



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSÉ GEOVANE JORGE DE MATOS

**SÍNTESE, DIVERSIDADE ESTRUTURAL DE GLICERO-TRIAZÓIS
PIRIMIDÍNICOS E ESTUDO DE SUA ATIVIDADE ANTIVIRAL**

Recife

2022

JOSÉ GEOVANE JORGE DE MATOS

**SÍNTESE, DIVERSIDADE ESTRUTURAL DE GLICERO-TRIAZÓIS
PIRIMIDÍNICOS E ESTUDO DE SUA ATIVIDADE ANTIVIRAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Nascimento de Oliveira

Recife

2022

Catálogo na fonte
Bibliotecária Luiza de Oliveira, CRB4-1316

M433s Matos, José Geovane Jorge de
Síntese, diversidade estrutural de glicero-triazóis pirimidínicos e estudo de sua atividade antiviral / José Geovane Jorge de Matos. – 2022.
103 f.: il.

Orientador: Ronaldo Nascimento de Oliveira.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN, Química, Recife, 2022.

Inclui referências. Inclui apêndice.

1. Glicerol. 2. Triazol. 3. Pirimidina. 4. Antiviral. I. Oliveira, Ronaldo Nascimento de (orientador). II. Título.

547 CDD (23. ed.) UFPE - CCEN 2022-155

JOSÉ GEOVANE JORGE DE MATOS

**SÍNTESE, DIVERSIDADE ESTRUTURAL DE GLICERO-TRIAZÓIS
PIRIMIDÍNICOS E ESTUDO DE SUA ATIVIDADE ANTIVIRAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: 23/08/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Ronaldo Nascimento de Oliveira (Orientador)

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Ivani Malvestiti

Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Patricia Lopes Barros de Araújo

Universidade Federal de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Dedico à minha mãe Josefa Jorge de Matos que sempre acreditou na potencialidade dos seus filhos, foi com muita dedicação, carinho e incentivo que a mesma, realizou o sonho de ver os quatro filhos ingressando na Universidade Federal de Pernambuco. Aos meus irmãos: Gerllane Matos, Gilberto Matos e Giselly Matos pelo o companheirismo e apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo o dom da vida por ter me conduzido nesta caminhada e por ter me concebido sabedoria, coragem e determinação. Sou grato ao Senhor pelas conquistas, ensinamentos e pela superação dos obstáculos existentes no caminhar da vida. É a Deus a quem primeiro agradeço.

Agradeço ao meu orientador, o professor Ronaldo Nascimento pela oportunidade concedida e pela rica e proveitosa contribuição no decorrer do mestrado.

Aos colegas de laboratório (LSCB-UFRPE), em especial, Bruna Guimarães e Carla Jasmine pela experiência, convivência, aprendizagem e resiliência.

À contribuição do Dr. Lindomar José Pena e de Willyenne Marília Dantas em relação aos resultados da atividade de citotoxicidade.

Agradeço a Coordenação da Pós-Graduação em Química da UFPE pelo acolhimento e pelo suporte ofertado, à Secretária Patrícia pela prestatividade. Ao corpo docente, em especial, aos que diretamente lecionaram as disciplinas, a saber: Flamarion Borges, Paulo Menezes, Ana Paula, Licarion Pinto, Thereza Soares, Eduardo Falcão e Maria Goreti.

À Central Analítica do Departamento de Química Fundamental, CENAPESQ-UFRPE, LABMAQ-UFRPE pela realização das análises.

Aos colegas do dQF Wilson Paulo, Jefferson Queiroz, Edson Lima pela amizade, troca de conhecimentos e pelo os bons momentos.

À todos os amigos e familiares que contribuíram de forma direta e indireta para a minha formação acadêmica.

À FACEPE pela bolsa.

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizados novos derivados de azido glicero-pirimidínicos e 1*H*-1,2,3-triazol glicero-pirimidínicos. Inicialmente foi obtido o carbonato de glicerol tosilado **45** e o azido-glicerol carbonato **47** com rendimentos de 61% e 79%, respectivamente. *N*³-Benzoilação das bases pirimidínicas foi realizada empregando irradiação de micro-ondas para obtenção dos compostos **44a-c** em bons rendimentos. Em seguida, foram sintetizadas as bases pirimidínicas propargílicas **46a-c** através da reação entre as bases pirimidínicas protegidas e o brometo propargílico, obtendo-se rendimentos que variaram entre 57% e 93%. A reação entre os alcinos terminais e o azido-glicerol carbonato **47** via cicloadição 1,3-dipolar catalisada por sais de cobre (CuAAC) forneceu os triazóis pirimidínicos inéditos **50a-b** com bons rendimentos. Em uma segunda rota, foi realizado a síntese dos glicero-pirimidínicos **48a-b** através da reação entre bases pirimidínicas protegidas (*N*-benzoíla) e do carbonato de glicerol tosilado **45**. Depois, sob condições de refluxo, empregando uma mistura binária de solventes DMF:DMSO, foi feito a abertura do anel carbonato dos glicero-pirimidínicos **48a-b** com azida de sódio (NaN₃), formando assim, as inéditas azido glicero-pirimidinas **49a-b**. Dentre os compostos sintetizados, alguns deles foram direcionados para a avaliação de citotoxicidade através do método MTT frente a linhagens de células Vero e HepG2. O composto **50a** foi menos tóxico em células Vero e HepG2 apresentando um valor de CC₂₀ e CC₅₀ maior que 1000 µM. Em contrapartida, o composto **46a** foi o mais tóxico em células Vero, com valor de CC₂₀ de 10,7 µM e o composto **49b** foi o de maior toxicidade em células HepG2 com um valor de CC₂₀ de 14,5 µM. Os resultados de CC₂₀ e de viabilidade celular mostraram que os compostos testados têm baixa citotoxicidade e podem ser avaliados contra vírus em doses maiores com maior segurança. Por fim, foi realizado a atividade antiviral contra o ZIKV em células Vero, e constatamos que os derivados azido glicero-pirimidina **49b** e triazol-pirimidínico **50a** apresentaram uma moderada atividade antiviral. O intermediário *N*-propargílico **46a** mostrou um resultado interessante de atividade antiviral com IC₅₀ de 0,7 µM e um índice de seletividade (SI) de 1040,3.

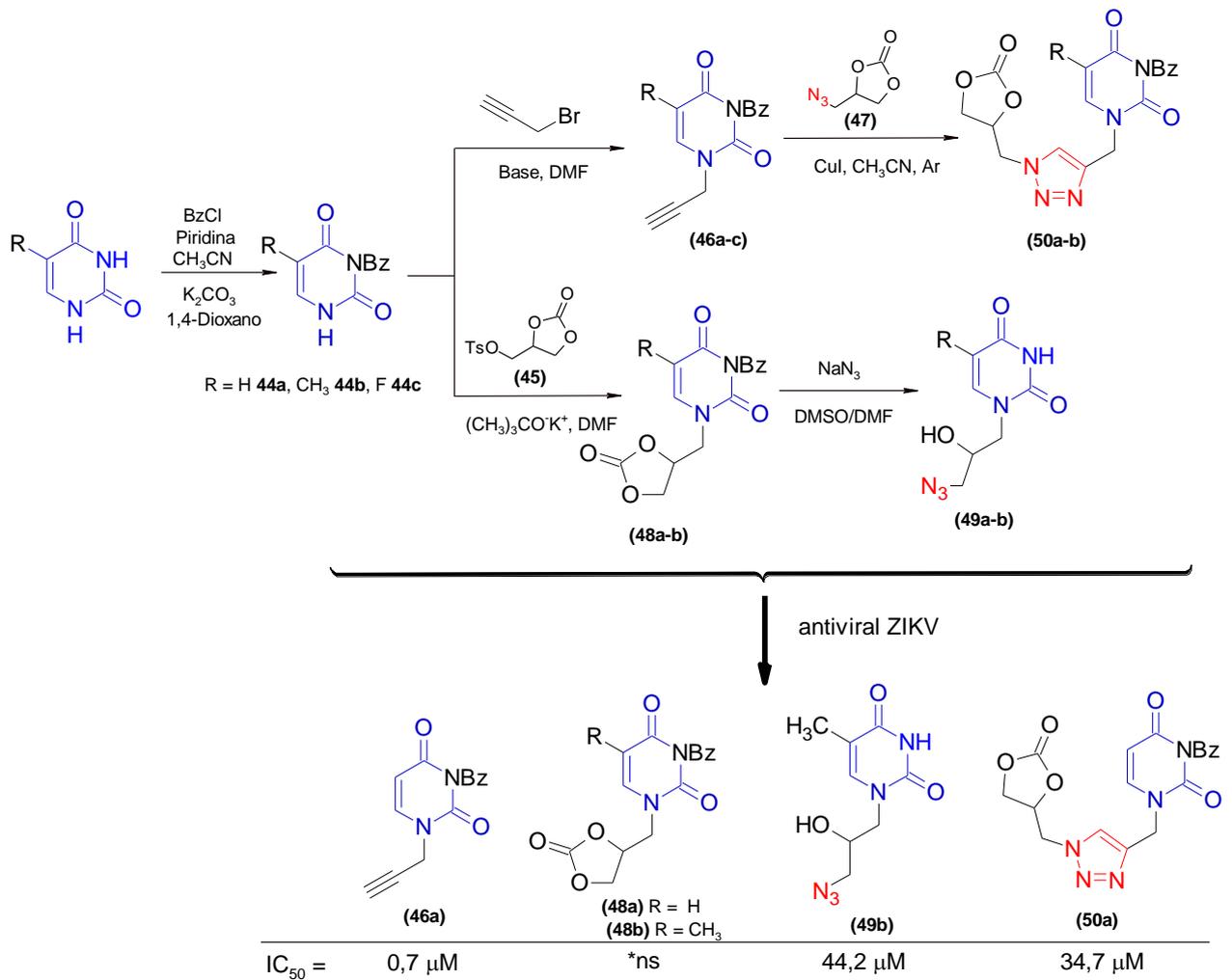
Palavras-chave: glicerol; triazol; pirimidina; antiviral.

ABSTRACT

In this work, new azido glyceropyrimidine and 1*H*-1,2,3-triazole glyceropyrimidine derivatives were synthesized. Initially, tosylated glycerol carbonate **45** and azido-glycerol carbonate **47** were obtained with yields of 61% and 79%, respectively. *N*³-Benzoylation of pyrimidine bases was performed using microwave irradiation in the preparation of compounds **44a-c** in good yields. Then, the propargylic pyrimidine bases **46a-c** were synthesized through the reaction between the protected pyrimidines and propargyl bromide in moderate to good yields (57-93%). The reaction between terminal alkynes and azido-glycerol carbonate via 1,3-dipolar cycloaddition reaction catalysed by copper salts (CuAAC) provided the synthesis of novel pyrimidine triazoles **50a-b** with good yields. In a second route, the synthesis of glyceropyrimidines **48a-b** was carried out through protected pyrimidine bases (*N*-benzoyl) and tosylated glycerol carbonate. Then, under reflux conditions, using a binary mixture of solvents DMF:DMSO, the carbonate ring of the glycerol-pyrimidines was opened with sodium azide (NaN₃) furnishing glyceropyrimidine azides **49a-b**. Among the synthesized compounds, some of them were evaluated for cytotoxicity against Vero and HepG2 cell lines. Thus, compound **50a** was less toxic in Vero and HepG2 cells with CC₂₀ and CC₅₀ values greater than 1000 μM. In contrast, compound **46a** was the most toxic in Vero cells with CC₂₀ value of 10.7 μM, and compound **49b** was the most toxic in HepG2 cells with CC₂₀ value of 14.5 μM. The CC₂₀ and cell viability results showed that the tested compounds have low cytotoxicity and can be evaluated against viruses at higher doses with greater safety. Finally, antiviral activity against ZIKV was performed in Vero cells, and we found that compounds **49b** and **50a** showed moderate antiviral activity. The *N*-propargyl intermediate **46a** showed an interesting result in antiviral activity with IC₅₀ of 0.7 μM and a selectivity index (SI) of 1040.3.

Keywords: glycerol; triazole; pyrimidine; antiviral.

RESUMO GRÁFICO



*ns = não-significativo para p < 0,05

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAC	Reação de Cicloadição 1,3 – dipolar Azida-Alcino
AcOEt	Acetato de etila
ap.	Aparente
CC₂₀	Refere-se à concentração do composto que causa uma redução de 20% na viabilidade celular
CC₅₀	Refere-se à concentração do composto que causa uma redução de 50% na viabilidade celular
IC₅₀	Refere-se a concentração do composto que inibe 50% do título viral
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl₃	Clorofórmio deuterado
CG	Carbonato de Glicerol
CGT	Carbonato de Glicerol Tosilado
CuAAC	Reação de cicloadição 1,3-dipolar Azida – Alcino Catalisado por Cobre
dd	Duplo duplete
DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d₆	Dimetilsulfóxido deuterado
eq.	Equivalente
Hex	Hexano
HOMO	Orbital Molecular de mais Alta energia
J	Constante de acoplamento
logP	Logaritmo do coeficiente de partição octanol-água
LUMO	Orbital Molecular de mais baixa energia
m	Multiplete
M.O.	Micro-ondas

MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-Tetrazólio
ppm	Partes por milhão
R_f	Fator de retenção
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RuAAC	Reação de cicloadição 1,3-dipolar Azida – Alcino Catalisado por Rutênio
s	Simpleto
S_N2	Substituição nucleofílica bimolecular
t	Tripleto
TEA	Trietilamina
δ	Deslocamento químico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diversidade estrutural dos heterociclos aromáticos azólicos (MELO <i>et al.</i> , 2006).....	19
Figura 2 - Exemplos de medicamentos em uso ou em avaliações clínicas contendo o núcleo 1,2,3 triazólico (ZHANG <i>et al.</i> , 2017).....	20
Figura 3 - Exemplos de análogos de nucleobases usadas na quimioterapia antiviral.....	21
Figura 4 - Principais rotas sintéticas para a obtenção do carbonato de glicerol (ROUSSEAU <i>et al.</i> , 2009).....	23
Figura 5 - Sítios reativos do carbonato de glicerol (Adaptado de SIMÃO <i>et al.</i> , 2006).....	24
Figura 6 - Substituição bioisostérica entre a Imatinib e seu análogo triazólico (MALIK <i>et al.</i> , 2020).....	28
Figura 7 - Representação das estruturas de ressonância dos 1,3-dipolos (Adaptado de BREUGST, REISSIG, 2020)	29
Figura 8 - Representação dos orbitais de fronteira e as interações orbitales dipolo – dipolarófilo via cicloadição 1,3-dipolar (SANTOS, 2006).....	30
Figura 9 - Estruturas químicas de medicamentos empregados no tratamento do câncer e de infecções virais (RAMESH, VIJAYAKUMAR, KANNAN, 2020).....	32
Figura 10 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400MHz) do composto (45).....	51
Figura 11 - Espectro de infravermelho do composto (47).....	52
Figura 12 - Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400MHz) e expansões do composto (47).....	54
Figura 13 - Espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400MHz) do composto (44a).....	56

Figura 14 - Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz) e expansões do composto (48b).....	58
Figura 15 - Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz) do composto (49b).....	60
Figura 16 - Espectro de infravermelho do composto (46a).....	63
Figura 17 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) do composto (46a).....	64
Figura 18 - Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz) e expansões do composto (50a).....	67
Figura 19 – Possível representação do atropoisomerismo em sistemas do tipo $\text{sp}^3 - \text{sp}^3$ do composto 48a.....	69
Figura 20 - Estruturas dos derivados pirimidínicos.....	70

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Reação geral para produção de biodiesel (DÍAZ-VAREZ <i>et al.</i> , 2011).....	22
Esquema 2 - Mecanismo de transcarbonatação catalisado por base (B ⁻) (OCHOA GOMÉZ <i>et al.</i> , 2009).....	24
Esquema 3 - Funcionalização adicional do carbonato de glicerol por meio do grupo hidroxílico (OCHOA GOMÉZ <i>et al.</i> , 2012).....	25
Esquema 4 - Tautomerismo dos 1,2,3 – triazóis (MELO <i>et al.</i> , 2016).....	25
Esquema 5 - Possíveis rotas sintéticas de derivados de 1,2,3 triazóis (FENG <i>et al.</i> , 2020).....	26
Esquema 6 - Proposta mecanística para a reação CuAAC envolvendo um intermediário de cobre dinuclear (WORRELL <i>et al.</i> , 2013).....	27
Esquema 7 - Formação do cicloaduto pela interação entre 1,3-dipolo e um dipolarófilo.....	29
Esquema 8 - Possíveis tautômeros da uracila.....	32
Esquema 9 - Desprotonação N -1 e a consequente dispersão da carga negativa na reatividade dos derivados de uracila (BONCEL, GONDELA, WALCZAK, 2008).....	33
Esquema 10 - Síntese de análogos de nucleosídeos pirimidínicos contendo o núcleo 1,2,3 triazólico (TAKUR <i>et al.</i> , 2014).....	34
Esquema 11 - Estratégia sintética na preparação dos derivados de triazóis e azido-glicero-pirimidínicos.....	36
Esquema 12 - Proposta de mecanismo para a formação do CGT.....	49
Esquema 13 - Síntese do azido-glicerol carbonato.....	51

Esquema 14 - Síntese das bases pirimidínicas protegidas por N^{β} – benzoilação.....	54
Esquema 15 - Obtenção dos glícero-pirimidínicos.....	56
Esquema 16 – Síntese de (49a,b) via abertura do anel carbonato.....	59
Esquema 17 - Síntese dos alcinos terminais a partir das bases pirimidínicas protegidas.....	60
Esquema 18 - Cicloadição 1,3-dipolar entre o azido – glicerol carbonato e as bases pirimidínicas protegidas.....	64
Esquema 19 - Proposta mecanística envolvida na síntese dos derivados triazólicos através do intermediário de cobre dinuclear.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados espectroscópicos de RMN ¹ H (400 MHz) e RMN ¹³ C (100 MHz) do composto 45.....	50
Tabela 2 – Dados espectroscópicos de RMN ¹ H (400 MHz) e RMN ¹³ C (100 MHz) do composto 47.....	53
Tabela 3 – Comparação entre rendimentos obtidos das bases pirimidínicas protegidas por meio da recristalização e da coluna cromatográfica.....	55
Tabela 4 – Comparação entre os rendimentos obtidos dos glicero – pirimidínicos por meio da recristalização e da coluna cromatográfica.....	57
Tabela 5 – Condições reacionais empregadas em micro-ondas para a síntese do alcino (46a).....	61
Tabela 6 – Resultado obtido da síntese das bases pirimidínicas monoalquiladas.....	62
Tabela 7 – Rotação específica dos derivados de triazóis e azido-glicero-pirimidínicos.....	68
Tabela 8 – Valores de CC ₂₀ e CC ₅₀ determinados pelo método MTT em células Vero.....	70
Tabela 9 – Valores de CC ₂₀ e CC ₅₀ determinados pelo método MTT em células HepG2.....	72
Tabela 10 - Citotoxicidade (CC ₅₀), atividade antiviral (IC ₅₀) e índice de seletividade (SI) dos compostos 46a , 49b e 50a em células Vero.....	74

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Percentual de viabilidade celular em função de diferentes concentrações dos compostos determinado pelo método MTT frente às células Vero.....	71
Gráfico 2 - Percentual de viabilidade celular em função de diferentes concentrações dos compostos determinado pelo método MTT frente às células HepG2.....	72
Gráfico 3 - Resultados da atividade antiviral contra o ZIKV.....	73

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
2.1 A Química do Carbonato de Glicerol.....	22
2.2 1,2,3 Triazóis 1,4 – Dissubstituídos.....	25
2.3 Cicloadição 1,3-Dipolar.....	29
2.4 Síntese de Derivados Pirimidínicos.....	31
3 OBJETIVOS	35
3.1 Geral.....	35
3.2 Específicos.....	35
3.3 Estratégia Sintética.....	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 Procedimentos gerais.....	37
4.2 Equipamentos.....	37
4.3 Síntese do (2 – oxo – 1,3 dioxolan – 4 – il) metil 4 – metilbenzenossulfonato (45) [CAS Reg. N°949895-84-5].....	38
4.4 Síntese do 4-(azidometil)-1,3-dioxolan-2-ona (47) [CAS Reg. N°949896- 03-1].....	38
4.5 Procedimento da <i>N</i> ³ -benzilação das bases pirimidínicas (44a-c).....	39
4.6 Procedimento Geral na Síntese dos glicero-pirimidínicos (48a-b).....	40
4.7 Procedimento Geral na Síntese dos azido-glicero-pirimidínicos (49a-b).....	42
4.8 Obtenção das bases monoalquiladas (46a-c).....	43
4.9 Obtenção dos derivados triazólicos monosubstituídos (50a-b).....	44
4.10 Avaliação da atividade citotóxica.....	46
4.11 Atividade antiviral.....	46
4.12 Ensaio de pós-infecção.....	46
4.13 Ensaio de determinação do IC ₅₀	47
4.14 Titulação de amostras (método TCID ₅₀).....	47

4.15 Análise estatística.....	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
5.1 Síntese do carbonato de glicerol tosilado a partir do glicerol (45).....	49
5.2 Síntese do azido – glicerol carbonato a partir do carbonato de glicerol tosilado (47).....	51
5.3 Proteção por meio da <i>N</i> ⁶ -benzilação das bases pirimidínicas (44a-c).....	54
5.4 Síntese dos glicero – pirimidínicos (48a-b).....	56
5.5 Síntese dos azido – glicero – pirimidínicos (49a-b).....	58
5.6 Síntese das bases pirimidínicas monoalquiladas (46a-c).....	60
5.7 Síntese dos derivados triazólicos monossustituídos (50a-b).....	64
5.8 Atividade óptica e atropoisomerismo.....	68
5.9 Teste de citotoxicidade.....	70
5.10 Atividade antiviral.....	73
6 CONCLUSÃO.....	76
7 PERSPECTIVAS.....	77
REFERÊNCIAS.....	78
APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN E DE INFRAVERMELHO.....	85

1 INTRODUÇÃO

A síntese de compostos heterocíclicos biologicamente ativos tem despertado o interesse da comunidade científica no sentido de possibilitar a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos. Neste contexto, os compostos heterocíclicos se caracterizam por possuir uma ampla gama de aplicações em termos de produtos terapêuticos, exibindo assim, inúmeras atividades biológicas (CANDUZINI, 2012). Tais compostos desempenham um papel vital no metabolismo de todos os seres vivos, e estão envolvidos em quase todos os processos bioquímicos necessários a manutenção da vida (PEARCE, 2017). Dentre os compostos heterocíclicos aromáticos nitrogenados destacam-se a classe do azol, englobando o pirrol (1), tiazol (2), oxazol (3), pirazol (4), imidazol (5), 1,2,3 – triazol (6), 1,2,4 – triazol (7), tetrazol (8) e pentazol (9) (MELO *et al.*, 2006). A diversidade estrutural desta classe pode ser observada na Figura 1.

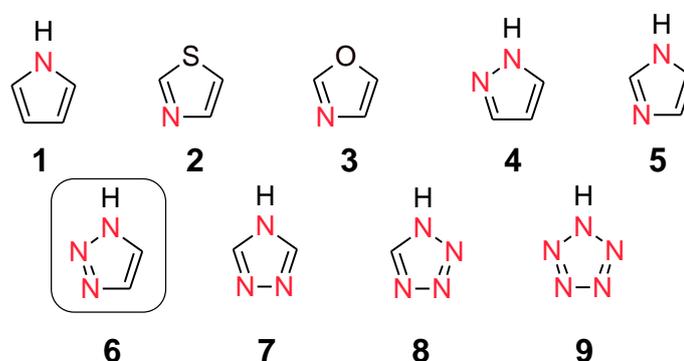


Figura 1: Diversidade estrutural dos heterociclos aromáticos azólicos (MELO *et al.*, 2006).

Entre os compostos *N*-heterocíclicos, o 1,2,3 triazol (**6**) ganhou-se notoriedade devido ao seu amplo uso em química sintética e medicinal, sendo considerado um importante sistema farmacofórico (DÜĞDÜ *et al.*, 2016). A rota sintética mais popular para a síntese de 1,2,3 triazóis é por meio da cicloadição 1,3-dipolar de Huisgen via catálise pelo Cu (I) entre alcinos e azidas orgânicas, com a formação regioespecífica do regioisômero 1,4 - dissusbtituído. (BOZOROV, ZHAO, AISA, 2019). Dentro do universo da *Click Chemistry*, a cicloadição 1,3-dipolar azida – alcino terminal via catálise por Cu (I), designada de reação CuAAC, tem recebido uma atenção especial pelo fato de promover a

obtenção de compostos em curto período de tempo com potenciais aplicações na área de materiais e na área biológica (FREITAS *et al.*, 2011).

As propriedades favoráveis dos triazóis, a saber: caráter dipolar moderado, capacidade de formar ligações de hidrogênio, rigidez e estabilidade sob condições *in vivo*, são características responsáveis por suas significativas atividades biológicas (THOMAS *et al.*, 2011). Portanto, os derivados de 1,2,3 triazóis apresentam diversas atividades biológicas, tais como: anticâncer (XU, ZHAO, LIU, 2019), antibacteriana (ZHANG, 2019), anti – HIV (FENG, 2020), antitubercular (ZHANG *et al.*, 2017), anti – leishmania (TEIXEIRA *et al.*, 2018), antiviral (KAOUKABI *et al.*, 2018), antifúngico (FU *et al.*, 2017), entre outros. Além disso, o núcleo 1,2,3 triazólico é encontrado em moléculas como promissores produtos farmacêuticos, a qual podem se tornar medicamentos disponíveis comercialmente (VICTOR *et al.*, 2019). A Figura 2 a seguir exemplifica os medicamentos atualmente em uso que contém o núcleo 1,2,3 triazólico.

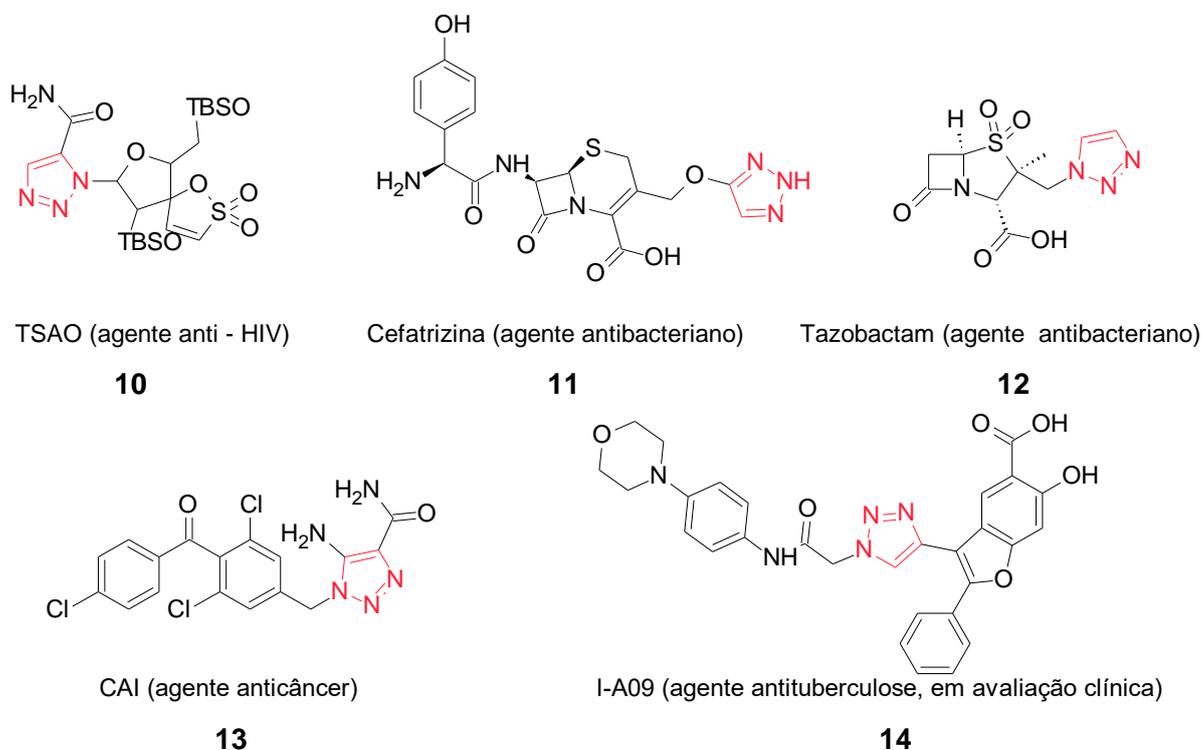


Figura 2. Exemplos de medicamentos em uso ou em avaliações clínicas contendo o núcleo 1,2,3 triazólico (ZHANG *et al.*, 2017).

A presença dos heterocíclicos como componentes chaves em processos biológicos, a exemplo, os ácidos nucleicos, que são derivados das nucleobases

(purina/pirimidina) se configuram como sendo fundamental para o mecanismo de replicação (ARORA *et al.*, 2012). Sendo assim, os nucleotídeos/nucleosídeos estão envolvidos em diversos processos celulares, como a biossíntese de DNA e RNA. Por outro lado, os nucleosídeos e análogos sintéticos são desenvolvidos para incorporar ao DNA e RNA, de modo a inibir divisão celular e a replicação viral (JORDHEIM *et al.*, 2013).

Modificações estruturais de análogos de bases nucleotídicas tem sido pouco discutido na literatura. Entretanto, se configuram como uma classe de compostos mais indicados para o tratamento do câncer e de doenças virais. Neste ínterim, as bases nucleotídicas tem se tornado uma realidade na quimioterapia antiviral. A Figura 3 mostra as estruturas dos quimioterápicos antivirais, como: zidovudina- AZT **15** (HIV), tenofovira **16** (Hepatite B) e aciclovir **17** (Herpes).

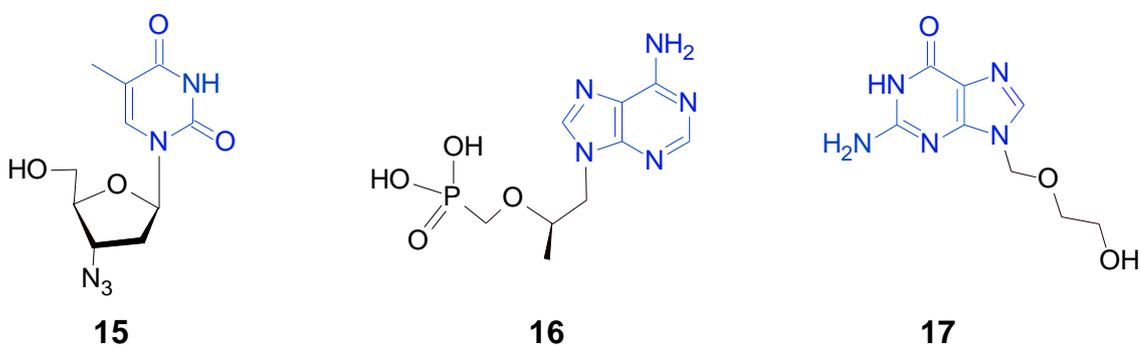


Figura 3. Exemplos de análogos de nucleobases usadas na quimioterapia antiviral.

O desenvolvimento sustentável de novos produtos baseados em matérias primas baratas estão sendo largamente estudadas, o carbonato de glicerol (GC) tem chamado atenção em função de valorizar o glicerol residual. O carbonato de glicerol configura-se como molécula que contém um grupo hidroxila e um grupo 2-oxo-1,3- dioxolano e é promissor por duas razões, são elas, ampla reatividade e inúmeras aplicações (SONNATI *et al.*, 2013).

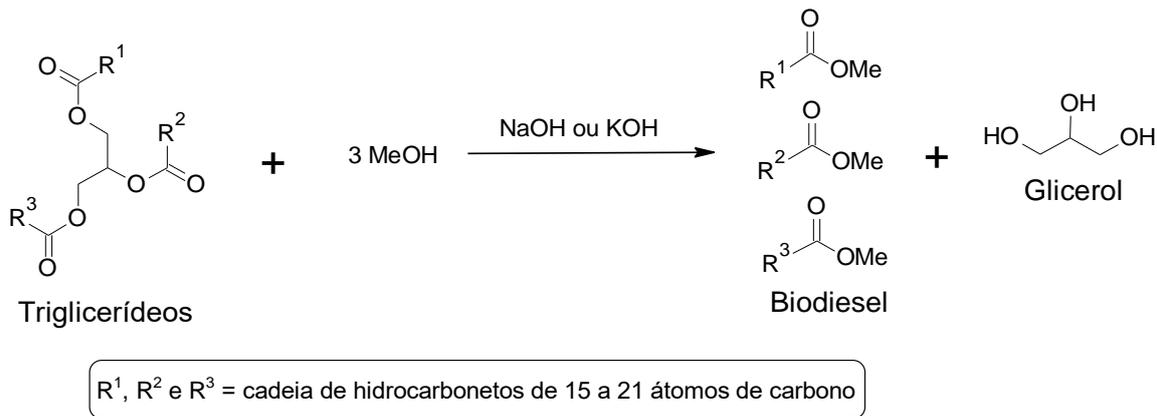
Neste estudo, foi utilizado o carbonato de glicerol (GC) como bloco de construção verde proveniente do glicerol. A priori, a estratégia sintética visa agregar valor aos insumos oriundos de fontes renováveis, bem como, acoplar a unidade 1,2,3 triazólica com as nucleobases (purina/pirimidina). Assim, foi feito a síntese dos azido-glicero-pirimidínicos, com a perspectiva de encontrar novas substâncias com potencial antiviral.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A Química do Carbonato de Glicerol

Nos últimos anos, tem sido realizados consideráveis esforços no desenvolvimento de novas tecnologias voltadas para a obtenção de produtos químicos através de fontes renováveis (PEITER *et al.*, 2016). Sendo assim, o desenvolvimento sustentável de novos produtos químicos através da biodiversidade tem recebido boa aceitação da comunidade científica em consonância com o setor industrial, como estratégia econômica e ambiental. Dentre os produtos químicos oriundos da biomassa, destaca-se o glicerol, o principal subproduto proveniente da produção de biodiesel (VILKAUSKAITĖ *et al.*, 2013).

O biodiesel como combustível alternativo renovável é obtido a partir da reação de transesterificação de triglicerídeos com um álcool, o glicerol é formado como coproduto primário (CHONG *et al.*, 2020). O Esquema 1 mostra de forma genérica a reação para produção de biodiesel.



Esquema 1. Reação geral para produção de biodiesel (DÍAZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2011).

A formação do coproduto representa 10 % (p/p) da produção total de biodiesel, ou seja, uma massa 0,10 Kg de glicerol bruto é gerado por Kg de biodiesel (KAUR *et al.*, 2020; TENG *et al.*, 2014). O aumento na produção de biodiesel na indústria tem gerado um grande excedente de glicerol, levando a uma tendência de queda no preço do glicerol bruto, acompanhado de um desequilíbrio na oferta e demanda deste produto químico (GARCÍA, GARCÍA MARÍN, PIRES, 2013). Neste ponto, a busca por alternativas para o consumo

desse volume extra de glicerol se estabelece em converter – lo em derivados de alto valor agregado, de forma a tornar viável economicamente a crescente produção de biodiesel (BEATRIZ, ARAÚJO, LIMA, 2011).

A busca por novas aplicações dos produtos de alto valor agregado reflete num amplo espectro de derivados valiosos obtidos a partir do glicerol, sendo um deles, o carbonato de glicerol (GC) (BENSEMHOUN, CONDON, 2012). Diferentes métodos podem ser adotados para a síntese do GC, a Figura 3 representa as principais vias de síntese do carbonato de glicerol (GC) a partir do glicerol.

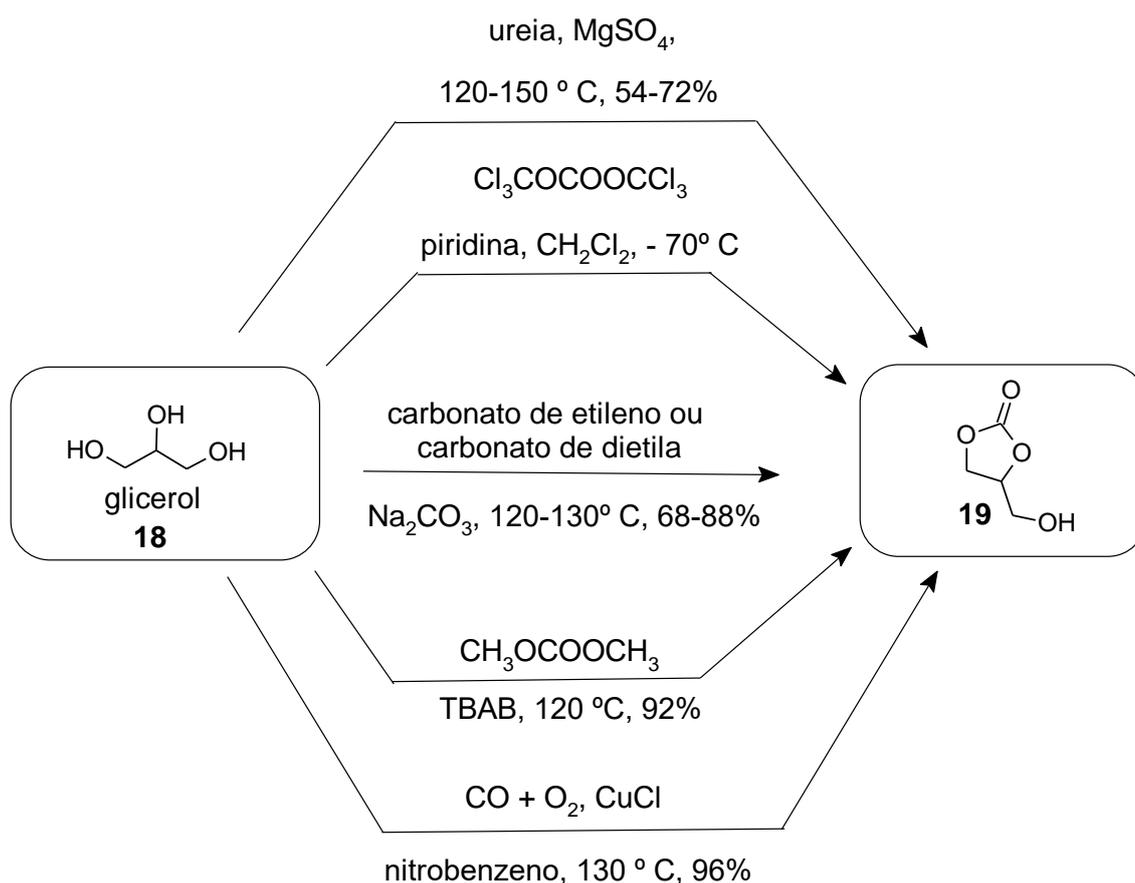
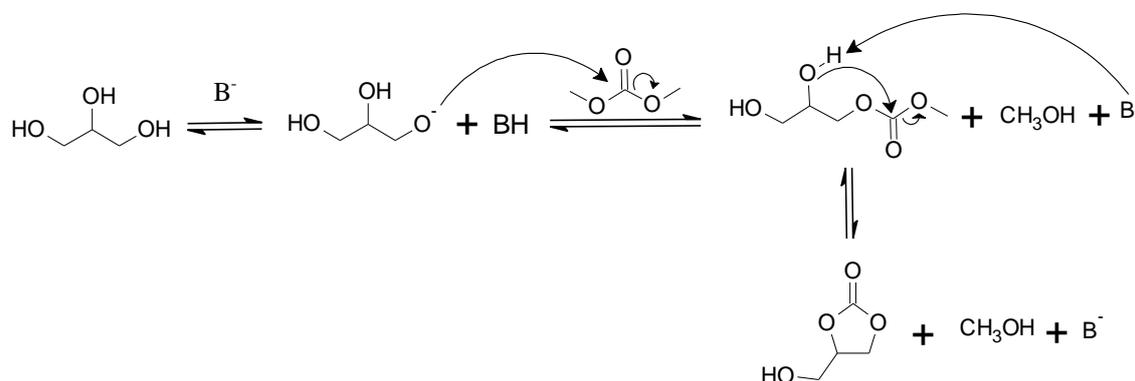


Figura 4. Principais rotas sintéticas para a obtenção do carbonato de glicerol (ROUSSEAU *et al.*, 2009).

