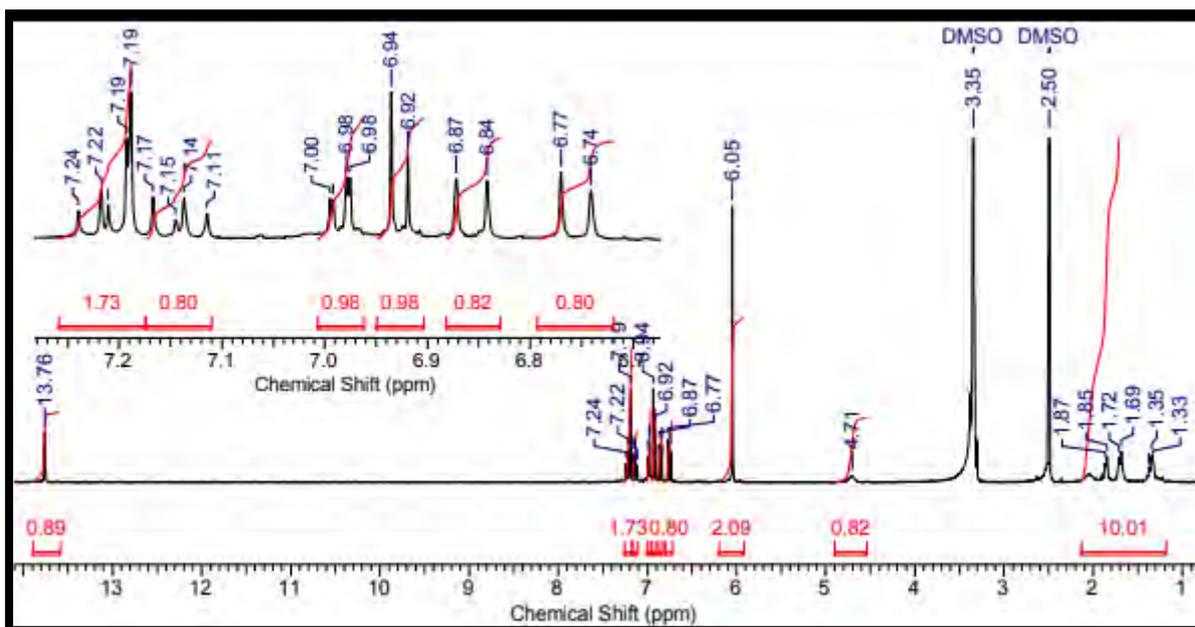


**Espectro 1.** Espectro de IV do 5-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3*H*-1,2,4-triazol-3-tiona (**4**).

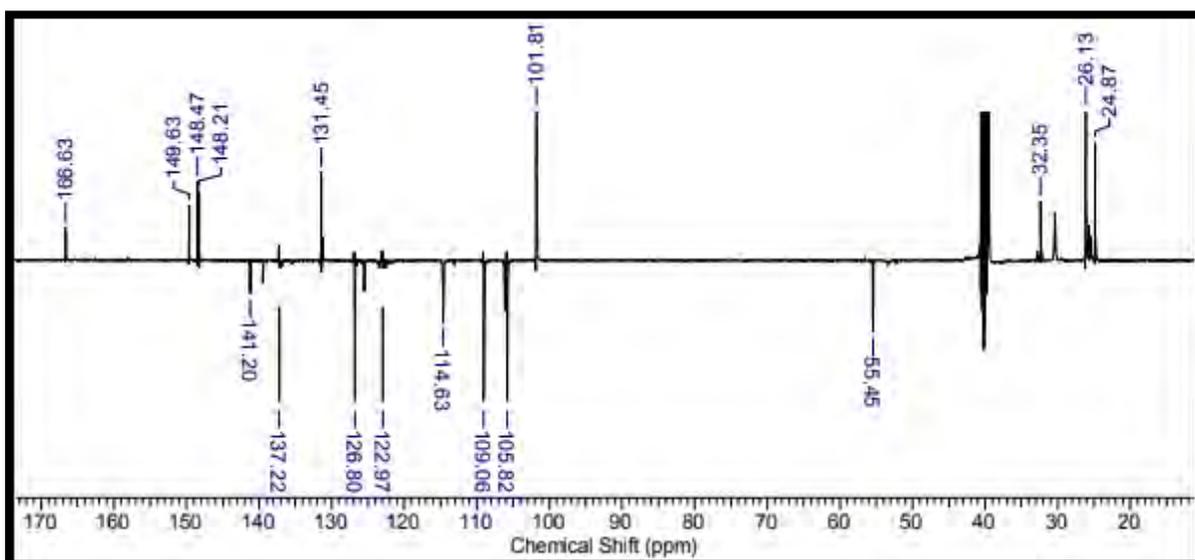
**EM (IE, 70 eV):**  $m/z$  = 355 ( $M^{+}$ , 25%); 272 (15%); 207 (20%); 172 (25%); 151 (20%); 135 (65%); 73 (100%) e 41 (70%).



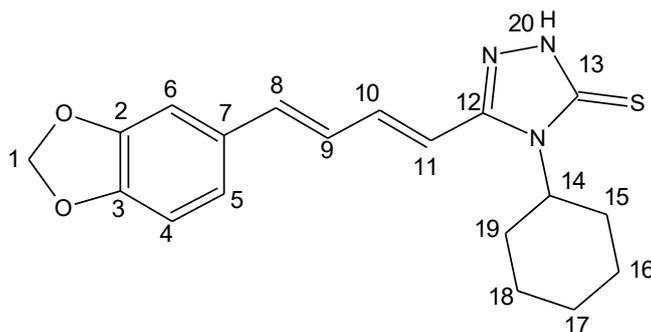
**Espectro 2.** Espectro de massas do 5-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3*H*-1,2,4-triazol-3-tiona (**4**).



**Espectro 3.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $D_6$ ) do 5-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3*H*-1,2,4-triazol-3-tiona (4).



**Espectro 4.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (500 MHz, DMSO- $D_6$ ) do 5-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3*H*-1,2,4-triazol-3-tiona (4).

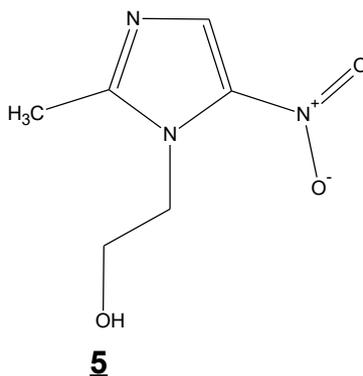


5-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3*H*-1,2,4-triazol-3-tiona (**4**).

**Tabela 3.** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 5-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-2,4-dihidro-3*H*-1,2,4-triazol-3-tiona (**4**).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); <i>J</i> (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>6,05 (s, 2H)</b>	<b>101,81 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	-	<b>148,21 (C)</b>
3	-	<b>148,47 (C)</b>
4	<b>6,93 (d; 8,2; 1H)</b>	<b>109,06 (CH)</b>
5	<b>6,98-7,00 (m, 1H)</b>	<b>122,97 (CH)</b>
6	<b>7,19 (d; 1,89; 1H)</b>	<b>105,82 (CH)</b>
7	-	<b>131,45 (C)</b>
8	<b>7,11 - 7,17 (m, 1H)</b>	<b>137,22 (CH)</b>
9	<b>6,85 (d; 15,13; 1H)</b>	<b>126,80 (CH)</b>
10	<b>7,19 - 7,24 (m, 1H)</b>	<b>141,20 (CH)</b>
11	<b>6,75 (d; 14,5; 1H)</b>	<b>114,63 (CH)</b>
12	-	<b>149,53 (C)</b>
13	-	<b>166,63 (C)</b>
14	<b>4,71 (m, 1H)</b>	<b>55,45 (CH)</b>
15	<b>1,33 - 2,08 (m, 2H)</b>	<b>32,35 (CH<sub>2</sub>)</b>
16	<b>1,33 - 2,08 (m, 2H)</b>	<b>26,13 (CH<sub>2</sub>)</b>
17	<b>1,33 - 2,08 (m, 2H)</b>	<b>24,87 (CH<sub>2</sub>)</b>
18	<b>1,33 - 2,08 (m, 2H)</b>	<b>26,13 (CH<sub>2</sub>)</b>
19	<b>1,33 - 2,08 (m, 2H)</b>	<b>32,35 (CH<sub>2</sub>)</b>
20	<b>13,76</b>	-

### 6.1.5. Extração do 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol (metronidazol 5)



Inicialmente, 6 comprimidos do medicamento comercial Flagyl® 400 mg foram macerados e adicionados a um bécher de 250 mL, equipado com barra de agitação magnética. Sobre esse sólido foram adicionados 50 mL de solução aquosa de HCl 10%, sob agitação constante. A suspensão resultante foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por noventa minutos; passado esse tempo, a suspensão foi submetida a uma filtração simples, para remover os componentes insolúveis do comprimido (excipientes). Após a filtração, a solução ácida foi transferida para um bécher de 250 mL e mantida em banho de gelo, sendo então neutralizada com solução saturada de NaHCO<sub>3</sub>, até pH neutro. Após neutralização, ocorreu a precipitação do metronidazol, na forma de cristais brancos em formato de agulha. Após secagem dos cristais foi obtido 1,98g de metronidazol (82%). O produto foi devidamente caracterizado através de seu ponto de fusão e dos métodos convencionais de análise.

PF: 162-165°C (Lit.: 160,5°C, [drugbank.ca](http://drugbank.ca))

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{O-H}} = 3213 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação O-H);

$\nu_{\text{C-H}} = 3099 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

$\nu_{\text{C-H}} = 2981 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>);

$\nu_{\text{N-O}} = 1523 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

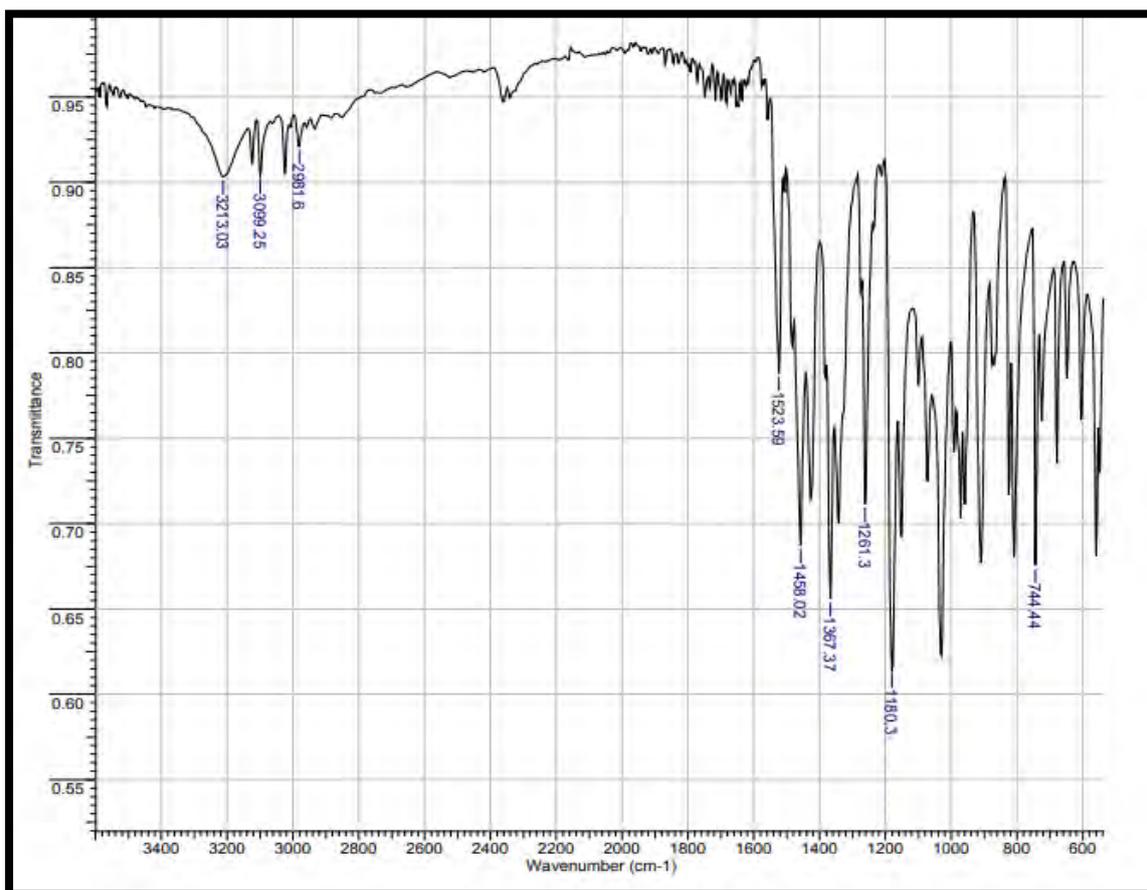
$\delta_{\text{C-H}} = 1458 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);

$\nu_{\text{N-O}} = 1367 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

$\nu_{\text{C-N}} = 1261 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);

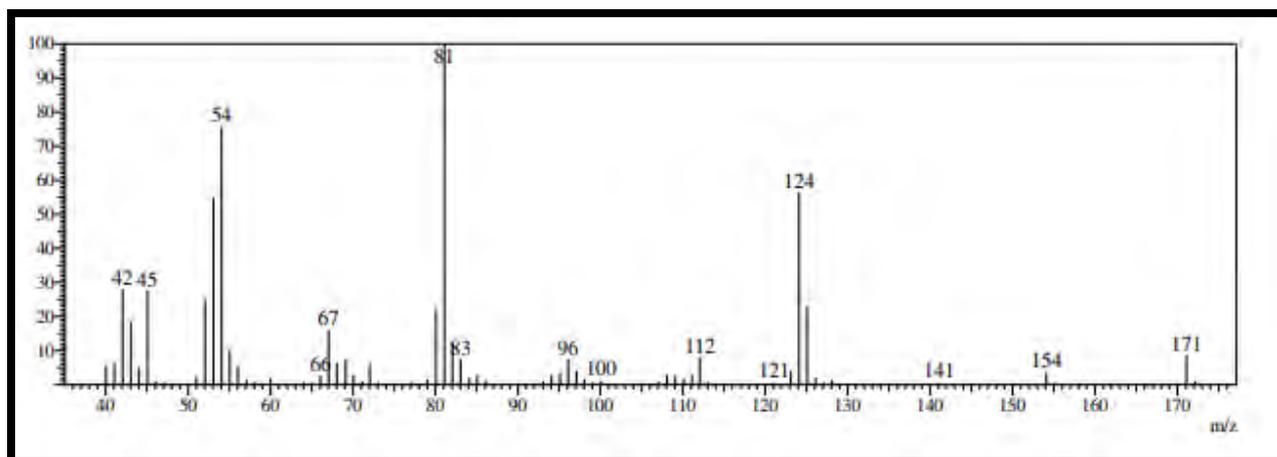
$\delta_{\text{O-H}} = 1180 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial de ligação O-H);

$\delta\text{C-H} = 744 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

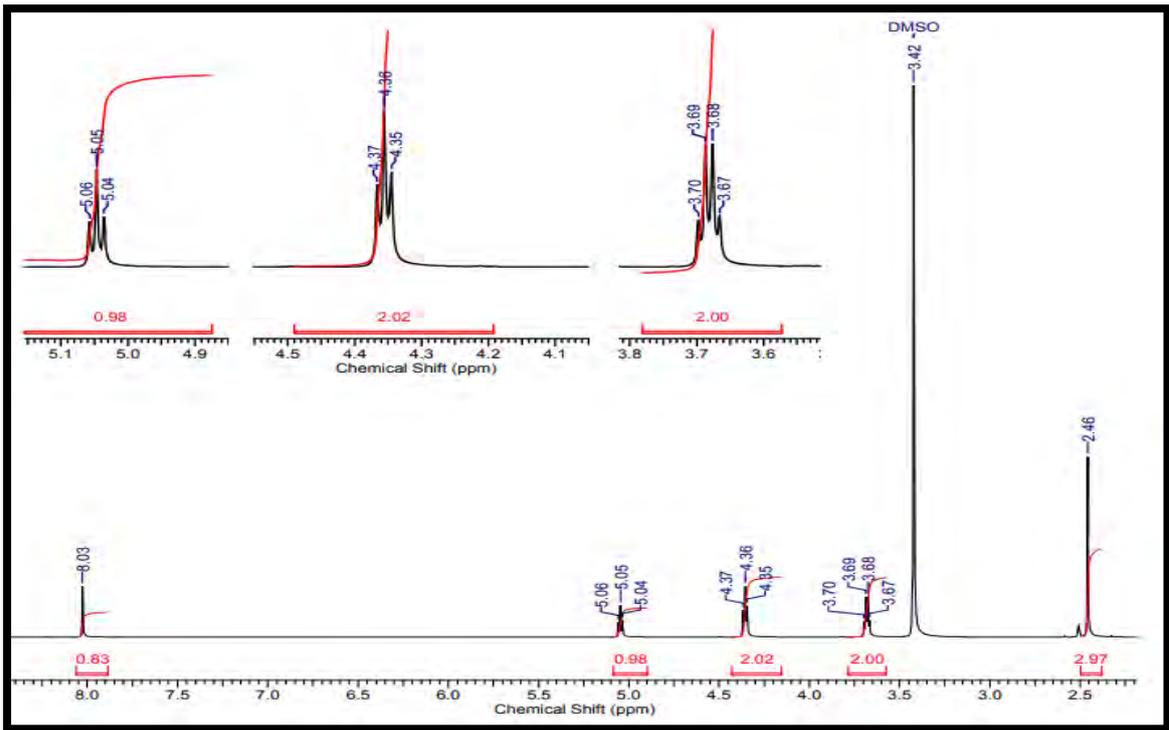


**Espectro 5.** Espectro de IV do metronidazol (5).

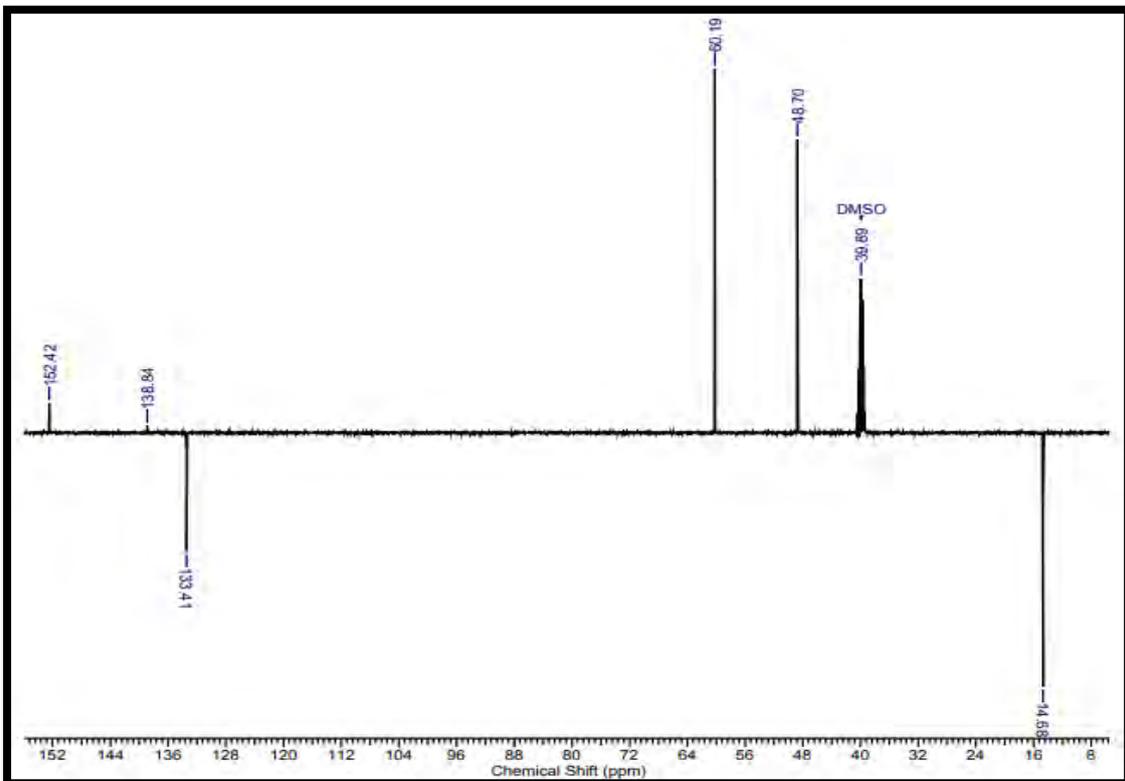
**EM (IE, 70 eV):** 171 (M<sup>+</sup>, 10%); 124(60%); 81 (100%) e 54 (75%).



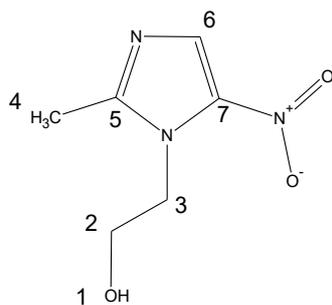
**Espectro 6.** Espectro de massas do Metronidazol (5).



**Espectro 7.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz, DMSO- $D_6$ ) do Metronidazol (5).



**Espectro 8.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPTQ (125 MHz, DMSO- $D_6$ ) do Metronidazol (5).

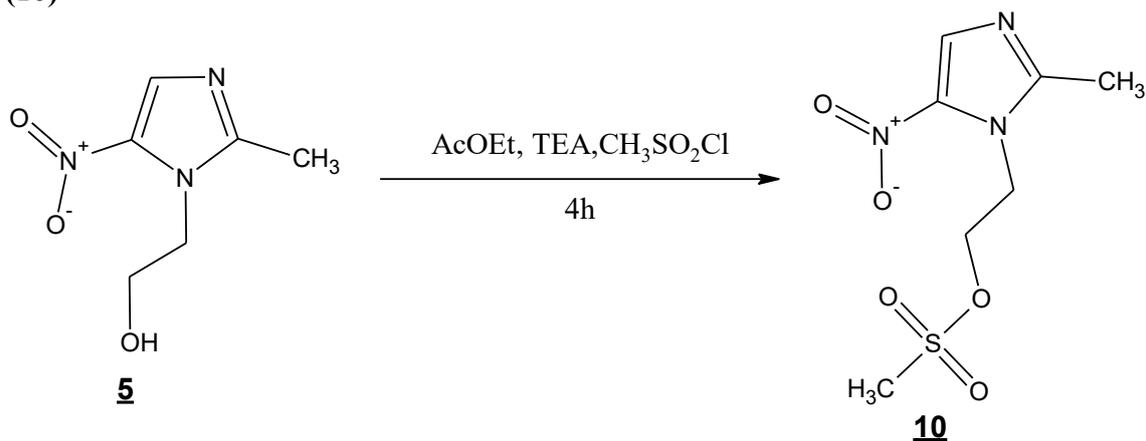


Metronidazol (5)

**Tabela 3.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o Metronidazol (5).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>5,0 (t; 5,4; 1H)</b>	-
2	<b>3,7 (q; 5,4; 2H)</b>	<b>48,7 (CH<sub>2</sub>)</b>
3	<b>4,4 (t; 5,4; 2H)</b>	<b>60,19 (CH<sub>2</sub>)</b>
4	<b>2,46 (s; 3H)</b>	<b>14,68 (CH<sub>3</sub>)</b>
5	-	<b>138,84 (C)</b>
6	<b>8,03(s; 1H)</b>	<b>133,41(CH)</b>
7	-	<b>152,42 (C)</b>

### 6.1.6. Preparação do Metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etila (10)



Em um balão de 50 mL, equipado com barra de agitação magnética, mantido sob atmosfera de nitrogênio, foi feita uma solução de 200 mg de metronidazol (1,2 mmol) em 25 mL de acetato de etila (seco sob peneira molecular de 4Å, ativada por 24h, em estufa mantida a 150°C). Sobre esta solução foram adicionados 417 µL de trietilamina (3 mmol) (seca sobre peneira molecular de 4Å, ativada por 24h em estufa mantida a 150°C); seguida de 335 µL (4,3 mmol) de cloreto de mesila (adicionado lentamente). Durante a adição do cloreto de ácido, observou-se o desprendimento de HCl, além da formação de precipitado branco (cloridrato de trietilamínio). A reação transcorreu por 2 horas, sendo acompanhada por CCD (cromatografia em camada delgada), utilizando a mistura diclorometano/metanol 5% como eluente. Após o fim da reação, o produto foi isolado através de uma filtração simples, visando remover o precipitado formado. Após a filtração, a fase orgânica foi lavada com solução de NaHCO<sub>3</sub> 5%; e em seguida, com água destilada; e por fim com solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e evaporado em evaporador rotatório, gerando cristais de coloração branca, levemente azulada. O produto obtido, 198mg (66 %), apresentou grau de pureza adequada, verificada por cromatografia em fase gasosa, sendo então devidamente caracterizado através dos métodos convencionais de análise.

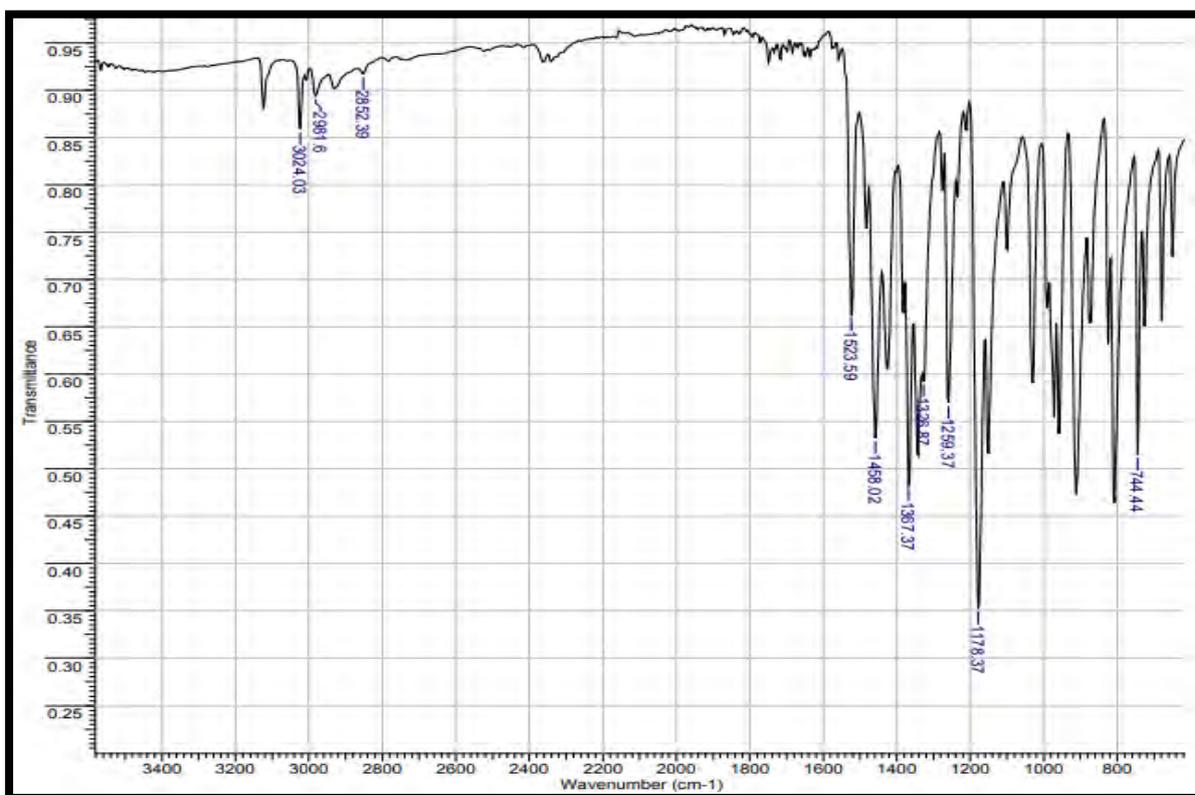
PF: 163-165°C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{C-H} = 3024 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

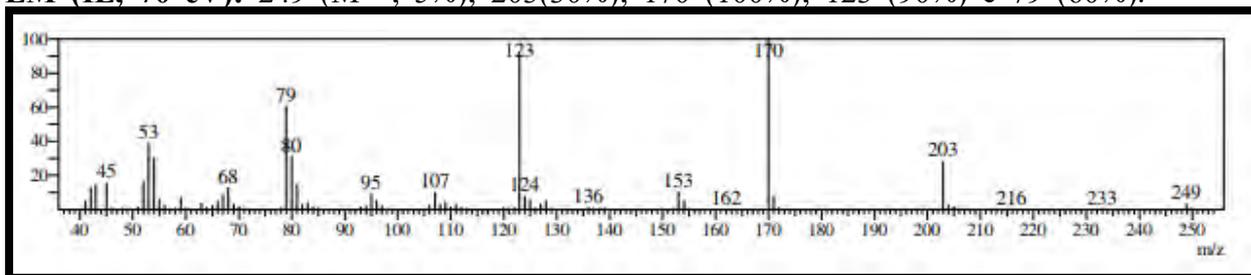
$\nu_{C-H} = 2981 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>);

$\nu_{\text{C-H}} = 2852 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ );  
 $\nu_{\text{N-O}} = 1523 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);  
 $\delta_{\text{C-H}} = 1458 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ );  
 $\nu_{\text{N-O}} = 1367 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);  
 $\delta_{\text{S(=O)}_2} = 1326 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica do grupo  $\text{S(=O)}_2$ );  
 $\nu_{\text{C-N}} = 1259 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);  
 $\delta_{\text{S(=O)}_2} = 1178 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica do grupo  $\text{S(=O)}_2$ );  
 $\delta_{\text{C-H}} = 744 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

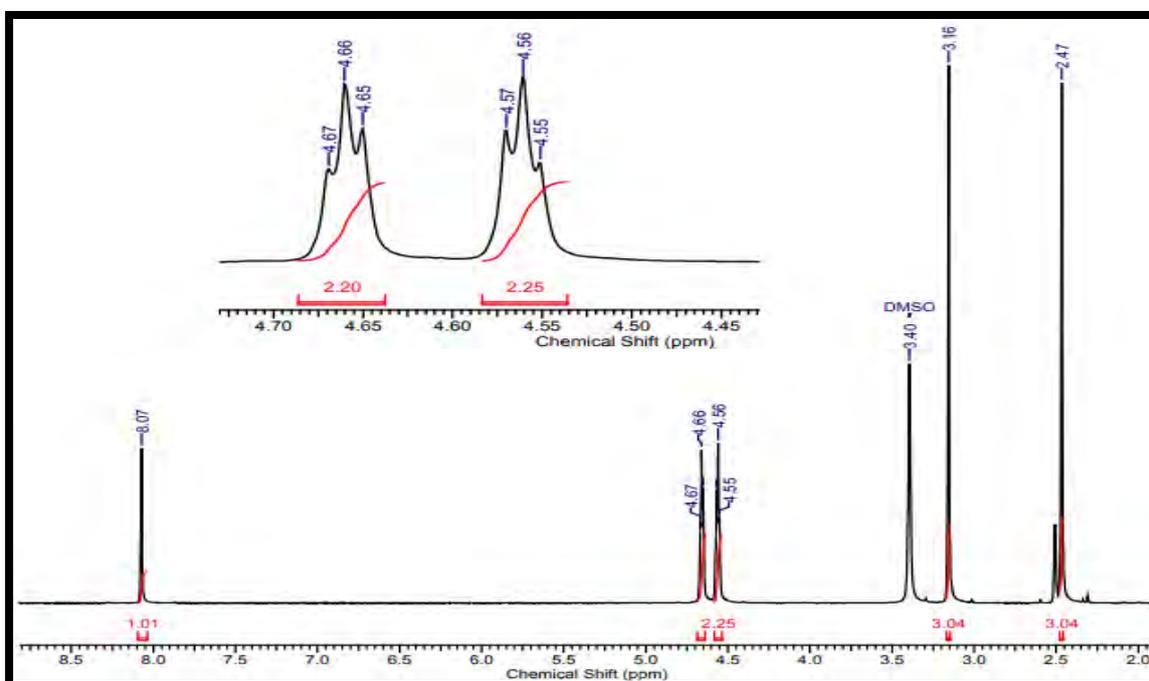


**Espectro 9.** Espectro de IV do metanossulfonato de 2- (2-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etila (**10**).

