

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Química

Luciana Pereira Silva

Síntese de novos derivados triazólicos e avaliação de
suas atividades antifúngicas

Belo Horizonte

2019

UFMG/ICEX/DQ.1368^o

D. 743^o

Luciana Pereira Silva

Síntese de novos derivados triazólicos e avaliação de suas atividades antifúngicas

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

2019

Ficha Catalográfica

S586s Silva, Luciana Pereira
2019 Síntese de novos derivados triazólicos e avaliação
D de suas atividades antifúngicas [manuscrito] / Luciana
Pereira Silva. 2019.
[x], 90 f. : il.

Orientador: Cleiton Moreira da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

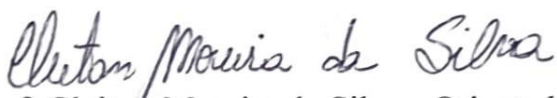
1. Química orgânica - Teses 2. Química farmacêutica
- Teses 3. Atividade antifúngica - Teses 4. Triazóis -
Teses 5. Reações químicas - Teses 6. Espectroscopia de
infravermelho - Teses 7. Espectroscopia de ressonância
nuclear - Teses 8. Fungos patogênicos - Teses I.
Silva, Cleiton Moreira da, Orientador II. Título.

CDU 043

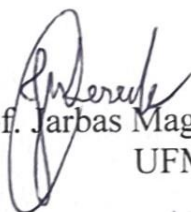
"Síntese de Novos Derivados Triazólicos e Avaliação de suas Atividades Antifúngicas"

Luciana Pereira Silva

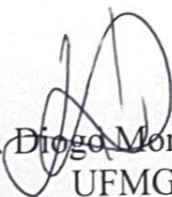
Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:



Prof. Cleiton Moreira da Silva - Orientador
UFMG



Prof. Jarbas Magalhães Resende
UFMG



Prof. Diogo Montes Vidal
UFMG

Belo Horizonte, 20 de agosto de 2019.

Agradecimentos

Em primeiro lugar a Deus, pois por meio dEle se fazem todas as coisas;

À Universidade Federal de Minas Gerais pela acolhida desde 2012;

Ao professor Cleiton Moreira pela paciência, dedicação e disposição em orientar;

À Mariana pela amizade e parceria na realização dos experimentos;

Aos colegas de laboratório, Juliana, Thiago, Pamella, Everton e Daniel pelo auxílio em alguns experimentos e pelas boas conversas;

Aos meus pais e irmãos pelo incentivo e apoio incondicional;

Ao meu marido, Marcos, pela compreensão, paciência e cuidado;

Aos componentes da banca examinadora pela presença e pela disponibilidade;

Aos órgãos de fomento CAPES e CNPq.

“Porque melhor é a sabedoria do que os rubis; e tudo o que mais se deseja não se pode comparar a ela.” Provérbios 8. 11

RESUMO

Nas três últimas décadas, as taxas de mortalidade causadas por infecções fúngicas tem crescido substancialmente, devido ao surgimento de novos fungos patogênicos e ao aparecimento de infecções resistentes ao tratamento com os medicamentos disponíveis. Esse cenário tornou a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos extremamente relevante. Nesse contexto, este trabalho apresenta a síntese e a avaliação das atividades de nove derivados triazólicos inéditos. O *design* das novas moléculas foi realizado utilizando a técnica de simplificação molecular, tendo o antifúngico ravuconazol como substância protótipo. Os novos compostos foram sintetizados em no máximo seis etapas e foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho e espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C e DEPT 135. Alguns compostos intermediários da rota sintética também foram caracterizados por experimentos de RMN em duas dimensões (COSY, HSQC e HMBC), para confirmar suas estruturas. A atividade antifúngica foi avaliada através de testes de Concentração Inibitória Mínima e as espécies fúngicas testadas foram *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton interdigitale*. Para as espécies avaliadas, os novos compostos triazólicos não foram ativos em concentrações ideais. Todavia, um pequeno número de espécies foi avaliado e estudos futuros devem ser realizados para investigar uma possível atividade dos compostos sintetizados nesse trabalho.

Palavras chave: Azóis, antifúngicos, *click chemistry*, Química medicinal.

ABSTRACT

In the last three decades, the mortality rate caused by fungal infections has substantially increased due the appearance of new pathogenic fungi and the emergence of infections resistant to the available drugs for treatment. This scenario has made the search and development of new antifungal drugs extremally relevant. In this context, this work presents the synthesis and evaluation of their activities of nine unprecedented triazole derivatives. The new molecules were design using the molecular simplification technique, in which the ravuconazole antifungal was used as the prototype substance. The new compounds were synthetized in a maximum of six steps and were characterized by infrared spectroscopy and Nuclear Magnetic Ressonance (NMR) spectroscopy of ^1H , ^{13}C and DEPT 135. Some intermediate compounds of the synthetic route were also characterized by two dimensions NMR experiments (COSY, HSQC and HMBC) to confirm their structures. The antifungal activity was evaluated by minimum inhibitory concentration tests and the fungi species tested were *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii*, *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*. For the evaluated species, the new triazole compounds were not active in an ideal concentration. However, few species were tested and further studies should be done to investigate a possible activity of the compounds synthetized in this work.

Key words: Azoles, antifungals, click chemistry, medicinal Chemistry.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE ESQUEMAS	IX
LISTA DE SIGLAS	X
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Fungos.....	1
1.1.1. Morfologia dos fungos	1
1.1.2. Estrutura celular do fungo	1
1.1.3. Nutrição dos fungos	2
1.1.4. Fungos patógenos emergentes.....	3
1.2. Doenças fúngicas	3
1.3. Fármacos utilizados no tratamento de doenças fúngicas	4
1.3.1. Equinocandinas.....	4
1.3.2. Polienos	5
1.3.3. Análogos de pirimidina	6
1.3.4. Azóis	7
1.3.4.1. Mecanismo de ação.....	7
1.3.4.2. Breve histórico do uso de antifúngicos azólicos	9
1.4. Desenvolvimento de novos antifúngicos.....	11
1.5. Design racional de fármacos e a simplificação molecular.....	12
2. OBJETIVOS	13
2.1. Rota sintética proposta	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1. Equipamentos.....	15
3.1.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)	15
3.1.2. Cromatografia de adsorção em coluna	15
3.1.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	15
3.1.4. Infravermelho	15
3.1.5. Temperatura de fusão.....	15
3.2. Reagentes e solventes	15
3.3. Síntese e caracterização	15
3.3.1. 2,4-difluoro- <i>N</i> -(prop-2-in-1-il)anilina (1)	16
3.3.2. 2-bromo- <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)- <i>N</i> -(prop-2-in-1il)acetamida (2)	17

3.3.3. <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)- <i>N</i> -(prop-2-in-1-il)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (3).....	18
3.3.4. Compostos 4a a 4g	19
3.3.5. <i>N</i> -((1-(4-cianofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)- <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4a)	20
3.3.6. <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)- <i>N</i> -((1-(4-nitrofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4b)	21
3.3.7. <i>N</i> -((1-(4-clorofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)- <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4c)	22
3.3.8. <i>N</i> -((1-(4-(tert-butil)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)- <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4d)	23
3.3.9. <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)- <i>N</i> -((1-(4-fluorofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4e)	24
3.3.10. <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)-(N-((1-(4-(trifluorometil)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)acetamida (4f)	25
3.3.11. <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)- <i>N</i> -((1-(4-fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4g)	26
3.3.12. <i>N</i> -((1-(4-aminofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)- <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4h)	27
Metodologia A	27
Metodologia B	27
3.3.13. <i>N</i> -((1-(4-acetamidofenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)metil)- <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4i).....	28
3.3.14. 4-azidobenzonitrila	29
3.3.15. 4-azidofluorobenzeno	30
3.3.16. 4-azidoclorobenzeno	31
3.3.17. 4-azido(tert-butil)benzeno	32
3.3.18. 4-azido(trifluorometil)benzeno	33
3.3.19. 4-azidobenzeno.....	34
3.4. Testes de atividade antifúngica	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1. Síntese e caracterização	37
4.1.1. 2,4-difluoro- <i>N</i> -(prop-2-in-1-il)anilina (1)	37
4.1.2. 2-bromo- <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)- <i>N</i> -(prop-2-in-1-il)acetamida (2)	41
4.1.3. <i>N</i> -(2,4-difluorofenil)- <i>N</i> -(prop-2-in-1-il)-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-il)acetamida (3).....	48
4.1.4. Azidas aromáticas	52
4.1.5. Compostos 4a a 4g	56

4.1.6. Composto 4h	60
4.1.7. Composto 4i	63
4.2. Testes de atividade antifúngica	66
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
6. REFERÊNCIAS	69
7. ANEXOS	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da quitina.	2
Figura 2. Estrutura do ergosterol.	2
Figura 4. Principais fármacos da classe das equinocandinas.	5
Figura 5. Estrutura da anfotericina B.	6
Figura 6. Estrutura da flucitosina.	6
Figura 7. Biossíntese do ergosterol	8
Figura 8. Enzima lanosterol 14- α -desmetilase de <i>Candida albicans</i>	8
Figura 9. Representações da interação entre os nitrogênios N3 de imidazóis (esquerda) e N4 de triazóis (direita) com o ferro do anel porfirínico da enzima.	9
Figura 10. Estrutura cristalina da enzima CYP51 interagindo com fármaco fluconazol.	9
Figura 11. Estruturas dos principais fármacos azólicos.....	11
Figura 12. Substância modelo (ravuconazol) e estrutura geral dos novos compostos.	13
Figura 13. Espectro na região do IV para o composto 1	38
Figura 14. Espectro de RMN de ^1H do composto 1 (400 MHz, CDCl_3).	39
Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1 (100 MHz, CDCl_3).	40
Figura 16. Espectro DEPT 135 do composto 1 (100 MHz, CDCl_3).	41
Figura 17. Espectro na região do IV para o composto 2	42
Figura 18. Espectro de RMN ^1H para o composto 2 (400 MHz, CDCl_3).	43
Figura 19. Mapa de correlações COSY para o composto 2 (400 MHz, CDCl_3)... ..	44
Figura 20. Representação estrutural das possíveis explicações para o desdobramento dos sinais dos hidrogênios metilênicos. Atropoisomerismo (à esquerda) e ligação de hidrogênio intramolecular não-clássica (à direita).	45
Figura 21. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto 2 (100 MHz, CDCl_3).	46
Figura 22. Mapa de contornos HSQC para o composto 2 (400 MHz, CDCl_3).	46
Figura 23. Espectros de RMN de ^1H para o composto 2 em 4 temperaturas. A:27°C, B:35°C, C:45°C e D:55°C (400 MHz, CDCl_3).	47
Figura 24. Espectro na região do IV do composto 3	49
Figura 25. Espectro de RMN de ^1H do composto 3 (400 MHz, CDCl_3).	50

Figura 26. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto 3 (100 MHz, CDCl_3).	51
Figura 27. Mapa de contornos HMBC para o composto 3 (400 MHz, CDCl_3).	51
Figura 28. Mapa de contornos HSQC para o composto 3 (400 MHz, CDCl_3).	52
Figura 29. Espectro na região do IV para a 4-azidobenzonitrila.	54
Figura 30. Espectro de RMN de ^1H para a 4-azidobenzonitrila (200 MHz, CDCl_3).	55
Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para a 4-azidobenzonitrila (50 MHz, CDCl_3).	56
Figura 32. Espectro na região do IV para o composto 4a	58
Figura 33. Espectro de RMN de ^1H do composto 4a (400 MHz, CDCl_3).	59
Figura 34. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto 4a (400 MHz, CDCl_3).	60
Figura 35. Espectro na região do IV para o composto 4h	61
Figura 36. Espectro de RMN de ^1H do composto 4h (400 MHz, CDCl_3).	62
Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) do composto 4h (400 MHz, CDCl_3).	63
Figura 38. Espectro na região do IV para o composto 4i	64
Figura 39. Espectro de RMN ^1H para o composto 4i (400 MHz, CDCl_3).	65
Figura 40. Espectros de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto 4i (400 MHz, CDCl_3).	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rendimentos e duração da reação 4 de acordo com o grupo substituinte	57
Tabela 2. Valores de concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos sintetizados e dos antifúngicos Itraconazol e Anfotericina B.	67
Tabela 3. Valores de concentração fungicida mínima (CFM) para os compostos testados.....	67

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Plano de síntese.....	14
Esquema 2. Mecanismo de formação do composto 1 ^[41]	38
Esquema 4. Mecanismo de formação do composto 2 ^[41]	42
Esquema 5. Mecanismo de formação do composto 3 ^[41]	48
Esquema 6. Mecanismo de formação das azidas aromáticas. ^[41]	53
Esquema 7. Estruturas de ressonância para o anel aromático 1,4-dissubstituído.	55
Esquema 8. Mecanismo de formação dos compostos 4a a 4g ^[44] . Erro! Indicador não definido.	
Esquema 9. Estruturas de ressonância para o anel aromático 1,4-dissubstituído do composto 4h	61
Esquema 10. Mecanismo de formação do composto 4i	64

LISTA DE SIGLAS

CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CFM	Concentração Fungicida Mínima
COSY	Espectroscopia de correlação (do inglês, <i>Correlation Spectroscopy</i>)
d	Dupleto
DEPT	Intensificação sem distorção por transferência de polarização (<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i> , do inglês)
DMF	N,N- dimetilformamida
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra acético (<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> , do inglês)
HMBC	Espectroscopia de correlação heteronuclear de múltiplas ligações (<i>Heteronuclear Multiple-bond Correlation Spectroscopy</i> , do inglês)
HSQC	Espectroscopia de correlação heteronuclear de simples <i>quantum</i> . (<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation Spectroscopy</i> , do inglês)
IV	Espectroscopia no Infravermelho
J	Constante de acoplamento escalar spin-spin
m	Multiplete
q	Quarteto
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto
t	Triplete
δ	Deslocamento Químico

1. INTRODUÇÃO

1.1. Fungos

Os fungos são organismos que por muito tempo foram considerados apenas como colonizantes ou parasitas inofensivos. Todavia, nos últimos anos, eles têm ganhado destaque do ponto de vista econômico e médico, devido suas diversas aplicações biotecnológicas e por suas características oportunistas causando infecções de alta letalidade. ^[1,2]

Estima-se que existam 2 milhões de espécies de fungos na Terra, sendo muitos deles aplicados em várias áreas biotecnológicas, como na obtenção de produtos naturais farmacologicamente ativos e na preparação e conservação de alimentos. ^[3,4] Apesar dos benefícios do uso biotecnológico de algumas espécies de fungos, cerca de 600 deles são patógenos, causando prejuízo ao homem, plantas ou animais. ^[5]

1.1.1. Morfologia dos fungos

Os fungos são seres eucarióticos e, apesar de emergirem de um mesmo ancestral que os animais e as plantas, possuem características morfológicas e fisiológicas únicas. Por essa razão, em 1969 foram classificados como um Reino a parte, o Reino Fungi. ^[6,7]

O crescimento do fungo constitui-se de duas etapas: vegetativa e reprodutiva. Na fase vegetativa ele pode apresentar duas formas básicas: leveduras e hifas. As leveduras são unicelulares e delimitadas, já as hifas são pluricelulares e se formam como tubos que se estendem continuamente nas extremidades. Um conjunto de hifas é denominado micélio e pode ser visto a olho nu. Alguns fungos são dimórficos e podem alternar entre a fase micelial e leveduriforme. Essa característica é particularmente comum em alguns fungos patogênicos. ^[6,7] Na fase reprodutiva os fungos se apresentam na forma de esporos ou conídios, dependendo se a reprodução é sexuada ou assexuada. Após formados, os conídios ou esporos precisam ter acesso livre ao ar para serem disseminados. ^[6]

1.1.2. Estrutura celular do fungo

A análise da superfície de hifas e leveduras mostra uma estrutura composta por três matrizes interconectadas: extracelular, parede celular e membrana plasmática. No interior encontram-se as organelas comuns aos eucariontes. ^[7]

A matriz extracelular é composta por enzimas extracelulares e por substâncias mucilaginosas (substâncias gelatinosas que retêm água), que são viscosas e conferem aderência à célula de certos fungos. Abaixo da matriz celular encontra-se a parede celular, responsável por manter a integridade estrutural do microorganismo e sua forma. Essa parede é formada por polissacarídeos, lipídeos, proteínas e carboidratos. Os glucanos são os polissacarídeos mais significativos, sendo a quitina (Figura 1), um β -glucano, o componente em maior concentração. [7,8]

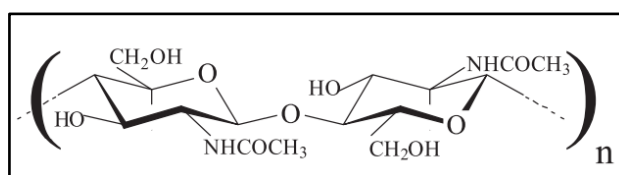


Figura 1. Estrutura da quitina.

A membrana plasmática é constituída por uma camada dupla de fosfolipídeos, uma estrutura de proteínas imersas em uma camada dupla lipídica, carboidratos em pequenas quantidades e proteínas de superfície, que se ligam fracamente à membrana. O ergosterol (Figura 2) é o lipídeo presente nas membranas fúngicas, sendo responsável por sua permeabilidade, fluidez e estruturas características. A difusão e o transporte pela membrana são diretamente dependentes da sua estrutura lipoproteíca. [7]

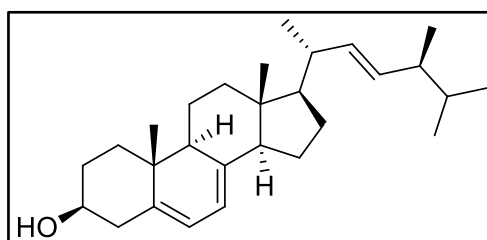


Figura 2. Estrutura do ergosterol.

1.1.3. Nutrição dos fungos

Os fungos são heterotróficos, obtendo seus nutrientes através de enzimas secretadas nos substratos e absorvendo esses nutrientes pré-digeridos através da parede e da membrana celular. Eles podem utilizar vários substratos como fonte de carbono, se desenvolvendo em uma variedade de habitats. Os fungos podem se alimentar de matéria morta (saprófitas) ou de organismos vivos (parasitas). [2,4,6]

1.1.4. Fungos patógenos emergentes

Estudos recentes relacionam espécies fúngicas emergentes a distúrbios no ecossistema, perda de biodiversidade, extinção de espécies e riscos à segurança alimentar. Esse notável surgimento de novos fungos patogênicos provavelmente se relaciona com a capacidade dos fungos sobreviverem de forma independente de seu hospedeiro (como uma saprófita de vida livre ou como esporos duráveis no ambiente), associada ao risco de fácil transporte do inóculo fúngico para outro hospedeiro.^[9]

O grande perigo concernente ao surgimento de novos fungos patogênicos reside no fato de muitos deles serem resistentes aos antifúngicos existentes. Em 2016, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) publicou um alerta mundial em Atlanta, nos EUA, sobre um surto de contaminação por *Candida auris*. Esse fungo foi isolado pela primeira vez no canal auditivo de um paciente no Japão em 2009 e alguns anos mais tarde surgiram surtos na Índia, na África do Sul, na Venezuela, na Colômbia, nos Estados Unidos, no Reino Unido e na Espanha. As infecções por *Candida auris*, assim como outras infecções invasivas por cândida, acometem pacientes com o sistema imunológico comprometido por doenças pré-existentes, agravando seu quadro clínico. A taxa de mortalidade entre os pacientes infectados por *C. auris* é alta, devido à dificuldade em se detectar a contaminação utilizando métodos laboratoriais convencionais e ao fato de algumas infecções serem resistentes aos antifúngicos empregados. ^[10,11,12]

1.2. Doenças fúngicas

Tipicamente, as infecções fúngicas são classificadas em dois tipos: invasivas ou superficiais. As infecções superficiais são comuns e causadas principalmente por espécies de *Candida*, atingindo unhas e pele. Estima-se que infecções superficiais afetem aproximadamente 25% da população ao redor do mundo e, apesar de diminuírem a qualidade de vida do paciente, são de fácil tratamento. Já as infecções invasivas são mais raras e graves, acometendo, em maioria dos casos, pacientes imunocomprometidos. Elas são preocupantes pois apresentam alta taxa de mortalidade, sendo causadas majoritariamente por espécies pertencentes aos gêneros *Cryptococcus*, *Candida*, *Aspergillus* e *Pneumocystis*.^[13] Estimativas globais indicam que surjam anualmente 3 milhões de novos casos de

aspergilose pulmonar, 700 mil casos de cândida invasiva, 250 mil casos de aspergilose invasiva, 500 mil casos de pneumonia causada por *Pneumocystis jirovecii* e 223,1 mil casos de meningite criptocócica associada a HIV. Todavia, esses valores podem ser ainda maiores devido à falha de diagnóstico em muitos casos.^[14]

As infecções fúngicas foram negligenciadas por muito tempo pelos órgãos públicos e privados de saúde por atingirem um grupo de risco restrito já acometido por outras doenças. Todavia, nas três últimas décadas, a epidemiologia das infecções fúngicas invasivas tem mudado. A população de pacientes de risco tem expandido, atingindo pacientes transplantados, com câncer, aids, com sistema imunológico suprimido, submetidos a cirurgias invasivas, idosos e bebês prematuros. Um dos fatores que explicam o aumento do grupo de risco, é o desenvolvimento de intervenções médicas cada vez mais invasivas e modernas técnicas de imunossupressão. Além do aumento do número de pacientes suscetíveis ao contágio, também cresceu o número de infecções por outras espécies oportunistas de fungos, como a *Candida glabrata*, que tem sido a segunda maior causa de candidemia. ^[13,15,1]

Apesar de causarem mais de 1,5 milhão de mortes ao redor do mundo, taxa maior que a das mortes provocadas por tuberculose e malária, as infecções fúngicas continuam sendo negligenciadas, sendo imprescindível implantar melhorias nas técnicas de diagnóstico e tratamento. ^[14,16]

1.3. Fármacos utilizados no tratamento de doenças fúngicas

Em geral, existem quatro classes de fármacos usados clinicamente para tratamento de doenças fúngicas: azóis, equinocandinas, polienos e análogos de pirimidina. Uma quinta classe seria constituída pelas alilaminas, entretanto, elas são usadas apenas topicamente para tratamento de infecções superficiais por dermatófitos. ^[17]

1.3.1. Equinocandinas

As equinocandinas tem sua ação antifúngica baseada na inibição específica e não-competitiva da enzima β -(1,3)-D-glucan sintase, uma enzima importante na síntese de componentes essenciais da parede celular do fungo, resultando em

instabilidade osmótica e morte celular. O alvo de ação das equinocandinas faz com que essa classe seja de baixa toxicidade, entretanto, a absorção no trato gastrointestinal é muito baixa, impedindo a administração oral. Atualmente três fármacos pertencentes a essa classe estão em uso: caspofungina, micafungina e anidulafungina (Figura 3). Eles são lipopeptídeos semi-sintéticos derivados da produção de fungos e apresentam atividade fungicida contra *Candida* e fungistática contra *Aspergillus*. [17,18]

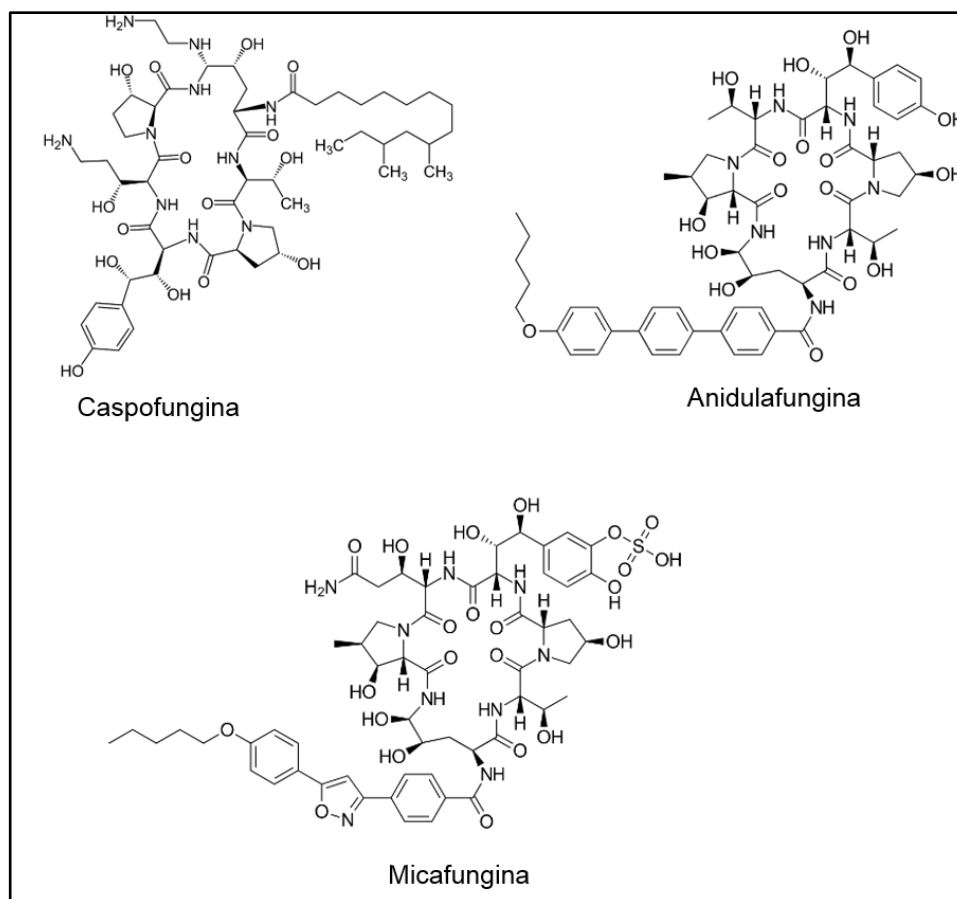


Figura 3. Principais fármacos da classe das equinocandinas.

1.3.2. Polienos

Os antifúngicos poliênicos são macromoléculas orgânicas, geralmente, constituídas por um anel lactônico conjugado a um grupo D-micosimina. Devido sua estrutura anfifílica, os poliênicos formam um complexo com o ergosterol, produzindo poros que alteram a permeabilidade da membrana celular, o que permite o vazamento do conteúdo citoplasmático e causa lise celular do fungo. [17]

A anfotericina B (Figura 4) é o fármaco de referência na classe dos poliênicos, sendo seu nome derivado da sua característica anfotérica. Ela é obtida de fontes

naturais, tendo sido isolada em 1955 e já utilizada em alguns casos clínicos no final da década de 1950. A anfotericina B apresenta o maior espectro de ação entre todas as classes de antifúngicos disponíveis, entretanto, é extremamente tóxica, sendo associada com frequência à disfunção renal. Alguns efeitos colaterais, como náusea e tremores, ocorrem devido à infusão, entretanto, outros efeitos adversos se relacionam à sua capacidade de ligação com o colesterol e outros constituintes da membrana celular humana. Apesar do risco inerente a seu uso, a anfotericina B continua sendo o antifúngico mais empregado no tratamento de infecções sistêmicas graves, quando não há resposta ao tratamento com outras classes de medicamentos. [17,18,19].

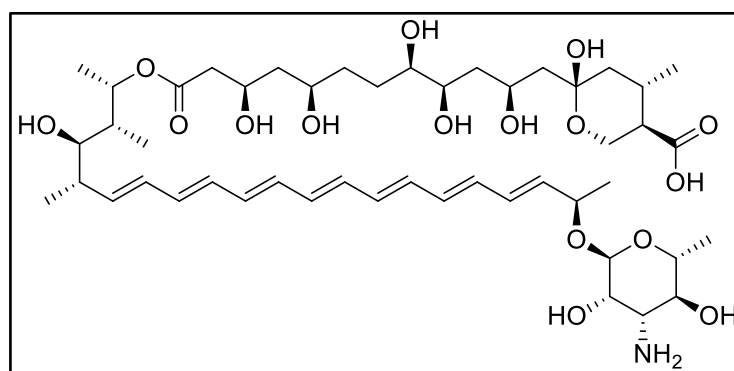


Figura 4. Estrutura da anfotericina B.

1.3.3. Análogos de pirimidina

A flucitosina (Figura 5) é um análogo de pirimidina fluorado que atua inibindo a síntese de ácido nucléico. Esse análogo de pirimidina interfere no metabolismo de pirimidina e nas sínteses de RNA/DNA e proteínas, apresentando atividade fungistática. Este composto é altamente seletivo para células fúngicas, entretanto, resistência ao tratamento é comum, sendo necessária a associação com outro antifúngico.^[17]

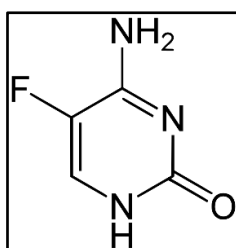


Figura 5. Estrutura da flucitosina.

1.3.4. Azóis

Os azóis se popularizaram como tratamento para doenças fúngicas na década de 70 e, atualmente, constituem a classe mais empregada em tratamentos e prevenção de infecções fúngicas por possuírem um grande espectro de ação e fácil administração. Eles atuam na inibição da síntese do ergosterol, sendo um alvo de ação seletivo, pois a biossíntese de esteróis varia significativamente entre os Reinos. [21,22,23]

1.3.4.1. Mecanismo de ação

Os antifúngicos azólicos impedem a síntese de ergosterol (Figura 6) através da inibição seletiva da enzima lanosterol 14- α -desmetilase (CYP51) (Figura 7), uma metaloenzima que faz parte da superfamília de hemoproteínas citocromo P450. Na inibição, os nitrogênios N3 ou N4 de anéis imidazólicos ou triazólicos se ligam ao ferro do grupo heme presente na enzima como um sexto ligante axial (Figuras 8 e 9). Apesar dessa interação ser crucial para a atividade antifúngica, estudos mostram que podem ocorrer outras do tipo van der Waals, hidrofóbicas ou π -stacking entre outras partes da molécula e resíduos de aminoácido da enzima. Ao se ligar à enzima, o antifúngico impede que ela realize a desmetilação oxidativa de esteróis intermediários através do grupo heme, impossibilitando a conversão de lanosterol em ergosterol. Ao ser acumulado, o lanosterol sofre ação da enzima Δ -5,6-desaturase e é transformado em 14 α -metil-ergosta-8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol, um esteroide tóxico para a célula fúngica, cuja incorporação na membrana celular leva a alterações na sua fluidez, permeabilidade e integridade. [21,22,23]

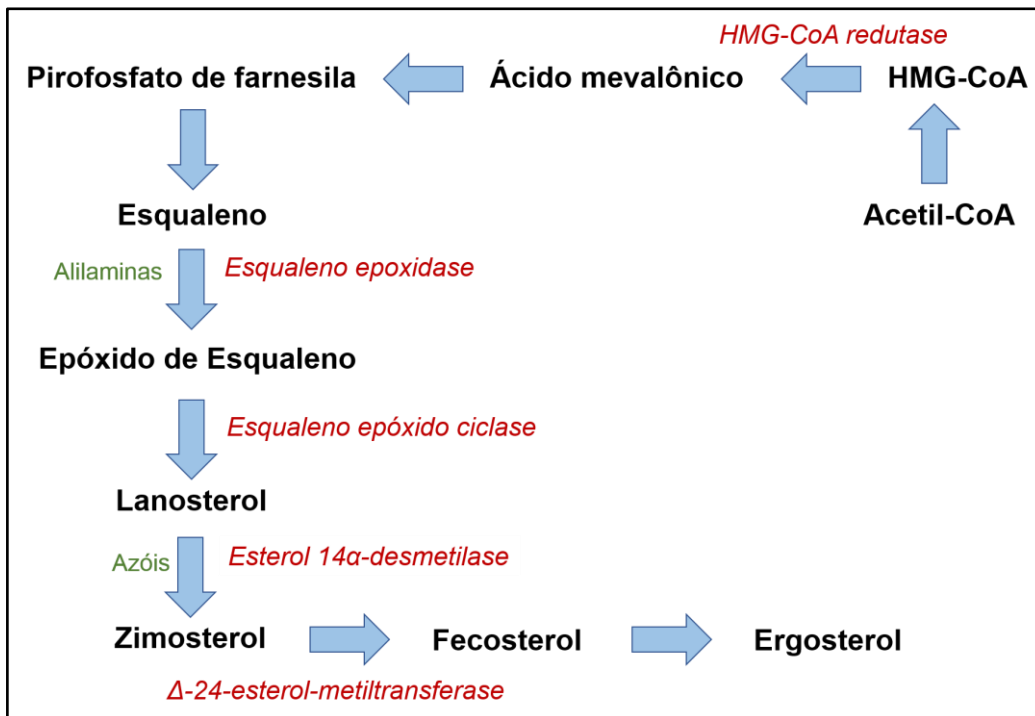


Figura 6. Biossíntese do ergosterol. (Adaptado de França e colaboradores,2014). ^[22]

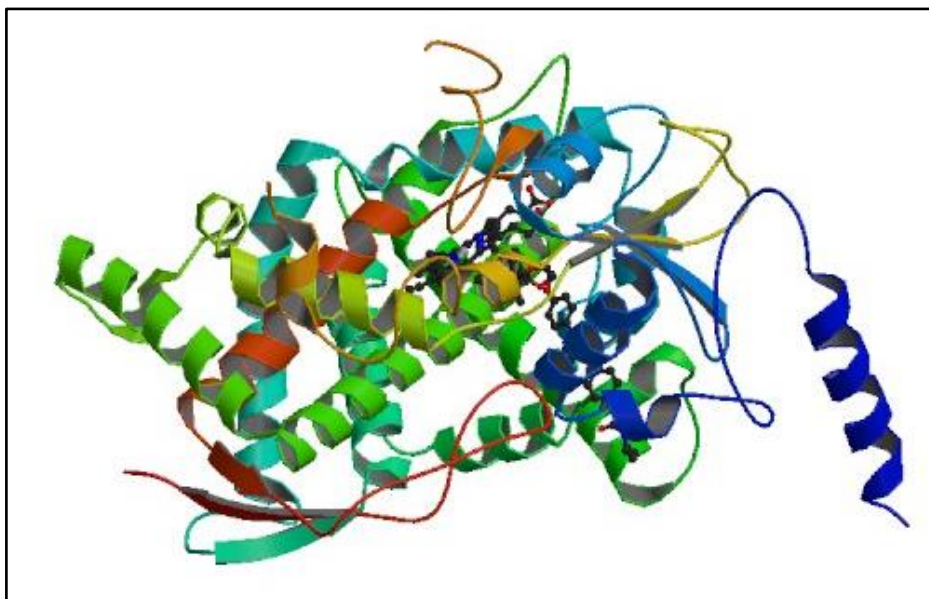


Figura 7. Enzima lanosterol 14- α -desmetilase de *Candida albicans*.
 Fonte: Protein Data Bank (PDB). Código: 5v5z ^[24]

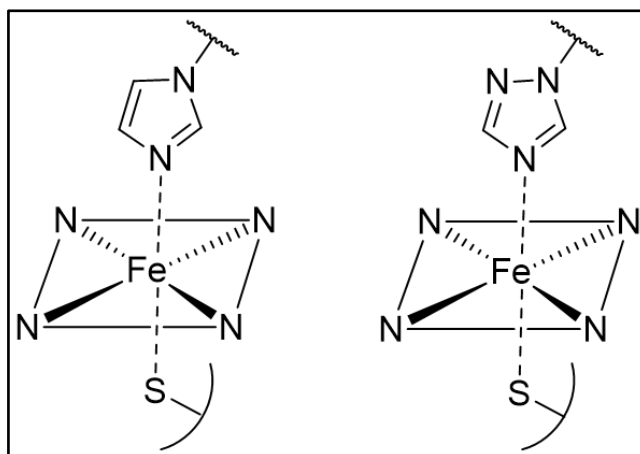


Figura 8. Representações da interação entre os nitrogênios N3 de imidazóis (esquerda) e N4 de triazóis (direita) com o ferro do anel porfirínico da enzima.

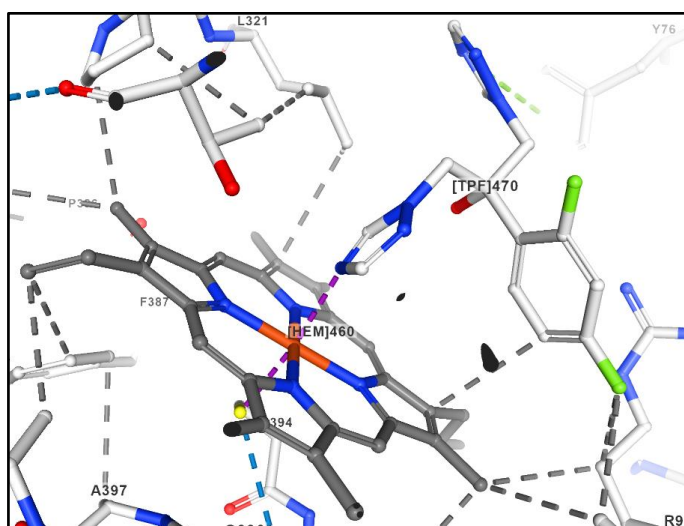


Figura 9. Estrutura cristalina da enzima CYP51 interagindo com fármaco fluconazol.
Fonte: Protein Data Bank (PDB). Código: 1EA1

1.3.4.2. Breve histórico do uso de antifúngicos azólicos

O primeiro antifúngico azólico a ser usado clinicamente foi o clormidazol (Figura 10), no ano de 1958, mas seu uso era restrito a medicamentos tópicos. [25] Foi apenas no ano de 1969 que dois imidazóis foram lançados no mercado como alternativas ao tratamento tópico, o clotrimazol e o miconazol (Figura 10). Entretanto, ainda havia a necessidade de se desenvolverem fármacos para o tratamento de doenças fúngicas invasivas, como uma alternativa à anfotericina B, que apresentava sérios efeitos colaterais. Nesse contexto, miconazol foi aprovado em 1979 para administração intravenosa, mostrando ser efetivo no tratamento de candidíase e meningite criptocócica, apesar da infusão da medicação causar

náuseas, febre, erupções cutâneas e evidenciar os primeiros sinais da toxicidade cardíaca dos azóis. [26]

Em 1981, o fármaco cetoconazol (Figura 10) foi aprovado para formulações orais, tornando-se o tratamento preferencial, devido à facilidade de administração, não obstante, a absorção variar entre os pacientes, devido sua dependência do pH estomacal. Com o tempo de uso, observou-se que o cetoconazol exibiu sérios efeitos colaterais, como hepatotoxicidade e diminuição na dosagem de testosterona e cortisol. A diminuição dos níveis hormonais no ser humano evidencia a baixa seletividade dos imidazóis na inibição da enzima fúngica CYP450 em relação à enzima em humanos. Em 1990, a introdução dos primeiros triazólicos levou à diminuição no uso do cetoconazol via oral, entretanto, ele continua sendo amplamente utilizado para tratamento de micoses superficiais. [25,26]

Os antifúngicos triazólicos foram introduzidos no mercado através de dois fármacos, o fluconazol e o itraconazol (Figura 10), com maior espectro de ação e mais seguros. O fluconazol se apresentou vantajoso em relação ao cetoconazol, com uma alta absorção oral independente do pH estomacal e uma alta solubilidade em água, facilitando a administração intravenosa. Eles são triazóis de primeira geração, apresentando maior espectro de ação e efeitos colaterais menos significativos que os imidazóis. O fluconazol foi o maior destaque em relação ao cetoconazol, devido suas melhores propriedades farmacocinéticas, podendo ser formulado via oral ou venosa. Apesar das notáveis melhorias, os triazóis de primeira geração ainda apresentavam limitações significativas, devido à falta de seletividade, ocorrendo inibição cruzada com a enzima CYP450 em humanos. Além disso, as primeiras cepas de *Candida spp.* e *Aspergillus spp.* resistentes a azóis começaram a surgir, não respondendo ao tratamento com fluconazol. [26,27]

Como uma alternativa ao fluconazol, em 2002, foi aprovado o uso de voriconazol (Figura 10) para formulações orais ou venosas. Apesar de considerável aumento no espectro de ação em relação aos antifúngicos anteriores, ainda haviam problemas de interações com outros fármacos. O uso de voriconazol também mostrou efeitos adversos não relatados para os azóis anteriores, como confusão mental e alterações na pele. Como uma solução à interação medicamentosa, em

2006 foi lançado o posaconazol (Figura 10), com espectro de ação similar ao voriconazol, mas com maiores restrições à absorção via oral. [26,27]

O antifúngico mais recente lançado foi o ravuconazol (Figura 10), sintetizado pela Tsukuba Research Laboratories of Esai Co. Ltda no Japão, sendo licenciado pela Bristol-Myers Squibb Co. Ele apresentou amplo espectro de ação e atividade *in vitro* e *in vivo* para várias espécies de fungos. Atualmente, é utilizado para tratamento de onicomicoses no Japão e comercializado na forma de seu pró-fármaco, o fosravuconazol. Entretanto, ravuconazol apresenta dois centros quirais em sua estrutura, tornando sua síntese em larga escala um desafio.[28,29]

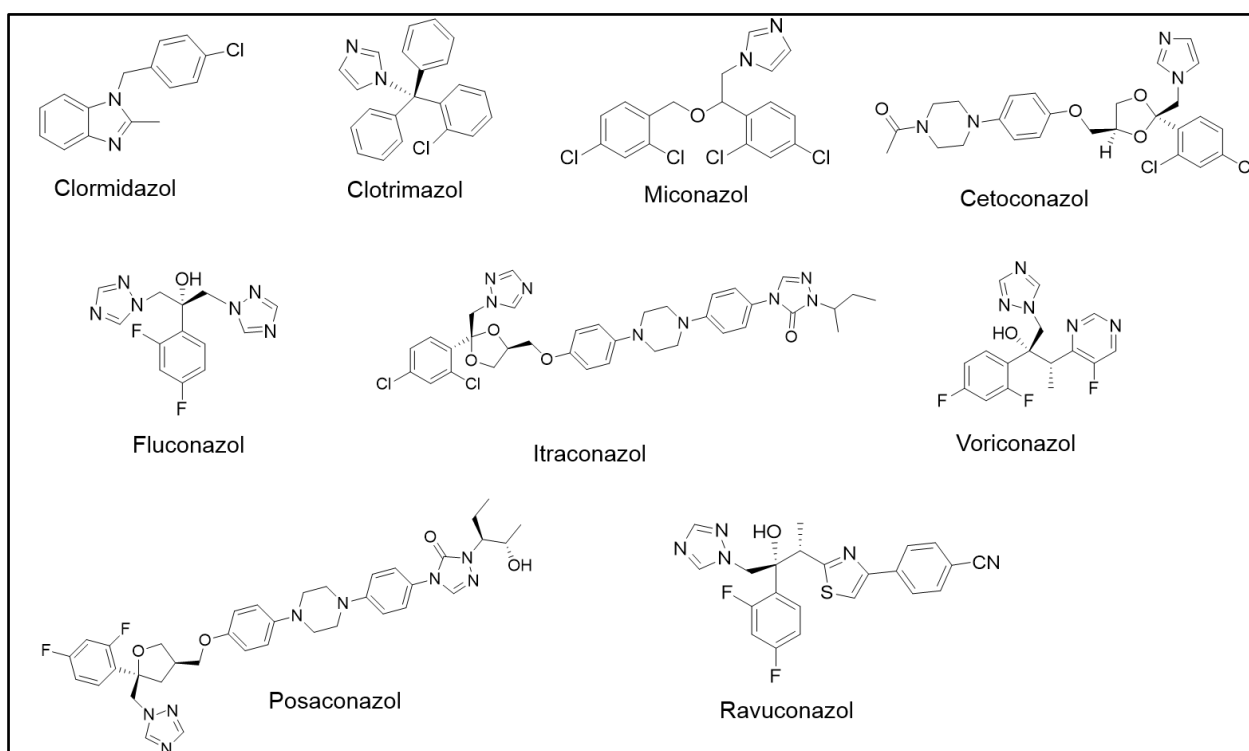


Figura 10. Estruturas dos principais fármacos azólicos.