Dentre as várias abordagens descritas na literatura, é evidenciado a transcarbonatação do glicerol com o dimetil carbonato (DMC) para obtenção do carbonato de glicerol (GC) (FIORANI, PEROSA, SELVA, 2018). Conforme observado no Esquema (2) acerca do mecanismo de transcarbonatação, na presença de uma base, o glicerol é desprotonado no grupo hidroxila primário, gerando o ânion gliceróxido. Em seguida, o referido ânion ataca o carbono da

carbonila do DMC, formando o intermediário carbonato de metil glicerila, a qual sofre uma reação de ciclização através de um ataque nucleofílico do oxigênio da hidroxila secundária à carbonila, assim, produzindo o GC e metanol (OCHOA GOMÉZ *et al.*, 2009).



Esquema 2. Mecanismo de transcarbonatação catalisado por base (B⁻) (OCHOA GOMÉZ *et al.*, 2009).

O carbonato de glicerol como bloco de construção útil no campo da química orgânica, caracteriza-se por apresentar um comportamento dual, visto que possui um grupo hidroxila e um grupo 2-oxo – 1,3- dioxolano (NOMANBHAY *et al.*, 2020). Portanto, o carbonato de glicerol exibe ampla reatividade devido a presença de três sítios eletrofílicos conferidos aos carbonos do grupo 2 – oxo – 1,3-dioxolano e um sítio nucleofílico atribuído ao oxigênio do grupo hidroxila (SONNATI *et al.*, 2013). Os sítios reativos da molécula do carbonato de glicerol estão representados na Figura 5.

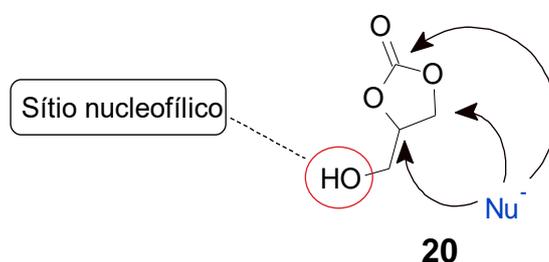
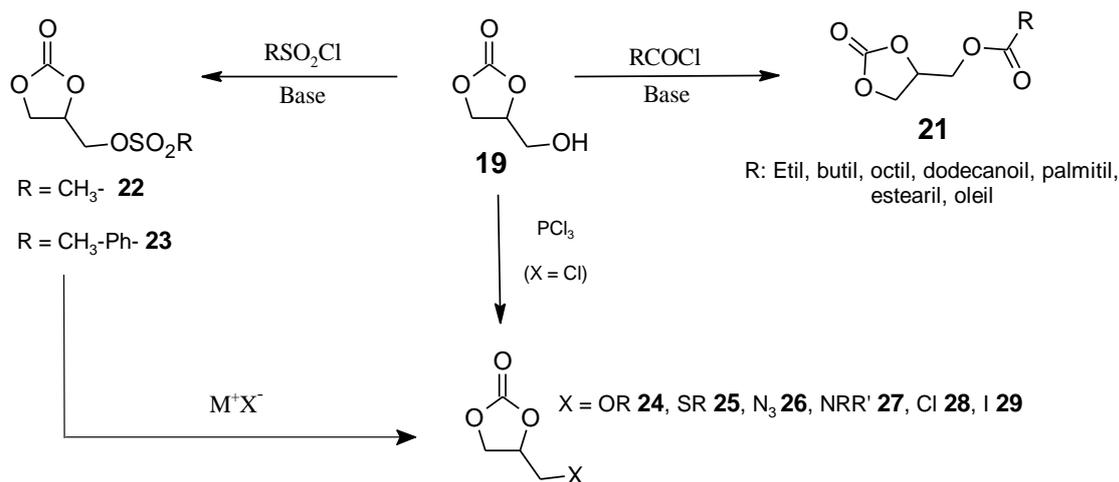


Figura 5. Sítios reativos do carbonato de glicerol (Adaptado de SIMÃO *et al.*, 2006).

Vale ressaltar que a reatividade da hidroxila primária como sítio nucleofílico pode ser empregada para ligar o CG à outras moléculas sem afetar o anel carbonato. De fato, o carbonato de glicerol pode atuar como nucleófilo através do grupo hidroxila, da mesma forma que pode atuar como eletrófilo através dos átomos de carbono do anel carbonato (OCHOA GOMÉZ *et al.*,

2012). O Esquema 3 demonstra algumas reações, as quais o carbonato de glicerol (GC) atua como nucleófilo através do grupo hidroxílico.

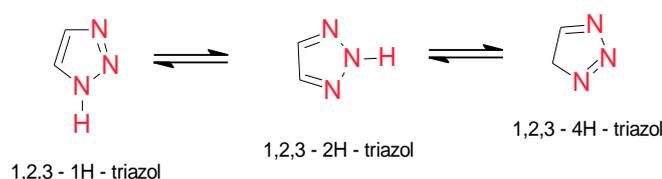


Esquema 3. Funcionalização adicional do carbonato de glicerol por meio do grupo hidroxílico (OCHOA GOMÉZ *et al.*, 2012).

A reatividade do carbonato de glicerol pode ser aproveitada numa estratégia de síntese de análogos de compostos biologicamente ativos, onde ocorre a possibilidade de acoplar diferentes grupos farmacofóricos, a fim de potencializar determinadas atividades farmacológicas. Sendo assim, as azidas orgânicas obtidas a partir GC configura-se como material de partida útil na síntese, por exemplo de 1,2,3 – triazóis, mantendo-se o anel carbonato intacto para reações futuras.

2.2. 1,2,3 – Triazóis 1,4 Dissubstituídos

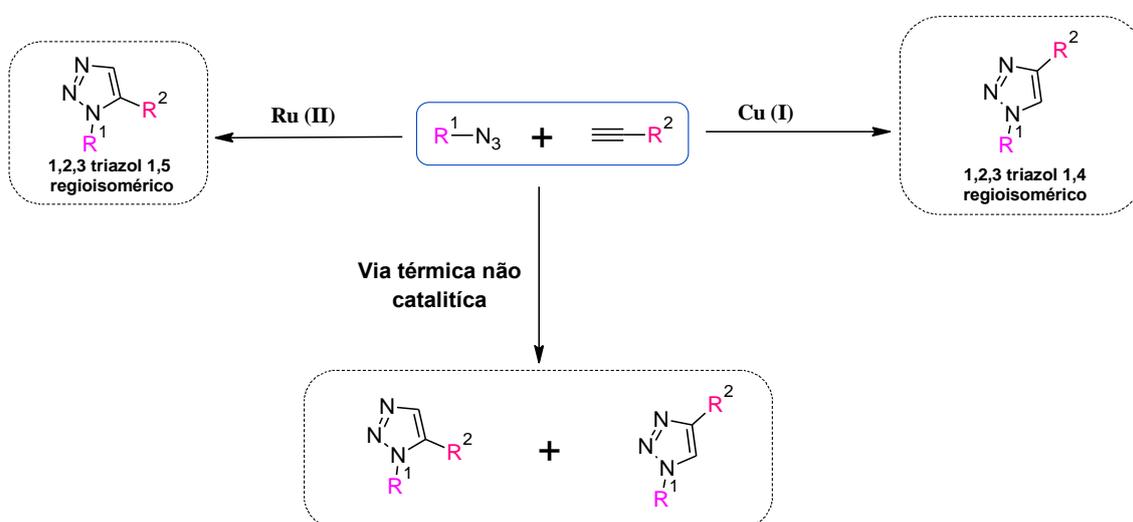
Os triazóis são substâncias de cinco membros hetero – aromáticos, visto que apresentam seis elétrons π , sendo assim, estes compostos podem exibir três estruturas tautoméricas, quando não há substituintes nos átomos de nitrogênio (MELO *et al.*, 2006). Os compostos triazólicos são obtidos sinteticamente, no momento não há relatos da presença destes heterociclos em fontes naturais (CANDUZINI, 2012). Como visualizado a seguir, o Esquema 4 aborda o equilíbrio tautomérico dos 1,2,3 – triazóis.



Esquema 4. Tautomerismo dos 1,2,3 – triazóis (MELO *et al.*, 2016).

O primeiro a estudar profundamente a cicloadição 1,3 dipolar azida – alcino foi Rolf Huisgen através de uma reação clássica térmica para formar 1,2,3 triazóis 1,4 e 1,5 dissustituídos (CHETIA *et al.*, 2018). Ao qual apresentava uma série de desvantagens, como: altas temperaturas, longos tempos reacionais, baixos rendimentos e a geração de uma mistura de regioisômeros 1,4 e 1,5 dissustituídos (FREITAS *et al.*, 2011). A aplicação do Cu (I) como catalisador relatado por Sharpless e Meldal viabilizou-se em condições brandas a síntese do regioisômero triazólico 1,4 dissustituído com altos rendimentos, boa regioseletividade e tolerância a diversos grupos funcionais (ZHENG *et al.*, 2015).

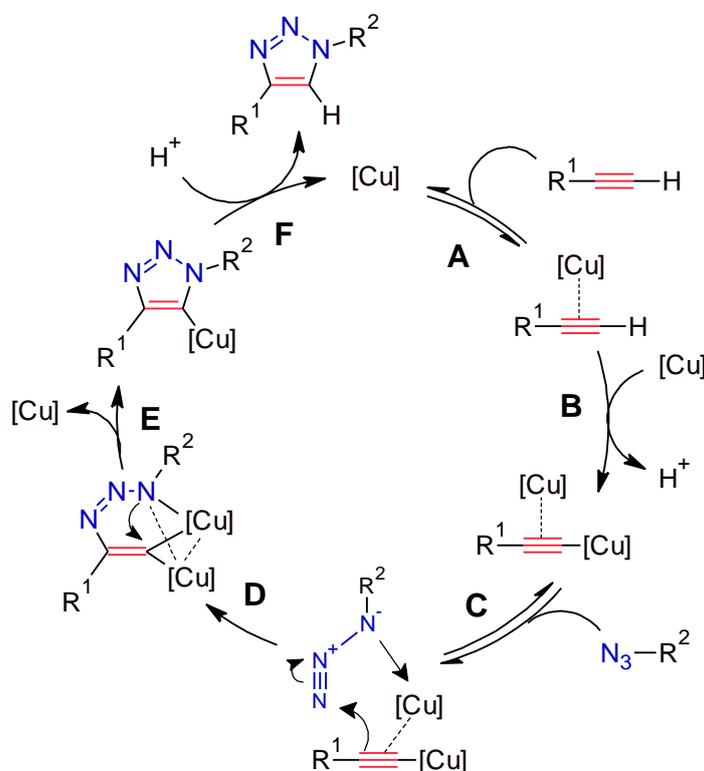
Em contrapartida, a rota sintética (RuAAC) considerada uma alternativa catalítica a reação CuAAC fornece os triazóis 1,5 dissustituídos através da catálise pelo o Ru (II) ou complexos de rutênio (JOHANSSON *et al.*, 2016). O Esquema 5 ilustra a regioseletividade da cicloadição 1,3 dipolar alcino – azida (AAC).



Esquema 5. Possíveis rotas sintéticas de derivados de 1,2,3 triazóis (FENG *et al.*, 2020).

Dentre as várias metodologias investigadas para controlar a regioseletividade e para melhorar as condições reacionais, destaca-se a reação de Cicloadição (C) 1,3 dipolar Alcino (A) – Azida (A) catalisada por (Cu (I)), denominada de CuAAC (TOTOBENAZARA, BURKE, 2015). Sharpless (ROSTOVTSEV *et al.*, 2002) e Meldal (TORNOE *et al.*, 2002) relataram independentemente a utilização do Cu (I) para o processo de catálise da AAC, empregando a redução de sais de Cu (II) com ascorbato de sódio (Cu (I) gerado

in situ) e sais de Cu (I), respectivamente. Assim, a cicloadição azida – alcino (AAC), tem se consolidado como ferramenta poderosa para a síntese de triazóis (GOMES *et al.*, 2019). Neste sentido, ciclo catalítico do Cu (I) na AAC está representado a seguir através de um mecanismo que envolve a participação de um intermediário de cobre dinuclear, conforme mostrado no Esquema 6.



Esquema 6. Proposta mecanística para a reação CuAAC envolvendo um intermediário de cobre dinuclear (WORRELL *et al.*, 2013).

De acordo com Schulze e Schubert (2014), inicialmente é observado a formação do alcineto de cobre (A), seguido de uma coordenação do segundo Cu (I) no carbono α do alcineto (B). Posteriormente, ocorre o ataque nucleofílico em N - 3 da azida pelo carbono β – vinilidênico do alcineto de Cu (I) dinuclear, com a formação da ligação C – N (C), o complexo azido – alcineto resultante sofre um acoplamento oxidativo (D), acompanhado de uma contração do anel via eliminação redutiva, fornecendo assim, o triazolídeo ligado ao Cu (I) (E). Por fim, o triazol (F) é formado via protonólise do triazolídeo em consonância com a regeneração do Cu (I) para o ciclo catalítico.

Todos estes aspectos citados acerca da reação CuAAC se enquadram no universo da *Click Chemistry*. Sendo assim, as reações entre azidas e alcinos

orgânicos catalisados por Cu (I) é considerado um protótipo da *Click Chemistry* (HALDÓN, NICASIO, PÉREZ, 2015). O foco principal da *Click Chemistry* é a criação de ligações carbono – heteroátomo, além de abarcar um conjunto de reações que devem ser rápidas, estereoespecíficas, simples de execução/purificação e de altos rendimentos (KOLB, SHARPLESS, 2003). Dentre as reações que se encontram no universo da *Click*, ressaltasse, a abertura nucleofílica de epóxidos e aziridinas, Diels - Alder, cicloadição 1,3-dipolar, adição a ligação múltipla carbono – carbono, dentre outras (KOLB, FINN, SHARPLESS, 2001).

O amplo escopo biológico dos triazóis pode ser atribuído a algumas características, a saber: formação de ligação de hidrogênio, dipolo – dipolo, empilhamento π , além de exibir bioisosterismo em relação as amidas (DHEER, SINGH, SHANKAR, 2017). Em comparação as amidas, os triazóis tem a vantagem de apresentar alta estabilidade em termos de condições de hidrólise, oxidação e redução (CHRYSINA *et al.*, 2009). A substituição das ligações amídicas pelo núcleo triazólico pode acarretar numa atividade biológica melhorada (MALIK *et al.*, 2020). O exemplo na Figura 5, retrata a substituição supracitada no fármaco anticâncer Imatinib.

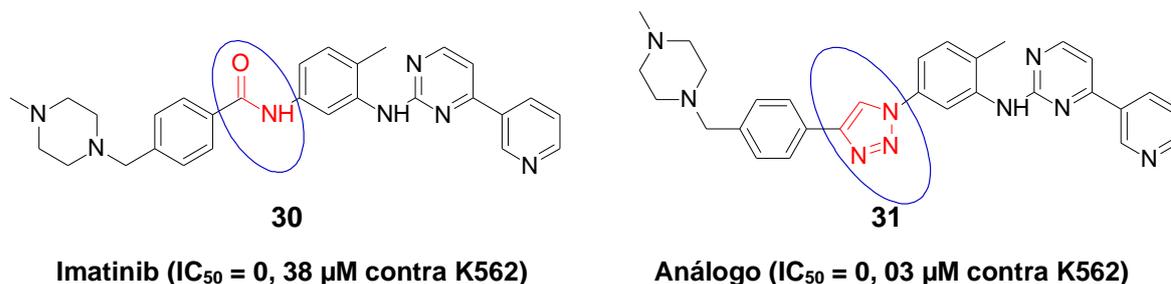
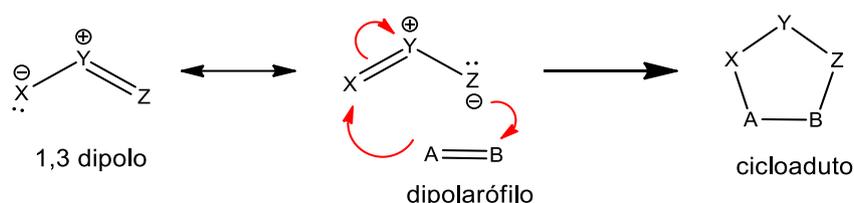


Figura 6. Substituição bioisostérica entre a Imatinib e seu análogo triazólico (MALIK *et al.*, 2020).

A importância biológica dos triazóis é incontestável, mas a sua aplicação não restringe apenas ao escopo farmacológico. Abrange também outras áreas, como: agroquímicos, química de materiais, polímeros, catálise e etc.

2.3 Cicloadição 1,3-Dipolar

Como visto anteriormente, o método mais popular para a síntese de 1,2,3 triazóis é via cicloadição 1,3-dipolar alcino terminal – azida orgânica, conhecida como cicloadição de Huisgen. De fato, a adição de um 1,3-dipolo a um alceno ou alcino (dipolarófilo) é uma reação clássica em Química Orgânica, a qual envolve a formação de anéis de cinco membros (GOTHELF *et al.*, 1998). O Esquema 7 abaixo demonstra a reação de cicloadição entre 1,3-dipolo e um dipolarófilo.



Esquema 7. Formação do cicloaduto pela interação entre 1,3-dipolo e um dipolarófilo.

De acordo com Gothelf *et al* (1998), o 1,3-dipolo pode ser classificado em dois diferentes tipos, são eles, ânion tipo alila e o ânion do tipo propargila/ alenila. O primeiro com hibridização sp^2 (geometria angular), configura-se por apresentar 4 elétrons π em três orbitais P_z paralelos ao plano do dipolo, por outro lado, o segundo tipo de ânion com hibridização sp (geometria linear) caracteriza-se pela presença de um orbital π extra localizado no plano ortogonal ao orbital molecular. O 1,3-dipolo é definido como uma estrutura XYZ, onde o elemento central pode ser nitrogênio, oxigênio ou enxofre. A Figura 7 representa as estruturas de ressonância dos ânions do tipo alila e propargila/alenila.

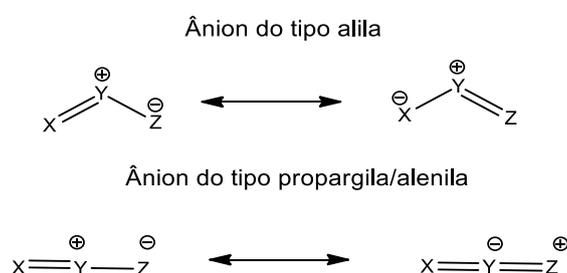


Figura 7. Representação das estruturas de ressonância dos 1,3-dipolos (Adaptado de BREUGST, REISSIG, 2020).

Compreende-se que a cicloadição 1,3-dipolar ocorre por meio de um processo concertado, em analogia a reação Diels – Alder, onde o 1,3-dipolo reage com um sistema 4π de fórmula XYZ com um dipolarófilo “A=B” com 2

π elétrons para fornecer o anel de cinco membros (BREUGST, REISSIG, 2020). Suportada por evidências experimentais, a reação dipolo – dipolarófilo é considerada de segunda ordem com pouca influência do solvente, bem como, as adições a alquenos *cis* ou *trans* são estereoespecíficas (SANTOS, 2006). É sabido que os orbitais de fronteira governam as interações entre o dipolo e o dipolarófilo, tais sobreposições orbitales na cicloadição são subdivididas em tipo I e tipo III, conforme visualizado na Figura 8.

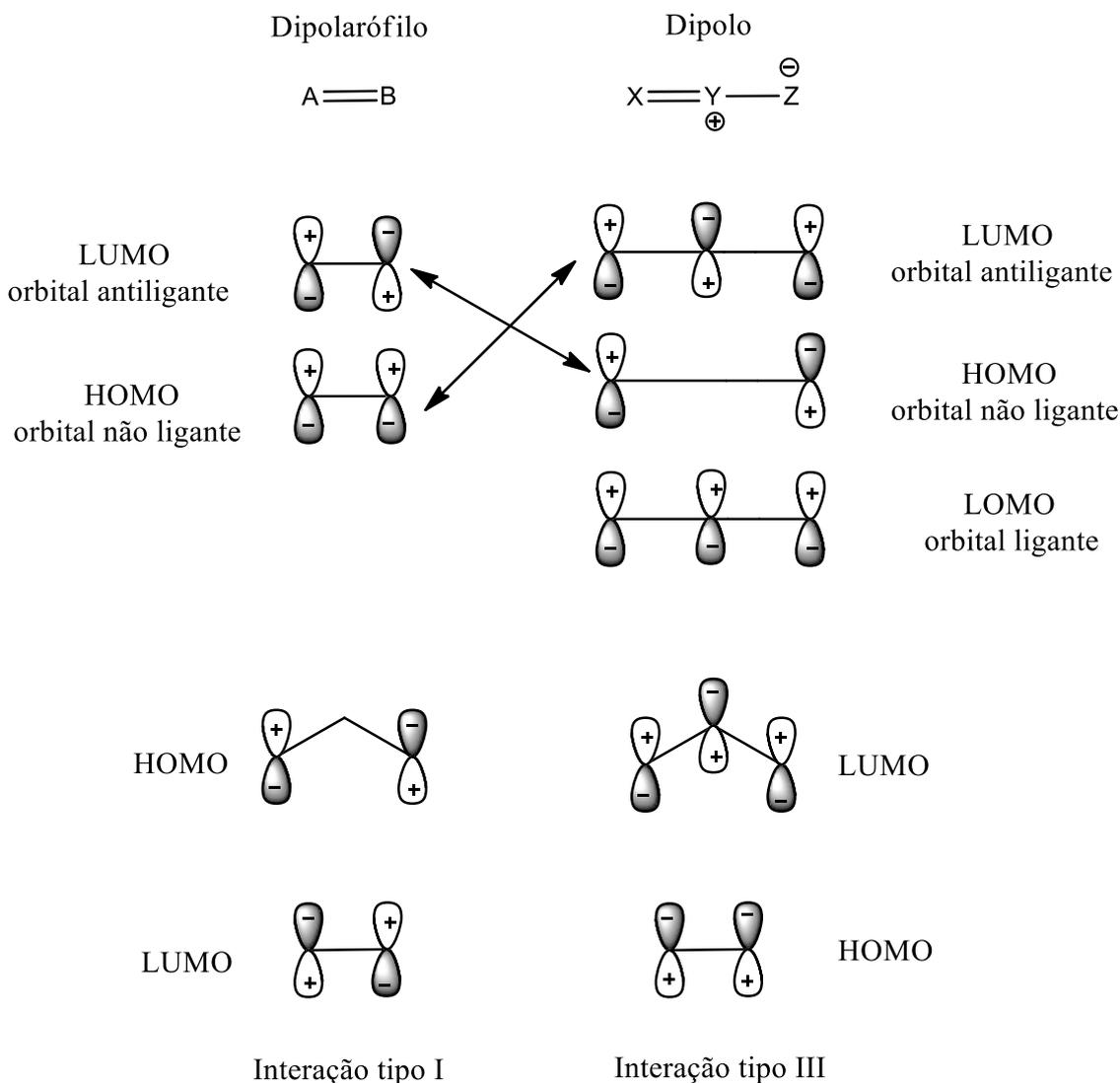


Figura 8. Representação dos orbitais de fronteira e as interações orbitales dipolo – dipolarófilo via cicloadição 1,3-dipolar (SANTOS, 2006).

A Teoria do Orbital Molecular de Fronteira prevê que as interações mais importantes ocorrem entre o Orbital Molecular de mais Baixa energia (LUMO) de um reagente com o Orbital Molecular de mais Alta energia (HOMO) de outro

reagente (MOREIRA, 2019). Sendo assim, as reações de cicloadição são controladas principalmente pela interação HOMO (dipolo) – LUMO (dipolarófilo), designada de interação tipo I e outras pela interação LUMO (dipolo) – HOMO (dipolarófilo), intitulada de interação tipo III (PADWA, 1986).

A princípio, a cicloadição 1,3-dipolar térmica entre azida (dipolo) e o alcino (dipolarófilo), fornece uma mistura regioisomérica de 1,2,3 triazóis 1,4 e 1,5 dissubstituídos. A falta de regioseletividade é justificada pelo resultado direto dos orbitais moleculares desocupados de baixa energia da ligação tripla C-C, de modo que a reação é controlada pelas interações dipolo – HOMO e dipolo – LUMO simultaneamente (HOWELL, SPENCER, PHILP, 2001).

2. 4 Síntese de Derivados Pirimidínicos

A importância das nucleobases purínicas e pirimidínicas é incontestável, visto que fazem parte da constituição dos nucleotídeos/ nucleosídeos encontrados nas estruturas do DNA e RNA. Além disso, a nucleobase pirimidínica heterocíclica que é o constituinte básico essencial do material genético demonstrou uma série de atividades biológicas, em consequência os derivados de pirimidina são conhecidos por suas extensas aplicações terapêuticas (KUMAR, NARASIMHAN, 2018; PATIL, 2018).

Sendo assim, a literatura relata um amplo escopo clínico para os derivados de pirimidina, que são o seguinte: antimicrobianos, analgésicos, antivirais, antiinflamatórios, anti – HIV, antituberculares, antitumorais, antineoplásicos, antimaláricos, entre outros (SINGH, CHOUHAN, 2014). Esta gama de possibilidades advém da capacidade dos derivados de pirimidina de interagir com macromoléculas biológicas, receptores, enzimas e ácidos nucleicos (RAMESH, VIJAYAKUMAR, KANNAN, 2020). Os análogos de nucleotídeos estão sendo desenvolvidos como forma de mimetizar as funções fisiológicas dos nucleotídeos naturais a fim de interferir no metabolismo celular, por conseguinte ser incorporados ao DNA e RNA para inibir a divisão celular e a replicação viral (LAPPONI *et al.*, 2016). Por esta razão, os derivados de nucleobases (purina/pirimidina) tem sido destacado na descoberta de promissores medicamentos antivirais e anticâncer. Exemplos de alguns

medicamentos que contêm nucleobases pirimidínicas utilizadas no tratamento do câncer e de infecções virais estão representados na Figura 9.

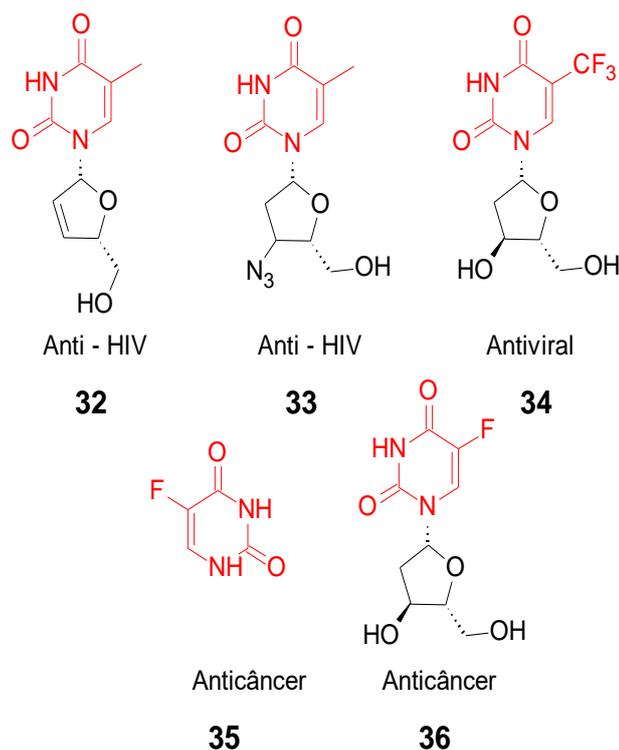
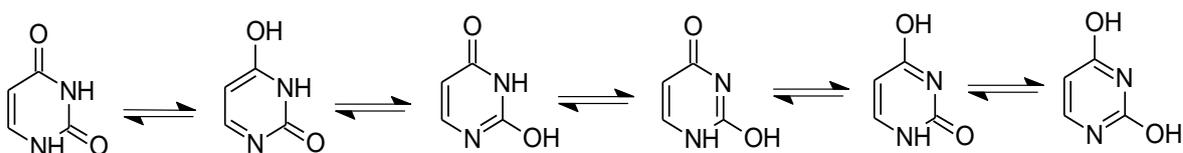


Figura 9. Estruturas químicas de medicamentos empregados no tratamento do câncer e de infecções virais (RAMESH, VIJAYAKUMAR, KANNAN, 2020).

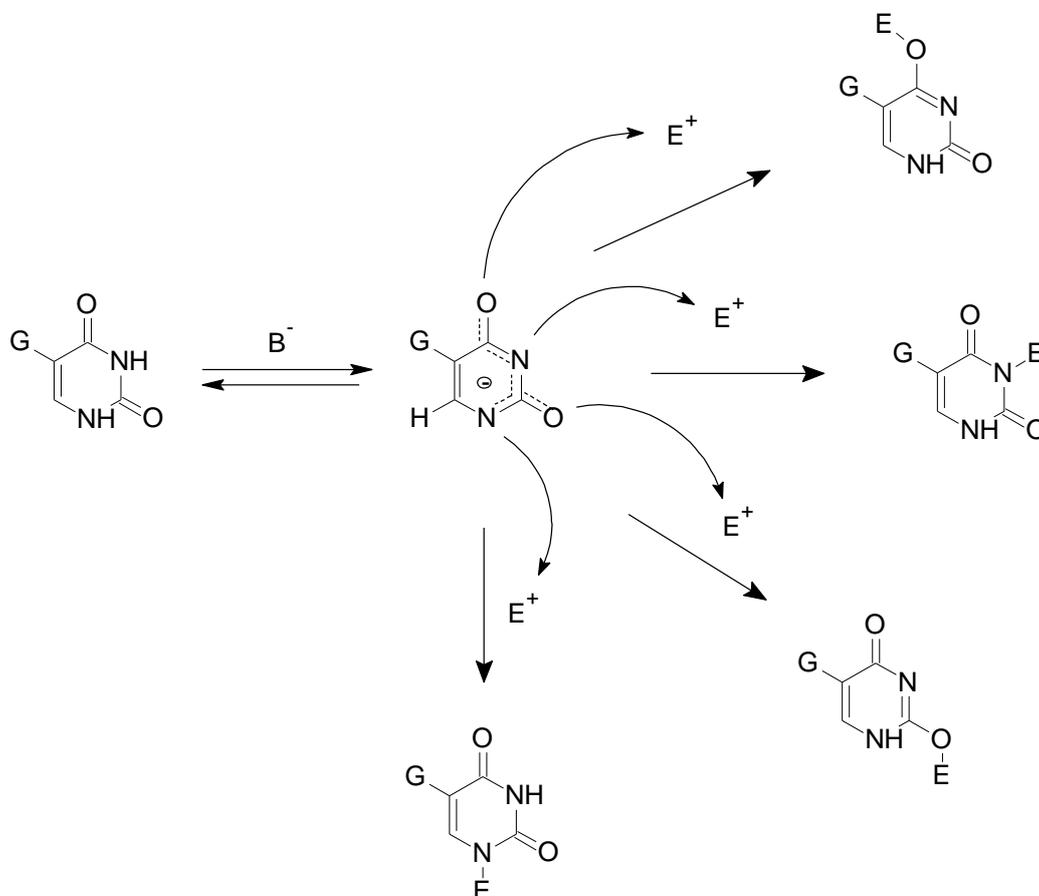
Os derivados de uracila têm um espectro interessante como quimioterápicos, a citar o 5 – fluorouracil que é utilizado no tratamento do câncer. No entanto, além do escopo biológico que é fundamental, a uracila estabelece a formação de tautômeros, sendo a forma dicarbonílica mais estável, apresentando assim a menor energia de Gibbs (ΔG_{298K}) em relação as formas 2-hidroxipirimidin-4(3H)-ona e 4-hidroxipirimidin-2(1H)-ona (BONCEL, GANDELA, WALCZAK, 2010). O tautomerismo da uracila é observado a seguir (Esquema 8).



Esquema 8. Possíveis tautômeros da uracila.

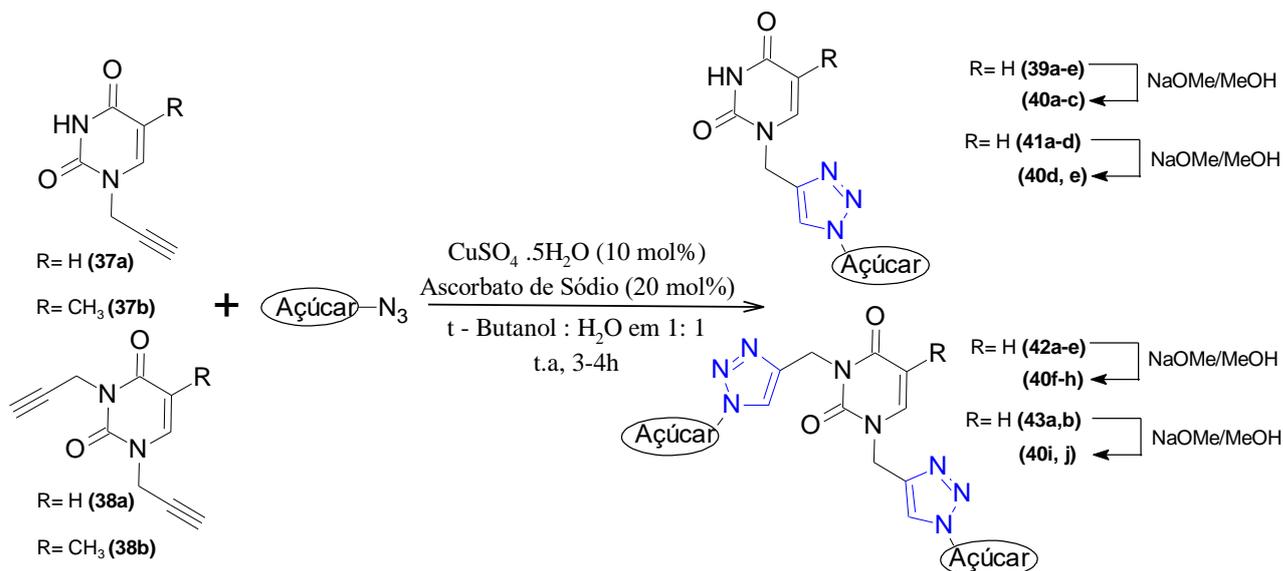
Em termos de reatividade, a uracila é suscetível ao ataque por eletrófilos com ênfase aos átomos de nitrogênio, oxigênio e C-5, e ataques por nucleófilos

com ênfase aos carbonos C - 6 ou C - 5 para derivados de uracila (BONCEL, GONDELA, WALCZAK, 2008). A desprotonação da uracila no N -1 conduz a uma dispersão de carga negativa em função da deslocalização de elétrons entre os átomos de nitrogênio e oxigênio, por isso os eletrófilos são atacados principalmente nos referidos sítios (Esquema 9).



Esquema 9. Desprotonação N -1 e a consequente dispersão da carga negativa na reatividade dos derivados de uracila (BONCEL, GONDELA, WALCZAK, 2008).

Utilizando da reatividade das bases uracila e timina para a síntese de nucleobases de pirimidinas mono e bis - alquiladas, Takur e colaboradores (2014), descreveu a síntese de uma série de análogos de nucleosídeos, as quais foram obtidos pela reação CuAAC entre azido -açúcares com as referenciadas bases mono (37) e bis - alquiladas (38) (Esquema 10). Tais compostos foram avaliados frente à sua atividade inibidora a enzima α - glicosidase *in vitro*.



Esquema 10. Síntese de análogos de nucleosídeos pirimidínicos contendo o núcleo 1,2,3 – triazólico (TAKUR *et al.*, 2014).

