

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica

**NANOTRANSPORTADORES DENDRIMÉRICOS DE FÁRMACOS  
E COMPOSTOS BIOATIVOS DE LIBERAÇÃO INTRACELULAR.  
SÍNTESE DO RESPECTIVO DENDRON**

**Lucas Adriano do Nascimento**

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da Universidade  
de São Paulo.

Orientadora:  
Profa. Dra. Elizabeth Igne Ferreira

São Paulo

2018

## **Agradecimentos**

À minha família, por aceitar minhas escolhas e buscar recursos para que fosse possível correr atrás de meus sonhos.

Aos meus amigos, pelo suporte e conforto oferecidos na tristeza e no sentimento de derrota e pela alegria redobrada do sentimento de vitória, em todos os momentos, especialmente na conclusão deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, por tornarem o incessante trabalho em síntese orgânica muito mais fácil, agradável e recompensador, e pelo aprendizado sem tamanho que me passaram.

À Prof<sup>a</sup>. Elizabeth Igne Ferreira e à Prof<sup>a</sup>. Jeanine Giarolla Vargas. É muito difícil colocar apenas numa seção deste trabalho o quanto sou agradecido pela chance oferecida. Sempre sonhei em ter uma carreira científica, muito antes de ingressar no ensino superior e fui recebido de braços abertos por duas professoras, sem preconceitos ou receios. Nos momentos difíceis que encontrei em minha vida particular – e que impactaram minha vida dentro do nosso convívio profissional –, pude contar com compreensão, além de um enorme encorajamento e afeto genuínos. Estar junto delas é um aprendizado sem fim, que transcende o campo da ciência. Os meus sonhos dentro da ciência são meus, mas eu os alcançarei também para respeitar e eternizar tudo que pude construir sobre a orientação de vocês. Se cheguei onde cheguei como farmacêutico, só cheguei porque as conheci.

## Sumário

1. Introdução.....	5
2. Objetivos e Justificativa.....	8
3. Material e Métodos.....	9
3.1. Material.....	9
3.1.1 Reagentes e solventes.....	9
3.1.2 Equipamentos.....	9
3.1.3 Softwares.....	9
3.2. Métodos sintéticos.....	10
4. Resultados e discussão.....	12
5. Conclusão e perspectivas.....	24
6. Referências.....	24

## RESUMO

NASCIMENTO, L. A. **Nanotransportadores dendriméricos de fármacos e compostos bioativos de liberação intracelular. Síntese do respectivo dendron.** 2018. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Tendo em vista o panorama atual das doenças negligenciadas – promotoras da pobreza e desinteressantes para o investimento da indústria farmacêutica global por estarem ligadas à pobreza -, é necessário o desenvolvimento de estratégias capazes de resolver os problemas dos fármacos atualmente utilizados na terapêutica: farmacocinética deficiente, decorrente da comum falta de hidrossolubilidade e alta toxicidade, que interfere diretamente na relação entre o paciente e seu tratamento, diminuindo sua adesão. Este trabalho visa a apresentar os resultados de um projeto de Iniciação Científica, que tem como objetivo a síntese de um dendron derivado de trometamol, que faz parte de um dendrímero responsivo à tripanotona redutase, enzima essencial no metabolismo de poliaminas do *Trypanosoma cruzi*, parasita causador da doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana. Este dendron possui em sua estrutura diversos grupos hidroxilas, que conferem à estrutura geral alta solubilidade, ligadas a anéis triazólicos, reconhecidos por sua alta estabilidade metabólica. Este trabalho faz parte da tese de Rodrigo Vieira Gonzaga, em desenvolvimento, sob supervisão da mesma orientadora, e que tem por título: “Síntese de nanotransportadores dendriméricos de fármacos e compostos bioativos de ação de liberação intracelular. Pró-fármacos dendriméricos tripanomicidas”. Quatro das cinco etapas sintéticas foram concluídas, compreendendo toda a síntese do dendron proposto com exceção da hidrólise de um grupo carbamato adicionado ao material de partida que constitui o foco central deste dendron. Para caracterizar a obtenção dos intermediários analisaram-se os espectros obtidos por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e espectroscopia de IV. Todas as reações, com exceção da propargilação do trometamol protegido (segundo passo da síntese) apresentaram alto rendimento; a reação citada apresenta baixo rendimento, por se tratar de uma reação que possibilita a formação de subprodutos com porcentagens similares às do intermediário desejado. Os resultados aqui apresentados são suficientes para concluir que todas as etapas realizadas tiveram suas sínteses obtidas com êxito,

caracterizada, ultimamente, pela aparição de prótons ligados a um anel aromático, sinal que só pode ser proveniente dos anéis triazólicos do dendron, já que até este ponto nenhum intermediário ou solvente contém grupos aromáticos.

**Palavras-chave:** dendrímero, nanotransportadores, dendron, latenciação, fármacos autoimolativos

## 1. Introdução

Em 1977, o pesquisador Kenneth S. Warren apresentou à Rockefeller Foundation sua proposta de encorajamento à pesquisa sobre o que definiu como as “grandes doenças negligenciadas”: grandes devido às suas altas prevalências e negligenciadas pela escassez de pesquisa sobre elas (KEATING, 2014). As doenças negligenciadas (DN) são um conjunto de patologias geradas pela infecção de agentes virais, protozoários, bactérias e helmintos, sendo endêmicas nas Américas, Ásia e África. A epidemiologia demonstra que estas são intimamente ligadas a diferenças socioeconômicas, sendo não só originadas como também intensificadoras de tal problema (DE SOUZA, 2010). A falta de interesse mercadológico da indústria farmacêutica e de instituições de pesquisa desacelera o desenvolvimento de tecnologias para o diagnóstico e tratamento das DN, mantendo a situação de endemia em regiões como o Brasil (SILVA-PIRES, 2017). A falta de pesquisa também afeta a terapêutica disponível para o tratamento das DN, que conta com fármacos que apresentam diversos problemas, destacando-se suas elevadas toxicidades (SILVA, NICOLETTI, 2013).

A doença de Chagas, conhecida também por tripanossomíase americana, é uma DN causada pela infecção do protozoário *Trypanosoma cruzi*. É uma zoonose que torna o ser humano hospedeiro do parasita após a picada dos chamados triatomíneos, insetos hematófagos da subfamília Reduviidae, conhecidos popularmente no Brasil pelo nome genérico “barbeiro”. As fezes contaminadas pelo protozoário são excretadas próximas ao local da picada, sendo arrastadas até tal abertura pelo ato de se coçar, propiciando a infecção. Após entrar no organismo humano e invadir células próximas ao tecido picado, o *T. cruzi* passa por uma diferenciação, indo da forma tripomastigota (infectiva) para amastigota (latente), que se multiplica por fissão binária e então pode se diferenciar novamente para tripomastigota, ficando nesta forma na corrente sanguínea, possibilitando reinfecção ou transmissão para um novo vetor (CDC, 2015). Uma doença endêmica nas Américas, em especial entre a América do Sul e o México, a doença de Chagas acomete de forma crônica entre 6 e 7 milhões de pessoas (WHO, 2018); no Brasil, estima-se que 1,1 milhão de pessoas estejam infectadas com o *T. cruzi* (WHO, 2015), reiterando a importância da pesquisa científica sobre técnicas de diagnóstico, prevenção e controle da doença (DIAS, 2016). É importante ressaltar que, graças à

intensa migração de indivíduos infectados das zonas endêmicas para outras não endêmicas, há casos registrados nos Estados Unidos, Canadá, Espanha, Japão e Austrália (DNDi, 2018), o que chama a atenção de indústrias farmacêuticas desses países para a necessidade de busca de alternativas terapêuticas.

Essa necessidade é premente, tendo-se em vista que só há dois fármacos disponíveis para o tratamento da fase aguda da doença de Chagas, benznidazol e nifurtimox (DNDi, 2018), ativos na fase aguda da doença. No Brasil, apenas o benznidazol é utilizado. Tais compostos, a par dos efeitos adversos, não apresentam atividade na fase crônica, o grande desafio da doença de Chagas.

A latenciação é uma estratégia de modificação molecular bastante interessante para a criação de novos agentes terapêuticos e aprimoramento das propriedades de fármacos/compostos bioativos. Compreende a transformação de uma molécula bioativa em uma forma latente - chamada pró-fármaco -, sem atividade biológica, que necessita sofrer uma transformação enzimática ou química para que recupere sua atividade. (CHUNG et al., 2005; SILVA et al., 2005). A latenciação permite manipular diversas propriedades de uma molécula, como hidrossolubilidade e lipofilicidade, além de possibilitar o direcionamento do fármaco para um tecido de interesse (HAN, 2000).

Uma abordagem atual da latenciação é sua aplicação nas nanoestruturas chamadas dendrímeros. Tais moléculas, classicamente, apresentam um foco central e ramificações partindo dele, passíveis de conterem fármacos a elas ligados. Estas ligações apresentam a labilidade típica da latenciação, permitindo que os dendrímeros transportem várias moléculas de um mesmo fármaco. A síntese destas estruturas pode ser feita partindo do foco central, ligando as ramificações a ele (síntese divergente), ou através da união das ramificações numa região a um foco central (síntese convergente). O uso dos dendrímeros amplia as vantagens obtidas com a latenciação, sendo capazes de aprimorar ainda mais problemas farmacocinéticos ou farmacológicos (SVESON, TOMALIA, 2012).

