



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

FABRÍCIO AUGUSTO DOS SANTOS

**SÍNTESE DE ALQUILTRIAZÓIS COMO POTENCIAIS  
AGENTES ANTIPLASMODIAIS**

---

Londrina  
2024

FABRÍCIO AUGUSTO DOS SANTOS

**SÍNTESE DE ALQUILTRIAZÓIS COMO POTENCIAIS  
AGENTES ANTIPLASMODIAIS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química- Área de concentração Química Orgânica, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anna Paola Butera

Co-orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Gustavo Henrique Ribeiro Viana

Londrina  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Santos, Fabrício Augusto.

SÍNTESE DE ALQUILTRIAZÓIS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIPLASMODIAIS / Fabrício Augusto Santos. - Londrina, 2024.  
83 f.

Orientador: Anna Paola Butera.

Coorientador: Gustavo Henrique Viana.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Malária - Tese. 2. Síntese - Tese. 3. Antiplasmodial - Tese. 4. Triazóis - Tese. I. Butera, Anna Paola. II. Viana, Gustavo Henrique. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU 54

FABRÍCIO AUGUSTO DOS SANTOS

## **SÍNTESE DE ALQUILTRIAZÓIS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTIPLASMODIAIS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Mestrado em Química- Área de concentração Química Orgânica, da Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Anna Paola Butera  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Alexandre Orsato  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Barbosa de Oliveira  
Universidade Federal de Minas Gerais -  
UFMG

Londrina, 26 de julho de 2024.

## RESUMO

SANTOS, Fabrício Augusto dos. **Síntese de alquiltriazóis como potenciais agentes antiplasmodiais**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

Dentre as doenças infecciosas tropicais, a malária representa um dos maiores problemas de saúde humana, tendo sido responsável por 249 milhões de casos e 608 mil mortes em 2022. A ocorrência de resistência a medicamentos antimaláricos disponíveis e o *status* de doença negligenciada, justifica a necessidade de busca de novos agentes contra a malária. O *Plasmodium* sp, agente etiológico da malária, em seu ciclo de vida biológico, digere a hemoglobina das hemácias, liberando o grupo heme, tóxico ao parasita. Um mecanismo de sobrevivência do parasito é a conversão do heme, tóxico ao parasita, em hemozoína, seu polímero supramolecular, insolúvel. Dessa forma, substâncias que interagem fortemente com o grupo heme, desfavorecendo a formação da hemozoína, são potenciais agentes antiplasmodiais. Em trabalhos prévios, foi identificada a atividade antiplasmodial de 3-alquilpiridinas que apresentaram alta afinidade pelo heme, em ensaios de titulação UV-vis. Essa evidência permitiu atribuir o mecanismo antiplasmodial à inibição de formação de hemozoína. No presente trabalho, na busca por compostos com menor citotoxicidade relativa que as 3-alquilpiridinas, que mantivessem o modo de interação com o heme, foi construída uma série de homólogos, considerando-se a substituição bioisostérica do grupo piridínio pelo grupo triazol. A síntese dos derivados triazólicos envolveu a reação *click* alcino-azida. A formação de complexos estável alquiltriazol-heme foi verificada por espectrometria de massas (EM-ESI). Nos espectros de massas de soluções contendo heme e um alquiltriazol (ligante), para a maioria dos ligantes avaliados, observou-se pico referente ao complexo 1:1 heme-ligante. Em nenhum dos casos, foram observados picos de *m/z* referentes ao complexo de estequiometria 2:1. As constantes de dissociação ( $K_d$ ) da interação heme-ligante foram determinadas por titulação UV-vis. Foram encontrados valores de  $K_d$  entre  $3,935 \pm 2,164$  e  $0,783 \pm 0,385$   $\mu\text{mol/L}$ , que indicam que esses compostos se associam com alta afinidade com o grupo heme. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que componentes da série de alquiltriazóis avaliada são promissores agentes antiplasmodiais. Esses compostos foram encaminhados para avaliação de atividade citotóxica frente a *Plasmodium falciparum* e células humanas.

**Palavras-chave:** malária, antimaláricos, antiplasmodial, triazóis, reação *click*, titulação UV-Vis, heme, hematina.

## ABSTRACT

SANTOS, Fabrício Augusto dos. **Synthesis of alkyltriazoles as potential antiplasmodial agents**. 83 p. Dissertation (Master's Degree in Chemistry) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

Among the tropical infectious diseases, malária represents one of the biggest human health problems, having been responsible for 249 million cases and 608 thousand deaths in 2022. The occurrence of resistance to available antimalarial drugs and the *status* of neglected disease, justify the necessity of new agents against malaria. The *Plasmodium sp*, etiological agent of malaria, in your biological cycle, digests the hemoglobin from red blood cells, resulting in the release of the heme group. This heme group is toxic to the parasite, leading to the survival mechanism of converting it into hemozoin, an insoluble supramolecular polymer. Therefore, substances that strongly interact with the heme group, disfavoring the formation of hemozoin, have the potencial to be antiplasmodial agents. Previous works have identified antiplasmodial activity of 3-alkylpyridines which demonstrated high affinity with the heme group in UV-Vis titration assays. This evidence allows the antiplasmodial mechanism can be attributed to the inhibition of hemozoin formation. In this work, the search of new compounds exhibiting lower relative cytotoxicity than 3-alkylpyridines mantaining mode of interaction with heme, a series of homologous were proposed, considering the bioisosteric substitution of pyridinium group by triazole group. The synthesis of triazoles derivatives involved the *click* reaction with alkyne-azide. The stable complex formation were confirmed through mass spectrometry (MS-ESI). The mass spectrum containing an solution of heme and alkyltriazole (ligand), for the most ligands evaluated, observed a peak referent to 1:1 heme-ligand complex, with no observations of the 2:1 complex. The dissociation constant ( $K_d$ ) of the heme-ligand interaction was determined through UV-Vis titration. Were found  $K_d$  values between  $3,935\pm 2,164$  and  $0,783\pm 0,385$   $\mu\text{mol/L}$ , which suggest a high affinity between these compounds and the heme group. Based on the results obtained, it is concluded that the components of the alkyltriazole series evaluated are promising antipasmodial agents. This compounds were sent for evaluation of cytotoxic activity against *Plasmodium falciparum* and human cells.

**Keywords:** malaria, antimalarials, antiplasmodial, triazoles, *click* reaction, UV-Vis titration, heme, hematin.

## LISTA DE FIGURAS

<a href="#"><u>Figura 1: Mapa mundial da ocorrência de transmissão da malária</u></a>	12
<a href="#"><u>Figura 2: Mapa brasileiro do risco de transmissão</u></a>	13
<a href="#"><u>Figura 3: Ciclo biológico do plasmódio no organismo humano.</u></a>	15
<a href="#"><u>Figura 4: Estruturas moleculares de fármacos utilizados no tratamento da malária e classificação química utilizada</u></a>	17
<a href="#"><u>Figura 5: Representação estrutural da hemozoína.</u></a>	19
<a href="#"><u>Figura 6: 3-Alquilpiridinas e atividades antiplamodial.</u></a>	20
<a href="#"><u>Figura 7: Planejamento de alquiltriazóis baseados na estrutura de 3-alquilpiridinas.</u></a>	21
<a href="#"><u>Figura 8: Triazóis formados pelo acoplamento alcino-azida de Huisgen (FANTONI; EL-SAGHEER; BROWN, 2021).</u></a>	26
<a href="#"><u>Figura 9: RMN de <math>^1\text{H}</math> do composto <math>1a_{n6}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>, 400 MHz).</u></a>	29
<a href="#"><u>Figura 10: RMN de <math>^{13}\text{C}</math> do composto <math>1a_{n6}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>, 100 MHz).</u></a>	30
<a href="#"><u>Figura 11: Espectro de RMN de <math>^1\text{H}</math> do composto <math>2a_{n6}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>, 400 MHz).</u></a>	31
<a href="#"><u>Figura 12: RMN de <math>^{13}\text{C}</math> do composto <math>2a_{n6}</math> (<math>\text{CDCl}_3</math>, 100 MHz).</u></a>	32
<a href="#"><u>Figura 13: Comparação entre os valores de deslocamento químico de hidrogênios metilênicos de <math>2a_{n6}</math> e de seu precursor, <math>1a_{n6}</math></u></a>	33
<a href="#"><u>Figura 14: Triazóis avaliados quanto a interação com heme por EM-ESI</u></a>	34
<a href="#"><u>Figura 15: Espectro de massas (EM-ESI) da solução heme-<math>1a_{n6}</math></u></a>	35
<a href="#"><u>Figura 16: Determinação do valor da constante de dissociação (<math>K_d</math>) a partir da curva de titulação UV-Vis</u></a>	37
<a href="#"><u>Figura 17: Gráfico de dispersão XY de absorvância <i>versus</i> concentração resultante de titulação no UV-vis da substância <math>1a_{n6}</math>.</u></a>	38

## LISTA DE ESQUEMAS

<u>Esquema 1: Alquiltriazóis planejados.</u>	24
<u>Esquema 2: Rota sintética para obtenção dos alquiltriazóis.</u>	24
<u>Esquema 3: Preparação de alquil-azidas (3) a partir dos dióis correspondente (entre parêntese, rendimentos reacionais, em duas etapas)</u>	25
<u>Esquema 4: Preparação de triazóis (1a e 2a) a partir das alquil-azidas e alcinos correspondentes (KÁDÁR et al., 2011).</u>	25
<u>Esquema 5: Proposta de mecanismo de catálise do Cu(I) na reação "Click"</u>	27
<u>Esquema 6: Mecanismo proposto para a redução de Cu(II) a Cu(I) por reação com ascorbato</u>	28
<u>Esquema 7: Preparação dos alquiltriazóis 2a e 2b, a partir de 1a e 1b (entre parêntese, rendimentos reacionais em duas etapas).</u>	33

## LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1: Massas exatas calculadas (ligantes e complexos heme-ligante 1:1) e picos observados referentes aos complexo heme-ligante 1:1</u>	36
<u>Tabela 2: Constantes de dissociação (<math>K_d</math>) dos triazóis com grupo heme</u>	38

## SUMÁRIO

<u>1</u>	<u>INTRODUÇÃO</u>	12
	<u>1.2 MALÁRIA E SEUS ASPECTOS GERAIS.</u>	12
	<u>1.3 CICLO BIOLÓGICO DA MALÁRIA</u>	14
<u>1.3</u>	<u>PROFILAXIA DA MALÁRIA</u>	15
	<u>1.4 PROBLEMAS DA MALÁRIA NO CONTEXTO CONTEMPORÂNEO: RESISTÊNCIAS E O NEGLIGENCIAMENTO</u>	17
	<u>1.4 MECANISMOS DE AÇÃO DE ANTIMALÁRICOS</u>	18
	<u>1.5 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL DE COMPOSTOS COM POTENCIAL ANTIPLASMODIAL</u>	20
<u>2</u>	<u>OBJETIVOS</u>	23
	<u>2.1 OBJETIVOS GERAIS</u>	23
	<u>2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS</u>	23
<u>3</u>	<u>RESULTADOS E DISCUSSÕES</u>	24
	<u>3.1 SÍNTESES E PROPOSTAS DE MECANISMOS</u>	24
	<u>3.2 ESTUDOS DE INTERAÇÃO DOS TRIAZÓIS COM HEME</u>	33
<u>4</u>	<u>CONCLUSÃO</u>	40
<u>5.</u>	<u>METODOLOGIA EXPERIMENTAL</u>	41
	<u>5.1 SÍNTESE</u>	41
	<u>5.1.1 Procedimentos Gerais</u>	41
	<u>5.1.2 Metodologia geral para a síntese das alquilazidas. (3) (SOUSA, 2021).</u>	41
	<u>5.1.3 Metodologia geral para a síntese dos triazóis fenílicos (1a) (KÁDÁR et al., 2011).</u>	43
	<u>5.1.4 Metodologia geral para a síntese dos triazóis isoamílicos (2a) (KÁDÁR et al., 2011)</u>	45
	<u>5.1.5 Metodologia geral para síntese dos alquiltriazóis 1b e 2b (SHINDE et al., 2018)</u>	46
	<u>5.2 Estudos de interação dos triazóis com heme por titulação no UV-vis</u>	49
	<u>5.2.1 Equipamento</u>	49
	<u>5.2.2 Preparo de soluções</u>	49
	<u>5.2.2.1 Solução tampão HEPES pH 7,4</u>	49
	<u>5.2.2.2 Solução estoque de hematina (1,7 mmol L<sup>-1</sup>) (SEhm)</u>	49

<a href="#"><u>5.2.1.3 Solução de análise de hematina (5 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>) (<b>SAhm</b>)</u></a>	50
<a href="#"><u>5.2.2 Preparo das soluções-estoque dos triazóis (<b>SE</b>)</u></a>	50
<a href="#"><u>5.2.3 Soluções de análise dos triazóis (10 <math>\text{mmol L}^{-1}</math>) (<b>SA</b>)</u></a>	50
<a href="#"><u>5.2.4 Titulações Espectroscópicas UV-vis</u></a>	50
<a href="#"><u>5.2.5 Determinação das constantes de dissociação dos compostos (<math>K_d</math>)</u></a>	51
<a href="#"><u>5.3 Estudos de interação dos triazóis com heme por Espectrometria de massas (EM-ESI)</u></a>	51
<a href="#"><u>5.3.1 Equipamento</u></a>	51
<a href="#"><u>5.3.2 Preparo de Soluções para a Espectrometria de massas</u></a>	52
<a href="#"><u>5.3.2.1 Solução de hematina (1,7 <math>\text{mmol L}^{-1}</math>) (<b>Shm<sub>m</sub></b>)</u></a>	52
<a href="#"><u>5.3.2.2 Preparo das soluções dos triazóis (<b>ST<sub>m</sub></b>)</u></a>	52
<a href="#"><u>5.3.2.3 Preparo das soluções heme-triazol (<b>Shm-T</b>)</u></a>	52
<a href="#"><u>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u></a>	53
<a href="#"><u>APÊNDICES</u></a>	57

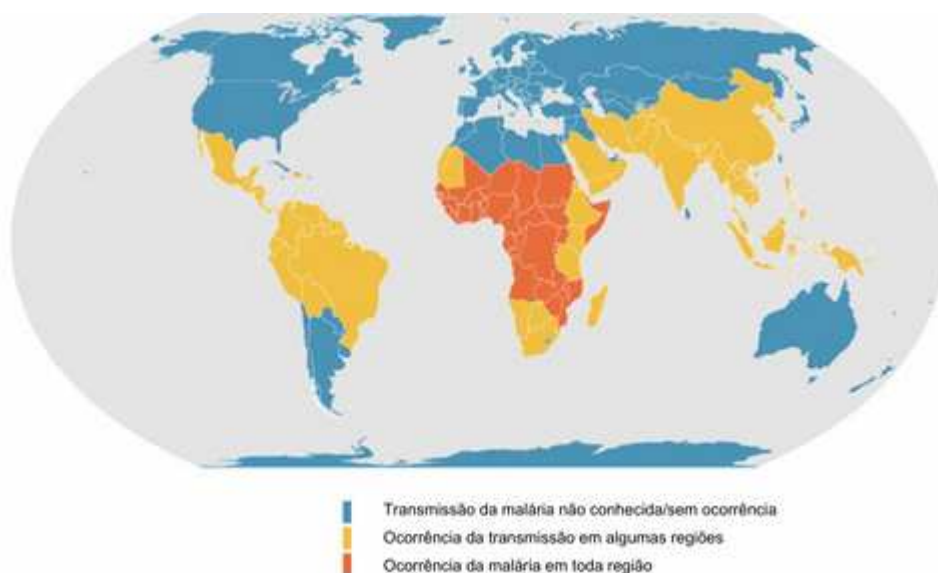
# 1 INTRODUÇÃO

## 1.2 MALÁRIA E SEUS ASPECTOS GERAIS.

A malária é uma doença que apresenta risco de morte da qual tem-se relatos desde 2700 a. C. na China (COX et al., 2010). Sua ocorrência também já foi relacionada a relatos históricos como papiros egípcios e esculturas ancestrais indianas indicando-se assim a sua existência a 3000 anos atrás. Nos mais recentes dados relatados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2022, o número de casos estimados ao redor do planeta foi de 249 milhões e 608.000 mortes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

A transmissão da malária ocorre principalmente na região tropical do planeta. A Figura 1 apresenta um mapa com a ocorrência da transmissão da doença nos países, sendo a região mais afetada, a África subsaariana, com 93,6% dos casos mundiais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

Figura 1: Mapa mundial da ocorrência de transmissão da malária

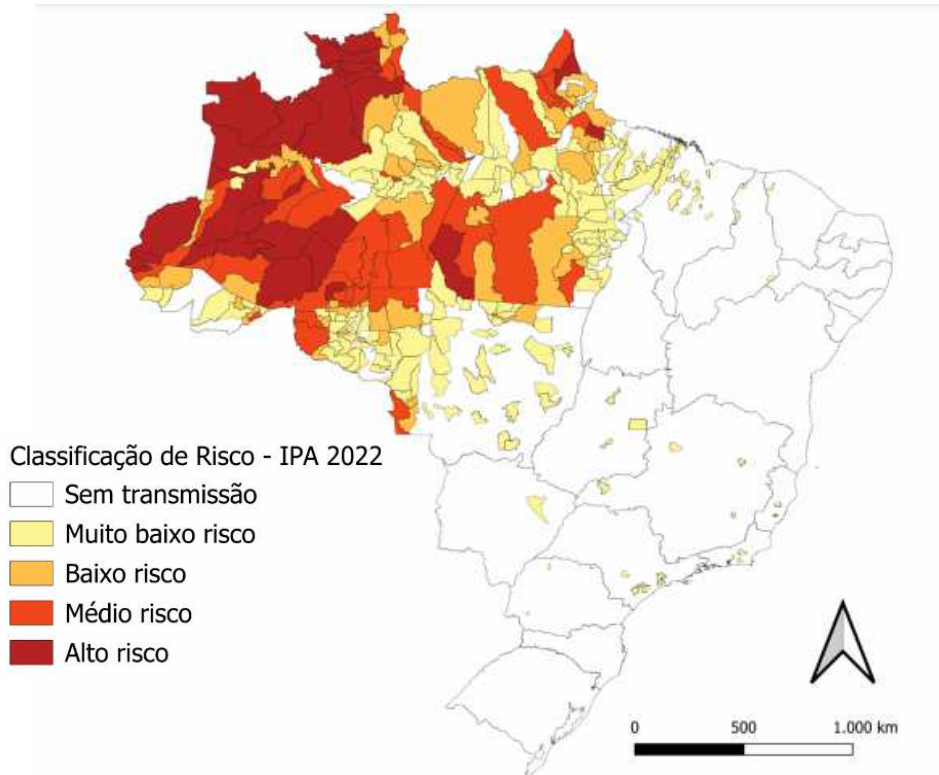


Fonte: Precision Vaccinations, 2023. Último acesso em 2024  
<https://www.precisionvaccinations.com/2023/11/30/who-malaria-report-2023-spotlights-two-vaccines>

No Brasil, a malária também é ocorrente, com 131.224 casos e 62 óbitos no ano de 2022. Em 2023, os casos registrados preliminarmente no primeiro semestre pelo Ministério da Saúde foram de 61.975 (BRASIL, 2024)

Historicamente, na região amazônica encontra-se o maior risco de transmissão, em comparação as outras regiões do país (Figura 2).

Figura 2: Mapa brasileiro do risco de transmissão



Classificação da Incidência Parasitária Anual (IPA): Sem transmissão - 0 casos autóctones; Muito baixo risco - IPA <1 caso/1.000 habitantes; Baixo risco - IPA <10 casos/1.000 habitantes; Médio risco - IPA <50 casos/1.000 habitantes; Alto risco - IPA  $\geq$ 50 casos/1.000 habitantes.

**Fonte:** Ministério da Saúde, 2022. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria/situacao-epidemiologica-da-malaria/mapa-de-risco/>.

Os sintomas da doença podem ser leves (febre, dor de cabeça e calafrios) ou severos (cansaço extremo, baixa capacidade respiratória, convulsões, sangue na urina, icterícia entre outros). Dado o diagnóstico positivo, recomenda-se a busca de orientação médica, já que o tratamento prévio pode evitar que sintomas se tornem severos, ameaçando a saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

A malária é uma doença infecciosa causada cinco espécies diferentes de protozoários do gênero *Plasmodium*: *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*, *P.*

*vivax* e *P. falciparum*, essa última sendo a espécie que provoca a forma de malária mais grave (PHILLIPS et al., 2017; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

O *P. vivax* apesar de não ser o mais letal, causa preocupações devido à sua alta quantidade de casos no sudeste asiático e na América Central e do Sul. Essa prevalência é relacionada a capacidade do *P. vivax* de sobrevivência em temperaturas abaixo das registradas na África subsaariana (PHILLIPS et al., 2017).

Os grupos de riscos para Malária definidos pela OMS são gestantes, crianças abaixo de 5 anos (que são cerca de 80% das mortes causadas pela malária), imigrantes de regiões de baixa ocorrência e portadores de HIV (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

### 1.3 CICLO BIOLÓGICO DA MALÁRIA

A transmissão do plasmódio para o hospedeiro humano ocorre por meio da picada de mosquitos *Anopheles* fêmeas, inicialmente liberando esporozoítos na circulação sanguínea humana (MITCHELL et al., 2015).