Com base no significativo espectro biológico dos derivados pirimidínicos e triazólicos, a nossa pesquisa está interessada na síntese de novos glicéridos – pirimidínicos como potenciais opções terapêuticas contra os vírus da Zika e do Sars-CoV-2. De fato, foi realizado preliminarmente os testes de citotoxicidade via o método MTT frente a linhagens de células Vero e HepG2, assim como, foi realizado a atividade antiviral contra o ZIKV em células Vero, empregando como controle positivo, o composto 6MMPr.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

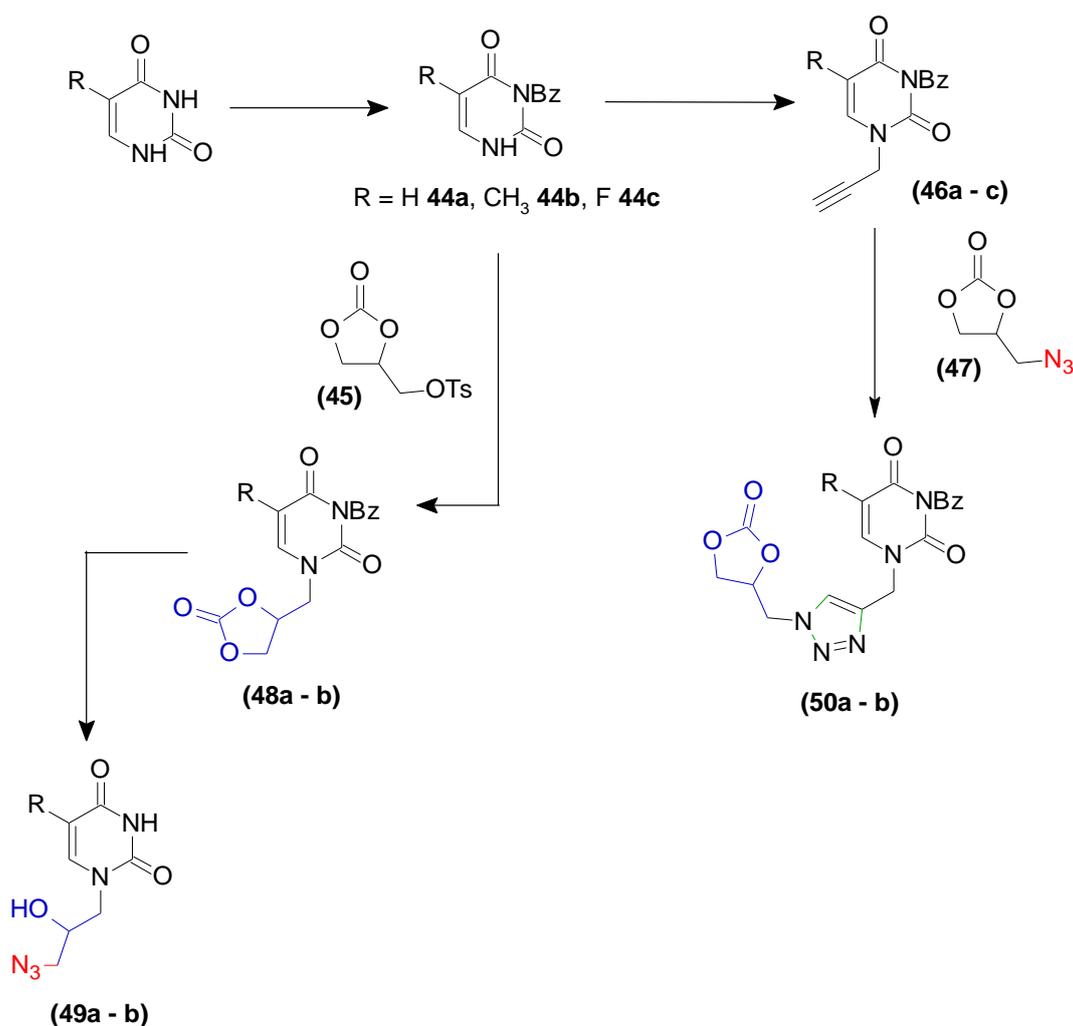
Sintetizar novos glicero – pirimidínicos a partir das bases pirimidínicas protegidas e de derivados do carbonato de glicerol (GC), bem como, avaliar o potencial citotóxico e atividade antiviral contra o ZIKV.

3.2 Específicos

- ✓ Sintetizar o carbonato de glicerol tosilado (**45**) e do azido – glicerol carbonato (**47**) a partir do carbonato de glicerol (GC);
- ✓ Obter as bases pirimidínicas monoalquiladas (**46a - c**) através da reação entre as bases protegidas (**44a - c**) e o brometo propargílico;
- ✓ Possibilitar a reação entre o carbonato de glicerol tosilado (**45**) e as bases protegidas (**44a – b**);
- ✓ Sintetizar os azido - glicero – pirimidínicos (**49a – b**) a partir da abertura do anel carbonato do composto (**48a – b**);
- ✓ Promover a reação de cicloadição 1,3-dipolar entre o azido – glicerol carbonato (**47**) e as bases pirimidínicas monoalquiladas (**46a - b**);
- ✓ Realizar a atividade citotóxica dos compostos;
- ✓ Avaliar a atividade antiviral contra o ZIKV.

3.3 Estratégia Sintética

O planejamento sintético consiste em duas rotas sintéticas, a primeira rota envolve a síntese dos azido - glicero - pirimidínicos (**49a - b**) a partir do carbonato de glicerol tosilado (**45**) e das bases protegidas (**44a - b**), seguido da abertura do anel carbonato. Entretanto, a segunda via sintética inicia com a obtenção das bases pirimidínicas monoalquiladas (**46a - c**), posteriormente é realizado a cicloadição 1,3-dipolar dos alcinos terminais com o azido - glicero carbonato (**47**), a qual fornecerá os triazóis pirimidínicos (**50a - b**).



Esquema 11. Estratégia sintética na preparação dos derivados de triazóis e azido-glicero-pirimidínicos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Procedimentos gerais

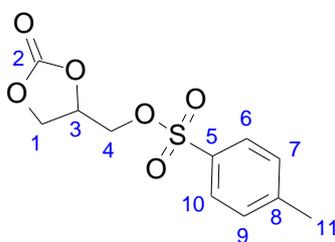
O dimetilformamida (DMF) foi destilado com o agente secante hidreto de cálcio (CaH_2), e a peneira molecular (4Å) foi adicionada, após ser acondicionada na estufa com ativação na mufla à 300°C. Para viabilizar as reações, empregou-se condições anidras, atmosfera inerte de argônio e os solventes utilizados foram adequadamente secos. Os reagentes utilizados foram obtidos pela Sigma – Aldrich. Os progressos das reações foram acompanhados via cromatografia em camada delgada (CCD), e reveladas sob luz ultravioleta à 365 nm e também por meio da imersão em uma solução de permanganato de potássio (KMnO_4). A purificação dos produtos foi realizada a partir da cristalização com água destilada e acetona numa proporção 1:1, assim como, a purificação ocorreu também através da cromatografia em coluna, empregando sílica gel 60 e sistemas de eluentes de diferentes proporções e polaridades.

4.2 Equipamentos

Os pontos fusão foram obtidos através do aparelho PFM II da Bio San – PFM II no Laboratório de Síntese de Compostos Bioativos (LSCB-UFRPE) e algumas reações foram realizadas no micro-ondas monomodo modelo CEM Discover (LSCB-UFRPE). Em relação a determinação das rotações específicas, foram realizadas no polarímetro Anton Paar, modelo MCP200 (LSCB-UFRPE). Para elucidação estrutural dos compostos, os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados no equipamento Varian modelo Unity Plus de 400 MHz e 100 MHz (Central Analítica DQF/UFPE). O tetrametilsilano (TMS) foi usado como referencial e os solventes para análise de RMN foram o clorofórmio deuterado (CDCl_3) e dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO} - d_6$). Os deslocamentos químicos (δ) estão expressos em partes por milhão (ppm), e as constantes de acoplamento (J) estão representadas em Hertz (Hz). O infravermelho foi realizado no espectrofotômetro IR-Tracer-100 Shimadzu via ATR (LABMAQ-UFRPE).

4.3 Síntese do (2 - oxo - 1,3 dioxolan - 4 - il) metil 4 - metilbenzenossulfonato (45) [CAS Reg. N°949895-84-5]

Em um balão de fundo redondo foi adicionado 7,874 g (66,64 mmol) do CG solubilizado em 10 mL de DMC pré-seco. Em seguida, acrescentou-se gota a gota de uma solução de 12,7 g (66,61 mmol) do cloreto de 4-toluenossulfonila em 19 mL de DCM sob atmosfera inerte e banho de gelo. Posteriormente, foi adicionado 15,7 mL de trietilamina, a mistura reacional permaneceu em agitação por 16 h à temperatura ambiente. Após o consumo total do material de partida acompanhada por CCD, realizou-se a diluição da mistura reacional com 50 mL de DCM e lavou-se com (3 x 50 mL) de água destilada, solução de HCl à 0,2 M (1 x 10 mL) e uma solução saturada de NaHCO₃ (1 x 10 mL). Por fim, ocorreu-se a extração com (3 x 10 mL) de CH₂Cl₂ da fase aquosa, a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, o solvente foi removido no rotaevaporador e a purificação do produto foi feita por meio da cristalização com hexano e AcOEt.

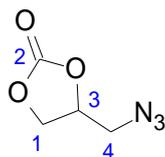


Rendimento 61%; 10,9 g; PF = 110 -112 °C; R_f = 0,6 (AcOEt – 100%); **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 7,81 (d, 2H, H6 e H10, *J* = 8,2 Hz); 7,39 (d, 2H, H7 e H9, *J* = 8,2 Hz); 4,91 – 4,86 (m, 1H, H3); 4,54 (t_{ap}, 1H, H1, *J* = 8,6 Hz); 4,36 (dd, 1H, H1', *J* = 5,88 Hz e 9 Hz); 4,23 (t_{ap}, 2H, H4 e H4', *J* = 3,92 Hz); 2,47 (s, 3H, H11). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 153,7; 145,8; 131,8; 130,2; 128,0; 72,9; 67,1; 65,5; 21,7. **IV (ATR/cm⁻¹):** 2924 (C-H), 1794 (C=O), 1595 (C=C), 1361 e 1159 (S=O).

4.4 Síntese do 4-(azidometil)-1,3-dioxolan-2-ona (47) [CAS Reg. N°949896-03-1]

Em um tubo apropriado para micro-ondas (MO) adicionou-se 0,268 g (1 mmol) do CGT solubilizado em 3 mL de DMF (seco) para posterior adição de 0,13 g (2 mmol) de NaN₃, levando a mistura reacional ao MO à 70° C (150W). Ao fim da reação em 30 min, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório para retirada do DMF, em seguida lavou-se com hexano e ocorreu a extração

com acetato de etila (3 x 15 mL) e água, a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, obtendo-se um óleo viscoso incolor.

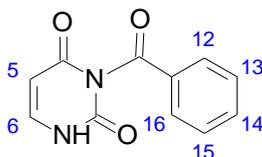


Rendimento 79%; 113 mg; $R_f = 0,77$ (AcOEt – 100%); **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 4,87 – 4,82 (m, 1H, H₃); 4,54 (dd, 1H, H₁, $J = 8,6$ e $8,6$ Hz); 4,31 (dd, 1H, H_{1'}, $J = 6,24$ e $8,6$ Hz); 3,72 (dd, 1H, H₄, $J = 3,92$ e $13,72$ Hz); 3,56 (dd, 1H, H_{4'}, $J = 3,92$ e $13,72$ Hz). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃)**: 154,2; 74,2; 66,3; 52,0. **IV (ATR/cm⁻¹)**: 2933 (C-H), 2081(N₃), 1774 (C=O).

4.5 Procedimento da N³-benzoilação das bases pirimidínicas (44a-c)

Em um tubo de micro-ondas, para 1 equiv. (1 mmol) da base pirimidínica (44a-c) em acetonitrila seca (2,6 mL) e piridina seca (24 equiv.), foram adicionados 3 equiv. de cloreto de benzoíla. A mistura reacional foi submetida a radiação de micro-ondas (150W) por 40 min à 80°C, posteriormente concentrada no evaporador rotatório para realizar extração com acetato de etila (3x15 mL) e água. A fase orgânica foi separada e evaporada, e o resíduo foi dissolvido em uma mistura de uma solução K₂CO₃ 0,5 M (3 mL) e 1,4-dioxano (3 mL), a qual foi submetido novamente a radiação assistida por micro-ondas à 70°C durante 3 min. A posteriori, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório, seguindo com a purificação através de coluna cromatográfica, usando como sistema de eluição acetato de etila e hexano (7:3), acetato de etila, finalizando com acetato de etila e metanol (9:1), obtendo-se sólidos brancos.

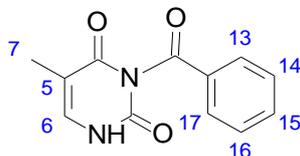
3 – benzoilpirimidina-2,4 (1H, 3H) – diona (44a) [CAS Reg. N° 2775-87-3]



Rendimento 61% (cromatografia); PF = 202-204 °C; $R_f = 0,44$ (AcOEt – 100%); **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)**: δ 7,94 (d, 2H, H₁₂ e H₁₆, $J = 7,84$ Hz); 7,76 (t, 1H, H₁₄, $J = 7,44$ Hz); 7,59 (m, 3H, H₆, H₁₃ e H₁₅); 5,75 (d, 1H, H₅, $J = 7,84$

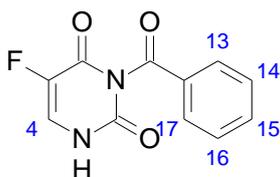
Hz). **RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆)**: δ 170,3; 163,4; 150,4; 143,6; 135,9; 131,5; 130,5; 129,9; 100,5. **IV (ATR/cm⁻¹)**: 3321 (N-H), 1743 (C=O), 1703 (C=O), 1649 (C=C).

3 – benzoil- 5-metilpirimidina-2,4 (1H, 3H) – diona (44b) [CAS Reg. N°4330-20-5]



Rendimento 81% (cromatografia); PF = 172-174 °C; R_f = 0,46 (AcOEt – 100%); **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆)**: δ 7,91 (d, 2H, H13 e H17, J = 7,80 Hz); 7,75 (t, 1H, H15, J = 7,44 Hz); 7,58 (t, 2H, H14 e H16, J = 7,84 Hz); 7,45 (s, 1H, H6); 1,79 (s, 3H, H7). **RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆)**: δ 170,5; 164,0; 150,3; 139,0; 135,8; 131,6; 130,5; 129,8; 108,4; 12,0. **IV (ATR/cm⁻¹)**: 3441 (N-H), 2954 (C-H), 1747 (C=O), 1701 (C=O), 1628 (C=C).

3-benzoil-5-fluoropirimidina-2,4(1H,3H)-diona (44c) [CAS Reg. N°61251-77-2]



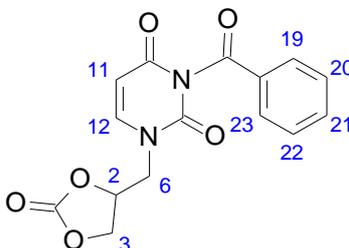
Rendimento 73%; PF = 147-149 °C; R_f = 0,66 (AcOEt – 100%); **IV (ATR/cm⁻¹)**: 3203,65 (N-H), 3103 (C-H), 2921 (C-H), 1661 (C=O), 1595 (C=C), 1245 (C-F).

4.6 Procedimento Geral na Síntese dos glicero-pirimidínicos (48a-b)

Em um tubo de micro-ondas, 1 equiv. (0,5 mmol) da base pirimidínica protegida (44a-b) foi solubilizada em 1 mL de DMF e 1 equiv. (0,5 mmol) da base (CH₃)₃CO⁻ K⁺ foi adicionada, permanecendo em agitação por 30 min. Em seguida, 1,5 equiv. (0,75 mmol) do carbonato de glicerol tosilado (CGT) foram solubilizados em 1 mL de DMF e transferiu-se lentamente para a mistura reacional, sendo direcionado ao micro-ondas (150W) à 80°C durante 1h. Posteriormente, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório, seguido da purificação

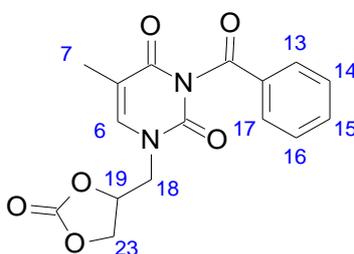
por meio da recristalização com acetona e água (1:1), obtendo-se sólidos brancos.

3-benzoil-1-((2-oxo-1,3-dioxolan-4-il) metil) pirimidina-2,4(1H, 3H)-diona (48a)



Rendimento 81%; $[\alpha]_D^{25} = -9,8$ ($c = 0,102$ g/100 mL, CH_2Cl_2); PF = 130-132 °C; $R_f = 0,51$ (DCM/1,4-Dioxano, 9,5:0,5); **RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6)**: δ 7,94 (t, 2H, H19 e H23, $J = 7,44$ Hz); 7,81-7,75 (m, 2H, H12 e H21); 7,59 (t, 2H, H20 e H22, $J = 7,84$ Hz); 5,90 (d, 1H, H11, $J = 8,2$ Hz); 5,08-5,01 (m, 1H, H2); 4,58 (t, 1H, H6, $J = 8,6$ Hz); 4,27 (dd, 1H, H6', $J = 6,64$ e 8,6 Hz); 4,14 (d, 2H, H3 e H3', $J = 5,28$ Hz). **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6)**: δ 169,7; 162,6; 154,7; 150,1; 147,1; 136,0; 131,2; 130,6; 129,9; 101,4; 74,7; 67,3; 49,9. **IV (ATR/ cm^{-1})**: 2924 (C-H), 1743 (C=O), 1701 (C=O), 1651 (C=C).

3-benzoil-5-metil-1-((2-oxo-1,3-dioxolan-4-il) metil) pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (48b)



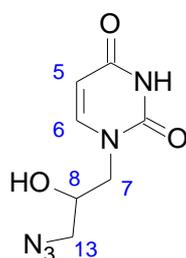
Rendimento 72%; $[\alpha]_D^{25} = -9,7$ ($c = 0,1$ g/100 mL, CH_2Cl_2); PF = 169-172 °C; $R_f = 0,30$ (DCM/1,4-Dioxano, 9,5:0,5); **RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6)**: δ 7,95 (d, 2H, H13 e H17, $J = 7,44$ Hz); 7,77 (t, 1H, H15, $J = 7,08$ Hz); 7,70 (s, 1H, H6); 7,59 (t, 2H, H14 e H16, $J = 7,8$ Hz); 5,08-5,04 (m, 1H, H19); 4,58 (t_{ap} , 1H, H23, $J = 8,6$ Hz); 4,27 (dd, 1H, H23', $J = 6,64$ e 8,6 Hz); 4,10 (d, 2H, H18 e H18', $J = 5,08$ Hz); 1,83 (s, 3H, H7). **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6)**: δ 169,8; 163,2; 154,2; 150,0;

142,7; 136,0; 131,3; 130,6; 129,9; 109,4; 74,8; 67,3; 49,7; 12,1. **IV (ATR/cm⁻¹):** 2926 (C-H), 1795 (C=O), 1654 (C=C).

4.7 Procedimento Geral na Síntese dos azido-glicero-pirimidínicos (49a-b)

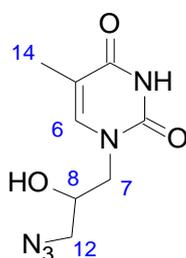
Em um balão de 50 mL, 1 equiv. (0,35 mmol) do glicero-pirimidínico (48a-b) foi solubilizado em 1 mL de uma mistura de DMF/DMSO (1:1) para em seguida adicionar 1,5 equiv. (0,52 mmol) de NaN₃, levando a mistura reacional ao refluxo à 110°C. Ao fim da reação, a mistura reacional foi concentrada no evaporador rotatório para retirada dos solventes. A purificação foi realizada por coluna cromatográfica em sistema gradiente de eluentes: Hex/AcOEt (1:1), AcOEt e AcOEt/MeOH (9:1, 8:2), obtendo-se óleos amarelados.

1-(3-azido-2-hidroxiopropil) pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (49a)



Rendimento 81%, $[\alpha]_D^{25} = -4,23$ (c = 0,118 g/100 mL, MeOH); $R_f = 0,36$ (AcOEt/MeOH, 1:1); **IV (ATR/cm⁻¹):** 3367 (-OH), 2985 (C-H), 2102 (-N₃), 1685 (C=O).

1-(3-azido-2-hidroxiopropil)-5-metilpirimidina-2,4(1H,3H)-diona (49b)



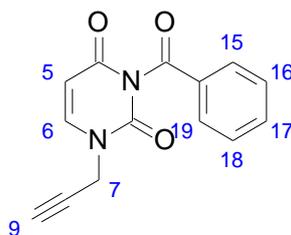
Rendimento 94%, $[\alpha]_D^{25} = -15$ (c = 0,1 g/100 mL, MeOH); $R_f = 0,35$ (AcOEt/MeOH, 1:1); **RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆):** δ 11,37 (d, 1H, NH, $J = 62,6$ Hz); 7,46 (s, 1H, H6); 5,04 – 4,97 (m, 1H, H8); 4,57 (t_{ap}, 1H, H12, $J = 8,6$ Hz); 4,27 (dd, 1H, H12', $J = 8,6$ e 6,24 Hz); 3,90 – 4,08 (m, 2H, H7 e H7'); 3,80 (dd, 1H, OH, $J = 13,72$ e 3,52 Hz); 1,74 (s, 3H, CH₃). **RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆):**

δ 164,7, 164,4, 155,3, 154,6, 151,3, 142,8, 141,6, 109,1, 108,0, 74,8, 69,3, 67,1, 66,2, 54,9, 50,4, 49,1, 12,1. **IV (ATR/cm⁻¹):** 3371 (-OH), 2920 (C-H), 2098 (-N₃), 1664 (C=C).

4.8 Obtenção das bases monoalquiladas (46a-c)

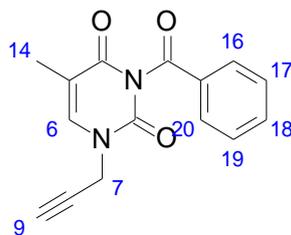
Em um balão de 50 mL foi adicionado 1 equiv. das bases pirimidínicas protegidas solubilizadas em 2 mL de DMF (seco), seguido da adição de 1,1 equiv. de K₂CO₃ sob agitação durante 30 min. Posteriormente, foi acrescentado 1,2 equiv. do brometo propargílico deixando em agitação à temperatura ambiente durante 20h. Após o término da reação, o DMF foi retirado através do evaporador rotatório e em seguida realizou a extração com acetato de etila (3 x 15 mL) e água, a fase orgânica concentrada no evaporador rotatório. O produto foi purificado em coluna cromatográfica usando como eluente uma mistura de 8:2 (AcOEt:Hex), obtendo assim sólidos amarelados.

3-benzoil-1-(prop-2-in-1-il) pirimidina-2,4(1*H*,3*H*) – diona (46a) [CAS Reg. N°449152-75-4]



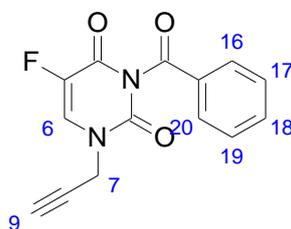
Rendimento 93%; 109,5 mg; PF = 136 – 138° C; R_f = 0,6 (AcOEt – 100%); **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 7,95 (d, 2H, H15 e H19, *J* = 7,04 Hz); 7,67 (t, 1H, H17, *J* = 7,44 Hz); 7,58 (d, 1H, H6, *J* = 7,84 Hz); 7,54 (t, 2H, H16 e H18, *J* = 7,44 Hz); 5,89 (d, 1H, H5, *J* = 8,2 Hz); 4,59 (d, 2H, H7, *J* = 2,72 Hz); 2,55 (t, 1H, H9, *J* = 2,72 Hz). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 168,4; 162,1; 149,3; 142,1; 135,2; 131,3; 130,5; 129,1; 102,8; 76,2; 75,5; 37,2. **IV (ATR/cm⁻¹):** 3288 (\equiv C-H), 3095 (C-H), 2123 (C \equiv C), 1739 (C=O), 1647 (C=C).

3-benzoil-5-metil-1-(prop-2-in-1-il)pirimidina-2,4(1*H*,3*H*)-diona (46b) [CAS Reg. N°449152-74-3]



Rendimento 91%; 319,4 mg; PF = 178 – 180° C; R_f = 0.7 (AcOEt – 100%); **RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6)**: δ 7,95 (d, 2H, H16 e H20, J = 7,8 Hz); 7,84 (s, 1H, H6); 7,79 (t, 1H, H18, J = 7,44 Hz); 7,61 (t, 2H, H17 e H19, J = 7,44 Hz); 4,57 (s, 2H, H7); 3,49 (d, 1H, H9, J = 2,36 Hz); 1,87(s, 3H, H14). **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6)**: δ 169,4; 162,7; 148,8; 140,9; 135,4; 130,9; 130,2; 129,4; 109,3; 77,9; 76,3; 37; 11,7. **IV (ATR/ cm^{-1})**: 3261 ($\equiv\text{C-H}$), 2926 (C-H sp^3), 2129 (C \equiv C), 1737 (C=O), 1641 (C=C).

3-benzoil-5-fluoro-1-(prop-2-in-1-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (46c) [CAS Reg. N°449152-76-5]



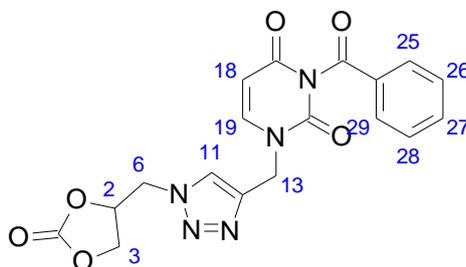
Rendimento 57%; 33,5 mg; PF = 171 – 174° C; R_f = 0,3 (Hexano/AcOEt, 6:4); **RMN ^1H (400 MHz, DMSO – d_6)**: δ 8,41 (d, 1H, H6, J = 6,64 Hz); 8,06 (d, 2H, H16 e H20, J = 7,04 Hz); 7,82 (t, 1H, H18, J = 7,44 Hz); 7,62 (t, 2H, H17 e H19, J = 7,84 Hz); 4,56 (d, 2H, H7, J = 1,96 Hz); 3,53 (t, 1H, H9, J = 2,36 Hz). **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO – d_6)**: δ 168; 147,6; 140,6; 138,2; 135,9; 130,6; 130,2; 129,9; 129,5; 77,4; 76,8; 37,8. **IV (ATR/ cm^{-1})**: 3294 ($\equiv\text{C-H}$), 3082 (C-H sp^3), 2921, 2129 (C \equiv C), 1657 (C=O), 1596 (C=C), 1235 (C-F).

4.9 Obtenção dos derivados triazólicos monosubstituídos (50a-b)

Em um balão de 50 mL sob atmosfera inerte de argônio, foi adicionado 1,2 equiv. (0,42 mmol) das bases propargílicas (46a-b) solubilizadas em 0,5 mL de CH_3CN , seguido da adição de 10% mol (referente ao alcino) do iodeto de cobre e 0,1 mL de trietilamina (Et_3N). Posteriormente, foi acrescentado 0,5 g (0,35 mmol) do azido - glicerol carbonato (52) solubilizada em 0,5 mL de CH_3CN , permanecendo

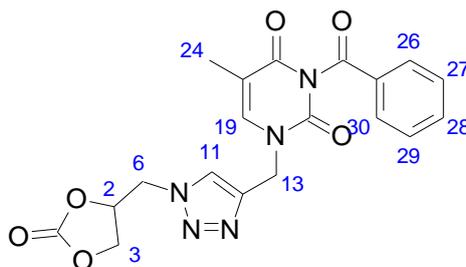
em agitação por 30 min à temperatura ambiente. Ao final da reação, o solvente foi evaporado em rotaevaporador. O produto foi purificado em coluna cromatográfica em sistema gradiente de eluentes: 8:2 (AcOEt:Hex), AcOEt e 9:1 (AcOEt:MeOH), fornecendo-se sólidos amorfos brancos.

3-benzoil-1-((1-[(2-oxo-1,3-dioxolan-4-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidina-2,4(1*H*,3*H*)-diona (50a)



Rendimento 88%; 122,5 mg; $[\alpha]_D^{25} = -9,17$ ($c = 0,109$ g/100 mL, $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$); $R_f = 0,14$ (AcOEt – 100%); **RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6):** 8,14 (s, 1H, H11); 7,98 (d, 1H, H19, $J = 7,84$ Hz); 7,93 (d, 2H, H25 e H29, $J = 7,44$ Hz); 7,77 (t, 1H, H27, $J = 7,44$ Hz); 7,59 (t, 2H, H26 e H28, $J = 7,84$ Hz); 5,88 (d, 1H, H18, $J = 7,84$ Hz); 5,21 – 5,17 (m, 1H, H2); 5,04 (s, 2H, H13); 4,79 (d, 2H, H6 e H6', $J = 5,08$ Hz); 4,63 (t, 1H, H3, $J = 8,64$ Hz); 4,3 (dd, 1H, H3', e $J = 6,28$ e $8,64$ Hz). **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6):** δ 169,7; 162,5; 154,4; 149,6; 146,7; 142,1; 135,8; 131,1; 130, 4; 129,7; 125,0; 101,2; 74,9; 66,8; 60,0; 51,3. **IV (ATR/ cm^{-1}):** 2918 (C-H), 1803 (C=O), 1741 (C=O), 1653 (C=C), 1236 (N=N).

3-benzoil-5-metil-1-((1-[(2-oxo-1,3-dioxolan-4-il)metil]-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)pirimidina-2,4(1*H*,3*H*)-diona (50b)



Rendimento 72,5%; 104,1 mg; $[\alpha]_D^{25} = -4,8$ ($c = 0,104$ g/100 mL, $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$); $R_f = 0,24$ (AcOEt – 100%); **RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6)**: 8,16 (s, 1H, H11); 7,93 (d, 2H, H26 e H30, $J = 7,44$ Hz); 7,89 (s, 1H, H19); 7,78 (t, 1H, H28, $J = 7,44$ Hz); 7,6 (t, 2H, H27 e H29, $J = 7,84$ Hz); 5,24 – 5,18 (m, 1H, H2); 5,02 (s, 2H, H13); 4,81 (d, 2H, H6 e H6', $J = 5,08$ Hz); 4,64 (t, 1H, H3, $J = 8,64$ Hz); 4,31 (dd, 1H, H3', e $J = 6,28$ e $8,64$ Hz); 1,85 (s, 3H, H24). **RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6)**: δ 169,5; 162,7; 154; 149,2; 142; 135,4; 131; 130,2; 129,4; 124,7; 108,9; 74,6; 66,6; 50,1; 42,6; 11,7. **IV (ATR/ cm^{-1})**: 1693 (C=O), 1643 (C=C), 1226 (N=N).

4.10 Avaliação da atividade citotóxica

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados na Fundação Oswaldo Cruz (FioCruz-PE): Centro de Pesquisas Instituto Aggeu Magalhães em colaboração com o Dr. Lindomar José Pena e a aluna de doutorado Willyenne Marília Dantas. Sendo assim, as células derivadas do rim de macaco verde africano (Vero CCL-81) e células de carcinoma de fígado humano (HepG2) foram utilizadas nos experimentos. O cultivo das células foi realizado com meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% penicilina/estreptomicina em estufa a 37°C e 5% de atmosfera de CO_2 . Microplacas de 96 poços com 1×10^4 células/poço para Vero e 2×10^4 células/poço para HepG2 foram feitas com 24h de antecedência.

Uma solução-estoque de concentração 10 mM em 5% de DMSO/água foi feita com todos os compostos. Logo após, as concentrações utilizadas no teste (1000 μM , 500 μM , 250 μM , 125 μM , 62.5 μM , 30.3 μM e 15.6 μM) foram feitas com meio de cultura DMEM suplementado com 2% de soro fetal bovino e 1% penicilina/estreptomicina. Após a distribuição das soluções com os compostos na microplaca em quadruplicata, a mesma foi incubada por 72h a 37°C e 5% atm de CO_2 . O método MTT foi escolhido para determinação da quantidade de células viáveis e os valores de CC_{20} e CC_{50} determinados através da análise estatística nos programas Microsoft Office Excel e GraphPad Prism.

4.11 Atividade antiviral

4.12 Ensaio de pós-infecção

A partir dos resultados do ensaio de citotoxicidade, os compostos foram testados contra o vírus Zika em células Vero na concentração determinada como

CC₂₀ ou na maior concentração usada na citotoxicidade caso o CC₂₀ ultrapassasse esse valor. Microplacas de 48 poços com 2,5x10⁴ células/poço foram feitas com 24h de antecedência ao ensaio. A placa foi infectada com o vírus em uma proporção de multiplicidade de infecção (MOI) de 0.1 exceto nos poços do controle celular. Após 2h de incubação a 37°C e 5% de atm de CO₂, os poços da placa foram lavados e os compostos adicionados em triplicata e incubados novamente por 72h. Após esse tempo, os sobrenadantes dos poços da placa foram coletados e armazenados em temperatura de -80°C e depois titulados pela metodologia TCID₅₀. A análise estatística foi realizada pelo GraphPad Prism (KOK, 2016).

4.13 Ensaio de determinação do IC₅₀

O valor da concentração inibitória mediana (IC₅₀) foi determinada pelo uso das concentrações derivadas das diluições (1:2) do valor da concentração do CC₂₀ (concentração inicial para cada composto). Microplacas de 48 poços com 2,5x10⁴ células/poço foram feitas com 24h de antecedência ao ensaio. A placa foi infectada com o vírus em um MOI de 0.1 exceto nos poços do controle celular. Após 2h de incubação a 37°C e 5% de atm de CO₂, os poços da placa foram lavados e as diluições dos compostos, incluindo o 6MMPR, foram adicionados em triplicata e incubados novamente por 72h. Após esse tempo, os sobrenadantes dos poços da placa foram coletados e armazenados em temperatura de -80°C e depois titulados pela metodologia TCID₅₀. A análise estatística foi realizada pelo GraphPad Prism (De Carvalho, 2017).

4.14 Titulação de amostras (método TCID₅₀)

Após a coleta dos sobrenadantes dos experimentos descritos anteriormente, diluições seriadas (1:10) dos sobrenadantes são feitas e adicionadas em quadruplicata nos poços da placa de 96 poços (1x10⁴ células/poço) feita com 24h de antecedência. Uma linha para controle celular não foi utilizada. Após 6 dias de incubação, a placa foi lida com o auxílio de um microscópio óptico invertido para determinação dos poços positivos e negativos e os cálculos para determinação do título viral em TCID₅₀/mL foi utilizado o Microsoft Office Excel de acordo com a metodologia de Reed & Muench (1938).

4.15 Análise estatística

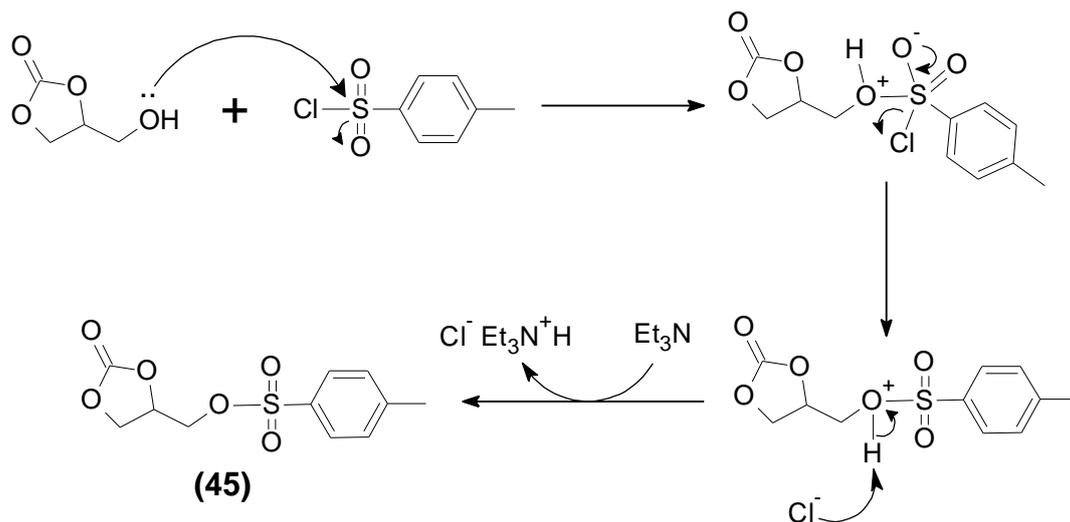
Com o auxílio dos programas Microsoft Office Excel e GraphPad Prism, a análise estatística foi realizada para determinação do CC₂₀ e CC₅₀ por regressão linear ou não-linear, de acordo com o comportamento gráfico do composto testado. Os testes ANOVA e Dunnett foram realizados no GraphPad Prism para determinação dos melhores candidatos a antiviral a partir do resultado das titulações. Foi considerado o valor de $P < 0.05$ para resultados significantes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese do carbonato de glicerol tosilado a partir do glicerol (45)

O carbonato de glicerol (CG) como molécula proeminente do glicerol, tem sido enfatizada na literatura em função da sua ampla reatividade. Derivados do CG, a exemplo do carbonato de glicerol tosilado (CGT), destaca-se por apresentar 4 sítios eletrofílicos, a presença do grupo tosilato (-OTs) configura-se como um bom grupo de saída, permitindo assim, agregar o anel carbonato à uma outra molécula, sem afeta-lo diretamente. Neste aspecto, o carbonato de glicerol tosilado pode ser utilizado como bloco de construção útil em síntese orgânica.

Em termos de mecanismo, a síntese do carbonato de glicerol tosilado (CGT) a partir do carbonato de glicerol, inicia-se pelo ataque da hidroxila primária ao átomo de enxofre do cloreto de 4-toluenossulfonila, seguido da retirada de um próton pelo íon cloreto. O ácido clorídrico (HCl) formado *in situ* é neutralizado pela presença da trietilamina (TEA), formando assim o produto desejado. O Esquema 12, demonstra a proposta mecanística, já conhecida na literatura, envolvida na formação do carbonato de glicerol tosilado.

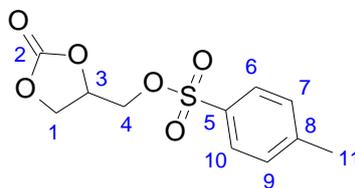


Esquema 12. Proposta de mecanismo para a formação do CGT.

