



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Rafael da Rosa

**Planejamento, síntese e relação estrutura-atividade de análogos de produtos naturais
com atividade frente ao *Trypanosoma cruzi***

Florianópolis
2020

Rafael da Rosa

**Planejamento, síntese e relação estrutura-atividade de análogos de produtos naturais
com atividade frente ao *Trypanosoma cruzi***

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em
Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para
a obtenção do título de doutor em Farmácia
Orientadora: Prof. Lílian Sibelle Campos Bernardes, Dr.^a
Coorientador: Prof. Eloir Paulo Schenkel, Dr.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

da Rosa, Rafael
Planejamento, síntese e relação estrutura-atividade de
análogos de produtos naturais com atividade frente ao
Trypanosoma cruzi. / Rafael da Rosa ; orientador, Lílian
Sibelle Campos Bernardes, coorientador, Eloir Paulo
Schenkel, 2020.
232 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, , Programa de Pós-Graduação em , Florianópolis,
2020.

Inclui referências.

1. . 2. Trypanosoma cruzi. 3. Doença de Chagas. 4.
Química Medicinal. 5. Síntese Orgânica . I. Campos Bernardes,
Lílian Sibelle. II. Schenkel, Eloir Paulo. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em . IV. Título.

Rafael da Rosa

Planejamento, síntese e relação estrutura-atividade de análogos de produtos naturais com atividade frente ao *Trypanosoma cruzi*

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Flávio da Silva Emery, Dr.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – FCFRP/USP

Prof.^a Lídia Moreira Lima, Dr.^a

Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

Prof.^a Karin Silva Caumo, Dr.^a

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Farmácia.

Prof. Marcos Antonio Segatto Silva, Dr.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmácia

Prof.^a Lílian Sibelle Campos Bernardes, Dr.^a

Orientadora

Florianópolis, 2020.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Santa Catarina, ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia, e às agências de fomento CAPES e CNPq pela infraestrutura e pelo apoio financeiro que tornaram possível a execução deste trabalho.

Aos meus pais Adelino e Elenir e às minhas tias Terezinha e Magrid, que sempre ofereceram apoio incondicional às minhas escolhas.

À minha orientadora e amiga Prof.^a Lílian Sibelle Campos Bernardes. Ela foi responsável pela minha inserção no mundo científico, orientação desde a iniciação científica e junto compartilhamos muitos bons momentos. O mais importante: Lílian nunca me parou quando eu quis dar um passo e, por isso, hoje eu estou caminhando sozinho.

Ao meu co-orientador Prof. Eloir Paulo Schenkel. Obrigado por todo o conhecimento compartilhado e pela avaliação crítica dos meus trabalhos ao longo dos últimos anos. É uma honra ter tido essa oportunidade e eu sinto pelas novas mentes que não terão a mesma chance.

Às minhas supervisoras no doutorado-sanduíche Profs. Florence Popowycz e Maïwenn Jacolot. Elas abriram as portas do *Laboratoire de Chimie Organique et Biorganique* no *INSA-Lyon* e sempre me ofereceram novos desafios que se tornaram grandes oportunidades de evoluir como pesquisador, além de terem proporcionado todo o suporte necessário enquanto eu enfrentava as incertezas relacionadas à mudança.

Aos outros pesquisadores que tiveram papel importante na obtenção dos resultados descritos neste trabalho. Os testes biológicos apresentados foram todos conduzidos pela Dr.^a Milene Hoehr de Moraes e Bibiana Dambrós no Laboratório de Protozoologia (MIP, UFSC) sob supervisão do Prof. Mario Steindel. Além do agradecimento, eu me desculpo novamente por sempre ter aparecido sem avisar carregando dezenas de *eppendorfs* com os compostos. Além deles, também gostaria de agradecer à Lucie Grand (INSA-Lyon), que teve um papel importante na padronização da metodologia de síntese discutida na Parte II deste trabalho.

À banca avaliadora, por ter aceitado o convite para contribuir com este trabalho. As sugestões valiosas feitas durante a defesa pública, agora, estão incluídas na versão final do trabalho.

Ao Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal. Ao longo de quase oito anos o laboratório foi mais do que o meu local de trabalho, sendo uma “entidade” composta por parte de todos os seus integrantes e egressos. Lá eu tive a oportunidade de conhecer e discutir ciência com pessoas vindas do mundo todo, além de cultivar amizades que me marcaram. Entre os

contatos esporádicos e constantes, dezenas de pessoas que passaram e ainda passam por lá ajudaram a formar quem eu sou hoje e, por isso: muito obrigado!

Da mesma forma, gostaria de agradecer aos meus colegas do *Laboratoire de Chimie Organique e Bioorganique* do ICBMS/INSA-Lyon. Eles tornaram o meu estágio de pesquisa no exterior muito mais proveitoso e agradável, ao nível intelectual e pessoal.

RESUMO

Mundialmente, mais de um bilhão de pessoas vivem em áreas endêmicas de alguma das doenças tropicais negligenciadas. Aqui no Brasil, a doença de Chagas, causada pelo *Trypanosoma cruzi*, se destaca como uma das doenças tropicais negligenciadas de maior incidência e letalidade. Apesar de existirem tratamentos farmacológicos para a doença de Chagas, uma série de limitações faz com que seja constante a busca por novas entidades químicas que possam ser desenvolvidas como fármacos. Uma das principais fontes de inspiração para o planejamento de novas moléculas ativas frente ao *T. cruzi* são os produtos de origem natural. Neste trabalho, em duas seções, descrevemos a preparação de compostos com estrutura química inspirada no *scaffold* de produtos naturais. Na primeira seção, a síntese e a avaliação da atividade biológica de derivados do composto 3-(3,4-metilenodioxifenil)-5-(4-clorometilfenil)isoxazol (**33**) são descritas. O composto **33** foi identificado previamente pelo nosso grupo de pesquisa como o mais potente *in vitro* ($IC_{50} = 1,1 \mu M$) entre uma série de análogos das lignanas tetrahidrofurânicas veraguensina e grandisina. Este composto é cerca de nove vezes mais potente que o fármaco benznidazol ($IC_{50} = 10,2 \mu M$) frente aos amastigotas intracelulares do *T. cruzi*. Os novos derivados descritos aqui foram planejados para entendermos aspectos de relação estrutura-atividade da porção benzílica e da porção central do composto **33**. Os resultados mostraram que entre os diferentes grupos funcionais e anéis heterocíclicos explorados, o anel isoxazol presente na região central da molécula ainda é o que mais contribui para a potência dos compostos. Na segunda seção do trabalho, descrevemos uma série de compostos furil-oxazóis sintetizados a partir do 5-hidroxiacetilfurfural. Os compostos finais possuem características estruturais que os assemelham às lignanas tetrahidrofurânicas e aos alcaloides oxazólicos. Dos trinta e dois compostos sintetizados, dezessete foram ativos frente ao *T. cruzi* e quatro deles se destacaram, apresentando IC_{50} na faixa 24,2–49,1 μM . A presença de substituintes apolares e volumosos nesses compostos está, provavelmente, relacionada com a maior atividade. Os compostos também foram avaliados frente à *Leishmania amazonensis*. Porém, os compostos apresentaram baixa atividade. De forma geral, os compostos sintetizados e identificados como ativos podem representar um importante ponto de partida no planejamento futuro de novos *hits* com atividade frente ao *T. cruzi*.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*. Doença de Chagas. Química medicinal. Síntese orgânica.

ABSTRACT

More than 1 billion people worldwide live in areas endemic for neglected tropical diseases. In Brazil, Chagas disease has one of the highest incidences and lethality rates of all neglected tropical diseases. The disease is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and currently lacks effective treatment. The need for new chemical entities to treat Chagas disease has made natural products a significant source of inspiration for medicinal chemists. This work describes the design and synthesis of novel molecules based on the scaffold of natural products. In the first section, the synthesis and biological evaluation of 3-(3,4-methylenedioxyphenyl)-5-(4-chloromethylphenyl)isoxazole (**33**) derivatives is reported. Compound **33** was previously identified by our research group as the most potent ($IC_{50} = 1.1 \mu M$) among a series of analogs of natural tetrahydrofuran lignans, showing an in vitro potency nine times higher than that of the reference drug benznidazole ($IC_{50} = 10.2 \mu M$). The new derivatives described herein were designed to assist in the understanding of structure–activity relationship aspects of the benzylic and central regions of the molecule. The results showed that, among different heterocyclic and acyclic moieties, the isoxazole ring in the center of the molecule is that which most contributes to biological activity against *T. cruzi*. In the second section, a series of furyl-oxazole compounds synthesized from 5-hydroxymethylfurfural is described. The final compounds have features common to natural lignans and oxazole alkaloids. Seventeen compounds were active against *T. cruzi*, four of which had high potency, with IC_{50} values in the range of 24.2 to 49.1 μM . The presence of bulky apolar substituents linked to the oxazole ring are probably related to increased activity. These compounds were also evaluated against *Leishmania amazonensis* but showed lower activity. Overall, the most active compounds may represent an important starting point for the design and synthesis of new compounds with trypanocidal activity.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*. Chagas disease. Medicinal chemistry. Organic synthesis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Evolução da expectativa de vida ao nascer nos Estados Unidos, Brasil, China e nos países da União Europeia e do meio-leste e norte da África entre os anos de 1960 e 2016.	20
Figura 2 – Exemplo de estratégia de modificação molecular visando a mudança conformacional. A adição de átomos de cloro na posição <i>orto</i> do sistema difenilamina (A) altera significativamente a conformação de menor energia da molécula (B).	21
Figura 3 – a) Estrutura química dos fármacos utilizados para tratamento da doença de Chagas: benznidazol (1) e nifurtimox (2). b) Mecanismo de bioativação dos fármacos nitro-heterocíclicos, exemplificado com a porção 2-nitroimidazol presente no fármaco benznidazol.	26
Figura 4 – a) Prevalência mundial da doença de Chagas, b) incidência na América Latina nas últimas décadas (1990–2017).	27
Figura 5 – Estrutura química dos fármacos recentemente investigados em testes clínicos contra a doença de Chagas. O posaconazol não foi efetivo, enquanto o fexinidazol e E1224 ainda continuam em avaliação.	28
Figura 6 – Derivados de produtos naturais obtidos por semissíntese ou por síntese total que são ativos frente às diferentes formas evolutivas do <i>T. cruzi</i>	31
Figura 7 – Estrutura do estibogliconato de sódio (6), antimoniato de meglumina (7), paromomicina (8), pentamidina (9), miltefosina (10) e anfotericina B (11); fármacos utilizados para o tratamento da leishmaniose.	36
Figura 8 – a) Países com mais de 4,8 mil casos prevalentes de leishmaniose, b) incidência da doença no Brasil nas últimas décadas (1990–2017).	37
Figura 9 – Estrutura química das neolignananas tetrahidrofurânicas com atividade tripanocida.	81
Figura 10 – Estrutura de diferentes séries de compostos tripanocidas planejados com base nos compostos naturais grandisina e veraguensina.	83
Figura 11 – Estrutura química e informações biológicas de alguns dos derivados isoxazóis ativos contra <i>T. cruzi</i>	84
Figura 12 – Estrutura química, potência e seletividade do composto 33 frente aos amastigotas intracelulares de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen) e <i>L. amazonensis</i> (LBT0016).	84
Figura 13 – Representação dos derivados do composto 33 propostos para o estudo de relação estrutura-atividade.	85
Figura 14 – Esquema de retrosíntese para obtenção dos derivados isoxazóis 3,5-dissubstituídos.	86
Figura 15 – Síntese dos derivados -clorometila, -fluorometila, -bromometila e -iodometila.	87
Figura 16 – Representação do composto 33 e dos grupos funcionais e anéis conectores que serão utilizados em substituição ao anel isoxazol.	92
Figura 17 – Esquema de síntese do derivado amida 46.	94
Figura 18 – Deslocamento químico dos hidrogênios e carbonos do <i>linker</i> éster e amida.	94
Figura 19 – Esquema de síntese dos derivados chalcona (49) e amina (50).	95
Figura 20 – Estratégias de síntese do bloco de construção aldeído 48, utilizado para síntese de alguns dos derivados finais.	95
Figura 21 – Mecanismo de formação do composto chalcona 49 e do subproduto 52.	98
Figura 22 - Deslocamento químico dos hidrogênios e carbonos da cetona α,β -insaturada do composto 49 e do substituinte metoximetil, encontrado no subproduto 52.	99
Figura 23 – Mecanismo da reação de aminação redutiva utilizada para síntese do composto 50.	99
Figura 24 – Deslocamento químico dos metilenos das ligações C–N do composto 50.	100

Figura 25 – Primeira estratégia empregada para a síntese do derivado éter, utilizando 1-bromometil-4-clorometilbenzeno como material de partida.....	100
Figura 26 - Segunda estratégia empregada para a síntese do derivado éter, utilizando um cloreto de benzila protegido como material de partida.	101
Figura 27 – Deslocamento químico dos metilenos das ligações éter e do grupo protetor TBDMS do composto 56	102
Figura 28 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto 62 , contendo o anel isoxazolina.....	104
Figura 29 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos do anel isoxazolina do composto 62	105
Figura 30 – Conformação de menor energia do derivado isoxazolina 62 , em comparação com a conformação de menor energia do derivado isoxazol 33	105
Figura 31 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto 66 , contendo o anel 1,2,3-triazol.	106
Figura 32 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos do anel 1,2,3-triazol do composto 66	106
Figura 33 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto 72 , contendo o anel oxazol.	107
Figura 34 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos do anel oxazol do composto 72 . 108	
Figura 35 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto 76 , contendo o anel 1,2,4-oxadiazol. 109	
Figura 36 – Deslocamentos químicos dos carbonos da <i>O</i> -acil-amidoxima 75 e do anel 1,2,4-oxadiazol do composto 76	109
Figura 37 – Rota sintética proposta para a obtenção do composto 78 , contendo o anel tetrazol.	110
Figura 38 – IC ₅₀ e índice de seletividade dos compostos 49 e 76	113
Figura 39 – Sobreposição do confôrmero de menor energia do composto 33 com os dos seus derivados. a) todos os derivados sintetizados sobrepostos ao composto 33 ; b) compostos 62 , 66 , 72 e 76 sobrepostos ao composto 33 ; c) compostos 45–46 , 49 e 50 sobrepostos ao composto 33	114
Figura 40 – Alguns dos compostos químicos sintetizados a partir do 5-HMF através de modificações nos grupos funcionais aldeído e hidroximetila e no anel furânico.	118
Figura 41 – Estrutura de seis compostos oxazólicos isolados de plantas superiores.	119
Figura 42 – Proposta de derivados potencialmente tripanocidas com base no <i>scaffolds</i> das lignanas tetrahydrofurânicas e dos alcaloides oxazólicos.....	120
Figura 43 – Mecanismo da reação de síntese de oxazóis a partir do 5-HMF e TosMIC.	121
Figura 44 – Mecanismo proposto para a arilação do carbono 2 de (benz)oxazóis catalisada por paládio e/ou cobre. Adaptado de Bellina (2008).....	125
Figura 45 – Esquema da rota sintética proposta para obtenção dos derivados furil-oxazólicos.	125
Figura 46 – Espectros de RMN de ¹ H (400 MHz, MeOD) do 5-HMF e da reação para obtenção do composto oxazólico após 30 minutos.	126
Figura 47 – Espectro de RMN de ¹ H do composto 5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (400 MHz, MeOD).....	127
Figura 48 – Espectro de RMN de ¹³ C do composto 5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (100 MHz, MeOD).....	128
Figura 49 – Estrutura, conversão (C) e rendimento (R) dos compostos furil-oxazólicos sintetizados utilizando a metodologia padronizada.....	133
Figura 50 – Esquema do mecanismo proposto para a arilação direta e para a oxidação parcial da porção –hidroximetila.....	135
Figura 51 – Rendimento dos compostos 103 , 105 , 109–110 e 114 sintetizados utilizando a metodologia sem o uso de catalisador de paládio.....	136
Figura 52 – Esquema de síntese do composto 124 contendo o anel 3,4-metilenodioxí.....	137
Figura 53 – Deslocamento químico (¹ H e ¹³ C) do carbono 2 do anel oxazol do material de partida em comparação com o dos compostos finais.	137

Figura 54 – Gráfico de dispersão dos componentes principais 1 e 2 dos compostos furil-oxazólicos sintetizados.	142
Figura 55 – Estrutura dos compostos mais ativos frente ao <i>T. cruzi</i> (Tulahuen) e <i>L. amazonensis</i> (LBT0016) identificados nas partes 1 e 2 deste trabalho.	148
Figura 56 – Substituição do anel 4-hidroximetilfenil (composto 71) pelo anel 5-hidroximetilfurano (composto 124) leva ao aumento da atividade biológica em <i>T. cruzi</i>	148
Figura 57 – Gráfico de dispersão dos componentes principais 1 e 2 de duzentas e vinte-quatro moléculas ativas <i>in vitro</i> frente ao <i>T. cruzi</i>	149
Figura 58 - Representação do peso das variáveis analisadas nos componentes 1 e 2 das duzentas e vinte-quatro moléculas ativas <i>in vitro</i> frente ao <i>T. cruzi</i>	150
Figura 59 – Interações dos compostos 33 (à esquerda) e 122 (à direita) com os alvos moleculares selecionados por <i>target fishing</i> . a) diidrofolato redutase.	155
Figura 60 – Interações dos compostos 33 (à esquerda) e 122 (à direita) com os alvos moleculares selecionados por <i>target fishing</i> . b) dUTPase; c) CYP51.	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Doenças tropicais negligenciadas (OMS) e seus agentes etiológicos.....	23
Tabela 2 – Peso molecular e número de centros estereogênicos, anéis, e carbonos <i>sp</i> ³ dos derivados de alcaloides, lignanas e terpenoides ativos contra <i>T. cruzi</i>	32
Tabela 3 – Critérios para seleção de compostos <i>hits</i> com atividade tripanocida em ensaios pré-clínicos.	33
Tabela 4 – Espécies que atuam como agentes etiológicos das três formas de leishmaniose.....	35
Tabela 5 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos benzílicos dos compostos 33 e 41–43	88
Tabela 6 – Avaliação da atividade biológica (IC ₅₀) dos compostos 33 e 41–43 frente aos amastigotas intracelulares de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen) e <i>L. amazonensis</i> (LBT0016).	89
Tabela 7 – Intervalos de <i>combination index</i> (CI) e os seus significados.....	90
Tabela 8 – Valores de <i>combination index</i> (CI) para os compostos 33 , 42 e 43	90
Tabela 9 – Condições reacionais empregadas para a síntese do derivado 45	93
Tabela 10 – Condições experimentais utilizadas para a redução total do ácido carboxílico.....	96
Tabela 11 – Condições reacionais utilizadas para redução parcial do álcool 4-etinilbenzílico 37	104
Tabela 12 – Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento (72 h) dos amastigotas de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen) com 50 µM dos compostos.	111
Tabela 13 – Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento (72 h) dos amastigotas de <i>L. amazonensis</i> (LBT0016) com 50 µM dos compostos.	112
Tabela 14 – Principais metodologias para síntese de oxazóis utilizando TosMIC.....	122
Tabela 15 – Resumo das condições de algumas das metodologias de arilação direta de (benz)oxazóis.	124
Tabela 16 – Primeiras tentativas de arilação do composto 91 utilizando duas metodologias descritas na literatura.....	129
Tabela 17 – <i>Screening</i> de condições reacionais para a arilação do carbono 2 do anel oxazólico do composto 91	130
Tabela 18 – <i>Screening</i> de condições reacionais para a arilação do carbono 2 do anel oxazólico do composto 91 com 1-iodo-4-nitrobenzeno.....	136
Tabela 19 – Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento (72 h) dos amastigotas de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen) com 50 µM dos furil-oxazóis.....	139
Tabela 20 – IC ₅₀ e índice de seletividade dos furil-oxazóis mais ativos frente aos amastigotas intracelulares <i>T. cruzi</i> (Tulahuen).....	140
Tabela 21 – Peso atribuído às variáveis nos componentes principais dos compostos furil-oxazólicos.	141
Tabela 22 – Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento dos amastigotas de <i>L. amazonensis</i> (LBT0016) com 50 µM dos furil-oxazóis.....	144
Tabela 23 – Alvos moleculares do <i>T. cruzi</i> selecionados para o <i>target fishing</i>	151
Tabela 24 – <i>Fitness scores</i> dos ligantes cristalográficos e a eficiência da pontuação de cada função.	152
Tabela A1 – Dados das proteínas utilizadas no <i>docking</i> molecular e informações dos parâmetros utilizados para a validação do procedimento.....	174
Tabela A2 – <i>Fitness score</i> da pose de menor RMSD e a sua posição na lista decrescente de <i>scores</i> nas funções de pontuação CHEMPLP, GoldScore e ChemScore.....	175
Tabela A3 – Distância (Å) das interações visualizadas por <i>docking</i> molecular entre os compostos 33 e 122 e a enzima diidrofolato redutase (3HBB).	175

Tabela A4 – Distância (Å) das interações visualizadas por <i>docking</i> molecular entre os compostos 33 e 122 e a enzima dUTPase (1OGK).	175
Tabela A5 – Distância (Å) das interações visualizadas por <i>docking</i> molecular entre os compostos 33 e 122 e a enzima CYP51 (4C0C).	175
Tabela A6 – Importância dos componentes principais PC1–PC20 referentes aos compostos furil-oxazólicos (Seção 5.2).....	177
Tabela A7 – Importância dos componentes principais PC1–PC20 referentes aos compostos mais ativos deste trabalho e aos <i>hits</i> identificados pela GSK (Seção 6)	178

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

[bmIm]Br	Brometo de 1-butil-3-metilimidazólio
5-HMF	5-hidroximetilfurfural
AcOEt	Acetato de etila
ADMET	Absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade
ANOVA	Análise de variância
CC₅₀	Concentração citotóxica para 50% das células
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDI	<i>N,N</i> -carbonildiimidazol
CI	<i>Combination index</i>
Conv	Conversão
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octano
DME	Dimetoxietano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNDi	<i>Drugs for Neglected Diseases Initiative</i>
DP	Desvio padrão
DTNs	Doenças tropicais negligenciadas
δ	Deslocamento químico, expresso em ppm em relação à uma referência
EC₅₀	Concentração efetiva em 50% dos parasitas/células
FDA	<i>Federal Drug Administration</i>
HBA	<i>Hydrogen bond acceptor</i> – Aceptor de ligação de hidrogênio
HBD	<i>Hydrogen bond donor</i> – Doador de ligação de hidrogênio
IC₅₀	Concentração que causa o efeito biológico em 50% dos parasitas/células
IS	Índice de seletividade
LC	Leishmaniose cutânea
LMC	Leishmaniose muco-cutânea
logP ou clogP	Coefficiente de partição octanol/água (calculado)
logS	Logaritmo do produto da solubilidade aquosa (mol L ⁻¹)
LV	Leishmaniose visceral
MeOH	Metanol
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2 <i>H</i> -tetrazólio
MW	Micro-ondas
NCS	<i>N</i> -clorosuccinimida

NTR	Nitroreduases
OECD	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
P&D	Pesquisa e desenvolvimento
P90	Percentil 90%
PC	<i>Principal component</i> – Componente principal
PCA	<i>Principal component analysis</i> – Análise de componentes principais
Rdt	Rendimento
RMN	Ressonância magnética nuclear
RCP	Redução da carga parasitária intracelular, expressa em porcentagem
SBF	Soro bovino fetal
t.a.	Temperatura ambiente
TBAF	Fluoreto de tetrabutílamônio
TBDMS	<i>tert</i> -butil-dimetil-silila
<i>tert</i>-BuOH	Álcool butílico terciário
THF	Tetrahidrofurano
TosMIC	Isocianato de toluenometilsulfonila
TPP	Trifenilfosfina

SUMÁRIO

1 APRESENTAÇÃO	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS E AS DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS	20
2.2 DOENÇA DE CHAGAS: ASPECTOS BIOLÓGICOS, TRATAMENTO ATUAL E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	24
2.2.1 NOVOS TRATAMENTOS PARA A DOENÇA DE CHAGAS: CENÁRIO ATUAL E ABORDAGENS PARA IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS <i>HITS</i> , COM FOCO NOS PRODUTOS NATURAIS	28
2.3 LEISHMANIOSE: ASPECTOS BIOLÓGICOS, TRATAMENTO ATUAL E DADOS EPIDEMIOLÓGICOS	34
3 OBJETIVOS	40
3.1 OBJETIVO GERAL	40
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1 SÍNTESE	43
4.1.1 INFORMAÇÕES GERAIS	43
4.1.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPOSTOS DISCUTIDOS NA PARTE I	44
4.1.3 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS COMPOSTOS DISCUTIDOS NA PARTE II	57
4.2 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA	71
4.2.1 INFORMAÇÕES GERAIS	71
4.2.2 CULTIVO DOS PARASITOS E CÉLULAS	71
4.2.3 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES ESTOQUE DOS COMPOSTOS QUÍMICOS	71
4.2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TRIPANOCIDA FRENTE AOS AMASTIGOTAS INTRACELULARES DE <i>T. cruzi</i>	72
4.2.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA FRENTE AOS AMASTIGOTAS INTRACELULARES DE <i>L. amazonensis</i>	72
4.2.6 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS THP-1	73
4.2.7 REGRESSÃO NÃO-LINEAR E ANÁLISE ESTATÍSTICA	73
4.3 OUTROS PROCEDIMENTOS	74
4.3.1 CÁLCULO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E TOPOLÓGICAS	74
4.3.2 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (<i>PCA ANALYSIS</i>)	74
4.3.3 PREPARAÇÃO DOS LIGANTES PARA <i>DOCKING</i> MOLECULAR	74
4.3.4 PREPARAÇÃO DOS <i>DECOYS</i> PARA <i>DOCKING</i> MOLECULAR	74
4.3.5 <i>DOCKING</i> MOLECULAR E <i>TARGET FISHING</i>	75

5.1 PARTE I – SÍNTESE DE DERIVADOS DE UM COMPOSTO ISOXAZÓLICO ATIVO FRENTE AO <i>Trypanosoma cruzi</i>	80
5.1.1 INTRODUÇÃO	80
5.1.2 DETERMINAÇÃO DA IMPORTÂNCIA DO HALOGENÍO BENZÍLICO NA ATIVIDADE DO COMPOSTO 33	85
5.1.3 SÍNTESE DE DERIVADOS CONTENDO <i>LINKERS</i> ACÍCLICOS ENTRE OS ANÉIS FENÍLICOS	92
5.1.3.1 <i>Síntese dos derivados éster e amida</i>	92
5.1.3.2 <i>Síntese dos derivados amina e chalcona</i>	95
5.1.3.3 <i>Síntese do derivado éter</i>	100
5.1.4 SÍNTESE DE DERIVADOS CONTENDO UM ANEL HETEROCÍCLICO ENTRE OS ANÉIS FENÍLICOS	102
5.1.4.1 <i>Síntese do derivado isoxazolina 3,5-dissubstituído</i>	102
5.1.4.2 <i>Síntese do derivado 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído</i>	105
5.1.4.3 <i>Síntese do derivado oxazol 2,5-dissubstituído</i>	107
5.1.4.4 <i>Síntese do derivado 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído</i>	108
5.1.4.5 <i>Síntese do derivado tetrazol 2,5-dissubstituído</i>	109
5.1.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DOS DERIVADOS CONTENDO <i>LINKERS</i> ACÍCLICOS E HETEROCÍCLICOS	111
5.1.6 CONCLUSÕES	115
5.2 PARTE II – SÍNTESE DE COMPOSTOS OXAZÓLICOS A PARTIR DO 5-HIDROXIMETILFURFURAL E AVALIAÇÃO FRENTE AO <i>Trypanosoma cruzi</i>	117
5.2.1 INTRODUÇÃO	117
5.2.2 PLANEJAMENTO DE COMPOSTOS POTENCIALMENTE TRIPANOCIDAS A PARTIR DO 5-HMF	118
5.2.3 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO 5-(5-HIDROXIMETILFURAN-2-IL)OXAZOL	126
5.2.4 SÍNTESE DOS DERIVADOS FURIL-OXAZÓIS POR MEIO DE ARILAÇÃO DIRETA: OTIMIZAÇÃO	128
5.2.5 INVESTIGAÇÃO DO ESCOPO DA METODOLOGIA DE SÍNTESE DOS DERIVADOS FURIL-OXAZÓIS	132
5.2.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DOS COMPOSTOS OXAZÓIS 2,5-DISSUBSTITUÍDOS FRENTE AO <i>T. cruzi</i>	138
5.2.6.1 <i>Análise dos componentes principais – PCA</i>	140
5.2.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DOS COMPOSTOS OXAZÓIS 2,5-DISSUBSTITUÍDOS FRENTE À <i>L. amazonensis</i>	143
5.2.8 CONCLUSÕES	144
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	147
6.1 TARGET FISHING APLICADO AO METABOLISMO DO <i>T. cruzi</i>	151
REFERÊNCIAS	158
APÊNDICES	173
APÊNDICE A – INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES DO DOCKING MOLECULAR	174
APÊNDICE B – INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS	177
ANEXOS	179
ANEXO A – ESPECTROS DE RMN DE ¹H E ¹³C DOS COMPOSTOS FINAIS APRESENTADOS NESTE TRABALHO	179

APRESENTAÇÃO

1 APRESENTAÇÃO

O planejamento de novos compostos químicos com inspiração em características presentes em produtos naturais é uma ferramenta valiosa para obtenção de moléculas ativas frente ao *T. cruzi*. Isso motiva o nosso grupo de pesquisa a explorar o espaço químico ocupado pelos produtos naturais na busca de novas moléculas sintéticas com potencial atividade tripanocida. Uma revisão da literatura mostra que, nas últimas décadas, diferentes estratégias de planejamento com base em produtos naturais vêm sendo empregadas. Esses dados foram usados como base para a elaboração de um trabalho publicado no periódico **Phytochemistry Reviews**, v. 19, p. 105–122, 2020 (R. da Rosa et al) e também são apresentados como parte da revisão da literatura neste trabalho.

Para facilitar a compreensão, os resultados da tese estão organizados em duas seções, com as conclusões discutidas logo ao final de cada seção. A **Parte I**, “Síntese de derivados de um composto isoxazólico ativo frente ao *Trypanosoma cruzi*”, trata da síntese de derivados do composto 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)isoxazol (**33**). O composto **33** é um análogo de produto natural, desenvolvido com base na estrutura das lignanas tetrahydrofurânicas, que teve sua atividade tripanocida identificada pelo nosso grupo de pesquisa e seus colaboradores. Esses resultados são descritos em detalhes no periódico **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 128, p. 25–35, 2017 (R. da Rosa et al). Nesta primeira parte, buscamos a obtenção de novos derivados acíclicos e heterocíclicos do composto **33**, visando avaliar a influência das modificações moleculares na atividade tripanocida dos compostos.

Na **Parte II**, “Síntese de compostos oxazólicos a partir do 5-hidroxiacetilfurfural e avaliação frente ao *Trypanosoma cruzi*”, são apresentados os resultados obtidos durante o estágio de doutorado-sanduiche realizado no *Laboratoire de Chimie Organique et Bioorganique*, no *Institut National des Sciences Appliquées de Lyon*. No laboratório é desenvolvida uma linha de pesquisa com o bloco de construção 5-hidroxiacetilfurfural para a obtenção de novos compostos químicos. Utilizando a experiência do grupo de pesquisa no desenvolvimento de novas metodologias de síntese, planejamos a preparação de uma série de compostos furil-oxazólicos. A estrutura geral desses derivados é análoga ao *scaffold* de duas classes distintas de produtos naturais: as lignanas tetrahydrofurânicas e os alcaloides oxazólicos. A padronização da metodologia de síntese também foi descrita em um artigo aceito para publicação no periódico **Synlett** em dezembro de 2020 (R. da Rosa et al) e os resultados biológicos frente ao *T. cruzi* são apresentados aqui pela primeira vez.

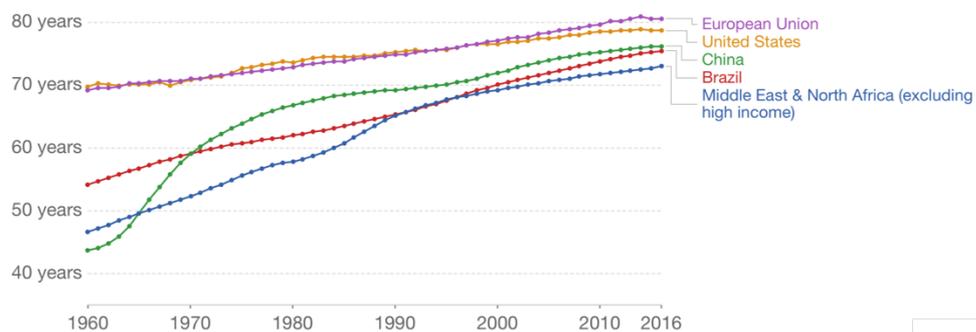
REVISÃO DA LITERATURA

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DESENVOLVIMENTO DE NOVOS FÁRMACOS E AS DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS

Nas últimas décadas, avanços científicos e mudanças no cenário global vêm influenciando diferentes indicadores socioeconômicos, como o IDH, o PIB *per capita* e a expectativa de vida. Apesar de muitas regiões ainda apresentarem resultados aquém do considerado ideal por instituições como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Banco Mundial, o panorama em comparação com dados históricos mostra uma evolução significativa (Figura 1). É inegável que parte dessas mudanças são reflexos diretos de avanços na área da saúde, sejam eles no âmbito público ou privado.

Figura 1 – Evolução da expectativa de vida ao nascer nos Estados Unidos, Brasil, China e nos países da União Europeia e do meio-leste e norte da África entre os anos de 1960 e 2016.



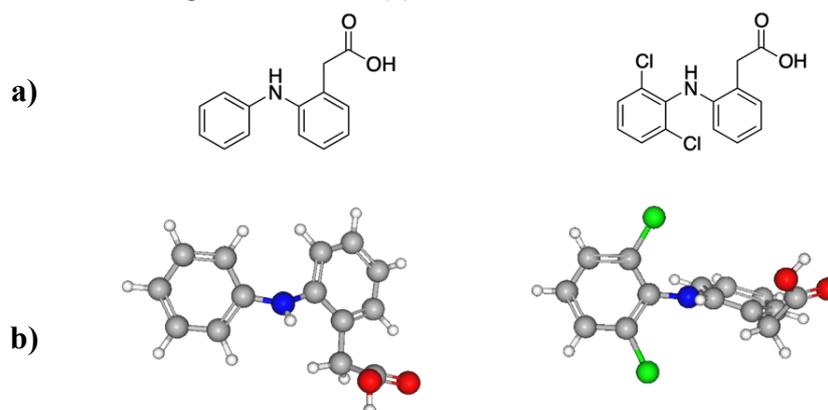
Fonte: Our World in Data (2020).

Entre esses avanços, podemos destacar o desenvolvimento de novos medicamentos e a maior acessibilidade destes tratamentos por indivíduos que, em um passado não tão distante, careciam de opções farmacológicas específicas e eficazes para o tratamento da sua condição. Todos os anos dezenas de novos princípios ativos são aprovados por agências regulatórias, como a *Federal Drug Administration* (FDA), e chegam ao mercado para o tratamento de diferentes doenças. A maioria desses fármacos é desenvolvido por indústrias farmacêuticas, que movimentam um mercado estimado em US\$ 500 bilhões nos países membros da OECD (OECD, 2020). O processo de desenvolvimento de novos fármacos é longo e passa por diversas etapas, classificados como pré-clínicas e clínicas.

De forma geral, as etapas pré-clínicas englobam: i) a definição de uma doença e de um alvo molecular relevante para a fisiopatologia dessa doença; ii) a identificação de compostos químicos (*hits*) que possam modular a atividade deste alvo molecular e, iii) a otimização das

propriedades biológicas (eficácia e ADMET) destes *hits* para que eles venham a se tornar um composto líder—promissor para que seja extensivamente estudado e que se torne um candidato a fármaco (PATRICK, 2017). A descoberta de um composto hit e o seu desenvolvimento até um composto líder são sempre acompanhados de testes *in silico*, *in vitro* ou *in vivo*. Os testes *in silico* utilizam ferramentas computacionais para simular cenários biológicos e avaliar a possibilidade de interação com alvos moleculares ou, então, estimar e examinar características químicas relacionadas com a bioatividade, como solubilidade aquosa, logP, presença de *scaffolds* associados à toxicidade, entre outros. Apesar desses testes *in silico* auxiliarem em etapas iniciais de desenvolvimento, eles precisam ser acompanhados de testes *in vitro*, realizados em enzimas, células ou tecidos; e teste *in vivo*, realizados em modelos animais. É importante salientar que a otimização de um *hit* deve ser encarada de forma multivariável, uma vez que a inibição eficaz de um processo bioquímico não é o único fator que deve ser almejado. Seletividade, toxicidade, estabilidade metabólica e propriedades físico-químicas são algumas das características que também possuem papel importante na ação de uma molécula bioativa e devem ser otimizadas concomitantemente à eficácia (BLOMME; WILL, 2016; PENNER; XU; PRAKASH, 2012). Essas propriedades são moduladas através do planejamento e síntese de análogos estruturais utilizando diferentes estratégias de modificação molecular. As estratégias podem incluir a variação de grupos funcionais, sistemas cíclicos, a adição de grupos funcionais para restrição ou mudança conformacional, bioisosterismo, entre outros (Figura 1).

Figura 2 – Exemplo de estratégia de modificação molecular visando a mudança conformacional. A adição de átomos de cloro na posição *orto* do sistema difenilamina (a) altera significativamente a conformação de menor energia da molécula (b).



Uma vez que os análogos tenham a sua atividade biológica avaliada, aspectos de relação estrutura-atividade podem ser sugeridos. O conhecimento desses aspectos é essencial para auxiliar no desenvolvimento de um composto que possua características químicas e biológicas

adequadas para se tornar um fármaco (VAN DE WATERBEEMD; ROSE, 2015; WERMUTH, 2015).

Durante o desenvolvimento pré-clínico, milhares de compostos são sintetizados e avaliados em busca da “molécula ideal”. Após um candidato a fármaco ser identificado, as etapas de desenvolvimento clínico visam garantir a segurança e eficácia daquele composto para o uso humano. Os testes clínicos são divididos em quatro fases (I–IV) de complexidade crescente; onde aspectos como a formulação e dose adequada, presença ou não de eficácia terapêutica e incidência de efeitos colaterais podem ser determinados. Os testes clínicos de fase I são realizados com um pequeno grupo (<100) de voluntários saudáveis com o objetivo de determinar a segurança do novo princípio ativo em humanos. Uma vez que haja evidências da segurança, a fase II clínica avalia a eficácia, dosagem e formulação em um número maior de pacientes (100–300) portadores da doença alvo do estudo. Os dados obtidos durante os testes clínicos de fase II são utilizados para planejar o estudo em um número maior de pacientes (1000–3000), cujo resultados serão a evidência definitiva da eficácia do candidato a fármaco no tratamento daquela doença. Geralmente os testes clínicos de fase III são duplo-cego, randomizados e controlados por placebo. Esses parâmetros auxiliam na eliminação de qualquer viés—intencional ou não—na análise dos resultados obtidos. Dessa forma, quaisquer eventuais benefícios terapêuticos ou efeitos indesejáveis podem ser associados ao tratamento experimental de forma segura. Muitas vezes, um grupo de pacientes em tratamento com algum fármaco já disponível no mercado também é incluído no estudo, de forma a demonstrar eventuais benefícios do novo tratamento em comparação com os já existentes. O registro de uma nova entidade química para uso como fármaco pelas agências regulatórias acontece após a fase III clínica. No entanto, mesmo após a chegada do novo medicamento ao mercado, os efeitos da sua utilização em toda a população continuam sendo observados por órgãos específicos responsáveis pela farmacovigilância. A fase de farmacovigilância é conhecida como fase clínica IV e auxilia principalmente na identificação de novos efeitos adversos raros, além de monitorar o efeito do medicamento em populações que porventura não tenham sido representadas nas fases clínicas anteriores (como gestantes, crianças e idosos).

O processo de desenvolvimento de um novo fármaco é longo, oneroso e tem uma taxa de sucesso variável. É estimado que o investimento médio em pesquisa e desenvolvimento (P&D) de um novo fármaco, incluindo o valor gasto naquelas moléculas que falharam, pode chegar a US\$ 2,6 bilhões (MULLARD, 2014). Dessa forma, muitas decisões na indústria farmacêutica são feitas com base em estimativas da demanda do mercado para aquele tratamento (SPIEGEL, 1991; TAYLOR, 2015). Em 2019, por exemplo, 23% das novas entidades químicas aprovadas

pela FDA eram destinadas ao tratamento de algum tipo de câncer, ao mesmo tempo em que cerca de 1,7 milhão de novos casos da doença foram diagnosticados nos EUA, que é o país que detém o maior mercado farmacêutico (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020; MULLARD, 2020). Em contraste, temos uma série de doenças infecciosas altamente prevalentes em países em desenvolvimento que possuem poucas ou nenhuma opção terapêutica eficaz devido ao baixo potencial mercadológico destes países (Tabela 1). Esse grupo de doenças é conhecido como doenças tropicais negligenciadas (DTNs). As DTNs afetam diferentes indicadores socioeconômicos nas regiões em que elas são endêmicas. Isso torna a população ainda mais vulnerável devido aos impactos indiretos das doenças mesmo em indivíduos não infectados (OMS, 2017).

Tabela 1 – Doenças tropicais negligenciadas (OMS) e seus agentes etiológicos.

Doença	Agente etiológico
Dengue e chikungunya	<i>Dengue virus e Chikungunya virus</i>
Doença de Chagas	<i>Trypanosoma cruzi</i>
Tripanossomíase africana	<i>Trypanosoma brucei</i> spp.
Dracunculíase	<i>Dracunculus medinensis</i>
Equinococose	<i>Echinococcus</i> sp.
Esquistossomose	<i>Schistosoma</i> sp.
Filariose linfática	<i>Wuchereria bancrofti, Brugia malayi, Brugia timori.</i>
Hanseníase	<i>Mycobacterium leprae</i>
Helmintíases	<i>Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Necator americanus, Ancylostoma duodenale</i>
Infecções por trematodas	<i>Clonorchis</i> spp., <i>Opisthorchis</i> spp., <i>Fasciola</i> spp., <i>Paragonimus</i> spp.
Leishmaniose	<i>Leishmania</i> spp.
Oncocercose	<i>Onchocerca volvulus</i>
Raiva	<i>Rabies virus</i>
Teníase/cisticercose	<i>Taenia solium</i>
Tracoma	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Treponematose endêmica	<i>Treponema pallidum</i> spp.
Úlcera de Buruli	<i>Mycobacterium ulcerans</i>

Esforços comandados pela OMS em conjunto com governos locais e organizações não governamentais como o *Drugs for Neglected Diseases Initiative* (DNDi) e a Fundação Bill & Melinda Gates foram capazes de diminuir drasticamente a incidência de algumas dessas doenças através de ações coordenadas visando a prevenção e o acesso ao tratamento, quando disponível. O DNDi também atua em diferentes etapas da pesquisa e desenvolvimento de novas entidades químicas para a doença de Chagas, tripanossomíase africana, leishmaniose, filariose,

entre outras doenças (DNDI, 2020a). Apesar destas informações serem animadoras, um grande avanço ainda precisa ser feito de forma a reduzir os impactos das DTNs na população afetada, que chega a mais de 1 bilhão de pessoas. No Brasil, é estimado que até 2017 havia 23,5 milhões de casos prevalentes de DTNs. Destes, cerca de 10,5 milhões de casos englobam as diferentes helmintíases e infecções por trematodas (JAMES et al., 2018; MARTINS-MELO et al., 2018). Entre as demais doenças, a esquistossomose (~9,0 milhões), a doença de Chagas (~2,3 milhões) e as leishmanioses (~49 mil) estão entre as mais prevalentes e representam uma importante causa de mortalidade, respondendo por cerca de 90% dos obtidos decorrentes de DNTs no período 2000–2011 (MARTINS-MELO et al., 2016).

As próximas seções apresentarão os aspectos biológicos, fisiopatológicos e a terapia da doença de Chagas. Abordagens para o desenvolvimento pré-clínico de novas entidades químicas ativas contra o *T. cruzi* também serão discutidas. Como parte dos dados experimentais apresentados neste trabalho trata também da investigação biológica de alguns compostos em *Leishmania* spp., uma breve revisão sobre os diferentes tipos de leishmaniose também é feita.

2.2 DOENÇA DE CHAGAS: aspectos biológicos, tratamento atual e dados epidemiológicos

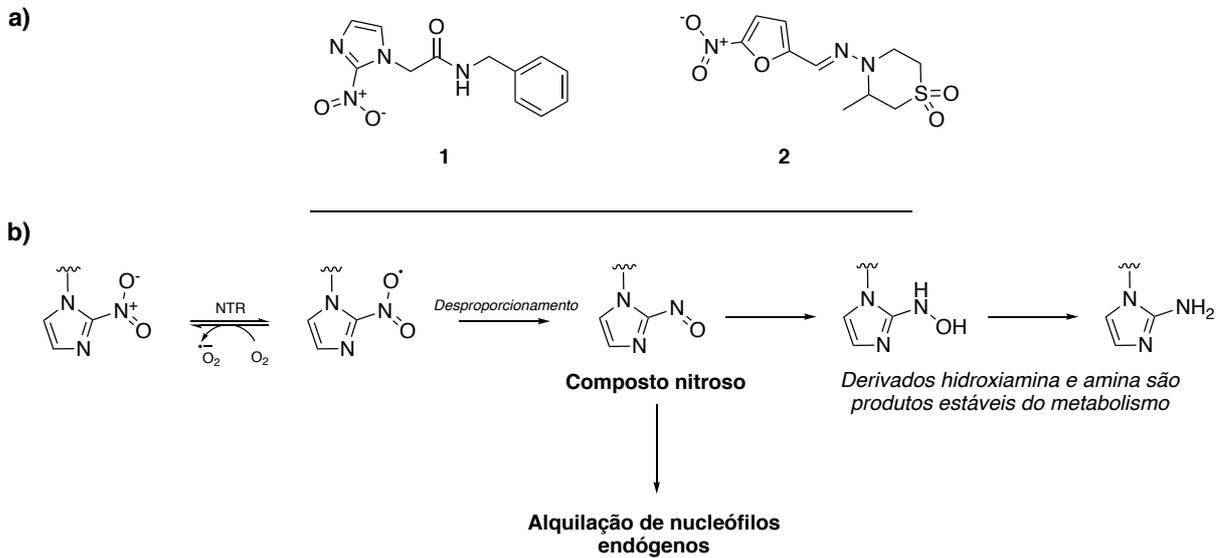
A doença de Chagas tem como agente etiológico o protozoário parasito *Trypanosoma cruzi*. Assim como diferentes parasitos, o *T. cruzi* possui um ciclo de vida heteroxênico, requerendo mais de um hospedeiro para completar a sua evolução. Nesse caso, insetos hematófagos dos gêneros *Rhodius* spp., *Triatoma* spp. e *Panstrongylus* spp. (“barbeiros”) são os hospedeiros intermediários e atuam como vetores da infecção para diferentes mamíferos, incluindo os humanos (DE OLIVEIRA et al., 2018; NOIREAU; DIOSQUE; JANSEN, 2009). No estômago médio dos vetores, o parasito é encontrado na forma evolutiva epimastigota e se diferencia em tripomastigota metacíclico no intestino posterior dos insetos. Durante a alimentação, os insetos geralmente defecam. A proximidade das fezes, contendo os tripomastigotas metacíclicos, com a pele não íntegra resultante da picada faz com que haja a possibilidade de infecção. Ao entrar na corrente sanguínea do hospedeiro mamífero, os tripomastigotas metacíclicos evoluem para a forma tripomastigota sanguínea. O ciclo de transmissão pode recomeçar caso um inseto vetor se alimente do sangue contaminado de um mamífero, caso contrário, as formas tripomastigotas sanguíneas se hospedam em diferentes células e se diferenciam em amastigotas intracelulares, que podem ficar latentes por anos (CDC, 2019). De forma geral, a transmissão pela picada dos insetos vetores é mais comum em regiões rurais ou onde as condições habitacionais desfavoráveis levam a construção de moradias com

fendas e rachaduras, que podem vir a se tornar um habitat propício aos insetos—os aproximando os humanos. Outras formas de transmissão, como a congênita, a por meio de órgãos transplantados e a por via oral, através da ingestão de alimentos contaminados, também já foram relatadas. A transmissão por via oral é hoje a que mais contribui para o surgimento de novos casos da doença de Chagas no Brasil (SÁNCHEZ; RAMÍREZ, 2013; SCHMUNIS; YADON, 2010).

No homem, a doença de Chagas é classificada em três fases, dependendo da sintomatologia clínica e parasitemia: fase aguda, indeterminada e crônica. A fase aguda tem duração de cerca de 60 dias e ocorre logo após a infecção. Nesta fase, as principais características são a alta parasitemia e a presença de sintomas inespecíficos como febre, cansaço e dor no corpo. Em uma parcela dos infectados, pode haver o aparecimento de um edema unilateral na pálpebra caso esse tenha sido o local de inoculação dos parasitos. Esse edema é conhecido como sinal de Romaña e pode auxiliar no diagnóstico precoce da doença de Chagas. Com a diminuição da parasitemia e o desaparecimento dos sintomas, a doença entra em uma fase indeterminada. A fase indeterminada pode durar mais de uma década e, apesar de não haver sintomatologia clínica, a presença intracelular dos parasitos causa danos aos órgãos, como o coração, e a diferentes sistemas como o sistema digestório e o sistema nervoso periférico. Esses danos são responsáveis pelo quadro clínico da fase crônica da doença, que inclui cardiomiopatia, dilatação do trato digestivo, neurite e que, não raramente, é fatal (NUNES et al., 2013; PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

O tratamento da doença de Chagas é feito com base em dois fármacos nitro-heterocíclicos: o benznidazol e o nifurtimox (Figura 3). Estes fármacos são metabolizados por nitroredutases (NTRs) no parasito. O metabolismo causa a formação de um radical nitro que, na presença de oxigênio, leva à formação do ânion superóxido, que pode causar dano celular aos parasitos por ser uma espécie reativa de oxigênio. Além disso, o desproporcionamento de dois compostos contendo o radical nitro causa a formação de um composto nitroso, que pode atuar como um agente alquilante no DNA do parasita (PATTERSON; WYLLIE, 2014).

Figura 3 – a) Estrutura química dos fármacos utilizados para tratamento da doença de Chagas: benznidazol (**1**) e nifurtimox (**2**). b) Mecanismo de bioativação dos fármacos nitro-heterocíclicos, exemplificado com a porção 2-nitroimidazol presente no fármaco benznidazol.

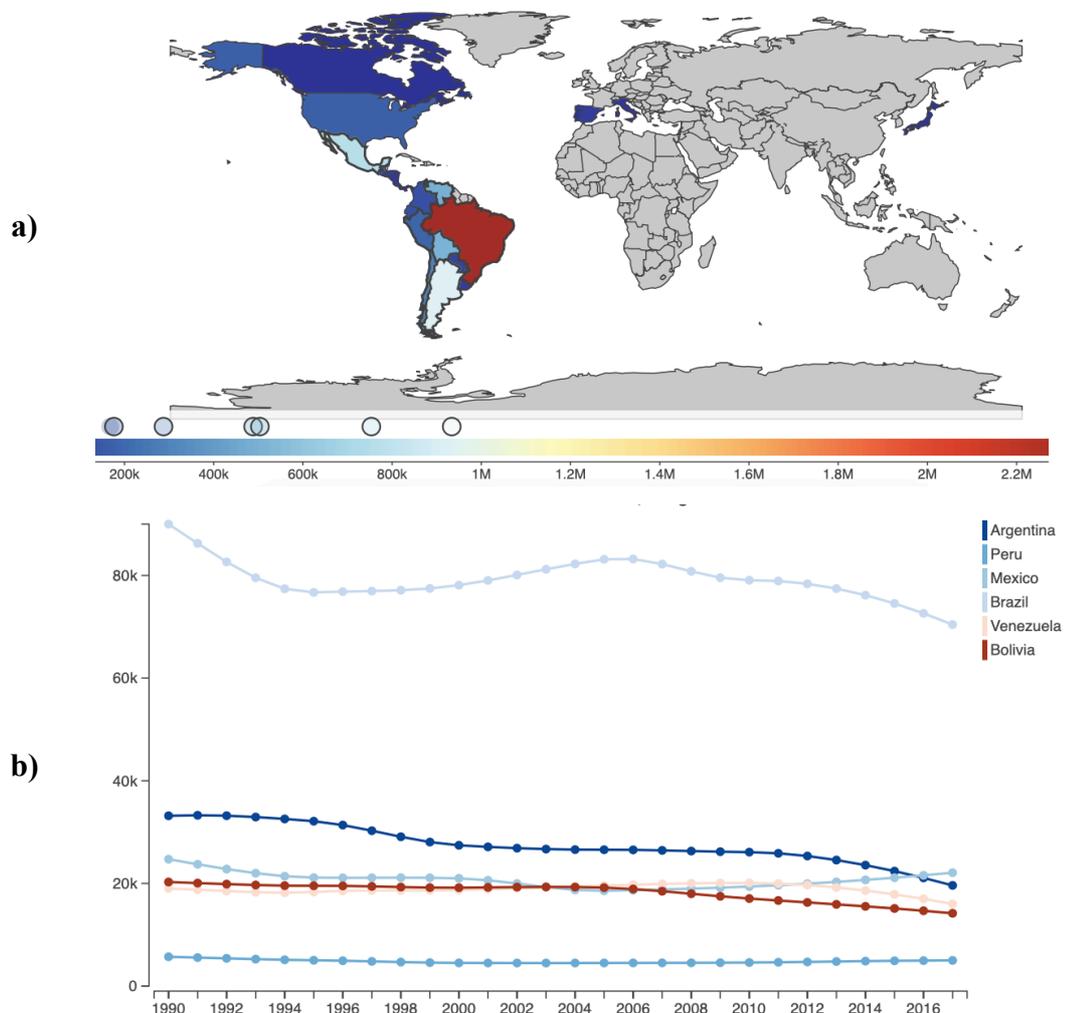


O benznidazol é considerado o tratamento de primeira linha para a doença de Chagas e é eficaz durante a fase aguda da doença. Durante a fase indeterminada, foi demonstrado que o uso do fármaco não leva à cura e nem é capaz de reduzir a incidência de complicações cardíacas (MORILLO et al., 2015). A presença de efeitos adversos limita a utilização do benznidazol mesmo para o tratamento da fase aguda. Estudos clínicos mostraram que cerca de 49% dos pacientes tratados com o fármaco apresentaram algum efeito colateral e, cerca de 25% destes, precisaram interromper o tratamento (ALTCHEH et al., 2011; SPERANDIO DA SILVA et al., 2017). Outros fatores, como a longa duração e o aparecimento de cepas resistentes ao fármaco também comprometem a eficácia global do tratamento e contribuem para manter a taxa de incidência da doença em números quase estáticos nos últimos anos. O nifurtimox é semelhante ao benznidazol na eficácia, no entanto seu perfil de efeitos adversos é mais desfavorável que o do benznidazol. Cerca de 90% dos pacientes tratados com nifurtimox apresentaram algum efeito colateral relacionado ao tratamento, o que justifica a sua utilização apenas em casos específicos (JACKSON et al., 2010).

Mundialmente, a OMS estima que cerca de 7 milhões de pessoas se encontram infectadas pelo *T. cruzi*, porém, outras dezenas de milhões de pessoas estão sob risco de infecção uma vez que vivem em áreas endêmicas. Em 2017, mais de 150 mil novos casos foram identificados na América Latina (Figura 2) (JAMES et al., 2018). Além de estratégias para o controle do vetor, a triagem em busca do parasito em bancos de sangue e a fiscalização sanitária de alimentos possivelmente contaminados são utilizadas para evitar novos casos de infecção. No entanto,

essas opções não auxiliam na mitigação dos efeitos da doença nos indivíduos já acometidos por ela. Além disso, os efeitos socioeconômicos da doença de Chagas, como a sobrecarga dos sistemas públicos de saúde ou de previdência social, agem indiretamente sobre toda a população das áreas endêmicas. Por isso, o desenvolvimento ou a identificação de novos fármacos para o tratamento da doença de Chagas é essencial. A disponibilidade de um tratamento mais eficaz possibilitaria a melhora nos indicadores de morbidade e mortalidade associados à doença. Além disso, representaria uma nova esperança aos pacientes que tiveram a infecção identificada tardiamente e que, hoje, se encontram desassistidas.

Figura 4 – a) Prevalência mundial da doença de Chagas, b) incidência na América Latina nas últimas décadas (1990–2017).

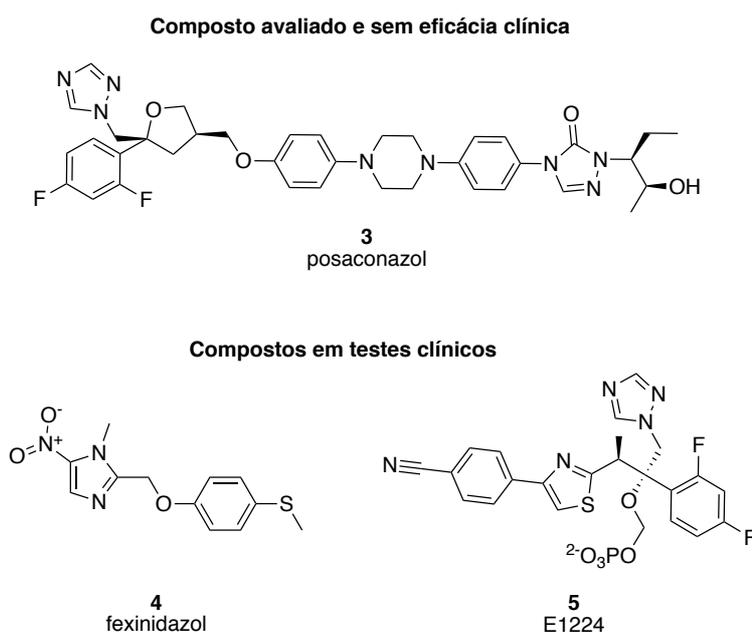


Fonte: Global Burden of Diseases (OMS).

2.2.1 Novos tratamentos para a doença de Chagas: cenário atual e abordagens para identificação de novos *hits*, com foco nos produtos naturais

Apesar da necessidade iminente, o investimento na pesquisa e desenvolvimento de fármacos para tratamento da doença de Chagas ainda é limitado. Apesar disto, alguns avanços foram observados na última década. Entre eles, a aprovação pela FDA da comercialização do benznidazol e do nifurtimox em formulações pediátricas tornaram o tratamento mais acessível para uma população que, até então, se encontrava vulnerável (ALPERN; LOPEZ-VELEZ; STAUFFER, 2017; URQUHART, 2020). Ainda, novos regimes de tratamento com os fármacos posaconazol (**3**), fexinidazol (**4**) e E1224 (**5**) foram investigados em testes clínicos. Os fármacos posaconazol e E1224 atuam por meio da inibição da enzima 14 α -demetilase (CYP51) nos parasitas. Essa enzima está envolvida na rota de biossíntese do ergosterol. Como o ergosterol é um componente essencial para a integridade da membrana celular, o uso desses fármacos causa morte parasitária (LEPESHEVA; WATERMAN, 2011). Por outro lado, o fexinidazol é um composto nitro-heterocíclico que possui mecanismo de ação similar ao do benznidazol e nifurtimox. A estrutura química desses candidatos à fármaco é apresentada na Figura 5.

Figura 5 – Estrutura química dos fármacos recentemente investigados em testes clínicos contra a doença de Chagas. O posaconazol não foi efetivo, enquanto o fexinidazol e E1224 ainda continuam em avaliação.



A atividade do posaconazol frente ao *T. cruzi* já havia sido observada em testes pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*, no entanto, quando o seu efeito no tratamento da doença de Chagas foi investigado em humanos nenhuma eficácia foi observada (MOLINA et al., 2000; MORILLO et al., 2017; URBINA et al., 1998). O E1224 é um pró-fármaco hidrossolúvel do ravuconazol. O ravuconazol é ativo *in vitro* frente ao *T. cruzi*, porém a baixa solubilidade aquosa do fármaco foi relacionada com a falta de atividade tripanocida *in vivo* (DINIZ et al., 2010, 2018; URBINA et al., 2003). Os resultados dos testes em humanos mostraram que o E1224 diminuiu parasitemia para níveis indetectáveis no final dos ensaios. No entanto, uma avaliação conduzida meses após o término do tratamento mostrou que a infecção havia sido reativada em uma parte dos pacientes (TORRICO et al., 2018). Para um futuro próximo, os resultados de outro teste avaliando novos regimes de tratamento com o E1224 é esperado. Além disso, um ensaio clínico com o fexinidazol vem sendo conduzido, com resultados preliminares sugerindo uma boa eficácia do fármaco em comparação com o placebo (DNDI, 2019). O fexinidazol foi recentemente aprovado para o tratamento da tripanossomíase africana (causada por *T. brucei gambiense*), o que sugere a sua segurança e tolerabilidade em humanos (MESU et al., 2018).

De forma a complementar o arsenal de compostos com atividade frente ao *T. cruzi*, a pesquisa pré-clínica de novas entidades químicas vem sendo bastante explorada. Diferentes alvos moleculares já foram identificados como essenciais ao parasito e, dessa forma, podem ser úteis na obtenção de novos compostos biologicamente ativos. Entre eles destacam-se enzimas envolvidas no metabolismo redox, como a tripanotiona redutase e tripanotiona sintetase; proteases, como a cruzaina; enzimas relacionadas à regulação da duplicação do DNA, como a sirtuína e; também, relacionadas ao processo de invasão celular pelos parasitos, como a transsialidase (FLOHÉ, 2012; MORAES; FRANCO, 2016; ROCHA et al., 2018; ZUMA; SOUZA, 2018). Diferentes compostos ativos também foram identificados através de ensaios fenotípicos—realizados com o parasito, e não com um alvo molecular específico. Esses ensaios são os mais recomendados na pesquisa de compostos para doenças negligenciadas, pois por meio deles é possível identificar de forma rápida e reprodutível compostos que podem ser ativos em diferentes alvos moleculares ao mesmo tempo que possuem características físico-químicas adequadas para que sejam permeáveis nas células (DON; IOSET, 2014; SCARIM et al., 2018; SYKES; AVERY, 2013; ZHENG; THORNE; MCKEW, 2013).

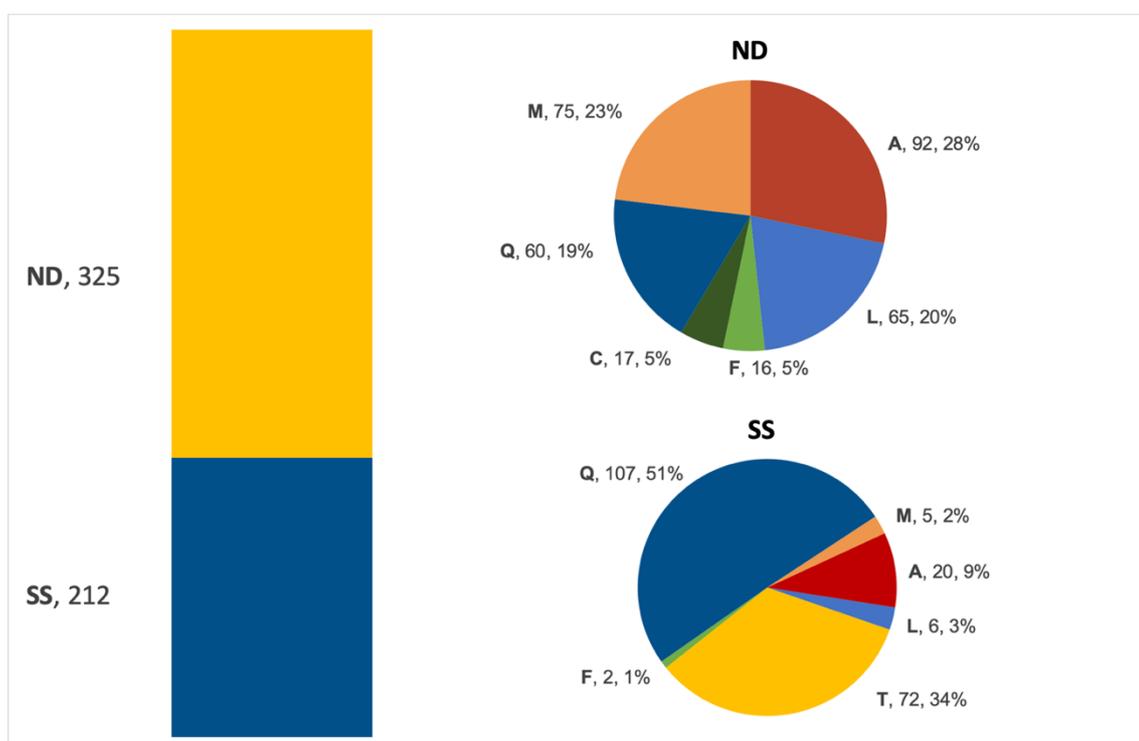
Os produtos de origem natural são uma fonte importante de moléculas bioativas. A morfina, artemisinina, quinina e o paclitaxel são exemplos de fármacos descobertos a partir de produtos naturais que vêm sendo utilizados por décadas. Além disso, cerca de 35% dos

fármacos aprovados pela FDA têm características derivadas de produtos naturais, indicando que eles também são pontos de partida importantes para o planejamento de novas moléculas bioativas (NEWMAN; CRAGG, 2016). Geralmente, a síntese de novos compostos com base em produtos naturais tem como principais objetivos: (i) a potencialização da atividade biológica do produto natural “original”, (ii) o entendimento dessa atividade biológica por meio de estudos de relação estrutura-atividade e (iii) o aprimoramento das propriedades físico-químicas, que desempenham um papel importante na fase farmacocinética *in vivo* (DECORTE, 2016; KINGSTON, 2011). A obtenção destes derivados pode ser feita de duas formas: através de semissíntese ou síntese total. Os derivados semissintéticos são sintetizados utilizando o próprio produto natural como material de partida. Assim, as modificações químicas acabam sendo restritas aos grupos funcionais já presentes no composto o que, de certa forma, limita o escopo de modificações possíveis. Além disso, o planejamento de derivados semissintéticos não exclui a necessidade do isolamento de grandes quantidades do composto natural, demandando uma análise prévia da disponibilidade da espécie vegetal e da escalabilidade e custo do processo extrativo. Por outro lado, a síntese total de derivados oferece um leque de possibilidades a serem exploradas através de diferentes estratégias de modificação molecular. O uso de estratégias de modificação menos conservadoras, como a simplificação molecular e o bioisosterismo, também permite com que diferentes áreas do espaço químico sejam exploradas aumentando a probabilidade de que novas classes de compostos bioativos sejam encontradas (CHEN et al., 2018; SILVA; EMERY, 2018).

Compostos naturais classificados como alcaloides, lignanas, terpenoides, cumarinas, quinonas, entre outros, já foram identificados com atividade tripanocida (IZUMI et al., 2011). Além dos compostos naturais, mais de quinhentos derivados planejados a partir deles também se mostraram ativos contra o parasito em testes *in vitro* ou *in vivo*¹ (DA ROSA; SCHENKEL; BERNARDES, 2020). É interessante destacar que os derivados obtidos por síntese total são a maioria (60,5%) em comparação com os derivados semissintéticos (39,5%). A Figura 6 ilustra os números referentes à classificação e forma de obtenção dos derivados.

¹ Busca realizada nas bases de dados Web of Science, Scopus, Science Direct e PubMed utilizando os termos “*Trypanosoma cruzi* AND natural product AND (derivatives OR semisynthesis)” no período 1997-2018.

Figura 6 – Derivados de produtos naturais obtidos por semissíntese ou por síntese total que são ativos frente às diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*.



A legenda nos gráficos indica derivados de A: alcaloides, L: lignanas, F: compostos fenólicos, C: cumarinas, Q: quinonas, T: terpenoides e M: miscelânea².

É observado que entre os compostos ativos obtidos por síntese total, derivados de alcaloides ($n=92$) e lignanas ($n=65$) são os maiores grupos. Entre os compostos ativos obtidos por semissíntese, os maiores grupos são os derivados de quinonas ($n=107$) e de terpenoides ($n=72$). Enquanto os derivados de quinonas também tem boa representatividade entre os compostos obtidos por síntese total, os derivados de terpenoides foram exclusivamente obtidos por semissíntese. A discrepância no modo de obtenção dos derivados é possivelmente justificada pelas diferentes características estruturais apresentadas pelos compostos em cada uma das classes. A Tabela 2 traz alguns descritores estruturais dos derivados de alcaloides, lignanas e terpenoides ativos frente ao *T. cruzi*.

² A categoria miscelânea reúne derivados sintetizados com base em classes de produtos naturais que foram relatados em menos de três referências distintas.

Tabela 2 – Peso molecular e número de centros estereogênicos, anéis, e carbonos sp^3 dos derivados de alcaloides, lignanas e terpenoides ativos contra *T. cruzi*.

	PM				Centros estereogênicos			
	Média	DP	Mediana	P90	Média	DP	Mediana	P90
Alcaloides	380,0	107,7	389,2	514,9	0	1	0	2
Lignanas	322,0	63,0	302,4	422,4	1	1	0	2
Terpenoides	388,6	97,2	358,5	537,4	5	3	4	10

	Anéis ^a				Carbonos sp^3			
	Média	DP	Mediana	P90	Média	DP	Mediana	P90
Alcaloides	4	1	4	5	6	3	7	10
Lignanas	3	1	3	4	8	4	8	14
Terpenoides	4	1	4	6	19	8	16	33

^aA classificação considera todos os anéis aromáticos ou alifáticos de até sete átomos.

De forma geral, os derivados de alcaloides e lignanas são estruturalmente mais simples que os terpenoides, conforme observado pelo menor peso molecular e menores números de centros estereogênicos, anéis e carbonos sp^3 . Isso faz com que mesmo a síntese total permita a obtenção de derivados através de rotas sintéticas menos complexas. Por outro lado, um elevado número de centros estereogênicos como o dos terpenoides faz com que estratégias de síntese enantioseletivas ou, então, técnicas de resolução quiral tenham que ser empregadas para a obtenção dos compostos. Isso aumentaria a complexidade, o tempo necessário e o custo do processo. Nesses casos, apesar de algumas desvantagens apontadas anteriormente, a semissíntese pode se tornar uma boa opção, uma vez que o produto natural *per se* já apresenta estereoquímica definida.

Outro aspecto interessante é que, entre os derivados de produtos naturais, duzentos e oito compostos (38,7%) inibiram a replicação do parasito com $IC_{50} < 10 \mu M$. O fármaco benznidazol possui IC_{50} médio de $21,3 \mu M$ frente aos amastigotas (mediana = $5,2 \mu M$, P90 = $22,4 \mu M$) e $84,6 \mu M$ frente aos tripomastigotas (mediana = $16,4 \mu M$, P90 = $103,6 \mu M$). Isso mostra que, independentemente da forma evolutiva estudada, a potência *in vitro* dos derivados é comparável com a potência *in vitro* do benznidazol. Em termos práticos, isso significa que deve haver investimento para o desenvolvimento pré-clínico desses compostos? Não necessariamente. Alguns autores apontam critérios que podem ser utilizados para classificar compostos ativos frente ao *T. cruzi* como *hits*. Na avaliação *in vitro*, os compostos devem ser testados preferencialmente nas formas evolutivas que são clinicamente relevantes, isto é, nas formas tripomastigotas ou amastigotas. Além da potência, o índice de seletividade (IS) frente a linhagens celulares humanas deve ser determinado. Compostos com alta potência e seletividade

podem ser avaliados em modelos animais de doença de Chagas em tratamentos com doses variáveis, menores que a dose máxima tolerada pelos camundongos. A Tabela 3 reúne os principais critérios para classificação com base na avaliação pré-clínica *in vitro* e *in vivo* (KATSUNO et al., 2015; Nwaka et al., 2009; ROMANHA et al., 2010).

Tabela 3 – Critérios para seleção de compostos *hits* com atividade tripanocida em ensaios pré-clínicos.

		Romanha et al, 2010	Katsuno et al, 2015	Nwaka et al, 2019
<i>In vitro</i>	Forma evolutiva	Tripomastigota ou amastigota intracelular	Amastigota intracelular	Não especificada
	Cepa	Tulahuen	Não especificada	Tulahuen
	IC₅₀	<IC ₅₀ benznidazol	<10 µM	<1 µg/mL
	IS^a	>50	>10	>50
<i>In vivo</i>	Redução da parasitemia	Avaliação da atividade de três doses (< DTM) em camundongos <i>Swiss</i> infectados por <i>T. cruzi</i> Y em um tratamento de 5 dias. A atividade do composto deve ser maior que a do benznidazol (100 mg/kg).	Não deve haver parasitemia ao final do tratamento oral com 10 doses de 50 mg/kg.	Deve haver redução da parasitemia ao final do tratamento oral ou intraperitoneal com 4 doses de 50 mg/kg. O tempo de sobrevivência após o tratamento deve ser maior que 30 dias.
	Cura na fase aguda	Reavaliação da melhor dose em um tratamento de 20 dias. Nenhum parasito deve ser detectado por PCR após 30 dias do término do tratamento. O resultado deve ser confirmado em <i>T. cruzi</i> Colombian.	Parâmetro não especificado	Parâmetro não especificado

^aCC₅₀/IC₅₀. A linhagem utilizada na avaliação da citotoxicidade para o cálculo do IS é aquela utilizada como hospedeira do parasito nos ensaios de triagem *in vitro*.

Do ponto de vista químico, um composto *hit* ideal também possui grupos funcionais passíveis de derivatização ou, então, é obtido através de uma rota sintética que permita que outros análogos sejam sintetizados de forma simples. Afinal, como apontado anteriormente, o planejamento e síntese de análogos estruturais é necessário para a otimização das propriedades biológicas. Além disso, é necessário avaliar a viabilidade de obtenção do(s) composto(s) em maior escala e com nível de pureza aceitável para a realização de outros testes biológicos. Enquanto a triagem inicial da atividade biológica requer poucos miligramas do composto, uma disponibilidade maior é necessária para a continuidade da investigação pré-clínica. De forma

adicional às diretrizes voltadas ao desenvolvimento pré-clínico, o DNDi sugere aspectos a serem observados para considerar uma molécula como candidata à fármaco. Entre eles, é importante que o candidato: (i) seja estável por um longo período de tempo em regiões tropicais, (ii) possa ser administrado por via oral, (iii) seja eficaz para o tratamento na fase crônica, (iv) tenha alta tolerabilidade pelos pacientes e que (v) tenha um custo não superior ao do tratamento atual (DNDI, 2020b).

O planejamento de novas moléculas bioativas a partir de *scaffolds* naturais é uma das linhas investigadas pelo nosso grupo de pesquisa. Em trabalhos prévios, derivados semissintéticos obtidos a partir de cucurbitacinas, do elatol e do *O*-metil-olivetol já foram preparados e avaliados frente a linhagens de células tumorais (LANG et al., 2012a, 2012b; VIEIRA, 2020). Além deles, lignanas tetrahidrofurânicas com atividade tripanocida foram o ponto de partida para o planejamento e síntese de algumas classes de compostos ativos frente ao *T. cruzi* (DA ROSA et al., 2017; ZIMMERMANN et al., 2018). Nestes exemplos, as estratégias de modificação molecular empregadas auxiliaram na modulação da atividade e das propriedades físico-químicas e, em alguns casos, contribuíram para elucidação de relação estrutura-atividade do composto natural.

2.3 LEISHMANIOSE: aspectos biológicos, tratamento atual e dados epidemiológicos

As leishmanioses têm como agentes etiológicos diferentes espécies do gênero *Leishmania*. Estes parasitos pertencem a classe Kinetoplastea, assim como o *T. cruzi* e o *T. brucei*. Isso faz com que algumas características genéticas e morfológicas sejam compartilhadas entre os parasitos. Entre elas, destacam-se as mudanças morfológicas que ocorrem ao longo do ciclo evolutivo e a presença de mais de 6000 genes ortólogos entre as espécies (STUART et al., 2008). As similaridades motivam a investigação concomitante e o reposicionamento de compostos bioativos entre esses cinetoplastódeos. Apesar disso, as leishmanioses são doenças distintas que apresentam diversas particularidades.

Os parasitos do gênero *Leishmania* possuem como hospedeiros intermediários diferentes espécies de mosquitos hematófagos pertencentes à sub-família Phlebotominae. Os parasitos na sua forma evolutiva promastigota são encontrados na saliva destes mosquitos, o que faz com que a transmissão da doença aos humanos e outros mamíferos ocorra através da picada. Já na corrente sanguínea os promastigotas são fagocitados por macrófagos e evoluem para a forma amastigota intracelular, que é a forma multiplicativa do parasito (CDC, 2020). Com o aumento

da parasitemia ocorrem danos, principalmente, ao tecido conjuntivo. Estes danos levam ao aparecimento de úlceras, que são a manifestação clínica característica da doença.

De acordo com a localização das lesões, as leishmanioses são classificadas como leishmaniose cutânea, muco-cutânea e visceral. Apesar do dano estético sugerir o oposto, as leishmanioses cutânea e muco-cutânea são formas mais brandas da doença e podem ser tratadas facilmente. Por outro lado, a leishmaniose visceral é grave e o dano causado em diferentes órgãos pode levar à morte. O tipo da manifestação da doença está relacionado com a espécie responsável pela infecção. Existem cerca de dez espécies de *Leishmania* caracterizadas e cinco delas podem causar leishmaniose visceral, sendo as outras mais relacionadas com as manifestações cutâneas e muco-cutâneas (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; KEVRIC; CAPPEL; KEELING, 2015; PACE, 2014). A Tabela 4 correlaciona os tipos de leishmaniose com os seus respectivos agentes etiológicos.

Tabela 4 – Espécies que atuam como agentes etiológicos das três formas de leishmaniose.

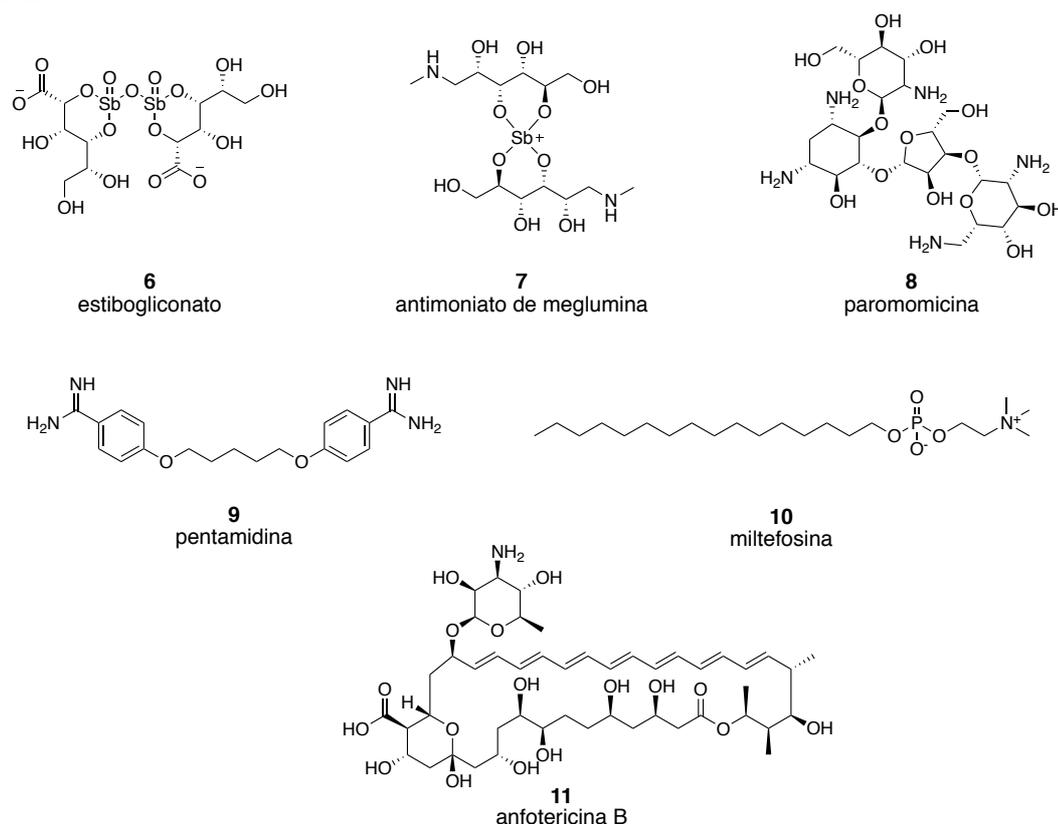
Espécie	LC	LMC	LV
<i>L. mexicana</i>	✓		
<i>L. amazonensis</i>	✓	✓	✓*
<i>L. venezualensis</i>	✓		
<i>L. panamensis</i>	✓	✓	
<i>L. peruviana</i>	✓		
<i>L. major</i>	✓	✓*	
<i>L. tropica</i>	✓	✓*	✓*
<i>L. aethiopica</i>	✓		
<i>L. braziliensis</i>	✓	✓	✓
<i>L. guyanensis</i>	✓	✓	
<i>L. donovani</i>	✓	✓*	✓
<i>L. infantum</i>	✓	✓*	✓
<i>L. chagasi</i>	✓	✓*	

Fonte: Adaptado de KEVRIC et al, 2015. LC: leishmaniose cutânea; LMC: leishmaniose muco-cutânea; LV: leishmaniose visceral. O asterisco indica que é raro a espécie causar aquele tipo de doença.

Seis fármacos podem ser utilizados no tratamento das leishmanioses: estibogluconato de sódio, antimoniato de meglumina, paromomicina, pentamidina, miltefosina e anfotericina B (Figura 7). O cetoconazol, fluconazol e outros fármacos anti-fúngicos também são utilizados em alguns casos de leishmaniose, mas sua eficácia é variável. A escolha do tratamento depende da espécie causadora da doença assim como do tipo de manifestação clínica. No entanto, de forma geral, o tratamento de primeira linha é feito com os fármacos antimoniais estibogluconato

de sódio e antimoniato de meglumina. Apesar de efetivos, a incidência de efeitos colaterais cardíacos e hepáticos limita a utilização destes fármacos por alguns pacientes. Como segunda linha de tratamento, o uso da anfotericina B é recomendado. A anfotericina B também é conhecida pela elevada taxa de efeitos colaterais dependendo da formulação na qual ela é administrada. Com exceção da miltefosina, todos os fármacos para terapia específica da leishmaniose são administrados de forma endovenosa. Como essa forma de administração requer a disponibilidade de uma infraestrutura mínima e de pessoal especializado, este acaba sendo um fator que limita o acesso à terapia em regiões com condições socioeconômicas desfavoráveis (ALVES et al., 2018; BEKHIT et al., 2018; GHORBANI; FARHOUDI, 2017). No Brasil, apenas a anfotericina B e a pentamidina possuem registro ainda ativo na ANVISA. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

Figura 7 – Estrutura do estibogliconato de sódio (**6**), antimoniato de meglumina (**7**), paromomicina (**8**), pentamidina (**9**), miltefosina (**10**) e anfotericina B (**11**); fármacos utilizados para o tratamento da leishmaniose.

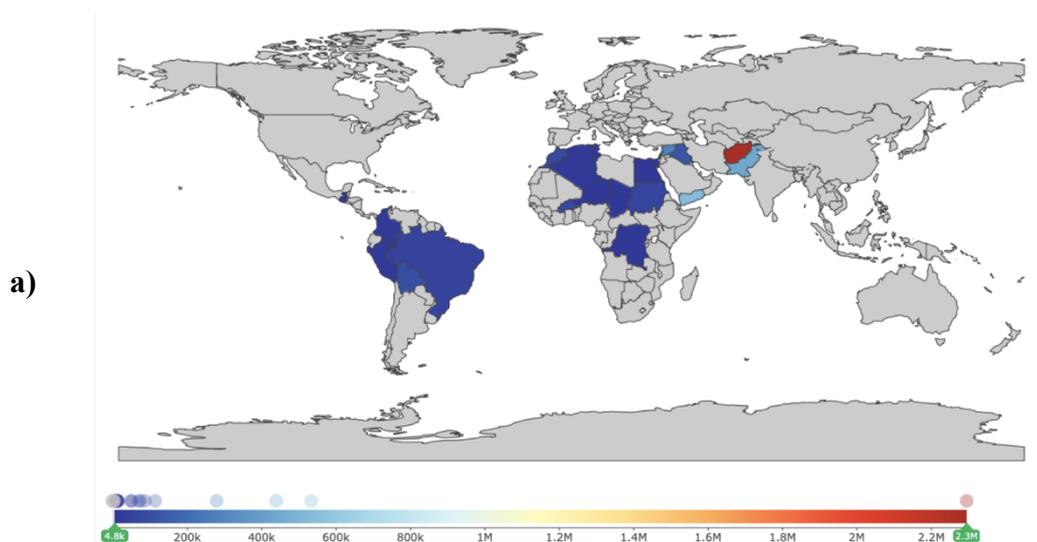


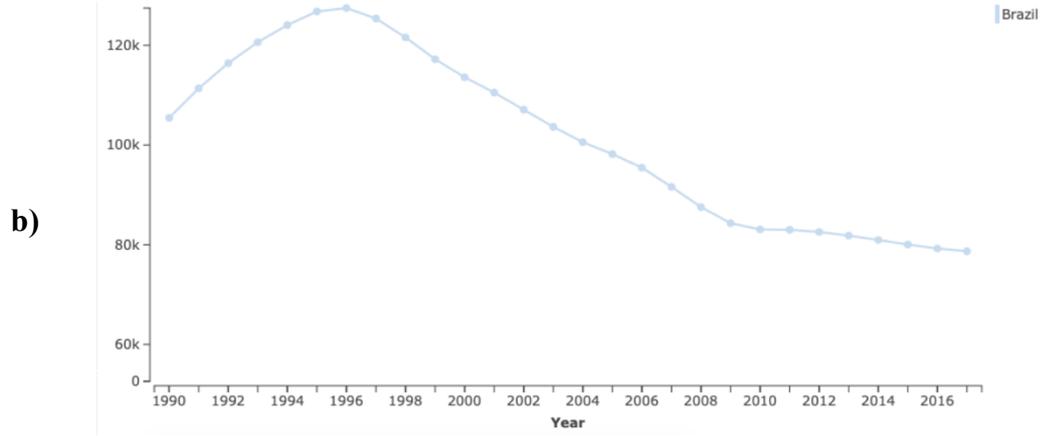
A pesquisa visando a identificação de novas entidades químicas que possam ser usadas no tratamento das leishmanioses é uma área de interesse de diversos grupos de pesquisa. Três novos candidatos a fármaco estão sendo desenvolvidos com o apoio do DNDi e aguardam a

autorização das autoridades competentes para recrutar voluntários para a fase I dos testes clínicos. Além disso, algumas combinações entre os fármacos já existentes estão sendo avaliadas em testes clínicos na busca de melhores regimes para o tratamento das leishmanioses (DNDI, 2020a).

Em comparação com a doença de Chagas, a prevalência mundial das leishmanioses é baixa. Na América Latina e África, apenas alguns países relatam a existência de casos ativos da doença—menos de 500 mil em 2017. O sudoeste asiático concentra a maior parte dos casos prevalentes da doença, com cerca de 3,5 mi de casos distribuídos no Afeganistão, Paquistão, Síria, Iraque e Iêmen (JAMES et al., 2018). Esses dados indicam que a terapia atual é efetiva para o tratamento e cura dos pacientes acometidos pela doença, ainda que isso não exclua a necessidade de busca de novas opções terapêuticas para o tratamento. No Brasil, cerca de 80 mil novos casos anuais vêm sendo notificados ao longo da última década. Esses números são animadores em comparação com dados históricos, mas indicam que trabalhos visando o controle vetorial e a identificação de reservatórios do parasito em animais domésticos e silvestres ainda precisam ser intensificados.

Figura 8 – a) Países com mais de 4,8 mil casos prevalentes de leishmaniose, b) incidência da doença no Brasil nas últimas décadas (1990–2017).





Fonte: Global Burden of Diseases (OMS).

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

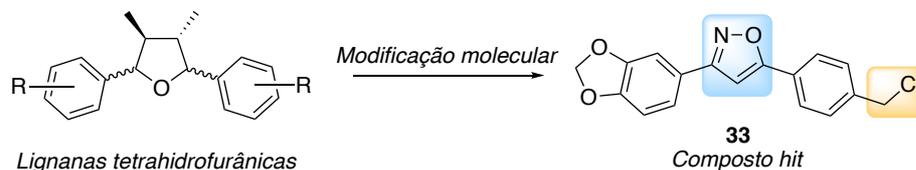
3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi a síntese e a determinação de aspectos de relação estrutura-atividade, frente ao *Trypanosoma cruzi*, de compostos análogos à produtos de origem natural.

Duas séries de compostos foram sintetizadas: (i) derivados acíclicos e heterocíclicos do composto tripanocida 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)isoxazol (**33**), que é análogo à estrutura de lignanas tetrahidrofurânicas e (ii) derivados furil-oxazólicos, com estrutura análoga aos alcaloides oxazólicos naturais, sintetizados a partir do 5-hidroxi metilfurfural (**79**).