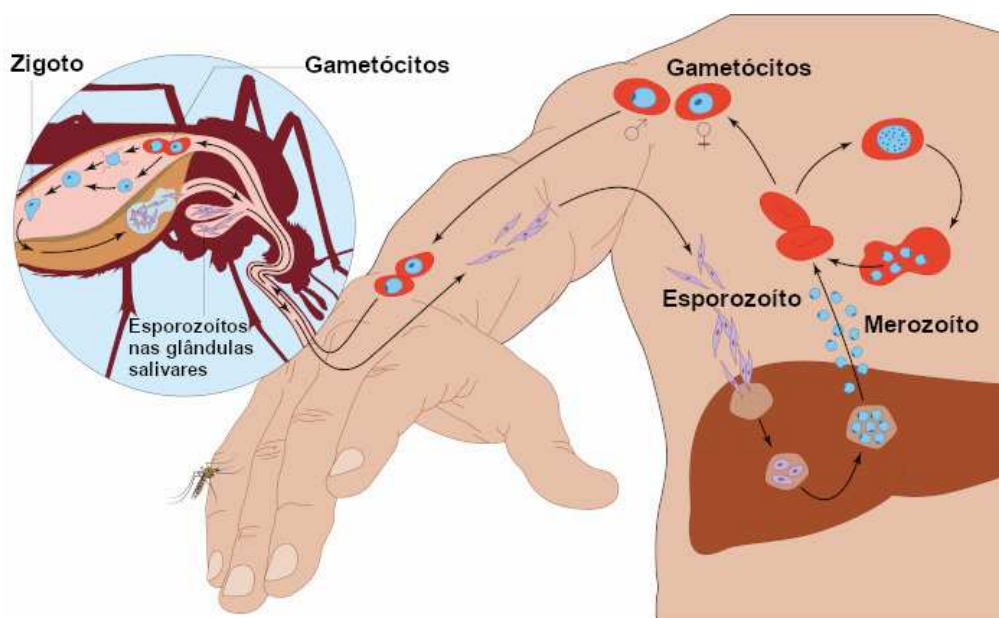
Os esporozoítos, ao acessarem os hepatócitos, iniciam um processo de replicação e divisão celular liberando merozoítos que retornam ao sistema circulatório. Os merozoítos invadem as hemácias, iniciando o estágio de reprodução assexuada e a fase sintomática se inicia. Durante esta fase, ocorre a replicação e liberação de mais merozoítos, que podem invadir mais hemácias ou se diferenciar sexualmente em gametócitos machos e fêmeas, que ficam livres novamente na circulação humana (BAKER, 2010; PHILLIPS et al., 2017).

Gametócitos quando formados e liberados na circulação podem ser captados novamente pelas anofelinas fêmeas a partir da picada em humanos. No intestino do mosquito, os gametócitos machos produzem oito microgametas flagelados, já os gametócitos fêmeas, amadurecem para um macrogameta. Quando o microgameta macho fecunda o macrogameta fêmea, forma um zigoto, seguido da formação de um oocineto (móvel) (PHILLIPS et al., 2017).

O oocineto, ao sair do intestino do mosquito, assume a forma de oocisto, que passa por ciclos de replicações produzindo e liberando esporozoítos, ao

final se acumulam nas glândulas salivares do mosquito (PHILLIPS et al., 2017). Dessa forma, se reinicia o ciclo biológico a partir da picada em um ser humano. A Figura 3 apresenta um esquema do ciclo biológico do parasita a partir da picada inicial do mosquito anofelino.

Figura 3: Ciclo biológico do plasmódio no organismo humano.



Fonte: SANTOS, V. Mundo Educação. Disponível em: <https://mundoeducacao.uol.com.br/doencas/malaria.htm>. Último acesso em 20/05/2024

### 1.3 PROFILAXIA DA MALÁRIA

A OMS define dois principais métodos para a prevenção da doença, sendo eles: o controle vetorial, evitando a picada dos mosquitos por meio de telas protetoras em camas com inseticidas e a utilização de repelentes no geral, e a quimioprofilaxia que se baseia na utilização prévia de fármacos antimaláricos, para que o corpo mantenha altas concentrações deles, utilizados principalmente para grupos de riscos e períodos de aumento no número de transmissões (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019; PLOWE, 2022).

Em relação ao tratamento da malária, as recomendações da OMS são as seguintes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2015):

- Nos casos de malária causada por *P. knowlesi*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. vivax* (em regiões que não se tenha a comprovação de

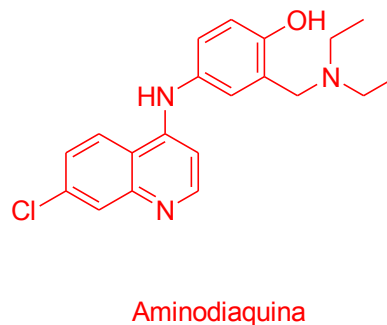
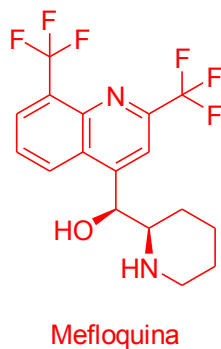
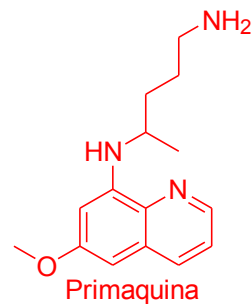
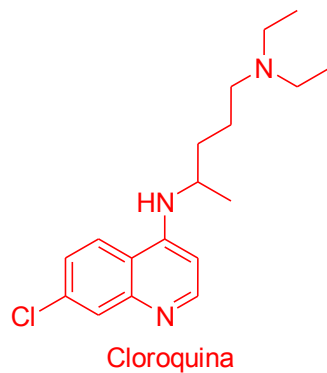
resistência dessa espécie) recomenda-se cloroquina para os infectados, devido ao seu baixo custo e a segurança que o fármaco traz. Para regiões onde tem-se o conhecimento de resistência à cloroquina, o tratamento do *P. vivax* se torna a utilização de ACT's (Artemisinin-based Combination Therapy ou Terapias combinadas de derivados de artemisinina), que se baseia na utilização de fármacos combinados para o tratamento da doença, sendo um deles, derivado de artemisinina, o outro, derivado de quinina;



- Para casos de *P. falciparum* a recomendação é a utilização de ACT's, e os fármacos utilizados no tratamento podem ser diferentes dependendo em qual grupo de risco o paciente está identificado;
- Importante ressaltar que as terapias anteriores são para casos leves, para casos severos da malária, há a utilização do artesunato intravenoso seguido do tratamento com as combinações os derivados de artemisinina (administrado via oral).

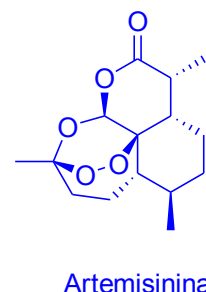
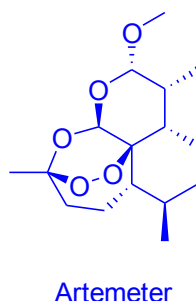
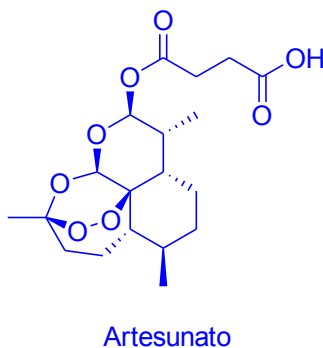
No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda tratamentos baseados na espécie do parasito, idade e peso. Para casos de malária provocada por *Plasmodium* diferentes do *P. falciparum*, a recomendação é o uso de cloroquina ou primaquina. Para casos de infecções por *P. falciparum*, combinações de artemeter com lumefantrina ou artesunato com mefloquina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

A Figura 4 apresenta a estrutura dos fármacos utilizados nas terapias citadas e suas classes químicas.

Figura 4: Estruturas moleculares de fármacos utilizados no tratamento da malária e classificação química utilizada



 Quinolinas antimaláricas  
 Artemisinina e derivados



Fonte: Próprio autor, 2024.

## 1.4 PROBLEMAS DA MALÁRIA NO CONTEXTO CONTEMPORÂNEO: RESISTÊNCIAS E O NEGLIGENCIAMENTO

Ainda que os estudos sobre a malária tiveram grandes avanços, questões emergentes ainda surgem nesse contexto contemporâneo. Não apenas o alto número anual de casos e mortes é um problema, mas também o aparecimento de cepas resistentes as ACT's, como exemplo em 2014, que foi relatada a presença de cepas do *P. falciparum* resistentes a ação das ACT's no sudeste asiático. Em 2022, também foi identificada a existência de parasitas plasmodiais na mesma região que possuem resistências a tratamentos

relacionados a derivados de artemisinina, demonstrando o quão relevante é a preocupação frente a malária (ASHLEY et al., 2014, RAHMASARI et al., 2022).

Outro fator preocupante são os relatos de resistência cruzada. Nesta condição, o plasmódio se torna resistente a diferentes modos de ação dos fármacos (formação de radicais livres e inibição da formação da hemozoína). O que leva à inutilização das terapias atuais e obsoletas (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2010; PHILLIPS, et al., 2017).

Além destes problemas, a malária, uma doença com uma maior prevalência nas regiões tropicais e que apresenta um mosquito como o meio de transmissão, ela se encaixa como uma doença negligenciada (SAVIANO, et al., 2019).

Doenças negligenciadas são aquelas envolvendo não somente as características previamente citadas, mas também que a alta prevalência dessas doenças em regiões de baixo poderio econômico, no qual pouco atraem os olhares da comunidade internacional, atrapalhando o desenvolvimento social e econômico desses países e impossibilitando a qualidade de vida esperada para um ser humano (MOLYNEUX, 2013).

A geopolítica das doenças negligenciadas possui grande importância já que os países com dificuldades em erradicação das doenças são os países historicamente colonizados (EGAN et al., 2002).

Novas entidades químicas com propriedades que exibam atividade antiplasmodial poderiam diminuir a ameaça de uma resistência cruzada, contribuindo para diminuir uma futura crise sanitária envolvendo essa doença.

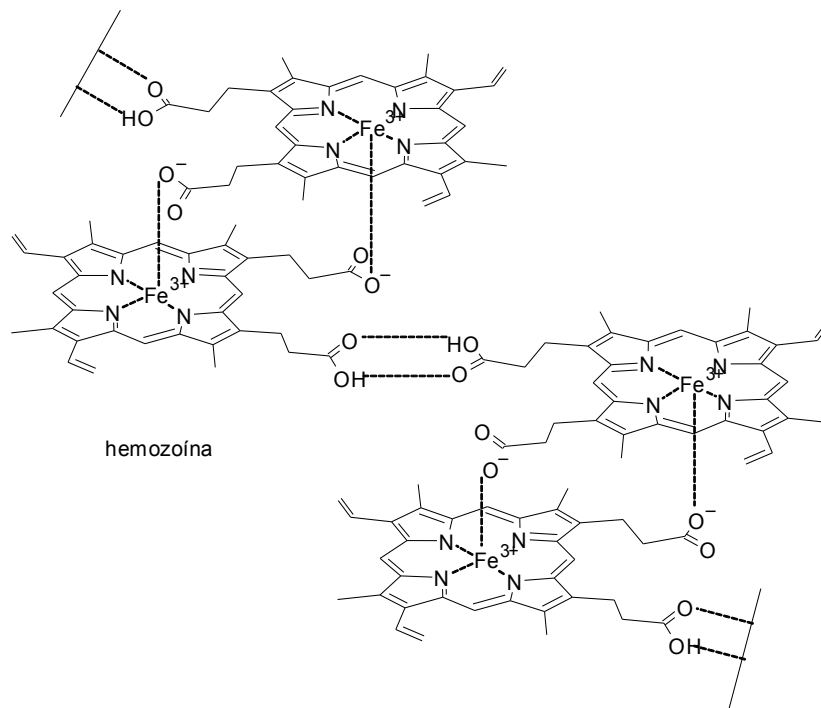
#### 1.4 MECANISMOS DE AÇÃO DE ANTIMALÁRICOS

Ao infectar as hemácias, os merozóitos digerem a porção proteica hemoglobina, como forma de nutrição. Esse processo, gera grande quantidade de heme livres advindos das hemoglobinas. Esta substância, por sua vez, inibe processos enzimáticos e causa danos oxidativos ao parasito, sendo assim, tóxico para ele (WUNDERLICH; ROHRBACH; DALTON, 2012).

Para a detoxificação e continuação de seu ciclo biológico, o *Plasmodium* promove a polimerização supramolecular do grupo heme, formando

hemozoína, insolúvel e atóxica ao parasito (Figura 5) (WUNDERLICH; ROHRBACH; DALTON, 2012; EGAN et al., 2002).

Figura 5: Representação estrutural da hemozoína.



Fonte: Próprio autor, 2024.

O mecanismo de ação das quinolinas antimaláricas e da lumefantrina envolve a associação com o heme livre. Como consequência dessa interação, impede-se a formação da hemozoína e mantém-se o ambiente tóxico para o parasito (PHILLIPS et al., 2017; WUNDERLICH; ROHRBACH; DALTON, 2012).

A artemisinina e seus derivados apresentam um mecanismo de ação distinto. Ao entrar em contato com o grupo heme livre do parasito, esses compostos são ativados, gerando radicais que reagem rapidamente com proteínas e membranas parasitárias. Essa ação causa dano oxidativo às funções do *Plasmodium*, levando à sua morte (PHILLIPS et al., 2017; TILLEY et al., 2016).

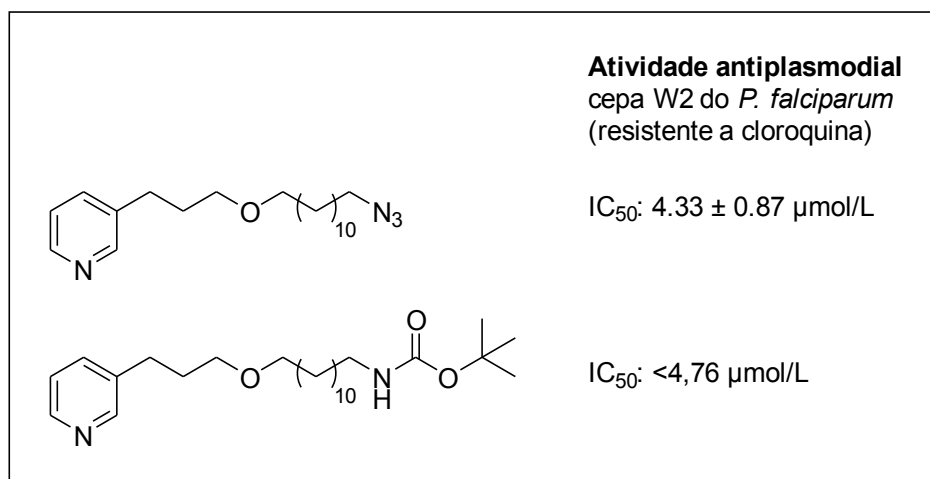
Para o desenvolvimento de novos fármacos contra malária, estratégias como isolamento/modificação de produtos naturais, triagem virtual e o desenho de novas estruturas, são exemplos para a formulação de propostas para novas

moléculas que tenham a atividade antiplasmodial (SIQUEIRA-NETO et al., 2023; TSE; KORSIK; TODD, 2019).

## 1.5 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL DE COMPOSTOS COM POTENCIAL ANTIPLASMODIAL

Em trabalhos anteriores, identificou-se a atividade de 3-alkilpiridinas frente a cepa W2 do *P. falciparum* (resistente a cloroquina). Essas substâncias ativas se associam favoravelmente ao grupo heme, formando complexos de estequiometria 2:1 e 1:1 heme-ligante, de forma que atividade antiplasmodial foi relacionada a capacidade das substâncias em inibir a formação de hemozoína. A associação das 3-alkilpiridinas como heme foi verificada por espectrometria de massas (EM-ESI), titulação UV-vis e corroborada por estudos teóricos de interação aplicando a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) (RIBEIRO-VIANA et al., 2016). Na Figura 6, apresenta-se as estruturas dos análogos mais ativos e os respectivos valores de IC<sub>50</sub> obtidos nos ensaios de atividade antiplasmodial.

Figura 6: 3-Alquilpiridinas e atividades antiplasmodial.



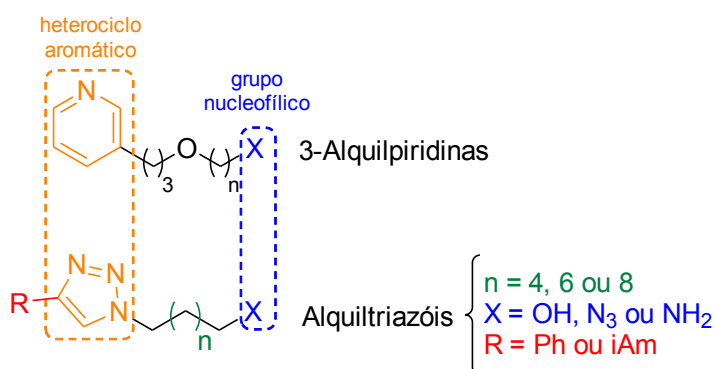
Fonte: RIBEIRO-VIANA et al., 2016

No presente trabalho, na busca por compostos com menor citotoxicidade que as 3-alkilpiridinas (GUIMARÃES, D., et al, 2019), propõe-se uma série de homólogos, considerando-se a substituição bioisostérica do grupo piridino pelo

grupo triazol (1*H*-1,2,3-triazol). A polaridade, a rigidez e o perfil de interação como acceptor de ligação de hidrogênio, a maior estabilidade em condições oxidantes e redutoras tornam o grupo triazol uma importante alternativa para o aumento da quimioteca de heterociclos (BOZOROV; ZHAO; AISA, 2019).

No sentido de preservar a capacidade de associação ao heme, pelo modo de interação 2:1 heme-ligante, os alquiltriazóis planejados, compõem séries homólogas com cadeias alquílicas relativamente longas (6, 8 ou 10 carbonos), ligadas terminalmente a um grupo nucleofílico (OH, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>), passível de interação com o íon ferro presente no heme. De modo a avaliar a influência da natureza de substituintes na posição 4 do núcleo triazólico, propôs-se uma série com substituinte fenila e outra com o substituinte alquílico, isoamila (Figura 7).

Figura 7: Planejamento de alquiltriazóis baseados na estrutura de 3-alquilpiridinas.



Fonte: Próprio autor, 2024.

A formação de complexos alquiltriazol-heme foi avaliada por espectrometria de massas (EM-ESI de soluções contendo heme e o alquiltriazol). Determinou-se as constantes de dissociação ( $K_d$ ) da interação heme-ligante a partir das curvas de titulação UV-vis dos compostos sobre solução de heme. Os ensaios de atividades antiplasmodias frente a *P. falciparum*, bem como, a determinação dos índices de seletividade citotóxica, serão realizados, em colaboração, pelo grupo do Prof. Fernando Varotti, da UFSJ.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

- Sintetizar e avaliar o potencial de uma série de 1*H*-1,2,3-triazóis quanto ao seu potencial em inibir a formação de hemozoína e quanto a atividade antiplasmodial frente ao *Plasmodium falciparum*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

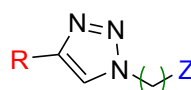
- Sintetizar e caracterizar estruturalmente derivados 1*H*-1,2,3-triazóis análogas a 3-alkilpiridinas;
- Determinar a constante de dissociação e a estequiometria da interação dos compostos com grupo heme por titulação UV-vis;
- Avaliar a atividade antiplasmodial (frente ao *P. falciparum*) e determinar o índice de seletividade citotóxica em relação a células humanas (WI-26-VA4) dos derivados heterocíclicos.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 SÍNTESES E PROPOSTAS DE MECANISMOS

Os compostos propostos no presente trabalho, como potenciais agentes antiplasmodiais, constituem duas séries homólogas (Série 1, R = fenil = Ph; Série 2, R = isoamil = iAm) de alquil-1*H*-1,2,3-triazóis contendo um grupo nucleofílico (Z = OH e N<sub>3</sub>) na posição terminal da cadeia alquílica, de acordo com o Esquema 1. De acordo com a série homóloga apresentada no Esquema 2, propôs-se a construção do núcleo triazólico pelo emprego de cicloadição alcino-azida (etapa b) (KÁDÁR et al., 2011). A hidroxila na posição terminal da cadeia alquílica dos derivados triazólicos será substituída pela função azida (RAO; KHAN, 2015; RUSSELL et al., 2016; SHINDE et al., 2018).

Esquema 1: Triazóis planejados.

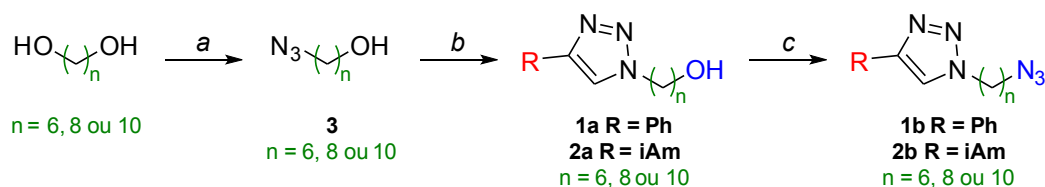


**Série 1**  
**R = Ph**  
**Z = OH ou N<sub>3</sub>**  
**n = 6, 8 ou 10**

**Série 2**  
**R = isoamil = iAm**  
**Z = OH e N<sub>3</sub>**  
**n = 6, 8 ou 10**

		Série 1		Série 2	
R		Ph		iAm	
Z		OH	N <sub>3</sub>	OH	N <sub>3</sub>
n	6	<b>1a<sub>n6</sub></b>	<b>1b<sub>n6</sub></b>	<b>2a<sub>n6</sub></b>	<b>2b<sub>n6</sub></b>
	8	<b>1a<sub>n8</sub></b>	<b>1b<sub>n8</sub></b>	<b>2a<sub>n8</sub></b>	<b>2b<sub>n8</sub></b>
	10	<b>1a<sub>n10</sub></b>	<b>1b<sub>n10</sub></b>	<b>2a<sub>n10</sub></b>	<b>2b<sub>n10</sub></b>

Esquema 2: Rota sintética para obtenção dos triazóis.