O carbonato de glicerol tosilado foi obtido com rendimento de 61% via recristalização com acetato de etila e hexano. Como principal ferramenta elucidativa de compostos orgânicos foi utilizado a RMN ^{13}C e ^1H , bem como, a espectroscopia no infravermelho. Neste sentido, analisando o espectro de RMN ^1H em 400 MHz do composto **(45)** na Figura 10, observa-se um simpleto em 2,

47 ppm com integração de três hidrogênios correspondente ao H-11. O sinal seguinte é um tripleto atribuído aos hidrogênios H-4 e H-4' em 4,23 ppm ($J = 3,92$ Hz). Em 4,36 e 4,54 ppm notamos a presença de um duplo duplete e de um tripleto referentes, respectivamente aos hidrogênios H-1 ($J = 5,88$ e 9 Hz) e H-1' ($J = 8,6$ Hz). Ressalta-se que os hidrogênios (H-1 e H-4) adjacentes ao hidrogênio H-3 são diastereotópicos, visto que são vizinhos a um centro quiral, e apresentam acoplamentos geminais e vicinais. Verifica-se um multipletto em 4,91–4,86 ppm atribuído ao H-3 e por fim, na região dos aromáticos é observado dois dupletos correspondentes aos hidrogênios (H-7 e H-9) e (H-6 e H-10), com deslocamentos químicos de 7,39 e 7,81 ppm, respectivamente, e com $J = 8,2$ Hz. Os dados espectroscópicos (Tabela 1) estão em concordância com a estrutura proposta.

Tabela 1. Dados espectroscópicos de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C (100 MHz) do composto 45.



	RMN de ^1H δ (ppm), multiplicidade, integração, $J_{\text{H,H}}$	RMN de ^{13}C δ (ppm)
1/1'	4,54 (t, 1H, $J = 8,6$ Hz) / 4,36 (dd, 1H, $J = 5,88$ e 9 Hz)	65,5
2	-	153,7
3	4,91 – 4,86 (m, 1H)	67,1
4/4'	4,23 (t, 2H, $J = 3,92$ Hz)	72,9
5	-	145,8
6/10	7,81 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz)	128
7/9	7,39 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz)	130,2
8	-	131,8

11

2,47 (s, 3H)

21,7

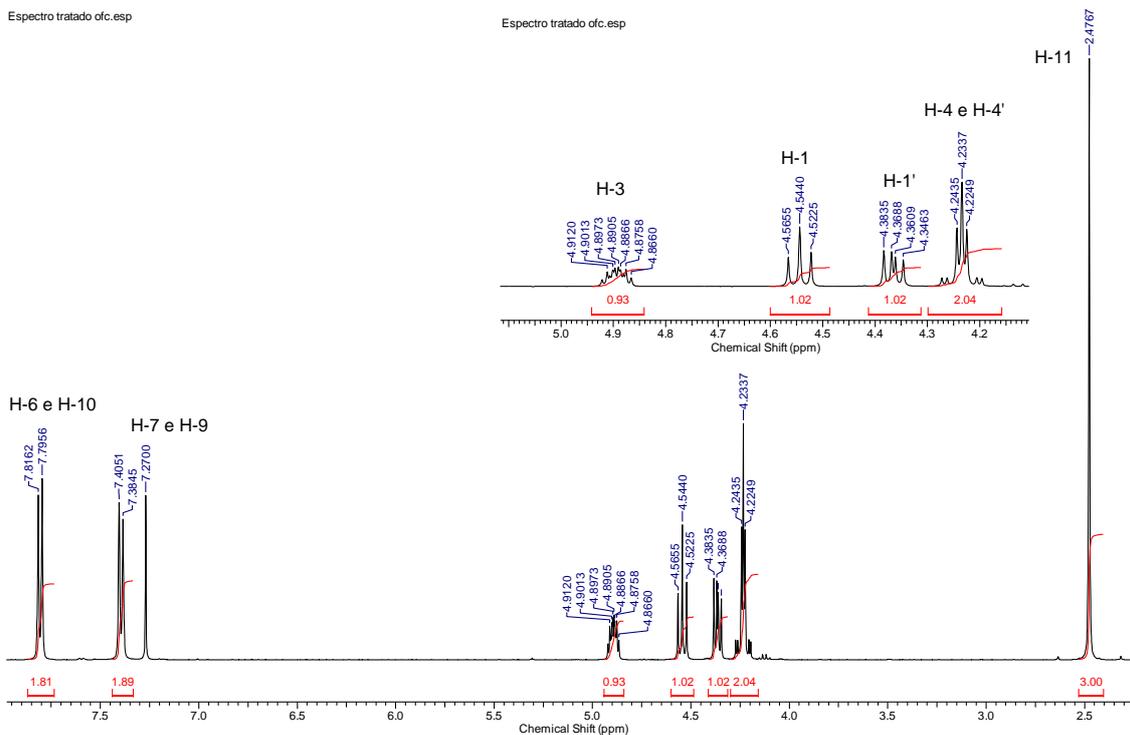
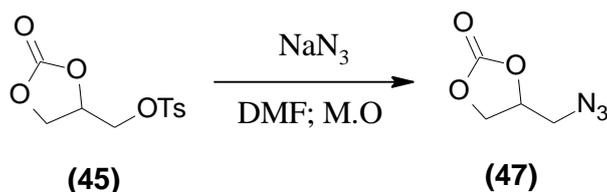


Figura 10. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) do composto (45)

5.2 Síntese do azido – glicerol carbonato a partir do carbonato de glicerol tosilado (47)

As azidas orgânicas se caracterizam como intermediário fundamental na síntese de triazóis. Por meio de uma substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) do CGT com NaN_3 foi possível obter o azido – glicerol carbonato (47). A azida de sódio atua como nucleófilo e o grupo tosila sai na forma de íon *p*-toluenossulfonato. O Esquema 13, descreve síntese do azido-glicerol carbonato como intermediário útil para formação posterior de 1,2,3 - triazóis.



Esquema 13. Síntese do azido-glicerol carbonato.

O azido – glicerol carbonato (47) foi obtido com rendimento de 79%, a reação aqui descrita foi realizada sob irradiação assistida por micro-ondas (M.O) através de uma metodologia desenvolvida pelo nosso grupo de pesquisa. Após

30 min de reação à 70° C, constatou-se na CCD o consumo total do material de partida. Devido ao curto tempo de reação, ao bom rendimento reacional e a facilidade na purificação, optou-se por adotar a metodologia supracitada. A formação do azido – glicerol carbonato foi confirmada preliminarmente através do espectro de infravermelho (Figura 11), em que se visualiza absorções em 2081 cm^{-1} atrelado ao estiramento vibracional do grupo azida (N_3). Além disto, observou-se vibrações de estiramento referente à $\text{C}=\text{O}$ do anel carbonato em 1774 cm^{-1} .

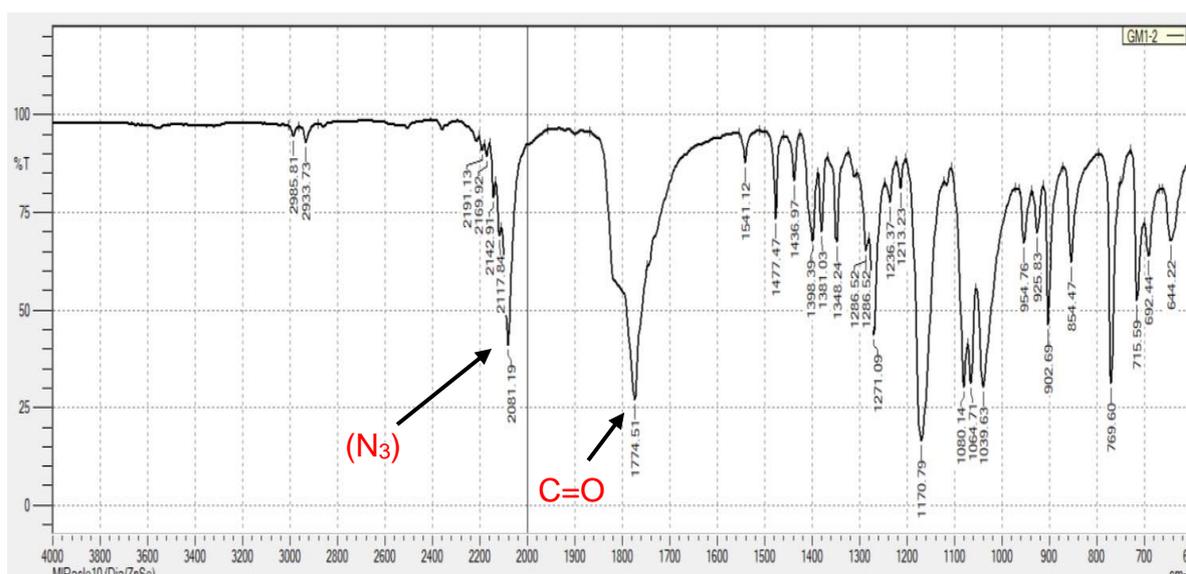
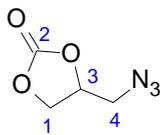


Figura 11. Espectro de infravermelho do composto (47)

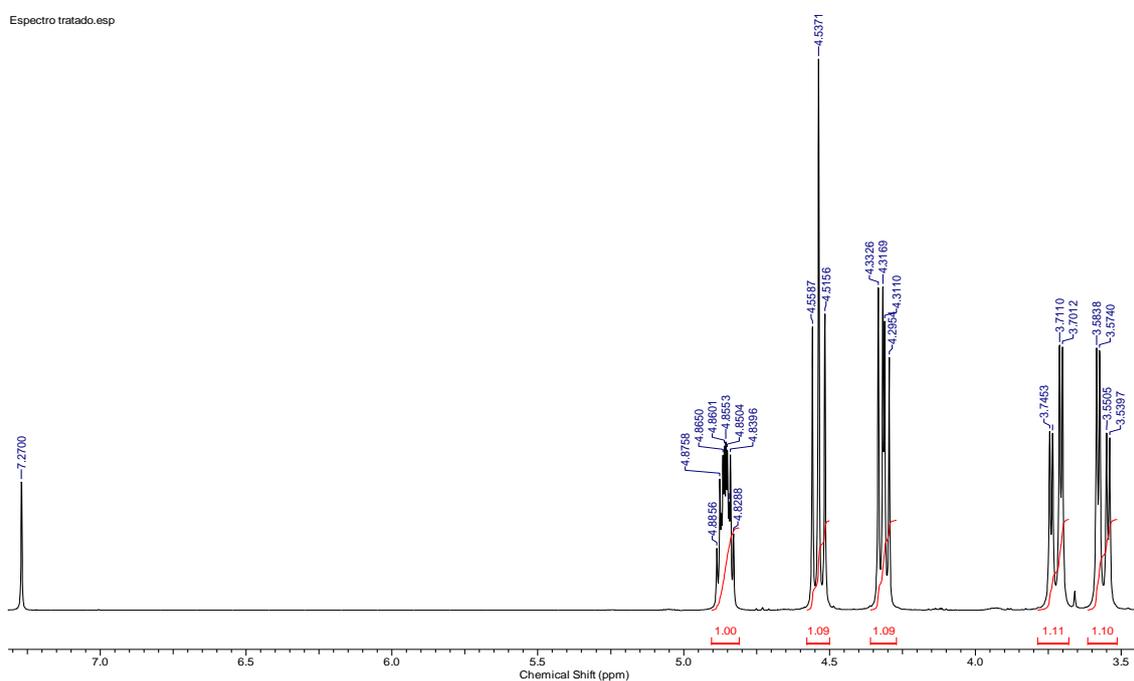
Na análise do espectro de RMN de ^1H em 400 MHz do composto (47) na Figura 11, é evidenciado a ausência dos sinais inerentes a faixa dos hidrogênios aromáticos, sendo um forte indicativo da substituição do grupo tosila (-OTs). Sendo assim, notamos sinais dos hidrogênios diastereotópicos (H-4 e H-4'), as quais se apresentam como duplo dupletos em 3,72 e 3,56 ppm ($J = 3,92$ e $13,72$ Hz), respectivamente. Em seguida é visualizado, os hidrogênios diastereotópicos (H-1 e H-1'), sendo o H-1 como tripleto aparente em 4,54 ppm (dd, $J = 8,6$ e $8,6$ Hz) para integração de 1H, e o H-1' como duplo duplete em 4,31 ppm ($J = 6,24$ e $8,6$ Hz). Em 4,87 – 4,82 ppm observa-se um multiplete com integração de 1H atribuído ao H-3. Assim, os dados espectroscópicos (Tabela 2) estão em consonância com a estrutura proposta.

Tabela 2. Dados espectroscópicos de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C (100 MHz) do composto 47.



	RMN de ^1H δ (ppm), multiplicidade, integração, $J_{\text{H,H}}$	RMN de ^{13}C δ (ppm)
1/1'	4,54 (dd, 1H, $J = 8,6$ e 8,6 Hz) 4,31 (dd, 1H, $J = 6,24$ e 8,6 Hz)	66, 3
2	-	154,2
3	4,87 – 4,82 (m, 1H)	74,2
4/4'	3,72 (dd, 1H, $J = 3,9$ e 13,7 Hz) 3,56 (dd, 1H, $J = 3,9$ e 13,7 Hz)	52

Espectro tratado.esp



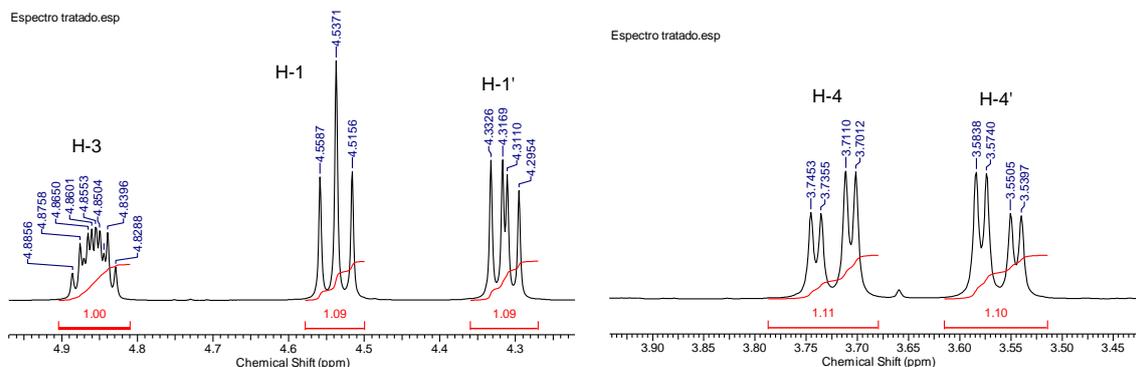
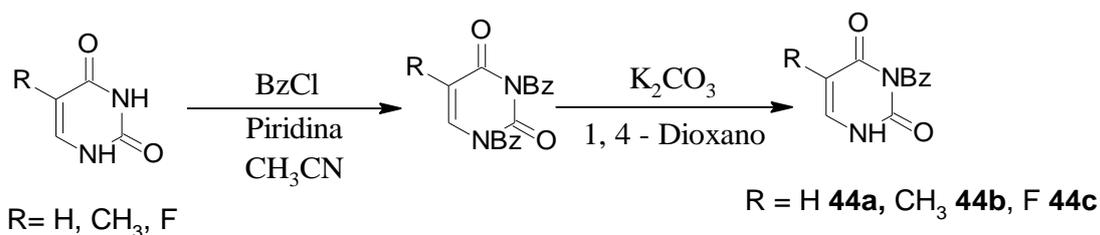


Figura 12. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) e expansões do composto (47)

5.3 Proteção por meio da N^β -benzoilação das bases pirimidínicas (44a-c)

A síntese das bases pirimidínicas protegidas pela N^β -benzoilação visou-se aumentar a seletividade, de modo a promover apenas a desprotonação no N-1. Portanto, com a proteção das bases buscou-se possibilitar N -alquilação seletiva no nitrogênio N^1 com o carbonato de glicerol tosilado para obter os compostos (48a-b), bem como, a obtenção das bases monoalquiladas (46a-c). Neste sentido, a proteção das bases pirimidínicas foi realizada de acordo com a metodologia de Bessières e colaboradores (2016), ao qual a primeira etapa ocorre com a proteção dos nitrogênios N^1 e N^β , seguido da desproteção do grupo benzoila com uma solução de carbonato de potássio (K_2CO_3) à 0,5 M sob irradiação de micro-ondas (Esquema 14). Entretanto, após o acompanhamento do progresso reacional por CCD em 20 min percebeu-se resquícios do material de partida, sendo assim, resolveu-se aumentar o tempo reacional para 40 min. Por outro lado, testamos a metodologia de proteção em agitação descrita por Frieden e colaboradores (1998), buscando sintetizar as bases pirimidínicas protegidas em quantidade, apesar do longo tempo reacional.



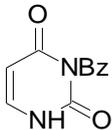
Esquema 14: Síntese das bases pirimidínicas protegidas por N^β -benzoilação.

A purificação ocorreu em coluna cromatográfica usando como sistema de eluição inicial, o acetato de etila e hexano numa proporção de 7:3, logo após usou o acetato de etila e finalizou-se com acetato de etila e metanol (9:1).

Dificuldades na etapa de purificação foi evidente por causa do alto caráter polar das bases protegidas. A dessorção das bases pirimidínicas na sílica foi possível graças ao uso de metanol. Entretanto, como alternativa plausível recorreu-se a recristalização das bases pirimidínicas com acetona e água (1:1), rendimentos em coluna cromatográfica e por meio da recristalização foram equivalentes, como ilustrado na Tabela 3.

Tabela 3: Comparação entre os rendimentos obtidos das bases pirimidínicas protegidas por meio da recristalização e da coluna cromatográfica.

MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO

PRODUTO	RECRISTALIZAÇÃO	CROMATOGRAFIA EM COLUNA
 <p>44a</p>	58%	61%
 <p>44b</p>	75%	81%

Com o intuito de confirmar a *N*³-benzilação das bases pirimidínicas, o espectro de RMN ¹H em 400 MHz do composto (**44a**) (Figura 12) mostra a presença de sinais na região dos aromáticos referentes aos hidrogênios *meta* H-13 e H-15 δ 7,61 – 7,57 ppm (multiplete) e H-5; hidrogênio *para* H-14 δ 7,76 ppm (triplete, $J = 7,44$ Hz). Ainda na região dos aromáticos temos os hidrogênios *orto* H-12 e H-16 δ 7,94 ppm (duplete, $J = 7,84$ Hz). O sinal atribuído ao hidrogênio do anel pirimidínico H-6 está sobreposto ao multiplete aromático em 7,61–7,57 ppm, além disso observamos sinais de duplete oriundo do hidrogênio H-5 ($J = 7,84$ Hz) em 5,75 ppm pelo acoplamento com o H-6.

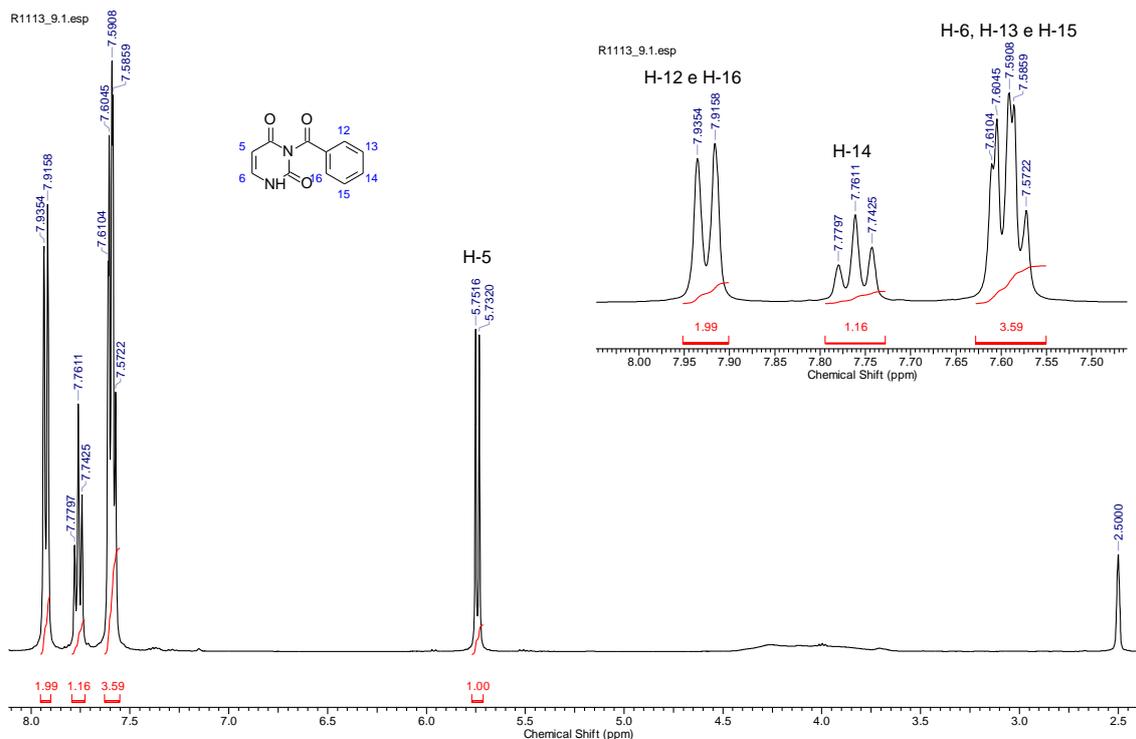
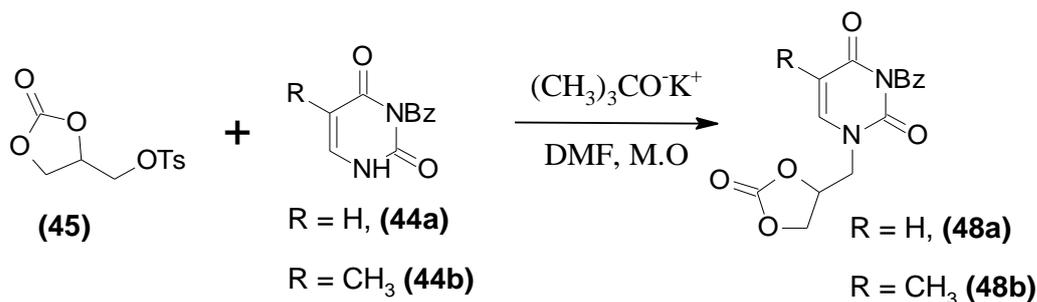


Figura 13. Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz) do composto **(44a)**

5.4 Síntese dos glicero – pirimidínicos (**48a-b**)

Com a obtenção das bases pirimidínicas protegidas (**44a-b**) e do carbonato de glicerol tosilado (**45**), partiu-se para a síntese dos glicero – pirimidínicos, como ilustrado no Esquema 15.



Esquema 15. Obtenção dos glicero – pirimidínicos.

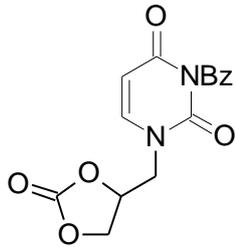
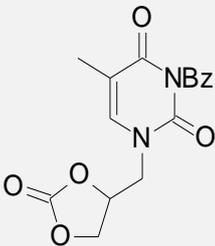
A priori, foi empregado o (CH₃)₃CO⁻K⁺ como base para a desprotonação no nitrogênio N¹ dos compostos (**44a-b**), apresentando-lhes um resultado favorável frente à CCD. A metodologia escolhida seguiu com o tempo reacional de 45 min em micro-ondas, a qual através da CCD visualizou-se o consumo parcial do material de partida, desta forma, prorrogou o tempo reacional para 1h em M.O. Ainda assim, não foi observado o consumo total do material de partida,

diante disto, optou-se por aumentar a equivalência do $(\text{CH}_3)_3\text{CO}^-\text{K}^+$, mas a formação de subprodutos foram evidenciadas.

A purificação ocorreu por coluna cromatográfica em sistema gradiente de eluentes hexano/acetato de etila (3:7), acetato de etila, e acetato de etila/metanol (9:1, 8:2), com alto consumo de solvente devido ao alto caráter polar dos compostos que contém as bases pirimidínicas. Diante do exposto, alternativamente recorreu-se para a recristalização com acetona e água (1:1), obtendo-se rendimentos maiores, como visto na Tabela 4.

Tabela 4. Comparação entre os rendimentos obtidos dos glicero – pirimidínicos por meio da recristalização e da coluna cromatográfica.

MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO

PRODUTO	RECRISTALIZAÇÃO	CROMATOGRAFIA EM COLUNA
 <p>48a</p>	81%	66%
 <p>48b</p>	72%	47%

A Figura 14 mostra o espectro de RMN ^1H em 400 MHz do composto (**48b**). Na região de campo alto δ 1,83 ppm observa-se um simpleto referente ao H-7 (integração = 3H). Em seguida, o sinal largo em 4,10 ppm com integração de 2H é atribuído ao H-18 e H-18'. Os hidrogênios diastereotópicos H-23 e H-23'

aparecem como tripleto aparente em δ 4,58 ppm ($J = 8,6$ e $8,6$ Hz) e duplo duplete ($J = 6,6$ e $8,6$ Hz) em δ 4,27 ppm, respectivamente. Um multipletto com deslocamento químico de 5,08–5,04 ppm corresponde ao H-19. Um outro tripleto mostrado em 7,59 ppm é atribuído aos hidrogênios aromáticos H-14 e H-16 ($J = 7,8$ Hz). Na sequência, verifica-se um simpleto em 7,70 ppm referente ao H-6. Ainda na região dos aromáticos notamos sinais de tripleto em 7,77 ppm conferido ao H-15 ($J = 7,08$ Hz) e por fim visualiza-se sinais de duplete com integração de 2H relacionado aos hidrogênios H-13 e H-17 ($J = 7,44$ Hz).

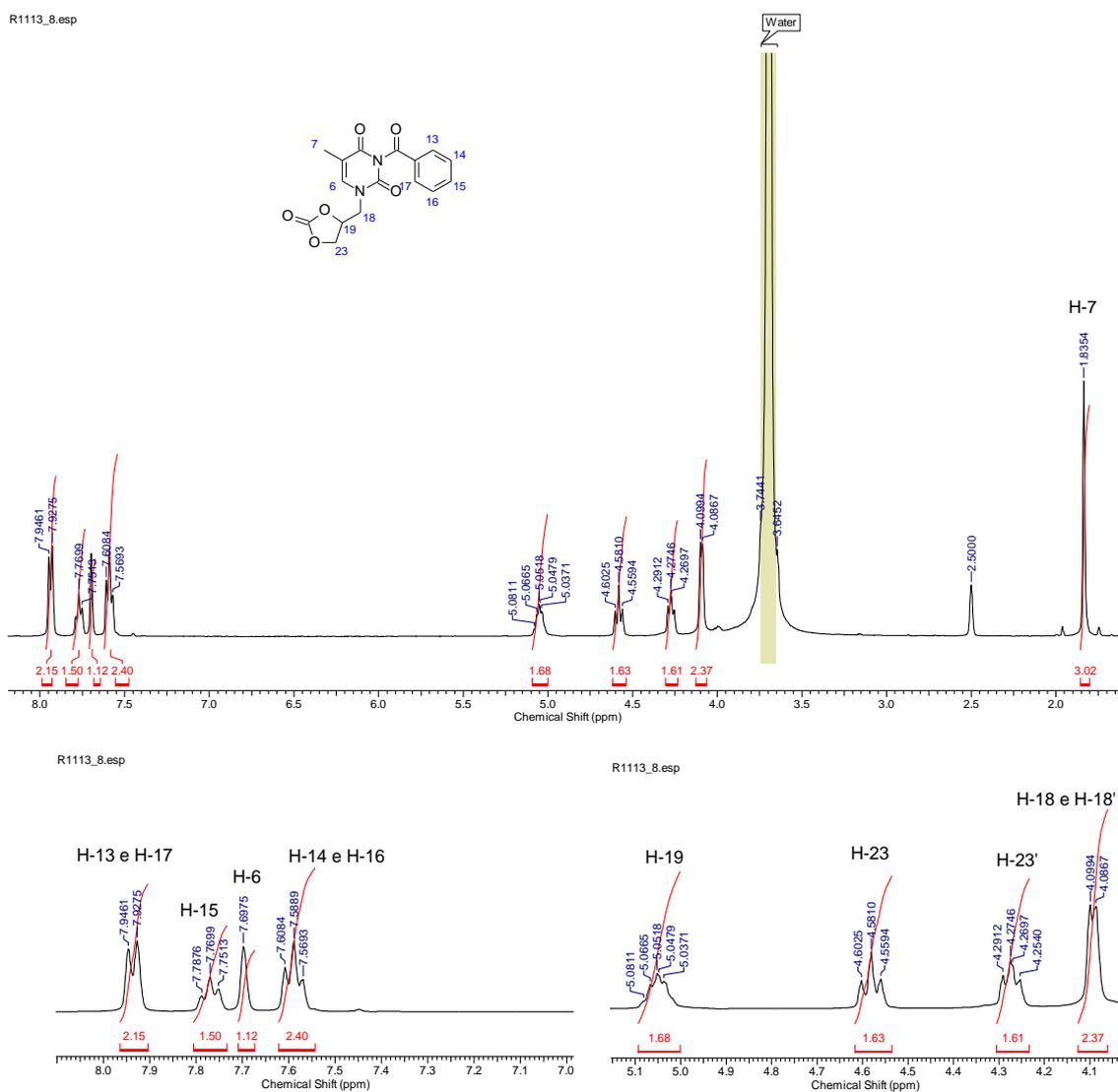
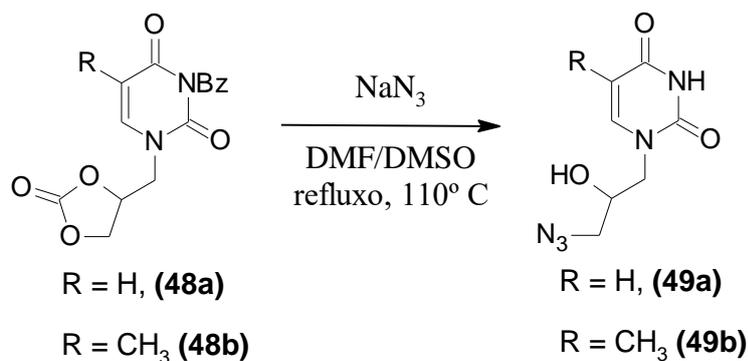


Figura 14. Espectro de RMN ^1H (DMSO-d_6 , 400MHz) e expansões do composto (48b).

5.5 Síntese dos azido – glicero – pirimidínicos (49a-b)

Com a obtenção dos glicero–pirimidínicos (48a-b), partiu-se para a síntese dos azido–glicero–pirimidínicos (49a,b) a partir da abertura do anel carbonato com azida de sódio, como representado no Esquema 16.



Esquema 16. Síntese de (49a,b) via abertura do anel carbonato.

Para a abertura do anel carbonato utilizou-se como solventes uma mistura binária DMF/DMSO (1:1) e 1,5 equivalente de NaN_3 sob refluxo à 110° C por 30 min, no qual foi obtido um rendimento de 94% para o composto **(49a)**. Com êxito, repetiu-se as mesmas condições reacionais para a formação do composto **(49b)**, obtendo-se rendimento de 81%. A purificação ocorreu por coluna cromatográfica, utilizando como sistema de eluição 100% AcOEt e depois AcOEt/Metanol (9:1). Além disso, houve tentativas de purificação por recristalização com água/acetona; (1:1), mas não foi obtido cristais puros. Desta forma, para confirmar a estrutura dos compostos sintetizados foram realizados os espectros de RMN. Os dados de RMN ^1H confirmaram a abertura do anel carbonato para a formação do glicero-pirimidínico **49b**. Assim sendo, a figura 15 mostra o espectro de RMN ^1H em 400 MHz do composto **49b**. O espectro de RMN apresenta-se alguns sinais duplicados ou sobrepostos. Em 11,29 ppm observamos dois sinais referentes ao N-H, essa duplicação de sinal possivelmente é devido a existência de estereoisomeria de conformação que será discutida mais a frente. Em 7,46 ppm notasse um simpleto correspondente ao hidrogênio H-6, em seguida observasse a sua duplicidade em 7,37 ppm. Posteriormente, verificasse a presença de um multipeto em 5,04–4,97 ppm referente ao hidrogênio H-8 que está ligado a carbono quiral. Em 4,57 ppm é observado um tripleto aparente atribuído ao hidrogênio H-12 com $J = 8,6$ e $8,6$ Hz. O próximo sinal é um duplo dupeto atribuído ao hidrogênio H-12' com $J = 8,6$ e $6,2$ Hz. Na região de 3,90-4,08 ppm observasse um sinal multipeto referente aos hidrogênios H-7 e H-7' com integração de 2H. Em 3,8 ppm visualizasse um duplo dupeto referente -OH com $J = 13,72$ e $3,52$ Hz. Em 5,49 ppm visualizasse um dupeto referente ao -OH com $J = 5,48$ Hz. Por fim, é

observado sinal duplicado de dois simplesos inerentes ao $-\text{CH}_3$ em 1,75 e 1,73 ppm.

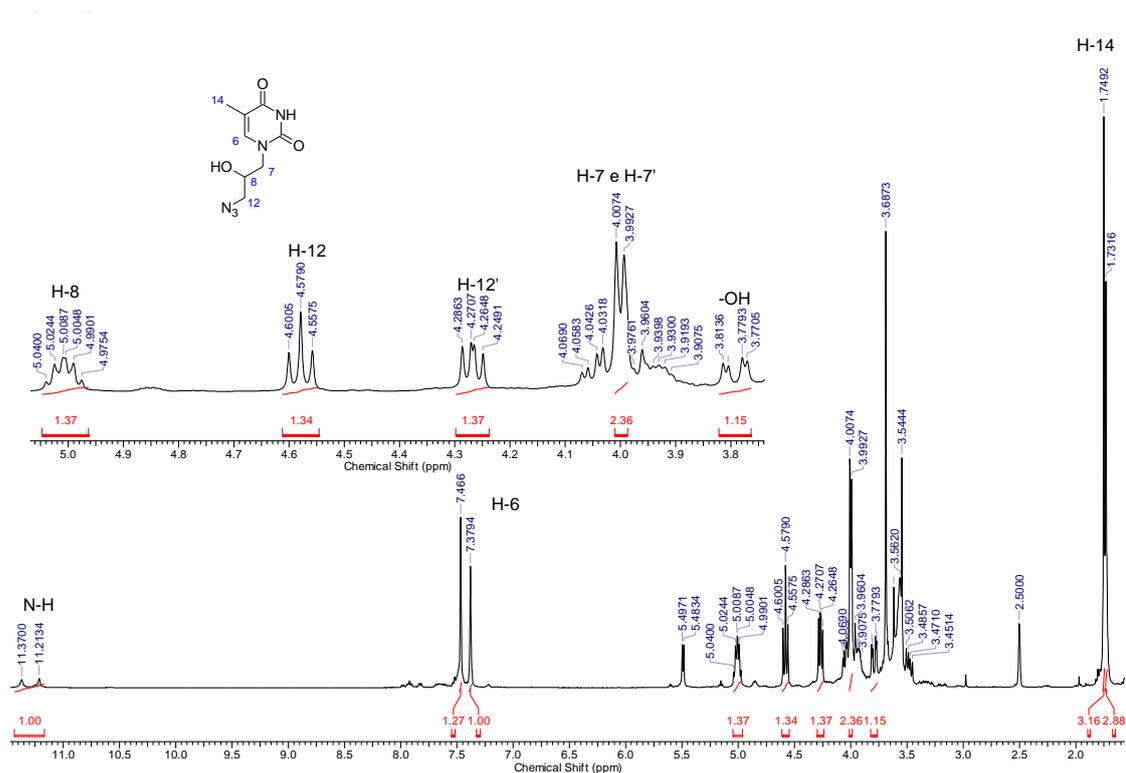
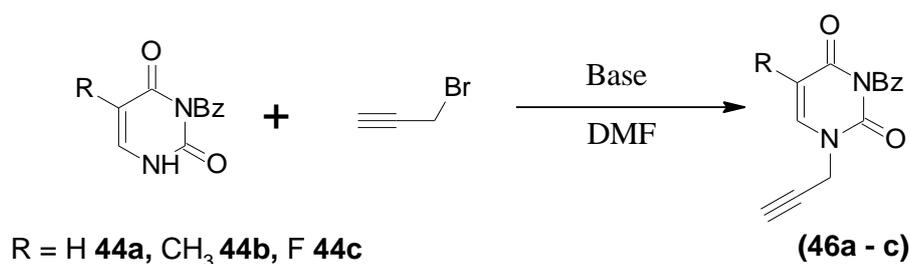


Figura 15. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz) do composto (49b)

5.6 Síntese das bases pirimidínicas monoalquiladas (46a-c)

Logo após a proteção das bases uracila, timina e fluorouracil, partiu-se para a síntese das bases monoalquiladas **46a-c** através de uma metodologia realizada em micro-ondas. Inicialmente adicionou-se como base para a desprotonação, o $(\text{CH}_3)_3\text{CO}^-\text{K}^+$ no tubo de micro-ondas com as bases pirimidínicas protegidas solubilizadas em DMF (seco) durante 5 min, posteriormente foi feita a reação em M.O por 30 min. O Esquema 17, descreve a reação entre as bases pirimidínicas protegidas com o brometo propargílico.



Esquema 17. Síntese dos alcinos terminais a partir das bases pirimidínicas protegidas.

Como forma de otimizar a reação, empregamos variações na temperatura, na equivalência do brometo propargílico e na equivalência da base. Foi observado que mantendo-se a temperatura e o tempo, mas aumentando a equivalência do brometo propargílico e da base acarretaria num aumento do rendimento (Entrada 1 e 2, Tabela 5). Após 30 min de reação, constatou-se por meio da CCD o consumo parcial do material de partida. Em contrapartida, foi adotado o dobro da equivalência do brometo propargílico com intuito de promover o consumo total da base pirimidínica, o aumento no rendimento foi notório, mas não ocorreu de forma proporcional (Entrada 2 e 3). Neste sentido, optou-se por manter as mesmas condições reacionais da entrada 2, mas aumentado a temperatura para 60° C (Entrada 4), a reação foi acompanhada por CCD, onde foi percebido o consumo total do material de partida com a obtenção de 80% de rendimento.

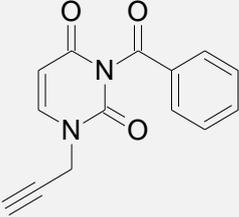
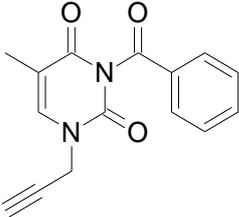
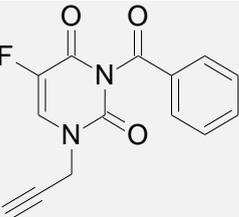
Tabela 5. Condições reacionais empregadas em micro-ondas para a síntese do alcino terminal (**46a**).

