



UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Zaqueu Alves de Souza

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA*
CRUZI E ANTIFÚNGICA DE NOVOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS**

Belo Horizonte

2018

Zaqueu Alves de Souza

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-*TRYPANOSOMA*
CRUZI E ANTIFÚNGICA DE NOVOS DERIVADOS TRIAZÓLICOS**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química – Química Orgânica.

Belo Horizonte

2018

Ficha Catalográfica

S719s Souza, Zaqueu Alves de
2018 Síntese e avaliação da atividade anti-Trypanosoma
D cruzi e antifúngica de novos derivados triazólicos
[manuscrito] / Zaqueu Alves de Souza. 2018.
80 + [42] f. : il.

Orientador: Cleiton Moreira da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais - Departamento de Química.
Inclui bibliografia e anexos.

1. Química orgânica - Teses 2. Chagas, Doença de -
Teses 3. Atividade antifúngica - Teses 4. Inibidores
enzimáticos - Teses 5. Fungos - Teses 6. Triazóis -
Teses I. Silva, Cleiton Moreira da, Orientador II.
Título.

CDU 043

**"Síntese e Avaliação da Atividade Anti-*Trypanosoma cruzi* e Antifúngica de
Novos Derivados Triazólicos"**

Zaqueu Alves de Souza

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Prof. Cleiton Moreira da Silva - Orientador
UFMG


Prof. Ricardo José Alves
UFMG


Profa. Rosemeire Brondi Alves
UFMG

Belo Horizonte, 12 de julho de 2018.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para vencer as dificuldades.

A esta Universidade, pela oportunidade de fazer o curso.

Ao professor Cleiton Moreira da Silva pela orientação, apoio, paciência e confiança.

À professora Rosimeire Brondi pela assistência, incentivo e disponibilidade na resolução de problemas.

Ao professor Luiz Cláudio de Almeida Barbosa pelo apoio e incentivo.

Aos amigos do grupo de pesquisa GEQOB pela convivência e ajuda. Em especial, à Juliana pelos ensinamentos tecnológicos e na operação dos equipamentos.

Agradeço a minha família pelo apoio e por compreenderem muitas vezes a minha ausência.

Aos meus filhos Davi e Laís pelo carinho, compreensão e inspiração.

Ao meu irmão Jadson Alves de Souza pela amizade, carinho e apoio.

À banca examinadora por aceitar o convite.

Aos órgãos de fomento CNPq e FAPEMIG pelo financiamento à pesquisa.

"Não vai demorar que passemos adiante uma grande
e bela ciência, que faz arte em defesa da vida."

(Carlos Chagas)

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizados dez derivados triazólicos inéditos com bons rendimentos. Essas substâncias foram preparadas em seis etapas, utilizando a técnica de simplificação molecular. Os produtos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C , DEPT-135, COSY, HSQC e HMBC. As estruturas de alguns compostos foram confirmadas por experimento de difração de raios X por monocristal. Os compostos **6-15** foram avaliados *in vitro* contra a cepa Y do protozoário *Trypanosoma cruzi*. Os resultados mostraram que todos os compostos apresentaram inibição inferior a 50%, sendo que o composto **6** teve o melhor resultado, apresentando inibição de 39,5% na concentração de 50 μM . A atividade antifúngica dos **6-15** foi testada para linhagens de *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum*. O composto **6** apresentou maior atividade frente aos dermatófitos *Microsporum gypseum* (CIM = 32 $\mu\text{g/mL}$) e *Trichophyton rubrum* (CIM = 32 $\mu\text{g/mL}$). O composto **7** foi mais ativo frente ao *Trichophyton rubrum* (CIM = 64 $\mu\text{g/mL}$), já o composto **9** foi mais ativo frente ao *Cryptococcus neoformans* (H99) (CIM = 32 $\mu\text{g/mL}$). Os resultados demonstram que os derivados triazólicos **6**, **7** e **9** são promissores protótipos para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos.

Palavras-chave: Doença de Chagas, biossíntese do ergosterol, azóis, 14 α -desmetilase, antifúngicos.

ABSTRACT

In this work ten unprecedented triazolic derivatives with good yields were synthesized. These substances were prepared in six steps using the molecular simplification tool. The products were characterized by infrared spectroscopy, Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of ^1H , ^{13}C , DEPT-135, COSY, HSQC and HMBC. Structures of some compounds were confirmed by single crystal X-ray diffraction experiment. Compounds **6-15** were evaluated *in vitro* against the Y strain of *Trypanosoma cruzi* protozoan. The results showed that all compounds had inhibition less than 50%, and compound **6** had the best result, with inhibition of 39.5% at 50 μM concentration. The antifungal activity of **6-15** was tested for *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum* strains. Compound **6** showed higher activity against the dermatophytes *Microsporum gypseum* (MIC = 32 μg / mL) and *Trichophyton rubrum* (MIC = 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Compound **7** was more active against *Trichophyton rubrum* (MIC = 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$), whereas compound **9** was more active against *Cryptococcus neoformans* (H99) (MIC = 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$). The results demonstrate that triazole derivatives **6**, **7** and **9** are promising prototypes for the development of novel antifungal agents.

Keywords: Chagas disease, ergosterol biosynthesis inhibitors, azoles, 14 α -demethylase, antifungal agents.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Ciclo biológico do protozoário <i>T. cruzi</i>	1
Figura 2.	Mapa da distribuição de casos da doença de Chagas no mundo.	3
Figura 3.	Medicamentos empregados no combate à doença de Chagas.	3
Figura 4.	Estrutura química da anfotericina B.	6
Figura 5.	Estrutura química da terbinafina.	7
Figura 6.	Estrutura química da caspofungina.	7
Figura 7.	Representação esquemática da alteração da composição e da organização da membrana celular e o mecanismo de ação dos azóis sobre a síntese do ergosterol.	8
Figura 8.	Estruturas moleculares de alguns dos principais fármacos azólicos.	9
Figura 9.	Estrutura do núcleo esteróide.	10
Figura 10.	Rota da biossíntese do ergosterol.	11
Figura 11.	Enzima esterol 14 α -desmetilase (CYP51).	12
Figura 12.	Reações catalíticas de desmetilação do ergosterol na posição 14.	13
Figura 13.	Proposta de interação entre o fluconazol e a enzima (CYP51).	13
Figura 14.	Sítios de interação do miconazol.	14
Figura 15.	Sítios de interação do cetoconazol.	15
Figura 16.	Relação estrutura-atividade do fluconazol.	16
Figura 17.	Relação estrutura-atividade do itraconazol.	16
Figura 18.	Relação estrutura-atividade do posaconazol.	17
Figura 19.	Estruturas de compostos azólicos testados no tratamento da doença de Chagas e os potenciais agentes antifúngicos a-i.	19
Figura 20.	Estrutura dos novos derivados triazólicos a serem sintetizados.	20
Figura 21.	Dimerização fotoquímica do 1-azido-4-nitrobenzeno.	41
Figura 22.	Espectro na região do infravermelho do 1-azido-4-nitrobenzeno (KBr).	42
Figura 23.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 do 1-azido-4-nitrobenzeno.	43
Figura 24.	Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (100 MHz) em CDCl_3 do 1-azido-4-nitrobenzeno.	43
Figura 25.	Mecanismo proposto para a formação do composto (1).	44
Figura 26.	Espectro na região do infravermelho do composto (1).	45

Figura 27.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 do composto (1).	46
Figura 28.	Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (100 MHz) em CDCl_3 do composto (1).	46
Figura 29.	Mecanismo proposto para a formação do composto (2).	47
Figura 30.	Espectro na região do infravermelho do composto (2).	48
Figura 31.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 do composto (2).	49
Figura 32.	Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (100 MHz) em CDCl_3 do composto (2).	49
Figura 33.	Mecanismo proposto para a formação do composto (3).	50
Figura 34.	Espectro na região do infravermelho do composto (3).	51
Figura 35.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 do composto (3).	52
Figura 36.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 do composto (3).	52
Figura 37.	Mecanismo proposto para a formação do composto (4).	54
Figura 38.	Espectro na região do infravermelho do composto (4).	55
Figura 39.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em DMSO-d_6 do composto (4).	56
Figura 40.	Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (100 MHz) em DMSO-d_6 do composto (4).	56
Figura 41.	Espectro na região do infravermelho do composto (5).	57
Figura 42.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em CDCl_3 do composto (5).	58
Figura 43.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 do composto (5).	58
Figura 44.	Mecanismo proposto para a formação do composto (6).	61
Figura 45.	Espectro na região do infravermelho do composto (6).	63
Figura 46.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em DMSO-d_6 do composto (6).	64
Figura 47.	Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO-d_6 do composto (6). ...	64
Figura 48.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em DMSO-d_6 do composto (6).	65
Figura 49.	Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-d_6 do composto (6). ...	65
Figura 50.	Ampliação da região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-d_6 do composto (6).	66
Figura 51.	Mapa de correlações HMBC (400 MHz) em DMSO-d_6 do composto (6). ..	66
Figura 52.	Representação ORTEP-3 da unidade assimétrica cristalográfica do composto (6).	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Estruturas dos derivados triazólicos 6-15	59
Tabela 2:	Constantes de cela e determinação estrutural por DRXM do composto (6)...	68
Tabela 3:	Viabilidade celular do <i>T. cruzi</i> frente aos compostos 3-15	69
Tabela 4:	Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração fungicida mínima (CFM) para linhagens de <i>Cryptococcus</i> spp, <i>Candida</i> spp, <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> frente ao composto 6, 7 e 9	71
Tabela 5:	Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração inibitória fracionária (CIF) para linhagens de <i>Cryptococcus</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> frente a interação de anfotericina, fluconazol e itraconazol com o composto 9	73
Tabela 6:	Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração inibitória fracionária (CIF) para linhagens de <i>Cryptococcus</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> frente a interação de anfotericina, fluconazol e itraconazol com o composto 6	74
Tabela 7:	Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração inibitória fracionária (CIF) para linhagens de <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> frente a interação de anfotericina e itraconazol com o composto 7	74

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1:	Etapas envolvidas na síntese dos derivados triazólicos.	21
Esquema 2:	Síntese da azida orgânica pela reação de substituição de sal de diazônio aromático.	41

LISTA DE SIGLAS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CIM	Concentração inibitória mínima
CIF	Concentração inibitória fracionária
CFM	Concentração fungicida mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COSY	Espectroscopia de correlação, do inglês (Correlation spectroscopy)
d	Dupleto
DEPT	Intensificação sem distorção por transferência de polarização, do inglês (Distortionless Enhancement of Polarisation Transfer)
DRMX	Difração de raios X por monocristal
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
HMBC	Espectroscopia de correlação heteronuclear de múltiplas ligações, do inglês (Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy)
HSQC	Espectroscopia de correlação de simples quantum heteronuclear, do inglês (Heteronuclear single-quantum correlation spectroscopy)
Hz	Hertz
IV	Espectroscopia no infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LIT	Liver infusion tryptose
m	Multiplete
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2 <i>H</i> -terazólio
nm	Nanômetro
ppm	Partes por milhão
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de ¹³ C
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de ¹ H
s	Simpleto
t	Triplete
δ	Deslocamento químico
λ	Comprimento de onda

ÍNDICE

1-INTRODUÇÃO	1
1.1-Doença de Chagas	1
1.2-Doenças causadas por fungos	4
1.3-A biossíntese do ergosterol	10
1.4-Relação estrutura-atividade dos azóis	14
1.4-Derivados triazólicos: candidatos promissores para o combate à doença de chagas e micoses	17
2-OBJETIVOS	20
2.1-Objetivos gerais	20
2.2-Objetivos específicos	20
2.3-Plano de síntese	21
3-PARTE EXPERIMENTAL	23
3.1-Reagentes e solventes	23
3.2-Equipamentos	23
3.3-Síntese e caracterização	24
3.4-Difração de raios X por monocristal (DRXM)	39
3.5-Avaliação de atividade antifúngica	39
3.6-Avaliação da atividade anti- <i>T. cruzi</i>	40
3.6.1-Cultura de parasitos	40
3.6.2-Determinação de atividade antiparasitária e ensaios de citotoxicidade	40
4-RESULTADOS E DISCUSSÕES	41
4.1-Síntese e caracterização	41
4.2-Ensaio biológicos	69
4.2.1-Atividade anti- <i>T. cruzi</i>	69
4.2.2-Atividade antifúngica	70
5-CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	73
6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1-INTRODUÇÃO

1.1-Doença de Chagas

A doença de Chagas ou tripanossomíase americana foi descoberta em 1909, pelo médico e epidemiologista brasileiro Carlos Chagas na cidade de Lassance, no norte de Minas Gerais. Chagas descobriu o agente etiológico, o vetor, o hospedeiro, o ciclo epidemiológico e as manifestações clínicas em humanos.¹

O agente etiológico dessa doença é o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* que é vetorizado por insetos hematófagos triatomíneos, popularmente denominados de “barbeiros” no Brasil.¹O *T. cruzi* apresenta várias formas evolutivas em seu ciclo biológico nos hospedeiros invertebrados e vertebrados (Figura 1).

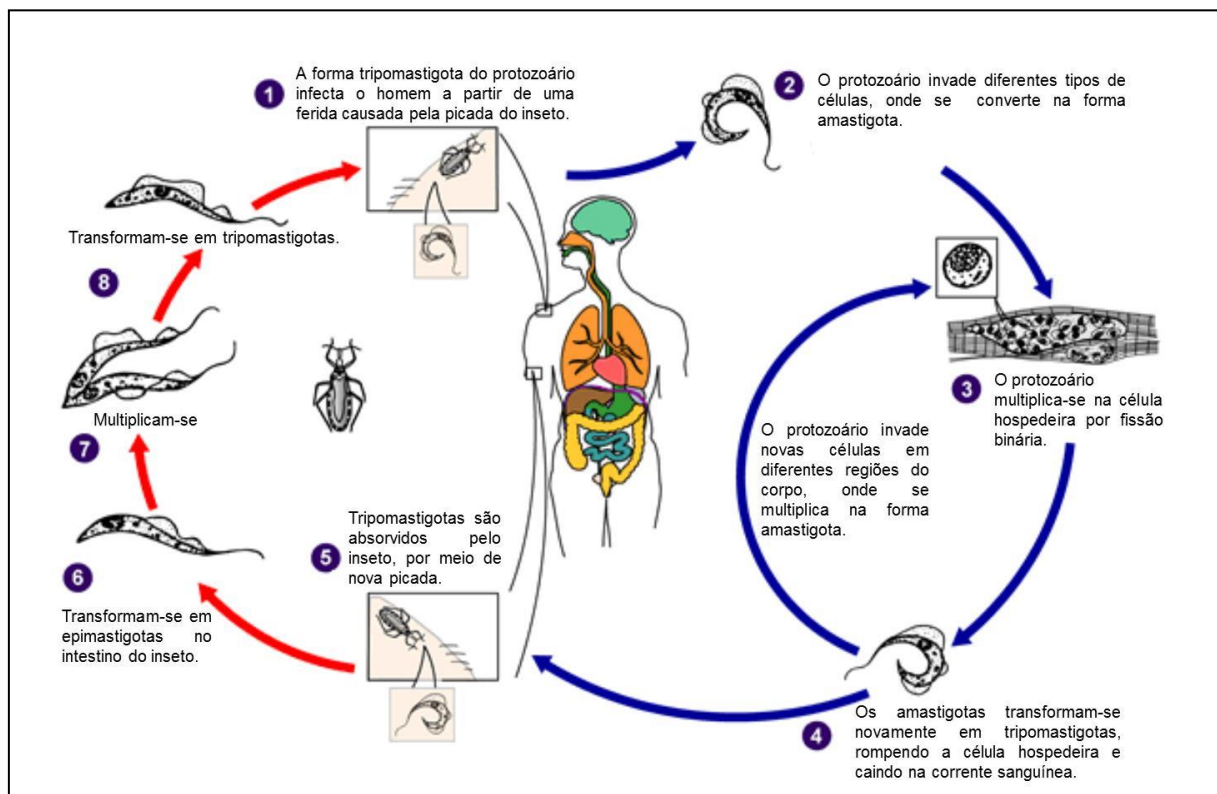


Figura 1. Ciclo biológico do protozoário *T. cruzi*. Adaptado de Clayton.²

A contaminação de um hospedeiro vertebrado ocorre quando a fêmea do inseto triatomíneo pica um mamífero para se alimentar. Após a ingestão de sangue, o inseto geralmente defeca e urina. Se estiver infectado, deposita sobre a pele a forma infectante tripomastigota metacíclico do parasita. Quando o hospedeiro coça a região da picada, direciona o parasita para região lesionada da pele, que acaba penetrando na corrente

sanguínea. Em seguida, o parasita invade diferentes tipos celulares como macrófagos, células musculares, células epiteliais e neurônios. No interior da célula, a forma tripomastigota se converte em amastigota, e em seguida, se multiplica por fissões binárias sucessivas. Após a multiplicação, a forma amastigota se converte em tripomastigota, rompendo a célula hospedeira, sendo os parasitos liberados na corrente sanguínea. Esses podem infectar novas células.²

A contaminação do inseto triatomíneo ocorre quando este pica um mamífero contaminado e ingere a forma tripomastigota do parasito. Os parasitos são conduzidos à parte anterior do estômago, onde se convertem para a forma epimastigota. As formas epimastigotas são digeridas chegando ao intestino. No intestino, as formas epimastigotas sobreviventes se multiplicam por fissões binárias sucessivas. Após a multiplicação, os epimastigotas se movem para o reto do inseto, onde sofrem diferenciação em tripomastigotas metacíclicos. Por último, são eliminados nas fezes e urina, fechando o ciclo.²

A doença de Chagas também pode ser transmitida pela via não endêmica (em que não há participação direta do vetor), através de transfusão de sangue, ingestão de alimentos contaminados com o parasita e da mãe para o feto.³

A doença de Chagas apresenta duas fases patológicas em seres humanos: a aguda e a crônica. A fase aguda ocorre durante os primeiros meses desde a infecção e é caracterizada por ser assintomática ou por ter poucos sintomas. Os sintomas dessa fase incluem febre, mal-estar, inchaço dos gânglios linfáticos, fadiga, diarreia e vômito.⁴ Os sintomas da fase aguda desaparecem na maioria dos pacientes. No entanto, sem o tratamento específico, a infecção persiste e entra em sua fase crônica.⁴

Dos indivíduos com doença de Chagas em fase crônica, cerca de 70% jamais desenvolverão sintomas (fase crônica indeterminada), enquanto que cerca de 30% dos infectados desenvolverão sintomas cardíacos, digestivo e nervoso (fase crônica determinada).⁵

A doença de Chagas é endêmica na América do Sul, América Central e México.⁶ No entanto seu perfil epidemiológico tem se alterado nas últimas décadas graças a fatores como aumento da imigração de indivíduos infectados, uso de drogas ilícitas, fácil transmissão *via* transfusão de sangue e consumo de alimentos contaminados, contribuindo para a disseminação desta parasitemia em países da Europa, Canadá, Austrália e sul dos Estados Unidos (Figura 2, página 3).⁷

Estimativas recentes sugerem que mais de 8 milhões de pessoas encontram-se infectadas pelo *T. cruzi* em todo mundo, constituindo um risco para 100 milhões de

indivíduos nas regiões endêmicas e que mais de 15 mil mortes de pacientes infectados ocorram por ano.⁷

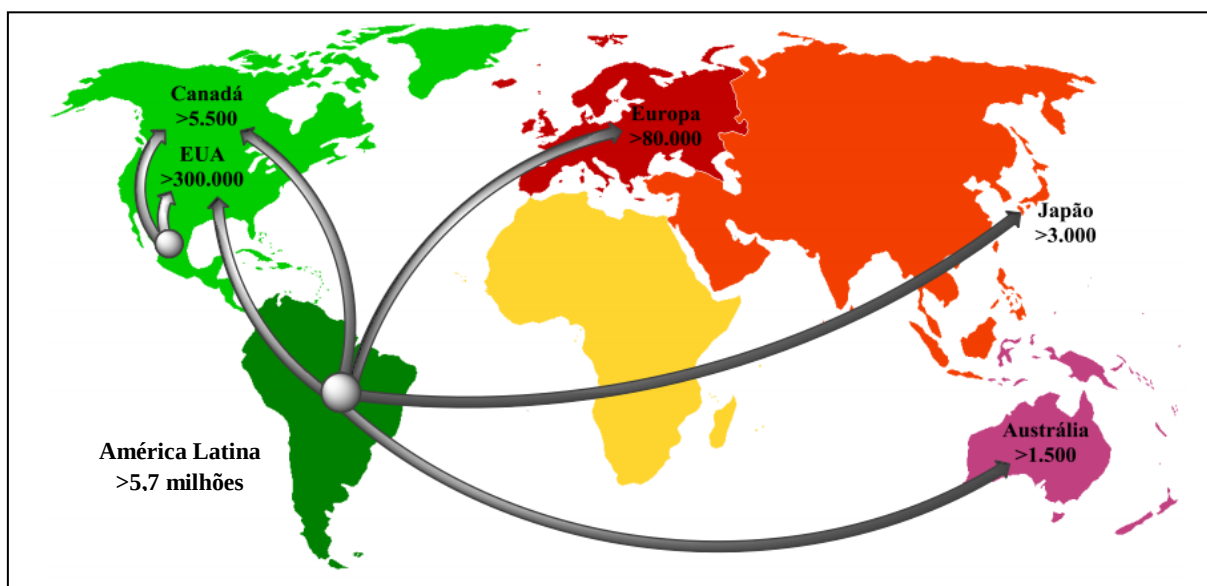


Figura 2. Mapa da distribuição de casos da doença de Chagas no mundo. Adaptado de França.⁸

A doença de Chagas é considerada um problema relevante de saúde pública e socioeconômica dos países da América Latina. Essa doença é responsável por incapacitar e causar a morte de uma fração significativa da população mais produtiva.⁹

As complicações cardíacas e digestivas, que aparecem na fase crônica determinada, levam à necessidade de tratamento em longo prazo e procedimentos cirúrgicos como a inserção de marca-passo, desfibrilador cardíaco implantável e transplante de coração, aumentando os custos relacionados à doença.¹⁰

A doença de Chagas é uma das 17 doenças negligenciadas, de acordo com a Organização Mundial de Saúde, despertando pouco interesse das indústrias farmacêuticas.¹¹

Atualmente, os únicos fármacos disponíveis para o tratamento da fase aguda da doença são o *nifurtimox* e o *benznidazol* (Figura 3).¹²

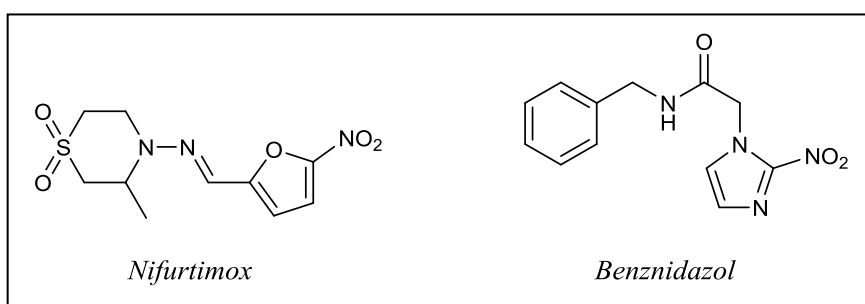


Figura 3. Medicamentos empregados no combate à doença de Chagas.

Esses fármacos apresentam significativos efeitos adversos como anorexia, náusea, vômitos, cefaléia, depressão do sistema nervoso central e dermatites.⁴ Outro problema relacionado ao tratamento da doença de Chagas com esses fármacos, é o custo elevado devido às grandes doses administradas por longo período.⁸

Diante dessas limitações, o desenvolvimento de novos fármacos ativos nas fases aguda e crônica, que apresentem baixo custo e bom perfil de segurança, são os principais desafios para o controle da doença de Chagas.

1.2-Doenças causadas por fungos

Os fungos são micro-organismos unicelulares ou pluricelulares, eucariontes, heterótrofos, pertencentes ao reino *Fungi*. Esses micro-organismos estão distribuídos na natureza em diversos substratos, podendo ser encontrados no solo, pântanos, troncos apodrecidos, frutas, poeira, água, plantas e animais.¹³ Estima-se que no reino dos fungos exista cerca de 1,5 milhão de espécies, porém apenas cerca de 100 mil estão descritas pelos taxonomistas, desempenhando importantes papéis em variados setores das atividades humanas.¹⁴

Desde a antiguidade o homem tem utilizado os fungos como fonte direta de alimentos, como no caso dos cogumelos e trufas, e na fermentação de vários alimentos, como o pão, o molho de soja, o vinho e a cerveja.¹⁴

Muitas espécies de fungos produzem metabólitos, que são fontes importantes para a produção de antibióticos, micotoxinas e substâncias psicotrópicas.^{15,16}

Algumas espécies de fungos desempenham um papel importante na decomposição da matéria orgânica morta, atuando como limpadores do solo. Outras espécies são parasitas de plantas e animais, causando doenças a esses seres vivos.¹⁷

Muitos fungos apresentam potencial patogênico para os seres humanos, causando infecções denominadas micoses. De acordo com os tecidos e órgãos afetados, as micoses são classificadas em superficiais, cutâneas, subcutâneas, sistêmicas ou profundas e oportunistas.¹⁸

As micoses superficiais (ceratofitoses) são causadas pelos fungos *Malassezia furfur*, *Trichosporon beigelli* e *Piedraia hortae*, que infectam a camada mais externa da pele e ao redor da haste dos pêlos, causando as doenças pitiríase versicolor, *pedras* branca e preta, respectivamente. A pitiríase versicolor é uma micose que se caracteriza pela presença de manchas de tonalidade variada na pele, com distribuição mais frequente no tronco, membros superiores e face. A *pedra* branca é uma micose que se caracteriza clinicamente pela

presença de nódulos macios, de coloração variando do branco ao castanho-claro, comprometendo os pêlos axilares e pubianos. Já a *piedra* preta, se manifesta pela presença de nódulos mais duros, de coloração variando do castanho-escuro ao preto, comprometendo os pêlos do couro cabeludo, bigode e barba. As micoses desse grupo são caracterizadas por não causar reações de hipersensibilidade cutânea, ou seja, são assintomáticas.¹⁹

As micoses cutâneas são causadas por dermatófitos e leveduras, que acometem toda camada córnea da pele, mucosa, unha, e a parte queratinizada intrafolicular dos pêlos. Os dermatófitos são fungos dos gêneros *Tricophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*, que necessitam da queratina para o crescimento, causando infecções na pele, pêlos e unhas, denominadas dermatofitoses ou “tinhas” (tineas). As principais doenças desse grupo são a tinea corporis, tinea pedis, tinea cruris, tinea barbae, tinea unguium, tinea imbricata e tinea fávica. As levedurosas são infecções produzidas na maioria das vezes por leveduras do gênero *Candida*, causando lesões na pele, unhas, espaços interdigitais, axilas e sulcos mamários.¹⁹

As micoses subcutâneas ocorrem através da inoculação de um fungo patogênico em decorrência de um ferimento, causando na pele lesões ulceradas e nódulos linfáticos. As principais doenças desse grupo são a esporotricose, cromomicose, micetomas, rinosporotriose e blastomicose queloidiana.¹⁹

As micoses sistêmicas ou profundas são infecções que afetam primeiramente os pulmões e, posteriormente, difundem-se para outros órgãos e tecidos através da corrente sanguínea. Os agentes etiológicos mais comuns deste tipo de infecção são fungos dimórficos pertencentes aos gêneros *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Paracoccidioides* e *Penicillium*. Estes fungos são também conhecidos como patogênicos endêmicos, uma vez que o seu habitat natural são regiões geográficas específicas, em que a infecção é adquirida pela inalação dos esporos naquele ambiente específico. As principais doenças deste grupo são a coccidioidomicose, blastomicose, histoplasmosse e paracoccidioidomicose.¹⁹

As micoses oportunistas são infecções causadas por fungo de baixa virulência que convivem com o hospedeiro sem causar doenças, porém, ao encontrar condições favoráveis, como distúrbios do sistema imunológico, desenvolvem seu potencial patogênico causando infecções em diversos órgãos. Esse tipo de micose se deve a fatores como a imunossupressão causada pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), em casos de transplantes de órgãos ou resultante da quimioterapia com antitumorais. Outros fatores possíveis incluem o uso indiscriminado de antimicrobiano de largo espectro, uso crônico de corticóides, cirurgias, uso de catéteres, hemodiálise e o envelhecimento populacional.^{18,19}

Atualmente, os agentes antifúngicos mais utilizados no tratamento das micoses pertencem à classe dos polienos, alilaminas, equinocandinas e azóis. Essas classes de antifúngicos atuam através de diferentes mecanismos de ação, tendo como alvo a membrana e parede celular dos fungos.²⁰

Os polienos se ligam ao ergosterol presente na membrana dos fungos, formando poros ou canais. Isso leva a um aumento da permeabilidade da membrana, permitindo o extravasamento de diversos íons e pequenas moléculas orgânicas, causando à morte celular.²¹ A anfotericina B (Figura 4) é um antifúngico poliênico importante no tratamento das micoses sistêmicas graves.²² No entanto, a utilização desse fármaco tem sido ponderada, por apresentar elevada toxicidade, devido a efeitos sobre membranas celulares contendo colesterol. O uso da anfotericina B está associado a efeitos adversos significativos como a nefrotoxicidade, danos ao fígado, trombocitopenia e reações agudas decorrentes da infusão intravenosa como febre, calafrio, arritmias cardíacas, dores musculares e visão turva. Alguns fungos podem apresentar resistência à anfotericina B, associada a alterações no esterol de membrana.²²

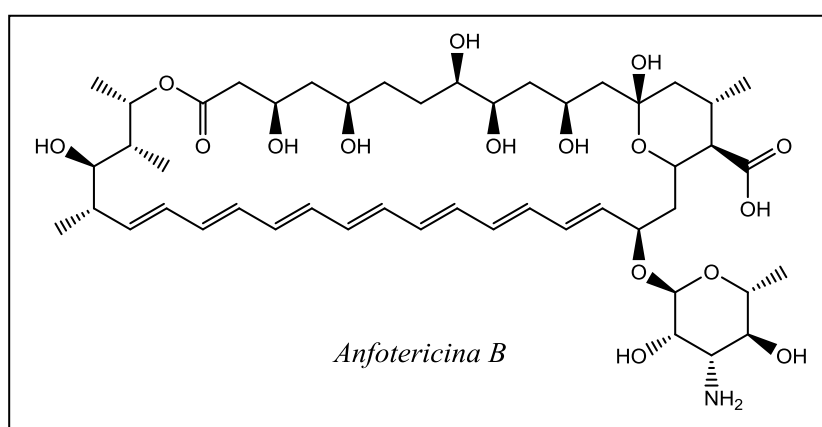


Figura 4. Estrutura química da anfotericina B.

As alilaminas têm como alvo terapêutico a membrana celular dos fungos através da inibição da enzima esqualeno epoxidase, que catalisa a conversão de esqualeno a 2,3-óxido de esqualeno.²³ A inibição desta enzima impede a formação do ergosterol, um esterol de membrana relacionado à permeabilidade celular, que é essencial para a sobrevivência do fungo. A terbinafina (Figura 5, página 7) é um fármaco da classe das alilaminas, utilizado no tratamento das dermatofitoses. Os efeitos adversos mais frequentes relacionados ao uso da terbinafina incluem dores de cabeça, dores de estômago, perda de apetite, erupções cutâneas e icterícia.²⁴

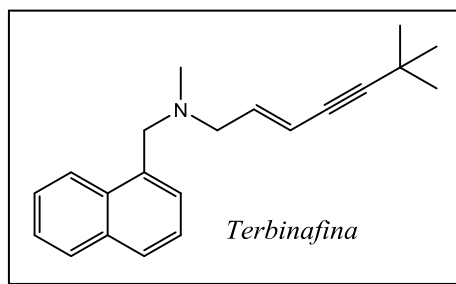


Figura 5. Estrutura química da terbinafina.

As equinocandinas agem pela inibição da β -(1,3)-glucano sintase, constituinte essencial da parede celular dos fungos.²⁵ O bloqueio desta enzima provoca uma instabilidade osmótica, levando à lise celular. A caspofungina (Figura 6) é um fármaco da classe das equinocandinas de amplo espectro de atividade e expressivo efeito antifúngico, principalmente se administrado em associação com inibidores da biossíntese do ergosterol. Este fármaco é indicado para o tratamento de aspergilose invasiva em pacientes imunossuprimidos.²⁶ Os efeitos adversos mais frequentes causados pela caspofungina são as reações relacionadas à infusão intravenosa, como febre, dor de cabeça e náusea.²⁵

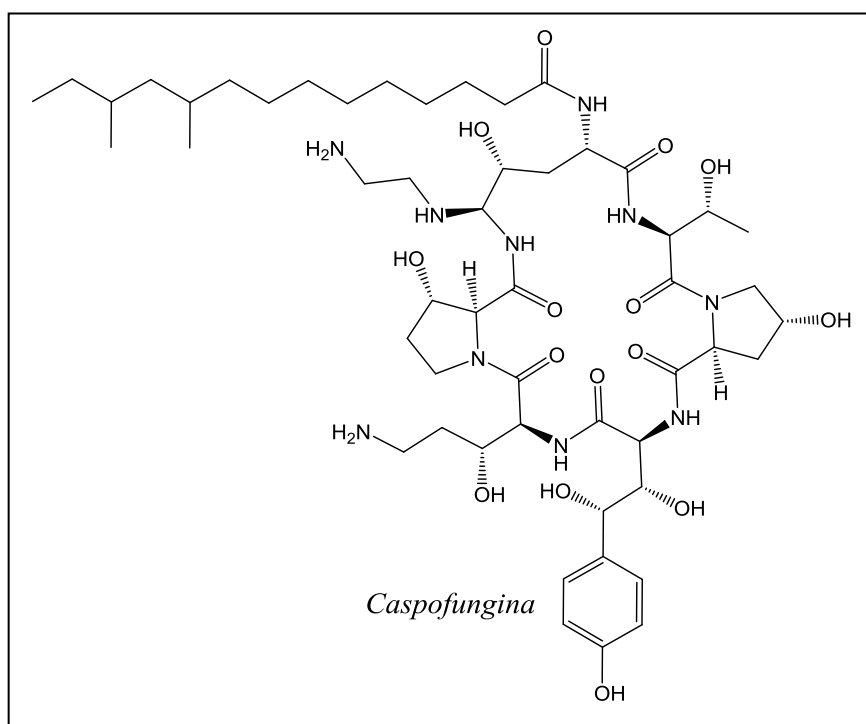


Figura 6. Estrutura química da caspofungina.

Dentre as principais classes de fármacos antifúngicos, os azóis ocupam uma posição de destaque. Isto se deve à ampla utilização na quimioterapia antifúngica e à elevada segurança

terapêutica devido à alta tolerância do organismo do hospedeiro à sua ingestão.²⁷ O mecanismo de ação dos azóis baseia-se na inibição da enzima esterol 14- α -desmetilase (CYP51) pertencente à família do citocromo P-450. A inibição da CYP51 impede a conversão do lanosterol em zimosterol, prejudicando a síntese do ergosterol na membrana celular. O lanosterol acumulado sofre ação da Δ -5,6-desaturase (codificada pelo gene Erg 3), gerando o esterol 14 α -metil-ergosta-8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol, que é um esteróide tóxico para a célula, pois não possui a mesma forma e propriedades físicas que o ergosterol e leva à formação da membrana com propriedades modificadas, causando alterações em sua fluidez, permeabilidade e integridade (Figura 7).^{28,29}

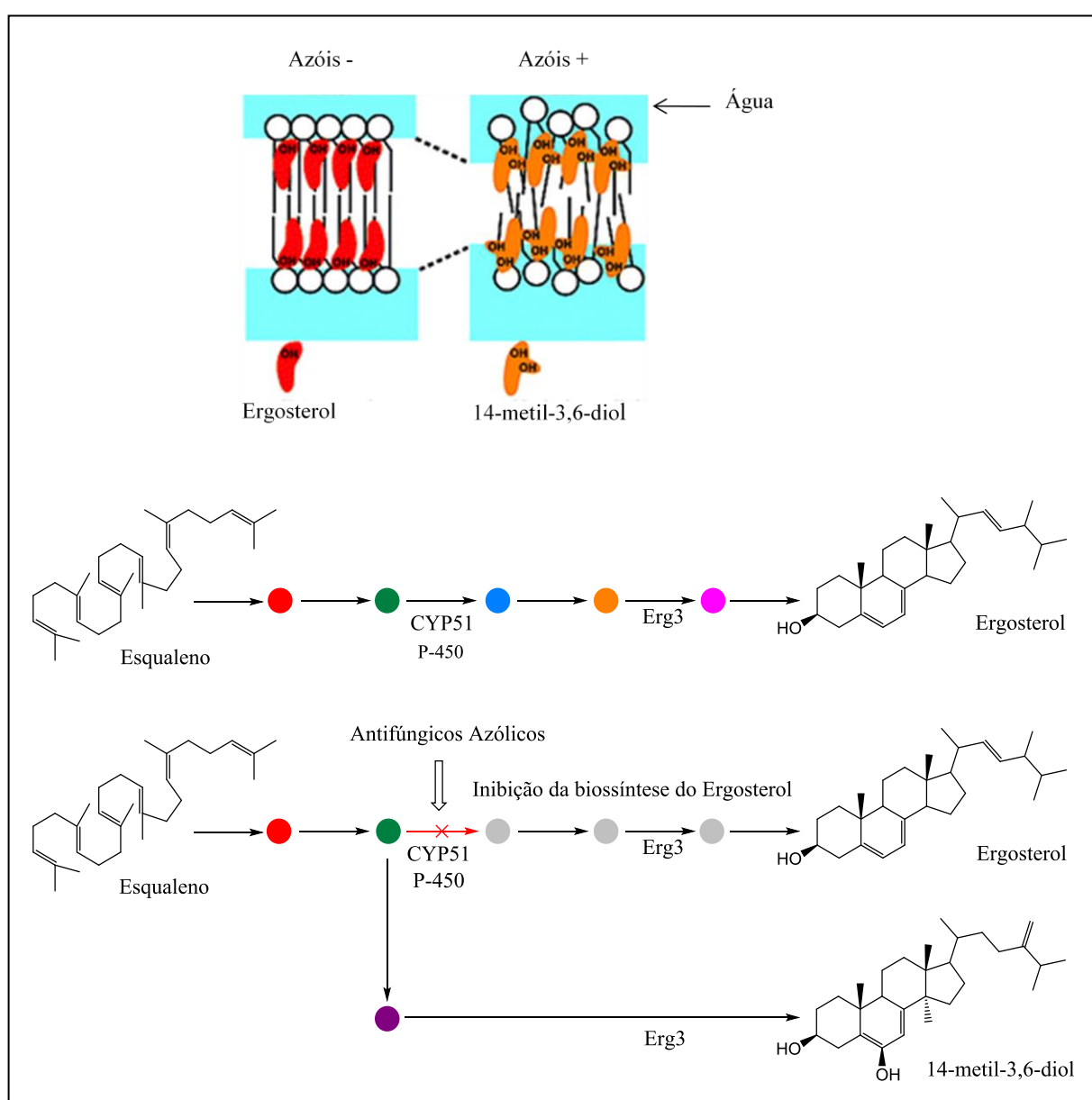


Figura 7. Representação esquemática da alteração da composição e da organização da membrana celular e o mecanismo de ação dos azóis sobre a síntese do ergosterol. Adaptado de Abe e Shapiro.^{28,29}

Os fármacos azólicos são classificados como imidazólicos ou triazólicos de primeira e segunda geração. Os de primeira geração são usados principalmente para tratar micoses superficiais, sendo os de segunda para tratar as micoses sistêmicas. Alguns exemplos dos principais fármacos azólicos, incluem o cetoconazol, miconazol, itraconazol, fluconazol e posaconazol (Figura 8).³⁰ Estes fármacos possuem amplo espectro antifúngico, baixa toxicidade e bom perfil farmacocinético. Além disso, a maioria dos agentes antifúngicos azólicos apresenta atividade fungistática ao invés de fungicida, sendo este fato uma grande limitação em seu uso prolongado, o que pode favorecer o surgimento de cepas resistentes.³¹

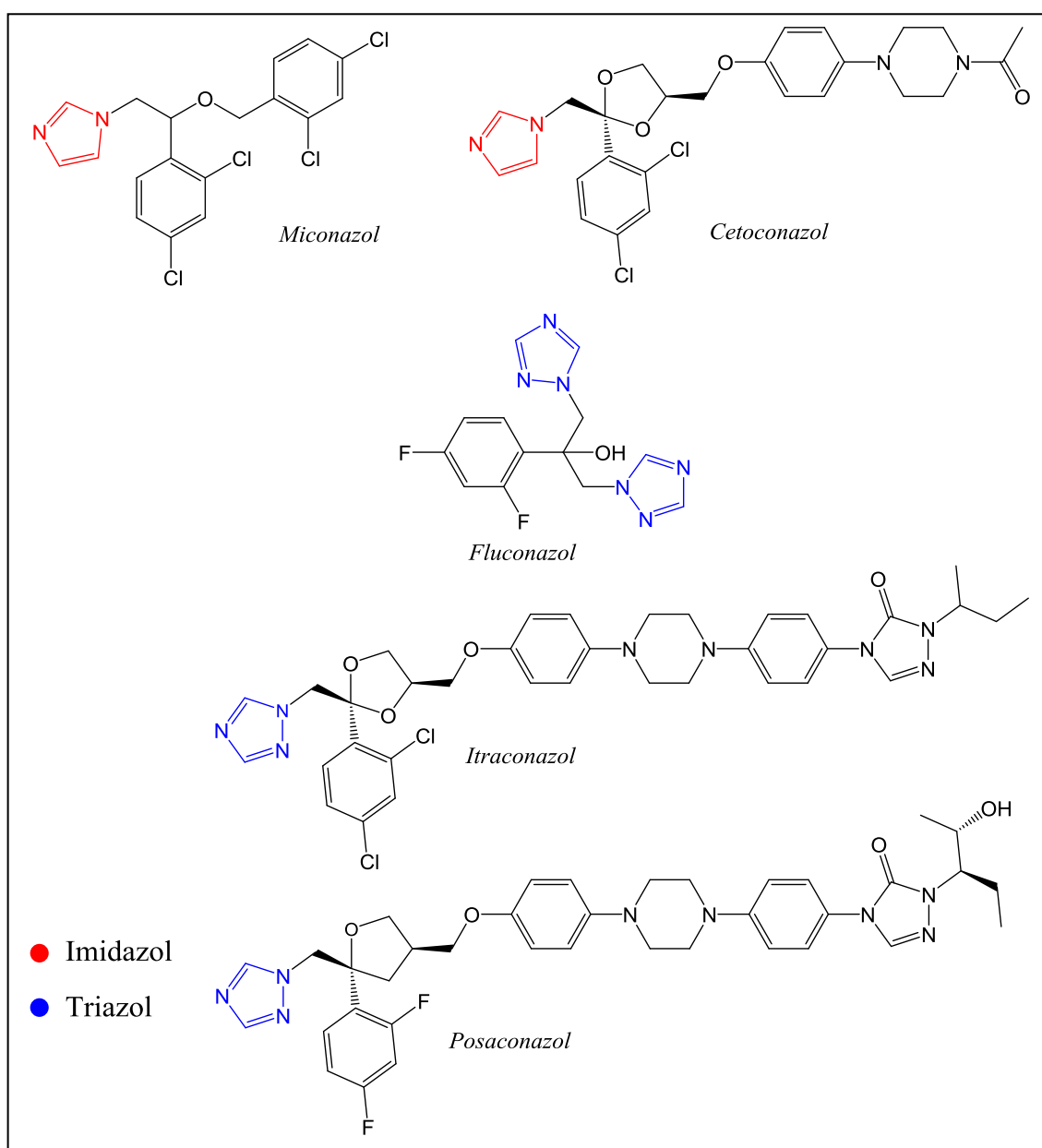


Figura 8. Estruturas moleculares de alguns dos principais fármacos azólicos.

Os mecanismos de resistência mais comuns em fungos envolvem mutações nos genes que codificam as proteínas alvo, aumento na expressão de bombas de efluxo e o aumento na expressão das enzimas alvo, modificando a razão estequiométrica entre o fármaco inibidor e seu alvo bioquímico, favorecendo o fungo.³¹

O surgimento de mecanismos de resistência levou a busca por novos derivados azólicos com melhores perfis farmacocinéticos.

1.3-A biossíntese do ergosterol

Os esteróis são biomoléculas derivadas do isopreno de fundamental importância na manutenção da homeostasia, mantendo a fluidez, permeabilidade e a integridade da membrana celular, sendo então moléculas indispensáveis à manutenção da vida. Também são precursores da biossíntese de diversos hormônios e da vitamina D.³² Uma característica básica desta classe de moléculas é a presença de um núcleo esteroide com quatro anéis fundidos, sendo três deles com seis átomos de carbono (A, B e C) e um com cinco átomos de carbono (D). Os átomos de carbono deste sistema de anel são numerados como mostrado na figura 9.³³

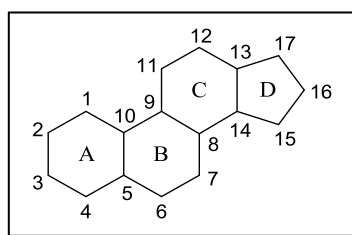


Figura 9. Estrutura do núcleo esteroidal.

Os produtos finais da biossíntese dos esteróis podem variar significativamente entre os reinos, tendo o 2,3-óxido de esqualeno como intermediário comum a todos os seres vivos eucariontes.³⁴ Nos mamíferos, o principal esteróide produzido é o colesterol, diferentemente do que ocorre nos fungos e protozoários, que possuem o ergosterol na membrana celular. Estudos mostram que a maioria dos fungos, assim como o protozoário *T. cruzi*, depende do ergosterol para seu desenvolvimento e reprodução. Logo, a biossíntese do ergosterol é um alvo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da doença de Chagas e de micoses.^{35,36} Nesse contexto, as etapas nas vias de biossíntese do ergosterol a partir da acetilcoenzima A até o ergosterol, assim como as enzimas envolvidas e seus respectivos inibidores, são apresentadas na figura 10, página 11.³⁷

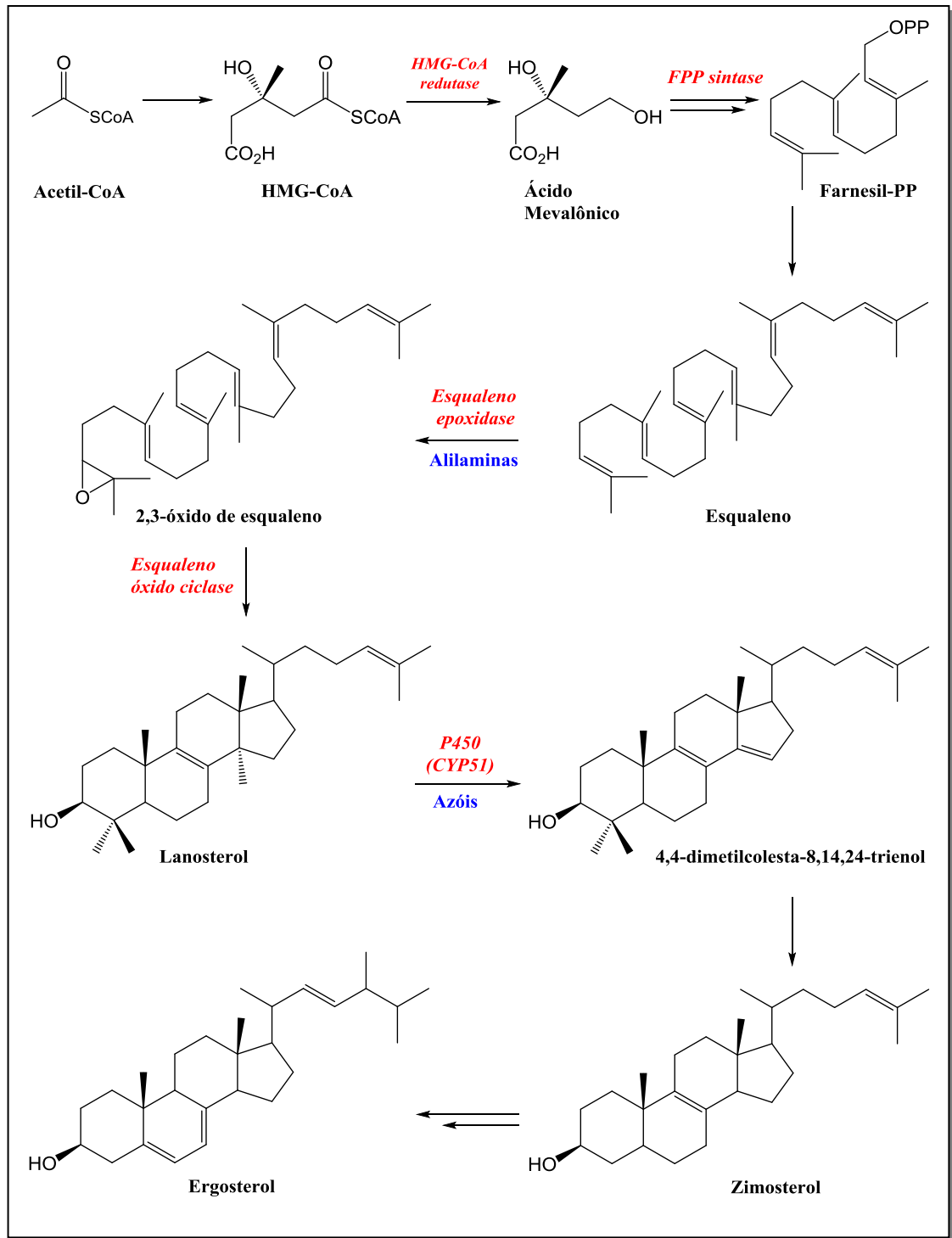
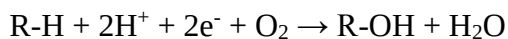


Figura 10. Rota da biossíntese do ergosterol. As enzimas estão em vermelho e em azul os seus inibidores.

O citocromo P450 é uma superfamília de enzimas que são responsáveis por oxidar grande número de substratos diferentes. A reação mais comum catalisada pelas enzimas do citocromo P450 envolve a inserção de um átomo de oxigênio em um substrato orgânico pela

clivagem da ligação C-H, gerando produtos hidroxilados, enquanto o outro átomo de oxigênio é reduzido, levando à formação de água.³⁸



Dentre os substratos das enzimas do citocromo P450, destacam-se os esteróis. As enzimas que realizam a desmetilação oxidativa do lanosterol, na biossíntese do ergosterol, foram agrupadas em uma família denominada (CYP51), que inclui as diferentes isoformas de esterol 14 α -desmetilase, presentes em fungos e protozoários.³⁹

A enzima esterol 14 α -desmetilase é uma metaloenzima que contém um grupo heme e um íon ferroso complexado por átomos de nitrogênios pirrólicos da porfirina. Esta estrutura é encontrada na enzima através da ligação entre o átomo de ferro e o átomo de enxofre de um resíduo de cisteína (Figura 11).⁴⁰

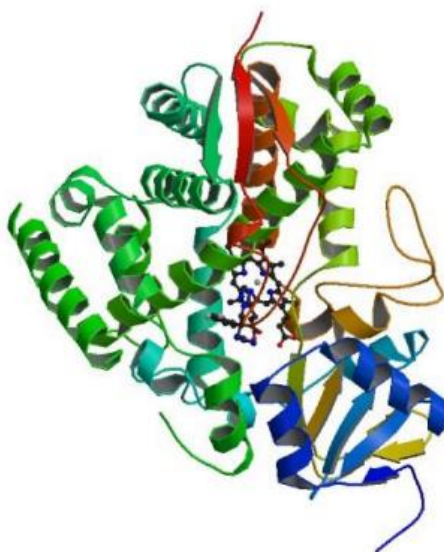


Figura 11. Enzima esterol 14 α -desmetilase (CYP51). O grupo heme é representado ao centro. Adaptado de França.⁸

O mecanismo de desmetilação na posição 14 do lanosterol envolve três ciclos catalíticos consecutivos, cada um consumindo dois elétrons mais dois prótons para reduzir o ferro do grupo heme catalítico e ativar o oxigênio molecular, resultando na introdução do átomo de oxigênio no substrato e na redução do outro átomo de oxigênio em água. Nesta reação, o grupo metila é convertido em álcool e depois no intermediário aldeído. Finalmente, o ferro do grupo heme promove uma oxidação radicalar, que resulta na saída de ácido fórmico e posterior formação da ligação dupla (Figura 12, página 13).^{39,41}

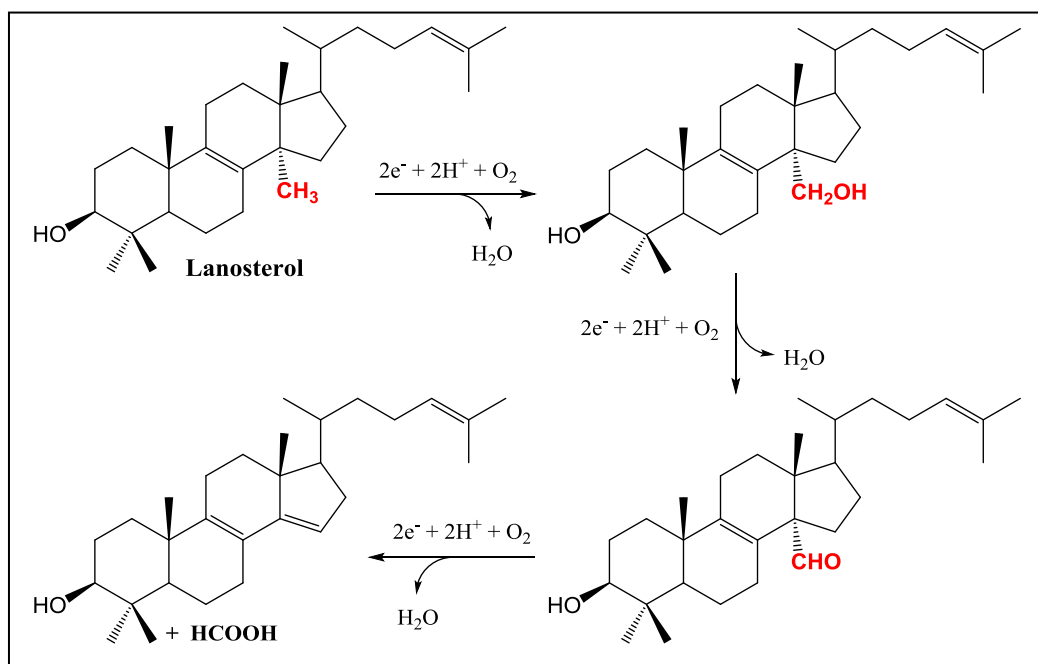


Figura 12. Reações catalíticas de desmetilação do ergosterol na posição 14. Adaptado de Shapiro.²⁸

Os azóis são inibidores da biossíntese do ergosterol agindo na enzima estero 14 α -desmetilase (CYP51). Estes inibidores interagem por coordenação de um dos átomos de nitrogênio do anel azólico com o átomo de ferro do grupo heme da enzima, compartilhando seu par de elétrons e bloqueando a ligação do oxigênio molecular, enquanto a parte não ligada da molécula do inibidor, forma interações hidrofóbicas com a enzima (Figura 13).^{42,43} Devido a essa interação, o sítio ativo da enzima não fica mais disponível para a ligação com o substrato.⁴²

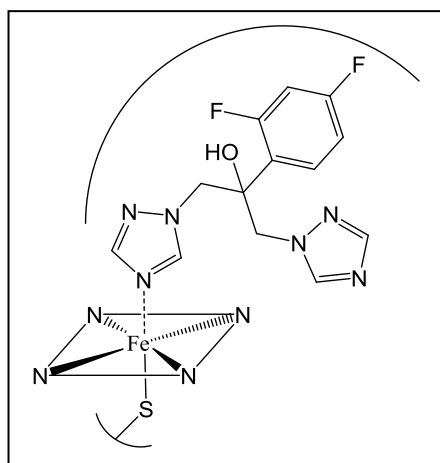


Figura 13. Proposta de interação entre o fluconazol e a enzima (CYP51). Adaptado de Yoshida.⁴³

1.4-Relação estrutura-atividade dos azóis

O estudo da relação estrutura-atividade de moléculas é uma ferramenta importante na otimização de um protótipo já existente ou na obtenção racional de compostos candidatos a fármacos. A modificação estrutural é um dos métodos mais utilizados na descoberta de novos fármacos ou na melhoria da atividade e seletividade. Neste contexto, o conhecimento do mecanismo de ação farmacológica permite definir os métodos de modificação estrutural ou da síntese de novos análogos, para obter compostos com melhor perfil farmacocinético.⁴⁴

Os inibidores da biossíntese do ergosterol da classe dos azóis apresentam uma similaridade estrutural. Estes compostos apresentam quatro sítios de interação com a enzima CYP51, assinalados como S1, S2, S3 e S4 (figura 14). Os grupos presentes nos sítios S1, S2 e S3 são designados farmacóforos.⁸

O miconazol é um derivado da classe dos imidazóis de primeira geração usado no tratamento de micoses superficiais. Esse composto foi um dos primeiros agentes antifúngicos a ser descrito com atividade contra o protozoário *T. cruzi*. Em relação à estrutura desse composto, pode-se identificar nos sítios S1, S2 e S3 os grupos farmacofóricos imidazol, éter e diclorofenila, respectivamente. Dessa forma, o átomo de nitrogênio do anel imidazólico presente no sítio S1, complexa o ferro do grupo prostético heme da enzima. O grupo éter presente no sítio S2, atua comoceptor de ligação de hidrogênio e as fenilas presentes nos sítios S3 e S4 interagem com a parte hidrofóbica da enzima (Figura 14).⁴⁵

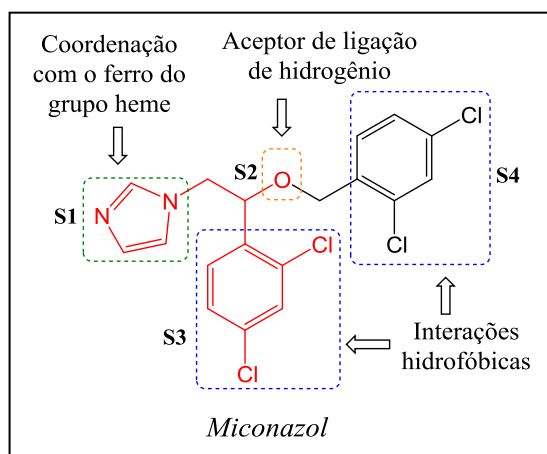


Figura 14. Sítios de interação do miconazol.

