



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

YASMIM DOS SANTOS ALVES

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO DA N-(4-  
AZIDOBUTIL)FTALIMIDA, ESTUDO *IN SILICO* E  
BIOENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE ÀS LARVAS DE  
*Artemia salina* LEACH**

CUITÉ – PB

2022

YASMIM DOS SANTOS ALVES

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO DA N-(4-  
AZIDOBUTIL)FTALIMIDA, ESTUDO *IN SILICO* E  
BIOENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE ÀS LARVAS DE  
*Artemia salina* LEACH**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Coordenação do Curso de  
Bacharelado em Farmácia do Centro de  
Educação e Saúde da Universidade Federal  
de Campina Grande – *Campus* Cuité, como  
requisito obrigatório da disciplina Trabalho  
de Conclusão de Curso.

Orientador: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino  
de Freitas

Cuité - PB

2022

A474s    Alves, Yasmim dos Santos.

Síntese, caracterização da N-(4- *azidobutil*) Ftalimida, estudo *in silico* e bioensaio de toxicidade frente às larvas de *Artemia salina* Leach. / Yasmim dos Santos Alves. - Cuité, 2022.

54 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2022. "Orientação: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas".

Referências.

1. Doenças infecciosas. 2. Resistência microbiana. 3. Terapia medicamentosa alternativa. 4. Azidas orgânicas. 5. Ftalimidas. 6. Ftalimidas-propriedades farmacocinética. 7. Ftalimidas - propriedades farmacodinâmica. 8. *Artemia salina* Leach. I. Freitas, Juliano Carlo Rufino de. II. Título.

CDU 616.9(043)

**YASMIM DOS SANTOS ALVES**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO DA N-(4-AZIDOBUTIL)FTALIMIDA, ESTUDO *IN SILICO* E BIOENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE ÀS LARVAS DE *Artemia salina* LEACH**

Aprovado em: 25/07/2022.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

Orientador – UFCG

Me. Rodrigo Ribeiro Alves Caiana

Membro – UFPE

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Emília da Silva Menezes

Membro – UFCG



Documento assinado eletronicamente por **JULIANO CARLO RUFINO DE FREITAS, PROFESSOR DOMAGISTERIO SUPERIOR**, em 02/08/2022, às 08:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Ribeiro Alves Caiana, Usuário Externo**, em 02/08/2022, às 09:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARIA EMILIA DA SILVA MENEZES, PROFESSOR 3 GRAU**, em 03/08/2022, às 15:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 8º, caput, da [Portaria SEI nº 002, de 25 de outubro de 2018](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufcg.edu.br/autenticidade>, informando o código verificador **2594104** e o código CRC **07CF1055**.

*Dedico este trabalho a meus pais Gardenia Gomes e Marcelino Alcantara, à minha irmã Yohanny Alves e às minhas inspirações que hoje não se fazem mais presentes fisicamente, mas que sempre me apoiaram nessa caminhada minha avó Francisca Gomes (in memoriam) e minha tia Josefa (in memoriam).*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, minha fortaleza, onde em meio a tantas tribulações nunca me deixou só, sempre me deu saúde e força de vontade para continuar.

A meus pais Gardenia Gomes dos Santos Alves e Marcelino Alcantara Alves, que com toda humildade, amor, carinho e fé nunca desistiram de lutar e com toda dificuldade conseguiram me proporcionar bons estudos e tudo o que eu e minha irmã, Yohanny dos Santos Alves, necessitamos.

A meu avô Cícero Galdino dos Santos por todo apoio, cuidado e amor comigo, por sempre ter me amparado e por torcer fielmente por mim.

A minha prima, Márcia Gomes Cordeiro, que sempre cuidou de mim como uma mãe, sempre me protegeu e acreditou em mim.

A minha avó paterna Francisca Francineide, a minha tia Francicléia Alcantara e a meu tio Judson Natanael Alcantara, por todo carinho e amor comigo.

A minha melhor amiga Ávila Tayanne de Oliveira Feitosa, que esteve sempre presente comigo, em meus momentos de perda, momento felizes e nunca deixou eu me sentir sozinha.

A meus grandes amigos de infância Lorena Braz Goulart, Bianca Helena Callou Silva, Monyque Soares da Silva e Ákilla Pereira Anízio de Souza, que sempre torceram por mim e acreditaram junto comigo na minha caminhada.

A meu irmão de coração, Sisenando Soares Queiroz, por sempre está ao meu lado e acreditar em mim com tanto amor, carinho e cuidado.

A meus companheiros da faculdade e que quero levar pra vida, Anderson Ruan de Moraes Silva, Andressa Nayara Gomes de Medeiros, Camila Caroline Morais Pessoa, Danielli Soares Lima, Evandro Rogério da Silva, Flávia Maria de Medeiros Filgueiras, Maryana Chaves Bezerra, Pedro Lucas Pereira e Vitória Pereira Cardoso de Lima que tornaram meus dias mais felizes, demonstrando companheirismo, cuidado e amor.

A minha família do pensionato que foram minhas primeiras companhias em Cuité-PB, Anne Caroline Pinheiro Moreira Amorim, Mabel de Freitas Brasil Batista, Helen

Mariane Barbosa de Lima, Thainara Maria Pereira de Oliveira e Pablo Matheus de Lima que me acolheram com amor, carinho e fizeram meus dias longe de casa serem mais leves.

Agradeço ainda a Gabrielli Soares Lima, Othon Luís Souza de Lucena, Pedro Ithalo Francisco da Silva, Bárbara Genellícia Ferrer Azevedo e Emily Rodrigues Gadelha por todos os nossos momentos de risadas, conversas e companhia.

A minha grande amiga Raissa Gabriely de Araújo Magalhães e a minha madrinha Ruthe de Araújo Magalhães, por sempre se fazerem presentes em minha vida.

A meu professor e orientador Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas, uma pessoa iluminada por Deus, com quem aprendi tanto, que me deu oportunidade e acreditou em mim no momento que mais precisei.

A equipe do laboratório de síntese orgânica (LASO) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

A minha banca examinadora composta pela Dr<sup>a</sup>. Maria Emília da Silva Menezes, a qual tenho um carinho e admiração enorme e que me acompanha desde o início da faculdade e ao Me. Rodrigo Ribeiro Alves Caiana, que me auxiliou desde o começo na minha iniciação científica e contribuiu significativamente para o meu trabalho.

A instituição de fomento CNPq pelo apoio financeiro durante a minha iniciação científica, a UFCG por toda oportunidade proporcionada e a UFPE pela colaboração com as análises necessárias para a realização do meu projeto.

A todos minha eterna gratidão, com vocês evolui em diversos aspectos da minha vida.

## RESUMO

Desde a antiguidade, a busca por alívio e cura de doenças esteve presente na humanidade induzindo a estudos aprofundados na busca de moléculas com propriedades biológicas. Neste sentido a pesquisa e desenvolvimento (P&D) de fármacos é um processo de grande relevância para indústria farmacêutica e vem evoluindo tecnologicamente principalmente com o auxílio de ferramentas computacionais. No entanto, mesmo com toda evolução tecnológica a sociedade enfrenta desafios como a resistência microbiana ao arsenal terapêutico disponível no mercado, fazendo-se necessário a P&D de novas alternativas terapêuticas. Neste cenário duas classes de compostos que vêm atraindo interesse da comunidade científica, são as azidas orgânicas e as ftalimidas, as quais apresentam inúmeras atividades biológicas. Neste sentido o objetivo do trabalho foi sintetizar a *N*-(4-azidobutil)ftalimida, avaliar suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas com auxílio de ferramentas *in silico* e averiguar seu potencial toxicológico utilizando *Artemia salina* Leach. A *N*-(4-azidobutil)ftalimida foi obtida através da reação de substituição nucleofílica bimolecular na forma de um sólido amarelo com rendimento de 89,38%. Na análise *in silico* a *N*-(4-azidobutil)ftalimida demonstrou uma boa biodisponibilidade oral, uma vez que não violou nenhum das regras estabelecidas por Lipinski. Além disso a azida demonstrou uma capacidade de atuar como inibidor enzimático com uma pontuação positiva na análise realizada no *Molinspiration online property calculation*. O teste toxicológico *in silico* não evidenciou nenhum efeito tóxico da azida ftalimídica, partindo dessa premissa foi realizado o bioensaio com *Artemia salina*, no entanto nesse teste a azida apresentou uma CL<sub>50</sub> de 425 µg/mL encontrando-se no intervalo de 500 e 1000 µg/mL, caracterizando assim uma substância suavemente tóxica. Em suma, a azida ftalimídica foi obtida com um ótimo rendimento de 89,38% e apresentou um perfil de boa biodisponibilidade oral além de um bom perfil toxicológico de acordo com a análise *in silico* e atividade suavemente tóxica no bioensaio de toxicidade aguda utilizando *Artemia salina*.

**Palavras-chave:** Pesquisa e Desenvolvimento de fármacos; Metodologia *in silico*; Ftalimidas; *Artemia salina* Leach.



## ABSTRACT

Since antiquity, the search for the search for studies of diseases moving forward in humanity and in the search for studies with biological properties. In this sense, research and medicines is a major development process for the pharmaceutical industry and has been evolving with the help of computational tools. However, even with all the technological evolution, society faces challenges such as microbial resistance to the therapeutic arsenal available on the market, making it necessary to R&D for new therapeutic alternatives. In this scenario, two classes of compounds that are attracting the interest of the scientific community are organic azides and phthalimides, which have numerous biological activities. In this sense, the objective of the work was to synthesize *N*-(4-azidobutyl)phthalimide, evaluate its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties with in silico tooling tools and investigate its toxicological potential using *Artemia salina* Leach. *N*-(4-azidobutyl)phthalimide was performed through the nucleophilic substitution reaction in the form of a yellow solid in 89.38% yield. In the analysis in oral *N*-(4-azidobutyl)phthalimide a good biodisability, since it was not enforceable to rules violated any of the Lipinski rules. In addition, the enzyme function has the ability to act as an inhibitor with a positive analysis performed in Molinspiration online property calculation. The in silico toxicological test did not show any toxic effect of phthalimidic azide, based on this premise, the bioassay with *Artemia salina* was carried out, however, in this test the azide presented an LC50 of 425 µg/mL and is in the range of 500 and 1000 µg / thus characterizing a mildly toxic mL substance. In short, the acute azide was developed with an excellent yield of 89.38% and showed a good oral bioavailability profile in addition to a good toxicological profile according to in silico analysis and mildly toxic in the toxicity bioassay using *Artemia salina*.

**Key-words:** Drug Research and Development. In silico methodology. Phthalimides. *Artemia salina* Leach.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Estruturas moleculares da brasilina e da brasileína. ....                                                                  | 19 |
| Figura 2 - Dimerização oxidativa da alil-toluidina para obtenção de quinina. ....                                                     | 20 |
| Figura 3- Estrutura molecular da Mauveína. ....                                                                                       | 20 |
| Figura 4 - Estrutura da penicilina. ....                                                                                              | 21 |
| Figura 5 - Reações químicas envolvidas no processo de ativação de airbags. ....                                                       | 22 |
| Figura 6 - Estrutura da fenilazida sintetizada por Peter Griess. ....                                                                 | 23 |
| Figura 7 - Cicloadição a partir de estruturas mesoméricas do grupo azida (N <sub>3</sub> ). .                                         | 24 |
| Figura 8 - Número de publicações e citações sobre " <i>organic azide</i> " nos últimos dez anos. ....                                 | 24 |
| Figura 9 - Estrutura molecular da ftalimida (1 <i>H</i> -Isoindol-1,3-(2 <i>H</i> )-diona). ....                                      | 25 |
| Figura 10 - Configuração <i>R</i> e <i>S</i> da talidomida. ....                                                                      | 26 |
| Figura 11 - Obtenção de ftalimida a partir do anidrido ftálico. ....                                                                  | 27 |
| Figura 12 - Fisionomia da <i>Artemia salina</i> Leach. ....                                                                           | 28 |
| Figura 13 - Reação de substituição nucleofílica de 2 <sup>a</sup> ordem do bromobutil de ftalimida com a azida de sódio. ....         | 31 |
| Figura 14 - Uso de solvente polar aprótico na reação de azidação. ....                                                                | 35 |
| Figura 15 - Acompanhamento da reação de azidação por CCD. ....                                                                        | 36 |
| Figura 16 - Espectro de infravermelho da <i>N</i> -(4-azidobutil)ftalimida (3). ....                                                  | 37 |
| Figura 17 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 3. ....                                          | 38 |
| Figura 18 - Recorte do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 3, na região de 8,00 a 7,50 ppm. .... | 38 |
| Figura 19 - Recorte do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 3, na região de 4,00 a 3,00 ppm. .... | 39 |
| Figura 20 - Recorte do espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 3, na região de 2,00 a 1,50 ppm. .... | 39 |
| Figura 21 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) do composto 3. ....                                         | 40 |
| Figura 22 - Estrutura 3D da <i>N</i> -(4-azidobutil)ftalimida. ....                                                                   | 44 |
| Figura 23 - Estrutura da clortalidona. ....                                                                                           | 47 |

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 1- Detalhamento dos equipamentos da central analítica *versus* modelo...** 30