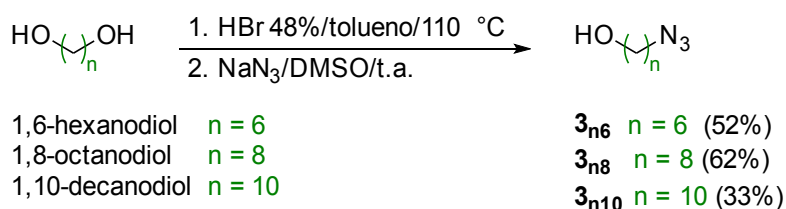


**Condições reacionais:**

a) 1. HBr 48%; 2. NaN<sub>3</sub>/DMSO b) RC CH/Cu(I) c) 1. MsCl/Et<sub>3</sub>N; 2. NaN<sub>3</sub>/DMSO

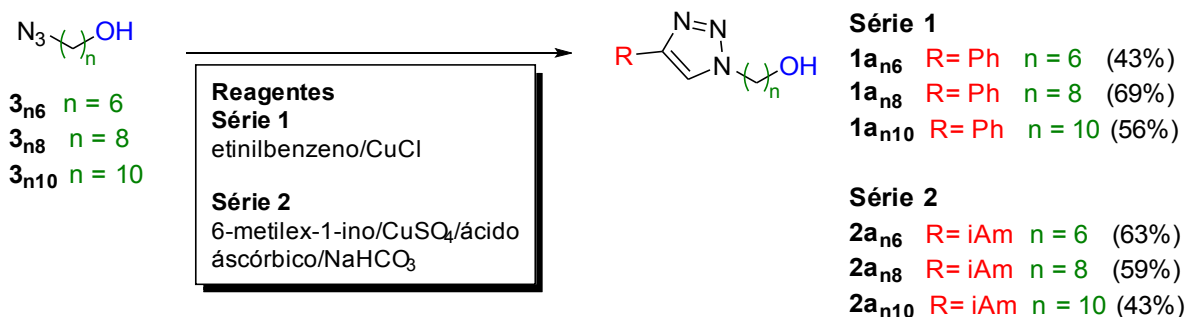
Dessa forma, foram preparados os precursores alquil-azidas (**3**), representados no Esquema 3, a partir de dióis homólogos: 1,6-hexanodiol; 1,8-octanodiol e 1,10-decanodiol. Os dióis formados primeiramente convertidos nos derivados alquilbromo, pelo tratamento com HBr em tolueno (SOUSA, 2021). Subsequentemente, foram submetidos a reações com azida de sódio em DMSO (SOUSA, 2021), no qual forneceram os derivados **3<sub>n6</sub>**, **3<sub>n8</sub>**, **3<sub>n10</sub>** com rendimentos de 52%, 62% e 33%, respectivamente.

Esquema 3: Preparação de alquil-azidas (**3**) a partir dos dióis correspondente (entre parêntese, rendimentos reacionais, em duas etapas)



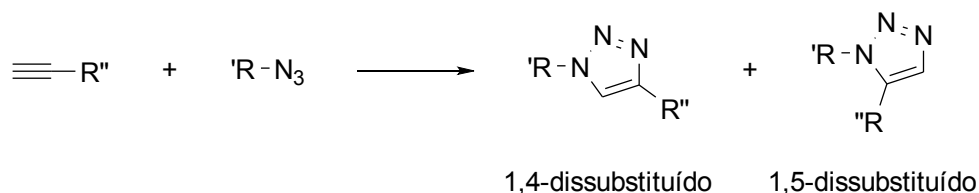
As alquil-azidas (**3**) foram submetidas à reação com o etinilbenzeno, em presença de CuCl (KÁDÁR et al., 2011), fornecendo os derivados triazólicos da Série 1 (grupo **1a**) com rendimentos de 43% a 63%. Para a obtenção dos compostos da Série 2 (grupo **2a**) empregou-se o alcino 5-metil-1-hexino e CuSO<sub>4</sub>, ácido ascórbico e NaHCO<sub>3</sub> (KÁDÁR et al., 2011), obtendo-se os respectivos produtos com rendimento 43% a 69% (Esquema 4).

Esquema 4: Preparação de triazóis (1a e 2a) a partir das alquil-azidas e alcinos correspondentes (KÁDÁR et al., 2011).



A reação de formação do triazol, envolvendo processo de cicloadição 1,3-dipolar de alcinos terminais e azidas foi descrita por Huisgen, em 1963 (HUISGEN, 1963). Mesmo útil, o procedimento desenvolvido por Huisgen mostrava-se pouco regioseletivo (Figura 8) e empregava altas temperaturas para a condensação dos reagentes (FANTONI; EL-SAGHEER; BROWN, 2021). Em 2002, com a introdução de Cu(I) como catalisador (TORNØE; CHRISTENSEN; MELDAL, 2002), impulsionou-se significativamente o uso dessa a reação. A eficiência catalítica eliminou a necessidade de condições extremas, tornando a síntese regioseletiva para o triazol 1,4-dissubstituído e ambientalmente favorável (FANTONI; EL-SAGHEER; BROWN, 2021; BOCK; HIEMSTRA; VAN MAARSEVEEN, 2006). Desde então, o termo *click* é utilizado para denominar as cicloadições alcino-azida envolvendo o Cu(I).

Figura 8: Triazóis formados pelo acoplamento alcino-azida de Huisgen (FANTONI; EL-SAGHEER; BROWN, 2021).

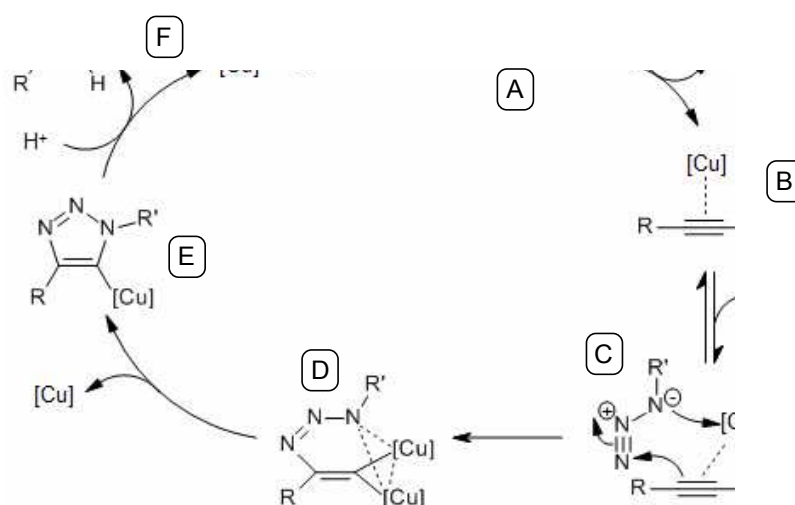


Fonte: Próprio autor, 2024.

As fontes mais utilizadas de Cu(I) são CuSO<sub>4</sub> (na presença de um agente redutor) e haletos de cobre, como CuCl, CuBr e CuI. Relata-se como vantagens da utilização de CuSO<sub>4</sub>, na presença de ascorbato de sódio, a facilidade da ativação do Cu(I) e a pureza apresentada pelo composto iônico. Por outro lado, para os haletos de Cu(I), indica-se como vantagem a maior velocidade nas reações (MELDAL; TORNØE, 2008).

O mecanismo proposto para a reação *click* alcino-azida, em presença de Cu(I) (Esquema 5), ocorre a partir da formação de um complexo  $\pi$  entre Cu (I) e o alcino (A). Com a formação do complexo, o pKa do grupo alcino é reduzido em aproximadamente 10 unidades, o que favorece a desprotonação e a consequente formação do produto de adição, que apresenta o carbono terminal do alcino ligado ao cobre (B). A partir disso, ocorre a coordenação do cobre com o grupo funcional azida (C), resultando na formação de um ciclo de seis átomos (D). Por fim, ocorre uma contração do anel (E), seguida de uma protólise, que fornece o triazol (F). (FANTONI; EL-SAGHEER; BROWN, 2021; LIANG; ASTRUC, 2011; WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013).

Esquema 5: Proposta de mecanismo de catálise do Cu(I) na reação click alcino-azida.

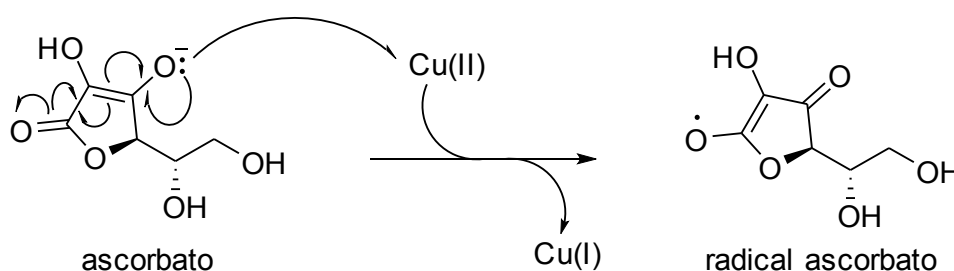


Fonte: Adaptado de WORRELL; MALIK; FOKIN, 2013.

Para a síntese dos triazóis da Série 1 observou-se que, tanto o emprego do CuCl, quanto da mistura de ácido ascórbico/ $NaHCO_3$  e  $CuSO_4$  produziam bons resultados, contudo, o mesmo não foi observado para a síntese dos compostos da Série **2a**. Nas reações em que se empregou o CuCl, não se observou o consumo completo do material de partida durante longos tempos reacionais. Dessa forma, para obtenção da série **2a**, empregou-se a metodologia descrita por KÁDÁR et al., 2011, para síntese de triazóis, em que

CuSO<sub>4</sub> foi empregado como fonte de Cu(II), em presença de ácido ascórbico e NaHCO<sub>3</sub>. No meio reacional, ocorre a redução de Cu(II) em Cu(I) a partir da oxidação do íon ascorbato, que por sua vez se converte no radical ascorbato (ABDELHAMEED et al., 2023). No Esquema 6 é demonstrado uma proposição do mecanismo de redução do Cu (II) pelo do ascorbato.

Esquema 6: Mecanismo proposto para a redução de Cu(II) a Cu(I) por reação com ascorbato.



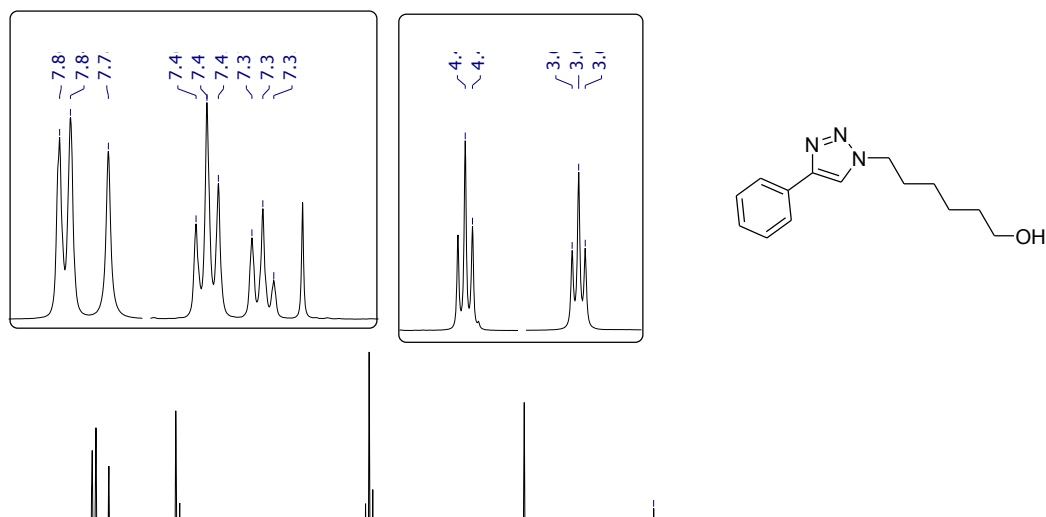
Fonte: Próprio autor, 2024.

Os derivados triazólicos, grupos **1a** e **2a**, foram caracterizados por RMN de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C. De modo representativo para cada série de análogos, as atribuições dos sinais de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C de **1a<sub>n6</sub>** e **2a<sub>n6</sub>**, necessárias para a caracterização estrutural dos compostos, seguem descritas a seguir.

No espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **1a<sub>n6</sub>**, os sinais de hidrogênios aromáticos em δ 7,86-7,33 (duplete em δ 7,86 referente aos hidrogênios orto, tripleto em δ 7,45 referente aos hidrogênios meta e tripleto em δ 7,35 referente ao hidrogênio em para) caracterizam a presença do grupo fenila, sendo o simpleto em δ 7,78 referente ao hidrogênio do núcleo triazólico. Os tripletos em δ 4,42 e δ 3,66 foram atribuídos aos hidrogênios dos metilenos ligados ao nitrogênio do grupo triazol e à hidroxila, respectivamente.

Para o composto **1a<sub>n6</sub>**, os quintetos em δ 1,96 e em δ 1,60 foram atribuídos aos metilenos em posição *beta* ao anel triazólico e à hidroxila, respectivamente. Por fim, o multipletto entre δ 1,49-1,38 representa os hidrogênios dos dois metilenos restantes. Por fim, a banda larga em δ 1,78 é referente ao hidrogênio da hidroxila (Figura 9).

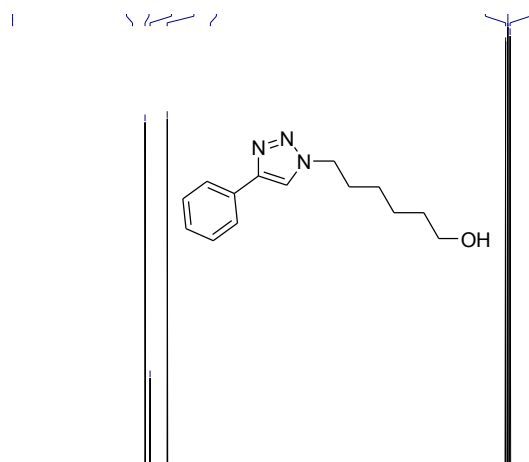
Figura 9: RMN de  $^1\text{H}$  do composto  $1\mathbf{a}_{n6}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).



Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  para  $1\mathbf{a}_{n6}$  disponíveis na literatura foram obtidos em metanol- $d_4$  em um equipamento de 200 MHz (OLIVEIRA et al., 2022), inviabilizando uma comparação direta dos valores de deslocamento químico. Os demais derivados do grupo  $1\mathbf{a}$ , não foram previamente descritos.

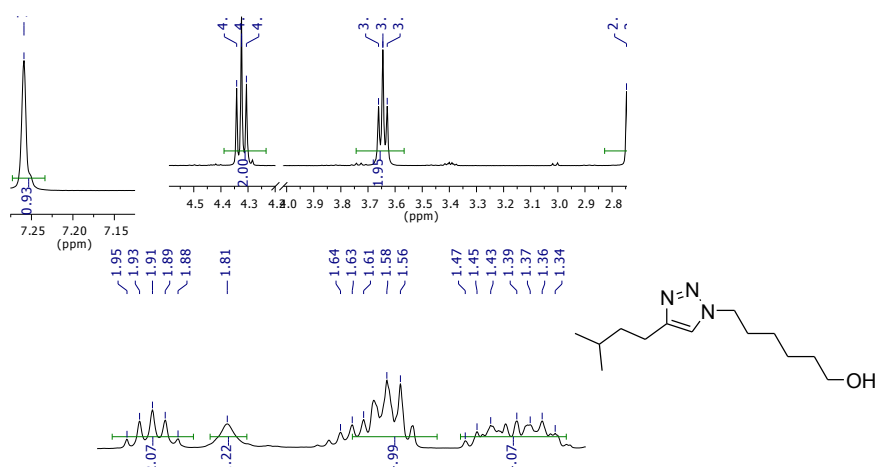
No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do  $1\mathbf{a}_{n6}$ , representado na Figura 10, a caracterização do núcleo triazólico foi associada aos sinais de  $\delta$  147,76 e  $\delta$  119,53. Atribuiu-se os sinais de  $\delta$  130,64 à  $\delta$  125,69 aos carbonos do anel benzênico. O carbono ligado à hidroxila foi associado ao sinal de  $\delta$  62,49 e o carbono ligado ao núcleo triazólico,  $\delta$  50,28. Por fim, os metilenos restantes da cadeia foram associados aos sinais de  $\delta$  32,37 a  $\delta$  25,14.

Figura 10: RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto  $1\mathbf{a}_{n6}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a<sub>n6</sub>**, além dos sinais do hidrogênio triazólico ( $\delta$  7,26), representados na Figura 11, e dos sinais dos hidrogênios metilênicos da cadeia alquílica linear, observa-se os sinais referentes ao grupo isoamila: um duplo duplete em  $\delta$  2,73, referente aos hidrogênios do grupo metileno ligado ao carbono triazólico; sinais referentes aos grupos metileno e metino sobrepostos aos sinais da cadeia alquílica linear em  $\delta$  1,63-1,54 e o duplete em  $\delta$  0,96 referente as metilas.

Figura 11: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **2a<sub>n6</sub>** ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

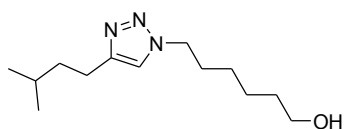


No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do **2a<sub>n6</sub>**, ilustrado na Figura 12, além dos sinais dos carbonos referentes ao anel triazólico e a cadeia alquílica linear, pode se observar o sinal em  $\delta$  38,54; associado ao carbono da cadeia isoamílica ligado no núcleo triazólico. Os sinais em  $\delta$  25,12 (carbono terciário),  $\delta$  23,61 (metileno) e  $\delta$  22,40 (metilas) são referentes aos carbonos restantes.

Figura 12: RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto **2a<sub>n6</sub>** ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).

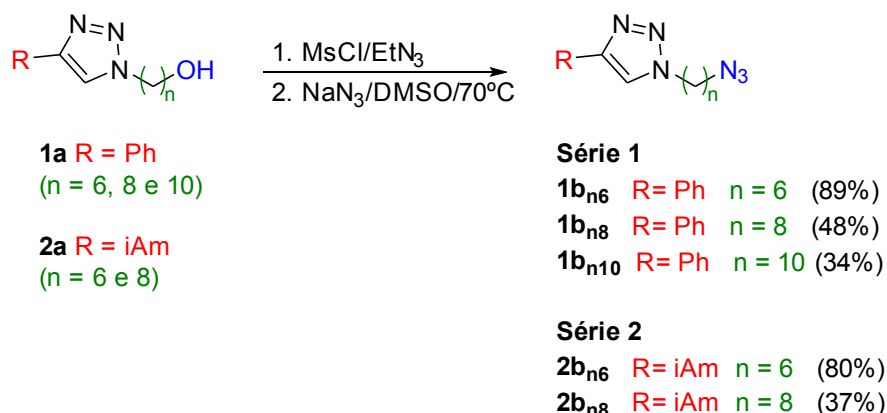
-148

-120



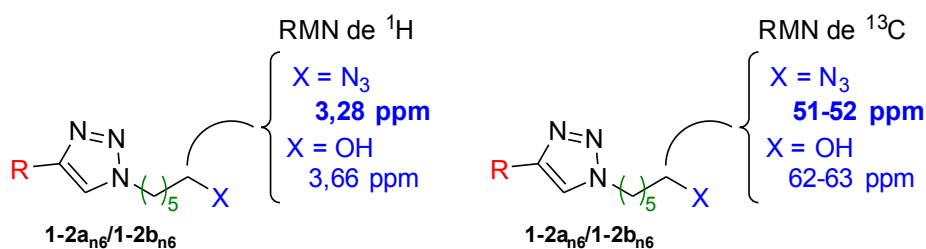
As hidroxilas terminais dos compostos dos grupos **1a** e **2a** foram substituídas, em duas etapas por grupos azida, gerando os grupos **1b** e **2b**, respectivamente. Os álcoois **1a/2a** (exceto, **2a<sub>n10</sub>**) foram submetidos a reação com cloreto de mesila (MsCl) em presença de Et<sub>3</sub>N (RAO; KHAN, 2015). A formação dos metanossulfonatos foi identificada por CCD. Os produtos foram prontamente colocados em reação com NaN<sub>3</sub>, em DMSO, sem purificação prévia (SHINDE et al., 2018). Os derivados **1b<sub>n6</sub>**, **1b<sub>n8</sub>**, **1b<sub>n10</sub>**, **2b<sub>n6</sub>** e **2b<sub>n8</sub>** foram obtidos com rendimentos 34% a 89% (duas etapas; Esquema 7).

Esquema 7: Preparação dos alquiltriazóis **1b** e **2b**, a partir de **1a** e **2a** (entre parêntese, rendimentos reacionais em duas etapas).



A caracterização dos triazóis funcionalizados com grupo azida, **1b** e **2b**, foi feita por RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ . A substituição da hidroxila pelo grupo azida foi caracterizada pela presença de sinais em  $\delta$  3,26-3,29, referentes aos metilenos ligados ao grupo azida, que está de acordo com os dados os de RMN de **1b<sub>n6</sub>**, disponíveis na literatura (SINGH; KUMAR; BHALLA, 2018). No espectro de  $^{13}\text{C}$ , o sinal referente ao carbono com a função azida possui o deslocamento entre  $\delta$  51 à 52. A Figura 13 demonstra uma breve comparação entre os sinais observados para diferentes funções orgânicas presentes na cadeia.

Figura 13: Comparação entre os valores de deslocamento químico de hidrogênios metilênicos de **2a<sub>n6</sub>** e de seu precursor, **1a<sub>n6</sub>**

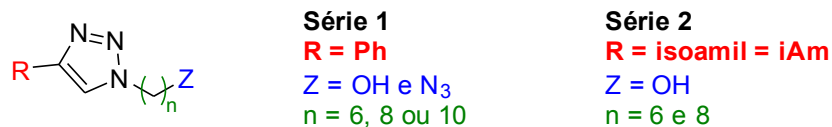


### 3.2 ESTUDOS DE INTERAÇÃO DOS TRIAZÓIS COM HEME

Empregou-se a espectrometria de Massa de Alta Resolução com Ionização por Electrospray (EM-ESI) para identificação da formação dos complexos entre o heme e os triazóis **1a<sub>n6</sub>**, **1a<sub>n8</sub>**, **1a<sub>n10</sub>**, **2a<sub>n6</sub>**, **2a<sub>n8</sub>**, **1b<sub>n6</sub>** e **1b<sub>n8</sub>** (Figura 14). Por essa técnica, partindo de soluções contendo heme e determinado ligante é possível observar, caso ocorra a formação de complexos, os picos

com m/z correspondentes a massa exata do complexo heme-ligante são observados no espectro.