1.4. Desenvolvimento de novos antifúngicos

As infecções fúngicas têm se mostrado um grande desafio para o diagnóstico e tratamento, devido às poucas opções de medicamentos disponíveis. Estudos para o desenvolvimento de novas opções são cruciais, principalmente, diante dos riscos inerentes ao surgimento de novas espécies patogênicas e da crescente resistência dos fungos aos fármacos de primeira escolha. [30]

Algumas características são necessárias para que um antifúngico seja ideal: ativo e seletivo para o alvo terapêutico; possuir propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção adequadas; permitir administração oral e

intravenosa; ser fungicida preferencialmente a fungistático.^[18] Diante dessas premissas, ganham destaques as técnicas de planejamento estrutural de fármacos visando propor e sintetizar compostos ativos, eficientes e com efeitos colaterais mínimos. Todavia, obter novos antifúngicos eficientes permanece um desafio, visto a similaridade entre a célula fúngica e a célula humana, ambas eucarióticas. Além disso, os possíveis alvos terapêuticos na célula fúngica são pouco conhecidos estruturalmente e variam entre as espécies, dificultando um *design* molecular racional de um novo fármaco.

1.5. *Design* racional de fármacos e a simplificação molecular

A descoberta de novos fármacos é um processo complexo, devido à variedade de fatores envolvidos para se obter um medicamento efetivo e com as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas desejadas. ^[31,32]

O planejamento de um novo fármaco passa por várias etapas, sendo determinante a escolha do alvo terapêutico, cujo a estrutura pode ser conhecida ou não. Após a escolha do alvo terapêutico, a nova estrutura proposta pode ser baseada no substrato natural do receptor, sendo então realizadas modificações moleculares a fim de investigar a complementaridade ligante-receptor. Ao comprovar-se a atividade farmacológica *in vivo* do novo composto proposto, têm-se então um protótipo, que pode ser otimizado realizando-se outras modificações moleculares planejadas. ^[31,32]

Uma das técnicas empregadas na obtenção de novos compostos mais simples é a simplificação molecular. Ela se baseia em idealizar uma estrutura mais simples a partir de um protótipo estruturalmente complexo, que pode ser de origem natural ou não, atentando-se para a contribuição farmacofórica de cada grupo presente no protótipo. ^[31,32] A simplificação molecular é vantajosa pois compreende a redução do peso molecular, remoção de centros quirais e diminuição dos grupos funcionais, levando à obtenção de compostos com rotas sintéticas menores, mais simples e vantajosas economicamente.

2. OBJETIVOS

O propósito deste trabalho é a síntese de uma nova série de derivados triazólicos análogos do ravuconazol e a avaliação de suas atividades antifúngicas frente às linhagens de referência de leveduras e fungos filamentosos.

2.1. Rota sintética proposta

O *design* estrutural dos compostos sintetizados foi realizado utilizando-se a técnica de simplificação molecular, tendo como substância modelo o antifúngico ravuconazol. Na Figura 11 mostram-se em cores iguais os grupos que foram mantidos nas estruturas das novas substâncias sintetizadas. O plano de síntese é mostrado no Esquema 1.

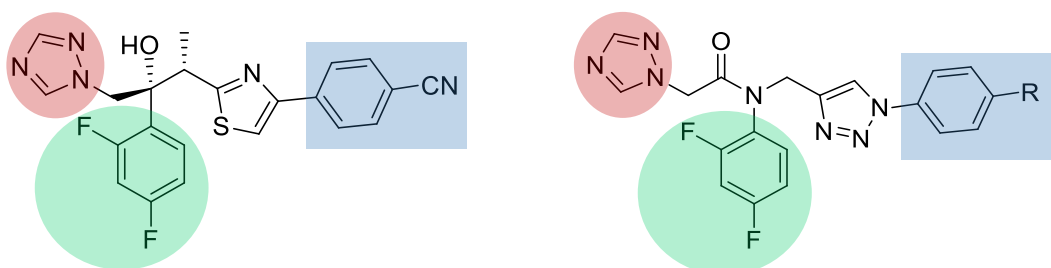
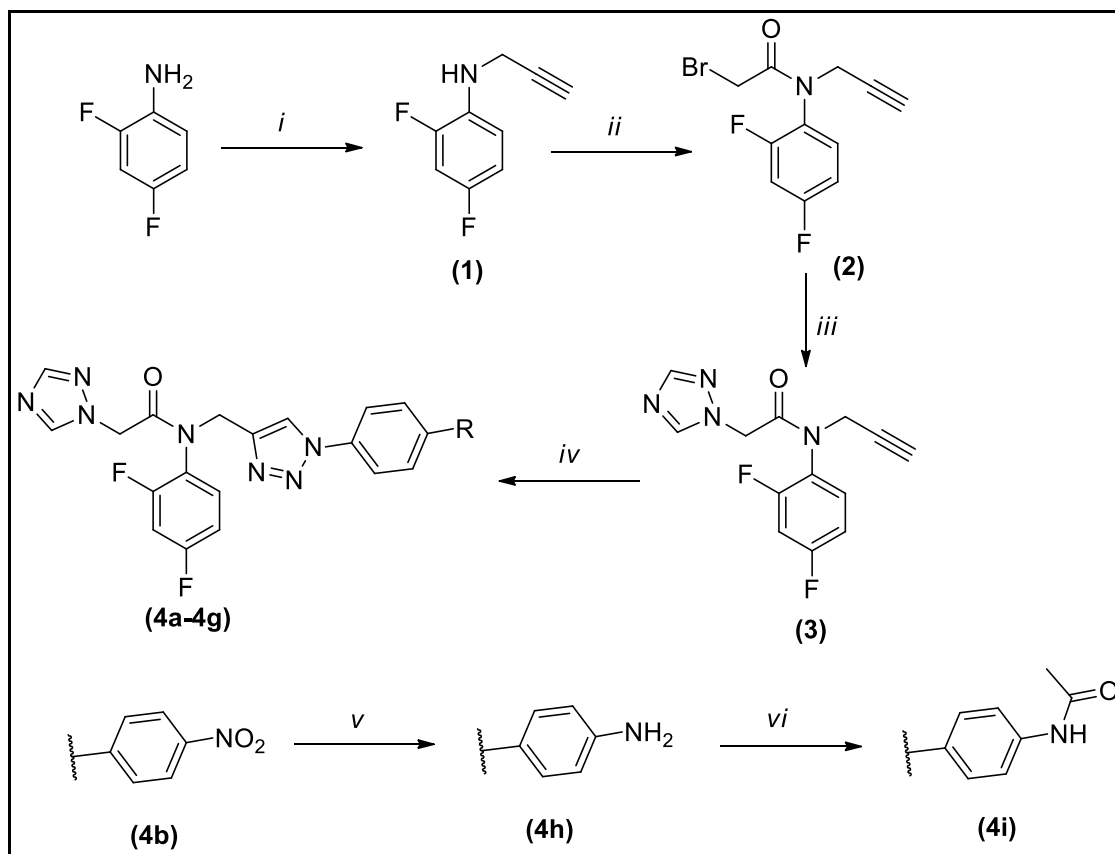


Figura 11. Substância modelo (ravuconazol) e estrutura geral dos novos compostos.



R	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g	4h	4i
Grupo	CN	NO ₂	Cl	C(CH ₃) ₃	F	CF ₃	H	NH ₂	NCOCH ₃

Esquema 1. Plano de síntese. i) Brometo de propargila, DMF, KI, K₂CO₃, 48 h, t.a. ii) Brometo de bromoacetila, CH₂Cl₂, trietilamina, 24 h, t.a. iii) 1,2,4-triazol, K₂CO₃, acetona anidra, 24 h, t.a. iv) Azida aromática, H₂O:CH₂Cl₂, CuSO₄, ascorbato de sódio, 2-48 h, t.a. v) H₂, Pd/C, etanol, 40 minutos, t.a. vi) Anidrido acético, CH₂Cl₂, 2 h, t.a.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Equipamentos

3.1.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises de cromatografia em camada delgada (CCD) foram feitas utilizando-se placas POLYGRAM-UV254 0,20 mm MACHEREY-NAGEL e reveladas através de lâmpada ultravioleta (comprimento de onda igual a 254 nm).

3.1.2. Cromatografia de adsorção em coluna

Os compostos obtidos foram purificados através de cromatografia de adsorção em coluna utilizando-se como fase estacionária sílica-gel comum de grau técnico 60 Å (40-63 µm) e sílica para cromatografia flash.

3.1.3. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos em equipamentos Bruker AVANCE III 400 e AVANCE DPX 200, operando a 400 MHz e 200 MHz, respectivamente, para experimentos de ^1H e a 100 MHz e 50 MHz, respectivamente, para experimentos de ^{13}C . Os espectros foram calibrados utilizando-se TMS como referência interna.

3.1.4. Infravermelho

Os espectros no infravermelho foram obtidos no equipamento Spectrum One da Perkin Elmer, utilizando-se a técnica de refletância total atenuada. Os espectros foram obtidos na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} , com resolução de 2,0 cm^{-1} .

3.1.5. Temperatura de fusão

Para determinação das temperaturas de fusão utilizou-se um aparelho GEHAKA-PF1500.

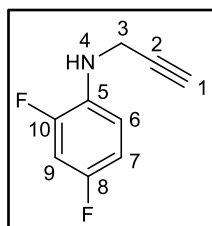
3.2. Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados foram obtidos de fontes comerciais e não passaram por tratamentos adicionais, excetuando-se os solventes acetato de etila, hexano e acetona que foram destilados previamente.

3.3. Síntese e caracterização

Foram sintetizados nove novos compostos finais (compostos **4a** a **4i**), três compostos intermediários (compostos **1**, **2** e **3**), seis azidas aromáticas, sendo cinco delas 1,4-dissubstituídas (substituintes CN, Cl, F, CF_3 , $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) e a fenil azida. A 1-azido-4-nitrobenzeno estava disponível no laboratório.

3.3.1. 2,4-difluoro-*N*-(prop-2-in-1-il)anilina (1)



Procedimento adaptado de Majumdar e Ganai.^[32]

Em um balão de 50 mL foram adicionados 8,5 mmol de carbonato de potássio, iodeto de potássio em quantidade catalítica e 30 mL de dimetilformamida seca. Em seguida, o ar atmosférico foi removido do interior do balão, utilizando-se argônio e foram adicionados 8,5 mmol de 2,4-difluoroanilina. Então, sob agitação, gradualmente foram adicionados 8,5 mmol de brometo de propargila. A reação foi mantida à temperatura ambiente (entre 20 e 30°C) e acompanhada por CCD utilizando como eluente uma mistura hexano:acetato de etila na proporção 15:1. Após 48 h, adicionaram-se 20 mL de acetato de etila e 20 mL de água destilada à mistura reacional. As fases foram separadas e a fase orgânica foi extraída com água destilada (2 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando-se o mesmo eluente das análises de CCD. O composto **1** foi obtido puro como um óleo amarelo com rendimento de 31%.

Fórmula molecular: C₉H₇F₂N

Massa molar: 167,03 g.mol⁻¹

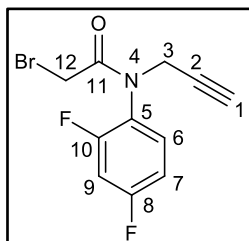
IV (cm⁻¹): 3420, 3300, 1603, 1517, 1433, 1330, 1266, 1204, 1142, 1103, 1070, 958, 847, 798, 720. (Figura 12, Página 38).

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 6,87-6,70 (m; 3H; H6, H7 e H9); 3,92-4,00 (m; 3H; H3 e H4); 2,23 (t; 1H; H1; ⁴J_{H1-H3} = 2,2 Hz). (Figura 12, Página 39).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 155,1 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 237,4 Hz; ⁴J_{C-F} = 11,0 Hz); 151,4 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 241,0 Hz; ⁴J_{C-F} = 11,6 Hz); 131,8 (dd; C5; ²J_{C5-F} = 11,7 Hz; ⁴J_{C-F} =

3,0 Hz); 113,2 (dd; C6; $^3J_{C6-F} = 8,9$ Hz; $^3J_{C6-F} = 4,3$ Hz); 110,7 (dd; C7; $^2J_{C7-F} = 21,6$ Hz; $^4J_{C7-F} = 3,8$ Hz); 103,6 (dd; C9; $^2J_{C9-F} = 26,6$ Hz; $^2J_{C9-F} = 22,7$ Hz); 80,4 (s; C2); 71,7 (s; C1); 33,7 (s; C3). (Figura 14, Página 40).

3.3.2. 2-bromo-*N*-(2,4-difluorofenil)-*N*-(prop-2-in-1il)acetamida (2)



Procedimento baseado no trabalho de Zhang e colaboradores. [33]

Em um balão de 50 mL foram adicionados 6,5 mmol do produto 1, 20 mL de CH_2Cl_2 e 6,5 mmol de trietilamina. O ar atmosférico foi removido do interior do balão utilizando-se argônio e 6,5 mmol de brometo de bromoacetila foram adicionados lentamente. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se uma mistura na proporção 5:1 de hexano:acetato de etila e, após 24 h, completou-se. A reação foi extraída três vezes com solução aquosa de ácido clorídrico (100 mL de água destilada + 4 mL de ácido clorídrico 37% m/v). Então, as fases orgânicas combinadas foram extraídas outras 3 vezes com 100 mL de solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. Enfim, realizou-se uma última extração das fases orgânicas combinadas apenas com água destilada. Em seguida, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido com o auxílio de rota evaporador, obtendo-se um sólido amarelo. O sólido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel, utilizando-se o mesmo eluente das análises de CCD. O produto final foi obtido puro com 68% de rendimento.

Fórmula molecular: $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{ONBrF}_2$

Massa molar: 286,98 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$

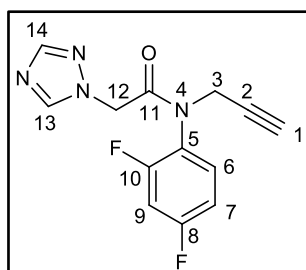
Faixa de fusão: 40,0 – 40,7 $^\circ\text{C}$

IV (cm^{-1}): 3222, 3072, 2982, 2121, 1655, 1600, 1508, 1431, 1396, 1352, 1301, 1280, 1267, 1242, 1204, 1144, 1126, 1109, 1100, 1041, 1025, 964, 905, 854, 820, 763, 724, 696. (Figura 16, Página 42).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 7,60-7,40 (m; 1H; H6); 7,10-6,90 (m; 2H; H7 e H9); 4,85 (dd; 1H; H3; $^4J_{\text{H3-H1}} = 2,5 \text{ Hz}$; $^2J_{\text{H3-H3}'} = 17,4 \text{ Hz}$); 4,15 (dd; 1H; H3'; $^4J_{\text{H3'-H1}} = 2,5 \text{ Hz}$; $^2J_{\text{H3-H3}'} = 17,4 \text{ Hz}$); 3,71 (d; 1H; H12; $^2J_{\text{H12-H12}'} = 11,4 \text{ Hz}$); 3,62 (d; 1H; H12'; $^2J_{\text{H12-H12}'} = 11,4 \text{ Hz}$); 2,24 (t; 1H; H1; $^4J_{\text{H1-H3}} = 2,5 \text{ Hz}$; $^4J_{\text{H1-H3}'} = 2,5 \text{ Hz}$). (Figura 17, Página 43).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 166,2 (s; C11); 163,0 (dd; C8 ou C10; $^1J_{\text{C-F}} = 251,5 \text{ Hz}$; $^4J_{\text{C-F}} = 11,3 \text{ Hz}$); 158,6 (dd; C8 ou C10; $^1J_{\text{C-F}} = 252,1 \text{ Hz}$; $^4J_{\text{C-F}} = 12,6 \text{ Hz}$); 131,9 (d; C6; $^3J_{\text{C6-F}} = 9,7 \text{ Hz}$); 124,0 (dd; C5; $^2J_{\text{C5-F}} = 13,0 \text{ Hz}$; $^4J_{\text{C-F}} = 4,1 \text{ Hz}$); 112,4 (dd; C7; $^2J_{\text{C7-F}} = 22,2 \text{ Hz}$; $^4J_{\text{C7-F}} = 3,9 \text{ Hz}$); 105,5 (dd; C9; $^2J_{\text{C9-F}} = 26,2 \text{ Hz}$; $^2J_{\text{C9-F}} = 23,6 \text{ Hz}$); 77,5 (s; C2); 73,5 (s; C1); 38,4 (s; C3); 26,2 (s; C12). (Figura 20, Página 46).

3.3.3. *N*-(2,4-difluorofenil)-*N*-(prop-2-in-1-il)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (3)



Procedimento adaptado de Huang^[34]

Em um balão de 50 mL foram dissolvidos 3,7 mmol do produto **2** em 15 mL de acetona anidra. Em seguida, foram adicionados 5,6 mmol de carbonato de potássio e 5,6 mmol de 1,2,4-triazol. O balão foi selado e o ar atmosférico removido com argônio. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando-se a mistura hexano:acetato de etila na proporção de 1:1 como eluente e, após 24 h, completou-se. A acetona foi evaporada sob pressão reduzida e ao resíduo foram adicionados 20 mL de água e 20 mL de acetato de etila. As fases foram separadas e a fase orgânica extraída duas vezes com água destilada, seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. O solvente foi removido sob pressão reduzida e obteve-se um sólido

branco. O sólido foi purificado em coluna cromatográfica de sílica-gel e obtido com 78% de rendimento.

Fórmula molecular: C₁₃H₁₀ON₄F₂

Massa molar: 276,08 g.mol⁻¹

Faixa de fusão: 113,2 – 113,6 °C

IV (cm⁻¹): 3256, 3130, 3074, 2979, 2940, 2126, 1687, 1606, 1509, 1433, 1396, 1358, 1331, 1290, 1234, 1206, 1142, 1106, 1142, 1106, 1044, 1022, 958, 867, 853, 810, 726, 676, 653. (Página 29, Página 49).

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,19 (s; 1H; H13); 7,91 (s; 1H; H14); 7,52-7,40 (m; 1H; H6); 7,10-7,00 (m; 2H; H7 e H9); 4,85-4,75 (m; 2H; H12 e H3); 4,69 (d; 1H; H12'; ²J_{H12-H12'} = 16,7 Hz); 4,23 (dd; 1H; H3'; ⁴J_{H3'-H1} = 2,5 Hz e ²J_{H3-H3'} = 17,4 Hz); 2,25 (t; 1H; H1; ⁴J_{H1-H3/H3'} = 2,5 Hz). (Figura 24, Página 50).

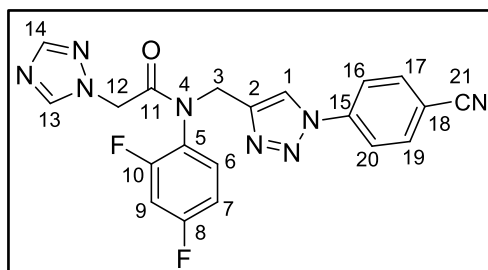
RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,2 (s; C11); 163,1 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 252,2 Hz; ⁴J_{C-F} = 11,3 Hz); 158,6 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 251,7 Hz; ⁴J_{C-F} = 12,8 Hz); 151,7 (s; C14) 144,9 (s; C13); 131,8 (d; C6; ³J_{C6-F} = 10,4 Hz); 122,9 (dd; C5; ²J_{C5-F} = 13,1 Hz; ⁴J_{C-F} = 4,0 Hz); 113,0 (dd; C7; ²J_{C7-F} = 22,3 Hz; ⁴J_{C7-F} = 3,8 Hz); 105,8 (dd; C9; ²J_{C9-F} = 26,3 Hz; ²J_{C-F} = 23,6 Hz e); 77,2 (s; C2); 73,7 (s; C1); 50,5 (d; C12; J = 2,0 Hz); 38,4 (s; C3). (Figura 25, Página 51).

3.3.4. Compostos 4a a 4g

Em um balão de 50 mL e na ausência de luz foram adicionados 0,036 mmol de CuSO₄.5H₂O, 0,08 mmol de ascorbato de sódio e 2,5 mL de água destilada. Deixou-se sob agitação por 10 minutos e então adicionou-se 1,01 mmol do produto 3 dissolvidos em 5 mL de CH₂Cl₂. O ar atmosférico foi removido com argônio e 1,1 mmol da azida aromática correspondente foi dissolvida em 2,5 mL de CH₂Cl₂ e a solução adicionada. As reações foram acompanhadas por CCD, utilizando acetato de etila como eluente. Para elaboração foram adicionados à mistura reacional 60 mL de solução aquosa de EDTA 5% m/v, 10 mL de hidróxido de amônio e 60 mL acetato de etila. As fases foram separadas e a fase orgânica extraída outras duas

vezes com 60 mL solução de EDTA e 10 mL de hidróxido de amônio. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. Os sólidos obtidos foram purificados em coluna cromatográfica de sílica-gel utilizando um gradiente de eluente de acetato de etila a metanol.

3.3.5. *N*-((1-(4-cianofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-(2,4-difluorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4a)



Fórmula molecular: C₂₀H₁₄F₂N₈O

Massa molar: 420,37 g.mol⁻¹

Aparência: Sólido amarelo

IV (cm⁻¹): 3175, 3115, 3056, 2961, 2935, 2227, 1677, 1665, 1609, 1507, 1433, 1432, 1398, 1339, 1287, 1246, 1228, 1171, 1142, 1102, 1049, 1017, 986, 958, 891, 857, 829, 803, 764, 746, 722, 689, 677, 652. (Figura 31, Página 58).

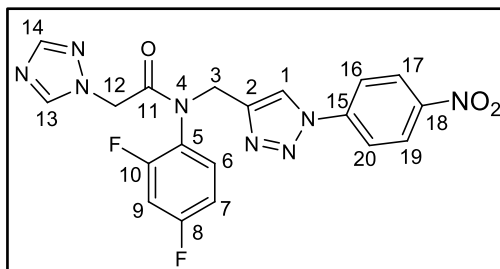
Faixa de fusão: 173,5-176,2 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,20 (s; 1H; H13); 8,16 (s; 1H; H1); 7,93-7,83 (m; 3H; H17, H19 e H14); 7,84 (d; 2H; H16 e H20; ³J_{H17/19-H16/H20} = 8,0 Hz) 7,46-7,40 (m; 1H; H9); 7,06-7,00 (m; 2H; H6 e H7); 5,14 (d; 1H; H3; ²J_{H3-H3'} = 16,0 Hz); 4,85-4,68 (m; 3H; H3'; H12 e H12'). (Figura 32, Página 59).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,8 (s; C11); 164,3 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 252,8 Hz; ⁴J_{C-F} = 11,4 Hz); 158,2 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 251,1 Hz; ⁴J_{C-F} = 12,4 Hz); 152,0 (s; C14); 144,8 (s; C13); 144,1 (s; C2); 139,6 (s; C15); 134,0 (s; C17 e C19); 131,5 (d; C6; ³J_{C6-F} = 10,0 Hz); 124,2 (dd; C5; ²J_{C5-F} = 13,2 Hz; ⁴J_{C5-F} = 4,2 Hz); 121,8 (s; C1); 120,6 (s; C16 e C20); 117,6 (s; C21); 113,4 (dd; C7; ²J_{C7-F} = 22,2 Hz; ⁴J_{C7-F} = 3,9 Hz); 112,7

(s; C18); 105,9 (dd; C9; $^2J_{C9-F} = 26,2$ Hz; $^2J_{C9-F} = 23,7$ Hz); 50,5 (d; C12; $J_{C-F} = 3,0$ Hz); 45,3 (s; C3). (Figura 33, Página 60).

3.3.6. *N*-(2,4-difluorofenil)-*N*-((1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4b)



Fórmula molecular: C₁₉H₁₄F₂N₈O₃

Massa molar: 440,36 g.mol⁻¹

Aparência: Sólido branco

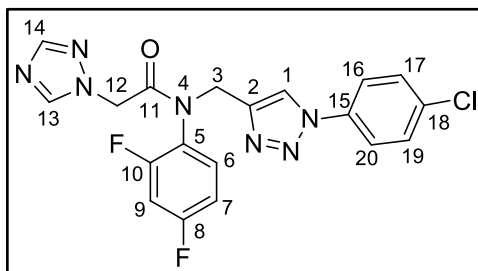
IV (cm⁻¹): 3131, 3071, 2936, 1688, 1609, 1595, 1523, 1505, 1437, 1393, 1353, 1337, 1272, 1259, 1242, 1194, 1167, 1134, 1106, 1043, 1019, 990, 963, 952, 906, 854, 821, 804, 751, 725, 680, 655. (Figura A2, Página 74).

Faixa de fusão: 167,1-168,1 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,41 (d; 2H; H17 e H19; $^3J_{H17/H19-H16/H20} = 8,0$ Hz); 8,26 (s; 1H; H13); 8,17 (s; 1H; H1); 7,98 (d; 2H; H16 e H20; $^3J_{H16/H20-H17/H19} = 8,0$ Hz); 7,92 (s; 1H; H14); 7,50-7,40 (m; 1H; H6); 7,10-7,00 (m; 2H; H7 e H9); 5,15 (d; 1H; H3; $^2J_{H3-H3'} = 16,0$ Hz); 4,85-4,60 (m; 3H; H3', H12 e H12'). (Figura A13, Página 80).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,8 (s; C11); 163,1 (dd; C8 ou C10; $^1J_{C-F} = 252,0$ Hz; $^4J_{C-F} = 11,0$ Hz); 158,2 (dd; C8 ou C10; $^1J_{C-F} = 251,0$; $^4J_{C-F} = 13,0$); 152,0 (s; C14); 147,4 (s; C18); 144,8 (s; C13); 144,2 (s; C2); 141,0 (s; C15); 131,5 (d; C6; $^2J_{C6-F} = 10,0$ Hz); 125,6 (s; C17 e C19); 124,2 (dd; C5; $^4J_{C5-F} = 4,0$ Hz; $^2J_{C5-F} = 13,0$ Hz); 121,9 (s; C1); 120,5 (s; C16 e C20); 113,4 (dd; C7; $^2J_{C7-F} = 22,5$ Hz; $^4J_{C7-F} = 4,0$ Hz); 105,4 (dd; C9; $^3J_{C9-F} = 26,5$ Hz; $^3J_{C9-F} = 23,5$ Hz); 50,5 (d; C12; $J_{C-F} = 2,0$ Hz); 45,3 (s; C3). (Figura A14, Página 80).

3.3.7. *N*-((1-(4-clorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-(2,4-difluorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4c)



Fórmula molecular: C₁₉H₁₄ClF₂N₇O

Massa molar: 429,81 g.mol⁻¹

Aparência: Sólido branco

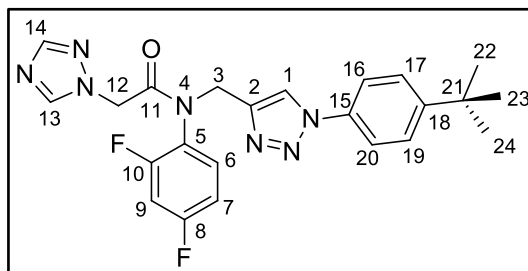
IV (cm⁻¹): 3172, 3117, 3086, 3052, 2999, 2961, 1683, 1665, 1599, 1505, 1441, 1430, 1399, 1338, 1286, 1266, 1243, 1174, 1140, 1098, 1050, 1035, 1016, 987, 960, 891, 878, 860, 820, 803, 766, 735, 724, 687, 677. (Figura A3, Página 74).

Faixa de fusão: 154,9-156,3 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,16 (s; 1H; H13); 8,09 (s; 1H; H1); 7,93 (s; 1H; H14); 7,68 (d; 2H; H16 e H20; ³J_{H17,19-H16,20} = 8,0 Hz); 7,50 (d; 2H; H17 e H19; ³J_{H16,20-H17,19} = 8,0 Hz); 7,50-7,35 (m; 1H; H6); 7,10-6,95 (m; 2H; H7 e H9); 5,16 (d; 1H; H3; ²J_{H3-H3'} = 12,0 Hz); 4,80-4,70 (m; 3H; H3', H12 e H12'). (Figura A15, Página 81).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,7 (s; C11); 163,1 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 253,0; ⁴J_{C-F} = 11,0 Hz); 158,2 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 251,0; ⁴J_{C-F} = 13,0 Hz); 151,9 (s; C14); 144,8 (s; C13); 143,6 (s; C15); 135,4 (s; C18); 134,8 (s; C2); 131,5 (d; C6; J_{C6-F} = 10,0 Hz); 130,0 (s; C16 e C20); 124,2 (dd; C5; ²J_{C5-F} = 14,0; ⁴J_{C5-F} = 4,0 Hz); 121,8 (s; C1); 121,6 (s; C17 e C19); 113,3 (dd; C7; ²J_{C7-F} = 23,0; ⁴J_{C7-F} = 4,0 Hz); 105,3 (dd; C9; ²J_{C9-F} = 26,5; ²J_{C9-F} = 23,0 Hz); 50,5 (d; C12; J_{C-F} = 3,0 Hz); 45,3 (s; C3). (Figura A16, Página 81).

3.3.8. *N*-((1-(4-(*tert*-butil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-(2,4-difluorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4d)



Fórmula molecular: C₂₃H₂₃F₂N₇O

Massa molar: 451,47 g.mol⁻¹

Aparência: Sólido amarelo

IV (cm⁻¹): 2964, 2254, 1671, 1609, 1509, 1430, 1406, 1386, 1325, 1298, 1271, 1201, 1143, 1107, 1045, 1021, 989, 960, 918, 902, 853, 841, 805, 765, 727, 679, 654. (Figura A4, Página 75).

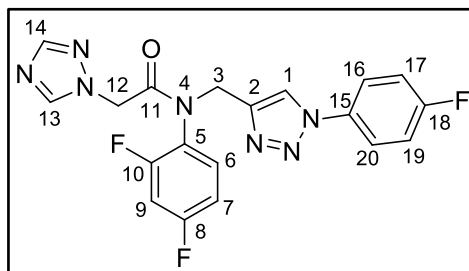
Faixa de fusão: 129,9 -131,7 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,19 (s; 1H; H13); 8,07 (s; 1H; H1); 7,93 (s; 1H; H1); 7,64 (d; 2H; H16 e H20; ³J_{H16/H20-H17/H19} = 10,0 Hz); 7,53 (d; 2H; H17 e H19; ³J_{H16/H20-H17/H19} = 10,0 Hz); 7,50-7,35 (m; 1H; H6); 7,05-6,95 (m; 2H; H7 e H9); 5,18 (d; 1H; H3; ³J_{H3-H3'} = 12,0 Hz); 4,82-4,69 (m; 3H; H3', H12 e H12'); 1,36 (s; 9H; H22; H23 e H24). (Figura A17, Página 82).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,8 (s; C11); 152,5 (s; C14); 152,08 (s; C18); 144,6 (s; C13); 143,3 (s; C15); 134,6 (s; C2); 131,8 (d; C6; J_{C6-F} = 10,0 Hz); 126,8 (s; C16 e C20); 122,0 (s; C1); 120,3 (s; C17 e C19); 113,4 (dd; C7; ²J_{C7-F} = 22,0; ⁴J_{C7-F} = 4,0 Hz); 105,9 (dd; C9; ²J_{C9-F} = 27,0; ²J_{C9-F} = 23,5 Hz); 50,7 (s, C12); 45,2 (s; C3); 35,0 (s; C21); 31,4 (s; C22, C23 e C24). (Figura A18, Página 82).

* No espectro de RMN de ¹³C para o composto 4d os sinais dos carbonos C5, C8 e C10 não são visíveis devido o tempo de realização do experimento não ter sido suficiente.

3.3.9. *N*-(2,4-difluorofenil)-*N*-((1-(4-fluorofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4e)



Fórmula molecular: C₁₉H₁₄F₃N₇O

Massa molar: 413,36 g.mol⁻¹

Aparência: Sólido lilás

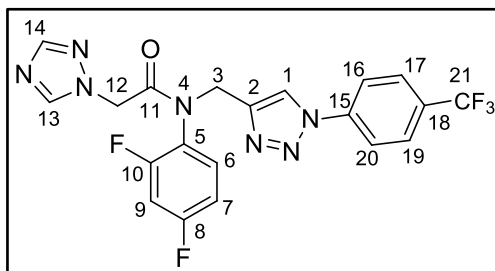
IV (cm⁻¹): 3248, 3139, 3093, 2958, 1679, 1604, 1508, 1432, 1401, 1367, 1340, 1275, 1231, 1182, 1144, 1104, 1050, 1017, 987, 962, 837, 805, 773, 745, 729, 680, 661. (Figura A5, Página 75).

Faixa de fusão: 61,2-64,5 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,18 (s; 1H; H13); 8,08 (s; 1H; H1); 7,93 (s; 1H; H14); 7,75- 7,63 (m; 2H; H16 e H20); 7,50-7,35 (m; 1H; H6); 7,30-7,15 (m; 2H; H17 e H19); 7,05-6,95 (m; 2H; H7 e H9); 5,16 (d; 1H; H3; ²J_{H3-H3'} = 16,0 Hz); 4,83-4,65 (m; 3H; H3', H12 e H12'). (Figura A19, Página 83).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,7 (s; C11); 163,0 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F}=252,0; ⁴J_{C-F} = 11,0 Hz); 162,5 (d; C18; ¹J_{C18-F}=248,0); 158,2 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F}=251,5; ⁴J_{C-F} = 12,5 Hz); 151,9 (s; C14); 144,8 (s; C13); 143,6 (s; C2); 133,2 (d; C15; ⁴J_{C15-F}=3,0 Hz); 131,5 (d; C6; J_{C6-F} = 10,0 Hz); 124,2 (dd; C5; ²J_{C5-F}=13,0; ⁴J_{C5-F} = 4,0 Hz); 122,5 (d; C16 e C20, J_{C17,C19-F} = 9,0 Hz); 122,1 (s; C1); 116,8 (d; C17 e C19; J_{C16,C20-F} = 23,0 Hz); 113,3 (dd; C7; ²J_{C7-F}=23,0; ⁴J_{C7-F} = 4,0 Hz); 105,8 (dd; C9; ²J_{C9-F}=26,5; ²J_{C9-F} = 23,5 Hz); 50,5 (d; C12; J_{C-F} = 3,0 Hz); 45,3 (s; C3). (Figura A20, Página 83).

3.3.10. *N*-(2,4-difluorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-(N-((1-(4-(trifluorometil)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)acetamida (4f)



Fórmula molecular: C₂₀H₁₄F₅N₇O

Massa molar: 463,36 g.mol⁻¹

Aparência: Sólido cinza

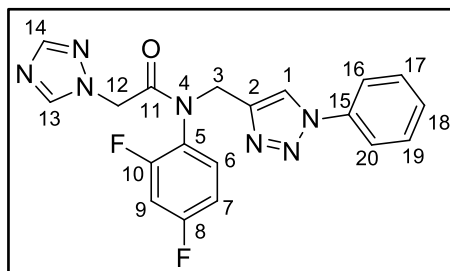
IV (cm⁻¹): 3128, 2944, 1678, 1616, 1508, 1434, 1404, 1322, 1271, 1167, 1107, 1068, 1040, 1017, 988, 963, 843, 804, 782, 767, 732, 677. (Figura **A6**, Página **76**).

Faixa de fusão: 60,2-63,3 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,21 (s; 1H; H13); 8,18 (s; 1H; H1); 7,93 (s; 1H; H14); 7,90 (d; 2H; H16 e H20; ³J_{H17/H19-H16/H20} = 8,0 Hz); 7,80 (d; 2H; H17 e H19; ³J_{H17/H19-H16/H20} = 8,0 Hz); 7,50-7,38 (m; 1H; H6); 7,08-6,98 (m; 2H; H7 e H9); 5,16 (d; 1H; H3; ²J_{H3-H3'} = 16,0 Hz); 4,85-4,68 (m; 3H; H3', H12 e H12'). (Figura **A21**, Página **84**).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,8 (s; C11); 163,1 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 253,0; ⁴J_{C-F} = 11,5 Hz); 158,2 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 251,0; ⁴J_{C-F} = 13,0 Hz); 151,9 (s; C14); 144,8 (s; C13); 143,8 (s; C15); 139,2 (s; C2); 131,5 (d; C6; J_{C6-F} = 10,0 Hz); 130,5 (q; C18; ²J_{C18-F} = 33,0); 126,0 (q; C21; ¹J_{C21-F} = 241,0); 124,1 (dd; C5; ²J_{C5-F} = 13,5; ⁴J_{C5-F} = 4,5 Hz); 122,2 (s; C1); 121,9 (s; C16 e C20); 120,4 (s; C17 e C19); 113,3 (dd; C7; ²J_{C7-F} = 22,5; ⁴J_{C7-F} = 3,5 Hz); 105,8 (dd; C9; ²J_{C9-F} = 26,5; ²J_{C9-F} = 23,5 Hz); 50,5 (d; C12; J_{C-F} = 2,0 Hz); 45,3 (s; C3). (Figura **A22**, Página **84**).

3.3.11. *N*-(2,4-difluorophenyl)-*N*-((1-phenyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)acetamide (4g)



Fórmula molecular: C₁₉H₁₅F₂N₇O

Massa molar: 395,37 g.mol⁻¹

Aparência: Sólido amarelo

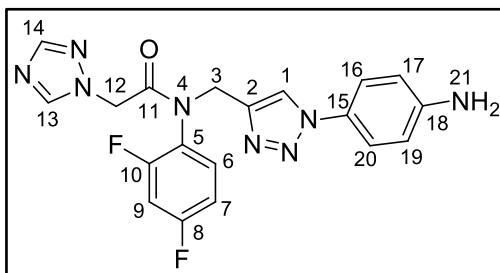
IV (cm⁻¹): 3357, 1678, 1560, 1508, 1403, 1269, 1246, 1186, 1143, 1104, 1078, 1046, 1020, 989, 962, 923, 852, 827, 797, 758, 731, 689. (Figura A7, Página 76).

Faixa de fusão: 61,2-64,5 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,15-8,10 (m; 3H; H14;H13 e H1); 7,75-7,70(m; 2H; H17 e H19); 7,60-7,40 (m; 4H; H16, H20, H18 e H6); 7,10-6,98 (m; 2H; H7 e H9); 5,19 (d; 1H; H3; ²J_{H3-H3'} = 12,0 Hz); 4,76 (d; 1H; H3'; ²J_{H3-H3'} = 12,0 Hz); 4,58 (d; 2H; H12; ²J_{H12-H12'} = 6,0 Hz); 4,53 (d; 2H; H12'; ²J_{H12-H12'} = 6,0 Hz). (Figura A23, Página 85).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,2 (s; C11); 163,1 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F}=253,0; ⁴J_{C-F} = 11,0 Hz); 158,2 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F}=250,0; ⁴J_{C-F} = 12,5 Hz); 143,5 (s; C14); 143,1 (s; C2); 136,8 (s; C15); 131,6 (d; C6; J_{C6-F} = 10,0 Hz); 129,80 (s; C16 e C20); 129,0 (s; C13); 123,5 (dd; C5; ⁴J_{C5-F} = 4,5 Hz; ²J_{C5-F} =14,0); 121,8 (s; C1); 120,4 (s; C17, C18 e C19); 113,4 (dd; C7; ²J_{C7-F}=22,5; ⁴J_{C7-F} = 3,5 Hz); 105,9 (dd; C9; ²J_{C9-F}=26,0; ²J_{C9-F} = 24,0 Hz); 46,0 (d; C12; J = 2,0 Hz); 45,3 (s; C3). (Figura A24, Página 85).

3.3.12. *N*-((1-(4-aminofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-(2,4-difluorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4h**)**



Metodologia A

Para a síntese do composto **4h**, optou-se pela realização da redução do grupo nitro presente no composto **4b**. Para o teste inicial, em um balão de 50 mL foram adicionados 0,54 mmol do composto **4b**, 0,54 mmol de SnCl₂.2H₂O e 25 mL de etanol. Devido à presença do grupo amido, a reação não foi realizada em meio ácido ou sob aquecimento, para que não houvesse a possibilidade de hidrólise. A reação foi acompanhada por CCD utilizando acetato de etila como eluente. Após nove dias o material de partida não havia sido totalmente consumido.

Metodologia B

Devido a ineficiência do método anterior, testou-se uma nova metodologia. Em um balão adicionou-se 0,087 mmol do composto **4b**, 0,0075 g de Pd/C e 5 mL de etanol. O balão foi selado e removeu-se o ar atmosférico presente em seu interior por adição de argônio. Em seguida, adicionou-se H₂ utilizando-se uma bexiga. A reação foi acompanhada por CCD e após 40 minutos terminou. Para elaboração, o Pd/C foi removido por filtração utilizando-se celite. O solvente foi removido sob pressão reduzida e o produto purificado por cromatografia em coluna utilizando como eluente a mistura acetato de etila:metanol nas proporções 10:1, 8:1, 6:1, 4:1 e 2:1.

O produto **4h** foi obtido como um sólido laranja com rendimento de 14% para a primeira metodologia e de 20% para a segunda metodologia.

