

SÍNTESE DE NOVOS 1,2,3-TRIAZÓIS-GLÍCERO-PIRIMIDÍNICOS ACETILADOS

Laura A. A. Dantas¹; Bruna M. Guimarães¹; Ronaldo N. de Oliveira¹

1 Universidade Federal Rural de Pernambuco-Departamento de Química (UFRPE), Recife-PE;

Ctt.lauradantas@gmail.com

Palavras-Chave: glicerol, nucleosídeos, 1,2,3-triazóis.

Introdução

Nos últimos anos, diversas pesquisas têm evidenciado uma correlação significativa entre as alterações climáticas globais e a elevação da incidência de epidemias, particularmente aquelas mediadas por vetores, como Zika, Chikungunya e Dengue (Semenza et al., 2022). O surto de microcefalia registrado no Brasil, associado à infecção pelo vírus Zika caracterizada por redução do número de neurônios e morte celular neural evidenciou a urgência no desenvolvimento de intervenções farmacológicas e vacinais eficazes. Entre as estratégias terapêuticas investigadas, os análogos de nucleosídeos têm se destacado em virtude de sua reconhecida capacidade de inibir a replicação viral. Nesse contexto, o sofosbuvir constitui um exemplo relevante, tendo demonstrado recentemente atividade contra o ZIKV (Li et al., 2022).

No cenário da COVID-19, os análogos de nucleosídeos representam aproximadamente 13% dos fármacos aprovados para uso clínico, incluindo agentes como o Remdesivir e o Molnupiravir (Schultz et al., 2022). O Tenofovir, tradicionalmente empregado no tratamento do HIV e da hepatite B, também apresenta atividade promissora contra o SARS-CoV-2. Estudos de acoplamento molecular sugerem que sua forma difosfato mimetiza a estrutura do trifosfato de adenosina (ATP), o que potencializa sua atuação como inibidor da polimerase viral (Braga et al., 2022; Xu & Zhang, 2023).

Os compostos 1,2,3-triazóis têm despertado crescente interesse no setor farmacêutico devido à sua versatilidade estrutural e ampla gama de atividades biológicas. Moléculas contendo esse núcleo apresentam propriedades farmacológicas relevantes, incluindo ação antimicrobiana, antitumoral, antiviral, anti-inflamatória e antimalária. Tais características têm estimulado o desenvolvimento de novos compostos com potencial terapêutico em múltiplas áreas da medicina (Dheer et al., 2017).

Neste contexto, o presente estudo propõe a síntese de novos análogos de nucleosídeos com potencial atividade antiviral contra o vírus Zika e o SARS-CoV-2, com o objetivo de contribuir para o avanço de alternativas terapêuticas eficazes e seguras.

Material e Métodos

A proteção das bases pirimidínicas (uracila, timina e fluorouracila) foi realizada em duas etapas. Inicialmente, as bases (1 eq.) foram solubilizadas em 4 mL de piridina seca e 12 mL de acetonitrila (1:3), com posterior adição de cloreto de benzoíla (3 eq.). A mistura foi submetida a aquecimento em micro-ondas (150 W, 80 °C) por 40 min. Ao final, realizou-se extração com acetato de etila e água destilada. O resíduo foi dissolvido em solução de K₂CO₃ 0,5 M (3 mL) e 1,4-dioxano (3 mL) e irradiado novamente em micro-ondas a 70 °C por 3 min. A purificação foi feita por recristalização (acetona/água 1:1), com rendimentos de 58%, 75% e 78%, respectivamente.

A uma solução de 10 mmol do carbonato de glicerol em 2,5 mL de díclorometano pré-seco foi adicionado a uma solução de 13,11 mmol de cloreto de tosila em 2,5 mL de DCM pré-

seco permanecendo em agitação em banho de gelo. Em seguida adicionou 17,8 mmol de trietilamina, a mistura reacional permaneceu em agitação por 16h em temperatura ambiente. Após o fim da reação realizou a extração com diclorometano e água destilada, em seguida lavou fase orgânica com uma solução de HCl à 0,2 M e uma solução saturada de NaHCO₃. Posteriormente, secou a mistura reacional com Sulfato de sódio anidro, seguindo com a respectiva purificação por cristalização acetato de etila e hexano (1:1), o composto foi obtido com 62% de rendimento.