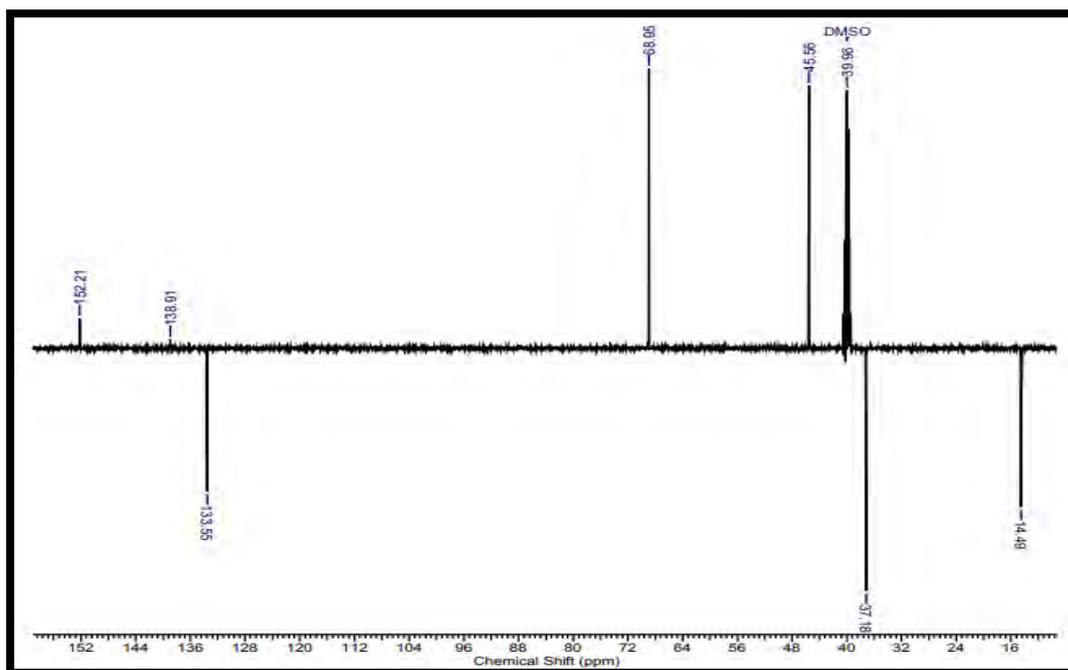
EM (IE, 70 eV): 249 ( $M^+$ , 5%); 203(30%); 170 (100%); 123 (90%) e 79 (60%).



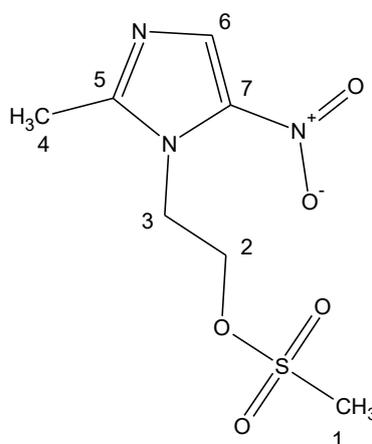
**Espectro 10.** Espectro de massas do metanossulfonato de 2- (2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etila (**10**).



**Espectro 11.** Espectro de RMN  $^1H$  (500 MHz, DMSO- $D_6$ ) do metanossulfonato de 2- (2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etila (**10**).



**Espectro 12.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – DEPTQ (500 MHz,  $\text{DMSO-}D_6$ ) do metanossulfonato de 2- (2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il) etila (**10**).

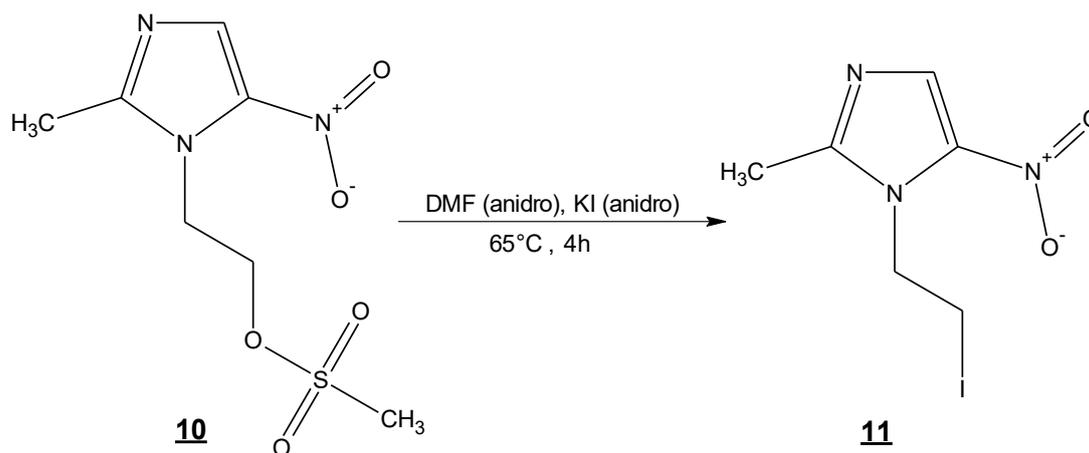


Metanossulfonato de 2- (2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il) etila (**10**).

**Tabela 5.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il) etila (**10**).

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

### 6.1.7. Preparação do 1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1H-imidazol (11)



Em um balão de 10 mL, equipado com barra de agitação magnética e mantido sob atmosfera de nitrogênio, foi feita uma solução de 200 mg metanossulfonato de 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etila (0,8 mmol) em 4 mL de *N,N*-dimetilformamida (seco sobre peneira molecular de 4Å, ativada por 24h, em estufa mantida a 150°C). Em seguida, adicionou-se ao meio reacional 400 mg de KI (anidro) (2,4 mmol). Durante a adição do KI, o meio que se apresentava incolor, automaticamente se tornou alaranjado. A reação foi mantida sob agitação constante em banho de óleo (estabilizado a 60°C) e mantido ao abrigo da luz. Após 4h, o término da reação foi constatado por CCD, utilizando a mistura: diclorometano/metanol 5% como eluente. O isolamento do iodeto obtido foi realizado através da evaporação de todo o solvente em evaporador rotatório, gerando um resíduo sólido, que foi purificado por filtração em coluna cromatográfica, utilizando sílica *flash* como fase estacionária e diclorometano como fase móvel. O produto foi obtido na forma de um sólido branco, com 120mg de massa (53%), e grau de pureza adequado, determinado por cromatografia gasosa. O produto foi devidamente caracterizado através dos métodos convencionais de análise.

PF: 101-104°C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{C-H}} = 3108 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

$\nu_{\text{C-H}} = 2966 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

$\nu_{\text{C-H}} = 2850 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1525 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta\text{C-H} = 1461\text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ );

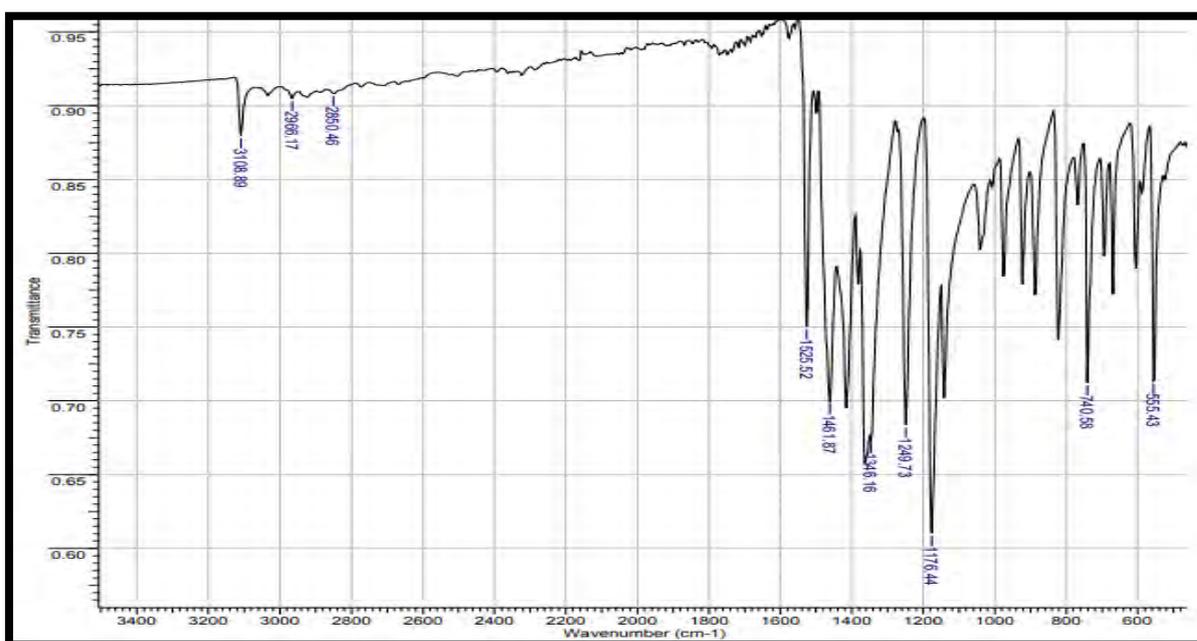
$\nu\text{N-O} = 1346\text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

$\nu\text{C-N} = 1249\text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);

$\delta\text{C-H} = 1176\text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

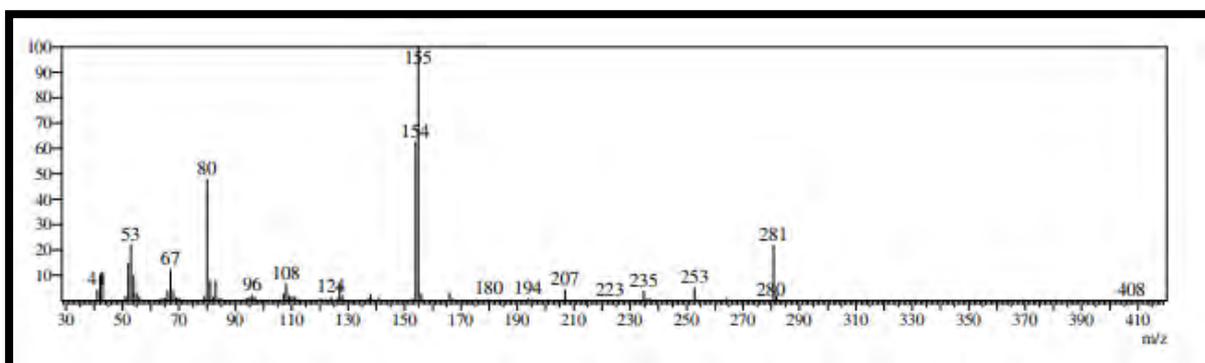
$\delta\text{C-H} = 740\text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);

$\nu\text{C-I} = 555\text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-I).

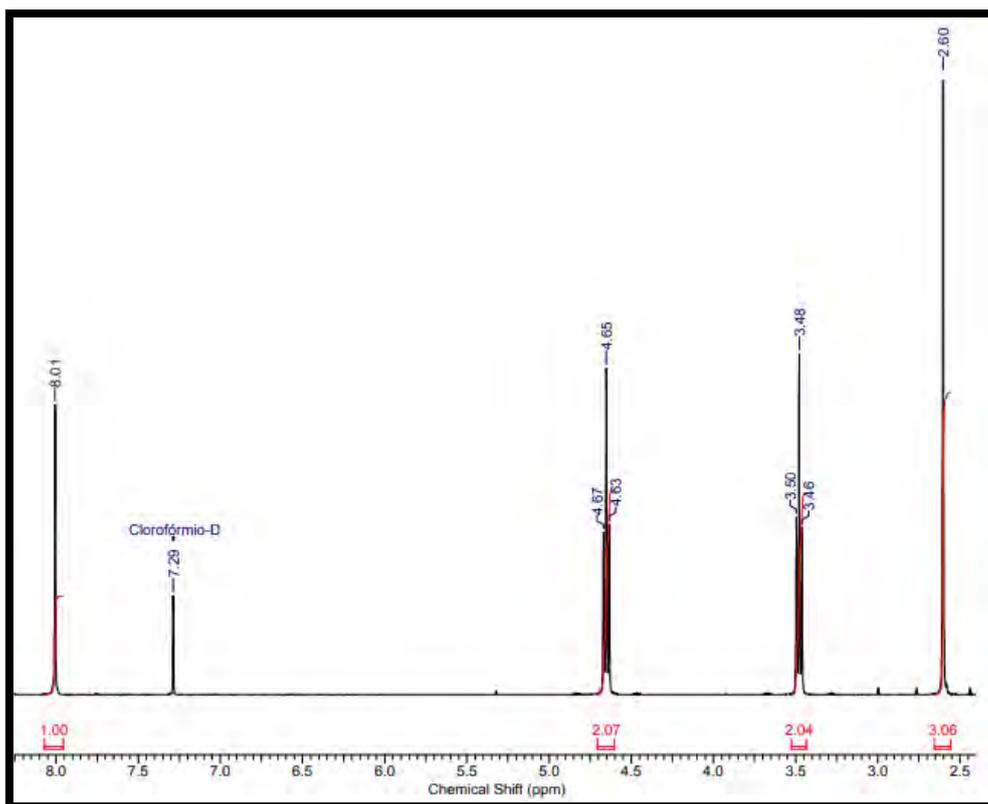


**Espectro 13.** Espectro de IV do 1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (**11**).

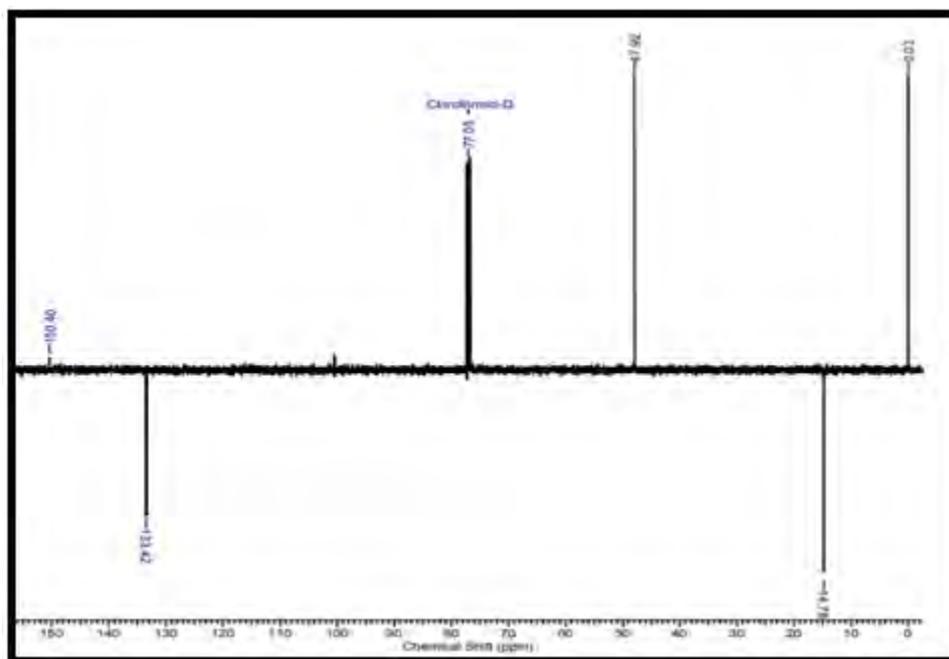
**EM (IE, 70 eV):** 281 ( $\text{M}^+$ , 20%); 155(100%); 154 (60%); 123 (90%) e 80 (50%).



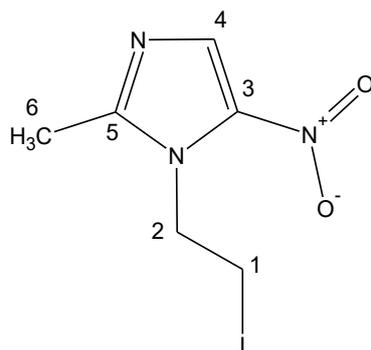
**Espectro 14.** Espectro de massas do 1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (**11**).



**Espectro 15.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1- (2-iodoetil) -2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (**11**).



**Espectro 16.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1- (2-iodoetil) -2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (**11**).

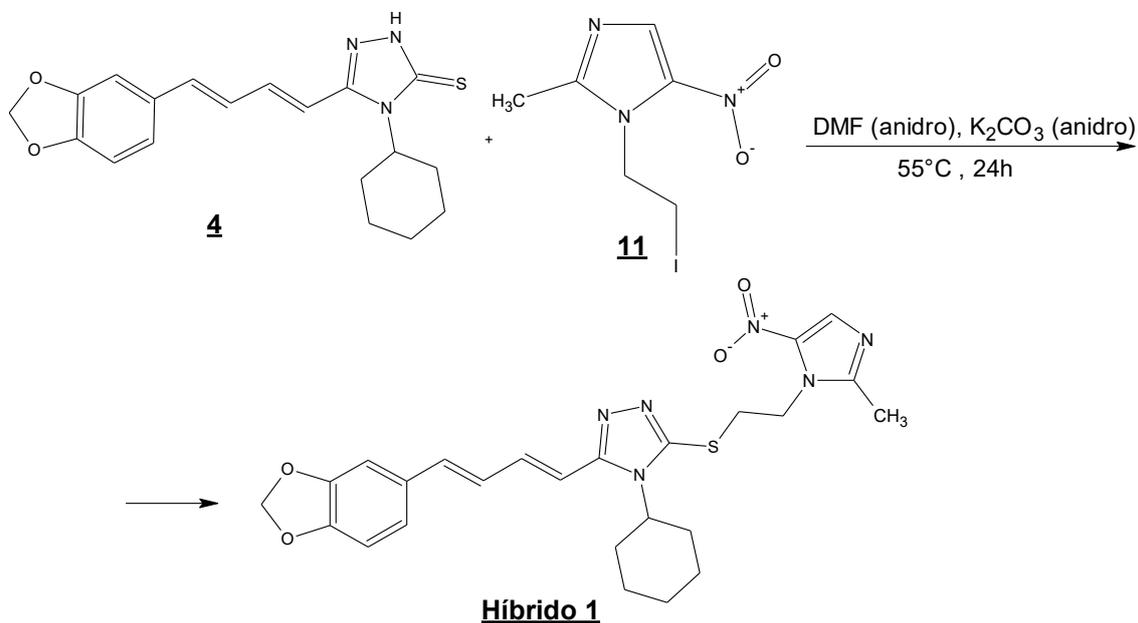


1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (**11**).

**Tabela 6.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 1- (2-iodoetil) -2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (**11**).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>3,48 (t; 7,0; 2H)</b>	<b>0,03 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	<b>4,65 (t; 7,0; 2H)</b>	<b>40,92 (CH<sub>2</sub>)</b>
3	-	-
4	<b>8,01 (s; 1H)</b>	<b>133,4 (CH)</b>
5	-	<b>150,4 (C)</b>
6	<b>2,60 (s; 3H)</b>	<b>14,78 (CH<sub>3</sub>)</b>

### 6.1.8. Preparação do 3-[(1*E*, 3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)butan-1,3-dien-1-il]-4-ciclo-exil-5-[[2- (2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol-1-il)etil]tio]-4*H*-1,2,4-triazol (Híbrido 1)



Em um balão de 5 mL, equipado com barra de agitação magnética e mantido sob atmosfera de nitrogênio, foi feita uma solução de 45 mg de cicloexil triazol (**4**) (0,127 mmol) e 27 mg de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anidro (0,19 mmol) em 2 mL de *N,N*-dimetilformamida (seca sobre peneira molecular de 4Å, ativada por 24h em estufa mantida a 150°C). Em seguida, foram adicionados 36 mg do 1- (2-iodo etil) -2-metil-5-nitro-1*H*-imidazol (**11**) (0,127 mmol). A reação foi mantida sob agitação constante e em banho de óleo (a 55°C). A reação foi acompanhada por CCD, utilizando a mistura diclorometano/metanol 7% como eluente. Após 24 horas de reação verificou-se que o produto já se encontrava em maior proporção frente aos reagentes de partida, mesmo adicionando mais equivalente molar de carbonato de potássio não houve evolução na reação, quando então foram adicionados cerca de 20mL de água gelada ao meio reacional, havendo precipitação do produto na forma de cristais amarelos. Os cristais obtidos foram filtrados a vácuo, lavados com água gelada e posteriormente secos a temperatura ambiente, gerando 40 mg do híbrido 1 (63%). O produto foi devidamente caracterizado através dos métodos convencionais de análise.

PF: 207-209°C

### Dados de Infravermelho:

$\nu$ C-H = 3025  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H de aromático);

$\nu$ C-H = 2935  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_3$ );

$\nu$ C-H = 2854  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

$\nu$ N-O = 1521  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta$ C-H = 1458  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$ );

$\nu$ N-O = 1359  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

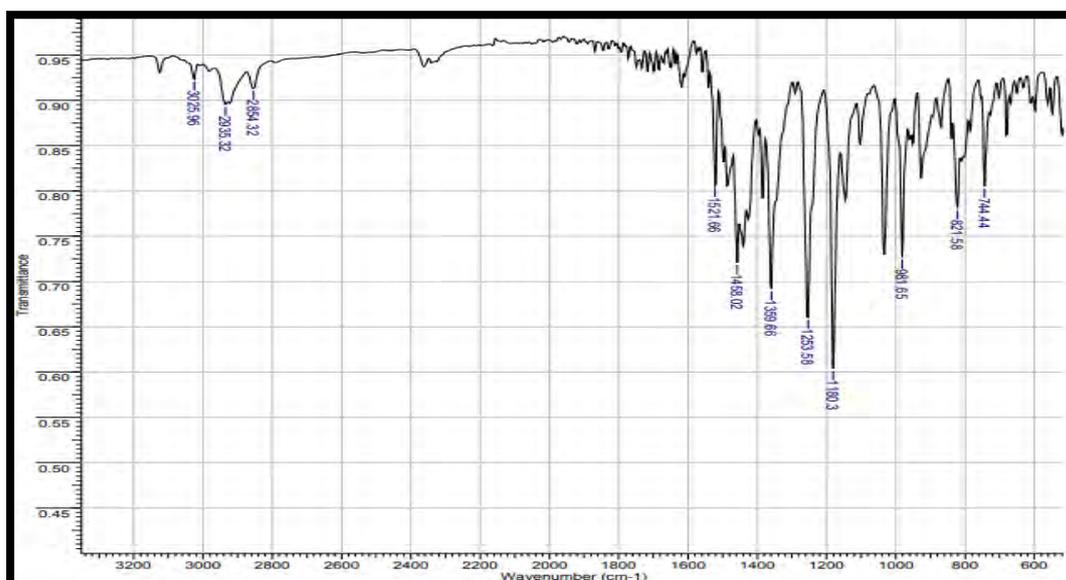
$\nu$ C-O-C = 1253  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial de éter);

$\delta$ C-S = 1180  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-S);

$\delta$ C-H = 987 (deformação angular assimétrica de C-H para H isolado no anel aromático);

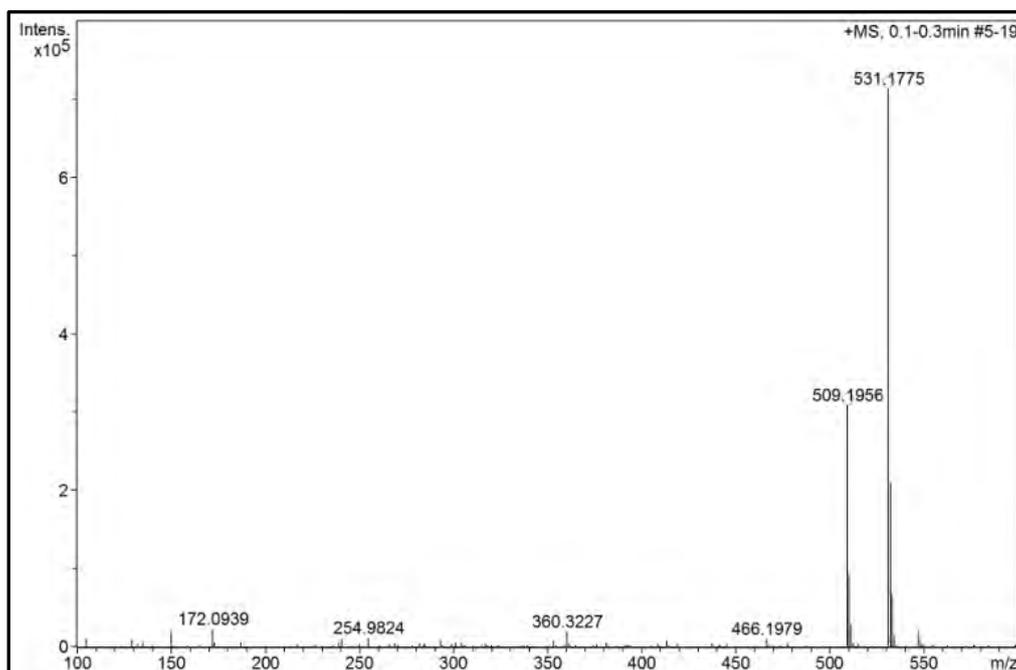
$\delta$ C-H = 810 (deformação angular assimétrica de C-H para 2H vizinhos no anel aromático);

$\delta$ C-H = 744  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

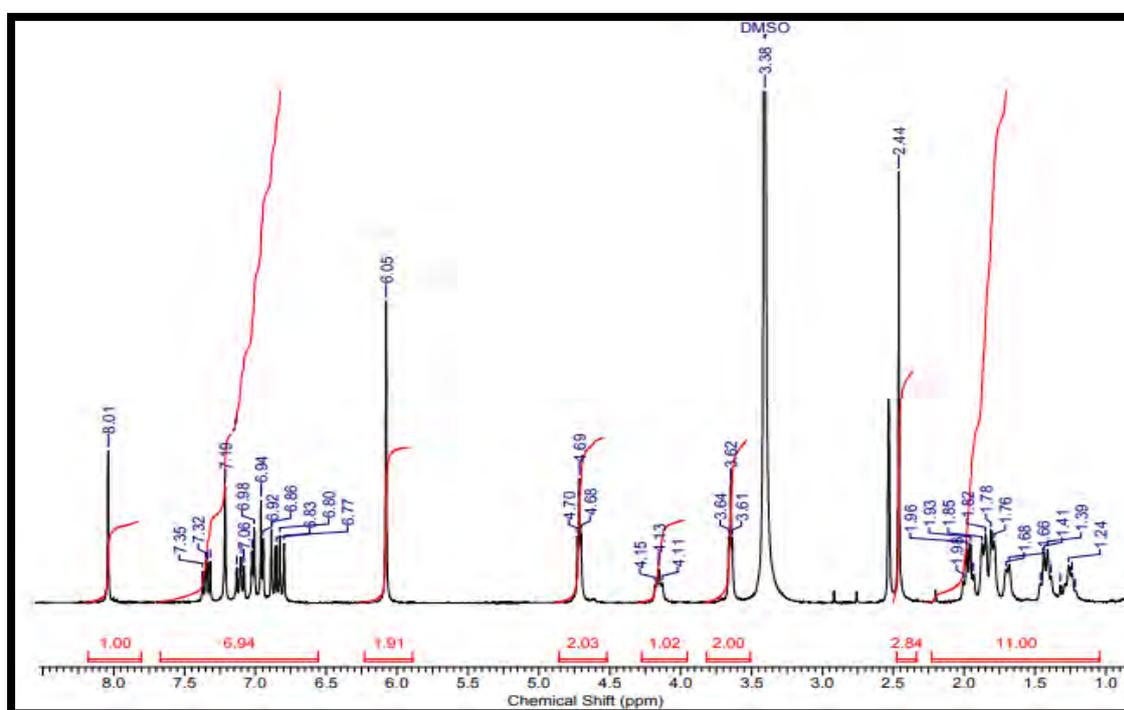


**Espectro 17.** Espectro de IV do híbrido 1.

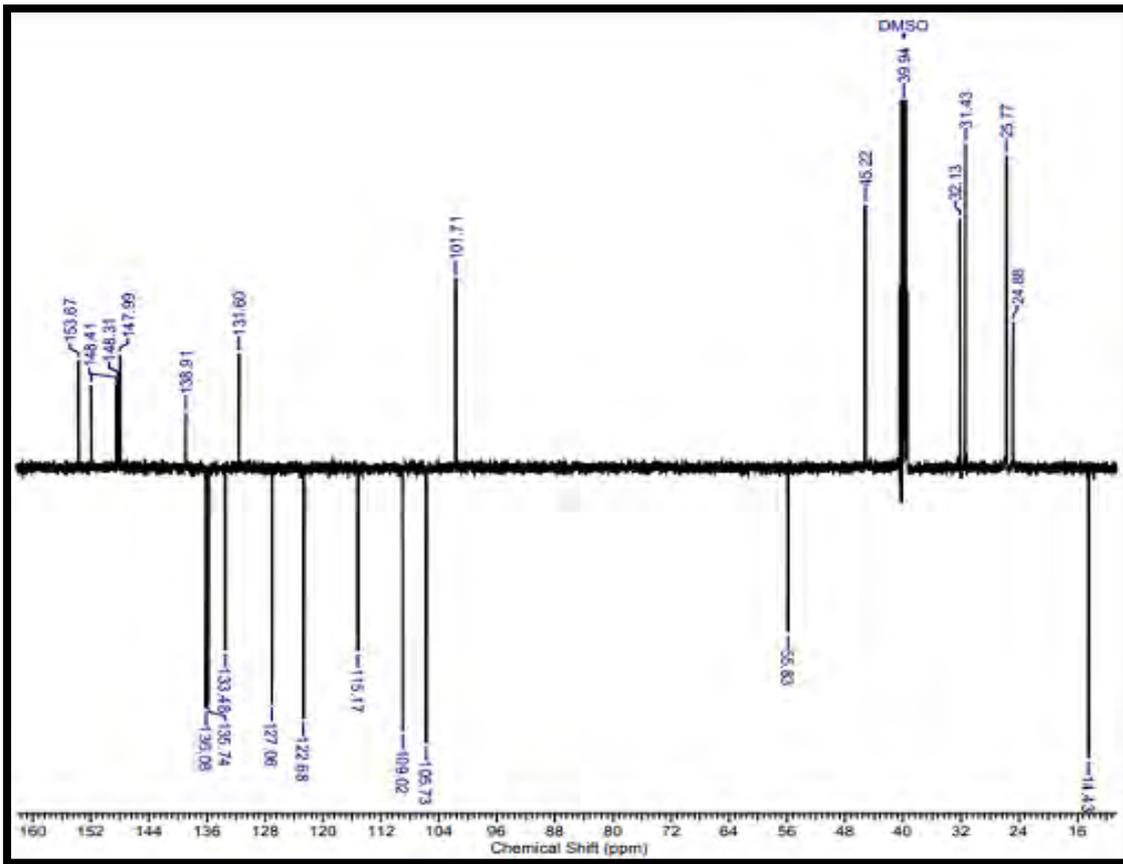
**M (ESI):** 509,1956[M+H]; 531,1775 [M+Na].



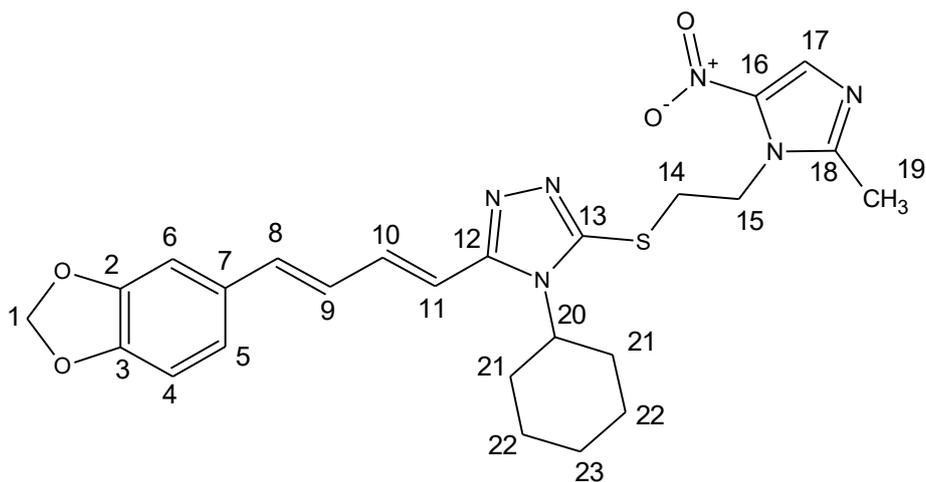
**Espectro18.** Espectro de massas (HRMS) do híbrido 1.



**Espectro 19.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-*D*<sub>6</sub>) do híbrido 1.



**Espectro 20.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-*D*<sub>6</sub>) do híbrido 1.

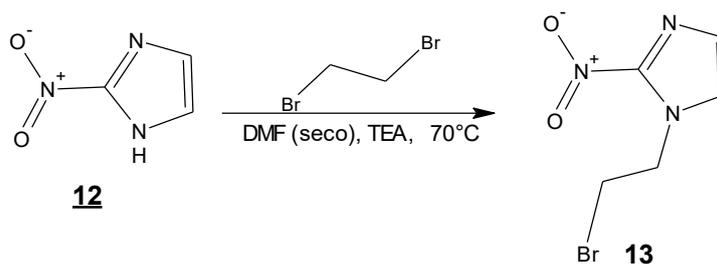


Híbrido 1.