Entrada	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Equivalência do brometo propargílico	Equivalência do $(\text{CH}_3)_3\text{CO}^- \text{K}^+$	Rendimento (%)
1	30	50	1,2	1,5	40
2			1,5	2	63
3			3		72
4		60	1,5	80	

Os testes preliminares foram feitos com a base uracila protegida, como a entrada 4 forneceu o maior rendimento, adotou-se essas condições reacionais para a síntese das bases monoalquiladas proveniente da timina (**46b**), do qual foi obtido um rendimento de 85%. A purificação do produto foi realizada em coluna cromatográfica usando como eluente uma mistura 8:2 (AcOEt:Hex), houve tentativas de purificação por meio da recristalização com acetona e água (1:1), foi observado a formação de cristais, mas por meio da CCD constatou-se a presença de impurezas.

Entretanto, apesar dos bons rendimentos obtidos dos alcinos terminais, a metodologia em micro-ondas tinha como fator limitante o tamanho do tubo, a qual impedia de produzir as bases propargílicas em quantidade considerável. Neste sentido, com o intuito de sintetizar em quantidade os alcinos terminais recorreu-se posteriormente a uma metodologia já existente na literatura (GŁOWACKA *et al.*, 2013). A referida metodologia utilizava como base 1,1 equiv. de K_2CO_3 , 1,2 equiv. do brometo propargílico, e como solvente foi empregado o DMF, a agitação da mistura reacional ocorreu à temperatura ambiente. Foram obtidos bons rendimentos dos alcinos terminais, conforme visualizado na tabela 6.

Tabela 6. Resultado obtido da síntese das bases pirimidínicas monoalquiladas.

PRODUTO	TEMPO	RENDIMENTO (%)	PONTO DE FUSÃO (°C)
 46a	20h	93%	136-138
 46b		91%	178-180
 46c		57%	171-174

Para a caracterização dos alcinos foi empregado a Espectroscopia de Infravermelho e de RMN. Neste sentido, foi observado no espectro de infravermelho (Figura 16) do composto (**46a**) as absorções características de

alcinos terminais, a saber: estiramento C-H sp em 3288 cm^{-1} e estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$ em 2123 cm^{-1} . O estiramento $\text{C}=\text{C}$ do anel pirimidínico ocorre em 1647 cm^{-1} , além da presença da absorção de estiramento referente à $\text{C}=\text{O}$ em 1739 cm^{-1} .

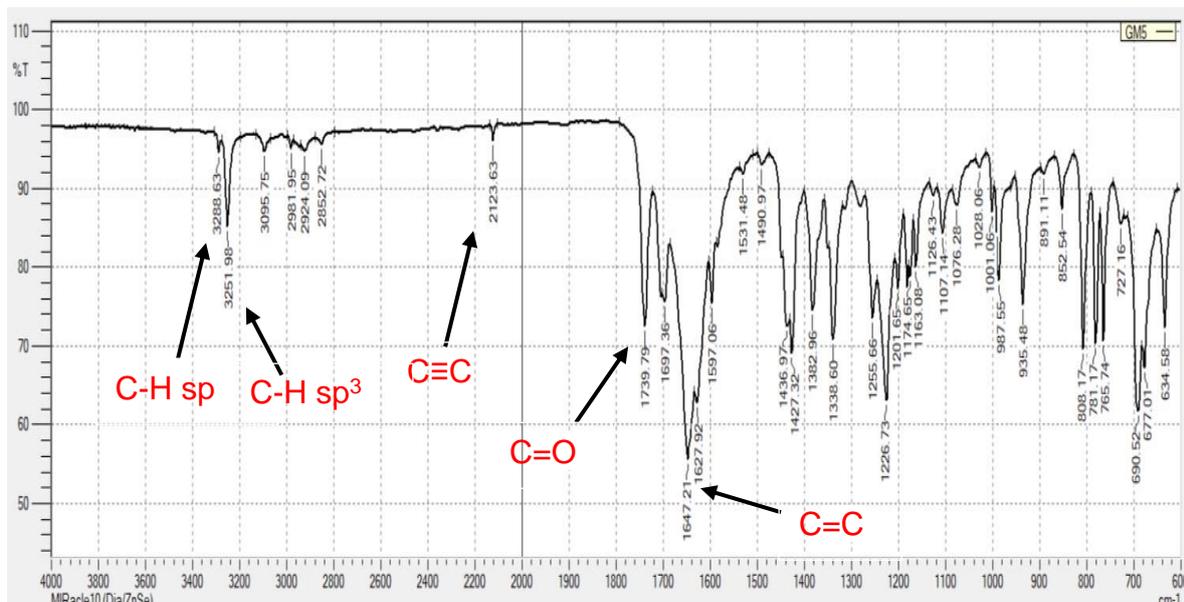


Figura 16. Espectro de infravermelho do composto (46a)

Os dados espectroscópicos estão consistentes com a estrutura proposta, conforme pode ser observado no espectro de RMN ^1H em 400 MHz do composto (46a) na Figura 17 a confirmação do alcino terminal. Assim sendo, o sinal de tripleto em 2,55 ppm é atribuído ao hidrogênio acetilênico H-9 ($J = 2,72\text{ Hz}$) para integração de um hidrogênio. Em seguida é perceptível um duplete referente aos hidrogênios H-7 ($J = 2,72\text{ Hz}$) com integração de dois hidrogênios. Outrossim, em 5,89 ppm verifica-se um duplete correspondente ao H-5 ($J = 8,0\text{ Hz}$) do anel pirimidínico. Por outro lado, em campo mais baixo é notado a presença de um tripleto atribuído aos hidrogênios aromáticos *meta* H-16 e H-18 ($J = 7,44\text{ Hz}$) com integração de dois hidrogênios em 7,44 ppm, logo após, observa-se sinais de duplete δ 7,58 ppm e tripleto δ 7,67 ppm referentes aos hidrogênios H-6 ($J = 8,0\text{ Hz}$) e H-17 ($J = 7,44\text{ Hz}$). Por fim, verifica-se sinais de duplete conferidos aos hidrogênios *orto* aromáticos H-15 e H-19 ($J = 7,04\text{ Hz}$).

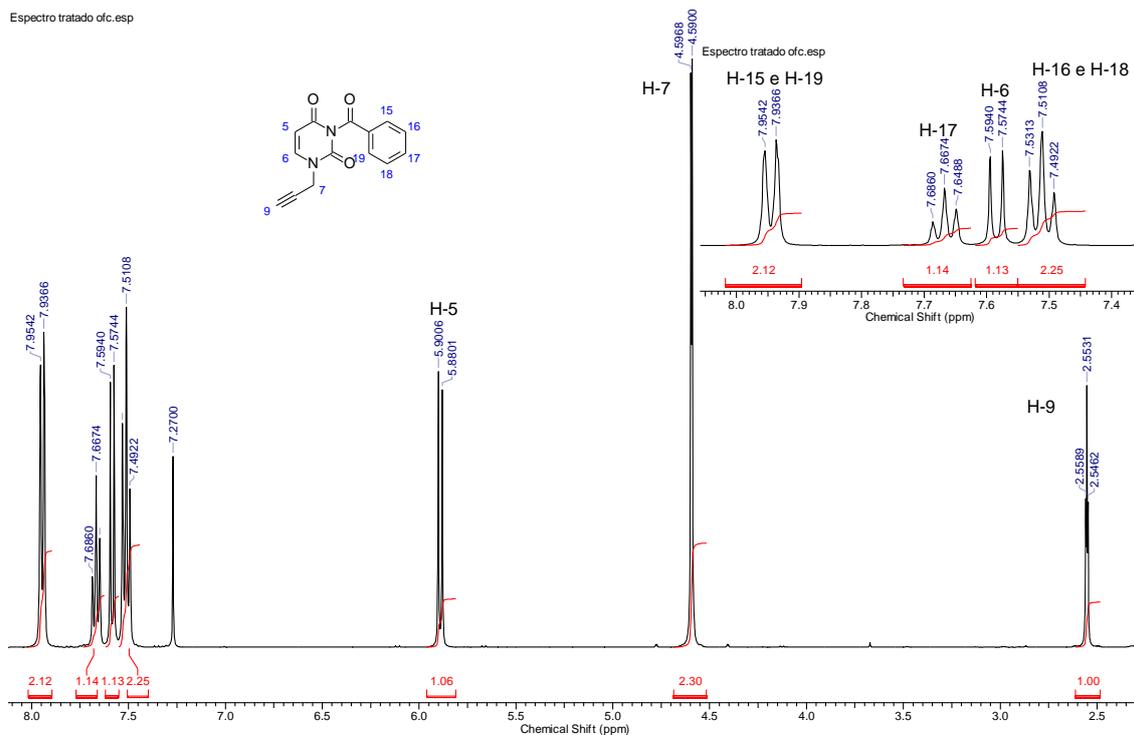
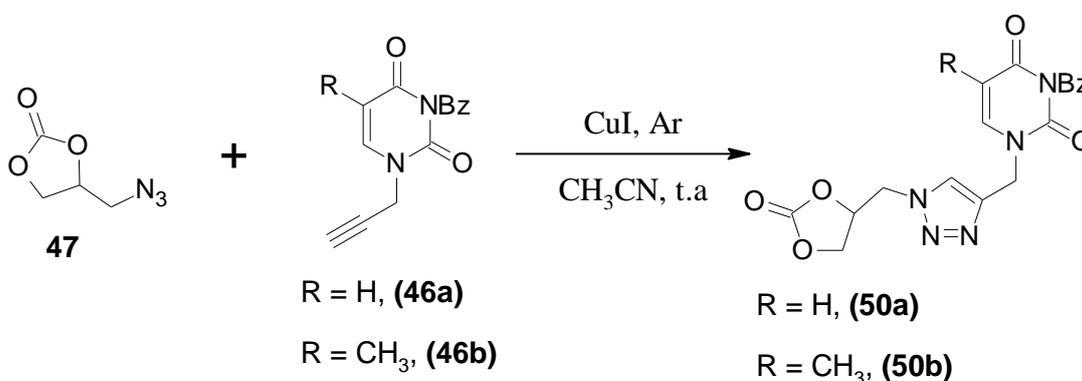


Figura 17. Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz) do composto (46a)

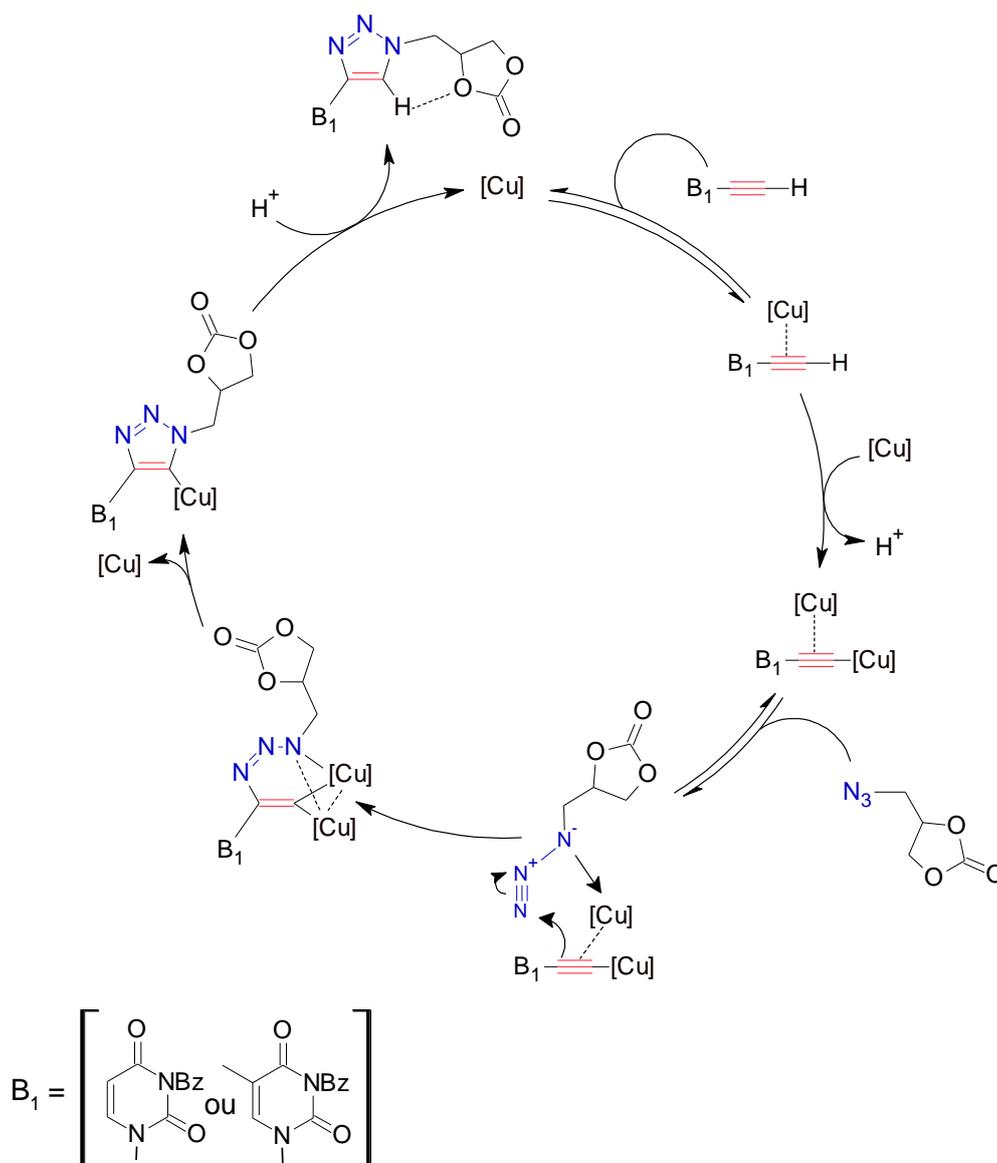
5.7 Síntese dos derivados triazólicos monossustituídos (50a-b)

Tendo em mãos o azido-glicerol carbonato (47) e as bases pirimidínicas monopropiniladas (46a-b), iniciou-se a síntese dos triazóis pirimidínicos através da cicloadição 1,3-dipolar, popularmente conhecido por “*Click Chemistry*”. Como fonte de íons de Cu (I) na catálise foi utilizado o iodeto de cobre (CuI), e como solvente foi empregado a acetonitrila, a reação aconteceu à temperatura ambiente por 30 min. sob atmosfera inerte de argônio, como mostrado no Esquema 18.



Esquema 18. Cicloadição 1,3-dipolar entre o azido-glicerol carbonato e as bases pirimidínicas N^3 -protegidas.

Após a etapa de purificação por coluna cromatográfica em sistema gradiente de eluentes: (AcOEt:Hex = 8:2), AcOEt e (AcOEt:MeOH = 9:1), foram obtidos rendimentos de 88% para o composto **(50a)** e de 72% para o composto **(50b)**. A utilização de argônio é fundamental para evitar a oxidação do Cu(I) para Cu(II), neste aspecto preservar as espécies de Cu(I) é crucial para atingir o sucesso da reação de cicloadição 1,3-dipolar azida-alcino. O Esquema 19, representa o ciclo catalítico atualmente mais aceito respaldado pelo intermediário de cobre dinuclear (WORRELL *et al.*, 2013).



Esquema 19. Proposta mecanística envolvida na síntese dos derivados triazólicos através do intermediário de cobre dinuclear.

De acordo com o ciclo catalítico proposto acima, a primeira etapa ocorre com a formação do alcineto de cobre mononuclear. A coordenação do Cu

(I) com alcino terminal é acompanhado pelo aumento da acidez do hidrogênio acetilênico, isto é, o pK_a diminui de ~25 para ~15 (SCHULZE, SCHUBERT, 2014). A utilização de gotas de trietilamina (Et_3N) facilita desprotonação do alcino terminal para fornecer o alcineto de cobre inicial. Em seguida, existe a coordenação do segundo cobre, gerando o intermediário de cobre dinuclear. O azido-glicerol carbonato sofre ataque nucleofílico pelo carbono β -vinilidênico do alcineto de Cu (I) dinuclear. A próxima etapa é a formação da ligação C-N observada no intermediário contendo cobre de seis membros tensionado, por conseguinte o complexo azido-alcino sofre acoplamento oxidativo, seguidamente de uma contração do anel via eliminação redutiva, o triazolídeo resultante é submetido a protonólise, fornecendo assim, o derivado triazólico monossustituído e concomitantemente o Cu (I) é regenerado para o ciclo catalítico.

A Figura 18 mostra o espectro de RMN 1H em 400 MHz do composto **(50a)**, verifica-se sinais de um duplo duplete em δ 4,30 ppm e um tripleto em δ 4,63 ppm atribuídos aos hidrogênios H-3' ($J = 6,28$ e $8,64$ Hz) e H-3 ($J = 8,64$ Hz), respectivamente. Em seguida, notamos um duplete em δ 4,79 ppm com integração de dois hidrogênios referentes ao H-6 e H-6' ($J = 5,08$ Hz). Esperava-se para este sinal um duplo duplete com deslocamento químico próximos, provavelmente devido a uma conformação menos flexível um dos hidrogênios não deve ter mostrado acoplamento devido a ângulo diedral próximo a 90° . Uma possível explicação para essa estrutura menos flexível seria uma ligação de hidrogênio de H-11 com o carbonato (ver Esquema 19, produto final). Posteriormente, observa-se um simpleto em δ 5,04 ppm atribuído aos hidrogênios H-13/H-13'. Por causa dos hidrogênios diastereotópicos (H-3 e H-6) do anel carbonato é observado na região de 5,21–5,17 ppm a presença de um multiplete correspondente ao H-2. O hidrogênio do anel pirimidínico H-18 ($J = 7,84$ Hz) se encontra como duplete em 5,88 ppm. Por outro lado, em campo mais baixo é visto sinais de tripleto δ 7,59 ppm atribuídos aos hidrogênios H-26 e H-28 aromáticos na posição *meta*. O próximo sinal de tripleto é conferido ao H-27 na posição *para*. O duplete δ 7,93 ppm com integração de dois hidrogênios são referentes aos *orto*-aromáticos H-25 e H-29. O sinal de duplete atribuímos em 7,98 ppm ao H-19 ($J = 7,84$ Hz). Por fim, o hidrogênio triazólico H-11 encontra-

se como simpleto em 8,14 ppm, sendo considerado sinal mais desblindado devido ao efeito indutivo retirador de elétrons e ao efeito anisotrópico presente no anel triazólico. Portanto, os dados espectroscópicos estão de acordo com a estrutura do composto **(50a)**.

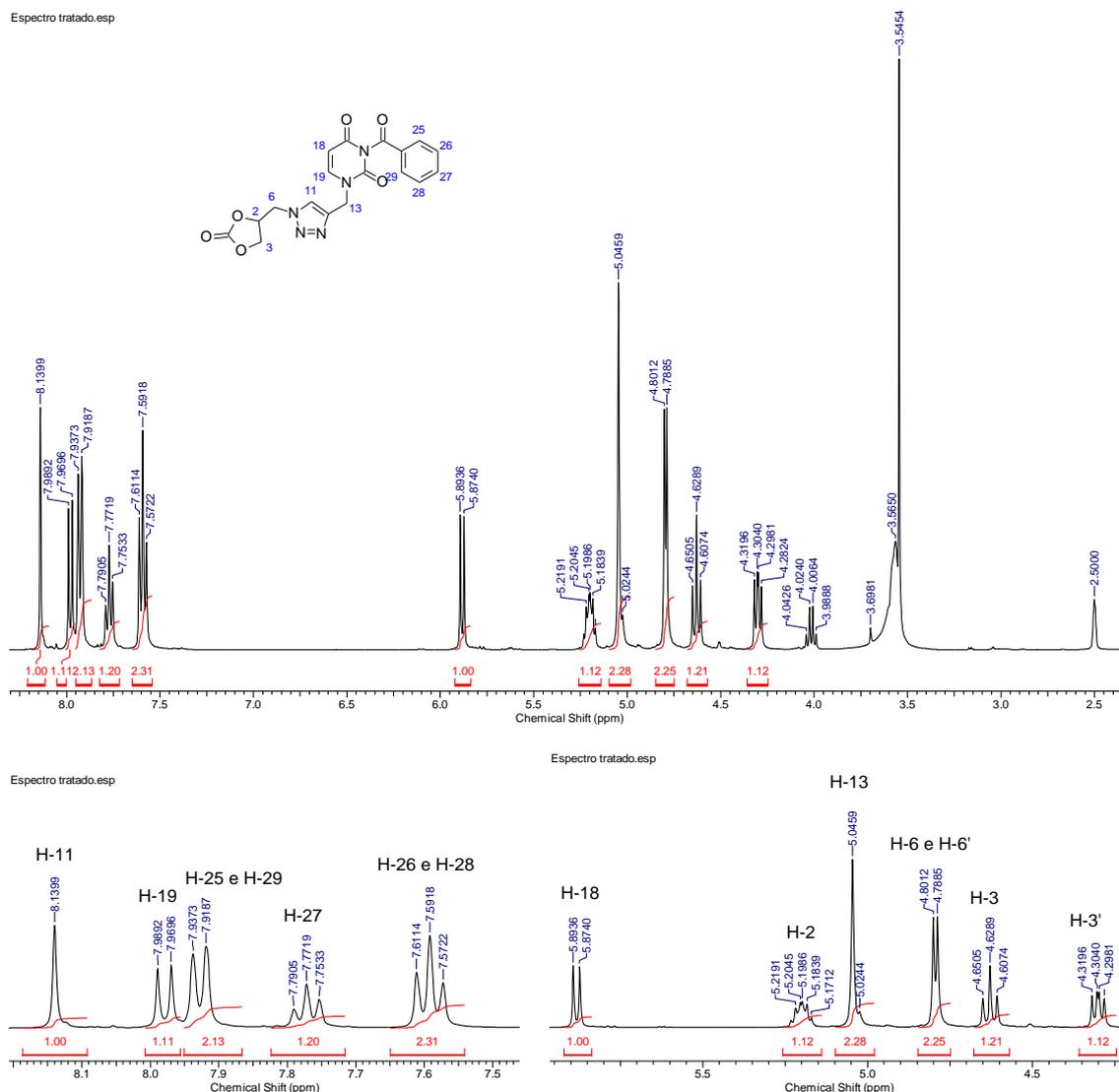
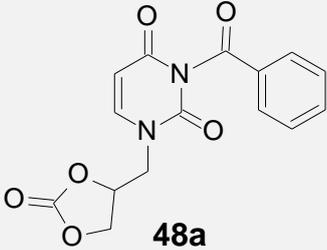
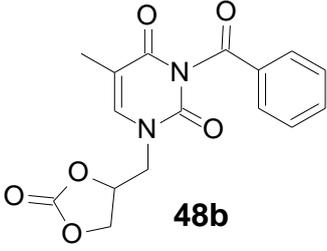
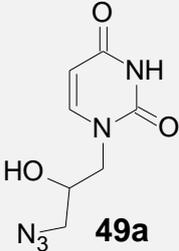
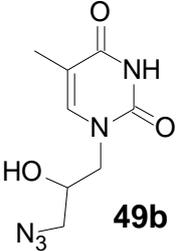
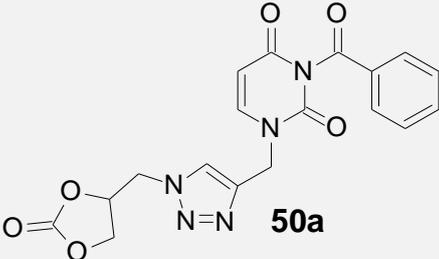


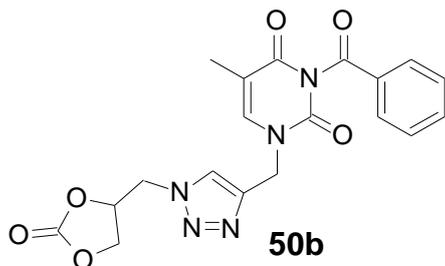
Figura 18. Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400MHz) e expansões do composto **(50a)**

5.8 Atividade óptica e atropoisomerismo

Ao observarmos no espectro de RMN a existência de sinais duplicados para os derivados **48-50**, pensamos na possibilidade de estereoisomeria devido existência de possíveis rotâmeros (atropoisomerismo). Entretanto, os inéditos glicero-pirimidínicos obtidos apresentaram atividade óptica, como visualizado na tabela 7 seguir:

Tabela 7. Rotação específica dos derivados de triazóis e azido-glicero-pirimidínicos.

COMPOSTO	ROTAÇÃO ESPECÍFICA
 <p>48a</p>	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -9,8$ (c = 0,102 g/100 mL, CH ₂ Cl ₂)
 <p>48b</p>	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -9,7$ (c = 0,1 g/100 mL, CH ₂ Cl ₂)
 <p>49a</p>	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -4,23$ (c = 0,118 g/100 mL, MeOH);
 <p>49b</p>	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -15$ (c = 0,1 g/100 mL, MeOH)
 <p>50a</p>	$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -9,17$ (c = 0,109 g/100 mL, (CH ₃) ₂ CO)



$$[\alpha]_{D^{25}} = -4,8 \text{ (c = 0,104 g/100 mL, (CH}_3\text{)}_2\text{CO)}$$

De acordo com a tabela, todos os compostos são levogiros, pois possuem uma rotação específica negativa. Como os materiais de partida (**45** e **47**) não apresentam atividade óptica por serem uma mistura racêmica, pode-se afirmar que a atividade óptica dos inéditos glicero-pirimidínicos não foi proveniente do carbono quiral presente no anel carbonato. Neste sentido, existe a possibilidade da atividade óptica dos referidos compostos está associado ao atropoisomerismo. Os atropoisômeros são confórmeros formados através de uma restrição estérica ou eletrônica, permitindo assim uma interconversão lenta e o posterior isolamento. (CLAYDEN *et al.*, 2009). Sabe-se que o atropoisomerismo é mais comum em sistemas, a qual o eixo de quiralidade é formado por sistemas sp^2 - sp^2 (SANTOS *et al.*, 2007). Em contrapartida, o fenômeno do atropoisomerismo é encontrado também em sistemas sp^3 - sp^3 . Neste contexto, a figura 19 abaixo demonstra a possível representação do atropoisomerismo em sistemas do tipo sp^3 - sp^3 no composto **48a**.

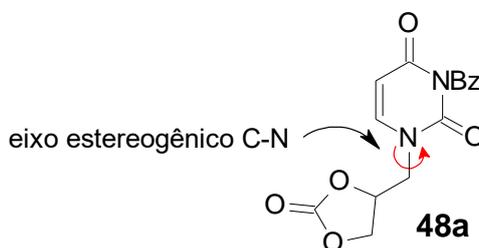


Figura 19. Possível representação do atropoisomerismo em sistemas do tipo sp^3 - sp^3 do composto (**48a**).

Como forma de confirmação do atropoisomerismo deve-se recorrer a resolução por meio da cromatografia líquida de alta eficiência, onde permite indicar o excesso de um atropoisômero em detrimento de outro e também através da ressonância magnética nuclear.

5.9 Teste de Citotoxicidade

Alguns compostos foram selecionados de forma a representar a diversidade estrutural dos compostos sintetizados. O potencial citotóxico dos compostos **46a**, **48a-b**, **49b** e **50a** foi determinado pelo método MTT frente às linhagens de células Vero e HepG2. Os valores de CC_{20} e CC_{50} foi estabelecido por meio de análises estatísticas, no qual indicam a concentração dos referidos compostos inerentes à 80% e 50% de viabilidade celular, respectivamente. A figura 19 mostra os derivados pirimidínicos **46a**, **48a-b**, **49b** e **50a** que foram submetidos ao teste de citotoxicidade.

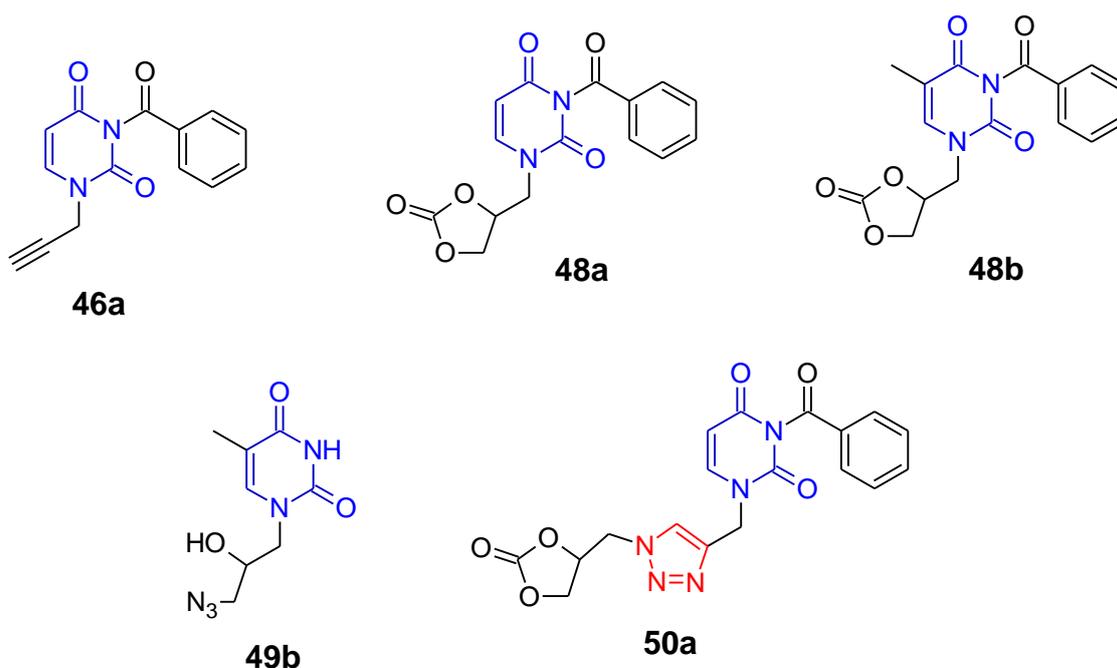


Figura 20. Estruturas dos derivados pirimidínicos.

A tabela 8 a seguir demonstra os valores de CC_{20} e CC_{50} obtidos pelo método MTT em células Vero.

Tabela 8: Valores de CC_{20} e CC_{50} determinados pelo método MTT em células Vero.

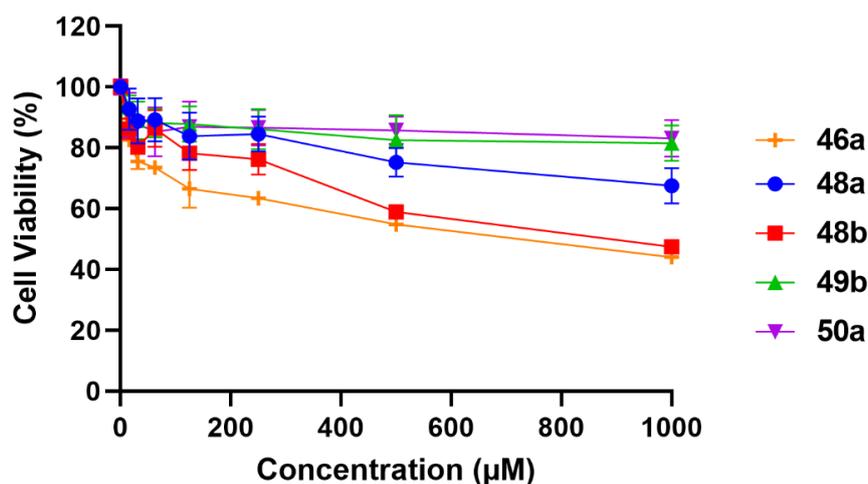
COMPOSTO	CC_{20}	CC_{50}	$\log P^{(a)}$
46a	10,72 μ M	728,2 μ M	0,77
48a	443,8 μ M	>1000 μ M	0,29
48b	173,4 μ M	851,6 μ M	0,99
49b	924,2 μ M	>1000 μ M	-0,88
50a	>1000 μ M	>1000 μ M	0,04

^(a) $\log P$ calculado utilizando o Molinspiration cheminformatics

Conforme visualizado na tabela 8, o composto **50a** apresentou a menor toxicidade em células Vero com os resultados de CC_{20} e CC_{50} superior à 1000 μM . Entretanto, o composto **46a** apresentou-se a maior toxicidade, visto que têm um valor CC_{20} e CC_{50} de 10,72 e 728,2 μM , respectivamente. Todos os compostos testados têm em comum a nucleobase pirimidínica, diferenciando-se na presença do núcleo triazólico e do anel carbonato. Como observado, os compostos apresentam $\log P$ baixos, indicando que possuem características polares. Entretanto, não foi notado nenhuma correlação entre os valores de CC_{20} e o $\log P$ dos referidos compostos.

A quantidade de células viáveis foi determinada pelo método MTT nas diferentes concentrações empregadas no teste, a saber: 1000 μM , 500 μM , 250 μM , 125 μM , 62.5 μM , 30.3 μM e 15.6 μM . O gráfico 1 representa o percentual de células viáveis frente as referidas concentrações.

Gráfico 1. Percentual de viabilidade celular em função de diferentes concentrações dos compostos determinado pelo método MTT frente às células Vero.



De acordo com os dados visualizados acima, observa-se que os compostos **49b** e **50a** apresentam melhores resultados com um percentual de células viáveis superior à 80% na concentração máxima. Nota-se também que todos os compostos apresentam um percentual de viabilidade celular maior que 50% na concentração máxima (1000 μM) empregada no teste, indicando que a série não é tóxica para células Vero nas concentrações utilizadas.

A atividade citotóxica foi realizada também em células de carcinoma de fígado humano (HepG2) via método MTT. Sendo assim, a tabela 9 mostra os valores de CC_{20} e CC_{50} obtidos pelo MTT em células HepG2.

Tabela 9: Valores de CC_{20} e CC_{50} determinados pelo método MTT em células HepG2.

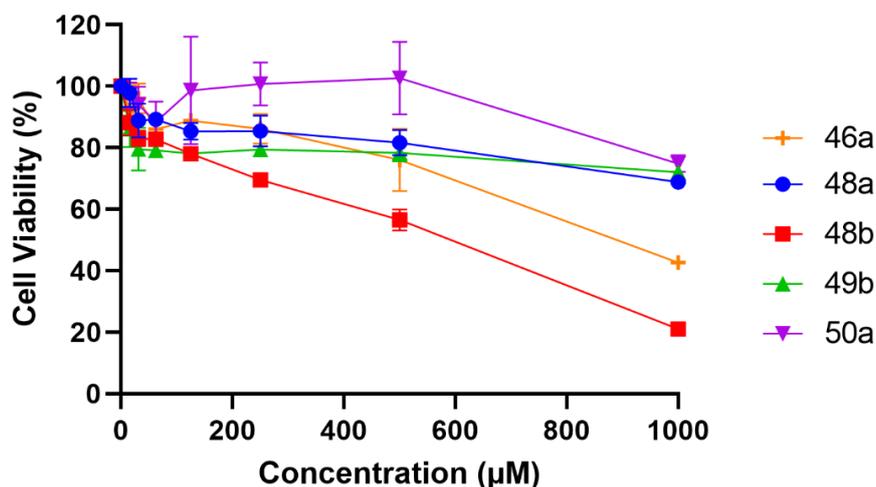
COMPOSTO	CC_{20}	CC_{50}	$\log P^{(a)}$
46a	317,4 μM	909,4 μM	0,77
48a	529,2 μM	>1000 μM	0,29
48b	138,1 μM	573,0 μM	0,99
49b	14,47 μM	>1000 μM	-0,88
50a	>1000 μM	>1000 μM	0,04

^(a) $\log P$ calculado utilizando o Molinspiration cheminformatics

Conforme os resultados expressados na tabela 9, o composto **50a** foi o menos tóxico em células HepG2, apresentando assim CC_{20} e CC_{50} superior à 1000 μM , assim como o mesmo se comportou em células Vero. O composto **49b** é considerado o mais tóxico por apresentar um valor de CC_{20} de 14,47 μM , bastante inferior aos demais compostos. Como visualizado acima não foi observado uma correlação entre os valores de CC_{20} e os coeficientes de partição ($\log P$) de cada composto.

O percentual de viabilidade celular foi determinado pelo método MTT nas diferentes concentrações utilizadas no teste, como: 1000 μM , 500 μM , 250 μM , 125 μM , 62.5 μM , 30.3 μM e 15.6 μM . O gráfico 2 retrata o percentual de viabilidade celular nas referidas concentrações.

Gráfico 2. Percentual de viabilidade celular em função de diferentes concentrações dos compostos determinado pelo método MTT frente às células HepG2.

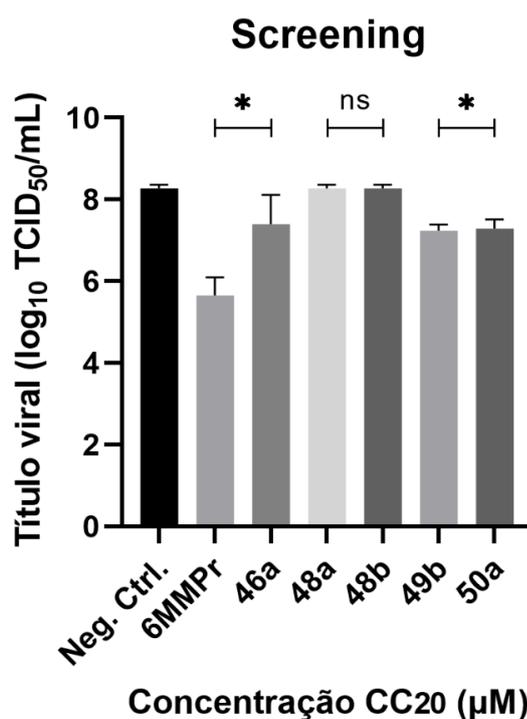


Como analisado no gráfico 2, os compostos **48a**, **49b** e **50a** apresentaram os melhores resultados, visto que possuem um percentual de viabilidade celular próximo de 80% na concentração (1000 μM) máxima testada. Por outro lado, o composto **46a** tem a porcentagem de células viáveis cerca de 50% e o composto **58b** tem o menor percentual de células viáveis, correspondendo a cerca de 20%. Neste sentido, podemos considerar que os compostos testados possuem baixa citotoxicidade e podem ser empregados na realização da atividade antiviral em concentrações seguras para as células.