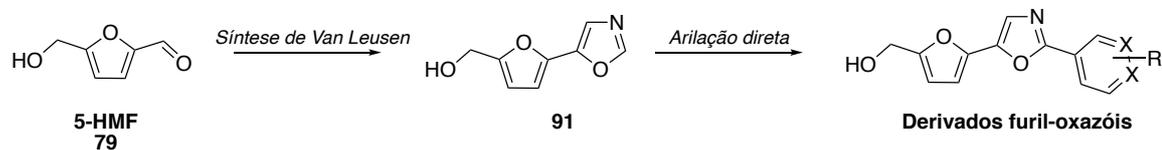
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Em relação à primeira série de compostos (*discutida na seção 5.1*), nossos objetivos específicos foram:



- Sintetizar derivados do composto *hit* **33** contendo os halogênios flúor, bromo e iodo na posição benzílica, para avaliar a influência desses átomos na atividade frente ao *T. cruzi*.
- Com base nos resultados obtidos, planejar e sintetizar outros derivados contendo conectores acíclicos e heterocíclicos entre os anéis fenílicos presentes no composto *hit* **33**.
- Avaliar a influência das modificações moleculares na atividade tripanocida e propor aspectos de relação estrutura-atividade que expliquem os resultados obtidos.
- Paralelamente, avaliar a atividade dos compostos sintetizados frente à *L. amazonensis*.

Já quanto à segunda série de compostos (*discutida na seção 5.2*), nossos objetivos específicos foram:



- Sintetizar o intermediário 5-hidroximetilfuran-2-il-oxazol (**91**) a partir do 5-HMF (**79**).
- Otimizar uma metodologia de arilação direta do intermediário **91** a fim de obter compostos furil-oxazóis análogos às lignanas e alcaloides naturais.
- Sintetizar uma série de derivados furil-oxazóis contendo diferentes substituintes aromáticos e heteroaromáticos.
- Avaliar a atividade biológica dos compostos frente ao *T. cruzi* e, com base nos resultados, sugerir aspectos de relação estrutura-atividade.
- Paralelamente, avaliar a atividade dos compostos sintetizados frente à *L. amazonensis*.

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SÍNTESE

4.1.1 Informações gerais

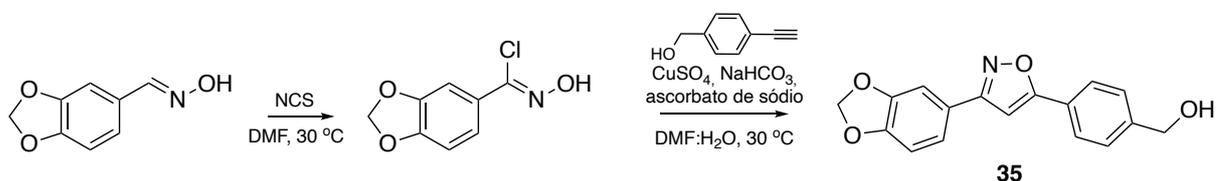
Os reagentes utilizados foram adquiridos na Sigma-Merk, Acros, Alfa Aesar ou TCI e utilizados sem purificação prévia. Os solventes foram destilados e armazenados sob peneira molecular de 4 Å antes da utilização. Nos casos em que o uso de solvente anidro tenha sido especificado no procedimento, aquele solvente foi tratado com agente dessecante e destilado logo antes do uso ou, então, solventes anidros comerciais (garrafas *tipo-SureSeal*[®]) foram utilizados (ARMAREGO; CHAI, 2009).

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C foram adquiridos em equipamentos Bruker Fourier 300 (¹H 300 MHz, ¹³C 75 MHz, UFSC) ou Bruker 400 (¹H 400 MHz, ¹³C 100 MHz, INSA-Lyon) a 298 K usando CDCl₃, DMSO-*d*₆ ou CD₃OD como solventes. A calibração dos espectros foi feita a partir do padrão interno (TMS $\delta = 0,00$) ou, na sua ausência, a partir do sinal do solvente não deuterado residual (FULMER et al., 2010). Os deslocamentos químicos (δ) estão reportados em ppm e as constantes de acoplamento (*J*) em hertz. As seguintes abreviações, ou combinações delas, são utilizadas para se referir às multiplicidades: s = simpleto, d = duplete, t = tripleto, q = quarteto, dd = duplo duplete, m = multiplete, app. = aparente. Os espectros de massas de alta resolução foram adquiridos no equipamento Waters XEVO G2-S QToF (UFSC) ou Finnigan Mat 95xL (INSA-Lyon) usando o modo de ionização electrospray (ESI).

Todos os compostos foram purificados utilizando cromatografia em coluna utilizando sílica gel (40–63 μ m) como fase estacionária e diferentes combinações de hexano, pentano, acetato de etila, acetona ou diclorometano como fase móvel. As reações realizadas em reator micro-ondas foram conduzidas em um equipamento Biotage Isolera⁺ ou CEM Discovery Explorer. Os pontos de fusão foram medidos nos equipamentos MQAPF-301 (UFSC) ou Büchi B-540 (INSA-Lyon) e não foram corrigidos.

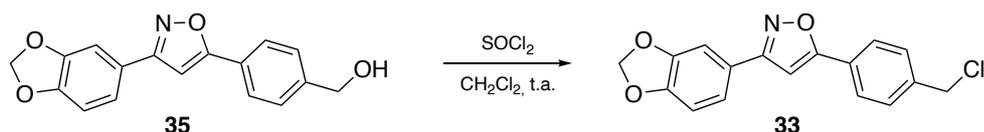
4.1.2 Síntese e caracterização estrutural dos compostos discutidos na Parte I

3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-hidroxi metilfen-1-il)isoxazol (**35**)



3,4-metilenodioxibenzaldoxima (1,2 mmol, 200 mg, 1 eq) foi solubilizada em DMF (1 mL) e *N*-cloro succinimida (1,05 eq) foi adicionada lentamente à solução. O tubo foi selado, levado ao reator micro-ondas e irradiado em intervalos de 1 minuto (30 °C) até que fosse observada a conversão total do material de partida. Após isso, álcool 4-etilnil benzílico (1,05 eq), sulfato de cobre (II) (2 mol%), ascorbato de sódio (10 mol%), bicarbonato de sódio (4,3 eq) e H₂O (0,3 mL) foram adicionados ao tubo, que foi novamente irradiado por 10 minutos (30 °C). Ao final, a mistura reacional foi diluída com solução saturada de NaCl (15 mL) e foi realizada uma extração com AcOEt (3 × 10 mL). A solução extrativa foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O composto foi obtido como um sólido branco (90,0 mg, 25% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (400 MHz, CD₃OD):** δ = 7,83 (d, *J* = 8,5; 2H); 7,50 (d, *J* = 8,5; 2H); 7,39 (d, *J* = 1,8; 1H); 7,34 (dd, *J* = 1,8; 8,1; 1H); 6,91 (d, *J* = 8,1; 1H); 6,75 (s, 1H); 6,04 (s, 2H); 4,78 (s, 2H). **¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD):** δ = 171,5; 164,1; 150,8; 149,7; 145,4; 128,4; 127,5; 126,8; 124,0; 122,4; 109,6; 107,6; 102,9; 98,6; 64,6. **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ calculada para C₁₇H₁₄NO₄ 296,0923; encontrada 296,0891. **PF °C:** 180,1-181,7.

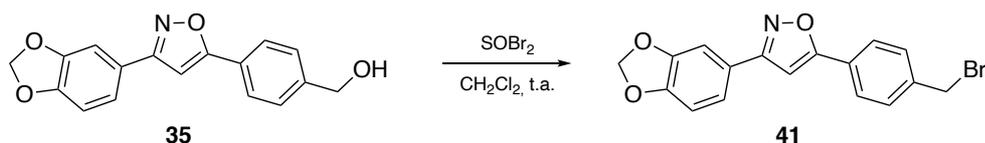
3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)isoxazol (**33**)



O composto **35** (0,85 mmol, 25 mg, 1 eq) foi solubilizado em CH₂Cl₂ anidro (1 mL) e cloreto de tionila (3 eq) foi adicionado lentamente à solução sob atmosfera de nitrogênio ou argônio. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente até a conversão total do

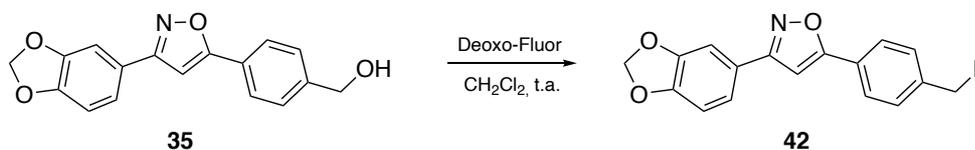
material de partida (aproximadamente 1 h). Ao final, a reação foi resfriada (0 °C) e solução saturada de NaCl (15 mL) foi adicionada para destruir o excesso de cloreto de tionila. O produto foi extraído CH₂Cl₂ (3 × 15 mL), a solução extrativa seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O composto foi obtido como um sólido amarelado (25 mg, 94% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 7:3). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃):** δ = 7,82 (d, *J* = 8,4; 2H); 7,51 (d, *J* = 8,4; 2H); 7,38 (d, *J* = 1,7; 1H); 7,34 (dd, *J* = 8,0; 1,7; 1H); 6,90 (d, *J* = 8,0; 1H); 6,77 (s, 1H); 6,05 (s, 2H); 4,64 (s, 2H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃):** δ = 169,6; 163,2; 149,2; 148,2; 139,4; 129,2; 127,4; 122,9; 121,2; 106,6; 101,5; 97,7; 46,6. **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ Calculada para C₁₇H₁₃ClNO₃ 314,0584; encontrada 314,0576. **PF °C:** 162,1–163,2.

3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-bromometilfen-1-il)isoxazol (41)



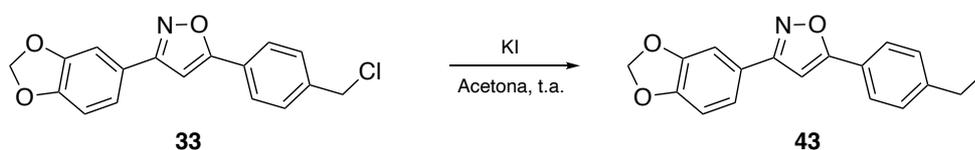
O composto foi sintetizado a partir do composto **35** (0,85 mmol, 25 mg, 1 eq) utilizando o mesmo procedimento descrito para a síntese do derivado **33**. No entanto, o brometo de tionila (3 eq) foi utilizado em substituição ao cloreto de tionila. O produto foi obtido como um sólido amarelado (25 mg, 82% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 7:3). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃):** δ = 7,82 (d, *J* = 8,4; 2H); 7,52 (d, *J* = 8,4; 2H); 7,39 (d, *J* = 1,7; 1H); 7,35 (dd, *J* = 8,0; 1,7; 1H); 6,92 (d, *J* = 8,0; 1H); 6,77 (s, 1H); 6,06 (s, 2H); 4,54 (s, 2H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃):** δ = 169,6; 162,6; 149,2; 148,3; 139,8; 129,7; 127,4; 126,2; 122,9; 121,2; 108,7; 101,5; 97,7; 32,6. **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ Calculada para C₁₇H₁₃BrNO₃ 358,0079; encontrada 358,0074. **PF °C:** 173,7–175,0.

3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-fluormetilfen-1-il)isoxazol (**42**)



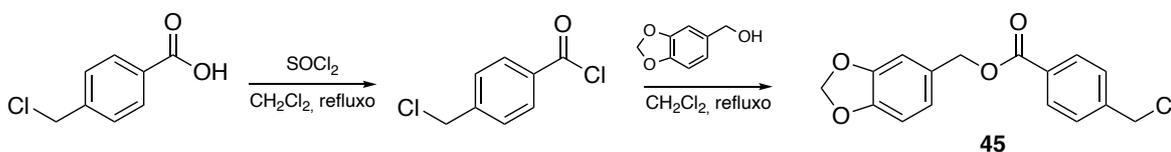
O composto **35** (0,085 mmol, 25 mg, 1 eq) foi solubilizado em CH_2Cl_2 e a solução foi resfriada ($0\text{ }^\circ\text{C}$) para a adição lenta de trifluoreto de bis(2-metoxietil)aminosulfur (Deoxo Fluor, 1,05 eq). A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 20 h. Ao final, adicionou-se $\text{NaHCO}_3(\text{aq})$ 5% (10 mL) e a mistura reacional foi extraída com CH_2Cl_2 (3×10 mL). A solução extrativa foi seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (3 mg, 4% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila 7:3). **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 7,87$ (d, $J = 8,1$; 2H); 7,50 (d, $J = 8,1$; 2H); 7,38 (d, $J = 1,5$; 1H); 7,34 (dd, $J = 1,5$; 8,0; 1H); 6,91 (d, $J = 8,0$; 1H); 6,78 (s, 1H); 6,05 (s, 2H); 5,45 (d, $J = 47,5$; 2H, CH_2F). **HRMS-ESI:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{FNO}_3$ 297,0801; encontrada 297,0869.

3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-iodometilfen-1-il)isoxazol (**43**)



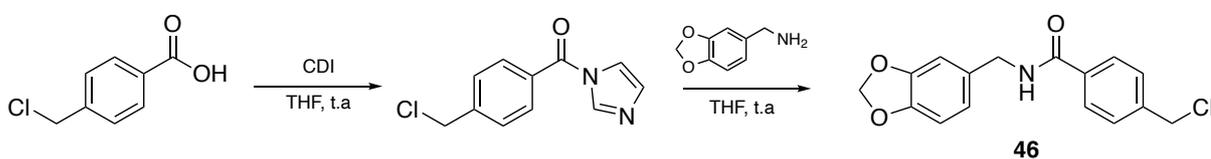
O composto **33** (0,08 mmol, 25 mg, 1 eq) e KI (1,2 eq) foram solubilizados em acetona (1 mL). A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 20 h. Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (15 mL) e a mistura reacional foi extraída com CH_2Cl_2 (3×10 mL). A solução extrativa foi seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (13,0 mg, 40% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila 7:3). **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 7,76$ (d, $J = 8,3$; 2H); 7,49 (d, $J = 8,3$; 2H); 7,38 (d, $J = 1,7$; 1H); 7,34 (dd, $J = 8,0$; 1,7; 1H); 6,91 (d, $J = 8,0$; 1H); 6,75 (s, 1H); 6,04 (s, 2H); 4,50 (s, 2H). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 169,6$; 162,7; 149,2; 148,2; 141,5; 129,4; 126,8; 126,3; 122,9; 121,2; 108,6. 107,0; 101,5; 97,6; 4,5. **HRMS-ESI:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{INO}_3$ 405,9940; encontrada 405,9931. **PF $^\circ\text{C}$:** 165,8–167,8.

4-(clorometil)benzoato de 3,4-metilenodioxibenzila (45)



Ácido 4-clorometilbenzóico (0,14 mmol, 25 mg, 1 eq) foi solubilizado em CH₂Cl₂ anidro (3 mL) e cloreto de tionila (3 eq) foi adicionado lentamente à solução. A reação foi aquecida até refluxo sob atmosfera de N₂ até a conversão total do material de partida (aproximadamente 2 h). O solvente e o excesso de cloreto de tionila foram removidos em evaporador rotatório e a reação foi solubilizada novamente em CH₂Cl₂ anidro e mantida sob atmosfera de N₂. Ao balão reacional, álcool 3,4-metilenodioxibenzílico (1 eq) em CH₂Cl₂ (2 mL) foi adicionado lentamente. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 1 hora. Ao final, adicionou-se CH₂Cl₂ (25 mL) e a mistura reacional foi lavada com NaHCO₃ 5% e solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (40 mg, 94% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 8:2). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃):** δ = 8,06 (d, *J* = 8,1; 2H); 7,47 (d, *J* = 8,1; 2H); 6,99 – 6,90 (m, 2H); 6,82 (d, *J* = 7,6; 1H); 5,99 (s, 2H); 5,27 (s, 2H); 4,62 (s, 2H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃):** δ = 165,9; 147,8; 142,3; 130,13; 130,08; 129,6; 128,5; 122,3; 109,0; 108,3; 101,2; 66,8; 45,4. **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ Calculada para C₁₆H₁₃ClNaO₄ 327,0400; encontrada 327,0404. **PF °C:** 71,2–72,1.

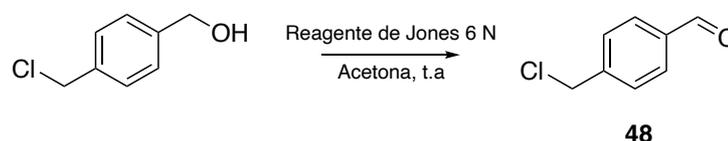
N-(3,4-metilenodioxibenzil)-4-(clorometil)benzamida (46)



Ácido 4-clorometilbenzóico (0,14 mmol, 25 mg, 1 eq) foi solubilizado em THF anidro (1 mL) e *N,N*-carbonildiimidazol (1,1 eq) foi lentamente adicionado à solução. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 30 minutos para formação do intermediário imidazolamida. Então, piperonilamina (1,1 eq) foi adicionada e a reação mantida sob agitação por 20 h. Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (15 mL) e a mistura reacional foi

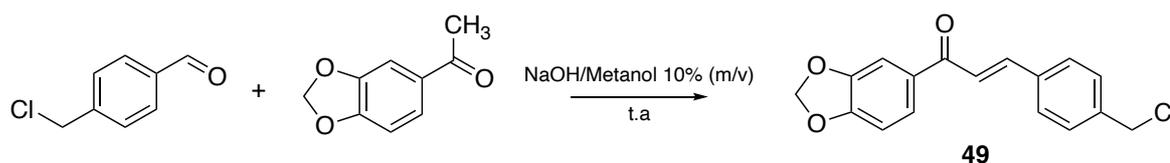
extraída com CH_2Cl_2 (3×10 mL). A solução extrativa foi seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O composto foi obtido como um sólido branco (12 mg, 27% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila 6:4). **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 7,77$ (d, $J = 8,4$ Hz, 2H); 7,44 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H); 6,85–6,78 (m, 2H); 6,76 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H); 6,43 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H); 5,95 (s, 2H); 4,60 (s, 2H); 4,54 (d, $J = 5,7$ Hz, 2H). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 166,7$; 148,0; 147,1; 140,9; 134,2; 133,9; 128,7; 127,4; 121,3; 108,5; 108,4; 101,1; 45,8; 44,0. **HRMS-ESI:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{ClNO}_3$ 304,0740; encontrada 304,0744. **PF** °C: 123,6–124,7.

4-clorometil-benzaldeído (48)



Álcool 4-clorometilbenzílico (3,2 mmol, 500 mg, 1 eq) foi solubilizado em acetona (30 mL) e o balão foi resfriado em um banho de gelo. Reagente de Jones 6 N (600 μL , 1,5 eq) foi adicionado gota a gota. Ao término da adição, a reação foi agitada em temperatura ambiente até a conversão total do material de partida (cerca de 15 minutos). Ao final, adicionou-se álcool isopropílico (10 mL), a mistura reacional foi filtrada em Celite[®] e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (400 mg, 81% de rendimento) e usado sem purificação adicional nas próximas etapas. **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 10,03$ (s, 1H); 7,90 (d, $J = 8,5$; 2H); 7,58 (d, $J = 8,5$; 2H); 4,65 (s, 2H). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 191,6$; 143,8; 136,1; 130,1; 129,1; 45,2. **PF** °C: 72,3–73,1.

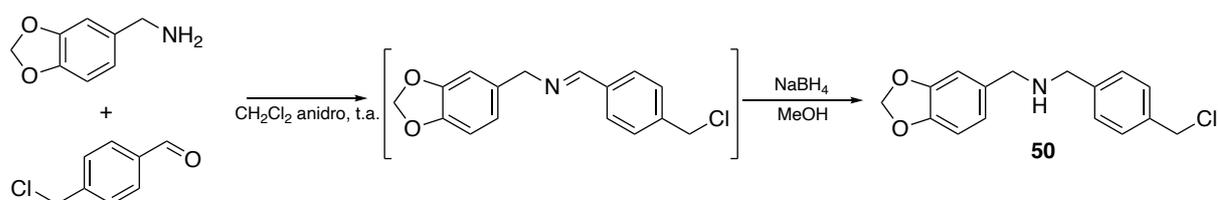
(E)-1-(3,4-metilenodioxifenil)-3-(4-(clorometil)fenil)prop-2-en-1-ona (49)



3,4-metilenodioxiacetofenona (0,15 mmol, 25 mg, 1 eq) e 4-clorometilbenzaldeído (1 eq) foram dissolvidos em 250 μL de solução metanólica de NaOH 10% (m/v). A reação foi mantida

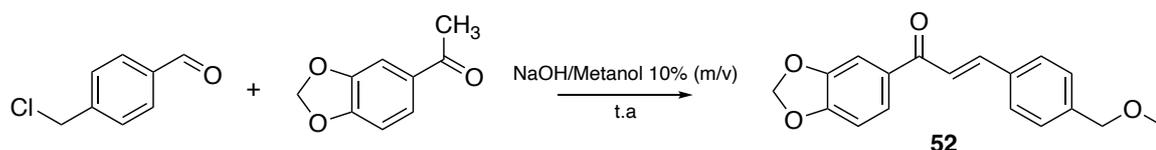
sob agitação até a conversão total do material de partida (aproximadamente 4 horas). Ao final, adicionou-se $\text{HCl}_{(\text{aq})}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para neutralização e a mistura reacional foi extraída com AcOEt ($3 \times 10 \text{ mL}$). A solução extrativa foi seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido amarelado (35 mg , 75% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila $6:4$). **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 7,71$ (d, $J = 15,7$; 1H); $7,61$ – $7,54$ (m, 3H); $7,47$ (d, $J = 1,7$; 1H); $7,43$ (d, $J = 15,7$; 1H); $7,37$ (d, $J = 8,0$; 2H), $6,83$ (d, $J = 7,8$; 1H); $6,00$ (s, 2H); $4,54$ (s, 2H). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 188,1$; $151,8$; $148,4$; $143,4$; $139,6$; $135,1$; $132,8$; $129,2$; $128,7$; $124,8$; $122,2$; $108,4$; $108,0$; $101,9$; $45,7$. **HRMS-ESI:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClO}_3$ $301,0631$; encontrada $301,0624$. **PF °C:** $143,0$ – $144,7$.

1-(3,4-metilenodioxibenz-1-il)-N-(4-clorometil)benzilamina (50)



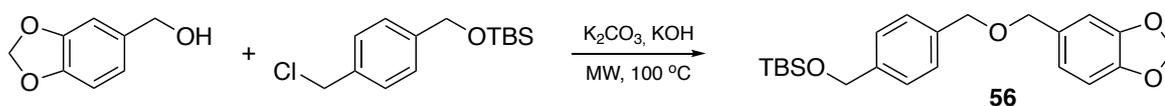
4-clorometilbenzaldeído ($0,16 \text{ mmol}$, 25 mg , 1 eq) e piperonilamina (1 eq) foram solubilizadas em CH_2Cl_2 anidro (1 mL). Após a conversão total dos materiais de partida (aproximadamente 30 minutos), NaBH_4 (1 eq) e uma gota de metanol foram adicionados. Ao final, a reação foi diluída em metanol (25 mL), filtrada em Celite[®], e o solvente evaporado sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (16 mg , 35% de rendimento) após purificação (Al_2O_3 , hexano:acetato de etila $1:1$). **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 7,30$ – $7,43$ (m, 4H); $6,88$ (s, 1H); $6,74$ – $6,82$ (m, 2H); $5,94$ (s, 2H); $4,58$ (s, 2H); $3,78$ (s, 2H), $3,70$ (s, 2H). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 147,7$; $146,6$; $140,6$. $136,2$; $134,0$; $128,7$; $128,5$; $121,3$; $108,7$; $108,1$; $100,9$; $52,9$; $52,5$; $46,2$. **HRMS-ESI:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{ClNO}_2$ $290,0948$; encontrada $290,0952$. **PF °C:** <25 .

(E)-1-(3,4-metilenodioxifenil)-3-(4-(metoximetil)fenil)prop-2-en-1-ona (**52**)



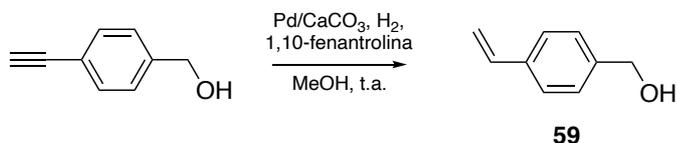
O composto foi obtido como um subproduto na reação de síntese do derivado **49** (10 mg, 20% de rendimento). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃):** δ = 7,72 (d, J = 15,7; 1H); 7,59 (dd, J = 1,7; 8,1; 1H); 7,56 (d, J = 8,5; 2H), 7,47 (d, J = 1,7; 1H); 7,42 (d, J = 15,7; 1H); 7,32 (d, J = 8,5; 2H), 6,83 (d, J = 8,1; 1H); 6,00 (s, 2H); 4,42 (s, 2H); 3,35 (s, 3H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃):** δ = 188,3; 151,7; 148,3; 144,0; 140,8; 134,3; 133,0; 128,5; 128,0; 124,7; 121,6; 108,4; 107,9; 101,9; 74,2; 58,3. **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ Calculada para C₁₈H₁₇O₄ 297,1127; encontrada 297,1136. **PF °C:** 98,1–99,0.

3,4-metilenodioxibenzoxi-((4-*terc*-butildimetilsilano)metoxi)benzil (**56**)



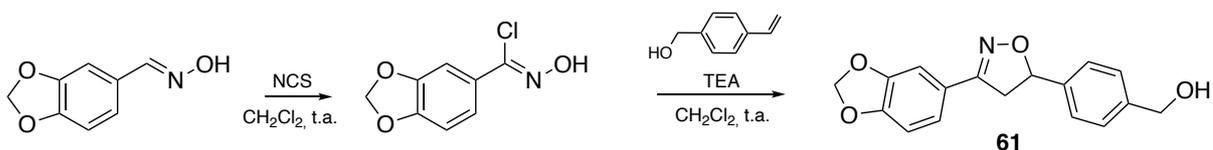
Álcool piperonílico (0,17 mmol, 25 mg, 1 eq), *terc*-butil((4-(clorometil)benzil)oxi)dimetilsilano (1 eq), TBAB (0,1 eq), K₂CO₃ (4 eq) e KOH (4 eq) foram homogeneizados e transferidos para um tubo de micro-ondas. O tubo foi selado e irradiado à 100 °C por 2 min. Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (15 mL), e a mistura reacional foi extraída com CH₂Cl₂ (3 × 10 mL). A solução extrativa foi seca sobre Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (3,5 mg, 5% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 8:2). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃):** δ = 7,31 (s, 4H); 6,88 (d, J = 1,7; 1H); 6,78 (dd, J = 1,7; 7,7; 1H); 6,76 (d, J = 7,7; 1H); 5,95 (s, 2H); 4,74 (s, 2H); 4,51 (s, 2H); 4,44 (s, 2H); 0,94 (s, 9H); 0,2 (s, 6H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃):** δ = 147,7; 147,1; 140,9; 136,8; 132,2; 127,8; 126,1; 121,4; 108,6; 108,1; 101,0; 71,8; 71,7; 64,8; 26,0; 18,4; -5,2. **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ Calculada para C₂₂H₃₀NaO₄Si 409,1811; encontrada 409,1815. **PF °C:** <25.

Álcool 4-vinilbenzílico (59)



Álcool 4-etinilbenzílico (1,5 mmol, 200 mg, 1 eq), catalizador de Lindlar [Pd/CaCO₃ 5% (4 mol%)]; 1,10-fenantrolina (1,5 mmol, 297 mg, 1 eq) e MeOH (8 mL) foram adicionados à um balão de fundo redondo, que então foi purgado com N₂. O balão inflável de N₂ foi substituído por um de H₂ e a reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente até a conversão total do material de partida (aproximadamente 4 horas). Ao final, adicionou-se MeOH (20 mL), a reação foi filtrada em Celite® para remoção do catalizador e o solvente foi evaporado sob vácuo. O produto foi obtido como um óleo transparente (185 mg, 92% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 7:3). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃):** δ = 7,39 (d, *J* = 8,3; 2H); 7,29 (d, *J* = 8,3; 2H); 6,71 (dd, *J* = 17,5; 10,9; 1H); 5,74 (dd, *J* = 17,5; 1,0; 1H); 5,24 (dd, *J* = 10,9; 1,0; 1H); 4,64 (s, 2H). **PF °C:** <25.

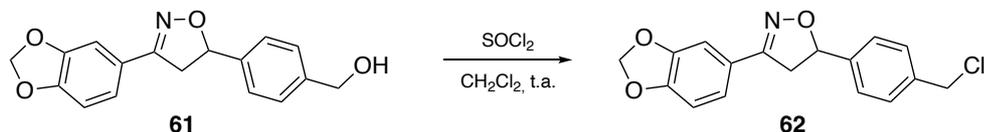
3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-hidroxi metilfen-1-il)isoxazolina (61)



3,4-metilenodioxibenzaldoxima (1 eq) e *N*-cloro succinimida (1,2 eq) foram dissolvidos em CH₂Cl₂ (1 mL) e agitados em temperatura ambiente até a conversão total do material de partida. Então, trietilamina (1,2 eq) e álcool 4-vinilbenzílico (1,2 eq) foram adicionados e a reação agitada por mais 2 horas. Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (25 mL), e a mistura reacional foi extraída com AcOEt (3 × 10 mL). A solução extrativa foi seca sobre Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (25 mg, 27% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 6:4). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃):** δ = 7,40 (s, 4H); 7,34 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H); 7,06 (dd, *J* = 1,7; 8,2 Hz, 1H); 6,83 (d, *J* = 8,2; 1H); 6,03 (s, 2H); 5,72 (dd, *J* = 8,2; 11,2; 1H); 4,72 (s, 2H); 3,74 (dd, *J* = 11,2; 16,5; 1H); 3,29 (dd, *J* = 8,2; 16,5, 1H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃):** δ = 155,7; 149,4;

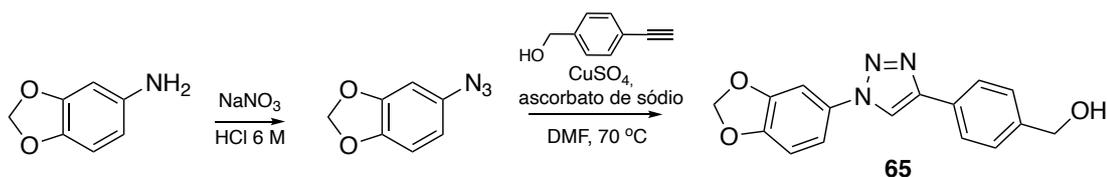
148,1; 140,9; 140,3; 127,4; 126,14; 123,6; 121,6; 108,2; 106,6; 101,5; 82,3; 65,0; 43,4. **HRMS-ESI:** m/z $[M+H]^+$ Calculada para $C_{17}H_{16}NO_4$ 298,1079. **PF** °C: 123,0–124,1.

3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)isoxazolina (62)



O composto foi sintetizado utilizando o mesmo procedimento descrito para o derivado **33**, utilizando o composto **61** (0,067 mmol, 20 mg, 1 eq) como material de partida. O produto foi obtido como um sólido amarelado (15 mg, 71% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila 8:2). **1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$):** δ = 7,39 (s, 4H); 7,32 (d, J = 1,6; 1H); 7,03 (dd, J = 1,6; 8,0; 1H), 6,82 (d, J = 8,0; 1H); 6,02 (s, 2H); 5,72 (dd, J = 8,0; 11,0; 1H), 4,59 (s, 2H); 3,74 (dd, J = 11,0; 16,5; 1H); 3,27 (dd, J = 8,0; 16,5; 1H). **^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$):** δ = 155,8; 149,5; 148,2; 141,4; 137,6; 129,1; 126,4; 123,5; 121,7; 108,3; 106,6; 101,6; 82,1; 46,0; 43,6. **HRMS-ESI:** m/z $[M+H]^+$ Calculada para $C_{17}H_{15}ClNO_3$ 316,0740. **PF** °C: 117,2–119,0.

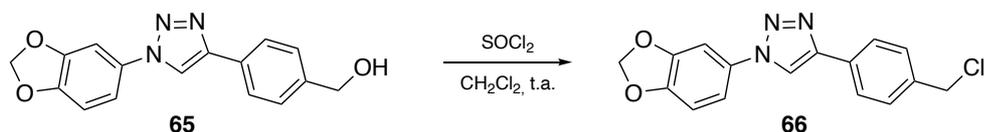
1-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-4-(4-hidroximetilfen-1-il)triazol (65)



Piperonilânilina (0,36 mmol, 50 mg, 1 eq) foi dissolvida em HCl 6N (2 mL, 0 °C). Nitrito de sódio (1,5 eq) foi adicionado à solução lentamente e a reação foi mantida sob agitação por 30 min. Então, azida de sódio (4 eq) dissolvida em uma pequena quantidade de água foi adicionada e a reação permaneceu sob agitação em temperatura ambiente por mais 2 h. Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (25 mL), e a mistura reacional foi extraída com AcOEt (3×10 mL). A solução extrativa foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e o solvente foi removido sob vácuo. A mistura reacional bruta foi transferida para um tubo de micro-ondas e utilizada diretamente na próxima etapa sem purificação prévia. Ao tubo adicionou-se álcool 4-

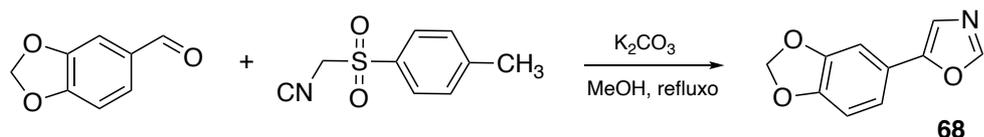
etinilbenzílico (1,05 eq), ascorbato de sódio (10 mol%), sulfato de cobre (2 mol%) e DMF (1 mL). A reação foi irradiada por 10 minutos (70 °C) e o *work-up* foi realizado da mesma forma que na etapa anterior da reação. O produto foi obtido como um sólido marrom (28 mg, 26% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 6:4). **¹H NMR (300 MHz, acetona-*d*₆)**: δ = 8,86 (s, 1H); 7,94 (d, *J* = 8,0; 2H); 7,49–7,45 (m, 3H); 7,44 (dd, *J* = 8,3; 2,2; 1H), 7,06 (d, *J* = 8,3, 1H); 6,17 (s, 2H); 4,69 (d, *J* = 5,4; 2H); 4,34 (t, *J* = 5,4; 1H). **¹³C NMR (75 MHz, acetona-*d*₆)**: δ = 149,5; 148,7; 148,4; 143,4; 130,2; 127,7; 126,1; 119,5; 114,6; 109,2; 103,1; 102,7; 64,3. **HRMS-ESI**: *m/z* [M+H]⁺ Calculada para C₁₆H₁₄N₃O₃ 296,1035; encontrada 296,1033. **PF °C**: 177,3-178,9.

1-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-4-(4-clorometilfen-1-il)triazol (66)



O composto foi sintetizado utilizando o mesmo procedimento descrito para o derivado **33**, utilizando o composto **65** (0,04 mmol, 12 mg, 1 eq) como material de partida. O produto foi obtido como um sólido amarelado (10 mg, 78% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 8:2). **¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)**: δ = 8,10 (s, 1H); 7,90 (d, *J* = 8,2; 2H); 7,49 (d, *J* = 8,2; 2H); 7,31 (d, *J* = 1,7; 1H); 7,20 (d, *J* = 1,7; 8,3; 1H); 6,93 (d, *J* = 8,3; 1H); 6,10 (s, 2H); 4,64 (s, 2H). **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)**: δ = 148,7; 148,2; 147,4; 137,7; 131,4; 129,7; 126,2; 118,3; 114,3; 108,6; 102,8; 102,2; 46,0. **HRMS-ESI**: *m/z* [M+H]⁺ Calculada para C₁₆H₁₃ClN₃O₂ 314,0696. **PF °C**: 197,4–199,0.

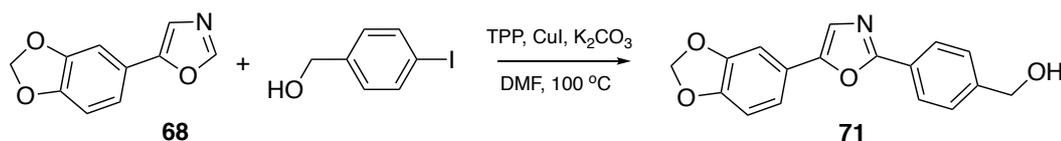
5-(3,4-metilenodioxifen-1-il)oxazol (68)



O composto foi sintetizado utilizando o mesmo procedimento descrito para o composto **91**, utilizando piperonal (0,18 mmol, 250 mg, 1 eq) como material de partida. O produto foi obtido como um sólido amarelado (242 mg, 71% de rendimento) após purificação (SiO₂,

hexano:acetato de etila 1:1). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,86$ (s, 1H); 7,21 (s, 1H); 7,17 (dd, $J = 8,1; 1,7$; 1H), 7,10 (d, $J = 1,7$; 1H), 6,86 (d, $J = 8,1$; 1H); 6,01 (s, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 151,5; 150,1; 148,3; 148,1; 122,0; 120,5; 118,7; 109,0; 105,1; 101,5$. PF $^{\circ}\text{C}$: 82,6–84,0.

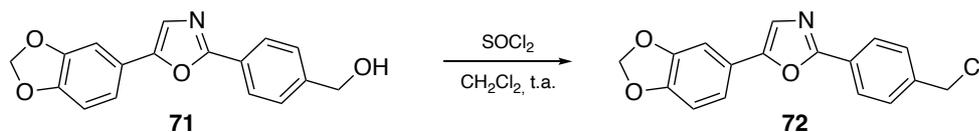
2-(4-hidroxi-etilfenil)-5-(3,4-metilenodioxifenil)oxazol (71)



O composto **68** (0,26 mmol, 50 mg, 1 eq), álcool 4-iodobenzílico (0,31 mmol, 1,2 eq), trifetilfosfina (0,0052 mmol, 14 mg, 20 mol%), K_2CO_3 anidro (0,58 mmol, 80 mg, 2 eq) e CuI 99.999% (0,26 mmol, 49 mg, 1 eq) foram adicionados em um tubo reacional seco em estufa. O tubo foi selado com um septo e purgado com nitrogênio. Então, DMF anidro (1 mL) foi adicionado e a reação foi mantida a 100 $^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Ao final do tempo reacional a reação foi diluída em metanol, filtrada em um *pad* de Celite[®] e concentrada sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido amarelado (25,2 mg, 33% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila 1:1). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, acetona- d_6): $\delta = 8,09$ (d, $J = 8,4$, 2H); 7,56 (s, 1H); 7,53 (d, $J = 8,4$, 2H); 7,38 (dd, $J = 1,7; 8,3$; 1H); 7,36 (d, $J = 1,7$; 1H); 6,97 (d, $J = 8,3$; 1H); 6,08 (s, 2H); 4,72 (d, $J = 5,8$; 2H), 4,44 (t, $J = 5,8$; 1H). $^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, acetona- d_6): $\delta = 160,4; 151,8; 149,2; 148,8; 145,9; 127,6; 126,9; 126,7; 123,5; 123,0; 119,0; 109,6; 105,3; 102,4; 64,1$. HRMS-ESI: m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{NO}_4$ 296,0923. PF $^{\circ}\text{C}$: 173,0–174,8.

Obs.: O sinal do carbono C_2 em 160,4 ppm é apenas observado no espectro HMBC.

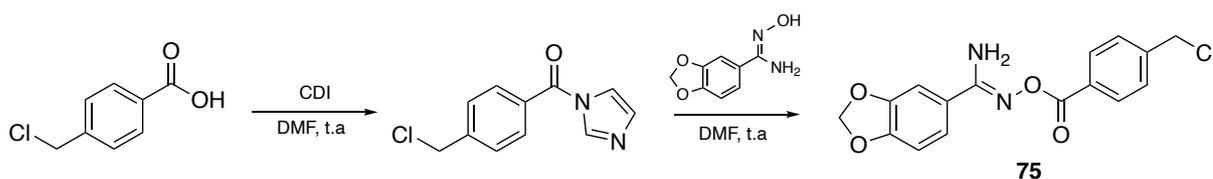
2-(4-clorometilfenil)-5-(3,4-metilenodioxifenil)oxazol (72)



O composto foi sintetizado utilizando o mesmo procedimento descrito para o derivado **33**, utilizando o composto **71** (0,004 mmol, 10 mg, 1 eq) como material de partida. O produto

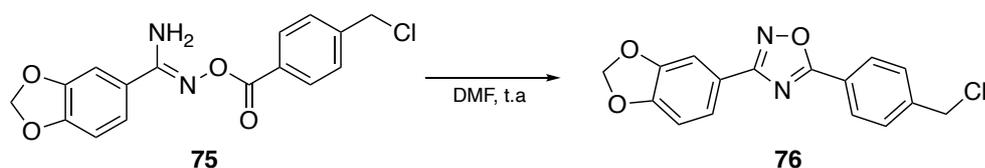
foi obtido como um sólido amarelado (10 mg, 94% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila 8:2). **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 8,08$ (d, $J = 8,4$; 2H); 7,50 (d, $J = 8,4$; 2H); 7,32 (s, 1H); 7,24 (dd, $J = 8,2$; 1,7; 1H); 7,18 (d, $J = 1,7$; 1H); 6,89 (d, $J = 8,2$; 1H); 6,03 (s, 2H); 4,64 (s, 2H). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 160,1$; 151,3; 148,2; 148,0; 139,4; 129,1; 127,4; 126,5; 122,4; 122,1; 118,4; 108,9; 104,8; 101,4; 45,7. **HRMS-ESI:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{ClNO}_3$ 314,0584. **PF** $^\circ\text{C}$: 134,6–135,9.

N'-((4-(clorometil)benzoi)oxi)3,4-metilenodioxifen-1-il-5-carboximidamida (**75**)



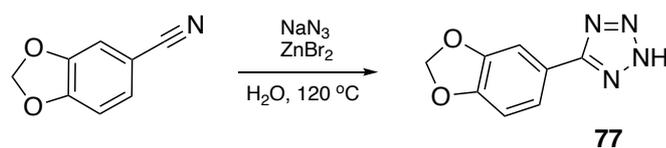
Ácido 4-clorometil benzóico (0,28 mmol, 47 mg, 1 eq) e *N,N*-carbonildiimidazol (0,58 mmol, 94 mg, 2 eq) em DMF anidro (1 mL) foram agitados em temperatura ambiente por 30 minutos. Então, 3,4-metilenodioxifenilamidoxima (0,28 mmol, 50 mg, 1 eq) foi adicionada e a reação mantida sob agitação em temperatura ambiente overnight. Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (25 mL), e a mistura reacional foi extraída com CH_2Cl_2 :MeOH [1:1 (v/v), 4×10 mL]. A solução extrativa foi seca sobre Na_2SO_4 anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (69 mg, 74% de rendimento) após purificação (SiO_2 , hexano:acetato de etila 4:6). **$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3):** $\delta = 8,16$ (d, $J = 8,3$; 2H); 7,60 (d, $J = 8,3$; 2H); 7,40 (dd, $J = 1,8$; 8,2; 1H); 7,34 (d, $J = 1,4$; 1H); 6,92 (d, $J = 8,2$; 1H); 6,08 (s, 2H); 4,81 (s, 2H). **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3):** $\delta = 163,8$; 157,7; 150,6; 148,7; 143,6; 130,9; 130,8; 129,6; 126,6; 122,0; 108,8; 107,8; 102,6; 46,0. **HRMS-ESI:** m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ Calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{ClN}_2\text{O}_4$ 333,0642. **PF** $^\circ\text{C}$: 150,4–151,8.

3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)1,2,4-oxadiazol (76)



O composto **75** (0,075 mmol, 25 mg, 1 eq) foi aquecido em DMF anidro (1 mL, 80 °C) até a conversão total. Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (25 mL), e a mistura reacional foi extraída com CH₂Cl₂:MeOH [1:1 (v/v), 4 × 10 mL]. A solução extrativa foi seca sobre Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (21,0 mg, 89% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 4:6). **¹H NMR (300 MHz, acetona-*d*₆):** δ = 8,23 (d, *J* = 8,5; 2H); 7,75 (d, *J* = 8,5; 2H); 7,74 (dd, *J* = 1,7; 8,1; 1H); 7,55 (d, *J* = 1,7; 1H); 7,05 (d, *J* = 8,1; 1H); 6,15 (s, 2H); 4,86 (s, 2H). **¹³C NMR (75 MHz, acetona-*d*₆):** δ = 176,0; 169,4; 151,4; 149,4; 144,0; 130,6; 129,3; 124,9; 123,2; 121,6; 109,6; 107,8; 103,0; 46,0. **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ Calculada para C₁₆H₁₂ClN₂O₃ 315,0536. **PF °C:** 152,0–152,7.

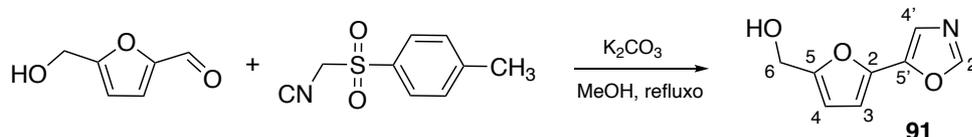
5-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-2H-tetrazol (77)



3,4-metilenodioxibenzonitrila (1,9 mmol, 250 mg, 1 eq), azida de sódio (4 eq), brometo de zinco (2 eq) e H₂O (3 mL), foram irradiados em micro-ondas por 5 h (120 °C). Ao final, adicionou-se solução saturada de NaCl (25 mL), e a mistura reacional foi extraída com AcOEt (4 × 10 mL). A solução extrativa foi seca sobre Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. O produto foi obtido como um sólido branco (160 mg, 51% de rendimento) após purificação (SiO₂, hexano:acetato de etila 4:6). **¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):** δ = 7,53–7,41 (m, 2H); 6,94 (d, *J* = 8,0; 1H); 6,03 (s, 2H). **¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):** δ = 161,5; 147,8; 147,6; 123,4; 120,7; 108,6; 106,9; 101,3. **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ Calculada para C₈H₇N₄O₂ 191,0569. **PF °C:** >250.

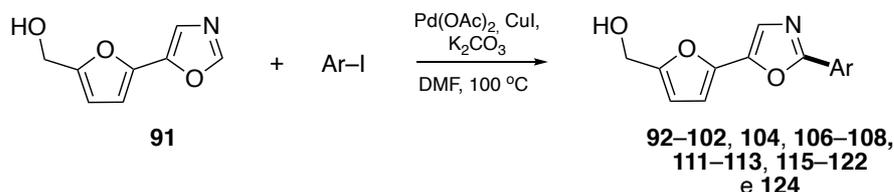
4.1.3 Síntese e caracterização estrutural dos compostos discutidos na Parte II

2-(oxazol-5-il)-5-hidroxi metil-furano (91)



5-hidroxi metilfurfural (1,0 mmol, 126 mg, 1 eq), isocianato de metiltosila (TosMIC, 1,0 mmol, 195 mg, 1 eq) e K_2CO_3 (2,0 mmol, 246 mg, 2 eq) foram solubilizados em metanol (5 mL) e aquecidos a 60 °C por 2 horas. Após, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e a reação bruta foi suspensa em 20 mL de H_2O e extraída com acetato de etila (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas, secas sob Na_2SO_4 e o solvente foi evaporado sob vácuo. A purificação dos compostos foi feita por cristalização a partir de um volume pequeno (5 mL) de acetato de etila gelado e o produto foi obtido como um sólido amarelado. A reação foi realizada em uma escala de até 4 g de 5-HMF com o rendimento médio de 85%. **1H NMR (CD_3OD , 400 MHz):** δ = 4,56 (s, 2H, H_6); 6,45 (d, J = 3,5; 1H, H_4); 6,69 (d, J = 3,5; 1H, H_3); 7,31 (s, 1H, H_4'); 8,19 (s, 1H, H_2'). **^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz):** δ = 57,2 (C_6); 109,7 (C_3); 110,3 (C_4); 121,6 (C_4'); 144,0 (C_2); 145,5 (C_5'); 152,3 (C_2'); 157,2 (C_5). **HRMS-ESI:** m/z $[M+H]^+$ calcd para $C_8H_8NO_3$: 166,0499; encontrada: 166,0498. **MP °C:** 130,6–131,2.

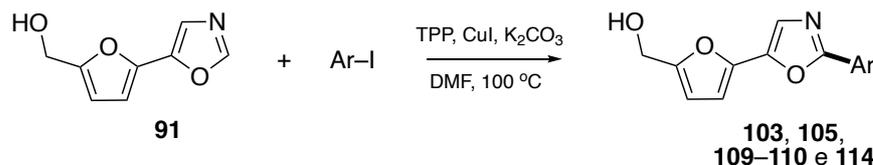
Procedimento geral da arilação direta do 2-(oxazol-5-il)-5-hidroxi metil-furano catalisada por paládio (Procedimento A)



2-(oxazol-5-il)-5-hidroxi metil-furano (0,30 mmol, 50 mg, 1 eq), um iodeto de arila (0,36 mmol, 1,2 eq), $Pd(OAc)_2$ (0,0030 mmol, 7 mg, 10 mol%), K_2CO_3 anidro (0,60 mmol, 82 mg, 2 eq) e CuI 99.999% (0,30 mmol, 57 mg, 1 eq) foram adicionados em um tubo reacional seco em estufa. O tubo foi selado com um septo e purgado na *Schlenk line* (três ciclos de vácuo-nitrogênio). Então, DMF anidro (1 mL) foi adicionado e a reação foi mantida a 100 °C por 24 horas (a não ser que indicado diferente). Ao final do tempo reacional, o padrão interno foi

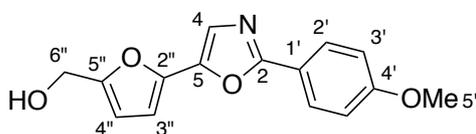
adicionado (0,1 mmol de 1,3,5-trimetoxibenzeno) e a reação foi diluída em metanol, filtrada em um *pad* de Celite[®] e concentrada sob vácuo. A purificação dos compostos finais foi feita por cromatografia em coluna (SiO₂, pentano/acetato de etila).

Procedimento geral da arilação direta do 2-(oxazol-5-il)-5-hidroximetil-furano não-catalisada por paládio (Procedimento B)



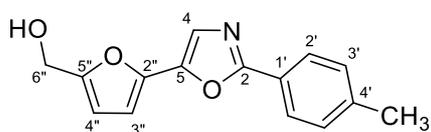
2-(oxazol-5-il)-5-hidroximetil-furano (0,30 mmol, 50 mg, 1 eq), um iodeto de arila [*p*-ciano-iodobenzeno, *p*-nitro-iodobenzeno, *o*-cloro-iodobenzeno, *m*-fluor-iodobenzeno, ou *m*-cloro-iodobenzeno (0,36 mmol, 1,2 eq)], trifenilfosfina (0,0060 mmol, 15 mg, 20 mol%), K₂CO₃ anidro (0,60 mmol, 82 mg, 2 eq) e CuI 99.999% (0,30 mmol, 57 mg, 1 eq) foram adicionados em um tubo reacional seco em estufa. O tubo foi selado com um septo e purgado na *Schlenk line* (três ciclos de vácuo-nitrogênio). Então, DMF anidro (1 mL) foi adicionado e a reação foi mantida a 100 °C por 24 horas (a não ser que indicado diferente). Ao final do tempo reacional, o padrão interno foi adicionado (0,1 mmol de 1,3,5-trimetoxibenzeno) e a reação foi diluída em metanol, filtrada em um *pad* de Celite[®] e concentrada sob vácuo. A purificação dos compostos finais foi feita por cromatografia em coluna (SiO₂, pentano/acetato de etila).

2-(4-metoxifen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (92)



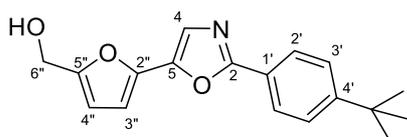
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (64,4 mg, 79% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (400 MHz, CD₃OD):** δ = 3,88 (s, 3H, H_{5'}); 4,58 (s, 2H, H_{6''}); 6,47 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,75 (d, *J* = 3,5, 1H, H_{3''}); 7,06 (d, *J* = 9,0, 2H, H_{3'}); 7,36 (s, 1H, H₄); 7,99 (d, *J* = 9,0; 2H, H₂). **¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD):** δ = 56,0 (C_{5'}); 57,3 (C_{6''}); 109,2 (C_{3''}); 110,4 (C_{4''}); 115,6 (C_{3'}); 120,9 (C_{1'}); 123,4 (C₄); 129,1 (C_{2'}); 144,3 (C_{2''}); 144,9 (C₅); 157,0 (C_{5''}); 162,5 (C₂); 163,5 (C_{4'}). **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ calcd para C₁₅H₁₄NO₄: 272.0923; encontrada: 272.0916. **PF °C:** 144.5–145.6.

2-(4-metilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (93)



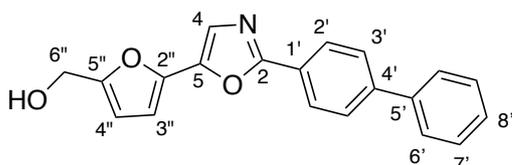
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (65,0 mg, 85% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 2,41 (s, 3H, CH₃); 4,58 (s, 2H, H_{6''}); 6,47 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{4''}); 6,76 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{3''}); 7,33 (d, *J* = 8,3, 2H, 2 H_{3'}); 7,38 (s, 1H, H₄); 7,90 (d, *J* = 8,3; 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 21,5 (CH₃); 57,3 (C_{6''}); 109,4 (C_{3''}); 110,4 (C_{4''}); 123,5 (C₄); 125,2 (C_{1'}); 127,3 (2 C_{2'}); 130,8 (C_{3'}); 142,7 (C_{4'}); 144,2 (C_{2''}); 145,1 (C₅); 157,1 (C_{5''}); 162,5 (C₂). **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ calcd para C₁₅H₁₄NO₃: 256,0968; encontrada: 256,0965. **PF °C:** 128,8–129,3.

2-(4-terc-butilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (94)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (63,7 mg, 71% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 1,35 (s, 9H, 3 CH₃); 4,58 (s, 2H, H_{6''}); 6,47 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{4''}); 6,76 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{3''}); 7,38 (s, 1H, H₄); 7,55 (d, *J* = 8,7; 2H, 2 H_{3'}); 7,96 (d, *J* = 8,7; 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 31,5 (3 CH₃); 35,8 (C-(CH₃)₃); 57,3 (C_{6''}); 109,5 (C_{3''}); 110,4 (C_{4''}); 123,5 (C₄); 125,2 (C_{1'}); 127,1 (2 C_{2'}); 127,2 (2 C_{3'}); 144,2 (C_{2''}); 145,1 (C₅); 155,7 (C_{4'}); 157,1 (C_{5''}); 162,4 (C₂). **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ calcd para C₁₈H₂₀NO₃: 298,1438; encontrada: 298,1434. **PF °C:** 89,6–90,7.

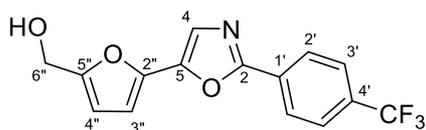
2-(1,1'-bifen-4-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (95)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (56,0 mg, 58% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ = 4,69 (s, 2H, H_{6''}); 6,43 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,66 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{3''}); 7,39 (app tt, *J* = 7,3; 1,3; 1H, H_{8'}); 7,43 (s, 1H, H₄); 7,47 (app tt, *J* = 7,3; 1,3; 2H, 2 H_{7'}); 7,62–7,66 (m, 2H, 2 H_{6'}); 7,70 (d, *J* = 8,5; 2H, 2 H_{3'}); 8,14 (d, *J* = 8,5; 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 57,4 (C_{6''}); 108,3 (C_{3''}); 110,0 (C_{4''}); 123,7 (C₄); 125,9 (C_{1'}); 127,0 (2 C_{2'}); 127,3

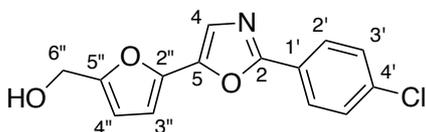
(2 C_{6'}); 127,7 (2 C_{3'}); 128,1 (C_{8'}); 129,1 (2 C_{7'}); 140,2 (2 C_{5'}); 143,4 (C_{4'}); 143,6 (C_{2''}); 143,8 (C₅); 155,1 (C_{5''}); 160,9 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₂₀H₁₆NO₃: 318,1125; encontrada: 318,1120. **PF °C:** 147,0–148,2.

2-(4-trifluormetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (96)



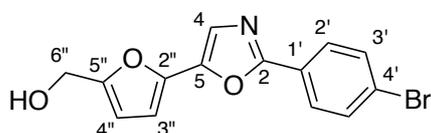
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (64,0 mg, 69% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,49 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{4''}); 6,81 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{3''}); 7,45 (s, 1H, H₄); 7,81 (d, *J* = 8,2; 2H, 2 H_{3'}); 8,21 (d, *J* = 8,2; 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 57,3 (C_{6''}); 110,1 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 124,2 (C₄); 124,3 (q, *J* = 271, CF₃); 127,1 (q, *J* = 4, 2 C_{3'}); 127,8 (2 C_{2'}); 131,5 (C_{1'}); 133,0 (q, *J* = 33, C_{4'}); 143,9 (C_{2''}); 146,1 (C₅), 157,5 (C_{5''}); 160,6 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₅H₁₁F₃NO₃: 310,0686; encontrada: 310,0689. **PF °C:** 134,2–134,8.

2-(4-cloropen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (97)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (47,0 mg, 56% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz)** δ 4,58 (s, 2H, H_{6''}); 6,48 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{4''}); 6,78 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{3''}); 7,41 (s, 1H, H₄); 7,52 (d, *J* = 8,8; 2H, 2 H_{3'}); 8,02 (d, *J* = 8,8; 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz)** δ 57,3 (C_{6''}); 109,8 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 123,9 (C₄); 126,7 (C_{1'}); 128,8 (2 C_{2'}); 130,4 (2 C_{3'}); 137,9 (C_{4'}); 144,0 (C_{2''}); 145,6 (C₅); 157,3 (C_{5''}); 161,2 (C₂). **HRMS (ESI) [M+Na]⁺:** calcd para C₁₄H₁₀ClNaO₃: 298,0241; encontrada 298,0241; **[M+H]⁺:** calcd para C₁₄H₁₁ClNO₃: 276,0422; encontrada 276,0421. **PF °C:** 136,0–137,0.

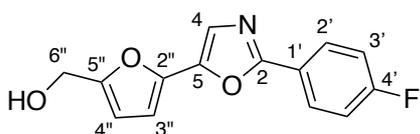
2-(4-bromofen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (98)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (30,9 mg, 31% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz):** δ = 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,49 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,80

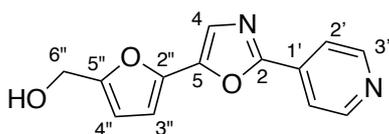
(d, $J = 3,5$, 1H, H_{3''}); 7,42 (s, 1H, H₄); 7,70 (d, $J = 8,8$; 2H, 2 H_{3'}); 7,96 (d, $J = 8,8$; 2 H, 2H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** $\delta = 57,3$ (C_{6''}); 109,8 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 123,9 (C₄); 126,1 (C_{4'}); 127,1 (C_{1'}); 128,9 (2 C_{2'}); 133,5 (2 C_{3'}); 1440 (C_{2''}); 145,6 (C₅); 157,3 (C_{5''}); 161,3 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₄H₁₁BrNO₃: 319,9922; encontrada: 319,9915. **PF °C:** 132,7–133,5.

2-(4-fluorfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (99)



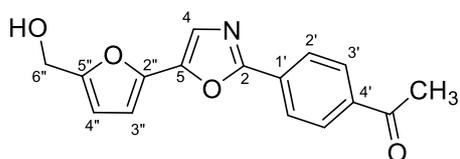
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (52,2 mg, 67% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** $\delta = 4,68$ (s, 2H, H_{6''}); 6,42 (d, $J = 3,5$, 1H, H_{4''}); 6,63 (d, $J = 3,5$; 1H, H_{3''}); 7,16 (app t, $J = 8,6$; 2H, 2 H_{3'}); 7,37 (s, 1H, H₄); 8,07 (dd, $J = 8,6$; 5,2; 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** $\delta = 57,4$ (C_{6''}); 108,2 (C_{3''}); 109,9 (C_{4''}); 116,2 (d, $J = 22$, 2 C_{3'}); 123,5 (d, $J = 4$, C_{1'}); 123,6 (C₄), 128,7 (d, $J = 9$, 2 C_{2'}); 143,5 (C_{2''}); 143,8 (C₅); 155,0 (C_{5''}); 160,2 (C₂); 164,3 (d, $J = 252$, C_{4'}). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₄H₁₁FNO₃: 260,0723; encontrada: 260,0714. **PF °C:** 132,7–133,1.

2-(4-piridil)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (100)



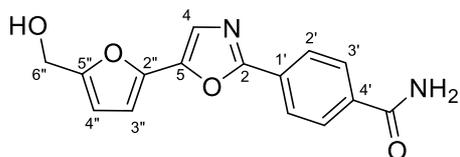
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e purificado por uma extração ácido-básica. A reação bruta foi diluída em HCl_(aq) 0,1 M e extraída com acetato de etila (3 x 20 mL) para remover possíveis sub-produtos orgânicos e resquícios do material de partida. Então, a fase aquosa foi neutralizada com NaOH_(aq) 5 M e, novamente, extraída com acetato de etila (3 x 20 mL) para recuperar o produto final. Ao final, a fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa (5% m/v) de etilenodiamina (3 x 10 mL) para remover traços remanescentes de cobre, seca com Na₂SO₄ anidro, e solvente foi evaporado sob vácuo. O composto foi obtido como um sólido amarelado (27,0 mg, 37% de rendimento). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** $\delta = 4,60$ (s, 2H, H_{6''}); 6,50 (d, $J = 3,5$, 1H, H_{4''}); 6,87 (d, $J = 3,5$, 1H, H_{3''}); 7,52 (s, 1H, H₄); 8,01 (d, $J = 6,3$; 2H, 2 H_{2'}); 8,70 (d, $J = 6,3$, 2H, 2 H_{3'}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** $\delta = 57,4$ (C_{6''}); 109,3 (C_{3''}); 110,0 (C_{4''}); 120,2 (2 C_{2'}); 124,1 (C₄) 127,7 (C_{1'}); 142,9 (C_{2''}); 144,9 (C₅); 150,5 (2 C_{3'}); 155,6 (C_{5''}); 158,4 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₃H₁₁N₂O₃: 243,0770; encontrada: 243,0773. **PF °C:** 149,6–150,3.

2-(4'-acetofen-1-ona)-5-(5-hidroxiacetilfen-2-il)oxazol (101)



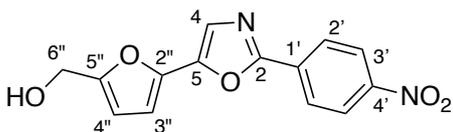
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (66,1 mg, 77% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ = 2,63 (s, 3H, CH₃); 4,68 (s, 2H, H_{6''}); 6,43 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,68 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{3''}); 7,42 (s, 1H, H₄); 8,03 (d, *J* = 8,7; 2H, 2 H_{3'}); 8,14 (d, *J* = 8,7; 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 269 (CH₃); 57,4 (C_{6''}); 108,8 (C_{3''}); 110,0 (C_{4''}); 123,9 (C₄); 126,5 (2 C_{3'}); 129,0 (2 C_{2'}); 1308 (C_{1'}); 138,2 (C_{4'}); 143,2 (C_{2''}); 144,4 (C₅); 155,3 (C_{5''}); 159,8 (C₂); 197,5 (C=O). **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ calcd para C₁₆H₁₄NO₄: 284,0923; encontrada: 284,0928; [M+Na]⁺ calcd para C₁₆H₁₃NO₄Na: 306,0722; encontrada: 306,0747. **PF °C:** 127,9–128,6.

4-(5-(5-(hidroximetil)furan-2-il)oxazol-2-il)benzamida (102)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (49,0 mg, 58% yield) após purificação (SiO₂, DCM:acetona:metanol 8,5:0,75:0,75). **¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz):** δ = 4,47 (d, *J* = 5,8; 2H, H_{6''}); 5,39 (t, *J* = 5,8; 1H, OH); 6,51 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,92 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{3''}); 7,60 (s, 1H, H₄); 8,03 (d, *J* = 8,8; 2H, 2 H_{2'}); 8,09 (d, *J* = 8,8; 2H, 2 H_{3'}). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz):** δ = 55,6 (C_{6''}); 109,3 (C_{3''} e C_{4''}); 123,6 (C₄); 125,8 (2 C_{3'}); 128,4 (C_{1'}); 128,6 (2 C_{2'}); 135,9 (C_{4'}); 141,7 (C_{2''}); 143,7 (C₅); 156,8 (C_{5''}); 159,1 (C₂); 167,1 (C=O). **HRMS-ESI:** *m/z* [M+H]⁺ calcd para C₁₅H₁₃N₂O₅: 285,0875; encontrada: 285,0869. **PF °C:** 188,2–190,2.

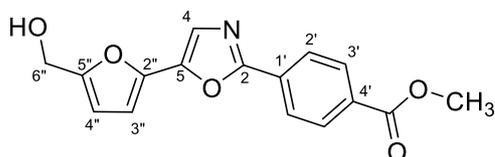
2-(4-nitrofen-1-il)-5-(5-hidroxiacetilfuran-2-il)oxazol (103)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento B e obtido como um sólido laranja (78,6 mg, 91% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 6:4). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ = 4,70 (s, 2H, H_{6''}); 6,46 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,72 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{3''}); 7,45 (s, 1H, H₄); 8,24 (d, *J* = 9,2; 2H, 2 H_{2'}); 8,34 (d, *J* = 9,2; 2H, 2 H_{3'}). **¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz):** δ = 55,6 (C_{6''}); 109,4 (C_{3''}); 109,9 (C_{4''}); 124,1 (C₄); 124,6 (2 C_{3'}); 127,0 (2 C_{2'}); 131,8 (C_{1'}); 141,4 (C_{4'}); 141,5 (C_{2''}); 148,2 (C₅); 157,2 (C_{5''}); 157,9 (C₂).

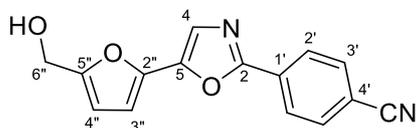
HRMS-ESI: m/z $[M+H]^+$ calcd para $C_{14}H_{11}N_2O_5$: 287,0668; encontrada: 287,0664. **PF** °C: 186,9–187,4.

Benzoato de 4-(5-(5-(hidroximetil)furan-2-il)oxazol-2-il)metila (104)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (35,0 mg, 38% de rendimento) após purificação (SiO_2 , pentano:acetato de etila 1:1). **1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz):** δ = 3.95 (s, 3H, CH_3), 4.69 (s, 2H, $H_{6''}$), 6.44 (d, J 3.5, 1H, $H_{4''}$), 6.69 (d, J = 3.5, 1H, $H_{3''}$), 7.41 (s, 1H, H_4), 8.14 (app s, 4H, 2 H_2 and 2 H_3). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** δ = 52.5 ($C_{6'}$), 57.5 ($C_{6''}$), 108.8 ($C_{3''}$), 110.0 ($C_{4''}$), 124.0 (C_4), 126.4 (2 $C_{2'}$ or 2 $C_{3'}$), 130.3 (2 $C_{2'}$ or 2 $C_{3'}$), 130.9 ($C_{1'}$ or $C_{4'}$), 131.7 ($C_{1'}$ or $C_{4'}$), 143.4 ($C_{2''}$), 144.4 (C_5), 155.1 ($C_{5''}$), 160.1 (C_2), 166.6 ($C=O$). **HRMS-ESI:** m/z $[M+H]^+$ calcd for $C_{16}H_{14}NO_5$: 300.0872; found: 300.0864. **MP** °C: 161.2–163.7.

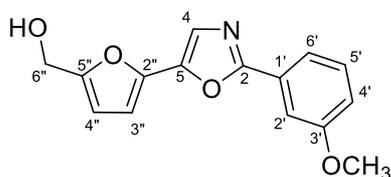
2-(4-cianofen-1-il)-5-(5-(hidroximetil)furan-2-il)oxazol (105)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento B e obtido como um sólido amarelado (59 mg, 74% de rendimento) após purificação (SiO_2 , pentano:acetato de etila 6:4). **1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz):** δ = 4,70 (s, 2H, $H_{6''}$); 6.45 (d, J = 3,5, 1H, $H_{4''}$); 6,70 (d, J = 3,5; 1H, $H_{3''}$); 7,43 (s, 1H, H_4); 7,76 (d, J = 8,6, 2H, H_3); 8,18 (d, J = 8,6; 2H, H_2). **^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz):** δ = 57,5 ($C_{6''}$); 109,1 ($C_{3''}$); 110,1 ($C_{4''}$); 113,8 ($C_{4'}$); 118,6 (CN); 124,2 (C_4); 126,8 (2 $C_{2'}$); 130,9 ($C_{1'}$); 132,8 (2 $C_{3'}$); 140,4 ($C_{2''}$); 143,1 (C_5); 155,3 ($C_{5''}$); 158,8 (C_2). **HRMS-ESI:** m/z $[M+H]^+$ calcd para $C_{15}H_{11}N_2O_3$: 267,0770; encontrada: 267,0757. **PF** °C: 170,6–171,0.

Obs.: O sinal do carbono C_2 em 158,8 ppm é apenas observado no espectro HMBC.

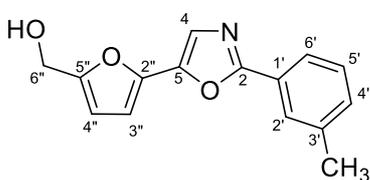
2-(3-metoxifen-1-il)-5-(5-(hidroximetil)-2-il)oxazol (106)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (51,0 mg, 63% de rendimento) após purificação (SiO_2 , pentano:acetato de etila 1:1). **1H NMR (CD_3OD , 400 MHz):** δ = 3,88 (s, 3H, OCH_3);

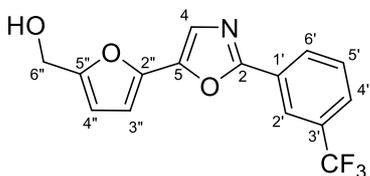
4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,48 (d, $J = 3,4$; 1H, H_{4''}); 6,79 (d, $J = 3,4$; 1H, H_{3''}); 7,08 (ddd, $J = 8,3$; 2,5; 1,0; 1H, H_{4'}); 7,41 (s, 1H, H₄); 7,42 (dd, $J = 8,3$; 7,7; 1H, H_{5'}); 7,58 (dd, $J = 2,5$; 1,5; 1H, H_{2'}); 7,63 (ddd, $J = 7,7$; 1,5; 1,0; 1H, H_{6'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** $\delta = 55,9$ (OCH₃); 57,3 (C_{6''}); 109,7 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 112,3 (C_{2'}); 118,0 (C_{4'}); 119,7 (C_{6'}); 123,7 (C₄); 129,1 (C_{1'}); 131,3 (C_{5'}); 144,1 (C_{2''}); 145,4 (C₅); 157,2 (C_{5''}); 161,6 (C_{3'}); 162,1 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₅H₁₄NO₄: 272,0923; encontrada: 272,0910. **PF °C:** 114,6–147,6.

2-(3-metilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (107)



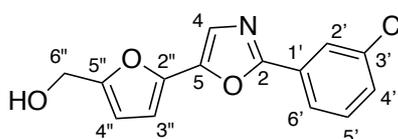
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (40,7 mg, 53% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** $\delta = 2,43$ (s, 3H, CH₃); 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,48 (d, $J = 3,4$; 1H, H_{4''}); 6,79 (d, $J = 3,4$; 1H, H_{3''}); 7,34 (d, $J = 7,6$; 1H, H_{4'}); 7,40 (app t, $J = 7,6$; 1H, H_{5'}); 7,40 (s, 1H, H₄); 7,85 (d, $J = 7,6$; 1H, H_{6'}); 7,88 (s, 1H, H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** $\delta = 21,4$ (C_{7'}); 57,3 (C_{6''}); 109,6 (C_{3''}); 110,4 (C_{4''}); 123,6 (C₄); 124,5 (C_{6'}); 127,8 (C_{2'}); 127,9 (C_{1'}); 130,1 (C_{5'}); 132,7 (C_{4'}); 140,2 (C_{3'}); 144,2 (C_{2''}); 145,3 (C₅); 157,2 (C_{5''}); 162,4 (C₂). **HRMS (ESI) [M+Na]⁺:** calcd para C₁₅H₁₃NNaO₃: 278,0788; encontrada 278,0781; [M+H]⁺: calcd para C₁₅H₁₄NO₃: 256,0968; encontrada 256,0961. **PF °C:** 126,0–127,0.

2-(3-trifluormetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (108)



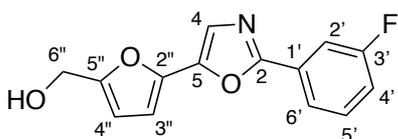
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (65,0 mg, 70% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** $\delta = 4,59$ (s, 2H, H_{6''}); 6,48 (d, $J = 3,4$; 1H, H_{4''}); 6,82 (d, $J = 3,4$; 1H, H_{3''}); 7,45 (s, 1H, H₄); 7,72 (app t, $J = 8,1$; 1H, H_{5'}); 7,80 (d, $J = 8,1$; 1H, H_{4'}); 8,26–8,30 (m, 2H, H_{6'} e H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** $\delta = 55,9$ (C_{6''}); 108,7 (C_{3''}); 109,1 (C_{4''}); 122,3 (q, $J = 4$, C_{4'}); 122,7 (C₄); 123,7 (q, $J = 272$, CF₃); 126,8 (q, $J = 4$, C_{2'}); 127,6 (C_{1'}); 129,2 (C_{5'}); 129,8 (C_{6'}); 131,2 (q, $J = 33$, C_{3'}); 142,5 (C_{2''}); 144,6 (C₅); 156,0 (C_{5''}); 159,1 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₅H₁₁F₃NO₃: 310,0686; encontrada: 310,0684. **PF °C:** 135,5–135,8.

2-(3-clorofen-1-il)-5-(5-hidroximetil-2-il)oxazol (109)



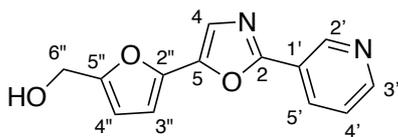
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento B e obtido como um sólido amarelado (69,0 mg, 83% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz):** δ = 4,58 (s, 1H, H_{6'''}); 6,47 (d, J = 3,3; 1H, H_{4'''}); 6,79 (d, J = 3,3; 1H, H_{3'''}); 7,40 (s, 1H, H₄); 7,48-7,50 (m, 2H, H_{4'} e H_{5'}); 7,93-7,95 (m, 1H, H_{6'}); 8,00 (s, 1H, H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz):** δ = 57,3 (C_{6'''}); 110,0 (C_{3'''}); 110,5 (C_{4'''}); 123,9 (C₄); 125,5 (C_{6'}); 127,0 (C_{2'}); 129,8 (C_{1'}); 131,7 (C_{4'}); 131,8 (C_{5'}); 136,1 (C_{3'}); 143,9 (C_{2''}); 145,8 (C₅); 157,4 (C_{5''}); 160,6 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₄H₁₁ClNO₃: 276,0427; encontrada: 276,0426. **PF °C:** 113,4–114,1.

2-(3-fluorfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (110)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento B e obtido como um sólido amarelado (61,0 mg, 82% de rendimento) após purificação (SiO₂, DCM:acetona 9:1). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ = 4,68 (s, 2H, H_{6'''}); 6,42 (d, J = 3,5; 1H, H_{4'''}); 6,66 (d, J = 3,5; 1H, H_{3'''}); 7,16 (tdd, J = 8,4; 2,5; 1,0; 1H, H₄); 7,39 (s, 1H, H₄); 7,44 (td, J = 8,4; 5,7; 1H, H₅); 7,76 (ddd, J = 9,5; 2,5; 1,5; 1H, H₂); 7,87 (ddd, J = 8,4; 1,5; 1,0; 1H, H_{6'}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 57,4 (C_{6'''}); 108,6 (C_{3'''}); 110,0 (C_{4'''}); 113,5; (d, J = 24, C_{2'}); 117,6 (d, J = 21,3; C_{4'}); 122,2 (d, J = 3,0; C_{6'}); 123,7 (C₄); 130,7 (d, J = 8, C_{5'}); 132,2 (d, J = 10, C_{1'}); 143,4 (C_{2''}); 144,0 (C₅); 155,1 (C_{5''}); 159,8 (d, J = 4, C₂); 163,1 (d, J = 247, C_{3'}). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₄H₁₁FNO₃: 260,0723; encontrada: 260,0714. **PF °C:** 112,7–113,3.

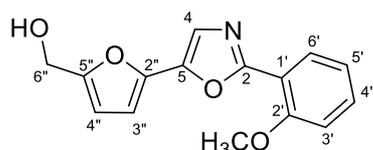
2-(3-piridil)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (111)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e purificado por uma extração ácido-básica, da mesma forma que o composto 100. O produto foi obtido como um sólido amarelado (41,0 mg, 28% de rendimento). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 4,59 (s, 2H, H_{6'''}); 6,48 (d, J = 3,5; 1H, H_{4'''}); 6,82 (d, J = 3,5; 1H, H_{3'''}); 7,46 (s, 1H, H₄); 7,58 (ddd, J = 8,1; 4,9; 0,8, 1H, H_{4'}); 8,43 (ddd, J = 8,1; 2,1; 1,7, 1H, H_{5'}); 8,65 (dd, J = 4,9; 1,7, 1H, H_{3'}); 9,19 (dd, J = 2,1; 0,8, 1H, H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 57,3 (C_{6'''}); 110,2 (C_{3'''}); 110,5

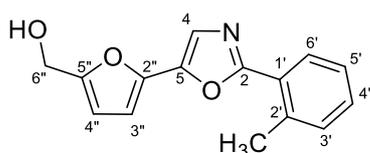
(C_{4''}); 124,1 (C₄); 125,0 (C_{4'}); 125,6 (C_{1'}); 135,3 (C_{5'}); 143,8 (C_{2''}); 146,1 (C₅); 147,8 (C_{2'}); 151,7 (C_{3'}); 157,5 (C_{5''}); 159,4 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₃H₁₁N₂O₃: 243,0770; encontrada: 243,0764. **PF °C:** 119,3–120,1.

2-(2-metoxifen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (112)



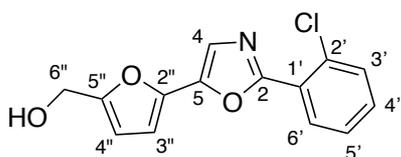
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A. O tempo reacional foi de 48 h e o composto foi obtido como um sólido amarelado (57.7 mg, 71% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 3,96 (s, 3H, OCH₃); 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,47 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{4''}); 6,75 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{3''}); 7,09 (app td, *J* = 7,8; 1,0, 1H, H_{5'}); 7,19 (d, *J* = 8,1, 1H, H_{3'}); 7,42 (s, 1H, H₄); 7,48-7,54 (m, 1H, H_{4'}); 7,92 (dd, *J* = 7,8; 1,7, 1H, H_{6'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 56,3 (OCH₃); 57,3 (C_{6''}); 109,5 (C_{3''}); 110,4; (C_{4''}); 113,3 (C_{3'}); 116,7 (C_{1'}); 121,7 (C_{5'}); 123,2 (C₄); 130,9 (C_{6'}); 133,6 (C_{4'}); 144,3 (C_{2''}); 144,9 (C₅); 157,1 (C_{5''}); 159,2 (C_{2'}); 160,8 (C₂). **HRMS (ESI) [M+Na]⁺:** calcd para C₁₅H₁₃NNaO₄: 294,0737; encontrada 294,0740; [M+H]⁺: calcd para C₁₅H₁₄NO₄: 272,0917; encontrada 272,0917. **PF °C:** 128,0–129,0.

2-(2-metilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (113)



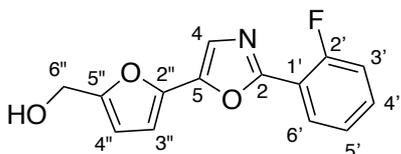
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A. O tempo reacional foi de 48 h e o composto foi obtido como um sólido amarelado (50,5 mg, 69% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 2,68 (s, 3H, CH₃); 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,48 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{4''}); 6,75 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{3''}); 7,29-7,42 (m, 3H, H_{3'}, H_{4'} e H_{5'}); 7,43 (s, 1H, H₄); 7,97 (dd, *J* = 7,9; 1,2, 1H, H_{6'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 22,0 (CH₃); 57,3 (C_{6''}); 109,5 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 123,5 (C₄); 127,1 (C_{1'}); 127,3 (C_{5'}); 129,8 (C_{6'}); 131,5 (C_{4'}); 132,8 (C_{3'} e C_{6'}); 138,7 (C_{2'}); 144,3 (C_{2''}); 145,0 (C₅); 157,1 (C_{5''}); 162,6 (C₂). **HRMS (ESI) [M+Na]⁺:** calcd para C₁₅H₁₃NNaO₃: 278,0788; encontrada 278,0785; [M+H]⁺: calcd para C₁₅H₁₄NO₃: 256,0968; encontrada 256,0966. **PF °C:** 104,0–105,0.

2-(2-clorofen-1-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (114)



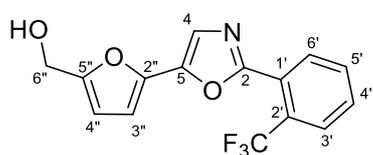
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento B. O tempo reacional foi de 48 h e o composto foi obtido como um sólido amarelado (82 mg, 83% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz): δ = 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,48 (d, *J* = 3,4; 1H, H_{4''}); 6,76 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{3''}); 7,43–7,51 (m, 3H, H_{4'}, H₄ e H_{5'}); 7,59 (dd, *J* = 7,4; 1,8, 1H, H_{3'}); 8,00 (d, *J* = 7,5; 1,9, 1H, H_{6'}). ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz): δ = 57,4 (C_{6''}); 110,0 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 123,4 (C₄); 126,9 (C_{1'}); 128,4 (C_{4'} ou C_{5'}); 132,1 (C_{6'}); 132,3 (C_{4'} ou C_{5'}); 132,9 (H_{3'}); 133,5 (C_{2'}); 144,0 (C_{2''}); 145,9 (C₅); 157,4 (C_{5''}); 160,0 (C₂). HRMS-ESI: *m/z* [M+H]⁺ calcd para C₁₄H₁₁ClNO₃: 276,0427; encontrada: 276,0424. PF °C: 123,0–123,7.

2-(2-fluorfen-1-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (115).



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A. O tempo reacional foi de 48 h e o composto foi obtido como um sólido amarelado (40,8 mg, 51% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): δ = 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,49 (d, *J* = 3,3; 1H, H_{4''}); 6,78 (d, *J* = 3,3; 1H, H_{3''}); 7,29–7,36 (m, 2H, H_{4'} ou H_{6'} e H_{3'}); 7,47 (s, 1H, H₄); 7,53–7,58 (m, 1H, H_{4'} ou H_{6'}); 8,07 (app td, *J* = 7,6; 1,7, 1H, H_{5'}). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz): δ = 57,3 (C_{6''}); 110,0 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 116,1 (d, *J* = 11, C_{1'}); 117,9 (d, *J* = 21, C_{3'}); 123,6 (C₄); 125,9 (d, *J* = 4, C_{4'} ou C_{6'}); 130,5 (C_{5'}); 133,9 (d, *J* = 8, C_{4'} ou C_{6'}); 144,0 (C_{2''}); 145,7 (C₅); 157,4 (C_{5''}); 158,4 (d, *J* = 6, C₂); 161,3 (d, *J* = 256, C_{2'}). HRMS-ESI: *m/z* [M+H]⁺ calcd para C₁₄H₁₁FNO₃: 260,0723; encontrada: 260,0727; [M+Na]⁺ calcd para C₁₄H₁₀FNO₃Na: 282,0542; encontrada: 282,0536. PF °C: 95,5–96,8.

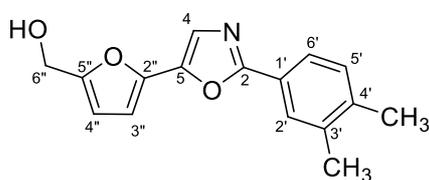
2-(2-trifluormetilfen-1-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazoli (116)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A. O tempo reacional foi de 48 h e o composto foi obtido como um sólido amarelado (26,7 mg, 29% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz): δ = 4,59 (s, 2H, C_{6''}); 6,48 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,78 (d, *J* = 3,5; 1H,

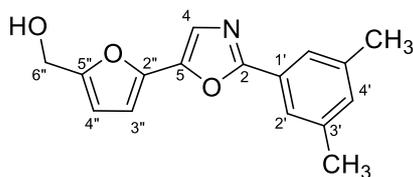
H_{3''}); 7,48 (s, 1H, H₄); 7,74 (app t, $J = 7,6$; 1H, H_{4'}); 7,79 (app t, $J = 7,6$; 1H, H_{5'}); 7,92 (d, $J = 7,6$, 1H, H_{3'}); 8,05 (d, $J = 7,6$; 1H, H_{6'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz):** $\delta = 57,3$ (C_{6''}); 110,0 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 125,0 (q, $J = 273$, CF₃); 126,6 (q, $J = 2$, C_{1'}); 128,1 (q, $J = 5$, C_{3'}); 129,4 (q, $J = 32$, C_{2'}); 1322 (C_{4'}); 132,6 (C_{6'}); 133,6 (C_{5'}); 1439 (C_{2''}); 146,6 (C₅); 157,5 (C_{5''}); 159,9 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₅H₁₁F₃NO₃: 310,0686; encontrada: 310,0684; [M+Na]⁺ calcd para C₁₅H₁₀F₃NO₃Na: 332,0510; encontrada: 332,0503. **PF °C:** 97,7–98,3.

2-(3,4-dimetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (117)



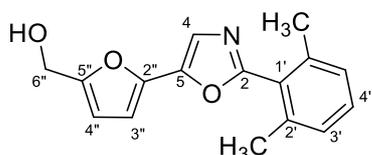
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (60,1 mg, 74% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** $\delta = 2,31$ (s, 3H, CH₃); 2,33 (s, 3H, CH₃); 4,67 (s, 2H, H_{6''}); 6,41 (d, $J = 3,5$; 1H, H_{4''}); 6,63 (d, $J = 3,5$, 1H, H_{3''}); 7,22 (d, $J = 7,9$, 1H, H_{5'}); 7,37 (s, 1H, H₄); 7,80 (dd, $J = 7,9$; 1,6; 1H, H_{6'}); 7,85 (d, $J = 1,6$; 1H, H_{2'}). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** $\delta = 19,9$ (CH₃); 20,0 (CH₃); 57,4 (C_{6''}); 107,9 (C_{3''}); 109,9 (C_{4''}); 123,5 (C₄); 124,1 (C_{6'}); 124,7 (C_{1'}); 127,6 (C_{2'}); 130,3 (C_{5'}); 137,4 (C_{4'}); 139,8 (C_{3'}); 143,3 (C_{2''}); 143,8 (C₅); 154,8 (C_{5''}); 161,5 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₆H₁₆NO₃: 270,1130; encontrada: 270,1130. **PF °C:** 131,0–131,9.

2-(3,5-dimetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (118)



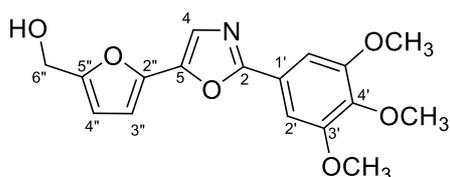
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (59,2 mg, 73% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** $\delta = 2,38$ (s, 6H, 2CH₃); 4,67 (s, 2H, H_{6''}); 6,40 (d, $J = 3,5$; 1H, H_{4''}); 6,64 (d, $J = 3,5$; 1H, H_{3''}); 7,09 (s, 1H, H_{4'}); 7,39 (s, 1H, H₄); 7,69 (s, 2H, 2 H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** $\delta = 21,3$ (2 CH₃); 57,3 (C_{6''}); 109,5 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 123,5 (C₄); 125,0 (2 C_{2'}); 127,8 (C_{1'}); 133,5 (C_{4'}); 140,1 (2 C_{3'}); 144,2 (C_{2''}); 145,2 (C₅); 157,1 (C_{5''}); 162,6 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₆H₁₆NO₃: 270,1130; encontrada: 270,1127. **PF °C:** 150,2–151,0.

2-(2,5-dimetilfen-1-il)-5-(5-hidroxi-2-il)oxazol (119)



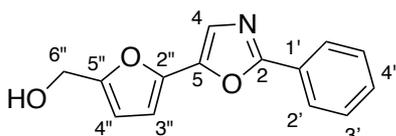
O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (37,9 mg, 47% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz):** δ = 2,29 (s, 6H, 2CH₃); 4,66 (s, 2H, H_{6''}); 6,40 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{4''}); 6,58 (d, *J* = 3,5; 1H, H_{3''}); 7,12 (d, *J* = 7,3; 2H, H_{3'}); 7,27 (app t, *J* = 7,3; 1H, H_{4'}); 7,44 (s, 1H, H₄). **¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz):** δ = 20,5 (2 CH₃); 57,1 (C_{6''}); 108,1 (C_{3''}); 109,7 (C_{4''}); 122,3 (C₄); 127,6 (C_{1'}); 127,9 (2 C_{3'}); 130,2 (C_{4'}); 138,8 (2 C_{2'}); 143,5 (C_{2''}); 143,8 (C₅); 155,1 (C_{5''}); 160,4 (C₂). **HRMS-ESI:** m/z [M+H]⁺ calcd para C₁₆H₁₆NO₃: 270,1130; encontrada: 270,1120. **PF °C:** 76,6–77,2.

2-(3,4,5-trimetoxifen-1-il)-5-(5-hidroxi-2-il)oxazol (120)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (61,1 mg, 62% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 3,83 (s, 3H, OCH₃); 3,94 (s, 6H, 2 OCH₃); 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,49 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{4''}); 6,81 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{3''}); 7,36 (s, 2H, H_{2'}); 7,41 (s, 1H, H₄). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 56,8 (2 OCH₃); 57,3 (C_{6''}); 61,2 (OCH₃); 104,8 (2 C_{2'}); 109,7 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 123,4 (C_{1'}); 123,7 (C₄); 141,8 (C_{4'}); 144,1 (C_{2''}); 145,4 (C₅); 155,1 (2 C_{3'}); 157,2 (C_{5''}); 162,2 (C₂). **HRMS (ESI) [M+Na]⁺:** calcd para C₁₇H₁₇NNaO₆: 354,0948; encontrada 354,0942; [M+H]⁺: calcd para C₁₇H₁₈NO₆: 332,1129; encontrada 332,1124. **PF °C:** 149,0–151,0.