**Quadro 2- Dados do tratamento da *N*-(4-azidobutil)ftalimida no *Osiris Explorer*.** 46

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tabela 1 - Dados espectrais da <i>N</i>-(4-azidobutil)ftalimida. ....</b>                                                                             | <b>40</b> |
| <b>Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos da <i>N</i>-(4-azidobutil)ftalimida analisada no<br/><i>Molinspiration Online Property Calculation</i>.....</b> | <b>41</b> |
| <b>Tabela 3 - Propriedades biológicas da <i>N</i>-(4-azidobutil)ftalimida. ....</b>                                                                      | <b>43</b> |
| <b>Tabela 4 - Atividades biológicas para a <i>N</i>-(4-azidobutil)ftalimida com<br/>probabilidade maior que 70%.....</b>                                 | <b>44</b> |
| <b>Tabela 5 - Atividades biológicas para a <i>N</i>-(4-azidobutil)ftalimida com<br/>probabilidade maior que 60%.....</b>                                 | <b>45</b> |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

|                                     |                                                  |
|-------------------------------------|--------------------------------------------------|
| $\lambda$                           | Comprimento de onda                              |
| $\delta$                            | Deslocamento químico                             |
| $\nu_{\max}$                        | Número de ondas                                  |
| <b>100% m/m</b>                     | 100% massa/massa                                 |
| <b>%ABS</b>                         | Percentual de absorção teórico                   |
| $\text{\AA}^2$                      | Angstrom                                         |
| <b>AcetilCoA</b>                    | Acetil coenzima A                                |
| <b>AcOH</b>                         | Ácido acético                                    |
| <b>Ar</b>                           | Argônio                                          |
| <b>CCD</b>                          | Cromatografia em camada delgada                  |
| <b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> | Diclorometano                                    |
| <b>CL<sub>50</sub></b>              | Concentração letal para matar 50% dos indivíduos |
| <b>d</b>                            | Dupleto                                          |
| <b>dd</b>                           | Dubleto de dupleto                               |
| <b>DMSO</b>                         | Dimetilsulfóxido                                 |
| <b>EUA</b>                          | Estados Unidos                                   |
| <b>GPCR</b>                         | Receptores acoplados à proteína G                |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>               | Água                                             |
| <b>Hz</b>                           | Hertz                                            |
| <b>IV</b>                           | Infravermelho                                    |
| <b>J</b>                            | Constante de acoplamento                         |
| <b>KBr</b>                          | Brometo de potássio                              |
| <b>KNO<sub>3</sub></b>              | Nitrato de potássio                              |
| <b>LASO</b>                         | Laboratório de Síntese Orgânica                  |
| <b>Log P</b>                        | Coeficiente de partição                          |
| <b>MgO<sub>4</sub>S</b>             | Sulfato de magnésio anidro                       |
| <b>MHz</b>                          | Mega-hertz                                       |
| <b>mmol</b>                         | Milimol                                          |
| <b>nALH</b>                         | Número de aceptores de ligação de hidrogênio     |
| <b>NaN<sub>3</sub></b>              | Azida de sódio                                   |
| <b>NaHCO<sub>3</sub></b>            | Bicarbonato de sódio                             |

|                           |                                                      |
|---------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>N<sub>2</sub></b>      | Nitrogênio molecular                                 |
| <b>N<sub>3</sub></b>      | Grupo azida                                          |
| <b>nDLH</b>               | Número de doadores de ligação de hidrogênio          |
| <b>Pa</b>                 | Probabilidade de ser ativo                           |
| <b>PASS</b>               | <i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i> |
| <b>P&amp;D</b>            | Pesquisa e Desenvolvimento                           |
| <b>Pi</b>                 | Probabilidade de ser inativo                         |
| <b>PM</b>                 | Peso molecular                                       |
| <b>ppm</b>                | Partes por milhão                                    |
| <b>QSAR</b>               | <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>  |
| <b>RMN</b>                | Ressonância magnética nuclear                        |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> | Ressonância magnética nuclear de carbono 13          |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b>  | Ressonância magnética nuclear de hidrogênio          |
| <b>RTECS</b>              | Registro de efeitos tóxicos de substâncias químicas  |
| <b>SiO<sub>2</sub></b>    | Dióxido de silício                                   |
| <b>spp.</b>               | Várias espécies                                      |
| <b><i>t</i></b>           | Tripleto                                             |
| <b>TMS</b>                | Tetrametilsilano                                     |
| <b>TPSA</b>               | Área da superfície polar topológica                  |

## SUMÁRIO

|                    |                                                               |           |
|--------------------|---------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>           | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                       | <b>16</b> |
| <b>2</b>           | <b>OBJETIVOS .....</b>                                        | <b>18</b> |
| 2.1                | Objetivo geral.....                                           | 18        |
| 2.2                | Objetivos específicos.....                                    | 18        |
| <b>3</b>           | <b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>                              | <b>19</b> |
| 3.1                | Desenvolvimento de fármacos .....                             | 19        |
| 3.2                | Azidas orgânicas .....                                        | 22        |
| 3.3                | Ftalimidas.....                                               | 25        |
| 3.4                | <i>Artemia salina</i> Leach .....                             | 27        |
| 3.5                | Análises <i>in silico</i> .....                               | 28        |
| <b>4</b>           | <b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>                              | <b>30</b> |
| 4.1                | Equipamentos e análise de dados .....                         | 30        |
| 4.2                | Síntese da N-(4-azidobutil)ftalimida .....                    | 30        |
| 4.3                | Análise <i>in silico</i> .....                                | 31        |
| 4.3.1              | <i>Osiris Property Explorer</i> .....                         | 32        |
| 4.3.2              | <i>Molinspiration Online Property Calculation</i> .....       | 32        |
| 4.3.3              | <i>PASS online</i> .....                                      | 33        |
| 4.4                | Bioensaio de toxicidade com <i>Artemia salina</i> Leach ..... | 33        |
| 4.5                | Análise estatística.....                                      | 34        |
| <b>5</b>           | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                           | <b>35</b> |
| <b>6</b>           | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                         | <b>48</b> |
| <b>REFERÊNCIAS</b> |                                                               |           |

## 1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, a busca por alívio e cura de doenças esteve atrelada ao uso de produtos naturais, sendo isto comprovado pelos inúmeros relatos de antigas civilizações, acerca do uso de óleo essencial de *Glyrrhiza glabra* (alcaçuz), espécies de *Commiphora* spp. (mirra), *Papaver somniferum* (papoula), entre outros, que até hoje em dia são usados para tratamento de doenças (RODRIGUES, 2018).

A pesquisa e desenvolvimento de fármacos (P&D) evoluiu de acordo com a necessidade e tecnologia perpassando por diversos períodos históricos. Especificamente durante a 2ª Guerra Mundial, a P&D de novos fármacos foi impulsionada devido à necessidade de tratamentos mais eficazes no combate as doenças infecciosas, dor e depressão (RODRIGUES, 2019).

No entanto, mesmo com o avanço tecnológico e científico, a sociedade sofre com o surgimento de microrganismos resistentes ao arsenal terapêutico disponível no mercado em consequência de fatores como o uso indiscriminado de antimicrobianos e o consumo de alimentos de origem animal, em que os animais saudáveis receberam antibióticos para promoção de crescimento e prevenção de doenças (BEZERRA *et al.*, 201). Além disso, a quantidade de efeitos adversos dos medicamentos e doenças negligenciadas também são fatores que mobilizam entidades científicas a desenvolverem novos medicamentos (FERREIRA NETO *et al.*, 2022).

Em busca de novos fármacos que tenham uma boa atividade biológica, as azidas orgânicas, se destacam como uma classe de moléculas interessantes para a química sintética, em razão de sua grande versatilidade e reatividade devido sua capacidade de formação do momento 1,3-dipolo, facilitando sua participação em diferentes procedimentos reacionais (FARIAS, 2019). Um importante exemplo da versatilidade das azidas é sua aplicação nas reações de cicloadição de Huisgen, proporcionando a obtenção de compostos azólicos com interessantes atividades farmacológicas, a citar antifúngica, antibacteriana, leishmanicida e antituberculose (SANTOS *et al.*, 2020).

Somada à classe das azidas, outro grupo de moléculas que despertam interesse da comunidade científica, são as ftalimidas, imidas cíclicas que apresentam diferentes atividades biológicas como anti-inflamatória, antibacteriana e antifúngica (CECHINEL FILHO *et al.*, 2003). A propriedade antifúngica foi constatada em um estudo realizado



por Jelali *et al.* (2020), em que realizaram um teste antifúngico com derivados de ftalimida, observando o halo de inibição contra *Candida albicans*, em comparação a nistatina, um fármaco antifúngico já comercializado. O estudo retratou uma maior atividade dos derivados em comparação a nistatina, sendo assim, comprovando sua atividade contra fungos.

Cabe salientar que, para chegar a ser comercializado, um novo candidato a fármaco precisa passar por diversos ensaios clínicos, os quais são considerados os de maiores custos e mais duradouros no processo de P&D. Neste cenário a química medicinal desempenha um importante papel, uma vez que possibilita o planejamento racional das moléculas bioativas, analisando potência, afinidade e seletividade (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

Neste sentido, para analisar o perfil farmacocinético, farmacodinâmico e toxicológico das novas drogas, a metodologia de ensaios *in silico* oferece alternativas que demandam menos tempo, menos custo e torna viável a diminuição da utilização de animais. O uso dessa metodologia tem crescido nos últimos anos uma vez que os bancos de dados estão mais completos possibilitando avaliar o potencial de atividade de determinada molécula em comparação a outras moléculas já conhecidas (DANIEL *et al.*, 2020).

Ao mesmo tempo, um teste toxicológico bastante utilizado é o bioensaio com *Artemia salina* Leach. As artêmias são microcrustáceos zooplancônicos encontrados principalmente em ambientes marinhos. Estes organismos possuem uma semelhança estrutural com as células humanas, viabilizando a metodologia desenvolvida por Meyer *et al.* (1982), em que se utilizam larvas de *Artemia salina* para teste de toxicidade aguda, mostrando-se barato, rápido, simples e de grande sensibilidade. (AGUIAR *et al.*, 2021b).

Portanto, diante das inúmeras atividades biológicas que as azidas ftalimídicas desempenham, torna-se interessante realizar a síntese da *N*-(4-azidobutil)ftalimida, bem como analisar seus efeitos biológicos e toxicológicos. Para isso, utilizar ensaios *in silico*, é uma alternativa de baixo custo, curto tempo e que auxilia na predição das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos compostos. Além disso, analisar a viabilidade de aplicação biológica e realizar testes toxicológicos utilizando *Artemia salina* Leach permite obter um perfil toxicológico em curto tempo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar *in silico* a *N*-(4-azidobutil)ftalimida, bem como avaliar sua toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach.

### 2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar a *N*-(4-azidobutil)ftalimida a partir da *N*-(4-bromobutil)ftalimida;
- Caracterizar a *N*-(4-azidobutil)ftalimida através da espectroscopia de infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ );
- Realizar o levantamento das características farmacológicas e toxicológicas da *N*-(4-azidobutil)ftalimida utilizando as ferramentas de análise *in silico*: *Osiris Property Explorer*, *Molinspiration Online Property Calculation*, *PASS online*;
- Determinar a toxicidade da *N*-(4-azidobutil)ftalimida frente a *Artemia salina* Leach.

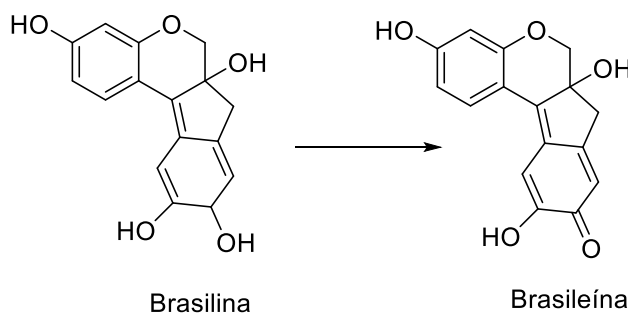
### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Desenvolvimento de fármacos

A história de descoberta e desenvolvimento de medicamentos surge desde a antiguidade, quando a humanidade buscava na natureza recursos como plantas, animais e minerais para alívio de dores e cura de doenças. É fato que civilizações milenares, como Índia, China e Egito, usavam plantas medicinais para alívio de doenças, embora a medicina alopática (terapêutica que trata o sistema orgânico com princípios contrários a ele), largamente utilizada, tenha sua origem na cultura grega (VIEGAS JUNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

No Brasil, um produto natural que gerou grande impacto econômico durante o período colonial foi a brasilina que ao sofrer oxidação forma a brasileína. Este derivado catecólico era extraído do pau-brasil e apresentava cor vermelha sendo usado para tingir tecidos (Figura 1), neste período apenas os corantes de origem natural eram disponíveis tornando-os extremamente valiosos e de grande interesse dos colonizadores (LEITZKE *et al.*, 2022).

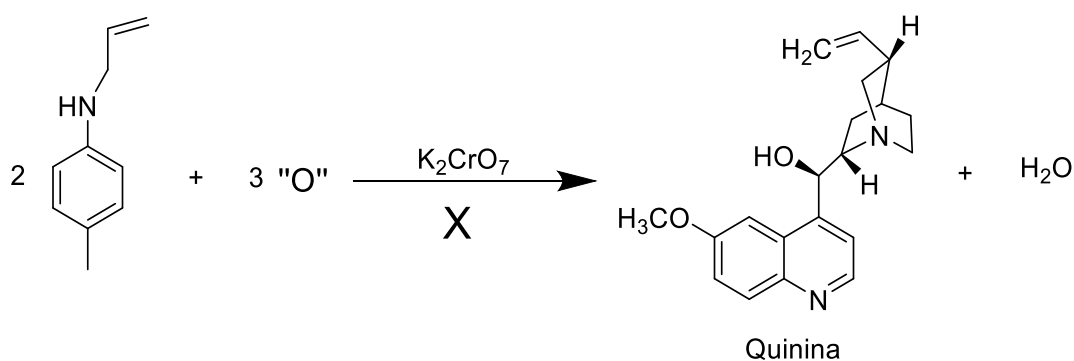
Figura 1 - Estruturas moleculares da brasilina e da brasileína.



Fonte: Própria autoria, 2022.

Além do pau-brasil, outro corante de grande importância para os europeus, foi a morina extraída da *Chlorophora tinctoria*. Este corante se manteve em destaque até a produção do primeiro corante artificial, realizada por Perkin, na tentativa de obtenção da quinina (Figura 2) (SOUZA; CUNHA; SOUZA, 2015).

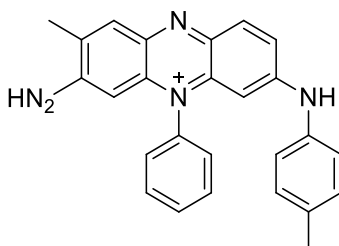
**Figura 2 - Dimerização oxidativa da alil-toluidina para obtenção de quinina.**



**Fonte: Própria autoria, 2022.**

No entanto, Perkin optou por utilizar o sulfato de anilina como reagente de partida durante a oxidação, obtendo como produto uma solução de cor púrpura intensa, utilizando etanol como solvente no processo de purificação. Este foi o primeiro corante sintético produzido, conhecido como mauveína (Figura 3). Em meio à Revolução Industrial, Perkin fundou uma pequena fábrica para produção da mauveína dando origem a indústria química dos corantes, bem como de medicamentos e perfumaria (FERREIRA *et al.*, 2022).

**Figura 3- Estrutura molecular da Mauveína.**



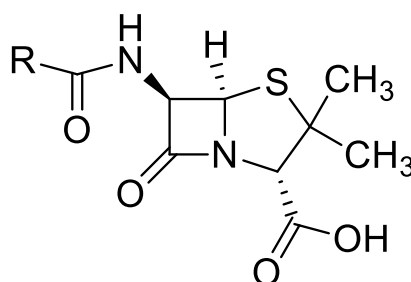
**Fonte: adaptado de Ferreira *et al.*, 2022.**

A revolução industrial foi um ponto de partida para que a indústria farmacêutica evoluísse. Em meio ao crescimento populacional na Europa, a Alemanha se destacou, inicialmente com a indústria de corantes e posteriormente com o desenvolvimento de fármacos, saindo na frente no processo P&D de novas entidades químicas com potencial biológico e se mantendo no ápice entre os anos de 1881 a 1930 e liderando a indústria de medicamentos, totalizando 43 fármacos novos produzidos, dentre eles a epinefrina sintética, fenazona, ácido acetilsalicílico, procaína e anestésicos como o sulfanal, barbital e fenobarbital (RODRIGUES, 2019).

