



Universidade Federal de Ouro Preto

Escola de Farmácia



Mariana Araújo Marques

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO
ANTIFÚNGICA DE NOVOS 1,2,3-TRIAZÓIS ANÁLOGOS DO
MICONAZOL, DERIVADOS DO EUGENOL E ANÁLOGOS**

OURO PRETO

2024

Mariana Araújo Marques

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO
ANTIFÚNGICA DE NOVOS 1,2,3-TRIAZÓIS ANÁLOGOS DO
MICONAZOL, DERIVADOS DO EUGENOL E ANÁLOGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Belarmino de Souza.

OURO PRETO

2024



FOLHA DE APROVAÇÃO

Mariana Araújo Marques

Síntese, caracterização estrutural e avaliação antifúngica de novos 1,2,3-triazóis análogos do miconazol, derivados do eugenol e análogos

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Farmacêutico

Aprovada em 07 de Outubro de 2024

Membros da banca

Dr. Thiago Belarmino de Souza - Orientador (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dra. Tânia Márcia Sacramento Melo (Universidade Federal de Ouro Preto)
Farmacêutico Augusto Vieira Pontes Silva (Universidade Federal de Ouro Preto)

Thiago Belarmino de Souza, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 18/10/2024



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Belarmino de Souza, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 18/10/2024, às 09:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0797074** e o código CRC **AAD35D60**.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela vida e por seu amor infinito.

Aos meus pais, Gilson e Regina, pelo amor que dedicaram à minha criação e educação. Ao meu irmão, Matheus, por sempre me incultar curiosidade sobre a natureza e o mundo.

Agradeço aos meus amigos Lucas, Rafael, Julia, Maria Eduarda, Bárbara e Igor que estiveram sempre ao meu lado.

Ao meu orientador, Thiago, por todas as oportunidades proporcionadas e por tanto conhecimento passado de modo tão cativante. Aos professores Saulo e Celinho, por toda dedicação pelo ensino.

A todos do Laboratório de Química Medicinal e Bioensaios, especialmente a Rúbia, por tanto ter me ajudado.

Agradeço, enfim, à Escola de Farmácia, pelo ensino superior de qualidade.

RESUMO

As infecções fúngicas representam um grave desafio de saúde pública em todo o mundo, mas ainda são tratadas como doenças negligenciadas. Estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas sejam afetadas globalmente, com 6,5 milhões de casos de infecções fúngicas invasivas anualmente, resultando em cerca de 2,5 milhões de mortes. Dentre as mais de 6 milhões de espécies de fungos conhecidas, cerca de 600 estão relacionadas a doenças humanas, sendo aquelas dos gêneros *Cryptococcus*, *Aspergillus* e *Candida* as mais comuns. Estudos recentes demonstraram a importante atividade antifúngica de novos imidazóis e 1,2,4-triazóis análogos do fármaco miconazol e derivados do eugenol e di-hidroeugenol contra *Candida* spp. e *Cryptococcus gattii*. Nesse contexto, neste trabalho foi proposta a síntese de novos análogos do miconazol derivados do eugenol, di-hidroeugenol ou guaiacol, com um padrão estrutural semelhante a esses primeiros azóis bioativos, com um núcleo bioisostérico 1,2,3-triazol. As 9 substâncias azólicas sintetizadas (**10-18**) foram caracterizadas por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , por espectroscopia na região do infravermelho e por espectrometria de massas. O potencial antifúngico dos novos triazóis foi avaliado contra *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e *Sporothrix* spp., sendo o derivado **13** ativo contra *Sporothrix schenckii* a $125\ \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Palavras-chave: eugenol, di-hidroeugenol, guaiacol, caracterização estrutural, avaliação antifúngica.

ABSTRACT

Fungal infections represent a serious global public health challenge but are still considered neglected diseases. It is estimated that over 1 billion people are affected worldwide, with 6.5 million cases of invasive fungal infections annually, resulting in approximately 2.5 million deaths. Among the more than 6 million known fungal species, about 600 are associated with human diseases, with the most common being *Cryptococcus*, *Aspergillus*, and *Candida*. Recent studies have demonstrated the significant antifungal activity of new imidazoles and 1,2,4-triazoles, analogs of the drug miconazole, and derivatives of eugenol and dihydroeugenol against *Candida* spp. and *Cryptococcus gattii*. In this context, this work proposed the synthesis of new miconazole-based analogs derived from eugenol, dihydroeugenol, or guaiacol, featuring a structural pattern similar to these initial bioactive azoles, with a 1,2,3-triazole bioisosteric core. The 9 synthesizedazole substances (**10-18**) were characterized by ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR), infrared spectroscopy, and mass spectrometry. The antifungal potential of the new triazoles was evaluated against *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and *Sporothrix* spp., with compound **13** showing activity against *Sporothrix schenckii* at $125\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Key-words: eugenol, dihydroeugenol, guaiacol, structural characterization, antifungal evaluation.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos derivados 4-6	29
Tabela 2: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos derivados 7-9	30
Tabela 3: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos triazóis 10-12	32
Tabela 4: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos éteres 13-15	37
Tabela 5: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos ésteres 16-18	41

Lista de figuras

Figura 1: Estrutura química da Anfotericina B	17
Figura 2: Estruturas químicas da Anidulafungina, Caspofungina e Micafungina	18
Figura 3: Estruturas químicas dos fármacos Clormidazol, Miconazol e Fluconazol	19
Figura 4: Interação dos azóis com a enzima CYP51	20
Figura 5: Mecanismo de desmetilação do Lanosterol	21
Figura 6: Estruturas químicas do eugenol, di-hidroeuogenol e guaiacol	23
Figura 7: Imidazóis ativos recentemente descobertos por nosso grupo de pesquisa... ..	24
Figura 8: Estrutura geral dos novos 1,2,3-triazóis propostos	25
Figura 9: Rota sintética para a síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos propostos	28
Figura 10: Planejamento dos novos 1,2,3-triazóis.....	46
Figura 11: Esquema de retrosíntese das substancias propostas	47
Figura 12: Proposta de mecanismo para a formação dos derivados oxiranos 4 a 6	49
Figura 13: Proposta de mecanismo para a síntese das alquilazidas.....	50
Figura 14: Proposta de mecanismo para a obtenção dos triazóis 10 a 12	51
Figura 15: Proposta de mecanismo para a síntese dos éteres propostos.....	52
Figura 16: Mecanismo proposto para a primeira etapa de síntese dos ésteres	54
Figura 17: Mecanismo proposto para a segunda etapa da reação para obtenção dos ésteres propostos.....	54
Figura 18: Comparação entre as estruturas das substâncias imidazólicas ativas de PÉRET et. al., e as substâncias 1,2,3-triazólicas deste trabalho	60

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Infecções fúngicas.....	13
2.1.1 Epidemiologia	13
2.1.2 Fatores de virulência e patogenicidade de fungos	14
2.2 Fármacos antifúngicos, mecanismos de ação e desafios	16
2.3 Resistência fúngica e seus mecanismos	21
2.4 Eugenol	23
3. OBJETIVOS	26
3.1 Objetivos gerais.....	26
3.2 Objetivos específicos.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 Síntese e caracterização das substâncias propostas.....	27
4.1.1 Procedimentos gerais	27
4.1.2 Síntese das substâncias propostas	27
4.1.2.1 Procedimento geral para a síntese dos derivados oxiranos do eugenol (4), di-hidroeugenol (5) e guaiacol (6)	28
4.1.2.2 Procedimento geral para a obtenção das alquilazidas (7-9) ..	29
4.1.2.3 Procedimento geral para a obtenção dos 1,2,3-triazóis hidroxilados (10-12)	31
4.1.2.4 Procedimento geral para a obtenção dos éteres (13-15)	36
4.1.2.5 Procedimento geral para a obtenção dos ésteres (16-18)	40
4.2 Avaliação da atividade antifúngica das substâncias sintetizadas.....	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.1 Planejamento estrutural e sintético dos novos triazóis.....	46
5.2 Síntese das substâncias planejadas	48
5.2.1 Síntese dos derivados oxiranos 4-6.....	48
5.2.2 Obtenção das alquilazidas 7-9.....	49
5.2.3 Síntese dos triazóis 10-12	50
5.2.4 Síntese dos éteres 13-15.....	52

5.2.5	Síntese dos ésteres 16-18	53
5.3	Caracterização química das substâncias sintetizadas	55
5.4	Avaliação <i>in vitro</i> da atividade antifúngica das substâncias triazólicas sintetizadas	59
6.	CONCLUSÃO	62
	REFERÊNCIAS	63
	ANEXO	70
	Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H, ¹³ C e Dept.....	70
	Substância 10	70
	Substância 11	71
	Substância 12	73
	Substância 13	74
	Substância 14	75
	Substância 15	77
	Substância 16	79
	Substância 17	80
	Substância 18	82
	Espectros de Massas.....	84
	Substância 10	84
	Substância 11	84
	Substância 12	85
	Substância 13	85
	Substância 14	86
	Substância 15	86
	Substância 16	87
	Substância 17	87
	Substância 18	88
	Espectros na região de infravermelho.....	89
	Substância 10	89
	Substância 11	89
	Substância 12	90
	Substância 13	90
	Substância 14	91

Substância 15.....	91
Substância 16.....	92
Substância 17.....	92
Substância 18.....	93

1. INTRODUÇÃO

As infecções causadas por fungos representam um grave problema de saúde pública global, e as candidíases, infecções causadas por diferentes espécies de *Candida*, figuram atualmente como as principais causas de infecções nosocomiais (SULEYMAN et. al., 2021). Estima-se que anualmente 6,5 milhões de pessoas sejam acometidas por infecções fúngicas invasivas, resultando em cerca de 2,5 milhões de mortes, o que representa mais de seis vezes o número de mortes por malária e quase três vezes o número de mortes por tuberculose em todo o mundo (DENNING, 2024).

A população mais afetada e susceptível a complicações por infecções fúngicas sistêmicas são, entre outros, os imunocomprometidos, os transplantados, portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), pessoas com doenças pulmonares crônicas e pacientes em internações hospitalares de longa duração (CDC, 2024). Durante a pandemia da COVID-19 também foram relatados inúmeros casos de coinfeção entre o vírus SARS-CoV-2 e fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Candida* e da ordem *Mucorales*, com desfechos quase sempre fatais (SONI et. al., 2021), o que despertou um maior alerta sobre a ameaça de patógenos fúngicos à saúde humana. Além disso, têm-se observado nos últimos anos o surgimento dos chamados superfungos, como a *Candida auris*, que apresentam resistência aos fármacos comercialmente disponíveis e alta taxa de mortalidade associada (MISHRA et. al., 2023).

O arsenal terapêutico antifúngico atual ainda é escasso e se resume em três principais classes de fármacos, sendo eles os azóis, os polienos e as equinocandinas, que estão associados a graves problemas de resistência fúngica, alta toxicidade e problemas farmacocinéticos (HOŠŤ et. al., 2020). Além disso, entre os anos de 2006 e 2021 nenhum novo fármaco antifúngico foi aprovado pelas agências reguladoras, o que mudou apenas recentemente com a aprovação do Oteseconazol em 2022 (U.S. FDA, 2022) e da Rezafugina em 2023 (U.S. FDA, 2023) pela agência reguladora Norte Americana FDA (U.S. Food and Drug Administration).

Nesse contexto, torna-se cada vez mais necessária a busca por novos candidatos a fármacos antifúngicos livres de problemas farmacocinéticos e

eficazes contra cepas multirresistentes, como a de *Candida auris*. Diante da necessidade e urgência quanto ao desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos, e considerando este mesmo potencial biológico descoberto para diferentes derivados do eugenol (PÉRET et. al., 2023), propôs-se neste trabalho a síntese de 1,2,3-triazóis inéditos análogos do fármaco miconazol. As novas substâncias 1,2,3-triazólicas propostas são derivadas do eugenol, dihidroeugenol e guaiacol.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Infecções Fúngicas

2.1.1 Epidemiologia

Estudos demonstram que mais de 1 bilhão de pessoas convivem com algum tipo de infecção fúngica no mundo (BONGOMIN et. al., 2017). Esta alta prevalência demonstra como os fungos são versáteis em causar doenças de caráter crônico não invasivo, como as micoses superficiais, que podem acompanhar uma pessoa por anos ou por toda a vida. Entretanto, esses microorganismos também têm grande potencial em provocar infecções invasivas graves com alto grau de mortalidade, sobretudo na população imunocomprometida. Estimativas recentes apontam que, anualmente, 6,5 milhões de indivíduos são acometidos por infecções fúngicas sistêmicas, resultando em 2,5 milhões de mortes no planeta (DENNING, 2024).

Em relação às infecções fúngicas invasivas alguns fatores de risco devem ser levados em consideração para avaliar tanto a susceptibilidade quanto o prognóstico. Pessoas imunocomprometidas estão mais susceptíveis a contraírem essas infecções oportunistas e apresentarem desfecho de óbito. Nesse aspecto, indivíduos em tratamento contra cânceres, portadores do vírus HIV, pessoas com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), transplantados, pacientes em tratamento com antibióticos e corticóides, e aqueles em internações hospitalares de longa duração precisam de atenção redobrada, por representarem um público com probabilidade aumentada de acometimento (CDC, 2024).

A pandemia de COVID-19 revelou um cenário preocupante em relação às infecções fúngicas, especialmente em pacientes hospitalizados. O uso prolongado de ventilação mecânica, corticosteroides e outros tratamentos imunossupressores aumentou significativamente o risco de infecções oportunistas por fungos, principalmente os dos gêneros *Aspergillus* e *Candida* e da ordem *Mucorales*, com desfechos quase sempre fatais (SONI et. al., 2021). Esse contexto de emergência na saúde global sublinhou a necessidade urgente de desenvolvimento de novas substâncias antifúngicas e estratégias

de manejo para lidar com essas infecções em ambientes hospitalares.

Para além desses determinantes de risco, outros fatores socioeconômicos e geoclimáticos são importantes para explicar a propagação de determinadas micoses. Fungos patogênicos, anteriormente restritos a certas regiões, estão sendo detectados em novas áreas geográficas devido à globalização das atividades humanas e ao aumento do diagnóstico e conscientização (SENGUPTA, 2024). Além disso, têm-se observado a mudança do nicho ecológico de determinadas fungos, como a *Candida auris*, que anteriormente existia como espécie saprófita de plantas em áreas tropicais e que, devido a mudanças climáticas, adquiriu características favoráveis à infecção em humanos (CASADEVALL et. al., 2019), tornando-se hoje um superfungo resistente aos fármacos disponíveis e com alta taxa de mortalidade associada (MISHRA et. al., 2023).

No Brasil, os dados epidemiológicos sobre infecções fúngicas ainda são subestimados (GIACOMAZZI, 2015), isso porque, no país, doenças fúngicas não têm notificação compulsória, isto é, os profissionais da saúde não são obrigados a notificá-las às autoridades governamentais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024). Essa situação impede a compreensão da real situação do país e compromete futuras medidas emergenciais, o que é um risco, já que se tem observado no Brasil um cenário preocupante, em que o país tem apresentado altas taxas de incidência de criptococose (SILVA, 2020) e ainda, desde 2020, vem registrando casos do superfungo *Candida auris* (SBMT, 2023).

2.1.2 Fatores de virulência e patogenicidade de fungos

Os fungos são microorganismos eucariontes que possuem importantes papéis no meio ambiente, como a decomposição de matéria orgânica e a interação simbiótica com diferentes espécies de animais, plantas e algas. Estima-se que existam mais de 6 milhões de espécies diferentes de fungos no mundo, mas menos de 1% delas causam infecções nos seres humanos (STRICKLAND; SHI, 2021). Cerca de 600 espécies de fungos são patogênicas para o homem sendo que entre elas há uma característica evolutiva em comum relacionada à sua capacidade de virulência: a termotolerância (BROWN et. al., 2024). Além de precisarem se adaptar às diferentes temperaturas dos compartimentos

teciduais, outros fatores importantes para a virulência dos fungos incluem a capacidade de propagação para/e através do corpo humano e a presença de enzimas digestivas apropriadas para degradação do tecido infectado e nutrição do fungo; a exemplo, a *Candida albicans*, um importante patógeno humano, possui 10 diferentes tipos de proteinases ácidas destinadas a esse fim (KÖHLER et. al., 2017).

Entre as diferentes espécies de fungos patogênicas para o ser humano, destacam-se aquelas pertencentes aos gêneros *Candida*, *Aspergillus* e *Cryptococcus*. Algumas características desses patógenos explicam a maior suscetibilidade à infecção em humanos, como a capacidade das *Candida* spp. em formar biofilmes em mucosas e dispositivos médicos (SKVORTSOVA; SPAN, 2020); a resistência dos *Aspergillus* spp. ao estresse oxidativo induzido pelo sistema imune do hospedeiro (ZHAI et. al., 2021); e a presença de cápsulas celulares polissacarídicas que impedem a fagocitose dos *Cryptococcus* spp. (CHUNG et. al., 2014).

Os fungos do gênero *Candida* estão associados a uma variedade de doenças no homem, desde afecções da pele e das mucosas oral e genital, até infecções sistêmicas (YANG; RAO, 2018). Normalmente presentes como parte constituinte da microbiota humana em até 60% dos indivíduos saudáveis (KULLBERG; ARENDRUP, 2015), estes fungos podem desenvolver virulência em situações de comprometimento da imunidade. Dentre as espécies de *Candida* patogênicas para humanos, destacam-se: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* (PFALLER et. al., 2019). A espécie com maior incidência patológica, *C. albicans*, que coloniza normalmente os tratos gastrointestinal e vaginal, além da pele de pessoas saudáveis, está associada a distúrbios mucocutâneos e a doenças sistêmicas graves que acometem diversos órgãos, com taxa de mortalidade elevada (TALAPKO et. al., 2021). Outra espécie de *Candida* de grande interesse atual é a *C. auris*, superfungo resistente a diversos antifúngicos comerciais (MISHRA et. al., 2023).

As espécies do gênero *Aspergillus* são sapróbias e não fazem parte da microbiota humana normal, sendo o principal mecanismo de infecção a inalação de esporos fúngicos (BARAC et. al., 2024). Das espécies de *Aspergillus* conhecidas, 34 são consideradas patogênicas para o homem, sendo as mais importantes *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus* (QI et.

al., 2024). Dentre elas, *A. fumigatus* é a principal causadora da aspergilose, doença que apresenta manifestações clínicas pulmonares e, sobretudo em pacientes imunocomprometidos, pode evoluir para a Aspergilose Pulmonar Invasiva (API), quando o fungo se dissemina para outros órgãos do corpo, com alta taxa de mortalidade associada (CDC, 2024).

As espécies do gênero *Cryptococcus* são amplamente distribuídos no ambiente e, assim como *Aspergillus* spp., não constituem parte da microbiota humana saudável, sendo o principal meio de infecção a inalação de esporos (CDC, 2024). A criptococose pode se manifestar pela infecção pulmonar, meningíca ou disseminada, sendo as espécies associadas à patogenicidade em humanos *C. neoformans* e *C. gattii*. A população mais afetada por essas doenças são, novamente, os imunocomprometidos. Estima-se que, anualmente, cerca de 250.000 pessoas desenvolvem meningite criptocócica e 180.000 evoluem a óbito (FIRACATIVE et. al., 2022).

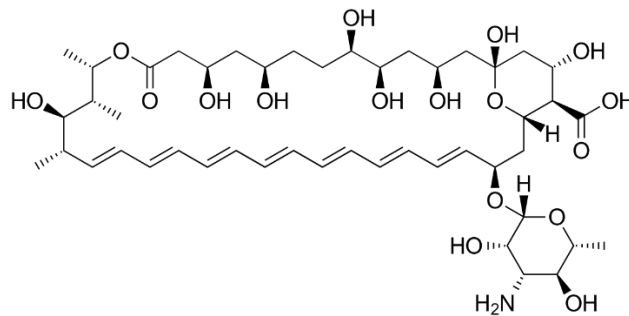
2.2 Fármacos antifúngicos, mecanismos de ação e desafios

Os fármacos antifúngicos atualmente disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas se dividem em apenas três classes: polienos, equinocandinas e azóis. Problemas de resistência fúngica contra os fármacos azólicos, alta toxicidade apresentada pelos fármacos poliênicos e problemas farmacocinéticos apresentados pelas equinocandinas são as principais limitações associadas aos fármacos antifúngicos disponíveis clinicamente (HOUŠŤ et. al., 2020).

Os fármacos poliênicos são provenientes de um grupo de mais de 200 moléculas que vêm sendo descobertas desde 1950, embora apenas uma delas, a Anfotericina B (Figura 1), seja utilizada para tratamento de micoses sistêmicas (HOUŠŤ et. al., 2020). Essas substâncias apresentam características orgânicas particulares, como a presença de um sistema de carbonos com 3 a 8 ligações duplas alternadas dentro de um anel macrolactônico. São moléculas com regiões predominantemente hidrofóbicas, mas, na região próxima do grupo hemiacetal, possuem grupos polares ionizáveis como a carboxila, e, ao lado, um aminoaçúcar, grupos importantes para as interações intra e intermoleculares relacionadas aos seus mecanismos

de ação (ZOTCHEV, 2003).

Figura 1: Estrutura química da Anfotericina B.



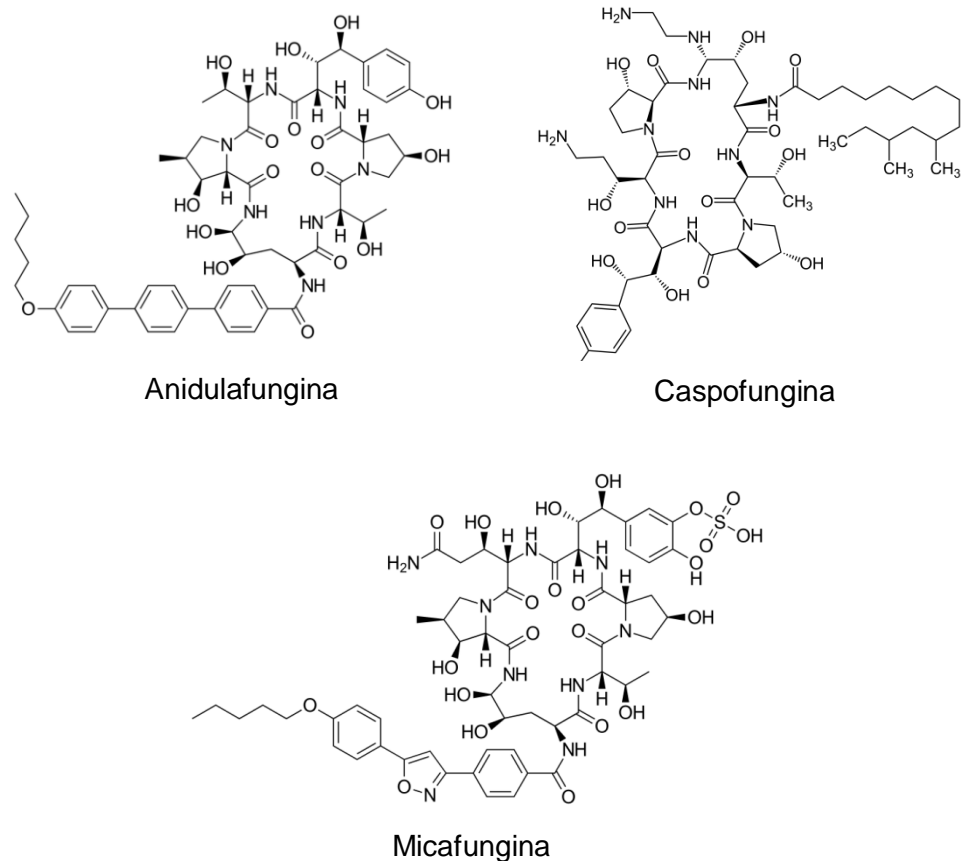
A Anfotericina B é produzida pela bactéria gram-positiva *Streptomyces nodosus* e sua ação antifúngica está relacionada a dois diferentes mecanismos. No primeiro, essa substância bioativa interage com o ergosterol presente na camada lipídica da célula fúngica, levando à formação de poros hidrofílicos que permitem a saída de íons e glicose, causando a morte do fungo. O outro mecanismo relaciona-se à capacidade dessa substância em induzir espécies reativas de oxigênio (ROS) no interior da célula fúngica, o que acarreta danos irreversíveis de estruturas como o DNA, proteínas, mitocôndrias e membranas celulares (HOUŠŤ et. al., 2020).

A Anfotericina B, um dos fármacos de primeira escolha no tratamento de infecções fúngicas sistêmicas, também é capaz de interagir com o colesterol das membranas das células humanas e esse fato explica seu alto grau de toxicidade. Estima-se que cerca de 80% dos pacientes em tratamento com esse antifúngico desenvolvem problemas relacionados à infusão celular, como hipocalcemia e hipomagnesemia, além de nefrotoxicidade (NOOR; PREUSS, 2024).

As equinocandinas correspondem a uma classe de antifúngicos semissintéticos derivados das pneumocandinas, substâncias estas produzidas por diferentes microorganismos, muitos deles fungos, como o *Aspergillus nidulans*, a *Glarea lozoyensis* e o *Coleophoma empetri*. Atualmente três fármacos dessa classe são utilizados clinicamente, sendo eles a Anidulafungina, a Caspofungina e a Micafungina (Figura 2). Essas substâncias são lipopeptídeos com estrutura de

hexapeptídeos cíclicos conectados a uma cadeia lateral de ácido graxo (MARTINEZ, 2006).

Figura 2: Estruturas químicas da Anidulafungina, Caspofungina e Micafungina.



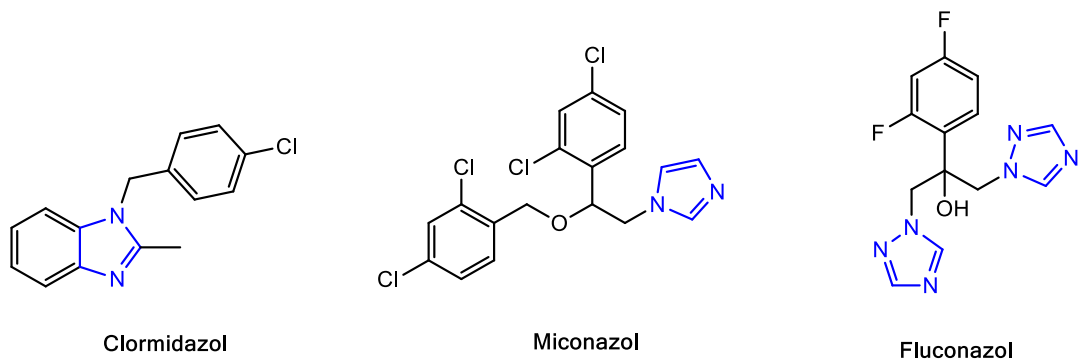
O mecanismo de ação das equinocandinas baseia-se na inibição da enzima β -D-(1,3)-glucana sintase, responsável pela síntese a β -D-1,3-glucana, importante polissacarídeo constitutivo da parede celular de diversos gêneros de fungos. As glucanas, incluindo a β -D-1,3-glucana constituem cerca de 50 a 60% da parede celular fúngica, garantindo sua integridade. Logo, a inibição da síntese dessa glucana leva a anormalidades estruturais na célula fúngica, resultando na inibição do seu crescimento ou na sua morte devido a desequilíbrios na osmolaridade (SZYMAŃSKI et. al., 2022).

Esses antifúngicos, no entanto, apresentam problemas farmacocinéticos importantes, como a baixa absorção oral devido à sua alta hidrofiliicidade, sendo, por isso, administrados apenas intravenosamente; têm alta capacidade de se ligarem a proteínas plasmáticas, o que diminui sua fração livre ativa,

além de afetar sua distribuição, metabolismo e excreção; devido ao seu alto peso molecular e hidrofiliçidade, as equinocandinas não conseguem penetrar as barreiras hematoencefálica e ocular, o que as torna pouco eficazes quanto a infecções fúngicas nesses tecidos (SHEPPARD; LAMPIRIS, 2012).