Os glíceros pirimidínicos foram preparados através da solubilização de 0,5 mmol das bases pirimidínicas protegidas em DMF (seco) e posterior adição de 0,5 mmol (CH₃)₃CO⁻K⁺ em agitação por 30 min. Em seguida, foi adicionado 10,75 mmol do carbonato de glicerol tosilado solubilizado em 1 mL de DMF (seco). A mistura reacional foi levada ao micro-ondas (150W) à 80°C durante 1h. Posteriormente, purificado por coluna cromatográfica (DCM/1,4-dioxano, 9,5:0,5) com rendimentos de 81, 72 e 17% respectivamente.

A etapa de azidação foi realizada através da solução de 0,35 mmol do glíceros (uracila, timina e fluoruracila) em 1 mL de uma mistura de DMF/DMSO (1:1) para então adição de 0,52 mmol de NaN₃, levando a mistura reacional ao refluxo à 110°C por 1h. Após purificação por coluna cromatográfica em sistema gradiente de eluentes: Hex/AcOEt (1:1), AcOEt e AcOEt/MeOH (9:1, 8:2) obtendo os compostos com rendimento de 28, 35 e 23% respectivamente.

Para a formação do azido-glícero acetilado foi preparado através da solubilização de 0,15 mmol do azidos-glíceros em Ac₂O (100 eq) e posterior adição de I₂ (10% m/m). A reação permaneceu em agitação a temperatura ambiente por 3h. Posteriormente, purificada em coluna cromatográfica em sistema gradiente de eluentes: 100% AcOEt e AcOEt/MeOH (9:1) apresentando rendimento de 30% para a uracila e 18% para a timina.

Para a formação dos triazóis foi preparada uma solução de 0,35 mmol do alcino comercial em 0,5 mL da mistura água e terc-butanol (1:1) e posterior adição de 0,14 mmol do ascorbato de sódio e 0,10 mmol do CuSO₄.5H₂O. A mistura reacional permaneceu em agitação por alguns minutos e em seguida, foi adicionado 0,29 mmol do azidos-glíceros (uracila e timina) solubilizado em 0,5 mL da mistura de água e terc-butanol (1:1). A reação permaneceu em agitação a temperatura ambiente e sob atmosfera de argônio por 2h. A purificação dos compostos foi realizada por coluna cromatográfica (AcOEt/Hexano, 8:2) foram obtidos com rendimento de 31% e 67% respectivamente.

Resultados e Discussão

Inicialmente seguindo a metodologia descrita por Bessières e colaboradores (2016), promovemos a proteção do N-3, através da benzoilação para tornar a formação dos glíceros seletivo e evitar o produto bisalquilado. Também aplicamos a proteção utilizando a metodologia por agitação, a fim de proteger a base fluorouracila, que inicialmente não reagiu completamente com a metodologia do micro-ondas. A purificação por uso da recristalização em água/acetona na proporção de 1:1 mostrou ser viável com rendimentos de 58, 75 e 78% para uracila, timina e fluoruracila respectivamente.

A síntese do carbonato de glicerol tosilado (CGT) foi realizada a partir da tosilação do carbonato de glicerol seguindo a metodologia apresentada por Matos e colaboradores (2022) em meio alcalino com cloreto de tosila representado. Após purificação por recristalização em hexano e acetato de etila o composto foi obtido com 62% de rendimento

A obtenção dos glíceros-pirimidínicos (uracila, timina e fluoruracila) foi realizada a partir da metodologia descrita por nosso grupo de pesquisa (Guimarães, 2022) com carbonato de glicerol tosilado e as bases protegidas (uracila, timina e fluoruracila) com Terc-butóxido de

potássio obtendo 81% para a uracila, 72% para a timina e 17% para a fluoruracila. Os derivados glíceros-pirimidínicos apresentaram alto teor de polaridade e dificuldade de solubilização, por isso a princípio realizamos recristalização em acetona/água (1:1), porém à dificuldade de purificação preferiu a coluna cromatográfica (DCM/1,4-dioxano, 9,5:0,5).

Após a síntese e caracterização dos glíceros-pirimidínicos, realizamos a abertura do anel carbonato pela NaN_3 , obtendo os azidos álcoois (uracila, timina e fluorucila, os compostos foram obtidos com rendimentos de 28, 35 e 23% respectivamente.

Para a formação dos azido glícero acetilados inicialmente promovemos a reação entre os azido-glíceros (uracila, timina), o anidrido acético (Ac_2O) e I_2 (10% m/m) como catalisador, após apurificação por coluna cromatográfica em sistema gradiente de eluentes: 100% AcOEt e AcOEt/MeOH (9:1) os compostos foram obtidos com rendimentos de 30% e 18% respectivamente.