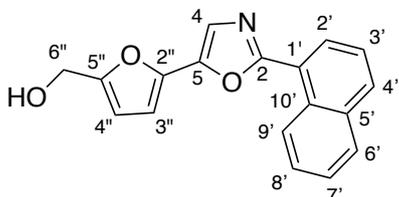
2-fenil-5-(5-hidrometilfuran-2-il)oxazol (121)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (45,9 mg, 63% de rendimento) após purificação (SiO₂, pentano:acetato de etila 1:1). **¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz):** δ = 4,59 (s, 2H, H_{6''}); 6,48 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{4''}); 6,79 (d, *J* = 3,4, 1H, H_{3''}); 7,42 (s, 1H, H₄); 7,49–7,56 (m, 3H, 2 H_{3'} e H_{4'}); 8,05–8,07 (m, 2H, H_{2'}). **¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz):** δ = 57,3 (C_{6''}); 109,6 (C_{3''}); 110,5 (C_{4''}); 123,7 (C₄); 127,3 (2 C_{2'}); 128,0 (C_{1'}); 130,2 (2 C_{3'}); 132,0 (C_{4'}); 144,2 (C_{2''}); 145,4 (C₅); 157,2 (C_{5''}); 162,2 (C₂). **HRMS**

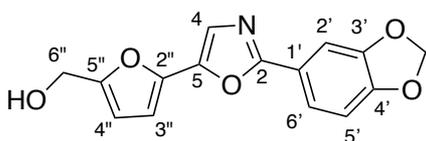
(ESI) $[M+Na]^+$: calcd para $C_{14}H_{11}NNaO_3$: 264,0631; encontrada 264,0631; $[M+H]^+$: calcd para $C_{14}H_{12}NO_3$: 242,0812; encontrada 242,0811. PF °C: 106,0–107,0.

2-(naft-1-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (122)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A e obtido como um sólido amarelado (47,0 mg, 54% de rendimento) após purificação (SiO_2 , pentano:acetato de etila 1:1). 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ = 4,69 (s, 2H, $H_{6''}$); 6,43 (d, J = 3,5; 1H, $H_{4''}$); 6,69 (d, J = 3,5; 1H, $H_{3''}$); 7,52 (s, 1H, H_4); 7,54–7,58 (m, 2H, $H_{3'}$ e $H_{7'}$); 7,66 (ddd, J = 8,6; 6,8; 1,4; 1H, H_8); 7,91 (app td, J = 8,2; 0,6; 1H, $H_{6'}$); 7,97 (d, J = 8,2; 1H, $H_{4'}$); 8,26 (dd, J = 7,3; 1,2; 1H, H_2); 9,28 (app ddd, J = 8,7; 1,0; 1H, H_9). ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): δ = 57,5 ($C_{6''}$); 108,3 ($C_{3''}$); 110,0 ($C_{4''}$); 123,6 (C_4 , e C_5); 125,1 ($C_{3'}$); 126,2 ($C_{9'}$); 126,5 (C_7); 127,8 (C_8); 128,0 (C_2); 128,7 ($C_{6'}$); 130,2 ($C_{10'}$); 131,5 (C_3); 134,1 (C_1); 143,4 ($C_{2''}$); 143,8 (C_5); 155,8 ($C_{5''}$); 160,8 (C_2). HRMS-ESI: m/z $[M+H]^+$ calcd para $C_{18}H_{14}NO_3$: 292,0974; encontrada: 292,0976. PF °C: 103,6–104,7.

2-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (124)



O composto foi sintetizado utilizando o procedimento A. O tempo reacional foi de 96 h e o composto foi obtido como um sólido amarelado (12,3 mg, 14% de rendimento) após purificação (SiO_2 , pentano:acetato de etila 1:1). 1H NMR (Acetona- d_6 , 400 MHz): δ = 4,42 (t, J = 6,1; 1H, OH); 4,61 (d, J = 6,1; 2H, $H_{6''}$); 6,13 (s, 2H, $H_{7'}$); 6,47 (d, J = 3,5; 1H, $H_{4''}$); 6,79 (d, J = 3,5; 1H, $H_{3''}$); 7,01 (d, J = 8,2; 1H, $H_{5'}$); 7,36 (s, 1H, H_4); 7,51 (d, J = 1,6; 1H; $H_{2'}$); 7,65 (dd, J = 8,2; 1,6; 1H; $H_{6'}$). ^{13}C NMR (Acetona- d_6 , 100 MHz): δ = 57,2 ($C_{6''}$); 102,9 ($C_{7'}$); 107,0 ($C_{2'}$); 109,0 ($C_{3''}$); 109,6 ($C_{5'}$); 109,8 ($C_{4''}$); 121,9 ($C_{1'}$); 122,2 ($C_{6'}$); 123,9 (C_4); 143,7 ($C_{3'}$ ou C_4); 144,6 ($C_{3'}$ ou C_4); 149,3 ($C_{2''}$); 150,8 (C_5); 157,5 ($C_{5''}$); 161,1 (C_2). HRMS-ESI: m/z $[M+H]^+$ calcd para $C_{15}H_{12}NO_5$: 286,0715; encontrada: 286,0718. PF °C: 135,4–135,9.

4.2 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

Os ensaios de atividade biológica descritos foram realizados no Laboratório de Protozoologia da UFSC, por Milene Hoehr de Moraes e Bibiana Paula Dambrós, sob supervisão do Prof. Mario Steindel.

4.2.1 Informações gerais

Os reagentes utilizados nos ensaios biológicos foram adquiridos na Sigma-Merk, Life Technologies, Amresco e Gibco. A leitura da densidade ótica das placas foi realizada em um espectrofotômetro Infinite M200 TECAN.

4.2.2 Cultivo dos parasitos e células

Os promastigotas de *L. amazonensis* (cepa LBT0016) expressando o gene da β -galactosidase foram cultivados em garrafa de cultura de 25 cm² contendo 5 mL de meio Schneider, pH 7,4 e suplementado com 5% (v/v) de soro bovino fetal inativado (SBF), 2% (v/v) de urina humana masculina, 10 U/mL de penicilina e 10 μ g/mL de estreptomicina. As garrafas foram mantidas em estufa à 26 °C e o repique foi realizado em intervalos de 3 a 4 dias.

Os tripomastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen) expressando o gene da β galactosidase foram mantidos em cultivo utilizando células de fibroblasto de camundongo L929 (ATCC CCL-1) em garrafa de cultura de 75 cm². Foi utilizado como meio 10 mL de RPMI-1640 sem vermelho de fenol, suplementado com 10% de SBF, 10 U/mL de penicilina e 10 μ g/mL de estreptomicina (meio completo). As garrafas foram mantidas em estufa à 37°C com atmosfera de 5% de CO₂ e o repique foi realizado em intervalos de 3 a 4 dias.

As células da linhagem monocitária humana THP-1 (ATCC® TIB 202TM) foram cultivadas à 37°C, 5% de CO₂ em garrafa de 75 cm². Foi utilizado como meio 12 mL de RPMI-1640 sem vermelho de fenol suplementado com 10% de SBF, 2 mM de Glutamax, 1mM de piruvato de sódio, 10 U/mL de penicilina e 10 μ g/mL de estreptomicina. O repique foi realizado intervalos de 3 a 4 dias.

4.2.3 Preparação das soluções estoque dos compostos químicos

Os compostos foram pesados em balança analítica e solubilizados em DMSO na concentração inicial de 50 mM, instantes antes da realização dos ensaios. A partir da solução estoque 50 mM, as demais diluições utilizadas nos ensaios foram preparadas utilizando meio

RPMI-1640 como diluente. Para ensaios realizados em dias diferentes, uma nova solução estoque foi preparada. A concentração final máxima de DMSO nos ensaios foi 1%.

4.2.4 Avaliação da atividade tripanocida frente aos amastigotas intracelulares de *T. cruzi*

Células THP-1 foram cultivadas em placas de 96 poços ($4,0 \times 10^4$ células/poço) em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de SFB. Para diferenciação, as células foram tratadas com 100 ng/mL de phorbol-12-miristato-13-acetato por 72 h (SCHWENDE et al., 1996). A seguir, as células foram incubadas à 37 °C, 5% CO₂, *overnight* com os tripomastigotas de *T. cruzi* na proporção parasito:célula de 2:1, para a infecção e evolução à forma amastigota intracelular. A seguir, os parasitas não internalizados foram removidos por meio de lavagens sucessivas com PBS e, às células, foi adicionado 180 µL de RPMI-1640 completo e as células mantidas em estufa à 37 °C, 5% CO₂. Inicialmente foi realizado um *screening* dos compostos na concentração de 50 µM. Os compostos que levaram à uma redução da carga parasitária >45% após um tratamento de 72 h foram ensaiados em concentrações de 100 µM até 3 µM, para determinação do IC₅₀. Ao final do tempo de tratamento, as células foram lavadas com PBS e incubadas por 4 h com 250,0 µL de vermelho de clorofenol-β-D-galactopiranosídeo (100 µM) e Nonidet P-40 (0,1%). A densidade ótica foi lida em 570 nm com referência em 630 nm para determinação da viabilidade parasitária. O fármaco benznidazol (20 µM) e DMSO 1% foram utilizados como controles positivo e negativo, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.2.5 Avaliação da atividade leishmanicida frente aos amastigotas intracelulares de *L. amazonensis*

Promastigotas de *L. amazonensis* obtidos no quarto dia de cultura foram lavados com PBS e opsonizados em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de soro humano B+ inativado por 4 h. A seguir, células THP-1 tratadas conforme descrito na seção anterior foram incubadas com os parasitos numa proporção parasito:célula 10:1 por 4 h (34 °C, 5% CO₂) e, então, os parasitas não internalizados foram removidos por meio de lavagens sucessivas com PBS. As células foram incubadas por mais 24 h à 34 °C, 5% CO₂, com 180 µL de RPMI-1640 suplementado para que ocorresse a completa diferenciação dos parasitas em amastigotas intracelulares. Inicialmente foi realizado um *screening* dos compostos na concentração de 50 µM. Os compostos que levaram à uma redução da carga parasitária >45% após um tratamento

de 72 h foram ensaiados em concentrações de 100 μM até 3 μM , para determinação do IC_{50} . Ao final do tempo de tratamento, as células foram lavadas com PBS e incubadas por 4 h com 250,0 μL de vermelho de clorofenol- β -D-galactopiranosídeo (100 μM) e Nonidet P-40 (0,1%). A densidade ótica foi lida em 570 nm com referência em 630 nm para determinação da viabilidade parasitária. O fármaco anfotericina B (2 μM) e DMSO 1% foram utilizados como controles positivo e negativo, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.2.6 Avaliação da citotoxicidade em células THP-1

A viabilidade celular foi avaliada através do ensaio do MTT, que consiste na medida colorimétrica da metabolização do MTT à formazan feita pelas células viáveis. As células THP-1 ($4,0 \times 10^4$ células/poço) foram cultivadas em RPMI-1640 suplementado com 10% de SFB a 37 °C e 5% de CO_2 . As células foram tratadas com os compostos de interesse em concentrações variando de 15,6 μM a 500 μM e incubadas por 72 h (37 °C, 5% CO_2). DMSO 1% foi usado como controle negativo e DMSO 50% como controle positivo. Após, foi adicionado 50 μL de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio (MTT) na concentração de 3 mg/mL em cada poço e a placa foi mantida a 37 °C, 5% CO_2 por 4 horas. A densidade ótica em 540 nm foi lida em um espectrofotômetro Infinite M200 TECAN imediatamente após a dissolução dos cristais de formazan com 100 μL de DMSO (SIEUWERTS et al., 1995; VAN DE LOOSDRECHT et al., 1991).

4.2.7 Regressão não-linear e análise estatística

O IC_{50} e CC_{50} dos compostos foi calculado a partir da regressão não linear da curva dose-resposta da morte parasitária/celular utilizando o *software* Prism 8. A análise de variância simples (*one-way* ANOVA) e o teste *post-hoc* Dunnet foram utilizados para comparação de médias nos resultados dos ensaios biológicos. A hipótese nula foi rejeitada quando $P < 0,05$.

4.3 OUTROS PROCEDIMENTOS

4.3.1 Cálculo das propriedades físico-químicas e topológicas

As propriedades físico-químicas e topológicas foram calculadas no software Data Warrior 5.2.1 a partir do código SMILES de cada composto, usando a função *Calculate Properties* no menu *Chemistry/From Chemical Structure*.

4.3.2 Análise dos componentes principais (*PCA analysis*)

As propriedades físico-químicas e topológicas (“*variáveis*”) calculadas foram organizadas em uma tabela no software Microsoft Excel 2019 e os valores foram normalizados com base na média e desvio padrão daquela variável. Com os dados normalizados, a função “*prcomp*” do *software* R 4.0.2 foi utilizada para o cálculo dos componentes principais e do *score* associado a cada um dos componentes principais para cada composto. Os dados foram plotados em um gráfico de dispersão utilizando o software Microsoft Excel 2019. Informações adicionais sobre os resultados obtidos são descritas no Apêndice B.

4.3.3 Preparação dos ligantes para *docking* molecular

Os ligantes foram construídos em 3D utilizando Corina Classic a partir do seu respectivo código SMILES obtido na base de dados PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). A geometria dos ligantes foi otimizada utilizando o campo de força UFF implementado no software ArgusLab 6.0.

4.3.4 Preparação dos *decoys* para *docking* molecular

Os *decoys* utilizados no *docking* molecular foram obtidos na *Database of Useful Decoys: Enhanced* (DUD-E, <http://dude.docking.org>). Os *decoys* foram gerados a partir do código SMILES dos ligantes presentes nos complexos cristalográficos e preparados para o *docking* molecular assim como descrito na seção anterior (MYSINGER et al., 2012).

4.3.5 Docking molecular e target fishing

As estruturas cristalográficas de proteínas do *T. cruzi* em complexo com os seus inibidores foram obtidas no Protein Data Bank (<http://rcsb.org>) e preparadas utilizando a ferramenta DockPrep no software UCSF Chimera 1.12. O software Gold Suite 5.3 foi utilizado para o *docking* molecular dos compostos (JONES et al., 1997). A validação da metodologia foi feita através do *redocking* dos ligantes cristalografados utilizando a função de pontuação CHEMPLP. O sítio de ligação foi definido a partir de todos os átomos em uma área de 6 Å a partir do inibidor cristalografado. O número de *GA runs* foi definido em 20, com *search efficiency* de 100% e todas as torções foram permitidas. Caso nenhuma pose com RMSD <2,5 Å tenha sido encontrada com 20 *GA runs*, o número de *GA runs* foi aumentado em incrementos de 20 *GA runs* até o limite máximo de 100 *GA runs*. Uma vez que os parâmetros foram validados na função de pontuação CHEMPLP, eles foram utilizados para o *redocking* utilizando as funções de pontuação GoldScore e ChemScore.

Para avaliar o quão eficiente as funções de pontuação foram em identificar a conformação cristalográfica como aquela com maior *score*, calculamos a eficiência da pontuação. Para isso, utilizamos o *rank* do *fitness score* (organizados em ordem decrescente) atribuído à pose de menor RMSD normalizado a partir do número de *GA runs* utilizados. Detalhes sobre os dados utilizados no cálculo estão descritos no Apêndice A.

$$\text{Eficiência da pontuação} = 100 - \left(\frac{\text{rank} \times 100}{\text{número de GA runs}} \right)$$

A seguir, a seletividade do *scoring* foi avaliado para as funções de pontuação com eficiência maior que 70, considerando os resultados individuais de cada alvo molecular. Para isso, o ligante cristalográfico foi submetido ao *docking* juntamente com os *decoys* específicos (proporção 1:9). As três soluções de maior *score* para cada molécula foram avaliadas. A função de pontuação foi considerada seletiva caso ao menos uma pose do ligante cristalográfico tenha ficado no top 10 de soluções.

Finalmente, os parâmetros validados de cada alvo molecular foram utilizados para o *docking* dos compostos sintetizados. O *fitness score* dos compostos sintetizados foi comparado com o do ligante cristalográfico de forma a prever a probabilidade de interação com o alvo molecular. Aqueles em que a razão (*fitness score* do composto) / (*fitness score* do ligante cristalográfico) foi >1 foram considerados como alvos em potencial. Nesses casos, a preparação

do complexo enzima-ligante foi feita no Gold Suite 5.3 e as interações foram analisadas com auxílio do web-server PLIP (<https://projects.biotec.tu-dresden.de/plip-web>) no software PyMOL 2.4.0 (SALENTIN et al., 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

PARTE I – SÍNTESE DE DERIVADOS DE UM COMPOSTO ISOXAZÓLICO ATIVO FRENTE AO *Trypanosoma cruzi*

PARTE II – SÍNTESE DE COMPOSTOS OXAZÓLICOS A PARTIR DO 5-HIDROXIMETILFURFURAL E AVALIAÇÃO FRENTE AO *Trypanosoma cruzi*

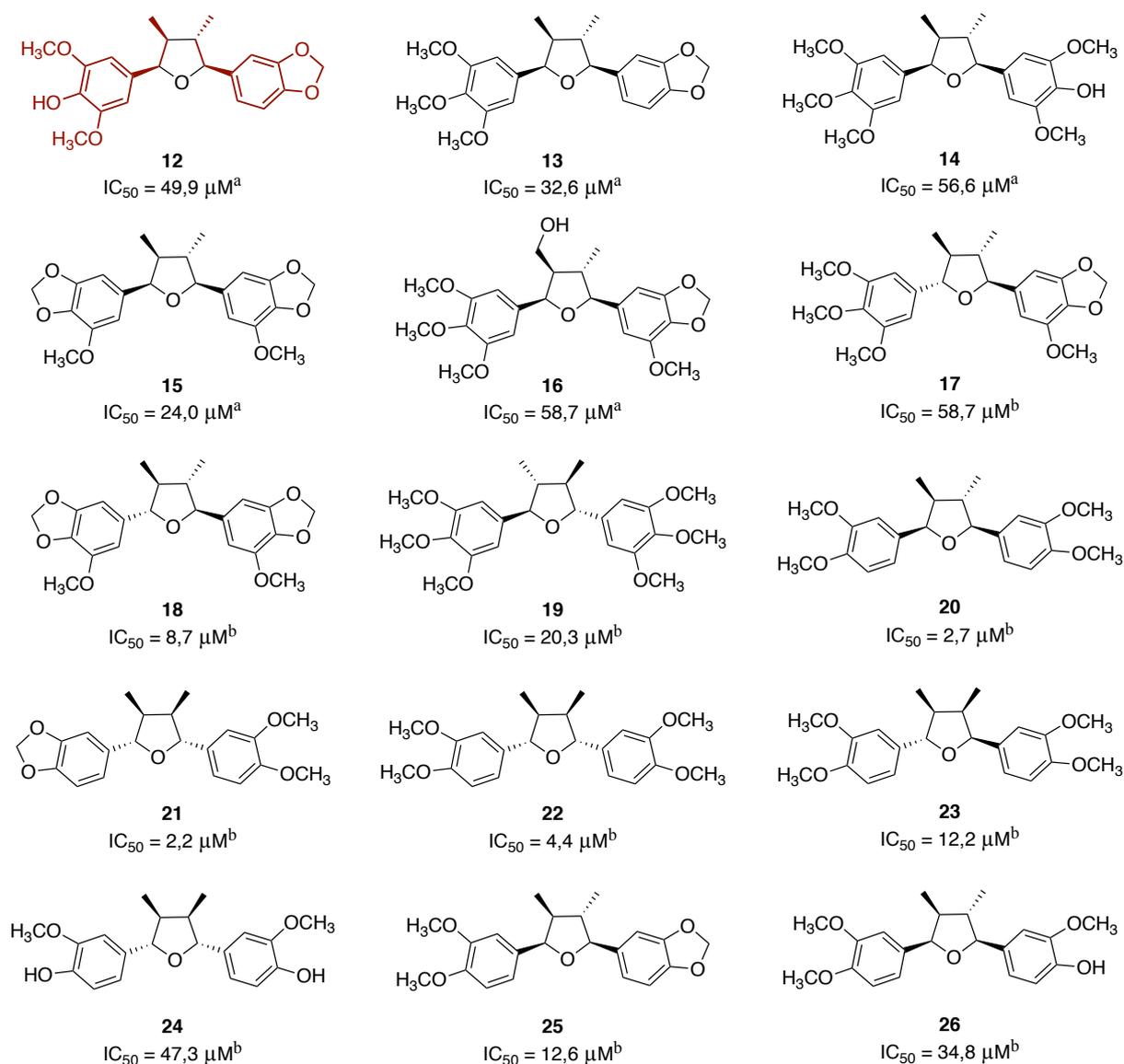
RESULTADOS E DISCUSSÃO
PARTE 1

5.1 PARTE I – SÍNTESE DE DERIVADOS DE UM COMPOSTO ISOXAZÓLICO ATIVO FRENTE AO *Trypanosoma cruzi*

5.1.1 Introdução

A identificação de metabólitos secundários ativos frente ao *Trypanosoma cruzi* e o seu uso para o planejamento de novos compostos bioativos é amplamente relatado na literatura. Entre as principais classes de metabólitos secundários investigadas, se encontram as lignanas. As lignanas são compostos formados pela condensação de duas unidades de fenilpropanoides (C6–C3), através de uma ligação através da posição β da cadeia propílica. Em situações em que a ligação entre as unidades ocorre através de um átomo de oxigênio ou nas posições α ou γ da cadeia propílica, os compostos são sub-classificados como neolignanas. Ainda, diferentes *scaffolds* podem ser formados pela condensação dos fenilpropanoides, dando origem a mais de vinte sub-tipos de lignanas e neolignanas (TEPONNO; KUSARI; SPITELLER, 2016). Entre as lignanas ativas frente ao *T. cruzi*, podemos encontrar compostos contendo porções benzofurano (CABRAL et al., 2010; MELETI et al., 2020; ODONBAYAR et al., 2019; PEREIRA et al., 2011), furofurano (E SILVA et al., 2014; GARCÍA-HUERTAS et al., 2018), lactona ou lactol (ESPERANDIM et al., 2013; HEMMATI; SERADJ, 2016), dibenzilbutano (BRITO et al., 2019) e fenoxi (GRECCO et al., 2017; NOCITO et al., 2007; ODONBAYAR et al., 2019). Além destes compostos, várias outras neolignanas contendo o núcleo diaril-tetrahydrofurano também já foram descritas com atividade tripanocida frente às formas epimastigotas ou tripomastigotas do parasito. A potência (IC_{50}) destes compostos tetrahydrofurânicos está na faixa de 2,7–58,7 μ M, o que indica o potencial do *scaffold* para o desenvolvimento de novos compostos *hit*. A estrutura química de algumas das lignanas tetrahydrofurânicas é apresentada na Figura 9 (DA SILVA FILHO et al., 2004; FELIPPE et al., 2008; LOPES et al., 1998).

Figura 9 – Estrutura química das neolignan tetrahidrofurânicas com atividade tripanocida.



A região em destaque no composto **12** representa as duas unidades de fenilpropanoides utilizadas na biossíntese do composto. ^aCompostos ativos em epimastigotas (Y). ^bCompostos ativos em tripomastigotas (Y).

Nessas lignanas tetrahidrofurânicas, os compostos ativos possuem o anel central substituído pela combinação de dois substituintes fenílicos. Nos compostos descritos na Figura 9, os substituintes presentes são: 1,3-dimetoxi-4-hidroxi-fen-1-il (compostos **12** e **14**); 3,4,5-trimetoxi-fen-1-il (compostos **13–14**, **16–17** e **19**); 3,4-metilenodioxifên-1-il (compostos **12–13**, **21** e **25**); 3,4-metilenodioxifên-5-metoxi-fen-1-il (compostos **15–18**); 3,4-dimetoxifên-1-il (compostos **20–23**) ou 3-metoxi-4-hidroxi-fen-1-il (compostos **24** e **26**). Ainda, os quatro centros estereogênicos presentes no anel central fazem com que existam dezesseis estereoisômeros de cada composto. Diferentes estereoisômeros de um mesmo composto já foram isolados de fontes naturais, o que indica que a condensação entre as unidades de

fenilpropanoides não é estereoseletiva. A estereoquímica tem influência na atividade tripanocida dos compostos, como pode ser observado na comparação entre os compostos **20**, **22** e **23** e entre os compostos **15** e **18**³, que apresentam potências variadas e são estereoisômeros. Além disso, a presença e o número de substituintes metoxila têm papel importante na atividade biológica. Em compostos análogos, uma diminuição na atividade biológica é observada quando há substituição de uma metoxila por uma hidroxila (composto **13** vs composto **12**, composto **19** vs composto **14**³, composto **20** vs composto **26**). Por último, a restrição conformacional causada pela substituição do grupo 3,4-dimetoxi-fen-1-il por 3,4-metilenodioxifên-1-il resulta em efeitos variáveis na atividade biológica. Em alguns casos, essa restrição leva ao aumento da potência (composto **21** vs composto **22**, composto **17** vs composto **18** e composto **19** vs composto **18**) e, em outros casos, uma diminuição da atividade é observada (composto **20** vs composto **25**).

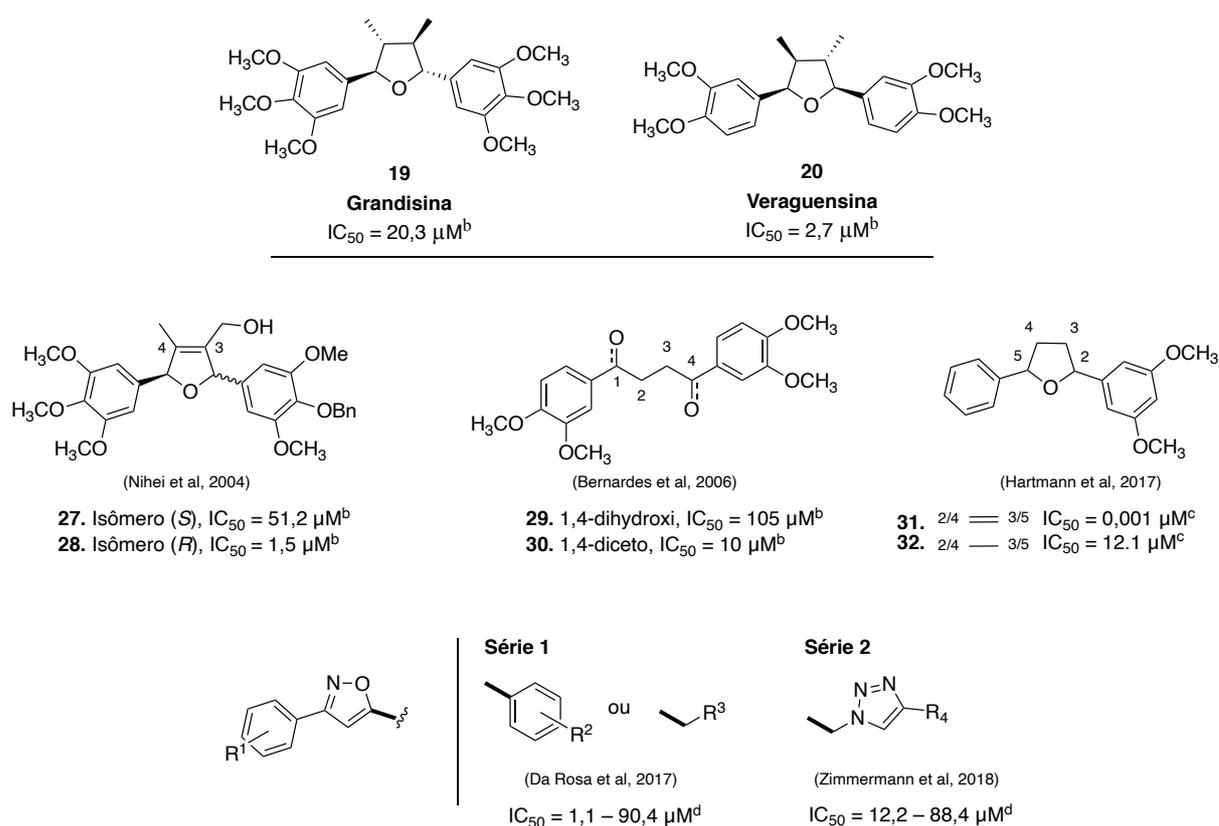
O isolamento e a identificação da atividade tripanocida da grandisina (**19**) e da veraguensina (**20**) por Lopes et al (1998) foram os eventos que deram início ao planejamento e síntese de derivados das lignanas no grupo de pesquisa liderado pela Prof^a Ivone Carvalho na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Apesar de ativas, a continuidade do estudo biológico dos compostos naturais foi limitada pela sua baixa solubilidade e pelo baixo rendimento no qual eles eram extraídos das plantas (naquela ocasião: *Virola surinamenses* e *Piper solmsianum*). Isso motivou a busca por compostos sintéticos análogos que tivessem as propriedades físico-químicas e biológicas otimizadas. Um trabalho inicial realizado em colaboração levou a síntese de derivados tetra- ou diidro-furânicos com diferentes substituintes polares nas posições 3 e 4 do anel central (NIHEI, 2004). Nesse trabalho, a influência da estereoquímica na atividade biológica foi novamente observada, uma vez que estereoisômeros de um mesmo composto apresentaram potência variando na ordem de 2–34 vezes (Figura 10, compostos **27** e **28**). Em outro trabalho, foram sintetizados compostos 1,4-diaril-1,4-diidroxibutano e 1,4-diaril-1,4-dicetobutano com o padrão de substituição aromático semelhante ao dos compostos naturais. O composto **30** apresentou atividade semelhante àquela dos compostos *tipo*-veraguensina (**20**), apesar da ausência do anel tetrahydrofurano central (BERNARDES et al., 2006). Mais recentemente, em trabalho também conduzido na FCFRP, outros derivados furânicos e tetrahydrofurânicos planejados com base nos compostos naturais também foram sintetizados (Figura 10, compostos **31** e **32**). Os compostos foram ativos contra

³ Nesse exemplo a comparação deve ser vista com cautela, uma vez que os compostos foram avaliados em diferentes formas evolutivas do parasito. Porém, o mesmo padrão de comportamento é observado em outros grupos de compostos que foram avaliados em uma mesma forma evolutiva.

o parasito (EC_{50}) na faixa de 0,01–37,3 μM e, alguns deles, também atuaram como inibidores da enzima tripanotona redutase—que é fundamental no controle do metabolismo oxidativo do parasito (HARTMANN et al., 2017).

Já no Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal, na Universidade Federal de Santa Catarina, duas séries de compostos ativos também foram preparadas (Figura 10). Os compostos de ambas as séries possuem o anel isoxazol como fragmento comum e, em uma delas, os compostos possuem também o triazol—levando a um *scaffold* bis-heterocíclico. Em ensaios fenotípicos, os compostos inibiram a replicação do *T. cruzi* com valores de IC_{50} variando entre 1,1–90,4 μM (DA ROSA et al., 2017; ZIMMERMANN et al., 2018).

Figura 10 – Estrutura de diferentes séries de compostos tripanocidas planejados com base nos compostos naturais grandisina e veraguensina.

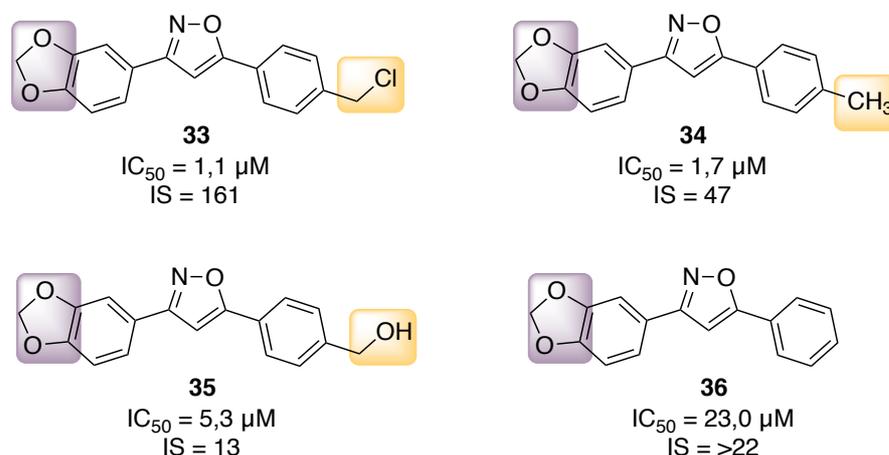


^aCompostos ativos em epimastigotas (Y). ^bCompostos ativos em tripomastigotas (Y). ^cCompostos ativos em tripastigotas (Tulahuen). ^dCompostos ativos em amastigotas (Tulahuen).

Vinte-seis compostos isoxazólicos (Figura 10, Série 1) foram sintetizados e avaliados contra amastigotas intracelulares de *T. cruzi* (cepa Tulahuen) e *L. amazonensis* (cepa LBT0016) no âmbito do projeto de mestrado "*Síntese e avaliação antitripanossomatídeos de derivados isoxazóis 3,5-dissubstituídos*", desenvolvido no PGFAR/UFSC. Naquela etapa do trabalho, foi

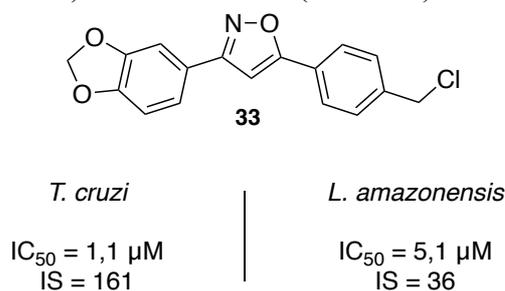
observado que o anel 3,4-metilenodioxifenil era importante para a atividade dos compostos frente ao *T. cruzi*, uma vez que análogos que apresentavam outros substituintes não eram ativos contra o parasito. Além disso, os substituintes ligados na posição *para* do anel aromático na outra extremidade da molécula também têm influência na atividade biológica dos compostos (Figura 11). Compostos mais polares, como o composto **35**, são menos potentes que compostos com substituintes mais apolares, como os compostos **33** e **34**. A ausência do substituinte em *para* nessa região da molécula, como no composto **36**, também faz com que haja diminuição da atividade tripanocida dos compostos.

Figura 11 – Estrutura química e informações biológicas de alguns dos derivados isoxazóis ativos contra *T. cruzi*.



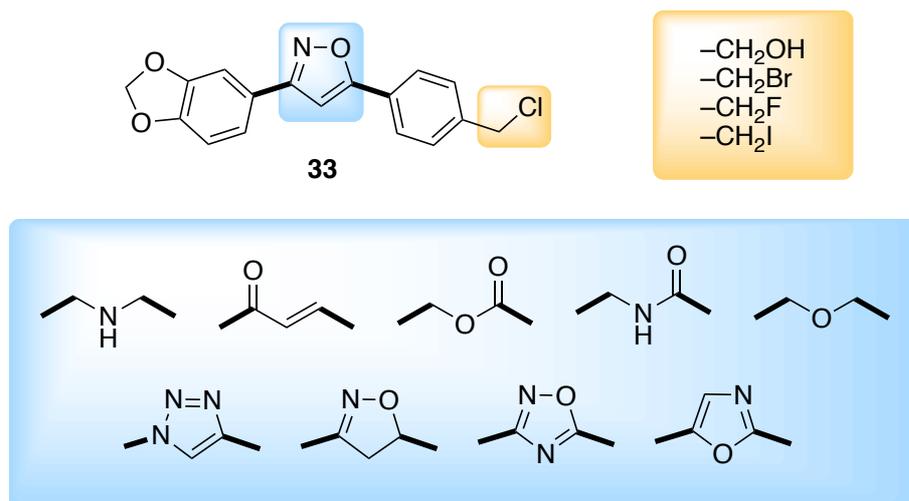
Dentre os compostos isoxazólicos da série 1, o composto 3-(3,4-metilenodioxifenil)-5-(4-clorometilfenil)isoxazol (**33**) se destacou. Este composto apresenta potência *in vitro* maior que a do fármaco benznidazol (que possui $IC_{50} = 10,2 \mu M$), alto índice de seletividade (IS) e é ativo não apenas contra *T. cruzi*, mas também contra *L. amazonensis*, nos motivando a prosseguir com a investigação das suas propriedades químico-biológicas (Figura 12).

Figura 12 – Estrutura química, potência e seletividade do composto **33** frente aos amastigotas intracelulares de *T. cruzi* (Tulahuen) e *L. amazonensis* (LBT0016).



Neste trabalho de doutorado, a investigação da relação estrutura-atividade do composto **33** foi conduzida de duas formas: (i) através de modificações no grupo funcional clorometila e (ii) através de modificações na região central da molécula, onde se encontra o anel isoxazol. Para isso, novos compostos halogenados e derivados contendo um *linker* acíclico ou heterocíclico entre os dois anéis fenílicos da molécula foram sintetizados. Como possuem propriedades eletrônicas, topológicas e físico-químicas diferentes, estas novas moléculas poderiam auxiliar na determinação da relação estrutura-atividade dessa série de compostos. Como resultado, esperou-se reunir informações importantes para o planejamento e síntese de novos compostos que sejam potentes e seletivos frente ao *T. cruzi*, além de possuírem propriedades físico-químicas adequadas para que sejam conduzidos para as próximas etapas de desenvolvimento pré-clínico.

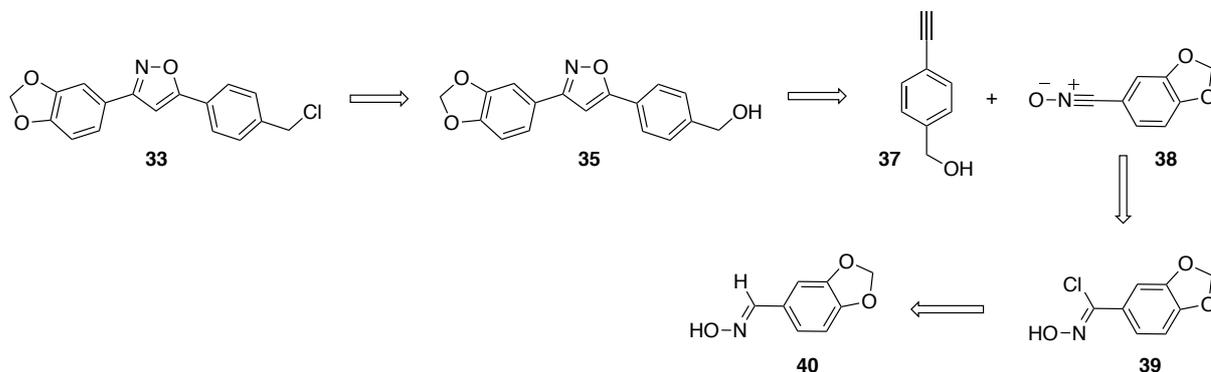
Figura 13 – Representação dos derivados do composto **33** propostos para o estudo de relação estrutura-atividade.



5.1.2 Determinação da importância do halogênio benzílico na atividade do composto **33**

Os derivados isoxazóis 3,5-dissubstituídos podem ser obtidos através da cicloadição 1,3-dipolar entre um derivado acetilênico (**37**) e um óxido de nitrila (**38**). Como os óxidos de nitrila **38** são compostos instáveis, devem ser preparados *in situ* através da desprotonação de cloretos de imidoíla **39** que, por sua vez, são sintetizados a partir de oximas **40** (Figura 14). Sais de cobre(I) geralmente são utilizados como catalizador na reação. Isso faz com que ocorra a polarização da ligação acetilênica terminal, como aquela do composto **37**, fazendo com que o único cicloaduto obtido seja o regioisômero 3,5-dissubstituído (HIMO et al., 2005).

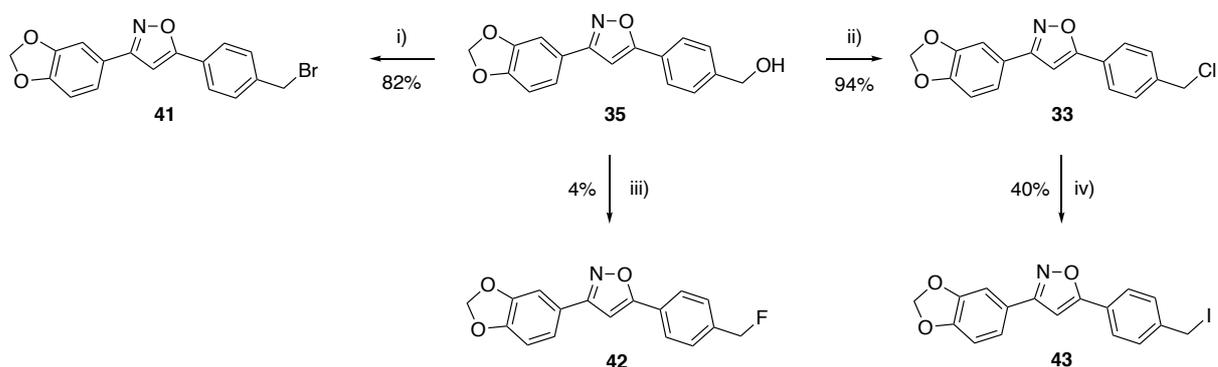
Figura 14 – Esquema de retrosíntese para obtenção dos derivados isoxazóis 3,5-dissubstituídos.



O intermediário 3-(3,4-metilenodioxifenil)-5-(4-hidroxi-metilfenil)isoxazol (**35**) possibilita a obtenção dos derivados substituídos com cloro (**33**), bromo (**41**) e flúor (**42**), através de reações de substituição nucleofílica (S_N2) (Figura 15). No caso dos compostos **33** e **41**, a halogenação pode ser feita utilizando cloreto ou brometo de tionila, respectivamente (HADANU; MASTJEH, 2012; SINGH; SHREEVE, 2002). Já para a síntese do composto **42**, reagentes aminosulfúricos (como o Deoxo-Fluor[®]) são os mais comumente utilizados. Inicialmente, esses reagentes atuam ativando a hidroxila benzílica que, por si só, não é um grupo de saída adequado. A seguir, ocorre o ataque nucleofílico dos ânions cloreto, brometo ou fluoreto, levando aos produtos finais.

Para a síntese do derivado substituído com iodo na posição benzílica (**43**), o derivado clorado (**33**) é utilizado como material de partida. Essa reação de troca de halogênios é conhecida como reação de Finkelstein (HADANU; MASTJEH, 2012). Mecanicamente, a reação de Finkelstein também é uma reação S_N2 . Nela, sais de iodeto (NaI ou KI) são solubilizados em um solvente e o ânion atua como nucleofílo. Para que a reação seja concluída, é importante que o sal formado após o ataque nucleofílico (NaCl ou KCl) não seja solúvel no solvente utilizado como meio reacional. Dessa forma, um novo ataque nucleofílico pelo ânion cloreto não será possível. A reação de Finkelstein é um exemplo clássico do princípio de Le Chatelier aplicado à síntese orgânica.

Figura 15 – Síntese dos derivados -clorometila, -fluorometila, -bromometila e -iodometila.

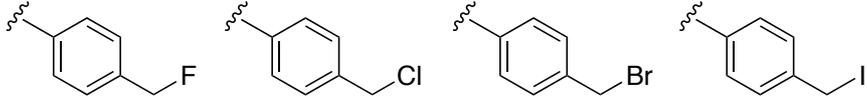


i) SOBr_2 , CH_2Cl_2 , Ar, t.a.; ii) SOCl_2 , CH_2Cl_2 , Ar, t.a.; iii) deoxofluor, CH_2Cl_2 , Ar, 0 °C; iv) KI, acetona, t.a.

Após a síntese e purificação, os compostos foram caracterizados por meio de análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C e espectrometria de massas de alta resolução. No espectro de RMN de ^1H do composto **10**, são observados sinais com multiplicidade característica dos anéis fenílicos 1,4-dissubstituído e 1,3,4-trissubstituído, além dos metilenos referentes aos grupamentos metilenodioxi e clorometila. O hidrogênio ligado à posição 4 do anel isoxazol ressona com δ 6,76 ppm (s) e confirma o sucesso da reação de cicloadição. No espectro de RMN de ^{13}C , os carbonos do anel isoxazol podem ser visualizados com δ 169,6 (C5); 163,2 (C3) e 97,7 ppm (C4). A principal diferença observada entre o composto **33** e os compostos **41**, **42** e **43** nos espectros de RMN, é o deslocamento químico dos hidrogênios e carbonos benzílicos. Isso ocorre pois tanto a eletronegatividade como o tamanho do átomo do halogênio modificam as propriedades eletrônicas destes átomos, que acabam refletindo nos seus valores de deslocamento químico (Tabela 5). Como o flúor é o átomo mais eletronegativo, os sinais nos espectros de RMN aparecem em campo mais desblindado do que as moléculas que possuem substituintes com cloro, bromo ou iodo, respectivamente. Diferentemente dos outros halogênios, o isótopo mais abundante do flúor (^{19}F) possui spin nuclear $\frac{1}{2}$, o que faz com que ele possa ser visualizado por RMN. Como o acoplamento C–F e H–F pode ser visualizado nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , os átomos na posição benzílica do composto **42** se apresentam como dupletos.

Tabela 5 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos benzílicos dos compostos **33** e **41–43**.

← Aumento da eletronegatividade →



δ ¹ H	5,45 (d, $J = 47,5$ Hz)	4,64 (s)	4,54 (s)	4,50 (s)
δ ¹³ C	- ^a	46,6	32,6	4,5

^aO baixo rendimento (~2 mg, 4%) obtido para o produto não possibilitou a aquisição do espectro de RMN de ¹³C com um bom sinal/ruído, sendo a estrutura confirmada por HRMS.

Em seguida, a avaliação biológica dos compostos frente aos amastigotas intracelulares de *T. cruzi* e de *L. amazonensis* foi conduzida. Todos os ensaios de atividade biológica relatados nessa parte do trabalho foram realizados em colaboração com o Laboratório de Protozoologia, coordenado pelo Prof. Mario Steindel. O laboratório fica localizado no Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Catarina. A avaliação biológica consiste em um ensaio colorimétrico utilizando parasitos modificados geneticamente para expressar a enzima β -galactosidase. Após o tratamento com os compostos, o substrato cromogênico β -D-galactopiranosídeo do vermelho de clorofenol é adicionado ao meio como substrato da enzima. Assim, os parasitos ainda viáveis fazem a hidrólise do β -D-galactopiranosídeo liberando o vermelho de clorofenol no meio de cultura. Este composto possui coloração rosa, cuja densidade ótica (medida em 570/630 nm) é proporcional ao número de parasitos ainda viáveis após o tratamento.

Como os parasitos são cultivados em células THP-1, a citotoxicidade dos compostos frente à essa linhagem celular também foi avaliada em um teste posterior, utilizando o método MTT. A razão entre a toxicidade dos compostos em células THP-1 (CC_{50}) e a toxicidade dos compostos para os parasitos (IC_{50}) é denominado índice de seletividade (IS). Conforme discutido anteriormente, este é um dos critérios utilizados para determinação de quão eficaz é a atividade tripanocida de um dado composto. Os valores de IC_{50} e IS dos compostos **33** e **41–43** são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Avaliação da atividade biológica (IC₅₀) dos compostos **33** e **41–43** frente aos amastigotas intracelulares de *T. cruzi* (Tulahuen) e *L. amazonensis* (LBT0016).

	IC ₅₀ <i>T. cruzi</i> (µM)	IS	IC ₅₀ <i>L. amazonensis</i> (µM)	IS
33	1,1 (± 0,4)	161	5,1 (± 1,3)	36
43	9,8 (± 1,4)	3,3	>50	-
42	5,1 (± 1,1)	69	NA	-
41	>50	-	>50	-

Os resultados representam a média ± DP de dois experimentos independentes realizados em triplicada. Os compostos foram considerados não ativos (NA) quando não houve diferença significativa ($P > 0,05$, ANOVA/Dunnet) na comparação com o controle negativo (DMSO 1%).

Com base nos resultados de atividade biológica, parece não haver relação direta entre a potência do composto e o átomo de halogênio quando consideradas propriedades como eletronegatividade, raio atômico, logP ou, até mesmo, nucleofugacidade. Da série de compostos halogenados, o composto **33** ainda é o composto mais ativo e seletivo, além de ser o único composto ativo frente aos dois parasitos em estudo. Porém, como os compostos **42** e **43** também são tripanocidas e possuem potência *in vitro* superior à do fármaco benznidazol (que possui IC₅₀ = 10,2 µM), decidimos aprofundar o estudo biológico destes compostos frente ao *T. cruzi*. Para isto, foram conduzidos estudos *in vitro* com vistas a determinar um possível efeito sinérgico ou aditivo dos compostos quando em combinação com benznidazol. Com base nos resultados deste teste, o halogênio com maior potencial de contribuir para a atividade biológica dos próximos novos derivados foi selecionado.

Nas últimas décadas, T. C. Chou e P. Talalay vêm conduzindo um trabalho matemático, baseado na dedução da lei de ação das massas, para o desenvolvimento de equações que possam determinar a presença dos efeitos sinérgico, aditivo ou antagônico em combinações de princípios ativos (CHOU, 2006, 2010; CHOU; TALALAY, 1984). Apesar do sinergismo ser um termo amplamente difundido na área farmacêutica, é comum confundir-lo com o efeito aditivo ou, então, a descrição do efeito estar equivocadamente acompanhada de suposições acerca do mecanismo de ação dos compostos.

Quando dois compostos bioativos são administrados em combinação, é esperado que haja uma resposta biológica maior do que aquela resultante da administração de apenas um deles. Ou seja, é esperado que ocorra um efeito aditivo pela administração concomitante dos ativos. Eventualmente, é observado que o efeito da combinação é “mais do que aditivo” e que, de fato, a presença de um (ou mais) ativo(s) pode intensificar a potência de outro(s) presente(s) na combinação. Por definição, esse efeito “mais do que aditivo” é o efeito sinérgico.

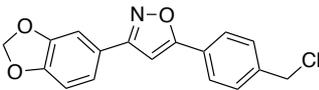
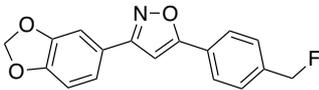
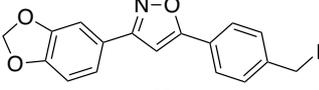
Os efeitos aditivo, antagônico e sinérgico são dose-dependentes. Normalmente os resultados são representados graficamente como isobogramas e, quantitativamente, por meio do *combination index* (CI). Os valores de CI (0 ao ∞ , Tabela 7) indicam a intensidade de um determinado efeito naquele nível de resposta biológica (IC₅₀, IC₉₀, etc). Dessa forma, não é incomum certa combinação possuir diferentes efeitos dependendo da concentração em que ela é analisada.

Tabela 7 – Intervalos de *combination index* (CI) e os seus significados.

Intervalo de CI	Significado
0–0,99	Sinergismo
1	Efeito aditivo
1,01– ∞	Antagonismo

Os compostos **33**, **42** e **43** foram avaliados nas concentrações de $\frac{IC_{50}}{4}$, $\frac{IC_{50}}{2}$, IC₅₀, 2IC₅₀ e 4IC₅₀ em combinação com o fármaco benznidazol, nas mesmas concentrações com base no seu próprio IC₅₀. A Tabela 8 compila os dados que foram calculados utilizando o software CompuSyn, também de autoria de Chou e Talalay.

Tabela 8 – Valores de *combination index* (CI) para os compostos **33**, **42** e **43**.

	CI
 <p style="text-align: center;">33</p>	IC ₅₀ 0,004
	IC ₇₀ 3,0
	IC ₉₀ 96162
 <p style="text-align: center;">42</p>	IC ₅₀ 1,27
	IC ₇₀ 1,21
	IC ₉₀ 1,15
 <p style="text-align: center;">43</p>	IC ₅₀ 0,91
	IC ₇₀ 0,86
	IC ₉₀ 0,80

Os resultados demonstraram que o composto **33** apresenta um efeito fortemente sinérgico na concentração responsável pela inibição do crescimento parasitário em 50% (IC₅₀). Em

concentrações maiores, esse efeito deixa de ser observado e dá lugar a diferentes níveis de antagonismo. Já o composto **43** é moderadamente sinérgico em todos os níveis de resposta biológica estudados. Por outro lado, composto **42** tem efeito moderadamente antagônico nesses mesmos níveis de resposta biológica.

Dentre os três compostos analisados, o composto **33** possui o efeito mais curioso: ação fortemente sinérgica ou fortemente antagônica dependendo da concentração analisada. Apesar dos efeitos sinérgico ou antagônico não estarem relacionados diretamente ao mecanismo de ação biológica, é possível que aspectos farmacodinâmicos da ação do composto **33** justifiquem os efeitos observados. Em concentrações mais altas o composto pode estar agindo em alvos moleculares diferentes daqueles que o composto age em uma concentração menor. Dessa forma, estas interações com outras macromoléculas poderiam ser as causadoras do efeito antagônico da combinação composto **33**-benznidazol em concentrações elevadas.

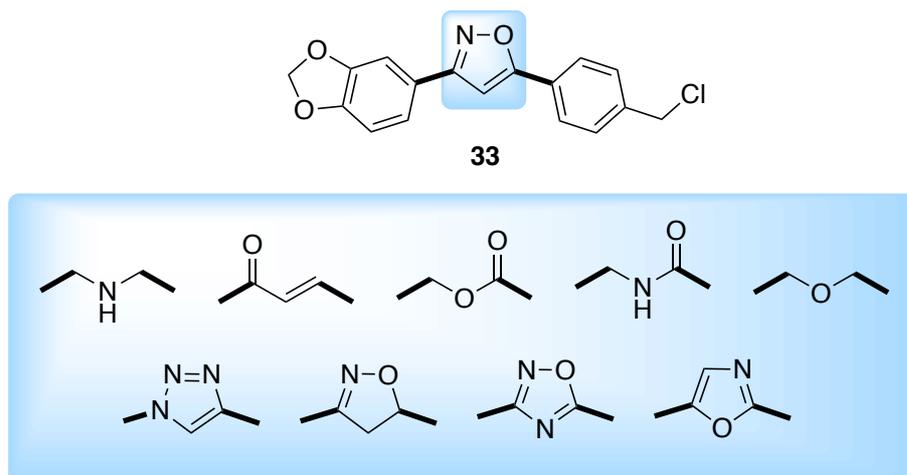
Além do efeito da combinação dos compostos sob a viabilidade parasitária, a citotoxicidade da combinação composto **33**-benznidazol sobre as células THP-1 também foi avaliada. O composto **33** possui citotoxicidade baixa *in vitro*, com valor de $CC_{50} = 181 \mu\text{M}$ (THP-1). Apesar disso, é importante entendermos o comportamento do composto quando em combinação com o benznidazol. Assim como no ensaio anterior, o composto **33** foi avaliado nas concentrações de $\frac{CC_{50}}{4}$, $\frac{CC_{50}}{2}$, CC_{50} , $2CC_{50}$ em combinação com o fármaco benznidazol, diluído serialmente a partir da dose máxima de $1000 \mu\text{M}$. A redução da viabilidade celular não foi observada em nenhuma das doses avaliadas, mesmo com a dose máxima de $1364 \mu\text{M}$ ($364 \mu\text{M}$ do composto **33** e $1000 \mu\text{M}$ de benznidazol).

Os resultados obtidos nessa etapa do trabalho mostram que a combinação do composto **33** com o fármaco benznidazol apresenta forte efeito sinérgico *in vitro* quando em baixas concentrações. Este aumento de potência é seletivo para as células infectadas pelo *T. cruzi*, uma vez que nenhum grau de citotoxicidade foi observado em células THP-1 não infectadas. Além disso, o composto **42** apresenta efeito moderadamente antagônico e, o composto **43**, moderadamente sinérgico quando avaliados em combinação com o benznidazol. Com base nestes resultados e nos resultados de avaliação biológica conduzidos com os compostos de forma individual, o substituinte –clorometila é o que apresentou efeitos mais promissores frente ao *T. cruzi*. Portanto, as etapas posteriores desse trabalho priorizam este padrão de substituição na obtenção dos novos derivados acíclicos e heterocíclicos.

5.1.3 Síntese de derivados contendo *linkers* acíclicos entre os anéis fenílicos

Uma vez determinado o halogênio que estará presente na posição benzílica dos compostos, iniciamos a síntese dos derivados contendo diferentes grupos conectores entre os anéis aromáticos (Figura 16).

Figura 16 – Representação do composto **33** e dos grupos funcionais e anéis conectores que serão utilizados em substituição ao anel isoxazol.



Os diferentes conectores possuem átomos doadores e aceptores de ligação de hidrogênio em diferentes quantidades e posições, o que contribui para o estudo de relação estrutura-atividade e planejamento de novos compostos bioativos. Inicialmente, apresentaremos os resultados da síntese dos derivados acíclicos éster, amida, éter, chalcona e amina. A seguir, a síntese dos derivados heterocíclicos 1,2,3-triazol, isoxazolina, 1,2,4-oxadiazol e oxazol será discutida. Por último, resultados preliminares de alguns compostos heterocíclicos que não puderam ser sintetizados em tempo hábil serão apresentados.

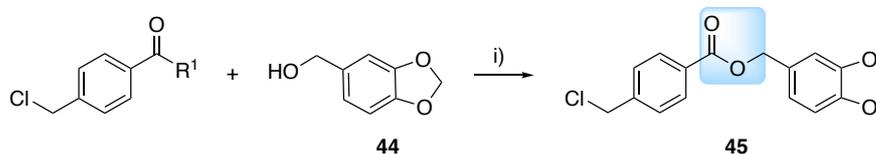
5.1.3.1 Síntese dos derivados éster e amida

Ésteres e amidas são sintetizados através da condensação de ácidos carboxílicos com álcoois ou aminas, respectivamente. No entanto, como os ácidos carboxílicos não são reativos *per se*, eles precisam ser ativados durante ou previamente à condensação. A conversão do ácido carboxílico à um cloreto de acila ou anidrido são duas das formas mais utilizadas para aumentar a reatividade do grupo carbonílico frente ao ataque nucleofílico de um álcool ou amina. Porém, devido à instabilidade destes intermediários na presença de umidade, os métodos vêm sendo

substituídos pelo uso de reagentes de acoplamento como as carboimidias, benzotriazóis, entre outros (DUNETZ; MAGANO; WEISENBURGER, 2016).

Ésteres, especificamente, também podem ser sintetizados através da reação de Fisher. Nesta reação, ácidos de Brønstedt ou de Lewis são utilizados como catalizadores da condensação do ácido carboxílico com o álcool (SMITH, 2013). Pelo fato da reação de Fisher ser um método clássico em síntese orgânica, utilizamos ela nas nossas primeiras tentativas de obtenção do composto **45**. Dois catalizadores ácidos foram utilizados [H_2SO_4 (10 mol%) e $\text{SiO}_2 \cdot \text{HClO}_4$ (1 mol%)] e as reações foram irradiadas em reator micro-ondas a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 30 min, sem a presença de solvente. Em ambos os casos, a conversão do material de partida foi baixa e nenhum produto pode ser isolado. A seguir, testamos a síntese do composto **45** a partir de um cloreto de acila. O cloreto de 4-clorometilbenzila foi sintetizado previamente através do respectivo ácido carboxílico e cloreto de tionila (CH_2Cl_2 , refluxo). Cerca de uma hora após a adição do material de partida, a reação foi interrompida e o produto pode ser isolado com o rendimento de 94% (WIRTH; VIKAS; JAGADISH, 2017). Os detalhes destas reações estão descritos na Tabela 9.

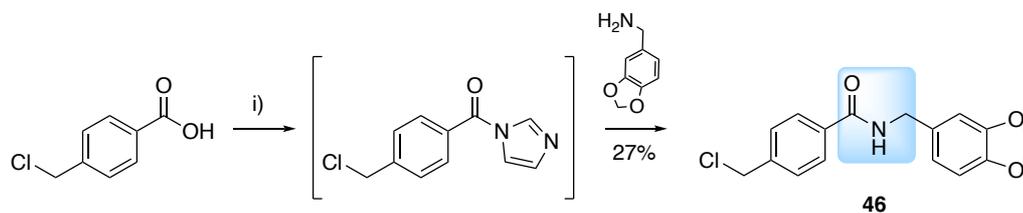
Tabela 9 – Condições reacionais empregadas para a síntese do derivado **45**.



	R ¹	44	Condições reacionais	Rdt
1	–OH (1 eq)	1 eq	$\text{SiO}_2 \cdot \text{HClO}_4$ (1 mol%), sem solvente, MW, $80\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min	–
2	–OH (1 eq)	3 eq	H_2SO_4 (10 mol%), sem solvente, MW, $80\text{ }^\circ\text{C}$, 30 min	–
3	–Cl (1 eq)	1 eq	Et_3N (1 eq), CH_2Cl_2 , refluxo, 1 h	94%

Para a síntese do derivado amida, utilizamos carbonildiimidazol (CDI) como reagente para acoplamento entre o ácido 4-clorometilbenzóico e a piperonilamina. O CDI é um reagente de acoplamento básico, o que evitou a protonação da piperonilamina e fez com que não fosse necessária a adição de outra base no meio reacional (FIESER et al., 2013). Utilizando essa metodologia, o composto **46** foi obtido em uma etapa com o rendimento de 47% (Figura 17).

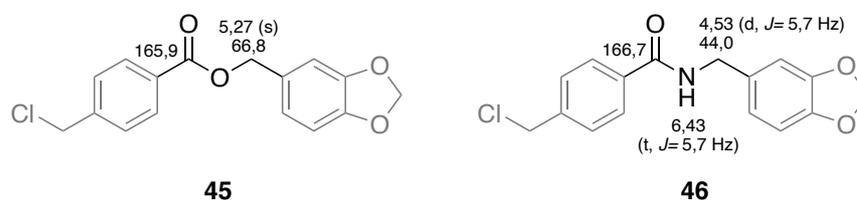
Figura 17 – Esquema de síntese do derivado amida **46**.



i) CDI (1,1 eq), piperonilamina (1,1 eq; após 30 min), THF (0,15 M), t.a., 20 h.

Após a purificação, os compostos foram analisados por RMN de ^1H e ^{13}C . No espectro de RMN de ^1H , a diferença mais pronunciada entre os compostos **45** e **46** é o deslocamento químico dos hidrogênios metilênicos vizinhos à ligação éster e amida, que se encontram em δ 5,27 e 4,53 ppm; respectivamente. Já no espectro de carbono, as carbonilas do grupo funcional éster e amida são observadas em δ 165,9 e 166,7 ppm; enquanto os carbonos metilênicos se encontram em δ 66,8 e 44,0 ppm, respectivamente (Figura 18). Os espectros completos destes e dos outros compostos que serão discutidos no trabalho podem ser encontrados nos anexos deste trabalho.

Figura 18 – Deslocamento químico dos hidrogênios e carbonos do *linker* éster e amida.

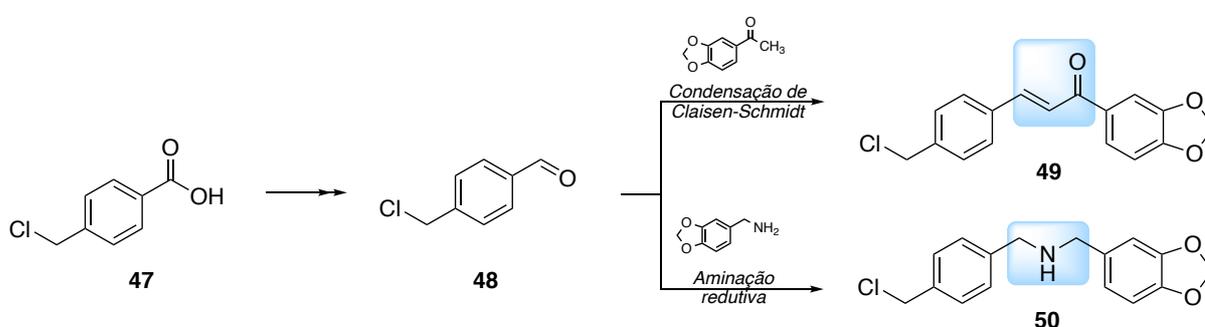


Ambos derivados possuem uma carbonila posição espacialmente similar à do oxigênio heterocíclico do composto **33**. Essa porção das moléculas pode atuar como aceptora de ligação de hidrogênio com um alvo molecular putativo. Adicionalmente, os compostos **45** e **46** possuem, respectivamente, um átomo de oxigênio ou nitrogênio secundários em uma posição análoga àquela ocupada por um átomo de carbono no composto **33**. Esses átomos, somados à maior flexibilidade dos compostos acíclicos, são fatores que podem contribuir para a mudança do perfil de atividade biológica dos compostos.

5.1.3.2 Síntese dos derivados amina e chalcona

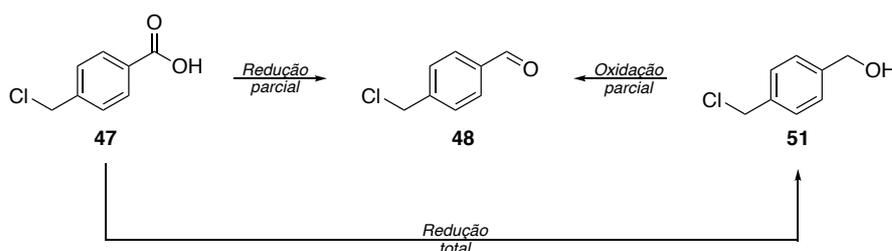
A seguir, planejamos a síntese dos derivados contendo os conectores cetona α,β -insaturada (composto **49**) e amina (composto **50**) entre os anéis aromáticos. Nesse texto, o composto **49** será chamado de “chalcona”. Os compostos podem ser sintetizados utilizando a condensação de Claisen-Schmidt e através de aminação redutiva, respectivamente. Em ambos os casos, o composto aldeído **48** é um intermediário comum para obtenção dos compostos finais (Figura 19).

Figura 19 – Esquema de síntese dos derivados chalcona (**49**) e amina (**50**).



O composto aldeído **48** não está disponível comercialmente em grande parte dos fornecedores usuais. Dessa forma, duas estratégias de obtenção, a partir de reagentes comerciais, são possíveis: redução (parcial, ou total com posterior oxidação parcial) do ácido carboxílico **47** ou oxidação parcial do álcool benzílico **51**. Ambas as estratégias pareciam igualmente viáveis, então a estratégia de redução do ácido carboxílico **47** foi escolhida com base no custo dos blocos de construção de partida⁴.

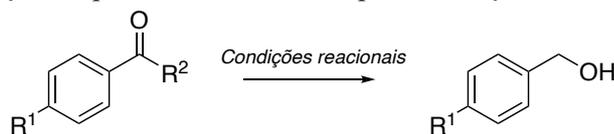
Figura 20 – Estratégias de síntese do bloco de construção aldeído **48**, utilizado para síntese de alguns dos derivados finais.



⁴ A fim de comparação, o ácido 4-clorometilbenzoico é cotado por cerca de R\$ 19/mmol, enquanto o álcool 4-clorometilbenzílico custa cerca de R\$ 47/mmol (dados consultados em 26/08/20 na Sigma-Merk).

Diferentes métodos de redução total ou parcial foram testados, utilizando o ácido carboxílico **47** como material de partida ou, então, o ácido benzoico como modelo de material de partida. Ésteres do ácido benzoico e do ácido **47** também foram utilizados em alguns dos testes de metodologia. As condições reacionais utilizadas estão reunidas na Tabela 10.

Tabela 10 – Condições experimentais utilizadas para a redução total do ácido carboxílico.



	R ¹	R ²	Condições reacionais	Rdt	Ref
1	-H	-Cl	NaBH ₄ , K ₂ CO ₃ , PEG400, CH ₂ Cl ₂ :H ₂ O (1:1), [0,18 M], 0 °C, 20 h.	0%	(RAJAN et al., 2010)
2	-H	-Cl	NH ₄ OH, HCOOH, t.a., [0,70 M], 2 h.	0%	(SHAMSUDDIN; ZOB AIRI; MUSHARRAF, 1998)
3	-H	-Cl	NaBH ₄ , THF:MeOH ^a , [0,24 M], t.a., 30 min	0% ^b	(KANG; LEE, 1988)
4	-H	-OCH ₃	NaBH ₄ , <i>tert</i> -BuOH, [0,18 M], refluxo, 1:30 h	9% ^c	(BUTKOVIĆ; MARINIĆ; ŠINDLER-KULYK, 2011)
5	-H	-OCH ₃	NaBH ₄ , ZnCl ₂ , THF:MeOH ^a , [0,18 M], refluxo, 3:30 h	0%	(YAMAKAWA; MASAKI; NOHIRA, 1991)
6	-H	-OCH ₃	NaBH ₄ , CaCl ₂ , MeOH, [0,18 M], refluxo, 3 h	0%	(LAMPE et al., 1993)
7	-H	-OCH ₃	NaBH ₄ , THF:MeOH ^a , [0,36 M], refluxo, 3 h	33% ^d	(BOECHAT et al., 2004)
8	-CH ₂ Cl	-OCH ₃	NaBH ₄ , THF:MeOH ^a , [0,36 M], refluxo, 3 h	0% ^e	(BOECHAT et al., 2004)
9	-CH ₂ Cl	-OCH ₃	NaBH ₄ , BF ₃ OEt, [0,30 M], 18 h	0%	(ZHAO et al., 2006)
10	-CH ₂ Cl	-OH	Cloroformato de benzila, Et ₃ N, NaBH ₄ , CH ₂ Cl ₂ :H ₂ O, t.a., 18 h	0%	(NISHINO et al., 2003)
11	-CH ₂ Cl	-OH	NaBH ₄ , I ₂ , THF, [0,15 M], t.a. → refluxo, 6h	0%	(LEAHY et al., 2010)
12	-CH ₂ Cl	-OH	NaBH ₄ , H ₂ SO ₄ , THF, [1,5 M], t.a., 24 h	0%	(ABIKO; MASAMUNE, 1992)
13	-CH ₂ Cl	-OCH ₃	NaBH ₄ , LiCl, THF, [0,30 M], t.a., 24 h	0%	(ZHU; PITTMAN, 2003)
14	-CH ₂ Cl	-OH	BH ₃ ·THF, THF, [0,5 M], 0 °C → t.a., 4 h	0%	(LOBBEN; LEUNG; TUMMALA, 2004)

^aO metanol é adicionado lentamente à reação em THF. ^b31% de rendimento do éster metílico. ^cO produto majoritário foi o éster *t*-butilico. ^dProduto possui polaridade similar a do material de partida e foi obtido como mistura. ^eO produto de hidrogenólise na posição benzílica foi obtido com rendimento de 36%.

Um método típico para a redução de ésteres é a hidrogenação catalítica. No entanto, optamos pela escolha de condições reacionais mais brandas nos nossos experimentos devido a estrutura do material de partida e o produto alvo. Como estes possuem o substituinte benzílico –clorometila, eles são susceptíveis à hidrogenólise—uma reação colateral que desejávamos evitar. Não foi possível obter o produto reduzido com a maioria das condições reacionais testadas. Em uma reação usando benzoato de metila como material de partida e borohidreto de sódio como agente redutor (Tabela 10, linha 4), o álcool benzílico pode ser obtido com rendimento de 9%. Nesta reação, o produto majoritário foi proveniente da transesterificação com o álcool *tert*-butílico utilizando como fonte protônica. Assim, nas próximas reações evitamos a utilização de solventes alcoólicos que não fossem correspondentes ao éster utilizado como material de partida.

Em outras tentativas, utilizamos a combinação de borohidreto de sódio e cloreto de cálcio ou cloreto de zinco como agentes redutores (Tabela 10, linhas 5 e 6). Estas combinações levam a formação *in situ* de $ZnBH_4$ e $CaBH_4$, que são agentes redutores mais ativos e mais solúveis em solventes orgânicos. Com estas propriedades aprimoradas, esperávamos obter o álcool benzílico em um maior rendimento. No entanto, isto não foi possível após horas de reação.

Surpreendentemente, a substituição do álcool *tert*-butílico pela combinação THF:MeOH já foi suficiente para aumentar o rendimento daquela reação usando apenas $NaBH_4$ como agente redutor (Tabela 10, linha 7). Porém, quando o mesmo protocolo foi aplicado ao 4-clorometilbenzoato de metila, apenas o produto 4-metilbenzoato de metila proveniente da hidrogenólise foi obtido (Tabela 10, linha 8). Algumas outras metodologias foram testadas, utilizando diretamente o 4-clorometilbenzoato de metila como material de partida, mas não obtivemos sucesso.

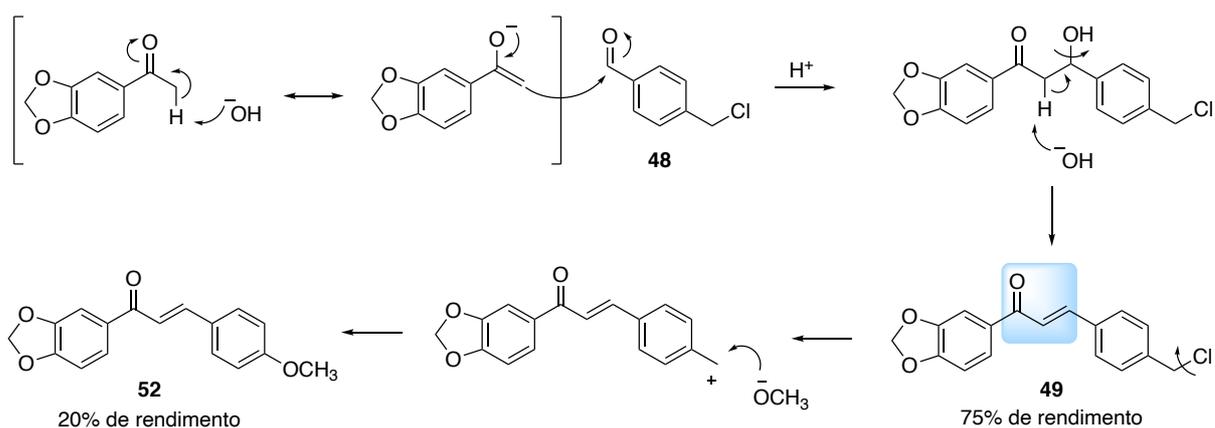
Tendo em vista a impossibilidade de obtenção do composto em escala suficiente utilizando as condições reacionais descritas na Tabela 10, decidimos alterar nossa estratégia de síntese do composto **48**. Para isso, o álcool benzílico **51** foi obtido comercialmente. O álcool **51** pode ser oxidado ao aldeído **48** com reagente de Jones (Cr_2O_3/H_2SO_4) 6 N. A reação é rápida e, após cerca de 30 min, a conversão total do material de partida foi constatada por CCD. A reação foi repetida em escala de até 1 g (6 mmol) e o rendimento médio obtido foi de 85%.

Com o bloco de construção **48** em mãos, iniciamos a síntese dos nossos compostos de interesse. Na condensação de Claisen-Schmidt, uma acetofenona é enolizada na presença de uma base. Este enolato, então, realiza um ataque nucleofílico a um outro composto carbonílico não enolizável, como um aldeído aromático. Como última etapa do mecanismo, ocorre uma desidratação, levando à formação de uma chalcona. As chalconas podem ser obtidas como

isômeros (*Z*) ou (*E*)—esse último termodinamicamente favorável, por motivos estéricos (SMITH, 2013).

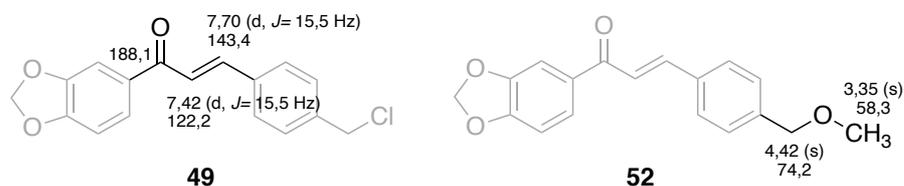
A síntese de chalconas é comumente realizada utilizando como solvente/base uma solução metanólica de NaOH (50% m/v) e a conversão total dos materiais de partida é geralmente alcançada. Utilizando essa metodologia, obtivemos o nosso produto de interesse em combinação com um sub-produto de polaridade levemente diferente. Com o isolamento deste sub-produto determinamos que ele era proveniente da reação S_N1 entre o ion metóxido e o carbono benzílico do substituinte clorometila (Figura 21). Em uma reação subsequente, diminuimos a concentração da solução metanólica de base para 10% (m/v) e isso foi suficiente para minimizar a formação do sub-produto.

Figura 21 – Mecanismo de formação do composto chalcona **49** e do subproduto **52**.



Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C os sinais do grupamento carbonílico α,β -insaturado atestam a formação do produto de interesse **49**. No espectro de ^1H , os hidrogênios da ligação insaturada podem ser observados com δ 7,70 e 7,42 ppm. O valor da constante de acoplamento entre os hidrogênios ($J = 15,5$) indica que houve a formação exclusiva do isômero (*E*), termodinamicamente mais estável. No espectro de RMN de ^{13}C , os sinais da carbonila α,β -insaturada são observados em δ 188,1 (C=O); 143,4 (CH) e 122,2 ppm (CH). O subproduto **52** se diferencia do composto de interesse no RMN, principalmente, devido a desblindagem do carbono e dos hidrogênios metilênicos causada pela substituição do átomo de cloro por um átomo de oxigênio. Além disso, é possível observar um singlete em δ 3,35 ppm; característico de um grupamento metil-éter (Figura 22).

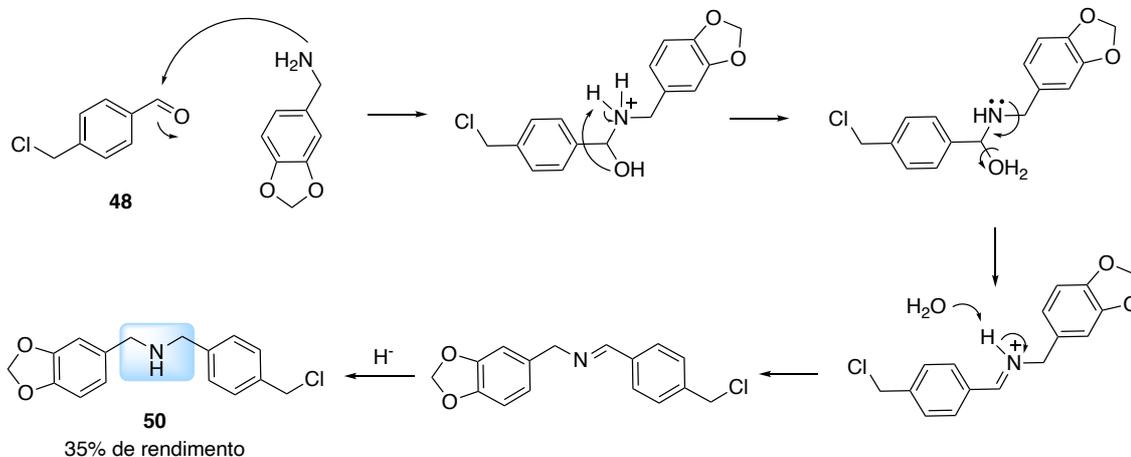
Figura 22 - Deslocamento químico dos hidrogênios e carbonos da cetona α,β -insaturada do composto **49** e do substituinte metoximetil, encontrado no subproduto **52**.



O derivado **49** possui um átomo aceptor de ligação de hidrogênio e uma instauração nas mesmas posições em que essas características são encontradas no anel isoxazol do composto **33**. Contudo, diferentemente do anel isoxazol, as cetonas α,β -insaturadas atuam como aceptoras nas reações de adição nucleofílica a sistemas insaturados – conhecidas como reações de Michael. Dessa forma, é esperado que a presença deste grupo funcional na molécula altere o seu comportamento frente a sistemas biológicos, visto que inúmeros nucleófilos endógenos poderiam reagir covalentemente com esta porção dos compostos.

Na sequência, foi realizada a síntese do derivado amina (composto **50**) através de uma reação de aminação redutiva. Nesta reação, um aldeído reage com uma amina levando a formação de uma imina (Figura 23). Essa imina, *in situ*, pode ser reduzida à uma amina secundária. Como optou-se por utilizar NaBH_4 com agente redutor, este foi adicionado ao meio reacional após o consumo completo dos materiais de partida ter sido evidenciado por CCD. Dessa forma a redução do grupo funcional aldeído pode ser evitada (ABDEL-MAGID et al., 1996).

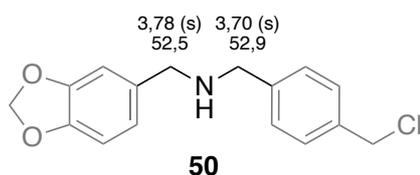
Figura 23 – Mecanismo da reação de aminação redutiva utilizada para síntese do composto **50**.



Nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , os dois singletos referentes aos metilenos benzílicos em alfa ao grupo funcional amina são observados com deslocamentos químicos de δ 3,78 e 3,70

ppm. Não é possível observar o hidrogênio ligado ao nitrogênio, o que sugere que uma reação de troca com deutério ocorreu previamente à aquisição dos espectros. No espectro de ^{13}C , estes metilenos são observados com deslocamentos químicos de δ 52,9 e 52,5 ppm (Figura 24).

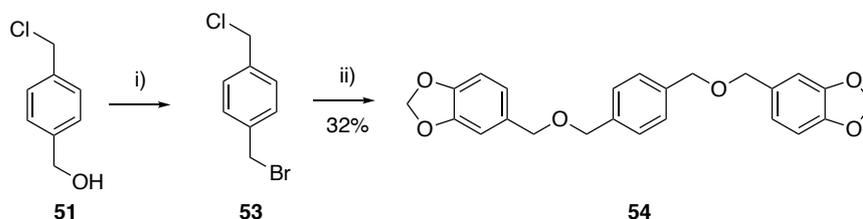
Figura 24 – Deslocamento químico dos metilenos das ligações C–N do composto **50**.



5.1.3.3 Síntese do derivado éter

Compostos contendo o grupo funcional éter geralmente são preparados através da síntese de Williamson. Nesta reação, um alcóxido reage com um haleto de alquila ou benzila através de uma reação $\text{S}_{\text{N}}2$. Em uma primeira tentativa, a reação foi conduzida utilizando quantidades equimolares de álcool piperonílico como nucleófilo e 1-bromometil-4-clorometilbenzo como haleto. Como a nucleofugacidade do bromo é cerca de 400 vezes maior que a do cloro, se esperava que o composto obtido majoritariamente fosse proveniente da substituição no grupo –bromometila (MCMURRY, 2011). No entanto, o único produto obtido foi aquele proveniente da substituição em ambos os carbonos benzílicos (composto **54**). Com este resultado, ao invés de tentar trabalhar a seletividade da reação por meio da modificação das condições reacionais, decidimos adotar outra estratégia para a síntese do composto de interesse.

Figura 25 – Primeira estratégia empregada para a síntese do derivado éter, utilizando 1-bromometil-4-clorometilbenzo como material de partida.



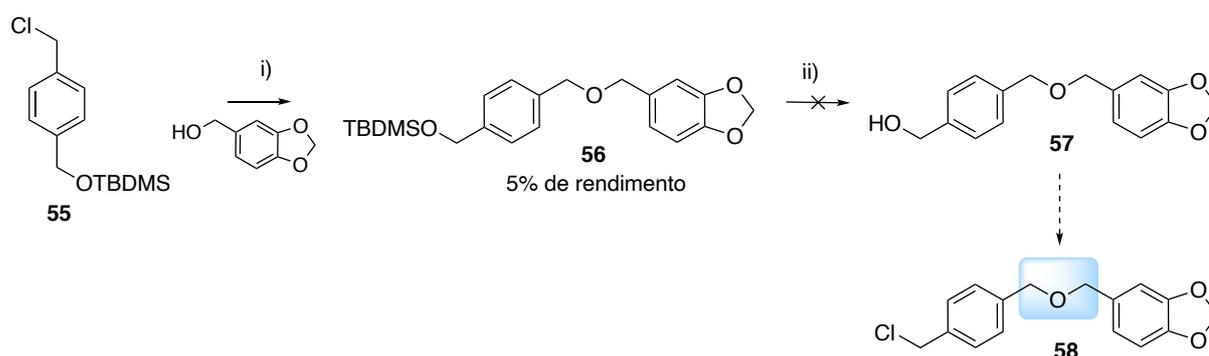
i) SOBr_2 , CH_2Cl_2 , Ar, t.a.; ii) álcool piperonílico, TBAB, K_2CO_3 , KOH, 100°C , MW.

A nova estratégia de síntese consistia na utilização de um cloreto de benzila com um único sítio susceptível ao ataque do álcool piperonílico. Para isso, o álcool 4-

clorometilbenzílico (composto **51**) seria protegido com cloreto de *tert*-butil-di-metil-silila. A etapa de proteção foi realizada em micro-ondas e, em poucos minutos, a conversão total do material de partida em um produto majoritário mais apolar foi observada (BASTOS; CISCATO; BAADER, 2005). Apesar da conversão total, o isolamento por meio de cromatografia em coluna (SiO_2) se mostrou complicado e apenas poucos miligramas do produto **55** puderam ser isolados. Como o grupo protetor –TBDMS é lábil em condições ácidas, decidimos evitar a purificação em coluna e usar o produto não purificado na reação de Williamson (SMITH, 2013).

A reação com o haleto protegido **55** foi conduzida da mesma forma que aquela que levou à síntese do composto **54**. Novamente, apesar da conversão total dos materiais de partida, poucos miligramas do composto éter protegido **56** puderam ser isolados, sugerindo novamente a degradação do produto. Como esta ainda não era a etapa final da nova rota sintética proposta, decidimos conduzir a reação de desproteção do grupo –TBDMS na mistura reacional bruta. Caso o grupo protetor –TBDMS fosse o responsável pela baixa eficácia na purificação, esse problema poderia ser contornado na purificação do derivado já desprotegido. A reação de desproteção foi realizada utilizando fluoreto de tetrabutílamônio (TBAF) em THF. Porém, uma mistura complexa de diferentes produtos que não puderam ser isolados e identificados foi obtida. Até o momento, o produto final **58** não pode ser obtido (Figura 20).

Figura 26 - Segunda estratégia empregada para a síntese do derivado éter, utilizando um cloreto de benzila protegido como material de partida.

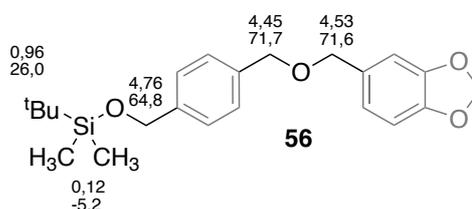


i) TBAB, K_2CO_3 , KOH, 100 °C, MW; ii) TBAF, THF, r.t.

A estrutura do composto protegido com o grupo TBDMS (**56**) foi confirmada por RMN de ^1H e ^{13}C (Figura 21). No espectro de ^1H , os hidrogênios metilênicos da ligação éter são visualizados com δ 4,53 e 4,45 ppm; enquanto os hidrogênios do metileno vizinho ao grupo TBDMS tem δ 4,76 ppm. Os hidrogênios do grupo *tert*-butil e as metilas do grupo protetor

TBDMS são observadas com deslocamento químico δ 0,96 e 0,12 ppm, respectivamente. No espectro de ^{13}C , os metilenos da ligação éter têm δ 71,8 e 71,7 ppm; enquanto o metileno vizinho ao grupo protetor aparece em δ 64,8 ppm. O grupo *terc*-butil tem deslocamento químico δ 26,0 ppm e as metilas do grupo protetor δ -5,2 ppm. O deslocamento químico negativo das metilas ocorre devido ao efeito de blindagem causada pelo átomo de silício onde elas se encontram diretamente ligadas.

Figura 27 – Deslocamento químico dos metilenos das ligações éter e do grupo protetor TBDMS do composto **56**.



5.1.4 Síntese de derivados contendo um anel heterocíclico entre os anéis fenílicos

De forma a continuar estudando os aspectos de relação estrutura-atividade do composto **33**, também planejamos a síntese de derivados em que o anel isoxazol foi substituído por outros anéis heterocíclicos. O nosso foco manteve-se em anéis heterocíclicos de cinco membros. Assim, a principal modificação química nos derivados é o número, tipo e localização dos heteroátomos. Foi esperado que estes novos compostos também contribuíssem na elucidação de aspectos topológicos, conformacionais e eletrônicos que possam ter impacto na atividade biológica desta classe de compostos

5.1.4.1 Síntese do derivado isoxazolina 3,5-dissubstituído

O anel isoxazolina é um análogo não aromático do anel isoxazol, devido a ausência da instauração entre os carbonos 4 e 5. Este heterociclo é comumente encontrado em compostos tanto de origem natural como sintética. Entre as atividades biológicas descritas, destacam-se as atividades citotóxica, anti-inflamatória e antibacteriana (FILALI et al., 2015; KAMAL et al., 2010; KAUR et al., 2014).

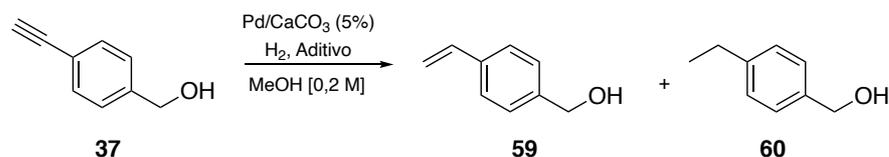
Os compostos contendo o anel isoxazolina podem ser sintetizados por meio da cicloadição 1,3-dipolar entre um dipolo e um dipolarófilo, de forma semelhante à metodologia empregada para a síntese dos derivados isoxazóis (Esquema 7) (TAVARES, 2010). A principal

diferença na síntese destas duas classes de compostos é o dipolarófilo utilizado. Como o anel isoxazolina possui um grau de instauração menor que o do anel isoxazol, o dipolarófilo é um alceno terminal ao invés de um alcino terminal.