O cetoconazol é um derivado do imidazol com melhor biodisponibilidade, comparado com miconazol. Isto se deve ao aumento da parte hidrofóbica no sítio S4, pela substituição do grupo diclorofenila pelo grupo fenilpiperazinaetanona (Figura 15, página 15).^{8,46}

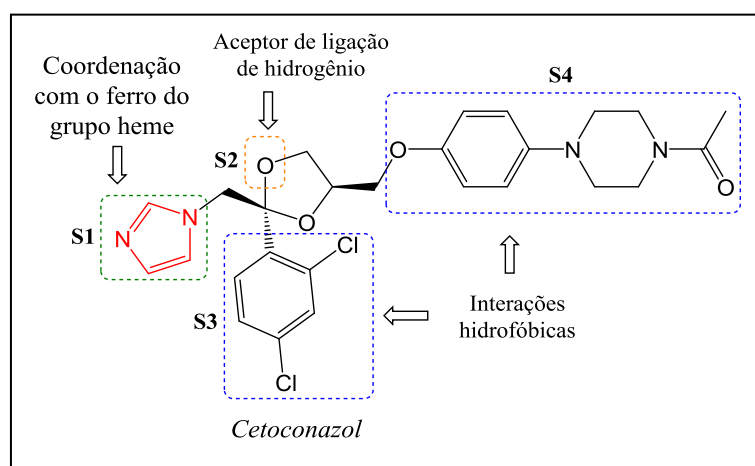


Figura 15. Sítios de interação do cetoconazol.

O fluconazol é um derivado triazólico planejado a partir dos imidazóis de primeira geração.³⁰ É o representante mais importante da primeira geração dos triazóis, devido a sua maior hidrossolubilidade, boa biodisponibilidade oral, maior tempo de meia vida, bom perfil de segurança e eficácia.^{30,47} Uma modificação importante no desenvolvimento do fluconazol foi a substituição do anel imidazol pelo anel triazólico no sítio S1, produzindo substâncias metabolicamente mais estáveis. Essa maior estabilidade se deve à resistência do anel triazólico à oxidação metabólica, aumentando sua eficácia e tempo de meia vida.^{30,47} O grupo lateral do sítio S4 foi substituído pelo anel triazólico, eliminando o centro estereogênico e tornando a síntese mais simples. O grupo diclorofenila foi substituído pelo anel 2,4-difluorofenila no sítio S3, aumentando a atividade, o tempo de meia vida e impedindo uma possível hidroxilação aromática, o que poderia aumentar a toxicidade do composto, caso ocorresse. O grupo éter foi substituído pelo grupo álcool no sítio S2, minimizando um possível impedimento estérico (Figura 16, página 16).^{30,47}

O itraconazol é um derivado triazólico utilizado como agente antifúngico para infecções superficiais e sistêmicas.⁴⁸ Seu desenvolvimento teve como protótipo o cetoconazol. O itraconazol possui melhor atividade, seletividade e biodisponibilidade em relação ao cetoconazol. Isto se deve à substituição do grupo imidazol pelo grupo triazol no sítio S1. O grupo etanona foi substituído pelo grupo *sec*-butilfeniltriazolona no sítio S4, melhorando as interações hidrofóbicas com a parte proteica da enzima, aumentando a lipofilia e ampliando o espectro de ação (Figura 17, página 16).⁴⁹

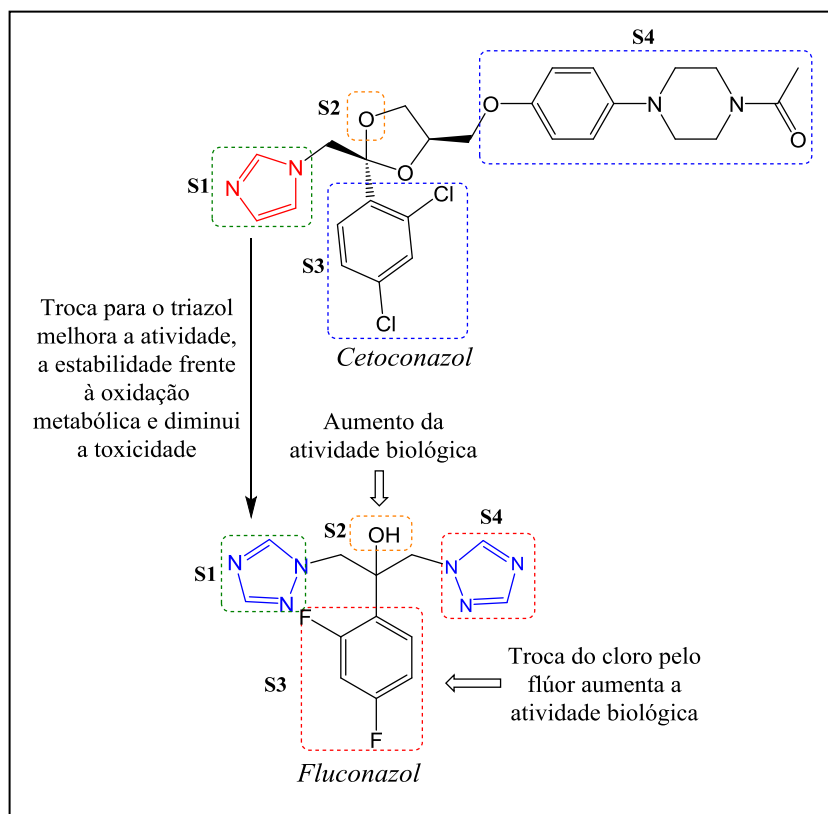


Figura 16. Relação estrutura-atividade do fluconazol.

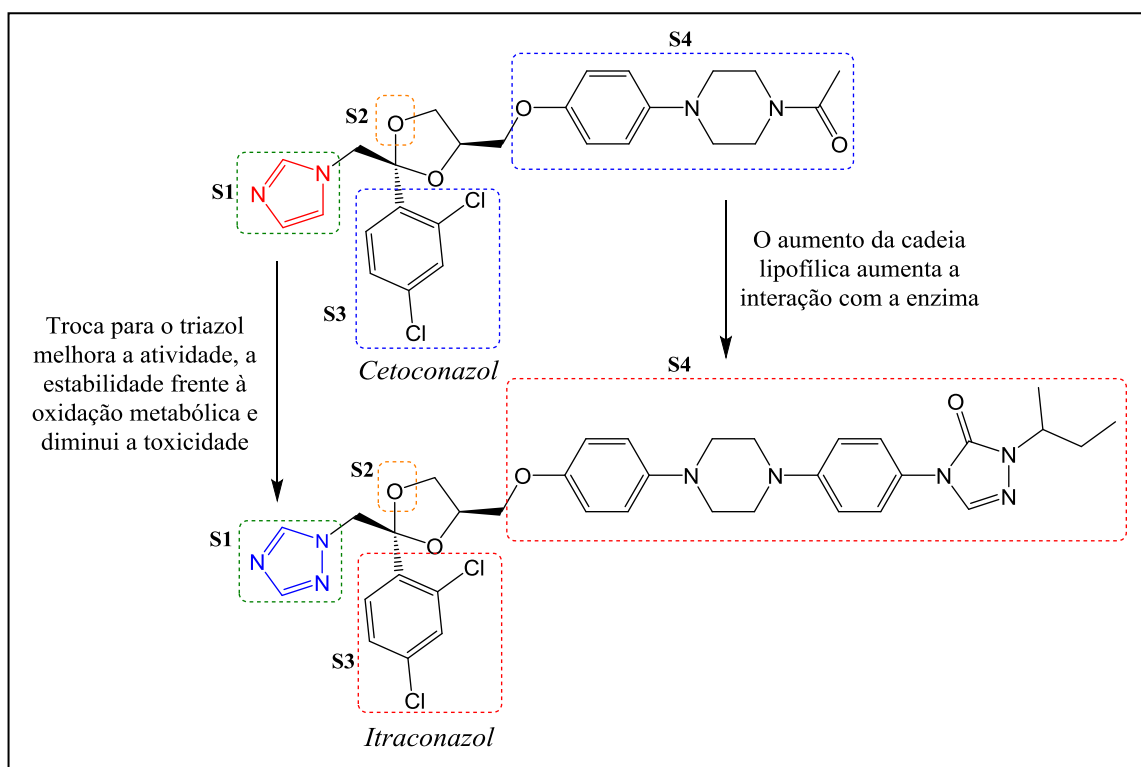


Figura 17. Relação estrutura-atividade do itraconazol.

O posaconazol é um derivado triazólico de segunda geração com amplo espectro de atividade e bom perfil de segurança, usado para o tratamento de micoses invasivas.^{50,51} Seu desenvolvimento teve como protótipo o itraconazol. As modificações estruturais produziram um composto com amplo espectro de ação e boa tolerância para o tratamento de curta e longa duração. Essas modificações consistiram na substituição do grupo diclorofenil pelo 2,4-difluorofenila no sítio S3, como no fluconazol, a substituição do anel dioxolano por furano no sítio S2 e a introdução de uma hidroxila na extremidade da cadeia hidrocarbônica no sítio S4, melhorando a absorção do composto e aumentando as interações hidrofóbicas com a enzima (Figura 18).^{42,51}

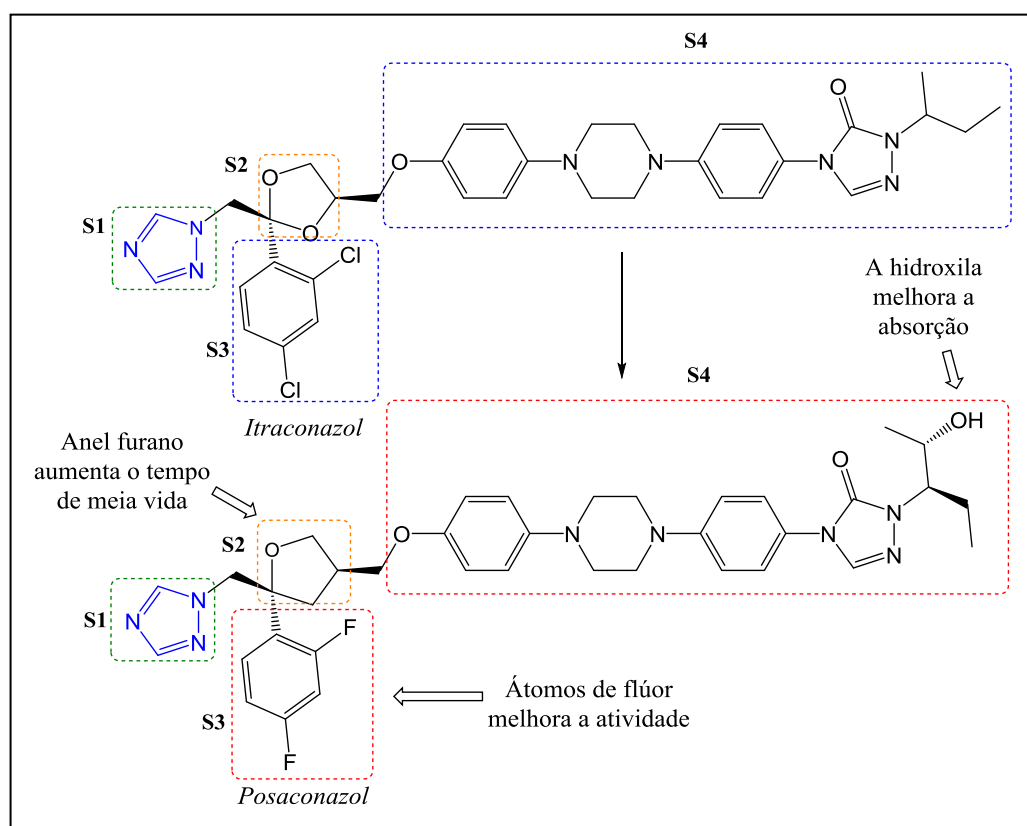


Figura 18. Relação estrutura-atividade do posaconazol.

1.4-Derivados triazólicos: candidatos promissores para o combate à doença de Chagas e micoses

A biossíntese do ergosterol é um alvo de grande importância no desenvolvimento racional de novos fármacos para o combate à doença de Chagas e de infecções fúngicas, visto que os inibidores da biossíntese dos esteróis foram os únicos que alcançaram triagens clínicas avançadas como fármacos na ação anti-*T. cruzi*.⁵²

Trabalhos descritos na literatura demonstram que o protozoário *T. cruzi* é suscetível aos derivados triazólicos, tanto em ensaios *in vitro* quanto *in vivo*.^{8,35} Adicionalmente, o gene Erg11 da enzima CYP51 do protozoário encontra-se ativado nas formas evolutivas presentes, tanto no inseto vetor, quanto nos mamíferos, destacando ainda mais a importância deste alvo metabólico.⁵³

Estudos realizados com o posaconazol (Figura 19, página 19), indicam que este composto é capaz de promover a cura substancial na fase crônica do modelo murino da doença de Chagas, sem apresentar efeitos tóxicos às células hospedeiras.⁵⁴ Por meio de estudos complementares, ficou comprovado que o posaconazol apresenta uma potente atividade em cepas do protozoário *T. cruzi*, resistentes ao benznidazol e nifurtimox. Este triazol apresenta ampla capacidade de distribuição em diferentes tecidos, além de um longo tempo de meia vida.⁵⁵

TAK-187 (Figura 19, página 19), um derivado triazólico com largo espectro de atividade antifúngica, também apresenta excelente atividade anti-*T. cruzi*, promovendo de 80-100% de cura parasitológica nas fases aguda e crônica em modelos murinos, se mostrando efetivo em cepas resistentes ao nifurtimox e benznidazol.⁵³ Este composto não apresentou efeitos tóxicos secundários em nenhum dos protocolos experimentais, qualificando o TAK-187 para estudos avançados para o tratamento da doença de Chagas.^{56,57}

Outro derivado triazólico com largo espectro de ação antifúngica é o albaconazol (Figura 19, página 19). Este composto apresenta boa biodisponibilidade por via oral e um tempo de meia vida longo. É extremamente ativo *in vitro* contra o protozoário *T. cruzi*, tanto nas formas epimastigotas quanto nas amastigotas, sendo capaz de suprimir a doença em cães infectados.⁵⁶

O ravuconazol (Figura 19, página 19) também tem demonstrado ser ativo contra o protozoário *T. cruzi* em ensaios *in vitro*, apresentando longo tempo de meia vida e uma concentração inibitória mínima contra as formas amastigotas na ordem de nano molar.³⁶

Che e colaboradores sintetizaram uma nova série de derivados triazólicos substituídos, com base no sítio da CYP51 de *Candida albicans* e *Aspergillus fumigatus*, por meio da modelagem molecular. Os compostos sintetizados apresentaram atividade *in vitro*, de moderada a boa, contra todas as espécies de fungos do gênero *Candida sp.* E *Cryptococcus neoformans*. O composto **i** (Figura 19, página 19) apresentou elevada atividade e um largo espectro antifúngico, sendo considerado um bom candidato para avaliações e otimizações posteriores.⁵⁸

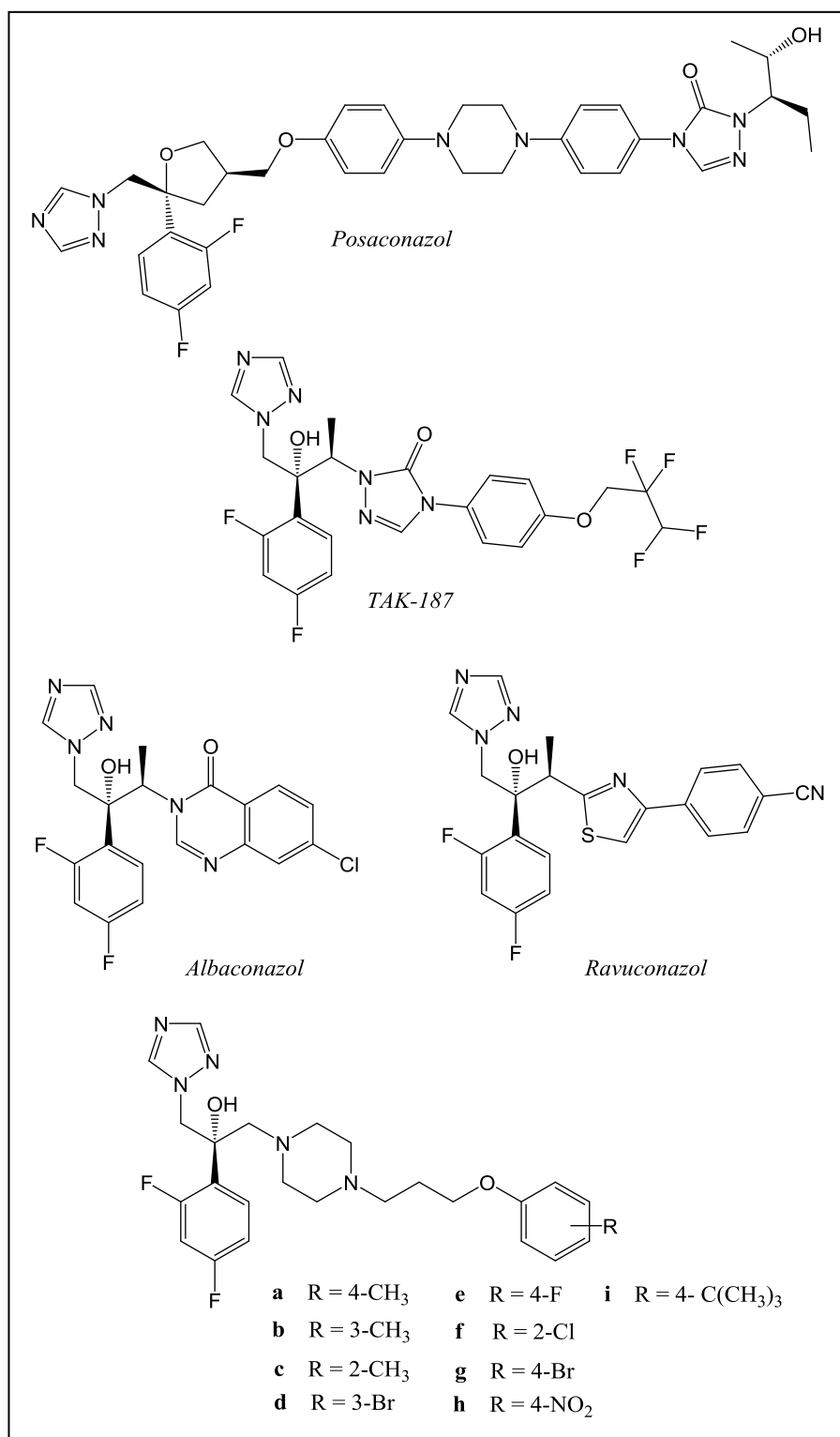


Figura 19. Estruturas de compostos azólicos testados no tratamento da doença de Chagas e os potenciais agentes antifúngicos **a-i**.

2-OBJETIVOS

2.1-Objetivos gerais

Visto a importância do ergosterol para o crescimento, desenvolvimento e proliferação em todas as etapas do ciclo de vida da maioria dos fungos e do protozoário *Trypanosoma cruzi*, esse trabalho se objetivou sintetizar uma série de derivados triazólicos, que são potenciais inibidores da biossíntese do ergosterol, e avaliar a atividade antifúngica e tripanocida dos mesmos.

2.2-Objetivos específicos

- Sintetizar e caracterizar os derivados triazólicos **6-15** (Figura20).
- Avaliar a atividade tripanocida dos derivados triazólicos **6-15** frente ao protozoário *Trypanosoma cruzi*.
- Avaliar a atividade antifúngica dos derivados triazólicos **6-15** frente às linhagens de *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum*.

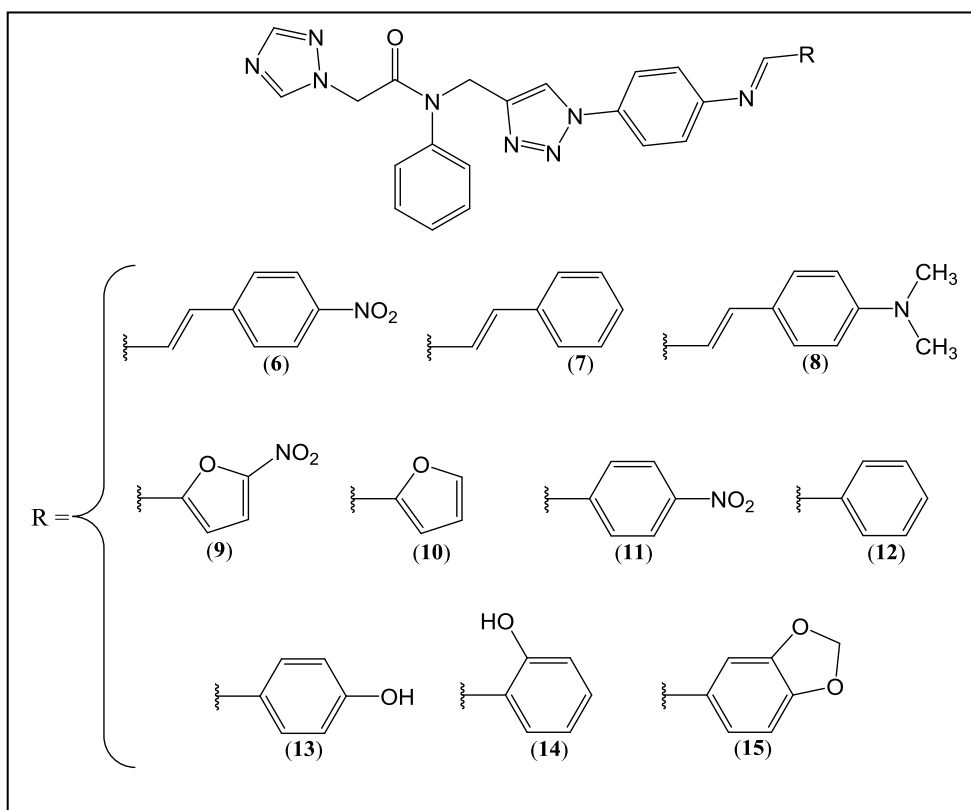
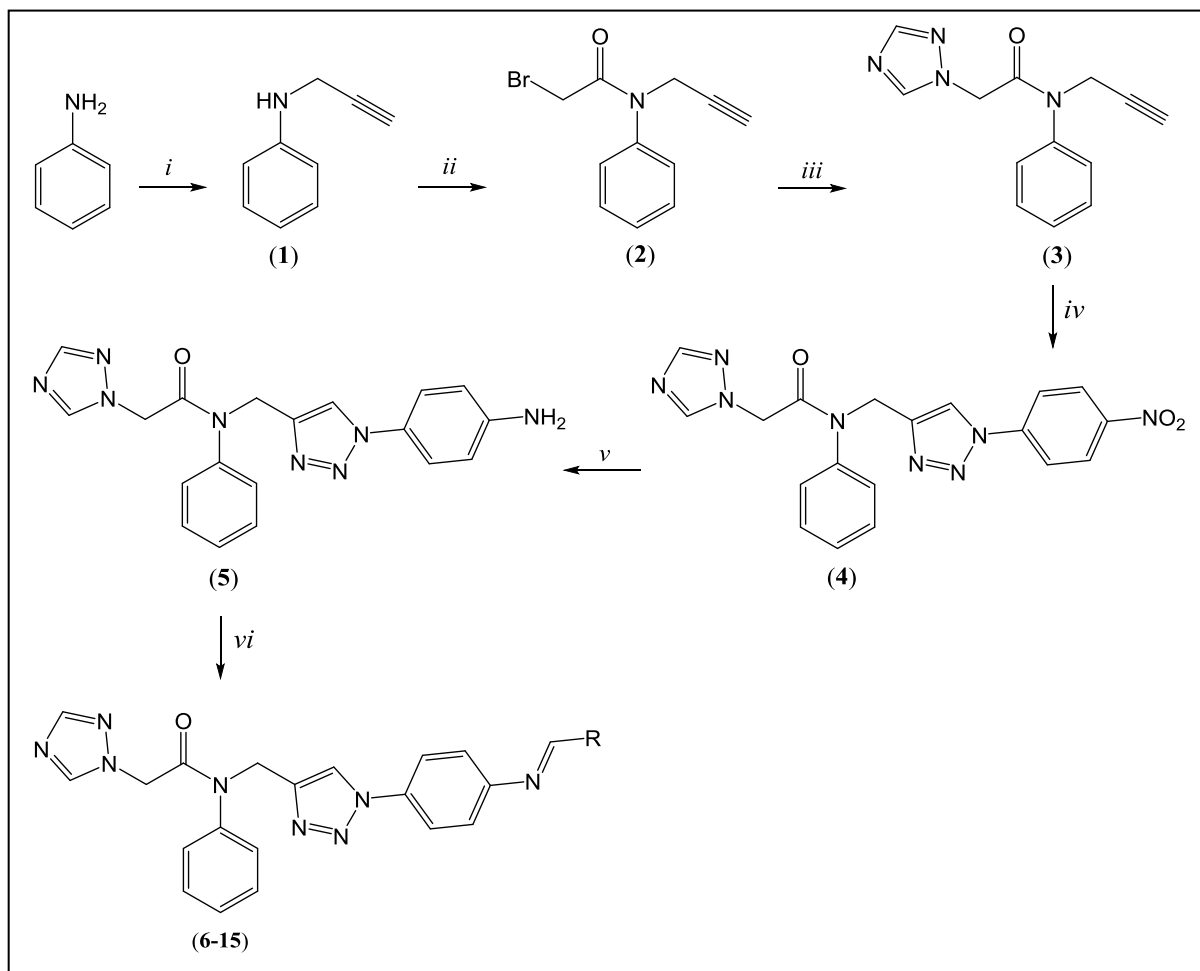


Figura 20: Estrutura dos novos derivados triazólicos a serem sintetizados.

2.3-Plano de síntese

Para a obtenção dos derivados triazólicos **6-15** foi planejada uma rota de síntese apresentada no esquema 1.



Esquema 1: Etapas envolvidas na síntese dos derivados triazólicos. *i*) brometo de propargila, K_2CO_3 , DMF, t.a.; *ii*) brometo de bromoacetila, Et_3N , CH_2Cl_2 , 0 °C; *iii*) 1H-1,2,4-triazol, K_2CO_3 , acetona, t.a.; *iv*) 4-nitrofenilazida, $CuSO_4$, ascorbato de sódio, CH_2Cl_2/H_2O , t.a; *v*) Pd/C, $N_2H_4.H_2O$, etanol, refluxo; *vi*) aldeídos, EtOH, refluxo.

Inicialmente a anilina será submetida ao tratamento com brometo de propargila, possibilitando a obtenção da amina secundária **1**. Esta por sua vez, será tratada com brometo de bromoacetila, levando à formação da amida **2**. O tratamento da amida **2** com 1H-1,2,4-triazol possibilitará a obtenção do alcino **3** que, na presença de 4-nitrofenilazida, sulfato de cobre e ascorbato de sódio, levará ao intermediário **4** via reação tipo “click”. O intermediário **4** será submetido a uma redução catalítica, na presença de hidrazina e paládio, levando a

obtenção da amina **5**. A amina **5** será tratada com uma série de aldeídos, dando origem aos compostos triazólicos **6-15**.

3-PARTE EXPERIMENTAL

3.1-Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados neste trabalho são de elevada pureza, fabricados para fins laboratoriais. Os solventes foram secos conforme a metodologia descrita no livro Purification of laboratory chemicals.⁵⁹

3.2-Equipamentos

- **Métodos cromatográficos**

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram realizadas utilizando placas POLYGRAM-UV254 0,20 mm MACHEREY – NAGEL reveladas com lâmpada de ultravioleta de comprimento de onda de 254 nm.

A purificação dos produtos foi realizada por cromatografia de adsorção em coluna utilizando-se sílica-gel comum grau técnico 60Å (40-63 µm) como fase estacionária.

- **Temperatura de fusão**

As temperaturas de fusão foram determinadas em aparelho GEHAKA-PF1500.

- **Espectroscopia no infravermelho**

Os espectros na região do infravermelho foram registrados em aparelho Spectrum RX I da Perkin Elmer. Os compostos foram pastilhados com KBr utilizando prensa hidráulica e os espectros adquiridos na faixa de 4000 a 400 cm⁻¹, com a resolução de 2,0 cm⁻¹.

- **Ressonância magnética nuclear**

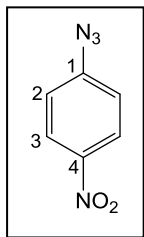
Os experimentos de ressonância magnética nuclear foram realizados em equipamento Bruker AVANCE-III 400 Nanobay, operando a 400 MHz para ¹H e 100 MHz para ¹³C. Os espectros unidimensionais de ¹H, de ¹³C e os espectros bidimensionais COSY, HMQC e HMBC foram adquiridos a 25 ± 0,1 °C, utilizando o TMS como referência interna.

- **Difração de raios X por monocristal (DRXM)**

Para a realização dos experimentos, utilizou-se o equipamento difratômetro Kappa Duo Bruker-AXS e um detector APEX II CCD.

3.3-Síntese e caracterização

Síntese de 1-azido-4-nitrobenzeno



(Procedimento adaptado de Hiroyoshi.⁶⁰)

Em um balão de 500 mL, foram adicionados 10 mL de ácido clorídrico concentrado, 30 mL de água destilada e 4-nitroanilina (1,38g, 10 mmol) a 0 °C. Em seguida, foram adicionados 10 mL de uma solução aquosa de nitrito de sódio (0,076 g/mL). A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética por 1h. Após esse período, a mistura foi filtrada e o filtrado foi transferido para outro balão de 500 mL. Em seguida, foram adicionados ao filtrado, 10 mL de uma solução aquosa de azida de sódio (0,078 g/mL) e mantidosob agitação magnética por mais uma 1h. Ao final da reação, o precipitado formado foi filtrado em funil de Buchner, lavado com 30 mL de água e seco sob pressão reduzida em bomba de alto vácuo, levando a obtenção da azida orgânica na forma de um sólido amarelo com rendimento quantitativo.

Fórmula molecular: C₆H₄N₄O₂.

Massa molecular: 164,03 g/mol.

Faixa de fusão: (70,2-70,7)°C.

Aspecto: sólido amarelo.

Rendimento: quantitativo

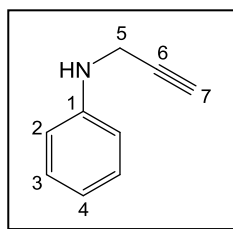
IV (cm⁻¹): 2402, 2258, 2126, 1606, 1592, 1346, 1290, 846, 748.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ(multiplicidade,integração, atribuição e J (Hz))

8,25(d, 2H, H3, ³J = 8,8);7,34(d, 2H, H2,³J= 8,8 Hz).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃)δ: 147,2 e 144,6 (C1, C4); 126,1 e 120,6 (C2, C3).

Síntese de *N*-(prop-2-yn-1-yl)anilina (**1**)



(Procedimento adaptado de Marshall.⁶¹)

Em um balão de 50 mL foram adicionados anilina (200mg, 2,15 mmol), carbonato de potássio (297mg, 2,15 mmol) e dimetilformamida seca (5 mL). Em um funil de adição foram adicionados brometo de propargila (255 mg, 2,15 mmol) e dimetilformamida seca (5 mL). O conteúdo do funil de adição foi lentamente transferido para o balão. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética por 6h a 0°C. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada usando uma mistura de hexano e acetato de etila (30:1) como eluente. Ao final da reação, o conteúdo do balão foi extraído com água destilada (3 x 20 mL) e acetato de etila (3 x 30 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e filtrada. O solvente foi destilado sob pressão reduzida, obtendo um resíduo oleoso. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando-se uma mistura de hexano e acetato de etila (30:1) como eluente. O composto **1** foi obtido na forma de um óleo amarelo, com rendimento de 75%.

Fórmula molecular: C₉H₉N.

Massa molecular: 131,07 g·mol⁻¹.

Aspecto: óleo amarelo.

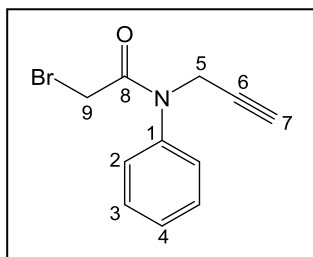
Rendimento: 75%.

IV (cm⁻¹): 3403, 3287, 3053, 3023, 1604, 1506, 1316, 1261, 753, 693.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ(multiplicidade, integração, atribuição e *J* (Hz)) 7,22-7,27(m, 2H, H₃); 6,82(t, 1H, H₄, ³*J* = 8,0Hz); 6,71(d, 2H, H₂, ³*J* = 8,0 Hz); 3,94(d, 2H, H₅, ⁴*J*_{H₅-H₇} = 2,4 Hz); 3,89(s, 1H, NH); 2,23(t, 1H, H₇, ⁴*J*_{H₇-H₅} = 2,4 Hz).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ: 146,6 (C₁); 129,2 (C₃); 118,7 (C₄); 113,6 (C₂); 80,9 (C₆); 71,3 (C₇); 33,7 (C₅).

Síntese de 2-bromo-*N*-fenil-*N*-(prop-2-ino-1-il)acetamida (2)



(Procedimento adaptado de Arabshahi.⁶²)

Em um balão de 50 mL foram adicionados o composto **1** (500 mg, 3,85 mmol), trietilamina (0,81 mL, 5,78 mmol, 1,5 equivalente) e diclorometano (20 mL) a 0 °C. Em um funil de adição foram adicionados brometo de bromoacetila (0,5 mL, 5,78 mmol, 1,5 equivalente) e diclorometano (5 mL). Em seguida, o conteúdo do funil foi lentamente adicionado ao balão. A mistura reagente foi mantida sob agitação magnética por 2h. O progresso da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada, utilizando-se uma mistura de hexano e acetato de etila (3:1) como eluente. Ao final da reação, o conteúdo do balão foi lavado com uma solução de ácido clorídrico 0,5 molar (3 x 15 mL) e uma solução de bicarbonato de sódio 0,5 molar (3 x 15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e filtrada. O solvente foi destilado sob pressão reduzida, obtendo um resíduo oleoso. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando-se como eluente, um gradiente de hexano e acetato de etila nas proporções de 30:1, 5:1, e 2:1. O composto **2** foi obtido na forma de um óleo amarelo, com rendimento de 95%.

Fórmula molecular: C₁₁H₁₀BrNO.

Massa molecular: 250,99 g·mol⁻¹.

Aspecto: óleo amarelo.

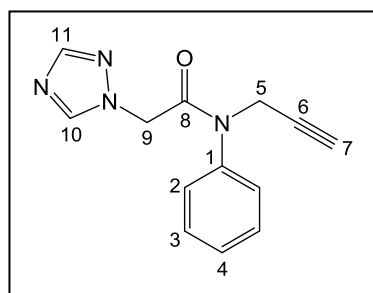
Rendimento: 95%.

IV (cm⁻¹): 3292, 3062, 2964, 2120, 1668, 1494, 1428, 1392, 1206, 700.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ(multiplicidade, integração, atribuição e *J* (Hz)) 7,35-7,45 (m, 3H, H3 e H4); 7,31-7,28 (m, 2H, H2), 4,41 (d, 2H, H5, ⁴*J*_{H5-H7} = 2,4 Hz), 3,58 (s, 2H, H9); 2,16 (t, 1H, H7, ⁴*J*_{H7-H5} = 2,4 Hz).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ_C): 165,9 (C8); 140,5 (C1); 129,8 (C3); 129,0 (C4); 128,0 (C2); 78,1 (C6); 72,7 (C7); 39,1 (C5); 26,6 (C9).

Síntese de *N*-fenil-*N*-(prop-2-in-1-il)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (**3**)



(Procedimento adaptado de Huang.⁶³)

Em um balão de 50 mL foram adicionados o composto **2** (100 mg, 0,4 mmol), 1-*H*-1,2,4- triazol (41 mg, 0,6 mmol, 1,5 equivalente), carbonato de potássio (50 mg, 0,36 mmol) e 20 mL de acetona seca. A mistura reagente foi agitada a temperatura ambiente por 3h. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada, utilizando-se uma mistura de hexano e acetato de etila (3:1) como eluente. Ao final da reação, todo solvente foi eliminado sob pressão reduzida e 20 mL de água destilada foram adicionados ao resíduo sólido. Em seguida, a mistura foi extraída com acetato de etila (3 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com água (3 x 20 mL) e seca com sulfato de magnésio. O solvente foi destilado sob pressão reduzida, levando a obtenção do composto **3** na forma de um sólido branco, com rendimento quantitativo.

Fórmula molecular: C₁₃H₁₂N₄O.

Massa molecular: 240,10 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (132,2-133,1)°C.

Aspecto: sólido branco.

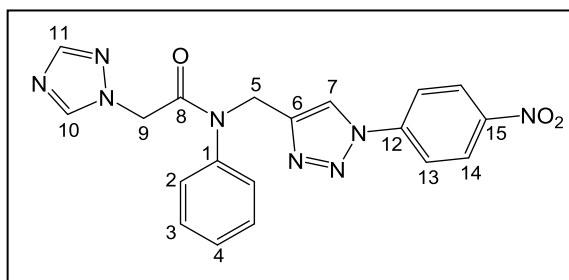
Rendimento: quantitativo.

IV (cm⁻¹): 3444, 3266, 3122, 2954, 2120, 1682, 1672, 1492, 1286, 1278, 1018, 808, 680.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ(multiplicidade, integração, atribuição e *J* (Hz)) 8,15 (s, 1H, H10); 7,83 (s, 1H, H11); 7,50-7,35 (m, 3H, H3 e H4); 7,32-7,29 (m, 2H, H2); 4,66 (s, 2H, H9); 4,43 (d, 2H, H5, ⁴*J*_{H5-H7} = 2,4 Hz); 2,18 (t, 1H, H7, ⁴*J*_{H7-H5} = 2,4 Hz).

RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ_C): 164,6 (C8); 151,2 (C11); 144,6 (C10); 139,3 (C1); 130,2 (C3); 129,4 (C4); 128,1 (C2); 77,8 (C6); 72,9 (C7); 50,8 (C9); 38,9 (C5).

Síntese de *N*-((1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-fenil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4**)**



(Procedimento adaptado de Borgati.⁶⁴)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, coberto com papel alumínio, foram adicionados sulfato de cobre pentaidratado (3,73 mg, 0,015 mmol), ascorbato de sódio (6,6mg, 0,033mmol) e 1 mL de água sob agitação magnética. Após ocorrer a mudança na cor da solução de azul para amarelo, foram adicionados 3 mL de diclorometano, o composto **3** (100 mg, 0,416 mmol) e a 4-nitrofenilazida (75 mg, 0,46 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação vigorosa em temperatura ambiente por 2h. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada, utilizando uma mistura de acetato de etila e hexano (1:1) como eluente. Após o consumo do material de partida, foram adicionados 30 mL de diclorometano no balão reagente. Em seguida, foi feita uma extração com 50 mL de uma mistura composta de 0,5g de EDTA, 100 mL de hidróxido de amônio concentrado e 100 mL de água destilada. Este procedimento foi repetido por quatro vezes. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e o solvente foi destilado sob pressão reduzida. O resíduo sólido foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, usando uma mistura de hexano e acetato de etila (1:1), como eluente. O composto **4** foi obtido na forma de um sólido amarelo, com rendimento de 85%.

Fórmula molecular: C₁₉H₁₆N₈O₃.

Massa molecular: 404,13 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (161,2 – 162,3)°C.

Aspecto: sólido amarelo claro.

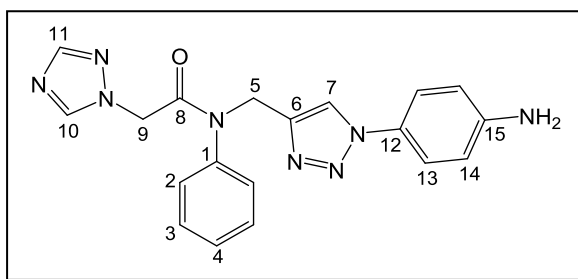
Rendimento: 85%

IV (cm⁻¹): 3436, 3124, 3082, 3066, 2938, 2856, 1680, 1598, 1526, 1344, 1282, 1042, 860.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz)) 8,92 (s, 1H, H7); 8,44 (d, 2H, H14, $^3J_{\text{H14-H13}} = 8,8$ Hz); 8,40 (s, 1H, H10); 7,93 (s, 1H, H11); 8,21 (d, 2H, H13, $^3J_{\text{H13-H14}} = 8,8$ Hz); 8,50-8,43 (m, 5H, H2, H3 e H4); 5,03 (s, 2H, H5); 4,88 (s, 2H, H9).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ_c): 165,9 (C8); 151,5 (C11); 147,1 (C15); 145,9 (C10); 145,0 (C6); 141,2 (C12); 140,7 (C1); 130,3 (C3); 129,1 (C4); 128,8 (C2); 126,0 (C14); 128,8 (C7); 120,9 (C13); 51,0 (C9) 45,0 (C5).

Síntese de *N*-((1-(4-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-fenil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (5)



(Procedimento adaptado de Da Silva, C. M.⁶⁵)

Em um balão de 50 mL adicionaram-se 20 mL de etanol, o composto **4** (100 mg, 0,247 mmol), 0,5 mL de hidrato de hidrazina (solução de 80% em água) e quantidade catalítica de paládio/carbono (10%). A mistura reagente foi mantida sob agitação, a 80 °C, por 2h. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada, utilizando uma mistura de acetato de etila e hexano (1:2) como eluente. Ao final da reação, o catalisador foi removido por filtração e o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida. Ao resíduo, foram adicionados 20 mL de água destilada e 20 mL de diclorometano. A fase orgânica foi separada, secada com sulfato de magnésio e filtrada. O solvente foi destilado sob pressão reduzida, levando a obtenção do composto **5** na forma de um sólido branco, com rendimento quantitativo.

Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}$.

Massa molecular: 374,16 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (86,4 - 87,5)°C.

Aspecto: sólido branco.

Rendimento: quantitativo.

IV (cm⁻¹): 3448, 3352, 3224, 3122, 2930, 2852, 1672, 1522, 1276, 1138, 1046, 1016, 832, 702.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ (multiplicidade, integração, atribuição e *J* (Hz)) 8,30 (d, 2H, H13, ³*J*_{H13-H14} = 9,2 Hz); 8,22 (s, 1H, H7); 8,17 (s, 1H, H10); 7,90 (d, 2H, H14, ³*J*_{H14-H13} = 9,2); 7,84 (s, 1H, H11); 7,35-7,44 (m, 3H, H3 e H4); 7,25-7,30 (m, 2H, H2); 5,37 (s, 2H, NH₂); 4,94 (s, 2H, H5); 4,72 (s, 2H, H9).

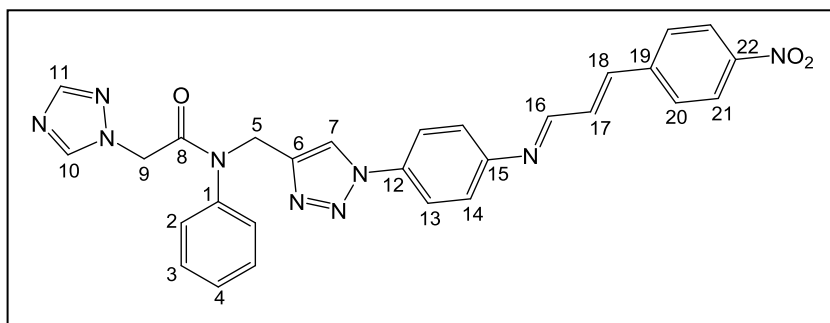
RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, δ_c): 165,4 (C8); 151,2 (C11); 147,2 (C15); 144,7 (C10 e C6); 141,0 (C12); 140,4 (C1); 130,5 (C3); 129,4 (C4); 128,0 (C2); 125,4 (C14); 121,9 (C7); 120,4 (C13); 51,1 (C9); 45,7 (C5).

Procedimento geral para síntese dos derivados triazólicos 6-15.

(Procedimento adaptado de Da Silva, C. M.⁶⁶)

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, adicionaram-se 20 mL de etanol, o composto 5 (200 mg, 0,53mmol) e o aldeído correspondente (0,53 mmol). O balão foi então colocado em um reator de micro-ondas da marca CEM, modelo Discover System, por 5 min à temperatura de 60 °C, potência de 200W e tempo de rampa de 2 min. O solvente foi destilado sob pressão reduzida e uma mistura de hexano-acetato de etila (1: 3) foi adicionada ao resíduo. A mistura foi mantida em freezer por 24h, levando a formação de um precipitado. O sólido foi separado por filtração e seco sob vácuo, fornecendo os compostos **6-15**.

***N*-((1-(4-(((1*E*,2*E*)-3-(4-nitrofenil)alilideno)amino)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-fenil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (6)**



Fórmula molecular: C₂₈H₂₃N₉O₃.

Massa molecular: 533,19 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (223,5 - 224,4)°C.

Rendimento: 87%.

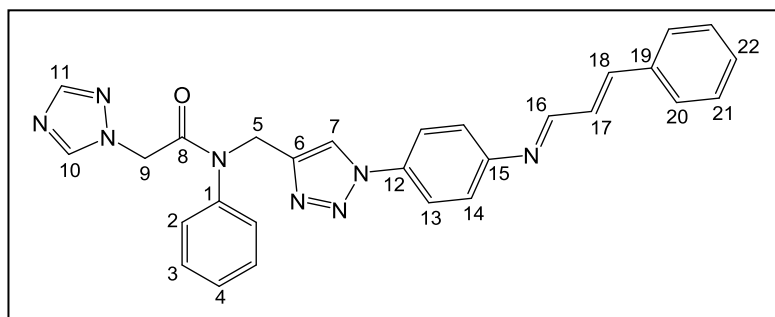
Aspecto: sólido amarelo escuro.

IV (cm⁻¹): 3108, 2924, 2851, 1675, 1593, 1509, 1341, 1273, 1046, 1015, 832 e 704.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ (multiplicidade, integração, atribuição e *J* (Hz)) 8,68 (s, 1H, H7); 8,53 (d, 1H, H16, ³*J*_{H16-H17} = 8,8 Hz); 5,40 (s, 1H, H10); 8,26 (d, 2H, H21, ³*J*_{H21-H20} = 8,4 Hz); 7,96 (d, 2H, H20, ³*J*_{H20-H21} = 8,4 Hz); 7,94 (s, 1H, H11); 9,92 (d, 2H, H13, ³*J*_{H13-H14} = 8,8 Hz); 7,50-7,46 (m, 3H, H2, H3 e H4); 7,43 (d, 2H, H14, ³*J*_{H14-H13} = 8,8 Hz); 7,38 (dd, 1H, H17, ³*J*_{H17-H16} = 16,0 Hz e ³*J*_{H17-H18} = 8,8 Hz); 5,01 (s, 2H, H5); 4,88 (s, 2H, H9).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ_c): 165,3 (C8); 162,4 (C16); 151,0 (C15); 150,9 (C11); 147,4 (C22); 145,4 (C10); 143,8 (C6); 142,1 (C18); 141,7 (C19); 140,2 (C1); 134,5 (C12); 132,1 (C17); 129,8 (C3); 128,6 (C20); 128,5 (C4); 128,3 (C2); 124,0 (C21); 122,3 (C14); 121,7 (C7); 120,8 (C13); 50,5 (C9); 44,6 (C5).

***N*-fenil-*N*-((1-(4-(((1*E*,2*E*)-3-fenilalilideno)amino)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (7)**



Fórmula molecular: C₂₈H₂₄N₈O.

Massa molecular: 488,21 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (203,4 - 203,6)°C.

Rendimento: 83%.

Aspecto: sólido amarelo claro.

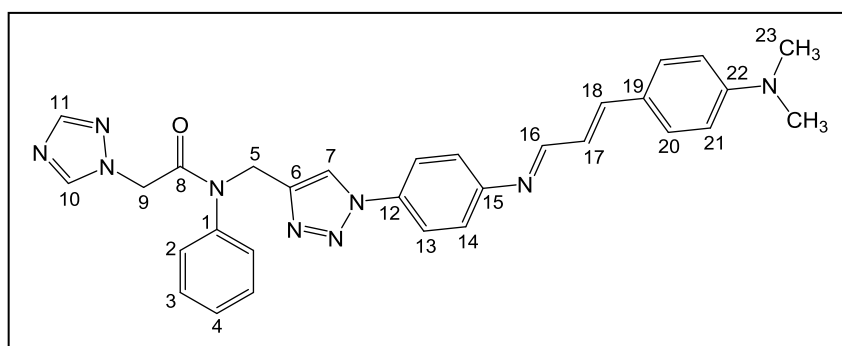
IV (cm⁻¹): 3438, 3126, 2926, 2854, 1682, 1624, 1584, 1508, 1400, 1274, 1262, 1016, 988.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ (multiplicidade, integração, atribuição e *J* (Hz)) 8,67 (s, 1H, H7); 8,48 (d, 1H, H6, ³*J*_{H16-H17} = 8,8 Hz); 8,41 (s, 1H, H10); 7,95 (s, 1H, H11); 7,90 (d, 1H, H13, ³*J*_{H13-H14} = 8,8 Hz); 7,70 (d, 1H, H20, ³*J*_{H20-H21} = 6,8 Hz); 7,40-7,49 (m, 11H, H2,

H3, H4, H14, H18, H21 e H22); 7,19 (dd, 1H, H17, $^3J_{H17-H16} = 8,8$ Hz, $^3J_{H17-H18} = 16,0$ Hz); 5,02 (s, 2H, H5); 4,88 (s, 2H, H9).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ_c): 165,3 (C8); 163,0 (C16); 151,4 (C15); 151,0 (C11); 145,4 (C10); 145,0 (C18); 143,8 (C6); 140,2 (C1); 135,3 (C19); 134,2 (C12); 129,8 (C3); 129,7 (C22); 128,9 (C20); 128,3 (C17); 128,0 (C2); 127,6 (C21); 122,1 (C14); 121,7 (C7); 120,8 (C13); 44,6 (C9); 40,1 (C5).

N-((1-(4-(((1E,2E)-3-(4-(dimetilamino)fenil)alilideno)amino)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-N-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (8)



Fórmula molecular: $\text{C}_{30}\text{H}_{29}\text{N}_9\text{O}$.

Massa molecular: 531,25 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Faixa de fusão: (218,2 - 218,8) $^{\circ}\text{C}$.

Rendimento: 87%.

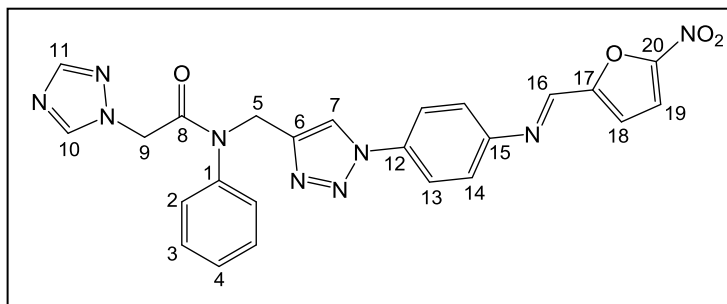
Aspecto: sólido alaranjado.

IV (cm^{-1}): 3434, 3133, 2919, 2860, 1675, 1602, 1584, 1508, 1396, 1360, 1267, 1246, 1158, 990, 811.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz)) 8,63 (s, 1H, H7); 8,39 (s, 1H, H10); 8,37 (d, 1H, H16, $^3J_{H16-H17} = 8,5$ Hz); 7,93 (s, 1H, H11), 8,86 (d, 1H, H13, $^3J_{H13-H14} = 8,5$ Hz); 7,51 (d, 2H, H20, $^3J_{H20-H21} = 8,5$ Hz); 7,40-7,48 (m, 5H, H2, H3 e H4); 7,34 (d, 1H, H14, $^3J_{H14-H13} = 8,5$ Hz); 7,28 (d, 1H, H18, $^3J_{H18-H17} = 15,7$ Hz); 6,92 (dd, 1H, H17, $^3J_{H17-H16} = 8,5$ Hz, $^3J_{H17-H18} = 15,7$ Hz); 6,74 (d, 2H, H21, $^3J_{H21-H20} = 8,5$ Hz); 5,00 (s, 2H, H5); 4,87 (s, 2H, H9); 2,98 (s, 6H, H23).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ_c): 165,3 (C8); 163,2 (C16); 151,9 (C15); 150,3 (C22); 150,9 (C11); 146,0 (C18) 145,4 (C10); 143,7 (C6); 140,25 (C1); 133,72 (C12); 129,8 (C3); 129,2 (C20); 128,5 (C4); 128,3 (C2); 123,0 (C17) 122,8 (C19); 121,9 (C14); 121,6 (C7); 120,7 (C13); 111,9 (C21), 50,5 (C9); 44,6 (C5); 39,6 (C23).

(E)-N-((1-(4-(((5-nitrofuran-2-il)metileno)amino)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-N-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (9)



Fórmula molecular: C₂₄H₁₉N₉O₄.

Massa molecular: 497,16 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (185,8 - 186,6)°C.

Rendimento: 78%.

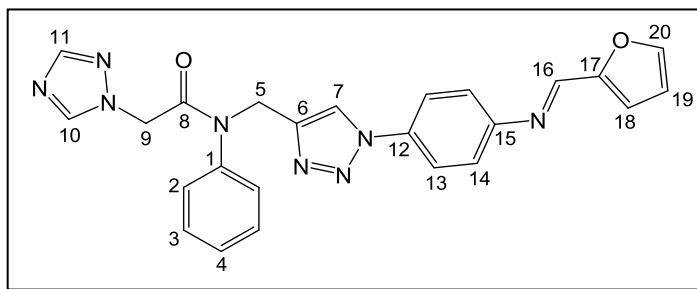
Aspecto: sólido amarelo claro.

IV (cm⁻¹): 34,33, 3150, 3120, 2933, 1677, 1513, 1352, 1277, 1255, 1180, 1141, 837, 808, 703.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ(multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz)) 8,72 (s, 2H, H7 e H16); 8,40 (s, 1H, H10); 7,84 (d, 1H, H19, ³J_{H19-H18} = 3,6 Hz); 7,59 (d, 2H, H14, ³J_{H14-H13} = 8,8 Hz); 7,41-7,41 (m, 5H, H2, H3 e H4); 7,44 (d, 1H, H18, ³J_{H18-H19} = 3,6 Hz); 5,02 (s, 2H, H5); 4,88 (s, 2H, H9).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ_C): 165,3 (C8); 152,5 (C20); 152,4 (C17); 151,0 (C11); 149,6 (C15); 148,8 (C16); 145,4 (C10); 143,9 (C6); 140,2 (C1); 135,3 (C12); 129,8 (C3); 128,6 (C4); 128,3 (C2); 50,5 (C5); 44,6 (C9).

(E)-N-((1-(4-((furan-2-ilmetileno)amino)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-N-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (10)



Fórmula molecular: C₂₄H₂₀N₈O₂.

Massa molecular: 452,17 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (191,8 - 192,5)°C.

Rendimento: 92%.

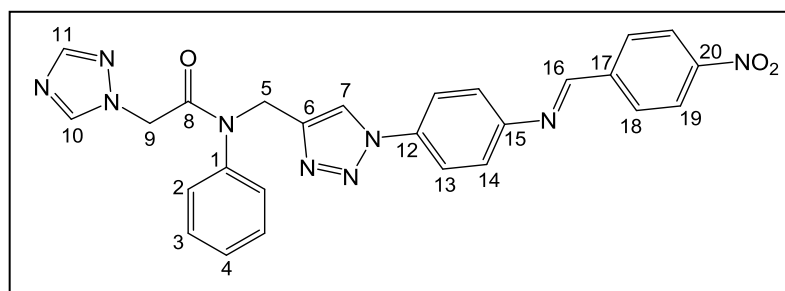
Aspecto: sólido branco.

IV (cm⁻¹): 3439, 3131, 2955, 1669, 1630, 1594, 1512, 1479, 1398, 1137, 1047, 773, 706.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ(multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz)) 7,99 (s, 1H, H7); 8,52 (s, 1H, H16); 8,41 (s, 1H, H10); 7,99 (s, 1H, H20); 7,95 (s, 1H, H11); 7,91 (d, 2H, H13, ³J_{H13-H14} = 8,8 Hz); 7,49-7,53 (m, 5H, H2, H3 e H4); 7,46 (d, 2H, H14, ³J_{H14-H13} = 8,8 Hz); 7,21 (d, 1H, H18, ³J_{H18-H19} = 3,3 Hz); 6,74 (dd, 1H, H19, ³J_{H19-H18} = 3,3 Hz, ³J_{H19-H20} = 1,6 Hz); 5,0 (s, 2H, H5); 4,89 (s, 2H, H9).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ_C): 166,9 (C8); 152,4 (C17); 151,7 (C11 e C15); 149,9 (C16); 146,1 (C10); 144,5 (C6); 140,9 (C1); 135,0 (C12); 130,5 (C3); 129,2 (C4); 129,0 (C2); 123,0 (C14); 122,4 (C7); 121,5 (C13); 118,4 (C18); 113,3 (C19); 51,2 (C9); 45,3 (C5).

(E)-N-((1-(4-((4-nitrobenzilideno)amino)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-N-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (11)



Fórmula molecular: C₂₆H₂₁N₉O₃.