**Tabela 7.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o híbrido 1.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>6,05 (S, 2H)</b>	<b>101,71 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	-	<b>148 (C)</b>
3	-	<b>147,9 (C)</b>
4	<b>6,9 (m; 1H)</b>	<b>109,02 (CH)</b>
5	<b>6,9 (m; 1H)</b>	<b>122,68 (CH)</b>
6	<b>6,8 (m; 1H)</b>	<b>105,73 (CH)</b>
7	-	<b>131,6 (C)</b>
8	<b>7,1 (m; 15,4; 11; 1 H)</b>	<b>127,06 (CH)</b>
9	<b>7 (d; 7,9; 1H)</b>	<b>133,48 (CH)</b>
10	<b>7,3 (m, 1H)</b>	<b>136,08 (CH)</b>
11	<b>6,8 (m; 15,1; 1H)</b>	<b>115,17 (CH)</b>
12	-	<b>148,31 (C)</b>
13	-	<b>148,41 (C)</b>
14	<b>3,62 (t; 6,3; 2H)</b>	<b>45,22 (CH<sub>2</sub>)</b>
15	<b>4,69 (t; 6,3; 2H)</b>	<b>32,13 (CH<sub>2</sub>)</b>
16	-	<b>153,67 (C)</b>
17	<b>8,01 (s, 1H)</b>	<b>133,48 (CH)</b>
18	-	<b>138 (C)</b>
19	<b>2,44 (s, 3H)</b>	<b>14,43 (CH<sub>3</sub>)</b>
20	<b>4,11 (t; 12,1; 1H)</b>	<b>55,83 (CH)</b>
21	<b>1,3-1,9 (m; 2H)</b>	<b>31,43 (CH<sub>2</sub>)</b>
22	<b>1,3-1,9 (m; 2H)</b>	<b>25,77 (CH<sub>2</sub>)</b>
23	<b>1,3-1,9 (m; 2H)</b>	<b>24,88 (CH<sub>2</sub>)</b>

### 6.1.9. Preparação do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1H-imidazol (13)



Em um balão de 25 mL, equipado com barra de agitação magnética e mantido sob atmosfera de nitrogênio, foi feita uma solução de 200 mg de 2-nitro-1H-imidazol (1,77 mmol) e 1 mL de trietilamina (0,70 g, 7 mmol) em 6 mL de *N,N*-dimetilformamida (seca sobre peneira molecular de 4Å, ativada por 24 h em estufa mantida a 150°C). Em seguida, foi adicionado 1,22 mL de 1,2-dibromoetano (14,16 mmol). A reação foi mantida sob agitação constante e em banho de óleo (a 70°C). A reação foi acompanhada por CCD. Após 4 horas de reação verificou-se que o produto já se encontrava em maior proporção frente aos reagentes de partida, então se procederam às etapas de purificação. Inicialmente o meio reacional foi extraído com acetato de etila, em funil de decantação; a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl e por fim seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e teve seu conteúdo evaporado em evaporador rotatório. Em seguida, através de uma filtração em sílica *flash*, utilizando diclorometano puro como fase móvel obteve-se 200mg de produto puro (52 %), o qual foi devidamente caracterizado através dos métodos convencionais de análise.

PF: 68 – 70 °C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{C-H}} = 3120 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

$\nu_{\text{C-H}} = 2927 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);

$\nu_{\text{C-H}} = 2852 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>);

$\nu_{\text{N-O}} = 1529 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta_{\text{C-H}} = 1477 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);

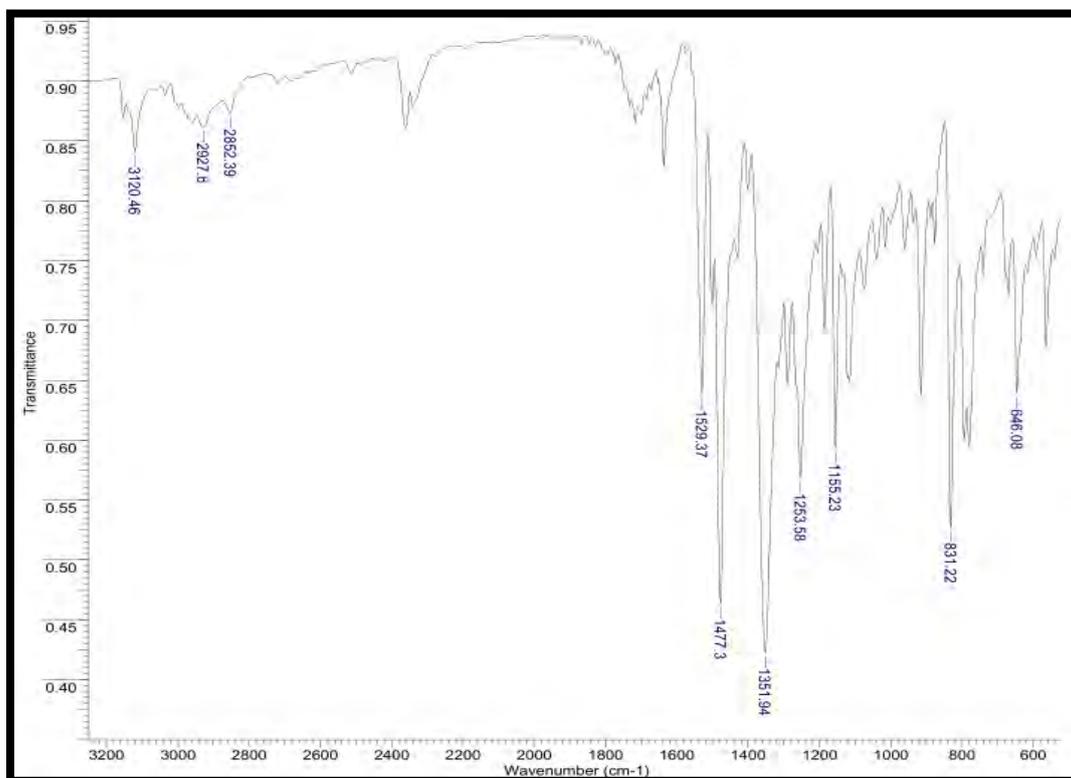
$\nu_{\text{N-O}} = 1351 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

$\nu_{\text{C-N}} = 1253 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);

$\delta_{\text{C-H}} = 1155 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-H de CH<sub>2</sub>-Br);

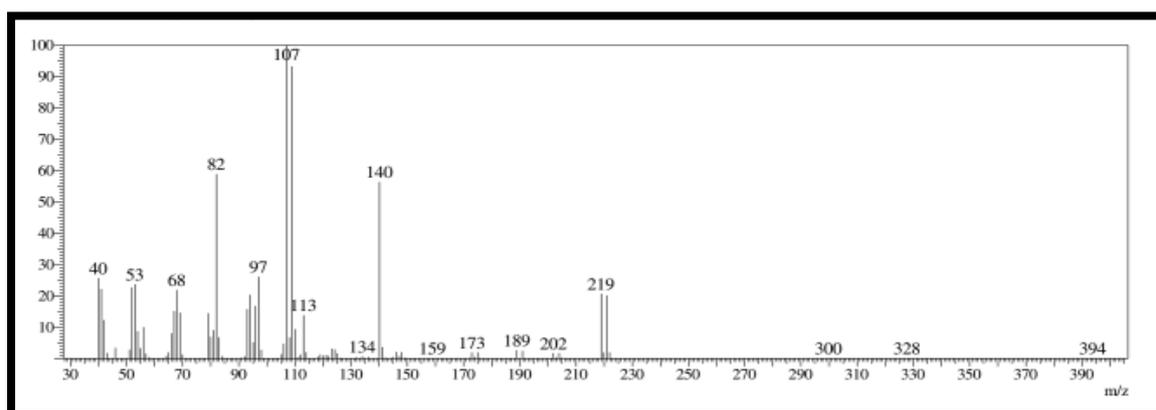
$\delta\text{C-H} = 800 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);

$\nu\text{C-Br} = 646 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-Br).

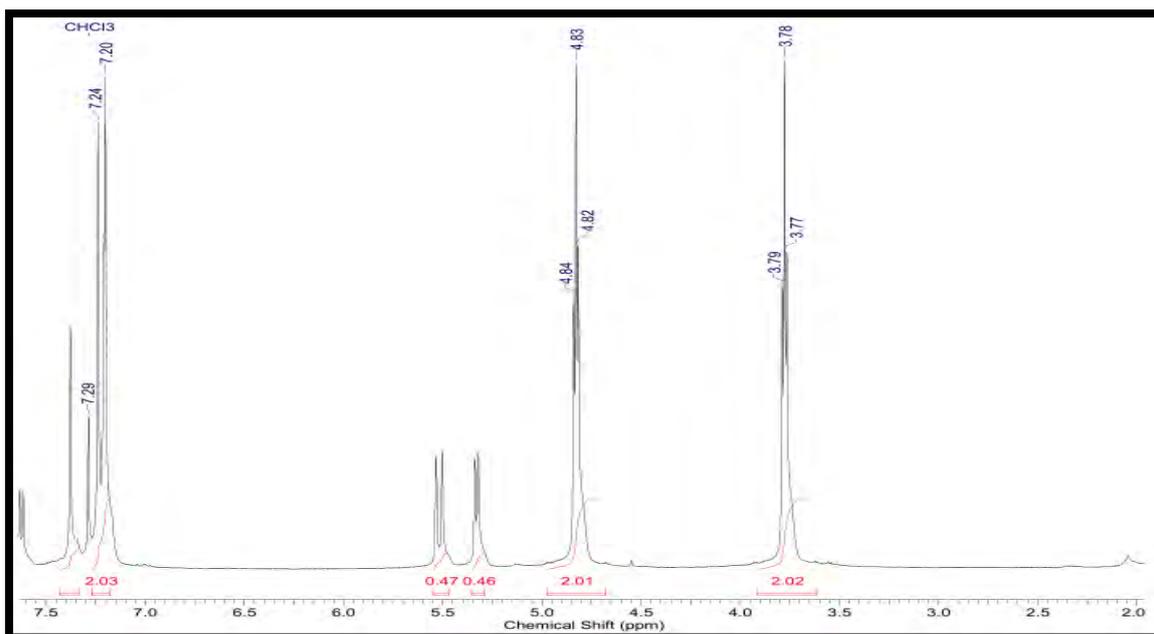


**Espectro 21.** Espectro de IV do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**).

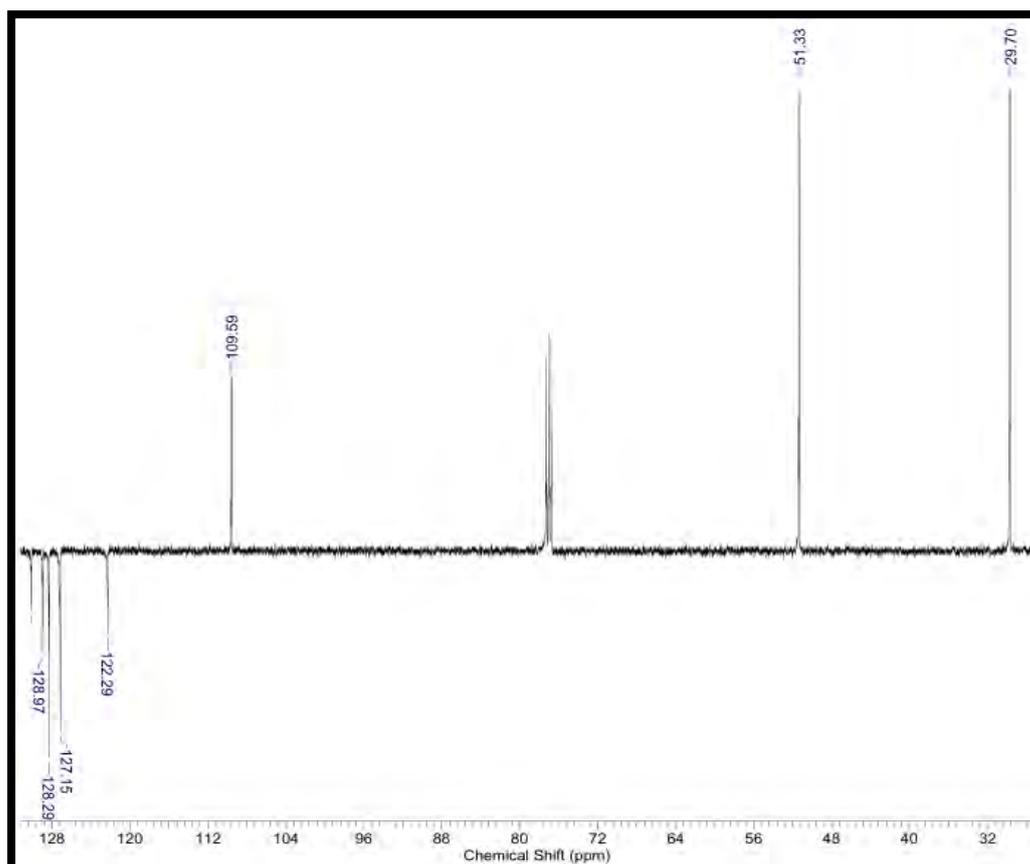
EM (IE, 70 eV): 219/221 ( $\text{M}^+$ , 20%); 140 (55%); 107/109 (100%) e 82 (60%).



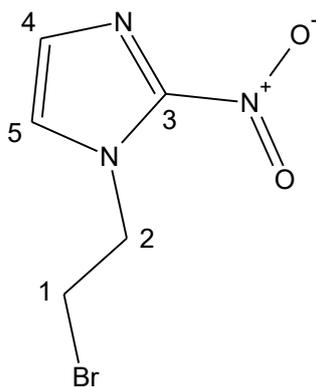
**Espectro 22.** Espectro de massas do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**).



**Espectro 23** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**).



**Espectro 24.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**).



1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**).

**Tabela 8.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 1-(2-bromoetil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**13**).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>3,78 (t, 2H); 7</b>	<b>29,70 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	<b>4,83 (t, 2H); 7</b>	<b>51,33 (CH<sub>2</sub>)</b>
3	-	-
4	<b>7,24 (s, 1H)</b>	<b>128,97 (CH)</b>
5	<b>7,20 (s, 1H)</b>	<b>127,15 (CH)</b>



$\nu_{\text{N-O}} = 1531 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta_{\text{C-H}} = 1444 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1361 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

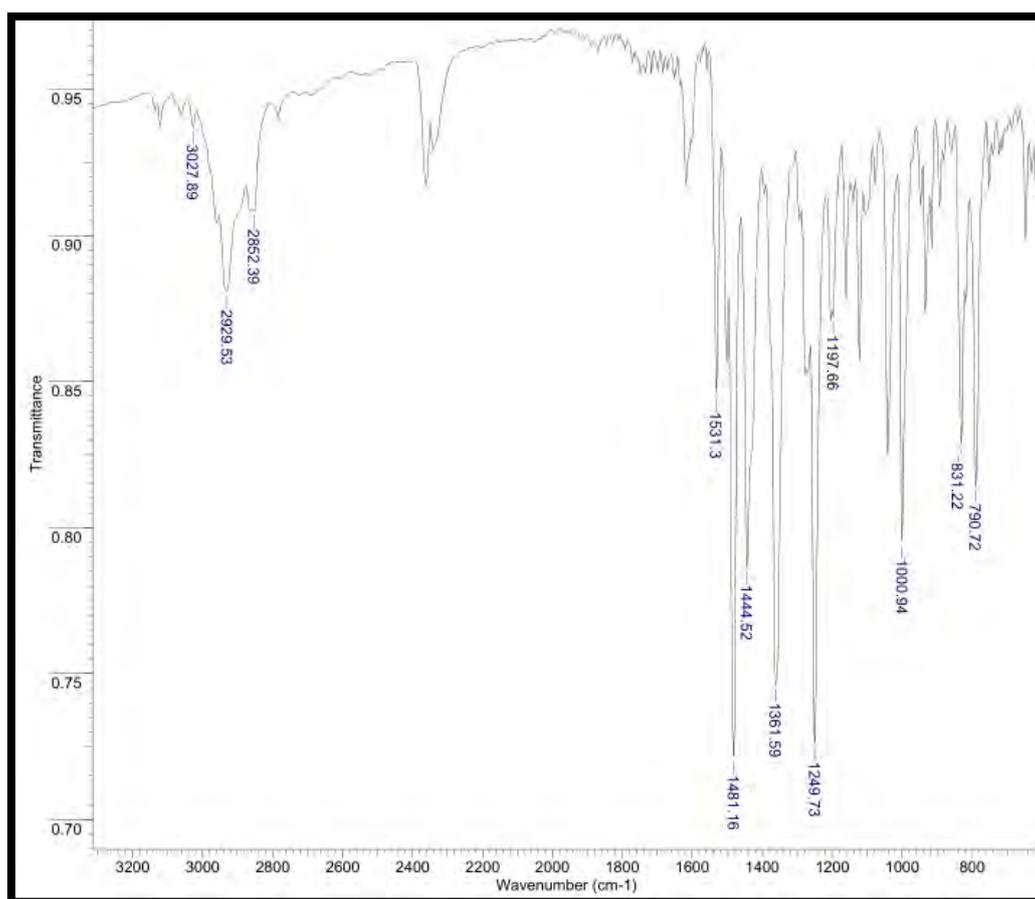
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1249 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial de éter);

$\delta_{\text{C-S}} = 1197 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-S);

$\delta_{\text{C-H}} = 1000 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para H isolado no anel aromático);

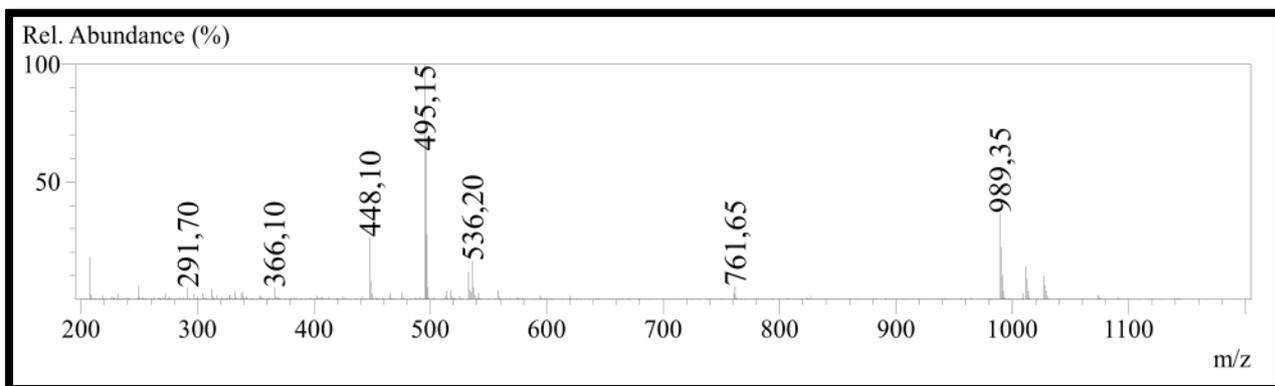
$\delta_{\text{C-H}} = 831 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para 2H vizinhos no anel aromático);

$\delta_{\text{C-H}} = 790 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

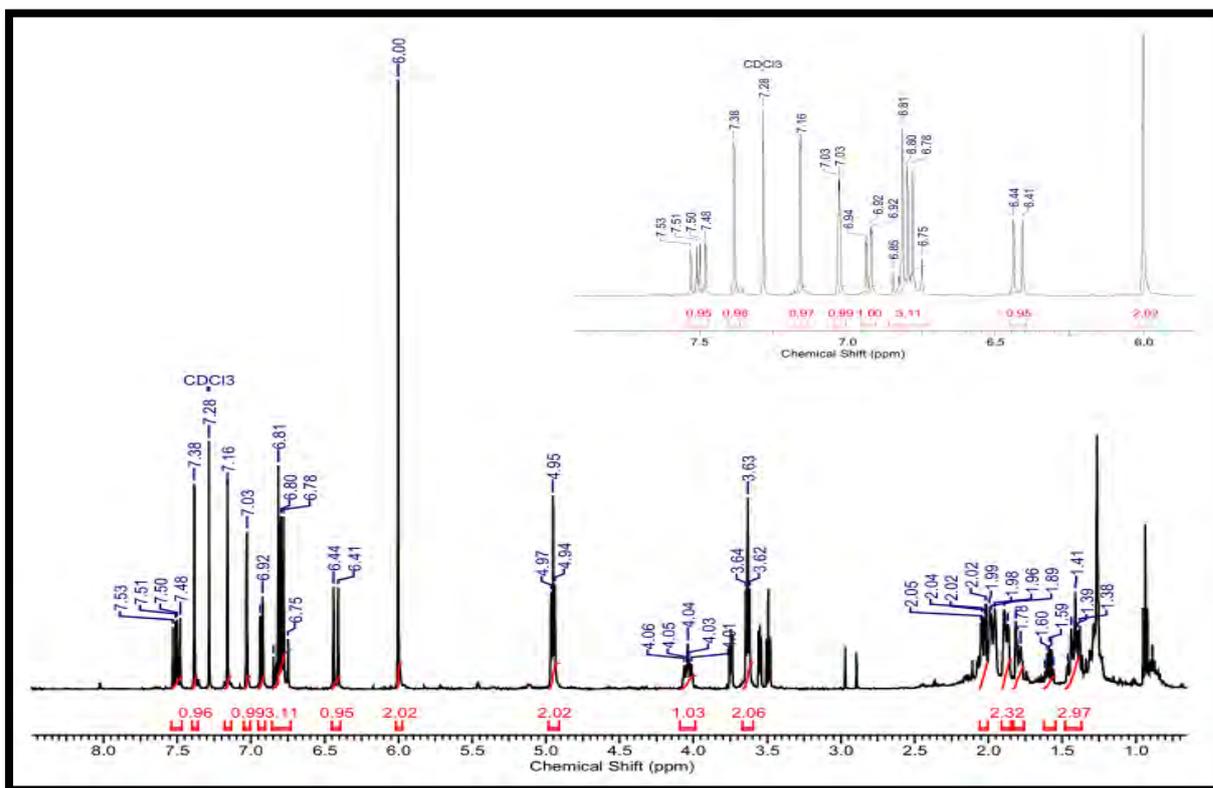


**Espectro 25.** Espectro de IV do Híbrido 2.

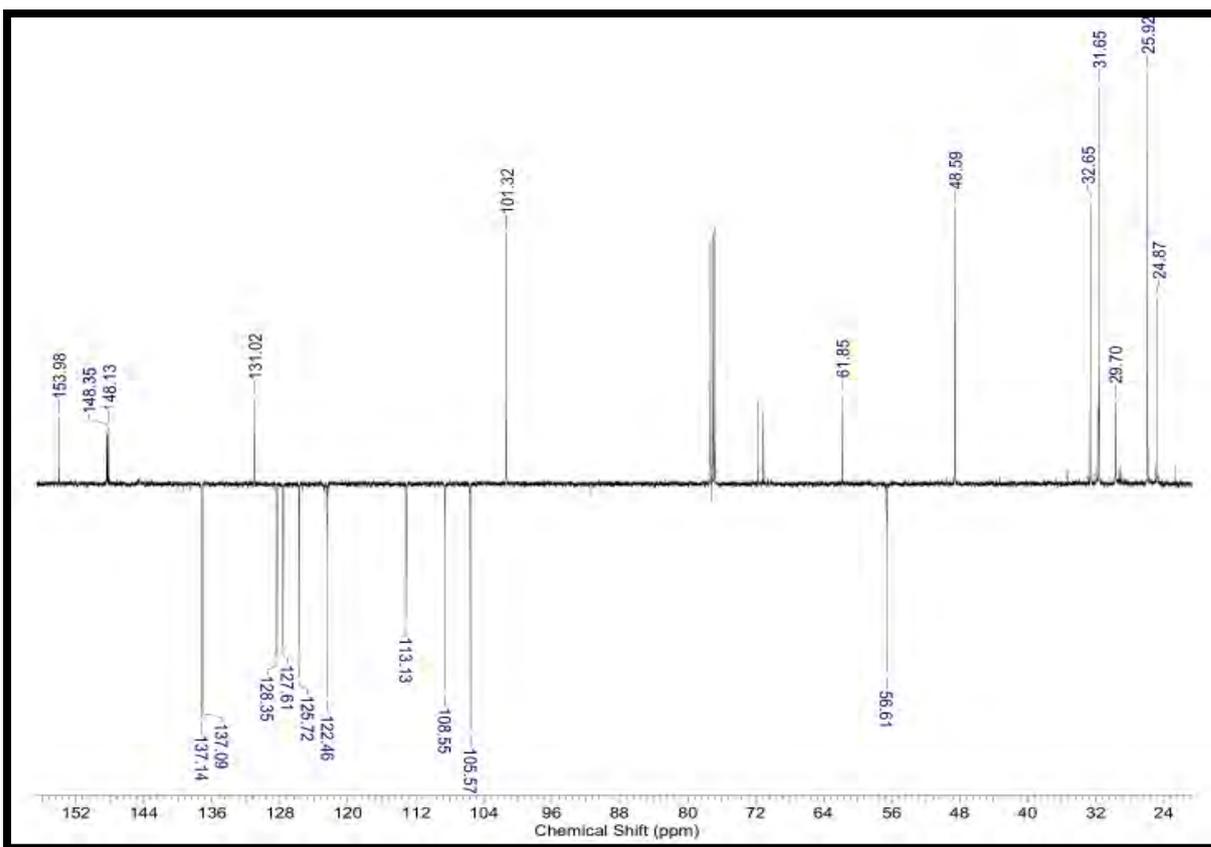
**M (ESI):** 495,15 [M<sup>+</sup>] (100%); 989,35 [(M+M)<sup>+</sup>] (40%).



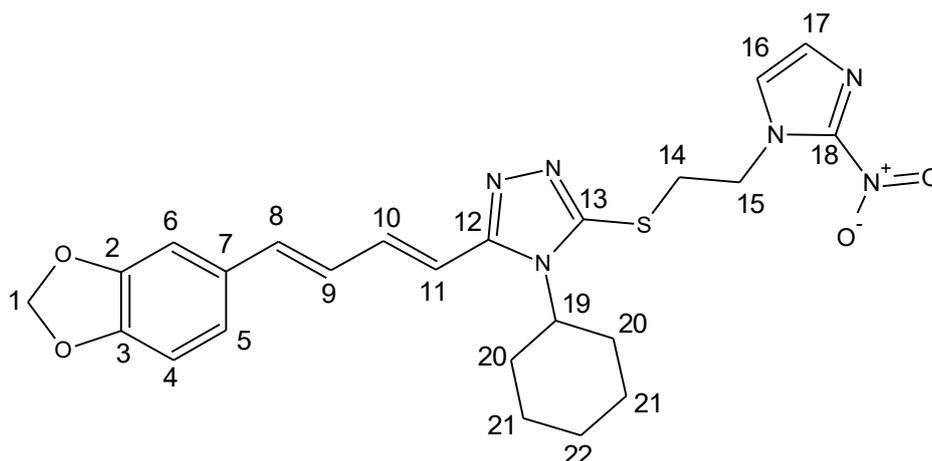
**Espectro 26.** Espectro de massas do Híbrido 2.



**Espectro 27.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 2.



**Espectro 28.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 2.

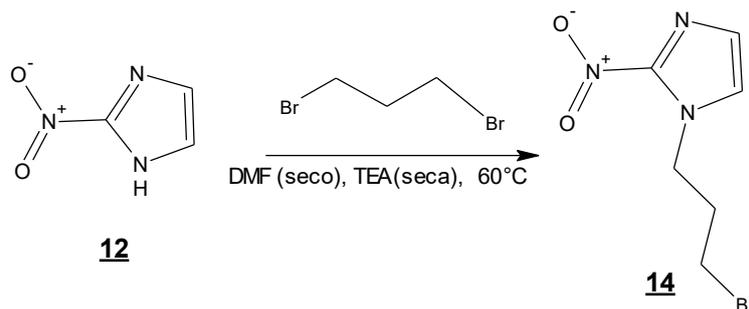


Híbrido 2.

**Tabela 9.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o híbrido 2.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>6,00 (s, 2H)</b>	<b>101,32 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	-	<b>148,25 (C)</b>
3	-	<b>148,13 (C)</b>
4	<b>6,425 (d, 1H)</b>	<b>108,55 (CH)</b>
5	<b>6,75 (t, 1H)</b>	<b>122,46 (CH)</b>
6	<b>6,80 (m, 1H)</b>	<b>105,57 (CH)</b>
7	-	<b>131,02 (C)</b>
8	<b>7,03 (d; 15,4; 11; 1H)</b>	<b>127,61 (CH)</b>
9	<b>6,92 (m; 7,9; 1H)</b>	<b>137,09 (CH)</b>
10	<b>7,16 (m, 1H)</b>	<b>137,14 (CH)</b>
11	<b>6,85 (m, 1H)</b>	<b>113,13 (CH)</b>
12	-	<b>148,35 (C)</b>
13	-	<b>148,50 (C)</b>
14	<b>3,63 (t; 6,3; 2H)</b>	<b>48,59 (CH<sub>2</sub>)</b>
15	<b>4,95 (t; 6,3; 2H)</b>	<b>61,85 (CH<sub>2</sub>)</b>
16	<b>7,51 (m, 1H)</b>	<b>128,35 (CH)</b>
17	<b>7,38 (d, 1H)</b>	<b>125,52 (CH)</b>
18	-	<b>153,98 (C)</b>
19	<b>4,04 (m, 1H)</b>	<b>56,51 (CH)</b>
20	<b>1,89-2,05 (m, 2 H)</b>	<b>31,65 (CH<sub>2</sub>)</b>
21	<b>1,39 (m, 2H)</b>	<b>25,92 (CH<sub>2</sub>)</b>
22	<b>1,6 (m, 2H)</b>	<b>24,87 (CH<sub>2</sub>)</b>

### 6.1.11. Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**14**)



A reação de preparação do alquilante (**14**) foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do alquilante (**13**) (experimental 6.1.9., página 79). Reagentes: 6 mL de *N,N*-dimetilformamida (solvente); 200 mg de 2-nitro-1*H*-imidazol (1,77 mmol); 1 mL de trietilamina (0,70g, 7 mmol); 720  $\mu$ L de 1,3-dibromopropano (7 mmol); 6h de reação a 60 °C. Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.11), foram obtidos 230 mg (55%) do alquilante desejado (**14**), na forma de um sólido amorfo de coloração amarelada.