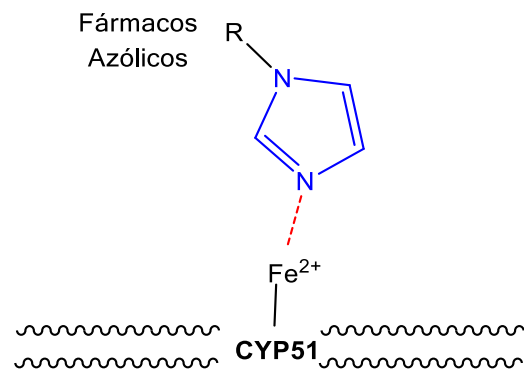
Finalmente, os fármacos azólicos representam uma classe amplamente utilizada na prática clínica. O primeiro composto azólico foi descoberto em 1944, mas só em 1958 foi desenvolvido um medicamento azólico, o clormidazol (Figura 3). Esses fármacos têm em comum a presença de um anel azólico, que é um heterociclo de cinco membros contendo 2 ou 3 átomos de nitrogênio (imidazol e triazol, respectivamente). Dois importantes antifúngicos utilizados atualmente são o miconazol (que contém um núcleo imidazólico) e o fluconazol (que contém dois núcleos 1,2,4-triazólicos), representados na Figura 3 (SHAFIEI et. al., 2020).

Figura 3: Estruturas químicas dos fármacos Clormidazol, Miconazol e Fluconazol.

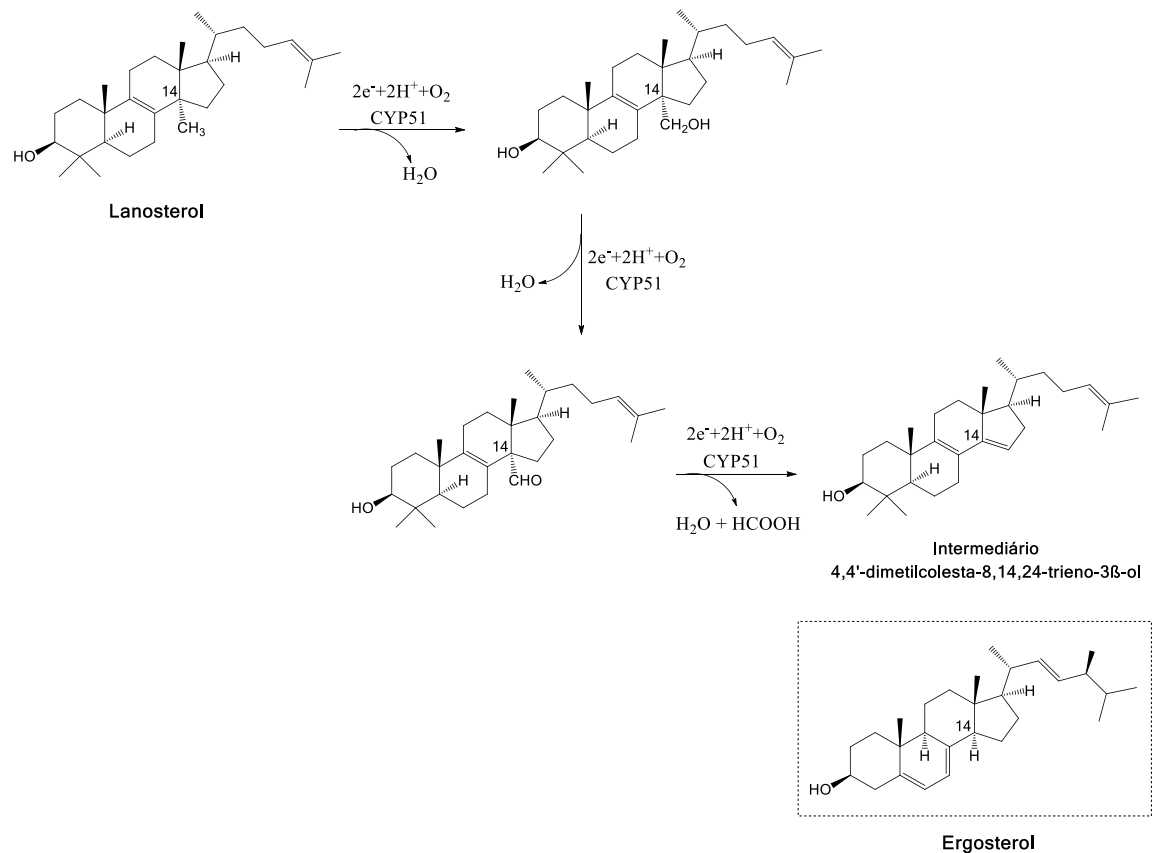


O mecanismo de ação dos azóis consiste na inibição da produção do ergosterol, substância essencial para a estabilidade das membranas fúngicas. Esse efeito é alcançado pela inibição da enzima microsossomal 14- α -lanosterol desmetilase (CYP51) do fungo, cuja principal interação se dá entre um nitrogênio do anel azólico do fármaco com um átomo de ferro do grupo prostético heme da enzima, conforme ilustrado na Figura 4 (SHAFIEI et. al., 2020).

Figura 4: Interação dos azóis com a enzima fúngica CYP51.



As enzimas do citocromo P450 (CYP, em abreviação), constituem uma superfamília de hemeases que desempenham papéis metabólicos importantes em diversos organismos vivos, como animais, plantas, fungos e em alguns protozoários e bactérias. A proteína 14- α -lanosterol desmetilase (CYP51) pertence a essa superfamília (CYP) e participa de processos de catálise de substratos como o lanosterol, precursor do ergosterol. A CYP51 está amplamente distribuída entre as diferentes espécies de fungos, apresentando variações quanto a seus tipos e subtipos. Invariavelmente, todas as CYP51s participam da biossíntese do ergosterol, esterol vital aos fungos por garantir fluidez e permeabilidade às suas membranas celulares (ZHANG et. al., 2019). As vias metabólicas de síntese do ergosterol são muitas e envolvem cerca de 20 etapas. A CYP51 participa especificamente da etapa de desmetilação do lanosterol por mecanismos de oxidação. Esse processo envolve três oxidações sucessivas da metila na posição 14 com posterior eliminação de um aldeído protonado e formação de uma ligação dupla (Figura 5) (HARGROVE et.al., 2017).

Figura 5: Mecanismo de desmetilação do Lanosterol.

Quando comparados às demais classes de antifúngicos, os azóis podem ser considerados os fármacos com melhor perfil terapêutico por apresentarem menor espectro de efeitos adversos e melhores parâmetros farmacocinéticos. Entretanto, não se pode desconsiderar seus efeitos potencialmente tóxicos, haja vista a sua interação com enzimas como a CYP-450, que está relacionada a toxicidade hepática potencialmente fatal com o uso prolongado desses medicamentos (DIXON; WALSH, 2012; ALLEN et. al., 2015). Devido à ampla utilização dos azóis, muitos casos de resistência fúngica vêm sendo relatados, a exemplo, até 5% dos pacientes com candidemia causada por *C. albicans* e tratados com Fluconazol apresentam complicações devido à resistência a esse fármaco (WHARLEY et. al., 2016).

2.3 Resistência fúngica e seus mecanismos

A resistência microbiana deriva da capacidade intrínseca da adaptação dos

seres vivos às adversidades do ambiente que os circunda. Atualmente, muito se discute sobre a resistência bacteriana aos antibióticos e como esse cenário representa uma ameaça à saúde pública mundial. Embora essa seja uma verdade, a ameaça da resistência fúngica aos antifúngicos comerciais é também um quadro preocupante e que possui agravantes importantes, já que as infecções fúngicas permaneceram por muitos anos e ainda permanecem como doenças negligenciadas, e em parte por causa disso, seu arsenal terapêutico é escasso comparativamente aos fármacos antibacterianos (RODRIGUES; NOSANCHUK, 2020). Nesse cenário, o surgimento de fungos resistentes aos fármacos comerciais acende o alerta da urgência de se desenvolver novos antifúngicos.

Os fármacos azólicos são a classe de antifúngicos com maior índice de resistência fúngica e diversos são os mecanismos bioquímicos que explicam a adaptação desses microorganismos a essa classe de medicamentos. A exemplo, a mutação de genes ERG11, responsáveis pela codificação da enzima 14- α -lanosterol desmetilase (CYP51), pode levar a substituição de aminoácidos dessa proteína, ocasionando menor afinidade ao fármaco antifúngico. Outro mecanismo bastante comum é o aumento da expressão dos genes ERG11, o que promove maior biosíntese da CYP51 e, conseqüentemente, maior produção de ergosterol, o que permite ao fungo manter a integridade de sua membrana celular, compensando os danos causados pelo fármaco azólico. Essas alterações já foram observadas em cepas de *C. albicans*, justificando sua resistência ao Fluconazol (WHARLEY et. al., 2016).

A resistência fúngica à Anfotericina B é rara, mas existe e está relacionada, por exemplo, às respostas ao estresse mediadas pela proteína HSP90. Esta proteína auxilia na estabilização de diversas proteínas constituintes do fungo, como aquelas que regulam os danos estruturais causados pelo fármaco (LEE; COWEN, 2023). Em relação às equinocandinas, um mecanismo de resistência importante ocorre quando da mutação de genes FK, responsáveis pela codificação das subunidades da β -(1,3)-D-glucano sintase, causando alterações estruturais nessa enzima e, conseqüentemente, diminuindo a sua afinidade com o fármaco (PERLING, 2015).

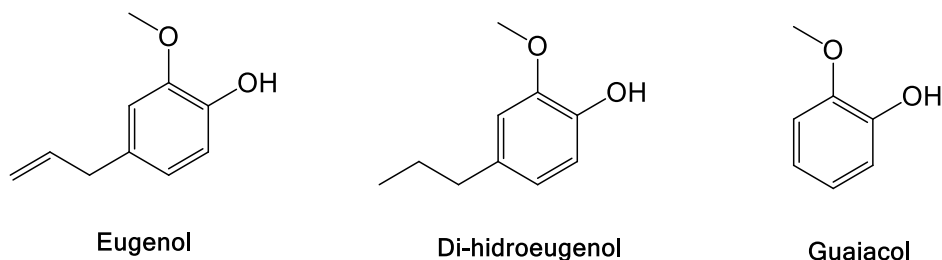
A resistência de fungos emergentes e multiresistentes como a *Candida auris*

envolve a soma de múltiplos mecanismos de adaptação desses patógenos. Além disso, esses microorganismos apresentam grande plasticidade genética, isto é, são capazes de adquirir mutações pontuais, rearranjos cromossomais como a aneuploidia e mudanças epigenéticas (LEE et. al., 2023).

2.4 Eugenol

O eugenol é um composto aromático fenólico constituinte do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). Essa substância volátil foi isolada pela primeira vez em 1929 e começou a ser comercializada em 1940 nos Estados Unidos. Desde então, suas propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas, anticancerígenas, anti-inflamatórias e antioxidantes vêm sendo amplamente estudadas e aplicadas. Análogos do eugenol como o di-hidroeugenol e guaiacol (Figura 6) apresentam propriedades semelhantes e aplicação no desenvolvimento de novos fármacos (ULANOWSKA; OLAS, 2021).

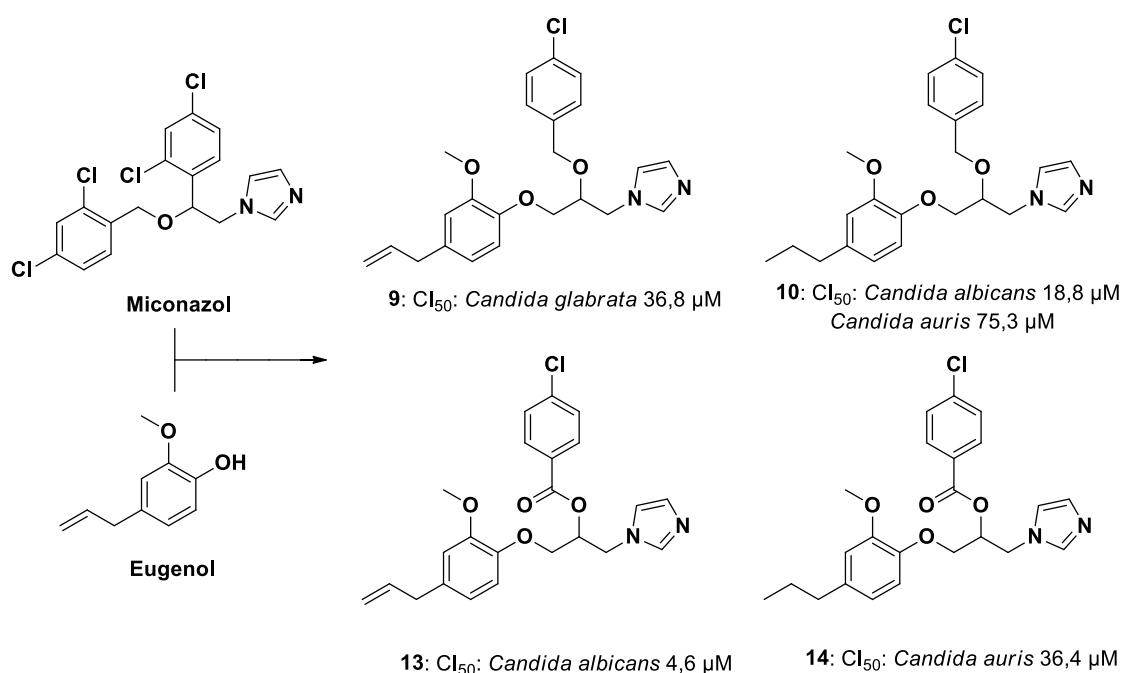
Figura 6: Estruturas químicas do eugenol, di-hidroeugenol e guaiacol.



Em estudo recente publicado por nosso grupo de pesquisa, foram sintetizados novos imidazóis e 1,2,4-triazóis baseados no miconazol e derivados dos fenóis eugenol e di-hidroeugenol, tendo sido observada a atividade de alguns dos compostos imidazólicos contra *Candida* spp. e *Cryptococcus gattii* na faixa de 4,6-75,3 μ M. Essas substâncias ativas possuíam, além do núcleo azólico, unidades 4-clorobenzila ou 4-clorobenzoíla que se demonstraram essenciais na interação π -stacking com resíduos de aminoácidos do bolso hidrofóbico da CYP51, o que contribuiu para a atividade antifúngica dessas moléculas, de acordo com estudos de docking molecular realizados. (PÉRET et al., 2023).

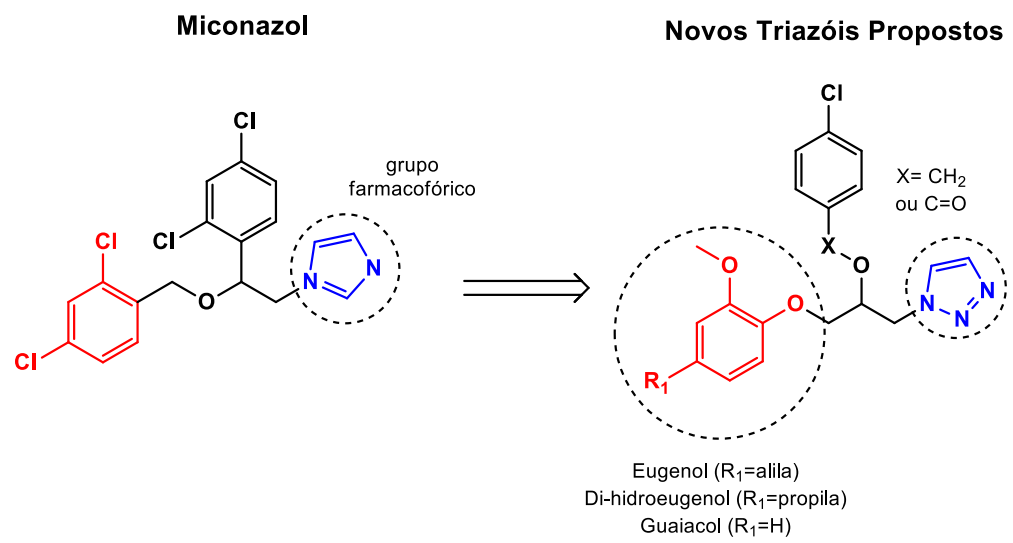
Em relação aos núcleos farmacofóricos azólicos dessas substâncias, observou-se que apenas aquelas que possuíam o núcleo imidazólico apresentaram atividade antifúngica, (Figura 7), enquanto as substâncias com o núcleo 1,2,4-triazólico foram inativas. Esses resultados sugeriram maior afinidade relativa do imidazol com o grupo heme da CYP51 comparativamente à afinidade dos 1,2,4-triazóis. (PÉRET et al., 2023).

Figura 7: Imidazóis ativos recentemente descobertos por nosso grupo de pesquisa.



Nesse contexto, buscando avaliar a importância de diferentes tipos de anéis azólicos, como imidazol, 1,2,4-triazol e 1,2,3-triazol para a atividade antifúngica, propôs-se neste trabalho a síntese de substâncias também análogas ao miconazol e derivadas do eugenol, di-hidroeugenol e guaiaicol com a substituição do heterociclo azólico por um anel 1,2,3-triazólico (Figura 8), já que não existe até o momento nenhum fármaco azólico aprovado contendo este tipo de anel azólico.

Figura 8: Estrutura geral dos novos 1,2,3-triazóis propostos.



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivos a síntese e a avaliação da atividade antifúngica de 1,2,3-triazóis inéditos, análogos do miconazol, derivados do eugenol, di-hidroeugenol e guaiacol.

3.2 Objetivos específicos

- Síntese de novos 1,2,3-triazóis derivados do eugenol e seus análogos di-hidroeugenol e guaiacol;
- Purificação das substâncias sintetizadas por técnicas de cromatografia em camada de sílica;
- Caracterização da estrutura química das substâncias sintetizadas por meio de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , espectroscopia na região do infravermelho e espectrometria de massas de alta resolução (HRMS);
- Investigação do potencial antifúngico das substâncias sintetizadas contra *Candida* spp.;
- Determinação do índice de seletividade das substâncias ativas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Síntese e caracterização das substâncias propostas

4.1.1 Procedimentos gerais

Os pontos de fusão dos azóis sólidos foram determinados em um aparelho Reichert Austria no laboratório de Química Medicinal e Bioensaios da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP-MG).

As análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas no Laboratório Multiusuário do departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP-MG), utilizando o espectrômetro ABB Bomenn MB 3000 FTIR, com dispositivo ATR, na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} .

Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C das substâncias sintetizadas foram obtidos em um espectrômetro Bruker AC-400 (400 MHz para ^1H -RMN e 100 MHz para os espectros de ^{13}C) em clorofórmio deuterado (CDCl_3) no Laboratório Multiusuário de Caracterização de Moléculas da UFOP-MG. Os deslocamentos químicos (δ) foram relatados em partes por milhão (ppm) com referência ao tetrametilsilano (TMS) como padrão interno e as constantes de acoplamento (J) foram relatadas em Hertz (Hz).

Os espectros de massa de alta resolução (HRMS) foram adquiridos usando um espectrômetro de massa LCMS-Q-ORBITRAP e as amostras foram solubilizadas em MeOH 50%, seguidas de injeção manual.

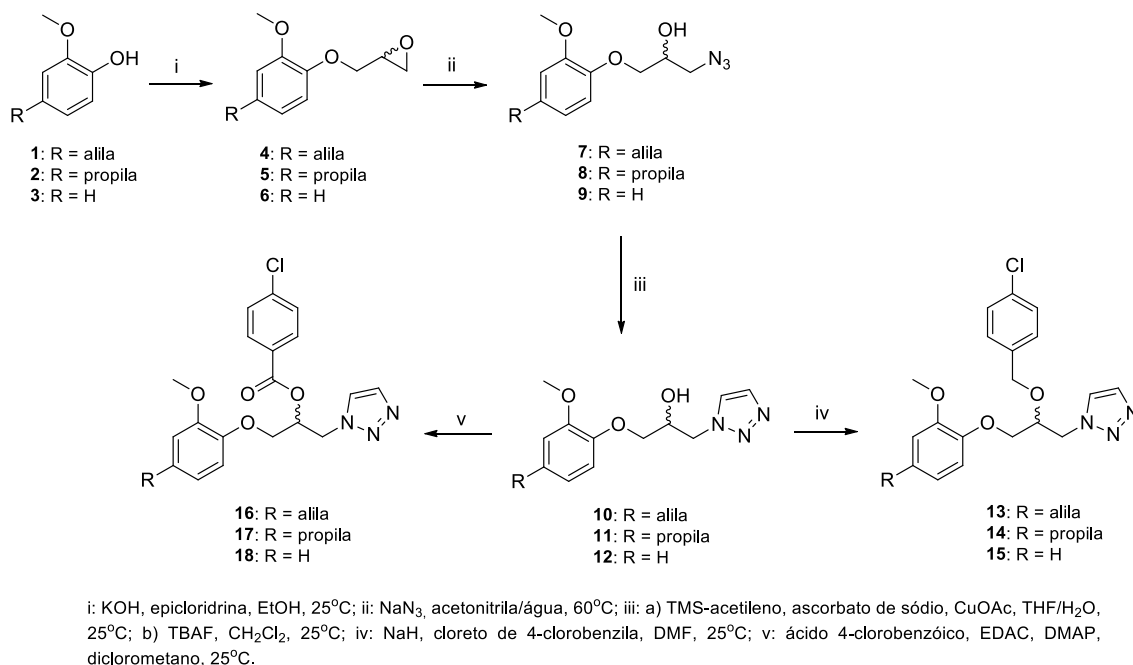
O andamento das reações e as misturas dos produtos foram monitorados por cromatografia em camada delgada (CCD) em placas comerciais de alumina ou gel de sílica 60. Para a cromatografia, gel de sílica de grau coluna (tamanho de malha de 0,040–0,063 mm) ou alumina foram empregados.

4.1.2 Síntese das substâncias propostas

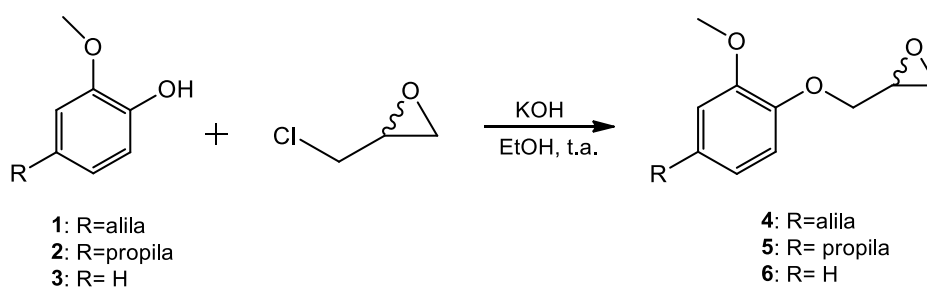
As substâncias 1,2,3-triazólicas propostas foram sintetizados no Laboratório de Química Medicinal e Bioensaios da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP-MG), entre setembro de 2021 e setembro de

2022, conforme a rota sintética apresentada na Figura 9 abaixo.

Figura 9: Rota sintética para a síntese dos derivados 1,2,3-triazólicos propostos.



4.1.2.1 Procedimento geral para a síntese dos derivados oxiranos do eugenol (4), di-hidroeugenol (5) e guaiacol (6)



Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 equivalente (eq.) do fenol correspondente (9,13 mmol de **1**; 9,02 mmol de **2**; 12,1 mmol de **3**), foi adicionado 1,05 eq. de KOH solubilizado em 10 mL de água destilada (0,538 g para **1**; 0,532 g para **2**; 0,712 g para **3**). A mistura foi agitada por 5 minutos a temperatura ambiente e então 20 mL de etanol foram adicionados ao balão de reação. Após 15 minutos, foram adicionados 6 eq. de *R,S*-epicloridrina à

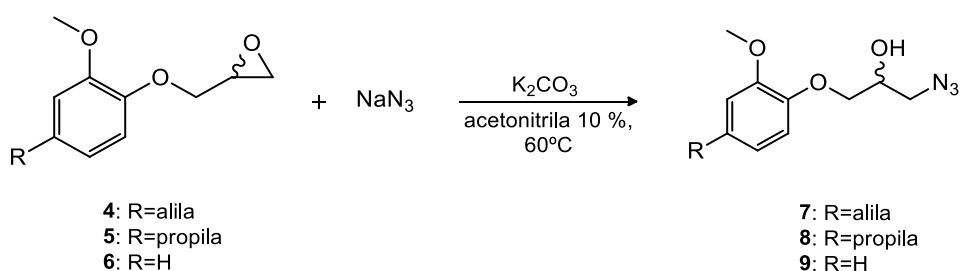
mistura reacional. Esta mistura foi mantida a temperatura ambiente sob agitação magnética constante por 24 horas, quando se observou o fim da reação por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando sílica gel como fase estacionária (eluente: hexano/acetato de etila (8:2) e revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM). O volume de etanol foi reduzido usando um evaporador rotatório e a fase aquosa resultante foi extraída com acetato de etila (3 x 30 mL). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada para obter os produtos, que foram purificados por cromatografia em coluna de sílica (hexano/acetato de etila 9:1 v/v), resultando em 1,5 g do derivado **4** (75%), 1,6 g do derivado **5** (80%) e 1,9 g do derivado **6** (87%), todos eles caracterizados como óleos incolores.

As quantidades de reagentes utilizados e massas dos produtos obtidos, assim como os rendimentos das reações estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos derivados **4-6**.

Fenol	KOH	Epicloridrina	Produto	Rendimento
1: 1,5 g (9,13 mmol)	0,5382g (9,59 mmol)	4,923 mL (54,8 mmol)	4: 1,486 g (6,75 mmol)	75%
2: 1,5g (9,02 mmol)	0,5316 g (9,47 mmol)	4,863 mL (54,2 mmol)	5: 1,639 g (7,37 mmol)	80%
3: 1,5 g (12,1 mmol)	0,7116 g (12,7 mmol)	6,511 mL (72,5 mmol)	6: 1,872 g (10,3 mmol)	87%

4.1.2.2 Procedimento geral para a obtenção das alquilazidas **6-9**



Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 eq. do derivado oxirano

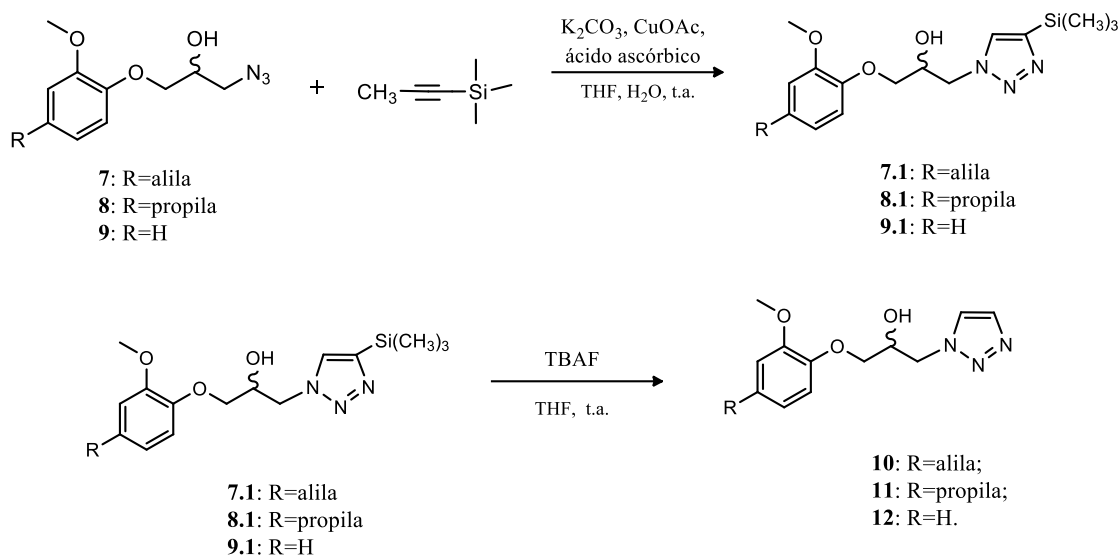
(6,74 mmol de **4**; 7,37 mmol de **5**; 10,4 mmol de **6**), foi adicionado 1 eq. de carbonato de potássio e 1 eq. de uma solução aquosa de acetonitrila a 10%. A mistura reacional foi agitada por 2 minutos, adicionando-se então 5 eq. de azida de sódio. A reação foi aquecida a 60°C com agitação magnética constante por 24 horas, momento em que se observou o fim da reação por CCD, utilizando sílica gel como fase estacionária (eluente: hexano/acetato de etila (7:3 v/v) revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM). Em seguida, foram adicionados 25 mL de água destilada ao balão de reação e o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 30 mL). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada utilizando um evaporador rotatório. As substâncias **7**, **8** e **9** foram purificados por cromatografia em coluna de sílica (hexano/acetato de etila 8:2 v/v), resultando em 0,9 g do derivado **7** (51%), 1,7 g do derivado **8** (87%) e 1,2 g do derivado **9** (52%), todos eles na forma de óleos amarelados.