Massa molecular: 507,18 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (206,0 - 206,7)°C.

Rendimento: 95%.

Aspecto: sólido amarelo claro.

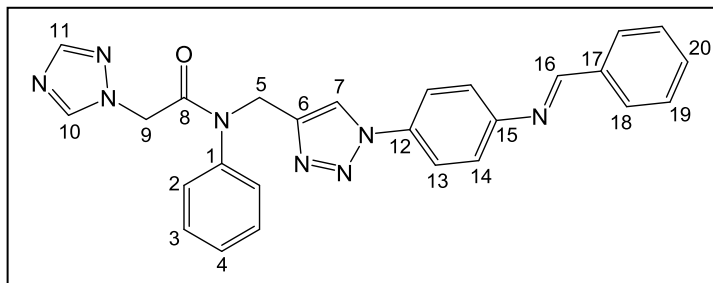
IV (cm⁻¹): 3132, 3104, 3060, 3036, 2943, 1689, 1592, 1507, 1491, 1342, 1273, 838, 699.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz))

8,90 (s, 1H, H16); 8,72 (s, 1H, H7); 8,39 (s, 1H, H10), 8,39 (d, 2H, H19, $^3J_{H19-H18} = 8,8$ Hz); 8,22 (d, 2H, H18, $^3J_{H18-H19} = 8,8$ Hz); 7,98 (d, 2H, H13, $^3J_{H13-H14} = 8,8$ Hz); 7,93 (s, 1H, H11); 7,57 (d, 2H, H14, $^3J_{H14-H13} = 8,8$ Hz); 7,40-7,53 (m, 5H, H2, H3 e H4); 5,01 (s, 2H, H5); 4,87 (s, 2H, H9).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ_C): 165,3 (C8); 159,8 (C16); 150,9 (C11); (C15); 145,4 (C10); 143,8 (C6); 141,2 (C17); 140,2 (C1); 134,9 (C12); 129,8 (C3); 129,7 (C19); 128,5 (C4); 128,2 (C2); 123,9 (C18); 121,7 (C7); 120,7 (C13); 50,4 (C9); 44,6 (C5).

(E)-N-((1-(4-(benzilidenoamino)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-N-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (12)



Fórmula molecular: C₂₆H₂₂N₈O.

Massa molecular: 462,19 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (206,0 - 206,7)°C.

Rendimento: 89%.

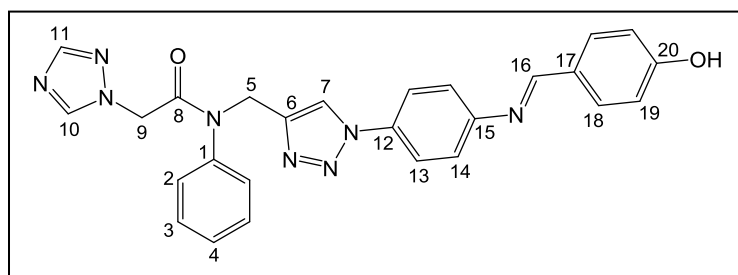
Aspecto: sólido branco.

IV (cm⁻¹): 3132, 3060, 2967, 2944, 2920, 2854, 1680, 1626, 1510, 1494, 1408, 1276, 1186, 1186, 1138, 1043, 1019, 699.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz)) 8,71 (s, 1H, H16); 8,69 (s, 1H, H7); 8,41 (s, 1H, H10); 7,97-7,91 (m, 2H, H19); 7,92 (s, 1H, H11); 7,91 (d, 2H, H13, $^3J_{\text{H13-H14}} = 8,8$ Hz); 7,55-7,51 (m, 3H, H20 e H18); 7,50-7,36 (m, 8H, H2, H3, H4, e H14); 4,99 (s, 2H, H5); 4,86 (s, 2H, H9).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ_c): 165,3 (C8); 161,7 (C16); 151,3 (C15); 151,0 (C11); 145,4 (C10); 143,8 (C6); 140,2 (C1); 135,7 (C17); 134,3 (C12); 131,7 (C18); 129,8 (C3); 128,8 (C19 e C20), 128,5 (C4); 128,3 (C2); 122,3 (C14); 121,7 (C7); 120,8 (C13); 50,5 (C9); 44,6 (C5).

(*E*)-*N*-((1-(4-((4-hidroxibenzilideno)amino)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-fenil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (13)



Fórmula molecular: $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_8\text{O}_2$.

Massa molecular: 478,19 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Faixa de fusão: (248,6 - 249,5) $^{\circ}\text{C}$.

Rendimento: 74%.

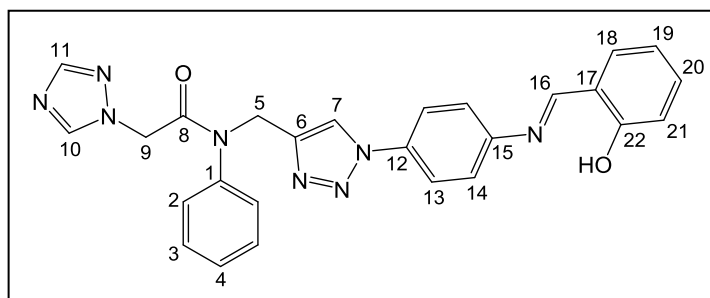
Aspecto: sólido amarelo claro.

IV (cm^{-1}): 3299, 3139, 2939, 2993, 2950, 2924, 2855, 1650, 1609, 1518, 1512, 1445, 1273, 1235, 1164, 1140, 837, 704.

RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz))
 10,19 (s, 1H, OH); 8,66 (s, 1H, H7); 8,54 (s, 1H, H16); 8,40 (s, 1H, H10); 7,93 (s, 1H, H11); 7,88 (d, 2H, H13, $^3J_{\text{H13-H14}} = 8,4$ Hz); 7,81 (d, 2H, H18, $^3J_{\text{H18-H19}} = 8,2$ Hz); 7,44-7,54 (m, 5H, H2, H3 e H4); 7,41 (d, 2H, H14, $^3J_{\text{H14-H13}} = 8,4$ Hz); 6,91 (d, 2H, H19, $^3J_{\text{H19-H18}} = 8,2$ Hz); 5,01 (s, 2H, H5); 4,87 (s, 2H, H9).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6 , δ_c): 165,3 (C8); 160,9 (C16 e C20); 151,9 (C15); 151,0 (C11); 145,4 (C10); 143,8 (C6); 140,2 (C1); 133,8 (C12); 130,9 (C18); 129,8 (C3); 128,5 (C4); 128,3 (C2); 127,2 (C17); 122,1 (C14); 121,7 (C7); 120,8 (C13); 115,6 (C19); 50,5 (C9); 44,6 (C5).

(E)-N-((1-(4-((2-hidroxibenzilideno)amino)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-N-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (14)



Fórmula molecular: C₂₆H₂₂N₈O₂.

Massa molecular: 478,19 g·mol⁻¹.

Faixa de fusão: (203,6 - 203,5)°C.

Rendimento: 86%.

Aspecto: sólido amarelo claro.

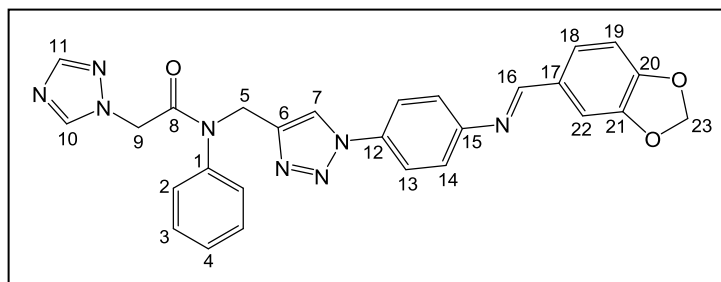
IV (cm⁻¹): 3432, 3125, 3083, 3060, 2963, 2943, 2851, 1680, 1617, 1595, 1513, 1493, 1408, 1276, 1186, 1138, 1044, 1019, 836, 699.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ(multiplicidade, integração, atribuição e J (Hz))

12,84 (s, 1H, OH); 9,03 (s, 1H, H16); 8,72 (s, 1H, H7); 8,41 (s, 1H, H10); 7,98 (d, 2H, H13, ³J_{H13-H14} = 8,8 Hz); 7,95 (s, 1H, H11); 7,70 (d, 1H, H18, ³J_{H18-H19} = 7,6 Hz); 7,63 (d, 2H, H14, ³J_{H14-H13} = 8,8 Hz); 7,43-7,65 (m, 6H, H2, H3, H4 e H20); 6,98-7,02 (m, 2H, H19 e H21); 5,02 (s, 2H, H5); 4,89 (s, 2H, H9).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆, δ_C): 165,3 (C8); 164,0 (C16); 160,2 (C22); 151,0 (C11); 148,1 (C15); 145,4 (C10); 143,9 (C6); 140,2 (C1); 134,9 (C12); 135,5 (C20); 132,5 (C18); 129,8 (C3); 128,5 (C4); 128,3 (C2); 122,7 (C14); 121,7 (C7); 120,8 (C13); 119,2 (C17 e C19); 116,63 (C21); 50,5 (C9); 44,6 (C5).

(E)-N-((1-(4-((benzo[d][1,3]dioxol-5-ylmetileno)amino)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-N-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamid4 (15)



3.4-Difração de raios X por monocristal (DRXM)

Os experimentos de difração de raios X foram realizados em colaboração com o professor Felipe Terra Martins do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás. Para a realização dos experimentos utilizou-se o equipamento difratômetro Kappa Duo Bruker-AXS e um detector APEX II CCD.

Os dados de difração de raios X (DRMX) foram coletados à temperatura ambiente (298 K) após exposição à radiação $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$) de uma microfonte I μ S com monocromador de espelhos em multicamadas. Uma correção por absorção do tipo multi-scan também foi aplicada aos conjuntos de dados, que por sua vez, foram tratados por refinamento de cela e redução dos dados com conjunto de programas Bruker SAINT e SADABS.⁶⁷ A resolução das estruturas cristalinas foi realizada por meio dos métodos diretos de recuperação de fase com o programa SHELXS-97 e o refinamento dessas estruturas foi realizado pelo método dos mínimos quadrados de matriz completa utilizando o quadrado dos fatores de estrutura com o programa SHELXL-97.⁶⁸ Os programas utilizados na resolução e refinamento das estruturas foram acessados por meio da interface de programas de cristalografia WinGX.⁶⁹ Posições fixas e parâmetros térmicos isotrópicos fixos [$U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2U_{\text{eq}}(\text{C})$] foram adotados para os átomos de hidrogênio.

3.5-Avaliação de atividade antifúngica

Os testes de atividade antifúngica foram realizados em colaboração com o professor Daniel de Assis Santos, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada para os compostos **3-15** segundo os métodos de microdiluição em caldo preconizados pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁷⁰ Os compostos foram inicialmente dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO), de modo a se obter soluções de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Essas soluções foram submetidas a diluições sucessivas, resultando em soluções de concentrações entre 4 a 128 $\mu\text{g/mL}$. Os testes de atividade antifúngica foram realizados em placas de 96 poços e essas placas foram incubadas a uma temperatura de 60 °C por 48 horas para *Candida glabrata*, 72 horas para *Cryptococcus ssp* e 7 dias para *Microsporum gypseum*. A leitura do teste foi feita visualmente e os resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$.

3.6-Avaliação da atividade anti-*T. cruzi*

Os testes de atividade anti-*T. cruzi* foram realizados em colaboração com a professora Fernanda Ramos Gadelha do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

3.6.1-Cultura de parasitos

As formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi* (cepa Y) foram cultivadas em meio LIT (Liver infusion tryptose) suplementado com 10% de soro fetal bovino e solução de hemoglobina 2% a 28 °C, o que resultou na concentração 1×10^6 parasitos por mL. As células foram obtidas por centrifugação a 2500 rpm por 5 min a 4 °C. O número de células foi determinado em uma câmara de Neubauer.

3.6.2-Determinação de atividade antiparasitária e ensaios de citotoxicidade

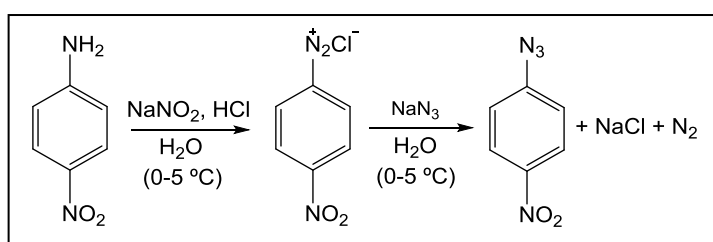
Para avaliar o efeito citotóxico dos compostos **3-15** sobre as formas epimastigotas do parasita, foi empregado o método de redução do MTT.⁷¹ Os parasitos foram incubados na presença de 50 µM ou 100 µM dos compostos **3-15**, dissolvidos em dimetil sulfoxido (DMSO), em placas de 96 poços. Após 24h, 1 µL do reagente MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-terazólio) 5 mg/mL foi adicionado às culturas. Após 3 horas de incubação, adicionaram-se 50 µL de dodecilsulfato de sódio 20% e incubou-se por 30 minutos. A formação de formazan foi determinada em um leitor de placas no comprimento de onda de 595 nm, tendo a leitura a 690 nm como referência. Cada composto foi analisado em triplicata.

4-RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1-Síntese e caracterização

Síntese do 1-azido-4-nitrobenzeno

A síntese do 1-azido-4-nitrobenzeno foi realizada em duas etapas. Inicialmente, a 4-nitroanilina reage com ácido nitroso que foi formado *in situ*, produzindo o sal de arenodiazônio. Posteriormente, o grupo diazônio é substituído pelo grupo azido, formando a azida orgânica (Esquema 2).



Esquema 2: Síntese da azida orgânica pela reação de substituição de sal de diazônio aromático.

A caracterização do composto foi feita por ressonância magnética nuclear e por espectroscopia no infravermelho.

No espectro na região do infravermelho (Figura 22, página 42) observa-se uma banda referente ao estiramento do grupamento azida em 2126 cm^{-1} .

No espectro de RMN de ^1H (Figura 23, página 43) é possível observar um duplete em δ 8,25, integrado para dois hidrogênios, referentes aos hidrogênios H3. Observa-se ainda, outro duplete em δ 7,34, integrado para dois hidrogênios, referentes aos hidrogênios H2.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 24, página 43) observam-se os sinais δ 147,2, δ 144,6, δ 126,1 e δ 120,6, associados aos carbonos C1, C4, C3 e C2.

Azidas aromáticas substituídas por nitro, quando expostas a luz visível, sofrem reações fotoquímicas de dimerização, formando azo compostos (figura 21, página 42).^{72,73} Para evitar essas reações fotoquímicas de dimerização azo, a síntese e o manuseio do 1-azido-4-nitrobenzeno ocorreram ao abrigo da luz.

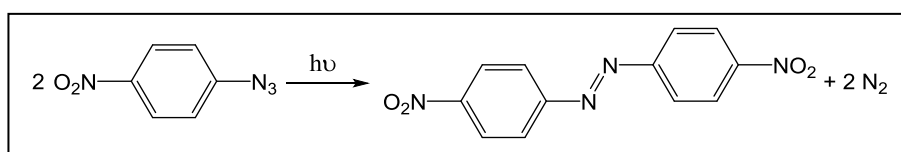


Figura 21: Dimerização fotoquímica do 1-azido-4-nitrobenzeno.

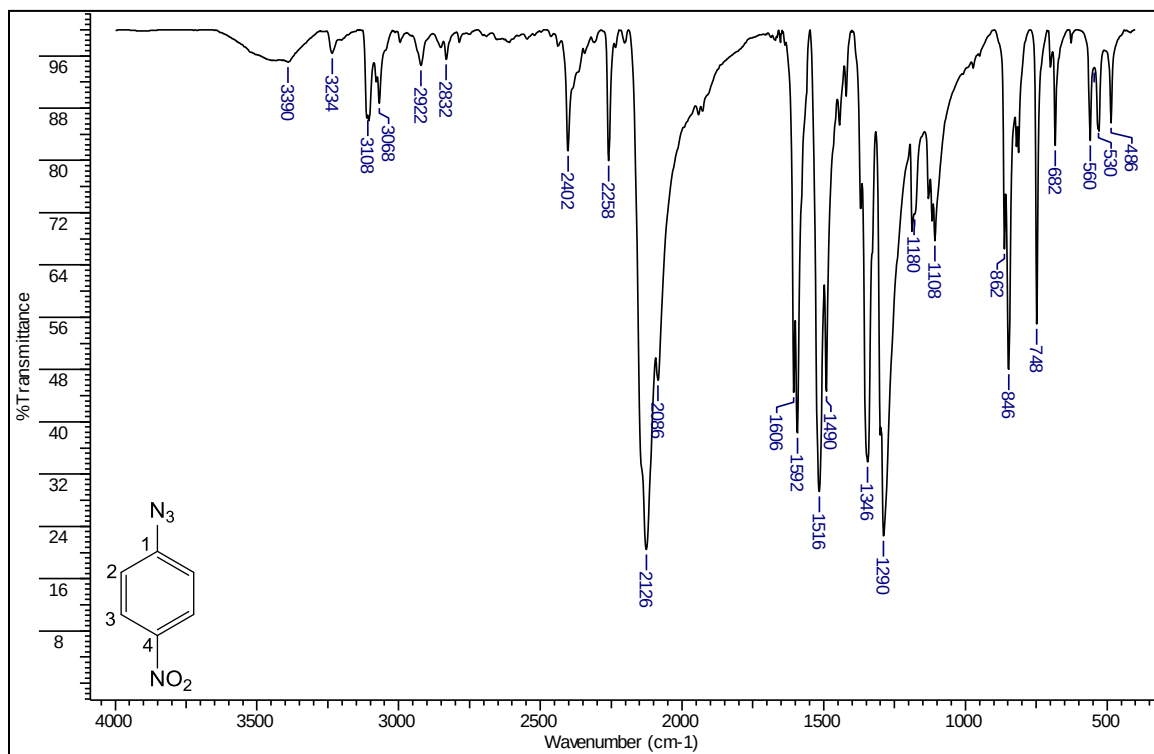


Figura 22: Espectro na região do infravermelho do 1-azido-4-nitrobenzeno (KBr).

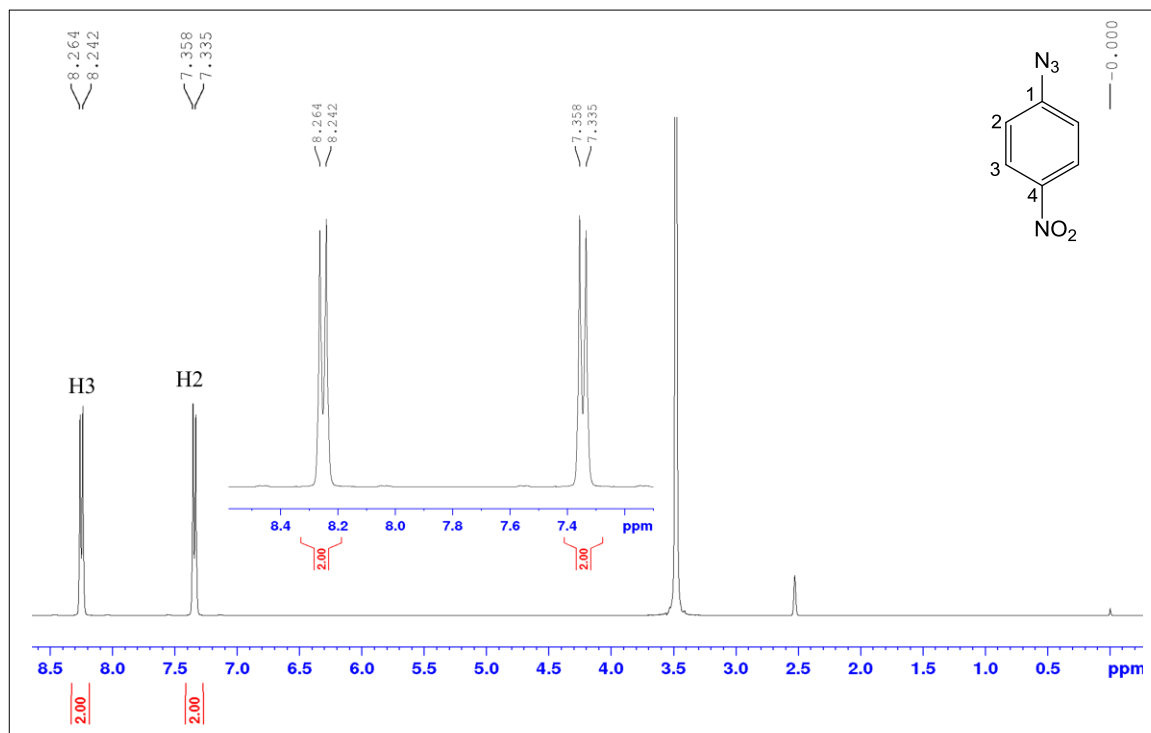


Figura 23: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) em CDCl₃ do 1-azido-4-nitrobenzeno.

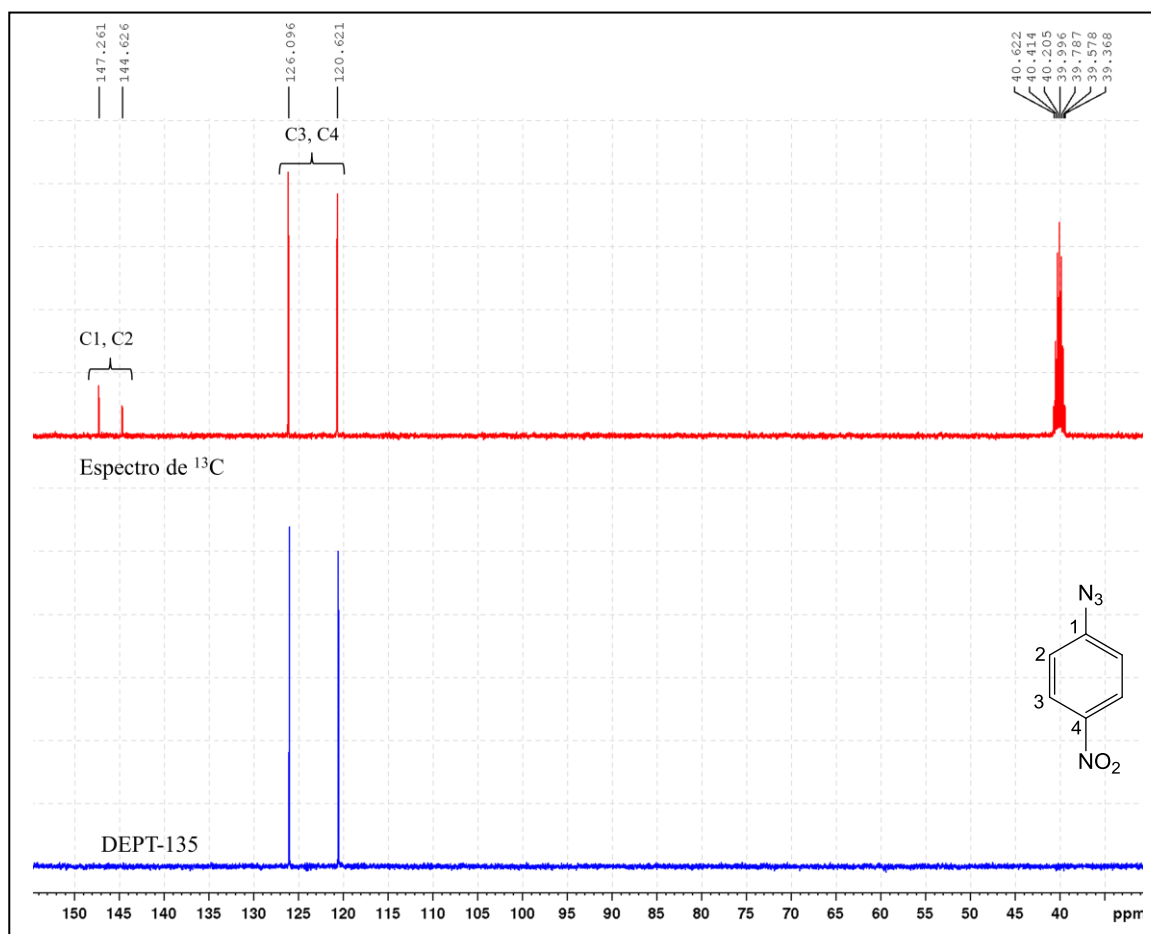


Figura 24: Espectro de RMN de ¹³C e DEPT-135 (100 MHz) em CDCl₃ do 1-azido-4-nitrobenzeno.

Síntese de *N*-(prop-2-in-1-il)anilina (**1**)

O composto **1** foi obtido pela reação de substituição nucleofílica bimolecular entre a anilina e o brometo de propargila, na presença carbonato de potássio anidro.

O mecanismo proposto para essa reação (Figura 25) tem início quando o par de elétrons não ligante da anilina forma uma ligação com o carbono eletrofílico do brometo de propargila, ao mesmo tempo em que ocorre a quebra da ligação carbono-halogênio. Posteriormente, o íon carbonato atua como base retirando um próton do nitrogênio que sustenta a carga positiva.

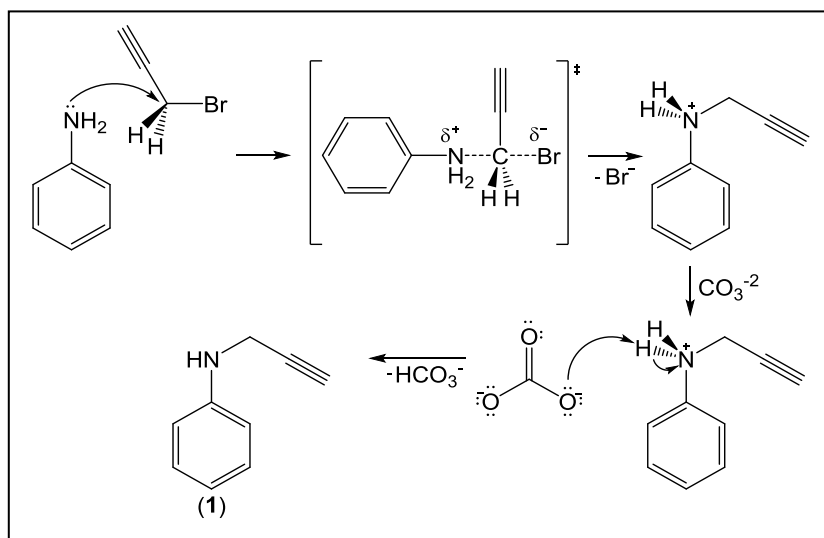


Figura 25: Mecanismo proposto para a formação do composto (**1**).

Para a monoalquilação da anilina empregou-se uma adaptação do procedimento descrito por Marshall e colaboradores.⁶¹ Nesse procedimento, os autores recomendam que a reação seja interrompida após 6 horas, a fim de se obter maior rendimento da anilina monoalquilada desejada. Tempos mais longos de reação causam a geração de anilina dialquilada indesejada.

A caracterização do composto **1** foi feita por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear.

No espectro na região do infravermelho (Figura 26, página 45) observa-se uma banda em 3287 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação C-H do alcino. A banda de deformação axial da ligação N-H do grupo amino foi observada em 3403 cm^{-1} .

No espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H (Figura 27, página 46) observa-se um tripleto em δ 2,23 ($^4J_{\text{H7-H5}} = 2,4\text{ Hz}$), integrado para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H7 do alcino. O duplete, integrado para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios metilênicos H5 é observado em δ 3,94 ($^4J_{\text{H5-H7}} = 2,4\text{ Hz}$). Observa-se também, o

simpleto em δ 3,89, integrado para um hidrogênio, referente ao hidrogênio do grupo amino. Na região aromática, observam-se um duplete ($^3J = 8,0$ Hz) referente a H2, em δ 6,71, um tripleto ($^3J = 8,0$ Hz) referente a H4 em δ 6,82 e um multipeto entre δ 7,22-7,27 referente aos hidrogênios H3.

No espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C , associado ao subespectro DEPT 135 (Figura 28, página 46), observa-se um sinal de fase negativa em δ 33,7, referente ao carbono metilênico C5. O grupo aromático é evidenciado pelos sinais δ 146,6, δ 129,2, δ 118,7 e δ 113,6 associados aos carbonos C1, C3, C4 e C2, respectivamente. Os sinais dos carbonos referentes ao grupo alcino em δ 80,9 e δ 71,3, relacionam-se aos carbonos C6 e C7, respectivamente.

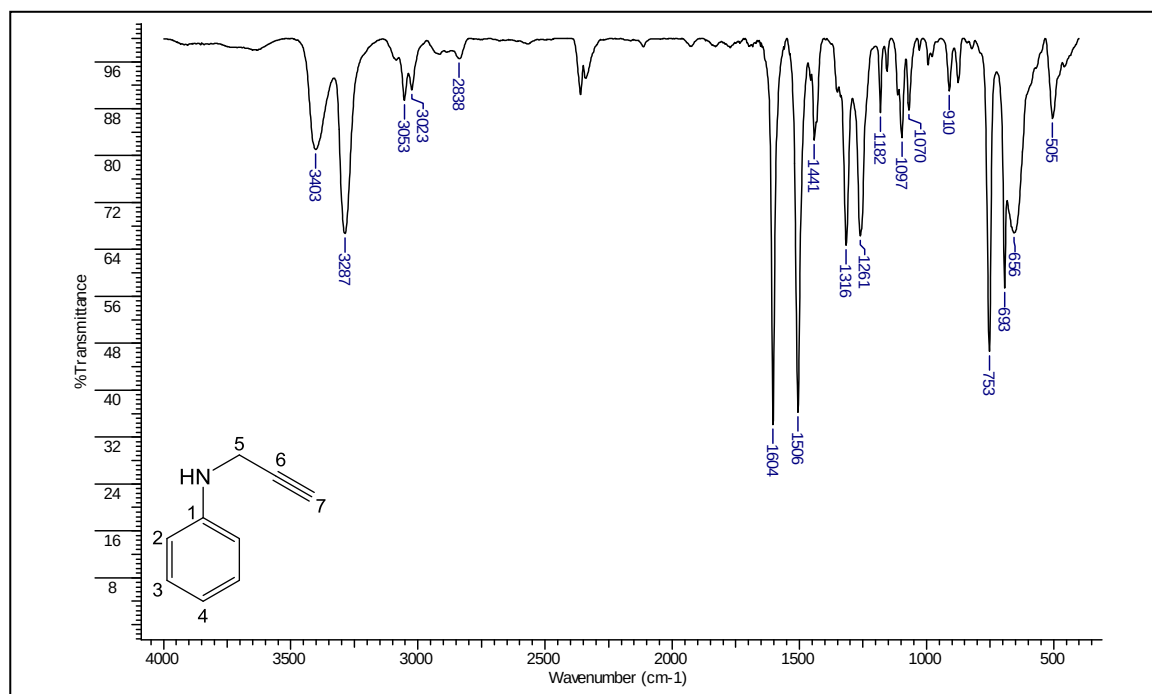


Figura 26: Espectro na região do infravermelho do composto (1) (KBr).

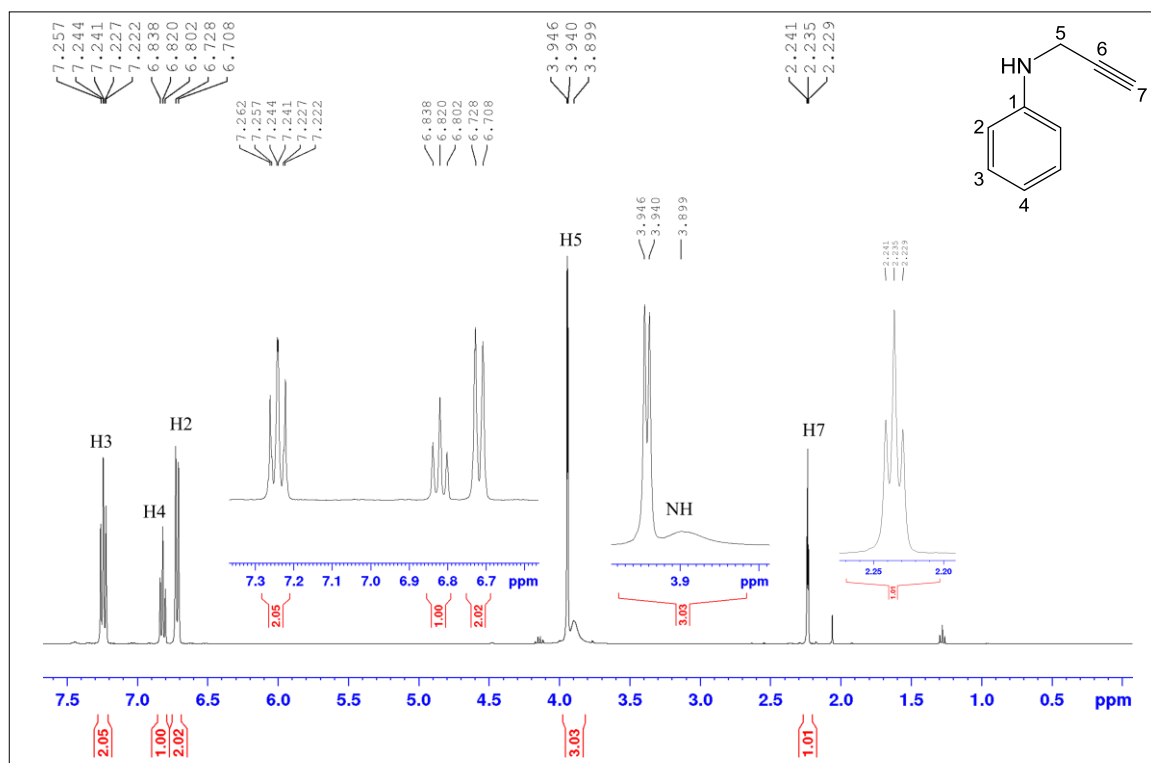


Figura 27: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) em CDCl₃ do composto (1).

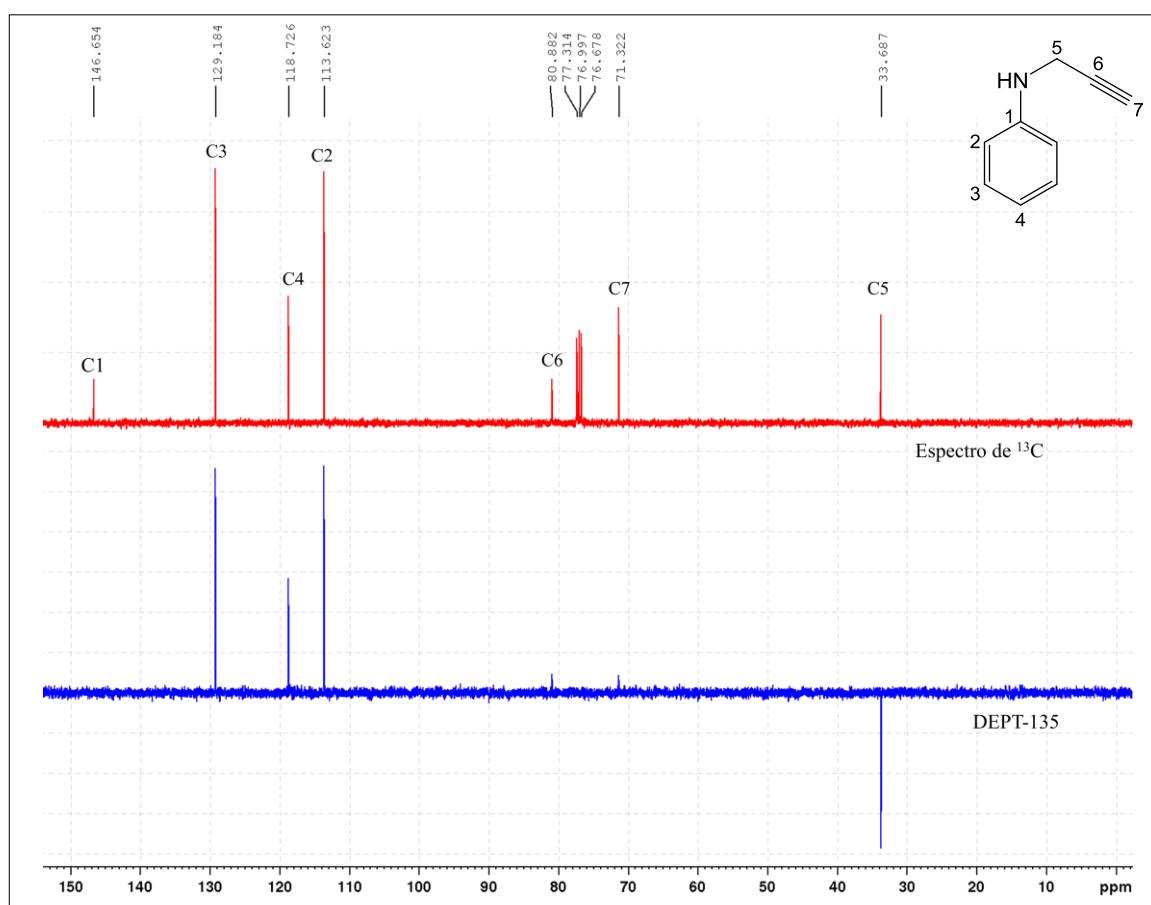


Figura 28: Espectro de RMN de ¹³C e DEPT-135 (100 MHz) em CDCl₃ do composto (1).

Síntese de 2-bromo-*N*-fenil-*N*-(prop-2-in-1-il)acetamida (2)

O composto **2** foi formado pela reação de adição-eliminação à carbonila entre o composto **1** e o brometo de bromoacetila, na presença de trietilamina e diclorometano seco.

O mecanismo proposto para essa reação (Figura 29) tem início quando o par de elétrons não ligante do composto **1** forma uma ligação com o átomo de carbono carbonílico do brometo de bromoacetila. Ao mesmo tempo em que isso ocorre, o par de elétrons da ligação π carbono-oxigênio se desloca para o átomo de oxigênio. Posteriormente, a ligação π é restabelecida, ocorrendo a eliminação do íon brometo do carbono carbonílico. A molécula de trietilamina retira o próton do átomo de nitrogênio.

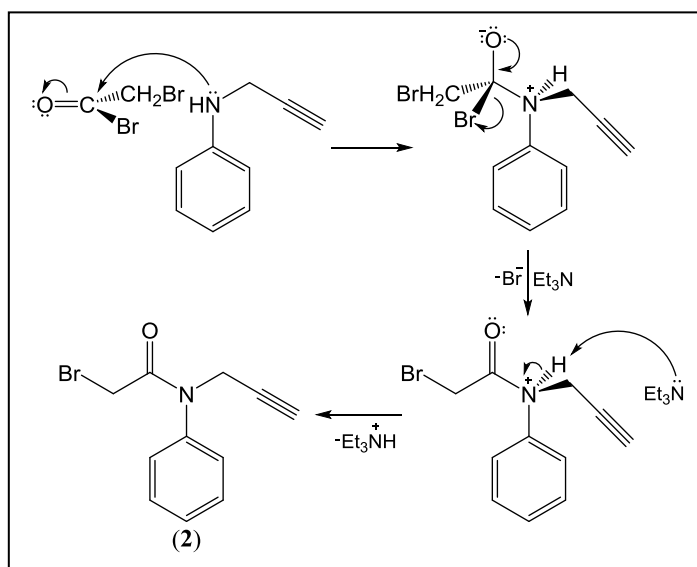


Figura 29: Mecanismo proposto para a formação do composto (2).

A caracterização do composto **2** foi feita por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear.

Comparando-se o espectro no infravermelho (Figura 30, página 48) do composto **2** com aquele obtido no composto **1**, é possível observar uma banda em 1668 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ característico de grupo amida. Esse valor é inferior ao observado nas bandas correspondentes aos estiramentos de ligações $\text{C}=\text{O}$ de cetonas alifáticas saturadas, que ocorre entre 1725 a 1705 cm^{-1} . Isso se deve ao efeito de ressonância envolvendo o par de elétrons não-ligantes do nitrogênio, a ligação $\text{C}=\text{O}$ de amidas fica enfraquecida em relação à ligação $\text{C}=\text{O}$ de cetonas. Não se observa também a banda de deformação axial em 3403 cm^{-1} referente à ligação $\text{N}-\text{H}$ do grupo amina.

Analizando o espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H (Figura 31, página 49), é possível observar um simpleto em δ 3,58, integrado para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios metilênicos H9. Verifica-se ainda, uma mudança nos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos para maiores valores de deslocamento químico em comparação com o composto **1**. Essa mudança ocorre devido à menor disponibilidade do par de elétrons não-ligantes do nitrogênio ao anel aromático no composto **2**, deixando esses hidrogênios mais desblindados.

Comparando-se o espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C (Figura 32, página 49) do composto **2** com aquele obtido no composto **1**, é possível observar o aparecimento de um sinal em δ 165,9, referente ao carbono carbonílico C8 e outro sinal em δ 26,6, referente ao carbono metilênico C9. Essas atribuições foram confirmadas no subespectro DEPT-135 (Figura 32, página 49). O sinal em δ 26,6 atribuído ao carbono metilênico C9, aparece com fase negativa, enquanto desaparece o sinal em δ 165,9, atribuído ao carbono carbonílico C8. Verifica-se também, um aumento no deslocamento químico dos carbonos nas posições orto (C2) e para (C4), devido à menor disponibilidade do par de elétrons não-ligantes do nitrogênio ao anel aromático.

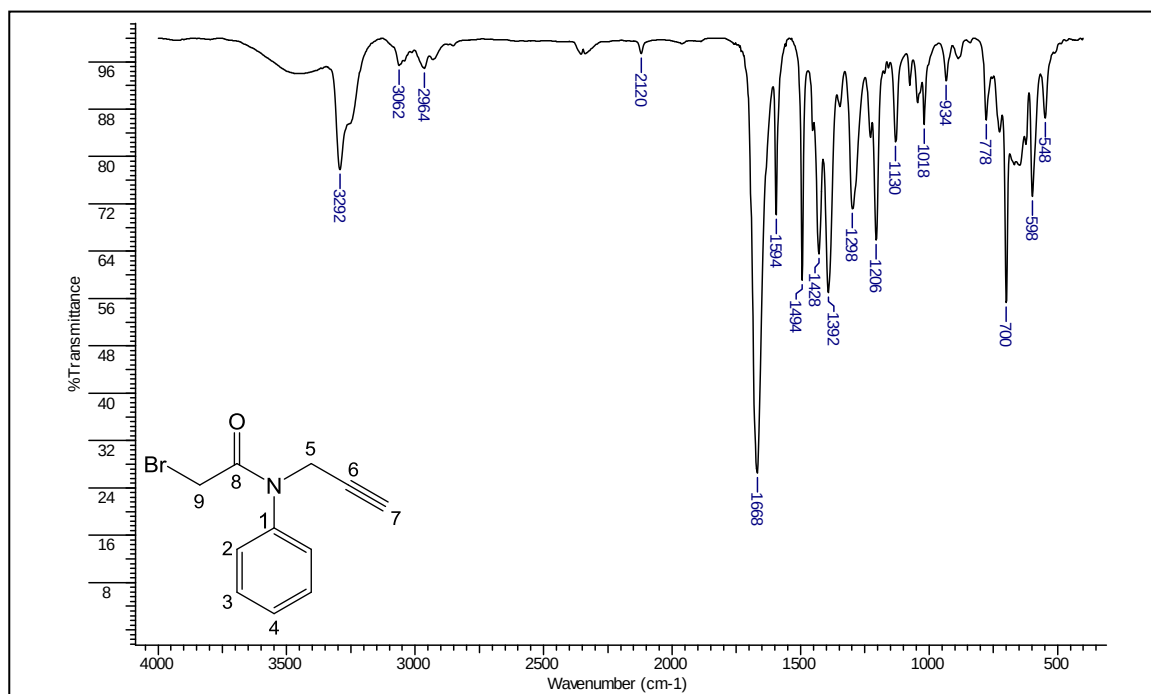


Figura 30: Espectro na região do infravermelho do composto (**2**) (KBr).

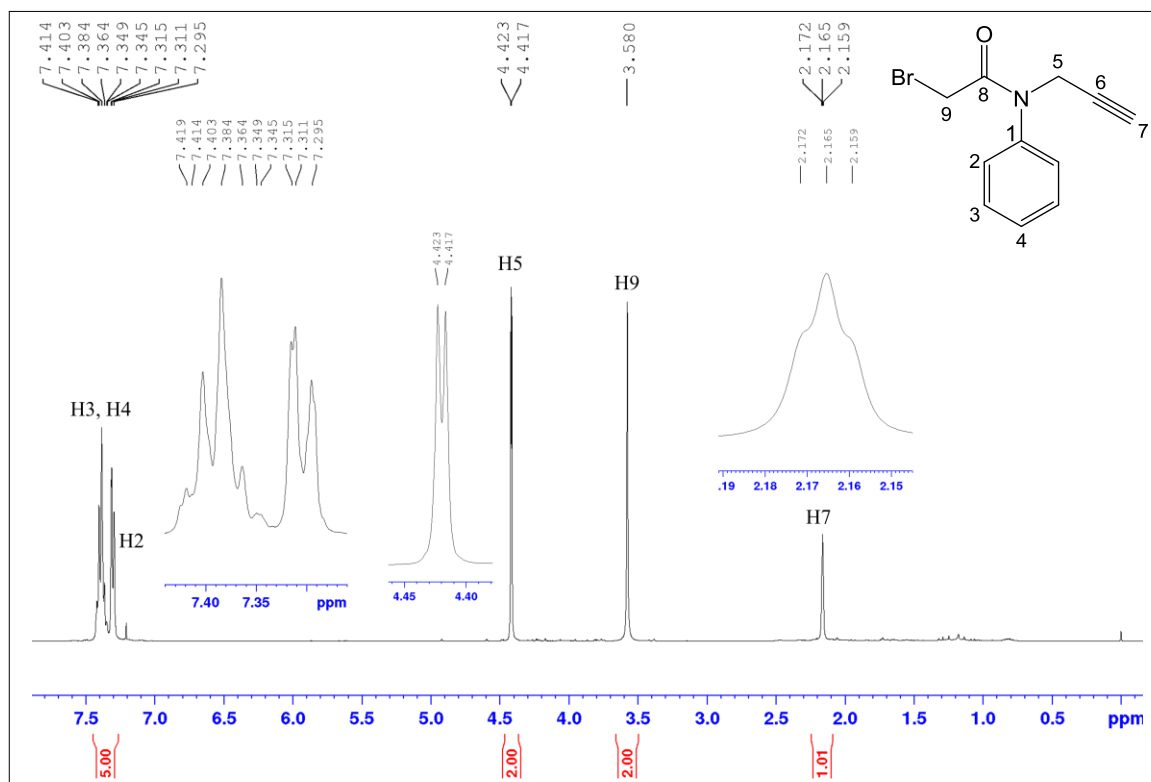


Figura 31: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) em CDCl₃ do composto (2).

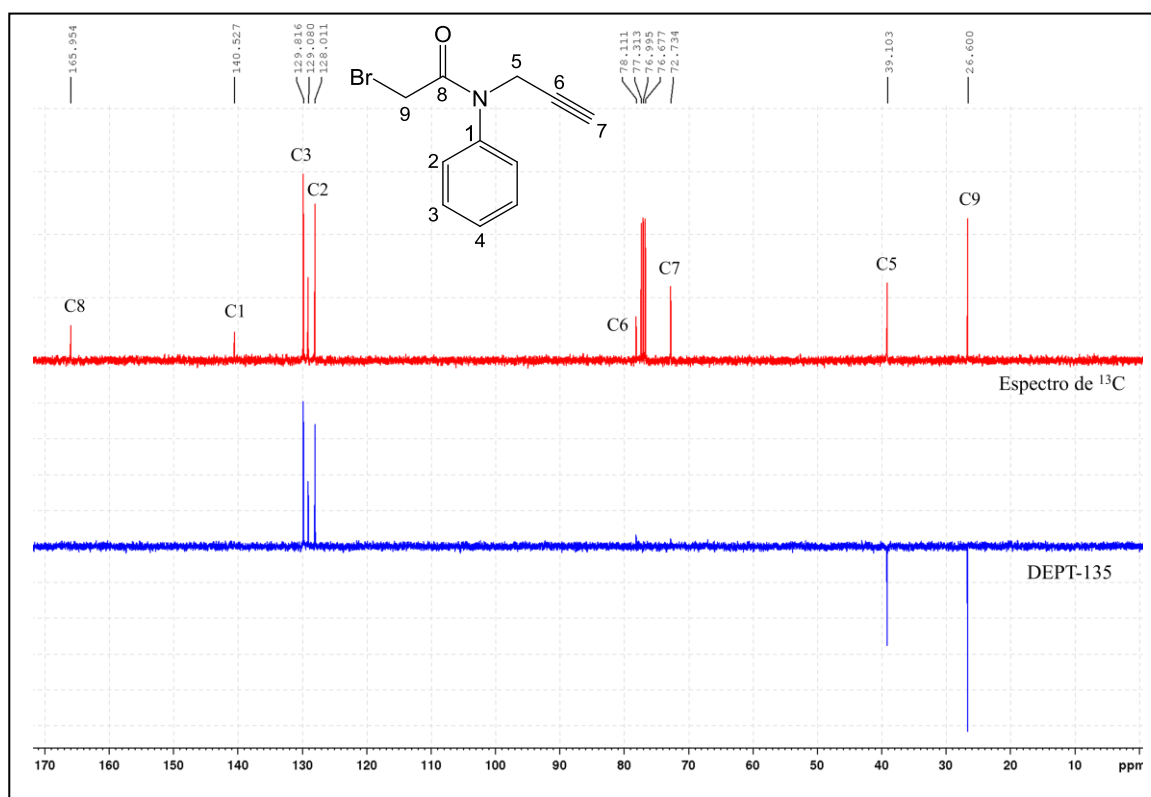


Figura 32: Espectro de RMN de ¹³C e DEPT-135 (100 MHz) em CDCl₃ do composto (2).

Síntese de *N*-fenil-*N*-(prop-2-in-1-il)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (**3**)

O composto **3** foi formado pela reação de substituição nucleofílica bimolecular entre o composto **2** e o 1*H*-1,2,4-triazol, em acetona seca e carbonato de potássio anidro.

O mecanismo proposto para essa reação (Figura 33) tem início quando o par de elétrons não ligante do 1*H*-1,2,4-triazol forma uma ligação com o carbono eletrofílico do composto **2**, ao mesmo tempo em que ocorre a quebra da ligação carbono halogênio. Posteriormente, o íon carbonato retira o próton do anel triazólico.

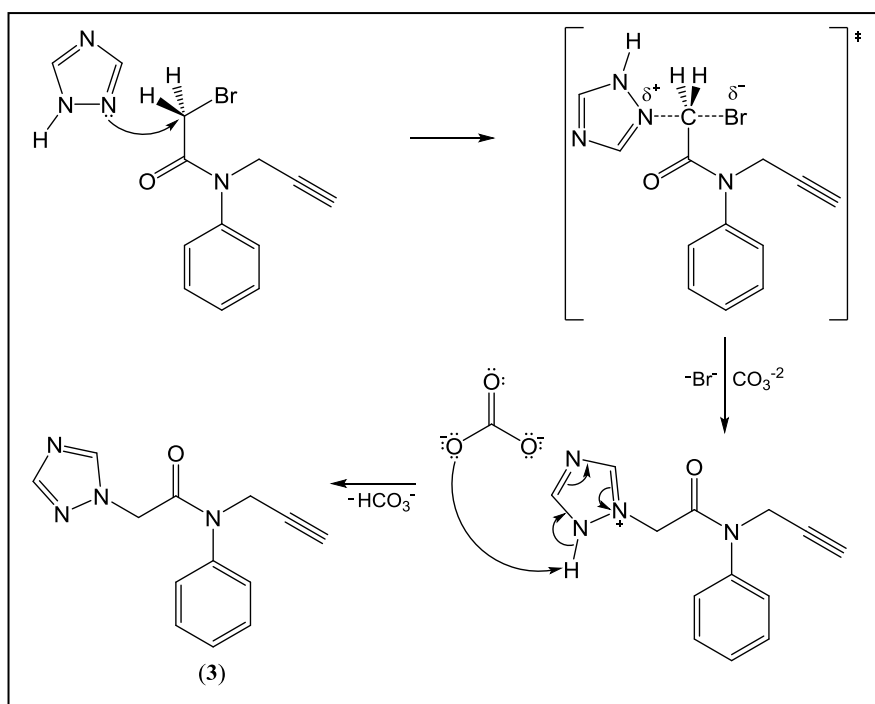


Figura 33: Mecanismo proposto para a formação do composto (**3**).

A caracterização do composto **3** foi feita por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear.

No espectro na região do infravermelho (Figura 34, página 51) observa-se uma banda em 1508 cm^{-1} referente à deformação axial da ligação C=N do anel triazólico. Verifica-se também, uma banda em 2120 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C≡C de alcino.

Comparando-se o espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H (Figura 35, página 52) do composto **3** com o espectro do composto **2**, é possível observar dois novos simpletos em δ 8,15 e δ 7,83, referentes aos hidrogênios H10 e H11 do anel triazólico. Observa-se também, um aumento no deslocamento químico do sinal referente aos hidrogênios metilênicos H9, de δ 3,58 para δ 4,66, quando comparado ao composto **2**. Esse aumento é

causado pela substituição do átomo de bromo pelo anel triazólico, que apresenta três átomos de nitrogênio, que são mais eletronegativos.

No espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C (Figura 36, página 52) observam-se dois novos sinais em δ 151,5 e δ 144,6, referentes aos carbonos C11 e C10, do anel triazólico, respectivamente.

Foi evidenciada por CCD e CGMS a formação de um único produto, não necessitando de uma purificação posterior. O rendimento da reação foi quantitativo.

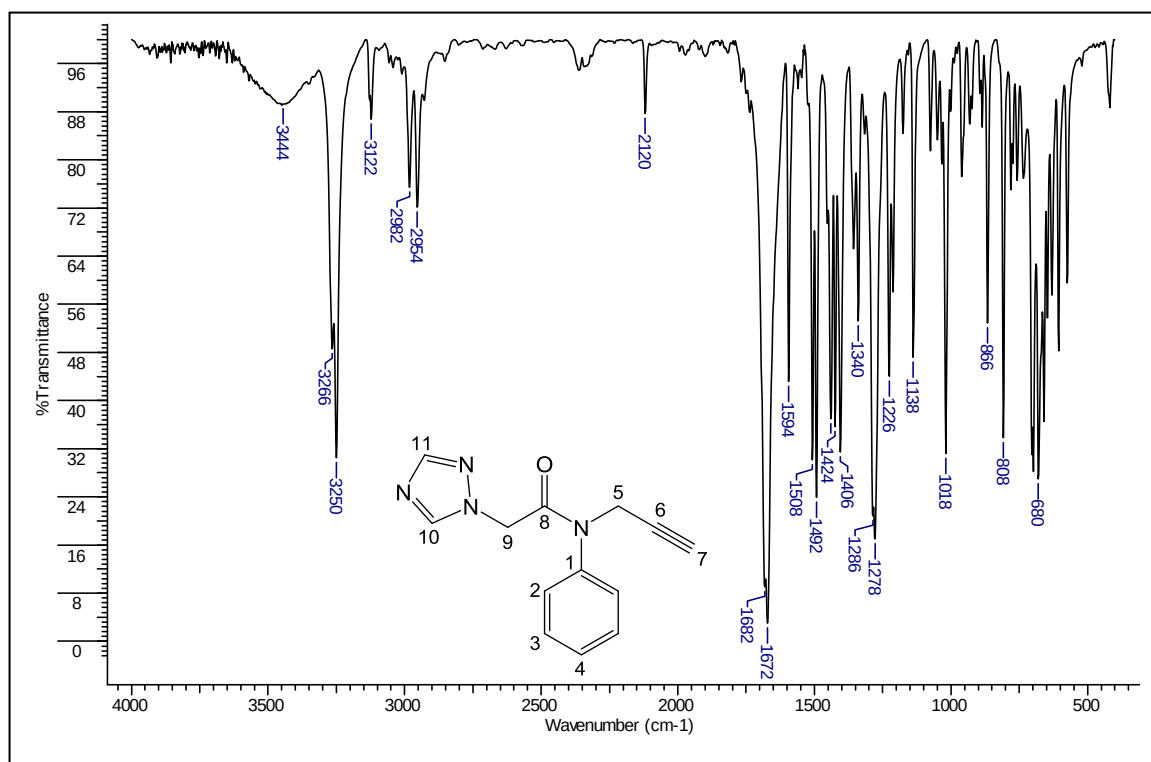


Figura 34: Espectro na região do infravermelho do composto (3) (KBr).