Uma forma custo-efetiva para a obtenção do bloco de construção com o grupo alceno terminal é a hidrogenação parcial do álcool 4-etinilbenzílico (**37**), já utilizado anteriormente. As reações de hidrogenação geralmente são catalisadas por metais, como platina ou paládio, diluídos em suportes inertes. Uma das principais vantagens deste método é a sua efetividade: geralmente boas conversões e rendimentos são alcançados, e o produto pode ser obtido com pureza aceitável após uma simples filtração. O paládio suportado em carvão ativado (Pd/C) é o principal catalizador utilizado para redução de compostos insaturados. Neste caso, alcanos são obtidos através da hidrogenação de alcenos ou alcinos. Para obtenção de alcenos através da hidrogenação incompleta de alcinos, o catalizador de Lindlar deve ser utilizado. Este catalizador consiste em paládio suportado em carbonato de cálcio e “envenenado” com chumbo ou compostos orgânicos nitrogenados. Esta composição diminui a adsorção do hidrogênio na superfície do metal e torna a hidrogenação mais lenta, permitindo o isolamento do “intermediário” alceno.

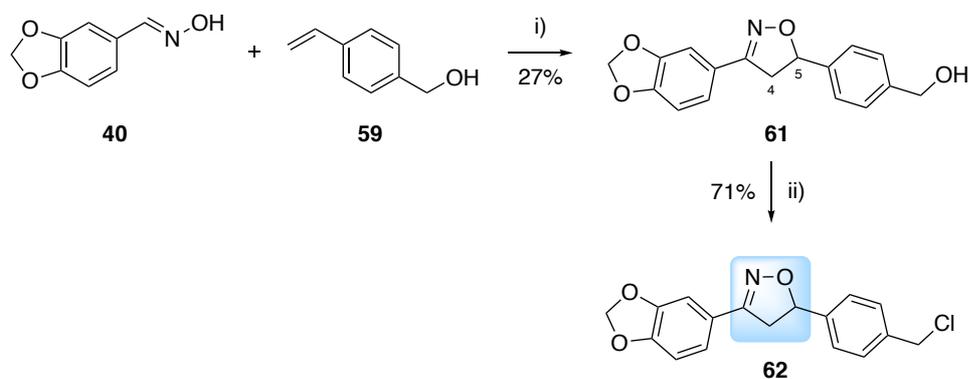
Para a redução parcial do álcool 4-etinilbenzílico (**37**) inicialmente utilizamos o catalizador de Lindlar obtido comercialmente, seguindo um protocolo descrito na literatura (PENK et al., 2017). Uma hora após a adição de 20% (m/m) do catalizador, o material de partida foi completamente consumido. No entanto, a análise de RMN de ^1H revelou que o produto obtido foi o 1-etil-4-hidroximetil-benzeno (**60**), proveniente da hidrogenação completa do material de partida (Tabela 6, linha 1). Mesmo com a diminuição na quantidade de catalizador utilizada, não foi possível obter o produto da hidrogenação incompleta (Tabela 6, linha 2).

Para tentar contornar este problema, adicionamos 1 eq de 1,10-fenantrolina na reação, em uma tentativa extrema de “envenenar” o catalizador. A técnica de “envenenamento” consiste na adição de algum composto químico que se adsorve aos sítios catalíticos do metal reduzindo, assim, a velocidade da reação. Geralmente, catalizadores de paládio podem ser desativados com compostos contendo enxofre, fósforo, diaminas, chumbo, entre outros (BARTHOLOMEW, 2001). No nosso caso, a adição de 1,10-fenantrolina foi eficaz e o álcool 4-vinilbenzílico (**59**) pode ser obtido com um bom rendimento após 4,5 h de reação (Tabela 6, linha 3).

Tabela 11 – Condições reacionais utilizadas para redução parcial do álcool 4-etinilbenzílico **37**.

	Pd/CaCO ₃ (5%)	Aditivo	Condições	Rdt 59:60 (%)
1	20% (m/m)	–	t.a., 1 h	0:87
2	4% (m/m)	–	t.a., 2 h	0:83
3	4% (m/m)	1,10-fenantrolina (1 eq)	t.a., 4,5 h	90:0

Uma vez obtido o composto **59**, prosseguimos com a síntese do composto **61** contendo o anel isoxazolina, através de um protocolo similar àquele utilizado para a obtenção dos compostos isoxazóis (Figura 28). O composto **61** é quiral e, o esperado, é que ele tenha sido obtido como uma mistura racêmica⁵. Após a reação de cicloadição, o composto **61** foi submetido a uma reação adicional para substituição da hidroxila benzílica por um átomo de cloro, utilizando cloreto de tionila, levando ao composto **62**.

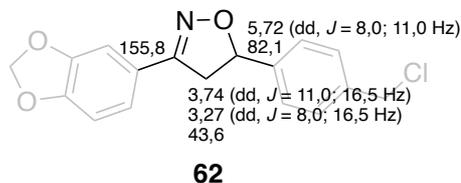
Figura 28 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto **62**, contendo o anel isoxazolina.

i) NCS, Et₃N, CH₂Cl₂, r.t.; ii) SOCl₂, CH₂Cl₂, Ar, t.a.

No espectro de RMN de ¹H dos compostos, os três hidrogênios do anel isoxazolina são visualizados como três duplos dupletos com deslocamento químico δ 3,74 (H4); 3,27 (H4) e 5,72 (H5) ppm. No espectro de RMN de ¹³C os sinais dos carbonos nas posições 3, 4 e 5 do anel isoxazolina são observados com δ 155,7; 43,4 e 82,3 ppm; respectivamente (Figura 29).

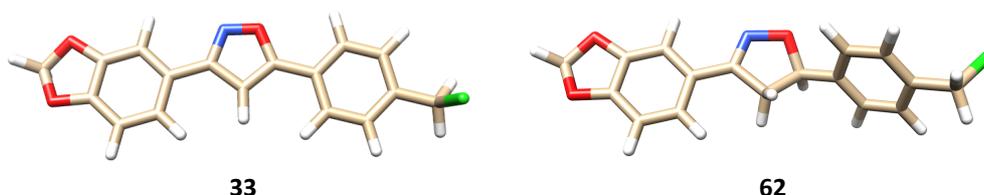
⁵ Dado não confirmado experimentalmente.

Figura 29 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos do anel isoxazolina do composto **62**.



A principal diferença entre o composto isoxazol **33** e o composto isoxazolina é a conformação adotada pela molécula—o que dará informações acerca da importância de fatores topológicos para a atividade biológica dos compostos (Figura 30).

Figura 30 – Conformação de menor energia do derivado isoxazolina **62**, em comparação com a conformação de menor energia do derivado isoxazol **33**.



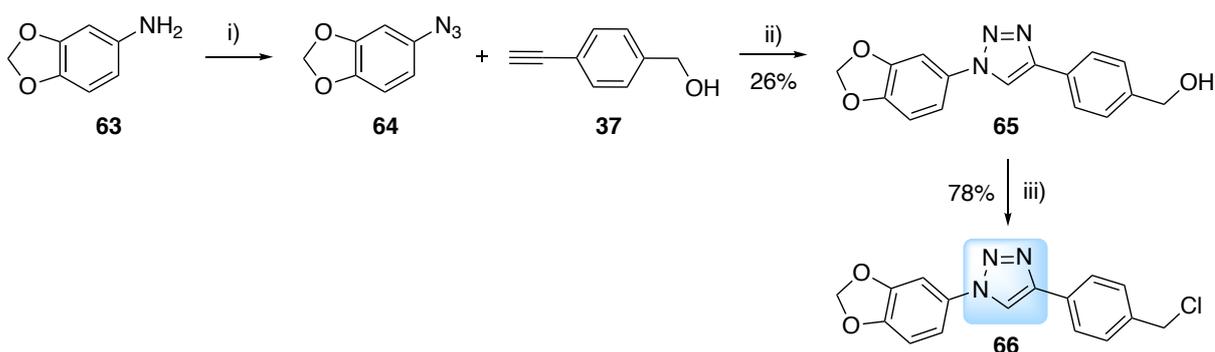
As conformações de menor energia foram obtidas utilizando o campo de força UFF implementado no software ArgusLab 6.0. Apenas o enantiômero (*S*)-**62** é ilustrado na figura.

5.1.4.2 Síntese do derivado 1,2,3-triazol 1,4-dissubstituído

A síntese de compostos 1,2,3-triazólicos a partir de azidas orgânicas e compostos acetilênicos foi descrita em 1961 por Rolf Huisgen. Quando não catalisada, ambos os regioisômeros 1,4- e 1,5-dissubstituídos são obtidos em diferentes proporções. Em 2001, Sharpless descreveu aplicação de sais de cobre(i) como catalizadores para a reação de cicloadição entre azidas e alcinos, levando unicamente ao isômero 1,4-disubstituído. A reação catalisada por cobre é o exemplo mais conhecido de *click chemistry*, que é uma classificação que compreende reações termodinamicamente favoráveis, que podem ser conduzidas em água, com alto rendimento e sem a formação de sub-produtos. Mais tarde, a catálise por rutênio foi descrita como uma opção para a obtenção regioseletiva de triazóis, dessa vez, 1,5-disubstituídos. Compostos 1,2,3-triazol vêm recebendo destaque na química medicinal, estando presentes em diversos compostos de interesse biológico (BONANDI et al., 2017).

Para a obtenção do composto de interesse, a azida orgânica utilizada na reação foi sintetizada a partir do 1-amino-3,4-metilenodioxibenzeno (**63**) em uma variação da reação de Sandmeyer (NaNO_2/HCl e NaN_3), enquanto o composto acetilênico **37** é disponível comercialmente (Figura 31). Após a reação de cicloadição, o composto **65** foi submetido à reação de substituição com cloreto de tionila para a obtenção do composto **66**.

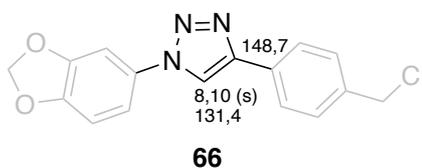
Figura 31 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto **66**, contendo o anel 1,2,3-triazol.



i) NaNO_2/HCl , NaN_3 , t.a.; ii) CuSO_4 , ascorbato de sódio, DMF, $70\text{ }^\circ\text{C}$; iii) SOCl_2 , CH_2Cl_2 , Ar, t.a.

No espectro de RMN de ^1H do composto **65**, o sinal do hidrogênio triazólico é observado em δ 8,66 ppm. Já no composto **66**, este sinal é observado em região mais blindada, com δ 8,10 ppm⁶. No espectro de RMN de ^{13}C do composto **66**, os sinais dos carbonos triazólicos são observados em δ 148,7 e 131,4 ppm.

Figura 32 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos do anel 1,2,3-triazol do composto **66**.



Em comparação ao composto **33**, os derivados contendo o anel triazol possuem diferentes átomos de nitrogênio como aceptores de ligação de hidrogênio, o que pode modificar a afinidade por algum alvo molecular putativo.

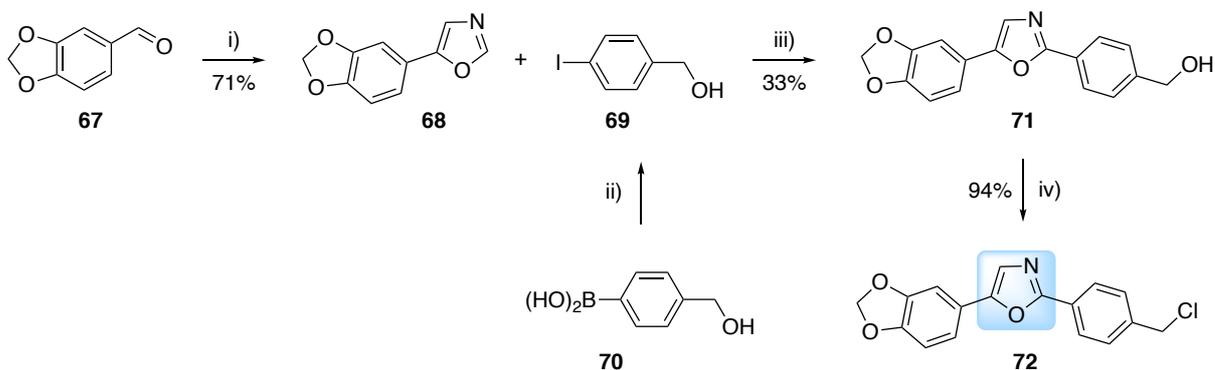
⁶ A grande diferença no deslocamento químico do hidrogênio triazólico nos compostos **65** e **66** ocorre porque diferentes solventes foram utilizados para a aquisição dos espectros de RMN.

5.1.4.3 Síntese do derivado oxazol 2,5-dissubstituído

O anel oxazol é um heterociclo presente em uma diversidade de compostos de interesse medicinal e em produtos de origem natural (JIN, 2011; KAKKAR; NARASIMHAN, 2019; ZHANG; ZHAO; ZHOU, 2018). O oxazol é um regioisômero do isoxazol em que os heteroátomos encontram-se nas posições 1 (N) e 3 (O) do ciclo. Detalhes sobre os aspectos químicos, metodologias de síntese e aplicações biológicas de compostos contendo o anel oxazólico serão discutidos em mais detalhes na **Parte II** da seção “Resultados e Discussão”, que é focada na preparação de compostos furil-oxazólicos.

Inicialmente, o composto oxazólico 4-substituído foi sintetizado a partir do piperonal (**67**), utilizando a metodologia de Van Leusen (isocianato de tosilmetilsulfonila e K_2CO_3). A seguir, uma reação de arilação direta foi realizada usando álcool 4-iodobenzílico (**69**) como parceiro de acoplamento. O composto **69** pôde ser sintetizado a partir do ácido 4-hidroxiacetilfenil borônico (**70**) em uma reação de *ipso*-iodinação utilizando I_2 /morfolina/CuI (TALE; TORADMAL; GOPULA, 2015). Muitas metodologias de arilação direta já relatadas na literatura são catalisadas por paládio ou outros metais. No entanto, para a síntese do nosso composto de interesse, optamos por uma reação livre de paládio. A escolha foi motivada pelo fato de álcoois benzílicos poderem ser oxidados em altas temperaturas na presença de paládio e de haletos de arila.⁷ Após a obtenção do composto isoxazólico **71**, este foi submetido à reação de substituição com cloreto de tionila dando origem ao nosso composto de interesse **72**.

Figura 33 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto **72**, contendo o anel oxazol.

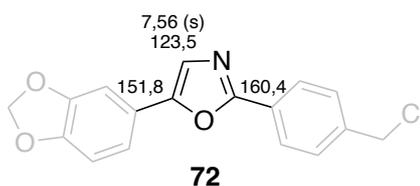


i) isocianato de tosilmetilsulfonila, K_2CO_3 , metanol, refluxo; ii) I_2 , morfolina, CuI, metanol, refluxo; iii) PPh_3 , CuI, K_2CO_3 , DMF, 100 °C; iv) $SOCl_2$, CH_2Cl_2 , Ar, t.a.

⁷ A metodologia para síntese deste composto foi escolhida com base em resultados discutidos na Parte II da seção Resultados e Discussão.

No espectro de RMN de ^1H do composto **71**, o sucesso da reação de arilação pode ser verificado pelo desaparecimento do sinal em δ 7,86 ppm, que é atribuído ao hidrogênio na posição 2 do anel oxazol do material de partida (composto **68**). No espectro de RMN de ^{13}C do composto **72**, os carbonos 2, 4 e 5 do anel oxazol têm deslocamentos químicos de δ 160,4; 123,5 e 151,8 ppm; respectivamente. Em relação ao material de partida, o carbono 2 do anel oxazol se encontra em região mais desblindada no produto.

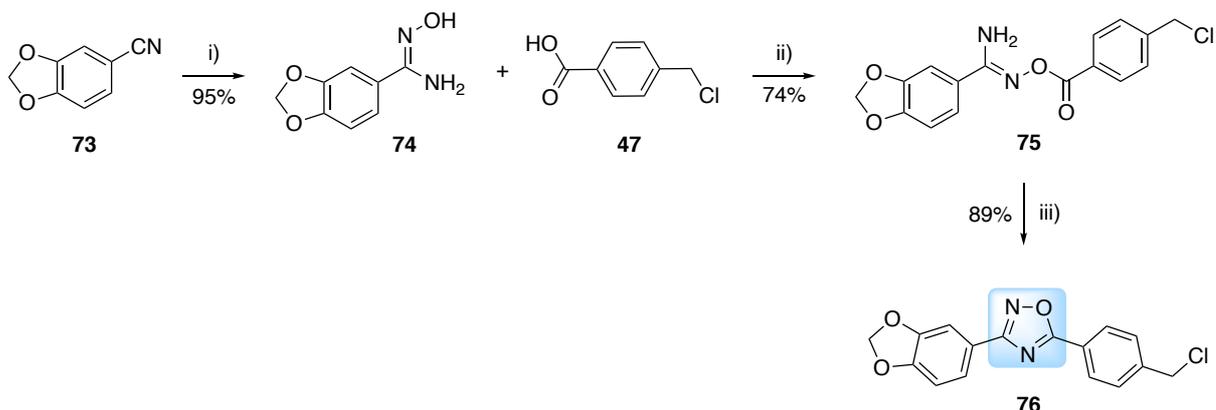
Figura 34 – Deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos do anel oxazol do composto **72**.



5.1.4.4 Síntese do derivado 1,2,4-oxadiazol 3,5-dissubstituído

Compostos contendo o anel 1,2,4-oxadiazol já foram descritos com atividade citotóxica, anti-inflamatória, antimicrobiana, entre outras (BIERNACKI et al., 2020). Em comparação com o composto **33**, este heterociclo possui um átomo de nitrogênio em posição análoga àquela ocupada por um carbono no derivado isoxazol. Diferentes métodos de síntese do anel 1,2,4-oxadiazol foram relatados, sendo o mais comum aquele que emprega nitrilas como material de partida. Dessa forma, iniciamos a síntese do composto com a conversão da 3,4-metilenodioxibenzonitrila (**73**) em 3,4-metilenodioxiamidoxima (**74**). As amidoximas são materiais de partida importantes para síntese de diferentes heterociclos (FREITAS FILHO et al., 2015). No caso da síntese do anel 1,2,4-oxadiazol, a amidoxima **74** é inicialmente condensada em temperatura ambiente com um ácido carboxílico (composto **47**) dando origem ao derivado *O*-acila (composto **75**). O derivado *O*-acila foi isolado por meio de cromatografia em coluna e sua estrutura foi confirmada por meio de RMN. A seguir, a ciclização ao derivado 1,2,4-oxadiazol **76** ocorreu em DMF à 80 °C.

Figura 35 – Rota sintética utilizada na obtenção do composto **76**, contendo o anel 1,2,4-oxadiazol.



i) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, DABCO, MeOH, refluxo; ii) CDI, DMF, t.a.; DMF, 80 °C.

Após a ciclização, observou-se a desblindagem dos hidrogênios aromáticos no espectro de RMN de ^1H . Como o anel 1,2,4-oxadiazol é aromático, o composto **76** tem seus elétrons π conjugados em toda a extensão da molécula, o que explica o efeito observado no RMN. Além disso, enquanto os carbonos $\text{C}=\text{N}$ e $\text{C}=\text{O}$ da *O*-acil-amidoxima possuem deslocamento químico δ 157,7 e 163,8 ppm; os carbonos do anel 1,2,4-oxazol têm deslocamento químico δ 169,4 e 176,0 ppm.

Figura 36 – Deslocamentos químicos dos carbonos da *O*-acil-amidoxima **75** e do anel 1,2,4-oxadiazol do composto **76**.

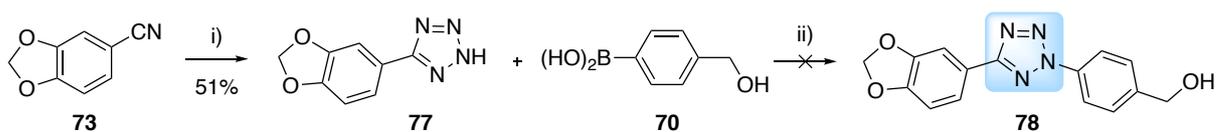


5.1.4.5 Síntese do derivado tetrazol 2,5-dissubstituído

Uma das principais formas de preparação de compostos tetrazólicos é através da reação de um composto contendo o grupo funcional nitrila com azida de sódio. Geralmente as reações são conduzidas em meio aquoso na presença de algum catalizador orgânico ou inorgânico (CANTILLO; GUTMANN; KAPPE, 2012; DAS et al., 2010; ROH et al., 2009; YONEYAMA et al., 2013). Para a síntese do nosso composto de interesse, inicialmente utilizando a 3,4-metilenodioxibenzonitrila (**73**) para preparação do composto tetrazol 5-substituído (**77**). Como o único átomo de hidrogênio presente no anel tetrazólico é lábil devido a sua acidez, ele não

pôde ser visualizado no espectro de RMN de ^1H . No entanto, no espectro de ^{13}C , o carbono 5 é encontrado em δ 155,3 ppm. A seguir, o composto **77** foi submetido à reação de arilação utilizando o ácido 4-hidroximetilfenilborônico (**70**) como parceiro de acoplamento e iodeto de cobre como catalisador. Após mais de 24 h de reação, nenhum traço do produto **78** foi detectado por análise cromatográfica em camada delgada ou RMN de ^1H da mistura reacional bruta. É interessante notar que o composto **77** tem baixa solubilidade em água e nos solventes orgânicos mais usualmente utilizados em laboratório. Mesmo a reação tendo sido realizada em alta temperatura (120 °C) e utilizado DMSO como solvente, foi observado que o material de partida ficou praticamente insolúvel no meio reacional. Dessa forma, é ideal que a solubilidade do composto **77** em outros solventes ou combinações de solventes seja testada, uma vez que a baixa solubilidade pode estar relacionada com a ausência de reatividade por parte do composto.

Figura 37 – Rota sintética proposta para a obtenção do composto **78**, contendo o anel tetrazol.



i) NaN_3 , ZnCl_2 , H_2O , 120 °C, 4h; ii) CuI , K_2CO_3 , DMSO , 120 °C, 26 h.

5.1.5 Avaliação da atividade antiparasitária dos derivados contendo *linkers* acíclicos e heterocíclicos

Após a caracterização, os compostos sintetizados foram encaminhados para avaliação da atividade tripanocida e leishmanicida nas formas amastigotas intracelulares dos parasitos. Inicialmente, os compostos foram avaliados na concentração única de 50 μ M. Os compostos que reduziram a carga parasitária (RCP) intracelular em uma taxa maior que 45% foram selecionados para determinação do valor de IC₅₀ e CC₅₀ (em células THP-1), através da construção de uma curva dose-resposta. Os resultados da avaliação frente aos amastigotas de *T. cruzi* são descritos na Tabela 12, já os resultados da avaliação frente aos amastigotas de *L. amazonensis* podem ser encontrados na Tabela 13.

Tabela 12 –Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento (72 h) dos amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen) com 50 μ M dos compostos.

	Estrutura	RCP (%)		Estrutura	RCP (%)
45		19,6 (\pm 1,4)	71		10,4 (\pm 3,8)
46		NA	72		3,1 (\pm 0,3)
49		17,0 (\pm 0,8)	75		2,3 (\pm 0,2)
50		NA	76		46,2 (\pm 5,8)
52		NA	77		NA
56		4,8 (\pm 0,2)	Controles positivos Benznidazol (20 μ M) 85,6 (\pm 2,5) ^a		
61		3,9 (\pm 2,6)			
62		16,8 (\pm 6,6)			
65		NA			
66		9,1 (\pm 4,9)			

Os resultados representam a média \pm DP de um experimento realizado em triplicada. Os compostos foram considerados não ativos (NA) quando não houve diferença significativa ($P > 0,05$, ANOVA/Dunnet) na comparação com o controle negativo (DMSO 1%). ^aMorte parasitária causada pelo tratamento com 3 μ M do composto.

Tabela 13 – Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento (72 h) dos amastigotas de *L. amazonensis* (LBT0016) com 50 μ M dos compostos.

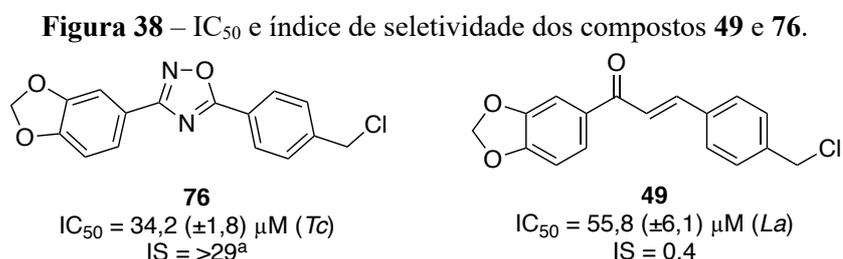
	Estrutura	RCP (%)		Estrutura	RCP (%)				
45		35,0 (\pm 2,8)	71		29,7 (\pm 5,3)				
46		30,0 (\pm 1,5)	72		NA				
49		45,8 (\pm 1,5)	75		31,4 (\pm 1,3)				
50		21,0 (\pm 3,7)	76		18,6 (\pm 4,3)				
52		28,4 (\pm 9,0)	77		30,4 (\pm 3,2)				
56		6,4 (\pm 1,4)	<p>Controles positivos</p> <table border="1" style="margin: auto;"> <tbody> <tr> <td></td> <td>40,2 (\pm3,5)</td> </tr> <tr> <td>Anfofericina B (2 μM)</td> <td>95,9 (\pm1,5)</td> </tr> </tbody> </table>				40,2 (\pm 3,5)	Anfofericina B (2 μ M)	95,9 (\pm 1,5)
	40,2 (\pm 3,5)								
Anfofericina B (2 μ M)	95,9 (\pm 1,5)								
61		32,6 (\pm 2,8)							
62		38,1 (\pm 2,2)							
65		NA							
66		41,5 (\pm 0,7)							

Os resultados representam a média \pm DP de um experimento realizado em triplicada. Os compostos foram considerados não ativos (NA) quando não houve diferença significativa ($P > 0,05$, ANOVA/Dunnet) na comparação com o controle negativo (DMSO 1%).

Os resultados da atividade biológica frente ao *T. cruzi* mostram que a maioria dos compostos causou até 20% de morte parasitária. A exceção foi o composto **76**, que levou à morte de 46% dos parasitas na concentração de 50 μ M, sendo o mais ativo da série frente ao *T. cruzi* (Tabela 12). O efeito de diferentes concentrações do composto **76** sobre a viabilidade parasitária foi avaliado e o IC_{50} do composto determinado como 34,2 (\pm 1,8) μ M. Dessa forma, este composto é cerca de trinta vezes menos potente que o composto **33**, frente ao *T. cruzi* (Figura 38).

Quanto à atividade frente à *L. amazonensis*, de forma geral os novos compostos foram mais ativos nesse parasito do que frente ao *T. cruzi*. O tratamento com 50 μ M dos compostos levou à redução da viabilidade parasitária na faixa de 6–46%, sendo o composto **49** o mais

ativo. A partir da análise da curva dose-resposta, o IC_{50} do composto **49** foi determinado em $55,8 (\pm 6,1) \mu M$. Assim, a atividade leishmanicida do composto é cerca de dez vezes menor que a do composto **33** (Figura 38). Além disso, o composto **49** é altamente citotóxico frente às células THP-1 ($IS = 0,4$). A alta citotoxicidade é um fator que diminui a aplicabilidade biológica de compostos *hit*, especialmente se ela for não-específica para alguma linhagem celular. Nós acreditamos que a atividade do composto **49** possa estar relacionada com a presença de duas regiões eletrofílicas na molécula (cetona α,β -insaturada e substituinte -clorometila). Essas porções são susceptíveis à reação com nucleófilos endógenos, como a tripanotona e o DNA, afetando o metabolismo parasitário e podendo levar à morte celular (OCHTROP; HACKENBERGER, 2020). É interessante notar que a substituição do átomo de cloro por uma metoxila no composto **52** diminui a atividade para um nível similar à dos outros compostos que também possuem apenas uma região eletrofílica na estrutura. Com isso, é possível sugerir que esses compostos possam estar agindo devido a formação de adutos covalentes com estruturas macromoleculares do parasito e não através da interação com um alvo molecular específico. No entanto, experimentos adicionais são necessários para sustentar esta hipótese.



O composto **49** foi o mais ativo da série frente à *L. amazonensis* (LBT0016), enquanto o composto **76** foi o mais ativo da série frente ao *T. cruzi* (Tulahuen). Os resultados foram calculados usando a regressão não-linear das curvas construídas a partir de, no mínimo, quatro concentrações em triplicata. $IS = CC_{50}/IC_{50}$. ^aO tratamento com 1 mM reduziu a viabilidade das células THP-1 em 33,7%.

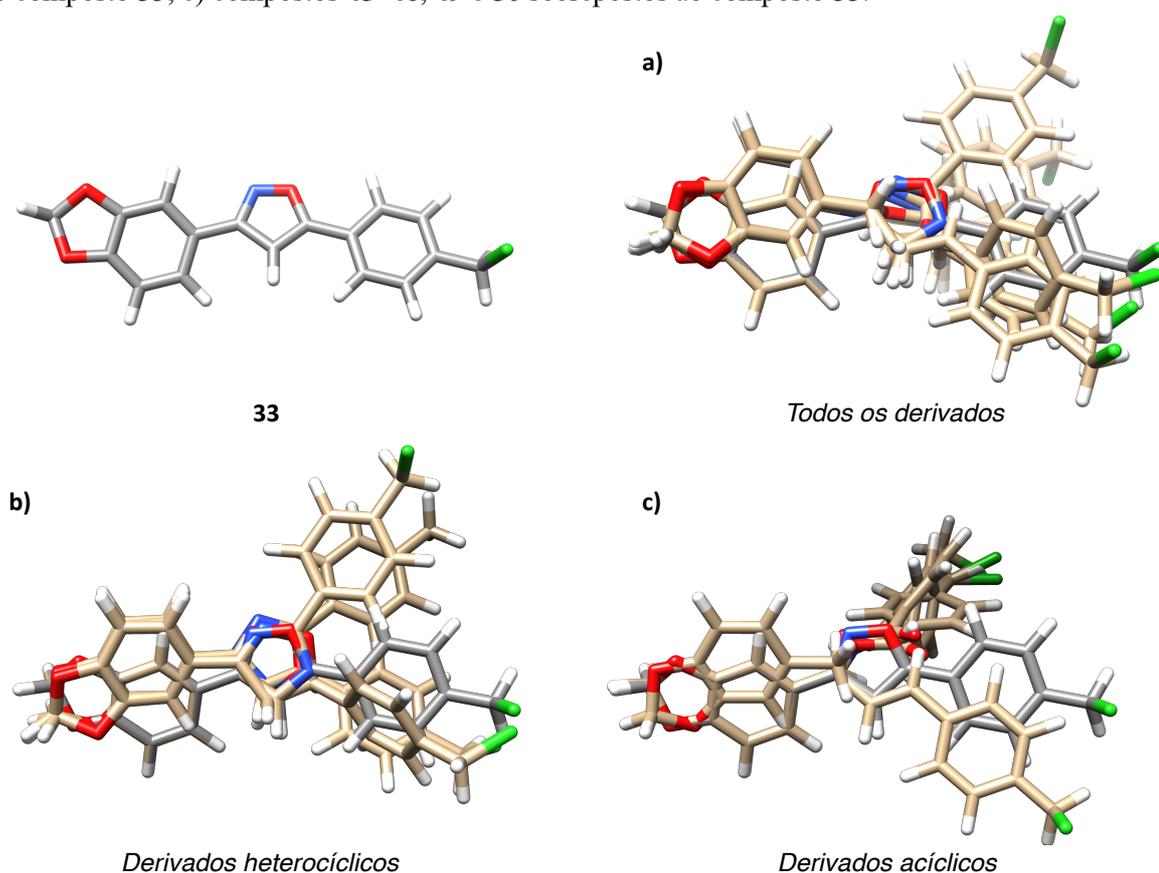
A análise da conformação de menor energia dos compostos é de extrema importância na química medicinal, uma vez que as conformações bioativas das moléculas, geralmente, são aquelas energeticamente favoráveis. Esta análise pode auxiliar no entendimento da atividade observada *in vitro*. Considerando a hipótese dos compostos **45–46**, **49**, **50**, **62**, **66**, **72** e **76** interagirem por meio do mesmo alvo molecular, a sobreposição dos seus confôrmeros de menor energia pode sugerir características estruturais deste alvo molecular putativo.

O alinhamento dos compostos mostra uma região aceptora de ligação de hidrogênio em comum na parte central das moléculas. No caso do composto isoxazólico, essa região é ocupada pelo átomo de nitrogênio na posição 2 do anel. Além disso, é possível observar que o anel contendo o substituinte 3,4-metilenodioxifenil, também ocupa uma região similar em todas as

moléculas após a sobreposição. A presença desse substituinte foi previamente associada à melhoria da atividade biológica dos compostos. Por isso, essa região também está possivelmente envolvida em alguma interação intermolecular. Por último, vemos que em cada composto o anel aromático com o substituinte –clorometila ocupa uma região distinta no espaço (Figura 39). A diferença na posição dos anéis aromáticos pode ser um fator relacionado com a variação na atividade biológica *in vitro* entre os compostos.

O perfil da atividade biológica dos novos compostos sintetizados foi diferente entre *T. cruzi* e *L. amazonensis*. Isto é, o composto mais ativo frente a um parasito não necessariamente é o mais ativo frente ao outro parasito. Isso pode indicar que alvos moleculares distintos sejam responsáveis pela ação dos compostos nesses dois parasitos.

Figura 39 – Sobreposição do confôrmero de menor energia do composto **33** com os dos seus derivados. a) todos os derivados sintetizados sobrepostos ao composto **33**; b) compostos **62**, **66**, **72** e **76** sobrepostos ao composto **33**; c) compostos **45–46**, **49** e **50** sobrepostos ao composto **33**.



As conformações de menor energia foram obtidas utilizando o campo de força UFF implementado no software ArgusLab 6.0. A sobreposição dos compostos foi feita com auxílio do webserver PharmaGist e avaliada através do *score* obtido (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008). Nas figuras (b) e (c) certos compostos foram ocultados para maior clareza.

5.1.6 Conclusões

Com base no composto 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)isoxazol (composto **33**), o qual teve sua atividade tripanocida previamente caracterizada através de ensaios *in vitro* ($IC_{50} = 1,1 \mu M$), foram sintetizados três derivados em que o substituinte –clorometila foi substituído pelos grupos –bromometila (**41**), –fluormetila (**42**) e –iodometila (**43**). O composto **41** não foi ativo frente ao *T. cruzi* e os compostos **42** ($IC_{50} = 5,1 \mu M$) e **43** ($IC_{50} = 9,8 \mu M$), assim como o composto **33**, apresentaram potência *in vitro* maior que a do fármaco benznidazol ($IC_{50} = 10,2 \mu M$).

Adicionalmente, foram realizados estudos *in vitro* com vistas a determinar um possível efeito sinérgico ou aditivo dos compostos quando em combinação com benznidazol, os quais mostraram que o composto **33** é o único que age de forma fortemente sinérgica com o fármaco. Essa combinação também reduz a toxicidade do composto **33** nas células THP-1.

Em outra linha de trabalho, visando aprofundar o conhecimento a respeito da relação estrutura-atividade, foram sintetizados compostos em que o anel isoxazol presente no composto **33** foi substituído por outros anéis heterocíclicos, ou por grupos funcionais conectores acíclicos. Destes novos análogos, o composto 1,2,4-oxadiazol **76** foi o mais potente frente ao *T. cruzi*, com IC_{50} de $34,2 \mu M$ e índice de seletividade maior que 29. O composto chalcona **49** foi o mais potente frente à *L. amazonensis*, com IC_{50} de $55,8 \mu M$, porém, sem mostrar seletividade frente ao parasito. A redução na potência desses compostos, em comparação com o composto **33**, sugere que fatores conformacionais podem estar relacionados com a atividade biológica. Além disso, o diferente perfil de atividade em *T. cruzi* e *L. amazonensis* pode indicar que os compostos atuam em alvos moleculares distintos em cada um dos parasitos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO
PARTE 2

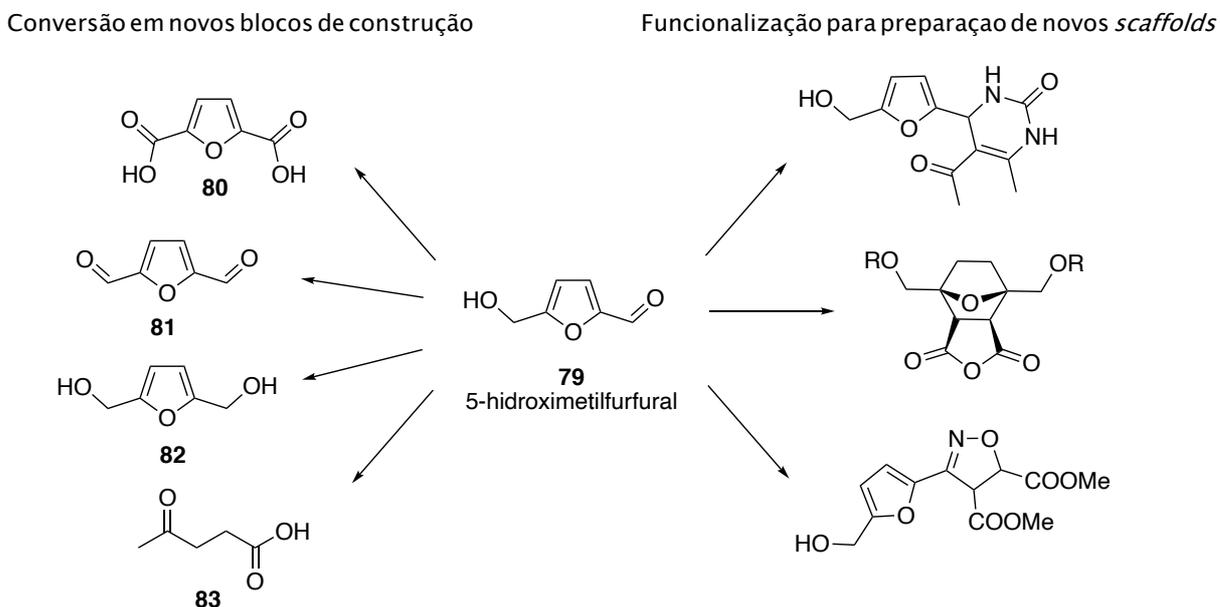
5.2 PARTE II – SÍNTESE DE COMPOSTOS OXAZÓLICOS A PARTIR DO 5-HIDROXIMETILFURFURAL E AVALIAÇÃO FRENTE AO *Trypanosoma cruzi*

5.2.1 Introdução

A Parte II apresenta os resultados do trabalho desenvolvido durante os onze meses de estágio sanduíche no *Laboratoire de Chimie Organique et Bioorganique* do *Institut National des Sciences Appliquées de Lyon* (COB-INSA, França), sob supervisão das professoras Florence Popowycz e Maïwenn Jacolot. O grupo de pesquisa francês trabalha com o desenvolvimento de metodologias de síntese aplicadas à obtenção de compostos bioativos a partir de blocos de construção provenientes de fontes renováveis, especialmente o 5-hidroximetilfurfural (**79**, 5-HMF).

O 5-HMF é um composto obtido a partir da desidratação termal de carboidratos simples, como a glicose e a sacarose. Dessa forma, uma das principais matérias-primas para a sua obtenção é a celulose, um produto do beneficiamento da biomassa que pode ser obtido de forma abundante em alguns processos industriais. Diferentes rotas de obtenção do 5-HMF em escala laboratorial e industrial foram desenvolvidos nos últimos anos, permitindo com que o composto esteja disponível comercialmente—o que conseqüentemente aumenta o interesse no seu uso como material de partida para a síntese de outros compostos químicos (AGARWAL et al., 2018; DASHTBAN; GILBERT; FATEHI, 2014; TEONG; YI; ZHANG, 2014). Apesar de estruturalmente simples, o anel furânico e os grupos funcionais aldeído e hidroximetil presentes no 5-HMF tornam o composto extremamente versátil do ponto de vista sintético. Uma busca na literatura mostra que a reatividade do 5-HMF vem sendo explorada de duas maneiras distintas. A primeira, visa a preparação de novos blocos de construção estruturalmente simples, como o ácido furan-dicarboxílico (**80**), diformilfurano (**81**), 2,5-diidroximetilfurano (**82**), ácido levulínico (**83**), entre outros (KUCHEROV et al., 2018; ROSATELLA et al., 2011). Esses compostos têm uma aplicação mais restrita, sendo utilizado principalmente na produção de polímeros. A segunda estratégia de funcionalização do 5-HMF tem como objetivo a preparação de compostos estruturalmente mais complexos, como compostos heterocíclicos, bicíclicos, entre outros (Figura 40) (FAN et al., 2019). A síntese de compostos mais complexos aumenta consideravelmente o valor agregado e o potencial biológico destes derivados, o que faz com que a segunda estratégia de funcionalização vá de encontro ao objetivo geral desta tese: a identificação e estudo de relação estrutura atividade de novos compostos heterocíclicos com atividade tripanocida.

Figura 40 – Alguns dos compostos químicos sintetizados a partir do 5-HMF através de modificações nos grupos funcionais aldeído e hidroximetila e no anel furânico.



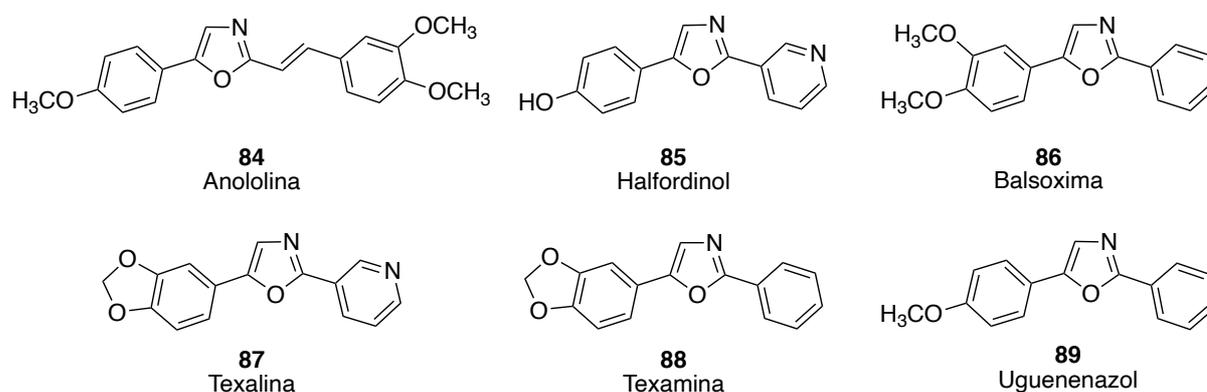
5.2.2 Planejamento de compostos potencialmente tripanocidas a partir do 5-HMF

Os resultados apresentados no primeiro capítulo desta tese indicaram que a atividade tripanocida do composto **33** também está relacionada com a presença do anel heterocíclico central, visto que compostos acíclicos ou com anéis heterocíclicos diferentes foram menos ativos. O anel oxazol é um regioisômero do anel isoxazol que também possui um papel importante na química medicinal, sendo encontrado em moléculas com atividade antibacteriana, antiviral, citotóxica, antidiabética, entre outras (ZHANG; ZHAO; ZHOU, 2018).

Diferentes metabólitos secundários contendo o anel oxazol foram isolados a partir de organismos marinhos, micro-organismos ou plantas. A biossíntese destes compostos acontece a partir da condensação de aminoácidos, que é uma rota tipicamente associada à biossíntese dos alcaloides. A estrutura química dos mais de cem alcaloides oxazólicos descritos é bastante diversa, incluindo desde pequenas moléculas até macrociclos compostos por múltiplos anéis heterocíclicos (JIN, 2011). Considerando os alcaloides oxazólicos isolados de plantas, os compostos oxazóis 2,5-disubstituídos são os mais frequentes. O primeiro composto deste tipo foi isolado de *Lolium multiflorum* e nomeado como anulolina (**84**) (AXELROD; BELZILE, 1958). Estruturalmente, a anulolina possui um substituinte alquenil ligado na posição 2 e um substituinte arílico ligado na posição 5 do anel oxazol central. A seguir, o composto halfordinol

(85) e outros derivados com diferentes substituintes ligados à sua hidroxila fenólica foram isolados de várias plantas *Halfordia* spp (Rutaceae) (CROW; HODGKIN, 1964). E, além deles, os compostos balsoxina (86), texamina (87), texalina (88) e uguenenazol (89) foram isolados de *Amyris* spp. (Rutaceae) nos anos seguintes (BURKE et al., 1979; DE LA FUENTE et al., 1988). A principal diferença estrutural destes compostos em relação à anulolina, é que eles possuem substituintes arílicos ou heteroarílicos em ambas as posições 2 e 5 do anel oxazol central (Figura 41). Apesar da alta incidência em diferentes espécies de plantas e da diversidade de estruturas químicas, as propriedades biológicas destes compostos oxazólicos são pouco estudadas. Enquanto o halfordinol possui atividade estimulante da lipólise, a texalina inibe a replicação de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium kansasii* (GIDDENS et al., 2005; KARMASE; BIRARI; BHUTANI, 2013; RASTOGI, 1998). Além disso, outros compostos naturais e sintéticos estruturalmente relacionados aos alcaloides já foram relatados com atividade citotóxica frente à diferentes linhagens de células tumorais, *Trypanosoma congolense* e *Caenorhabditis elegans*, além de também inibirem a eclosão de ovos de *C. elegans* (BANZRAGCHGARAV et al., 2016; ROBLES et al., 2017; YAMAMURO et al., 2015).

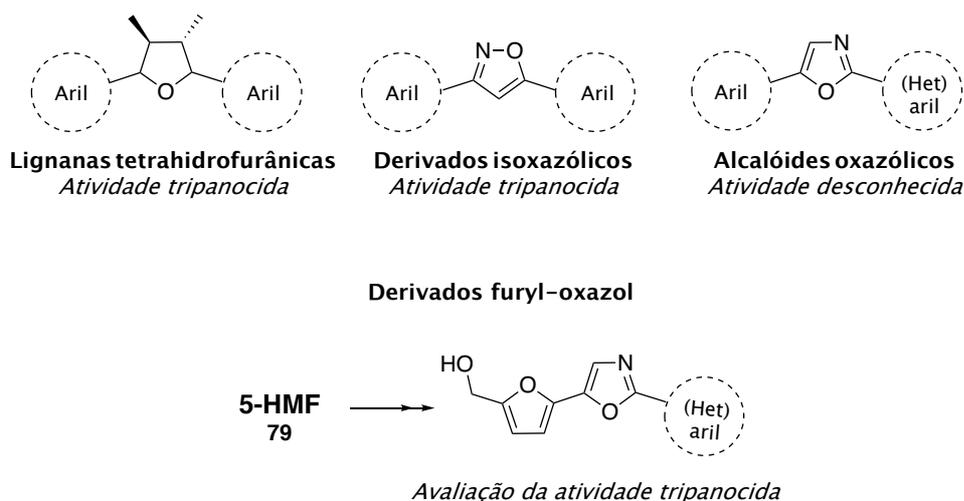
Figura 41 – Estrutura de seis compostos oxazólicos isolados de plantas superiores.



A similaridade entre o *scaffold* desta classe de compostos com o das lignanas tetrahidrofurânicas e dos compostos isoxazóis tripanocidas aumentou nosso interesse na potencial atividade biológica de derivados oxazólicos frente a *Trypanosoma cruzi*. De forma a explorar o potencial do 5-HMF como uma plataforma química renovável para obtenção de novos compostos com potencial biológico agregado, idealizamos derivados 5-furil-oxazólicos que mantivessem as características topológicas dos alcaloides oxazólicos ao mesmo tempo que oferecessem a possibilidade de funcionalização com diferentes substituintes. A variabilidade

estrutural destes substituintes é necessária para avaliar os aspectos de relação estrutural-atividade uma vez que as propriedades biológicas dos compostos sintetizados são avaliadas (Figura 42).

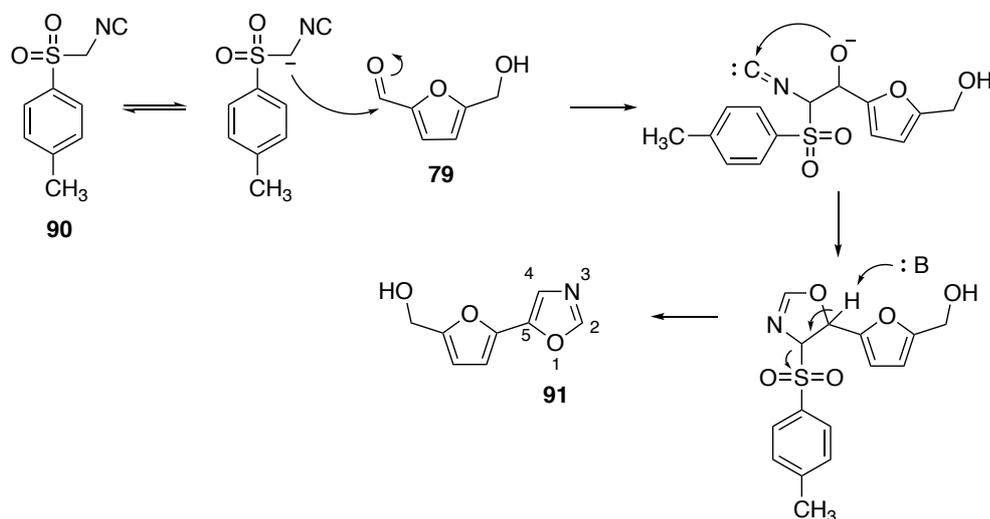
Figura 42 – Proposta de derivados potencialmente tripanocidas com base no *scaffolds* das lignanas tetrahidrofurânicas e dos alcaloides oxazólicos.



Apesar de ainda não ser associado com atividade anti *T. cruzi*, o *scaffold* furyl-oxazólico está presente em diferentes moléculas de interesse medicinal. Os exemplos incluem moléculas com atividade antidiabética, antiobesidade, antinoceptiva e anti-inflamatória (BOGER et al., 2005; DANG et al., 2011; DOW et al., 1991; JUMPPANEN et al., 2019; LOWE et al., 2006; MALAMAS et al., 1996; MORIYA et al., 1988; ROMERO et al., 2007; SOHDA et al., 1992). Diferentes rotas sintéticas podem ser utilizadas para obtenção de compostos oxazólicos, estando centradas principalmente na ciclização oxidativa de diferentes amidas, como estirilamidas e propargilamidas, ou iminocetonas; na anulação entre alcinos e nitrilas ou, então, na expansão do anel de cetoaziridinas (BRESCIANI; TOMKINSON, 2014; IBRAR et al., 2016). Os compostos obtidos por meio destas metodologias geralmente possuem o anel oxazólico já di- ou tri-substituído. No entanto, a preparação dos materiais de partida para a ciclização envolveria diferentes rotas sintéticas que demandariam outros blocos de construção e tempo adicional para execução. Em 1972, Van Leusen descreveu a síntese de compostos oxazóis 5-substituídos a partir de aldeídos e isocianato de toluenometilsulfonila (**90**, TosMIC) (VAN LEUSEN; HOOGENBOOM; SIDERIUS, 1972). Devido ao efeito dos grupos sulfonila e isocianato, o grupo metileno do TosMIC possui caráter ácido e, após deprotonação, pode se adicionar à diferentes eletrófilos. A presença do grupo tosila na estrutura do intermediário 4-tosiloxazolina

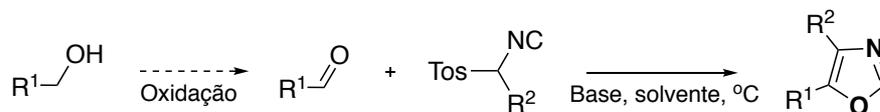
formado o torna susceptível a reações de eliminação em meio básico, o que leva à formação do anel oxazol 5-substituído (composto **91**).

Figura 43 – Mecanismo da reação de síntese de oxazóis a partir do 5-HMF e TosMIC.



Diferentes exemplos da aplicação da reação de Van Leusen são relatados na literatura (Tabela 14), demonstrando a robustez desta metodologia. Além do trabalho original que utiliza aldeídos e TosMIC, uma adaptação da metodologia usando derivados de TosMIC e, conseqüentemente, levando a oxazóis 4,5-disubstituídos já foi relatada (Tabela 14, linha 2) (WU et al., 2009). Adicionalmente, procedimentos utilizando TosMIC e uma resina de troca iônica como base/scavenger (Tabela 14, linha 3) e, outro, partindo de álcoois que são oxidados *in situ* também foram descritos (Tabela 14, linha 4) (KULKARNI; GANESAN, 1999; VINAY KUMAR et al., 2016). A aplicação destas e outras metodologias na obtenção de moléculas com propriedades medicinais foi recentemente revisada (ZHENG; LIU; ZHANG, 2020).

Apesar da metodologia original levar ao produto monosubstituído, o composto furil-oxazol **91** é obtido em apenas uma etapa reacional entre os dois *building blocks* comerciais 5-HMF e TosMIC. E, como o composto **91** é um intermediário comum para a síntese de todos os outros derivados propostos, a obtenção de um grande número de compostos a partir de poucas reações é possível.

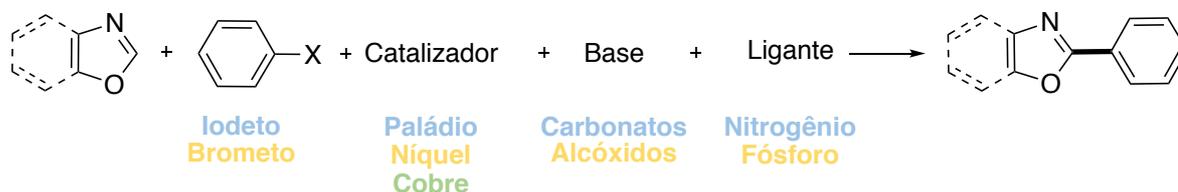
Tabela 14 – Principais metodologias para síntese de oxazóis utilizando TosMIC.

	R ¹	R ²	Condições	Rdt
1	Aril (3 ex)	-H	K ₂ CO ₃ , MeOH, 60 °C	57-91%
2	Aril, alquil ou heteroaril (16 ex)	-H, alquil ou benzil (8 ex)	K ₂ CO ₃ , [bmIm]Br, rt	75-90%
3	Aril, alquil ou heteroaril (13 ex)	-H	Ambersep 900 OH, MeOH/DME, refluxo.	54-85%
4	Aril ou heteroaril (14 ex)	-H	T3P, DMSO, Et ₃ N seguido de KOH, H ₂ O, EtOH, rt.	61-90%

A partir do composto **91**, os derivados finais propostos podem ser sintetizados através de uma reação de heteroacoplamento. Essa classe de reações vem recebendo destaque na área de síntese orgânica pois possibilita a criação de uma nova ligação carbono-carbono de forma regioseletiva através do uso de catalizadores metálicos (BIAJOLI et al., 2014; BIFFIS et al., 2018; DEVENDAR et al., 2018). Entre as reações de heteroacoplamento destacam-se as reações de Negishi, Heck e Suzuki, cujo pesquisadores responsáveis pelo seu desenvolvimento foram laureados com o Prêmio Nobel de Química em 2010 (THE NOBEL FOUNDATION, 2010). Essas reações, entre outras, utilizam haletos de arila como um dos parceiros de acoplamento enquanto o outro parceiro é um composto organozinco, um alceno ou um ácido borônico, respectivamente. Apesar da versatilidade e alta aplicabilidade, o uso dessas reações faz com que seja necessária uma pré-funcionalização do intermediário **91** com um grupo funcional propício ao acoplamento com os haletos de arila. De forma a eliminar essas etapas adicionais de funcionalização e aumentar a economia atômica da rota sintética, uma alternativa às reações de heteroacoplamento “clássicas” são as reações de arilação direta, nas quais um composto areno não funcionalizado reage diretamente com um haleto de arila (ABRAMS; PROVENCHER; SORENSEN, 2018; MAES; MAES, 2016; WU; WAN; ZHANG, 2018). Esse tipo de reação, também chamado de reação de ativação C–H, é amplamente utilizado para C-arilação de diferentes compostos heterocíclicos e, foi o escolhido para preparação dos derivados finais a partir do intermediário **91**.

O anel oxazol do composto **91** possui duas posições susceptíveis à arilação direta, o carbono 4 e o carbono 2—que é o nosso alvo para obtenção dos derivados propostos. No entanto, as características eletrônicas do carbono 2 o tornam mais propício à arilação (BHEETER et al., 2016). Diferentes métodos para a arilação no C2 de (benz)oxazóis já foram descritos na literatura utilizando sulfinatos de arila, arilamidas, cloretos de arilacila, silanatos de trimetoxiarila, ariltriazenos e ácidos borônicos como parceiros de acoplamento. Além destes, haletos de arila também são bastante utilizados e se tornam uma opção atrativa considerando a sua estabilidade, disponibilidade comercial e o preço—geralmente é mais baixo em comparação às outras opções⁸. Entre os haletos de arila, iodetos e brometos podem ser utilizados como parceiros de acoplamento, sendo o primeiro mais reativo. Cloretos e fluoretos de arila normalmente não são utilizados, visto que a adição oxidativa do catalisador na posição ocupada pelo haleto é desfavorável nesses casos. Diferentes catalisadores com base em paládio [como Pd(OAc)₂, Pd(phen)₂(PF₆)₂, Pd(acac)₂, Pd(PPh₃)₄] ou níquel [como NiBr₂, Ni(OAc)₂ e Ni(COD)₂] podem ser utilizados para arilação, assim como quantidades equimolares de iodeto de cobre em combinação (ou não) com um catalisador de paládio. Além do parceiro de acoplamento e de um sal ou complexo metálico, a reação de heteroacoplamento requer a utilização de uma base. Entre as bases fracas, os carbonatos (Na⁺, K⁺, Ag⁺ e Cs⁺) são as mais utilizadas; já entre as bases fortes, os alcóxidos (Li⁺, Na⁺) são os mais frequentes. A presença de aditivos como ligantes de fósforo, nitrogênio ou ácido pivalico, em alguns casos pode favorecer a reação, porém, isso não é um requerimento. A reação é conduzida em alta temperatura (>100 °C) que é, geralmente, alcançada por meio de condições termais clássicas ou, então, por meio de irradiação em reator micro-ondas. Por este motivo, solventes com alto ponto de ebulição, como dioxano, tolueno, DMAc, DMSO e, mais frequentemente, DMF são utilizados. A Tabela 15 apresenta, de forma resumida, algumas destas metodologias de arilação juntamente com as referências.

⁸ Entre as outras opções citadas, apenas os ácidos borônicos são amplamente disponíveis comercialmente. A fim de comparação, o iodo-benzeno é cotado por cerca de 140 €/mol enquanto o ácido fenil-borônico custa cerca de 368 €/mol (dados consultados em 14/04/20 na Sigma-Merk).

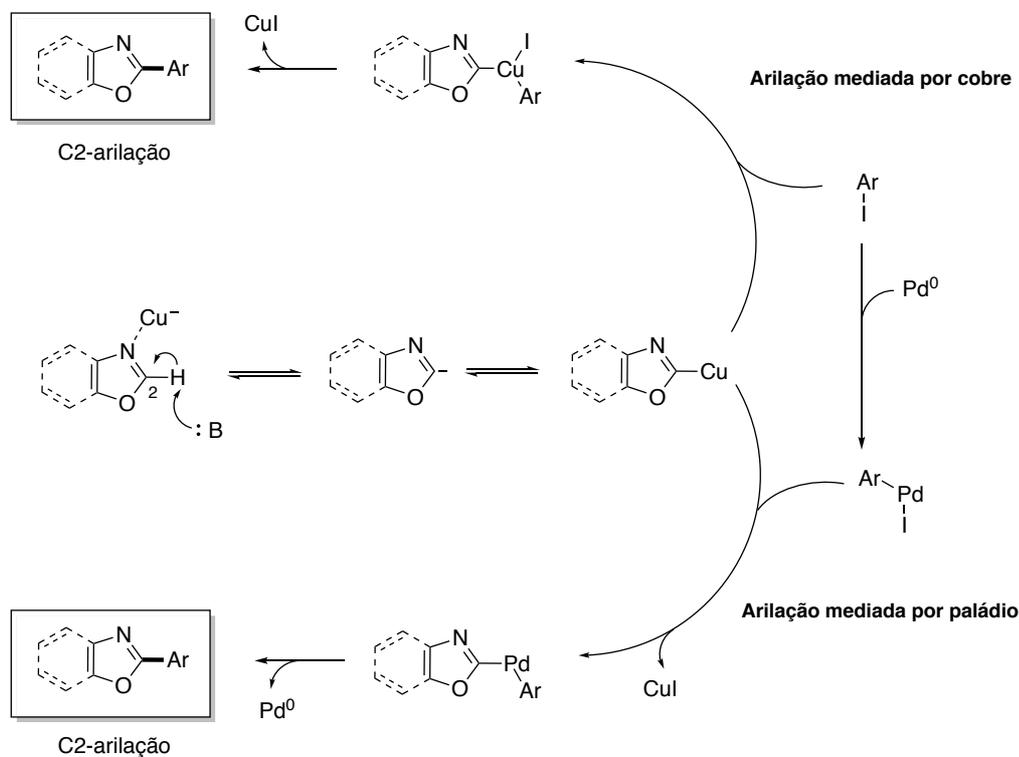
Tabela 15 – Resumo das condições de algumas das metodologias de arilação direta de (benz)oxazóis.

	Haleto	Catalizador	Base	Ligante	Rdt	Ref
1	1.2 eq	Pd(OAc) ₂ ^{a,b}	2.0 eq	-	63-73%	(BESSELIÈVRE et al., 2008)
2	1.0 eq	Pd(OAc) ₂	2.0 eq	0.04 eq	83%	(LIÉGAULT et al., 2009)
3	1.2 eq	PdCl ₂ (dppf)	2.0 eq	0.10 eq	48-89%	(FLEGEAU; POPKIN; GREANEY, 2008)
4	1.3 eq	Pd(phen) ₂ (PF ₆) ₂	3.0 eq	-	15-41%	(SHIBAHARA et al., 2012)
5	2.0 eq	Pd(acac) ₂	3.0 eq	-	47-70%	(SHI; SOULÉ; DOUCET, 2019)
6	1.5 eq	Pd(PPh ₃) ₄	1.5 eq	-	48-96%	(BESSELIÈVRE et al., 2009)
7	0.5 eq	NiBr ₂	4.0 eq	0.12 eq	53-96%	(HACHIYA et al., 2009)
8	0.7 eq	Ni(OAc) ₂	1.0 eq	0.05 eq	47-73%	(YAMAMOTO et al., 2011)
9	1-2 eq	Ni(COD) ₂	1.5 eq	0.12 eq	20-99%	(LARSON; SCHULTZ; KALYANI, 2019)
10	1.2 eq	CuI ^a	2.0 eq	0.20 eq	55-94%	(YOSHIZUMI et al., 2009)
11	5.0 eq	CuI	3.0 eq	0.30 eq	53-78%	(YANG; KOELLER; ACKERMANN, 2016)

^a1 equivalente de CuI é utilizado na reação. ^bA reação é conduzida em reator micro-ondas. O hífen indica que nenhum ligante foi utilizado na reação.

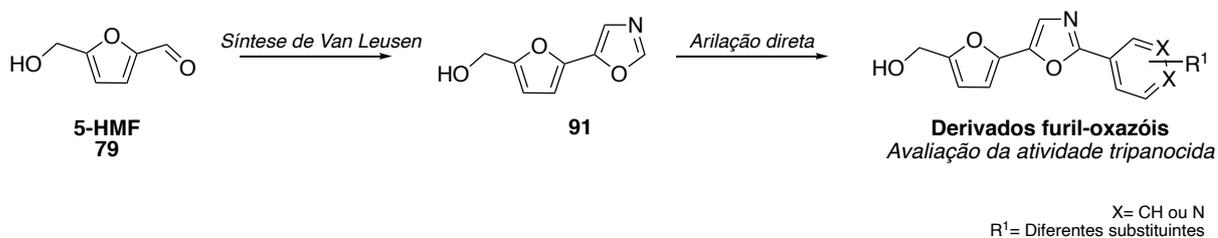
O mecanismo das reações de arilação direta de derivados oxazóis em C2 ainda é bastante discutido e depende de algumas condições reacionais. No caso das reações catalisadas por paládio e/ou cobre, existem evidências que a coordenação do cobre com o nitrogênio heterocíclico aumenta a acidez do próton em C2 fazendo com que mesmo bases fracas, como os carbonatos, possam desprotonar este carbono. A seguir, uma espécie organocobre seria formada e esta reagiria com o haleto de arila ou com uma espécie aril-paládio, caso este catalizador esteja presente na reação, dando origem ao composto C2-arilado (Figura 44) (BELLINA; CAUTERUCCIO; ROSSI, 2008). No caso das reações catalisadas por níquel um mecanismo semelhante é proposto, no entanto, a desprotonação do C2 ocorre por ação de uma base forte e o intermediário chave é uma espécie organo-níquel (YAMAMOTO et al., 2011).

Figura 44 – Mecanismo proposto para a arilação do carbono 2 de (benz)oxazóis catalisada por paládio e/ou cobre. Adaptado de Bellina (2008).



Tendo em vista os métodos de síntese disponíveis e as vantagens e desvantagens associadas com a utilização destes, a rota sintética proposta para a obtenção dos derivados finais inicia com a conversão do 5-HMF ao composto 5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**91**) através da metodologia descrita por Van Leusen. O composto **91**, então, reage diretamente com haletos de arilação dando origem aos derivados furil-oxazóis propostos.

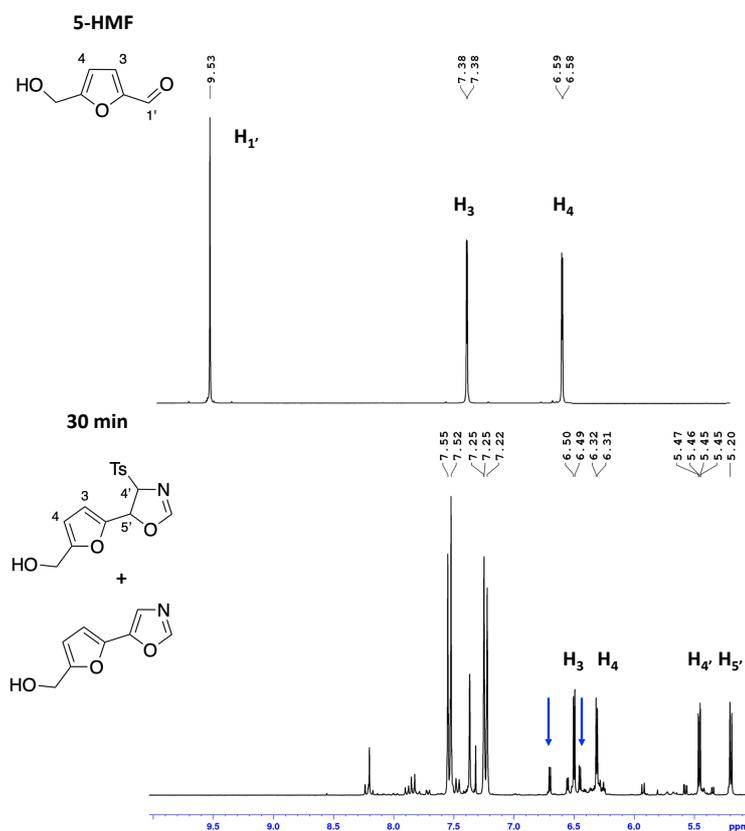
Figura 45 – Esquema da rota sintética proposta para obtenção dos derivados furil-oxazólicos.



5.2.3 Síntese do intermediário 5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (91)

Na primeira tentativa de síntese do intermediário **91**, o 5-HMF reagiu com 1 equivalente de TosMIC e 1 equivalente de K_2CO_3 em metanol à 60 °C, conforme descrito no procedimento original de Van Leusen. No entanto, enquanto exemplos na literatura relatam altos rendimentos após poucas horas de reação, nós obtivemos o intermediário **91** com um rendimento médio de apenas 55% após 16 horas de reação. Um acompanhamento da reação por RMN de 1H nos mostrou que a adição do TosMIC ao 5-HMF ocorria de forma rápida, visto que o sinal em 9,53 ppm referente ao hidrogênio do grupo funcional aldeído já não era mais observado após cerca de 30 minutos de reação. No entanto, a conversão do intermediário reacional 4-tosiloxazolina ao produto desejado **91** era lenta e, mesmo após 16 horas, uma quantidade considerável de 4-tosiloxazolina ainda podia ser detectada na mistura reacional (Figura 46).

Figura 46 – Espectros de RMN de 1H (400 MHz, MeOD) do 5-HMF e da reação para obtenção do composto oxazólico após 30 minutos.

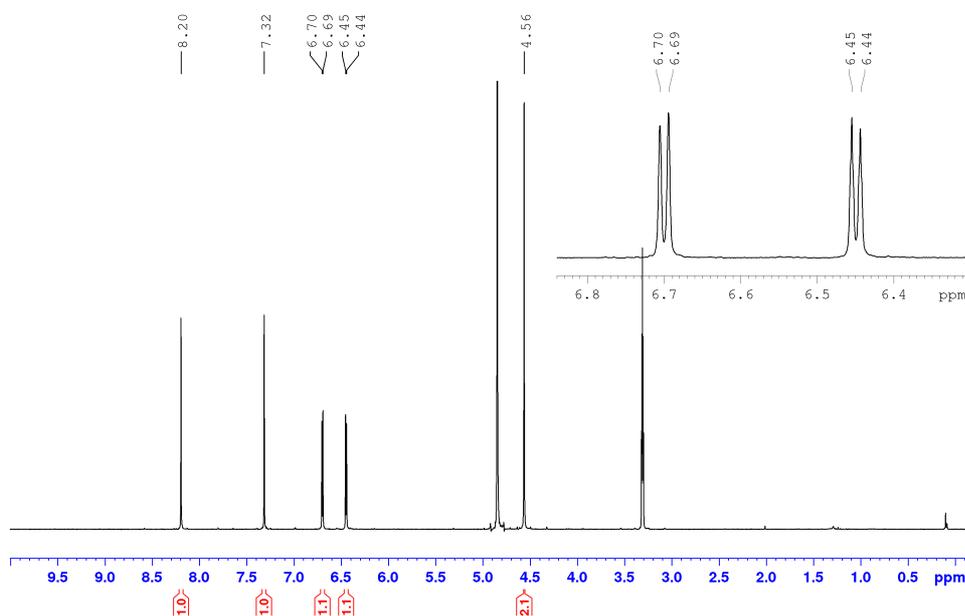


É possível observar que o consumo do material de partida ocorreu, no entanto, o intermediário 4-tosil-oxazolina é o produto majoritário. As setas azuis indicam que traços do produto oxazol também puderam ser observados na reação.

Em uma tentativa de aumentar a velocidade da etapa de eliminação, aumentamos a quantidade de K_2CO_3 para dois equivalentes. Essa alternativa se mostrou eficaz e, após 2 horas, nenhum traço de 4-tosiloxazolina pode ser detectado na mistura reacional bruta por análise de RMN. Uma análise do mecanismo da reação mostra que dois equivalentes de base realmente são necessários para a formação do anel oxazol: um para desprotonação do metileno do TosMIC e outro para reação de eliminação que leva ao produto final. No entanto, como exemplos na literatura mostram que normalmente apenas um equivalente de K_2CO_3 é usado, acreditamos que 1 mol de $KHCO_3$ formado após a desprotonação do TosMIC é quem, aparentemente, é responsável pela abstração do próton que leva à eliminação. No caso da reação usando o 5-HMF como material de partida, o $KHCO_3$ parece não ser uma base forte o suficiente para que a eliminação ocorra de forma rápida o que fez necessário o uso do equivalente adicional de K_2CO_3 .

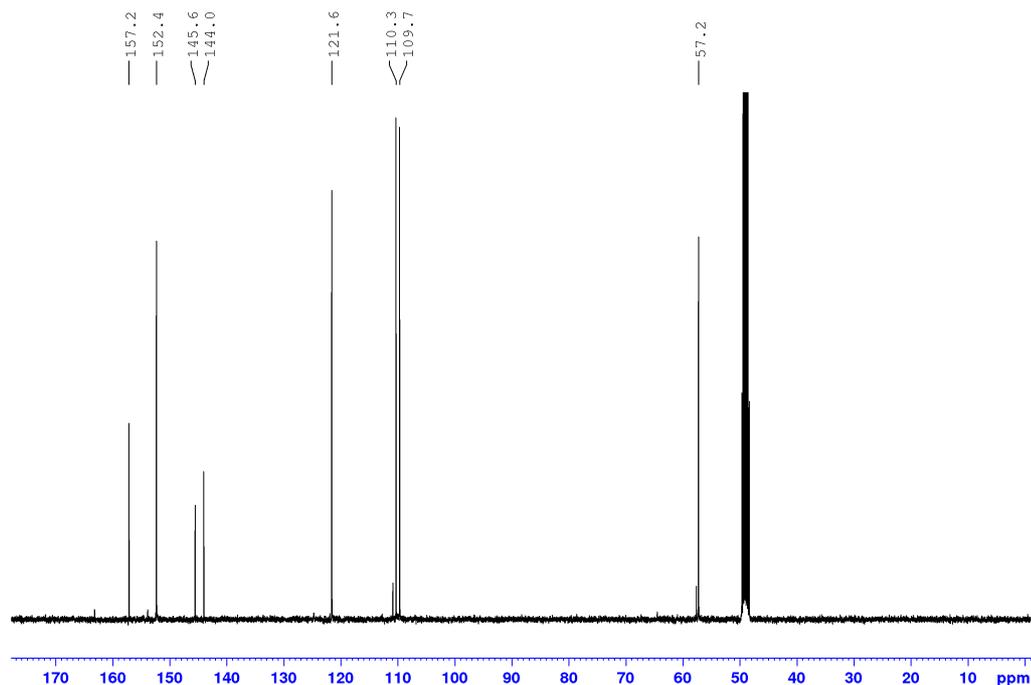
Como os únicos subprodutos da reação são sais (K_2CO_3 e toluenosulfonato de potássio), o produto final da reação foi obtido após extração líquido/líquido do material bruto e recristalização a partir de um pequeno volume de acetato de etila, com o rendimento médio de 85%. No espectro de RMN de 1H , os hidrogênios da posição 2 e 4 do anel oxazol são vistos em δ 8,20 e 7,32 ppm, respectivamente. Além deles, são observados dois dupletos (δ 6,44 e 6,69 ppm, $J = 3,5$) referentes aos hidrogênios 4 e 3 do anel furano e um simpleto (δ 4,56 ppm) referente aos hidrogênios metilênicos do substituinte hidroximetil (Figura 47).

Figura 47 – Espectro de RMN de 1H do composto 5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (400 MHz, MeOD).



No espectro de RMN de ^{13}C , oito sinais são observados. Os carbonos 2, 4 e 5 do anel oxazol são localizados em δ 152,4; 121,6 e 145,6 ppm, respectivamente (Figura 48). A atribuição completa dos carbonos do composto **91** está descrita na seção experimental deste trabalho.

Figura 48 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto 5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (100 MHz, MeOD).



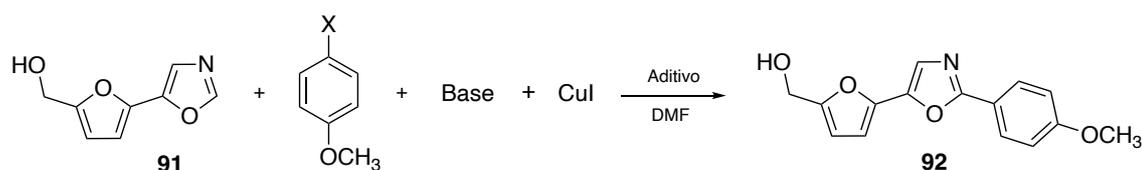
Após esses resultados, a reação foi realizada repetidas vezes em uma escala de até 30 mmol ($\sim 4,0$ g) sem que nenhum problema ou diminuição no rendimento tenham sido observados.

5.2.4 Síntese dos derivados furil-oxazóis por meio de arilação direta: Otimização

Em uma primeira tentativa, investigamos a obtenção dos compostos planejados por meio de duas metodologias de arilação direta descritas na literatura (BESSELIÈVRE et al., 2008; FLEGEAU; POPKIN; GREANEY, 2008). Ambas as metodologias fazem uso de paládio como catalizador e um sal de carbonato como base. As principais diferenças entre as metodologias é a temperatura e solvente utilizado. Além disso, no procedimento descrito por Piguel et al, iodeto de cobre(I) (1 eq) também é utilizado na reação, que é conduzida em reator micro-ondas. O resultado dos experimentos é apresentado na Tabela 16. É importante destacar que todas as

reações discutidas a partir deste ponto foram conduzidas em um tubo selado, sob atmosfera inerte e utilizando solventes anidros, a não ser que esteja especificado o contrário. Tanto a conversão como o rendimento das reações foram calculados por RMN de ^1H , usando 1,3,5-trimetoxibenzeno (0,1 eq) como padrão interno. O rendimento dos compostos após o isolamento cromatográfico, quando este foi realizado, é informado entre parênteses.

Tabela 16 – Primeiras tentativas de arilação do composto **91** utilizando duas metodologias descritas na literatura.



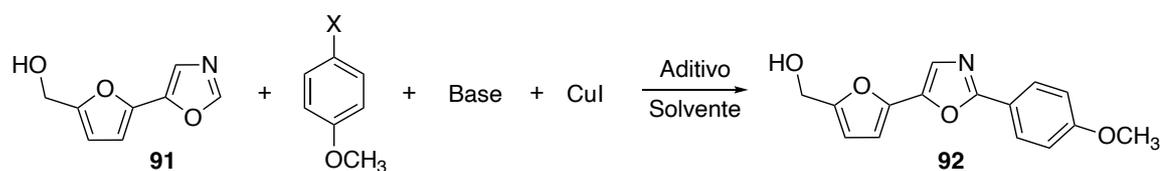
	Haleto	Base	CuI	°C	Tempo	Aditivo	Conv 91	Rdt 92
1	4-bromoanisole (1,2 eq)	K_2CO_3 (2 eq)	1 eq	150	15 min ^a	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,05 eq)	57%	4%
2	4-iodoanisole (1,2 eq)	Ag_2CO_3 (2 eq)	–	70	16 h	$\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (0,05 eq)	94%	Traços

^aReação sob irradiação de micro-ondas.

O composto **92** foi o único produto das reações em ambos os casos, sendo obtido com baixo rendimento. Esses resultados indicam que a posição 2 do anel oxazol do composto **91** é menos propensa a ativação do que os derivados aril-oxazóis que foram utilizados para o desenvolvimento destas metodologias utilizadas.

Na tentativa de contornar o baixo rendimento obtido, outros experimentos foram realizados. Nestas reações, as variáveis investigadas foram: tempo reacional, tipo do haleto de arila (iodeto vs brometo), número de equivalentes do haleto de arila (1,0 vs 1,2 vs 2,0 equivalentes), catalizador (paládio vs sem catalizador), número de equivalentes de iodeto de cobre, base e solvente. Os resultados estão reunidos na Tabela 17.

Tabela 17 – *Screening* de condições reacionais para a arilação do carbono 2 do anel oxazólico do composto **91**.



	Haleto (eq)	Base	CuI	Aditivo (eq)	Solvente	Conv 91	Rdt 92
1	4-bromoanisol (1,2)	K ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	49%	12%
2	4-iodoanisol (1,2)	K ₂ CO ₃	1,0 ^a	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	100%	70%
3	4-iodoanisol (1,2)	K ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	100%	81%
4	4-iodoanisol (1,2)	K ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1) I ₂ (0,1)	DMF	90%	49% ^b
5	4-iodoanisol (1,2)	K ₂ CO ₃	1,0	–	DMF	62%	23%
6	4-iodoanisol (1,0)	K ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	100%	67%
7	4-iodoanisol (2,0)	K ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	100%	71%
8	4-iodoanisol (1,2)	Ag ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	64%	Traços
9	4-iodoanisol (1,2)	Cs ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	90%	55%
10	4-iodoanisol (1,2)	Na ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	100%	60%
11	4-iodoanisol (1,2)	Na ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	Dioxano	24%	13%
12	4-iodoanisol (1,2)	Na ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	2-CH ₃ -THF	25%	15%
13	4-iodoanisol (1,2)	Na ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	Tolueno	43%	13%
14	4-iodoanisol (1,2)	Na ₂ CO ₃	1,0	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF PA	100%	50%
15	4-iodoanisol (1,2)	Na ₂ CO ₃	0,5	Pd(OAc) ₂ (0,1)	DMF	55%	44%

^aReação conduzida com iodeto de cobre de menor pureza. ^b34% do composto foi obtido como o derivado – hidroximetila e 25% como o derivado aldeído.

Inicialmente, a reação foi conduzida em menor temperatura (100 °C) por um maior tempo reacional (Tabela 17, linha 1). Nessas condições, a conversão do material de partida foi similar àquela obtida utilizando a metodologia da literatura, no entanto, um aumento no rendimento foi observado—ainda que este continuasse baixo. O baixo rendimento da reação pôde ser contornado com a substituição do haleto de arila 4-bromoanisol por 4-iodoanisol, que é mais reativo. Nessas condições, o composto de interesse foi obtido com o rendimento de 70% após 24 h de reação (Tabela 17, linha 2). Apesar dos resultados animadores, a metodologia não foi reprodutível. Após uma avaliação cuidadosa das condições reacionais e dos reagentes utilizados, percebemos que a utilização de iodeto de cobre de alta pureza (99,999%) eliminava

os problemas de reprodutibilidade observados além de levar ao aumento do rendimento (Tabela 17, linha 3).

É comum que quando armazenado por longos períodos, o iodeto de cobre apresente traços de iodo molecular como impureza. Isso acontece devido à oxidação do ânion iodeto na presença de oxigênio. Em um experimento controle, adicionamos 0,1 eq de iodo molecular na reação (Tabela 17, linha 4). Essa quantidade é, possivelmente, maior do que aquela encontrada no reagente utilizado anteriormente, porém, nos permitiria avaliar os efeitos que esta impureza causa na reação. Após 24 h, o 59% de produtos arilados na posição 2 do anel oxazol foram obtidos, indicando que o iodo molecular pode ser o responsável pelos resultados irreprodutíveis, observados anteriormente. Parte desse rendimento é referente ao composto **92** (34%), enquanto parte se refere a um produto no qual o grupo funcional hidroximetila presente no material de partida foi oxidado a um aldeído (25%). A oxidação catalisada por iodo molecular de álcoois benzílicos à aldeídos é uma reação conhecida, e esse resultado também indica que álcoois heteroaromáticos também podem ser susceptíveis à oxidação (MUKHOPADHYAY; BECKER; BANIK, 2001). A partir desses resultados, as próximas reações foram realizadas com iodeto de cobre de alta pureza (99,999%) que estava armazenado em dessecador. O uso de paládio também se mostrou necessário para conversão e rendimento (Tabela 17, linha 5), e foi adotado em todas as reações.

A seguir, a quantidade de haleto de arila utilizado como parceiro de acoplamento foi avaliada. Normalmente, na maioria das metodologias descritas na literatura, um pequeno excesso de haleto de arila é utilizado. Essa estratégia evita que a conversão do material de partida seja limitada pela ausência do parceiro de acoplamento, que poderia acontecer devido a reações colaterais como o acoplamento de Ullmann. De fato, isso foi observado na reação conduzida com 1 equivalente de iodo-anisol, em que houve uma diminuição de rendimento (Tabela 17, linha 6). Da mesma forma, quando a reação foi conduzida com 2 equivalentes de iodo-anisol a diminuição no rendimento também aconteceu. Isso indica que um aumento na concentração do haleto de arila no meio reacional também pode aumentar a incidência de reações colaterais em detrimento da arilação direta. Por esse motivo, decidimos continuar conduzindo os experimentos com apenas um pequeno excesso do haleto de arila.

Com base em outras reações, conduzidas com diferentes carbonatos (prata, cério e sódio), também percebemos que o carbonato de potássio é a base que leva ao maior rendimento entre as avaliadas. A principal diferença entre os sais de carbonato é a solubilidade em solventes orgânicos ($\text{Cs}_2\text{CO}_3 > \text{K}_2\text{CO}_3 > \text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{Ag}_2\text{CO}_3$), o que nos levou a conduzir esses

experimentos. Porém, com base nos resultados, a solubilidade do carbonato não aparenta estar diretamente relacionada com o rendimento (Tabela 17, linhas 8–10).

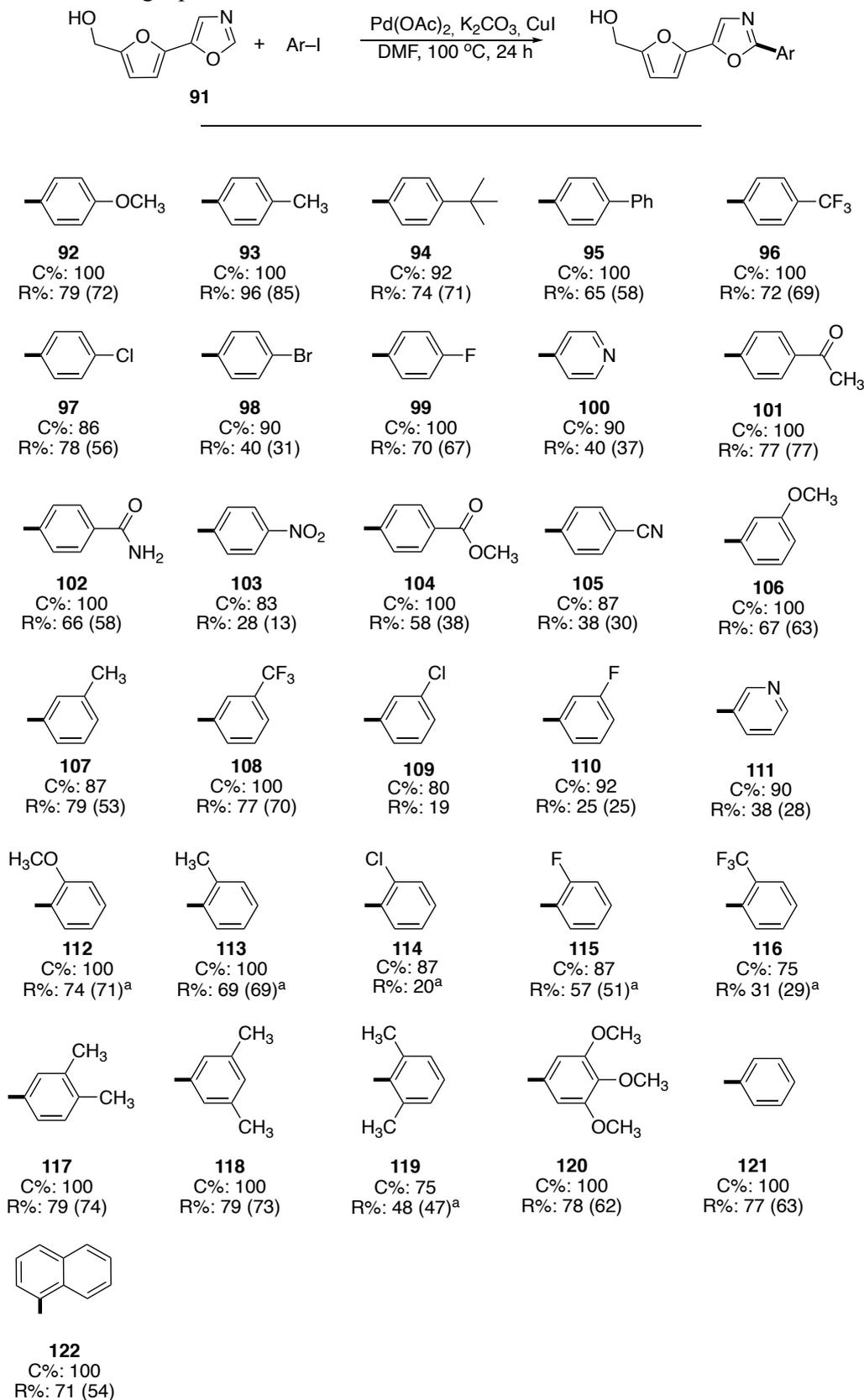
Por último, avaliamos o efeito de outros solventes e do número de equivalentes de iodeto de cobre no rendimento da reação. Além do DMF, foram utilizados os solventes polares apróticos dioxano e 2-metil-THF, e o solvente apolar tolueno (Tabela 17, linhas 11–13). A escolha dos solventes foi baseada nos seus pontos de ebulição, uma vez que temperaturas elevadas são necessárias para que a reação ocorra. Entre esses solventes, o DMF mostrou-se ideal para maximizar o rendimento. O uso de DMF P.A. (não anidro), levou a uma pequena diminuição no rendimento, o que nos levou a continuar conduzindo as reações utilizando solventes anidros sob atmosfera inerte (Tabela 17, linha 14). Em relação ao número de equivalentes de iodeto de cobre, foi observada uma redução na conversão do material de partida com a diminuição do reagente para 0,5 equivalentes (Tabela 17, linha 15). Conforme apresentado na Figura 43, o iodeto de cobre coordena com o anel oxazol do material de partida auxiliando na desprotonação da posição 2 do heterociclo. A diminuição na conversão pode indicar que a coordenação também ocorre com o produto da reação com afinidade semelhante, fazendo com o iodeto de cobre se torne um reagente limitante para a conversão do material de partida.