Fórmula molecular: C₁₉H₁₆F₂N₈O

Massa molar: 410,38 g.mol⁻¹

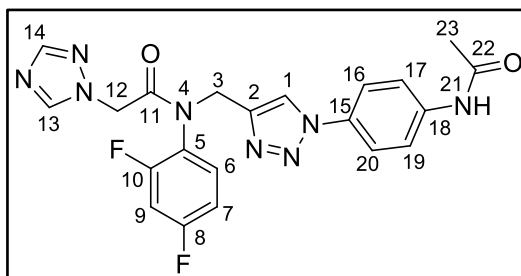
IV (cm⁻¹): 2246, 3228, 1678, 1608, 1508, 1432, 1402, 1272, 1243, 1188, 1140, 1104, 1048, 1017, 989, 962, 829, 805, 767, 722, 677. (Figura 34, Página 61).

Faixa de fusão: 87,8-90,3 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,18 (s; 1H; H13); 7,95 (s; 1H; H1); 7,93 (s; 1H; H14); 7,50-7,35 (m; 3H; H6, H16 e H19) 7,05-6,80 (m; 2H; H9 e H7); 5,18 (d; 1H; H3; ²J_{H3-H3'} = 12,0 Hz); 4,80-4,68 (m; 3H; H3', H12 e H12'); 3,75 (s; 2H; H21). (Figura 35, Página 62).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 165,6 (s; C11); 163,0 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F}=252,0; ⁴J_{C-F} = 12,0 Hz); 158,2 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F}=251,0; ⁴J_{C-F} = 13,0 Hz); 151,9 (s; C14); 147,2 (s; C18); 144,7 (s; C13); 142,8 (s; C2); 131,6 (d; C6; J_{C6-F} = 10,0 Hz); 128,5 (s; C15); 124,2 (dd; C5; ⁴J_{C5-F} = 4,0 Hz; ²J_{C5-F} =14,0); 122,2 (s; C16 e C20); 121,8 (s; C1); 115,3 (s; C17 e C19); 113,2 (dd; C7; ²J_{C7-F} =22,5; ⁴J_{C7-F} = 3,5 Hz); 105,5 (dd; C9; ²J_{C9-F} =26,0; ²J_{C9-F} = 23,5 Hz); 50,5 (d; C12; J_{C-F} = 2,0 Hz); 45,3 (s; C3). (Figura 36, Página 63).

3.3.13. *N*-((1-(4-acetamidofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil)-*N*-(2,4-difluorofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (4i)



Procedimento adaptado de Kathiravan e Nicholls.^[35]

Em um balão foram adicionados 0,25 mmol do composto **4h** e 18 mL de CH₂Cl₂. Em seguida, o ar atmosférico foi removido adicionando-se argônio e, então, adicionou-se 0,03 mmol de anidrido acético. A reação foi acompanhada por CCD, utilizando acetato de etila como eluente e após 2h foi completa. Para elaboração, foram adicionados 20 mL de água destilada à mistura reacional. Após separação das fases, a fase orgânica foi extraída duas vezes com 20 mL de solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi então seca com sulfato de sódio anidro e filtrada. O produto final foi obtido puro como um sólido amarelo claro e em rendimento quantitativo.

Fórmula molecular: C₂₁H₁₈F₂N₈O₂

Massa molar: 452,42 g.mol⁻¹

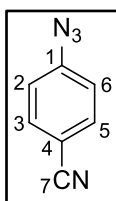
IV (cm⁻¹): 3340, 3137, 2928, 1667, 1610, 1561, 1519, 1508, 1429, 1402, 1369, 1320, 1286, 1265, 1243, 1185, 1141, 1099, 1049, 1033, 1019, 990, 960, 830, 803, 764, 725, 677. (Figura 37, Página 64).

Faixa de fusão: 65,8-66,9 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 8,19 (s; 1H; H13); 8,04 (s; 1H; H1); 7,93 (s; 1H; H14); 7,91 (s; 1H; H21); 7,69 (d; 2H; H16 e H20; ³J_{H17/H19-H16/H20} = 2,5 Hz); 7,63 (d; 2H; H17 e H19; ³J_{H16/H20-H17/H19} = 2,5 Hz); 7,50-7,35 (m; 1H; H6); 7,05-6,95 (m; 2H; H7 e H9); 5,17 (d; 1H; H3; ²J_{H3-H3'} = 16,0 Hz); 4,85-4,70 (m; 3H; H3', H12 e H12'); 2,20 (s; H23). (Figura 38, Página 65).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 168,7 (s; C22); 165,7 (s; C11); 163,0 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 253,5; ⁴J_{C-F} = 11,0 Hz); 158,2 (dd; C8 ou C10; ¹J_{C-F} = 251,0; ⁴J_{C-F} = 12,0 Hz); 151,8 (s; C14); 144,8 (s; C13); 143,2 (s; C2); 138,8 (s; C18); 132,6 (s; C15); 131,6 (d; C6; J_{C6-F} = 10,0 Hz); 124,1 (dd; C5; ²J_{C5-F} = 14,0; ⁴J_{C5-F} = 4,0 Hz); 121,8 (s; C1); 121,1 (s; C16 e C20); 120,6 (s; C17 e C19); 113,2 (dd; C7; ²J_{C7-F} = 22,5; ⁴J_{C7-F} = 3,5 Hz); 105,8 (dd; C9; ²J_{C9-F} = 26,5; ²J_{C9-F} = 23,5 Hz); 50,6 (d; C12; J_{C-F} = 1,9 Hz); 45,2 (s; C3); 24,6 (s; C23). (Figura 39, Página 66).

3.3.14. 4-azidobenzonitrila



Procedimento baseado no trabalho de Altimari e colaboradores^[36].

Em um balão, na ausência de luz, foram adicionados 4,10 mmol de 4-aminobenzonitrila, 5 mL de água destilada, 40 mL de acetonitrila e 2 mL de HCl 37% v/v. Agitou-se durante 10 minutos à temperatura ambiente e, então, adicionou-se 8,80 mmol de nitrito de sódio gradualmente. A reação foi mantida à temperatura ambiente por 1 hora e, em seguida, colocada em banho gelo. A temperatura foi

mantida entre 0 e 5°C e adicionaram-se 8,58 mmol de azida de sódio gradualmente. Após 2 h de reação, a acetonitrila foi removida sob pressão reduzida e foram adicionados 40 mL de água destilada. A fase aquosa foi extraída quatro vezes com 40 mL de CH₂Cl₂. As fases orgânicas combinadas foram lavadas com 40 mL de brine, secas com sulfato de sódio anidro e filtradas. A azida aromática foi obtida pura como um sólido amarelo com rendimento quantitativo.

Fórmula molecular: C₇H₄N₄

Massa molar: 144,13 g.mol⁻¹

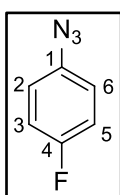
IV (cm⁻¹): 3095, 3043, 2923, 2432. 2255, 2221, 2153, 2109, 1597, 1504, 1495, 1416, 1315, 1308, 1279, 1176, 1126, 1109, 833, 818, 747, 722. (Figura 28, Página 54).

Faixa de fusão: 177,7-181,1 °C

RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 7,65 (d; 2H; H3 e H5; ³J_{H3/H5-H2/H6} = 4,0 Hz); 7,11 (d; 2H; H2 e H6; ³J_{H2/H6-H3/H5} = 4,0 Hz). (Figura 29, Página 55).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 144,9 (s; C1); 133,9 (s; C3 e C5); 119,8 (s; C2 e C6); 118,4 (s; C7); 108,4 (s; C4). (Figura 30, Página 56).

3.3.15. 4-azidofluorobenzeno



Procedimento baseado no trabalho de Hu, Li e Yao.^[37]

Em um balão, na ausência de luz e mantendo-se a temperatura entre 0 e 5°C, foram adicionados 175 mL de água, 25 mL de H₂SO₄ e 27,18 mmol de 4-fluoroanilina. Agitou-se por 10 minutos e então foi realizada a adição de 28,95 mmol de nitrito de sódio e deixou-se agitar por mais dez minutos. Em seguida, foram adicionados 28,95 mmol de azida de sódio. Após 2 horas todo material de partida havia sido consumido e o produto de interesse foi extraído três vezes com 150 mL

de acetato de etila. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto foi obtido puro como um líquido amarelo com rendimento de 37%.

Fórmula molecular: $C_6H_4FN_3$

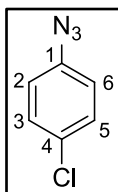
Massa molar: $137,11 \text{ g.mol}^{-1}$

IV (cm^{-1}): 3004, 2882, 2116, 1499, 1305, 1275, 836. (Figura A11, Página 78).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 7,10-6,90 (m; 4H; H2, H3, H5 e H6). (Figura A29, Página 88).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 160,1 (d; C4; $^1J_{\text{C-F}} = 243,0 \text{ Hz}$); 136,0 (s; C1); 120,5 (d; C2 e C6, $^3J_{\text{C-F}} = 8,0 \text{ Hz}$); 116,7 (d; C3 e C5; $^2J_{\text{C-F}} = 23,0 \text{ Hz}$). (Figura A30, Página 88).

3.3.16. 4-azidoclorobenzeno



O procedimento para a síntese da 4-azidoclorobenzeno foi o mesmo executado para a síntese da 4-azidofluorobenzeno. Ela foi obtida como um sólido marrom com rendimento igual a 52%

Fórmula molecular: $C_6H_4ClN_3$

Massa molar: $153,57 \text{ g.mol}^{-1}$

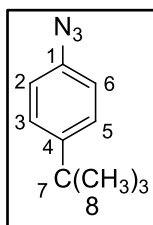
IV (cm^{-1}): 3241, 2882, 2572, 2419, 2256, 2128, 2091, 1592, 1516, 1497, 1485, 1457, 1370, 1362, 1295, 1270, 1202, 1174, 1128, 1090, 1045, 1000, 919, 822, 707, 675. (Figura A10, Página 78).

Faixa de fusão: $150,8\text{-}151,4 \text{ }^\circ\text{C}$

RMN de ^1H (CDCl_3 , 200 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 7,28 (d; 2H; H3 e H5; $^3J_{\text{H3/H5-H2/H6}} = 9,0 \text{ Hz}$); 6,92 (d; 2H; H2 e H6; $^3J_{\text{H2/H6-H3/H5}} = 9,0 \text{ Hz}$). (Figura A25, Página 86).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 138,8 (s; C1); 130,3 (s; C4); 130,0 (s; C2 e C6); 120,4 (s; C3 e C5). (Figura A26, Página 86).

3.3.17. 4-azido(*tert*-butil)benzeno



Procedimento adaptado de Lee e colaboradores. [38]

Em um balão, 3,03 mmol de 4-*tert*-butilanilina foram solubilizados em 5,0 mL de água destilada e colocados sob agitação em banho de gelo. Adicionou-se, então, 1,0 mL de de HCl 37% v/v e permitiu-se agitar por 20 minutos. Em seguida, foram adicionados lentamente 4,05 mmol de nitrito de sódio em 2,0 mL de água destilada. Após 10 minutos adicionou-se 3,20 mmol de azida de sódio em 2 mL de água destilada e deixou-se reagir por 30 minutos em temperatura 0-5°C e, logo em seguida, por 3 horas permitindo o sistema aquecer até à temperatura ambiente. O produto foi extraído três vezes com 20 mL de hexano e a fase orgânica seca com sulfato de sódio e filtrado. O produto foi obtido puro como um líquido amarelo com rendimento igual a 63%.

Fórmula molecular: $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3$

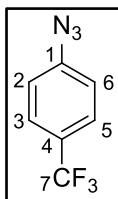
Massa molar: 175,23 g.mol⁻¹

IV (cm^{-1}): 2961, 2905, 2870, 2418, 2273, 2120, 2087, 1740, 1604, 1577, 1508, 1462, 1393, 1364, 1295, 1282, 1239, 1192, 1136, 1118, 1046, 1014, 934. (Figura A8, Página 77).

RMN de ^1H (CDCl_3 , 100 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 7,36 (d; 2H; C3 e C5; $^3J_{\text{H}_3/\text{H}_5-\text{H}_2/\text{H}_6} = 9,0$ Hz); 6,96 (d; 2H, C2 e C6; $^3J_{\text{H}_2/\text{H}_6-\text{H}_3/\text{H}_5} = 9,0$ Hz); 1,3 (s; 9H; H8). (Figura A27, Página 87).

RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 50 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 148,03 (s; C4); 137,09 (s; C1); 126,70 (s; C2 e C6); 118,63 (s; C3 e C5); 34,44 (s; C7); 31,34 (s; C8). (Figura A28, Página 87).

3.3.18 4-azido(trifluorometil)benzeno



Procedimento adaptado de Sebest e colaboradores.^[39]

Em um balão foram adicionados 15,76 mmol de 4-trifluorometilanilina, 20 mL de HCl 37% v/v e 20 mL de água destilada. A reação foi mantida entre 0-5°C por 10 minutos e então, adicionaram-se 20,8 mmol de nitrito de sódio e deixou-se reagir por 2 horas. Em seguida, adicionou-se 23,6 mmol de azida de sódio e deixou-se reagir por mais duas horas. Então, a reação foi extraída três vezes com de acetato de etila (3 x 40 mL). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com brine (3 x 40 mL) e com água destilada (3 x 40 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto foi obtido como um líquido amarelo com rendimento de 54%.

Fórmula molecular: C₇H₄F₃N₃

Massa molar: 187,12 g.mol⁻¹

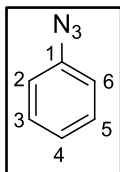
IV (cm⁻¹): 2414, 2259, 2196, 2123, 2099, 1613, 1513, 1421, 1323, 1284, 1162, 1119, 1107, 1062, 1014, 947, 835, 758, 729, 682. (Figura **A9**, Página **77**).

Temperatura de fusão:

RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 7,59 (d; 2H; H3 e H5; ³J_{H3,5-H2,6} = 4,0 Hz); 7,10 (d; 2H; H2 e H6; ³J_{H3,5-H2,6} = 4,0 Hz). (Figura **A31**, Página **89**).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 143,9 (s; C1); 127,3 (q; C4; ²J_{C4-F} = 32,7 Hz); 127,1 (q; C3 e C5; ³J_{C3,5-F} = 3,3 Hz); 126,7 (q; C7; ¹J_{C7-F} = 267,3 Hz); 119,3 (s; C2 e C6). (Figura **A32**, Página **89**).

3.3.19 4-azidobenzeno



Procedimento adaptado de Mangione, Spanevello e Anzardi.^[40]

Em um balão foram adicionados 12 mL de água destilada, 12 mL de HCl 37% v/v e 22,24 mmol de anilina, a reação foi colocada em banho de gelo (0-5°C) e ocorreu na ausência de luz. Após 20 minutos adicionaram-se lentamente 27,70 mmol de nitrito de sódio solubilizado em 5 mL de água destilada e deixou-se reagir por 1 hora. Em seguida, adicionaram-se gota a gota 26,61 mmol de azida de sódio em 5 mL de água destilada, e então, deixou-se a reação aquecer até a temperatura ambiente e reagir por 2 horas. O produto foi extraído com éter etílico (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas lavadas com solução saturada de bicarbonato de sódio (3 x 25 mL), com brine (3 x 25 mL) e com água destilada (3 x 25 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. O produto foi obtido puro na forma de um líquido amarelo com 29% de rendimento.

Fórmula molecular: C₆H₅N₃

Massa molar: 119,12 g.mol⁻¹

IV (cm⁻¹): 2218, 2943, 2831, 2129, 2096, 1741, 1595, 1494, 1449, 1376, 1296, 1282, 1116, 1023, 753, 688, 669. (Figura **A12**, Página **79**).

RMN de ¹H (CDCl₃, 200 MHz): δ (multiplicidade, integração, atribuição, constante de acoplamento): 7,35-6,80 (m; 5H; H2, H3, H4, H5 e H6). (Figura **A33**, Página **90**).

RMN de ¹³C (CDCl₃, 50 MHz): δ (multiplicidade, atribuição, constante de acoplamento): 140,0 (s; C1); 129,8 (s; C3 e C5); 124,9 (s; C4); 119,0 (s; C2 e C6). (Figura **A34**, Página **90**).

3.4. Testes de atividade antifúngica

Os testes de atividade antifúngica foram realizados em parceria com o Laboratório de Micologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG), sob coordenação do professor Daniel Assis Santos. Para avaliar a atividade antifúngica dos compostos **4a** a **4i**, foram utilizados os micro-organismos de referência de leveduras (*Candida albicans* SC5314, *Candida glabrata* ATCC 2001, *Cryptococcus neoformans* e H99 e *Cryptococcus gattii* R265) e de fungos filamentosos (*Trichophyton rubrum* ATCC 28189 e *Trichophyton interdigitale* ATCC 9533). As leveduras foram semeadas em placas de Petri contendo Ágar Sabouraud Dextrose (ASD, Acumedia, São Paulo, Brasil) e incubadas a 37°C por 48 horas. Os fungos filamentosos, por sua vez, foram cultivados em placas em Petri contendo Ágar Batata Dextrose (ABD, Acumedia) que foram incubadas a 28°C por 7 dias.

A avaliação da sensibilidade dos micro-organismos frente aos compostos foi realizada por meio do método de microdiluição em caldo proposto pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Inicialmente, foram preparadas soluções-estoque na concentração de 2000 µg/mL de cada um dos compostos em metanol. Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas em meio sintético RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) tamponado para pH 7,0 com ácido morfolino-propano-sulfônico (MOPS, Sigma-Aldrich) 0,165M de forma que, ao final, fossem obtidas concentrações dos compostos que variassem de 256 a 0,5 µg/mL. No ensaio com fungos filamentosos, o meio RPMI 1640 foi suplementado com 2% de glicose (CLSI, 2008b). Na sequência, alíquotas de 100 µL de cada diluição seriada foram distribuídas nos orifícios de placas de microdiluição de 96 poços de fundo chato. O experimento foi realizado em duplicata.

O inóculo fúngico de leveduras foi preparado a partir de culturas de *Candida albicans* SC5314, *Candida glabrata* ATCC 2001, *Cryptococcus neoformans* H99 e *Cryptococcus gattii* R265 previamente incubadas a 37°C, por 48 horas em placas de Petri contendo ASD. Já o inóculo fúngico de fungos filamentosos foi preparado a partir de culturas de *Trichophyton rubrum* ATCC 28189 e *Trichophyton interdigitale* ATCC 9533 incubadas a 28°C, por 7 dias em tubos contendo ABD inclinado para a produção de conídios. Alíquotas de 100 µL do inóculo foram

dispensadas nas placas contendo os compostos, que foram incubadas a 37°C por 72 horas para as leveduras e a 28°C por 7 dias para os fungos filamentosos.

Os resultados de concentração inibitória mínima (CIM) são obtidos através da observação visual da inibição do crescimento em cada poço da placa e comparação com o poço de controle positivo (ausência de antifúngico ou dos compostos testados). Para melhor comparação, os antifúngicos itraconazol e anfotericina B também foram utilizados como controle positivo, para fungos filamentosos e leveduras, respectivamente. A CIM considerada é a menor concentração que inibe 100% do crescimento microbiano.

Após a determinação da CIM, também foi determinada a menor concentração do composto na qual nenhuma colônia foi observada após incubação, a concentração fungicida mínima (CFM). Nessa análise, alíquotas de 50 µL foram removidas dos poços onde não houve crescimento visível e subcultivadas em ABD para fungos filamentosos ou ASD para leveduras. A incubação das placas contendo leveduras se deu a 37°C por 48 horas, enquanto as placas contendo fungos filamentosos foram incubadas a 28° por 7 dias. As amostras foram semeadas em placas de Petri em duplicata.

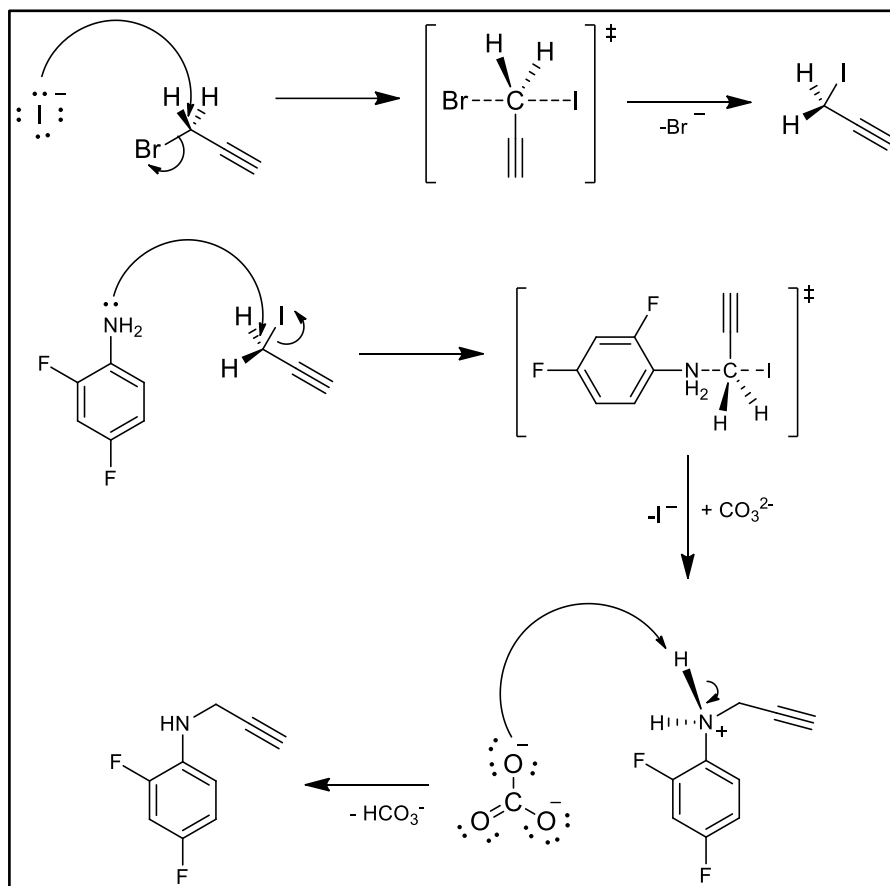
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Síntese e caracterização

4.1.1. 2,4-difluoro-*N*-(prop-2-in-1-il)anilina (1)

A obtenção do composto **1** ocorreu através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular entre a 2,4-difluoroanilina e o brometo de propargila, catalisada por iodeto de potássio. O mecanismo proposto para a reação é mostrado no Esquema **2**. Inicialmente, um par de elétrons não ligantes do íon iodeto forma uma ligação com o carbono eletrofílico do brometo de propargila, substituindo o bromo através de uma substituição nucleofílica bimolecular. Em seguida, o nitrogênio da 2,4-difluoroanilina se liga ao carbono eletrofílico do iodeto de propargila, também através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular. Posteriormente, o íon carbonato atua como base removendo um próton do nitrogênio. Por se tratar de um melhor grupo abandonador que o bromo, o iodo favorece a formação do produto monoalquilado.

O rendimento para essa reação foi baixo (31%), sendo esta etapa a de menor rendimento da rota. Esse baixo rendimento pode ser explicado por duas razões. A primeira delas é a menor capacidade do nitrogênio agir como nucleófilo, pois os átomos de flúor retiram densidade eletrônica do anel aromático por efeito indutivo deixando o par de elétrons do nitrogênio menos disponível. O segundo fator é a formação do produto dialquilado. Para tentar minimizar a formação desse subproduto variou-se algumas condições reacionais, sendo elas, aumento de temperatura, maior diluição do meio reacional, adicionar excesso de brometo de propargila e adicioná-lo gradualmente. Entretanto, nas condições reacionais testadas, sempre ocorre a dialquilação da 2,4-difluoroanilina na mesma proporção. Com a ocorrência da dialquilação, nem toda 2,4-difluoroanilina reage pois não há brometo de propargila disponível e adicioná-lo em excesso favorece ainda mais a formação do produto dialquilado.



Esquema 2. Mecanismo de formação do composto 1^[41].

Para confirmar que o produto obtido correspondia ao produto monoalquilado foi realizada sua caracterização. O espectro do composto 1 na região do infravermelho é mostrado na Figura 12.

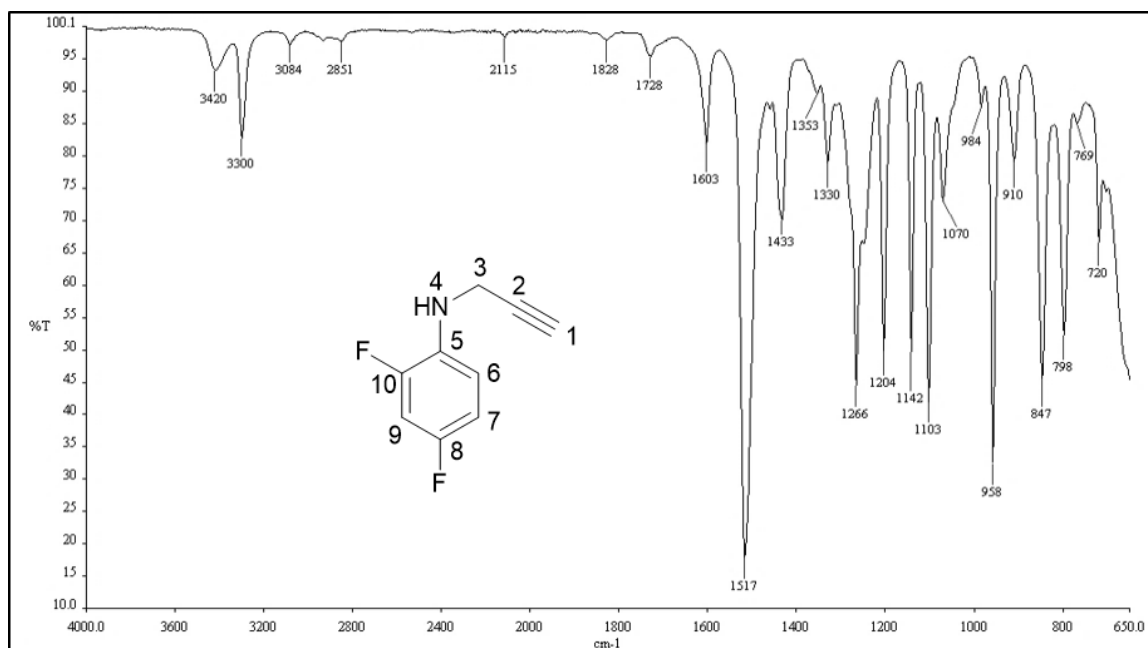


Figura 12. Espectro na região do IV para o composto 1.

No espectro no IV, ressalta-se a presença da banda em 3300 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-H de alcinos. A banda relacionada a tripla ligação C-C não é vista no espectro devido à pequena diferença de momento de dipolo entre os carbonos. Em 3420 cm^{-1} , nota-se a presença da banda de estiramento N-H em amins secundárias. Bandas de C=C de aromáticos são vistas em $1603,1433$ e 1517 cm^{-1} . Em 1266 cm^{-1} surge a banda relacionada à ligação C-N. Confirma-se então, pela análise no IV, a presença de amina secundária, alcino e aromáticos.

Na Figura 13 apresenta-se o espectro de RMN de ^1H para o composto 1. Em δ igual a 2,23 ppm, observa-se um tripleto correspondente ao hidrogênio do alcino terminal que acopla com os dois hidrogênios H3 com constante igual a 2,2 Hz. Entre δ 4,00-3,92 ppm há um multipeto integrado para 3 hidrogênios. Esse sinal corresponde aos dois hidrogênios metilênicos H3 e ao H4. O multipeto entre δ 6,83-6,70 corresponde aos hidrogênios aromáticos H6, H7 e H9.

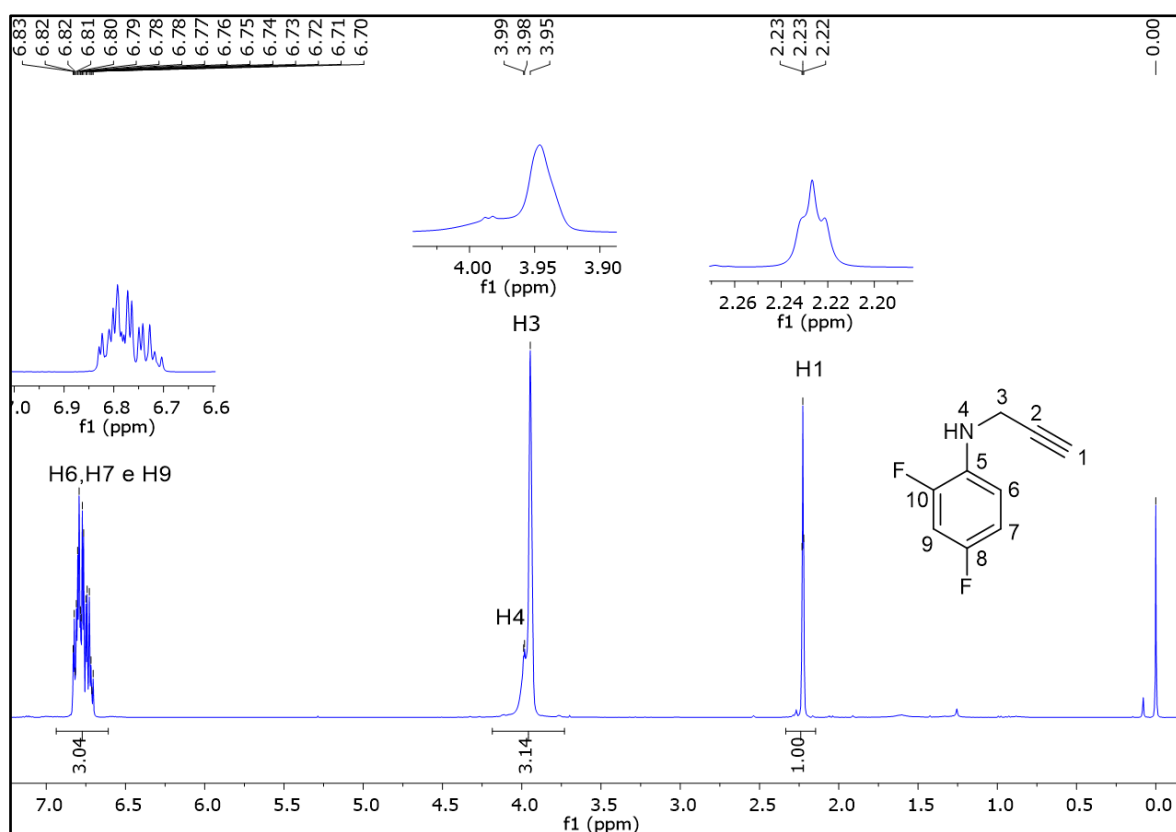


Figura 13. Espectro de RMN de ^1H do composto 1 (400 MHz, CDCl_3).

Na Figura 14 é apresentado o espectro de RMN de ^{13}C do composto 1. Em δ 33,7 observa-se um sinal referente ao carbono metilênico C3. Sua atribuição é

confirmada no espectro de RMN DEPT 135, (Figura 15) no qual aparece com fase negativa. Os carbonos C1 e C2 aparecem em δ 71,7 e δ 80,4. Os sinais referentes aos carbonos hidrogenados aromáticos aparecem como sinais desdobrados devidos aos acoplamentos com o flúor. O C9 acopla com os dois átomos de flúor em posição *orto*, aparecendo em δ 103,6 como um duplete duplo ($^2J_{C-F}$ = 22,7 Hz e $^2J_{C-F}$ = 26,6 Hz). Em δ 110,7 há um duplete duplo correspondente ao C7, com constantes de acoplamento $^2J_{C-F}$ = 21,6 Hz e $^4J_{C-F}$ = 3,8 Hz. O sinal do carbono C6 aparece como um duplete duplo em δ 113,2 com constantes de acoplamento $^3J_{C-F}$ = 4,3 Hz e $^3J_{C-F}$ = 8,9 Hz. Os sinais dos carbonos não hidrogenados 8 ou 10 são vistos como dupletos duplos ($^1J_{C-F}$ = 237,4 Hz; $^1J_{C-F}$ = 241,0 Hz; $^3J_{C-F}$ = 11,6 Hz; $^3J_{C-F}$ = 11,0 Hz), evidência confirmada pela sua ausência no espectro de RMN DEPT 135.

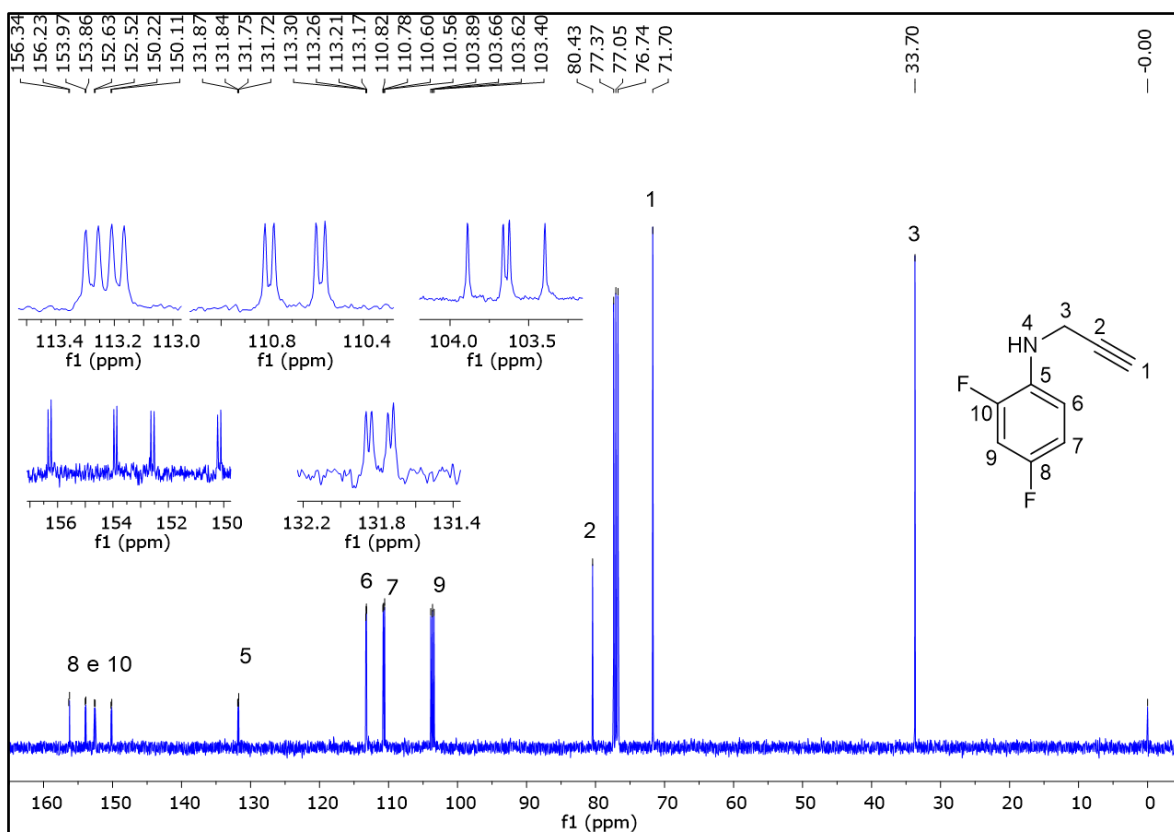


Figura 14. Espectro de RMN de ^{13}C do composto 1 (100 MHz, CDCl_3).

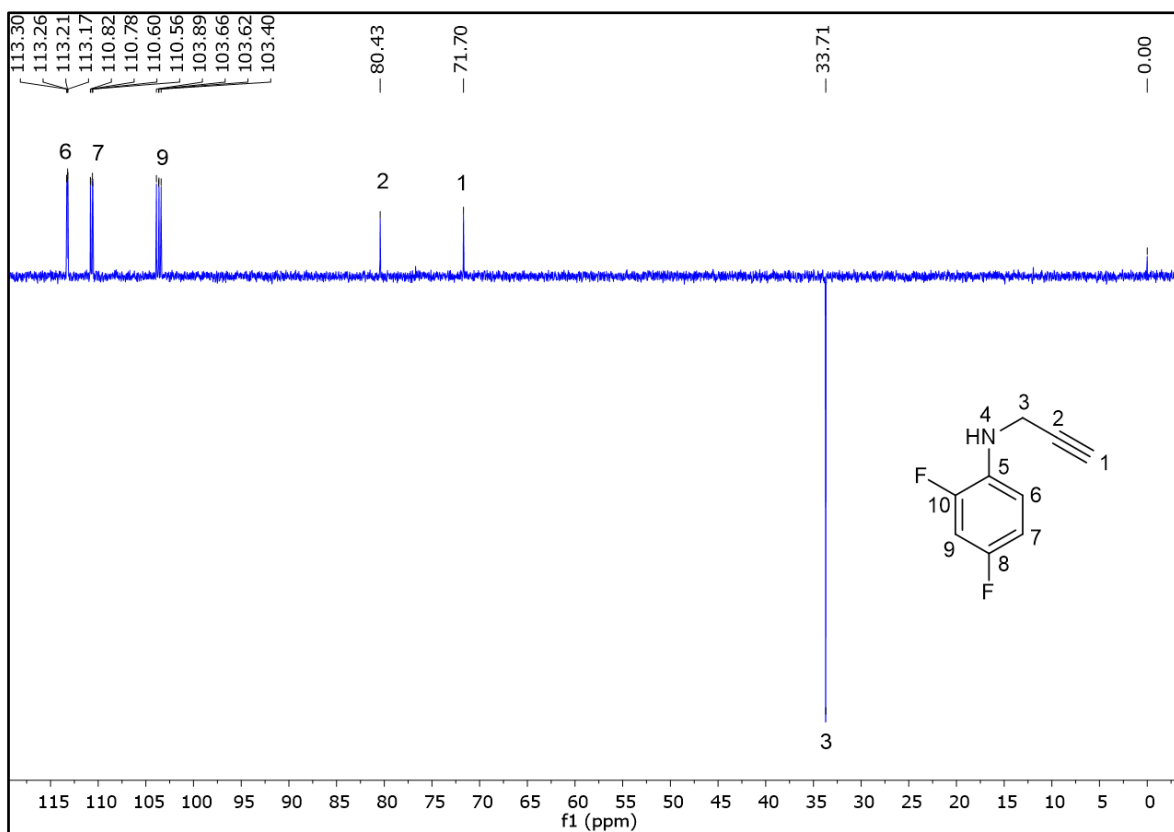
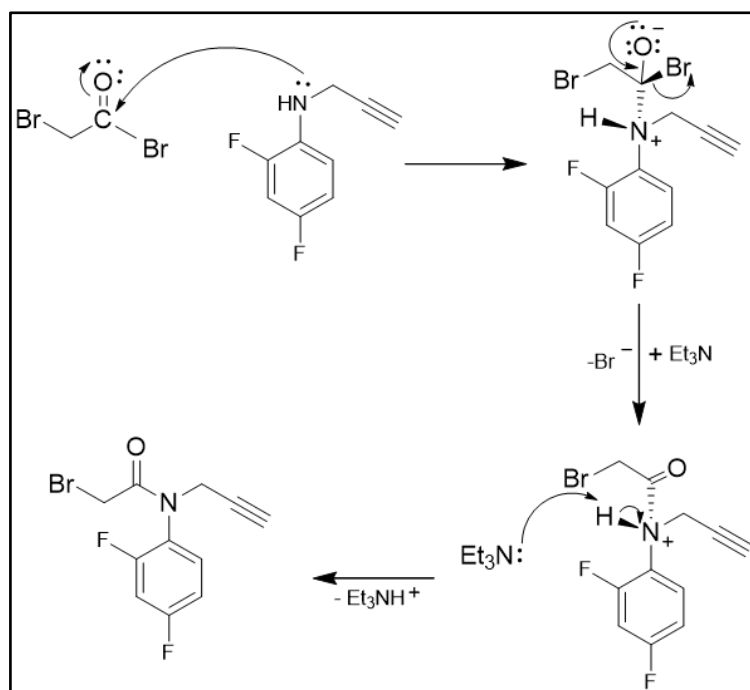


Figura 15. Espectro DEPT 135 do composto **1** (100 MHz, CDCl_3).

4.1.2. 2-bromo-*N*-(2,4-difluorofenil)-*N*-(prop-2-in-1il)acetamida (**2**)

Confirmando-se a estrutura do composto **1**, seguiu-se para a síntese do composto **2**, que ocorre através de uma reação de adição/eliminação à carbonila entre brometo de bromoacetila e o composto **1**, na presença de trietilamina. O mecanismo para essa reação é mostrado no Esquema 3. Primeiramente, é formada uma ligação entre o nitrogênio do composto **1** e o carbono carbonílico do brometo de bromoacetila, utilizando o par de elétrons não-ligante do nitrogênio e deslocando o par de elétrons da dupla ligação da carbonila para o oxigênio. Ao ocorrer o reestabelecimento da ligação π , o íon brometo é eliminado e a trietilamina age como base, removendo o próton do nitrogênio que possui carga positiva.



Esquema 3. Mecanismo de formação do composto **2**.^[41]

Na figura **16** é mostrado o espectro na região do infravermelho para o composto **2**. Nele é possível notar uma banda de média intensidade em 3222 cm^{-1} correspondente ao estiramento C-H de alcinos, que é confirmado pela banda pouco intensa em 2121 cm^{-1} relacionada à ligação tripla entre os carbonos 1 e 2. Em 1655 cm^{-1} apresenta-se a banda relativa a C=O, em frequência compatível com a esperada para carbonilas de amidas.