PF: 65-68 °C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu$ C-H = 3112  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

$\nu$ C-H = 2921  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);

$\nu$ C-H = 2852  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>);

$\nu$ N-O = 1535  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta$ C-H = 1444  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);

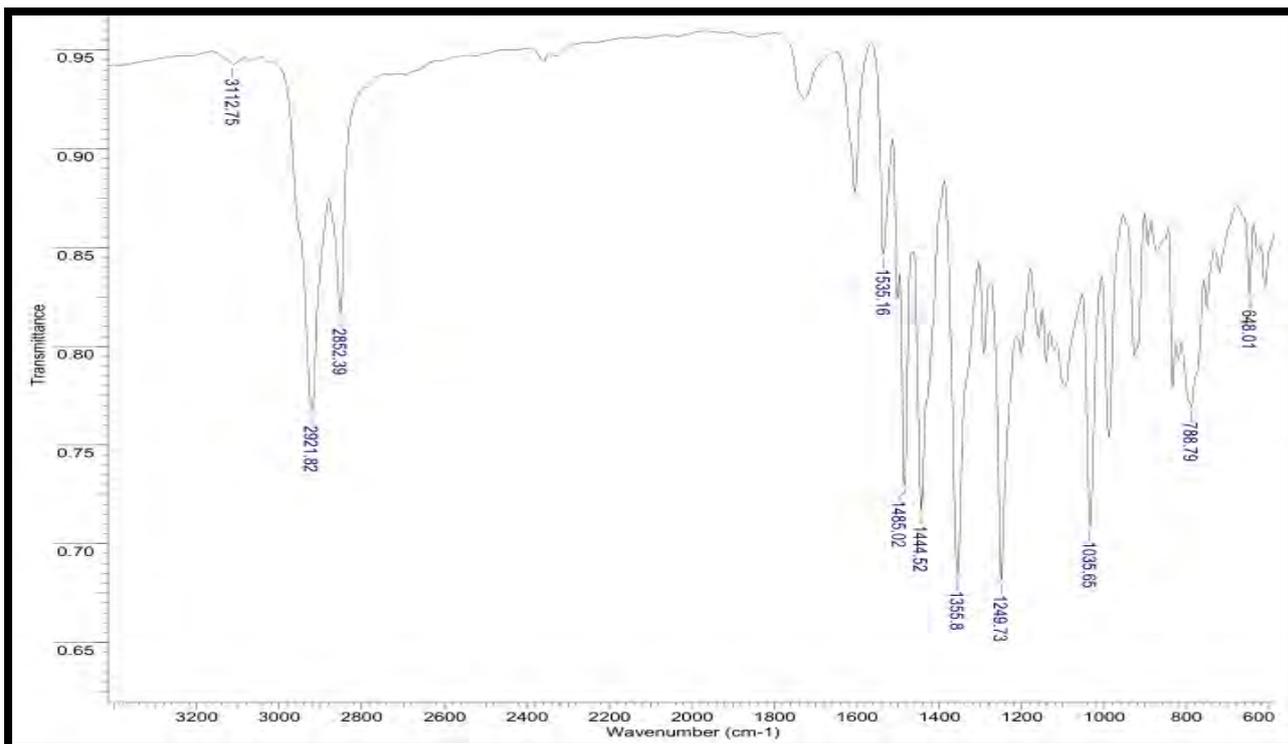
$\nu$ N-O = 1355  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

$\nu$ C-N = 1249  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);

$\delta$ C-H = 1035  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-H de CH<sub>2</sub>-Br);

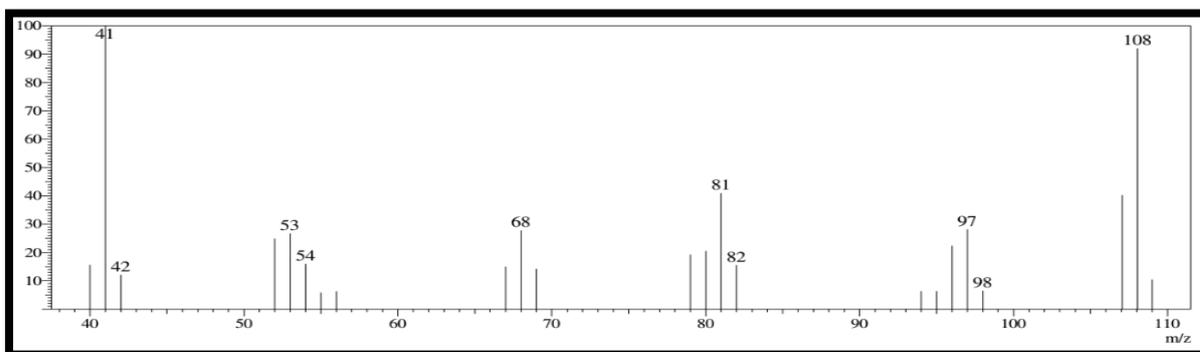
$\delta$ C-H = 788  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);

$\nu$ C-Br = 648  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-Br).

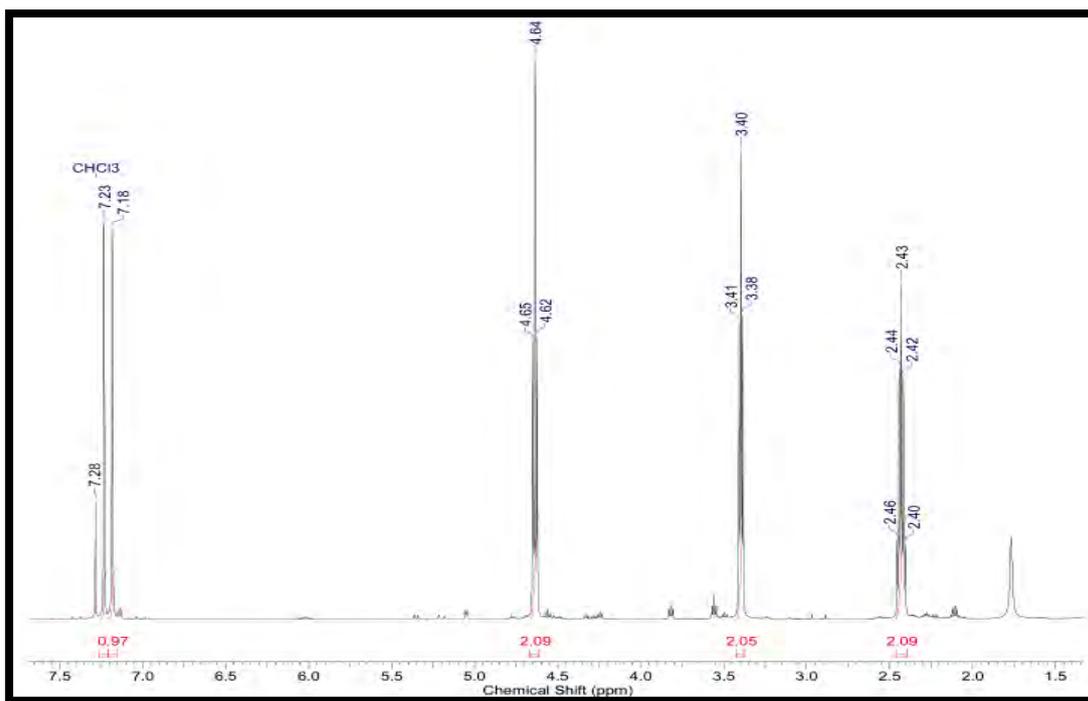


**Espectro 29.** Espectro de IV do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (14).

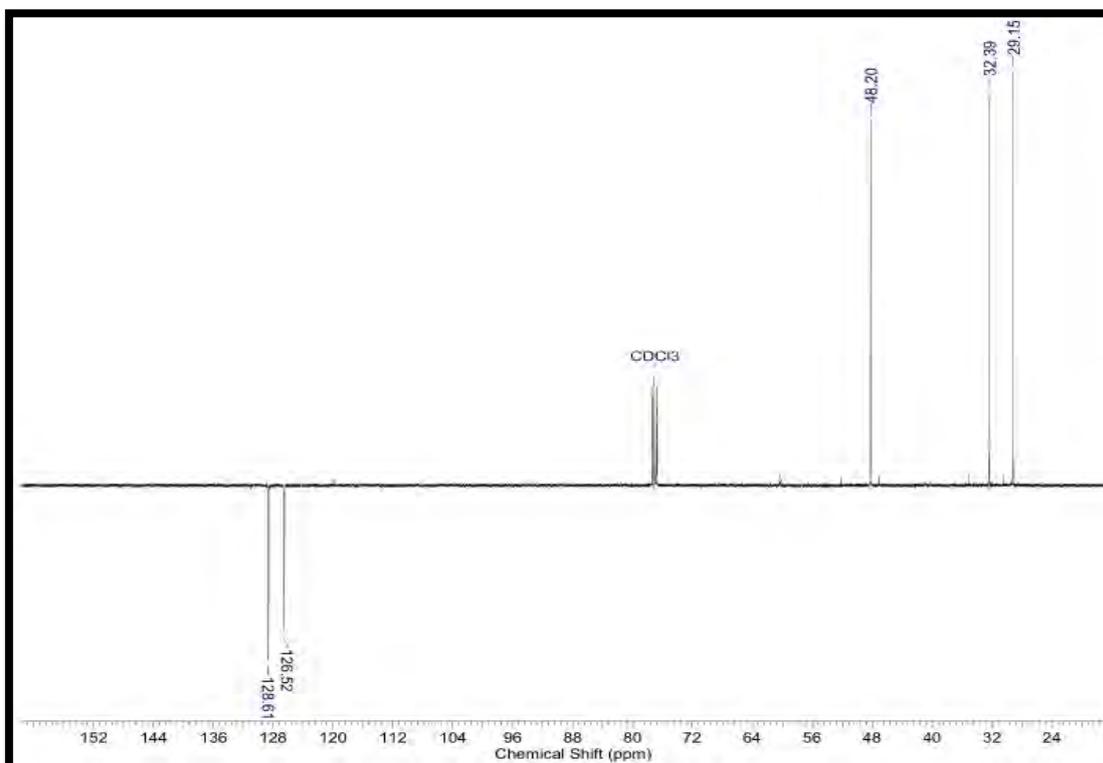
**EM (IE, 70 eV):** 235/233 ( $M^+$ , 0%); 41(100%); 108 (90%); 81 (40%).



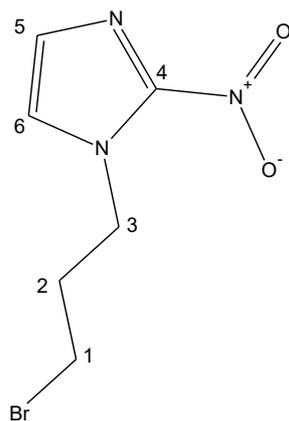
**Espectro 30.** Espectro de massas do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (14).



**Espectro 31.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**14**).



**Espectro 32.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**14**).

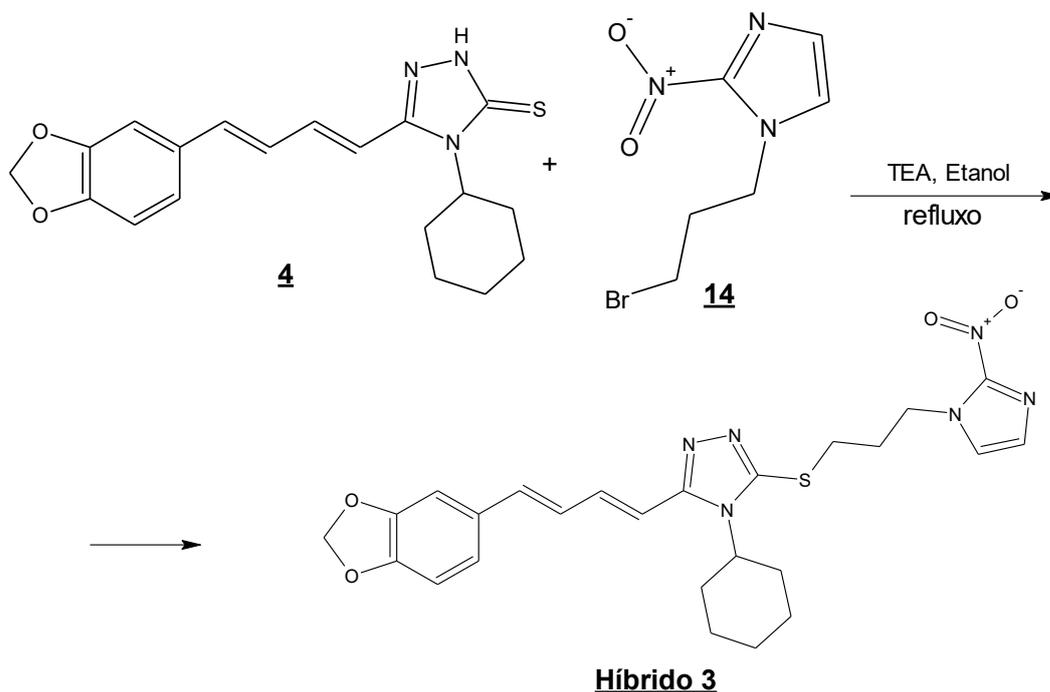


1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**14**)

**Tabela 10.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**14**).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>3,40 (t, 2H); 7</b>	<b>32,99 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	<b>2,43 (q, 2H); 7</b>	<b>29,15 (CH<sub>2</sub>)</b>
3	<b>4,64 (t, 2H); 7</b>	<b>48,20 (CH<sub>2</sub>)</b>
4	-	-
5	<b>7,28 (s, 1H)</b>	<b>128,61 (CH)</b>
6	<b>7,18 (s, 1H)</b>	<b>126,52 (CH)</b>

### 6.1.12. Preparação do 3-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-5-{{3-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-il)propil}tio}-4*H*-1,2,4-triazol (Híbrido 3)



A reação de preparação do híbrido 3 foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do híbrido 2 (experimental 6.1.10., página 83). Reagentes: 5 mL de etanol (solvente); 93 mg do ciclo-hexil triazol (0,26 mmol); 360  $\mu$ L de trietilamina (0,25 g, 2,51 mmol); 60 mg do alquilante 1-(3-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (14) (0,25 mmol). Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.10), foram obtidos 70mg (50%) do produto desejado, na forma de um sólido de coloração alaranjada.

PF: 150 – 153 °C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{C-H}} = 3054 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H de aromático);

$\nu_{\text{C-H}} = 2933 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_3$ );

$\nu_{\text{C-H}} = 2858 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1537 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta_{\text{C-H}} = 1444 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1359 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

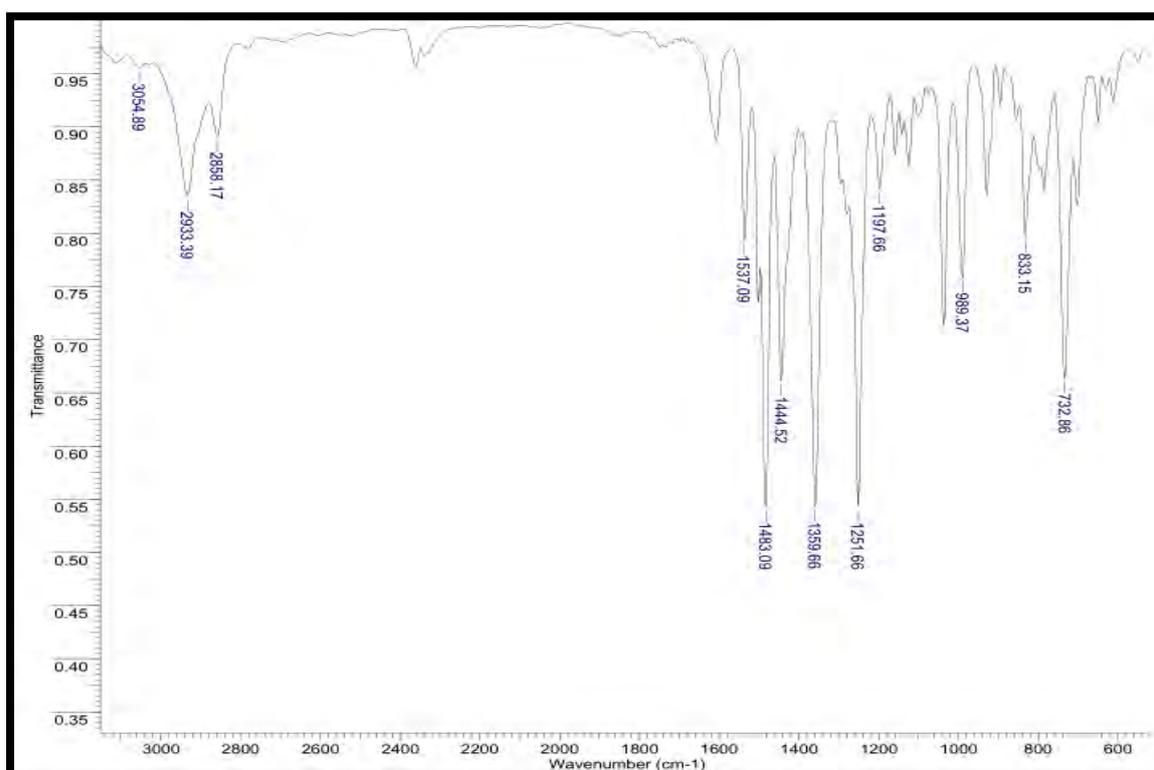
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1251 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial de éter);

$\delta_{\text{C-S}} = 1197 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-S);

$\delta_{\text{C-H}} = 989 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para H isolado no anel aromático);

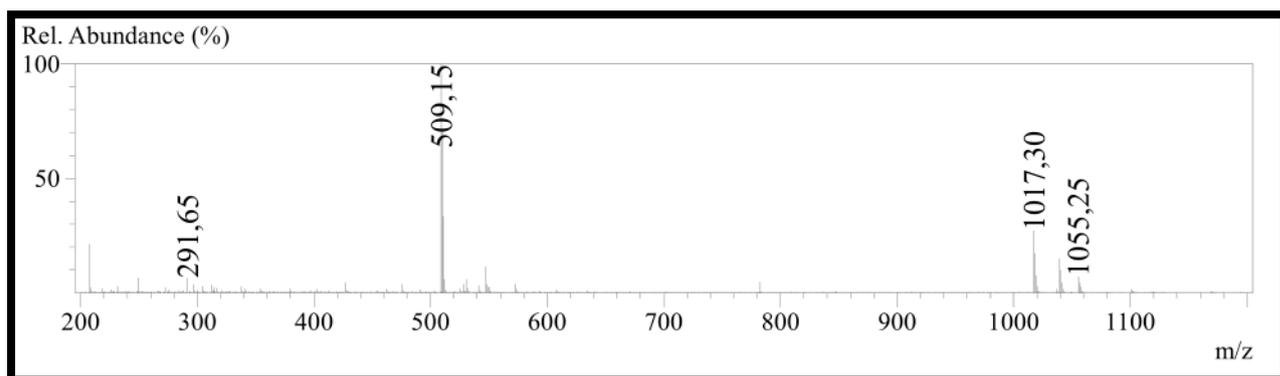
$\delta_{\text{C-H}} = 833 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para 2H vizinhos no anel aromático);

$\delta_{\text{C-H}} = 732 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

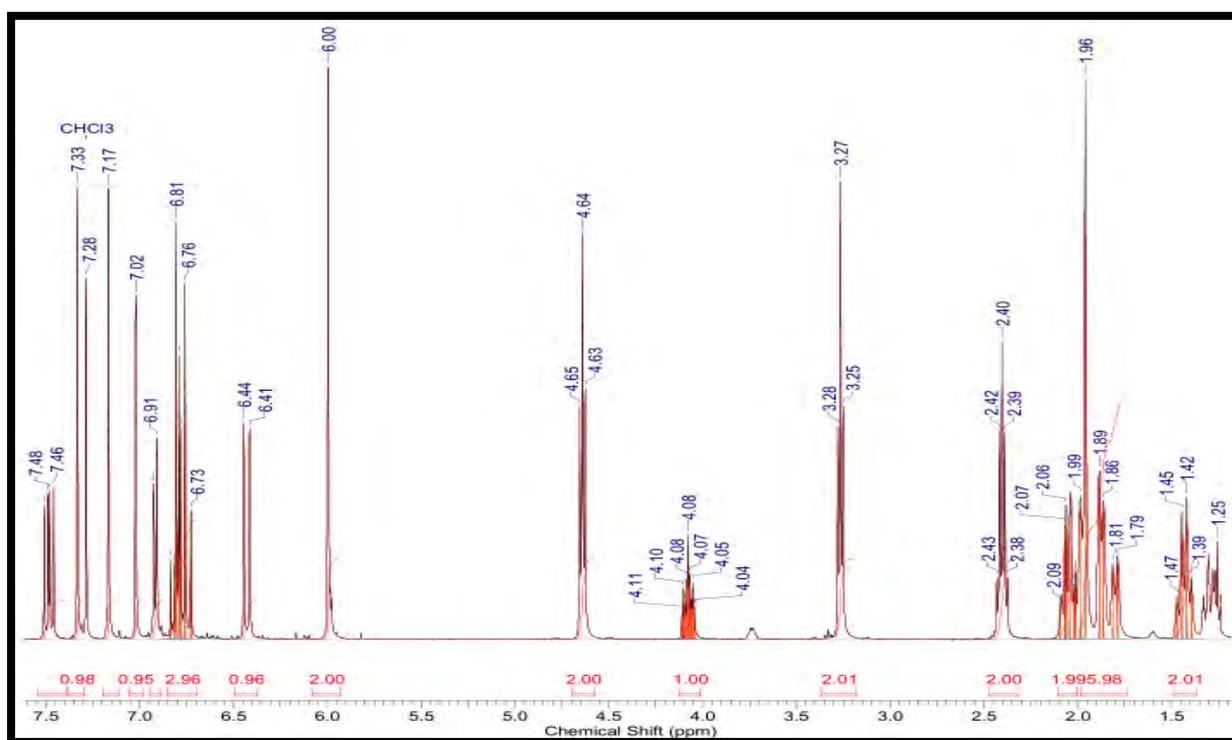


**Espectro 33.** Espectro de IV do híbrido 3.

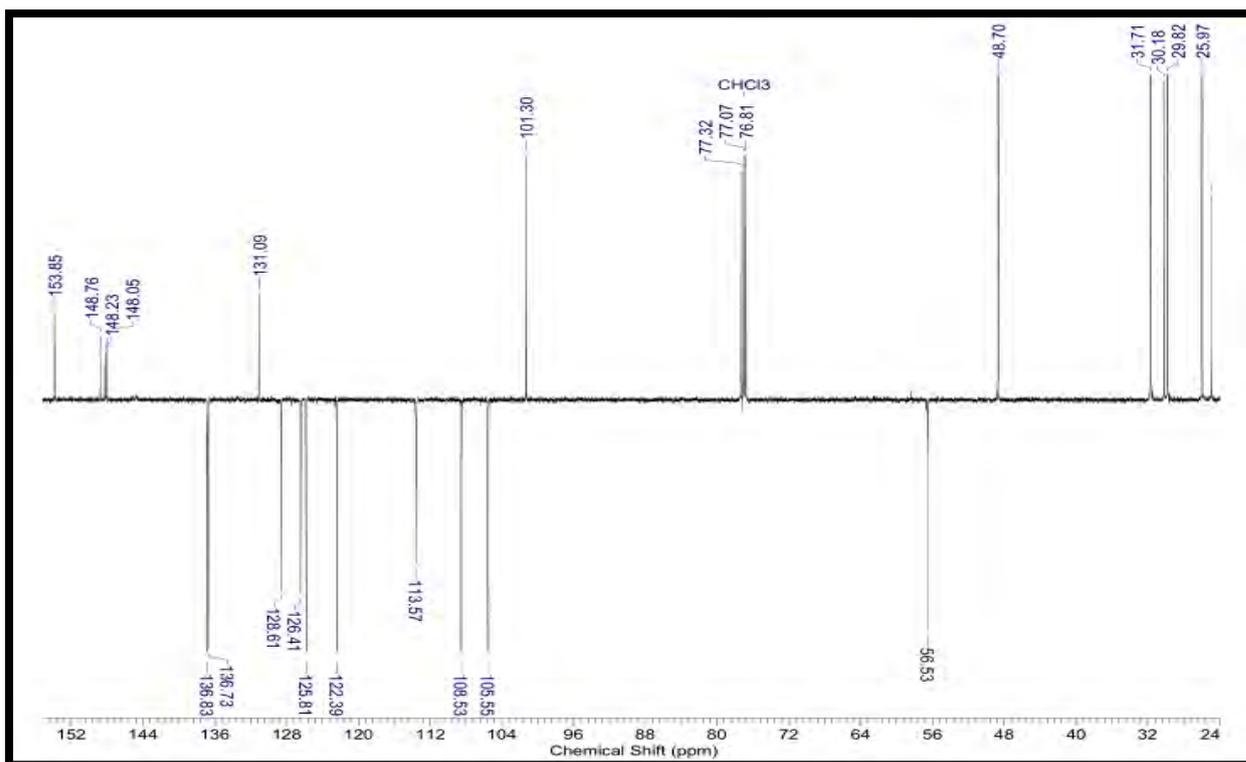
**M (ESI):** 509,15 [(M+H)<sup>+</sup>] (100%); 1017,30 [(M+M)<sup>+</sup>] (30%).



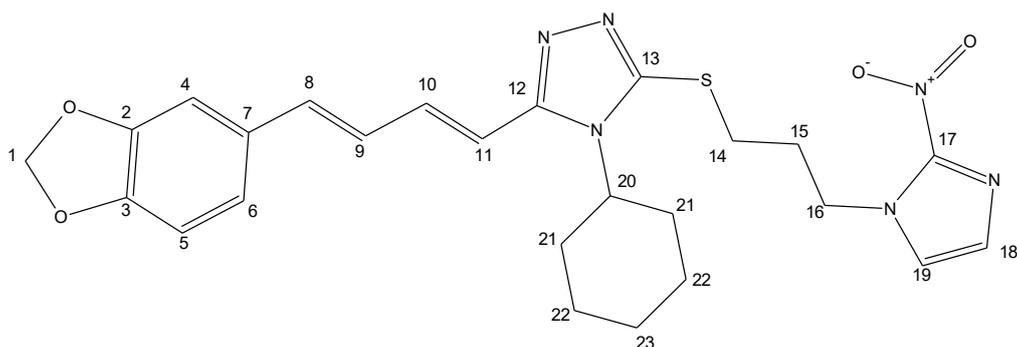
**Espectro 34.** Espectro de massas do híbrido 3.



**Espectro 35.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 3.



**Espectro 36.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do Híbrido 3.

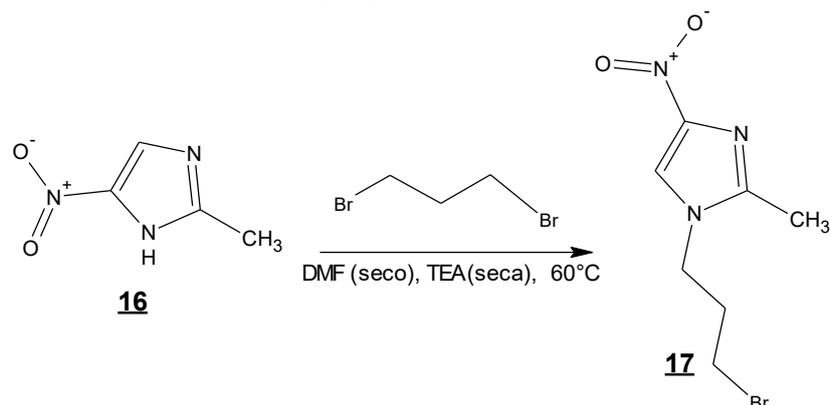


Híbrido 3

**Tabela 11.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o Híbrido 3.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>6,00 (s, 2H)</b>	<b>101,30 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	-	<b>148,76 (C)</b>
3	-	<b>148,23 (C)</b>
4	<b>7,02 (s, 1H)</b>	<b>105,55 (CH)</b>
5	<b>6,76 (d, 1H)</b>	<b>108,53(CH)</b>
6	<b>6,91 (d, 1H)</b>	<b>113,57 (CH)</b>
7	-	<b>131,09 (C)</b>
8	<b>6,73 (m, 1H)</b>	<b>136,83 (CH)</b>
9	<b>6,44 (m, 1H)</b>	<b>125,81 (CH)</b>
10	<b>7,17 (m, 1H)</b>	<b>136,73 (CH)</b>
11	<b>6,81 (m, 1H)</b>	<b>122,39 (CH)</b>
12	-	<b>148,05 (C)</b>
13	-	<b>153,85 (C)</b>
14	<b>3,27 (t, 3H); 6,3</b>	<b>25,97 (CH<sub>2</sub>)</b>
15	<b>2,4 (q, 2H); 6,3</b>	<b>24,94 (CH<sub>2</sub>)</b>
16	<b>4,64 (t, 2H); 6,3</b>	<b>48,70 (CH<sub>2</sub>)</b>
17	-	-
18	<b>7,33 (d, 1H)</b>	<b>128,61 (CH)</b>
19	<b>7,48 (m, 1H)</b>	<b>126,41 (CH)</b>
20	<b>4,08 (m, 1H)</b>	<b>56,53 (CH)</b>
21	<b>1,79-1,89 (m, 2H)</b>	<b>31,71 (CH<sub>2</sub>)</b>
22	<b>1,45-1,86 (m, 2H)</b>	<b>29,82 (CH<sub>2</sub>)</b>
23	<b>1,42 (m, 2H)</b>	<b>30,18 (CH<sub>2</sub>)</b>

### 6.1.13. Preparação do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (17)



A reação de preparação do alquilante (**17**) foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do alquilante (**13**) (experimental 6.1.9, página 79). Reagentes: 3 mL de *N,N*-dimetilformamida (solvente); 200 mg de 2-metil-(4)5-nitro-1*H*-imidazol (1,58 mmol); 1 mL mL de trietilamina (0,70g, 7 mmol); 640  $\mu$ L de 1,3-dibromopropano (6,3 mmol); 3h de reação a 60 °C. Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.11), foram obtidos 180 mg (45%) do alquilante desejado (**17**) na forma de um sólido amorfo de coloração branca.

PF: 78 - 80 °C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{C-H}} = 3141 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

$\nu_{\text{C-H}} = 2925 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

$\nu_{\text{C-H}} = 2852 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1539 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

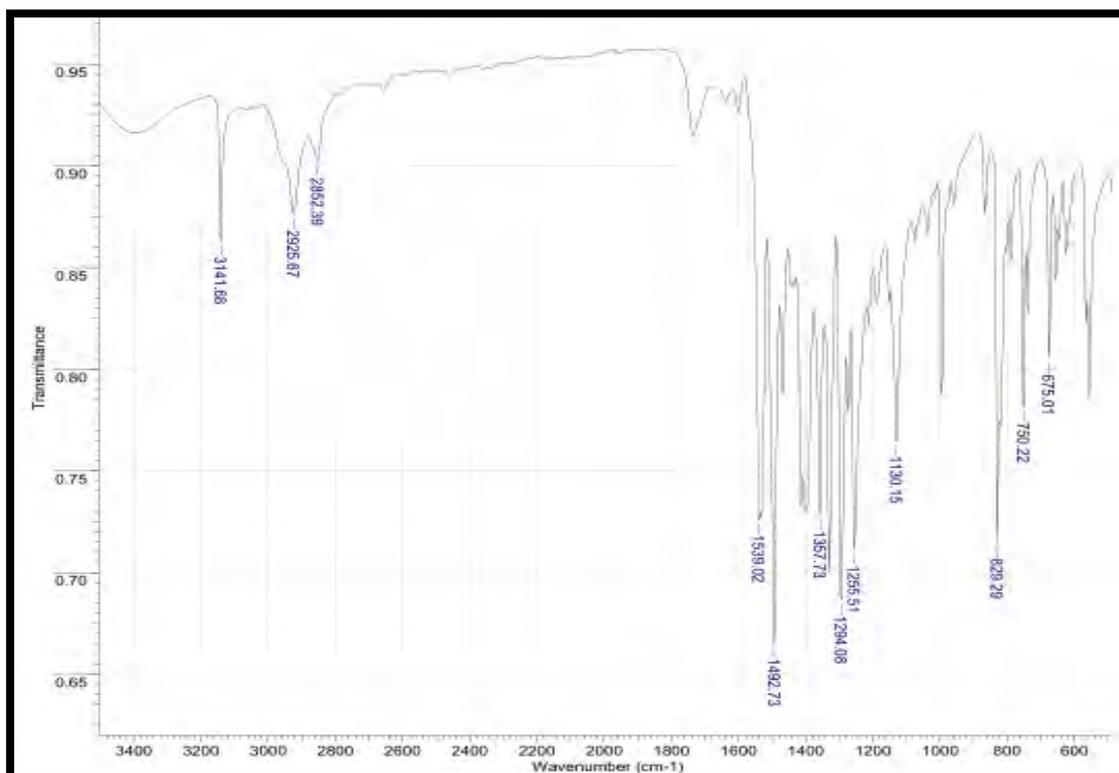
$\nu_{\text{N-O}} = 1357 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

$\nu_{\text{C-N}} = 1255 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);

$\delta_{\text{C-H}} = 1000 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-H de  $\text{CH}_2\text{-Br}$ );

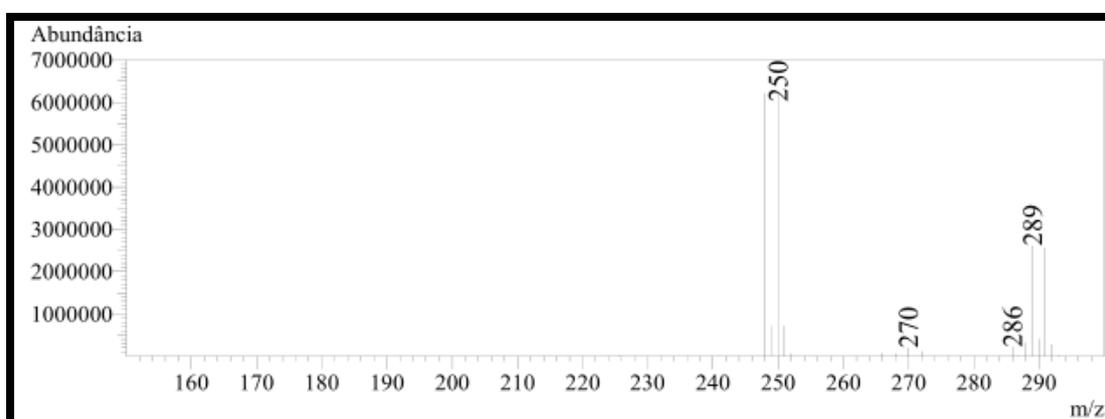
$\delta_{\text{C-H}} = 750 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);

$\nu_{\text{C-Br}} = 675 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-Br).