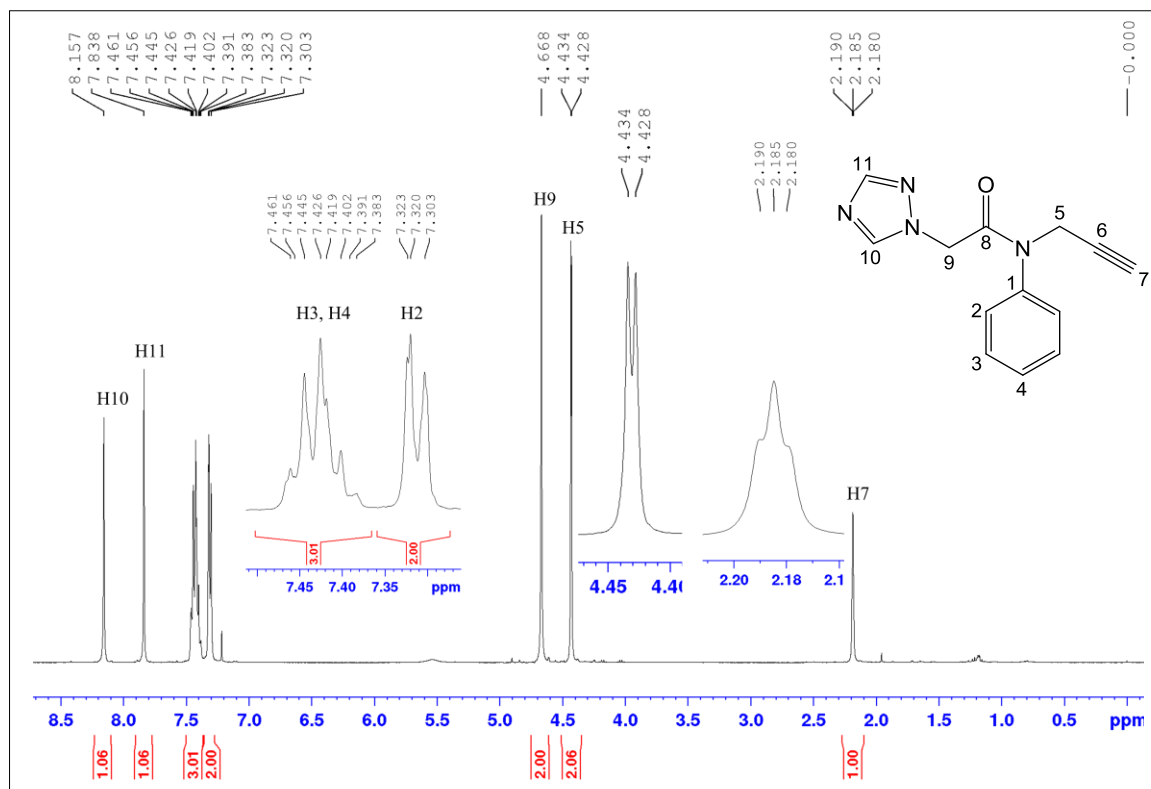


Figura 35: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) em CDCl₃ do composto (3).

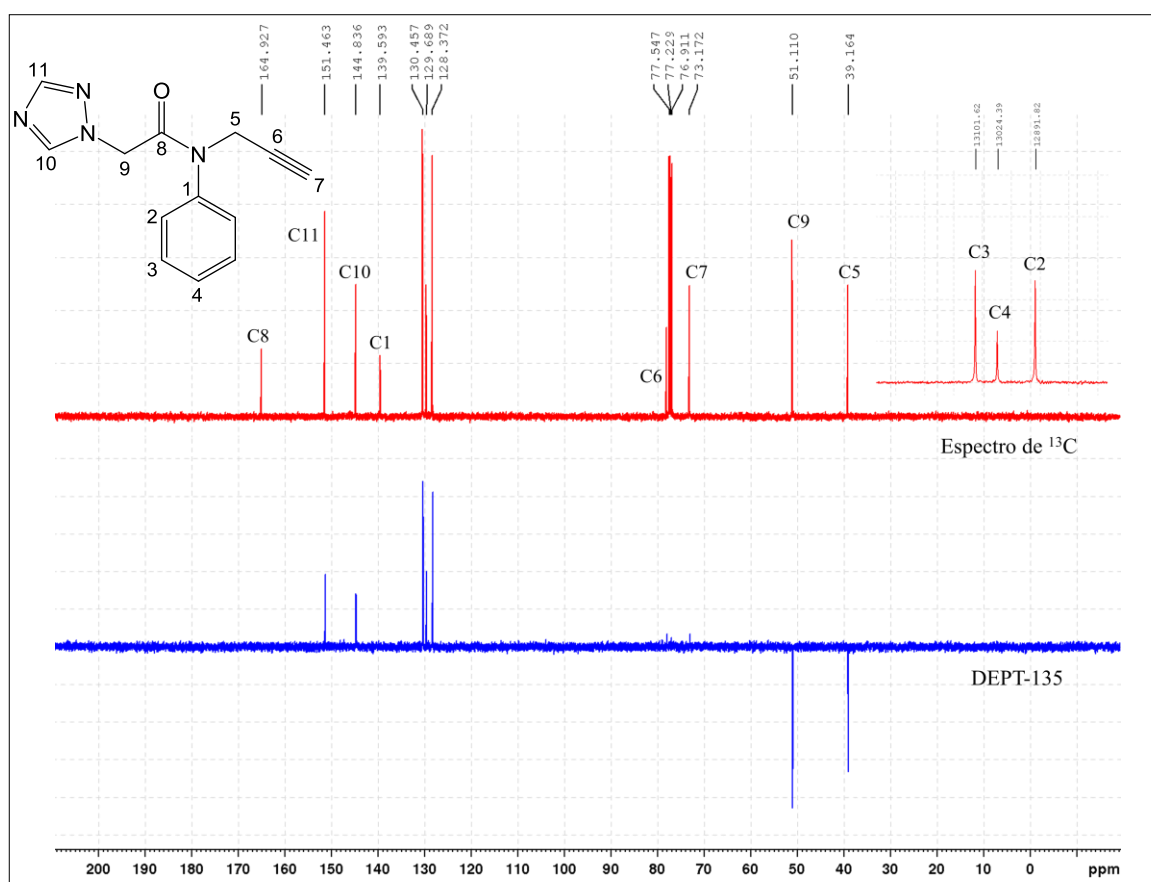


Figura 36: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) em CDCl₃ do composto (3).

Síntese de *N*-((1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-fenil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (**4**)

O composto **4** foi formado pela reação de cicloadição 1,3-dipolar entre o composto **3** e o 1-azido-4-nitrobenzeno, na presença de Cu (I) gerado *in situ*.

A ordem de adição dos reagentes interferiu significativamente no tempo e no rendimento da reação. Adicionando-se inicialmente os reagentes orgânicos e, em seguida, os reagentes inorgânicos, a reação ocorreu em três dias e o rendimento foi de 40%, não sendo satisfatório. Assim, decidiu-se avaliar se a preparação prévia do Cu (I) poderia interferir no tempo e no rendimento da reação.

Preparando-se inicialmente uma solução aquosa de sulfato de cobre pentaidratado e ascorbato de sódio e, em seguida, adicionando-se os compostos orgânicos, a reação ocorreu em 2 horas, com rendimento de 85%.

O balão reagente foi envolvido com papel alumínio para evitar reações fotoquímicas indesejadas da azida orgânica, já que a mesma é fotossensível, e não prejudicar o rendimento da reação.

Durante a elaboração da reação, a mistura reagente foi lavada com solução de EDTA (5% p/v) tamponada em pH 10 para remoção de possível cobre residual. O objetivo do tampão é assegurar a desprotonação dos grupos carboxilatos presentes no EDTA, aumentando sua capacidade complexante, além de deslocar o Cu (I), eventualmente complexado ao produto.

A proposta mecanística atualmente aceita para reação foi desenvolvida, por Fokin e colaboradores, a partir de estudos de marcação isotópica e experimentos de espectrometria de massas.⁷⁴ O processo tem início quando o Cu (I) forma um complexo com o alcino terminal, o que reduz o pK_a do hidrogênio, permitindo sua desprotonação em um sistema aquoso, facilitando a formação do acetileto cobre (A) por ligação σ e a complexação de um segundo íon Cu (I) por meio de ligação π . Na etapa seguinte, o par de elétrons não-ligante do átomo de nitrogênio da azida se coordena com o cobre e o par de elétrons π do alcino se liga ao nitrogênio neutro da azida, enquanto um par de elétrons π da ligação $N\equiv N$ é movido para o nitrogênio positivo. Em seguida, ocorre uma contração do anel pela formação da ligação entre o par de elétrons não ligante do nitrogênio ligado ao anel aromático com o orbital antiligante do carbono formando o triazolila de cobre (B). Na última etapa do mecanismo ocorre a protonação do triazolila de cobre levando a formação do composto **4** (Figura 37, página 54).

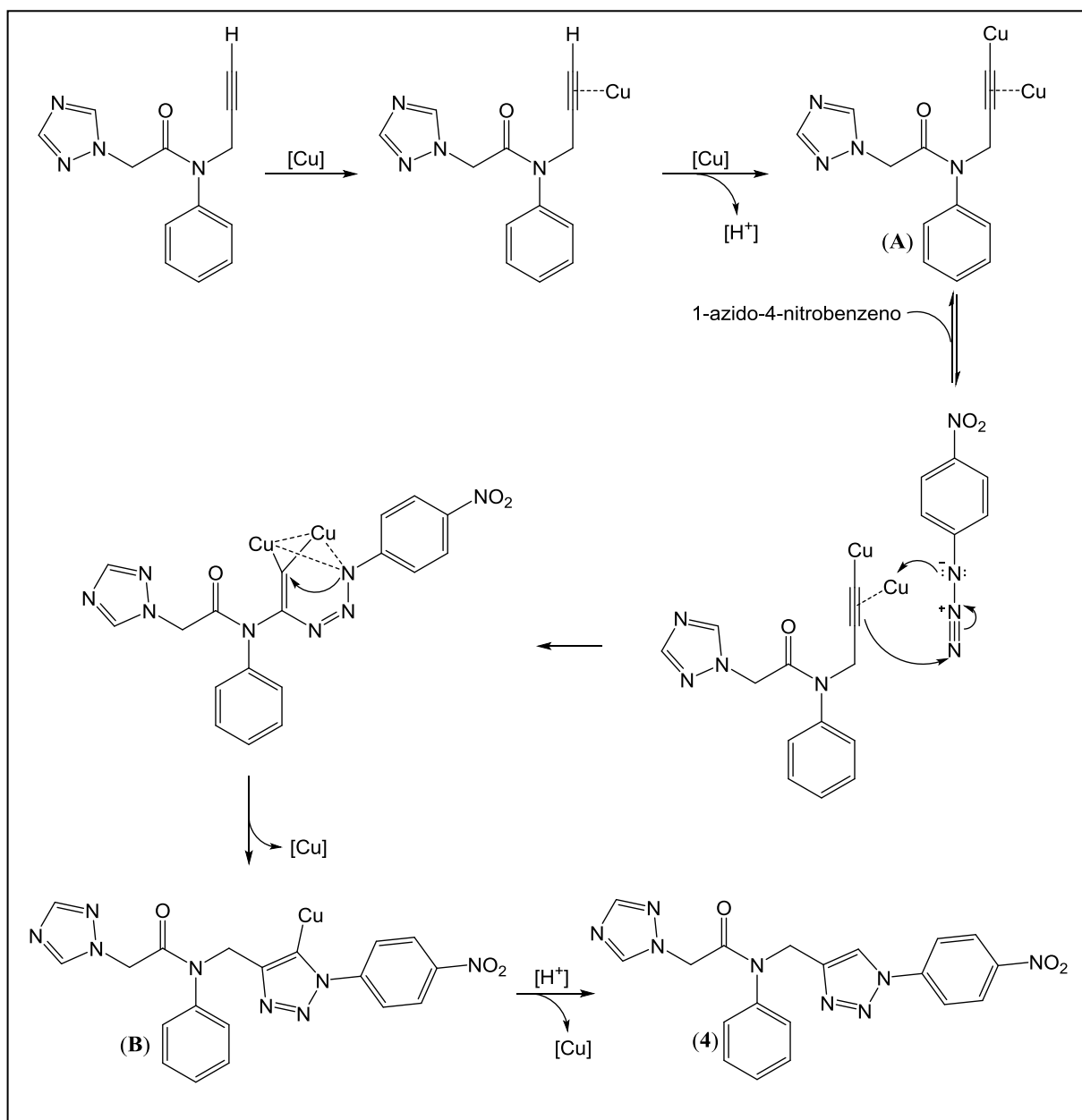


Figura 37: Mecanismo proposto para a formação do composto (4).

A caracterização do composto **4** foi realizada por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear.

No espectro na região do infravermelho (Figura 38, página 55) observam-se as duas bandas de deformação axial de grupo -NO_2 . Observam-se ainda uma banda em 1344 cm^{-1} , referente à deformação axial simétrica e outra banda em 1526 cm^{-1} , referente à deformação axial assimétrica. Não foi verificada a banda em 2120 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação $\text{C}\equiv\text{C}$ de alcino.

Comparando-se o espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H (Figura 39, página 56) do composto **4** com o espectro do composto **3**, é possível observar dois novos sinais

dupletos em δ 8,44 ($^3J = 8,8$ Hz) e δ 8,21 ($^3J = 8,8$ Hz), referentes aos hidrogênios H14 e H13. Observa-se também, um aumento no deslocamento químico do sinal referente ao hidrogênio H7, de δ 2,18 para δ 8,92. No composto **3**, o hidrogênio H7 encontra-se disposto em um eixo que coincide com o eixo magnético gerado pelos elétrons π circulantes da ligação tripla do alcino. As linhas de força geradas pelos elétrons em circulação agem de modo a blindar esse hidrogênio. Com a formação do anel triazólico, o hidrogênio H7 passa ocupar uma posição perpendicular em relação às linhas de força induzidas pela corrente de anel, contribuindo para grande desblindagem desse hidrogênio, justificando o aumento do deslocamento químico.

No espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C , associado ao subespectro DEPT-135 (Figura 40, página 56), observam-se quatro novos sinais em δ 120,8, δ 125,9, δ 141,2 e δ 147,1, referentes aos carbonos C13, C14, C12 e C15, respectivamente. Como os carbonos C15 e C12 não estão ligados diretamente a átomos hidrogênio, seus sinais não aparecem no subespectro DEPT-135.

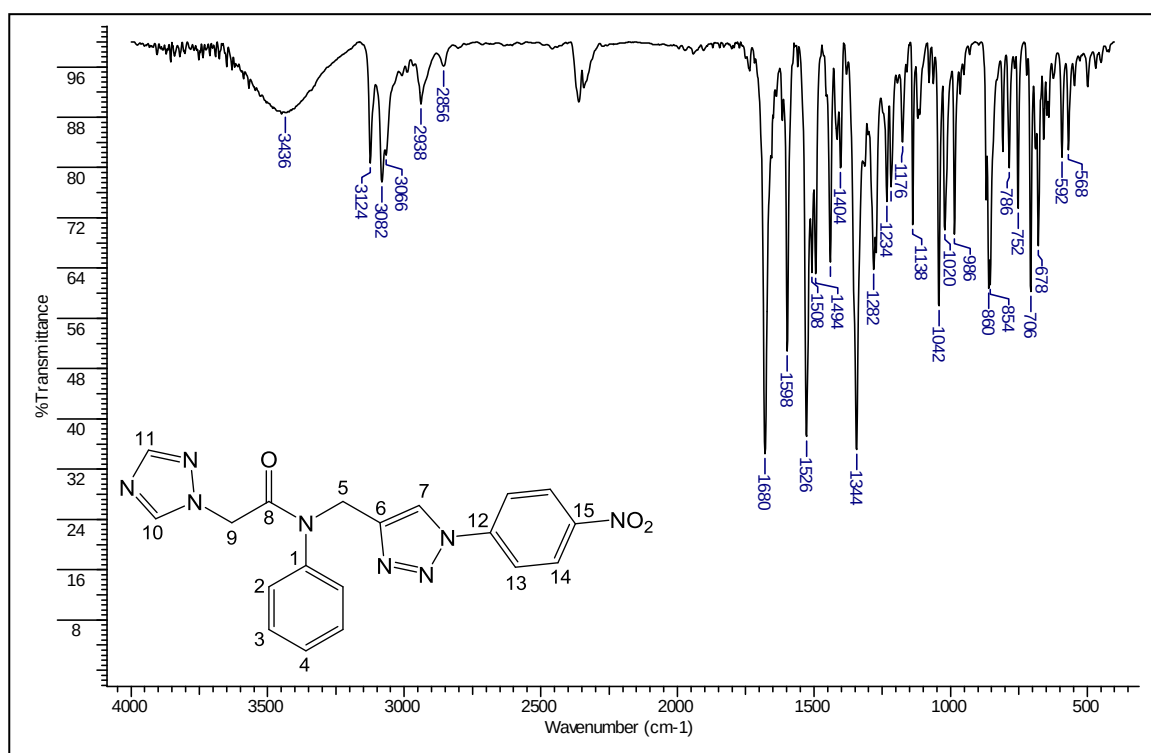


Figura 38: Espectro na região do infravermelho composto (**4**) (KBr).

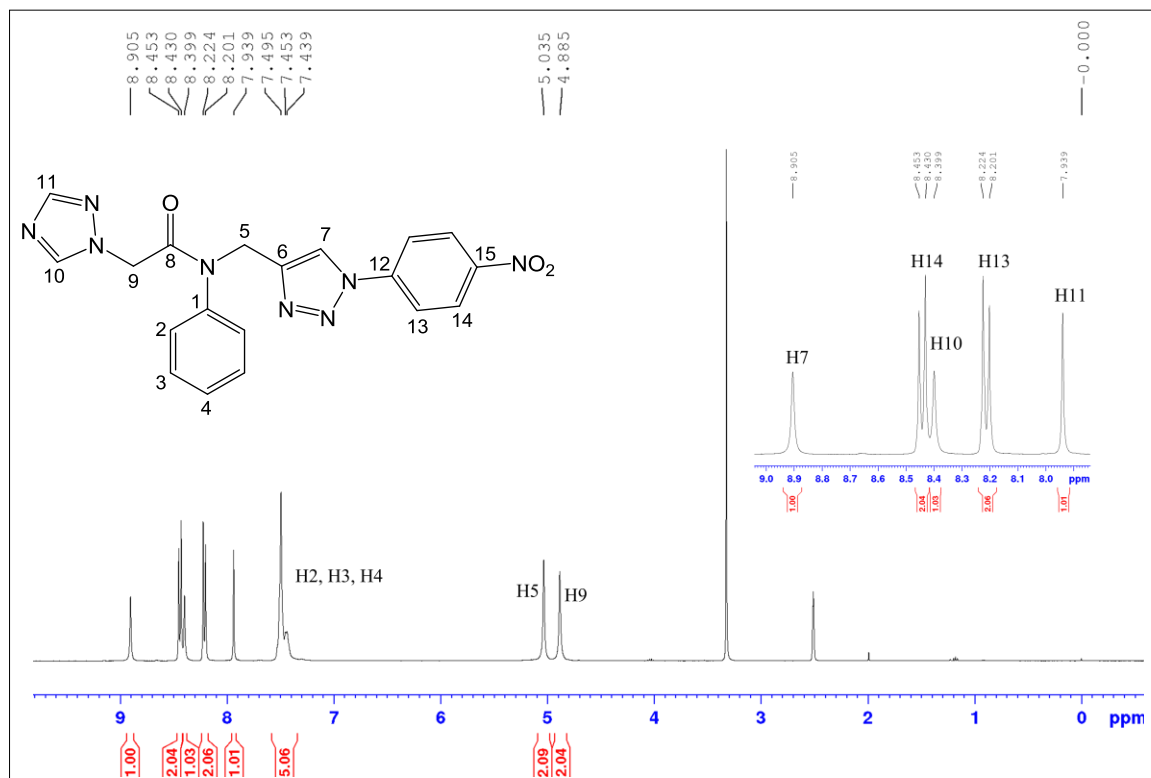


Figura 39: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (4).

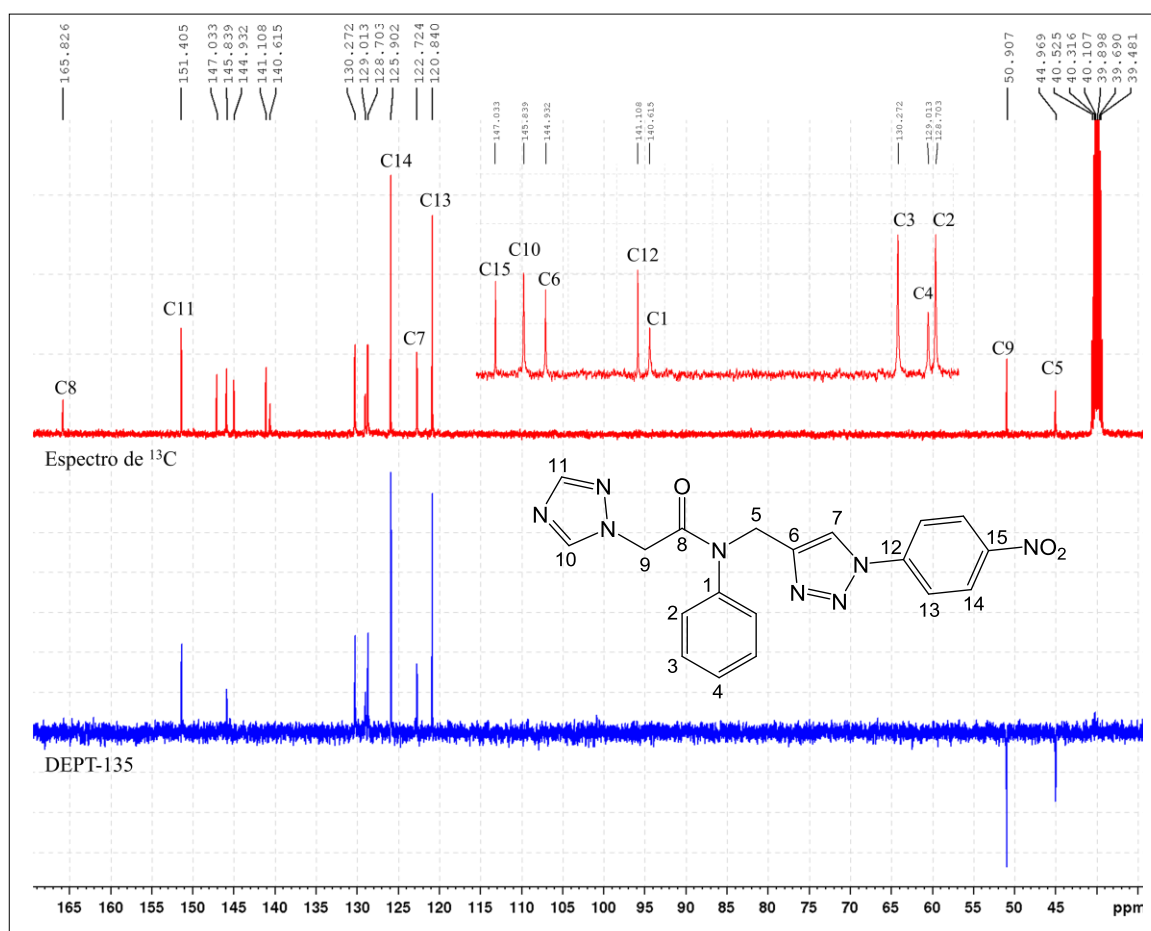


Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C e DEPT-135 (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (4).

Síntese de *N*-((1-(4-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-fenil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (5)

O composto 5 foi obtido a partir de uma reação de redução entre o composto 4 e hidrazina, na presença de Pd/C.

A hidrazina sofre decomposição na superfície do paládio fornecendo hidrogênio para a reação de redução. O paládio atua como catalisador da reação, reduzindo a energia de ativação da mesma.

A caracterização do composto 5 foi feita por espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear.

No espectro na região do infravermelho (Figura 41) é possível observar as bandas em 3352 cm^{-1} e 3448 cm^{-1} , referentes à deformação axial simétrica e assimétrica da ligação N-H do grupo NH_2 . Não são verificadas as bandas em 1344 cm^{-1} e 1526 cm^{-1} , referentes à deformação axial simétrica e assimétrica do grupo NO_2 .

Comparando-se o espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H do composto 5 (figura 42, página 58) com o espectro do composto 4 é possível observar um novo sinal largo em $\delta 5,38$, referente aos hidrogênios do grupo NH_2 . Observa-se também, um deslocamento do sinal referente ao hidrogênio H14 de $\delta 8,44$ para $\delta 7,90$, devido à redução do grupo nitro para grupo amino. O grupo amino, diferentemente do grupo nitro, é um bom doador de elétrons para o anel aromático, deixando o H14 mais blindado.

O espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C (Figura 43, página 58) do composto 5 apresentou uma similaridade com o espectro de ^{13}C do composto 4.

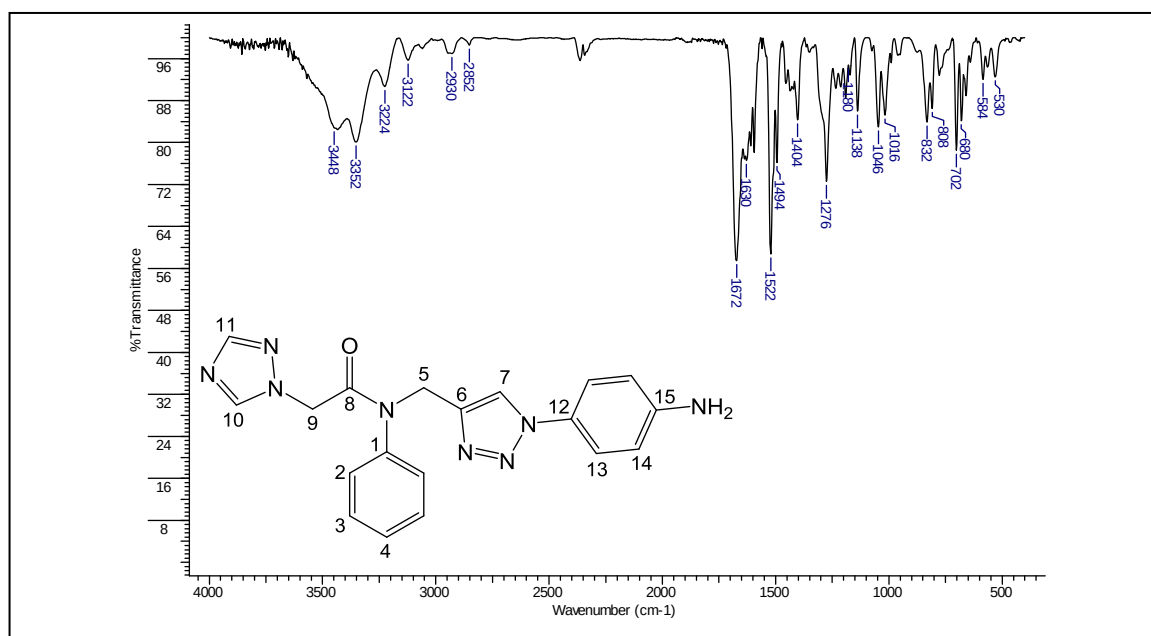


Figura 41: Espectro na região do infravermelho do composto (5) (KBr).

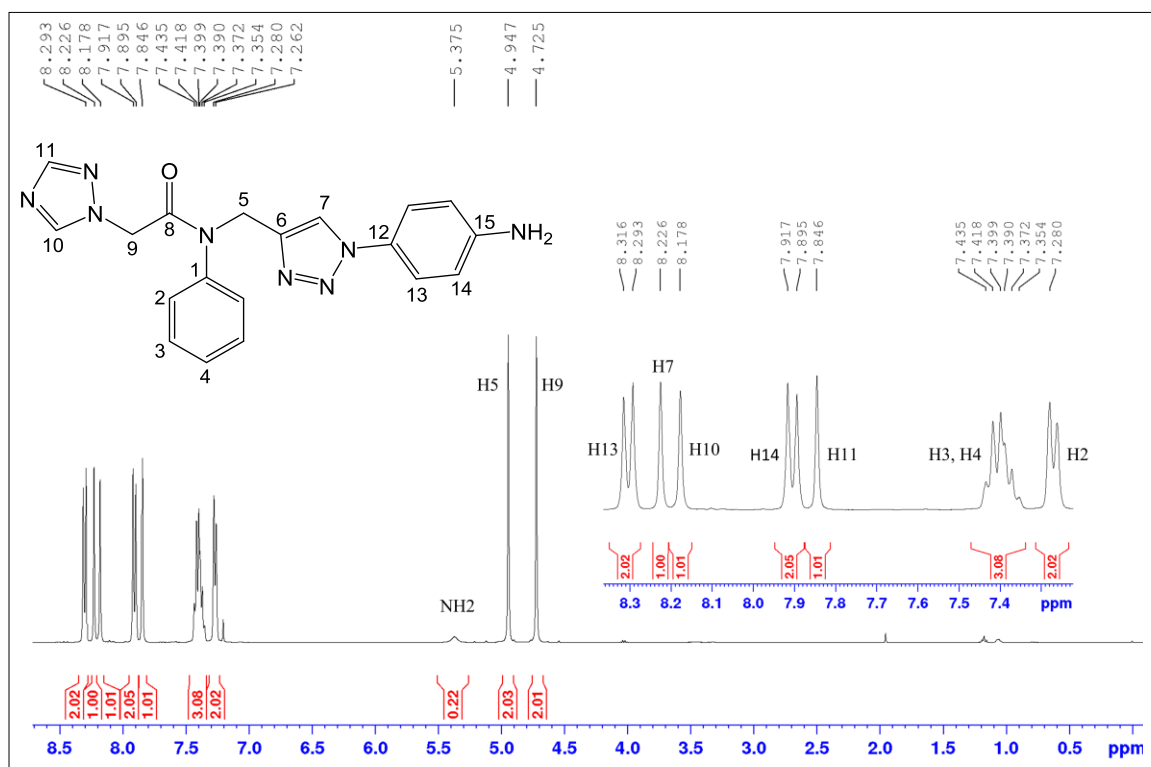


Figura 42: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) em CDCl₃ do composto (5).

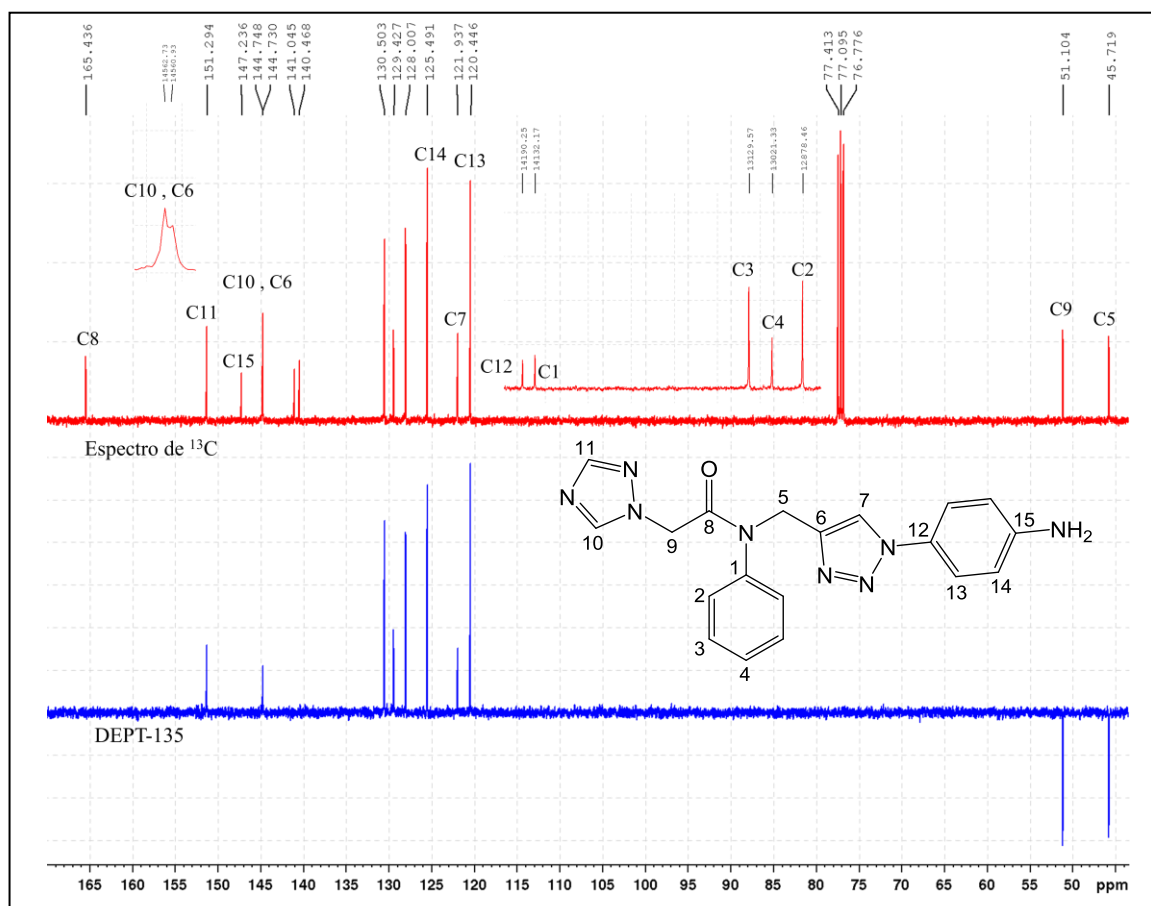


Figura 43: Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) em CDCl₃ do composto (5).

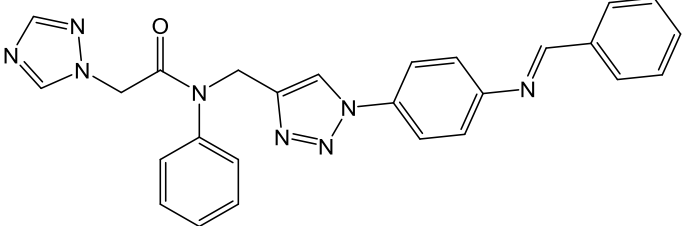
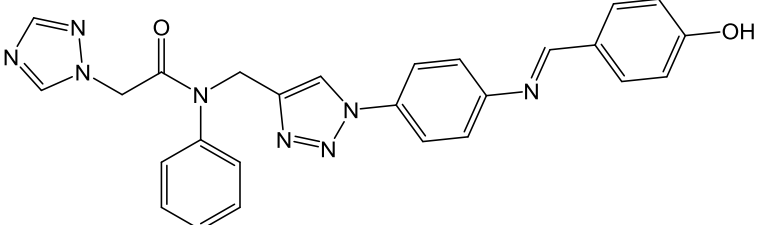
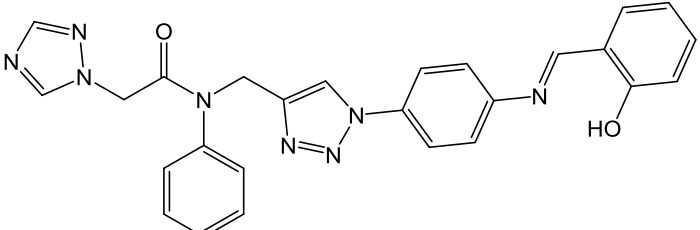
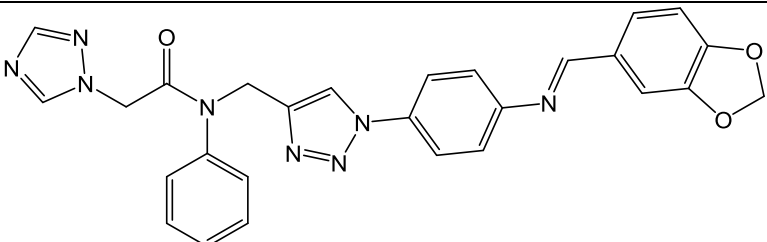
	(12)
	(13)
	(14)
	(15)

Tabela 1: Estruturas dos derivados triazólicos **6-15**.

Síntese de *N*-((1-(4-(((1*E*,2*E*)-3-(4-nitrofenil)alilideno)amino)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-fenil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida(6)

O composto **6** foi obtido pela reação de adição nucleofílica entre o composto **5** (amina aromática primária) e o *E*-3-(4-nitrofenil)acrilaldeído, em um reator de micro-ondas.

O mecanismo proposto para essa reação (Figura 44) tem início quando a amina é adicionada ao grupo carbonila do aldeído levando a formação de um intermediário dipolar. Em seguida, ocorre uma transferência intermolecular de próton do nitrogênio para o oxigênio produzindo um aminoálcool. O aminoálcool perde uma molécula de água, formando o composto **6**.

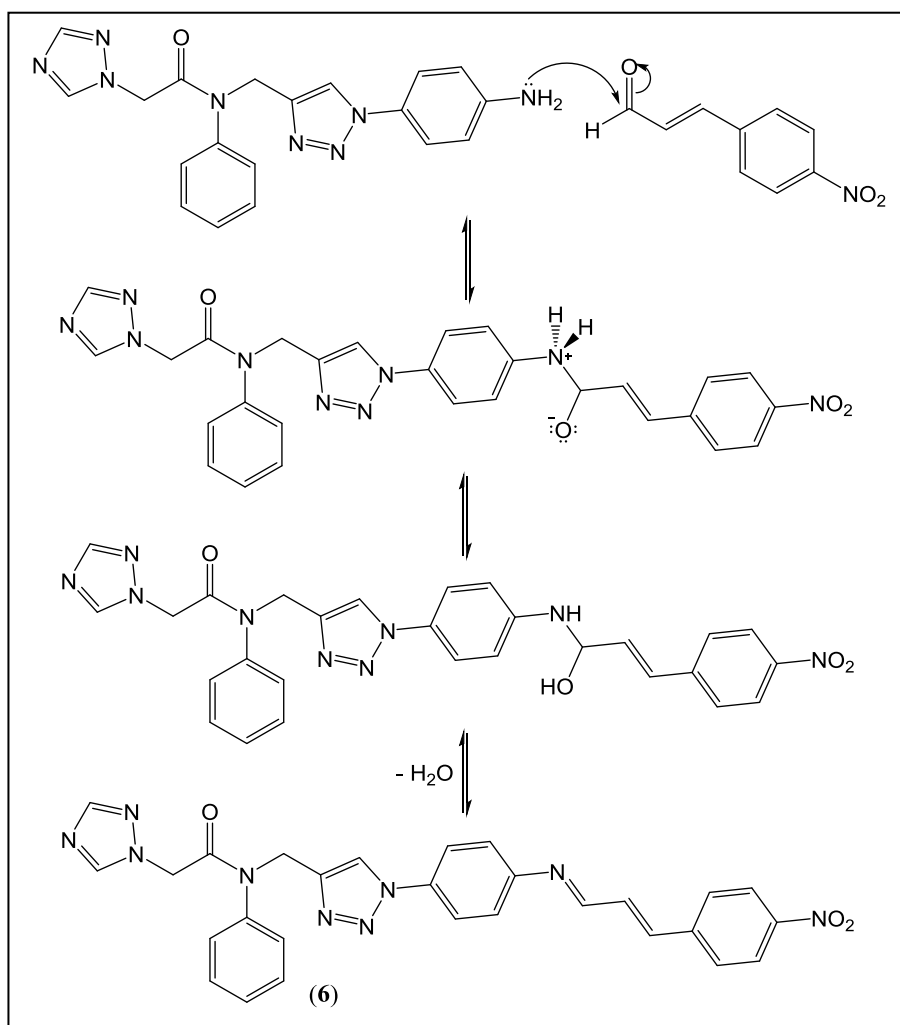


Figura 44: Mecanismo proposto para a formação do composto (**6**).

A caracterização do composto **6** foi feita por espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear de ^1H , COSY, ^{13}C , DEPT-135, HSQC, HMBC e difração de raios-X (DRXM).

No espectro na região do infravermelho (Figura 45, página 63) não são verificadas as bandas em 3352 cm^{-1} e 3448 cm^{-1} , referentes à deformação axial simétrica e assimétrica da ligação N-H do grupo NH_2 . Observam-se também, as bandas em 1341 cm^{-1} e 1509 cm^{-1} , referentes à deformação axial simétrica e assimétrica da ligação N=O do grupo NO_2 .

No espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H (Figura 46, página 64) observam-se cinco novos sinais referentes aos hidrogênios H16, H17, H18, H20 e H21. O sinal duplete, integrado para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H16 do grupo imina é observado em δ 8,53 ($^3J_{\text{H16-H17}} = 8,8\text{ Hz}$). O duplete duplo, integrado para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H17 é observado em δ 7,38 ($^3J_{\text{H17-H16}} = 8,4\text{ Hz}$ e $^3J_{\text{H17-H18}} = 16,00\text{ Hz}$). O duplete, integrado para um hidrogênio, referente ao hidrogênio H18 é observado em δ 7,53 ($^3J_{\text{H18-H17}} = 16,0\text{ Hz}$). Na região aromática, os sinais referentes aos hidrogênios H20 e H21 são observados em δ 7,96 ($^3J_{\text{H20-H21}} = 8,4\text{ Hz}$) e 8,26 ($^3J_{\text{H21-H20}} = 8,4\text{ Hz}$), respectivamente. O deslocamento químico do hidrogênio H21 apresentou maior valor de frequência em comparação com o hidrogênio H20. Isso se deve ao fato do hidrogênio H21 encontrar-se em uma posição orto em relação ao grupo nitro, que é um ambiente químico mais desblindado.

No mapa de correlações COSY (Figura 47, página 64) observa-se a correlação entre o duplete duplo de H17 ($^3J_{\text{H17-H16}} = 8,4\text{ Hz}$) e o duplete de H16 ($^3J_{\text{H17-H16}} = 8,4\text{ Hz}$) em δ 7,38 e δ 8,52. Observa-se também, a correlação entre o duplete duplo de H17 ($^3J_{\text{H17-H18}} = 16,0\text{ Hz}$) e o duplete do H18 ($^3J_{\text{H17-H18}} = 16,0\text{ Hz}$) em δ 7,38 e δ 7,53. Outra correlação entre o H20 ($^3J_{\text{H20-H21}} = 8,40\text{ Hz}$) e o H21 ($^3J_{\text{H21-H20}} = 8,40\text{ Hz}$), é observada em δ 7,96 e δ 8,26.

No espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C (Figura 48, página 65) observam-se sete novos sinais em δ 162,4, δ 132,1, δ 142,1, δ 141,7, δ 128,6, δ 124,0 e δ 147,4, referentes aos carbonos C16, C17, C18, C19, C20, C21 e C22, respectivamente. Os sinais referentes aos carbonos C19 e C22 não foram observados no subespectro DEPT-135 (Figura 46, página 63), por não estarem ligados diretamente a átomos de hidrogênio. A confirmação dessas atribuições foi realizada por meio do mapa de correlações HMBC.

Após a atribuição de todos os sinais dos hidrogênios, utilizou-se o mapa de correlações HSQC (Figuras 49 e 50, páginas 65 e 66) para atribuir os sinais referentes aos carbonos C17, C18, C20 e C21, aos quais esses hidrogênios encontram-se ligados (acoplamento ^1J). Dessa forma, o duplete de H16 apresenta uma correlação com o sinal em δ 162,5. O duplete duplo de H17 apresenta uma correlação com o sinal em δ 132,1. O duplete do H18 apresenta correlação com o sinal em δ 142,1. O duplete do H20 apresenta correlação com o sinal em δ 123,9 e, por último, o sinal do H21 apresenta correlação com o sinal em δ 128,3.

Os sinais dos carbonos C19 e C22 foram confirmados pelo mapa de correlações HMBC (Figura 51, página 66). Como esses carbonos não estão ligados diretamente a átomos de hidrogênio, obtêm-se correlações indiretas com hidrogênios próximos (acoplamentos ^2J e ^3J). O sinal do carbono C19 em δ 141,7 apresenta correlação ^3J com o hidrogênio H21 em δ 8,26, ^2J com o hidrogênio H20 em δ 7,97, ^2J com o hidrogênio H18 em δ 7,53 e ^3J com o hidrogênio H17 em δ 7,38. O sinal do carbono C22 em δ 145,4 apresenta correlação ^3J com o hidrogênio H20 em δ 7,97 e ^2J com o hidrogênio H21 em δ 8,26.

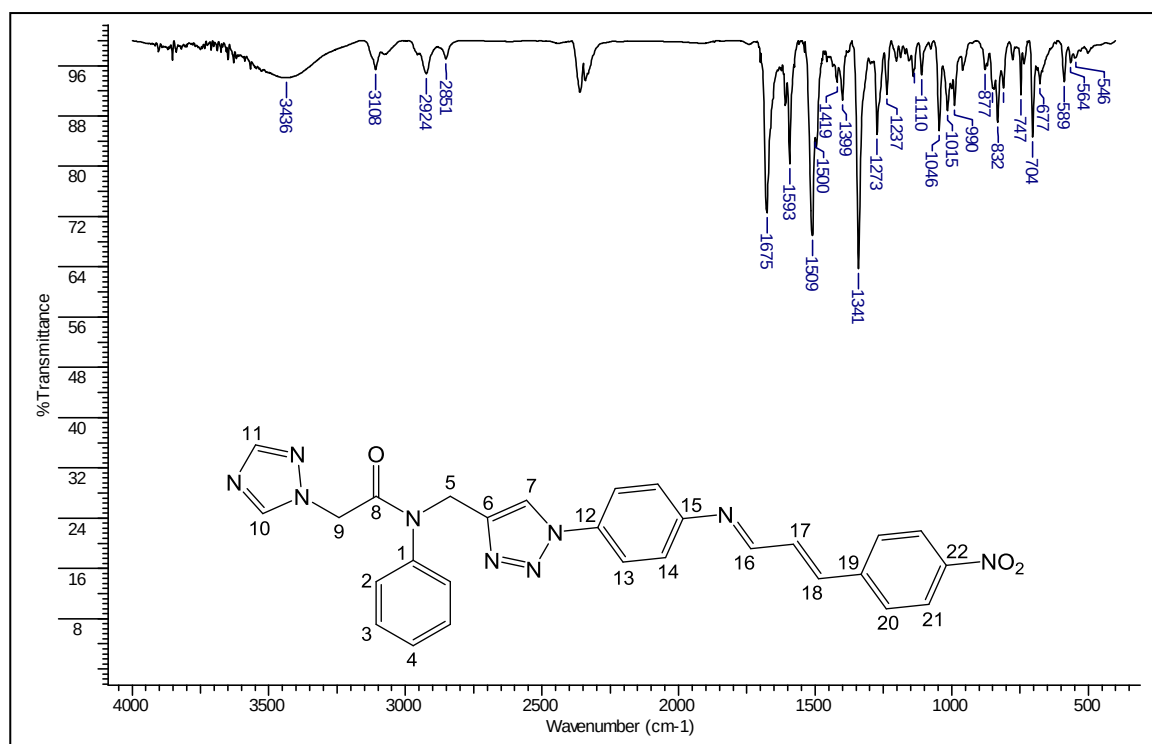


Figura 45: Espectro na região do infravermelho do composto (6) (KBr).

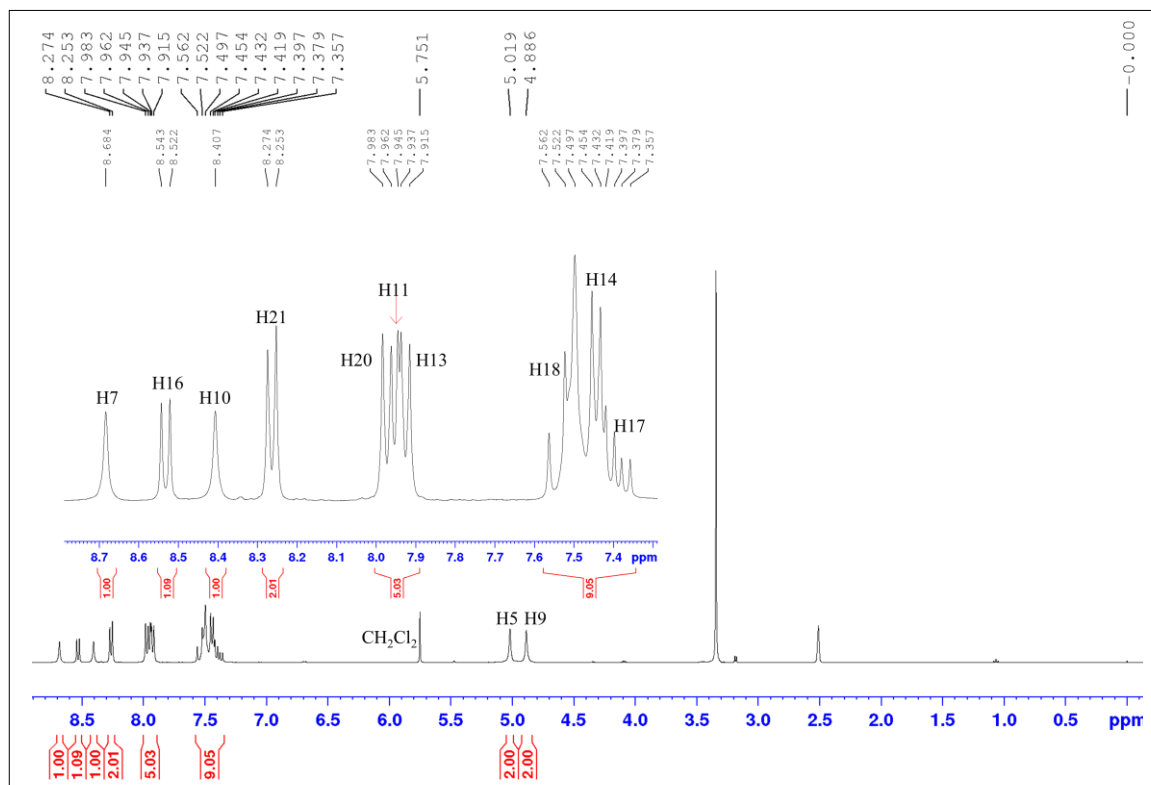


Figura 46: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (6).

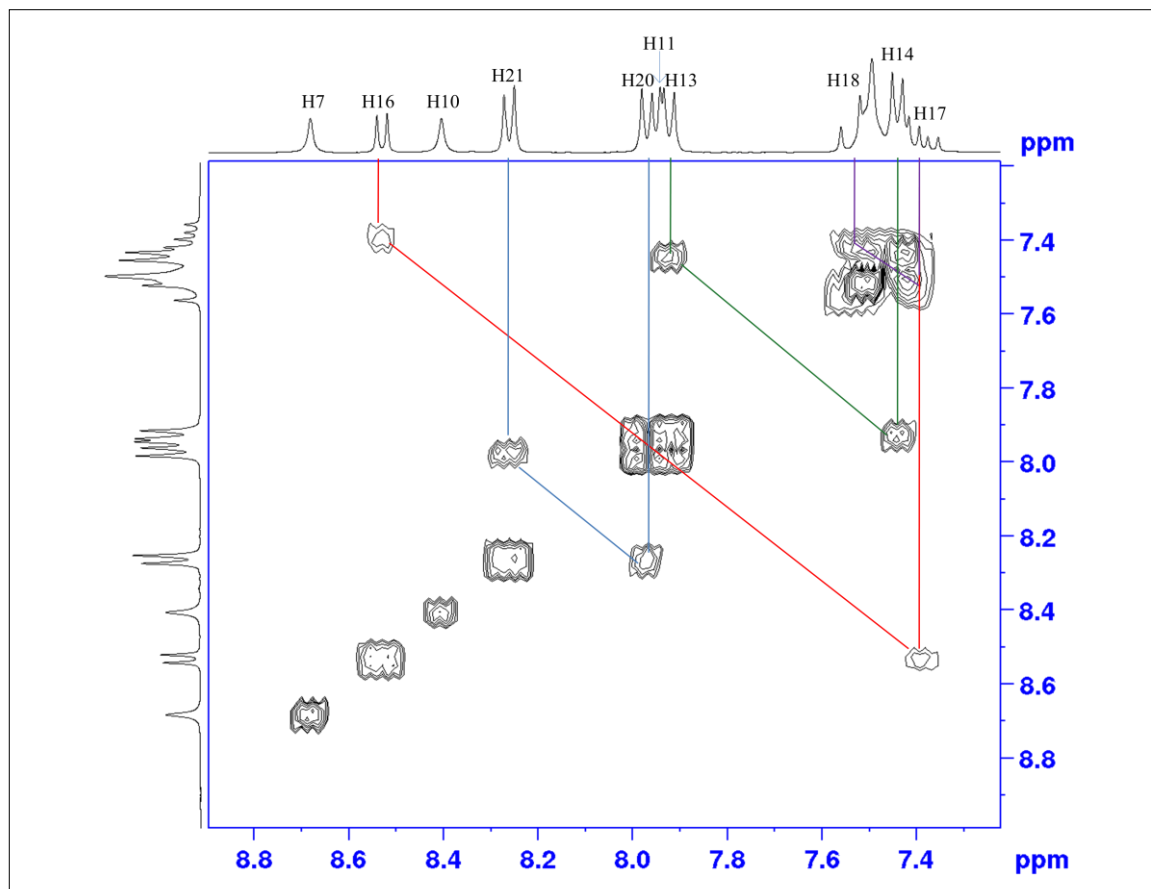


Figura 47: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (6).

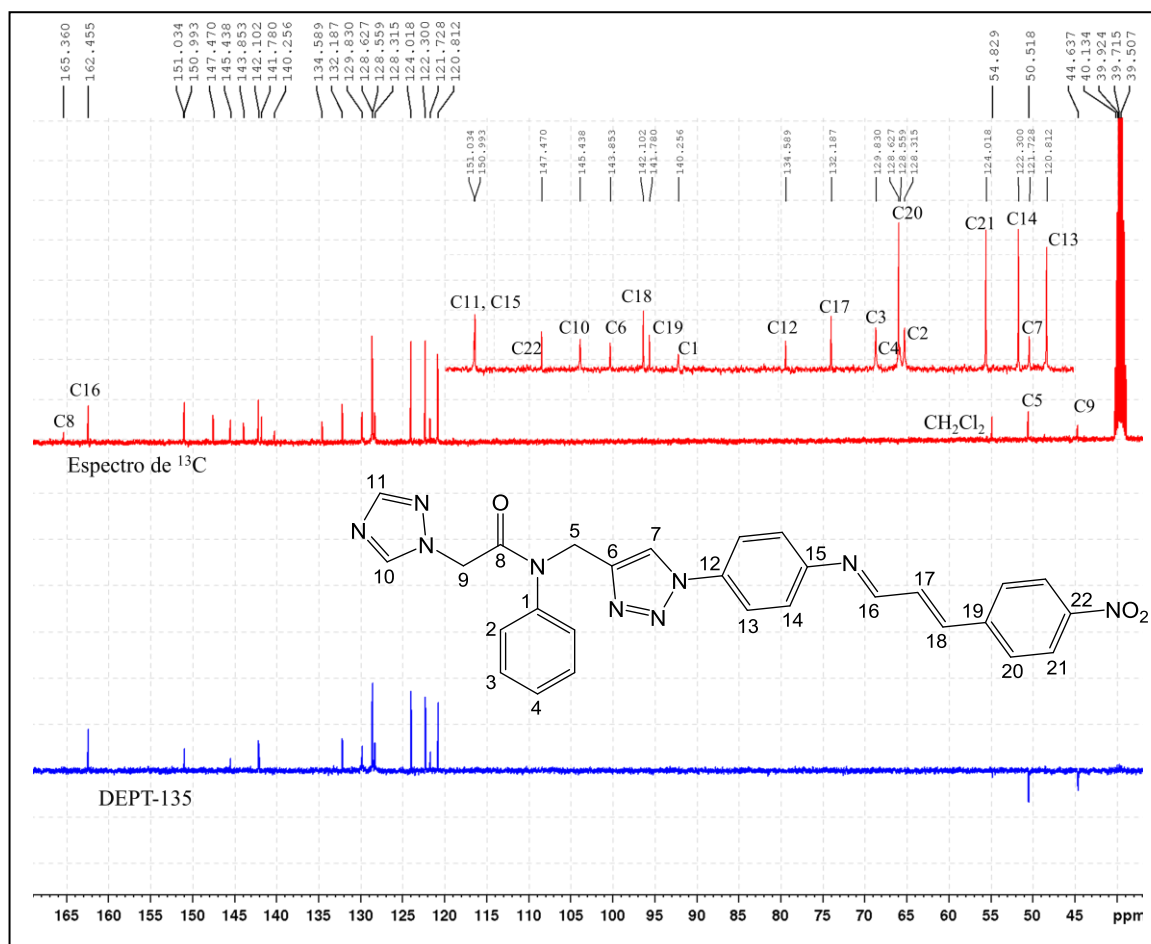


Figura 48: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (6).

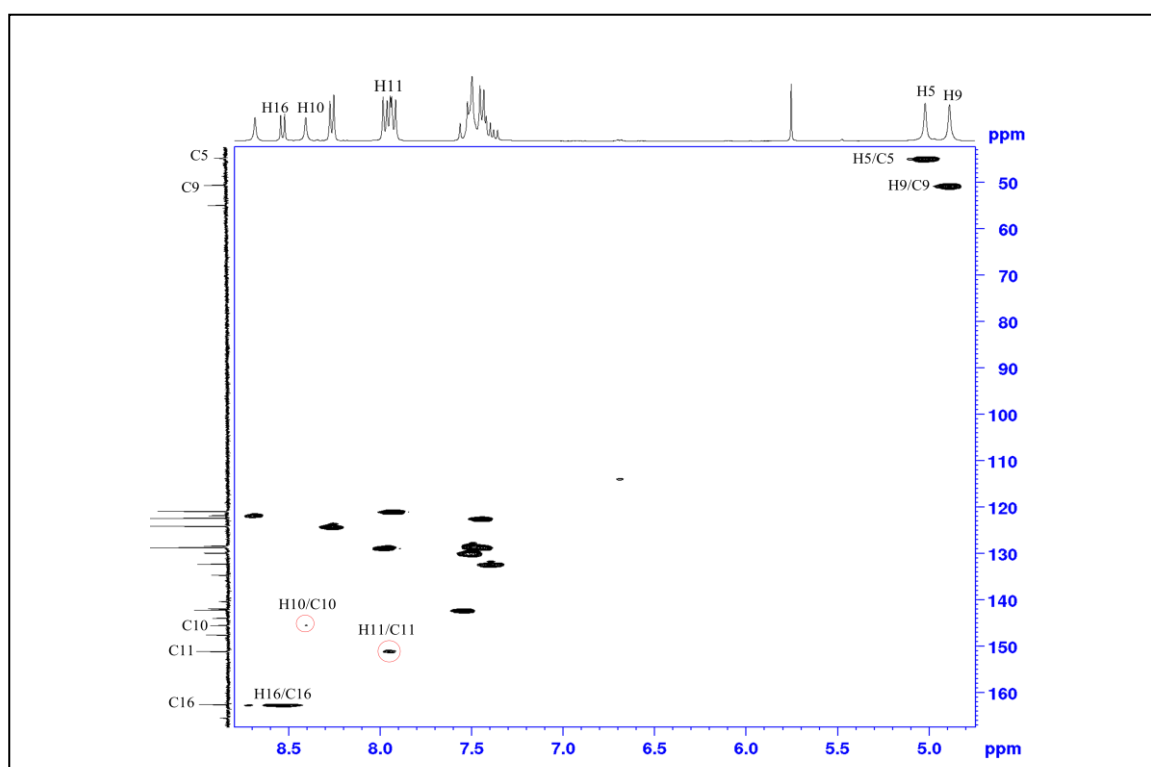


Figura 49: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (6).

