

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

Laura A. A. Dantas¹; Bruna M. Guimarães¹; Carla J. O. e Silva²; Ronaldo N. de Oliveira¹.

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco-Departamento de Química (UFRPE), Recife-PE; ²Universidade Federal de Pernambuco- Departamento de Química Fundamental(UFPE), Recife- PE

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

Introdução

Nos últimos anos, estudos revelaram que as alterações climáticas estão fortemente ligadas com o aumento de epidemias, principalmente aquelas relacionadas a vetores como Zika, Chikungunya e Dengue (Semenza, *et al.* 2022). O surto de pacientes microcefálicos no Brasil associados à redução de neurônios e morte neural causados pelo Zika vírus, levou a necessidade de desenvolvimento de vacinas e medicamentos antivirais eficazes. Análogos de nucleosídeos são descritos como potencial inibidor na replicação viral, como o sofosbuvir que recentemente mostrou ser ativo contra ZIKV (Li, *et al.* 2022).

Os análogos de nucleosídeos representam 13% das drogas validadas no tratamento da COVID-19, dentre elas podemos citar o Remdesivir e o Molnupiravir (Schultz, *et al.* 2022). O Tenofovir, atualmente é um antiviral utilizado no combate ao vírus do HIV e Hepatite B e estudos de ancoragem molecular demonstraram que sua forma de difosfato equipara ao ATP, aumentando seu potencial como inibidor do vírus SARS-Cov-2 (Braga, *et al.* 2022; Xu e Zhang, 2023). Os nucleosídeos de pirimidina ou purina desempenham um papel fundamental no organismo humano, atuando no metabolismo ou como neurotransmissores (Casteel e Hays, 2017). Os análogos de nucleosídeos também representam uma importante classe com atuação no processo de síntese de ácidos nucleicos, sendo fundamental na intervenção de replicação celular e viral. Entre exemplos de fármacos podemos citar Gencitabina no tratamento de doenças pancreáticas, Citarabina no tratamento de leucemia mieloide aguda e Azidotimidina no tratamento do HIV (Wright e Lee, 2021).

Os 1,2,3-triazóis têm despertado interesse na área farmacêutica devido à sua diversidade estrutural e atividade biológica. Muitos compostos que contêm o núcleo triazólico exibem propriedades farmacológicas importantes, como atividade antimicrobiana, antitumoral, antiviral, anti-inflamatória e até mesmo atividade antimalárica. Essas propriedades têm motivado a pesquisa e o desenvolvimento de novos compostos, visando aplicação terapêutica em diversas áreas da medicina. (Dheer *et al.* 2017).

Neste trabalho, vislumbramos a síntese de novos agentes antivirais, através da síntese de novos análogos de nucleosídeos visando seu potencial biológico contra os vírus Zika e o Sars-Cov-2.