A alta toxicidade dos fármacos utilizados no tratamento das DN é uma grande barreira que deve ser transposta para o controle das endemias (HOLTEZ, 2016). Toxicidade é uma característica intrínseca às moléculas, tendo uma íntima relação com a dose que estas se encontram num organismo (BARREIRO, MANSSOUR FRAGA, 2015). Os efeitos tóxicos gerados podem ser decorrentes da interação direta de uma com alguma estrutura celular, por alteração das condições

homeostáticas de um tecido, pela saturação ou depleção de mecanismos de desintoxicação, ou ainda por agregação em estruturas de tamanho considerável que causam lesões teciduais. Assim sendo, o direcionamento de fármacos que apresentem alta toxicidade se mostra uma boa estratégia para a otimização de sua atividade, já que estes passarão a agir somente no tecido de interesse, limitando sua ação em outras regiões, promovendo, assim, a amenização de efeitos adversos (ALLEN, CULLI, 2004).

Uma das técnicas de direcionamento de fármacos quimioterápicos contra micro-organismos baseia-se na utilização de formas latentes que respondam ao metabolismo deste invasor. Ainda que a enzima do alvo tenha certa homologia com enzima do hospedeiro, é possível, através do chamado *structure-based drug design*, planejar formas latentes que sejam preferencialmente metabolizadas pelas enzimas do micro-organismo, diminuindo sua ativação ao nível sistêmico. Esse processo tem sua aplicação viável, aproveitando as diferenças entre resíduos de aminoácidos presentes no sítio catalítico de ambas as enzimas, aumentando a interação do fármaco com os resíduos presentes na enzima do invasor ou dificultando a interação com a enzima do hospedeiro. Contudo, quando possível, é mais produtivo desenvolver pró-fármacos que sejam metabolizados por enzimas expressas unicamente pelo micro-organismo (CHUNG et al., 2008).

Dendrímeros autoimolativos são assim chamados por conterem em sua estrutura uma região gatilho, que, quando ativada, cliva-se de forma que as porções resultantes entram em reações espontâneas, levando, em última instância, à liberação do fármaco ou composto bioativo, em “efeito dominó”. Esta característica confere ao dendrímero alta especificidade, promovendo liberação direcionada, preponderantemente, ao tecido de interesse (AMIR et al., 2003).

A tripanotona redutase (TR) é uma enzima essencial para a sobrevivência e proliferação de diversos tripanossomas no organismo humano. Uma vez que este não apresenta quantidades suficientes de poliaminas para o uso do protozoário, este é adaptado com uma cascata metabólica que as sintetiza. A tripanotona é um metabólito formado pela união entre a glutatona e a poliamina espermina, e sua biossíntese consiste de dois passos, sendo o limitante o que conta com a ação da TR. Desta forma, esta enzima se apresenta como um alvo interessante a ser explorado no tratamento de infecções por tripanossomas (KHAN, 2007).

Entende-se que a adesão leva em conta não só a vontade do indivíduo em participar e colaborar do seu tratamento, mas também o ambiente – geográfico e social - onde está inserido, bem como o acesso a profissionais de saúde, terapia medicamentosa eficiente e



segura e a estratégias básicas de promoção de saúde, como saneamento básico. (GUSMÃO, MION JR, 2006). A combinação da alta toxicidade dos fármacos disponíveis com o contexto socioeconômico onde as DN estão presentes demonstra que são necessários novos fármacos para seu tratamento (SILVA, NICOLETTI, 2013).

## 2. Objetivos e Justificativa

Face ao exposto, neste trabalho propõe-se a síntese de um dendron (Figura 1) (parte do dendrímero) para ser ligado a um gatilho do tipo dissulfeto, responsivo à TR e à glutatona redutase. Este dendron apresenta em sua estrutura anéis triazólicos ligados a cadeias alcoólicas, que conferem hidrossolubilidade à estrutura - propriedade interessante, uma vez que os compostos bioativos projetados para serem transportados pelo dendrímero, a 3-hidroxi-flavona(referência) e o hidroximetilnitrofurural (referência), apresentam baixa hidrossolubilidade, levando a problemas farmacocinéticos; os anéis, por sua vez, conferem ao dendrímero estabilidade metabólica, garantindo a integridade das porções responsáveis pelos ajustes farmacocinéticos (JEAN, FOTSCH, 2012).

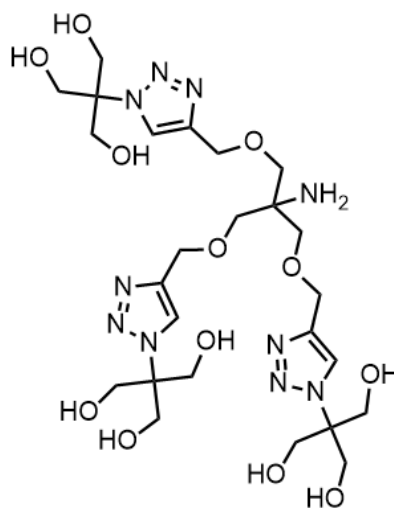


Figura 1 - Estrutura proposta para o dendron triazólico.

### **3. Material e Métodos**

#### **3.1. Material**

##### **3.1.1 Reagentes e solventes**

Acetato de etila (EtOAc), acetona, acetonitrila (ACN), ácido trifluoracético (TFA), ácido tríflico, ascorbato de sódio, azida de sódio, bicarbonato de sódio, brometo de propargila, cloreto de amônio, cloreto de sódio, clorofórmio deuterado, diclorometano, dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d6), di-*terc*-butil-carbonato (BOC), hidróxido de potássio, hexano (Hex), iodeto de cobre (CuI), metanol (MeOH), sulfato de sódio anidro, tetraidrofurano (THF), trietilamina (Et3N), trometamol e *terc*-butanol.

##### **3.1.2 Equipamentos**

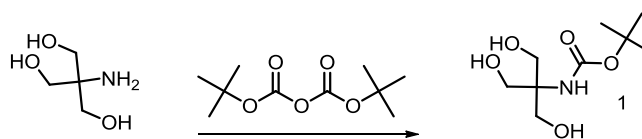
- Agitadores magnéticos
- Aparelho digital Büchi M-565 para determinar faixa de fusão
- Câmara de fotoestabilidade Farma 424 CF Nova Ética
- Cromatografia em Isolera Biotage
- Espectrofotômetro FTIR Bomem MB 100
- Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear 300 MHz BRUKER, modelo Advanced DPX-300
- Espectrofotômetro UV Beckam DU-70
- Rotaevaporador Büchi
- Micro-ondas CEM Discovery SP

##### **3.1.3 Softwares**

- ChemDraw Professional 17.1
- MestReNova 12.0.3

## 3.2. Métodos sintéticos

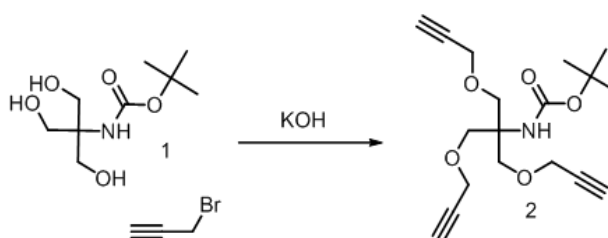
### 3.2.1 Proteção do trometamol (intermediário 1) (Chabre et al., 2008)



Esquema 1 – Proteção do trometamol.

Uma solução contendo di-*tert*-butil-carbonato (BOC) (10,7 mmol) em 10 mL de *tert*-butanol é adicionada à suspensão de trometamol (8,20 mmol) em mistura de metanol e *tert*-butanol 1:1 (15 mL), sob agitação por 18 h. Após esse período, o solvente é removido por pressão reduzida e o resíduo obtido, purificado por precipitação em etanol gelado e filtrado.

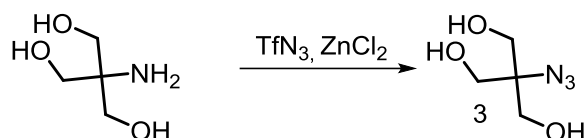
### 3.2.2 Síntese intermediário 2 (Chabre et al., 2008)



Esquema 2 – Síntese do intermediário 2.

O trometamol protegido (2,26 mmol) é adicionado, em DMF anidro, a 0 °C, ao brometo de propargila (13,6 mmol), juntamente com porções de KOH finamente triturado (13,6 mmol), durante 15 min. Aquece-se a 35 °C e agita-se durante 24 h, sob atmosfera inerte. Após esse período, é realizada filtração, adicionando-se 50 mL de acetato de etila em funil de separação e realizando extrações com água (3x30 mL). Na fase orgânica separada, adiciona-se o sulfato de sódio anidro, filtrando-se novamente e removendo o solvente sob pressão reduzida a 50 °C. A purificação é realizada por cromatografia em coluna.

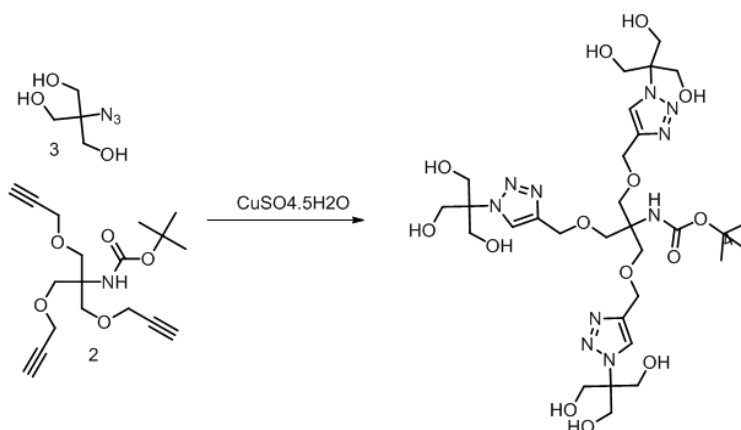
### 3.2.3 Síntese da azida de trometamol (intermediário 3) (Razgulin, Mecozzi, 2015)



Esquema 3 – Síntese da azida de trometamol.

