

SÍNTSE DE NOVOS DERIVADOS TRIAZOL-FTALIMIDA COM BASES PIRIMIDÍNICAS CONJUGADAS

Fernanda L. Ferreira¹; Ivan M. Barreto¹; Ronaldo N. de Oliveira¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco
fernanda.leite2@ufrpe.br

Palavras-Chave: Nucleosídeos, Antiviral, Quimica-click

Introdução

A síntese de compostos antivirais representa um pilar essencial da medicina contemporânea, cuja importância foi novamente destacada em escala global após a pandemia de COVID-19. Embora a emergência sanitária tenha saído do seu estado mais crítico, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) e o mapa endêmico de casos relatados da organização mundial da saúde (WHO), alertam que a contagem de casos da COVID-19 ainda persiste mundialmente, indicando que o vírus continua em circulação. Nesse contexto, a busca por compostos terapêuticos inovadores permanece como uma prioridade fundamental da nossa sociedade. Uma das estratégias mais promissoras para o desenvolvimento de novas moléculas é a hibridização molecular, que consiste em unir dois fragmentos bioativos em uma única estrutura por meio de ligantes adequados, potencializando assim sua atividade farmacológica (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007). Muitos fármacos antivirais, como remdesivir, molnupiravir e favipiravir, são análogos de nucleotídeos que interferem na replicação viral, seja pela incorporação no genoma do vírus ou pela inibição de enzimas-chave. Desse modo, a utilização de bases nucleotídicas modificadas como um dos fragmentos bioativos demonstra um vasto potencial. Paralelamente, as ftalimidas, reconhecidas por sua ampla bioatividade antiviral, antitumoral, anticonvulsivante e antibacteriana, surgem como um núcleo farmacofórico versátil e promissor para a conjugação com outros centros ativos. Extensos estudos envolvem sua atividade antiviral em casos de herpes e HIV, com sua ação baseada na capacidade de atuar como imunomodulador (YANG et al., 2010). Adicionalmente, sua atividade antitumoral deriva da ação imunomoduladora e da inibição de citocinas, tal como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (HASHIMOTO, 2002). A ação anticonvulsivante das ftalimidas está presente no remédio ethosuximida, enquanto sua atividade antibacteriana demonstrou ser alta contra bactérias Gram-negativas. (LAMIE et al., 2015).

Para viabilizar essa hibridização, a reação de cicloadição azida-alcino catalisada por cobre (I) (CuAAC), uma reação *click* desenvolvida por Karl Barry Sharpless e Morten Meldal, destaca-se como uma ferramenta sintética fundamental. Caracterizada por sua simplicidade, alta regiosseletividade e bons rendimentos, essa metodologia impulsionou a descoberta de fármacos inéditos e é amplamente aplicada na química medicinal hoje. A reação funciona por meio da união de uma azida orgânica a um alcino terminal para formar um anel 1,2,3-triazólico.

O núcleo 1,2,3-triazol, resultante da reação CuAAC, tem característica à sua notável estabilidade metabólica e capacidade de atuar como um farmacóforo bioativo. A literatura comprova extensivamente sua ampla gama de atividades biológicas, incluindo ações antiviral, antibacteriana, anticancerígena e anti-inflamatória (DHEER et al., 2017). Portanto, unindo a necessidade de novos antivirais à potência da hibridização molecular, o objetivo principal deste trabalho é a síntese, a caracterização e a avaliação da atividade biológica de uma nova série de híbridos contendo centro bioativos triazol-ftalimida conjugados com bases pirimidínicas.

Material e Métodos

Reagentes P.A utilizados neste trabalho foram obtidos comercialmente pela Sigma-Aldrich. A Purificação se deu por meio de coluna cromatográfica aberta a pressão ambiente utilizando de sílica em gel 60 (0,063-0,2 mm/ 70-230 Mesh). As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD) e reveladas em luz ultravioleta (365 nm).