Porém nem todas as indústrias de medicamentos surgiram a partir do desenvolvimento de corantes. Os Estados Unidos (EUA) entraram um pouco mais tarde para o ramo farmacêutico quando buscou vínculo com cientistas e acadêmicos, ganhando ainda mais destaque durante a 2ª Guerra Mundial. Nesse cenário a Alemanha entrou em desvantagem principalmente em detrimento da sua derrota durante a guerra, que acarretou uma diminuição em seu poderio econômico e de produção de medicamentos, abrindo espaço para os EUA começarem a dominar o mercado farmacêutico (HALAS; SAMPAIO, 2020).

Adicionalmente, durante este período de ascensão dos EUA houve a descoberta da penicilina (Figura 4), um importante marco para medicina. Interessantemente, tal avanço contou com a influência do acaso quando Alexander Fleming, ao semear colônias de *Staphylococcus* spp., percebeu que onde havia crescimento fúngico se tinha uma inibição de crescimento dessas bactérias (PEREIRA; PITA, 2005).

**Figura 4 - Estrutura da penicilina.**



**Fonte: Própria autoria, 2022.**

Outro grande avanço para a indústria farmacêutica foi a implementação de tecnologias modernas inovadoras, como o uso de métodos de “*screening*” biológicos que passaram a viabilizar a avaliação *in vitro* de várias substâncias simultaneamente, proporcionando a análise do aspecto tridimensional de um composto, suas propriedades físico-químicas e efeitos farmacológicos (BOSS *et al.*, 2017).

Neste horizonte, se tornou possível analisar vários modelos moleculares com auxílio da química medicinal, a qual possibilita o desenvolvimento de diferentes pesquisas acerca de novos fármacos para diferentes doenças a citar, doenças neurodegenerativas, autoimunes e infecciosas, conforme relata Andrade, Kümmerle e Guido (2020) em um estudo sobre as perspectivas da química medicinal para o século

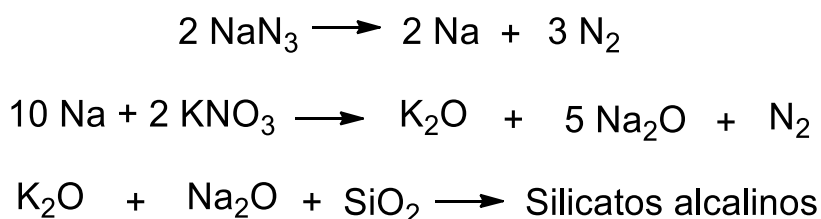
XXI, destacando-se, principalmente, a descoberta de novos alvos farmacológicos como a  $\alpha$ -sinucleína, importante fibrila no processo patológico da doença de *Alzheimer*.

Além disso, outras tecnologias emergem como uma revolução tecnológica para o setor de desenvolvimento farmacêutico como o advento da nanotecnologia, uma tecnologia que permite manipular moléculas em escalas nanométricas, trazendo como vantagem a diversidade de aplicação no cotidiano, como o uso de nanomateriais com propriedades antimicrobianas, uso no monitoramento da glicemia bem como reduzir efeitos adversos conhecidos e aumentar tempo de ação de fármaco (AGUIAR *et al.*, 2021a; DIAS *et al.*, 2021).

### 3.2 Azidas orgânicas

A classe das azidas abrange diversas utilidades, como o uso de azidas inorgânicas na indústria de automóveis, hoje em dia, pode-se perceber que muitos veículos automobilísticos possuem o sistema de *airbags* (CANTAMESSA, 2022). Esses dispositivos contêm azida de sódio e são utilizados como segurança passiva para o motorista em casos de colisões inflando rapidamente para diminuir a velocidade do passageiro uniformemente, sem forçar uma parada abrupta. Para isso, a bolsa do *airbag* precisa conter um gás que a faça expandir, que é promovido a partir de reações químicas entre a azida de sódio ( $\text{NaN}_3$ ), nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ) e o dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), o gás responsável por inflar a bolsa é o gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) proveniente da decomposição da azida de sódio ( $\text{NaN}_3$ ) conforme a figura 7 (BICALHO; SOUZA; GOMES, 2018).

**Figura 5 - Reações químicas envolvidas no processo de ativação de *airbags*.**

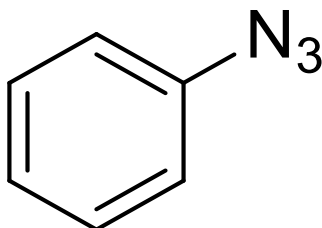


**Fonte: adaptado de Bicalho, Souza e Gomes, 2018.**

No entanto, as azidas orgânicas merecem grande destaque, esses compostos possuem em sua estrutura o grupo azida ( $\text{N}_3$ ), ligado a uma cadeia carbônica. Esta classe é de grande importância na química sintética e tem atraído atenção desde o século XIX. Em 1864 o pesquisador Peter Griess descreveu a síntese da fenilazida (Figura 5), e estimulou novas pesquisas, a citar a síntese de azidas orgânicas pelo pesquisador Theodor

Curtius, o qual descobriu o uso do grupo azida ao realizar uma reação de ácido carboxílico seguido de rearranjo para seu isocianato correspondente com a perda de nitrogênio ( $N_2$ ) e obteve uma acil azida instável, a qual apresentou uma característica explosiva por se decompor e liberar nitrogênio (HINO; OMORI, 2015; SCHOCK; BRÄSE, 2020).

**Figura 6 - Estrutura da fenilazida sintetizada por Peter Griess.**



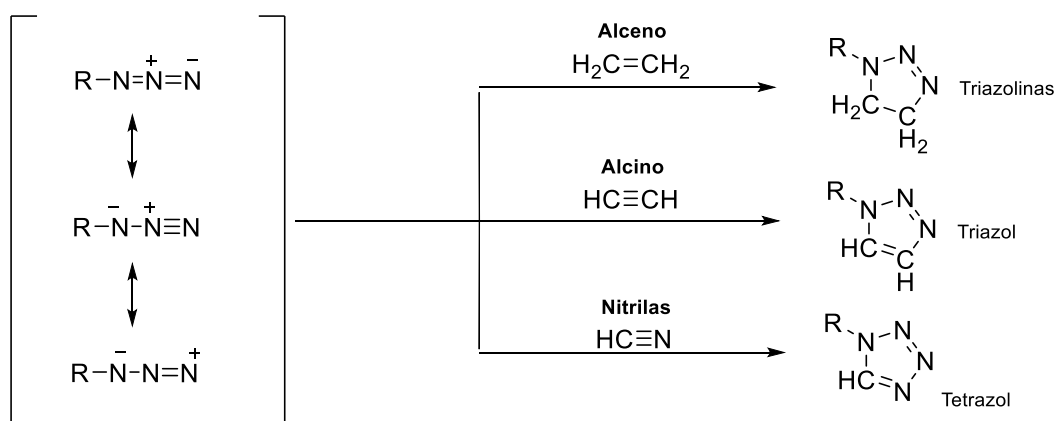
**Fonte: Própria autoria, 2022.**

Em meados da década de 1950, o grupo azida ganhou mais notoriedade quando foi proposta a síntese de alquil, acil e aril azidas, o que despertou interesse da indústria sobre estes compostos devido sua capacidade de aplicação em diferentes reações, como por exemplo, a reação de Staudinger/aza-Wittig, cicloadição de Huisgen e rearranjo de Schmidt (BOYER; MORGAN, 1959; FREITAS *et al.*, 2011).

As alquil azidas são consideradas a segunda classe de compostos azidados mais importantes. Neste cenário, a literatura ressalta diferentes metodologias para a síntese desses compostos, permitindo a sua obtenção a partir da inserção do grupo  $N_3$ , (por substituição nucleofílica aromática), inserção de um grupo  $N_2$  (a partir da transferência de diazo), inserção de um átomo de nitrogênio (diazotação), clivagem de triazinas e rearranjo de azidas (FARIAS, 2019).

As azidas orgânicas são consideradas pseudo-haletos, pois suas propriedades físico-químicas são semelhantes aos compostos halogenados. Além disso, devido seu momento 1,3 dipolar, as azidas são os principais substratos utilizados nas reações de cicloadição com alcenos, alcinos e carbonitrilas, os quais contém ligações insaturadas, essenciais para ocorrer o rearranjo de elétrons  $\pi$ , para formar uma molécula cíclica, conforme representado na figura 6 (CHIBA, 2012).

**Figura 7 - Cicloadição a partir de estruturas mesoméricas do grupo azida (N<sub>3</sub>).**

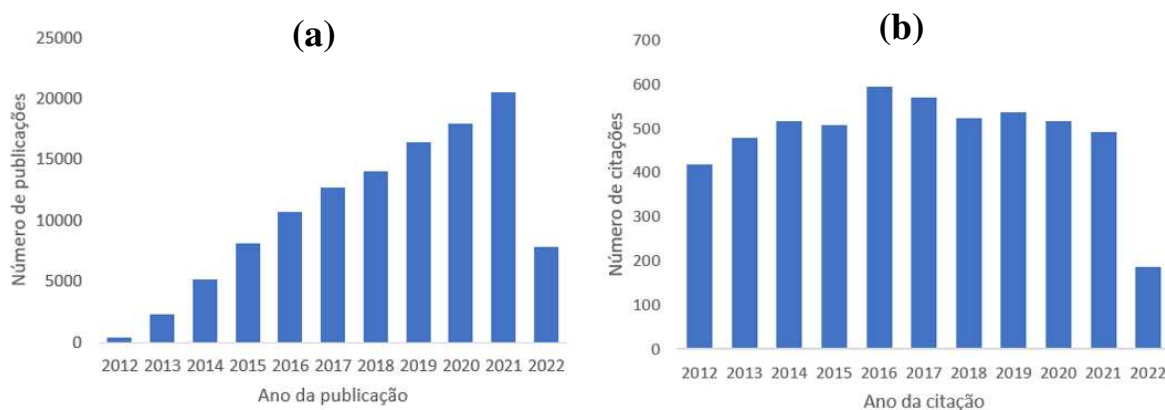


Fonte: Própria autoria, 2022.

As reações de cicloadição levam a formação de compostos heterocíclicos, os quais apresentam inúmeras aplicabilidades em diferentes setores industriais, químicos e farmacêuticos. No âmbito da indústria farmacêutica, os compostos heterocíclicos, como os compostos azólicos, merecem destaque, uma vez que apresentam atividades farmacológicas distintas, como antifúngico, antiviral, antineoplásico, tripanossomida, antimalárico, antibacteriano, anti-inflamatório, antituberculose e leishmanicida (SANTOS *et al.*, 2020).

A relevância das azidas orgânicas é refletida também no número de publicações e citações, conforme apresentado nos gráficos (a) e (b) (Figura 8), os quais demonstram uma elevação no número de publicações e citações envolvendo estes compostos nos últimos 10 anos. As informações dos gráficos foram obtidas no banco de dados da base *Web of Science*.

**Figura 8 - Número de publicações e citações sobre "organic azide" nos últimos dez anos.**



Fonte: *Web of Science*, 2022.

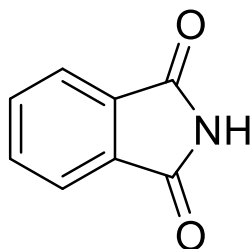


Outro fator relevante, considerado um marco importante utilizando azidas orgânicas foi a descoberta da zidovudina, também chamado de AZT ou 3'-azido-3'-desoxitimidina, o qual foi o primeiro fármaco utilizado contra o vírus da imunodeficiência humana (do inglês, *Human Immunodeficiency Virus* – HIV) em pacientes acometidos pela síndrome de imunodeficiência adquirida (do inglês, *Acquired Immune Deficiency Syndrome* – AIDS). Além disso, o grupamento azida presente neste composto possibilita a participação em diferentes reações viabilizando a formação de compostos com potencial capacidade antiviral (PATHAK, 2002).

### 3.3 Ftalimidas

As ftalimidas são imidas cíclicas que fazem parte de uma classe de compostos heteroaromáticos detentora de diferentes atividades biológicas, como antiviral (HOLANDA, 2021), anti-inflamatória (SILVA, 2019), antiparasitária (BARBOSA, 2018), entre outras. De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) estes compostos podem também ser nomeados de 1*H*-Isoindol-1,3-(2*H*)-diona (Figura 9) (PUBCHEM, 2022).

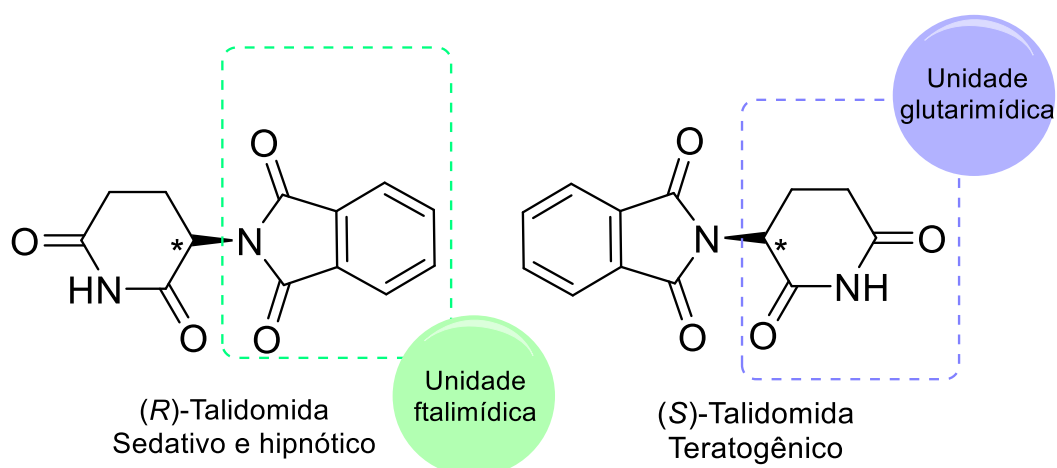
**Figura 9 - Estrutura molecular da ftalimida (1*H*-Isoindol-1,3-(2*H*)-diona).**



**Fonte: Própria autoria, 2022.**

Um exemplo de uma ftalimida bastante conhecida e comercializada por volta de 1957 é a talidomida, a qual contém um anel ftalimídico ligado a subunidade glutarimídica quiral (Figura 10). Inicialmente utilizada como sedativo para aliviar enjoos durante a gestação, esse medicamento foi comercializado em mais de quarenta países e após sua liberação, vários casos de defeitos congênitos graves foram relatados e notificados. A talidomida estava associada a malformações fetais e acometeu mais de 10.000 indivíduos (GAO *et al.*, 2020).