Em balão fundo redondo, dissolve-se a azida sódica (41,8 mmol) em 10 mL de diclorometano e 10 mL de água. O ácido trifílico (20,8 mmol) é adicionado lentamente, gota a gota, sob banho de gelo a 0 °C, mantendo sob agitação magnética nessas condições por 2 horas e separando a fase orgânica. A fase aquosa é extraída com pequenas porções de diclorometano e juntada com a fase orgânica. Trometamol (8,62 mmol), trietilamina (21,5 mmol) e cloreto de zinco (0,403 mmol) (ZnCl<sub>2</sub>) são dissolvidos em 65 mL de mistura de diclorometano:metanol:água, 3:10:3, respectivamente. Após 2 horas, adiciona-se a solução da azida formada a partir da trifluormetanossulfonil azida (TfN<sub>3</sub>) à mistura de trometamol, cloreto de zinco e trietilamina, deixando-se em reação *overnight* e concentrando, posteriormente. Ao concentrado, adicionam-se 50 mL de anidrido acético com acetato de sódio (28,9 mmol). A reação é aquecida de modo a atingir o ponto de ebulição do solvente (Ac<sub>2</sub>O) e depois é esfriada. Remove-se o excesso do solvente sob pressão reduzida e o resíduo é extraído com diclorometano e solução de bicarbonato de sódio. A fase orgânica recolhida é secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e, então, concentrada sob pressão reduzida.

### 3.2.4 Síntese do dendron (intermediário 4) (Yoo et al., 2007).

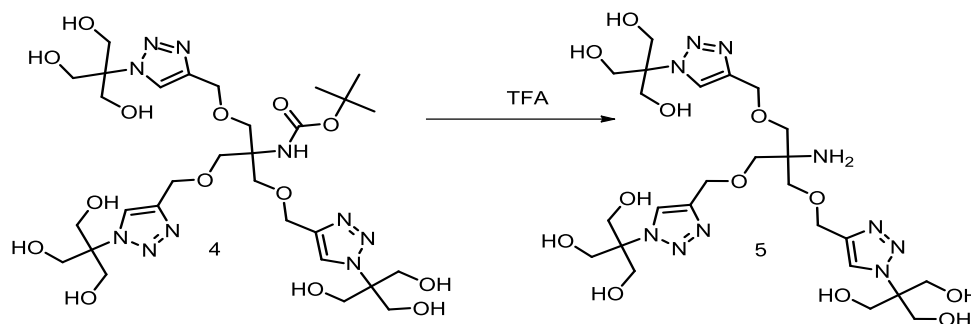


Esquema 4 – Síntese do dendron.

À solução do composto 2 (0,010 mmol, 1,0 eq) em água e tetraidrofurano 1:1 (3,0 mL) adicionam-se o composto 3 (0,040 mmol, 4 eq), CuI (0,010 mmol, 1,0 eq.) e, lentamente,

triethylamina (0,012 mol, 1,2 eq). A mistura é submetida a micro-ondas, por 45 minutos, a 100 W de potência e aquecimento até 100 °C. Adiciona-se acetato de etila (15 mL) e a solução é lavada com solução saturada de NH<sub>4</sub>Cl aquoso (2 x 10 mL), água (10 mL) e solução saturada de NaCl (5 mL). A fase orgânica é recolhida e secada com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e, então, concentrada sob pressão reduzida.

### 3.2.5 Desproteção do dendron (intermediário 5) (Chabre et al., 2008).



Esquema 5 – Desproteção do dendron.

Solução contendo 1 mmol do composto 4, em 3,5 mL de diclorometano anidro é mantida sob agitação em banho de gelo a 0 °C, por 30 min, adicionando-se gota a gota o ácido trifluoroacético (TFA) (1,43 mL, 19,25 mmol). Após 30 min, mantém-se a reação sob agitação à temperatura ambiente por 2 horas. A mistura é, então, concentrada sob pressão reduzida, usando tolueno como co-solvente (2 x 3 mL).

## 4. Resultados e discussão

A reação de síntese do dendron é feita entre dois intermediários diferentes obtidos através do trometamol: o primeiro consiste numa versão *O*-propargilada do material de partida (intermediário 2, Esquema 2) e o segundo, em azida sintetizada a partir da amina primária do material de partida (intermediário 3, Esquema 3).

A síntese do intermediário 2 é possível através de substituições nucleofílicas nos grupos hidroxila do trometamol; contudo, a amina primária nele presente também tem caráter nucleofílico suficiente para ser propargilada, então protegeu-se anteriormente este grupo, com Boc (Esquema 1). A proteção do trometamol foi feita como descrita por Chabre e colaboradores (2008), em que o trometamol é suspenso em *tert*-butanol e metanol (1:1) seguido da adição, gota a gota, de uma solução de *tert*-butanol contendo o BOC (grupo protetor) em excesso em relação ao trometamol. O mecanismo de ação desta etapa é apresentado na Figura 2, sendo esta uma adição nucleofílica a uma das carboxilas do grupo protetor, formando uma ligação carbamato, reconhecida por sua alta estabilidade quando

comparada a ligações do tipo éster. Esta etapa teve um rendimento de 70% e é a única cuja purificação do produto é feita através de precipitação, já que os demais necessitam de cromatografias para essa etapa.

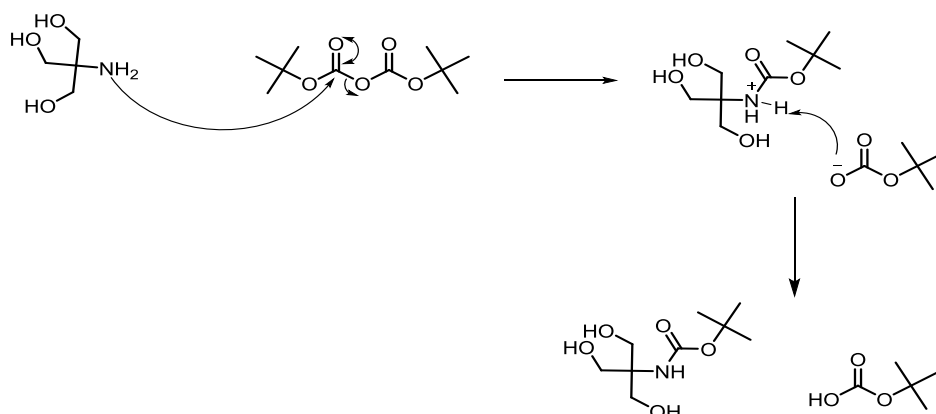
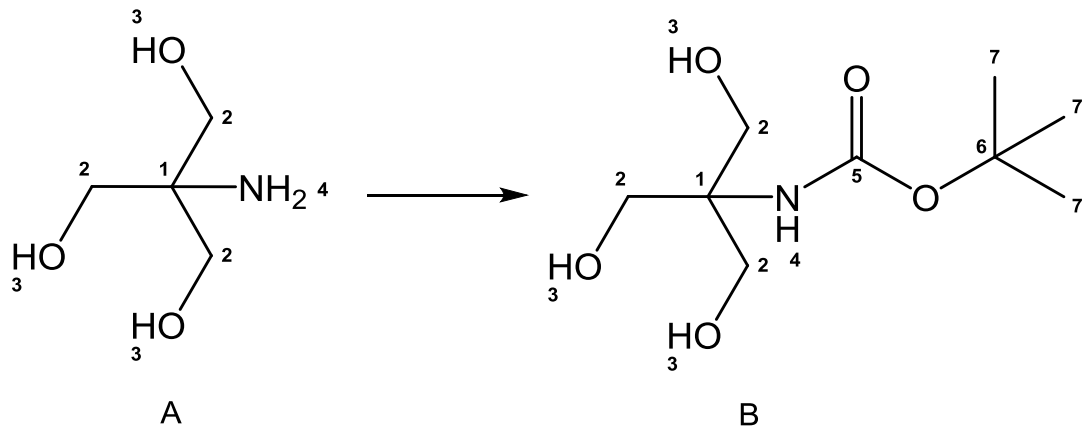


Figura 2 – Mecanismo de reação da proteção do trometamol.

Por ser uma reação de adição nucleofílica, esta foi feita sob presença de 1,25 equivalentes de 4-dimetilaminopiridina (DMAP), um catalisador deste tipo de reação. Para comparação, a mesma reação foi feita ao mesmo tempo em dois balões contendo as mesmas concentrações dos reagentes e uma contendo o catalisador. Infelizmente, sob sua presença, o rendimento cai para 30%. Na Tabela 1 encontram-se os resultados da análise de RMN de <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H do trometamol protegido, comparando-os com os resultados da análise do material de partida.

Tabela 1 – Comparação dos sinais obtidos por RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do material de partida (A – trometamol) e do produto obtido (B – intermediário 1: trometamol protegido).