Para a obtenção dos compostos triazólicos acetilados (uracila e timina) foram realizadas alterações na metodologia padrão descrita por Da Costa e colaboradores (2016) na reação de cicloadição 1,3-dipolar entre os azidos-glíceros (uracila e timina) e o alcino comercial 4-etinoltolueno em uma mistura de água e terc-butanol (1:1), dobrando a proporção de CuSO_4 totalizando 60%(m/m) e 80%(m/m) de Ascorbato-Na respectivamente. Após a purificação em coluna cromatográfica ($\text{AcOEt}/\text{Hexano}$ 8:2), os compostos foram obtidos com rendimentos de 31% para uracila e 68% para timina respectivamente.

Conclusões

A síntese do carbonato de glicerol realizada com rendimento de 97% e carbonato de glicerol tosilado com 62% de rendimento. Em seguida foram preparadas as bases pirimidínicas protegidas por meio da N 3 -benzoilação, obtendo os compostos com rendimentos de 58%, 75% e 78%, respectivamente. Após reação com o carbonato de glicerol tosilado obteve-se os glíceros-pirimidínicos (uracila, timina e fluoruracila) apresentando rendimento de 81%, 72% e 17% respectivamente. Os azido-glíceros (uracila, timina e fluoruracila) foram sintetizados a partir da abertura do anel carbonato pela NaN_3 com rendimento de 28, 35 e 23%, respectivamente. Os azido-glícero actilados, foram obtidos utilizando o Ac_2O e I_2 obtendo a com rendimento 30% para uracila e 18% para a timina). Ao dobrar a proporção dos catalisadores na obtenção dos 1,2,3-triazoís e mostrou maior eficiência por rendimentos melhores em relação a condição padrão, apresentando rendimentos de 31% e 68% respectivamente. Os azido-glícero actilados foram obtidos utilizando o Ac_2O e I_2 obtendo a com rendimento 30% para uracila e 18% para a timina). Os triazóis acetilados foram obtidos com rendimento de 31% para a uracila e 67% para a timina.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, FACEPE e centrais analíticas DQF-UFRPE e LABMAQ-UFRPE.

Referências

- Bessières, M.; Sari, O.; Roy, V.; Warsycki, D.; Bojarski, A. J.; Nolan, S. P.; Snoeck, R.; Andrel, G.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Sonication-Assisted Synthesis of (*E*)-2-Methyl-but-2-enyl Nucleoside Phosphonate Prodrugs. *Chemistry Select*, 1, 3108-3113, 2016.
- Braga, T. C.; Dos Santos, J. A.; De Castro, P. P.; Amarante, G. W.; Avanços recentes na síntese do remdesivir, molnupiravir (EIDD-2801) e tenofovir: moléculas promissoras no tratamento da covid-19. *Química Nova*, 45 53-73, 2022.
- Da silva, G. B.; Guimaraes, B. M.; Assis, S.P.O.; Sena, V. L. M.; De Oliveira, R. N. Ultrasound-Assisted Synthesis of 1- β -D-Glucopyranosyl-1'-1,2,3-triazole Benzoheterocycles and their Anti-Inflammatory Activities. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 24, p. 914-921, 2013.
- Dheer, D.; Singh, V.; Shankar, R.; Medicinal attributes of 1,2,3-triazoles: current developments. *Bioorganic Chemistry*, 71, 30-54, 2017.

Frieden, M., Giraud, M., Reese, C. B.; Song, Q. Synthesis of 1-[*cis*-3-(hydroxymethyl)cyclobutyl]-uracil, -thymine and -cytosine. **Journal of Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry**. 17, 2827-2832, 1998.

Guimarães, B. M.; Planejamento sintético, elucidação estrutural e avaliação biológica de inéditos O-glicosídeos 2,3-insaturados candidatos a drogas com propriedades bioativas. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, p.134, 2022.

Li, K.; Ji, Q.; Jiang, S.; Zhang, N.; Advancement in the development of therapeutics against zika virus infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 12, 946957, 2022.

Schultz, D. C.; Johnson, R. M.; Ayyanathan, K.; Miller, J.; Whlg, K.; Kamalla, B.; Dittmar, M.; Weston, S.; Hammond, H. L.; Dillen, C.; Ardanuy, J.; Taylor, L.; Lee, J. S.; Li, M.; Lee, E.; Shoffler, C.; Petucci, C.; Constant, S.; Ferrer, M.; Thalss, C. A.; Frleman, M.; Cherry, S.; Pyrimidine inhibitors synergize with nucleoside analogues to block sars-cov-2. **Nature**, 604, 134-140, 2022.

Semenza, J. C.; Rocklov, J.; Ebi, K. L.; Climate Change and Cascading Risks from Infectious Disease. **Infectious Diseases and Therapy**, 11, 1371-1390, 2022