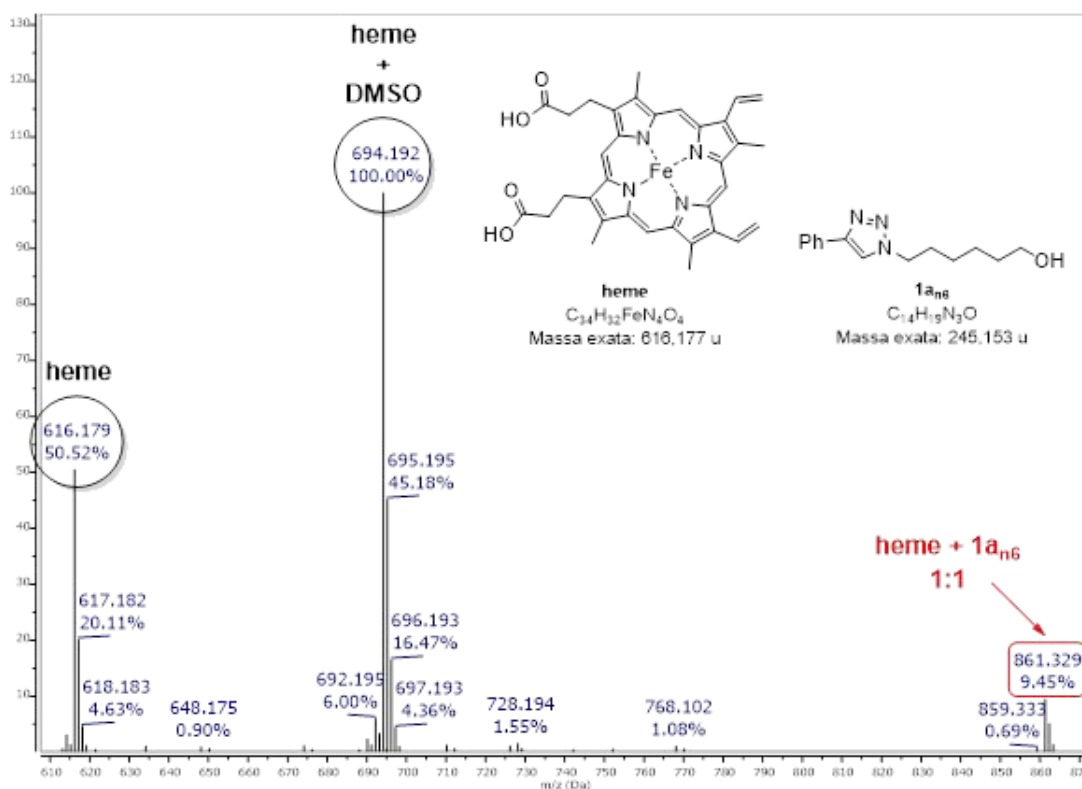
Figura 14: Triazóis avaliados quanto a interação com heme por EM-ESI



Foram preparadas soluções contendo heme e o ligante (triazóis **1a<sub>n6</sub>**, **1a<sub>n8</sub>**, **1a<sub>n10</sub>**, **2a<sub>n6</sub>**, **2a<sub>n8</sub>**, **1b<sub>n6</sub>** e **1b<sub>n8</sub>**) na proporção 6:1 em solução DMSO/H<sub>2</sub>O 2:3 v/v. Frente a adição da solução para a leitura do equipamento, as massas/cargas (m/z) de maior abundância aparecem no espectro em forma de picos indicando a relação massa/carga dos compostos presentes na solução. Picos de alta abundância relativa como 616 e 694 m/z representam, respectivamente, os picos da massa do grupo heme e do grupo heme associado ao DMSO, a identificação de ambos permitem uma segurança na confiança do preparo de amostras.

Picos referentes a associação dos compostos sintetizados com o grupo heme aparecem em torno da soma da massa exata de ambos, portanto, picos que representem uma relação massa/carga referente a massa exata do complexo heme-ligante, permite a afirmação da associação entre o composto sintetizado e o grupo heme. De modo a ilustrar como se procedeu a análise dos espectros EM-ESI dessas soluções, segue a descrição dos dados relevantes do espectro da solução **heme-1a<sub>n6</sub>**, que está apresentado na Figura 15.

Figura 15: Espectro de massas (EM-ESI) da solução **heme-1a<sub>n6</sub>**



No espectro EM-ESI da solução **heme-1a<sub>n6</sub>**, observou-se o pico de m/z 616,179 correspondente ao íon referente ao heme livre (cujas massa exata é 616,177 u), bem como o pico em m/z 694,192 referente a um íon do complexo heme-DMSO (pico base). O íon do complexo entre heme e o ligante **1a<sub>n6</sub>** forneceu o pico em m/z 861,329, de intensidade relativa 9,45%, correspondente à soma das massas das duas espécies envolvidas. Dessa forma identificou-se por EM-ESI que a associação entre triazol **1a<sub>n6</sub>** e o heme é favorável, na estequiometria 1:1, de modo a se formar um complexo detectável. Entretanto, não foram observados picos referentes a complexos com outras estequiometrias.

Da mesma forma, nos espectros EM-ESI das soluções entre heme e os triazóis **1b<sub>n6</sub>**, **1b<sub>n8</sub>**, **2a<sub>n6</sub>** e **2a<sub>n8</sub>**, (apresentados no Apêndice B) os picos dos complexos heme-ligante 1:1 foram observados, todos com baixa intensidade relativa (4,06% a 9,59%). No espectro da solução **heme-1a<sub>n8</sub>**, o pico observado em m/z 889,380 tem intensidade relativa muito baixa (menor que 1%). No

espectro da solução **heme-1a<sub>n10</sub>** não foi observada qualquer associação com heme, por EM-ESI (Tabela 1).

Tabela 1: Massas exatas calculadas (ligantes e complexos heme-ligante 1:1) e picos observados referentes aos complexo heme-ligante 1:1

Amostra (solução heme-ligante 6:1)	Massa exata calculada		Pico observados referentes ao complexo 1:1 com heme	
	ligante (u)	complexo 1:1 (u)	m/z	Intensidade relativa
Solução heme- <b>1a<sub>n6</sub></b>	245,153	861,330	861,329	9,45%
Solução heme- <b>1a<sub>n8</sub></b>	273,184	889,361	889,380	<1%
Solução heme- <b>1a<sub>n10</sub></b>	301,215	917,392	não observado	-
Solução heme- <b>1b<sub>n6</sub></b>	270,159	886,336	886,333	4,06%
Solução heme- <b>1b<sub>n8</sub></b>	298,191	914,368	914,374	4,28%
Solução heme- <b>2a<sub>n6</sub></b>	264,206	855,377	855,358	6,77%
Solução heme- <b>2a<sub>n8</sub></b>	292,238	883,408	883,393	9,56%

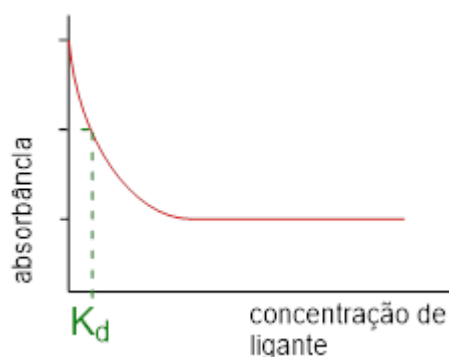
Ainda que esses compostos se constituam uma série homóloga, o grupo alquílico que atua como espaçador entre o núcleo triazólico e o grupo nucleofílico terminal (OH, N<sub>3</sub>), não favoreceu o modo de associação heme-ligante 2:1, como observado na série das alquilpiridinas de referência, mesmo nos compostos com cadeias de 8 ou 10 carbonos. De qualquer forma, o complexo heme-ligante 1:1 observado para a maior parte dos compostos avaliados, nos permite especular preliminarmente, que os compostos podem ter ação frente à inibição da formação da hemozoína em cultura de plasmódios.

Todos os compostos das Séries 1 e 2 sintetizados até o momento (grupos **1a**, **1b**, **2a** e **2b**, exceto **2b<sub>n10</sub>**) foram avaliados em ensaio de interação com heme por titulação espectroscópica no UV-vis. A técnica se baseia na premissa de que o complexo formado entre o heme e o ligante possui absorvidade molar diferente do heme livre, portanto, a variação de absorbância indica a associação entre o heme e o ligante (RIBEIRO-VIANA et al., 2016).

No espectro de UV-vis do heme livre, observa-se o  $\lambda_{\text{máx}}$  em 401 nm. A técnica procede-se a partir de adições de pequenas quantidades de ligantes a uma solução de heme, determinando-se a absorbância em 401 nm a cada adição. As adições se sucedem até que não se observe a variação significativa

de absorvância, considerando-se que nesse ponto ocorre a saturação das interações com heme. A análise por regressão não-linear da relação entre concentração de ligante adicionado (eixo X) e a diferença absorvância da solução em 401 nm (eixo Y) fornece uma curva, a partir da qual é possível se determinar a constante de dissociação ( $K_d$ ) da interação heme-ligante. O  $K_d$  equivale a concentração de ligante relacionada ao valor de absorvância que corresponde à metade da variação observada (Figura 16). Ou seja, corresponde à 50% da *ocupação* máxima de heme pelo ligante. O  $K_d$  é inversamente proporcional à afinidade, portanto quanto menor o valor de  $K_d$  (quanto menor a concentração), maior será a afinidade.

Figura 16: Determinação do valor da constante de dissociação ( $K_d$ ) a partir da curva de titulação UV-Vis



Dentre os compostos avaliados, não foi possível determinar o  $K_d$  para os derivados que apresentam espaçador alquílico de 10 carbonos (**1a<sub>n10</sub>**, **1b<sub>n10</sub>** e **2a<sub>n10</sub>**), sendo estes pouco solúveis no tampão aquoso empregado no ensaio, percebendo-se a precipitação dos compostos na solução em análise. Para os demais compostos, observou-se que esses são ligantes do grupo heme, tendo sido determinados valores de  $K_d$  entre  $3,935 \pm 2,164 \mu\text{mol/L}$  e  $0,783 \pm 0,385 \mu\text{mol/L}$  e, portanto, promissores agentes antiplasmodiais. Vale destacar que as 3-alquilpiridinas, referências estruturais para essa série, apresentaram um modelo de interação de 1:2 com  $K_d$  entre 20 e 40  $\mu\text{mol/L}$  (RIBEIRO-VIANA et al., 2016).

Na Tabela 2 são apresentados os valores de  $K_d$  para os compostos avaliados. Na Figura 22, demonstra-se o gráfico de dispersão XY de

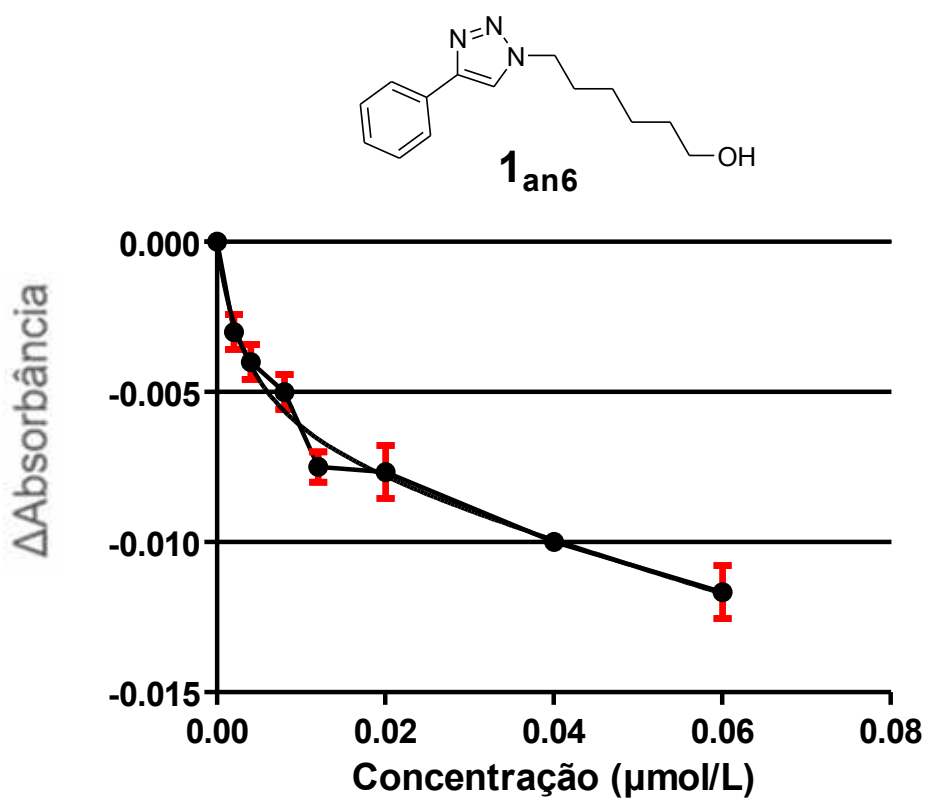
absorbância *versus* concentração resultante de titulação no UV-vis da substância **1a<sub>n6</sub>**, representativamente.

Tabela 2: Constantes de dissociação (*K<sub>d</sub>*) dos triazóis com grupo heme

Compost o	R	Z	n	<i>K<sub>d</sub></i> (μmol.L <sup>-1</sup> )
<b>1a<sub>n6</sub></b>	Ph	-OH	6	3,935±2,164
<b>1a<sub>n8</sub></b>	Ph	-OH	8	2,547±0,918
<b>1a<sub>n10</sub></b>	Ph	-OH	10	ND
<b>1b<sub>n6</sub></b>	Ph	-N <sub>3</sub>	6	1,286±1,070
<b>1b<sub>n8</sub></b>	Ph	-N <sub>3</sub>	8	2,278±0,819
<b>1b<sub>n10</sub></b>	Ph	-N <sub>3</sub>	10	ND
<b>2a<sub>n6</sub></b>	iAm	-OH	6	0,783±0,385
<b>2a<sub>n8</sub></b>	iAm	-OH	8	0,944±0,764
<b>2a<sub>n10</sub></b>	iAm	-OH	10	ND
<b>2b<sub>n6</sub></b>	iAm	-N <sub>3</sub>	6	2,776±1,807
<b>2b<sub>n8</sub></b>	iAm	-N <sub>3</sub>	8	3,870±2,584

\*ND = não determinado devido à baixa solubilidade no meio.

Figura 17: Gráfico de dispersão XY de absorbância *versus* concentração resultante de titulação no UV-vis da substância **1a<sub>n6</sub>**.



A partir da análise dos valores de  $K_d$ , verifica-se que os ligantes de maior afinidade pelo heme são representantes da Série 2 (**2a<sub>n6</sub>** e **2a<sub>n8</sub>**), 4-isoamiltriazóis com hidroxila como grupo terminal da cadeia alquílica.

Dentre os compostos da Série 1, a substituição da hidroxila terminal pelo grupo nitrogenado azida, pareceu ser vantajosa para interação com heme, entretanto, o mesmo não foi observado para os compostos da Série 2. Sendo o modo de interação observado heme-ligante 1:1, a variação de carbonos no grupo alquila espaçador pouco afetou o perfil de interação dos ligantes, sendo que, com exceção do grupo **1a**, os compostos com cadeias de 6 carbonos são ligantes de maior afinidade que os homólogos com cadeias de 8 carbonos.

Os resultados dos estudos de interação dos compostos com grupo heme são bastantes promissores. É importante ressaltar que os compostos foram encaminhados para avaliação em ensaio de citotoxicidade frente ao *P. falciparum*, empregando-se como controle positivo a cloroquina. A citotoxicidade relativa dos compostos será avaliada em ensaio com fibroblastos humanos pelo método MTT. Esses ensaios serão realizados por colaboradores do grupo do prof. Fernando Varotti, da UFSJ.

## 4 CONCLUSÃO

Até o presente momento, foram obtidos onze derivados triazólicos a partir do emprego de métodos consolidados de síntese orgânica. Para a construção do núcleo triazólicos empregou-se metodologias da reação *click* alcino-azida, catalisada por Cu(I). Até essa etapa, os rendimentos globais foram de 22 a 43% (compostos dos grupos **1a/2a**). As etapas sucessivas envolveram reações na posição terminal da cadeia alquílica (gerando os grupos **1b/2b**) e ocorreram com 14 a 26% de rendimento.

Os compostos obtidos foram empregados nos estudos de interação com heme por EM-ESI e por titulação espectroscópica no UV-vis. A maior parte dos compostos avaliados (**1a<sub>n6</sub>**, **1b<sub>n6</sub>**, **1b<sub>n8</sub>**, **2a<sub>n6</sub>** e **2a<sub>n8</sub>**) formaram complexos heme-ligante 1:1 identificados por EM-ESI. Complexos heme-ligante 2:1 não foram detectados. A afinidade dos triazóis foi comparada a partir de seus valores de  $K_d$ , determinados por titulação no UV-vis. De modo geral, com exceção dos derivados constituídos por cadeias espaçadoras com 10 metilenos (**1a<sub>n10</sub>**, **1b<sub>n10</sub>** e **2a<sub>n10</sub>**) que precipitaram na cubeta durante o ensaio, os triazóis mostraram-se bons ligantes do grupo heme, sendo os 4-isoamiltriazóis **2a<sub>n6</sub>** ( $K_d = 0,783 \pm 0,385 \mu\text{mol/L}$ ) e **2a<sub>n8</sub>** ( $K_d = 0,944 \pm 0,764 \mu\text{mol/L}$ ) os melhores ligantes das séries avaliadas, e dentre esses, os mais promissores agentes antiplasmodiais.

Os ensaios realizados forneceram dados quantitativos de afinidade dos compostos pelo heme e permitiram conduzir uma seleção para futuros testes *in vitro*.

## 5. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

### 5.1 SÍNTESE

#### 5.1.1 Procedimentos Gerais

As reações foram acompanhadas por meio de placas de cromatografia em camada delgada (CCD) Alugram, sílica gel 60 mesh. Os reveladores utilizados foram:

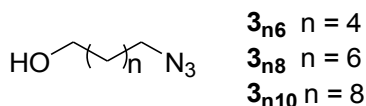
Permanganato de Potássio 1%, como revelador geral, preparado pela dissolução de permanganato de potássio (1%) e carbonato de cálcio (7%), em solução hidróxido de sódio 5%/água 1:60 v/v.

Trifenilfosfina 10%/ninidrina 0,3%, como sistema de revelação dos compostos contendo grupo azida. A solução trifenilfosfina foi preparada pela dissolução de trifenilfosfina (10%) em diclorometano e a de Ninidrina, pela dissolução de ninidrina (3%) em *n*-butanol/ácido acético 100:3 v/v.

Os produtos brutos foram purificados empregando a metodologia de coluna cromatográfica utilizando sílica gel 230-400 mesh com poros de tamanho: 60 Å, 15 cm de altura e 20 mm de largura como fase estacionária.

Os compostos foram caracterizados por meio de espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400,13 MHz) e de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100,61 MHz) obtidos em um espectrômetro Bruker Advance III operando com uma sonda de detecção direta de 5 mm (BBO) a 298 K, sendo que a multiplicidade dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  foram denominadas simpleto (s), duplete (d), tripleto (t), duplo duplete (dd) e multiplete (m), enquanto as constantes de acoplamento (J) foram expressas em hertz (Hz). A calibração dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  foi realizada por meio do sinal do TMS.

5.1.2 Metodologia geral para a síntese das alquilazidas. (3)  
(SOUSA, 2021).



Em um balão de fundo redondo adicionou-se 1,1 g (1 equivalente) do diol correspondente, dissolvido em 50 mL de tolueno. Em seguida adicionou-se 1,1 equivalente de ácido bromídrico aquoso 48% e iniciou-se a agitação a 110°C. Houve o acompanhamento da reação por CCD. Após 24h, o meio reacional foi resfriado a temperatura ambiente e retirou-se o excesso de solvente no rota-evaporador, obtendo um óleo amarelado, que foi submetido a reação subsequente sem purificação prévia. No mesmo balão, adicionou-se 1,1 equivalente de azida de sódio (em solução 0,5 mol/L em DMSO). O sistema é deixado sob agitação magnética, à temperatura ambiente por aproximadamente 72 horas. Ao término da reação, adicionou-se água destilada (20 mL). Em seguida a mistura foi extraída com diclorometano (3x 20 mL). A fase orgânica foi lavada uma vez com solução saturada de cloreto de sódio (20 mL). Posteriormente, a fase orgânica foi seca sob sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi submetido à purificação por coluna cromatográfica, empregando-se hexano-acetato de etila (8:2) como eluente. Os compostos  $3_{n6}$ ,  $3_{n8}$  e  $3_{n10}$  foram obtidos como óleos de coloração amarela, com rendimentos de 52% (0,34 g); 62% (0,70 g); 33% (0,80 g), respectivamente.

Composto  $3_{n6}$  (6-azidoexan-1-ol):  $C_6H_{13}N_3O$ ; 143,17 g/mol; óleo amarelo.

RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  3,65 (t, 2H,  $J = 6,6$  Hz,  $CH_2OH$ ), 3,28 (t, 2H,  $J = 6,9$  Hz,  $CH_2N_3$ ), 1,66-1,55 (m, 5H,  $CH_2$  e OH), 1,45-1,37 (m, 4H,  $CH_2$ ).  
Literatura: RMN de  $^1H$  (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  3,60 (t,  $J = 6,6$ , 2H),  $\delta$  3,27 (t,  $J=7,0$ , 2H),  $\delta$  2,84 (s, 1H),  $\delta$  1,61 (m, 2H),  $\delta$  1,56 (m, 2H),  $\delta$  1,40 (m, 4H) (SPEERS; ADAM; CRAVATT, 2003).

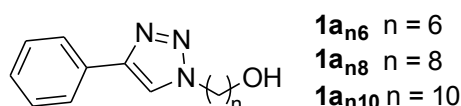
Composto  $3_{n8}$  (8-azidooctan-1-ol):  $C_8H_{17}N_3O$ ; 171,24 g/mol; óleo amarelo.

RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  3,66 (t, 2H,  $J = 6,6$  Hz,  $CH_2OH$ ), 3,26 (t, 2H,  $J = 6,9$  Hz,  $CH_2N_3$ ), 1,62-1,54 (m, 4H,  $CH_2$ ), 1,42-1,30 (m, 9H,  $CH_2$  e OH).  
Literatura: RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):  
3,60 (t, 2H); 3,23 (t, 2H); 1,50-1,61 (m, 5H); 1,27-1,40 (m, 4H) (SOMMER, et al., 2018).