As quantidades de reagentes utilizados e massas dos produtos obtidos, assim como os rendimentos das reações estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos derivados **7-9**.

Derivado Oxirano	NaN ₃	K ₂ CO ₃	Acetonitrila	Produto e Rendimento
4: 1,486g (6,74 mmol)	2,193 g (33,7 mmol)	0,9322 g (6,7 mmol)	4,59 mL	7: 0,9162 g (3,47 mmol) 52%
5: 1,639 g (7,37 mmol)	2,39 g (36,8 mmol)	1,019 g (7,37 mmol)	5,05 mL	8: 1,724 g (6,50 mmol) 96%
6: 1,872 g (10,4 mmol)	3,377g (51,9 mmol)	1,436 g (10,4 mmol)	5,78 mL	9: 1,268 g (5,68 mmol) 55%

4.1.2.3 Procedimento geral para a obtenção dos 1,2,3-triazóis hidroxilados (10-12)



Em um balão de fundo redondo de 25 mL, foram adicionados 1,6 eq. de carbonato de potássio e 0,4 eq. de ácido ascórbico. A mistura foi solubilizada em quantidade mínima de água destilada e mantida sob agitação magnética. À mistura, foi adicionado 1 eq. da azida correspondente (0,75 mmol de **7**; 0,75 mmol de **8**; 0,79 mmol de **9**) solubilizadas em 1 mL de uma mistura de água/metanol (1:1 v/v) e 0,2 eq. de acetato de cobre. Em seguida, foram adicionados 1,6 eq. de TMS-acetileno e a reação foi agitada a temperatura ambiente por 3 dias, quando se observou o fim da reação por CCD em que se utilizou sílica gel como fase estacionária (eluente: hexano/acetato de etila (6:4 v/v) revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM)). Depois, foram adicionados 20 mL de água destilada ao balão de reação e o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução aquosa de EDTA a 2% (2 x 25 mL) e água destilada (1 x 25 mL), seca com sulfato de sódio anidro e concentrada usando um evaporador rotatório. Os intermediários trimetilsililados obtidos foram posteriormente solubilizados em quantidade mínima de THF e transferidos para outro balão de fundo redondo de 25 mL. Foram adicionados 1,5 eq. de fluoreto de tetra-*n*-butilamônio (TBAF) ao balão de reação e a reação foi submetida a agitação magnética a temperatura ambiente por 3 dias, quando se observou o fim da reação por

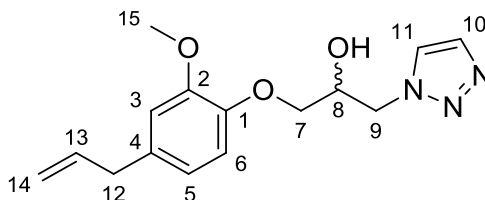
CCD em que se utilizou sílica gel como fase estacionária (eluente: hexano/acetato de etila (6:4 v/v) eluindo 2 vezes; revelador: molibdato cérico amoniacal (CAM). Em seguida, o THF foi evaporado usando um evaporador rotatório e 20 mL de clorofórmio foram adicionados ao balão reacional. Esta solução foi lavada com água destilada (3 x 23 mL) e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada usando um evaporador rotatório. Os compostos **10**, **11** e **12** foram purificados por cromatografia em coluna de sílica, utilizando como fase móvel uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 6:4 v/v, resultando em 0,14 g do derivado **10** (64%), 0,12 g do derivado **11** (55%) e 0,050 g do derivado **12** (25%), todos eles na forma de óleos amarelados, exceto o derivado **11**, que se caracterizou como um sólido amarelo.

As quantidades de reagentes utilizados e massas dos produtos obtidos, assim como os rendimentos das reações estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos triazóis **10-12**.

Azida	K ₂ CO ₃	Ácido ascórbico	Acetato de cobre	TMS-acetileno	Intermediário	TBAF	Produto e rendimento
7: 0,200 g (0,75 mmol)	0,0361 g 8 g (0,90 mmol)	0,1593 g (0,908 mmol)	0,1370 g (0,75 mmol)	208,8 µL (0,015 mmol)	7.1: 0,2033 g (0,56 mmol)	0,8388 mL (0,84 mmol)	10: 0,1431 g (0,49 mmol) 76%
8: 0,200 g (0,75 mmol)	0,0180 g 9 g (0,45 mmol)	0,07966 g (0,45 mmol)	0,06845 g (0,38 mmol)	104,4 µL (0,0073 mmol)	8.1: 0,2220 g (0,60 mmol)	0,9063 mL (0,90 mmol)	11: 0,1214 g (0,42 mmol) 55%
9: 0,100 g (0,79 mmol)	0,099 g (0,72 mmol)	0,0338 g (0,19 mmol)	0,0174 g (0,096 mmol)	99,3 µL (0,0070 mmol)	9.1: 0,0932 g (0,28 mmol)	0,4269 mL (0,42 mmol)	12: 0,05018 g (0,20 mmol) 25%

4.1.2.3.1 Dados de caracterização de 1-[2-metoxi-4-(prop-2-en-1-il)fenoxi]-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (**10**)



Massa obtida: 143 mg (0,4945 mmol; 76%; Óleo amarelo claro)

F.M.: C₁₅H₁₉N₃O₃ **M.M.:** 289,33 g/mol

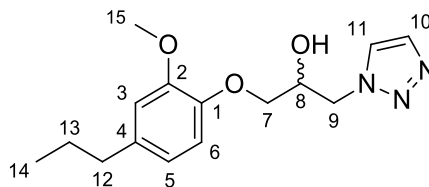
IV-ATR (cm⁻¹): 3210 (OH), 3132 (C-H sp²), 2939 (C-H sp³), 1679 (C=C alceno), 1594, 1510, 1464 (C=C aromático), 1259 (C-N), 1230 (C-H sp³), 1027 (C-O).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₁₅H₁₉N₃O₃ (M+Na)⁺: 312,1318; Encontrada: 312, 1317.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,73-7,68 (m; 2H; H-10 e H-11); 6,82-6,80 (m; 1H; H-6); 6,70-6,68 (m; 2H; H-3 e H-5); 5,97- 5,87 (m; 1H; H-13); 5,08-5,06 (m; 2H; H-14); 4,69-4,64 (dd; 1H; ²J= 14,14 Hz e ³J= 3,92 Hz; H-9); 4,58-4,52 (dd; 1H; ²J= 14,12 Hz e ³J= 6,56 Hz; H-9'); 4,38-4,33 (m; 1H; H-8); 4,01-3,97 (dd; 1H; ²J= 10,06 Hz e ³J= 4,36 Hz; H-7); 3,88-3,84 (dd; 1H; ²J= 10,88 Hz e ³J= 3,64 Hz; H-7'); 3,82 (s; 3H; H-15); 3,32-3,30 (d; 2H; ³J= 6,72 Hz; H-12).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 149,83 (1C; C-2); 145,84 (1C; C-1); 137,32 (1C; C-13); 135,01 (1C; C-4); 133,76 (1C; C-11); 125,11 (1C; C-10); 120,92 (1C; C-5); 116,22 (1C; C-14); 115,93 (1C; C-3); 112,42 (1C; C-6); 71,79 (1C; C-7); 68,91 (1C; C-8); 55,77 (1C; C-15); 52,35 (1C; C-9); 39,86 (1C; C-12).

4.1.2.3.2 Dados de caracterização de 1-(2-metoxi-4-propilfenoxi)-3-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (**11**)



Massa obtida: 121 mg (0,4169 mmol; 55%; sólido amarelo claro)

F.M.: C₁₅H₂₁N₃O₃ **M.M.:** 291,35 g/mol

F.F: 89 - 92 °C

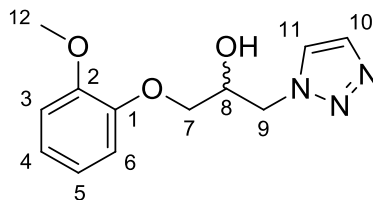
IV-ATR (cm⁻¹): 3201 (OH), 3136 (C-H sp²), 2927 (C-H sp³), 1591, 1515, 1467 (C=C aromático), 1257 (C-N), 1234 (C-H sp³), 1027 (C-O).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₁₅H₂₁N₃O₃ (M+Na)⁺: 314,1475; Encontrada: 314,1464.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,76-7,70 (m; 2H; H-10; H-11); 6,82-6,80 (d; 1H; ³J=7,92 Hz; H-6); 6,71 (m; 1H; H-5); 6,68-6,68 (d; 1H; ⁴J=1,88 Hz; H-3); 4,71-4,66 (dd; 1H; ²J= 14,12 Hz e ³J= 3,80 Hz; H-9); 4,59-4,54 (dd; 1H; ²J= 14,06 Hz and ³J= 6,60 Hz; H-9'); 4,40-4,34 (m; 1H; H-8); 4,02-3,97 (dd; 1H; ²J= 10,06 Hz e ³J= 4,40 Hz; H-7); 3,90-3,86 (dd; 1H; ²J= 11,18 Hz e ³J= 3,72Hz; H-7'); 3,84 (s; 3H; H-15); 2,54-2,50 (t; 2H; ³J= 7,88 Hz; H-12); 1,65-1,56 (sext; ³J= 7,60 Hz 2H; H-13); 0,94-0,91 (t; 3H; ³J=7,32 Hz; H-14).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 149,6 (1C; C-2); 145,7 (1C; C-1); 137,7 (1C; C-4); 133,8 (1C; C-11); 125,1 (1C; C-10); 120,7 (1C; C-5); 116,0 (1C; C-6); 112,3 (1C; C-3); 71,8 (1C; C-7); 68,9 (1C; C-8); 55,7 (1C; C-15); 52,4 (1C; C-9); 37,7 (1C; C-12); 24,7 (1C; C-13); 13,8 (1C; C-14).

4.1.2.3.3 Dados de caracterização de 1-(2-metoxi-4-propilfenoxi)-3-(1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-ol (**12**)



Massa obtida: 50 mg (0,2007 mmol; 25%; Óleo amarelo claro)

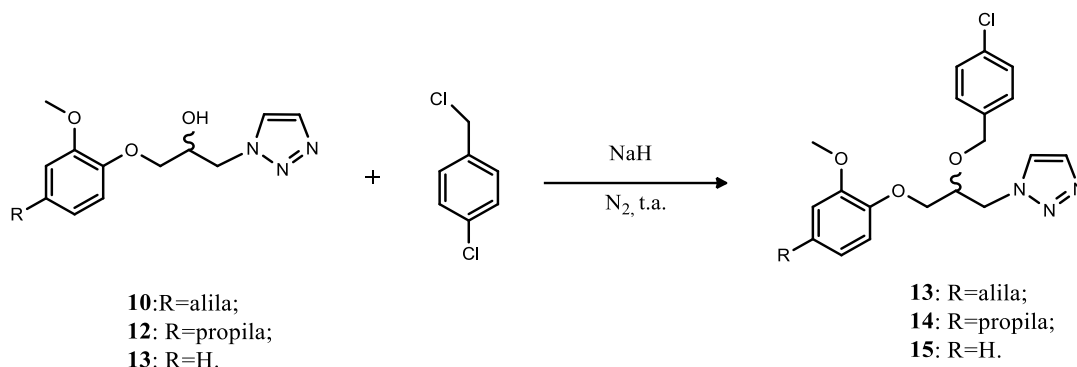
F.M.: C₁₂H₁₅N₃O₃ **M.M.:** 249,27 g/mol

IV-ATR (cm⁻¹): 3305 (OH), 2931 (C-H sp³), 1595, 1504, 1456 (C=C aromático), 1249 (C-N), 1222 (C-H sp³), 1026 (C-O).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₁₂H₁₅N₃O₃ (M+Na)⁺: 272,1005; Encontrada: 272,1005.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,88 (s; 1H; H-11); 7,80 (s; 1H; H-10); 7,03-6,99 (m; 1H; 3-H); 6,94-6,89 (m; 3H; 1-H, 2-H e 4-H); 4,79-4,74 (dd; 1H; ²J= 14,06 Hz, ³J= 3,72 Hz; H-9); 4,66-4,61 (dd; 1H; ²J= 14,04 Hz, ³J= 6,88 Hz; H-9') 4,47-4,42 (m; 1H; H-8); 4,01-4,03 (dd; 1H; ⁴J= 9,98 Hz, ³J= 4,8 Hz; H-7); 3,97-3,95 (dd; 1H; ⁴J= 9,98 Hz, ³J= 6,00 Hz; H-7'); 3,87 (s; 3H; H-12).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 149,85 (1C; C-1); 147,58 (1C; C-2); 133,03 (1C; C-11); 125,85 (1C; C-10); 122,80 (1C; C-5); 121,21 (1C; C-4); 115,75 (1C; C-6); 112,05 (1C; C-3); 71,25 (1C; C-7); 68,71 (1C; C-8); 55,80 (1C; C-12); 53,01 (1C; C-9).

4.1.2.4 Procedimento geral para a obtenção dos éteres (**13-15**)

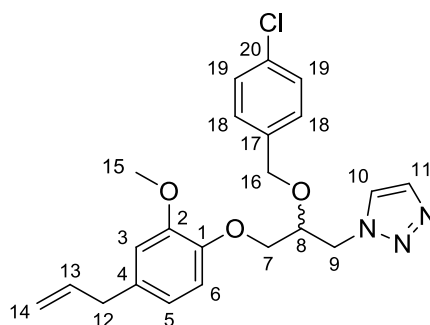
A um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 1 eq. do álcool correspondente (0,38 mmol de **10**; 0,17 mmol de **11**; 0,40 mmol de **12**) solubilizado em 3 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF) anidra, foram adicionados 2 eq. de hidreto de sódio (NaH). Após o término da liberação de gás H₂, o meio reacional foi selado com rolha de borracha e a atmosfera foi substituída por gás nitrogênio. Após 20 minutos da adição do NaH, 1,5 eq. de cloreto de 4-clorobenzila solubilizados em 1 mL de DMF anidra foram adicionados com o auxílio de uma agulha. A reação prosseguiu sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio a temperatura ambiente por 7 horas, quando o seu término foi observado por CCD, em que se utilizou alumina como fase estacionária (eluente: acetato de etila (100%) e reveladores: iodo e molibdato cérico amoniacal (CAM). Em seguida, foram adicionados 20 mL de salmoura ao balão de reação e o produto foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente foi evaporado usando um evaporador rotatório. O DMF persistente foi removido usando uma corrente de ar. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica, utilizando-se como fase móvel uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 7:3 v/v., resultando em 0,1 g do derivado **13** (64%), 0,05 g do derivado **14** (71%) e 0,1 g do derivado **15** (67%), como óleos esverdeado (**13**), amarelado (**14**) ou bege (**15**).

As quantidades de reagentes utilizados, massas dos produtos obtidos, assim como os rendimentos das reações estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos éteres **13-15**.

Azol	Cloreto de 4-clorobenzila	NaH	Produto obtido	Rendimento
10: 0,1123 g (0,38 mmol)	0,09310 g (0,58 mmol)	0,03082g (1,28 mmol)	13: 0,09885 g (0,24 mmol)	64%
11: 0,05 g (0,17 mmol)	0,04145 g (0,26 mmol)	0,01372g (0,57 mmol)	14: 0,0531g (0,12 mmol)	74%
12: 0,100 g (0,79 mmol)	0,099 g (0,72 mmol)	0,0338 g (0,19 mmol)	15: 0,100g (0,26 mmol)	67%

4.1.2.4.1 Dados de caracterização de 1-[2-metoxi-4-(prop-2-en-1-il)fenoxi]-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il) 1-cloro-4-[[propan-2-il)oxi]metil}benzeno (**13**)



Massa obtida: 98 mg (0,24 mmol; 64,0%; Óleo esverdeado)

F.M.: C₂₂H₂₄ClN₃O₃ **M.M.:** 413,90 g/mol

IV-ATR (cm⁻¹): 2933 (C-H sp³), 1670 (C=C alceno); 1593, 1490, 1463 (C=C aromático), 1261 (C-N), 1222 (C-H sp³), 1031 (C-O), 798 (C-Cl).

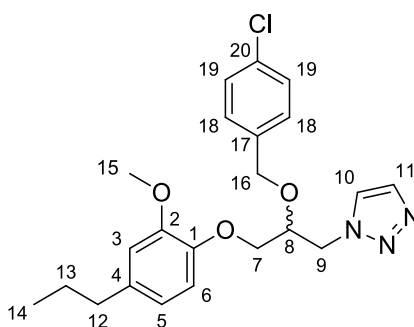
HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₂₂H₂₄ClN₃O₃ (M+Na)⁺: 436,1398;

Encontrada: 436,1396.

RMN de ^1H (δ ; CDCl_3 ; 400 MHz): 7,75-7,73 (m; 2H; H-10 e H-11); 7,29-7,26 (dta; 2H; H-19); 7,14-7,12 (dta ; 2H; H-18); 6,80-6,78 (d; $^3J= 8,04$ Hz; H-6); 6,73-6,73 (d, 1H; $^4J= 8,04$ Hz; H-3); 6,71-6,69 (dd; 1H; $^4J= 8,06$ Hz; $^3J=1,92$ Hz; H-5); 6,00-5,90 (m; 1H; H-13); 5,11-5,06 (m; 2H; H-14); 4,86-4,82 (dd; 1H; $^2J=14,13$ Hz $^3J= 4,05$ Hz; H-9); 4,68-4,64 (dd; 1H; $^2J=11,70$ Hz, $^3J= 7, 31$ Hz; H-9'); 4,61-4,58 (d; 1H; $^4J=14,20$ Hz, $^3J= 6,91$ Hz; H-7'); 4,51-4,44 (dd; 1H; $^2J=14,20$ Hz, $^3J= 3,84$ Hz; H-7); 4,22-4,17 (m; 1H; H-8); 4,07-4,00 (m; 2H; H-16); 3,84 (s; 3H; H-15); 3,35-3,33 (d; 2H; $^3J=7,26$ Hz; H-12).

RMN de ^{13}C (δ ; CDCl_3 ; 100 MHz): 149,82 (1C; C-2); 145,91 (1C; C-1); 137,38 (1C; C-13); 135,73 (1C; C-17); 134,61 (1C; C-20); 133,83 (1C; C-4); 129,25 (2C; C-18); 129,04 (2C; C-19, C-10); 128,65 (1C; C-11); 120,58 (1C; C-5); 115,83 (1C; C-14); 115,14 (1C; C-3); 112,54 (1C; C-6); 76,08 (1C; C-8); 71,75 (1C; C-16); 68,88 (1C; C-7); 55,74 (1C; C-15); 51,69 (1C; C-9); 39,82 (1C; C-12).

4.1.2.4.2 *Dados de caracterização de (2-metoxi-4-propilfenoxi)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il) 1-cloro-4-[[propan-2-il)oxi]metil]benzeno (14)*



Massa obtida: 53 mg (0,12 mmol; 74%; Óleo amarelado)

F.M.: $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}_3$ **M.M.:** 415,91 g/mol

IV-ATR (cm^{-1}): 3130 (C-H sp^2), 2929 (C-H sp^3), 1591, 1512, 1490, 1463 (C=C

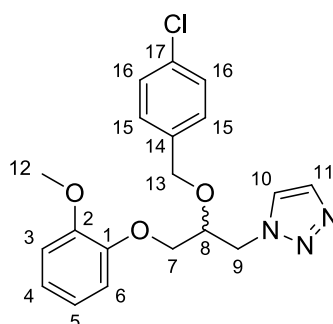
aromático), 1263 (C-N), 1222 (C-H (sp³), 1031 (C-O), 794 (C-Cl).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₂₂H₂₆ClN₃O₃ (M+Na)⁺: 438,1555;
Encontrada: 438,1555.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,77-7,75 (m; 2H; H-10 e H-11); 7,31-7,28 (dta; 2H; H-19); 7,16-7,14 (dta; 2H; H-18); 6,81-6,79 (d; 1H; ³J=8,04Hz; H-6); 6,75-6,75 (d; 1H; ⁴J=1,88Hz; H-3); 6,72-6,70 (dd; 1H; ³J=8,06Hz e ⁴J=1,92 Hz; H-5); 4,89-4,85 (dd; 1H; ²J=14,12Hz; ³J=3,4Hz; H-9); 4,69-4,61 (m; 2H; H-9' e H-7); 4,50-9,47 (m; 1H; H-7'); 4,23-4,21 (m; 1H; H-8); 4,10-4,02 (m; 2H; H-16); 3,87 (s; 3H; H-15); 2,58-2,54 (t; 2H; ³J=7,88 Hz; H-12); 1,69-1,60 (sext; 2H, ³J=7,28 Hz; H-13); 0,98-0,94 (t; 3H; ³J=7,36 Hz; H-14).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 149,72 (1C; C-2); 145,59 (1C; C-1); 137,42 (1C; C-17); 135,81 (1C; C-4); 133,85 (1C; C-20); 133,11 (2C; C-11); 129,29 (2C; C-18); 128,68 (2C; C-19, C-10); 120,44 (1C; C-5); 115,13 (1C; C-6); 112,53 (1C; C-3); 76,16 (1C; C-8); 71,77 (1C; C-16); 68,96 (1C; C-7); 55,78 (1C; C-15); 51,72 (1C; C-9); 37,73 (1C; C-12); 24,72 (1C; C-13); 13,83 (1C; C-14).

4.1.2.4.3 Dados de caracterização de 1-(2-metoxifenoxi)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il) 1-cloro-4-[[propan-2-il]oxi]benzeno (**15**)



Massa obtida: 100 mg (0,2675 mmol, 67%, óleo bege)

F.M.: C₁₉H₂₀ClN₃O₃ **M.M.:** 373,83 g/mol

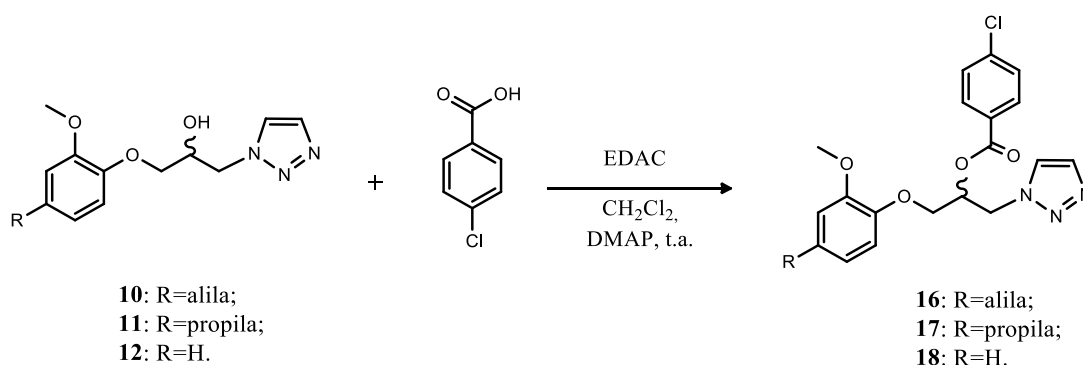
IV-ATR (cm⁻¹): 3128 (C-H sp²), 2931 (C-H sp³), 1593, 1504, 1454 (C=C aromático), 1253 (C-N), 1220 (C-H sp³), 1026 (C-O), 742 (C-Cl).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₁₉H₂₀ClN₃O₃ (M+Na)⁺: 369,1085; Encontrada: 396,1085.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,75-7,73 (m; 2H; H-10 e H-11); 7,29-7,26 (dta; 2H; H-16); 7,15-7,13 (dta; 2H; H-15); 7,02-6,98 (m; 1H; H-3); 6,93-6,86 (m; 3H; H-4, H-5 e H-6); 4,88-4,83 (dd; 1H; ⁴J=14,16 Hz, ³J= 3,68 Hz; H-9); 4,68-4,60 (m; 2H; H-9' e H-7); 4,49-4,46 (m; 1H; H-7'); 4,25-4,19 (m; 1H; H-8) 4,10-4,02 (m; 2H; H-13); 3,86 (s; 3H; H-12).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 149,97 (1C; C-1); 147,65 (1C; C-2); 135,76 (1C; C-14); 133,89 (1C; C-17); 129,29 (2C; C-15); 128,70 (2C; C-16 e C-10); 125,55 (2C; C-11); 122,62 (2C; C-5); 120,96 (1C; C-4); 115,06 (1C; C-6); 112,16 (1C; C-3); 76,08 (1C; C-8); 71,82 (1C; C-13); 68,73 (1C; C-7); 55,80 (1C; C-12); 51,73 (1C; C-9).

4.1.2.5 Procedimento geral para a obtenção dos ésteres (**16-18**)



Em um balão de fundo redondo contendo 1,2 eq. de ácido 4-clorobenzóico solubilizados em uma 10 mL de diclorometano, foram adicionados 2 eq. de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDAC) e a reação foi mantida sob agitação magnética a temperatura ambiente. Após a completa solubilização dos reagentes, 1 eq. do álcool azólico correspondente (0,34 mmol de **10**; 0,34 mmol de **11**; 0,39 mmol de **12**), solubilizado em 5 mL de diclorometano, foi

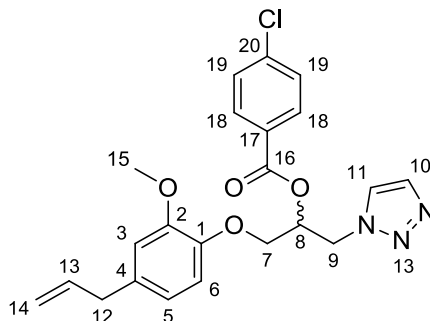
adicionado à mistura reacional. Subsequentemente, uma quantidade catalítica (15 mg) de 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) foi adicionada e a reação foi mantida sob agitação magnética constante a temperatura ambiente, por 24 horas, quando sua conclusão foi observada por CCD, utilizando-se sílica gel como fase estacionária (acetato de etila (100%); revelador: iodo). Em seguida, a mistura foi lavada com solução aquosa de HCl 1 M (3 x 25 mL) e água destilada (2 x 50 mL) e a fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada usando um evaporador rotatório. Os produtos foram purificados por cromatografia em camada de sílica, utilizando-se como fase móvel uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 6:4 v/v. Os produtos de interesse foram obtidos como óleos viscosos levemente amarelados, sendo 0,0200 g do derivado **16** (14%), 0,100 g do derivado **17** (68%) e como um sólido branco 0,0736 g do derivado **18** (46%).

As quantidades de reagentes utilizados, massas dos produtos obtidos, assim como os rendimentos das reações estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Quantidades dos materiais de partida, produtos e rendimentos das reações de síntese dos ésteres **16-18**.

Álcool Azólico	Ácido 4-clorobenzóico	EDAC	Produto	Rendimento
10: 0,100 g (0,34 mmol)	0,06513 g (0,42 mmol)	0,1066 g (0,69 mmol)	16: 0,0200 g (0,46 mmol)	12%
11: 0,100 g (0,34 mmol)	0,06513 g (0,42 mmol)	0,1066 g (0,69 mmol)	17: 0,1000 g (0,23 mmol)	68%
12: 0,100 g (0,39 mmol)	0,075 g (0,48 mmol)	0,124 g (0,79 mmol)	18: 0,0736 g (0,18 mmol)	47%

4.1.2.5.1 Dados de caracterização de 1-[2-metoxi-4-(prop-2-en-1-il)fenoxi]-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-il 4-clorobenzoato (**16**)



Massa obtida: 20 mg (0,46 mmol; 57%; Óleo amarelo)

F.M.: C₂₂H₂₂ClN₃O₄ **M.M.:** 427,88 g/mol

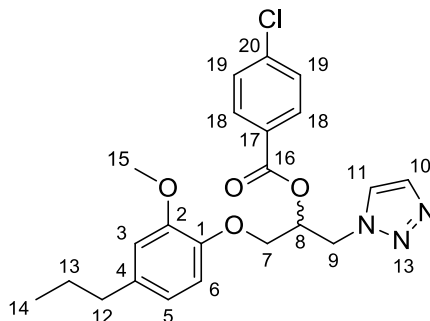
IV-ATR (cm⁻¹): 3130 (C-H sp²), 2939 (C-H sp³), 1720 (C=O), 1670 (C=C alceno), 1593, 1510, 1488 (C=C aromático), 1263 (C-N), 1216 (C-H sp³), 1087 (C-O), 756 (C-Cl).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₂₂H₂₂ClN₃O₄ (M+Na)⁺: 450,1191; Encontrada: 450,1188.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): ¹H NMR (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,93-7,88 (m; 4-H; H-10, H-11 e H-18); 7,42-7,40 (dta; 2-H; H-19); 6,87-6,85 (d; 1-H; ⁴J=8,04 Hz; H-6); 6,74-6,70 (m; 2-H; H-3 e H-5); 5,98-5,88 (m; 1-H; H-13); 5,73 (m; 1-H; H-8); 5,10-5,06 (m; 4-H; H-14, H-9 e H-9'); 4,25-4,21 (dd; 1-H; ²J=9,84 Hz, ³J=4 Hz; H-7); 4,16-4,12 (dd; 1-H; ²J=10,44 Hz, ³J=5,4 Hz; H-7'); 3,84 (s; 3-H; H-15); 3,34-3,32 (d; 2-H; ³J=6,68 Hz; H-12).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 164,66 (1C; C-16); 149,99 (1C; C-2); 145,62 (1C; C-1); 140,27 (1C; C-20); 137,30 (1C; C-13); 135,25 (1C; C-4); 131,23 (3C; C-18 e C-11); 128,99 (3C; C-19 e C-10); 127,39 (1C; C-17); 120,79 (1C; C-5); 116,12 (1C; C-3); 115,96 (1C; C-14); 112,70 (1C; C-6); 70,84 (1C; C-8); 67,98 (1C; C-7); 55,81 (1C; C-15); 50,60 (1C; C-9); 39,85 (1C; C-12).