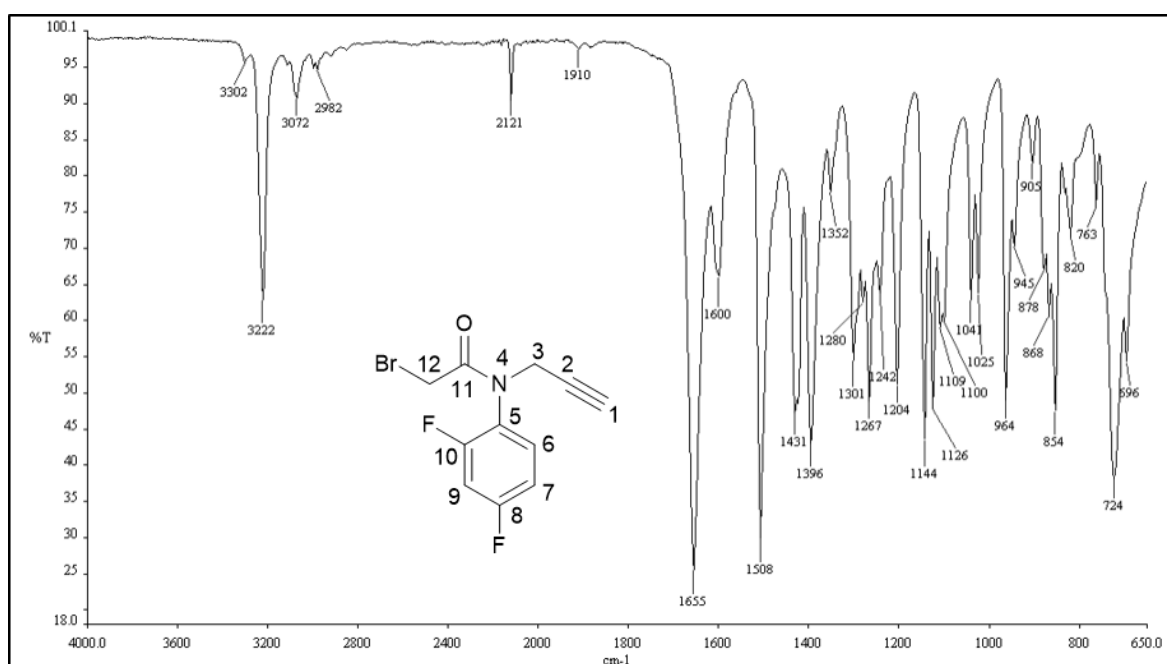


Figura 16. Espectro na região do IV para o composto **2**.

O espectro de RMN de ^1H para o composto **2** é mostrado na Figura 17. Comparando-se os espectros de ^1H dos compostos **1** e **2** pode-se notar que o sinal do H6 aparece separadamente do sinal de H9 e H7, em maior valor de deslocamento. Além disso, no composto **2** os sinais dos hidrogênios metilênicos H3 passam a se apresentar como dois dupletos duplos indicando, inesperadamente, que esses dois hidrogênios não são equivalentes. Distinguindo-se esses hidrogênios como H3 e H3', tem-se que em δ 4,15 apresenta-se H3' e em δ 4,85 apresenta-se H3, ambos com constantes de acoplamento $^4J_{\text{H3}'/\text{H3}-\text{H1}} = 2,5$ Hz e $^2J_{\text{H3}'-\text{H3}} = 17,4$ Hz. Um comportamento semelhante é observado para os hidrogênios H12, observados como dois dupletos em δ 3,71 e δ 3,61 com constante $^2J_{\text{H12}-\text{H12}'} = 11,4$ Hz. Na Figura 18 apresenta-se um mapa de correlações COSY, obtido para se investigar os acoplamentos entre os hidrogênios metilênicos. Conclui-se que, de fato, H3 e H3' acoplam entre si e com H1. O mapa de correlações COSY também mostra o acoplamento entre H6 e os demais hidrogênio aromáticos (H9 e H7).

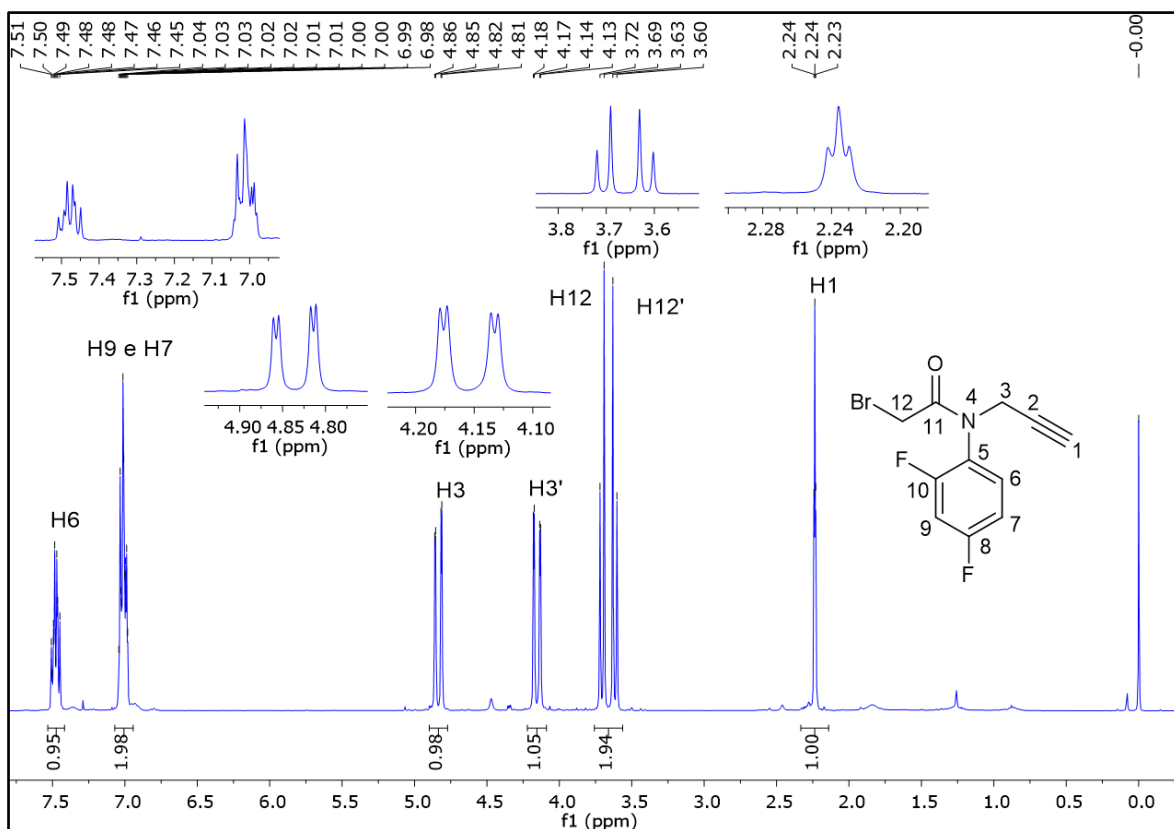


Figura 17. Espectro de RMN ^1H para o composto **2** (400 MHz, CDCl_3).

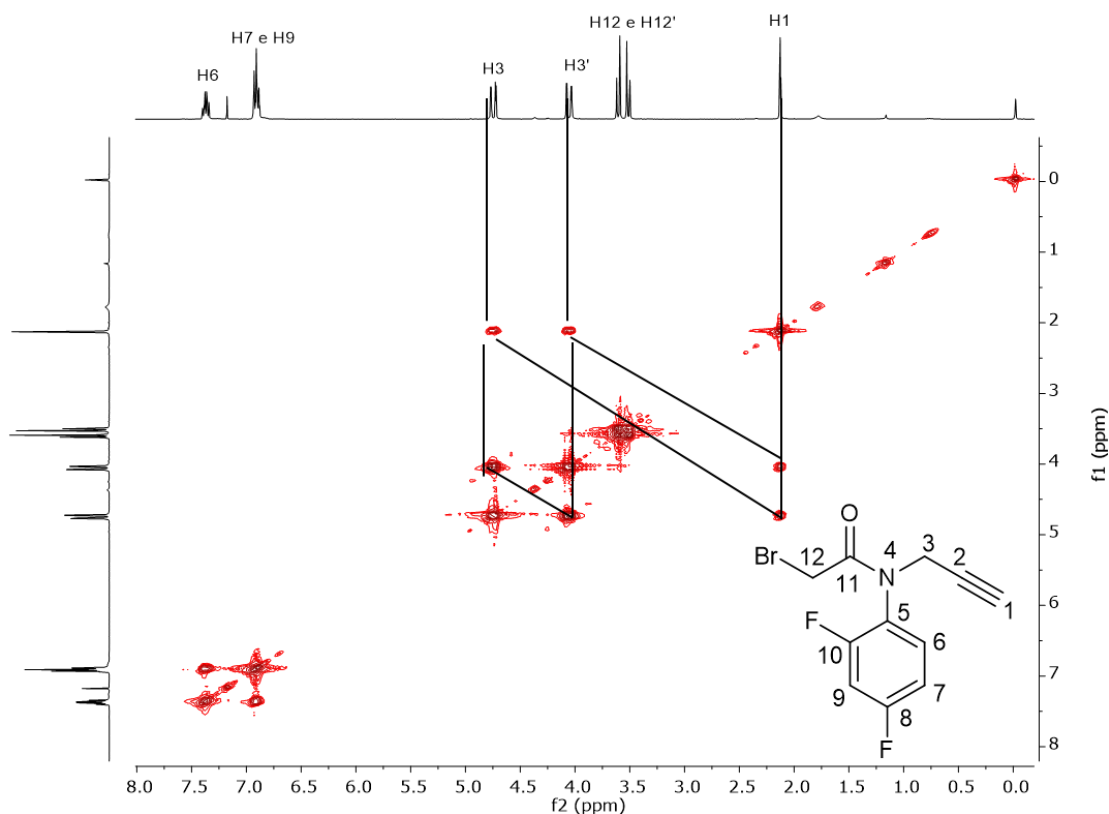


Figura 18. Mapa de correlações COSY para o composto **2** (400 MHz, $CDCl_3$).

O desdobramento dos sinais dos hidrogênios metilênicos, leva a algumas possíveis explicações. A primeira delas seria a possível formação de uma ligação de hidrogênio não-clássica (Figura 19) entre o flúor ligado ao C10 e um dos hidrogênios do C12. Ao se formar essa ligação, o composto apresentaria dois enantiômeros, dependendo de qual dos hidrogênios H12 interagisse. Essa suposição se baseia no fato dos hidrogênios H12 e H12' terem um comportamento ácido, por se tratarem hidrogênios ligados a um carbono α -carbonílico e pelos efeitos indutivo do átomo de bromo e ressonância. Outra hipótese possível seria a ocorrência de atropoisomerismo (Figura 19). O volume dos ligantes do átomo de nitrogênio poderiam impedir a livre rotação em torno do eixo da ligação simples, levando a existência de dois atropoisômeros. O atropoisomerismo é um tipo de estereoisomerismo no qual a rotação em torno de uma ligação simples é impedida, produzindo uma barreira energética elevada o suficiente para permitir o isolamento e a detecção dos rotâmeros.^[42]

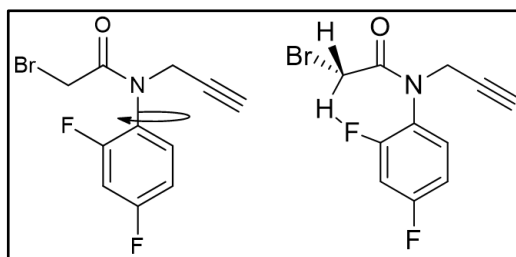


Figura 19. Representação estrutural das possíveis explicações para o desdobramento dos sinais dos hidrogênios metilênicos. Atropoisomerismo (à esquerda) e ligação de hidrogênio intramolecular não-clássica (à direita).

Na Figura **20** é apresentado o espectro de RMN de ^{13}C do composto **2**. Comparando-o com o espectro do composto **1**, nota-se que os sinais referentes aos carbonos aromáticos aparecem deslocados para valores maiores de deslocamento. Esse efeito ocorre devido ao par de elétrons não-ligantes do nitrogênio estar em ressonância com a carbonila e, portanto, menos disponível para interação com o anel aromático, deixando os respectivos núcleos mais desblindados. Esse efeito não ocorre para o C5, seu valor de deslocamento diminui, sendo que, está diretamente ligado ao nitrogênio. Outra diferença observada está no sinal referente ao C6, que passa a ser um duplete ($J_{\text{C-F}} = 9,7 \text{ Hz}$), indicando que esse carbono deixa de acoplar com um dos átomos de flúor. No espectro DEPT 135 (Figura **20**) nota-se o sinal de C12 em $\delta 38,4$ com fase negativa e a ausência do sinal em $\delta 166,2$, indicando que se trata do carbono carbonílico C11.

Diante das possibilidades apresentadas, realizou-se outros experimentos de RMN bidimensionais (HSQC e HMBC) e de RMN de ^1H em 4 temperaturas na tentativa de explicar as razões pelas quais os hidrogênios metilênicos não são equivalentes. Na Figura **21** encontra-se o mapa de contornos do experimento de HSQC. Esse tipo de experimento permite observar as correlações entre carbonos e hidrogênios diretamente ligados, levando à confirmação das atribuições feitas a respeito dos carbonos aromáticos.

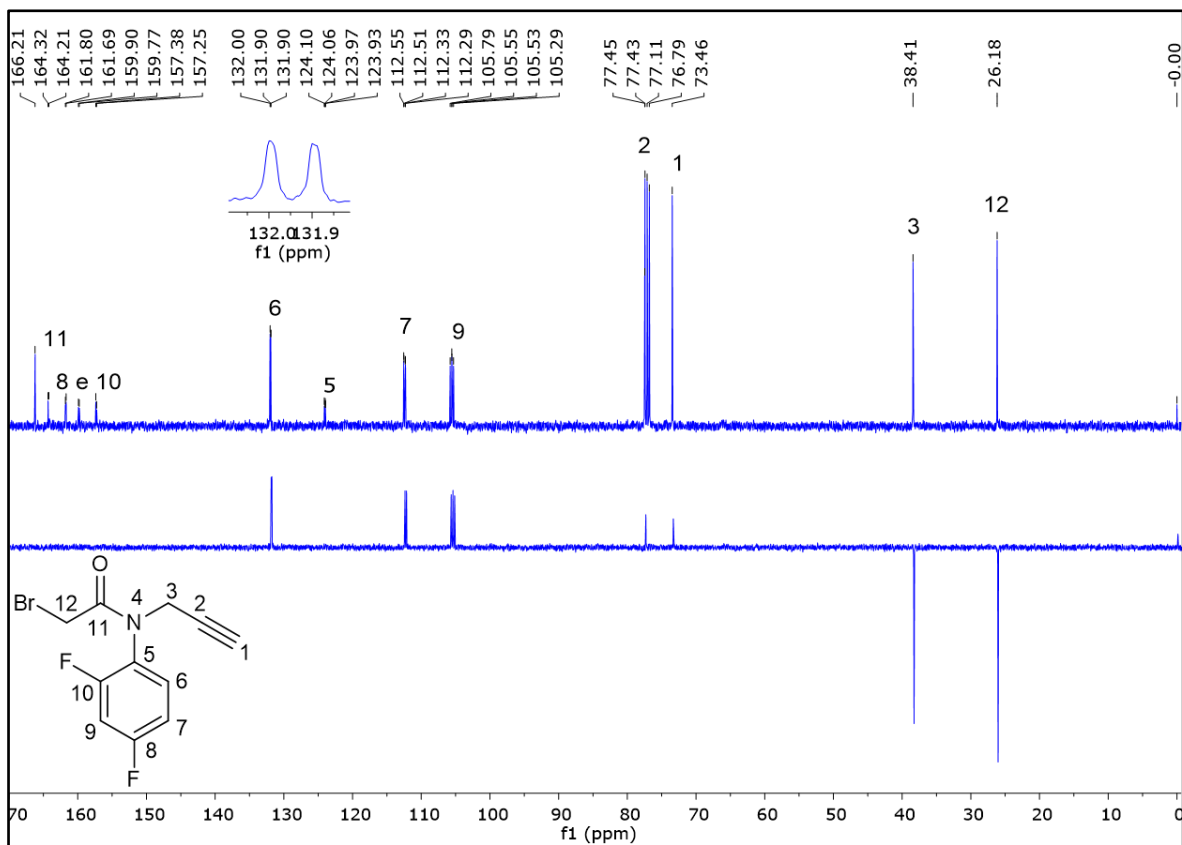


Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **2** (100 MHz, CDCl_3).

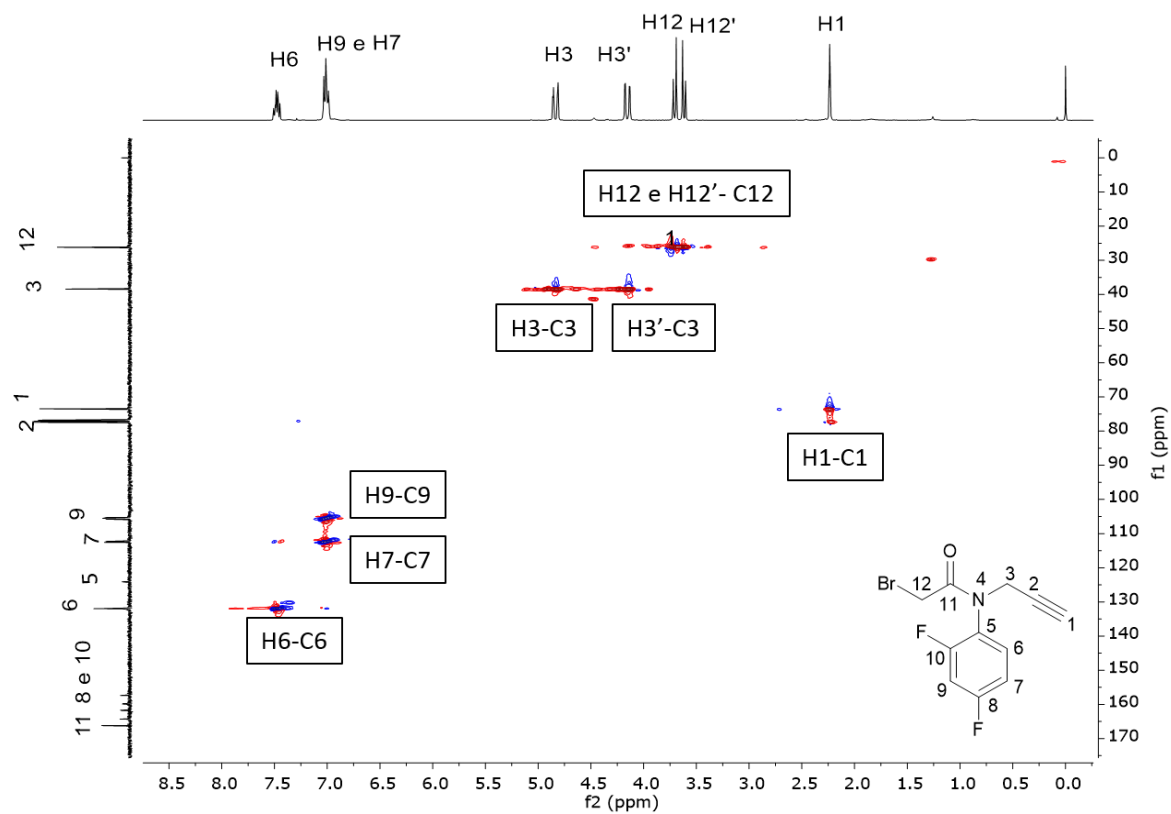


Figura 21. Mapa de contornos HSQC para o composto **2** (400 MHz, CDCl_3).

Na Figura 22 mostram-se os espectros de ^1H para o composto 2 nas temperaturas 27, 35, 45 e 55 °C. Observando-se os sinais dos hidrogênios ligados aos carbonos C12 (δ 3,69-3,58) e C3 (δ 4,80-4,10) nota-se que com o aumento da temperatura até 55°C não foi possível observar a coalescência dos sinais. Esse experimento foi realizado em clorofórmio deuterado, que não permite aquecimento a temperaturas mais elevadas devido seu baixo ponto de ebulição (60°C). Esse resultado mostra que, se de fato ocorrem a ligação de hidrogênio não-clássica e o efeito de atropoisomerismo, a barreira energética entre esses isômeros é alta. O mapa de correlações HMBC para o composto 2 encontra-se nos anexos (Figura A1, página X)

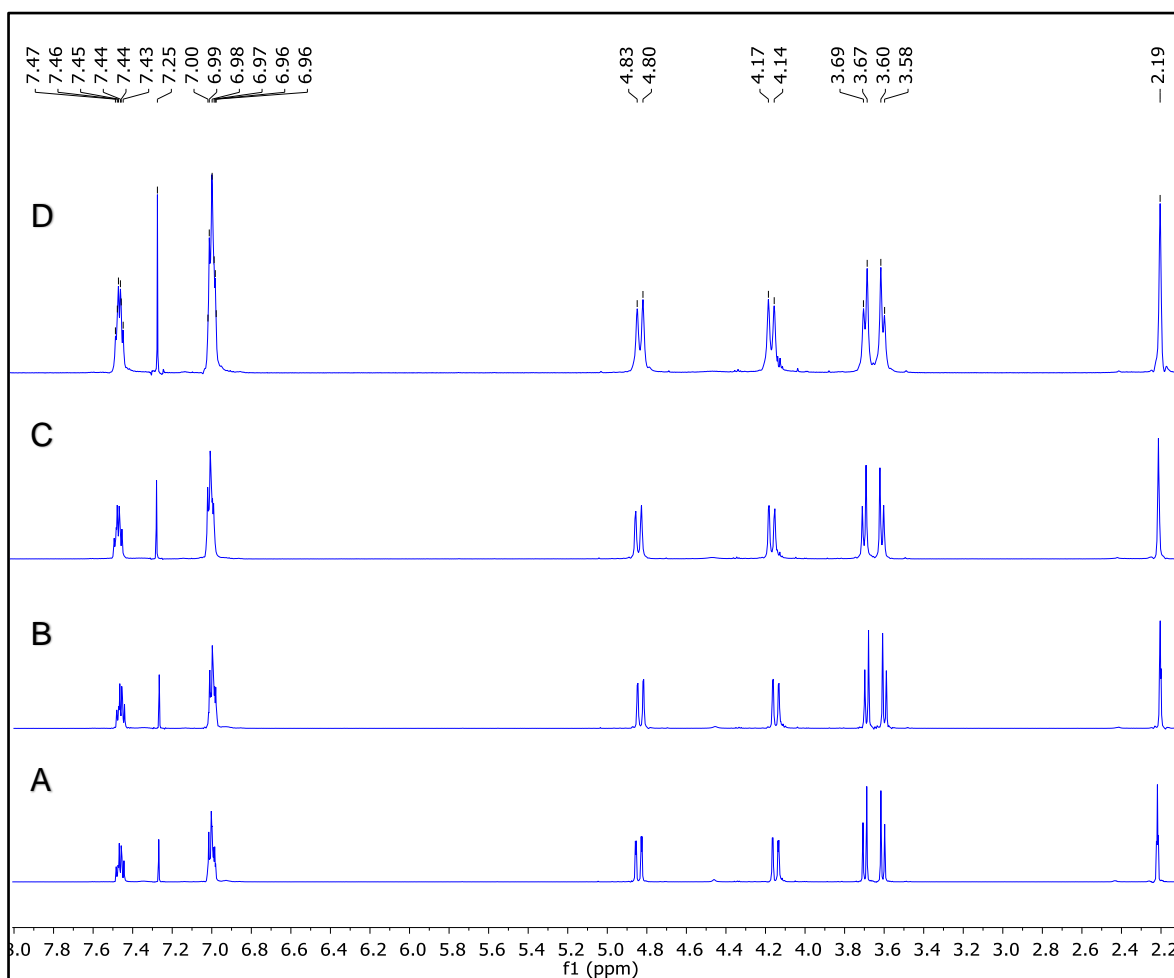
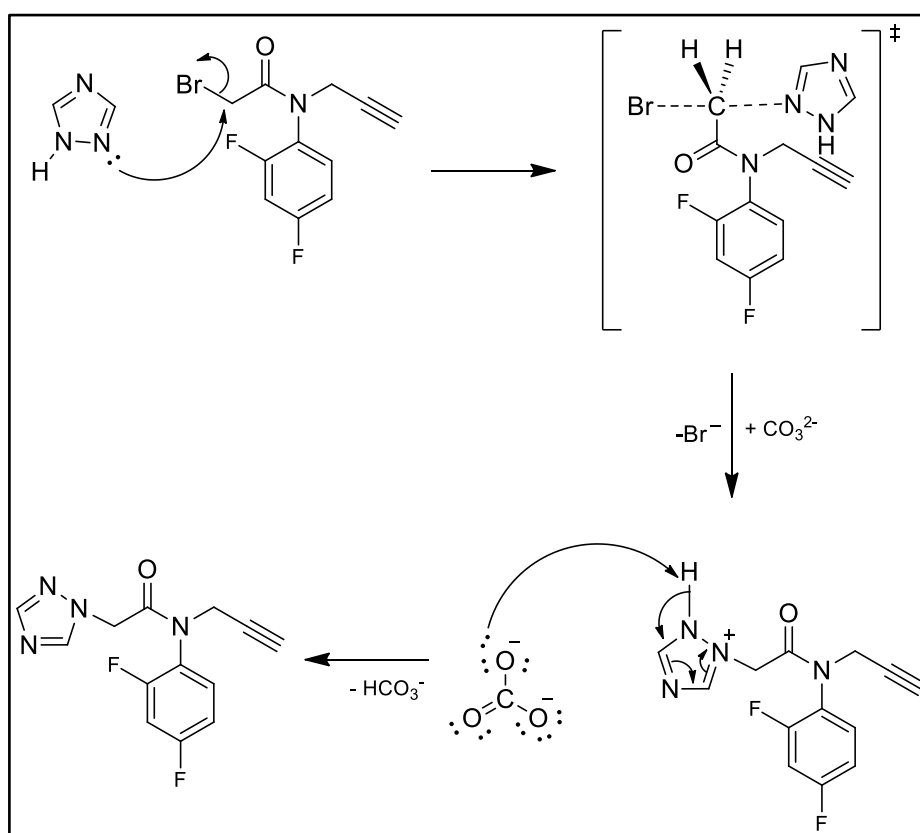


Figura 22. Espectros de RMN de ^1H para o composto 2 em 4 temperaturas. A:27°C, B:35°C, C:45°C e D:55°C (400 MHz, CDCl_3).

4.1.3. *N*-(2,4-difluorofenil)-*N*-(prop-2-in-1-il)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)acetamida (**3**)

Após o composto **2** ser caracterizado, prosseguiu-se com a próxima etapa da rota proposta, a síntese do composto **3**. O composto **3** foi obtido através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular entre o composto **2** e 1,2,4-triazol. O par de elétrons não-ligantes de um dos nitrogênios do anel triazólico forma uma ligação com o carbono eletrofílico e, simultaneamente, ocorre a quebra da ligação carbono-bromo. Em seguida, o íon carbonato atua como base, removendo o próton do nitrogênio com carga positiva. Esse mecanismo é representado no Esquema 4.



Esquema 4. Mecanismo de formação do composto **3**.^[41]

O espectro na região do IV para o composto **3** é mostrado na Figura 23. Nele encontram-se as bandas com suas seguintes atribuições: 1687 cm^{-1} de C=O de amidas; 1606, 1509 e 1433 cm^{-1} de estiramento de C=C de aromáticos; 1290 cm^{-1} de C-N de aromáticos. Nota-se que, em relação ao composto **2**, as bandas referentes ao alcino ficaram bem menos intensas (3130 e 2121 cm^{-1}). A frequência de estiramento da C=O aumentou de 1655 cm^{-1} para 1687 cm^{-1} , o que pode ser explicado pela substituição do átomo de bromo pelo anel triazólico, devido à diferença de eletronegatividade entre os átomos de bromo e nitrogênio.

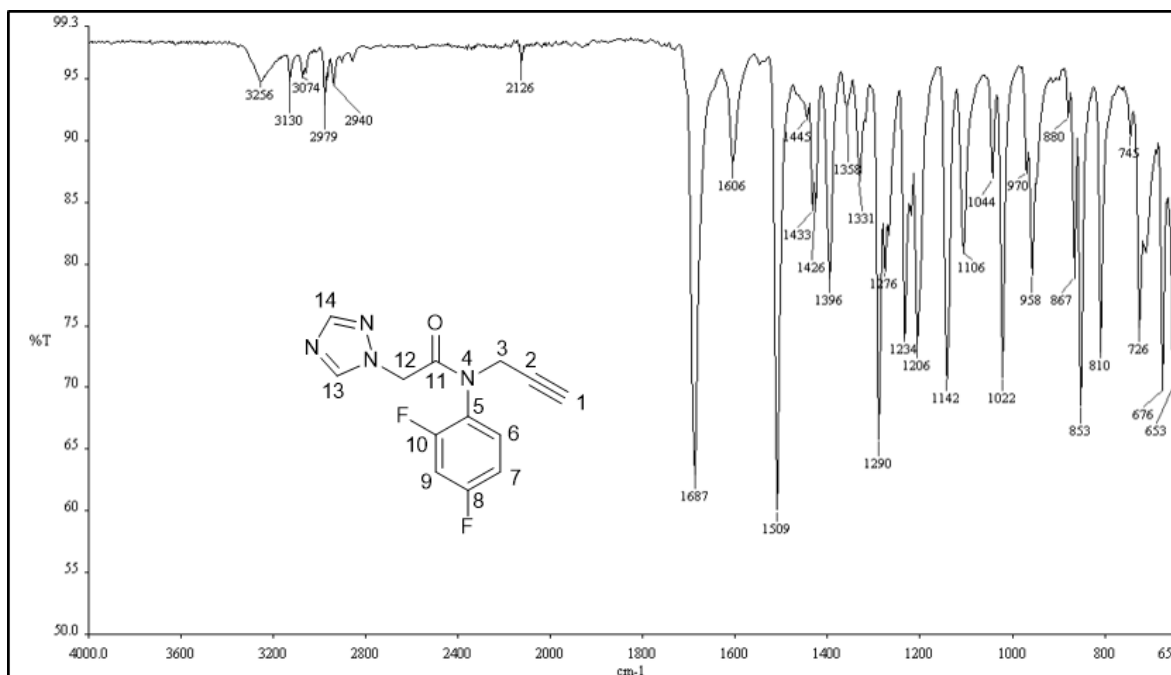


Figura 23. Espectro na região do IV do composto **3**.

Na figura **24** é mostrado o espectro de RMN ¹H para o composto **3**. Comparando-se o espectro de hidrogênio dos compostos **2** e **3**, nota-se que, no composto **3**, o sinal referente aos hidrogênios H12 e H12' se desloca para valores maiores de deslocamento, sobrepondo o sinal do hidrogênio H3. Conclui-se que os hidrogênios H12 e H12' estão mais blindados no composto **2** que no composto **3** devido ao efeito do átomo pesado. Os hidrogênios triazólicos aparecem como dois sinais simples na região entre δ 8,20-7,90.

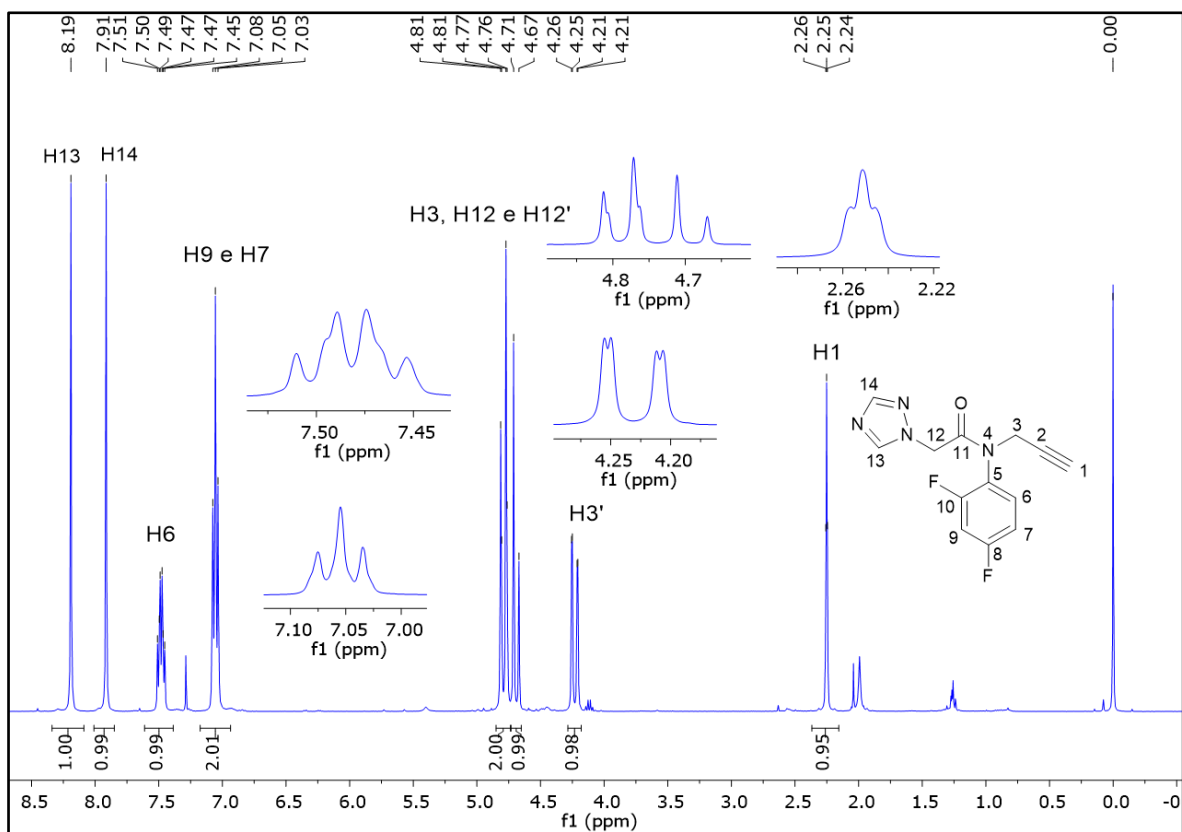


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H do composto **3** (400 MHz, CDCl_3).

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **3** (Figura **25**) os sinais dos carbonos 13 e 14 do anel triazólico aparecem como dois simples em δ 130,7 e δ 137,5. No espectro DEPT 135 (Figura **25**) são confirmadas as atribuições feitas aos carbonos triazólicos. Pelo mapa de correlações de HMBC (Figura **26**) percebe-se correlação entre o C13 e os hidrogênios H12 e H12', visto que, pelo experimento de HMBC observa-se preferencialmente acoplamentos 3J e C14 encontra-se a 4 ligações de distância. O mapa de correlações HSQC (Figura **27**) mostra qual dos hidrogênios triazólicos se correlaciona com o C13, sendo possível distinguí-los. No espectro de RMN de ^{13}C também é importante observar que o sinal do carbono 12 passa a aparecer como um duplete, devido ao acoplamento com o flúor ligado ao C10, com constante de acoplamento igual a 2,0 Hz.

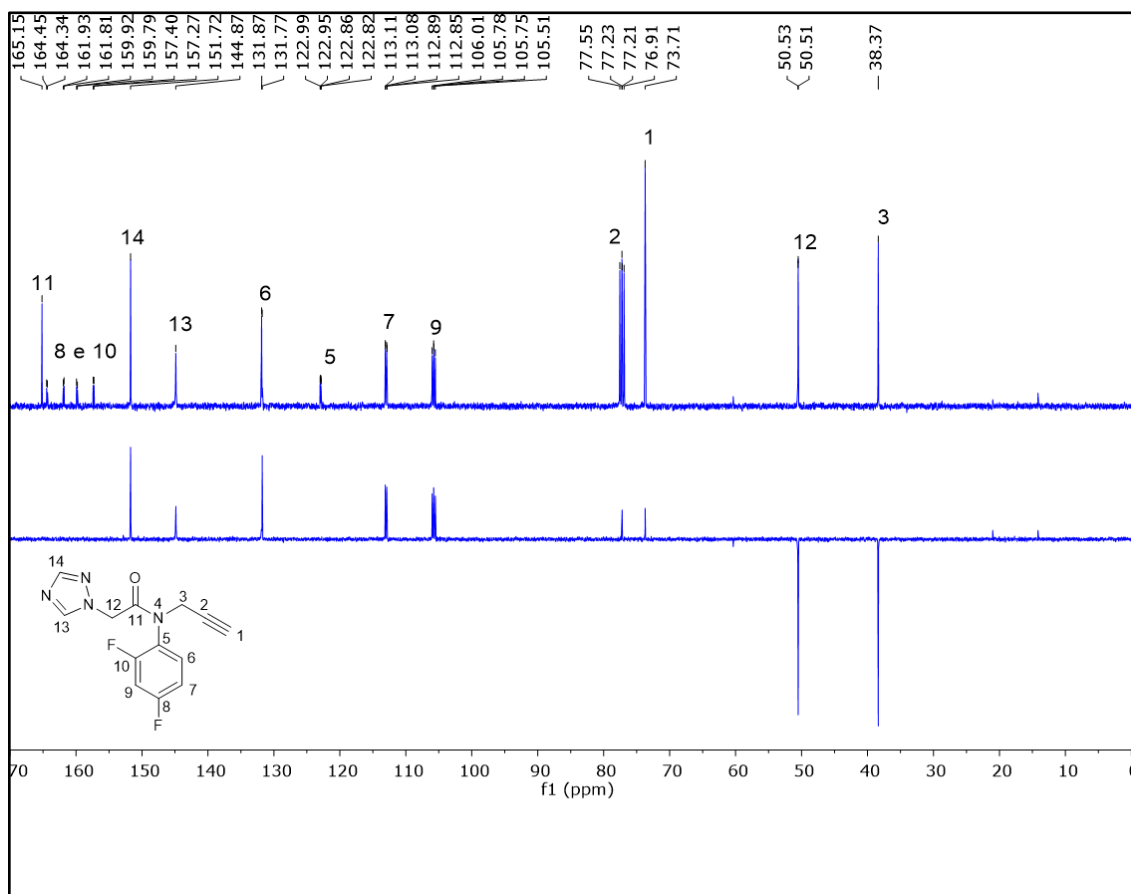


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **3** (100 MHz, CDCl_3).

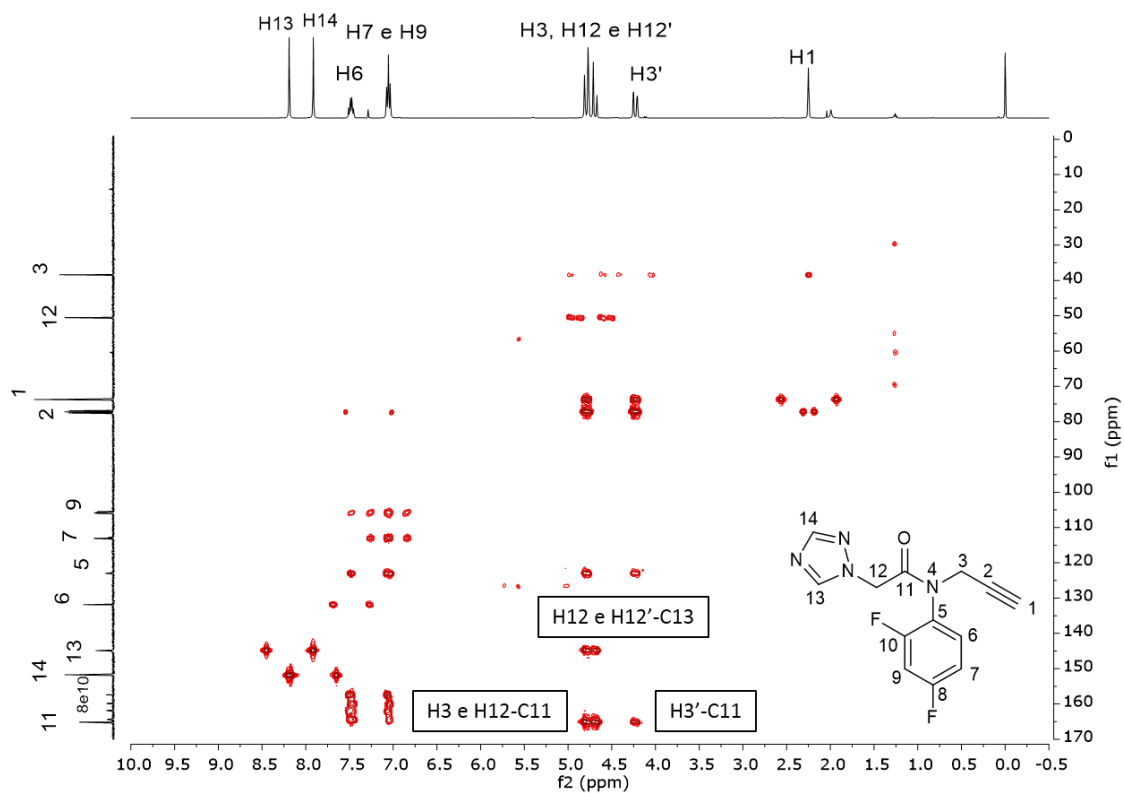


Figura 26. Mapa de contornos HMBC para o composto **3** (400 MHz, CDCl_3).