Nº do átomo	Sinal do RMN de A			Sinal do RMN de B		
	$^{13}\text{C}$ (DMSO-d6), 75 MHz, $\delta$ = ppm	$^1\text{H}$ (DMSO-d6), 300 MHz, $\delta$ = ppm	$J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ (DMSO-d6), 75 MHz, $\delta$ = ppm	$^1\text{H}$ (DMSO-d6), 300 MHz, $\delta$ = ppm	$J$ (Hz)
1	56,61	-	-	60,20	-	-
2	63,51	4,30	-	60,52	3,53	5,7
3	-	1,26	-	-	4,48	5,6
4	-	2,51	-	-	2,52	-
5	-	-	-	155,04	-	-
6	-	-	-	77,84	-	-
7	-	-	-	28,20	1,39	-

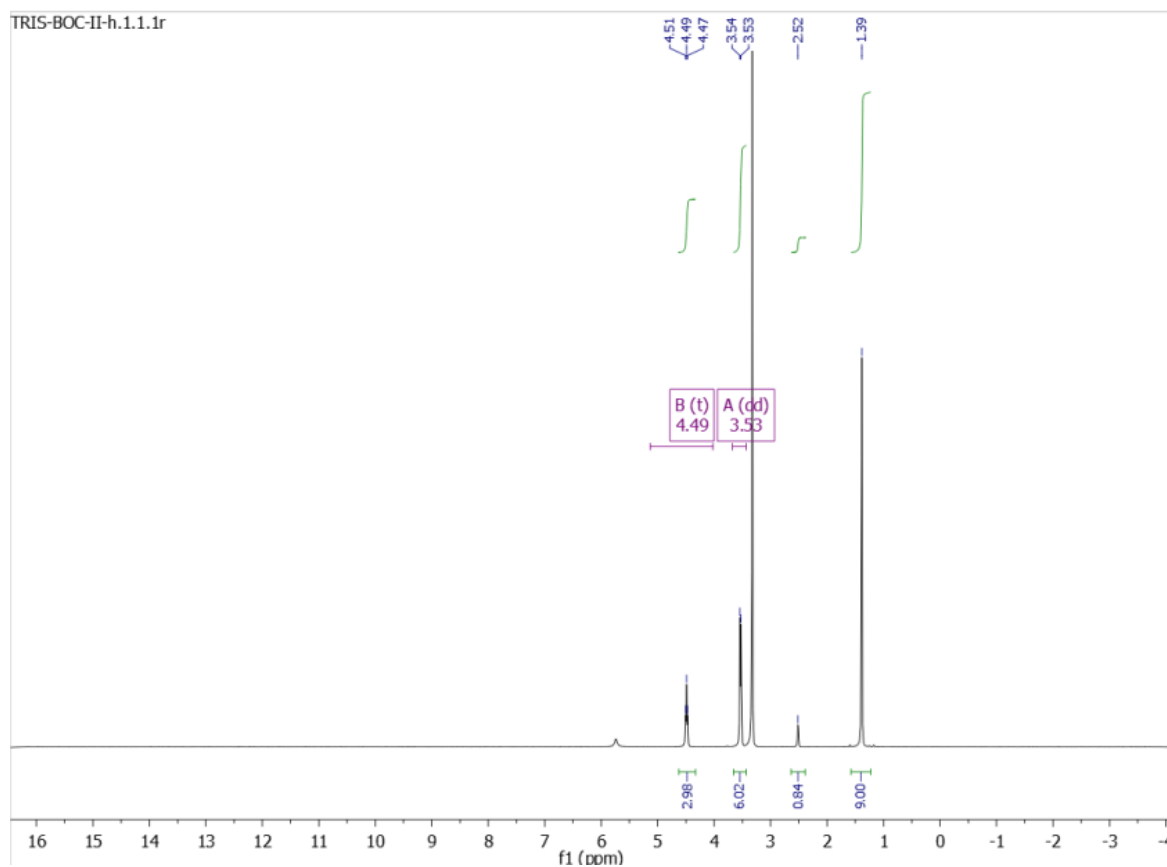
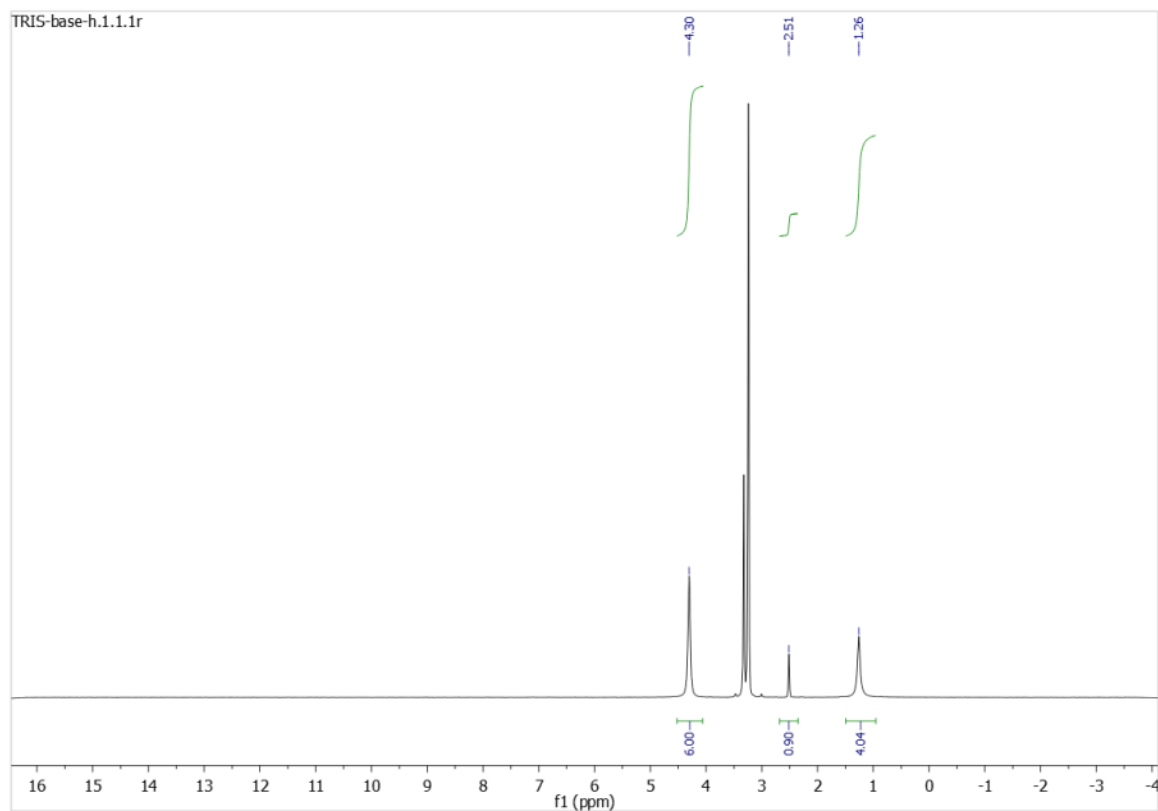


Figura 3 – Espectros obtidos das análises de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ =ppm) do trometamol (acima) e do trometamol protegido (abaixo).