4.1.2.5.2 Dados de caracterização de 1-(2-metoxi-4-propilfenoxi)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-il 4-clorobenzoato (**17**)



Massa obtida: 100 mg (0,23 mmol; 68%; Óleo amarelo claro)

F.M.: C₂₂H₂₄ClN₃O₄ **M.M.:** 429,90 g/mol

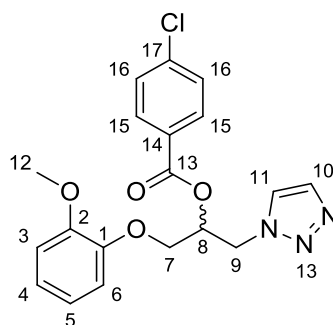
IV-ATR (cm⁻¹): 3128 (C-H sp²), 2956 (C-H sp³), 1722 (C=O), 1591, 1512, 1488, 1463 (C=C aromático), 1259 (C-N), 1220 (C-H sp³), 1091 (C-O), 756 (C-Cl).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₂₂H₂₄ClN₃O₄ (M+Na)⁺: 452,1347; Encontrada: 452,1332.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,92-7,89 (dta; 2H; H-18); 7,72 (s; 2H; H-10 e H-11); 7,42-7,39 (dta; 2H; H-19); 6,85-6,83 (d; 1H; ³J = 8,08 Hz; H-6); 6,72-6,71 (d; 1H; ⁴J = 1,84 Hz; H-3); 6,69-6,67 (dd; 1H; ³J = 8,08 Hz, ⁴J = 1,94 Hz; H-5); 5,74-5,68 (m; 1H; H-8); 5,00-4,98 (m; 2H; H-9 e H-9'); 4,18-4,17 (m; 2H; H-7 e H-7'); 3,83 (s; 3H; H-15); 2,54-2,50 (t; 2H; ³J = 7,64 Hz; H-12); 1,65-1,56 (sext; 2H; ³J = 7,60 Hz; H-13); 0,95-0,91 (t; 2H; ³J = 7,32 Hz; H-14).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 164,63 (1C; C-16); 149,79 (1C; C-2); 145,31 (1C; C-1); 140,09 (1C; C-20); 137,85 (1C; C-4); 131,43-127,46 (5C; C-11, C10, C-17, C-18 e C-19); 120,52 (1C; C-5); 115,94 (1C; C-6); 112,59 (1C; C-3); 70,96 (1C; C-8); 68,00 (1C; C-7); 55,70 (1C; C-15); 37,65 (1C; C-9); 37,65 (1C; C-12); 24,61 (1C; C-13), 13,74 (1C; C-14).

4.1.2.5.3 Dados de caracterização de 1-(2-metoxifenoxi)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-il)propan-2-il 4-clorobenzoato (**18**)



Massa obtida: 74 mg (0,18 mmol; 47%; Sólido amorfo branco)

F.M.: C₁₉H₁₈ClN₃O₄ **M.M.:** 387,82 g/mol

F.F: 98 - 101 °C

IV-ATR (cm⁻¹): 3103 (C-H sp²), 2943 (C-H sp³), 1716 (C=O), 1593, 1508, 1488, 1465 (C=C aromático), 1253 (C-N), 1222 (C-H sp³), 1105 (C-O), 730 (C-Cl).

HRMS-ESI (m/z): Calculada para C₂₂H₂₄ClN₃O₄ (M+Na)⁺: 410,0878; Encontrada: 410,0871.

RMN de ¹H (δ; CDCl₃; 400 MHz): 7,91-7,89 (dta; 2H; H-15); 7,80-7,784 (d; ³J=6,8 Hz; 2H; H-10 e H-11) 7,42-7,40 (dta; 2H; H-16); 7,03-6,87 (m; 4H; H-3, H-4, H-5 e H-6); 5,76-5,71 (quint.; 1H; ³J=5,36 Hz; H-8); 5,04-5,02 (d; 2H; ³J=5,2 Hz; H-9 e H-9'); 4,25-4,16 (m; 2H; H-7 H-7'); 3,85 (s; 1H; H-12).

RMN de ¹³C (δ; CDCl₃; 100 MHz): 164,68 (1C; C-13); 150,14 (1C; C-1); 147,40 (1C; C-2); 145,69 (1C; C-7); 140,24 (1C; C-17); 133,19 (1C; C-15); 131,22 (1C; C-11); 128,96 (1C; C-16, C-10); 127,45 (2C; C-14); 125,32 (2C; C-4); 127,50 (1C; C-16); 120,71 (1C; C-9); 123,13 (1C; C-1); 121,09 (1C; C-5); 116,02 (1C; C-6); 112,36 (1C; C-3); 70,91 (1C; C-8); 67,82 (1C; C-7); 55,82 (1C; C-12); 50,25 (1C; C-9).

4.2 Avaliação da atividade antifúngica das substâncias sintetizadas

Para avaliar o potencial antifúngico os triazóis sintetizados, (**10-18**), foram utilizadas as seguintes leveduras: *Candida albicans* SC5314, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida auris* COLO 01A, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 20298, *Candida glabrata* ATCC 2001, *Cryptococcus gattii* ATCC 24065, *Cryptococcus neoformans* ATCC 24067, *Sporothrix brasiliensis* 189 e *Sporothrix schenckii* ATCC 32286. Os compostos e o fármaco Fluconazol foram avaliados em concentrações de 0,125-250 µg.mL⁻¹. As placas foram incubadas a 35°C por 48 h. Após a montagem das placas, cada cepa de levedura foi inoculada e as placas foram incubadas a 35°C por 24 ou 48 h. Os testes foram realizados em triplicata. Os pontos de término foram determinados visualmente por comparação com o poço de controle de crescimento sem a substância; O valor da concentração inibitória mínima (CIM) foi definido como a menor concentração da substância na qual o poço estava opticamente claro, e foi expressa em µM.

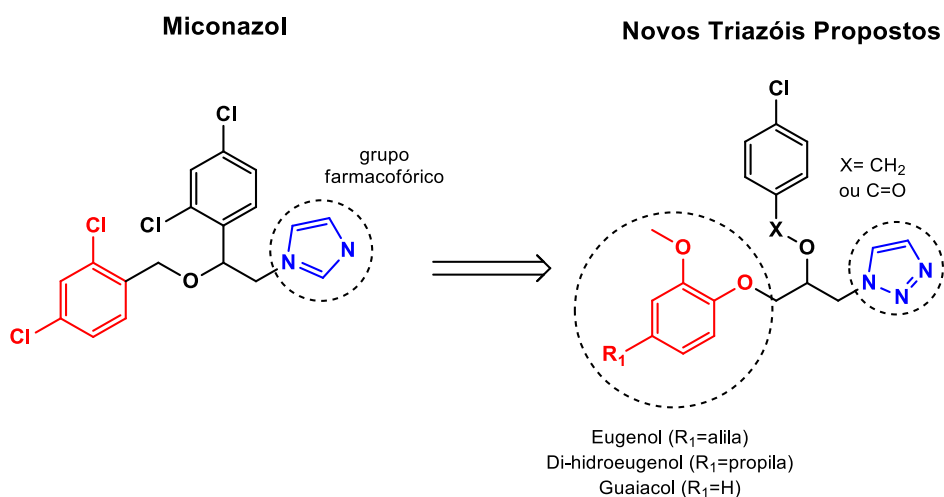
A avaliação da atividade antifúngica das substâncias sintetizadas foi realizada em colaboração com a Prof^a Dr^a Susana Johann e seu aluno de mestrando Luiz Felipe de Andrade Santana na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Planejamento estrutural e sintético dos novos triazóis

O padrão estrutural dos novos triazóis foi planejado a partir da estrutura química do miconazol, importante fármaco antifúngico inibidor da enzima CYP51. As substâncias propostas, cujo padrão estrutural é apresentado na Figura 10, carregam em uma única estrutura o núcleo proveniente do eugenol (assim como outros análogos desse fenol: di-hidroeuogenol e guaiacol) além de um anel 1,2,3-triazólico, um possível bioisómero dos anéis imidazólico e 1,2,4-triazólico presentes nos fármacos azólicos, e farmacoforicamente reconhecidos por se ligarem ao grupo heme da enzima CYP51 de fungos. Por fim, o anel 4-clorobenzênico mimetizaria o anel diclorado do miconazol, e seria responsável pela interação com um bolso hidrofóbico desta enzima.

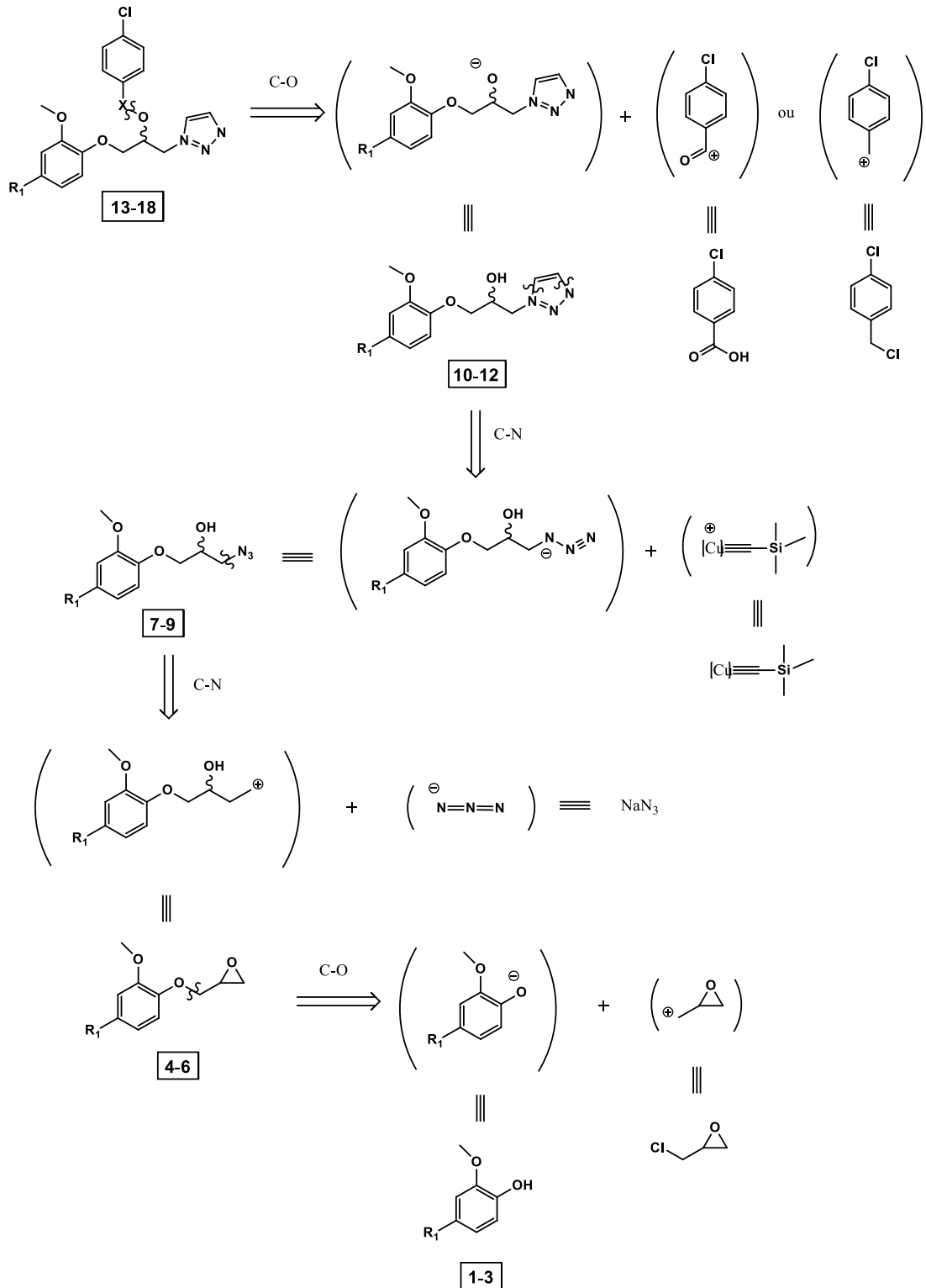
Figura 10: Planejamento dos novos 1,2,3-triazóis, análogos estruturais do fármaco Miconazol.



Quanto ao planejamento sintético das substâncias propostas, como ilustrado na retrosíntese da Figura 11, os ésteres (16-18) e os éteres (13-15) foram obtidos, respectivamente, a partir da acilação e alquilação dos álcoois 1,2,3-triazólicos (10-12). Por sua vez, estes álcoois foram sintetizados em duas etapas sendo a primeira uma cicloadição entre as azidas (7-9) com TMS-acetileno seguida da remoção do grupo trimetilsilano ligado ao heterociclo. As

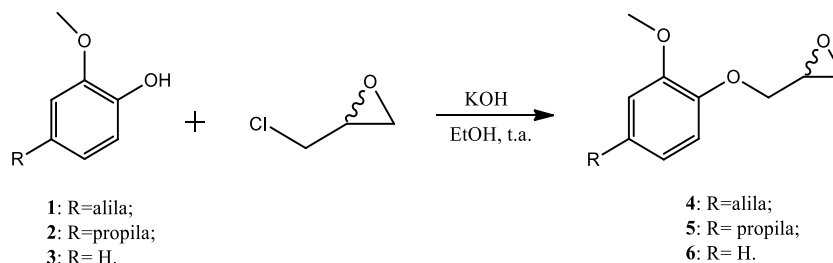
azidas (**7-9**) foram obtidas através da abertura do anel epóxido das substâncias **4-6**, que por sua vez foram sintetizados através da reação entre o eugenol, di-hidroeugenol ou guaiacol com epiclorigrina.

Figura 11: Esquema de retrosíntese das substâncias propostas.



5.2 Síntese das substâncias planejadas

5.2.1 Síntese dos derivados oxiranos 4-6

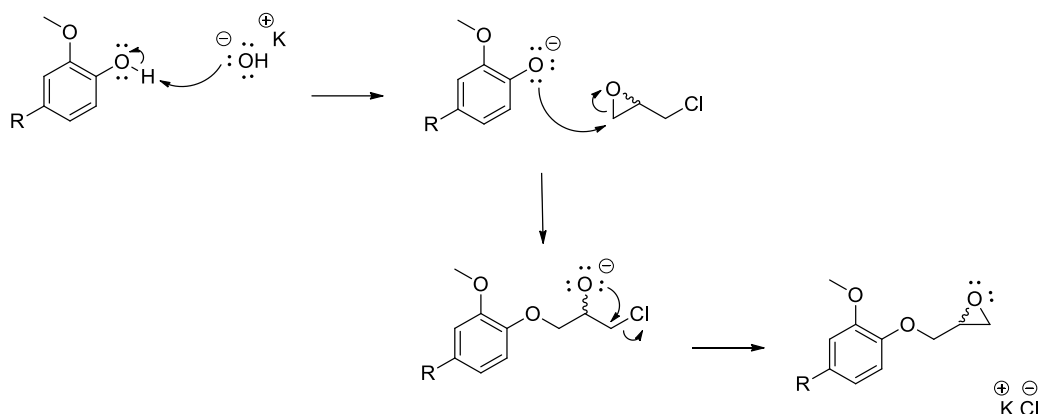


Os derivados oxiranos **4**, **5** e **6** foram obtidos em meio básico, necessário para desprotonação da hidroxila dos fenóis utilizados (**1-3**), na presença de epicloridrina (RAMÍREZ-VILLALVA et al., 2015). O acoplamento a um núcleo de óxido de etileno possui uma vantagem sintética, já que confere à estrutura sítios reativos eletrofílicos e, conseqüentemente, potencializam a capacidade de sua reação com um centro nucleofílico, como a azida de sódio, empregada na próxima etapa sintética.

Inicialmente, os fenóis (**1-3**) são desprotonados na presença de KOH antes da adição da epicloridrina. Isso se justifica pelo fato de ânions hidroxila poderem promover ataques nucleofílicos à epicloridrina, prejudicando o rendimento da reação. A desprotonação da hidroxila fenólica é necessária para a formação do íon fenóxido, que é melhor nucleófilo que a hidroxila.

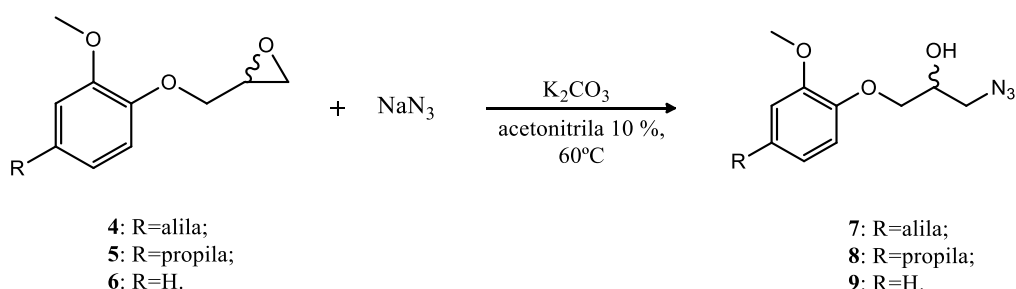
Esta reação trata-se de uma substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) que ocorre em duas etapas, conforme ilustrado na Figura 12. Em um primeiro momento, o carbono eletrofílico menos impedido estericamente do anel do óxido de etileno é atacado pelo íon fenóxido. Dessa forma, a ligação C–O é clivada com conseqüente formação de uma carga negativa no oxigênio e este, por sua vez, ataca intramolecularmente o carbono eletrofílico ligado ao cloro, expulsando-o e restituindo o anel de três membros (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012).

Figura 12: Proposta de mecanismo para formação dos derivados oxiranos **4** a **6**.



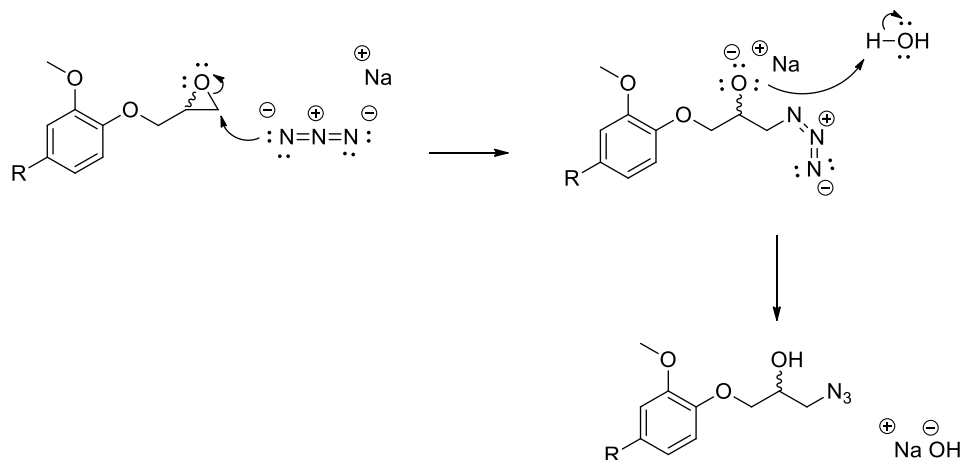
As substâncias **4**, **5** e **6** foram obtidas na forma de óleos incolores, com rendimentos de 75% para o derivado **4**, 80% para o derivado **5** e 87% para o derivado **6**.

5.2.2 Obtenção das alquilazidas **7-9**



A obtenção das alquilazidas ocorreu, também, através de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) entre os epóxidos **4-6** com azida de sódio, em solução aquosa de acetonitrila a 10% (CARVALHO et al., 2010). Em um primeiro momento, o carbono eletrofílico menos impedido estericamente do epóxido sofre um ataque do nitrogênio nucleofílico da azida de sódio. Isso leva à clivagem da ligação sigma entre carbono e oxigênio, gerando um alcoóxido, que, então, é neutralizado pela água presente no meio, de acordo com a proposta de mecanismo abaixo apresentada (Figura 13).

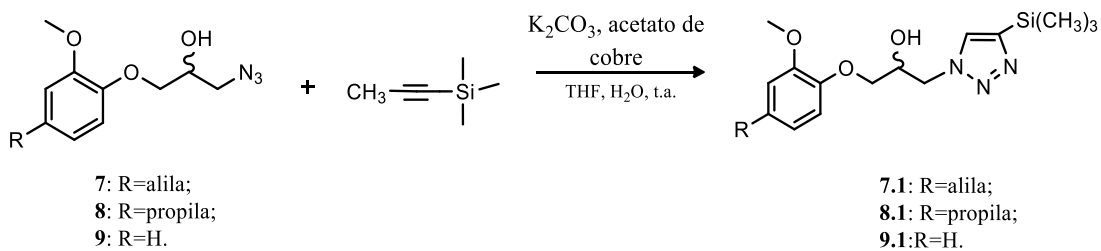
Figura 13: Proposta de mecanismo para a síntese das alquilazidas.



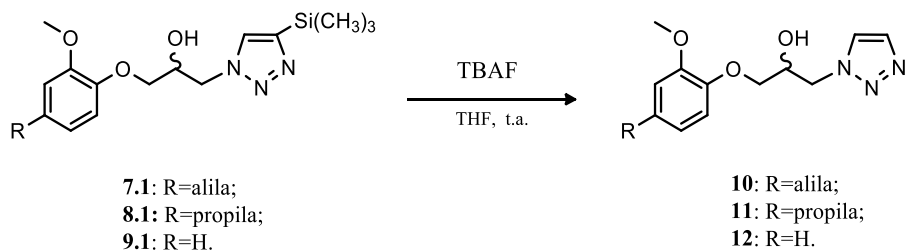
Os derivados **7**, **8** e **9** foram obtidos na forma de produtos oleosos amarelados, com rendimentos (após purificação) de 51% para **7**, 87% para **8** e 52% para **9**.

5.2.3 Síntese dos triazóis **10-12**

Primeira Etapa

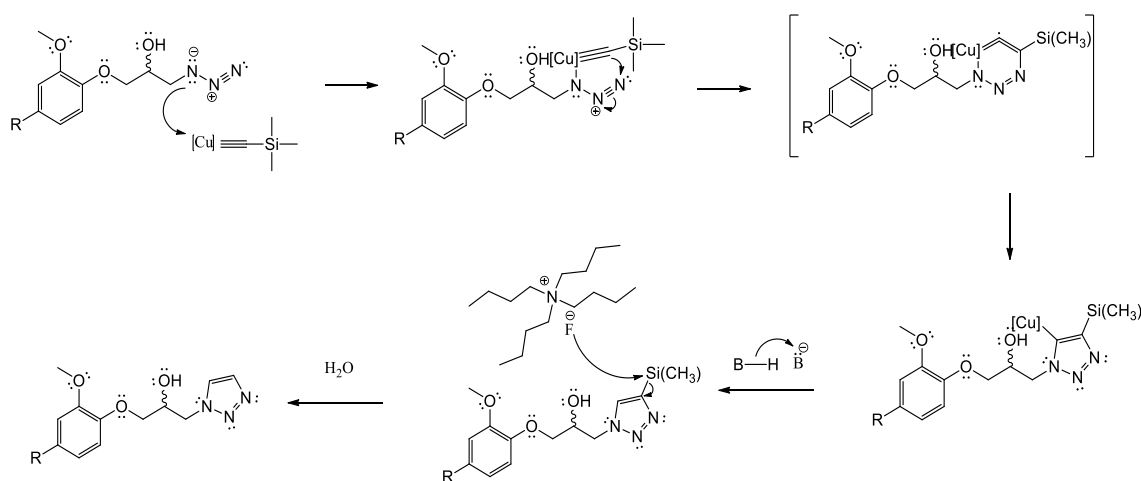


Segunda Etapa



Os derivados 1,2,3-triazólicos propostos foram sintetizados por meio de uma reação de cicloadição conhecida como reação “click”, onde se utilizou o etiniltrimetilsilano (TMS-acetileno) para promover a adição do anel 1,2,3-triazólico às alquilazidas (**7-9**) previamente sintetizadas, com auxílio do Cu (I) como catalizador da reação. O Cu (I) é formado através de uma reação entre acetato de cobre II e ascorbato de potássio. Após sua formação, o Cu (I) se complexa ao átomo de carbono terminal do TMS-acetileno, formando um acetileno de cobre. Então, o nitrogênio nucleofílico da azida ataca o átomo de Cu, complexando-se a ele e os elétrons da ligação π C-C do núcleo acetilênico atacam o nitrogênio eletrofílico terminal da azida, formando um intermediário instável do heterociclo. Esse intermediário tensionado sofre um processo de contração para se estabilizar, levando à formação do triazol com um átomo de Cu ligado. A saída desse metal ocorre através de um processo de protonólise, gerando o triazol ainda ligado ao grupo trimetilsilano, o qual é removido na presença de fluoreto de tetrabutilamônio (TBAF). A remoção do grupo ligado ao anel triazólico ocorre porque a ligação C-Si é mais fraca que a ligação F-Si e, com isso, o silício tem maior afinidade pelo flúor do que pelo carbono, gerando os derivados (**13-15**), o que pode ser demonstrado na proposta de mecanismo apresentado na Figura 14 (DE SOUZA et al., 2019; REIS et. al., 2023).

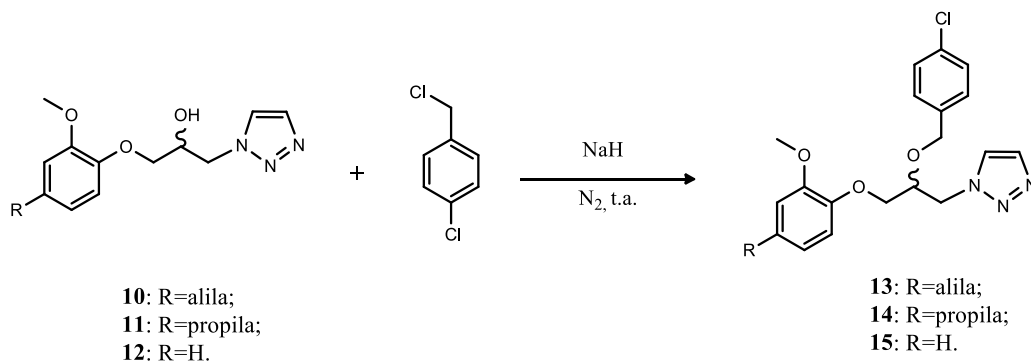
Figura 14: Proposta de mecanismo para a obtenção dos triazóis **10** a **12**.



Os derivados **10** e **12** foram obtidos como óleos de aspecto amarelo, com rendimentos de 64% para **10** e 25 % para **12** (25%) e o derivado **11** foi obtido

como um sólido amarelo claro com rendimento de 55%.