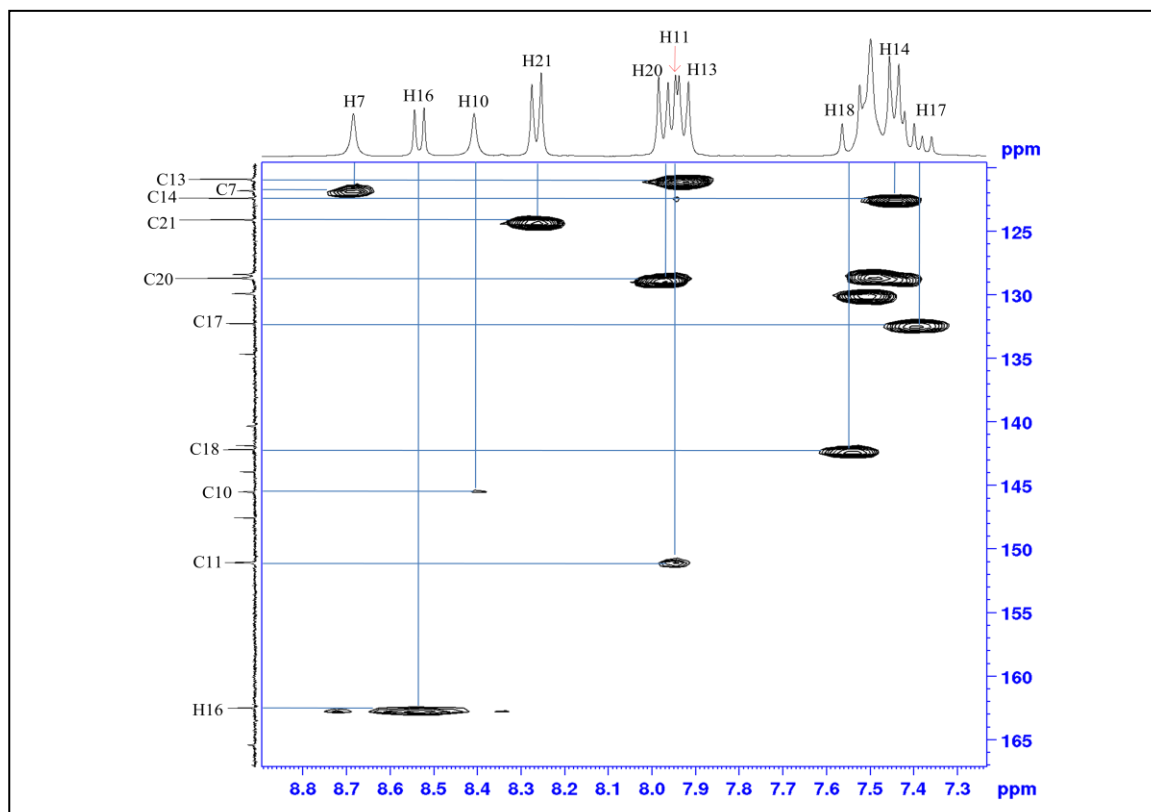


Figura 50: Ampliação da região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (6).

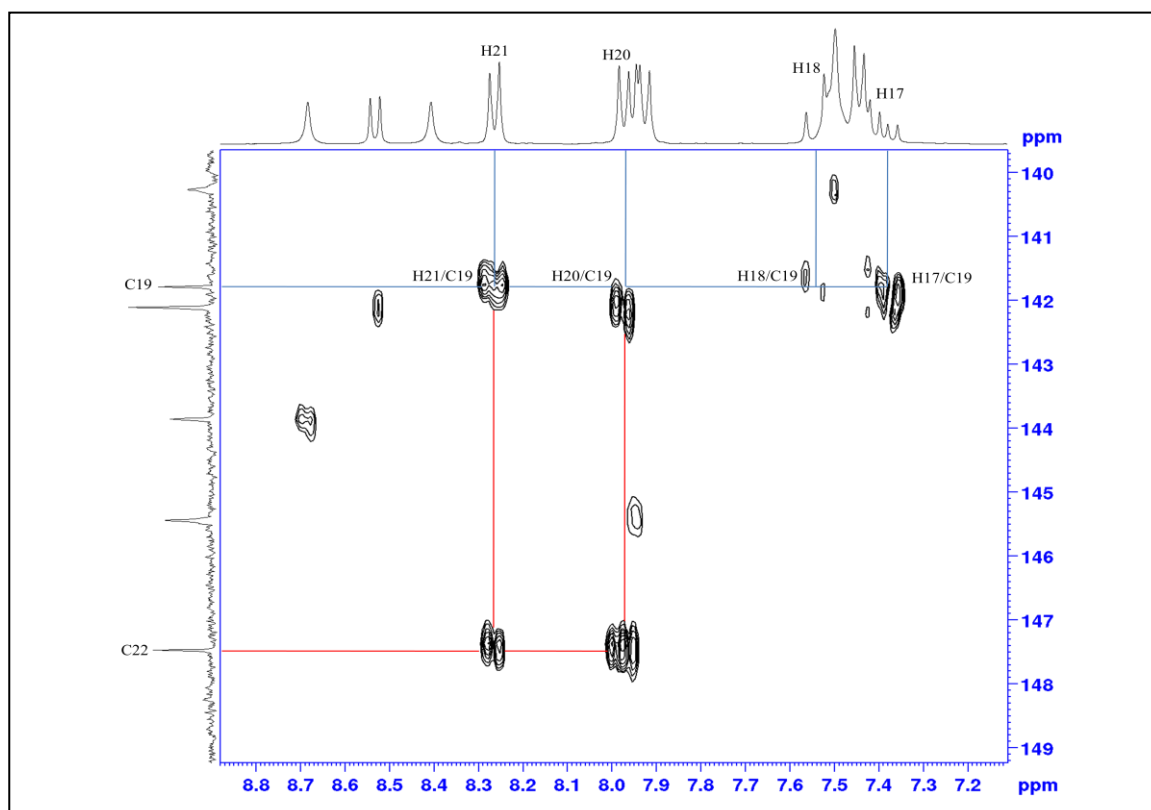


Figura 51: Mapa de correlações HMBC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (6).

A estrutura do composto **6** foi confirmada por análise de difração de raios X de monocristal (Figura 52). Na análise de difração de raios X, o cristal foi selecionado e os parâmetros de cela unitária reduzida foram coletados (Tabela 2, página 68). Uma vez determinada a cela unitária reduzida, é conhecido o sistema cristalino. Posteriormente, programa-se a coleta de dados das intensidades varrendo unicamente a parte assimétrica da rede recíproca. Desse modo, a determinação da estrutura cristalina depende das informações nessas intensidades observadas, após os procedimentos de integração e redução dos dados. A resolução e o refinamento das estruturas são feitos utilizando-se programas específicos citados no procedimento. As dimensões de cela unitária foram determinadas usando 10554 reflexões, obtidas em um intervalo de $1,39^{\circ} < \theta < 25,242^{\circ}$, sendo inteiramente refinados pelo método dos mínimos quadrados. As reflexões foram medidas com intervalos de índices no intervalo de $-9 < h < +9$, $-13 < k < +13$, $-18 < l < +18$ e $\theta_{\text{máx}} = 98,7$. Foi coletado um total de 10554 reflexões das quais 4747 são independentes por simetria e 1812 possuíam intensidades maiores que duas vezes o seu desvio padrão ($I > 2\sigma(I)$). O composto cristaliza em um sistema triclínico de grupo espacial *P*-1, tendo os parâmetros de rede $a = 8,0870(16)$, $b = 11,453(3)$, $c = 15,113(4)$ e $V = 1306,2 \text{ \AA}^3$. Para $Z = 2$, isto é, duas molécula por cela unitária, o cálculo da densidade resultou em um valor de $1,357 \text{ g/cm}^3$.

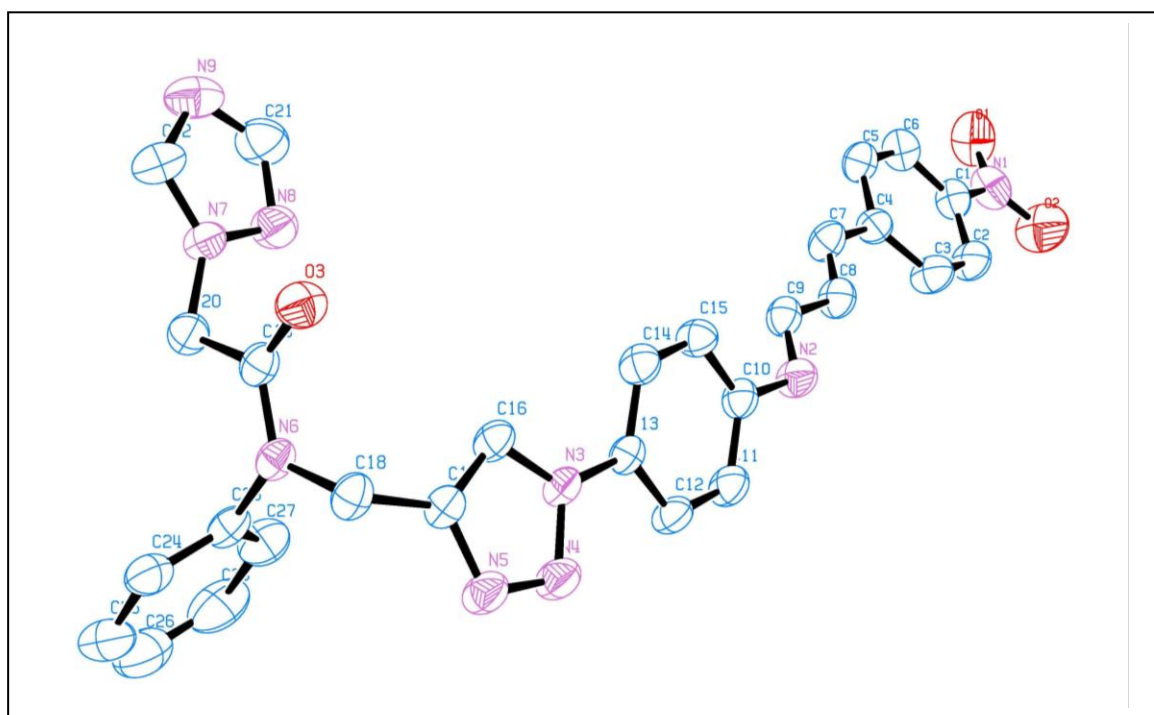


Figura 52: Representação ORTEP-3 da unidade assimétrica cristalográfica do composto **6**. Átomos não hidrogenóides são representados pelos respectivos elipsóides a uma probabilidade de 30%. Átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da figura.

A distância da ligação simples entre C(10)-N(2) é de 1,417 Å e da ligação dupla entre C(9)-N(2) é de 1,254 Å. Os ângulos intramoleculares, com os respectivos desvios padrão entre parênteses, são de 121,3⁰(4) para C(9)-N(2)-C(10), 119⁰ para N(2)-C(9)-H(9) e 119⁰ para N(2)-C(9)-C(8). Com esses valores de ângulos de ligações, é possível confirmar a configuração (*E*) do grupo imina.

Composto		(6)
Fórmula mínima		C ₂₈ H ₂₃ N ₉ O ₃
Massa da fórmula mínima (g/mol)		533,55
Sistema cristalino		Triclínico
Grupo espacial		P-1
Z / Z'		2/1
Temperatura (K)/λ (Å)		298(2)/ 0.71073
Dimensões da cela unitária	a (Å)	8.0870(16)
	b (Å)	11.453(3)
	c (Å)	15.113(4)
	α (°)	97.210(17)
	β (°)	99.509(15)
	γ (°)	105.873(16)
Volume da cela unitária (Å ³)		1306.2(5)
Densidade calculada (g/cm ³)		1,357
Coeficiente de absorção μ (mm ⁻¹)		0,093
Intervalo em θ(°)		1,39 – 25,242
Intervalo dos índices	h	-9 a 9
	k	-13 a 13
	l	-18 a 18
Reflexões coletadas		10554
Reflexões independentes		4747
Índice de simetria (R _{int})		0,0538
Completeza até θ _{máx} (%)		98,7
F ₀₀₀		556
Parâmetros refinados		361
Qualidade do ajuste sobre F ²		0,931
Índice residual para I>2σ(I)		R1 = 0,0700
Índice residual para todos os dados		wR2 = 0,2676
Δρ _{máx} / Δρ _{mín} (e/Å ³)		0,247 / -0,290

Tabela 2: Constantes de cela e determinação estrutural por DRXM do composto (6).

4.2-Ensaio biológicos

4.2.1-Atividade anti-*T. cruzi*

Determinação de atividade antiparasitária e ensaios de citotoxicidade

O ensaio de viabilidade celular permite verificar os compostos que possuem efeitos na proliferação ou efeitos tóxicos que podem levar essas células à morte.⁷⁰ Para determinar a viabilidade celular de *T. cruzi* quando submetido ao tratamento com os compostos **3-15**, foi realizado o ensaio de redução MTT. Esse método mede a atividade mitocondrial das células viáveis em converterem o reagente MTT em formazan, de coloração roxa. As células mortas não são capazes de metabolizar o MTT. Dessa forma, a coloração roxa é quantificada por colorimetria, permitindo a determinação da viabilidade celular.

Como parâmetro final de avaliação, determina-se a concentração da substância-teste capaz de inibir 50% do crescimento celular.

Na tabela 3 são apresentados os valores de % de inibição de crescimento de *T. cruzi* frente aos compostos **3-15**, nas concentrações de 50 µM e 100 µM.

<i>Trypanosoma cruzi</i> (epimastigotas) EC50+/-S.D. (µM)		
	100 µM	50 µM
Composto		
3	*	*
4	x (18,4%inibição)	*
5	*	*
6	x (38,3% inibição)	x (39,5% inibição)
7	*	*
8	x (26,3% inibição)	x (15,1% inibição)
9	*	*
10	x (38,5% inibição)	x (35,3% inibição)
11	*	*
12	*	*
13	*	*
14	x (20,3%inibição)	*
15	x (16,4%inibição)	*

Tabela 3: Viabilidade celular do *T. cruzi* frente aos compostos **3-15**. * = Sem efeito.

Todos os compostos apresentaram inibição inferior a 50%. O composto **6** teve o melhor resultado, apresentando inibição de 39,5% na concentração de 50 µM.

Surpreendentemente, o composto que apresenta o anel nitrofurano, mostrou-se inativo contra as cepas Y do protozoário *T. cruzi*. Já o composto que apresenta apenas o anel furano, apresentou atividade inibindo 38,5% do crescimento do parasita na concentração de 100 µM.

4.2.2-Atividade antifúngica

4.2.2.1-Determinação da concentração CIM e CFM

A concentração inibitória mínima (CIM) é a menor concentração de um agente antifúngico capaz de inibir 100% do crescimento do organismo visualmente detectado, em relação ao controle livre de fármacos (CLSI, 2008).⁷⁰ Após a leitura da CIM, determinou-se a concentração fungicida mínima (CFM). Foram retirados 10 µL dos poços nos quais não houve crescimento visual, dispensados em meio Agar Sabourond Dextrose e incubados a 37 °C. Dessa forma, havendo crescimento após o período de incubação, o efeito do agente é fungistático, caso contrário, o efeito é fungicida. A CFM é a menor concentração do agente antifúngico em que não foi observado crescimento após o período de incubação.

Valores CIM de referência para *Cryptococcus* spp, *Candida* e *Aspergillus* conforme o antifúngico (CLSI, 2008)⁶³:

- Anfotericina-B = 0,5-1,0 µg/mL ou 0,00054-0,001mM;
- Fluconazol ≤ 8 µg/mL ou ≤ 0,026 mM;
- Fluorocitosina ≤ 4 µg/mL ou ≤ 0,030 mM;
- Itraconazol ≤ 0,125 µg/mL ou ≤ 0,00017 mM.

Valores CIM de referência para *Microsporium* e *Trichophyton* conforme antifúngico:

- Anfotericina-B = 0,5-2,0 µg/mL ou 0,00054-0,0021mM;
- Cetoconazol = 0,0313-16 µg/mL ou 0,000058-0,030 mM;
- Itraconazol = 0,0313-16 µg/mL ou 0,000042-0,0226 mM.

A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) para linhagens de *Cryptococcus* spp, *Candiada* spp, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Thichophyton rubrum* frente aos compostos **3-15** foi determinada. Somente os compostos **6, 7 e 9** apresentaram atividade na faixa de concentração testada. O resultado é apresentado na tabela 4, página 71.

Linhagem	MIC µg/ml (mM)			CFM µg/ml (mM)		
	9	6	7	9	6	7
<i>Cryptococcus neoformans</i> (H99)	32 (0,064)	64 (0,120)	>128	32 (0,064)	64 (0,120)	-
<i>C. gattii</i> (L27)	64 (0,128)	64 (0,120)	>128	64 (0,128)	64 (0,120)	-
<i>C. gattii</i> (R265)	64 (0,128)	128 (0,240)	>128	64 (0,128)	128 (0,240)	-
<i>Candida albicans</i>	128 (0,256)	128 (0,240)	>128	128 (0,256)	128 (0,240)	-
<i>Candida krusei</i>	128 (0,256)	128 (0,240)	>128	128 (0,256)	128 (0,240)	-
<i>Candida glabrata</i>	64 (0,128)	128 (0,240)	>128	128 (0,256)	128 (0,240)	-
<i>Microsporium gypseum</i>	64 (0,128)	32 (0,060)	128 (0,262)	128 (0,256)	32 (0,060)	128 (0,262)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	128 (0,256)	128 (0,240)	128(0,262)	128 (0,256)	128 (0,240)	128 (0,262)
<i>Trichophyton rubrum</i>	64 (0,128)	32 (0,060)	64 (0,131)	64 (0,128)	64 (0,120)	64 (0,131)

Tabela 4: Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração fungicida mínima (CFM) para linhagens de *Cryptococcus* spp, *Candida* spp, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum* frente ao composto **6**, **7** e **9**.

Apesar dos compostos **6**, **7** e **9** apresentarem atividade antifúngica, os valores da concentração inibitória (CIM) são superiores aos normalmente encontrados para os antifúngicos classicamente utilizados.

O composto **6** apresentou maior atividade frente aos dermatófitos *Microsporium gypseum* e *Trichophyton rubrum*. A CIM frente ao *Microsporium gypseum* é igual a 32 µg/mL e a CFM igual a 32 µg/mL. A CIM frente ao *Trichophyton rubrum* é igual a 32 µg/mL e a CFM igual a 64 µg/mL. A CFM do composto **6** frente ao *Microsporium gypseum* apresentou o mesmo valor da CIM, indicando um efeito fungicida na concentração de 32 µg/mL. A CFM do composto **6** frente ao *Trichophyton rubrum* foi maior que a CIM, indicando um efeito fungistático na concentração de 32 µg/mL.

O composto **9** apresentou maior atividade frente ao *Cryptococcus neoformans* (H99), com a CIM igual a 32 µg/mL e a CFM igual a 32 µg/mL.

O composto **7** apresentou maior atividade frente ao *Trichophyton rubrum*, com a CIM igual a 64 µg/mL e a CFM igual a 64 µg/mL.

Comparando a atividade do composto **6** com o composto **7** e a atividade do composto **9** com o composto **10**, observa-se que os análogos nitrados apresentam melhores resultados frente às linhagens testadas.

Os fungos e os tripanossomídeos apresentam diferentes estruturas nas isoformas da CYP51.⁵² Dependendo da natureza e do tamanho do substituinte ligado ao sítio farmacofórico do azol, o efeito de inibição pode variar por causa das interações com a parte protéica da CYP51.⁸ Neste contexto, é provável que os análogos nitrados apresentam melhores interações com a cavidade protéica da CYP51. Uma hipótese a ser levantada, é a atuação desses nitrocompostos em outro alvo na célula atuando de forma sinérgica.

Fávero e colaboradores relataram a atividade antiparasitária e tripanocida de derivados nitrofurânicos e nitrobenzênicos.⁷⁵ A atividade biológica desses nitrocompostos está relacionada com o processo de biorredução enzimática do grupo nitro, gerando radicais livres, causando danos à célula pelo estresse oxidativo.⁷⁵

A formação intracelular de radicais oxidativos promove a peroxidação lipídica nas membranas celulares, resultando em danos às células e induzindo o aumento da atividade do sistema antioxidante. A degradação oxidativa dos lipídeos ocorre principalmente em ácidos graxos poliinsaturados, por serem bons doadores de elétrons aos radicais livres.

Neste contexto, para confirmar a participação do mecanismo de biorredução do grupo nitro dos compostos **6** e **9**, é necessário realizar alguns testes para quantificar a formação de espécies radicalares usando alguns parâmetros específicos. Dentre os parâmetros usados, destaca-se a quantificação de ergosterol, ensaios de peroxidação lipídica e a quantificação da atividade enzimática do sistema antioxidante.⁷⁶

4.2.2.2-Avaliação da suscetibilidade *in vitro* aos antifúngicos em combinação

Um método de microdiluição de “tabuleiro de xadrez”, que fornece uma matriz de todas as combinações possíveis dos antifúngicos na faixa de concentração necessária, foi usado para testar a suscetibilidade de linhagens de *Cryptococcus* spp, *Candida* spp, *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum* frente ao composto **6**, **7** e **9** em combinação com fluconazol, itraconazol e anfotericina.

A interação entre os compostos foi avaliada quantitativamente por meio da determinação do índice de concentração inibitória fracionada (CIF), baseando-se na seguinte fórmula:

$$\text{CIF} = [\text{CIM}_A \text{ em combinação}/\text{CIM}_A \text{ sozinha}] + [\text{CIM}_B \text{ em combinação}/\text{CIM}_B \text{ sozinha}]$$

A interação entre os compostos foi classificada como sinergismo se $CIF \leq 0,5$, indiferente se $0,5 < CIF \leq 4$ e antagonismo se $CIF > 4$. O resultado é apresentado nas tabelas 5, 6 e 7.

Linhagem	MIC µg/mL (mM)		Média CIF	Interação	MIC µg/mL (mM)		Média CIF	Interação
	9	ANFO			9	FLUCO		
<i>Cryptococcus neoformans</i> (H99)	32 (0,064)	0,25 (0,0002)	0,60	IND	32 (0,064)	4 (0,013)	1,79	IND
<i>C. gattii</i> (L27)	32 (0,064)	0,25 (0,0002)	1,164	IND	32 (0,064)	4 (0,013)	2,19	IND
<i>C. gattii</i> (R265)	32 (0,064)	0,25 (0,0002)	1,16	IND	32 (0,064)	4 (0,013)	4,19	ANT
<i>Candida albicans</i>	128 (0,256)	0,25 (0,0002)	1,16	IND	128	2 (0,0065)	0,99	IND
<i>Candida krusei</i>	128 (0,256)	1 (0,0008)	1,03	IND	128	4 (0,013)	0,91	IND
<i>Candida glabrata</i>	128 (0,256)	1 (0,0008)	0,87	IND	64	2 (0,0065)	1,16	IND
Linhagem	MIC µg/mL (mM)		Média CIF	Interação	MIC µg/mL (mM)		Média CIF	Interação
	9	ANFO			9	ITRA		
<i>Microsporum gypseum</i>	64 (0,128)	1 (0,0008)	0,99	IND	64(0,128)	1 (0,0014)	0,99	IND
<i>Aspergillus fumigatus</i>	64 (0,128)	0,5 (0,0004)	2,14	IND	64(0,128)	0,5 (0,0007)	1,10	IND
<i>Trichophyton rubrum</i>	64 (0,128)	1 (0,0008)	1,16	IND	64(0,128)	1 (0,0014)	0,62	IND

Tabela 5: Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração inibitória fracionária (CIF) para linhagens de *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum* frente à interação de anfotericina, fluconazol e itraconazol com o composto **9**.

Linhagem	MIC µg/ml (mM)		Média CIF	Interação	MIC µg/ml (mM)		Média CIF	Interação
	6	ANFO			6	FLUCO		
<i>Cryptococcus neoformans</i> (H99)	64 (0,120)	0,25 (0,0002)	1,49	IND	32 (0,060)	4 (0,013)	4,23	ANT
<i>C. gattii</i> (L27)	64 (0,120)	0,25 (0,0002)	1,42	IND	32 (0,060)	4 (0,013)	4,23	ANT
<i>C. gattii</i> (R265)	128 (0,240)	0,25 (0,0002)	1,16	IND	32 (0,060)	4 (0,013)	6,23	ANT
<i>Candida albicans</i>	128 (0,240)	0,12 (0,0001)	2,06	IND	128 (0,240)	2 (0,0065)	1,42	IND
<i>Candida krusei</i>	128 (0,240)	0,25 (0,0002)	1,99	IND	128 (0,240)	4 (0,013)	1,07	IND
<i>Candida glabrata</i>	128 (0,240)	0,25 (0,0002)	1,07	IND	128 (0,240)	2 (0,0065)	1,57	IND
Linhagem	MIC µg/ml (mM)		Média CIF	Interação	MIC µg/ml (mM)		Média CIF	Interação
	6	ANFO			6	ITRA		
<i>Microsporum gypseum</i>	32 (0,060)	0,25 (0,0002)	1,08	IND	32 (0,060)	1(0,0014)	0,99	IND
<i>Aspergillus fumigatus</i>	64 (0,120)	0,25 (0,0002)	2,32	IND	64 (0,120)	1(0,0014)	0,54	IND
<i>Trichophyton rubrum</i>	32 (0,060)	0,25 (0,0002)	1,19	IND	32 (0,060)	1(0,0014)	0,89	IND

Tabela 6: Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração inibitória fracionária (CIF) para linhagens de *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum* frente à interação de anfotericina, fluconazol e itraconazol com o composto 6.

Linhagem	MIC µg/ml (mM)		Média CIF	Interação	MIC µg/ml (mM)		Média CIF	Interação
	7	ANFO			7	ITRA		
<i>Microsporumgypseum</i>	128 (0,240)	0,5 (0,0004)	0,99	IND	128 (0,240)	1 (0,0014)	1,48	IND
<i>Aspergillusfumigatus</i>	128 (0,240)	0,25 (0,0002)	1,99	IND	128 (0,240)	1 (0,0014)	0,58	IND
<i>Trichophytonrubrum</i>	64 (0,120)	0,25 (0,0002)	1,19	IND	64 (0,120)	1 (0,0014)	1,09	IND

Tabela 7: Concentração inibitória mínima (MIC) e Concentração inibitória fracionária (CIF) para linhagens de *Microsporum gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum* frente à interação de anfotericina e itraconazol com o composto 7.

Os compostos **6** e **9** apresentaram resultado de antagonismo para as linhagens de *Cryptococcus* spp., quando combinados com fluconazol. O composto **6** apresentou resultado de antagonismo para a linhagem de *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gatti* (L27) e *Cryptococcus gatti* (R265). Já o composto **9**, apresentou resultado de antagonismo apenas para a linhagem de *Cryptococcus gatti* (R265).

Todas as demais linhagens apresentaram resultado indiferente quando os compostos **6**, **7** e **9** foram combinados com fluconazol, itraconazol e anfotericina.

O resultado de antagonismo da combinação dos compostos **6** e **9** com fluconazol, pode ser um indicativo que esses compostos possuem o mesmo mecanismo de ação dos azóis, competindo pelo sítio ativo da CYP51. O mesmo não foi observado na combinação dos compostos **6** e **9** com a anfotericina, que apresenta mecanismo de ação diferente.

5-CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste trabalho, foram sintetizados dez novos derivados triazólicos com bons rendimentos. A síntese foi realizada em seis etapas, com rendimento global variando entre 44,8% e 55,7%.

A caracterização dos derivados triazólicos foi realizada por espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios-X por monocristal e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .

A atividade tripanocida dos derivados triazólicos **6-15** foi testada pelo ensaio de viabilidade celular nas concentrações de 50 e 100 μM . Todos os compostos apresentaram inibição inferior a 50%, sendo que o composto **6** teve o melhor resultado, apresentando inibição de 39,5% na concentração de 50 μM .

A atividade antifúngica dos derivados triazólicos **6-15** foi testada para linhagens de *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Microsporium gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum*. Somente os compostos **6**, **7** e **9** apresentaram atividade na faixa de concentração entre 4 a 128 $\mu\text{g/mL}$. O composto **6** apresentou maior atividade frente aos dermatófitos *Microsporium gypseum* (CIM = 32 $\mu\text{g/mL}$) e *Trichophyton rubrum* (CIM = 32 $\mu\text{g/mL}$). O composto **7** foi mais ativo frente ao *Trichophyton rubrum* (CIM = 64 $\mu\text{g/mL}$), já o composto **9** foi mais ativo frente ao *Cryptococcus neoformans* (H99) (CIM = 32 $\mu\text{g/mL}$).

A suscetibilidade para linhagens de *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Microsporium gypseum*, *Aspergillus fumigatus* e *Trichophyton rubrum* frente aos derivados triazólicos **6**, **7** e **9** em combinação com fluconazol, itraconazol e anfotericina foi testada. Os compostos **6** e **9**

apresentaram antagonismo para as linhagens de *Cryptococcus* spp., quando combinados com fluconazol. Esse antagonismo pode indicar uma competição entre esses derivados e o fluconazol pelo sítio ativo da enzima CYP51.

Apesar dos compostos **6**, **7** e **9** apresentarem atividade antifúngica, os valores CIM são superiores aos normalmente encontrados para os agentes antifúngicos de referência.

Como perspectiva para esse trabalho, pretende-se realizar alguns testes para avaliar possíveis vias de ação dos compostos (análise de indução de espécies reativas de oxigênio e peróxido nítrico), avaliar a toxicidade em macrófagos de medula e avaliar o tratamento em modelo murino de dermatofitose.

Pretende-se ainda, realizar algumas modificações estruturais dos compostos **6**, **7** e **9** utilizando a ferramenta de bioisosterismo. Uma modificação que está em andamento, é a substituição da anilina na primeira etapa da rota pelo 2,4-difluoroanilina. Com essa modificação, espera-se aumentar a atividade dos derivados triazólicos, além de evitar uma possível hidroxilação aromática, aumentando o tempo de meia vida dos compostos.

6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Chagas, C. Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 1911, 3, 219.
- 2- Clayton, J. *Nature*. **2010**, 465, S4.
- 3- Docampo, R.; Urbina, J.A. Specific chemotherapy of Chagas diseases: controversies and advances. *Trends in Parasitology* 2003, 19, 495.
- 4- Muñoz, M.J.; Murcia, L.; Segovia, M. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2011**, 9(1), 5.
- 5- Geldern, T.V.; Harhay, M.O.; Scandale, I.; Don, R. *Top. Med. Chem.* **2011**, 7, 181.
- 6- Gascon, J.; Bern, C.; Pinazo, M. J. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Tropica* 2010, 115, 22.
- 7- Bern, C.; Montgomery, S. P.; Katz, L.; Caglioti, S.; Stramer, S. L. Chagas disease and the US blood supply. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2008, 21, 476.
- 8- França, R. R. F.; Carvalho, A. S.; Branco, F. S. C; Pinto, A. C.; Boechat, N. *Rev. Virtual Quim.*, 2014, 6 (5), 1483-1516.
- 9- Franco-Paredes, C.; Von, A.; Hidron, A.; Rodríguez-Morales, A.J.; Tellez, I.; Barragán, M.; Jones, D.; Náquira, C.G.; Mendez J. *BMC Int. Health Hum. Rights*, **2007**, 7, 7.
- 10- Nunes, M.C.P.; Dones, W.; Morillo, C.A.; Encina, J.J.; Ribeiro, A.L. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **2013**, 62, 767.
- 11- WHO. First report on neglected tropical diseases 2010: *working to overcome the global impact of neglected tropical diseases*. Geneva: WHO, 2010.
- 12- Hidron, A.; Vogenthaler, N.; Santos-Preciado, J.I.; Rodriguez-Morales, A.J.; Franco-Paredes, C.; Junior, A.R. *Clin. Microbiol. Rev.*, **2010**, 23(2), 324.
- 13- Costa, A. C. B. P.; Pereira, C. P.; Jorge, A. O. C.; *Microbiologia e Imunologia Oral. Elsevier*: Rio de Janeiro, 2012.
- 14- Abreu, J. A. S.; Rovida, A. F. S.; Pamphile, J. A. Fungos de interesse: aplicações biotecnológicas. *Uningá Review* 2015, 21, 55.
- 15- Fajardo A, Martínez JL. (2008). Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses. *Current Opinion in Microbiology*. **11** (2): 161–67.

- 16- Van Egmond HP, Schothorst RC, Jonker MA. (2007). Regulations relating to mycotoxins in food: perspectives in a global and European context. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **389** (1): 147–57.
- 17- Lopes, F. C.; Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.
- 18- Trabulsi LR.-Micobiologia. 2ª Ed. Rio de Janeiro, Atheneu. p. 386. 1991.
- 19- Oliveira, J. C. *Tópicos em micologia médica*. 4ª ed. Fundação Oswaldo Cruz: Rio de Janeiro, 2014.
- 20- Murray, P., Rosenthal, K. Pfealler, M., *Microbiologia Médica*, 5ª Ed, Elsevier, Rio de Janeiro, 2006.
- 21- Goodman e Gilman. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 9ª Ed. Rio de Janeiro, McGraw-Hill Interamericana editoras. P. 1436. 1996.
- 22- Lewis, R. (2011). *Current Concepts in Antifungal Phasmacology*. *Mayo Clinic Proceedings*. 86(8): 805–817.
- 23- Lazardi, K.; Urbina, J. A.; de Souza, W. Ultrastructural alterations induced by two ergosterol biosynthesis inhibitors, ketoconazole and terbinafine, on epimastigotes and amastigotes of *Trypanosoma* (Schizotrypanum) *cruzi*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1990**, 34, 2097.
- 24- Gerpe, A.; Odreman-Nuñez, I.; Draper, P.; Boiani, L.; Urbina, J.A.; González, M.; Cerecetto, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, 16(1), 569.
- 25- Morris MI, Villmann M (setembro de 2006). Echinocandins in the management of invasive fungal infections, part 1. *Am J Health Syst Pharm*. **63** (18): 1693–703.
- 26- Current WL. - Fungal cell wall biosynthesis: Penicillins for fungi. In: *PROGRAM ABSTR 35TH ANNUAL MEET INFECT DIS SOCAMERICA*, 1997.
- 27- Menozzi, C. A.; Castelo-Branco, F. S.; França, R. R. F.; Domingod, J. L. O.; Otomização da síntese do fluconazol: Um importante fármaco antifúngico da classe dos azóis. *Rer. Virtual Quim.*, 2017, 9(3), 1216-1234.
- 28- Shapiro, R. S.; Robins, N.; Cowen, L. E. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2011,75, 213.
- 29- Abe, F.; Usuki, K.; Hiraki, T. Fluconazole modulates membrane rigidity, heterogeneity, and water penetration into the plasma membrane in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemistry*, 2009,48, 8494.
- 30- Heeres, J.; Meerpoel, L.; Lewi, P. Conazoles. *Molecules*, 2010, 15, 4129.

- 31- Ghannoun, M., Rice, L. (1999). Antifungal Agents: Mode of Actions, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 501-517.
- 32- Daum, G.; Lees, N.D.; Bard, M.; Dickson, R. Biochemistry, cell biology and molecular biology of lipids of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* **1998**, 14, 1471.
- 33- Lehninger, A.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 5. ed. São Paulo, Artmed, 2011.
- 34- Golan, D. E.; Princípios de Farmacologia. *A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia*, 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 580, 2009.
- 35- Urbina, J. A. Parasitological cure of Chagas disease: It is possible? Is it relevant? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **1999**, 94, 349.
- 36- Urbina, J. A. Ergosterol biosynthesis and drug development for Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2009** 104, 311.
- 37- Urbina, J. A. Lipid biosynthesis pathway as chemotherapeutic targets in kinetoplastid parasites. *Parasitology* **1997**, 114, 91.
- 38- Meunier, B.; Visser, S. P.; Shaik, S. Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome p450 enzymes. *Chemical Reviews*, **2004**, 104, 3947.
- 39- Brown, G. D. The biosynthesis of steroids and triterpenoids. *Natural Product Reports*, **1998**, 15, 653.
- 40- Mack, J.; Stillman, M. J. Em *The Porphyrin Handbook*, Kadish, K. M., Smith, K. M., Guillard, S. R., eds.; Academic Press: Amsterdam, 2003, cap 103.
- 41- Shyadehi, A. Z.; Lamb, D. C.; Kelly, S. L.; Schunck, W. H; Wright, J. N.; Corina, D.; Akhtar, M. The mechanism of the acyl-carbon bond cleavage reaction catalyzed by recombinant sterol 14 alpha demethylase of *Candida albicans* (other names are: lanosterol 14 alpha-demethylase, P- 45014DM, and CYP51). *The Journal of Biological Chemistry* **1996**, 271, 12445.
- 42- Lepesheva, G.I.; Ott, R.D.; Hargrove, T.Y.; Kleshchenko, Y.Y.; Schuster, I. et al. Sterol 14 α Demethylase as a potential target for antitrypanosomal therapy: Enzyme inhibition and parasite cell growth. *Chemistry & Biology* **2007**, 14, 283.
- 43- Yoshida Y.; Aoyama, Y. Interaction of azole antifungal agents with cytochrome P- 45014DM purified from *Saccharomyces cerevisiae* microsomes. *Biochemical Pharmacology* **1987**, 36, 229.
- 44- Barreiro, E.; Fraga, C. A. M. A questão da inovação em fármacos no Brasil: Proposta de criação do programa nacional de fármacos. *Química Nova*. V 28, p. s56-s63, 2005.

- 45-Haitao, J.; Wannian, Z.; Youjun, Z.; Min, Z.; Jie, Z.; Yunlong, S.; Jiaguo, L.; Ju, Z. A three-dimensional model of lanosterol 14 α -demethylase of *Candida albicans* and its interaction with azole antifungals. *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, 43, 2493.
- 46-Sean, E.; Dayna, C. M.; Dennis, J. H.; Michael, P. L.; Judith, L. T.; James, H. Jr. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship analysis of human CYP51 inhibitors. *Drug Metabolism and Disposition* **2007**, 35, 493.
- 47-Pereira, D. G. Importância do Metabolismo no Planejamento de Fármacos. *Química Nova*, **2007**, 30, 171.
- 48-McCabe, R. E.; Remington, J. S.; Araujo, F. J. *In vitro* and *in vivo* effects of itraconazole against *Trypanosoma cruzi*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **1986**, 35, 280.
- 49-Vandon, V. K.; Maurya, H. K.; Mishra, N. N.; Shukla P. K. Design, synthesis and biological evaluation of novel nitrogen and sulfur containing hetero-1,4-naphthoquinones as potent antifungal and antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 44, 3130.
- 50-Liendo, A.; Visbal, G.; Piras, M.M.; Piras, R.; Urbina, J. A. Sterol composition and biosynthesis in *Trypanosoma cruzi* amastigotes. *Molecular and Biochemical Parasitology* **1999**, 104, 81.
- 51-Molina, J.; Martins-Filho, O.; Brener, Z.; Romanha, A. J.; Loebenberg, D.; Urbina, J. A. Activities of the triazole derivative SCH 56592 (posaconazole) against drug-resistant strains of the protozoan parasite *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* in immunocompetent and immunosuppressed murine hosts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2000**, 44, 150.
- 52-Sueth-Santiago, V.; Franklim, T. N.; Lopes, N. D.; Lima, M. E. F. *Rev. Virtual Quim.*, **2015**, 7 (2), 539-575.
- 53-Buckner, F. S.; Joubert, B. M.; Boyle, S. M.; Eastman, R. T.; Verlinde, C. L. M. J.; Matsuda, S. P. T. Cloning and analysis of *Trypanosoma cruzi* lanosterol 14-demethylase. *Molecular and Biochemical Parasitology* **2003**, 132, 75.
- 54-Silva, D.T.; de Meirelles, M.N.S.L.; Almeida, D.; Urbina, J.A.; Pereira, M.C.S. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **2006**, 27(6), 530.
- 55-Urbina, J. A.; Payares, G.; Molina, J.; Sanoja, C.; Liendo, A.; Lazard, K.; Piras, M. M.; Perez, N.; Wincker, P.; Ryley, J. F. Cure of short- and long-term experimental Chagas' disease using D0870. *Science* **1996**, 273, 969.

- 56- Guedes, P. M. M.; Urbina, J. A.; Lana, M.; Afonso, L. C. C.; Veloso, V. M.; Tafuri, W. L.; Machado-Coelho, G. L. L.; Chiari, E.; Bahia, M. T. Activity of the new triazole derivative albaconazole against *Trypanosoma*(*Schizotrypanum*) *cruzi* in dog hosts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2004**, 48, 4286.
- 57- Urbina, J. A.; Payares, G.; Sanoja, C.; Molina, J.; Lira, R.; Brener, Z.; Romanha, A. J. Parasitological cure of acute and chronic experimental Chagas disease using the long acting experimental triazole TAK-187. Activity against drug-resistant *Trypanosoma cruzi* strains. *International Journal of Antimicrobial Agents* **2003**, 21,
- 58- Che, X.; Sheng, C.; Wang, W.; Cao, Y.; Xu, Y.; Ji, H.; Dong, G.; Miao, Z.; Yao, J.; Wannian, Z. New azoles with potent antifungal activity: Design, synthesis and molecular docking. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 44, 4218.
- 59- Perrin, D.D. Purification of Laboratory Chemicals. *Elsevier*. 6ed. **2009**.
- 60- Hiroyoshi Esaki, Tomohiro Hattori, Aya Tsubone, Satoko Mibayashi, Takao Sakata, Yoshinari Sawama, Yasunari Monguchi, Hidehiro Yasuda, Kazuto Nosaka, and Hironao Sajiki. Chemoselective Hydrogenation Catalyzed by Pd on Spherical Carbon. *ChemCatChem* 2013, 5, 3629 – 3635.
- 61- Marshall, J. A.; Wolf, M. A. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 3238–3239.
- 62- Arabshahi, H. J., van Rensburg, M., Pilkington, L. I., Jeon, C. Y., Song, M., Gridel, L.-M., ... Reynisson, J. (2015). A synthesis, in silico, in vitro and in vivo study of thieno[2,3-b]pyridine anticancer analogues. *MedChemComm*, 6(11), 1987–1997.
- 63- Sun, Y., Huang, N.-Y., & Ding, M.-W. (2010). Efficient Synthesis of 6-(1H-1,2,4-Triazol-1-yl)-thieno[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-ones via an Iminophosphorane. *Synthetic Communications*, 40(13), 1985–1991.
- 64- Borgati T. F.; Tese de Doutorado. Síntese e avaliação da atividade herbicida de triazóis. Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.
- 65- Da Silva, C. M. Tese de doutorado. Síntese de Aldiminas e Calix[4]aldiminas Mediada por Radiação de Micro-ondas e Avaliação de Atividades Antifúngica e Citotóxica. Universidade Federal de Minas Gerais, 2013.
- 66- Da Silva, C. M., Silva, M. M., Reis, F. S., Ruiz, A. L. T. G., de Carvalho, J. E., Santos, J. C. C., ... de Fátima, Â. (2017). Studies on free radical scavenging, cancer cell antiproliferation, and calf thymus DNA interaction of Schiff bases. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 172, 129–138.

- 67- SADABS, APEX2 and SAINT, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2009.
SANDS, D. E.; *Introduction to Crystallography*. New York: Dover Publications Inc., 1994. 192 p.
- 68- SHELDRICK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallogr., Sect. A: Foundations of Crystallography**, v. 64, p. 112-122, 2008.
- 69- FARRUGIA, L. J. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. *Journal of Applied Crystallography*, v. 32, p. 837-838, 1999.
- 70- Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, approved standard. CLSI document M 27-A Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2002. P. 221-227.
- 71- Zauli- Nascimento et AL. In vitro sensitivity of Leishmania (Viannia) braziliensis and Leishmania (Leishmania) amazonensis Brazilian isolates to meglumine antimoniate and amphotericin B Tropical. *Medicine and International Health*. Vol. 5, n 1, p. 68–76, 2010.
- 72- Tsuei-Yun Liang and Gary B. Schuster. Photochemistry of 3- and 4-Nitrophenyl Azides: Detection and characterization of reactive intermediates. *J. Am. Chem. Soc.*, Vol. 109, No. 25, p. 7805, 1987.
- 73- Stefan Bräse, Klaus Banert. Organic azides : syntheses and applications. p. 330. John Wiley & Sons, Ltd. 2010.
- 74- Fokin, V. V.; Worrell, B. T.; Malik, J. A. Direct Evidence of a Dinuclear Copper Intermediate in Cu(I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloadditions. *Science*. v. 340, n. 6131, p. 457-460. **2013**.
- 75- Fávero, R. P. Silvia, H. P. Leoberto, C. T. Aspectos mecanísticos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 4, 1013-1020, 2009.
- 76- Gabriela, F. F. Daniel, A. S. The role of oxidative and nitrosative bursts caused by azoles and amphotericin B against the fungal pathogen *Cryptococcus gattii*. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 1801–1811.

ANEXOS

Espectros no infravermelho dos compostos 7-15

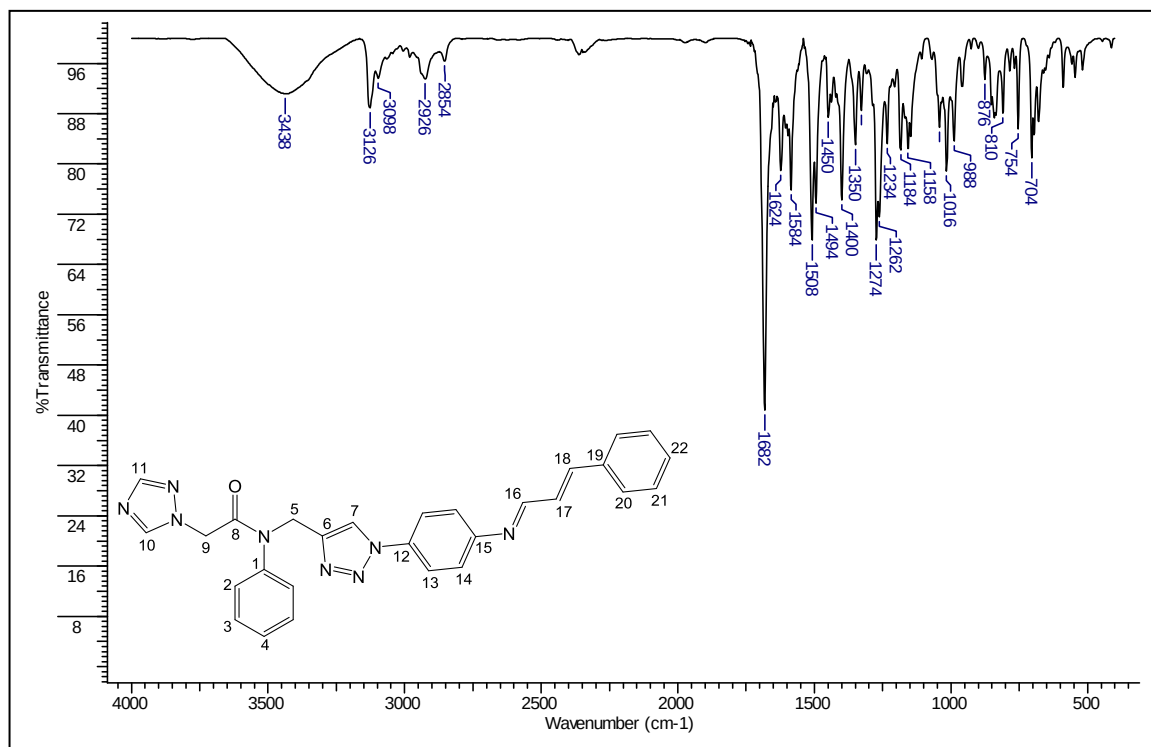


Figura A1: Espectro na região do infravermelho do composto (7) (KBr).

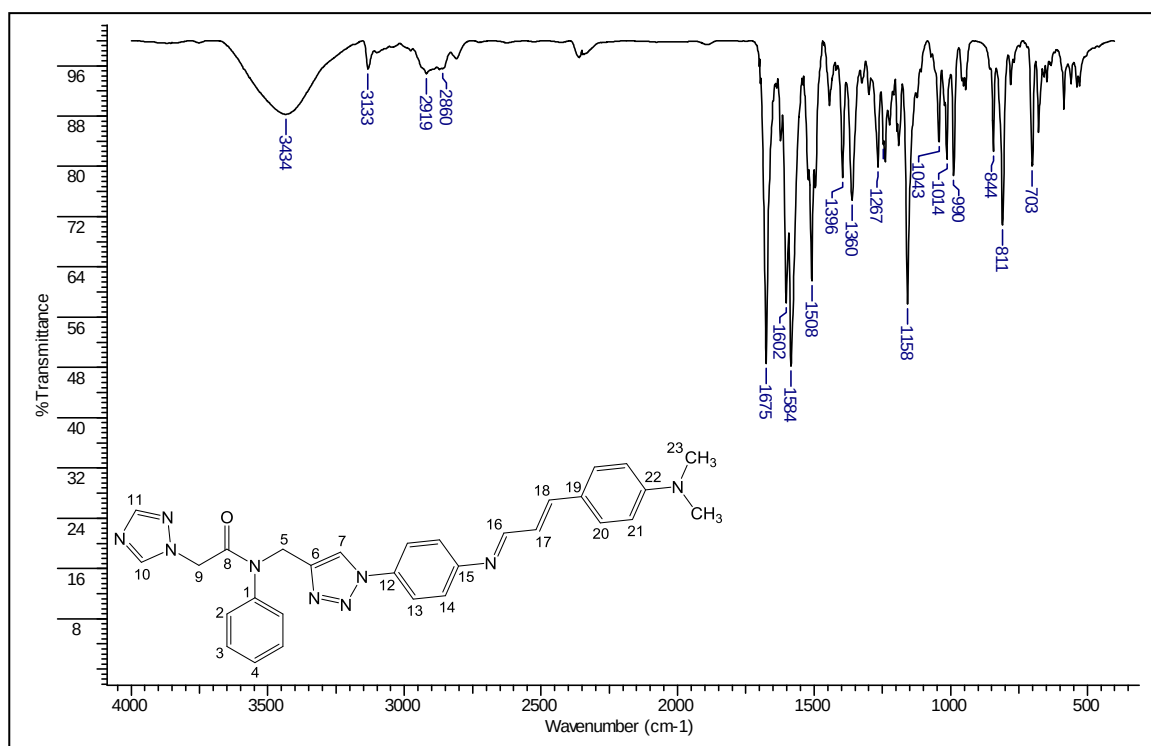


Figura A2: Espectro na região do infravermelho do composto (8) (KBr).

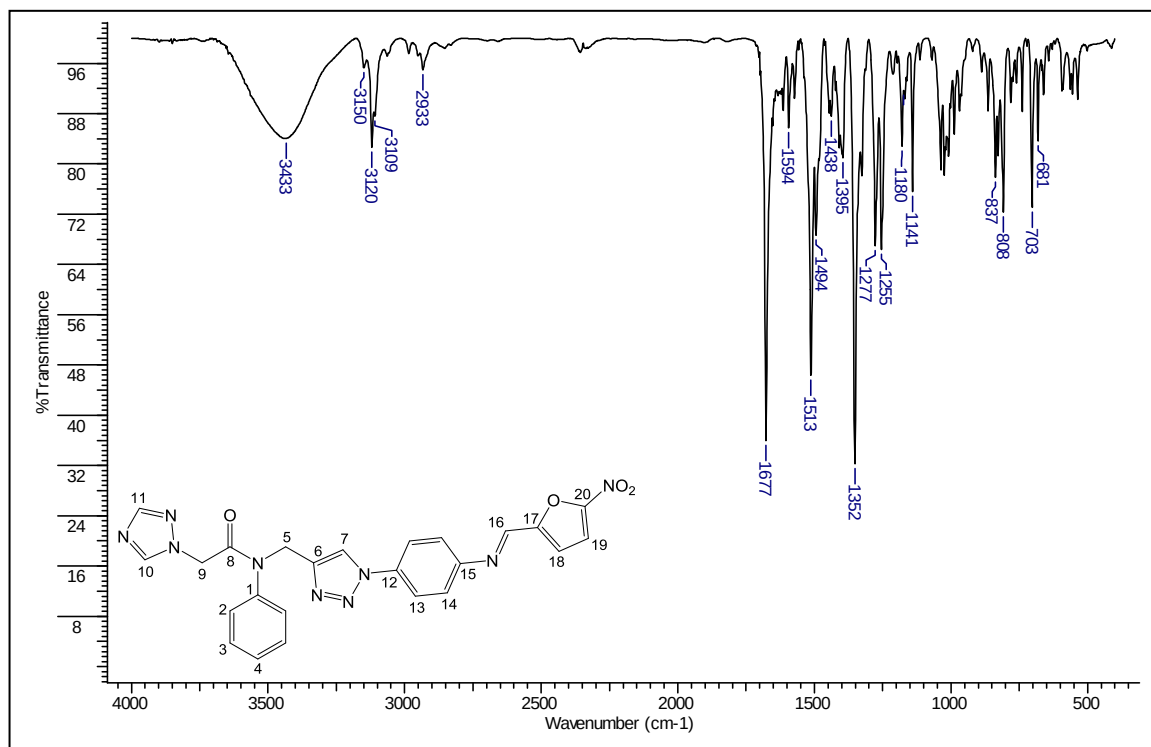


Figura A3: Espectro na região do infravermelho do composto (9) (KBr).

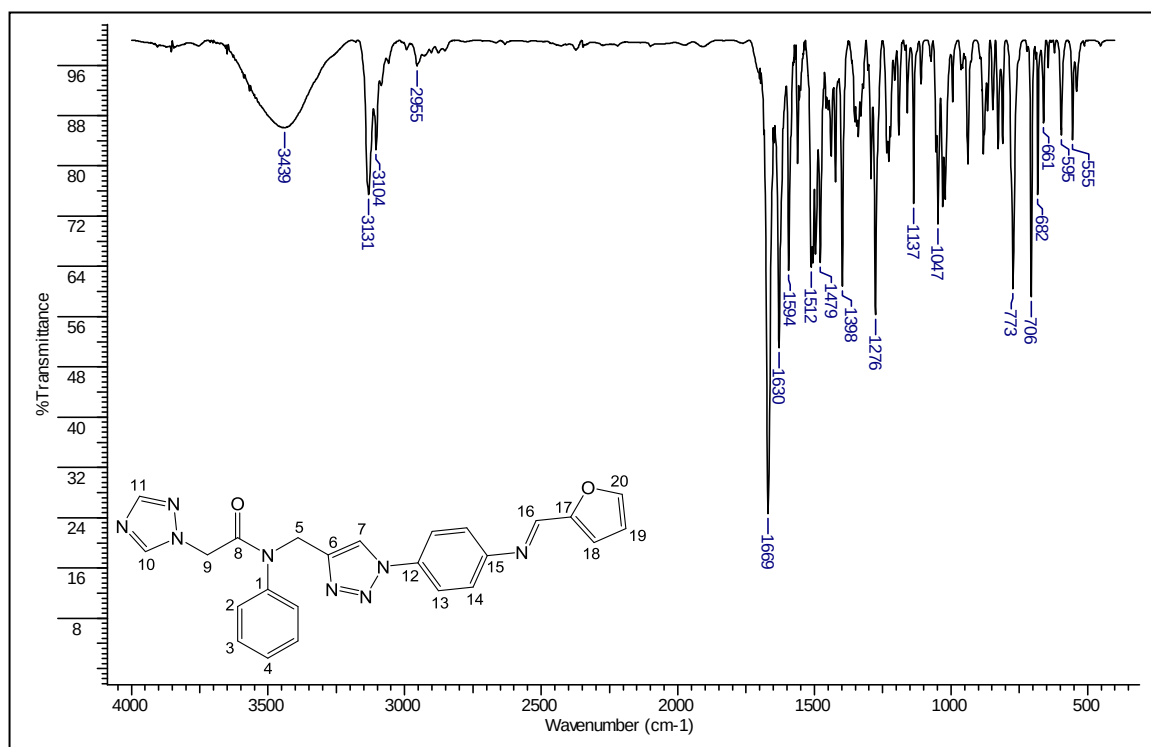


Figura A4: Espectro na região do infravermelho do composto (10) (KBr).