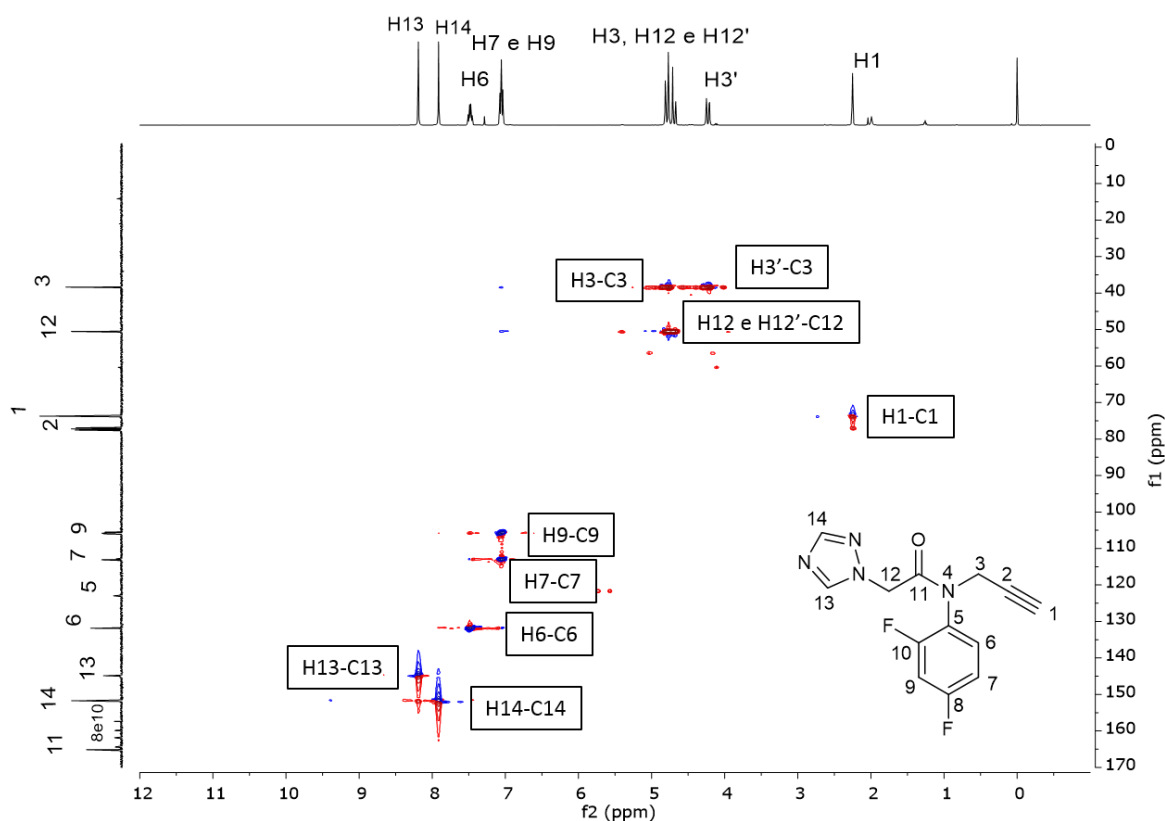
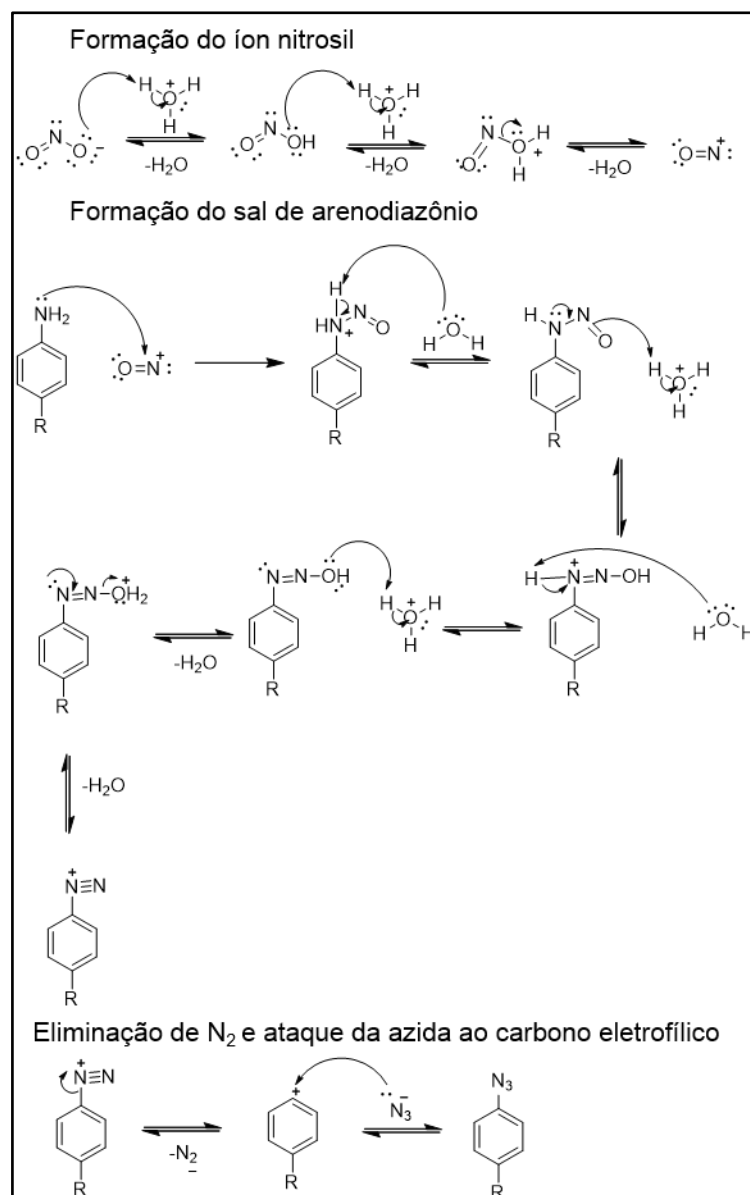


Figura 27. Mapa de contornos HSQC para o composto **3** (400 MHz, $CDCl_3$).

4.1.4. Azidas aromáticas

As azidas aromáticas foram sintetizadas via formação do sal de arenodiazônio, na presença de nitrito de sódio e meio ácido, e posterior saída do grupo diazônio e entrada do grupo azida. O mecanismo para essa reação é mostrado no Esquema 5. A primeira etapa dessa reação consiste na formação do íon nitrosil que, após formado, é atacado pelo par de elétrons não ligantes do nitrogênio da amina. Então, um dos hidrogênios ligados ao nitrogênio positivo é abstraído pelo oxigênio da água. Em seguida, o oxigênio ligado ao nitrogênio retira um próton do íon hidrônio adquirindo carga positiva. Em seguida o par de elétrons do nitrogênio diretamente ligado ao anel aromático forma uma terceira ligação entre os dois nitrogênios, facilitando a quebra da ligação N-O e liberando água. Então, $N_{2(g)}$ é liberado, favorecendo ainda mais a formação do sal de arenodiazônio. Após a saída de N_2 , o carbono eletrofílico é atacado pela azida.



Esquema 5. Mecanismo de formação das azidas aromáticas.^[41]

As azidas são muito semelhantes estruturalmente, por essa razão, nesta seção será discutida apenas a caracterização da 4-azidobenzonitrila. Os espectros de caracterização para as demais azidas encontram-se nos anexos e a discussão apresentada pode ser aplicada a eles.

Analisando-se o espectro no IV para a 4-azidobenzonitrila (Figura 28) é possível observar a banda em 2109 cm^{-1} característica de azidas, bem como a banda em 2221 cm^{-1} de ligação tripla C-N. Em 1597 cm^{-1} e 1504 cm^{-1} são observadas as bandas relativas ao estiramento C=C de aromáticos. Em 833 cm^{-1} apresenta-se a banda intensa de deformação angular entre dois hidrogênios

adjacentes em um anel aromático *para*-substituído, confirmando a posição relativa dos substituintes entre si.

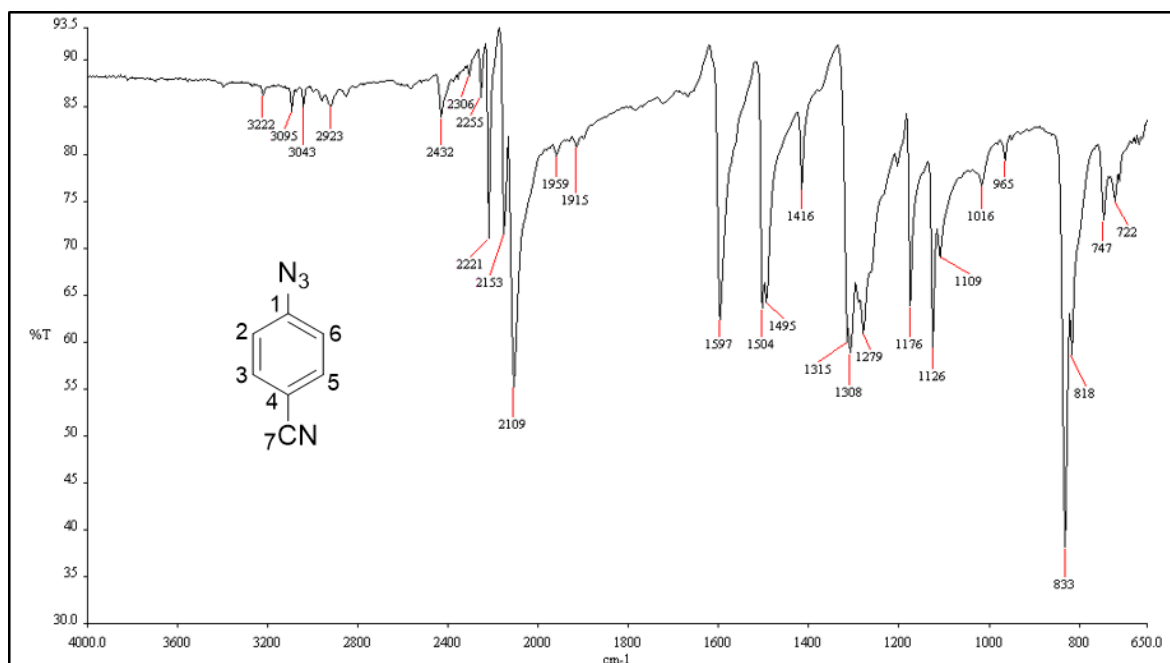
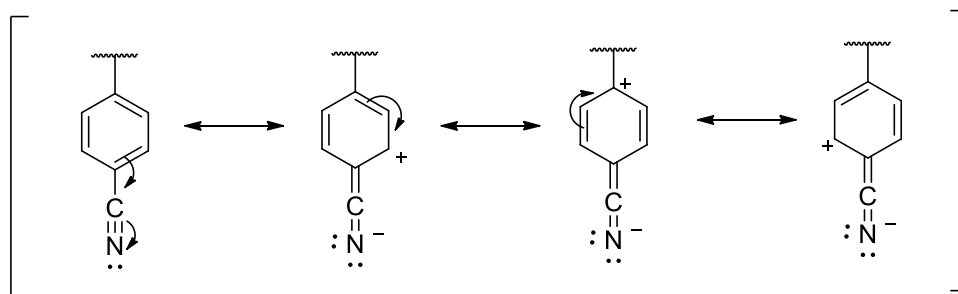


Figura 28. Espectro na região do IV para a 4-azidobenzonitrila.

Nas Figuras 29 e 30 são apresentados os espectros de RMN para a 4-azidobenzonitrila. No espectro de ¹H observam-se dois dupletos correspondentes aos hidrogênios *orto* e *meta* que acoplam entre si (³J_{H2,6-H3,5}= 8,0 Hz). Os hidrogênios H3 e H5 são mais desblindados que H2 e H6, devido ao efeito retirador de densidade eletrônica do anel pelo grupo nitrila. As estruturas de ressonância do anel aromático com o grupo nitrila são mostradas no Esquema 6. Percebe-se que, nas estruturas de ressonância, a carga positiva encontra-se preferencialmente nos carbonos em posições *orto* e *para* em relação à nitrila, desse modo, essas posições encontram-se mais desblindadas. No espectro de RMN de ¹³C é possível observar cinco diferentes sinais. A atribuição dos carbonos hidrogenados é confirmada pelo espectro DEPT 135, no qual os carbonos *orto* aparecem em δ 133,9 e os carbonos *meta* em δ 119,8. Os demais sinais dos carbonos aparecem no espectro em δ 144,95 (C1), δ 118,39 (C7) e δ 108,35 (C4), sendo o C1 o mais desblindado, por estar diretamente ligado ao grupo azido.



Esquema 6. Estruturas de ressonância para o anel aromático 1,4-dissubstituído.

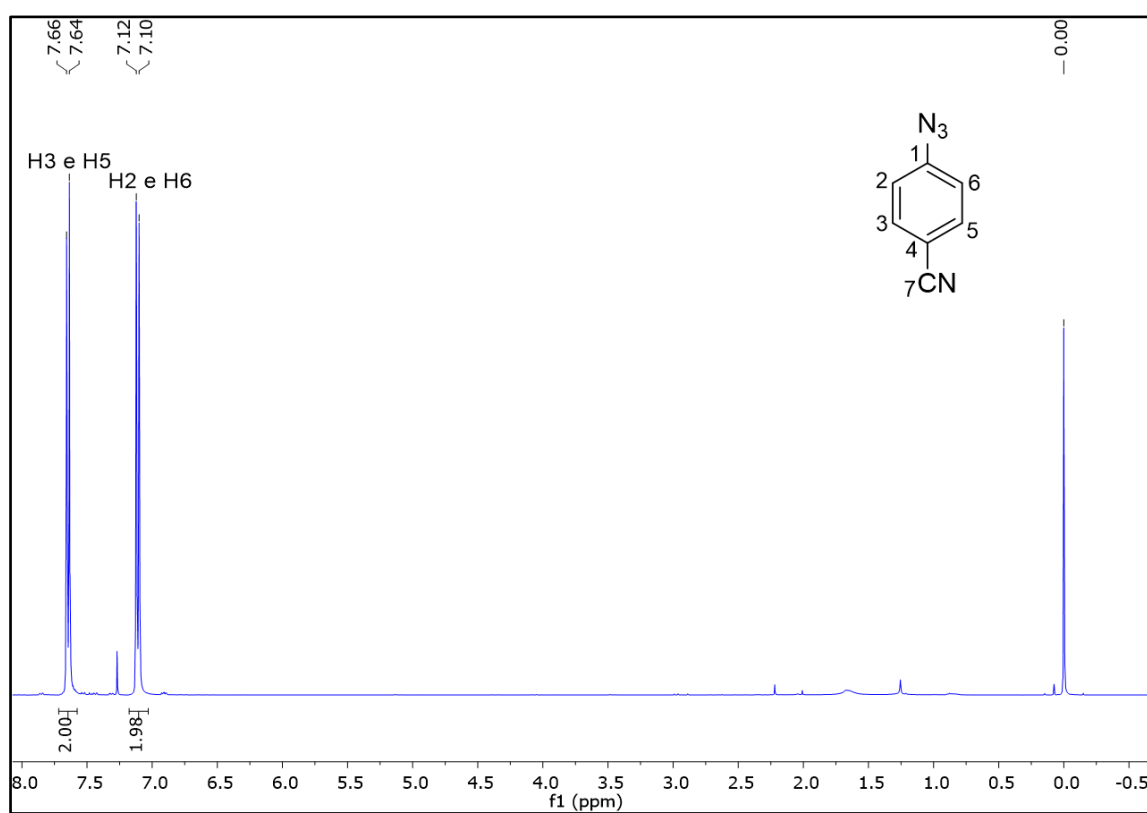


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H para a 4-azidobenzonitrila (200 MHz, CDCl_3).

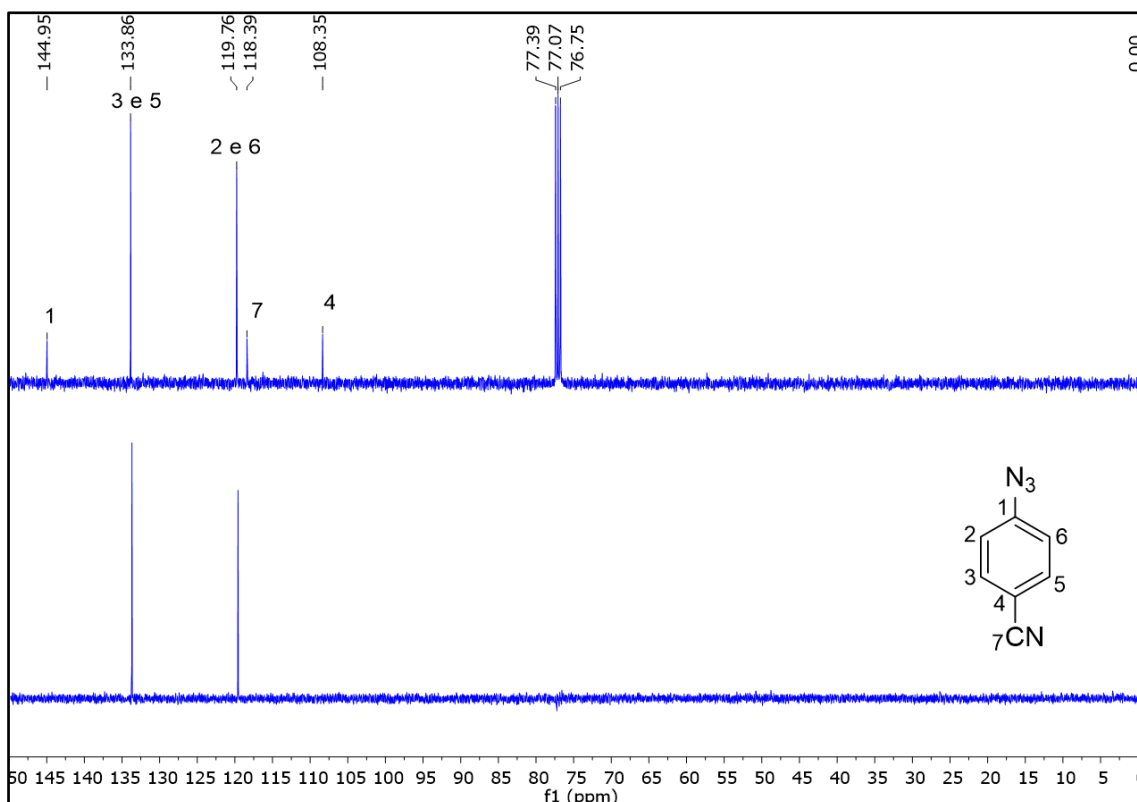


Figura 30. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para a 4-azidobenzonitrila (50 MHz, CDCl_3).

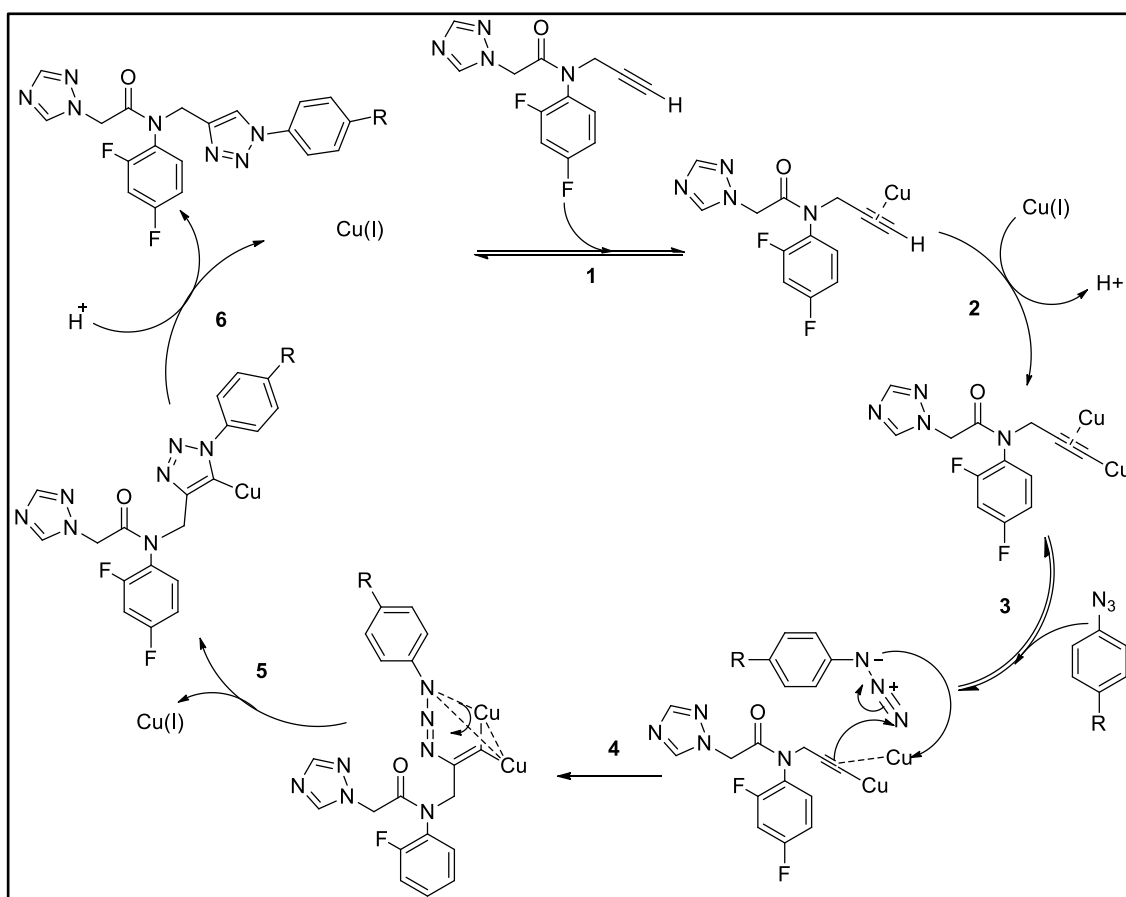
4.1.5. Compostos 4a a 4g

Os compostos **4a** a **4g** foram obtidos através de reação de cicloadição 1,3-dipolar entre o composto **3** (um alcino terminal) e uma azida aromática, na presença de Cu(I) como catalisador. A Tabela **1** mostra o tempo e o rendimento para cada reação. Essa reação é altamente seletiva, produzindo 1,2,3-triazóis-1,4-dissubstituídos. Em 2013, Fokin e colaboradores ^[43,44] propuseram um mecanismo para essa reação, sendo este o mais aceito atualmente. Ele é mostrado no ciclo catalítico do Esquema **7** e as etapas numeradas de 1 a 6. Inicialmente, o Cu(I) é formado *in situ* através da redução de Cu(II) por ascorbato de sódio em solução aquosa. Após a adição do composto **3**, ocorre a complexação π entre o Cu(I) e o alcino terminal (etapa **1**), diminuindo o pK_a do hidrogênio e levando a formação do acetileno de cobre (etapa **2**). Em seguida, nas etapas **3 e 4**, ocorre a complexação do acetileno de cobre com a azida aromática, através da coordenação do par de elétrons não-ligantes do nitrogênio com o cobre. Nesta etapa, o carbono β -vinilidênico e o nitrogênio terminal da azida se tornam mais reativos, devido a um efeito sinérgico do cobre nos sítios de reação, favorecendo a formação do

metalociclo. Então, posteriormente, ocorre uma associação transanelar entre os elétrons não-ligantes do nitrogênio ligado diretamente ao anel aromático e o orbital antiligante do carbono β -vinilidênico, resultando em uma contração do anel (etapa 5). Finalmente, o catalisador é regenerado com a protonação do intermediário para produzir o produto final (etapa 6).^[45]

Tabela 1. Rendimentos e duração da reação 4 de acordo com o grupo substituinte

Grupo substituinte	Tempo de reação (h)	Rendimento (%)
CN	22	83
NO ₂	18	78
Cl	2	97
C(CH ₃) ₃	2	100
F	48	94
CF ₃	48	70
H	24	59



Esquema 7. Mecanismo de formação dos compostos 4a a 4g.^[44]

Após sintetizados e purificados, os compostos **4a** a **4g** foram caracterizados. Devido à similaridade estrutural entre esses compostos e por terem sido obtidos nas mesmas condições reacionais, apenas a caracterização do composto **4a** será discutida nesta seção. Entretanto, os espectros para os compostos **4b** a **4g** encontram-se disponíveis nos anexos e a discussão aqui apresentada se aplica basicamente a eles.

O espectro do composto **4a** na região do infravermelho é mostrado na Figura **31**. Comparando-se o espectro do composto **4a** com o obtido para o composto **3** notam-se bandas que confirmam a ocorrência da reação esperada. Em 2227 cm^{-1} observam-se uma banda correspondente ao estiramento da ligação tripla C-N da nitrila presente no anel aromático 1,4-dissubstituído. As bandas relacionadas aos anéis aromáticos estão em 1609 , 1507 , 1443 cm^{-1} . A banda de C=O aparece em 1665 cm^{-1} , dentro da faixa de valores característicos para amidas. Em 1287 e 1246 cm^{-1} estão as bandas correspondentes à ligação C-N de aromáticos, relacionadas aos anéis triazólicos.

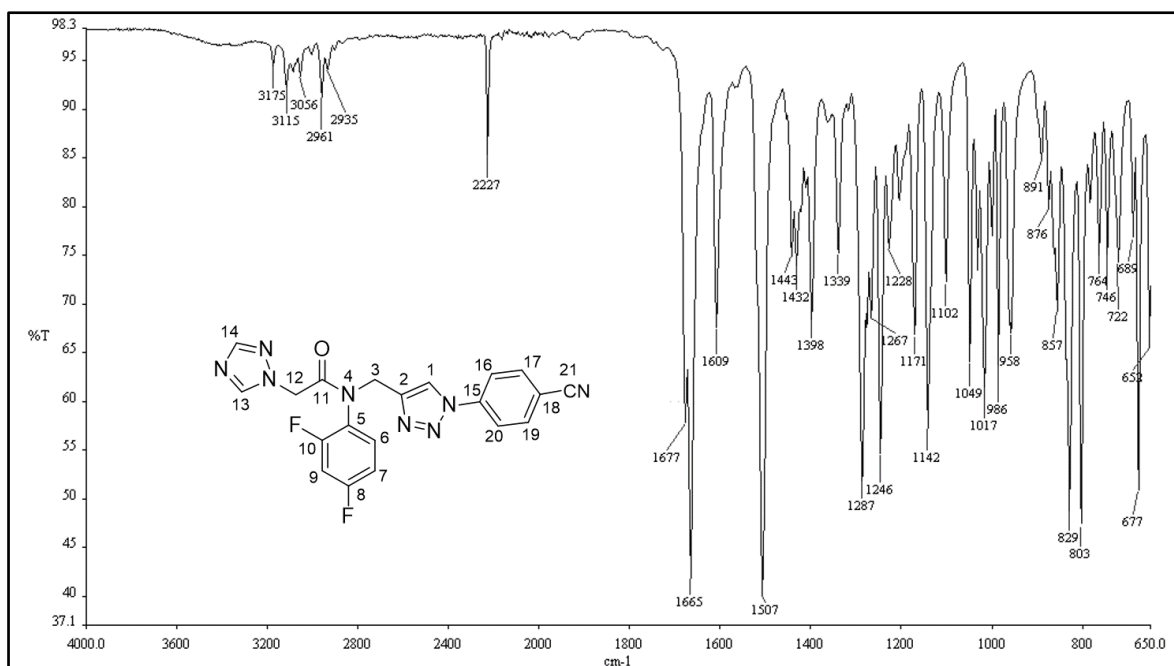


Figura 31. Espectro na região do IV para o composto **4a**.

O espectro de RMN de ^1H do composto **4a** é mostrado na Figura **32**. Entre δ 7,93-7,83 aparecem os sinais dos hidrogênios aromáticos do anel 1,4-dissubstituído, sendo que, o duplete em δ 7,84 ($^3J_{\text{H-H}} = 8,9\text{ Hz}$) corresponde aos hidrogênios H16 e H20 e o duplete em δ 7,92 corresponde a H17 e H19, estando

sobreposto pelo sinal do hidrogênio H14 do 1,2,3- triazol. As atribuições feitas aos hidrogênios *orto* e *meta* em relação à nitrila são explicados pelo efeito retirador de densidade eletrônica por ressonância do grupo -CN, como discutido para os espectros de RMN da 4-azidobenzonitrila e mostrado no Esquema 6.

É importante ressaltar que o sinal referente ao hidrogênio H1, que apresentava-se em δ 2,25 como um tripleto no espectro de RMN de ^1H do composto 3, agora mostra-se como um sinal simples em δ 8,16, indicando a formação do anel 1,2,3-triazol.

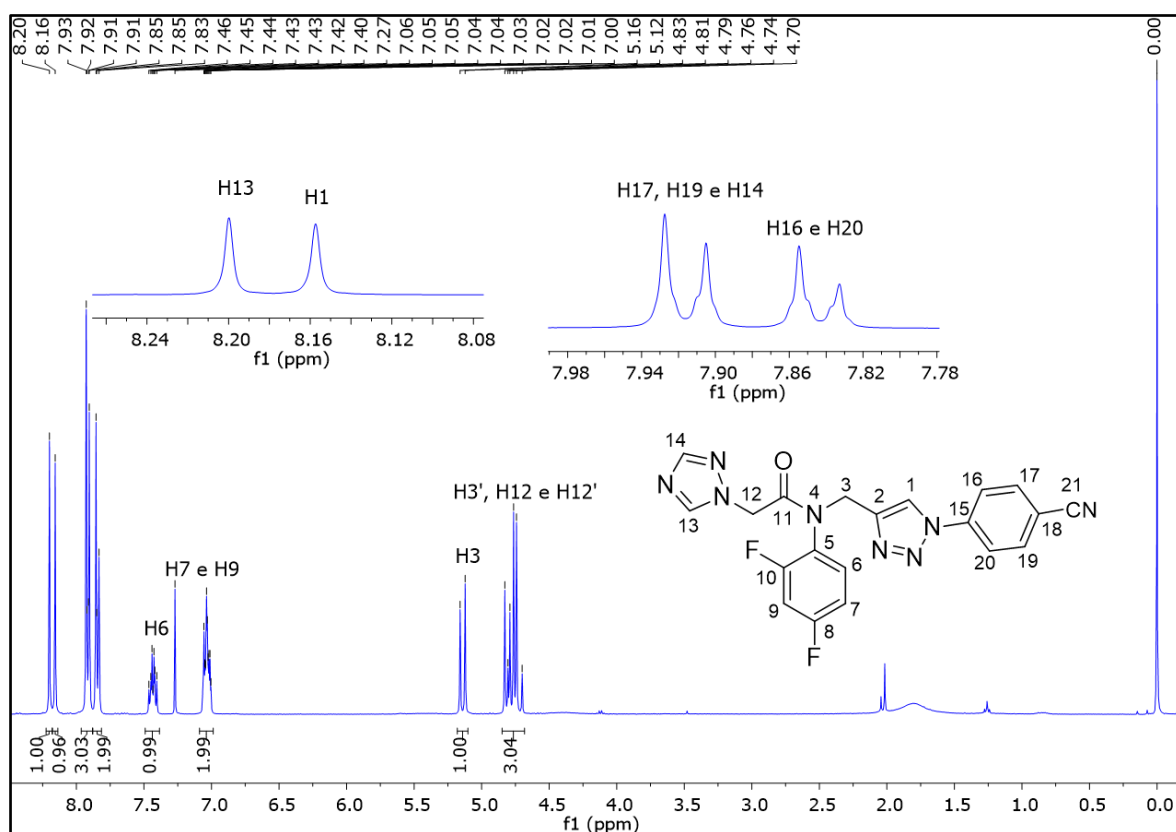


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H do composto **4a** (400 MHz, CDCl_3).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 33) exibe os sinais dos carbonos aromáticos do anel 1,4-dissubstituído em δ 112,6; δ 120,6; δ 133,9 e δ 139,6, sendo que apenas os sinais em δ 120,6 e δ 133,9 aparecem no espectro DEPT 135 (Figura 33). O sinal em δ 139,9 corresponde a um carbono não hidrogenado menos blindado, se tratando do C15, pois é desblindado por efeito indutivo do átomo de nitrogênio e por ressonância com o anel 1,2,3-triazol. Seguindo o mesmo raciocínio da atribuição feita aos hidrogênios aromáticos, atribui-se o sinal em δ 120,6 aos

carbonos 16 e 20 e o sinal em δ 133,9 aos carbonos C17 e C19. Finalmente, o sinal do carbono 18 aparece em δ 112,6 e o sinal do C21 aparece δ 117,6.

Os carbonos C1 e C2, antes pertencentes ao alcino terminal, após a reação 4 passam a ser parte do novo anel triazólico formado, tendo seus sinais no espectro de RMN de ^{13}C deslocados para regiões mais desblindadas.

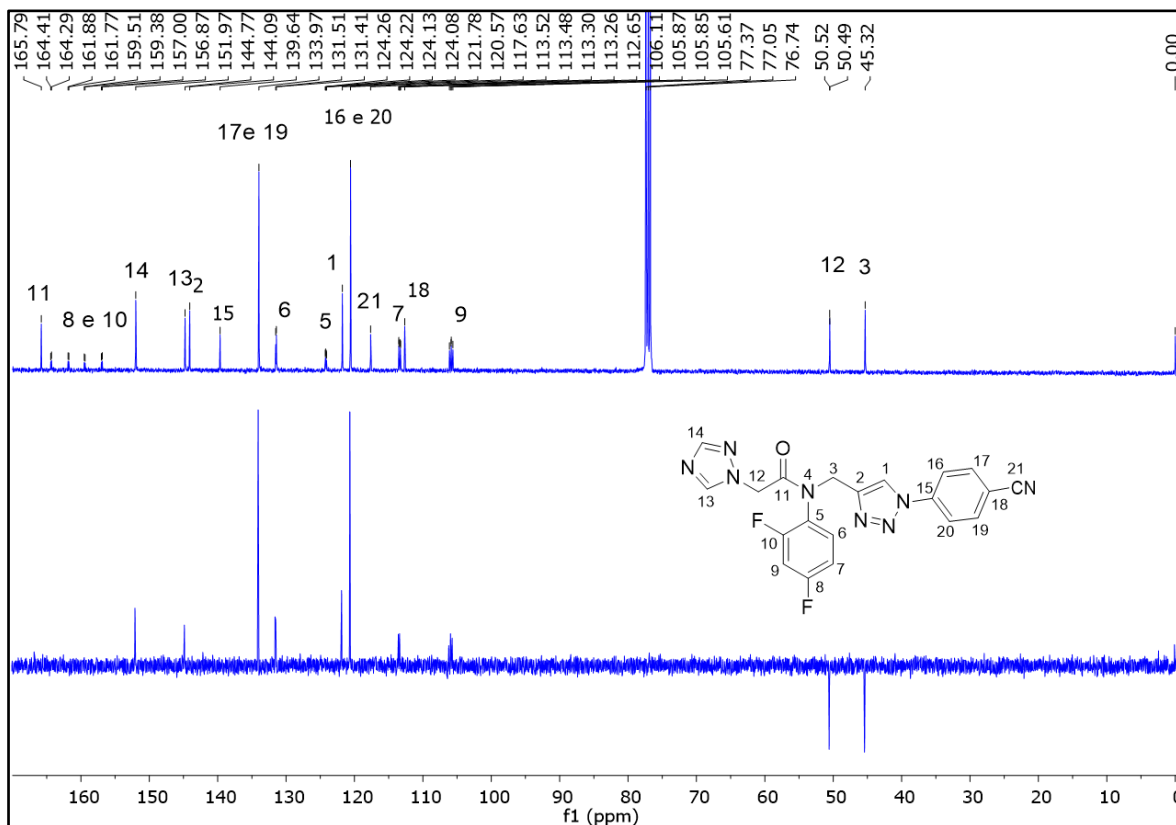


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **4a** (400 MHz, CDCl_3).

4.1.6. Composto 4h

O composto **4h** foi obtido através da reação de redução com H_2 catalisada por paládio suportado em carvão (Pd/C). Nesse mecanismo, os reagentes são adsorvidos na superfície do catalisador, tendo suas ligações enfraquecidas e facilitando a formação das novas ligações.

O espectro do composto **4h** na região do infravermelho é mostrado na Figura 34, no qual é importante ressaltar a banda em 3346 cm^{-1} referente ao estiramento N-H em valor próximo ao característico de aminas primárias quando conjugadas com anel aromático. Também nota-se a ausência das bandas em 1523 e 1337 cm^{-1}

¹ referentes ao grupo NO₂ presentes no espectro na região do IV do composto **4b** (Figura **A2** página **74**), confirmando a ocorrência da redução.

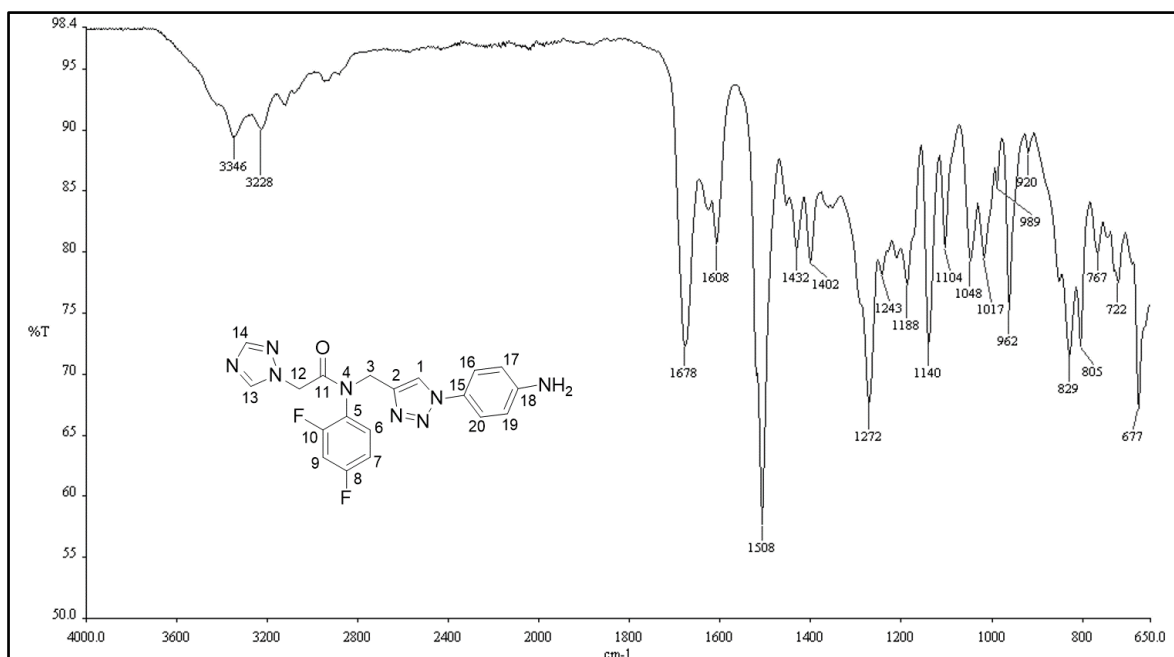
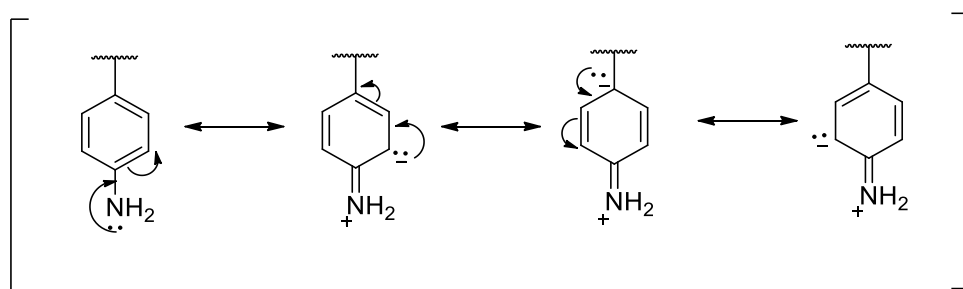


Figura 34. Espectro na região do IV para o composto **4h**.

No espectro de RMN de ¹H do composto **4h** (Figura **35**) nota-se a presença dos sinais dos hidrogênios H21 em δ 3,75. É importante ressaltar que, contrariamente ao grupo nitro, o grupo amino é forte doador de densidade eletrônica por ressonância. Por essa razão, no anel aromático 1,4-dissubstituído presente no composto **4h**, os hidrogênios H17 e H19 estão mais blindados que os hidrogênios H16 e H20. A constante de acoplamento entre os hidrogênios *orto* e *meta* em relação ao grupo amino é igual a $^3J_{H16,20-H17,19} = 12,0$ Hz. No Esquema **8** são mostradas as estruturas de ressonância para o anel aromático 1,4-dissubstituído, mostrando o par de elétrons preferencialmente nas posições *orto* e *para* ao grupo amino.



Esquema 8. Estruturas de ressonância para o anel aromático 1,4-dissubstituído do composto **4h**.

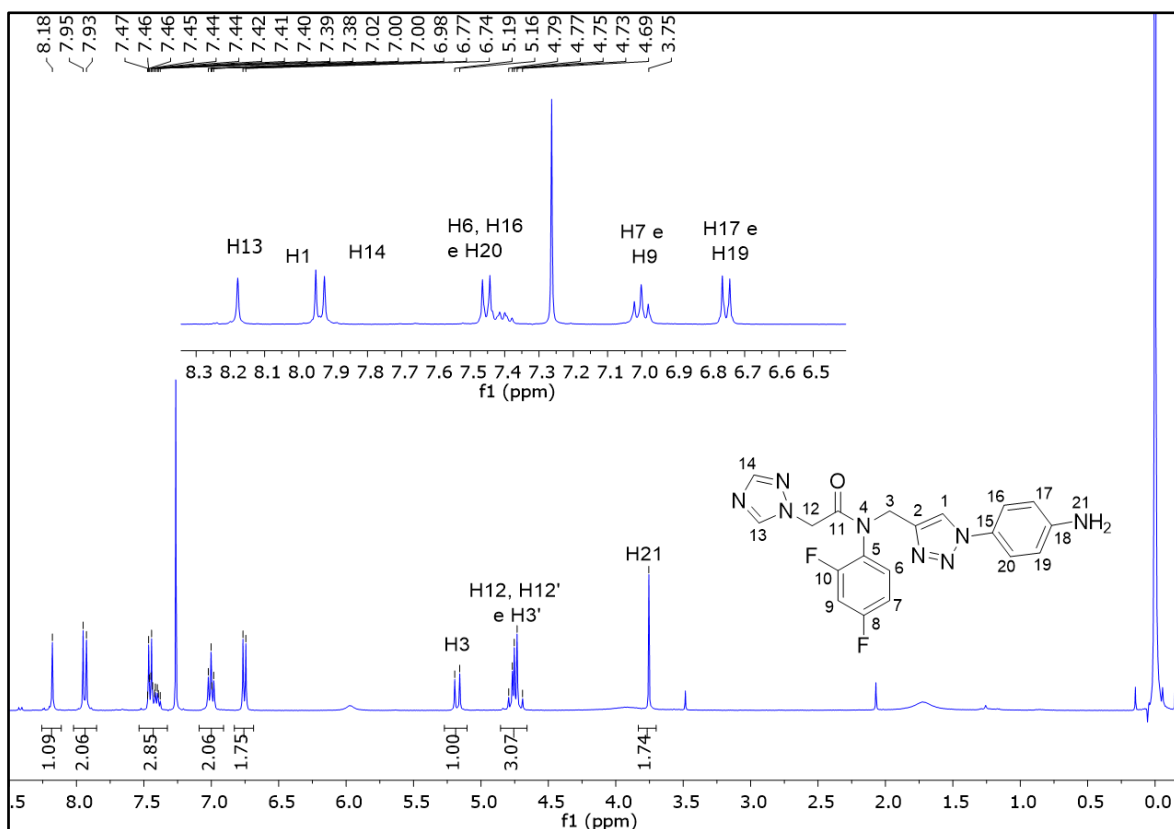


Figura 35. Espectro de RMN de ¹H do composto **4h** (400 MHz, CDCl₃).

No espectro de RMN de ¹³C do composto **4h** (Figura **36**) nota-se o sinal do C18 em δ 147,2, o carbono mais desblindado do anel 1,4-dissubstituído por estar ligado diretamente ao nitrogênio do grupo amino, retirador de densidade eletrônica por efeito indutivo. O sinal do carbono 15 aparece em δ 128,5, por estar diretamente ligado ao nitrogênio do anel triazólico. As atribuições dos carbonos hidrogenados 16, 17, 19 e 20 são confirmadas pelo espectro DEPT 135 (Figura **36**), sendo os carbonos 16 e 20 mais desblindados que os carbonos 17 e 19 devido ao efeito doador de densidade eletrônica por ressonância do grupo amino (Esquema **8**).