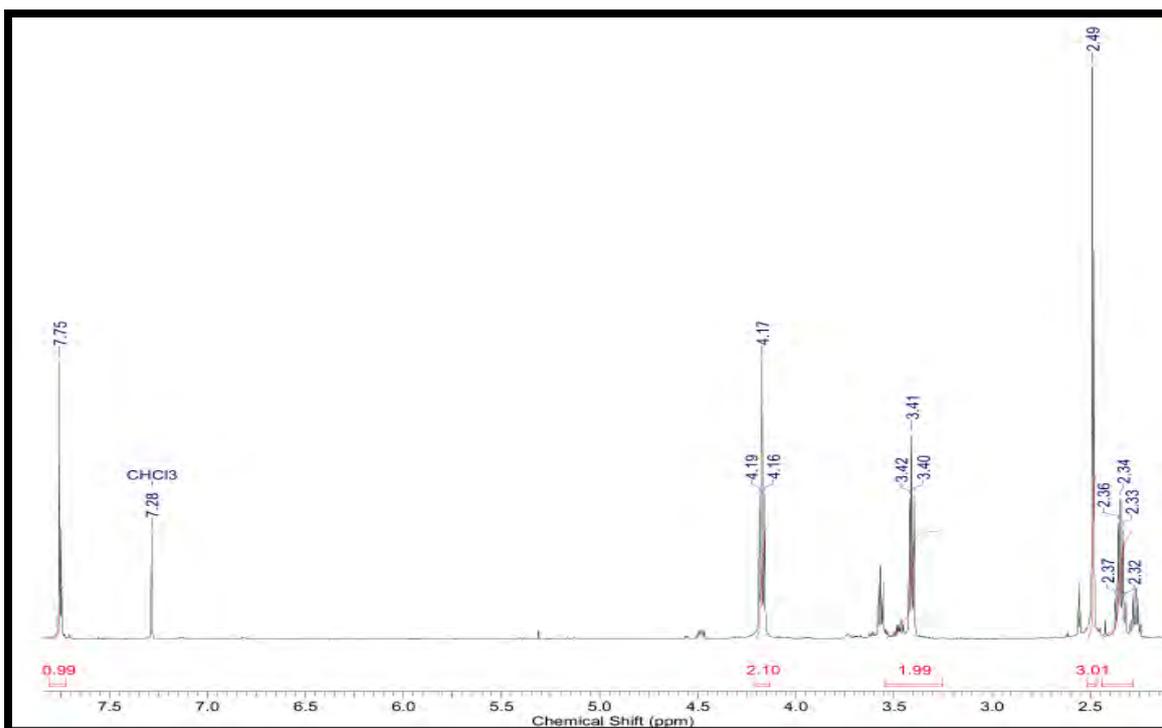


**Espectro 37.** Espectro de IV do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (17).

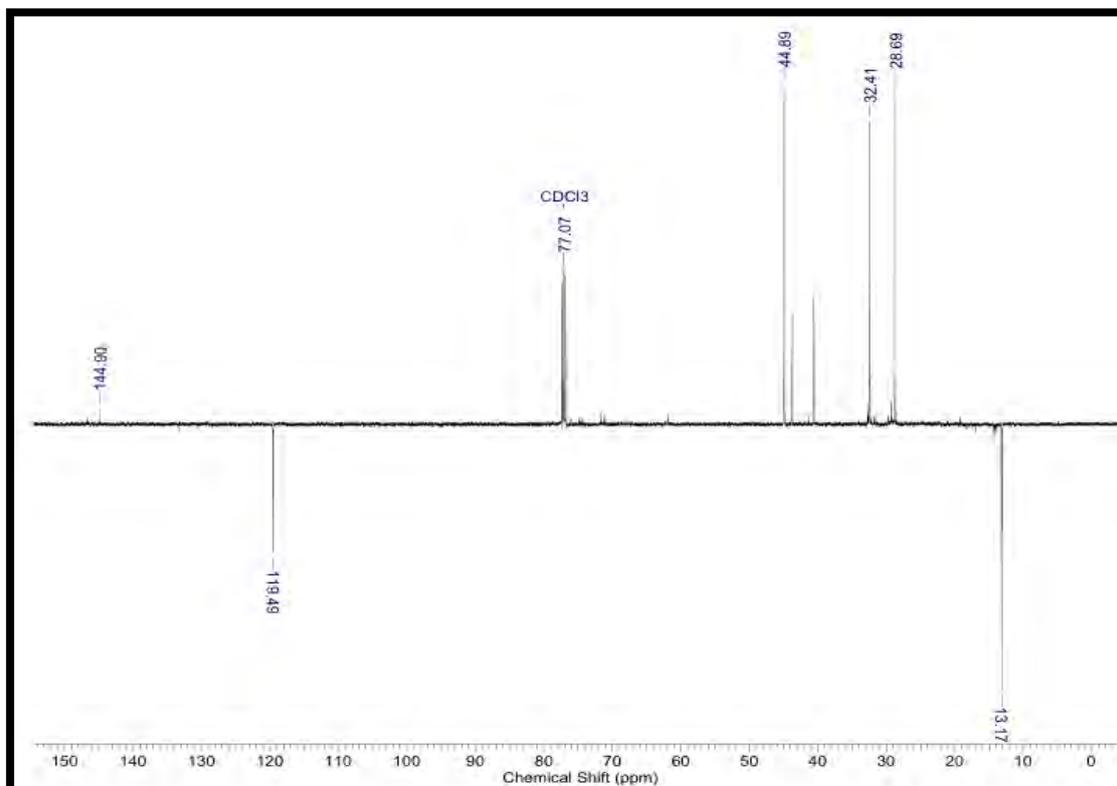
**M (ESI):** 248/250 [ $M^+$ ] (100%).



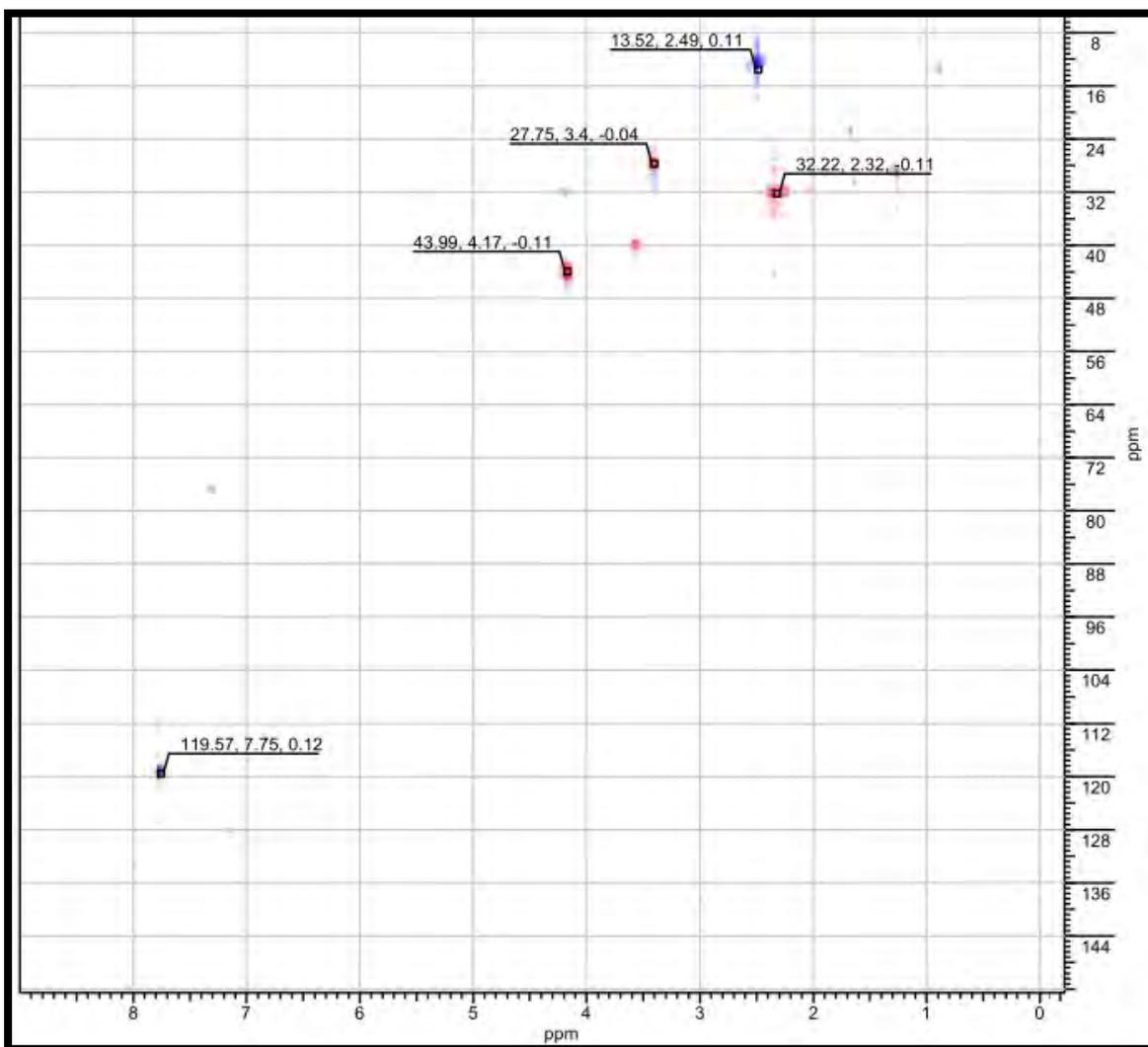
**Espectro 38.** Espectro de massas do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (17).



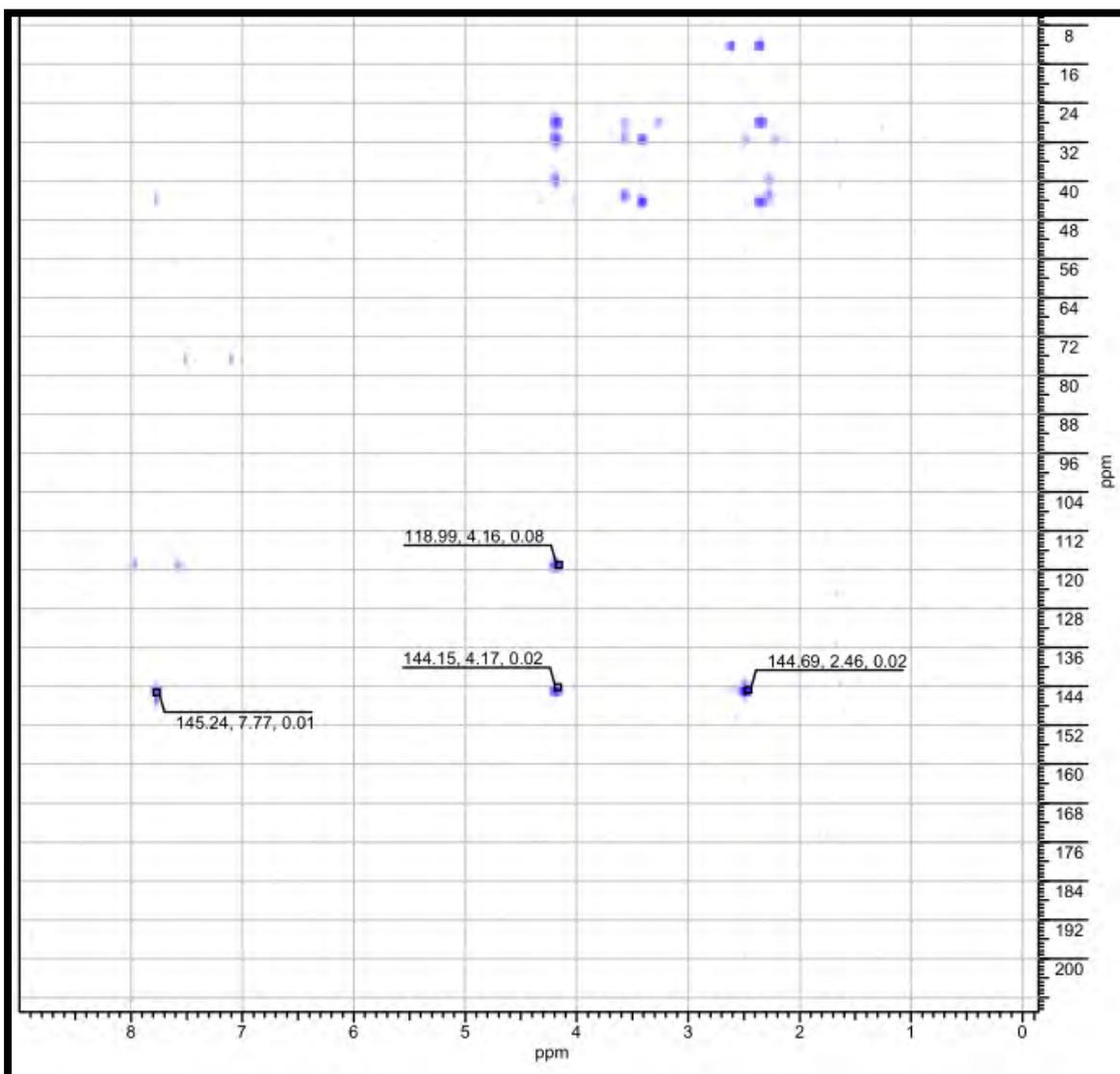
**Espectro 39.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**).



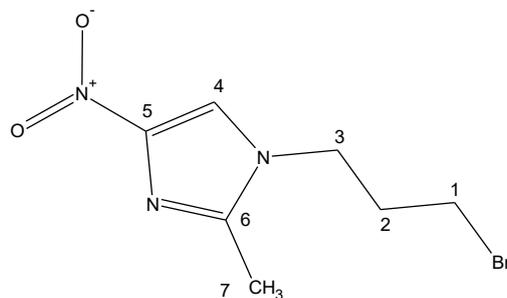
**Espectro 40.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**).



**Espectro 41.** Espectro bidimensional de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC ( $^1J$ ) (500 MHz/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**).



**Espectro 42.** Espectro bidimensional de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC ( $^2J$ ,  $^3J$ ) (500 MHz/125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**).

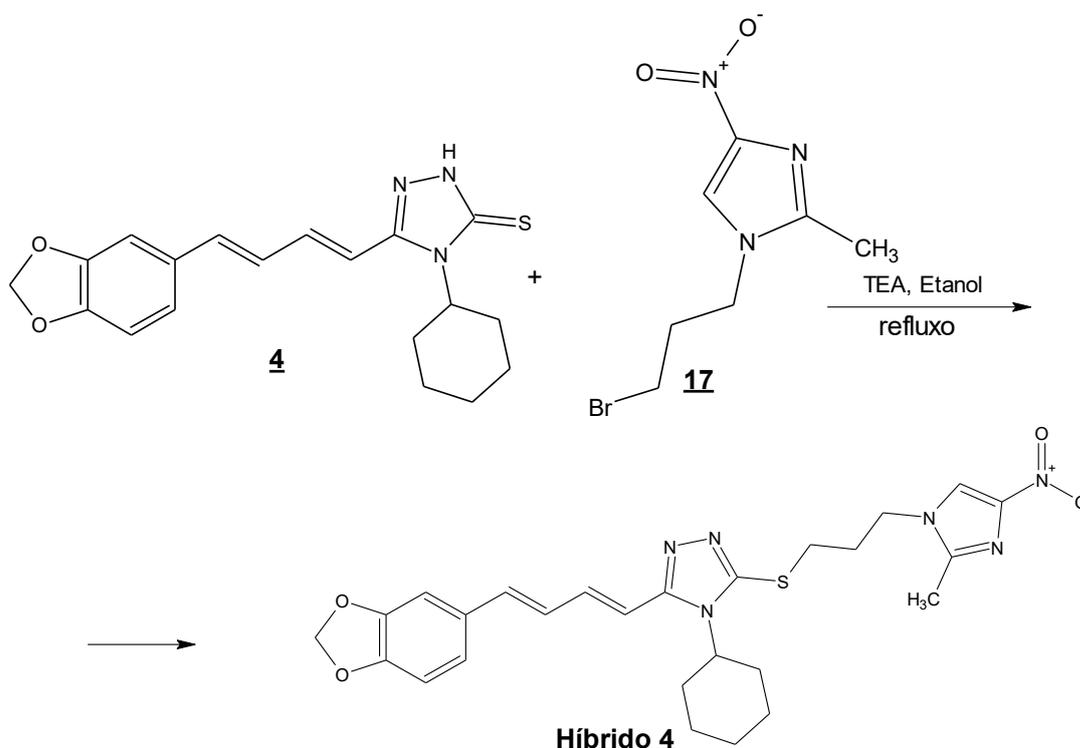


1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**)

**Tabela 12.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>3,41 (t, 2H); 7</b>	<b>28,89 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	<b>2,34 (q, 2H); 7</b>	<b>32,41 (CH<sub>2</sub>)</b>
3	<b>4,17 (t, 2H); 7</b>	<b>44,89 (CH<sub>2</sub>)</b>
4	<b>7,75 (s, 1H)</b>	<b>119,49 (CH)</b>
5	-	-
6	-	<b>144,90 (C)</b>
7	<b>2,49 (s, 3H)</b>	<b>13,17 (CH<sub>3</sub>)</b>

**6.1.14. Preparação do 3-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-5-[[3-(2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)propil]thio}-4*H*-1,2,4-triazol (Híbrido 4)**



A reação de preparação do híbrido 4 foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do híbrido 2 (experimental 6.1.10., página 83). Reagentes: 5 mL de etanol (solvente); 93 mg do ciclo-hexil triazol (**4**) (0,26 mmol); 400  $\mu$ L de trietilamina (0,28 g, 2,8 mmol); 65 mg do alquilante 1-(3-bromopropil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**17**) (0,26 mmol). Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.10), foram obtidos 40mg (30%) do produto desejado na forma de um sólido de coloração amarelada.

PF: 175 - 177 °C

**Dados de Infravermelho:**

$\nu_{\text{C-H}} = 3056 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H de aromático);

$\nu_{\text{C-H}} = 2923 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_3$ );

$\nu_{\text{C-H}} = 2852 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1537 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta_{\text{C-H}} = 1440 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1356 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

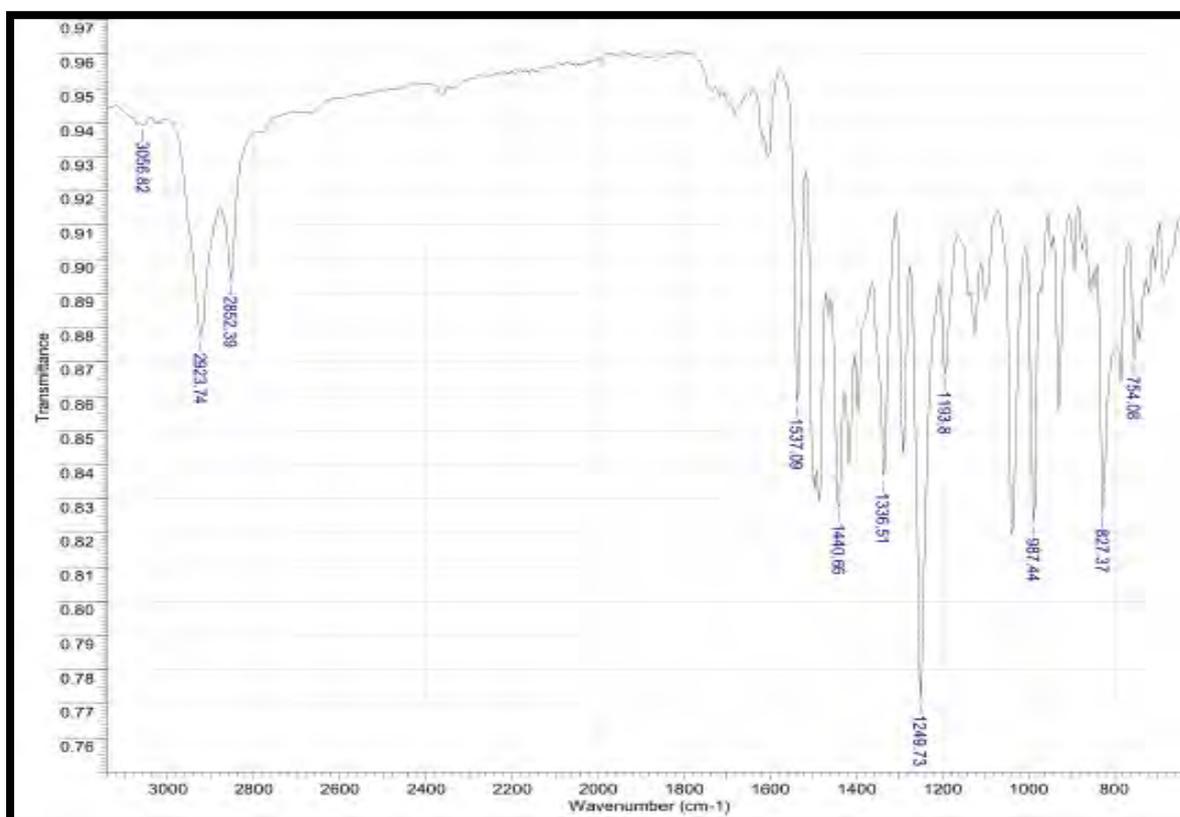
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1249 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial de éter);

$\delta_{\text{C-S}} = 1193 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-S);

$\delta_{\text{C-H}} = 987 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para H isolado no anel aromático);

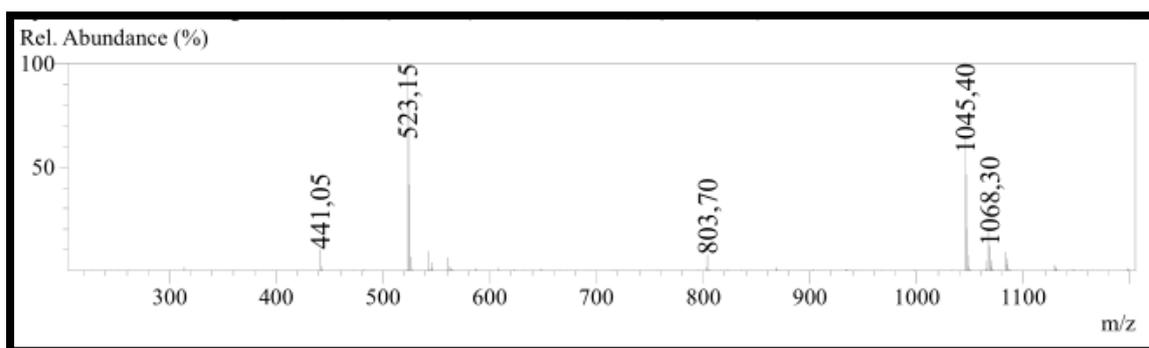
$\delta_{\text{C-H}} = 827 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para 2H vizinhos no anel aromático);

$\delta_{\text{C-H}} = 754 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

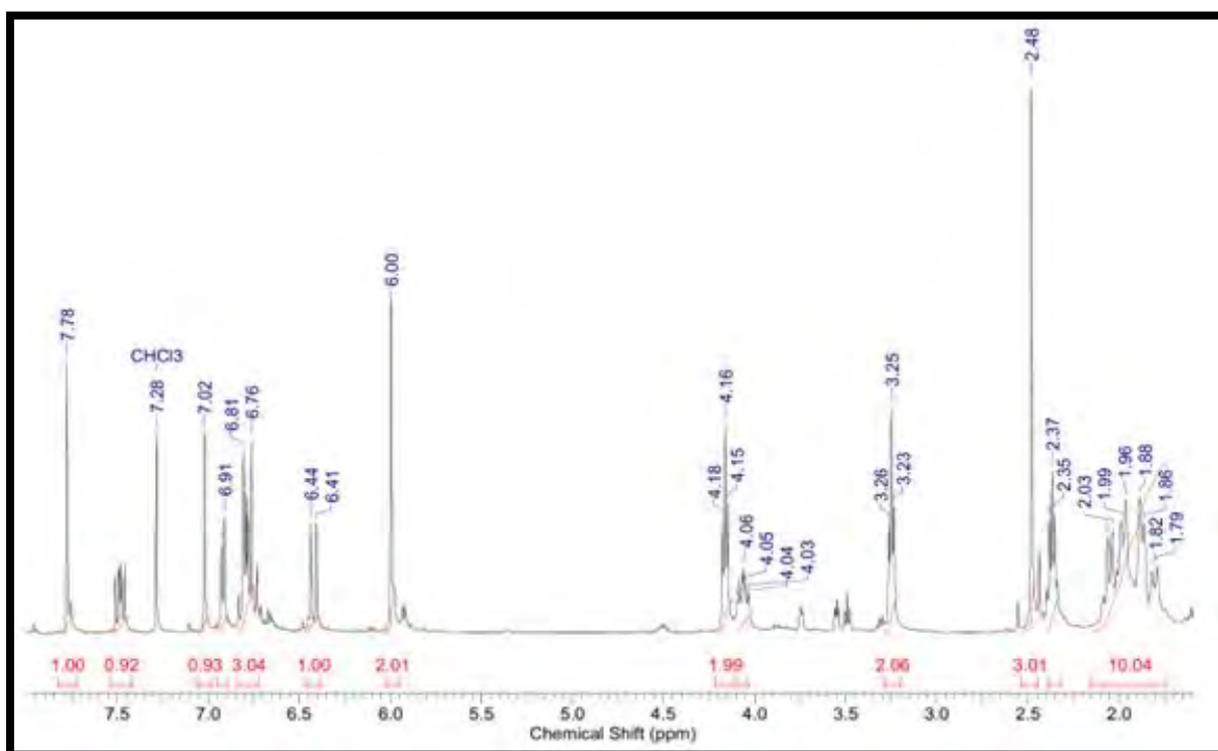


**Espectro 43.** Espectro de IV do híbrido 4.

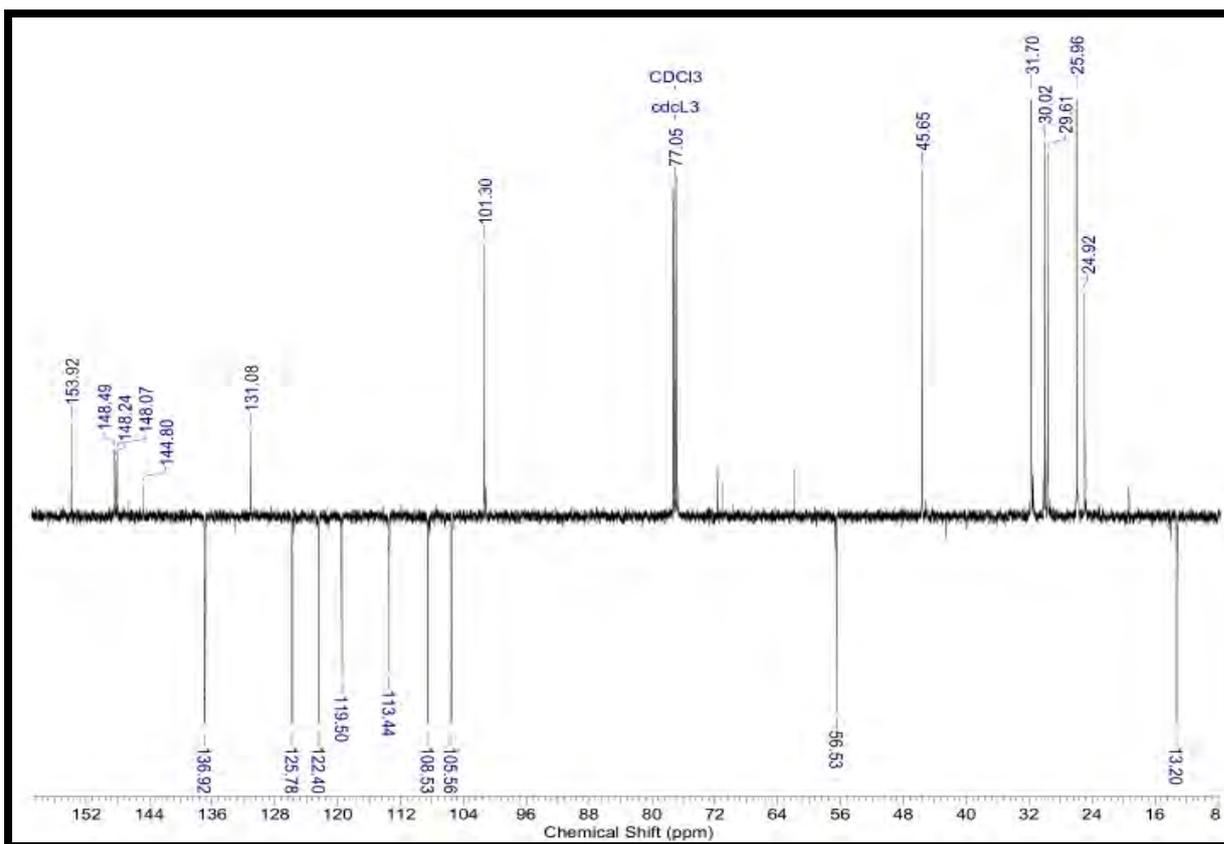
**M (ESI):** 523 [(M+H)<sup>+</sup>] (100%); 1045[(M+M)<sup>+</sup>] (70%).



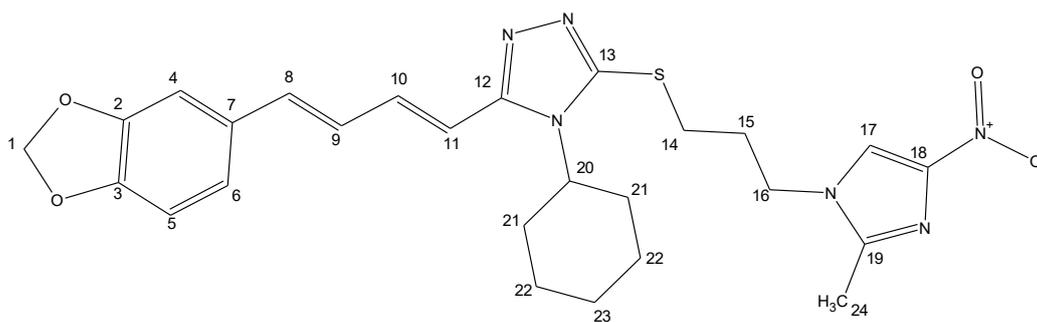
**Espectro 44.** Espectro de massas do híbrido 4.



**Espectro 45.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 4.



**Espectro 46.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 4.

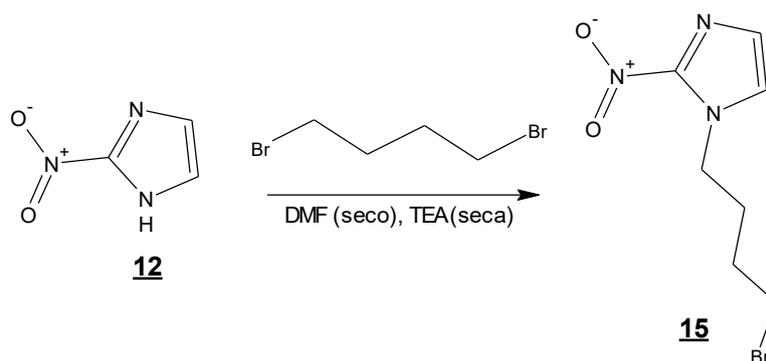


Híbrido 4

**Tabela 13.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o híbrido 4.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>6,00 (s, 2H)</b>	<b>101,30 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	-	<b>148,49 (C)</b>
3	-	<b>148,24 (C)</b>
4	<b>7,02 (s, 1H)</b>	<b>105,56 (CH)</b>
5	<b>6,76 (d, 1H)</b>	<b>108,53(CH)</b>
6	<b>6,91 (d, 1H)</b>	<b>113,44 (CH)</b>
7	-	<b>131,08 (C)</b>
8	<b>6,76 (m, 1H)</b>	<b>136,92 (CH)</b>
9	<b>6,44 (m, 1H)</b>	<b>125,78 (CH)</b>
10	<b>7,42 (m, 1H)</b>	<b>136,86 (CH)</b>
11	<b>6,81 (m, 1H)</b>	<b>122,40 (CH)</b>
12	-	<b>148,07 (C)</b>
13	-	<b>153,92 (C)</b>
14	<b>3,25 (t, 3H); 6,3</b>	<b>25,96 (CH<sub>2</sub>)</b>
15	<b>2,37 (q, 2H); 6,3</b>	<b>24,92 (CH<sub>2</sub>)</b>
16	<b>4,16 (t, 2H); 6,3</b>	<b>45,65 (CH<sub>2</sub>)</b>
17	<b>7,78 (s, 1H)</b>	<b>119,50 (CH)</b>
18	-	-
19	-	<b>144,80 (C)</b>
20	<b>4,04 (m, 1H)</b>	<b>56,53 (CH)</b>
21	<b>1,79-1,89 (m, 2H)</b>	<b>31,70 (CH<sub>2</sub>)</b>
22	<b>1,45-1,86 (m, 2H)</b>	<b>29,61 (CH<sub>2</sub>)</b>
23	<b>1,42 (m, 2H)</b>	<b>30,02 (CH<sub>2</sub>)</b>
24	<b>2,48 (s, 3H)</b>	<b>13,20 (CH<sub>3</sub>)</b>

### 6.1.15. Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**)



A reação de preparação do alquilante (**15**) foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do alquilante (**13**) (experimental 6.1.9., página 79). Reagentes: 3 mL de *N,N*-dimetilformamida (solvente); 100 mg de 2-nitro-1*H*-imidazol (0,89 mmol); 450 mL de trietilamina (0,30g, 3 mmol); 250  $\mu$ L de 1,4-dibromobutano (2,2 mmol); 6h de reação a temperatura ambiente. Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.11), foram obtidos 105 mg (45%) do alquilante desejado (**15**) na forma de um óleo de coloração amarelada.