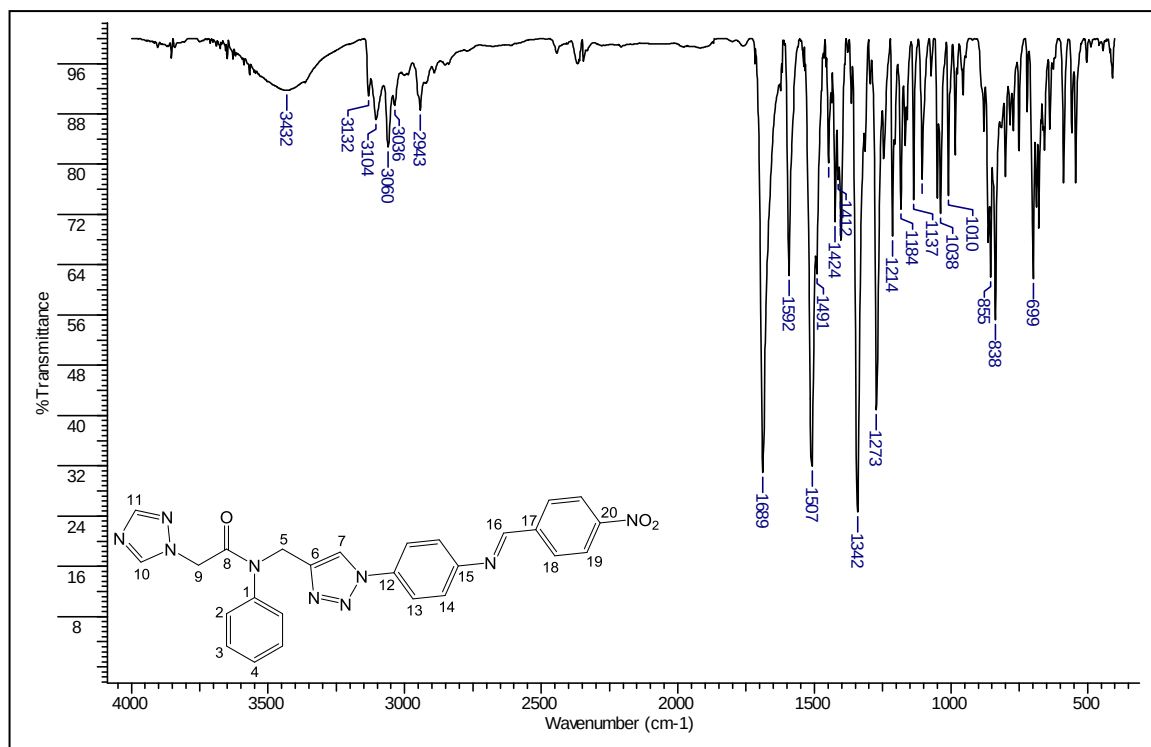


Figura A5: Espectro na região do infravermelho do composto (11) (KBr).

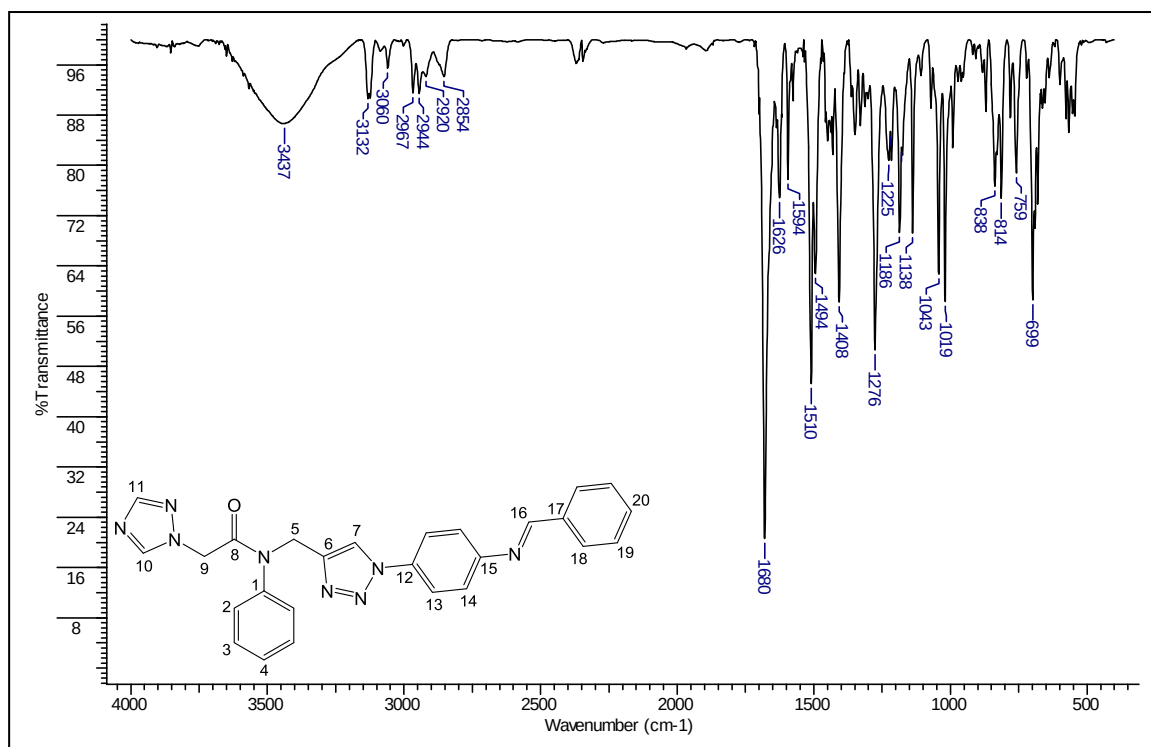


Figura A6: Espectro na região do infravermelho do composto (12) (KBr).

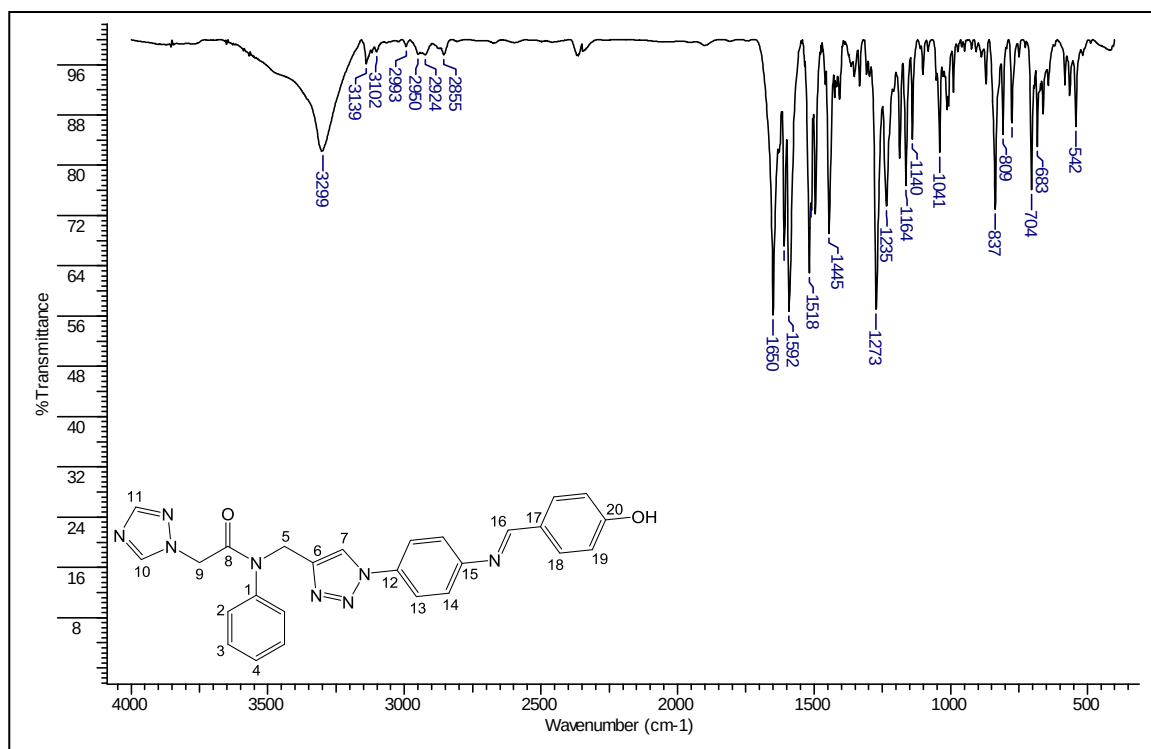


Figura A7: Espectro na região do infravermelho do composto (13) (KBr).

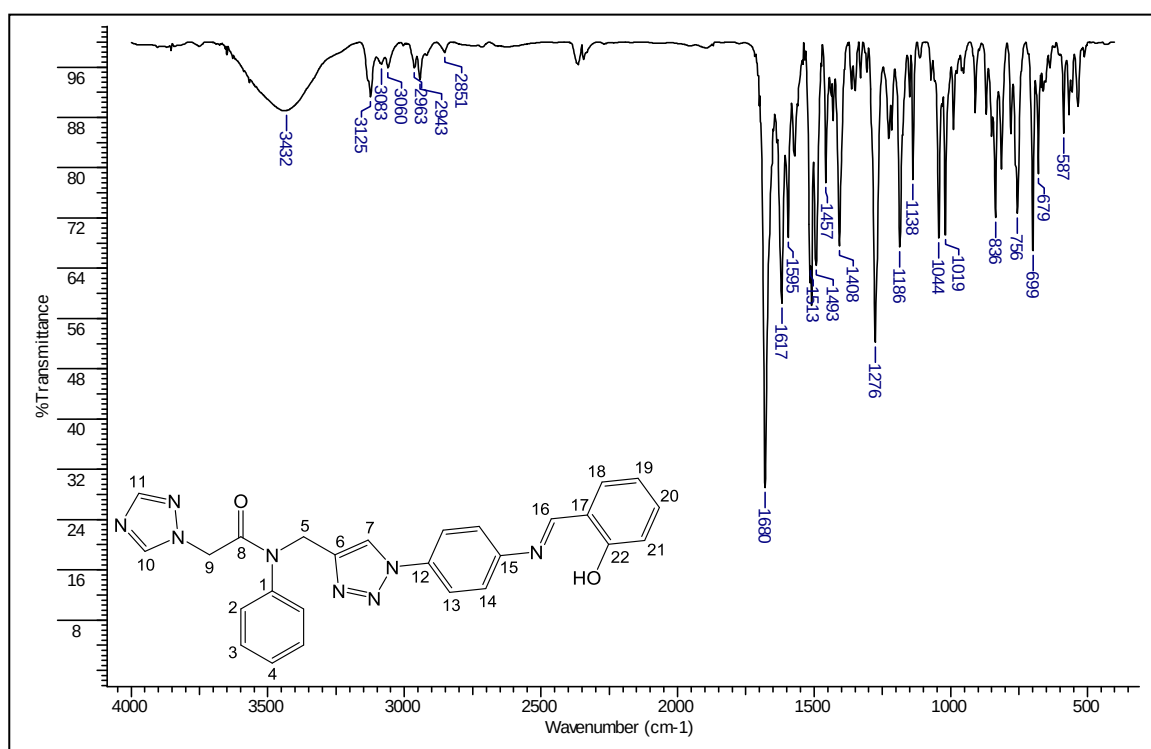


Figura A8: Espectro na região do infravermelho do composto (14) (KBr).

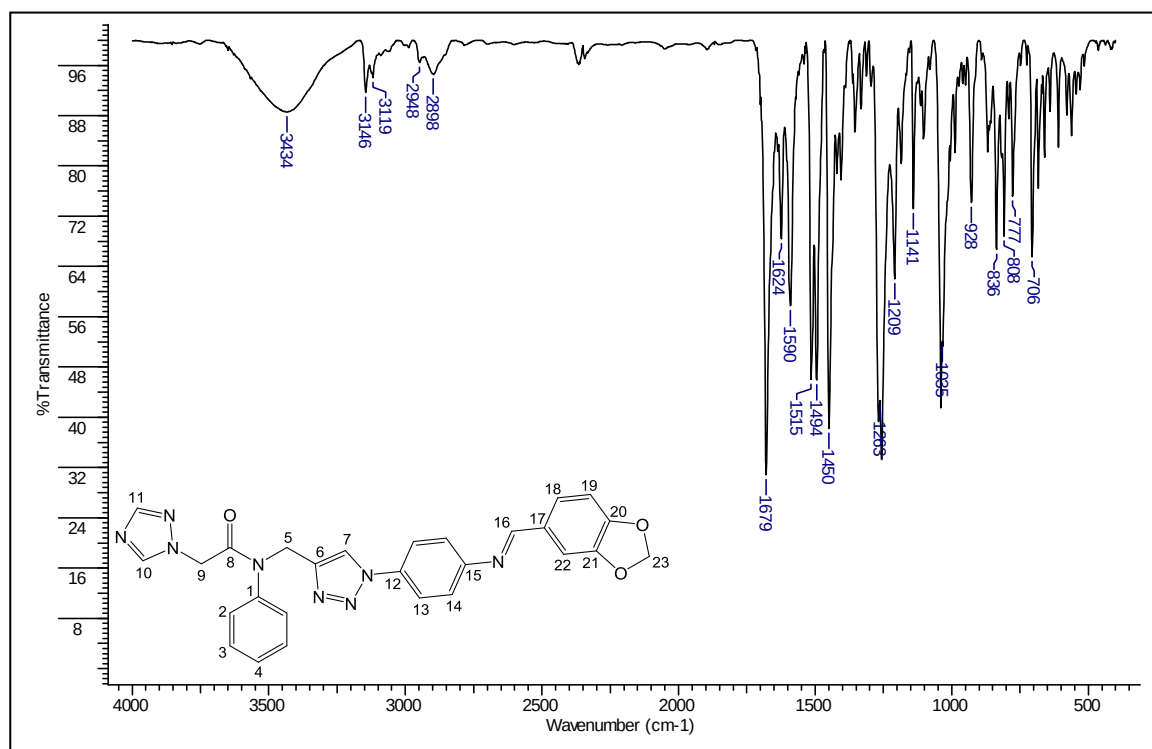


Figura A9: Espectro na região do infravermelho do composto (15) (KBr).

Espectros e mapas de correlações de Ressonância Magnética Nuclear

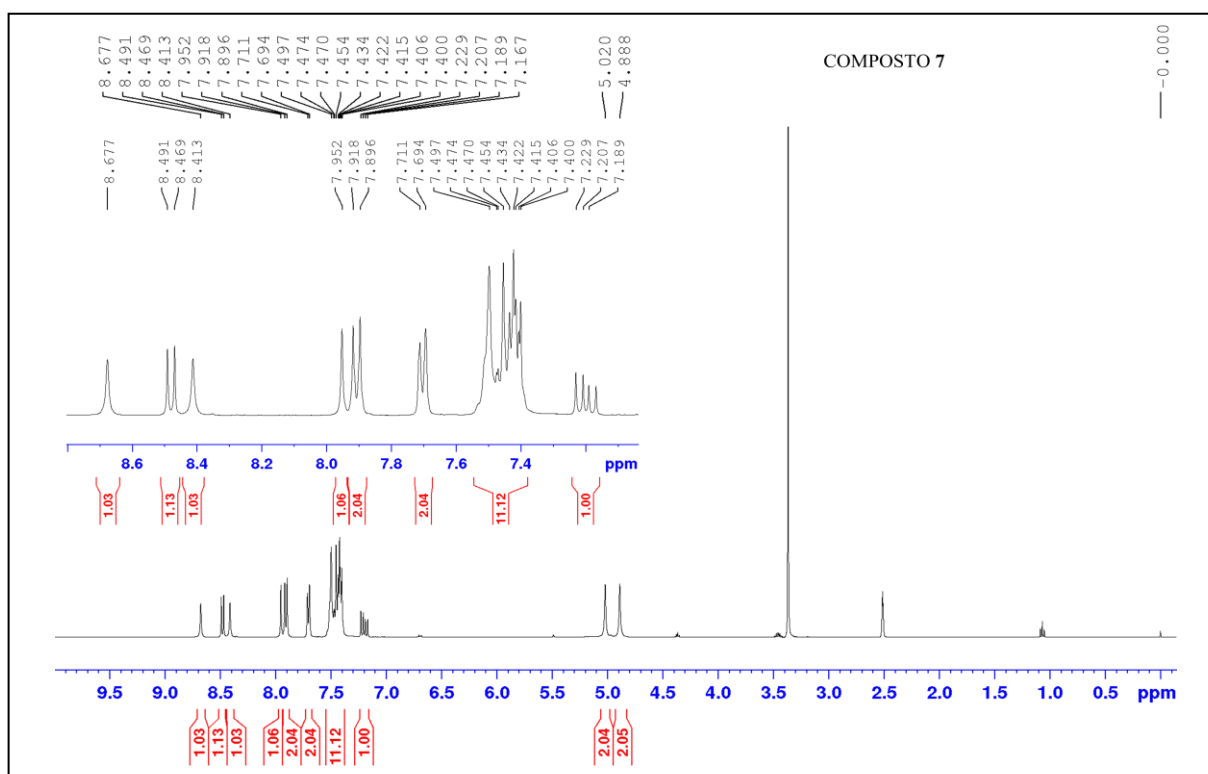


Figura A10: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (7).

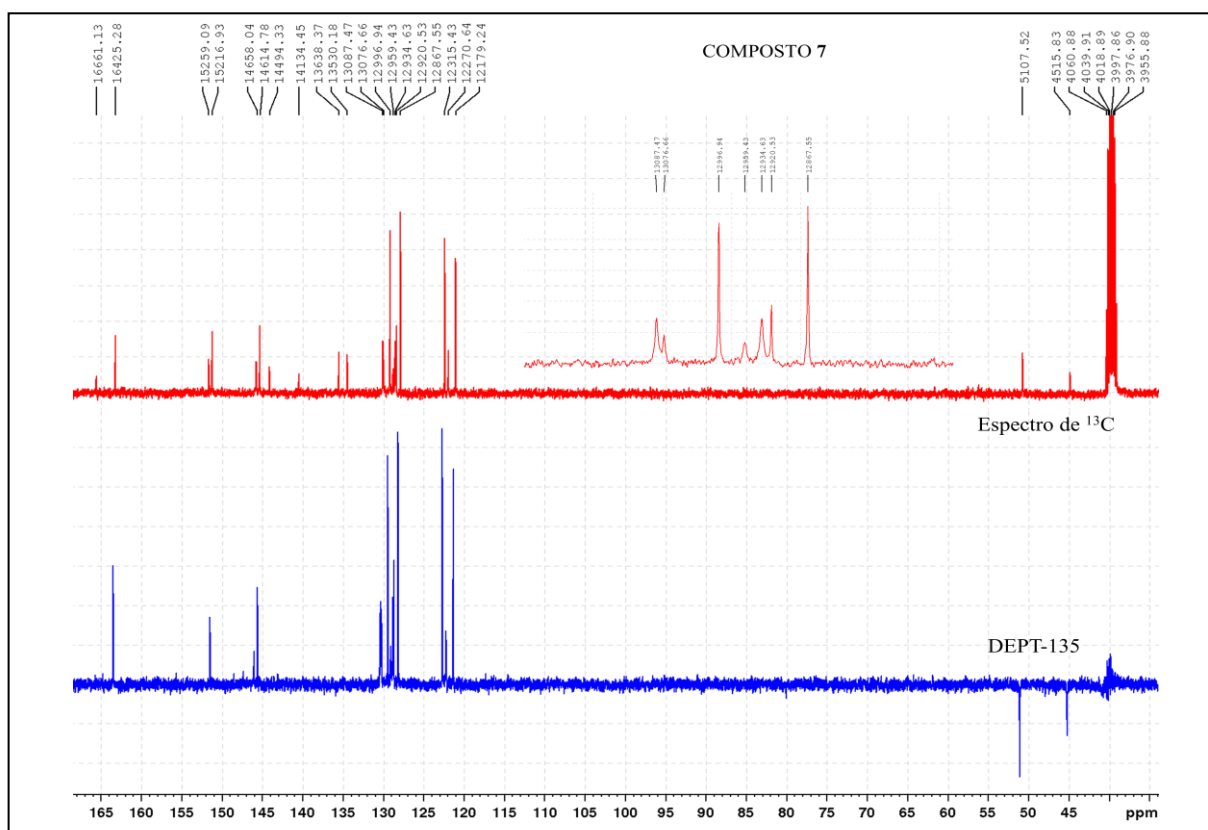


Figura A11: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (7).

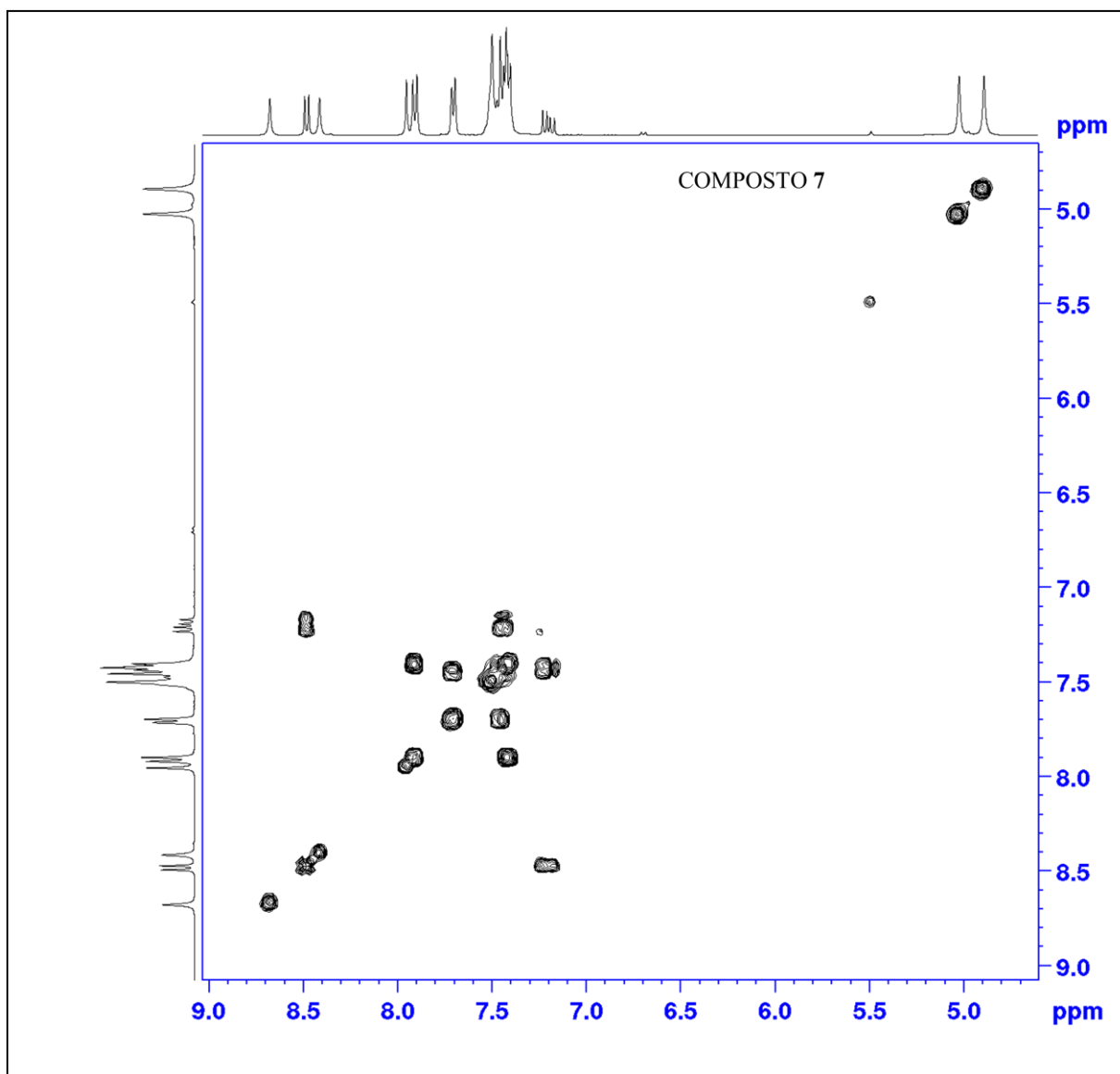


Figura A12: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (7).

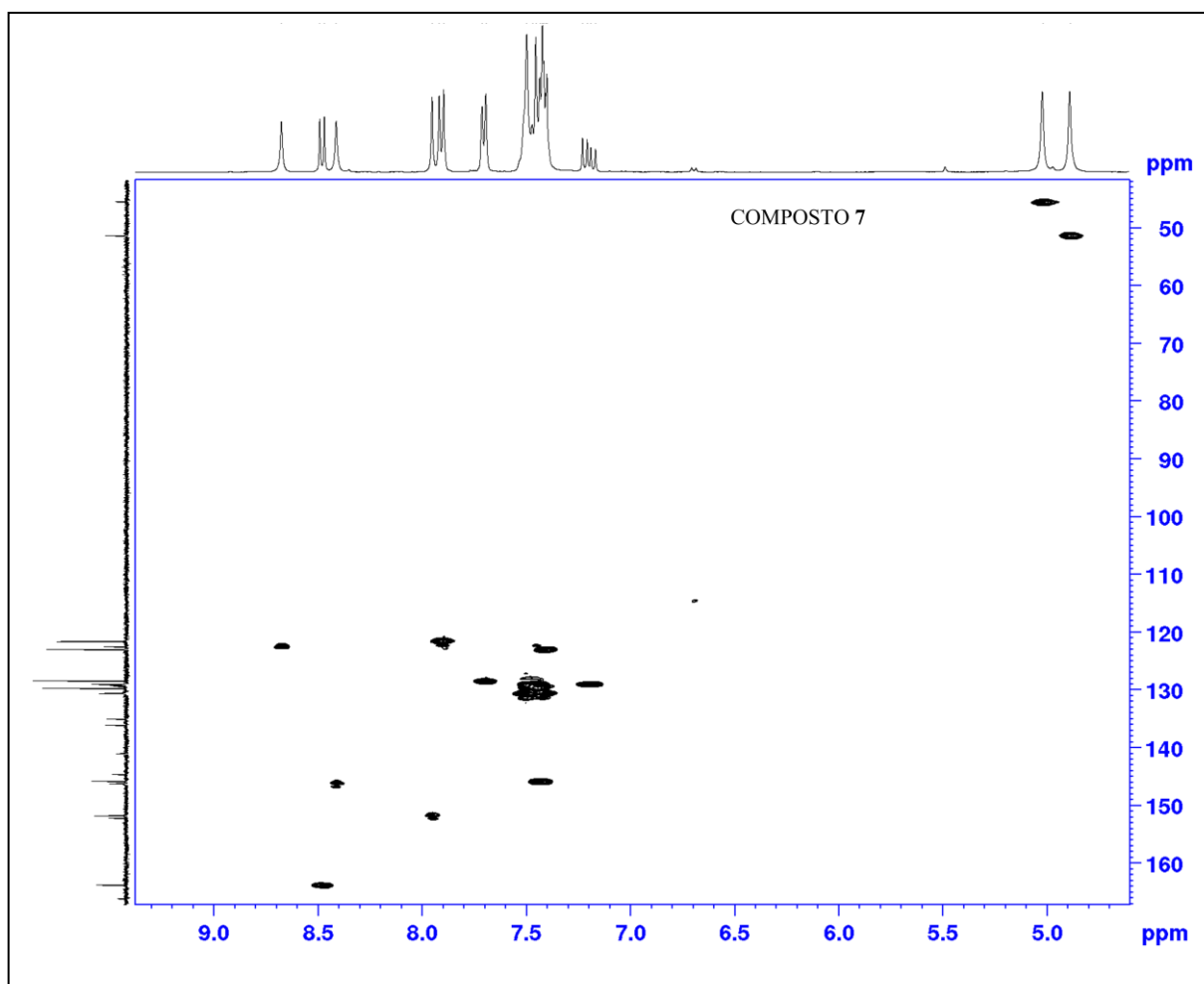


Figura A13: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (7).

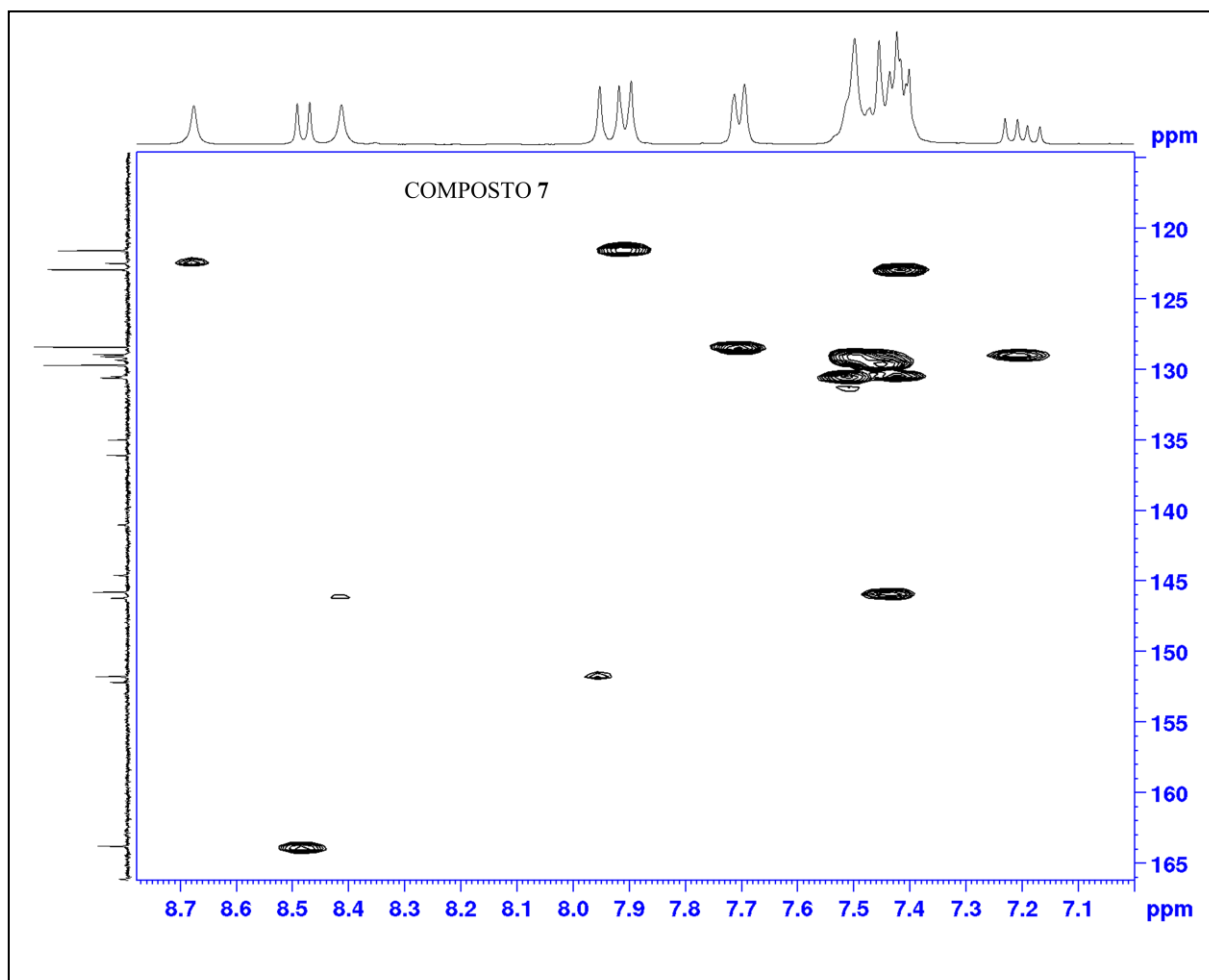


Figura A13: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (7).

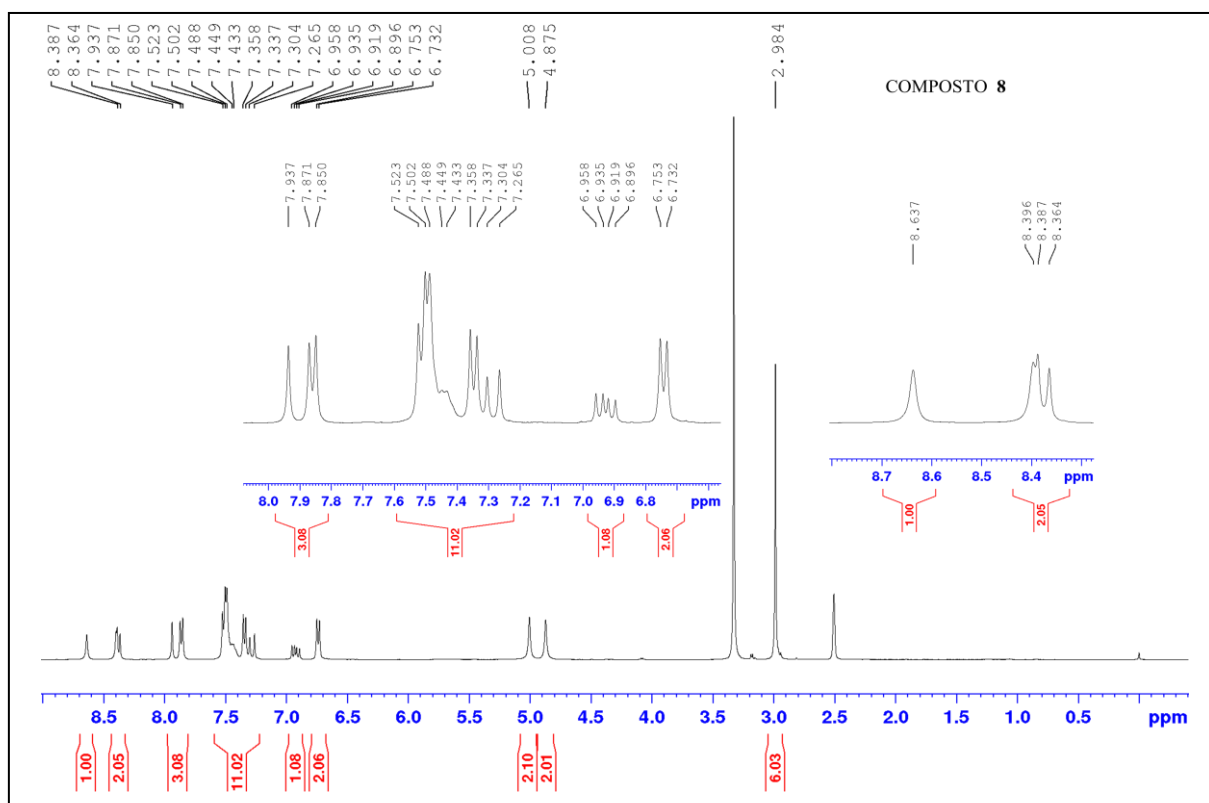


Figura A14: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (8).

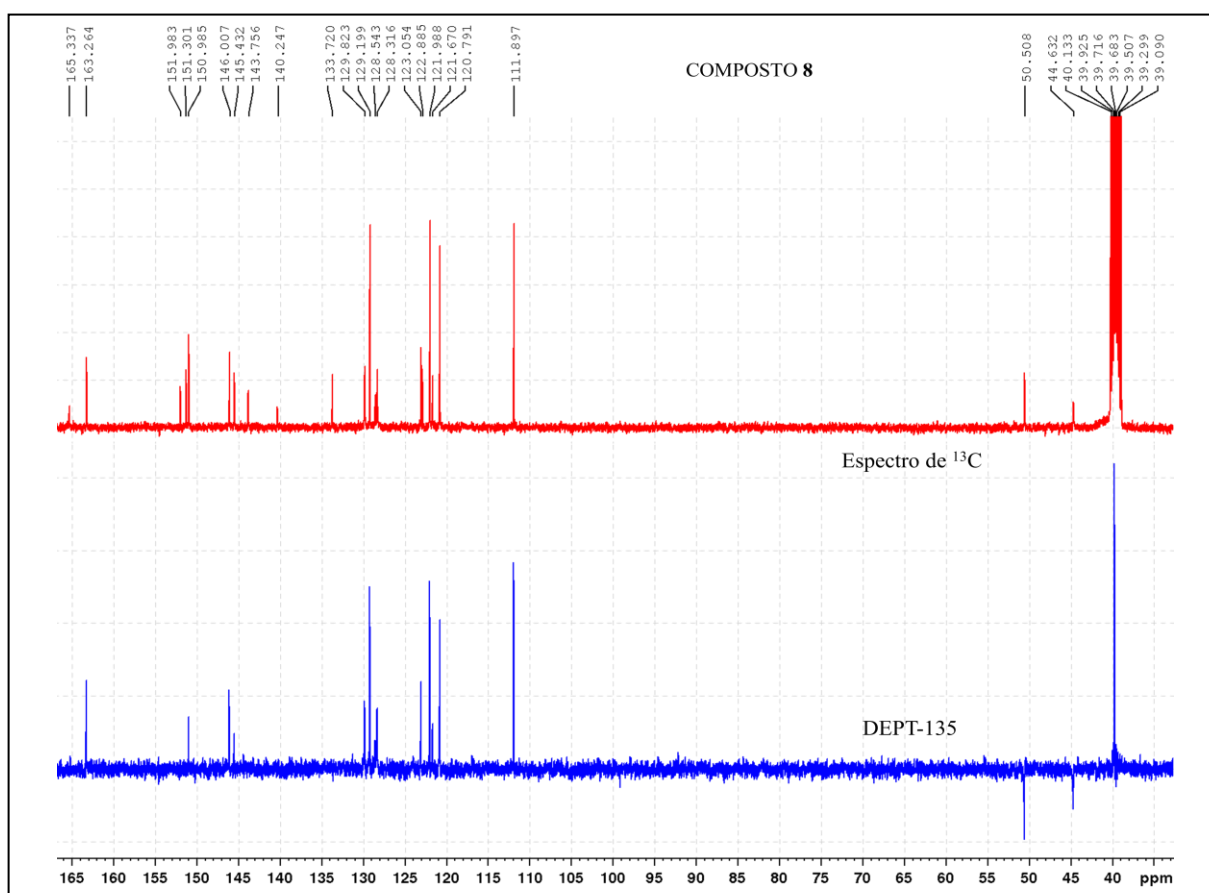


Figura A15: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (8).

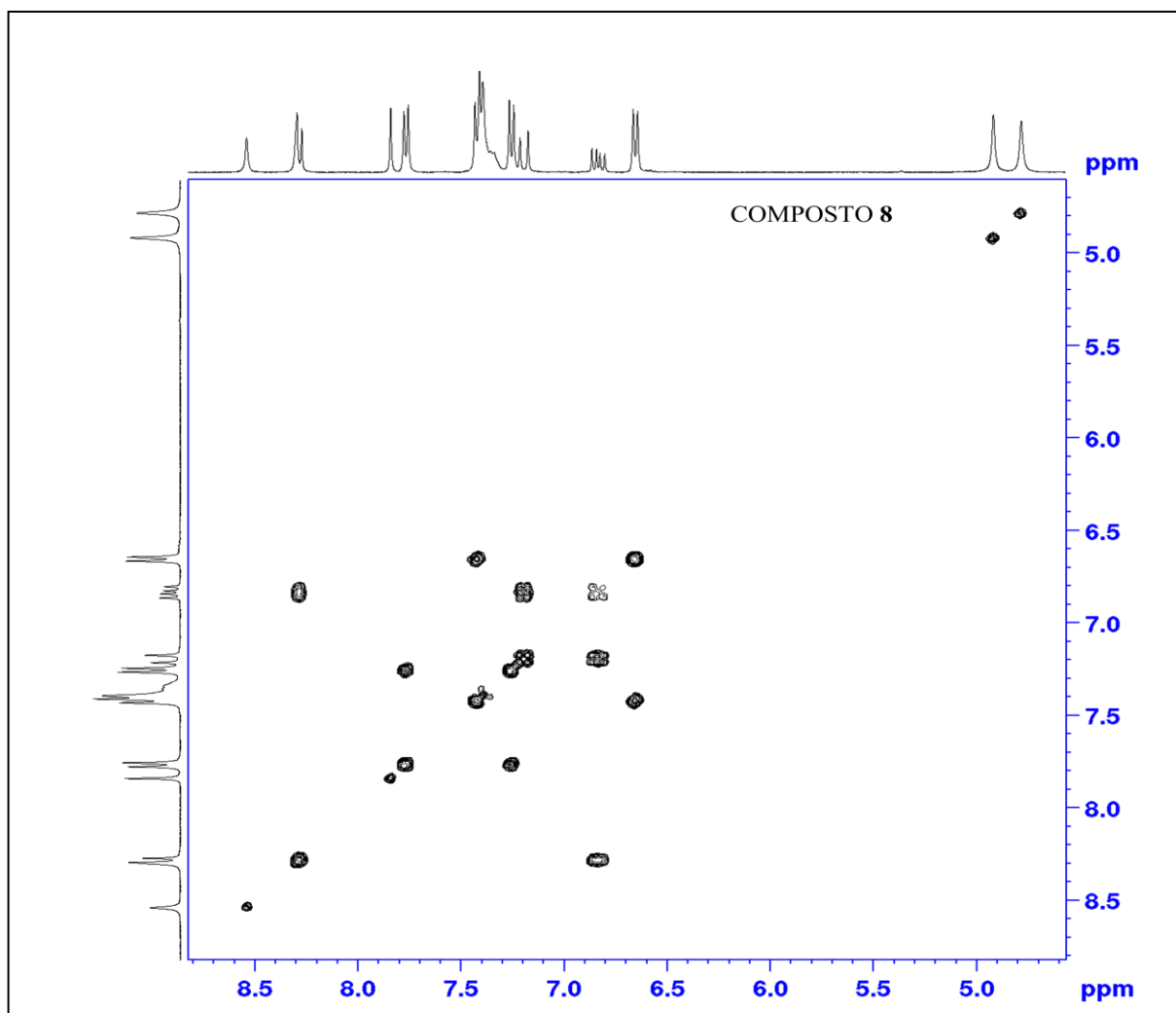


Figura A16: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (8).

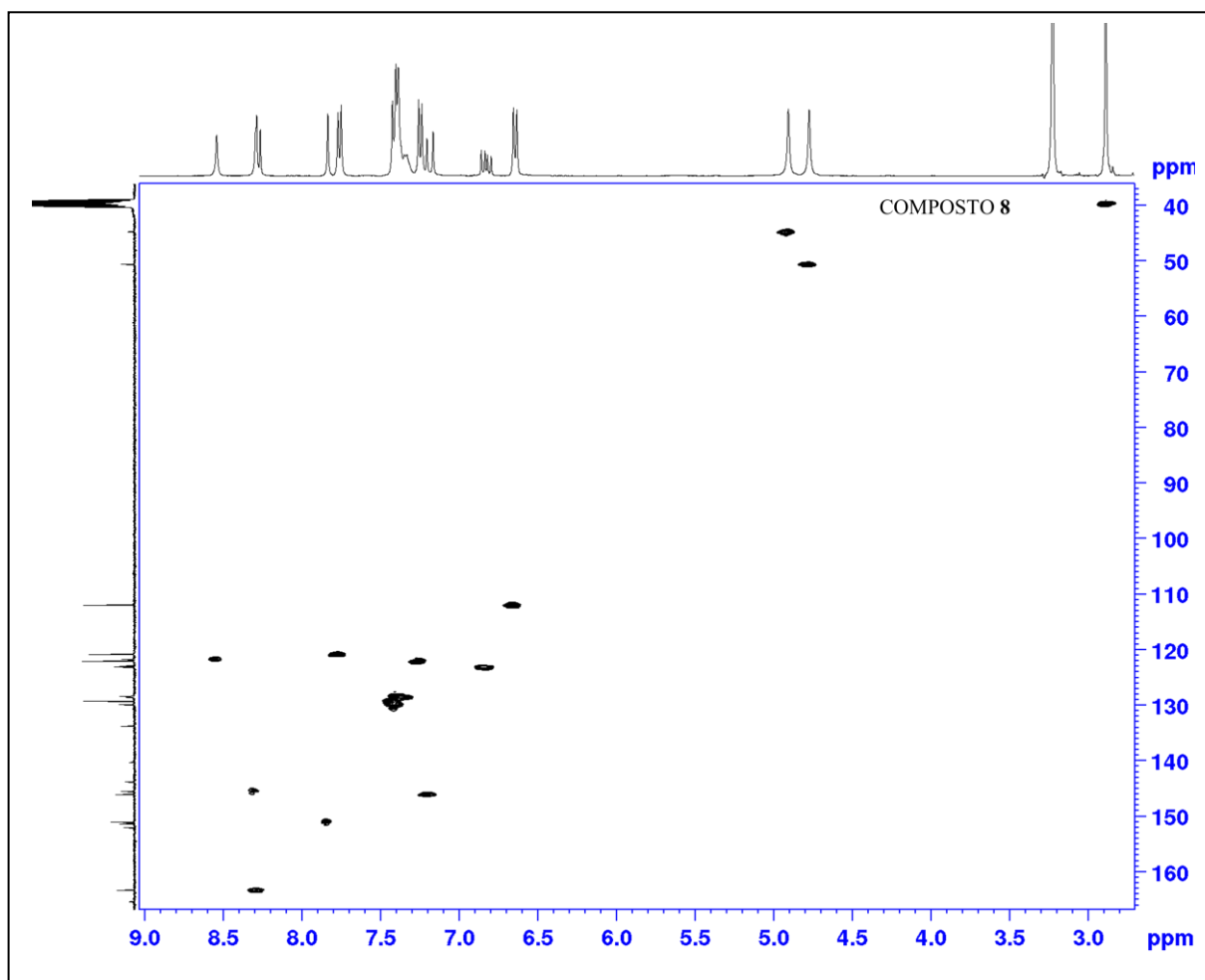


Figura A17: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-*d*₆ do composto (**8**).

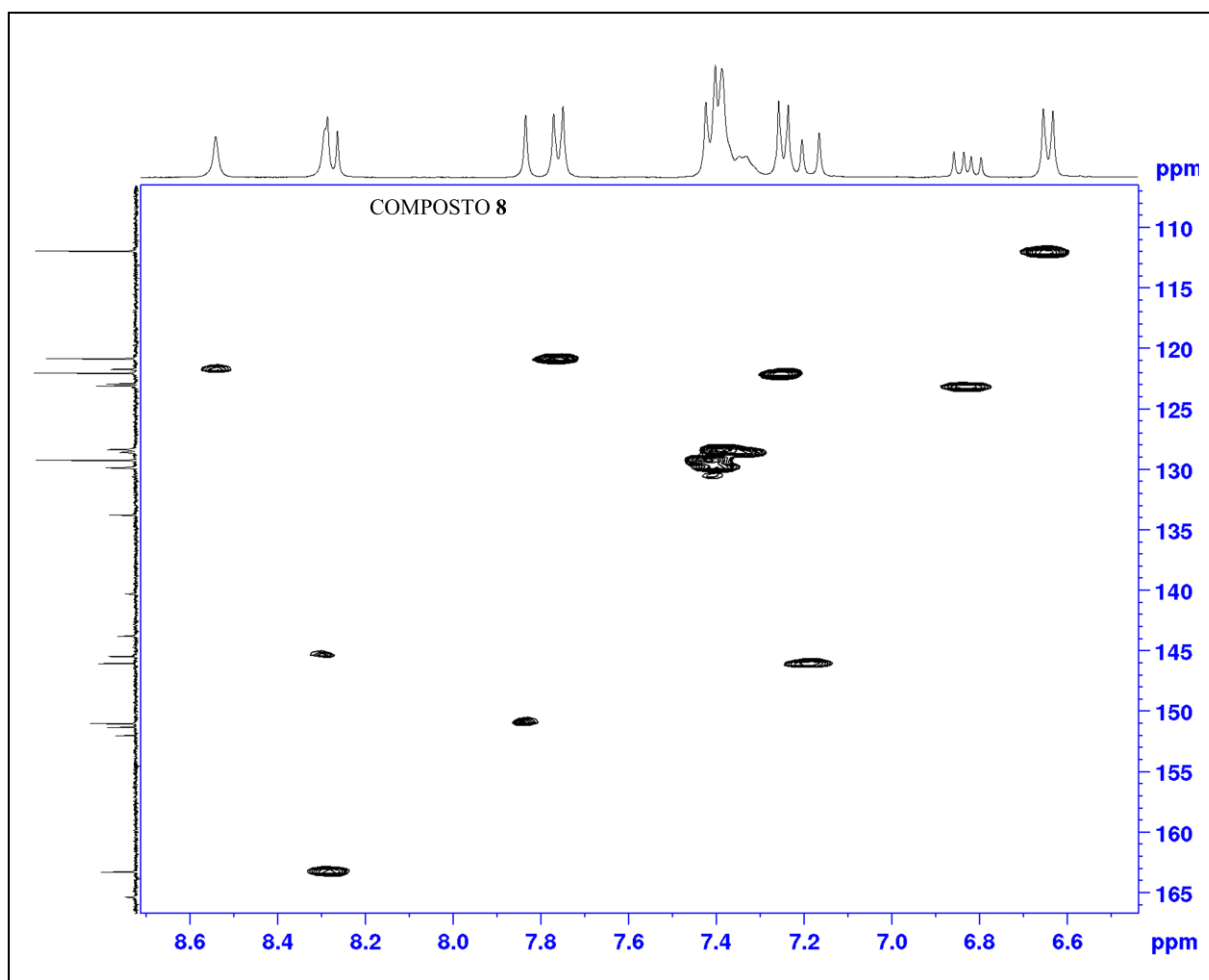


Figura A18: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (**8**).

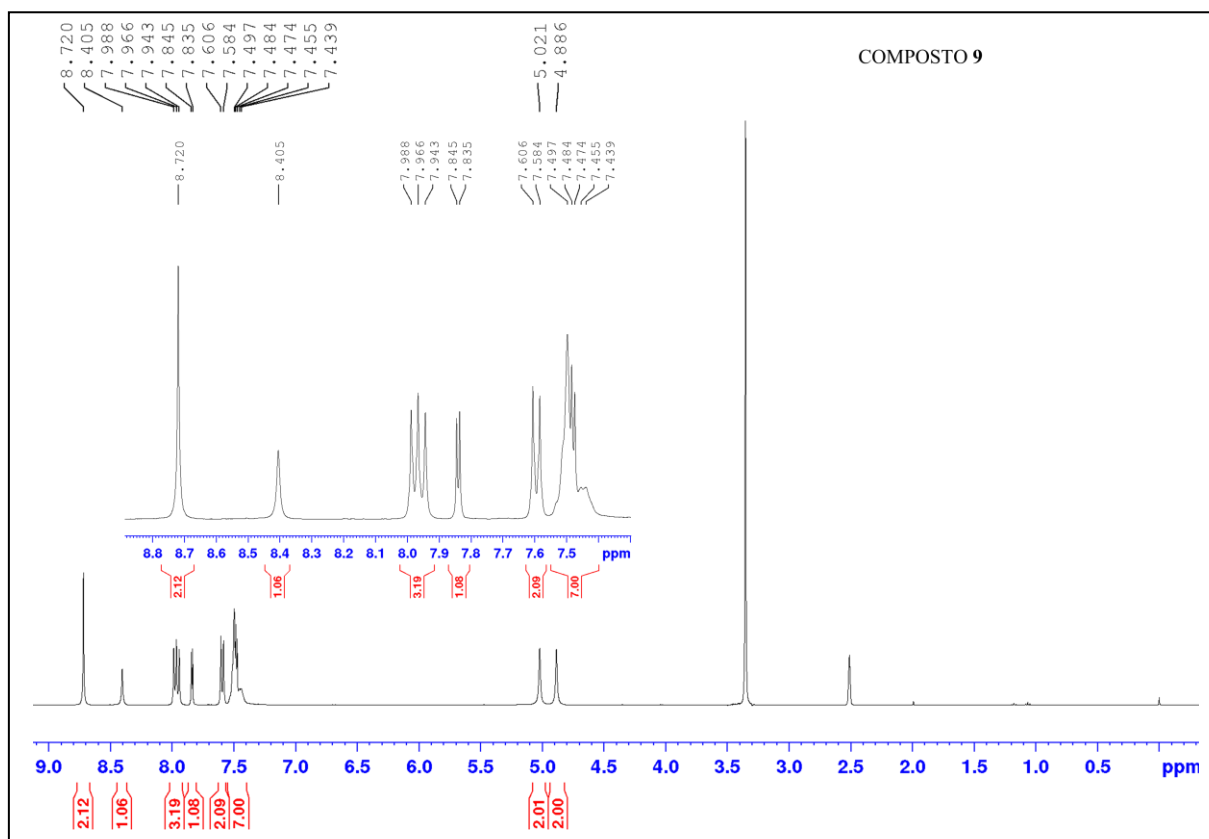


Figura A19: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (9).

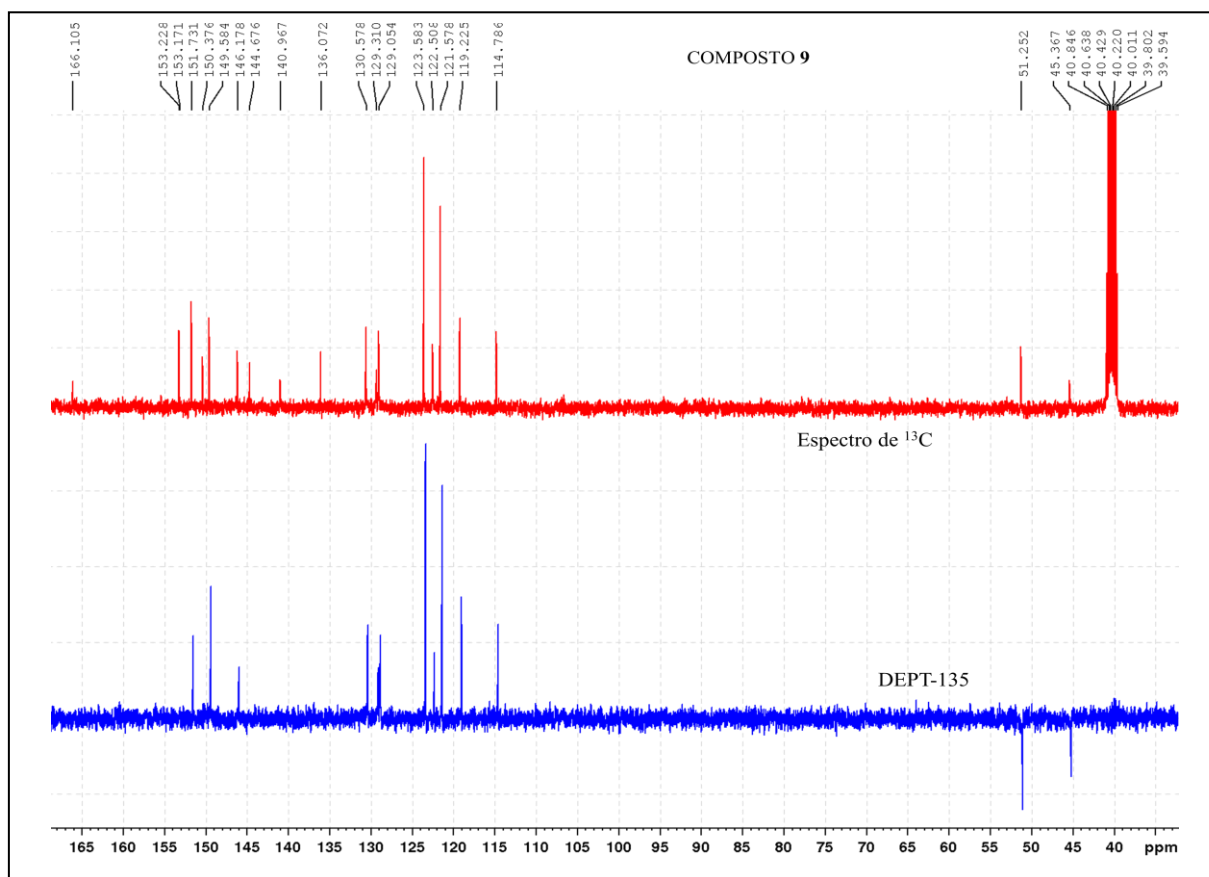


Figura A20: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (9).

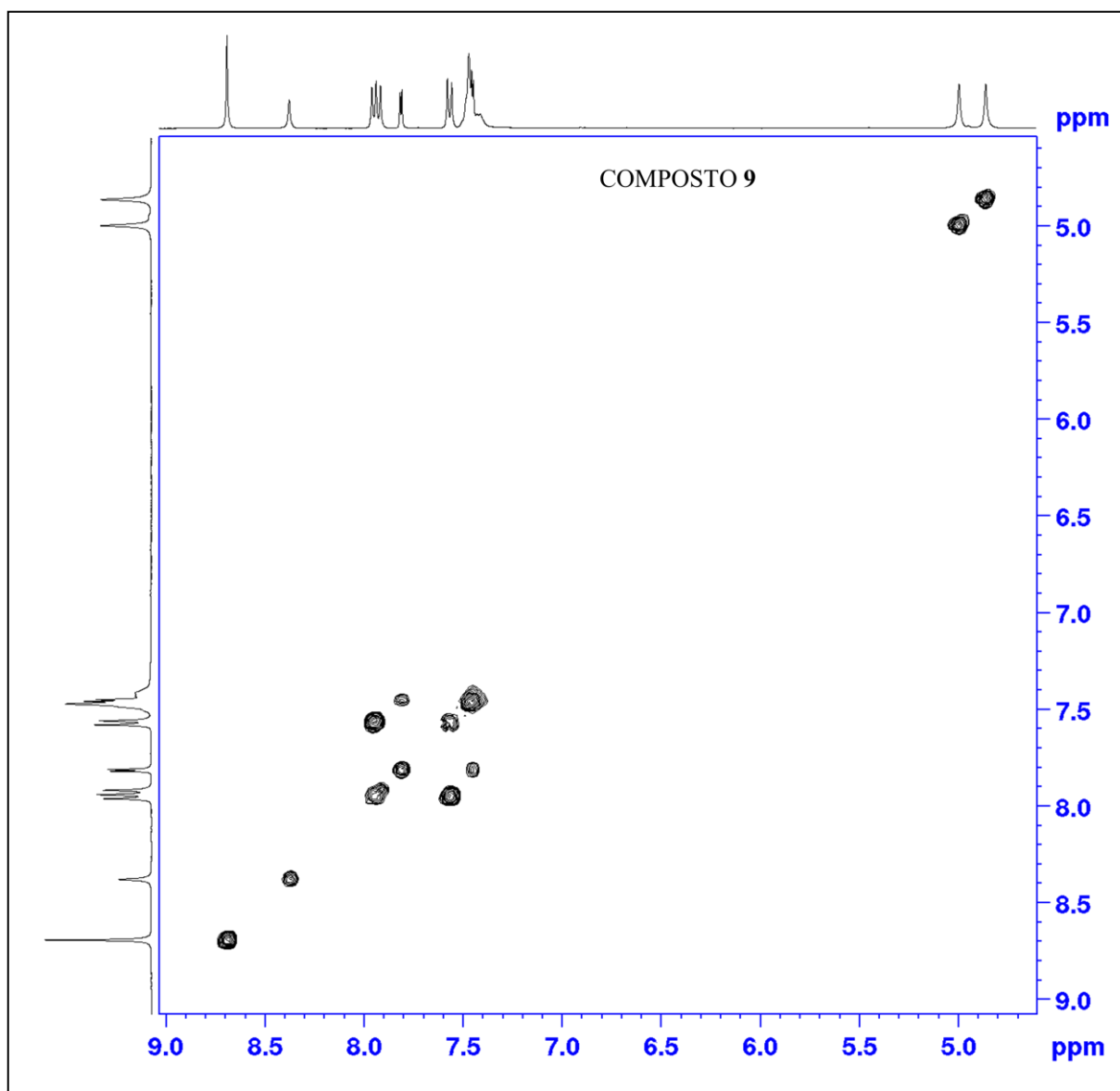


Figura A21: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (9).