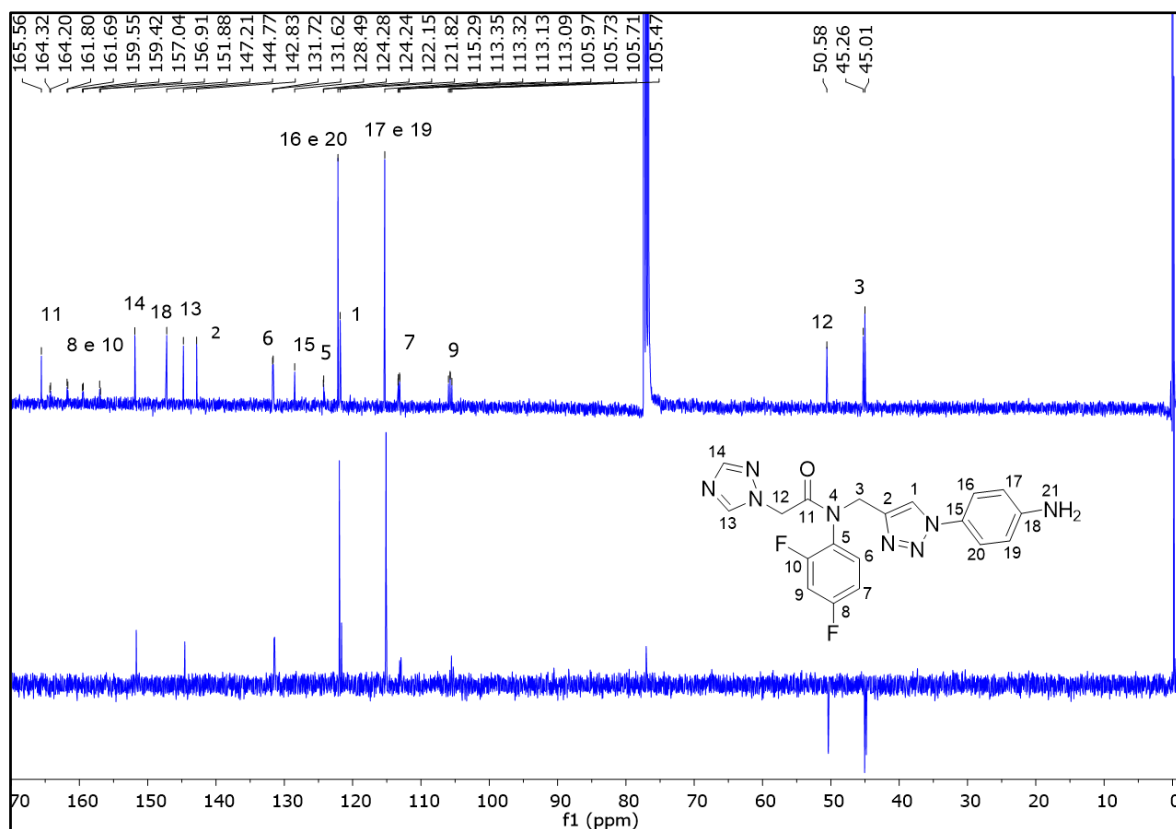
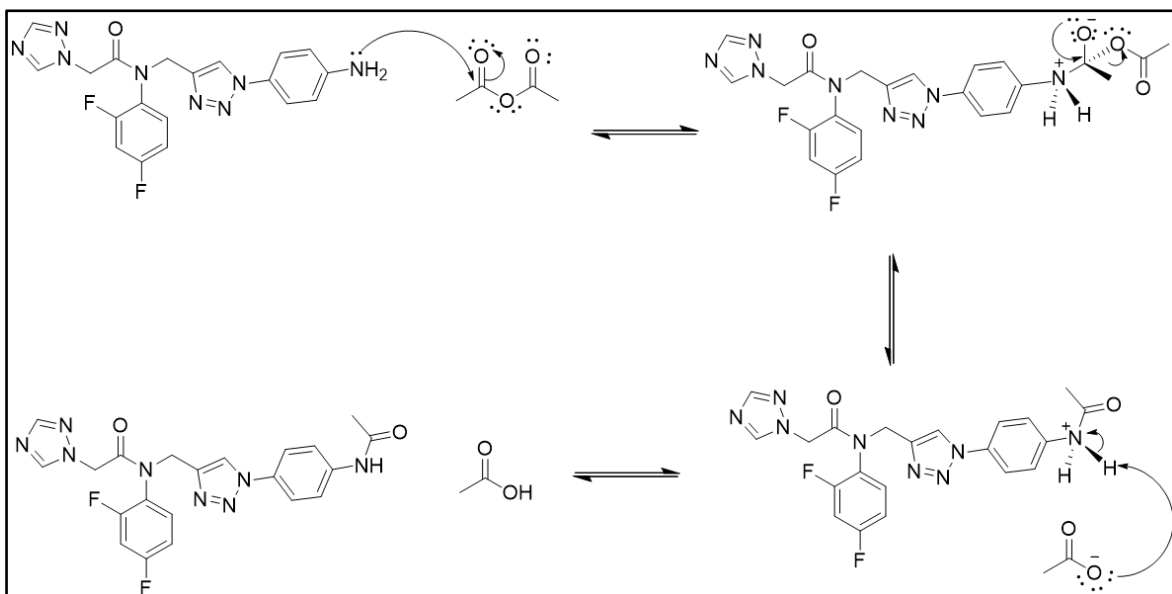


Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) do composto **4h** (400 MHz, CDCl_3).

4.1.7. Composto 4i

O composto **4i** foi obtido a partir de uma reação de acetilação do grupo $-\text{NH}_2$ presente no anel aromático 1,4-substituído do composto **4h**. O par de elétrons não ligante do grupo amino forma uma ligação C-N com um dos carbonos carbonílicos do anidrido acético, deslocando o par de elétrons da $\text{C}=\text{O}$ para o oxigênio. Ao se reestabelecer a ligação π da $\text{C}=\text{O}$, o íon acetato é eliminado. Posteriormente, o íon acetato retira um dos hidrogênios ligados ao nitrogênio positivo. Esse mecanismo é mostrado no Esquema 9.



Esquema 9. Mecanismo de formação do composto **4i**.

No espectro na região do IV para o composto **4i** (Figura **37**) nota-se a primeira evidência da acetilação do grupo amino. Em 3340 cm^{-1} observa-se a banda de estiramento N-H, em 2928 cm^{-1} a banda de estiramento da ligação C-H em alifáticos e em 1667 cm^{-1} há a presença da banda intensa de C=O, correspondente às duas carbonilas dos dois grupos amido presentes na molécula.

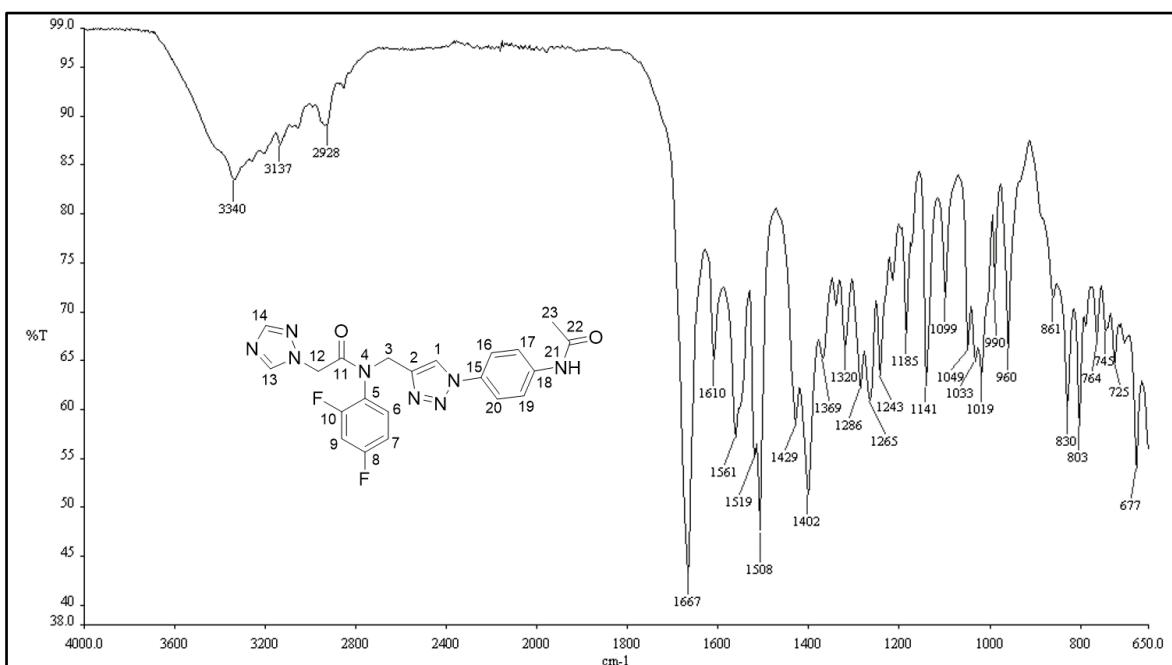


Figura 37. Espectro na região do IV para o composto **4i**.

Na Figura **38** é apresentado o espectro de RMN ^1H do composto **4i**, sendo percebidas diferenças significativas em relação ao espectro de RMN ^1H do composto **4h**. Em δ 2,20 há a presença do sinal referente aos três hidrogênios

alifáticos ligados ao carbono α -carbonílico (H23). O sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio 21 encontra-se parcialmente sobreposto com o sinal do H14 em δ 7,91. Ao ocorrer a acetilação do grupo amino, ele se torna um doador de densidade eletrônica menos efetivo, devido a ressonância cruzada do átomo de nitrogênio com o oxigênio da carbonila. Dessa maneira, no espectro de RMN de ^1H os dupletos em δ 7,68 e δ 7,63 são correspondentes aos hidrogênios *meta* (H16 e H20) e *orto* (17 e 19). No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 39) o sinal em δ 168,7 corresponde ao C22, confirmando a presença da carbonila. O sinal do C18 aparece em δ 138,8, sendo o carbono mais desblindado do anel aromático 1,4-dissubstituído por estar diretamente ligado ao átomo de nitrogênio do grupo amida. O sinal em δ 132,6 corresponde ao C15, ligado ao átomo de nitrogênio do anel 1,2,3-triazol. Os sinais em δ 121,1 e δ 120,6 correspondem, respectivamente, aos carbonos *meta* (C16 e C20) e *orto* (C17 e C19).

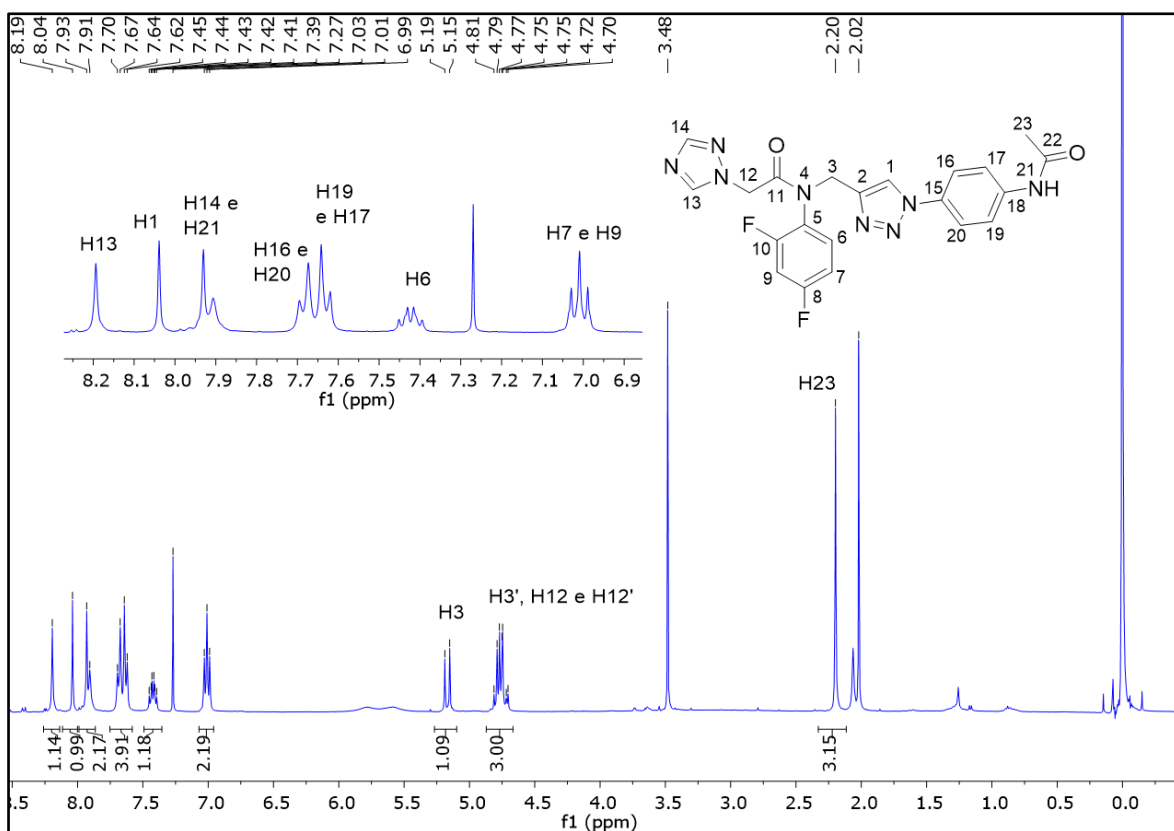


Figura 38. Espectro de RMN ^1H para o composto **4i** (400 MHz, CDCl_3).

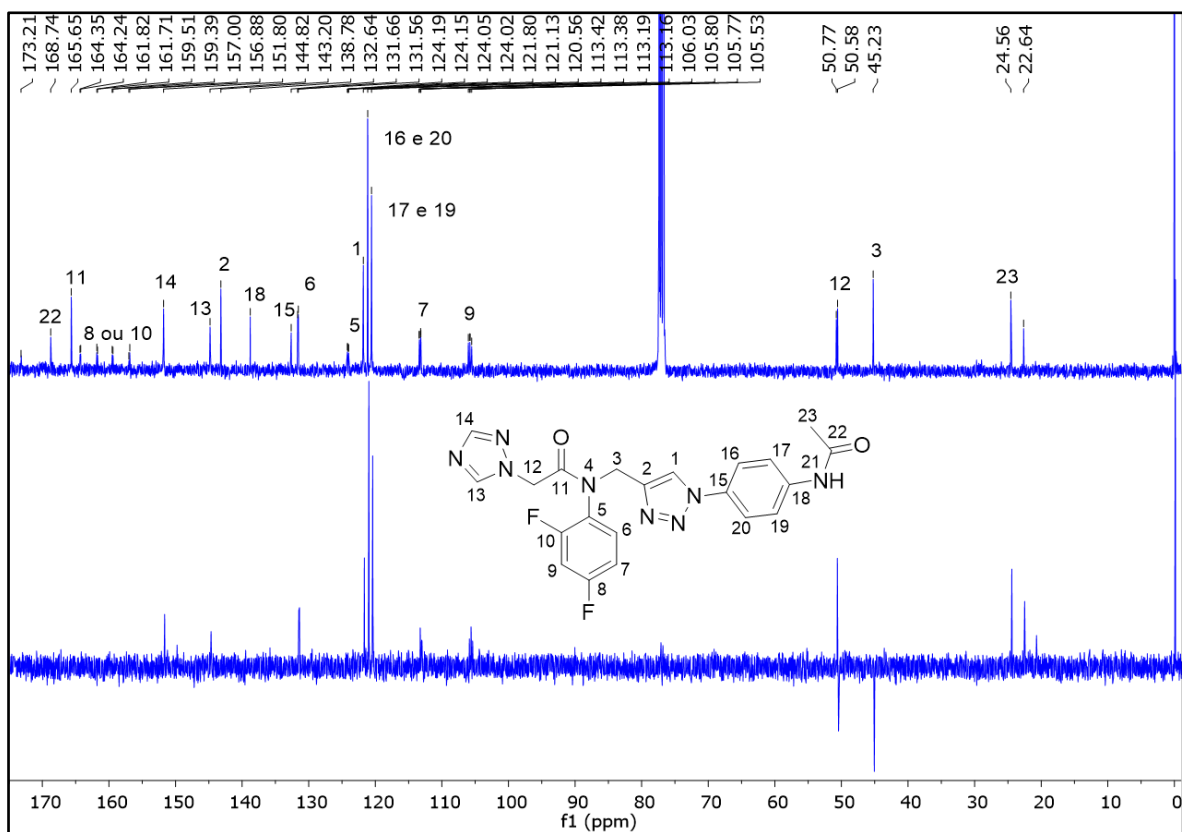


Figura 39. Espectros de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **4i** (400 MHz, CDCl_3).

4.2. Testes de atividade antifúngica

Os resultados dos testes de atividade antifúngica são mostrados nas Tabelas **2** e **3**. Observa-se que todos os compostos testados apresentam CIM maior que $256 \mu\text{g/mL}$ para as espécies de *Candida* e *Trichophyton*. Os compostos **4a**, **4e** e **4i** foram capazes de inibir o crescimento de *Cryptococcus gattii* R265 em sua totalidade na concentração de $256 \mu\text{g/mL}$. Já o composto **4i** foi capaz de inibir 100% do crescimento de *C. neoformans* H99, também na concentração de $256 \mu\text{g/mL}$.

Conclui-se, pelos resultados obtidos, que os compostos não são ativos contra as linhagens de *Candida* e *Trichophyton* dentro da concentração máxima testada ($256 \mu\text{g/mL}$). Os compostos que apresentaram atividade antifúngica na concentração de $256 \mu\text{g/mL}$ (compostos **4a**, **4e** e **4i**) não apresentaram atividade fungicida.

Tabela 2. Valores de concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos sintetizados e dos antifúngicos Itraconazol e Anfotericina B.

Linhagem	CIM (µg/mL)											
	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g	4h	4i	Itraconazol	Anfotericina B	
<i>Candida albicans</i> (SC5314)	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	--	1,00
<i>Candida glabrata</i> (ATCC 2001)	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	--	1,00
<i>Cryptococcus neoformans</i> (H99)	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	256	256	--	0,50
<i>Cryptococcus gatti</i> (R265)	256	>256	>256	>256	256	>256	>256	>256	256	256	--	0,50
<i>Trichophyton interdigitale</i> (ATCC 9533)	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	0,25	--
<i>Trichophyton rubrum</i> (ATCC 28189)	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256	0,50	--

Tabela 3. Valores de concentração fungicida mínima (CFM) para os compostos testados.

Linhagem	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g	4h	4i
<i>Candida albicans</i> (SC5314)	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Candida glabrata</i> (ATCC 2001)	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Cryptococcus neoformans</i> (H99)	--	--	--	--	--	--	--	--	>256
<i>Cryptococcus gatti</i> (R265)	>256	--	--	--	>256	--	--	--	>256
<i>Trichophyton interdigitale</i> (ATCC 9533)	--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Trichophyton rubrum</i> (ATCC 28189)	--	--	--	--	--	--	--	--	--

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização deste trabalho permitiu a síntese de nove novos derivados triazólicos, cujas estruturas foram planejadas utilizando-se a técnica de simplificação molecular. Os compostos finais foram obtidos em poucas etapas reacionais de fácil execução, sendo então, purificados e caracterizados por espectroscopias na região do infravermelho e de Ressonância Magnética Nuclear.

Após sintetizados e caracterizados, os compostos tiveram suas atividades antifúngicas avaliadas. Para as linhagens fúngicas testadas de fungos filamentosos e leveduras, nenhum dos compostos apresentou atividade fungistática ou fungicida em concentrações ideais. Entretanto, os compostos sintetizados apresentam grande potencial para agirem como antifúngicos, pois são muito similares estruturalmente a fármacos azólicos conhecidamente ativos. Desse modo, é importante realizar testes de atividade para uma maior variedade de espécies fúngicas. Além disso, é interessante testar a atividade dos novos compostos frente à outras espécies patogênicas que também dependem da síntese do ergosterol, como *Trypanossoma cruzi* e protozoários do gênero *Leishmania*.

Apesar dos testes iniciais de atividade não terem apresentado resultado satisfatório, a caracterização dos compostos por RMN forneceu dados interessantes para discussão. O desdobramento inesperado dos sinais referentes aos hidrogênios metilênicos, observado a partir do composto **2**, levou a questionamentos sobre os acoplamentos e a estrutura dos compostos. Algumas hipóteses foram levantadas para explicar as razões pelas quais ocorrem os acoplamentos observados, como a possibilidade de ocorrência de uma ligação de hidrogênio intramolecular não-clássica e de atropoisomerismo. Entretanto, essas hipóteses são resultado de estudos preliminares, sendo necessário realizar experimentos de RMN mais adequados e experimentos de difração de raio X.

6. REFERÊNCIAS

- [1] RUIZ, L. S.; PEREIRA, V.B. A importância dos fungos no ambiente hospitalar. *Boletim Institucional Adolfo Luiz*. v. 26, artigo 2, p. 1-3, 2016.
- [2] DA SILVA, R.R.; COELHO, G.D. Fungos: Principais grupos e aplicações biotecnológicas. 2006. Trabalho de conclusão (Curso de capacitação de monitores e educadores.). Programa de Pós Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica, Jardim Botânico de São Paulo, São Paulo.
- [3] GHORAI, S. et al. Fungal biotechnology in food and feed processing. *Food Research International*. v. 42, p. 577-587, 2009.
- [4] BENNETT, J.W. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. *Journal of biotechnology*. v. 66, p. 101-107, 1998.
- [5] LIFE – Leading International Fungal Education. Fungal Infections. Disponível em <<http://www.life-worldwide.org/fungal-diseases>> Acesso em 04 de julho de 2019.
- [6] MORAES, A.M.L.; PAES, R.A.; HOLANDA, V.L. Micologia. Conceitos e Métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. 1ed. volume 4. Rio de Janeiro, 2009. p.399-496
- [7] LOGUERCIO-LEITE, C. et al. A particularidade de ser um fungo- Constituintes celulares. *Biotemas*. v. 16, n.2, p. 17-27, 2006.
- [8] BATTISTI, M.V.; CAMPANA-FILHO, S.P. Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosenbergii*. *Química Nova*. v. 31, n. 8, p. 2014-2019, 2008.
- [9] FISHER, M.C. et al. Emerging fungal threats to animal, plant and ecosystem health. *Nature*. v. 484, p.186-194. 2012.
- [10] CDC-Central for Disease Control and Prevention. *Candida auris*. Disponível em <<https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/index.html>>. Acesso em 03 de julho de 2019.
- [11] MORI, L.; LA NUEZ, J.T. O que é *Candida auris*, o perigoso fungo resistente a medicamentos que se espalha pelo mundo. BBC News Brasil. 2019. Disponível em <<https://www.bbc.com/portuguese/geral-47899482>>

- [12] DUARTE, R. *Candida auris*: fungo multirresistente surge como nova ameaça. PEBMED. 2019. Disponível em <<https://pebmed.com.br/candida-auris-fungo-multirresistente-surge-como-nova-ameaca/>>.
- [13] BROWN, G.D. et al. Hidden Killers: Human Fungal Infections. *Medical Mycology*. v. 4, n. 165, p. 1-12. 2012.
- [14] BONGOMIN, F. et al. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. *Journal of Fungi*. v.3, n.57, p. 1-29, 2017.
- [15] NUCCI, M.; MARR, K. Emerging fungal diseases. *Emerging Infections*. v.41, p. 521-526. 2005.
- [16] GIACOMAZZI, J. et al. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses*. v.59, p.145-150. 2016.
- [17] CAMPOY, S.; ADRIO, J.L. Antifungals. *Biochemical Pharmacology*. v.133, p. 86-96, 2017.
- [18] SHENG, C.; ZHANG, W. New Lead in antifungal drug discovery. *Current Medicinal Chemistry*. v.18, p. 733-766, 2011.
- [19] FILIPPIN, F.B.; SOUZA, L.C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v.42, n.2, p.167-194, 2006.
- [20] FALCI, D.R.; PASQUALOTTO, A.C. Anfotericina B: Uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. *Clinical and Biomedical Research*. v.35, n.2, p.65-82, 2015.
- [21] EMAMI, S.; TAVANGAR, P.; KEIGHOBADI, M. A overview of azoles targeting sterol 14 α -demethylase for antileishmanial therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*. v. 135, p. 241-259, 2017.
- [22] FRANÇA, R.R.F. et al. Inibidores potentes da enzima esterol 14 α -desmetilase Contra *Trypanosoma cruzi*. *Revista Virtual de Química*. v.6, n.5, p.1483-1516, 2014.
- [23] SUETH-SANTIAGO, V. et al. CYP51:Uma boa ideia? *Revista Virtual de Química*. v.7, n.2, p.539-575, 2015.

- [24] RSCB Protein Data Bank (PDB). Structure of CYP51 from the pathogen *Candida albicans*. Disponível em: <<http://www.rcsb.org/3d-view/5V5Z>>. Acesso em 05 de julho de 2019.
- [25] SHEENAN, D.J. et al. Current and emerging azole antifungal agent. *Clinical Microbiology Reviews*. v.12. p.40-79, 1999.
- [26] ALLEN, D. et al. Azole antifungals: 35 years of invasive fungal infection management. *Expert Reviews*. v.13, n.6, p.787-798, 2015.
- [27] MARTINEZ, R. Atualização no uso de antifúngicos. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*. v.32, n.5, p.449-460, 2006.
- [28] YAMAGUCHI, H. Potential of ravuconazole and its prodrugs as the new oral therapeutics for Onychomycosis. *Medical Mycology Journal*. v.57, n.4, 2016.
- [29] PESTI, J. et al. The process development of ravuconazole: an efficient multikilogram scale preparation of an antifungal agent. *Organic Process Research*. v.13, n.4, p.716-728, 2009.
- [30] PERLIN, D.S. et al. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *Fungal Infection 5*. v.17, p. e383-e392, 2017.
- [31] BARREIRO, E.J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. *Química Nova*. v.25, n.6B, p. 1172-1180, 2002.
- [32] MAJUMDAR, K.C.; GANAI, S. An expedient approach to substituted triazolo [1,5-a][1,4]benzodiazepines via Cu-catalyzed tandem Ulmann C-N coupling/azide-alkyne cycloaddition. *Tetrahedron letters*. v.54, p.6192-6195, 2013.
- [33] WANG, W.; SHENG, C.; CHE, X.; JI, H.; CAO, Y.; MIAO, Z.; YAO, J.; ZHANG, W. Discovery of highly potent novel antifungal azoles by structure-based rational design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. v.19, p. 5965-5969, 2009.
- [34] ZHANG, C.; HUANG, J.; QIU, L.; XU, X. Thermally induced [3+2] cycloaddition of alkynil-tethered diazoamides: Synthetic and Mechanistic insights. *Organic Letters*. v.18, p. 6208-6211, 2016.

- [35] KATHIRAVAN, S.; NICHOLLS, I.A. Monoprotected L-Amino acid (L-MPAA), accelerated bromination, chlorination and iodination of C(sp²)-H bonds by iridium(III) catalysis. *Chemistry a European Journal*. v. 23, n. 29, p. 7031-7036, 2017.
- [36] ALTIMARI, J.M.; NIRANJAN, B.; RISBRIDGER, G.P.; SCHWEIKER, S.S.; LOHNING, A.E.; HENDERSON, L.C. Preliminary investigations into triazole androgen receptor antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v. 22, p.2692-2706, 2014.
- [37] HU, M; LI, J.; YAO, S.Q. In situ "Click" assembly of small molecule matrix metalloprotease inhibitors containing zic-chelating groups. *Organic Letters*. v. 10, n. 24, p. 5529-5531, 2008.
- [38] LEE, W.T.; DICKIE, D.A.; METTA-MAGAN, A.J.; SMITH, J.M. A Tripodal Ligand Constructed from Mesoionic Carbene Donors. *Inorganic Chemistry*. v. 52; p. 12842-12846, 2013.
- [39] SEBEST, F.; CASARRUBIOS, L.; RZEPA, H.S.; WHITE, A.J.P.; DÍEZ-GONZALES, S. Thermal azide-alkene cycloaddition reactions: straightforward multi-gram access to Δ^2 -1,2,3-triazolines in deep eutectic solvents. *Green Chemistry*. v. 20, p. 4023-4035, 2018.
- [40] MANGIONE, M.I.; SPAVANELLO, R.A.; ANZARDI, M.B. Efficient and straightforward click synthesis of structurally related dendritic triazoles. *RSC Advances*. v. 7, p. 47681-47688, 2017.
- [41] CLAYDEN, J; GREEVES, N.; WARREN, S. *Organic Chemistry*. 2 ed. Oxford University Press, USA, 2012.
- [42] SANTOS, A.R., et al. Atropoisomerismo: o efeito da quiralidade axial em substâncias bioativas. *Química Nova*. v.30, n.1, p.125-135, 2007.
- [43] HIMO, F. et al. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. *Journal of the American Chemical Society*. v. 127, n.1, p. 210-216, 2005.
- [44] WORRELL, B.T. et al. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu(I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. *Science*. v. 340, p. 457-460, 2013.
- [45] FREITAS, L.B.O, et al. A reação "click" na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. *Química nova*. v. 34, n. 10, p. 1791-1804, 2011.

6. ANEXOS

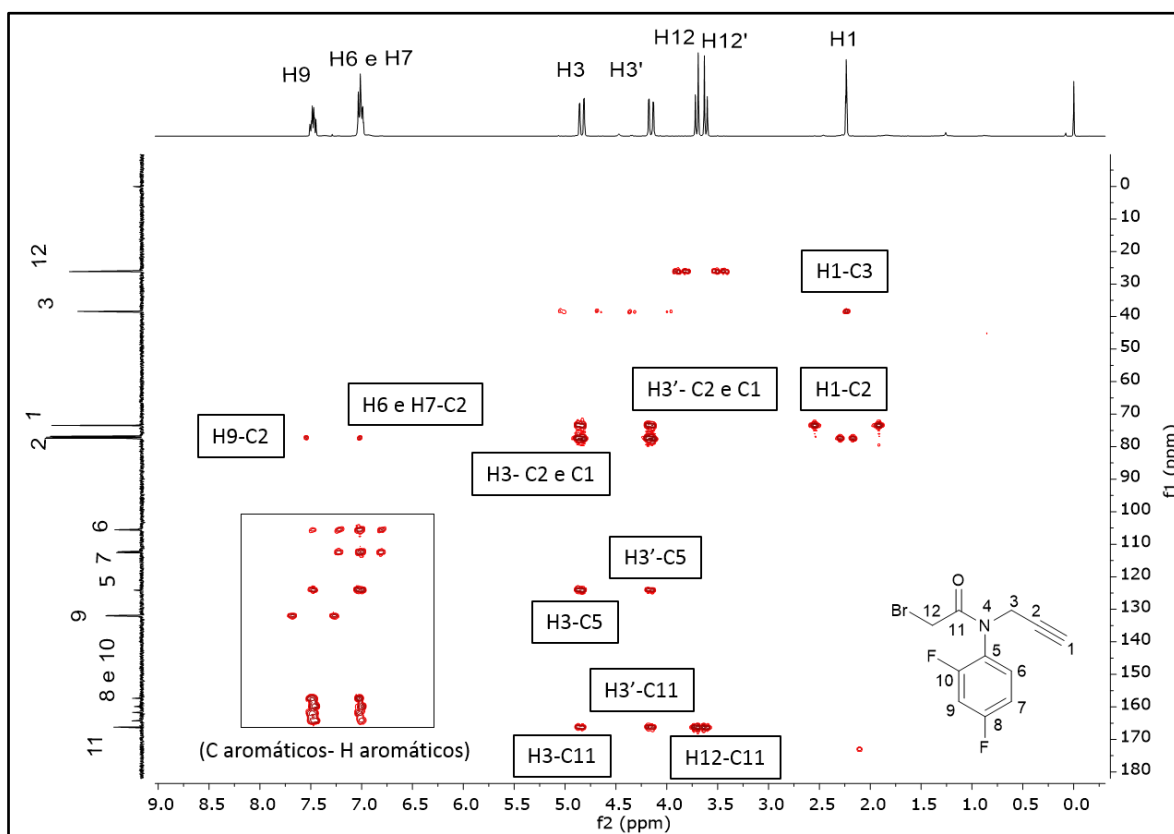


Figura A1. Mapa de correlações HMBC para o composto 2 (400 MHz, CDCl_3).

Espectros na região do IV para os compostos 4b a 4g

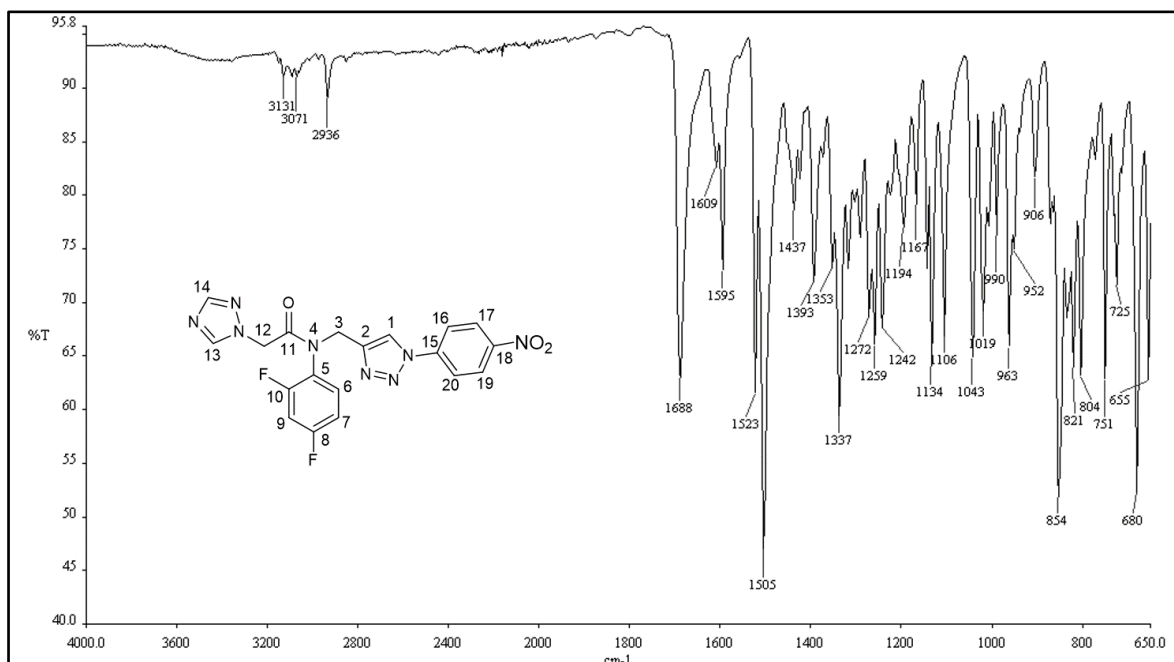


Figura A2. Espectro na região do IV para o composto 4b.

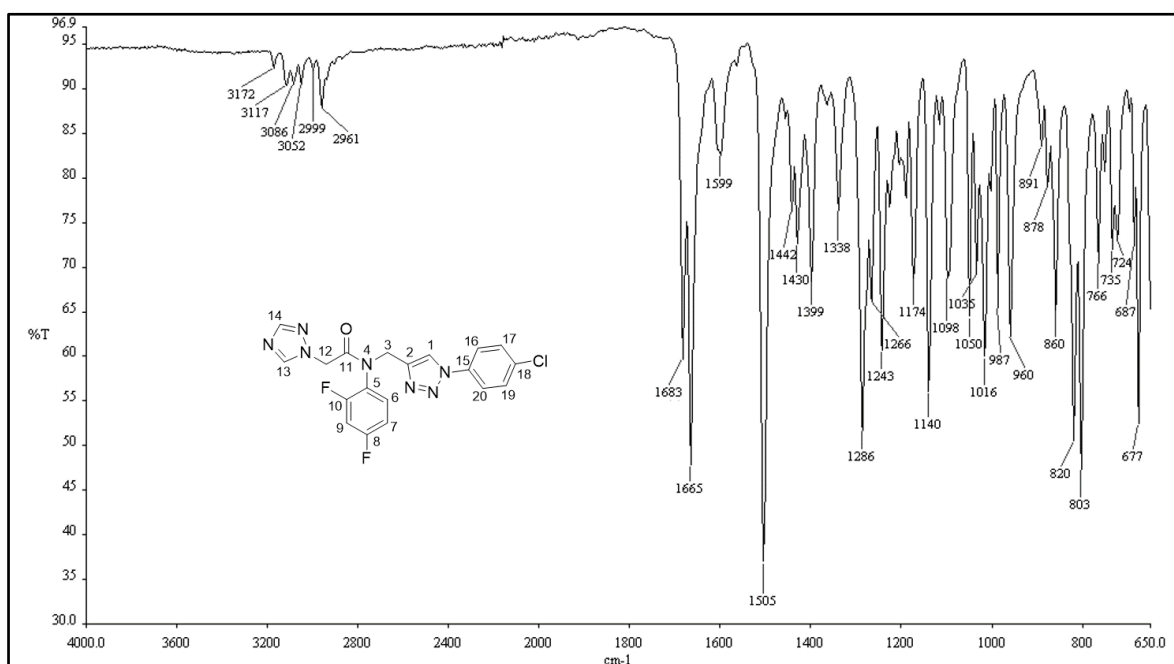


Figura A3. Espectro na região do IV para o composto 4c.

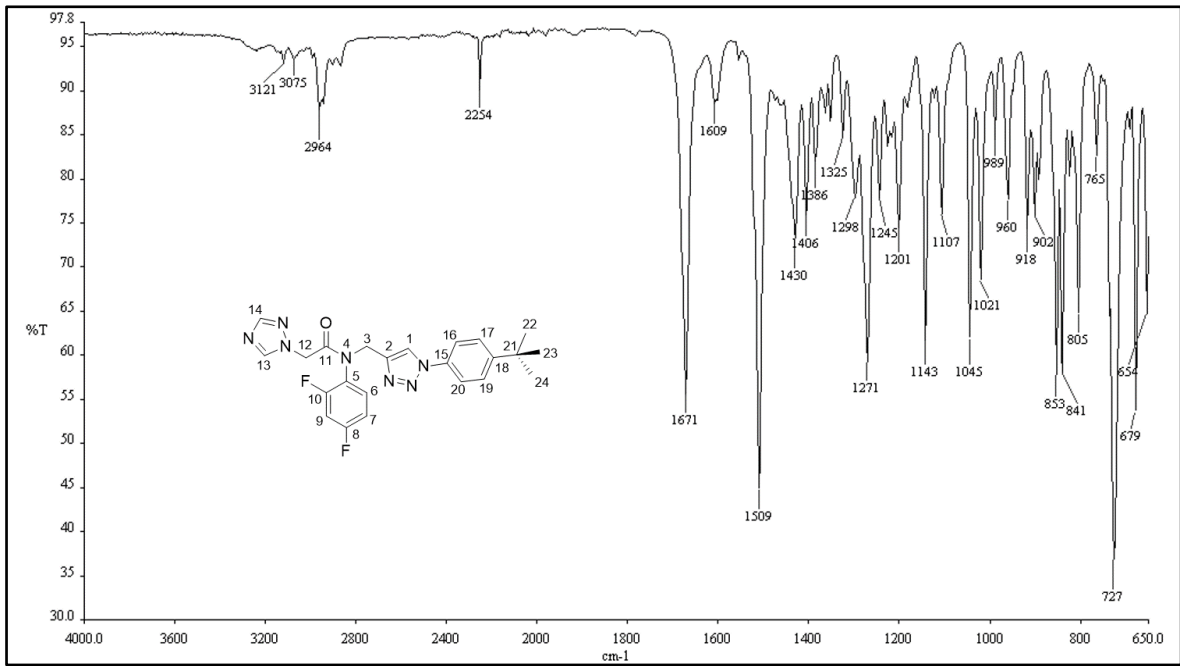


Figura A4. Espectro na região do IV para o composto **4d**.

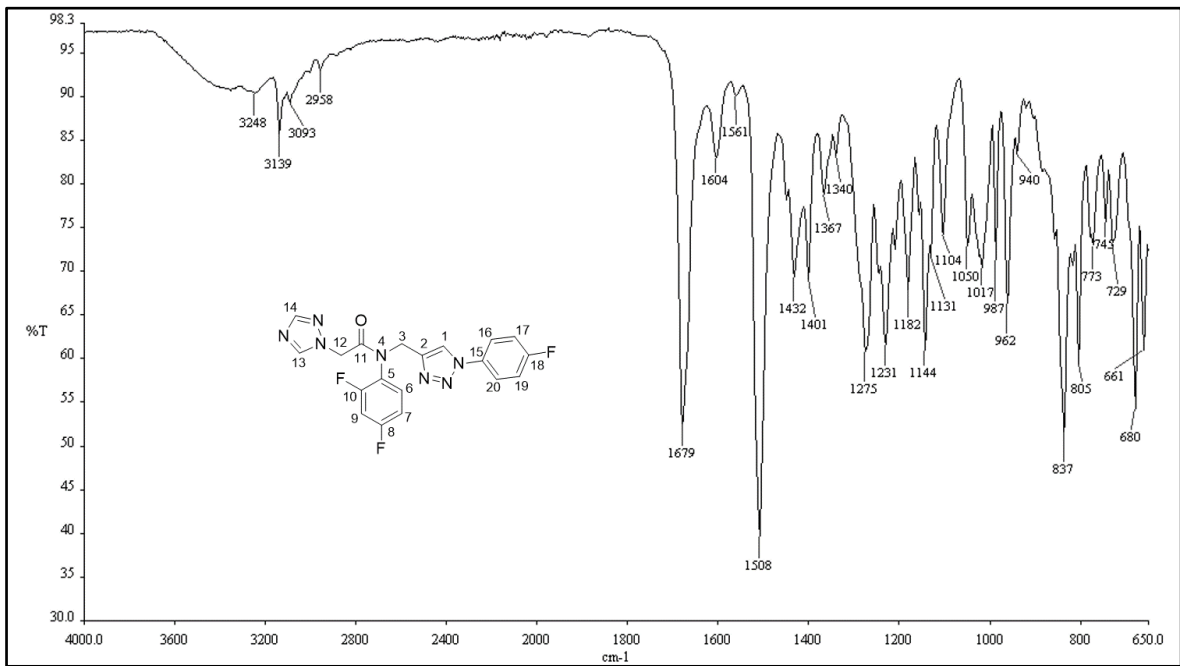


Figura A5. Espectro na região do IV para o composto **4e**.