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{C-H}} = 3116 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

$\nu_{\text{C-H}} = 2960 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);

$\nu_{\text{C-H}} = 2869 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>);

$\nu_{\text{N-O}} = 1535 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

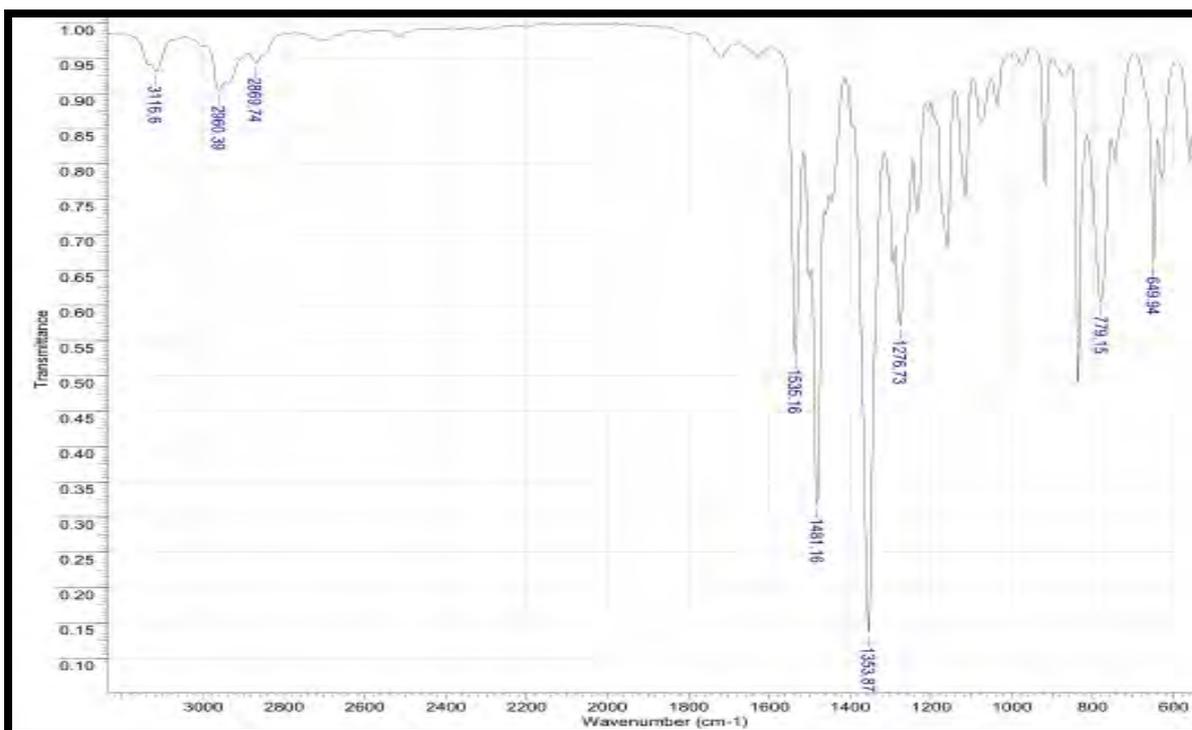
$\delta_{\text{C-H}} = 1481 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);

$\nu_{\text{N-O}} = 1353 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

$\nu_{\text{C-N}} = 1276 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);

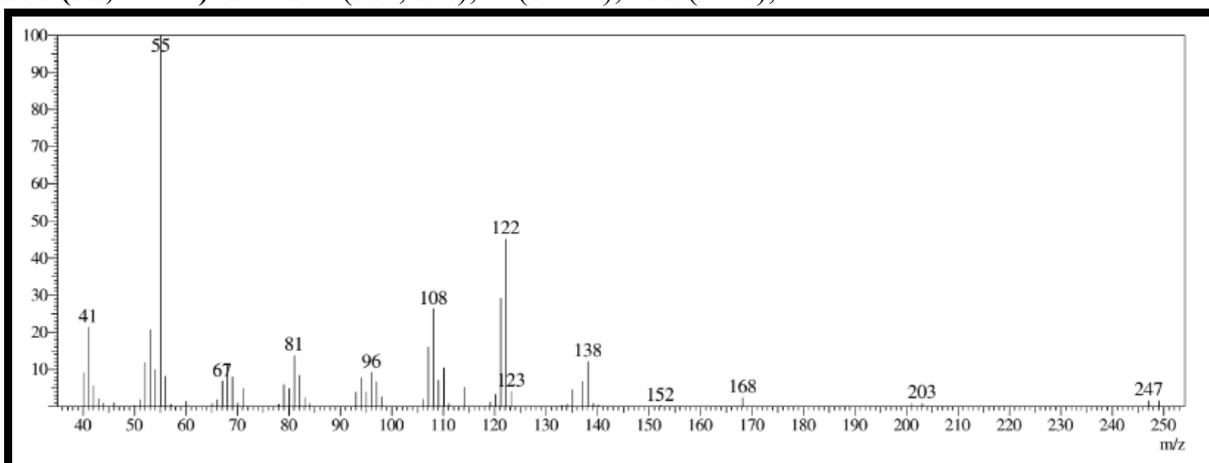
$\delta_{\text{C-H}} = 779 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);

$\nu_{\text{C-Br}} = 649 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-Br).

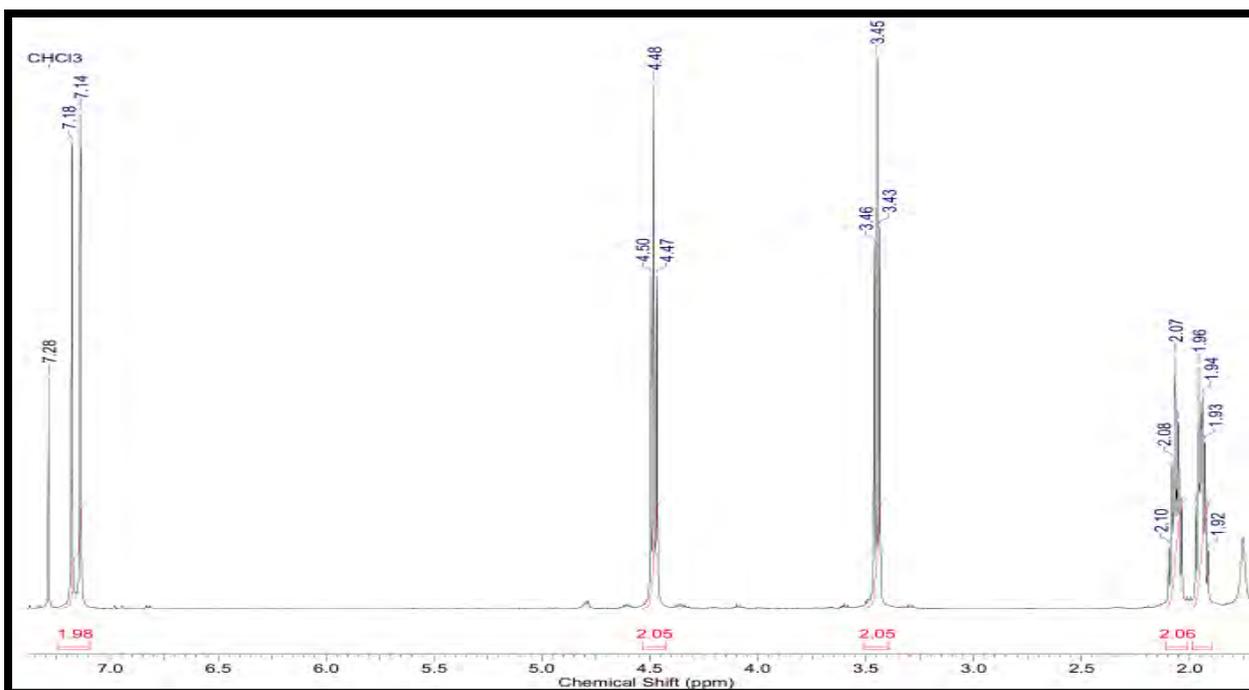


**Espectro 47.** Espectro de IV do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**).

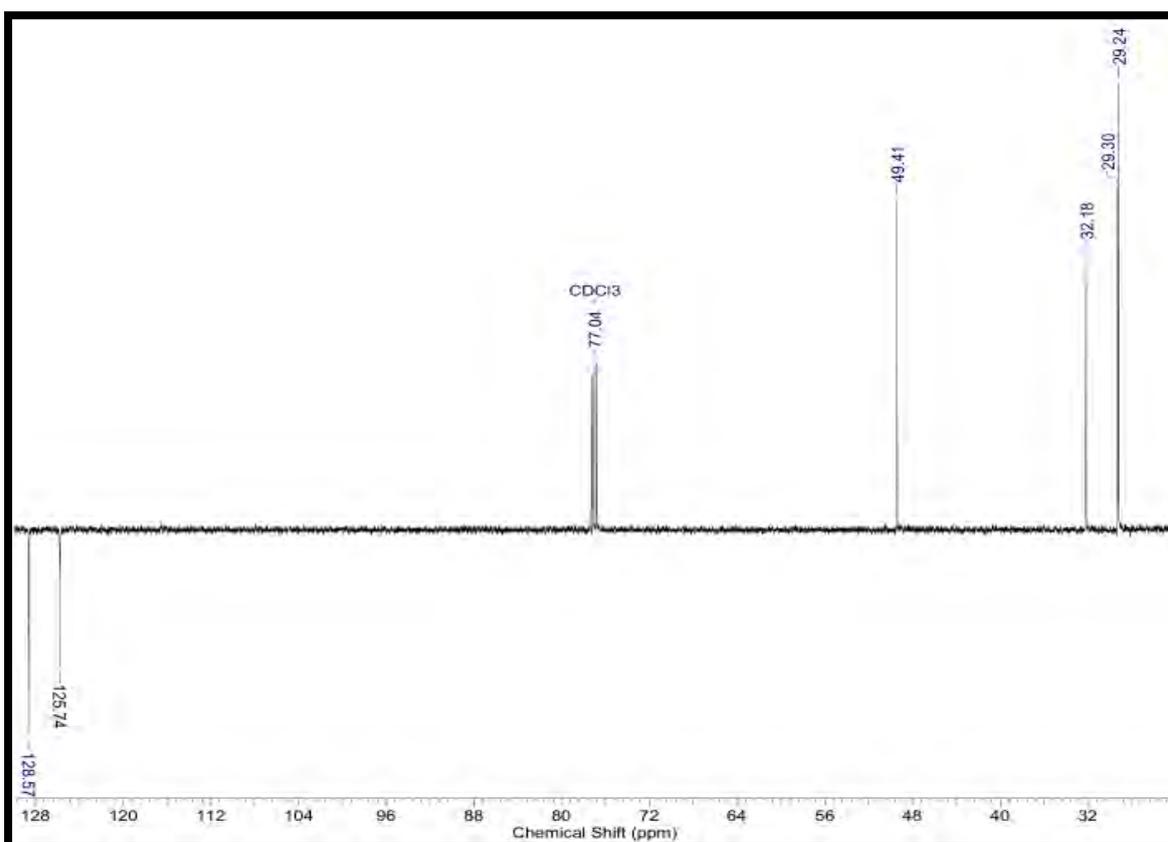
**EM (IE, 70 eV):** 247/249 ( $M^+$ , 2%); 55(100%); 122 (50%);



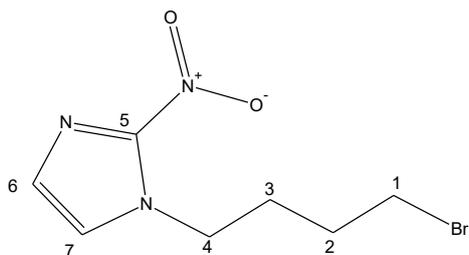
**Espectro 48.** Espectro de massas do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**).



**Espectro 49.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**).



**Espectro 50.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**).

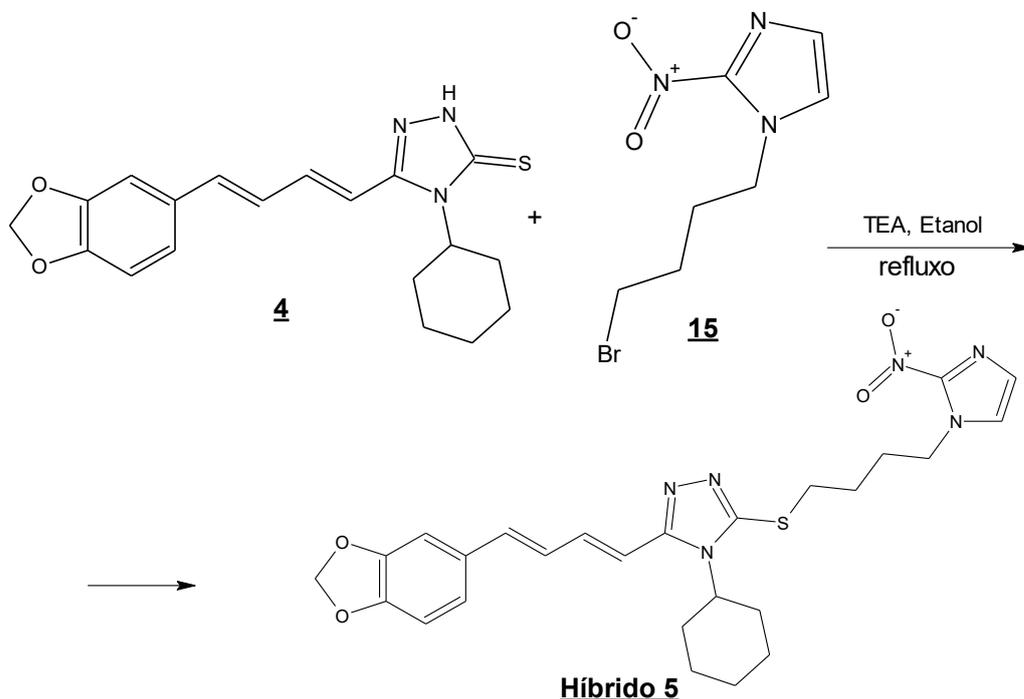


1-(4-bromobutil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**)

**Tabela 14.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 1-(4-bromopropil)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>3,45 (t, 2H); 7</b>	<b>32,18 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	<b>1,96 (q, 2H); 7</b>	<b>29,24 (CH<sub>2</sub>)</b>
3	<b>2,07 (q, 2H); 7</b>	<b>29,30 (CH<sub>2</sub>)</b>
4	<b>4,48 (t, 2H); 7</b>	<b>49,41 (CH<sub>2</sub>)</b>
5	-	-
6	<b>7,18 (s, 1H)</b>	<b>128,57 (CH)</b>
7	<b>7,24 (s, 1H)</b>	<b>125,74 (CH)</b>

### 6.1.16. Preparação do 3-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-il)buta-1,3-dien-1-il]-4-ciclohexil-5-[[4-(2-nitro-1*H*-imidazol-1-il)butil]tio]-4*H*-1,2,4-triazol (Híbrido 5)



A reação de preparação do híbrido 5 foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do híbrido 2 (experimental 6.1.10., página 83). Reagentes: 5 mL de etanol (solvente); 93 mg do ciclo-hexil triazol (0,26 mmol); 360  $\mu$ L de trietilamina (0,25 g, 2,51 mmol); 60 mg do alquilante, 1-(4-bromobutyl)-2-nitro-1*H*-imidazol (**15**) (0,24 mmol). Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.10), foram obtidos 69 mg (50%) do produto desejado (híbrido 5) na forma de um sólido de coloração amarelada.

PF: 129 - 131 °C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu_{\text{C-H}} = 3070 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H de aromático);

$\nu_{\text{C-H}} = 2931 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_3$ );

$\nu_{\text{C-H}} = 2852 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1537 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta_{\text{C-H}} = 1458 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$ );

$\nu_{\text{N-O}} = 1353 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

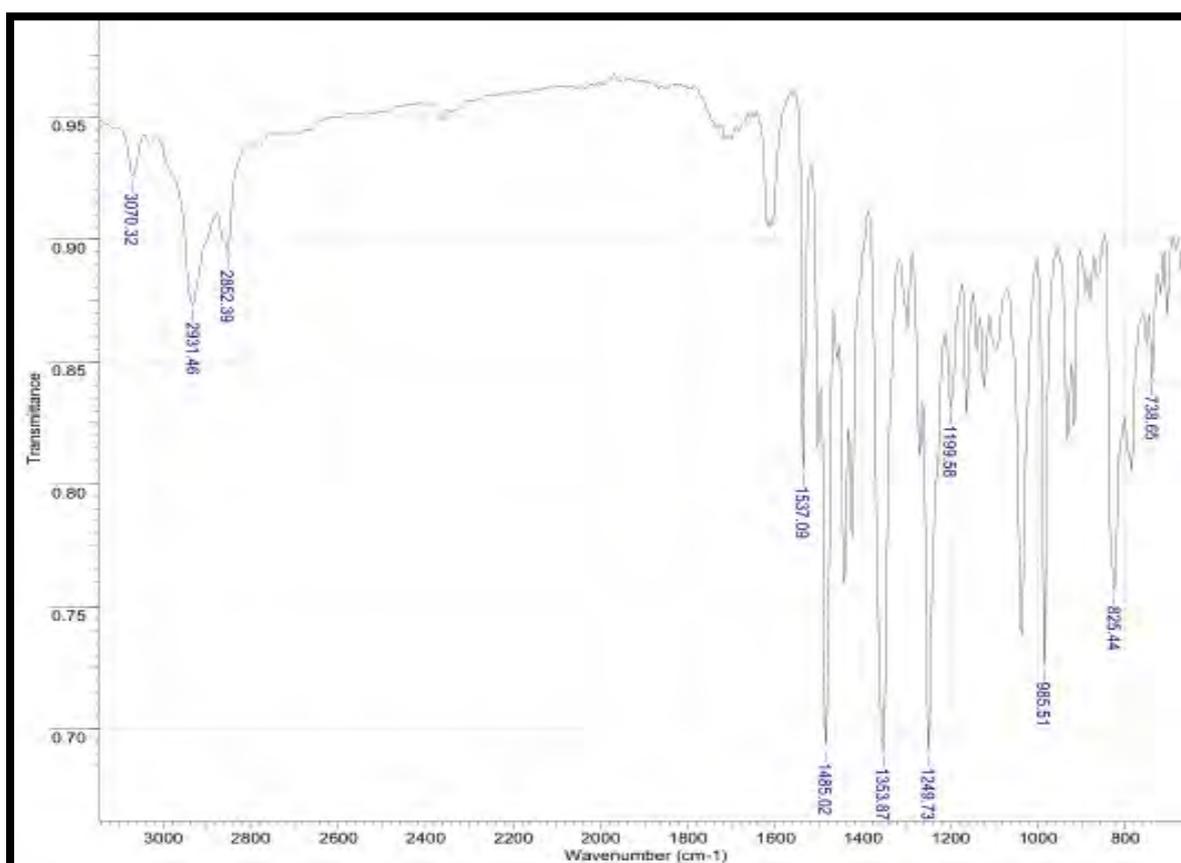
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1249 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial de éter);

$\delta_{\text{C-S}} = 1199 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-S);

$\delta_{\text{C-H}} = 985 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para H isolado no anel aromático);

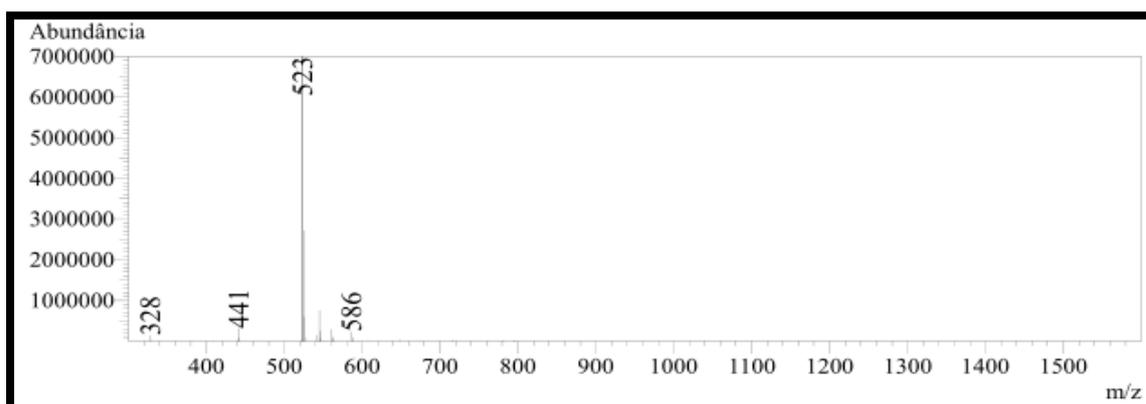
$\delta_{\text{C-H}} = 825 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para 2H vizinhos no anel aromático);

$\delta_{\text{C-H}} = 738 \text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

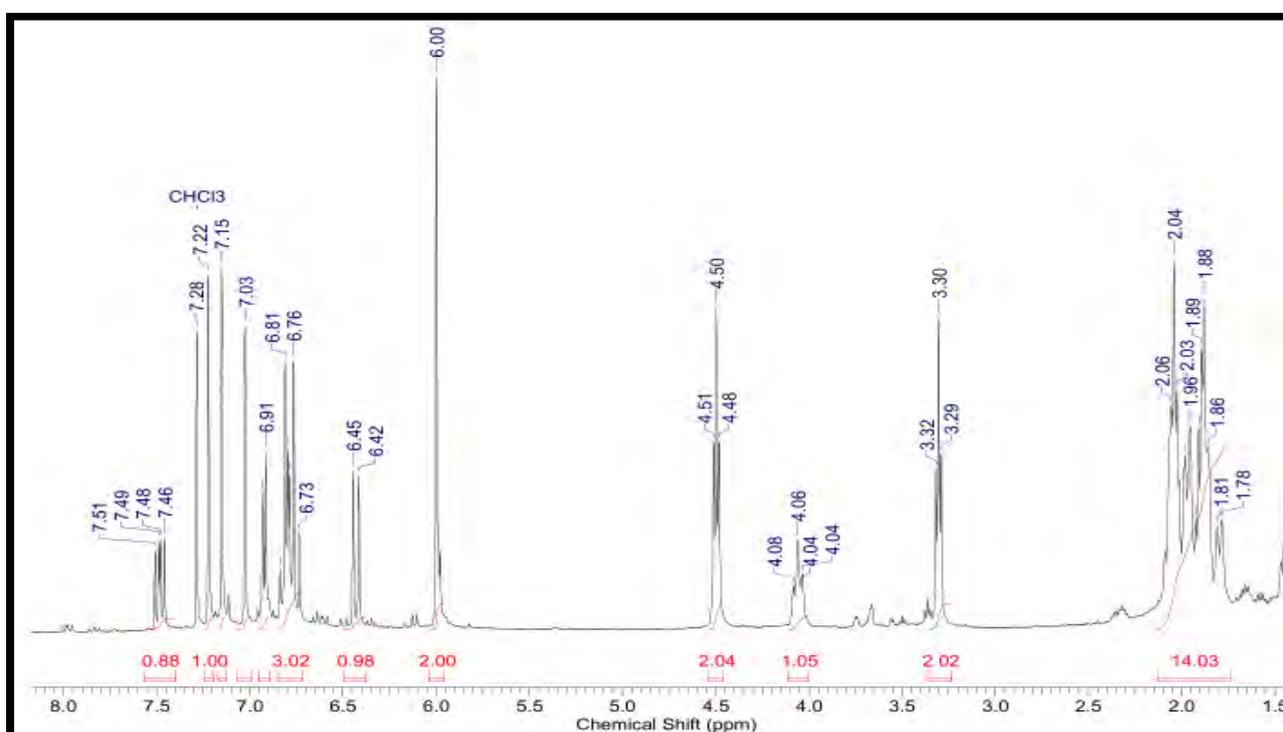


**Espectro 51.** Espectro de IV do híbrido 5.

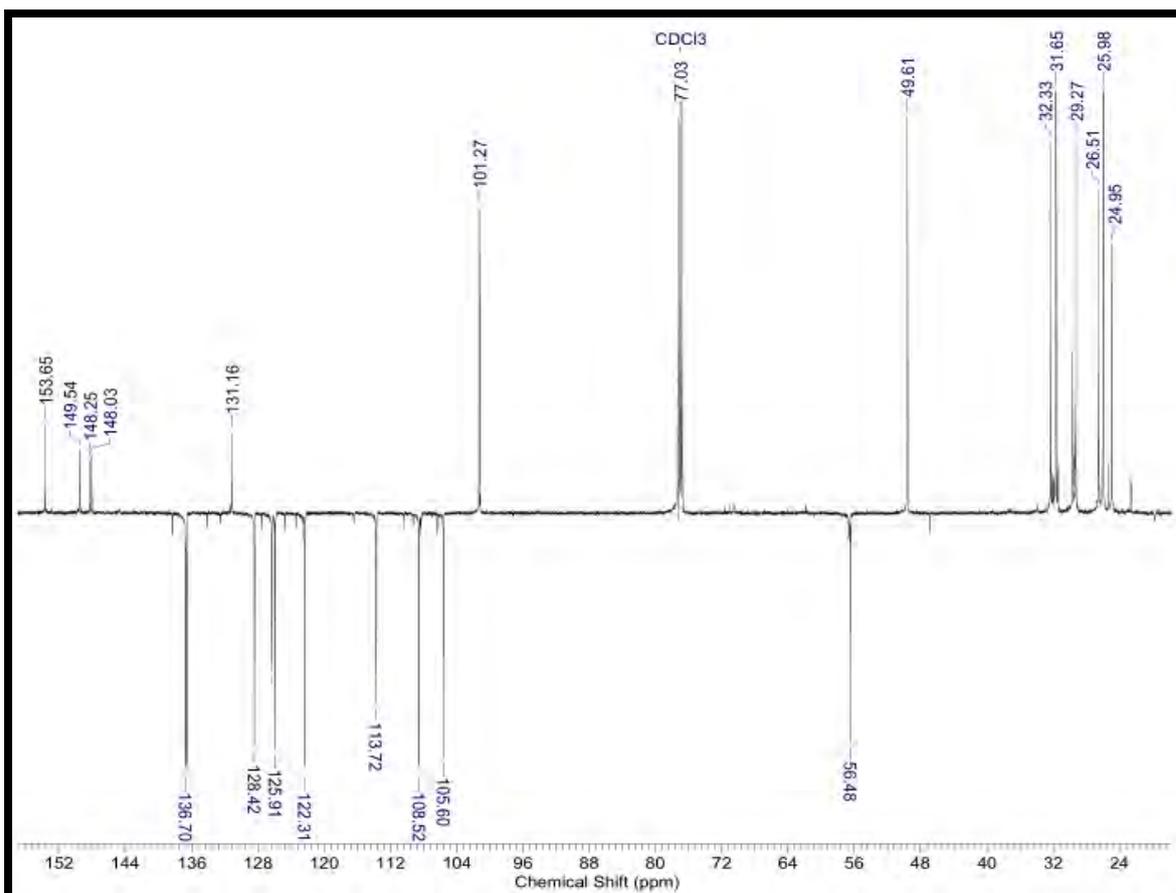
**M (ESI):** 523 [(M+H)<sup>+</sup>] (100%).



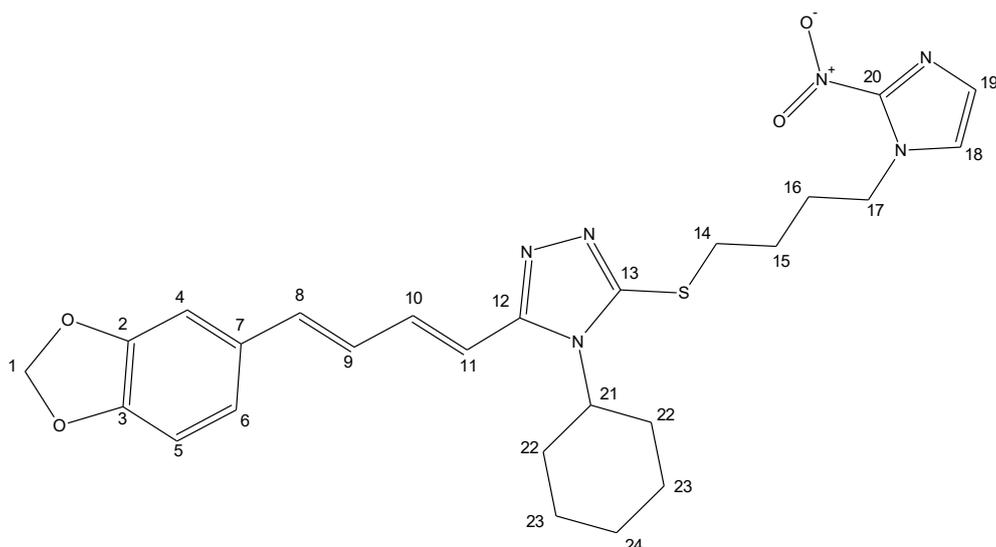
**Espectro 52.** Espectro de massas do híbrido 5.



**Espectro 53.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 5.



**Espectro 54.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do híbrido 5.

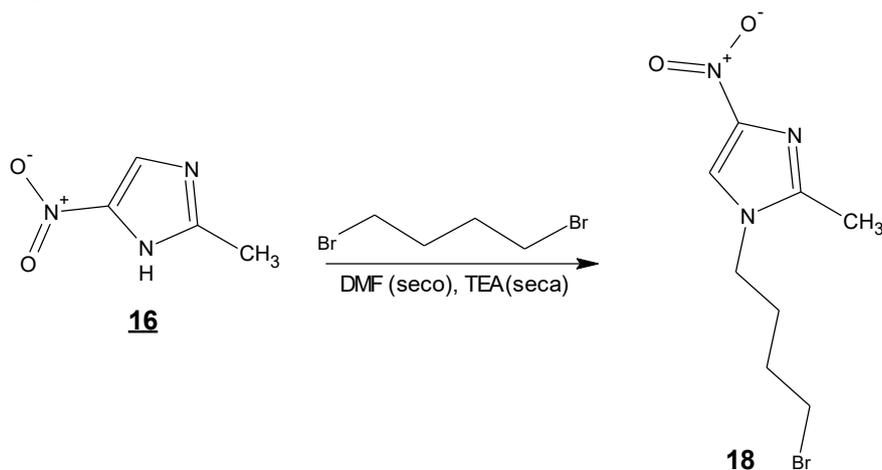


Híbrido 5

**Tabela 15.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o híbrido 5.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>6,00 (s, 2H)</b>	<b>101,72 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	-	<b>149,54 (C)</b>
3	-	<b>148,25 (C)</b>
4	<b>7,03 (s, 1H)</b>	<b>105,60 (CH)</b>
5	<b>6,76 (d, 1H)</b>	<b>108,52 (CH)</b>
6	<b>6,91 (d, 1H)</b>	<b>113,72 (CH)</b>
7	-	<b>131,16 (C)</b>
8	<b>6,73 (m, 1H)</b>	<b>136,70 (CH)</b>
9	<b>6,45 (m, 1H)</b>	<b>125,91 (CH)</b>
10	<b>7,15 (m, 1H)</b>	<b>136,61 (CH)</b>
11	<b>6,81 (m, 1H)</b>	<b>122,31 (CH)</b>
12	-	<b>148,03 (C)</b>
13	-	<b>153,65 (C)</b>
14	<b>3,30 (t, 3H); 6,3</b>	<b>32,33 (CH<sub>2</sub>)</b>
15	<b>2,04 (m, 2H); 6,3</b>	<b>24,95 (CH<sub>2</sub>)</b>
16	<b>1,96 (m, 2H); 6,3</b>	<b>25,98 (CH<sub>2</sub>)</b>
17	<b>4,5 (t, 2H); 6,3</b>	<b>49,61 (CH<sub>2</sub>)</b>
18	<b>7,15 (d, 1H)</b>	<b>128,42 (CH)</b>
19	<b>7,22 (m, 1H)</b>	<b>126,30 (CH)</b>
20	-	-
21	<b>4,06 (m, 1H)</b>	<b>56,48 (CH)</b>
22	<b>1,89-2,03 (m, 2H)</b>	<b>31,65 (CH<sub>2</sub>)</b>
23	<b>1,86-1,88 (m, 2H)</b>	<b>26,51 (CH<sub>2</sub>)</b>
24	<b>1,81 (m, 2H)</b>	<b>29,27 (CH<sub>2</sub>)</b>

### 6.1.17. Preparação do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitroimidazol (18)



A reação de preparação do alquilante (**18**) foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do alquilante (**13**) (experimental 6.1.9., página 79). Reagentes: 4 mL de *N,N*-dimetilformamida (solvente); 200 mg de 2-metil-(4)5-nitro-1*H*-imidazol (1,58 mmol); 1 mL mL de trietilamina (0,70g, 7 mmol); 380  $\mu$ L de 1,4-dibromobutano (3,16 mmol); 5h de reação a temperatura ambiente. Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.11), foram obtidos 120 mg (45%) do alquilante desejado (**18**), na forma de um sólido amorfo de coloração branca.