Material e Métodos

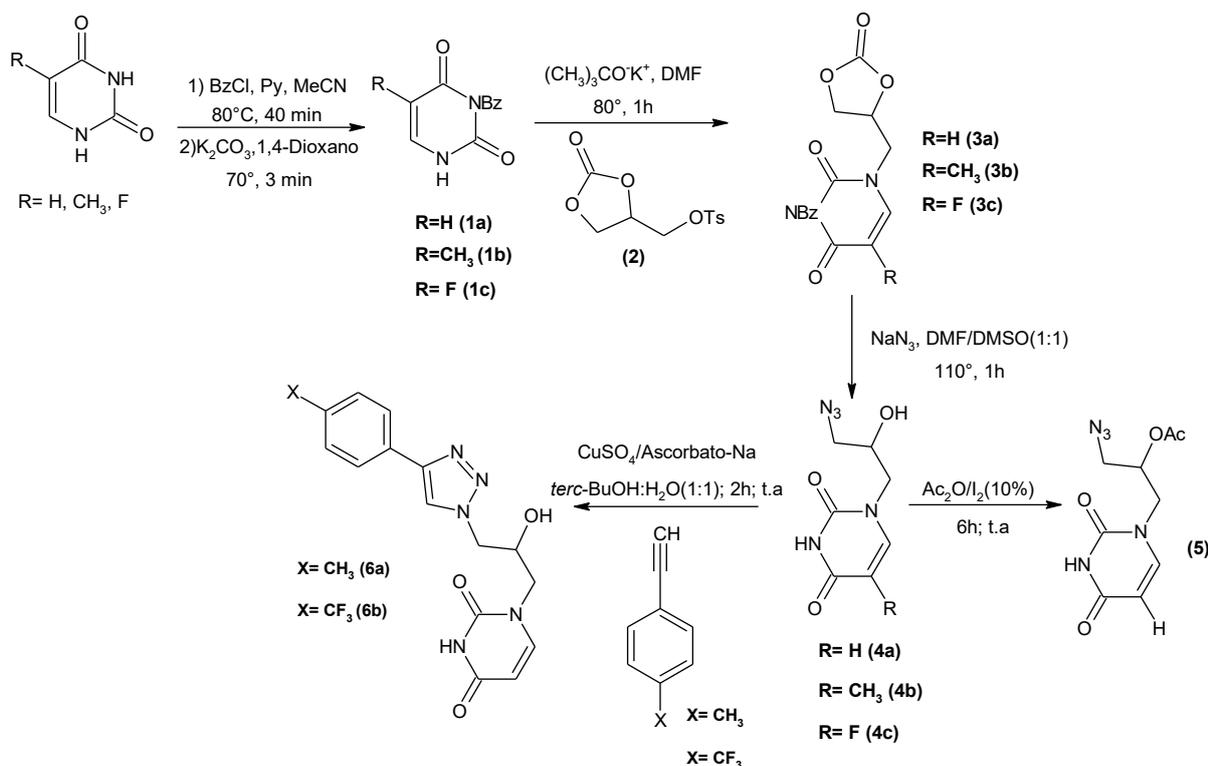


Figura 1: Rota sintética para síntese de novos 1,2,3-triazóis-glicero-pirimidínicos

A proteção das bases pirimidínicas (**1a-c**), foram realizadas em duas etapas. As bases pirimidínicas (uracila, timina, fluorouracila) foram solubilizadas em acetonitrila/piridina seca, para posterior adição de cloreto de benzoila (3eq.). A mistura reacional permaneceu por 40 min à 80°C no micro-ondas (150W). Ao fim da reação foi realizado a extração em acetato de etila (3x15 mL) e água destilada (3x10 mL). O resíduo foi então dissolvido em uma mistura de uma solução K₂CO₃ 0,5M (3 mL) e 1,4-dioxano (3 mL) sendo irradiado novamente no micro-ondas à 70°C durante 3 min. Posteriormente, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório. A purificação dos compostos foi realizada por cristalização acetona e água destilada (1:1).

Os compostos (**3a-c**) foram preparados através da solubilização de 0,5 mmol das bases pirimidínicas protegidas (**1a-c**) em DMF (seco) e posterior adição de 0,5 mmol (CH₃)₃CO⁺K⁻ em agitação por 30 min. Em seguida, foi adicionado lentamente 0,75 mmol do carbonato de glicerol tosilado (**2**) solubilizados em 1 mL de DMF (seco). A mistura reacional foi levada ao micro-ondas (150W) à 80°C durante 1h. Posteriormente, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório, seguindo com a respectiva purificação por coluna cromatográfica.

A etapa de azidação e formação dos compostos (**4a-c**) foi realizada através da solução de 0,35 mmol do glicero (**3a-c**) 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. Ao fim da reação, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório para em seguida realizar a purificação por coluna cromatográfica.

O composto (**5**) foi preparado através da solubilização de 0,15 mmol do azido-glicero (**4a**) em Ac₂O (100 eq) e posterior adição de I₂ (10% m/m). A reação permaneceu em agitação a temperatura ambiente por 3h. Posteriormente, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório e purificada em coluna cromatográfica.

Para a formação dos triazóis (**6a e b**) foi preparada uma solução de 0,35 mmol do alcino comercial em 0,5 mL da mistura de solvente água e *tert*-butanol (1:1) e posterior adição de 0,14 mmol do ascorbato de sódio e 0,10 mmol do sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O). A

mistura reacional permaneceu em agitação por alguns minutos e em seguida, foi adicionado 0,29 mmol do azido-glicero (**4a**) solubilizado em 0,5 mL da mistura de solvente água e *tert*-butanol (1:1). A reação permaneceu em agitação a temperatura ambiente e sob atmosfera de argônio por 2h. Ao fim da reação, a mistura foi concentrada no evaporador rotatório. A purificação dos compostos foi realizada por coluna cromatográfica (AcOEt/MeOH, 9:1).