Tendo em vista os resultados obtidos, as condições adotadas para a síntese dos outros compostos da série foram: iodeto de arila (1.2 eq), Pd(OAc)₂ (10 mol%), K₂CO₃ (2 eq), CuI (1 eq), DMF anidro (0,3 M com base no material de partida), sob atmosfera de N₂ por 24 h a 100 °C. Os principais ajustes feitos na metodologia foram a temperatura e o tempo reacional. No entanto, os demais experimentos nos deram informações sobre a robustez da reação e sobre como contaminantes comuns, como iodo e umidade, podem afetar o rendimento do produto desejado.

5.2.5 Investigação do escopo da metodologia de síntese dos derivados furil-oxazóis por meio de arilação direta

Com as condições otimizadas em mãos, prosseguimos com a síntese dos derivados a partir de diferentes iodetos de arila. Compostos contendo anéis aromáticos mono- di- ou tri-substituídos, nas posições *para*, *meta* ou *orto* foram sintetizados. Ainda, um derivado não substituído e dois derivados heteroaromáticos foram preparados. De forma geral, os trinta e um compostos foram obtidos com rendimentos variando entre 38–96% (Figura 49).

Figura 49 – Estrutura, conversão (C) e rendimento (R) dos compostos furil-oxazólicos sintetizados utilizando a metodologia padronizada.

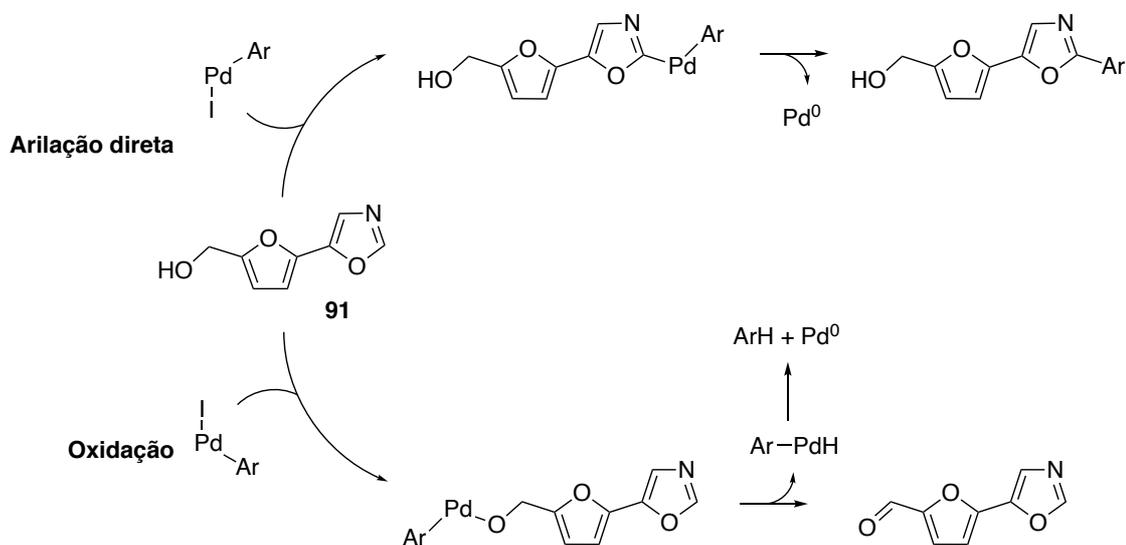


Os compostos foram sintetizados a partir de 0,3 mmol do composto **91**. Os rendimentos foram calculados por RMN de ¹H utilizando 1,3,5-trimetoxibenzeno como padrão interno. O rendimento isolado é informado entre parênteses. ^aReações conduzidas por 48 h.

Durante a síntese, um dos problemas observados foi a baixa conversão e rendimento dos compostos contendo substituintes na posição *orto*, após 24 h de reação (compostos **112–116**, **119**). Devido ao impedimento estérico causando pelo grupo substituinte, já era esperado que acoplamento entre o anel oxazol e a posição 1 do anel aromático acontecesse de forma mais lenta. Por isso, as reações para obtenção dos compostos **112–116** e **119** foram conduzidas por 48 horas. Os derivados com substituintes *o*-metoxi (composto **112**), *o*-metila (composto **113**) e *o*-fluor (composto **115**), foram obtidos com rendimentos semelhantes àqueles dos isômeros *meta* ou *para*. Por outro lado, o maior tempo reacional não auxiliou no aumento do rendimento dos compostos contendo substituintes mais volumosos, como *o*-cloro (composto **114**), *o*-trifluorometila (composto **116**) e *o,o*-dimetila (composto **119**), que ainda foi mais baixo dos que o dos seus isômeros *meta* e *para*.

Outro problema foi observado nas reações conduzidas com *para*-cianoiodobenzeno, *para*-nitroiodobenzeno, *meta*-fluoriodobenzeno, *meta*-cloroiodobenzeno e *orto*-cloroiodobenzeno. Nessas reações, além do baixo rendimento, parte do material de partida e/ou do produto tiveram a porção hidroximetila oxidadas à aldeído, assim como ocorreu naquela reação controle conduzida com 0,1 eq de iodo (Tabela 17, linha 4). O problema foi observado múltiplas vezes. No entanto, a possibilidade de contaminação com iodo foi eliminada devido ao problema não se repetir em reações com outros iodetos de arila (como o 4-iodoanisol). Uma busca na literatura revelou que a oxidação parcial de álcoois catalisada por paládio na presença de co-oxidantes é uma reação que já foi bastante explorada (MUZART, 2003). Um dos co-oxidantes que pode ser utilizado são os haletos de arila. Nesse caso, após a adição oxidativa do metal na posição 1 do haleto de arila esse intermediário reage com um álcool formando uma espécie arilalcoxipaládio. A espécie arilalcoxipaládio então sofre uma β -eliminação levando à formação de um aldeído. Dessa forma, 1 equivalente de haleto de arila é consumido para cada equivalente de aldeído formado, o que explica a diminuição no rendimento que foi observada (Figura 50). A presença de grupos retirados de elétrons nos haletos de arila aumenta a sua reatividade frente à adição oxidativa/eliminação redutiva do catalizador. Isto pode explicar o porquê da formação do sub-produto também ser mais abundante quando estes haletos de arila são utilizados na reação.

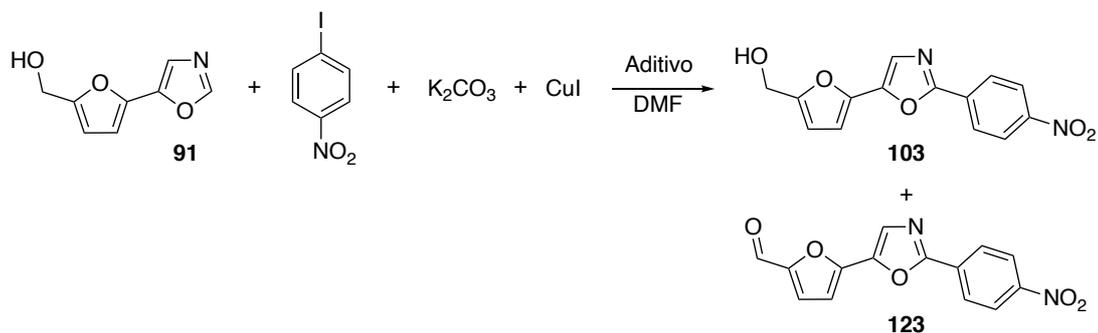
Figura 50 – Esquema do mecanismo proposto para a arilação direta e para a oxidação parcial da porção –hidroximetila.



Para tentar contornar o problema da formação do sub-produto, inicialmente conduzimos a reação em menores temperaturas, visto que a maioria das metodologias de oxidação catalisadas por paládio requeriam temperaturas a partir de 100 °C para funcionar. Em todos os casos, tanto a conversão do material de partida como o rendimento diminuíram e ainda houve a formação do sub-produto, mesmo que em menor proporção (Tabela 18, linhas 1–3). Em outra tentativa, conduzimos a reação sem a presença do catalizador de paládio. Em um experimento anterior que havíamos conduzido durante a otimização da metodologia, foi observado que a remoção do acetato de paládio levava à uma diminuição substancial da conversão e do rendimento do produto final. No entanto, quando a reação foi conduzida com *para*-nitroiodobezeno, o produto **103** pode ser obtido com um rendimento modesto (60%) e sem a formação do subproduto (Tabela 18, linha 4). Como o grupo 4-NO₂ é altamente elétron retirador, a sua presença diminui a densidade eletrônica sobre o carbono 1 do iodeto de arila. Isto pode ter um efeito positivo na arilação e explica o porquê do baixo rendimento observado na reação conduzida com paládio com 4-iodoanisol.

Além disso, a adição de 0,2 eq de trifenilfosfina como ligante na reação foi responsável por um subsequente aumento no rendimento, fazendo com que o produto final **103** pudesse ser obtido com 92% de rendimento (Tabela 18, linha 5).

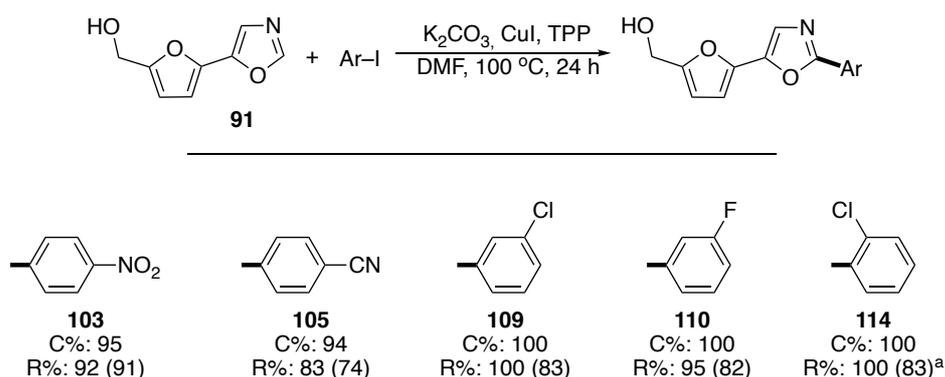
Tabela 18 – *Screening* de condições reacionais para a arilação do carbono 2 do anel oxazólico do composto **91** com 1-iodo-4-nitrobenzeno.



	Aditivo (eq)	Condições	Conv 91	Rdt 103	Rdt 123	103/123
1	Pd(OAc) ₂ (0,1)	100 °C, 24 h	83%	28%	20%	1,4
2	Pd(OAc) ₂ (0,1)	60 °C, 65 h	55%	25%	9%	2,8
3	Pd(OAc) ₂ (0,1)	70 °C, 24 h	52%	23%	8%	2,9
4	–	100 °C, 24 h	95%	60 (52)%	0%	–
5	PPh ₃ (0,2)	100 °C, 24 h	95%	92 (91)%	0%	–

Com o alto rendimento, o efeito de outros ligantes no rendimento da reação não foi avaliado e os compostos **105**, **109**, **110** e **114** puderam também ser obtidos com rendimentos variando entre 83–100% (Figura 51).

Figura 51 – Rendimento dos compostos **103**, **105**, **109–110** e **114** sintetizados utilizando a metodologia sem o uso de catalisador de paládio.

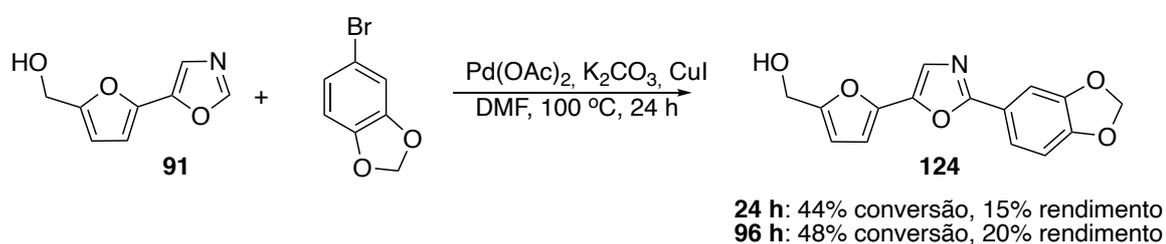


Os compostos foram sintetizados a partir de 0,3 mmol do composto **91**. Os rendimentos foram calculados por RMN de ¹H utilizando 1,3,5-trimetoxibenzeno como padrão interno. O rendimento isolado é informado entre parênteses. ^aReações conduzidas por 48 h.

Por último, a síntese de um composto contendo o anel 3,4-metilenodioxifenil na posição 2 do anel oxazol foi realizada. Como o iodeto contendo esse padrão de substituição não estava disponível comercialmente, a reação foi conduzida com o brometo de arila. Conforme esperado,

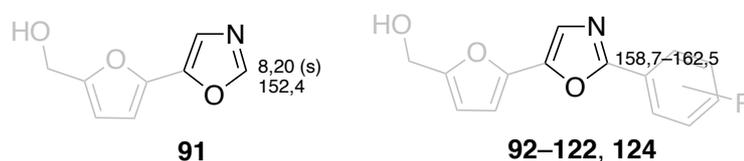
a conversão e o rendimento da reação em 24 h foram mais baixos quando comparados com a média das reações conduzidas com os iodetos de arila. Mesmo aumentando o tempo reacional para 96 h, não houve diferença significativa no rendimento da reação (Figura 52). A síntese do composto **124** em específico era do nosso interesse visto que a presença do anel 3,4-metilenodioxí foi associada com a atividade tripanocida dos compostos discutidos na **Parte I** deste trabalho. Apesar do baixo rendimento percentual, a quantidade obtida foi suficiente para a condução dos testes biológicos realizados.

Figura 52 – Esquema de síntese do composto **124** contendo o anel 3,4-metilenodioxí.



Em todos os casos, o sucesso da reação de acoplamento pode ser visualizado no espectro de RMN de ^1H pelo desaparecimento do sinal em δ 8,20 ppm, além do aparecimento dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos e eventuais grupos substituintes do anel aromático. No espectro de RMN de ^{13}C também ocorre a desblindagem do carbono 2 do anel oxazol. No material de partida **91**, o carbono 2 é visualizado em δ 152,4 ppm, enquanto nos compostos finais o sinal é visualizado na faixa entre δ 158,7–162,5 ppm.

Figura 53 – Deslocamento químico (^1H e ^{13}C) do carbono 2 do anel oxazol do material de partida em comparação com o dos compostos finais.

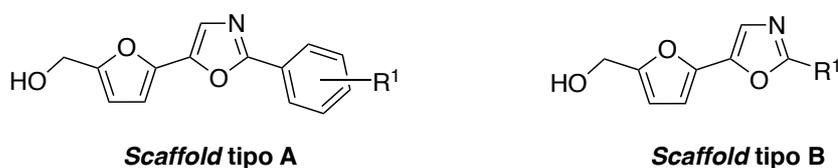


5.2.6 Avaliação da atividade antiparasitária dos compostos oxazóis 2,5-dissubstituídos frente ao *T. cruzi*

Após a caracterização, os compostos **92–122** e **124** foram encaminhados para avaliação da atividade tripanocida em amastigotas intracelulares do *T. cruzi*. Assim como na seção anterior, os compostos foram inicialmente avaliados na concentração única de 50 μM . Os derivados que reduziram a carga parasitária (RCP) intracelular em, no mínimo, 45% dos parasitas, foram diluídos serialmente para determinação do valor de IC_{50} . De forma a facilitar a visualização dos resultados, a Tabela 19 foi colorida para destacar a atividade dos compostos. A cor vermelha representa redução da carga parasitária na faixa de 0–20%; a cor amarela na faixa de 20–50% e a cor verde representa uma diminuição de mais de 50% na carga parasitária intracelular.

Além disso, os compostos naturais balsoxima (**86**), texamina (**88**), uguenenazol (**89**) e *O*-desmetil-uguenenazol foram sintetizados utilizando a metodologia aplicada para a síntese dos furil-oxazóis. A atividade biológica destes compostos também foi avaliada.

Tabela 19 – Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento (72 h) dos amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen) com 50 μ M dos furil-oxazóis.



	Tipo	-R ¹	RCP (%) ^a		Tipo	-R ¹	RCP (%) ^a
91	B	-H	NA	110	A	3-F	NA
92	A	4-OCH ₃	NA	111	B	3-piridil	NA
93	A	4CH ₃	NA	112	A	2-OCH ₃	28,5 (\pm 0,7)
94	A	4- ^t Bu	74,3 (\pm 7,1)	113	A	2-CH ₃	23,6 (\pm 10,7)
95	A	4-Ph	11,9 (\pm 1,8)	114	A	2-Cl	NA
96	A	4-CF ₃	NA	115	A	2-F	25,7 (\pm 7,4)
97	A	4-Cl	25,2 (\pm 1,8)	116	A	2-CF ₃	14,6 (\pm 3,9)
98	A	4-Br	54,0 (\pm 6,9)	117	A	3,4-CH ₃	10,4 (\pm 2,8)
99	A	4-F	NA	118	A	3,5-CH ₃	NA
100	B	4-piridil	23,4 (\pm 6,7)	119	A	2,6-CH ₃	NA
101	A	4-COCH ₃	NA	120	A	3,4,5-OCH ₃	NA
102	A	4-CONH ₂	NA	121	A	-H	31,6 (\pm 1,2)
103	A	4-NO ₂	NA	122	B	1-naftil	77,4 (\pm 3,9)
104	A	4-COOCH ₃	NA	124	A	3-OCH ₂ O-4	50,1 (\pm 3,1)
105	A	4-CN	NA	86	-	Baloxima	NA
106	A	3OCH ₃	16,0 (\pm 3,2)	88	-	Texamina	NA
107	A	3-CH ₃	19,9 (\pm 4,3)	89	-	Uguenenazol	NA
108	A	3-CF ₃	22,8 (\pm 7,4)		-	O-desmetil- 89	NA
109	A	3-Cl	18,8 (\pm 14,0)	1	-	Benznidazol	99,5 (\pm 1,8)

Os resultados representam a média \pm DP de um experimento realizado em triplicata. Os compostos foram considerados não ativos (NA) quando não houve diferença significativa ($P > 0,05$, ANOVA/Dunnet) na comparação com o controle negativo (DMSO 1%). ^aMorte parasitária causada pelo tratamento com 50 μ M dos compostos.

Dos trinta e dois compostos sintetizados a partir do 5-HMF, doze compostos apresentaram atividades classificadas como média (20–50% de redução na carga parasitária) ou alta (>50% de redução na carga parasitária). Por outro lado, todos os quatro compostos naturais testados apresentaram nenhuma atividade frente ao *T. cruzi*.

É possível observar que a presença de um anel aromático na posição 2 do anel oxazol contribui para a atividade tripanocida do composto. Enquanto o composto **91** diminui a viabilidade parasitária em apenas 2,8%; o tratamento com o composto **121** levou à redução de

31,6% no número de parasitos. Quando o anel fenílico do composto **121** é substituído pelo anel 4-piridina no composto **100**, há uma diminuição na atividade biológica. Já a substituição pelo anel 3-piridina no composto **111** leva à perda da atividade tripanocida. A maioria dos grupos substituintes ligados ao anel aromático, independentemente da posição, levam à diminuição da atividade biológica quando em comparação com o composto não substituído. No entanto, esse efeito parece ser mais frequente naqueles compostos substituídos com grupos polares, como –CONH₂ (composto **102**), –NO₂ (composto **103**) e –CN (composto **105**), em que a atividade foi totalmente perdida.

Os compostos mais ativos da série são aqueles com os substituintes 4-^tBu (composto **94**), 4-Br (composto **98**), 1-naftil (composto **122**) e 3,4-metilenodioxifenil (composto **124**). O IC₅₀ e índice de seletividade desses compostos é encontrado na Tabela 20.

Tabela 20 – IC₅₀ e índice de seletividade dos furil-oxazóis mais ativos frente aos amastigotas intracelulares *T. cruzi* (Tulahuen).



	Tipo	–R ¹	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IS
94	A	4- ^t Bu	34,4 (±2,2)	282,2 (±20,6)	8,2
98	A	4-Br	33,0 (±1,1)	157,6 (±7,3)	4,8
122	B	1-naftil	24,2 (±1,4)	282,2 (±38,2)	12
124	A	3-OCH ₂ O-4	49,1 (±1,6)	550,9 (±16,8)	11

Os resultados foram calculados usando a regressão não-linear das curvas construídas a partir de, no mínimo, quatro concentrações em triplicata. O CC₅₀ foi calculado com base na citotoxicidade do composto em células THP-1 não infectadas. IS = CC₅₀/IC₅₀.

Nos compostos mais ativos, todos os substituintes arílicos são apolares ou contribuem com o aumento do volume molecular naquela área da molécula. O composto com o substituinte 4-Ph (composto **95**, *scaffold* tipo A) também possui as mesmas características, no entanto foi pouco ativo. Este composto foi pouco solúvel no meio de cultura utilizado nos ensaios biológicos, o que pode ter prejudicado a avaliação biológica.

5.2.6.1 Análise dos componentes principais – PCA

De forma a entender as diferenças estruturais que podem estar correlacionadas com as atividades biológicas dos compostos, uma série de vinte descritores topológicos e propriedades

físico-químicas foi calculada. Os descritores foram escolhidos com base em critérios de *druglikeness* utilizados para guiar o desenvolvimento pré-clínico de novas entidades químicas, como as regras de Lipinski (Ro5) e Veber, solubilidade, e também considerando fatores tridimensionais como forma e flexibilidade molecular. Para facilitar a visualização destas informações, os descritores foram analisados através de uma análise dos componentes principais (*principal component analysis* – PCA). A PCA permite reduzir o número de variáveis de forma que um peso maior seja dado àquelas que mais contribuem para a variância encontrada nos compostos. A análise mostrou que componentes principais PC1 e PC2 são aqueles que mais contribuem para a variância dos dados (PC1 + PC2 = 61% da variância). O peso atribuído a cada uma das variáveis nestes componentes está descrito na Tabela 21. As variáveis com maior peso positivo ou negativo nos componentes são destacadas em verde e vermelho, respectivamente.

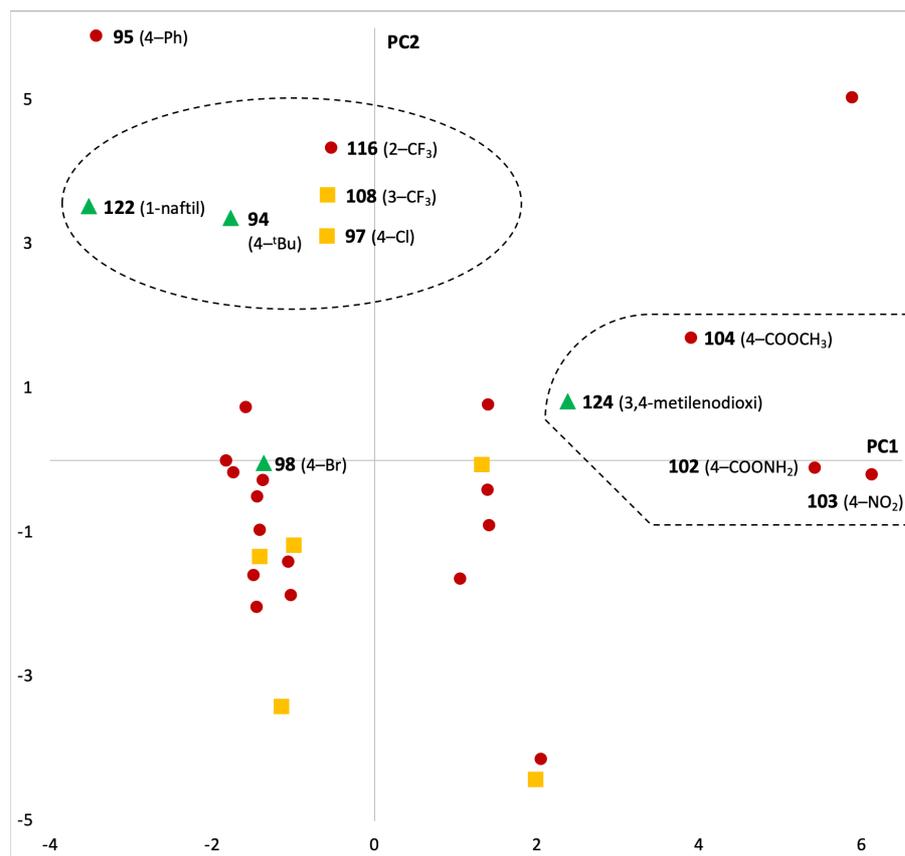
Tabela 21 – Peso atribuído às variáveis nos componentes principais dos compostos furil-oxazólicos.

	VARIÁVEL	PC1 (33%)	PC2 (28%)
1	Peso molecular	0,0787	0,3774
2	cLogP	-0,3149	0,2210
3	cLogS	0,1983	-0,2448
4	HBA	0,3664	0,0286
5	HBD	0,0994	0,0733
6	Área de superfície total	0,0806	0,3750
7	Área de superfície polar	0,3572	0,0014
8	ASP relativa	0,3492	-0,1350
9	Índice de flexibilidade	0,1042	0,2892
10	Índice de complexidade	0,0611	0,2720
11	Átomos eletronegativos	0,2628	0,1475
12	Ligações rotacionáveis	0,24182	0,2582
13	Anéis	-0,0692	0,1796
14	Anéis aromáticos	-0,1271	0,1996
15	Átomos sp^3	0,1392	0,1941
16	Índice de forma molecular	0,0480	-0,2212
17	N. de átomos (exceto H)	0,1077	0,3897
18	Fração HBA ^a	0,3510	-0,1235
19	Fração HBD ^a	0,0851	0,0086
20	Fração (HBA + HBD)	0,3580	-0,1086

^a(número de átomos HBA ou HBD)/[número de átomos (exceto H)].

Com base no peso de cada componente, o *score* de cada composto foi calculado e plotado em um gráfico PC1 vs PC2. Dessa forma, é possível observar a distribuição dos compostos no espaço químico (Figura 54).

Figura 54 – Gráfico de dispersão dos componentes principais 1 e 2 dos compostos furil-oxazólicos sintetizados.



Um *cluster* de compostos com média e alta atividade está localizado em uma região específica do gráfico (–, +). De acordo com o peso dos fatores, essa região agrupa os compostos com maior *clogP*, número de anéis aromáticos, peso molecular, área de superfície total e número de átomos (exceto H). O composto **95**, com o substituinte 4–Ph, também se localiza próximo à essa região, sendo outro indício que a falta de atividade pode ter sido motivada pela baixa solubilidade aquosa observada durante o ensaio.

Em contraste, outro composto classificado como de alta atividade é o composto **124**—localizado na região (+, +) do gráfico. Assim como no *cluster* anterior, esta região reúne compostos com alto peso molecular, área de superfície total e número de átomos (exceto H); mas com maior área de superfície polar, número de átomos aceptores de ligação de hidrogênio

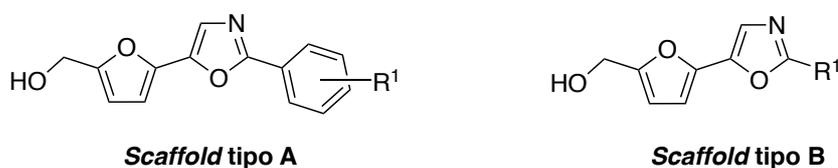
e fração HBA + HBD. A principal diferença entre o composto **124** e os outros compostos presentes na mesma região é que nos compostos menos ativos os átomos aceptores de ligação de hidrogênio que contribuem para o aumento na área de superfície polar são grupos substituintes polares ligados ao anel aromático. No composto **124** estes átomos estão dispostos como um segundo anel. Estas informações ajudam a suportar àquelas observadas anteriormente de forma qualitativa.

Um dos grandes desafios no desenvolvimento de novas entidades químicas de interesse medicinal é um balanço adequado entre as propriedades biológicas e as propriedades físico-químicas. Compostos com alto *clogP* constantemente estão associados com uma boa atividade biológica *in vitro*. Isto pode ser explicado pela própria natureza hidrofóbica do sítio ativo da maioria dos alvos moleculares, o que favorece a interação com os compostos. No entanto, a baixa solubilidade é um dos principais fatores que impedem a continuidade do desenvolvimento pré-clínico de compostos *hit*. Tendo isto em mente, os componentes principais PC1 e PC2 podem ser utilizados no planejamento de novos derivados furil-oxazóis com propriedades físico-químicas aprimoradas. A partir da análise das diferenças estruturais entre os compostos agrupados próximos ao composto **124**, é possível sugerir que a adição de novos anéis contendo heteroátomos na região ligada ao anel aromático possa contribuir com a atividade tripanocida. A presença dos heteroátomos contribuiria para um aumento da solubilidade aquosa ao mesmo tempo que certo equilíbrio com as características hidrofóbicas da molécula seria mantido.

5.2.7 Avaliação da atividade antiparasitária dos compostos oxazóis 2,5-dissubstituídos frente à *L. amazonensis*

Após a avaliação biológica frente ao *T. cruzi*, todos os compostos foram avaliados frente aos amastigotas intracelulares de *L. amazonensis*, em um protocolo similar ao utilizado na avaliação tripanocida. Dos trinta e três compostos avaliados, cinco apresentaram atividade média (20–50% de redução da carga parasitária após o tratamento) frente ao parasito (Tabela 22). Os compostos inativos não são apresentados na tabela.

Tabela 22 – Redução da carga parasitária (RCP) intracelular após o tratamento dos amastigotas de *L. amazonensis* (LBT0016) com 50 μ M dos furil-oxazóis.



Scaffold tipo A			Scaffold tipo B
	Tipo	-R ¹	RCP (%)
94	A	4- ^t Bu	13,4 (\pm 3,7)
104	A	4-COCH ₃	17,8 (\pm 6,7)
109	A	3-Cl	7,5 (\pm 14,0)
114	A	2-Cl	19,1 (\pm 3,7)
115	A	2-F	13,5 (\pm 8,0)
116	A	2-CF ₃	33,6 (\pm 1,7)
117	A	3,4-CH ₃	37,1 (\pm 11,9)
119	A	2,6-CH ₃	30,3 (\pm 10,9)
124	A	3-OCH ₂ O-4	27,9 (\pm 7,1)
122	B	1-naftil	43,6 (\pm 1,4)
7	-	Anfotericina B	99,5 (\pm 2,0)

Os resultados representam a média \pm DP de um experimento realizado em triplicada. Os compostos foram considerados não ativos (NA) quando não houve diferença significativa ($P > 0,05$, ANOVA/Dunnet) na comparação com o controle negativo (DMSO 1%).

De forma geral, não é observada nenhuma tendência que explique a diferença na atividade biológica entre os compostos. O composto **122** apresentou a maior atividade leishmanicida da série, no entanto a porcentagem de redução da carga parasitária observada ainda foi menor que 45%. Como o composto **122** foi também um dos mais ativos frente ao *T. cruzi*, ele pode representar um importante ponto de partida para a otimização e desenvolvimento de novas moléculas que possam atuar frente à ambos parasitos.

5.2.8 Conclusões

A partir do 5-hidroxi metilfurfural foram sintetizados compostos com características estruturais que os assemelham às lignanas grandisina e veraguensina e aos alcaloides oxazólicos. Ao todos, trinta e dois derivados furil-oxazólicos foram obtidos com rendimentos variando de moderados a altos (28–91%). Além disso, os compostos naturais balsoxima (**86**), texamina (**88**), uguenenazol (**89**) e *O*-desmetil-uguenenazol foram sintetizados utilizando a mesma metodologia aplicada aos derivados do 5-HMF, com rendimentos semelhantes.

Enquanto os compostos naturais foram pouco ativos frente ao *T. cruzi*, dezessete dos compostos sintéticos foram capazes de reduzir a viabilidade dos parasitas em 10–77% após o

tratamento com 50 μM dos compostos. Buscando relacionar as diferenças estruturais com as atividades biológicas dos compostos, foi realizada uma análise dos componentes principais, calculando uma série de vinte descritores topológicos e propriedades físico-químicas. Essa análise sugere que a potência dos compostos está relacionada com a presença de substituintes aromáticos apolares e volumosos. Os compostos **94**, **98**, **122** e **124** foram os mais ativos, com IC_{50} faixa 24,2–49,1 μM . O composto mais ativo da série (**122**, $\text{IC}_{50} = 24,2 \mu\text{M}$) apresenta baixa citotoxicidade em células THP-1. O seu efeito é doze vezes mais seletivo no *T. cruzi*.

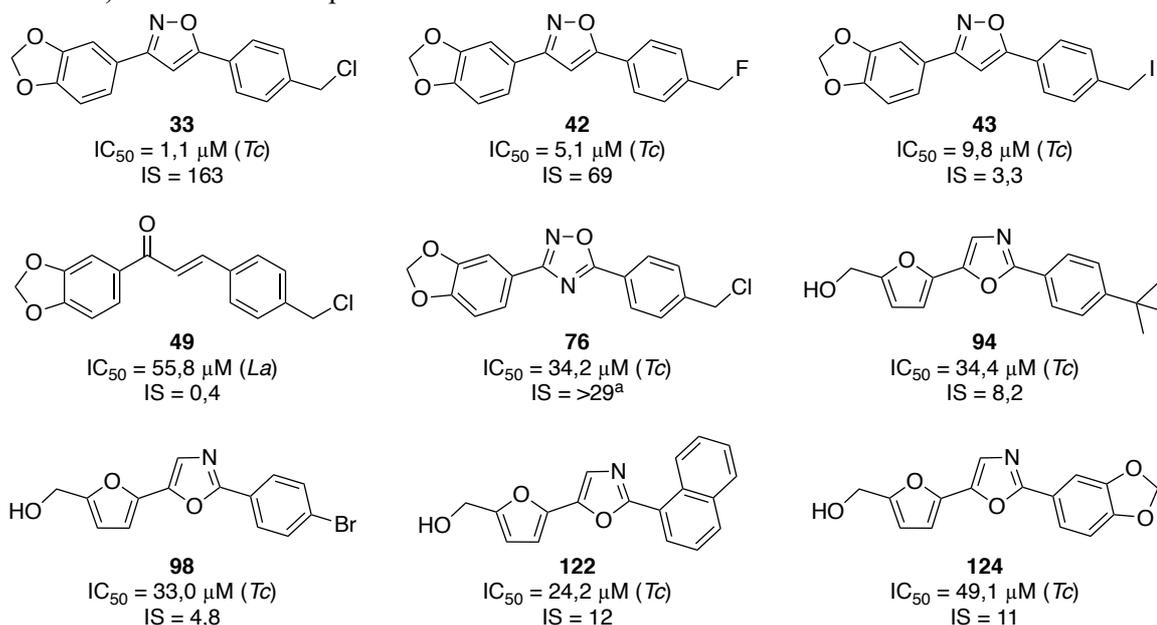
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Ao final do desenvolvimento deste trabalho, dezenas de novos compostos foram sintetizados e tiveram a atividade biológica avaliada frente ao *T. cruzi* e *L. amazonensis*. Na **PARTE I**, os derivados isoxazólicos se destacam como a classe com maior atividade biológica frente ao *T. cruzi*. Entre os derivados isoxazólicos com halogênios benzílicos na estrutura (compostos **33**, **42** e **43**), o composto **33** apresentou atividade fortemente sinérgica em conjunto com o benznidazol. A alta potência *in vitro* do composto, aliada com o efeito sinérgico que foi observado, nos levou a selecionar o composto isoxazol **33** como protótipo para um estudo de relação estrutura-atividade. Dessa forma, outros derivados do composto **33** contendo conectores acíclicos e heterocíclicos entre os anéis fenílicos foram sintetizados. Os diferentes grupos funcionais e anéis conectores presentes nos novos derivados fazem com que eles adotem conformações que diferem daquela adotada pelo composto **33**. Entre os novos compostos sintetizados, o composto 1,2,4-oxadiazólico **76** e chalcona **49** são os compostos mais ativos frente ao *T. cruzi* e *L. amazonensis*, respectivamente. Em todos os casos, os compostos apresentaram atividade antiparasitária inferior àquela apresentada pelo composto **33**. A redução na atividade biológica pode estar relacionada com a diferente disposição espacial que regiões-chave ocupam em um alvo molecular putativo nos parasitas (Figura 55).

Na **PARTE II** do trabalho, uma série de furil-oxazóis foi sintetizada a partir do bloco de construção 5-HMF. Os compostos foram planejados como análogos estruturais tanto das lignanas tetrahidrofurânicas como dos alcaloides oxazólicos *tipo*-texalina. Para síntese dos compostos finais, uma metodologia de funcionalização foi otimizada para que fosse aplicável aos derivados do 5-HMF. Dessa forma, além do potencial biológico dos compostos, os nossos resultados contribuem para a valorização da biomassa na química de especialidades, o que vem sendo uma tendência nos últimos anos (TUCK et al., 2012). Apesar dos compostos oxazólicos naturais terem potência baixa frente aos parasitas, quatro compostos furil-oxazólicos foram ativos frente ao *T. cruzi*. Os compostos mais ativos da série foram os compostos **94**, **98**, **122** e **124** (Figura 55). Destes, os compostos **94**, **98** e **122** possuem substituintes aromáticos lipofílicos e volumosos. A atividade do composto **124** nos leva a crer que a substituição do anel fenílico por anéis benzoheterocíclicos pode também contribuir para a atividade biológica, além de levar à compostos com maior solubilidade aquosa.

Figura 55 – Estrutura dos compostos mais ativos frente ao *T. cruzi* (Tulahuen) e *L. amazonensis* (LBT0016) identificados nas partes 1 e 2 deste trabalho.

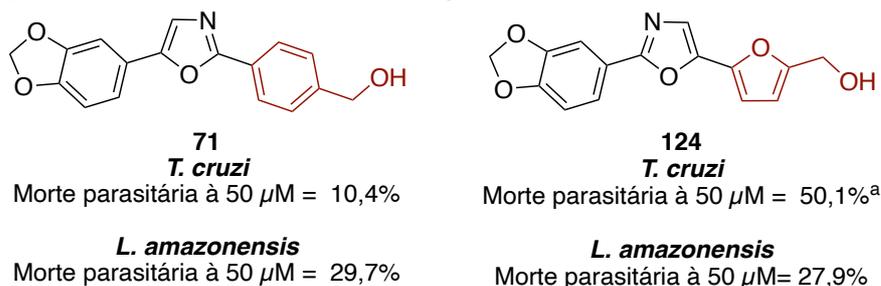


A estrutura e atividade biológica do composto **33** foi anteriormente descrita pelo nosso grupo de pesquisa (DA ROSA et al, 2017), já a estrutura química dos outros compostos está sendo descrita pela primeira vez.

^aO tratamento com 1 mM reduziu a viabilidade das células THP-1 em 33,7%.

A partir da análise conjunta dos resultados discutidos nas partes I e II, aspectos complementares de relação estrutura-atividade dos compostos podem ser sugeridos. Nos compostos furil-oxazólicos, o anel furano parece contribuir diretamente para o aumento na atividade biológica. Isso o que fica claro na comparação entre os compostos **71** e **124** (Figura 56). A substituição do anel 4-hidroximetilfenil do composto **71** pelo anel 5-hidroximetilfuran-2-il no composto **124** aumenta consideravelmente a atividade frente aos amastigotas de *T. cruzi*. Ao mesmo tempo, a atividade do composto **124** frente à *L. amazonensis* permanece inalterada ($P > 0,05$). Isso pode ser um indicativo de que um mesmo composto age de modos distintos nos parasitos estudados.

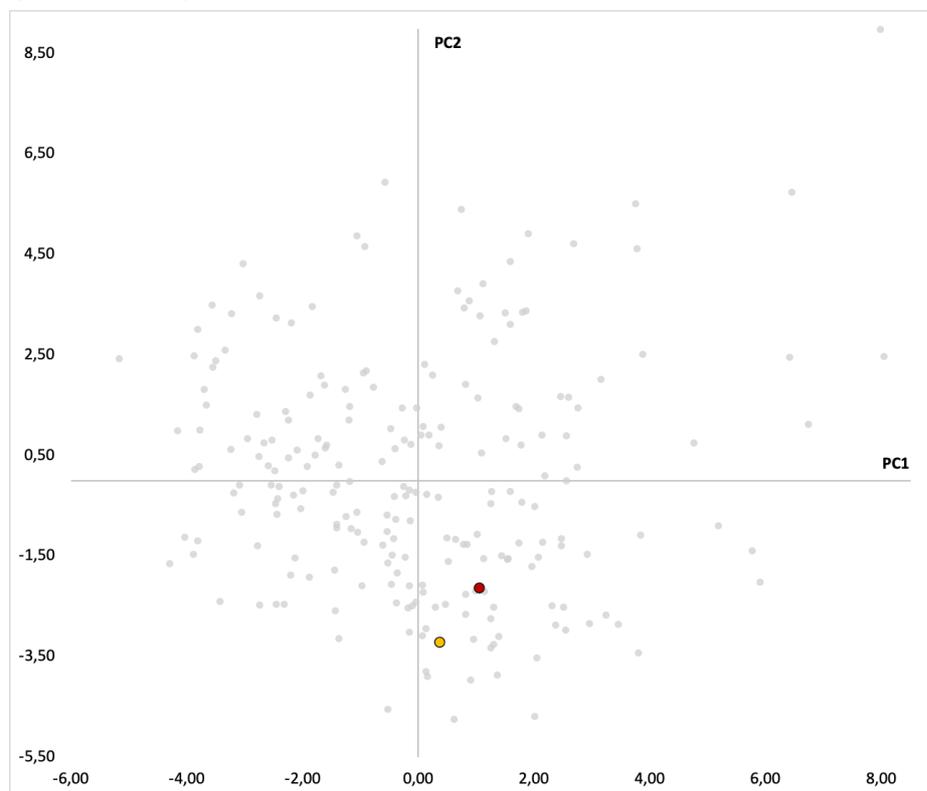
Figura 56 – Substituição do anel 4-hidroximetilfenil (composto **71**) pelo anel 5-hidroximetilfuran-2-il (composto **124**) leva ao aumento da atividade biológica em *T. cruzi*.



^aO IC_{50} do composto foi determinado como $49,1 \mu M$.

Adicionalmente, comparamos as propriedades físico-químicas e topológicas dos compostos mais ativos das duas séries apresentadas, com as de outros compostos ativos frente ao *T. cruzi*. Isso nos permite visualizar onde os compostos se localizam no espaço químico. A comparação foi feita pela análise dos componentes principais, incluindo outras duzentas e vinte e duas moléculas ativas frente ao parasito⁹. Estas, foram identificadas por *high throughput screening* (HTS) pela Glaxo-Smith-Kline, entre uma biblioteca de 1,8 milhão de moléculas, e apresentam IC₅₀ na faixa 0,01–2,5 µM (PEÑA et al., 2015). O resultado mostra que os compostos se encontram altamente dispersos, possuindo características estruturais distintas (Figura 57 e 58). Isso sugere que diversos *scaffolds* podem ser relacionados com a atividade tripanocida e que uma faixa de valores é aceitável para os descritores mais comumente associados à *druglikeness*. O composto protótipo **33** e o composto **122** (mais ativo dentre os oxazóis descritos na Parte II), possuem características que os assemelham aos outros compostos ativos descritos na literatura.

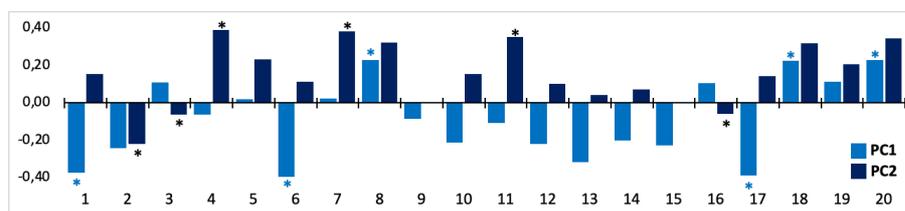
Figura 57 – Gráfico de dispersão dos componentes principais 1 e 2 de duzentas e vinte-quatro moléculas ativas *in vitro* frente ao *T. cruzi*.



Os compostos representados em cinza foram identificados por HTS pela GSK. O composto protótipo **33** é representado em amarelo, enquanto o composto **122** é representado em vermelho.

⁹ Neste caso, os componentes PC1 e PC2 representam cerca de 55% da variância apresentada pelos dados.

Figura 58 - Representação do peso das variáveis¹⁰ analisadas nos componentes 1 e 2 das duzentas e vinte-quatro moléculas ativas *in vitro* frente ao *T. cruzi*.



As variáveis que mais contribuem com cada componente de forma positiva ou negativa são destacadas com um asterisco. No gráfico de dispersão da Figura 57, o componente PC1 é representado no eixo *x* e o componente PC2 no eixo *y*.

Com isso em mente, os próximos passos devem continuar voltados à otimização das propriedades farmacodinâmicas dos compostos, buscando aliar alta potência com baixa toxicidade. Neste trabalho, a avaliação biológica foi feita com base em ensaios fenotípicos usando as formas amastigotas intracelulares dos parasitos. Apesar dos ensaios fenotípicos serem vantajosos para identificação de compostos ativos e permeáveis às células sem que haja qualquer viés molecular, é inegável que a deconvolução de um alvo molecular ofereceria vantagens para a otimização da estrutura química desses compostos já ativos. Uma vez conhecido o alvo molecular, modificações químicas nos compostos podem ser planejadas de forma a maximizar possíveis interações intermoleculares. O processo de deconvolução faz uso de diversas estratégias na busca do alvo molecular, geralmente com base na análise proteômica e metabolômica (KUBOTA; FUNABASHI; OGURA, 2019; TERSTAPPEN et al., 2007). Dessa forma, é uma etapa intensiva de trabalho que exige investimento e pessoal especializado.

Com o advento da quimioinformática, o uso de ferramentas computacionais para predição de alvos moleculares onde determinados compostos estariam atuando é uma das alternativas utilizadas em estudos preliminares de mecanismo de ação. O método, conhecido como *docking* reverso, ou *target fishing*, geralmente faz uso de modelos farmacofóricos construídos com base em estruturas cristalográficas ou em ligantes conhecidos para dado alvo molecular (JENKINS; BENDER; DAVIES, 2006; ROGNAN, 2010). Além destes, métodos que fazem uso do ranqueamento de soluções de docking molecular para predição da bioatividade também já foram descritos (XU; HUANG; ZOU, 2018). Tendo em vista a atividade das duas principais classes de compostos apresentadas nesse trabalho, acreditamos que o *target fishing* é uma

¹⁰ Variável 1= PM, 2= clogP, 3= clogS, 4= HBA, 5= HBD, 6= área de superfície total, 7= área de superfície polar, 8= área de superfície polar relativa, 9= índice de flexibilidade, 10= índice de complexidade, 11= átomos eletronegativos, 12= ligações rotacionáveis, 13= anéis, 14= anéis aromáticos, 15= átomos sp³, 16= índice de forma molecular, 17= número de átomos (exceto H), 18= fração HBA, 19= fração HBD, 20= fração HBA+HBD.

estratégia de investigação preliminar que poderia ser aplicada aos compostos **33** e **122**, devido a relevância destes compostos dentro de cada uma das séries apresentadas.

6.1 TARGET FISHING APLICADO AO METABOLISMO DO *T. cruzi*

Esta seção do trabalho mostra dados ainda preliminares, que serão utilizados pelo nosso grupo de pesquisa na prospecção de um método que possa ser aplicado em diferentes compostos bioativos. No banco de dados RCSB Protein Data Bank (PDB), duzentas e cinquenta-e-cinco estruturas de enzimas pertencentes ao *T. cruzi* estão disponíveis. Entre essas opções, selecionamos alguns alvos moleculares com base na sua importância para o metabolismo parasitário. Assim, temos enzimas com papel importante na invasão celular, no metabolismo energético e de bases nitrogenadas, entre outros (Tabela 23).

A qualidade das estruturas foi analisada pelo gráfico de Ramachandran e, em todos os casos, mais de 95% dos resíduos se encontravam em regiões permitidas ou favoráveis. No caso das proteínas oligoméricas, a cadeia A foi utilizada isoladamente nas simulações de *docking*, a não ser que ela não contivesse o ligante complexado (Apêndice A).

Tabela 23 – Alvos moleculares do *T. cruzi* selecionados para o *target fishing*

Alvo molecular	PDB ID	Resolução
Cruzaína	1ME4	1,2
Diidroorotate desidrogenase	3W2J	1,4
Glicoquinase	5BRH	1,9
Trans-sialidase	1S0J	1,6
Diidrofolate redutase-TS	3HBB	3,0
CYP51	4C0C	2,0
Pteridine redutase 2	1MXF	2,3
Farnesil difosfaate sintase	4DWB	2,1
dUTPase	1OGK	2,8
Glicose-6F desidrogenase	5AQ1	2,6
Glicose-6F isomerase	4QFH	1,8
Piruvato quinase	3QV9	2,1

Nos métodos de *target fishing* com base em *docking* molecular o parâmetro avaliado para determinar a possibilidade de interação com uma enzima é o *fitness score* do ligante de interesse. Assim, é essencial que as funções de pontuação empregadas no *docking* retornem soluções que ofereçam um bom poder preditivo. Para avaliar isso, o *redocking* dos ligantes cristalográficos usando funções de pontuação (CHEMPLP, GoldScore e ChemScore)

implementadas no *software* GOLD Suite foi realizado. O *fitness score* da pose de menor RMSD obtido com cada função foi utilizado para calcular a “eficiência da pontuação”. Para este cálculo, a posição (*rank*) da pose de menor RMSD na lista decrescente de *fitness scores* é normalizada com o número de GA runs. Assim, quanto maior for o *fitness score* da pose de menor RMSD, maior é a eficiência daquela função em identificar a conformação bioativa. Apenas funções de pontuação que tenham retornado alguma solução com RMSD menor que 2,5 Å foram utilizadas no cálculo. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 24 e maiores detalhes, como RMSD e o número de GA runs, podem ser encontrados no Apêndice A.

Tabela 24 – *Fitness scores* dos ligantes cristalográficos e a eficiência da pontuação de cada função.

PDB ID	Fitness score do <i>redocking</i> ^a			Eficiência da pontuação ^b		
	ChemPLP	GoldScore	ChemScore	ChemPLP	GoldScore	ChemScore
1ME4	75,61	1,11	19,63	82	5	35
3W2J	64,38	33,75	19,16 ^c	70	90	95 ^c
5BRH	56,90	44,15	12,45 ^c	55	97	10 ^c
1S0J	73,86	44,54	7,06	60	85	25
3HBB	77,21	15,63	25,70	45	75	10
4C0C	96,31	51,84	49,18	10	90	95
1MXF	69,15	16,77	17,04	95	16	44
4DWB	48,71	38,70	14,93	68	28	65
1OGK	75,92	43,53	20,47	20	92	95
5AQ1	54,43	36,66	18,21	90	0	95
4QFH	49,41	31,30	13,48	25	85	90
3QV9	44,63	18,37	21,35 ^c	1	11	70 ^c

^aFitness score da pose com menor RMSD; ^bEP = 100 – (rank da pose de menor RMSD*100/GA runs). ^cO RMSD foi >2,5 Å, assim, a função foi desconsiderada. As eficiências >70 são destacadas em negrito.

É possível observar que a eficiência das funções de pontuação é bastante variável, dependendo tanto da enzima como da função utilizada. Isto é esperado, uma vez que cada função é desenvolvida a partir de determinado conjunto de dados, o que pode causar um viés. Para diminuir a possibilidade de resultados falso positivos, apenas as funções com eficiência >70 foram selecionadas para a etapa posterior. Com exceção da enzima piruvato quinase, todas as outras tiveram a conformação bioativa dos seus ligantes predita com sucesso por alguma das funções.

A seguir, verificamos a seletividade das funções de pontuação consideradas como eficientes. Para isso, o ligante cristalográfico foi submetido ao *docking* juntamente com nove *decoys*—moléculas sem nenhuma atividade naquele alvo molecular. É esperado que a função de pontuação possa diferenciar entre os compostos ativos e os inativos, classificando o ligante cristalográfico com um *fitness score* maior do que aquele atribuído aos *decoys*. As três poses

de maior score para cada molécula foram analisadas e as funções foram consideradas seletivas caso o ligante cristalográfico tenha sido classificado no Top 10 da lista ordenada de *fitness scores*. Os resultados, descritos na Tabela 25, mostraram que as funções de *scoring* puderam classificar corretamente o ligante cristalográfico de apenas cinco das enzimas. Dessa forma, os compostos **33** e **122** foram submetidos ao *docking* apenas nessas cinco enzimas. Os *scores* dos compostos **33** e **122** também são apresentados na Tabela 25.

Tabela 25 – Seletividade das funções de *scoring* frente aos *decoys*, e *fitness scores* dos compostos **33** e **122**.

Alvo molecular	PDB ID	Função de <i>scoring</i>	Rank ^a	Composto 33		Composto 122	
				<i>Fitness score</i>	Ratio ^b	<i>Fitness score</i>	Ratio ^b
Cruzaína	1ME4	ChemPLP	2/30	47,05	0,62	58,13	0,77
Diidroorotate desidrogenase	3W2J	GoldScore	28/30	–	–	–	–
Glicoquinase	5BRH	GoldScore	15/30	–	–	–	–
Trans-sialidase	1S0J	GoldScore	27/30	–	–	–	–
Diidrofolate redutase-TS	3HBB	GoldScore	1/30	51,80	3,31	55,71	3,57
CYP51	4C0C	ChemScore	1/30	33,84	0,69	38,21	0,77
		Gold Score	1/30	53,65	1,03	56,80	1,10
Pteridine redutase 2	1MXF	ChemPLP	9/30	55,83	0,81	63,00	0,91
Farnesil difosfaate sintase	4DWB	ChemPLP	17/30	–	–	–	–
dUTPase	1OGK	ChemScore	22/30	–	–	–	–
		Gold Score	10/30	55,97	1,29	60,21	1,38
Glicose-6F desidrogenase	5AQ1	ChemScore	24/30	–	–	–	–
		ChemPLP	1/30	46,77	0,86	51,25	0,94
Glicose-6F isomerase	4QFH	ChemScore	28/30	–	–	–	–
		GoldScore	25/30	–	–	–	–

^aClassificação do *score* do ligante cristalográfico em relação ao *score* de nove *decoys* (análise das três melhores poses de cada). ^b(*Fitness score* do composto)/(*fitness score* do ligante cristalográfico).

De forma geral, o composto **33** foi pontuado com um *score* um pouco menor que o composto **122** nas enzimas analisadas. Em três enzimas (diidrofolato redutase, dUTPase e CYP51) o *score* dos compostos foi semelhante ou maior que aquele do ligante cristalográfico, indicando uma maior possibilidade de interação.

A diidrofolato redutase e a dUTPase são enzimas envolvidas no metabolismo de bases nitrogenadas no parasita. Enquanto a primeira é responsável pela redução do diidrofolato em tetrahydrofolato, etapa necessária para que ocorra a síntese *de novo* das purinas, a dUTPase catalisa a hidrólise do dUTP em dUMP de forma a manter em equilíbrio a concentração intracelular destes nucleotídeos (HARKIOLAKI et al., 2004; SCHORMANN et al., 2010). A CYP51, ou esterol 14 α -desmetilase, é uma enzima envolvida no metabolismo dos esteroides. A inibição da enzima acaba levando à diminuição da síntese de ergosterol nos parasitas, afetando a integridade da membrana celular (LEPESHEVA; FRIGGERI; WATERMAN, 2018). Os substratos das três enzimas possuem porções planares, de forma similar aos compostos **33** e **122**, o que pode explicar a maior probabilidade de interação nestas enzimas. A maioria das interações dos compostos com estes alvos são do tipo hidrofóbica ou π - π *stacking*, no entanto algumas interações de hidrogênio também são possíveis com os sítios ativos da diidrofolato redutase e da dUTPase (Figura 59 e 60). Interações novas, diferentes daquelas que são observadas com o ligante cristalográfico, também são observadas em alguns casos. É interessante notar, que as poses de maior *score* do composto **122** em cada uma das enzimas representam conformêros diferentes. A principal diferença é a disposição conformacional dos anéis furano e naftaleno, que acabam maximizando as interações com os sítios ativos. As distâncias das interações são detalhadas nas Tabelas A3, A4 e A5 no Apêndice A, no final deste trabalho.

Figura 59 – Interações dos compostos **33** (à esquerda) e **122** (à direita) com os alvos moleculares selecionados por *target fishing*. a) diidrofolato redutase.

a) **3HBB**

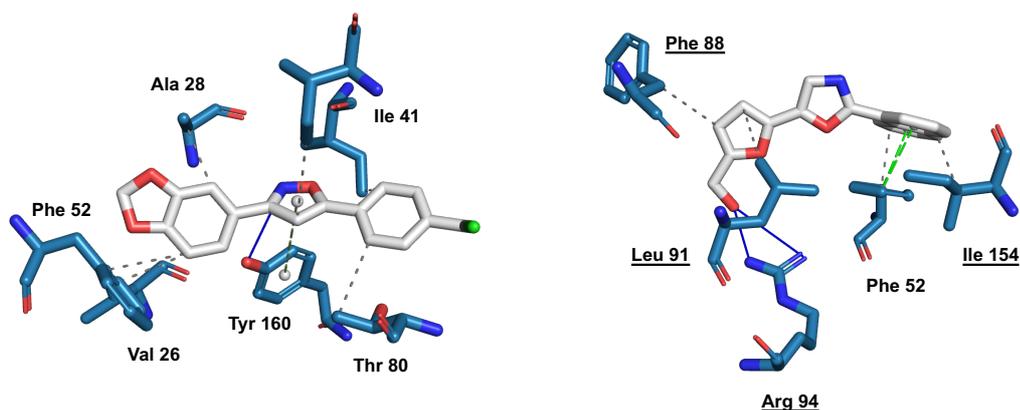
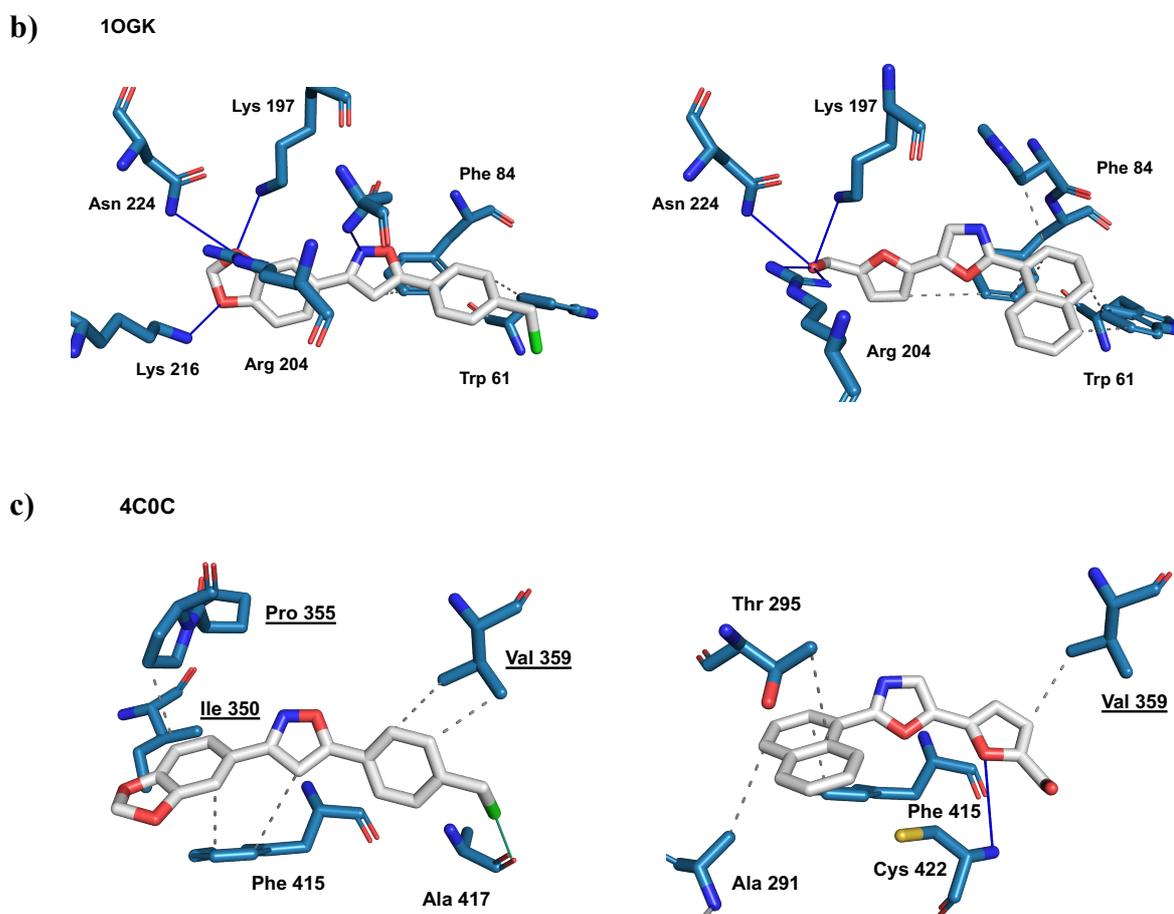


Figura 60 – Interações dos compostos **33** (à esquerda) e **122** (à direita) com os alvos moleculares selecionados por *target fishing*. b) dUTPase; c) CYP51.



As interações hidrofóbicas e π - π *stacking* são representadas pelas linhas pontilhadas cinzas e verdes, respectivamente. As ligações de hidrogênio são representadas pelas linhas azuis. Os aminoácidos estão coloridos na cor azul. As interações sublinhadas são novas, diferentes das realizadas com o ligante cristalográfico. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para clareza.

Uma gama de possibilidades é oferecida pelos métodos *in silico*. No entanto, é importante que os resultados sejam vistos com cautela, analisados de forma relativa e sempre correlacionados com dados obtidos a partir de testes *in vitro*. Das doze enzimas inicialmente selecionadas, cinco puderam ser efetivamente utilizadas como alvos no *docking* dos derivados. Os compostos **33** e **122** tiveram scores melhores que os dos ligantes nas enzimas diidrofolato redutase, dUTPase e CYP51, indicando uma maior possibilidade de interação com os seus sítios ativos. De forma geral, é interessante que esse método de *target fishing* seja otimizado com o uso de diferentes funções de *scoring* ou, então, desafiado com novas maneiras de avaliação de seletividade, de forma a aumentar o seu poder preditivo.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABDEL-MAGID, A. F. et al. Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures ¹. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 61, n. 11, p. 3849–3862, 1996.

ABIKO, A.; MASAMUNE, S. An improved, convenient procedure for reduction of amino acids to aminoalcohols: Use of NaBH₄-H₂SO₄. **Tetrahedron Letters**, v. 33, n. 38, p. 5517–5518, 1992.

ABRAMS, D. J.; PROVENCHER, P. A.; SORENSEN, E. J. Recent applications of C–H functionalization in complex natural product synthesis. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 23, p. 8925–8967, 2018.

AGARWAL, B. et al. Traversing the history of solid catalysts for heterogeneous synthesis of 5-hydroxymethylfurfural from carbohydrate sugars: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2408–2425, 2018.

ALPERN, J. D.; LOPEZ-VELEZ, R.; STAUFFER, W. M. Access to benznidazole for Chagas disease in the United States—Cautious optimism? **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 9, p. e0005794, 2017.

ALTCHEH, J. et al. Adverse Events After the Use of Benznidazole in Infants and Children With Chagas Disease. **Pediatrics**, v. 127, n. 1, p. e212–e218, 2011.

ALVES, F. et al. Recent Development of Visceral Leishmaniasis Treatments: Successes, Pitfalls, and Perspectives. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 1–30, 2018.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer Facts and Figures 2019**. Disponível em: <<https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2019.html>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

ARMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. Chapter 4 - Purification of Organic Chemicals BT - Purification of Laboratory Chemicals (Sixth Edition). In: Oxford: Butterworth-Heinemann, 2009. p. 88–444.

AXELROD, B.; BELZILE, J. Isolation of an Alkaloid Annuloline, from the Roots of *Lolium Multiflorum*. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 919–920, 1958.

BANZRAGCHGARAV, O. et al. Trypanocidal Activity of 2,5-Diphenyloxazoles Isolated from the Roots of *Oxytropis lanata*. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 11, p. 2933–2940, 2016.

BARTHOLOMEW, C. H. Mechanisms of catalyst deactivation. **Applied Catalysis A: General**, v. 212, n. 1–2, p. 17–60, 2001.

BASTOS, E. L.; CISCATO, L. F. M. L.; BAADER, W. J. Microwave-Assisted Protection of Phenols as tert -Butyldimethylsilyl (TBDMS) Ethers Under Solvent-Free Conditions. **Synthetic Communications**, v. 35, n. 11, p. 1501–1509, 2005.

BEKHIT, A. A. et al. Leishmania treatment and prevention: Natural and synthesized drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 160, p. 229–244, 2018.

BELLINA, F.; CAUTERUCCIO, S.; ROSSI, R. Development and Application of Effective Protocols for the Synthesis of Arylheteroarenes and Biheteroaryls, Including Bioactive Derivatives, by Highly Regioselective Transition Metal-Catalyzed Direct Intermolecular Arylation Reactions of Five-Membered Het. **Current Organic Chemistry**, v. 12, n. 9, p. 774–790, 2008.

BERNARDES, L. S. C. et al. Synthesis and trypanocidal activity of 1,4-bis-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,4-butanediol and 1,4-bis-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,4-butanediol. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 21, p. 7075–7082, 2006.

BESSELIÈVRE, F. et al. Ligandless Microwave-Assisted Pd/Cu-Catalyzed Direct Arylation of Oxazoles. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 73, n. 8, p. 3278–3280, 2008.

BESSELIÈVRE, F. et al. C-H Bond Activation: A Versatile Protocol for the Direct Arylation and Alkenylation of Oxazoles. **Synthesis**, v. 2009, n. 20, p. 3511–3518, 2009.

BHEETER, C. B. et al. Regioselectivity in palladium-catalysed direct arylation of 5-membered ring heteroaromatics. **Catalysis Science & Technology**, v. 6, n. 7, p. 2005–2049, 2016.

BIAJOLI, A. F. P. et al. Recent Progress in the Use of Pd-Catalyzed C-C Cross-Coupling Reactions in the Synthesis of Pharmaceutical Compounds. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2014.

BIERNACKI, K. et al. Novel 1,2,4-Oxadiazole Derivatives in Drug Discovery. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 6, p. 111, 2020.

BIFFIS, A. et al. Pd Metal Catalysts for Cross-Couplings and Related Reactions in the 21st Century: A Critical Review. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 4, p. 2249–2295, 2018.

BLOMME, E. A. G.; WILL, Y. Toxicology Strategies for Drug Discovery: Present and Future. **Chemical Research in Toxicology**, v. 29, n. 4, p. 473–504, 2016.

BOECHAT, N. et al. A simple reduction of methyl aromatic esters to alcohols using sodium borohydride–methanol system. **Tetrahedron Letters**, v. 45, n. 31, p. 6021–6022, 2004.

BOGER, D. L. et al. Discovery of a Potent, Selective, and Efficacious Class of Reversible α -Ketoheterocycle Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase Effective as Analgesics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 1849–1856, 2005.

BONANDI, E. et al. The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 10, p. 1572–1581, 2017.

BRESCIANI, S.; TOMKINSON, N. C. O. Transition metal-mediated synthesis of oxazoles. **Heterocycles**, v. 89, n. 11, p. 2479, 2014.

BRITO, J. R. et al. Dibenzylbutane neolignans from *Saururus cernuus* L. (Saururaceae) displayed anti-*Trypanosoma cruzi* activity via alterations in the mitochondrial membrane

potential. **Fitoterapia**, v. 137, n. June, p. 104251, 2019.

BURKE, B. et al. An Oxazole and Its Precursor in *Amyris balsamifera*. **Heterocycles**, v. 12, n. 3, p. 349, 1979.

BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**, v. 392, n. 10151, p. 951–970, 2018.

BUTKOVIĆ, K.; MARINIĆ, Ž.; ŠINDLER-KULYK, M. Synthesis of 3-(*o*-stilbenyl)sydnone and 3-(*o*-stilbenyl)-4-substituted-sydnone derivatives and their antitumor evaluation. **Arkivoc**, v. 2011, n. 10, p. 1, 2011.

CABRAL, M. M. O. et al. Neolignans from plants in northeastern Brazil (Lauraceae) with activity against *Trypanosoma cruzi*. **Experimental Parasitology**, v. 124, n. 3, p. 319–324, 2010.

CANTILLO, D.; GUTMANN, B.; KAPPE, C. O. An Experimental and Computational Assessment of Acid-Catalyzed Azide-Nitrile Cycloadditions. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 77, n. 23, p. 10882–10890, 2012.

CDC. **American Trypanosomiasis - Biology**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

CDC. **Leishmaniasis - Biology**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

CHEN, Y. et al. Characterization of the Chemical Space of Known and Readily Obtainable Natural Products. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 58, n. 8, p. 1518–1532, 2018.

CHOU, T.-C. Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. **Pharmacological Reviews**, v. 58, n. 3, p. 621–681, 2006.

CHOU, T.-C. Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method. **Cancer Research**, v. 70, n. 2, p. 440–446, 2010.

CHOU, T.; TALALAY, P. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. **Advances in Enzyme Regulation**, v. 22, p. 27–55, 1984.

CROW, W.; HODGKIN, J. Alkaloids of the Australian Rutaceae: *Halfordia scleroxyla*. II. Isolation and structure of the alkaloids. **Australian Journal of Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 119, 1964.

DA ROSA, R. et al. Design and synthesis of a new series of 3,5-disubstituted isoxazoles active against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania amazonensis*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 128, p. 25–35, 2017.

DA ROSA, R.; SCHENKEL, E. P.; BERNARDES, L. S. C. Semisynthetic and newly designed

derivatives based on natural chemical scaffolds: moving beyond natural products to fight *Trypanosoma cruzi*. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, p. 105–122, 2020.

DA SILVA FILHO, A. A. et al. Tetrahydrofuran Lignans from *Nectandra megapotamica* with Trypanocidal Activity. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 1, p. 42–45, 2004.

DANG, Q. et al. Oxazole phosphonic acids as fructose 1,6-bisphosphatase inhibitors with potent glucose-lowering activity. **MedChemComm**, v. 2, n. 4, p. 287–290, 2011.

DAS, B. et al. A Simple, Advantageous Synthesis of 5-Substituted 1H-Tetrazoles. **Synlett**, v. 2010, n. 03, p. 391–394, 2010.

DASHTBAN, M.; GILBERT, A.; FATEHI, P. Recent advancements in the production of hydroxymethylfurfural. **RSC Advances**, v. 4, n. 4, p. 2037–2050, 2014.

DE LA FUENTE, G. et al. Two New Oxazoles from *Amyris texana* P. Wilson. **Heterocycles**, v. 27, n. 1, p. 35, 1988.

DE OLIVEIRA, A. B. B. et al. Parasite-vector interaction of chagas disease: A mini-review. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 3, p. 653–655, 2018.

DECORTE, B. L. Underexplored Opportunities for Natural Products in Drug Discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, p. acs.jmedchem.6b00473, 2016.

DEVENDAR, P. et al. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions: A Powerful Tool for the Synthesis of Agrochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 34, p. 8914–8934, 2018.

DINIZ, L. D. F. et al. Effects of Ravuconazole Treatment on Parasite Load and Immune Response in Dogs Experimentally Infected with *Trypanosoma cruzi*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 7, p. 2979–2986, 2010.

DINIZ, L. DE F. et al. Outcome of E1224-Benznidazole Combination Treatment for Infection with a Multidrug-Resistant *Trypanosoma cruzi* Strain in Mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 6, p. e00401-18, 2018.

DNDI. **Fexinidazole for Chagas**. Disponível em: <<https://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/fexinidazole-chagas/>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

DNDI. **DNDi Portfolio**. Disponível em: <<https://dndi.org/research-development/portfolio/>>. Acesso em: 15 jun. 2020a.

DNDI. **Chagas disease – Target product profile**. Disponível em: <<https://dndi.org/diseases/chagas/target-product-profile/>>. Acesso em: 13 dez. 2020b.

DON, R.; IOSET, J. R. Screening strategies to identify new chemical diversity for drug development to treat kinetoplastid infections. **Parasitology**, v. 141, n. 1, p. 140–146, 2014.

DOW, R. L. et al. Benzyloxazolidine-2,4-diones as potent hypoglycemic agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 34, n. 5, p. 1538–1544, 1991.

DUNETZ, J. R.; MAGANO, J.; WEISENBURGER, G. A. Large-Scale Applications of Amide Coupling Reagents for the Synthesis of Pharmaceuticals. **Organic Process Research & Development**, v. 20, n. 2, p. 140–177, 2016.

E SILVA, M. L. A. et al. Furofuran lignans display schistosomicidal and trypanocidal activities. **Phytochemistry**, v. 107, p. 119–125, 2014.

ESPERANDIM, V. R. et al. Evaluation of the in vivo therapeutic properties of (–)-cubebin and (–)-hinokinin against *Trypanosoma cruzi*. **Experimental Parasitology**, v. 133, n. 4, p. 442–446, 2013.

FAN, W. et al. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) in Organic Synthesis: A Review of its Recent Applications Towards Fine Chemicals. **Current Organic Synthesis**, v. 16, n. 4, p. 583–614, 2019.

FELIPPE, L. G. et al. Trypanocidal tetrahydrofuran lignans from *Peperomia blanda*. **Phytochemistry**, v. 69, n. 2, p. 445–450, 2008.

FIESER, L. F. et al. N,N'-Carbonyldiimidazole. **Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis**, Major Reference Works. v. 1, n. 3, p. 117–117, 2013.

FILALI, I. et al. Synthesis of new isoxazoline derivatives from harmine and evaluation of their anti-Alzheimer, anti-cancer and anti-inflammatory activities. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 30, n. 3, p. 371–376, 2015.

FLEGEAU, E. F.; POPKIN, M. E.; GREANEY, M. F. Direct Arylation of Oxazoles at C2. A Concise Approach to Consecutively Linked Oxazoles. **Organic Letters**, v. 10, n. 13, p. 2717–2720, 2008.

FLOHÉ, L. The trypanothione system and the opportunities it offers to create drugs for the neglected kinetoplast diseases. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 1, p. 294–301, 2012.

FREITAS FILHO, J. R. et al. Amidoximes: Applications and Methods of Synthesis. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2549–2596, 2015.

FULMER, G. R. et al. NMR chemical shifts of trace impurities: Common laboratory solvents, organics, and gases in deuterated solvents relevant to the organometallic chemist. **Organometallics**, v. 29, n. 9, p. 2176–2179, 2010.

GARCÍA-HUERTAS, P. et al. Activity in vitro and in vivo against *Trypanosoma cruzi* of a furofuran lignan isolated from *Piper jericense*. **Experimental Parasitology**, v. 189, p. 34–42, 2018.

GHORBANI, M.; FARHOUDI, R. Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy? **Drug Design, Development and Therapy**, v. Volume 12, p. 25–40, 2017.

GIDDENS, A. C. et al. Antimycobacterial natural products: synthesis and preliminary biological evaluation of the oxazole-containing alkaloid texaline. **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 43, p. 7355–7357, 2005.

- GRECCO, S. S. et al. Neolignans from leaves of *Nectandra leucantha* (Lauraceae) display in vitro antitrypanosomal activity via plasma membrane and mitochondrial damages. **Chemico-Biological Interactions**, v. 277, p. 55–61, 2017.
- HACHIYA, H. et al. Nickel-Catalyzed Direct Arylation of Azoles with Aryl Bromides. **Organic Letters**, v. 11, n. 8, p. 1737–1740, 2009.
- HADANU, R.; MASTJEH, S. Synthesis and antiplasmodial activity testing of (1)-N-alkyl- and (1)-N-benzyl-6-nitro-1,10-phenanthrolium salts as new potential antimalarial agents. **Indonesian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 152–162, 2012.
- HARKIOLAKI, M. et al. The Crystal Structure of *Trypanosoma cruzi* dUTPase Reveals a Novel dUTP/dUDP Binding Fold. **Structure**, v. 12, n. 1, p. 41–53, 2004.
- HARTMANN, A. P. et al. Synthesis and 2D-QSAR studies of neolignan-based diaryl-tetrahydrofuran and -furan analogues with remarkable activity against *Trypanosoma cruzi* and assessment of the trypanothione reductase activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 140, p. 187–199, 2017.
- HEMMATI, S.; SERADJ, H. Justicidin B: A Promising Bioactive Lignan. **Molecules**, v. 21, n. 7, p. 820, 2016.
- HIMO, F. et al. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 1, p. 210–216, 2005.
- IBRAR, A. et al. Transition-metal-free synthesis of oxazoles: valuable structural fragments in drug discovery. **RSC Advances**, v. 6, n. 95, p. 93016–93047, 2016.
- IZUMI, E. et al. Natural products and Chagas' disease: a review of plant compounds studied for activity against *Trypanosoma cruzi*. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 4, p. 809–823, 2011.
- JACKSON, Y. et al. Tolerance and Safety of Nifurtimox in Patients with Chronic Chagas Disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. 10, p. e69–e75, 2010.
- JAMES, S. L. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet**, v. 392, n. 10159, p. 1789–1858, 2018.
- JENKINS, J. L.; BENDER, A.; DAVIES, J. W. In silico target fishing: Predicting biological targets from chemical structure. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 3, n. 4, p. 413–421, 2006.
- JIN, Z. Muscarine, imidazole, oxazole, and thiazole alkaloids. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 6, p. 1143, 2011.
- JONES, G. et al. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking.

Journal of Molecular Biology, v. 267, n. 3, p. 727–748, 1997.

JUMPPANEN, M. et al. Synthesis, Identification, and Structure–Activity Relationship Analysis of GATA4 and NKX2-5 Protein–Protein Interaction Modulators. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 17, p. 8284–8310, 2019.

KAKKAR, S.; NARASIMHAN, B. A comprehensive review on biological activities of oxazole derivatives. **BMC Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 16, 2019.

KAMAL, A. et al. Design, synthesis and biological evaluation of 3,5-diaryl-isoxazoline/isoxazole-pyrrolobenzodiazepine conjugates as potential anticancer agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 9, p. 3924–3937, 2010.

KANG, S.-K.; LEE, D.-H. An Efficient Reduction of Acid Chlorides by Sodium Borohydride with Dropwise Addition of Methanol. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 9, n. 6, p. 402–403, 1988.

KARMASE, A.; BIRARI, R.; BHUTANI, K. K. Evaluation of anti-obesity effect of Aegle marmelos leaves. **Phytomedicine**, v. 20, n. 10, p. 805–812, 2013.

KATSUNO, K. et al. Hit and lead criteria in drug discovery for infectious diseases of the developing world. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 11, p. 751–8, 2015.

KAUR, K. et al. Isoxazoline containing natural products as anticancer agents: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 121–133, 2014.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A.; KEELING, J. H. New World and Old World Leishmania Infections: A Practical Review. **Dermatologic Clinics**, v. 33, n. 3, p. 579–593, 2015.

KINGSTON, D. G. I. Modern Natural Products Drug Discovery and its Relevance to Biodiversity Conservation. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 3, p. 496–511, 2011.

KUBOTA, K.; FUNABASHI, M.; OGURA, Y. Target deconvolution from phenotype-based drug discovery by using chemical proteomics approaches. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics**, v. 1867, n. 1, p. 22–27, 2019.

KUCHEROV, F. A. et al. Chemical Transformations of Biomass-Derived C6-Furanic Platform Chemicals for Sustainable Energy Research, Materials Science, and Synthetic Building Blocks. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 7, p. 8064–8092, 2018.

KULKARNI, B. A.; GANESAN, A. Solution-phase parallel oxazole synthesis with TosMIC. **Tetrahedron Letters**, v. 40, n. 30, p. 5637–5638, 1999.

LAMPE, J. W. et al. (Imidazolylphenyl)pyrrol-2-one inhibitors of cardiac cAMP phosphodiesterase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 36, n. 8, p. 1041–1047, 1993.

LANG, K. L. et al. Synthesis and cytotoxic activity evaluation of dihydrocucurbitacin B and cucurbitacin B derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 9, p. 3016–3030, 2012a.

LANG, K. L. et al. Cytotoxic Activity of Semi-Synthetic Derivatives of Elatol and Isoobtusol. **Marine Drugs**, v. 10, n. 12, p. 2254–2264, 2012b.

LARSON, H.; SCHULTZ, D.; KALYANI, D. Ni-Catalyzed C-H Arylation of Oxazoles and Benzoxazoles Using Pharmaceutically Relevant Aryl Chlorides and Bromides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 84, n. 20, p. 13092–13103, 2019.

LEAHY, D. K. et al. Development of an Efficient Synthesis of Two CRF Antagonists for the Treatment of Neurological Disorders. **Organic Process Research & Development**, v. 14, n. 3, p. 1221–1228, 2010.

LEPESHEVA, G. I.; FRIGGERI, L.; WATERMAN, M. R. CYP51 as drug targets for fungi and protozoan parasites: past, present and future. **Parasitology**, v. 145, n. 14, p. 1820–1836, 2018.

LEPESHEVA, G.; WATERMAN, M. Sterol 14 α -Demethylase (CYP51) as a Therapeutic Target for Human Trypanosomiasis and Leishmaniasis. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 16, p. 2060–2071, 2011.

LIÉGAULT, B. et al. Establishment of Broadly Applicable Reaction Conditions for the Palladium-Catalyzed Direct Arylation of Heteroatom-Containing Aromatic Compounds. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 1826–1834, 2009.

LOBBEN, P. C.; LEUNG, S. S.-W.; TUMMALA, S. Integrated Approach to the Development and Understanding of the Borane Reduction of a Carboxylic Acid. **Organic Process Research & Development**, v. 8, n. 6, p. 1072–1075, 2004.

LOPES, N. P. et al. Flavonoids and Lignans from *Virola surinamensis* Twigs and their in vitro Activity against *Trypanosoma cruzi*. **Planta Medica**, v. 64, n. 7, p. 667–669, 1998.

LOWE, D. B. et al. Substituted indanylacetic acids as PPAR- α - γ activators. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, n. 2, p. 297–301, 2006.

MAES, J.; MAES, B. U. W. A Journey Through Metal-Catalyzed CH Functionalization of Heterocycles. In: **Advances in Heterocyclic Chemistry**. [s.l.: s.n.]. p. 137–194.

MALAMAS, M. S. et al. Azole Phenoxy Hydroxyureas as Selective and Orally Active Inhibitors of 5-Lipoxygenase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 1, p. 237–245, 1996.

MARTINS-MELO, F. R. et al. Mortality from neglected tropical diseases in Brazil, 2000 – 2011. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 94, n. October 2015, p. 103–110, 2016.

MARTINS-MELO, F. R. et al. The burden of Neglected Tropical Diseases in Brazil, 1990–2016: A subnational analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 6, p. e0006559, 2018.

MCMURRY, J. **Organic Chemistry**. 8th. ed. Boston: Cengage Learning, 2011.

MELETI, V. R. et al. (\pm)-Licarin A and its semi-synthetic derivatives: In vitro and in silico evaluation of trypanocidal and schistosomicidal activities. **Acta Tropica**, v. 202, p. 105248,

2020.

MESU, V. K. B. K. et al. Oral fexinidazole for late-stage African *Trypanosoma brucei* gambiense trypanosomiasis: a pivotal multicentre, randomised, non-inferiority trial. **The Lancet**, v. 391, n. 10116, p. 144–154, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Componente Estratégico da Assistência Farmacêutica (CESAF)**. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/assistencia-farmacutica/medicamentos-rename/cesaf>>. Acesso em: 20 dez. 2018.

MOLINA, J. et al. Activities of the Triazole Derivative SCH 56592 (Posaconazole) against Drug-Resistant Strains of the Protozoan Parasite *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* in Immunocompetent and Immunosuppressed Murine Hosts. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 1, p. 150–155, 2000.

MORAES, C. B.; FRANCO, C. H. Novel drug discovery for Chagas disease. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 11, n. 5, p. 447–455, 2016.

MORILLO, C. A. et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 14, p. 1295–1306, 2015.

MORILLO, C. A. et al. Benznidazole and Posaconazole in Eliminating Parasites in Asymptomatic *T. Cruzi* Carriers. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 69, n. 8, p. 939–947, 2017.

MORIYA, T. et al. Synthesis of ethyl 2-(4-chlorophenyl)-5-(2-furyl)-4-oxazoleacetate, a hypolipidemic agent, and related compounds. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 31, n. 6, p. 1197–1204, 1988.

MUKHOPADHYAY, C.; BECKER, F. F.; BANIK, B. K. A novel catalytic role of molecular iodine in the oxidation of benzylic alcohols: microwave-assisted reaction. **Journal of Chemical Research**, v. 2001, n. 1, p. 28–31, 2001.

MULLARD, A. New drugs cost US\$2.6 billion to develop. **Nature Reviews Drug discovery**, v. 13, n. 12, p. 877, 2014.

MULLARD, A. 2019 FDA drug approvals. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 19, n. 2, p. 79–84, 2020.

MUZART, J. Palladium-catalysed oxidation of primary and secondary alcohols. **Tetrahedron**, v. 59, n. 31, p. 5789–5816, 2003.

MYSINGER, M. M. et al. Directory of Useful Decoys, Enhanced (DUD-E): Better Ligands and Decoys for Better Benchmarking. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 6582–6594, 2012.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629–661, 2016.

NIHEI, K. Synthesis of trypanocidal tetrahydrofuran lignans. **Arkivoc**, v. 2004, n. vi, p. 112–

126, 2004.

NISHINO, Y. et al. Practical large-scale synthesis of the 2-aminomethylpyrrolidin-4-ylthio-containing side chain of the novel carbapenem antibiotic doripenem. **Organic Process Research & Development**, v. 7, n. 5, p. 649–654, 2003.

NOCITO, I. et al. Activity of 8-O.4'-neolignans against *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology Research**, v. 101, n. 5, p. 1453–1457, 2007.

NOIREAU, F.; DIOSQUE, P.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. **Veterinary Research**, v. 40, n. 2, p. 26, 2009.

NUNES, M. C. P. et al. Chagas Disease - An Overview of Clinical and Epidemiological Aspects Maria. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, n. 9, p. 767–776, 2013.

NWAKA, S. et al. Advancing Drug Innovation for Neglected Diseases—Criteria for Lead Progression. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 8, p. e440, 2009.

OCHTROP, P.; HACKENBERGER, C. P. R. Recent advances of thiol-selective bioconjugation reactions. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 58, p. 28–36, 2020.

ODONBAYAR, B. et al. Acylated Lignans Isolated from *Brachanthemum gobicum* and Their Trypanocidal Activity. **Journal of Natural Products**, v. 82, n. 4, p. 774–784, 2019.

OECD. **OECD Statistics – Pharmaceutical market**. Disponível em: <https://stats.oecd.org/Index.aspx?DataSetCode=HEALTH_PHMC>. Acesso em: 23 abr. 2020.

OMS. **4th WHO NTDs Report - Integrating NTDs into global health and development**. Geneva: [s.n.]. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/nrd.2018.18>>.

PACE, D. Leishmaniasis. **Journal of Infection**, v. 69, p. S10–S18, nov. 2014.

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 6. ed. [s.l.] Oxford University Press, 2017.

PATTERSON, S.; WYLLIE, S. Nitro drugs for the treatment of trypanosomatid diseases: Past, present, and future prospects. **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 6, p. 289–298, 2014.

PEÑA, I. et al. New Compound Sets Identified from High Throughput Phenotypic Screening Against Three Kinetoplastid Parasites: An Open Resource. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 8771, 2015.

PENK, D. N. et al. A flexible method for the synthesis of 2-substituted 1,2,5,6-tetrahydropyridines and piperidines from chloro-containing propargylamines. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 5, p. 470–473, 2017.

PENNER, N.; XU, L.; PRAKASH, C. Radiolabeled Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion Studies in Drug Development: Why, When, and How? **Chemical Research in Toxicology**, v. 25, n. 3, p. 513–531, 2012.

PEREIRA, A. C. et al. Schistosomicidal and trypanocidal structure–activity relationships for (±)-licarin A and its (–)- and (+)-enantiomers. **Phytochemistry**, v. 72, n. 11–12, p. 1424–1430, 2011.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**, v. 391, n. 10115, p. 82–94, 2018.

RAJAN, R. et al. Practical and Chemoselective Reduction of Acyl Chloride to Alcohol by Borohydride in Aqueous Dichloromethane. **Synthetic Communications**, v. 40, n. 19, p. 2897–2907, 2010.

RASTOGI, N. Antimycobacterial activity of chemically defined natural substances from the Caribbean flora in Guadeloupe. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 20, n. 4, p. 267–273, 1998.

ROBLES, A. J. et al. Structure–Activity Relationships of New Natural Product-Based Diaryloxazoles with Selective Activity against Androgen Receptor-Positive Breast Cancer Cells. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 22, p. 9275–9289, 2017.

ROCHA, D. A. et al. Synthesis and structure-activity relationship studies of cruzain and rhodesain inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 1426–1459, 2018.

ROGNAN, D. Structure-Based Approaches to Target Fishing and Ligand Profiling. **Molecular Informatics**, v. 29, n. 3, p. 176–187, 2010.

ROH, J. et al. Practical Synthesis of 5-Substituted Tetrazoles under Microwave Irradiation. **Synthesis**, v. 2009, n. 13, p. 2175–2178, 2009.

ROMANHA, A. J. et al. In vitro and in vivo experimental models for drug screening and development for Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 233–238, 2010.

ROMERO, F. A. et al. Potent and Selective α -Ketoheterocycle-Based Inhibitors of the Anandamide and Oleamide Catabolizing Enzyme, Fatty Acid Amide Hydrolase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, n. 5, p. 1058–1068, 2007.

ROSATELLA, A. A. et al. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform: Biological properties, synthesis and synthetic applications. **Green Chemistry**, v. 13, n. 4, p. 754, 2011.

SALENTIN, S. et al. PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. W1, p. W443–W447, 2015.

SÁNCHEZ, L. V.; RAMÍREZ, J. D. Congenital and oral transmission of American trypanosomiasis: an overview of physiopathogenic aspects. **Parasitology**, v. 140, n. 2, p. 147–159, 2013.

SCARIM, C. B. et al. Current advances in drug discovery for Chagas disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 155, p. 824–838, 2018.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, v. 115, n. 1–2, p. 14–21, 2010.