Composto  $3_{n10}$  (10-azidodecan-1-ol):  $C_{10}H_{21}N_3O$ ; 199,30 g/mol; óleo amarelo.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,66 (t, 2H, J = 6,6 Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,27 (t, 2H, J = 6,9 Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 1,60 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 1,31-1,40 (m, 13H,  $\text{CH}_2$  e OH). Literatura: RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  3,62 (t, 2H); 3,24 (t, 2H); 1,52-1,62 (m, 4H); 1,26-1,39 (m, 13H) (STAUFFERT, et al., 2017).

### 5.1.3 Metodologia geral para a síntese dos triazóis fenílicos (**1a**) (KÁDÁR et al., 2011).



Em um balão de fundo redondo contendo 0,5 g (1 equivalente) da alquilazida **3**, dissolvida em 15 mL de THF, adicionou-se 0,05 equivalentes de cloreto de cobre(I) dissolvido em 15 mL de água destilada. Em seguida, adicionou-se 1,1 equivalentes de fenilacetileno e acoplou-se à um condensador. O sistema reacional foi deixado sob refluxo e agitação magnética por 15 horas. Ao término da reação, esperou-se o sistema retornar à temperatura ambiente e o conteúdo do balão foi transferido para um funil de separação e extraído com diclorometano (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e filtrada. O solvente foi removido por destilação à pressão reduzida. O resíduo bruto foi recristalizado com o clorofórmio e hexano. Os triazóis alquílicos **1a<sub>n6</sub>**, **1a<sub>n8</sub>** e **1a<sub>n10</sub>** foram obtidos como sólidos brancos cristalinos com rendimentos de 43%, 69% e 56%, respectivamente.

Composto **1a<sub>n6</sub>** (6-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)hexan-1-ol):  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$ ; 245,33 g/mol; sólido branco.

P.F.: 94-95 °C; Literatura: Não realizado. (OLIVEIRA et al., 2022)

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,85 (d, 2H, J = 7,2 Hz, CH-*orto*), 7,78 (s, 1H, CH), 7,45 (t, 2H, J = 7,34; 7,66 Hz, CH-*meta*), 7,35 (t, 1H, J = 7,34; 7,2 Hz, CH-*para*), 4,42 (t, 2H, J = 7,1; 7,1 Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,66 (t, 2H, J = 6,4 Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2,02-1,95 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,78 (s, 1H, OH) 1,62-1,55 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,50-1,35 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ). Literatura: RMN de  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{MeOH-d}_4$ ):  $\delta$  8,31 (s, 1H), 7,80 (d, 2H, J = 7,2 Hz), 7,46–7,31 (m, 3H), 4,43 (t, 2H, J = 7,2 Hz), 3,52 (t, 2H, J = 6,2 Hz), 1,99–1,91 (m, 2H), 1,53–1,39 (m, 6H). (OLIVEIRA et al., 2022)

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  147,76 ( $\text{NCCH}$ ), 130,64, 128,86, 128,14, 125,69, 119,53 ( $\text{CCHN}$ ), 62,49 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 50,28 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 32,37 ( $\text{CH}_2$ ), 30,27 ( $\text{CH}_2$ ), 26,19 ( $\text{CH}_2$ ), 25,14 ( $\text{CH}_2$ ). Literatura:  $^{13}\text{C}$  NMR (50 MHz,  $\text{MeOH-d}_4$ ):  $\delta$  131,8, 130,1, 129,4, 126,7, 122,3, 62,8, 51,5, 33,4, 31,3, 27,4, 26,4. (OLIVEIRA et al., 2022)

Composto **1a<sub>n8</sub>** (8-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)octan-1-ol):  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}$ ; 273,38 g/mol; sólido branco.

P.F.: 102-104 °C

RMN de  $^1\text{H}$  (8-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)octan-1-ol) (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,85 (d, 2H,  $J = 7,2$  Hz, CH-*orto*), 7,77 (s, 1H, CH), 7,45 (t, 2H,  $J = 7,3$ ; 7,67 Hz, CH-*meta*), 7,35 (t, 1H,  $J = 7,3$ ; 7,4 Hz, CH-*para*), 4,41 (t, 2H,  $J = 7,1$ ; 7,3 Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,65 (t, 2H,  $J = 6,6$  Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2,01-1,92 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,78 (s, 1H, OH), 1,61-1,52 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,41-1,30 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  147,74 ( $\text{NCCH}$ ), 130,68, 128,85, 128,11, 125,69, 119,46 ( $\text{CCHN}$ ), 62,86 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 50,41 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 32,66 ( $\text{CH}_2$ ), 30,30 ( $\text{CH}_2$ ), 29,14 ( $\text{CH}_2$ ), 28,92 ( $\text{CH}_2$ ), 26,38 ( $\text{CH}_2$ ), 25,60 ( $\text{CH}_2$ ).

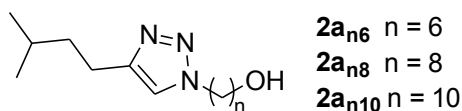
Composto **1a<sub>n10</sub>** (10-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)decan-1-ol):  $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}$ ; 301,43 g/mol; sólido branco.

P.F.: 108-110 °C

RMN de  $^1\text{H}$  (10-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)decan-1-ol) (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,85 (m, 2H, CH-*orto*), 7,77 (s, 1H, CH), 7,45 (t, 2H,  $J = 7,3$ ; 7,7 Hz, CH-*meta*), 7,35 (t, 1H,  $J = 7,36$ ; 7,39 Hz, CH-*para*), 4,41 (t, 2H,  $J = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,65 (t, 2H,  $J = 6,6$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2,00-1,92 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,77 (s, 1H, OH), 1,60-1,53 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,39-1,27 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (10-(4-fenil-1H-1,2,3-triazol-1-il)decan-1-ol) (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  147,73 ( $\text{NCCH}$ ), 130,71, 128,84, 128,10, 125,69, 119,42 ( $\text{CCHN}$ ), 62,98 ( $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 50,43 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 32,75 ( $\text{CH}_2$ ), 30,32 ( $\text{CH}_2$ ), 29,37 ( $\text{CH}_2$ ), 29,30 ( $\text{CH}_2$ ), 29,25 ( $\text{CH}_2$ ), 28,92 ( $\text{CH}_2$ ), 26,43 ( $\text{CH}_2$ ), 25,68 ( $\text{CH}_2$ ).

#### 5.1.4 Metodologia geral para a síntese dos triazóis isoamílicos (**2a**) (KÁDÁR et al., 2011).



Em um balão de fundo redondo adicionou-se 0,5 g (1 equivalente) da alquilazida **3**, dissolvidas em 15 mL de THF. Em um béquer, preparou-se mistura de ácido ascórbico (0,45 equivalentes), bicarbonato de sódio (4,5 equivalentes) e sulfato de cobre (II) (0,15 equivalentes) dissolvidos em 15 mL de água destilada, que foi adicionada ao balão contendo a solução de **3**. Ao mesmo, adicionou-se 1,1 equivalentes de 5-metil-1-hexino e acoplou-se à um condensador. A agitação iniciou-se em temperatura de refluxo (66°C). Após 15 horas. Ao término da reação, esperou-se o sistema retornar à temperatura ambiente e o conteúdo do balão foi transferido à um funil de separação e extraído com diclorometano (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro, filtrada e o solvente foi removido em destilação à pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por coluna cromatográfica empregando-se hexano-acetato de etila (8:2) como eluente. Os triazóis amílicos **2a<sub>n6</sub>**, **2a<sub>n8</sub>** e **2a<sub>n10</sub>**, foram obtidos como óleos amarelos, com rendimentos de 63%, 59% e 43%, respectivamente.

Composto **2a<sub>n6</sub>** (6-(4-isopentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)hexan-1-ol): C<sub>13</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O; 239,36 g/mol; óleo amarelo.

RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,26 (s, 1H, CH), 4,32 (t, 2H, J = 7,2, CH<sub>2</sub>N), 3,65 (t, 2H, J = 6,3; 6,6, CH<sub>2</sub>OH), 2,73 (dd, 2H, J = 8,0, CH<sub>2</sub>*iAm*), 1,95-1,88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,81 (s, 1H, OH) 1,63-1,52 (m, 5H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>*iAm*, CH*iAm*), 1,48-1,33 (m, 4H, CH<sub>2</sub> *alq*), 0,95 (d, 6H, J = 6,3, CH<sub>3</sub>).

RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 148,63 (NCCH), 120,27 (CCHN), 62,56 (CH<sub>2</sub>OH), 50,00 (CH<sub>2</sub>N), 38,54 (CH<sub>2</sub>C), 32,39 (CH<sub>2</sub>), 30,28 (CH<sub>2</sub>), 27,68 (CH), 26,21 (CH<sub>2</sub>), 25,12 (CH<sub>2</sub>), 23,61 (CH<sub>2</sub>*iAm*), 22,40 (CH<sub>3</sub>).

Composto **2a<sub>n8</sub>** (8-(4-isopentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)octan-1-ol): C<sub>15</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O; 267,42 g/mol; óleo amarelo.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,25 (s, 1H, CH), 4,31 (t,  $J = 7,2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,65 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2,73 (dd, 2H,  $J = 7,7; 8,0$ ,  $\text{CH}_2i\text{Am}$ ), 1,93-1,86 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,77 (s, 1H, OH), 1,65-1,55 (m, 5H,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2i\text{Am}$ ,  $\text{CHiAm}$ ), 1,34 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ ), 0,95 (d, 6H,  $J = 6,3$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).

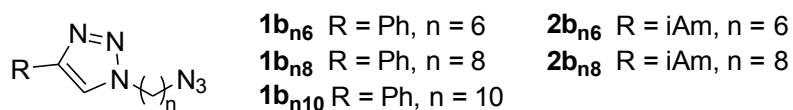
RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  148,59 ( $\text{N}\underline{\text{C}}\text{CH}$ ), 120,23 ( $\text{C}\underline{\text{C}}\text{HN}$ ), 62,90 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ ), 50,12 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$ ), 38,56 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}$ ), 32,67 ( $\text{CH}_2$ ), 30,31 ( $\text{CH}_2$ ), 29,13 ( $\text{CH}_2$ ), 28,92 ( $\text{CH}_2$ ), 27,69 (CH), 26,40 ( $\text{CH}_2$ ), 25,59 ( $\text{CH}_2$ ), 23,62 ( $\text{CH}_2i\text{Am}$ ), 22,40 ( $\text{CH}_3$ ).

Composto **2a<sub>n10</sub>** (10-(4-isopentil-1H-1,2,3-triazol-1-il)decan-1-ol);  $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}$ ; 295,47 g/mol; óleo alaranjado.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,26 (s, 1H, CH), 4,31 (t, 2H,  $J = 7,2$ ,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,65 (t, 2H,  $J = 6,6$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2,73 (dd, 2H,  $J = 7,8$ ,  $\text{CH}_2i\text{Am}$ ), 1,92-1,86 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ) 1,60-1,54 (m, 5H,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2i\text{Am}$ ,  $\text{CHiAm}$ ), 1,39-1,25 (m, 14H,  $\text{CH}_2$ ), 0,95 (d, 6H,  $J = 6,3$ ,  $\text{CH}_3$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  148,57 ( $\text{N}\underline{\text{C}}\text{CH}$ ), 120,25 ( $\text{C}\underline{\text{C}}\text{HN}$ ), 63,00 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{OH}$ ), 50,16 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$ ), 38,54 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}$ ), 32,73 ( $\text{CH}_2$ ), 30,30 ( $\text{CH}_2$ ), 29,36 ( $\text{CH}_2$ ), 29,29 ( $\text{CH}_2$ ), 29,23 ( $\text{CH}_2$ ), 28,90 ( $\text{CH}_2$ ), 27,68 (CH), 26,43 ( $\text{CH}_2$ ), 25,67 ( $\text{CH}_2$ ), 23,60 ( $\text{CH}_2i\text{Am}$ ), 22,40 ( $\text{CH}_3$ ).

### 5.1.5 Metodologia geral para síntese dos alquiltriazóis **1b** e **2b** (SHINDE et al., 2018)



Em um balão de fundo redondo contendo 0,1 g (1 equivalente) de **1a/2a**, dissolvido em 15 mL de diclorometano, adicionou-se adicionado, em banho de gelo, 4 equivalentes de trietilamina e, 2 equivalentes de cloreto de mesila, gota a gota e tampou-se o sistema. Após 4 horas, adicionou-se à mistura reacional, gelo picado. O conteúdo do balão foi transferido para um funil de separação, a mistura foi transferida para um funil de separação e extraída com diclorometano (3x20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e filtrada. O solvente foi removido em destilação à pressão reduzida. O

resíduo obtido foi dissolvido em 20 mL de DMSO, sendo a essa solução, adicionado 1,3 equivalentes de  $\text{NaN}_3$  (solução 0,5 mol/L em DMSO) e tampouco o sistema. A mistura reacional foi deixada sob agitação magnética e a 70°C por 16 horas. Ao término da reação, à temperatura ambiente, adicionou-se 20 mL de água. A mistura foi transferida para um funil de separação e extraída com diclorometano (3x20mL). Em seguida, a fase orgânica foi extraída com água, (3x50mL), seca com sulfato de magnésio anidro e filtrada. O solvente foi removido por destilação à pressão reduzida. Os compostos da série **1b** /**2b** foram purificados por coluna cromatográfica empregando-se hexano-acetato de etila (7:3) como eluente. Foram obtidos como sólidos brancos com 89% (**1b<sub>n6</sub>**), 48% (**1b<sub>n8</sub>**) e 34% (**1b<sub>n10</sub>**) de rendimento e para **2b**, óleos amarelados, com rendimentos de 80% (**2b<sub>n6</sub>**) e 37% (**2b<sub>n8</sub>**).

Composto **1b<sub>n6</sub>** (1-(6-azidooctil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol);  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_6$ ; 270,34 g/mol; sólido branco.

PF: 39-42°C Literatura: 157°C (SINGH; KUMAR; BHALLA, 2018)

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,85 (d, 2H,  $J = 7,4$  Hz, CH-*orto*), 7,77 (s, 1H, CH), 7,45 (t, 2H,  $J = 7,3; 7,7$  Hz, CH-*meta*), 7,35 (t, 1H,  $J = 7,20; 7,40$  Hz, CH-*para*), 4,43 (t, 2H,  $J = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,29 (t, 2H,  $J = 6,8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2,03-1,96 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ) 1,65-1,58 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,50-1,39 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ). Literatura: RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,83 (d, 2H,  $J = 5$  Hz), 7,74 (s, 1H), 7,45-7,40 (m, 2H), 7,35-7,32 (m, 1H),  $\delta$  4,41 (t, 2H,  $J = 5\text{Hz}$ )  $\delta$  =3,27 (t, 2H,  $J = 7,5\text{Hz}$ ), 2,00-1,95 (m, 2H), 1,61-1,57 (m, 2H), 1,45-1,37 (m, 4H). (SINGH; KUMAR; BHALLA, 2018)

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147,84 ( $\text{NCCH}$ ), 130,66 ( $\text{CCN}$ ), 128,85 (CH-*orto*), 128,14 (CH-*para*), 125,71 (CH-*meta*), 119,39 ( $\text{CCHN}$ ), 51,24 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 50,22 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 30,21 ( $\text{CH}_2$ ), 28,64 ( $\text{CH}_2$ ), 26,16 ( $\text{CH}_2$ ), 26,06 ( $\text{CH}_2$ ). Literatura: RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  147,80, 130,66, 128,83, 128,12, 125,68, 119,39, 51,23, 50,20, 30,21, 28,63, 26,15 e 26,05. (SINGH; KUMAR; BHALLA, 2018)

Composto **1b<sub>n8</sub>** (1-(8-azidooctil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol);  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_6$ ; 298,39 g/mol; sólido branco.

PF: 47-51°C

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,85 (d, 2H,  $J = 7,2$  Hz, CH-*orto*), 7,77 (s, 1H, CH), 7,45 (t, 2H,  $J = 7,3; 7,7$  Hz, CH-*meta*), 7,35 (t, 1H,  $J = 7,3; 7,4$  Hz, CH-*para*), 4,42 (t, 2H,  $J = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,27 (t, 2H,  $J = 6,9$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2,00-1,93 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,64-1,56 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,42-1,30 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  147,78 ( $\text{NCCH}$ ), 130,72 ( $\text{CCN}$ ), 128,84 (CH-*orto*), 128,11 (CH-*para*), 125,70 (CH-*meta*), 119,37 ( $\text{CCHN}$ ), 51,41 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 50,38 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 30,31 ( $\text{CH}_2$ ), 28,90 ( $\text{CH}_2$ ), 28,86 ( $\text{CH}_2$ ), 28,77 ( $\text{CH}_2$ ), 26,58 ( $\text{CH}_2$ ), 26,39 ( $\text{CH}_2$ ).

Composto **1b<sub>n10</sub>** (1-(10-azidodecil)-4-fenil-1H-1,2,3-triazol);  $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_6$ ; 326,45 g/mol; óleo alaranjado.

PF: Não obtido.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,86 (d, 2H,  $J = 7,2$  Hz, CH-*orto*), 7,77 (s, 1H, CH), 7,45 (t, 2H,  $J = 7,3; 7,7$  Hz, CH-*meta*), 7,35 (t, 1H,  $J = 7,3; 7,4$  Hz, CH-*para*), 4,42 (t, 2H,  $J = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,27 (t, 2H,  $J = 6,9$ ,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2,00-1,93 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,64-1,57 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,41-1,24 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  147,75 ( $\text{NCCH}$ ), 130,74 ( $\text{CCN}$ ), 128,84 (CH-*orto*), 128,10 (CH-*para*), 125,69 (CH-*meta*), 119,38 ( $\text{CCHN}$ ), 51,47 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 50,43 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 30,35 ( $\text{CH}_2$ ), 29,31 ( $\text{CH}_2$ ), 29,25 ( $\text{CH}_2$ ), 29,07 ( $\text{CH}_2$ ), 28,96 ( $\text{CH}_2$ ), 28,82 ( $\text{CH}_2$ ), 26,67 ( $\text{CH}_2$ ), 26,47 ( $\text{CH}_2$ ).

Composto **2b<sub>n6</sub>** (1-(6-azidoexil)-4-isopentil-1H-1,2,3-triazol);  $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{N}_6$ ; 264,38 g/mol ; óleo alaranjado.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,26 (s, 1H, CH), 4,33 (t, 2H,  $J = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ), 3,27 (t, 2H,  $J = 6,8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 2,73 (dd, 2H,  $J = 7,9; 7,8$  Hz,  $\text{CH}_2iAm$ ), 1,96-1,88 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,66-1,55 (m, 5H,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2iAm$ ,  $\text{CHiAm}$ ), 1,47-1,32 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ), 0,95 (d, 2H,  $J = 6,3$ ,  $\text{CH}_3$ ).

RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  148,67 ( $\text{NCCH}$ ), 120,28 ( $\text{CCHN}$ ), 51,24 ( $\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 49,97 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ), 38,52 ( $\text{CH}_2\text{C}$ ), 30,19 ( $\text{CH}_2$ ), 28,63 ( $\text{CH}_2$ ), 27,69 (CH), 26,15 ( $\text{CH}_2$ ), 26,05 ( $\text{CH}_2$ ), 23,58 ( $\text{CH}_2iAm$ ), 22,39 ( $\text{CH}_3$ ).

Composto **2b<sub>n8</sub>** (1-(8-azidooctil)-4-isopentil-1H-1,2,3-triazol); C<sub>15</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>; 292,43 g/mol; óleo alaranjado.

RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,26 (s, 1H, CH), 4,31 (t, 2H, J = 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>N), 3,26 (t, 2H, J = 6,9 Hz, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 2,73 (dd, 2H, 7,9; 7,7 Hz, CH<sub>2</sub>*iAm*), 1,93-1,86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1,66-1,55 (m, 5H, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>*iAm*, CH*iAm*), 1,39-1,30 (s, 8H, CH<sub>2</sub>), 0,95 (d, 6H, J = 6,4, CH<sub>3</sub>).

RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 148,59 (NCCH), 120,24 (CCHN), 51,40 (CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 50,11 (CH<sub>2</sub>N), 38,55 (CH<sub>2</sub>C), 30,29 (CH<sub>2</sub>), 28,89 (CH<sub>2</sub>), 28,85 (CH<sub>2</sub>), 28,76 (CH<sub>2</sub>), 27,68 (CH), 26,56 (CH<sub>2</sub>), 26,39 (CH<sub>2</sub>), 23,61 (CH<sub>2</sub>*iAm*), 22,40 (CH<sub>3</sub>).

## 5.2 Estudos de interação dos triazóis com heme por titulação no UV-vis

### 5.2.1 Equipamento

A titulação UV-Vis foi realizada em um espectrofotômetro da marca Shimadzu©, modelo UV-1800. Para a interpretação dos resultados, os valores de absorvância entre os comprimentos de onda de 600 nm a 300 nm foram obtidos, sendo que a leitura para a obtenção do K<sub>d</sub>, foi feita com o valor de absorvância no comprimento de 401,00 nm.

### 5.2.2 Preparo de soluções

#### 5.2.2.1 Solução tampão HEPES pH 7,4

Dissolveu-se 1,1906 g de HEPES em 5 mL de água. Esta solução HEPES foi transferida para um balão volumétrico de 250 mL contendo 100 mL de dimetilsulfóxido (DMSO). Completou-se o volume para 250 mL e homogeneizou-se a solução. O pH do tampão HEPES foi ajustado a 7,4. A solução foi armazenada na geladeira e ao abrigo da luz.

#### 5.2.1.2 Solução estoque de hematina (1,7 mmol L<sup>-1</sup>) (**SEhm**)

Foram pesadas 5,7 mg de hemina e em seguida essa massa foi transferida quantitativamente para um balão volumétrico de 5 mL de capacidade. Então preencheu-se o balão até o menisco com DMSO. A solução foi armazenada na geladeira ao abrigo da luz.

#### 5.2.1.3 Solução de análise de hematina ( $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) (**SAhm**)

A solução análise de hematina foi preparada a partir da transferência de 71,5  $\mu\text{L}$  da solução estoque de hematina (**SEhm**), por meio de uma micropipeta, para um balão volumétrico de 25 mL de capacidade. Sendo que este balão foi completado até o menisco com a solução tampão HEPES pH 7,4. Esta solução foi preparada no dia da análise.

#### 5.2.2 Preparo das soluções-estoque dos triazóis (**SE**)

As soluções estoques dos triazóis foram preparadas pela dissolução de uma determinada massa do composto (entre 5,0 mg e 30,0 mg) em 800  $\mu\text{L}$  de DMSO. As soluções foram armazenadas na geladeira e ao abrigo da luz.