**Figura 10 - Configuração R e S da talidomida.**



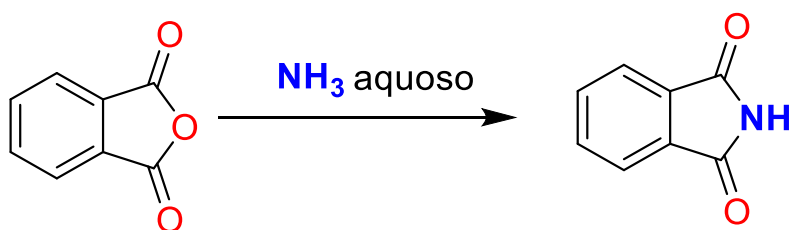
**Fonte: Própria autoria, 2022.**

O efeito terapêutico desejado estava atrelado ao enantiômero (*R*) enquanto que o efeito teratogênico da talidomida era proveniente do seu enantiômero de configuração (*S*), que surge na corrente sanguínea de humanos após ingestão oral do medicamento. Os ensaios toxicológicos de teratogenicidade não eram obrigados e, em primeiro momento, acreditava-se que não havia toxicidade para humanos. Só após o efeito da teratogenicidade acontecer, foram realizados testes em camundongos e não foi observado esse efeito, adiando ainda mais sua confirmação. No entanto, hoje em dia, é sabido que ratos e camundongos não desenvolvem essa embriopatia (LIMA, FRAGA, BARREIRO, 2001; SANTOS, 2018).

Apesar dos problemas notados para a talidomida, derivados sintéticos contendo o grupo ftalimida podem se mostrar seguros para utilização humana atestando ainda boas características farmacológicas, como a lenalidomida, medicamento com propriedades antineoplásicas, antineogênicas e anti-inflamatórias, demonstrando menos toxicidade e efeitos adversos em comparação a talidomida. Outro medicamento derivado de ftalimidas que apresenta segurança e eficácia é o apremilast conhecido como otezla um inibidor da fosfodiesterase-4, atuado em doenças autoimunes (RAJAGOPALAN *et al.*, 2021. DRUGBANK, 2022a).

Para a síntese de ftlamidas, algumas metodologias são descritas na literatura. Tradicionalmente estes compostos são obtidos a partir de ácidos dicarboxílicos e amônia sob aquecimento ou reação entre anidrido ftálico e amônia (Figura 11) (OLIVEIRA, 2021).

Figura 11 - Obtenção de ftalimida a partir do anidrido ftálico.



Fonte: adaptado de Oliveira, 2021.

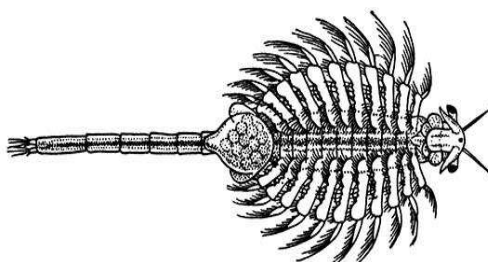
Uma análise do melhor método para obtenção da ftalimida realizada por Pin e Tavares (2016) demonstrou uma metodologia que emprega o anidrido ftálico e uma amina, proporcionando alto rendimento com aplicação de temperatura (107.5°C), curto tempo (135 minutos) e 1,2 equimolar de amina.

### 3.4 *Artemia salina* Leach

Muitos compostos são sintetizados e não são analisados seus potenciais toxicológicos e quando são analisados são utilizados métodos caros que demandam muito tempo e um considerável uso de animais (BUENO; PIOVEZAN, 2015). Além da demanda de tempo e custo atrelado, a utilização de roedores durante os testes de toxicidade tem levantado importantes questões éticas e científicas a respeito destas metodologias. Nesse cenário métodos alternativos, como o uso de *Artemia salina*, apresentam vantagens como: baixo custo, praticidade, simplicidade, rapidez e pouca quantidade de amostra (LIMA *et al.*, 2022).

A *Artemia salina* é um microcrustáceo encontrado em ambiente marinho (Figura 12). Seus ovos podem ser encontrados em lojas de pescaria devido sua utilização como alimento para peixes. Esses microcrustáceos são também utilizados como bioindicador, pois possui um grau de tolerância reduzido, apresentando uma resposta nítida frente a mudanças na qualidade do ambiente em que estão inseridos (FEDONENKO *et al.*, 2017).

**Figura 12 - Fisionomia da *Artemia salina* Leach.**



**Fonte: FEDONENKO *et al.*, 2017.**

O ensaio preliminar de toxicidade utilizando larvas de *Artemia salina* é visto como um método barato, simples e rápido, com seus ovos permanecendo viáveis por anos se armazenados em ambientes secos. Além disso, esta metodologia tem demonstrando notória aplicação como um teste alternativo à utilização de animais (AGUIAR *et al.*, 2021b).

Meyer *et al.* (1982) foram os pioneiros a utilizarem esses microcrustáceos para análise da toxicidade de extratos de plantas, no entanto, a versatilidade desse método também viabiliza o estudo de toxicidade geral de compostos sintéticos, nanopartículas e nanomateriais, conforme analisado por Rajabi *et al.* (2015). Em estudo comparativo entre métodos de viabilidade celular com base na função mitocondrial, estes autores mediram a atividade das enzimas mitocondriais e a toxicidade geral utilizando *Artemia salina* e perceberam que não houve uma diferença estatisticamente considerável entre os dois métodos, uma vez que a análise de dados demonstrou um  $p > 0,05$ , confirmando que os resultados obtidos no teste com artêmias foi equiparável aos resultados com base na função mitocondrial (RAJABI *et al.*, 2015)

Devido à semelhança estrutural das suas células com as células humanas, os microcrustáceos monitoram a citotoxicidade de compostos e apresentam valores de Concentração Letal necessário para matar 50% (CL<sub>50</sub>) dos indivíduos distintos, sendo considerados os valores inferiores a 100 µg/mL para substâncias altamente tóxicas, valores entre 100 e 500 µg/mL, moderadamente tóxicas, entre 500 e 1000 µg/mL suavemente tóxicas e acima de 1000 µg/mL atóxicas (MERINO *et al.*, 2015).

### **3.5 Análises *in silico***

Para a inclusão de um novo fármaco no mercado, vários estudos são realizados, desde sua descoberta até a liberação para uso pela população. Durante esse trajeto, o composto de interesse passa por algumas etapas que demandam grande tempo, custo e

trabalho, englobando sínteses, isolamentos de substâncias promissoras de extratos de plantas, testes de atividade biológica, testes toxicológicos, entre outros. Essas fases são divididas em: fase de desenvolvimento, fase não clínica e clínica, em que as moléculas promissoras são submetidas a testes *in vitro* e *in vivo* a fim de comprovar sua segurança e eficácia (KNOP; MARIA, 2017).

Em busca do alcance desses objetivos, o uso de animais para experimentos científicos, embora aconteça desde a Roma antiga, tem se intensificado a partir do século XIX. Esse amplo uso contribuiu para debates acerca da postura humana em relação ao uso de animais. Com isso, a bioética surge como ponte entre a ciência e a humanidade, propondo uma reavaliação e apoiando a busca por alternativas de métodos científicos utilizando animais (DIAS; GUEDES, 2018).

Neste horizonte, os modelos *in silico* surgem como alternativa mais barata, de menor tempo de análise, com garantia de reprodutibilidade e exatidão, para contornar essa problemática, utilizando métodos computacionais e modelos matemáticos, baseados em biorreguladores humanos para analisar as propriedades toxicológicas e físico-químicas, uma vez que durante o planejamento de fármacos o estudo dessas propriedades é uma etapa muito relevante para a predição da biodisponibilidade oral de moléculas promissoras (RODRIGUES *et al.*, 2021).

O emprego desta técnica auxilia no mapeamento de diversas substâncias com potencial biológico, permitindo avaliar a biodisponibilidade de um candidato a fármaco, a sua probabilidade de causar mutagenicidade, irritabilidade, interferência na reprodução humana e modelar mecanismos de ação a fim de potencializar e predizer as moléculas mais seguras ou específicas, fomentando o desenvolvimento de estudos mais avançados envolvendo aquelas que se mostrarem promissoras (COCCO *et al.*, 2020).

As ferramentas envolvidas nas análises *in silico* se tornam cada vez mais relevantes, fazendo parte de diversas pesquisas no âmbito científico, em estudos envolvendo doenças negligenciadas, como Leishmanioses, atividade de moléculas, metabólitos secundários de plantas, entre outros (FRANÇA, 2018; LIMA, 2018).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Equipamentos e análise de dados

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) foram realizadas em um espectrômetro VARIAN® modelo *Unity Plus-400* utilizando como solvente o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Este espectrômetro foi calibrado usando tetrametilsilano (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , e todas as constantes de acoplamento ( $J$ ) foram descritas em hertz (Hz). O espectro de infravermelho (IV) foi registrado em um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier no *Spectrum 400 FT-IR/FT-NIR Spectrometer* modelo PerkinElmer, sendo a amostra preparada como pastilhas de KBr.

É válido ressaltar que a caracterização dos compostos sintetizados por infravermelho e ressonância magnética nuclear foram realizadas em colaboração com a Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), através da parceria com o Prof. Dr. Paulo Henrique Menezes da Silva. A central analítica conta com vários equipamentos que estão apresentados no quadro 1.

**Quadro 1- Detalhamento dos equipamentos da central analítica versus modelo.**

| Equipamento                                          | Modelo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) | Varian <i>Unity Plus 400</i> MHz. Acessórios: Probe Multinuclear, Probe PFG (Pulsed Field Gradient), Probe de Detecção Inversa, Probe de Estado Sólido (CP/MAS), Unidade de temperatura variável. Experimentos Possíveis: Desacoplamento homo e heteronuclear, DEPT, APT, SFORD, COSY, HETCOR, NOESY, HMBC, HMQC, Experimentos com gradiente pulsado (PGE) e DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy). |
| Infravermelho com transformada de Fourier            | Bruker IFS 66. Região do Infravermelho: $12000\text{ cm}^{-1}$ a $400\text{ cm}^{-1}$                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

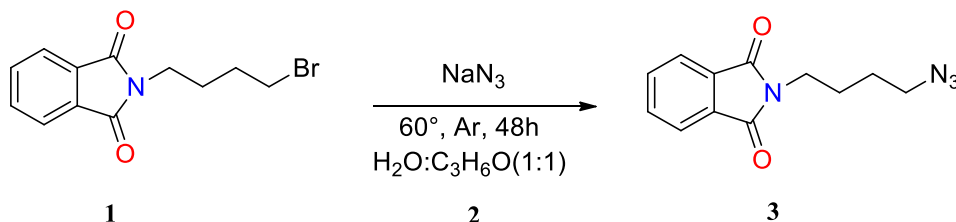
Fonte: Própria autoria, 2022.

### 4.2 Síntese da *N*-(4-azidobutil)ftalimida

O procedimento sintético foi realizado no Laboratório de Síntese Orgânica e Química Medicinal, situado no Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, localizada na cidade de Cuité/PB e foi baseado na substituição nucleofílica de 2ª ordem para obtenção da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**), utilizando como

reagente limitante a *N*-(4-bromobutil)ftalimida (**1**) e o reagente em excesso, a azida de sódio (**2**), como representado na figura 13.

**Figura 13 - Reação de substituição nucleofílica de 2ª ordem do bromobutil de ftalimida com a azida de sódio.**



A reação de azidação seguiu o protocolo estabelecido por Liao *et al.* (2017) adaptado. Sendo assim, em um balão de fundo redondo de 250 mL acoplado a um sistema de refluxo sob atmosfera inerte, utilizando gás argônio, foi preparada uma solução do brometo de ftalimida (4,07 mmols) em acetona (20 mL) a aproximadamente  $0^\circ\text{C}$ . Em seguida a azida de sódio (8,1 mmols) foi solubilizada em água (20 mL) e adicionada lentamente na primeira solução sob agitação. A temperatura foi elevada para  $60^\circ\text{C}$  e agitada por 48 horas. O término da reação foi acompanhado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

Levando em consideração que o produto é de natureza orgânica, após o término da reação fez-se necessário realizar a extração por partição, que se fundamenta em uma separação da fase orgânica e aquosa. Para isso, a mistura foi resfriada a temperatura ambiente, diluída com diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) (50 mL) e transferida para um funil de separação contendo 60 mL de bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ) onde a fase orgânica foi coletada e a fase aquosa lavada com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 x 30 mL). As fases orgânicas foram combinadas e secas com sulfato de magnésio anidro ( $\text{MgO}_4\text{S}$ ) no qual as moléculas de água ficaram agregadas ao sulfato, em seguida, esta foi filtrada em papel filtro qualitativo para remoção do  $\text{MgO}_4\text{S}$ . A fase orgânica coletada foi submetida à pressão reduzida no rotaevaporador, para obtenção do produto (**3**) sem necessidade de purificações adicionais.

### 4.3 Análise *in silico*

Foram realizadas distintas análises da *N*-(4-azidobutil)ftalimida, a fim de conhecer seu comportamento farmacocinético, farmacodinâmico, comparação com fragmentos estruturais de outras moléculas, potencial toxicológico e prever suas possíveis atividades

biológicas. Para alcançar esse objetivo foram utilizadas três plataformas: *Osiris Property Explorer*, *Molinspiration Online Property Calculation* e *Prediction of Activity Spectra for Substances* (PASS) online.

#### 4.3.1 *Osiris Property Explorer*

O *Osiris Property Explorer* é um aplicativo *web* utilizado para predição *in silico* da toxicidade de fármacos. Neste aplicativo *web* é possível desenhar a estrutura da molécula e o algoritmo do programa irá avaliar o risco toxicológico do composto, comparando-o com os fragmentos do Registro de Efeitos Tóxicos de Substâncias Químicas (do inglês *Registry of Toxic Effects of Chemical Substances* — RTECS) do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (do inglês *Center for Disease Control and Prevention* — CDC). Os resultados são expressos por meio de cores, no qual um composto de alto risco é identificado na cor vermelha, risco moderado na cor amarela e sem risco na cor verde (BRITO, 2010).

A vantagem desse programa é ser isento de custo, rápido e possibilita esse rastreamento de possíveis efeitos tóxicos, em contrapartida uma alerta de risco não representa de fato uma predição certa de toxicidade, além disso, nem todos os fragmentos potencialmente tóxicos estão inseridos no RTECS, dificultando a predição deste.