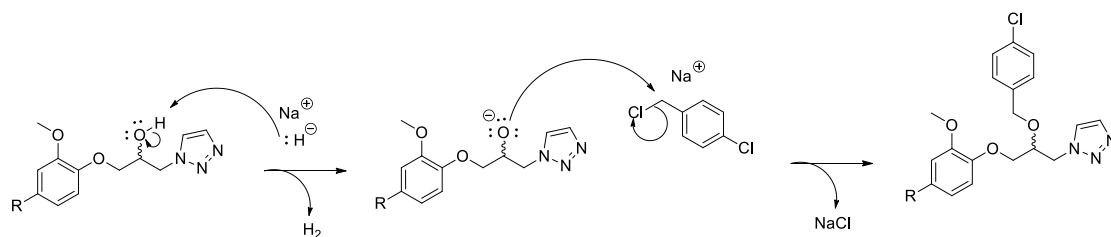
5.2.4 Síntese dos éteres **13-15**



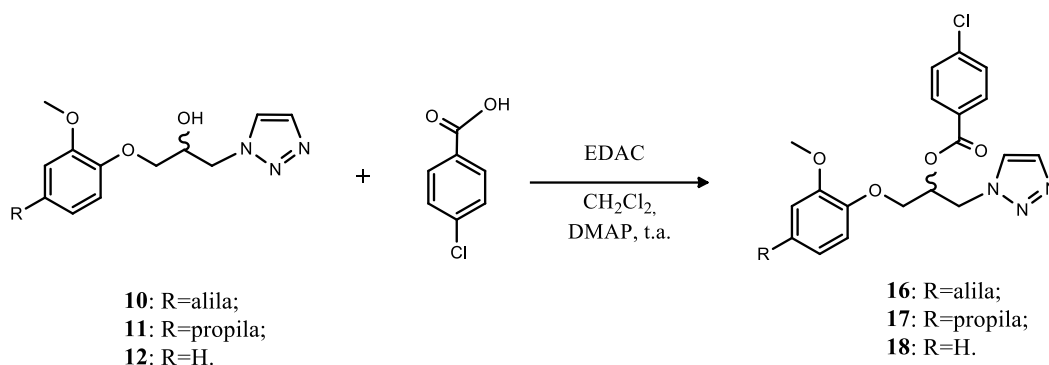
Para a obtenção dos éteres **13-15** a partir dos álcoois (**10-12**) foi utilizado DMF anidro em atmosfera de nitrogênio, na presença de hidreto de sódio e cloreto de 4-clorobenzila (DE SOUZA et al., 2019).

Trata-se, novamente, de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) na qual, inicialmente, o hidreto abstrai o próton do álcool secundário levando à formação do íon alcoóxido. O oxigênio carregado negativamente, mais reativo, ataca o carbono eletrofílico do haleto de benzila, clivando a ligação C—Cl e levando à formação do éter, conforme observado na Figura **15**.

Figura 15: Proposta de mecanismo para a síntese dos éteres propostos.



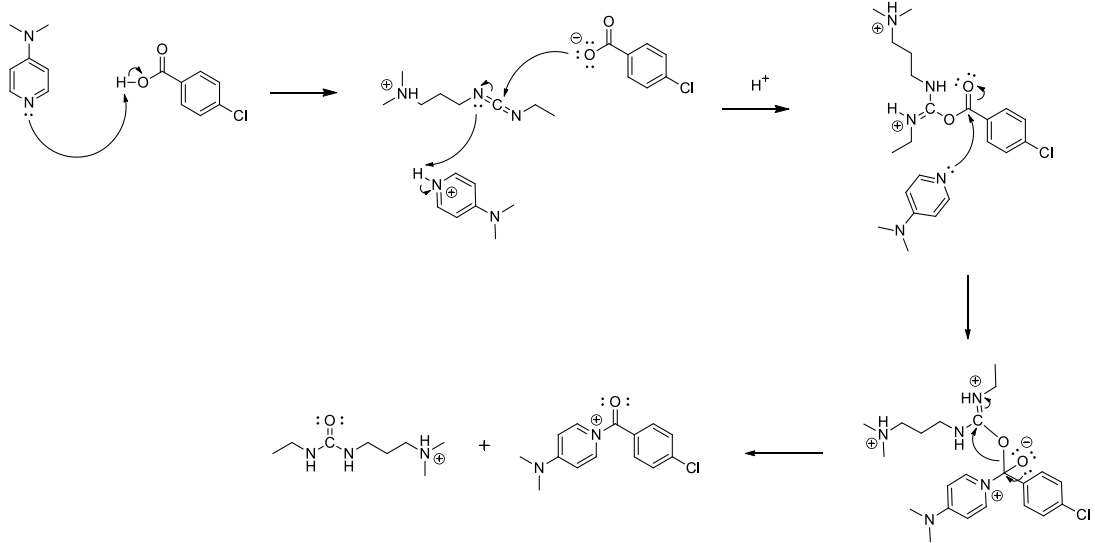
As substâncias **13-15** foram obtidas como óleos de cores diferentes, sendo a substância **13** um óleo esverdeado com 67% de rendimento, a substância **14** um óleo amarelo com 71% de rendimento e a substância **15** um óleo bege com 67% de rendimento.

5.2.5 Síntese dos ésteres **16-18**

Para a síntese dos ésteres, foi utilizado o método de esterificação de Steglich, onde o EDAC age como reagente de acoplamento entre o álcool e o ácido carboxílico e o DMAP como catalizador da reação (GILLES et al., 2015; NEISES; STEGLICH, 1978).

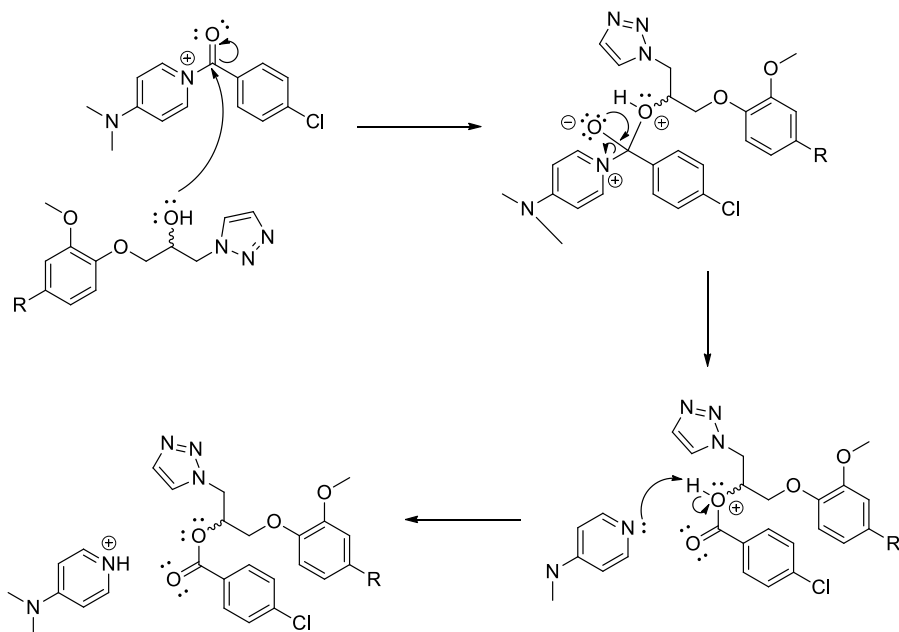
Esta reação ocorre em duas etapas. Em um primeiro momento o DMAP desprotona o ácido carboxílico do ácido 4-clorobenzóico formando um carboxilato, que por sua vez promove um ataque nucleofílico ao carbono eletrofílico da carbodiimida desfazendo a ligação π N-C. Em seguida, os elétrons não ligantes do nitrogênio aromático do DMAP atacam o carbono carbonílico eletrofílico deslocando a ligação π e formando um intermediário tetraédrico. O oxigênio carregado negativamente regenera a carbonila com a consequente saída do reagente de acoplamento na forma de uma ureia e formação de uma amida muito reativa, como pode ser observado na Figura 16 a seguir (NEISES; STEGLICH, 1978).

Figura 16: Mecanismo proposto para a primeira etapa de síntese dos ésteres.



Na segunda etapa, representada pela Figura 17, o álcool secundário ataca o carbono carbonílico eletrofílico da amida, deslocando a ligação π e formando o intermediário tetraédrico. O oxigênio carregado negativamente regenera a carbonila expulsando o DMAP como grupo abandonador e formando a ligação éster. O DMAP abstrai o próton do oxigênio carregado positivamente neutralizando a molécula (NEISES; STEGLICH, 1978).

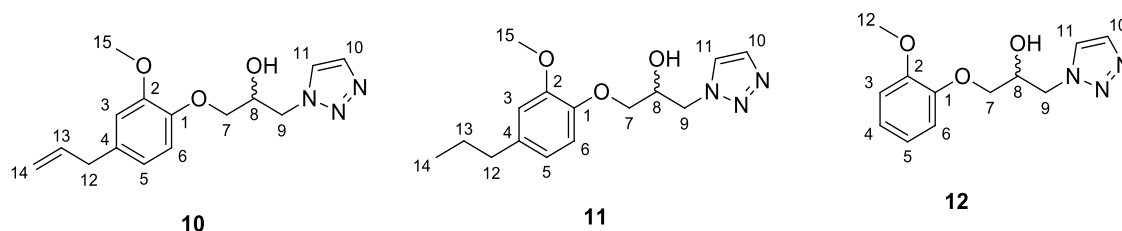
Figura 17: Mecanismo proposto para a segunda etapa da reação para obtenção dos ésteres propostos.



Os produtos **16** e **17** foram obtidos como óleos viscosos levemente amarelados com rendimentos de, respectivamente, 14% e 68%, enquanto o produto **18** foi obtido como um sólido branco com 46% de rendimento.

5.3 Caracterização química das substâncias triazólicas sintetizadas

As substâncias sintetizadas foram caracterizadas por ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , por espectrometria na região do infravermelho e por espectrometria de massas de alta resolução e todos os espectros estão apresentados no ANEXO.



Nos espectros de RMN de ^1H dos álcoois triazólicos (**10**, **11** e **12**) foi possível observar os sinais dos hidrogênios pertencentes aos *N*-heterocíclicos como os mais desblindados do espectro. Estes sinais foram encontrados na faixa de 7,88 ppm a 7,68 ppm, para H-10 e H-11 e foram observados como multipletos de integral 2 para os derivados **10** e **11** e como dois simpletos separados de integral 1 para o derivado **12**, sendo o simpleto registrado em 7,88 ppm referente ao H-11 (mais desblindado que o sinal de H-10 possivelmente devido à maior proximidade de H-11 com a hidroxila), e o simpleto registrado em 7,80 ppm referente ao H-10. Os hidrogênios provenientes do anel benzênico (H-3, H-5 e H-6 das substâncias **10** e **11** e H-3, H-4, H-5 e H-6 da substância **12**) foram registrados na faixa de 7,03 ppm a 6,68 ppm. Para a substância **10**, o H-6 foi o hidrogênio aromático mais desblindado, sendo caracterizado como um multipletto de integral 1 na faixa de 6,82 a 6,80 ppm; os H-3 e H-5 tiveram seu sinal caracterizado como um multipletto de integral 2 na faixa de 6,70 a 6,68 ppm. Em relação à substância **11**, o H-6 também apresentou o sinal mais desblindado no intervalo de 6,82 a 6,80, sendo ele um dupletto de integral 1 e constante de acoplamento $^3J=7,92$ Hz; o sinal do H-5 aparece logo em seguida como um multipletto de integral 1 em 6,71 ppm, enquanto o sinal de H-3, menos

desblindado, foi caracterizado como um duplete de integral 1 entre 4,71 a 4,66 ppm com constante de acoplamento $^4J=1,88$ Hz.

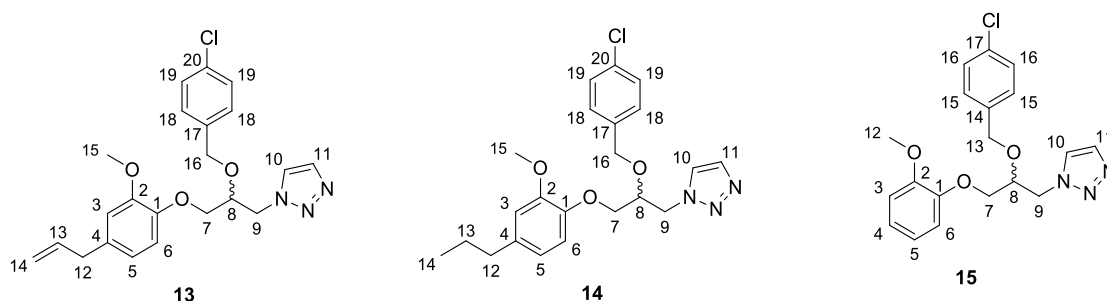
Os hidrogênios da cadeia alílica da substância **10** e da cadeia propílica da substância **11** foram encontrados entre 5,97 e 0,91 ppm. Para o derivado alílico, H-13 foi o sinal mais desblindado, caracterizado como um multiplete de integral 1, seguido do sinal referente a H-12, também um multiplete de integral 2 e, por último, H-14 caracterizado como um duplete entre 3,32 e 3,30 ppm de integral 2 e $^3J=6,72$ Hz. Já para o derivado propílico, H-12 foi o sinal mais desblindado, caracterizado como um tripleto de integral 2 com $^3J=7,88$ Hz, H-13 como um multiplete de integral 2 e H-14 também como um tripleto de integral 3 e constante de acoplamento $^3J=7,32$ Hz.

Os hidrogênios do carbono metoxílico foram observados em todos os espectros como simpletos de integral 3, próximos a 3,8 ppm.

Os hidrogênios alílicos diasterotópicos H-7, H-7', H-9 e H-9' e o hidrogênio ligado ao carbono quiral, H-8, foram encontrados no intervalo de 4,69 a 3,84 ppm. Em relação aos hidrogênios diasterotópicos, comprovou-se por análise de ressonância magnética nuclear bidimensional que os hidrogênios H-9 e H-9' são mais desblindados que os hidrogênios H-7 e H-7'. Esse fato inicialmente parece não corroborar a ideia de maior influência eletrorretiradora do oxigênio frente ao nitrogênio, entretanto outros fatores relacionados à estrutura das substâncias sintetizadas bem como a influência das interações entre os orbitais moleculares de suas ligações podem talvez explicar essa diferença em relação à predição teórica. Para praticamente todas as substâncias, os sinais dos hidrogênios diasterotópicos foram observados como dupletos duplos de integral 1 com constantes de acoplamento 2J próximas a 14 Hz para H-9 e H-9' e constantes 3J próximas a 3,8 Hz para o H-9 e próximas a 6,8 Hz para os H-9'. Já para os hidrogênios H-7, as constantes 2J foram próximas a 10 Hz e as constantes 2J apresentaram valores próximos a 4,8 Hz para H-7 e próximas a 6 Hz para H-7'. Os desdobramentos de H-8 caracterizaram-se como multipletos de integral 1 nos espectros de praticamente todas as substâncias.

Quanto aos espectros de RMN de ^{13}C dos álcoois triazólicos, foram observados sinais referentes aos carbonos aromáticos entre 149,85 e 112,05 ppm. Para os derivados do eugenol, os carbonos C-13 e C-14 pertencentes ao grupo alila também foram encontrados na região dos aromáticos, o que se explica tanto

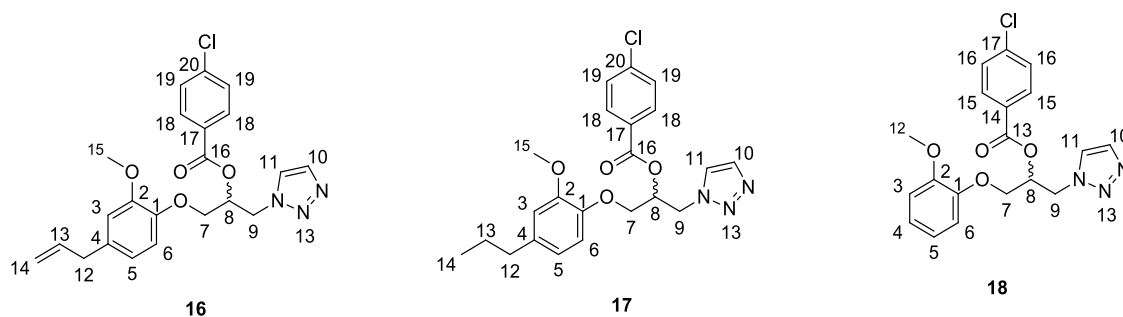
pela desblindagem causada pelo efeito anisotrópico do anel benzênico quanto pela desblindagem causada pela anisotropia do alceno, que ocorrem devido à presença dos orbitais π conjugados que alteram a organização das nuvens eletrônicas afetando o modo como o campo magnético externo interage com elas, levando a alterações no deslocamento químico observado. Os demais carbonos foram observados em deslocamentos químicos menores que 72 ppm. Com o auxílio do sub espectro DEPT-135 foi possível observar os sinais de C-7 e C-9 registrados em fase inversa, assim como C-12 para os derivados do eugenol e C-13 e C-12 para os derivados do di-hidroeuugenol.



Nos espectros de RMN de ^1H de cada um dos éteres sintetizados, foi possível observar dois sinais característicos de anéis aromáticos *para*-dissubstituídos, caracterizados como duplos tripletos aparentes correspondentes aos desdobramentos dos hidrogênios H-18 e H-19 para os derivados **13** e **14** e H-15 e H-16 para o derivado **15**. Estes sinais puderam ser observados nos intervalos de 7,31 a 7,12 ppm com integral 2 cada um. O sinal dos hidrogênios H-19 foram mais desblindados que os de H-18 nos derivados **13** e **14** e o sinal dos hidrogênios H-16 foram mais desblindados que os de H-15 para o derivado **15** devido à maior proximidade com o átomo de cloro. Outro sinal que comprovou a formação dos éteres foi o sinal do H-16 para os derivados **13** e **14** e H-13 para o derivado **15** que se caracterizou, em todos os espectros analisados, como um multipletto de integral 2 próximo a 4 ppm. A ocorrência desses multipletos pode estar associada à proximidade desses hidrogênios ao carbono quiral, o qual causa alterações do ambiente químico adjacente, levando a diferenciações de conformação estereoquímica e padrões distintos de acoplamento entre hidrogênios mais afastados entre si. Além disso, os H-16 ou H-13 nos éteres podem também acoplar a longo alcance com os H-18 dos

derivados **13** e **14** ou H-15 do derivado **15**. Por último, um acoplamento geminal também pode ocorrer entre os H-16 ou H-13. Todas essas possibilidades somadas explicam a ocorrência dos multipletos observados.

Já nos espectros de RMN de ^{13}C foram registrados 4 novos sinais de carbono na região dos carbonos aromáticos, sendo dois desses de intensidade equivalente a dois carbonos hidrogenados (C-18 e C-19 nos derivados **13** e **14** e C-15 e C-16 no derivado **15**), condizente com o ambiente químico de simetria do anel *para*-dissubstituído. Além disso, o sinal do carbono benzílico, C-16, foi registrado próximo a 71 ppm, confirmado pelo sinal de fase inversa registrado no sub espectro de DEPT-135.



Nos espectros de RMN de ^1H dos ésteres sintetizados também foi possível observar a presença de dois duplos tripletos aparentes correspondentes aos desdobramentos de H-18 e H-19 para as substâncias **16** e **17** e de H-15 e H-16 para a substância **18**, mas em deslocamentos químicos maiores, entre 7,92 a 7,39 ppm devido ao efeito de desblindagem do grupo carbonila não presente nos éteres. Outra diferença de atribuição também pôde ser estabelecida uma vez que, devido à presença da carbonila, os sinais de H-18 tornaram-se mais desblindados que os de H-19 já que a carbonila exerce efeito retirador de densidade por ressonância, o qual é mais forte que o efeito eletroretirador do átomo de cloro.

Além disso, nos espectros de RMN de ^{13}C dos ésteres foi registrado o sinal característico do carbono carbonílico próximo a 164 ppm, confirmando a formação da ligação éster.

Nos espectros na região do infravermelho dos álcoois secundários sintetizados, pôde-se observar as bandas da hidroxila em 3210 cm^{-1} para a substância **10**, 3201 cm^{-1} para a **11** e 3305 cm^{-1} para a **12**. Outra banda observada que sugeriu

a formação destes álcoois triazólicos foi a da deformação da ligação C-N, que foi registrada em 1259 cm^{-1} para a substância **10**, 1257 cm^{-1} para a substância **11** e 1249 cm^{-1} para a **12**.

Quanto aos espectros dos éteres sintetizados, não foram observadas as bandas correspondentes ao grupo hidroxila, sugerindo a ocorrência da benzilação.

Em relação aos espectros dos ésteres sintetizados, além do desaparecimento das bandas da hidroxila do álcool precursor, também foi possível observar a banda da deformação da ligação C=O próxima a 1720 cm^{-1} , indicando, assim a ocorrência da acilação. As bandas características de deformações C=O de ésteres costumam ser encontradas na região entre 1730 a 1750 cm^{-1} . No caso das substâncias sintetizadas, essas bandas foram encontradas com valores um pouco menores devido ao fato de o grupo éster estar ligado ao anel aromático e, por isso, estar envolvido em ressonância. O anel aromático estabiliza a carga parcial negativa sobre o oxigênio do éster, diminuindo a polaridade da ligação C=O. Essa deslocalização eletrônica reduz a forçada ligação C=O, resultando em uma absorção em menor comprimento de onda.

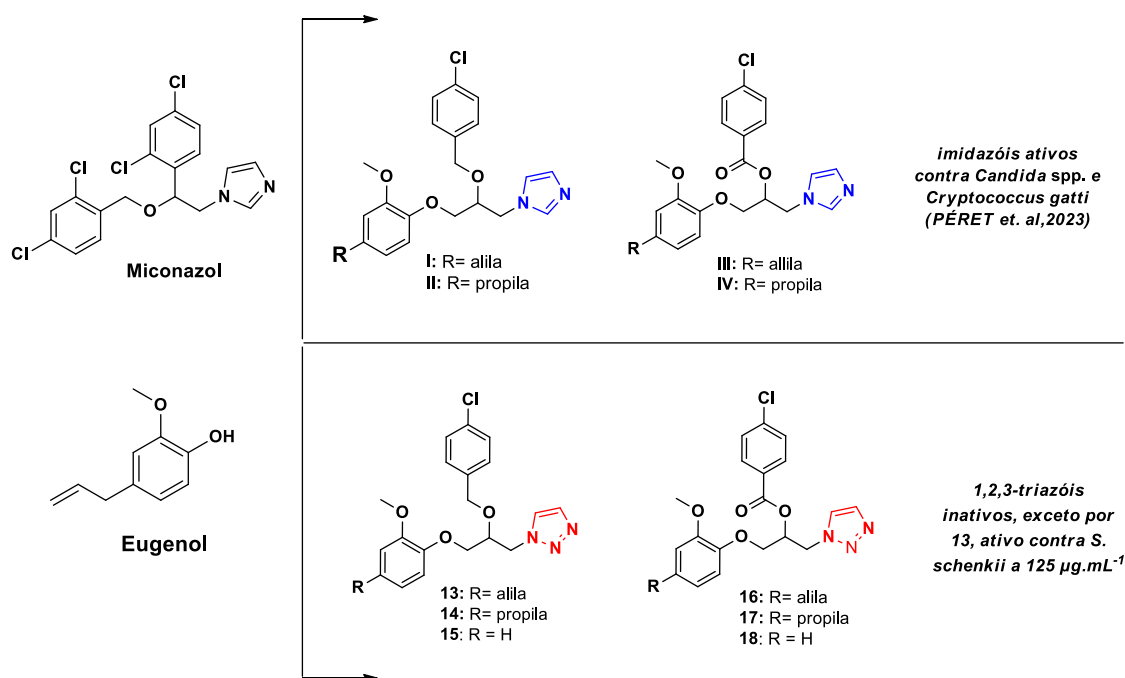
Por último, em todos os espectros de massas obtidos para as substâncias sintetizadas os valores entre a relação massa/carga (m/z) predita e a relação m/z obtida (na forma de adutos com o íon Na^+) foram muito próximas entre si com acurácia menor que 5 ppm. Essa análise comprova inequivocamente a obtenção das substâncias finais propostas neste trabalho.

5.4 Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica das substâncias azólicas sintetizadas

Os 1,2,3-triazóis sintetizados foram avaliados contra diferentes cepas de *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. auris*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. glabrata*), cepas de *Cryptococcus* (*C. gattii* e *C. neoformans*) e cepas de *Sporothrix* (*S. brasiliensis* e *S. schenkii*) através das concentrações inibitórias mínimas (CIMs), com miconazol como controle. O derivado **13** foi ativo contra *S. schenkii* a $125\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ e nenhum outro composto foi ativo contra as cepas mencionadas na maior concentração avaliada ($250\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Essa falta de atividade antifúngica relatada pode estar relacionada ao anel 1,2,3-triazólico das substâncias sintetizadas. Em estudo já publicado (PÉRET et. al., 2023), substâncias com padrões estruturais parecidos com os sintetizados neste trabalho (com a presença de um anel imidazólico no lugar do 1,2,3-triazol) demonstraram potenciais antifúngicos superiores aos fármacos Miconazol e Fluconazol, os quais já são amplamente utilizados no mercado (Figura 18).

Figura 18: Comparação entre as estruturas das substâncias imidazólicas ativas de PÉRET et.al., e as substâncias 1,2,3-triazólicas deste trabalho.



Os grupos 4-clorobenzila ou 4-clorobenzoíla provavelmente não contribuíram com a falta de atividade antifúngica dos 1,2,3-triazóis sintetizados neste trabalho, haja vista que suas interações π -stacking com subunidades de aminoácidos do bolso hidrofóbico da CYP51 já foram relatadas (PÉRET et al., 2023). A não atividade das substâncias sintetizadas neste trabalho parece estar relacionada à natureza do próprio núcleo 1,2,3-triazólico, assim como as substâncias 1,2,4-triazólicas não apresentaram atividade antifúngica no artigo publicado por nosso grupo de pesquisa. Esses resultados sugerem uma maior afinidade relativa de imidazóis com o grupo heme da CYP51

comparativamente à afinidade dos 1,2,3-triazóis ou 1,2,4-triazóis para os padrões estruturais das substâncias sintetizadas nestes dois trabalhos.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizadas uma série de 9 substâncias 1,2,3-triazólicas inéditas (**10-18**) análogas do fármaco miconazol e derivadas do eugenol, dihidroeugenol ou guaiacol. Esses novos compostos foram purificados e devidamente caracterizados por análises espectroscópicas/espectrométricas e sua atividade antifúngica foi avaliada contra *Candida* spp., *Cryptococcus* spp. e *Sporothrix* spp. O composto 1,2,3-triazol **13** apresentou atividade contra *S. schenckii* a 125 µg/mL, enquanto os demais compostos foram inativos contra todas as cepas avaliadas.

REFERÊNCIAS

ALLEN, M. A.; BROWN, D.; DEAN, M.; GOLDBERG, A.; KENNEDY, K.; NELSON, R. D.; THOMAS, H. T. Azole antifungal agents: from laboratory to clinic. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 5, p. 2862-2874, 2015. DOI: 10.1128/AAC.02792-14.

BARAC, A.; VUJOVIC, A.; PERIC, J.; PESTE, M.; DOŠEN, M.; MATEJEVIĆ, J.; JOVANOVIĆ, M.; ALIKADIĆ, K.; VRŠAJKOVIĆ, A.; ZUBER, S.; STEFANOVIĆ, M.; BOŠNJAK, D.; RANKOVIĆ, T.; ĆIRIĆ, S. Rethinking aspergillosis in the era of microbiota and mycobiota. **Mycopathologia**, v. 189, p. 49, 2024. DOI: 10.1007/s11046-024-00853-2.

BONGOMIN, Felix; GAGO, Sara; OLADELE, Rita O.; DENNING, David W. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. **J. Fungi**, v. 3, n. 4, p. 57, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof3040057>.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças, Agravos e Eventos de Saúde Pública. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/svsa/notificacao-compulsoria/lista-nacional-de-notificacao-compulsoria-de-doencas-agrivos-e-eventos-de-saude-publica>. Acesso em: 10 ago. 2024.

BROWN, G. D. et al. The pathobiology of human fungal infections. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 670-684, 2012. DOI: 10.1038/nrmicro2878.

CARVALHO, Ivone; ANDRADE, Peterson; CAMPO, Vanessa L.; et al. 'Click chemistry' synthesis of a library of 1,2,3-triazole-substituted galactose derivatives and their evaluation against *Trypanosoma cruzi* and its cell surface trans-sialidase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 7, p. 2412-2427, 1 abr. 2010. DOI: 10.1016/j.bmc.2010.02.053. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.02.053>. Acesso em: 20 ago. 2024.

CASADEVALL A, KONTOYIANNIS DP, ROBERT V. On the emergence of *Candida auris*: climate change, azoles, swamps, and birds. **mBio**. 2019;10(4). Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mbio.01397-19>. Acesso em: 20 ago.2024.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Aspergillosis Basics. Disponível em: <https://www.cdc.gov/aspergillosis/about/index.html>. Acesso em: 10 ago. 2024.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). About Cryptococcosis. Disponível em: <https://www.cdc.gov/cryptococcosis/about/index.html>. Acesso em: 10 ago. 2024.