#### 5.2.3 Soluções de análise dos triazóis ( $10 \text{ mmol L}^{-1}$ ) (**SA**)

As soluções de análise dos triazóis das séries **1a** (**1a<sub>n6</sub>**, **1a<sub>n8</sub>**, **1a<sub>n10</sub>**), **2a** (**2a<sub>n6</sub>**, **2a<sub>n8</sub>**, **2a<sub>n10</sub>**), **1b** (**1b<sub>n6</sub>**, **1b<sub>n8</sub>**, **1b<sub>n10</sub>**) e **2b** (**2b<sub>n6</sub>**, **2b<sub>n8</sub>**) (600  $\mu\text{L}$ ) foram preparadas a partir da diluição das respectivas soluções estoque (**SE**) em **SAhm**, de forma a obter uma solução na concentração de  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ . Todas as soluções foram preparadas no dia da análise.

#### 5.2.4 Titulações Espectroscópicas UV-vis

Foram preparadas duas cubetas, uma para o *branco* (cubeta 1), contendo 2,5 mL da solução tampão HEPES, na outra (cubeta 2), procedeu-se a titulação. Todas as leituras foram feitas sob controle térmico, a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , e agitação magnética. A cubeta 2 foi preenchida com 2,5 mL de **SAhm**. Após a primeira leitura, na qual se determinou as absorvâncias entre 300 e 600 nm,

procedeu-se para cada amostras, adições de alíquotas da da solução de análise (**SA**), e leituras sucessivas, sendo que as adições foram de 0,5  $\mu\text{L}$ , 0,5  $\mu\text{L}$ , 1  $\mu\text{L}$ , 1  $\mu\text{L}$ , 2  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$ . É importante salientar que, após cada adição, esperou-se um minuto para iniciar a varredura. Em cada leitura determinou-se a absorbância em 401 nm. Para cada **SA**, as titulações foram realizadas em triplicata, exceto para as **SA-1a<sub>n10</sub>**, **SA-1b<sub>n10</sub>** e **SA-2a<sub>n10</sub>**, cujas leituras foram inviabilizadas por ter-se observado turvação/precipitação, à medida que se avançou com as adições.

### 5.2.5 Determinação das constantes de dissociação dos compostos ( $K_d$ )

As constantes de dissociação ( $K_d$ ) da interação entre heme e os compostos triazólicos **1a<sub>n6</sub>**, **1a<sub>n8</sub>**, **2a<sub>n6</sub>**, **2a<sub>n8</sub>**, **1b<sub>n6</sub>**, **1b<sub>n8</sub>**, **2b<sub>n6</sub>** e **2b<sub>n8</sub>** foram calculadas por regressão não-linear pelo *software GraphPad Prism 10*.

## 5.3 Estudos de interação dos triazóis com heme por Espectrometria de massas (EM-ESI)

### 5.3.1 Equipamento

Para obtenção dos espectros de massa (EM-ESI) de soluções contendo heme e o derivado triazólico (**Shm-T**) empregou-se um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com bomba de alta pressão (modelo LC-20AD), detector ultravioleta (modelo UFLCSPD-20A), amostrador automático (Modelo SIL-20AHT) acoplado ao espectrômetro de massa com sistema quadruplo e TOF de alta resolução e precisão de massas da marca-Bruker Daltonics (modelo-COMPACT).

### 5.3.2 Preparo de Soluções para a Espectrometria de massas

#### 5.3.2.1 Solução de hematina (1,7 mmol L<sup>-1</sup>) (**Shm<sub>m</sub>**)

Em um eppendorf, dissolveu-se 10 mg de hemina em 1 mL de DMSO. Desta solução, transferiu-se 39,1 µL para balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com DMSO/água MiliQ 4:6, para a obtenção de solução com concentração de 60 µmol/L.

#### 5.3.2.2 Preparo das soluções dos triazóis (**ST<sub>m</sub>**)

Em um eppendorf preparou-se uma solução contendo 1,0 mg do triazol (**1a<sub>n6</sub>**, **1a<sub>n8</sub>**, **2a<sub>n6</sub>**, **2a<sub>n8</sub>**, **1b<sub>n6</sub>** e **1b<sub>n8</sub>**) em um 1 mL de DMSO/água MiliQ 4:6. Desta solução, transferiu-se a quantidade necessária para se obter 10 µmol/L, perfazendo volume final de 5 mL.

#### 5.3.2.3 Preparo das soluções heme-triazol (**Shm-T**)

Em um eppendorf, adicionou-se 0,5 mL de **ST<sub>m</sub>** e 0,5 mL de **Shm<sub>m</sub>**. A solução resultante foi filtrada através de filtro de 0,22 µm.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELHAMEED, S. A. M. et al. Regioselective protein oxidative cleavage enabled by enzyme-like recognition of an inorganic metal oxo cluster ligand. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, dez. 2023.

ABDUL RAHMAN, S. M. et al. Current development of 1,2,3-triazole derived potential antimalarial scaffolds: Structure- activity relationship (SAR) and bioactive compounds. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Elsevier Masson s.r.l., 5 nov. 2023.

ASHLEY, E. A. et al. Spread of Artemisinin Resistance in Plasmodium falciparum Malaria. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 5, p. 411–423, jul. 2014.

BAKER, D. A. Malaria gametocytogenesis. **Molecular and Biochemical Parasitology**, ago. 2010.

BOCK, V. D.; HIEMSTRA, H.; VAN MAARSEVEEN, J. H. Cu I-catalyzed alkyne-azide “click” cycloadditions from a mechanistic and synthetic perspective. **European Journal of Organic Chemistry**, n. 1, p. 51–68, 2006.

BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. Elsevier Ltd, ago. 2019.

CHU, X. M. et al. Triazole derivatives and their antiplasmodial and antimalarial activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**. Elsevier Masson SAS, mar. 2019.

COX, F. E. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. **Parasites & Vectors**. v. 3, p. 2-9. 2010.

DANIEL, J. M. et al. Quantitative determination of noncovalent binding interactions using soft ionization mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**. v. 216, p. 1-27, fev. 2002

EGAN, T. J. et al. Fate of haem iron in the malaria parasite Plasmodium falciparum. **Biochem. J**. v. 365, p. 343-347, 2002.

FANTONI, N. Z.; EL-SAGHEER, A. H.; BROWN, T. A Hitchhiker’s Guide to Click-Chemistry with Nucleic Acids. **Chemical Reviews**. American Chemical Society, v. 121, p. 7122-7154, jun. 2021.

FLANNERY, E. L.; CHATTERJEE, A. K.; WINZELER, E. A. Antimalarial drug discovery-approaches and progress towards new medicines. **Nature Reviews Microbiology**. Nature Publishing Group, 2013.

GUIMARÃES, D. S. M. et al. Improvement of antimalarial activity of a 3-alkylpyridine alkaloid analog by replacing the pyridine ring to a thiazole-containing heterocycle: Mode of action, mutagenicity profile, and Caco-2 cell-based permeability. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 138, out. 2019.

HILÁRIO, F. F. et al. Synthesis and Evaluation of Antimalarial Activity of Oxygenated 3-alkylpyridine Marine Alkaloid Analogues. **Chemical Biology and Drug Design**. v. 78, p. 477-482, set. 2011.

KÁDÁR, Z. et al. Synthesis and in vitro antiproliferative activity of novel androst-5-ene triazolyl and tetrazolyl derivatives. **Molecules**, v. 16, n. 6, p. 4786–4806, jun. 2011.

L'ABBATE, F. P. et al. Hemozoin inhibiting 2-phenylbenzimidazoles active against malaria parasites. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 159, p. 243–254, nov. 2018.

LIANG, L.; ASTRUC, D. The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) “click” reaction and its applications. **An overview. Coordination Chemistry Reviews**, dez. 2011.

LODHA, B. et al. Biodegradation of pyridine by an isolated bacterial consortium/strain and bio-augmentation of strain into activated sludge to enhance pyridine biodegradation. **Biodegradation**, v. 19, n. 5, p. 717–723, set. 2008.

MATIN, M. M. et al. Triazoles and Their Derivatives: Chemistry, Synthesis, and Therapeutic Applications. **Frontiers in Molecular Biosciences** Frontiers Media S.A., abr. 2022.

MELDAL, M.; TORNØE, C. W. Cu-catalyzed azide - Alkyne cycloaddition. **Chemical Reviews**, ago. 2008.

MITCHELL, S. N. et al. Evolution of sexual traits influencing vectorial capacity in anopheline mosquitoes. **Science**. v. 347, p. 985-988, fev. 2015.

MOLYNEUX, D. Neglected tropical diseases. **Community Eye Journal**. v. 26, n. 82, p. 21-24. ago. 2013. Disponível em: < <https://www.cehjournal.org/article/neglected-tropical-diseases-no-82/> >. Acesso em: 07/07/2024.

OLIVEIRA, N. J. C. et al. Computer-aided molecular design, synthesis and evaluation of antifungal activity of heterocyclic compounds. **Journal of Molecular Structure**, v. 1267, nov. 2022.

PADOLEY, K. V. et al. Biodegradation of pyridine in a completely mixed activated sludge process. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 10, p. 1225–1236, jul. 2006.

PHILLIPS, M. A. et al. Malaria. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, ago. 2017.

PLOWE, C. V. Malaria chemoprevention and drug resistance: a review of the literature and policy implications. **Malaria Journal**. BioMed Central Ltd, dez. 2022.

POESPOPRODJO, J. R. et al. Malaria. **The Lancet**. Elsevier B. V., dez. 2023.

HUISGEN, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions: Past and Future. **Ang. Chern. interntf. Edit.** v. 2, n. 10, p. 565-632. 1963

RAHMASARI, F. V. et al. Drug resistance of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax isolates in Indonesia. **Malaria Journal**. BioMed Central Ltd, , dez. 2022.

RAO, C. N.; KHAN, F. A. Triethylamine-Mesyl Chloride/Thionyl Chloride: A Reagent for Hydrodebromination of Diquinane-Based  $\alpha$ -Bromo- $\gamma$ -Lactones. **Synthesis (Germany)**, v. 47, n. 19, p. 3027–3035, out. 2015.

RIBEIRO-VIANA, R. M. et al. Revealing the Binding Process of New 3-Alkylpyridine Marine Alkaloid Analogue Antimalarials and the Heme Group: An Experimental and Theoretical Investigation. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 56, n. 3, p. 571–579, mar. 2016.

RUSSELL, S. et al. Hit-to-Lead Optimization of a Novel Class of Potent, Broad-Spectrum Trypanosomacides. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 21, p. 9686–9720, nov. 2016.

SAVIANO, M. et al. From rare to neglected diseases: A sustainable and inclusive healthcare perspective for reframing the orphan drugs issue. **Sustainability (Switzerland)**, v. 11, n. 5, mar. 2019.

SERAGLIA, R.; TRALDI, P. Mass spectrometry as test bench for medicinal chemistry studies. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, mar. 2011.

SHINDE, V. et al. Synthesis and biological evaluation of new 2-aryl-4-((4-aryl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)methyl)thiazole derivatives. **Research on Chemical Intermediates**, v. 44, n. 2, p. 1247–1260, fev. 2018.

SINGH, G.; KUMAR, M.; BHALLA, V. Supramolecular Ensemble of Perylene Bisimide Derivative and Cu<sub>2</sub>O-Ag Nanoparticles: Nano/"Dip Strip" Catalytic System for One-Pot, Three-Component Click Reaction at Room Temperature. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 6, n. 9, p. 11466–11472, set. 2018.

SIQUEIRA-NETO, J. L. et al. **Antimalarial drug discovery: progress and approaches**. **Nature Reviews Drug Discovery** Nature Research, Out. 2023.

SOUSA, J. F. **Síntese de Novos Análogos do Alcaloides 3-Alquilpiridínicos Contendo Diferentes Heterociclos e Avaliação de suas**

**Atividades Antimalárica, Antifúngica e Antibacteriana.** 2017. 121 p. Tese (Qualificação. Doutorado em Biotecnologia). Programa de pós-graduação em biotecnologia. Universidade Federal de São João Del Rei (Campus Centro-oeste). 2017.

SPEERS, A. E.; ADAM, G. C.; CRAVATT, B. F. Activity-based protein profiling in vivo using a copper(I)-catalyzed azide-alkyne [3 + 2] cycloaddition. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 16, p. 4686–4687, abr. 2003.

THORDARSON, P. Determining association constants from titration experiments in supramolecular chemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 40, n. 3, p. 1305–1323, fev. 2011.

TILLEY, L. et al. Artemisinin Action and Resistance in Plasmodium falciparum. **Trends in Parasitology**. Elsevier Ltd, set. 2016.

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. **Journal of Organic Chemistry**, v. 67, n. 9, p. 3057–3064, mai. 2002.

TSE, E. G.; KORSIK, M.; TODD, M. H. The past, present and future of anti-malarial medicines. **Malaria Journal**. BioMed Central Ltd., mar. 2019.

VOLK, C. A.; KÖCK, M. Viscosaline: New 3-alkyl pyridinium alkaloid from the Arctic sponge Haliclona viscosa. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 2, n. 13, p. 1827–1830, jul. 2004.

WICHT, K. J. et al. Identification and SAR Evaluation of Hemozoin-Inhibiting Benzamides Active against Plasmodium falciparum. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, n. 13, p. 6512–6530, jul. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the treatment of malaria.** 2015. Disponível em: <<https://www.afro.who.int/publications/guidelines-treatment-malaria-third-edition>>. Acesso em: 11/07/2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the treatment of malaria.** oct. 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/guidelines-for-malaria>>. Acesso em: 07/07/2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Malaria Report 2023.** nov. 2023

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, abr. 2013.

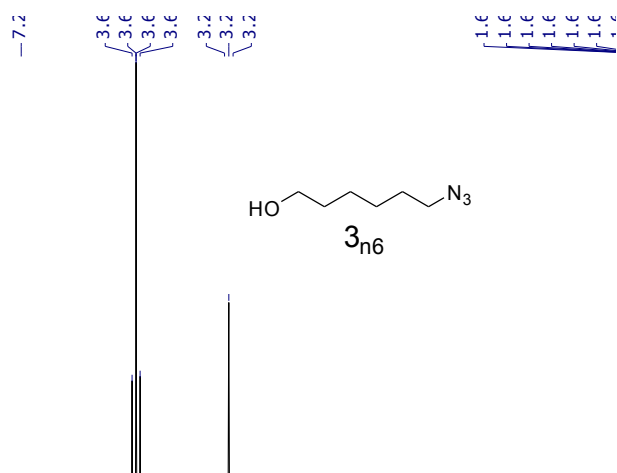
WUNDERLICH, J.; ROHRBACH, P.; DALTON, J. P. The malaria digestive vacuole. **Frontiers in Bioscience**. S4, p. 1424-1448, jun. 2012.

YOO, E. J. et al. Copper-catalyzed synthesis of N-sulfonyl-1,2,3-triazoles: Controlling selectivity. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 46, n. 10, p. 1730–1733, 2007.

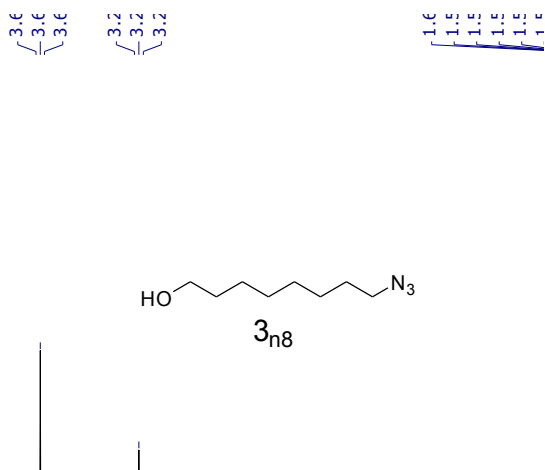
## APÊNDICES

Apêndice A: Espectros de RMN de precursores e produtos finais obtidos por síntese

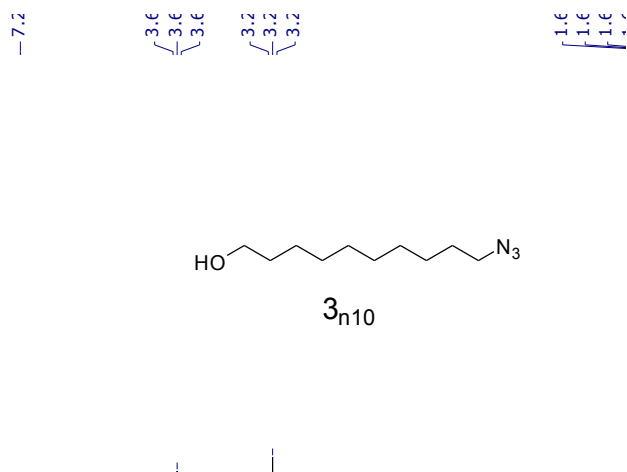
Apêndice A. 1: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de  $\mathbf{3}_{n6}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



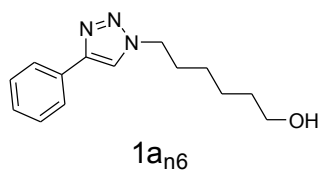
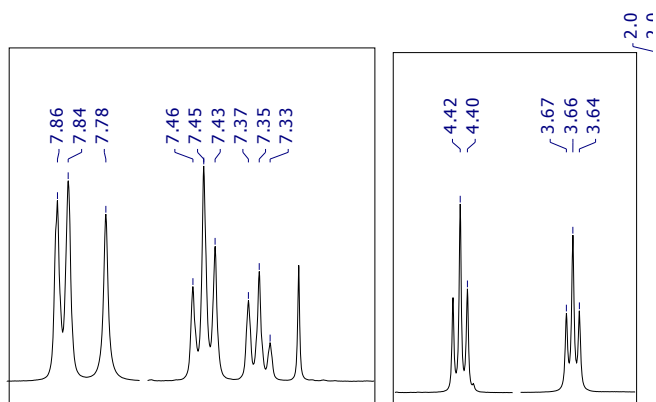
Apêndice A. 2: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de  $\mathbf{3}_{n8}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



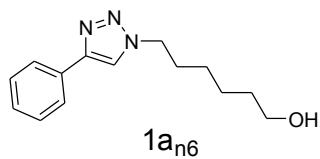
Apêndice A. 3: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de  $\mathbf{3}_{n10}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



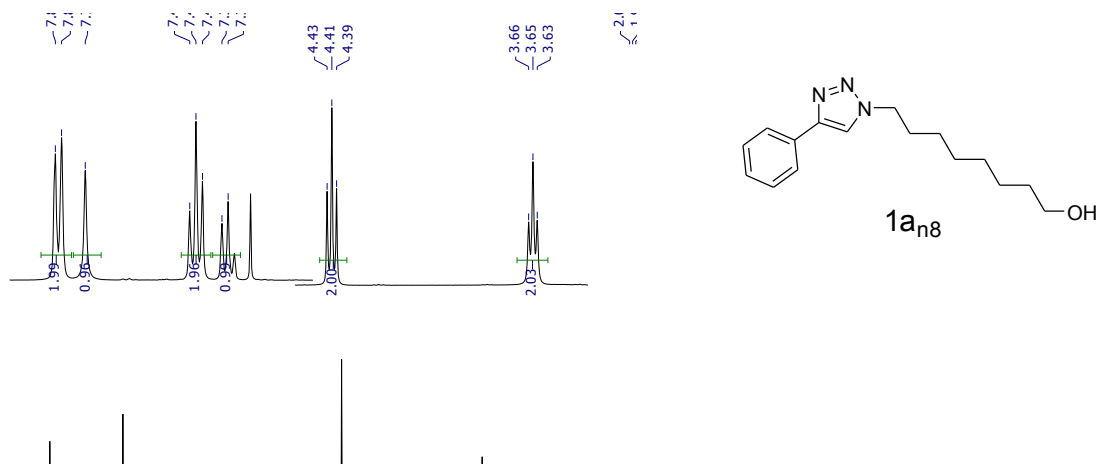
Apêndice A. 4: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **1a<sub>n6</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



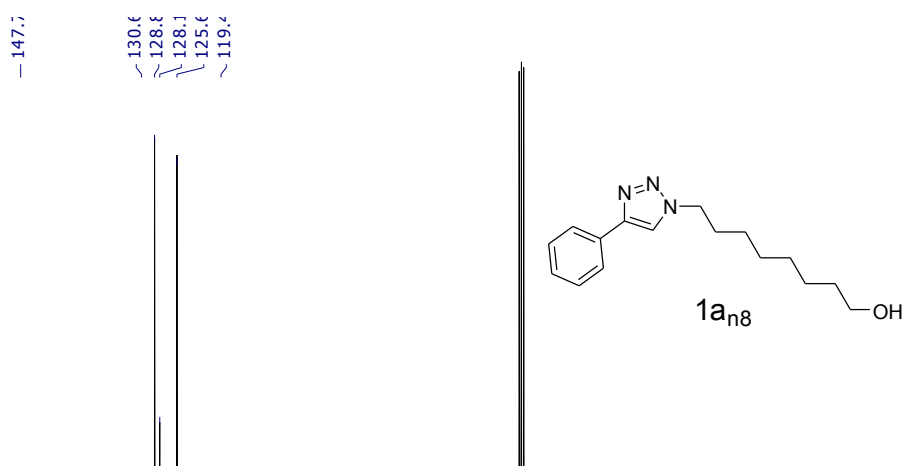
Apêndice A. 5: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1a<sub>n6</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



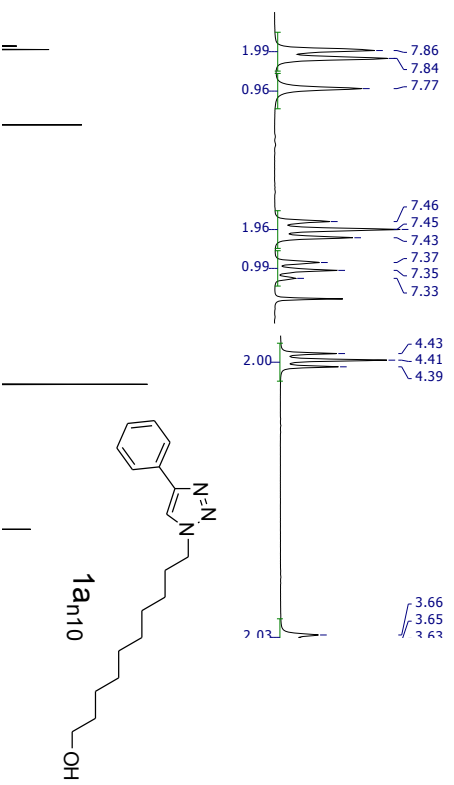
Apêndice A. 6: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de  $1\text{a}_{\text{n8}}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