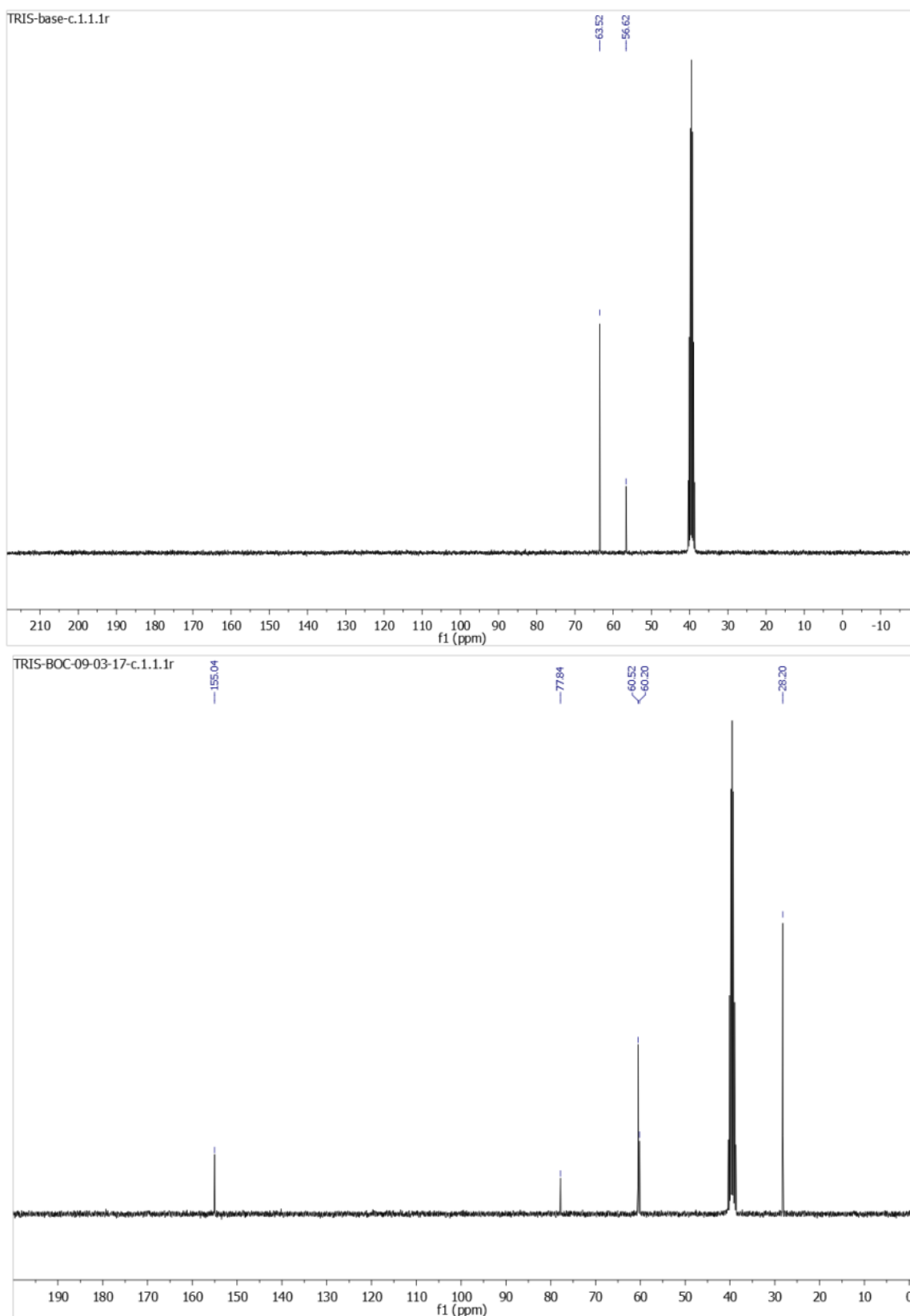


Figura 4 – Espectros obtidos das análises de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ = ppm) do trometamol (acima) e do trometamol protegido (abaixo).

O trometamol, agora protegido, é então colocado sob presença de brometo de propargila para uma substituição nucleofílica bimolecular, cujo mecanismo se encontra na Figura (NÚMERO). Seguindo ainda as condições reacionais propostas por Chambre e colaboradores, o trometamol protegido é adicionado em DMF anidro, previamente tratado, a 0 °C, ao KOH (em pastilhas) e ao brometo de propargila (este adicionado gota a gota) durante 15 minutos. Após este período, a reação é colocada a 35 °C sob agitação magnética e atmosfera inerte por 24 horas. Esta reação tem um rendimento aproximado de 20%.

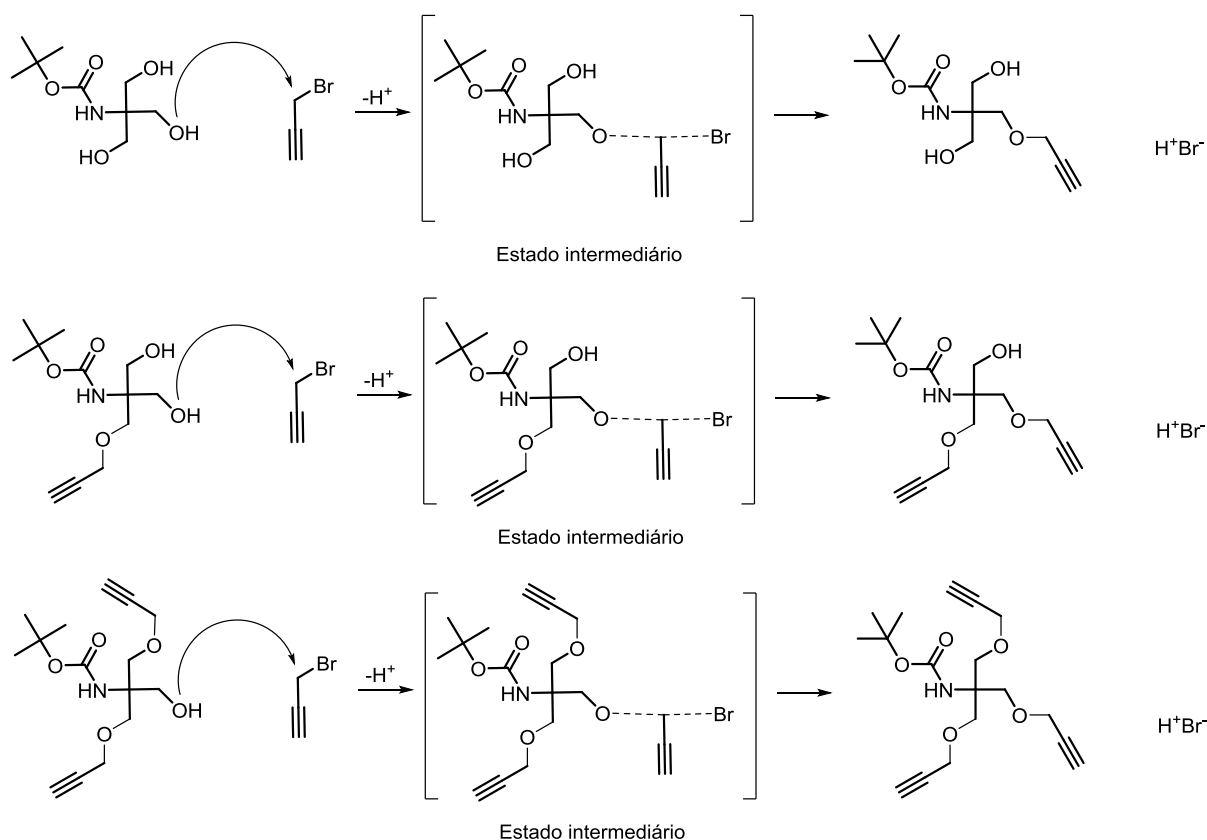
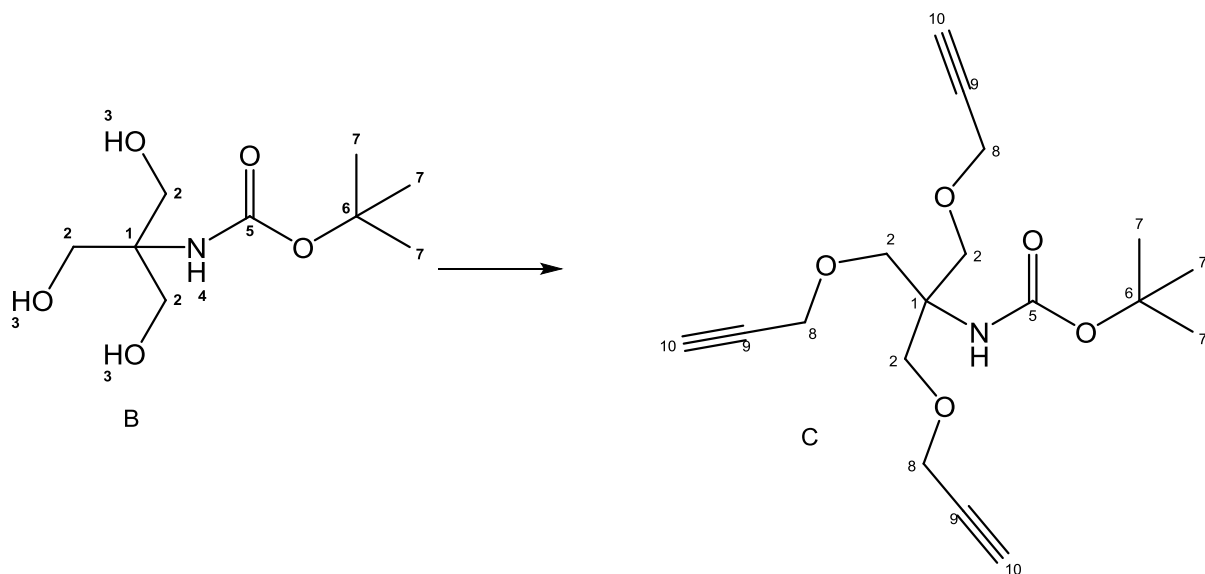


Figura 5 – Mecanismo de ação da propargilação do trometamol protegido

Esta reação é parcial, já que se formam o produto (tripropargilado) e subprodutos (mono e bipropargilados) em quantidades semelhantes. Aumentar o tempo de reação de 24 para 48 horas não foi suficiente para aumentar seu rendimento. Na Tabela 2 encontram-se as atribuições dos espectros obtidos da análise de RMN do material de partida comparado ao produto obtido.

Tabela 2 – Comparação dos sinais obtidos por RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do material de partida (B – trometamol protegido) e do produto obtido (C – intermediário 2: trometamol protegido propargilado).