CLAYDEN, Jonathan; GREEVES, Nick; WARREN, Stuart. **Organic Chemistry**. 2. ed. New York: Oxford University Press, 2012. v. 1 DOI: 10.1021/ja00892a048.

DENNING, D. W. Global incidence and mortality of severe fungal disease. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 1-12, 2024. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00692-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00692-8). Acesso em: 10 ago. 2024.

DE SOUZA, Thiago Belarmino; CALDAS, Ivo Santana; PAULA, Favero Reisdorfer; RODRIGUES, Camila Coelho; CARVALHO, Diogo Teixeira; DIAS, Danielle Ferreira. Synthesis, activity, and molecular modeling studies of 1,2,3-triazole derivatives from natural phenylpropanoids as new trypanocidal agents. **Chemical Biology and Drug Design**, [S. l.], v. 95, n. 1, p. 124–129, 2019. DOI: 10.1111/cbdd.13628.

DIXON, Dennis M.; WALSH, Thomas J. Antifungal agents. In: MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. (Ed.). **Medical Microbiology**. 4. ed. [S.l.]: [s.n.], 2012. p. 1065-1084. Cap. 76.

FIRACATIVE, Carolina; TRILLES, Luciana; MEYER, Wieland. Recent advances in Cryptococcus and cryptococcosis. **Microorganisms**, v. 10, n. 1, p. 13, jan. 2022. DOI: 10.3390/microorganisms10010013.

GIACOMAZZI, Juliana; BAETHGEN, Ludmila; CARNEIRO, Lilian C.; MILLINGTON, Maria Adelaide; DENNING, David W.; COLOMBO, Arnaldo L.; PASQUALOTTO, Alessandro C. The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses**, v. 59, n. 3, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/myc.12427>. Acesso em: 22 ago. 2024.

GILLES, Vitor; VIEIRA, Mariana A.; LACERDA, Valdemar; CASTRO, Eustáquio V.

R.; SANTOS, Reginaldo B.; ORESTES, Ednilson; CARNEIRO, José W. M.; GRECO, Sandro J. A new, simple and efficient method of steglich esterification of juglone with long-chain fatty acids: Synthesis of a new class of non-polymeric wax deposition inhibitors for crude oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, [S. l.], v. 26, n. 1, p. 74–83, 2015. DOI:10.5935/0103-5053.20140216.

HARGROVE, Tatiana Y. et al. Structural analyses of *Candida albicans* sterol 14 α -demethylase complexed with azole drugs address the molecular basis of azole-mediated inhibition of fungal sterol biosynthesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 18, p. 7594-7605, 2017. DOI 10.1074/jbc.M117.778308.

HOUŠŤ, Jiří; SPÍŽEK, Jaroslav; HAVLÍČEK, Vladimír. Antifungal Drugs. **Cham: Springer**, 2020.

KÖHLER, J. R. et al. Fungi that infect humans. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 3, 2017. DOI: 10.1128/microbiolspec.funk-0014-2016.

KWON-CHUNG, Kyung J.; FRASER, James A.; DOERING, Tamara L.; WANG, Zhuo A.; JANBON, Guilhem; IDNURM, Alexander; BAHN, Yong-Sun. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, 2014. DOI: 10.1101/cshperspect.a019760.

LEE, Yunjin; ROBBINS, Nicole; COWEN, Leah E. Molecular mechanisms governing antifungal drug resistance. **npj Antimicrobials & Resistance**, v. 1, n. 5, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s44259-023-00007-2>. Acesso em: 14 ago. 2024.

MARTINEZ, Roberto. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, n. 5, p. 449-460, out. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1806-37132006000500013>. Acesso em: 12 ago. 2024.

MISHRA, Shyam Kumar; YASIR, Muhammad; WILLCOX, Mark. *Candida auris*: an emerging antimicrobial-resistant organism with the highest level of concern, **Lancet Microbe**, [S.l.], v. 8, p. 100185, 2023. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(23\)00114-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(23)00114-3). Acesso em: 10 ago. 2024.

NEISES, Bernhard; STEGLICH, Wolfgang. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. **Angewandte Chemie International Edition in English**, [S. l.], v. 17, n. 7, p. 522–524, 1978. DOI: 10.1002/anie.197805221. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.197805221>. Acesso em: 20 ago. 2024.

NOOR, Asif; PREUSS, Charles V. **Amphotericin B**. In: STATPEARLS. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. Bookshelf ID: NBK482327. PMCID: 29493952.

PÉRET, V. A. C.; REIS, R. C. F. M.; BRAGA, S. F. P.; BENEDETTI, M. D.; CALDAS, I. S.; CARVALHO, D. T.; SANTANA, L. F. A.; Johann, S.; SOUZA, T. B. New miconazole-based azoles derived from eugenol show activity against *Candida* spp. and *Cryptococcus gattii* by inhibiting the fungal ergosterol biosynthesis, **European Journal of Medicinal Chemistry** 256 (2023). DOI: 10.1016/j.ejmech.2023.115436.

PERLIN, David S. Mechanisms of echinocandin antifungal drug resistance. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1354, n. 1, p. 1-11, 2015. DOI: 10.1111/nyas.12831.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; TURNIDGE, J. D.; CASTANHEIRA, M.; JONES, R. N. Twenty years of the SENTRY antifungal surveillance program: results for *Candida* species from 1997-2016. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 6, p. S79–S94, 2019. DOI: 10.1093/ofid/ofy358.

QI, Guihong; HAO, Lijun; GAN, Yutong; XIN, Tianyi; LOU, Qian; XU, Wenjie; SONG, Jingyuan. Identification of closely related species in *Aspergillus* through analysis of whole-genome sequencing. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1323572.

RAMÍREZ-VILLALVA, Alejandra; GONZÁLEZ-CALDERÓN, Davir; GONZÁLEZ-ROMERO, Carlos; MORALES-RODRÍGUEZ, Macario; JAUREGUI-RODRÍGUEZ, Bertha; CUEVAS-YÁÑEZ, Erick; FUENTES-BENÍTES, Aydeé. A facile synthesis of novel miconazole analogues and the evaluation of their antifungal activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 97, p. 275–279, 2015. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.047.

REIS, Rúbia Castro Fernandes Melo; SANTOS, Elda Gonçalves dos; BENEDETTI, Monique Dias; REIS, Adriana Cotta Cardoso; BRANDÃO, Geraldo Célio; SILVA, Glenda Nicioli da; DINIZ, Lucas Abreu; FERREIRA, Rafaela Salgado; CALDAS, Ivo Santana; BRAGA, Saulo Fehelberg Pinto; SOUZA, Thiago Belarmino de. Design and synthesis of new 1,2,3-triazoles derived from eugenol and analogues with in vitro and in vivo activity against *Trypanosoma cruzi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 247, p. 115622, 2023. DOI: 10.1016/j.ejmech.2023.115622.

RODRIGUES, Marcio L.; NOSANCHUK, Joshua D. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 2, e0007964, fev. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007964>. Acesso em: 9 ago. 2024.

SENGUPTA, M., KUNDU, A., NAYAK, G. et al. One Health Approach to Addressing Fungal Infection Disparities. **Curr Fungal Infect Rep** 18, 13–25 (2024). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12281-023-00480-2>. Acesso em: 9 ago. 2024.

SHAFIEI, Mohammad; PEYTON, Lee; HASHEMZADEH, Mehrnoosh; FOROUMADI, Alireza. History of the development of antifungal azoles: A review on structures, SAR, and mechanism of action. **Bioorganic Chemistry**, [s.l.], v. 103, p. 102236, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.102236>. Acesso em: 15 ago. 2024.

SHEPPARD, D.; LAMPIRIS, H.W. Antifungal Agents. In: KATZUNG, B.G.; MASTERS, S.B.; TREVOR, A.J. (Eds.). **Basic and Clinical Pharmacology**. 12. ed. p. 855. 2012.

SILVA, Felipe Almeida da. Genética populacional e epidemiologia molecular de isolados brasileiros clínicos e ambientais de *Cryptococcus neoformans*. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2020.

SKVORTSOVA, I. I.; SPAN, P. N. Editorial: Advances in biological understanding of tumor radiation resistance. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 754, 2020. DOI: 10.3389/fonc.2020.00754.

SONI, Shringika; PUDAKE, Ramesh Namdeo; JAIN, Utkarsh; CHAUHAN, Nidhi. A systematic review on SARS-CoV-2-associated fungal coinfections. **Journal of Medical Virology**, [S.l.], v. 93, n. 9, p. 5333-5342, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.27358>. Acesso em: 9 ago. 2024.

STRICKLAND, A. B.; SHI, M. Mechanisms of fungal dissemination. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 78, n. 15-16, p. 3219-3238, 2021. DOI: 10.1007/s00018-020-03736-z. Acesso em: 16 ago. 2024.

SULEYMAN, G.; ALANGADEN, G. J. Nosocomial fungal infections: epidemiology, infection control, and prevention. **Infectious Disease Clinics of North America**, [s.l.], v. 35, n. 4, p. 1027-1053, 2021.

SUPERFUNGOS: desafio emergente na saúde global. **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Disponível em: <https://sbmt.org.br/superfungos-desafio-emergente-na-saude-global/>. Acesso em: 10 ago. 2024.

SZYMAŃSKI, Mateusz; CHMIELEWSKA, Sandra; CZYŻEWSKA, Urszula; MALINOWSKA, Marta; TYLICKI, Adam. Echinocandins – structure, mechanism of action and use in antifungal therapy. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 876–894, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2050224>. Acesso em: 10 ago. 2024.

TALAPKO, J.; JUZBAŠIĆ, M.; MATIJEVIĆ, T.; PUSTIJANAC, E.; BEKIĆ, S.; KOTRIS, I.; ŠKRLEC, I. *Candida albicans*—The virulence factors and clinical manifestations of infection. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 79, 2021. DOI: 10.3390/jof7020079.

ULANOWSKA, Magdalena; OLAS, Beata. Biological properties and prospects for the application of eugenol—A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3671, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>. Acesso em: 12 ago. 2024.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Novel Drug Approvals for 2022, **FDA**. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2022>. Acesso em: 10 ago. 2024.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Novel Drug Approvals for 2023, **FDA** Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2023>. Acesso em: 10 ago. 2024.

U.S. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Risk factors for fungal diseases. **CDC**, 2024. Disponível em: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/risk-factors.html>. Acesso em: 10 ago. 2024.

WHALEY, Sarah G. et al. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-albicans *Candida* species. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 11 jan. 2017. Sec. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy. DOI: 10.3389/fmicb.2016.02173.

YANG, Bo; RAO, Reeta. Emerging pathogens of the *Candida* species. In: **IntechOpen**. 2018. DOI: 10.5772/intechopen.80378.

ZHAI, Pengfei; SHI, Landan; ZHONG, Guowei; JIANG, Jihong; ZHOU, Jingwen; CHEN, Xin; DONG, Guokai; ZHANG, Lei; LI, Rongpeng; SONG, Jinxing. The OxaA protein of *Aspergillus fumigatus* is required for the oxidative stress response and fungal pathogenesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 22, e01120-21, 2021. DOI: 10.1128/AEM.01120-21.

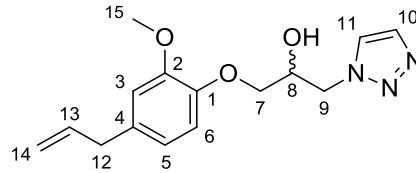
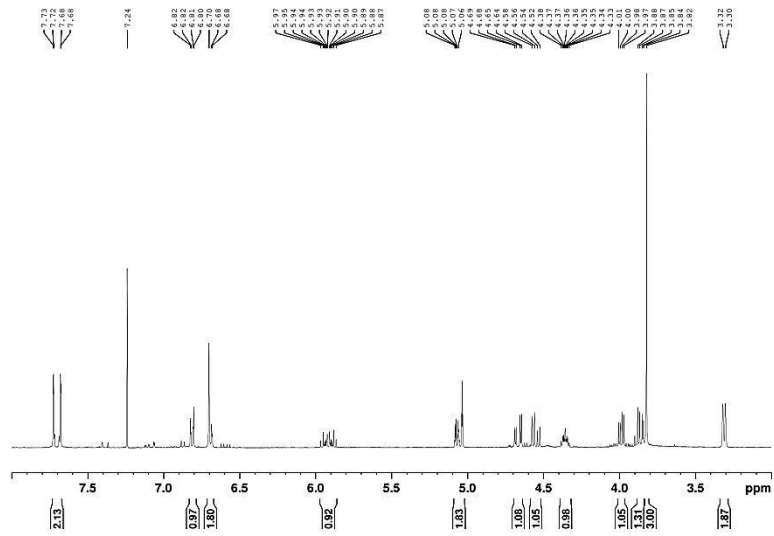
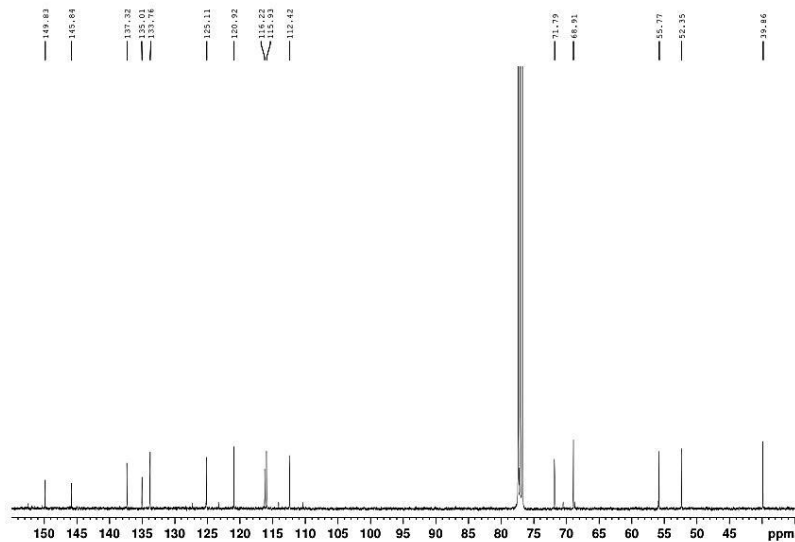
ZHANG, Jingxiang; LI, Liping; LV, Quanzhen; YAN, Lan; WANG, Yan; JIANG, Yuanying. The Fungal CYP51s: Their Functions, Structures, Related Drug Resistance, and Inhibitors. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 691, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00691>. Acesso em: 12 ago. 2024.

ZOTCHEV, Sergey. Polyene macrolide antibiotics and their applications in human therapy. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 3, p. 211-223, mar. 2003. DOI: 10.2174/0929867033368448.

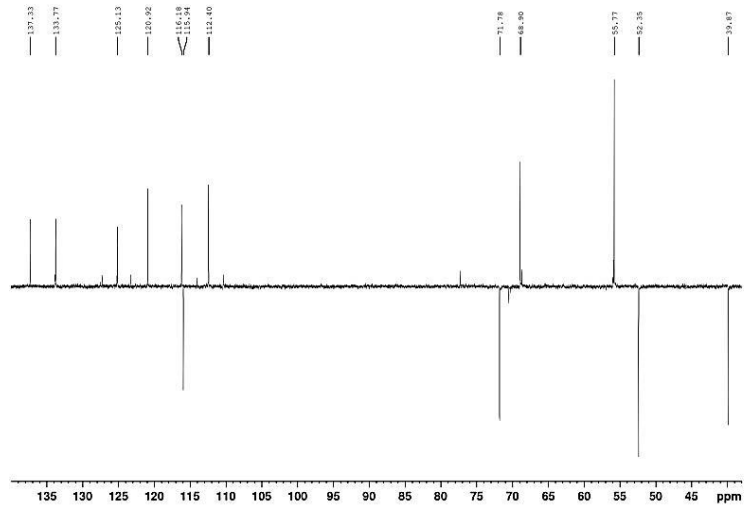
ANEXO

Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H ^{13}C e DeptSubstância **10**

1-[2-methoxy-4-(prop-2-en-1-yl)phenoxy]-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)propan-2-ol

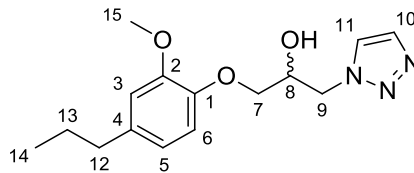
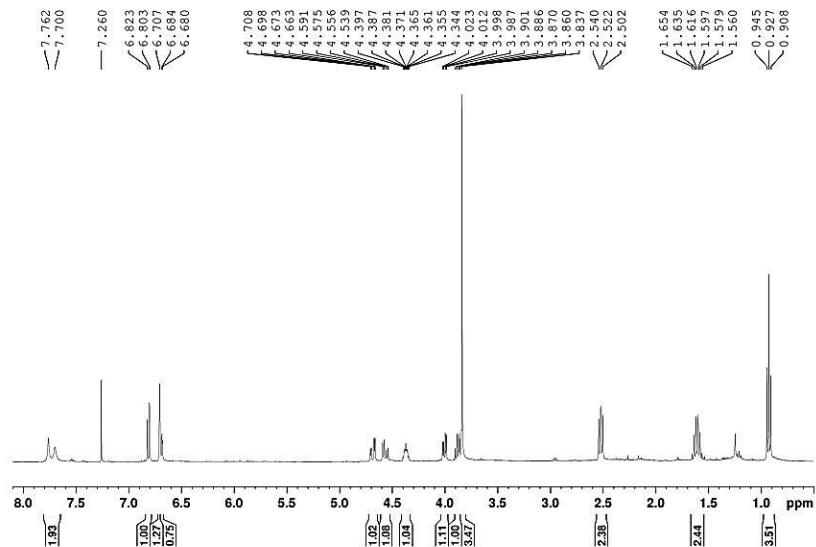
 ^1H : ^{13}C :

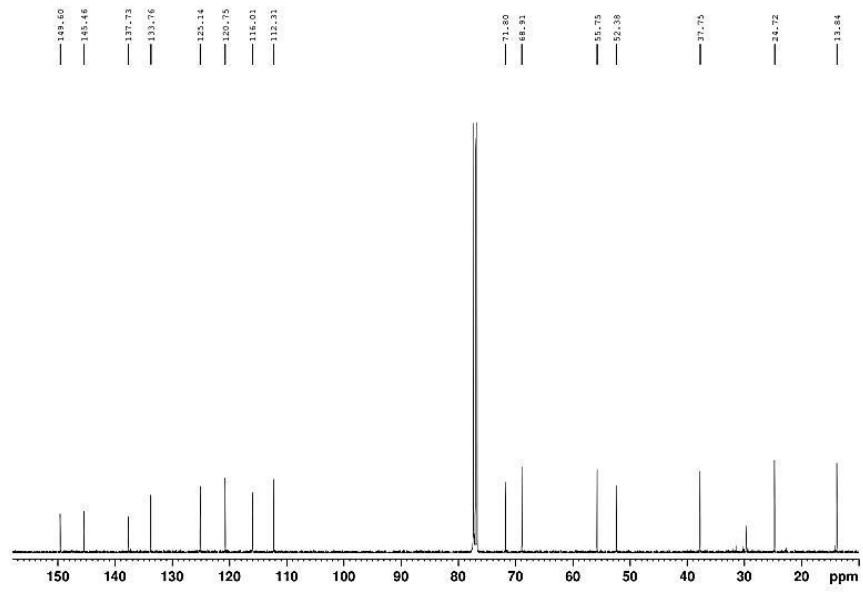
Dept:



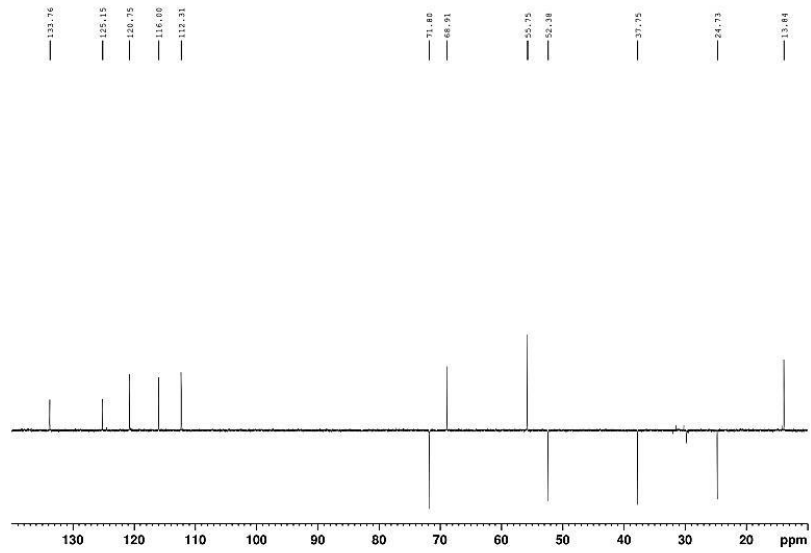
Substância 11

1-(2-methoxy-4-propylphenoxy)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)propan-2-ol

¹H:

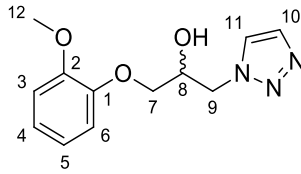
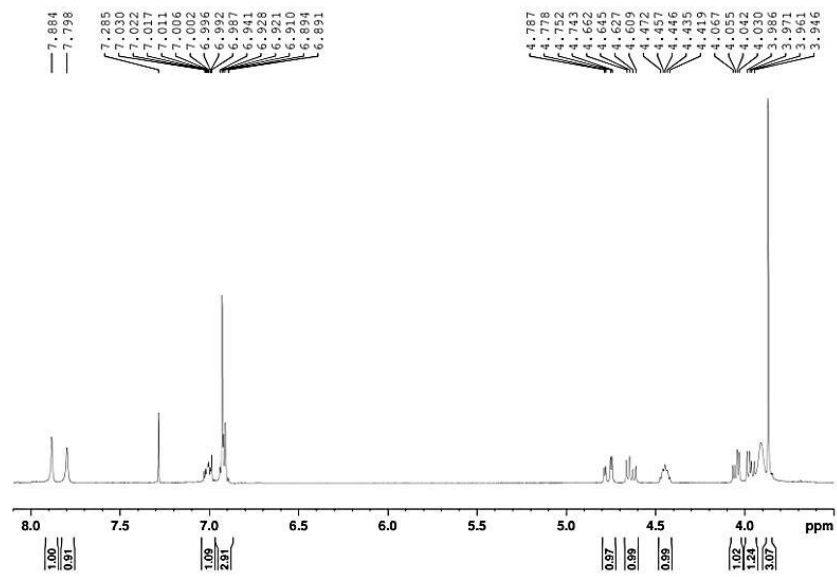
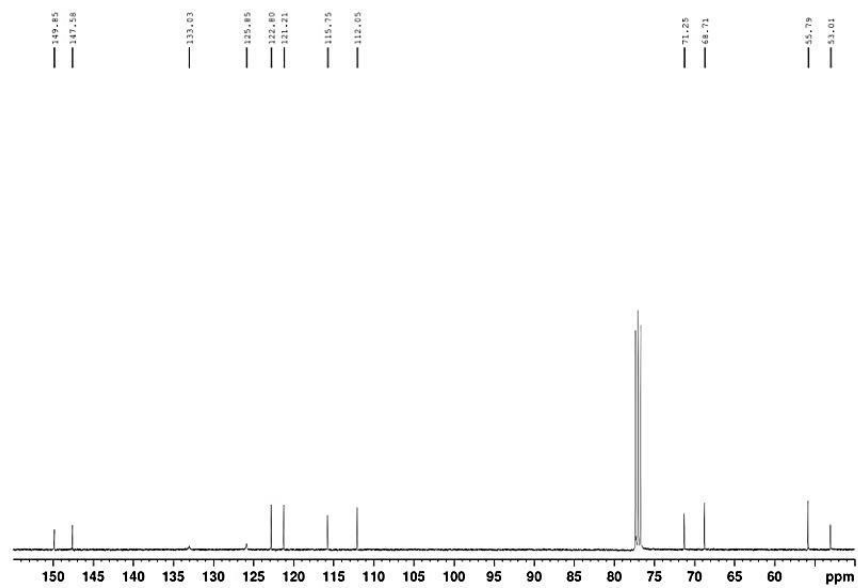
^{13}C :

Dept:

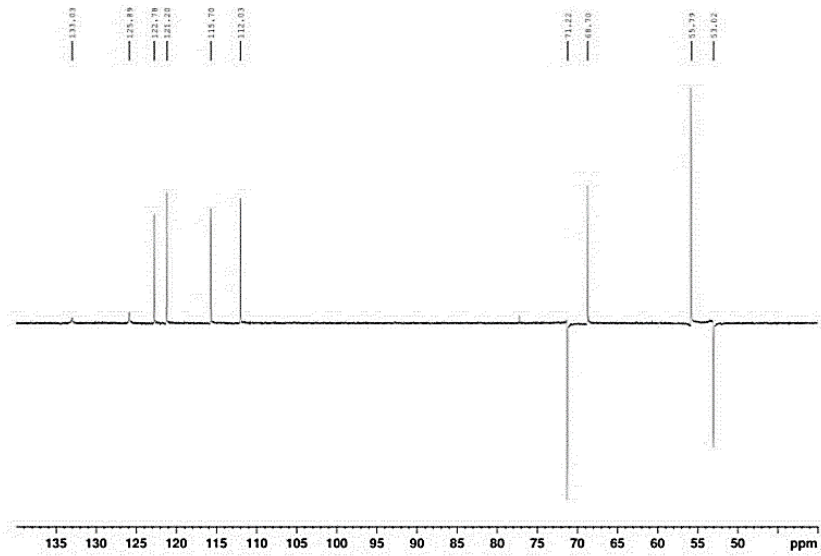


Substância 12

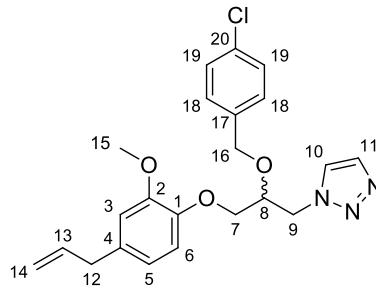
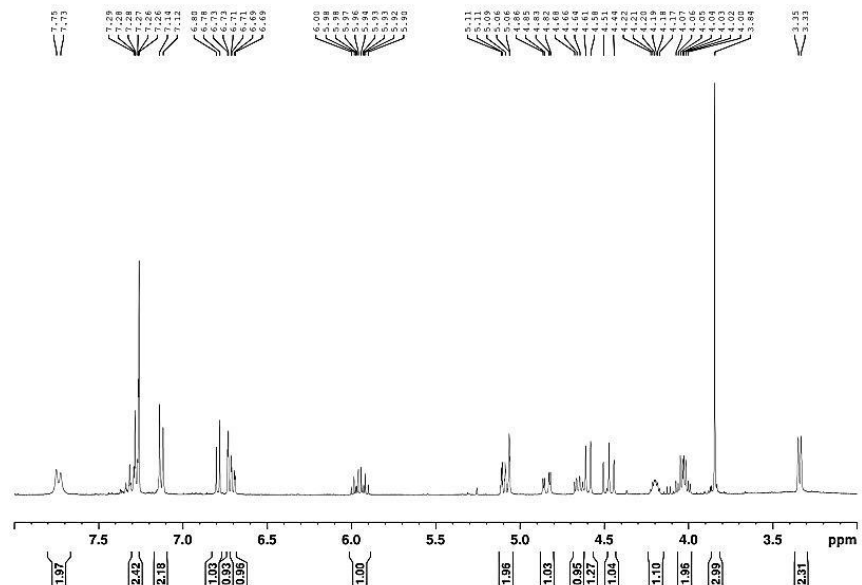
1-(2-methoxyphenoxy)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)propan-2-ol