#### 4.3.2 *Molinspiration Online Property Calculation*

O *Molinspiration Online Property Calculation* é um programa que permite avaliar a biodisponibilidade oral *in silico*, o programa se baseia na regra de Lipinski, a qual possui quatro regras (LIPINSKI *et al.*, 1997). As regras são as seguintes:

1. Coeficiente de partição (cLogP) menor ou igual a 5;
2. Massa Molar menor ou igual a 500 g.mol<sup>-1</sup>;
3. Ter no máximo 10 grupos aceptores de ligação de hidrogênio (nDLH);
4. Ter no máximo cinco grupos doadores de ligação de hidrogênio (nALH).

Como resultado, das quatro pelo menos três devem ser obedecidas para que um fármaco possa ser considerado de boa biodisponibilidade oral.

Adicionalmente, outro fator de interesse para análise da biodisponibilidade é a área de superfície polar topológica (do inglês, *Topological Polar Surface Area* – TPSA), a qual está relacionada com a hidrofobicidade da molécula e com esse resultado pode ser



também calculado o percentual de absorção oral utilizando a fórmula  $\%ABS=109-(0.345 \times TPSA)$  estabelecida por Zhao *et al.*, 2022.

### 4.3.3 PASS *online*

O PASS *online* é um *software* que avalia o potencial biológico de uma molécula orgânica ao entrar em contato com o organismo humano, este *software* possibilita prever diversos tipos de atividades biológicas ao comparar a molécula que está sendo estudada com moléculas já conhecidas inseridas em bancos de dados. O resultado é expresso de acordo com a probabilidade de atividade ou não, sendo Pa para probabilidade de ser “ativo” e Pi para probabilidade de “ser inativo” (PALMEIRA *et al.*, 2019).

## 4.4 Bioensaio de toxicidade com *Artemia salina* Leach

O bioensaio de toxicidade utilizando larvas de *Artemia salina* Leach foi realizado de acordo com o protocolo de Meyer *et al.* (1982). Uma vez sintetizada e caracterizada, a *N*-(4-azidobutil)ftalimida foi utilizada para preparação da solução estoque com água salina artificial e dimetilsulfóxido (DMSO). A solução salina foi preparada a partir da dissolução de 38g de sal marinho Marinex® em 1L de água destilada atingindo pH entre 8 e 9.

A partir da solução estoque contendo a *N*-(4-azidobutil)ftalimida foram retiradas alíquotas para diluições, afim de obter cinco concentrações distintas para uma triagem inicial, as concentrações foram de 1000, 750, 500, 250 e 100 µg/mL. Após a triagem foram realizadas novas concentrações de acordo com a necessidade de novos testes.

A benzoamidoxima foi utilizada como controle positivo e uma solução estoque contendo água salina e dimetilsulfóxido (DMSO) foi utilizada como controle negativo, objetivando certificar a viabilidade do teste.

Os cistos do microcrustáceo foram incubados em água salina artificial e permaneceram por 24h sob iluminação artificial com uma lâmpada de 40W, para auxiliar na eclosão dos náuplios(larvas), uma vez que as larvas possuem fototropismo. Após eclosão foram coletadas 10 larvas de *Artemia salina* e transferidas para tubos de ensaios que continham controle negativo, positivo e as concentrações de *N*-(4-azidobutil)ftalimida pré-estabelecidas, esse procedimento foi realizado em triplicata.

Os tubos de ensaio contendo as larvas de *Artemia salina* foram expostos a iluminação artificial, e após as 24h, foram contabilizadas as quantidades de indivíduos vivos e mortos em cada teste.

#### **4.5 Análise estatística**

Os valores da concentração letal capaz de matar 50% dos indivíduos testados (CL<sub>50</sub>) foram analisados através de um *software* estatístico.

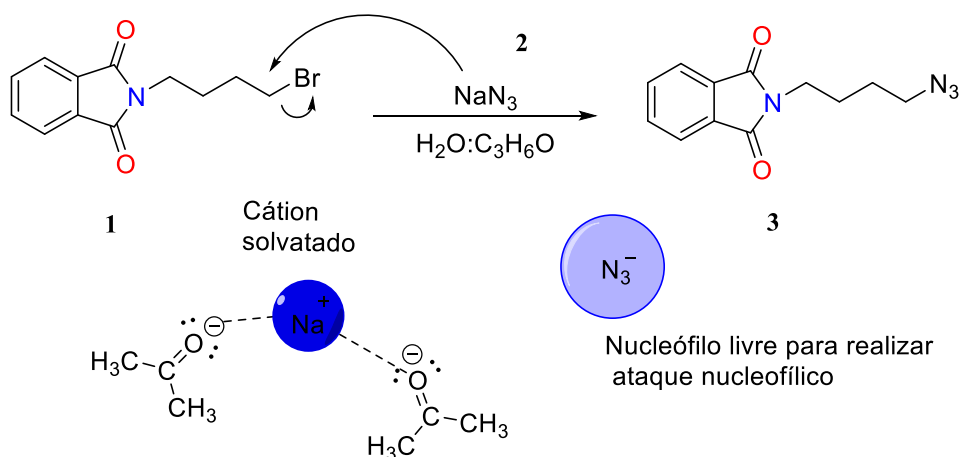
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi realizada a síntese da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**) através da reação de substituição nucleofílica bimolecular ( $S_N2$ ) entre a *N*-(4-bromobutil)ftalimida (**1**) e da azida de sódio (**2**) utilizando como solvente polar aprótico uma mistura de  $H_2O:CH_3COCH_3$ , na proporção de 50:50. A água foi utilizada para dissolução da azida de sódio e não atrapalhou a reação  $S_N2$  pois como acontece em única etapa assim que o cátion é solvatado pela propanona ( $CH_3COCH_3$ ), o nucleófilo ( $N_3^-$ ) realiza o ataque nucleofílico deslocando a reação no sentido de forma mais produto.

A mistura reacional foi submetida à atmosfera inerte, utilizando gás argônio (Ar), para evitar a entrada de gases da atmosfera como o  $CO_2$ , uma vez que ao entrar em contato com água há a formação de ácido carbônico ( $H_2CO_3$ ) diminuindo assim o pH do meio reacional e em meio ácido há o aumento do risco explosivo da azida bem como a formação de gases tóxicos.

A reação de azidação é favorecida na presença de um solvente polar aprótico em razão da sua capacidade de solvatação do cátion. O íon azoteto ( $N_3^-$ ) proveniente da azida de sódio (**2**) atua como nucleófilo e na presença da propanona, o íon fica mais disponível para participar da reação, uma vez que não está solvatado pelo solvente (Figura 14).

Figura 14 - Uso de solvente polar aprótico na reação de azidação.

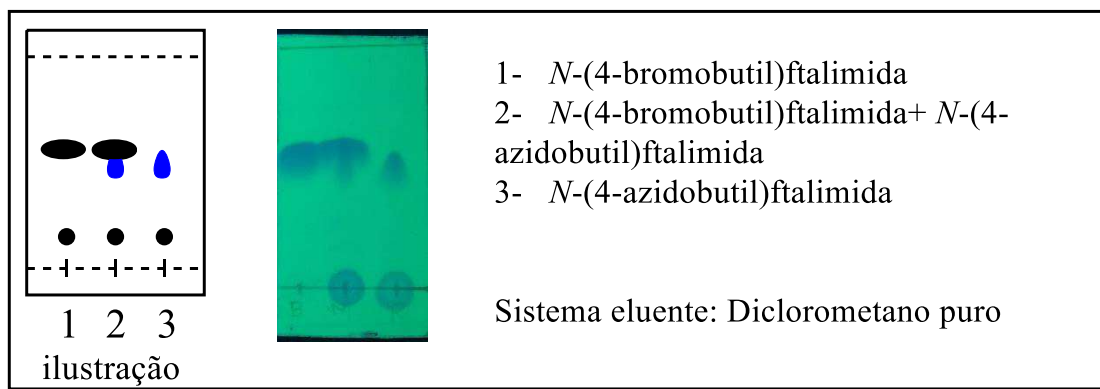


Fonte: Própria autoria, 2022.

O término da reação foi acompanhada por meio da Cromatografia em Camada Delgada (CCD) utilizando como produto de referência o reagente de partida *N*-(4-bromobutil)ftalimida (**1**), uma mistura do reagente (**1**) e do produto formado e por fim apenas o produto (**3**) (Figura 15), a fim de analisar o consumo total do reagente de partida,

com isso foi analisado o fim da reação, uma vez que todo o reagente (**1**) foi consumido, o produto **3** apresentou fator de retenção semelhante ao reagente **1**, provavelmente pela semelhança de polaridade dos compostos, uma vez que o grupo azida ( $N_3$ ) é considerado um pseudo-haleto.

**Figura 15 - Acompanhamento da reação de azidação por CCD.**



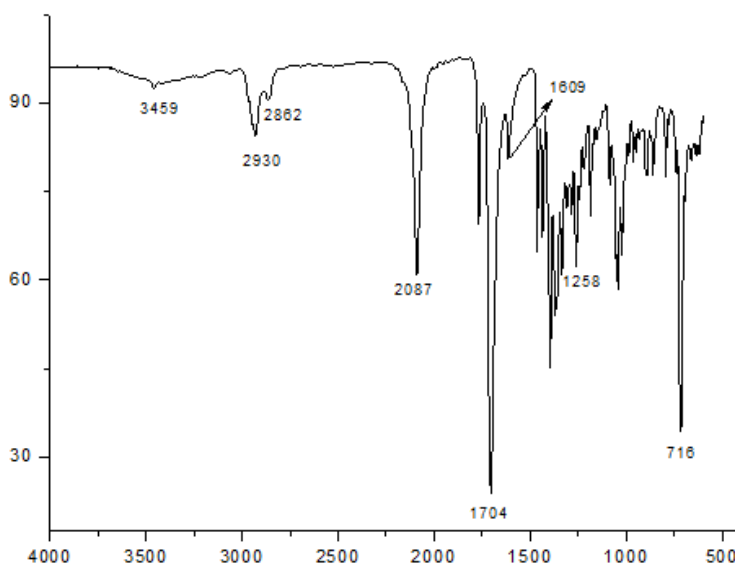
Fonte: Própria autoria, 2022.

Uma vez confirmada o término da reação de azidação, a mistura reacional contendo a *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**) foi submetida a extração por partição e à pressão reduzida, a fim de retirar todo o solvente contido na reação. O produto foi obtido na forma de um sólido amarelado, com 89,38% de rendimento, sendo este um valor maior que o encontrado por Liao *et al.* (2017), o qual obteve esse composto em 86% de rendimento.

Após a obtenção da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**), esta foi caracterizada através de técnicas espectrométricas de infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN  $^{13}C$ ) e hidrogênio (RMN  $^1H$ ).

A análise do espectro de infravermelho (IV), confirmou a obtenção da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**2**), uma vez que ele apresentou bandas características da azida ftalimídica, conforme a figura 16.

**Figura 16 - Espectro de infravermelho da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**).**



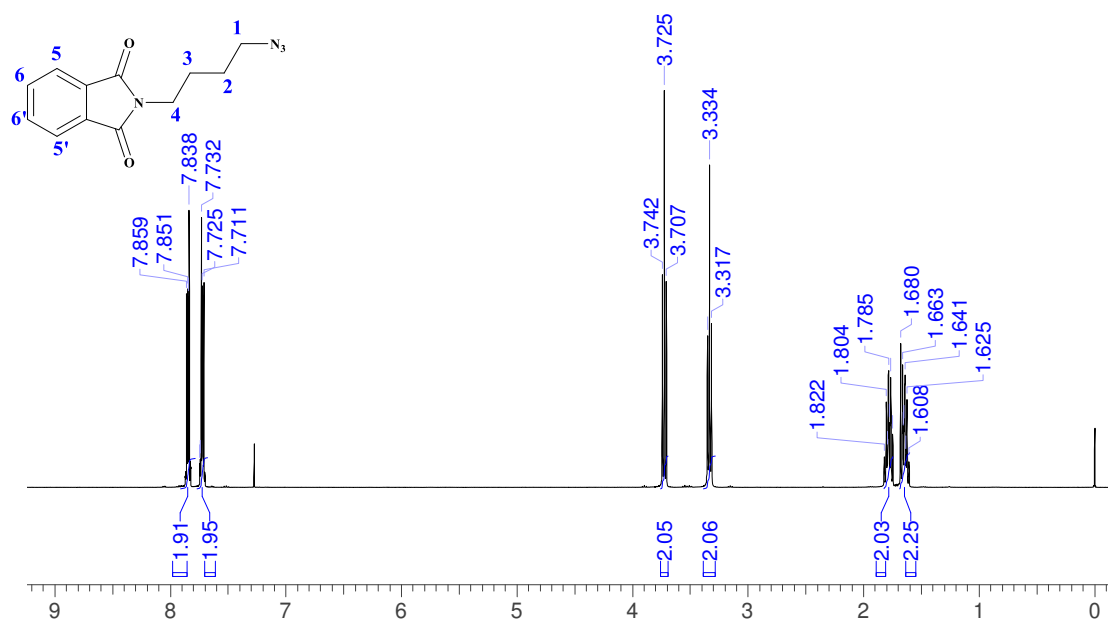
**Fonte: Própria autoria, 2022.**

De acordo com Lieber *et al.* (1957), o grupamento azida apresenta banda assimétrica na faixa de comprimentos de onda ( $\lambda$ ) de  $2170\text{ cm}^{-1}$  a  $2080\text{ cm}^{-1}$  e uma banda simétrica mais fraca no intervalo de  $1343\text{ cm}^{-1}$  a  $1177\text{ cm}^{-1}$ , no entanto, a banda assimétrica é suficiente para reconhecer o grupo, logo foi possível observar a banda assimétrica que representa o grupo azida do composto **3** no comprimento de onda  $2087\text{ cm}^{-1}$  e a banda simétrica em  $1258\text{ cm}^{-1}$ . Além disso, a banda característica da carbonila está evidente em  $1704\text{ cm}^{-1}$ , juntamente com uma banda harmônica de fraca intensidade, provavelmente pela duplicidade do grupo carbonila presente na estrutura da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**) observada em  $3459\text{ cm}^{-1}$ , por fim, a ligação dupla entre os carbonos do anel aromático está evidenciada em  $1609\text{ cm}^{-1}$ .

Após a caracterização por IV, o produto **3** também foi submetido à caracterização por RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **3** está representado na Figura 17, o qual demonstra o somatório das integrais igual a 12, correspondendo a quantidade de hidrogênios contidos na estrutura da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**).