PF: 70 - 72°C

#### Dados de Infravermelho:

$\nu$ C-H = 3145  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H do anel imidazólico);

$\nu$ C-H = 2954  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);

$\nu$ C-H = 2860  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de CH<sub>2</sub>);

$\nu$ N-O = 1533  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

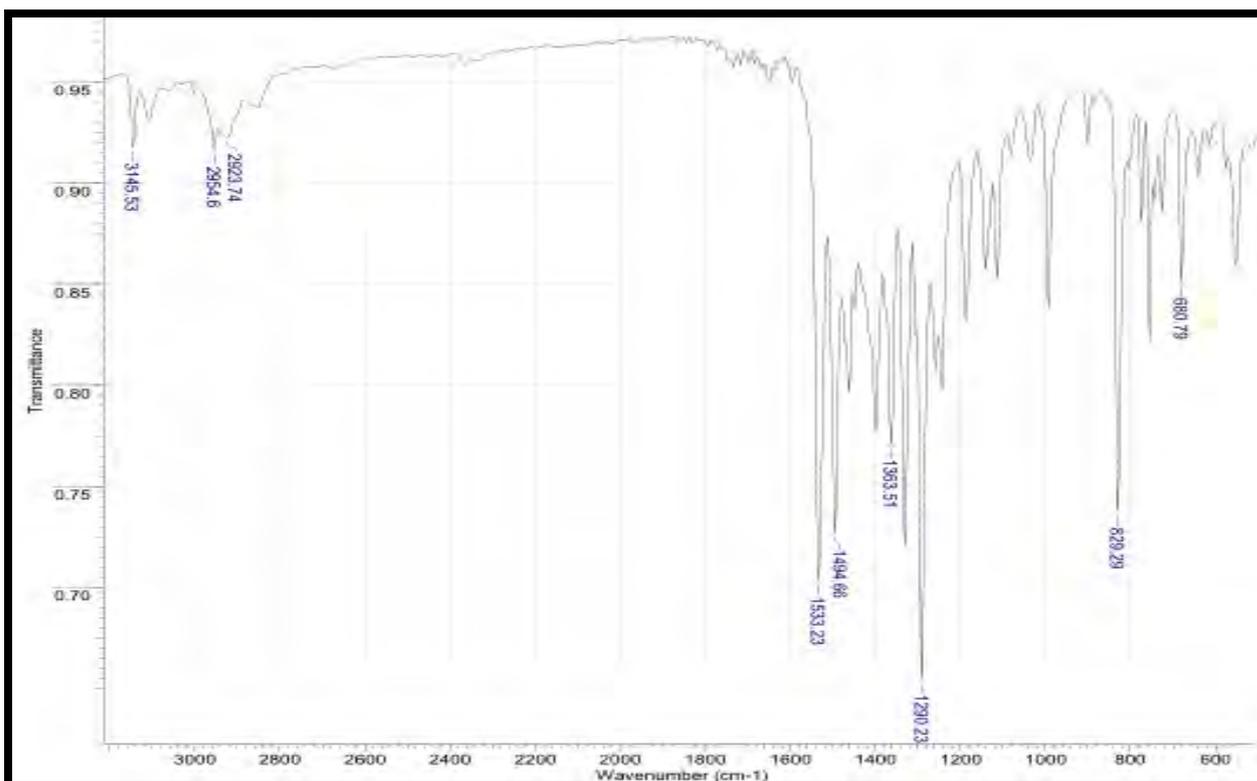
$\delta$ C-H = 1494  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>);

$\nu$ N-O = 1363  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

$\nu$ C-N = 1290  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-N);

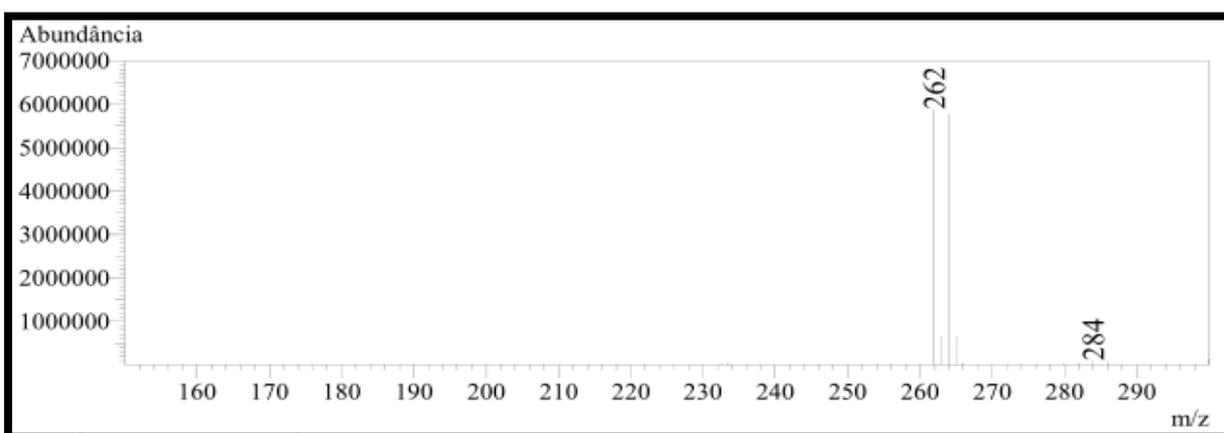
$\delta$ C-H = 829  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico);

$\nu$ C-Br = 680  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-Br).

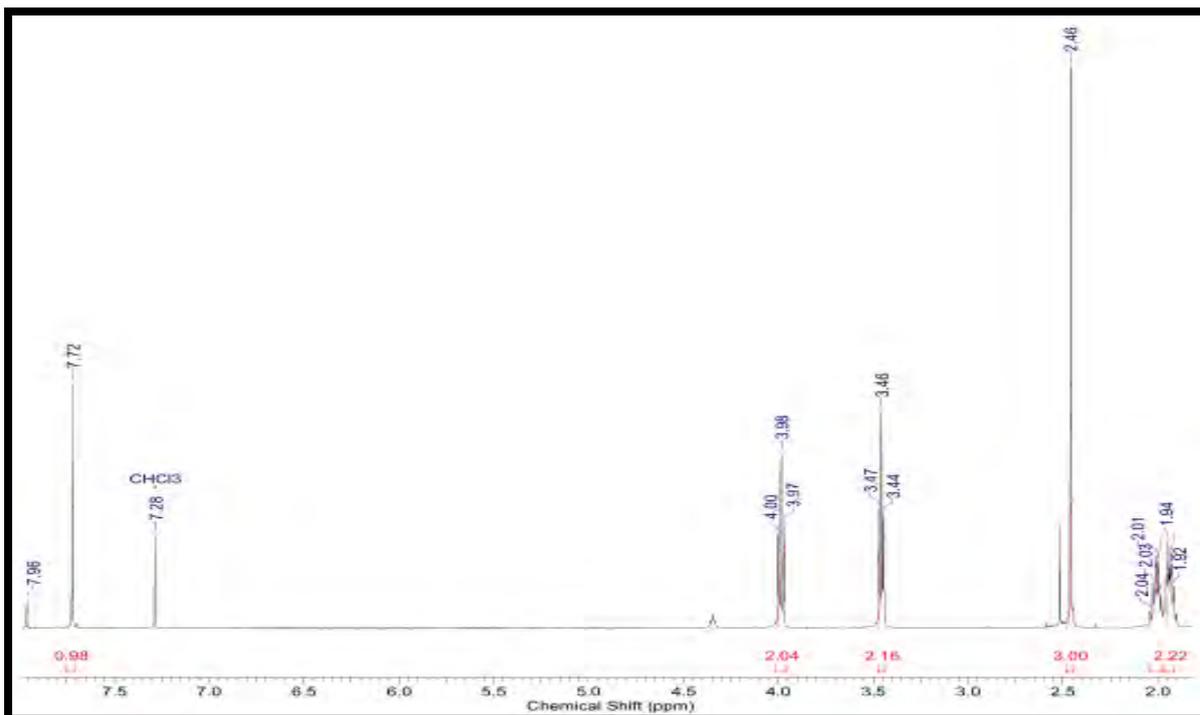


**Espectro 55.** Espectro de IV do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**18**).

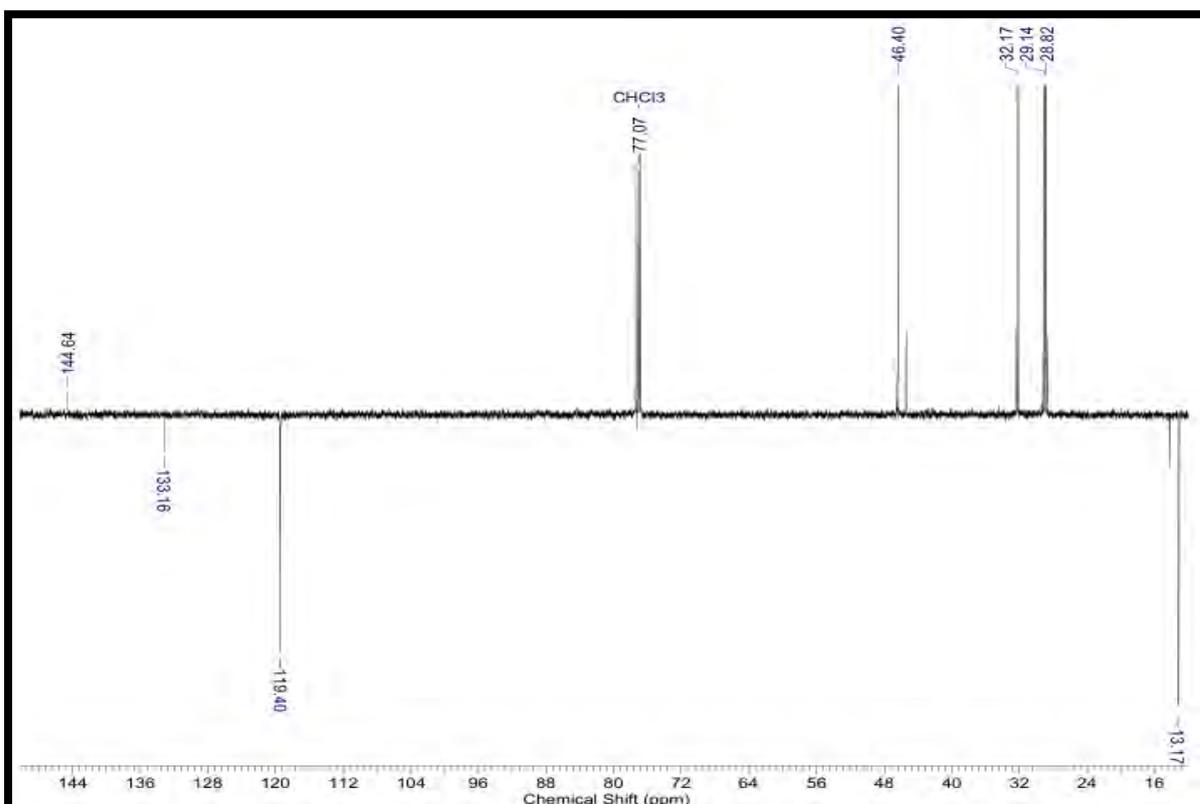
**EM (IE, 70 eV):** 261/263 [ $M^+$ ] (100%).



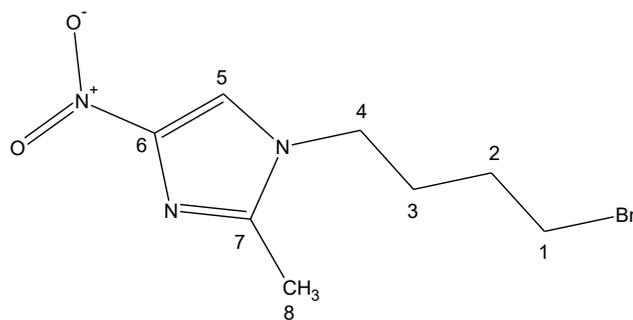
**Espectro 56.** Espectro de massas do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**18**).



**Espectro 57.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1H-imidazol (**18**).



**Espectro 58.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1H-imidazol (**18**).

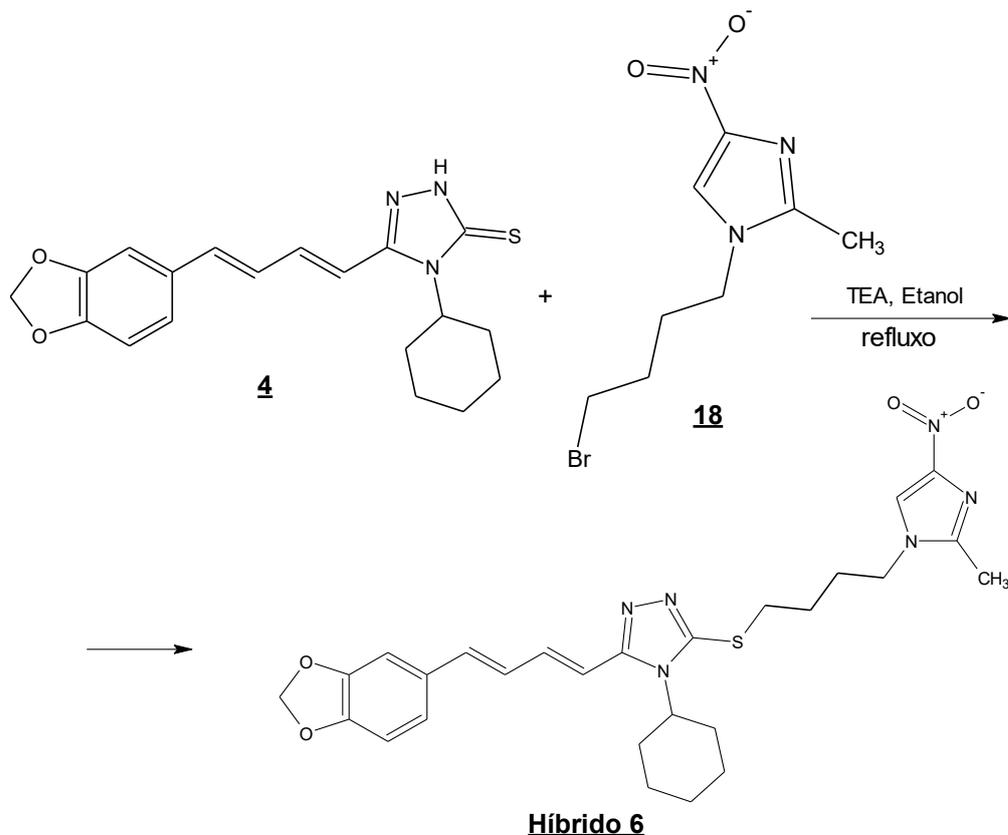


1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**18**)

**Tabela 16.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o 1-(4-bromobutil)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**18**).

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>3,46 (t, 2H); 7</b>	<b>32,17 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	<b>1,94 (q, 2H); 7</b>	<b>28,82 (CH<sub>2</sub>)</b>
3	<b>2,02 (q, 2H); 7</b>	<b>29,14 (CH<sub>2</sub>)</b>
4	<b>3,98 (t, 2H); 7</b>	<b>46,40 (CH<sub>2</sub>)</b>
5	<b>7,72 (s, 1H)</b>	<b>119,40 (CH)</b>
6	-	-
7	-	<b>144,64 (C)</b>
8	<b>2,46 (s, 3H)</b>	<b>13,17 (CH<sub>3</sub>)</b>

**6.1.18. Preparação do 3-[(1*E*,3*E*)-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)buta-1,3-dien-1-il]-4-cicloexil-5-[4-(2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol-1-il)butil]tio} 4*H*-1,2,4- triazol (Híbrido 6)**



A reação de preparação do híbrido 6 foi conduzida nas mesmas condições já descritas para a preparação do híbrido 2 (experimental 6.1.10., página 83). Reagentes: 5 mL de etanol (solvente); 71 mg do ciclo-hexil triazol (**4**) (0,26 mmol); 400  $\mu$ L de trietilamina (0,28 g, 2,8 mmol); 55 mg do alquilante 1-(4-bromobutyl)-2-metil-4-nitro-1*H*-imidazol (**18**) (0,20 mmol). Após purificação (mesmas condições cromatográficas descritas em 6.1.10), foram obtidos 47 mg (45%) do produto desejado (híbrido 6), na forma de um sólido de coloração amarelada.

PF: 97 - 99 °C

**Dados de Infravermelho:**

$\nu$ C-H = 3062  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial da ligação C-H de aromático);

$\nu$ C-H = 2923  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_3$ );

$\nu$ C-H = 2852  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação C-H de  $\text{CH}_2$ );

$\nu$ N-O = 1537  $\text{cm}^{-1}$  (Deformação axial assimétrica da ligação N-O);

$\delta\text{C-H} = 1442\text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica da ligação C-H em  $\text{CH}_2$ );

$\nu\text{N-O} = 1336\text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica da ligação N-O);

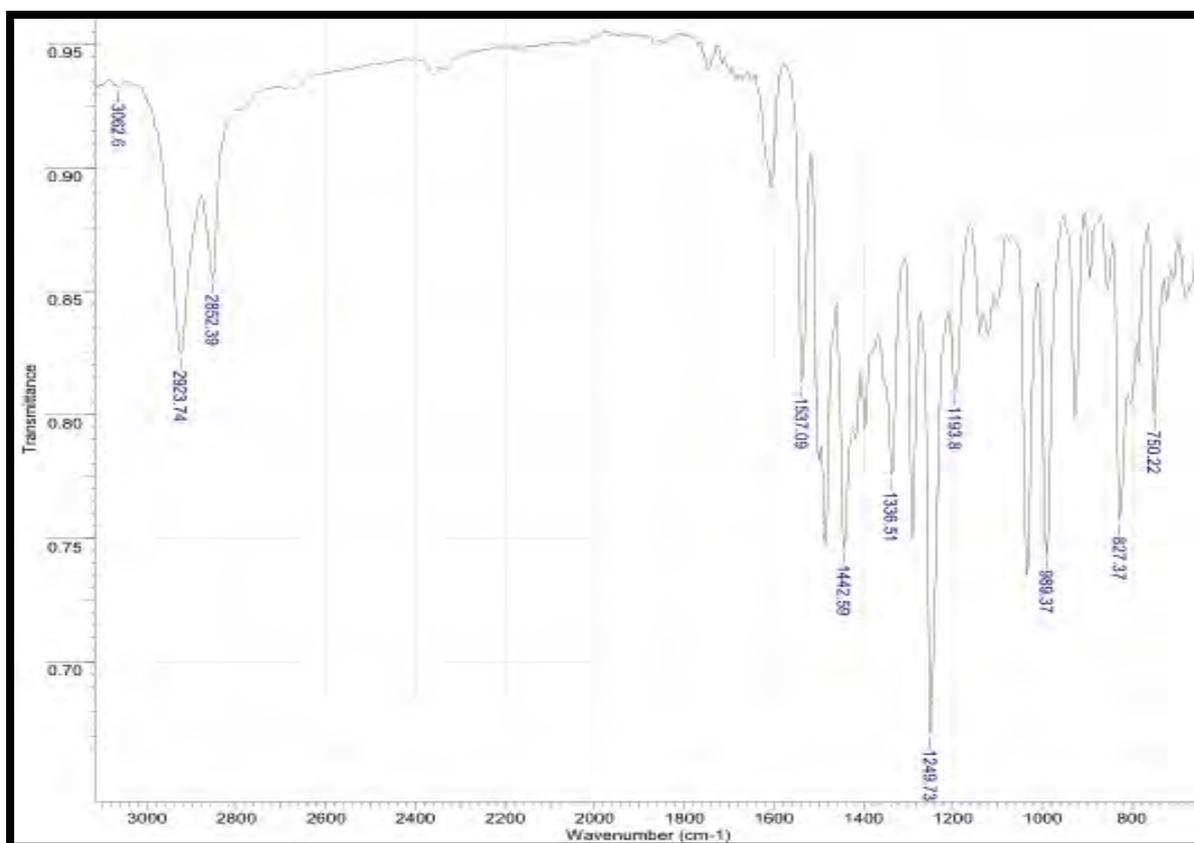
$\nu\text{C-O-C} = 1249\text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial de éter);

$\delta\text{C-S} = 1193\text{ cm}^{-1}$  (Deformação axial simétrica de ligação C-S);

$\delta\text{C-H} = 989\text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para H isolado no anel aromático);

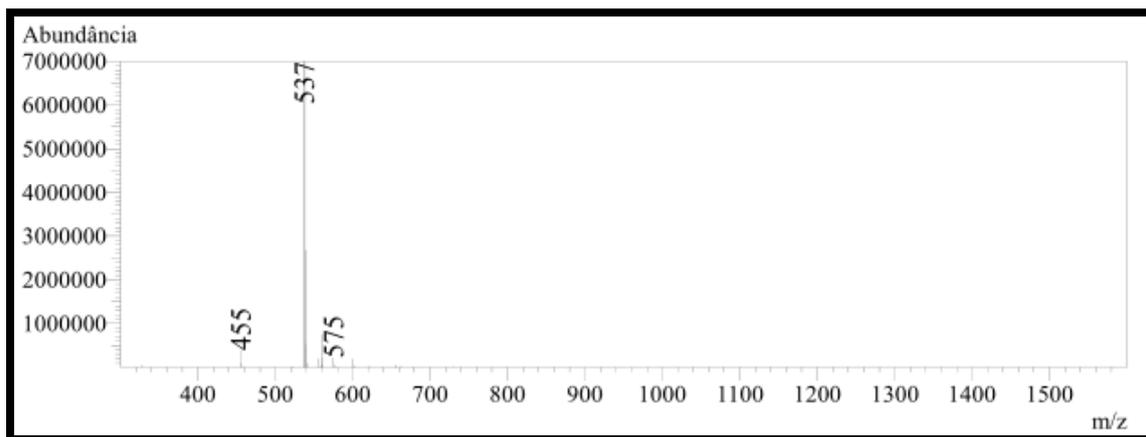
$\delta\text{C-H} = 827\text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular assimétrica de C-H para 2H vizinhos no anel aromático);

$\delta\text{C-H} = 750\text{ cm}^{-1}$  (Deformação angular da ligação C-H fora do plano do anel imidazólico).

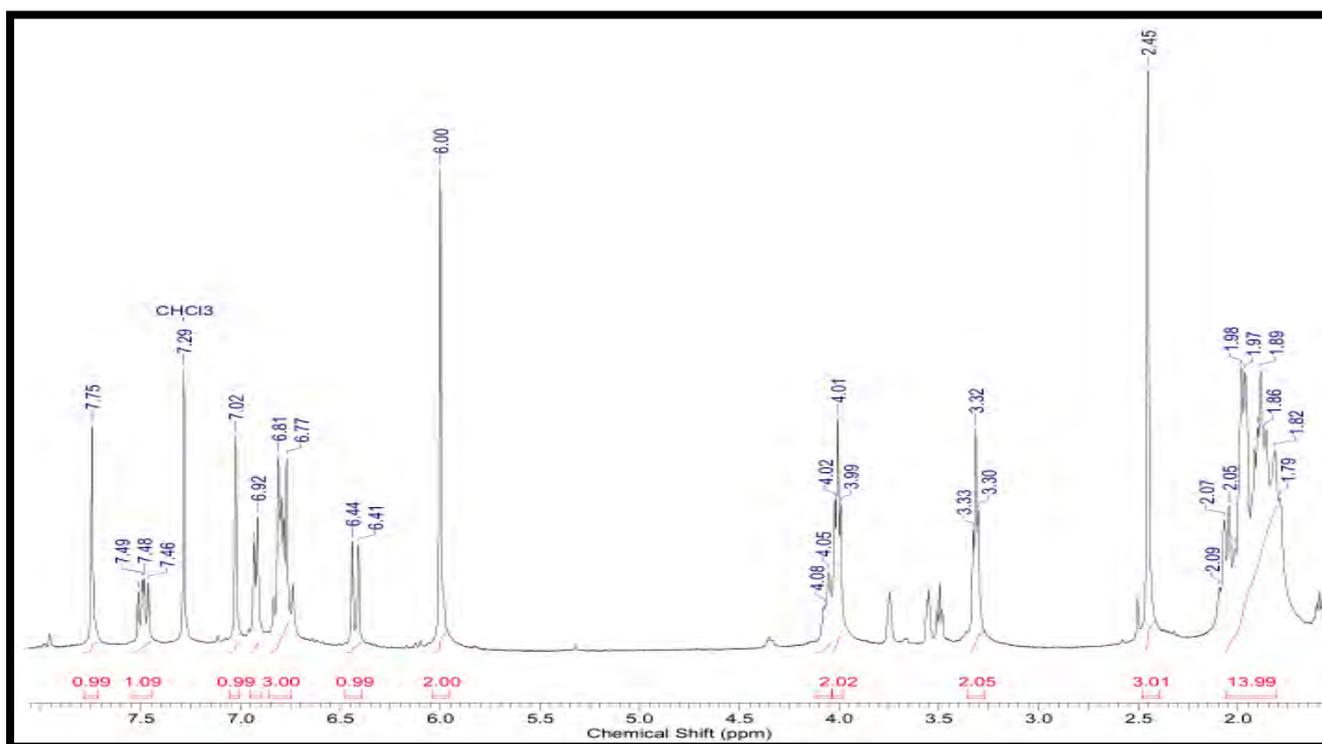


**Espectro 59.** Espectro de IV do híbrido 6.

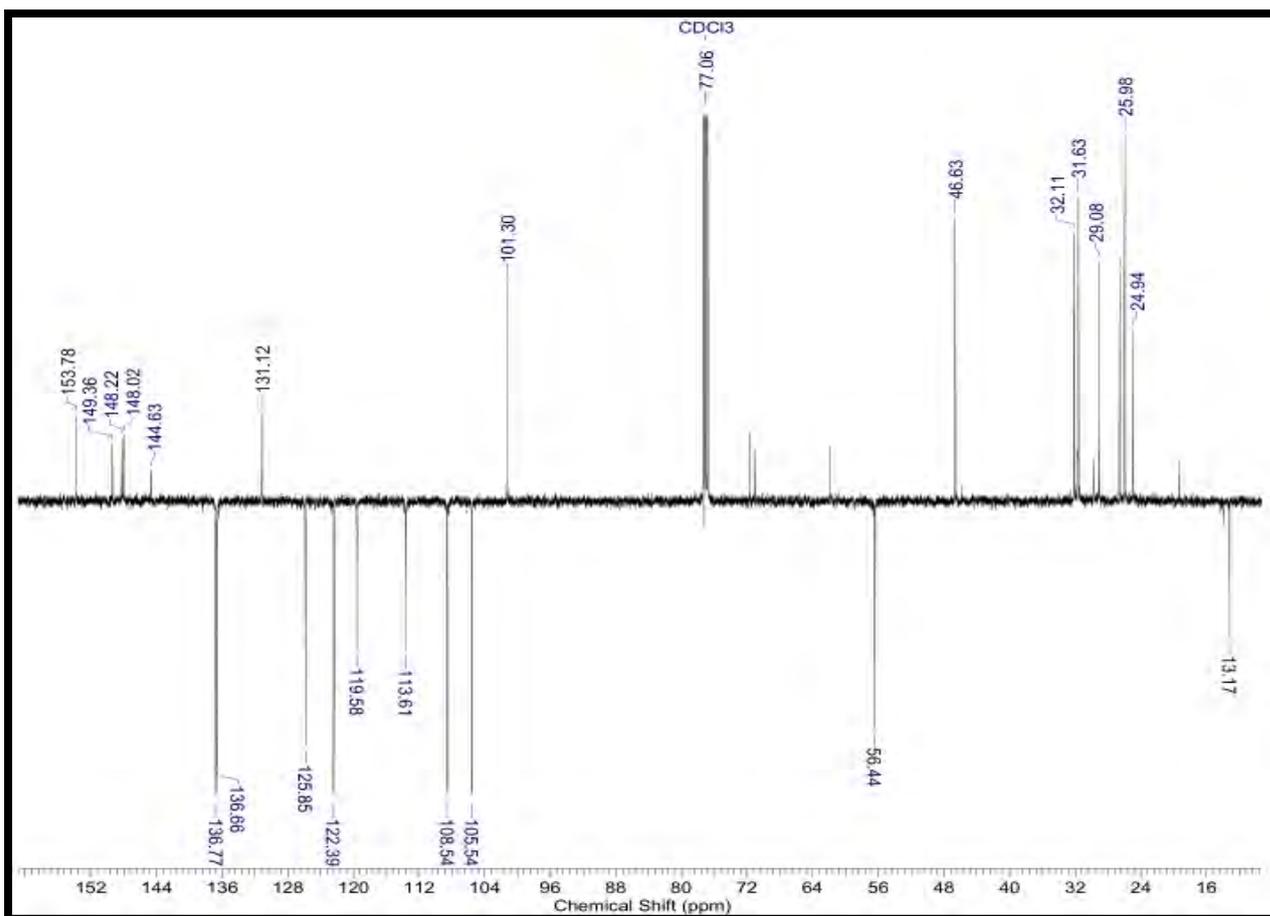
**M (ESI):** 537 [(M+H)<sup>+</sup>] (100%).



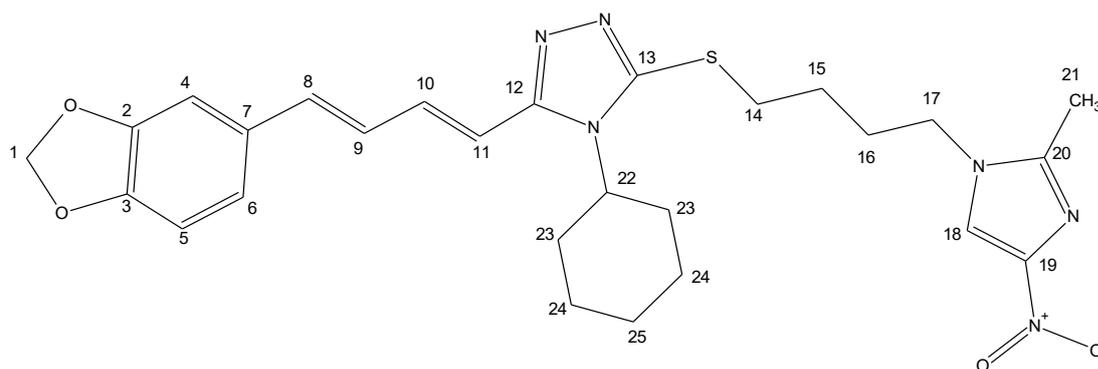
**Espectro 60.** Espectro de massas do híbrido 6.