SCHNEIDMAN-DUHOVNY, D. et al. PharmaGist: a webserver for ligand-based pharmacophore detection. **Nucleic Acids Research**, v. 36, n. Web Server, p. W223–W228, 2008.

SCHORMANN, N. et al. Synthesis and characterization of potent inhibitors of Trypanosoma cruzi dihydrofolate reductase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 4056–4066, 2010.

SCHWENDE, H. et al. Differences in the state of differentiation of THP-1 cells induced by phorbol ester and 1,25-dihydroxyvitamin D3. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 59, n. 4, p. 555–561, 1996.

SHAMSUDDIN, K. M.; ZOBAIRI, M. O.; MUSHARRAF, M. A. Formic acid as a hydride donor: Reduction of acid chlorides to aldehydes. **Tetrahedron Letters**, v. 39, n. 44, p. 8153–8154, 1998.

SHI, X.; SOULÉ, J. F.; DOUCET, H. Reaction Conditions for the Regiodivergent Direct Arylations at C2- or C5-Positions of Oxazoles using Phosphine-Free Palladium Catalysts. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 361, n. 20, p. 4748–4760, 2019.

SHIBAHARA, F. et al. One-pot Sequential Direct C–H Bond Arylation of Azoles Catalyzed by [Pd(phen)₂](PF₆)₂: Synthetic Methods for Triarylated Azoles. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 77, n. 19, p. 8815–8820, 2012.

SIEUWERTS, A. M. et al. The MTT Tetrazolium Salt Assay Scrutinized: How to Use this Assay Reliably to Measure Metabolic Activity of Cell Cultures in vitro for the Assessment of Growth Characteristics, IC₅₀-Values and Cell Survival. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 33, n. 11, p. 813–824, 1995.

SILVA, D. G.; EMERY, F. DA S. Strategies towards expansion of chemical space of natural product-based compounds to enable drug discovery. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. spe, 2018.

SINGH, R. P.; SHREEVE, J. M. Nucleophilic fluorination of amino alcohols and diols using Deoxofluor. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 23–26, 2002.

SMITH, M. B. **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. 7th. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2013.

SOHDA, T. et al. Studies on antidiabetic agents. 11. Novel thiazolidinedione derivatives as potent hypoglycemic and hypolipidemic agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 35, n. 14, p. 2617–2626, 1992.

SPERANDIO DA SILVA, G. M. et al. Benzimidazole treatment safety: the Médecins Sans Frontières experience in a large cohort of Bolivian patients with Chagas' disease. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 9, p. 2596–2601, 2017.

SPIEGEL, F. H. Appendix B: The Economics of Pharmaceutical Research and Development: An Industry Perspective. In: GELIJNS, A. C.; HALM, E. A. (Eds.). . **The Changing Economics of Medical Technology**. 1st. ed. Washington, DC: National Academy Press, 1991. p. 181–191.

STUART, K. et al. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 4, p. 1301–1310, 2008.

SYKES, M. L.; AVERY, V. M. Approaches to protozoan drug discovery: Phenotypic screening. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 20, p. 7727–7740, 2013.

TALE, R. H.; TORADMAL, G. K.; GOPULA, V. B. A practical and general ipso iodination of arylboronic acids using N-iodomorpholinium iodide (NIMI) as a novel iodinating agent: mild and regioselective synthesis of aryl iodides. **RSC Advances**, v. 5, n. 103, p. 84910–84919, 2015.

TAVARES, A. **Isoxazolinás. Uma Classe de Materiais Avançados Revistada**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

TAYLOR, D. The Pharmaceutical Industry and the Future of Drug Development. In: R E HESTER, R. M. H. (Ed.). . **Pharmaceuticals in the Environment**. 1st. ed. London: Royal Society of Chemistry, 2015. p. 1–33.

TEONG, S. P.; YI, G.; ZHANG, Y. Hydroxymethylfurfural production from bioresources: past, present and future. **Green Chemistry**, v. 16, n. 4, p. 2015, 2014.

TEPONNO, R. B.; KUSARI, S.; SPITELLER, M. Recent advances in research on lignans and neolignans. **Natural Product Reports**, v. 33, n. 9, p. 1044–1092, 2016.

TERSTAPPEN, G. C. et al. Target deconvolution strategies in drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 6, n. 11, p. 891–903, 2007.

THE NOBEL FOUNDATION. **The Nobel Prize in Chemistry 2010**. Disponível em: <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2005/>. Acesso em: 29 abr. 2015.

TORRICO, F. et al. Treatment of adult chronic indeterminate Chagas disease with benznidazole and three E1224 dosing regimens: a proof-of-concept, randomised, placebo-controlled trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 419–430, 2018.

TUCK, C. O. et al. Valorization of Biomass: Deriving More Value from Waste. **Science**, v. 337, n. 6095, p. 695–699, 2012.

URBINA, J. A. et al. Antiproliferative Effects and Mechanism of Action of SCH 56592 against *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*: In Vitro and In Vivo Studies. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, n. 7, p. 1771–1777, 1998.

URBINA, J. A. et al. In vitro and in vivo activities of ravuconazole on *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 21, n. 1, p. 27–38, 2003.

URQUHART, L. FDA new drug approvals in Q3 2020. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 19, n. 11, p. 746–746, 2020.

VAN DE LOOSDRECHT, A. et al. Cell mediated cytotoxicity against U 937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. A methodological study. **Journal of Immunology Methods**, v. 141, n. 1, p. 15–22, 1991.

VAN DE WATERBEEMD, H.; ROSE, S. Quantitative Approaches to Structure–Activity Relationships. In: **The Practice of Medicinal Chemistry**. 4th. ed. New York: Academic Press, 2015. p. 491–513.

VAN LEUSEN, A. M.; HOOGENBOOM, B. E.; SIDERIUS, H. A novel and efficient synthesis of oxazoles from tosylmethylisocyanide and carbonyl compounds. **Tetrahedron Letters**, v. 13, n. 23, p. 2369–2372, 1972.

VIEIRA, L. DE O. **Semissíntese de derivados de O-metil-olivetol isolado de Eugenia catharinae O. Berg**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2020.

VINAY KUMAR, K. et al. A One-Pot Tandem Approach for the Synthesis of 5-(Het)aryloxazoles from Substituted (Het)aryl Methyl Alcohols and Benzyl Bromides. **Synlett**, v. 27, n. 09, p. 1363–1366, 2016.

WERMUTH, C. G. Application Strategies for the Primary Structure–Activity Relationship Exploration. In: **The Practice of Medicinal Chemistry**. 4th. ed. New York: Academic Press, 2015. p. 415–427.

WIRTH, D. D.; VIKAS, S.; JAGADISH, P. **Thionyl Chloride**. **Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis**: Major Reference Works., 11 abr. 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/047084289X.rt099.pub2>>

WU, B. et al. One-pot Van Leusen synthesis of 4,5-disubstituted oxazoles in ionic liquids. **Synlett**, n. 3, p. 500–504, 2009.

WU, Y.; WAN, Y.; ZHANG, F. Characteristics and Trends of C-H Activation Research: A Review of Literature. **Current Organic Synthesis**, v. 15, n. 6, p. 781–792, 2018.

XU, X.; HUANG, M.; ZOU, X. Docking-based inverse virtual screening: methods, applications, and challenges. **Biophysics Reports**, v. 4, n. 1, p. 1–16, 2018.

YAMAKAWA, T.; MASAKI, M.; NOHIRA, H. A New Reduction of Some Carboxylic Esters with Sodium Borohydride and Zinc Chloride in the Presence of a Tertiary Amine. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 64, n. 9, p. 2730–2734, 1991.

YAMAMOTO, T. et al. Nickel-Catalyzed C-H Arylation of Azoles with Haloarenes: Scope, Mechanism, and Applications to the Synthesis of Bioactive Molecules. **Chemistry - A European Journal**, v. 17, n. 36, p. 10113–10122, 2011.

YAMAMURO, D. et al. Synthesis and biological activity of 5-(4-methoxyphenyl)-oxazole derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, n. 2, p. 313–316, 2015.

YANG, F.; KOELLER, J.; ACKERMANN, L. Photoinduced Copper-Catalyzed C–H Arylation at Room Temperature. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 55, n. 15, p. 4759–4762, 2016.

YONEYAMA, H. et al. Efficient Transformation of Inactive Nitriles into 5-Substituted 1H-Tetrazoles Using Microwave Irradiation and Their Applications. **Synthesis**, v. 45, n. 08, p. 1051–1059, 2013.

YOSHIKAWA, T. et al. Synthesis of 2,5-diaryloxazoles through van Leusen reaction and copper-mediated direct arylation. **Tetrahedron Letters**, v. 50, n. 26, p. 3273–3276, 2009.

ZHANG, H.-Z.; ZHAO, Z.-L.; ZHOU, C.-H. Recent advance in oxazole-based medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 144, p. 444–492, 2018.

ZHAO, D. et al. Efficient and Practical Synthesis of (*R*)-2-Methylpyrrolidine. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 71, n. 11, p. 4336–4338, 2006.

ZHENG, W.; THORNE, N.; MCKEW, J. C. Phenotypic screens as a renewed approach for drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 18, n. 21–22, p. 1067–1073, 2013.

ZHENG, X.; LIU, W.; ZHANG, D. Recent Advances in the Synthesis of Oxazole-Based Molecules via van Leusen Oxazole Synthesis. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1594, 2020.

ZHU, H.-J.; PITTMAN, C. U. Reductions of Carboxylic Acids and Esters with NaBH₄ in Diglyme at 162°C. **Synthetic Communications**, v. 33, n. 10, p. 1733–1750, 2003.

ZIMMERMANN, L. A. et al. Synthesis and SAR of new isoxazole-triazole bis-heterocyclic compounds as analogues of natural lignans with antiparasitic activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 17, p. 4850–4862, 2018.

ZUMA, A. A.; SOUZA, W. DE. Histone deacetylases as targets for antitrypanosomal drugs. **Future Science OA**, v. 4, n. 8, p. FSO325, 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A – INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES DO *DOCKING* MOLECULAR

APÊNDICE B – INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

APÊNDICE A – INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES DO *DOCKING* MOLECULAR

Tabela A1 – Dados das proteínas utilizadas no *docking* molecular e informações dos parâmetros utilizados para a validação do procedimento

PDB ID	Resolução	Ramachandran outliers	Cadeia	Parâmetros de docking ^a
1ME4	1,2 Å	1,1%	A	40 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
3W2J	1,4 Å	0,7%	A	20 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
5BRH	1,9 Å	1,5%	A	40 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
1S0J	1,6 Å	3,2%	A	20 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
3HBB	3,0 Å	3,8%	A	20 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
4C0C	2,0 Å	1,4%	A	40 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
1MXF	2,3 Å	3,6%	A	100 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
4DWB	2,1 Å	2,3%	A	40 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
1OGK	2,8 Å	4,8%	E	20 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
5AQ1	2,6 Å	2,1%	A	20 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
4QFH	1,8 Å	1,1%	A	20 GA runs, box com raio de 6 Å a partir do ligante
3QV9	2,1 Å	2,1%	A	100 GA runs, box com raio de 12 Å a partir do ligante

^aA validação foi feita através do *redocking* do ligante cristalográfico, preparado conforme descrito na seção Materiais e Métodos. Em todos os casos a *search efficiency* foi de 100% e todas as torções dos ligantes foram tratadas como flexíveis, incluindo amidas e anéis não-aromáticos.

Tabela A2 – *Fitness score* da pose de menor RMSD e a sua posição na lista decrescente de *scores* nas funções de pontuação CHEMPLP, GoldScore e ChemScore

PDB ID	ChemPLP		GoldScore		ChemScore	
	Score (rank)	RMSD	Score (rank)	RMSD	Score (rank)	RMSD
1ME4	75.61 (7)	1,36	1.11 (38)	1,36	19.63 (26)	1,12
3W2J	64.38 (6)	0,83	33.75 (2)	0,83	19.16 (1)	3,69
5BRH	56.90 (18)	2,18	44.15 (1)	2,18	12.45 (36)	3,53
1S0J	73.86 (8)	2,30	44.54 (3)	2,30	7.06 (15)	2,37
3HBB	77.21 (11)	1,28	15.63 (5)	1,28	25.70 (18)	2,04
4C0C	96.31 (36)	1,41	51.86 (4)	1,41	49.18 (2)	1,87
1MXF	69.15 (5)	2,04	16.77 (84)	2,04	17.04 (56)	1,56
4DWB	48.71 (13)	1,34	38.70 (29)	1,34	14.93 (14)	1,46
1OGK	75.92 (16)	0,47	43.53 (16)	0,47	20.47 (1)	0,42
5AQ1	54.43 (2)	0,49	36.66 (20)	0,49	18.21 (1)	0,56
4QFH	49.41 (15)	0,70	31.30 (3)	0,70	13.48 (2)	1,73
3QV9	44.63 (99)	1,13	18.37 (89)	1,13	21.35 (30)	2,5

Tabela A3 – Distância (Å) das interações visualizadas por *docking* molecular entre os compostos **33** e **122** e a enzima diidrofolato redutase (3HBB).

AA	Composto 33 (Å)	Composto 122 (Å)
Val 26	3,84 (Hf)	–
Ala 28	3,27 (Hf)	–
Ile 41	3,77 (Hf)	–
Phe 52	3,77 (Hf)	2,97 (Hf)
Thr 80	3,89 (Hf)	–
Arg 84	–	–
Phe 88	–	3,86 (Hf)
Leu 91	–	3,80 (Hf)
Arg 94	–	3,31; 2,05 (HBA)
Ile 154	–	3,53 (π - π)
Tyr 160	3,36 (HBA e π - π)	–

As interações são classificadas como hidrofóbicas (Hf), π - π ou de hidrogênio. No último caso, o composto pode estar atuando como acceptor (HBA) ou doador (HBD).

Tabela A4 – Distância (Å) das interações visualizadas por *docking* molecular entre os compostos **33** e **122** e a enzima dUTPase (1OGK).

AA	Composto 33 (Å)	Composto 122 (Å)
Trp 61	3,88 (Hf)	2,87; 3,92 (Hf)
Phe 84	3,35 (Hf)	2,86; 2,88 (Hf)
Lys 197	2,16 (HBA)	2,31 (HBA)
Arg 204	2,34 (HBA)	2,07; 2,43 (HBA)
Lys 216	1,95 (HBA)	–
Asn 224	2,33 (HBA)	2,69 (HBA)

As interações são classificadas como hidrofóbicas (Hf) ou de hidrogênio. No último caso, o composto pode estar atuando como acceptor (HBA) ou doador (HBD).

Tabela A5 – Distância (Å) das interações visualizadas por *docking* molecular entre os compostos **33** e **122** e a enzima CYP 51 (4C0C).

AA	Composto 33 (Å)	Composto 122 (Å)
Ala 291	–	3,64 (Hf)
Thr 295	–	3,95 (Hf)
Ile 350	3,61 (Hf)	–
Pro 355	3,56 (Hf)	–
Val 359	3,59; 3,78 (Hf)	3,53 (Hf)
Phe 415	3,30; 3,98 (Hf)	3,36 (Hf)
Ala 417	3,81 (XB)	–
Cys 422	–	3,41 (HBA)

As interações são classificadas como hidrofóbicas (Hf), de halogênio (XB), π - π ou de hidrogênio. No último caso, o composto pode estar atuando como acceptor (HBA) ou doador (HBD).

APÊNDICE B – INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

Tabela A6 – Importância dos componentes principais PC1–PC20 referentes aos compostos furil-oxazólicos (Seção 5.2)

PC	DESVIO PADRÃO	PROPORÇÃO DA VARIÂNCIA	PROPORÇÃO CUMULATIVA
1	2.5546	0.3263	0.3263
2	2.3745	0.2819	0.6082
3	1.5972	0.1275	0.7358
4	1.39052	0.09668	0.83243
5	1.13174	0.06404	0.89648
6	0.90930	0.04134	0.93782
7	0.64511	0.02081	0.95862
8	0.58327	0.01701	0.97563
9	0.46201	0.01067	0.98631
10	0.32003	0.00512	0.99143
11	0.27987	0.00392	0.99534
12	0.19850	0.00197	0.99731
13	0.17177	0.00148	0.99879
14	0.11191	0.00063	0.99942
15	0.09479	0.00045	0.99987
16	0.03244	0.00005	0.99992
17	0.02839	0.00004	0.99996
18	0.02361	0.00003	0.99999
19	0.01672	0.00001	1.00000
20	1.18e-05	0.00e+00	1.00e+00

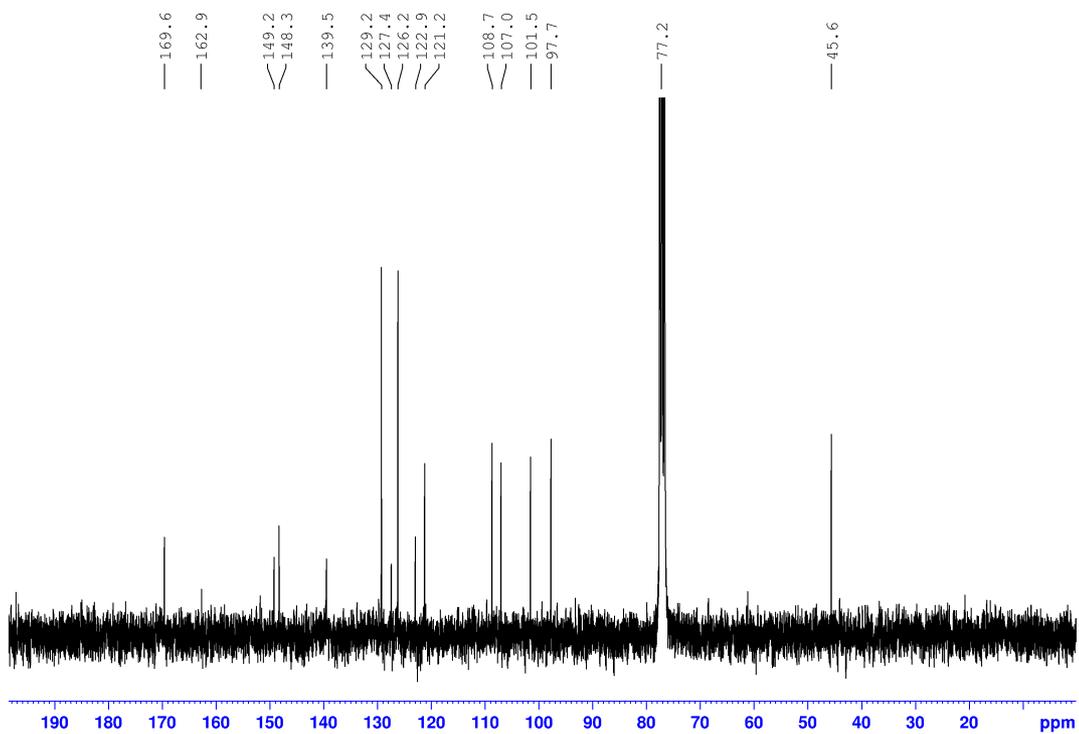
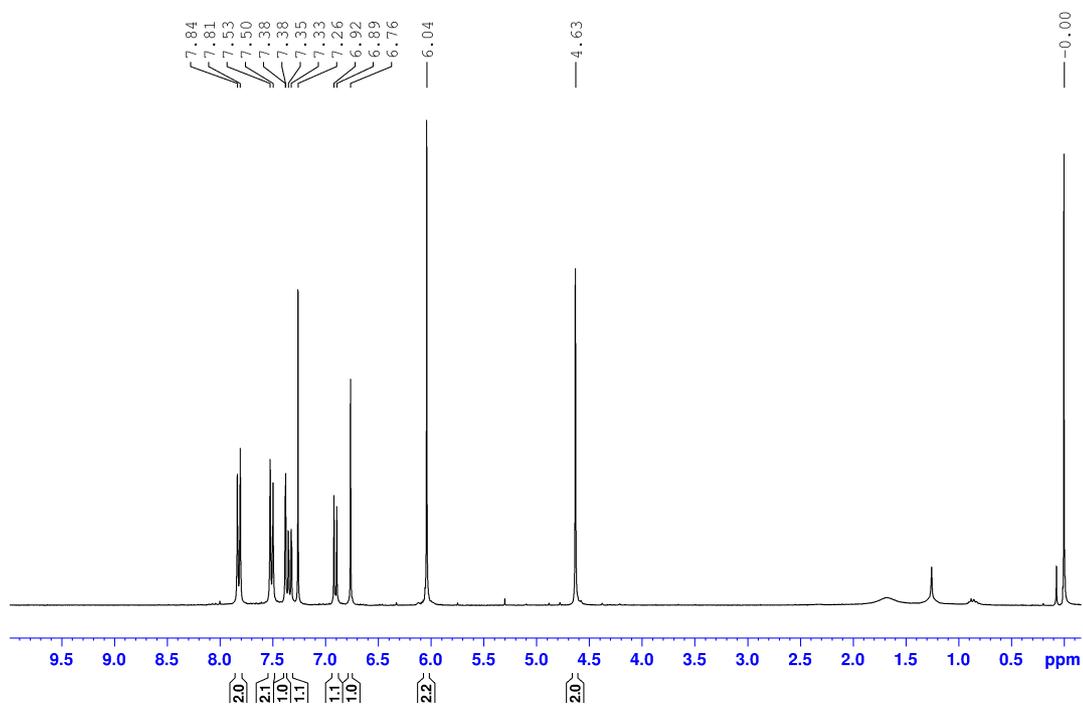
Tabela A7 – Importância dos componentes principais PC1–PC20 referentes aos compostos mais ativos deste trabalho e aos *hits* identificados pela GSK (Seção 6)

PC	DESVIO PADRÃO	PROPORÇÃO DA VARIÂNCIA	PROPORÇÃO CUMULATIVA
1	2.3780	0.2828	0.2828
2	2.3263	0.2706	0.5533
3	1.5493	0.1200	0.6734
4	1.36667	0.09339	0.76675
5	1.14728	0.06581	0.83256
6	0.98640	0.04865	0.88121
7	0.88051	0.03877	0.91998
8	0.62484	0.01952	0.93950
9	0.55793	0.01556	0.95506
10	0.49722	0.01236	0.96742
11	0.42805	0.00916	0.97658
12	0.38088	0.00725	0.98384
13	0.36271	0.00658	0.99042
14	0.32318	0.00522	0.99564
15	0.18784	0.00176	0.99740
16	0.14991	0.00112	0.99853
17	0.12378	0.00077	0.99929
18	0.09401	0.00044	0.99973
19	0.07286	0.00027	1.00000
20	2.141e-05	0.000e+00	1.000e+00

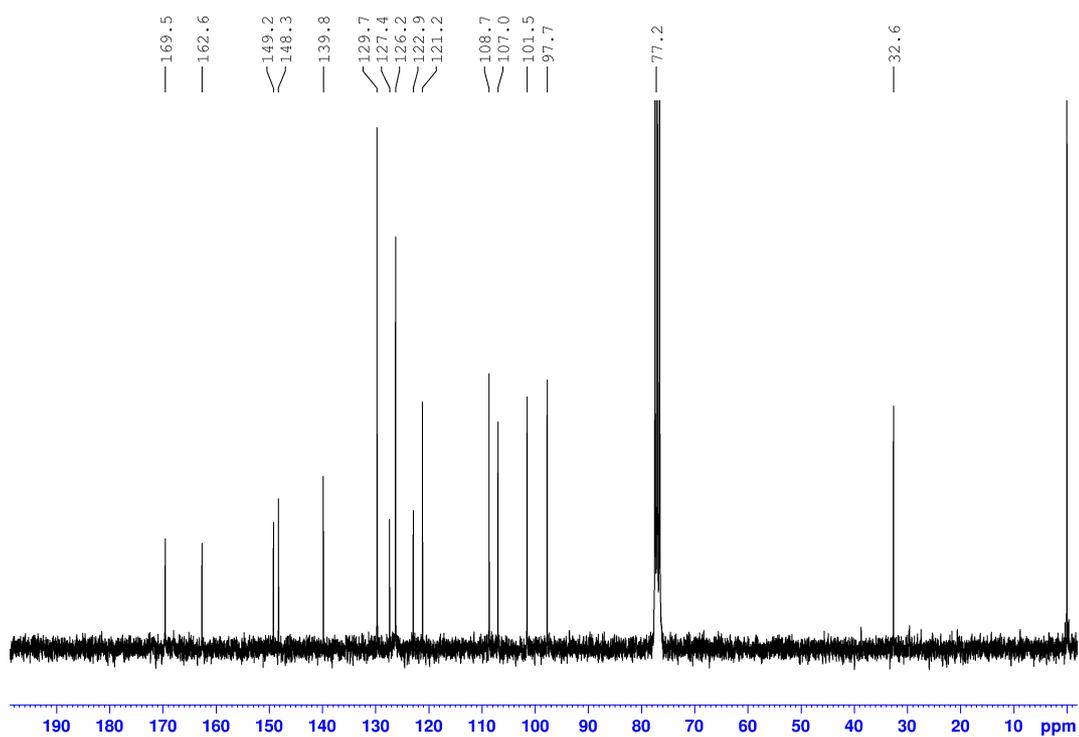
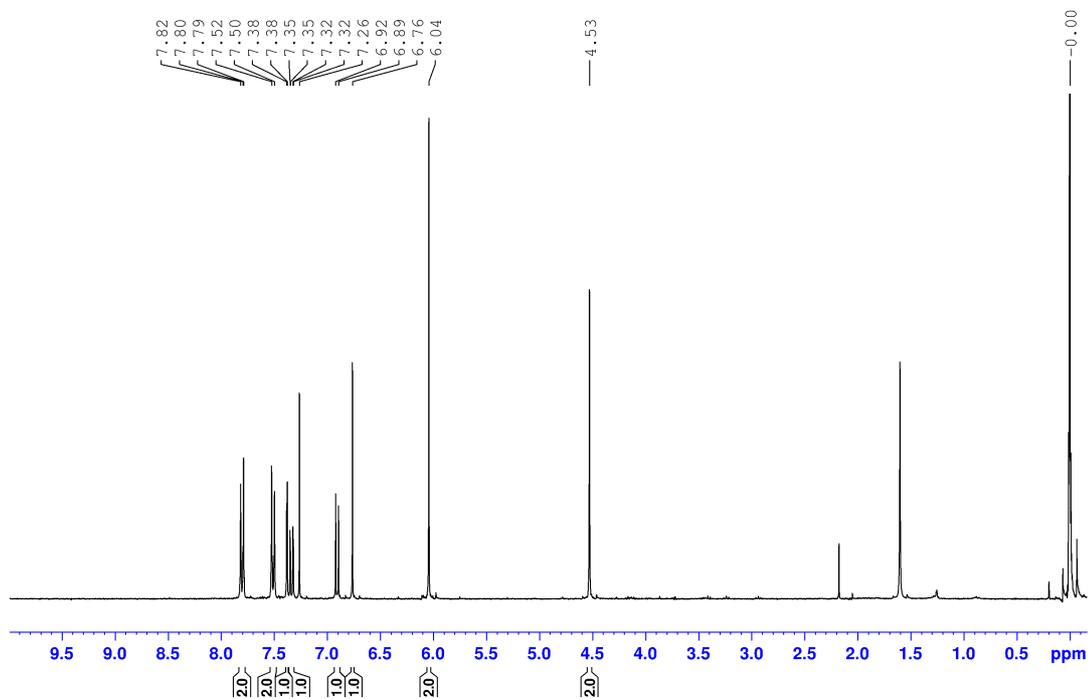
ANEXOS

ANEXO A – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C DOS COMPOSTOS FINAIS
APRESENTADOS NESTE TRABALHO

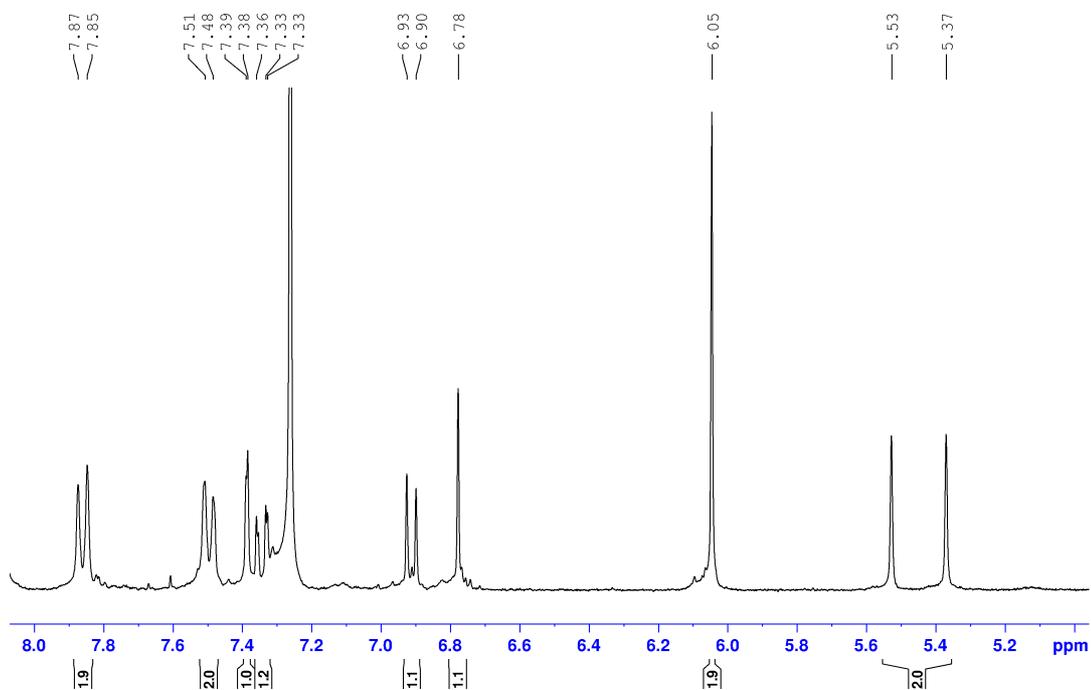
Anexo A1 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)isoxazol (**33**)



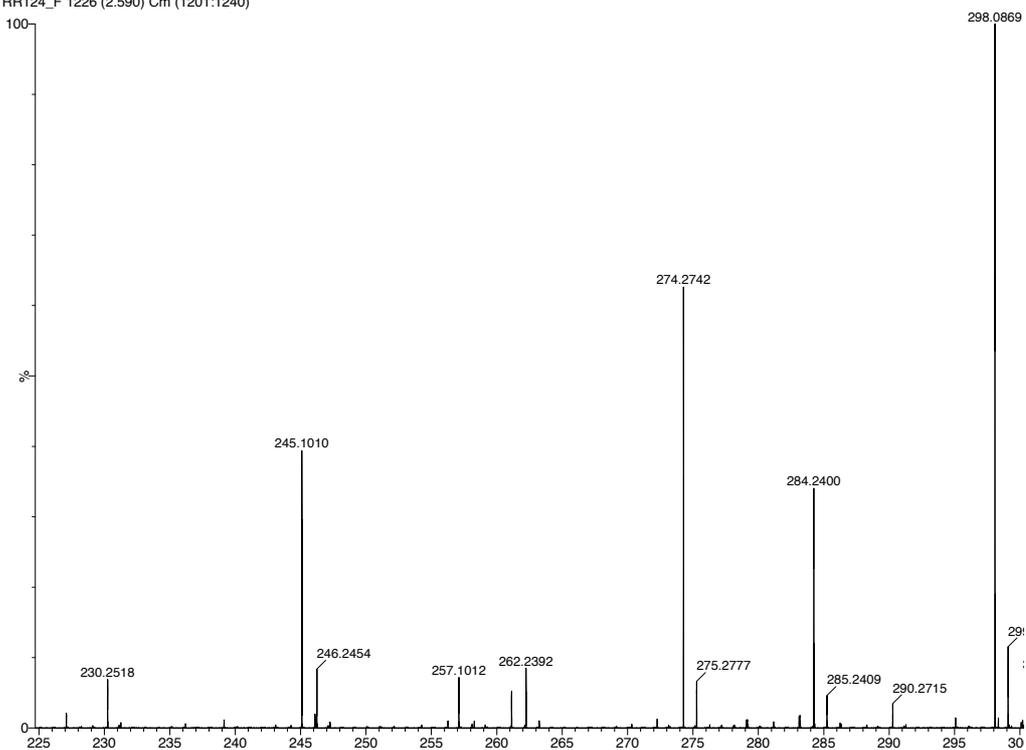
Anexo A2 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-bromometilfen-1-il)isoxazol (41)



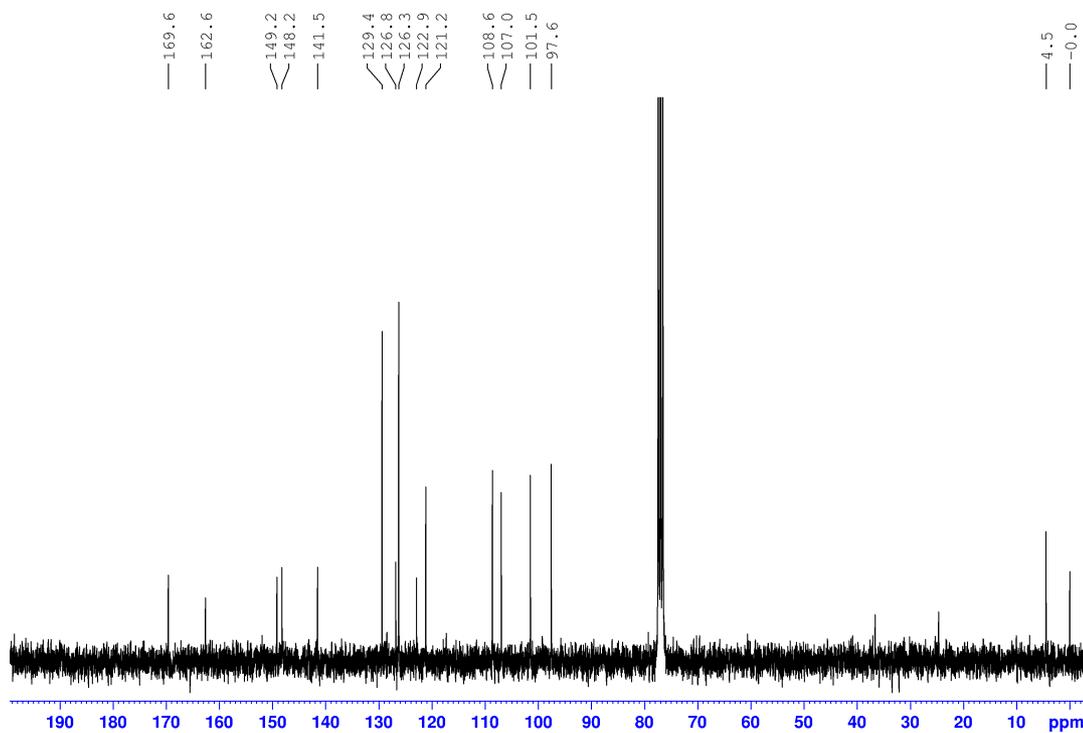
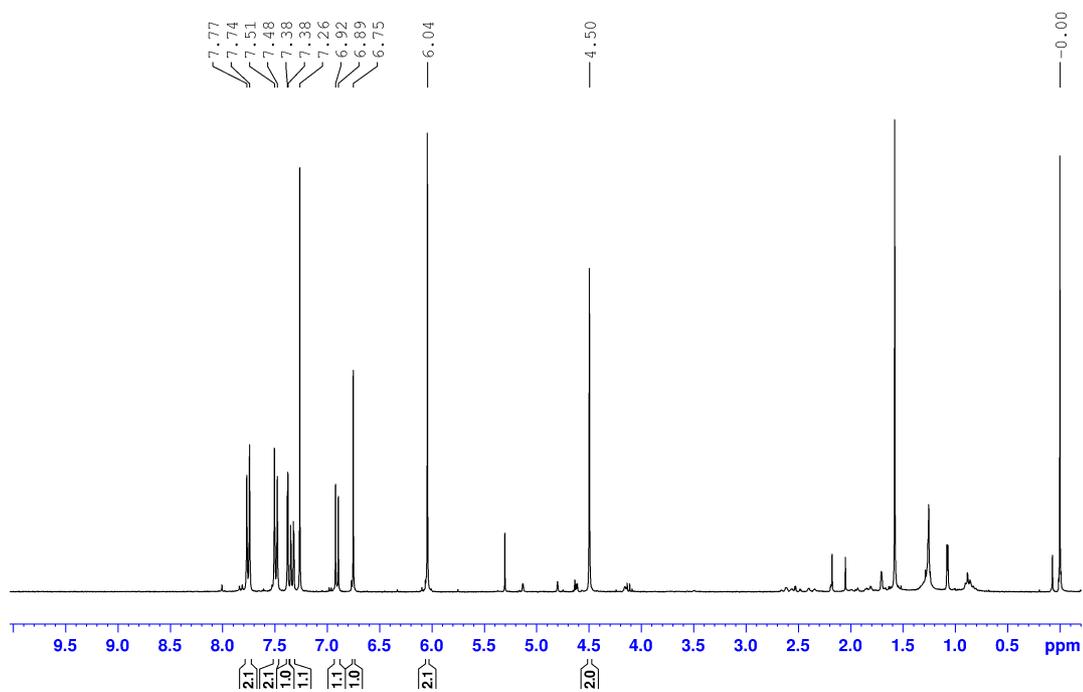
Anexo A3 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-fluormetilfen-1-il)isoxazol (**42**)



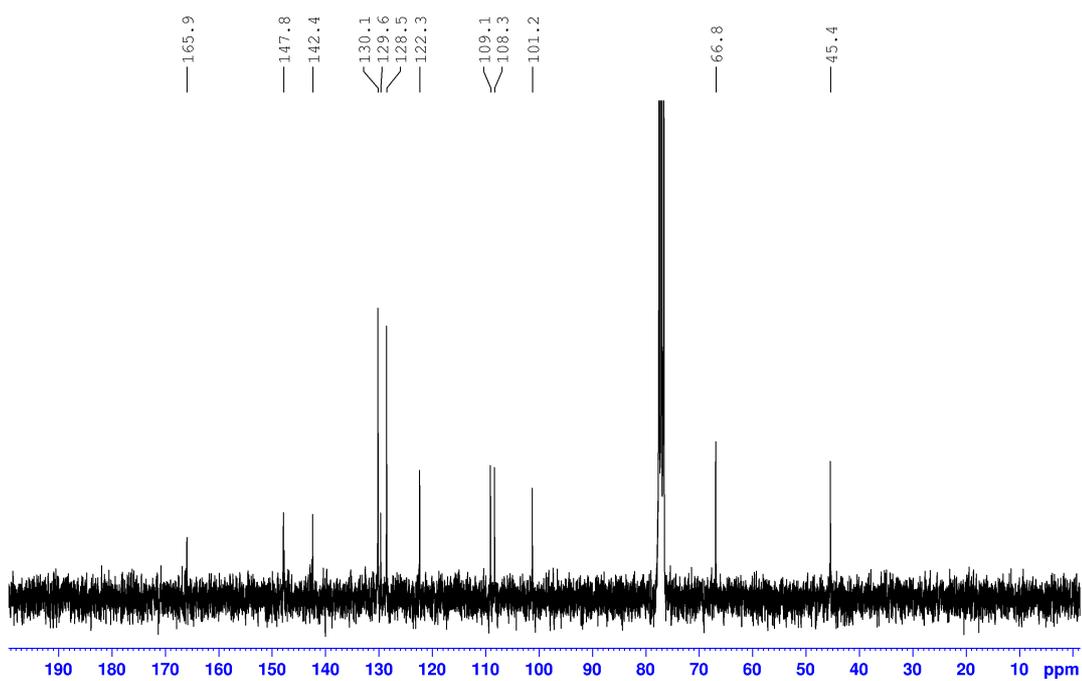
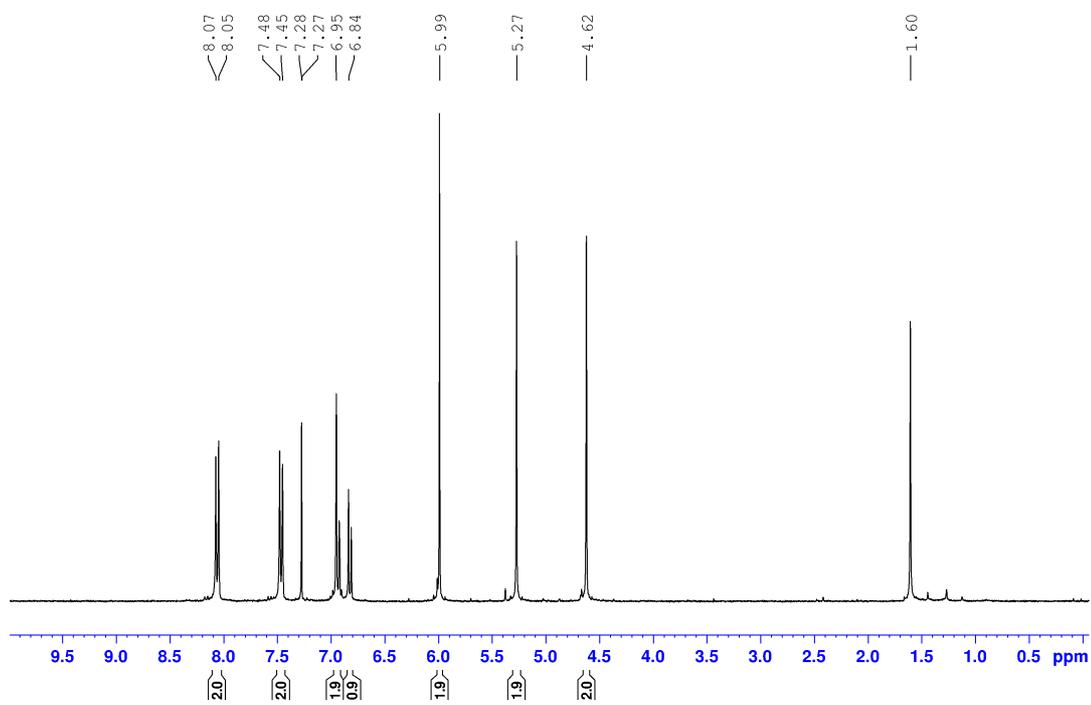
RR124_F 1226 (2.590) Cm (1201:1240)



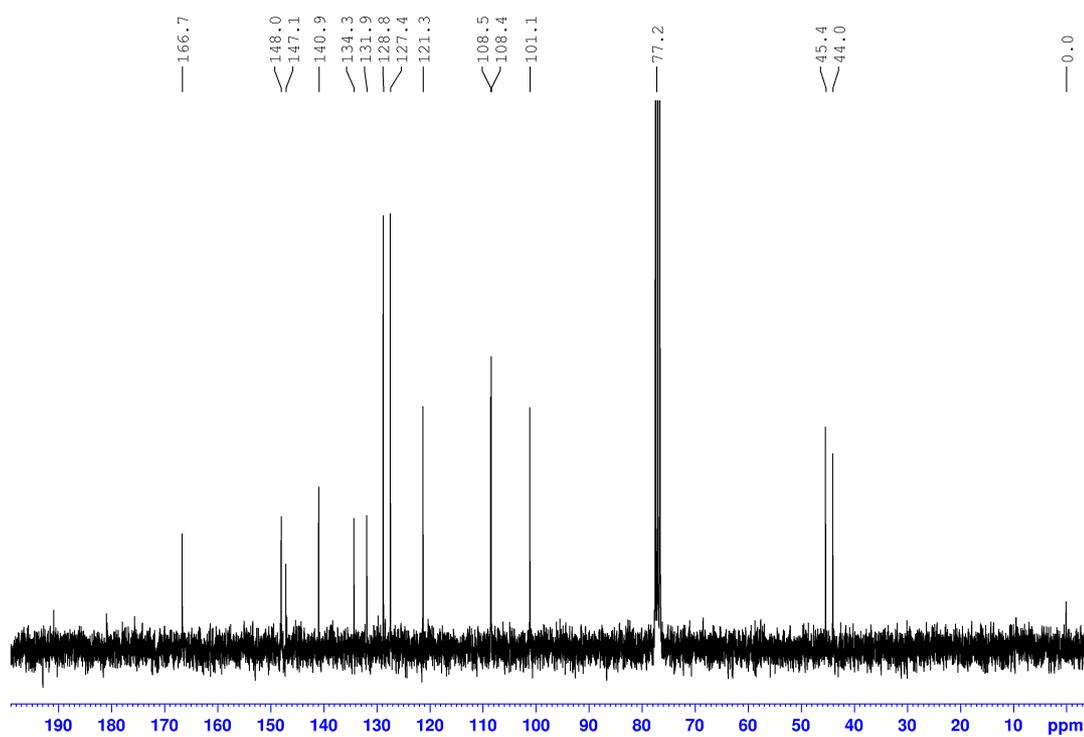
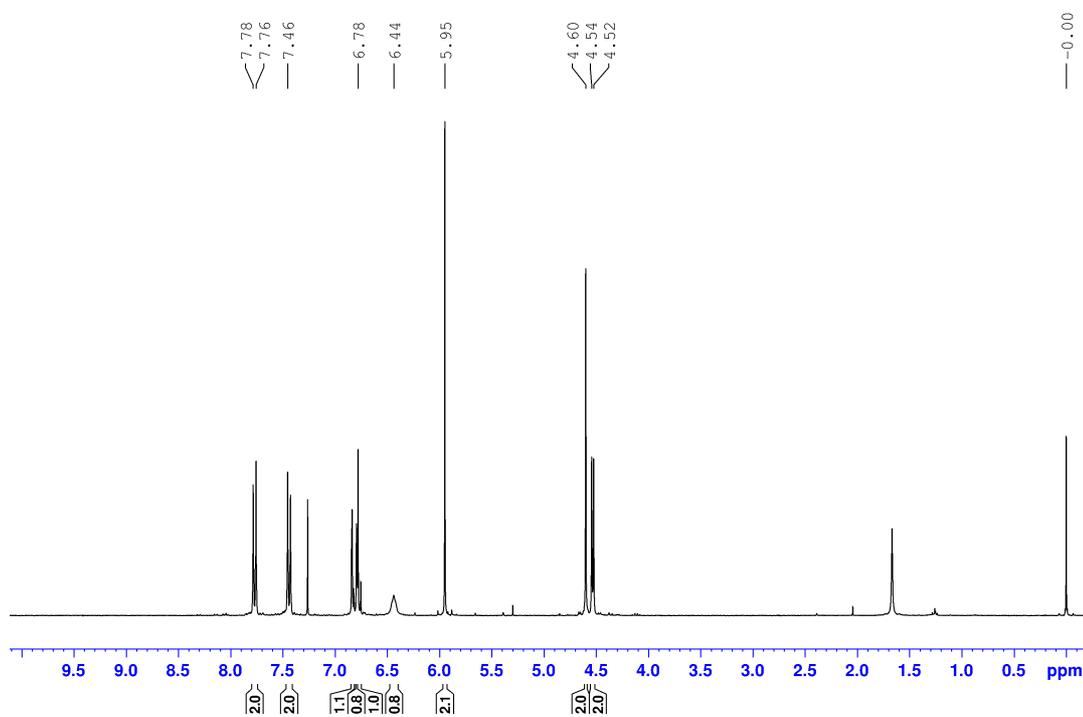
Anexo A4 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-iodometilfen-1-il)isoxazol (43)



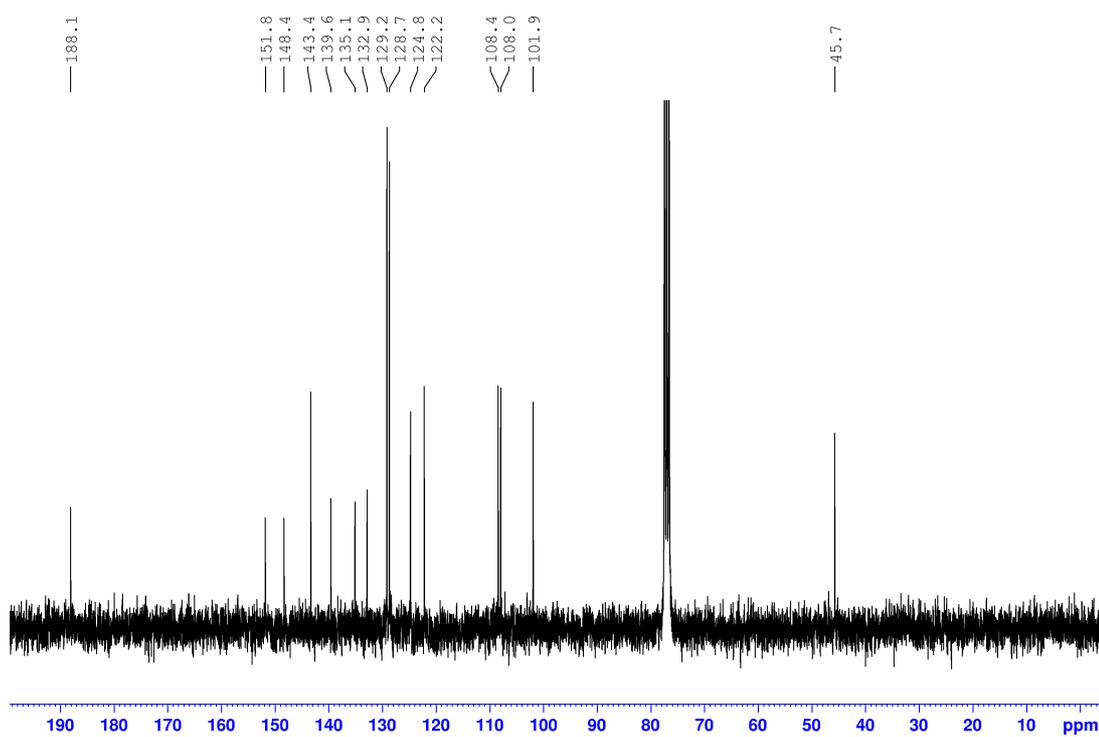
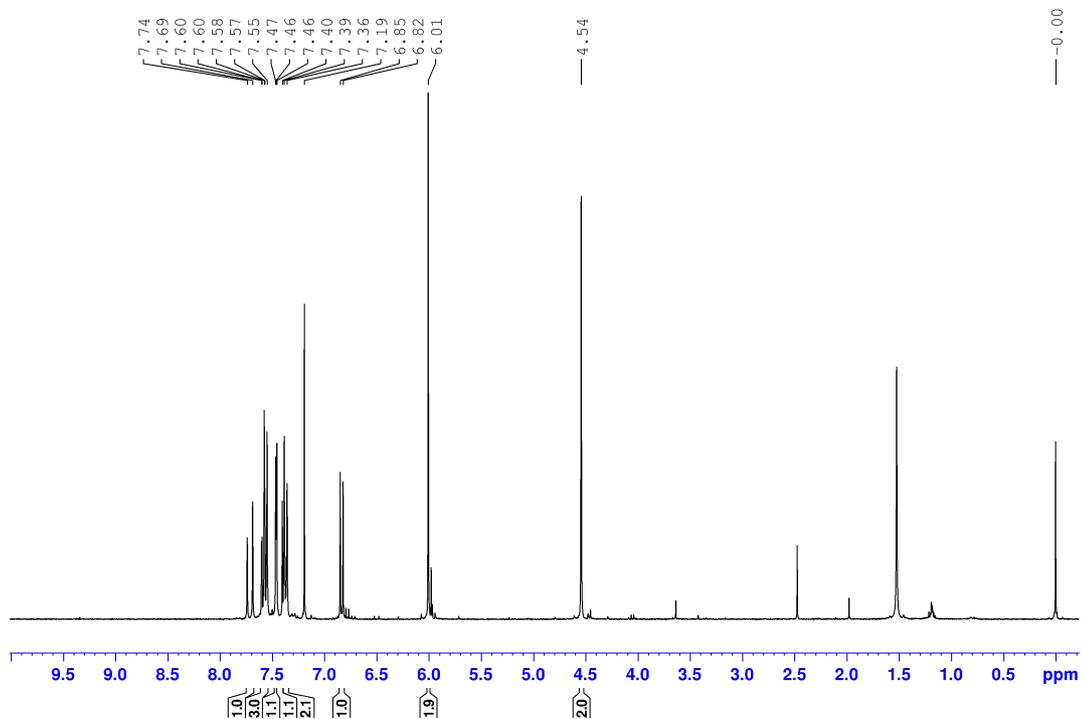
Anexo A5 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 4-(clorometil)benzoato de 3,4-metilenodioxibenzila (**45**)



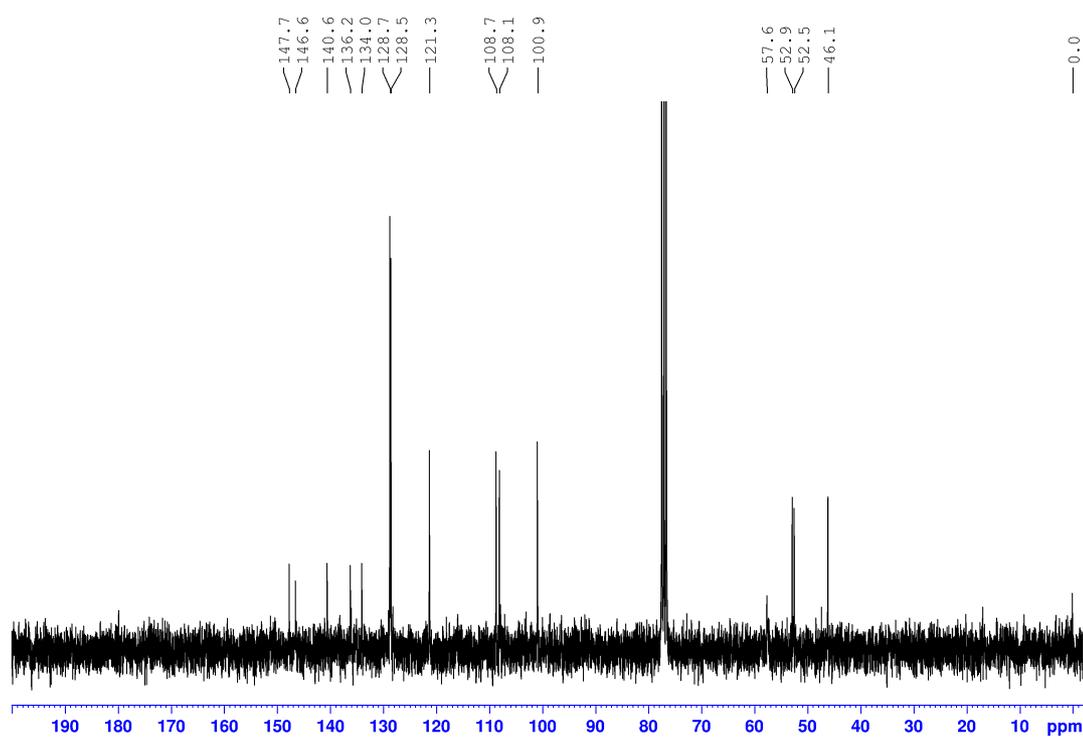
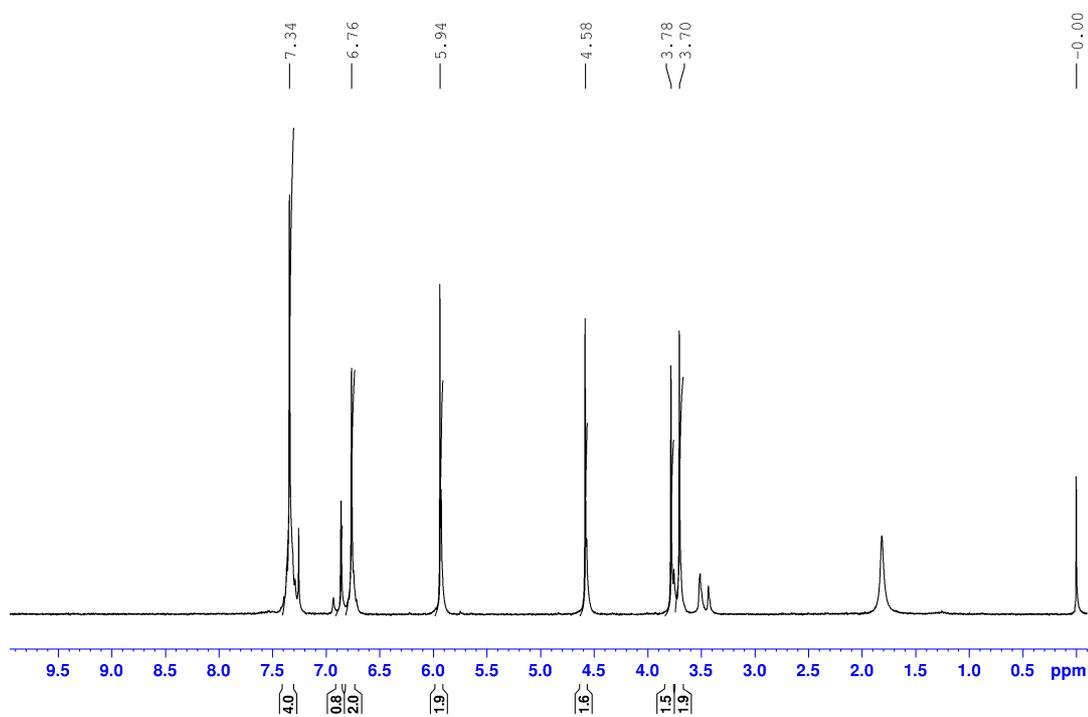
Anexo A6 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): *N*-(3,4-metilenodioxibenzil)-4-(clorometil)benzamida (**46**)



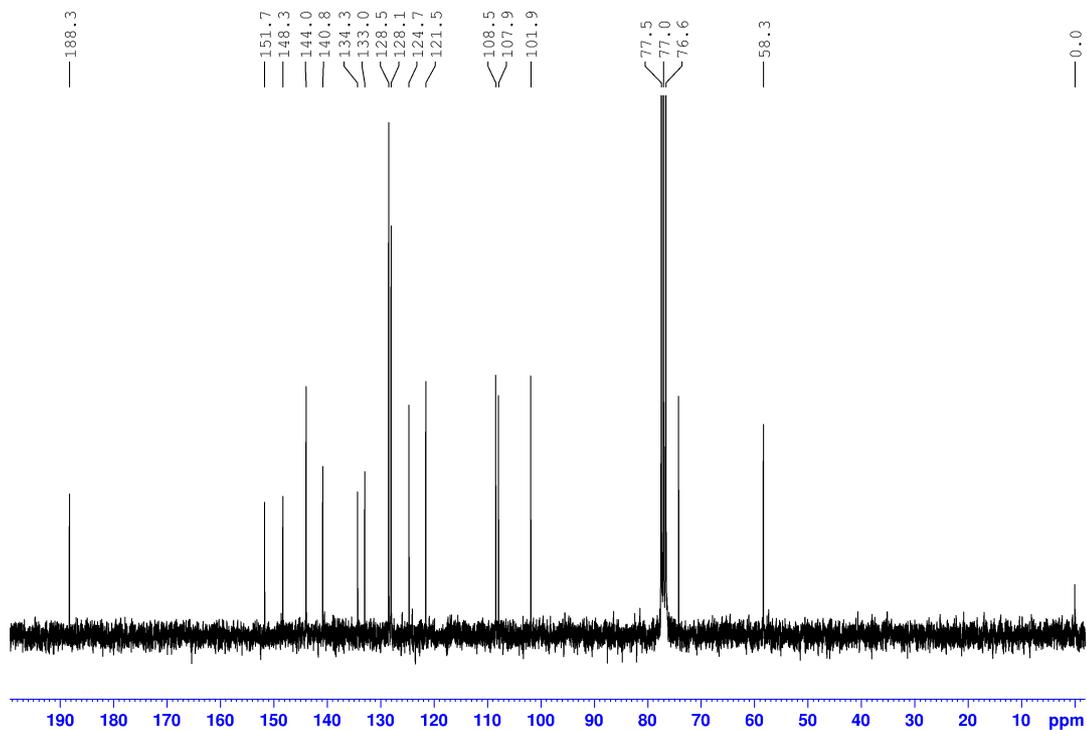
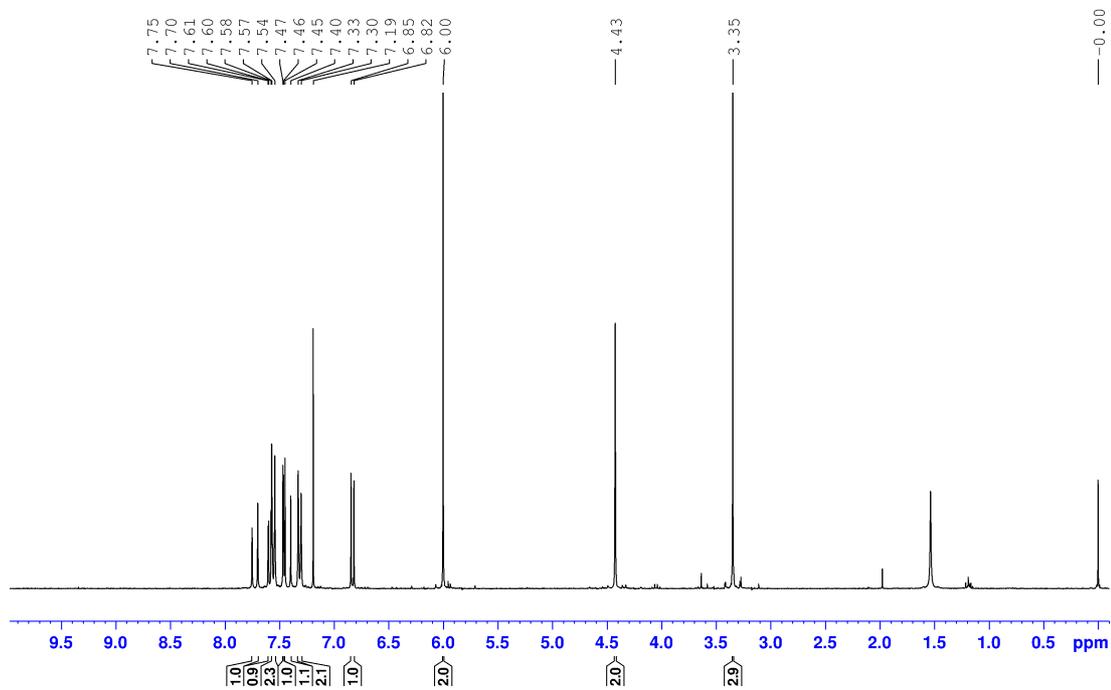
Anexo A7 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): (*E*)-1-(3,4-metilenodioxifenil)-3-(4-(clorometil)fenil)prop-2-en-1-ona (49)



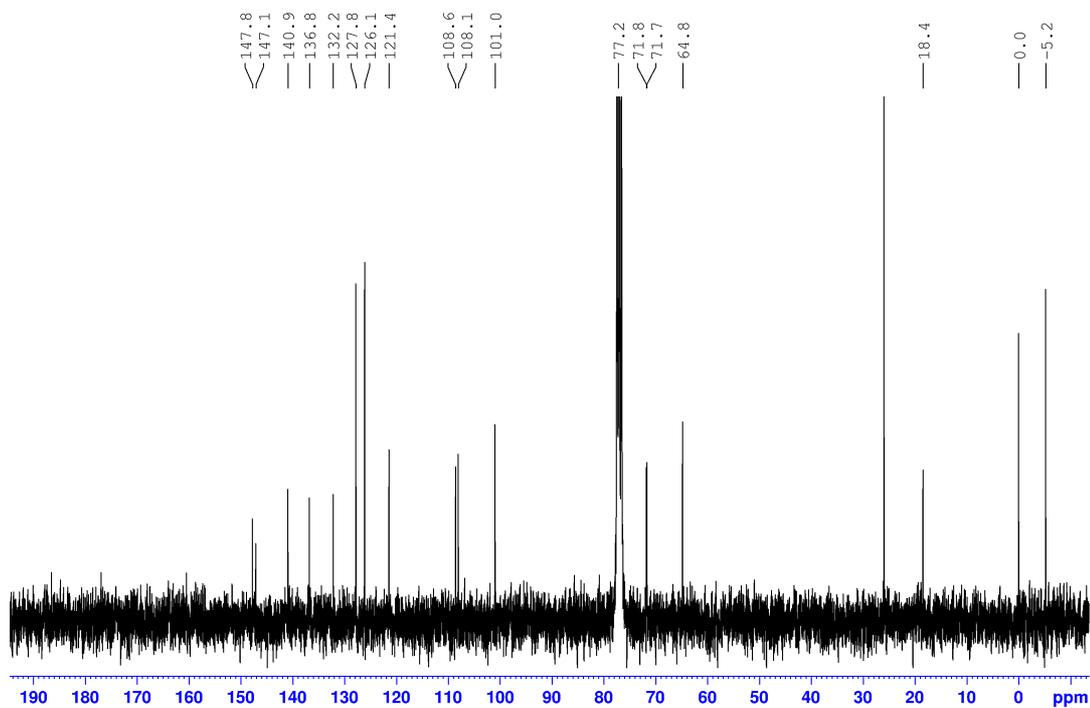
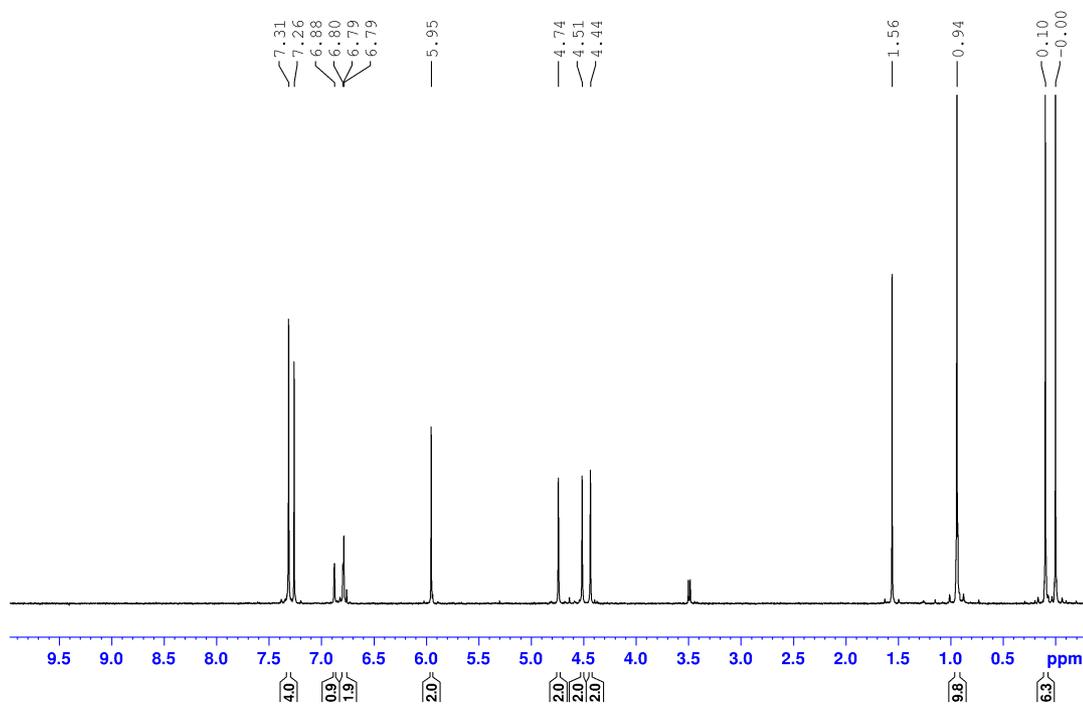
Anexo A8 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): *1-(3,4-metilenodioxibenz-1-il)-N-(4-clorometil)benzilamina (50)*



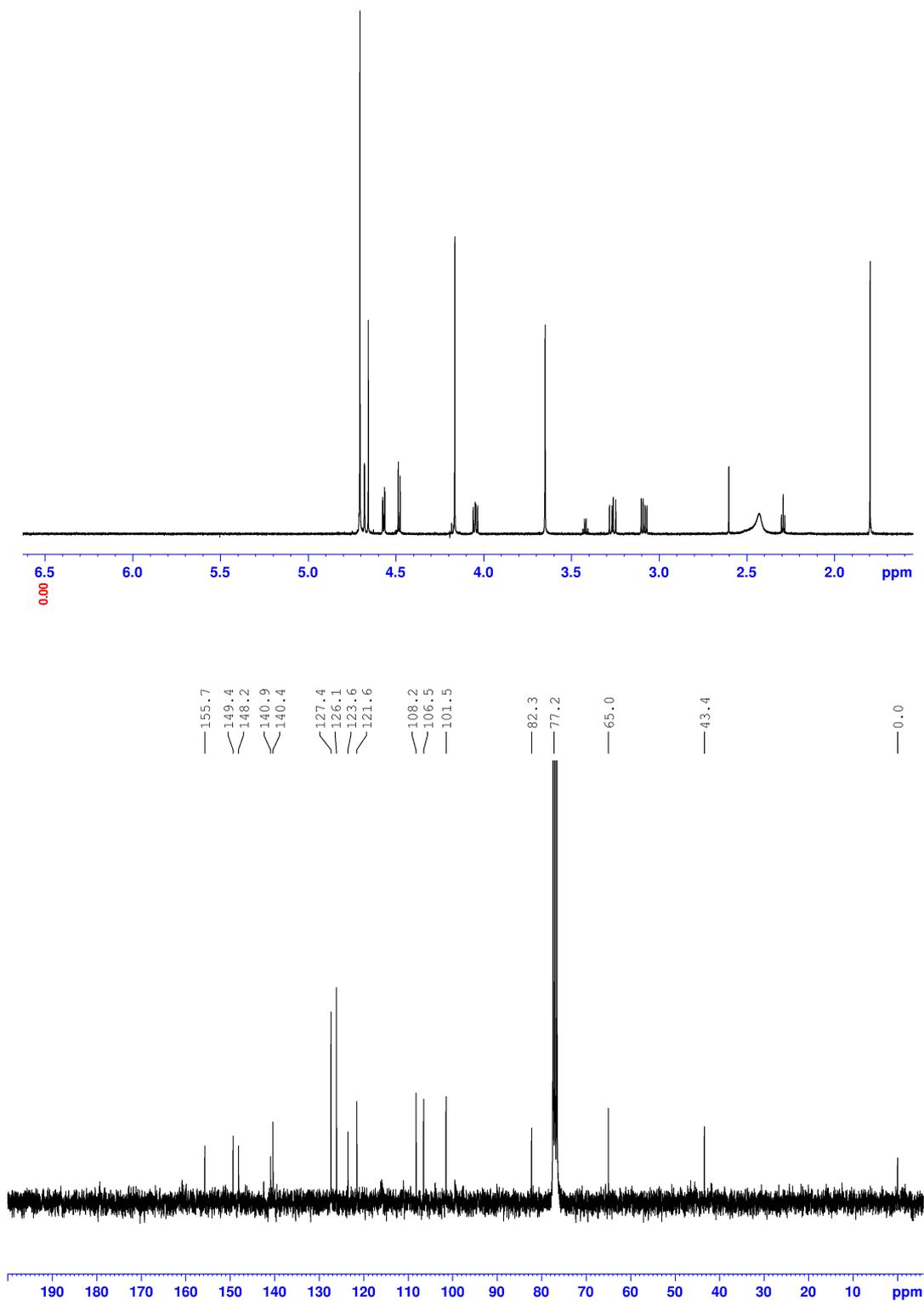
Anexo A9 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): (*E*)-1-(3,4-metilenodioxifenil)-3-(4-(metoximetil)fenil)prop-2-en-1-ona (**52**)



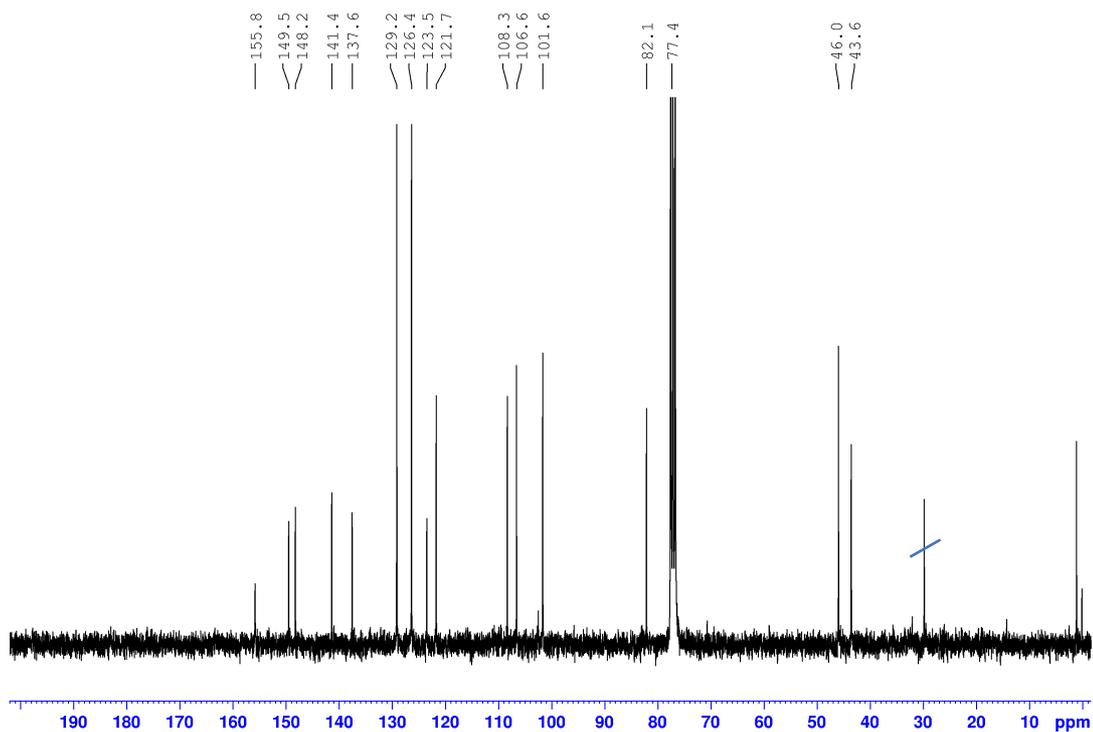
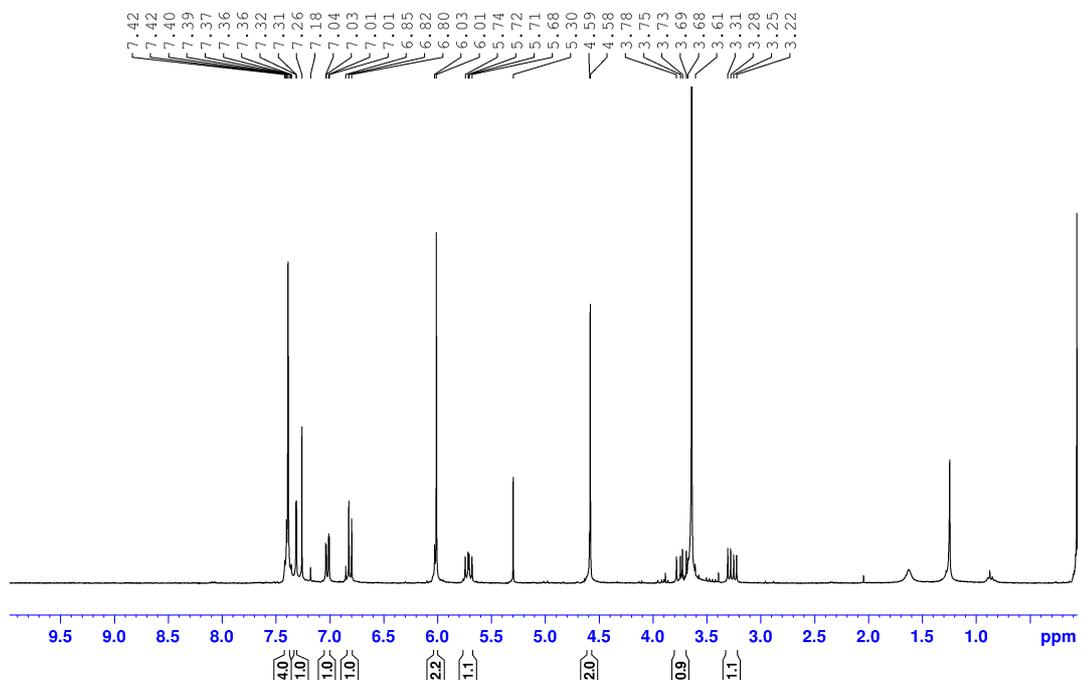
Anexo A10 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 3,4-metilenodioxibenzoxi-((4-terc-butildimetilsilano)metoxi)benzil (**56**)



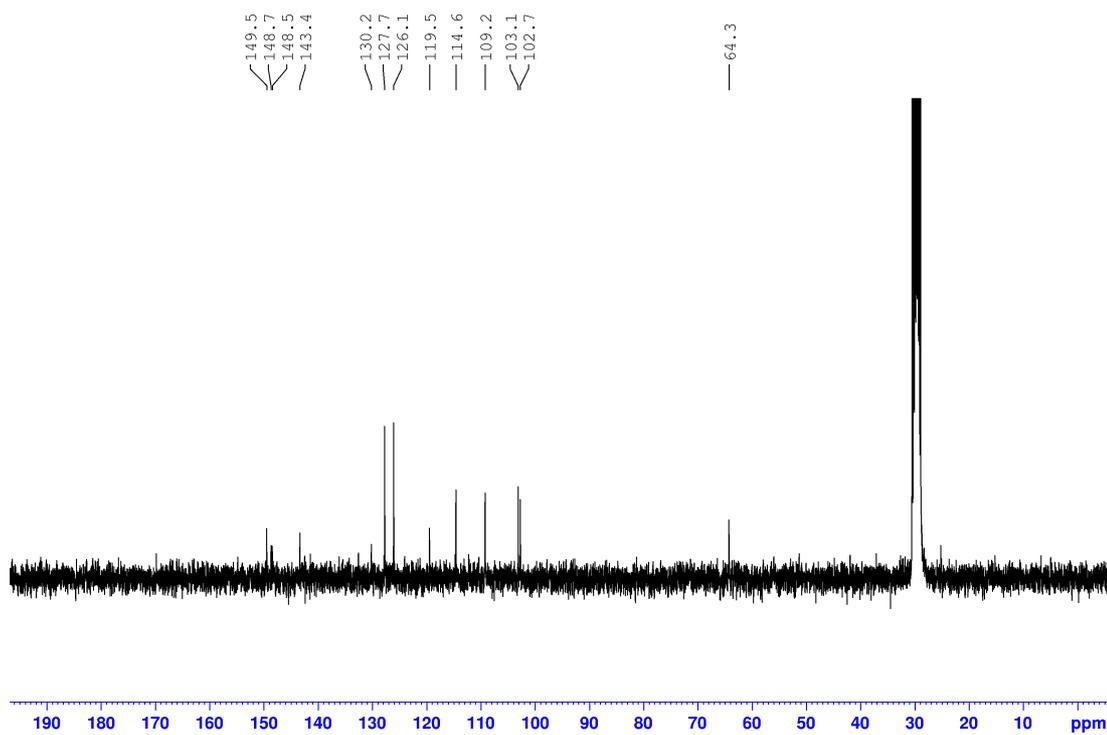
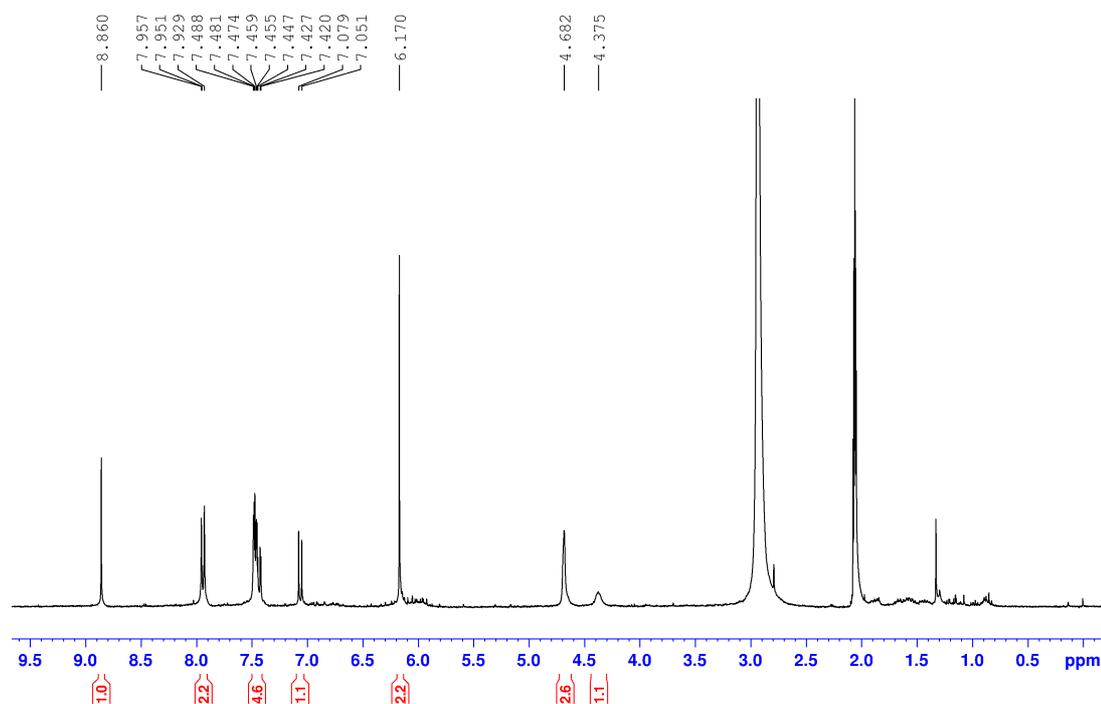
Anexo A11 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-hidroximetilfen-1-il)isoxazolina (**61**)



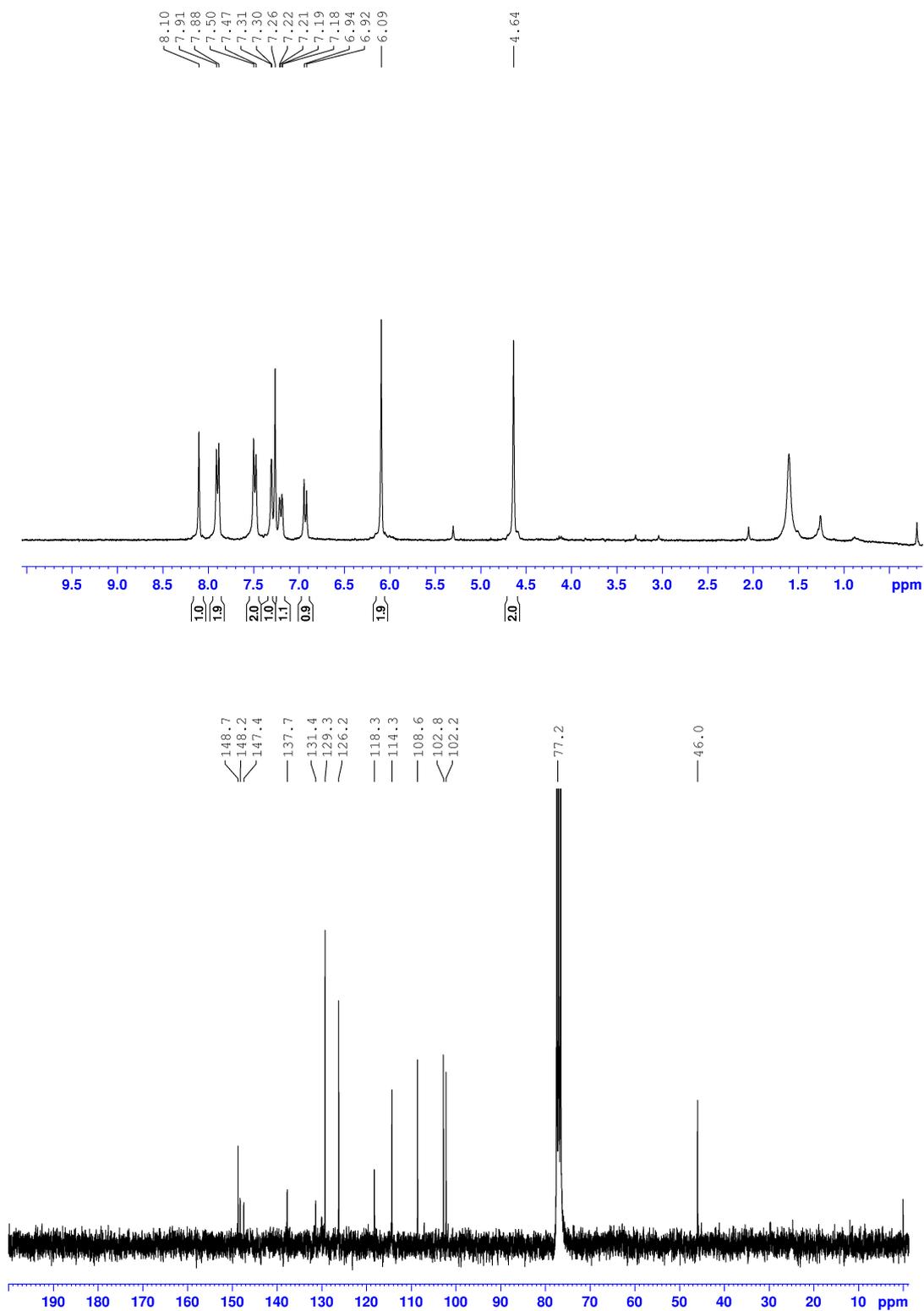
Anexo A12 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)isoxazolina (**62**)



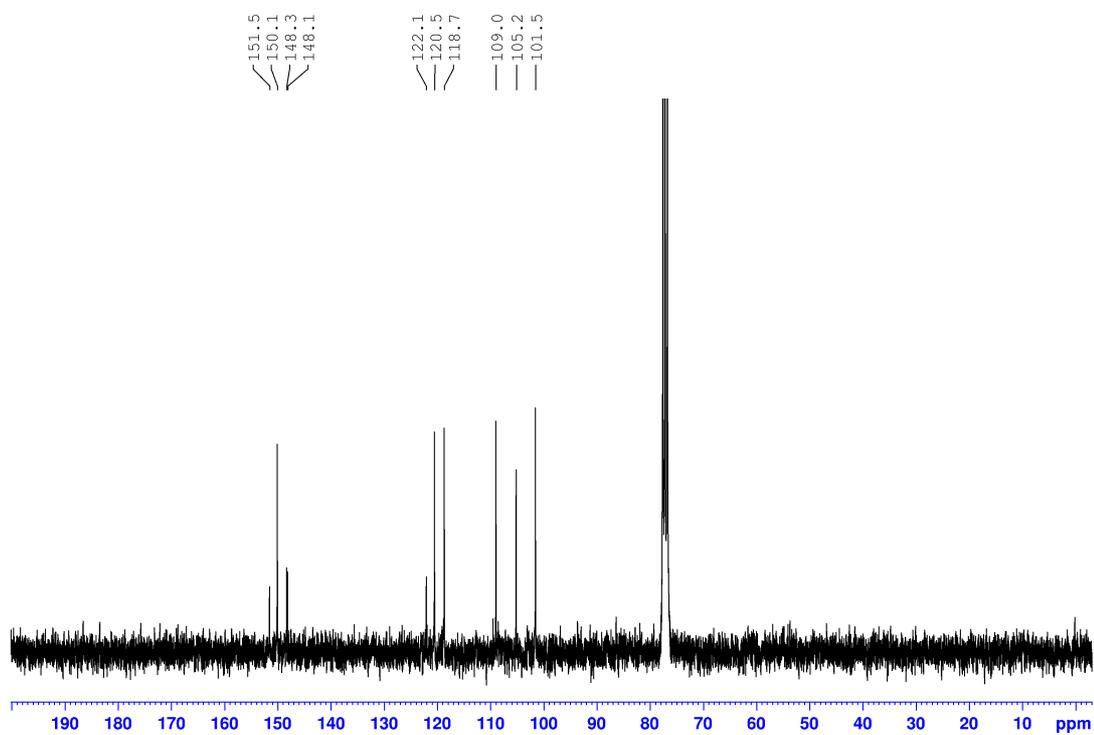
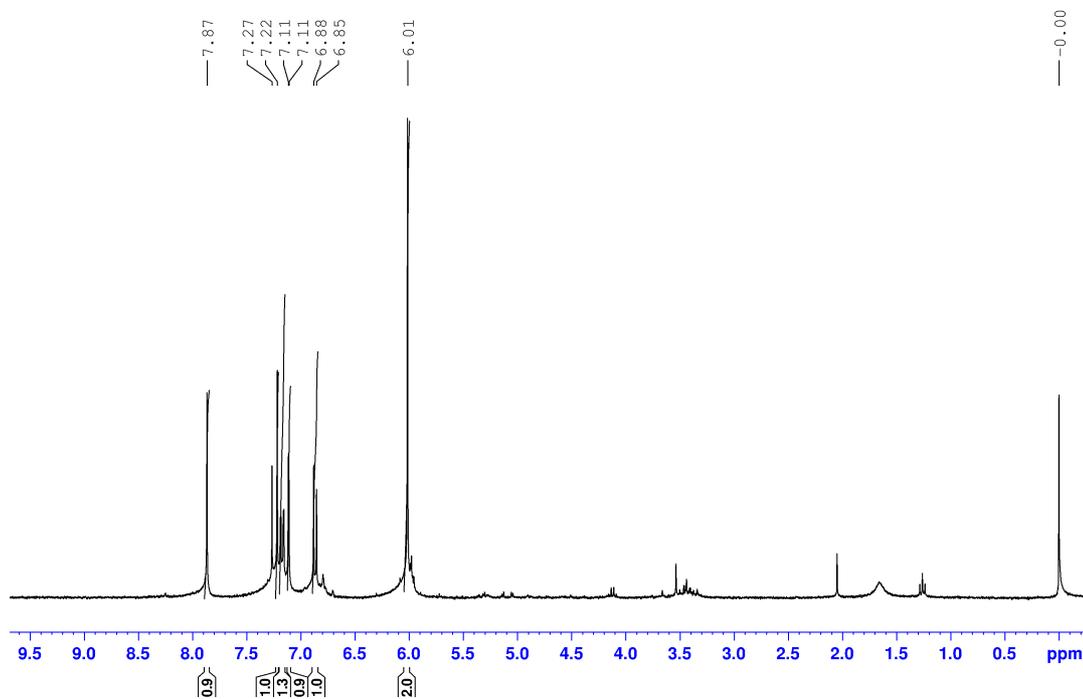
Anexo A13 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): *1-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-4-(4-hidroximetilfen-1-il)triazol (65)*