O trabalho foi realizado sequencialmente em três etapas sintéticas principais. A primeira etapa consistiu na preparação da azida orgânica, a N-(3-azidopropil)ftalimida, adaptada de Assis e colaboradores (2019). Para isso, partiu-se da N-(3-bromopropil)ftalimida, que foi submetida a reação com azida de sódio (NaN_3) em N,N-dimetilformamida (DMF) previamente seca, como solvente. Após o tempo de reação, o solvente em excesso foi removido sob pressão reduzida em um evaporador rotatório. O sólido residual foi então solubilizado em acetato de etila e submetido a uma etapa de purificação por partição líquido-líquido com água.

A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e concentrada novamente no evaporador rotatório, resultando num óleo amarelado, posteriormente foi realizado coluna para purificação do óleo obtido sob utilizando hexano e acetato de etila (proporção 8:2, v/v), por fim com rendimento de 70%.

A segunda etapa envolveu a síntese dos alcinos mono- e bis-alquilados derivados das bases pirimidínicas (uracila e fluorouracila), seguindo a metodologia de Guimarães (2018). Cada base foi solubilizada em DMF seco, seguida pela adição de carbonato de potássio (K_2CO_3). A reação de alquilação foi iniciada com a adição de brometo de propargila sob atmosfera inerte de argônio (Ar). A mistura final foi submetida a partição entre acetato de etila e água. A fase orgânica foi purificada por cromatografia em coluna (CC) utilizando sílica gel e misturas de acetato de etila e hexano como eluentes.

A terceira e última etapa compreendeu a conjugação via "reação click" de Huisgen 1,3-dipolar catalisada por cobre(I), conforme descrito por Sharpless e colaboradores (2001). Para isso, a base pirimidínica bis-alquilada (alcino) foi solubilizada em acetonitrila (CH_3CN) sob atmosfera de argônio. Adicionou-se o catalisador de Cu(I) e trietilamina (Et_3N) como base. Uma solução da azida orgânica em CH_3CN foi transferida gota a gota para a mistura reacional, que foi mantida sob agitação por 2 horas. O solvente foi removido sob pressão reduzida no evaporador rotatório e o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel em topo seco, utilizando acetato de etila e hexano (proporção 9:1, v/v) como sistema. Os rendimentos finais para os conjugados da fluorouracila, com proporção estequiométrica 1:1 (alcino/azida) foram de 35% (mono-triazol) e 20% (bis-triazol). Para o conjugado de uracila, a reação com igual proporção estequiométrica forneceu o derivado mono-triazol com um rendimento de 46%. Os produtos purificados foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho (IV) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C e armazenados.

Resultados e Discussão

Inicialmente, os reagentes utilizados na síntese, as bases pirimidínicas alquiladas, mono- e dissubstituídas, foram sintetizados e cedidos pela equipe de pesquisa do Laboratório de Síntese de Compostos Bioativos (LSCB) da Universidade Rural Federal de Pernambuco.

Todos os intermediários e produtos obtidos foram caracterizados por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (IV) e por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear em 1 e 2 dimensões (RMN 1D/2D). A análise de IV foi realizada com o equipamento Perkin Elmer, modelo Spectrum 400, e a de RMN com o Varian, modelo Unity Plus de 100 e 400 MHz. Ambos os equipamentos estão localizados na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco (Central Analítica DQF/UFPE).

A formação dos produtos em reação foi visualizada qualitativamente através da Cromatografia em Camada Delgada (CCD) em placas de sílica. Nesses testes, a mancha relativa ao produto mostrou-se com menor Rf (fator retenção) do que a do reagente de partida, verificado no sistema de eluição de acetato de etila e metanol (proporção 9:1, v/v). A confirmação da estrutura do produto foi obtida pelo aparecimento da banda referente ao estiramento do grupo triazólico e pela presença do alcino terminal, conforme observado nos espectros de IV e RMN ^1H e ^{13}C .