5.10 Atividade Antiviral

Os compostos **46a**, **48a-b**, **49b** e **50a** foram direcionados para a avaliação da atividade antiviral contra o vírus da Zika (ZIKV). Para isso, empregou-se células Vero, a qual foram infectadas com o ZIKV e posteriormente tratadas com os compostos selecionados. Neste sentido, o gráfico 3 a seguir aborda o título viral, bem como, o controle negativo (célula + vírus) e o controle positivo (6MMP_r).

Gráfico 3. Resultados da atividade antiviral contra o ZIKV.



* = significativo

ns = não-significativo para $p < 0.05$

Como visualizado no gráfico acima, os compostos **48a** e **48b** não demonstraram significância, visto que não foi observado a diminuição do título viral quando comparado ao controle negativo. Entretanto, os compostos **46a**, **49b** e **50a** apresentaram atividade antiviral. O 6-metilmercaptapurina ribosídica (6MMPr), um análogo de nucleosídeo foi utilizado como controle positivo em função de apresentar uma potente atividade inibitória *in vitro* contra o ZIKV em células epiteliais e neuronais (CARVALHO *et al.*, 2017).

A tabela 10 abaixo mostra os resultados da citotoxicidade e da atividade antiviral acompanhados do índice de seletividade (IS), que determina a eficácia relativa dos compostos na inibição da replicação viral.

Tabela 10. Citotoxicidade (CC₅₀), atividade antiviral (IC₅₀) e índice de seletividade (SI) dos compostos **46a**, **49b** e **50a** em células Vero.

Composto	Resultados de citotoxicidade/antiviral			
	CC₂₀	CC₅₀	IC₅₀	SI (CC₅₀/IC₅₀)
6MMPr	60,5* µM	291* µM	24,5* µM	11,9*
46a	10,7 µM	728,2 µM	0,7 µM	1040,3
49b	924,2 µM	3285 µM	44,2 µM	74,3
50a	1215 µM	4700 µM	34,7 µM	135,4

Como analisado na tabela 10, os compostos **49b** e **50a** são menos tóxicos em relação ao 6MMPr, pois apresentam uma CC₂₀ de 924,2 µM e 1215 µM respectivamente. Por outro lado, o composto **46a** é o mais tóxico por possuir uma CC₂₀ de 10,7 µM. Dentre os compostos, aquele que expressou um melhor resultado na atividade antiviral foi o **46a** devido ao IC₅₀ de 0,7 µM, sendo um valor muito inferior em comparação ao composto referência 6MMPr, assim como, **49b** e **50a**. Por fim, o melhor resultado para o índice de seletividade (IS) foi para o composto **46a**, indicando que o mesmo é mais seletivo contra o ZIKV e tem um menor efeito sobre as células Vero. Dos compostos testados, o que há de

comum entre as estruturas são a existência do anel pirimidínico, diferenciando-se apenas pela presença do grupo azido-álcool, alcino terminal e do núcleo triazólico. Recentemente, Dantas e colaboradores (2021), descreveram a avaliação da citotoxicidade e da atividade antiviral contra o ZIKV para 14 compostos híbridos que contêm os grupos 1*H*-1,2,3-triazóis, naftoquinonas e ftalimidas. A atividade antiviral acerca das bases propargílicas e dos azido-álcoois pirimidínicos são poucos discutidos na literatura.

CONCLUSÃO

A síntese do carbonato de glicerol tosilado **45** e do azido-glicerol carbonato **47** foi realizada com rendimentos de 61% e 79%, respectivamente. Em seguida, foi feita a proteção das bases pirimidínicas por meio da *N*^β-benzilação, obtendo-se assim, os compostos **44a-c**. Os alcinos terminais **46a-c** foram obtidos com bons rendimentos entre 57% - 93%, através de metodologias convencional e por irradiação de micro-ondas. Os triazóis monossustituídos inéditos **50a-b** foram preparados via cicloadição 1,3-dipolar catalisada por sais de cobre (CuAAC) entre o azido-glicerol carbonato **47** e as bases pirimidínicas monopropiniladas **46a-b**. Em uma segunda rota sintética foi realizado a síntese dos glicero-pirimidínicos **48a-b**, empregando-se assim, as bases pirimidínicas protegidas **44a-b** e o carbonato de glicerol tosilado **45**, com a obtenção dos seguintes rendimentos: 81% e 72%. Logo após, a abertura do anel carbonato dos derivados de glicero-pirimidínicos com azida de sódio (NaN₃) sob refluxo foi feito para a preparação dos azido-glicero pirimidínicos **49a-b** inéditos, a qual foi observado a saída do grupo protetor.

Foram realizadas as atividades de citotoxicidade via método MTT frente a linhagens de células Vero e HepG2. Desta forma, o composto **50a** foi menos tóxico tanto nas células Vero como na HepG2 com um valor de CC₂₀ e CC₅₀ superior à 1000 μM. Por outro lado, o composto **46a** apresentou-se o mais tóxico em células Vero, devido à um valor de CC₂₀ de 10,72 μM e o composto **49b** foi considerado o de maior toxicidade em células HepG2 em função de apresentar um valor de CC₂₀ de 14,47 μM. De acordo com os resultados de CC₂₀ e com o percentual de viabilidade celular, podemos considerar que a série de compostos testados não são muito tóxicos, visto que a maioria atingem um percentual de células viáveis maior que 50%. Neste sentido, os compostos **46a**, **48a-b**, **49b** e **50a** testados podem ser empregados na avaliação da atividade antiviral. Por fim, foi realizado a atividade antiviral contra o ZIKV em células Vero, aos quais foram constatados que os compostos **46a**, **49b** e **50a** apresentaram uma moderada atividade antiviral.

PERSPECTIVAS

- ✓ Realizar a abertura do anel carbonato dos derivados triazólicos monossustituídos (**50a-b**) com azida de sódio (NaN_3) sob refluxo.
- ✓ Avaliar o efeito citotóxico dos compostos **46b-c**, **49a** e **50b** frente a linhagens de células Vero e HepG2.
- ✓ Encaminhar os derivados de glicero-pirimidínicos para a realização da atividade antiviral, com especial atenção para os vírus do Zika e do SARS-Cov-2.

REFERÊNCIAS

- ANDREEVA, O. V.; GARIFULLIN, B. F.; ZARUBAEV, V. V.; SLITA, A. V.; YESAULKOVA, I. L.; SAIFINA, L. F.; KATAEV, V. E. Synthesis of 1,2,3-triazolyl nucleoside analogues and their antiviral activity. **Molecular diversity**, p. 1-18, 2020.
- ARORA, P.; ARORA, A.; LAMBA, H. S.; WADHWA, D. Importance of heterocyclic chemistry: A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, ed. 9, p. 2947 – 2954, 2012.
- BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J.; LIMA, D. P. Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 306 – 319, 2011.
- 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**, v.1, n. 12, p. 3108-3113, 2016.
- BONCEL, S.; GONDELA, A.; WALCZAK, K. Michael-type addition as a convenient method for regioselective N-alkylation of ambident uracils. **Synthesis**, n. 10, p. 1573-1589, 2010.
- BONCEL, S.; GONDELA, A.; WALCZAK, K. Uracil as a target for nucleophilic and electrophilic reagents. **Current Organic Synthesis**, v. 5, n. 4, p. 365-396, 2008.
- BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1,2,3 – Triazole – containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 27, ed. 16, p. 3511 – 3531, 2019.
- BREUGST, M.; REISSIG, H. U. The Huisgen Reaction: Milestones of the 1, 3-Dipolar Cycloaddition. **Angewandte Chemie International Edition**, 2020.
- CANDUZINI, H. A. **Síntese e funcionalização de 1, 2, 3-triazóis via reação de cicloadição [3+ 2] de azidas e acetilenos terminais**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- CARVALHO, O. V.; FÉLIX, D. M.; MENDONÇA, L. R.; ARAÚJO, C. M. C. S.; FRANCA, R. F. O.; CORDEIRO, M. T.; JÚNIOR, A. S.; PENA, L. J. The thiopurine nucleoside analogue 6-methylmercaptapurine riboside (6MMP_r) effectively blocks Zika virus replication. **International journal of antimicrobial agents**, v. 50, n. 6, p. 718-725, 2017.
- CHETIA, M.; GEHLOT, P. S.; KUMAR, A.; SARMA, D. A recyclable/reusable hydrotalcite supported copper nano catalyst for 1, 4-disubstituted-1, 2, 3-triazole synthesis via click chemistry approach. **Tetrahedron Letters**, v. 59, n. 4, p. 397-401, 2018.
- CHONG, C. C.; AQSHA, A.; AYOUB, M.; SAJID, M.; ABDULLAH, A. Z.; YUSUP, S.; ABDULLAH, B. A review over the role of catalysts for selective short-chain

polyglycerol production from biodiesel derived waste glycerol. **Environmental Technology & Innovation**, (2020): 100859.

CHRYSINA, E. D.; BOKOR, É.; ALEXACOU, K. M.; CHARAVGI, M. D.; OIKONOMAKOS, G. N.; ZOGRAPHOS, S. E.; SOMSÁK, L. Amide-1,2,3-triazole bioisosterism: the glycogen phosphorylase case. **Tetrahedron: Asymmetry**, v.20, n. 6-8, p. 733-740, 2009.

CLAYDEN, J.; MORAN, W. J.; EDWARDS, P. J.; LAPLANTE, S. R. The challenge of atropisomerism in drug discovery. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 35, p. 6398-6401, 2009.

COSTA, A. V.; **Síntese e Avaliação das Atividades Fungicida, Fitotóxica e Citotóxica de Derivados do Glicerol Contendo Núcleo 1,2,3-Triazólico**. 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo.

DANTAS, W. M.; OLIVEIRA, V. N. M.; SANTOS, D. A. L.; SEABRA, G. SHARMA, P.P.; RATHI, B.; PENA, L. J.; OLIVEIRA, R. N. Searching Anti-Zika Virus Activity in 1*H*-1, 2, 3-Triazole Based Compounds. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 5869, 2021.

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

DÍAZ-ÁLVAREZ, A. E.; FRANCOS, J.; LASTRA-BARREIRA, B.; CROCHET, P.; CADIerno, V. Glycerol and derived solvents: new sustainable reaction media for organic synthesis. **Chemical Communications**, v.47, n. 22, p. 6208-6227, 2011.

DÜĞDÜ, E.; ÜNLÜER, D.; ÇELIK, F.; SANCAK, K.; KARAOĞLU, Ş. A.; ÖZEL, A. Synthesis of novel symmetrical 1, 4-disubstituted 1,2,3-bistriazole derivatives via 'click chemistry' and their biological evaluation. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 659, 2016.

FENG, L. S.; ZHENG, M. J., ZHAO, F.; LIU, D. 1,2,3 – Triazole hybrids with anti – HIV-1 activity. **Archiv der Pharmazie**, v. 354, n.1, p. 2000163, 2021.

FIORANI, G.; PEROSA, A.; SELVA, M. Dimethyl carbonate: a versatile reagent for a sustainable valorization of renewables. **Green chemistry**, v. 20, n. 2, p. 288-322. 2018.

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*, v. 17, p. 2827-2832, 1998.

FREITAS, L. B. O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P.; SANTOS, L. J. A reação "click" na síntese de 1,2,3 – triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791 – 1804, 2011.

FU, N.; WANG, S., ZHANG, Y.; ZHANG, C., YANG, D., WENG, L., ZHAO, B., WANG, L. Efficient click chemistry towards fatty acids containing 1,2,3-triazole:

Design and synthesis as potential antifungal drugs for *Candida albicans*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 136, p. 596 – 602, 2017.

GARCÍA, J. I.; GARCÍA-MARÍN, H.; PIRES, E. Glycerol based solvents: synthesis, properties and applications. **Green Chemistry**, v. 16, n. 3, p.1007-1033, 2014.

GŁOWACKA, I. E.; BALZARINI, J; WRÓBLEWSKI, A. E. The synthesis, antiviral, cytostatic and cytotoxic evaluation of a new series of acyclonucleotide analogues with a 1, 2, 3-triazole linker. **European journal of medicinal chemistry**, v. 70, p. 703-722, 2013.

GOMES, R. S., JARDIM, G. A.M.; CARVALHO, R. L.; ARAUJO, M. H.; SILVA, E. N J. Beyond copper-catalyzed azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition: Synthesis and mechanism insights. **Tetrahedron**, v. 75, n. 27, p. 3697-3712, 2019.

GOTHELF, K. V.; JØRGENSEN, K. A. Asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition reactions. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 2, p. 863-910, 1998.

HALDON, E.; NICASIO, M. C.; PEREZ, P. J. Copper-catalysed azide-alkyne cycloadditions (CuAAC): an update. **Organic & biomolecular chemistry**, v.13, n. 37, p. 9528-9550, 2015.

HOWELL, S. J.; SPENCER, N.; PHILP, D.; Recognition-mediated regiocontrol of a dipolar cycloaddition reaction. **Tetrahedron**, v. 57, n. 23, p. 4945-4954, 2001.

JOHANSSON, J. R.; BEKE-SOMFAI, T.; SAID STÅLSMEDEN, A.; KANN, N. Ruthenium-catalyzed azide alkyne cycloaddition reaction: scope, mechanism, and applications. **Chemical reviews**, v. 116, n. 23, p. 14726-14768, 2016.

JORDHEIM, L. P.; DURANTEL, D.; ZOULIM, F.; DUMONTET, C. Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. **Nature reviews Drug discovery**, v. 12, n. 6, p. 447-464, 2013.

KAUR, J.; SARMA, A. K.; JHA, M. K.; GERA, P. Valorisation of crude glycerol to value-added products: Perspectives of process technology, economics and environmental issues. **Biotechnolozgy Reports**, v. 27, p. 00487, 2020.

KAOUKABI, H., KABRI, Y., CURTI, C., TAOURIRTE, M., UBIS, J. C. R., SNOECK, R., ANDREI, G., VANELLE, P., LAZREK, H. B. Dihydropyrimidinone/1,2,3-triazole hybrid molecules: Synthesis and anti-varicella-zoster virus (VZV) evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 155, p. 772 – 781, 2018.

KOK, W. Mei. New developments in flavivirus drug discovery. **Expert opinion on drug discovery**, v. 11, n. 5, p. 433-445, 2016.

KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n.11, p. 2004-2021, 2001.

- KOLB, H. C.; SHARPLESS, K. B. The growing impact of click chemistry on drug discovery. **Drug discovery today**, v. 8, n. 24, p. 1128-1137, 2003.
- KUMAR, S.; NARASIMHAN, B. Therapeutic potential of heterocyclic pyrimidine scaffolds. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 38, 2018.
- LAPPONI, M. J.; RIVERO, C. W.; ZINNI, M. A.; BRITOS, C. N.; TRELLES, J. A. New developments in nucleoside analogues biosynthesis: A review. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 133, p. 218-233, 2016.
- MALIK, M. S.; AHMED, S. A.; ALTHAGAFI, I. I.; ANSARI, M. A.; KAMAL, A. Application of triazoles as bioisosteres and linkers in the development of microtubule targeting agents. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 11, n.3, p. 327-348, 2020.
- MELO, J. O. F.; DONNICI, C. L.; AUGUSTI, R.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V.; FERREIRA, M. L. G.; CUNHA, A. C. Heterociclos 1,2,3 – triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 569 – 579, 2006.
- NOMANBHAY, S.; ONG, M. Y.; CHEW, K. W.; SHOW, P. L.; LAM, M. K.; CHEN, W. H. Organic Carbonate Production Utilizing Crude Glycerol Derived as By-Product of Biodiesel Production: A Review. **Energies**, v. 13, n.6, p. 1483, 2020.
- OCHOA-GÓMEZ, J. R.; GÓMEZ-JIMÉNEZ-ABERASTURI, O.; MAESTRO-MADURGA, B.; PESQUERA-RODRÍGUEZ, A.; RAMÍREZ-LÓPEZ, C.; LORENZO-IBARRETA, L.; TORRECILLA-SORIA, J.; VILLARÁN-VELASCO, M. C. Synthesis of glycerol carbonate from glycerol and dimethyl carbonate by transesterification: catalyst screening and reaction optimization. **Applied Catalysis A: General**, v. 366, n.2, p. 315-324. 2009.
- OCHOA-GÓMEZ, J. R.; GÓMEZ-JIMÉNEZ-ABERASTURI, O.; RAMÍREZ-LÓPEZ, C.; BELSUÉ, M. A brief review on industrial alternatives for the manufacturing of glycerol carbonate, a green chemical. **Organic Process Research & Development**, v.16, n. 3, p. 389-399, 2012.
- PADWA, A.; 1,3 Dipolar cycloaddition chemistry, **Wiley & Sons: New York**, v. 1, 1984.
- PATIL, S. B. Biological and medicinal significance of pyrimidines; a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 1, p. 44-52, 2018.
- PEARCE, Simon. The importance of heterocyclic compounds in anti-cancer drug design. **Drug Discovery**, p. 66 - 70, 2017.
- PEITER, G. C.; ALVES, H. J.; SEQUINEL, R.; BAUTITZ, I. R. Alternativas para o uso do glicerol produzido a partir do biodiesel. **Revista brasileira de energias renováveis**, v.5, n.4, p. 519-537, 2016.

RAMESH, D.; VIJAYAKUMAR, B. G.; KANNAN, T. Therapeutic potential of uracil and its derivatives in countering pathogenic and physiological disorders. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 207, p. 112801, 2020.

REED, L. J.; MUENCH, H. A SIMPLE METHOD OF ESTIMATING FIFTY PER CENT ENDPOINTS. **American Journal of Epidemiology**, v. 27, n. 3, p. 493-497, 1938.

ROSTOVTSEV, V. V.; GREEN, L. G., FOKIN, V. V.; SHARPLESS, K. B.; A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper (I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. **Angewandte Chemie**, v. 114, n. 14, p. 2708-2711, 2002.

ROUSSEAU, J.; ROUSSEAU, C.; LYNKAITE, B., ŠAČKUS, A.; LEON, C.; ROLLIN, P.; TATIBOUËT, A. Tosylated glycerol carbonate, a versatile bis-electrophile to access new functionalized glycidol derivatives. **Tetrahedron**, v. 65, n.41, p. 8571-8581, 2009.

SANTOS, A. R.; PINHEIRO, A. C.; SODERO, A. C. R.; CUNHA, A. S., PADILHA, M.C., SOUSA, P. M., FONTES, S. P. Atropoisomerismo: o efeito da quiralidade axial em substâncias bioativas. **Química Nova**, v. 30, p. 125-135, 2007.

SANTOS, D. M. P. O. **Cristais líquidos termotrópicos calamíticos contendo o heterociclo [1,2,3]-triazol 1,4-dissubstituído**. 2006. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina.

SCHULZE, B.; SCHUBERT, U. S.; Beyond click chemistry—supramolecular interactions of 1, 2, 3-triazoles. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 8, p. 2522-2571, 2014.

SIMÃO, A. C.; LYNKAITE-PUKLEVICIENE, B.; ROUSSEAU, C., TATIBOUËT, A.; CASSEL, S., SACKUS, A.; RAUTER, A. P.; ROLLIN, P. 1,2-Glycerol carbonate: a versatile renewable synthon. **Letters in Organic Chemistry**, v. 3, n.10, p. 744-748, 2006.

SINGH, R.; CHOUHAN, A.; An overview of biological importance of pyrimidines. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 12, p. 574-597, 2014.

SONNATI, M. O.; AMIGONI, S.; GIVENCHY, E. P. T., DARMANIN, T.; CHOLET, O.; GUITTARD, F. Glycerol carbonate as a versatile building block for tomorrow: synthesis, reactivity, properties and applications. **Green Chemistry**, v.15, n. 2, p. 283-306, 2013.

TEIXEIRA, R. R.; GAZOLLA, P. A. R.; SILVA, A. M.; BORSODI, M. P. G.; BERGMANN, B. R.; FERREIRA, R. S.; VAZ, B. G.; VASCONCELOS, G. A.; LIMA, W. P. Synthesis and leishmanicidal activity of eugenol derivatives bearing 1, 2, 3-triazole functionalities. **European journal of medicinal chemistry**, v. 146, p. 274-286, 2018.

TENG, W. K.; NGOH, G. C.; YUSOFF, R.; AROUA, M. K. A review on the performance of glycerol carbonate production via catalytic transesterification:

Effects of influencing parameters. **Energy conversion and management**, v. 88, p. 484-497, 2014.

THOMAS, K. D.; ADHIKARI, A. V.; CHOWDHURY, I. H.; SUMESH, E.; PAL, N. K. New quinolin-4-yl-1, 2, 3-triazoles carrying amides, sulphonamides and amidopiperazines as potential antitubercular agents. **European journal of medicinal chemistry**, v. 46, n. 6, p. 2503-2512, 2011.

THAKUR, R. K.; MISHRA, A.; RAMAKRISHNA, K. K. G.; MAHAR, R.; SHUKLA, S. K., SRIVASTAVA, A. K.; TRIPATHI, R. P. Synthesis of novel pyrimidine nucleoside analogues owning multiple bases/sugars and their glycosidase inhibitory activity. **Tetrahedron**, v. 70, n. 45, p. 8462-8473, 2014.

TORNØE, C. W.; CHRISTENSEN, C.; MELDAL, M. Peptidotriazoles on solid phase:[1,2,3]-triazoles by regiospecific copper (I)-catalyzed 1, 3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. **The Journal of organic chemistry**, v. 67, n. 9, p. 3057-3064, 2002.

TOTOBENAZARA, J.; BURKE, A. J.; New click-chemistry methods for 1,2,3-triazoles synthesis: recent advances and applications. **Tetrahedron letters**, v. 56, n. 22, p. 2853-2859, 2015.

VICTOR, M. M.; FARIAS, R. R.; SILVA, D. L.; CARMO, P. H.; RESENDE-STOIANOFF, M. A.; VIEGAS, C.; MARQUES, M. J.; Synthesis and Evaluation of Antifungal and Antitrypanosomastid Activities of Symmetrical 1,4-Disubstituted-1, 2, 3-Bistriazoles Obtained by CuAAC Conditions. **Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 4, p. 400-408, 2019.

VILKAUSKAITĖ, G.; KRIKŠTOLAITYTĖ, S.; PALIULIS, O.; ROLLIN, P.; TATIBOUËT, A.; ŠAČKUS, A.; Use of tosylated glycerol carbonate to access N-glycerylated aza-aromatic species. **Tetrahedron**, v. 69, n.18, p. 3721-3727, 2013.

WORRELL, B. T.; MALIK, J. A.; FOKIN, V. V.; Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu (I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. **Science**, v. 340, n. 6131, p. 457-460, 2013.

XU, Z.; ZHAO, S. J.; LIU, Y. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: Current developments, action mechanisms and structure-activity relationships. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v.183, p. 111700, 2019.

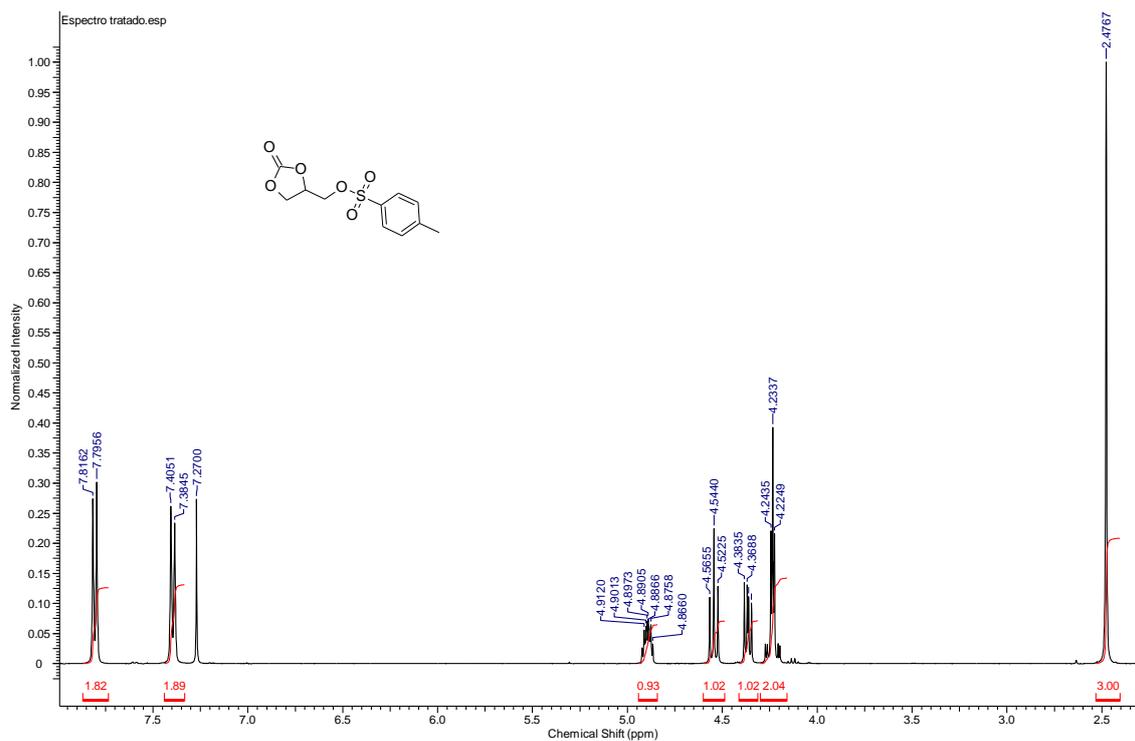
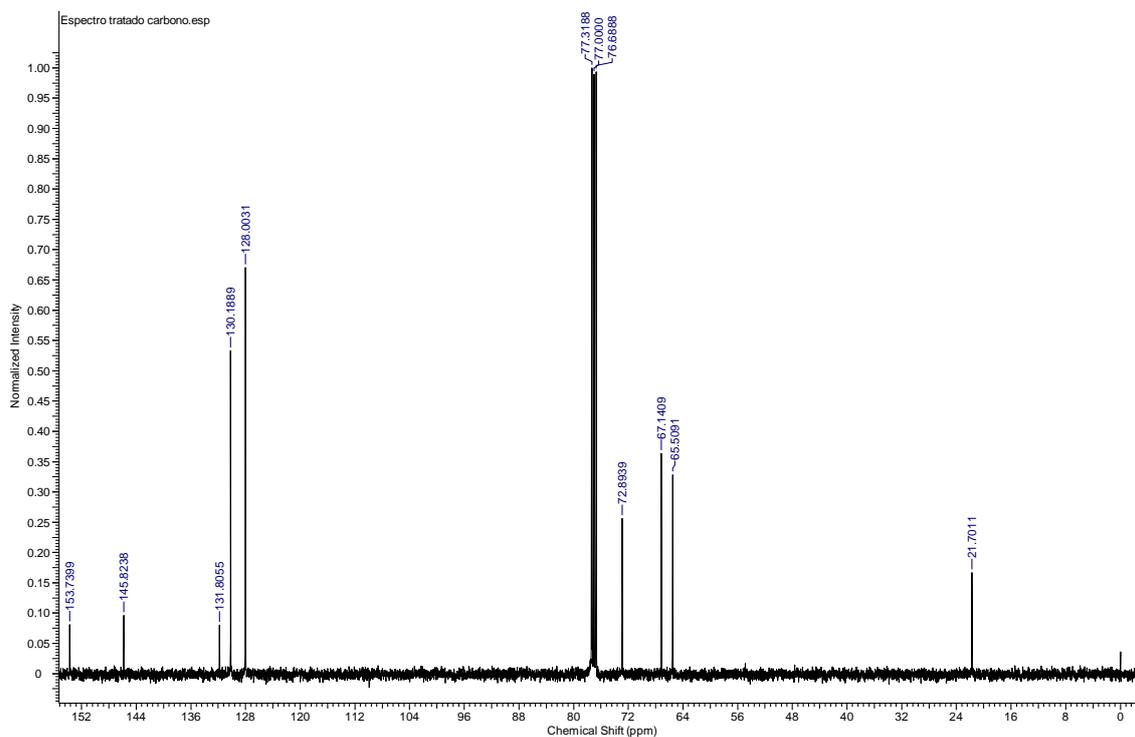
ZHANG, B. Comprehensive review on the anti-bacterial activity of 1,2,3-triazole hybrids. **European journal of medicinal chemistry**, v. 168, p. 357-372, 2019.

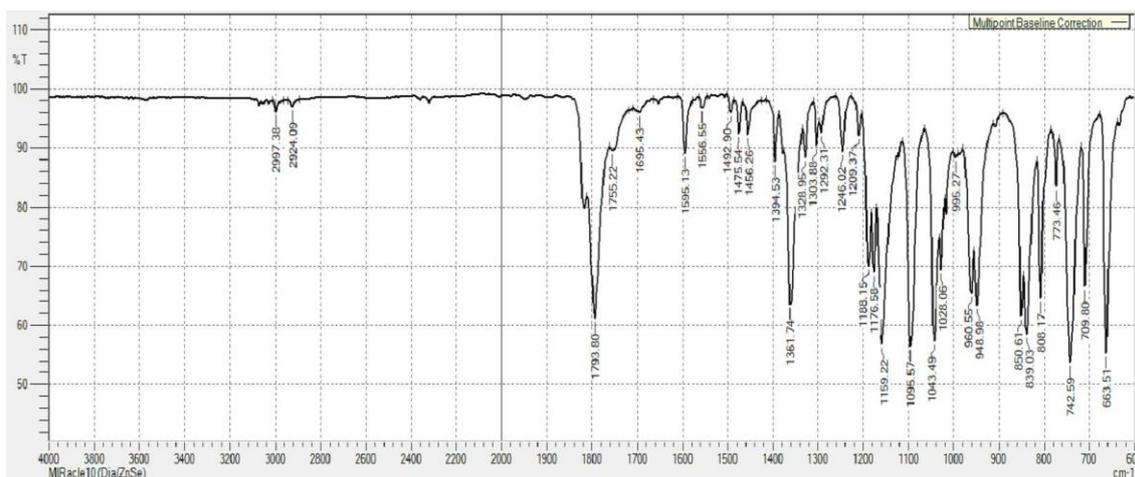
ZHANG, S.; XU, Z.; GAO, C.; REN, Q. C.; CHANG, L.; LV, Z. S.; FENG, L. S. Triazole derivatives and their anti-tubercular activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 501-513, 2017.

ZHENG, J. Z.; WANG, D.; XU, Z.; XU, L. W.; Synthesis of bi-and bis-1, 2, 3-triazoles by copper-catalyzed Huisgen cycloaddition: A family of valuable

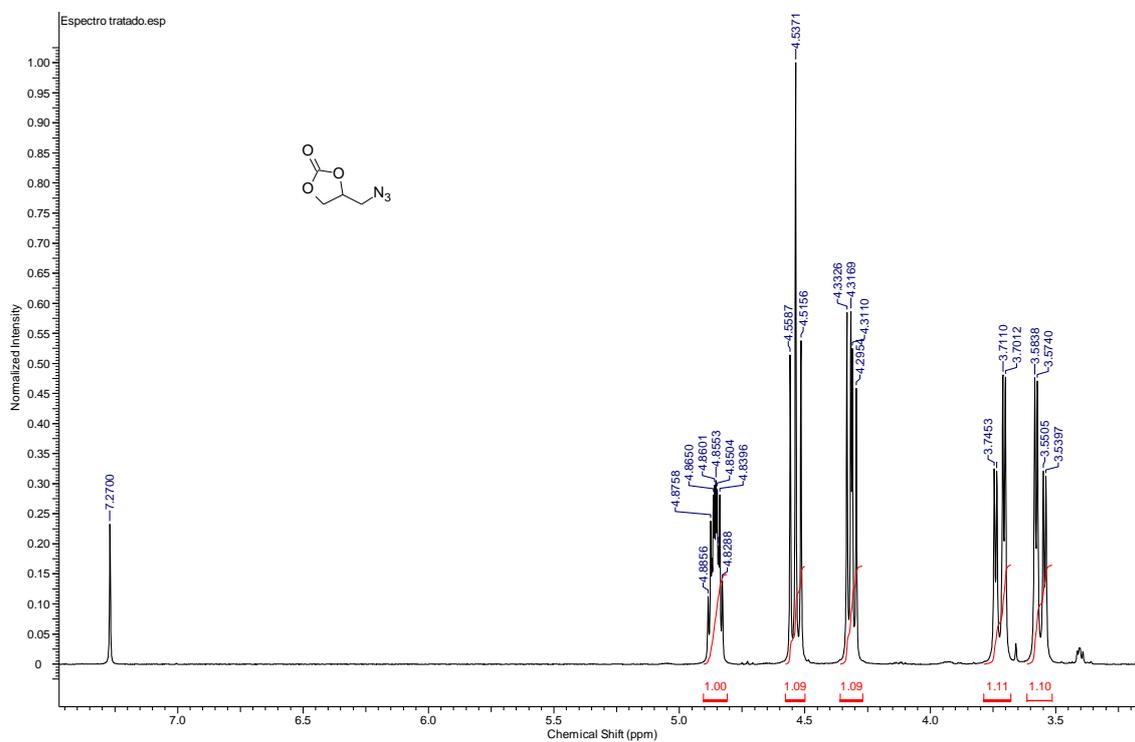
products by click chemistry. **Beilstein journal of organic chemistry**, v.11, n. 1, p. 2557-2576, 2015.