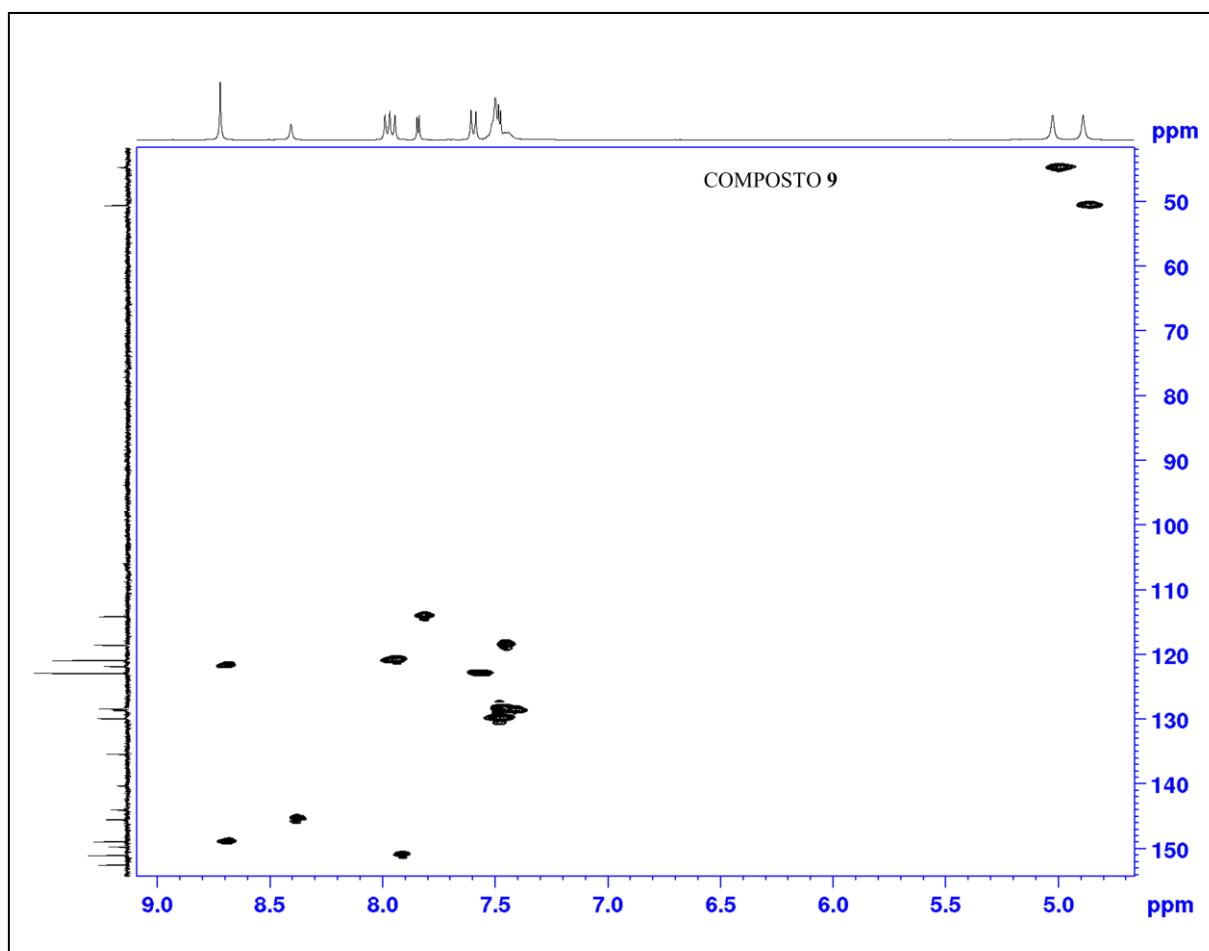


Figura A22: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (9).

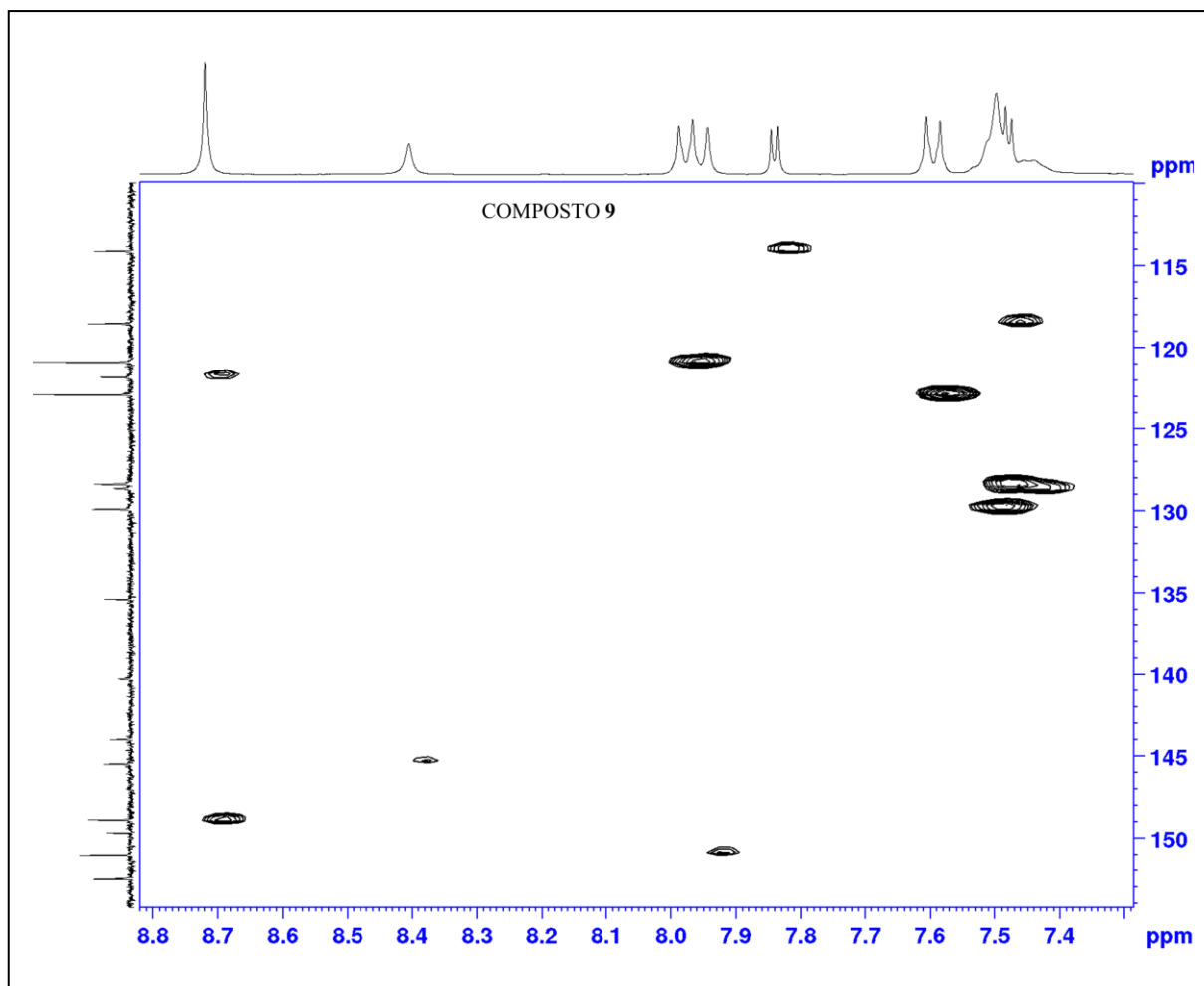


Figura A23: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-*d*₆ do composto (9).

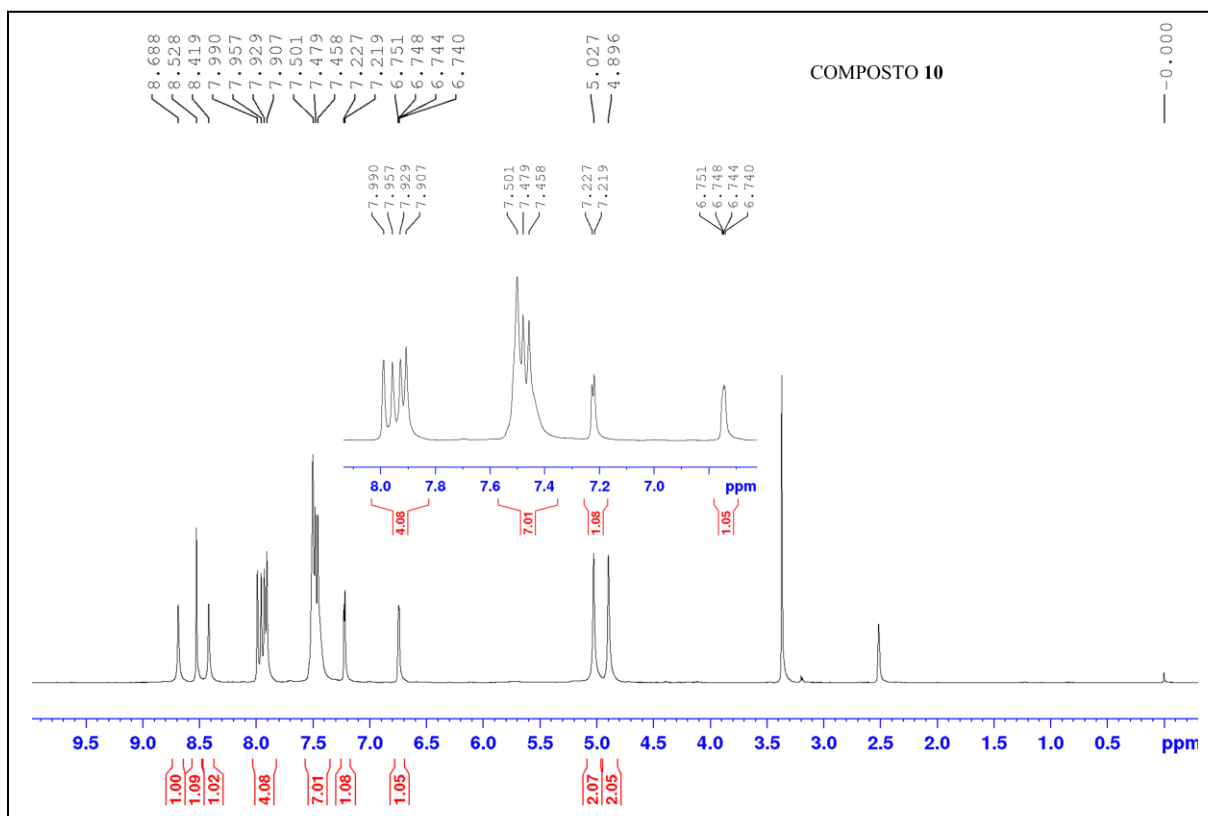


Figura A24: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO-}d_6$ do composto (10).

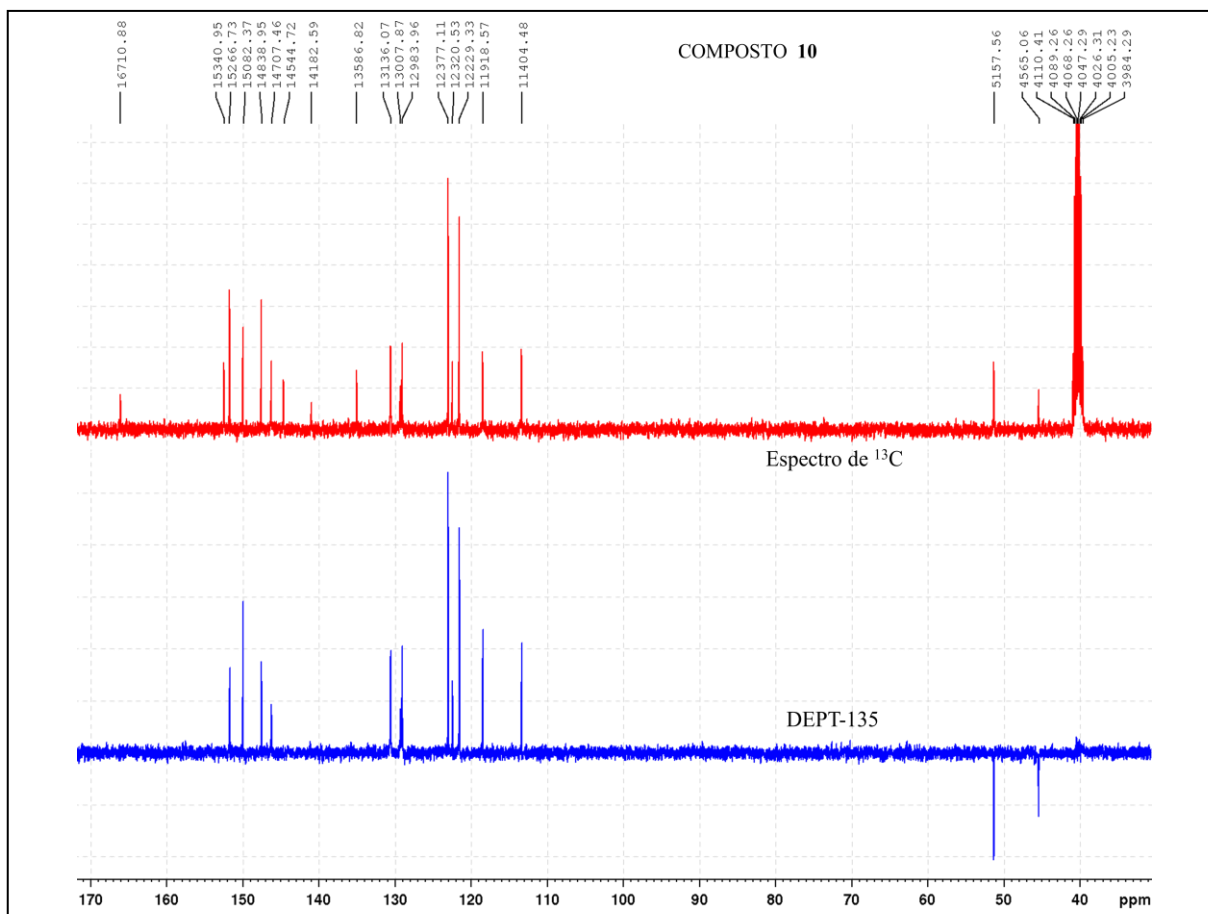


Figura A25: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO-}d_6$ do composto (10).

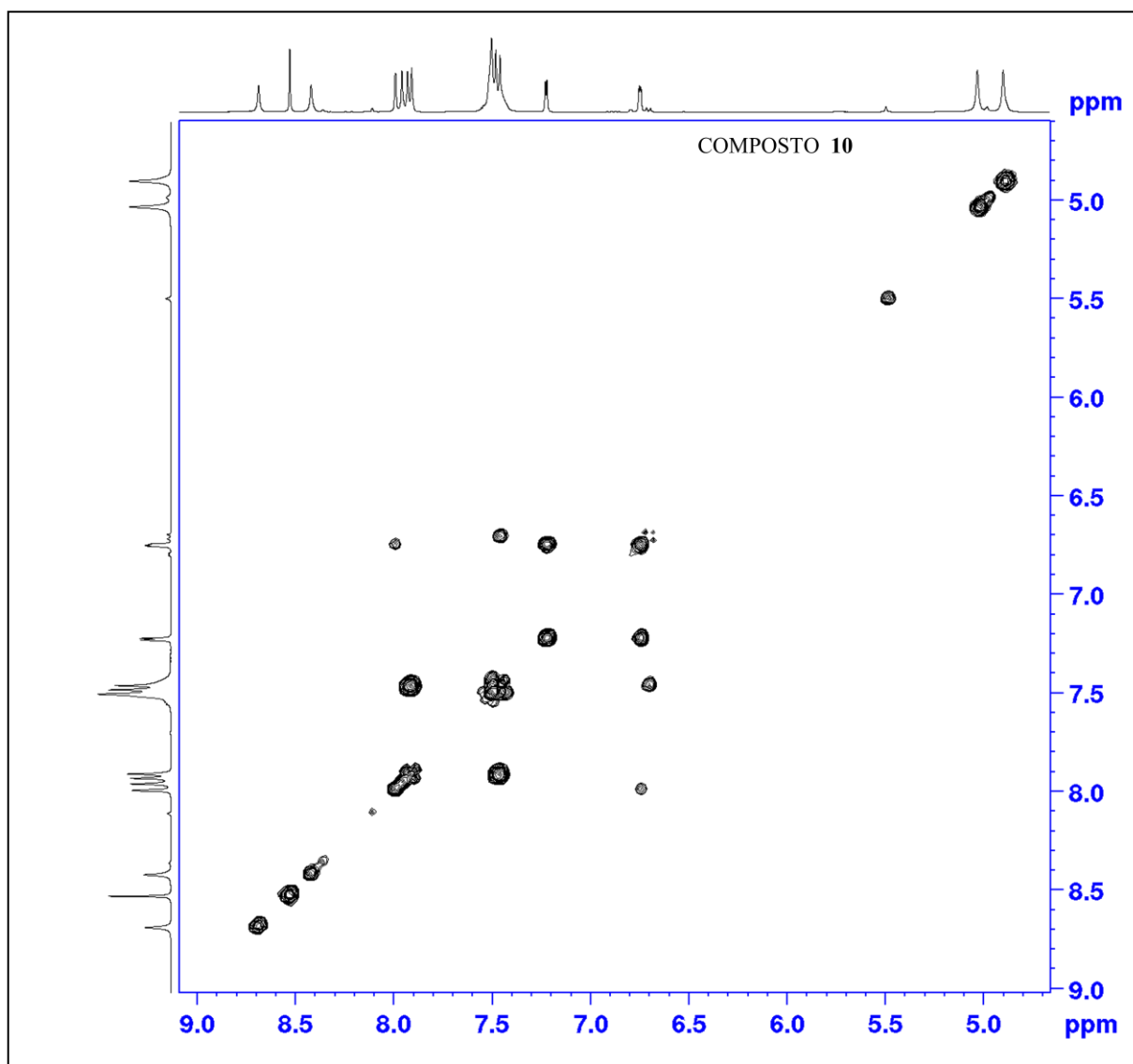


Figura A26: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (10).

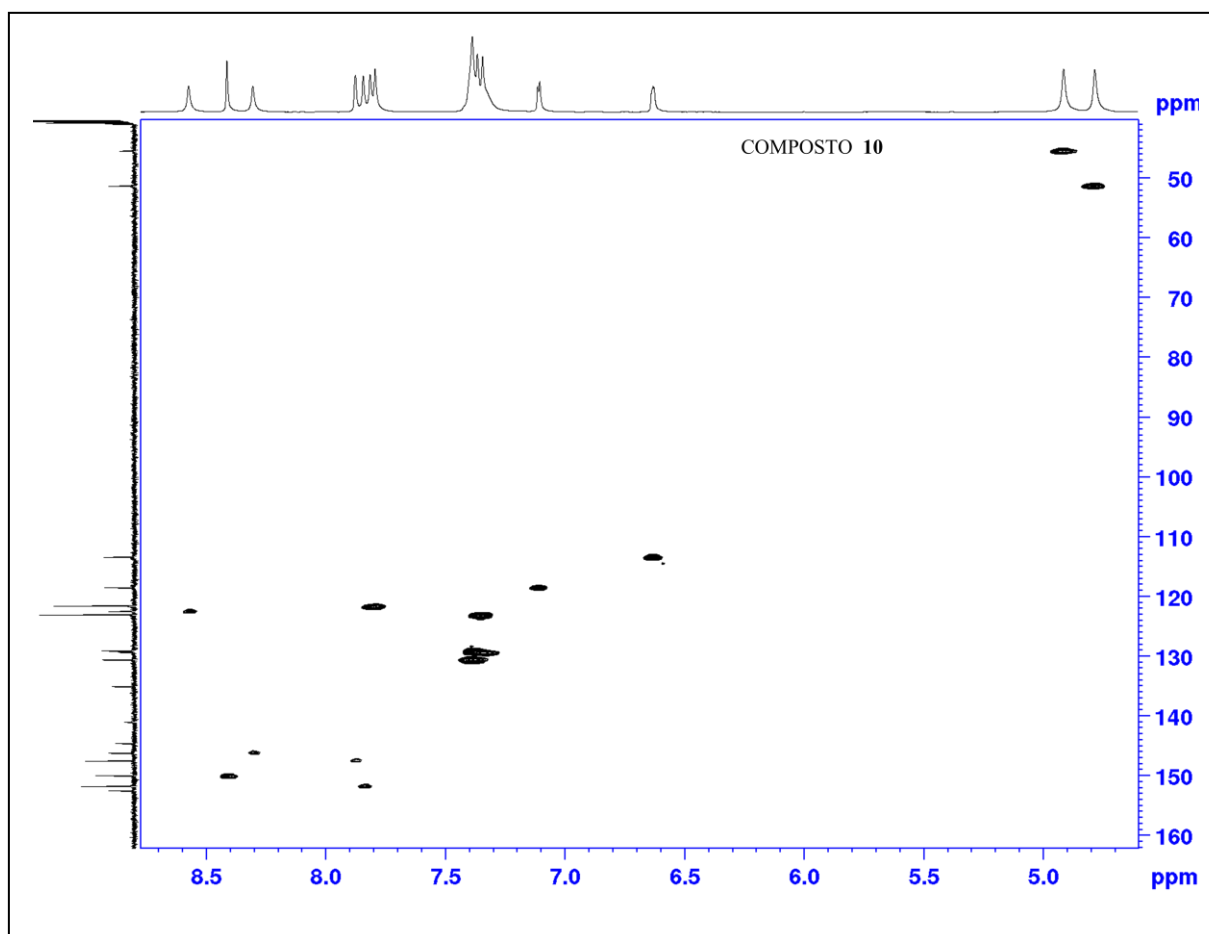


Figura A27: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (10).

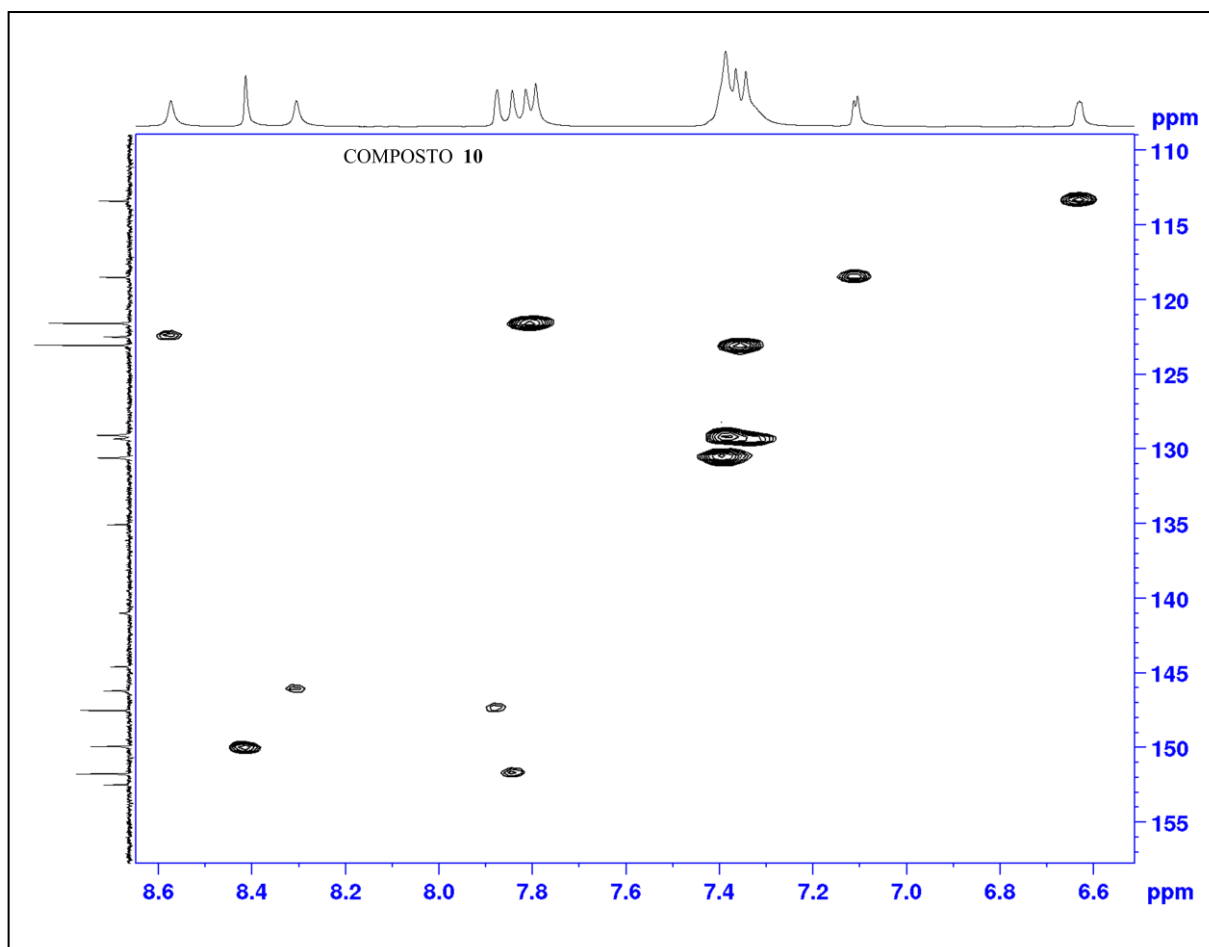


Figura A28: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (10).

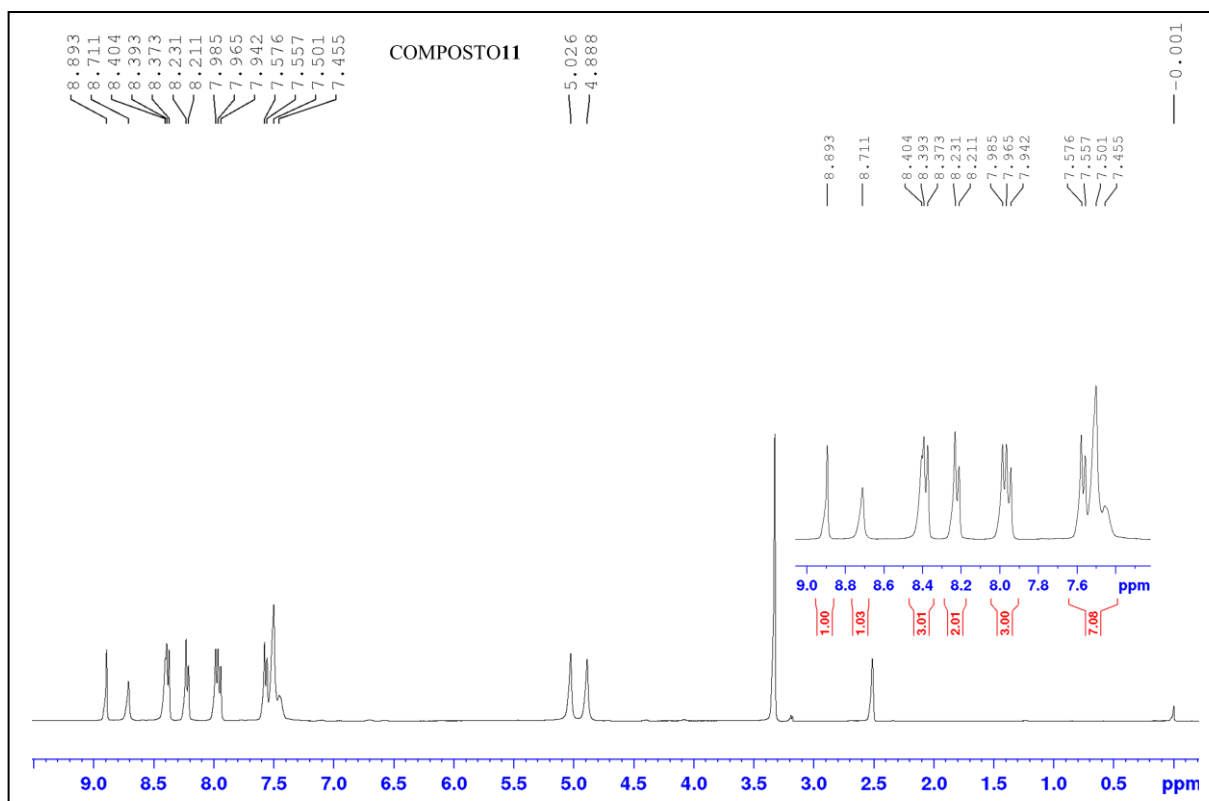


Figura A29: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (11).

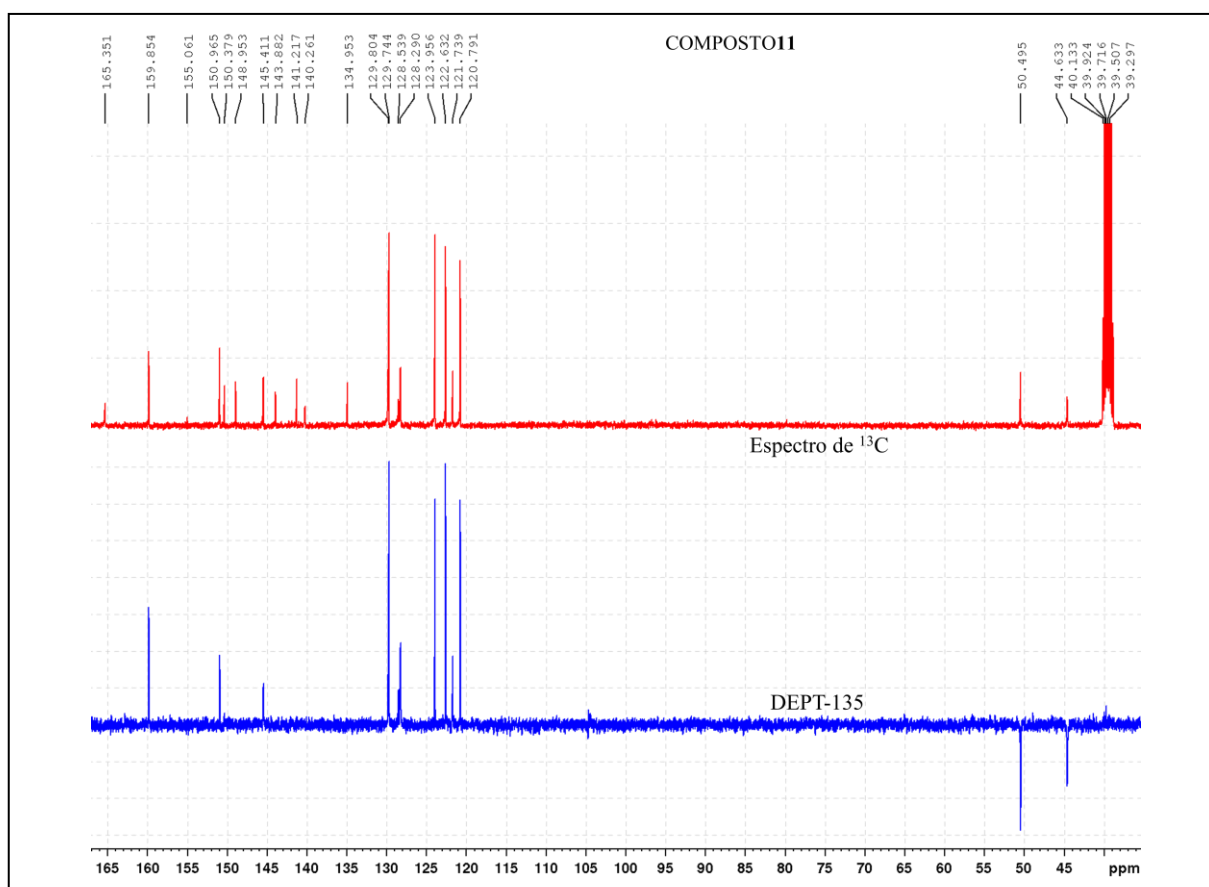


Figura A30: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (11).

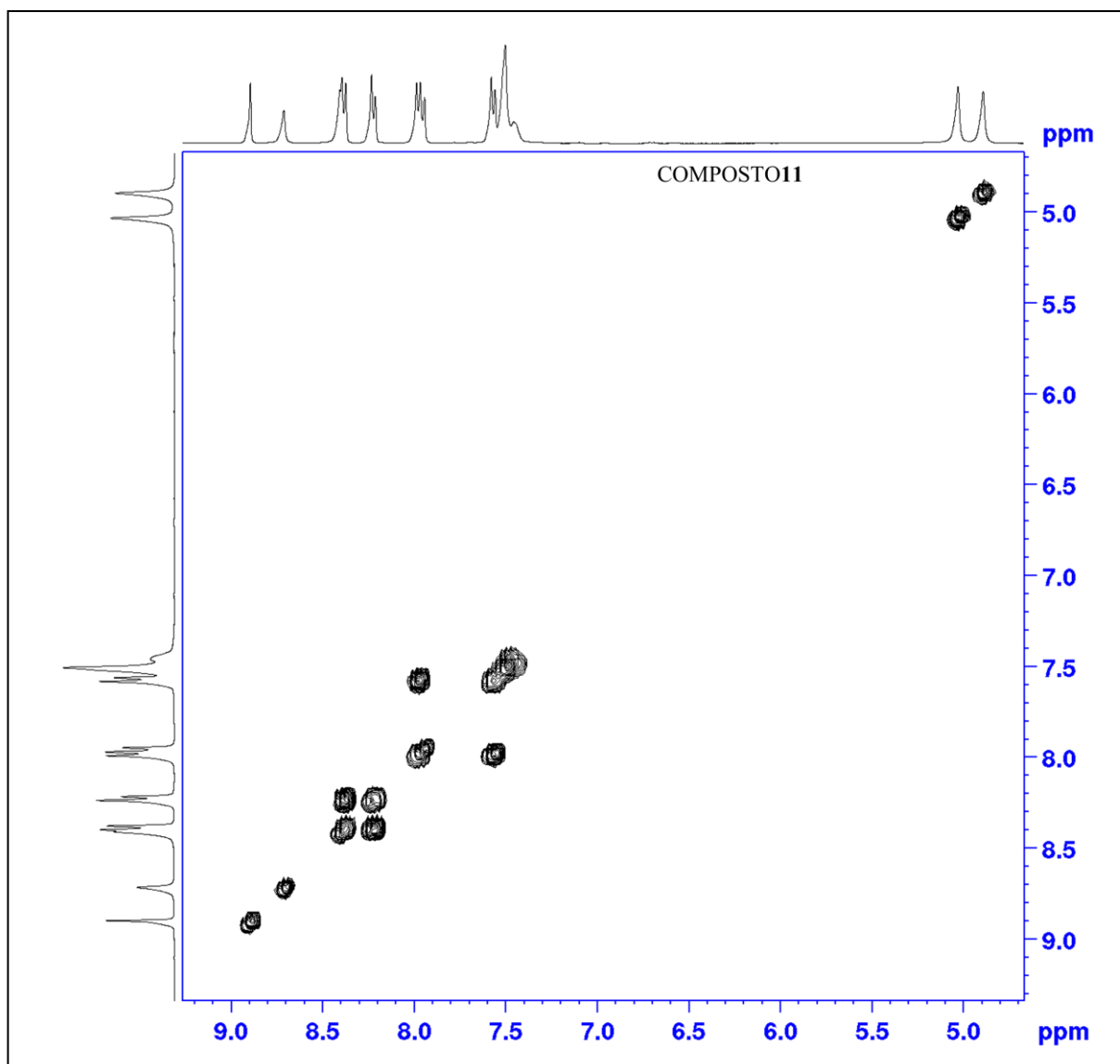


Figura A31: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (11).

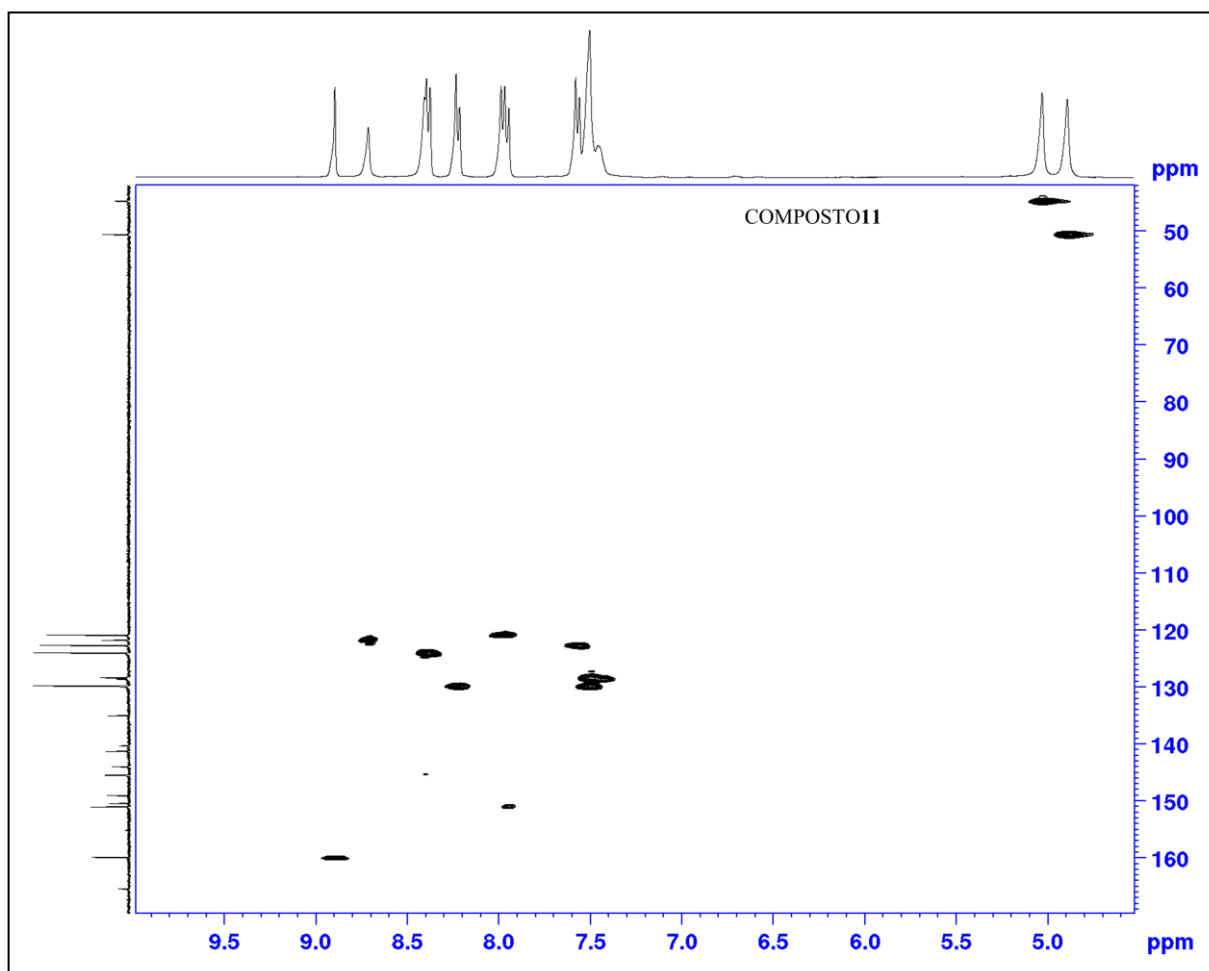


Figura A32: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-*d*₆ do composto (11).

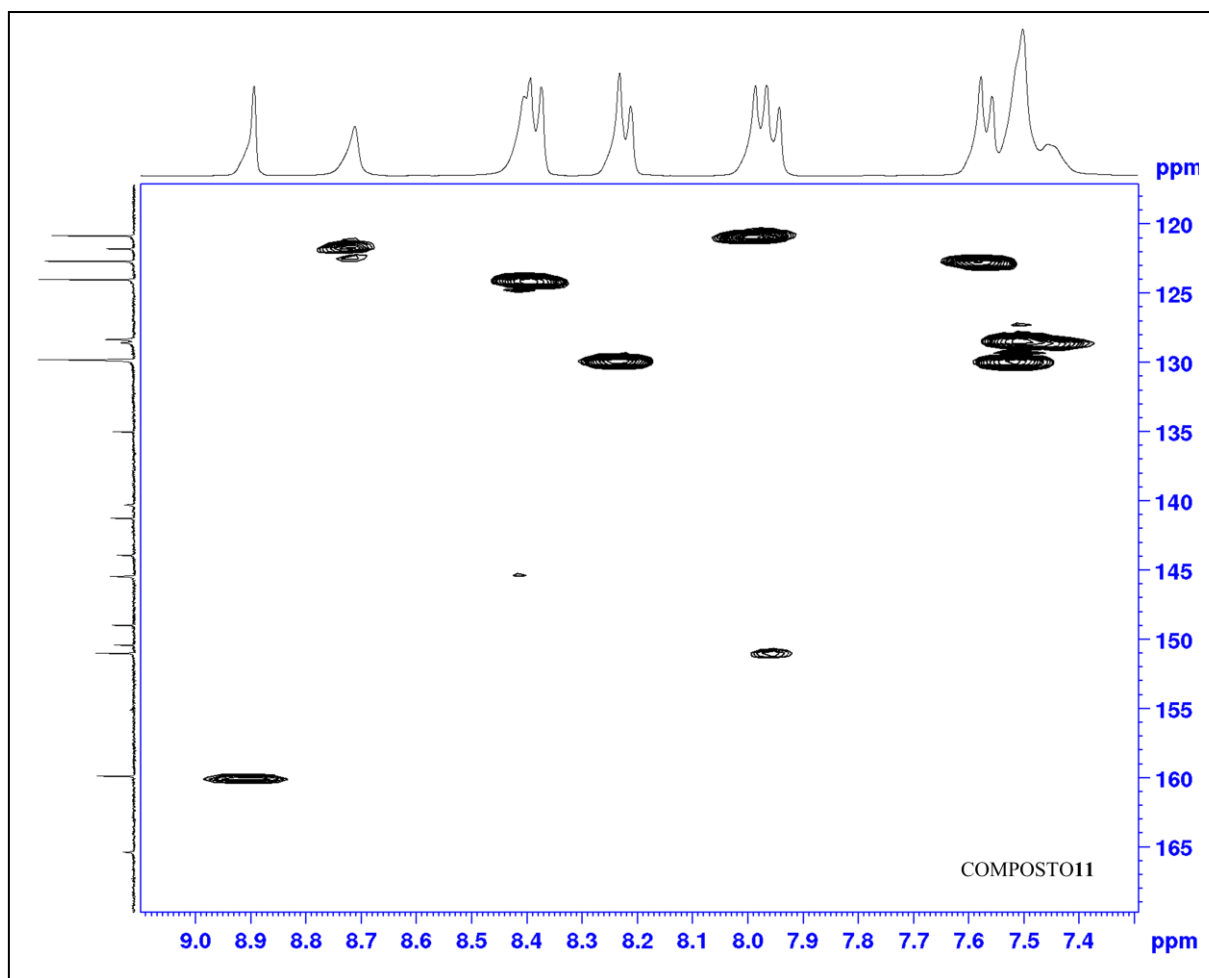


Figura A33: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-*d*₆ do composto (**11**).

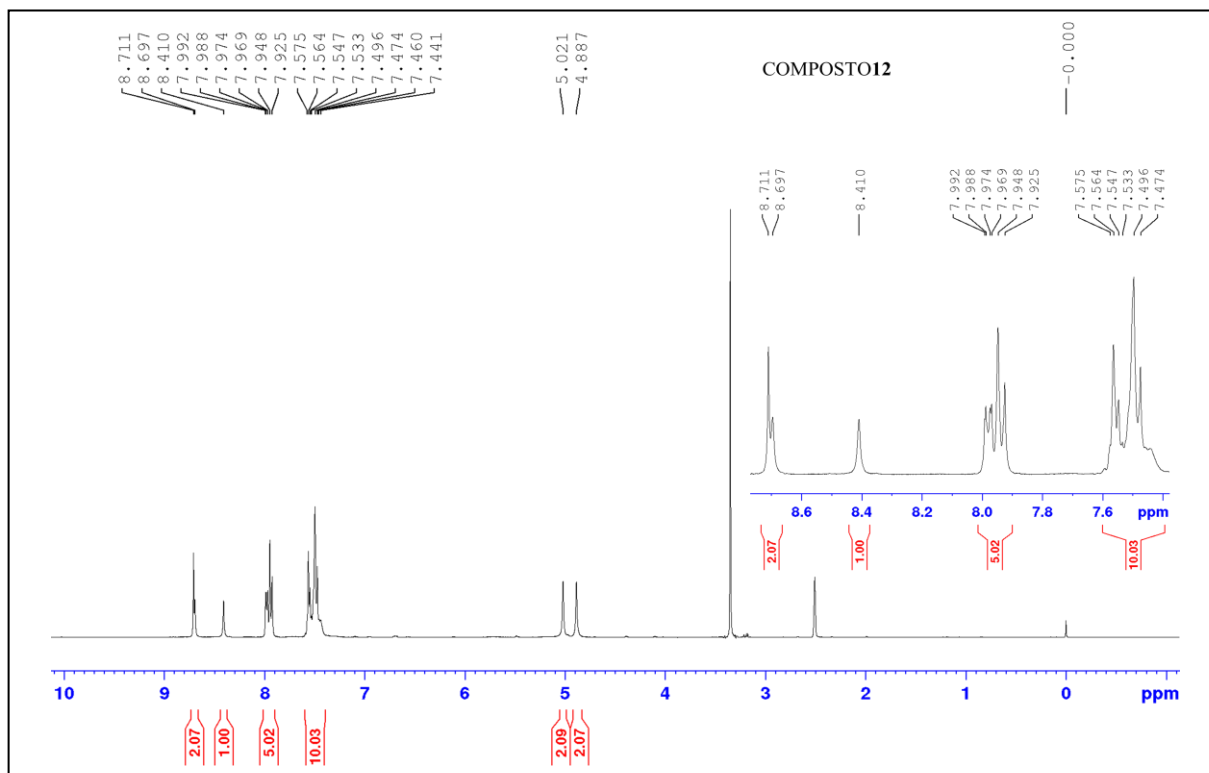


Figura A34: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (12).

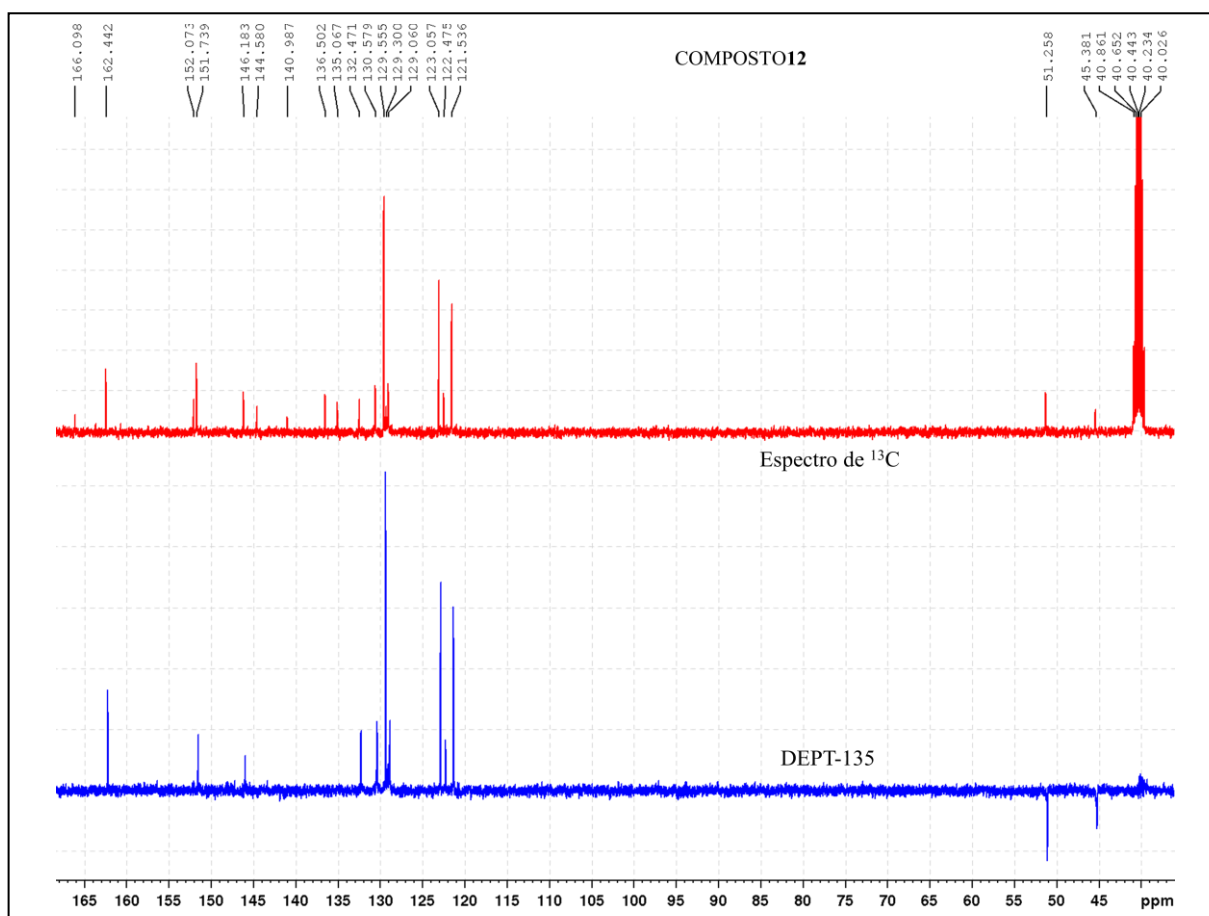


Figura A35: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (12).

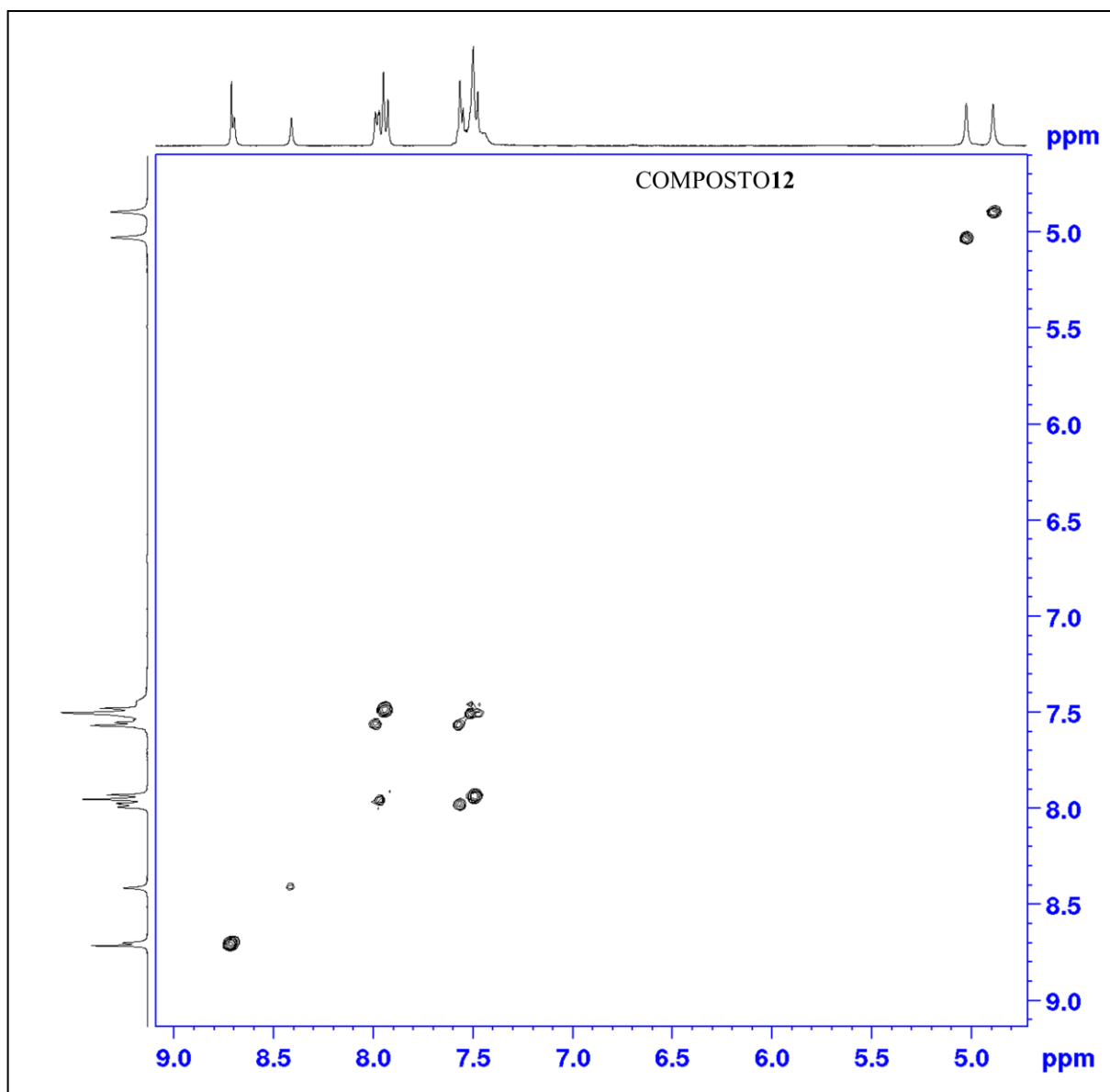


Figura A36: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (12).

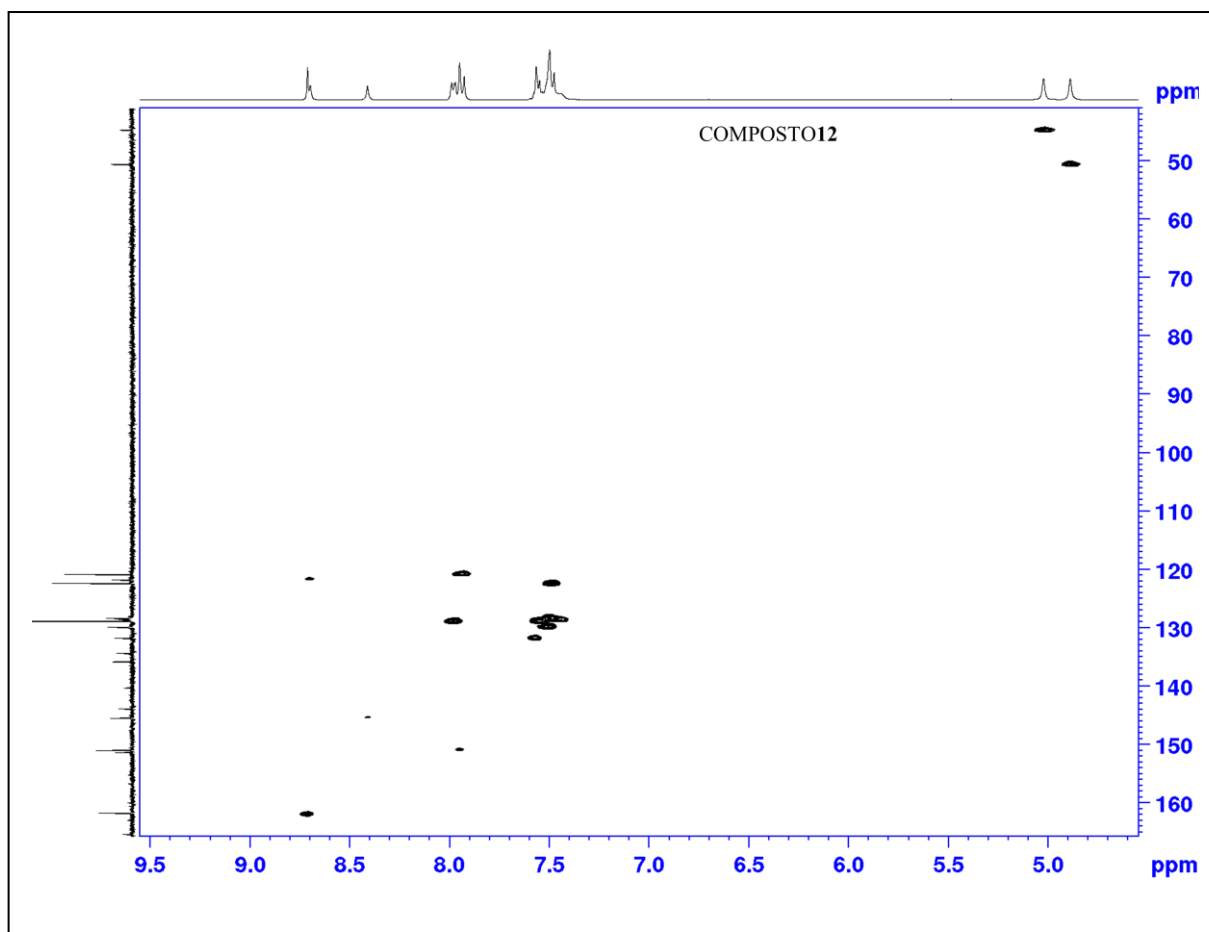


Figura A37: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (12).