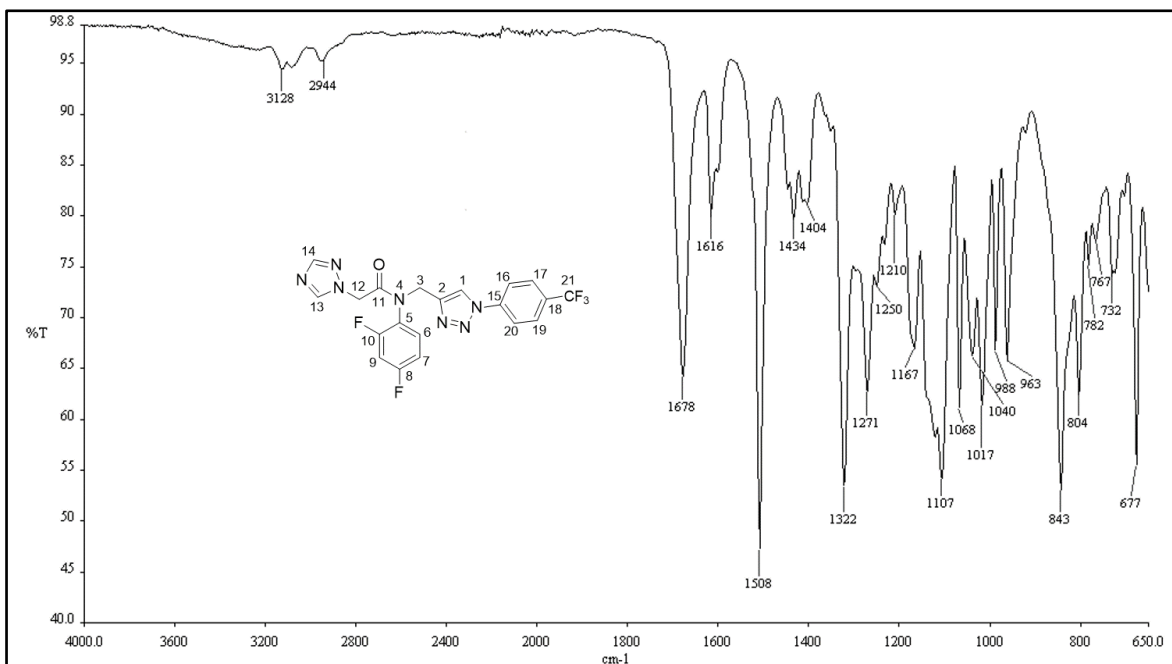


Figura A6. Espectro na região do IV para o composto **4f**.

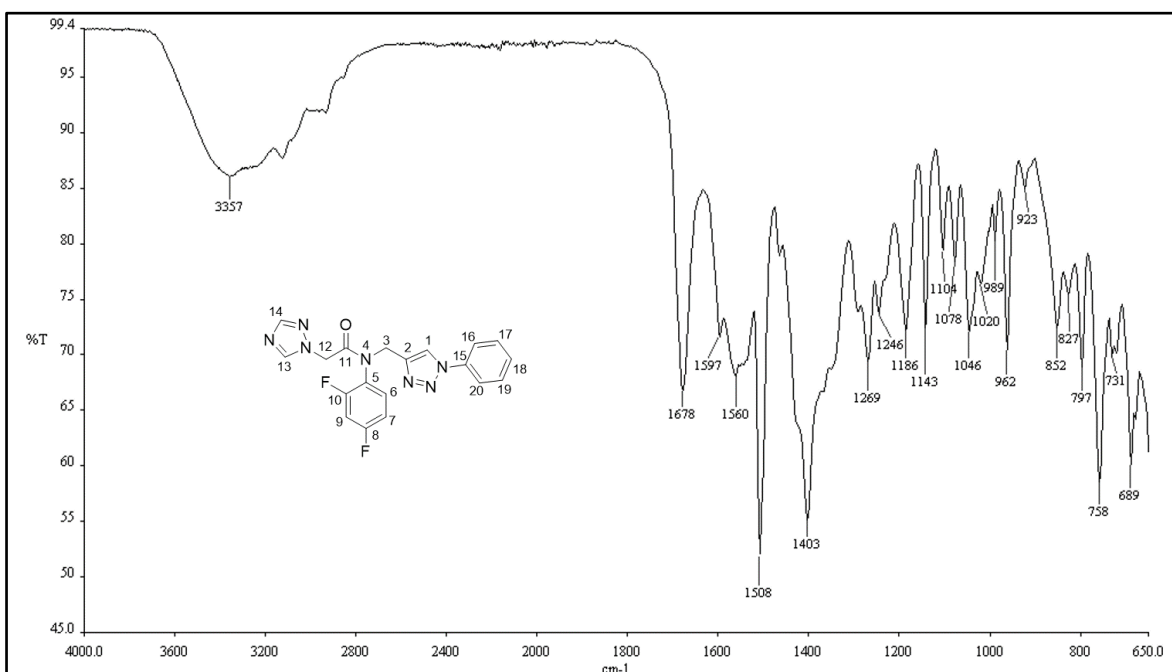


Figura A7. Espectro na região do IV para o composto **4g**.

Espectros na região do IV para as azidas aromáticas

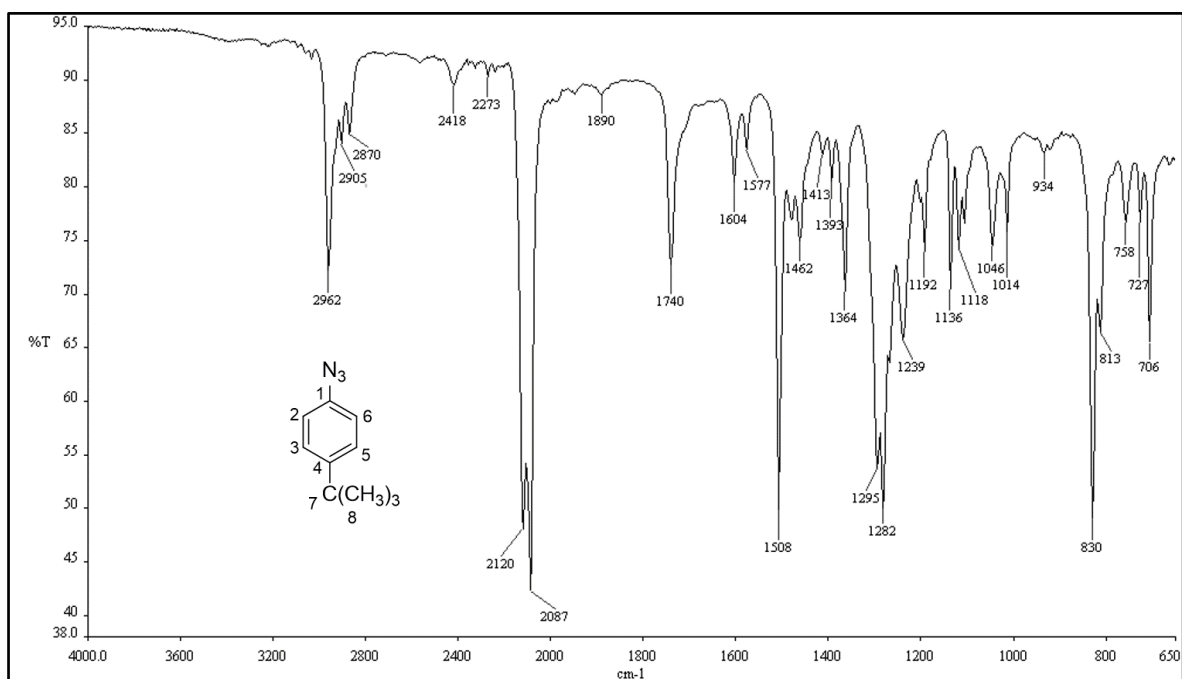


Figura A8. Espectro na região do IV para a 1-azido-4-*tert*butilbenzeno.

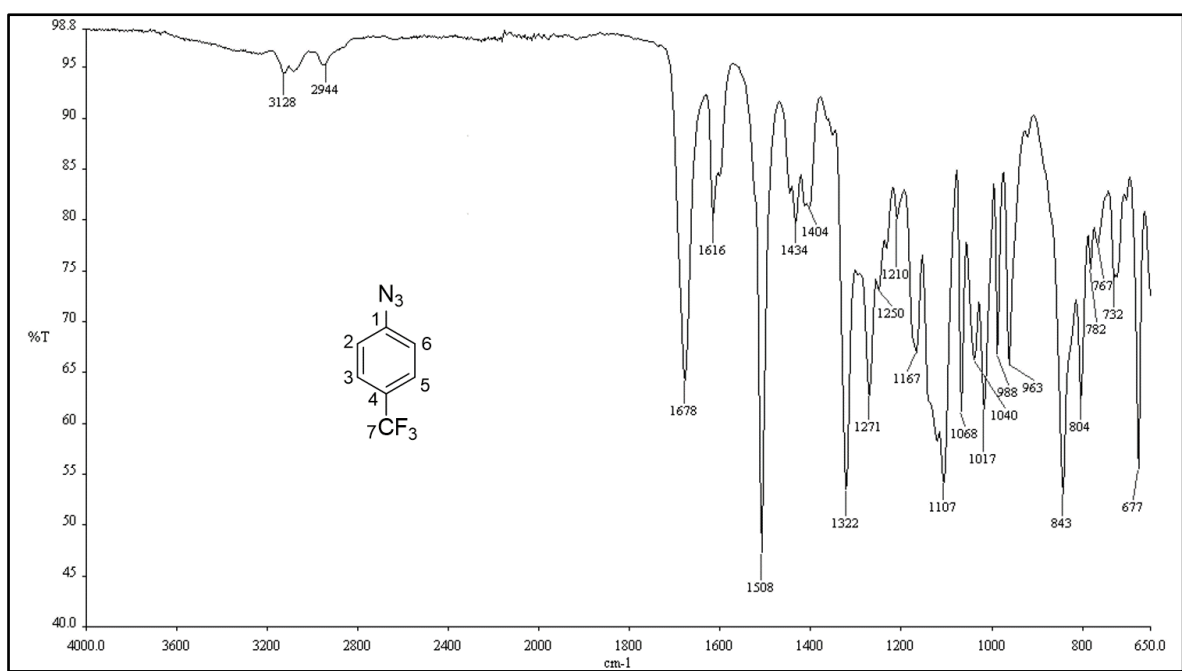


Figura A9. Espectro na região do IV para a 1-azido-4-(trifluorometil)benzeno

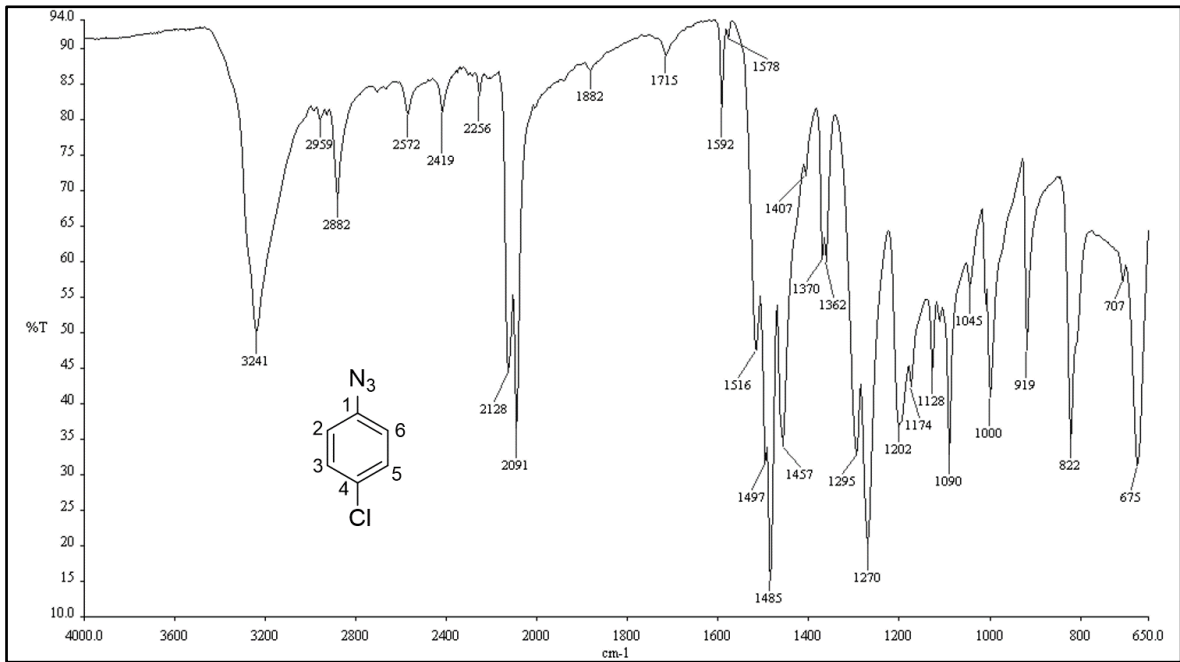


Figura A10. Espectro na região do IV para a 1-azido-4-clorobenzeno.

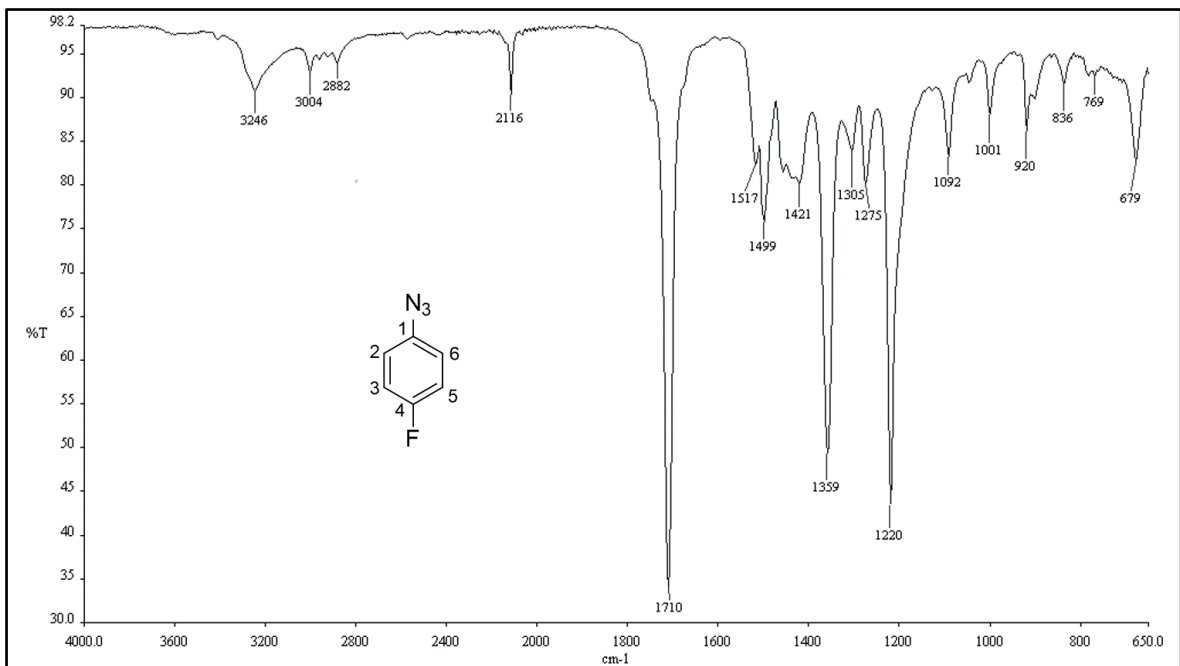


Figura A11. Espectro na região do IV para a 1-azido-4-fluorobenzeno.

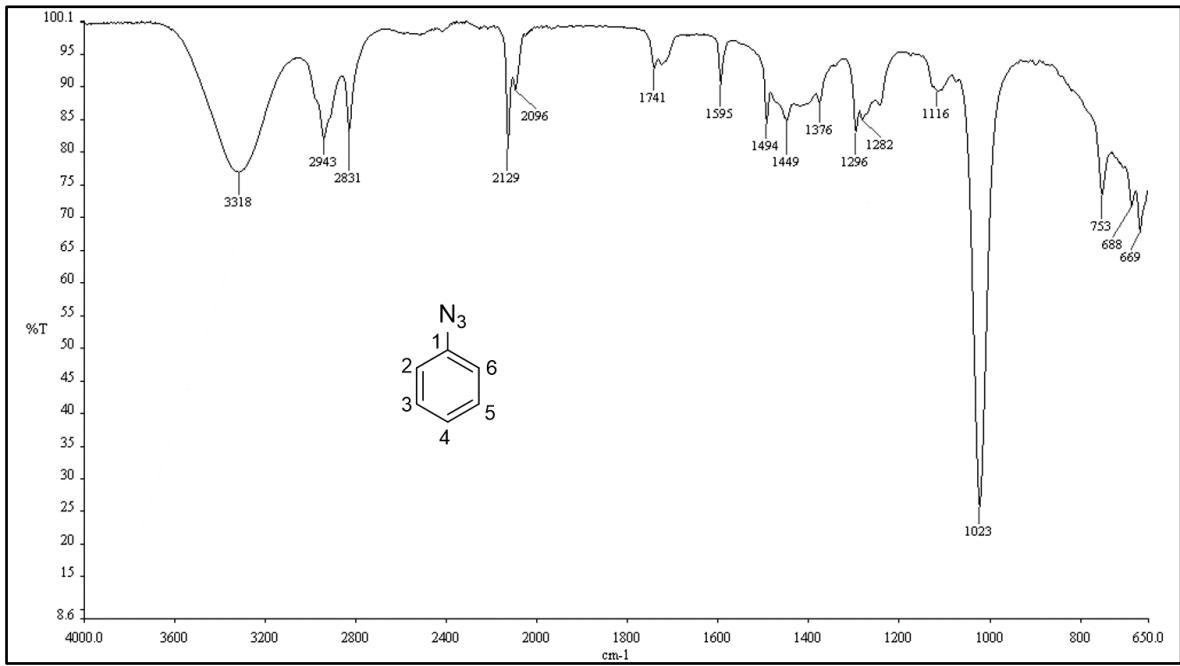


Figura A12. Espectro na região do IV para a fenilazida.

Espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 para os compostos 4b a 4g.

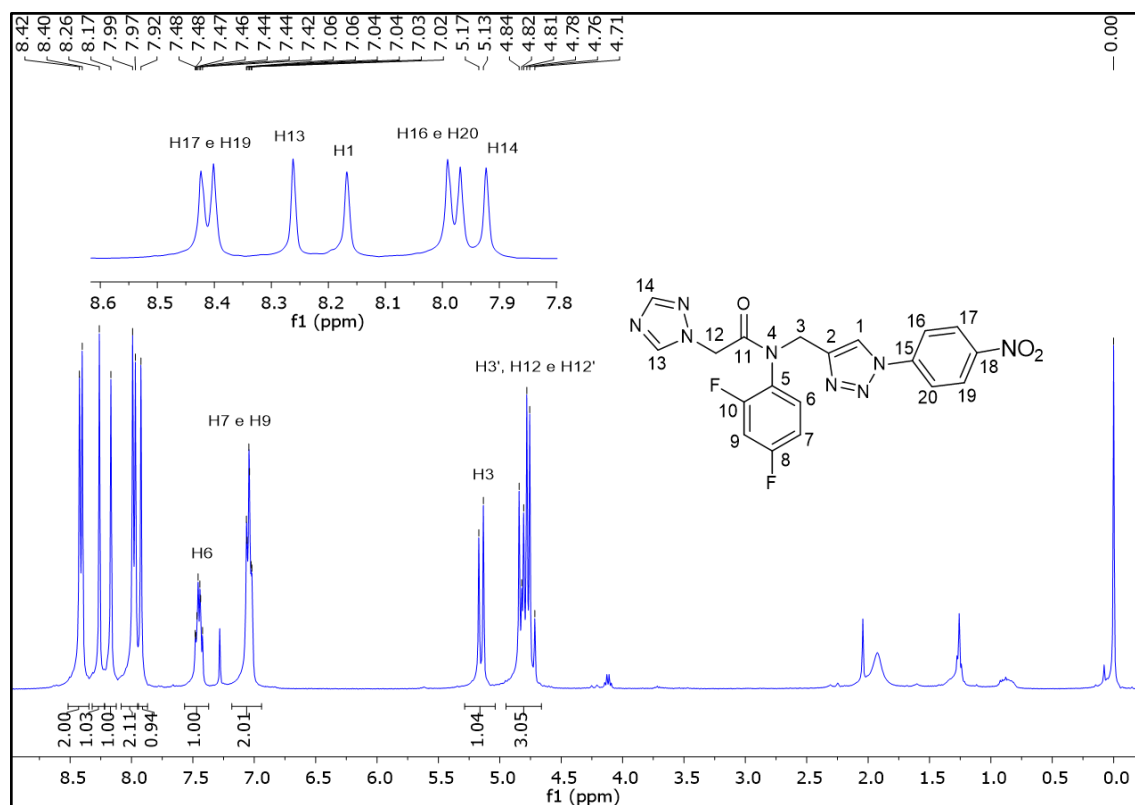


Figura A13. Espectro de RMN ^1H para o composto **4b** (400 MHz, CDCl_3).

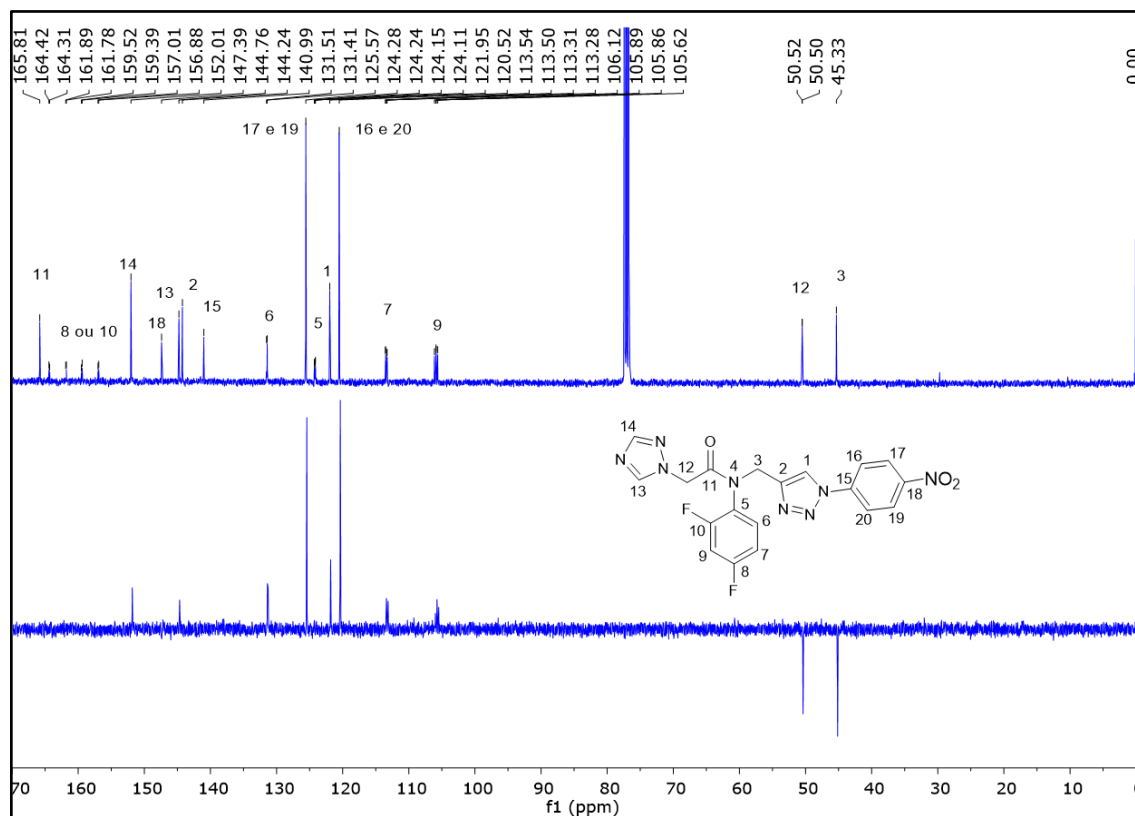
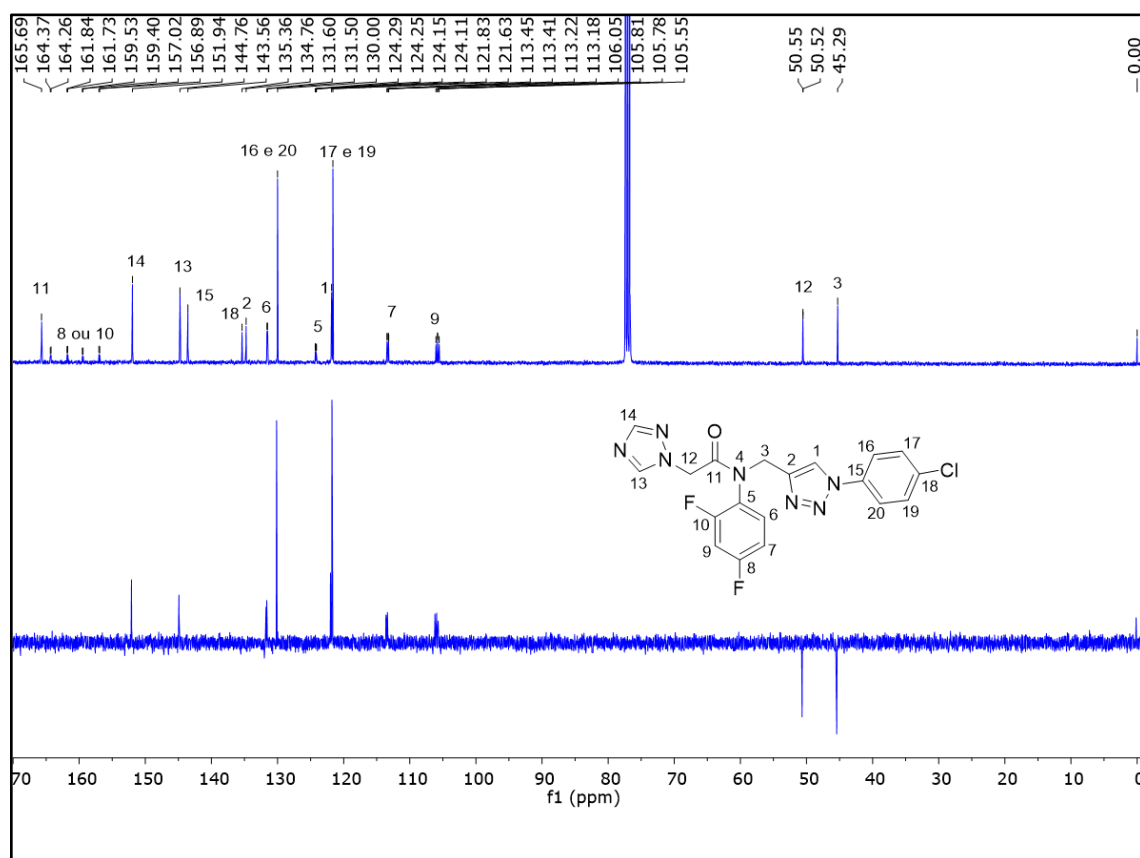
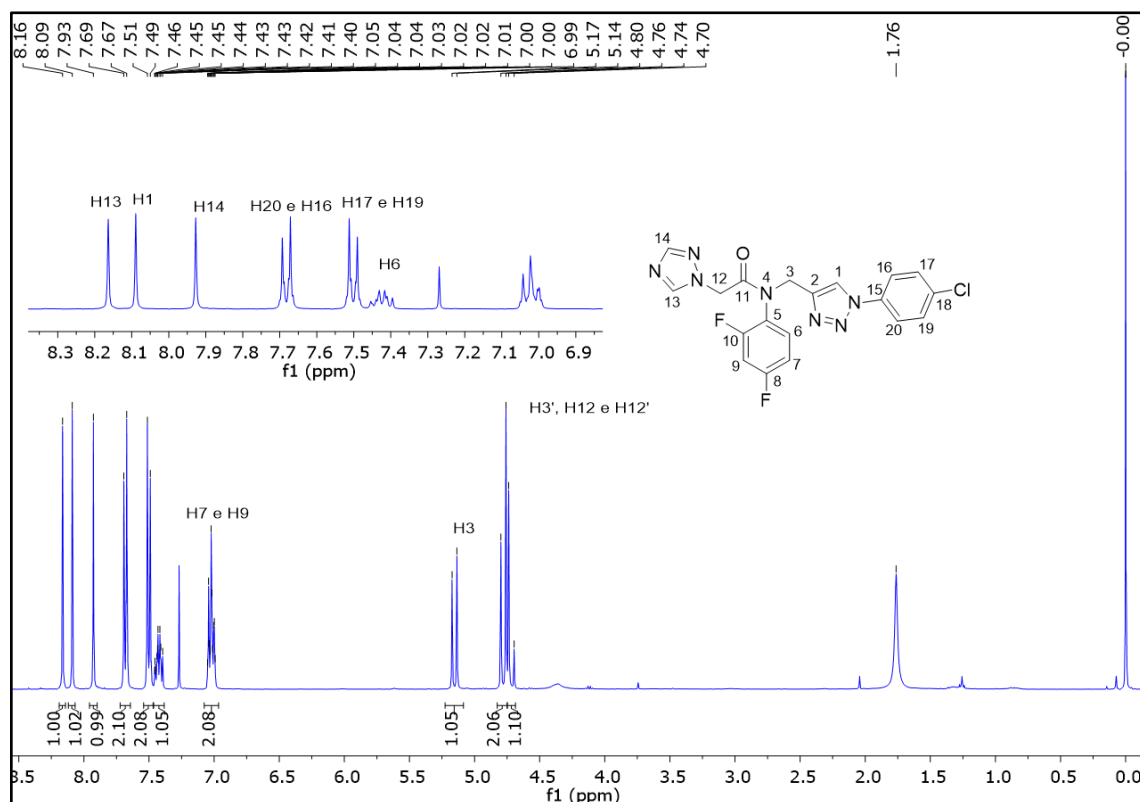


Figura A14. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **4b** (100 MHz, CDCl_3).



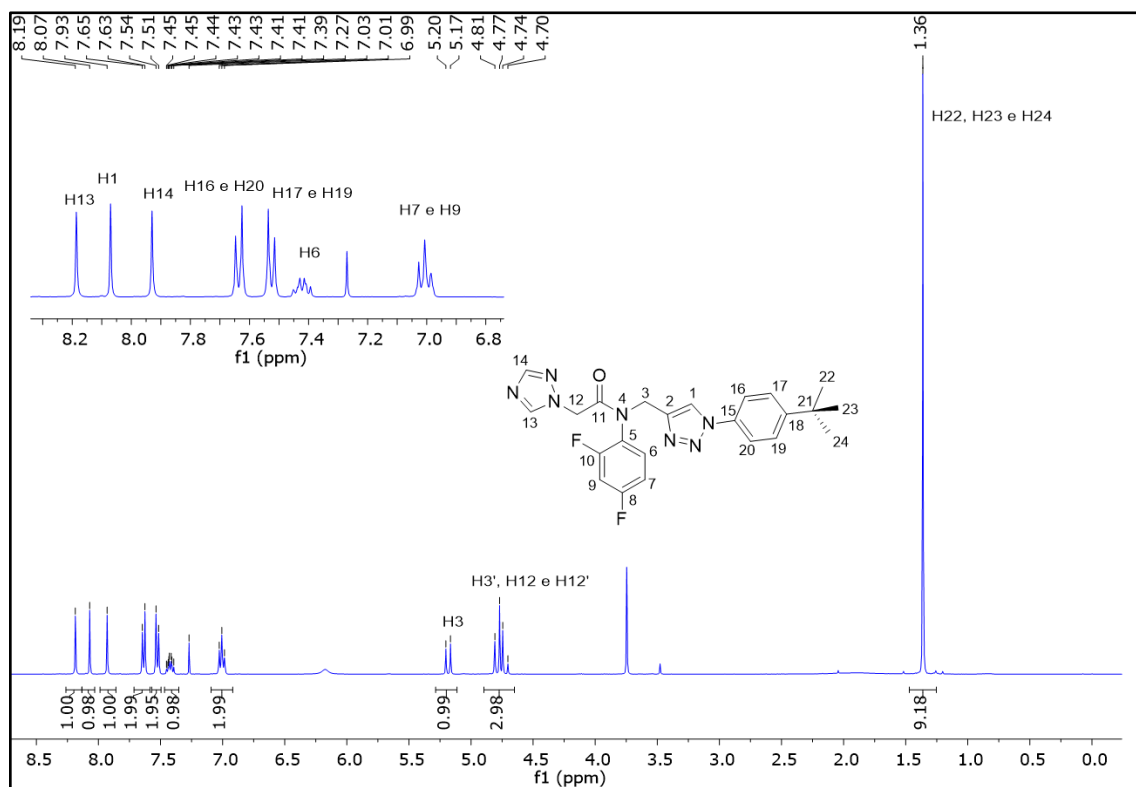


Figura A17. Espectro de RMN ^1H para o composto **4d** (400 MHz, CDCl_3).

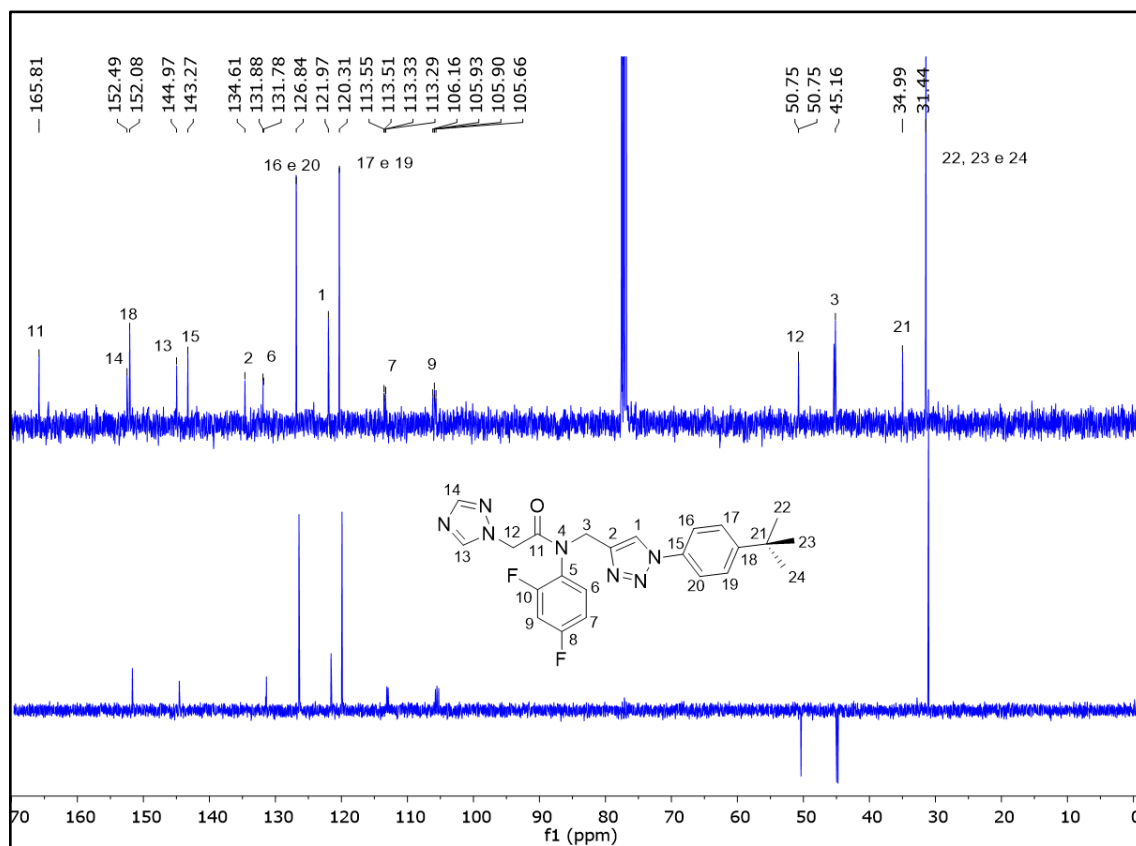


Figura A18. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **4d** (100 MHz, CDCl_3).

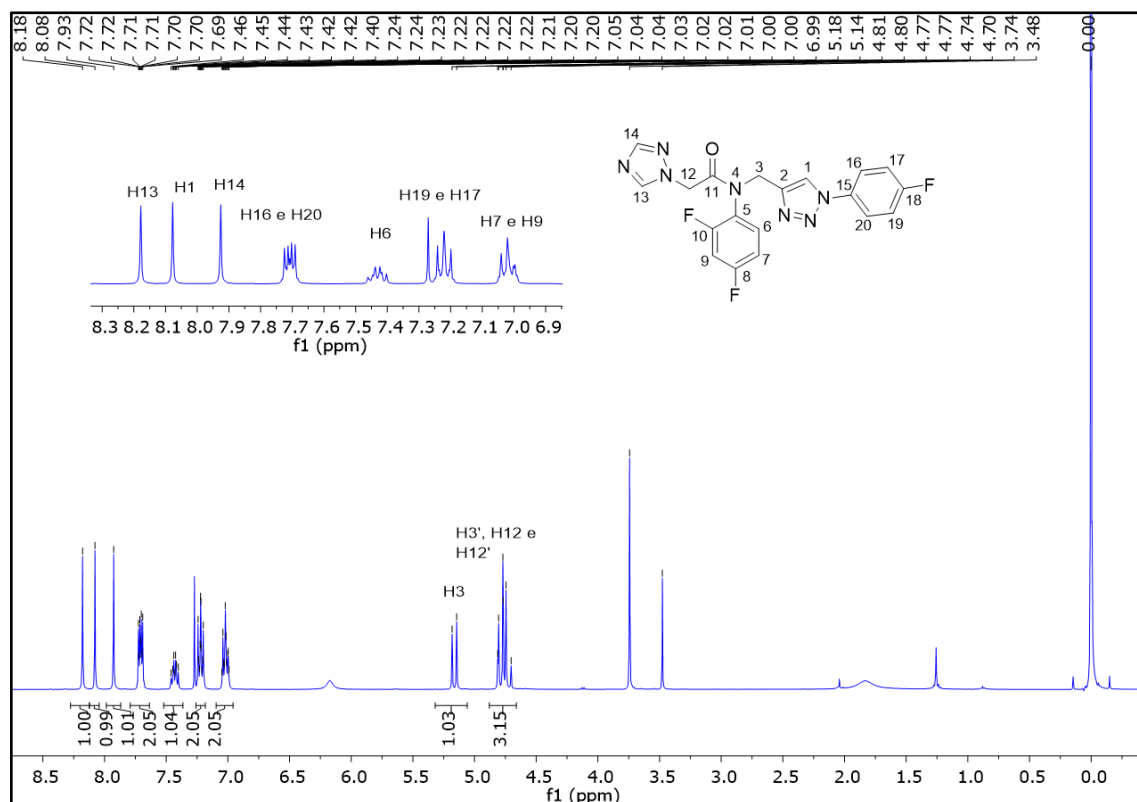


Figura A19. Espectro de RMN ^1H para o composto **4e** (400 MHz, CDCl_3).

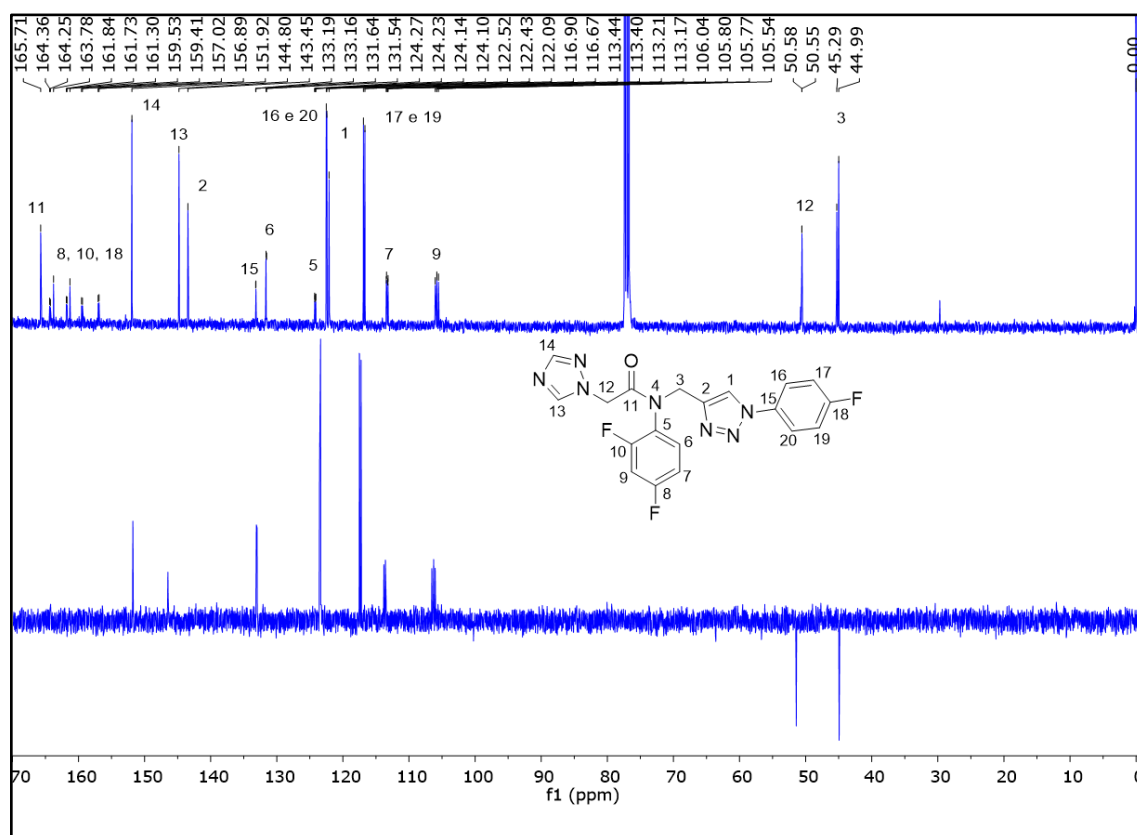


Figura A20. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **4e** (100 MHz, CDCl_3).