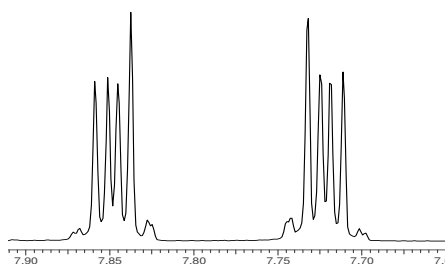
**Figura 17 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3**.**



Fonte: Própria autoria, 2022.

Um recorte do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **3** na região de 8,00 a 7,50 ppm (Figura 18), apresenta um dubleto de dupleto designados aos hidrogênios H-6 e H-5, que estão inseridos no anel aromático, os dupletos gerados estão em campo baixo em consequência da desblindagem proveniente do efeito anisotrópico das insaturações do anel aromático.

**Figura 18 - Recorte do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3**, na região de 8,00 a 7,50 ppm.**

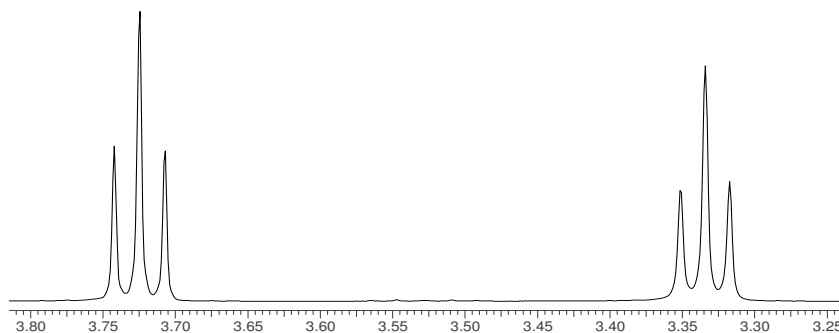


Fonte: Própria autoria, 2022.

Na região de 4,00 a 3,00 ppm (Figura 19) há a presença de dois tripletos, conforme a figura 19. Há um acoplamento via três ligações ( $J$ ) entre o hidrogênio H-4 e o hidrogênio H-3, gerando o sinal em 3,733 ppm com constante de acoplamento de 6,8Hz, este sinal foi atribuído ao hidrogênio H-4 por estar desblindado devido sua proximidade ao nitrogênio ftalimídico, uma vez que esse realiza ressonância com as carbonilas vizinhas. Já o sinal em 3,325 ppm, se refere ao hidrogênio H-1, o qual apresenta constante de

acoplamento ( $J$ ) igual a 6.8Hz ao acoplar com o hidrogênio H-2 e sua desblindagem ocorre pela proximidade entre o hidrogênio H-1 e o grupo azida do composto **3**.

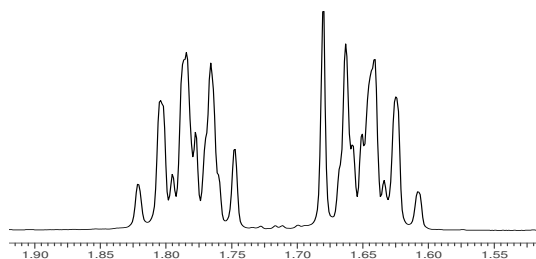
**Figura 19 - Recorte do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3**, na região de 4,00 a 3,00 ppm.**



**Fonte: Própria autoria, 2022.**

Por fim, na figura 20 está representada a região de 2,00 a 1,50 ppm, a qual no campo mais alto aparecem dois sinais do tipo multipletos, sendo atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-2, evidenciando os grupos mais blindados entre os hidrogênios do composto **3**.

**Figura 20 - Recorte do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **3**, na região de 2,00 a 1,50 ppm.**



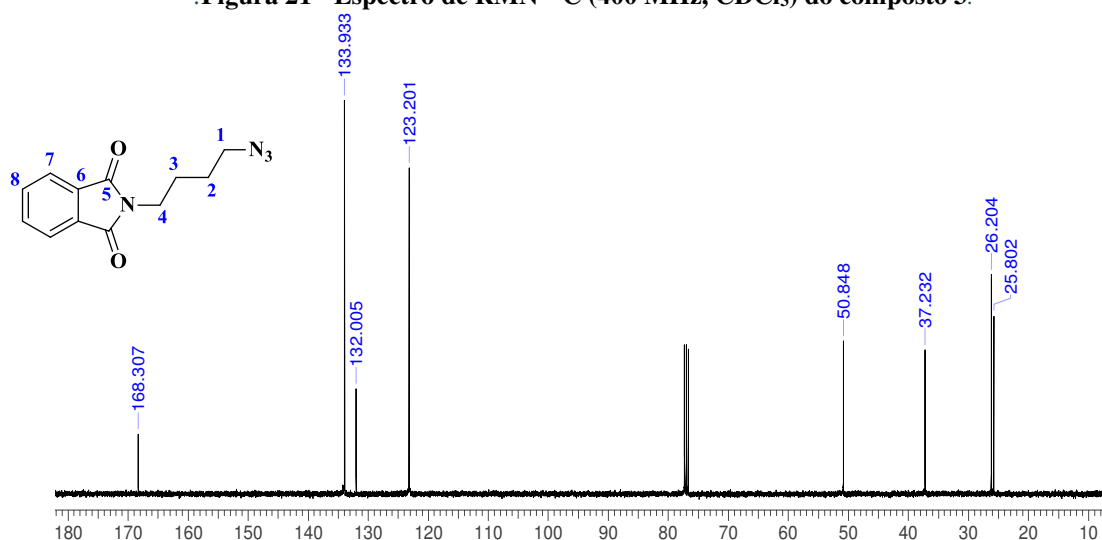
**Fonte: Própria autoria, 2022.**

A Figura 21 representa o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto **3**, é possível notar a presença de oito carbonos quimicamente diferentes. O carbono mais desblindado é o carbono C-5, sinal em 168,3 ppm, esse deslocamento químico é promovido pelo carbono carbonílico. Os carbonos C-8, C-6 e C-7 aparecem em campos mais baixos por sofrerem efeito anisotrópico das insaturações do anel aromático, gerando os sinais 133,9, 132,0 e 123,2 ppm, respectivamente.

A ressonância eletrônica provocada pelo grupo azida, desblinda o carbono C-1 que está diretamente ligado ao grupo, refletindo no sinal 50,8 ppm, já o sinal em 37,2 ppm pode ser atribuído ao carbono C-4, uma vez que há uma desblindagem proveniente

do nitrogênio ftalimídico, por fim, os sinais 26,2 e 25,8 ppm representam os carbonos mais blindados C-3 e C-2.

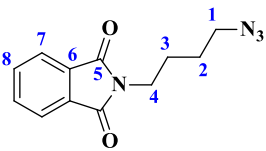
Figura 21 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto 3.



Fonte: Própria autoria, 2022.

Os dados espectrais estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados espectrais da *N*-(4-azidobutil)ftalimida.

| Composto                                                                            | RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )                                                                                                                                                                                                                  | RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ )                                 | IV (pastilha de KBr)                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
|  | $\delta$ 7,848 ( <i>dd</i> , 2H, $\text{H}_{\text{aromático}}$ , $J = 5,5$ e $3,2$ Hz), 3,733 ( <i>t</i> , 2H, H4, $J = 6,8$ Hz), 3,325 ( <i>t</i> , 2H, H1, $J = 6,8$ Hz), 1,803 ( <i>m</i> , 2H, H3, $J = 7,2$ Hz), 1,66 ( <i>m</i> , 2H, H2, $J = 6,8$ Hz) | $\delta$ : 168,307; 133,933; 132,005; 123,201; 50,848; 37,232; 26,204; 25,802. | $\nu_{\text{max}}$ : 3459; 2930; 2862; 287; 1704; 1609; 1258; 716 |

Legenda: RMN  $^1\text{H}$ : ressonância magnética nuclear de hidrogênio; RMN  $^{13}\text{C}$ : ressonância magnética nuclear de carbono 13; IV: infravermelho; H: Hidrogênio;  $\delta$ : deslocamento químico;  $J$ : constante de acoplamento; *dd*: dubleto de dupleto; *m*: multipeto; *t*: tripleto;  $\nu_{\text{max}}$ : número de ondas; Hz: Hertz.

Fonte: Própria autoria, 2022.

Tendo em vista as atividades biológicas citadas na literatura acerca dos derivados de azidas ftalimídicas, notou-se a viabilidade de realizar estudos *in silico* a fim de analisar o comportamento da *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**) no organismo biológico bem como seu



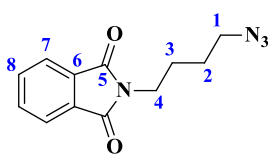
potencial de toxicidade. Para isso foram utilizados *softwares* que auxiliam na predição farmacológica da molécula interessada.

As propriedades físico-químicas da molécula auxiliam na análise de seu comportamento no organismo biológico em relação à absorção, transporte, metabolismo e atividade no receptor alvo. O *Molinspiration Online Property Calculation* foi utilizado para avaliar a lipofilicidade, o qual é representado pelo log P, parâmetro esse que somado ao valor da massa molecular do composto, o número de doadores de hidrogênio e aceptores de ligações de hidrogênio, representam as regras estabelecidas por Lipinski *et al.*, 1997.

Além disso, o *Molinspiration Online Property Calculation* prediz a capacidade da molécula de interesse em se ligar à receptores acoplados a proteína G (GPCR), se irá apresentar capacidade moduladora de canal iônico, atuar em nível nuclear se ligando a receptores nucleares ou inibindo protease, quinase ou enzimas.

Os resultados da predição das propriedades moleculares para a *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**) estão sumarizados na Tabela 2. Inicialmente foi analisado o coeficiente de partição (logP), os valores atribuídos ao logP avalia se o composto será hidrofílico ou hidrofóbico. Um valor alto de logP significa que a molécula é mais hidrofóbica e um valor baixo significa que será uma molécula hidrofílica. O logP calculado para a *N*-(4-azidobutil)ftalimida foi de 2.92.

**Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos da *N*-(4-azidobutil)ftalimida analisada no *Molinspiration Online Property Calculation*.**

| Composto                                                                            | Log P | TPSA  | ABS % | nDLH | nALH | P.M    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|------|------|--------|
|  | 2,77  | 88,83 | 78,35 | 0    | 6    | 244.25 |

Legenda: Log P: coeficiente de partição; TPSA: *Topological Polar Superfície Area*; ABS%: Percentual de absorção oral; nDLH: número de doadores de ligação de hidrogênio; nALH: número de aceptores de ligação de hidrogênio; PM: peso molecular.

**Fonte: Própria autoria, 2022.**

É válido salientar que as moléculas biologicamente ativas não devem possuir valores extremos em relação ao logP, nem tão baixos, nem tão altos, uma vez que moléculas com log P muito alto tendem a se acumularem em tecidos adiposos dificultando sua excreção e consequentemente gerando maior efeito no corpo com vista a causar um

quadro de toxicidade, já moléculas muito hidrofílicas tendem a ficarem dissolvidas nas soluções aquosas do corpo e não conseguem atravessar as membranas celulares, além de serem rapidamente excretadas pela via renal (LIPINSKI *et al.*, 1997; VERSTUYFT; BECQUEMONT; MOULY, 2022).

Adicionalmente às regras de Lipinski, outro parâmetro analisado a fim de avaliar a biodisponibilidade oral da molécula foi a área de superfície polar topológica (do inglês, *Topological Polar Surface Area – TPSA*) (MOLINSPIRATION, 2022). A TPSA está associada ao número de nitrogênios e oxigênios que estão ou não ligados a hidrogênio, esse fator está ligado a capacidade da molécula realizar ligações de hidrogênio influenciando na sua polaridade, uma TPSA menor está relacionada com uma maior hidrofiliabilidade uma vez que os grupos polares devem apresentar uma boa solvatação para que ocorra a permeação da molécula nas membranas celulares (RODRIGUES *et al.*, 2021). Dessa forma uma TPSA considerada boa apresenta valor menor ou igual a  $140 \text{ \AA}^2$ , de acordo com a análise, a *N*-(4-azidobutil)ftalimida apresentou  $83,90 \text{ \AA}^2$ .

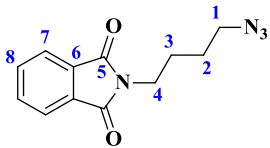
Neste sentido, foi possível calcular o percentual de absorção oral, utilizando a equação  $\%ABS = 109 - (0,345 \times TPSA)$ , empregando o valor obtido do TPSA, a porcentagem de absorção oral foi de 80,06% indicando que a *N*-(4-azidobutil)ftalimida apresenta uma ótima absorção oral (KUMAR *et al.*, 2021).

Por fim, foram analisadas as seguintes regras estabelecidas por Lipinski: número de doadores de ligação de hidrogênio (nDHL) menor ou igual a cinco, número de aceptores de ligação de hidrogênio (nAHL) menor ou igual a dez, o logP menor ou igual a cinco e massa molecular até 500 g/mol.

Neste cenário a *N*-(4-azidobutil)ftalimida, não apresentou nenhuma violação às regras. Os valores de nDHL e de nAHL foram 0 e 6, respectivamente, a massa molecular de 234 g/mol e o logP de 2,92, representando um bom perfil de lipossolubilidade uma vez que valores ótimos de logP estão compreendidos na faixa de 1 a 3, refletindo propriedades farmacocinéticas teóricas ideais (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Analisadas as propriedades farmacocinéticas, a próxima etapa foi analisar as propriedades farmacodinâmicas, uma vez que para apresentar atividade biológica é necessário que a molécula ative se ligue a um alvo específico. O *Molinspiration Online Property Calculation* também prevê algumas interações das moléculas a citar, a capacidade de se ligar a receptores acoplados proteína G (GPCR), se comportar como modulador de canais iônicos, inibidor de proteases, quinases ou enzimas. Os valores da análise farmacodinâmica da *N*-(4-azidobutil)ftalimida estão sumarizados na Tabela 3.

Tabela 3 - Propriedades biológicas da *N*-(4-azidobutil)ftalimida.

| Composto                                                                          | Ligante<br>GPCR | MCI  | IK    | NRL   | PI    | IE   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------|-------|-------|-------|------|
|  | -0.03           | 0.01 | -0.14 | -0.30 | -0.11 | 0.22 |

Legenda: GPCR: ligante de receptor acoplado a proteína G; MCI: modulador de canal iônico; IK: inibidor de quinase; NRL: ligante de receptor nuclear; PI: inibidor de protease; IE: inibidor enzimático.

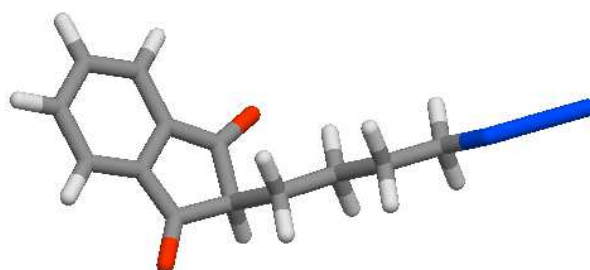
Fonte: Própria autoria, 2022.