Resultados e Discussão

Inicialmente seguindo a metodologia descrita por Bessières e colaboradores (2016), promovemos a proteção do *N*-3 através da benzoilação para aumentar a seletividade e evitar a desprotonação nos dois nitrogênios da uracila e seus derivados. No entanto, não obtivemos o consumo total do material de partida no tempo estabelecido pela metodologia e com isso, prolongamos o tempo reacional. Efetuamos também a proteção com a metodologia por agitação, pela possibilidade da obtenção da *N*³-benzoilação em maiores quantidades apesar da necessidade de elevados tempos reacionais (Frieden *et al.*, 1998). Como consequência, a utilização da metodologia por agitação foi essencial para proteção da base fluorouracila que inicialmente não reagiu completamente pela metodologia do micro-ondas. Como método de purificação, o uso da recristalização em água/acetona na proporção de 1:1 mostrou ser viável com bons rendimentos para os compostos (**1a-c**) de 58, 75 e 78% respectivamente.

A síntese do carbonato de glicerol tosilado (**2**) foi realizada a partir da tosilção do carbonato de glicerol utilizando TsCl/Et₃N em DCM (pré-seco) obtendo o composto com rendimento de 62% após purificação por recristalização em hexano e acetato de etila.

A obtenção dos gliceros-pirimidínicos (**3a-c**) foi realizada a partir da metodologia descrita por nosso grupo de pesquisa (Guimarães, 2022). Os derivados gliceros-pirimidínicos apresentaram alto teor de polaridade e dificuldade de solubilização, por isso realizamos além da coluna cromatográfica a recristalização em acetona/água (1:1) como método de purificação com rendimentos de 81, 72 e 17% para o derivado da uracila, timina e fluorouracila respectivamente.

Após a síntese e caracterização dos gliceros-pirimidínicos, realizamos a síntese dos azido-gliceros-pirimidínicos através da abertura do anel carbonato pela NaN₃. Os compostos (**4a-c**) foram obtidos com rendimentos de 28, 35 e 23% respectivamente.

Na tentativa de melhorar o rendimento apresentado e a dificuldade de purificação por coluna cromatográfica para a formação dos azido-gliceros (**4a-c**), foram adotadas duas estratégias utilizando a acetilação visando diminuir a polaridade baseado na metodologia de Silva e colaboradores (2013). Promovemos inicialmente a reação entre o azido-glicero (**4a**), o anidrido acético (Ac₂O) e gotas de H₂SO₄. No entanto, foi observado durante o acompanhamento reacional por placas CCD, o aparecimento de diversas manchas não sendo interessante a purificação em coluna cromatográfica. Partimos então para a metodologia utilizando o Ac₂O e I₂ (10% m/m), o composto (**5**) foi obtido com rendimento de 30%.

Para a obtenção dos compostos triazólicos (**6a e b**) foi utilizada a reação de cicloadição 1,3-dipolar entre o azido-glicero (**4a**) e os alcinos comerciais (4-etinil tolueno e 4-etinil trifluorotolueno), empregando a metodologia CuSO₄/Ascorbato-Na/*tert*-BuOH:H₂O. Os compostos triazólicos (**6a e b**) foram obtidos em 2h de reação com rendimentos de 47 e 28% respectivamente.

Conclusões

Foram sintetizados e caracterizados 8 compostos inéditos entre intermediários e finais. O composto (**4a**) apesar de não ser inédito, sua metodologia é inovadora e é nosso principal intermediário para formação dos compostos finais inéditos. Todos os 9 compostos até agora sintetizados possuem grande potencial antiviral, devido à presença do anel pirimidínicos, tornando esse anel susceptível a reações nucleofílicas com maiores possibilidades de modificações estruturais e sucesso nos estudos antivirais.



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.; AndreI, G.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Sonication-Assisted Synthesis of (*E*)-2-Methyl-but-2-enyl Nucleoside Phosponate 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-1,2,3-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
- Wright, N. J.; Lee, S.-Y.; S.; Toward a molecular basis of cellular nucleoside transport in humans. **Chemical Reviews**, 9, 5336-5358, 2021.