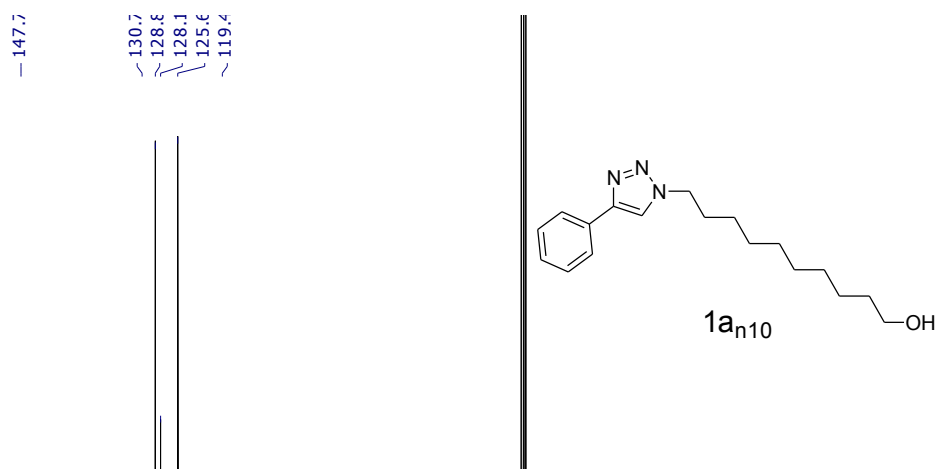
Apêndice A. 7: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de  $1\text{a}_{\text{n8}}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



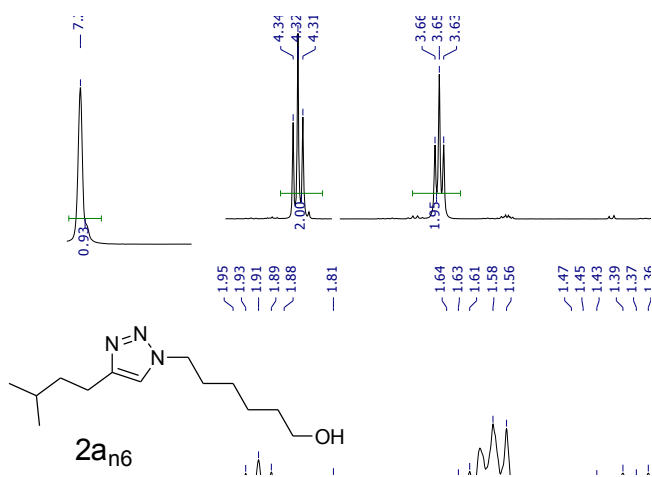
Apêndice A. 8: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **1a<sub>n10</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



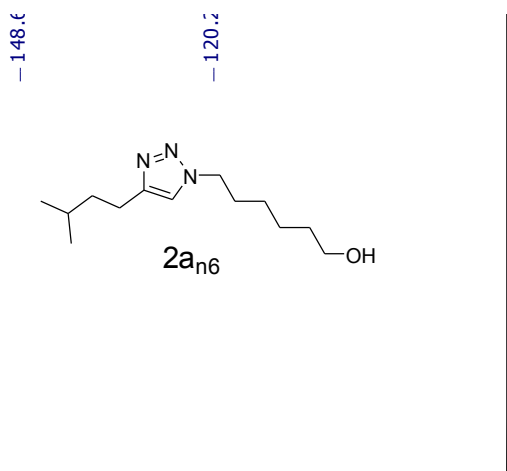
Apêndice A. 9: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1a<sub>n10</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



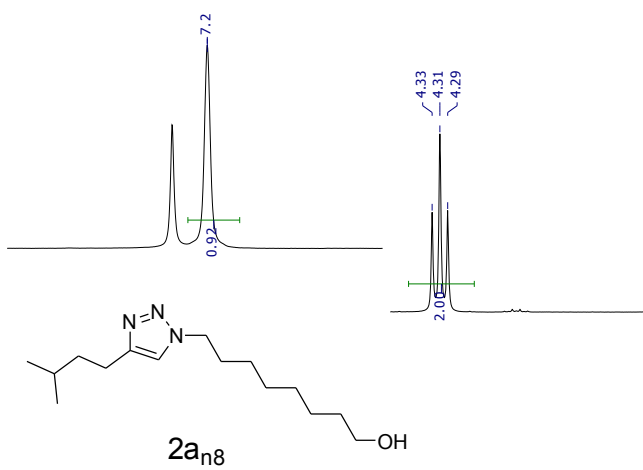
Apêndice A. 10: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a<sub>n6</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



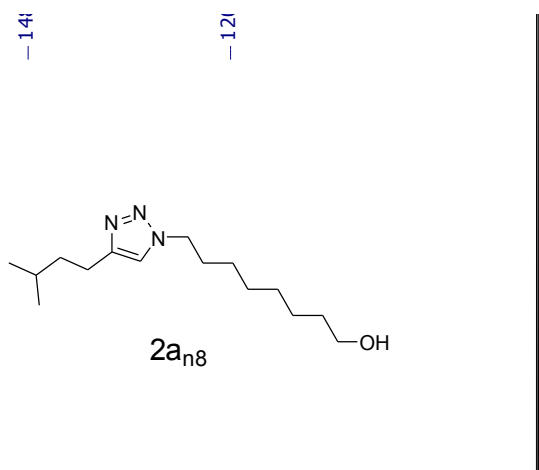
Apêndice A. 11: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **2a<sub>n6</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



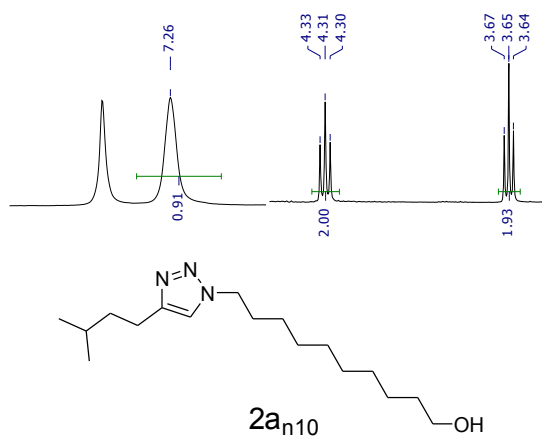
Apêndice A 12: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a<sub>n8</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



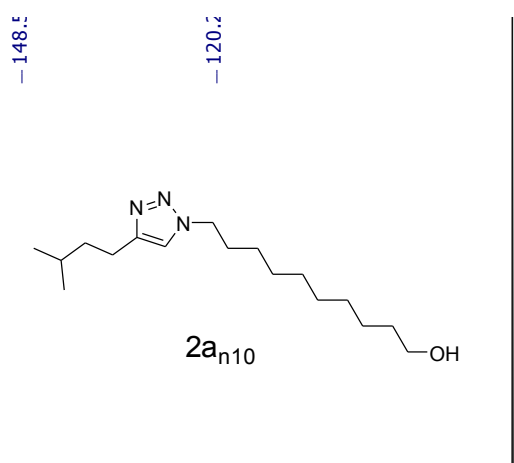
Apêndice A. 13: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **2a<sub>n8</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



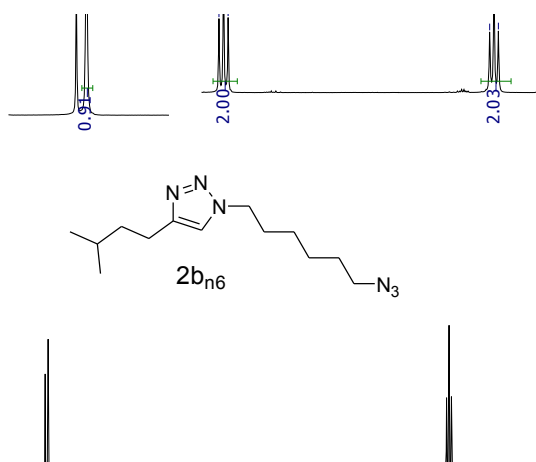
Apêndice A. 14: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2a<sub>n10</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



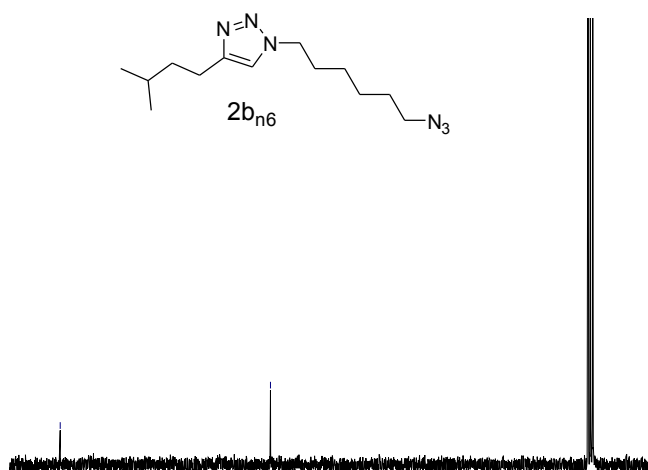
Apêndice A. 15: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **2a<sub>n10</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



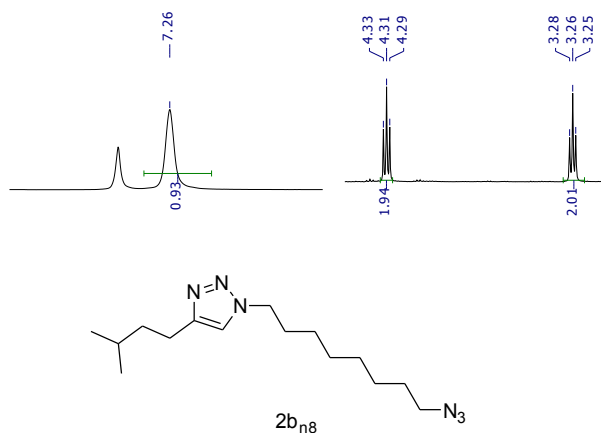
Apêndice A. 16: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2b<sub>n6</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



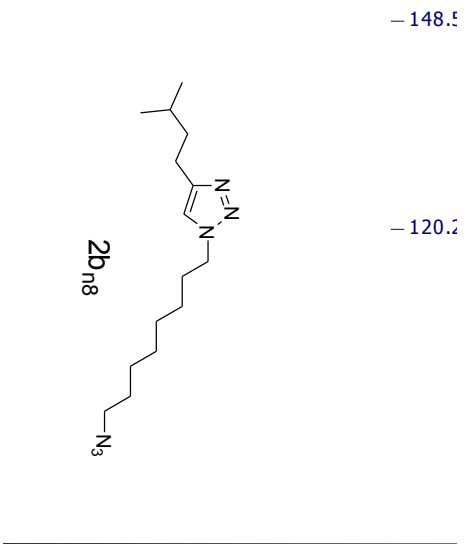
Apêndice A. 17: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **2b<sub>n6</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



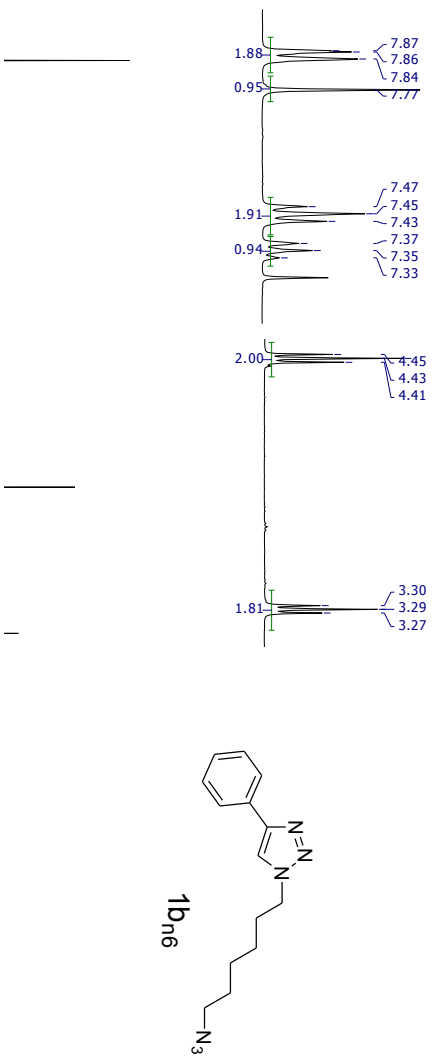
Apêndice A. 18: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **2b<sub>n8</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



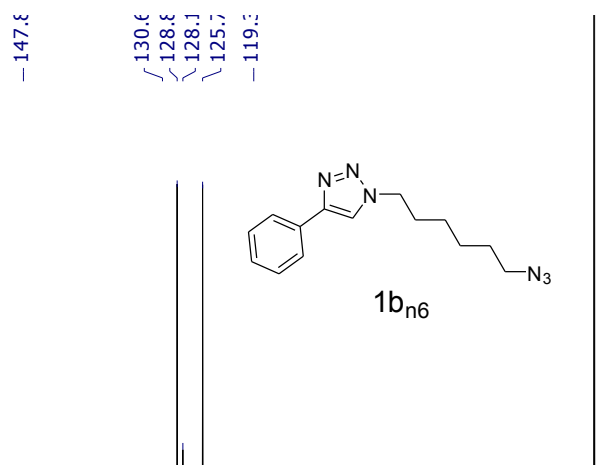
Apêndice A. 19: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **2b<sub>n8</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



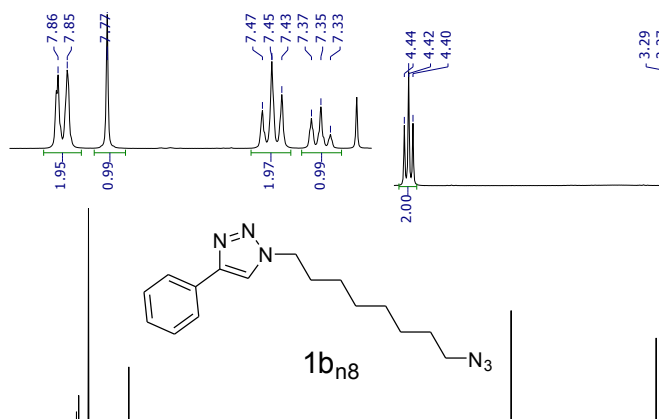
Apêndice A. 20: Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de **1b<sub>n6</sub>** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



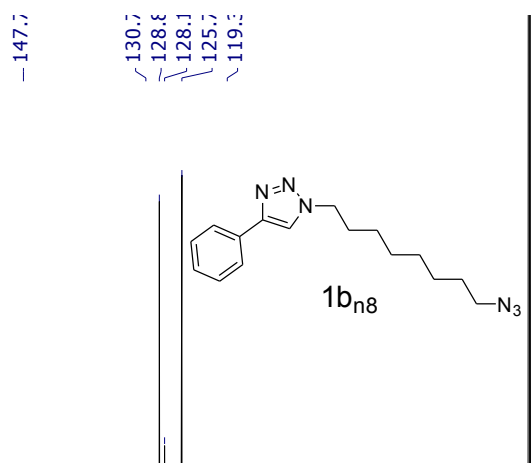
Apêndice A. 21: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1b<sub>n6</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



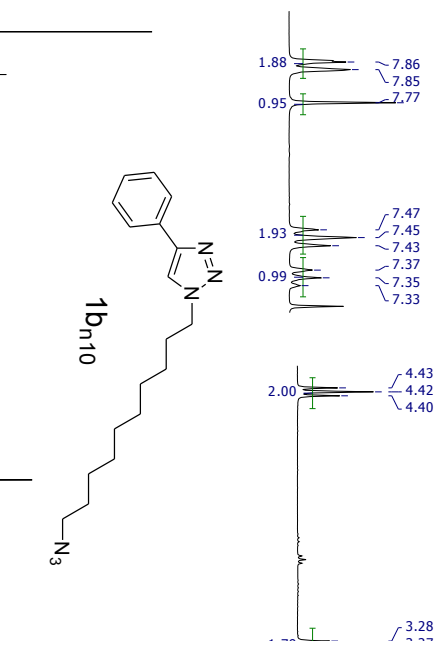
Apêndice A. 22: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **1b<sub>n8</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



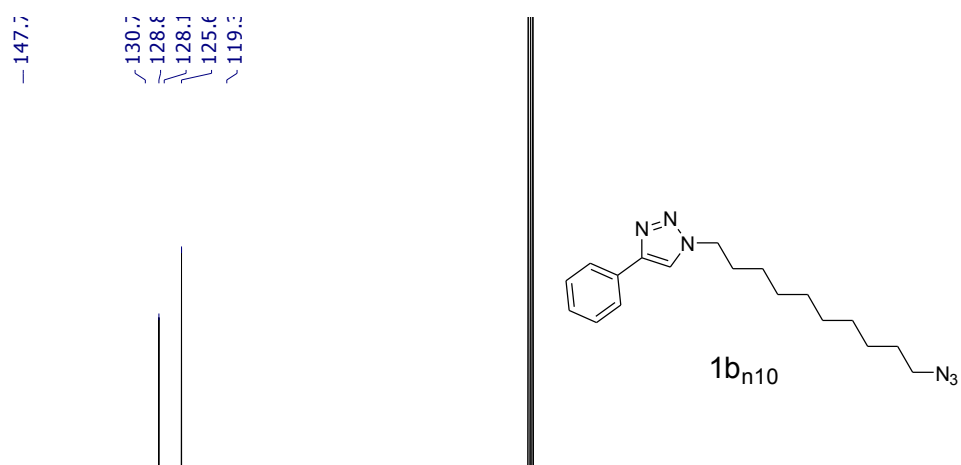
Apêndice A. 23: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1b<sub>n8</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



Apêndice A. 24: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de **1b<sub>n10</sub>** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

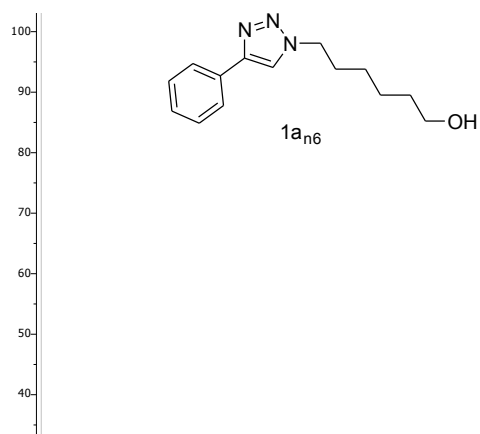


Apêndice A. 25: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de **1b<sub>n10</sub>** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

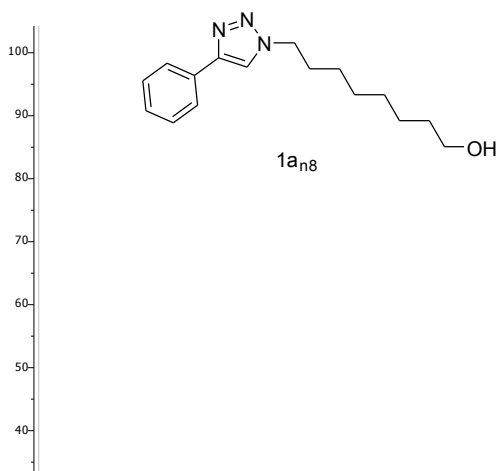


Apêndice B: Espectros EM-ESI das soluções contendo heme e derivados triazólicos.