Diante dos resultados, a *N*-(4-azidobutil)ftalimida apresentou valores negativos em relação a capacidade de se ligar a receptores ligados a proteína G (GPCR), bem como atuar em receptor nuclear, inibir proteases e quinases. No entanto, de acordo com Singh, Gupta e Verna (2013) moléculas que encontram-se na faixa de -5,00 a 0,00 podem apresentar atividade biológica moderada. Desta forma, a *N*-(4-azidobutil)ftalimida apresentou atividade teórica para todas as propriedades analisadas, destacando-se a capacidade atuar como modulador de canal iônico e inibidor enzimático, uma vez que uma grande probabilidade da molécula ser biologicamente ativa é expressa em resultados positivos (>0,00). Com isso, o composto **3** apresentou maior capacidade de inibição enzimática, com uma pontuação de 0.22 (HERRERA *et al.*, 2021).

É importante salientar que alguns processos de desequilíbrio na homeostasia do organismo biológico são provenientes de distúrbios em vias bioquímicas, as quais envolvem a participação de diversas enzimas. Sendo assim, uma falha enzimática pode prejudicar atividade de moléculas ou transporte delas no organismo, por exemplo (HUSNY; CALDATO, 2006). A *N*-(4-azidobutil)ftalimida apresentou uma atividade positiva quanto a inibição enzimática, tornando-a alvo de interesse para mais estudos, entre eles ensaios biológicos a fim de descobrir novas atividades.

Por fim, o *Molinspiration Online Explorer Calculation* disponibiliza a opção de representação da molécula em 3D. A *N*-(4-azidobutil)ftalimida está representada na figura 22, na forma estrutural em tubos, onde em cinza está representada a cadeia principal composta pelos carbonos, em vermelho os oxigênios, em branco os hidrogênios e em azul está representado o grupo azida (N<sub>3</sub>).

**Figura 22 - Estrutura 3D da *N*-(4-azidobutil)ftalimida.**



**Fonte: Molinspiration, 2022.**

Adicionalmente foi analisado o potencial biológico geral no organismo através do PASS *online* (*Prediction of Activity Spectra for Substances online*), uma plataforma gratuita e *online* que prevê mais de 300 mecanismos de ação e efeitos farmacológicos expressando as probabilidades em porcentagem por meio das siglas Pa (probabilidade de uma molécula ser ativa para determinada atividade biológica) e Pi (probabilidade da molécula ser inativa para determinada atividade biológica).

Com a análise, foram constatadas quatro atividades acima de 70% de Pa para a *N*-(4-azidobutil)ftalimida, as quais estão sumarizadas na Tabela 4. Dentre as atividades estão descritas inibições de enzimas, ressaltando uma maior capacidade de atuar como inibidor enzimático.

**Tabela 4 - Atividades biológicas para a *N*-(4-azidobutil)ftalimida com probabilidade maior que 70%.**

| <b>Pa</b>    | <b>Pi</b> | <b>Atividade</b>                           |
|--------------|-----------|--------------------------------------------|
| <b>0,770</b> | 0,006     | Inibidor ATPase de transporte de poliamina |
| <b>0,764</b> | 0,011     | Inibidor da fusarinina-C ornitinesterase   |
| <b>0,753</b> | 0,008     | Inibidor de Proteassoma ATPase             |
| <b>0,725</b> | 0,012     | Inibidor de dimetilargininase              |

Legenda: probabilidade de ser ativa (Pa); probabilidade de ser inativa (Pi).

**Fonte: Própria autoria, 2022.**

É válido destacar a capacidade da *N*-(4-azidobutil)ftalimida em inibir proteassoma, uma vez que este complexo desempenha um importante papel na regulação de vários processos celulares e a inibição dele resulta em estagnação de crescimento celular e induz a apoptose, assim se torna promissor frente células neoplásicas (WANG; MEUL; MEINERS, 2020).

No entanto, a *N*-(4-azidobutil)ftalimida apresentou outras atividades interessantes acima de 60%, a citar, atividade em distúrbios fóbicos e atividade antineurótica, conforme apresentado na Tabela 5.

**Tabela 5 - Atividades biológicas para a *N*-(4-azidobutil)ftalimida com probabilidade maior que 60%.**

| Pa    | Pi    | Atividade                                                                    |
|-------|-------|------------------------------------------------------------------------------|
| 0,688 | 0,014 | Inibidor da flavoproteína desidrogenase de transferência de elétrons         |
| 0,687 | 0,039 | Inibidor da glicosilfosfatidilinositol fosfolipase D                         |
| 0,664 | 0,093 | Tratamento de distúrbios fóbicos                                             |
| 0,658 | 0,012 | Inibidor de Fenol O-metiltransferase                                         |
| 0,644 | 0,015 | Inibidor de nucleosídeo oxidase (formador de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) |
| 0,644 | 0,020 | Inibidor de carboxipeptidase de muramoiltetrapeptídeo                        |
| 0,656 | 0,028 | Inibidor de ribulose-fosfato 3-epimerase                                     |
| 0,634 | 0,011 | Inibidor de N-formilmetionil-peptidase                                       |
| 0,633 | 0,018 | Inibidor de gluconato 5-desidrogenase                                        |
| 0,633 | 0,023 | Inibidor de fosfatidilcolina-retinol O-aciltransferase                       |
| 0,625 | 0,007 | Inibidor de 2-haloácido dehalogenase                                         |
| 0,621 | 0,025 | Inibidor de 2-hidroxiquinolina 8-monoxigenase                                |
| 0,618 | 0,030 | Inibidor da Glutathione S-transferase                                        |
| 0,615 | 0,066 | Antineurótico                                                                |
| 0,615 | 0,028 | Inibidor de ATPase de translocação de fosfolipídios                          |

Legenda: probabilidade de ser ativa (Pa); probabilidade de ser inativa (Pi).

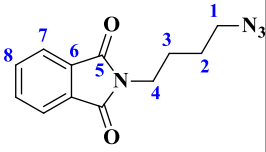
**Fonte: Própria autoria, 2022.**

A maioria das atividades encontradas no PASS *online* estão relacionadas a inibição de enzimas, entrando em concordância com a análise de propriedades biológicas realizada no *Molinspiration Online Property Calculation*, em que a azida ftalimídica (**3**) apresentou maior pontuação em relação a inibição enzimática.

No sentido de analisar a toxicidade do composto **3**, foi utilizado o *software Osiris Property Explorer* que permite realizar o teste com base em comparações entre fragmentos de cerca de 3.200 moléculas registradas no RTECS. Entre os parâmetros toxicológicos analisados estão mutagenicidade, tumorigenicidade, irritação e efeito na reprodução. Esses são expressos de acordo com o risco, em que a cor vermelha significa alto risco, a amarela risco moderado e a verde sem risco.

A *N*-(4-azidobutil)ftalimida (**3**) não apresentou fragmentos capazes de causarem toxicidade em relação aos parâmetros analisados. Esses resultados estão expressos no Quadro 2.

**Quadro 2- Dados do tratamento da N-(4-azidobutil)ftalimida no Osiris Explorer.**

| Composto                                                                          | MUT | TUMO | IRRI | REP | CLP  | DL    | DS   |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|------|------|-----|------|-------|------|
|  |     |      |      |     | 1.61 | -9.97 | 0.47 |

Legenda:  sem risco; MUT: mutagenicidade; TUMO: tumorigenicidade; IRRI: irritante; REP: efeito na reprodução; CLP: coeficiente de partição; DL: *drug-likeness*; DS: *drug-score*.

**Fonte: Própria autoria, 2022.**

De acordo com o *Osiris*, o coeficiente de partição foi diferente da análise realizada no *Molinspiration Online Property Calculation* (Quadro 2). No entanto essa diferença foi pouca e ainda permaneceu dentro da faixa estabelecida por Lipinski, para que o fármaco tenha boa biodisponibilidade oral.

O *druglikeness* está relacionado a semelhança da molécula alvo com fragmentos de fármacos já comercializados. Na base de dados do *Osiris* estão catalogados 3.300 fragmentos de fármacos e 15.000 substâncias químicas não medicamentosas. Um valor positivo de *druglikeness* transparece uma boa semelhança entre a molécula alvo e os fragmentos registrados na plataforma, partindo desse pressuposto uma molécula com valor positivo tem uma grande chance de vir a se tornar um fármaco (ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, 2022a).

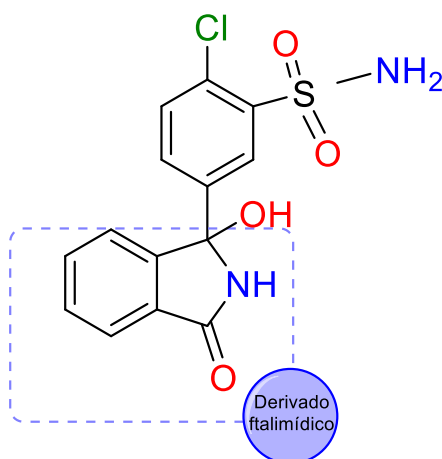
No entanto, o valor de *druglikeness* obtido para a N-(4-azidobutil)ftalimida foi bastante negativo, logo, a azida não se assemelha aos fármacos do banco de dados do *Osiris*, enfatizando que este composto não apresenta uma probabilidade considerada de apresentar as mesmas característica físico-químicas dos fármacos comercializados que estão cadastrados na plataforma.

Outro parâmetro observado foi o *drugscore*, o qual está relacionado aos grupamentos da molécula e analisa se a mesma possui algum grupamento encontrado em medicamentos comercializados. O *drugscore* analisa de forma combinatória o *druglikeness*, o coeficiente de partição, a solubilidade e o risco de toxicidade para avaliar o potencial farmacológico da nova molécula. Este potencial é avaliado de forma quantitativa e varia de 0 a 1, neste sentido quanto mais próximo de 1, maior é a possibilidade de se tornar um fármaco. (ORGANIC CHEMISTRY PORTAL, 2022b).

Com isso o valor de *drug score* para a azida ftalimídica foi positivo apresentado um valor de 0.47, este valor retrata que medicamentos já comercializados apresentam em

sua estrutura grupamentos característicos de ftalimidas, a citar a clortalidona (Figura 23), um diurético tiazídico utilizado para tratamento da hipertensão. Embora o valor seja baixo em consequência a contribuição negativa do DL, o DS ainda se mostrou considerável, ressaltando a relevância das outras propriedades apresentadas pela azida, fomentando a probabilidade moderada da azida se tornar um fármaco futuramente (DRUGBANK, 2022b).

**Figura 23 - Estrutura da clortalidona.**



**Fonte: Própria autoria, 2022.**

Ainda no sentido de analisar o potencial toxicológico da azida ftalimídica foi realizado o bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina* Leach. Foram utilizadas artêmias com 24h de vida após a eclosão. Foram realizadas 15 concentrações diferentes e análise estatística a fim de determinar a CL<sub>50</sub>, obteve-se uma CL<sub>50</sub> de 425 µg/mL com um desvio de 25 µg/mL ±. De acordo com Merino *et al.* (2015) substâncias entre 100 e 500 µg/mL são consideradas moderadamente tóxicas, este resultado entrou em desacordo com o observado nos testes *in silico*, em que não foi encontrado nenhum risco toxicológico da azida ftalimídica, essa divergência pode ser explicada com base no tipo de toxicidade analisada, uma vez que o *Osiris* analisa a toxicidade crônica e o bioensaio utilizando artêmias analisa a toxicidade aguda.

Por outro lado, uma toxicidade alta frente as larvas de *Artemia salina* Leach não significa que o composto analisado seja descartado por apresentar esse potencial, uma vez que esse método também permite realizar uma análise geral da capacidade citotóxica de compostos de interesse para atividades antitumorais, já que essa metodologia não é específica para determinada atividade biológica. Segundo Meyer *et al* (1982) compostos que apresentam maior toxicidade podem ser submetidos a testes adicionais mais específicos afim de garantir a correlação da toxicidade com a atividade antitumoral.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo objetivou sintetizar a *N*-(4-azidobutil)ftalimida através da reação de substituição nucleofílica bimolecular, com isso a reação foi bem sucedida apresentando um rendimento de 89,38%, um valor considerado ótimo, uma vez que durante um processo reacional várias etapas são realizadas e durante elas podem ocorrer perdas de produto.

Após a síntese da azida ftalimídica, foi realizada a caracterização por meio de RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e IV e foi possível obter a *N*-(4-azidobutil)ftalimida de acordo com sua estrutura molecular. Uma vez caracterizada, a azida ftalimídica foi submetida a ensaios *in silico* através dos *softwares online* que possibilitaram estabelecer suas propriedades físico-químicas e toxicológicas. Com isso a azida apresentou parâmetros satisfatórios em relação ao perfil de biodisponibilidade oral, atendendo a todas as regras estabelecidas por Lipinski, além de ter apresentado uma boa capacidade de atuar como inibidor enzimático.

A análise toxicológica *in silico*, demonstrou ausência de risco de toxicidade em relação aos parâmetros de tumorigenicidade, mutagenicidade, capacidade de causar irritação e efeitos sobre a reprodução. No entanto o bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina* demonstrou um efeito suavemente tóxico da azida, entrando em divergência com os resultados estabelecidos *in silico*, em consequência ao tipo de toxicidade analisada, em que o *Osiris* analisa toxicidade crônica e o bioensaio utilizando artêmias averigua toxicidade aguda.

Entretanto a atividade tóxica encontrada no bioensaio utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* também pode evidenciar atividades citotóxicas úteis na busca por substâncias com potencial antitumoral, o que pode ser aperfeiçoado através de modificações em sua estrutura molecular inserindo com grupos químicos que demonstrem capacidade para tal atividade, uma vez que as azidas possuem uma versatilidade e reatividade que possibilita sua participação como intermediário sintético em diferentes reações.



## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. M. S.; TEODORO, G. V.; GUERRERA, A. J. O.; MARQUES, V. O.; RODRIGUES, R. C. Inovações farmacêuticas no tratamento da diabetes. **Cadernos Camilliani**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 1788-1803, 2021a.
- AGUIAR, C. R.; ALVES, Y. S.; SILVA, T. A.; SILVA, B. B. M.; RAMOS, J. F.; L., J. A. C.; SILVA, J. F.; FREITAS, J. C. R. Modificação na estrutura molecular do ácido salicílico e bioensaios toxicológicos frente a larvas de *Artemia salina* Leach. **Ciências Exatas e da Terra: exploração e qualificação de diferentes tecnologias 3**. [S.L] p. 173-183, 14 jan. 2021b. Atena Editora.
- ANDRADE, C. H.; KÜMMERLE, A. E.; GUIDO, R. V. C. Perspectivas da química medicinal para o século XXI: desafios e oportunidades. **Química nova**, [s.l.], v. 41, n. 4, p. 476-483, 2018.
- BARBOSA, M. O. **Avaliação da atividade anti-Schistosoma mansoni de novos ftalimido-tiazóis**. 2018. 65 f. Tese (Doutorado em Inovação Terapêutica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.
- BEZERRA, W. G. A. HORN, R. H.; SILVA, I. N. G.; TEIXEIRA, R. S. C.; LOPES, E. S.; ALBUQUERQUE, Á. H.; CARDOSO, W. C. Antibióticos no setor avícola: uma revisão sobre a resistência microbiana. **Archivos de zootecnia**, Córdoba, v. 66, n. 254, p. 301-307, 2017.
- BICALHO, A. J. C.; SOUZA, J. H. G.; GOMES, F. S. A engenharia mecânica como ferramenta de segurança automotiva: um review sobre segurança passiva. **Anais do Curso de Engenharia Mecânica da UniEVANGÉLICA**, [s.l.], v. 2, n. 1, 2018.
- BOSS, C.; HAZEMANN, J.; KIMMERLIN, T.; VON KORFF, M.; LÜTHI, U.; PETER, O.; SANDER, T.; SIEGRIST, R. The Screening Compound Collection: a key asset for drug discovery. **Chimia**, [s.l.], v. 71, n. 10, p. 667-667, 2017.
- BOYER, J.; MORGAN, JR, L. Acid catalyzed reactions between carbonyl compounds and organic azides. II. aromatic aldehydes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 24, n. 4, p. 561-562, 1959.
- BRITO, M. A. Avaliação de propriedades farmacológicas de fármacos *in silico* no curso experimental de química medicinal. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 17, n. 4, p. 22-29, 2010.
- BUENO, A. C.; PIOVEZAN, M. Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia. **Instituto Federal de Santa Catarina**, 2015.
- CANTAMESSA, C. **Os desafios de implementação dos veículos autônomos no cenário brasileiro**. 2022. 121 f. Dissertação. (Mestrado em Cidades inteligentes e Sustentáveis) – Universidade Nove de Julho, São Paulo, 2022.
- CECHINEL FILHO, V.; CAMPOS, F.; CORRÊA, R.; YUNES, R. A.; NUNES, R. J. Aspectos químicos e potencial terapêuticos de imidas cíclicas: uma revisão da literatura. **Química Nova**, [s.l.], v. 26, n. 2, p. 230-241, 2003.

- CHIBA, S. Application of Organic Azides for the Synthesis of Nitrogen-Containing Molecules. **Synlett**, [s.l.], v. 23, p. 21-44, 2012.
- COCCO, D. R.; SOUZA, M. R.; ALARCON, S. P.; KURITA, V. R. Uso de métodos computacionais para análise farmacológica e toxicológica do velutin. **Journal of Medicine and Health Promotion**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. 88-89, 2020.
- DANIEL, C. **Pesquisa de novos antibióticos anti-*Pseudomonas aeruginosa* utilizando métodos *in silico***. 2020. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2020.
- DIAS, B. P.; RIBEIRO, E. M.C.; GONÇALVES, R. L.; OLIVEIRA, D. S.; FERREIRA, T. H.; SILVA, B. M. A nanotecnologia no brasil e o desenvolvimento de produtos com atividade antimicrobiana. **Química Nova**, [s.l.], v. 44, p. 1084-1092, 2021.
- DIAS, T. M.; GUEDES, P. G. Percepção de estudantes sobre pesquisas científicas com animais. **Revista Bioética**, Brasília, v. 26, p. 235-244, 2018.
- DRUGBANK. **Phtalimides**. 2022a. Disponível em: <https://go.drugbank.com/categories/DBCAT000722>. Acesso: 05 jul. 2022.
- DRUGBANK. **Chlorthalidone**. 2022b. Disponível em: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00310>. Acesso: 05 jul. 2022.
- FARIAS, R. R. **Uso da metodologia de cicloadição entre azida-alcino catalisada por cobre na síntese de bis-triazóis simétricos. Investigação de suas propriedades físicas, biológica e como ligantes**. 2019. 179 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2019.
- FEDONENKO, O.; MARENKOV, O.; SHARAMOK, T.; KOLESNIK, N.; GRYGORENKO, T.; SYMON, M. Basics of Aquaculture and Hydro biotechnology. **World Scientific News**, [s.l.], v. 88, n. 1, p. 1-57, 2017.
- FERREIRA NETO, P. T. P.; SANTOS, T. R.; VARGAS, M. A.; MALDONADO, J. M. S. V. Desenvolvimento de novos medicamentos para doenças negligenciadas: uma análise bibliométrica. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação & Inovação em Saúde**, Rio de Janeiro, v.16, n. 2, p. 366-387, 2022.
- FERREIRA, P. G.; LIMA, C. G. S.; FOREZI, L. S. M.; SILVA, F. C.; FERREIRA, V. F. Aqui tem Química: Supermercado Parte II: Corantes Naturais e Sintéticos. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 14, n. 2, p. 267-283, 2022.
- FRANÇA, A. K. **Desenvolvimento de marcadores de DNA de genes das isoenzimas para uso em análise genética de *Leishmania* spp.** 2018. 155 f. Tese (Doutorado em Biologia Experimental) - Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2018.
- FREITAS, L. B. O.; RUELA, F. A.; PEREIRA, G. R.; ALVES, R. B.; FREITAS, R. P. F. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, [s.l.], v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.
- GAO, S.; WANG, S. FAN, R. HU, J. Recent advances in the molecular mechanism of thalidomide teratogenicity. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 127, p. 110-114, 2020.

- GUIDO, V.C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos avançados**, v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010.
- HALAS, G. J.; SAMPAIO, F. S. Dinâmica espacial da indústria farmacêutica: desenvolvimento e participação dos estados até anos 1990. **Geoinf: Revista do Programa de Pós-Graduação em Geografia (PGE/UEM)**, Maringá, v. 12, n. 1, p. 64-79, 2020.
- HERRERA, A. R.; CASTRILLÓN, W.; PASTRANA, M.; YEPES, A. F. CARDONA, W. G. Promising Hybrids Derived from S-Allylcysteine and NSAIDs Fragments against Colorectal Cancer: Synthesis, *In-vitro* Evaluation, Drug-Likeness and *In-silico* ADME/tox Studies. **Iranian Journal Pharmaceutical Research**, [s.l.], v 20, n. 3, p. 351-367, 2021.
- HINO, K. N.; OMORI, A. T. Método de síntese de azidas aromáticas usando vinagre. **Química Nova**, [s.l.], v. 38, n. 1, p. 156-158, 2015.
- HOLANDA, V. N.; LIMA, E. M. A.; SILVA, W. V.; MAIA, R. T.; MEDEIROS, R. L.; GHOSH, A.; LIMA, V. L. M.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. Identification of 1,2,3-triazole-phthalimide derivatives as potential drugs against COVID-19: a virtual screening, docking and molecular dynamic study. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, [s.l.], v. 18, p. 1-19, 2021.
- HUSNY, A. S. E.; CALDATO, M. C. F. Erros inatos do metabolismo: revisão de literatura. **Revista Paraense de Medicina**, [s.l.], v. 20, n. 2, p. 41-45, 2006.
- JELALI, H.; MANSOUR, L.; DENIAU, M.; SAUTHIER, M.; NAMDI, N. An Efficient Synthesis of Phthalimides and Their Biological Activities. **Polycyclic Aromatic Compounds**, [s.l.], v. 42, n. 4, p. 1806-1813, 2020.
- KNOP, L. B.; MARIA, D. A. Métodos substitutivos e a experimentação animal: um enfoque inovador. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, [São Paulo], v. 4, n. 2, p. 101-114, 2017.
- KUMAR, S. MITTAL, A.; PATHAK, A. GARG, G.; SAHU, S. K.. Drug likeliness and toxicity prediction of benzothiazole derivatives with their biological evaluation. **Plant Archives**, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 2054-2058, 2021.
- LEITZKE, A. F.; BERNEIRA, L. M.; ROSA, B. N.; MOREIRA, B. C.; MARIOTTI, K. C.; VENZKE, D.; PEREIRA, C. M. P. A Química de Produtos Naturais aplicados a reveladores de impressões digitais latentes. **Química Nova**, [s.l.], v. 45, n. 4, p. 424-434, 2022.
- LIAO, Y.; LU, Q.; CHEN, G.; YU, Y.; Li, C.; HUANG, X. Rhodium-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition of Internal Ynamides: Regioselective Assembly of 5-Amino-triazoles under Mild Conditions. **ACS catalysis**, v. 7, p. 7529-7534, 2017.
- LIEBER, E.; RAO, C. N. R.; CHAO, T. S.; HOFFMAN, C. W. W. Infrared spectra of organic azides. **Analytical Chemistry**. v. 9. n. 6. p. 916-918, 1957.
- LIMA, A. B. **Avaliação in-silico de metabólitos secundários com possível ação na enzima (EPSPS)**. 2018. 16 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônoma) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Petrolina, 2018.

LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. O renascimento de um fármaco: talidomida. **Química Nova**, v. 24, p. 683-688, 2001.

LIMA, W. G.; SANTOS, L. B. NIZE, W. S. C.; CASTILHO, R. O. BRITO, J. C. M. Brine shrimp (*Artemia salina* Leach) as an alternative model for assessing the in vivo antioxidant activity of rutin. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v. 4, n. 1, p. 39-44, 2022.

LIPINSKI, C. A. LOMBARDO, F.; DOMINT, B. W.; FEENET, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

MERINO, F. J. Z. OLIVEIR, V. B.; PAULA, C. S.; CANSIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M. HIROTA, B. C. K. DUARTE, A. F. S. KULIK, J. D. MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, [Campinas], v. 17, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MOLINSPIRATION. Molinspiration Molecule Viewer: Chem informatics on the Web. 2018. Disponível em: <https://www.molinspiration.com/services/psa.html>. Acesso: 05 jul. 2022.

OLIVEIRA, R. F. **Síntese, caracterização e avaliação antimicrobiana de novos compostos amidoésteres e diésteres derivados da ftaloilglicina e da tetracloroftaloilglicina**. 2021. 195 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021.

ORGANIC CHEMISTRY PORTAL. Molecular Property Explorer – DrugScore. 2022b. Disponível em: <https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html>. Acesso em 07 jul. 2022.

ORGANIC CHEMISTRY PORTAL. Molecular Property Explorer – Fragments Based Druglikeness. 2022a. Disponível em: <https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/druglikeness.html>. Acesso em 07 jul. 2022.

PALMEIRA, J. T.; CRUZ, J. H. A.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; GUÊNES, G. M. T.; MEDEIROS, C. I. S.; OLIVERA FILHO, A. A. Análise farmacológica e toxicológica *in silico* do ácido undecilênico aplicada a odontologia. **Jornal of Medicine and Health Promotion**, v. 4, n. 3, p. 1219-1230, 2019.

PATHAK, T. Azidonucleosides: Synthesis, Reactions, and Biological Properties. **Chemical Reviews**, [s.l.], v.102, n. 5, p. 1623-1668, 2002.

PEREIRA, A. L.; PITA, J. R. Alexander Fleming (1881-1955): da descoberta da penicilina (1928) ao prêmio Nobel (1945). **História: revista da Faculdade de Letras da Universidade do Porto**, v. 6, p. 129-151, 2005.

PIN, B. L.; TAVARES, L. A. Estudo Comparativo dos métodos e das condições para a obtenção de ftalimidas. **Brazilian Journal of Production Engineering-BJPE**, p. 11-17, 2016.

PUBCHEM. **Phtalimide**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=phtalimide>. Acesso em: 12 jul. 2022.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJI T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 20, 2015.

RAJAGOPALAN, M.; DOGRA, S.; SARASWAT, A.; BANODKAR, P. The use of apremilast in psoriasis: na indian perspective on real-word scenarios. **Psoriasis: Targets and Therapy**, [s.l.], v. 11, p. 109-122, 2021.

RODRIGUES, A. R. M. **Produtos naturais na descoberta de fármacos**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2018.

RODRIGUES, G. K. O Estado brasileiro e o capital farmacêutico transnacional no pós-segunda guerra (1945-1961). In: **CONGRESSO NACIONAL DE HISTÓRIA**. 2019.

RODRIGUES, G. S.; AVELINO, J. A. SIQUEIRA, A. L. N.; RAMOS, L. F. P.; SANTOS, G. B. O uso de softwares livres em aula prática sobre filtros moleculares de biodisponibilidade oral de fármacos. **Química Nova**, v. 44, p. 1036-1044, 2021.

SANTOS, F. S. **A história da talidomida no Brasil e a trajetória para conquista de direitos das pessoas com a Síndrome teratogênica**. 2018. 225 f. Tese (Doutorado em Ciências Sociais Aplicadas) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, R. J.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS, J. C. R. 1,2,3-Triazoles: general and key synthetic strategies. **Arkivoc**, p. 2019-271, 2020.

SCHOCK, M.; BRÄSE, S. Reactive & efficient: Organic azides as cross-linkers in material sciences. **Molecules**, v. 25, n. 4, p. 1009, 2020.

SILVA, T. L. **Síntese, elucidação estrutural e atividade anti-inflamatória de novos derivados da imidazolidina-2,-4 diona**. 2019. 171 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

SINGH, S.; GUPTA, A.K.; VERMA, A. Molecular properties and bioactivity score of Aloe vera antioxidant compounds-in order to lead finding. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 876-881, 2013.

SOUZA, M. C. B. V.; CUNHA, M. F. V. SOUZA, N. A. Luz e o desenvolvimento da indústria da química orgânica desde a antiguidade. **Revista Virtual de Química**. v.7. n. 1. p. 103-11. 2015.

VERSTUYFT, C.; BECQUEMONT, L.; MOULY, S. Farmacocinética de los medicamentos. **EMC-Tratado de Medicina**, v. 26, n. 1, p. 1-9, 2022.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, [s.l.], v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WANG, X.; MEUL, T. MEINERS. Exploring the proteasome system: A novel concept of proteasome inhibition and regulation. *Pharmacology & Therapeutics*, [s.l.], v. 211, p. 107526, 2020.

ZHAO, Y. H.; ABRAHAM, M. H.; LE, J.; HERSEY, A.; LUSCOMBE, C. N.; BECK, G.; SHERBORNE, B.; COOPER, I. Rate-limited steps of human oral absorption and QSAR studies. **Pharmaceutical research**, v. 19, n. 10, p. 1446-1457, 2002.