APÊNDICE A - ESPECTROS DE RMN E DE INFRAVERMELHO

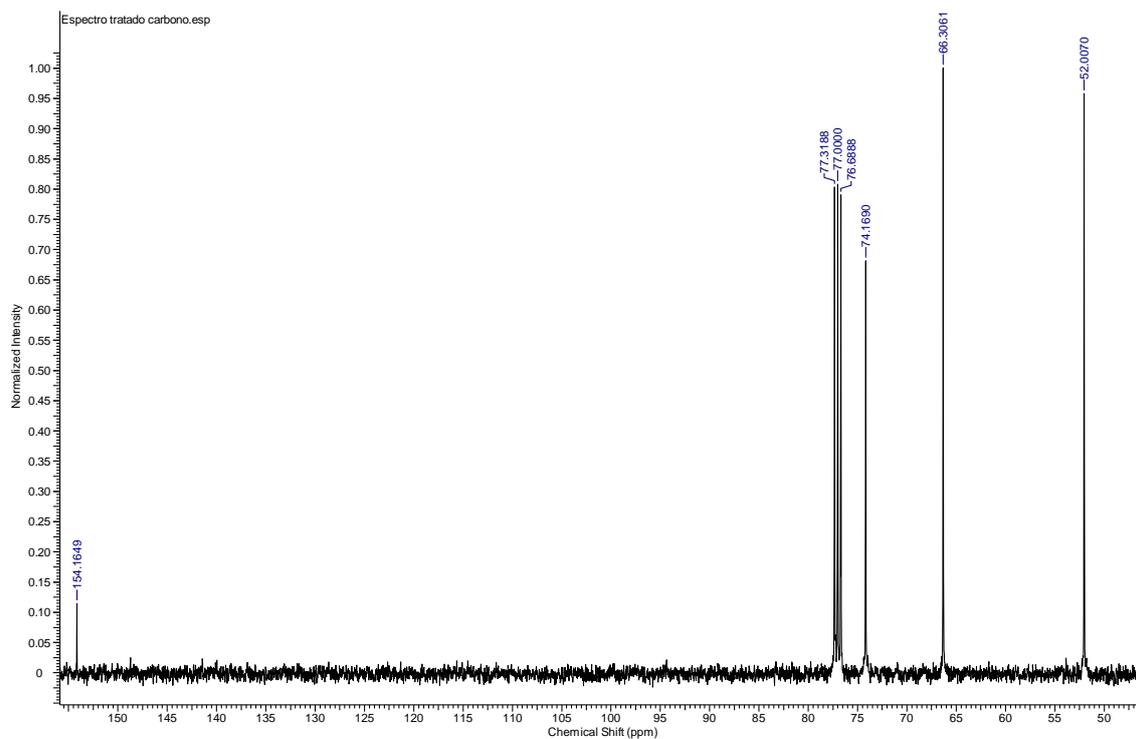
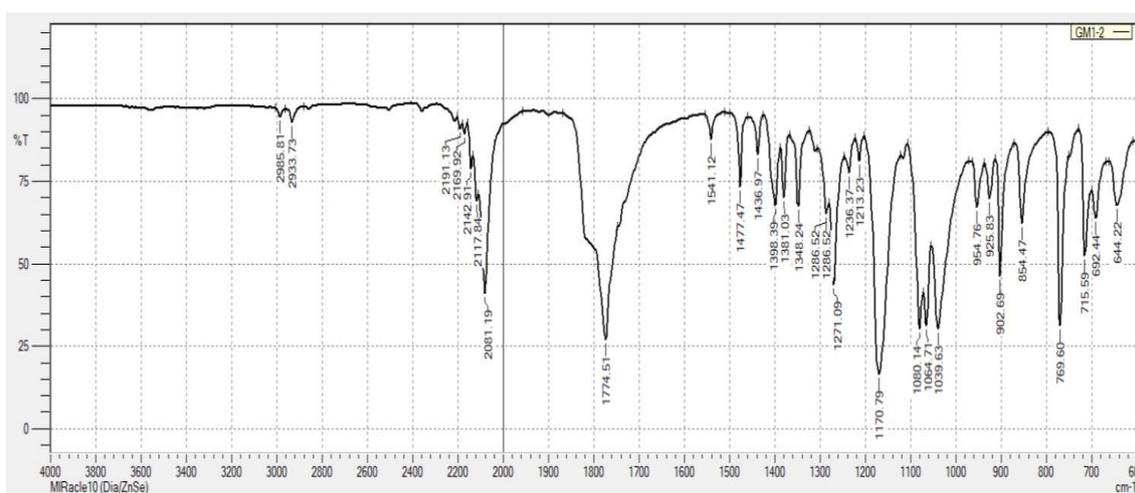
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto (45)RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do composto (45)



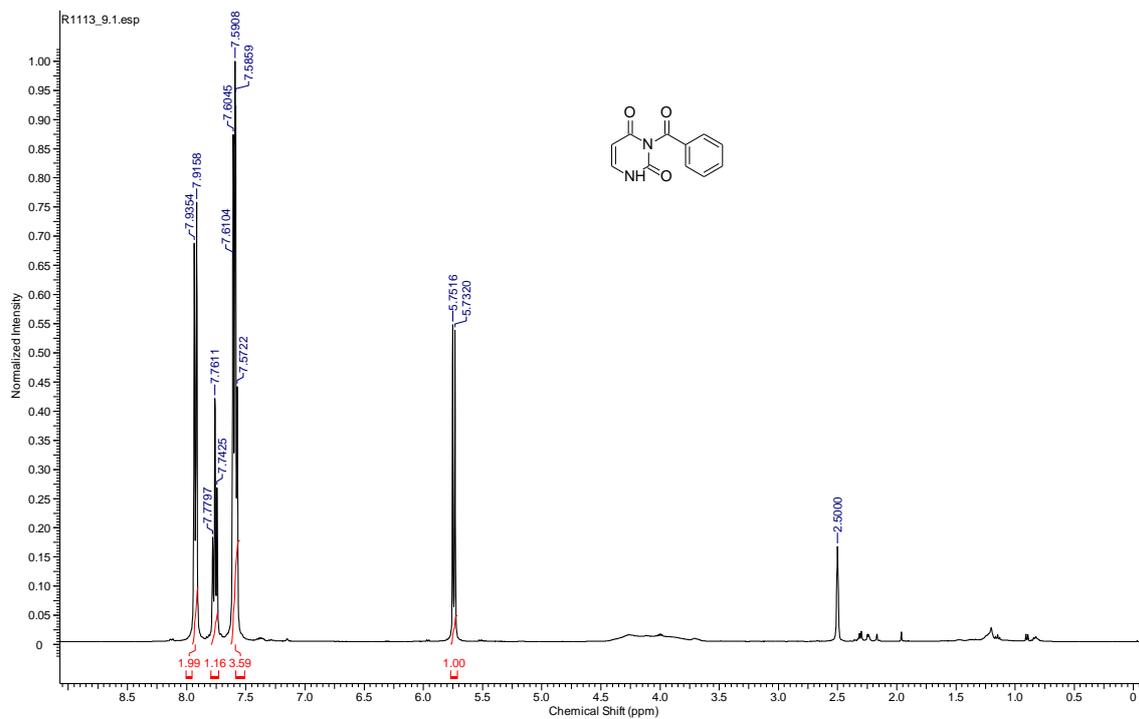
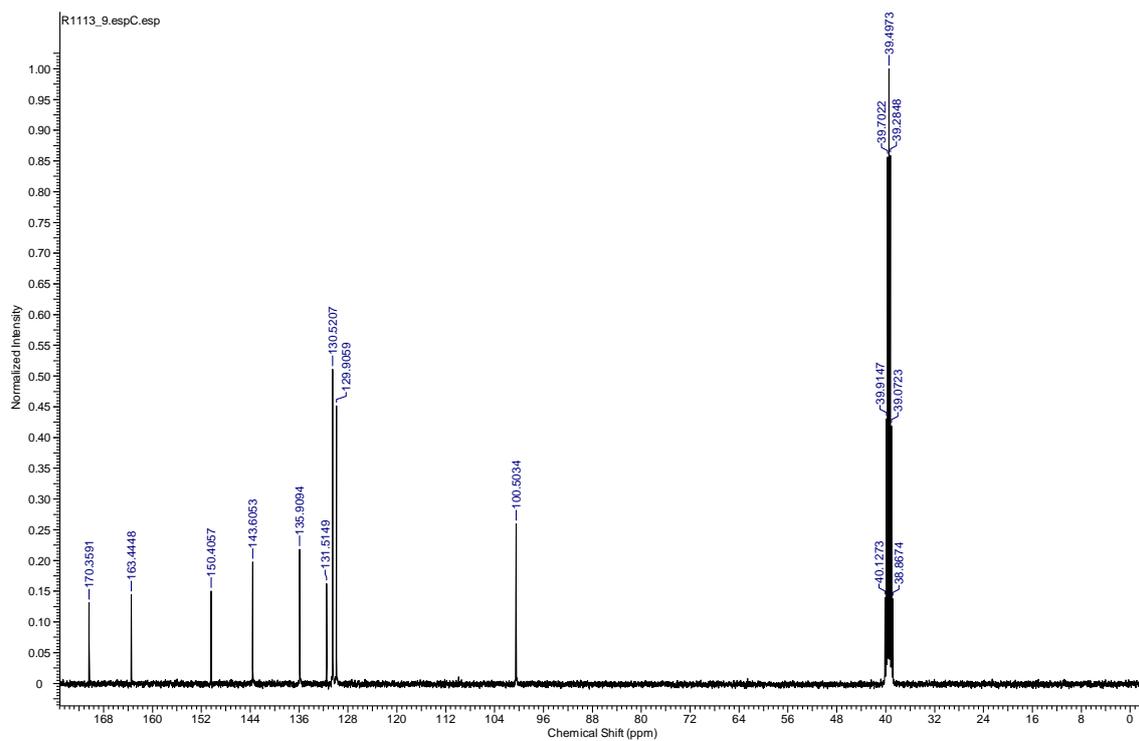
Infravermelho do composto (45)

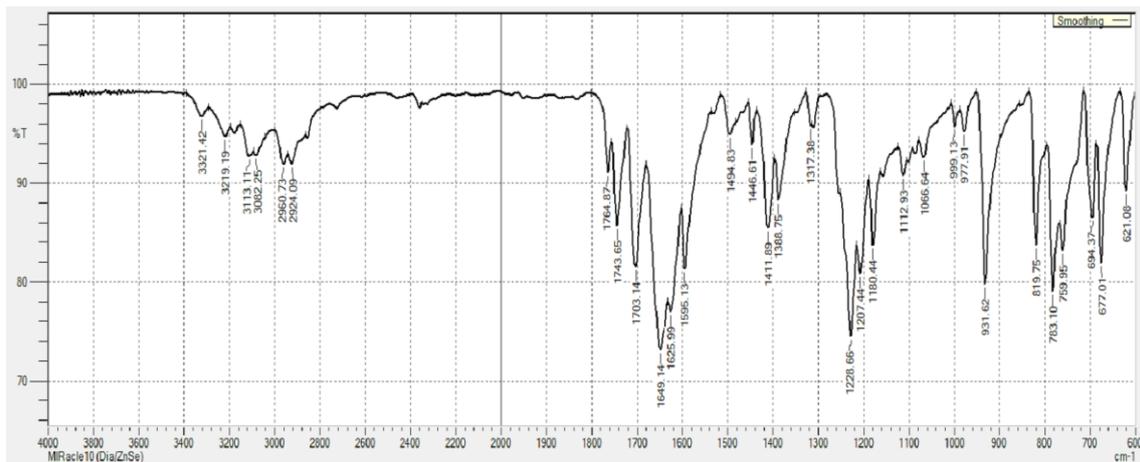


RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto (47)

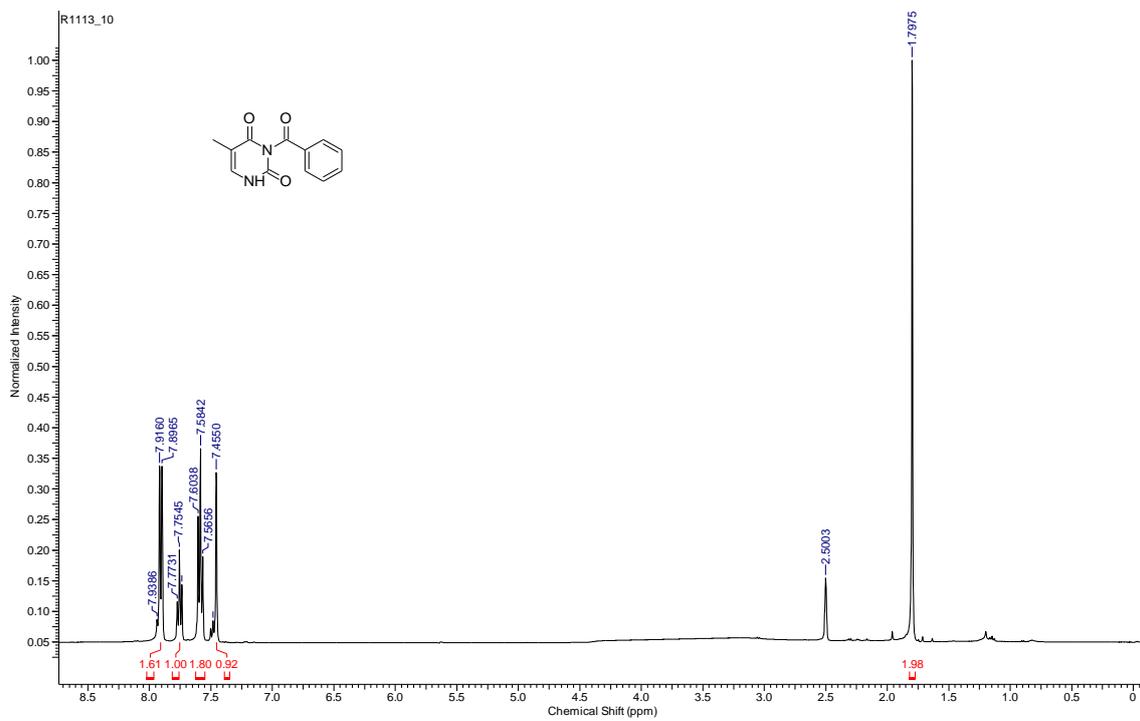
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz) do composto (47)

Infravermelho do composto (47)

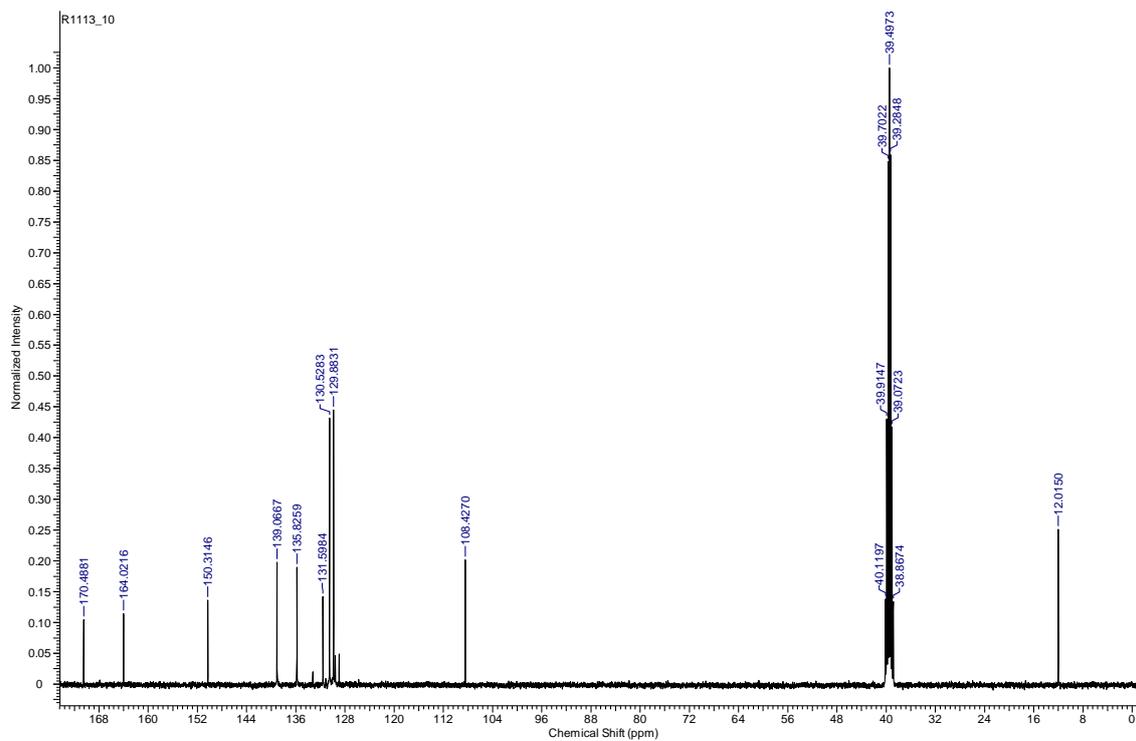
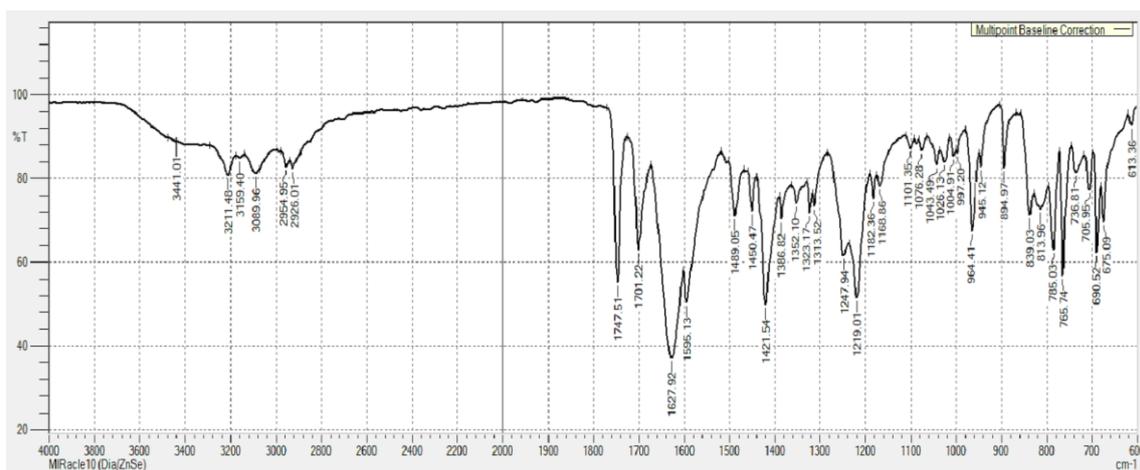
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do composto (44a)RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz) do composto (44a)

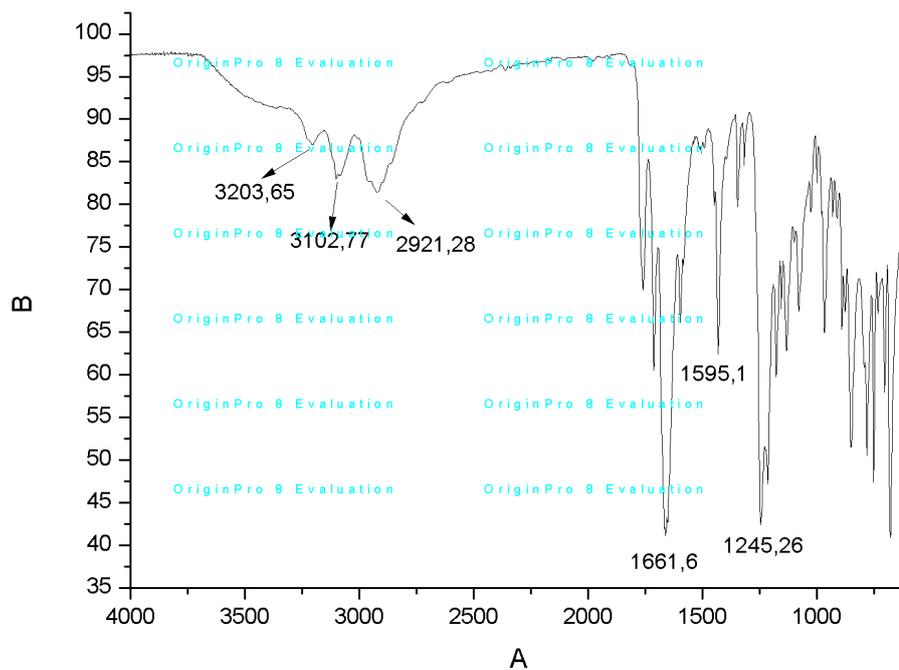


Infravermelho do composto (44a)

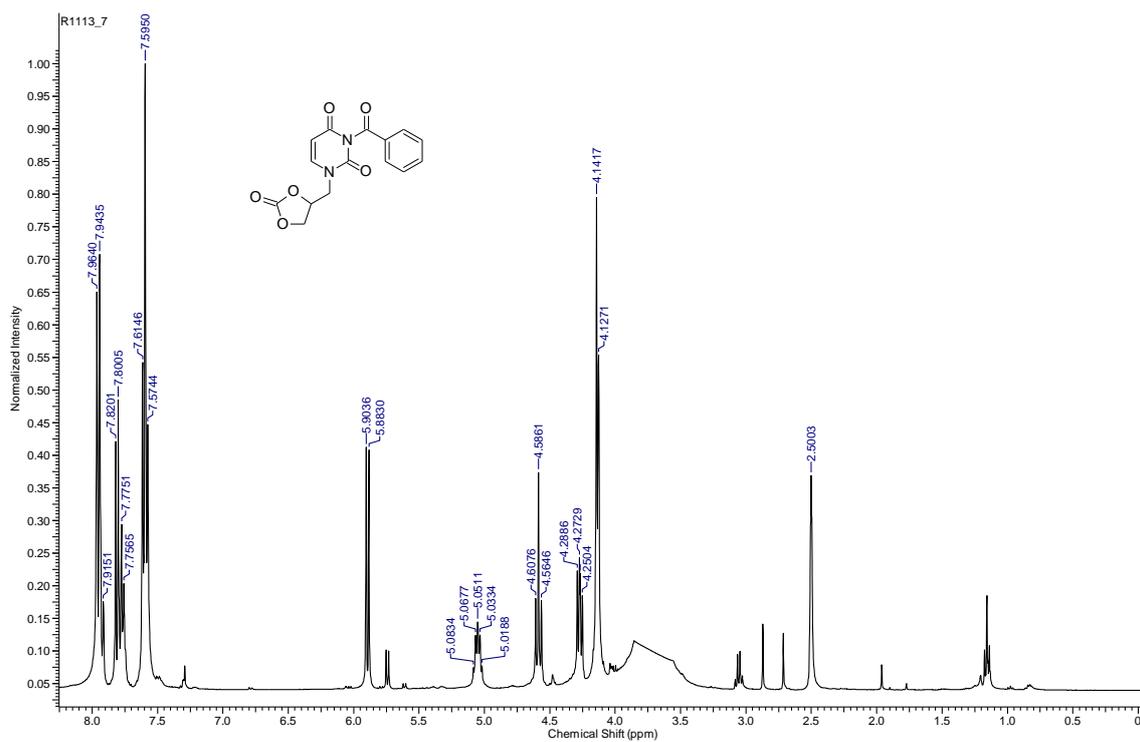


RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do composto (44b)

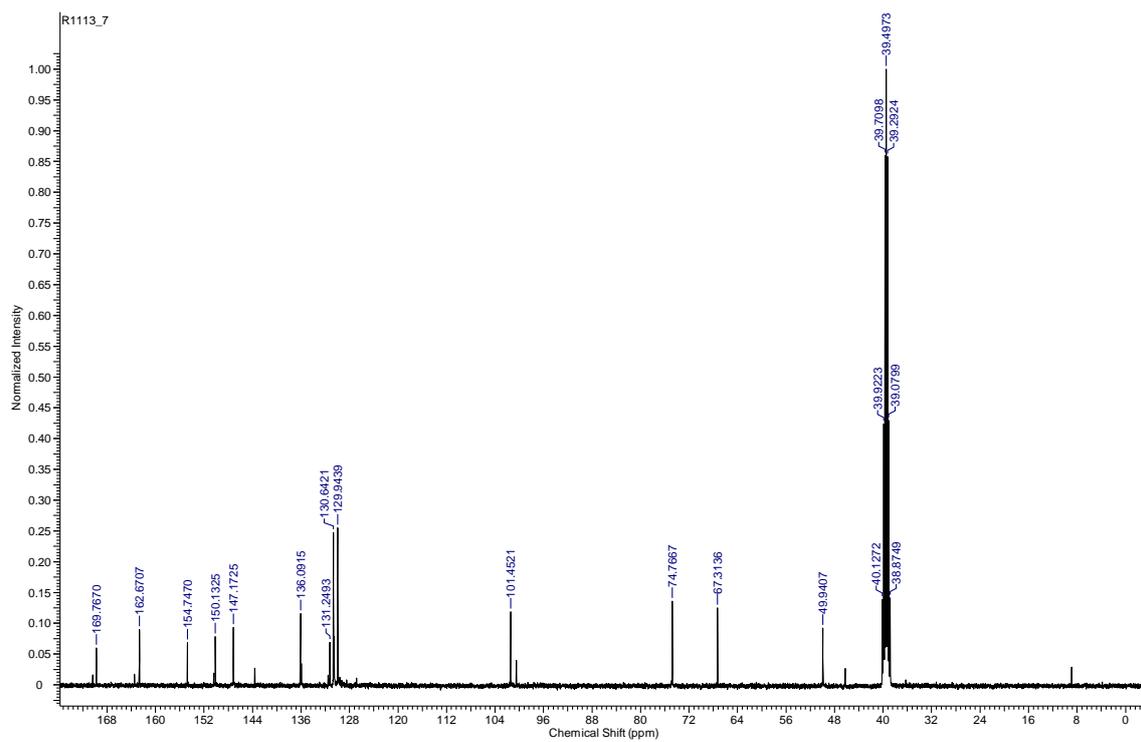
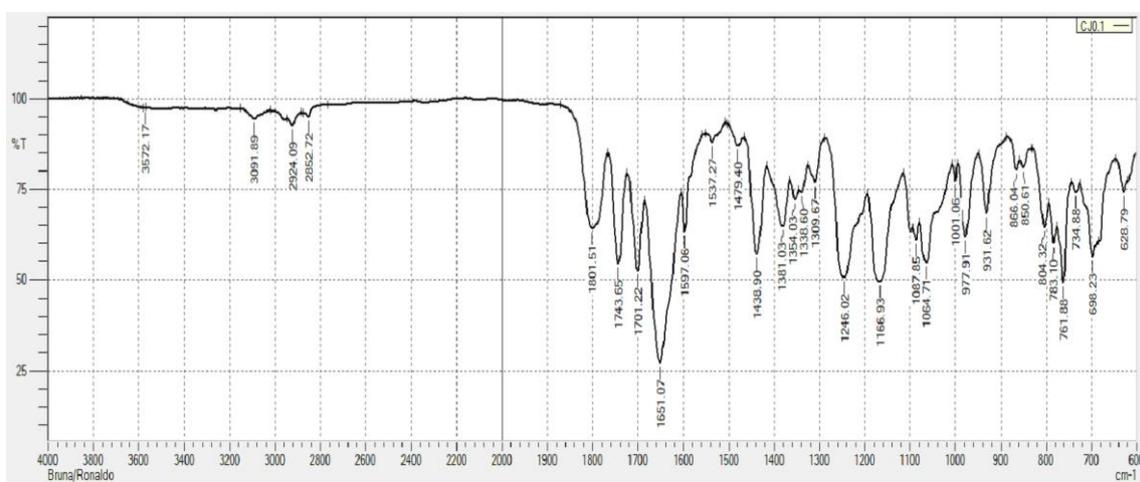
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **(44b)**Infravermelho do composto **(44b)**

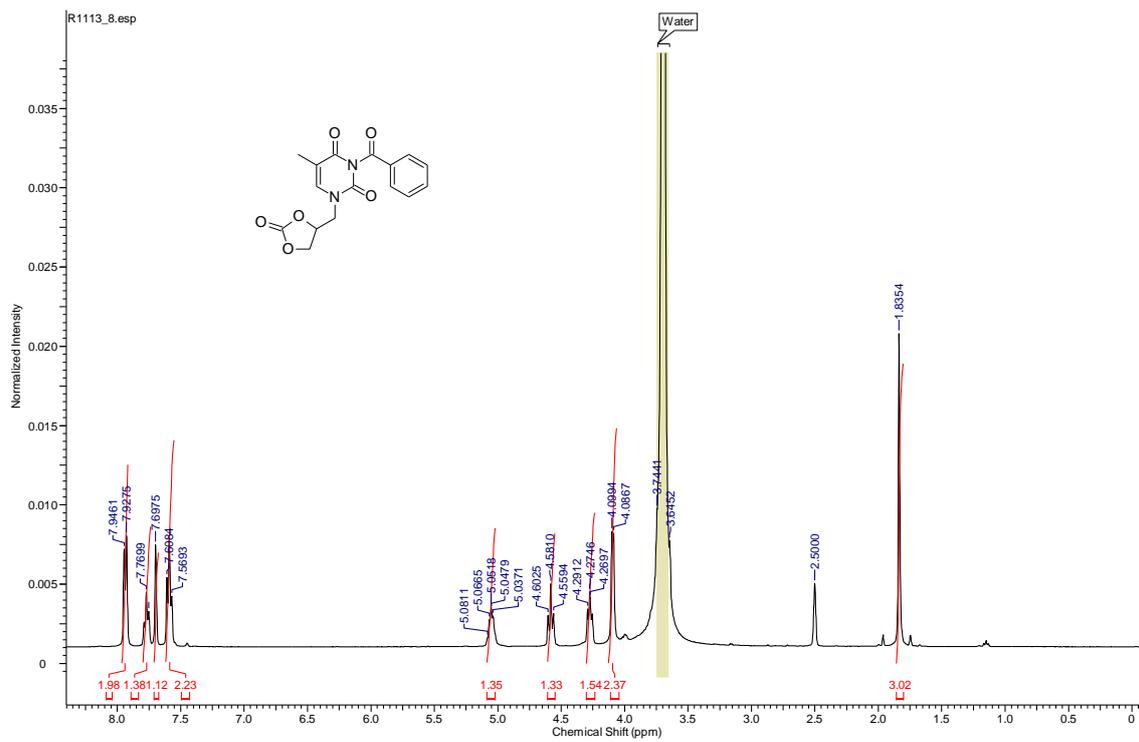


Infravermelho do composto (44c)

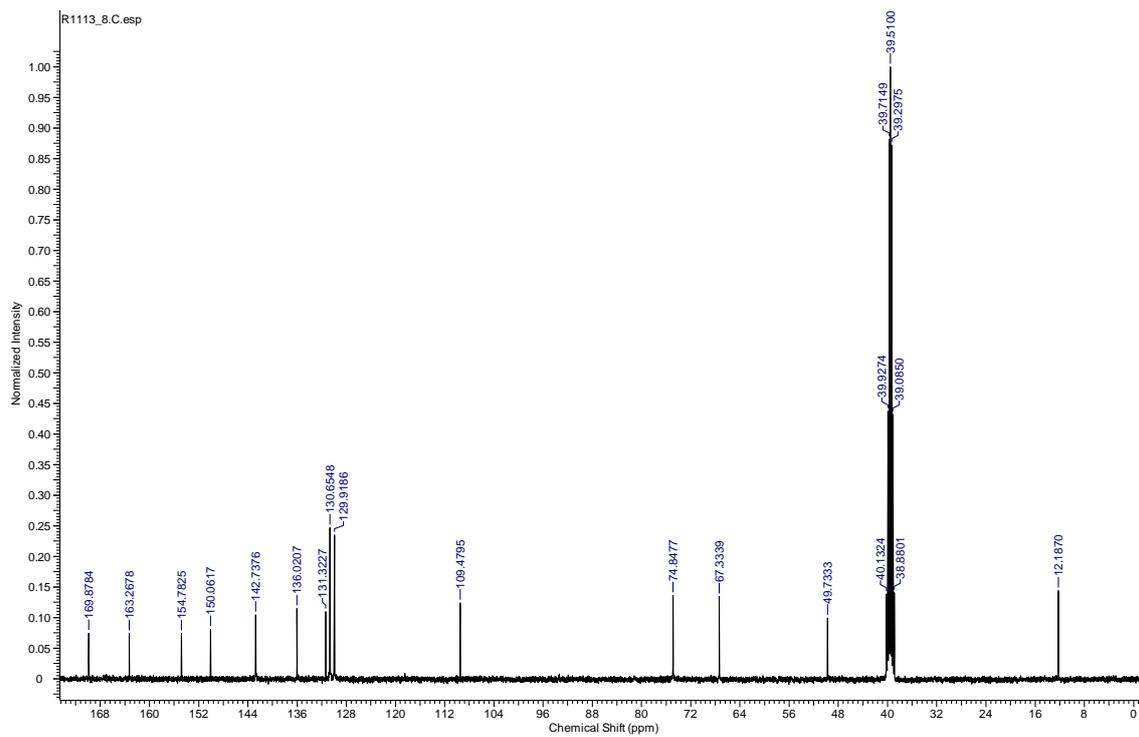


RMN ¹H (DMSO- *d*₆, 400 MHz) do composto (48a)

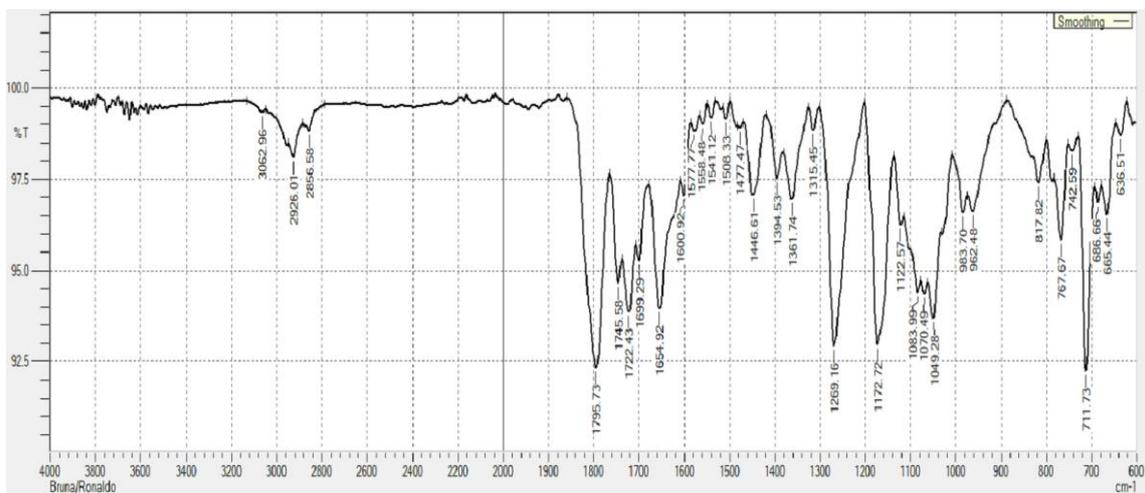
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **(48a)**Infravermelho do composto **(48a)**



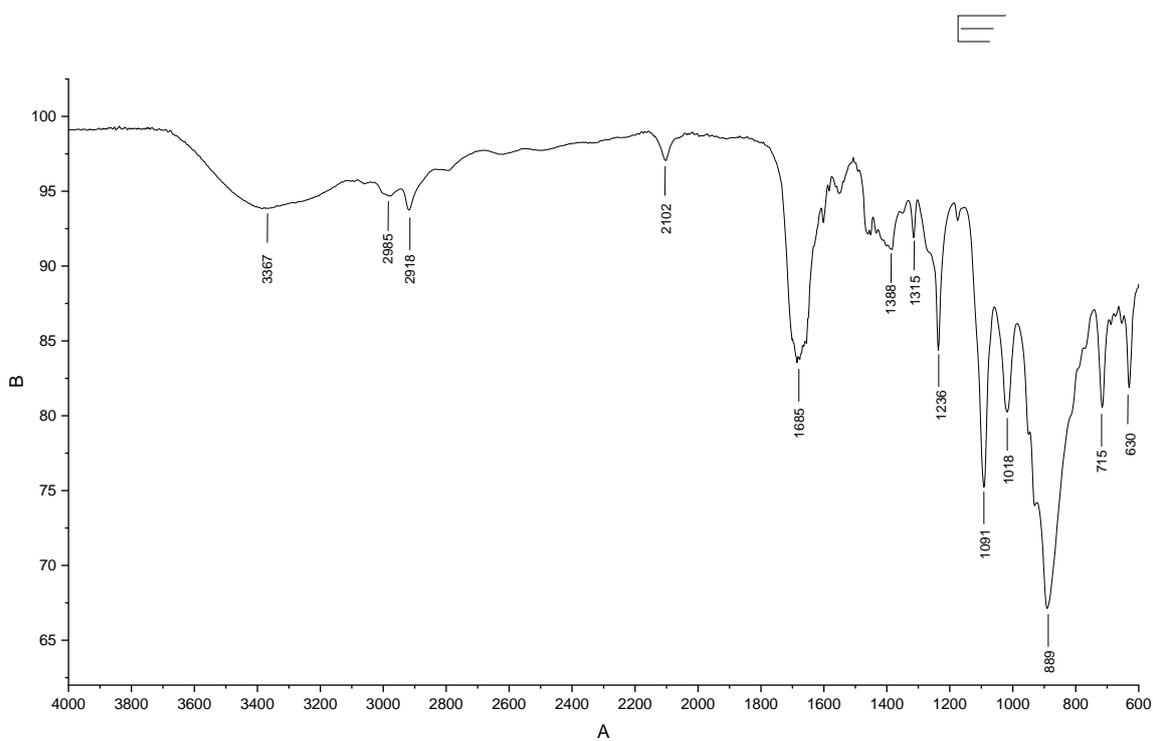
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **(48b)**



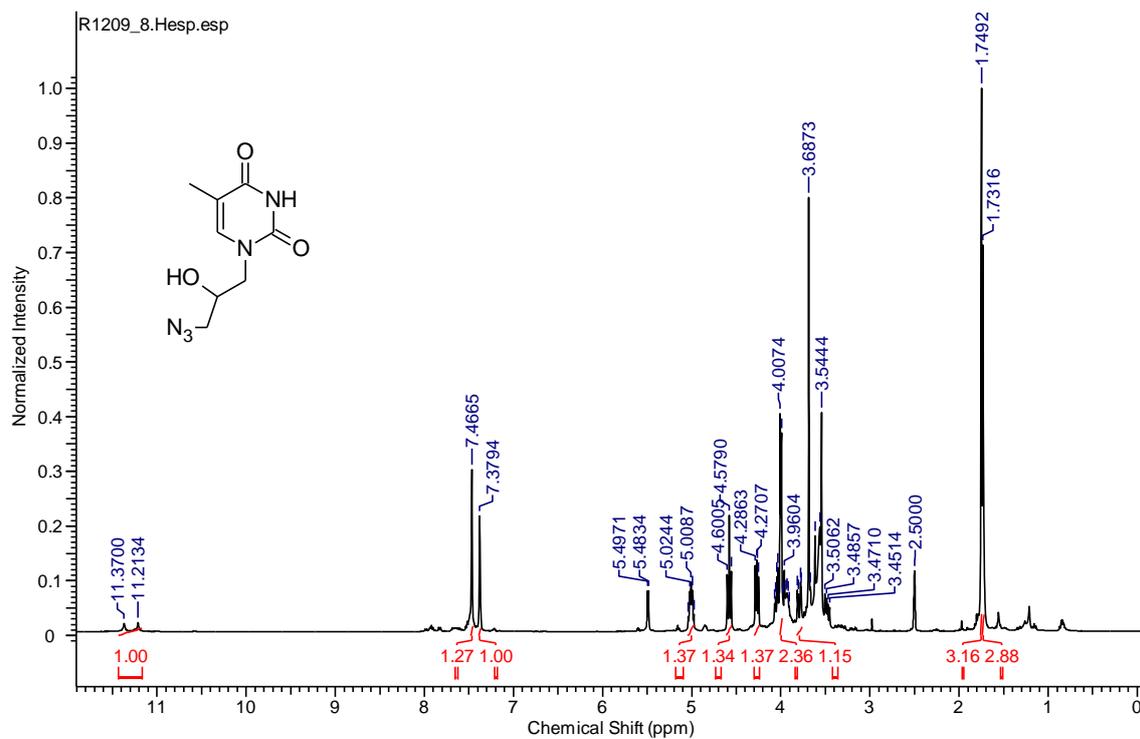
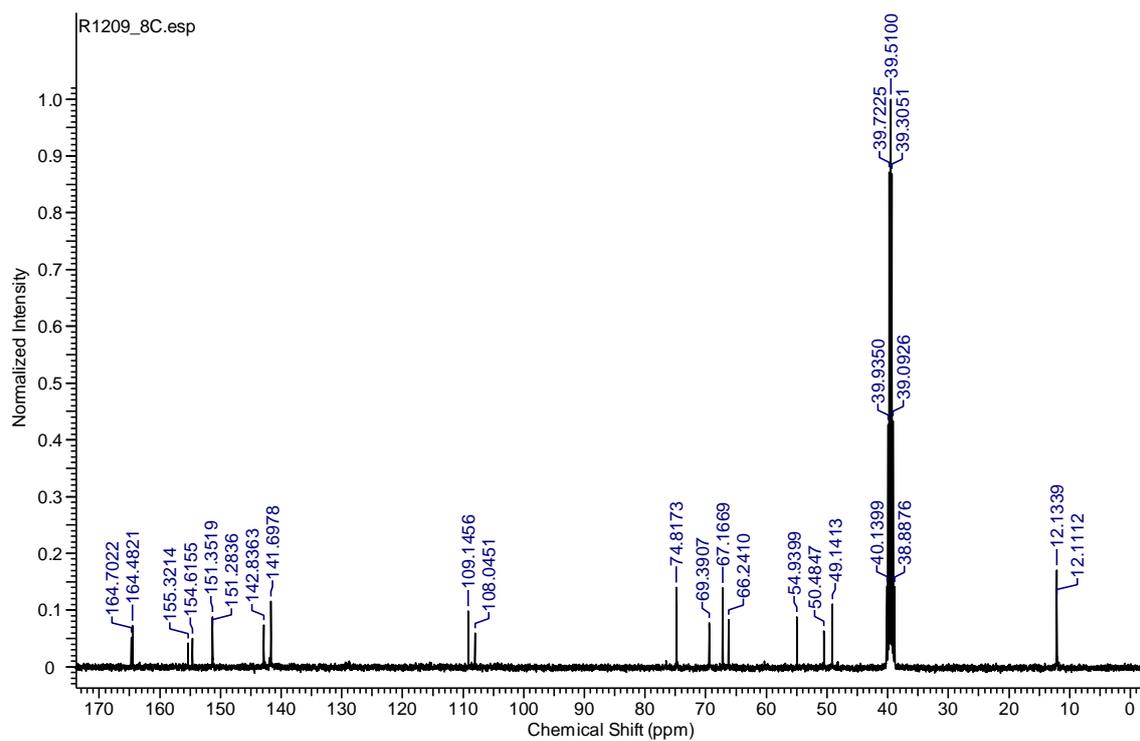
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **(48b)**