Nº do átomo	Sinal do RMN de B			Sinal do RMN de C		
	$^{13}\text{C}$ (DMSO- d6), 75 MHz, $\delta$ = ppm	$^1\text{H}$ (DMSO- d6), 300 MHz, $\delta$ = ppm	$J$ (Hz)	$^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ ), 75 MHz, $\delta$ = ppm	$^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ ), 300 MHz, $\delta$ = ppm	$J$ (Hz)
1	60,20	-	-	67,96	-	-
2	60,52	3,53	5,7	73,52	3,72	-
3	-	4,48	5,6	-	-	-
4	-	2,52	-	-	4,85	-
5	155,04	-	-	153,79	-	-
6	77,84	-	-	78,63	-	-
7	28,20	1,39	-	27,35	1,36	-
8	-	-	-	57,66	4,85	-
9	-	-	-	76,44	-	-
10	-	-	-	75,59	2,35	3

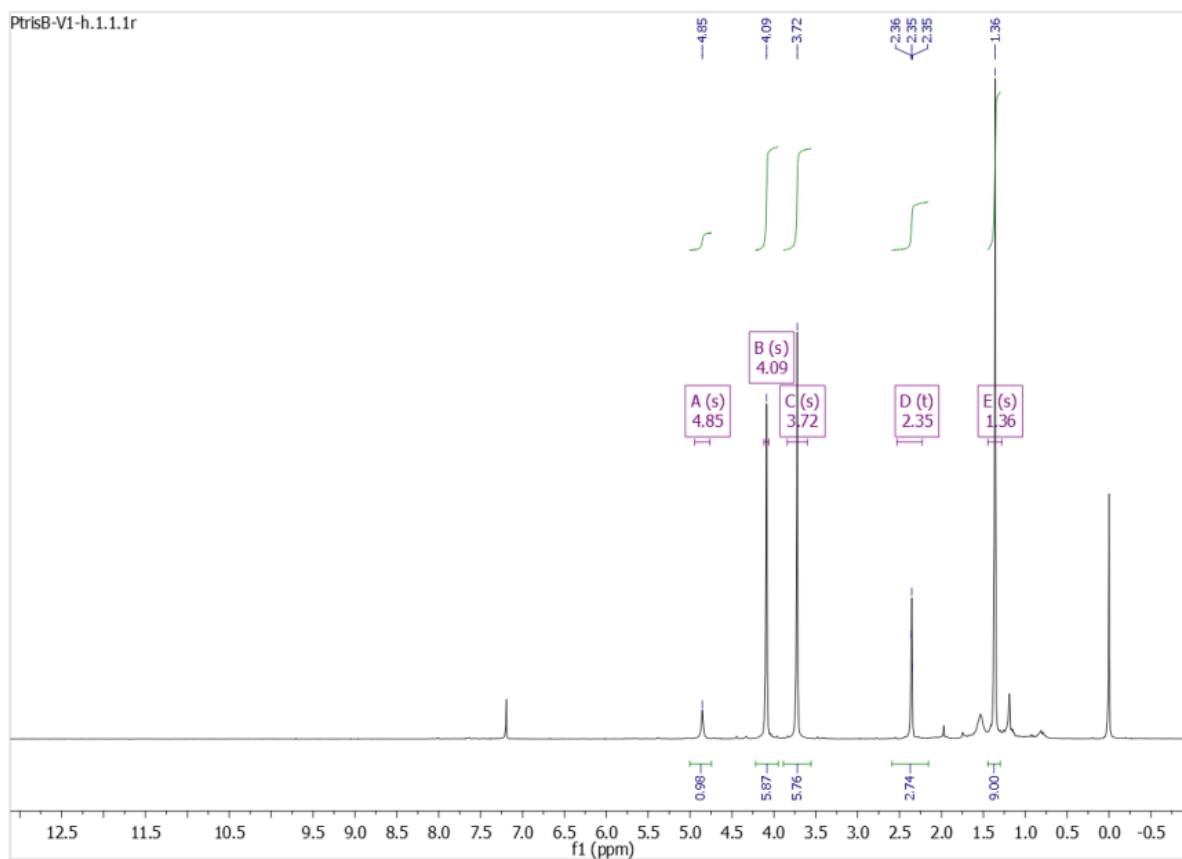
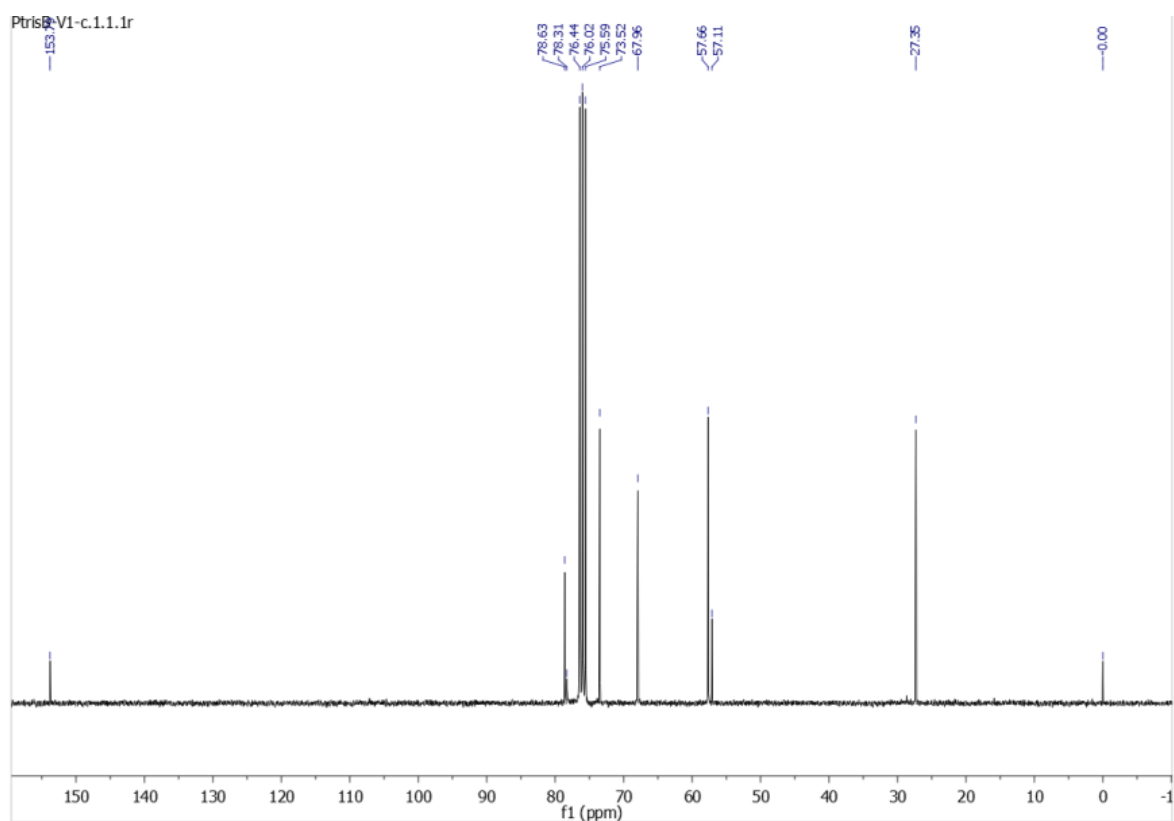


Figura 6 – Espectros obtidos das análises de RMN de  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta = \text{ppm}$ ) do trometamol protegido (acima) e do trometamol protegido propargilado (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta = \text{ppm}$ ) (abaixo).

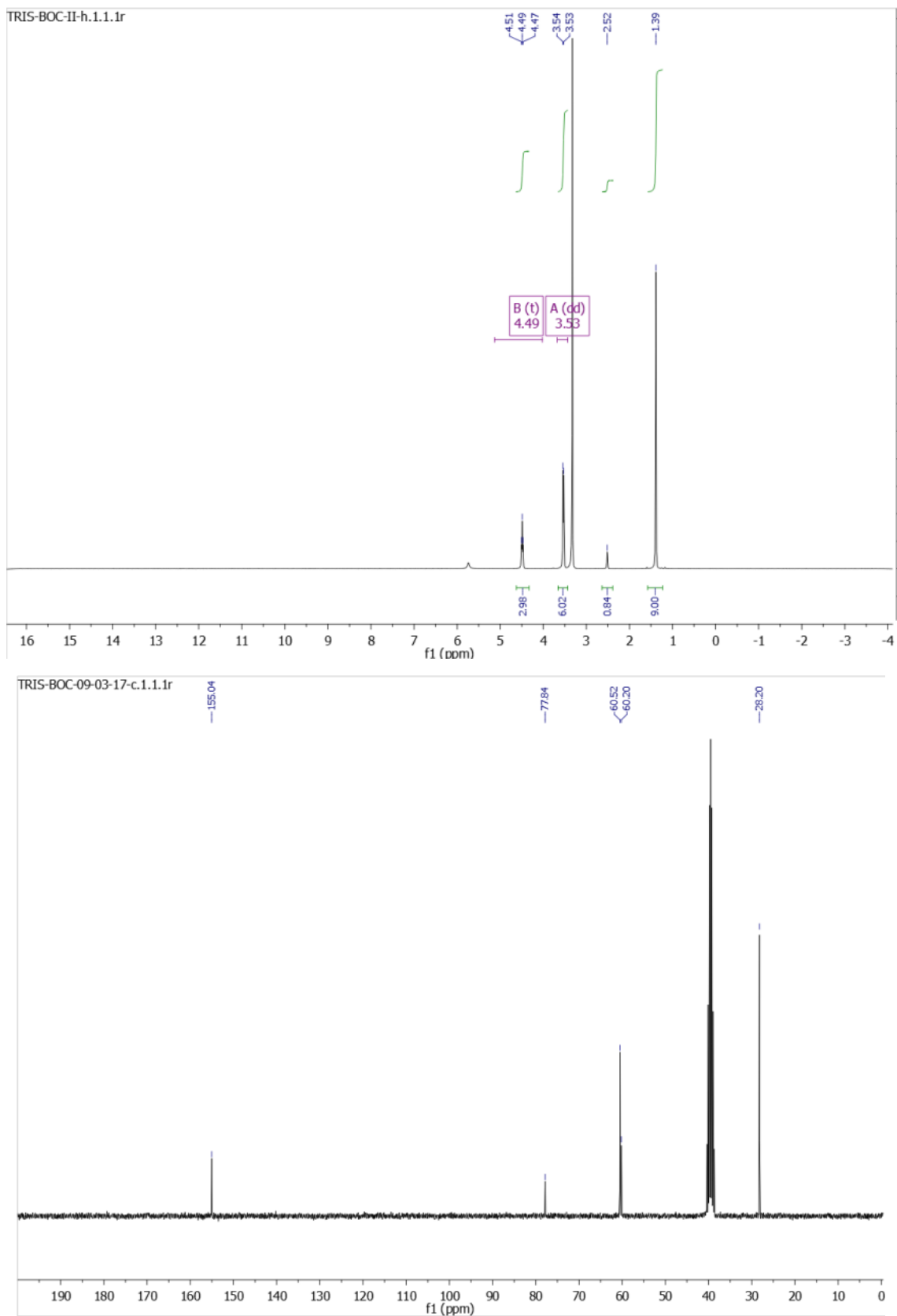


Figura 7 – Espectros obtidos das análises de RMN de <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ = ppm) do trometamol protegido (acima) e do trometamol protegido propargilado (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ = ppm) (abaixo).