**Espectro 61.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 6.



**Espectro 62.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do híbrido 6.



Híbrido 6

**Tabela 17.** Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o híbrido 6.

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm); $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1	<b>6,00 (s, 2H)</b>	<b>101,30 (CH<sub>2</sub>)</b>
2	-	<b>149,36 (C)</b>
3	-	<b>148,22 (C)</b>
4	<b>7,02 (s, 1H)</b>	<b>105,54 (CH)</b>
5	<b>6,77 (d, 1H)</b>	<b>108,534 (CH)</b>
6	<b>6,92 (d, 1H)</b>	<b>113,61 (CH)</b>
7	-	<b>131,12 (C)</b>
8	<b>6,73 (m, 1H)</b>	<b>136,77 (CH)</b>
9	<b>6,44 (m, 1H)</b>	<b>125,85 (CH)</b>
10	<b>7,48 (m, 1H)</b>	<b>136,66 (CH)</b>
11	<b>6,81 (m, 1H)</b>	<b>122,39 (CH)</b>
12	-	<b>148,02 (C)</b>
13	-	<b>153,78 (C)</b>
14	<b>3,32 (t, 3H); 6,3</b>	<b>32,11 (CH<sub>2</sub>)</b>
15	<b>1,89 (q, 2H); 6,3</b>	<b>24,94 (CH<sub>2</sub>)</b>
16	<b>2,07 (q, 2H); 6,3</b>	<b>25,98 (CH<sub>2</sub>)</b>
17	<b>4,01 (t, 2H); 6,3</b>	<b>46,63 (CH<sub>2</sub>)</b>
18	<b>7,75 (s, 1H)</b>	<b>119,58 (CH)</b>
19	-	-
20	-	<b>144,63(CH)</b>
21	<b>2,45 (s, 3H)</b>	<b>13,17(CH<sub>3</sub>)</b>
22	<b>4,05 (m, 1H)</b>	<b>56,44 (CH)</b>
23	<b>1,90-1,98 (m, 2H)</b>	<b>31,63 (CH<sub>2</sub>)</b>
24	<b>1,79-1,86 (m, 2H)</b>	<b>26,60 (CH<sub>2</sub>)</b>
25	<b>1,86-1,97 (m, 2H)</b>	<b>29,08 (CH<sub>2</sub>)</b>

## 6.2. AVALIAÇÃO ANTIPARASITÁRIA DOS HÍBRIDOS

### 6.2.1. Culturas de células e parasitos para os experimentos

Células RAW (ATCC<sup>®</sup>) foram cultivadas em meio *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) suplementado com 10% v/v de soro fetal bovino (SFB), com passagens sucessivas a cada 4-5 dias. As células foram dissociadas da monocamada mecanicamente por raspagem.

Células LLC-MK2 (ATCC<sup>®</sup>) foram cultivadas em meio DMEM + 5% SFB, com passagens sucessivas a cada 4-5 dias. As células foram dissociadas da monocamada por tratamento com solução contendo 0,25% m/v de tripsina e 0,04% EDTA.

*Trypanosoma cruzi* expressando a enzima  $\beta$ -galactosidase (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) (BUCKNER *et al.*, 1996) foi cultivado na forma trypomastigota por reinfecções sucessivas em monocamada de células LLC-MK2 em meio DMEM + 2% SFB. Formas tripomastigotas foram recolhidas do sobrenadante da cultura entre o 5º e o 10º dias após a infecção, e separados de células não aderidas por centrifugação diferencial.

Previamente aos experimentos, todas as células e parasitos foram lavados por centrifugação e suspensos nos respectivos meios de cultura, sendo a densidade da suspensão ajustada por contagem em câmara de Neubauer, utilizando-se como critério coloração por azul de tripan ou motilidade, respectivamente.

### 6.2.2. Soluções estoque dos Híbridos

Todos os híbridos (1-6) foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) à concentração de 30 mM. As concentrações utilizadas nos experimentos foram obtidas a partir da diluição da solução estoque, nos respectivos meios de cultura, de modo que a concentração máxima de DMSO nas culturas de células não ultrapassou 0,3% v/v (GERPE *et al.*, 2010; ISHII *et al.*, 2011).

### 6.2.3. Citotoxicidade contra macrófagos RAW

Em uma placa de 96 poços transparente, foi adicionada uma suspensão de  $3 \times 10^4$  macrófagos RAW (ATCC) em meio DMEM + 2% SFB. As células foram incubadas a 37°C (5% CO<sub>2</sub>) por 3 h e em seguida lavadas com PBS para remoção de células não aderidas, renovando-se o meio de cultura em seguida. Após incubação a 37°C (5% CO<sub>2</sub>) por 20 h as células foram tratadas com soluções 100  $\mu$ M dos híbridos (1-6) em triplicatas, pré-diluídos em DMEM + 2% SFB. Controles não tratados, veículo (0,3%

v/v DMSO) e branco (sem adição de células) foram incluídos no experimento. Após incubação por 48 h, o sobrenadante foi removido e a monocamada de células lavada com PBS, renovando-se o meio de cultura em seguida. Adicionaram-se então 20 µL de solução 3,0 mM de sal de MTT, seguindo-se incubação por mais 1,5 h. O sobrenadante foi então removido e os cristais de formazana de MTT dissolvidos pela adição de 120 µL/poço de DMSO. Após incubação por 1,5 h para dissolução dos cristais de MTT ao abrigo da luz e a 37°C, a absorbância foi medida a  $\lambda = 570\text{nm}$ , com o auxílio de um leitor de placas.

#### **6.2.4. Citotoxicidade contra células LLC-MK2**

Em uma placa de 96 poços transparente, foi adicionada uma suspensão de  $2 \times 10^4$  células LLC-MK2 (ATCC) em meio DMEM + 2% SFB. As células foram incubadas a 37°C (5% CO<sub>2</sub>) por 20 h, e em seguida lavadas com PBS para remoção de células não aderidas. As células foram tratadas com diluições seriadas dos híbridos em triplicatas, pré-diluídos em DMEM + 2% SFB. Controles não tratado, veículo (0,3% v/v DMSO) e branco (sem adição de células) foram incluídos no experimento. Após incubação por 120 h, o sobrenadante foi removido e a monocamada de células lavada com PBS, renovando-se o meio de cultura em seguida. Adicionaram-se então 20 µL de solução 3,0 mM de sal de MTT, seguindo-se incubação por mais 1,5 h. O sobrenadante foi então removido e os cristais de formazana de MTT dissolvidos pela adição de 120 µL/poço de DMSO. Após incubação por 1,5 h para dissolução dos cristais de MTT ao abrigo da luz e a 37°C, a absorbância foi medida a  $\lambda = 570\text{ nm}$  com auxílio de um leitor de placas.

#### **6.2.5. Atividade tripanocida contra amastigota de *T. cruzi***

Em uma placa de 96 poços transparente, foi adicionada uma suspensão de  $2 \times 10^4$  células LLC-MK2 (ATCC) em meio DMEM + 2% SFB. As células foram incubadas a 37°C (5% CO<sub>2</sub>) por 3 h e em seguida lavadas com PBS para remoção de células não aderidas. Uma suspensão contendo  $5 \times 10^5$  formas tripomastigotas de *T. cruzi* da cepa Tulahuen C2C4 LacZ, foi adicionada às células, seguindo-se incubação a 37°C (5% de CO<sub>2</sub>) por 20 h, para estabelecimento da infecção. Os parasitos não internalizados foram removidos por três lavagens sucessivas com PBS, seguindo-se tratamento com diluições seriadas dos híbridos (1-6), nas concentrações de 100 µM, 25

$\mu\text{M}$ , 6,3  $\mu\text{M}$ , 1,6  $\mu\text{M}$ , 0,4  $\mu\text{M}$ , 0,1  $\mu\text{M}$ , em triplicatas, pré-diluídos em DMEM + 2% SFB. Controles não tratados, veículo (0,3% v/v DMSO) e branco (sem adição de parasitos) foram incluídos no experimento. Benzonidazol foi utilizado, em diluição seriada, como controle positivo. Após a incubação por 5 dias (120 h), adicionaram-se então 30  $\mu\text{L}$  de solução 0,5 mM do substrato vermelho de clorofenol  $\beta$ -galactopiranosídeo (CPRG) em PBS, com 0,9% v/v Igepal CA-630. Após incubação por 1,5 h, a absorbância foi medida a  $\lambda = 570 \text{ nm}$ , com auxílio de um leitor de placas.

#### 6.2.6. Tratamento estatístico de dados

Os dados de absorbância foram convertidos em valores de viabilidade relativa à média do controle veículo, descontados da média do controle branco, conforme a fórmula abaixo:

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

$V(\%)$  = Viabilidade em %

$Abs$  = Leitura de absorbância em determinado poço

$M_B$  = Média da absorbância da triplicata do **Controle Branco**

$M_V$  = Média da absorbância da triplicata do **Controle Veículo**

Os valores de percentuais foram inseridos no software GraphPad Prism 7, onde foram realizados os cálculos estatísticos e gerados os gráficos apresentados. Para os cálculos da concentração inibitória do crescimento em 50% ( $CI_{50}$ ) foi utilizado o modelo padrão do software de regressão não linear para cada valor de concentração de inibidor *versus* resposta normalizada, com inclinação variável. Os valores de  $CI_{50}$  foram obtidos pela média de ao menos 3 experimentos independentes. Para os testes de significância estatística foi utilizada a análise de variância simples *one-way* ANOVA.

## 7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Através da metodologia sintética planejada e desenvolvida neste trabalho, foi possível sintetizar os híbridos propostos, utilizando a hibridação molecular como estratégia de modificação estrutural. Esses híbridos tiveram suas estruturas confirmadas através dos métodos convencionais de análise orgânica (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , EM e IV). Os híbridos sintetizados tiveram suas atividades tóxicas frente a amastigotas do *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) avaliadas, além de sua toxicidade frente a macrófagos (RAW) e células LLC-MK2. Todos os híbridos apresentaram atividades promissoras, comparáveis a do fármaco de referência, evidenciando o Híbrido 2 como o mais ativo da série ( $\text{CI}_{50} = <0,1 \mu\text{M}$ ). Já os ensaios de citotoxicidade frente a células de macrófagos (RAW) e células de linhagem (LLC-MK2) revelaram que todos os compostos apresentam de razoável a baixa toxicidade.

Como perspectiva do trabalho, destaco que a otimização do rendimento de algumas reações descritas neste trabalho será ajustada em nosso laboratório. Outras frentes de ação foram abertas, à luz dos resultados obtidos nesse estudo, como a expansão da série de híbridos, explorando outros derivados heterocíclicos da piperina, além da realização de modificações estruturais na porção piperínica (subunidade metileno-dioxi-fenil-2*E*,4*E*-pentadienoil). Com isso, será possível realizar um estudo de relação estrutura-atividade (*SAR*) para uma nova série de híbridos propostos. Adicionalmente, a estratégia de se atuar em mais de mecanismo de ação frente ao parasito se mostra, à luz dos resultados obtidos nesse estudo, como muito promissora. A posição do grupo nitro no núcleo nitroimidazólico, além do tamanho da cadeia espaçadora entre o triazol e o imidazol demonstram influenciar na atividade biológica dos híbridos planejados. O conjunto de resultados apresentados nesse trabalho evidencia a amida natural piperina como uma matéria-prima de elevado potencial para o desenvolvimento de novos fármacos antiparasitários. Adicionalmente, demonstrou-se a importância de grupos farmacofóricos nitroimidazólicos, presentes em fármacos com conhecida atividade antiparasitária, no desenvolvimento de novos antichagásicos.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-ABDULLAH, E. S.; ASIRI, H. H.; LAHSASNI, S.; HABIB, E. E.; IBRAHIM, T. M.; EL-EMAM, A. A. **Synthesis, antimicrobial, and anti-inflammatory activity, o novels S-substituted and N-substituted 5-(adamantyl)-1,2,4-triazole-3-thiols.** *Drug Des. Develop. Ther.*, 8, 505-518, **2014**.
- ALSTON, T. A.; ABELES, R. H. **Enzymatic conversion of the antibiotic metronidazole to an analog of Thiamine.** *Arch. Bioch. Bioph.* 257:2, 357-362, **1987**.
- ARAÚJO, C. R. M., LEITE FILHO, C. A., SANTOS, V. L. DOS, A., MAIA, G. L. DE A., & GONSALVES, A. DE A. **Drug development by molecular hybridization: A Medicinal Chemistry practice class using paracetamol and sulfadiazine tablets and the virtual tool SciFinder®.** *Química Nova*. São Paulo , v. 38, n. 6, p. 868-873, **2015**.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal As Bases Moleculares Da Ação Dos Fármacos** (2ª Edição; Artmed, ed.), **2008**.
- BARROSO FERREIRA, R. T., BRANQUINHO, M. R., & CARDARELLI-LEITE, P. **Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a Vigilância Sanitária.** *Vigilância Sanitária Em Debate*, 2(4), **2014**.
- BATISTA, R. S., GOMES, A. P., MONTEVERDE, D. T., MARTINS, G. M., COLOMBO, M. M., MESSEDER, J. C., & ANTONIO, V. E. **Neuroinfecção humana por *Trypanosoma cruzi*.** *Revista Neurociências*, 16(4), 310–315, **2008**.
- BOLZANI, C. V. J. e V. DA S., & BARREIRO, E. J. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna.** *Química Nova*, 29(2), 326–337, **2006**.
- BUSATTI, H. G. N. O.; VIEIRA, A. E. D.; VIANA, J. C.; SILVA, H. E.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; MARTINS-FILHO, O. A.; ALVES, R. J.; GOMES, M. A. **Effect of metronidazole analogues on *Giardia lamblia* cultures.** *Parasitol. Res.*, 102, 145-149, **2007**.
- BUCKNER, F. S., VERLINDE, C. L., LA FLAMME, A. C., & VAN VOORHIS, W. C. **Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(11), p. 2592-2597, **1996**.

CAPLAR, V., SUNJIC, V., & KAFJEZ, F. *N-Substitution in 2-Methyl-4(5)-nitroimidazole. New Syntheses of 1-(2-(ethylsulfonyl)ethyl)-2-methyl-5nitroimidazole. 11*, 1055–1060, **1974**.

CARDONA-G, W., YEPES, A. F., & HERRERA-R, A. Hybrid Molecules: **Promising Compounds for the Development of New Treatments Against Leishmaniasis and Chagas Disease**. *Current Medicinal Chemistry*, 25(30), 3637–3679, **2018**.

CARNEVALLIA, DENISE BERTIN; ARAUJO, A. P. S. DE. **Atividade Biológica da Pimenta Preta (Piper nigrum L.): Revisão de Literatura**. *UNICIÊNCIAS*, v. 17, n., 41–46, **2013**.

CDC - Centers for diseases control and prevention. **Global Health, Division of Parasitic Diseases**, 6 jun. **2019**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>, **2019**. Acesso em: 29 jun. 2019.

CHURCH, D. L., RABIN, H. R., & LAISHLEY, E. J. **Reduction of 2- , 4- and 5-nitroimidazole drugs by hydrogenase 1 in clostridium pasteurianum**. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 25(1), 15–23, **1990**.

CHAGAS, C. **Nova tripanozomiaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp., agente etiologico de nova entidade morbida do homem**. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 1(2), 159–218, **1909**.

CHEMICALBOOK. (n.d.). Disponível em: [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB0340968.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB0340968.htm) , Acesso em 31 de março de 2021.

CHEN, S.S. **The roles of imidazole ligands in coordination supramolecular systems**. *Cryst. Eng. Comm.*, 18, 6543–6565, **2016**.

COURA, J. R., & DE CASTRO, S. L. **A critical review on chagas disease chemotherapy**. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(1), 3–24, **2002**.

COURA, J. R. (2003). **Tripanosomose, Doença de Chagas**. In *Ciência e Cultura (online version)*. Retrieved from [http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=SCi\\_arttext&pid=S0009-67252003000100022](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=SCi_arttext&pid=S0009-67252003000100022), **2003**.

CROSSLAND, R. K.; SERVIS, K. I. **A facile synthesis of methanesulfonate esters.** *J. Org. Chem.*, 35(9), 3195-3196, **1970**.

DIAS, L. C., DESSOY, M. A., SILVA, J. J. N., THIEMANN, O. H., OLIVA, G., & ANDRICOPULO, A. D. **Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos.** *Química Nova*, 32(9), 2444–2457, **2009**.

DOS-SANTOS, L. C., FURLAN, M., AMORIM, M. R.. *Produtos Naturais Bioativos*. São Paulo: UNESP, **2016**.

DOS SANTOS FILHO, J. M.; LEITE, A. C. L.; OLIVEIRA B. G.; MOREIRA, D. R. M.; LIMA, M. S.; SOARES, M. P. B.; LEITE, L. F. C. C. **Design, synthesis and cruzain docking of 3-(4-substituted-aryl)-1,2,4-oxadiazole-N-acylhydrazones as anti-Trypanosoma cruzi agents.** *Bioorg. Med. Chem.*, 17(18), 6682-6691, **2009**.

DRUGBANK.CA. [S. l.], **2005**. Disponível em: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00916>. Acesso em 8 junho de 2019.

EDWARDS, D. I. **Mechanisms of selective toxicity of metronidazole and other nitroimidazole drugs.** *Sexually Transmitted Infections*, 56(5), 285–290, **1980**.

EDWARDS D. I., TOCHER J. H., DALE L. D., WIDDICK D., VIRK N.. **Effects of Bio-reducible Nitroimidazole and Benzotriazine Drugs.** In: Adams G. E., Breccia A., Fielden E. M., Wardman P. (Eds) **Selective Activation of Drugs by Redox Process.** *NATO ASI Series (Series A: Life Sciences)*, vol 198. Springer, Boston, MA. **1990**.

EL-ASHRY, E. S. H., KASSEM, A. A., ABDEL-HAMIND, H., LOUIS, F. F., KHATTAB, S. A. N., & Aouad, M. R. **Synthesis and alkylation of 5-(3-chlorobenzo[b]thien-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol under classical and microwave conditions. AM1 semiempirical calculations for investigating the regioselectivity of alkylation.** *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 43(6), 1421–1429, **2006**.

FERREIRA, W. S. FREIRE-DE-LIMA, L.; SARAIVA, V. B.; ALISSON-SILVA, F.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; PREVIATO, J. O.; ECHEVARRIA, A.; DE-LIMA, M. E. F. **Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural**

**piperine as trypanocidal agents: Chemical antibiographical studies.** *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 2984-2991, **2008**.

FERREIRA, W. S.; Franklim, T. N.; Lopes, N. D.; de Lima, M. E. F. **Piperina, seus análogos e derivados: potencial como antiparasitários.** *Rev. Virtual Quím.*, 4, 3, 208-224, **2012**.

FIOCRUZ. **Doença de Chagas: Fiocruz na vanguarda do estudo da enfermidade.** Acesso em 2 de maio de 2020, [https://agencia.fiocruz.br/doença-de-chagas-fiocruz-na-vanguarda-do-estudo-da-enfermidade](https://agencia.fiocruz.br/doenca-de-chagas-fiocruz-na-vanguarda-do-estudo-da-enfermidade), **2013**.

FIOCRUZ. Acesso em 9 de julho de 2020, <http://chagas.fiocruz.br/ciclo-evolutivo/#:~:text=cruzi possui variações morfológicas e,interior das células de mamíferos>, **2017**.

FRANKLIM, T. N.; FREIRE-DE-LIMA, L.; DINIZ, J. N. S.; PREVIATO, J. O.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; DE-LIMA, M. E. F.; CASTRO, R. N. **Design, synthesis and trypanocidal evaluation of novel 1,2,4-triazoles-3-thiones derived from natural piperine.** *Molecules*, 18, 6366-6382, **2013**.

FRANKLIM, T. N.; FREIRE-DE-LIMA, L.; CHAVES, O. A.; LAROCQUE-DE-FREITAS, I. F.; SILVA-TRINDADE, J. D.; NETTO-FERREIRA, J. C.; FREIRE-DE-LIMA, C. G.; DECOTÉ-RICARDO, D.; PREVIATO, J. O.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; LIMA, M. E. F. **Design, synthesis, Trypanocidal activity, and studies on human albumin interaction on novel S-alkyl-1,2,4-triazoles.** *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 00, No. 00, p. 1-17, **2019**.

FREIRE-DE-LIMA, L., RIBEIRO, T. S., ROCHA, G. M., BRANDÃO, B. A., ROMEIRO, A., MENDONÇA-PREVIATO, L., ... HEISE, N. **The toxic effects of piperine against Trypanosoma cruzi: ultrastructural alterations and reversible blockage of cytokinesis in epimastigote forms.** *Parasitology Research*, 102(5), 1059–1067, **2008**.

GARCIA, S., RAMOS, C. O., SENRA, J. F. V., VILAS-BOAS, F., RODRIGUES, M. M., CAMPOS-DE-CARVALHO, A. C., ... SOARES, M. B. P. **Treatment with Benznidazole during the Chronic Phase of Experimental Chagas' Disease Decreases Cardiac Alterations.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(4), 1521–1528, **2005**.

GERPE, A., BOIANI, L., HERNÁNDEZ, P., SORTINO, M., ZACCHINO, S., GONZÁLEZ, M. CERECETTO, H. **Naftifine-analogues as anti-*Trypanosoma cruzi* agents.** *Eur J Med Chem.* v. 45, p. 2154-2164, **2010**.

HALL, B. S., & WILKINSON, S. R. **Activation of benzimidazole by trypanosomal type I nitroreductases results in glyoxal formation.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(1), 115–123, **2012**.

HOTEZ, P. J., MOLYNEUX, D. H., FENWICK, A., KUMARESAN, J., SACHS, S. E., SACHS, J. D., & SAVIOLI, L. **Control of Neglected Tropical Diseases.** *New England Journal of Medicine*, 357(10), 1018–1027, **2007**.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola - Pesquisa mensal e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil.** Rio de Janeiro, 29(12), 1-82, **2016**.

IHMT - *Doenças Tropicais Negligenciadas anotações preliminares 1.* Retrieved from <https://www.ihmt.unl.pt/glossary/doencas-tropicais-negligenciadas/>, **2020**.

IKAN, R. **In: Natural Products: A Laboratory Guide**, Academic Press, 2<sup>a</sup> Ed: 233-238, **1991**.

ISHII, M., JORGE, S. D., OLIVEIRA, A. A., PALACE-BERL, F., CECHINEL, C. A., SONEHARA, I. Y., PASQUALOTO, K. F. M., TAVARES, L. C. **Synthesis, molecular modeling and preliminary biological evaluation of a set of novel 3-acetyl-2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazolines as potential antibacterial, anti-*T. cruzi*, and antifungal agents.** *Bioorg. Med. Chem.* v. 19, p. 6292-6301, **2011**.

KNOX, R. J., KNIGHT, R. C., & EDWARDS, D. I. **Studies on the action of nitroimidazole drugs.** *Biochemical Pharmacology*, 32(14), 2149–2156, **1983**.

KROPP, P. J. **Photobehavior of alkyl halides in solution: radical, carbocation, and carbene intermediates.** *Acc. Chem. Res.*, 17 (4), 131-137, **1984**.

KUMARI, S., CARMONA, A. V., TIWARI, A. K., & TRIPPER, P. C. **Amide Bond Bioisosteres: Strategies, Synthesis, and Successes.** *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(21), 12290–12358, **2020**.

- LAMOUNIER, J. A., MOULIN, Z. S., & XAVIER, C. C. **Recomendações quanto à amamentação na vigência de infecção materna TT - Recommendations for breastfeeding during maternal infections.** *Jornal de Pediatria*, 80(5), s181–s188, 2004.
- LEE, B. Y.; BACON, K. N.; BOTTAZZI, M. E.; HOTEZ, P. J. **Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model.** *The Lancet Infect. Dis.* 13(4), 342-348, 2013.
- LESSA, R. C. D. S. **1,2,3-triazole nucleus as a versatile tool for the obtainment of novel biologically active compounds: An overview.** *Revista Virtual de Química*, 13(1), 74–89, 2021.
- LIMA, L., & BARREIRO, E. **Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design.** *Current Medicinal Chemistry*, 12(1), 23–49, 2005.
- MAYA, J. D., BOLLO, S., NUÑEZ-VERGARA, L. J., SQUELLA, J. A., REPETTO, Y., MORELLO, A., ... CHAUVIÈRE, G. **Trypanosoma cruzi: Effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofurán derivatives.** *Biochemical Pharmacology*, 65(6), 999–1006, 2003.
- MANDALAPU, D., KUSHWAHA, B., GUPTA, S., SINGH, N., SHUKLA, M., KUMAR, J., ... SHARMA, V. L. **2-Methyl-4/5-nitroimidazole derivatives potentiated against sexually transmitted Trichomonas : Design, synthesis, biology and 3D-QSAR study.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, 124, 820–839, 2016.
- MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry-Reactions: Mecanism and Structure.** John Willey& Sons. 3ªed.: pags. 388, 437, 435, 1095, 1099, 110 e 1101, 1985.
- MILLER, M. W.; HOWES, H. L., JR., R. V. K., ENGLISH, A. A. R. **Alkylation of 2-Methyl-5-nitroimidazole. Some Potent Antiprotozoal Agents.** 13(1967), 849–852, 1970.
- MORENO, S. N. J., & DOCAMPO, R. **Mechanism of Toxicity of Nitro Compounds Used in the Chemotherapy of Trichomoniasis.** *Environmental Health Perspectives*. 64, 199–208, 1985.

MORETH, M.; ORNELAS D.; GOMES, C. R. B.; SOUZA, M. V. N. **Nitroimidazóis – uma promissora classe de substâncias para o tratamento da Tuberculose.** *Rev. Virtual Quím.*, 2(2), 105-117, 2010.

MSF - DOENÇA DE CHAGAS. Retrieved September 1, 2020, from [https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/doenca-de-chagas?utm\\_source=adwords\\_msf&utm\\_medium=&utm\\_campaign=doencas\\_geral\\_co\\_municacao&utm\\_content=\\_exclusao-saude\\_brasil\\_39923&gclid=CjwKCAjw4rf6BRAvEiwAn2Q76gyJ3s2isajllfzi3vw9CQ2NrZT-juwxxN0UgdUlkj1rwzsybi44bBoCaCoQAvD\\_BwE](https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/doenca-de-chagas?utm_source=adwords_msf&utm_medium=&utm_campaign=doencas_geral_co_municacao&utm_content=_exclusao-saude_brasil_39923&gclid=CjwKCAjw4rf6BRAvEiwAn2Q76gyJ3s2isajllfzi3vw9CQ2NrZT-juwxxN0UgdUlkj1rwzsybi44bBoCaCoQAvD_BwE), 2018.

MUREGI, F. W., & ISHIIH, A. **Next-generation antimalarial drugs: Hybrid molecules as a new strategy in drug design.** *Drug Development Research*, 71(1), 20–32, 2010.

NEWMAN, D. J., & CRAGG, G. M. **Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019.** *Journal of Natural Products*, 83(3), 770–803, 2020.

PATTERSON S, & WYLLIE S. **Nitro drugs for the treatment of trypanosomatid diseases: past, present, and future prospects.** *Trends Parasitol.*, 30(6), 289–298, 2014.

PÉREZ-MOLINA, J. A., & MOLINA, I. **Chagas disease.** *The Lancet*, 391(10115), 82–94, 2018.

RIBEIRO, T. S.; FREIRE-DE-LIMA, L.; PREVIATO, J. O.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; HEISE, N.; FREIRE-DE-LIMA, M. E. **Toxic effects of natural piperine and its derivatives on epimastigotes and amastigotes of Trypanosoma cruzi.** *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 3555–3558, 2004.

RIBEIRO, V., DIAS, N., PAIVA, T., HAGSTROM-BEX, L., NITZ, N., PRATESI, R., & HECHT, M. **Current trends in the pharmacological management of Chagas disease.** *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 12, 7–17, 2020.

SAADEH, H. A.; MOSLEH, I. M.; MUBARAK, M. S. **Synthesis of Novel Hybrid Molecules from Precursors With Known Antiparasitic Activity.** *Molecules*, 14, 1483-1494, 2009.

SAADEH, H. A.; MOSLEH, I. M., AL-BAKRI, A.G.; MUBARAK, M. S. **Synthesis and antimicrobial activity of new 1,2,4-triazole-3-thiol metronidazole derivatives.** *Monatsh Chem*, 141, 471-478, **2010**.

SALAM, A. M., & QUAVE, C. L. **Opportunities for plant natural products in infection control.** *Current Opinion in Microbiology*, 45, 189–194, **2018**.

SAYED, E., ASHRY, H. EL, AWAD, L. F., SOLIMAN, S. M., ABD, M. N., MOATY, A., ... BARAKAT, A. **Tautomerism aspect of thione-thiol combined with spectral investigation of some 4-amino-5-methyl-1,2,4-triazole-3-thione Schiff's bases.** *Journal of Molecular Structure*, 1146, 432–440, **2017**.

SEEBER, F., & BOOTHROYD, J. C. **Escherichia coli  $\beta$   $\beta$ -galactosidase as an in vitro and in vivo reporter enzyme and stable transfection marker in the intracellular protozoan parasite *Toxoplasma gondii*.** *Gene*, 169, p.39–45, **1996**.

SALLES XAVIER, S., SILVESTRE DE SOUSA, A., EMANUEL, P., AMERICANO DO BRASIL, A., GONÇALVES GABRIEL, F., TEIXEIRA DE HOLANDA, M., ... SICILIANO, V. **Incidence and Predictors of Sudden Death in Chronic Chagas Cardiopathy with Preserved Systolic Function**, **2005**.

SEMLER, U.; GROSS, G. G. **Distribution of piperine in vegetative parts of *Piper nigrum*.** *Phytochemistry*, 27, 5, 1566-1567, **1988**.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** Quinta edição- págs. 101 e 226.: LTC, **1994**.

SIMÕES, M. V., ROMANO, M. M. D., SCHMIDT, A., MARTINS, K. S. M., & MARTIN-NETO, J. A. **Chagas Disease Cardiomyopathy.** *International Journal of Cardiovascular Sciences*. Rio de Janeiro, v. 31, n. 2, p. 173-189, **2018**.

SKUPIN, R., COOPER, T. G., FRÖHLICH, R., PRIGGE, J., & HAUFE, G. **Lipase-catalyzed resolution of both enantiomers of Ornidazole and some analogues.** *Tetrahedron: Asymmetry*, 8(14), 2453–2464, **1997**.

SMITH, M. A., & EDWARDS, D. I. **Redox potential and oxygen concentration as factors in the susceptibility of helicobacter pylori to nitroheterocyclic drugs.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 35(6), 751–764, 1995.

STOPPANI, A. O. *The chemotherapy of Chagas disease.* *Medicina (Buenos Aires)* 59:147–165, 1999.

SUETH-SANTIAGO, V., FRANKLIM, T. N., LOPES, N. D., & LIMA, M. E. F. **CYP51: Is it a good idea?** *Revista Virtual de Quimica*, 7(2), 539–575, 2015.

TRIATOKEY. Centro de pesquisas René Rachou - FIOCRUZ MINAS. Disponível em: <http://triatoken.cpqrr.fiocruz.br/#&ui-state=dialog>. Acesso em: 10 jun. 2019.

TYAGY, V.; KHAN, S.; SHIVAHARE, R.; SRIVASTAVA, K.; GUPTA, S.; KIDWAI, S.; SRIVASTAVA, K.; PURI, S. K.; CHAUHAM, P. M. S. **A natural product inspired hybrid approach towards the synthesis of novel pentamidine based scaffolds as potential anti-parasitic agents.** *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 23, 291-296, 2013.

UCHIYAMA, N. **Antichagasic Activities of Natural Products against *Trypanosoma cruzi*.** *JOURNAL OF HEALTH SCIENCE*, 55(1), 31–39, 2009.

VALLI, M., & BOLZANI, V. S. **Natural Products : Perspectives and Challenges for use of Brazilian Plant Species in the Bioeconomy.** *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 91, 1–7, 2019.

VIEGAS-JUNIOR, C., BOLZANI, V. DA S., FURLAN, M., FRAGA, C. A. M., & Barreiro, E. J. **Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do Mal de Alzheimer.** *Química Nova*, 27(4), 655–660, 2004.

WHO (World Health Organization). **WHO/Technical Report of the TDR DiseaseReference Group on Chagas Disease, Human African Trypanosomiasis and Leishmaniasis**, TRS nr. 975, 2012. ([https://www.who.int/trypanosomiasis-african/resources/who\\_trs\\_975/en/](https://www.who.int/trypanosomiasis-african/resources/who_trs_975/en/)), acessado em 19 de abril de 2019.

WHO - **Global distribution of cases of Chagas disease, based on official estimates, 2018.** Retrieved September 1, 2020, from [https://www.who.int/docs/default-source/ntds/chagas-disease/chagas-2018-cases.pdf?sfvrsn=f4e94b3b\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/ntds/chagas-disease/chagas-2018-cases.pdf?sfvrsn=f4e94b3b_2), 2018.

WHO - **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Retrieved April 16, 2020, from [https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1), 2019.

WHO - Celebrating World Chagas Disease Day for the first time in 2020. Retrieved September 1, 2020, from <https://www.who.int/news-room/events/detail/2020/04/14/default-calendar/celebrating-world-chagas-disease-day-for-the-first-time-in-2020>, 2020.

XAVIER, S. C. C.; ROQUE, A. L. M.; BILAC, D.; ARAÚJO, V. A. L.; NETO, S. F. C.; LOROSA, E. S.; SILVA, L. F. C. F.; JANSEN, A. M. **Distantiae Transmission of Trypanosoma cruzi: A New Epidemiological Feature of Acute Chagas Disease in Brazil.** *PLOS Neglected Trop*, 8(5), e2878, 2014.