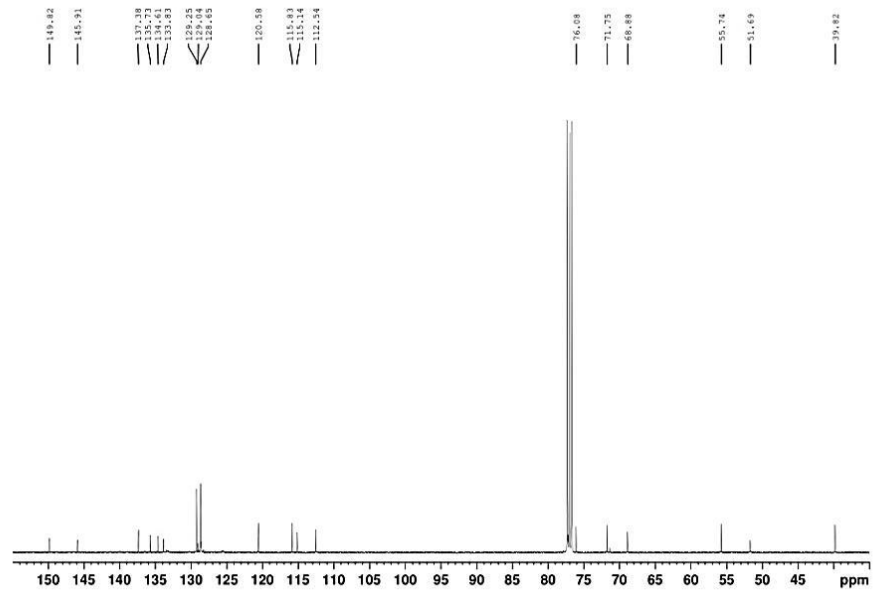
 ^1H : ^{13}C :

Dept:

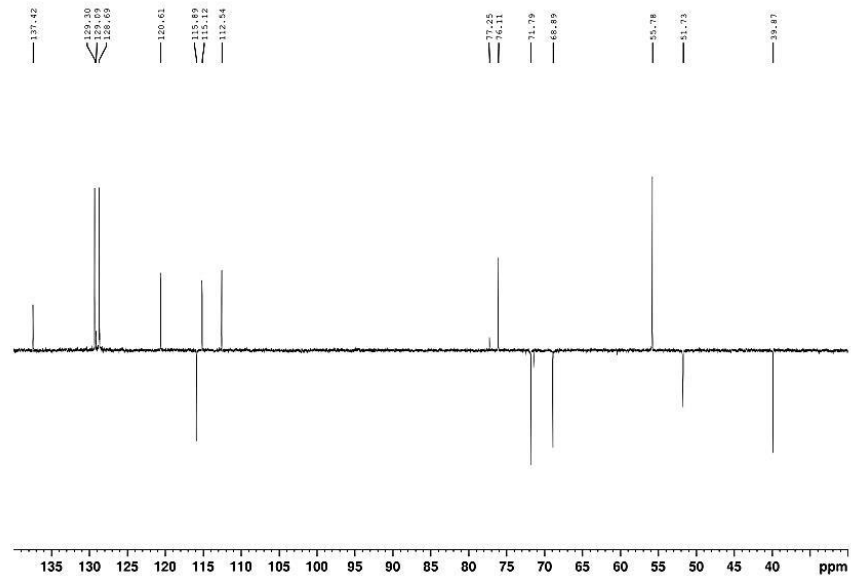
Substância **13**

1-[2-methoxy-4-(prop-2-en-1-yl)phenoxy]-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl) 1-chloro-4-
 {[(propan-2-yl)oxy]methyl}benzene

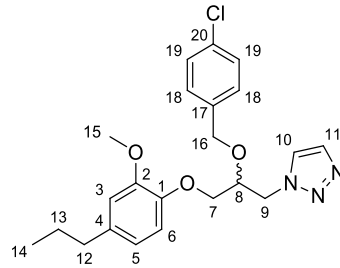
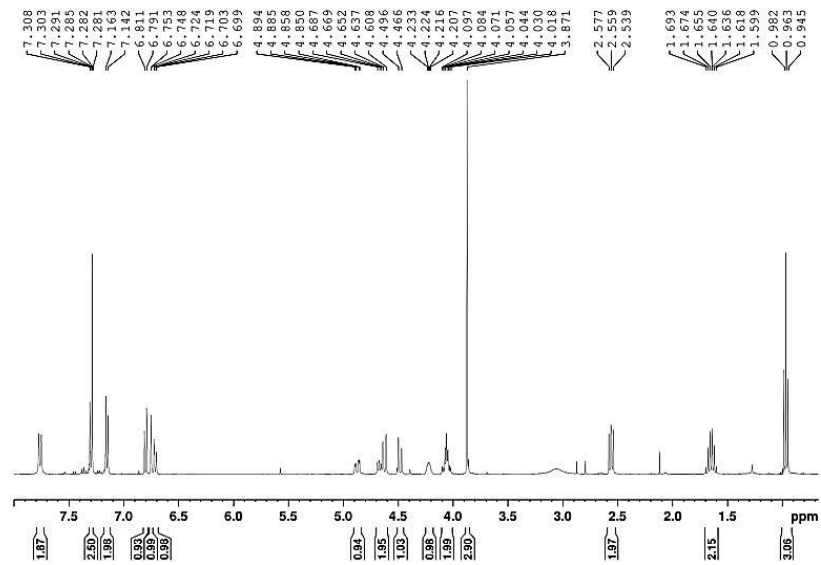
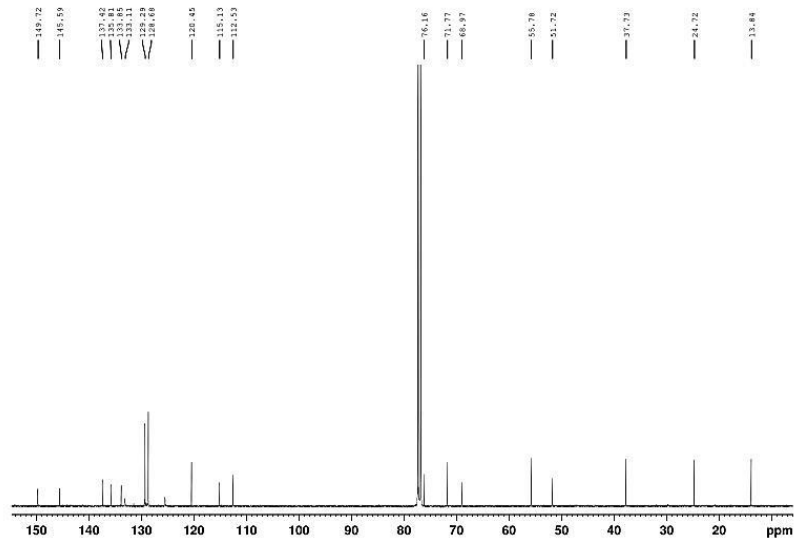
¹H:

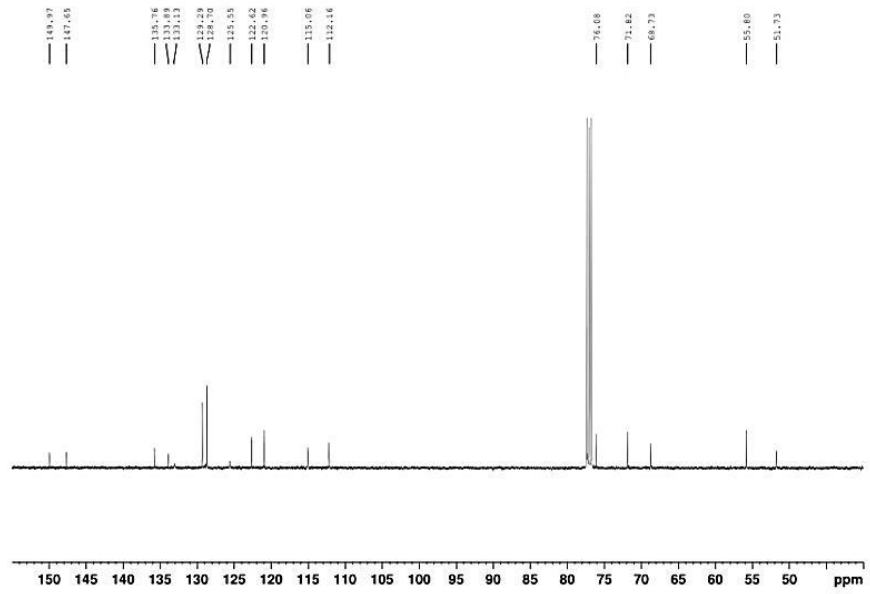
^{13}C :

Dept:

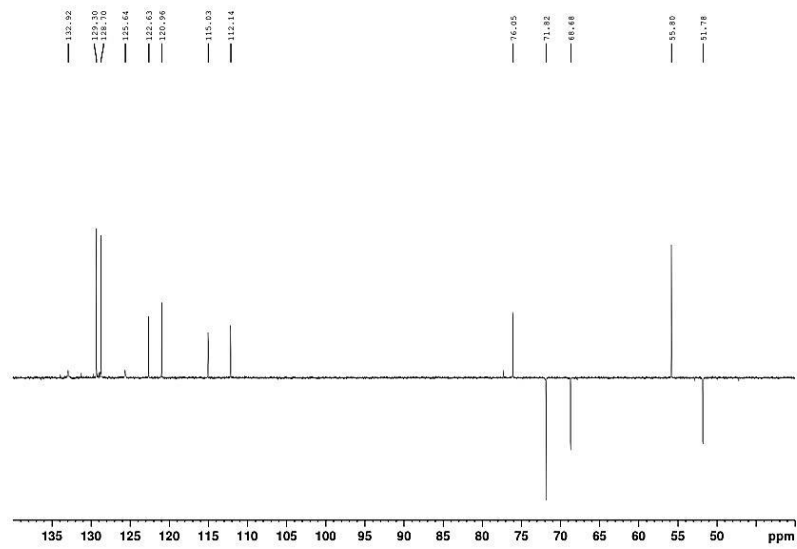
**Substância 14**

1-(2-methoxy-4-propylphenoxy)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl) 1-chloro-4-(((propan-2-yl)oxy)methyl)benzene

 ^1H : ^{13}C :

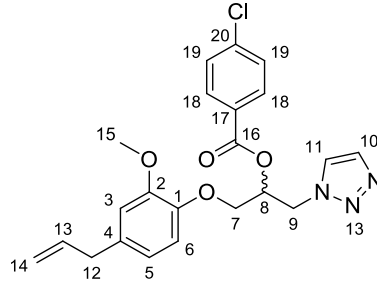
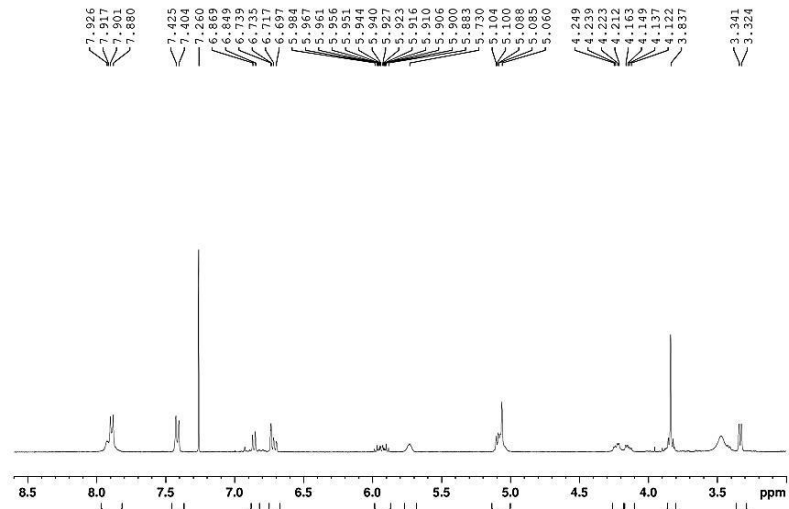
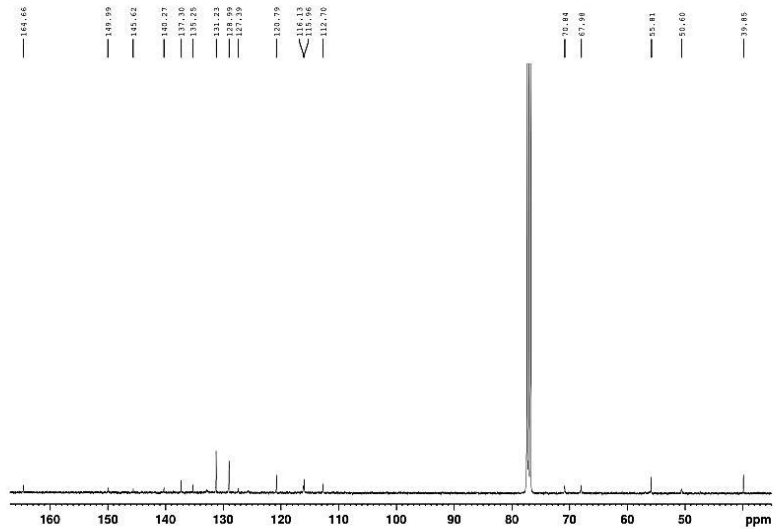
^{13}C :

Dept:

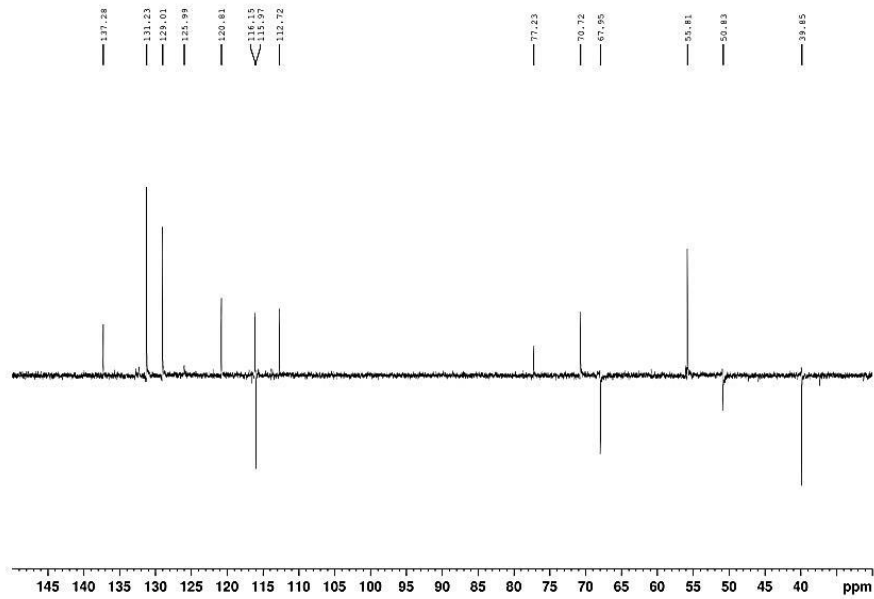


Substância 16

1-[2-methoxy-4-(prop-2-en-1-yl)phenoxy]-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)propan-2-yl 4-chlorobenzoate

 ^1H : ^{13}C :

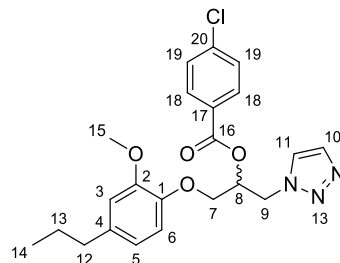
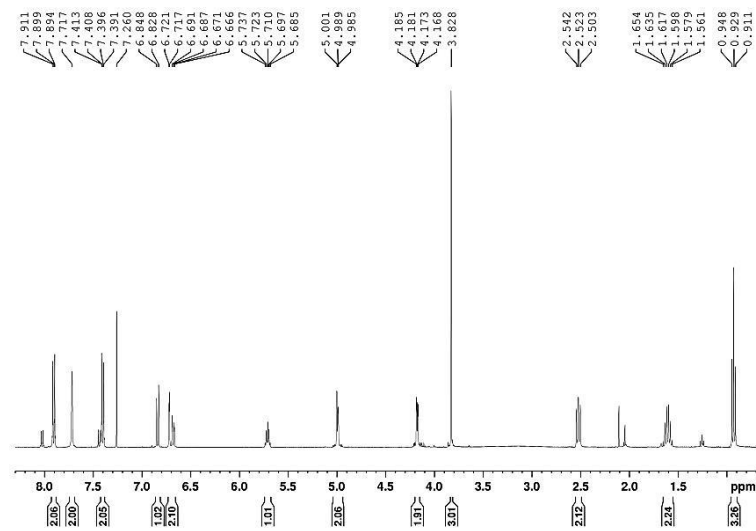
Dept:

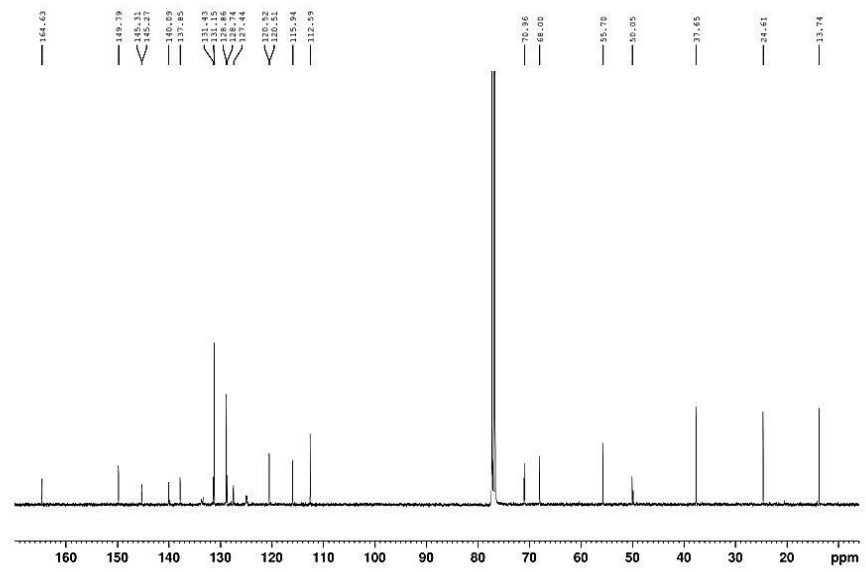


Substância 17

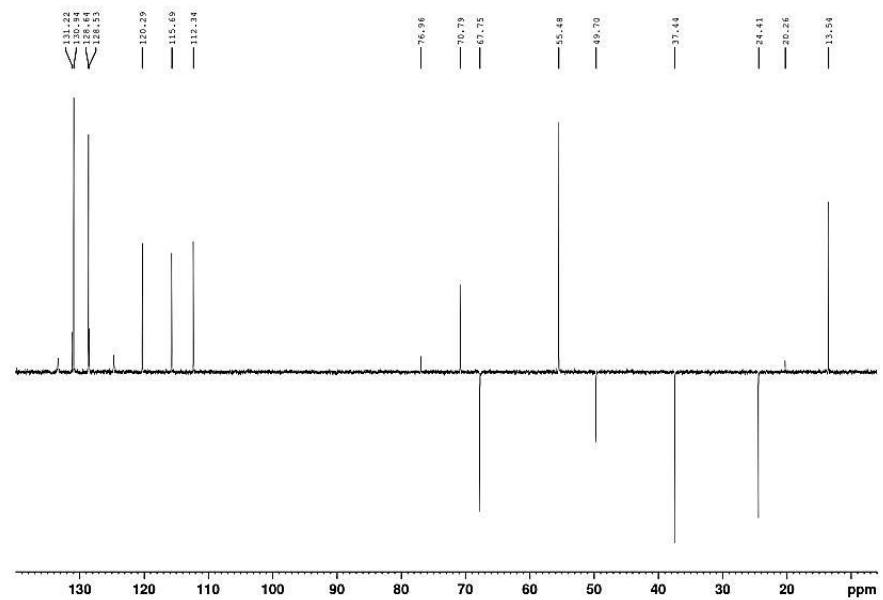
1-(2-methoxy-4-propylphenoxy)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)propan-2-yl
chlorobenzoate

4-

¹H:

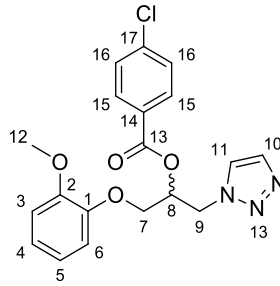
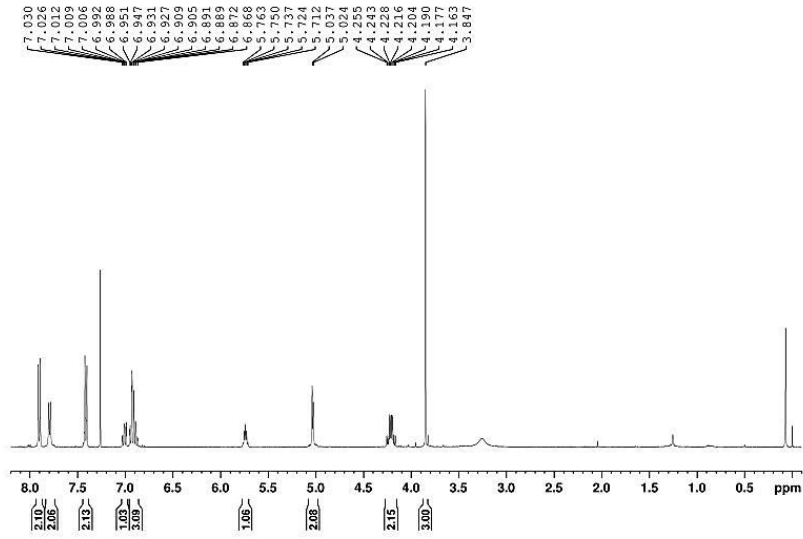
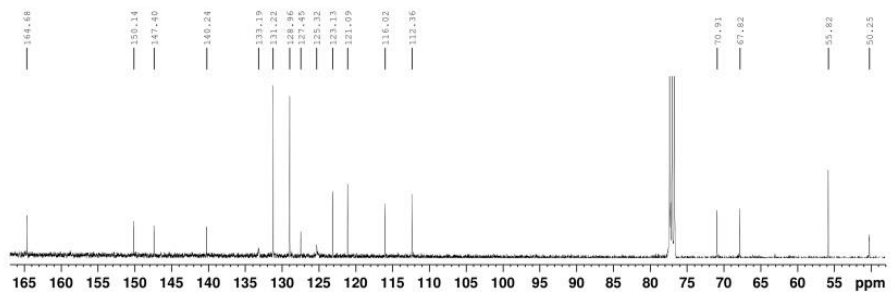
^{13}C :

Dept:

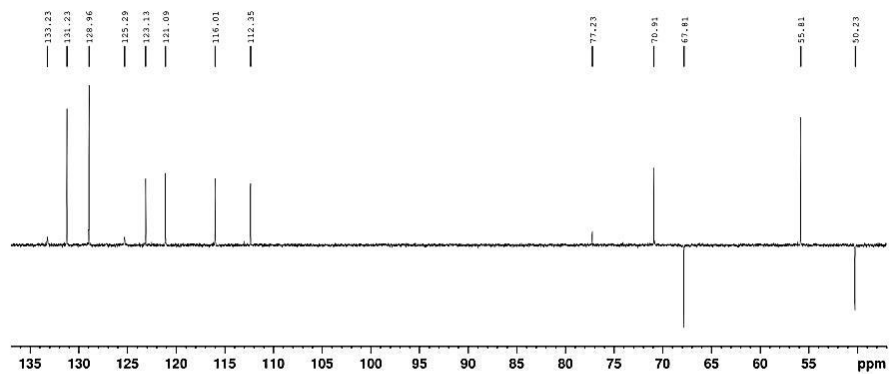


Substância 18

1-(2-methoxyphenoxy)-3-(1H-1,2,3-triazol-1-yl)propan-2-yl 4-chlorobenzoate

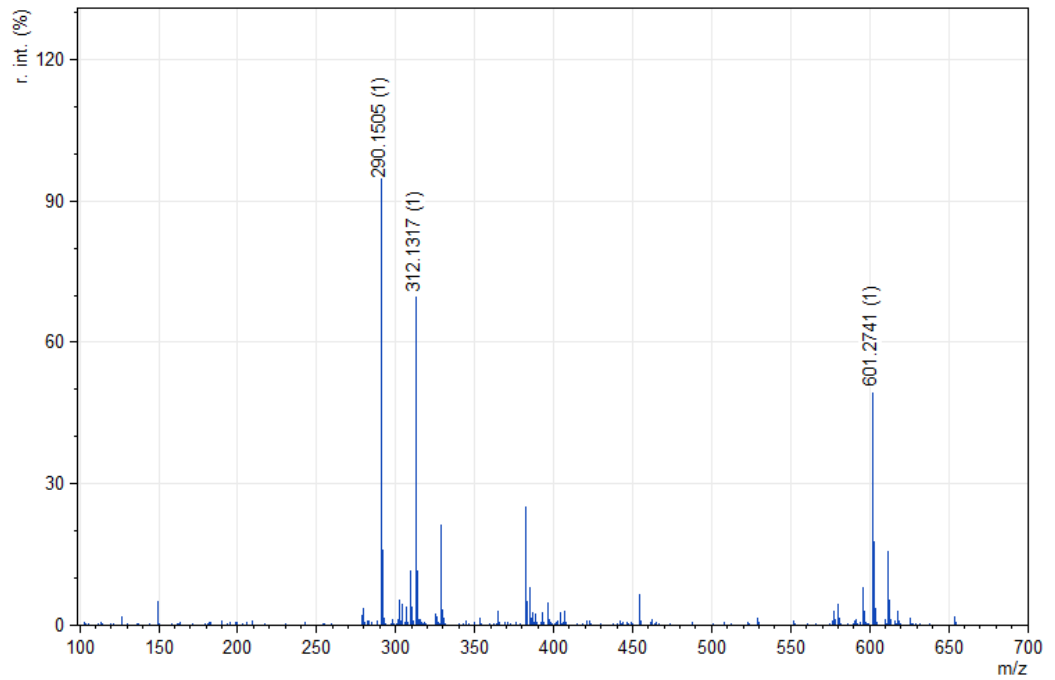
 ^1H : ^{13}C :

Dept:

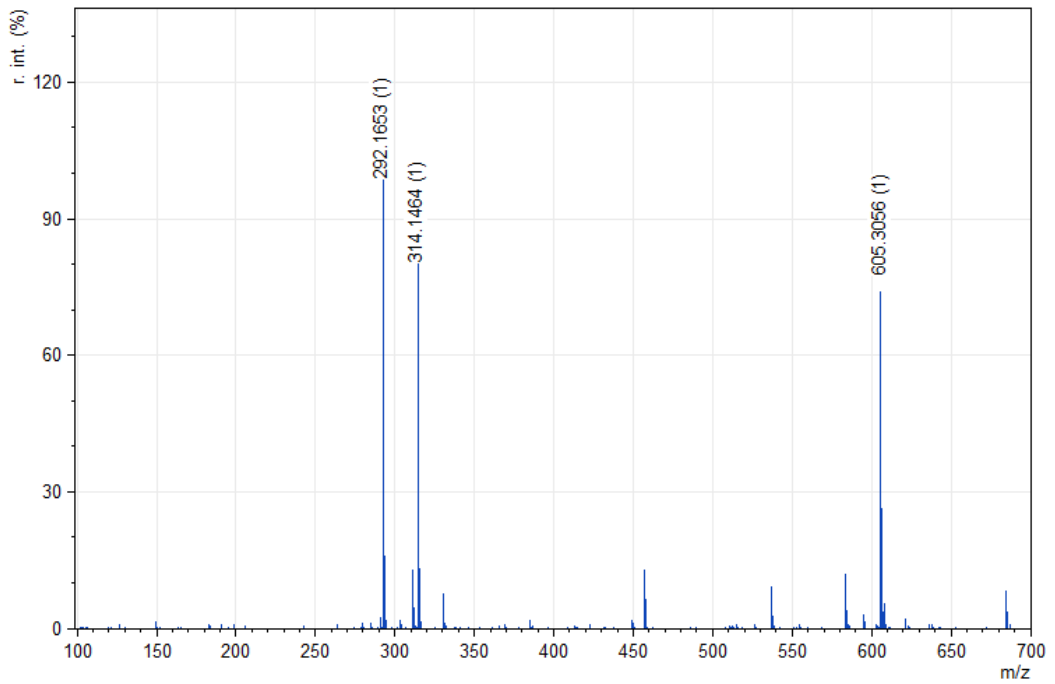


Espectros de Massas

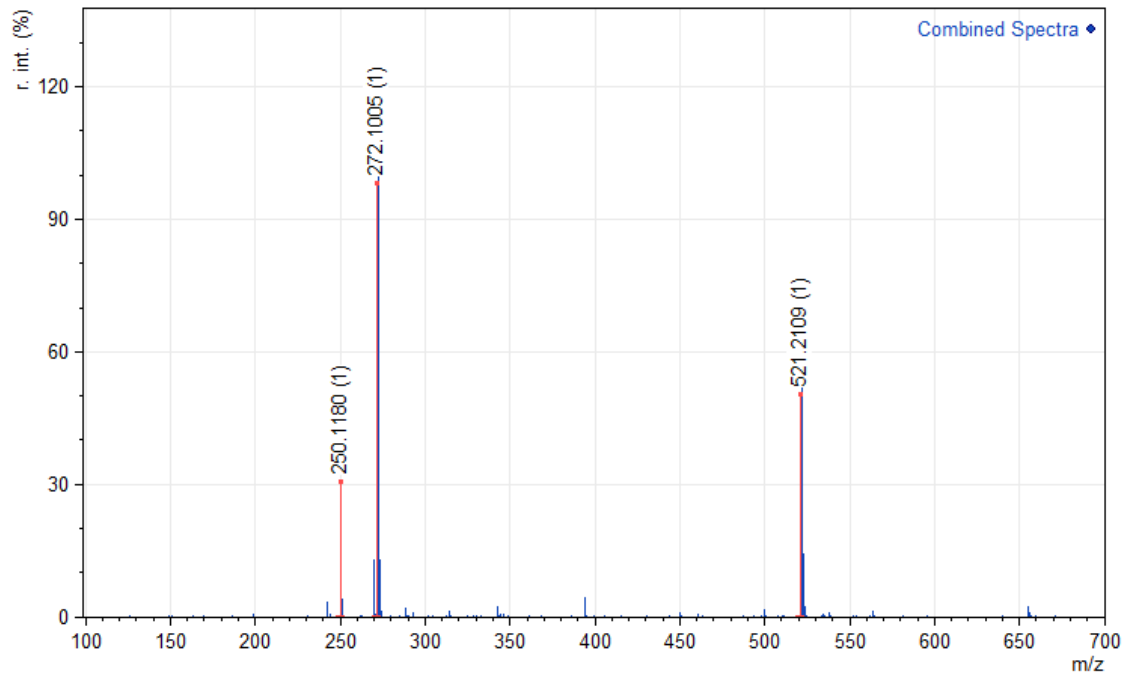
Substância 10



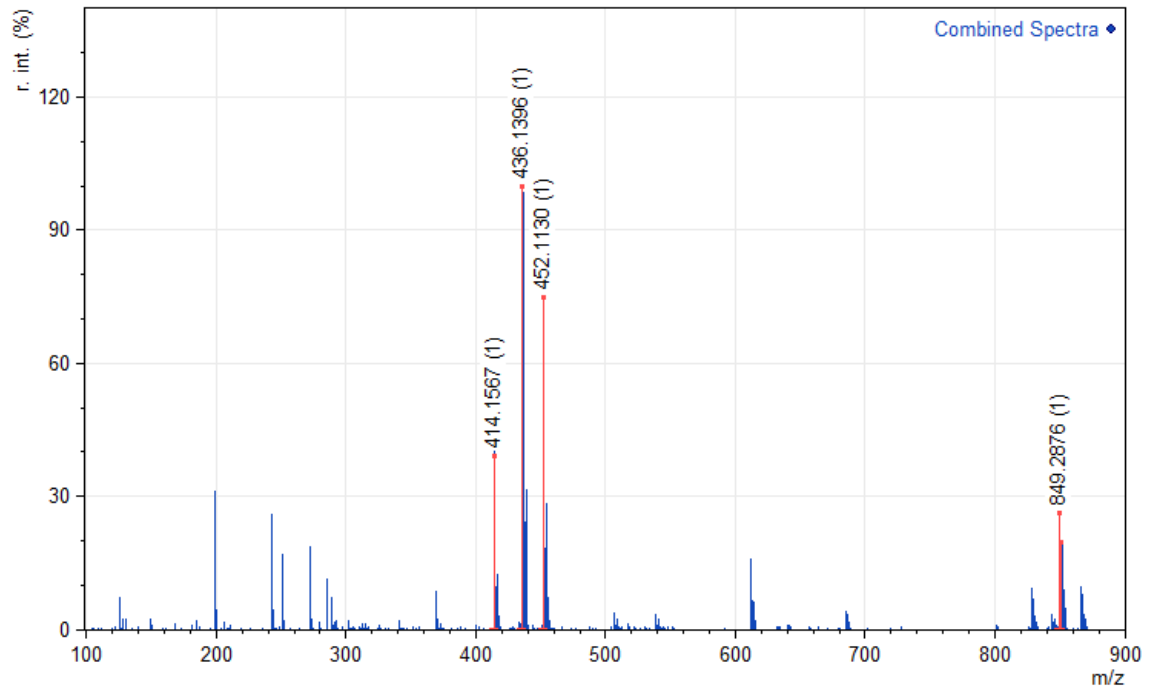
Substância 11



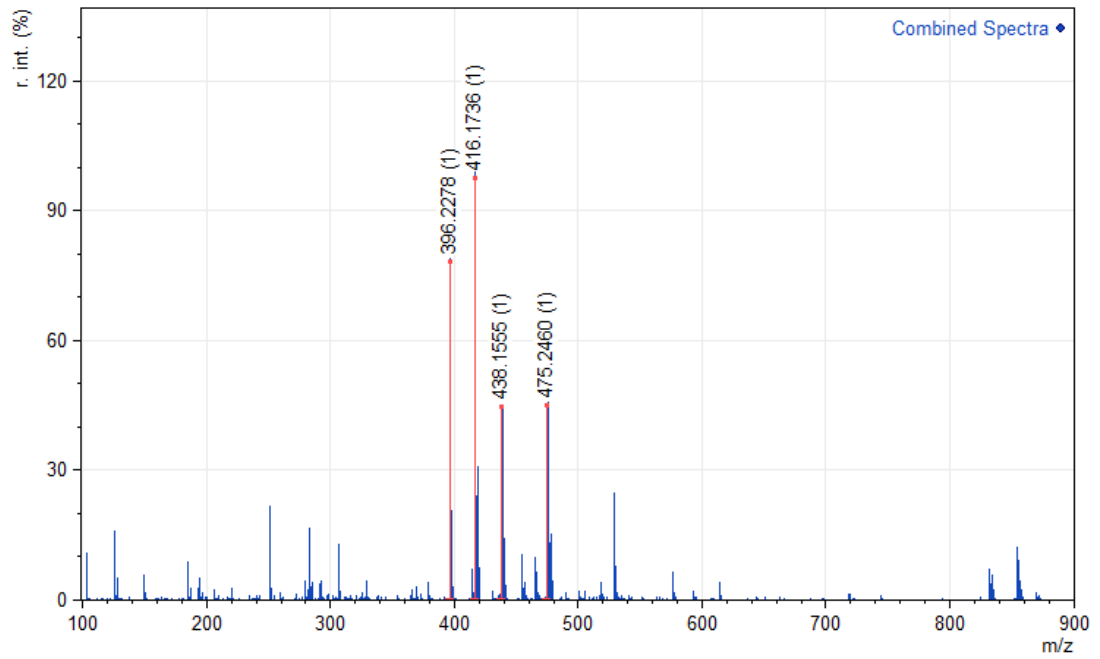
Substância 12



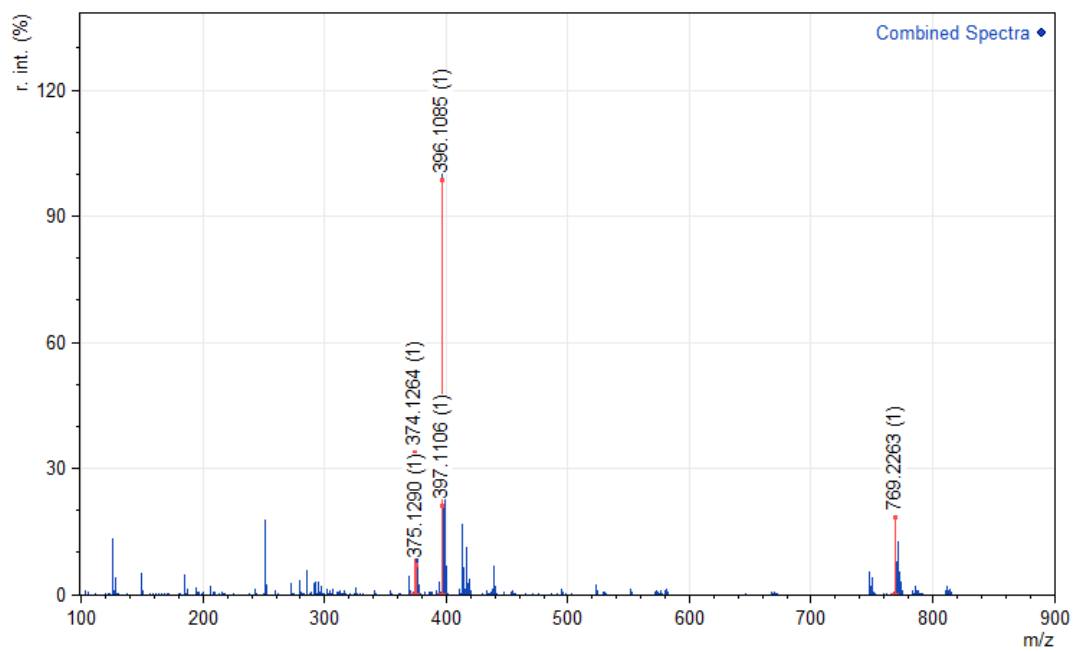
Substância 13



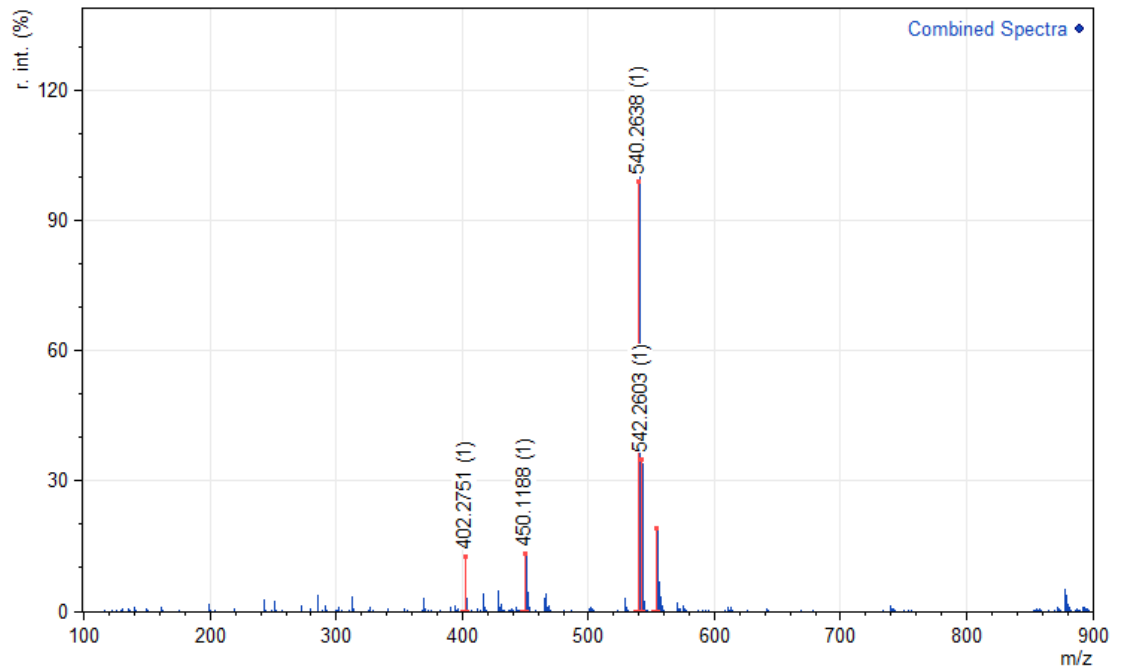
Substância 14



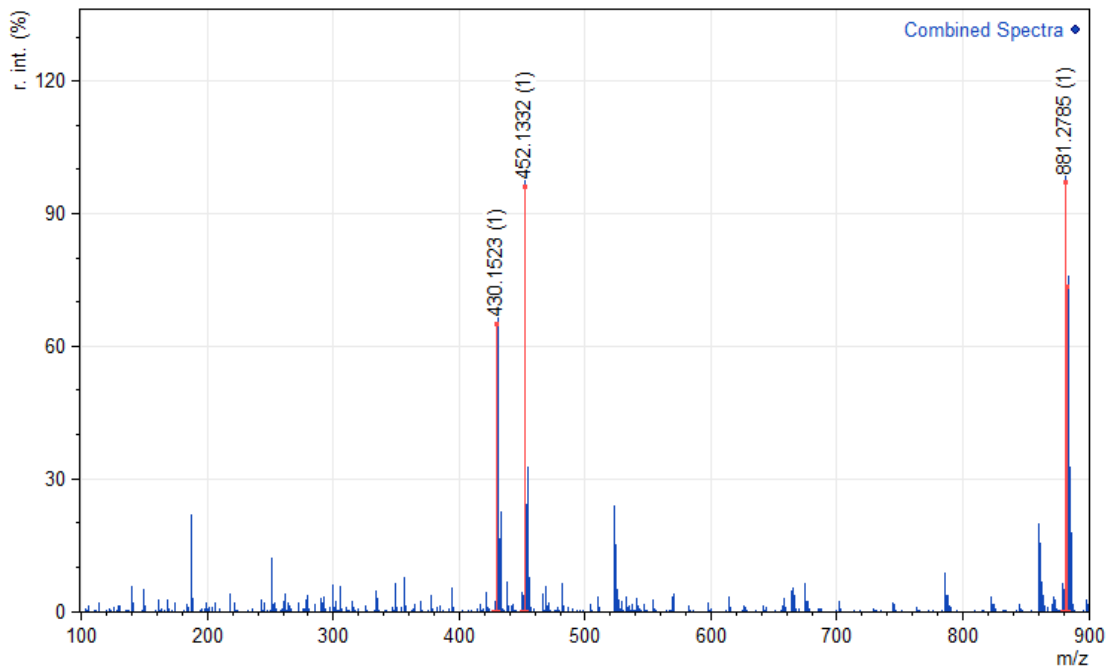
Substância 15



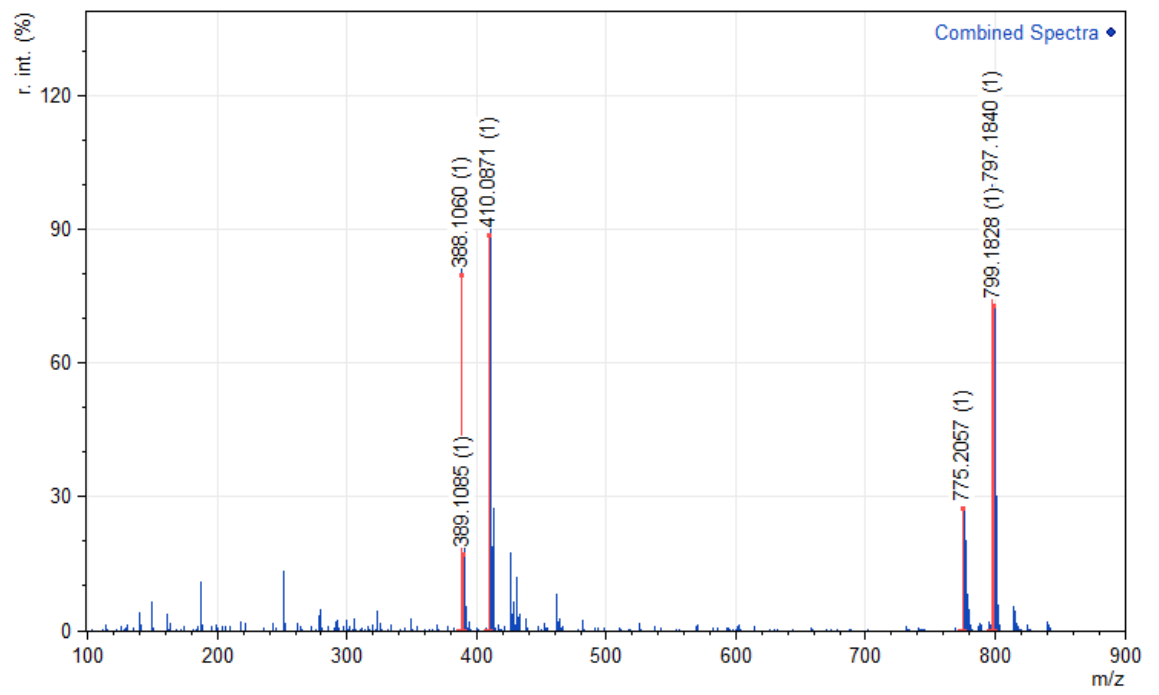
Substância 16



Substância 17

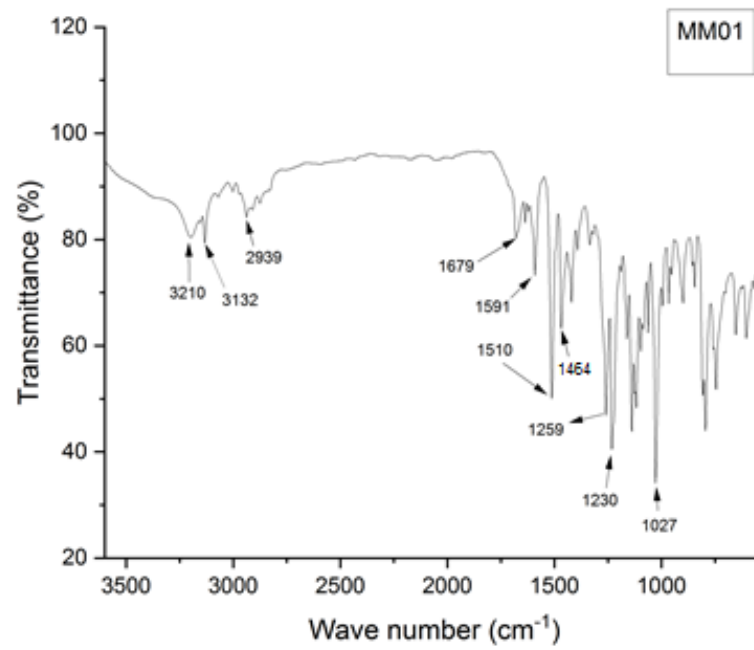


Substância 18

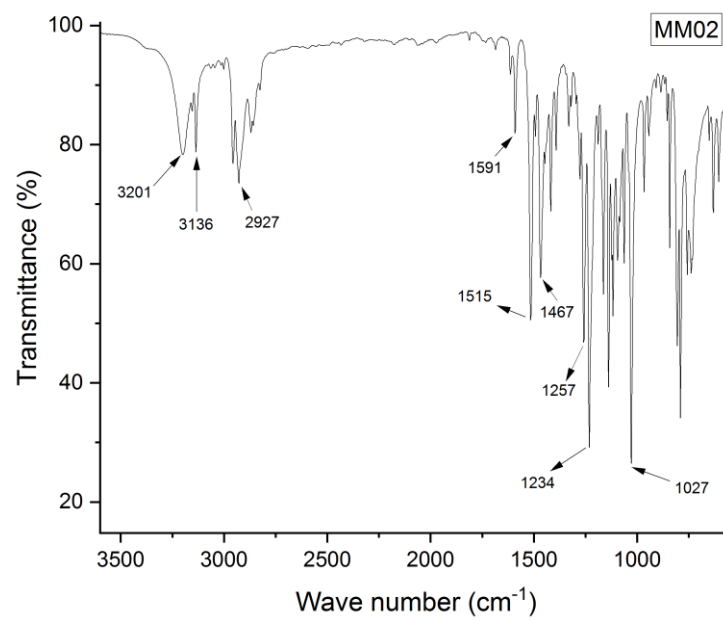


Espectros na região de infravermelho

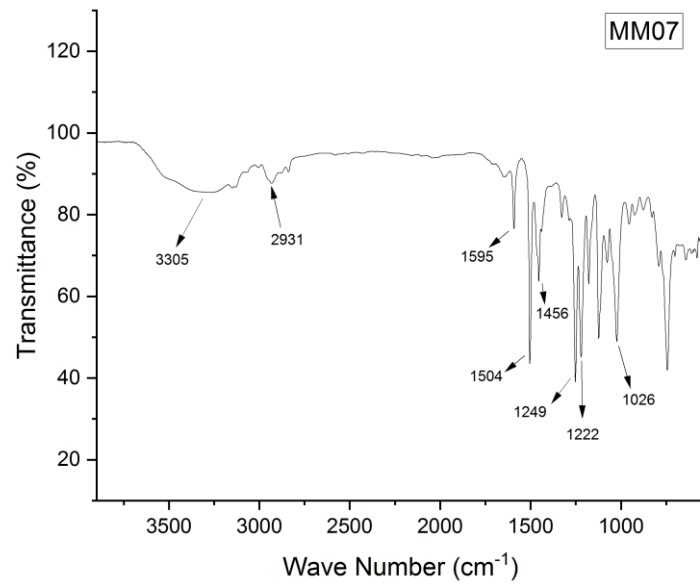
Substância 10



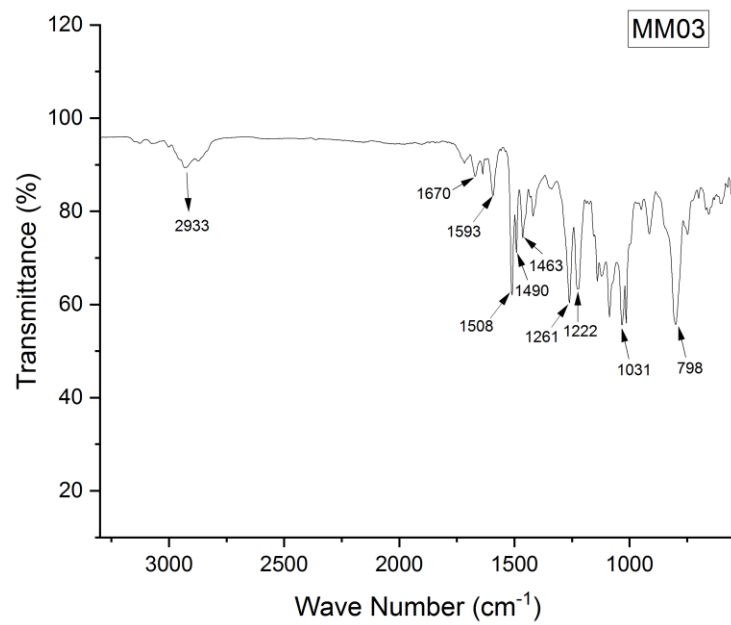
Substância 11



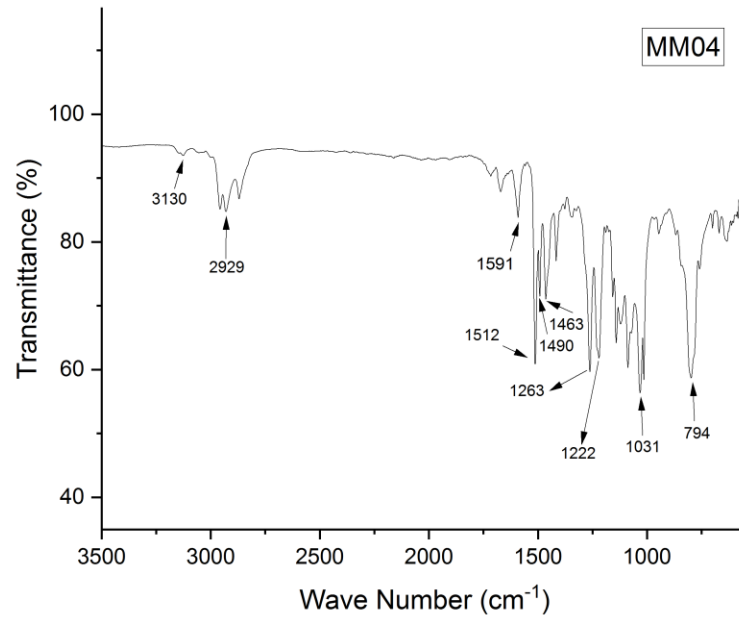
Substância 12



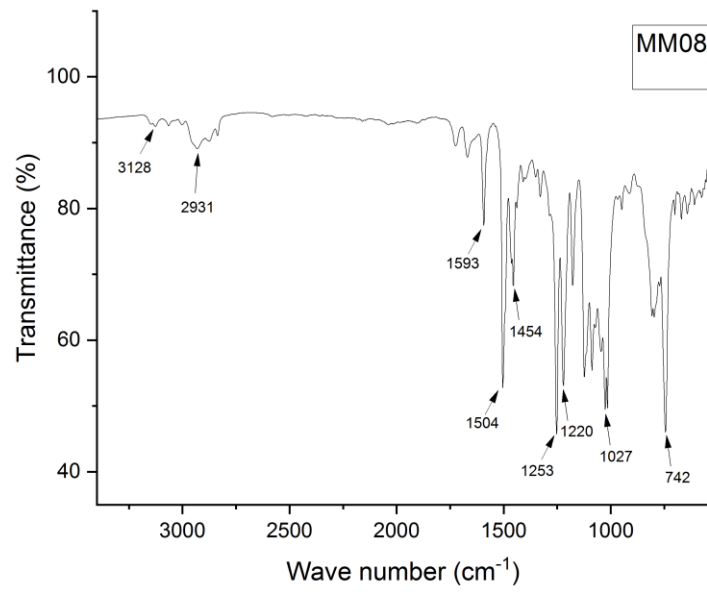
Substância 13



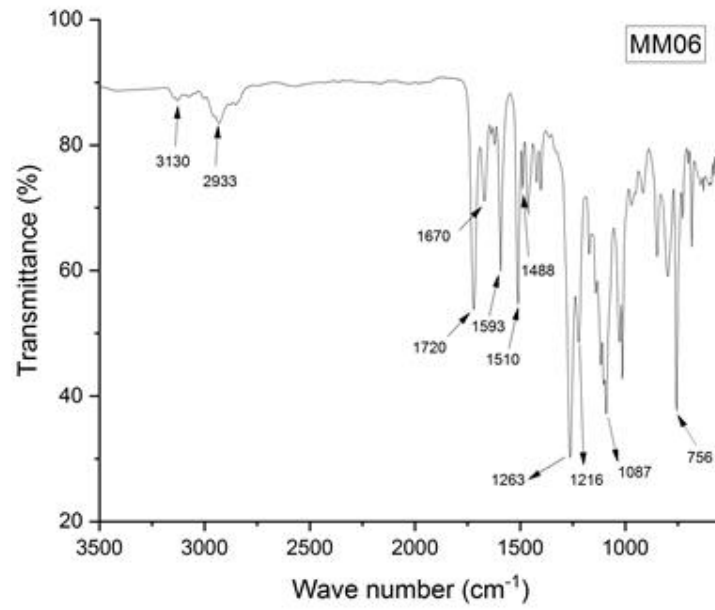
Substância 14



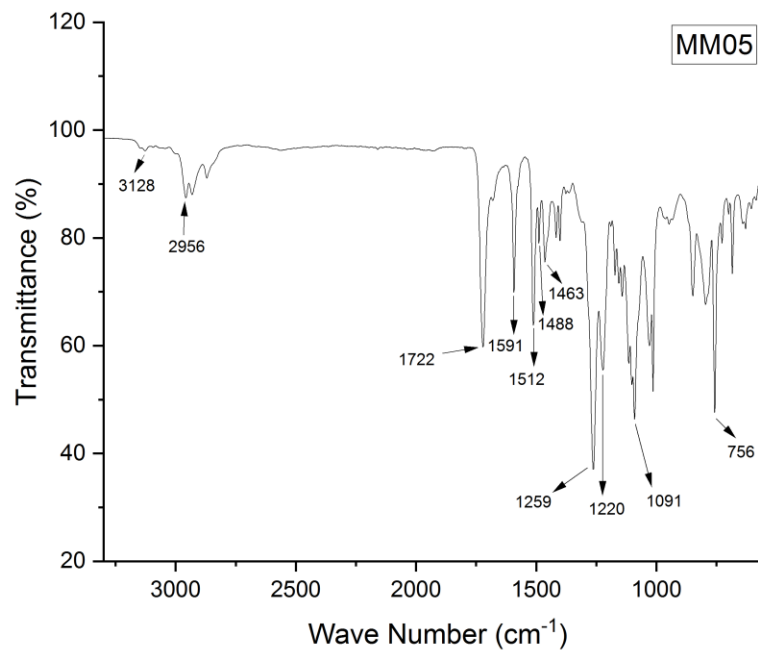
Substância 15



Substância 16



Substância 17



Substância 18