A síntese da azida do trometamol é feita através da azida tríflica. Este reagente é preparado com o ácido tríflico adicionado gota a gota a uma solução de azida sódica em diclorometano, mantidos a 0 °C por duas horas. Paralelamente, o trometamol é dissolvido, juntamente a trietilamina e cloreto de zinco em uma mistura de diclorometano:água:metanol (3:10:3). A fase orgânica da primeira reação é adicionada à segunda e esta reação é deixada *overnight*. O mecanismo dessa reação se encontra na Figura 8, e se trata de uma diazotransferência: a azida tríflica contém um bom grupo de saída (trifluormetanossulfonil) ligado a ela, e esta então é capaz de fazer uma substituição na amina terciária do trometamol. Junto à azida é observada uma acetilação das hidroxilas do trometamol. Esta etapa tem um rendimento de 90%. A seguir se encontra o espectro obtido por análise de infravermelho da azida obtida

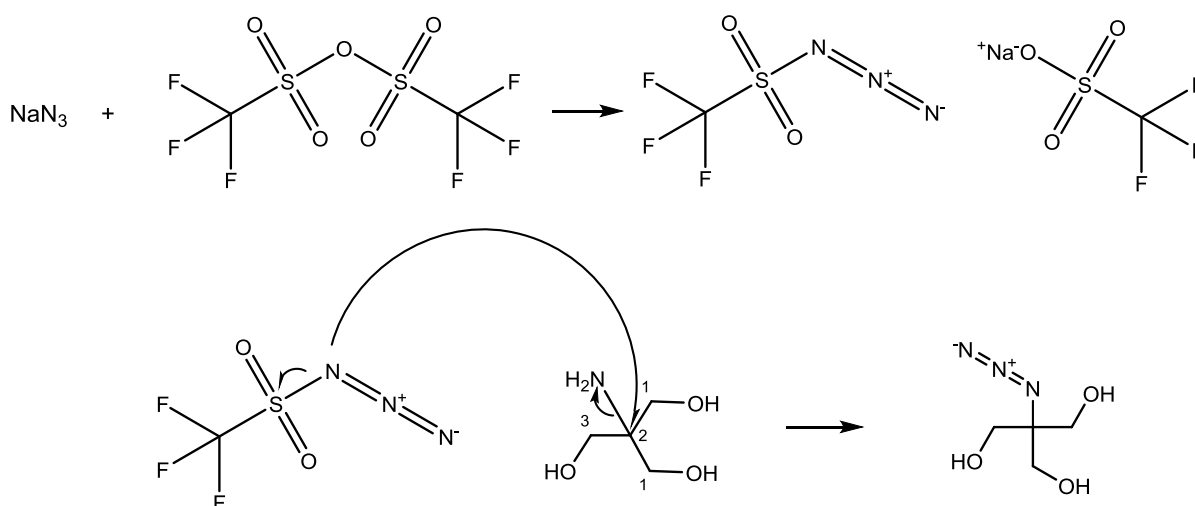


Figura 8 – Mecanismo de ação da formação da azida de trometamol.

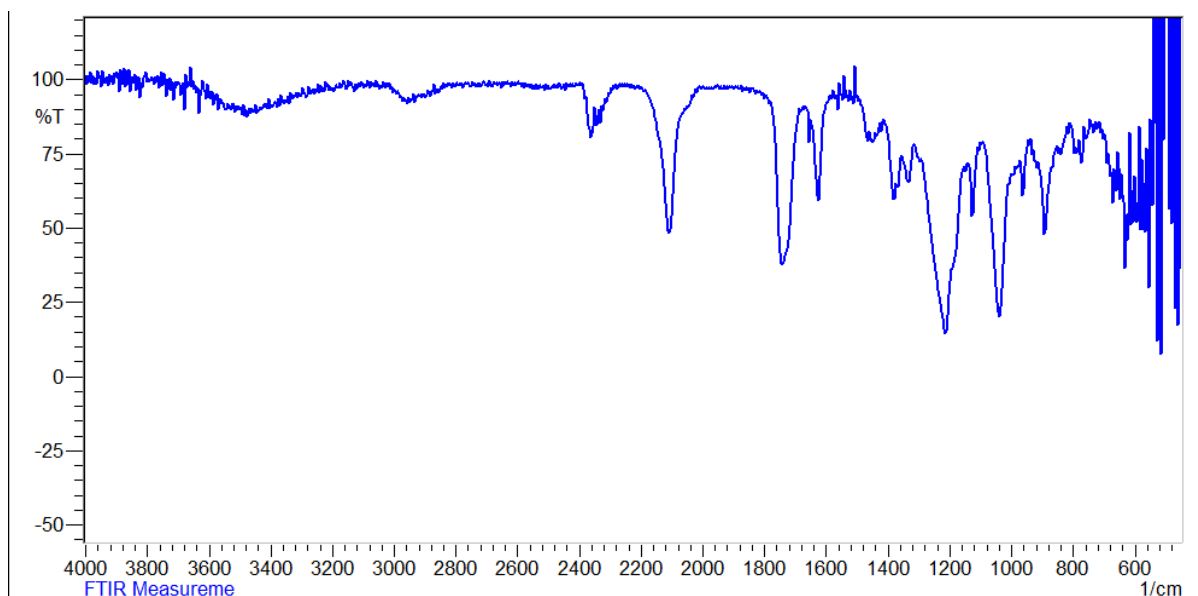


Figura 9 – Espectro da azida obtido por análise em infravermelho. O estiramento ao redor de 2170 é característico do grupo azida; é possível observar, também, a ausência estiramento do grupo amina, entre 3000 e 3300  $\text{cm}^{-1}$ .

O dendron é finalmente sintetizado quando as duas versões do trometamol são obtidas, e é feito através de uma reação de *click chemistry*. Nela, a azida do trometamol e o trometamol propargilado são colocados em uma mistura de THF e água (1:1) sob presença de um sal de cobre. Inicialmente, a reação a ser usada era a proposta por Chabre e colaboradores, mas foi trocada por uma mais simples e rápida feita no micro-ondas – a 60 W de potência e 100 °C, por 40 minutos. O mecanismo desta reação, proposto por Yoo e colaboradores (2007), se encontra na figura 10. A seguir também se encontra o espectro obtido por análise de RMN de  $^1\text{H}$  do produto, que mostra – apesar das impurezas – a presença de um grupo aromático na molécula, sendo esta a única molécula em solução com tal estrutura.

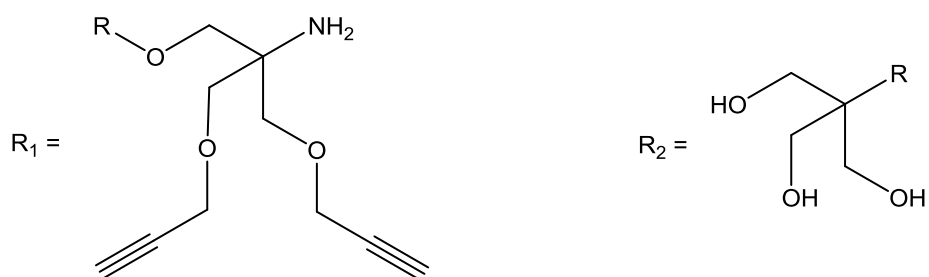
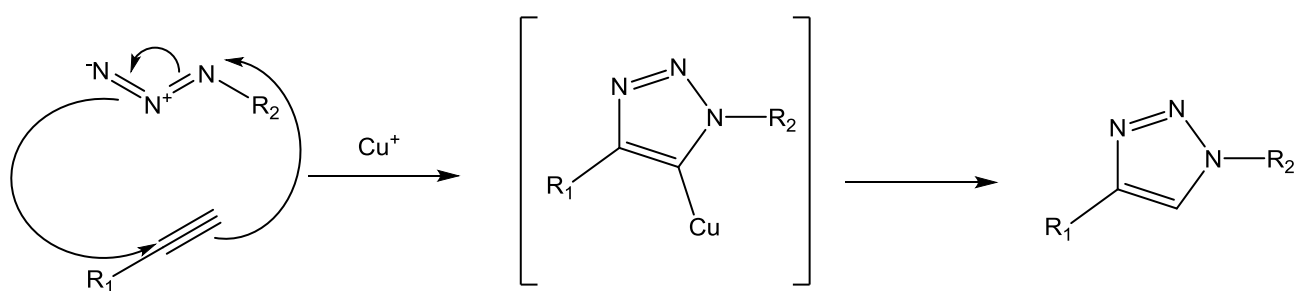