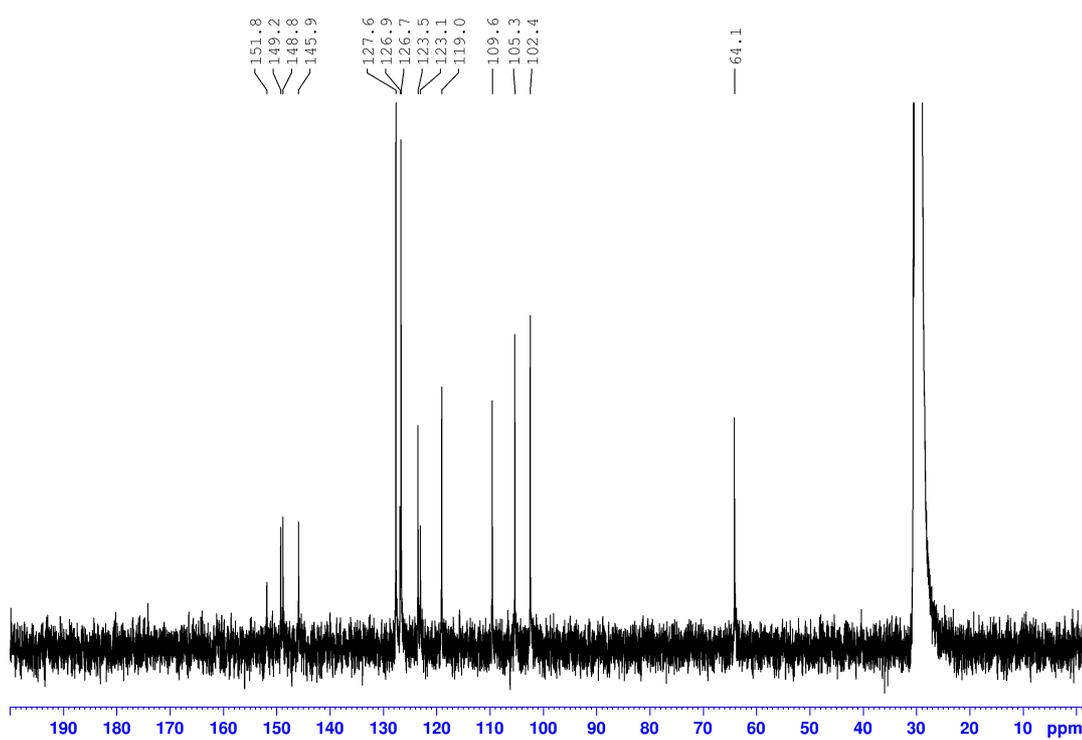
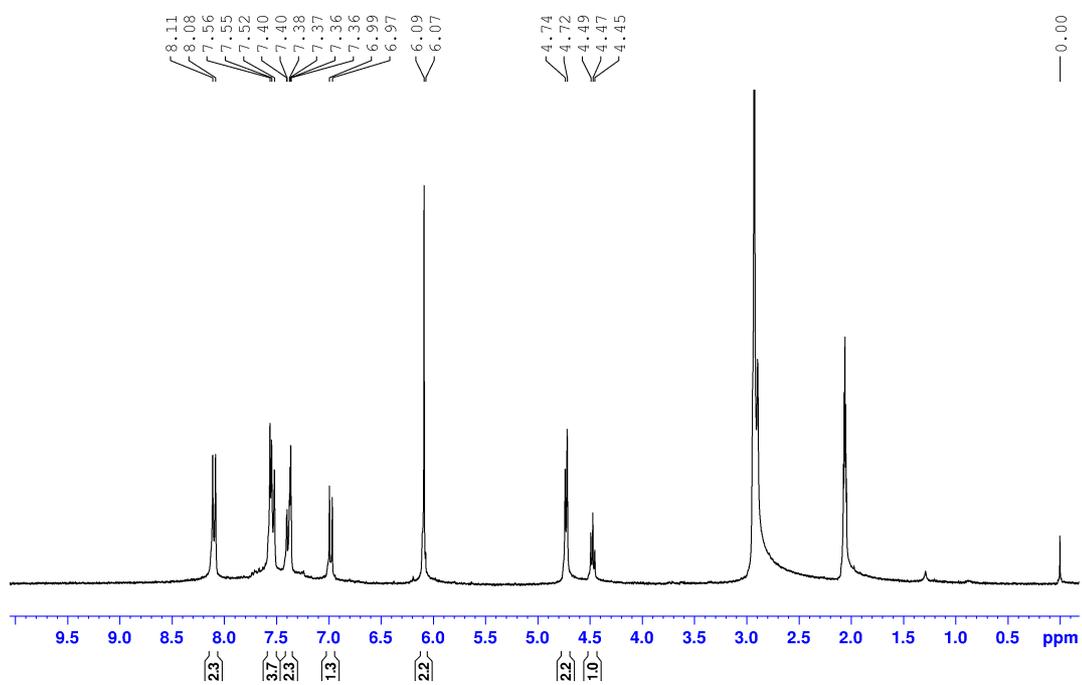
Anexo A14 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): *1-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-4-(4-clorometilfen-1-il)triazol* (**66**)



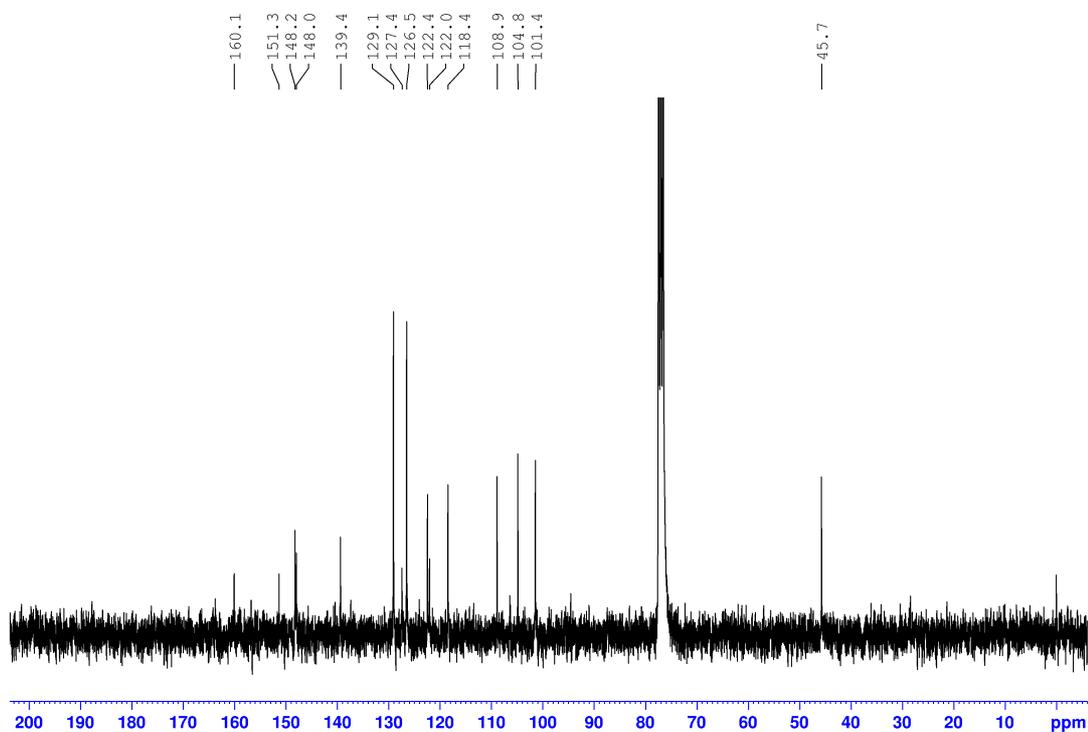
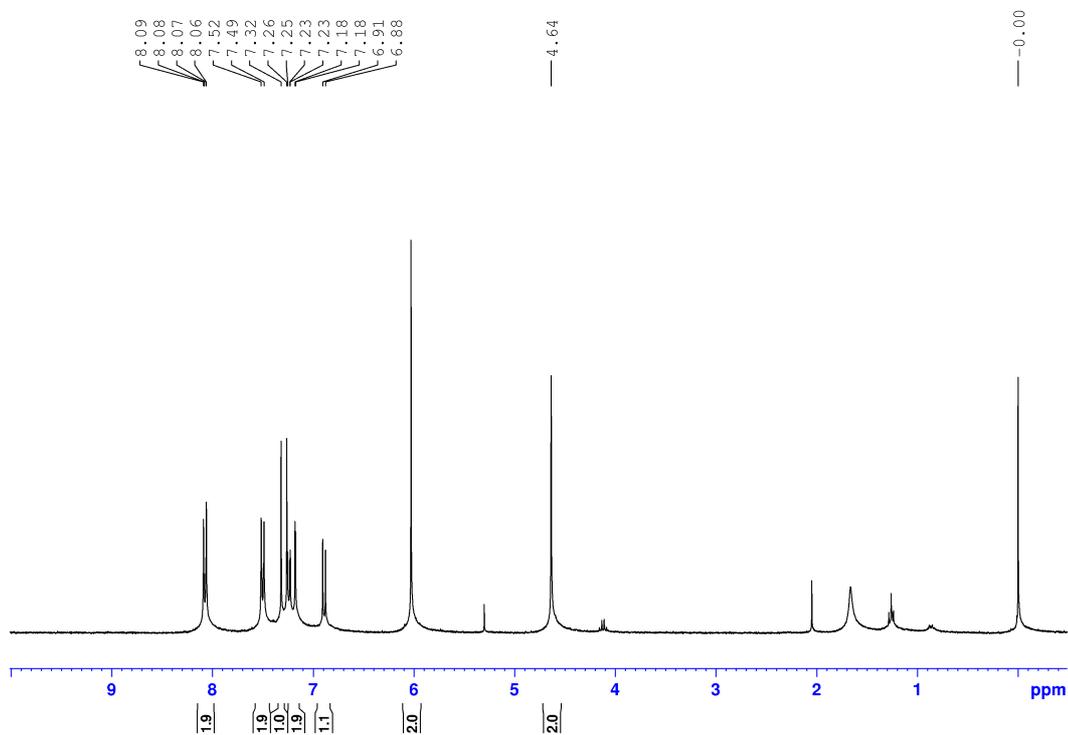
Anexo A15 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 5-(3,4-metilenodioxifen-1-il)oxazol (68)



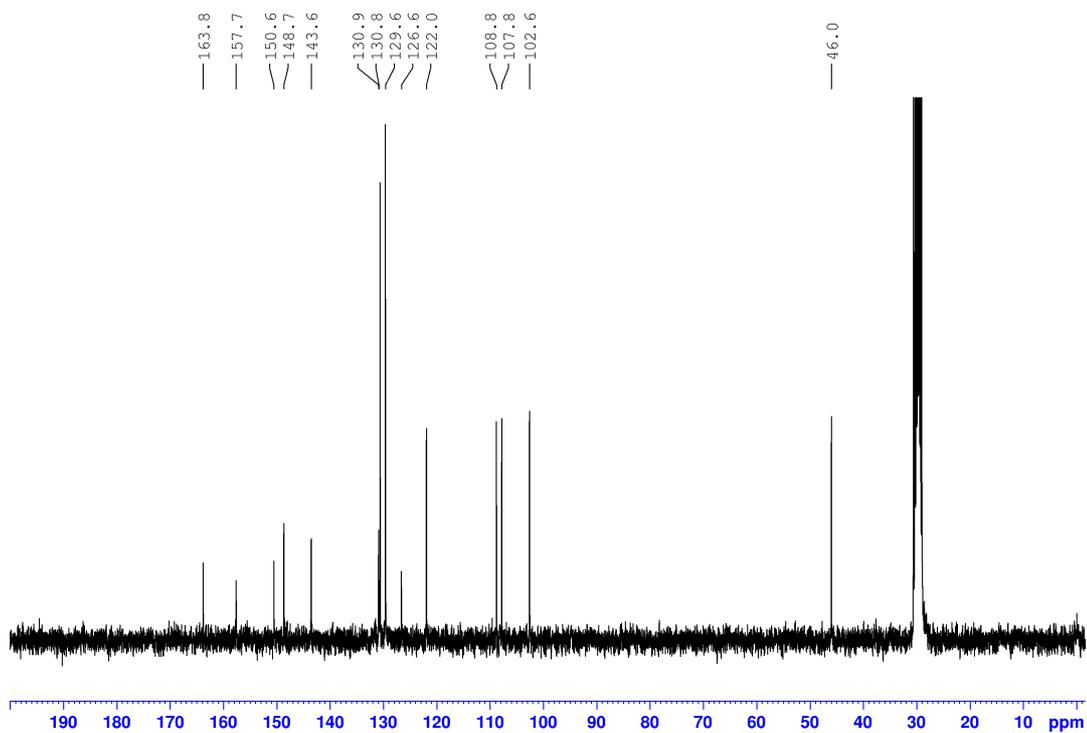
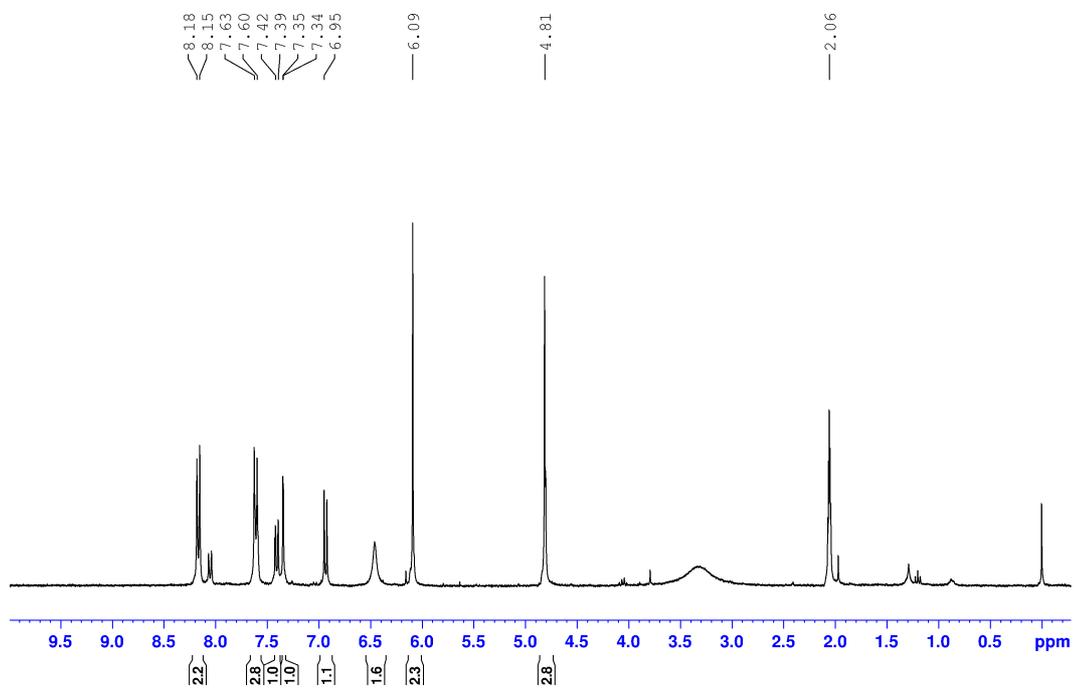
Anexo A16 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, acetona- d_6): 2-(4-hidroxi metilfen-1-il)-5-(3,4-metilenodioxifen-1-il)oxazol (71)



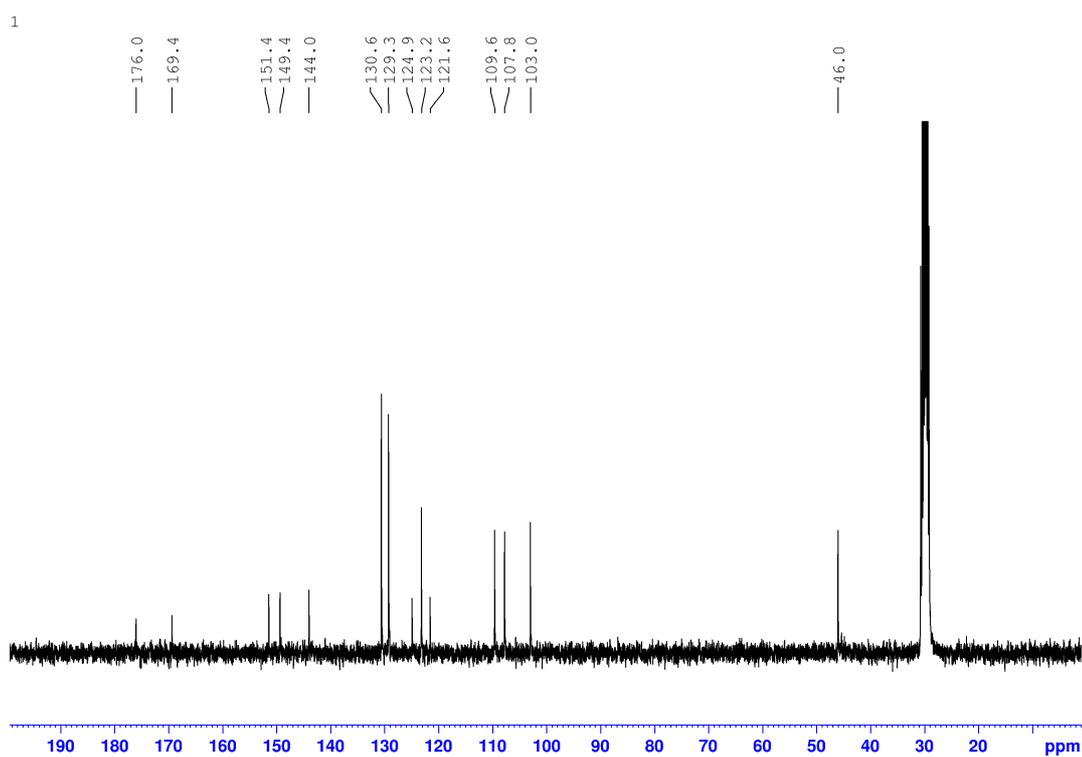
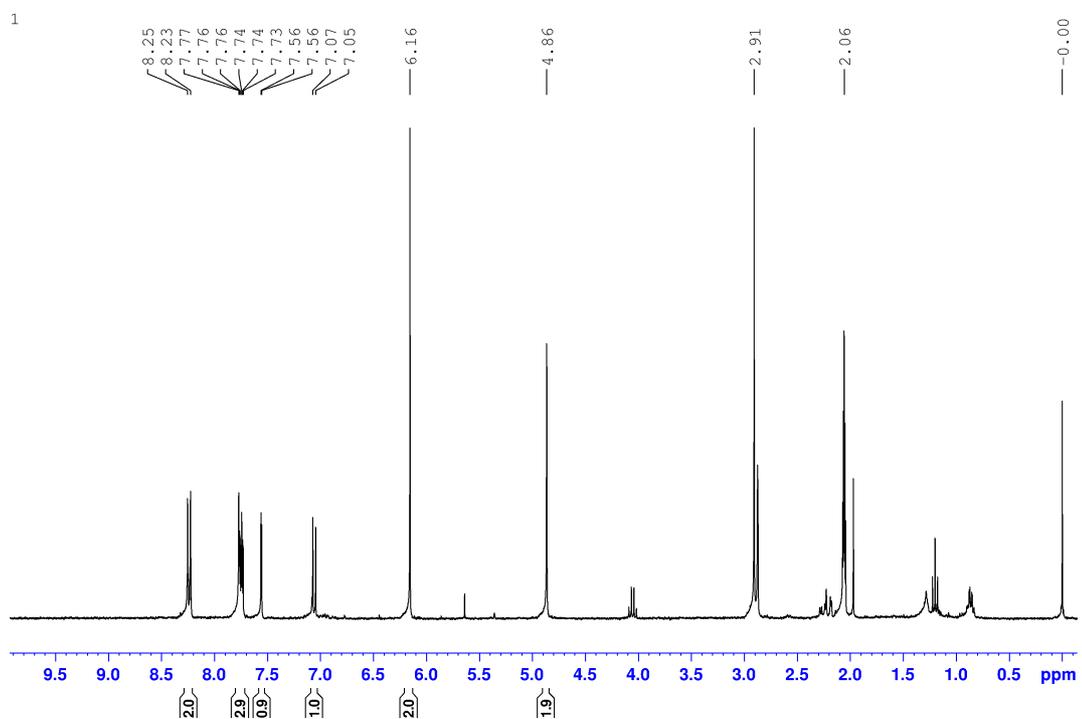
Anexo A17 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3): 2-(4-clorometilfen-1-il)-5-(3,4-metilenodioxifen-1-il)oxazol (72)



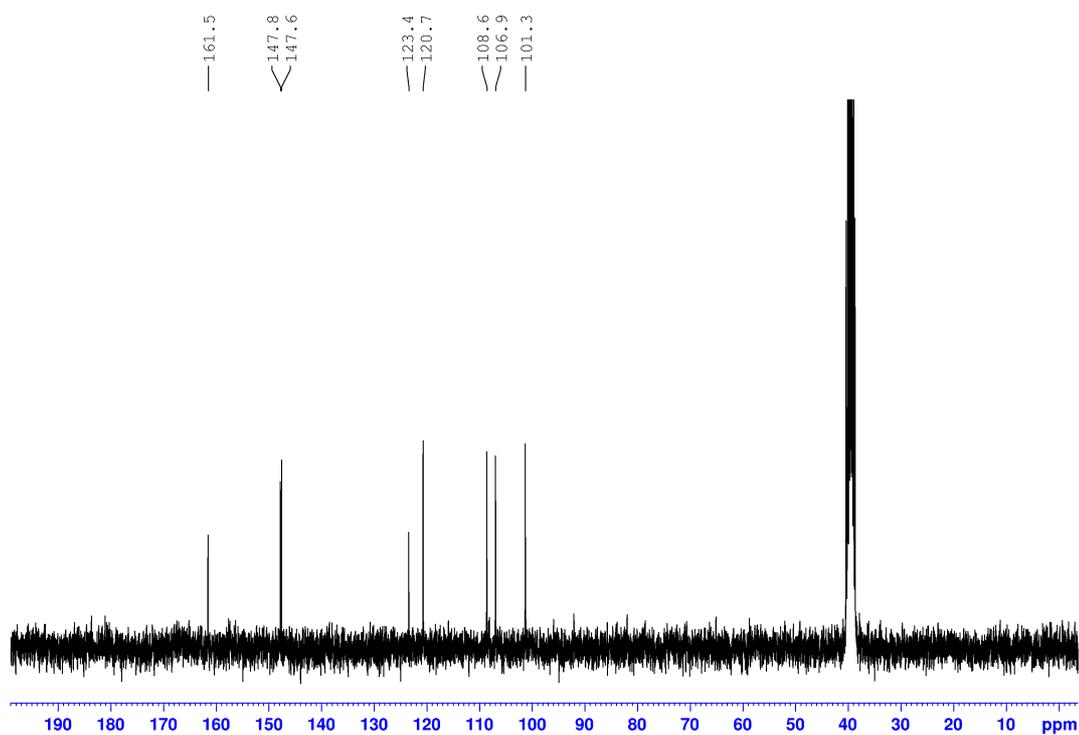
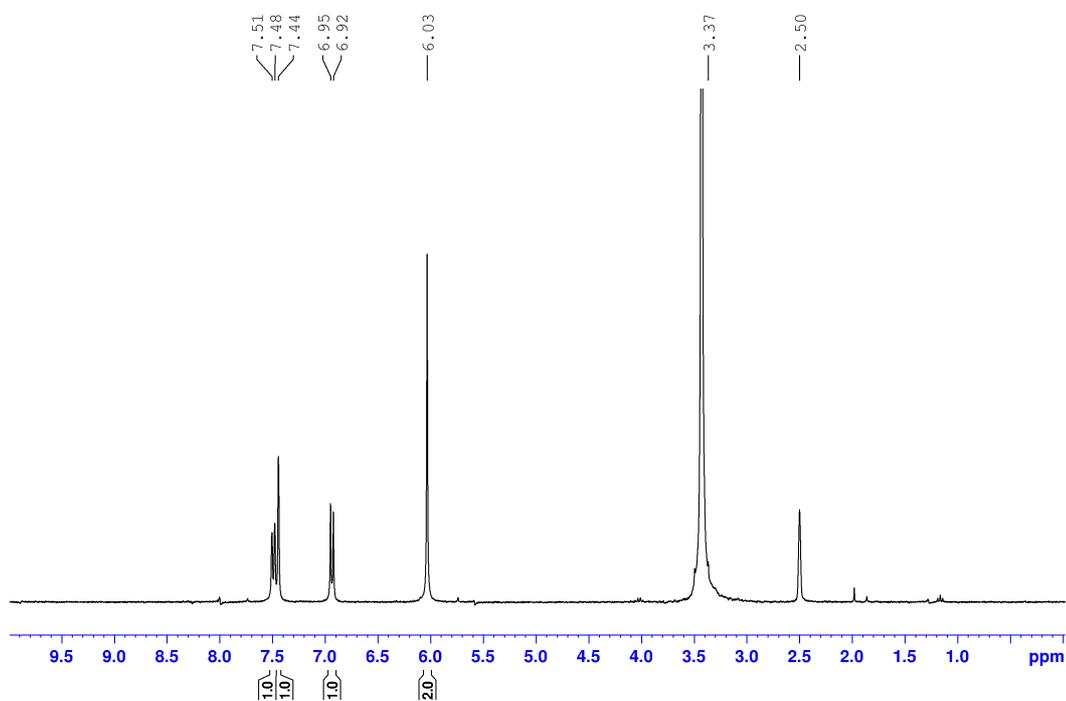
Anexo A18 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, acetona- d_6): *N'*-((4-(clorometil)benzoil)oxi)3,4-metilenodioxifen-1-il-5-carboximidamida (**75**)



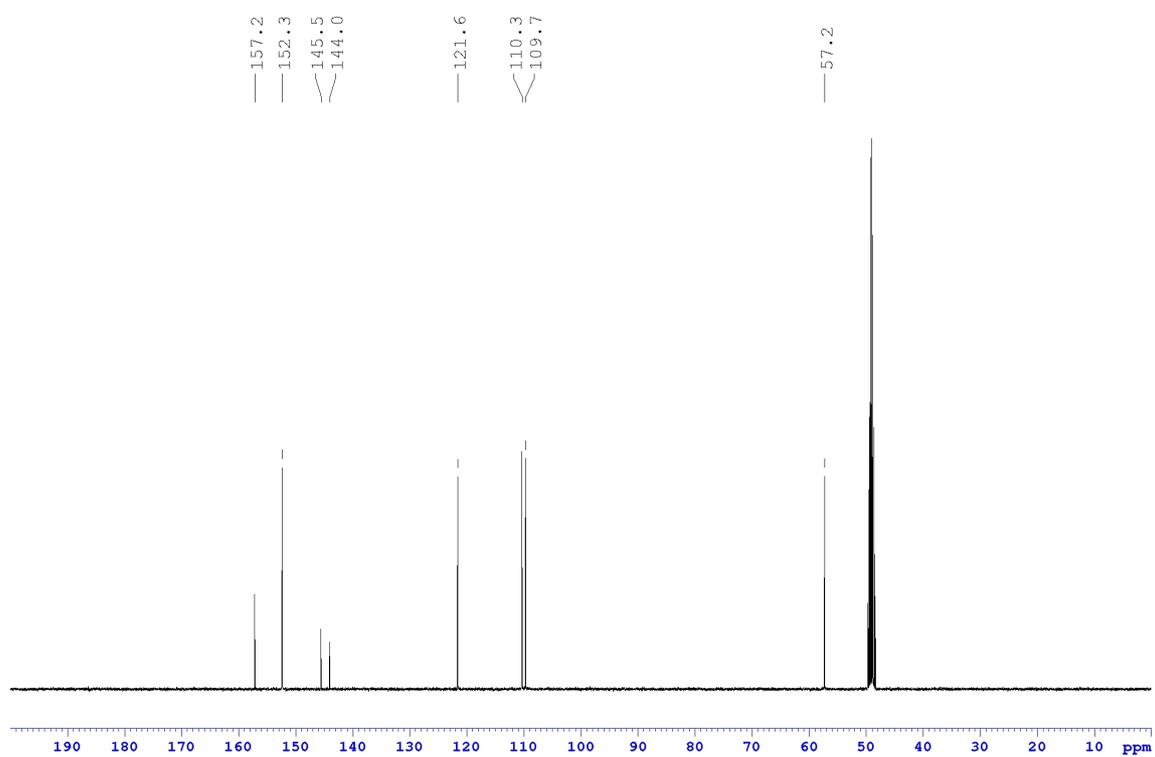
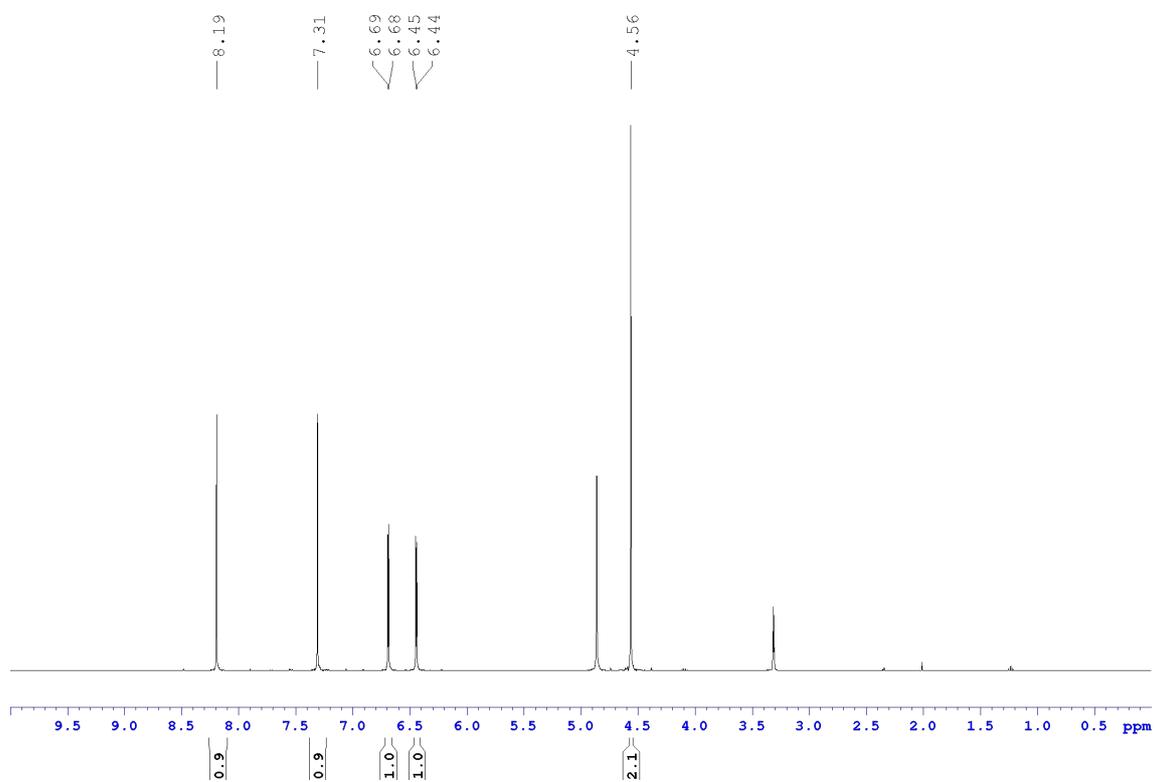
Anexo A19 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, acetona- d_6): 3-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(4-clorometilfen-1-il)1,2,4-oxadiazol (76)



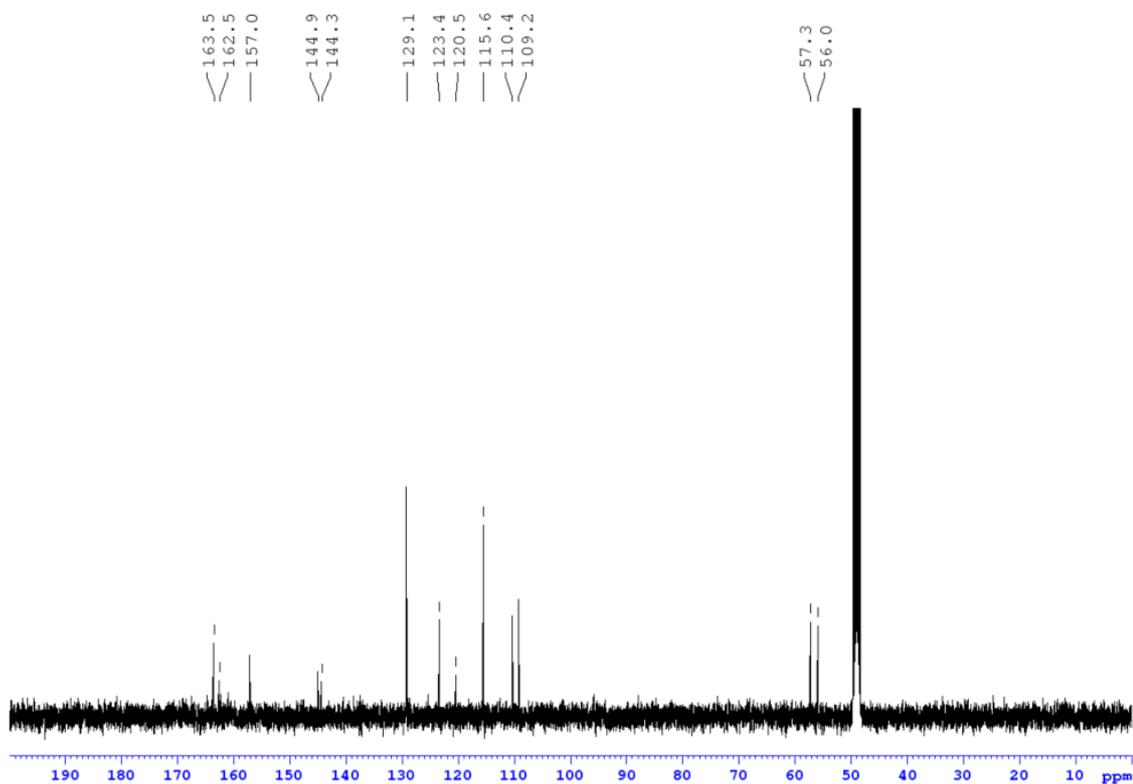
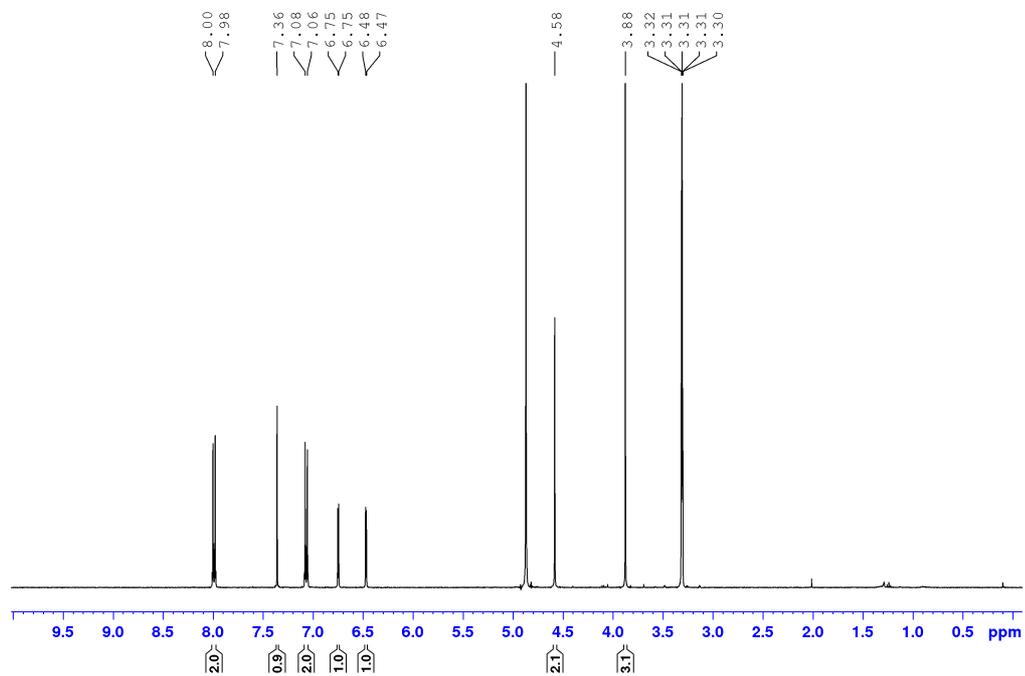
Anexo A20 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 5-(3,4,-metilenodioxifen-1-il)-2H-tetrazol (77)



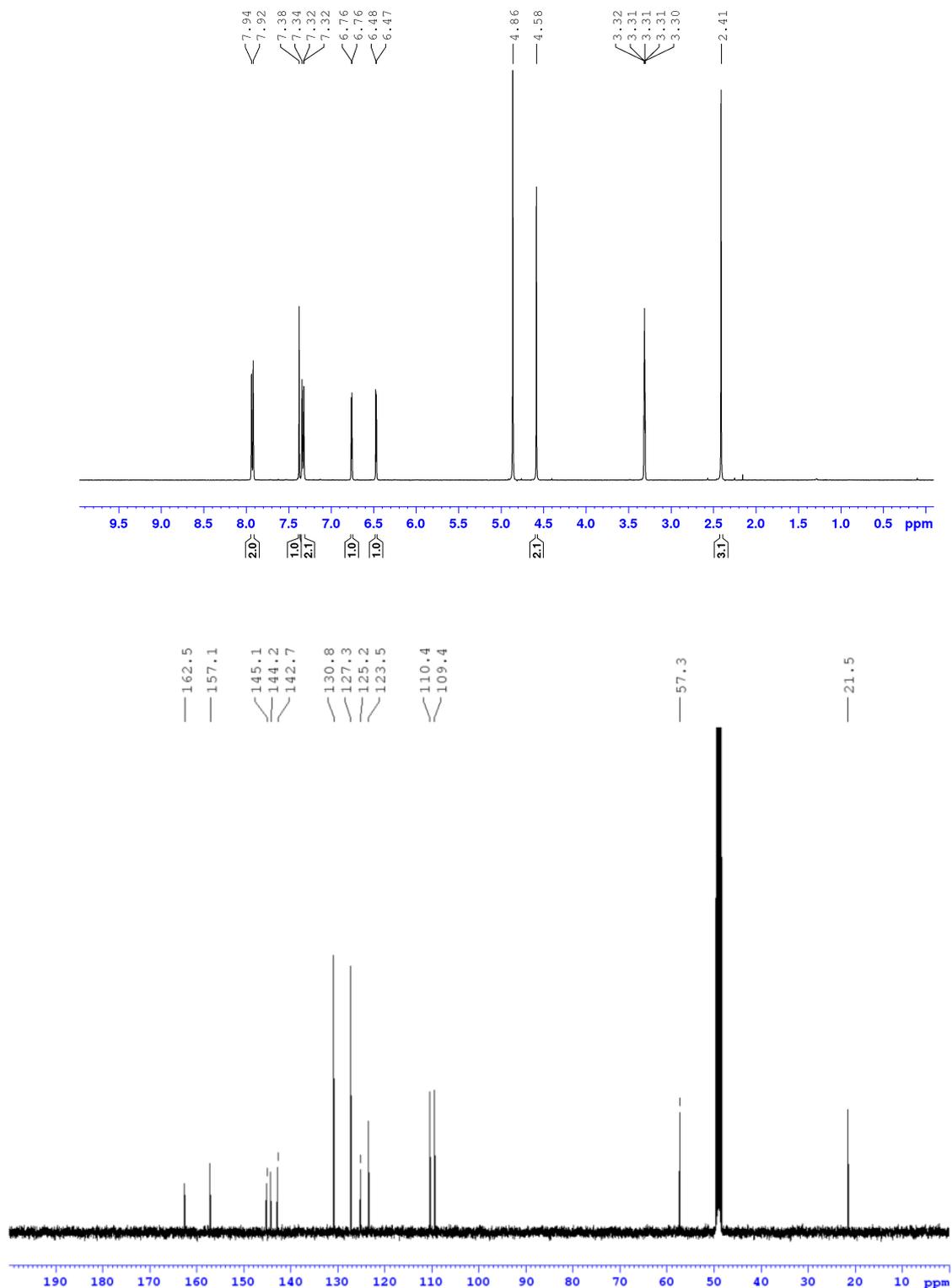
Anexo A21 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(oxazol-5-il)-5-hidroxi metil-furano (**91**)



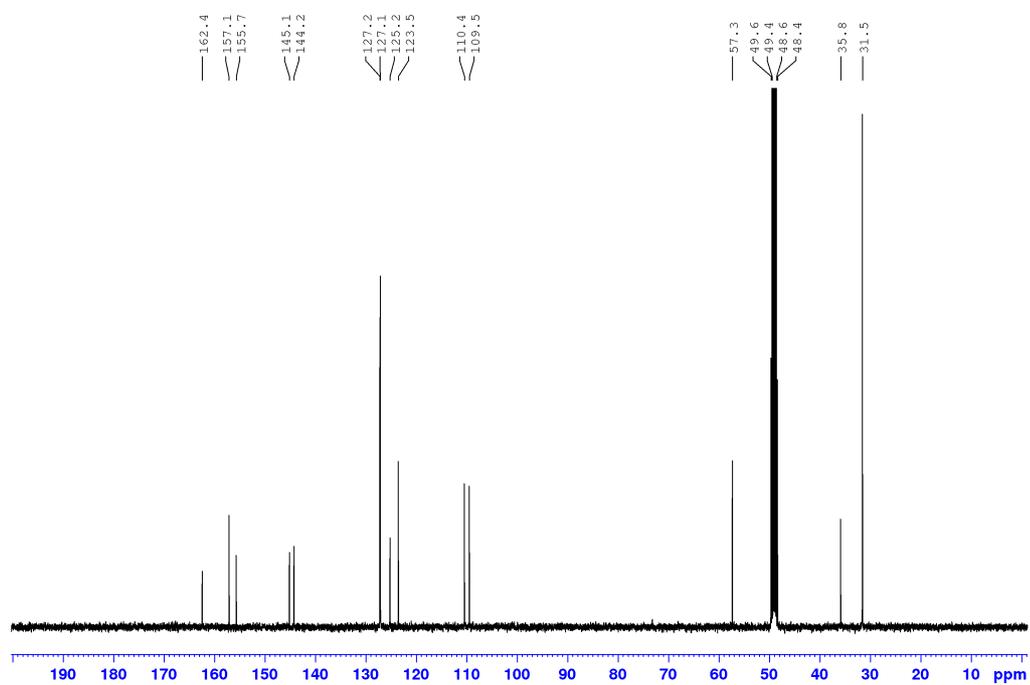
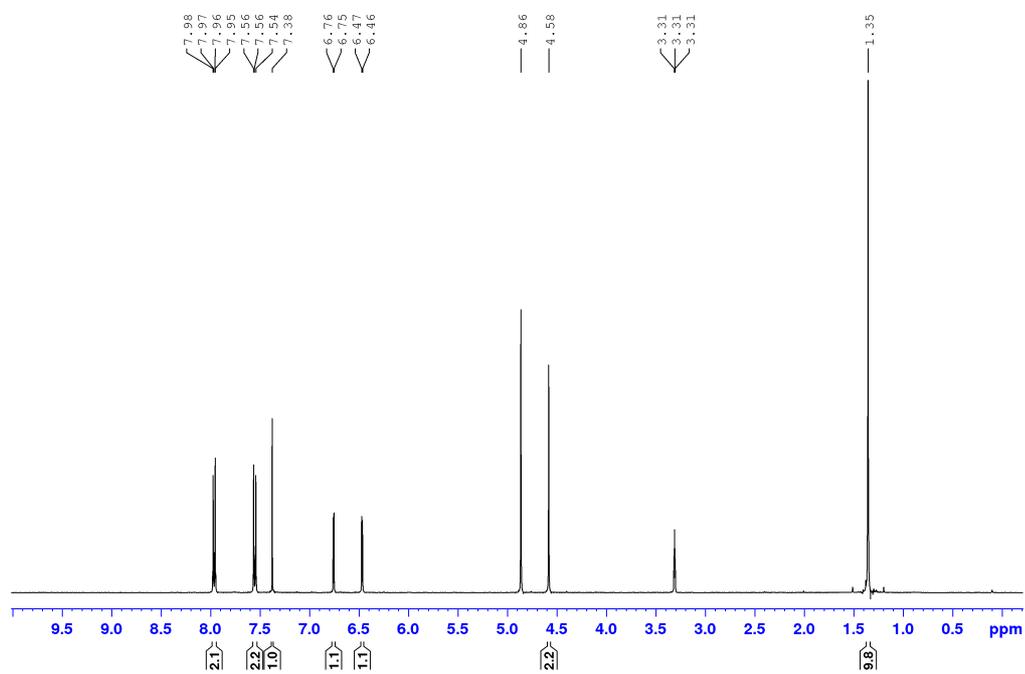
Anexo A22 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(4-metoxifen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**92**)



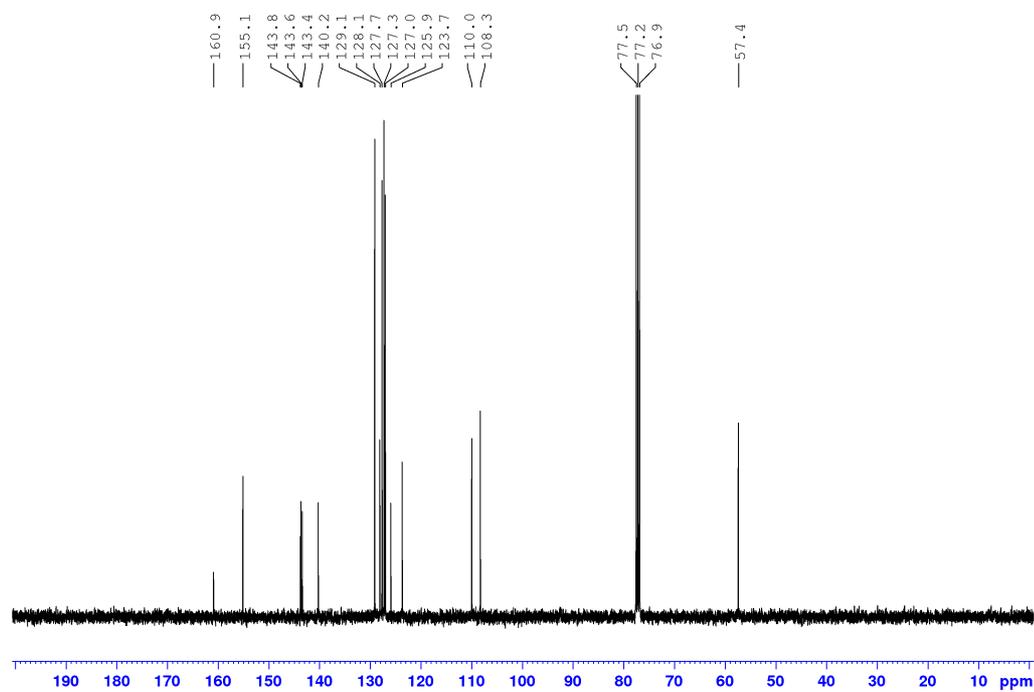
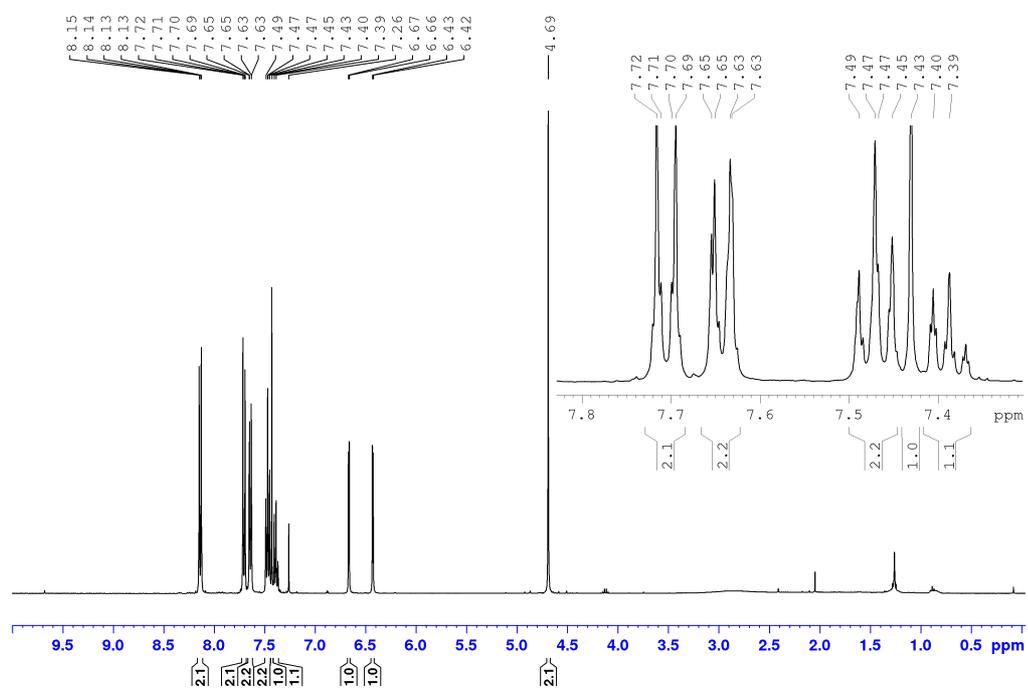
Anexo A23 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(4-metilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**93**)



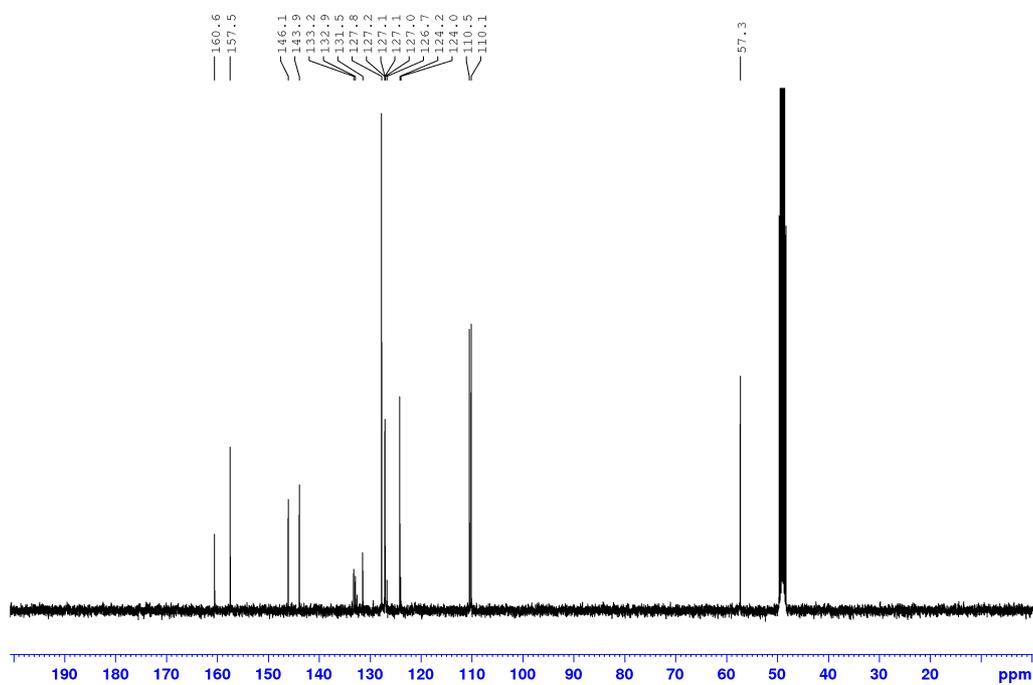
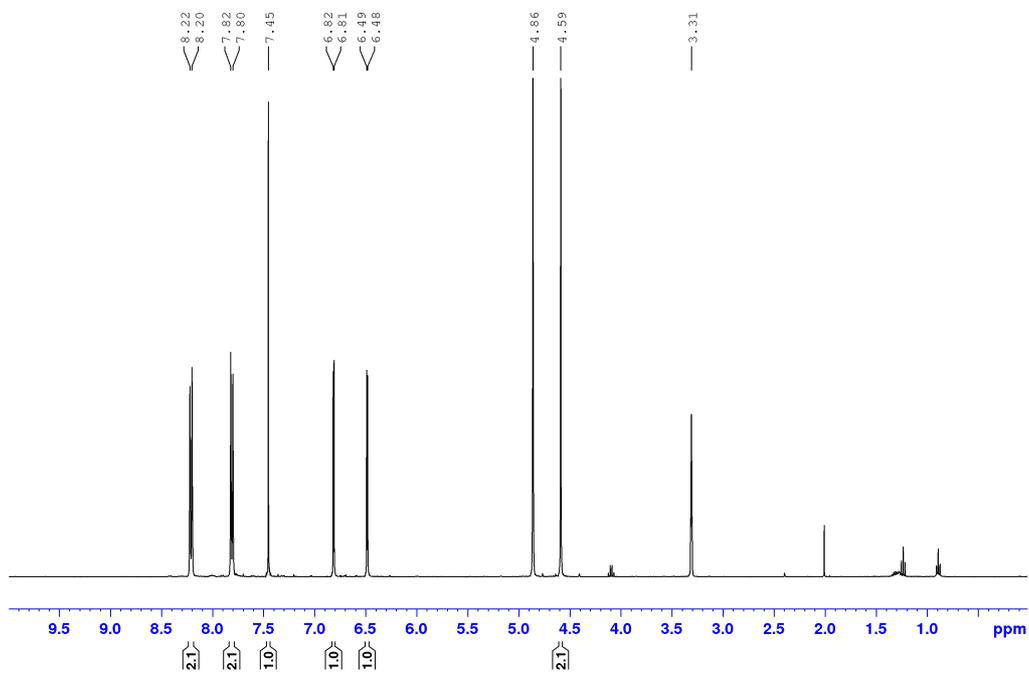
Anexo A24 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(4-*terc*-butilfen-1-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (94)



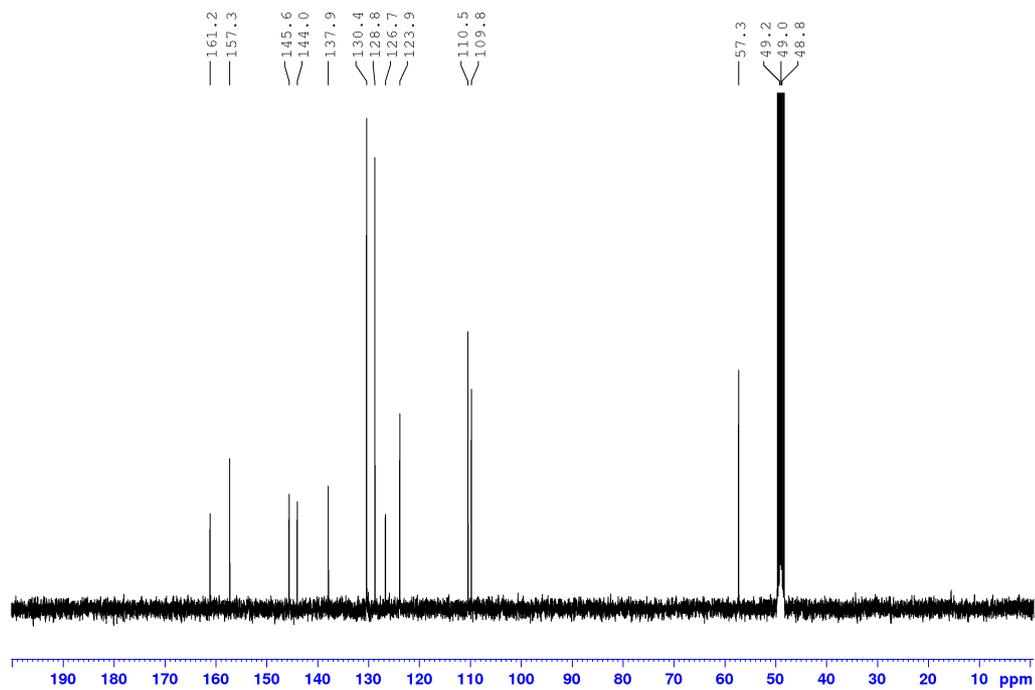
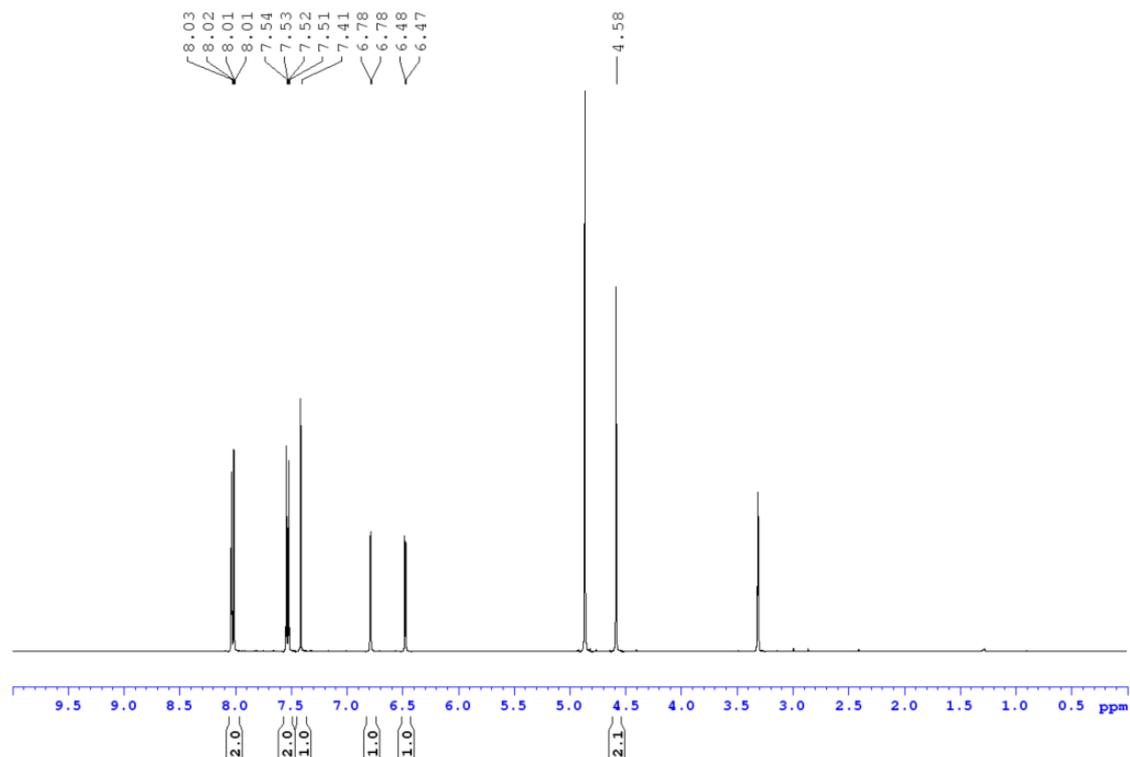
Anexo A25 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(1,1'-bifen-4-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (95)



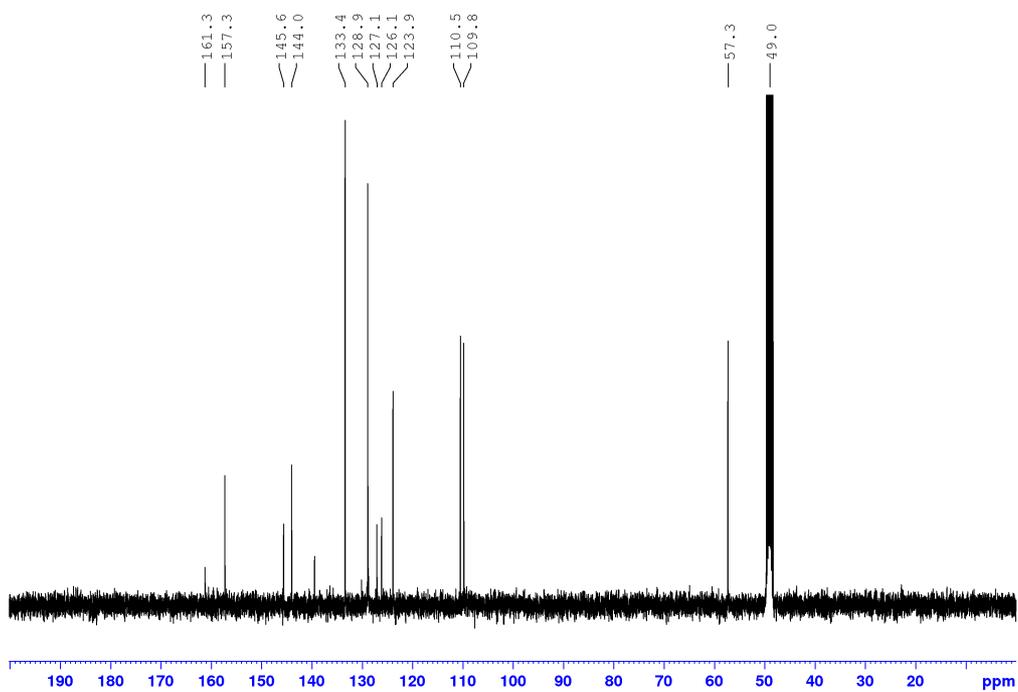
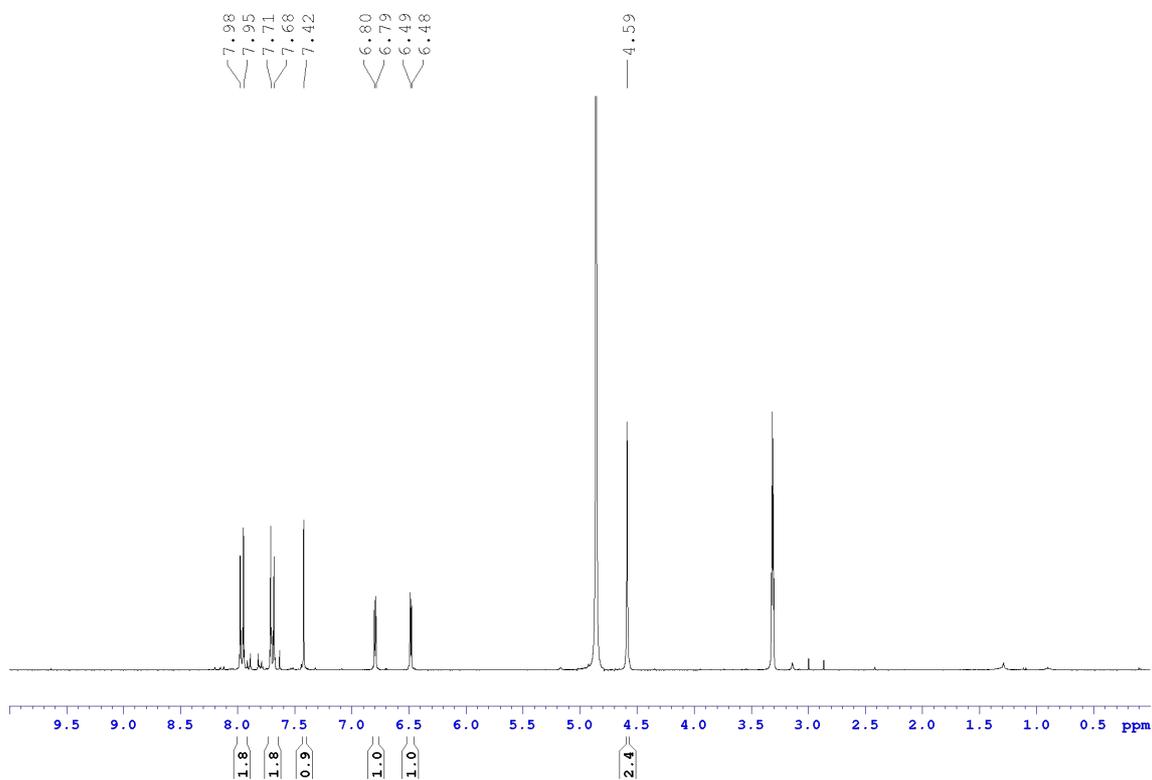
Anexo A26 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(4-trifluormetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (96)



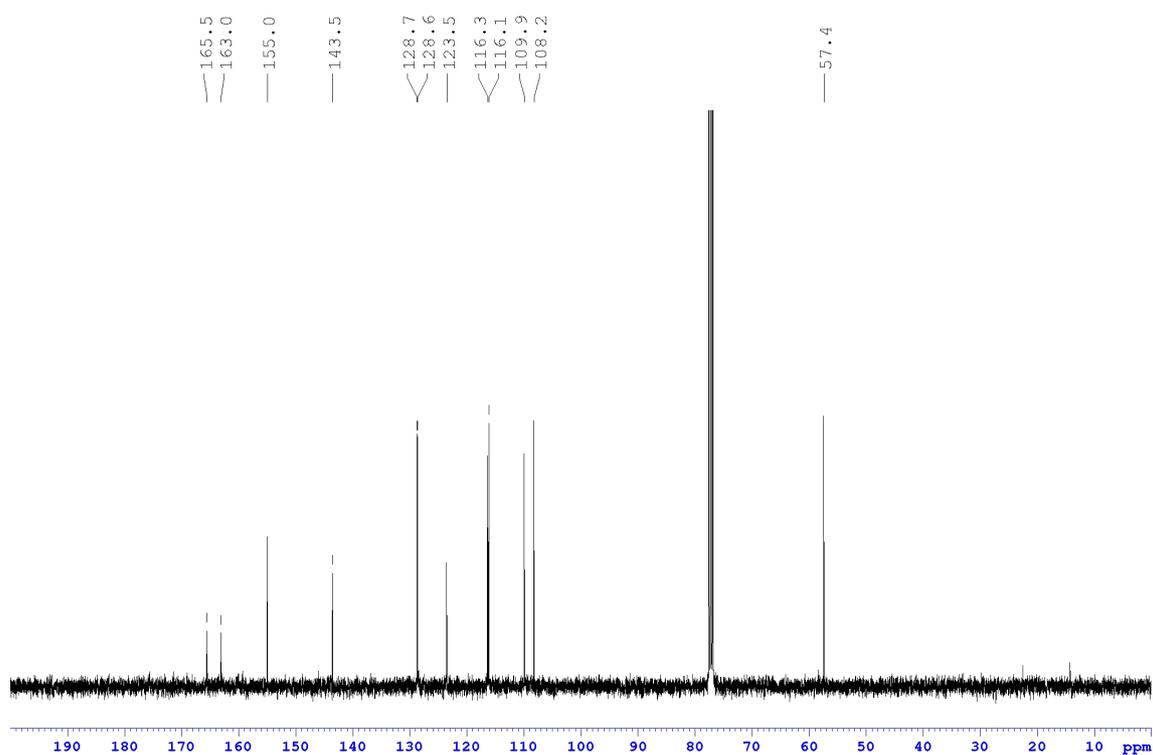
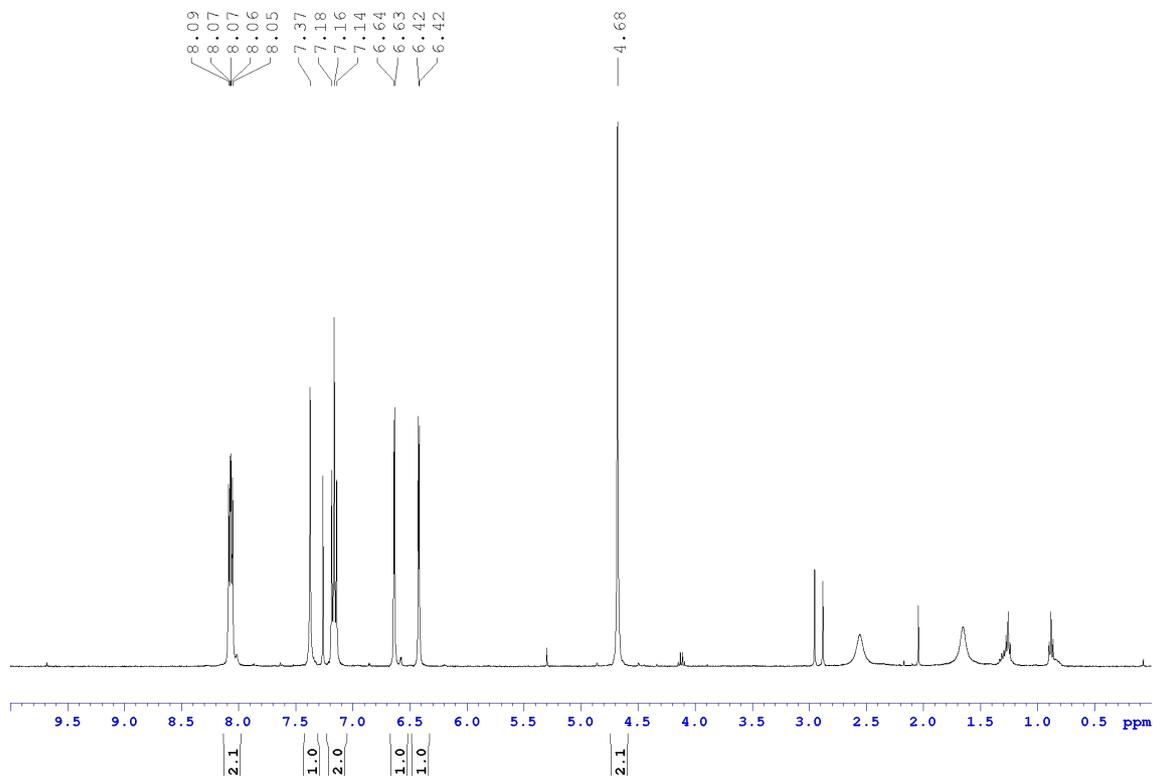
Anexo A27 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(4-cloropen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (97)



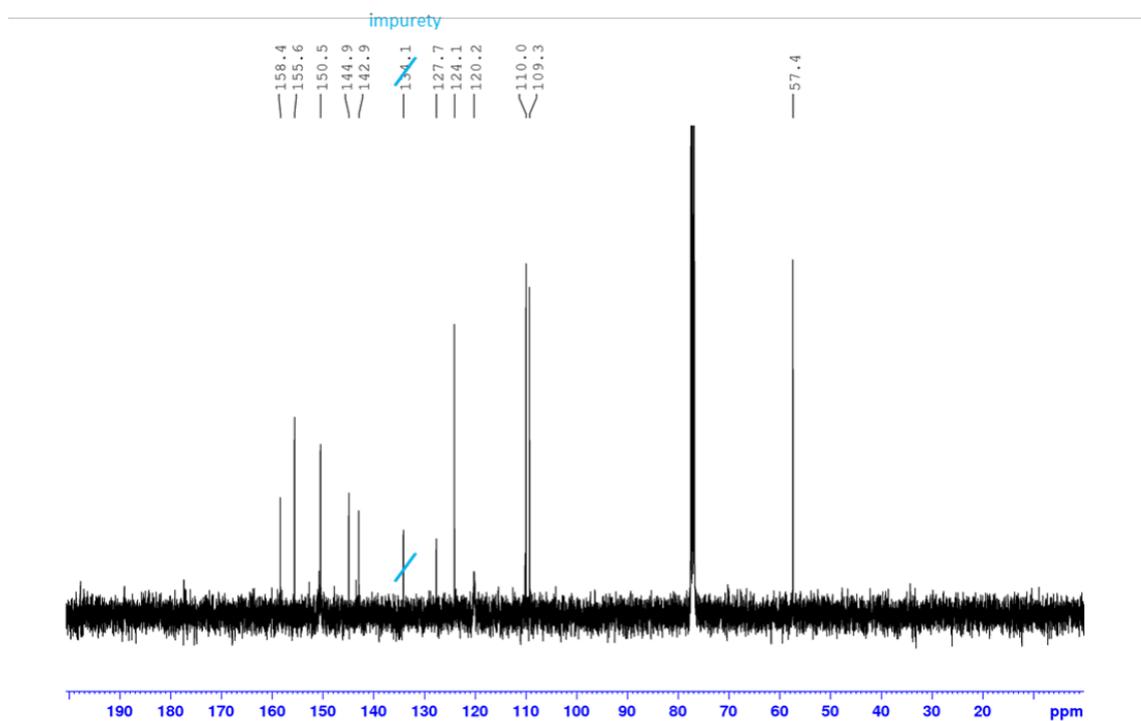
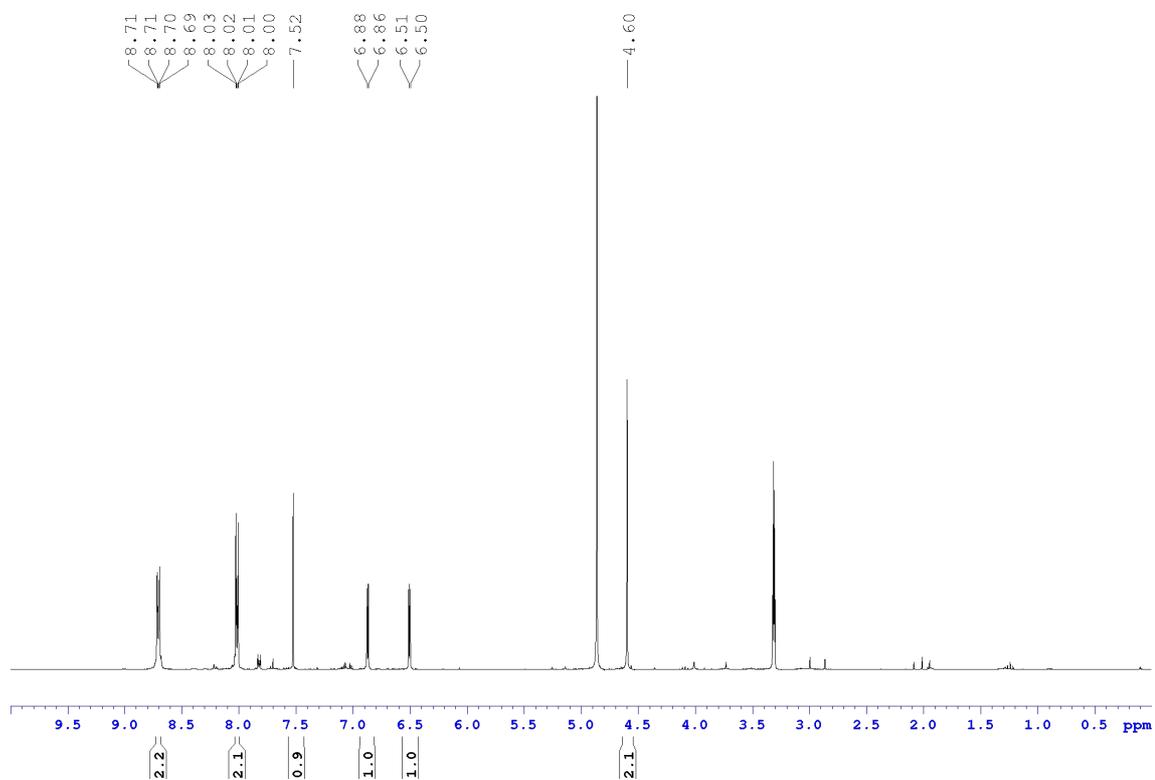
Anexo A28 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(4-bromofen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**98**)



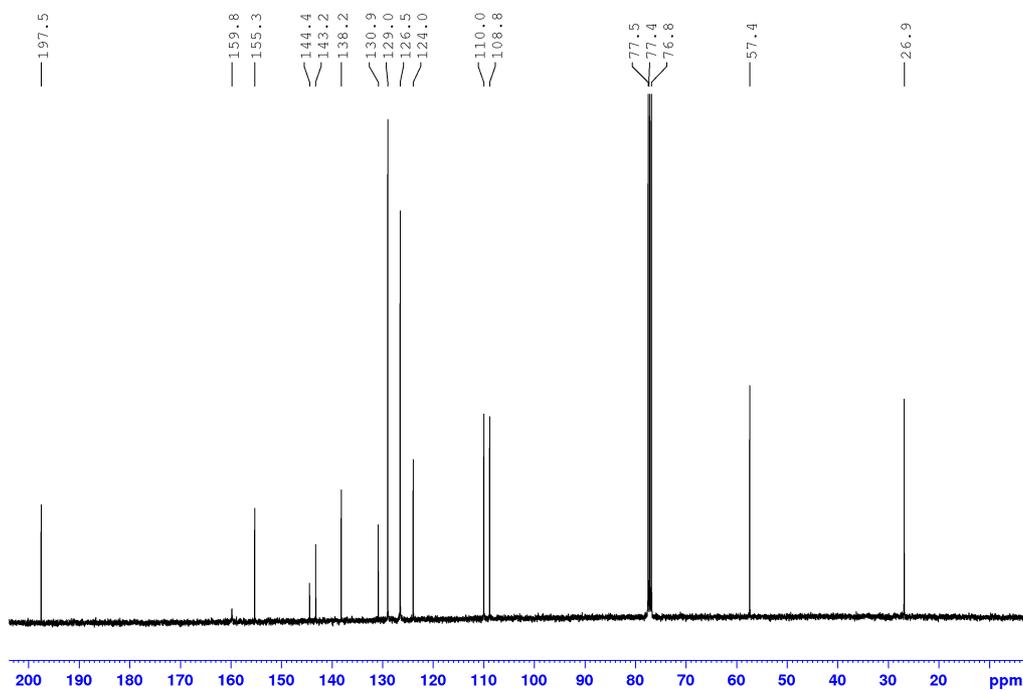
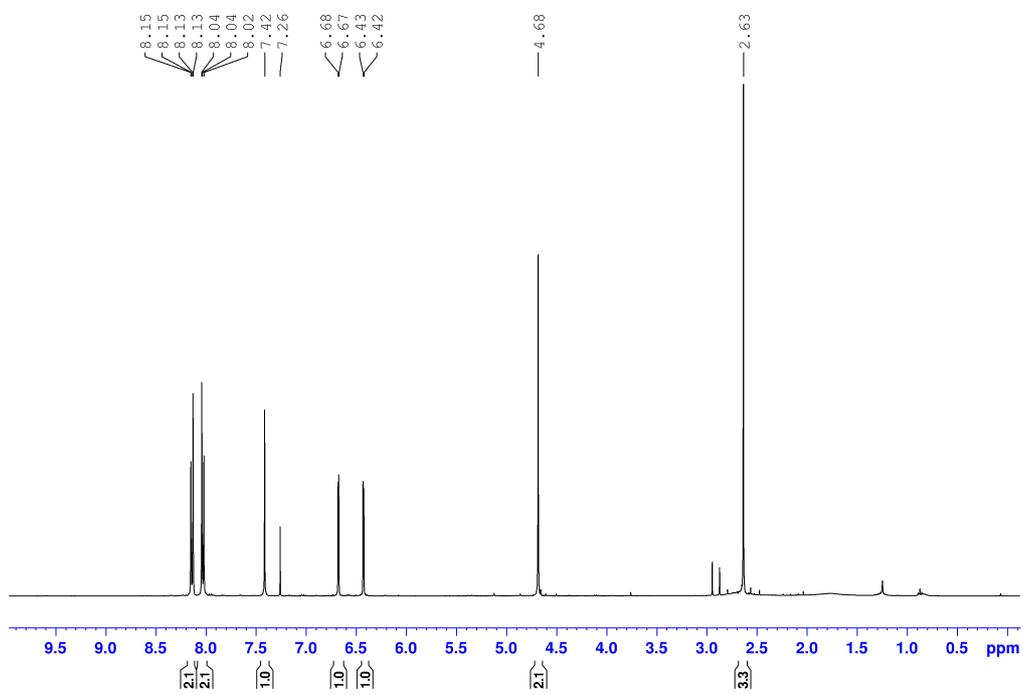
Anexo A29 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(4-fluorfen-1-il)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (**99**)



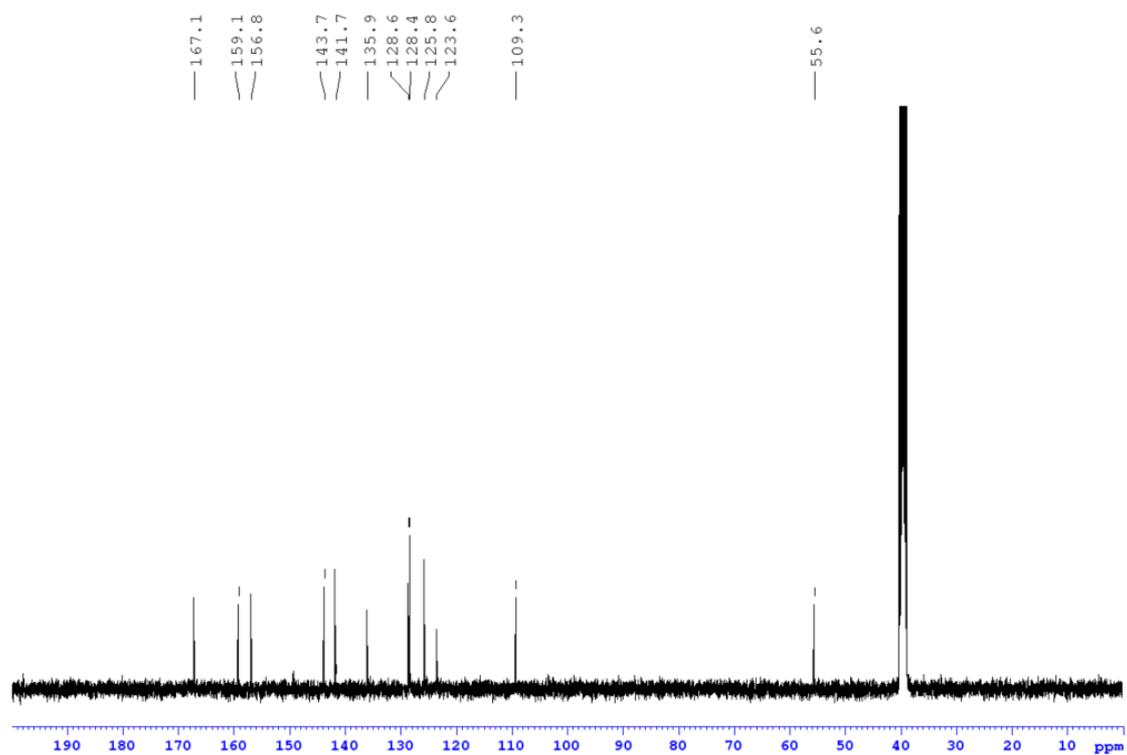
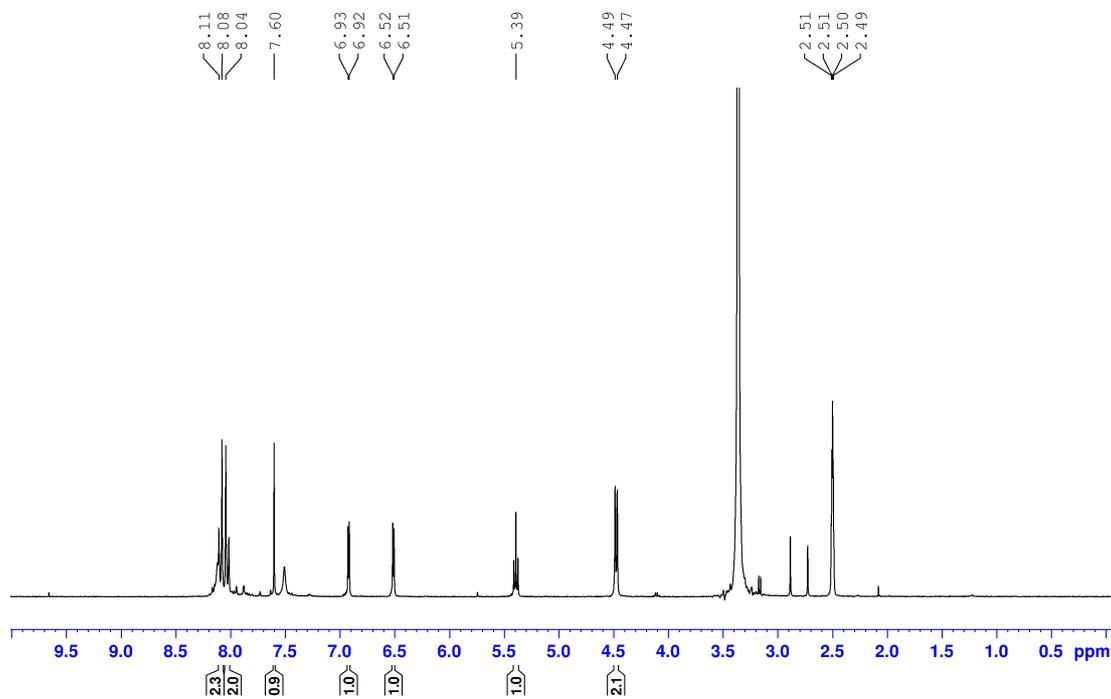
Anexo A30 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(4-piridil)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (100)



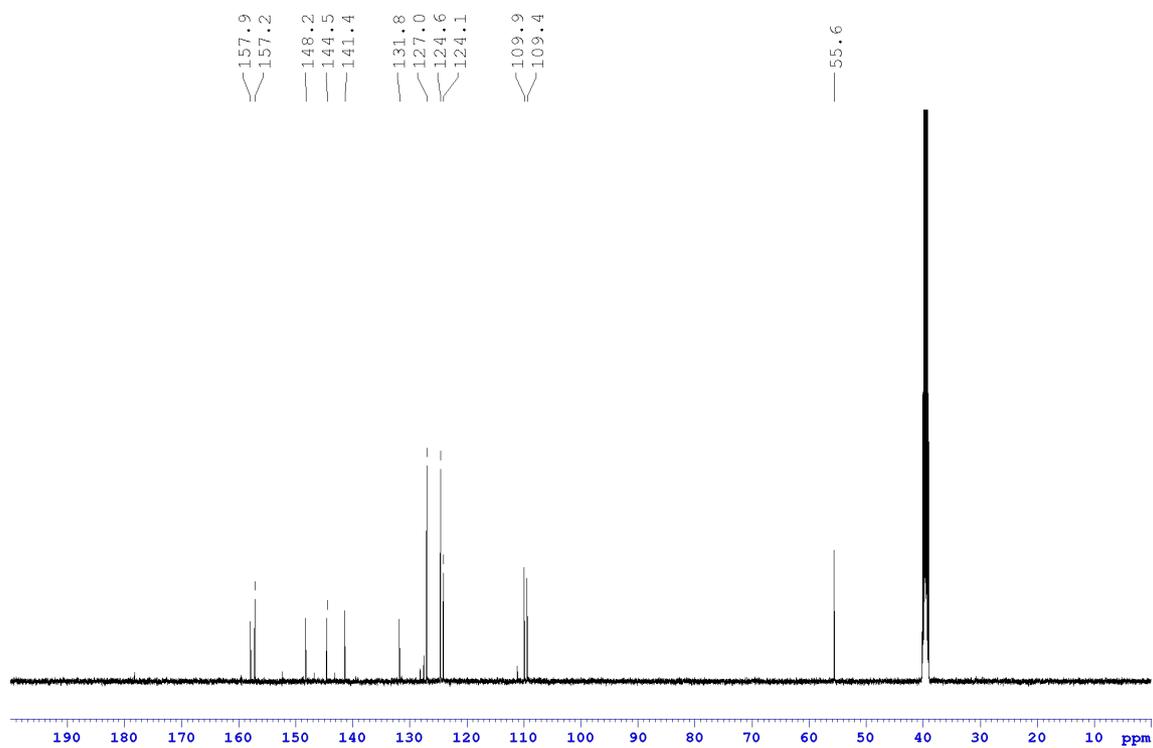
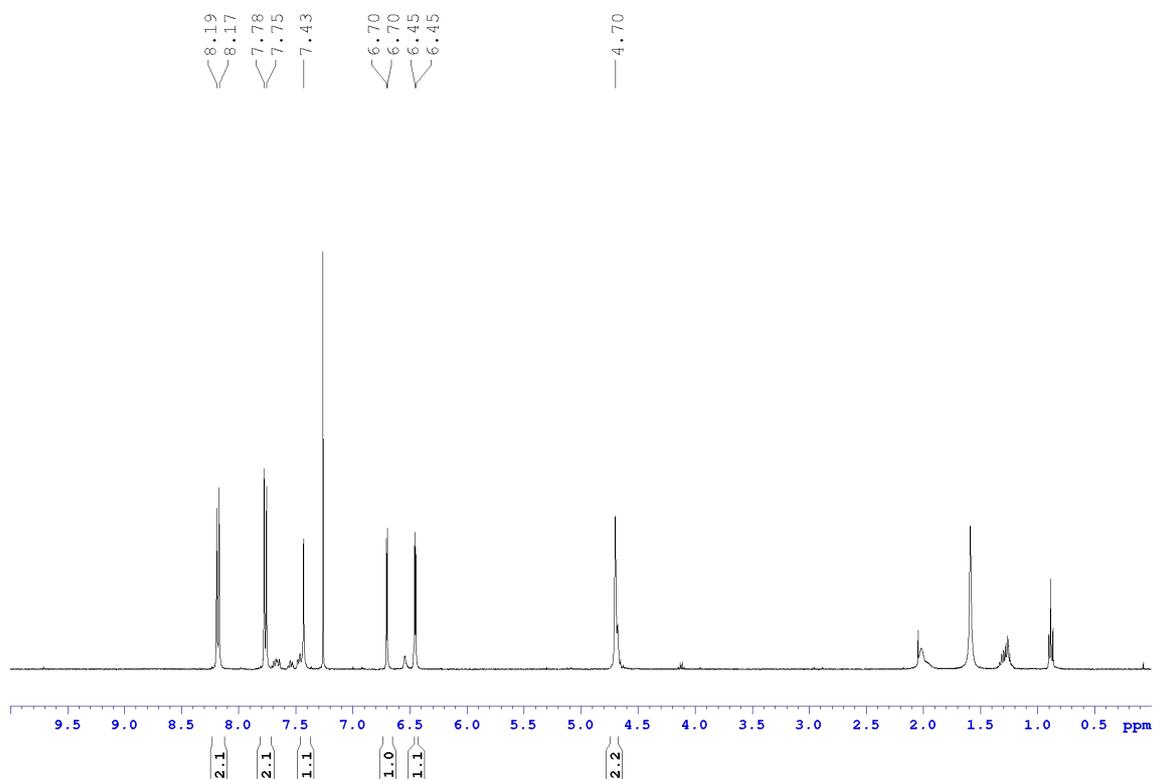
Anexo A31 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(4'-acetofen-1-ona)-5-(5-hidroxi metilfen-2-il)oxazol (**101**)