No entanto, o uso de uma proporção estequiométrica equimolar 1:1 dos reagentes mostrou-se desfavorável para a síntese do bis-triazol conjugado da uracila. Essa condição levou à formação preferencial do mono-triazol com 46% de rendimento como produto majoritário, resultando em uma formação mínima do bis-triazol.

Percebe-se, portanto, que a reação entre uma base pirimidínica bis-alquilada e uma azida, na proporção de 1:1, gerou um derivado com um anel triazol e a permanência de um alcino terminal. Esse resultado é decorrente da reação de cicloadição que ocorreu de forma incompleta, o que justifica o rendimento do mono-triazol de 35% da fluoruracila em detrimento do bis-triazol desta última, com 20% de rendimento. Observa-se, no entanto, que a permanência do alcino terminal apresenta potencial para outras reações posteriores, como o acoplamento de outras azidas.

Conclusões

Este trabalho visou ao desenvolvimento de novos agentes antivirais por meio da síntese e caracterização de híbridos moleculares que conjugam triazol-ftalimida a bases pirimidínicas. Para isso, foi utilizada uma rota sintética inovadora, que emprega condições suaves de pressão atmosférica e temperatura ambiente, com compostos de baixa toxicidade, mostrando-se rápida e estereoespecífica.

Observou-se que a reação entre uma base pirimidínica bis-alquilada e uma azida, na proporção de 1:1, gerou predominantemente um derivado com um anel triazol e a permanência de um alcino terminal. Esse resultado decorreu de uma cicloadição que ocorreu de forma incompleta, o que justifica o rendimento do mono-triazol da fluoruracila (35%) em detrimento do bis-triazol (20%). Diante disso, a permanência do alcino terminal nos derivados mono-triazol apresenta potencial para funcionalizações posteriores, como o acoplamento com outras azidas.

Por fim, vale ressaltar que os testes de citotoxicidade e atividade antiviral contra arbovírus serão realizados no Laboratório de Virologia e Terapia Experimental do Departamento de Virologia do Instituto Aggeu Magalhães da Fundação Oswaldo Cruz, em Pernambuco.

Referências

ASSIS, S. P. O.; SILVA, M. T.; Silva, F. T.; SANT'ANNA, M. P.; TENÓRIO, C. M. B. A.; SANTOS, C. F. B.; FONSECA, C. S. M.; SEABRA, G.; LIMA, V. L. M.; OLIVEIRA, R. N. Design and synthesis of triazole-phthalimide hybrids with antiinflammatory activity. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 67, p. 96-105, 2019.

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

GUIMARÃES, B. M. **Síntese de glicoglicerolipídios contendo pirimidinas a partir do glicerol e tri-O-acetyl-D-glucal**. 2018. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Química, Recife, 2018.

HASHIMOTO, Y. Structural development of biological response modifiers based on thalidomide. **Bioorg Med Chem**, v. 10, n. 3, p. 461-79, 2002.

LAMIE, P. F.; PHILOPPES, J. N.; EL-GENDY, A. O.; RAROVA, L.; GRUZ, J. Design, Synthesis and Evaluation of Novel Phthalimide Derivatives as in Vitro Anti-Microbial, Anti-Oxidant and Anti-Inflammatory Agents. **Molecules**, v. 20, p. 16620-16642, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. Genebra: OMS, 2025.

RAMESH, D.; MOHANTY, A. K.; DE, A.; VIJAYAKUMAR, B. G.; SETHUMADHAVAN, A.; MUTHUVEL, S. K.; MANI, M.; KANNAN, T. Uracil derivatives as HIV-1 capsid protein inhibitors: design, in silico, in vitro and cytotoxicity studies. **RSC Advances**, v. 12, n. 27, p. 17466-17480, 2022.

VIEGAS-JUNIOR, C.; DANUELLO, A.; SILVA BOLZANI, V. da; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 17, p. 1829-1852, 2007.

YANG, Y. J.; ZHAO, J. H.; PAN, X. D.; ZHANG, P. C. Synthesis and Antiviral Activity of Phthiobuzone Analogues. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 58, n. 2, p. 208-211, 2010.