Figura 10 – Mecanismo proposto para a formação do anel 1,2,3-triazol a partir de uma azida e um grupo propargil

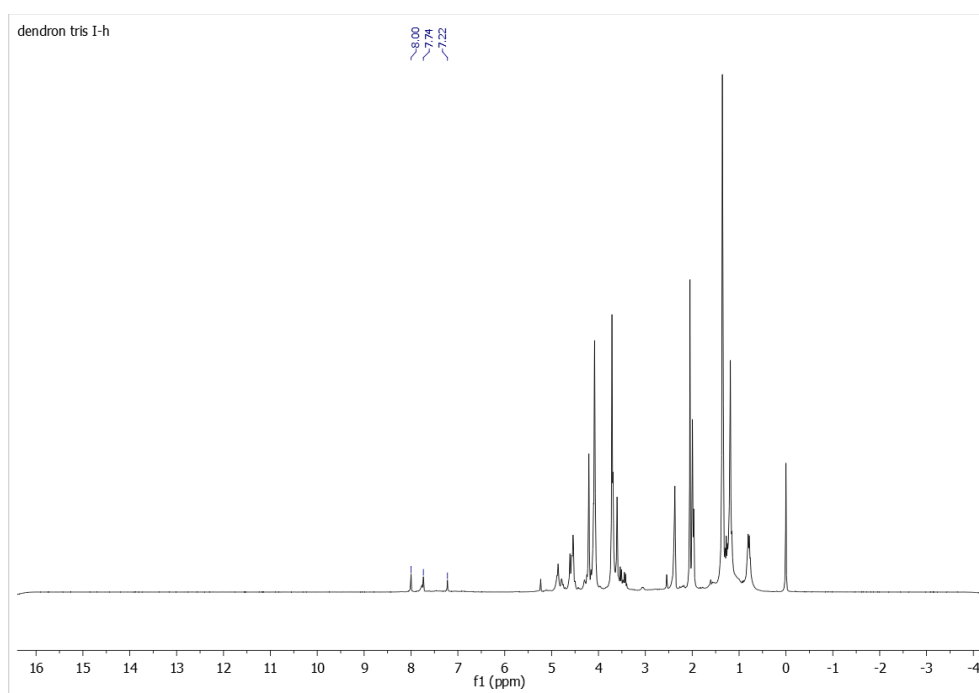


Figura 11 – Espectro obtido por análise de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ = ppm) do dendron triazólico. Os singletos entre 7 e 8,5 ppm indicam prótons ligados ao anel triazólico, sendo esta a única molécula nesta síntese que poderia conter um anel aromático.



## 5. Conclusão e perspectivas

A síntese planejada para este trabalho foi parcialmente concluída, já que ainda não foi possível retirar o grupo *tert*-butanol ligado ao dendron, colocado originalmente no BOC para impedir que a amina fosse propargilada. Esta etapa encontra um grande obstáculo: a baixa quantidade de dendron disponível a cada síntese feita, pois o baixo rendimento do intermediário C (trometamol tri-propargilado) faz com que a obtenção de grandes quantidades do dendron seja difícil, prejudicando a purificação deste para então avançar à etapa final. Contudo, por se tratar de uma descarbamoilação, etapa mais simples, o tratamento proposto (adição de ácido trifluoracético) não compromete a estrutura do dendron, já que o carbamato é o único grupamento lábil presente.

Ainda são necessárias análises no infravermelho para os demais intermediários e análise completa de RMN de  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  do dendron purificado, a fim de se obter completa caracterização da molécula. O que é apresentado até o momento, contudo, já é suficiente para inferir que a molécula foi obtida.

A finalização da síntese deste dendron abre portas para utilizá-lo de diversas formas não só como parte de um dendrímero. Três perspectivas de aplicação desta molécula já estão em andamento: a ligação com uma molécula de manose, através de reação de *click chemistry* utilizando uma azida do dendron e o açúcar propargilado, a fim de direcioná-la para macrófagos; modelagem molecular, já que fármacos como o fluconazol, que contém três anéis 1,2,4-triazóis, apresentam atividade contra a CYP51 do *T. cruzi* e, por fim, sua utilização como transportador do hidroximetilnitrofurais, composto bioativo com alta atividade tripanossomicida.

## 6. Referências

ALLEN, T. M. CULLIS, P. R. Drug delivery systems: entering the mainstream. **Science**, v. 303, p. 1818-1822, 2004.

AMIR, R. J.; PESSAH, N.; SHAMIS, M.; SHABAT, D. Self-immolative dendrimers. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 42, p. 4494-4499, 2003.

BARREIRO, E. J. FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal**: As bases moleculares da ação dos fármacos, 3ª ed, p. 223-228. São Paulo: Artmed, 2015.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Parasites – American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease); Biology. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html>>. Acessado em: 13/08/2018.

CHABRE, Y. M.; CONTINO-PÉPIN, C.; PLACIDE, V.; SHIAO, T. C.; ROY, R. Expeditive Synthesis of Glycodendrimer Scaffolds Based on Versatile TRIS and Mannoside Derivatives. **Journal of Organic Chemistry**, v. 73, n. 14, p. 5602-5605, 2008.

CHUNG, M. C.; SILVA, A. T. A.; CASTRO, L. F.; GÜIDO, R. V. C.; NASSUTE, J. C.; FERREIRA, E. I. Latenciação e formas avançadas de transporte de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, p.155-180, 2005.

CHUNG, M. C.; FERREIRA, E. I.; SANTOS, J. L.; VARGAS, J. G.; RANDO, D. G.; ALMEIDA, A. E.; BOSQUESI, P. L.; MENEGON, R. F.; BLAU, L. Prodrugs for the treatment of neglected diseases. **Molecules**, v. 13, p. 616-677, 2008.

DE SOUZA, W. Doenças negligenciadas. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 2010.

DIAS, J. C. P. et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, p.7-86, 2016.

DNDi, Doença de Chagas. Disponível em: <https://www.dndi.org/diseases-projects>. Acesso: 26/09/18.

GUSMÃO, J. L. MION JR., D. Adesão ao tratamento – conceitos. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 13, p. 23-25, 2006.

HAN, H. K; AMIDON, G. L. Targeted prodrug design to optimize drug delivery. **AAPS PharmaSci**, v. 2, p. 48-58, 2000.

HOTEZ, P. J. PECOUL, B.; RIJAL, S.; BOEHME, C.; ASKOY, S.; MALECELA, M.; TAPIA-CONYER, R.; REEDER, J. C. Eliminating the neglected tropical diseases: translational science and new technologies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4774924/>>. Acessado em: 15/08/2018.

JEAN JR., D. J. S. FOTSCH, C. Mitigating heterocycle metabolism in drug discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 6002-6020, 2012.

KEATING, C. Ken Warren and the Rockefeller Foundation's Great neglected diseases network, 1978–1988: the transformation of tropical and global medicine. **Molecular Medicine**, v. 20, p. 524-530, 2014.

KHAN, M. O. Trypanothione reductase: a viable chemotherapeutic target for antitrypanosomal and antileishmanial drug design. **Drug Target Insights**, v. 2, p. 129-146, 2007.

SILVA, E. L; NICOLETTI, M. A. Controle e tratamento das doenças negligenciadas: visão da situação atual. **Revista Saúde**, v. 7, n. 3/4, p. 65-81, 2013.

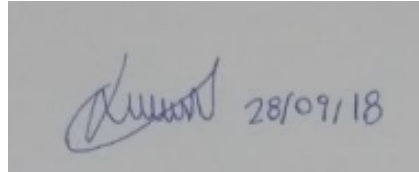
SILVA-PIRES, F. E. S.; BONATTO, M. P. O.; MELLO, M. L. B. C.; TRAJANO, V. S.; ARAÚJO-JORGE, T. C. As doenças negligenciadas e os determinantes sociais da saúde no contexto da investigação em ensino. **Revista de Educação, Ciência e Cultura**, Canos, v. 22, n. 1, p. 51-59, 2017.

SVESON, S; TOMALIA, D. A. Dendrimers in biomedical applications – reflections on the field. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64 (sup.), p. 102-115, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Chagas disease (American trypanosomiasis). Disponível em: <[http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>. Acessado em: 13/08/2018.

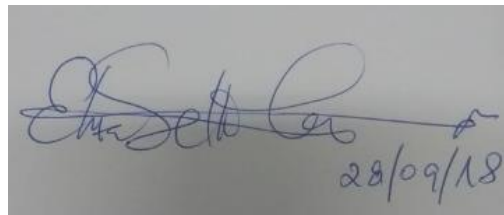
WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. **Weekly epidemiological record**, n. 6, p. 33-44, 2015.

YOO, E. J.; AHLQUIST, M.; KIM, S. H.; BAE, I.; FOKIN, V. V.; SHARPLESS, B.; CHANG, S. Copper-catalyzed synthesis of *N*-sulfonyl-1,2,3-triazoles: controlling selectivity. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, p. 1730-1733, 2007.

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink, followed by the date "28/09/18".

---

Data e assinatura do aluno(a)

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink, followed by the date "28/09/18".

---

Data e assinatura do orientador(a)