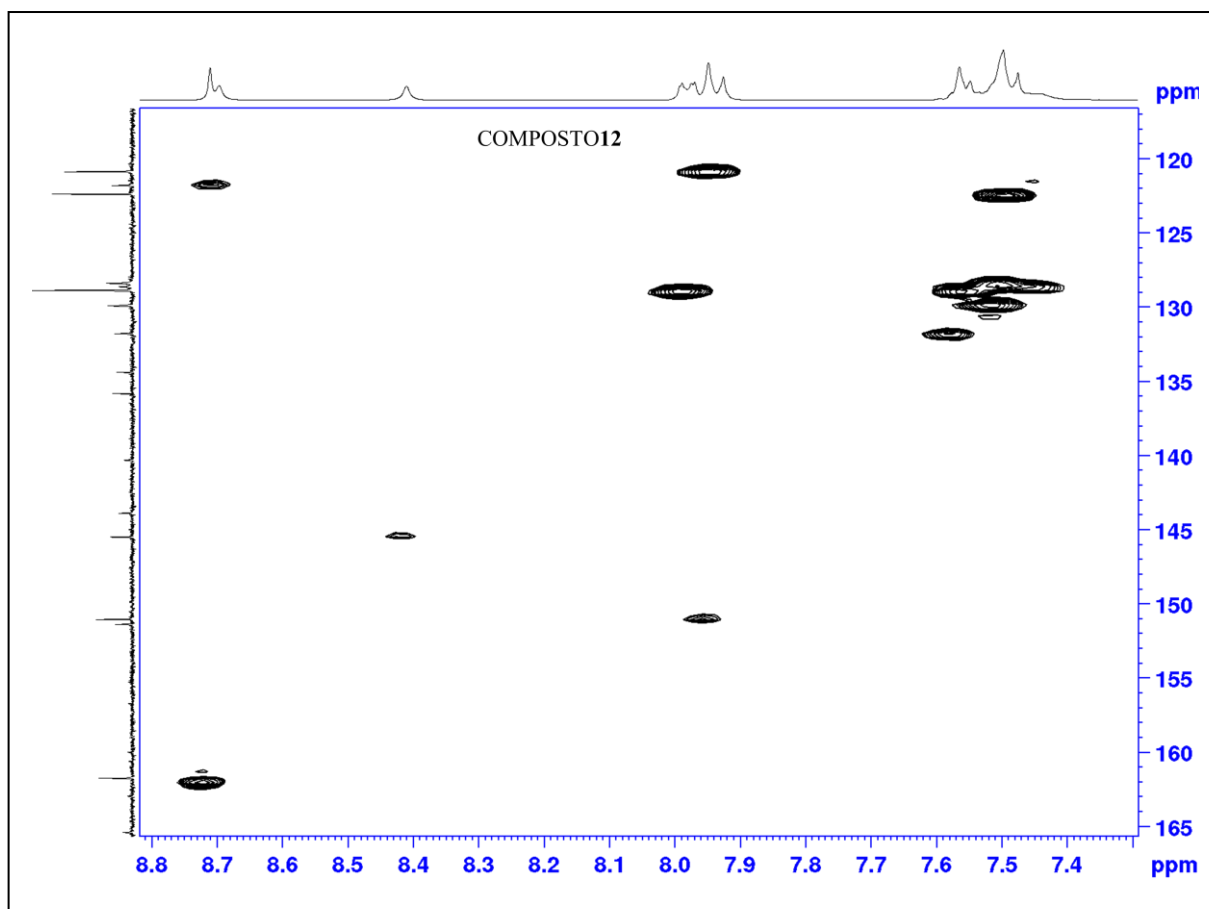


Figura A38: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (12).

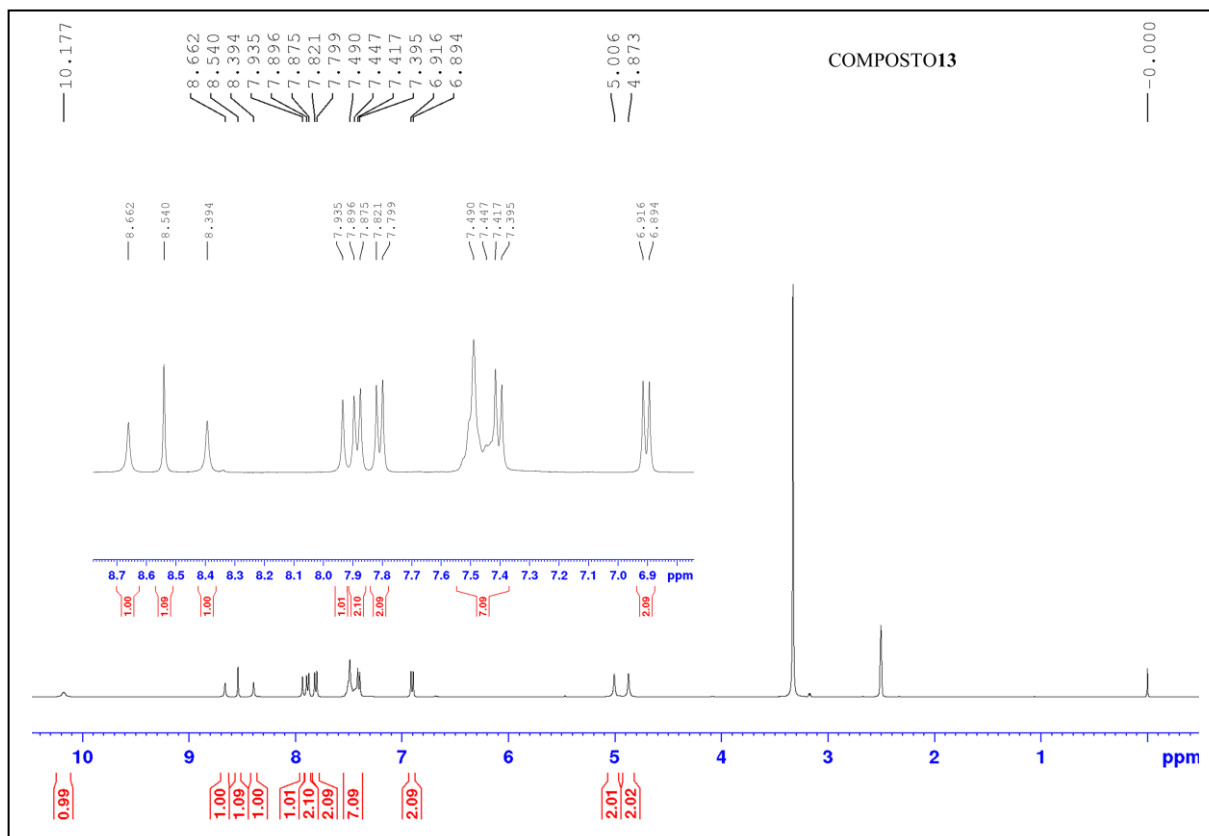


Figura A39: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (13).

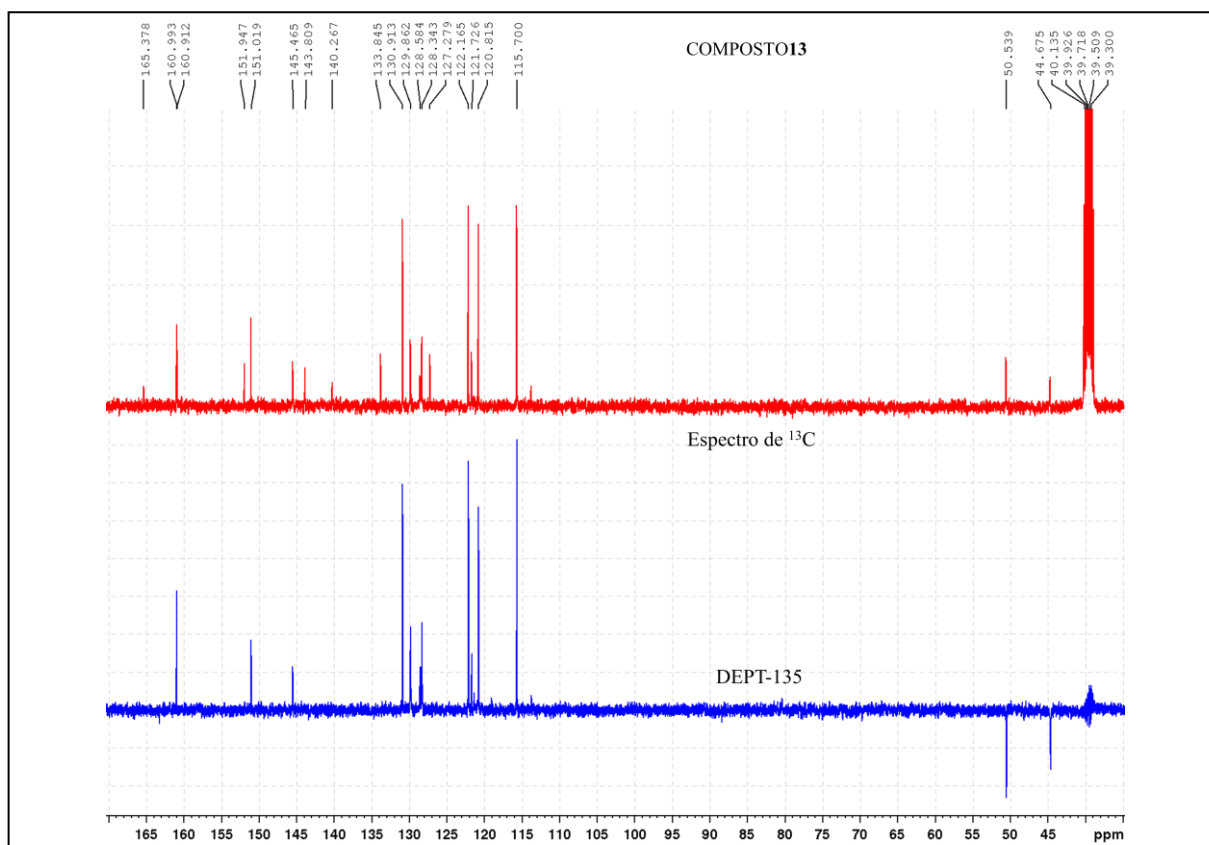


Figura A40: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (13).

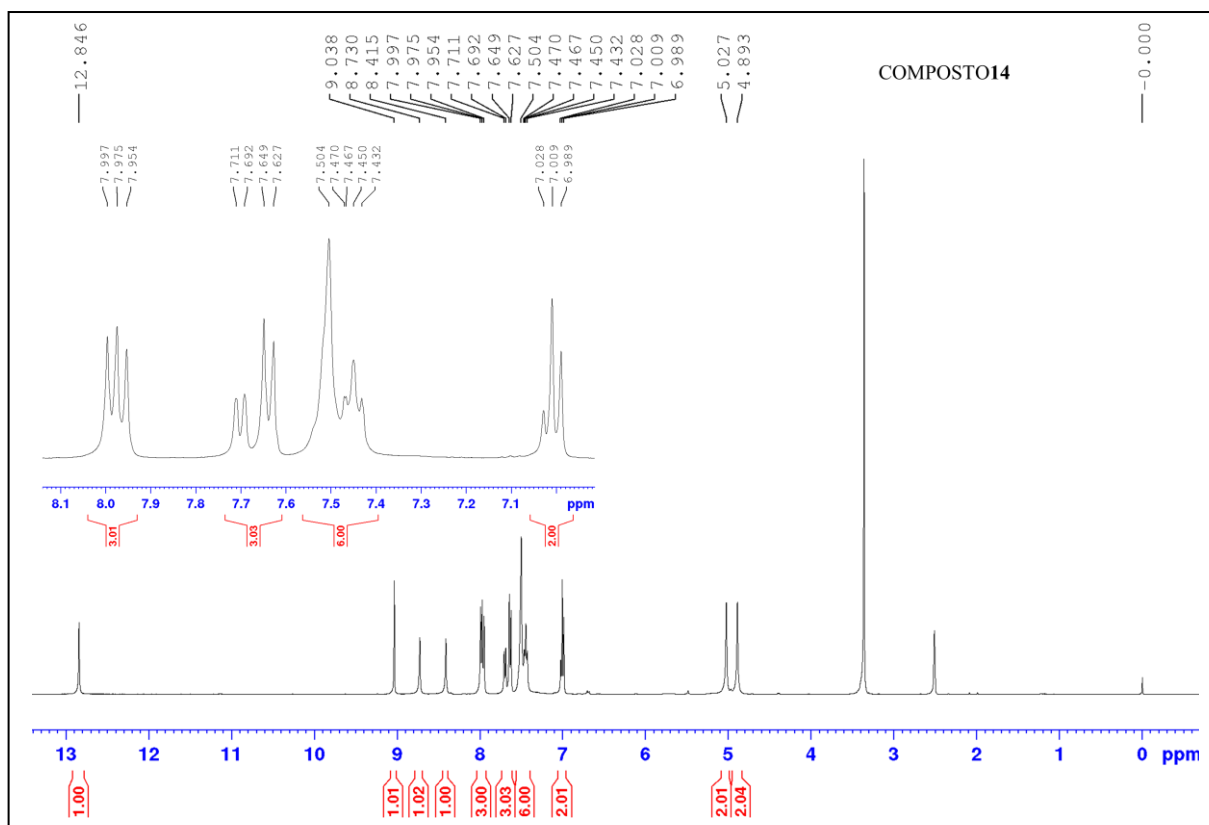


Figura A41: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (14).

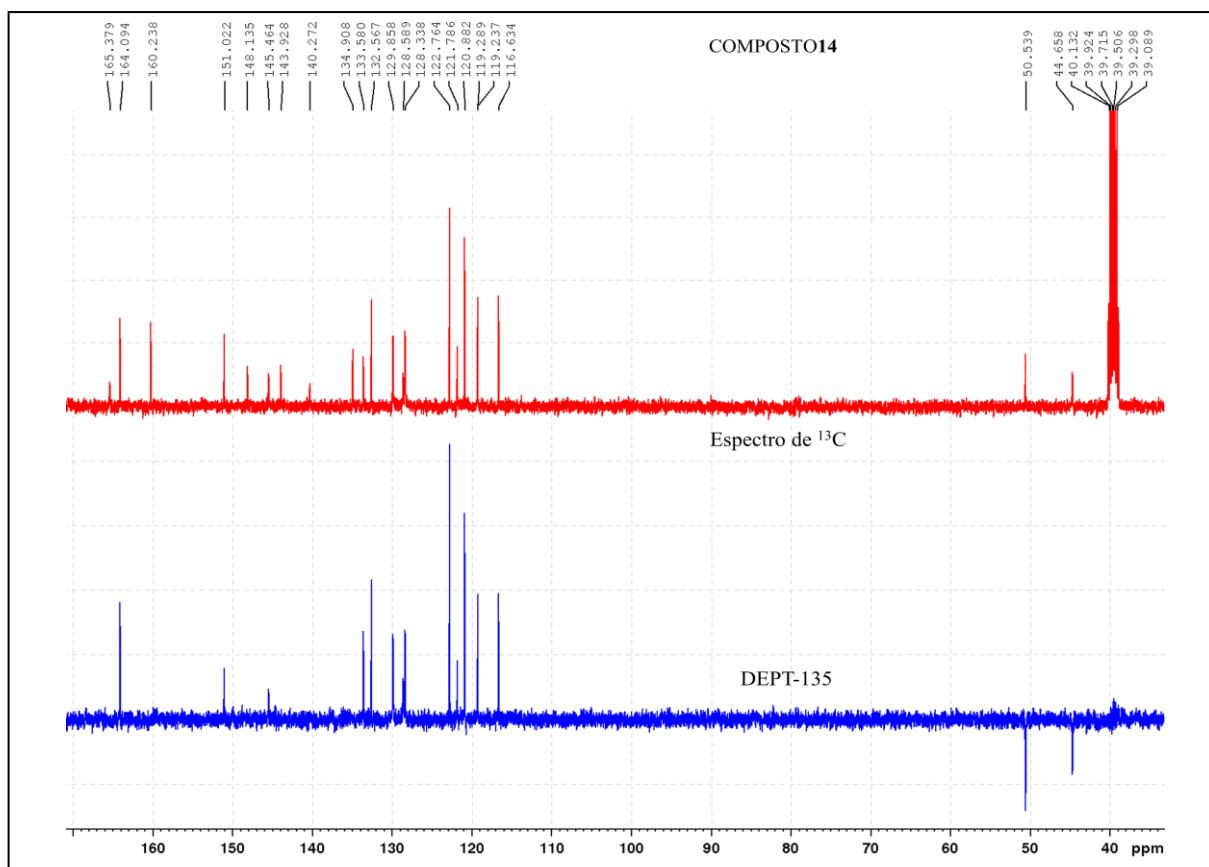


Figura A42: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (14).

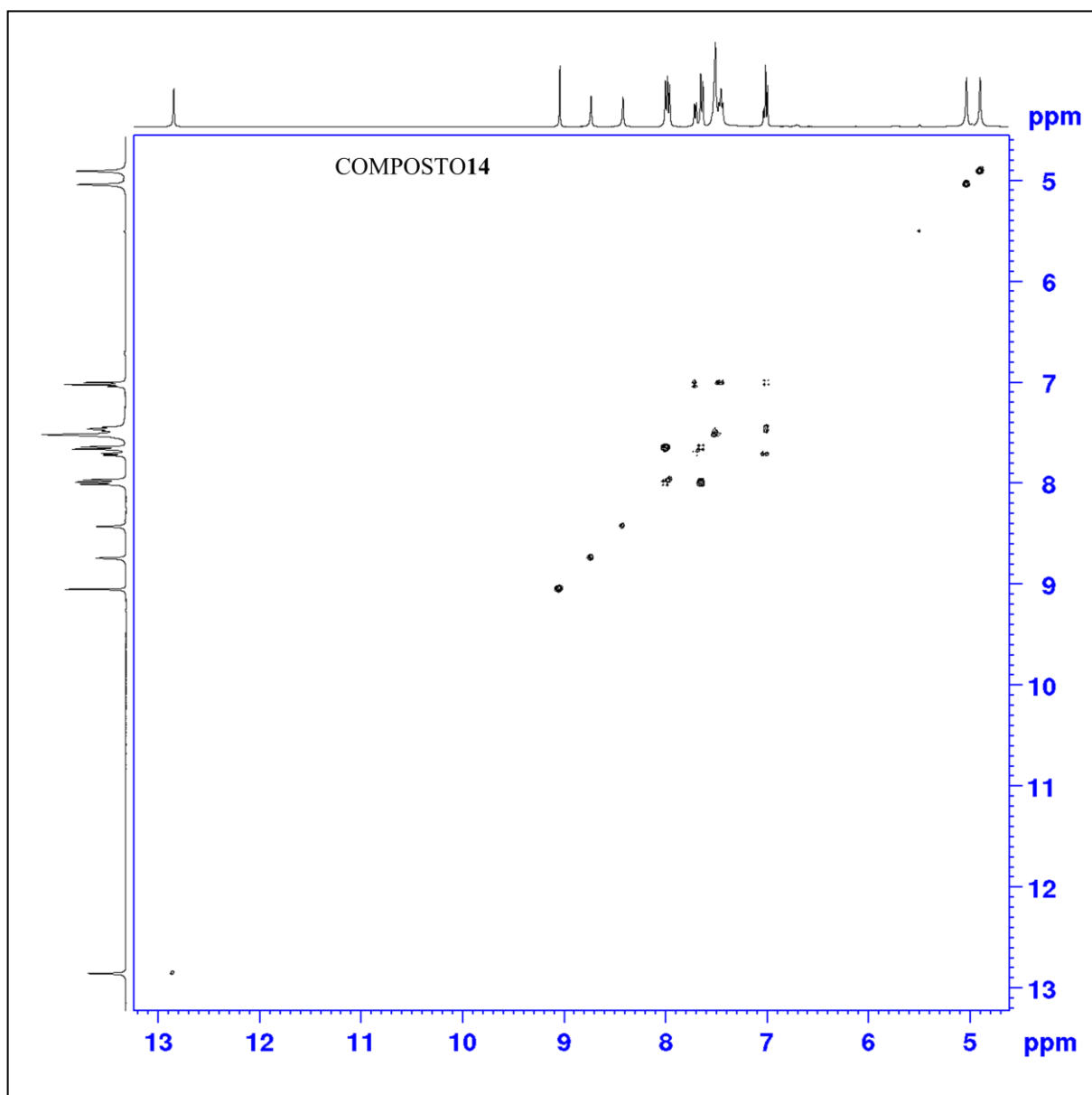


Figura A43: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (14).

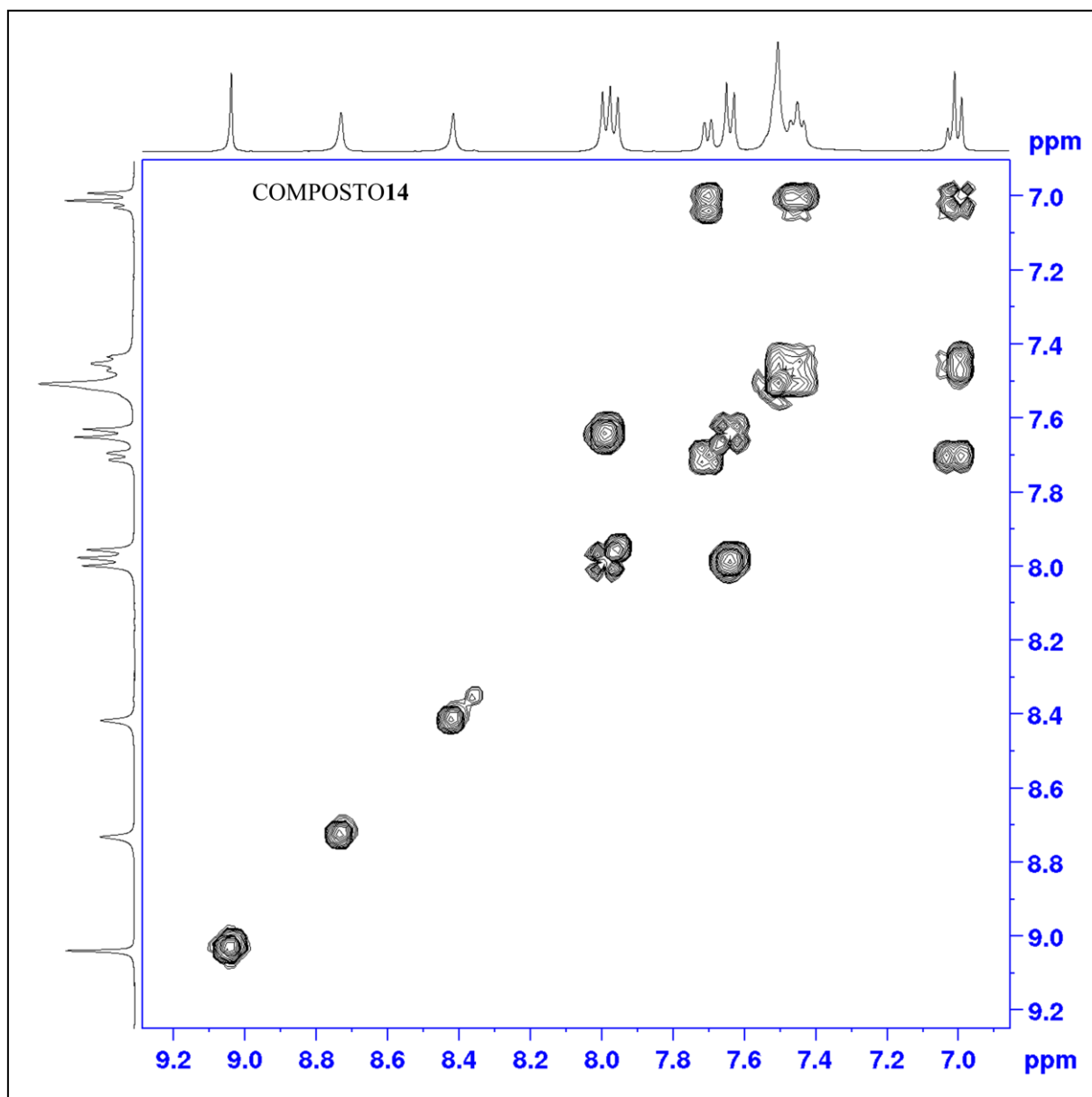


Figura A44: Ampliação as região aromática do mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO-*d*₆ do composto (14).

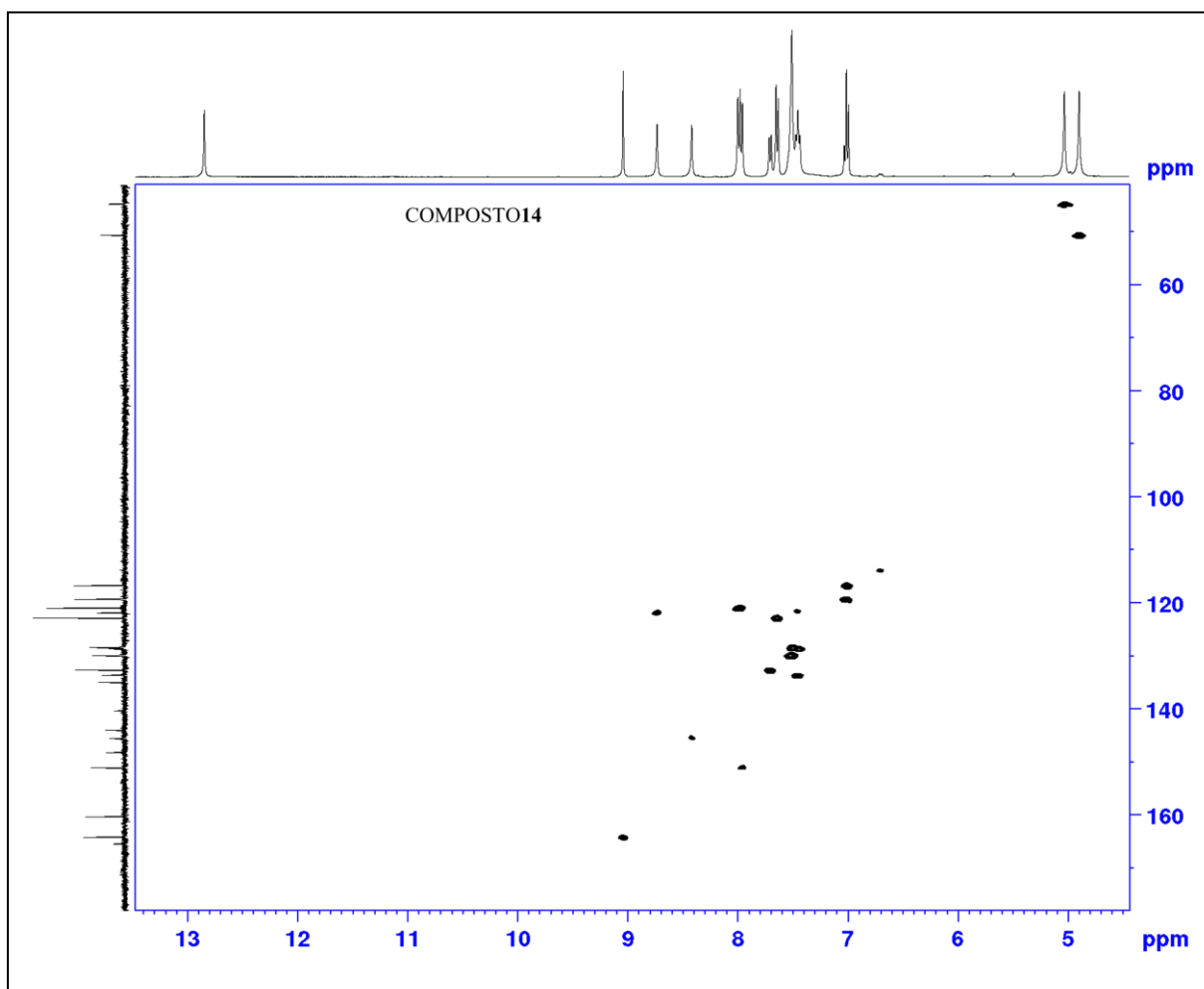


Figura A45: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (14).

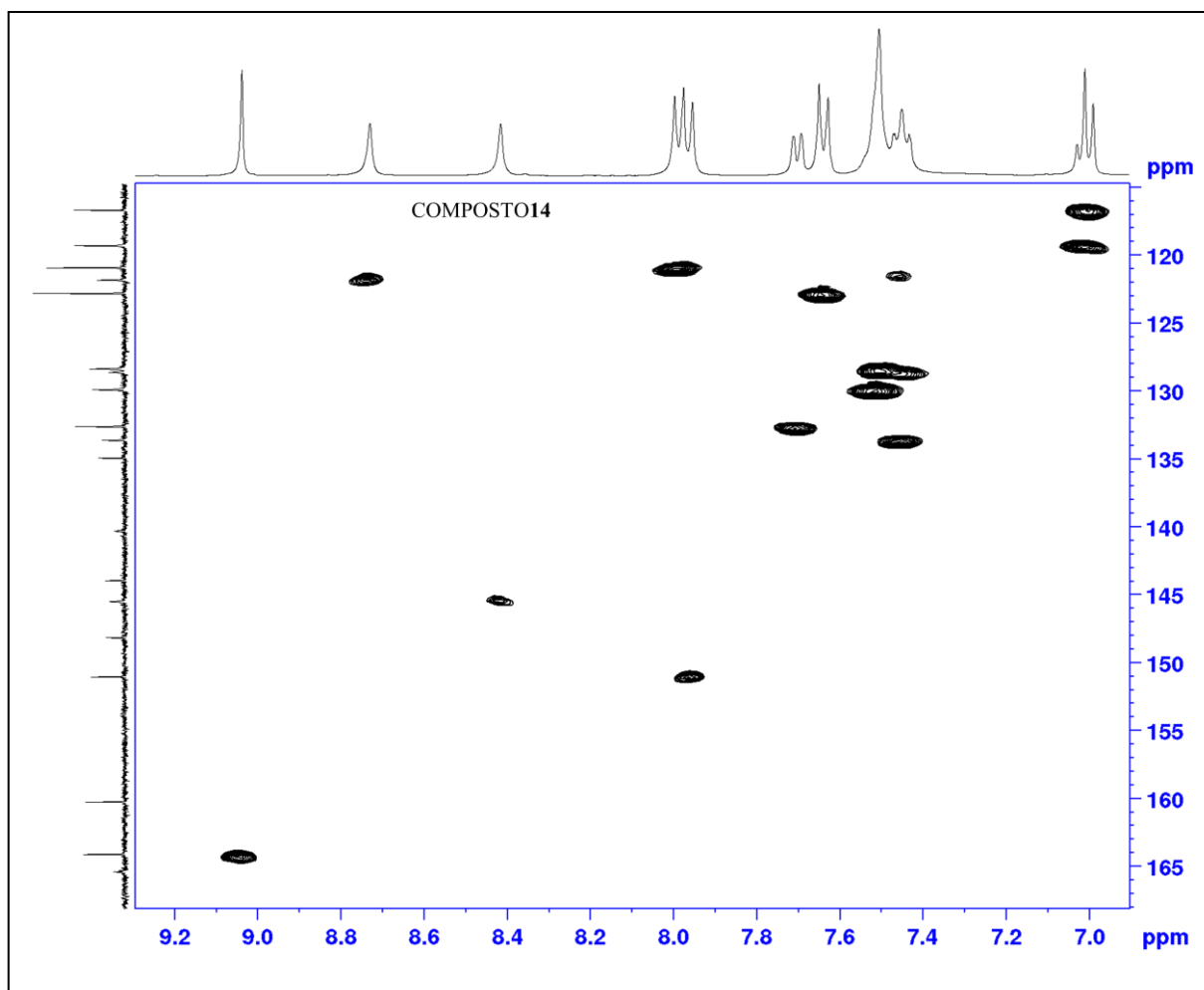


Figura A46: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (14).

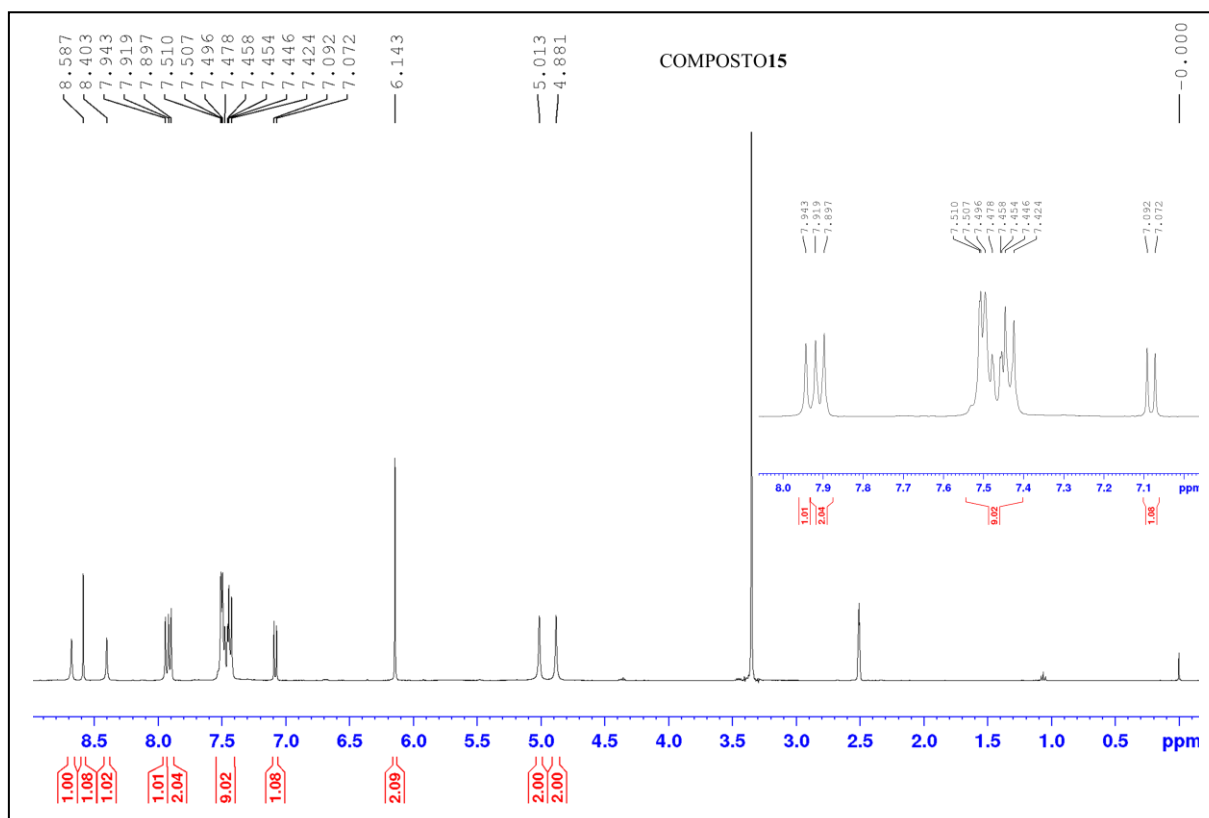


Figura A47: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (15).

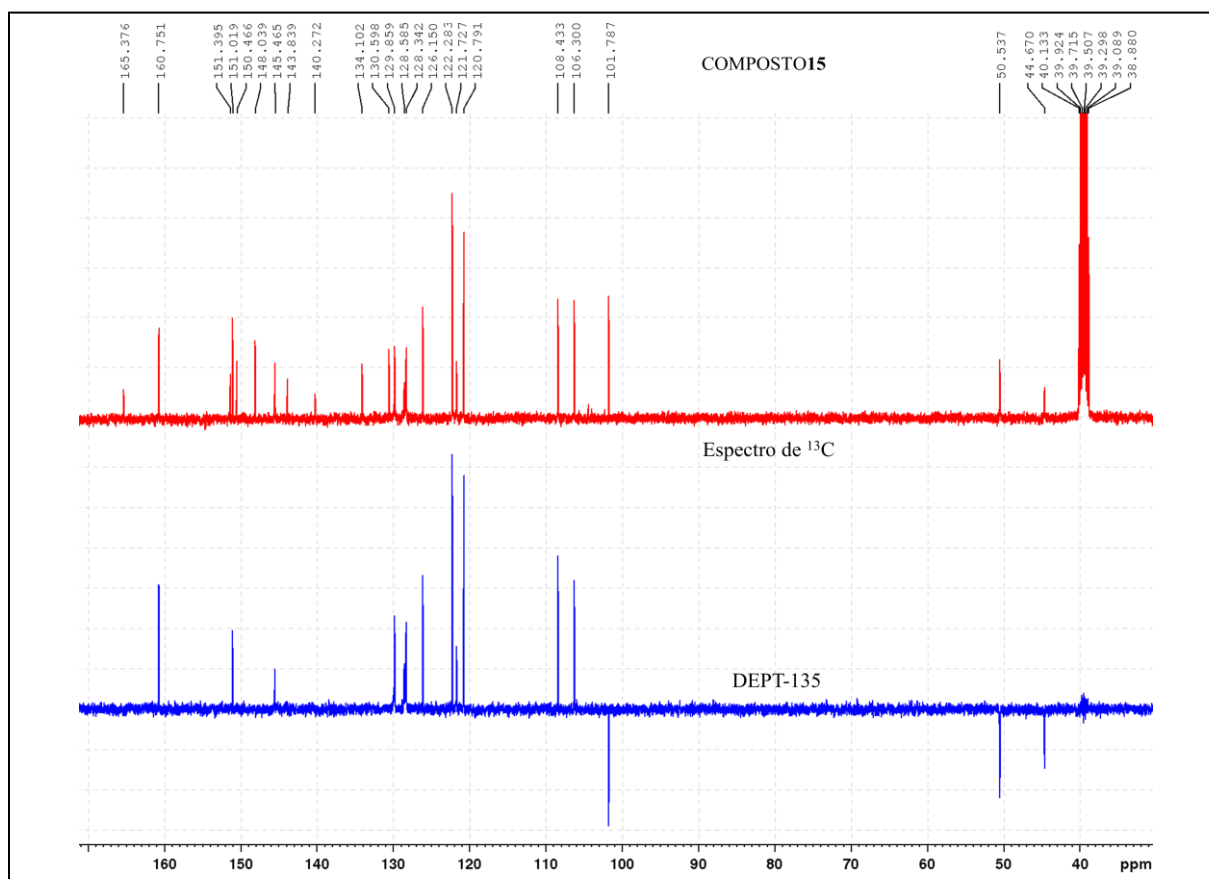


Figura A48: Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) em $\text{DMSO}-d_6$ do composto (15).

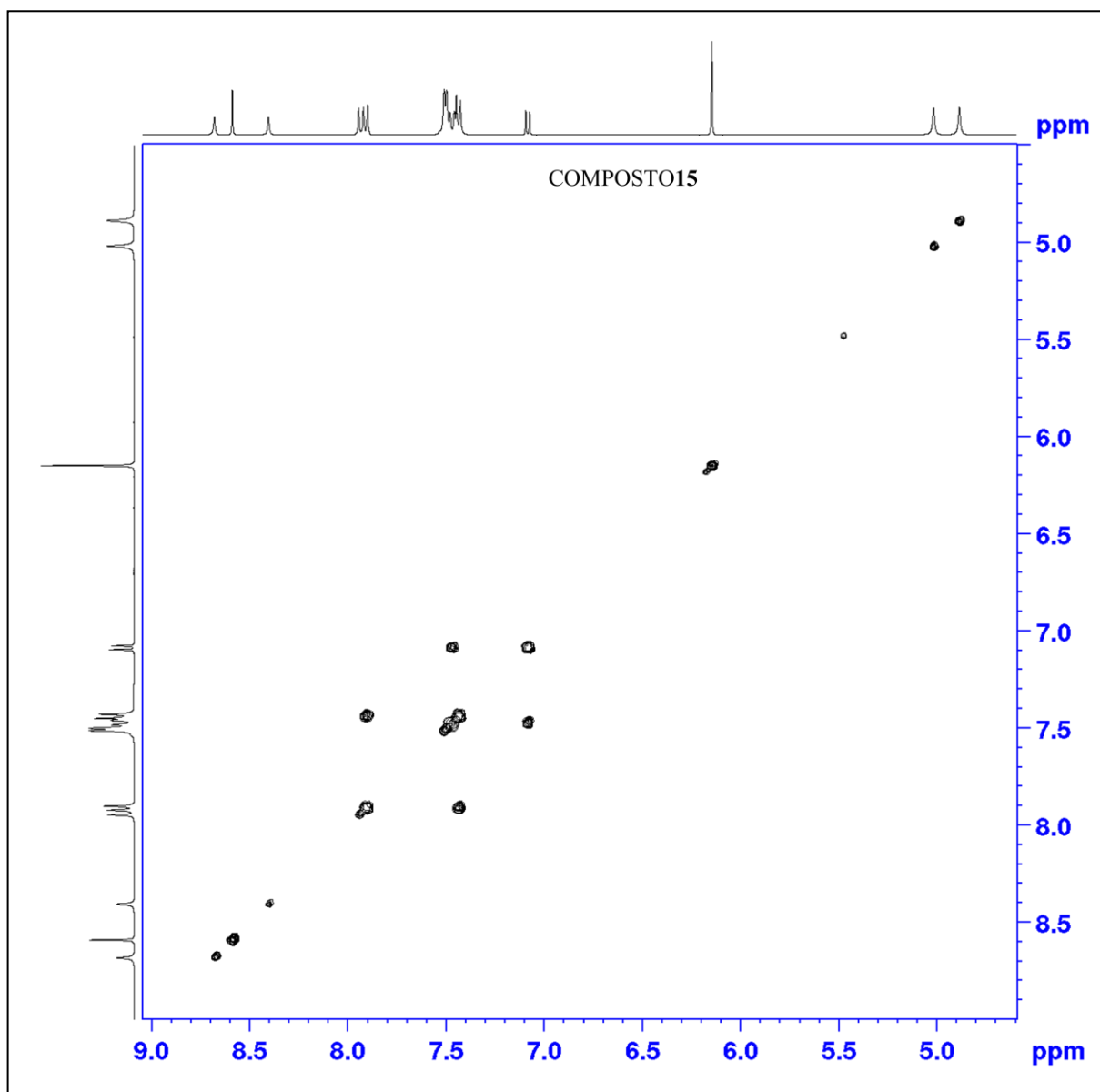


Figura A49: Mapa de correlações COSY (400 MHz) em DMSO- d_6 do composto (15).

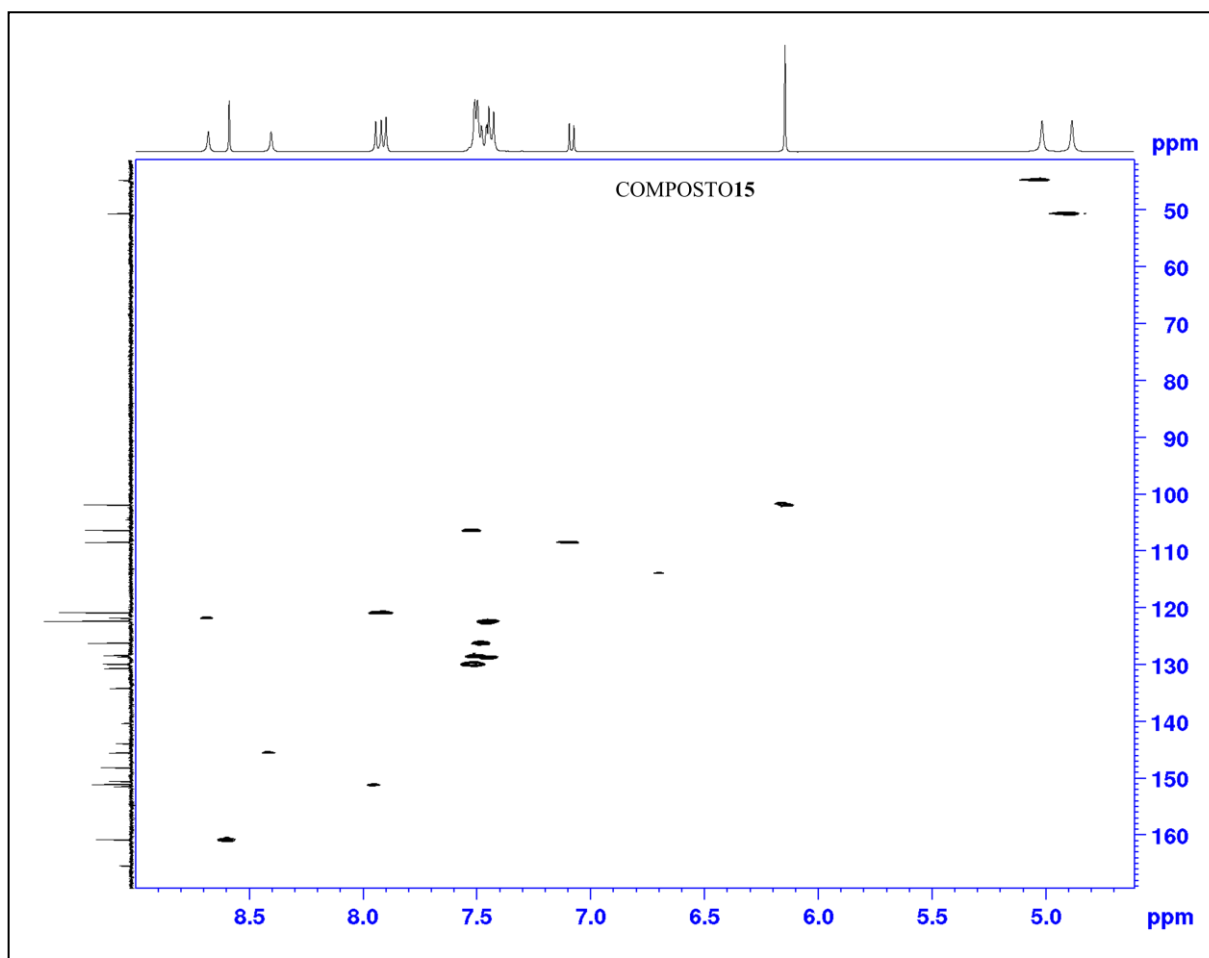


Figura A50: Mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-*d*₆ do composto (15).

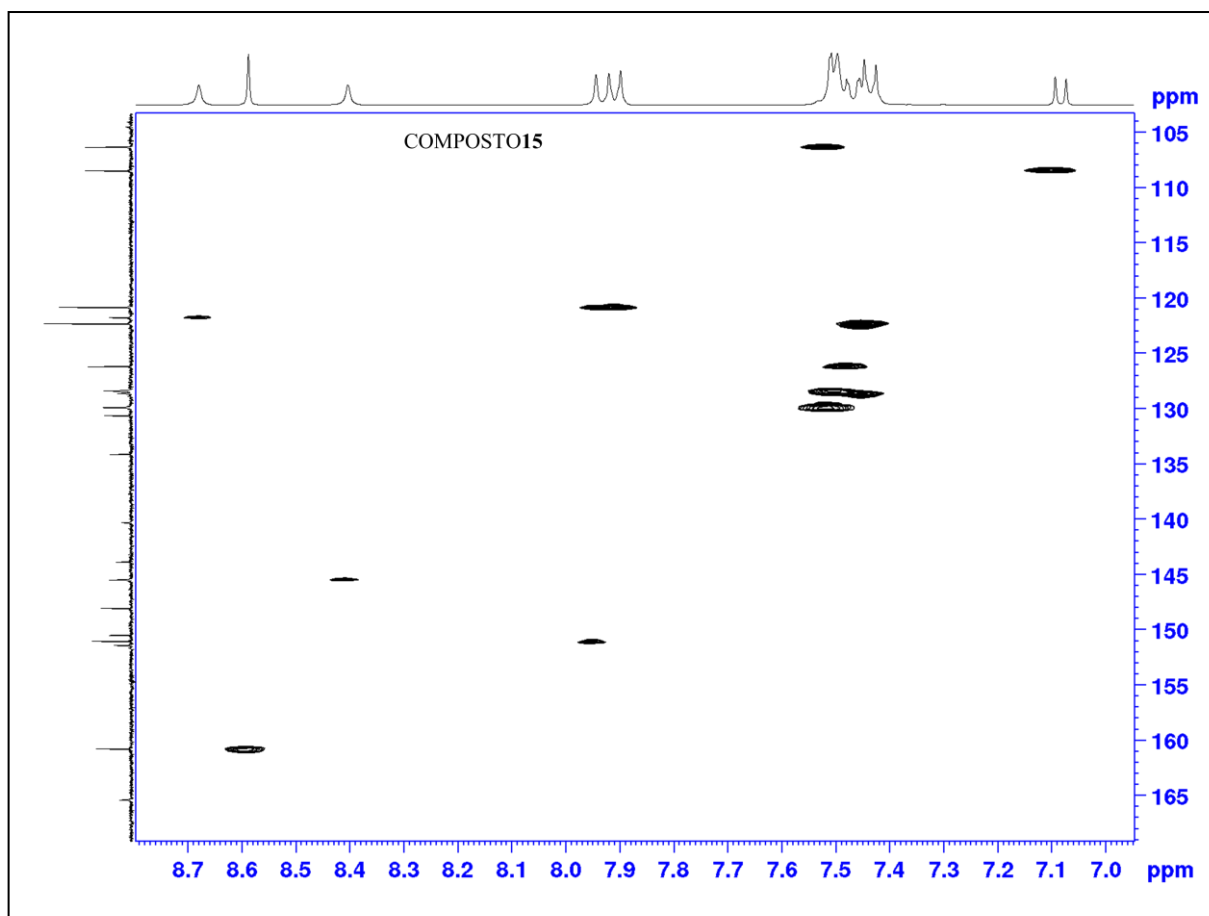


Figura A51: Ampliação as região aromática do mapa de correlações HSQC (400 MHz) em DMSO-*d*₆ do composto (15).

TABELAS E FIGURAS ORTEP-3 DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X

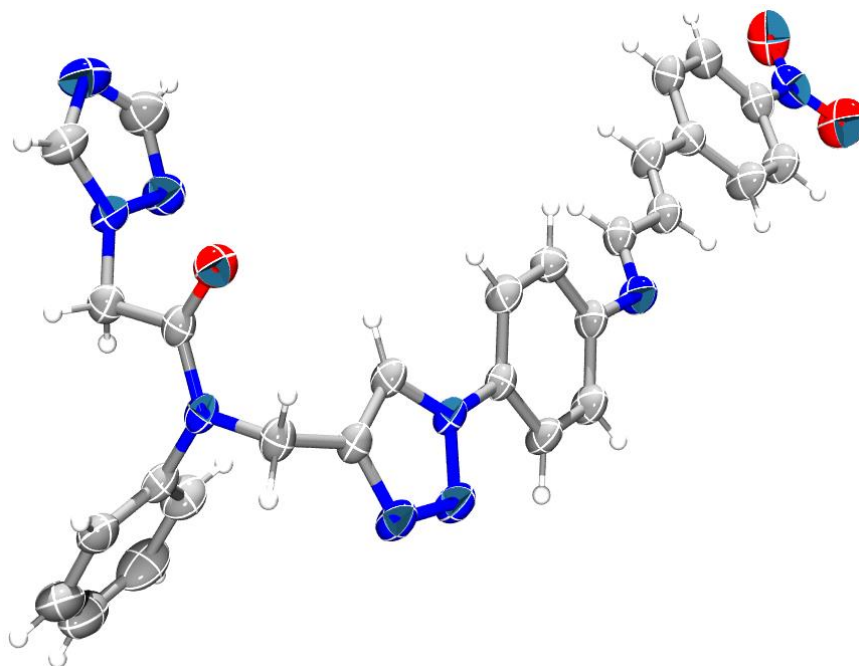


Figura A52: Unidade assimétrica cristalográfica do composto **6**. Átomos não hidrogenóides são representados pelos respectivos elipsoides a uma probabilidade de 30%. Átomos de hidrogênio são mostrados como esferas de raio arbitrário.

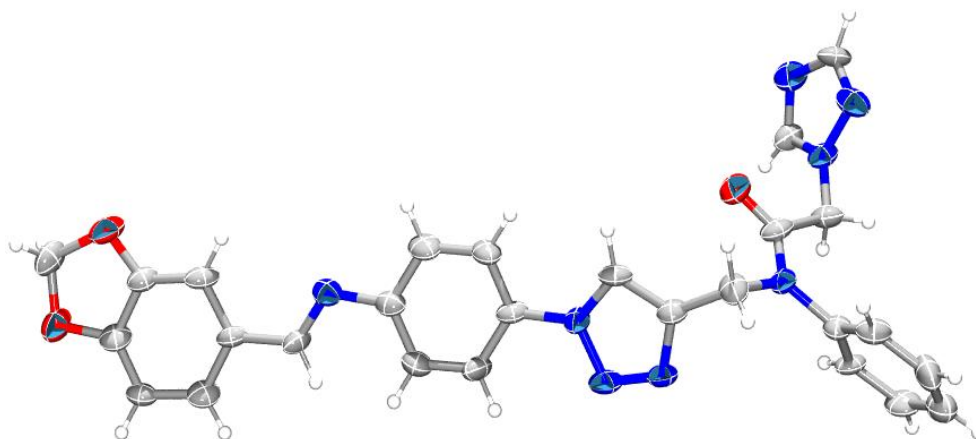


Figura A53: Unidade assimétrica cristalográfica do composto **15**. Átomos não hidrogenóides são representados pelos respectivos elipsoides a uma probabilidade de 30%. Átomos de hidrogênio são mostrados como esferas de raio arbitrário.

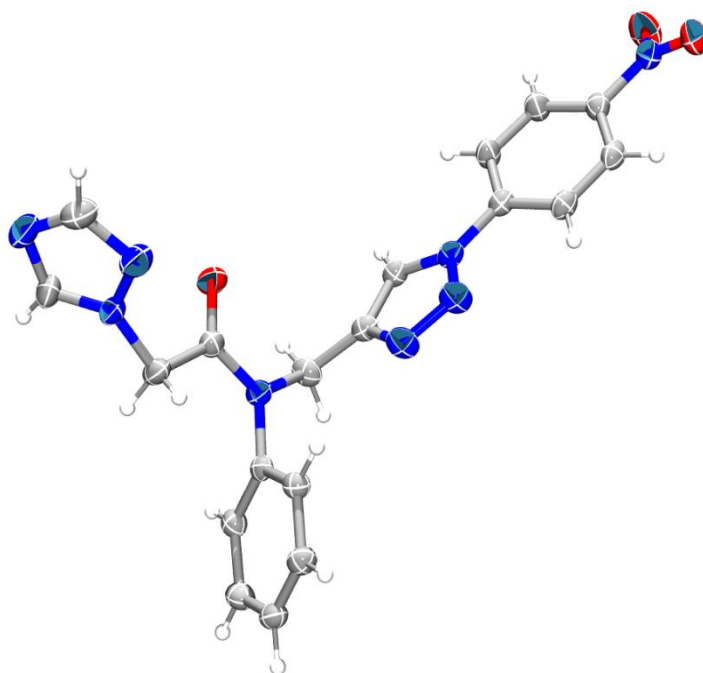


Figura A54: Unidade assimétrica cristalográfica do composto **4**. Átomos não hidrogenóides são representados pelos respectivos elipsoides a uma probabilidade de 30%. Átomos de hidrogênio são mostrados como esferas de raio arbitrário.

		6	15	4
Fórmula mínima		C ₂₈ H ₂₃ N ₉ O ₃	C ₂₇ H ₂₂ N ₈ O ₃	C ₁₉ H ₁₆ N ₈ O ₃
Massa da fórmula mínima (g/mol)		533.55	506.53	404.40
Sistema cristalino		triclínico	triclínico	ortorrômbico
Grupo espacial		P-1	P-1	Pbca
Z / Z'		2/1	2/1	8/1
Temperatura (K)/ λ (Å)		298(2)/ 0.71073	298(2)/ 1.54178	298(2)/ 0.71073
Dimensões da cela unitária	<i>a</i> (Å)	8.0870(16)	5.543(4)	17.530(4)
	<i>b</i> (Å)	11.453(3)	10.983(5)	9.367(2)
	<i>c</i> (Å)	15.113(4)	21.348(11)	23.738(5)
	α (°)	97.210(17)	103.90(4)	90
	β (°)	99.509(15)	92.06(4)	90
	γ (°)	105.873(16)	104.11(5)	90
Volume da cela unitária (Å ³)		1306.2(5)	1217.3(13)	3897.6(15)
Densidade calculada (g/cm ³)		1,357	1,382	1,378
Coeficiente de absorção μ (mm ⁻¹)		0,093	0,778	0,099
Intervalo em θ (°)		1,39 – 25,242	2,143 – 69,208	1,71 – 25,00
Intervalo dos índices	<i>h</i>	-9 a 9	-5 a 6	-18 a 20
	<i>k</i>	-13 a 13	-12 a 12	-10 a 11
	<i>l</i>	-18 a 18	-25 a 25	-28 a 26
Reflexões coletadas		10554	5153	16906
Reflexões independentes		4747	3584	3430
Índice de simetria (R_{int})		0,0538	0,0400	0,1013
Completeza até $\theta_{\text{máx}}$ (%)		98,7	88,7	99,8
F_{000}		556	528	1680
Parâmetros refinados		361	344	271
Qualidade do ajuste sobre F^2		0,931	2,425	1,019
Índice residual para $I > 2\sigma(I)$		R1 = 0,0700	R1 = 0,1959	R1 = 0,0549
Índice residual para todos os dados		wR2 = 0,2676	wR2 = 0,6098	wR2 = 0,1712
$\Delta\rho_{\text{máx}} / \Delta\rho_{\text{mín}}$ (e/Å ³)		0,247 / -0,290	0,556 / -0,579	0,197 / -0,249

Tabela A1: Constantes de cela e determinação estrutural por DRXM dos compostos **4**, **6** e **15**.