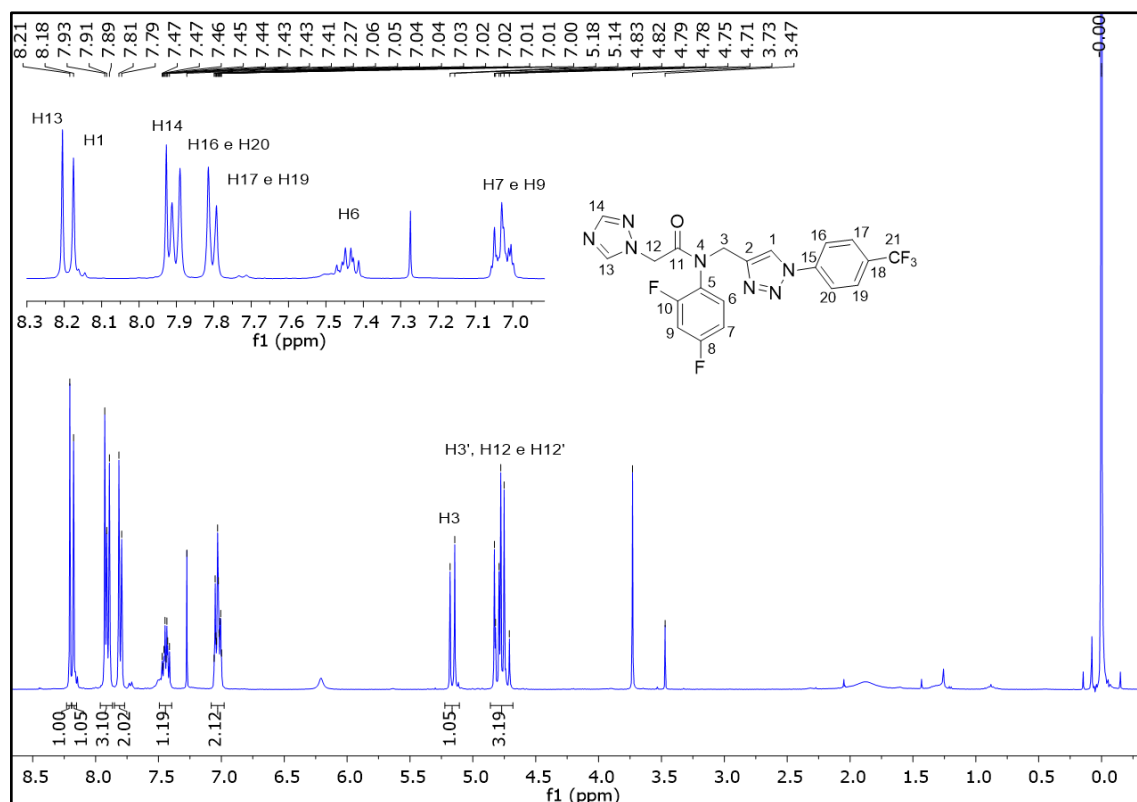


Figura A21. Espectro de RMN ^1H para o composto **4f** (400 MHz, CDCl_3).

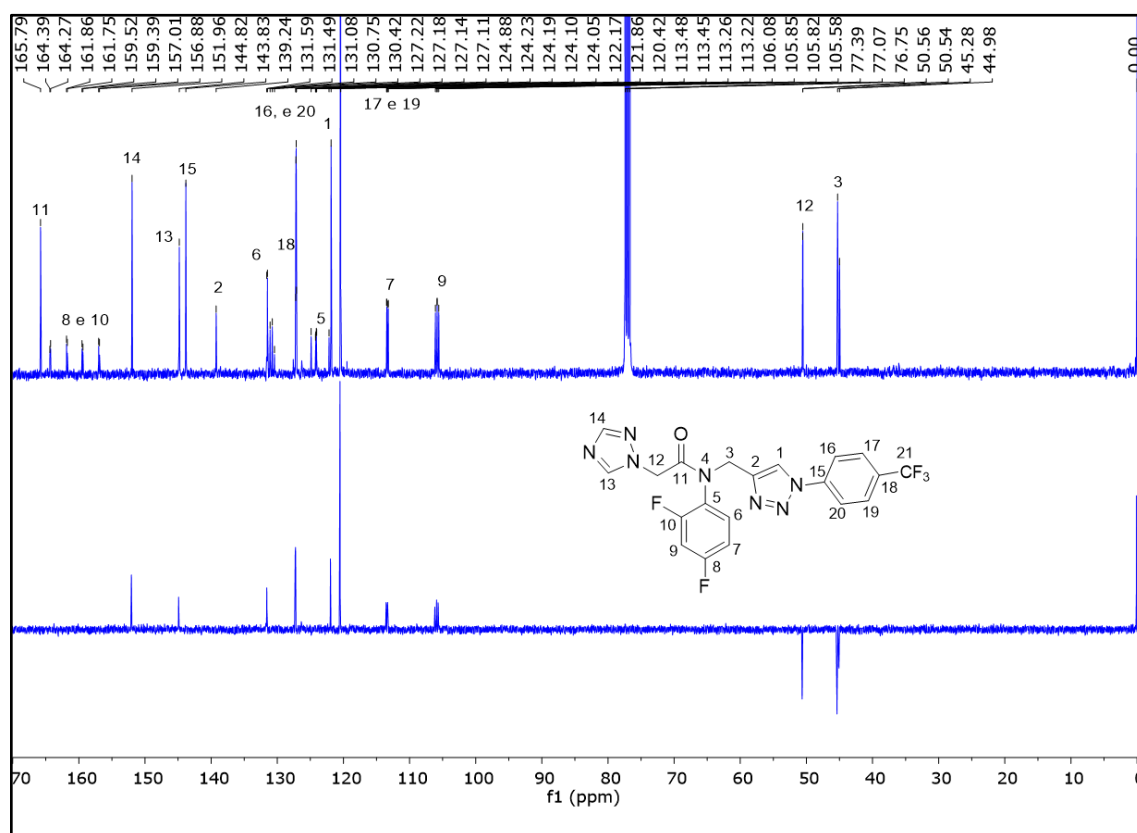


Figura A22. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **4f** (100 MHz, CDCl_3).

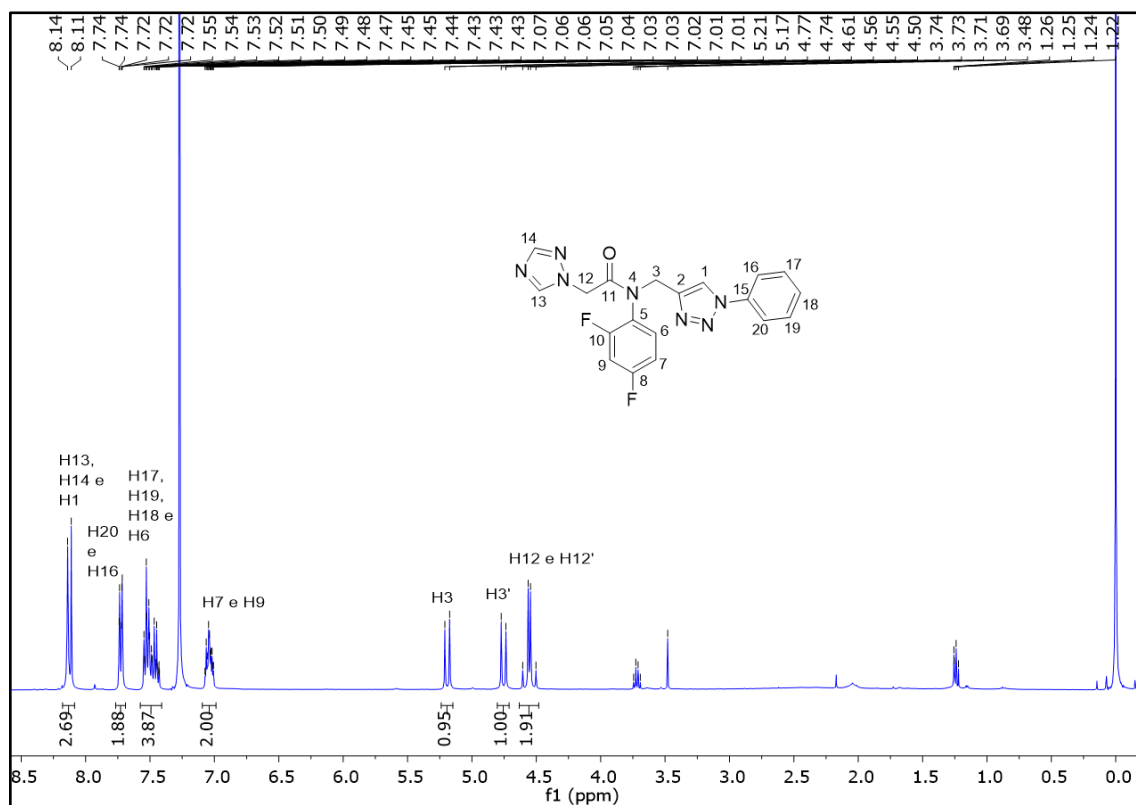


Figura A23. Espectro de RMN ^1H para o composto **4g** (400 MHz, CDCl_3).

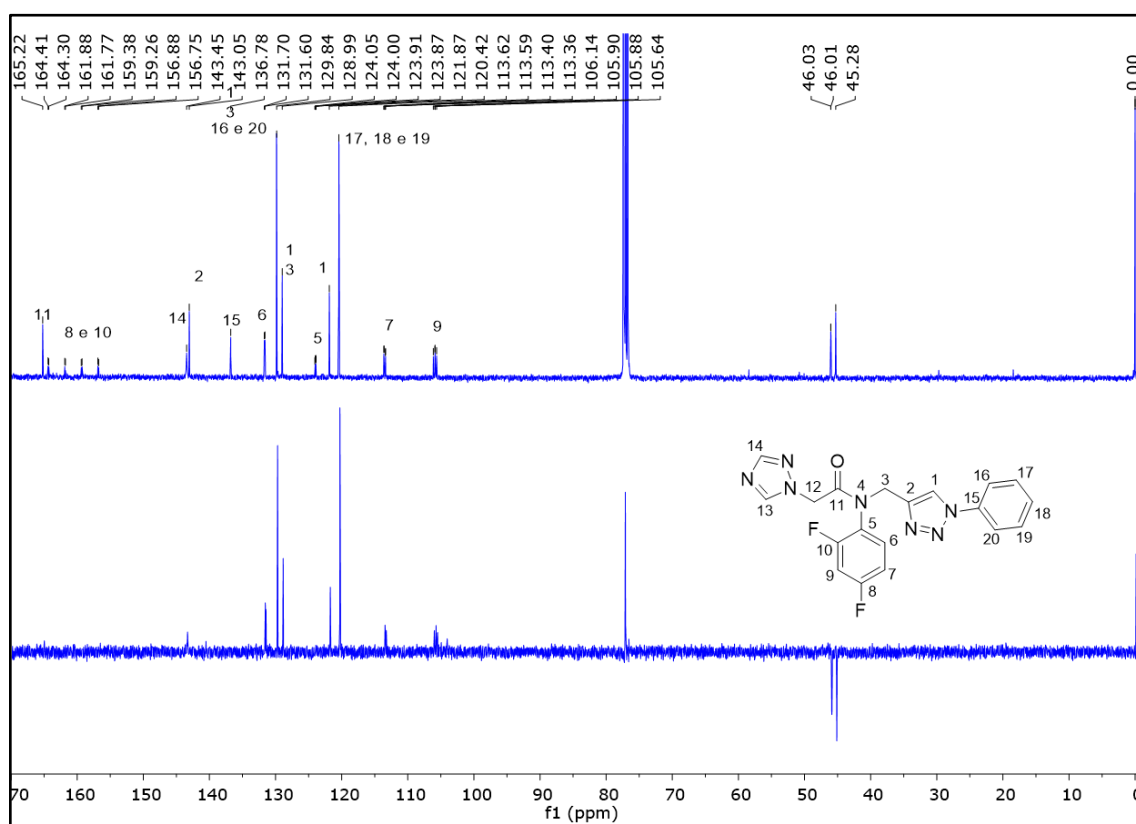


Figura A24. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para o composto **4g** (100 MHz, CDCl_3).

Espectro de RMN de ^1H , ^{13}C e DEPT 135 das azidas aromáticas

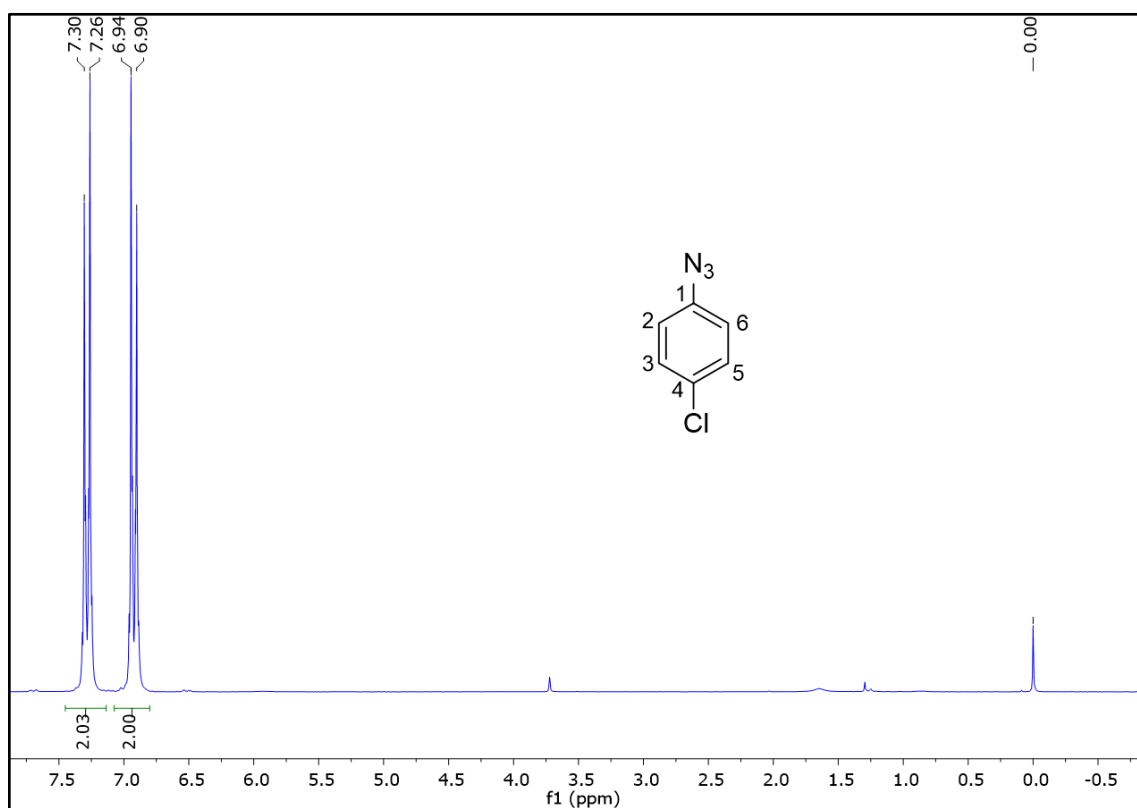


Figura A25. Espectro de RMN ^1H para a 1-azido-4-clorobenzeno (200 MHz, CDCl_3).

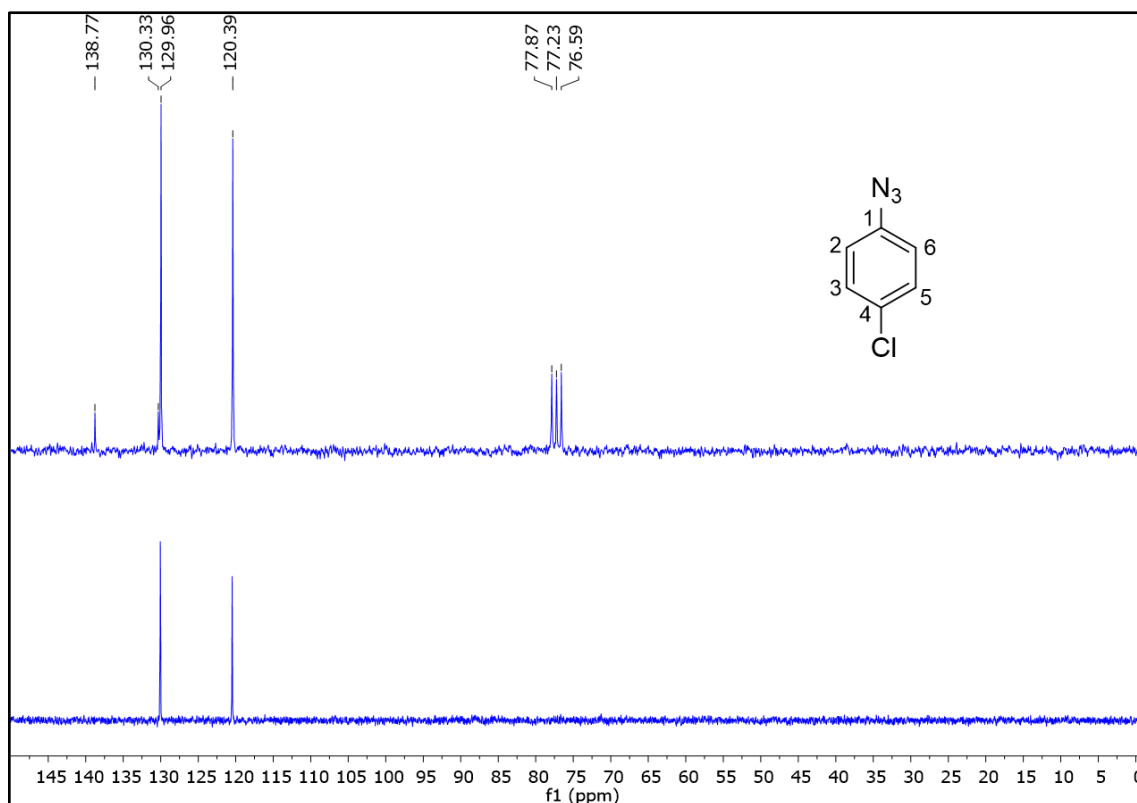


Figura A26. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para a 1-azido-4-clorobenzeno (50 MHz, CDCl_3).

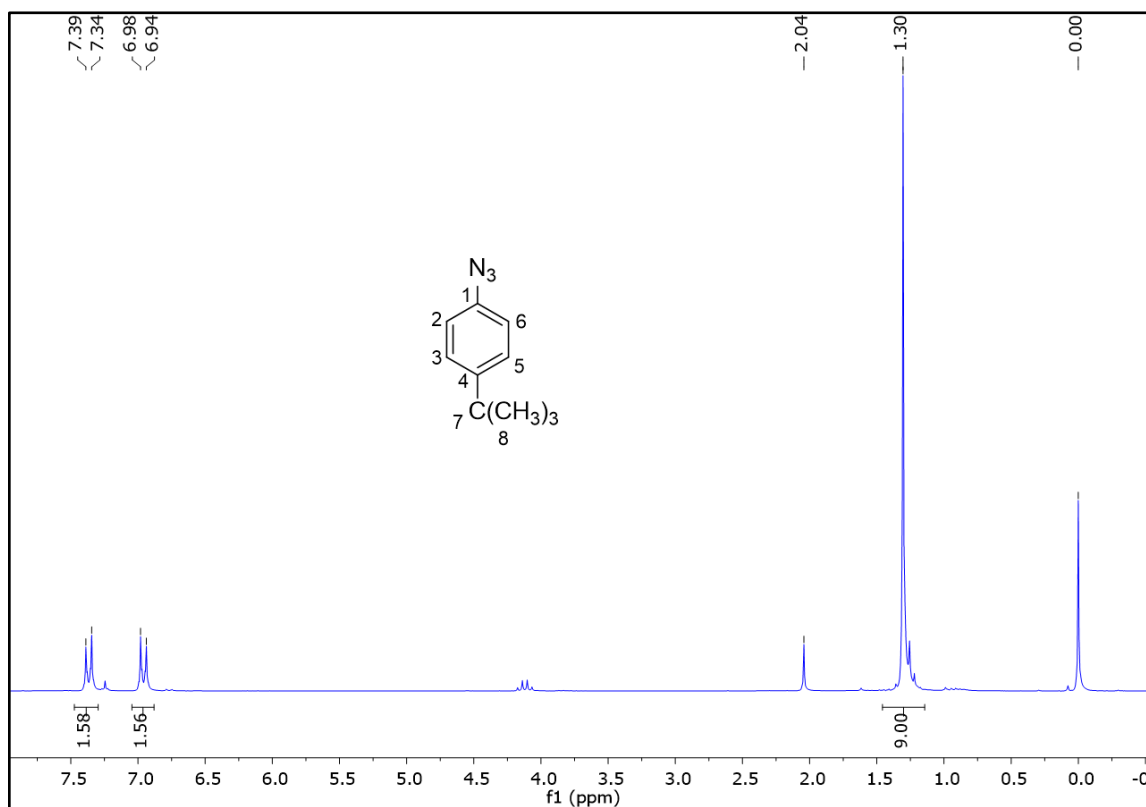


Figura A27. Espectro de RMN ¹H para a 1-azido-4-(terbutil)benzeno (200 MHz, CDCl₃).

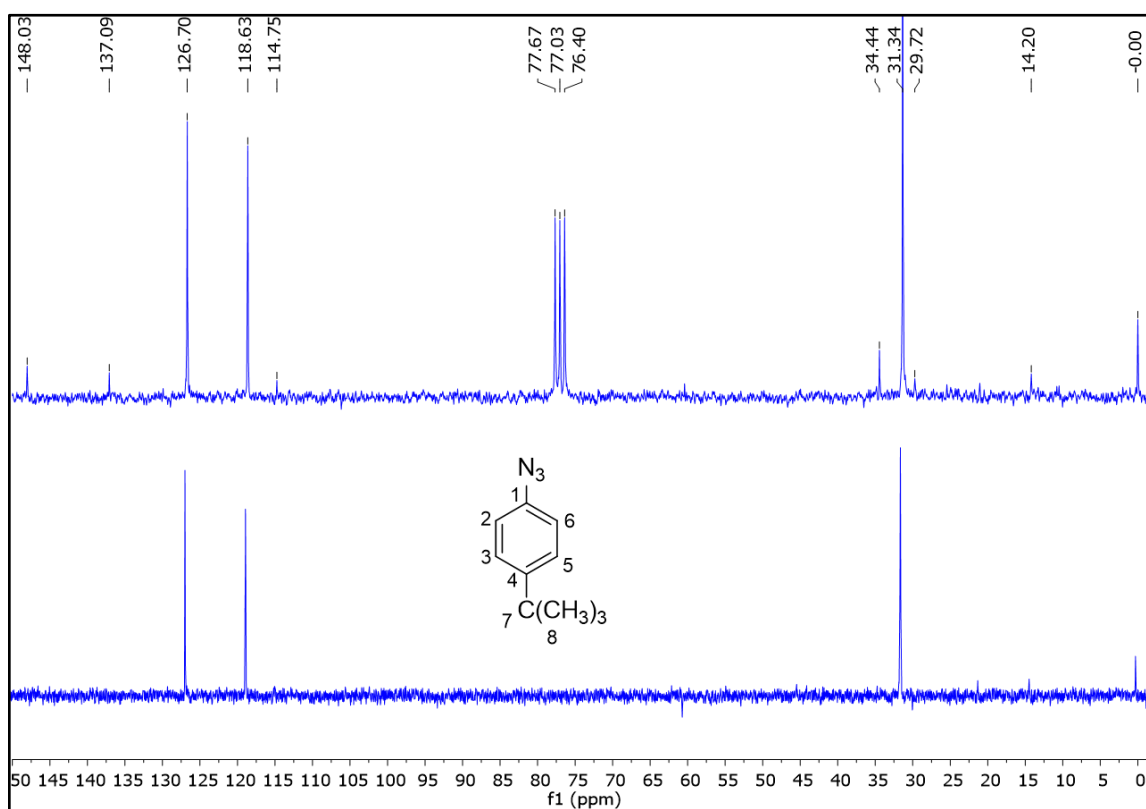


Figura A28. Espectro de RMN ¹³C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para a 1-azido-4-(terbutil)benzeno (50 MHz, CDCl₃).

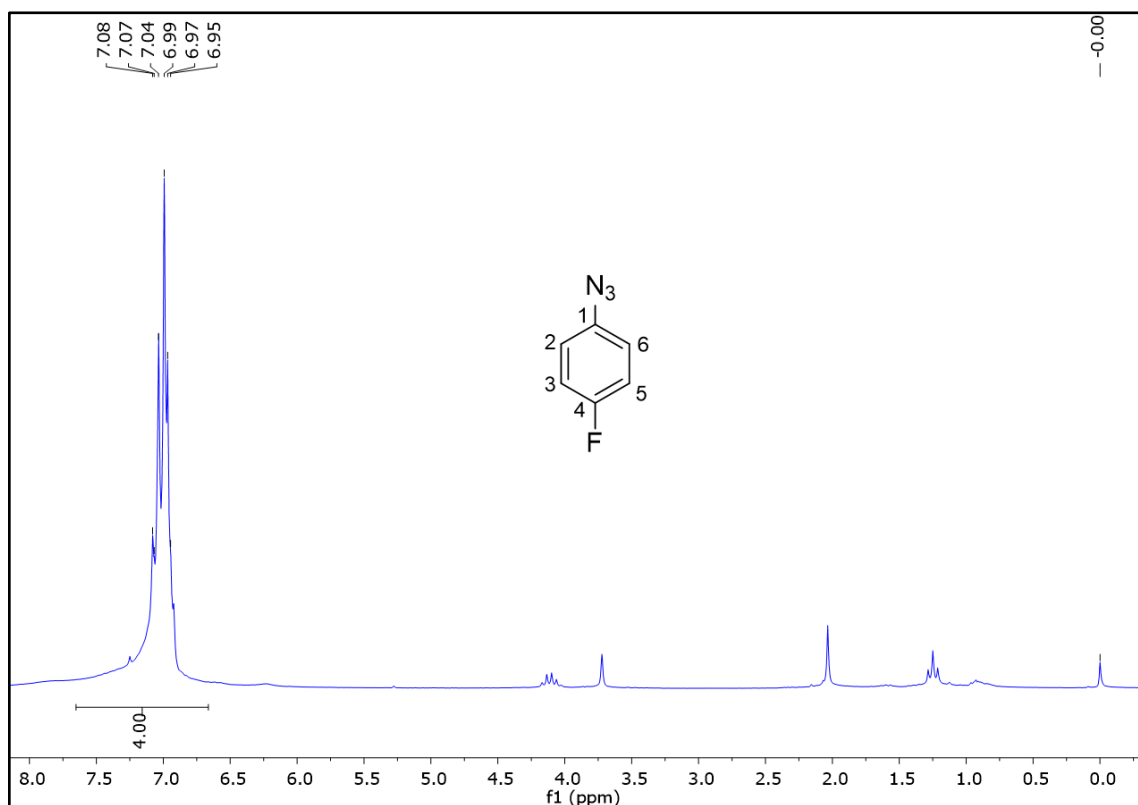


Figura A29. Espectro de RMN 1H para a 1-azido-4-fluorobenzeno (200 MHz, $CDCl_3$).

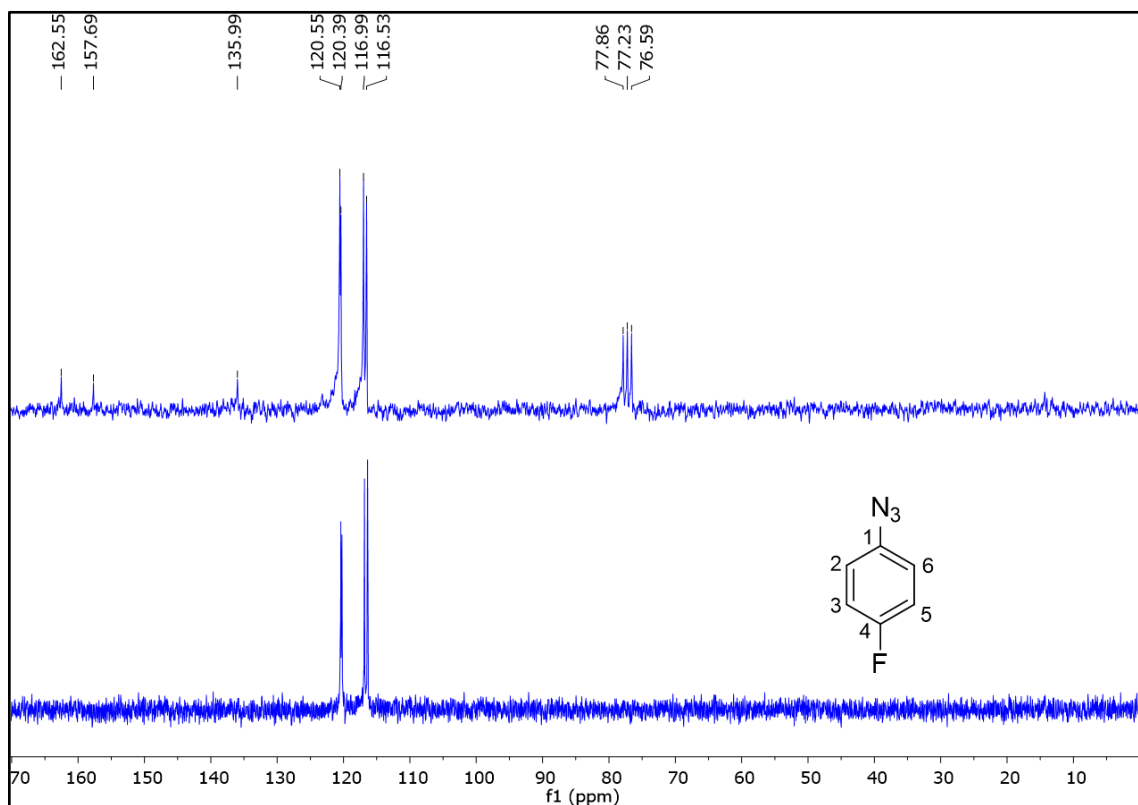


Figura A30. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para a 1-azido-4-fluorobenzeno (50 MHz, $CDCl_3$).

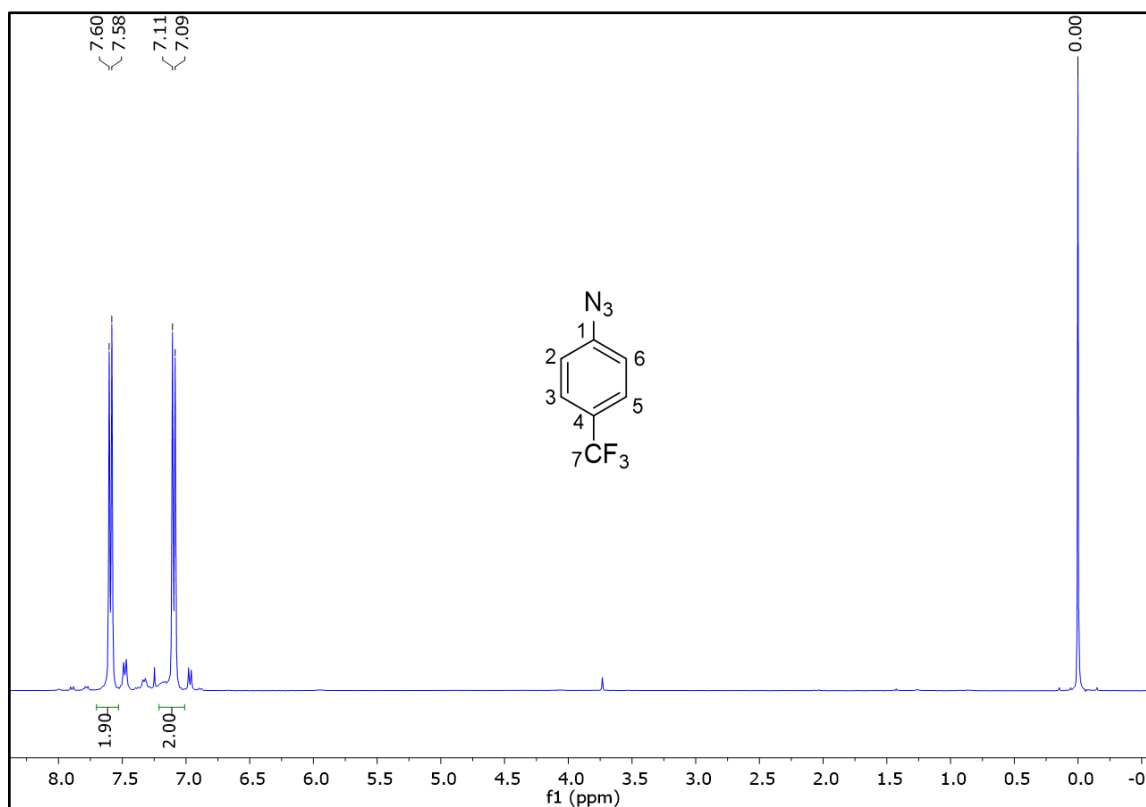


Figura A31. Espectro de RMN ^1H para a 1-azido-4-(trifluorometil)benzeno (400 MHz, CDCl_3).

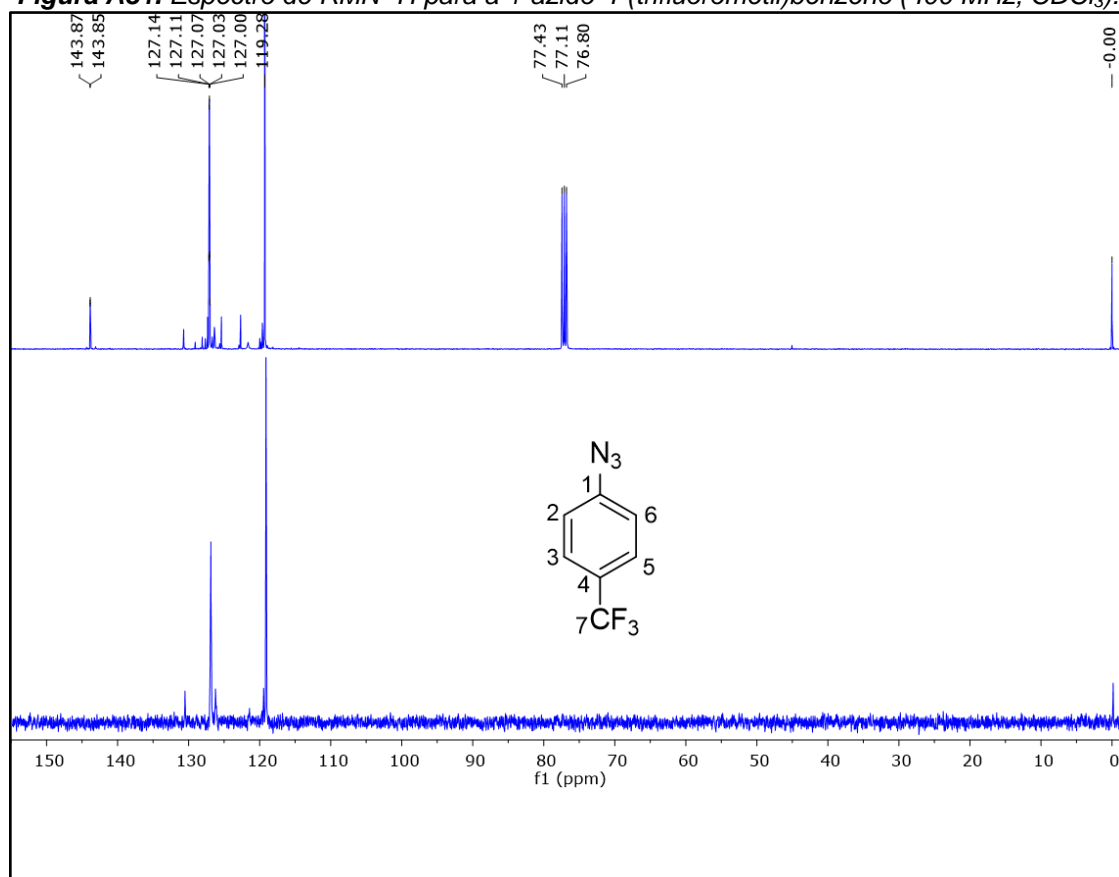


Figura A32. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 135 (abaixo) para a 1-azido-4-fluorobenzeno (100 MHz, CDCl_3).

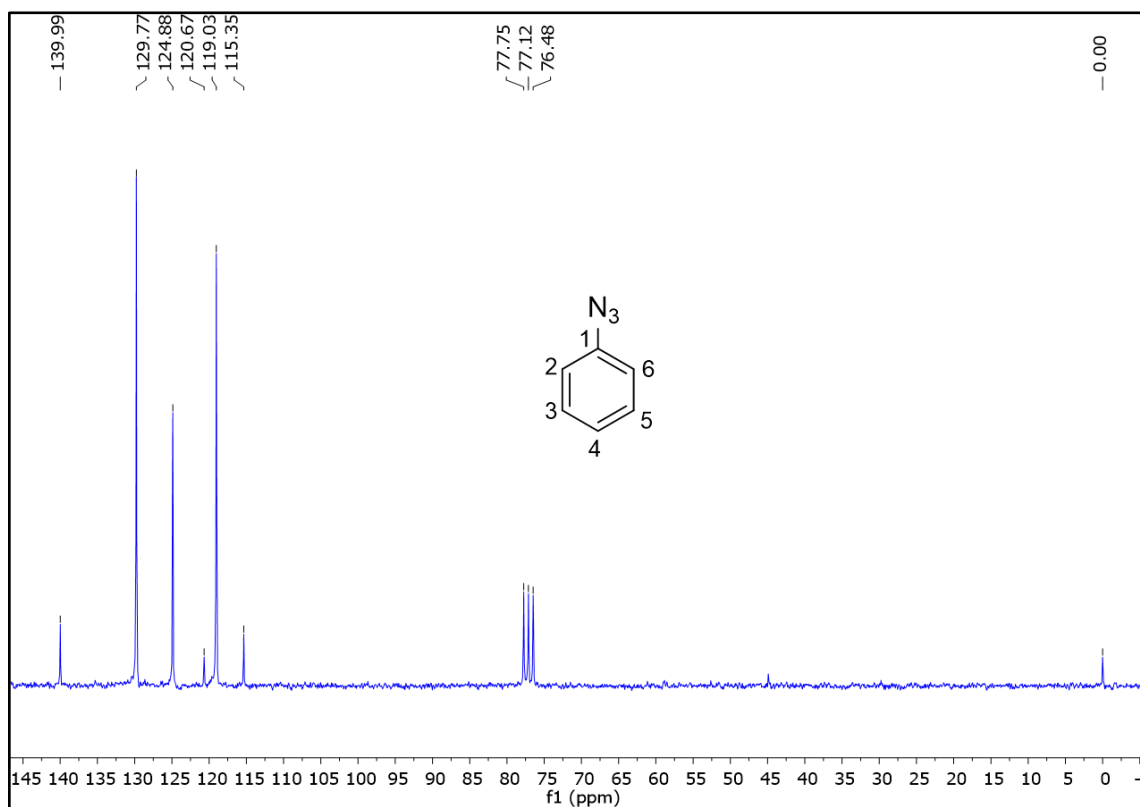


Figura A33. Espectro de RMN ^1H para a fenilazida (200 MHz, CDCl_3).

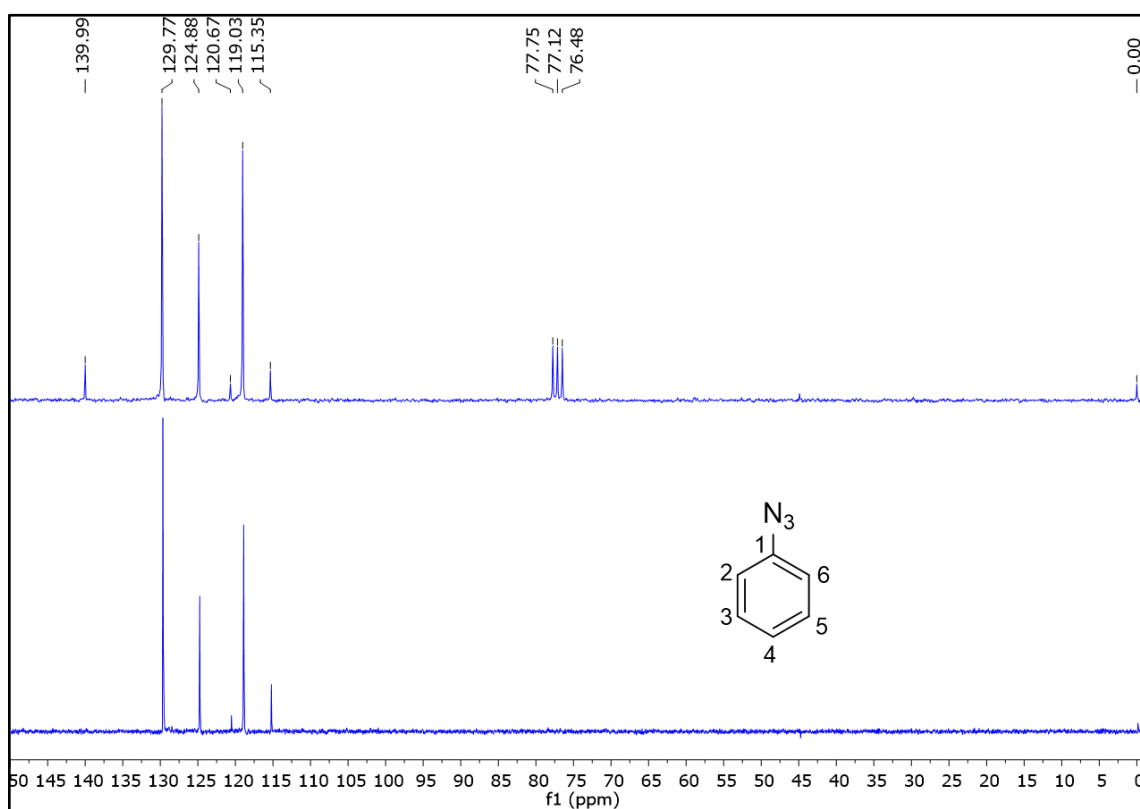


Figura A34. Espectro de RMN ^{13}C (acima) e DEPT 153 (abaixo) para a fenilazida (50 MHz, CDCl_3).