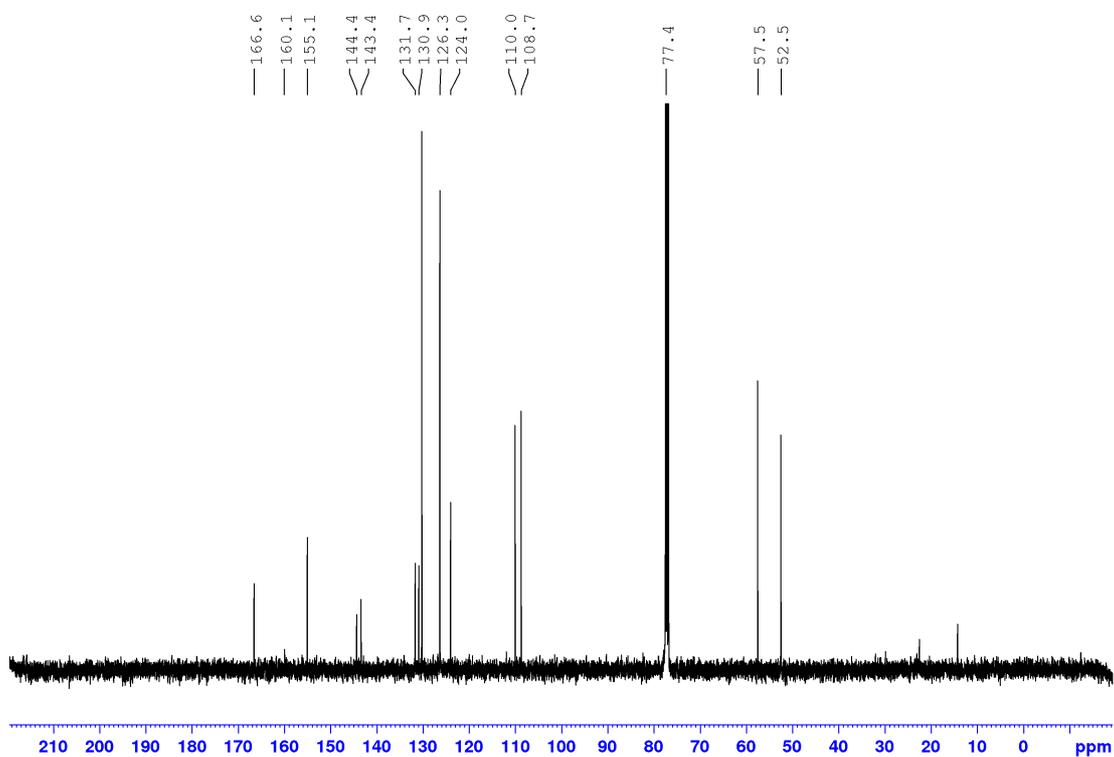
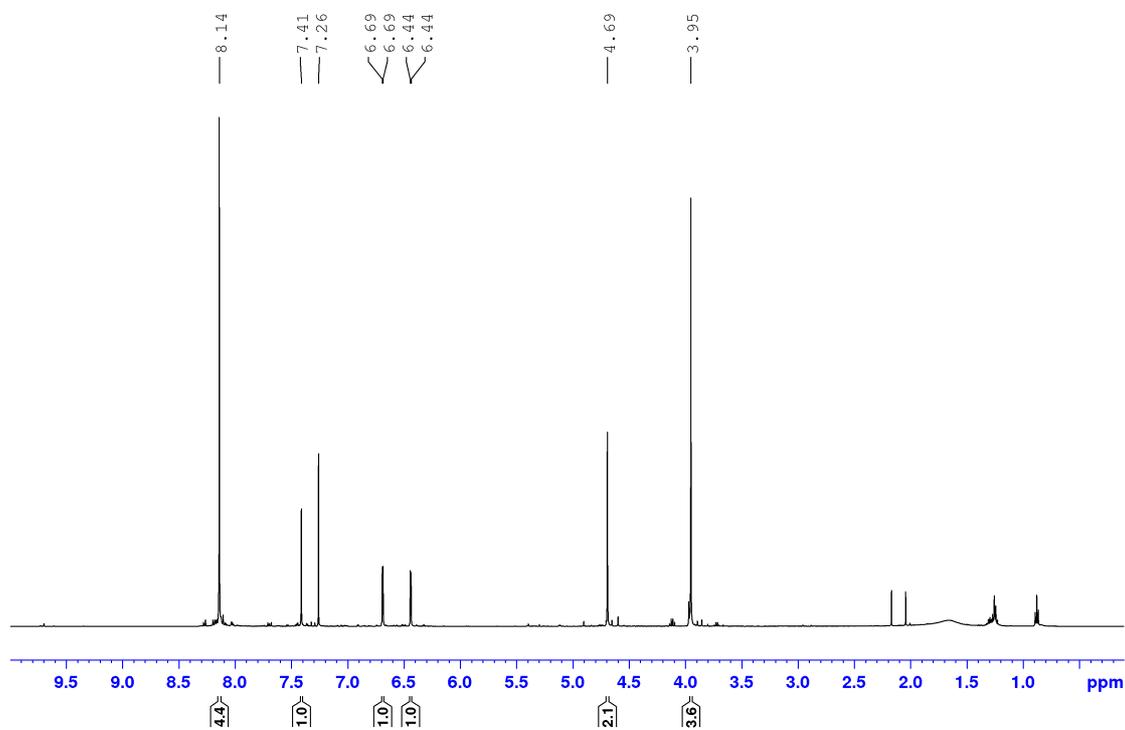
Anexo A32 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, DMSO- d_6): 4-(5-(5-(hidroximetil)furan-2-il)oxazol-2-il)benzamida (**102**)



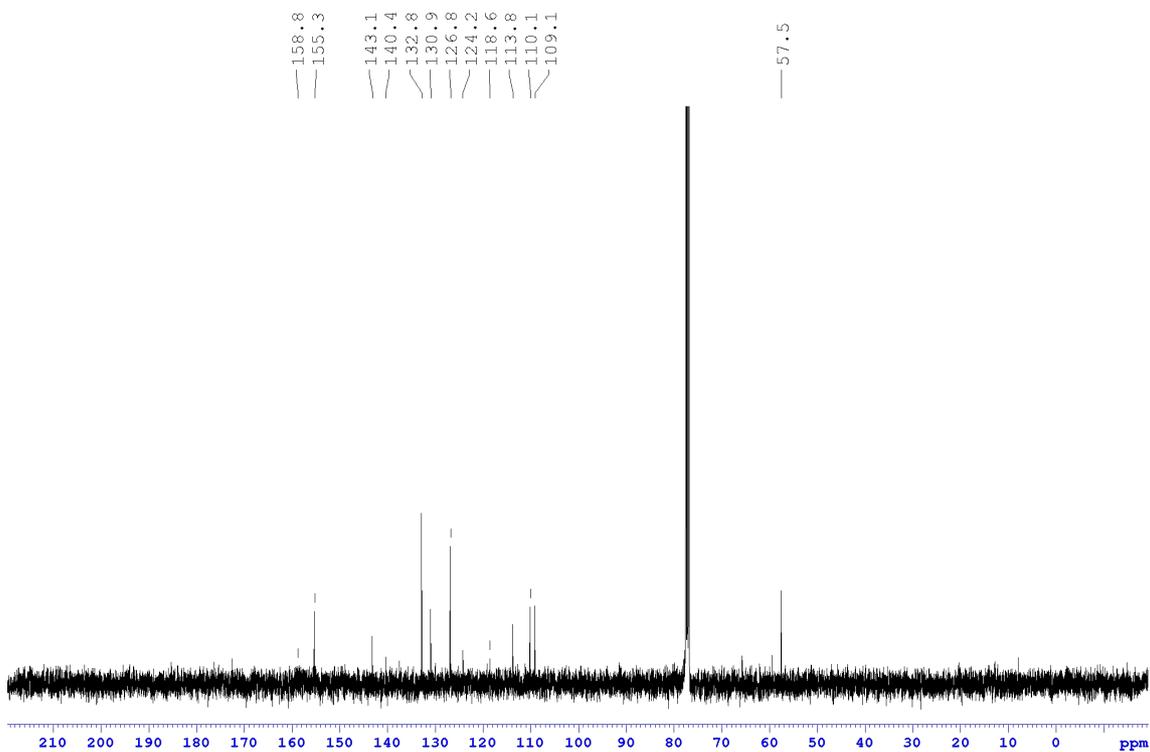
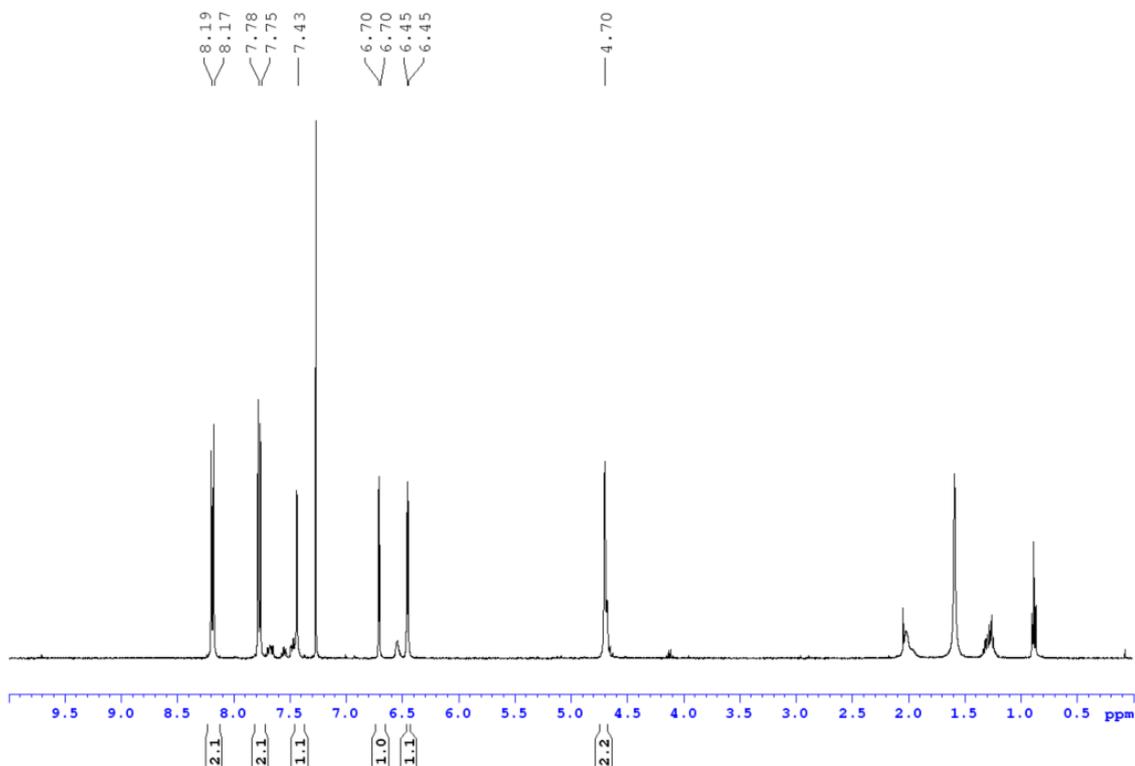
Anexo A33 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, acetona- d_6): 2-(4-nitrofen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (103)



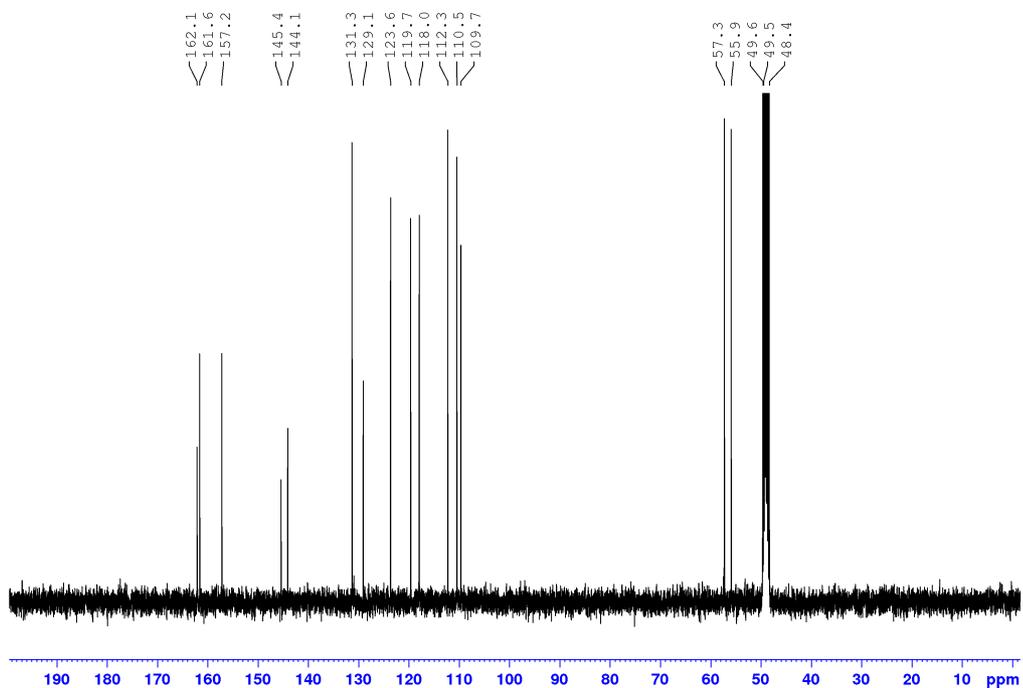
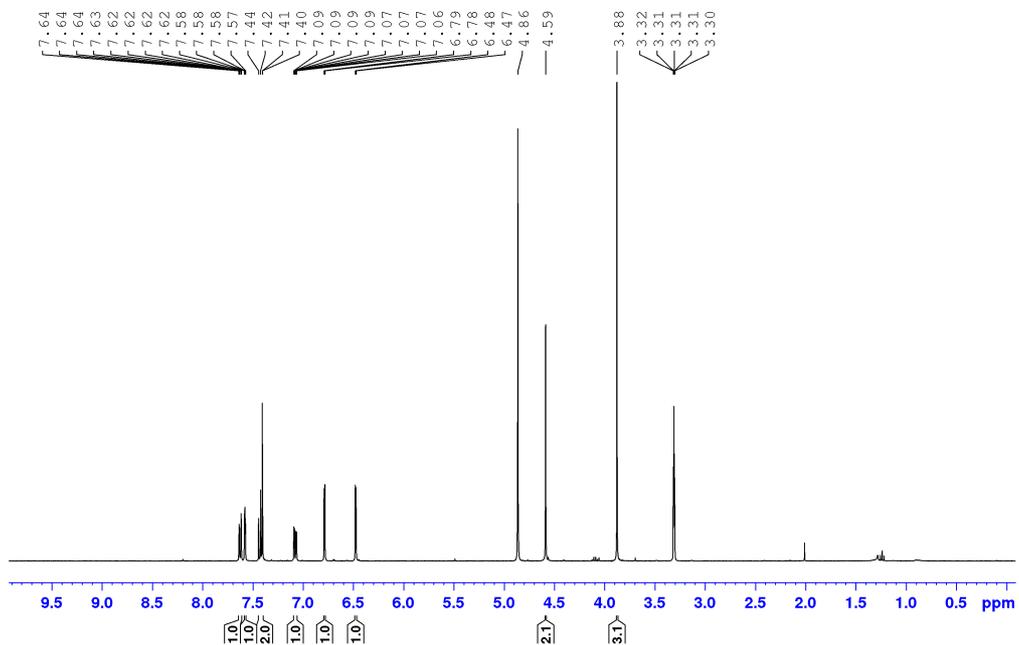
Anexo A34 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): *Benzoato de 4-(5-(5-(hidroximetil)furan-2-il)oxazol-2-il)metila (104)*



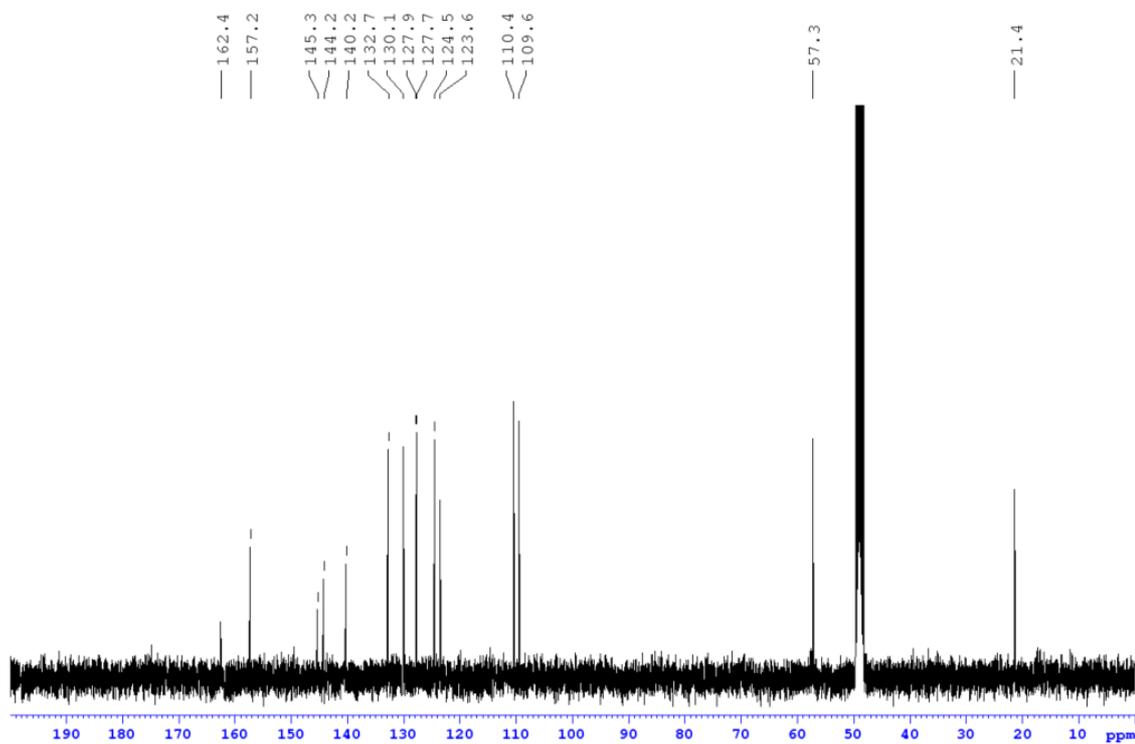
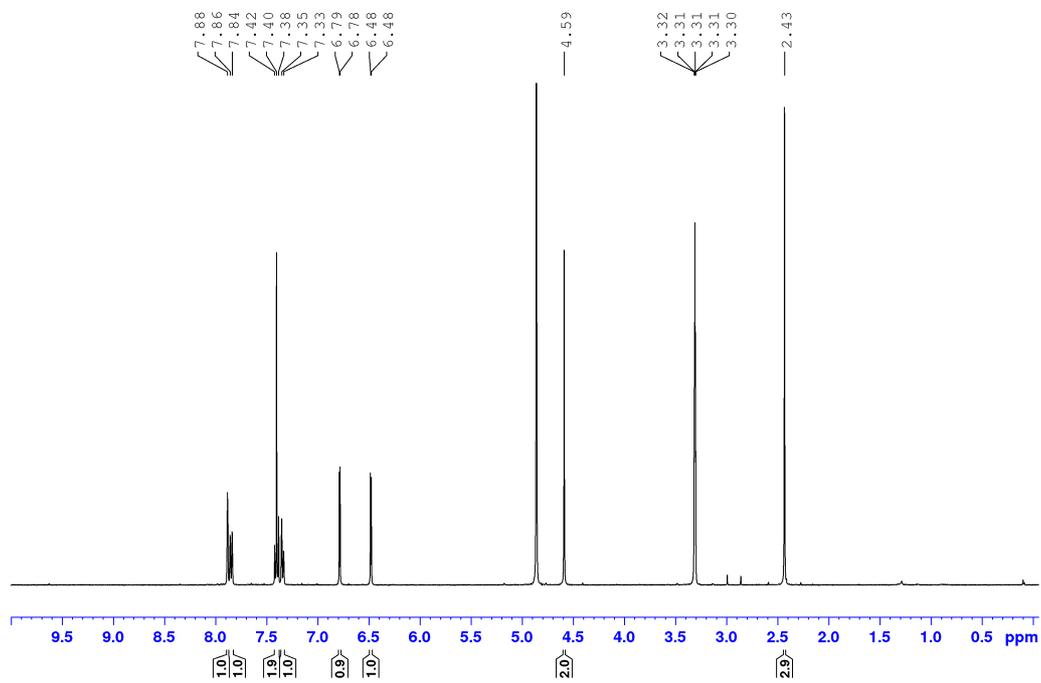
Anexo A35 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(4-cianofen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (105)



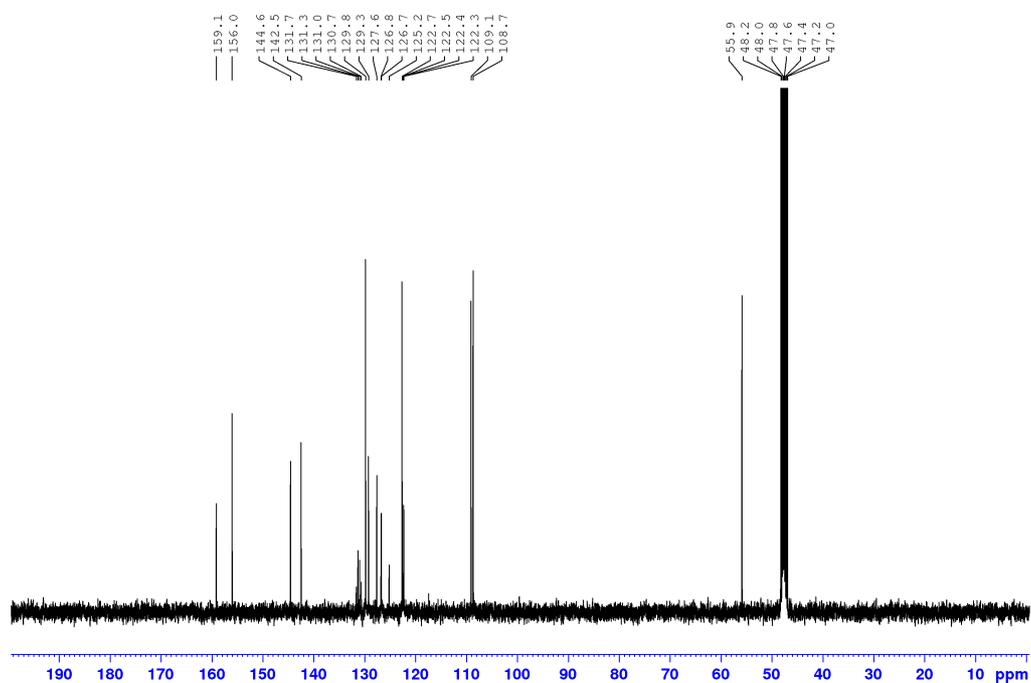
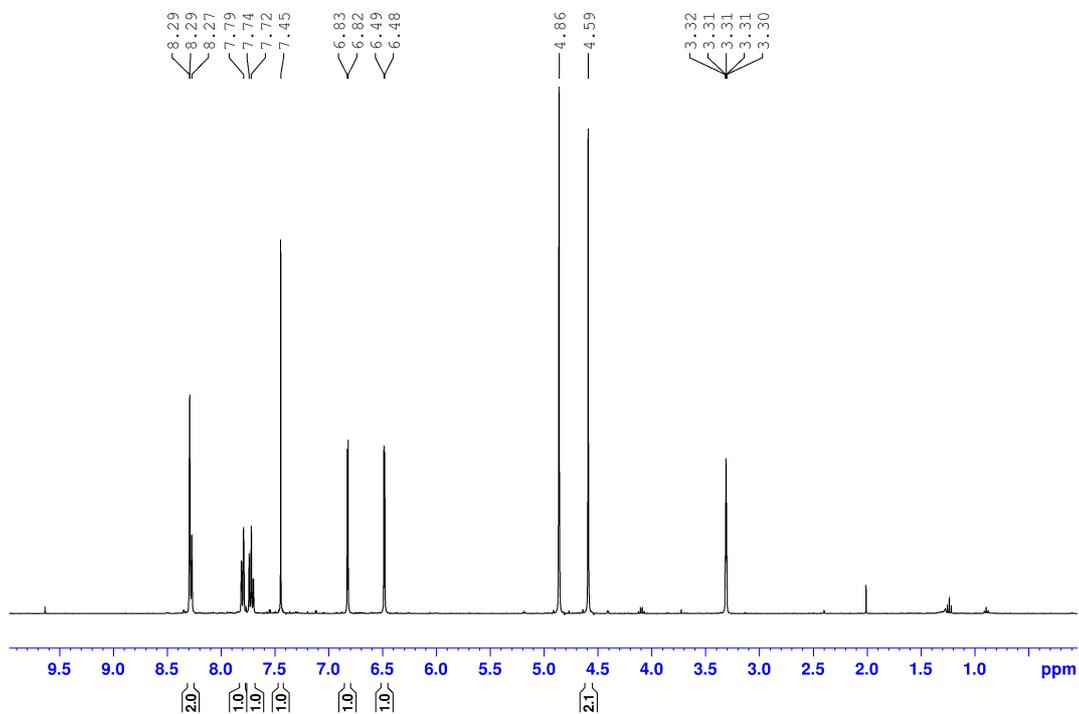
Anexo A36 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(3-metoxifen-1-il)-5-(5-hidroxi-metil-2-il)oxazol (106)



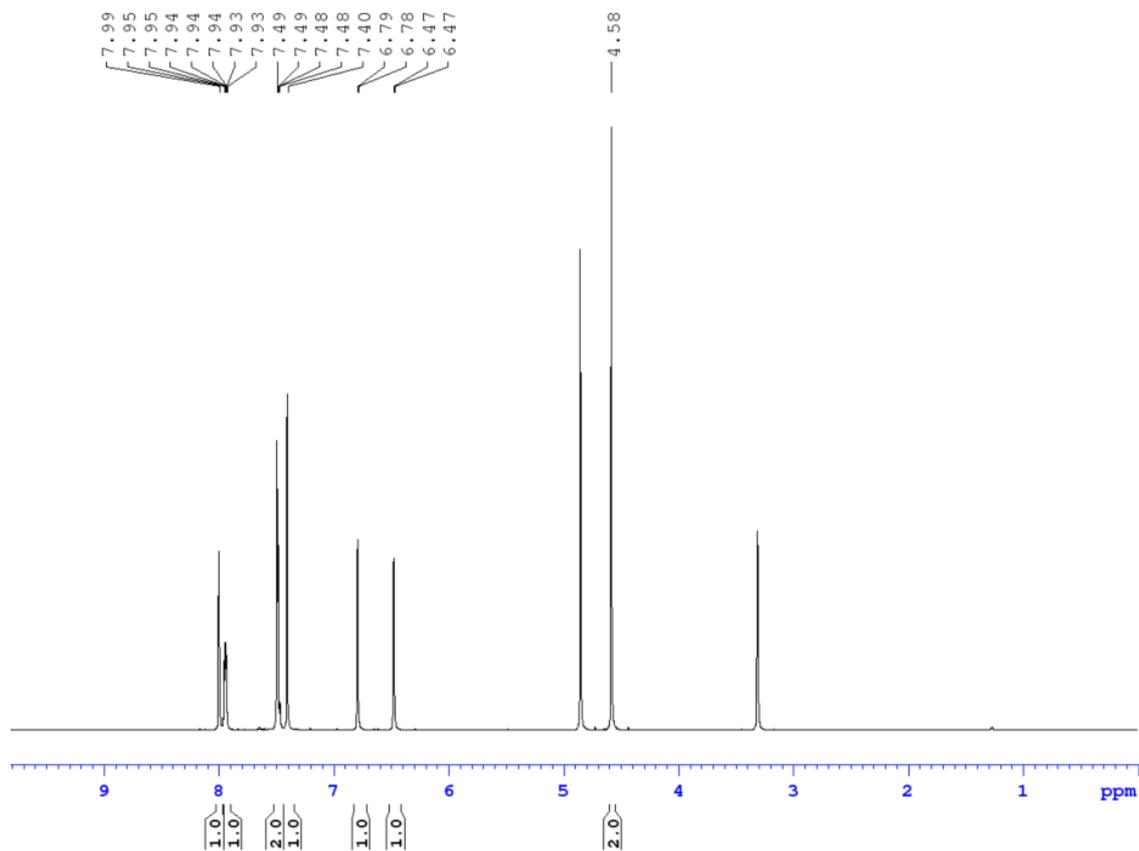
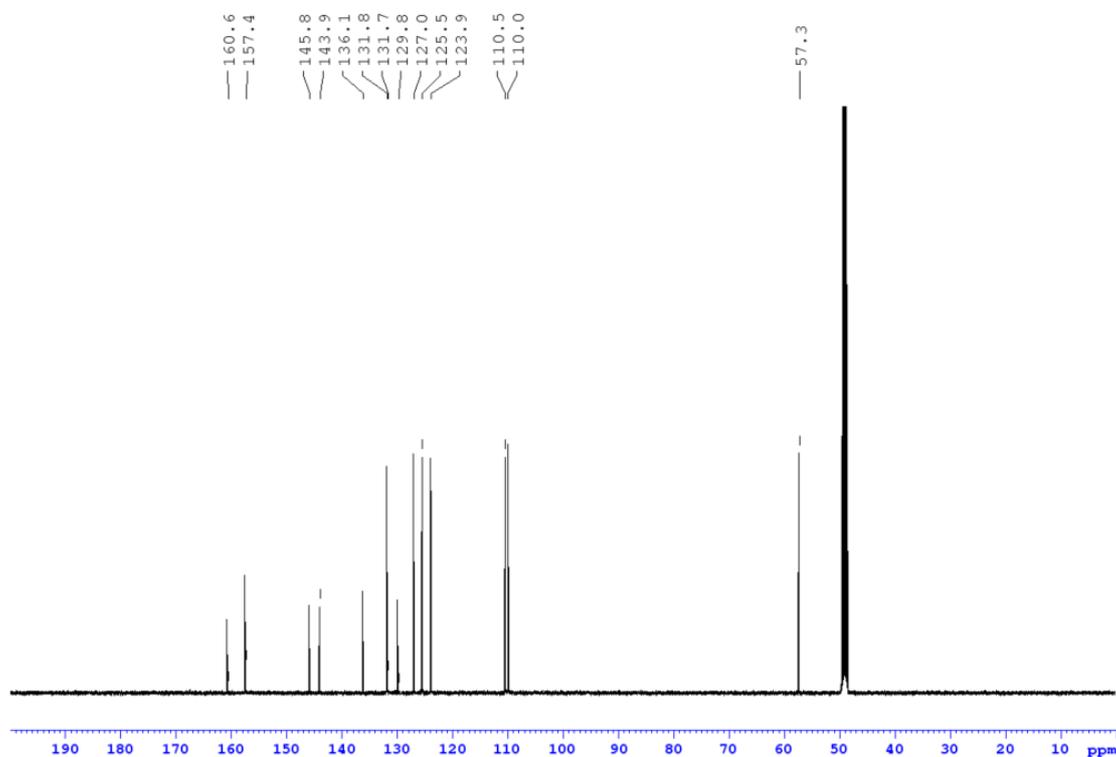
Anexo A37 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(3-metilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**107**)



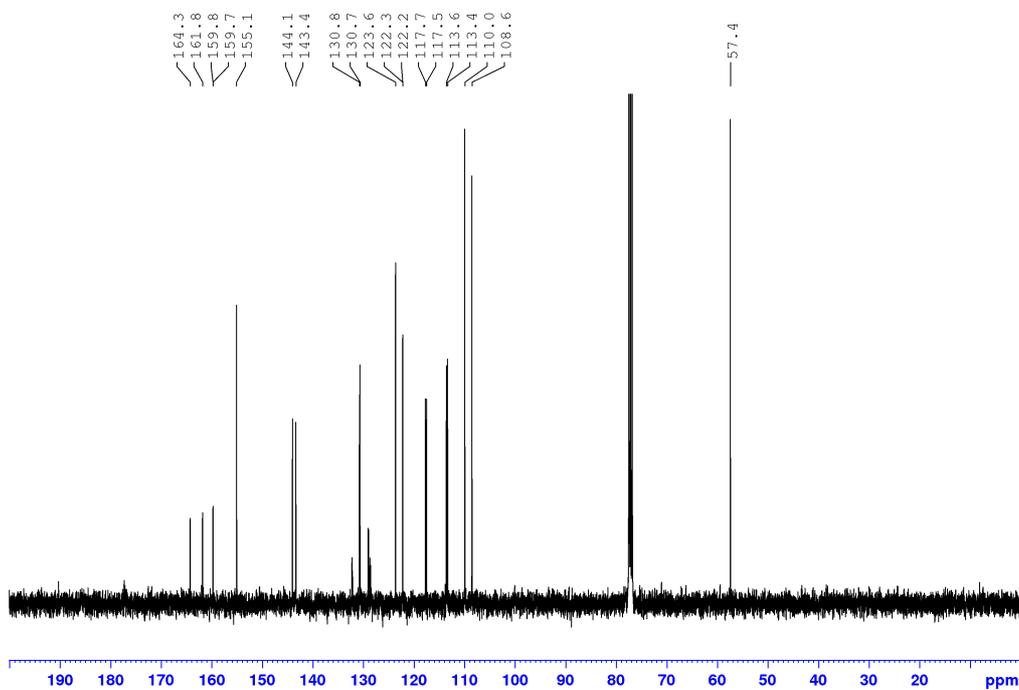
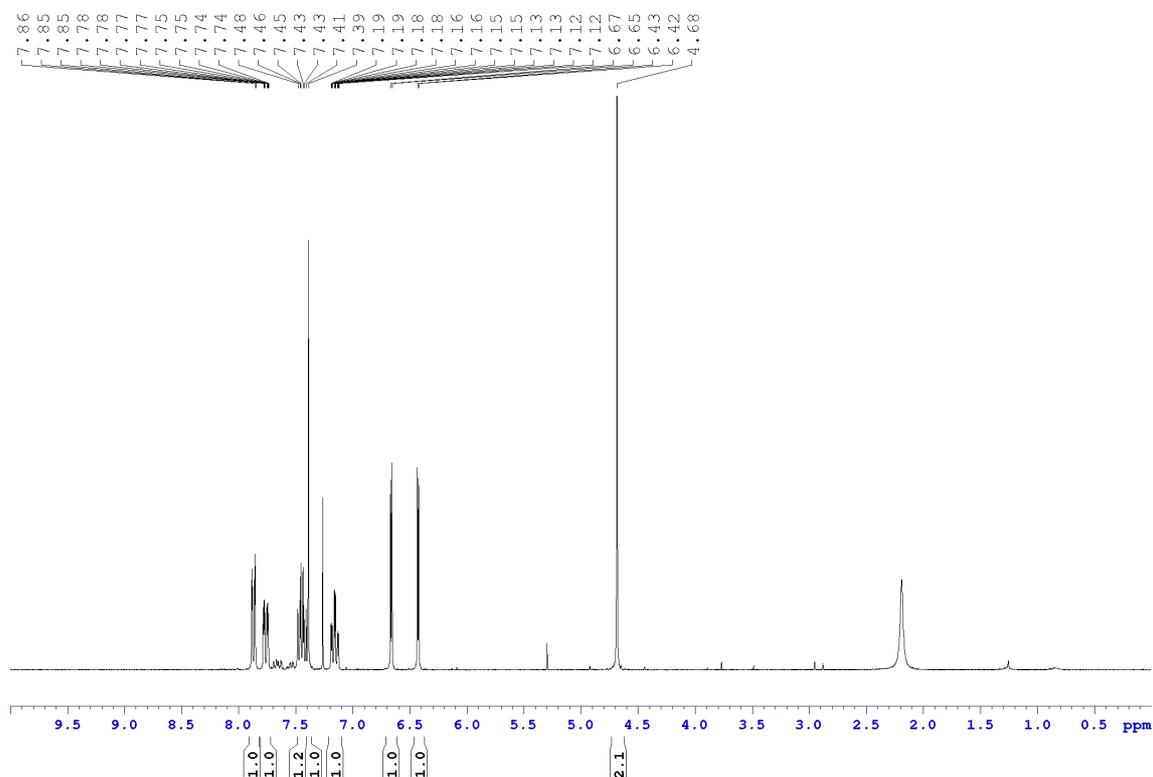
Anexo A38 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(3-trifluormetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**108**)



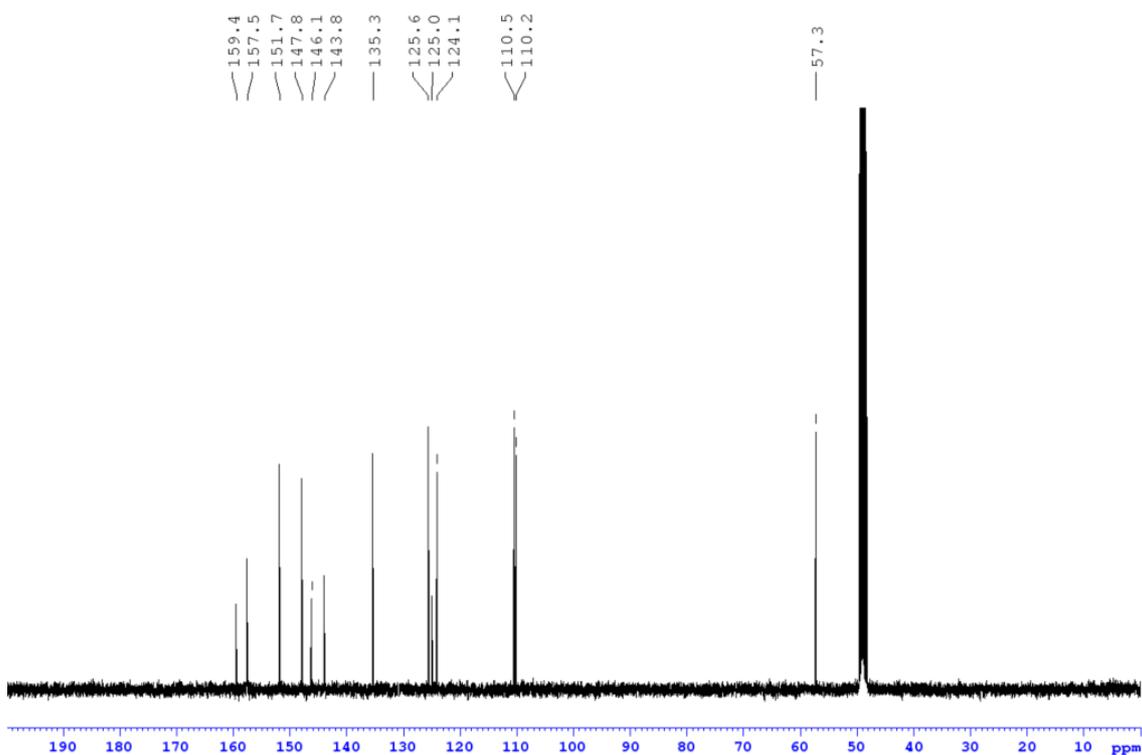
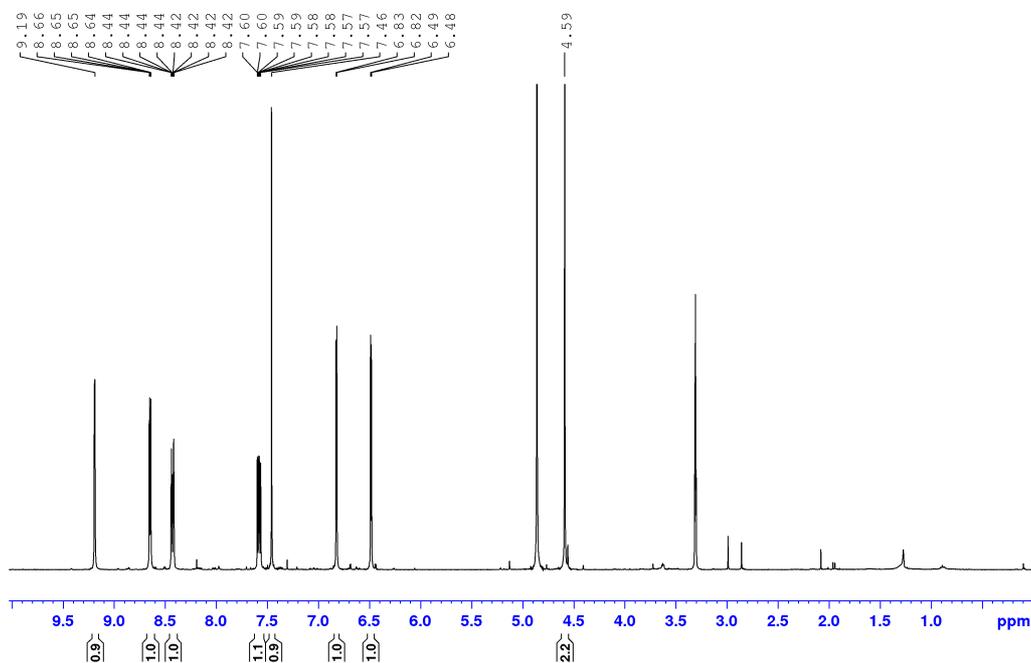
Anexo A39 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(3-clorofen-1-il)-5-(5-hidroximetil-2-il)oxazol (**109**)



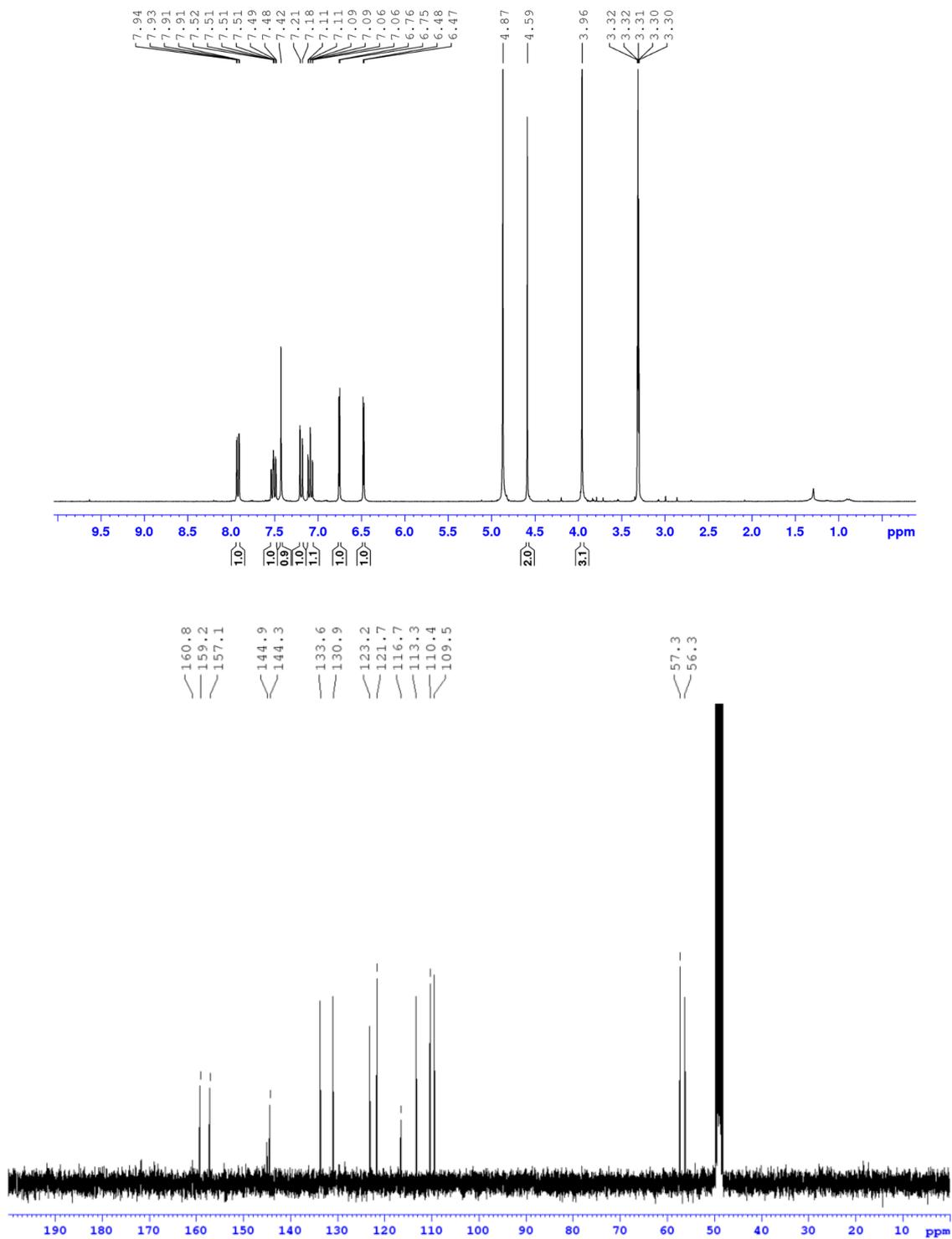
Anexo A40 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(3-fluorfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (110)



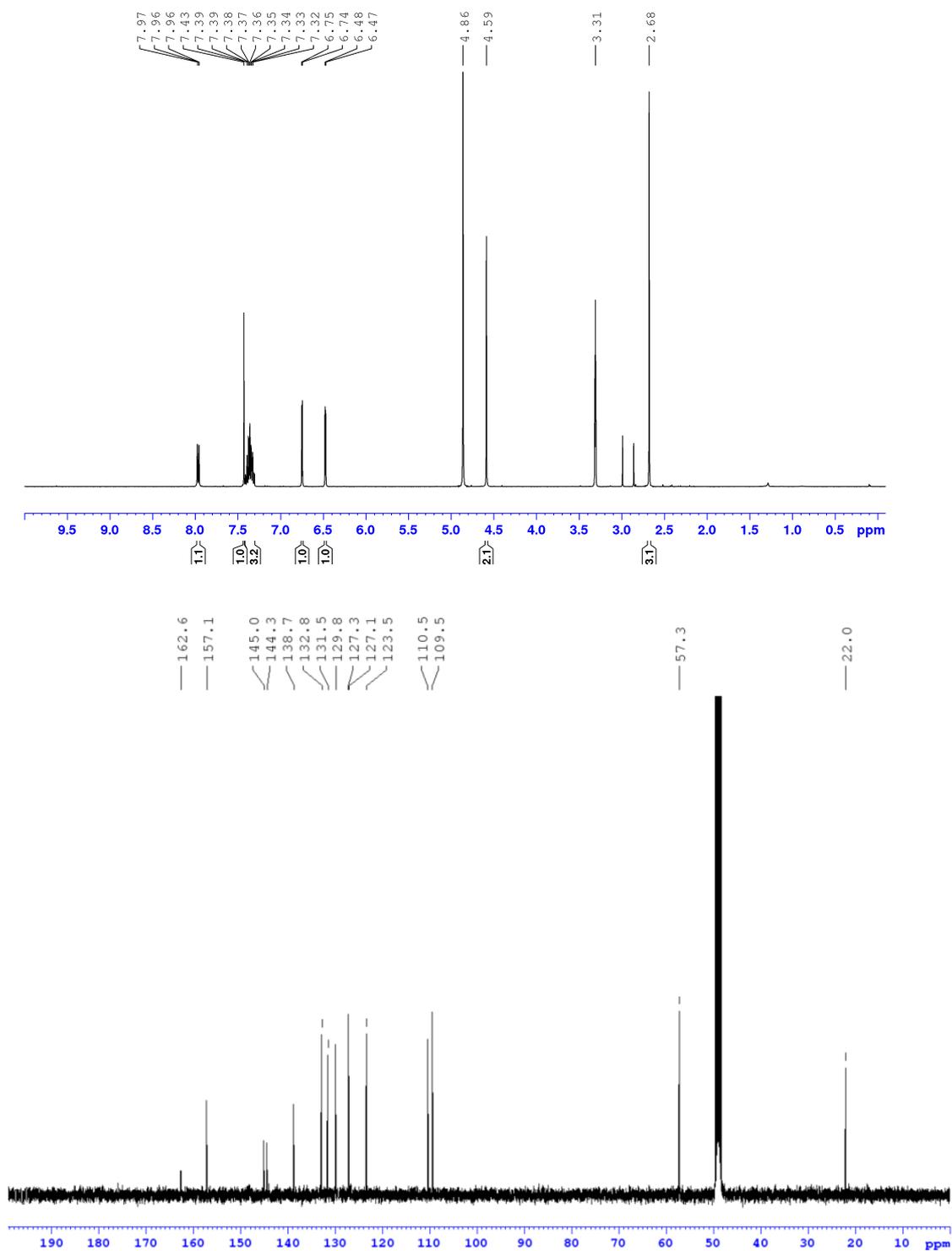
Anexo A41 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(3-piridil)-5-(5-hidroxi metilfuran-2-il)oxazol (111)



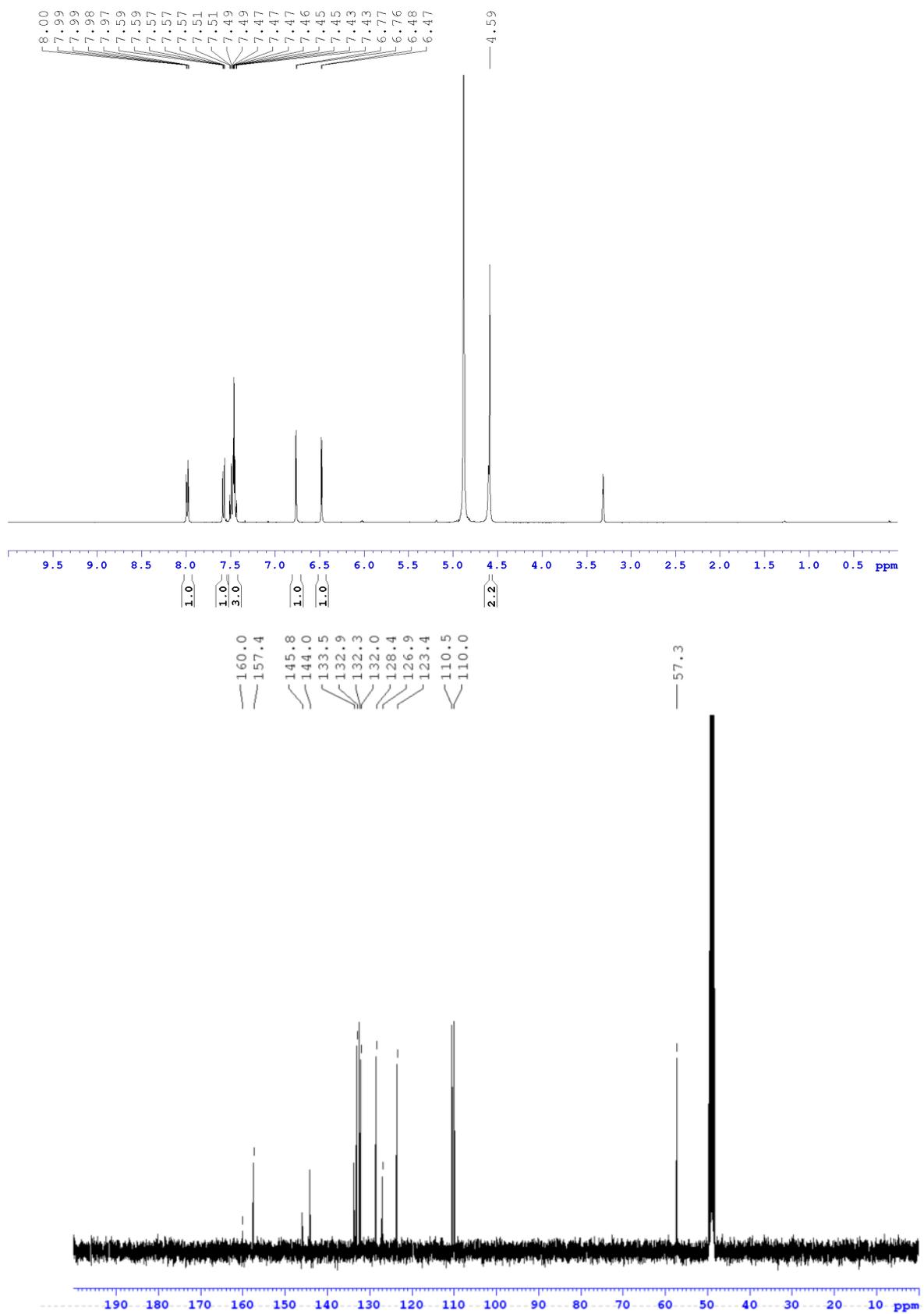
Anexo A42 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(2-metoxifen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**112**)



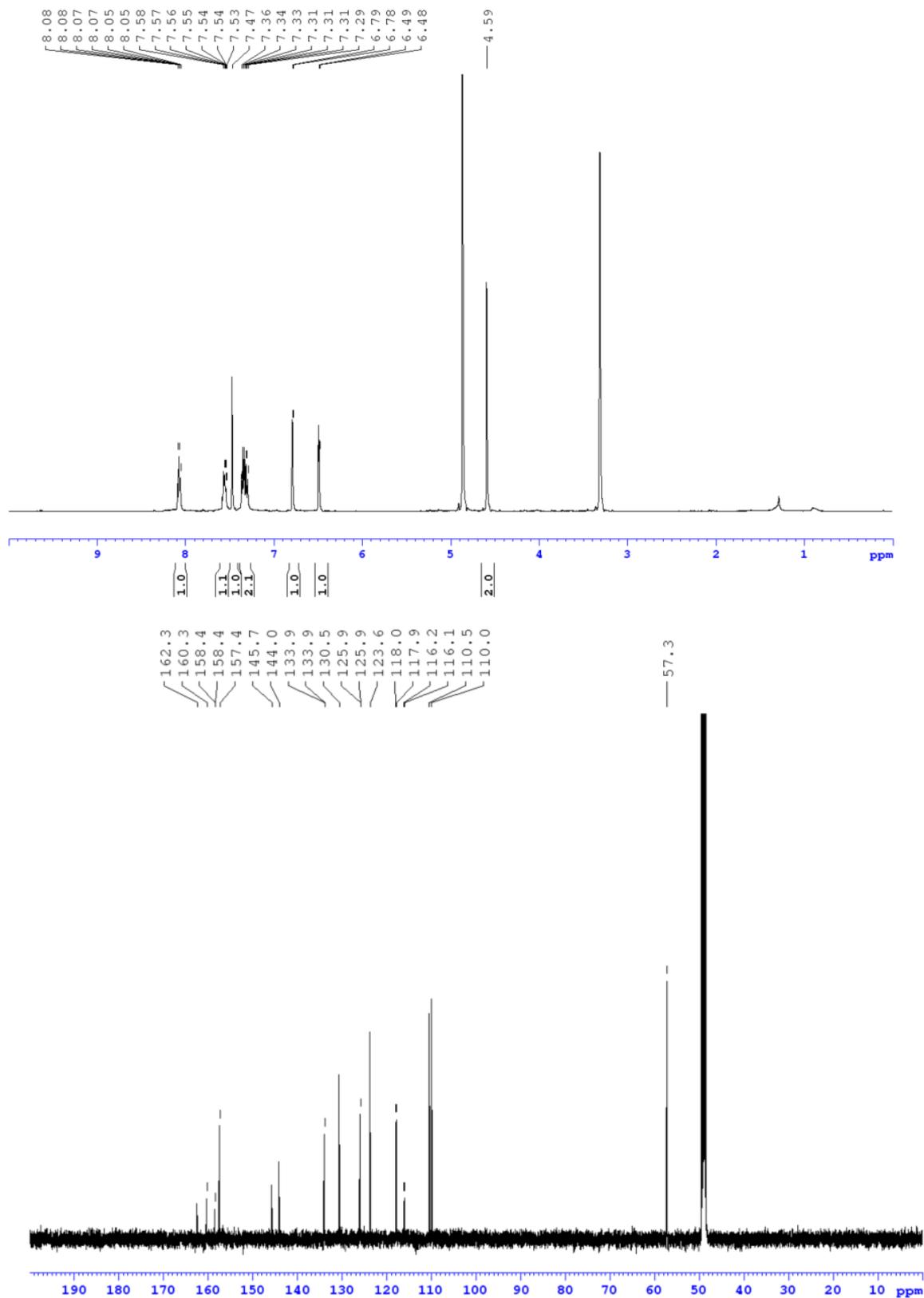
Anexo A43 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(2-metilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**113**)



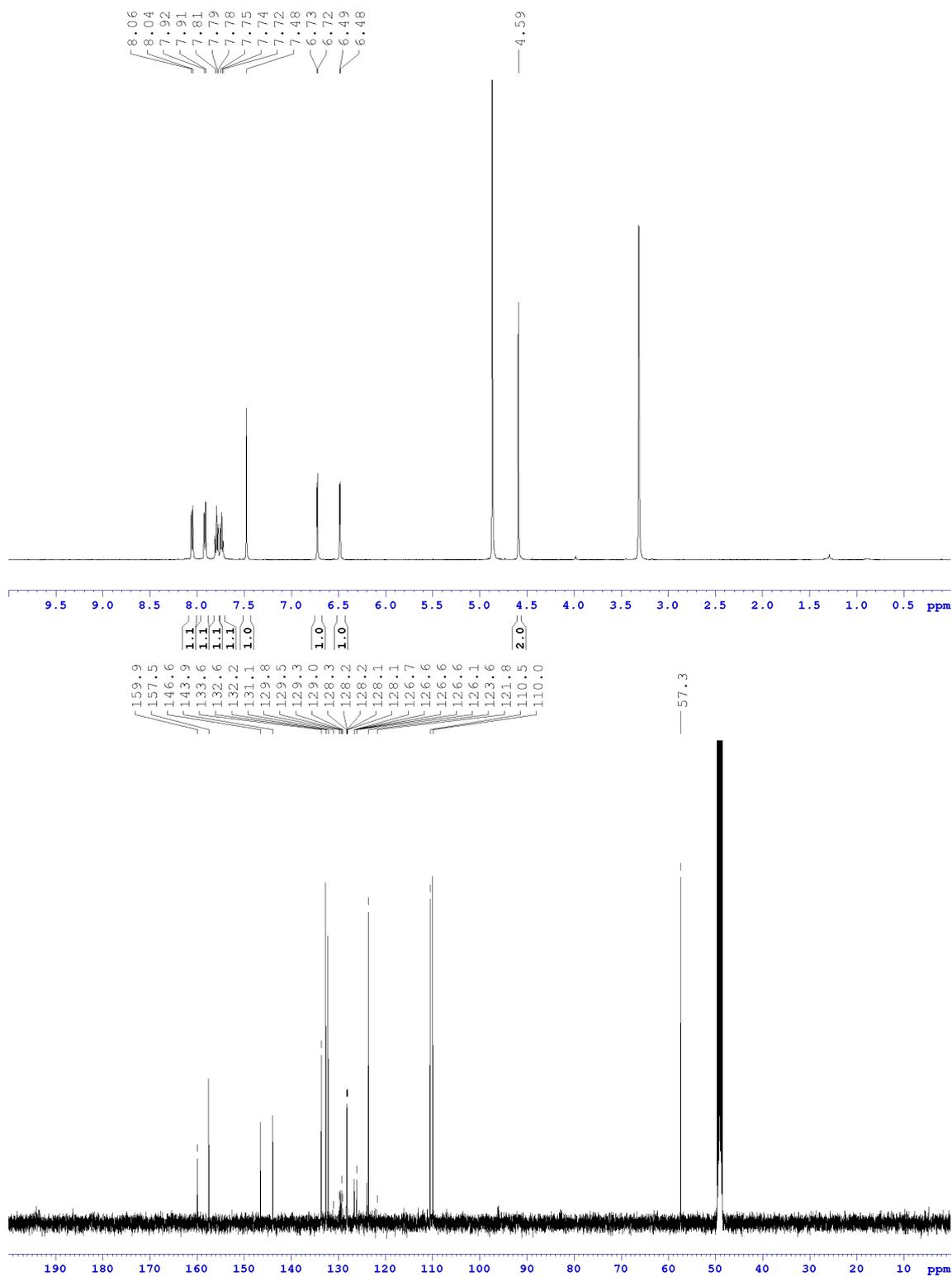
Anexo A44 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(2-clorofen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**114**)



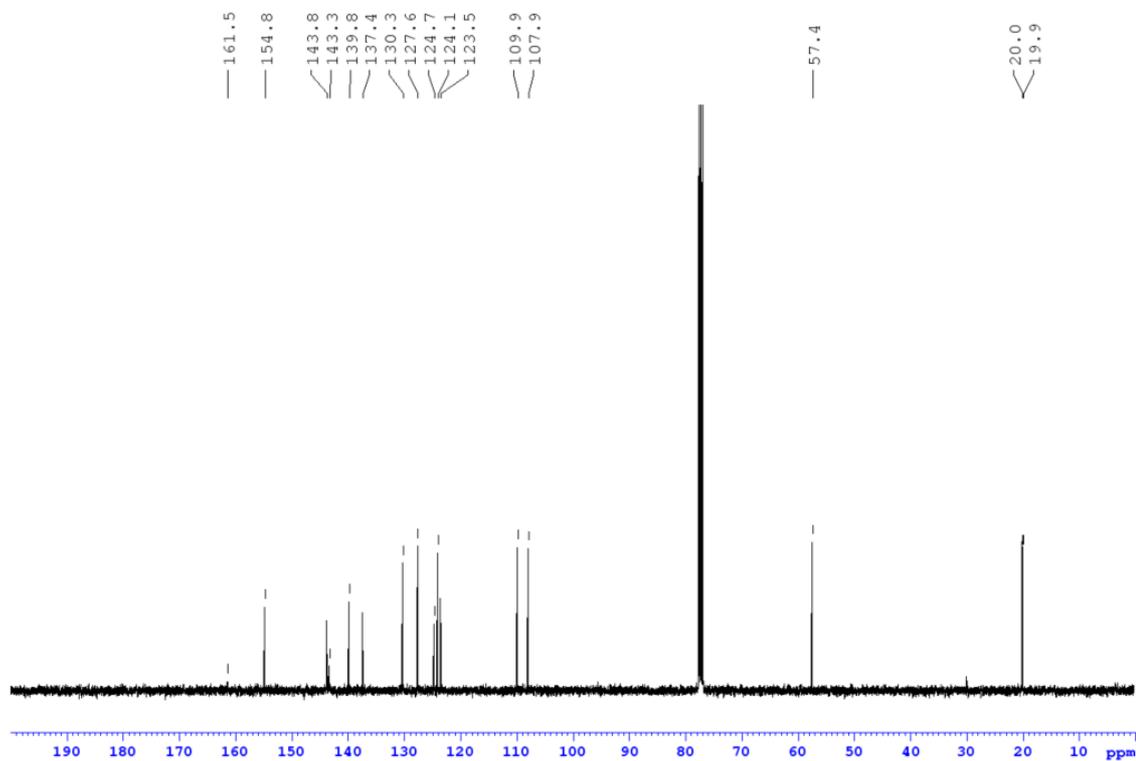
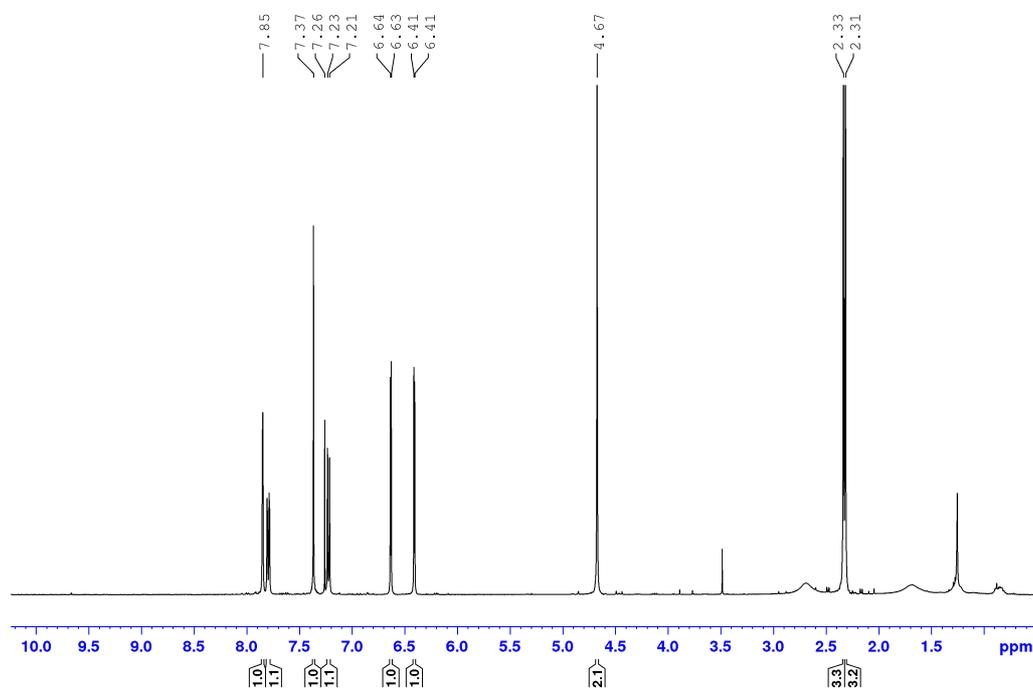
Anexo A45 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(2-fluorfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**115**)



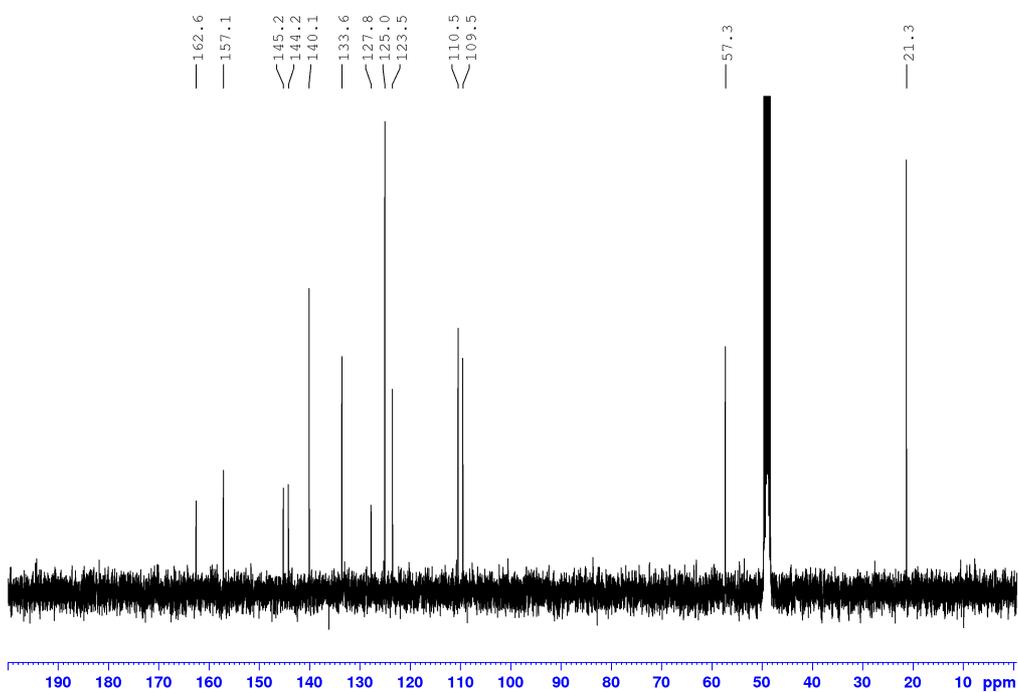
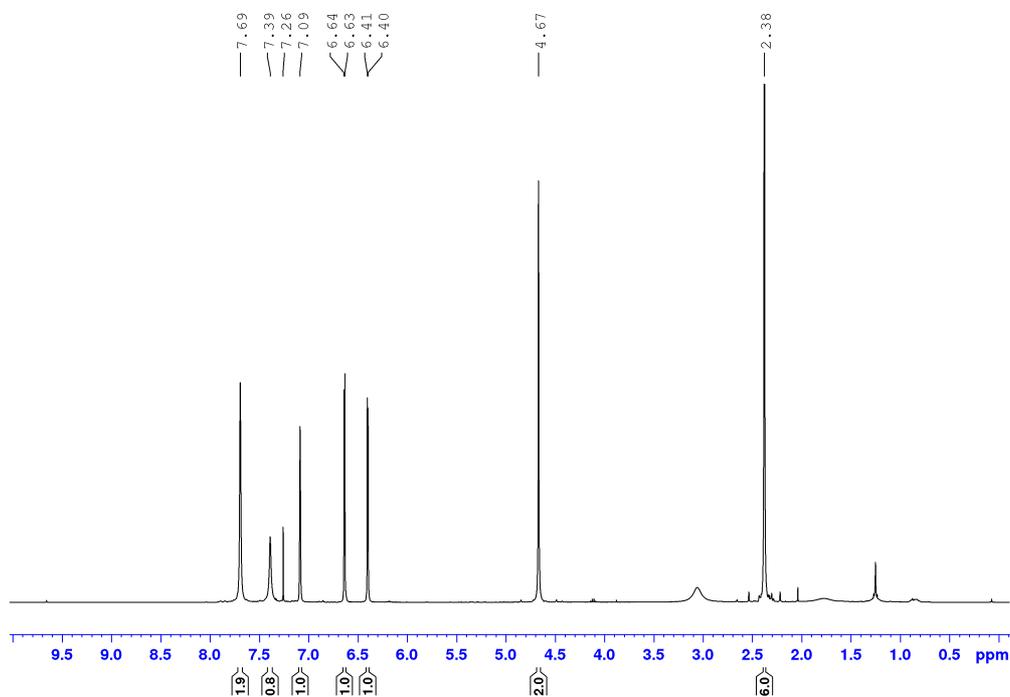
Anexo A46 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (500/125 MHz, CD_3OD): 2-(2-trifluormetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazoli (116)



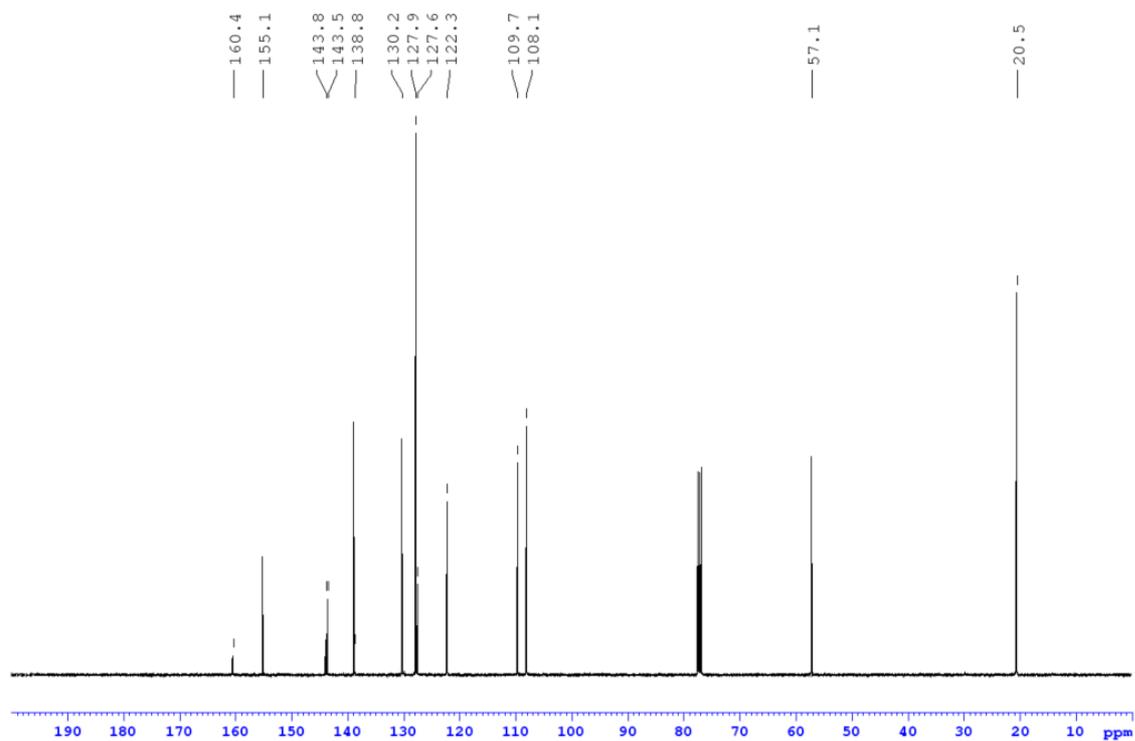
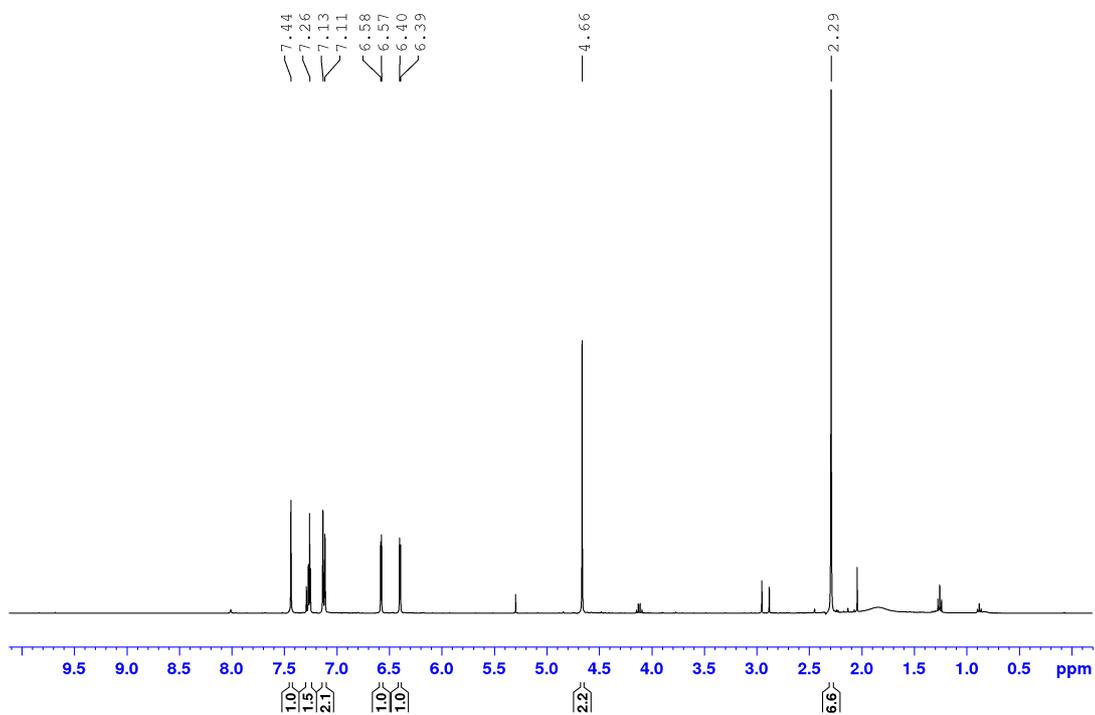
Anexo A47 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(3,4-dimetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (117)



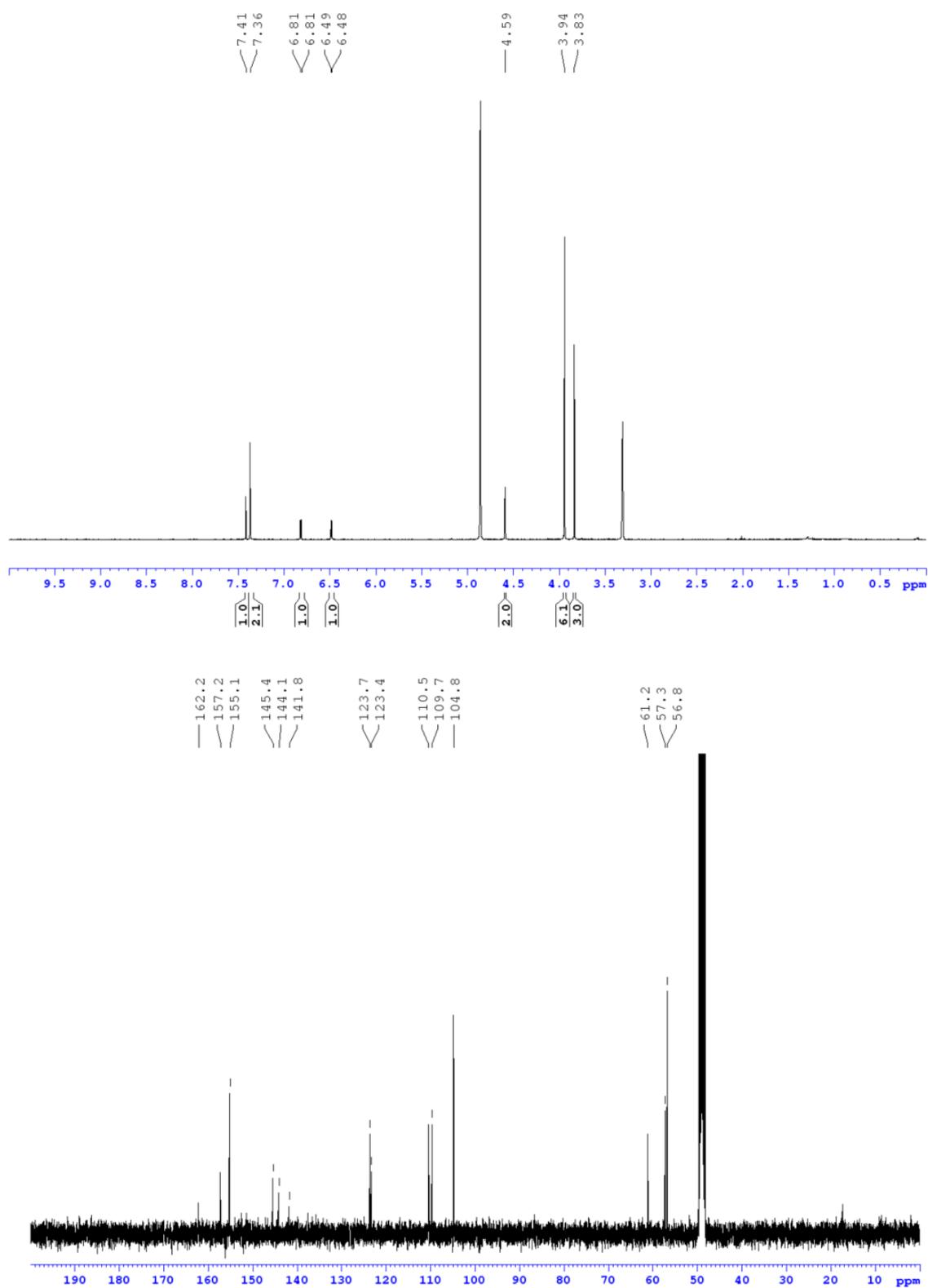
Anexo A48 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(3,5-dimetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (118)



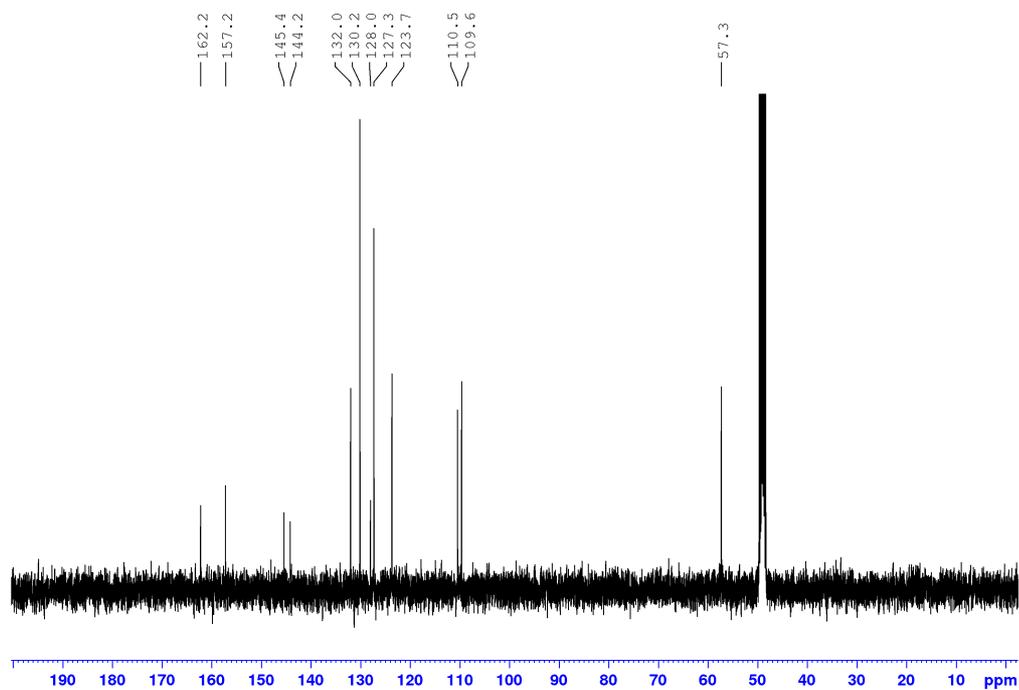
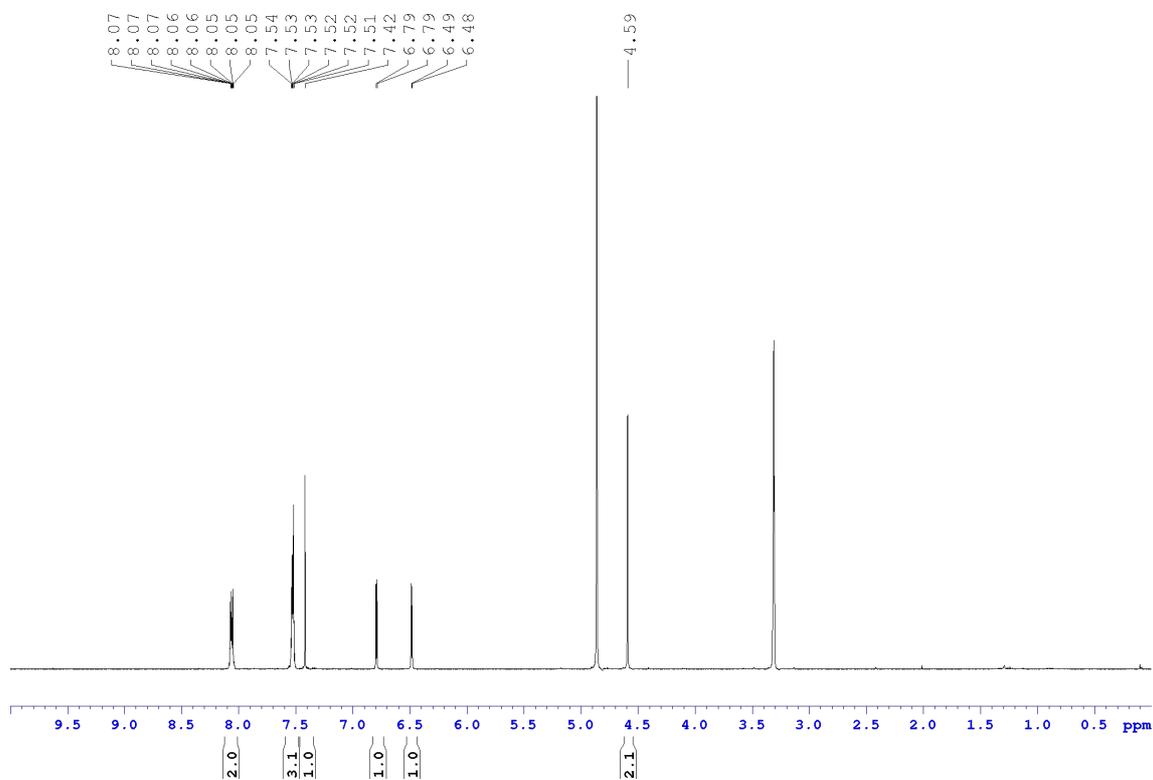
Anexo A49 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(2,5-dimetilfen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (119)



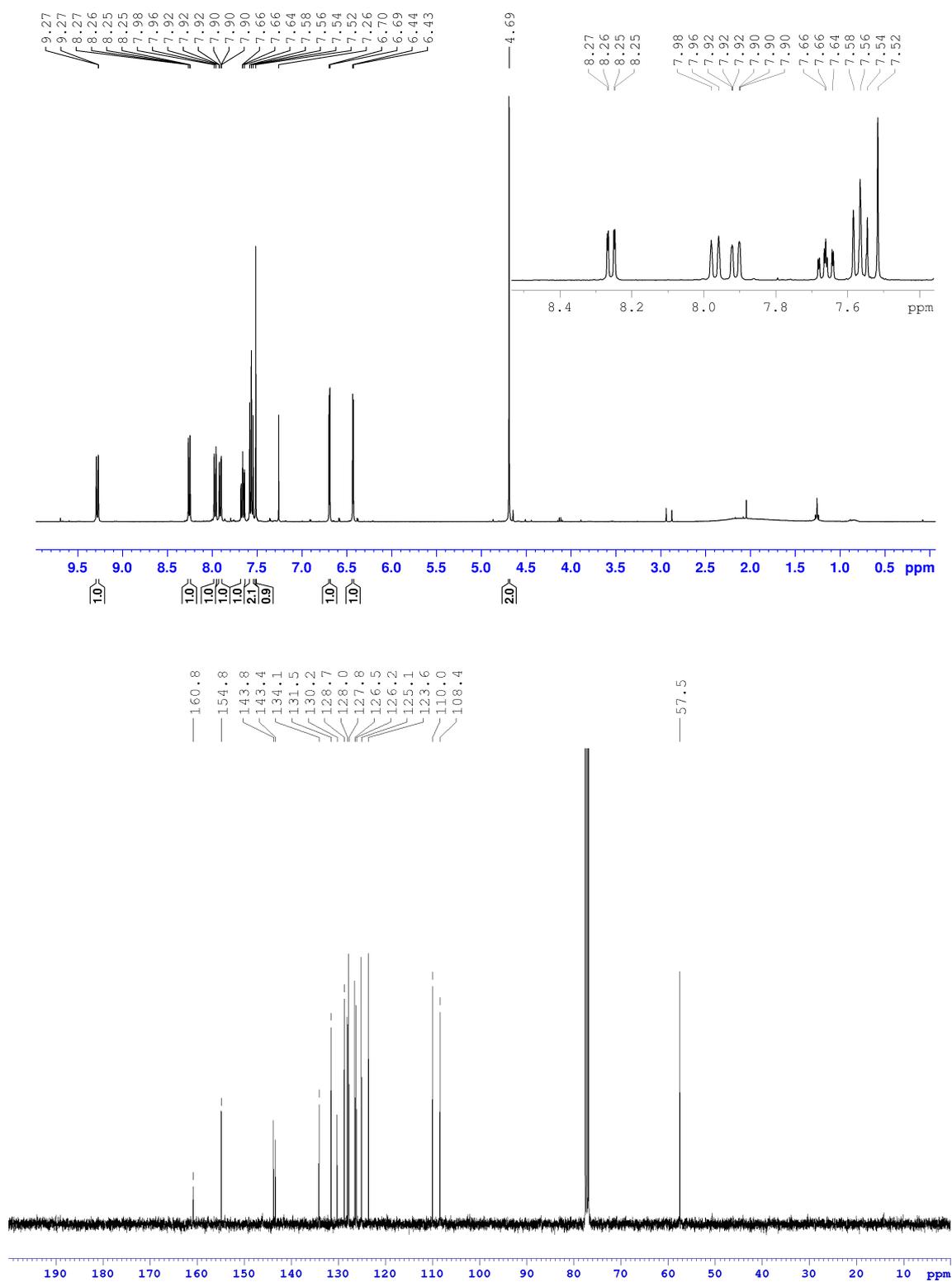
Anexo A50 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-(3,4,5-trimetoxifen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**120**)



Anexo A51 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CD_3OD): 2-fenil-5-(5-hidrometilfuran-2-il)oxazol (**121**)



Anexo A52 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, CDCl_3): 2-(*naft-1-il*)-5-(5-*hidroximetilfuran-2-il*)oxazol (**122**)



Anexo A53 – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (400/100 MHz, acetona- d_6): 2-(3,4-metilenodioxifen-1-il)-5-(5-hidroximetilfuran-2-il)oxazol (**124**)