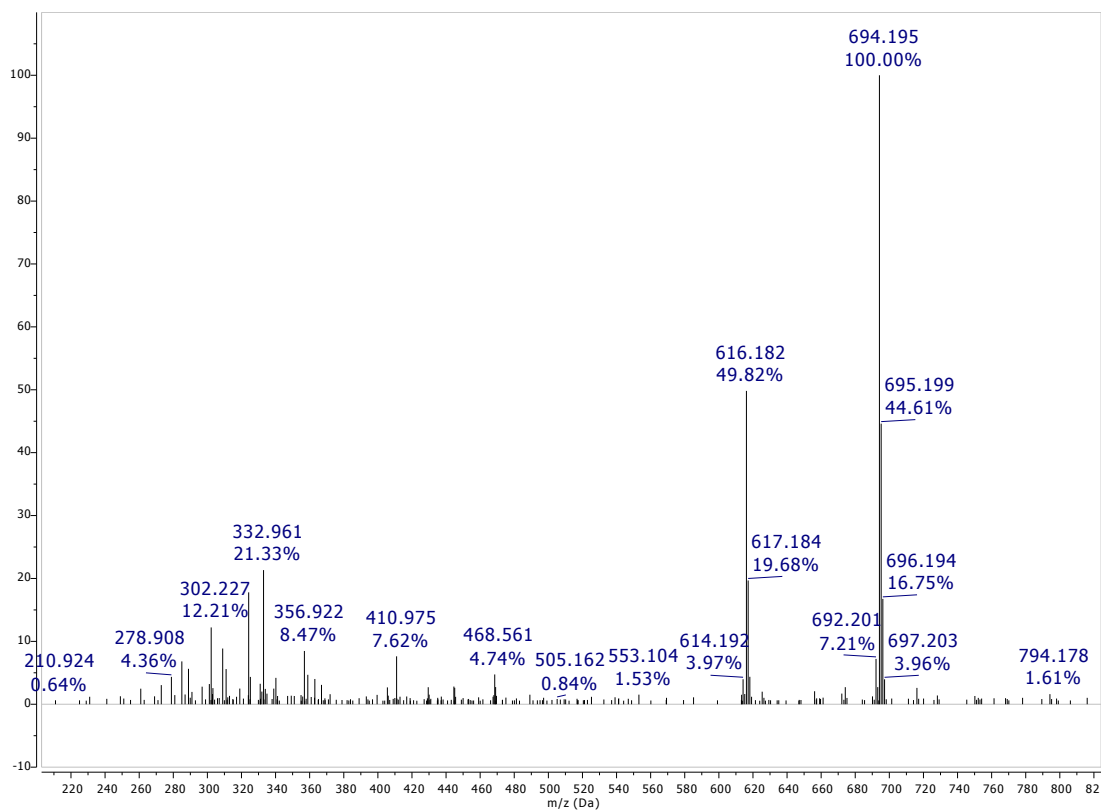
Apêndice B. 1: Espectro EM-ESI de heme-**1a<sub>n6</sub>**



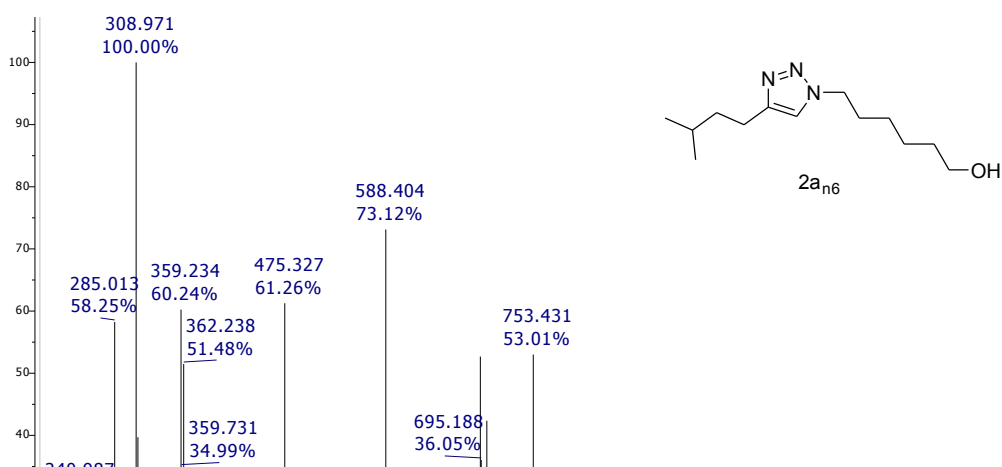
## Apêndice B. 2: Espectro EM-ESI de heme-1a<sub>n8</sub>



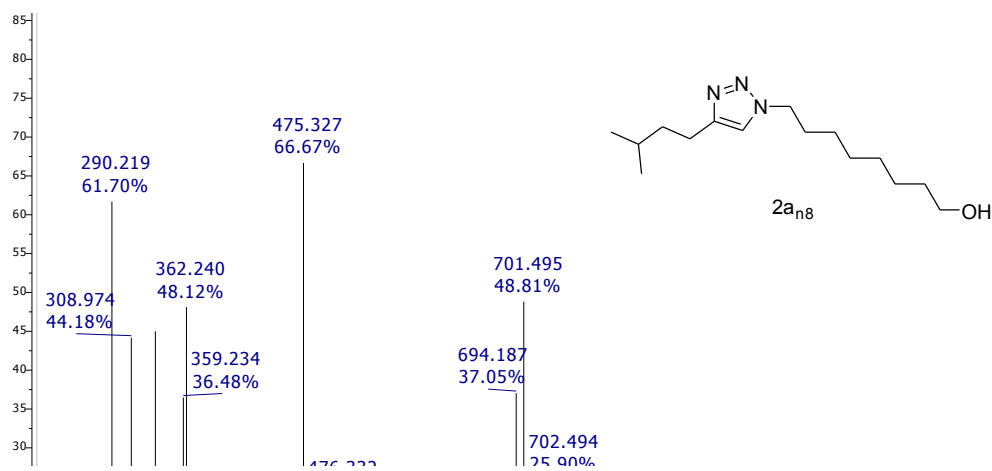
## Apêndice B. 3: Espectro EM-ESI de heme-1a<sub>n10</sub>



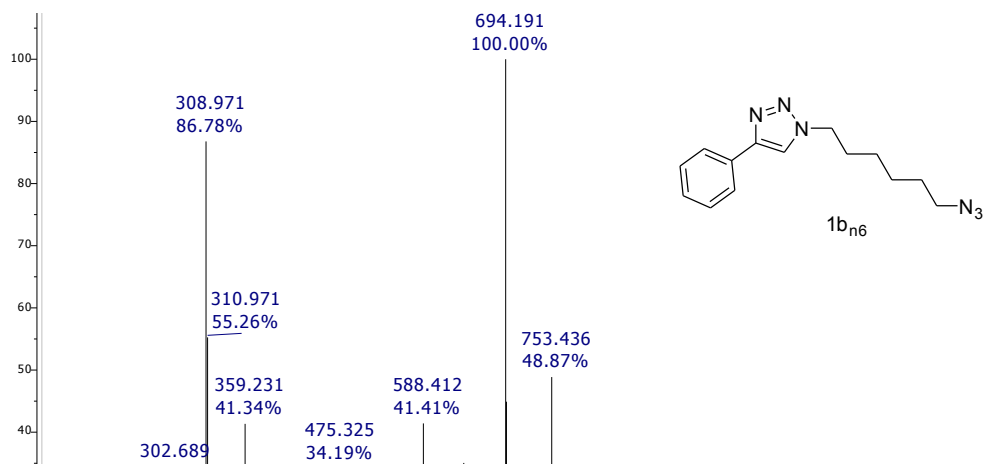
### Apêndice B. 4: Espectro EM-ESI de heme-**2a<sub>n6</sub>**



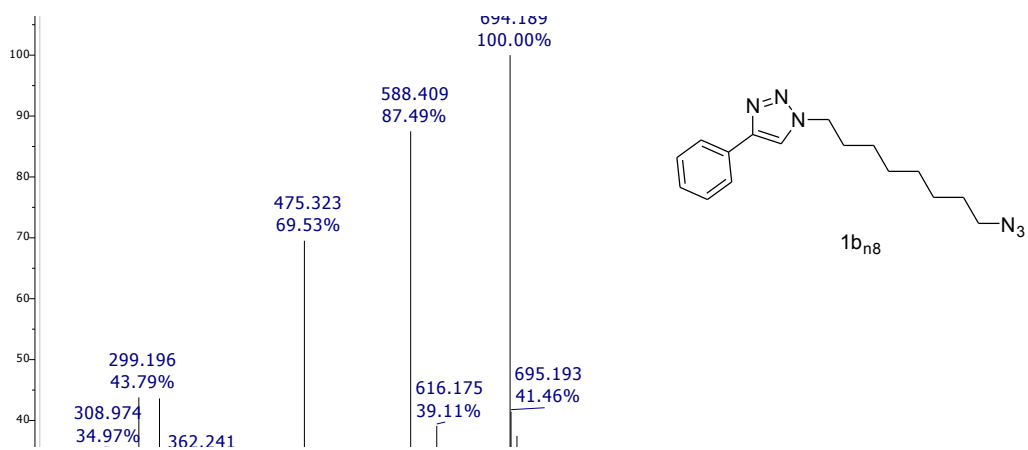
### Apêndice B. 5: Espectro EM-ESI de heme-**2a<sub>n8</sub>**



### Apêndice B. 6: Espectro EM-ESI de heme-1b<sub>n6</sub>

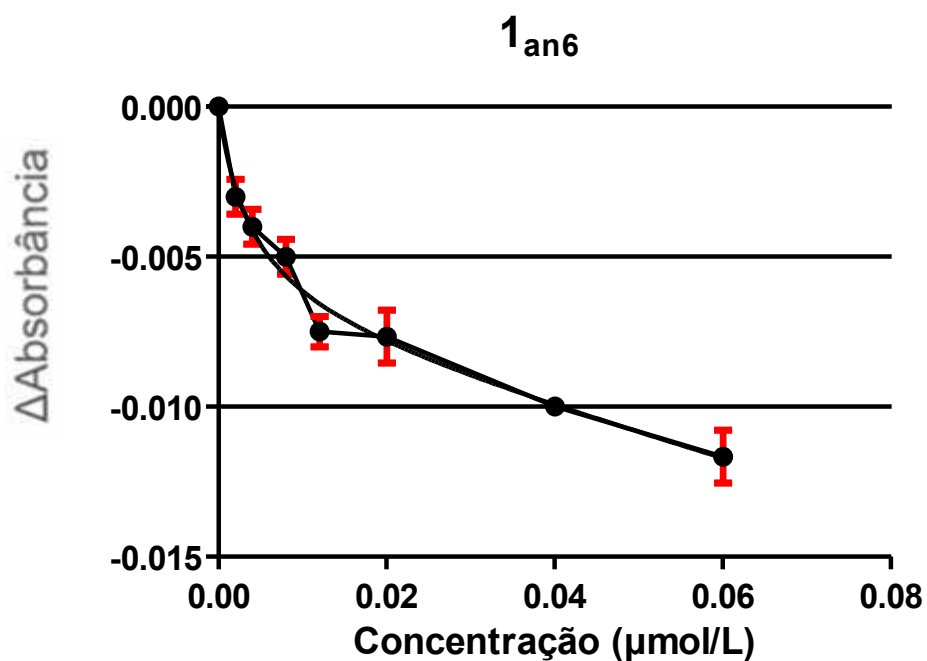


### Apêndice B. 7: Espectro EM-ESI de heme-1b<sub>n8</sub>



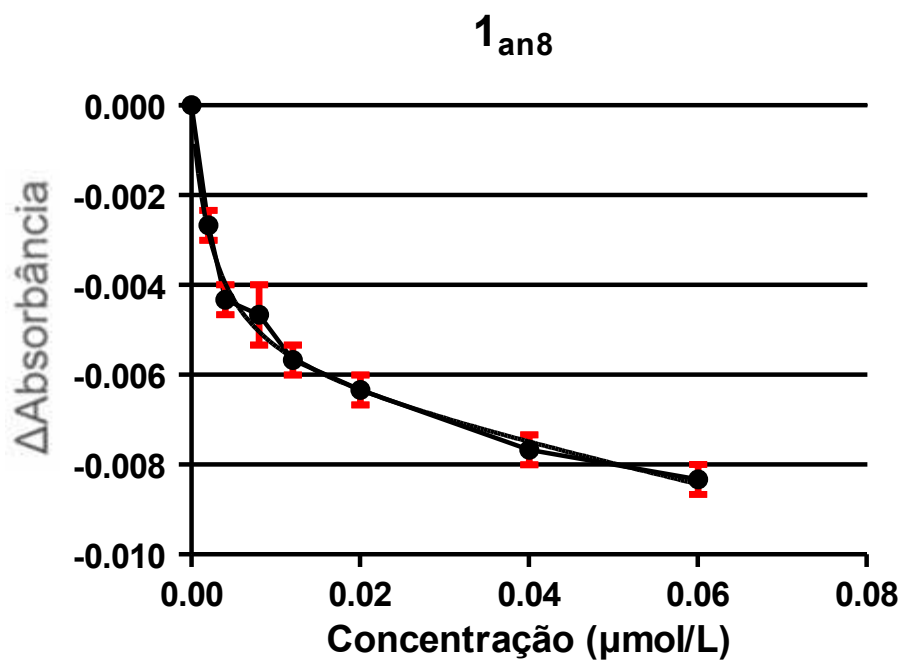
Apêndice C: Gráficos de dispersão XY de absorvância em 401 nm *versus* concentração resultante de titulação no UV-vis das substância **1a<sub>n6</sub>**, **1a<sub>n8</sub>**, **2a<sub>n6</sub>**, **2a<sub>n8</sub>**, **1b<sub>n6</sub>**, **1b<sub>n8</sub>**, **2b<sub>n6</sub>** e **2b<sub>n8</sub>**.

Apêndice C. 1: Gráficos de dispersão XY de absorvância em 401 nm *versus* concentração resultante de **1a<sub>n6</sub>**

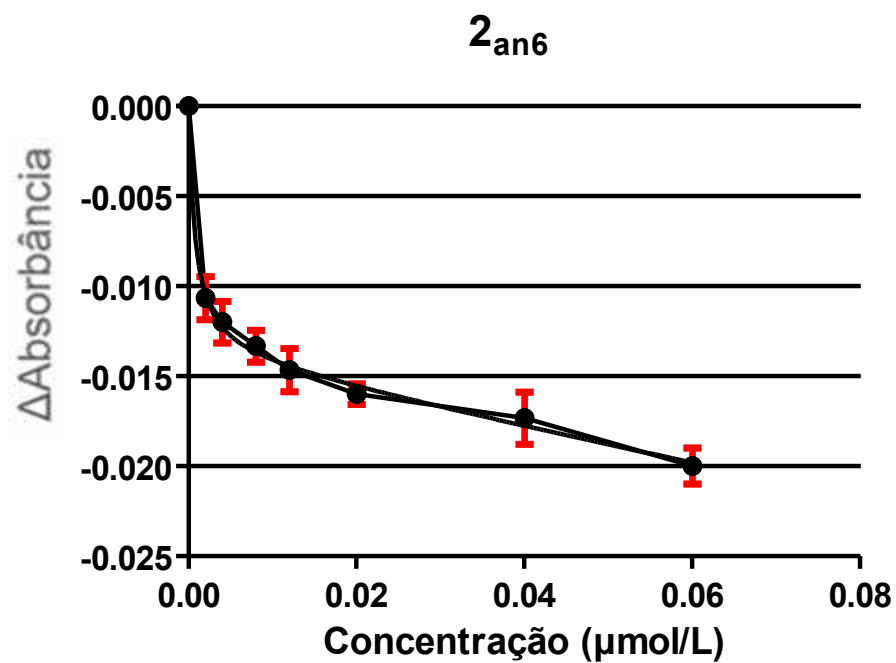


Apêndice C. 2: Gráficos de dispersão XY de absorvância em 401 nm *versus*

concentração resultante de **1a<sub>n8</sub>**

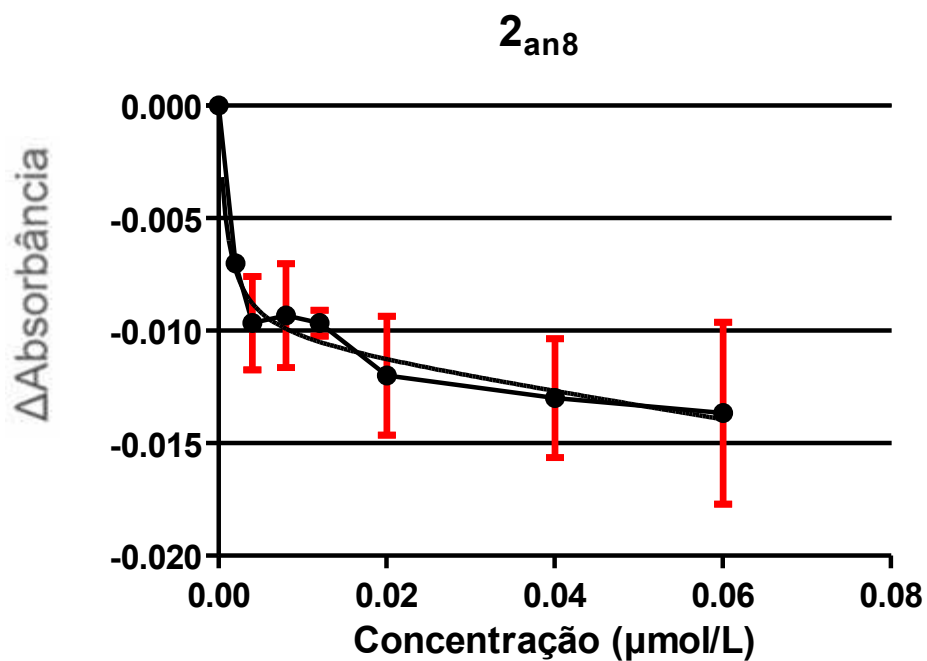


Apêndice C. 3: Gráficos de dispersão XY de absorbância em 401 nm *versus* concentração resultante de **2<sub>an6</sub>**

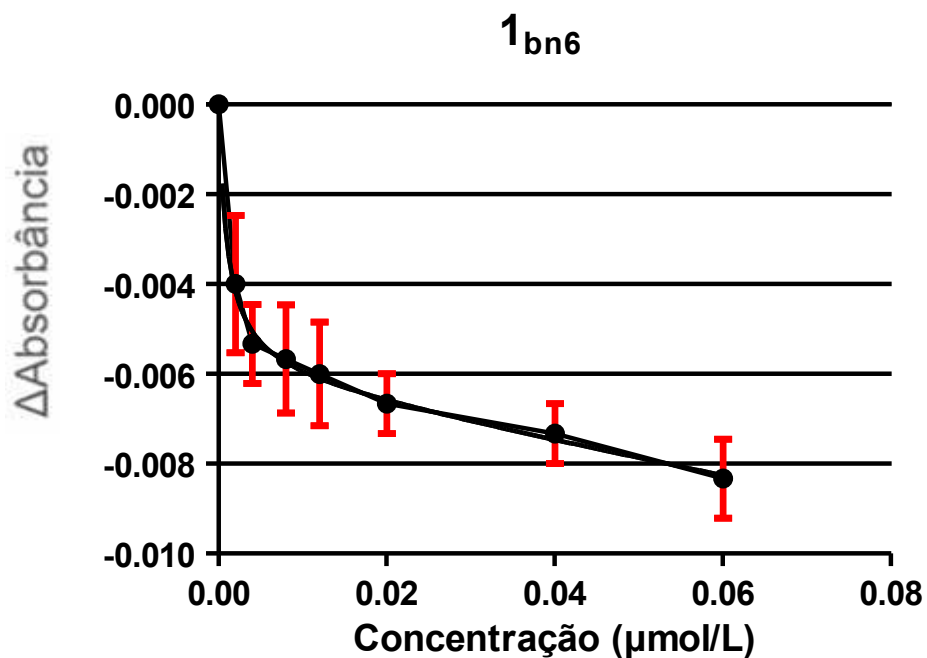


Apêndice C. 4: Gráficos de dispersão XY de absorvância em 401 nm *versus*

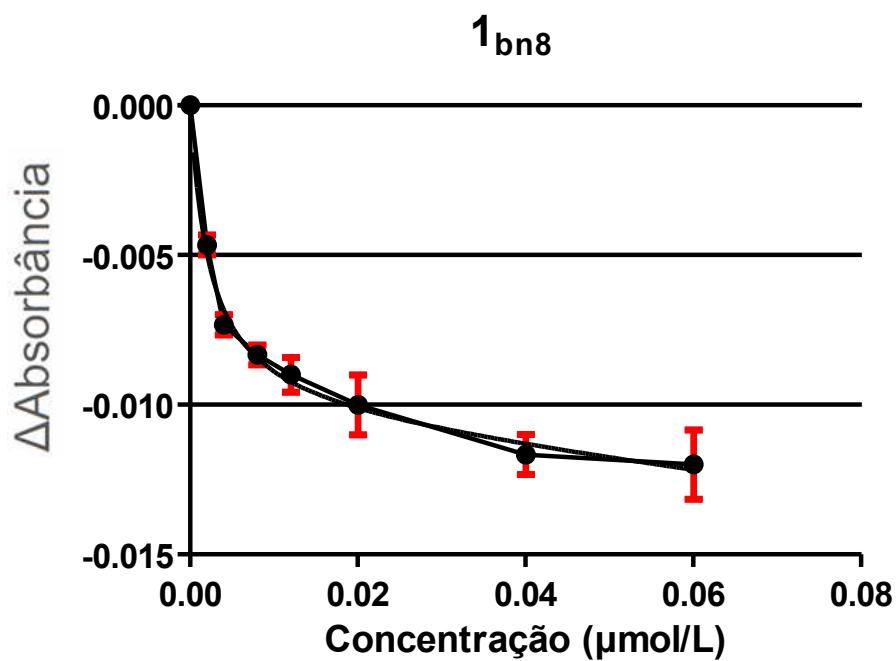
concentração resultante de **2a<sub>n8</sub>**



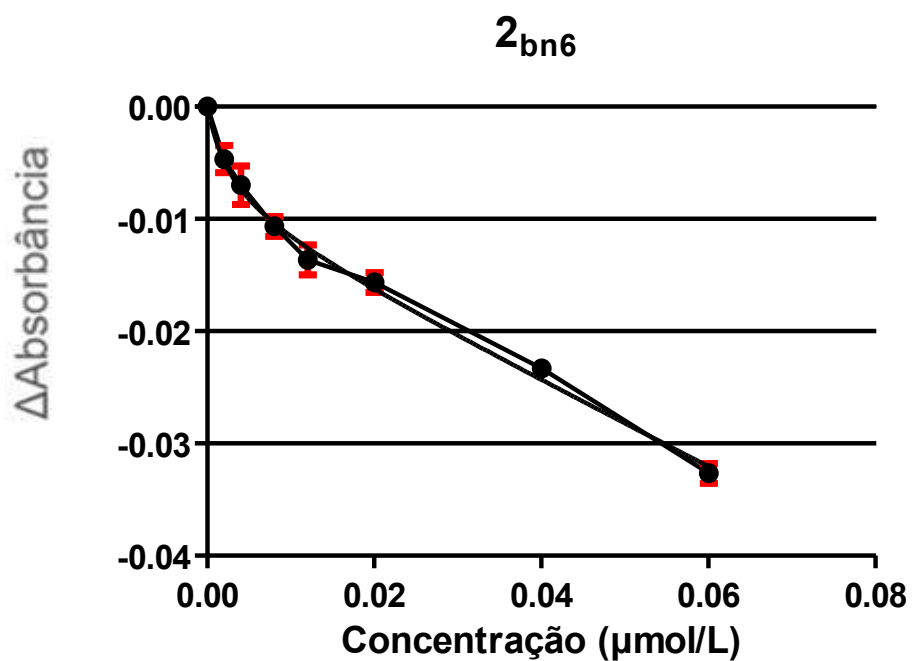
Apêndice C. 5: Gráficos de dispersão XY de absorbância em 401 nm *versus* concentração resultante de **1b<sub>n6</sub>**



Apêndice C. 6: Gráficos de dispersão XY de absorbância em 401 nm *versus* concentração resultante de **1b<sub>n8</sub>**



Apêndice C. 7: Gráficos de dispersão XY de absorbância em 401 nm *versus* concentração resultante de **2b<sub>n6</sub>**



Apêndice C. 8: Gráficos de dispersão XY de absorvância em 401 nm *versus*

concentração resultante de **2b<sub>n8</sub>**

$2_{bn8}$