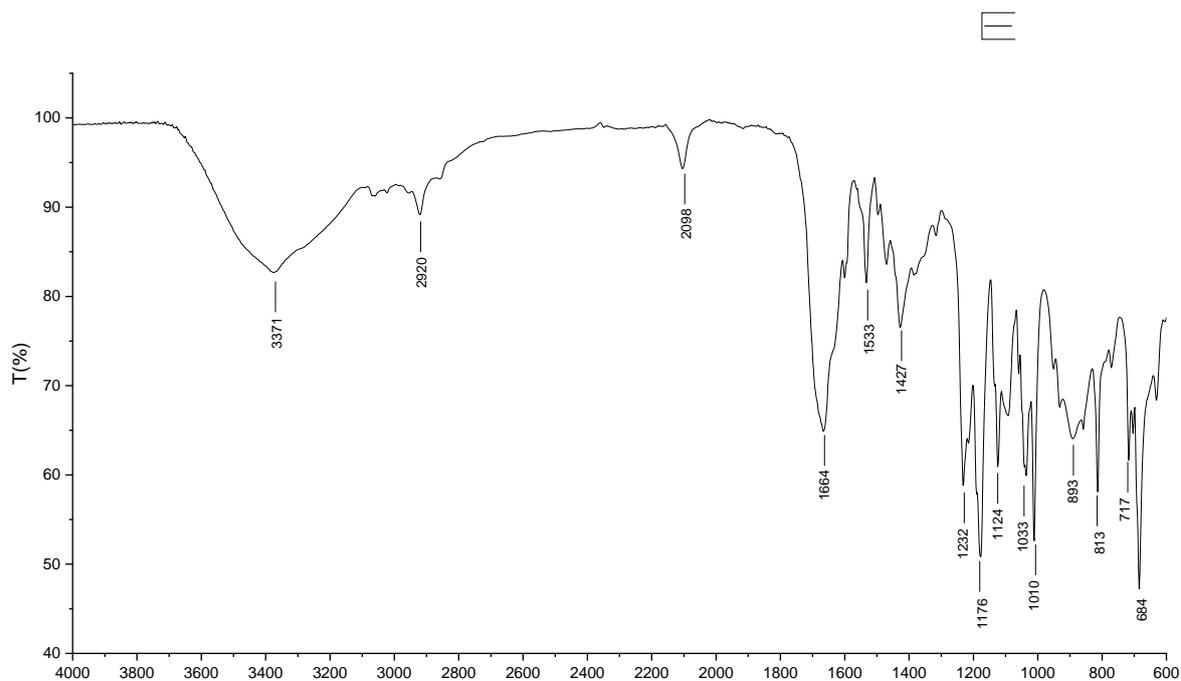


Infravermelho do composto **(48b)**

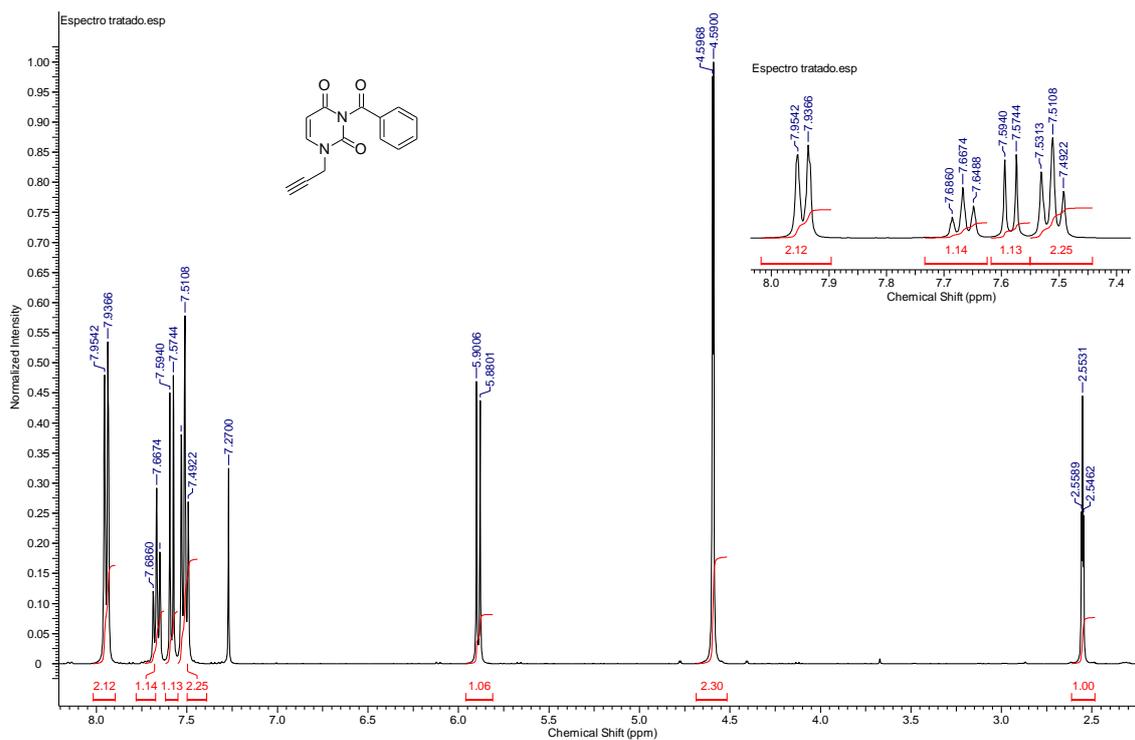


Infravermelho do composto **(49a)**

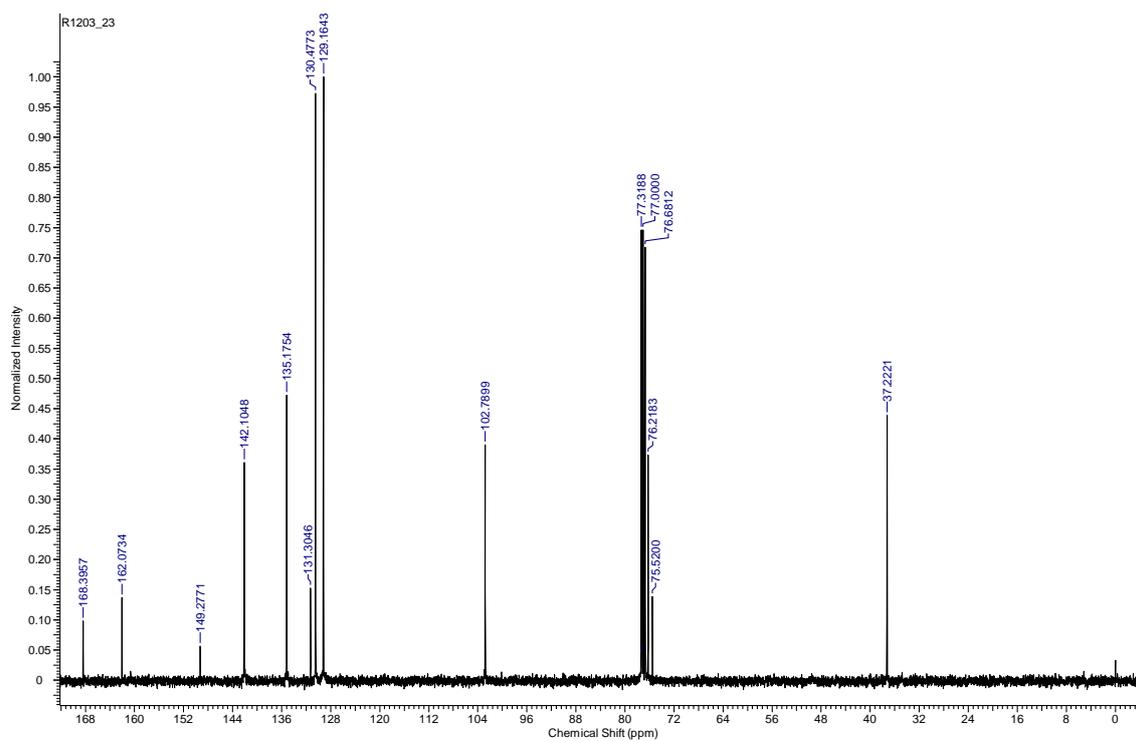
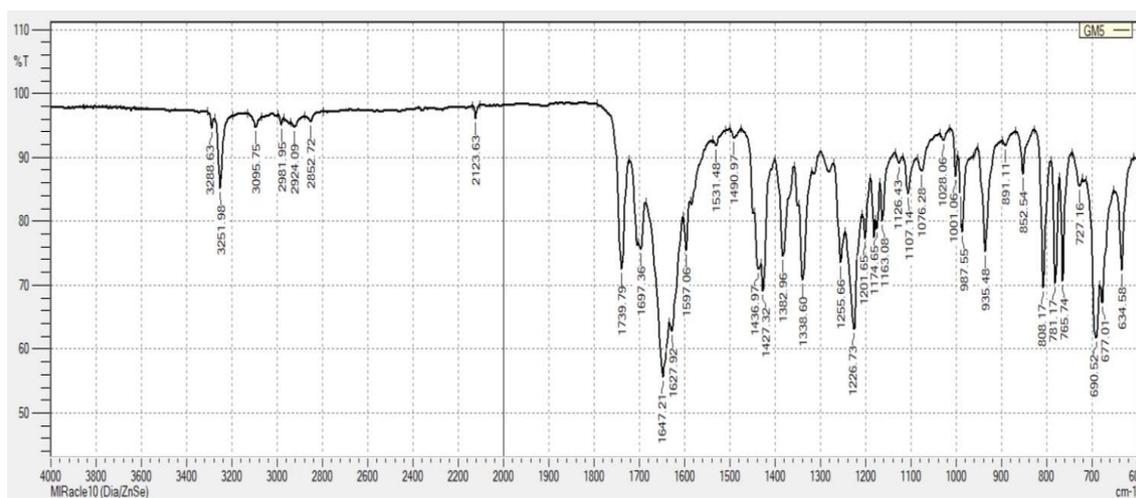
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto (**49b**)RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto (**49b**)



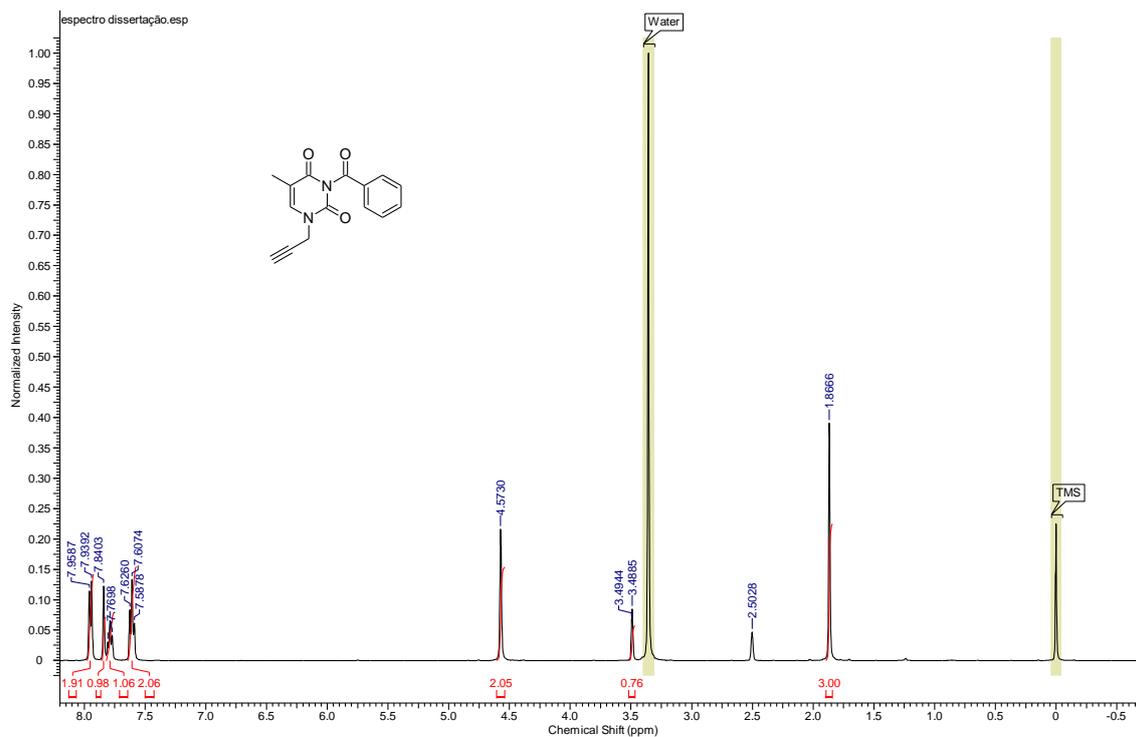
Infravermelho do composto **(49b)**



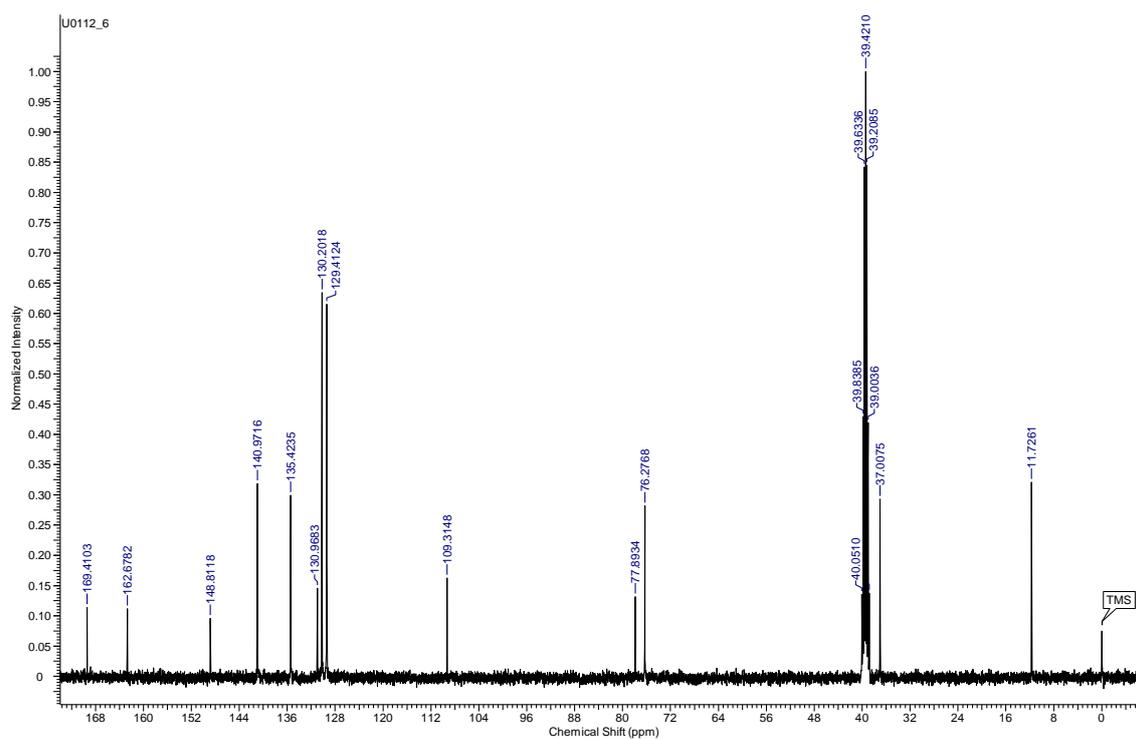
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **(46a)**

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do composto (46a)

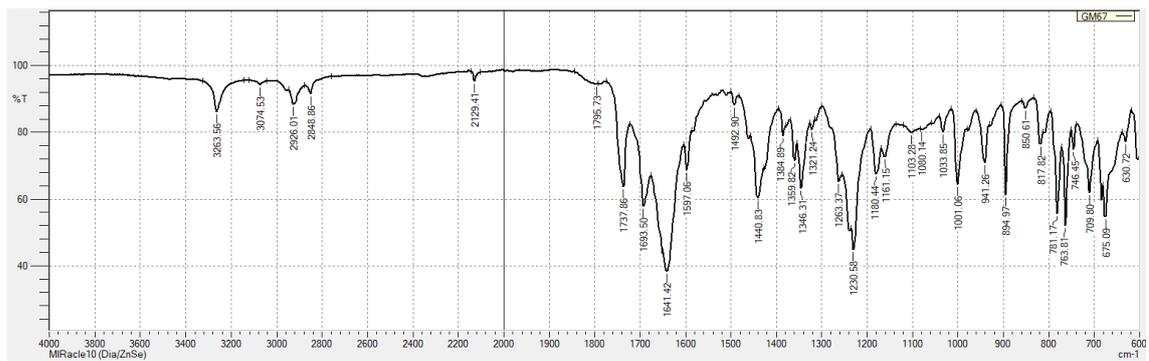
Infravermelho do composto (46a)



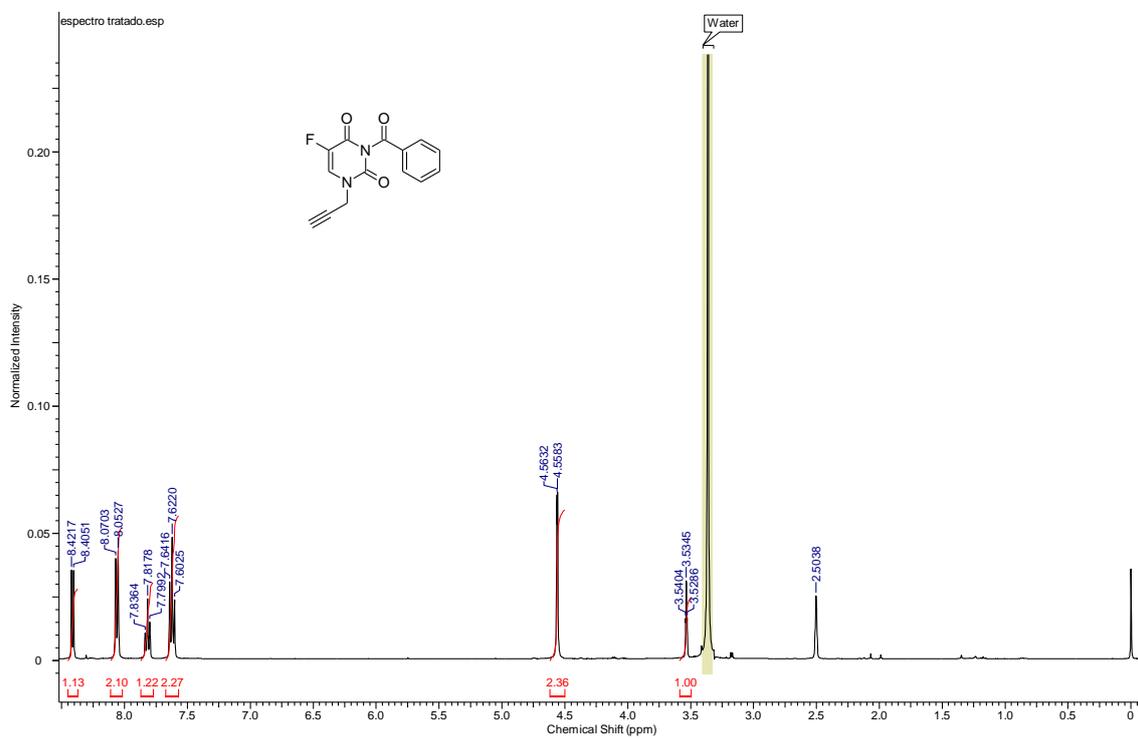
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **(46b)**



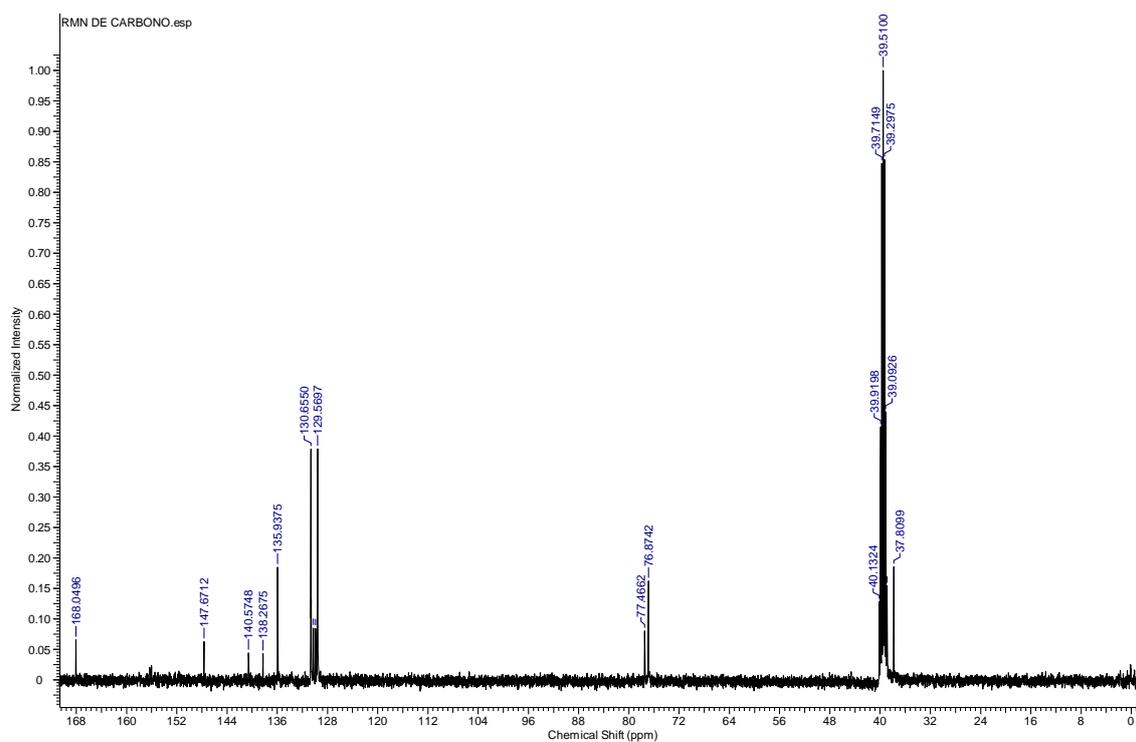
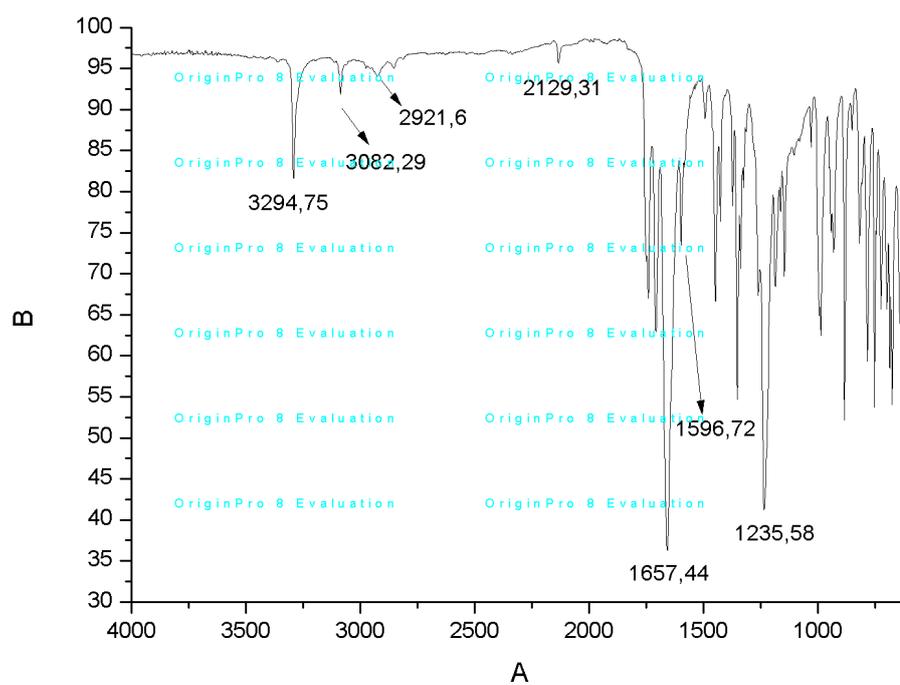
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **(46b)**



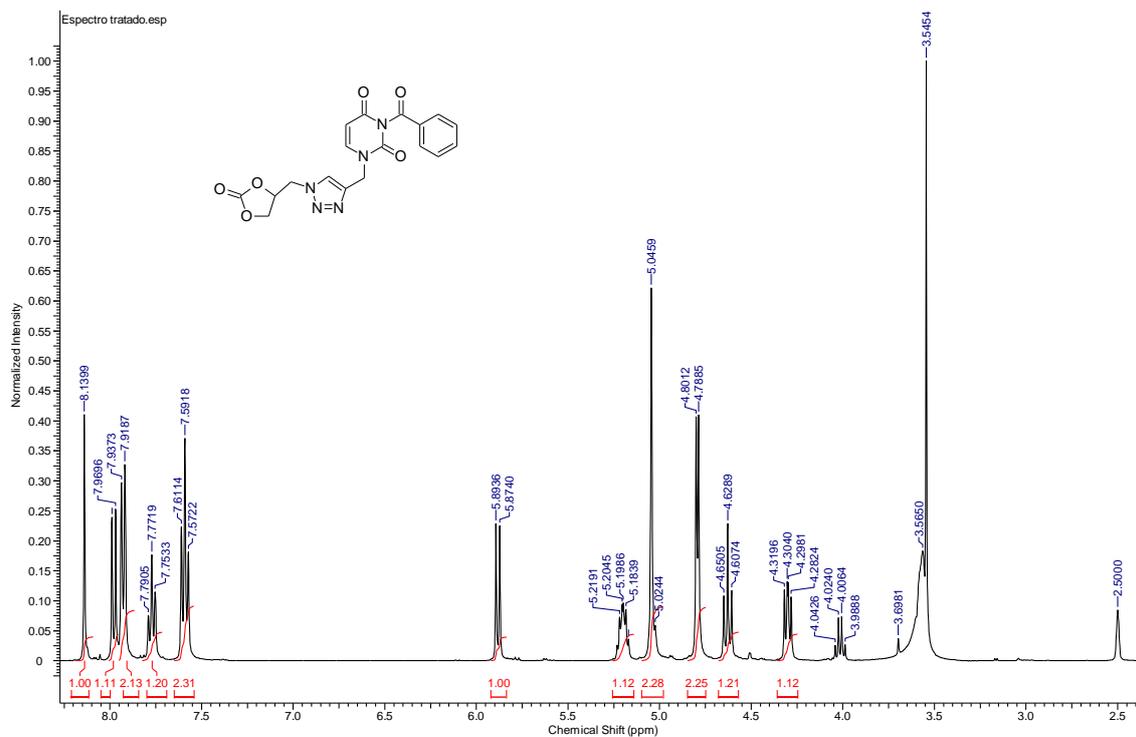
Infravermelho do composto (46b)



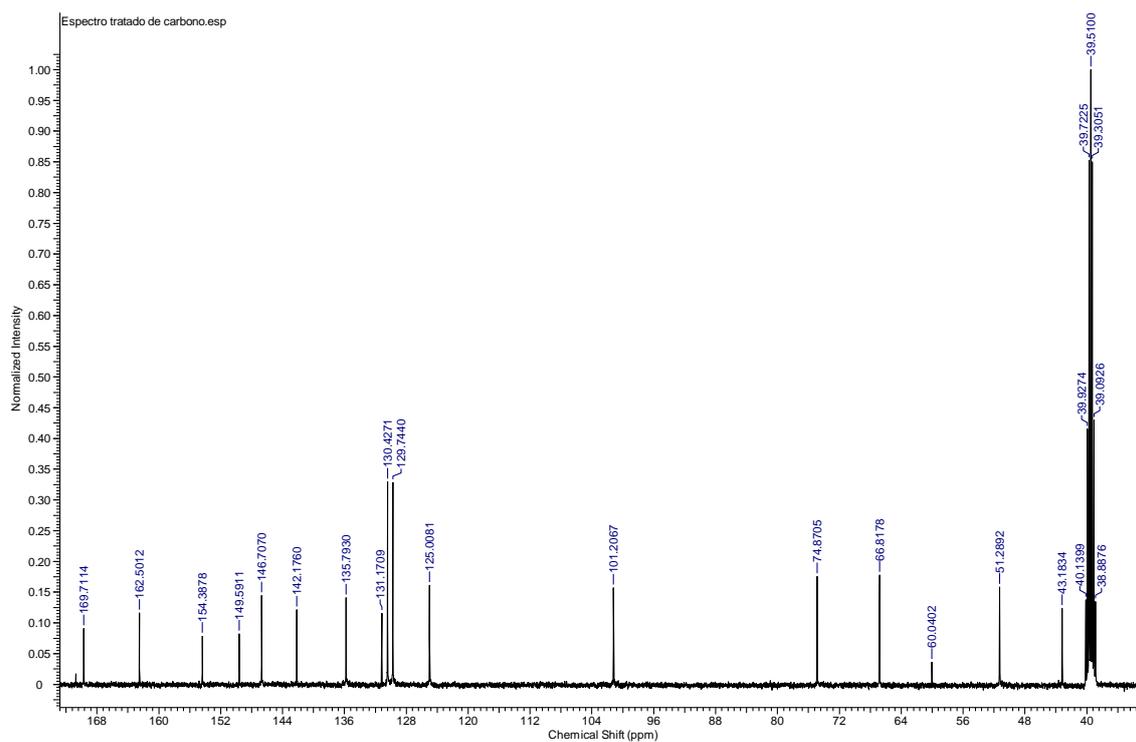
RMN ¹H (DMSO- d₆, 400 MHz) do composto (46c)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto (46c)

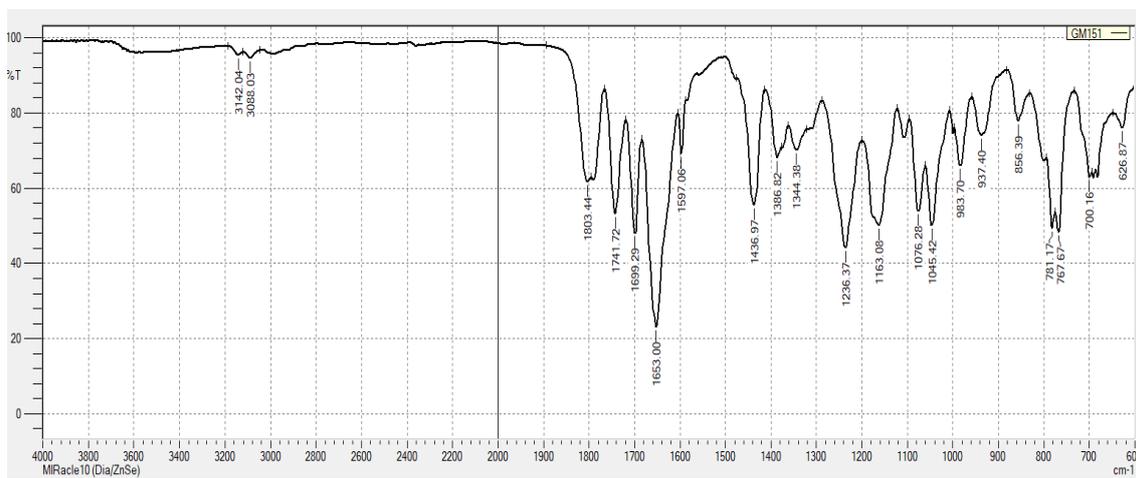
Infravermelho do composto (46c)



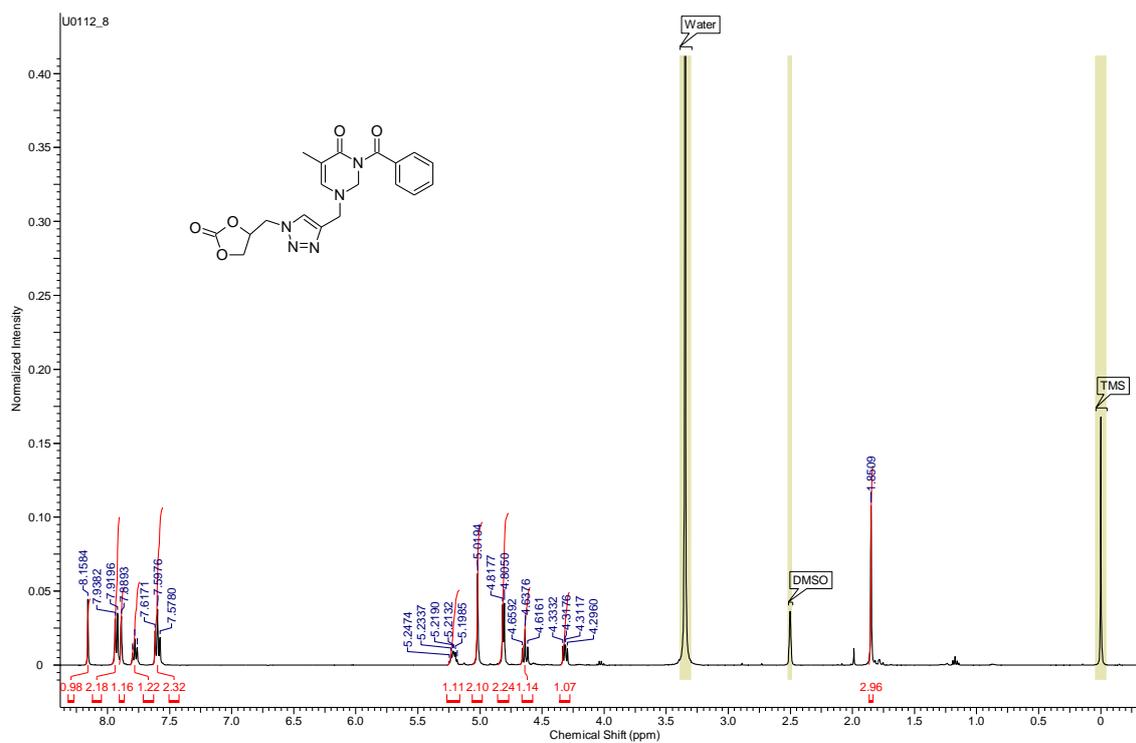
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do composto **(50a)**



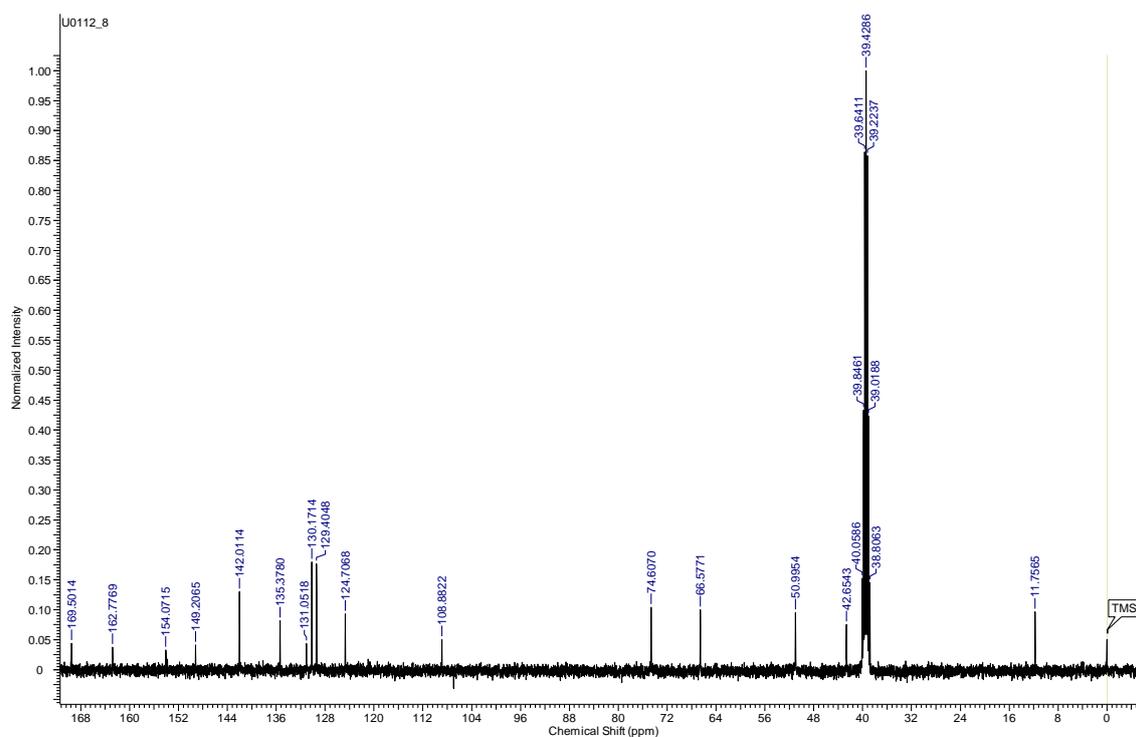
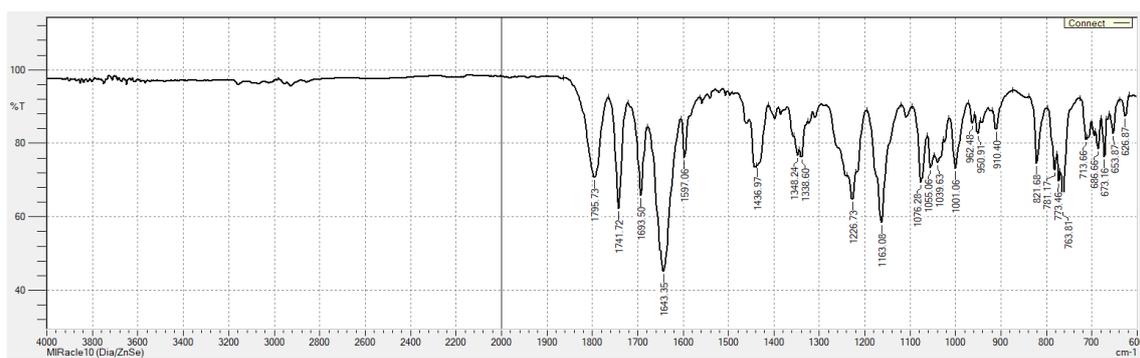
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto **(50a)**



Infravermelho do composto (50a)



RMN ¹H (DMSO- d₆, 400 MHz) do composto (50b)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) do composto (50b)

Infravermelho do composto (50b)